タバコうどんこ病の発病におよぼす数種の要因

福田 睦 勇・木 原 宮 子 (鹿児島たばこ試験場)

ま え が き

うどんこ病菌は風媒伝染によって四方に蔓延する。従って本菌の発育を左右するような環境要因は重大視しなければならない。本要因中主なものは温度、湿度、日光、降雨および風などが密接な関係をもっていると思われる。これまでにも、これら要因に関する研究はあるが、いずれも接種法が確立されていない時点での実験のため疑問点がある。

筆者らは1972年農薬粉剤のスクリーニングに用いる真空ガラス鐘散布器による接種法を考案し、これによって単胞子を均一に植物体上に接種し、均一に発病させることに成功した。そこで、この接種法を用いてうどんこ病菌の各生育ステージにおよぼす各環境要因について実験を行なったので報告する。

実験材料 および方法

1. 接種方法

イ 接種源 ブライトエロー4号(8~10枚苗)に接種, 5日後の罹病葉上の分生胞子を供試した。

ロ 接種法 減圧接種法(真空度20cmHg)

ハ 保存場所 温度 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 湿度 $70 \pm 5\%$, 照度6,000lux の空調調和室に入れる。

2. 温度の影響

各温度の調整は小型卵器で行なった。発芽については、コロジオン塗布スライドガラスに分生胞子(以下胞子)を接種し、各温度に保持、24時間後に発芽率を調査した。菌糸の伸長についても同様の方法で行なった。分生子梗の形成についてはブライトエロー8枚苗の最大葉に胞子を接種し1日間 24°C の空調室に入れ、2日目各温度に入れて24時間後100倍1視野当りの分生子梗数を数えた。胞子の形成については胞子を接種6日後形成されたコロニーを強流水で既成の胞子を水洗後風乾して各温度に入れ、24時間後に100倍1視野当りの胞子数を数えた。

3. 湿度の影響

空気湿度は各種薬品の飽和溶液をデシケータに入れ調整を行なった。胞子の発芽については大きさと活力がなるべく同じ状態の8枚苗を選び、5枚目(最大葉)を残してあとはカットし、ビニポットの部分は水分の蒸発を防ぐためポリ袋で包んだ。胞子を接種し、各湿度のデシケータ中に入れこれを 24°C の空調室に入れ24時間後に発芽率を、48時間後に菌糸の伸長を、120時間後に100倍

1視野当りの分生子梗、胞子形成数を計数した。

4. 日光の影響

ブライトエロー10枚苗の最大葉に表、裏面とも胞子を接種し、1~5時間直射日光にあてた。その後、空調室内に入れ24時間後発芽率を調査した。病勢進展におよぼす影響についてはは場で自然感染のタバコを用い、下葉2枚だけにしてあとはカットしたものと、全葉ついているものについてその進展度を調査した。

5. 降雨の影響

ブライトエロー10枚苗を降雨(1972年9月4日81.5mm/日)にあてたものと、降雨にあてないタバコに胞子を接種して発芽率、菌糸の伸長、胞子の形成を観察した。

6. 付傷の影響

ブライトエロー10枚苗の半葉をカーボランダムで軽くこすって水で流し、他半葉を健全対照として胞子を接種、 24°C の空調室に入れ、24時間後発芽率を3、4日後に胞子数を調査した。

結 果

1. 温度の影響

結果を図-1に示した。胞子の発芽、菌糸の伸長は $12 \sim 30^{\circ}\text{C}$ の範囲で最適温度は 24°C 付近である。分生子梗は

図-1 うどんこ病菌の各ステージに及ぼす温度の影響

15~28°Cの範囲で、胞子は5~30°Cの範囲で形成され、いずれのステージも最適温度は24°C付近であった。

2. 湿度の影響

結果を図-2に示した。胞子の発芽に対する最適湿度は100%に入れたものであり、以下湿度が低下すると乾燥した胞子が多くなり発芽率は低下した。一方、菌糸の伸長は57~93%に入れたものが好適で大差はないと思われる。また、分生子梗、胞子の形成も湿度が高い状態では好適でなく、特に、胞子の形成は72%に入れたものが最もよかった。

