

## チャ輪紋葉枯病菌のキノコ状菌体の形成におよぼす 2, 3の要因ならびに形成過程

有村光生・荒井 啓・渡辺大起\*・植原一雄

(植物病理学研究室)

昭和59年8月10日 受理

### Some Factors Affecting the Formation of Mushroom-Like Body and Its Formation Process in the Fungus Causing Zonate Blight of Tea Plant

Mitsuo ARIMURA, Kei ARAI, Hiroki WATANABE  
and Kazuo UEHARA

(Laboratory of Plant Pathology)

#### 緒 言

チャ輪紋葉枯病は昭和48年春に鹿児島県内の山間地帯を中心に発生した新病害で、葉に同心円状の褐色病斑を形成する。やがてその褐変部に白色の菌糸塊(大きさ0.5~1mm)を形成し、これは次第に褐変し、ついに黒変したタール状を呈する。この白色の菌糸塊は、強い病原性を有し、菌糸とともに自然界での伝染に重要な意味をもっていると考えられている<sup>14)</sup>。この菌糸塊は培地上でも比較的容易に形成され、時間が経つと罹病葉上でみられたと同様に黒変し、タール状物質が表面を被うようになる。このようにタール状になったものを、顕微鏡観察すると径約3 $\mu$ mの球形粒子が多数認められるが、黒変した菌糸塊およびこの粒子の病原性については種々検討されたが不明な点が多い。また、この球形粒子は、その形態より、胞子と考えられ、これまで種々の方法で発芽させる試みもなされたが成功しなかった<sup>13)</sup>。

一方この菌糸塊は、種々の条件下で形成数に差を生じることが明らかになった。培養菌を種々の条件の自然光下に置き、菌糸塊の形成数を比較したところ、ガラス室の散乱光下や木蔭に置いた時によく形成された。この時の照度は7,000~20,000 luxであって、それより明るいところや、暗いところでは形成数が著しく低下した。また、人工光線を用いた実験では、近紫外部の波長をもつ BLB ライト照射下で、その形成が良好であり、照射時間の長い程その形成数が増すことを報告している<sup>14)</sup>。一般的に菌類の生殖生長の誘起には、

多少とも近紫外部光の影響を受けることが知られている<sup>1,6-8,14,15)</sup>。また多くの糸状菌においては胞子形成あるいは、菌核形成の際、光照射を必要とし、それに続く一定の暗期を必要とする例が多く報告されている<sup>1,6,12,15,16)</sup>。

本実験はチャ輪紋葉枯病菌の同定を目的に行ったものであるが、その前段階として、菌糸塊の形成におよぼす近紫外部光(BLB ライト)の照射時間や培地の種類の再検討をするとともに、その形成過程を経時的に観察し、本器官の位置づけを試みたものである。その結果、従来菌糸塊と仮称してきた器官は、後述べる理由により、キノコ状菌体と称するのが妥当であると思われたので、本論文では以後、キノコ状菌体(mushroom-like body)と記載することにした。

#### 材 料 と 方 法

1. 供試菌 本実験に供試したチャ輪紋葉枯病菌は、鹿児島県茶業試験場より譲りうけた分離株で、当研究室で継代培養したものである。

2. 供試培地 本実験で使用した培地は下記のものである。

P D A 培地: ジャガイモ 250 g, グルコース 20 g, 寒天末 20 g, 蒸留水 1 liter.

YPDA-1 培地: 粉末酵母エキス 1 g, ポリペプトン 0.5 g, グルコース 20 g, 寒天末 20 g, 蒸留水 1 liter.

YPDA-2 培地: 粉末酵母エキス 0.5 g, ポリペプトン 1 g, グルコース 20 g, 寒天末 20 g, 蒸留水 1 liter.

なお使用した粉末酵母エキスとポリペプトンは大五

\* 現在福岡県嘉穂農業改良普及所 Kaho agricultural improvement and promotion section of Fukuoka Prefecture

栄養化学製のものである。

3. 接種源の調製方法 上記 PDA 10 ml 平板上に形成されたキノコ状菌体を、径 9 cm のシャーレの PDA 平板の中心に 1 個あて接種した。この際成熟がかなり進み褐色になったキノコ状菌体を用いると、菌叢径が揃わなくなった。しかし比較的新しい白色のキノコ状菌体を用いると、菌糸の伸長が良く菌叢もほぼ一定したので、実験には後者を用いた。接種に用いた白色のキノコ状菌体から伸長した菌叢の直径が 3~4 cm になった時に、その先端部を同一円周上で、直径 4 mm のコルクボーラーで打ちぬいた菌叢ディスクを新たな PDA 平板中央に接種して、本菌の生育適温である 22℃ の定温器中に置いた。

