

茶樹の炭疽病類に関する研究 (III)*

炭疽病菌類分生胞子の形成及び発芽について

安部 卓爾・河野 又四・高屋 茂雄

TAKUJI ABE, MATASHI KONO and SHIGEO TAKAYA: Studies on the anthracnose of tea bush. III —On the sporulation and germination of conidia of anthracnose fungi.

茶炭疽病及び赤葉枯病は何れも茶樹栽培における重要な病害である。筆者等はこの二大病害を茶樹の炭疽病類として研究対象とし、これらの病害を起因する病原菌4種—*Gloeosporium Theae-sinensis* MIYAKE, *Glomerella cingulata* (STONEM.) S. & v. S., *Glomerella sp.* 及び *Guignardia Camelliae* (COOKE) BUTLER—の培地上分生胞子の形成と発芽について検討を試みた。

茶炭疽病菌の胞子の形成及び発芽に関しては、永田(1954)³⁾の報告がある。即ち培地の種類及び培地の水素イオン濃度と分生胞子堆の形成、気象条件と茶葉上の分生胞子堆の形成速度並びに胞子発芽と温度及び湿度の関係等について述べている。赤葉枯病菌類のこの問題については安部・河野(1956)²⁾が簡単な試験結果を記載しているにすぎない。分生胞子の形成及び発芽に関する知見は植物病原菌の伝播や、発病の機構を探る上の基礎となるものであつて、上述の永田の研究結果は茶炭疽病解明に多くの示唆を与えている。筆者等の今日までの赤葉枯病菌類の接種試験の結果から *Glomerella cingulata* は病原性が高く、*Glomerella sp.* 及び *Guignardia Camelliae* は病徴が出現する度合が少く病原性が低いように考えられる。このような場合、潜在菌が認められる見地から病原菌侵入の有無と侵入菌に対する寄主の反応が確かめられなければ、病原性を断定することは性急のそしりを受けらるであろう。併しながら胞子による感染に於ては、供試菌が寄主に侵入する前提として必ず胞子の発芽が起るものと考え得るから病原性を比較する前に先、発芽力を比較して見る必要があるだろう。そして胞子の発芽や侵入を確認するためには、胞子を人工的に容易に得る方法を講じなければならないであろう。

永田(1954)³⁾の茶炭疽病菌分生胞子の発芽に関する

報告では、蒸溜水上48時間後、22°Cで45.4%、27°Cでは44.1%の発芽率を示し、この発芽条件は余り良好なものでなく、このような発芽条件下で分生胞子の越冬状況その他を推定していることには若干の疑問を抱かざるを得ない。応用試験の観点からは自然条件に最も近い発芽条件が理想であるが、一層好適な発芽条件を調査する必要があると痛感される。又落葉した茶炭疽罹病葉上の分生胞子は24~30°Cで35%の湿度に保つとき40日以上生存した実験結果その他から、圃場に於ては主として湿度の影響によつて概ね3月中に死滅するように判断しているが、低温による影響も亦考慮する必要があるだろう。

赤葉枯病菌類のうち *Glomerella sp.* は夏期室温下に保つた時はじめて胞子形成を認めたことは筆者等が先に報告した事実であるが、之は室内の培養温度の昼夜の変化に基づくか、室内日光の影響であるか或は両者の複合した結果によるものか明確にされていない。

筆者等は以上の問題点を明かにするため2、3の実験を行つたのでその結果を取まとめて報告する。稿を草するに当り実験材料を提供された京都府立茶業研究所並びに同研究所技師渡辺 博氏、写真撮影に協力された当研究室員古家民生君に対し謝意を表する。

I 供 試 菌

茶炭疽病菌 *Gloeosporium Theae-sinensis* MIYAKE は筆者等の1人安部が静岡県金谷町に於て採集した罹病葉から分離し純粋培養を得、接種試験によつて茶葉に対する病原性を確認したものをを用いた。

茶赤葉枯病菌類としてはさきに安部・河野(1955)が外観健全な茶葉から分離した *Glomerella cingulata* (STONEM.) S. & v. S., *Glomerella sp.* 及び *Guig-*

* 本研究は農林省応用試験研究費の一部によつて行われたことを附記して謝意を表する。

nardia Camelliae (COOKE) BUTLER の3種を用いた。

II 実験方法及び結果

A. 茶炭疽病菌分生胞子の形成及び発芽

1. 各種培地上に於ける分生胞子の形成：馬鈴薯(2%蔗糖加用), 玉蜀黍, 燕麦粉(水1lに粗粉140g), 乾杏(pH 4.8), 茶葉(水1lに在来種の生葉80g, 30分間湯煎)及び麦芽(糖度8%)等の各煎汁寒天培地及び煮茶葉(在来種の茶葉3~4枚を50ml容のエルレンマイヤーフラスコにいれ, 水10ml. を加えて