図-2 うどんこ病菌の各生育ステージに及ぼす空気湿度の影響

3. 日光の影響

結果を図-3に示した。葉表面においた胞子の発芽率は1時間で直射日光を受けないものの1/2に減じた。そして2時間後には完全に死滅した。一方、裏面においたものは2時間照射にあて約1/2に、4時間後に完全に死滅した。このように太陽の直射光で分生子梗から離れた胞子は短時間で死滅すると考えられる。病勢進展の状況については図-4に示した。全葉(15~18枚)着葉したタバコの下位葉の病勢進展は早く、2枚だけ着葉させ太陽の直射光を受けた場合は極端に遅れた。

4. 降雨の影響

結果を図-5に示した。胞子の発芽率は降雨を受けたものは受けけないものの1.5倍、菌糸の伸長は2.7倍、分生子梗の形成は2.5倍、胞子の形成は約1.2倍で明らかに降雨によって各ステージとも促進された。

5. 付傷の影響

結果を図-6に示した。付傷した葉の胞子の発芽は健

図-3 太陽光下の分生胞子の生存

図-4 太陽直射光を受けた場合の下位葉における病勢の進展

図-5 降雨後のタバコ葉上の菌の各ステージの促進状況

図-6 有傷の場合の菌のステージの促進状況

全葉の1.6倍、菌糸の伸長は1.4倍、分生子梗の形成は6倍、胞子の形成は19倍であった。

カンキツかいよう病病斑から得られる phytoalexin 様物質とその抗菌作用 (その2)

野 中 福 次・山 口 正 吾 (佐賀大学農学部)

太 田 孝 彦 (長崎県果樹試験場)

A phytoalexin-like substance isolated from leaves infected with citrus canker and its antifungal action (2)

Fukuji NONAKA, Syogo YAMAGUCHI (Faculty of Agriculture, Saga University)
and Takahiko OTA (Nagasaki Fruit Experiment Station)

An antifungal compound, a phytoalexin-like substance, was isolated from the lesions of Sour orange leaves infected with *Xanthomonas citri* DOWSON, causal bacterium of citrus canker. Absorbance maximum and minimum were observed at 288 and 268 nm, respectively, in the ultraviolet absorption spectrum of the antifungal compound refined by thin layer chromatography. The purified substance inhibited severely spore germ-tube growth.

前報²⁾において筆者らはカンキツとくにトロビタオレンジのかいよう病の病斑部から phytoalexin (PA) 様物質の抽出を行ない、この物質の病原菌胞子に対する発芽抑制作用と紫外線吸収スペクトルを調べ、PA 様物質の存在を明らかにした。本報告はサワーオレンジについて前報と同様にかいよう病病斑から PA 様物質の抽出を行ない、その抗菌作用を調べたものである。

1. PA 様物質の抽出と粗 PA 抽出液が示す胞子発芽抑制作用

サワーオレンジのかいよう病病斑部を切りぬき、前報と同様の方法²⁾で、Van Etten らの方法³⁾を参考にして抽出を行なった。すなわち、エタノール可溶成分を石油エーテルで抽出し、粗抽出乾固物を得た。このエタノール溶液を粗 PA 抽出液とし、まず、これが示す紫外線吸収スペクトルを測定した。その結果、病斑部から得た粗抽出液が示す紫外部の吸収スペクトルは Fig. 1 に示す通り、267nm と 309nm に極小値を、293nm と 325nm に極大値を有する曲線で、これは前報²⁾のトロビタオレンジから得たものと同じであり、健全部が示す曲線とは

Fig. 1. The ultraviolet absorption spectrum of crude extract from Sour orange leaves infected with *Xanthomonas citri*.

Table 1. Inhibition of crude extract of Sour orange leaves infected with *Xanthomonas citri* to the spore germination of *F. solani* f. *psi*

Extract	Concentration*	Spore counted**	Spore germinated	Germ-tube length*** (μ)
Water (%)		502 (100)	449 (99.5)	140 (100)
Infected (%)	8.52	500 (100)	0 (0)	0 (0)
	4.76	500 (100)	3 (0.6)	0 (0)
	2.38	447 (100)	444 (98.7)	58 (40.9)
Healthy (%)	0	509 (100)	503 (98.8)	77 (55.9)

* Optical density at 293 nm.

