

Sclerotinia sclerotiorum (Libert.) de Bary の生育

ならびに菌核および子のう盤の形成

森本徳右衛門・小倉寛典・坂上孝行*

(農学部植物病理学研究室)

Mycelial growth, sclerotial formation and apothecial development of *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert.) de Bary.

by

Tokuuemon MORIMOTO, Hirosuke OGURA and Takayuki SAKAJOH*

(Laboratory of Phytopathology, Faculty of Agriculture)

Abstract

In the present paper, the physiological characters of *Sclerotinia sclerotiorum* related with appearance of Sclerotinia rot in cool season were studied.

Mycelia of this fungus grew well in 15°C–25°C. Much of sugar and little of nitrogen source furthered the mycelial growth. In carbon sources mono- and di-saccharides were utilized well, and soluble starch was not well. In nitrogen sources amino- and ammonia-compound were utilized well, but large sclerotia were formed on medium containing nitrate. Sclerotia germed in below 20°C, but in that way of germination it was seemed to stop the germed process when sclerotia were exposed in 25°C for a short time. Sclerotia laid in dry condition lost the germinative activities, especially they did in worse condition for germination. Apothecial development were influenced by temperature, aeration and soil depth. In 4 cm of soil depth sclerotia formed irregular apothecia or only stipes. Ascospores germed well in 10°C–28°C, but germ tube developed well in 15°C–20°C.

From these results it is seemed that *S. sclerotiorum* has narrow temperature excitability in apothecial formation stage but has wide in other stage. And it is considered that for this property of *S. sclerotiorum* primary symptom of Sclerotinia rot disease appears in cool season.

Sclerotinia sclerotiorum による病害は各地に認められ、マメ科、十字花科、ナス科、ウリ科などの畑作物32科118属172種の植物に被害が及ぶといわれる。本病害は一般に低温過湿の環境条件の下で著しく発生する²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁸⁾。被害組織上に形成された菌核は地上に落下して発芽し、子のう盤を形成して第1次伝染源となる。しかし、Williams & Western¹⁰⁾は菌株によってかなり異った性質をもつことを検討し、Hungarford & Pitts⁵⁾は地中の菌核は条件さへ整えば子のう盤を形成することを認めている。高知県下においてもナタネ、菜豆、ジャガイモ、レタスなどの露路栽培において本病害は広く認められるが、一方、近年になって蔬菜類の抑制栽培あるいは促成栽培がさかんになるにつれ、ビニールハウス内での本病の被害が増大している。とくに、キュウリ、トマト、

* 現在、塩野義製薬株式会社植物薬品部

ナス、ピーマンなどの果菜類、ユリなどの花卉が本病に侵される場合が多い。これら特殊栽培では温度、湿度ともに特異的な環境が形成され、病原菌に好適な条件が存在すると思われる。

本報告は、これら特異的な条件下での *S. sclerotiorum* の動向を知るための基礎的な実験として、本菌の生育、菌核の形成、子のう盤の形成について検討した。

実験方法ならびに実験結果

供試した *S. sclerotiorum* はキュウリの罹病茎より分離した S503号菌である。

1. 菌 糸 の 生 育

S. sclerotiorum の炭素源および窒素源の利用について検討した。径 9 cm のペトリ皿に糖濃度を 0.2, 2, 20% に調整した Czapek 寒天培地を入れ、あらかじめ 5 日間 25°C で培養した本菌の菌そうを植えつけ、0～7, 15, 25, 30°C に静置して菌そうの拡りを観察した(第1図)。

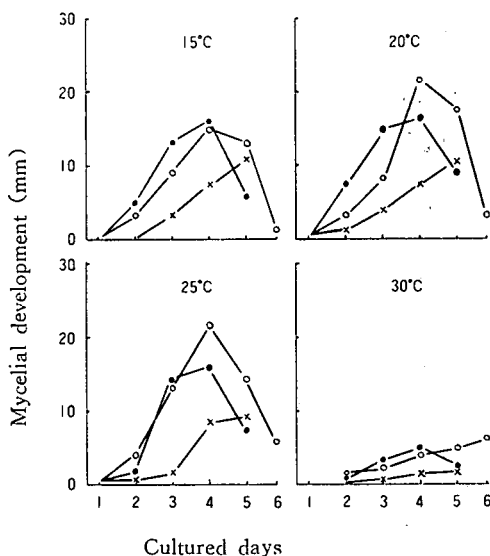


Fig. 1. Mycelial development of *S. sclerotiorum* for 24 hrs. of each day on Czapek's agar medium containing different concentration of sucrose.
 ○—○ Sucrose 200 g/l, ●—● Sucrose 20 g/l,
 ×—× Sucrose 2 g/l

