

チャ輪斑病菌 (Pestalotia longiseta) 接種チャ枝における菌の交代

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	安藤,康雄 浜屋,悦次 鬼木,正臣
発行元	日本植物病理學會
巻/号	51巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 576-581
発行年月	1985年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



チャ輪斑病菌 (*Pestalotia longiseta*) 接種

チャ枝における菌の交代*

安藤康雄**・浜屋悦次***・鬼木正臣**

Yasuo ANDO**, Etsuji HAMAYA*** and Masaomi ONIKI** : Change
of Fungi on the Tea Stems Inoculated with the Gray Blight
Fungus *Pestalotia longiseta**

Abstract

The processes of dieback in tea garden affected with gray blight caused by *Pestalotia longiseta* were investigated. Tea bushes (variety "Yabukita") were sprayed with suspension of conidia of *P. longiseta* and plucked by a plucking machine for inoculation. At 3, 10, 20, 30 and 37 days after inoculation, the affected stems were collected and examined mycologically. During the examination period, detection ratio of *P. longiseta* had been changing decreasingly, conversely, that of *Glomerella cingulata* increasingly, namely the former was detected in ratios of 85.2, 78.1, 40.6, 47.6, and 6.6%, and the latter was in 7.4, 15.6, 47.5, 42.2 and 86.2%, respectively. In addition, *G. cingulata* showed a tendency to be detected more frequently from lower part of the tested stem. By microscopic observation, it was found that masses of conidia of *G. cingulata* were formed abundantly on the browned upper part of the stem, and numerous conidia and appressoria of the fungus were adhering to the apparently healthy lower part, in which some of epidermal cells were infected by the hyphae. These phenomena suggested that *G. cingulata* existing latently on tea bushes in common got vigorous at the cut end of the stem killed by *P. longiseta* and produced a great many conidia very quickly, and the healthy lower part of the stem would be heavily infected getting those conidia in plenty. Consequently, *G. cingulata* might become the most dominant fungus on the dieback stem.

(Received July 31, 1985)

Key Words : tea gray blight, dieback, *Pestalotia longiseta*, *Glomerella cingulata*, *Colletotrichum camelliae*, change of fungi.

緒 言

チャ輪斑病は、典型的な傷口感染性の病害である。その病原菌としては *Pestalotia theae* Sawada⁹⁾ と *P. longiseta* Spegazzini³⁾ の2種が知られているが、現在全国に広がりつつあり、かつ被害が大きいののは後者の病原菌による場合である。この *P. longiseta* による輪斑病は1973年ごろから静岡県西部の茶園を中心として

目立ち始めたが、一般には主として摘採時に生ずるチャの葉や枝の切口が病原菌の侵入門戸となって感染し、葉および枝ともに激しい症状を呈する³⁾。感染した葉には輪紋のある褐色大型病斑が形成され、その葉の多くはまもなく落ちる。感染枝は切口から枯れて下部に進展し、場合によっては下位の節まで枯死するために、次期茶芽の伸育が著しく阻害される。ところが、本病の被害枝から菌の分離を行うと、*P. longiseta* よりもチャ赤葉枯病菌 *Glomerella cingulata* (Stone-

* 本報の概要は、昭和59年度日本植物病理学会秋季関東部会で発表した。

** 農林水産省茶業試験場 National Research Institute of Tea, Kanaya, Shizuoka 428, Japan

*** 現在：農林水産省農業環境技術研究所 Present address: National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Ibaraki 305, Japan

man) Spaulding *et* Schrenk (不完全世代 *Colletotrichum camelliae* Massee) が検出される場合が多く、その原因の解明がのぞまれていた。

そこで、摘採直前の茶園に *P. longisetæ* の接種を行い、摘採と同時に葉や枝の切口から本菌の感染が起るようしておき、摘採後の枝から経時的に菌を分離し、分離される菌の種類の推移を調査するとともに、それらの菌の消長に関与すると考えられる現象を観察したので、その結果を報告する。

材料および方法

***P. longisetæ* の接種** 接種用の *P. longisetæ* の分生胞子は、オートクレーブしたチャの成葉で培養形成させた。接種は、茶業試験場内茶園の品種「やぶきた」(13年生) の茶株面に摘採直前に本菌分生胞子懸濁液を散布し、可搬型摘採機により新梢を刈り取る方法で行い、分生胞子懸濁液を散布せずに同様に新梢を刈り取った区を無接種区(対照)とした。試験は、1984年7月から8月にかけて行った。

