

茶の天狗巢病に関する研究

II. 罹病組織汁液による茶樹への各種の接種試験

植原一雄・野中寿之*・河鍋征人

Studies on Witches' Broom of Tea

II. Various Inoculation Tests to Tea with Crude Sap of Diseased Tissues of Tea

Kazuo UEHARA, Toshiyuki NONAKA and Yukito KAWANABE

(Laboratory of Plant Pathology)

1. 緒言

前報⁴⁾において、本病害におかされた茶樹の罹病組織汁液を健全茶樹に接種すると、数カ月後に新芽の肥大、わい化など本病特有の病徴が現われることを報告し、本病が汁液によって伝染することを明らかにした。この汁液接種試験の成功は、その結果自体に大きな意義があるのはもちろんであるが、実験法としての意義もまた大きく、本病害に関する知見がごくわずしか得られていない現状では、今後汁液接種試験に依存する度合いが非常に高いと思われる。したがって、まず最初に接種試験の方法について検討を加えることが必要であると考え、いくつかの実験を行なうとともに、この方法を用いて、本病害の生態あるいは病原に関するいくつかの実験を行なった。実験法に不馴れなため、計画の一部しか結果が得られなかったが、ここにその概要を報告する。

本研究を行なうにあたり、鹿児島大学農学部権藤道夫教授ならびに鹿児島県茶業試験場岡村克郎場長に御指導いただいた。記して感謝の意を表する。

2. 各実験に共通した材料と方法

接種用の供試茶樹は、通常の肥培管理によって圃場に栽培された3~4年生の“やぶきた”である。

接種用の罹病組織汁液は、鹿児島県肝付郡田代町の自然発病樹の罹病組織から調整した。すなわち罹病新梢およびえい瘤部の組織に重量比で倍量の殺菌水を加え、ブレンダーで磨砕したのち、ガーゼ数枚で濾過したものを供試汁液とした。特定の組織の汁液を用いた実験では、同じ組織のみを集め、上記と同様にして汁

液を作った。

接種は主として新梢の腋芽基部に針接種によって行なった。新梢の3~5番目の腋芽の基部附近の茎に、供試汁液を含ませた接種針（絹針10本を束ねたもの）を1mm前後の深さに数度突きさし、その部分を約5×15mmの大きさの供試汁液をしみこませた脱脂綿で巻き、その上をポリエチレンテープあるいはアルミフィルムで数回巻いて、脱脂綿が乾燥しにくいようにした。ポリエチレンテープあるいはアルミフィルムは2~4週間後に取り除いた。腋芽以外の部位への接種あるいは異なる方法での接種を行なった場合は、その実験の項で述べる。

接種は10~11月に行ない、接種された茶樹はその後通常の管理を行なった。翌年春新芽の伸長とともに病徴が現われるので、5月上旬の発病の状態をしらべた。接種数は各試験区50~160である。

3. 汁液接種の方法と発病との関係

より効果的な汁液接種の方法を知るために、罹病組織汁液を健全樹にいくつかの異なる方法で接種し、発病の状態をしらべた。

1. 材料と方法

供試茶樹には圃場に栽培した3年生の“やぶきた”を用い、供試汁液には罹病組織に倍量の殺菌水を加えてブレンダーで磨砕したのち、ガーゼで濾過したものをを用いた。その詳細は既述の通りである。

接種は次のようにして行なった。すなわち(1)新梢の腋芽基部に針接種を行ない、その部分を供試汁液をしみこませた脱脂綿の小片で巻き、その上をポリエチレンテープで覆った場合、(2)新梢の腋芽基部に針接種を行なったのち、その部分に供試汁液を筆で塗布した場合、(3)新梢の腋芽基部を供試汁液をしみこませた脱脂

* 鹿児島県茶業試験場

Table 1. Relationship between the methods of inoculation and the infestation, when crude sap of diseased tissues was inoculated to tea by various methods

Method inoculated	Date of inoculation	No. of inoculations	No. of infestations	Percent. of infestation
Base of axillary bud was inoculated by needle puncture, wrapped up in sanitary cotton containing the sap and covered in polyethylene tape	10.20	72	8	11.1
	10.22	162	34	21.0
Base of axillary bud was inoculated by needle puncture, and the section was daubed with the sap	10.20	51	4	7.8
Base of axillary bud was wrapped up in sanitary cotton containing the sap and covered in polyethylene tape	10.20	90	1	1.1
Base of axillary bud was injected with the sap by injection-needle	10.22	92	28	30.4
Tea was sprayed with the sap	10.20	—	3	—
Tea wounded by cudgel was sprayed with the sap	10.20	—	134	—

綿の小片で巻き、その上をポリエチレンテープで覆った場合、(4)新梢の腋芽基部に供試汁液を注射針で注入した場合、(5)殺菌水で3倍に希釈した供試汁液を茶樹全体に構型噴霧機で1株当たり約30 ml 散布した場合、(6)茶樹全体を棒ぎれでなぐって傷をつけたのち、(5)と同様に汁液を散布した場合の6通りである。ここで注射針による接種とは、汁液を入れた注射筒に1/4 mmの太さの注射針をつけ、針を腋芽基部附近の茎に斜めに約2 mmつきさし、圧力を加えて汁液を注入したものであるが、注入された汁液量はごく微量であった。針接種の方法は2の項で述べた通りである。