15, 20, 25°Cでは菌糸の伸長は良好であり、いずれもペトリ皿周辺部に近づくと菌糸の伸長は低下し、やがてペトリ皿の壁面に接する部分に菌核の形成が認められた。30°Cでは生育はかなりおくれ、培養4日後には菌糸の伸長はおそくなるが他区のように多数の菌核の形成は認められず、形成位置も周辺部でなく接種位置の近辺であった。0～7°Cで培養した場合は菌糸はほとんど伸長せず、培養21日後でも5 mmしか伸長せず約60日に至ってペトリ皿内に拡がった。しかも菌核は全く形成されなかった。糖濃度を Czapek 処方 の1/10倍にした場合に、は各温度とも生育はおくれるが、糖濃度を10倍にした場合には20, 25°Cで生育はもっともよくなり、15°Cでは標準処方濃度よりやや劣るようである。

Table 1. Mycelial growth in Czapek's solutions containing different concentration of sucrose.

Sucrose concentration (g/l)	Mycelial weight (mg)
2	*
20	136.6
200	479.5
	3018.0

* The fungi were cultured in 50 ml of solutions for 21 days at 25 °C.

異なる糖濃度 (sucrose : 2, 20, 200g/l) の Czapek 液50mlに 25°Cで21日間培養した菌そうは200g を添加した場合もっとも生育良好であった。このことは、糖含量の多い場合には本菌は伸長速度も速く、菌糸密度も大きくなると思われる。

Table 2. Sclerotia formation on Czapek's agar media containing different concentration of sucrose.

Temperature	Sucrose concentration					
	200 g/l		20 g/l		2 g/l	
	Number of sclerotia	Weight of sclerotium	Number of sclerotia	Weight of sclerotium	Number of sclerotia	Weight of sclerotium
30°C	0	*	3	* 3.0mg	0	*
25	20	13.2mg	10	10.1mg	0	
20	19	12.1	7	9.5	5	0.6mg
15	18	7.9	9	9.6	0	

* Average of sclerotial weight (mg)

菌核形成については、前記の菌糸の伸長についての実験に用いたペトリ皿をそのまま各所定の温度に放置して接種14日後に形成された菌核の数、乾燥重を測定した(第2表)。菌核は糖濃度が大きになるにつれてよく形成され、大型のものを生じるが、糖を2gしか加えない場合にはほとんど形成されず、形成された菌核は他に比して小型である。

つぎに Czapek 処方に 20g/l の割合で、glucose, levulose, sucrose, maltose, galactose, soluble starch, mannose を加え、25°Cにおける各糖の利用を菌糸の伸長をもって観察した。本菌はglucose, levulose, sucrose, mannose をよく利用し、菌糸の伸長は第1図に示した伸長の様相と同じ傾向を示すが、galactose, maltose, soluble starch では生育はやゝ劣り、とくに soluble starch は供試7糖類中もっとも伸長がおそかった。

上記のように本菌の生育には糖濃度がかなり影響するが、窒素源の量と生育との関係についても検討した。

Czapek 処方中の NaNO_3 を1Lあたり0.2g, 2g, 20gとし、sucrose を4, 20, 100gとした培養液を100ml容三角フラスコに30mlずつ入れて本菌の菌そうを接種し、25°Cに15日間静置して乾燥菌体重を測定した(第3表)。

前述したように菌体重は糖の増加につれて大になるが、各糖濃度区とも NaNO_3 の少ない場合に菌体重は増加した。

また、Czapek 処方の NaNO_3 を同量の窒素を含む $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 , NaNO_3 , NaNO_2 , $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, glutamic acid-Na に置きかえて寒天培地上あるいは50mlの培養液中での本菌の生育を観察した(第4表)。

Table 3. Mycelial growth in Czapek's solutions containing different concentration of sucrose and sodium nitrate.

