



BOR-20185194

AGL

!OCLC -- #3780577  
NAL STACKS

MELINDA SULLIVAN  
APHIS  
USDA/APHIS/PPQ/CPHST Suite 108  
2301 Research Blvd  
Ft Collins, CO 80526

ATTN:	SUBMITTED:	2009-12-10 13:06:21
PHONE: (970) 494-7518	PRINTED:	2009-12-15 10:43:33
FAX:	REQUEST NO.:	BOR-20185194
E-MAIL:	SENT VIA:	World Wide Web
	PATRON TYPE:	USDA

---

BOR Regular

---

TITLE: JOURNAL OF THE JAPANESE FORESTRY SOCIETY  
VOLUME/ISSUE/PAGES: 33 319-326  
DATE: 1971  
AUTHOR OF ARTICLE: Suto, Y.  
TITLE OF ARTICLE: SPORULATION OF CERCOSPORA GIBSONII ON CULTURE  
MEDIA.

DELIVERY: E-mail Post to Web: melinda.j.sullivan@aphis.usda.gov

REPLY: E-mail: melinda.j.sullivan@aphis.usda.gov

This document contains 8 pages. This is NOT an invoice.  
Collection Services Branch, National Agricultural Library  
301-504-5717 access@nal.usda.gov

---

ANY MATERIAL SUPPLIED MAY BE PROTECTED BY COPYRIGHT LAW (TITLE 17, USC)

---

## 論 文

マツ葉枯病菌 *Cercospora pini-densiflorae* HORI et NAMBU

## の培地上における孢子形成\*

周 藤 靖 雄\*\*

Sporulation of *Cercospora pini-densiflorae* HORI et NAMBU on Culture Media\*

Yasuo SUTŌ\*\*

**Summary:** Recently, three different methods for obtaining conidia of two *Cercosporae* on culture media were reported successively. KAWASAKI et al. (1965~1970<sup>4-7)</sup>, who handled *Cercospora sequoiae* ELLIS et EVERHART causing needle blight of *Cryptomeria japonica*, pointed out the importance of composition of agar media and light conditions in the production of conidia. ZINNO (1970<sup>21)</sup>) who also handled the same fungus tried liquid culture and obtained conidia when the sclerotium-like bodies produced in shaking flask were kept in PETRI dish under certain light and moisture conditions. Sporulation of *C. pini-densiflorae* HORI et NAMBU causing needle blight of pine and *C. sequoiae* was investigated by KIYOHARA and TOKUSHIGE (1969<sup>2)</sup>) and they concluded that mechanical fragmentation and desiccation of the mycelial colony stimulated the production of conidia in these two *Cercosporae*.

Several experimental series on the sporulation of conidia of *C. pini-densiflorae* on agar media were also conducted by the author chiefly based on the method of KAWASAKI et al. Results obtained are as follows:

- (1) Among the 10 isolates tested, only one isolate (CP-k) possessed ability to produce conidia (Table 1).
- (2) Among the several kinds of agar media used in this experimental series, V-8 juice+pine needle decoction agar (P-V<sub>3</sub> and P-V<sub>4</sub> media) proved to be suitable for the sporulation of the fungus (Table 2).
- (3) As the production of conidia was stimulated by the fragmentation of colony in early stage, successive transplantation of the suspension of the fungus consisting of conidia and fragmental hyphae was employed. In this method abundant conidia were obtained continuously.
- (4) Among the several light and temperature conditions tested (Table 3), a combination—25°C by day and 0~10°C by night under natural light condition—was proved to be effective to produce abundant conidia (Table 4).
- (5) Two different types of conidia were observed in the conidia obtained from these culture methods (Table 5). The first type of conidia produced in the plots A and B of Table 3 was quite similar to that observed on the host. The other abnormal type of conidia was observed in the conidia which were produced in the growth-cabinet (Koito-toron) regulated at 25°C by day and 15°C by night.

**要 旨:** マツ葉枯病菌 *Cercospora pini-densiflorae* HORI et NAMBU の人工培地上における孢子形成を試みた。

- 1) 供試した 10 菌株のうちで、孢子形成が認められたのは 1 菌株のみであった。
- 2) 培地の種類については、V-8 ジュースを加えたマツ葉煎汁寒天培地 (P-V 培地) が、孢子形成に最も適していた。
- 3) 培養初期に菌そうを破碎することにより、多数の孢子が形成された。このことに注目して、孢子と菌糸の断片が混じた懸濁液を、10~14 日おきに新しい培地に移植した。この方法により、多数の孢子を継続して得ることができた。
- 4) 野外において、昼 25°C、夜 15°C に調整した環境では多数の孢子が形成されたが、25°C の暗室では形成されなかった。このことに注目して、温度と光の効果を検討した。その結果、昼 25°C、

