

Curvularia 属菌の孢子形成に対する 2, 3 の条件について

梅原 吉広・湯野 一郎*・川原 俊昭**

Yoshihiro UMEHARA, Ichiro YUNO* and Toshiaki KAWAHARA** : Studies on the discoloration of rice kernels caused by fungi. 2. Some factors effect to sporulation of *Curvularia* spp. on media.

本県の昭和53年産米に各種の着色米が多発生し、検査等級が低下して大きな問題となった。これらの着色米の中で、最も発生が多かった濃茶米から、菌の分離を行なったところ、*Curvularia* 属菌が高率で検出された。このことから、本菌がこの濃茶米の発生に関与した可能性が高いと考えられる。

筆者らは、本菌の生態を明らかにする目的で、まず培地上における孢子形成に関する条件について若干の実験を行ない、2, 3 の知見を得たのでここに報告する。

1 培地との関係

材料及び方法

培地は素寒天、稲わら煎汁寒天、玄米煎汁寒天及び玄米炊飯の4種類を供試した。

玄米炊飯培地は、玄米を水に約1時間浸して吸水させたのち、シャーレに7gとり、これに水14mlを加え、120°C、20分間湿熱殺菌した。その他の培地は常法によった。

供試菌は、*Curvularia* 属菌のうち、*C. intermedia* 3菌株、*C. inaequalis* 2菌株、種不明2菌株、計7菌株について、各々2反覆で行なった。

孢子形成は、各菌株を平面培地に移植後、27°Cの照明下で10日間培養後、1シャーレに殺菌水10mlを加え、毛筆で菌そう面を軽く洗って、孢子懸濁液を作り、そのうちより、0.03mlをとって、顕微鏡10×10の1視野当たり孢子数を調査し、1菌株6視野の平均値で示した。

結果

結果は第1表に示したように、同一種内でも、菌株によって孢子形成量にかなりの差が認められた。

この中で、*C. intermedia* No. 7とNo. 8が全般に、形成数が多かった。

まず、培地の種類と孢子形成との関係は、素寒天培地

第1表 培地の種類と孢子形成数¹⁾

培地の種類 種類菌株番号	培地の種類				
	素寒天培地	稲わら煎汁寒天培地	玄米煎汁寒天培地	玄米炊飯培地	
<i>C. intermedia</i>	7	7.6 [○]	97.9 [○]	44.3 [○]	182.0 [○]
	8	6.6	24.1	84.6	103.0
	15	6.7	0.3	2.4	294.6
<i>C. inaequalis</i>	12	4.3	0.1	1.9	0
	13	1.5	18.8	20.6	59.7
種不明	9	0.4	35.8	42.5	1.9
	14	2.6	1.5	1.9	243.7

1) 10×10倍の1視野当り孢子数

では各菌とも、ほとんど形成が見られなかった。稲わら煎汁寒天培地及び玄米煎汁寒天培地では、ほぼ同程度の孢子形成量で、素寒天培地よりかなり多い傾向が認められた。

玄米炊飯培地では、形成量が最も多く、特に、*C. intermedia* No. 7, No. 8およびNo. 15がすぐれた。

2 菌株と孢子形成の関係

試験1の結果より、孢子形成量は菌株間にかなりの差異があることが認められたので、その点を明らかにするため、玄米炊飯培地と玄米煎汁培地を用いて検討した。

材料及び方法

供試菌株は、当场で分離した、*C. intermedia* 8菌株、*C. clavata* 3菌株、*C. ovoidea* 2菌株、*C. inaequalis* 2菌株、種不明6菌株、計21菌株とした。

孢子の調査は、各菌株ごとに、27°C、8日間平面培養し、菌そうがシャーレ全面に生育した時、直径12mmのコルクボーラで打ち抜き、殺菌水5mlを加えた試験管内で、よく振とうして、孢子懸濁液を作った。これより0.03mlをとり、顕微鏡下で全孢子数を計数した。計数は各菌株2反覆とした。

