

Botrytis cinerea 菌そう上におけるマツノザイセンチュウの増殖試験

— 糖 類 の 影 響 —

林業試験場九州支場 堂 園 安 生
鈴 木 和 夫

マツノザイセンチュウ（以下線虫という）は多くの糸状菌上で増殖することがすでに明らかにされている^{1, 2)}。しかし培地上における増殖については未だ不明な点が多い。そこで今回は培地中の糖類を質的、量的に異にした条件下で *Botrytis cinerea* 菌を培養し、培地中の糖類が線虫の増殖におよぼす影響について調べた。

材料および方法

実験 I 初期菌量とその後の線虫の増殖におよぼす影響

培地には sucrose 2% 添加の平面培地（シャーレの内径 9 cm）を用い、あらかじめ 25℃ で 4 日間培養した *Botrytis cinerea* 菌そうから直径 5 mm の円板を切り取り、シャーレの中央に移した。その後の初期菌量の調整は次の通りに行なった。切り取った本菌を 25℃ で 4 日間培養し菌そうの直径が約 82 mm となったものと、2 日間培養し約 42 mm となったもの、および直径 5 mm の菌そうを移植したばかりのもの 3 段階に分けた（図-1）。対照としては無菌の培地を用いた。線虫は本菌の菌そう上で 10 日間培養したものをを用いた。接種源は線虫を殺菌水による懸濁液とし、0.1 ml あたり約 130 頭に調整された線虫をシャーレ菌そうの中央に接種した。接種後シャーレは 25℃ の恒温条件下に置いた。線虫の分離は接種後 5 日目、10 日目におこない各処理区いづれも 5 回反復とし、ベルマン法によって分離をおこない計数した。

実験 II 各種種類の線虫増殖におよぼす影響
供試した糖類は次の通りである。

単糖類：glucose, fructose 二糖類：maltose, sucrose 多糖類：inulin 糖アルコール：mannitol, inositol 上記糖種をそれぞれ添加して 2% 培地とした。対照に常用のジャガイモ煮汁、糖無添加ジャガイモ煮汁、寒天のみの 3 種類の平面培地を用いた。上記の培地に本菌を接種し培養した。懸濁液 0.1 ml あたり約 150 頭に調整された線虫を接種した後、25℃ の定温器内で 10 日間培養した。実験 I と同様

な方法で線虫を分離し線虫の増殖について調べた。

実験 III 糖類の濃度が線虫の増殖におよぼす影響

培地は maltose を添加した平面培地を用いた。糖の濃度は 0%, 1%, 2%, 4%, 8% の 5 段階に調整した。各濃度の培地に本菌を接種して 4 日間培養したのち、懸濁液 0.1 ml あたり約 130 頭に調整された線虫を接種し、25℃ で 10 日間培養した。線虫の分離および計数は前述の通りである。

実験結果

実験 I の結果を図-1 に示した。

菌の生長：培地上における *B. cinerea* 菌は 25℃ の温度条件下で直径 5 mm の初期菌そうから、接種後 4 日目に約 82 mm に発育した。線虫を接種した場合の菌そうの伸びについてみると、1 日目に線虫接種の影響があらわれ菌そうの伸びは多少少なかったが、2 回目以後は回復して対照とほぼ同様な傾向を示した。

線虫の増殖：それぞれに調整された菌量処理区における線虫の増殖についてみると、接種後 5 日目までは各処理間に顕著な差は認められなかったが、10 日目には初期菌量の最も少ない同時接種のもの線虫数が 34,000 頭となり最高の値を示した。また増殖が最も悪かったものは初期菌量の最も多い培養で同時接種の線虫数の 3 割に満たなかった。なお対照の無菌培地は接種頭数に対して 5 日目、10 日目とも約 5 割程度検出された。

実験 II の結果を図-2 に示した。実験に用いた糖類の中では maltose 添加の培地が最もよく 65,000 頭となり、fructose, glucose, mannitol, sucrose を用いた培地では約 30,000~40,000 頭前後の値を示し、ほぼ同様な傾向が認められた。inulin は 9,800 頭で寒天のみの培地とほぼ同様な値を示した。inositol は寒天培地より線虫接種時における本菌の菌そうの伸びは増大するにもかかわらず線虫数は 700 頭で最低の値を示した。一方対照とした常用のジャガイモ寒天培地が 247,000 頭と最も高い線虫数を示した。