** Total spore number obtained by four replicated.

*** Mean value of germ-tube length of 500 conidia.

異なっていた。

つぎに病斑部の生重 6 g から粗 PA 抽出液 10ml を得て原液 (この液の PA 様物質の濃度は 293nm における O. D. が 8.52) とし、この 2 倍希釈液 (O. D.: 4.76) と 4 倍希釈液 (O. D.: 2.38) を作り、これらの液で *Fusarium solani* f. *pisi* の孢子発芽試験を行なった。一方、健全部からも同様の抽出液をとり、対照区とした。その結果は Table 1. に示す通り、原液では発芽は全く抑えられ、2 倍希釈液でも発芽はわずかであった。2.5 倍希釈液および健全部からの抽出液では発芽抑制はみられなかったが、発芽管長では両者とも阻害がみられた。

Fig. 2. The ultraviolet absorption spectra of the purified extracts by TLC from Sour orange leaves infected with *X. citri*.

2. 薄層クロマトグラフィー (TLC) による粗 PA 抽出液の純化と孢子発芽に対する抑制作用

病斑部の生重 6 g からエタノール粗 PA 抽出液 10ml を得て、この 3ml を濃縮し、これを Silica-gel G (Merk) の 500 μ 薄層板を用い、展開剤¹⁾ chloroform: ethanol (100:3) で展開し、254nm の紫外線で蛍光を発する Rf 0.15, 0.25 および 0.35 のスポットを刮ぎとり、エタノール 10ml で溶出し、紫外線吸収スペクトルを測定した。対照として健全部からも同様に抽出を行なった。その結果、Rf 0.15 のスポットは病斑部、健全部のいずれにもみられ (Fig. 2, b. d.), 極大値が 320~325 nm にある曲線で、極小値は少し異なるが、両者は類似していた。Rf 0.25 と 0.35 のスポットは病斑部にのみみられ、前者は 264nm に極小値、288nm に極大値を、後者は 268nm に極小値、324nm に極大値を有する曲線であった。

TLC 板上の各スポットから上記と同様にして、エタノール溶液を作り、これらが示す孢子発芽を常法²⁾に従い、*Colletotrichum gloeosporioides* について試験した結果が Table 2. である。いずれのスポットから得た成分も孢子発芽率では阻害はみられなかったが、発芽管の伸長抑制はいずれの成分でもみられ、とくに病斑部から得た Rf 0.25 の成分はもっとも強く抑制した。また、健全部から得た Rf 0.15 の成分は病斑部のそれと同様に抑制作用がみられた。

3. 考 察

かいよう病に侵されたサワーオレンジの病斑部から PA 様物質の抽出を前報のトロピタオレンジの場合と同様にして行ない、その紫外線吸収スペクトルと抗菌作用を調べた結果、前報²⁾と同様な物質が得られ、また、強い孢子発芽抑制作用がみられた。この粗 PA 様抽出液を TLC で純化した結果、病斑部からの抽出物は Rf 0.15, 0.25 および 0.35 の 3 成分に分かれ、いずれの成分も発芽抑制作用がみられたが、その中でも Rf 0.25 の物質がも

Table 2. Inhibition of the canker leaves extracts purified by TLC to the spore germination of *Colletotrichum gloeosporioides*

Extract	Spore counted*	Spore germinated	Germ-tube length** (μ)
Water	547 (100)	546 (99.8)	91 (100)
Infected Rf 0.15	633 (100)	616 (97.4)	34 (37.0)
Healthy Rf 0.15	664 (100)	649 (97.4)	48 (53.9)
Infected Rf 0.25	594 (100)	583 (98.1)	23 (25.7)
Infected Rf 0.35	627 (100)	622 (98.9)	52 (57.4)

* Total spore number obtained by four replicates.

** Mean value of germ-tube length of 500 conidia.

っとも強い抑制作用を示した。一方、健全部からの抽出物は Rf 0.15 のみに検出され、これも発芽管の伸長を抑制した。Rf 0.15 にある物質が示す紫外線吸収スペクトルは健全部、病斑部とも類似しており、同一物質と思われる、極大値が 320~325nm である。これは粗 PA 抽出液が示す吸収スペクトルの 2 つの極大値の中の 1 つと一致し、この成分は健全植物に存在する抗菌性物質と思われる。病斑部から検出される Rf 0.25 の成分（極小値 264nm, 極大値 288nm）はもっとも発芽抑制作用が大であり、健全部からは検出されないことから PA の 1 種と考えられる。また、Rf 0.35 の成分（極小値 268nm, 極大値 324nm）も PA の 1 種と考えられるが、これについてはさらに純化して検討する必要がある。