4. 光源 近紫外部光の光源として用いたランプは Toshiba FL20S-BLB (以後 BLB と略称する) で、通常は照射距離を 10 cm にした。

5. 照射方法 実験 1, 2 においては、BLB 30 秒照射と 20 秒暗期を 1 サイクルとした間欠照射を行った。間欠照射時間 3, 6, 12 および 24 時間は BLB の積算照射時間を示し、対照区としては、BLB 連続照射を 3, 6, 12 および 24 時間とした。なお、実験 1, 2, 3 で用いた培地は PDA である。実験 4 においては、BLB の照射時間を一定 (12 時間) にし、照射距離を 10, 20, 30, 40 および 50 cm とした。ここで BLB 照射を 12 時間にしたのは、菌叢の伸長を最低限におさえ、本菌の BLB に対する感受性をできるだけ一定にするためである。さらに実験 1, 2 では、菌令に対する BLB 照射の効果をみるために接種源として 3 日目と 7 日目の菌叢に BLB を照射した。なお、BLB 照射による若干の温度上昇がみられるので、実験は本菌の生育適温よりやや低めの 20℃ の定温室で行った。各区の所定の時間に到達したものは、直ちに 22℃ の

定温器の中に移し、1~2 日後キノコ状菌体の完全な形成をまってその形成数を測定した。

実験 3 では、本菌を接種した平板各区に BLB を 1 時間照射 (前照射) し、つぎの暗期を、0.5, 1, 3, 6 および 9 時間とし、その後再び 2 時間の BLB を照射 (後照射) した。すなわち BLB 照射は、前照射・後照射合せて 3 時間で、その間にそれぞれの時間の暗期を設定した。対照区としては、1, 2, 3 および 6 時間の連続照射区を設定した。

6. キノコ状菌体の観察法 菌叢ディスク接種後 4 日目の菌叢シャーレを顕微鏡の載物台にセットし、その上 12 cm の距離から BLB を照射した。照射開始より一定時間毎に視野を固定し、キノコ状菌体の形成状態を光顕にて観察した。キノコ状菌体は形成後黒変し、表面がタール状となり球形粒子が観察された。6 日間暗黒で培養した菌叢に BLB を 3 日間連続照射して、キノコ状菌体を形成させ、照射開始より、5, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 20 および 26 日目の各キノコ状菌体を、それぞれ固定包埋した。固定は電顕用試料を作製するのと同じ方法で行った。すなわち、5% グルタルアルデハイドで前固定し、1% オスミック酸で後固定し、脱水後常法によりエポキシ樹脂に包埋した。包埋試料は、ウルトラミクロトーム (JUM-7) で約 1  $\mu$ m の厚さに切り、塩基性フクシンで約 20 分間染色後光顕にて観察した。

## 結 果

### 1. キノコ状菌体の形成数におよぼす 2, 3 の要因

(1) BLB 間欠照射がキノコ状菌体形成におよぼす影響

BLB 間欠照射区は照射時間を同じくする連続照射区のいずれの区に比較してもキノコ状菌体の形成が多

Table 1. Effects of different applications of BLB<sup>\*1</sup> irradiation on the number of mushroom-like bodies, using mycelial discs of third day old, as inoculums

Irradiation	Test No.	Hours of BLB <sup>*1</sup> irradiation			
		3	6	12	24
Continuous	1	3	65	456	2408
	2	8	80	608	1708
	3	9	82	558	1811
	Ave.	6.6	75.6	550.6	1975.6
Intermittent <sup>*2</sup>	1	19	278	2056	2964
	2	23	345	1460	3272
	3	36	402	1864	3860
	Ave.	26	341.6	1793.3	3365.3

<sup>\*1</sup> BLB=near ultraviolet light

<sup>\*2</sup> Alternating cycles of 30 seconds irradiation and 20 seconds dark

かった (Table 1, 2). Table 1 と 2 では, キノコ状菌体の形成に差異 (1% 水準で有意) が認められたが, これは接種源の菌令 (3 日目と 7 日目) の相異によるものと思われた. 予備実験の結果より一般的に菌令の若いものほど, また生長の旺盛なものほど BLB に対する感受性が高い傾向がみられた. BLB のキノコ状菌体形成数におよぼす効果は, 24 時間間欠照射は同時時間の連続照射にくらべて約 2 倍の形成数がみられた.

