ナシ黒斑病菌の孢子形成に及ぼす光の影響

大 森 薫*・中 島 三 夫*

Kaoru OHMORI* and Mitsuo NAKAJIMA*: Effect of Light on Sporulation
of *Alternaria kikuchiana* TANAKA

Abstract

Effect of the continuous light exposure with white fluorescent lamp on sporulation of *Alternaria kikuchiana* Tanaka depended more or less on the kinds of media. On V-8 juice medium, pear leaf juice medium and dry apricot-V-8 juice medium, the spore production of the fungus were increased by the light exposure. Stimulately or inhibitory effect of spore production of the fungus on the dry apricot juice medium, which produced the most abundant spores among the media in darkness, were not observed when exposed to continuous light by white fluorescent lamp.

Effect of the light exposure on sporulation of the fungus depend also on temperature and the distance from lamp to mycellium. In high temperature and long distance from lamp to mycellium, spore production of the fungus were decreased and the good growth of airial mycellium. On the other hand, in low temperature and short distance from lamp, the spore production of the fungus were increased.

The spore formation of the fungus stimulated with black light blue fluorescent lamp, pure blue fluorescent lamp and sterile lamp among the lampes, in low temperature and short distance from the lampes on the all media except dry apricot juice medium. The spore formation of the fungus stimulated when exposed to continuous light with the glass filters which transmitted mainly 340 m μ and 365 m μ light in low temperature and long or short distance from the lampes on dry apricot-V-8 juice medium. On the other hand, spore formation of the fungus inhibited by 400 m μ -500 m μ , especially 450 m μ light.

(Received June 3, 1969)

I. 緒 言

Alternaria spp. の孢子形成過程で、光が重要な役割をもち、ある波長の光を照射すると、孢子形成が促進されたり^{3,5,7,9}、または、抑制されたり^{1,3,7}することが報告されている。ナシ 20 世紀に多大の被害を与えるナシ黒斑病の病原菌 (*Alternaria kikuchiana* Tanaka) の孢子形成に対する光の影響に関しては、報告がないので検討したところ若干の知見を得たので報告する。なお、本報告の概要は、昭和 43 年度日本植物病理学会大会で講演発表した¹¹⁾。

実験を行なうにあたり菌株の分与ならびに本論文を校閲していただいた農林省園芸試験場岸 国平博士、種々ご助言を賜わり、さらに、ガラスフィルターを貸与下さった専売公社鹿児島たばこ試験場福田睦勇氏、本稿を草するにあたって発表の機会を与えられた日本化薬株式会社上尾研究所長田原耕作氏、同次長上田勇伍氏に深謝の意を表する。

II. 実験材料および方法

1. 実験材料

供試菌：農林省園芸試験場から分与された *Alternaria kikuchiana* Tanaka 菌株を用いた。

培地：乾アンズ煎汁培地 (乾アンズ 50 g を 1 時間煮沸して作った煎汁 1 l, CaCO₃ 3 g, 寒天 20 g, 1N

* 日本化薬 (株) 上尾研究所 Ageo Pesticide Institute, Nippon Kayaku Co., Ltd., Ageo, Saitama, Japan.

NaOH, 1N HCl で pH 6.0 に修正), V-8 ジュース培地 (V-8 ジュース 200 ml, CaCO_3 3 g, 蒸留水で全体を 1 l, 寒天 20 g, 1N NaOH, 1N HCl で pH 6.0 に修正), ナン葉煎汁培地(ナン 20 世紀生葉 200 g を 1 時間煮沸して作った煎汁 1 l, グルコース 20 g, 寒天 20 g, 1N NaOH, 1N HCl で pH 6.0 に修正), 乾アンズ・V-8 ジュース培地¹⁰⁾ (乾アンズ 50 g を 1 時間煮沸して作った煎汁液, V-8 ジュース 250 ml, CaCO_3 3 g, 蒸留水で全体を 1 l, 寒天 20 g, 1N NaOH, 1N HCl で pH 6.0 に修正), ジャガイモ寒天培地 (ジャガイモ 200 g 煎汁 1 l, 蔗糖 20 g, 寒天 20 g, pH 無修正)。

光源: 用いた蛍光灯は, すべて, 松下電器産業株式会社製で, 白色蛍光灯 (W), 純赤色蛍光灯 (R-F), 純黄色蛍光灯 (Y-F), 純緑色蛍光灯 (G-F), 純青色蛍光灯 (B-F), ブラックライトブルー蛍光灯 (FL 20 BL-B), 複写用蛍光灯 (FL-BA-42), 以上すべて 20 W, ならびに, 同社製殺菌灯 (GL-15) 15 W。各種光源の分光エネルギー分布曲線ならびに供試シャーレ上

Fig. 1. Spectral energy distribution curve of lamps (reproduced from the data of Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.) and transmission light of the cover of petri dish.

