

チモシー斑点病菌 *Cladosporium phlei* (GREGORY) de Vries
の分生胞子の形態に対する光照射の影響

川村 公一 (北見農試) 君ヶ袋 尚志・
島貫 忠幸・月星 隆雄 (草地試)

Effect of light on conidial morphology of *Cladosporium phlei*
(GREGORY) de Vries

Koichi KAWAMURA*, Takashi KIMIGAFUKURO,
Tadayuki SHIMANUKI, Takao TSUKIBOSH;

* Kitami Agric. Exp. Kunneppu.

Hokkaido, 099-14, Japan

° Natl. Grassl. Res. Inst. Nishinasuno,

Tochigi, 329-27, Japan

緒 言

チモシー斑点病は北海道のチモシーで一般に見られ、被害が甚しい場合には生育阻害や飼料価値の低下を招く(佐久間ら)。北見農試牧草科では、チモシー育種の中で幼苗接種による斑点病抵抗性個体の選抜を行ってきている。幼苗接種に必要な病原としての斑点病菌の分生胞子を効率良く得るためには、本菌の生理を知らねばならない。本菌の分生胞子の形成については、温度や培地組成による影響の報告はあるが光の影響についてはない。本研究では、分生胞子形成の中でも特に形態への光照射の影響をみた。(内容を適確に示すため、表題を上記のように訂正した)

材料と方法

草地試作物病害研究室に保存されていた、北農試採集のチモシー斑点病罹病葉の病斑から単胞子分離した2菌株を実験に供試した。培地は実験全体をとおして、V8ジュース寒天培地を用いた。2菌株のコロニーの中心から等距離のところからコルクボーラーで切りとった菌叢の切片を移植して、暗黒下20°Cで8日間培養した。その後、菌叢上の分生胞子、分生子柄を水で洗いおとして光照射処理を行った。

光照射処理はBLB (Black light fluorescent bulb, FL 20S-BLB 東芝製、輻射波長域310-420nm, 20W)を3本用いて、25cmの高さから明暗12時間周期での照射を2日間行った。温度はBLB照射時25°C、暗黒時20°Cとなるよう設定した。

対照とした暗黒区では、12時間ごとに25°C、20°Cと温度を変えて、暗黒状態に保つ処理を2日間行った。

これらの処理後に形成された分生胞子を観察した。分生胞子の長径・短径・隔膜数は菌株、処理ごとに

各々100個ずつの分生孢子について測定した。

結 果

両菌株ともに、分生孢子は照射区が暗黒区より小さくなり、暗黒区が平均 $24.0 \times 12.1 \mu\text{m}$ であったのに対し、照射区では平均 $21.8 \times 11.1 \mu\text{m}$ であった。隔膜数もまた、暗黒区が平均1.4に対して照射区が平均0.9となり、両菌株とも照射区が暗黒区より少かった。

また、光照射によって、いずれの形質についても分散が小さくなることが認められた。

また、孢子形成数は、顕微鏡観察の結果、照射区での方が明らかに多いことが認められた。

Table 1. length, breadth and number of septa (mean \pm s. d.)

		length (μm)	breadth (μm)	number of septa
isolate I	light	21.8 ± 4.5	11.3 ± 1.8	1.0 ± 0.8
	dark	24.7 ± 6.3	12.6 ± 2.0	1.7 ± 1.1
isolate II	light	21.8 ± 4.5	10.9 ± 1.2	0.8 ± 0.7
	dark	23.3 ± 5.0	11.6 ± 1.8	1.2 ± 1.0
mean	light	21.8 ± 4.5	11.1 ± 1.5	0.9 ± 0.7
	dark	24.0 ± 5.7	12.1 ± 1.9	1.4 ± 1.0

考 察

チモン-斑点病菌 *C. phlei* は光の間欠照射により分生孢子が小型化し、隔膜数が少くなることが認められた。*C. phlei*と同様に孢子が分生子柄上で鎖生する *Alternaria alternata* では、光は孢子の形態に影響しないとされている (Misaghiら)。一方、*Bipolaris maydis* では、光照射により分生孢子が大型化したとされている (月星ら)。光の分生孢子的形態に対する影響は様々であるが、本菌では光照射によって分生孢子的の生長が抑制されると考えられる。

斑点病抵抗性個体の検定、選抜のために行う幼苗接種は病原として均一で多量の分生孢子を必要とする。本菌は、光照射によって分生孢子が小型化するとともに、分生孢子的の大きさ及び隔膜数の分散が小さくなり、暗黒下より均一な分生孢子的が得られることが明らかとなった。

分生孢子的が小型化することによって、発芽管数の減少などの病原力の低下が懸念される。但見らによれば、隔膜数0~1の小型孢子里では、1細胞あたりの発芽管数が多く、孢子里が小型化しても発芽の点では問題がないと考えられる。

