

日本産そうか病菌 (*Sphaceloma* および *Elsinoe* 属菌)
の比較研究

根 岸 寛 光

①

日本産そうか病菌 (*Sphaceloma* および *Elsinoe* 属菌) の比較研究

根岸寛光

目次

I. 緒言	1
II. 供試菌株および病原菌の分離・培養	13
1. 供試菌株の由来	13
2. 病原菌の分離	16
1). 方法および結果	16
2). 考察	19
3. 病原菌の培養	21
1). 材料および方法	21
2). 結果	22
3). 考察	23
図版	26
III. 各種植物のそうか病	28
1. ラッカセイそうか病	28
1). 発生状況	28
2). 病徴と病原菌の形態	29
3). 病原菌の分離	30
4). 病原菌の形状観察	31
5). 病原性試験	35
(1) 菌叢の直接置床法	35

(2) 分生子懸濁液の噴霧接種法	36
(3) 切除葉への簡易接種法	36
6). 病原菌の同定・分類	39
図版	42
 2. コセンダングサそうか病	46
1). 発生状況および病徴	47
2). 病原菌の顕微鏡観察	48
3). 病原菌の分離	49
4). 病原性試験	50
5). 病原菌の同定・分類	51
図版	54
 3. コスモスそうか病	57
1). 発生状況および病徴	57
2). 病原菌の顕微鏡観察	58
3). 病原菌の分離	59
4). 病原性試験	59
5). 病原菌の越冬	60
6). 病原菌の同定・分類	62
7). 考察	63
図版	65
 4. その他のそうか病	69
1). ウコギ科植物のそうか病	69

(1) ウドそうか病	70
(2) タラノキそうか病	71
(3) ヤツデそうか病	73
(4) 3種の菌の交互接種試験	74
図版	78
2). ブドウ黒とう病	83
3). ミカンそうか病	83
4). サトウキビ白星病	85
5). アケビそうか病	86
6). ヤブマメそうか病	87
7). スミレそうか病	89
8). ケヤキそうか病	90
図版	92
IV. 分生子の大量形成法	102
1. 固体培地上における分生子大量形成法	104
1). 材料および方法	104
2). 結果	105
3). 考察	106
2. ジャガイモ小切片上における分生子大量形成法	107
1). 材料および方法	107
2). 結果	108
3). 考察	109
図版	113

V. 培地上における性状	114
1. 温度および水素イオン濃度の影響	114
1). 材料および方法	116
(1) 供試菌株	116
(2) 温度の影響	117
(3) 水素イオン濃度の影響	117
2). 結果	120
(1) 温度の影響	120
(2) 水素イオン濃度の影響	123
3). 考察	125
2. 炭素源、窒素源およびビタミンの影響	128
1). 材料および方法	128
(1) 供試菌株	128
(2) 接種源の調整	129
(3) 培養方法および生長量の評価	129
(4) 炭素源の影響	130
(5) 窒素源の影響	131
(6) ビタミンの影響	134
2). 結果	135
(1) 炭素源の影響	135
(2) 窒素源の影響	138
(3) ビタミンの影響	142
3). 考察	144

VI. 血清学的手法による比較	148
1. 材料および方法	149
1). 供試菌株	149
2). 抗原の作製	150
3). 抗血清の作製	151
4). ゲル内二重拡散法	152
5). 酵素結合抗体法	152
(1) ガンマグロブリンの精製	153
(2) 酵素標識抗体の作製	154
(3) 二重抗体法による酵素結合抗体法の手順	155
2. 結果	157
1). 各種抗原のタンパク質濃度	157
2). 抗血清の力価	158
3). ゲル内二重拡散法による各種本属菌の反応	159
4). 酵素結合抗体法による各種本属菌の反応	161
3. 考察	163
図版	165
VII. 電気泳動による比較	168
1. 材料および方法	168
1). 供試菌株	168
2). 泳動用ゲル作製のための試薬の調整	169

3). 泳動用ゲルの作製	171
4). 泳動用試料の調整	172
5). 泳動	172
6). 染色および脱色	172
2. 結果	173
3. 考察	174
図版	180
VIII. 総合考察	181
IX. 摘要	194
X. 参考文献	201

I. 緒言

各種植物のそうか病 (scab, leaf scab, spot scab), とうそう病, 黒とう病 (antracnose, spot anthracnose, leaf anthracnose), 白星病 (white scab, white rash) 等の病原菌として知られる *Sphaceloma* 属菌は, De Bary (1873) によって創設された不完全菌類の一種である¹²⁾。その完全時代は Raciborski (1900) によって創設された子のう菌の一種である *Elsinoe* 属菌に分類され²⁰⁾, そのタイプ種はブドウ黒とう病菌 (*E. ampelina*, 不完全時代は *S. ampelina*)²³⁾ とされている。これまでのところこれら *Sphaceloma* 属菌と *Elsinoe* 属菌とはほぼ完全に 1 対 1 の対応関係にあり, 初めに *Sphaceloma* 属菌として記載・命名が行われた種で後に完全時代が見いだされたものはすべて *Elsinoe* 属菌に分類され, 初めから *Elsinoe* 属菌として記載・命名が行われた菌の不完全時代はほとんど *Sphaceloma* 属菌とされている^{2, 3, 4)}。完全時代を *Bilancourtia* とされるものが 1 種だけあるが, 詳細は不明である²⁵⁾。

Sphaceloma (完全時代は *Elsinoe*) 属菌 (以下「本属菌」という) は, 宿主植物体の地上部のすべての部位に, 淡黄褐色〜黒褐色でかさぶた状のいわゆるそうか, とうそう, あるいは黒とう病斑を形成する²³⁾。宿主植物の病斑に認められる菌糸はしばしば数珠玉状を呈し, 植物体のクチクラ層直下でえ死崩壊した植物組織の上に厚く密生して菌糸層を形成し, ときにこれがクチクラを破って病斑表面に露出し不定形の分生子層となり, 分生子層上には一般に大型と小型の無色で透明な

2種の分生子を形成する^{3, 2, 4, 91}。大型の分生子は無色～やや着色、単胞～2胞、長楕円形または紡錘形で比較的明瞭な分生子柄上に少数形成され、小型の分生子は無色、単胞（まれに2胞）、楕円形で2個の眼点を有し、大型の分生子が形成されたのと同じ分生子層において、直接かまたは短い分生子柄上に多量に形成される⁶¹。これら2種の分生子を正式に区別した名称はなく、時に分生子の形状において同一種内であっても混乱した記載が認められることがある^{1, 25, 47, 139, 197-200, 256}。また一部の種においては、細菌と同様の大きさで直径約 $1\ \mu\text{m}$ の microconidia と呼ばれる分生子が見いだされている²⁰。一般に小型の分生子は病害の拡大・進展に重要な役割を占めるとされるが^{249, 259}、大型の分生子の役割についてはまだよくわかっておらず、記載時点での分生子の太きさの記述から判断すると、その形成が認められない種が多い。microconidia については全く不明である。

完全時代は、主に古くなったそうか病斑中に子座状の菌糸層ができ、ここに子のう殻を持たない球形または亜球形の子のうが直接形成される^{3, 41}。子のう胞子はやや着色し、2～4胞、棍棒状で、ひとつの子のうの中に8個形成されることが多い^{3, 41}。完全時代は、これをとりまく子座状の菌糸層とともに越冬に関与するとされるが、その詳細は不明である。わが国における明瞭な完全時代の報告事例は非常に少なく、これまでに山本(1956)がウド(*Aralia cordata*)のそうか病(病原菌は *E. araliae*)で子のうと子のう胞子を見だし²⁵⁵⁻²⁵⁶、端山(1971)らがこれと同種の菌によるウド、タラノキ(*A. elata*)およびサツデ(*Fatsia japonica*)

の病斑において未熟な子のを観察した例と⁶⁷⁾、黒沢ら(1956)がコウゾ (*Broussonetia kazinoki*) のかさぶた病について、その病原菌を初めから *E. broussonetiae* として報告した例¹⁴⁴⁾の合計3例にすぎず、都合2種が知られるだけである。他の多くの本属菌については、外国における完全時代の記載をそのまま適用している状態である。ダイズ黒とう病菌については、日本有用植物病名目録において病原菌が *E. glycines* とされているが¹²⁹⁾、正確にはわが国において完全時代が発見されたものではなく、倉田が Jenkins に病害標本を送付してその鑑定を依頼し、米国において子のが発見されて記載・命名が行われたものである¹⁴⁰⁾。

本属菌による病害は世界各国において発生が認められ、多くの作物に多大の被害を引き起こしている。主なものとしてはナタマメ (*Canavalia ensiformis*, *C. gladiata*)、ライマメ (*Phaseolus lunatus* var. *macrocarpus*)、インゲンマメ (*P. vulgaris*)、フジマメ (*Dolichos lablab*)、リョクトウ (*P. aureus*) およびラッカセイ (*Arachis hypogaea*) 等マメ類に発生する scab (そうか病) の病原菌として、*E. canavaliae*^{74, 222)}、*E. phaseoli*²⁶⁾、*E. phaseoli* f. sp. *vulgare*^(2, 12)、*E. dolichii*^(42, 95)、*E. iwatae*¹¹⁷⁾ および *S. arachidis*²⁵⁾ が挙げられる。また未同定の菌として *Sphaceloma* sp. がササゲ (*Vigna unguiculata*) に記載されている⁵⁴⁾。これらマメ類を宿主とする本属菌の記載・命名や同定・分類に当たっては、宿主の重複等の混乱が認められ、なお十分な検討が必要な事例が多い。この他サツマイモ縮芽病菌の *E. batatas*¹²⁵⁾、サトウキビ白星病菌の *E. sacchari*^(58, 157) 等が熱帯地域を中心に発生している。またカンキツ類のそうか病菌の *E. fawcetti*^{21, 73)} お

よび *E. australis*^{22, 23}, ブドウ黒とう病菌の *E. ampelina*^{13, 21, 41}, チャ白星病菌の *E. leucospila*^{23, 162} 等が、温帯地域においてもよく知られ、農業生産に対して大きな被害を与えている。本属菌についてはこの他に作物以外の植物を宿主とする菌が多数記載されているが^{6, 9, 10, 19, 26, 27, 33, 34, 43, 53, 59, 63, 65, 70, 73, 84, 85, 87, 92, 94, 95, 98, 100, 102, 104, 109, 110, 111, 112, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000}, これらの菌による病害は顕著な病徴のためにその発生が比較的目につきやすいものの、原則として農業生産にほとんど影響を与えることがないため、記載・命名以後の研究がほとんど行われていない場合が多い。

わが国においては未同定菌も含めて約40種の本属菌の発生が知られる^{125, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000}。最近10年間に関東地方を中心に発生が認められ、本研究において研究対象としたものだけでも10種を越え、世界各国での発生と同様、野生植物を宿主とする例が多いが^{119, 123, 144, 146}, 農作物での重要病害も何種類か報告されている^{125, 129}。例えばダイズ黒とう病¹⁴¹, ラッカセイそうか病¹²², ミカンそうか病⁶⁶, ブドウ黒とう病⁶⁵, サツマイモ縮芽病⁵¹, チャ白星病⁶⁹, サトウキビ白星病^{21, 23} 等である。

1950年代に猛威をふるったダイズ黒とう病¹⁴¹は、国を挙げての組織的取り組みによって、病原菌の生理・生態の解明や防除方法の策定が進められた結果^{129, 132}, ここ数年はかつて激発した東北地方においてさえ発生を認めておらず、昨年から病害発生の調査項目からも削除されるに至っている（御子柴、私信）。千葉県において初発生が1976年に報告され、その後の発生と被害の拡大が大いに

懸念されたラッカセイそうか病の場合^{193, 138)}、近年栃木県や埼玉県にまで発生地域は拡大したが⁷⁸⁾、ラッカセイ栽培の多い千葉県においてはその生態や有効な防除方法が解明され^{81, 174, 198)}、現在では発生も減少し、重症圃を認めることはほとんどない。

ミカンそうか病の場合、近年の各種カンキツ類の輸入自由化措置にともない、非優良園以外のミカン樹が放置に近い状態におかれ防除も不徹底なために、現在でもその発生が絶えない。ブドウ黒とう病については、近年のブドウ各種高級品種やワイン用品種の生産の伸びが著しいため、それにともない本病も継続して発生している状態である。1991年には、佐賀県においてベンズイミダゾール系薬剤に対する耐性菌も見いだされており²²³⁾、本病害の発生の根強さが伺える。サトウキビ白星病は主に南西諸島で発生しているが⁶⁴⁾、宮古島においてはほとんどの圃場に認められ²⁴⁶⁾、防除に最も有効とされる抵抗性品種の育成も進んでおらず⁶⁵⁾、他に栽培可能な換金作物も見あたらないため、現地では大きな問題となっている。

このような重要作物とは異なり、以前は農業分野においてさしたる問題となることがなかったが、近年になって宿主植物が商品性を帯び市場に出回るようになったために、そうか病の発生による被害が認められるようになったものがある。かつては山菜の一種として一部の愛好家等にだけ賞味されていたタラノキは⁶⁷⁴⁾、このところ春先に市場でよく見かけられるようになり、それにともなってタラノキそうか病の被害が注目されるに至った。またアケビはもともと山野に自生する

つる性の植物で¹⁴¹⁾、その果実が最近わずかではあるが店頭に姿をみせるようになった。そうか病はその果実表面にも病斑を形成し大いに外見を損なうため¹⁴²⁾、生産地においてはその発生が問題となっている（瀧川、私信）。その他ニンジソうか病^{142, 143)}およびシソうか病^{142, 143)}については、これらの病原菌の正式な記載・命名が行われておらず、いずれも *Sphaceloma* 属菌の一種とされたままとなっている。

食用の作物以外では、緑化樹等に本病の発生が認められることがあり、この場合にはその植栽場所の美観を損ねている事例が見受けられた。千葉県浦安市の東京ディズニーランド園内においては、ヤツデにそうか病の激しい発生が認められ、本病特有の病徴のために大いに美観の低下を招いており、これを目にした入園者にとって園全体への不快感が起ころのではないかと懸念される。また、コスモスについては、近年各所で休耕田や道端等に積極的に播種・栽培し、良好な風景の提供を行う事例が見られるが、このような場所でそうか病が発生した場合には、ヤツデ同様その美観の低下が甚だしく、観光名所としての価値が失われる可能性もあろう。幸いなことにコスモスにはこれまで圃場等での発生報告はないが、この病害は一度発生が認められると、翌年以降も継続して発生することがほとんどで、発生の撲滅は困難であることから、今後本病の発生には十分な注意が必要であらう。

なお、本属菌はそのほとんどが双子葉植物を宿主としており、これまでに单子葉植物についてはイネ科植物でサトウキビ白星病菌¹⁴⁴⁻¹⁴⁷⁾と *Panicum virgatum*

を宿主とする *E. panici*^{28E1}、ショウガ科の植物でウコンの一種であるターメリック (*termeric: Curcuma sp.*) を宿主とする *S. curcunae*^{29A1} と ジョウズク (*cardamon: Eleteria cardamomum*) を宿主とする *S. cardamomi*^{17A1} の4種だけが記載されている。また、裸子植物を宿主とするものではシダの仲間のシシガシラ科ヒリュウシダ属の *Blechnum serrulatum* を宿主とする *E. blechni*^{29E1} が唯一報告されている。

Sphaceloma 属は1876年に De Bary¹²¹ によって、完全時代の *Elsinoe* 属は1900年に Raciborski²⁰⁹⁷ によって創設されたが、これらの菌についてはその後、主に種々の植物上における記載・命名および同定・分類を中心とした研究が進められた。本属菌の記載・命名および同定・分類については、1920～1950年代に Bitancourt および Jenkins のグループによって行われた一連の報告が群を抜いている (15-22) (2-30, 63, 74-78, 90, 91, 99-100, 91-105, 154, 166, 241)。これらの報告はブラジルを中心として行われ、一つの報告の中で10～20種程度の新種ものの記載・命名が行われた例も認められる。インドにおいては1940年代に Thirumalachar がいくつかの記載・命名や同定・分類に関する報告を行い^{232, 234}、1970年前後には彼のグループによる同様の報告が相次いだ^{177, 242-245}。わが国においては1930～1960年代に黒沢および香月により、多数の新種の記載・命名および同定・分類が行われ^{113, 120, 124, 142-145}、一つの報告の中で数種の記載・命名が行われている。

これらの報告においては原則としてラテン語による記載が行われ、野外採集試料について宿主植物の種類と病徴および病原菌の形態が記述されている。しかし

病原菌の分離・培養，病原性の確認までを行った報告は少なく，宿主植物が双子葉植物の一種とだけ記述されているものや²¹⁾，不完全時代の記載であるにも関わらず分生子を確認していない事例が認められた^{19-20, 21-22, 23-24, 25)}。

このような経緯により1970年代までになかなり多くの種の記載・命名が行われ、これまでに世界中で記載された本属菌は約180種におよび、これらの多くはブラジル、インドおよびその他の熱帯地域における発生事例である。黒沢および香月による本属菌の記載は約30種におよぶが、温帯地域においてこれだけ多数の種を記載・命名したことは特筆に値しよう。温帯地域における記載・命名の事例は比較的少なく、ミカンそうか病やブドウ黒とう病以外にはラズベリー黒とう病³⁷⁾、クルミそうか病³⁸⁾、アーモンドそうか病⁴¹⁾およびオリーブそうか病⁴²⁾等がみられる程度である。

1950年代までにおける記載・命名および同定・分類以外の面では、ミカンそう
 か病菌について分離方法の開発^{54, 246, 251, 252}および顕微鏡観察による特異な
 病斑部位の組織増殖の発見があり^{52, 127, 128}、ブドウ黒とう病とともに完全時代
 探査に伴う生活環や発生生態等の解明が行われた^{28, 214}。また本属菌間相互の形
 態や菌叢形状についての比較が行われ、宿主以外の各種の性質がそれぞれ非常に
 類似していることが認められた^{27, 52, 92, 93, 123}。また1950年代には、糸状菌の
 生理的性質についての研究が数多く行われ<sup>7, 14, 37, 42, 56, 149, 152, 153, 163,
 172, 223, 224, 227</sup>、炭素源、窒素源、ビタミン等による生育への影響が検討され
 たが、本属菌についてはこの種の研究はほとんど進展しなかった。

1960年前後からの本属菌についての顕著な研究事例には、日本人によるものが多い。ダイズ黒とう病については、1950年代に農林省や東北地方を中心とする各県の農業試験場や大学において総合的な研究が進められ、多くの報告が行われたが(49, 132-141, 229, 231), その中から倉田(1960)による生理・生態等広範囲にわたる優れた報告がなされた(46)。またミカンそうか病については山田(1951, 1953, 1961)が特にその発生生態や防除に関する詳細な研究を行い優れた報告を残している(25)-253)。常谷および端山のグループは、1950年代から1970年前後にかけて、病原菌の宿主範囲を検討することで種の統合を行った。キリおよびアメリカキサゲのとうそう病菌については、それぞれ*S. tsujii*および*S. catalpae*とされていたものを*S. tsujii*にまとめ(83-110), ウド, クラノキ, ヤツデおよびキヅタのウコギ科植物のそうか病菌については, *E. araliae*, *S. araliae*および*S. hederaceae*の3種とされていた各植物の病原菌を, *E. araliae* (不完全時代は*S. araliae*) 1種とすべきであるとした(57, 111-114, 116)。このような本属菌の種の統合に関する研究は、これらの研究が世界で最初のものである。

その後1970年代前半には田中ら(1974)がブドウ黒とう病菌について培地上の諸性質や走査型電子顕微鏡観察による微細な形態を明らかにし(27, 222), 1970年代後半には高屋らがチャ白星病菌についてその発生生態, 分生子形成条件や培地上の諸性質を明らかにした(57, 224-228)。その後Mukelarらのグループはリョクトウそうか病について, 電子顕微鏡観察や防除方法までもを含む比較的詳細な研究を行っているが(17, 119, 177, 178), この事例は熱帯における本属菌による病害の研

究としては希少かつきわめて貴重である。1980年前後から根岸らのグループは、ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis*)¹⁸⁰⁻¹⁸²⁾、ゴセンダングサそうか病菌 (*S. bidentis*)^{180, 186)}、コスモスそうか病菌 (*S. bidentis*)^{181, 186, 189)} について、それぞれ個別に詳細な検討を加えた。根岸らはウドおよびタラノキのそうか病菌 (いずれも *E. araliae*) について分生子の大量形成法を開発するとともに¹⁹³⁾、*E. araliae*、サトウキビ白星病菌 (*E. sacchari*) およびヤブマメそうか病菌 (*S. kurozawana*) についても一括して培地上の諸性質を詳細に比較検討した¹⁹⁴⁾。また1980年代には長井らがラッカセイそうか病の発生生態および防除に関する研究を行い、本病の防除方法策定に大いに貢献した^{174, 175)}。

外国においては1975年にBasuがターメリックそうか病菌について、簡単な栄養生理試験と毒性代謝物についての研究を行ったが、詳細は不明である¹¹⁾。1970年代中ごろからは Whiteside が、ミカンそうか病について発生生態や防除について研究を行い、本菌の系統分化の可能性を報告した^{249, 249)}。Masonらは電子顕微鏡観察により、*E. wisconsinensis*の宿主内での所在を明らかにした¹⁰⁰⁾。1980年にはZeiglerらが、キャッサバの super elongation diseaseの病徴である茎の異常伸長が、病原菌である*E. brasiliensis* (*S. manihoticola*)の産生するジベレリンA₈に起因することを発見した²⁵⁶⁾。その後 Zeiglerらは交互接種試験、培地上での生育状況、菌の形態等により、5種に分類されていたキャッサバ、ポインセチア等のトウダイグサ科植物のそうか病菌を、*E. brasiliensis*と*S. poinsettiae*の2種にまとめる報告を行った²⁸⁰⁾。この報告は、わが国の常谷および端山らの研

究に次ぐものである。

この間、本属菌による病害の防除に関しては、抵抗性品種の選抜^{選抜 (selection)}と薬剤防除^{防除 (control)}の両面から検討され、抵抗性品種を実用化した事例は知られていないが、薬剤についてはいずれの病害でも、ベノミル剤およびチオファネートメチル剤に効果のあることが認められている。

本属菌の研究は、他の植物病原糸状菌に比べるとかなり遅れており、未だに記載・命名や同定・分類の域を大きく脱したとは言い難い状況である。特に、各種の本属菌の生理的性質や種間の比較研究については、まだ緒についたばかりという状態である。本研究は、わが国において著者らが初めて発生を認めたいくつかの病原菌を含むわが国に発生の認められる各種のそうか病菌について、その詳細な生理的性質を明らかにするとともに、これまでほとんど形態と宿主によって行われてきた本属菌の分類に、血清学的手法や可溶性タンパクの電気泳動によるデータを加えることにより、新たな観点から本属菌の分類につき考察を行ったものである。

なお、本研究を行うに当たって多くの御指導と御協力を賜った東京大学農学部教授土崎常男博士、同助教授山下修一博士および難波成任博士、同助手奥 尚博士、同名誉教授與良 清博士および土居養二博士、宇都宮大学農学部助教授夏秋知英博士、静岡大学農学部助教授瀧川雄一博士、東京農業大学名誉教授向 秀夫博士、同農学部教授端山重男博士、藤井 溥博士および脇本 哲博士、同講師

陶山一雄博士には心より感謝するとともに、本研究遂行に際して種々ご協力をいただいた、東京農業大学農学部植物病理学研究室の皆様に厚く御礼申し上げます。

II. 供試菌株および病原菌の分離・培養

1. 供試菌の由来

本研究に供試した菌の種類と菌株は第1表のとおりであった。

第1表 本研究に供試した *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌 - 1

病原菌学名 病原菌名	分離源植物	発生地または採集地 (菌株番号, 分離または発生年)
<i>Elsinoe ampelina</i> ブドウ黒とう病菌	<i>Vitis vinifera</i> ブドウ	千葉県千葉市 (Ea-01~06, 1984)
<i>Elsinoe araliae</i> ウドそうか病菌	<i>Aralia cordata</i> ウド	北海道網走市音根内 (Udo1~8, 1986)
<i>Elsinoe araliae</i> トラノオそうか病菌	<i>Aralia elata</i> トラノオ	長野県小県郡真田町菅平 (Ar-01~04, 1984) 埼玉県秩父郡荒川村 (Ar-05, 1984) 埼玉県秩父郡両神村(1984) 静岡県富士宮市(1991) 東京都世田谷区 (TaraN1~N13, 1991)
<i>Elsinoe araliae</i> ヤツデそうか病菌	<i>Fatsia japonica</i> ヤツデ	千葉県千葉市 (Ar-06~08, 1985) (YTD1~6, 1985) 埼玉県東松山市(1986) 埼玉県越谷市 (YTDK1~K17, 1991) 千葉県浦安市(1991)
<i>Elsinoe fawcettii</i> ミカンそうか病菌	<i>Citrus unshiu</i> ウンシュウミカン	愛知県尾張一宮市 (EF-01~05, 1984)

第1表 本研究に供試した *Sphaceloma*(*Elsinoe*) 属菌 2

病原菌学名 病原菌名	分離源植物	発生地または採集地 (菌株番号, 分離または発生年)
<i>Elsinoe sacchari</i> サトウキビ白星病菌	<i>Saccharum officinarum</i> サトウキビ	沖縄県宮古島城辺町 (SC01, 02, 04, 12~15, 1986) (Es-01~08, 1986)
<i>Sphaceloma akebiae</i> アケビそうか病菌	<i>Akebia quinata</i> アケビ	山形県村山市 (AKB1~9, AKBFI~3, 1987)
<i>Sphaceloma arachidis</i> ラッカセイそうか病菌	<i>Arachis hypogaea</i> ラッカセイ	千葉県千葉市 (Sa-11, 1977) (Sa-77, 1983) (Sa-02, 04, 06, 07, 1984) 千葉県八千代市 (Sa-01, 1976) (GN1.2, 1984) 埼玉県朝霞市(1991)
<i>Sphaceloma bidentis</i> コセンダングサ そうか病菌	<i>Bidens pilosa</i> コセンダングサ	東京都文京区(1978) 埼玉県東松山市(1984) (Sb-01~04, 1984) 神奈川県南足柄郡中井町 (Sb-05~08, 1984) 神奈川県川崎市多摩区(1986) 東京都豊島区 (Sb-M1~M6, 1991) 埼玉県越谷市 (Sb-K1~3, 1991) 和歌山県田辺市 (Sb-T1, T2, 1992)
<i>Sphaceloma bidentis</i> コスモスそうか病菌	<i>Cosmos bipinnatus</i> コスモス	神奈川県川崎市多摩区 (C001, 02, 1985) 茨城県取手市(1987) 東京都豊島区(1987) (COM1~3, 1991) 埼玉県越谷市 (COK4~K6, 1991)

第1表 本研究に供試した *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌 - 3

病原菌学名 病原菌名	分離源植物	発生地または採集地 (菌株番号, 分離または発生年)
<i>Sphaceloma kurozawana</i> ヤブマメそうか病菌	<i>Amphicarpaea edgeworthii</i> var. <i>japonica</i> ヤブマメ	千葉県千葉市 (YBM1, 2, 1989) 埼玉県秩父郡荒川村 (YBMC1~4.6.7, 1990)
<i>Sphaceloma violae</i> スミレ類そうか病菌	<i>Viola</i> × <i>wittrockiana</i> サンシキスミレ <i>Viola</i> sp. スミレ属植物の一種	千葉県四街道市 (Sv-01~06, 1984) 静岡県富士宮市(1985) 埼玉県朝霞市(1989)
<i>Sphaceloma zelkovae</i> ケヤキそうか病菌	<i>Zeikova serata</i> ケヤキ	東京都世田谷区 (KYK1~10, 1988)

これらの罹病組織については、かみそりで薄く切り光学顕微鏡で観察した。また、病原菌の分離後は、スライドカルチャー法によりプレパラートを作製し、これをラクトフェノールで固定した後光学顕微鏡で観察した。以上の試料は必要に応じてコットンブルーで染色して検鏡した⁵²⁾。

なお、宿主植物の同定・分類または学名、和名等については、原則として日本草本植物総検索誌ⅠおよびⅡ^{220, 221)}、日本樹木総検索誌²²²⁾および園芸学用語集園芸作物名編⁵³⁾によった。

2. 病原菌の分離

1). 方法および結果

本属菌各種の分離を行うに当たって用いた方法とその分離結果は、以下のとおりであった。なお、供試培地は特に断らない限りジャガイモ煎汁ショ糖寒天培地（以下「P S A」という）平板とした。P S Aの作製手順は以下のとおりであった。ジャガイモ200gを蒸留水約 1,000mlで20分間煮沸してできた煎汁を濾過し、ショ糖20gおよび寒天15gを添加後十分に加熱・溶解し、これに蒸留水を加えて正確に 1,000mlとした後直径18mmの試験管に9mlずつ分注し、オートクレーブ（新高圧滅菌器HL-Ag型、(株)平山製作所製）で高温高压滅菌（120℃、15分間）してから^{2.4.9)}、試験管を斜めに倒した状態で静置して培地を固化させ、試験管斜面培地とした。これを再溶解した後シャーレ内で固化させて平板培地とした。