Sucrose	NaNO ₃	* Cultured days		
		5	10	15
4g/1	0.2g/1	** 9.1mg	16.2	43.5
	2	8.8	10.3	13.3
	20	12.0	19.3	25.1
20	0.2	15.0	23.2	124.2
	2	17.9	20.4	69.9
	20	20.7	29.5	42.8
200	0.2	65.8	194.9	497.4
	2	95.1	193.9	481.4
	20	53.6	63.5	194.3

* The fungi were cultured in 30 ml of solutions at 25 °C.

** Mycelial weight (mg)

Table 4. Mycelial growth and sclerotia formation related with different nitrogen sources.*

** Nitrogen	Mycelial growth		Number of sclerotia				
	Development mm/70 hrs.	Weight mg	Total	Diameter (mm) 5 4 3 2			
(NH ₄) ₂ SO ₄	**** 36	*****160.8	*****36	9	19	6	2
NH ₄ NO ₃	34	157.6	29	6	9	11	3
NH ₄ NO ₃ ***	—	113.7	—	—	—	—	—
NaNO ₃	36	124.8	18	11	4	3	0
NaNO ₂	23	19.8	0				
(NH ₂) ₂ CO	23	22.8	0				
Glutamic acid	46	194.5	11	4	4	0	3

* Fungi were cultured in Czapek's media at 25°C.

** These nitrogen sources were added as same weight of Czapek's nitrogen.

*** This sources was added as 10 times weight of Czapek's nitrogen.

**** These developments were measured on agar media at 3 days after inoculation.

***** Fungi were cultured in 30 ml of solutions for 15 days

***** These total number were in one petri-dish on agar media.

菌糸の伸長は glutamic acid 添加培地がもっともよく、菌糸量も多い。これに対し、NaNO₂、(NH₂)₂CO の両区ではいずれも生育はきわめて悪い。また、NH₄ 塩は NO₃ 塩に比して生育は良好である。しかし、NH₄ 塩でも多量に存在する場合には生育は低下する。各窒素源添加培地上の菌核形成の状態は NH₄ 塩区で良好であるが、形成菌核の大きさは NO₃ 塩区にやゝ多くアミノ酸区には少ない。

2. 菌核の発芽

そ菜類菌核病の第1次伝染源は子のう盤より飛散する子のう胞子による。それゆえ菌核の発芽に関係する要因について解析した。

Czapek 培地上に形成された径5mm前後の菌核を、砂を入れた腰高ペトリ皿の表面に並べ、水を加えて湿度を最大容水量の100~80%に保ち室内に放置した。実験は9月16日および12月6日より開始した。

Table 5. Room temperature in one month before sclerotial germination.

		Temperature	
		Maximum	Minimum
November	First decade	* 20.4°C	13.6
	Second decade	17.8	10.5
	Third decade	16.3	10.5
December	First decade	11.2	8.5
	Second decade	11.0	7.5
	Third decade	10.1	2.3
January	First decade	12.4	4.3

* Average of 10 days.

菌核は前者は12月26日、後者は1月6日に各々発芽が認められた。12月6日よりの実験では1ヶ月で発芽が起っているので、両実験とも発芽開始前1ヶ月の旬間温度について検討した(第5表)。この期間いずれも最高16°C、最低20°C前後である。菌核の発芽には特定の温度を必要とするようである。この温度範囲について、さらに検討したのが第6表である。温度を飽和にしたペトリ皿内にジャガイモ煎汁培地に形成された菌核を、10°C、15°C、20°C、25°Cおよび室温に静置した。菌核は培地上に形成直後のもの および60日間 風乾したものをを用いた。実験は2月10日より開始した。

Table 6. Sclerotial germination in different temperature.