菌の分離および同定 接種後3日、10日、20日、30日に各10本、37日には30本、切口より下方が褐変した枝(以下「被害枝」とする)を採集した。菌の分離は、接種後3日と10日については、枯死部と外観健全部との境界(以下「境界」とする)より下方約5mm までを材料とし、接種後20日、30日および37日については Fig. 1 に示した部位を材料とした。

接種後30日までの材料は、2つに縦割にし、それらを流水(水道水)中で30分間以上洗浄後、乳酸加用素寒天培地上に置床して、伸びてきた菌を分離した。また、接種後37日の被害枝は、流水中で30分間以上洗浄後、70%エタノールに10秒間、さらに次亜塩素酸ナト

リウム溶液(有効塩素濃度約0.5%)に5分間浸漬して表面殺菌を行った後、3部分に分け(Fig. 1)、各部分の中央部より長さ2mm の髓と表層部とを滅菌した安全かみそり刃で切り出し、乳酸加用素寒天培地に置床して菌を分離した。

菌の分離材料を置床した各培地はすべて25℃に保持し、分離菌の同定はPSA 斜面培地上に形成された胞子により行った。

被害枝の観察 被害枝における菌の侵入状況や生育状況を直接みるために、随時褐変部および外観健全部の表層部を安全かみそり刃で削りとり、アルコール・ラクトフェノールで脱色を行い、顕微鏡観察した。また、被害枝上での胞子形成をみるために、被害枝を25℃の湿室に保持し、形成された胞子角あるいは胞子塊を実体顕微鏡下で観察した。

***P. longisetæ* と *G. cingulata* の対峙培養** 被害枝から分離された *P. longisetæ* および *G. cingulata* の菌株を用いた。両菌はそれぞれPSA 平板培地上で温度25℃、4日間培養後、菌叢周縁部から菌叢片を切り取り、PSA 平板培地に対峙して移植し、25℃で培養した。

結 果

被害枝から分離された菌

P. longisetæ の分生胞子懸濁液を散布して摘採後、切口より下方が褐変した枝から分離された菌の種類と分離数の経時変化を Table 1 に示した。

接種(摘採)後3日および10日の枝では、褐変枯死した部分の長さはごくわずかであり、培地に置いた枝の小片1個あたり分離される菌株数はほぼ1菌株であったが、*P. longisetæ* の分離数が最も多く、その分離菌総数に対する検出率はそれぞれ85.2%、78.1%であった。次いで *G. cingulata* の分離数が多く、その検出率は接種後3日では7.4%、10日では15.6%であった。

接種後20日ごろになると、枝の枯死部分がかなり長くなるので、枯死部およびその近くの部分を分割し(Fig. 1)、各小片から2~3菌株を分離したが、A1部分での *P. longisetæ* の検出率が44.2%であったのに対し、*G. cingulata* のそれは36.5%であった。B1部分での *P. longisetæ* の検出率は36.7%であったが、*G. cingulata* のそれは59.2%で、後者が多くなった。すなわち、被害枝の下方においては、*G. cingulata* の検出頻度が高

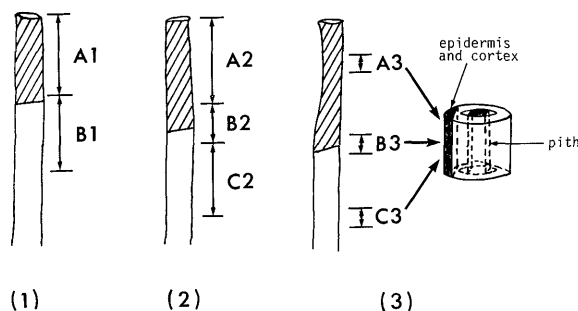


Fig. 1. Parts of stems examined at 20 days (1), 30 days (2) and 37 days (3) after inoculation with *Pestalotia longisetæ*. : browned part.