(1)新葉等に認められる比較的新鮮な小病斑については、1小片に1小病斑が入る程度の大きさ（1～2mm平方程度）に病斑を含む組織を切り出した。これをキムワイプ等水に濡れても破れない薄手の紙で軽く包み、70%エタノールに20～30秒浸漬した後、アンチフォルミン（有効塩素濃度1%）に1～2分間、または1,000ppm塩化第二水銀溶液に30～60秒間浸漬し、その後滅菌水中で包の状態のまま洗浄した。つぎに新たな滅菌水に移すと同時に包を破り、組織小片をよく洗浄した後、直径10mmの小型試験管内の少量のP S A斜面培地上に1個ずつ置床した（図版-1）。これを25℃で3～5日おくと、褐色の病斑部から淡黄褐色で肉質塊状の菌叢が生じるのが認められた^{1.4.2), (2.4.9)}（図版-2）。

本方法によりラッカセイそうか病菌およびコセンダングサそうか病菌の分離を行った。本方法による分離成功率は、供試切片数に対して約20～75%（平均約40%）であり、雑菌の混入による分離の失敗は少なかったが、組織片から何も生育してこない場合が多かった。これは、組織片が若く小さいために殺菌成分が過剰に浸透することと、紙等で包まれたままでの滅菌処理であるため正確な処理時間を保持できにくく、どうしても長めの処理になってしまうためではないかと思われた。

(2) 比較的硬い葉組織をもつ樹木等の葉に形成された病斑からの分離については、薄い切片からの分離を行った。病斑を含む幅3～5mm程度の葉組織小片をビスではさみ、これを剃刀で顕微鏡観察試料よりもやや厚め（約0.1mm程度）に切り滅菌水に浮かべた。この薄切試料を一つずつピンセット等でとり、70%エチルアルコールに約10秒、アンチフォルミンに20～30秒または塩化第二水銀溶液に10～20秒浸漬し、滅菌水で2回洗浄後1. と同様に小型試験管内のP S A上に置床した。これを25℃で2～3日おくと、褐色の病斑部分から淡黄褐色で肉質塊状の菌叢が生じるのが認められた（図版-3）。

本方法ではミカンそうか病菌の越冬病斑からの分離において非常に良好な結果を得た。ミカンのように比較的組織が密な木本植物の罹病葉からの分離では、多くの場合組織内に侵入している雑菌の殺菌が困難で、(1)の方法によってもしばしば糸状菌や細菌の混入が認められた。また、表面殺菌時間をやや長くすると、組織表面に菌糸層として存在する本来の目的菌をも殺菌してしまう結果

となった。本方法においては組織をかなり薄く切り取るため、雑菌の混入を大幅に抑制することができたが、菌糸層が断面に露出することとなるため、組織片の表面殺菌時間をかなり短くすることが必要であった。分離成功率は約50%と高かったが、滅菌および置床の過程はやや煩雑であった。

(3) 茎等に認められた比較的大型の融合病斑の場合には、病斑部を水で洗浄後その一部を3~5mm四方の大きさに切り出し、これらを70%エチルアルコールに約20秒、その後アンチフォルミン1~2分または塩化第二水銀溶液に30~60秒浸漬し、滅菌水で2回洗浄後、P S A平板上に数個づつ、または直径10mmの小試験管内のP S A斜面培地上に1個づつ静置し、少なくとも数日間25℃におくと、供試小片の病斑周囲に菌叢の発達が認められるようになった。

本法は通常の糸状菌の分離方法とほぼ同様であるが、表面殺菌に要する時間が比較的短いことが異なっている。本方法ではスミレそうか病菌 (*S. violae*)、クラノキそうか病菌およびヤブマメそうか病菌の分離を行った。植物組織が比較的大きいため肉質塊状菌叢がその影にかくれがちとなり、初期の発達確認が遅れがちであるとともに、多種の菌に汚染されている可能性が高い組織片であるにもかかわらず表面殺菌時間が比較的短いため、本属菌の菌叢出現と同時にそれ以前に細菌や糸状菌の混入の起こることが多く、分離成功率は約25%と比較的低かったが、どのような試料についても適用可能であり、操作は最も簡便な手法であると思われた。なお細菌の混入については、培地にクロラムフェニコールを100ppm添加することでかなり抑制することができた。

(4)多数の病斑を含む葉や大型病斑を含む茎の一部等の罹病組織からの分離には以下のような方法を用いた。軽く水で洗浄した罹病葉や罹病茎を5~10mlの滅菌水中に一晚浸漬すると、病斑表面には多数の分生子が形成され分生子懸濁液が得られた。また、新鮮な葉の病斑上に水滴をおき一晚静置しておくことによっても、ごく少量ではあるが分生子懸濁液を得ることができた。このようにして得た懸濁液を適宜滅菌水で希釈した後、クロラムフェニコール100ppmを含むP S A平板上に、太さ約0.5mmのニクロム線で作った内径約2mm、外径約3mm程度の柄付ループ（以下単に「ループ」という）で画線し、少なくとも1週間25℃の定温器中に静置した。速ければ3日目には平板の各所に、淡黄褐色の小ドーム状の肉質塊状菌叢が、細菌のコロニーのような形状で出現した。

本法ではしばしば糸状菌の混入がみられ、抗生物質の添加にもかかわらず細菌の集落も認められた。しかし、本菌の菌叢が比較的早めに発見され、また雑菌の集落から十分離れたところに位置していれば、単独の分生子に由来すると思われる菌叢を比較的簡単に得ることができた。本菌の菌叢は初めは円形で淡い色調で光沢を帯びているため細菌の集落と類似したが、菌叢直径が2mm近くになると菌叢の高さが直径に比べて高くなり、表面が比較的乾燥したように見えてくることから、細菌の集落との区別が十分可能となった。本方法では、ウドそうか病菌、タラノキそうか病菌、ヤツデそうか病菌、コセンダングサそうか病菌、コスモスそうか病菌等の分離を試み、全ての分離に成功した。

2). 考察

本属菌は以前から分離・培養が困難と言われてきたが、その原因は固体培地上において形成される特異な菌叢にあるものと思われる。本属菌は通常の糸状菌と異なり水平方向に菌糸を伸長させて円形の集落を形成せず、非常に密な肉質塊状の菌叢を形成し、その生長はきわめて緩慢で、しかも各方向に不均一に3次元的に伸長するため、菌の生育の良否を比較することも困難であった。

特に水平方向の菌の伸長が非常に緩慢であるため、罹病組織から本属菌を分離するに当たっては、病斑内外に生育する他の糸状菌や細菌類が本属菌よりもはるかに迅速な生育をとげ、その結果本属菌が単独で取り出されることが困難となった。また、本属菌はあまり組織内部に深く侵入せず、比較的表皮付近に生育するため、余り強い表面殺菌処理を行うと、雑菌と同時に殺菌されてしまう可能性も高いと思われる。このような理由により、本菌の分離方法については以前からいくつかの特異的手法が提案されてきた(4, 189, 206, 225, 251, 252)。

これまでに提案された分離方法においては、多くの場合、その取扱が煩雑であるとともに、古い時代のものについては、現在普通に使用されている抗生物質が使用されておらず(4, 206, 251, 252)、新たな簡易分離方法を開発することが求められた。本研究においては、上記のような本属菌の特性を十分に理解した上で種々の分離方法を試み、それぞれ一定の成果を得ることができた。これらの方法は比較的簡便であるとともに分離率も高く、今後本属菌を分離するに当たって十分推奨できる方法であると考えられた。特に分生子懸濁液を用いた簡易単胞子分離

法については¹⁸⁶⁾、これまで分離に当たっては短所と見られていた緩慢な生長をする肉質塊状菌叢という本属菌の特徴を、長所に転換できたものとして評価できるものであると考えられた。

3. 病原菌の培養

1). 材料および方法

本属菌の通常の培養および継代にはP S Aを用いて25℃で行い^{235, 238)}、継代は3ヶ月ごとに行った。また、必要に応じてP S Aの成分から寒天だけを除いて液体培地としたP S 液体培地(以下「P S 液」という)、またはLilly & Barnett solution(以下「L B 液」という)¹⁴⁰⁾を培養基として用いた。これらの培地は100mlフラスコに20mlずつ分注し、往復振とう装置(フラスコ振とう機, SB-12, 三木製作所製)で25℃、毎分約100回、振幅7cmの往復振とう培養に供試した。L B 液1,000ml中の組成は、ブドウ糖: 25g, アスパラギン 1 水和物: 2.0g, KH_2PO_4 : 1.0g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0.5g, 微量要素液: 2.0ml, 塩酸チアミン: 100 μg およびビオチン: 5 μg であった。微量要素液1,000ml中の組成は $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 496mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 440mgおよび $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 203mgであった。いずれの培地も特に断らない限りオートクレーブによる高温高压滅菌を行い²³⁹⁾、L B 液については塩酸チアミンが高温で分解することがないように、滅菌前に0.1N塩酸を用いてpHを5.5以下に調整した。

2) 結果

Sphaceloma (Elsinoe) 属菌を P S A 培地上で培養すると、いずれの供試菌も肉質塊状の菌叢を形成し、その生長はブドウ黒とう病菌、ウドそうか病菌、タラノキそうか病菌、ヤツデそうか病菌、ミカンそうか病菌、アケビそうか病菌、ラッカセイそうか病菌、コセンダングサそうか病菌、コスモスそうか病菌、スミレ類そうか病菌およびケヤキそうか病菌では、20日間の培養で菌叢直径が約20mmに達したが、ヤブマメそうか病菌では10~15mm程度にしか生育しなかった。菌叢の高さはヤブマメそうか病菌で7~8mmであったが、他の供試菌では10~15mmであった。菌叢表面は生育の初期には比較的平滑で光沢を有することが多かったが、次第に表面にしわを生じて凹凸が顕著となり、表面が乾燥して光沢も失われた。

P S 液および L B 液で静置培養すると、いずれの菌も白色羽毛状の菌糸塊となり、非常に緩慢に生育した。往復振とう培養を行うと、いずれの菌も肉質塊状で球形の菌糸塊を多数形成し、時に培養液内に粘性物質や分生子を産生することもあった。生育速度はヤブマメそうか病がきわめて遅かったが、他の供試菌はほぼ同様で、培養20~25日目前後に菌叢乾燥重量が最大となった。P S 液体培地で往復振とう培養して得られた球状菌糸塊は、接種源の菌叢片を核として生長したものであったが、大きさが均一で多数の菌叢片を培養時の接種源とすると、多数の均一な球状菌糸塊を得ることができた(図版-4, 5)。このことから、各種の培養試験に供試する接種源として、この球状菌糸塊を用いることとし、その作製

方法を以下のとおりとした。

- (1) P S A 斜面培地で2週間程度培養した菌叢約5mm立方程度をかきとり、これを100mlフラスコ内において葉さじで潰し細片とした。
- (2) 得られた細片を、太さ約0.5mmのニクロム線で作った内径約2.0mm、外径約3.0mmのループですくいとり、20mlずつ分注したフラスコ内のP S 液に懸濁させ、これを25℃で毎分約100回、振幅7cmの往復振とう培養を行った。
- (3) フラスコ内では接種源の細片を核として次第に球状のほぼ均一な大きさの菌糸塊が形成され、約2週間の培養で直径3mm程度に生長した球状菌糸塊が数十個程度得られるので、これを各種培養試験における接種源とした。

8) 考察

Sphaceloma (Elsinne) 属菌の培地上における菌叢形状は非常に特異的なもので、通常の糸状菌と異なり一般的には肉質塊状を呈した^{23, 26-28, 33, 40, 47, 48}。生育は緩漫といわれ、これまでに具体的な生育状況を記した報告は少ないが、ダイズ黒とう病菌では2週間培養を行っても、菌叢直径は約1cm程度であるとされている⁴⁸。本研究に供試した本属菌の中では、ヤブマメそうか病菌の生育がもっとも緩漫でダイズ黒とう病菌に近かったが⁴⁸、同じマメ科植物を宿主とするがラッカセイそうか病菌の生育はこれらの菌よりも速く^{44, 49}、他の供試菌の生育もこれとほぼ同様であった^{23, 24, 26}。

本属菌の生育が緩漫といわれるのは、生育を平板培養における2次元的視点か

ら考えるからであり、3次元的にとらえるならばそれほど緩慢とはいえない¹⁾²⁾。本属菌の菌叢は肉質塊状で他の糸状菌に比べると非常に密度が高く、菌叢質量として菌の生育をとらえるならば、他の糸状菌に比べて遜色はないと考えられた。従って、本属菌の生育状況を把握するためには、通常の個体培地を用いて菌叢直径を計測する方法を適用することは困難であり、何らかの形で菌叢全体の質量を評価する方法をとることが求められる。

倉田は液体培養後の菌叢の乾燥重量を求めた¹⁾²⁾。この方法では生育状況について非常に正確な判定が可能であったが、途中経過を同一菌叢で追跡することができない上に、操作が比較的煩雑である。田中は固体培地上の菌叢の形状を円錐形とみなし、底面の直径と高さから体積の近似値を求め²⁾³⁾、高屋らも同様の手法を用いた²⁾³⁾。この方法では菌叢の密度が無視されることになるため、本属菌の生育状況を必ずしも正確に判定できるとは限らない。本研究においては、培地が固体か液体かにかかわらず、やや煩雑ではあるが正確さの点を考慮し、倉田の方法に従い、菌叢の乾燥重量によって生育の良否を判定することとした²⁾⁹⁾。

本属菌の生育の良否判定を行うに当たっては、接種源に何を用いるかが大きな問題である。接種源の条件としては、大きさが均一であること、多数が容易に得られること、取扱が簡単であること等があげられよう。通常の糸状菌では平板培地で生育させた菌叢のディスクを用いることが多いが、本属菌の菌叢は3次元的に生育ししかも不正形を呈するため、この方法は不適当であった。倉田は固体培地上の菌叢を5 mm角に切り取って接種源としたが¹⁾⁴⁾、不正形の菌叢を正確に切

断することはかなり困難であると同時に、菌叢の密度が必ずしも一定ではなく、あまり適当な方法ではないと思われる。分生子懸濁液を用いることも考えられたが、本菌の場合培地上において一定濃度の懸濁液を作製することが非常に困難で、しばしば粘性物質の産生を伴う等の難点が認められた。本属菌については、菌叢細片を同一日数、同一の液体培地内で培養することにより、ほぼ同一の大きさの球状菌糸塊を多数得られることが判明した^{180, 184, 186, 189}。本方法によれば、容易に均一な大きさの接種源を得られ、得られた接種源の無菌操作時の取扱も簡単であるため、本研究においては以下この方法によって得られた球状菌糸塊を培養試験での接種源として用いた。

図版-1：病原菌分離のために
P S A 培地上に置いた
ミカンそうか病罹病組
織の小切片（約1㎢四
方）



2：培養5日後，小切片
から生育したミカンそ
うか病菌の菌叢



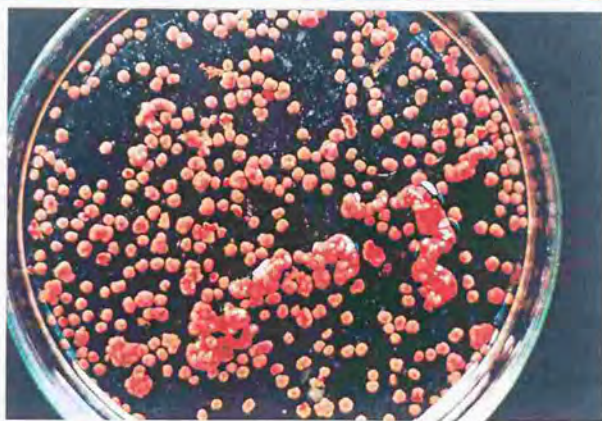
3：培養5日後，薄切片
から生育したミカンそ
うか病菌の菌叢



図版-4：往復振とう培養の実
施状況



5：P S 液体培地中往復
振とう培養によって形
成されたミカンそうか
病菌の球状菌糸塊



III. 各種植物のそうか病

日本各地の各種植物に見られるそうか病の発生状況を調べるとともに、病原菌を分離し、諸性質を調べ、病原菌の同定・分類を行った。

1. ラッカセイそうか病

1976年夏、ラッカセイ主産地である千葉県八千代市および茂原市、神奈川県秦野市において、地上部全体の激しいそうか症状と新葉部の萎縮を呈する病害が発生した。現地においてはその原因究明と防除対策が強く要望され、当初はその萎縮症状からウイルス病ではないかとの疑いもあったが、研究の結果、本病がわが国では未記載であり、1940年にブラジルで報告された *Sphaceloma arachidis* Bilancourt and Jenkinsによる菌類病であることが明らかとなり、本病をラッカセイそうか病(peanut scab)と命名した^{189, 190, 191}。さらに病原菌の分離・培養を行い、培地上における性質等を明かにすることができた^{184, 189, 191}。

1). 発生状況

本病は1976年に新病害として見いだされたが、現地においてはその数年前から散発的に発生していたといわれる¹⁹⁰。1976年の夏季、特に8月の天候が不順で、降雨が多く比較的低温であったため、本病が大発生するに至ったものと思われ、同年の八千代市の一部では収量半減という被害も報告された⁴¹。本病の発生と蔓

延には他の本属菌による病害と同様、小型の分生子の形成がきわめて大きな役割を果たすと考えられ、夏季の低温・多湿条件は本病の蔓延に好適であったものと考えられた。夏季の天候が比較的良好であった1977年および翌1978年には、本病の大きな発生はみられなくなったが発生地域は拡大した^{9), 10)}。1976年の千葉県および神奈川県における発生の後、1979年に茨城県にも発生が認められ、1988年に栃木県に⁷⁾、1991年には埼玉県に発生を認めた。しかし、近年ラッカセイの主要栽培地帯では発生が減少し、現在では重症圃を認めることはほとんどなくなったといっていよい。

2). 病徴と病原菌の形態

本病の病徴は地上部全体に生じるそうか病斑で、葉では淡黄褐色～黄褐色で、直径2 mm前後の不正円形小病斑が多数形成された。特に葉脈に沿って葉の裏側に形成されることが多く、これらの病斑はしばしば連鎖状に融合したり、古くなると穿孔症状となることも多かった。新葉は激しく侵されることが多く、萎縮、変形、巻き上がり等の症状が認められ、このような圃場は遠くから眺めただけで黄色がかって見えるようになり、本病の発生が容易に認められた(図版-6～8)。茎、葉柄および子房柄では初めに葉と同様の小病斑が形成されるが、その後これらの病斑は拡大・融合し、大型の病斑を形成することが多かった。特に茎においてはこのような傾向が著しく、病斑形成によって茎が湾曲あるいは肥大したり、先端部が枯死する例も見られた。子房柄が侵されることが多く(図版-9)、病

斑形成により子実への栄養輸送が妨げられ、収量に大きな影響が生じた。地下部の根、子実および莢には病斑は認められなかった。

本病病斑の断面を顕微鏡観察すると、褐変し壊死・崩壊した表皮またはクチクラ層直下に、クッション状に厚い菌糸の層が認められ、ここから分生子層が表皮に露出し、ここに大型および小型の2種の分生子が形成されているのが観察された(図版-10, 11)。小型の分生子は無色、単胞、楕円形または俵形、大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 4 \mu\text{m}$ で2個の眼点を有した。小型の分生子は分生子層上に非常に短い分生子柄を伴うかまたはほとんど直接形成され、水滴の付着した病斑上にきわめて多数が認められた。大型の分生子は無色、単胞または2胞、長紡錘形または棍棒状形、大きさ $12 \sim 20 \times 3 \sim 4 \mu\text{m}$ で、分生子層上の $10 \mu\text{m}$ 前後の分生子柄上に認められた。大型の分生子は水滴の付着した部分には形成されず、一度水滴が付着した後比較的乾燥した病斑上に認められた。しかし、その数は小型の分生子に比べると非常に少なかった。なお、病斑組織内に完全時代を見いだすことはできなかった。

3). 病原菌の分離

本病の病原は上記のような特徴から、不完全菌の一種である *Sphaeloma* (完全時代は *Elsinoe*) 属菌と考えられた。本属菌は一般に分離・培養が困難とされ、特に分離に当たってはこれまでに種々の方法が試みられてきたが、本研究においては前章で述べた様に、比較的新鮮な単独の小病斑から直接分離する方法、病斑

部分の薄切試料を用いる方法および大型病斑等の表面に形成された分生子による方法を用いた。

小病斑による分離では3~5日後、褐色の病斑部から淡黄褐色、肉質塊状で不正形の菌叢が置床した病斑部の培地側に生じ、組織片が浮き上がるのが観察された。菌叢は生育にともない組織片を包み込み、ドーム状を呈した。本方法による分離成功率は、供試小病斑数に対して約20~75%（平均約40%）であった。

薄切試料による分離では2~3日後、褐色の病斑部分から淡黄褐色で肉質塊状のきわめて小さな不正形の菌叢が生じるのが認められた。この小菌叢は生育にともない薄切試料部分を覆い、次第にドーム状を呈した。本法による分離成功率は約50%と高かったが、滅菌および置床の過程で個々の薄切試料を単独で処理しなければならず、やや手間が煩雑であった。

分生子による分離では、速ければ3日目には平板の各所に、淡黄褐色のきわめて小さなドーム状で、細菌のコロニー様の肉質塊状菌叢を肉眼で確認することができた。本法ではしばしば比較的生育の速い糸状菌の混入がみられたり、抗生物質の添加にもかかわらず細菌のコロニーも多数見いだされたが、本菌の菌叢の発見が早ければ、単一の分生子に由来すると思われる菌叢を比較的簡単に得ることができた。

4) 病原菌の形状観察

分離された菌はP S A上において肉質塊状を呈し、3次元的な生育を遂げた。

P S A 平板培地上での水平方向の菌叢形状は不正円形で、20日間の培養で長径が約20mm程度に達した(図版-12)。垂直方向の生育は生育初期は単純で菌叢表面が平滑であり、ドーム状から先端の丸い円錐状を呈したが、数日後には稜線状に多数のしわを生じて凹凸が形成され、さらにこの凹凸が不規則に入り組み不定形となり、高さは約10mmに達した。さらに培養を継続すると中央部から次第に乾燥し、表面に白色綿毛状の短い気中菌糸が認められたり、直径約0.5mmほどの不正形の黒色小菌核様粒を形成することもあった。菌叢の色彩は初め淡黄褐色であったが次第に黄褐色～褐色化し、その後は培地の栄養条件の変化にともない菌叢の部位によっても多様な色彩を呈し、一定とはならなかった。

P S A の他に種々の天然物を用いた培地を作製して本菌の培養を行い、P S A における生育状況との比較を行った。各種天然培地の内、麦芽培地は麦芽エキス20g、グルコース20g、ペプトン1gと寒天20gに蒸留水を加えて1,000mlとしたもの、P C A (potato carrot agar) はジャガイモとニンジンそれぞれ20gずつ搾りおろしたものの濾液と寒天20gに蒸留水を加えて1,000mlとしたものを用いた(表-2, 3)。その他の培地については各材料200gの煎汁にシュクロース5gと寒天15gを添加し、蒸留水を加えて1,000mlとしたものを供試した。

これらの培地上における本菌の生育状況は第2表の通りである。本菌はP S A を始め各種のマメ類の培地では肉質塊状の菌叢となって比較的良好な生育を示したが、P C A や穀類の培地では生育不良で、肉質塊状という本菌菌叢の特徴が認められなかった。

第2表 ラッカセイそうか病菌の各種天然培地上での生育状況 (25℃, 15日間)

培地	菌叢形状	生育状況 (菌叢の径×高さ) 菌叢色彩		備考
		単位: mm		
P S A	肉質塊状	良好 (15× 8)	淡黄褐色	白色羽毛状気中菌糸や 黒色小菌核様粒子 (径 約0.5mm) 形成
麦芽	肉質塊状	やや良好 (10× 5)	淡黄褐色	
P C A	偏平, 中央 部が隆起	不良 (12× 2)	淡黄褐色～ 周辺淡黄色	白色羽毛状気中菌糸を 形成
アズキ	肉質塊状	良好 (13× 6)	淡赤褐色～ 赤褐色	菌叢表面に光沢
ササゲ	肉質塊状	良好 (12× 4)	淡赤褐色	白色羽毛状気中菌糸を 形成
エンドウ	肉質塊状	良好 (12× 5)	淡黄褐色	白色羽毛状気中菌糸を 形成
ラッカセイ	肉質塊状	良好 (12× 5)	淡黄褐色	白色羽毛状気中菌糸を 形成
ダイズ	肉質塊状	良好 (12× 6)	淡黄褐色	白色羽毛状気中菌糸を 形成, 培地が一部黒変
ニンジン	肉質塊状	やや良好 (8× 4)	淡黄色	白色羽毛状気中菌糸を わずかに形成
ラッカセイ 茎葉部	肉質塊状	やや良好 (10× 5)	淡黄褐色	
コムギ	偏平, 中央 部が隆起	不良 (12× 2)	淡黄色	白色羽毛状気中菌糸を 形成, 一部に乳白色粘 液状物質産生
エンバク	偏平, 中央 部が隆起	不良 (10× 2)	淡黄褐色～ 周辺は淡黄色	白色羽毛状気中菌糸を 形成, 培地が一部赤変

本菌の菌叢を新たに作製されたP S A上で培養すると、分離後比較的経時経過が少ない場合には、培地上に残された水分に触れた菌叢の一部に分生子が形成されるらしく、培地表面の水滴のあった場所に多数の小集落が発達することがあった。同じ菌株を、表面が乾燥状態となった培地に移植した場合には、このような小集落が形成されることはなかった。また本菌の菌叢をP S 液で振とう培養すると、淡黄褐色の球状菌糸塊が形成された（図版-13）。

分離された菌をスライドカルチャーし顕微鏡観察を行った。本菌の伸長が比較的緩慢であるため培養期間は2週間程度と通常の糸状菌におけるよりもやや長めとし、作製されたプレパラートはラクトフェノール・コットンブルー液で固定・染色した。本菌はしばしば直径数 μm の数珠玉状または不正円～楕円形の菌糸を形成し、これが集塊をなして小菌叢を形成した。小菌叢の周囲からは $10\sim15\times3\sim5\mu\text{m}$ 前後の菌糸細胞が分岐しながら伸長し、時に菌糸細胞の一部に $5\sim10\times3\sim5\mu\text{m}$ の分生子柄を突出し、ここに分生子を形成した。分生子は無色、単胞、楕円形で2個の眼点を有し、大きさ $5\sim7\times3\sim4\mu\text{m}$ であり、病斑上に見られた小型の分生子と同様のもので、大型の分生子と思われるものは認められなかった（図版-14～16）。分生子は粘液状のものに覆われているらしく、しばしば多数の分生子が集塊となって観察された。菌糸細胞は小菌叢から離れるにしたがって細長くなった。なお、スライドカルチャー試料で一度だけ、直径約 $1\mu\text{m}$ の球形のmicroconidia（微小分生子）状の集塊が認められた。

1). 病原性試験

本分離菌の宿主範囲の検討を行った。当初は純培養菌株から分生子懸濁液を得ることが困難であったため、菌叢を検定植物の葉上に直接置床する方法で行い、次いで分生子懸濁液の噴霧接種による方法を実施した。また、菌叢を切除葉に置床する簡易接種も試みた。それらの方法と結果は以下のとおりである。

(1) 菌叢の直接置床法

P S A 培地上で25℃、10日間培養した菌叢の比較的新しい部分を約5 mm四方に切り取り、これを接種する植物の葉表面にのせ、水を含ませた1 cm四方の脱脂綿で菌叢を上から覆って乾燥を防ぎ、アルミフイル等で固定して脱落を防止するとともに、接種植物全体を厚さ0.01mmのポリエチレン袋で覆った。この状態で5日間室温下で放置した後、ポリエチレン袋や菌叢等を取り除いた。供試植物はラッカセイ (*Arachis hypogaea*, 品種: 千葉半立) の他、マメ科植物であるダイズ (*Glycine max*, 鶴の子大豆), インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*, つるなし尺五寸金時, 大正金時, つるなし金時, Top Crop), エンドウ (*Pisum sativum*, 三十日絹莢豌豆, 大丸目黒実取豌豆), ソラマメ (*Vicia faba*, 長英早生蚕豆) およびササゲ (*Vigna sesquipedalis*, 黒種三尺) であった。結果は第3表のとおりで、ラッカセイにおいては菌叢等除去後10日以内に接種葉の約30%に褐色小斑点が1~2個認められたが (図版-17), 他の植物の接種葉には全く変化が認められなかった。