Temperature	A*		B*	
	Incubated days		Incubated days	
	40	50	40	50
10°C	*** 20.11%	59.32	12.78	29.54
15	20.58	63.43	15.75	42.06
20	0.33	10.51	0	0.25
25	0	0	0	0
Room temperature**	76.65	87.09	33.71	67.01

* Sclerotial condition ; A : Sclerotia tested were gathered from medium immediately.

B : Sclerotia tested were stored in room for 60 days.

** Room temperature were about 20°C in maximum and 6°C in minimum.

*** Per cent of germination.

菌核の発芽は10°Cから15°C区のものが良好であり20°C以上ではほとんど発芽しない。しかし、室内においたものは発芽は非常に良好である。このことは、発芽には15°C前後の温度を要するものと考えられる。また、形成直後の菌核に比して古い菌核では発芽は不良である。

ジャガイモ煎汁培地上の菌核を採取し、90、60、45、30、15日間デシケーター内に入れて乾燥した場合、あるいは形成直後に採集した場合の発芽率を前記同様に15°Cにおいた恒温のペトリ皿で観察した(第7表)。

菌核は乾燥に対してかなり弱く、30日を過ぎれば未発芽のものが増加しはじめ90日には約 $\frac{1}{3}$ が生残るにすぎない。

また、菌核を植えたのち高温の影響についても検討した。形成後7日以内の菌核をペトリ皿内の砂上におき、0～3、15、25°Cの恒温にある期間おき、植付後45日の菌核の発芽の様相を観

Table 7. The relation between sclerotial germination and stored period in dry.

Stored period (Days)	Per cent of germination
0	61.4
15	62.3
30	58.7
45	42.1
60	33.9
90	22.5

Table 8. Germination of sclerotia incubated in alterable temperature.

Duration in each temperature			Per cent of germination
0-3°C	15	25	
* 8	22	15	0
8	0	37	0
15	8	22	2.77**
15	0	30	0
8	37	0	38.9
15	30	0	26.3
0	45	0	40.0
0	0	45	0
45	0	0	0

* Days of incubation.

** Only one in 36 sclerotia.

察した（第8表）。

菌核はいずれも25°Cに到れば発芽は不能となるようである。しかし、15°Cが30日以上続く場合には発芽が認められる。

つぎに、菌核形成時の窒素源が発芽に影響するかどうかを知るために、Czapek 培地の窒素源を同量のNaNO₃, (NH₄)₂SO₄, NH₄NO₃, glutamic acid-Na にかえて本菌を培養し、形成された菌核をただちに湿室に移し、15°Cに保って50日後に発芽数を計数した。培地上の菌核はそれぞれ18, 36, 29, 11であるが発芽率は50, 52.8, 42.4, 45.5%であった。このことは培地の窒素源は発芽率にあまり影響しないものと考えられる。

菌核の発芽の様相を見るために、10cmの深さのビーカーに埴壤土、砂土、バーミキュライトを入れ、水分が最大含水量の80%前後になるように調整しながら、各ビーカーに0, 2, 4, 6, 8

Table 9. Apothecium formation in soil

Soil depth (cm)	Loam	Sand	Vermiculite
0	+	+	+
2	+	+	+
4	±	±	+
6	±	±	±
8	-	-	±

+ : Apothecium formation, ± : Sclerotium had only stipe or irregular apothecium, - : Sclerotium did not germinate.

cmの深さに菌核を置き15°Cに静置して70日後に子のう盤の形成を観察した(第9表)。

子のう盤が表土上にあらわれるのは埴壤土、砂土では深さ2 cmまでの所においたものであり、6 cmまでの深さでは発芽は認められるが、頂部に子のう盤が形成されず、また形成されても不整形のもののみである。深さ8 cmではすべての菌核は発芽を認めなかった。一方、バーミキュライト中の菌核は深さ4 cmでは数は少ないが子のう盤を形成し、8 cmにおいても菌核の発芽が認められた。これらの現象は土壌孔隙ならびに通気と発芽との間には何らかの関係があると考えられる。

子のう盤上に形成された子のう胞子の各温度における水滴上の発芽率は第10表の通りである。

Table 10. Germination of ascospore at different temperature

Temperature	Per cent of germination	Elongation of germ tube
0-7°C	43.10	* +
10	77.78	+
15	95.39	++++
20	87.30	+++
25	92.03	++
28	80.26	++
30	12.44	±

* Degree of elongation: ±: a few, +: 1/2 of spore length, ++: 2 times of spore, +++: 3 times of spore, ++++: 5 times of spore or more.