糸状菌の光形態形成では、近紫外光と青色光によるマイコクローム系が想定されており、分生子柄形成の誘起や分生孢子里形成の誘導を行うことが知られている。本菌の分生孢子里は分生子柄上に鎖生するため、光による分生孢子里数の増加が分生子柄形成の誘起によるのか、分生孢子里の鎖生程度の増大によるものかは、本実験では明らかにできなかった。

また、分生孢子里の形態については、温度条件、光の強度などが交互作用的に作用することが報告されている (Hondaら)。本実験の結果からはこれらの点に言及することはできないが、光照射によって本菌の分生孢子里が小型化し、孢子里形成数が増大する条件が存在することは示された。

摘 要

チモシ-斑点病の病原菌 *Cladosporium phlei* は、光照射によって分生胞子が小型化し、隔膜数も少なくなった。ブラックライト灯による間欠照射 (12 hr 明/25°C, 12 hr 暗/20°Cで2日間)では、分生胞子は $21.8 \times 11.1 \mu\text{m}$, 0.9 隔膜で、暗黒下では $24.0 \times 12.1 \mu\text{m}$, 1.4 隔膜であった。また、光照射によって大量の均一な分生胞子が得られるので、この方法は均一な分生胞子を必要とする幼苗検定の接種源の培養に応用できる。

引用文献

- 1) HONDA, Y&ARAGAKI, M (1978) ; photosporogenesis in *Exerohilum rostratum* ; temperature effects on sporulation and spore morphology. Mycologia 70 ;343-354
- 2) Misaghi, I.J. et al (1977) Influence of environmental and culture media on spore morphology of *Alternaria alternata*. phytopathology 68 ;29-34
- 3) 佐久間勉, 成田武四 (1961) チモシ-斑点病とその病原菌 *Heterosporium phlei* GREGORY について。北海道農業試験場集報7 ; 77-90
- 4) 但見明俊・筒井佐喜雄 (1975) チモシ-斑点病菌 *Heterosporium phlei* Gregory の分生胞子形成に関する2・3の観察。日草誌21 ;227-233
- 5) 月星隆雄・佐藤徹 (1986) トウモロコシごま葉枯病菌 *Bipolaris maydis* Shoem. の分生胞子の形態および病原性に及ぼす光の影響。草地試研究報告33 ; 50-56

SUMMARY:

Cladosporium phlei, the causal fungus of purple spot of timothy, Produces small and less septate conidia in response to light. The conidia formed under alternate irradiation with black light lamps (12hours light /25°C, 12hours dark/20°C for two days) were $21.8 \times 11.1 \mu\text{m}$, 0.9 septate and $24.0 \times 12.1 \mu\text{m}$ 1.4 septate in the dark. Since a large quantity of and more uniform conidia were produced after light treatment, the method can be applied to culturing inoculum for seedling test which demands uniform conidia.

チモシーの種子カルスからの個体再生

中嶋 博・川田元滋・島本義也(北海道大学)

Plant regeneration of callus induced
from timothy seed

Hiroshi Nakashima, Motoshige Kawata,
Yoshiya Shimamoto

(Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

緒 言

植物細胞の分化全能性が知られ、植物の培養技術を用い植物育種への応用の研究が進められている。しかしながら牧草類については、この分野の研究は少ない。本研究では、北海道における主要なイネ科牧草であるチモシーの組織培養技術の確立をすべく研究を行った。

材料および方法

チモシーの種子を用い、MS培地⁴⁾を基本とした培地に種々の植物生長調節物質を添加し(表1)、カルス誘導条件を検討した。さらに種々の培地(表2)を用いて、誘導されたカルスからの個体再生を試みた。種子の滅菌は内、外穎を除いた種子を70%エタノールに30秒浸漬し、その後滅菌水で洗浄、アンチホ

表1 種々の植物生長調節物質を含む培地での発芽率とカルス形成率

	μM	2,4-D				IAA			
		0	1	10	100	0	1	10	100
BA	0	29.3	34.0	22.0	26.5	55.5	57.5	55.5	51.0
		0.0	34.0	21.3	10.5	0.0	0.0	0.0	0.0
	1	25.0	25.5	22.0	23.0	51.5	55.5	61.0	54.0
		0.0	17.5	16.7	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	10	28.0	20.5	30.7	30.0	62.0	57.0	54.0	49.5
		0.0	5.0	13.3	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0
	100	28.0	25.3	26.0	13.3	50.0	45.3	50.5	42.3
		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KIN	0	33.0	32.0	29.3	21.5	47.3	37.5	36.0	32.0
		0.0	32.0	29.3	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	1	32.0	23.3	33.5	27.0	37.0	37.0	37.0	37.0
		0.0	23.3	28.0	3.5	0.0	0.0	0.0	0.0
	10	32.5	27.0	22.5	28.0	26.0	31.0	39.0	28.5
		0.0	5.0	12.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	100	20.0	21.0	29.3	30.0	22.6	21.5	28.0	24.6
		0.0	0.5	8.7	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0

上 発芽率
下 カルス形成率
基本培地: MS
シ ョ 糖: 20g/l
寒 天: 7g/l
pH : 5.8
品 種: ノサップ