結果

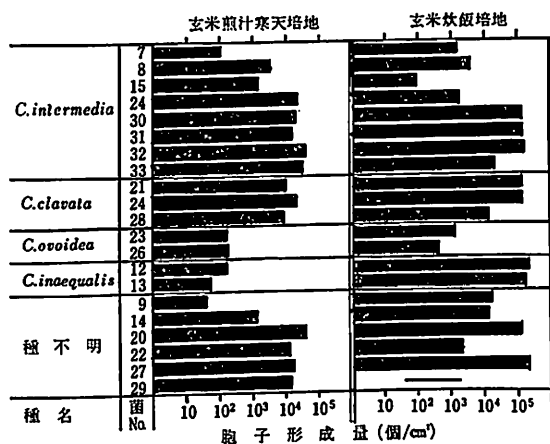
第1図に示したように、孢子形成は、玄米炊飯培地の方がやや多い傾向であった。

菌株間の変動は、*C. intermedia* で大きい傾向が認め

富山県農業試験場 Toyama Agricultural Experiment Station, Yoshioka, Toyama, 930-11

*富山県東部病害虫防除所 Tōbu Plant Protection Office, Shinjiku, Uotsu, Toyama, 937

**富山県西部病害虫防除所 Seibu Plant Protection Office, Akasofu, Takaoka, Toyama, 933



第1図 培地の種類と *Curvularia* 属菌の孢子形成との関係

られた。*C. clavata*, *C. ovoidea*, *C. inaequalis* は供試した2~3菌株の間で大きな差が認められなかった。

種と孢子形成との関係は、培地の種類によって変動が大きく明らかでなかったが、*C. ovoidea* は他の種より少い傾向が認められた。

また、分離時期による影響が認められるようで、分離の早い No. 7, 8, 9, などがやや少い傾向で、分離後、経過日数の少ない No. 30, 31, 32, 33などの菌株は良好であった。

3 玄米炊飯培地における菌糸除去処理との関係

実験1及び同2の結果から、玄米炊飯培地で最も旺盛に孢子形成することがわかったので、さらに多量の孢子形成を検討した。

材料及び方法

玄米炊飯培地に *Curvularia* 菌 (No. 8) を移植し、照明下27°Cで7日間平面培養後、次の処理を行なった。

菌糸筆洗いは、シャーレに水を加えて、空中菌糸を筆で洗い落した。もみ洗いは、空中菌糸をスパチュラ又は流水で除去後、培養玄米と水を入れたビーカー内でよくもみ洗い、軽くしぼった後、再び、シャーレに入れ、27°C、照明下で3日間静置させた。

孢子調査は、2反復、1回6視野を調べ、その平均値で示した。

結果

結果は第2表に示すように、菌糸筆洗い区は無処理区に比較して、約5倍量の孢子形成を認めた。またもみ洗いはさらに多くの形成を認め、無処理の約250倍量であった。

第2表 玄米炊飯培地における処理と孢子形成数

処理方法	孢子数 ¹⁾
菌糸筆洗い法	72.6個
もみ洗い法	3,744.1
無処理	14.8

1) 10×10倍の1視野当たり個数

4 光との関係

材料及び方法

供試菌は *C. clavata* No. 25菌、供試培地は玄米煎汁寒天培地を用いた。

照明区は約3000ルクス照射の陽光定温器を用い、暗黒区はふ卵器型の定温器を用いた。処理温度は25°Cとし、培養は各処理3シャーレを用い、8日間平面培養した。

孢子の計数は、培養後、1シャーレ3か所を直径12mmのコルクボーラで抜き取り、殺菌水15mlとともに入れ、よく攪拌、振とうさせ、孢子懸濁液を作り、これより0.03mlを採取し孢子数を調べた。計数は2反復とし、培地1cm²当たりで示した。

結果

結果は第3表に示したように、両区とも形成量は多かった。数値的には、暗黒区の方が照明区の約4倍量の形成を示した。

第3表 明暗と孢子形成数

区	孢子数 ¹⁾
照明	35,720.3個
暗黒	151,683.8

1) 1cm²当たり孢子数

5 光及び温度との関係

試験4で培養開始から処理を継続させた結果であるが、孢子形成時の光線および温度と形成量との関係を明らかにするため、次の実験を行なった。

材料及び方法

供試菌は *C. intermedia* の No. 30, No. 32, *Curvularia* spp. の No. 20 および No. 22の4菌株を用いた。