(2) 分生子懸濁液の噴霧接種法

本菌菌叢を 100ml 三角フラスコ中の 20ml のニンジン煎汁ショ糖加用寒天平板培地（ニンジン 200g を蒸留水で煮沸後濾液をとり、これに 5g のショ糖と 15g の寒天を加え蒸留水で全量を 1,000ml にし、オートクレーブ処理したもの）で 10 日間 25℃ で培養し、これに 10ml の滅菌水を加えて数時間室温下に放置しておく、 10^6 個/ml 程度の分生子懸濁液を得ることができた。これを接種源として、ラッカセイ、ダイズ、ツルマメ (*Glycine soja*, 野生種)、アズキ (*Phaseolus angularis*, 品種不明)、インゲンマメ、エンドウ、ムラサキツメクサおよびササゲ（品種は菌叢直接置床の場合と同様）に噴霧接種を行った。各植物は本葉が 3~4 枚展開した状態のものをを用いた。噴霧接種後は植物体を室温下ポリエチレン袋で覆い高温条件とし、1 日後にこれを取り外した。結果は第 3 表に示すとおりで、ラッカセイにおいては接種 7 日後までに全接種植物に褐色小斑点が多数認められたが、他の植物には全く変化がなかった。発病株の病斑は、通常の温室の条件下では殆ど変化しなかったが、植物体をポリエチレン袋で覆い数日間高温条件とすると、病斑が新葉や茎等全身に拡大した。

(3) 切除葉への簡易接種法

分生子懸濁液による接種は非常に接種効率が高く、また自然の病害発生条件とも類似した状態での観察が可能であったが、菌株の継代を続けるうちに分生

子懸濁液を得ることが困難となり、また新たに分離した菌株では (2) の方法で分生子懸濁液を得られなくなった。このため本病原菌の接種方法としては (1) の方法をとらざるを得なくなったが、この方法は接種効率がきわめて低いため、接種源を菌叢とするさらに簡便な手法をとることが求められた。

このような条件から、植物体から切り放した切除葉を用い、シャーレ内において行う簡易接種法を考案した²²⁾。植物体から十分に展開した比較的新しい葉を葉柄の部分で切り放し、70%エチルアルコールに30秒およびアンチフォルミン(有効塩素濃度1%)に3分浸漬して表面殺菌した後、滅菌水を染み込ませた濾紙を敷いた直径9cmの滅菌シャーレ内においた。葉の上に約5mm四方に切り取った菌叢を置床した後、3日後に菌叢を取り去った。供試植物はラッカセイ、ダイズ、インゲンマメおよびササゲ(供試品種は菌叢直接接種の場合と同様)であった。結果は第3表のとおりで、菌叢除去3日後にラッカセイ葉には褐色小斑点が1葉当り2~5個認められたが、他の植物の葉には何も現れなかった。

以上のような接種試験によって得られた褐色小斑点を顕微鏡観察すると、自然発病株と同様の崩壊した組織、クッション状の菌糸層と分生子層および小型の分生子が認められた。(3)の方法によったものについては組織崩壊は確認できなかったが、菌糸層と分生子が確認された。また、各病斑からは分離菌と同様の形状の菌が再分離され、肉質塊状の分離菌が本病の病原菌であることが確認された。

第3表 ラッカセイそうか病菌の病原性試験

供試植物	接種方法		
	菌叢直接置床	分生子噴霧	切除葉上置床
ラッカセイ (千葉半立)	+	+	+
ダイズ (鶴の子大豆)	-	-	-
インゲンマメ (つるなし尺五寸金時)	-	-	NT
(大正金時)	-	-	-
(つるなし金時)	-	-	NT
(Top Crop)	-	-	NT
エンドウ (三十日絹莢豌豆)	-	-	NT
(大丸目黒実取豌豆)	-	-	NT
ソラマメ (長莢早生蚕豆)	-	NT	NT
ササゲ (黒種三尺)	-	-	-
アズキ (品種不明)	NT	-	NT
ムラサキツメクサ (品種不明)	NT	-	NT
ツルマメ (野生種)	NT	-	NT

a) + : 病原性あり, - : 病原性なし, NT : 試験せず

6). 病原菌の同定・分類

Sphaceloma (Elsinoe) 属菌はこれまでに約150種が報告されており、そのうちマメ科植物を侵すものは、未同定菌や有用植物以外を宿主とするものも含め、19種と1分化型 (forma specialis) が知られている (第4表および第5表) (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000). このうちラッカセイに病原性を示すものは、Bitancourtらが1940年に報告した *S. arachidis* があり、病名は scab とされている (25)。 *S. arachidis* はブラジルのサンパウロ州での発生が認められただけで (24, 25)，その後他の地域での発生は全く知られていない。ラッカセイそうか病と scab とを比較すると、本病において多く認められる小型の分生子についての記述が scab にはないこと、および scab で観察された球状で直径 $1\mu\text{m}$ の microconidia (微小分生子) が本病病斑上では見られないことの2点に違いがある。しかしこれらの点を除くと、両病害の病徴、本病に見られる大型の分生子と *S. arachidis* の "conidia" の形状等病原菌の各種形態が全く一致するため、ラッカセイそうか病の病原菌を *Sphaceloma arachidis* Bitancourt and Jenkins と同定した。

第4表 マメ科植物を宿主とする *Elsinoe* 属菌

病原菌名	主な宿主植物	文献
<i>Elsinoe calopogonii</i>	<i>Calopogonium caeruleum</i>	Sydow and Sydow (1946).
<i>E. canavaliae</i>	<i>Canavalia ensiformis</i> ナタマメ	Raciborski (1900).
<i>E. centrolobii</i>	<i>Centrobium robustum</i>	Bitancourt and Jenkins (1949).
<i>E. dolichii</i>	<i>Dolichos lablab</i> フジマメ	Jenkins, Bitancourt and Cheo (1941).
<i>E. glycines</i> ダイズ黒とう病菌	<i>Glycine max</i> ダイズ	[Kurata and Kuribayashi (1951).] ^{a)}
<i>E. iwatae</i> リョクトウそうか病菌	<i>Phaseolus aureus</i> リョクトウ	Kajiwarra and Mukaiar (1976).
<i>E. kramerli</i>	マメ科植物の一種	Bitancourt and Jenkins (1941).
<i>E. phaseoli</i>	<i>Phaseolus lunatus</i> <i>macrocarpus</i> ライマメ	Brunner and Jenkins (1933).
<i>E. phaseoli</i> f. sp. <i>vulgare</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> インゲンマメ	Bates (1958).
<i>E. sesbaniae</i>	<i>Sesbania exaltata</i> アメリカツノクサネム	Limber, Pollack and Jenkins (1946).
<i>E. tephrosiae</i>	<i>Tephrosia candida</i>	Hansford (1938).
<i>E. wisconsinensis</i>	<i>Desmodium illinoense</i>	Greene (1957).

a) 完全時代の記載文献不明. *Sphaeceloma* 時代の記載文献.

第5表 マメ科植物を宿主とする *Sphaceloma* 属菌

病原菌名	主な宿主植物	文献
<i>Sphaceloma arachidis</i> ラッカセイそうか病菌	<i>Arachis hypogaea</i> ラッカセイ	Bitancourt and Jenkins (1940).
<i>S. cassiae</i>	<i>Cassia splendida</i>	Bitancourt and Jenkins (1949).
<i>S. ditromexae</i>	<i>Ditromexa hirsuta</i> (Syn: <i>Cassia hirsuta</i>)	Bitancourt and Jenkins (1950).
<i>S. erythrinae</i>	<i>Erythrina reticulata</i>	Bitancourt and Jenkins (1950).
<i>S. kurozawana</i> ヤブマメそうか病菌	<i>Amphicarpaea edgeworthii</i> var. <i>japonica</i> ヤブマメ	[倉田(1960).] ^{a)}
<i>S. lespedezae</i> ハギとうそう病菌	<i>Lespedeza buergeri</i> キハギ	Kurosawa and Katsuki (1957).
<i>S. zorniae</i>	<i>Zornia diphylla</i>	Bitancourt and Jenkins (1940).
<i>Sphaceloma</i> sp.	<i>Vigna unguiculata</i> ササゲ	Emechebe(1980).

a) 正式記載文献不明, 正式記載の予告文献.

図版-6：ラッカセイそうか病
の病徴，葉に形成され
た黄褐色のそうか病斑



7：ラッカセイそうか病
の病斑，葉脈に沿って
形成された多数の病斑



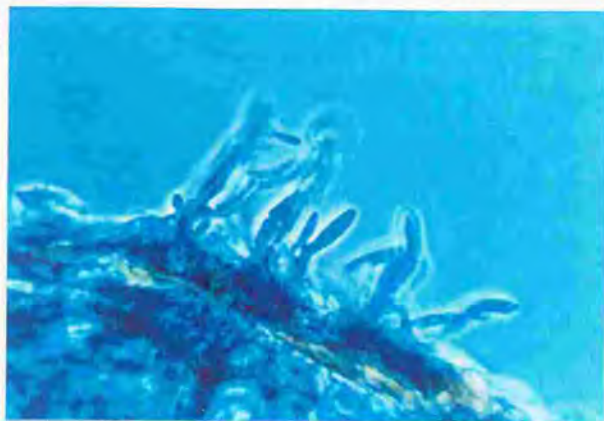
8：新葉部の病斑，萎縮
変形を伴う



図版-9：子房柄に形成された
褐色のそうか病斑



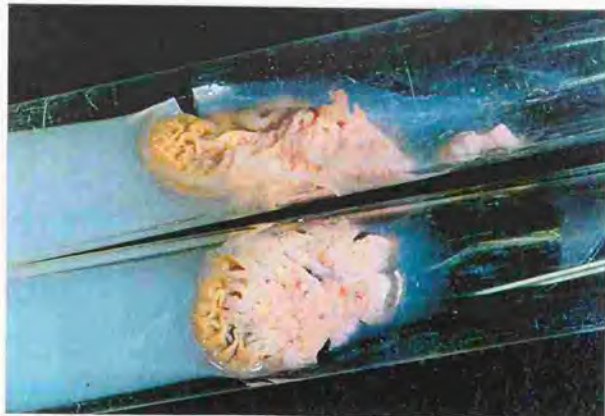
10：病斑部の分生子層上
に形成された分生子柄
と大型の分生子



11：病斑部に見られる菌
糸（走査型電子顕微鏡
観察）



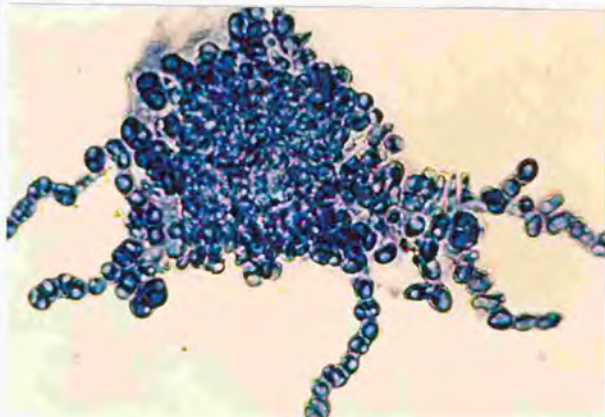
図版-12: ラッカセイそうか病菌の P S A 上の菌叢



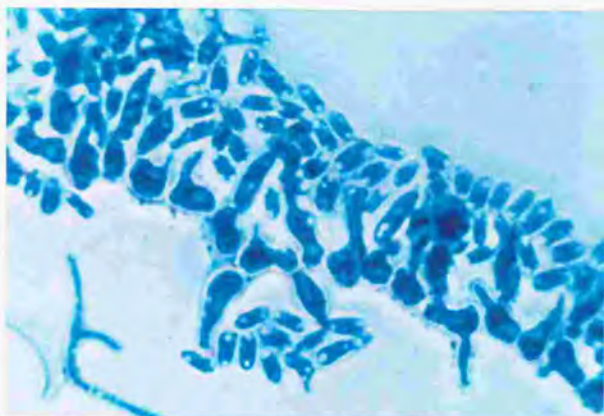
13: P S 液体培地を用いた往復振とう培養で形成されたラッカセイそうか病菌の球状菌糸塊



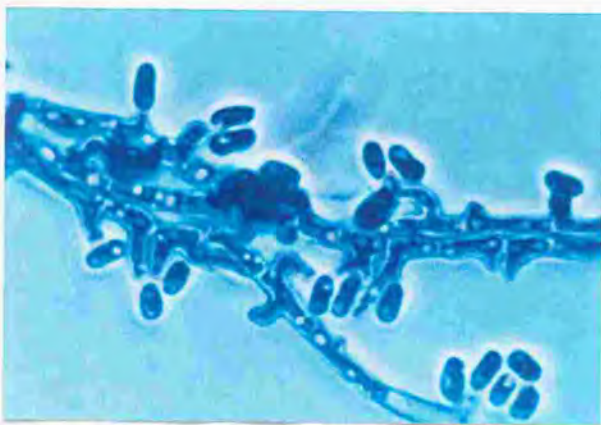
14: 不正球状菌糸の集塊 (スライドカルチャー試料)



図版-15: 数珠玉状菌糸と、周
辺に形成された小型の
分生子 (スライドカル
チャー試料)



16: やや長形の菌糸とそ
こに形成された小型の
分生子 (スライドカル
チャー試料)



17: 菌叢の直接置床接種
で形成されたそうか病
斑



2. コセンダングサそうか病

センダングサ (*Bidens*) 属植物はタウコギ属植物ともよばれるキク科に属す1年生の草本植物である。わが国にはコバノセンダングサ (*B. bipinnata*, 南アメリカ原産の帰化植物), センダングサ (キバナセンダングサ: *B. biternata*), マルバタウコギ (*B. biternata* var. *mayebarai*), ヤナギタウコギ (*B. cernua*), アメリカセンダングサ (セイタカタウコギ: *B. frondosa*, 北アメリカ原産の帰化植物), キクザキセンダングサ (*B. laevis*, 熱帯アメリカ原産の帰化植物), ホソバセンダングサ (*B. parviflora*, 中国・朝鮮半島等アジア大陸原産の帰化植物), コセンダングサ (*B. pilosa*, 熱帯原産の帰化植物), シロバナセンダングサ (シロノセンダングサ: *B. pilosa* var. *minor*, 熱帯原産の帰化植物), エゾノタウコギ (*B. radiata* var. *pinnatifida*), タウコギ (*B. tripartita*), シマダタウコギ (*B. tripartita* f. *integra*) およびヒメタウコギ (*B. tripartita* var. *repens*) の分布が知られており, これらすべてがいわゆる雑草として扱われている。関東周辺で比較的良好に目にするのは, このうちのアメリカセンダングサ, コセンダングサおよびタウコギである。帰化植物とされるものが目立つが, その多くは明治時代以前の比較的古い時代のものといわれている²²¹⁾。

1978年東京都文京区および神奈川県秦野市において, 茎頂部が著しく萎縮・変形し, 地上部全体に激しいそうか症状を呈するセンダングサと思われる植物が認められた。このような病徴を呈する植物体はその後埼玉県東松山市, 神奈川県足柄郡中井町, 神奈川県川崎市多摩区においても認められた。病徴は *Sphaecoloma*

属菌による病害に特有の症状であったため、宿主植物をセンダングサ、病原菌を本属菌と予想し病原菌の分離・同定を行い、一旦は *Sphaceloma* sp. によるセンダングサそうか病として発表するに至った¹⁸⁷⁾。その後本病害の発生地に神奈川県三浦郡葉山町を加えることができ、さらに本植物の花器について慎重な観察を行ったところ、センダングサに見られるはずの舌状花が認められず、筒状花だけが認められたことから、本植物をセンダングサに非常に近縁なコセンダングサであると同定することができた。また、不十分であった文献調査を進めたところ、コセンダングサには1950年にブラジルにおいて *S. bidentis* による病害の記載があることが判明した²¹⁾。また、わが国においてはKurosawaらにより1956年にセンダングサを宿主として同菌が記載されていたが、宿主であるセンダングサの学名は、コバノセンダングサの学名である *B. bipinnata* と記述されていることも明かとなった¹⁸⁸⁾。このため本病害をコセンダングサそうか病と訂正するとともに、病原菌については *Sphaceloma bidentis* Jenkins and Bitancourt と同定することができたので¹⁸⁹⁾、以下にその検討結果等を報告する。

1). 発生状況および病徴

本病は、1977年に東京都文京区および神奈川県秦野市においてはじめて確認され、1984年に埼玉県東松山市および神奈川県南足柄郡中井町、1985年に神奈川県川崎市多摩区、1986年に神奈川県三浦郡葉山町、1987年に東京都豊島区、最近では1991年に埼玉県越谷市および1992年に和歌山県田辺市において発生が認められ、

はほぼ全同的に発生が確認されつつある。いずれの発生地においても植物体はきわめて激しいそうか症状を呈しており、比較的少雨で一般的に糸状菌による病害発生が少ない年においても、その発生状況には激しいものがあった。

本病の初期病徴は主に新葉や茎部に形成される直径1 mm程度の不正四形の小さな病斑で、病斑中央部は次第に乾燥しやや陥没して淡灰褐色を呈し、茎部では周辺組織の肥大が認められた(図版-18)。このような病斑の周縁部にはやや紫色がかかったハロー状の部分が観察された。このような病斑は7月初旬ころから認められ、その後植物体の地上部全体に広がった。8~9月に入ると病徴はさらに進行し、葉部病斑においては中央部が穿孔し、葉柄や茎部においては小病斑の拡大・融合が頻繁に起こり、淡灰褐色の大型の不正形病斑が形成され、茎部全体を病斑が覆いつくしてしまうこともあった。このような病斑部では茎や葉柄に肥大や変形が認められた。茎頂の新葉部においては多数の病斑により萎縮や変形が認められ、さらに激しく発病すると罹病葉柄が病斑部から落下し、茎だけが残されることもあった(図版-19, 20)。なお、植物体の高さは健全植物と変わることがなく、落葉後の残存茎はすぐには枯死せず、また地下部には病徴が認められなかった。

2). 病原菌の顕微鏡観察

病斑部断面を顕微鏡観察すると、葉部および初期の葉柄、茎部の病斑中央部は植物組織の死細胞層により陥没した。しかし病徴の進行した茎部や葉柄の病斑に

においては病斑直下の組織が崩壊したが、周辺組織の細胞増殖により、全体としてやや肥大する傾向が認められた。

病斑中央部においてはクチクラ層と崩壊した植物組織との間に菌糸層が形成され、時にクチクラ層を突き破って分生子層が表面に現れた。分生子層からは無色、単胞、楕円～依形で2個の眼点を有し、大きさ $4\sim7\times3\sim5\mu\text{m}$ の分生子が、ほぼ直接形成された(図版-21)。ラッカセイそうか病菌(*S. arachidis*)において認められた大型の分生子やその分生子柄は形成されず、完全時代である子のうの形成も認められなかった。

3). 病原菌の分離

分離方法としてはラッカセイそうか病菌のときに述べた小病斑組織および大型病斑からの分離を試みた。その結果、病斑部からは常に淡黄褐色で肉質塊状の、比較的ゆっくりと生育する菌叢が分離され(図版-22)、その分離頻度は小病斑の場合で約40%、大型病斑の場合で約30%であった。本分離菌の菌叢は初め淡黄褐色の小ドーム状を呈したが、生育が進むにつれて菌叢表面にしわを生じた。また本分離菌をP S液で振とう培養すると、多数の淡黄褐色球状菌糸塊となり、時に培地中にきわめて多数の小型分生子を形成して培養基を白濁させることがあった。スライドカルチャー試料を鏡検すると、太さ約 $5\mu\text{m}$ 前後の不正球状菌糸が小さな果塊となった小菌叢を中心として菌糸が周囲に伸長し、時に菌糸から短い分生子柄が突出してここに分生子が形成されているのが認められた。分生子の形状

は病斑上で観察されたものと同様であった（図版-23）。

4). 病原性試験

本分離菌 (Sh-01) を P S 液で振とう培養すると、時にきわめて多数 (10^8 個/ml 程度) の分生子が培地中に形成されたため、これをおよそ 10^3 個/ml 程度に希釈したものを接種源として、各種のキク科植物に分生子液を噴霧接種し、病原性試験を行った。供試植物としては、コセンダングサのほかアメリカセンダングサ、キンセンカ (*Calendola officialis*, 品種: 中安忍黒), シュンギク (*Chrysanthemum caronarum*, 中葉新菊), キク (*C. morifolium*, ミスルト), レタス (*Lactuca saliva*, Greate Lake) およびヒャクニチソウ (*Zinnia elegans*, 品種不明) であった。コセンダングサおよびアメリカセンダングサの種子は、健全な野生植物から採取した。また、ラッカセイそうか病菌との比較のために、ラッカセイ (*Arachis hypogaea*) についても接種も行った。その結果は第6表のとおりであり、本分離菌はコセンダングサのみをきわめて激しく侵し、他の植物には全く病原性を示さなかった。コセンダングサでは接種5日後には葉や茎に多数の円形で褐色の小病斑が現れ、その後これら病変の拡大と融合が進み、自然発病株と同様病斑部の肥大・変形や葉の枯死・脱落が起こり、接種15日後には供試全株が枯死するに至った（図版-24）。

第6表 コセンダングサそうか病菌の病原性試験

供試植物	病原性
コセンダングサ (<i>Bidens pilosa</i>)	+
アメリカセンダングサ (<i>B. frondosa</i>)	—
キンセンカ (<i>Calendula officinalis</i> , 中安苺黒)	—
シュンギク (<i>Chrysanthemum caronarium</i> , 中葉新菊)	—
キク (<i>G. morifolium</i> , ミスルト)	—
レタス (<i>Lactuca sativa</i> , グレートレック)	—
ヒャクニチソウ (<i>Zinnia elegans</i>)	—
ラッカセイ (<i>Arachis hypogaea</i> , 千葉半立)	—

5). 病原菌の同定・分類

本病害の病原菌はその病徴や病原菌の形状等から明かに *Sphaceloma* 属菌であると思われた。これまでにキク科植物を侵す *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌には、第7表のとおり8種が知られ^{26, 27, 28, 29, 30, 31, 32}、そのほとんどが野生植物を宿主とするものである。このうち *Bidens* 属植物に病原性を示す菌としては、*S. bidensis* が1950年にブラジルで Blancourt らによってコセンダングサの病原菌として記載しており³²、この菌はまた Kurosawa らが1956年にセンダングサの病原菌としてわが国における発生を報告している¹⁴⁶。Kurosawa らの報告においては宿主の和名がセンダングサとされているが、その学名は *B. bipinnata* とされている¹⁴⁵。この学名はコバノセンダングサの学名であり²²⁷、宿主の同定に当たって混乱が認められ、和名をとるにせよ学名をとるにせよ、この報告の信憑性が疑われる可能性

がある。今回のコセンダングサの報告においても当初宿主をセンダングサとして同定していたわけで、農作物以外の野生植物の病害を扱う場合には、その同定に当たってより慎重な態度が要求されよう。本病病原菌の種々の形態が *S. bidentis* に酷似し、宿主植物がコセンダングサと同定されたことから、本菌は *Sphaceloma bidentis* Bitancourt and Jenkins と同定され、この報告がコセンダングサについてはわが国における正式な初記載である。コセンダングサについては、他の多くの *Bidens* 属植物と同様古い時代からの帰化植物とされることから²²⁾、本病害もその帰化にともなってかなり以前にわが国に侵入していたものと思われ、このことは本病がわが国に広く分布していることにも符合していた。

第6表 キク科植物を宿主とする *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌

病原菌名	主な宿主植物	文献
<i>Elsinoe boehmeriae</i>	<i>Vernonia polyanthes</i>	Jenkins and Bitancourt(1944).
<i>E. caleae</i>	<i>Calca pinnatifida</i>	Bitancourt and Jenkins(1941).
<i>E. deslandesii</i>	<i>Moquinia polymorpha</i>	Bitancourt and Jenkins(1941).
<i>E. ractii</i>	<i>Ambrosia polystachya</i>	Bitancourt and Jenkins(1941).
<i>E. solidaginis</i>	<i>Solidago</i> spp.	Jenkins and Ukkerberg(1935).
<i>Sphaceloma bidentis</i>	<i>Bidens pilosa</i> コセンダングサ	Bitancourt and Jenkins(1950).
<i>S. ligulariae</i> ツワブキそうか病菌	<i>Farfugium japonicum</i> ツワブキ	Katsuki(1953).
<i>S. yoshiana</i> コヤブタバコ そうか病菌	<i>Carpesium cernuum</i> コヤブタバコ	Katsuki(1953).

図版-18: コセンダングサそう
か病の病徴, 地上部全
体に見られる褐色そう
か病斑



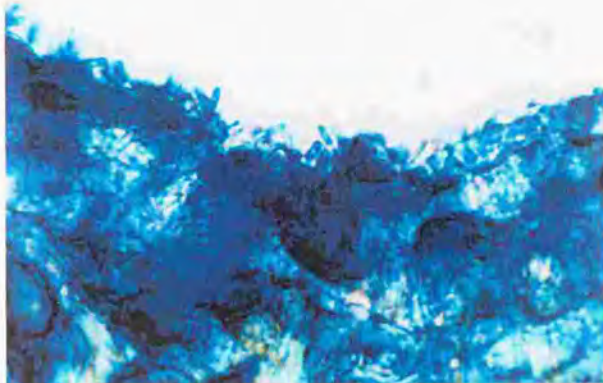
19: 激しく発病し, 葉が
枯死・脱落した茎部



20: 組織表面を病斑に覆
われ肥大した花茎



図版-21: 病斑表面に形成された分生子, ラッカセイそうか病での小型の分生子と同型



22: コセンダングサそうか病菌の肉質塊状菌叢 (P S A 上)



23: 数珠玉状菌糸とその周辺に多数形成された分生子 (スライドカルチャー試料)



図版-24: 分生子の噴霧接種により発病したコセンダングサ幼植物, 茎部の肥大が顕著



3. コスモスそうか病

1985年7月、神奈川県川崎市多摩区において、茎頂部が著しく萎縮・変形し、地上部全体に激しいそうか症状を呈するコスモスが多数認められた。発生現地は新興住宅地域内の空き地で、多数のコスモスが多くの雑草とともに自生して野草化していた。本症状を呈する植物からは *Sphaceloma* 属菌が分離され、本病害をコスモスそうか病と命名し発表した¹⁹⁹⁾。その後、本病発生地に隣接して多数のコセンダングサそうか病の発生が認められ、コセンダングサがコスモスと同じキク科植物であることから、両病害の病原菌の異同をその形態比較と交互接種試験により検討した結果、本病の病原菌をコセンダングサそうか病菌と同じ *Sphaceloma bidentis* Bitancourt and Jenkins と同定した¹⁹⁶⁾。

1). 発生状況および病徴

本病は1985年に神奈川県川崎市多摩区の住宅に隣接する空き地において最初に認められ、その後1987年には茨城県取手市の道路脇や中央緑地帯、および東京都豊島区の目白駅周辺のJR埼京線の線路脇、さらに1991年には埼玉県越谷市の住宅に隣接する空き地において発生が認められた。また、1992年には静岡県静岡市（瀬川、私信）および大分県下（陶山、私信）においても、各所に発生しているとの情報を得ている。本病は他のそうか病と同様一旦発生すると翌年以降も同一場所で発生した。

本病の初期病徴は5月の発芽直後の幼植物の茎等に認められる褐色の小そうか

病斑で（図版-25），その後茎頂の新葉部や葉にも病斑が形成された。幼植物体茎部の病斑周辺の組織は，既にやや肥大化したり変形する場合もあり，病斑中央部に亀裂を生じることもあった。コスモスの葉身は針状であるため葉における病斑はあまり拡大せず，病徴が進行すると，病斑部から先の部位は水分供給が行われなくなるため枯死・脱落し，株全体は次第に貧弱な様相を呈するようになり，非常に激しく発病した場合には灰褐色の茎だけが林立するようになった（図版-26, 27）。茎や葉柄に形成された灰褐色のそうか病斑は，コセンダングサそうか病で見られたように次第に拡大・融合して大型病斑を形成し，時には病斑周辺の組織が肥大化したり，変形することもあった。茎頂部が侵されると新葉は枯死し，花芽が侵されるため花茎が湾曲し花形も異常となった（図版-28）。

2). 病原菌の顕微鏡観察

葉柄や茎部の病斑部においては病斑直下の組織が崩壊し，クチャラ層との間に菌糸層が形成されているのが観察された（図版-29）。ここからときおりクチャラ層を突き破って分生子層が表面に現れ，ここに多数の分生子がほぼ直接形成された。このような病徴が進行すると，周辺組織の細胞が増殖することにより，全体としてやや肥大化する傾向が認められ，コセンダングサそうか病（病原菌：*S. blidentis*）の病徴と酷似した。分生子は無色，単胞，楕円形で2個の眼点を有し，大きさ $4 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ であり，コセンダングサそうか病菌の形状に類似した。ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis*) において認められた大型の分生子やその分生

子柄は形成されず、完全時代である子のうの形成も認められなかった。

3). 病原菌の分離

分離方法としては大型病斑からの分離方法、および分生子懸濁液による方法を試みた。その結果、病斑部からは常に淡黄褐色で肉質塊状の、比較的ゆっくりと生育する菌叢が分離され、その分離頻度は大型病斑の場合で約30%であった。また、分生子懸濁液を画線した場合には、3日後にはクリーム～淡黄褐色の小ドーム状菌叢が多数得られた。これらの菌叢は生育が進むにつれて菌叢表面にしわを生じ、立体的に生育した（図版-30）。また本分離菌をP.S.液で振とう培養すると、多数の淡黄褐色球状菌糸塊が得られた。

スライドカルチャー試料を鏡検すると、直径約 $5\mu\text{m}$ の不正球状菌糸が果塊をなして小菌叢を形成し、ここから周囲に菌糸が伸長し、ときおり短い分生子柄を形成し、ここに分生子を形成しているのが観察された（図版-31, 32）。分生子の形状は病斑上に形成されたものと同様であった。