Fig. 2. Transmission light of glass filters.

ぶたの各波長光線透過率は, 第 1 図に示した。

ガラスフィルター: ガラスフィルター (日立製作所製) の各波長光透過率は, 第 2 図に示した。

2. 実験方法

培養方法: 各種培地を熱してとかし, 径 9 cm のシャーレに 15 ml ずつ分注し平板を作成した。乾アンズ煎汁寒天斜面培地に, ナン黒斑病菌を接種し, $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 20 cm の距離から白色蛍光灯を照射した条件下で, 10 日間培養したものに, 殺菌水約 8 ml を加え, 毛筆を用いて胞子を洗い落とし, 滅菌二重ガーゼで菌糸を除いて胞子懸濁液を調製した。その 1 ml をさきに行った各種平板培地上にムラのないように流し, シャーレのふたをしたまま所定温度, 所定の光源下で, 7 日間培養した。なお, 対照の暗黒区は全体を銀紙でおおい, 光が全然照射されないようにした。ガラスフィルター使用の場合は, シャーレ上ぶたの中央に, 径 2 cm の穴を明け, ここにガラスフィルターをおき, ほから光がはいらないようガラスフィルター部分以外を銀紙でおおい, これを, ブラックライトブルー蛍光灯ならびに複写用蛍光灯の二つの光源下において培養した。光源からシャーレ上ぶたまでの距離を 20 cm とした場合を近距離照射とし, 60 cm とした場合を遠距離照射とした。白色蛍光灯の場合, 近距離照射では, 約 1,810 Lux, 遠距離照射では, 約 310 Lux である。ブラックライトブルー蛍光灯ならびに複写用蛍光灯の二つを同時に照射した場合は, 近距離照射では, 約 590 Lux, 遠距離照射では, 約 95 Lux である。

胞子数の計測: 培養後の平板培地に, 1 シャーレ当たり 20 ml の水を加え, 毛筆で胞子をなでとり, 二重ガーゼでこし, 水で 10 倍にうすめたのち, その 2 ml をとって, 径 4 cm のシャーレに入れ, 胞子が沈むまで静置してから, オリンパス顕微鏡 $\times 200$ で 1 視野にある胞子数を数えた。ガラスフィルターを使用した場合は, シャーレ中央部の菌そうを径 2 cm の円形に切

Fig. 3. Effect of exposure with white fluorescent lamp on spore production on different media at 28°C.

Fig. 4. Effect of exposure with white fluorescent lamp on spore production on different media at 23°C.

りとり、これに 10 ml の水を加え、毛筆で胞子をなでとり、二重ガーゼでこし、胞子懸濁液を作り、この 2 ml を径 4 cm のシャーレに入れ、上と同じ方法で、胞子数を数えた。

III. 実験結果

1. 培養温度 28°C 白色蛍光灯照射時の胞子形成量

培養温度 28°C の場合、暗黒条件下では、乾アンズ煎汁培地での胞子形成がもっとも良好であった。ついで、乾アンズ・V-8 ジュース培地、V-8 ジュース培地、ナシ葉煎汁培地、ジャガイモ寒天培地の順となった。乾アンズ煎汁培地では、気中菌糸の生育がきわめて少なかったが、乾アンズ・V-8 ジュース培地、V-8 ジュース培地では、気中菌糸の生育が多少認められた。ナシ葉煎汁培地上に生育した菌そうは、濃褐色を呈し一見多量の胞子が形成されているようにみえたが、実際の胞子量は、乾アンズ煎汁培地にくらべかなり劣った。ジャガイモ寒天培地では、菌そうの生育がまばらで胞子形成量はきわめて少なかった。

一方、培養温度が同じく 28°C で、白色蛍光灯連続照射条件下（第 1 図 A）では、近距離から照射した場合、乾アンズ・V-8 ジュース培地だけが暗黒条件下よりも胞子形成量が多くなった程度で、他の培地ではほとんど同等かむしろ少なくなった。遠距離から照射した場合、すべての培地で気中菌糸の発育がさかなくなり胞子形成量はいちじるしく減少した。とくに乾アンズ・V-8 ジュースでは、一面に気中菌糸がはびこり胞子形成量はきわめて少なく、この条件下での乾アンズ煎汁培地、V-8 ジュース培地の胞子形成量に比し、かなり劣った（第 3 図）。

