

論文

サザンカにおける輪紋葉枯病の接種方法の検討^{*1}畑 邦彦^{*2,3}・奥田絢子^{*4,5}・曾根晃一^{*2,3}

畑 邦彦・奥田絢子・曾根晃一：サザンカにおける輪紋葉枯病の接種方法の検討 九州森林研究 77：97－101, 2024 サザンカにおける輪紋葉枯病の接種方法を検討するため、野外実験と室内実験を行った。接種源として本病の感染源である菌体を用い、サザンカの葉にセロハンテープで貼り付けることにより接種を行った。野外実験では、病斑が出来た場合は概ね1週間後に発病し、発病した葉は多くが脱落した。菌体は1個より5個、葉に傷を付けた方が付けないより、葉は表より裏の方が発病しやすかったが、葉齢は影響しなかった。接種直後に降雨が少なかったときは発病が少なかった。切り枝を用いた室内での接種では条件に関わらずほとんど発病が見られなかった。摘葉した葉を用い、シャーレ内で水分条件を変えて接種した場合、十分な発病が見られたのは水を含ませた脱脂綿で挟むなどして葉の周りを水が覆うほどの水分条件であった。接種実験で形成された病斑は全て「褐色・緑なし」または葉全体に病斑が広がる「全体」タイプであり、前者が拡大して後者になる様子が観察された。

キーワード：輪紋葉枯病, サザンカ, 接種, 菌体, 水分

I. はじめに

輪紋葉枯病は、極めて多種の木本・草本植物の葉に輪紋状の病斑を形成する葉枯性病害である。本病の宿主範囲は広く、チャ(野中・植原, 1974a; 野中・植原, 1974b)、数種のツバキ科植物やツツジなど(野中・植原, 1975)、ミズキ類(堀江, 1978)の他に、シキミやサルトリイバラ、ナガバモミジイチゴなど(周藤, 1977)、ケヤキ、クロモジ、マメザクラ、モミジイチゴ、コゴメウツギ、アオハダ、エンコウカエデ、ヒメシャラ、キブシ(堀江, 1980)での発生が確認されている。さらに人工接種でも13科26種に病斑を形成することが確認され、本病が極めて広い宿主範囲を持つことが明らかになっている(堀江, 1981)。

本病の病斑には明瞭な縁が存在するものとしいないものが見られるが、後者は急速に拡大し、早期に落葉する(野中・植原, 1974a; 周藤, 1977; 奥田ら, 2018)。そのため、集団で発生して激しい落葉を引き起こすことがある(野中・植原, 1974a; 福田ら, 1978)。前年に落葉などの被害が激しかった枝は衰弱し、当年伸長する枝に展開する新葉は小型になる(陶山, 2007)。被害が継続すると場合によっては個体全体が衰弱し、サザンカの場合は開花が減少することもある(奥田, 私信)。

本病の病原菌は灰白色の小さなキノコ型の菌糸塊を病斑上に形成するが(野中・植原, 1974a; 周藤, 1977)、このキノコ状菌体(以下本稿では単に菌体と呼ぶ)が本病の感染を引き起こす(野中・植原, 1974b; 有村ら, 1985)。菌体の内部には直径約3μmの球形粒子が多数形成されるが、この粒子に発芽性は認められていない(野中ら, 1974; 周藤, 1977; 有村ら, 1985)。また、この粒子の他に有性胞子や分生子の形成は確認されておらず、今の所この菌体が唯一の感染源とされている(野中・植原,