4). 病原性試験

球状菌糸塊とジャガイモ切片を用いた方法により得られた分生子懸濁液を用いて⁽³³⁾、これを 2×10^5 個/ml程度に濃度を調整した後、播種後約20日の鉢植え植物3個体を用いて噴霧接種を行った。接種後はポリエチレン袋で鉢ごと植物体を覆い、25℃下に一晚放置した後に袋を取り去り、ガラス室内に放置して、病斑出現

の有無を観察した。なお、本病発生地において本病罹病植物に非常に近い位置に、コセンダングサそうか病罹病株が多数認められ、両菌の異同に興味をもたれたため、検定植物としてコスモスの他にコセンダングサ(*Bidens pilosa*)を用いるとともに、接種源としてコセンダングサそうか病菌(*S. bidentis*)も供試し、同様の方法により本分離菌との交接種を行った。

その結果本分離菌とコセンダングサそうか病菌は、コスモスとコセンダングサにそれぞれ同様に感染した。コセンダングサにおいては接種3日後に葉に褐色小斑点が出現し、また茎や葉柄にも同様の小病斑が認められた。コスモスでは葉での病徴は目立たなかったが、茎部に赤褐色の小斑点が認められるようになり、7日後には周辺組織の肥大が認められた。両植物においてこれらの病斑はやや拡大して直径2~3mmに達し中央部が褐変した。接種源濃度が低かったせい、病斑の拡大・融合はあまり認められなかったが、茎の病斑は葉の病斑に比べてやや大きく、自然発病株と同様の特徴を示し、接種菌の違いによる病徴の差異は全く認められなかった(図版-33)。

5). 病原菌の越冬

本病罹病株からは完全時代を発見することができず、どのような形態で本病原菌が越冬するのか不明であったので、越冬被害残渣が第1次伝染源となるかどうかを検討した。

前年に本病の発生が認められた東京都豊島区の発生地において、翌年5月に越

冬被害残渣周辺における自然発芽株の発病状況を調査した。また、越冬被害残渣を少量持ち帰り、これを播種直後のバットの表土上に置き、その後発芽してくる苗における病徴出現状況を調査した。さらにこの越冬被害残渣から、直接病原菌の分離を試みた。分離に当たっては被害残渣表面を滅菌水でよく洗浄し、病斑部を約5mm角に切り取り、これを70%エタノールと次亜塩素酸ナトリウム液（有効塩素濃度1%）でそれぞれ30秒および1分間表面殺菌した後、25℃の温度下でP S A上に静置した。

発生地における発芽株数は5株で、いずれも茎長は5cm以下であったが、このうち3株の茎には既に小そうか病斑が認められた。これらの発病菌はいずれも越冬被害茎葉の直下に発芽・生長していた（図版-34）。

越冬被害残渣を表土上においたバットにおいて発芽し、茎長約5cm程度に生育した苗の発病状況を調査した（図版-35, 36）。結果では発芽25株中17株にそうか病斑が認められ、非常に高率に伝搬が行われることが判明した。なお、同時に播種し被害残渣処理をせず通常の生育をとげた苗は、全く健全であった。

越冬被害残渣からそうか病菌を分離すると、供試10試料中1試料という低率ではあったがそうか病菌が分離された。分離できなかった試料であっても本属菌の菌叢らしいものが生育したものがいくつかあり、これらはすぐに雑菌に覆われてしまったため、菌の分離ができなかったものであった。このことから越冬被害残渣中には、病原菌が生存することが確認された。

5). 病原菌の同定・分類

本病害の病原菌はその病徴や病原菌の形状等から明かに *Sphaceloma* 属菌であると思われた。これまでにキク科植物を侵す *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌としては、*E. boemeriae* が *Vernonia polyanthes* (ヤンバルヒゴタイ属植物の一種)²¹⁾、*E. caleae* が *Calea pinnatifida*²²⁾、*E. deslandesii* が *Moquinia polymorpha*²³⁾、*E. ractii* が *Ambrosia polystachya* (ブタクサ属植物の一種)²⁴⁾、*E. solidaginis* が *Solidago* spp. (アキノキリンソウ属植物の一種)²⁵⁾、*S. bidentis* が コセンダングサ²⁶⁾、*S. ligulariae* が ツワブキ²⁷⁾、*S. yoshiiana* が コヤブタバコ²⁸⁾ をそれぞれ侵す菌とされ、全部で8種が知られている(第7表)。しかし、そのほとんどが野生植物を宿主とするものであるためか、報告も極めて簡単でわずか数行の記述だけの場合が多く、せいぜい手書きの図が添えられる程度であった。唯一 *S. bidentis* について詳細な報告が行われているが²⁹⁾、この菌についても記載時点では分生子の存在すら確認されていなかった³⁰⁾。したがってこれらの菌について、病原菌の分離や接種試験等が行われた形跡はきわめて乏しい。

今回接種試験の結果、コスモスから分離された菌はコスモスとコセンダングサに病原性を示し、また逆にコセンダングサそうか病菌もコセンダングサとコスモスに病原性を示した。コスモスそうか病菌はその形状等においてコセンダングサそうか病菌に酷似しており、病原性も一致したことから、*Sphaceloma bidentis* Jenkins and Bitancourt と同定してさしつかえないものと考えられた。

7). 考察

現在までのところ、本病が圃場において発生したという事例はなく、経済的な被害が発生したという報告もない。しかし近年、日本の各所で休耕田等にコスモスを播種・栽培し、良好な風景の提供を行う事例がしばしば認められ、このような場所でそうか病が発生した場合には美観および観光価値の低下が著しいと考えられる。これまでの本病の発生地は圃場外であるため、特別な防除措置は全くとられておらず、何等かの形で本病が圃場等に侵入し、多大の被害を及ぼす可能性は高いものと思われ、今後本病の発生状況には十分注意を払う必要がある。特に同じ病原菌が雑草であるコセンダングサにも発生し、その分布が日本全国に及んでいる事実から、コスモスそうか病の発生と防除については、この点も十分考慮に入れる必要がある。

本病病原菌についてはこれまで完全時代は発見されず、完全時代での越冬は考えにくい状況であった。しかし、越冬被害残渣からは病原菌が分離され、さらに越冬被害残渣下には発病株が生育していたこと、越冬被害残渣による苗への接種が可能であったことから、本病病原菌が被害残渣中に菌糸の状態のままで生残する可能性が考えられる。また、ラッカセイそうか病菌についても、圃場に山積される堆肥等の材料とされる被害株を含むラッカセイ枯死茎葉が、第1次伝染源として非常に有力であるとされている^{174, 175)}。なお、越冬被害残渣からは種子を得ることができなかったため、本研究において確認することができなかったが、ラッカセイそうか病やインゲンマメのscabで言われているような、種子伝染の可能

性も (140.179) わずかではあるが残されている。



図版-25: コスモス幼植物における
そうか病の病徴、
茎の肥大が顕著



26: 茎部に形成された大
型の病斑と葉の萎縮・
変形症状



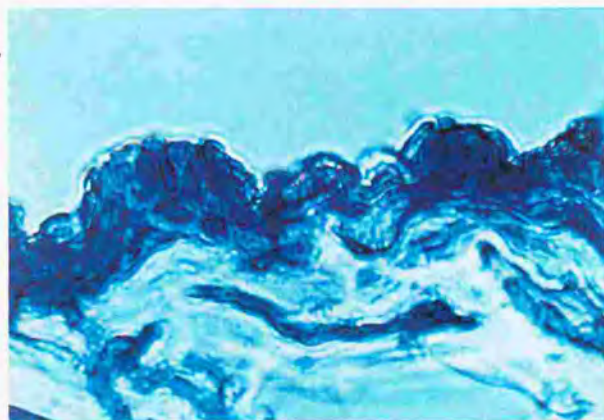
27: 激しい発病による葉
の脱落と茎部の肥大



図版-28: 茎頂部の葉および花
茎の萎縮・変形



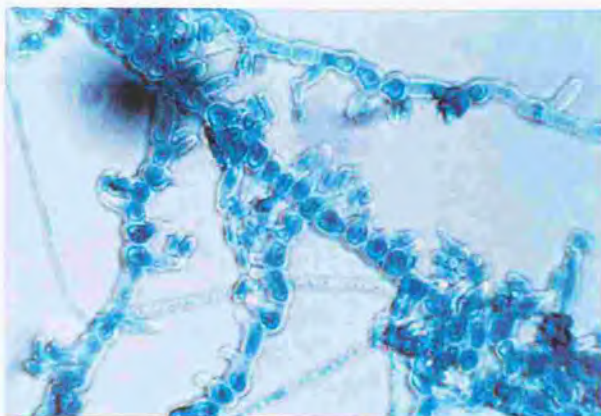
29: 病斑表面に認められ
る分生子層（青色部分、
白色部は崩壊した植物
組織）



30: コスモスそうか病菌
の肉質塊状菌叢（P S
A 上）



図版-31: 数珠玉状菌糸とその
周辺に形成された分生
子



32: やや長形の菌糸から
突出した分生子柄と、
その先端に形成された
分生子



33: コセンググサそうか
病菌とコスモスそうか
病菌の接種で発病した
コスモス (品種: セン
セーションホワイト)



図版-34: 越冬罹病植物残渣直
下に認められた幼植物,
茎下部に小病斑が認め
られる



35: 越冬罹病植物残渣に
認められた黒褐色で隆
起したような病斑(こ
こから病原菌が分離さ
れた)



ウド、タラノキおよびヤツデのそうか病につき試験を行った。

(1) ウドそうか病

ウドそうか病は山本によって発見された病害で^{25b-25c}、発見当初から完全時代が見いだされ *E. araliae* と記載・命名が行われた。この他わが国において当初から完全時代が見いだされたのは、Kurosawaらによってコウゾに *E. brousonetiae* が記載された事例だけが知られる^{14d}。ウドは東京都における生産が多く、軟白化したものの生産は都道府県別で第1位であるが、そのもととなる山どりのウドの生産地である群馬県等においては、本病の発生により大きな被害が認められている（白石、私信）。

本病の病徴は、地上部全体に現れる大小、淡褐色のそうか病斑で、激しく発生するとこれらの病斑が融合して大型病斑を形成した（図版-36, 37）。また病斑が茎頂部、葉柄、葉等に多数発生すると、これらの部位が萎縮や変形を起こすことが多かった。病斑のクナクラ層直下には厚い菌糸層が形成され、ここから分生子層が突出して表面に分生子を形成した。分生子は無色、単胞、楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu m$ であった。本研究においては完全時代は見いだされなかった。

本研究においては1986年に北海道網走市において本病の発生を認め、また病原菌の分離にも成功した。発生地は山間のウド自生地で、その場所から約100mほどの距離のところに、そうか病に罹病した多数のタラノキも認められた。分離された菌はP S A上で淡褐色の肉質塊状菌叢を形成し、20日間で直径20mm、高さ10mm

程度に生育した（図版-38）。本菌のスライドカルチャー試料を鏡検すると、菌叢中央には直径 $5\mu\text{m}$ 内外の不正球形菌糸が認められ、ここからやや長い形の菌糸が伸長し、その一部には長さ $3\mu\text{m}$ 内外の分生子柄が形成され、ここに病斑上と同様の分生子が多数形成されるのが認められた（図版-39）。これらの結果から、本病原菌が *Sphaeloma* (*Elsinoe*) 属に属する菌であることが確認された。

(2) タラノキそうか病

本病は常谷らによって発見された病害である^[11]。タラノキは近年食品の多様化にともない、東京近郊の山間地において栽培が始められ、一般の市場にもかなりの量が出回るようになった。山梨県や埼玉県では、山の斜面の畑にそれまで栽培されていたクワ等を改植し、タラノキの作付を行うようになり、また圃場に植栽する方法とは別に、太めの枝を加温施設内で水耕栽培し、その枝からでる新芽を早期に採集する生産方法も行われるようになった。さらに山梨県では選抜による品種の育成も進められ、既に食味がよく刺のない「トゲナシ」という品種も育成されている。本病はこの品種トゲナシにおいて病徴が特に激しく、埼玉県秩父郡荒川村においては、本病とセンノカミキリによる被害により、圃場が放棄される事例も認められた。

タラノキにおける本病の病徴は、茎頂部、葉柄および葉に認められる淡褐色のそうか病斑で、病斑には小斑点状のものから大型不正形のものまで様々のものが認められた。激しく発病すると葉においてはしばしば病斑中央が穿孔し、大型病

斑形成にともなう商品となる新芽や葉柄および葉の萎縮・変形が起こり、茎以外の部分がほとんど病斑で被われてしまうため、激発圃場を眺めると黄褐色に見えることもあった（図版-40, 41）。病斑のクチクラ層直下には菌糸層が形成され、ここから分生子層が突出し、その表面に分生子が多数形成された。分生子は無色、単胞、楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ であった。

本研究においては1984年に長野県小県郡真田町、埼玉県秩父郡荒川村および同両神村、1986年に北海道網走市、1991年に静岡県富士宮市および東京都世田谷区において本病の発生を認めた。これらのうち長野県、北海道および静岡県の事例は山野に自生するもの、東京都の事例は大学構内に植栽されたもの、埼玉県の2例は栽培圃場におけるものであった。なお、北海道網走市の本病発生地に比較的近い場所でウドそうか病罹病植物を見いだしたが、埼玉県秩父郡の2例と静岡県富士宮市の発生地においては、罹病タラノキとウドが隣接して存在したり、ウド樹上をタラノキの罹病樹が被うように生育していたにもかかわらず、ウドでの発病を認めることができなかった（図版-42）。

長野県、北海道、埼玉県（荒川村）および東京都の罹病植物から病原菌の分離を行ったところ、P S A上で淡黄褐色～赤黒褐色で肉質塊状の菌叢を形成する菌が分離された（図版-43）。本菌のスライドカルチャー試料を鏡検すると、菌叢中央部には直径 $5 \mu\text{m}$ 内外の不正球形菌糸が石垣状に認められ、ここから周囲に伸びた長形の菌糸から伸長した長さ $3 \mu\text{m}$ 内外の分生子柄上に、病斑上と同様な分生子が形成されているのが認められた（図版-44）。異常の結果から本病病原

菌が *Sphaeceloma* (Elsinoe) 属に属する菌であることが確かめられた。

(3) ヤツデそうか病

本病は、黒沢によりウコギ科植物のそうか病としてはわが国で最初に発生が認められたもので¹⁴²⁾、病原菌はそれ以前に Jenkins によって *Aralia spinosa* の病原菌として記載されていた *S. araliae* が当てられた⁸²⁾。

本病の病徴は葉および葉柄に認められる褐色のそうか病斑で、新葉において激しく発病すると葉脈に沿って大型病斑が形成され、萎縮・変形が認められるようになった(図版-45~47)。病斑のクチクラ直下にはウドやタラノキそうか病に比べるとやや薄い菌糸層が認められ、ここから分生子層を突出して分生子を形成するのが認められた(図版-48)。分生子は無色、単胞、楕円形で大きさ $5\sim7\times 3\sim5\mu\text{m}$ であった。

本研究においては1985年に千葉県千葉市、1986年に埼玉県東松山市、1991年に埼玉県越谷市および千葉県浦安市において本病の発生を認めた。発生場所はいずれも公園内や民家の庭先であった。埼玉県東松山市の公園においては、1986年にその一角に植栽された数本のヤツデのほとんどが発病し、公園管理者が徹底的に罹病部位を除去することによって防除と拡大の防止に努めた模様で、現在ようやく本病の発生を見なくなったが、かつての罹病樹は葉数が極端に減少し、かなり衰弱な様相を見せていた。また最近では1991年に千葉県浦安市の東京ディズニーランド園内において、園に対するイメージが大いに損ねられるのではないかと懸

念されるほどの激しい発生が認められた。

このうち千葉県千葉市および埼玉県越谷市の罹病植物から病原菌の分離を行った。分離された菌はP.S.A上で黒褐色～紫褐色の肉質塊状菌叢を形成し、20日間直径20mm、高さ10mm程度に生育した(図版-49)。病原菌のスライドカルチャー試料を鏡検すると、菌叢中央には直径 $5\mu\text{m}$ 内外の不正球形菌糸が認められ、ここから周囲に伸長するやや長形の菌糸の一部に、長さ $3\mu\text{m}$ 前後の分生子柄をともなっており、病斑上に認められたものと同様の分生子が多数形成されているのが観察された(図版-50)。以上の結果から本病原菌は*Sphaceloma*(*Elsinoe*)属に属する菌であることが確かめられた。

(4) 3種の菌の交互接種試験

これら3種のそうか病菌はいずれもウコギ科植物を宿主とし、形態的な差異がほとんど認められないことから、同一種とする報告と⁵⁾⁷⁾、ウドそうか病菌は病原性の面から異なるとの報告がなされている¹⁾。そこで、これら3種のそうか病菌について、ウド、タラノキおよびヤツデに対する交互接種試験を行った。分生子懸濁液を得ることが困難であったため、シャーレ内に表面殺菌した切除葉を置き、その上に病原菌の菌叢を直接置床する方法で接種を行った⁴⁾⁸⁾。なお感染の有無は、病斑形成の有無とともにその部分からの再分離を行い、接種に供試したのと同様の菌叢が得られるか否かによって判定した。その結果、接種7日後には各菌叢の直下に小さい褐色の病斑類似斑点を認めることができたが、明かな病斑とは判断

できなかった。ついでこの病斑類似斑点から病原菌の再分離を試みたところ、ウド葉ではウドそうか病菌を接種したものだけから、ヤツデおよびタラノキ葉ではヤツデおよびタラノキのそうか病菌を接種したものから、それぞれ接種に供試したのと同様の菌叢形態を示す菌が得られた。このことから、少なくとも本試験に供試した菌株については、ウドそうか病菌とそれ以外の菌との間に、病原性の差異が認められた。

ウコギ科植物のそうか病菌について、接種試験を行ったとみなされる明確な事例は、常谷および端山らの研究と赤池らの研究例だけである^{107, 108, 116}。常谷および端山らは接種源として、潰した菌叢を用いて供試植物の葉に置床する方法をとったり（端山、私信）、罹病植物体の下に検定植物を置いて自然感染を起こさせる方法を用いた^{109, 116}。赤池らは自然発病株由来の分生子を接種源としており¹¹、この方法は倉田がダイズ黒とう病菌の接種試験を行った方法と同様である¹⁶⁸。これらに対して本研究においては、シャーレ内の切除葉と菌叢を用いたものであり、菌叢上での分生子形成が少ないことから、接種源には多少の問題があるかも知れないが、発病条件としては前記の2つの方法よりも良好と見なして差し支えなく、いずれの試験においても特に問題のある方法をとったとは考えられない。

端山らは3種の病原菌すべてに未熟ながらも子のう殻または子のうを認め、これらが形態的にはほとんど差異がなく、交互接種試験の結果病原性においても違いが見いだされなかったと報告した⁶⁷。端山らはこれに基づきこれらの菌すべてを

同一種と見なし、病原菌名を *E. araliae* とした。また常谷らはそうか病に罹病したヤツデやタラノキの樹下にキヅタ (*Hedera rhombica*) を置いて自然感染をおこさせることに成功し¹¹⁶⁾。その結果から端山らはセイヨウキヅタの病原菌として記載された *S. hederae* を *E. araliae* と同一種とみなした⁸⁷⁾。現在わが国においては、これらの病原菌はすべて *E. araliae* として記載されている^{128), 129)}。一方近年、赤池らはウド、タラノキおよびヤツデそれぞれから分離したそうか病菌について、これら3種の植物との間で交接種を行った。その結果、ウドそうか病菌はウドだけに病原性を有し、タラノキおよびヤツデのそうか病菌はタラノキとヤツデの両方に病原性を有するが、ウドに対しては非病原性であることを報告した¹⁴⁾。本研究においてもタラノキそうか病の重症発病圃場において、隣接する圃場に健全なウドが生育しているのを確認し、また罹病タラノキの樹下に健全なウドが生育しているのを認めた。赤池らはこのことから直ちに種名の再検討が必要であると述べていないが¹⁴⁾、これらの菌の異同については、他に複数の植物種を宿主とする *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌の分類にも関連して、さらに検討が必要ではないかと思われる。

本研究における結果は赤池らの結果と一致したが¹⁴⁾、このことから端山らの結果を間違いとすることはできない。これら3つの試験において共通に言えることは、供試植物がすべて野生植物かまたはそれに非常に近いものであるということである。イネやジャガイモにおける病害のように、抵抗性遺伝子や病原菌のレースの存在が明かな場合と異なり、これらの植物の病原菌に対する反応は、個体ご

とに一樣でないとする方が妥当である。このため、接種試験ごとに異なる結果が報告されることはしばしば起こることと考えられる。

クラノキおよびヤツデのそうか病菌の病原性が、分類学的には近いと思われる同一属内のものに発現せず、属を越えて現れたが、このようなことは *Sphaceloma* (*Elsinoe*) 属菌のなかではいくつか事例があり、カンキツ類のそうか病菌である *E. australis* と *E. fawcetti* がその代表とされるが^[20, 22]、この他にも本研究に供試した菌の中で、コセンダングサとコスモスの両種に病原性を示す *S. bidenttis* がある^[18]。こうした現象は菌の分類のみならず、植物分類との関係においても興味ある現象である。

図版-36: ウドそうか病の病徴,
葉および葉柄のそうか
病斑 (葉表面)



37: ウドそうか病の病徴
(葉裏面), 葉脈や葉
柄に沿って拡大・融合
した病斑



38: ウドそうか病菌の菌
叢 (P S A 上)



図版-39: 数珠玉状菌糸および
その周辺に形成された
分生子 (スライドカル
チャー試料)



40: タラノキそうか病の
病徴、葉に形成された
多数のそうか病斑



41: タラノキそうか病の
病徴、葉の萎縮



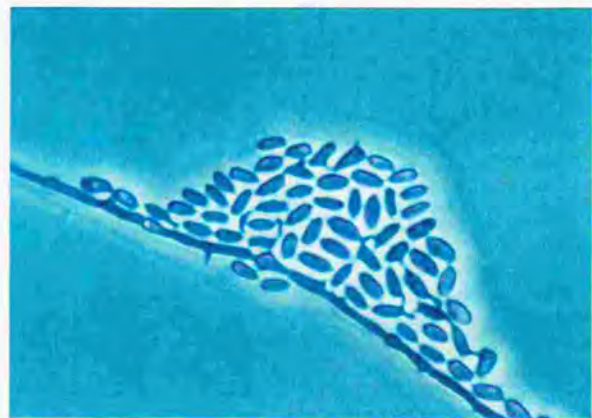
図版-42: そうか病に罹病した
タラノキ直下に見られ
た健全なウド



43: タラノキそうか病菌
の菌叢 (P S A 上)



44: 菌糸とその周辺に多
数形成された分生子
(スライドカルチャー
試料)



図版-45: ヤツデそうか病の病
徴, 葉表面に認められ
る多数のそうか病斑



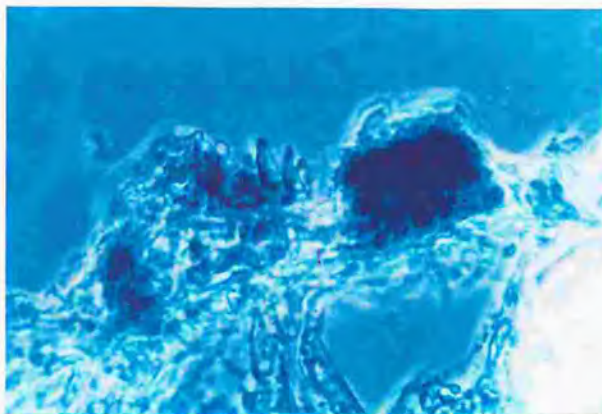
46: 激しい発病による病
斑中央部の穿孔症状
(葉表面)



47: 病斑中央部の穿孔と
葉脈に沿って形成され
やや隆起した不正形病
斑 (葉裏面)



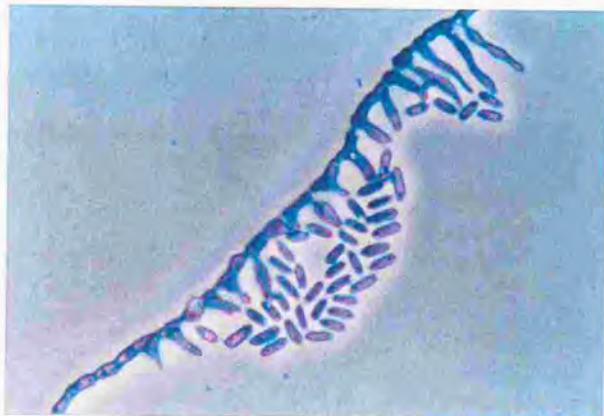
図版-48: 病斑表面に認められ
た分生子層 (青色部)



49: ヤツデそうか病菌の
菌叢 (P S A 上)



50: 菌糸とその周辺に形
成された分生子 (スラ
イドカルチャー試料)



2) ブドウ黒とう病

ブドウ黒とう病は世界各国において古くから知られる病害で^{22, 23, 24}、この病原菌である *E. ampelina* は本属菌のタイプ種になっている^{25, 26, 27}。宿主植物のブドウ (*Vitis vinifera*) は、近年わが国において各種高級品種やワイン用品種等の生産の伸びが著しく、それにともない本病の発生も後を絶たない。1991年には佐賀県において、本菌のベンズイミダゾール系薬剤に対する耐性菌も見いだされており^{28, 29}、本病害発生の根強さが伺える。

本研究においては1984年に千葉県千葉市において本病の発生を認め、その罹病葉から病原菌の分離を行った。菌叢は赤褐色で肉質塊状を呈した(図版-51)。本菌のスライドカルチャー試料を鏡検すると、数珠玉状の菌糸とその周辺に形成された、無色、単胞、楕円形で大きき約 $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ の分生子が認められた(図版-52)。完全時代は見いだされなかったが、このような形態的特徴から、本病原菌が *Elsinoe ampelina* であることが確かめられた。

3) ミカンそうか病

ミカンそうか病もブドウ黒とう病同様に古くから知られる病害である^{30, 31}。本病については外国においては大別して2種の病原菌が記載され、*E. fawcettii* および *E. australis* が知られている^{32, 33}。これら2種の違いは病徴と子のうや分生子等の大ききといわれるが、これらの宿主範囲はほとんどが重複している。わが国にはこのうち *E. fawcettii* のみが発生するとされており³⁴、本病はカンキツ

類の代表的な病害の一つである。

わが国においては、近年の各種カンキツ類の輸入自由化措置にともない、食味のよい高級なカンキツ種が栽培されるようになった。このため一般のウンシュウミカン (*Citrus unshiu*) やナツミカン (*C. natsudaidai*) しか作付できない非優良園は、ほとんど放置に近い状態におかれるようになり、このような園では防除も不徹底となるために、本病の発生源が後を絶たない状況である。

本病については外国において主に同定・分類関係の多くの研究が行われ^{21-23, 25, 26, 28, 30}、発生生態等についても最近の報告が認められる^{24, 29}。わが国においては常谷が病斑組織について異常増殖を認め¹⁸⁶⁻⁷²⁵⁰、1971年には山田によって、発生生態に関する詳細な報告が行われている²³²³。

本研究においては、1984年に愛知県尾張一宮市内のウンシュウミカン園において本病の越冬病斑の認められた枝葉を採集した。越冬病斑は常谷の指摘どおり周辺組織が異常増殖をするため、組織全体がやや隆起または陥没していぼ状となった (図版-53, 54)。ここから病原菌の分離を行ったところ、本属菌特有の褐色〜黒とう病菌褐色の肉質塊状菌叢が得られた (図版-55)。スライドカルチャー試料を鏡検すると、数珠玉状菌糸と多数の無色、単胞、楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ の分生子が認められた (図版-56)。完全時代は認められなかったが、これらの結果から本病原菌が *Elsinoe fawcettii* であることが確かめられた。

4) サトウキビ白星病

サトウキビ白星病は熱帯地域のサトウキビ (*Saccharum officinarum*) 栽培地帯によく発生し、わが国においては沖縄県や奄美地方においてその発生が知られている^(60, 212, 236)。本病は単子葉植物に発生する数少ない *Sphaeloma* (Elsinoe) 属菌による病害のひとつで、同様の事例は他にショウガ科植物における2例 (*S. cardamomi* および *S. curcumae*) と^(72, 224)、イネ科牧草での1例 (*E. panici*)⁽²⁹¹⁾しか認められていない。本病の病原菌は当初Loによって *S. sacchari* として記載され⁽¹⁵⁰⁾、その後1957年に完全時代が発見され *E. sacchari* とされたが⁽⁷⁵⁷⁾、それ以外については見るべき研究事例はない。

わが国においては、沖縄県や鹿児島県の奄美地方において発生が認められているが^(60, 212)、本研究では1986年に沖縄県の宮古島を調査したところ、そのほとんどのサトウキビ圃場において本病が発生していた⁽²³⁸⁾。