Table 1. The fungi isolated from the stem inoculated with *Pestalotia longiseta*

Days after inoculation	Parts of isolation	Number of isolates			
		<i>Pestalotia longiseta</i>	<i>Glomerella cingulata</i>	<i>Pestalotia</i> spp.	Others
3 days		23(85.2) ^{a)}	2(7.4)	0(0.0)	2(7.4)
10 days		25(78.1)	5(15.6)	2(6.3)	0(0.0)
20 days	A1 ^{b)}	23(44.2)	19(36.5)	7(13.5)	3(5.8)
	B1	18(36.7)	29(59.2)	0(0.0)	2(4.1)
	A1+B1	41(40.6)	48(47.5)	7(6.9)	5(5.0)
30 days	A2	36(50.0)	22(30.6)	6(8.3)	8(11.1)
	B2	28(43.1)	32(49.2)	0(0.0)	5(7.7)
	C2	34(49.3)	33(47.8)	0(0.0)	2(2.9)
	A2+B2+C2	98(47.6)	87(42.2)	6(2.9)	15(7.3)
37 days	A3 Pith	1(3.1)	28(87.5)	0(0.0)	3(9.4)
	Epidermis and cortex	8(21.6)	25(67.6)	0(0.0)	4(10.8)
	B3 Pith	0(0.0)	29(96.7)	0(0.0)	1(3.3)
	Epidermis and cortex	1(3.1)	29(90.6)	0(0.0)	2(6.3)
	C3 Pith	0(0.0)	5(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
	Epidermis and cortex	1(3.3)	27(90.0)	0(0.0)	2(6.7)
	A3+B3+C3	11(6.6)	143(86.2)	0(0.0)	12(7.2)

a) Figure in parenthesis shows percentage to the total number of isolates in the same line.

b) Refer to Fig. 1.

くなる傾向を認めた。

接種後30日の被害枝については、枯死部およびその近くの部分を3つに分け (Fig. 1), 各小片1個あたりほぼ4菌株ずつ分離した。その結果は接種後20日とはほぼ同様な傾向であり, A2の部分では *P. longiseta* が多く, B2部分では *G. cingulata* が若干多く検出され, C2部分では両菌ともほぼ同数検出されたが, 全体的にみた場合, 被害枝の下部の方で *G. cingulata* の分離率が高くなった。

接種後30日までは, 被害枝を単に流水中で洗浄しただけで菌の分離を行ったが, 接種後37日の被害枝については, 表面殺菌を行ってから3部分に分け, さらにそれらの中央部より長さ2mmの髓と表層部とを切り出し (Fig. 1), それぞれの小片1個あたりほぼ1菌株ずつ分離した。その結果によると, A3部分では表層部から *P. longiseta* が若干多く検出されたが, 大半は *G. cingulata* であった。B3部分では, 表層部で *P. longiseta* が1菌株分離されたのみで, それ以外は *G. cingulata* が圧倒的に多かった。外観健全なC3でも, 表層部からは多数の菌株が分離され, その大部分が *G. cingulata* であり, 髓から分離される菌株の絶対数

は少なかったが, 分離菌のすべてが *G. cingulata* であった。

被害枝の観察結果

接種 (摘採) 直後から, 枝の切口付近あるいは褐変部と外観健全部の境界付近について顕微鏡観察を続け

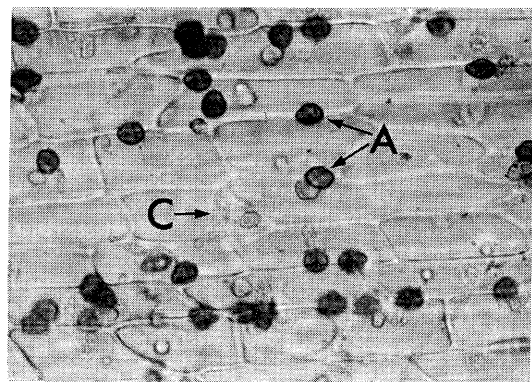


Fig. 2. Conidia (C) and appressoria (A) of *Glomerella cingulata* on the apparently healthy epidermis of the diseased stem, apart about 3 mm from the browned part. $\times 420$.