オートクレーヴ 20. lbs. 圧で殺菌)の各種培地を用いた。その処方は特に記したものの外は常法によつた。煮茶葉培地を除く各々の培地を50ml. 容エルレンマイヤーフラスコに各10ml. づつ分注して殺菌凝固後, 予め茶葉煎汁寒天培地上 28°C で5日間培養した *Gloeosporium Theae-sinensis* の菌叢周辺部から1白金耳を切とつて培地中央に移植した。この培養を26°C の定温器に保ち10, 20, 30, 40, 50及び60日毎に取出して胞子形成の有無を調査した。実験は各区3個の培養につき3回繰返した。その結果は第1表に示した。

第1表 各種培地上における炭疽病菌分生胞子の形成
(26°C, 1区3個, 3回実験結果の総括)

培地	培養日数						菌叢直径 (7日後, mm)	菌叢の粗密	胞子形成量
	10	20	30	40	50	60			
煮茶葉	+	+	+	+	+	+	—	—	極多
燕麦粉煎汁寒天	—	±	+	+	+	+	28.9	中位, 周辺部薄い	中
馬鈴薯 "	—	—	+	+	+	+	41.2	中位	中
乾杏 "	—	—	—	+	+	+	28.2	極めて薄い	少
麦芽 "	—	—	—	—	±	+	34.8	最も発育良好, 菌糸塊あり	多
玉蜀黍 "	—	—	—	—	—	—	37.1	密, 氣中菌糸短い	—
茶葉 "	—	—	—	—	—	—	37.1	極めて薄い	—

註 +: 胞子形成 ±: 1部胞子形成 -: 胞子を形成せず。

第1表に示したように煮茶葉では分生胞子の形成は極めて速やかで, 接種後10日目には既に乳黄色の胞子塊が菌糸を接種した中央部附近に噴出する。そして20日目には非常に多数の分生胞子が形成されるから, これは胞子を用いる実験には有利な培地である。燕麦粉, 馬鈴薯及び麦芽等の煎汁培地も胞子塊の噴出が認められるようになるが, 煮茶葉に比較すると長時日を要し且その形成量も劣っている。乾杏煎汁培地には胞子塊の噴出は認められないが, 胞子形成は可能である。又燕麦粉, 馬鈴薯, 麦芽及び玉蜀黍の各煎汁培地では培養20日目頃から多数の透明な水滴様のものが菌叢表面に噴出したが, これは鏡検の結果 oil drop のように思われる。

2. 茶葉煎汁及び乾杏煎汁中の分生胞子の発芽と温度との関係: さきに記した煮茶葉上に形成させた分生胞子を取り, 茶葉煎汁A(水100ml. に在来種の茶葉2gを1時間湯煎), 同B(水100ml. に茶葉4g) 同C(水100ml. に茶葉10g)及び乾杏煎汁(水

100ml. に乾杏2.5g, 1時間湯煎)を用いて顕微鏡下600倍の1視野中20~30個の胞子が含まれるように稀釈し懸濁液を作つた。これをピペットで1滴づつスライドガラスに載せて, 湿室にしたペトリ皿の中に納め, 20°, 24°, 28° 及び 32°C の定温器で懸滴培養し, 24時間後にその発芽状態を調査した。その結果は第2表に示した。

第2表の結果から茶葉煎汁Bが最も発芽が良好であり, 次いで同C, 乾杏煎汁, 茶葉煎汁Aの順序を示した。茶葉煎汁に懸濁した分生胞子は膨大して球形となり, 太い発芽管が伸長してくるが, 発芽管の伸長度は同じ処理区に於ても個体差が甚だしい。煎汁Bの24°及び28°C区では発芽の良好な個体は発芽管が著しく伸長し分枝したもののさえ認められたが, 発芽不良の個体はその1端が僅かに突出する程度であつた。(図版の4, 5, 参照)。胞子の膨大現象は発芽の前徴と考えられるが, 乾杏煎汁中で発芽した胞子では膨大現象は顕著でなかつた。