本病の病徴は葉および葉鞘等地上部全体に認められる小そうか病斑で、初めは黄褐色から赤褐色を呈するが、次第に中央部分が灰褐色化し、病斑周囲は赤紫色となった。病徴が進行すると、複数の斑点状病斑は次第に融合し、葉脈に沿った細長い灰褐色病斑となった (図版-57)。病斑表面のクチクラ層直下には菌糸層が認められ (図版-58)、ここから表面に突出した分生子層上に多数の分生子が形成された (図版-59)。分生子は無色、単胞、楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu m$ であった。

1986年に沖縄県宮古島城辺町で採集した罹病植物をから病原菌の分離を行った。

分離された菌はP S A上で赤褐色、肉質塊状の菌叢を形成し、20日間で直径約20 mm、高さ約10 mmほどに生育し、産生する色素で培地を赤色化した(図版-60)。スライドカルチャー試料を鏡検すると、菌叢中央部には多数の数珠玉状菌糸が認められ、そこから周囲に伸長するやや長形の菌糸から、長さ3 μ m程度の短い分生子柄が伸び、ここに病斑上と同様の分生子が形成されているのが観察された(図版-61)。完全時代を見いだすことはできなかったが、これらの結果から本病原菌は *Elsinoe sacchari* であることが確かめられた。

8) アケビそうか病

アケビ (*Akebia quinata*) は、最近わずかではあるが店頭にその姿をみかけるようになったが、この店頭の果実表面にはしばしばそうか病の発生が認められ、外見において品質の低下を招いている。

本病はKurosawaらによってわが国において発生が認められた病害であり、その病原菌はアケビ科植物を侵す唯一の *Sphaceloma* (*Elsinoe*) 属菌の *S. akebiae* である⁽⁸⁹⁾。同じアケビ科植物であるミツバアケビ (*A. trifoliata*) やムベ (*Stantonia hexaphylla*) にも発生が認められるが⁽⁸⁹⁾、わが国以外での発生報告はない。

本病の病徴は、当年伸長枝、葉柄、葉等に認められる黒色病斑および、果実表面に認められる淡褐色そうか病斑で(図版-62, 63)。枝、葉柄および果実表面の病斑は初め小斑点状であったが、次第に融合して大型病斑となり、枝や葉柄では中央部がやや灰褐色化、果実表面ではかさぶた状を呈していた。葉の病斑はし

ばしば穿孔し、周囲はやや紫色を帯びた。病斑のクチクラ層直下には菌糸層が形成され、ここからときおり表面に分生子層が突出し、その表面に無色、単胞、楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ の分生子が形成されているのが観察された（図版-64）。

本研究においては、1987年に山形県村山市において本病の発生を認め、その葉および果実上の病斑から病原菌の分離を行った。分離菌はP S A上で黄褐色で肉質塊状の菌叢を形成し、20日間培養すると直径20mm、高さ10mm程度に達した。菌叢からは色素が産生され、培地がやや黄色に着色した（図版-65）。スライドカルチャー試料を鏡検すると、菌叢中央部には多数の数珠玉状菌糸が認められ、そこから周囲に伸長するやや長形の菌糸から、長さ約 $3 \mu\text{m}$ 前後の短い分生子柄が伸び、ここに病斑上と同様の分生子が形成されているのが観察された（図版-66）。これらの結果から本病病原菌が *Sphaceloma akebiae* であることが確かめられた。なお、本病病原菌についてはこれまでごく簡単な記載に当たった報告しか見あらず、本研究が病原菌の分離・培養、培養上の詳細な性質の最初の報告と思われる。

6) ヤブマメそうか病

本病は、かつて1950年代に激発したダイズ黒とう病についての研究が進められる過程において見いだされた病害で、わが国だけにその発生が知られる（29, 43）。

本病はヤブマメ (*Amphicarpaea edgeworthii* var. *japonica*) 自生地にしばしば

散見され、特に埼玉県秩父郡荒川村においては、山間部の圃場の周囲にヤブマメが多数生育し、ここにかなり多くの罹病植物が認められた。本病はダイズ黒とう病と同様マメ科植物に発生することから、両病原菌の異同について研究され、ヤブマメそうか病菌はダイズに病原性を示さなかったことから、結局両菌は異なる種とされた¹⁸³⁾。その後本病の病原菌についての研究は行われた形跡がなく、倉田はダイズ黒とう病の研究論文の中で後日 *S. kurozawana* として記載する旨を記述しているが¹⁸⁴⁾、その文献を確かめることができなかった。

本病の病徴は、地上部全体に認められる黒色病斑で、茎や葉柄においてはこれが大聖化し表面全体を被うこともあり、このような病斑では中央部がやや灰褐色化することもあった。また葉での病斑はしばしば裏面の葉脈上に認められ、葉脈に沿ってやや萎縮が起るため、葉がちじれたような症状を呈し（図版-67）、莢にも病斑を形成した（図版-68）。病斑のクナクラ層直下には菌糸層とそこから突出した分生子層が形成され、分生子層表面には無色、単胞、楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ の分生子が認められた（図版-69）。菌糸層内には子のうに類似する構造が認められたが、確認するには至らなかった（図版-69）。

本研究においては1985年に長野県のハヶ岳周辺、1989年に千葉県千葉市、1990年に埼玉県秩父郡荒川村、1992年に埼玉県浦和市において本病の発生を認め、これらのうち千葉県および埼玉県（荒川村）の試料から病原菌の分離を行った。分離された菌はP S A上で黒褐色～黒色で表面が乾燥した感じの肉質塊状菌叢を形成し、20日間培養しても菌叢直径は10mm、高さは5mm程度にしか生長しなかった

(図版-70)。スライドカルチャー試料を鏡検すると、本属菌にしばしば認められる数珠玉状菌糸とその周辺に形成された多数の分生子が認められた。分生子の形状は病斑上に認められたものと同様であった(図版-71)。以上の結果より本病原菌は *Sphaeloma* (Elsinge) 属菌と同定されたが、本菌の生育は他の本研究に供試した本属菌に比べても緩慢で、ダイズ黒とう病菌に近いように思われた。なお、本病については記載された文献が不明であること等から、病原菌の分離・培養が行われたかどうかについては明かではなく、すくなくとも本病原菌の培養的性質等については、本研究において初めて明かにされたものと思われる。

7) スミレそうか病

スミレそうか病は Massey らによって発生が確認され、Kurosawa らがわが国における発生を認めている¹⁴⁶⁾。本病に感染すると地上部全体にそうか病斑が形成され、その外観を大いに損なう。本病の病原菌は *S. violae* とされ、完全時代は未発見である。本菌の宿主範囲については、常谷ら¹⁴⁷⁾がその菌叢を用いて広範囲のスミレ類 (*Viola* spp.) について接種試験を行い、10種以上のスミレ科植物に対する病原性を確認している¹⁴⁸⁾。

本病の病徴は地上部全体に認められる淡黄褐色のそうか病斑で、激しく発病すると病斑の拡大・融合が認められ、葉では穿孔、萎縮、変形が起こり、花茎や葉柄では変形や湾曲が認められた(図版-72)。

本研究においては、1984年に千葉県四街道市、1985年に静岡県富士宮市、1986

年に東京都狛江市、1987年に東京都世田谷区および大田区、1989年に埼玉県朝霞市で本病の発生を認め、千葉県四街道市での採集試料から病原菌の分離を行った。これらの発生のうち、千葉県四街道市のものはサンシキスミレ (*Viola* × *witt-rockiana*) と「アメリカ」と称される園芸品種で鉢植えの鑑賞用であった。東京都世田谷区のもは鉢植え、東京都狛江市のもは民家の庭先に栽培されたものでいずれも鑑賞用で、他は道路端や山野に自生するものであったが、これらの正確な種名は不詳であった。分離された菌はP S A上において紫褐色で肉質塊状菌叢を形成し、20日間で直径は20mm、高さ10mm程度に生長した(図版-73)。スライドカルチャー試料を検鏡すると、菌糸とその周辺に形成された多数の分生子が認められた。分生子の形状は無色、単胞、楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ であった(図版-74)。これらの結果より本病原菌は *S. violae* であることが確認された。

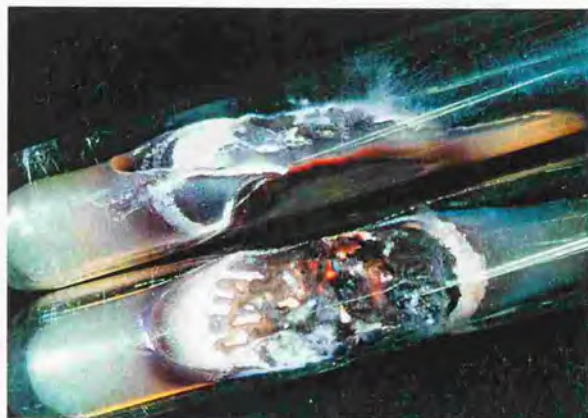
8) ケヤキそうか病

本病はKurosawaraによって発見され¹⁴⁵⁾、これまでのところわが国だけに発生が認められている。病原菌は *S. zelkovae* と記載・命名され¹⁴⁶⁾、本菌はニレ科植物を宿主とする唯一の *Sphaeloma* (Elsinöe) 属菌である。本病の病徴は葉における淡褐色そうか病斑で、病斑はしばしば穿孔したり、葉脈に沿って拡大し互いに融合した(図版-75, 76)。病斑のタチクラ層直下の菌糸層からはときおり分生子層が露出し(図版-77)、この表面に無色、単胞、楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ の分生子が形成されるのが観察された。

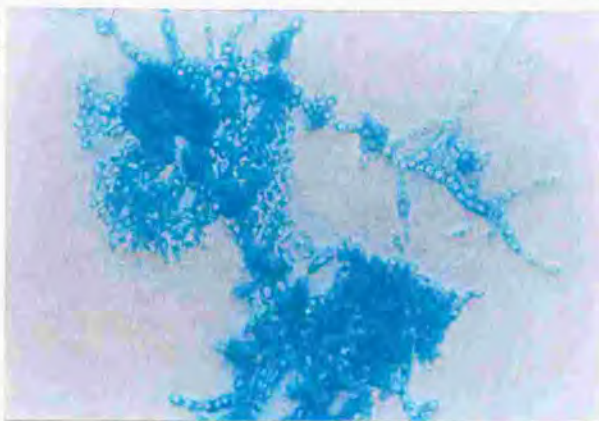
本研究においては、1988年に東京都世田谷区のケヤキ (*Zelkova serata*) において罹病葉を採集し、病原菌の分離を行った。病原菌の分離・培養を含めて、本菌についての詳細な研究は全く行われておらず、本研究における事例が唯一のものである。分離された菌叢はP S A上で紫褐色で肉質塊状を呈し、20日間の培養で直径20mm、高さ10mm程度に生育した(図版-78)。スライドカルチャー試料を鏡検すると、菌糸とその周辺に形成された、多数の分生子が認められた(図版-79)。分生子の形状は病斑上に認められたものと同様であった。これらの結果より本病原菌は *Sphaeceloma zelkovae* であることが確認された。

以上のような病害の他に、わが国においてはチャ (*Thea sinensis*) の白星病 (*E. leucospila*) の発生が恒常的であり⁸⁹⁾、ニンジン (*Daucus carota*) にもそうか病 (*Sphaeceloma* sp.) が散見される⁶²⁾。近年では、広島県においてはイチジク (*Ficus carica*) のそうか病 (*S. caricae*) が報告された。本病の病原菌は以前に銆方が *S. carica* として紹介した後、Kurosawaらによって *S. caricae* として正式に記載されたものであるが¹⁴⁴⁾、日本有用植物病名目録には記載がなかったものである。この他関東地方の各所においてはヘクソカズラ (*Paediria scandens*) を宿主とする *S. paederiae* の発生が数多く認められた¹⁴⁴⁾。日本有用植物病名目録によれば、他にも多くの本属菌による病害が記載されているが、野草や雑草等の病害については「有用」の概念をはずれるため、本属菌の発生を十分にカバーされていないのが実情である。

図版-51: ブドウ黒とう病菌の
菌叢 (P S A 上)



52: ブドウ黒とう病菌の
菌糸とその周辺に形成
された分生子 (スライ
ドカルチャー試料)



53: ミカンそうか病の越
冬病斑 (葉表), 病斑
部分が隆起する



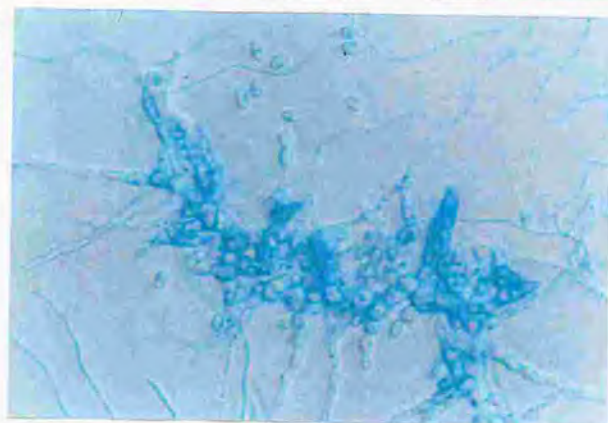
図版-54: ミカンそうか病の越冬病斑(葉裏), 病斑部分が隆起する



55: ミカンそうか病菌の菌叢(P S A 上)



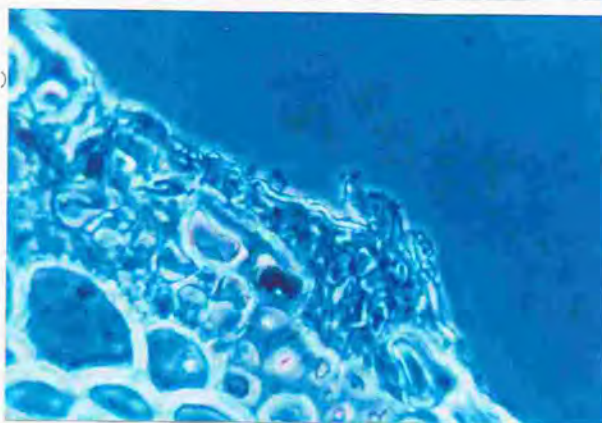
56: ミカンそうか病菌の数珠玉状菌糸とその周辺に形成された分生子(スライドカルチャー試料)



図版-57: サトウキビ白星病の
病徴, 病斑の周囲は紫
色がかかるが中心部は白
色



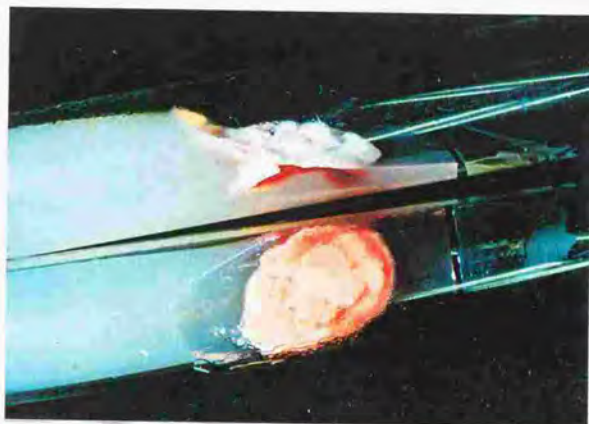
58: サトウキビ白星病の
病斑表面のクチクラ層
直下の菌糸層 (青色部)



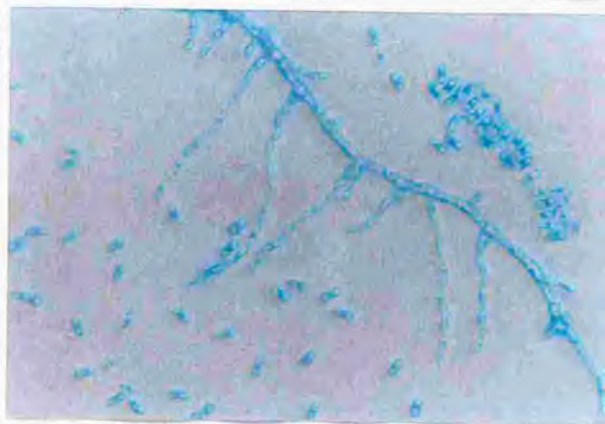
59: サトウキビ白星病の
病斑表面に形成された
分生子層と分生子



図版—60：サトウキビ白星病菌
の菌叢（P S A上）、
赤色の色素を産生



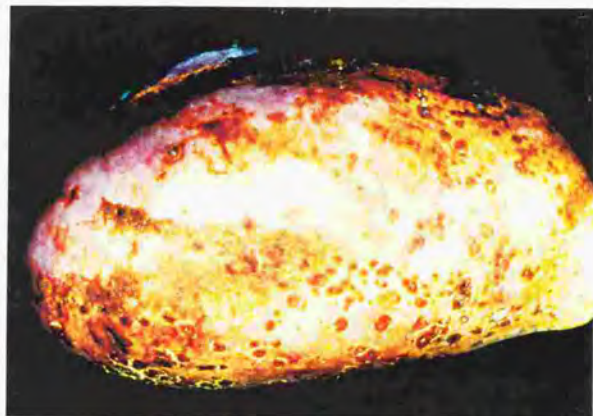
61：サトウキビ白星病菌
の菌糸とその周辺に形
成された分生子（スラ
イドカルチャー試料）



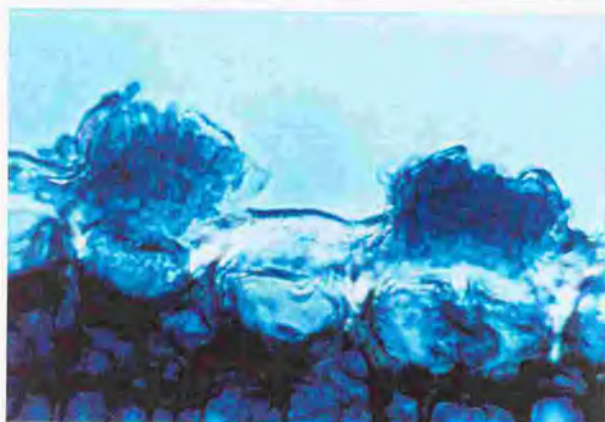
62：アケビそうか病の病
徴，葉に認められる黒
褐色病斑



図版-63 アケビそうか病の病徴、
果実表面に認められる
激しいそうか症状



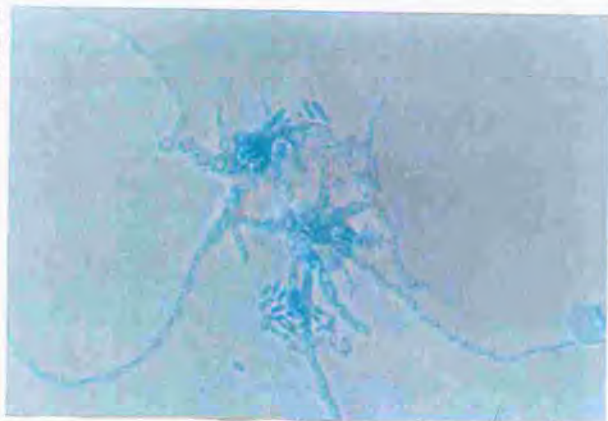
64: アケビそうか病の病
斑表面のクチクラ層直
下に形成された分生子
層



65: アケビそうか病菌の
菌叢 (P S A 上), 黄
色の色素を産生



図版-66: アケビそうか病菌の
数珠玉状菌糸とその周
辺に形成された分生子
(スライドカルチャー
試料)



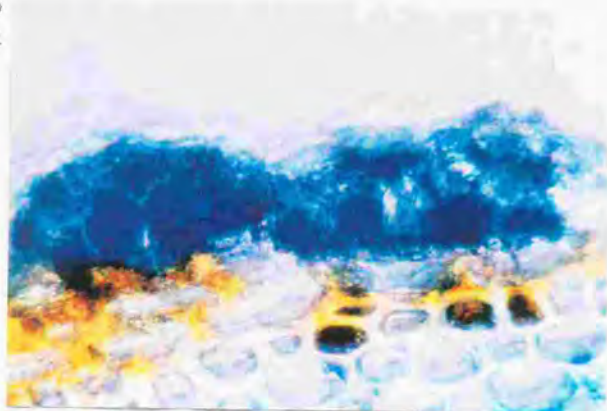
67: ヤブマメそうか病の
病徴、葉裏面の葉脈に
沿った病斑



68: ヤブマメそうか病の
病徴、莢に認められた
病斑



図版-69: ヤブマメそうか病の
病斑表面に形成された
分生子層



70: ヤブマメそうか病菌
の菌叢 (P S A 上)



71: ヤブマメそうか病菌
の数珠玉状菌糸とその
周辺に形成された分生
子 (スライドカルチャ
ー試料)



図版-72: スミレそうか病の病
徴, 葉および葉柄に形
成された多数のそうか
病斑



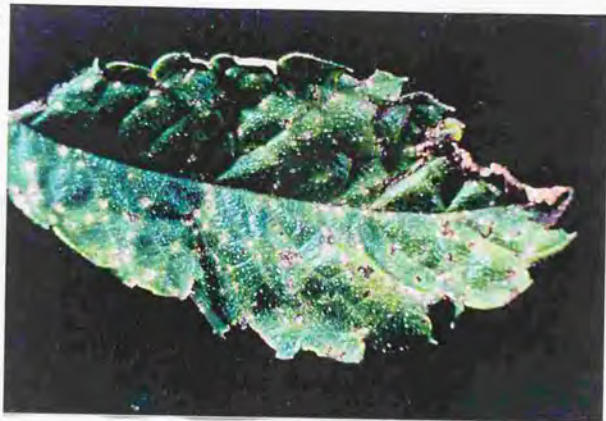
73: スミレそうか病菌の
菌叢 (P S A 上)



74: スミレそうか病菌の
菌糸とその周辺に形成
された分生子 (スライ
ドカルチャー試料)



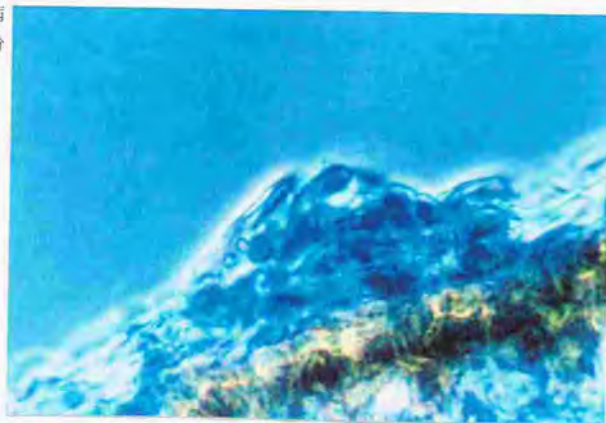
図版-75: ケヤキそうか病の病
徴 (葉表面)



76: ケヤキそうか病の病
徴 (葉裏面)



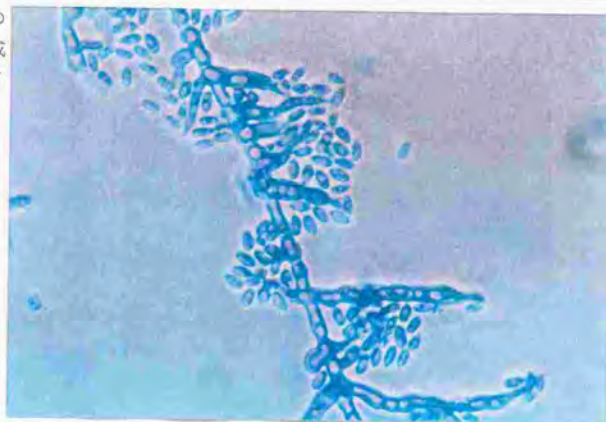
77: ケヤキそうか病の病
斑表面に形成された分
生子層



図版-78: ケヤキそうか病菌の
菌叢 (P S A 上)



79: ケヤキそうか病菌の
菌糸とその周辺に形成
された分生子 (スライ
ドカルチャー試料)



IV. 分生子大量形成方法

これまでに本属菌の接種試験を行う際に用いられた方法には大別して、分生子懸濁液を用いた噴霧接種および菌叢の直接置床接種の2種類がある。

端山らはウコギ科植物への接種を行う際に菌叢をきざんだものを用い、これを供試植物の葉表面に塗布するようにしたという(端山, 私信)。本研究ではラッカセイそうか病菌の接種を直接置床方式で行ったが⁽¹⁸⁹⁾, この接種法では、置床した部位にわずかの個数の病斑が得られるだけであると同時に、本属菌特有の肉質塊状菌叢はそのままでは置床するには不向きであった。

一方分生子懸濁液による接種方法は簡便でありその効率も高いが、本属菌の場合、安定して分生子懸濁液を得ることが容易ではない。本研究においてはコセングサそうか病菌の接種を分生子噴霧接種で行った⁽¹⁹⁰⁾。これは通常のPS液体培地で振とう培養するだけで分生子を多量に形成する菌株を得ることができたためであった。また倉田はダイズ黒とう病菌の接種を、罹病植物体上に形成された分生子を用いて行い⁽¹⁹¹⁾, 近年では赤池らも同様の分生子を接種源としているが⁽¹⁾, こうした例は少ない。従って分生子大量形成方法を確立することが、本属菌の接種試験の効率を高めるのに必要と考えられた。

Sphaceloma (Eisinné) 属菌の分生子の人工的な形成手法としては、ミカンそうか病菌について行った Whitesideらの方法と⁽²⁴³⁾, チャ白星病菌病菌について行った高尾らの方法⁽²⁵⁾があげられよう。前者は分生子由来の小菌叢を特殊な液体

培地中に放置しておくものであるが、小菌叢形成の手順がやや煩雑であり、ラッカセイそうか病菌で同様の手法を試みたところ、分生子形成には成功しなかった。後者の方法はきわめて簡便で、分生子由来の小菌叢をP S A上で生育させ、ここに少量の水を加えるだけというものであり、これだけの操作で大量の分生子を比較的限定された短期間のうちに得ることができるものであった。

これとは別に、各種のそうか病菌について各種の炭素源や窒素源の利用状況を比較していると、培地中に粘液状物質とともに分生子が形成され、菌叢の生育状況の判定が困難になる場合があった。このような事例が認められたのは、炭素源としてデンプン、マンノース、マルトースを添加した場合に多く、窒素源ではアスパラギン酸ナトリウムで比較的多かった。このことから、これらの炭素源と窒素源を組み合わせた培地を作製し、この中で各種のそうか病菌を生育させたが、分生子形成が認められることはなかった。しかし、これらの物質には何らかの形で分生子形成の活性を高める作用があるのではないかと考えられた。

一方、ミカンそうか病菌では、オートクレーブ滅菌した宿主植物体（葉）に定着した菌叢から大型分生子が得られるとの情報（有本，私信）を得たが、多量の小型分生子を比較的短時間のうちに得られる方法とはならなかった。この方法をもとに、ウコギ科植物のそうか病菌について、オートクレーブした宿主植物の葉とともに滅菌水中でゆっくりと往復振とうを行ったところ、比較的多量の分生子を得られることがあり、宿主葉のかわりにオートクレーブ処理したジャガイモ小切片を用いたところ、さらに多量の分生子を得られることがあった。この方法に

おいては、宿主葉やジャガイモ切片に付着・定着した菌叢において分生子形成が行われており、栄養源としてだけでなく支持体としても宿主葉やジャガイモ切片が重要な役割を果たしていたものと考えられた。しかしこの方法では、常に安定して分生子を得ることができなかった。また、分生子形成は振とう中を通じて行われたため、初期に形成された分生子は分生子濃度が高まった時点では発芽を開始して小菌叢の形成が始まり、さらにその小菌叢において粘性物質等の産生が始まるなど、純粋に分生子だけ得ることが困難となった。さらに、振とうによってジャガイモ切片の組織が崩壊して培地中に散乱するため、分生子だけの懸濁液を得ることは困難であった。

以上のような経緯から、本研究においては高屋らの方法を基本とする固体培地上でのもの、およびジャガイモ小切片の振とうによるものの、2とおりの方法で分生子の大量形成を試みた^{195, 196)}。

1. 固体培地上における分生子大量形成法

1). 材料および方法

高屋らの方法に準拠して、各種の天然物を材料とする固体培地を用い、ラッカセイそうか病菌の分生子大量形成を試みた¹⁹⁵⁾。供試天然培地としてはPSA、PCA（ジャガイモ・ニンジン煎汁寒天培地）、麦芽培地のほかに、アズキ、ササゲ、エンドウ、ラッカセイ、ダイズ、インゲンマメ、ラッカセイ茎葉、ニンジン、エンパクおよびコムギそれぞれ200gの煎汁にショ糖5gと15gの寒天を加え、

蒸留水で 1,000ml としたものを用いた (Table 1)。

これらの培地を約 10ml ずつ分注して平板とした 100ml フラスコ内に、ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis* Sa-01) の菌叢細片を 10 個ほど接種し 7~10 日間培養した。各菌叢細片からはそれぞれ直径、高さとも 5 mm 程度の菌叢が発達するので、これに約 10ml の滅菌水を加え、菌叢の頂部が水面から現れるようにした。2~数時間後にこの水中における分生子数を計測し、形成状況の良否を判定した。