4. 摘 要

サワーオレンジのかいよう病（病原菌 *Xanthomonas citri* DOWSON）病斑から phytoalexin 様物質が分離された。この抗菌性物質を薄層クロマトグラフィーで純化し、紫外線吸収スペクトルを測定した結果、288nm に極大値、268nm に極小値を有する曲線が得られ、この物質は強く発芽管の伸長を阻害した。

引 用 文 献

- 1) KEEN, N. T., SIMS, J. J., ERWIN, D. C., RICE, E. & PARTRIDGE, J. E. (1971) *Phytopath.* 61:1084~1089.
- 2) 野中福次・松崎正文(1973) 九病虫研究会報 19: 8~10.
- 3) VAN ETEN, H. D. & BATEMAN, D. F. (1970) *Phytopath.* 60:385~386.

アカシアから分離された *Calonectria* sp. の子のう殻について

野 中 福 次・野 島 孝 義（佐賀大学農学部）

橋 本 平 一（林業試験場九州支場）

Perithecium of *Calonectria* sp. isolated from acacia (*Acacia melanoxylon*)

Fukuji NONAKA, Takayoshi NOJIMA (*Faculty of Agriculture, Saga University*)
and Heiichi HASHIMOTO (*Kyushu Branch Station, Government Forest Experiment Station*)

A number of perithecia was produced by the culture of *Cylindrocladium* sp., conidial stage of *Calonectria*, isolated from *Acacia melanoxylon* R. Br. on potato sucrose agar. Perithecia were superficial, globose to obovate, 298-530 μ in height, 289-482 μ in diameter, orange to red in color. Asci were hyaline, clavate, 8-spored, 144-240 $\times$ 14-29 μ . Ascospore was hyaline, fusoid, slightly curved, 1 or 3 septate, 39-44 $\times$ 5 μ . Conidia were hyaline, cylindric, straight, obtuse at the ends, 1 septate, 31-53 $\times$ 3-5 (aver. 44 $\times$ 4) μ . The present fungus was identified as *Calonectria kyotensis* TERASHITA by these morphological observations on the fruit bodies.

1965年10月、熊本県天草郡のメラノキシロンアカシア (*Acacia melanoxylon* R. Br.) の地際部から *Cylindrocladium* 属菌の1種が分離された。本菌は蔗糖加用馬鈴薯寒天培地 (PSA) 上で子のう殻を形成することから、*Calonectria* に属する菌である。寺下はフサアカシアおよびニセアカシアに寄生する *Calonectria kyotensis* Terashita という新種¹⁾ と *Calonectria hederace* Arnaud²⁾ について報告している。本研究はメラノキシロンアカシアから分離された菌の子のう殻および分生胞子の形態を寺下の報告した両菌と比較したものである。

1. 材料および方法

メラノキシロンアカシアから分離された *Calonectria* 菌を PSA 培地に約 2 ヶ月培養して形成された子のう殻について FAA 固定液 No. 3 で固定した後、常法に従い、パラフィン切片を作り、デラフィールドの染色法により

染色した後、子のう殻、子のうおよび子のう胞子の形態を観察した。また、PSA 培地上に形成された分生胞子の大きさについても測定した。

2. 結 果

本菌の子実体の大きさを示したものが Table 1. であり、これと比較対照するため、寺下によって報告された *C. hederace*²⁾ および *C. kyotensis*¹⁾ の子実体の大きさも併記した。また、子のう殻と子のう胞子の形態は Fig. 1A および B に示す通りである。まず、子のう殻は表生、類球形で、赤色、橙色または暗赤色を呈し、その大きさは 298~530 $\times$ 289~482 μ で突出した殻孔 (ostiole) が明瞭に認められた。子のうは子のう殻の中に多数形成され、無色、clavate type で、大きさは長さが 144~240 μ 、幅が 14~29 μ 、その中に 8 個の子のう胞子を含んでいた。子のう胞子は無色、fusiform (フザリウム型) で、隔膜 1 個のものでは長さが 19~60 μ 、幅が 4~8 μ