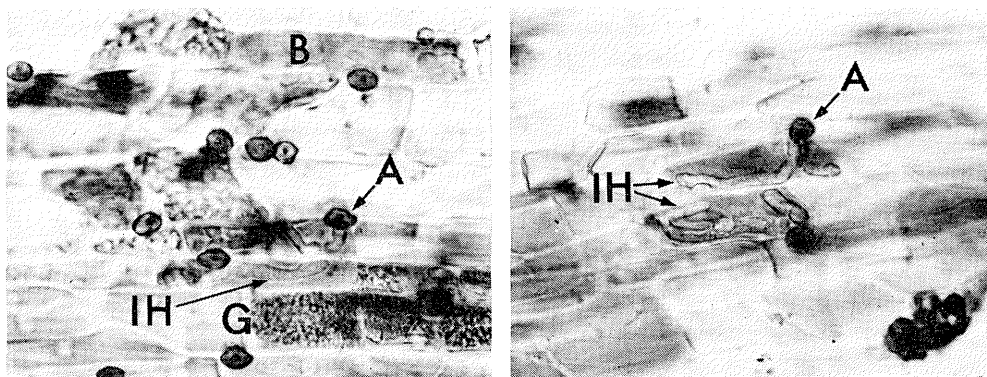


Fig. 3. Browning (B) and granulation (G) of the epidermal cells infected with *Glomerella cingulata*, and infection hyphae (IH) in the penetrated cells close to the browned part of the diseased stem. A : appressorium. $\times 460$.

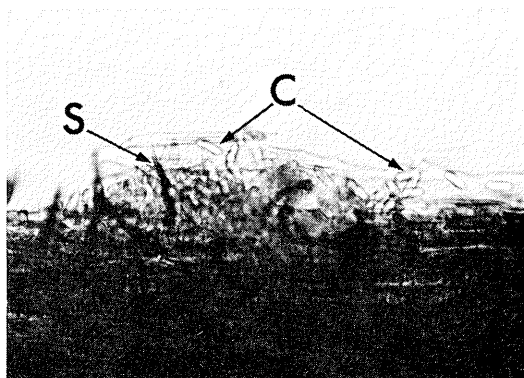


Fig. 4. Conidia (C) of *Glomerella cingulata* (imperfect state : *Colletotrichum camelliae*) and setae (S) of the acervulus observed on the browned part of the diseased stem. $\times 230$.

た。摘採後数日で、接種区では枝の切口から褐変枯死がはっきりと認められるようになるが、まもなく切口よりやや下方の外観健全部に多数の *G. cingulata* の分生胞子および付着器がみられ (Fig. 2), 枯死部の拡大とともに、外観健全部における *G. cingulata* の分生胞子および付着器の認められる範囲も広がった。また、この外観健全部の表皮細胞では、接種後の早い時点から *G. cingulata* が侵入感染しているのがみられた。境界から遠い部分では菌糸が表皮細胞内に認められることは少なかったが、境界付近では表皮細胞内に *G. cingulata* の菌糸が充満し、その細胞自体は褐変している像が多かった (Fig. 3)。さらに、上方の褐変した枯死部では *G. cingulata* の分生胞子堆がみられ、多数の胞子が形成されていた (Fig. 4)。

Table 2. Number of appressoria of *Glomerella cingulata* on the epidermis of apparently healthy part of tea stems at 28 days after inoculation with *Pestalotia longiseta*

Treatment	Number of appressoria (0.2 $\times$ 10mm)	Length of browned part (mm)
Inoculated with <i>P. longiseta</i>	256.4	13.3
Uninoculated (control)	12.2	1.4

接種後28日に、枯死部に接する外観健全部 (境界から下方約 10 mm までの範囲) における *G. cingulata* の付着器数を測定した結果を Table 2 に示した。対照としては、接種区と同日に摘採した無接種区を用い、各区10枝ずつ、1枝3箇所について観察した結果である。接種枝では、枯死部の長さが 13.3 mm、付着器数は 0.2 $\times$ 10 mm あたり256.4個に達したが、対照の無接種枝では、枯死部の長さは 1.4 mm であり、付着器数も12.2個にすぎなかった。

また、接種後40～50日の被害枝を温室に保持して胞子形成を観察したところ、枯死部の上部、つまり切口に近い部分では *P. longiseta* の分生胞子の黒い胞子角が、下方では *G. cingulata* の分生胞子の肉白色の胞子塊が認められた。