2. 培養温度 23°C 白色蛍光灯照射時の胞子形成量

培養温度 28°C の場合は、全般的に気中菌糸の生育が良好で、逆に胞子形成は劣る傾向が認められたので、気中菌糸の生育をある程度抑制するため、培養温度を 23°C に下げて試験してみた。

暗黒条件下では、培養温度 28°C のときとほぼ同じ結果が得られた。つまり、胞子の形成は、乾アンズ煎汁培地でもっとも良好で、ついで乾アンズ・V-8 ジュース培地、V-8 ジュース培地、ナシ葉煎汁培地の順であった。しかし、全般に胞子形成量は、さきの培養温度 28°C の場合にくらべわずかに減少した。

一方、培養温度 23°C で、白色蛍光灯を近距離から連続照射した場合、胞子形成量は、暗黒条件下にくらべ乾アンズ煎汁培地を除いた他のすべての培地でいちじるしく増加し、とくに、乾アンズ・V-8 ジュース培地での胞子形成は良好であった。暗黒条件下で、胞子形成がもっとも良好であった乾アンズ煎汁培地では、光照射による胞子形成量の増加は認められなかった。光照射による胞子形成量の増加程度は培地によって異なり、V-8 ジュースの場合約 2 倍、ナシ葉煎汁培地では約 6 倍、乾アンズ・V-8 ジュース培地では約 2.5 倍、それぞれの培地で暗黒条件下で培養したものにくらべ増加した。このため、この条件での乾アンズ煎汁培地、V-8 ジュース培地、ナシ葉煎汁培地上に形成された胞子量は大きな差はなかった。遠距離から照射した場合、すべての培地で胞子形成量のいちじるしい増加は認められなかったが、28°C の培養温度でみられたような胞子形成量の抑制作用も認められなかった。つまり乾アンズ・V-8 ジュース培地で多少胞子形成量の増加が認められたが、他の 3 種培地では暗黒条件下とほぼ同等か、または、やや減少した程度であった（第 4 図）。

3. 各種光源照射時の胞子形成量

Fig. 5. Effect of exposure with different lamps on spore production on different media.

さきの実験で 23°C 白色蛍光灯近距離連続照射条件下での胞子形成が良好であることが判明したが、さらにどの域の光が胞子形成に役立っているかを知るため、少しずつ波長の異なる 5 種の蛍光灯と殺菌灯 (第 1 図 B, C, D, E, F, H) を用い培地別に胞子形成量を調べた。培養温度は 23°C, 近距離からの照射条件とした。その結果、乾アンズ・V-8 ジュース培地、V-8 ジュース培地、ナン葉煎汁培地では、純青色蛍光灯以外の光照射によって胞子形成量は暗黒条件にくらべ増加し、とくに純青色蛍光灯、ブラックライトブルー蛍光灯ならびに殺菌灯照射によって胞子形成がいちじるしく良好となった。一方、乾アンズ煎汁培地では、どの波長の光を照射しても暗黒条件下より多少胞子形成が良好となる程度でとくに変化が認められなかった。光照射による胞子形成量の増加程度は、さきの白色蛍光灯照射時の場合とほぼ同等で、たとえば純青色蛍光灯の場合、暗黒条件下にくらべ V-8 ジュースでは約 2.5 倍、ナン葉煎汁培地では約 5 倍、乾アンズ・V-8 ジュース培地では約 2.5 倍に増加した (第 5 図)。

4. 各種波長光照射時の胞子形成量

実験 3 から、純青色蛍光灯、殺菌灯ならびにブラックライトブルー蛍光灯照射が胞子形成に有効なことがわかったが、さらに、8 種のガラスフィルターを用い、幅の狭い光を選択的に照射して (第 2 図)、どの波長の光が真に胞子形成に役立っているかを乾アンズ・V-8 ジュース培地を用いて試験した。光源としてブラックライトブルー蛍光灯と、それに多少とも幅広い波長を得るために純青色蛍光灯のかわりに複写用蛍光灯の 2 個を用い、培養温度は 23°C で近距離ならびに遠距離照射の 2 つの方法で行なった。その結果、距離の