2). 結果

各培地におけるラッカセイそうか病菌の生育状況と分生子形成状況は、第 8 表のとおりであった。最も形成状況が良好であったのはニンジン煎汁寒天培地で、菌叢の生育はそれほど良くなかったが、 10^7 個/ml 程度の分生子形成が認められた。ついでエンドウおよびダイズ煎汁寒天培地と P S A で良好で、およそ 10^6 個/ml 程度の形成が認められた。その他の培地での形成はかなり少なく、特にラッカセイ茎葉煎汁寒天培地では、全く分生子形成を見ることができなかった。なお、このような分生子形成は、菌株の継代が進むにつれて認められなくなり、新たに分離された菌株を用いても、このように多量の分生子形成を得ることはできなくなった。

第8表 天然物固体培地上におけるラッカセイそうか病菌の分生子形成状況

培地	菌叢形状	生育状況	分生子形成状況
P S A	肉質塊状	+++ ^{a)}	+++ ^{b)}
麦芽	"	++	-
P C A	平面状	+	+
アズキ	肉質塊状	+++	++
ササゲ	"	+++	+
エンドウ	"	+++	+++
ラッカセイ	"	+++	++
ダイズ	"	+++	+++
インゲンマメ	"	+++	++
ニンジン	"	++	++++
ラッカセイ茎葉	"	++	-
エンバク	平面状	+	+
コムギ	"	+	+

a) + : 不良, ++ : やや良好, +++ : 非常に良好

b) - : 形成なし, + : $10^1 \sim 10^2$ 個/ml程度形成, ++ : $10^2 \sim 10^4$ 個/ml程度形成, +++ : $10^4 \sim 10^6$ 個/ml程度形成, ++++ : $10^6 \sim 10^8$ 個/ml形成

3). 考察

高屋らはチャ白星病菌とP S Aとの組合せで、非常に大量の分生子を短時間のうちに得ている²²⁵⁾。しかしこの方法においても、比較的新しく分離された菌株を用いることや²²⁵⁾、分生子形成能力の高い菌株を選ぶことが重要（演屋、私信）であった。本実験は分離から間もない時期に行ったため、当初比較的多量の分生子を得ることができたが、分離から時間が経過するにつれて、次第に分生子形成状況は悪化した。

分生子形成は、比較的菌叢の生育の盛んな培地上では良好であったが、必ずし

もこのような培地上でばかり起こるものではなく、それほど生育状況の良くないニンジン培地において、多くの分生子が比較的長期にわたって形成された。生育状況の不良な穀類の煎汁培地や、麦芽培地およびラッカセイ茎葉煎汁培地においては、全く分生子形成がみられなかった。この状況はラッカセイそうか病菌の1菌株についてだけ行った結果であり、他の菌株または他の菌または異なる天然培地を用いた場合等に良好な結果を得られる可能性があり、さらに検討を行う必要がある。

2. ジャガイモ小切片上における分生子大量形成法

1). 材料および方法

P S A 斜面培地で10~20日培養した菌叢5mm平方程度を100mlフラスコに入れた20mlのP S 液中に入れ、25℃で2週間、毎分100回の往復振とう培養を行った。フラスコ内には多数の球状菌糸塊が形成され、このうち直径3mm程度の菌糸塊をとり、オートクレーブで1分間処理した10×10×5mmの大きさのジャガイモ切片上に置床し、これを滅菌水で湿らせたろ紙を敷いた直径9cmのシャーレ内におき25℃で培養した(図版-80) (ジャモ)。

5日後菌糸の伸長により菌糸塊の定着したジャガイモ小切片を取り出し、これを5mlの滅菌水を入れた直径18mmの試験管に入れ、25℃の温度下で毎分50回の比較的ゆっくりした振とうを行った(図版-81, 82)。なおジャガイモは、オートクレーブ処理やその後の振とうによって組織が崩壊すると、滅菌水中にでんぷん

粒等の細片が懸濁し、純粋な分生子懸濁液を得ることが困難となるため、煮崩れの少ない品種であるメークイン等を選んだ。数時間の振とうの後 Thoma の血球計算盤を用いて滅菌水中に形成された分生子の数を計測した¹⁹⁵⁴。

なお供試菌はウドそうか病菌 (*E. araliae* Udo5, 分離後6年, 最終継代後4ヶ月), タラノキそうか病菌 (*E. araliae* TaraN4, 分離後5ヶ月, 最終継代後2ヶ月), コセンダングサそうか病菌 (*S. bidentis* Sb-K3, 分離後3年, 最終継代後6ヶ月) およびコスモスそうか病菌 (*S. bidentis* COK6, 分離後1年, 最終継代後6ヶ月) であった。

2). 結果

結果を第9表に示した。タラノキそうか病菌については、3日および5日間の培養区において、滅菌水浸漬処理1時間後から約 10^5 個/ml 以上の分生子が観察され、特に5日後の4時間処理区においては、 5×10^6 個/ml にまで増加した。その後分生子数はほぼ横ばいから減少し、発芽分生子数の割合が増加し、1日後には観察される分生子数は極端に減少した。ウドそうか病菌については6日間培養区において良好な結果が得られ、滅菌水浸漬処理1時間後から 10^5 個/ml 程度の分生子が観察された。

コセンダングサそうか病菌では、3日間の培養のみであったが、滅菌水浸漬処理1時間後には 1×10^4 個/ml 程度で、6時間後にはその約10倍に達したがその後は増加せず、あまり多数とはならなかった。またコスモスそうか病菌では、3

日間培養区において滅菌水処理4時間後には 13.6×10^4 個/mlに増加した。その後8時間後には約 2×10^5 個/ml近くに達したが、発芽したものの数が多かった。

なお、コセンダングサおよびコスモスのそうか病菌については、得られた分生子の病原性の有無を確認したが、分生子濃度約 1×10^5 個/mlの濃度の懸濁液を噴霧接種したところ、それぞれの宿主植物に対して明かな病原性が認められた。

3). 考察

本研究においては、ウコキ科植物を宿主とするウドそうか病菌、タラノキそうか病菌およびヤツデそうか病菌(いずれも*E. araliae*)については、比較的良好な分生子形成が認められたが、キク科植物を宿主とするコセンダングサそうか病菌およびコスモスそうか病菌(いずれも*S. bidentis*)についてはあまり良好な結果が得られなかった^{1,2,9}。これまでの*Sphaceloma*(*Elsinoe*)属菌の分生子形成に関する報告では、全ての本属菌についてその方法を適用した事例はなく、特定の種についてだけ効果のあったことが述べられている^{2,23,24,9}。この点からみると、本研究において行われた方法は、複数の種に対して方法を適用したものであり¹⁸、この方法が特定の種だけでなく広く本属菌に対して適用されることになれば、本属菌の宿主範囲を検討する上においてこれ以上の貢献はない。

今回の結果ではコセンダングサそうか病菌およびコスモスそうか病菌である*S. bidentis*の分生子形成状況は、せいせい 10^5 個/ml程度であり、必ずしも優れたものではなかったが、接種源として供試されその病原性を十分に確認することが

できた。従ってこの方法により他の本属菌についても分生子形成状況を確認し、それを接種源としてこれまでごく一部の菌についてしか行われていなかった接種試験を、より広い範囲の菌について実施できるものと思われる。特に本属菌の場合、現状においてはその宿主範囲を決定することが種の同定・分類に大きな比重を占めており^{2, 3, 20}、これまでやや混乱気味であった本属菌の分類状況を改変する手段の一つとして、非常に有効であろうと思われる。

なお、本方法には分生子形成誘導処理前に2度の前培養期間があり、高屋らの方法に比べるとやや煩雑な手法を伴うが²²⁵、Whitesideの方法に比べるとはるかに簡便であり²⁴⁰、特にUdo5のように数年間というかなり長期間の継代を経てきた菌株についても、非常に良好な結果を得ることができたことは、大いに評価されよう。

第9表 各種そうか病菌の分生子形成-1

菌名 (菌株番号)	培養日数 (日)	浸漬時間 (時間)	分生子数 ($\times 10^4$ spores/ml)	発芽胞子率 (%) ²⁾
タラノキそうか病菌 (<i>Elsinoe araliae</i> Taran4)	3	1	220.2	—
		2	228.4	—
		4	263.6	1.2
		6	286.2	7.1
		8	242.8	11.4
	5	24	99.2	38.3
		1	445.2	—
		2	442.6	—
		4	494.0	—
		6	478.8	5.4
	7	8	448.6	9.8
		24	33.2	63.3
		1	8.0	—
		2	12.0	—
		4	13.2	4.5
		6	25.0	28.8
		8	40.2	37.3
		24	53.4	39.0
ウドそうか病菌 (<i>E. araliae</i> Udo5)	3	1	41.4	—
		2	41.0	—
		4	40.6	3.9
		6	71.8	4.5
		8	77.2	5.4
	4	1	29.8	—
		2	33.2	7.2
		4	64.0	5.0
		6	75.2	3.7
		8	103.4	5.4
	5	1	9.2	—
		2	15.2	7.9
		4	27.6	8.7
		6	32.6	4.9
		8	43.8	11.9

第9表 各種そうか病菌の分生子形成-2

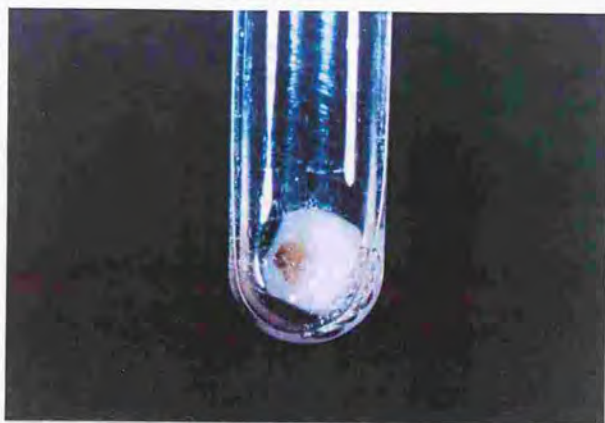
菌名 (菌株番号)	培養日数 (日)	浸漬時間 (時間)	分生子数 ($\times 10^4$ spores/ml)	発芽胞子率 (%) ^{a)}
ウドそうか病菌 (<i>E. araliae</i> Udo5)	6	1	107.4	—
		2	120.8	6.8
		4	135.8	9.3
		6	153.6	10.5
		8	154.0	18.8
		10	143.6	34.5
コスモスそうか病菌 (<i>Sphaeceloma bidentis</i> COK6)	3	1	+	—
		2	6.4	—
		4	13.6	—
		6	16.8	6.0
		8	19.2	33.3
		10	17.4	44.8
	5	1	0.2	—
		2	0.4	—
		4	0.2	—
		7	7.0	NT
コセンダングサそうか病菌 (<i>S. bidentis</i> Sb-K3)	3	1	2.0	NT
		4	6.3	NT
		6	9.0	NT
		7	7.0	NT
		7	7.0	NT

a) 発芽分生子数 / 全分生子数 $\times 100$

図版-80: オートクレーブ処理
したジャガイモ小切片
上において培養したそ
うか病菌の球状菌糸塊



81: 試験管内の滅菌水に
浸漬した球状菌糸塊の
付着したジャガイモ小
切片



82: 水に浸漬後、毎分50
回の往復振とうで分生
子形成を誘導



V. 培地上における性状比較

Sphaceloma(*Elsinoe*) 属菌の分類が、主に当初発見された宿主の違いによって行われており、厳密な意味での宿主範囲に基づいたものではないことは既に述べた。このため本研究においては宿主植物の科が同一である一部の菌株について、それぞれ交互接種を行いその宿主範囲の異同を確認した¹⁸⁹⁾。その結果同一名称の菌でも、分離源植物が異なると病原性も異なる場合があり¹⁾、特に栽培植物以外の植物を宿主とする菌については、必ずしも宿主範囲だけで種名の異同を論ずることができないことが明らかとなった。

このため本研究においては、培地上での生育や栄養生理的諸性質、血清学的手法による各菌の類縁性、および可溶性タンパクのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるバンドの出現状況からの比較を行い、各菌間の類縁関係を明らかにすることを試みた。本章においてはまず培地上における各菌株の性状について試験を行った。

1. 温度および水素イオン濃度の影響

これまで *Sphaceloma*(*Elsinoe*) 属菌は分離が困難な上に、培地上での生育が遅いため、多種の菌が記載・命名されているにもかかわらず、培地上における生育状況を詳しく検討した事例は少ない。本属菌の固体培地上での生育は緩慢だけでなく、培地表面を放射状に伸長することがないため、生育状況の良否を把握す

ることは容易ではない。また、液体培地を用いる場合も往復振とうまたは回転振とうによる培養を行わないと生育速度がきわめて遅く、そのような培養器材の性質上多数の試料を一挙に扱うことが困難であるため、他の菌においては簡単に結果の導ける温度や培地のpHによる影響がほとんど不明のままである。各種温度や水素イオン濃度下での生育状況を検討した過去の研究事例においては、その方法がまちまちなだけでなく、しばしばあまり定量的とは言えない方法を用いていることがあり、これらのデータから各菌ごとの性状を比較することは非常に困難であった^{188), 189), 192), 195), 198), 199), 200)}。

本研究においては、固体培地上における生育については Calamによる菌の生長量把握方法に準じた手法を用いるとともに¹⁹¹⁾、液体培地における生育については、倉田がダイズ黒とう病菌の研究において用いた方法を基本として¹⁴⁹⁾、コセンダングサそうか病菌の研究のために使用した方法を統一的に用いた^{190), 194), 196)}。これらの方法においては接種源を菌糸塊とし、生育判定を菌体の乾燥重量によって表記するものであり、量的な比較が非常に容易であるとともに、また多数の試料を同時に扱うことができるものである。

この方法によって、温度条件の異なる固体培地上、および水素イオン濃度の異なる液体培地における本属菌の生育状況の比較を行い、本属菌の種々の性状を明らかにすることができた。

1). 材料および方法

(1) 供試菌株

本試験の供試菌株は第10表のとおりであった。

第10表 温度および水素イオン濃度による影響試験に供試した菌株-1

菌株名	病原菌和名	分離源植物(和名)および採集地
<i>Elsinoe ampelina</i> Ea-04	ブドウ黒とう病菌	<i>Vitis vinifera</i> (ブドウ) 千葉県千葉市
<i>E. araliae</i> Udol	ウドそうか病菌	<i>Aralia cordata</i> (ウド) 北海道網走市
Ar-02	タラノキそうか病菌	<i>A. elata</i> (タラノキ) 長野県小県郡真田町
YTD4	ヤツデそうか病菌	<i>Fatsia japonica</i> (ヤツデ) 千葉県千葉市
<i>E. fawcettii</i> Ef-01	ミカンそうか病菌	<i>Citrus unshiu</i> (ウンシュウミカン) 愛知県尾張一宮市
<i>E. sacchari</i> SC1	サトウキビ白星病菌	<i>Saccharum officinarum</i> (サトウキビ) 沖縄県宮古島城辺町
<i>Sphaceloma akebiae</i> AKB1	アケビそうか病菌	<i>Akebia quinata</i> (アケビ) 山形県村山市
<i>S. arachidis</i> Sa-04	ラッカセイそうか病菌	<i>Arachis hypogaea</i> (アブラナ) 千葉県千葉市
<i>S. bidentis</i> Sb-01	セイヨウソコバそうか病菌	<i>Bidens pilosa</i> (セイヨウソコバ) 東京都文京区
0001	コスモスそうか病菌	<i>Cosmos bipinnata</i> (コスモス) 神奈川県川崎市多摩区

第10表 温度および水素イオン濃度による影響試験に供試した菌株-2

菌株名	病原菌和名	分離源植物(和名)および採集地
<i>S. kurozawana</i> Sk-01	ヤブマメそうか病菌	<i>Amphicarpaea edgewortii</i> var. <i>edgewortii</i> (ヤブマメ) 埼玉県秩父郡荒川村
<i>S. zeikoyae</i> KYKI	ケヤキそうか病菌	<i>Zeikoya serata</i> (ケヤキ) 東京都世田谷区

(2) 温度の影響

温度による影響については、以下のとおりの方とした。9 mlのP S Aを分注した試験管斜面培地中央部を鉤針ですこし削って小凹部をつくり、ここに約2週間培養し直径が約3 mmに達した球状菌糸塊を、周辺の培地に触れないように注意深く置床した。これを15, 20, 25, 30および35℃の恒温器中におき、各温度ごとに最低5本の試験管を供試・培養した。培養終了後は、生育した菌叢部分をなるべく培地が含まれないように取り出し、これを熱湯洗浄と吸引濾過を3回繰り返して、菌叢に付着する寒天等の培地成分を極力除去した後シャーレ内に移した。洗浄後の菌叢試料は90℃で5時間乾燥させてから1日間室温中に放置し、その後重量を計測して各温度における平均値を算出し、各温度下における生長量とした

(88-1) 28-198)

(3) 水素イオン濃度の影響

水素イオン濃度による影響の試験方法は以下のとおりとした。通常のP S 液の

2 倍の濃度とした培養液（以下「P S 2 液」という）に、第11表に示すとおりの量の0.1N塩酸または0.1N水酸化ナトリウム溶液を加え、さらにこれと同量の蒸留水を加えて倍量とし、これを9 mlづつ試験管に分注してオートクレープで滅菌して、各種段階の水素イオン濃度を示す培地を作製した。各処理ごとの供試試験管数は5本とし、各試験管には直径約3 mmの球状菌糸塊を1つずつ接種し、これを $\tan \theta = 3/17$ に傾斜させ、温度25℃で振幅7cm、毎分100回に調整した往復振とう培養装置を用い、14~20日間培養した。なお、培養直前および培養直後には、各処理または試験管ごとにpHメーターガラス電極式水素イオン濃度計、HM-20E、東亜電波工業社製）またはpH試験紙（東洋濾紙製）を用いて培地pHを測定した。培養終了後に得られた菌叢は蒸留水で洗浄し、90℃で5時間乾燥させた後、1日間室温に放置して重量が安定してから重量を計測し、各処理ごとの平均値を算出して生長量とした^(123・124・126)。

なお、サトウキビ白星病菌は、水酸化ナトリウムが培地に含まれ、やや水素イオン濃度の高い培地では、多量の粘性物質を産生して菌叢の乾燥重量を計測することが不可能となったため、同量の0.1N水酸化カリウム溶液を用いて調整を行った⁽¹²⁴⁾。また、試験管を傾斜させて振とうする方法では、1回に1台の振とう培養機で150本以上の試験管を供試することができた。

第11表 水素イオン濃度の異なる培地の調整 (単位: ml)

P S 2 液	0.1N HCl	0.1N NaOH	蒸留水
5 0	1 2 . 0	—	3 8 . 0
5 0	8 . 0	—	4 2 . 0
5 0	3 . 0	—	4 7 . 0
5 0	1 . 0	—	4 9 . 0
5 0	—	—	5 0 . 0
5 0	—	1 . 0	4 9 . 0
5 0	—	2 . 0	4 8 . 0
5 0	—	5 . 0	4 5 . 0
5 0	—	7 . 5	4 2 . 5
5 0	—	1 0 . 0	4 0 . 0

2). 結果

(1) 温度の影響

各種そうか病菌の生育に対する温度の影響は第12表のとおりであった。各菌とも20~30℃の間でよく生育し、25℃前後において最も良好な生育を示すものが多かった。15℃のやや低温における生育はほとんどの菌で極端に不良とはならなかったが、ブドウ黒とう病菌だけがかなり生育不良であった。35℃においては全ての菌について菌叢の生育を肉眼で認めることができず、また、この温度下において試験管を20日間の試験期間終了後に25℃の温度下に移しても、その後菌叢の生長は認められなかった。20℃と30℃における生育を比較すると、ヤブマメそうか病菌とコセンダングサそうか病菌は30℃での生育が良好であった。逆にウドそうか病菌、タラノキそうか病菌、ヤツデそうか病菌、ケヤキそうか病菌、ラッカセイそうか病菌およびアケビそうか病菌はやや30℃よりも20℃における生育の方が良好であった。また、宮古島で採集されたサトウキビそうか病菌は、30℃における生育が20℃における生育よりもやや良好ではあったが、極端な偏りは示さず、ほぼ25℃付近で最も生育良好であった。

第12表 各種 *Sphaeceloma* (*Elsinoe*) 属菌の生長と温度との関係

菌株名	菌叢乾燥重量 (mg)					35°C 培養前 ^{a)}
	5	20	25	30		
<i>Elsinoe ampelina</i> Ea-04 (ブドウ黒とう病菌)	3.3	60.9	81.3	78.2	0.3	(0.3)
<i>E. araliae</i> UD01 (ウドそうか病菌)	12.8	52.8	65.7	28.2	1.0	(1.0)
<i>E. araliae</i> Ar-02 (タラノキそうか病菌)	11.8	27.1	37.4	21.3	1.0	(1.0)
<i>E. araliae</i> YTD4 (ヤツデそうか病菌)	10.1	53.0	41.1	34.0	1.0	(1.0)
<i>E. fawcetti</i> Ef-01 (ミカンそうか病菌)	45.1	59.6	74.3	65.3	1.5	(1.5)
<i>E. sacchari</i> SC1 (サトウキビ白星病菌)	13.9	23.2	29.0	26.4	1.7	(1.5)
<i>Sphaeceloma akebiae</i> AKB1 (アケビそうか病菌)	19.6	68.4	83.3	50.0	1.2	(1.3)
<i>S. arachidis</i> Sa-04 (ラッカセイそうか病菌)	26.2	80.7	77.3	59.8	0.3	(0.4)
<i>S. bidentis</i> Sb-01 (コシヤナギそうか病菌)	45.7	58.2	91.4	92.1	1.0	(1.0)
<i>S. bidentis</i> C001 (コスモスそうか病菌)	26.9	60.1	65.7	61.3	0.7	(0.6)
<i>S. kurozawana</i> Sk-01 (ヤブマメそうか病菌)	31.2	61.6	80.5	79.7	1.2	(0.9)
<i>S. zelkoveae</i> KYK1 (ケヤキそうか病菌)	24.0	73.3	84.2	43.6	0.5	(0.4)

a) 接種源10個の平均乾燥重量, 以下同様

(2) 水素イオン濃度の影響

培地の水素イオン濃度による影響についての結果は第13表のとおりであった。各種そうか病菌の生育は供試pH域のなかではかなり広い範囲で生育良好であり、ほぼpH3.0~8.0の範囲でよく生育した。アルカリ側において生育阻害が顕著となる菌は少なく、酸性側ではpH値がおよそ3.0以下で比較的大きな生育阻害がみられた。例外はラッカセイそうか病菌およびブドウ黒とう病菌で、ラッカセイそうか病菌ではpH4.0~7.0付近が、ブドウ黒とう病菌ではpH6.0~8.0付近が生育に好適な培地pH値域であった。

培養後の培地pHを測定すると、主にpH値が4.0以上で比較的良好な生育を示した区においては7.0付近に収束するようにみられたが、生育があまり良好でない低いpH域の区においては、最初に調整したときとはほぼ同様のpH値を示す傾向が認められた。

なお、サトウキビ白星病菌については、水酸化ナトリウム溶液を用いて水素イオン濃度の調整を行った培地を用いると、pHが4.0以上においては培養中に多量の粘性物質が産生され、乾燥重量の測定が困難となったため、0.1Nの塩酸または水酸化カリウム溶液を用いた。またこのようにして作製した培地においても、pH値が6.3, 7.4, 7.5および7.7の区については、粘性物質が多量に産生されたため菌叢の乾燥重量を測定することができなかったが、菌叢そのものの生育状況を肉眼判定すると以上の4区での生育状況はほぼ同様で、あまり大きくなかった。

第13表 各種 *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌の生育と水素イオン濃度との関係—I*Elsinoe ampelina* Ea-04 (ブドウ黒とう病菌, 0.4mg)

培養前pH	3.0	3.8	4.9	5.5	5.9	6.3	6.8	8.1	8.7	8.9
培養後pH	3.4	3.8	4.8	6.5	6.6	7.0	7.1	7.4	7.5	8.5
乾燥重量(mg)	1.0	1.0	0.8	42.2	11.0	116.7	94.3	85.7	46.3	1.4

E. araliae Udo1 (ウドそうか病菌, 0.6mg)

培養前pH	2.8	3.8	4.8	5.2	5.5	6.0	6.6	7.2	7.8	8.0
培養後pH	2.8	3.2	6.8	6.8	6.8	7.6	7.8	8.0	8.1	8.2
乾燥重量	23.8	38.0	57.4	52.2	52.4	62.0	67.5	116.2	79.5	75.2

E. araliae Ar-02 (クラノキそうか病菌, 0.3mg)

培養前pH	2.8	3.5	4.8	5.2	5.8	6.2	6.7	7.7	8.6	9.0
培養後pH	2.7	3.7	6.7	7.3	7.3	7.4	7.4	7.5	7.7	7.7
乾燥重量	28.8	84.4	107.3	88.6	78.6	85.4	80.3	82.5	83.0	85.0

E. araliae YTD4 (ヤツデそうか病菌, 0.2mg)

培養前pH	2.8	3.5	4.8	5.2	5.8	6.2	6.7	7.7	8.6	9.0
培養後pH	2.8	3.4	6.7	6.8	6.8	7.3	7.6	7.9	8.0	8.0
乾燥重量	29.2	71.8	87.5	125.2	74.0	76.3	78.4	101.8	75.2	80.3

E. fawcettii Ef-01 (ミカンそうか病菌, 0.8mg)

培養前pH	1.8	2.8	3.4	4.6	5.2	6.2	6.8	7.4	8.0	8.4
培養後pH	2.2	3.1	5.6	7.0	7.1	7.9	7.5	7.9	7.7	8.2
乾燥重量	17.8	83.4	79.6	78.5	80.7	88.1	84.2	81.4	77.2	91.6

E. sacchari Es-01 (サトウキビ白星病菌, 1.5mg)

培養前pH	2.6	3.1	4.5	5.4	6.0	6.7	6.9	7.4	7.5	7.7
培養後pH	2.3	2.8	6.0	6.8	6.9	7.1	7.0	7.2	7.2	7.4
乾燥重量	33.2	71.4	53.5	55.5	82.0	88.3	-	-	-	-

Sphaceloma arachidis Sa-04 (ラッカセイそうか病菌, 1.1mg)

培養前pH	1.8	2.8	3.4	4.6	5.2	6.2	6.8	7.4	8.0	8.4
培養後pH	2.2	3.2	5.5	6.9	7.1	7.9	7.7	5.3	5.1	4.7
乾燥重量	4.3	51.6	61.7	116.9	118.4	114.9	113.5	49.6	57.0	44.5

第13表 各種 *Sphaeceloma* (Elsinoe) 属菌の生育と水素イオン濃度との関係-2*S. bidentis* Sb-01 (コセンダングサそうか病菌, 1.0mg)

培養前pH	3.3	3.9	5.2	5.8	6.2	6.7	7.2	8.5	8.8	9.1
培養後pH	2.8	6.6	7.2	7.6	7.6	7.6	7.7	7.9	7.9	7.9
乾燥重量	41.0	60.5	92.2	86.3	82.2	78.7	79.7	85.3	84.4	87.8

S. bidentis C001 (コスモスそうか病菌, 0.6mg)

培養前pH	3.8	4.6	5.2	5.6	6.0	6.4	6.8	7.4	8.2	9.0
培養後pH	4.1	4.8	6.6	6.9	6.8	7.1	7.3	7.1	7.1	7.3
乾燥重量	62.0	80.2	81.8	83.8	87.0	87.4	86.7	89.3	87.0	86.2

S. kurozawana Sk-01 (ヤブマメそうか病菌, 1.0mg)

培養前pH	3.6	4.1	4.9	5.5	5.8	6.6	7.3	8.6	9.0	9.6
培養後pH	6.8	4.7	6.0	6.2	6.5	6.8	6.6	6.8	6.8	6.8
乾燥重量	22.9	27.6	31.6	35.6	32.5	29.5	31.7	35.7	34.0	25.1

S. zelkova KYK1 (ケヤキそうか病菌, 1.4mg)

培養前pH	2.4	3.1	4.3	4.8	5.5	6.3	7.0	7.1	7.3	8.0
培養後pH	2.1	3.1	5.9	6.2	5.2	6.5	7.0	7.6	6.3	7.0
乾燥重量	13.4	46.2	81.7	50.6	58.4	53.4	60.7	67.5	55.6	53.8

3). 考察

温度の違いや水素イオン濃度の違いによる菌の生育の違いは、培地上における生育に関する最も基本的な性状であり、それだけでは分類・同定の基準となることは少ないが、菌についての重要な情報の一つとされる。本属菌については生長の緩慢さと特異的な菌叢形状のため、このような基本的な情報すらほとんどないに等しい状況であった。本研究においては、このように取扱の困難な本属菌について簡便な手法を開発し、さらに種々の菌についてその適用を行い、多くの結果を得ることができた。

ほぼすべての供試菌は25℃前後を生育適温とし、30℃の高温や15℃の比較的低温下でもかなり良好に生育するが、30℃以上の高温に対する反応には微妙なものがあり、35℃に少なくとも15～20日間おくことにより、完全に死滅することが明かとなった。本属菌によるラッカセイ、コセンダングサおよびコスモスの病害は、7月中～下旬の梅雨明けあたりに発生がピークとなり、7月下旬から8月にかけての高温期には一次発生の拡大が停止する^{1)74, 180-186, 189}。このような現象と本属菌各種の培地上における温度特性とは、きわめてよく一致するといえよう。