第2表 茶葉煎汁及び乾杏煎汁中に於ける炭疽病菌分生胞子の発芽と温度との関係

実験区分	20°C			24°C			28°C			32°C			
	測定 胞子数	発芽率 (%)	発芽 状態	測定 胞子数	発芽率 (%)	発芽 状態	測定 胞子数	発芽率 (%)	発芽 状態	測定 胞子数	発芽率 (%)	発芽 状態	
茶葉煎汁 A	I	540	21.7	+	534	23.9	+	571	35.0	+	556	15.8	±
	II	526	40.0	+	638	57.2	++	630	51.7	+	568	21.8	+
	III	567	42.9	+	545	37.2	+	520	45.0	+	540	24.4	±
	平均		34.8			39.7			43.9			20.6	
同上 B	I	518	62.6	+	528	93.2	+++	525	91.4	+++	521	54.5	+
	II	627	73.0	++	535	95.1	+++	519	98.8	+++	650	58.5	+
	III	641	62.1	+	558	95.0	+++	511	95.5	+++	561	56.7	+
	平均		65.9			94.4			95.2			56.5	
同上 C	I	505	48.1	+	605	42.5	++	553	45.5	++	535	22.1	±
	II	549	63.4	+	537	83.1	+++	515	85.6	+++	501	27.9	+
	III	520	51.2	+	547	82.4	++	550	81.5	++	521	26.7	+
	平均		54.2			69.3			70.8			25.5	
乾杏煎汁	I	512	18.6	±	540	53.0	+	522	46.2	+	594	3.7	±
	II	510	29.5	±	610	56.1	+	570	51.7	+	523	4.4	±
	III	560	30.0	±	566	64.3	+	614	57.6	+	585	3.4	±
	平均		26.0			57.8			52.8			3.8	

註 ±：胞子は変形せず発芽管は細く極めて短い。
 +：胞子は少し変形し発芽管は細く短い。
 ++：胞子は球形となり発芽管は太くて長い。
 +++：発芽管は極めてよく伸長し且分枝したのものもある。

筆者等の予備実験に於てこの煮茶葉上に形成された胞子は殺菌蒸溜水、雨水又は水道水中ではその発芽が極めて不良な結果を示したが、茶葉煎汁中では発芽は著しく促進された。このことは煎汁中に含まれている或る未知の物質——之には適量があり過剰又は不足の場合には発芽が低下する——が胞子発芽の必要成分であるか、又は胞子の細胞膜の外部或は内部にある発芽阻害物質の作用を除くか、或は外部からの水分の滲透を妨害する物質を除くためか等のいろいろの場合が考えられるが、現在のところ不明である。

胞子の発芽と温度に関しては 24° 及び 28°C 区の発芽が良好であつたが、20° 及び 32°C に於ても50%以上の発芽率を示した区もあつた。

3. 異つた培地上に形成された分生胞子の蒸溜水中の発芽：煮茶葉上に形成させた分生胞子は蒸溜水中で殆ど発芽しなかつたことは先に一寸触れたが、別の培地から胞子が得られた場合の蒸溜水中でのそれらの発芽について試験を行つた。即ち、煮茶葉、馬鈴薯及び燕麥粉煎汁寒天培地上にそれぞれ形成させた分生胞子を用いて、蒸溜水で胞子懸濁液を作り、先述の方法で 28°C、24時間後の発芽状態を比較した。その結果は第3表に示したが、3種の異つた培地から得た胞子の間に於ては蒸溜水中での発芽は特別な差異を示さず、何れの胞子も発芽は不良であつた。而して発芽した胞子もその発芽管の伸長は極めてわるく、胞子の膨大現

象も認められなかつた。

4. 茶葉浸出液、茶葉から抽出された glutamic acid 及び teanin 溶液中の分生胞子の発芽：蒸溜水等の水滴中の茶炭疽病菌分生胞子の発芽は極めてわるい結果を示したが、自然界に於ては夏期に降雨があると炭疽病の発生が激しいことが認められている。之は水分があつて、温度が適当な条件下で炭疽病菌が茶葉上でよく発芽できることを示している。茶葉上の水滴は天然の雨水そのものと異り、茶葉成分が若干水滴中に溶出しているために胞子の発芽が促されることも推定される。永田(1954)³⁾による48時間で約45%の発芽が蒸溜水中で可能な結果は自然発病には十分な条件とも考え得るが、筆者等の上述の推定も生態学的に意義があるものと信ずる。そこで、採集直後の茶葉浸出液A(蒸溜水100 ml. 中に茶葉 4g を24時間浸漬)、同B(蒸溜水100 ml. 中に茶葉 10g)、切断茶葉浸出液A(蒸溜水100 ml. 中に約 5 mm 平方に切断した茶葉 4g を24時間浸漬)、同B(蒸溜水 100 ml. 中に切断茶葉10g)、京都府立茶業研究所から分与された茶葉から抽出した glutamic acid 及び teanin をそれぞれ 10 ppm. 及び 100 ppm. の水溶液を用いて発芽試験を行つた。その結果は第3表に掲げた。