\* この研究の一部は、日本林学会関西支部第 19 回大会 (1968 年 10 月) において発表した<sup>1)</sup>。

\*\* 島根県林業試験場 Shimane Pref. For. Exp. Sta., Matsue, Shimane

室内光下, 夜 0~10°C, 暗所で培養したものに, 多数の胞子が形成された。

5) 培地上に形成された胞子は, 形態的に2つの型に分けられた。I型胞子は自然発病葉上のものに比べてかなり異なっていた。しかし II 型胞子は正常な形態であった。

I. ま え が き

*Cercospora*に属する菌は, 一般に人工培地上における胞子形成が困難であり, 研究遂行上の障害となっている。マツ葉枯病菌 *Cercospora pini-densiflorae* HORI et NAMBU も例外でなく, 寒天培地上における胞子形成はむずかしいものと考えられていた。最近清原・徳重<sup>2)</sup>は, 本菌の培養菌そうをはく離, 乾燥, 切断し, さらにこれを加湿することにより, 多数の胞子を得ることに成功した。筆者はこれとは別の方法で胞子形成培地の探索に努めてきたが, 培地の種類, 菌株の選択および培養条件によってある程度の胞子形成が可能となったので, これまでに得られた結果をまとめて報告する。

この実験の一部は, 1967年8~10月, 農林省林業試験場樹病科における研修中に実施したものである。ご指導賜わった千葉 修科長, 樹病研究室高井省三前室長, 小林享夫現室長および防疫薬剤研究室川崎俊郎技官に感謝する。また貴重な菌株を分譲下さった農林省林業試験場九州支場徳重陽山保護部長に感謝する。

II. 実験方法

1. 供試菌株

本実験には, 表-1に示す10菌株を使用した。これらは島根県林業試験場および農林省林業試験場保存の菌株のうちから, 採集地, 樹種および分離年度の新旧を考慮して選んだものである。各実験には, その目的または実験経過に応じて, この10菌株のうちからさらにいくつかを選んで供試した。なおいずれの菌株とも, 単胞子分

離法によって得られたものである。

2. 供試培地

本実験には, 表-2に示す各種の寒天培地を供試した。ジャガイモ, エンジン, トウモロコシの煎汁を主体とする培地は, これらの所定量を蒸留水中で1時間煮沸して煎汁を作り, これに他の養分および寒天を加え, 高圧蒸気滅菌がまに 1 kg/cm<sup>2</sup>, 10分間かけた。マツ葉煎汁を主体とする培地を作るときには, 煮沸時間を30分間, 高圧滅菌時間を5分間にとどめた。培地の pH は, 大部分の培地は NaOH により, 一部のものは BERGER ら<sup>3)</sup>に準じて CaCO<sub>3</sub> により, いずれも pH 6 付近に調整した。

3. 培養法

本実験は, すべて試験管中に作った斜面培地を使用して行なった。継続移植法による実験を除き, この中心にジャガイモ煎汁寒天培地上の菌そうの薄片を移植し, 植付け7日後に新しく生長した菌そうを三角メスで破砕したものと, そのまま放置したものとを作った。

継続移植法による実験では, 培地上において菌そうを破砕し, 小菌そうが多数生じたものを作った。これに殺菌蒸留水を入れて菌そうを三角メスで軽くかき, その胞子と菌糸断片の混じた懸濁液を新しい培地に 1~2cc ずつ入れ, 余分な水を除いた後培養した。以後同様な方法で, 10~14日間隔で胞子と菌糸断片の混合懸濁液を移植した。

4. 培養場所

培養は, 「温度, 光と胞子形成」以外の実験では, 25°C に調整した暗室と, 野外に設置したコイトロン——昼

表-1. 供 試 菌 株

Table 1. Isolates of the fungus used in this experiment

No. of isolate	Locality	Host	Date of isolation
CP-1a)	Nishinoshima, Shimane Pref.	<i>Pinus thunbergii</i> , 2-year-old seedling	July 8 '66
CP-3	Gōtsu, Shimane Pref.	<i>P. radiata</i> , 8-year-old	May 6 '67
CP-5	Nishinoshima, Shimane Pref.	<i>P. thunbergii</i> , 3-year-old seedling	May 17 '67
CP-7	Matsue, Shimane Pref.	do., do.	June 21 '67
CP-9	Hikawa, Shimane Pref.	do., do.	July 5 '67
CP-k	Kumamoto, Kumamoto Pref.	do., 2-year-old seedling	July 22 '66
CC-33	Hamana, Shizuoka Pref.	<i>P. strobus</i>	Oct. 12 '60
CC-45	Miyazaki, Miyazaki Pref.	<i>P. canariensis</i> , 2-year-old seedling	Dec. 12 '62
CC-51	do.	<i>P. densiflora</i>	Dec. 4 '63
CC-62	Tokushima, Tokushima Pref.	<i>P. pinaster</i>	Aug. 7 '67

a) CP-1~CP-k: Isolates preserved in Shimane Pref. For. Exp. Sta.  
 CC-33~CC-62: Isolates preserved in the Government For. Exp. Sta.  
 Source of isolation: Conidium