スライドガラス上の胞子懸沈液中の24時間後の発芽管の伸長を5段階に分けた。すなわち、子のう胞子の長径の5倍以上に伸長した発芽管が発芽胞子数の50%以上認められる区をⅢ, 3倍以上, 2倍以上, 1/2以上の伸長を示す発芽管をもつものが全発芽数の50%以上認められる区をそれぞれⅡ, Ⅰ, +とし、わずかに発芽管が認められる区を±とした。本菌の胞子は10°C~28°Cの間で良好な発芽を行なう。しかし、発芽管の伸長をも考慮すると、本菌の胞子発芽は15~20°Cに最適温度域があるものと思われる。

考 察

S. sclerotiorum は多犯性の病原菌で、暖地では温度の低い時期に多くの作物に被害をあたえる。本菌は寄主体を蔓延した菌そう上に菌核を形成するが、この菌核はやがて地上に落ちるとそのまゝ越冬したのち適当な環境条件の下で子のう胞子を形成して作物を侵すことが知られている。

本菌の菌糸は糖含量の多い場合には生育はきわめて良好である。菌糸の生育速度は菌核形成時期になると次第に低下する。それゆえ、培地上では菌糸が正常に伸長する場合には菌核は最初周縁部に同心円上に形成され、その後は不規則に形成される。菌糸の生育に関して内藤、木村⁷⁾はミツマタの菌核病菌は25°Cが最も良く、35°Cでは生育し得ず、また、11°C以下では生育は不良であると報告し、Ramsey⁹⁾ その他の報告も大略同様である。本実験においてもやはり20~25°Cで生育は良好であった。菌核の形成については25°C以下では内藤・木村⁷⁾も述べているように形成時期に多少の差は認められるが、数的にはあまり差が認められないが、15°Cでは菌核はやゝ小さくなる。糖含量の多い培地上では菌核形成は数も多く大型のものが多い。本菌の生育は窒素過多よりも窒素過少の方が良好であり、またアミノ態窒素に次いでアンモニア態窒素がよく利用される。しかし、菌核は硝酸態窒素で数はやゝ少ないが大型のものが形成される。Ramsey⁹⁾ は小型菌核は高温の下では死滅するものが多いことを報告しているが、この点を考慮すれば、糖過多、硝酸態窒素含有の条件は本菌の存続に有利であろうと思われる。

Williams & Western¹¹⁾ は *S. sclerotiorum* の菌核は土壤中で2年後にも大多数は生残るが土壌水分の増大は死滅を早めると報告している。Moore⁶⁾ も菌核は連続あるいは周期的な湛水により消滅すると報告している。しかし、筆者らの結果では本菌の菌核は乾燥に対してもかなり弱く、3カ月後には37%しか生残らない。また、発芽時における環境要因もかなり影響し、良好な条件下では2カ月後でも77%生存するのに対し、悪条件下では2%しか生存しないようである。土壌中に存在する菌核は土壌温度が15°C前後になれば発芽しはじめる。この場合、発芽は恒温よりも変温の方が有利のようであるが、本実験の範囲ではその効果は確認出来なかった。しかし、発芽過程において高温(25°C)に逢えば発芽は停止するようである。Harter & Zaumeyer⁴⁾ は子のう盤は寒冷期をすぎたのち過湿状態におけば形成されると報告し、Williams & Western¹⁰⁾ は、本菌は同一年内に菌核が発芽し子のう盤を形成することはまれで、冬期をすぎて3、4月に多く形成されるが、菌株により同一年内に発芽することを認めている。また、Hungarford & Pitts⁵⁾ は子のう盤形成に有利な条件さへあれば同一年内にも形成されると報告している。深津³⁾ は菌核の発芽は菌核が地上に落下した時期により決定されるようであると推測している。Young¹²⁾ は子のう盤は18日乃至157日で形成されるが、菌株によって遅速があると述べ、赤井・坪木¹⁾ は圃場での子のう盤形成時期は温度、植生、土壌深度などにより多少異ると報告している。Partyka & Mai⁸⁾ は菌核の発芽は60°F、土壌深度2 inch 以内に多いことを、Williams & Western¹⁰⁾ も土壌深度1/2 inch で子のう盤形成は多いが、子のう柄のみのものは6 inch にもかなり認めている。本実験においても土壌深度2 cm までは子のう盤の形成は良好であるが、4 cm、6 cm では子のう柄のみになる。しかし、通気、保水力の良い環境では4 cm でも子のう盤は形成される。このように形成された子のう盤上の子のう胞子は10°Cから28°Cまでの範囲では発芽率は良好であるが、発芽後の生育を加味すれば最適温度は15°C内至20°Cであると思われる。Ramsey⁹⁾ は胞子の発芽は3°Cから30°Cに亘ると報告し、内藤・木村⁷⁾ は15°Cから29°Cで発芽するが、高温になる程発芽率、発芽管長とも良好であると述べ、その他にも20°C内至25°Cに発芽最適温度域があるとの報告は多い。