(2) BLB 前照射・暗期・後照射がキノコ状菌体形成におよぼす影響

Table 3-1 におけるキノコ状菌体の形成数をみると BLB 前照射 1 時間では, 約 24 時間後にキノコ状菌体

のイニシャルが認められたが完全なキノコ状菌体は形成されなかった. ここで言うイニシャルとは 16 倍ルーペで白色の点として認められるものである. しかし, わずか 30 分の暗期の後 2 時間の BLB の照射を与えると, つまり BLB 照射 3 時間 (前照射 1 時間・後照射 2 時間) を与えるとキノコ状菌体の形成が認められ対照区の BLB 連続 3 時間照射区に比較してやや多く形成された (Table 3-2). なお暗期が 1, 3 および 6 時間となるにつれて, キノコ状菌体とイニシャルの数がともに増加した. しかし暗期が 9 時間になると, いずれの形成数も減少した.

Table 2. Effects of different applications of BLB irradiation on the number of mushroom-like bodies, using mycelial discs of seventh day old, as inoculums

Irradiation	Test No.	Hours of BLB irradiation			
		3	6	12	24
Continuous	1	4	40	164	984
	2	1	7	70	784
	3	8	8	65	676
	Ave.	4.3	18.3	99.6	802.6
Intermittent	1	11	45	952	2628
	2	9	44	732	1236
	3	8	34	584	1216
	Ave.	9.3	41	756	1693.3

Table 3-1. The number of mushroom-like bodies formed at which the treatments of several dark periods were the case in given between BLB pre-irradiations for 1 hour and post-irradiation for 2 hours

Test No.	Hours of dark periods				
	0.5	1	3	6	9
1	24 (125)*	54 (153)	67 (170)	116 (420)	28 (94)
2	23 (88)	32 (143)	41 (146)	150 (259)	48 (102)
Ave.	23.5 (106.5)	43 (158)	54 (158)	133 (339.5)	38 (98)

\* ( ) Total number of mushroom-like bodies and their initials

Table 3-2. The number mushroom-like bodies formed under the continuous BLB irradiation

Test No.	Hours of continuous irradiation			
	1	2	3	6
1	0 (19)*	10 (59)	20 (75)	293 (327)
2	0 (10)	14 (47)	17 (74)	238 (270)
Ave.	0 (14.5)	12 (53)	18.5 (74.5)	265.5 (298.5)

\* ( ) Total number of mushroom-like bodies and their initials

## (3) 各種培地での伸長

Fig. 1 は培地を異にした場合の本菌の菌糸の伸長を観察したものであるが PDA が最も伸長が良く続いて、YPDA-1, YPDA-2 の順であった。しかし YPDA は菌叢が厚く単位面積あたりの菌糸密度が高かったの、総合的には PDA よりすぐれていると思われた。なお YPDA では2にくらべ1の方がすぐれていた。

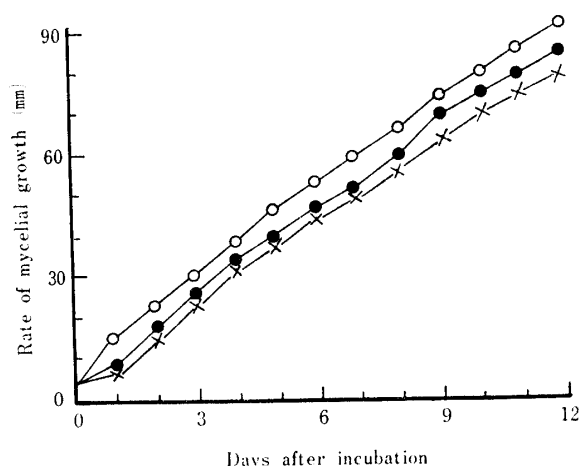


Fig. 1. Growth of mycelia on several media.

○—○ P D A : Potato 250 g, glucose 20 g, agar 20 g, D. W. 1 liter.

●—● YPDA-1: Yeast-extract 1 g, polypepton 0.5 g, glucose 20 g, agar 20 g, D. W. 1 liter.

×—× YPDA-2: Yeast-extract 0.5 g, polypepton 1 g, glucose 20 g, agar 20 g, D. W. 1 liter.