1974a; 陶山, 2007)。

本菌について、菌体やコロニーを用いた接種実験の事例はいくつか報告されている(野中・植原, 1974b; 野中・植原, 1975; 野中・植原, 1977; 野中・植原, 1978; 堀江, 1978; 堀江, 1980; 堀江, 1981)。野中・植原(1974b)によると、菌体は無傷のチャ表面に接種すると、高い発病率を示したが、コロニーは葉に傷を付けなければ発病しなかった、新葉の方が旧葉より発病率が高いが、拡大速度は旧葉の方が速かった、発病は10～25℃でのみ確認され、低温域では発病しやすく、病斑の拡大が遅かった、高温域ではその逆であった、発病には非常に高い空気湿度も必要であり、その状態が24時間以上続かなければならないと思われる、というようなことが明らかになった。このように本菌、本病の様々な性質を明らかにするための接種実験の有用性は明らかだが、接種の方法や手順が確立しているわけではない。また、過去の研究報告では接種方法の手順があまり詳しく記述されておらず、特に具体的な接種の場面については、野中・植原(1974b)に「成葉を50～100葉供試し、水でぬらしたのち、1葉あたり5～10個の菌糸塊を毛筆で付着させ」とある程度である。例えばこの方法の場合、野外での実験は不可能である上、ある程度の熟練が必要である。そこで、本研究では鹿児島県の緑化樹の中で特に本病の被害が目立つ、サザンカ(*Camellia sasanqua*)に着目して、野外で実行可能かつ簡易な接種実験の方法を検討した。

II. 調査地と方法

接種源として用いた菌体と罹病葉は鹿児島市に位置する鹿児島大学郡元キャンパス、かごしま健康の森公園、八重山公園と薩摩川内市の清浦ダムから採取した。いずれもサザンカの植え込みで

^{*1} Hata, K., Okuda, A. and Sone, K.: Examination of inoculation method of zonate leaf blight on *Camellia sasanqua*.

^{*2} 鹿児島大学学術研究院農水産獣医学域農学系 Res. Field Agric., Agric., Fish. Veter. Med. Area, Res. Edu. Assembly, Kagoshima Univ., Kagoshima 890-0065, Japan

^{*3} 鹿児島大学大学院連合農学研究科 Uni. Grad. Sch. Agric. Sci., Kagoshima Univ., Kagoshima 890-0065, Japan

^{*4} 鹿児島大学農学部 Fac. Agric. Kagoshima Univ., Kagoshima 890-0065, Japan

^{*5} 現住所：佐賀森林管理署 Present address: Saga National Forest District Office, Saga 840-0814, Japan

顕著な被害が見られた場所であった。

接種実験は野外と室内で行い、接種の対象としてはいずれも自生のサザンカを使用した。野外実験は垂水市に位置する鹿児島大学農学部附属高隈演習林第104林班内の猪鼻林道を挟んだ2箇所（以下林道北、林道南）で行った。ここは標高535 m前後の常緑広葉樹林で、林道北、南とも林冠をタブノキ、スダジイ、イヌガシ、ヤブツバキ、マテバシイ、ヤブニッケイが形成し、下層植生はヒサカキ、アオキ、シロダモ、バリバリノキ、ネズミモチなどで構成されていた。林道北は猪鼻林道の北側の広葉樹林の林縁部であった。林道南は猪鼻林道南側の広葉樹林内で、林冠はほぼ閉鎖していた。

野外実験での接種はセロハンテープを用いて接種源を立木の生葉に貼り付けることによって行った。セロハンテープの粘着面に接種源として菌体または罹病葉から切り取った病斑部（以下、病斑）を70%エタノールで殺菌したピンセットで付着させ、粘着面に手が触れないようテープの両端を割り箸に貼付した。これを、70%エタノールを染み込ませたキムワイプ（日本製紙クレシア株式会社）で清拭した外見上健全な生葉に貼り付けた。対照実験では接種源を付けていないセロハンテープのみを貼付した。接種の際、接種葉が脱落して紛失しないように、接種葉の葉柄と枝の接続部をセロハンテープで固定した。セロハンテープは実験終了まで固定した状態を保った。実験条件として葉に傷を付ける場合、70%エタノールで殺菌したメスもしくはハサミの刃を用いた（ハサミはメスが現場になかった時に代用した）。傷は接種面に付け、長さは1 cm程度、反対の面まで届かない程度の深さとした。傷を付けた葉の場合、菌体が傷に接触するように貼付を行った。

野外実験は2015年8月11日、20日、28日、9月9日、25日の計5回、それぞれ異なる意図で行った（表-1、表-2）。1回目は林道北で、残りは林道南で実験を行った。実験には毎回異なるサザンカ個体各1本を用いた。1回目は、葉面の傷の有無が発病に影響するか調べるために、接種源として菌体1つを用い、ハサミで傷を付けた葉5枚と傷を付けなかった葉5枚の表側に接種した。有傷、無傷それぞれで対照実験を5枚ずつ行った。接種には