同一種とみなされているウド、タラノキおよびヤツデのそうか病菌については、類似性が認められ、3つの菌とも30℃よりは20℃での生育が良好であった。同様に同一種であるコセンダングサおよびコスモスのそうか病菌の温度特性にも比較的高い類似性が認められた。このことは前者の発生場所が北海道や本州の山間地であり、いずれも比較的寒冷な地域であること、および後者の発生場所はほとん

ど同一といってよいことから、発生場所の温度環境が各菌の温度特性に反映した結果であるとも思われた^{171-184, 186)}。

しかし、ウドそうか病菌の採集地は非常に寒冷な北海道網走市であるにもかかわらず、極端に低温での生育が良好ではなく、また、亜熱帯地域である宮古島で採集されたサトウキビ白星病菌は、特に高温において生育良好とは見られなかった。このことから、本属菌は一般に25℃前後において生育良好であり、あまりその発生地温度環境に左右されることが少ないのではないかと思われた¹⁸⁴⁾。

本実験において接種源としたのは直径約3mmの球状菌糸塊であった。この球状菌糸塊は菌核よりは比較的密度が低い、通常の糸状菌の菌叢に比べるとかなり高密度であり、各種の環境要因に対する耐性が強いのではないかと思われたが、35℃で死滅することが認められ、実際にはかなり温度の影響を受けやすいと思われた^{188, 189, 190, 191)}。このことから、本属菌による病害について種子伝染の可能性が認められるものがあるが^{140, 174)}、このような病害の防除に当たっては、熱処理による種子消毒の可能性があるとしよう。

水素イオン濃度による影響については、設定できたpH域が約2.0から9.0までと、従来の研究にみられる範囲より比較的狭かった。これは本実験において用いた方法に起因するもので、特に高いpH値については水酸化ナトリウムを多量に使用しても設定が困難で、高温高圧滅菌の後にpH値を測定すると、あまり高い値は得られず、さらに培地の色彩が赤褐色化して内容物が分解している可能性が示唆された。このため設定域を比較的狭い範囲にとどめざるを得なかった。

水素イオン濃度による生育への影響は、ラッカセイそうか病菌では比較的顕著なものがあり、培養開始直前の水素イオン濃度がpH4.0～7.0付近において良好な生育が認められ、その前後においては著しく生育が抑制された。しかし、その他の本属菌においてはこのような状況がみられず、比較的広い範囲において良好な生育が認められ、水素イオン濃度がpH3.0よりも低い場合およびpHが9.0を越える場合においてのみ生育阻害が認められることが多かった。

培地の水素イオン濃度は、菌を接種・培養することにより大きく変化した。何も接種しないで単に振とうを行っただけの培地では、振とう開始直前と終了直後においてほとんど変化が認められなかった。比較的良好な生育を示した菌の培養直後の培地のpHを測定すると、ほとんどが4.0～8.0の範囲にあることが多く、特に6.0～7.0の付近に収束する傾向が大きかった。このことから、本属菌の多くは比較的広い範囲の水素イオン濃度に適応して生育できるが、ほぼこの付近が共通した生育至適水素イオン濃度域に当たるのではないかと考えられた^{1) 2) 3)}。

本属菌の温度特性および生育至適水素イオン濃度による影響は、菌叢の乾燥重量を基準として判定を行った。本属菌以外の糸状菌では、通常固体培地上における菌叢の直径を測定することにより、簡単に生育の良否の判定が行われているが、本属菌の場合にはこの方法をとることはほぼ不可能である^{1) 4) 5)}。少なくとも本属菌の場合、生育状況の判定にはやや煩雑であると同時に多数の試料を必要とするが、本研究において用いた方法をとることが適当であろう^{1) 3) 4) 5) 6)}。

2. 炭素源、窒素源およびビタミンの影響

Sphaceloma (Eisner) 属菌は一般に培地上における生育が緩慢で、その性状を明らかにすることは困難とされた。特に栄養生理的な試験については、ダイズ黒とう病菌 (*E. glaucines*) について倉田が行ったものがその唯一の事例であった¹⁸⁰⁾。1975年以降、ブドウ黒とう病菌 (*E. ampelina*)²²⁷⁾ やチャ白星病菌 (*E. leucospila*)²²⁸⁾ について同様の報告が行われたが、倉田の方法に比べると生育量の算出方法がやや不正確であった。ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis*)¹⁸⁹⁾ について菌叢乾燥重量により生育量求めた報告があるが、固体培地上での判定であり、多少なりとも寒天の影響を考慮せざるを得ない²¹²⁾。その後コセンダングサそうか病菌 (*S. bidentis*)¹²³⁾ およびコスモスそうか病菌 (*S. bidentis*)¹⁰⁰⁾ については単独で、サトウキビ白星病菌 (*E. sacchari*)、ラッカセイそうか病菌、ヤブマメそうか病菌 (*S. kurozawana*)、ウドそうか病菌、タノキそうか病菌およびヤツデそうか病菌 (いずれも *E. araliæ*) については同時比較で、倉田の方法に準じた試験が行われるに至り¹⁰³⁾、他の菌よりも約40年遅れで、本菌の栄養生理的な研究はようやく緒についたばかりといえる。そこで本属菌の栄養生理的な面をさらに明らかにしようと実験を行った。

1). 材料および方法

(1) 供試菌株

本研究に用いた菌は、ラッカセイそうか病菌やコセンダングサそうか病菌、ミカンそうか病菌 (*E. lawcettii*)、サトウキビ白星病菌 (*E. sacchari*)、ヤブマメそう

か病菌 (*S. kurozawana*)、スミレ類そうか病菌 (*S. violae*)、コスモスそうか病菌 (*Sphaceloma bidentis*)、ウドそうか病菌、タラノキそうか病菌およびヤツデそうか病菌 (いずれも *E. aralian*) である。

(2) 接種源の調整

各種 *Sphaceloma* (Elsinger) 属菌の栄養生理を検討する場合の接種源は、以下のとおりの手順で調整した^{1) 2) 3) 4) 5) 6) 7) 8) 9) 10) 11) 12) 13) 14) 15) 16) 17) 18) 19) 20) 21) 22) 23) 24) 25) 26) 27) 28) 29) 30) 31) 32) 33) 34) 35) 36) 37) 38) 39) 40) 41) 42) 43) 44) 45) 46) 47) 48) 49) 50) 51) 52) 53) 54) 55) 56) 57) 58) 59) 60) 61) 62) 63) 64) 65) 66) 67) 68) 69) 70) 71) 72) 73) 74) 75) 76) 77) 78) 79) 80) 81) 82) 83) 84) 85) 86) 87) 88) 89) 90) 91) 92) 93) 94) 95) 96) 97) 98) 99) 100)}。

供試各菌を P S A 斜面培地で 2 週間程度培養し、約 5 mm 立方程度の菌叢をかきとり 100 ml のフラスコ内に移した後、葉さじ等で十分に潰して細片とした。これを直径 0.5 mm のニクロム線で作った内径 2.0 mm、外径 3.0 mm の柄付きループで少量をすくいとり、フラスコ内の P S 液に懸濁して温度 25℃、振幅 7 cm、毎分 100 回の往復振とう培養を行った。培養を続けると、接種源の細片を核として次第に肉質塊状で球状の菌糸塊が形成され始め、約 2 週間後には直径 2~3 mm 程度の均一な球状菌糸塊が数十個以上得られたので、これを各種試験等の接種源とした。

(3) 培養方法および生長量の評価

各処理ごとに 5 本の試験管を供試し、雑菌の混入や不良接種源による途中廃棄があっても、最終的に最低 3 本が各処理ごとに残るようにした。各試験管には直径約 2~3 mm の球状菌糸塊を 1 つずつ接種し、これを $\tan \theta \approx 3/17$ の角度に傾斜させ、温度 25℃において、振幅 7 cm、毎分 100 回の往復振とう培養を行った。2 週間

～20日間培養を行った後、得られた菌叢を蒸留水で十分に洗浄してからブフナーろうとで吸引濾過し、ガラスシャーレ内において90℃で5時間乾燥させた。乾燥菌叢はその後1日間室温状態に放置し、温度を低下させるとともに通常の空気中の水分吸収による影響がなくなり重量が安定してから標量を行い、各処理ごとの1試験管当りの平均値を生長量とした。なお、培養開始直前にはpHメーターを用いて各処理ごとの代表となる試験管1本について、また培養直後にはpHメーターまたはpH試験紙を用い、原則として全供試試験管について培地pHを測定した。pH試験紙による測定では、必ず1処理について2種類以上の試験紙を用い、1種類の試験紙で測定限界に近い値が得られた場合においても、より正確な測定をこころがけるようにした。

(4)炭素源の影響

基本培地として、倉田(1960)の報告で用いられたLilly and Barnett solution (LB液)を用いた¹⁾⁴⁸³⁾、この培地において炭素源として用いられているグルコースを、グルコースを含む糖類や糖アルコールで置換した組成の培地を用いた^{1)484), 1)485)}。供試炭素源の種類とその添加量は第14表のとおりで、各炭素源の添加量は同一分量の培地内における炭素の量が、25gのグルコースを添加したときと当量となるようにした。滅菌は原則として、3日間の間けつ滅菌または濾過滅菌(孔径0.22または0.45 μ mのミリポアフィルター、日本ミリポア工業社製)とし、オートクレーブ処理による糖類の分解等がないようにした。各試験管には9mlず

つの培地を分注して球状菌糸塊を接種し、2週間～20日間の往復振とう培養を行い、菌叢の乾燥重量により生育の良否を判定した。

第14表 供試炭素源の種類とその添加量

供試炭素源 (英名および略号)	分子量	添加量 (g/L)	分子式	備考
アラビノース (D-Arabinose: Ara)	150.13	25.00	$C_5H_{10}O_5$	五炭糖
キシロース (D-Xylose: Xyl)	150.13	25.00	$C_5H_{10}O_5$	〃
ラムノース (L-Rhamnose: Rhm)	164.16	22.78	$C_6H_{12}O_5$	六炭糖
フルクトース (D-Fructose: Fru)	180.16	25.00	$C_6H_{12}O_6$	〃
ガラクトース (D-Galactose: Gal)	180.16	25.00	$C_6H_{12}O_6$	〃
グルコース (D-Glucose: Glc)	180.16	25.00	$C_6H_{12}O_6$	〃
マンノース (D-Mannose: Man)	180.16	25.00	$C_6H_{12}O_6$	〃
ソルボース (L-Sorbose: Sor)	180.16	25.00	$C_6H_{12}O_6$	〃
マニトール (D-Mannitol: Mnt)	182.17	25.28	$C_6H_{14}O_6$	糖アルコール
ソルビトール (D-Sorbitol: Sbt)	182.17	25.28	$C_6H_{14}O_6$	〃
セロビオース (Cellobiose: Cel)	342.30	23.75	$C_{12}H_{22}O_{11}$	二糖類
ラクトース (Lactose: Lac)	342.30	23.75	$C_{12}H_{22}O_{11}$	〃
マルトース (Maltose: Mal)	342.30	23.75	$C_{12}H_{22}O_{11}$	〃
メリビオース (Melibiose: Mel)	342.30	23.75	$C_{12}H_{22}O_{11}$	〃
シュクロース (Sucrose: Suc)	342.30	23.75	$C_{12}H_{22}O_{11}$	〃
ラフィノース (Raffinose: Raf)	504.44	23.33	$C_{18}H_{32}O_{16}$	三糖類
デキストリン (Dextrin: Dex)	—	22.85	$(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$, $n=7$ で計算	
可溶性デンプン (Starch: Stc)	—	22.52	$(C_6H_{10}O_5)_n + H_2O$, $n=99$ で計算	

(5) 窒素源の影響

基本培地は炭素源の試験と同様 L B 液とし、供試窒素源にはアミノ酸類、有機および無機の窒素化合物で、L B 液における窒素源であるアスパラギン I 水和物

2gを、それと当量の各種窒素源で置換した組成の培地を作製し本試験に供試した。

供試窒素源の種類と添加量は第15表のとおりであった。^{193, 194, 195}

これらの窒素源添加培地は、培養前の水素イオン濃度がpH5.0~5.5の範囲になるよう、0.1N塩酸または0.1N水酸化ナトリウム溶液を用いて調整した。その他滅菌、培養、接種源作製および生長量算出の各方法や供試試験管数は炭素源の場合と同様とした。^{194, 194, 195}

第15表 供試窒素源の種類とその添加量-1

窒素源名 (英名および略号)	分子量	添加量 (g/L)	分子式
アラニン (L-Alanine:Ala)	89.09	2.37	$C_3H_7O_2$
アルギニン塩酸塩 (L-Arginine monohydrochloride:Arg)	210.68	1.40	$C_6H_{14}N_4O_2$
アスパラギン酸ナトリウム (L-Monosodium aspartate:Asp)	155.08	4.13	$C_4H_6NO_4Na$
アスパラギン水合物 (L-Aspaaragine monohydrate:Asn)	150.14	2.00	$C_4H_{10}N_2O_3$
クレアチン水合物 (Creatine hydrate:Cre)	149.16	1.32	$C_4H_{11}N_3O_3$
システイン塩酸塩一水合物 (L-Cysteine HCl H ₂ O:Cys)	175.64	4.68	$C_3H_7O_3NSCl$
グルタミン酸ナトリウム (L-Monosodium glutamate:Glu)	187.13	4.99	$C_5H_9NO_4Na$
グリシン (Glycine:Gly)	75.07	2.00	$C_2H_5NO_2$
ヒスチジン塩酸塩 (L-Histidine monohCl:His)	191.62	1.70	$C_6H_{10}N_2O_2Cl$
ヒドロキシプロリン (L-Hydroxyproline:Hyd)	131.13	3.49	$C_5H_7NO_3$

第15表 供試窒素源の種類とその添加量-2

窒素源名 (英名および略号)	分子量	添加量 (g/L)	分子式
イソロイシン (L-Isoleucine:Ile)	131.17	3.49	$C_6H_{13}NO_2$
ロイシン (L-Leucine:Leu)	131.17	3.49	$C_6H_{13}NO_2$
リシン—塩酸塩 (L-Lysine monohydrochloride:Lys)	182.65	2.43	$C_6H_{13}N_2O_2Cl$
メチオニン (L-Methionine:Met)	149.21	3.98	$C_5H_{11}NO_2S$
フェニルアラニン (L-Phenylalanine:Phe)	165.19	4.40	$C_9H_9NO_2$
プロリン (L-Proline:Pro)	115.13	3.07	$C_5H_9NO_2$
セリン (L-Serine:Ser)	105.09	2.80	$C_3H_7NO_3$
タウリン (Taurine:Tau)	125.14	3.33	$C_2H_7NO_3S$
スレオニン (L-Threonine:Thr)	119.12	3.17	$C_4H_9NO_3$
トリプトファン (L-Tryptophan:Try)	204.22	2.72	$C_{11}H_{12}N_2O_2$
バリン (L-Valine:Val)	117.15	3.12	$C_5H_{11}NO_2$
尿素 (Urea:Ure)	60.06	0.80	CH_4NO_2
硝酸アンモニウム (Ammonium nitrate:AN)	80.05	2.13	NH_4NO_3
硫酸アンモニウム (Ammonium sulfate:AS)	132.14	1.76	$(NH_4)_2SO_4$
硝酸カリウム (Potassium nitrate:PN)	101.10	2.69	KNO_3
硝酸ナトリウム (Sodium nitrate:SN)	85.01	2.26	$NaNO_3$

(6) ビタミンの影響

基本培地に L B 液を用い、ビタミンの成分である塩酸チアミンおよびビオチン (thiamin hydrochloride: 100 μ g/L および biotin: 5 μ g/L) のかわりに、第16表にある水溶性ビタミンを単独で添加するか、または試験対象となるビタミンだけを除いて残り9種(ウドそうか病菌およびタラノキそうか病菌については7種)のビタミンを添加して、炭素源および窒素源と同様の方法で培養を行った後、生長量の比較を行うことにより、供試各菌のこれらビタミン類に対する要求性を検討した^[42, 43, 44, 45]。培地の水素イオン濃度については、培養前に0.1N塩酸または水酸化ナトリウム溶液を用いて pH5.5程度に調整し、滅菌は原則として孔径0.22 μ mのミリポアフィルターで行った。

第16表 供試ビタミンの種類と添加量

ビタミン名 (英名と略号)	添加量 (μ g/L)	備考
L-アスコルビン酸 (L-Ascorbic acid: AA)	500	熱に不安定
p-アミノ安息香酸 (p-Aminobenzoic acid: AB)	300	熱に安定
ビオチン (Biotin: BT)	5	酸性側で熱に安定
パントテン酸カルシウム (Calcium pantothenate: CP)	240	熱に不安定
葉酸 (Folic acid: FA)	2,000	熱に不安定
イノシトール (Inositol: IN)	5,000	熱に安定
ニコチン酸 (Nicotinic acid: NA)	100	熱に安定
塩酸ピリドキシン (Pyridoxine hydrochloride: PR)	100	酸性側で熱に安定
リボフラビン (Riboflavin: RF)	150	酸性側で熱に安定
塩酸チアミン (Thiamine hydrochloride: TH)	100	pH5.5以下で熱に安定

2). 結果

(1) 炭素源の影響

炭素源の種類による各種 *Sphaceloma* (*Eisinea*) 属菌の生育状況は、第17表に示すとおりであった。ヤブマメそうか病菌の生育が比較的不良で、炭素源の種類による生育量の差が小さかったが、シュエクロース、マニトール、マンノースにおいてはある程度の生育が認められた。またグルコースにおいて非常に生育が不良であった。

この点を除くと全体的に比較的良好に利用された炭素源は、アラビノース、フルクトース、グルコース、マンノース、マニトール、シュエクロース、メリビオース、マルトース、ラフィノース、デキストリンおよびデンプンであった。逆にどの菌においても利用の低かったのはラクトースであった。ラクトースの利用が最も大きかったのはサトウキビ白星病菌で、利用程度は低いものの他の菌の約2倍の生長量が認められた。

菌の種類によってかなり利用程度の異なった炭素源はガラクトースとソルボースで、特にサトウキビ白星病菌およびスミレそうか病菌においては、他の菌に比べて利用が低かった。ガラクトースについてはウド、タラノキおよびヤツデのそうか病菌である *E. araliae* においても、他の菌より利用が低かった。

なお、各培地の水素イオン濃度は高温高圧滅菌直後、培養開始前の測定で5.2であったが、この値は培養後において全てのラクトース添加区およびほとんどの炭素源無添加区を除くと、いずれの菌およびいずれの添加炭素源区においてもほ

は5.0~7.0付近に集束した。ラクトース添加区およびほとんどの炭素源無添加区においては8.0に近い値を示した。

第17表 添加炭素源の種類と各種 *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌の生長との関係 - I

菌叢乾燥重量 (mg) および培養後培地 pH											
炭素源 ³⁾ (培地 pH)	Et ¹⁾	Es	Sa	Sk	Sb-B	Sb-C	Sv	Ea-U	Ea-T	Ea-Y	
Ara	34.8	21.9	67.5	2.4	71.9	44.8	45.2	40.9	42.3	30.2	
(5.2)	6.3	NT	6.5	NT	NT	6.4	6.5	6.3	6.0	6.9	
Xyl	47.2	13.6	66.6	5.4	81.0	45.8	63.9	55.8	53.6	29.1	
(5.2)	6.1	NT	6.4	NT	NT	6.7	6.5	5.6	5.7	6.9	
Fru	71.2	53.3	72.2	11.6	95.5	73.7	62.4	53.5	49.3	46.3	
(5.2)	6.0	NT	6.3	NT	NT	6.1	6.7	5.9	5.6	6.7	
Gal	39.6	8.3	46.5	12.3	26.4	29.2	9.2	3.9	16.3	9.3	
(5.2)	6.4	NT	6.6	NT	NT	6.7	6.5	5.9	7.0	8.0	
Glc	60.3	51.9	78.4	6.9	104.1	63.8	62.1	87.2	29.4	33.6	
(5.2)	6.1	NT	6.5	NT	NT	7.0	6.6	6.5	6.4	7.1	
Man	62.1	60.4	88.0	17.0	93.1	65.5	56.6	49.0	41.1	77.3	
(5.2)	5.8	NT	6.7	NT	NT	6.6	6.5	6.1	6.2	6.7	
Sor	23.7	5.6	59.6	9.9	18.4	47.3	6.3	NT	38.3	33.2	
(5.2)	6.5	NT	6.2	NT	NT	6.0	7.0	-	5.4	6.6	
Rhm	22.2	14.1	62.3	4.7	55.6	37.4	37.1	18.0	51.6	19.3	
(5.2)	6.2	NT	6.5	NT	NT	6.3	4.4	5.7	5.7	6.9	
Mnt	60.8	51.9	106.8	17.2	87.7	72.5	12.1	78.3	20.3	32.9	
(5.2)	6.0	NT	6.6	NT	NT	6.0	7.7	6.3	7.1	6.9	
SbL	39.2	24.2	30.5	11.3	30.4	37.7	5.8	28.0	12.7	9.0	
(5.2)	7.3	NT	7.1	NT	NT	6.8	7.6	6.5	7.7	7.3	
Suc	66.3	53.1	83.0	27.9	90.3	82.3	73.5	79.5	39.3	35.2	
(5.2)	6.2	NT	6.6	NT	NT	6.6	6.7	6.1	6.4	6.7	
Mnl	50.6	23.9	79.8	3.3	76.7	68.3	33.4	39.8	35.9	31.0	
(5.2)	6.2	NT	6.7	NT	NT	6.1	6.5	6.1	5.9	6.7	
Del	47.2	63.6	72.5	4.5	33.4	62.5	37.6	78.5	24.7	59.1	
(5.2)	6.5	NT	6.6	NT	NT	6.1	6.6	6.3	7.0	6.3	

第17表 添加炭素源の種類と各種 *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌の生長との関係-2

炭素源 (培地 pH)	菌叢乾燥重量(mg)および培養後培地 pH									
	Ef	Es	Sa	Sk	Sb-B	Sb-C	Sv	Ea-U	Ea-T	Ea-Y
Lac	5.3	11.0	5.5	3.3	3.7	5.0	2.9	2.5	3.2	4.8
(5.2)	7.6	NT	7.7	NT	NT	8.6	7.9	7.1	8.3	8.1
Mal	57.4	46.5	97.8	8.1	37.6	58.0	61.8	82.0	34.5	26.4
(5.2)	5.9	NT	6.7	NT	NT	7.1	6.5	6.3	6.1	6.5
Raf	51.7	30.6	64.9	5.4	67.9	55.6	53.1	51.7	35.6	46.0
(5.2)	6.4	NT	6.7	NT	NT	6.5	6.8	6.7	5.8	6.4
Dex	56.1	32.8	66.8	8.5	55.3	40.8	25.6	52.0	48.0	55.0
(5.2)	6.6	NT	6.7	NT	NT	6.4	6.7	6.5	6.5	6.6
Stc	55.8	11.1	76.5	15.0	55.9	30.0	47.3	12.8	54.1	53.3
(5.2)	6.5	NT	6.7	NT	NT	6.8	6.6	5.3	6.2	6.3
None	1.3	1.4	1.8	1.4	1.8	1.5	2.1	3.3	1.2	2.0
(5.2)	7.8	NT	7.3	NT	NT	8.0	7.7	8.6	8.2	7.8
PSS	66.1	69.2	76.2	NT	103.3	66.9	98.4	NT	NT	NT
(5.8)	7.1	NT	7.1	-	NT	6.9	7.1	-	-	-
Inoc.	0.6	0.5	0.6	0.5	1.0	0.7	1.2	1.5	0.6	1.1

a) 炭素源略号は第14表のとおり。Noneは炭素源無添加, PSSはP S液, Inoc.は接種源の球状菌糸塊で培養前。

b) 菌名の略号は Ef: *E. fawcettii* Ef-01 (ミカンそうか病菌), Es: *E. sacchari* SCI (サトウキビ白星病菌), Sa: *S. arachidis* Sa-04 (ラッカセイそうか病菌), Sk: *S. kurozawana* Sk-01 (ヤブマメそうか病菌), Sb-B: *S. bidentis* Sb-01 (コセンダングサそうか病菌), Sb-C: *S. bidentis* C001 (コスモスそうか病菌), Sv: *S. violae* Sv-01 (スミレ類そうか病菌), Ea-U: *E. araliae* Udol (ウドそうか病菌), Ea-T: *E. araliae* Ar-02 (タラノキそうか病菌), Ea-Y: *E. araliae* YTD4 (ヤッデそうか病菌)。

(2) 窒素源の影響

各種窒素源の各種 *Sphaceloma* (Elsinore) 属菌による利用状況は第18表のとおりであった。アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸ナトリウム、グルタミン酸ナトリウム、グリシン、プロリン、セリンおよびバリンは、どの菌においても比較的よく利用された。逆にどの菌においても利用されにくいものとしては、クレアチン、システイン、ロイシン、メチオニン、タウリン、トリプトファンがあげられ、含硫アミノ酸であるシステインおよびメチオニンがいずれも利用されにくかった。また無機態の窒素源については、主にアンモニア態と硝酸態の違いと菌の種によって利用の大小に差異が認められた。

菌の種類によって大きく生育状況が異なったのは、イソロイシン、フェニルアラニンおよび尿素の添加区で、無機窒素化合物についてもこの傾向が認められた。イソロイシンではヤブマメそうか病菌およびコセンダングサそうか病菌、フェニルアラニンではヤブマメそうか病菌、コセンダングサそうか病菌およびコスモスそうか病菌、尿素ではヤブマメそうか病菌、無機窒素化合物ではヤブマメそうか病菌およびコスモスそうか病菌での生育が、他の供試菌よりも不良であった。

コセンダングサそうか病菌とコスモスそうか病菌の利用状況は、無機窒素化合物以外では非常によく類似しており、ウド、タラノキおよびヤツデのそうか病菌3菌株の利用状況も比較的よく類似した。他の菌については多少のばらつきはみられたが、特に大きく他と異なる傾向を示す菌は認められなかった。

アミノ酸態窒素源の培養後の培地pHは、かなりばらつきが大きいが通常およそ

5.0~6.0となり、多くの比較利用程度の高いアミノ酸類はここに含まれたが、塩酸含有化合物を用いたアルギニン、ヒスチジンおよびリシンでは、培養後の培地pHは3.0前後と低い値を示した。また強酸と弱アルカリの化合物である硝酸アソモニウムおよび硫酸アソモニウムでも、培養後の培地pHは低い値であった。逆にアスパラギン酸ナトリウム、グルタミン酸ナトリウム、硝酸カリウムおよび硝酸ナトリウムでは、培養後の培地pHは6.0~7.0前後となり、比較的高い値を示した。

第18表 添加窒素源の種類と各種 *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌の生長との関係-1

		菌叢乾燥重量(mg)および培養後培地pH						
窒素源 ^{a)}								
(培地pH)	Es ^{b)}	Sa	Sk	Sb-B	Sb-C	Ea-U	Ea-T	Ea-Y
Ala	45.4	101.7	25.8	61.9	57.7	66.4	60.1	50.5
(5.4)	5.8	6.7	NT	NT	6.6	NT	5.0	5.7
Arg	NT	88.2	10.6	45.4	42.9	74.1	78.1	22.0
(5.0)	-	2.4	NT	NT	3.2	NT	3.6	5.9
Asn	55.4	94.1	12.0	72.9	46.4	62.1	27.1	36.2
(5.0)	6.0	5.9	NT	NT	6.6	NT	5.9	6.6
Asp	63.2	81.9	7.1	67.9	51.7	45.0	43.0	24.4
(5.4)	7.1	7.2	NT	NT	5.4	NT	6.5	7.3
Cre	3.3	4.1	2.0	1.9	1.6	2.4	3.2	2.7
(5.2)	5.7	5.5	NT	NT	5.4	NT	5.7	5.6
Cys	0.3	2.4	NT	1.3	1.5	1.3	1.4	1.3
(4.5)	2.0	3.8	-	NT	4.9	NT	3.2	3.4
Glu	72.0	76.5	16.7	60.6	NT	41.1	21.7	24.2
(5.4)	7.3	7.3	NT	NT	-	NT	6.2	6.6
Gly	22.5	38.8	19.3	41.6	40.0	54.0	20.9	39.0
(5.0)	5.4	5.5	NT	NT	5.8	NT	5.0	6.5

第18表 添加窒素源の種類と各種 *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌の生長との関係 2