したがって、次の実験では YPDA を用いて、キノコ状菌体の形成を試みた。

## (4) 各種培地における BLB 照射によるキノコ状菌体形成数と照射距離との関係

BLB のキノコ状菌体形成に対する影響についてみると (Table 4), YPDA-1 が一番形成数が多く、つづいて YPDA-2, PDA の順であった。この順序は、単位面積あたりの菌糸密度の高さの順と一致した。

BLB の照射と培養菌叢面との距離との関係は、各種培地とも 10 cm 12 時間で最大の形成数を示し、50 cm 12 時間で各培地とも最低の値を示した (Table 4)。

## 2. キノコ状菌体の形成過程

## (1) キノコ状菌体形成

培養菌叢面に BLB を照射しながら経時的に光顕観察を行った結果、キノコ状菌体の形成過程は大別して3段階に分けられた。

第1段階は一部の菌糸で分枝が生じてくる時期で、BLB 照射後5~9時間で菌糸の一部から分枝が始まり2~3回の分枝が観察される時期である (Fig. 3, 4, 5)。

第2段階は BLB 照射開始後まず10~12時間後にキノコ状菌体の原基と思われる小さな塊状のものが認められた (Fig. 6, 7, 8, 9)。そしてこの塊状の菌糸体は時間の経過とともに、分枝をくりかえして、徐々に大形となり、菌糸間が密になり、14~16時間後では60~70  $\mu$ m の大きさの、いわゆるキノコ状菌体と認められるような形態を呈する時期である (Fig. 10, 11)。

第3段階は、第2段階でみられたキノコ状菌体がい

Table 4. Effect of the irradiation distance from BLB to the surface of culture on the number of mushroom-like bodies

Media	Test No.	Distance from BLB (cm)				
		10	20	30	40	50
YPDA-2	1	1084	512	644	216	36
	2	1464	704	416	235	49
	3	1076	808	492	185	30
	Ave.	1208	674.6	517.3	212	38.3
YPDA-1	1	1208	700	568	252	40
	2	1932	836	660	380	65
	3	1232	832	568	218	68
	Ave.	1457.3	789.3	598.6	283.3	57.6
P D A	1	1100	464	150	53	12
	2	672	219	151	59	7
	3	916	520	220	38	19
	Ave.	896	401	173.6	50	12.6

に発達して肉眼で認められる位の大きさ(90~100 $\mu$ m)になる時期である (Fig. 12, 13). この時期は, BLB 照射後 24~38 時間であった.

キノコ状菌体形成の速度は菌叢の部位によって異なり, また分枝を始めた菌糸が, すべてキノコ状菌体になるとは限らず, 脱分化してしまう場合も多く観察された.

#### (2) 切片観察による球形粒子の形成過程

BLB 照射後 5 日目のキノコ状菌体を切断してみると (Fig. 14, 15), その表層は, 葉組織にみられる柵状組織に似たほぼ長方形の細胞が一層あるいは二層に並んでいるのが認められた. この表層部分の細胞の大きさは平均  $2.6 \times 6.3 \mu\text{m}$  であった. 内部は海綿状組織に似て, 間隙があり, 不斉形で大きさ  $3.4 \sim 5.4 \mu\text{m} \times 5.4 \sim 12 \mu\text{m}$  の細胞から成っていた.

BLB 照射後 7 日目ではキノコ状菌体は照射後 5 日目のものと特に変わった点は認められなかったが, 表層部分の一部の細胞では,  $2.6 \times 9.4 \mu\text{m}$  と若干長くなったものが観察された (Fig. 16, 17).

BLB 照射後 8 日目ではキノコ状菌体は, 表層部分の細胞が主に長軸方向に分裂したと思われる様相を呈し, その先端部の細胞に径約  $1.9 \mu\text{m}$  の球形あるいは, 約  $1.9 \times 2.5 \mu\text{m}$  の紡錐状または徳利状の細胞が観察された (Fig. 18, 19). また, 内部組織の一部で細胞内容物が消失したと思われる細胞が認められた (Fig. 18).

BLB 照射後 9 日目では表層細胞の横軸方向の分裂も見られ先の細くなった紡錐状細胞あるいは徳利状細胞の先端部に球形粒子 (約  $1.7 \mu\text{m}$ ) が付着したと思われるような例が観察された (Fig. 20, 21, 22).

BLB 照射後 10 日目ではキノコ状菌体は, 概して細胞内容物の欠如がみられ, 全体的に扁平な形になっているのが観察された (Fig. 23).

BLB 照射後 11 日目ではキノコ状菌体の表面に球形粒子が層をなし一つの紡錐状細胞あるいは徳利状細胞に球形粒子が連って付着しているものも観察された (Fig. 24, 25, 26). また, 照射 11 日目以降のキノコ状菌体の表面には, うすい膜状のもので被われているのが認められた (Table 25, 27).

BLB 照射後 12 日目ではキノコ状菌体は, 全体としてかなり扁平な形となり内部組織の細胞の数の減少がみられた (Fig. 27, 28, 29).

って刺激をうけ特に近紫外部光 (BLB) により促進されることが確かめられた. BLB 照射はキノコ状菌体の形成数に影響をおよぼすが, とくに BLB の間欠照射は, その連続照射に比較してより多くのキノコ状菌体を形成した. このことはキノコ状菌体の形成には, 連続照射よりも短い暗期が刺激となり, 形成数の増加に影響をおよぼしたものと考えられる.