当年葉と思われる若い葉（以下、新葉）を用いた。2回目は、接種源密度が発病に影響するか調べるために、接種源として菌体1つと菌体5つを用いた。菌体1つ、5つのそれぞれについて、メスで傷を付けた葉と付けなかった葉、5枚ずつの表側に接種を行った。有傷、無傷それぞれで対照実験を5枚ずつ行った。接種には新葉を用いた。3回目は、葉裏への接種が有効かどうか調べた。接種源として菌体1つと5つを用い、それぞれについてメスで傷を付けた葉、付けなかった葉、5枚ずつの裏側に接種した。有傷、無傷それぞれで対照実験を5枚ずつ行った。接種には新葉を用いた。4回目と5回目は葉齢の違いが発病に影響するか調べるとともに、接種源が病斑でも発病するか調べた。接種源として菌体1つ、5つと病斑を用いた。病斑は約5 mm × 5 mmの大きさになるよう、ハサミで切り取った。菌体1つ、5つ、病斑のそれぞれについて、メスで傷を付けた新葉に加え、当年葉ではないと思われる古い葉（以下、旧葉）5枚ずつの裏側に接種を行った。新葉、旧葉それぞれで対照実験を5枚ずつ行った。

接種後は野外での全調査を切り上げた9月30日まで週に一回現地で観察を行った。観察時には、接種葉に病斑が形成されているか、形成されている場合は接種葉が脱落していないか確認した。発病した葉はその時点で研究室に持ち帰り、デジタルカメラ（Nikon COOLPIX S 3700）を用いて写真を撮影した。

室内実験では、サザンカの切り枝と摘葉した葉に接種を行った。30～50 cm程度の切り枝を高隈演習林と霧島市から採取後、研究室に持ち帰り、水を入れた容器に挿した。およそ1か月は葉に変化が見られなかったため、採取後1か月程度まで実験に用いた。摘葉はこの切り枝から取った葉を用いて行った。こちらも同じく採取後1か月程度まで実験に用いた。接種は野外実験と同様の手順で、セロハンテープを用いて、接種源を生葉に貼り付けることによって行った。切り枝は2015年9月17日、25日の計2回、摘葉した葉は同年10月1日、5日、11日、11月2日、12月11日、12日の計6回実験を行った。

切り枝での実験（表-3）は、脱落や病斑の拡大といった病徴の進展過程を観察するために行った。接種源には菌体1つ、菌体5

表-1. 野外接種実験の結果（1～3回目）（発病枚数（脱落枚数）／接種枚数）

接種日（実験回）	接種面	1つ・傷あり	1つ・傷なし	5つ・傷あり	5つ・傷なし	対照・傷あり	対照・傷なし
8/11（1回目）	表	0/5	0/4（1枚不明）			0/5	0/5
8/20（2回目）	表	1（1）/5	0/5	4（4）/5	3（3）/5	0/5	0/5
8/28（3回目）	裏	4（2）/5	0/5	4（4）/5	4（2）/5	0/5	0/5

全て新葉への接種

表-2. 野外接種実験の結果（4～5回目）（発病枚数（脱落枚数）／接種枚数）

接種日	接種面	1つ・新葉	1つ・旧葉	5つ・新葉	5つ・旧葉	病斑・新葉	病斑・旧葉	対照・新葉	対照・旧葉
9/9（4回目）	裏	0/5	1（1）/5	1（1）/5	2（1）/5	0/5	0/5	0/5	0/5
9/25（5回目）	裏	3（2）/5	0/5	2（0）/5	4（4）/5	0/5	0/5	0/5	0/5

全て傷あり

表-3. 室内接種実験の結果（切り枝）（発病枚数（脱落枚数）／接種枚数）

接種日	接種面	新旧	1つ・傷あり	1つ・傷なし	5つ・傷あり	5つ・傷なし	病斑・傷あり	病斑・傷なし	対照・傷あり	対照・傷なし
9/17	表	新葉	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		旧葉	1（1）/5	0/5	0/5	1（1）/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	裏	新葉	1（1）/5		1（1）/5		0/5		0/5	
		旧葉	0/5		0/5		0/5		0/5	
9/25	裏	区別なし	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