第3表に示したように茶葉を単に浸漬した液の場合でも若干発芽が促進されている。茶葉を切断した場合には更に発芽率の上昇する結果を示したが、先に述べ

第3表 異なる培地上で形成された炭疽病菌分生胞子の発芽及び分生胞子の発芽に対する2, 3茶葉成分の影響

実験区分	I			II			III			IV			備考
	測定 胞子数	発芽率 (%)	発芽 状態	測定 胞子数	発芽率 (%)	発芽 状態	測定 胞子数	発芽率 (%)	発芽 状態	測定 胞子数	発芽率 (%)	発芽 状態	
煮茶葉上胞子	1087	6.5 ±		500	0.0		1021	8.5 ±		1034	0.8 ±		
馬鈴薯培地上胞子	1065	7.9 ±		533	0.4 ±		1096	8.3 ±					蒸溜水中
燕麦粉培地上胞子	1166	3.1 ±		500	0.0		1146	10.2 ±					
茶葉浸出液 A	960	25.1 +		513	6.0 ±		529	9.8 ±					
同 B	1021	12.7 ±		563	15.6 ±		524	13.4 ±					
切断茶葉浸出液 A	1085	58.6 ++		1125	42.0 +		598	25.1 ±					
同 B	1121	62.4 ++		1087	33.0 +		1158	44.3 +					煮茶葉上に形成された分生胞子
Glutamic acid (10 ppm)	1087	3.0 ±		500	0.0					1129	0.8 ±		
同上 (100 ppm)	1108	1.2 ±		500	0.0					1072	0.8 ±		
Teanin (10 ppm)	1083	4.7 ±		500	0.0					1127	0.4 ±		
同上 (100 ppm)	1175	4.9 ±		500	0.0					527	0.4 ±		

註 発芽状態の記号については第2表参照.

た茶葉煎汁に比較すると甚だしく劣っている。又茶葉中に含まれている *glutamic acid* 及び *teanin* は本菌分生胞子の発芽にはこの実験の範囲では無関係なものと考えられる。本実験の結果及び乾杏煎汁中の発芽が可能な点から発芽を促進する物質は必ずしも茶葉に独特な成分でなく、且熱に対して比較的安定なもので *glutamic acid* 又は *teanin* 以外の成分が発芽に関与

しているものと思量される。

5. 分生胞子の発芽に及ぼす低温の影響：先に述べたエルレンマイヤーフラスコ内の煮茶葉上に形成させた分生胞子を容器のまま 4° ~ -2°C の電気冷蔵庫に 5, 10, 15 及び 20日間保ち、茶葉煎汁 B を用いてそれら胞子の発芽を調査した。この場合無処理区は 28°C 定温器中に保存した。その結果は第4表に示した。

第4表 炭疽病菌分生胞子の発芽に及ぼす低温処理の影響

(2回実験結果の総括)

低温処理日数	処 理 区				無 処 理 区			
	測定 胞子数	発芽数	発芽率 (%)	発芽 状態	測定 胞子数	発芽数	発芽率 (%)	発芽 状態
5	1698	678	39.9	++	1112	826	74.2	++
10	1635	264	16.1	++	1139	857	75.2	++
15	1706	70	4.1	++	1017	792	77.8	++
20	2295	30	1.3	+	1186	1009	85.0	++

註 発芽状態の記号については第2表参照.

第4表の結果から明かなように *Gloeosporium Thaeae-sinensis* の分生胞子は 4° ~ -2°C に5日間処理することによつて著しくその発芽力を阻害され、20日間の処理によつては僅かに 1.3% の発芽率を示すに過

ぎない。

低温処理が胞子の発芽に及ぼす影響について、安部 (1935)¹⁾ は稲熱病菌では乾燥状態で -4° ~ -6°C で 50~60日の保存は20%以上、81日の保存は14%の発芽

率を示したと報告している。筆者等の供試した分生胞子は水分を含んだ煮茶葉上に形成されたものをそのまま用いたから、乾燥状態の胞子の低温抵抗力と同一に論ずることは出来ないが、自然状態に於て越冬する本菌分生胞子が低温による影響を蒙ることは明かである。