また, 実験 3 で示したように, ある一定の BLB 照射時間 (1 時間の前照射) の後の暗期 (0.5, 1, 2, 3 および 6 時間) とそれに続く BLB 2 時間の照射 (後照射) でもキノコ状菌体の形成が誘起された. このことは, これまでキノコ状菌体の形成には, ガラス室内の自然光下で最低 6 時間, BLB 照射下で 24 時間を必要とする *in vitro* での実験結果<sup>13)</sup> に比較して, ごくわずかの時間で形成されることが明らかになった. すなわち長時間連続照射しなくても短時間の暗期があれば, キノコ状菌体の形成を促進することを示唆しているように思われる. さらに実験 3 において, 暗期が 9 時間になると対照区に比較して, キノコ状菌体の形成数が少なくなった. これは当然キノコ状菌体になるべきイニシャルがあまり暗期が長いために脱分化を起こした結果と思われる. これは BLB 照射時間, いわゆる前照射が短い時に起こる現象で BLB 照射時間が長くなると, 逆に長い暗期を経ることによって, キノコ状菌体の形成や熟成が促進されるように思われる. 自然界における本菌のキノコ状菌体の形成は, 自然光や葉の栄養状態などの種々な組合せによって起こるものと考えられるが, それらの一つとして自然光の中に含まれている近紫外部光の効果が, 夜間の暗期との組合せによって, 顕著に作用して, より多くのキノコ状菌体の形成に促進的に作用する可能性が本実験の結果から示唆された.

野中ら<sup>14)</sup> は, PDA 以外の 8 種の培地でキノコ状菌体の形成を試みたが PDA だけでその形成を認めている. 本実験では PDA のほか野中らの使用しなかった酵母とペプトンを含有する培地を使用した. YPDA-1, 2 いずれの培地でも PDA よりキノコ状菌体の形成数が多かった. YPDA-1, 2 における本菌の菌糸の伸長は PDA より若干劣るが菌糸の生育状態からみると, 菌叢密度が PDA より高かった. このことがキノコ状菌体形成に有利になった一因とも思われる. なお, 予備実験では粉末酵母エキス, ポリペプトンの組合せを, それぞれ 2 g から 0.5 g まで, 0.5 g きざみで, 互いに変更して作った培地を用いて行った結果, 今回使用した YPDA-1, 2 の処方でも最も良く生育した. こ

#### 考 察

チャ輪紋葉枯病菌のキノコ状菌体の誘起は, 光によ

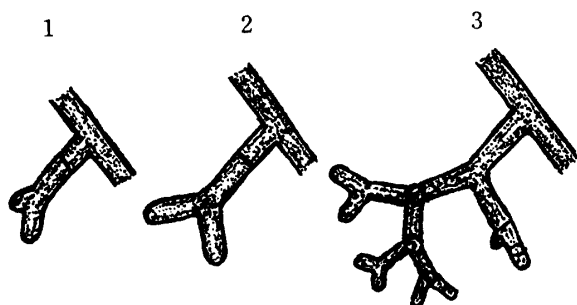


Fig. 2. Illustration of the ramification process of mycelium.

の原因として粉末酵母エキスやポリペプトンに含まれるアミノ酸などの影響をも考慮しなければならないが、主として培地の C/N 比が本菌の生育に対して影響をおよぼしたものと考えられる<sup>2)</sup>。

次にキノコ状菌体の形成過程について経時的に顕微鏡にて観察した結果、その形成過程の初期段階は模式図 (Fig. 2) で示したように、1→2→3 と菌糸の一部が分枝をくりかえし、やがてキノコ状菌体のイニシアルができ、これが原基となりキノコ状菌体の完成へと進んでゆき、1個の成熟したキノコ状菌体となると思われる。このような分枝方法は Townsend ら<sup>20)</sup> が菌核の形成で述べている terminal type の分枝に相当すると考えられた。しかし菌核とキノコ状菌体との差異は、キノコ状菌体は成熟と共に黒変しタール状を呈して、その表面に球形粒子を無数に作ることである。

