

レタス斑点病菌の分生子殻形成, 菌糸生育に及ぼす培地, 光源の影響

奈尾雅浩

(愛媛県農業試験場)

Effect of media and light sources on sporulation and mycelial growth of *Septoria lactucae*

By Masahiro NAO (Ehime Agricultural Experiment Station, Kaminanba-ko 311, Matsuyama, Ehime 799-2405)

Sporulation and mycelial growth were investigated using Strain Sel-2 (MAFF 306510) of *Septoria lactucae* Passerini, the causal fungus of lettuce leaf spot. This pathogen was used because it produces very few spores and grows mycelium sluggishly on media. The study aimed to determine synthetic or semisynthetic media and irradiation conditions that would allow abundant sporulation and suitable mycelial growth of *Septoria lactucae*. In the experiment, potato sucrose agar (PSA) and potato dextrose agar (PDA) media produced the largest number of spores while mycelium grew best in six kinds of media. Continuous irradiation with a black light (BLB) fluorescent lamp was suitable for sporulation. Similarly, white fluorescent lamp irradiation induced sufficient sporulation. The light emitted from a BLB fluorescent lamp through a Petri dish lid of water-clear glass was measured at 364nm as a peak and a range of 300-400nm into near-ultraviolet irradiation. The light emitted from a white fluorescent lamp has in 314nm and 366nm as each peak in the range of 300-400nm. In a light intensity test, sporulation was excellent at 1000-5000lux, but was inhibited at and above 6000 lux. Mycelial growth was inhibited as light intensity increased. When 5000 lux was exceeded, the degree of inhibition of mycelial growth became large and growth was clearly prevented at 7000lux.

はじめに

レタス斑点病は、1878年にイタリアで確認されたのが最初であり、病原菌はPasserini (1879) によって*Septoria lactucae* Passeriniと同定された。その後、アメリカ合衆国 (Peck, 1879), フランス (Saccardo, 1884), 中国 (Tai, 1937), 台湾 (澤田, 1922) 等の欧米や東アジアの各国で発生が確認された。日本国内ではNisikado *et al.* (1938) によって1927年7月に岡山県倉敷市でレタス斑点病菌が採集されており、これが本邦最初の発生記録とみられる。その後、本病は1984年9月に岩手県、1995年11月に愛媛県で確認された (仲谷・平良木, 1988; 奈尾, 1999)。以上のように国内

外で本病は発生しているが、現在までに本菌の分生子殻形成や菌糸生育に適した培養条件は明らかにされていない。このため、当初の罹病レタスからの糸状菌分離と分生子殻形成は、Fries培地 (Bertagnolli *et al.*, 1986) で行っていた。しかし、本培地上では、分離菌の分生子殻形成数が少なく、菌糸生育速度も遅かった。このため、接種試験に必要な分生子の確保が難しく、殺菌剤の効力を調査する寒天平板法 (上杉, 1981) を実施するための菌糸生育調査にも支障を来した。そこで、本菌の分生子殻形成と菌糸生育に適した寒天培地の種類を明らかにし、併せて分生子殻形成を促進する光源の種類を検討した結果、若干の知見を得たので報告する。

試験の一部は、1996年に農林水産省野菜・茶業試験場の施設・備品を使用して行った。ご配慮頂いた関係各位に対し謝意を表する。

なお、本報告の一部は、平成9年度日本植物病理学会大会で講演発表した（奈尾，1997）。

材料及び方法

1. 供試菌株

愛媛県伊予市の発病圃場（品種‘ステディ’）より、1995年12月1日に採集した罹病葉から糸状菌分離を行い、Fries培地上で27℃、20日間培養した含菌培地を素寒天培地に移植後、27℃、7日間培養後に形成された分生子から単孢子分離を行った。この手法で得られた菌株Sel-2（MAFF 306510）を試験に供試した。

2. 寒天培地上での分生子殻形成数および菌糸生育調査法

各寒天培地を無色透明のガラスシャーレ（身外径×高さ：90×20mm、PYREX[®]製）に約20mlずつ分注して平板としたものを供試した。培養条件は1処理3反復、28℃の恒温下で15日間静置した。分生子殻形成数は本シャーレ内の培地上で10個の形成数を境界として、少数（+）、多数（++）に分けた。菌糸生育は、培地上に置床した菌叢切片の大きさを除き、培養中に生育した菌叢直径で表した。