B. 茶赤葉枯病菌類分生胞子の形成及び発芽

1. 培養温度と分生胞子形成：3種の茶赤葉枯病菌類を馬鈴薯煎汁寒天培地で 12°, 16°, 20°, 24°, 26°, 28°, 30°, 32°, 36°, 38° 及び 40°C の定温器に夫々 1ヶ月間平面培養したものについて胞子形成状態を観察した。その結果 *Glomerella cingulata* 及び *Guignardia Camelliae* は 20°~30°C で胞子を形成するが、*Glomerella sp.* は全く胞子を認めることができなかった。本報のはじめに述べたように *Glomerella sp.* は夏期室温に保つたときには分生胞子の形成が可能であることから、その培養温度が室温では変化していることが胞子形成に関与する要素ではないかと考えられる。そこで馬鈴薯煎汁寒天培地に 28°C で 5日間平面培養後、この培養を 24°C と 32°C の定温器に 2日毎に入れ換えて 20日間処理し鏡検した。標準区は 28°C に保つて比較した。その結果 *Glomerella cingulata* 及び *Guignardia Camelliae* は何れの区も胞子形成

を認めたが、*Glomerella sp.* はこの場合にも胞子の形成が見られなかった。

2. 室温下の分生胞子の形成に及ぼす日光、培養時期及び培養期間の影響：1957年5月6日から6月5日までの間、馬鈴薯煎汁寒天平面培養 28°C 5日間ものを室内散光の下に黒色紙を用いて被覆したものと露出したものとの2区に分ち、1ヶ月後に胞子形成の状態を鏡検した。この場合も *Glomerella cingulata* 及び *Guignardia Camelliae* は露出及び遮光両区とも胞子を認めたが *Glomerella sp.* は両区とも胞子を認めることができなかった。

次いで7月21日から10月18日の間、馬鈴薯煎汁寒天試験管斜面培養を前記同様にして露光及び遮光の両区を設け、30、60及び90日間保存したものについて胞子形成を比較した。更に8月20日から10月18日の間馬鈴薯及び玉蜀黍煎汁（細粉を含む）培地について調査した。胞子形成の程度を比較するため試験管1本に対して 10 ml. の殺菌蒸溜水を添加し、菌叢を白金耳で掻取りよく振盪した後、ガーゼで菌糸片を汙し取り胞子懸濁液を作つた。この胞子懸濁液をピペットで1滴づつ取り、その中に含まれる胞子数を測定し、各区6滴について平均値を求めた。その結果を第5表に示した。

第5表 室温下の赤葉枯病菌類分生胞子の形成に及ぼす日光及び培養期間の影響 (1957年)

供試菌	培養期間	培養日数 (日)	胞子形成数	
			露光区	遮光区
<i>Glomerella cingulata</i>	7月21日 ~ 8月19日	30	570	1262
	" ~ 9. 18	60	995	1598
	" ~ 10. 18	90	238	1510
	8. 20 ~ 10. 18	60	518	4549
	" ~ 10. 18	60	485	1112
<i>Glomerella sp.</i>	7. 21 ~ 8. 19	30	184	0
	" ~ 9. 18	60	1098	0
	" ~ 10. 18	90	362	0
	8. 20 ~ 10. 18	60	2	0
	" ~ 10. 18	60	3	0
<i>Guignardia Camelliae</i>	7. 21 ~ 8. 19	30	92	577
	" ~ 9. 18	60	231	729
	" ~ 10. 18	90	11	10
	8. 20 ~ 10. 18	60	16	54
	" ~ 10. 18	60	10	24

註 (1) 欄中太字は玉蜀黍煎汁培地に於ける胞子形成を示す。その他は馬鈴薯煎汁培地のものである。

(2) 室内温度の概要

時 期	最高温度	最低温度	期間別の主な温度範囲
7月21日 ~ 8月19日	32.5°C	24.5°C	{ 7月21日 ~ 7月29日 : 24°~29°C 7. 30 ~ 8. 19 : 28°~32°C
8. 20 ~ 9. 18	35.0°C	22.5°C	{ 8. 20 ~ 8. 29 : 28°~32°C 8. 30 ~ 9. 5 : 25°~30°C 9. 6 ~ 9. 18 : 23°~26°C
9. 19 ~ 10. 18	32.5°C	16.0°C	9. 19 ~ 10. 18 : 18°~24°C

第5表の結果から *Glomerella cingulata* 及び *Guignardia Camelliae* は室温下 5月～10月の調査期間を通じて孢子形成が認められるが、その形成は7月～9月が最も旺盛なものと推定される。又この2種の菌は遮光区の方が露光区よりも孢子形成度が明かに高く、玉蜀黍煎汁寒天培地は馬鈴薯煎汁寒天培地よりも孢子形成に好適な培地と考えられる。*Glomerella sp.* は上記2菌と異つた反応を示した。即ち本菌は弱い室内光の照射をうける条件下に7月～8月の盛夏期に於てのみ孢子形成を認め、定温器内の如き遮光された条件では全く孢子を形成することが不可能なものと考えられる(図版1参照)。これら3種の赤葉枯病菌類の中 *Glomerella cingulata* は孢子形成数最も多く、次いで *Glomerella sp.*, *Guignardia Camelliae* の順序であつたが *Guignardia Camelliae* の柄孢子はかたい柄子殻の内部にあり、十分に孢子を拡散させることが困難であるから、本実験の結果は実際よりもかなり少数を示すことになつたとみなされる。尚これら菌類の分生孢子の形成は好適条件下に於て *Glomerella cingulata* は14日、*Guignardia Camelliae* は18日、*Glomerella sp.* は25日間の培養によつて、それぞれ認めることができたことから、その形成の初期はそれぞれ上述の培養期間よりも以前にあるものと推定される。