実験 III の結果を図-3 に示した。図示されたように培地上における本菌の生育は糖の濃度が高いほど良好

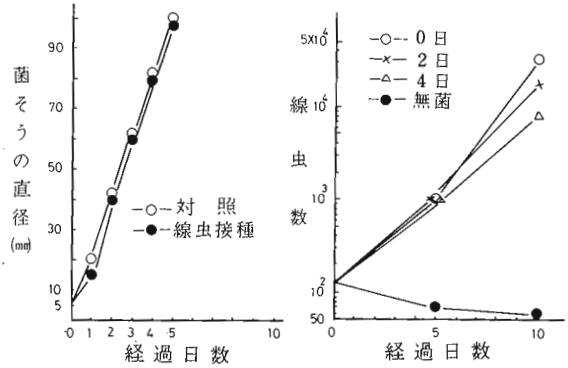
であった。すなわち8%および4%培地では4日目ですでに菌そうはシャーレ全面に生長したが、低濃度になるにしたがい菌そうの生育は遅れた。特に0%培地においては8%培地の約5割程度の菌そうの伸びであった。一方線虫の増殖は菌の生育と同様な傾向を示し、接種10日目には8%培地の90,000頭から0%培地の7,000頭までとなった。

考察

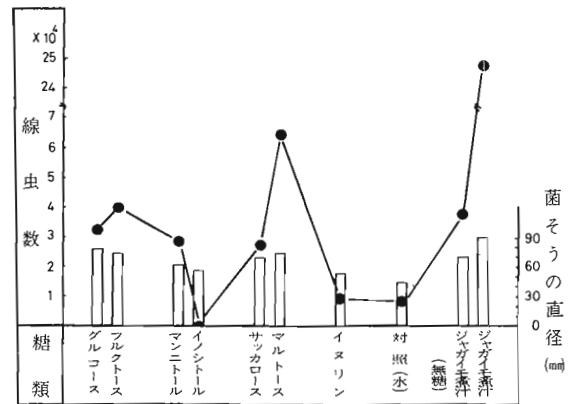
初期菌量の線虫増殖におよぼす影響は顕著には認められなかった。しかし初期菌量が最も少なかった同時接種処理において、線虫が最も良く増殖したことから単なる菌量が線虫の増殖を保証するのではなく、むしろ質的なものすなわち、若い菌糸などを選択的に嚙食する可能性を示唆している。実験に供試した単糖類(fructose, glucose), 二糖類(maltose, sucrose), 糖アルコール(mannitol)の添加培地間に有意な差は認められなかった。inulin添加の場合には寒天のみの培地と同様な増殖を示したことから本菌には利用できないものと考えられる。一方inositol添加の培地では寒天のみの培地よりも著しく増殖が低かった。inositol添加の培地における本菌の伸びは対照とした寒天のみの培地よりも良好なことから、inulinの場合とは異なりinositolは本菌に取り込まれているものと考えられるが、線虫増殖を低く抑える作用機作については今後の興味ある課題といえる。一方対照とした常用のジャガイモ煮汁培地が糖類添加の培地より線虫の増殖が著しく良好なことから本菌上の線虫の増殖は単なる糖類に左右されるものではないことが推測される。糖の濃度については、濃度が高いほど菌そうの伸びも線虫の増殖も良好であった。このことから線虫の増殖は、ある培地では培地に添加された糖量に依存するものと考えられる。

引用文献

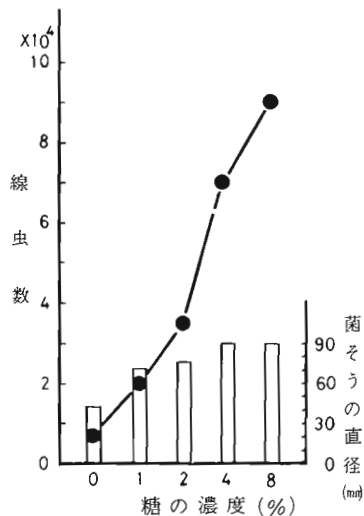
- 1) 清原友也・徳重陽山：日林誌，53(7)，210～218 1971
- 2) 堂園安生：日林九支研論，27，161，1974



図一 初期菌量とマツノザイセンチュウの増殖経過



図二 マツノザイセンチュウの増殖におよぼす各種糖類の効果



図三 マツノザイセンチュウの増殖におよぼす糖量