3. 培地と光源ランプの組み合わせがレタス斑点病菌の分生子殻形成数および菌糸生育に及ぼす影響

既報により *Septoria* 属菌の分生子殻形成が優れる培地を含む6種を選定した〔以下、著者（発表年）；対象にされた *Septoria* 属菌種名〕。① V-8 juice 培地 [Miller (1955) ; *S. lycopersici* Spegazzini], ② Elliot's V-8 培地 [Hilu and Bever (1957) ; *S. tritici* Roberge ex Desmazières], ③ Fries培地 [Bertagnolli *et al.* (1986) ; *S. glycines* Hemmi], ④ galactose-glycine 培地 [Richards (1951) ; *S. nodorum* Berkeley], ⑤ プドウ糖加用ジャガイモ (PD) 培地 [Calpouzos and Lapis (1970) ; *S. nodorum* Berkeley] に対照として⑥ ショ糖加用ジャガイモ (PS) 培地を供試した。各培地とも寒天粉末量を18g/ℓで加えてから滅菌処

理した。

光源ランプは①白色蛍光灯 (FL15W,ネオルミスーパー MITSUBISHI/OSRAM), ②BLB蛍光灯 (FL15 BL-B 15W ナショナル), ③メタルハライドランプ (蛍光型 MF400・S/VH 松下電器産業(株)) をシャーレ上蓋から約30cmの高さに設置して連続照射した。対照は暗黒条件下とした。

4. 光源ランプ放射光の波長特性

各光源ランプの無色透明ガラスシャーレの蓋を通過した光の光エネルギー分布を波長別エネルギー測定装置 (LI-1800, LI-COR社) で測定した。光強度は、300~800nmの波長について、1 nm毎に3反復で測定して平均値を求め、最大値を示す波長の光強度に対する比エネルギー (%) で表した。

5. 光の強さがレタス斑点病菌の分生子殻形成数および菌糸生育に及ぼす影響

白色蛍光灯を用い、光源からシャーレ設置箇所までの距離によって1000lux (放射照度:2.9Wm⁻²) ~7000lux (放射照度:20.3Wm⁻²) の間で1000lux刻みに調整した。照度は照度計 (ANA-F12, 東京光電 (株)) を用いて調整した。

結 果

1. 培地と光源ランプの組み合わせがレタス斑点病菌の分生子殻形成数および菌糸生育に及ぼす影響

第1表に示した通り分生子殻形成はPDA培地、PSA培地が最も優れ、Elliot's V-8培地、V-8 juice培地がこれに次いだ。Fries培地とgalactose-glycine培地上の分生子殻形成数は少なかった。光源別ではBLB蛍光灯照射が分生子殻形成に最適であったが、白色蛍光灯照射でも十分に分生子殻を形成した。メタルハライドランプ照射、対照の暗黒条件下では分生子殻は殆ど形成されなかった。

菌糸生育は、光源の種類や照射の有無に関係なくPDA培地およびPSA培地が有意に優れたがgalactose-glycine培地上での菌糸生育は著しく劣った。BLB蛍光灯照射は他区に比べて菌糸生育が劣る傾向を示した。

第1表 レタス斑点病菌の分生子殻形成数と菌糸生育に対する寒天培地と光源ランプの影響

寒天培地	光源ランプ							
	白色蛍光灯		BLB蛍光灯		メタルハイドランプ		暗黒下	
	分生子殻形成数	菌糸伸長	分生子殻形成数	菌糸伸長	分生子殻形成数	菌糸伸長	分生子殻形成数	菌糸伸長
V-8 juice培地	+~++	10.3 b	+	5.0 b	-	10.7 b	-	10.0 b
Elliot' sV-8 培地	-~+	10.7 b	+~++	6.7bc	-~+	12.7 b	-	10.0 b
Fries培地	+	10.0 b	+	8.3 c	-	13.7 b	-	10.7 b
galactose-glycine培地	-	2.0 a	-~+	0 a	-	1.0 a	-	1.0 a
PDA培地	+~++	17.7 c	++	12.3 d	+	19.0 c	-	16.3 c
PSA培地	+~++	19.7 c	++	12.3 d	-	21.7 c	-	14.3 c