切片観察により得られた結果を整理すれば、形成直後のキノコ状菌体は、外観がいわゆるキノコ状であり内部は、細長い細胞が密に並んだ表層部分の細胞層と不定形の細胞からなる内部組織より構成されていた。キノコ状菌体形成後の内部構造の変化については、時間の経過とともに表層部分の細胞が長軸方向や短軸方向に分裂して、その外側に紡錘状あるいは徳利状の細胞が多数見られ、その先端部に球形粒子が認められるようになり、最終的には、キノコ状菌体の表面に球形粒子の層が形成された。時には球形粒子は紡錘状細胞あるいは徳利状細胞の先端に数個連鎖状になったものも観察された。この紡錘状細胞あるいは徳利状細胞は担子菌に見られる前菌糸に似た形で球形粒子は小生子に酷似していた。しかしながら小生子の形成には、比較的規則性があるようで<sup>10)</sup>、本菌の球形粒子の形成法とはかなり異なるようである。しかしこの細胞が球形粒子の形成器官であることは間違いないと思われる。

以上述べた結果から従来菌糸塊と仮称されていたも

のは、最初は菌糸であったものが変化し、最終的には、菌糸以外に孢子様の球形粒子を多数含んだ構造物であることが明らかになった。また最外層は膜様物質で被われていることが確かめられ、これがタール状の物質であることが示唆された。以上の観察結果より本器官を菌糸塊と呼ぶよりは、その外形より単にキノコ状菌体と呼ぶのが無難であるように思われた。この器官については、本菌によるツバキ、サザンカの輪紋葉枯病や<sup>18,19)</sup>、ミヅキ類の輪紋葉枯病で<sup>9)</sup>、キノコ状菌体の名称で報告されているが、この菌体の内部構造を明らかにしたのは、本報告以前には見られない。

以上の結果より本菌の分類学的同定を試みたが、位置づけを行うには、いまだ不明の点が多くさらに詳細な実験を行う必要がある。とりわけ生態的には孢子であろうと思われる球形粒子の発芽試験や他の繁殖体(孢子や菌核など)を見つける必要があると思われる。本病の病徴に酷似した病害として *Cristulariella moricola* によるクワ、エノキの環紋葉枯病<sup>4,17)</sup>、*C. pyramidalis* によるサルスベリ、ペカン、ネグンドカエデの環紋葉枯病<sup>5,11,21)</sup> および *C. sp.* によるウメ環紋葉枯病<sup>3)</sup> が報告されている。これは本菌の菌叢や菌糸体に類似したところも認められるが、本菌がキノコ状菌体を形成するのに対して、3種の *Cristulariella* はピラミッド状の担子体 (sporophore) を形成するという特徴に差異が認められ明らかに別種と考えられる。なお本病の英文としては環紋葉枯病 (zonate leafspot) と区別するために zonate blight を使用した。

## 要 約

本報告はチャ輪紋葉枯病菌の培地上におけるキノコ状菌体形成に対する近紫外部光 (BLB) の影響とその形成過程を経時的に観察したものである。

1. 本菌のキノコ状菌体形成に対する BLB 間欠照射は連続照射に比較して、より多くのキノコ状菌体の形成を認めた。間欠照射とは、BLB 30 秒照射 20 秒暗期を 1 サイクルとする照射のことである。

2. BLB 前照射 1 時間と後照射 2 時間の間に暗黒処理 (0.5, 1, 3, 6 および 9 時間) をしたところ、6 時間までは連続照射に比べ多くのキノコ状菌体を形成した。しかし 9 時間では暗処理効果が認められなかった。

3. 本菌の培地上における菌糸の伸長は PDA で最も伸長が良く、つぎに伸びの良なのが、YPDA-1 で、つぎが YPDA-2 であった。菌叢の厚みや菌糸密度の点から観察すると YPDA が PDA より総合的にすぐ

れた培地であった。

4. BLB 照射下における各培地でのキノコ状菌体の形成数は、YPDA-1 が最も多く、その次が YPDA-2 で、つぎが PDA の順であった。BLB の照射距離 (10, 20, 30, 40 および 50 cm) とキノコ状菌体の形成数との関係は、10 cm が最大で 50 cm が最低の値を示した。

5. キノコ状菌体の形成過程を経時的に顕微鏡観察すると、まず始めに菌糸の一部が分枝をくりかえし、キノコ状菌体のイニシャルとなり、やがてキノコ状菌体の原基様の塊となり、それが分枝をくりかえし大形となり、キノコ状菌体の形成へと進む。ここで生じたキノコ状菌体は BLB 照射後 24~38 時間で一応完成したが、いまだ未熟で完成するにはさらに 3~4 日かかった。

6. 成熟したキノコ状菌体の切片観察によると、その内部構造は表層部分の組織と内部組織より構成され内部組織は菌糸の形態変化を起こした結果生じたものと考えられる。成熟したキノコ状菌体形成後は時間の経過とともに表層部分の細胞が長軸方向あるいは短軸方向に分裂し、その上に紡錘状ないし徳利状の細胞が多数形成され、その先端部に球形粒子が認められるようになり、最終的には、キノコ状菌体の表面に球形粒子の層が形成された。これらの粒子はキノコ状菌体の成熟の 4~5 日目頃から形成された。