3. 茶葉煎汁中の分生孢子の発芽：茶葉 80 g に蒸溜水 1 l を加え1時間湯煎して得た茶葉煎汁に赤葉枯病菌類の分生孢子を懸濁して、スライドガラスに点滴し、室温(24°～29°C)で湿室にした肉池内に20時間保ち、発芽数を調査した。その結果は第6表に示した。

第6表 茶葉煎汁中の赤葉枯病菌類分生孢子の発芽

供 試 菌	測 定 孢子数	発 芽 数	発 芽 率 (%)
<i>Glomerella cingulata</i>	2687	2543	94.6
<i>Glomerella sp.</i>	2420	109	7.8
<i>Guignardia Camelliae</i>	420	59	14.0

第6表に示したように発芽率は *Glomerella cingulata* では良好であつたが、*Glomerella sp.* 及び *Guignardia Camelliae* は極めて不良であつた。

4. 分生孢子の発芽に及ぼす培養期間の影響：先に述べた孢子形成に関する実験に於て室内散光下に30, 60及び90日間露光して培養した各区から得た3種の赤葉枯病菌の分生孢子を殺菌蒸溜水で懸濁液を作り、直径約 1 cm の管瓶に 0.5 ml づつピペットで分注して、24°C に10時間保つた後、それぞれ発芽数を測定した。その結果は第7表に示した。

第7表 赤葉枯病菌類分生孢子発芽に及ぼす培養期間(1957.7.21～10.18)の影響(24°C, 10時間)(殺菌蒸溜水上)

培養日数	供 試 菌	測定孢子数	発 芽 数	発 芽 率 (%)
30	<i>Glomerella cingulata</i>	3422	711	20.7
	<i>Glomerella sp.</i>	3681	175	4.7
	<i>Guignardia Camelliae</i>	556	71	12.7
60	<i>G. cingulata</i>	1527	1459	95.5
	<i>Glomerella sp.</i>	2497	145	5.8
	<i>G. Camelliae</i>	695	116	16.8
90	<i>G. cingulata</i>	391	96	24.5
	<i>Glomerella sp.</i>	1440	158	10.9
	<i>G. Camelliae</i>	200	0	0.0

第7表の結果から供試孢子採取までの培養期間によつてその孢子の発芽に差異を見出されたが、その理由は不明である。最高発芽率は *Glomerella cingulata* は95.5%であるが *Glomerella sp.* は10.9%, *Guignardia Camelliae* は16.8%であつて、後2者の発芽が極めて不良であつた。そしてこの傾向は点滴法により茶葉煎汁中の発芽を調査した結果と略一致した。培養によつて得られた分生孢子を用いて茶葉に接種した場合、病徴の出現度が *Glomerella cingulata* が高く

他の2種が低い原因の1つはこれらの孢子の発芽が不良なことにもよるものと推定される。*Glomerella sp.* の分生孢子は発芽に当り、多数の隔膜を生じ、その各細胞から発芽管を伸長し、*Glomerella cingulata* 及び *Guignardia Camelliae* の発芽状態に比較して極めて特異な状態を示した(図版の2, 3参照)。

5. 赤葉枯病菌分生孢子の発芽に及ぼす孢子採取培地の種類及び発芽温度の影響：馬鈴薯煎汁及び玉蜀黍煎汁(細粉を含む)寒天斜面培地に60日間培養して得

第8表 赤葉枯病菌の分生胞子発芽に及ぼす胞子採取培地の種類及び発芽温度の影響

供 試 菌	培地の種類	発芽温度 (°C)	測 定 胞子数	発芽数	発芽率 (%)
<i>Glomerella cingulata</i>	馬鈴薯煎汁寒天	24	3738	3146	84.1
		28	1634	1103	67.5
	玉蜀黍煎汁寒天	24	1577	353	22.3
		28	1015	104	10.2

た赤葉枯病菌分生胞子について 24° 及び 28°C の 2 段階の温度に於ける発芽率を測定した。その結果は第 8 表に示した。

第 8 表に示したように *Glomerella cingulata* はその胞子を馬鈴薯煎汁寒天培地から得たものの方が玉蜀黍煎汁寒天培地から得たものよりもその発芽が良好であった。又 28°C より 24°C の方が発芽に対しより好適であった。