白色蛍光灯：FL15W，BLB蛍光灯：BL-B15W，メタルハイドランプ：蛍光型MF400・S/VHの各連続照射。

供試シャーレは，身外径×高さが90×20mm無色透明ガラス製。

分生子殻形成数は，-：未形成，+：少数（10個以内），++：多数（10個より多い）の基準で各区3反復の最少数～最大数を示す。

菌糸伸長は，28℃，15日間培養後に伸長した菌叢直径（mm）を示す。

同一英文字間にはチューキーの多重比較（5％）により有意差は認められない

2. 光源ランプ放射光の波長特性

第1図に示す通り無色透明ガラスシャーレの蓋を通過したBLB蛍光灯の光は，波長364nmが最大ピークとなる300～400nmに光エネルギー分布がみられた。白色蛍光灯の光は578nmを最大ピークとする400nm以上に，メタルハイドランプの光は，592nmを最大ピークとする400nm以上にそれぞれ光エネルギー分布がみられた。

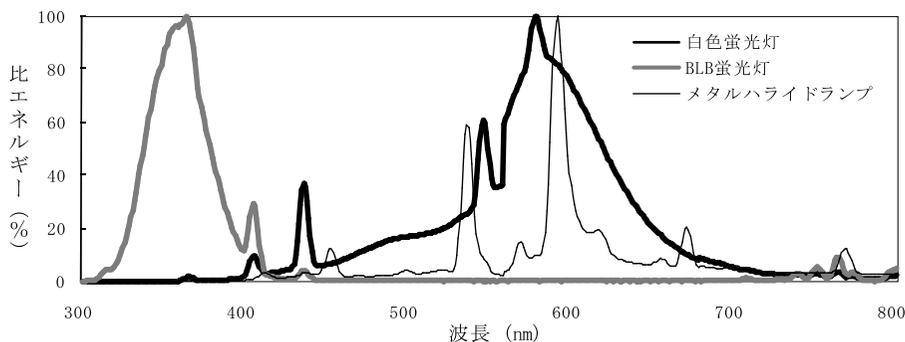
300～380nm域の光エネルギー分布の特徴では，白色蛍光灯は，比エネルギーで314nmに0.2%，366nmに1.9%のピークを示したが，メタルハイドランプは，この波長域では低く推移し明瞭なピークは認められなかった（第2図）。

3. 光の強さがレタス斑点病菌の分生子殻形成数および菌糸生育に及ぼす影響

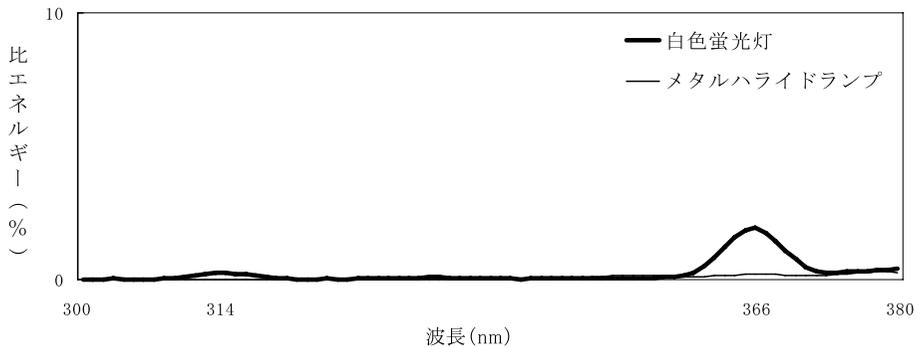
第2表に示す通り，分生子殻形成は1000～5000 luxでは優れたが，6000lux以上で阻害された。菌糸生育を示す菌叢直径は照度が高まるにつれて緩やかに小さくなり，5000luxを超えると生育阻害が目立ち始め，7000lux条件下では明らかな生育阻害を生じた。

考 察

レタス斑点病菌（Sel-2菌株）は，PDA培地，PSA培地で分生子殻形成が優れ，分生子量も十分に得られた。ここで他の*Septoria* 属菌におけ



第1図 無色透明ガラスシャーレ蓋の透過光における光エネルギー分布
波長別エネルギー測定装置（LI-1800，LI-COR社）で測定。



第2図 無色透明ガラスシャーレ蓋透過光における光エネルギー分布（その2）
近紫外線域（300～380nm）の測定結果。

第2表 レタス斑点病菌の分生子殻形成数と菌糸生育に対する光の強さの影響

照度 (lux)	放射照度 (Wm^{-2})	分生子殻形成数	菌糸伸長 (mm)
1000	2.9	++	21.7 ± 0.27a)
2000	5.8	++	18.0 ± 0.47
3000	8.7	++	18.3 ± 0.72
4000	11.6	++	20.0 ± 0.47
5000	14.5	++	15.0 ± 0.47
6000	17.4	+	14.7 ± 0.27
7000	20.3	+	7.7 ± 0.27