腋芽に接種した試験区では一区当たり50~160の芽を用い、汁液全面散布区では一区当たり20株の茶樹を用いた。接種は10月20日および22日に行ない、翌年5月に発病数を調査した。

2. 結果

接種された腋芽は、翌年春伸長をはじめるとともに異常をあらわし、5月上旬には肥大、わい化、変色などの典型的な病徴⁴⁾を示した。

各試験区の発病数は第1表に示す通りである。腋芽基部に針接種したのち、さらに汁液をしみこませた脱脂綿でつつみ、その上をポリエチレンテープで覆った試験区は、2回の実験ともに10%以上の発病率を示したが、針接種したのち、汁液を筆で塗布しただけの区では発病率がやや低下した。腋芽基部に傷つけることなく、たんに脱脂綿とポリエチレンテープで処理した区では接種個所90のうちわずかに1個の発病がみ

られただけであった。注射針による接種区は30%と、他の試験区に比べてはるかに高い発病率を示した。また茶樹全体に汁液を散布した試験区では、無傷散布区は発病芽数がわずかに3個であったが、附傷散布区は134個と、無傷区に比べて約40倍の発病芽数を示した。なお汁液を全面に散布した試験区では、茶樹の芽全体が被接種芽であり、これを表示することができなかった。

4. 汁液接種における茶樹の接種部位と発病との関係

罹病組織汁液を茶樹に接種する場合、その接種部位によって発病に差があるかどうかをしらべるためにこの実験を行なった。

1. 材料と方法

供試茶樹は圃場に栽培した3年生の“やぶきた”，供試汁液は罹病組織に水を加え、ブレンダーで磨砕したもので、その詳細は2の項で述べた通りである。

接種部位は新梢の3~5番目の腋芽基部、新梢の3~5番目の節間中央部、新梢を3~5番目の節間部で切断した切口部、新梢の3~5番目の葉の中肋、同様な葉を葉柄基部から切除した切口部、2、3年前に発生した太さ5 mm程度の枝の切口部、および幹の表面にメスで傷をつけた傷口部である。腋芽基部、節間部および葉の中肋への接種は、供試汁液を含ませた東状針で接種を行なったのち、汁液をしみこませた脱脂綿の小片で包み、その上をポリエチレンテープまたはア

Table 2. Relationship of the parts of inoculation to the infestation, when crude sap of diseased tissues was inoculated to tea

Part inoculated	Date of inoculation	No. of inoculations	No. of infestations	Percent. of infestation
Base of axillary bud of young shoot*	10.20	72	8	11.1
	10.21	166	14	8.4
	10.28	118	25	21.2
Inter-knot of young shoot*	10.20	56	3	5.4
	10.29	51	13	25.5
Section of young shoot**	10.20	61	8	13.1
Midrib of young leaf*	10.20	58	0	0
Section of young leaf**	10.20	56	0	0
Section of petiole of young leaf**	10.20	103	5	4.9
	10.29	58	6	10.3
Section of branch, 2-3 years old**	10.20	65	11	16.9
Wounded part of trunk, about 1 cm in diameter	10.20	70	3	4.3

* Inoculated with the sap by needle-puncture, wrapped up in a sanitary cotton containing the sap and covered in polyethylene tape

** Wrapped up in sanitary cotton containing the sap and covered in polyethylene tape

ルミフィルムで被覆した。また切断した切口とメスの傷口への接種は、切断または附傷直後にその部分に汁液をしみこませた脱脂綿の小片をおき、その上をポリエチレンテープまたはアルミフィルムで被覆した。

接種個数は各試験区 50~160 である。接種は 10 月 20, 21, 28 および 29 日の 4 日間にわたって行ない、翌年 5 月に発病数を調査した。

2. 結 果

腋芽基部に接種したものでは、翌年 4~5 月にその腋芽に病徴があらわれた。また節間部あるいは切口部に接種したものでは、同じ頃、接種部位に近い芽に病徴があらわれた。各試験区の発病数は第 2 表に示す通りである。葉に接種した二つの試験区ではいずれも発病が全くみられなかったが、他の試験区ではすべての区に発病が認められた。

5. 部位の異なる罹病組織から得た数種の汁液を茶樹に接種した場合の発病率の差異

部位の異なる罹病組織、例えば古いえい瘤と肥大新梢とではどちらにより多くの病原体が存在するかをしらべたいと考え、数種の異なる組織を用いて汁液を作り、これらを健全茶樹に接種して、それぞれの発病率を調査した。