つ、病斑を使用した。切り枝は水を入れた試験管に挿し、室温で観察した。観察時には、接種葉に病斑が形成されているか確認した。病斑が形成されている場合は接種葉が脱落していないか確認し、自然に脱落するまで病斑の状況を観察した。1回目は各接種源について、メスで傷を付けた新葉と旧葉については表側と裏側、傷を付けなかった新葉と旧葉については表側のみに各区5枚ずつ接種した。対照実験は各区5枚ずつ行った。表側に接種を行った80枚と裏側に接種を行った40枚は全て切り枝7本から選んで接種を行った。2回目は各接種源について、メスで傷を付けた葉、付けなかった葉5枚ずつの裏側に接種した。有傷、無傷それぞれで対照実験を5枚ずつ行った。これら40枚は1回目とは別の切り枝5本から選んで接種を行った。ここまでの結果から葉齢は発病に影響しないことが明らかになっていたのと、葉の残りが少なくなってきたので、切り枝の実験2回目と摘葉での実験では葉齢は考慮せず、状態の良さそうな葉を選んだ。

摘葉した葉での実験（表-4）は、取り扱いやすい実験方法を確立するため、また、発病に関わると思われた水分条件を調整するために行った。接種源として菌体1つ、菌体5つ、病斑を用いた。メスで傷を付けた葉と付けていない葉の裏側に接種を行った。接種はそれぞれ3枚ずつ行った。有傷、無傷それぞれで対照実験を3枚ずつ行った。接種後は径6cmの密閉型プラスチックシャーレに3枚ずつ入れて経過を観察した。観察時は病斑が形成されているか確認し、形成されている場合は病斑の状況を観察した。観察は病斑が接種葉全体に広がるまで行った。接種葉で、接種と無関係の部分が枯れてしまい、病斑と重なった場合は「重複」と記録し、場合によっては観察を中断した。シャーレ内では水分条件を変え、発病に差が現れるか観察を行った。水分条件は加湿の程度の異なる五段階を設定した。シャーレ内に水を入れないものを処理なし、水を含ませた脱脂綿を、葉に触れないよう紙の仕切りを付けて葉の横に置いたものを処理1、水を含ませた脱脂綿をシャーレの底に敷いたものを処理2、シャーレの底と蓋に水を含ませた脱脂綿を敷き、接種葉を挟むようにしたものを処理3、水を含ませたキッチンペーパーで接種葉を巻いたものを処理4とした。処理1～3は室温で、処理4は室温と25℃、5℃で観察を行った。室温の場合は実験室の机上、25℃と5℃はインキュベーター内にシャーレを置いた。5℃での観察は、発病の有無を確認するために行ったため、接種源には菌体5つのみを用いて、葉裏に傷を付けた葉に接種を行った。処理なし、処理1、処理2は10月1日、処理3は10月5日、11日、処理4は11月2日（室温）、12月11日（25℃）、12月12日（5℃）に実験を行った。なお、室温自体は記録がないが、12月以降の昼間は20℃程度までの暖房

があった。なお、鹿児島市の外気温については、鹿児島地方気象台観測の日最低気温と日最高気温の平均値が10月はそれぞれ16.1℃と26.1℃、11月は15.3℃と21.8℃、12月は8.9℃と16.9℃であった（気象庁、2015）。

室内実験での観察は12月28日までは病斑の状況を見ながら毎日～週3回程度行い、その後翌年1月15日に最後の観察を行った。

全実験を通して発病の有無は病斑の形成で判断した。また、病斑の形態は奥田ら（2018）に基づき、「全体」「褐色・緑なし」「褐色・緑あり」「白色・緑あり」に類別することとした。

Ⅲ. 結果と考察

野外及び室内における接種実験の結果を表-1～4に示す。全ての実験で、対照実験では発病が見られなかった。また、接種実験で現れた病斑は全て「褐色・緑なし」または「全体」だった。室内実験では「褐色・緑なし」が拡大して「全体」になる様子が見られた。これは、野外で見られる「全体」タイプの病斑は「褐色・緑なし」タイプが拡大したものであるとする奥田ら（2018）の推測を裏付けるものであった。