P. longiseta と *G. cingulata* の対峙培養

P. longiseta と *G. cingulata* を対峙培養したところ、両菌ともに相手の菌の生育を顕著に阻止するような拮抗作用は認められなかったが、*G. cingulata* の方が *P. longiseta* よりも生育は旺盛であり (Fig. 5), 両菌菌叢

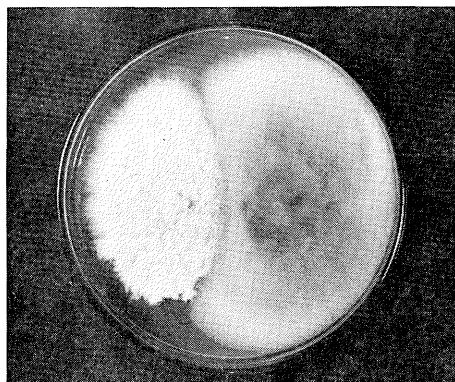


Fig. 5. Pairing-cultivation for 7 days at 25°C of *Pestalotia longisetata* (left) and *Glomerella cingulata* isolated from the diseased stem.

の境界では *P. longisetata* の菌叢上へ *G. cingulata* の菌糸がわずかで伸びていた。

考 察

チャ輪斑病の最も特徴的な病徴は、葉における褐色輪紋の大型病斑であるが、*P. longisetata* によるチャ輪斑病には、しばしば枝の枯死を伴ない、被害を大きくしている。ところが、この枯死枝からは、*P. longisetata* よりも *G. cingulata* が分離されることが多い。本研究は、この現象の解析を試みたものである。

P. longisetata の分生孢子懸濁液を茶株面に散布してから機械摘採を行い、葉や枝の切口に木菌が感染するようにしたところ、葉には典型的な輪斑病の病斑を生じ、あわせて激しい枝枯れを起すことができた。この被害枝について、検出される菌の種類、位置関係、経時的な消長などを追跡調査した結果、摘採直後で枯死が枝の切口付近に限られている間は、その枯死部から検出される菌は *P. longisetata* が圧倒的に優勢であったが、時間が経過して枯死部が拡大するにつれて、新しく枯れた部分あるいはそこに隣接する外観健全部からは、*G. cingulata* が検出される比率が次第に高くなった。接種後30日以上経ち、枯死部の長さが 1~2 cm に達すると、上部の切口付近の数 mm を除き、大部分から *G. cingulata* が検出されるため、全体としてみると、菌が交代したような現象がみられた。

G. cingulata は茶園内に恒常的に分布し、葉、枝、果実など大部分の器官に潜在感染しているが、通常は特に被害はない菌であるとされている⁵⁾。それが、何

らかの誘因があると、葉に大小の褐色病斑を形成したり、枝を枯らすなど、大きな被害を与える。本研究において *P. longisetata* を接種しなかった区では、同じように摘採による傷があったにもかかわらず枝枯れは起らなかったことから、この枝枯れの発現には、*G. cingulata* の存在だけでなく、*P. longisetata* の感染が重要な意味を持っていると考えられる。

被害枝の枯死進展過程の観察によると、*P. longisetata* 接種約10日後には、切口から約 2 mm 以上離れた褐変部に *G. cingulata* の分生孢子が盛んに形成され、それより下部の外観健全部表面には多数の *G. cingulata* の分生孢子が付着して付着器を形成し、菌糸が表皮細胞に侵入しているのが認められた。これは、摘採による枝の切口から *P. longisetata* が侵入し、切口近くの組織を枯死させると、それまでその部分の表皮に潜在していた *G. cingulata* が活動を開始し、下方の健全部がその分生孢子による濃厚感染を受ける経過を示している。さらに、*G. cingulata* による枝の枯死拡大には、この分生孢子の濃厚感染だけではなく、*P. longisetata* 感染による宿主側の何らかの生理的な変化が前提条件となっていることが推測される。福田ら²⁾ も、*G. cingulata* がチャの葉縁鋸歯に存在する微小な tooth 表面の分泌物を栄養源として子実体を速やかに形成し、そこで形成された分生孢子が病斑拡大や二次感染の原因となることを報告しているが、その場合も宿主側に不良な気象条件あるいは施肥条件などによる生理的な変動がなければ、病勢の進展は起らないと考えられる。また、*P. longisetata* と *G. cingulata* の対峙培養の結果によると、両菌の間には特に強い拮抗作用はないようであったが、*G. cingulata* の方が若干生育が速く、かつわずかながら菌糸を *P. longisetata* の菌叢上に伸長させる場合がみられた。