1. 材料と方法

供試茶樹は圃場に栽培した 3 年生の“やぶきた”である。また供試汁液はつぎのようにして作った。すなわち(1)2~3 年前に出来た古いえい瘤とそれに続いた木化した肥大茎、(2)約 6 カ月前に発生した肥大新梢の基部近くの硬くなった茎、(3)同じ肥大新梢の先端部附近のやわらかい茎、(4)中肋が肥大した若い葉、(5)罹病茶樹の外見が健全な新梢、(6)罹病樹に接して生育している健全樹の新梢、(7)1 年前罹病組織汁液を接種することによって発病した茶樹の肥大新梢、の 7 種類の組織を田代町の茶樹から採集し、それぞれに倍量の殺菌水を加えてブレンダーで磨砕した。

接種は、腋芽基部に針接種を行ない、その部分を汁液を含ませた脱脂綿でつつみ、さらにその上をポリエチレンテープでまくことによって行なった。汁液の作り方および接種法の詳細は 2 の項で述べた通りである。接種は 10 月 22 日に行ない、翌年 5 月に発病の状態をしらべた。

2. 結 果

結果は第 3 表に示す通りである。約 6 カ月前に発生した肥大新梢では基部、先端部ともに高い発病率を示したが、古いえい瘤とその近くの肥大茎をませたものおよび中肋の肥大した若い葉では発病率が非常に低く汁液接種により発病した肥大新梢区はその中間の発病率を示した。また罹病樹の健全新梢と罹病樹に接した

Table 3. Infestations by the crude sap made from various diseased tissues obtained from the different parts of tea, when the sap was inoculated to tea

Tissue tested	No. of inoculations	No. of infestations	Percent. of infestation
Whole of diseased shoot	162	34	21.0
Old gall and hypertrophied shoot	136	3	2.2
Lower-half-stalk of young shoot, hyper-trophied	114	55	48.2
Upper-half-stalk of young shoot, hypertrophied	137	43	31.4
Young leaf haven hypertrophied midrib	144	11	7.6
Young hypertrophied shoot, infected by artificial inoculation	52	9	17.3
Healthy young-shoot of diseased plant	147	0	0
Young shoot of healthy tea grown among diseased tea	109	0	0

Inoculation were carried out by needle-puncture method : inoculated by needle puncture, wrapped up in a sanitary cotton containing the sap and covered in a polyethylene tape

健全樹の新梢では発病が全くみられなかった。

6. 汁液接種における接種時期と発病との関係

自然感染がどの時期におこりやすいかを推測するとともに、汁液接種試験の適期をも知りたいと考え、接種の時期と発病との関係をしらべた。

1. 材料と方法

供試茶樹には圃場に栽培した3～4年生の“やぶきた”を用い、供試汁液は罹病組織に殺菌水を加えてブレンダーで磨砕して得た。接種の方法は、針接種を行なったのち、汁液を含ませた脱脂綿でつつみ、その上をポリエチレンテープで被覆した。接種の時期は42年10月から45年4月まででその間に1～数カ月おきに行なった。

2. 結果

結果は第4表に示す通りである。42年10月、43年10～11月、44年10～12月と、各年とも秋に接種した場合には大体20%以上の発病率を示し、なかでも43年11月および44年11～12月の接種では60%以上の高い発病率を示した例がいくつかある。これに対し各年とも5月から8月までの間に接種した場合には発病した例がみられなかった。第4表の結果を月別に整理し直したものが第5表であり、さらに月別の発病率をグラフに示したものが第1図である。第5表および第1図から明らかなように、12月接種が発病率が最も高く、11月、10月と順次低下し、1月接種は10月接種とほぼ同程度の数値を示した。また3、4および9月

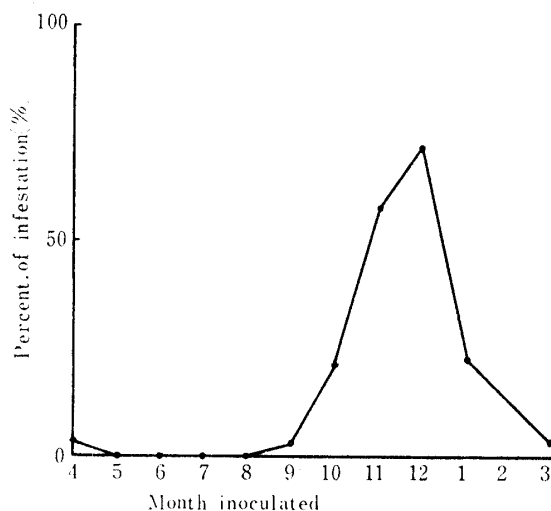


Fig. 1 Relation between date of inoculation and infestation

接種では低率であるが若干の発病がみられた。

最初に病徴が現われたのは、9月から3月までの間に接種したものでは4～5月であり、4月接種の場合だけが若干おくれて6～7月に現われた。したがって接種から病徴発現までの期間は、3月接種のものが最も短かくて1～2カ月、9月接種のものが最も長くて7～8カ月であった。5～8月接種では接種後1カ年を経過した後においても発病は全くみられなかった。

また第4表の43年10月、44年10月および44年11月の接種では、同じ月でも接種した日によって発病率にかなりの変動がみられた。

Table 4. Effect of the season of year of artificial inoculation on the infestation, when crude sap of diseased tissues was inoculated