野外実験の1回目では行方不明となった1枚を除いて有傷、無傷とも発病が全く見られなかった（表-1）。すなわち、菌体1つの接種では発病には至らないと思われた。

2回目では、菌体を1つ接種した場合は有傷1枚のみ発病したが、菌体を5つ接種した場合は有傷4枚、無傷3枚で発病が見られた（表-1）。これにより、この方法での接種が可能であること、また、接種源密度が高いと発病が促進されることが明らかとなった。一方、ここで発病が見られた葉は全て脱落していた。

葉の裏側に接種を行った3回目では、菌体を5つ接種した場合は有傷4枚と無傷4枚で発病が見られ、菌体を1つ接種した場合も、有傷4枚に発病が見られた（表-1）。この結果から、葉の表側よりも裏側に接種する方が、また傷はないよりあった方が有効であると考えられた。また、菌体を5つ接種した場合、有傷の葉は発病した全てが脱落し、菌体を1つ接種した有傷の葉と菌体を5つ接種した無傷の葉でも、発病したうちの半数が脱落していた。

接種源として病斑を加えた4回目では、菌体を1つ接種した旧葉1枚、菌体を5つ接種した新葉1枚と旧葉2枚で発病が見られた（表-2）。病斑を接種した場合では発病が見られなかった。また、発病した葉は菌体を5つ接種した旧葉1枚を除き、全て脱落した。このように、接種方法が同じだったケースでも、4回目の新葉では3回目より発病が少なかった。すなわち、実験の再現性が疑わ

表-4. 室内接種実験の結果（摘葉した葉）（発病枚数／接種枚数）

接種日	加湿処理	温度	1つ・傷あり	1つ・傷なし	5つ・傷あり	5つ・傷なし	病斑・傷あり	病斑・傷なし	対照・傷あり	対照・傷なし
10/1	なし	室温	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	1	室温	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	2	室温	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3
10/5	3	室温	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
10/11	3	室温	1/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
11/2	4	室温	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3
12/11	4	25℃	1/3	1/3	3/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3
12/12	4	5℃			2/3				0/3	

全て葉裏への接種 葉の新旧は区別なし

れたため、もう一度別の個体を用いて同じ実験を繰り返した。

その5回目では、菌体を1つ接種した新葉3枚、菌体を5つ接種した新葉2枚と旧葉4枚で発病が見られた(表-2)。病斑を接種した場合では発病が見られなかった。このように、5回目は4回目より多く発病が見られた。発病した葉は菌体を1つ接種した新葉2枚、菌体を5つ接種した旧葉全てが脱落していた。4、5回目ともに、葉齢の違いによる発病への影響は見られなかった。しかし、野中・植原(1974b)は旧葉より新葉の方が発病しやすいと報告しており、発病のしやすさと葉齢の関係は条件によって変わってくるのかもしれない。また、4、5回目とも病斑の接種では発病が見られず、有効な接種方法とは言えなかった。一方、同じ方法で接種を行ったにも関わらず、5回目の方が4回目より多く発病を確認できた。理由として、まず考えられるのは気象条件である。そこで調査地から近い(約12~13 km)気象庁輝北観測所における接種後の天候を調べたところ(気象庁, 2015)、5回目の調査日から調査を終了した9月30日までの6日間の降水量が51.5 mmだったのに対し、4回目の調査日から6日間の降水量は0 mmだった。なお、1回目から3回目の調査ではそれぞれ67.5 mm, 199.5 mm, 216.5 mmであった。また、4回目以外は翌々日まで1 mm以上の降水が見られた。このことから、発病には接種直後の降雨が関係している可能性が高いと考えられた。これは、接種実験で発病に98%以上の湿度が必要、また実際の被害発生に降雨が大きく影響するという野中・植原(1977)の報告と一致する。

以上の野外実験において病斑が形成された場合、概ね接種1週間後には形成されていた。2週間後に新しく病斑が形成されていることはほとんどなく、それ以降は病斑の新たな形成は全く確認されなかった。これは本病の潜伏期間が2~3日とする野中・植原(1974b)の報告と矛盾しない。また、上述のように発病した葉は多くが脱落し、枝に残った発病葉もほとんどは触れれば簡単に脱落するような状態になっていた。この結果は、「褐色・縁なし」「全体」は落葉しやすくなっており、これらが落葉と密接に関係している病徴であるという奥田ら(2018)の観察結果と一致する。