摘 要

1957年10月に静岡県金谷町に於て採集した罹病茶葉から分離した茶炭疽病菌 *Glocosporium Theae-sinensis* MIYAKE 及びさきに外観健全な茶葉から得た茶赤葉枯病菌類 *Glomerella cingulata* (STONEM.) S. & V. S., *Glomerella* sp. 並びに *Guignardia Camelliae* (COOKE) BUTLER の 4 種からなる茶炭疽病菌類の分生胞子の形成及び発芽について 2, 3 の実験を行った。

茶炭疽病菌分生胞子の形成及び発芽：6種の天然煎汁寒天培地及び煮茶葉培地の中煮茶葉培地は胞子形成速度が最も早く且多量に形成され胞子を用いる実験に対しこの培地が有利である。茶葉煎汁を用いた場合の分生胞子の発芽は、水 100ml. に生茶葉 4g を 1 時間湯煎した煎汁中に於て、24°C 及び 28°C, 24 時間で最高平均発芽率約 95% を示し、煎汁中の茶葉成分が濃厚又は稀薄に過ぎるものではその発芽率が低下する。又乾杏煎汁中の発芽は最高平均発芽率約 55% であつた。本菌の胞子は発芽する前に膨大化する。発芽の適温は 24°~28°C であつて、20° 又は 32°C に於ても 50% 以上の発芽を示すことがある。煮茶葉培地に形成させた本菌胞子の蒸溜水中での発芽は永田 (1954) の示した実験結果に比較して極めて不良であつたので、馬鈴薯及び燕麦粉煎汁寒天培地から得た胞子の蒸溜水中の発芽を検討したが、何れも発芽不良を示した。蒸溜水中の発芽が極めてわるく、永田の結果と異なる原因は水質によるか或は菌の系統その他の原因によるものか今日のところ不明である。併し種々の条件に対する胞子の生活力等を調査する場合には、ここに報告した茶葉煎汁を用いるのが便利で而かも適当な方法

と考えられる。熱を加えないで茶の全葉又は切断葉を蒸溜水中に浸漬して得た溶液は、この胞子の発芽をある程度促進したが、茶葉煎汁と比較すると劣つてゐる。又茶葉から抽出された *glutamic acid* 又は *teanin* を 10 ppm. 及び 100 ppm. の濃度を含む水溶液中での発芽は蒸溜水中の発芽と差がなかつた。これらの結果から乾杏煎汁及茶葉煎汁中に共通して含まれているもので *glutamic acid* 及び *teanin* 以外の成分が発芽に関係があるように推定される。4°~2°C に於て煮茶葉上の胞子を保存するとき、5 日間でその発芽力を半減し、20 日目には標準区の 85% に対し、僅々 1.3% の発芽率にまで低下し越冬する分生胞子は低温の影響を蒙ることが推定される。

茶赤葉枯病菌類の分生胞子の形成及び発芽：*Glomerella cingulata* (G. C.) 及び *Guignardia Camelliae* (G. U.) は光線の照射の有無にかかわらず 20°~30°C で胞子を形成したが、*Glomerella* sp. (G. 2) は室温に於て室内日光の照射をうける条件下で盛夏期に於てのみ胞子を形成する。そして G. C. 及び G. U. は室内日光の照射をうけない方が照射をうけるよりも胞子形成が良好であり、又玉蜀黍煎汁寒天培地は馬鈴薯煎汁寒天培地よりも胞子形成に適していた。分生胞子の形成能力は G. C., G. 2 及び G. U. の順序であつたが、G. U. の胞子形成については培地から胞子を集める方法について検討されなければならない。赤葉枯病菌類分生胞子の茶葉煎汁及び蒸溜水中での発芽は G. C. が最も良好であつて、24°C 20 時間以内で 95% 以上の発芽率を示したのに反し、G. 2 及び G. U. は発芽不良で 20% 以下の発芽率を示した。この実験結果はそれぞれの菌の病原性の程度と関連があるかもしれない。発芽試験に用いる胞子はその胞子源である培養の培養期間によつて発芽力に著しい差異を示した。例えば G. C. に於て培養期間 60 日のものが最も発芽が良好で、30 日及び 90 日培養のものは発芽率が極めて不良であつた。胞子を供給する培地の種類によつてその胞子の発芽力に差異を生じ、馬鈴薯培地の胞子は玉蜀黍培地の胞子よりも発芽力が旺盛な結果を示した。このようなことがあるから人工培養によつて得た分生胞子を用いて行ふ発芽試験に於ては、種々の観点から

充分に検討されなければならない。G. 2 の胞子は発芽に際して多数の隔膜を生じ、G. C. 及び G. U. とは特に異つた形態を示した。

引用文献

- 1) 安部卓爾：日植病報，5，206～210，(1935).
- 2) ———・河野又四：西京大学報，農学，8，81～88，(1956).
- 3) 永田利美：東海近畿農試報，茶業部，2，97～129 (1954).