Date of inoculation	No. of inoculations	No. of infestations	Percent. of infestation	Time appeared symptom	Incubation period (Months)
October, 18, 1967	80	21	26.3	May-June, 1968	7
May, 10, 1968	20	0	0		
July, 17, 1968	50	0	0		
October, 21, 1968	103	6	5.8	May, 1969	6-7
October, 24, 1968	83	22	26.5		
November, 1, 1968	46	32	69.6		
April, 21, 1969	100	4	4.0	July, 1969	3
June, 9, 1969	100	0	0		
June, 10, 1969	100	0	0		
June, 11, 1969	100	0	0		
June, 12, 1969	100	0	0		
June, 13, 1969	100	0	0		
July, 14, 1969	100	0	0		
August, 23, 1969	100	0	0		
September, 26, 1969	105	0	0		
October, 20, 1969	72	8	11.1	April-May, 1970	6-7
October, 21, 1969	166	16	9.6		
October, 22, 1969	162	34	21.0		
October, 23, 1969	70	29	41.4		
October, 24, 1969	79	37	46.8		
October, 28, 1969	118	26	22.0		
November, 19, 1969	114	72	63.2	April-May, 1970	5-6
November, 24, 1969	87	17	19.5		
November, 26, 1969	68	63	92.6		
November, 28, 1969	77	40	51.9		
December, 11, 1969	76	54	71.1		
January, 22, 1970	44	10	22.8		
March, 9, 1970	77	3	3.9		
April, 3, 1970	58	1	1.7	June, 1970	2-3

Inoculations were carried out by needle-puncture-method : inoculated with the sap by needle-puncture-method : inoculated by needle-puncture, wrapped up in a sanitary cotton containing the sap and covered in a polyethylene tape

Table 5. Average percentage of infested buds in every month inoculated, when the buds were inoculated with crude sap of diseased tissues (The results shown Table 4 were re-arranged)

Month inoculated	No. of inoculations	No. of infestations	Perent. of infestaion	Time appeared symptom	Incubation period (Months)
January	44	10	22.8	Apr.-May	3-4
February	—	—	—		
March	77	3	3.9	Apr.-May	1-2
April	158	5	3.2	Jun.-Jul.	2-3
May	20	0	0		
June	500	0	0		
July	150	0	0		
August	100	0	0		
September	105	3	2.9	Jul.	10
October	933	199	21.3	Apr.-May	6-7
November	392	124	57.1	Apr.-May	5-6
December	76	54	71.1	Apr.-May	4-5

Table 6. Pathogenicity of crude sap made from diseased tissues and treated with various methods, when the sap was inoculated to tea

Sap inoculated	Date of inoculation	No. of inoculations	No. of infestations	Percent. of infestation
Original sap	10. 21	166	16	9.6
	10. 22	162	34	21.0
	10. 23	70	29	41.4
	10. 28	118	25	21.2
	11. 24	87	17	19.5
Filtrate of Seitz filter	10. 21	120	0	0
	10. 24	96	0	0
Filtrate of Millipore filter (0.45 μ)	10. 24	36	0	0
	10. 28	103	0	0
Supernatant of centrifuge (3000rpm, 30min.)	11. 24	78	9	11.5
Precipitate of centrifuge (3000rpm, 30min.)	10. 28	50	5	10.0
Sap heated at 75-80°C, 20min. 85-90°C, 20min. 100°C, 20min.	10. 28	101	0	0
	10. 21	103	0	0
	11. 24	62	0	0
Sap added with Griseofulvin (500ppm)	10. 21	118	6	5.1
Sap added with HgCl ₂ (1000ppm)	10. 21	123	0	0

Inoculations were carried out by needle-puncture-method : inoculated with the sap by needle-puncture-method : inoculated by needle puncture, wrapped up in a sanitary cotton containing the sap and covered in a polyethylene tape

7. 各種の処理を施した罹病組織汁液による接種試験

罹病組織汁液中に存在すると思われる病原体の性状、とくにその大きさ、耐熱性などをしらべるために、汁液をいろいろなフィルターを通し、あるいは熱処理を行なったもの、健全樹の新梢に接種して、発病の状態をしらべた。

1. 材料と方法

供試茶樹は圃場に栽培した3年生の“やぶきた”である。供試汁液は罹病組織から常法にしたがって作った。この汁液からつぎの各種の液、すなわち(1)汁液をザイツ濾過器(フィルター: 東洋濾紙 No. 85 滅菌用)で濾過した液、(2)汁液をミリポアフィルター(フィルターのポアサイズ 0.45 μ)で濾過した液、(3)汁液を 3000 rpm, 30 分間遠心沈澱した上澄、(4)汁液を 3000 rpm, 30 分間遠心沈澱した沈澱部分に約倍量の殺菌水を加えて再浮遊させたもの、(5)汁液を 100°C で 20 分、85~90°C で 20 分および 75~80°C で 20 分間加熱したもの、および(6)汁液に昇汞を 1000 ppm の