表-2. 供試培地

Table 2. Agar media used in this experiment<sup>a)</sup>

Kind of media	Composition
PDA	potato decoction (potato 200g/l) 1l, glucose 20g
K-M-V	fresh carrot decoction (fresh carrot 150g/l) 980cc, glucose 10g, dried extract yeast 1.5g, MgSO <sub>4</sub> 0.5g, V-8 juice 20cc
C-M-V	corn decoction (corn 75g/l) 980cc, glucose 10g, dried extract yeast 1.5g, MgSO <sub>4</sub> 0.5g, V-8 juice 20cc
P	pine needle decoction (pine needle 300g/l) 1l
P-G <sub>1</sub>	P+glucose 2g
P-G <sub>2</sub>	P+glucose 20g
P-G <sub>1</sub> -Y	P-G <sub>1</sub> +dried extract yeast 1.5g
P-G <sub>2</sub> -Y	P-G <sub>2</sub> +dried extract yeast 1.5g
P-C <sub>2</sub>	P+CZAPER solution (MgSO <sub>4</sub> 0.5g, NaNO <sub>3</sub> 2g, FeSO <sub>4</sub> 0.01g, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 1g, KCl 0.5g)
V	V-8 juice 200cc, distilled water 800cc
P-V <sub>1</sub>	pine needle decoction 980cc, V-8 juice 20cc
P-V <sub>2</sub>	do. 950cc, do. 50cc
P-V <sub>3</sub>	do. 900cc, do. 100cc
P-V=P-V <sub>4</sub>	do. 800cc, do. 200cc
P-V <sub>5</sub>	do. 500cc, do. 500cc

a) Agar 2%, acidity of medium was adjusted at ca. pH 6

表-3. 培養場所

Table 3. Condition of the rooms that kept the cultures of *Cercospora pini-densiflorae*

Plot	Day			Night		
	Period	Temperature	Light	Period	Temperature	Light
A	8 hour	25°C	room light	16	0~10	dark
B	8	5~15	do.	16	25	do.
C	8	25	do.	16	25	do.
D	12	30	light <sup>a)</sup>	12	25	do.
E	12	15	do.	12	15	do.
F	—	25	dark	—	25	do.

a) 10,000 lux

12 時間 25°C, 夜 12 時間 15°C に調整——(以下「明室」と記す)との両場所, または明室のみで行なった。

また「温度, 光と胞子形成」の実験では, 表-3 に示す温度と光の照射方法の異なる 6 場所において培養した。

### 5. 調査

調査は移植後 7, 14, 21 日目に実施した。胞子形成の有無については, 斜面培地の上・中・下部の少なくとも 3 か所から菌そうの小塊をかき取り, 顕微鏡下で調査した。また同時に菌そうの生長状態, 菌糸の形態などについても観察した。

## III. 実験結果

### 1. 培地の種類と胞子形成

組成の異なるいくつかの培地で, 胞子形成を試みた。供試菌株は CP-3, CP-5 および CP-k の 3 株である。培養は暗室と明室との両場所で行なった。

### 1) ジャガイモ煎汁培地

まず糸状菌の培養に一般に用いられる, ジャガイモ煎汁培地 (PDA) で培養した。

その結果, 菌株 CP-k を明室で培養したものに, 培養初期にごくわずかではあるが, 胞子の形成をみた。

2) ニンジン, トウモロコシの煎汁を主体とする培地  
川崎ら<sup>4-7)</sup>は *Cercospora sequoiae* (*C. cryptomeriae*) の胞子形成培地の探索において, ニンジンおよびトウモロコシ煎汁を主体とする培地 (K-M-V 培地および C-M-V 培地) で胞子形成を認めた。本実験においても, これらの培地で培養を試みた。

