

白紋羽病菌及び紫紋羽病菌の土壌中における伸展速度の簡易検定法 (シャーレ法)

藤田 孝二

(青森県畑作園芸試験場)

Petri Dish Method for Measuring the Growth of *Rosellinia necatrix*
and *Helicobasidium mompa* in Soil

Koji FUJITA

(Aomori Field Crops and Horticultural Experiment Station)

1 はじめに

土壌中における紋羽病菌の生育量を調査する方法としては、過去に牛乳びん法¹⁾及び試験管法²⁾(仮称)が考案されている。しかし、前者の場合は検定に要する期間が約6週間と長い上に、容器が大きいため一度に大量の処理区を設けることが困難である。また、後者の場合は土壌の充てん及び排出にかなりの労力を要する。そこで、更に簡便で短期間に検定できる方法を確立する目的で試験を行い、シャーレ法を案出した。

2 試験方法

(1) 前培養供試培地の種類と両紋羽病菌の生育

下記の5種類の培地を供試し、4種寒天培地の場合はシャーレに厚さ5~6mmの平板とし、両紋羽病菌を移植した。紫紋羽病菌は25℃で16日間(リンゴ枝片培地では17日間)、白紋羽病菌は25℃で9日間(リンゴ枝片培地では12日間)前培養した。寒天培地の場合は伸長菌そうの外縁部を直径11mmのコルクボーラーで打ち抜いて供試し、リンゴ枝片培地の場合は前培養して得られた10mmの培養枝片を供試して、次のように処理した。まず、シャーレの中央部にこれらの供試菌を置き、下記の供試土壌を図1Aのようにかぶせ、逆さにしても崩れない程度に軽く押し固めた。これをポリ袋に入れ、25℃に保ち、7日後及び10日後にシャーレ底面の病原菌伸展量を測定した。シャーレの供試数は1区5枚とした。

1) 前培養に用いた培地の種類

濃厚PSA: ジャガイモ900gを蒸留水で1時間煮沸し、上澄を取り、蒸留水を加えて1ℓにした。しょ糖4%, 寒天2%をそれぞれ添加した。

PSA: 上記煎汁液を蒸留水で2倍希釈し、しょ糖2%, 寒天2%を添加した。

濃厚PDA: 濃厚PSAと同様の煎汁液にブドウ糖4%, 寒天2%を添加した。

V-8 ジュース原液寒天培地: V-8 ジュース(キャンベル・ジャパンKK)の原液をpH5.5に修正し、寒天3%を添加した。

リンゴ枝片: 紅玉の1年枝(休眠枝)を長さ10mmに切断し、三角フラスコに入れ、120℃で30分間高圧殺菌した。

2) 供試土壌

青森畑園試C-1号は場の表土(火山灰土)を採取し、メッシュ7のふるいを通してから供試した。水分含量は乾土比で42.3%であった。

(2) 前培養に供試する枝の種類と紫紋羽病菌の生育

リンゴ、ナシ、クリ及びクワの1年枝(休眠枝)を供試し、長さ10mmに切断して三角フラスコに入れ、高圧殺菌した。紫紋羽病菌の含菌寒天(約2cmの大きさ)を6~8個ずつ移植し、25℃で前培養した。本試験は2反復したが、前培養の期間は第1回目では32日間、第2回目では19日間とした。図1Aのように菌を設置し、25℃10日間保った後、生育量を調査した。

(3) 供試菌の前培養期間の違いと紋羽病菌の生育

白紋羽病菌の場合はV-8 ジュース原液寒天培地で25℃、9日間又は23日間前培養した菌を、一方、紫紋羽病菌の場合は殺菌したリンゴ枝片で25℃、19日間又は58日間前培養した菌をそれぞれ供試した。供試菌を図1Aのように設置した後、25℃に10日間保ち、両者の生育量を調査した。

(4) 供試菌の設置方法の違いと白紋羽病菌の生育

V-8 ジュース原液寒天培地で25℃、10日間前培養した白紋羽病菌を供試し、第1図の5通りの方法で菌を設置した。25℃に保ち、5日後及び10日後にシャーレ底面あるいは土壌表面での病原菌伸展量を調査した。

3 結果及び考察

(1) 供試菌の培地の違いと紋羽病菌の生育

紫紋羽病菌の場合はリンゴ枝片で前培養した菌の生育が最も良好で菌そうも濃密であった。白紋羽病菌の場合はV-8 ジュース原液寒天培地で前培養した菌の生育が最も良好であった(表1)。したがって、これらの培地で培養した菌を検定に供試するのが良い。