割合いで加えたもの、の各液を作った。これらの液は常法にしたがって針接種を行ない、汁液を含んだ脱脂綿でつつみ、その上をポリエチレンテープで被覆した。接種日は各処理液によって必ずしも同一ではないので、各接種日毎に罹病組織汁液を原液のまま同じ方法で接種した区を設け、対照とした。接種は 10~11 月に行ない、翌年 5 月に調査した。

2. 結 果

結果は第 6 表に示す通りである。対照として準備した罹病組織汁液の原液を接種した区では、5 回の接種ともかなり高い発病率を示した。処理区では、3000 rpm で遠沈した上澄および沈澱の両区がいずれも約 10% の発病率を示したが、他の試験区では発病が全くみられなかった。

8. 罹病組織汁液の稀釈限界試験

罹病組織汁液を稀釈した場合その発病力がどのように変わるかをしらべた。

1. 材料と方法

常法によって作った罹病組織汁液を原液とし、これ

Table 7. Effect of the dilution of crude sap made from diseased tissues to the infestations when the sap was diluted with distilled water and inoculated to tea

Dilution	No. of inoculations	No. of infestations	Percent. of infestation
1 : 1	162	34	21.0
1 : 5	104	12	11.5
1 : 10	113	20	17.7
1 : 100	162	20	12.3
Distilled water	103	0	0

Inoculations were carried out by needle-puncture-method: inoculated with the sap by needle-puncture-method: inoculated by needle-puncture, wrapped up in a sanitary cotton containing the sap and covered in a polyethylene tape

を殺菌水で5倍、10倍および100倍に希釈した。これらの液を圃場に栽培した“やぶきた”に常法によって針接種した。接種は10月22日に行ない、翌年5月に発病数を調査した。

2. 結果

結果は第7表に示す通りである。殺菌水を接種した区では発病は全くみられなかったが、試験区ではいずれも10%以上の発病率を示し、とくに原液区では21%と最も高い発病率を示した。

9. 挿穂に対する汁液接種試験

今までの汁液接種試験はすべて圃場に栽培した茶樹の新梢に接種を行なったが、立木に対する接種試験には実験上不利な点が多いので、これに代るものとして、切断した新梢に接種したのち、この新梢を挿穂として挿木を行ない、発病の状況を調査することができ

るのではないかと考え、試験を行なった。

1. 材料と方法

圃場に栽培した“やぶきた”の新梢から常法にしたがって挿穂を作った。すなわち隣り合った二枚の葉を残して、上方は上位葉のすぐ上の部分を、下方は下位葉の下2cm位のところを切断した。この挿穂の腋芽に、常法によって作った罹病組織汁液を接種した。接種は(1)供試汁液を含ませた束状針で接種し、その上を汁液をしみこませた脱脂綿で巻いた場合、(2)同様に針接種したのち、その部分に汁液を塗布した場合、(3)腋芽基部に1/4mmの注射針で汁液を注入した場合、(4)挿穂の下方切口を汁液をしみこませた脱脂綿でつつんだ場合、(5)同切口部に汁液を塗布した場合および(6)同切口部を汁液中に4日間浸漬した場合、の6つの方法で行なった。このようにして接種した挿穂は、各試験区とも温室にしたビニール袋に入れ、25°Cの定温器

Table 8. Inoculation of crude sap made from diseased tissues to the cuttings of tea

Method inoculated	No. of seedlings inoculated	No. of seedlings infested	Percent. of seedlings infested
Inoculated with needle at axillary bud and winded with cotton containing the sap	55 37	0 3	0 8.1
Inoculated with needle at axillary bud and daubed with the sap	61	1	1.6
Covered in cotton, containing the sap at the section	52	0	0
Daubed the section with the sap	42	0	0
Dipped the section in the sap	56	0	0
Injected the sap to the base of axillary bud by injection-needle	76	7	9.2
Non-Inoculated	88	0	0

Cuttings were planted soon after the inoculations

Table 9. Relationship between temperature and the infestation, when the cuttings inoculated with crude sap were kept at various temperature for four days and planted

Temp.	No. of seedlings inoculated	No. of seedlings taken root ^{a)}	No. of seedlings infested ^{b)}	*Percent. of seedlings infested ^{c)}
5—7 °C	100	92	26	28.3
10	100	91	31	34.1
15	100	84	11	13.1
20	100	80	7	8.8
25	100	95	11	11.6
30	100	54	0	0
35	100	72	0	0
40	100	0	—	—

Inoculations were carried out by needle-puncture: inoculated with the sap by needle-puncture and wrapped up in a sanitary cotton containing the sap, and kept in a moist chamber.