その結果, 両培地とも胞子形成はまったく認められなかった。

### 3) マツ葉煎汁を主体とする培地

胞子形成が困難な菌の培養に, その菌の寄主植物の煎汁培地を用いることは, 広く試みられている。本実験でも, マツ葉煎汁を主体とする各種培地で培養した。

その結果, 菌株 CP-k を明室の P 培地, 明室と暗室の P-G<sub>1</sub>-Y 培地で培養したものに, 培養初期にわずかの胞子が形成された。

### 4) V-8 ジュース培地およびマツ葉煎汁+V-8 ジュース培地

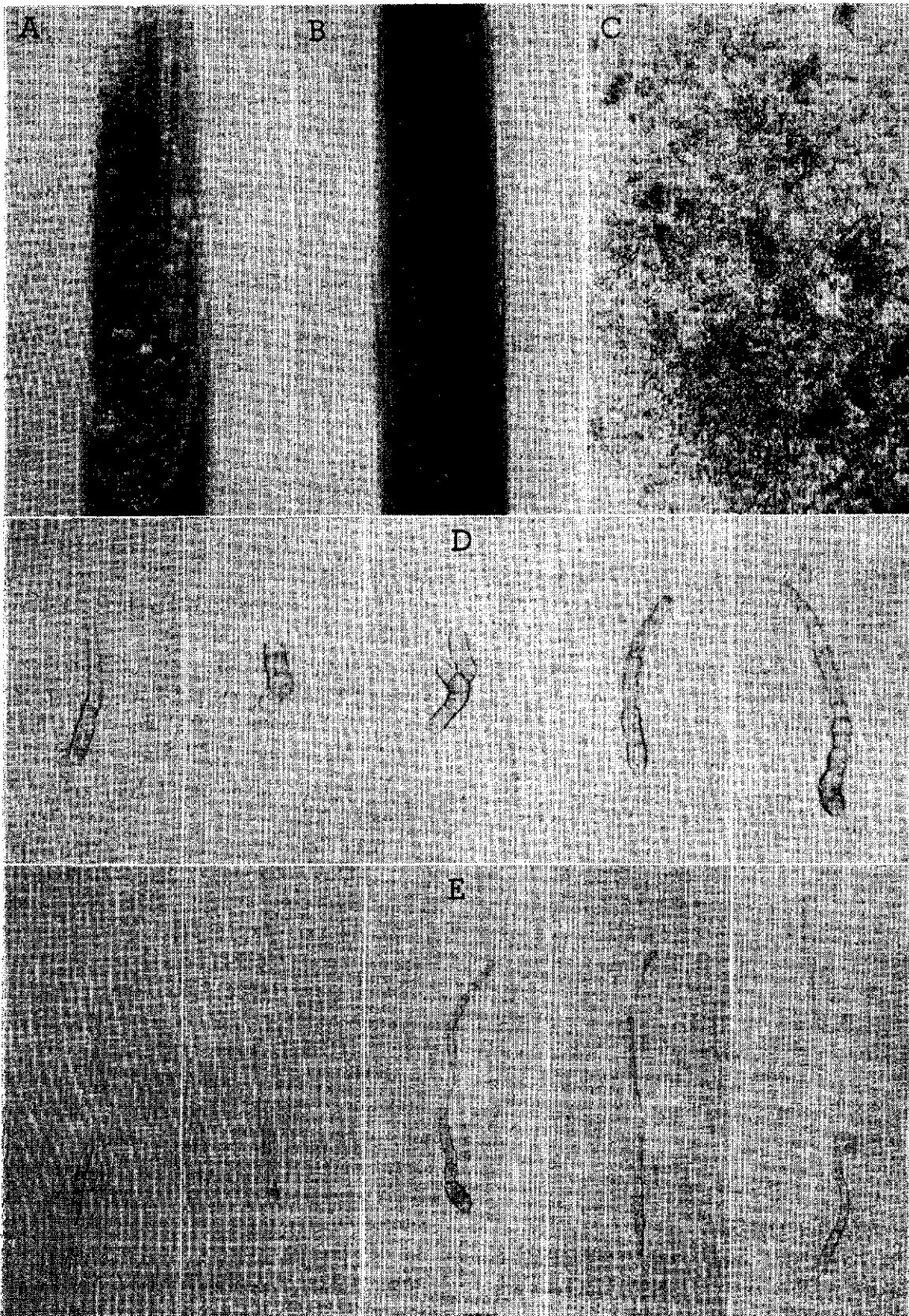
胞子形成が困難な菌の培養に, しばしば V-8 ジュース (Campbell Soup Company, U.S.A. 製。8 種類の新鮮な野菜を絞った天然野菜ジュース) を使用して好結果が得られている。本実験でも, V-8 ジュース培地 (V 培地), V-8 ジュースを加えたマツ葉煎汁培地 (P-V 培地) で培養した。

その結果, 菌株 CP-k を明室の P-V 培地で培養したものに, 胞子形成が認められた。菌そうを破碎しなかったものにも胞子が形成されたが, 破碎した菌そうの破砕片から生じた微小な菌そうに, 容易に胞子を認めることができた。この培地上に形成された胞子の量は, これまでの実験で胞子が形成された培地 (PDA, P, P-G<sub>1</sub>-Y) よりも多かった。しかし V 培地, 暗室で培養した P-V 培地では, 胞子形成が認められなかった。

胞子形成が認められた明室で培養した菌株 CP-k の菌そうの生長はおそく, また菌糸の隔膜間がきわめて短くなり, 著しく屈曲分岐していることが注目された。培地上に形成された胞子の形態および形成方法は, 自然発病葉上の胞子に比べてかなり異なっていたが, 詳細については後述する (5 を参照)。