図版説明

1. 茶赤葉枯病菌類の胞子形成に及ぼす室内日光の

影響：右側 3 本は露光区の培養

左側 3 本は遮光区の培養

G. C. = *Glomerella cingulata*,

G. 2 = *Glomerella* sp.

G. U. = *Guignardia Camelliae*

2. *Glomerella* sp. の発芽前分生胞子
3. *Glomerella* sp. の分生胞子の発芽状態
4. *Gloeosporium Theae-sinensis* の分生胞子の茶葉煎汁中の発芽状態
5. *Gloeosporium Theae-sinensis* の分生胞子発芽に及ぼす低温の影響：
 - a : 処理 5 日目の胞子の発芽状態
 - b : 処理 15 日目の胞子の発芽状態

Summary

Sporulation and germination of conidia of four anthracnose fungi (*Gloeosporium Theae-sinensis* MIYAKE, *Glomerella cingulata* (STONEM.) S. & v. S., *Glomerella* sp. and *Guignardia Camelliae* (COOKE) BUTLER) isolated from tea leaves were investigated.

A. *Gloeosporium Theae-sinensis* MIYAKE

Seven media were investigated for the sporulation. A medium made from autoclave sterilized tea leaves, causes the fungus to sporulate most rapidly and produce comparatively numerous conidia. This medium is advantageous in experiments where large number of conidia are required. Maximum percentages of germination of the conidia on tea leaves extract (extracted for 1 hour, 4g tea leaves per 100ml water) and apricot extract (extracted for 1 hour, 2.5g dried apricot per 100ml water) were approximately 95% and 55% respectively. The expansion of conidia in volume prior to germination was observed. Optimal temperatures for the conidial germination was between 24°~28°C; and even at 20°C and 32°C conidia showed above 50% germination. Notwithstanding the difference of medium (potato, oat extract agar and autoclaved tea leaves) all conidia showed only scanty germination in distilled water. The cause for still lower germination than NAGATA's results is not definitely known, except for the possible difference in the quality of water or the fungus

strain used. However, the germination method using tea leaves extract appears more suitable to examine the vital force of the conidia for various conditions. While exudate of tea leaves or cutting of tea leaves in distilled water fairly stimulated the conidial germination beyond that of distilled water, they were still lower than the tea leaves extract. Although *glutamic acid* and *teanin* isolated from tea leaves have no influence upon the germination at concentrations of 10 and 100 ppm respectively, other stimulative substances associated with tea leaves extract are presumed to contain in both apricot and tea leaves. When the conidia on autoclaved tea leaves were incubated at 4°C~-2°C in an electric refrigerator, germinability reduced to 39.9% and 1.3% within 5 days and 20 days respectively. The check treatment of the conidia showed about 75~85%. From these results low temperatures appear to have harmful effect on the conidia and their germination.

B. *Glomerella cingulata* (STONEM.) S. & v. S. : G. C., *Glomerella* sp. : G. 2, *Guignardia Camelliae* (COOKE) BUTLER : G. U.

While G. C. and G. U. sporulated with or without the subdue to radiation of the sunlight in room at 20°~30°C, G. 2 required it, but the sporulation occurs in the room during the season of mid-summer. G. C. and G. U. sporulate more easily in nonradiated than when

exposed to sun-light, and on corn extract medium than on potato extract medium. Ability of sporulation was in the order of *G.C.*, *G.2* and *G.U.* but the method of spore collection from the culture must be search regared to *G.U.* Germination of conidia in tea leaves extract and distilled water was above 95% in *G.C.*, and below 20% in *G.U.* and *G.2*, and it may be suggested that the degree of pathogenicity of these fungi is presumed to be related to the percentage of germination. Germinability of the conidia differed by the age of culture, e.g. germination percentage of culture 60 days old of *G.C.* was

highest, and it was lower in culture of 30 and 90 days old respectively. Also, conidia of *G.C.* produced on potato extract agar medium germinated more vigorously than that on corn extract medium. From the results described above, in performing experimental tests using conidia obtained from artificial culture various aspects of the fungus must be considered. The conidia of *G.2* produced many septa in germination, which was recognized as a very special morphological change when compared with *G.C.* and *G.U.*.