**謝辞** 本実験を行うにあたり、鹿児島県茶業試験場野中寿之主任研究員より病原菌の分離株を分与して戴き実験に供した。記して感謝の意を表する。

**付記** 植原一雄元教授は昭和 58 年 8 月 11 日死去しました。

## 文 献

- 1) Bergquist, R. R., Horst, R. K. and Lorbeer, J. W.: Influence of polychromatic light, carbohydrate source and pH on conidiation of *Botryotinia squamosa*. *Phytopathology*, **62**, 889-895 (1972)
- 2) Chet, L. and Henis, Y.: Sclerotial morphogenesis in fungi. *Ann. Rev. Phytopath.*, **13**, 169-192 (1975)
- 3) 原田幸雄・鷲見貞夫・村中謙次郎: ウメ環紋葉枯病菌 *Cristulariella* sp. の完全時代. 弘前大農学術報告, **36**, 12-23 (1981)
- 4) Hino, I.: Kinkakubyo no kogata-bunseihosi, tokuni sono bunseihosizidai ni tuite. *Bull. Miyazaki Coll. Agric. Forest.*, **1**, 67-90 (1929)
- 5) 平野和弥・飯田 格: *Cristulariella pyramidalis* Waterman and Marshall によるサルスベリの環紋葉枯病 (新称). 千葉大園芸学術報告, **23**, 53-61 (1975)
- 6) 本田雄一・坂本正幸: *Helminthosporium oryzae* における胞子形成の抑制作用について. 日植病報, **34**, 328-335 (1968)
- 7) Honda, Y. and Yunoki, T.: Control of sclerotinia disease of greenhouse eggplant and cucumber by inhibition of development of apothecia. *Plant Dis. Reptr.*, **61**, 1036-1040 (1977)
- 8) Honda, Y., Toki, T. and Yunoki, T.: Control of gray mold of greenhouse cucumber and tomato by inhibiting sporulation. *Plant Dis. Reptr.*, **61**, 1041-1044 (1977)
- 9) 堀江博道: ミズキ類の輪紋葉枯 (新称). 日植病報, **44**, 376 (1978)
- 10) Ingold, C. T.: The biology of fungi. p. 70-99, Hutchinson Educational Ltd., London (1963)
- 11) Latham, A. J.: Zonate leafspot of pecan caused by *Cristulariella pyramidalis*. *Phytopathology*, **59**, 103-107 (1969)
- 12) Leach, C. M.: The sporulation of *Helminthosporium oryzae* as affected by exposure to near ultraviolet radiation and dark periods. *Can. J. Botany*, **39**, 705-715 (1961)
- 13) 野中寿之・植原一雄: チャの新病害・輪紋葉枯病の発生と病原菌の形状・性質. 茶業研究報告, **46**, 38-47 (1977)
- 14) 野中寿之・植原一雄: チャ輪紋葉枯病菌の生態, 特に菌糸塊 (仮称) の形成と越冬. 茶業研究報告, **47**, 24-32 (1977)
- 15) 大森 薫・中島三夫: ナシ黒斑病菌の胞子形成に及ぼす光の影響. 日植病報, **36**, 11-16 (1970)
- 16) 大森 薫・中島三夫: イネいもち病菌の胞子形成に及ぼす光の影響. 日植病報, **36**, 319-324 (1970)
- 17) 周藤靖雄: 島根県における広葉樹およびつる性植物の環紋葉枯病について. 日植病報, **42**, 353 (1976)
- 18) 周藤靖雄: ツバキ輪紋葉枯病 (新称). 森林防疫, **26**, 49-51 (1977)
- 19) 周藤靖雄: サザンカの輪紋葉枯病 (新称). 森林防疫, **27**, 167-169 (1978)
- 20) Townsend, B. B. and Willetts, H. J.: The development of sclerotia of certain fungi. *Brit. Mycol. Soc. Trans.*, **37**, 213-221 (1954)
- 21) Waterman, A. M. and Marshall, R. P.: A new species of *Cristulariella* associated with a leaf spot of maple. *Mycologia*, **39**, 690-698 (1947)

### Summary

The present paper shows the results of experiments carried out concerning the effect of near ultraviolet light (BLB) irradiation on the formation of mushroom-like bodies as well as their formation process of pathogenic fungus of "Zonate Blight" in tea plant, *Thea sinensis* L.

The results obtained indicate that,

1. By the intermittent irradiation of BLB, the number of mushroom-like bodies formed in culture plate increased in contrast to that of the continuously irradiated ones.