### 5) マツ葉煎汁と V-8 ジュースとの混合割合

菌株 CP-k を, 培地中のマツ葉煎汁と V-8 ジュースの混合割合を変えた P-V<sub>1</sub>~P-V<sub>5</sub> 培地で培養した。な





写真説明 Explanation of photographs

- A. P-V 培地上, 昼 25°C, 野外光; 夜 15°C, 暗所で形成された菌そう  
Mycelial colonies produced on P-V medium kept at 25°C by day and at 15°C by night under natural light condition in the field. ×1
- B. P-V 培地上, 昼 25°C, 室内光; 夜 0~15°C, 暗所で形成された菌そう  
Mycelial colonies produced on P-V medium kept at 25°C by day and at 0~10°C by night under natural light condition in the laboratory. ×1
- C. P-V 培地上の菌糸 (子座様)  
Hyphae produced on P-V medium (Stromata-like). ×120
- D. P-V 培地上, 昼 25°C, 野外光; 夜 15°C, 暗所で形成された胞子  
Conidia produced on P-V medium kept at 25°C by day and at 15°C by night under natural light condition in the field. ×600
- E. P-V 培地上, 昼 25°C, 室内光; 夜 0~10°C, 暗所で形成された胞子  
Conidia produced on P-V medium kept at 25°C by day and at 0~10°C by night under natural light condition in the laboratory. ×500
- F. G. P-V 培地上に形成された胞子の着生状態  
Conidial production on the hyphae, on P-V medium. ×600

お培養は明室において行なった。

その結果, P-V<sub>3</sub> および P-V<sub>4</sub> 培地ではかなりの胞子が形成されたが, 他の培地ではまったく胞子形成が認められないか, 形成されてもごくわずかであった。すなわち V-8 ジュース 10~20% が適量であり, これより多過ぎても少な過ぎても胞子は形成されがたかった。

2. 菌株と胞子形成

これまでの実験に供した3菌株のうち, 胞子形成が認められたのは CP-k のみであった。そこで他に胞子を形成する菌株がないかを確かめるために, 本実験のために選んだ10菌株全部を供試し, 明室の P-V 培地で培養した。

その結果, CP-k 以外の菌株は, まったく胞子を形成しなかった。

3. 温度, 光と胞子形成

菌株 CP-k を P-V 培地上で培養した試験管中に殺菌蒸留水を入れて菌そうを三角メスで軽くかき, その胞子と菌糸断片の混じた懸濁液を新しい P-V 培地に 1~2cc ずつ入れ, 余分な水を除いた。これを表-3 に示した温度と光の照射方法が異なる状態において, 胞子形成を観

察した。

その結果は表-4 に示したが, A および B の培養場所において胞子形成が認められた。とくに A においては多数の胞子が形成されたが, この菌そうの生長は写真-B に示すようにきわめておそく, 微小なものであった。またこの菌そうの菌糸は, 写真-C に示すように, 隔膜開

表-4. 温度, 光と胞子形成 (菌株: CP-k, 培地: P-V)

Table 4. Effect of temperature and light to sporulation (Isolate: CP-k, Medium: P-V)

Plot <sup>a)</sup>	Days passed		
	7	14	21
A		++	++
B	+ <sup>b)</sup>	+	
C	-	-	
D	-	-	
E	-	-	
F	-	-	

a) See Table 3

b) - None of conidia was produced

+ A few conidia were produced

++ A number of conidia were produced

表-5. P-V 培地上の胞子と寄主上の胞子との形態の比較

Table 5. Comparison of conidia produced on P-V media and on the host

Conidia	Shape	Colour	Size ( $\mu$ )	No. of septa
Type-I conidia <sup>a)</sup>	Acicular-obclavate or cylindrical, rarely branched; straight or slightly curved, rarely seriously curved; cell wall thick; granulate	Pale yellowish olivaceous	10~49×3~5 (22×3.9) <sup>c)</sup>	1~7 [3] <sup>d)</sup>
Type-II conidia <sup>b)</sup>	Acicular-obclavate; straight or slightly curved; cell wall thin; not granulate	do.	27~158×2~3 94×2.6	3~16 [6]
Conidia produced on the host	do.	do.	19~92×1.5~3	1~8

a) Conidia were produced on P-V medium kept at 25°C by day and at 15°C by night under natural light condition in the field

b) Conidia were produced on P-V medium kept at 25°C by day and at 0~10°C by night under natural light condition in the laboratory

c) Average

d) Mode of number of septa

がきわめて短く、著しく屈曲分岐し、堅くからみあって、自然発病葉上に観察される子座状になっていることが注目された。

#### 4. 継続移植法と胞子形成

培地上で胞子を継続的にかつ多量に得るために、継続移植法により、胞子と菌糸断片の混じた懸濁液を継続的に移植して培養した。供試菌株は CP-k、供試培地は P-V 培地である。