以上より、野外における本菌の接種方法として、接種源をセロハンテープで貼り付ける方法は有効であると考えられた。接種実験に用いる接種源として、多くの植物病原糸状菌では孢子もしくは培養したコロニーが用いられる。後者の場合、培地から切り取ったコロニーを貼り付ける「貼付け法」が用いられるが(堀江, 2018)、培地は普通寒天であるから、セロハンテープが用いられることはない。今回セロハンテープが有効だったのは、輪紋葉枯病における「菌体」が視認でき、ピンセットで扱える大きさで、かつ湿っていないためセロハンテープの粘着力が有効に利用できたためである。一方、今回検討した接種条件では、接種源として菌体5つを用い、葉の裏側に傷を付けて接種するのが最も有効であると考えられた。ただし、降雨のない時に接種すると、上記の通りに接種を行っても発病しにくくなると考えられるため、野外で接種実験を行うのなら、直後に降雨が期待できるタイミングを選んで行う必要があると思われる。

室内実験については、切り枝では対照実験を除いた120枚中4枚でしか発病が見られず、かつ2枚以上発病した実験条件がな

かった(表-3)。発病した4枚は全て脱落しており、この点は野外実験と同様であった。切り枝での結果を野外実験と比較すると、室内の条件が発病に適していなかったと考えられた。この条件としては、上記のように、降雨、すなわち葉の表面における水分条件が考えられた。

摘葉した葉では(表-4)、処理なしと処理1では発病が全く見られなかった。処理2でも病斑を接種した有傷1枚でしか発病しなかった。一方、処理3では菌体を1つ接種した有傷1枚、菌体を5つ接種した有傷6枚で発病が見られた。処理4では、室温では病斑を接種した有傷1枚でしか発病が見られなかったが、25℃では菌体を1つ接種した有傷1枚、無傷1枚、菌体を5つ接種した有傷3枚、無傷1枚で発病が見られた。また、5℃でも発病が見られた。以上のように、十分発病が見られたのは処理3、4といった、葉の周りを水が覆うほどの水分条件であった。このことから、発病には葉の表面に十分な水分が必要であると推測され、野外では接種直後に降雨がなかったタイミングや、室内の切り枝では発病が少なかったという実験結果を裏付けた。一方、処理2と室温条件下での処理4で病斑を接種した葉から発病しているのが確認された。野外実験では病斑の接種で発病しなかったが、条件によっては野外においても病斑から直接感染することもあるのかもしれない。

摘葉した葉での接種実験では、病斑が確認されてから葉の全体に広がるまでの経過を観察できた。処理2では接種2日後に病斑の出現が確認され、その4日後には全体まで病斑が拡大した。処理3では病斑が確認された7枚中6枚で接種1週間以内に病斑の出現を確認でき(2日後発病が2枚、3、4、6、7日後発病が1枚ずつ)、その後およそ1週間で全体まで病斑が拡大した(発病後5日が2枚、3、4、7日が各1枚、重複で観察中断が1枚)。ただし、接種56日後に病斑の出現を確認したものもあった。この例でも病斑の拡大速度は他と変わらず、発病後7日で全体まで拡大した。処理4では、室温条件下では接種7日後に1枚病斑の出現を確認したが、拡大速度は遅く、病斑の出現から2週間後に枯死部分と重複したためそれ以上は追跡できなかった。25℃では接種2~4日後に病斑の出現を確認したが(2日5枚、4日1枚)、その後の病斑の拡大にはばらつきが見られ、病斑の出現から9日で全体まで拡大したものから全体に広がるまで2週間以上かかったものや、拡大はしたものの全体まで到達しなかったものまであった(9日、12日、13日各1枚、15日以上2枚、不到達1枚)。5℃では、1例では接種10日後、もう一例では接種から1か月以上経過して(確認したのは34日目)病斑の出現が確認された。前者では拡大速度も極めて遅く、病斑の出現から3週間以上経過しても全体まで拡大しなかった(後者は最後の観察日に観察された)。上述のように野中・植原(1974b)では潜伏期間を2~3日としているが、実際にはもう少しばらつくことが明らかとなった。野中・植原(1977)は、5℃での接種は7日後までは発病が確認されていないが、その後適温に変温すると発病が見られると報告している。一方、今回の結果では、5℃一定の条件下でも1か月かければ発病可能であることが確認され、潜伏期間は温度の影響を受けること、低温下では潜伏期間が長くなることが示唆された。いずれにせよ、発病や病斑の拡大と温度の関係を明らかにするためには、もう少し詳細な実験が必要であろう。

