

断水処理したスギ鉢苗当年生枝葉への暗色枝枯病菌接種と 同部位からの菌分離

森林総研九州支所 河辺 祐嗣・池田 武文
森林総研 楠木 学

1. はじめに

暗色枝枯病菌は病原性の発揮のために誘因を必要とする条件的寄生菌の一種であり、誘因のひとつとして干害や寒害に伴う乾燥ストレスがある。

そこで、断水処理により乾燥条件を付与し、水分状態を4段階の異なるストレス下に設定したスギ鉢植苗に対して暗色枝枯病菌を無傷接種し、発病に対するストレスの強弱の影響を検討した。また、ストレス下にある苗からの菌分離により、潜在菌と考えられる暗色枝枯病菌の顕在化に与えるストレスの影響を検討した。

2. 材料と方法

(1) 材料

供試スギ苗は挿し木育苗された山出しクローン苗である。92年3月初旬に直径30cmの素焼き深鉢に1本植えし、その後は野外に置き、2日または3日毎に灌水した。試験開始45日前に供試鉢苗を温室に移動し、台車のコンクリート床から60cm離れている金網床に置き、2日毎に灌水した。

供試した暗色枝枯病菌は、91年7月に宮崎県下で採取したスギ材の変色被害部から組織分離した菌株である。接種源はPSA培地上の培養菌糸上に形成された分生胞子を1.2%のブドウ糖液に懸濁した孢子懸濁液で、濃度は40万から50万個/mlに調整した。分生胞子の発芽率は、2%寒天培地上に散布した後26℃に24時間置いて調査し、各接種期ともに95%以上であった。

(2) 断水処理の方法

供試苗に対する灌水は92年9月21日まで行い、翌日から断水した。断水期間は1日、8日、16日、23日の4期間である。断水した苗の水分状態について、明け方の水ポテンシャルを測定した。

(3) 接種試験の方法

接種処理は、無傷のままの当年生枝葉部に対して、滅菌したガラス噴霧器により孢子懸濁液を噴霧して行っ

た。その後接種枝葉部を殺菌水を含ませた滅菌脱脂綿片を入れたビニール袋で被って温室処理した。接種したスギ苗鉢は26~28℃の恒温室内で3日間保ち、その後温室に移した。対照区では孢子懸濁液の代わりに、1.2%ブドウ糖液を用いた以外同じ接種処理を行った。

断水処理した苗への接種は断水して1日後(92.9.22)、8日後、16日後の3回行い、接種後灌水する区(以下、灌水区)と断水を継続する区(以下、断水区)を設けた。各接種期の灌水区と断水区に2苗ずつ、各苗につき5枝で1処理当たり10枝を供試した。

なお、無傷接種の比較のため、断水1日後の苗だけに対して、針葉を指先でちぎって傷を付ける有傷接種を行った。1苗について接種区と対照区に5枝を供試した。

(4) 菌分離試験の方法

断水期間毎に採取した当年生枝葉部を、適当な大きさにして、70%エチルアルコールに1分、10%アンチホルミンに15分または30分浸し、さらに殺菌水で2回洗浄し、その枝葉部からピンセットでちぎり取った針葉を分離片に供試した。針葉は殺菌ろ紙で水分を軽く吸い取った後、PSA培地上に静置した。分離培地は15℃恒温下に置き、約2カ月後に結果を調査した。各採取期毎に2苗、1苗から5枝、1枝当たり50針葉で、計500針葉を分離片として供試した。

接種した枝葉部からの菌分離試験では、アンチホルミンによる殺菌時間を3分とした以外、その他の分離操作は上記と同様に行った。

(5) 子実体調査;断水処理により枯死した枝を26℃恒温下で温室処理し形成された子実体を調査した。

3. 結果

(1) 断水した供試苗の経過

断水して8日後には、針葉が若干退色したり、針葉の張りがなくなる等の萎凋症状が認められた。16日後には、針葉の退色と苗全体の萎凋の進行が認められ、特に2年葉および下枝で萎凋が進んでいた。23日後には、

枝葉部が赤みを帯びると同時に乾燥し、苗の萎凋枯死が明確になった。

灌水区では、断水して1日後と8日後では回復したが、16日後および23日後では回復しなかった。灌水により回復した苗には枝枯れあるいは部分枯れは発生しなかった。灌水したが回復しなかった場合、枯死までの経過は断水を継続して枯死した苗と同じ経過をたどり、特定の枝が早く枯れるなどということはなかった。