##### 1) 明室における培養

まず明室において培養した。

その結果、3か月6代にわたり、多数の胞子の形成を継続することができた(写真-A)。その後実験施設の都合上やむを得ず 28°C のガラス張り定温器で継続移植したところ、胞子形成量が少なくなり、ついには形成されなくなった。

##### 2) 培養場所 A における培養

つぎに培養場所 A において培養した。

その結果、3か月6代にわたり、多数の胞子の形成を継続することができた。その後夜の温度が 10°C 以上になると(この実験は冬期に着手し、夜は暗い室内に放置しておいた)、胞子形成量が少なくなり、ついには形成されなくなった。

#### 5. 培地上に形成された胞子

##### 1) 胞子の形態、形成方法

培地上に形成された胞子の形態は、明室で形成されたものと、培養場所 A および B で形成されたものとは異なっていた。この両胞子は写真-D, E に示したが、これらを自然発病葉上のものと比較すると、表-5 のとおりである。

これによると、まず明室で形成された胞子(I型胞子)は、自然発病葉上のものに比べて、形、大きさがかなり異なるように観察された。つぎに培養場所 A および B で形成された胞子(II型胞子)は、自然発病葉上のもの

に比べて、長く、また隔膜数が多かった。しかし培地上形成胞子 II は I に比べ、とくにその形、胞子の幅などから、自然発病葉上の胞子に近い。

培地上での胞子形成方法をみると、I型胞子については写真-F, G に示すとおりである。これによると、菌糸から直接にその頂端に、または分岐して形成されており、自然発病葉上で束状にそう生じた分生子梗上に形成されるのと異なっていた。II型胞子については、その形成場所がきわめて局所的であり、かつその場所を見つけることが困難であり、またその形成数が豊富でないこともあって、形成方法を観察することができなかった。

##### 2) 胞子の形成数

継続移植法によって得られた I 型胞子を、次の方法で測定した。すなわち斜面培地の上・中・下部の3か所からおのおの 1cm<sup>2</sup> の培地を切り取り、表面の菌そうをはいで別の試験管に移した。これに 10cc の水を加え、ホモジナイザーで5分間処理し、胞子と菌糸断片の混じた懸濁液を作った。この液を 0.03cc スライドグラス上にとり、全胞子数を測定した。

3本の試験管について測定したが、その結果培地 1cm<sup>2</sup> 当たり平均 11,800 個の胞子が形成された。1菌そう当たり換算すれば 270 個になる。しかし菌そう別に観察したところ、各菌そう間には胞子形成量にかなりの差があった。

なお II 型胞子については、多く形成されている時に形成数を測定することができなかった。

#### IV. 考 察

胞子形成が困難な菌の培養に、その菌の寄主植物の煎汁培地を用いることは、広く試みられている。本実験でもマツ葉煎汁を主体とする各種培地で培養したが、いくつかの培地でわずかの胞子が形成されたに過ぎなかった。また胞子形成が困難な多くの菌の培養に、V-8 ジ



ジュースを使用して好結果が得られている。*Cercospora* 属菌については、BERGER<sup>8)</sup>が *C. zebrina* の、川崎ら<sup>4,7)</sup>が *C. sequoiae* の、STAVELY<sup>8,9)</sup>が *C. nicotianae* の、また MILLER<sup>10)</sup>が *C. gossypina* の培養に、V-8 ジュースを使用して好結果を得ている。本実験でも V-8 ジュースを使用してみたが、V-8 ジュースのみの培地では胞子はまったく形成されなかった。しかしマツ葉煎汁に V-8 ジュースを加えた培地では、多数の胞子が形成された。このようにマツ葉煎汁、V-8 ジュースのおのおのが単独では胞子が形成されず、両者を混合した場合に胞子が形成された。つぎにマツ葉煎汁と V-8 ジュースの混合割合を検討したところ V-8 ジュース 10~20% が適量であり、これより多過ぎても少な過ぎても胞子は形成されにくかった。よって胞子形成に対しては、両者の混合割合も重要であることがわかった。

清原ら<sup>2)</sup>は、本菌および *C. sequoiae* の胞子形成については、菌の培養に特に考慮は不要であり、菌そうが十分に生長する培地と培養条件であればよいとしている。この点本実験とは異なるが、清原らの方法は、本実験のように寒天培地上で胞子を形成させるのではなく、培地上で生長した菌そうをばく離した後、これに物理的処理(乾燥→切断→加湿)をほどこしており、この培養後の処理に胞子形成要因があるとしていることに注意したい。

本実験に供試した 10 菌株のうちで、胞子が形成されたのは 1 菌株 (CP-k) のみであった。分離年度が CP-k より古い菌株ばかりでなく、新しい菌株も胞子を形成しなかった。よって菌株による胞子形成の有無は、分離年度の新旧によるものばかりではないようである。