* $c = b/a \times 100$

中に5日間保った。その後、クロールピクリンで土壌消毒した苗床に、下位葉の基部が土に接する程度に挿した。苗床は黒色のクレモナ寒冷紗とビニールでトンネル状に被覆し、調査時までそのまま放置した。接種は10月23日、挿木は10月28日に行ない、翌年5月に発病の状態を調査した。

2. 結果

結果は第8表に示す通りである。針接種、脱脂綿被覆区と注射針接種区では8～9%の発病率を示したが、その他の試験区では針接種、汁液塗布区でわずかに1個体発病した以外は、全く発病がみられなかった。

発病がみられた挿穂では、接種した腋芽が肥大、わい化し、色が淡赤色に変わるなど、本病の特徴的な病徴を示した。病徴発現の時期は、圃場の茶樹の新梢に接種した場合と同様腋芽が伸長を始めた5月上旬であった。

10. 汁液接種後の温度と発病との関係

6の実験において、罹病組織汁液を茶樹に接種した場合、9月～3月の間に接種したものに限って発病がみられた。この期間は比較的気温の低い時期である。このことから接種後の低温が発病に影響するのではないかと考えた。9の実験で、低率ではあるが挿穂によって汁液接種試験を行ないうる事が分かったが、ここではこの方法を用いて接種後の温度と発病との関係をしらべた。

1. 材料と方法

挿穂の腋芽基部に罹病組織汁液を針接種し、その上に汁液をしみこませた脱脂綿でまき、温室としたビニ

ール袋に入れ、5～7°、10°、15°、20°、25°、30°、35°および40°Cに4日間保った。その後直ちに苗床に挿し、ビニールトンネルを作って、翌春までそのまま放置した。接種は10月24日、挿木は10月28日に行ない、翌年5月に発病の状態を調査した。なお実験法の詳細は前項の実験と同様である。

2. 結果

結果は第9表に示す通りである。5～7°C区および10°C区では30%前後の発病率を示したが、15°、20°および25°Cの各区では明らかに発病率が低下し、30°C以上の区では発病が全くみられなかった。

11. 考察

前報までの実験において、本病におかされた茶樹の罹病組織汁液を健全樹に接種すると、本病特有の症状が現われることから、本病が汁液によって伝染することが明らかとなった。そこでこの汁液接種の方法について、より効果的でしかもより簡便な方法を知るために、若干の検討を加えるとともに、この接種法を用いて、本病害の生態あるいは病原を知るためのいくつかの実験を行なった。

まず最初に、接種方法と発病との関係についてしらべた(第1表)。この実験は、なるべく簡便な接種法を知るとともに、傷と感染との関係を明らかにしたいと考えて計画したものである。腋芽基部に針接種したのち、その部分を汁液を含ませた脱脂綿でつつみ、さらに乾燥を防ぐためにその上をポリエチレンテープでまいたものを標準区として、他の方法と比較したところ、標準区よりも高い発病率を示したのは注射針接種区だけであった。組織汁液を塗布しただけの区

もかなり高い発病率を示したが、この方法は乾燥、高温など外界の影響を直接うけやすい懸念が感じられるので、さらに検討を要するようと思われる。したがって本実験で試験をした方法の中では注射針接種が最も好ましく、ついで従来行なってきた絹針接種・脱脂綿・ポリエチレン被覆の方法がよいと考えられる。ただ注射針接種は操作が簡便である反面、注射針が組織片でつまりやすい難点がある。腋芽基部に傷をつけず、ただたんに汁液を含ませた脱脂綿でまいたものでは発病がほとんどみられず、また茶樹全体に汁液を散布した場合にも、傷をつけないものでは発病がほとんどみられなかったのに対し、傷をつけたものでは多くの発病がみられたことから、本病の伝染には傷が大きく関与するものと思われる。

つぎに汁液接種を行なう場合の接種部位と発病との関係についてしらべた(第2表)。その結果、葉への接種では発病がみられないこと、太い枝の切断部に汁液を塗布するとかなり高い頻度で発病がみられること、節間部への接種によっても発病がみられることなどがわかった。古い枝の傷口からも感染がおこるということは、整枝、中刈りなどの場合にも条件によっては十分感染が成立することを示している。また新梢の節間部に接種すると、そこからかなり離れた上方あるいは下方の芽に発病がみられることから、病原体は茶樹体内を移動すると考えられるが、上方の芽と下方の芽の発病の割合いはほぼ同じであった(未発表)。

罹病組織はその部位によって、そこに存在する病原体の密度が異なることが考えられるので、古いえい瘤、肥大新梢、罹病葉などから汁液をとって、接種試験を行なった(第3表)。その結果、肥大新梢の汁液では発病率が高いのに対し、罹病葉、古いえい瘤の汁液ではわずかの発病しかみられなかった。このことは前者の組織には病原体が多く含まれているが、後者では少ないことを示していると考えてよいのではなかろうか。

汁液接種を行なう場合、接種時期が発病に大きく影響するようと思われる²⁾³⁾⁴⁾ので、この点をたしかめるために実験を行なった。これは接種の適期を知るといふ実験上の必要性だけでなく、自然感染がおこりやすい時期を知るためにも大切なことである。第5表の結果をみると、11~12月接種が最も発病率が高く、10月、1月がこれにつづき、3、4、9月接種ではごくわずかの発病しかみられず、5~8月接種では発病が全くみられなかった。したがって接種には11~12月が適当であり、自然感染も秋から冬にかけておこるも