2. The number of mushroom-like bodies and their initials in culture plate increased in contrast to that in case of the continuous irradiation, under the condition that the treatments of some dark period (0.5, 1, 3 and 6 hours) were applied to it.

3. The growth of mycelium was best in PDA medium, next in YPDA-1, and then YPDA-2. However, mycelial mat was thicker and denser in both YPDAs than in PDA.

4. The number of mushroom-like bodies formed under BLB irradiation was best in YPDA-1, next YPDA-2, and then PDA. Effect of BLB irradiation-distance on the formation of mushroom-like bodies was maximum at 10 cm distance and minimum at 50 cm one.

5. After repeated ramification of mycelium, the initial and a rudimentary organ of mushroom-like body was formed and then it developed into mushroom-like body itself, 3-4 days after BLB irradiation.

6. The inner structure of mushroom-like body consisted of the epidermal tissue and inner tissue. After the formation of mushroom-like body, the cells of epidermal tissue became divided longitudinally and horizontally with the lapse of time, and then many spindle- or bottle-shaped cells were formed on their tops. Furthermore, spherical particles like spores were observed on them. The formation of spherical particles was brought forth 4-5 days after the maturation of mushroom-like body.



**Explanation of Figures**

- [Fig. 3-13.] Light micrographs of the formation-process of mushroom-like bodies under BLB. Bar=35  $\mu$ m.
- Fig. 3. The ramification of mycelia (arrow) was observed. 6 hours after BLB irradiation.  $\times 280$ .
- Fig. 4. Ditto. 7 hours.  $\times 280$ .
- Fig. 5. Ditto. 9 hours.  $\times 280$ .
- Fig. 6. Mass (arrow) of mycelia ramified repeatedly. This was considered to be the initial of mushroom-like body. 10 hours.  $\times 280$ .
- Fig. 7. Ditto. 11 hours.  $\times 280$ .
- Fig. 8. Ditto. 12 hours.  $\times 280$ .
- Fig. 9. The initial of mushroom-like body was ramified bifurcately. 12 hours.  $\times 500$ .
- Fig. 10. The initial of mushroom-like body at 14 hours after BLB irradiation. This was considered to be the rudimentary organ of mushroom-like body.  $\times 280$ .
- Fig. 11. Ditto. 16 hours.  $\times 280$ .
- Fig. 12. Primary mushroom-like body perfected immediately. 24 hours.  $\times 280$ .
- Fig. 13. Ditto. 36 hours.  $\times 280$ .
- [Fig. 14-29.] Light micrographs of vertical section of mushroom-like bodies on the respective day after BLB irradiation. Bar=20  $\mu$ m.
- Fig. 14. Light micrograph on 5th day. The inner structure of mushroom-like body consisted of the epidermal and the inner tissues. They were similar to the palisade and the spongy parenchyma, respectively.  $\times 500$ .
- Fig. 15. Ditto. High magnification of Fig. 14.  $\times 1,000$ .
- Fig. 16. Light micrograph on 7th day. The cells of epidermal tissue were longer than those of 5th day.  $\times 500$ .
- Fig. 17. Ditto. High magnification of Fig. 16.  $\times 1,000$ .
- Fig. 18. Light micrograph on 8th day. Septa (arrows) were observed longitudinally and horizontally in the cells of epidermal tissue. Then, spindle- or bottle-like cells were observed on the surface of the mushroom like body.  $\times 500$ .
- Fig. 19. Ditto. High magnification of Fig. 18.  $\times 1,000$ .
- Fig. 20. Light micrograph on 9th day.  $\times 500$ .
- Fig. 21. Ditto. High magnification of Fig. 20. Horizontal septa were distinguished in the cells of epidermal tissue. Spherical particles were observed on the spindle- or bottle-like cells (arrows)  $\times 1,000$ .
- Fig. 22. Ditto. High magnification of Fig. 21.  $\times 2,000$ .
- Fig. 23. Light micrograph on 10th day.  $\times 1,000$ .
- Fig. 24. Light micrograph on 11th day. Many spherical particles were observed and the density of the inner tissue was lower.  $\times 500$ .
- Fig. 25. Ditto. High magnification of Fig. 24. Membrane was observed on the surface of mushroom like body.  $\times 1,000$ .
- Fig. 26. Ditto. High magnification of Fig. 24. Spherical particles were observed to be like a chain (arrow).  $\times 2,000$ .
- Fig. 27. Light micrograph on 12th day. The whole shape of mushroom-like body altered flatly.  $\times 500$ .
- Fig. 28. High magnification of Fig. 27.  $\times 1,000$ .
- Fig. 29. High magnification of Fig. 28.  $\times 2,000$ .