遠近にかかわらず、340 mμ ならびに 365 mμ にピークを有する紫外線が胞子形成に有効で、この域の光照射によっていちじるしい胞子形成量の増加が観察された。増加程度は、340 mμ も 365 mμ もほぼ同等で、暗黒条件下の約 5 倍の形成程度であった。380 mμ ならびに 401 mμ に透過光のピークを有するガラスフィルターを用いた場合の胞子形成量は暗黒条件のものとは大差なかったが、422 mμ, 432 mμ, 450 mμ, 502 mμ にピークを有する光では胞子形成を抑制し、とくに 450 mμ にピークを有する光では抑制効果はいちじるしく、ほとんど胞子形成は認められ

なかった (第 6 図)。400-500 mμ の光を照射した場合、培養温度が低いにもかかわらず気中菌糸の生育はすこぶる良好であった。

IV. 考 察

光の *Alternaria* spp. 胞子形成におよぼす影響が用いた培地により異なることを述べた報告はまだない。田中¹²⁾によって見出された *Alternaria kikuchiana* 胞子形成用培地である乾アンズ煎汁培地は、暗黒状態で他の培地にくらべ多量の本菌胞子が形成されたが、培養中に各種波長の光を照射しても他の培地たとえば V-8 ジュース培地、ナン葉煎汁培地、乾アンズ・V-8 ジュース培地を用いた場合のようないちじるしい胞子形成の促進作用は認められなかった (第 3, 4, 5 図)。このことは、乾アンズ煎汁中に、本菌の胞子形成を促進する物質が含まれていることを暗示している。木村ら⁴⁾は、*Pythium ultimum* の胞子形成が、トウモロコ

Fig. 6. Effect of exposure of different wave length of light on spore production.

シヤニンジン中に含まれる有機化合物により促進されることを報告している。同じく乾アンズ煎汁を用いた乾アンズ・V-8 ジュース培地では、光照射によっていちじるしい孢子形成量の増加が認められた(第3, 4, 5図)が、これは、この培地組成中の V-8 ジュースの影響か、または、乾アンズ中のある成分と V-8 ジュース中のある成分とが一緒になることによって光に対する反応が高まったものと考えられる。

本実験で、340 m μ ならびに 365 m μ 近辺の紫外線照射が *A. kikuchiana* の孢子形成を促進することを見出した(第6図)が、Leach⁵⁾は、*A. chrysanthemi* の孢子形成促進に 237.8-366.3 m μ の波長の光照射が有効であることを報じている。

一方、本実験で 400-500 m μ 、とくに 450 m μ 付近の波長の光照射で *A. kikuchiana* の孢子形成が抑制されることを見出した(第6図)が、Aragaki²⁾は、390-515 m μ の光照射が *A. tomato* の孢子形成を抑制することを報じている。*A. kikuchiana* は、高温で、気中菌糸の生育がよく、そのうえに 400-500 m μ の光が照射されると気中菌糸の生育がますますさかんとなったが、孢子形成はいちじるしく劣った。Aragaki¹⁾は、*A. tomato* を光照射条件で培養すると、24°C 以上の温度では気中菌糸の生育がさかんとなり孢子形成が抑制されることを報じている。

Lukens⁷⁾は、*A. solani* の孢子形成には 12 時間の暗黒期間が必要であることを示したが、本実験では紫外線を連続照射して多量の孢子が形成されているところから、孢子形成のための暗黒期間は *Alternaria* spp. によっては必ずしも必要なものでないと考えられる。

本実験で白色蛍光灯、純青色蛍光灯、ブラックライトブルー蛍光灯ならびに殺菌灯を近距離から照射すると *A. kikuchiana* の孢子形成がいちじるしく良好となった(第5図)。しかしながら、このうちブラックライトブルー蛍光灯以外の光源は、孢子形成を抑制する 400-500 m μ の波長の光も出している。つまり、孢子形成を促す光と抑制する光とが同時に照射され、結果的に孢子形成が良好となったとみられる。Lukens⁸⁾は、*A. solani* を用い 450 m μ の光照射で孢子形成が抑制されることを示し、さらに 575 m μ または 650-675 m μ の光を照射することによってさきの 450 m μ 照射による孢子形成抑制効果がなくなることを報告している。本実験でも、孢子形成阻止作用を示す 450 m μ という光のほかにもその作用を無効にする作用を有する光が同時に照射されることによって、全体的に孢子形