のと推測される。ただ筆者らの行なった試験(未発表)によれば、少数ではあるが8月に自然感染が認められた事例がある。病徴の発現は、いずれも4~5月で、4月に接種したもののだけが6~7月に発病が認められた。したがって潜伏時間は接種した月によって異なり、9月接種が最も長く7~8カ月、3月接種が最も短くて1~2カ月であった。これは、本病の病徴は必ず新芽に現われ、しかも芽の伸長が旺盛になってはじめて異常が発現することから考えれば当然のことかもしれない。第4表の44年10~11月接種の結果が接種日によって大きな違いを示している。その原因が気象条件によるものではないかと考え、接種後3日間の天候、気温、降水量について検討を加えたが、とくに関係があると思われる要因は見出すことができなかった。

つぎに汁液中に存在すると思われる病原体の性状、とくにその粒子の大きさを知りたいと思い、汁液に種々の処理を加えて接種試験を行なった(第6表)。その結果、本病原体はザイツ濾過器の滅菌用のフィルターを通過しないこと、3000 rpm 30分間の遠沈でわずかに沈降することおよび75~80°C、20分間の加熱と昇汞の添加によってその活性を失なうことがわかった。この他に十数種の処理液を作って試験したが、いずれも失敗に終わったので、本実験の結果だけからでは余り多くのことはいえないが、加熱と昇汞添加の結果から本病原体は微生物であるらしいことが推測され、その大きさはザイツの滅菌用フィルターを通過しないものである。

今までの実験はすべて圃場の茶樹に対して接種試験を行なってきたが、もし挿穂に対して同じ試験が行なえるならば多くの利点が得られるので、この点をたしかめるために実験を行なった(第8表)。常法にしたがって作った挿穂に、いくつかの方法で接種を行なったところ、針接種と注射針接種の区で10%弱の発病がみられた。さらに、接種した挿穂を4日間色々な温度に保ったのち挿木を行なったところ(第9表)、5~7°Cおよび10°Cに保った区では高い発病率を示したが、15~25°C区では発病率がかなり低下し、30°C以上の区では発病が全く認められなかった。この実験から、接種した挿穂を低温処理することによって、立木に対する接種と同程度の発病率をえられることが分かった。挿穂を用いると、室内で接種することが出来るので作業が簡単であること、接種時および接種後の条件を一定にすることも、任意に変えることも容易であること、接種試験用の圃場が少面積ですむこと、接

種後の管理が容易であること、など利点が多いので、今後の研究上非常に有力な技法になりうるものと考えられる。さらに温度が低いと発病しやすく、高いと発病しにくいということは非常に興味深い問題であり、今までの接種試験が気温の低い時期でしか成功していない事実ともよく一致する。わずか4日間の低温処理でなぜ発病率が高くなるのか、その理由を検討するだけの知見はいまだ得られていない。ただ低温処理を行っても、その後の気温が高い場合すなわち春から夏にかけて挿木した場合には発病がみられなかった（未発表）。

以上の結果から、汁液接種試験は、新梢の腋芽基部に注射針で接種するのが最も適当であるが、針接種・脱脂綿・ポリエチレン被覆も十分実用価値があるものと思われる。被接種茶樹としては圃場の茶樹、挿穂のいずれを用いてもよいが、実験の目的が許す限り、挿穂を用いる方が有利であると思われる。ただしこの場合低温処理は勿論行なうべきであろう。また、本病の感染には傷と低温が大きく関与することが明らかとなった。傷との関連において、摘採は本病害の有力な伝染経路になりうるはずであるが、現地では摘採によって伝播したと思われる事例はほとんどみられない⁴⁾。これは摘採が気温の高い時期に行なわれるためではないかと思われる。本病は雨滴によって伝播されると思われる事例が多くみられる⁴⁾が、これに上述の傷と低温の結果を結びつけて考えると、気温の低い時期の強い風雨、とくに秋台風が本病伝播の有力な要因になっているのではないかと推察される。

12. 摘 要

1) 本報告は、茶の天狗巢病罹病組織汁液を用いたいくつかの接種試験の結果をとりまとめたものである。

2) 汁液接種の方法と発病との関係をしらべた（第1表）結果、腋芽基部に注射針で汁液を注入する方法が最も高い発病率を示し、針接種後、その部分を汁液を含ませた脱脂綿でまき、さらにその上をポリエチレンテープで被覆した方法もほぼ同程度の発病率を示した。また茶樹全体に汁液を散布した場合、傷をつけた茶樹では多くの発病が認められたが、無傷の茶樹ではほとんど発病がみられなかった。

3) 汁液接種を行なう場合の接種部位と発病との関

係をしらべた（第2表）。その結果、葉への接種では発病がみられなかったが、腋芽基部および新梢節間部への針接種、新梢および太い枝の切断部への汁液塗布によって発病することが認められた。

4) 古いえい瘤、肥大新梢、罹病葉などから汁液をとって、接種試験を行なった（第3表）ところ、肥大新梢の汁液を接種した場合には多数の発病が認められたが、罹病葉と古いえい瘤の汁液ではわずかの発病しかみられなかった。