*Cercospora* 属菌における菌株による胞子形成の有無については、CALPOUZOS<sup>11)</sup>により *C. musae* で、JONES<sup>12)</sup>により *C. kikuchii* で、GOODE<sup>ら</sup><sup>13)</sup>により *C. citrulidina* で、また川崎ら<sup>4,7)</sup>により *C. sequoiae* で認められている。なお清原ら<sup>2)</sup>の実験では、本菌および *C. sequoiae* について供試した各 2 菌株ずつのいずれにも胞子が形成されており、菌株間の胞子形成の有無、形成量の差については考察していない。

はじめの実験では、明室で培養したものに胞子が形成されたが、暗室ではほとんど形成されなかった。このことに注目して各種の培養場所(表-3)を検討したところ、A および B の培養場所で胞子が形成されたが、C, D, E および F の培養場所では胞子形成が認められなかった。A, B および C では光の照射方法が同様(昼室内光、夜暗)であるが、温度が異なる。C では昼夜とも同温度であるが、A および B では昼夜交互に異なる温度で

あり、A では昼高温、夜低温、B では昼低温、夜高温である。ところが A では B より胞子形成量が多く、C では形成されなかった。このことは温度が、胞子形成に対するひとつの重要条件であると考えられた。しかしまた光の影響も考慮しなければならない。すなわち A, B の温度で、昼夜とも暗所で培養しても胞子が形成されるかについては検討を要する。

STAVELY<sup>ら</sup><sup>9)</sup>は *C. nicotianae* で、内藤ら<sup>14)</sup>は *C. beticola* で、温度が胞子形成量に影響することを認めている。CALPOUZOS<sup>ら</sup><sup>15,16)</sup>は、*C. beticola* の胞子形成には光が顕著な影響を与えるが、その形成量は単に光だけでなく、温度との関連(相互作用)により影響を受けるとしている。また川崎ら<sup>5,7)</sup>は、*C. sequoiae* の胞子形成に、光が顕著な影響を与えると報じている。清原ら<sup>2)</sup>は、*C. sequoiae* の胞子形成には光が必要条件であるが、本菌の場合には不必要であるとしている。

はじめの実験では、培養初期に菌そうを破碎することにより、破碎しないものより多数の胞子が形成された。このことに注目して胞子と菌糸断片の混じった懸濁液を短時間ごとに新しい培地に継続的に移植したところ、多数の胞子を継続して得ることができた。

継続移植法は、NAGEL<sup>17)</sup>が分離培養の初期に胞子形成が良好である 6 種の *Cercospora* 属菌、すなわち *C. beticola*, *C. cruenta*, *C. davisii*, *C. dubia*, *C. physalidis*, *C. setriae* について、その培地上形成胞子を継続移植して成功した方法である。ITÔ<sup>ら</sup><sup>18)</sup>もこの方法により、*C. platanifolia* の胞子形成に好結果を得た。また川崎ら<sup>5~6)</sup>は *C. sequoiae* についてこの方法を適用して成功したが、はじめの移植の際の接種源は菌糸断片であった。

川崎らの他に菌糸断片を接種源として成功した例がある。KILPATRIK<sup>ら</sup><sup>19)</sup>は 10 種の *Cercospora* 属菌、すなわち *C. brachiata*, *C. canescens*, *C. capsici*, *C. festucae*, *C. kikuchii*, *C. pueraricola*, *C. sesami*, *C. sorghi*, *C. stizolobii*, *C. zebrina* の菌糸断片を条状にぬりつけ、また BAXTER<sup>20)</sup>は *C. medicagnis* の菌糸断片を培地に混入して、胞子形成に成功している。清原ら<sup>2)</sup>の方法では、その操作のひとつに菌そうの切断があるが、これを菌糸の部分的死による刺激が菌そう内部に胞子形成の準備を起こさせる段階と考え、重要視している。

本実験で胞子と菌糸断片の混合懸濁液を継続移植して成功したのは、培地上形成胞子を移植したこと、菌そうを破碎して菌糸断片を移植したことの 2 点を考慮しなければならない。

培地上に形成された胞子の形態は、培養場所により異



なり、2種類のものが得られた。明室で形成されたI型胞子は、自然発病葉上のものに比べて明らかに異常形であり、またその形成方法も異なっていた。しかし培養場所AおよびB(表-3)で形成されたII型胞子は自然発病葉上のものにきわめて類似していた。よって胞子の形態からは、培養場所AおよびBが明室より適しているといえよう。なお培地上で形成された胞子の病原性を確かめることはきわめて重要であるが、本実験ではその形成量が十分でなく、実施できなかったことを付記しておく。

本実験において胞子が多数形成された培地においては、その菌そうの生長が不良であること、また菌糸の隔膜間がきわめて短く、著しく屈曲分枝し、堅くからみ合っており自然発病葉上に観察される子座状になっていることが注目された。