菌の培養は、玄米煎汁寒天培地に移植後、照明下(約3000ルクス)、温度15°C、20、25、28、30の5段階で、それぞれ8日間平面培養した。

孢子形成は、培地上の空中菌糸及び古い孢子を殺菌水を用いて、筆でよく洗浄し、その後、直径12mmのコルクボーラで打ち抜き、ろ紙を敷いたシャーレ温室に入れ、前処理の照明下と暗黒下、15~30°Cの温度にそれぞれ3日間静置させた。

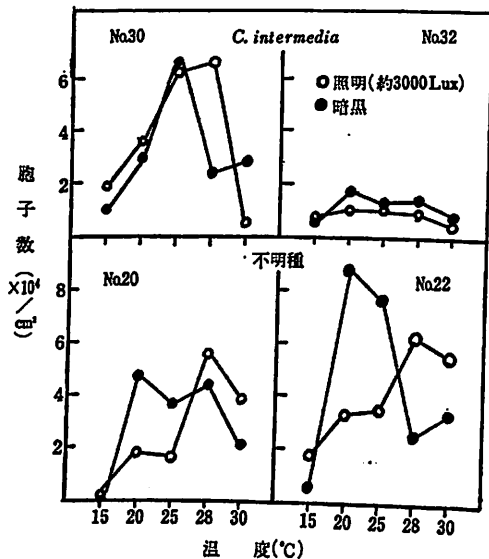
胞子の計数は、殺菌水 5 ml を加えた試験管内に菌そう切片を入れ、攪拌、振とうにより胞子懸濁液を作り、このうちより、一回につき 0.03ml をとり、検鏡により計数した。

結果

結果は第2図の通りとなった。胞子形成量は菌株によって差異が認められた。特に、No. 30菌の形成量が少なかった。

温度との関係は、No. 30菌は 25~28°C、No. 20菌は 20~28°C、No. 22菌は照明区で 28~30°C、暗黒区で 20~25°C が、他の温度より形成量が多かった。No. 32菌は形成量が少なく、温度による差異が小さく明らかでなかった。

光との関係は、判然とした結果が得られなかったが、胞子形成量に差異の大きかった No. 30, No. 20 および No. 22菌について見ると、No. 30菌は 25°C まで明暗に差が見られないが、28°C で照明区が多くなった。No. 20菌と No. 22菌は 20°C と 25°C は暗黒区がすぐれ、28°C と 30°C の高温域で照明区が逆にすぐれる結果が得られた。



第2図 光及び温度と胞子形成

6 考察

着色米のうち、濃茶米から高率に分離される *Curvularia* 菌について、胞子形成の条件を明らかにするため、次の要因との関係を検討した。

まず、培地の種類との関係では、玄米を用いた炊飯培地や煎汁寒天培地が胞子形成が良好であった。次いで、稲わら煎汁寒天培地も菌株によって、かなり形成した。しかし、寒天培地では各菌株とも菌糸の生育が劣り、胞子形成量も劣った。

菌の種および形成量の関係は、供試した21菌株における形成量は菌株間で大差が認められた。この原因は明らかでないが、分離後の経過日数の長い菌株はやや劣る傾向が認められ、保存条件や植え継ぎ回数なども影響するのではないかと推測され、今後検討すべきと考えられる。

Curvularia 菌のうち、*C. ovoidea* が他の3種の *Curvularia* 菌より、胞子形成数が少ない傾向が認められた。しかし、これらの菌の菌糸の生育は良好であったことから、培地の種類によって多量に形成することも考えられ、パンチ接種によるイネ体病斑上の形成などとの比較を加えて検討すべきであろう。

玄米炊飯培地における培養条件としては、培養期間中は暗黒条件がよく、培養後は菌糸を水でもみ洗い除去すると、良好となることがわかった。培養温度は 20°C ~ 28°C の範囲が良好であった。

光線の影響は、それほど大きくないが、暗黒条件がややすぐれた。しかし、No. 20菌および No. 32菌の結果のように、20~25°C と 28~30°C のそれぞれの温度域で、胞子形成量が明と暗で逆転する結果も得られているので、光周期との関係などを含めて、今後再検討すべきと考えられる。

以上の胞子形成の条件は、腹黒米の関与菌である *Alternaria padwickii* の胞子形成の諸条件¹⁾ と近似していることがわかった。

引用文献

- 1) 田村實 (1976) *Alternaria padwickii* による腹黒米発現に関する生理生態的研究。石川農試特別研究報告, 第2号, 1~74。

(1979年8月23日受領)