5) 接種時期と発病との関係をしらべた（第4表、第5表、第1図）。その結果、11~12月接種が最も発病率が高く、10月、1月接種がこれにつづき、3~4月接種ではごくわずかししか発病しなかった。また5~8月接種では発病が全く認められなかった。

6) 種々の処理を加えた罹病組織汁液を用いて接種試験を行なった（第6表）。その結果、滅菌用フィルターを用いたザイツ濾過器の透過液、 0.45μ のミリポアフィルターの透過液、 $75\sim 80^{\circ}\text{C}$ で20分間加熱した汁液および昇汞を 1000 ppm の割合いで添加した汁液では発病が全く認められなかった。

7) 挿穂に汁液接種を行ない、接種したのち苗木に挿した（第8表）ところ、腋芽基部に接種針および注射針で接種したものに10%弱の発病がみられた。

8) 挿穂に汁液接種を行ない、4日間種々な温度に保ったのち挿木を行なった（第9表）ところ、 $5\sim 7^{\circ}\text{C}$ 区と 10°C 区では高い発病率を示したが、 $15\sim 25^{\circ}\text{C}$ の各区では発病率がかなり低下し、 30°C 以上の区では発病が全く認められなかった。

9) 以上の結果から、汁液接種試験は、挿穂の腋芽基部に注射針接種を行ない、 10°C で4日間保ったのち挿木を行なうのが最も簡便で有効な方法であると思われる。また本病の感染には傷と低温が大きく関与していることが明らかになった。

引用文献

- 1) MANI, M. S.: *Ecology of plant galls*. Dr. W. Junk Publishers (1964).
- 2) 野中寿之・他:九州病害虫研究会報. **15**: 40-43 (1969).
- 3) 植原一雄・野中寿之・河鍋征人:日本植物病理学会会報. **35**: 362 (1969).
- 4) 植原一雄・野中寿之: 鹿大農学術報告. **20**: 113-121 (1970).

Summary

In the previous paper, it was ascertained that this disease could be infested to tea by being inoculated with crude sap of diseased tissues, hence in this paper a few experiments were performed using the sap-inoculation technique. The experiments and the results obtained were as follows.

1) In order to examine the technique of sap inoculation, healthy tea was inoculated with crude sap of diseased tissues by various methods in October, and the number of infected buds were counted in the next spring (Table 1). And high percentage of infestation was shown in both cases of the syringe-injection, in which the plants were injected with crude sap by injection-needle at the bases of axillary buds, and of the needle puncture, in which the plants were inoculated with the sap by ordinary needle puncture method, wrapped up on the parts in a sanitary cotton containing the sap and covered further over it with a polyethylene tape. But no infestations were observed in case of the daubed inoculation in which the plants were at non-wounded parts, and covered with the cotton and the tape. And in case of spray-inoculation in which the sap was sprayed over to the plant, many diseased buds appeared in wounded plants, but not in non-wounded.

2) Various parts of the plant were inoculated with the sap, and so the infections were recognized, at the bases of axillary bud, and at the interknot parts of young shoot, by needle puncture, and in the sections of young shoot and old branch, by daubed inoculation, but not at leaves (Table 2).

3) In order to examine pathogen contents in the plant tissues, crude sap was made from old galls, hypertrophied young shoots, diseased leaves and etc, and these saps were inoculated to tea by needle-puncture method (Table 3). From the results, it was recognized that the sap of hypertrophied shoots possessed a strong pathogenicity, but the sap of old galls was not.

4) Tea was inoculated with crude sap by the needle-puncture method at every month in a year (Table 4, 5 and Figure 1). And so, plants inoculated in November and December showed high percentage of infestations, but those from May to August showed no infestations.

5) In order to get some confirmation of properties of the pathogen, crude sap of diseased tissues was treated with various methods, and this sap was inoculated to tea by needle-puncture method (Table 6). The filtrates of Seitz and Millipore (0.45μ) filters, the sap heated at $75-80^{\circ}\text{C}$ for 20 min. and the sap added mercuric chloride (1000 ppm) showed no pathogenicity in either case. From the results, it is assumed that the pathogen of this disease is microorganism, and the size is larger than 0.45μ .

6) To find out a simple method of sap-inoculation technique, the cuttings of healthy shoot of tea were inoculated with the sap and plants in nursery in October. The new buds grown from the cuttings showed the typical symptoms of the disease in the next spring, but the percentage of infestations was low (Table 8). In the next experiments, the inoculated cuttings were kept at various temperatures, in moist chambers for four days, and were planted (Table 9). And high percentage of infestations was obtained in the treatments of $5-10^{\circ}\text{C}$, but no infestations were shown in the treatments under the temperature higher than 30°C . From the results, it was recognized that the cuttings might be used for the test plants of sap-inoculation, if they were treated at 10°C for four days.

From the facts described above, we might reasonably conclude that for the occurrence of this disease low temperature and wound may be indispensable.