成が促進されたものと考えられる。

フィルターを用いた実験では、光源からの距離の遠近にかかわらず紫外線照射区の孢子形成が良好で、400-500 m μ 照射区では抑制された(第6図)。このことは、孢子形成を促進させる光の量はごくわずかで効果があり、光の強弱にはあまり影響をうけないものと考えられる。McCallan⁹⁾は、*A. solani* を用いた実験で 250 m μ の光に 20 秒間あてると孢子形成促進に有効であると報告している。

シャーレの上ぶたのガラスを通して光を照射した場合、第1図に示されたように、ガラスによって 400 m μ 以下の光は、波長が短くなるにつれ光の透過量は減少し 300 m μ では 0 となる。したがって孢子形成に有効な 400 m μ 以下の光の透過はもともと悪く、かなり光源に近いところにシャーレをおかなければ菌は有効波長を得ることができない。一方、孢子形成を抑制する 450 m μ 付近の光は、シャーレ上ぶたのガラスを 100% 近く透過するので、距離が遠くなくても菌はかなりの量の光を得ることができる。その結果、光源からの距離が遠くなると孢子形成が抑制されたものと考えられる。

Leach⁶⁾は、*A. chrysanthemi* に紫外線を照射するとある種の色素が形成されることを示し、この色素こそ菌糸内で光エネルギーをとらえる“sporulating factor”であるとした。*A. kikuchiana* の場合も、孢子形成が始まる前に、菌そうに初めは緑色から、さらに、緑褐色、濃褐色の色素が形成されるが、この色素形成と孢子形成とは密接な関係があるものと考えられる。光照射によって *Alternaria* spp. の孢子形成が促進されたり抑制されたりすることは、光が菌の生長過程に強い影響力をもっていることを示すものと思われるが、この点の詳細については今後の研究に待ちたい。

V. 摘 要

1. 白色蛍光灯で光を連続照射してナシ黒斑病菌を培養した場合、光による本菌の孢子形成におよぼす影響は用いた培地の種類により多少異なった。暗黒条件でもっとも孢子形成量の多かった乾アンズ煎汁培地を用いた場合、光照射による孢子形成量の増減は少なかったが、V-8 ジュース培地、ナシ葉煎汁培地、乾アンズ・V-8 ジュース培地を用いた場合は光照射によって孢子形成量は増加した。

2. 白色蛍光灯照射による光の影響は、培養温度、光源から菌そうまでの距離により異なり、培養温度が

高く、また光源から遠距離の場合、孢子形成量は減少し、逆に、気中菌糸の生育が良好となり、他方、比較的低い培養温度で近距離からの照射条件下では孢子形成量は増加した。

3. 各種光源のうち、ブラックライトブルー蛍光灯、純青色蛍光灯ならびに殺菌灯を、近距離から連続照射し 23°C で培養した場合は、本菌の孢子形成量は暗黒条件下にくらべ乾アンズ煎汁培地を除いた他の 3 種培地で増加した。

4. 各種ガラスフィルター透過光線のうち、340 m μ ならびに 365 m μ に透過光線のピークを示すフィルターを用いた場合、本菌の乾アンズ・V-8 ジュース培地での孢子形成は光源からの距離には関係なく促進され、一方、400-500 m μ の光を透過するフィルターを用いた場合孢子形成は抑制され、とくに、450 m μ のもので抑制効果はいちじるしかった。

引用文献

1. Aragaki, M. (1961). *Phytopathology* 51: 803-805.
2. Aragaki, M. (1962). *Ibid.* 52: 1227-1228.
3. 福田睦勇 (1965). 日植病報 30: 266. (講要)
4. 木村一雄・八木和男・香月裕彦・高橋 実 (1956). 同上 21: 171-174.
5. Leach, C. M. (1964). *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 47: 153-158.
6. Leach, C. M. (1965). *Can. J. Bot.* 43: 185-200.
7. Lukens, R. J. (1963). *Amer. J. Bot.* 50: 720-724.
8. Lukens, R. J. (1965). *Phytopathology* 55: 1032.
9. McCallan, S. E. A. and Chan, S. Y. (1944). *Contrib. Boyce Thomp. Inst.* 13: 323-335.
10. 大森 薫・武藤哲二 (1968). 関東病虫研報 15: 62.
11. 大森 薫・中島三夫 (1968). 日植病報 34: 164. (講要)
12. Tanaka, S. (1933). *Mem. Coll. Agr. Kyoto Univ.* 28: 1-31.