S. sclerotiorum による菌核病は低温多湿の条件の下で多く発生する^{2,3,7,8)}。この現象を本実験の結果より推測すると、本菌は子のう盤の形成のために低温が要求されるようであり、その後の子のう胞子の発芽には温度はあまり制限因子とはなりえない。さらに菌糸の生育はかえって高温の方が良好である。このことは、本病害の第1次伝染源である土壌中の菌核の動向がもっとも重要な発病制限因子になるものと考えられる。

稿を終えるにあたり、いろいろ御助力を御願いした当研究室山本多恵子氏に謝意を表する次第です。

摘 要

Sclerotinia sclerotiorum に起因する菌核病は低温期に発生するが、この現象に関連する本菌の生理的性質について検討した。

菌糸は15~25°Cの間でよく生育する。培地の糖含量は多いほど生育は良好であるが、窒素源は多くなると生育は低下する。炭水化物の種類では可溶性澱粉はやゝ利用度が低下するが、単糖、複糖はよく利用する。窒素源はアミノ態、アンモニア態をよく利用するが、大型の菌核は硝酸態窒素を用いた場合によく形成される。菌核は20°C以下に気温が低下すると発芽する。発芽途中で25°Cに達すると発芽は停止する。風乾した菌核は発芽が低下するが、ことに悪条件下での発芽は甚だしく阻害される。菌核は地下4 cmにあれば子のう盤を形成しないが、通気をよくすれば、この位置でも子のう盤の形成が認められる。子のう胞子は15°C内至20°Cでもっとも発芽および発芽管伸長度は良好であるが、28°Cまでは発芽はかなり認められる。

これらの結果, *S. sclerotiorum* は菌核の発芽時に高温による生存規制が認められるが, 他の生育期はかなり広い温度感応域をもっている。このことが本病害が低温期に蔓延する理由の1つになるものと推測される。

文 献

1. 赤井 純・坪木和男 (1966) 日植病報. 32: 313
2. Eddings, A. H. (1937) Phytopath. 27: 100-103
3. 深津量栄 (1965) 関東病虫研報. 12: 2-8
4. Harter, L. L. & Zaumeyer, W. J. (1944) U. S. Dept. Agr. Tech. Bull. 868
5. Hungarford, C. W. & Pitts, R. (1953) Phytopath. 43: 519-521
6. Moore, W. D. (1949) Ibid. 39: 920-927
7. 内藤中人・木村俊彦 (1954) 植物防疫. 8: 401-405
8. Partyka, R. E. & Mai, W. F. (1962) Phytopath. 52: 766-770
9. Ramsey, G. B. (1925) Jour. Agr. Res. 31: 597-632
10. Williams, G. H. & Western, J. H. (1965) Ann. appl. Biol. 56: 253-260
11. — & — (1965) Ibid 56: 261-268
12. Young, P. A. (1936) Phytopath. 26: 184-190

(昭和43年9月28日受理)