明け方の水ポテンシャル(表-1)は断水して8日後で-2.00MPaを示し、苗の水分状態が強度ストレス下にあることが示された。16日後では、ほぼ枯死状態で、測定不能であった。

(2) 接種試験

断水して1日後と8日後の接種では、灌水区の接種区、対照区ともに苗が回復し、発病等の異常が認められなかった。また、断水区の苗は接種区と対照区ともにその後枯死したが、枯死にいたる経過等に両区で差違が認められなかった。断水して16日後の接種では、灌水区、断水区ともに苗が枯死したが、接種区と対照区で枯死にいたる経過等に差異は認められなかった。

表-1 供試スギ鉢苗の明け方の水ポテンシャル(MPa)

断水日数	供 試 苗 No.							
	灌 水 区				断 水 区			
	1	2	3	Ave.	4	5	6	Ave.
1	-0.27	-0.27	-0.27	-0.27	-0.45	-0.40	-0.24	-0.36
8	-0.17	-0.17	-0.18	-0.17	-2.00	-2.10	-1.90	-2.00
16	-0.18	-0.20	-0.22	-0.20	-*	-	-	-

* ; 測定不能

表-2 接種試験後の接種葉からの菌分離結果(分離率%)

断水と灌水	接種	Phoma	Phyllosticta	Pestalotiopsis	Phomopsis	他糸状菌
断水1日後接種、 以後灌水	接種区	0.6	3.2	0	0	5.8
	対照区	1.6	1.6	0.4	0	6
断水8日後接種、 以後灌水で回復	接種区	1	1.8	0.2	0	6.2
	対照区	0.4	1.2	0.4	0.4	6.6

表-3 断水したスギ鉢苗からの菌分離結果(分離率%)

殺菌 時間*	断水 日数	分 離 菌						
		Phoma	Phyllosticta	Pestalotiopsis	Phomopsis	炭そ病菌	他糸状菌	細菌
15分	1	4.3	3.6	0	0.1	0	1.2	0
	8	5.3	3.5	0	0.1	0	0.5	0.1
	16	6	6.3	0	0	0	1.5	0.1
	23	6.9	9	0.1	0	0	4.1	0
30分	1	3.1	2.4	0.2	0.1	0	0.9	0
	8	4.1	1.8	0	0.3	0	0.2	0
	16	3.3	4.7	0	0	0	0.9	0.1
	23	8.8	5.8	0.1	0.1	0.1	2.3	0

* ; 10%アンチホルミンによる殺菌時間

なお、有傷接種では、付傷部位の針葉のちぎり痕から発病が見られ、褐色病斑が葉から軸へ拡大し枝枯れに進展した。枯死した枝葉部に分生孢子が形成され、接種菌が再分離された。

(3) 接種苗からの菌分離試験(表-2)

断水して1日後と8日後に接種した灌水区の回復苗からの分離結果は、断水期間の違い、接種区と対照区による差異は認められず、暗色枝枯病菌は分離されなかった。

(4) 断水後の菌分離試験(表-3)

暗色枝枯病菌は分離されず、PhomopsisとPhyllosticta属菌が主な分離菌であった。分離菌総数の分離率は断水期間が長いほど高い傾向が見られた。

(4) 子実体の形成

枯れ枝上に形成された子実体は、Phyllosticta, Pestalotiopsis, Phomopsis属菌が接種区と対照区に共通して認められ、暗色枝枯病菌と見られるMacrophoma属菌は接種区の一部の枝葉部で部分的に認められただけであった。

4. 考 察

乾燥によるストレスを受けると無傷では発病しないものが発病するようになったり、あるいは、ストレスを強く受けているほど激しく発病したり、短時間で発病したりすると予測したが、それらのことは今回の接種試験では再現されなかった。また、ストレスを受けると潜在菌が顕在化し、分離されやすくなるのではないかと予測したが、今回の菌分離試験では暗色枝枯病菌は検出されなかった。

今回の接種と分離試験では苗の当年生枝葉部を供試したが、この部位は乾燥条件を与えたストレス下における暗色枝枯病菌の感染に関連していないと推察され、このことが予測した試験結果を得られなかった原因と考えられた。今回と同様の試験を、今度は、木化した部位に試みたい。