(2) 前培養に用いる枝の種類と紫紋羽病菌の生育

第1回目の試験ではクリの枝で前培養した菌の生育が良好であった。ナシの場合はトリコデルマ菌が繁殖したため紫紋羽病菌がほとんど生育しなかった。第2回目の試験ではリンゴ、ナシ、クリ及びクワのいずれの枝で前培養した菌でも生育が良好であった(表2)。第1回目比べて第2回目の生育量がいずれの区においても勝ったが、これは前培養の期間が異なるためと考えられる。以上の結果から、

表1 供試菌の培地の違いと紋羽病菌の生育

供試菌	調査時期	濃厚 PSA	PSA	濃厚 PDA	V-8 原液A	リンゴ 枝片
紫紋羽 病菌	7日後	16 mm	16 mm	17 mm	21 mm	31 mm
	10 "	42(++)	46(+)	42(++)	45(++)	64(+++)
白紋羽 病菌	7日後	10	3	8	17	7
	10 "	11	3	8	24	7

注. 1) 紫紋羽病菌の生育量は菌そう長径から供試菌の直径を引いた長さの平均で示した。また、菌そう密度を+：疎，++：やや密，+++：濃密で示した。
2) 白紋羽病菌の生育量は接種源からの最長距離（一方向）の平均で示した。

表2 培養枝の違いと紫紋羽病菌の生育

反復	前培養 期間	項目	リンゴ	ナシ	クリ	クワ
1回目	32日	生育 密度	37 mm ++~+++	3.6 mm +	69 mm +++	33 mm +~++
		生育 密度	68 +++	74 ++~+++	78 +++	80 +++
2回目	19日	生育 密度	68 +++	74 ++~+++	78 +++	80 +++

注. 表1注1)と同様。

紫紋羽病菌の場合はクリ、クワ、リンゴのいずれかの枝で前培養した菌を検定に供試するのが良い。

(3) 供試菌の前培養期間の違いと紋羽病菌の生育

白紋羽病菌の場合は9日間前培養した菌の生育は一方向に24mmであったが、23日間前培養した菌の生育は4mmにすぎなかった。紫紋羽病菌の場合も同様で、19日間培養した菌の生育が長径68mmであったのに対し、58日間前培養した菌の生育は28mmにすぎず、菌そう密度も疎であった。前培養の期間が長い菌ほど生育が劣る原因は、前培養期間中に栄養分を消費してしまうためと考えられる。したがって、できるだけ短期間に培養した新鮮な菌を検定に供試するのが良い。

(4) 供試菌の設置方法の違いと白紋羽病菌の生育

図1 E区のように設置した場合の菌の生育が最も良好で、一方向に10日間で40mm伸展した。次いで、B及びD区の生育が良好であったが、生育量のふれが大きかった。C区の生育量は29mmと最も劣った。以上の結果から、A又はE区のように設置するのが適当と考えられるが、E区の場合は土壌表面での菌の生育量であり、これが土壌中での生育量

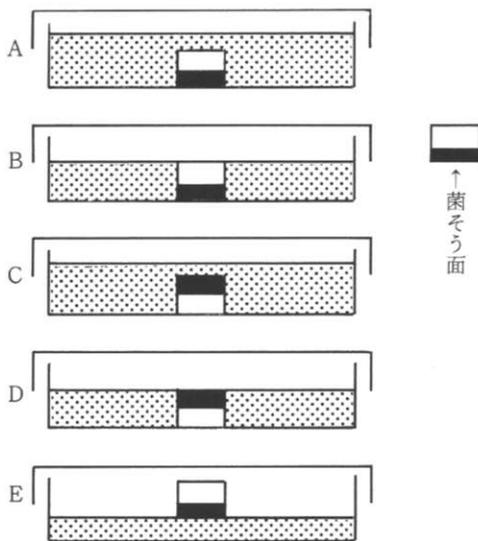


図1 供試菌の設置方法

を反映しているかどうか明かでないので、更に検討が必要である。したがって、当面はA区のように設置するのが良いと考えられる。

4 ま と め

シャーレ法に用いる供試菌の前培養法としては、紫紋羽病菌ではリンゴ、クリ、クワなどの殺菌枝片で25℃、15~20日間培養したもの、また、白紋羽病菌ではV-8 ジュース原液寒天培地（厚さ約6mm）で25℃、約10日間培養したものがそれぞれ最も適している。供試菌の設置は培養枝片、又は菌そう外縁部の径11mm円盤を図1 Aのように行い、土壌を充てんした後の培養期間は25℃で約10日間が適当である。供試土壌はメッシュ7のふるいを通し、水分含量を乾土比で約40%に調整する。本法は病原菌の生育抑制資材の探索、有効薬剤の探索及び抑止型土壌の探索などに利用できるものと考えられる。

引 用 文 献

1) 荒木隆男. 1967. 紫紋羽病, 白紋羽病の発生と土壤条件. 農技研報 C 21: 58.
2) 佐久間勉. 1984. 紫紋羽病防除剤(液剤)の簡易効果判定法について. 北日本病虫研報 35: 186 (講要).