清原<sup>2)</sup>は、本菌および*C. sequoiae*とも、胞子は菌そうの表面には形成されず、菌体組織が緊密な菌そうの裏面および切断面に多いことを指摘している。また陳野<sup>21)</sup>は、*C. sequoiae*を振とう培養して菌核様体を作り、これを乾燥した後加温することにより多数の胞子を得ることに成功したが、まず緊密な菌核様体を作ることが胞子形成の必要条件であると強調している。本実験を含めてこれら3つの培地上胞子形成法は、いずれもその技法が異なるとはいえ緊密な菌体組織から胞子が形成される点では同様である。今後これらの*Cercospora*属菌の胞子形成培地を探索する際に、胞子形成に先だつ緊密な菌体組織を形成することに、ひとつの指針を置くことが必要と考えられる。

#### 引用文献

- 1) 周藤靖雄: マツ葉枯病菌 *Cercospora pini-densiflorae* HORI et NAMBU の胞子形成培地 (I). 19回日林関西支講: 179~180, 1968
- 2) 清原友也・徳重陽山: マツ葉枯病菌 *Cercospora pini-densiflorae* HORI et NAMBU とスギ赤枯病菌 *C. sequoiae* ELLIS et EVERHART の培地上胞子形成 (I). 日林誌 51: 98~101, 1969
- 3) BERGER, R.D. and HANSON, E.W.: Relation of environmental factors to growth and sporulation of *Cercospora zebrina*. Phytopath. 53: 286~294, 1963
- 4) 川崎俊郎・西村鳩子・陳野好之: スギ赤枯病菌 *Cercospora cryptomeriae* SHIRAI の胞子形成培地について (予報). 日林誌 47: 448~451, 1965
- 5) ———: スギ赤枯病菌の人工培地上における分生胞子形成に関する研究 (第2報). 77回日林講, 293~295, 1966
- 6) 川崎俊郎・西村鳩子: *Cercospora cryptomeriae* SHIRAI の sporulation media に関する研究 (III). 78回日林講: 208~209, 1967
- 7) 川崎俊郎・西村鳩子・陳野好之: スギ赤枯病菌 *Cercospora sequoiae* ELLIS et EVERHART の人工培地上における分生胞子形成に関する研究 (I). 分生胞子形成に及ぼす培地組成および培養条件. 林誌研報 232: 13~24, 1970
- 8) STAVELY, J.R. and NEMMO, J.A.: Relation of pH and nutrition to growth and sporulation of *Cercospora nicotianae*. Phytopath. 58: 1372~1376, 1968
- 9) ———: Effects of temperature upon growth and sporulation of *Cercospora nicotianae*. Phytopath. 59: 496~498, 1969
- 10) MILLER, J.W.: Cultural conditions affecting sporulation of *Cercospora gossypina*. Phytopath. 59: 511, 1969
- 11) CALPOUZOS, L.: Controlled sporulation of *Cercospora musae* ZIMM. in pure culture. Nature 173: 1084~1085, 1954
- 12) JONES, J.P.: Isolation of a sporulating strain of *Cercospora kikuchii* by selective sub-culturing. Phytopath. 48: 287~288, 1958
- 13) GOODE, M.J. and BROWN, G.R.: Detection and characterization of *Cercospora citrullina* isolates that sporulate readily in culture. Phytopath. 60: 1502~1503, 1970
- 14) 内藤中人・高原 弘: *Cercospora beticola* の培地上に於ける胞子形成並胞子の形態に及ぼす2,3の要因に就て. 香川農大術報告 6: 283~288, 1955
- 15) CALPOUZOS, L. and STALLKNECHT, G.F.: Sporulation of *Cercospora beticola* affected by an interaction between light and temperature. Phytopath. 55: 1370~1371, 1965
- 16) ———: Effect of light on sporulation of *Cercospora beticola*. Phytopath. 57: 679~681, 1967
- 17) NAGEL, C.M.: Conidial production in species *Cercospora* in pure culture. Phytopath. 24: 1101~1110, 1934
- 18) ITÔ, K. and HOSAKA, Y.: Notes on some leaf-spot diseases of broadleaved trees I *Cercospora* leaf-spot of plane trees. Bull. Gov. For. Exp. Sta. 46: 17~32, 1950
- 19) KILPATRICK, R.A. and JONSON, H.W.: Sporulation of *Cercospora* species on carrot leaf decoction agar. Phytopath. 46: 180~181, 1956
- 20) BAXTER, J.W.: *Cercospora* black stem of alfalfa. Phytopath. 46: 398~399, 1956
- 21) 陳野好之: スギ赤枯病菌 *Cercospora sequoiae* ELLIS et EVERHART の新しい分生胞子形成法 (I). 日林誌 52: 306~309, 1970

(1971年3月17日受理)