供試培地はPSA培地。光源は、白色蛍光灯FL15Wを連続照射した。

供試シャーレは、身外径×高さが90×20mm無色透明ガラス製。

照度は、照度計（ANA-F12、東京光電（株））で測定した。

分生子殻形成数は、+：少数（10個以内）、++：多数（10個より多い）。

菌糸伸長は、28℃、15日間培養後に伸長した菌叢直径を示す。a) 標準誤差（3反復）。

る培地と分生子殻形成の関係をみるとCalpouzos and Lapis (1970)が*S. nodorum*ではPDA培地が他の培地よりも優れたことを報告をしている。しかし、Miller (1955)は、*S. lycopersici*ではV-8 juice培地が、Bertagnolli *et al.* (1986)は*S. glycines*ではFries培地がそれぞれPDA培地よりも分生子殻形成が優れた結果を報告している。今回の試験ではレタス斑点病菌はFries培地での分生子殻形成が明らかに劣っていたため、Bertagnolli *et al.* (1986)が観察した*S. glycines*の特性とは異なっていた。同じ*Septoria*属菌でも培養特性は一律ではなく明瞭な差異のあることが明らかとなった。

レタス斑点病菌は、BLB蛍光灯、白色蛍光灯で分生子殻の形成が促進された。これらの光源ランプの光が無色透明のガラスシャーレを透過した時の波長特性を測定し、レタス斑点病菌の分生子殻形成における光感性を推定した。洞口・

田澤 (1998)、本田 (1984) によってBLBランプは、300～400nm（ピーク波長350nm付近）の近紫外光を照射すると報告されており、無色透明のガラスシャーレを透過した時でもこの波長域の光は十分得られていた。また、白色蛍光灯の光には、同条件の透過光で314、366nmに低いながらもピークを持つ近紫外光の存在が確認された。これらの結果とメタルハライドランプ透過光の光エネルギー分布が近紫外光域になく、本ランプ照射下では分生子殻は殆ど形成されないことを考慮すると、近紫外光がレタス斑点病菌の分生子殻形成を促進したものと推定された。

Cooke and Jones (1970)は*S. nodorum*と*S. tritici*の培養時にブラックライトを光源に用いて320～420nmの近紫外光を照射した結果、暗黒下で僅かに生じた分生子殻数が、有意に増加したことを確認している。レタス斑点病菌は、一定期間培養

後、素寒天培地に移し替えれば暗黒条件下でも分生子殻を形成するため、近紫外光照射で分生子殻形成が促進されることは、*S.nodorum*と*S.tritici*の性質と一致する結果となった。

Bhama (1971) は、近紫外光の透過性は、供試した5種のガラスシャーレの中でPYREX®製シャーレが最も優れていたことを報告している。この知見を踏まえ、今回の試験ではPYREX®製の無色透明のガラスシャーレを供試している。

インキュベーターで、構造上ランプコンパートメント内に蛍光灯が装備されている機種では、レタス斑点病菌の分生子殻形成が全く促進されなかった(奈尾未発表)。この理由はインキュベーター庫内とランプコンパートメントを分断するガラス板が近紫外光の透過を阻害したためと考えられる。従って、このようなインキュベーター機種での培養時には、庫内に蛍光灯を設置しガラスシャーレに向けて光を直接照射する必要がある。

光の強さと分生子殻形成および菌糸生育の関係では7000luxで明らかな阻害がみられたため、高出力の光源ランプを使用しないことや培養中のシャーレを蛍光灯に近づけ過ぎない工夫が必要となる。但し、1000~5000luxの比較的広い幅で分生子殻は十分形成されたため、精密な照度設定は不要である。