以上のように、摘葉された葉を用いてサザンカでの簡易な接種方法がある程度確立できた。その手順は以下のようなものである。

1. 摘葉した葉の裏にメスで傷を付ける。
2. セロハンテープに菌体を5つ付着させる。
3. 傷と菌体が接着するように葉にセロハンテープを貼り付ける。
4. 蒸留水を十分に浸み込ませた脱脂綿で接種葉を挟み込むようにしてシャーレに入れる。または水を含ませたキッチンペーパーで接種葉を巻いてシャーレに入れる。
5. シャーレを実験設定に合った温度（発病に適切な温度が必要なら25℃）に設定したインキュベーターに静置する。

この方法を応用することにより、発病条件や宿主範囲など、本病の様々な性質を解明することが容易になると思われる。一方、今後残された課題の一つとして、今回の接種実験では野外で頻繁に見られる「縁あり」タイプの病斑が全く発生しなかった。これがどのような条件で発生するのかを解明するには、この方法を応用し、さらに条件を変えて実験を進めていくことが必要であろう。

IV. 謝辞

本研究では、鹿児島大学農学部附属高隈演習林に実験及び試料採集の許可を頂いた。

引用文献

- 有村光生・荒井啓・渡辺大起・植原一雄（1985）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. 鹿大農報 35: 31-42
- 福田徳治・高屋茂雄・野中寿之（1978）静岡県下ではじめて発生が確認されたチャ輪紋葉枯病. 茶研報 48: 77-78
- 堀江博道（1978）ミズキ類の輪紋葉枯病（新称）. 日植病報 44: 376-377
- 堀江博道（1980）ミズキ類輪紋葉枯病の宿主範囲. 日植病報 46: 111
- 堀江博道（1981）鑑賞樹木の病害に関する研究. 日植病報 47: 295
- 堀江博道（2018）カラー図説 植物病原菌の見分け方 ～身近な菌類病を観察する～ 増補改訂版 下巻 第Ⅱ編 植物の病気およびその診断 ～とくに菌類病の見分け方～, p.270-480, 大誠社, 東京
- 気象庁（2015）気象庁ホームページ 気象観測データ. URL: <http://www.jma.go.jp/jma/index.html> (2016年1月15日利用)
- 野中寿之・植原一雄（1974 a）チャ輪紋葉枯病（新病害）に関する研究. 1. 発生状況, 病徴および病原菌の分離について. 九農研 36: 115-117
- 野中寿之・植原一雄（1974 b）チャ輪紋葉枯病に関する研究. 2. 発病条件について. 九農研 36: 118-120
- 野中寿之・植原一雄（1975）茶の輪紋葉枯病に関する研究. 第5報 病原菌の越冬について. 九病虫害研報 21: 102-105
- 野中寿之・植原一雄（1977）チャの新病害・輪紋葉枯病の発生と病原菌の形状・性質. 茶研報 46: 38-47
- 野中寿之・植原一雄（1978）チャの輪紋葉枯病の生態, 特に菌糸塊（仮称）の形成と越冬. 茶研報 47: 24-32
- 野中寿之・植原一雄・丸尾正司（1974）チャ輪紋葉枯病に関する研究. 3. 病原菌の形態と若干の性質について. 九農研 36: 121
- 奥田絢子・曾根晃一・畑邦彦（2018）鹿児島県のサザンカにおける輪紋葉枯病の病斑のタイプ分けと季節変動. 鹿大農演習林研報告 44: 1-16
- 陶山大志（2007）島根県のサカキ栽培園で発生した輪紋葉枯病の被害. 森林防疫 56: 42-47
- 周藤靖雄（1977）ツバキ輪紋葉枯病（新称）. 森林防疫 26: 49-51

（2023 年 11 月 9 日受付；2023 年 12 月 15 日受理）