以上述べたことから、*P. longisetata* による輪斑病発生茶園でみられる枝枯れには、*P. longisetata* と *G. cingulata* の双方が相互に影響しあいながら関与しているものとしてとらえることができる。すなわち、*G. cingulata* は、付着器を形成し、チャの葉や若い枝などに独自に侵入し得るが、多くの場合その侵入は表皮細胞の一部に限定され、それ以上の病勢の進展はない。一方、*P. longisetata* は、宿主側に傷がなければ感染し得ないが、いったん感染すれば、葉や枝などかたりの範囲の壊死部を形成する。したがって、輪斑病発生茶園の枝枯れは、まず *G. cingulata* の潜在感染があり、次いで *P. longisetata* による枝切口的枯死部形成と宿主の *G. cingulata* に対する抵抗力低下が起り、最終的に

G. cingulata による枯死部拡大と *P. longiseta* の生育抑制が成立するものであろう。その際、*G. cingulata* の勢力域拡大が、先に述べた経過により、*P. longiseta* のそれにより先行するので、結果的に、*P. longiseta* の勢力範囲は最初の侵入部位近辺にとどまり、大部分の枯死部では *G. cingulata* が優勢になることは十分にあり得ることと思われる。

江塚は¹⁾、チャの葉が網もち病の被害を受けると、その葉のついていた枝が枯死する現象を調査し、この場合も枯死部から *G. cingulata* が高率に分離されると報じている。また、チャの胴枯症被害部からも本菌が分離されることが多い⁴⁾。このように、チャの枝や幹の枯死と *G. cingulata* は何らかの関連を持っているものと考えられるが、多くの場合その因果関係の解析は困難である。しかし、輪斑病発病茶園における枝枯れに関しては、本研究によりその発現経過がかなり明らかとなったので、今後はチャに潜在感染している *G. cingulata* が *P. longiseta* の感染によって活動化する機構の解明が必要である。

摘 要

チャ輪斑病菌 *Pestalotia longiseta* を接種したチャ

枝(品種「やぶきた」)の枯死部分での菌の交代現象について検討した。接種は、*P. longiseta* の分生孢子懸濁液を茶株面に噴霧後、摘採機により刈り取る方法で行った。接種後3, 10, 20, 30および37日に被害枝から菌の分離を行ったところ、*P. longiseta* の検出率は、それぞれ85.2, 78.1, 40.6, 47.6, 6.6%と時間の経過とともに低下する傾向を示した。これに対し、チャ赤葉枯病菌 *Glomerella cingulata* のそれは、それぞれ7.4, 15.6, 47.5, 42.2, 86.2%と逆に高くなった。さらに、*G. cingulata* は被害枝の下部より高率に検出された。一方、被害枝について顕微鏡観察したところ、枝の上方の枯死部では *G. cingulata* の分生孢子が多数形成されており、下方の外見上健全な部分では *G. cingulata* の分生孢子および付着器が多数みられ、また、表皮細胞内に感染しているのも認められた。以上より、*G. cingulata* は外見健全な枝の表皮細胞に潜在感染しており、*P. longiseta* が切口から侵入し、感染部位の枯死とともに活動を開始し、多数の分生孢子を速やかに形成して下部に供給し、下方の健全部は *G. cingulata* の濃厚感染を受け、結果的に *G. cingulata* が被害枝上で優勢になっていくものと考えられた。

引 用 文 献

1. 江塚昭典(1958). 東海近畿農試研報(茶業部) 6: 51-58.
2. 福田徳治・浜屋悦次(1982). 茶技研 62: 50-54.
3. 浜屋悦次・堀川知廣(1982). 同上 62: 21-27.
4. 広川 敢・高屋茂雄(1964). 同上 29: 9-21.
5. 河野又四(1965). 近畿大学食品科学研究所特別報告 1: 31-40.
6. 澤田兼吉(1915). 台湾農試特別報告 11: 112-119.