レタス斑点病菌の接種において、BLB蛍光灯、または白色蛍光灯照射下で、FDA培地またはPSA培地を用い15日間培養した無色透明ガラスシャーレ(身外径×高さ:90×20mm, PYREX®製)5枚分から得られる分生子量で播種20日後のレタス100株を十分に発病させることができる。

摘 要

1. 供試培地ではPDA培地、PSA培地がレタス斑点病菌の分生子殻形成数および菌糸生育に最も好適であった。分生子殻形成を促進する光源にはBLB蛍光灯が最適であったが、白色蛍光灯も十分に適用できた。

2. 無色透明ガラスシャーレの蓋を通過する光を測定したところBLB蛍光灯の光は、364nmに最大値を持つ300~400nmの光エネルギー分布がみられた。白色蛍光灯の光には、314nmに0.2%、

366nmに1.9%のピークがあった。これらの近紫外光がレタス斑点病菌の分生子殻形成を促進することが推定された。

3. 白色蛍光灯を照射したPSA上での分生子殻形成は1000~5000luxで優れたが、6000lux以上では阻害された。菌糸生育では照度が高まるにつれて緩やかに菌糸伸長量が減少し、5000luxを超えると生育阻害が顕著となり、7000luxでは明らかな阻害を生じた。

引用文献

- Bertagnoli, P.F., Porto, M.D.M. and Reis, E.M. (1986): The influence of culture media on the sporulation of *Septoria glycines* Hemmi, causal agent of soybean brown spot, Pesq. Agropec. Bras., 21:615~618.
- Bhama, K.S. (1971): Suitability of different types of glassware in sporulation studies on *Cercospora personata*, Curr.Sci., 40 (2):45~46.
- Calpouzos, L. and Lapis, D.B. (1970): Effects of light on pycnidium formation, sporulation, and tropism by *Septoria nodorum*. Phytopath., 60:791~794.
- Cooke, B.M. and Jones, D.G. (1970): The effect of near-ultraviolet irradiation and agar medium on the sporulation of *Septoria nodorum* and *S. tritici*, Trans. Br. mycol. Soc. 54:221~226.
- Hilu, H.M. and Bever, W.M. (1957): Inoculation, oversummering, and suscept-pathogen relationship of *Septoria tritici* on *Triticum* species, Phytopath., 47:474~480.
- 本田雄一 (1984): 光に対する糸状菌の胞子形成反応, 光と植物生育—光選択利用の基礎と応用—(稲田勝美編著), 養賢堂, 東京:152~168.
- 洞口公俊・田澤信二 (1998): 人工光UV, UVと生物産業—UV(紫外放射)の影響と利用—(社団法人照明学会編), 養賢堂, 東京:29.
- Miller, P.M. (1955): V-8 juice agar as a general-purpose medium for fungi and bacteria, Phytopath., 45:461~462.
- 仲谷房治・平良木武 (1988): 露地レタスに発生する病害の作型別発生生態. 北日本病虫研報,

- 39:121~124.
- 奈尾雅浩 (1997): レタス斑点病菌の諸特性, 日植病報, 63:204.
- 奈尾雅浩 (1999): レタス斑点病の発生と防除, 四国植防, 34:39~50.
- Nisikado, Y., Hirata, K. and Higuti, T. (1938) : Studies on the temperature relations to the longevity of pure culture of various fungi, pathogenic to plants. Berichte d. Ohara Inst. landwirtsch. Forsch., 8:107~124.
- Passerini, G. (1879) : S. lactucae. Passer., Funghi parmensi enumerati, Atti Soc. Crittog. Ital., 2 : 34.
- Peck, C.H. (1879) : New Species Fungi, Bot. Gazette., 4:169~171.
- Richards, G.S. (1951) : Factors influencing sporulation by *Septoria nodorum*, Phytopath., 41:571~578.
- Saccardo, P.A. (1884) : *Septoria lactucae*. Syll. Fung., 3:551.
- 澤田兼吉 (1922) : 台湾産菌類調査報告第2編, 台湾総督府中央研農業部報 2 : 121~123.
- Tai, F.L. (1937) : A list of fungi hitherto known from China, Sci. Rep. Tsing-Hua Univ. Ser. B2:492.
- 上杉康彦 (1981) : 抗菌活性測定法, 農薬実験法 2 殺菌剤編 (深見順一・上杉康彦・石塚皓造・富沢長次郎編), ソフトサイエンス社, 東京 : 37~61.