窒素源 (培地 pH)	菌叢乾燥重量 (mg) および培養後培地 pH							
	Es	Sa	Sk	Sb-B	Sb-C	Ea-U	Ea-T	Ea-Y
His	43.8	56.6	22.7	35.8	28.5	45.6	14.1	18.6
(5.0)	2.6	3.2	NT	NT	3.8	NT	3.7	5.0
Hyd	NT	45.6	NT	28.8	13.5	NT	NT	8.6
(5.0)	-	5.1	-	NT	5.5	-	-	5.0
Ile	28.2	25.8	6.6	1.6	14.6	38.9	26.8	17.6
(5.4)	4.1	4.9	NT	NT	5.4	NT	5.0	5.1
Leu	7.7	4.4	7.5	1.5	3.2	5.0	7.4	1.4
(5.2)	4.0	4.6	NT	NT	4.7	NT	4.6	5.2
Lys	NT	47.6	9.8	36.4	20.0	25.3	34.4	22.9
(5.4)	-	2.4	NT	NT	2.8	NT	2.5	3.0
Met	7.2	3.5	1.3	2.8	1.7	5.8	2.4	1.2
(5.2)	3.9	4.5	NT	NT	4.6	NT	4.1	5.0
Phe	11.8	57.3	4.3	6.7	4.4	28.4	30.6	20.4
(5.2)	4.0	4.3	NT	NT	4.0	NT	3.8	6.2
Pro	43.1	78.5	9.4	71.4	37.0	77.9	56.2	34.3
(5.2)	5.7	5.8	NT	NT	5.1	NT	5.3	6.8
Ser	32.6	92.1	12.9	38.8	27.1	55.9	42.0	27.1
(5.2)	4.8	6.2	NT	NT	5.3	NT	5.4	6.8
Tau	3.3	3.6	2.0	1.9	2.2	3.6	4.4	1.2
(5.2)	4.0	4.5	NT	NT	4.8	NT	4.0	4.8
Thr	15.9	23.4	5.7	16.6	23.0	28.0	23.9	12.7
(5.2)	4.3	5.7	NT	NT	5.0	NT	3.9	4.6
Try	3.2	NT	2.6	3.0	3.8	4.2	2.7	2.0
(5.2)	4.3	5.2	NT	NT	4.7	NT	3.8	4.4
Val	17.7	34.0	11.2	42.7	10.1	45.9	77.9	19.0
(5.2)	4.3	5.0	NT	NT	5.0	NT	3.8	4.2
Ure	NT	85.6	5.2	68.6	NT	83.4	67.9	19.2
(5.4)	-	6.2	NT	NT	-	NT	6.3	4.8
AN	42.1	38.8	10.6	20.7	6.4	37.1	29.9	48.9
(5.2)	3.6	4.2	NT	NT	2.8	NT	2.3	2.8
AS	35.5	18.2	6.3	11.4	12.5	23.4	20.1	23.6
(5.2)	2.1	2.3	NT	NT	2.8	NT	2.1	2.3

第18表 添加窒素源の種類と各種 *Sphaceloma* (*Elsinoe*) 属菌の生長との関係 - 3

窒素源 (培地 pH)	菌叢乾燥重量 (mg) および培養後培地 pH							
	Es	Sa	Sk	Sb-B	Sb-C	Ea-U	Ea-T	Ea-Y
PN	53.0	72.8	1.9	56.5	3.4	40.5	27.4	11.8
(5.2)	7.2	7.1	NT	NT	5.6	NT	6.5	6.0
SN	50.3	56.7	1.9	58.4	3.8	28.7	21.9	21.5
(5.4)	7.1	7.9	NT	NT	6.6	NT	6.9	7.2
No nit.	3.9	3.2	1.8	2.2	2.6	0.5	3.0	0.3
(5.2)	4.6	5.1	NT	NT	5.4	NT	4.9	5.0
PSS	NT	99.3	NT	57.9	70.1	69.1	49.7	61.2
(5.8)	-	6.7	-	NT	7.2	NT	7.0	6.6
Inoc.	-	0.6	1.0	1.0	-	-	-	-

a) 窒素源略号は第15表と同様。No nit. は窒素源無添加区, PSSはP S液, Inoc. は接種源の菌叢。

b) 菌名の略号は Ef: *E. fawcetti* Ef-01 (ミカンそうか病菌), Es: *E. sacchari* SG1 (サトウキビ白星病菌), Sa: *S. arachidis* Sa-04 (ラッカセイそうか病菌), Sk: *S. kurozawana* Sk-01 (ヤブマメそうか病菌), Sb-B: *S. bidentis* Sb-01 (コセンダングサそうか病菌), Sb-C: *S. bidentis* C001 (コスモスそうか病菌), Ea-U: *E. araliae* Udo1 (ウドそうか病菌), Ea-T: *E. araliae* Ar-02 (トラノキそうか病菌), Ea-Y: *E. araliae* YTD4 (ヤツデそうか病菌)。

(3) ビタミンの影響

各種の本属菌の生長に対する添加ビタミンの影響は第19表のとおりであった。

供試菌中マメ科植物を宿主とするラッカセイそうか病菌とヤブマメそうか病菌は、チアミンを添加していない培地においてほとんど生育せず、チアミンを添加した区において良好な生育をした。サトウキビ白星病菌はチアミン無添加の区とチアミン添加区での生育にやや差異が認められ、チアミンの添加された区での生育が常に無添加区の2倍程度かまたはそれ以上となった。ウドそうか病菌およびタラノキそうか病菌については、サトウキビ白星病菌ほどではないが、そのような傾向がやや認められた。コセンダングサそうか病菌とコスモスそうか病菌は、ビタミンを全く添加していない区においても非常に良好に生育した。

第19表 ビタミンの添加による各種 *Sphaceloma* (*Elisnoe*) 属菌の生長に対する影響

供試ビタミン ^{a)}	菌叢乾燥重量 (mg)								
	Ea ^{b)}	Es+	Es-	Sa	Sk	Sb-B	Sb-C	Ea-U	Ea-T
AA +	-	13.9	-	1.9	2.1	103.7	29.9	54.3	76.7
-	69.8	-	49.9	83.9	20.5	113.3	28.6	43.9	30.6
AB +	-	14.8	-	3.5	1.2	101.0	16.3	55.2	71.9
-	95.9	-	40.5	97.8	23.1	112.9	28.6	47.6	52.5
BT +	-	16.6	-	1.5	2.4	97.3	36.0	57.0	74.6
-	54.1	-	66.3	94.6	26.8	99.1	32.9	43.2	54.3
CP +	-	10.2	-	2.7	2.8	102.6	29.0	53.5	76.0
-	96.5	-	60.9	168.6	23.2	119.3	22.4	52.8	52.3
FA +	-	12.3	-	1.7	NT	106.1	11.4	NT	NT
-	105.9	-	60.7	99.4	NT	119.8	40.1	NT	NT
IN +	-	14.3	-	2.1	2.5	101.8	26.7	62.8	74.9
-	72.6	-	30.9	142.1	26.7	109.6	23.4	48.3	33.1
NA +	-	15.1	-	1.2	2.5	102.1	28.9	54.1	73.7
-	101.4	-	57.7	128.5	20.3	101.1	20.5	42.2	56.1
PR +	-	23.6	-	2.2	2.3	102.1	21.6	54.7	78.2
-	93.6	-	50.3	145.8	21.4	101.1	16.3	40.1	51.9
RF +	-	15.1	-	1.5	2.3	105.9	21.5	NT	NT
-	90.1	-	45.4	158.4	18.0	146.7	27.7	NT	NT
TH +	-	30.3	-	94.0	16.3	105.9	42.3	63.4	80.9
-	45.1	-	17.7	1.6	6.2	96.2	13.5	47.9	45.4
CNT+	90.4	17.3	-	112.2	3.9	89.3	48.7	23.1	24.0
-	86.8	-	31.5	1.8	21.8	86.7	63.1	68.7	79.8
Inoc.	-	-	-	-	0.8	-	-	0.3	0.6

a) ビタミン略号は第16表と同様。ただし+は当該ビタミン単独添加区, -は当該ビタミン単独除去区, CNT+はビタミン無添加区, CNT-は全供試ビタミン添加区。Inoc.は接種源菌叢。

b) 菌名の略号は Ef: *E. fawcetti* Ef-01 (ミカンそうか病菌), Es: *E. sacchari* SC1 (サトウキビ白星病菌), Sa: *S. arachidis* Sa-04 (ラッカセイそうか病菌), Sk: *S. kurozawana* Sk-01 (ヤブマメそうか病菌), Sb-B: *S. bidentis* Sb-01 (コセンダングサそうか病菌), Sb-C: *S. bidentis* C001 (コスモスそうか病菌), Ea-U: *E. araliae* Ud01 (ウドそうか病菌), Ea-T: *E. araliae* Ar-02 (タラノコそうか病菌)。

3). 考察

コセンダングサそうか病菌とコスモスそうか病菌は、分離源植物が異なっていたが、炭素源の利用状況は酷似していた^{1) 90-106)}。ウド、タラノキおよびヤツデのそうか病菌の場合は、コセンダングサおよびコスモスのそうか病菌ほどではないが、やはり非常に類似したパターンが認められた。これまでの報告および本研究で、ウドそうか病菌はタラノキおよびヤツデのそうか病菌とは病原性が異なっていたが¹⁾、少なくとも炭素源の利用状況からは、これらの菌が近縁であることが示唆された^{1) 92)}。

グルコースについては、ほとんどの菌でよく利用されたにもかかわらず、ヤブマメそうか病菌での利用状況は不良であった^{1) 94)}。この菌は本属菌の中でも特に生育が緩慢で、その程度はダイズ黒とう病菌に近いと思われた。両菌の性質はショークロースやデンプンの利用については一致したが、ダイズ黒とう病菌がグルコースおよびフルクトースでの生育が非常に良好であるのに対し、ヤブマメそうか病菌はあまり生育しなかった点で異なっていた^{1) 40-108)}。両菌は過去の試験において宿主範囲が一致しなかったことや^{1) 20)}、炭素源の利用状況から判断して、それほど近縁ではないと思われた。

しかしながら、供試菌株の約20種類の炭素源利用状況をみたと、菌の種類によって菌叢の乾燥重量で表される生育量に多少の違いはあるが、きわめて特異的な菌は認められず、どの菌についても比較的類似する傾向が認められた。また逆に、菌の種類によって利用状況が際だって異なる炭素源もあり認められなかつ

た。したがって、炭素源の利用状況から本属菌各種間の類縁関係を論ずることは、あまり適当ではないと考えられた。

窒素源の利用状況については、炭素源同様あまり特異的な菌を見いだすことができなかった。これまでに本属菌の窒素源の利用について検討した事例では、ダイズ黒とう病菌¹⁴⁸⁾およびブドウ黒とう病菌²²⁹⁾の2例が見られる。ダイズ黒とう病菌については14種のアミノ酸、尿素および無機窒素化合物4種について試験を行っており、アミノ酸類ではクレアチン、タウリンおよび尿素の利用が低く、無機窒素源では硝酸態窒素よりもアンモニア態窒素の利用が大きかったとしている。ブドウ黒とう病菌の場合はアミノ酸1種と無機窒素化合物4種についてだけの結果で、液体培地を用いた結果では、ダイズ黒とう病菌と同様硝酸態窒素の利用が劣っていた^{148), 117)}。このように硝酸態窒素の利用が比較的低い菌は、本試験での供試菌中ではヤブマメそうか病菌だけで¹⁸⁴⁾、他は逆に無機硝酸態窒素源の利用がアンモニア態窒素よりも良好かまたは同程度であった。

窒素源の試験の場合、培養後の培地pHが大きく低下するものと、やや上昇するものとが認められたが、これらの影響については、既に行った水素イオン濃度による生育に対する影響の試験の結果から、あまり大きなものではないことが推測された。

各菌の生育に対するビタミンの影響では、宿主植物の種類(科)による差異が比較的明瞭であった。ネク科植物体を宿主とするコセンダングサそうか病菌とコスモスそうか病菌の場合、コセンダングサそうか病菌には、ビタミン添加による

影響は全く認められず¹⁸⁶⁾、コスモスそうか病菌はチアミンだけを除去した区での生育がやや不良であったが、ビタミン無添加区での生育がかえって良好であり、これにもやはりビタミン要求性は認められないといった方が適当であろう¹⁸⁶⁾。ブドウ科植物のブドウを侵すブドウ黒とう病菌については、除去区でのデータしか示せなかったが、ビタミン無添加区での生育状況から判断して、これにもビタミン要求性はないものと思われた。

逆にマメ科植物体を宿主とするラッカセイそうか病菌^{187), 188)}およびヤブマメそうか病菌¹⁸⁹⁾は、チアミンの添加されない区での生育が著しく不良であり、チアミンに対する強い要求性が認められた。これまでに本属菌についてビタミン要求性を検討した事例はダイズ黒とう病菌だけであるが¹⁸⁰⁾、この菌にはチアミン要求性があり、今回の2種もあわせると、チアミン要求性を示す本属菌がいずれもマメ科植物を宿主とすることは興味深い現象である。このことは宿主植物体内の栄養条件に左右されているものと思われる。

供試菌中唯一単子葉のイネ科植物に病原性を示すサトウキビ白星病菌については、添加と除去で試験が別々になったが、チアミン単独添加区での生育が他の単独添加区の倍近くあり、逆にチアミン単独除去区での生育は他のビタミンの単独除去区の半分程度であった。また、全ビタミン添加ではチアミン単独添加区と同様の生育が認められ、全ビタミン除去区ではチアミン除去区と同様な生育が認められた¹⁹⁰⁾。これらのことから、サトウキビ白星病菌には、チアミンに対する部分的な要求性があるものと思われた。

ウコギ科植物に病原性を示すウドそうか病菌およびタラノキそうか病菌では、ビタミン無添加区での生育が最も劣り、ついでチアミン単独除去区での生育が不良であった。またアスコルビン酸、アミノ安息香酸、ビオチン、イノシドールおよび塩酸ピリドキシンでも単独除去区での生育がやや劣る傾向がみられ、これらの菌のビタミン要求性はやや複雑である可能性を示唆した。しかし両菌の生育状況は殆ど一致しており、分離源植物の違いによるビタミン要求性の差異は認められなかった⁽¹⁾⁽²⁾。

ビタミン要求性を、菌の側からでなくビタミンの側から見ると、明瞭な要求性の認められるのはチアミン1種についてだけであり、他のビタミンにはほとんど要求性が認められなかった。ウドそうか病菌およびタラノキそうか病菌についてはこの他に数種のビタミンについて部分的ではあるが要求性を示唆する結果が得られたが、あまり明瞭なものではなかった。

VI. 血清学的手法による各菌の比較

糸状菌の抗血清についてはかなり以前から報告はあるが、これまであまり研究が進んでいるとはいえない状況であった。ウイルスのように比較的純粋でしかも種類の少ないタンパクからなるものと異なり、糸状菌は体制が複雑であるため、抗血清が分類・同定に用いられることはほとんどなかった。しかし特殊な用途として、抗血清による検出が簡便かつ迅速であることから、特定の糸状菌を限られた条件下において検出することが行われてきた^{150, 152, 153, 154}。その他には植物体内における菌糸の存在状況の把握や (*Acremonium* 属菌)²¹⁶、植物検疫における類似種との識別 (*Phytophthora* 属菌および *Pythium* 属菌)^{155, 200, 201} 等に用いられてきた。近年では、モノクローナル抗体の出現により、*Fusarium* 属菌、*Rhizoctonia* 属菌および *Verticillium* 属菌などの糸状菌において、種特異性の高い抗血清が得られるようになり、病原型による反応性の違いを見たり (有江、私信)、菌糸融合群との関係を検討した報告も見られるようになったが¹⁵¹、その特異性がまだ不完全である場合が多く、同定・分類への応用はまだまだ困難な面が大きい。

Sphaeloma (Elsässer) 属菌については、主に宿主の違いによる同定・分類や記載・命名が行われてきており^{20, 21, 41}、これまでに血清学的研究はほとんど行われていない。本研究においては本属菌について数種の抗血清を作製し、その反応性を主に量的に捕らえることとし、各種間の類縁関係の大小を把握することにより、

これまでの分類方式について多少の検証を試みることにした。

1. 材料および方法

1). 供試菌株

血清学的手法による比較には、第20表のと通りの菌を用いた。なお、抗血清はコスモスそうか病菌 (*Sphaceloma bidentis* C001), サトウキビ白星病菌 (*Elsinoe sacchari* SC1), ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis* GN1), およびヤツデそうか病菌 (*E. araliae* YTD6) について作製した。

第20表 血清学的手法による比較に供試した *Sphaceloma* (*Elsinoe*) 属菌 - 1

菌株名	分離源植物および採集地
<i>Elsinoe ampelina</i> Ea-02 (ブドウ黒とう病菌)	<i>Vitis vinifera</i> , 千葉県千葉市
<i>E. araliae</i> Udol, Udo5 (ウドそうか病菌)	<i>Aralia cordata</i> , 北海道網走市
<i>E. araliae</i> Ar-02~04 " TaraN1 (トラノオそうか病菌)	<i>A. elata</i> , 長野県小県郡真田町 " , 東京都世田谷区
<i>E. araliae</i> YTD1, YTD6 (ヤツデそうか病菌)	<i>Fatsia japonica</i> , 千葉県千葉市
<i>E. fawcetti</i> Ef-01 (ミカンそうか病菌)	<i>Citrus unshiu</i> , 愛知県尾張一宮市
<i>E. sacchari</i> SC1, SC4 (サトウキビ白星病菌)	<i>Saccharum officinarum</i> , 沖縄県宮古島城辺町
<i>Sphaceloma akebiae</i> AKB1 (アケビそうか病菌)	<i>Akebia quinata</i> , 山形県村山市

第20表 血清学的手法による比較に供試した *Sphaceloma* (Elsinoe) 菌 - 2

菌株名	分離源植物および採集地
<i>S. arachidis</i> Sa-04	<i>Arachis hypogaea</i> , 千葉県千葉市
" GN1, GN2	" , 千葉県八千代市
(ラッカセイそうか病菌)	
<i>S. bidentis</i> Sb-M1	<i>Bidens pilosa</i> , 東京都豊島区
" Sb-T1	" , 和歌山県田辺市
(コセンダングサそうか病菌)	
<i>S. bidentis</i> COO1	<i>Cosmos bipinnata</i> , 神奈川県川崎市多摩区
(コスモスそうか病菌)	
<i>S. kurozawana</i> YBM01, YBMC1	<i>Amphicarpaea edgeworthii</i>
(ヤブマメそうか病菌)	var. <i>japonica</i> , 埼玉県秩父郡荒川村
<i>S. violae</i> Sv-01	<i>Viola</i> × <i>wittrockiana</i> , 千葉県四街道市
(スミレそうか病菌)	
<i>S. zelkova</i> KYK1	<i>Zelkova serata</i> , 東京都世田谷区
(ケヤキそうか病菌)	

2). 抗原の作製

三角フラスコに入れた20mlのP S液に供試菌の球状菌糸塊または約5mm立方の菌叢片を接種し、25℃で振幅7cm、毎分100回の往復振とう培養を行い、約2週間後ブフナーろうとで濾過して菌糸塊をろ紙上に取り出した。この菌糸塊を0.02M リン酸緩衝液 (pH7.38, 0.02M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 溶液: 0.02M KH_2PO_4 溶液 = 7:3~4:1に0.15M NaClおよび0.02%の NaN_3 を加えたもの、以下「PBS」という) で数回洗浄して余分な培地成分等を除去した後、-80℃のディープフリーザー内に一晩おいて予備凍結し、この試料を真空凍結乾燥機 (日本フリーザー製) を用いて-50℃で一晩以上十分に乾燥させ、抗原となる菌体凍結乾燥試料 (以下「乾

燥試料(という)を作製した59)。この乾燥試料は約300mgずつポリエチレン製の小サンプル瓶に入れ、シリカゲルを満した容器中に常温で保存し、適宜必要量を取り出して各種試験に用いることができるようにした。

3). 抗血清の作製

乾燥試料50mgを乳鉢でよく磨砕し、これに1mlのPBSを加えて懸濁させこれを抗原液とした。血清試験関係に用いる抗原液は原則としてすべてこの方法で作した。この抗原液に最初の回は完全アジュバント (Bact completeadjuvant, DIFCO Laboratories Inc. 製)、第2回目以降は不完全アジュバント (Bact incomplete adjuvant, DIFCO Laboratories Inc. 製) を等量加え、超音波発生装置 (Sonifier 250, Branson Sonis Power Company 製) を用いて乳化した。乳化した試料をウサギ(品種: New Zealand White, 雌)の後肢に数ヶ所に分けて注射し、これを1週間おきに繰り返した。また、第3回目の免疫注射のときからは、耳動脈から毎回1~2mlの部分採血を行って少量の血清を得、ゲル内二重拡散法により抗体価の高まりを観察した(60)。

およそ10回の注射を行ってから1週間後、頸部を切開し頸動脈から全採血を行った。採集した血液は1時間37℃に静置して血清の分離を促し、その後5℃に一晚静置してから血清部分を取り出し、これを冷却遠心機 (R90-23, 磯佐久間製作所製) で5,000rpm, 10分間遠心して上清をとり、1mlずつエッペンドルフチューブに分注した後、-80℃のディープフリーザー内に保存した。

4). ゲル内 2 重拡散法

抗体には、コスモスそうか病菌 (*Sphaceloma bidentis* C001), サトウキビ白星病菌 (*Elsinoe sacchari* SC1) およびラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis* GN1) を抗原として作製した抗血清を, 抗原にはサトウキビ白星病菌 (*E. sacchari* SC1) ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis* GN02), ヤブマメそうか病菌 (*S. kurozawana* YBM1), コスモスそうか病菌 (*S. bidentis* C001), コセンダングサそうか病菌 (*S. bidentis* Sb-M1), ウドそうか病菌 (*E. araliae* Udo5), タラノキそうか病菌 (*E. araliae* Ar-02~04), ヤツデそうか病菌 (*E. araliae* YTD6), ミカンそうか病菌 (*E. fawcettii* EF-01) およびブドウ黒とう病菌 (*E. ampelina* Ea-02) の各種乾燥試料を乳鉢でよく磨砕し, これに P B S を加え懸濁させたものを用いた。

ゲル内二重拡散法には, P B S 100ml に 0.2% のゲランガム (Gellan Gum, 和光純薬工業製) を加えて軽く攪拌し, 家庭用電子レンジで約 1 分間加熱・溶解した後, 直径 9 cm のシャーレに適宜分注して厚さ約 3 mm の平板を作製した。この平板をパンチャーにより, 孔径 5 mm, 各孔中心間距離 8 mm の試料孔を作製し, ここに適宜希釈した血清または抗原液を約 50 μ l ずつ注入した。シャーレは湿室で 37℃ の恒温器中に静置し, 2~3 日後に白色沈降帯の形成状況を観察した。

5). 酵素結合抗体法 (二重抗体法)

二重抗体法により酵素結合抗体法による検定を行った。本試験に供試した抗血

清は、コスモスそうか病菌 (*Sphaceloma bidensis* C001)、サトウキビ白星病菌 (*Elsinoe sacchari* SC1) およびタノキそうか病菌 (*E. araliae* YTD6) の3種について作製したもので、これらの抗血清は力価が比較的高く、またゲル内二重拡散法によって比較的反応状況が異なるとされたものである。検定に用いたガンマグロブリン (以下「IgG」という) の精製、酵素標識抗体の作製および酵素結合抗体法に関する手順は以下のとおりであった^{45, 68)}。

(1) ガンマグロブリンの精製

1. 抗血清 2 ml に蒸留水 8 ml を加えて希釈し、これをマグネチックスターラー (Thermolyne Type 1000 Stir Plate, Branstead社製) でゆっくり攪拌しながら、飽和硫酸アンモニウム 10 ml を少量ずつ静かに滴下した。白いタンパクの懸濁液ができるので、これを 50 ml の低速遠心チューブに移し、約 60 分静置後、5,000 rpm で 10 分低速遠心分離 (Sakuma R80-23 冷却遠心機、御佐久間製作所製を使用) を行い、得られた沈殿を 1/2 PBS に溶解して 2 ml とした。
2. 透析膜 (Seamless cellulose tubing, size: 8/32, Union Carbide Corp. 製) を適当な長さに切り取り、透析中に反応する物質を除くため 100°C の蒸留水中に 10 分間浸漬した後、1. で得られた試料をこの透析膜中に入れ、1,000 ml の 1/2 PBS で 3 回透析した。透析は 1 回目と 2 回目は 180 分、3 回目は一晩行った。
3. カラム (内径 18 mm, 長さ 50 cm のガラス管) の底に 1/2 PBS を浸み込ませたキムワイプを数層敷き、少量の 1/2 PBS を流して底面に安定させ、次いでその上

に蒸留水で2日間以上膨潤させたセファデックスSephadex(G-200-120, Sigma Chemical Company製)ゲルをゆっくり注ぎ込んだ。しばらく静置するとゲルの沈澱の上に上清を生じるので、これを捨ててから膨潤ゲルを流し込む作業を繰り返して、カラム上部までゲルが充填するようにした。さらに、カラムの上部からサーキュラーポンプを用いて、1/2PBSを0.1ml/min程度の流速で多量に流し、カラム内部の蒸留水を1/2PBSで置き換えた。

4. 透析の終了した試料を3.で調整したSephadexカラムで精製した。試料2mlをカラムに重ね、完全にカラムに入った後直ちに1mlの1/2PBSを重ねた。その後1/2PBSをサーキュラーポンプ(Labotec社製)で0.1ml/minの速さに調整して流しながら溶出し、フラクションコレクター(FRC-2120, 岩城硝子機製)で1mlごとに分画した。
5. 各分画について分光光度計(Hitachi U-2000, 御日立製作所製)で280nmにおける吸光度(E_{280})と280nmにおける吸光度(E_{280})を測定し、最初に溶出した E_{280} のピークのうち E_{280} と E_{280} の比が2.5以上あるものを精製γグロブリン(IgG)とした。今回の実験では E_{280} の値が1.0以上の分画を選び、これを混合後 E_{280} の値が1.4となるように調整し、これを1mg/mlのIgG溶液として1mlずつエッペンドルフチューブに分注し、-80℃のディープフリーザー内に保存した。

(2) 酵素標識抗体の作製

1. アルカリフォスファターゼ (Phosphatase, Alkaline, No. p-5521, Sigma Chemical Company製) 200 μ l を小型冷却遠心機 (微量高速遠心機 CR15D, ㈱日立工機製) を用いて 5℃ において 3,000rpm, 15分間遠心し上清を捨てた。残った沈殿に精製した IgG を 1 ml 加えて混合し, 約 1,000ml の PBS で約 3 時間ずつ 2 回および一晩 1 回, 温度 5℃ の冷室内において透析を行った。
2. グルタルアルデヒド (生化学用 70% 溶液, 和光純薬工業製, 以下「GA」という) 0.1ml を蒸留水で希釈し 7ml として 1% の GA 溶液を作製し, これを透析後 PBS を加えて 2 ml とした試料に 0.05% となるように加え室温で 4 時間静置した。この液を 1. と同様の方法で 3 回透析した。
3. 透析後の試料と 1% bovine serum albumin (Sigma Chemical Company製, No. A-4378) 溶液をそれぞれ 0.2ml ずつ混合したものを酵素標識抗体液としてエッペンドルフチューブに注ぎ, 4℃ で保管した。

(3) 二重抗体法による酵素結合抗体法の手順

1. 炭酸緩衝液 (0.5M Na_2CO_3 , pH 9.6, 0.05M 塩酸で調整) で適宜希釈した IgG を, マイクロビペットで 200 μ l ずつポリスチレン製マイクロタイタープレート (96穴, 平底, Greiner Labortechnik 社製, 以下「プレート」という) の穴に注入した後, 乾燥を防ぐためにプレートをポリエチレン製ラップで包むか水を含ませたティッシュペーパーを敷き詰めた密閉容器中に入れ, これを

37℃の湿室に4時間静置した。

2. プレートを出し1gGを捨てた。1gG液を捨てる時はプレートを持って急激に降って内部の水分を振り飛ばすようにし、さらに椅子等の上に敷いた数枚のティッシュペーパー等の上に叩きつけて内部の水分や泡を除去するようにして1gG液を残さずに捨てた。この後洗浄瓶等に入れたPBSTを穴の位置にあまりこだわることなくプレートの表面に溢れる程度にまで注いで各穴に充滿させ、3～5分間室温で静置した。次いでこの洗浄液も1gG同様に勢いよく捨て、再びティッシュペーパー等の上でのたたきつけ操作を行った後、PBSTをプレート全面に加えて各穴に充滿させてから3～5分間静置した。この操作を3回繰り返して洗浄作業とした。
3. 洗浄後プレートの各穴に適宜PBSで希釈した抗原液を200μlずつ加え、4℃の冷室内に一晚静置し、翌朝2.と同様の方法で抗原液の除去と洗浄作業を行った。
4. 酵素標識抗体をPBSTで適宜希釈し、これを洗浄終了後のプレートの各穴に200μlずつ注入した後、乾燥を防ぐためにプレートをポリエチレン製ラップで包むか水を含ませたティッシュペーパーを敷き詰めた密閉容器中に入れ、37℃の湿室中に4時間静置した。その後プレートを湿室からとり出し、酵素標識抗体液の除去とプレートの洗浄作業を、2.と同様に行った。
5. 基質となるp-nitrophenyl phosphate (Sigma Chemical Company製, No. 104-105) の錠剤(5mg/錠)を添加直前に基質緩衝液(10%ジエタノールアミン

溶液、0.5N HClでpH9.8に調整)に溶解して0.1%とし、各穴に200 μ lずつ加え37℃の温室に静置した。酵素反応により黄色の発色がある程度認められた時点で、反応停止液(3N NaOH)を50 μ lずつ各穴に加えた。その後、プレートごと直接吸光度測定機(Labsystems Uniscan II, Bflab社製)を用いて、405nmにおける吸光度を測定した。

2. 結果

1) 各種抗原のタンパク質濃度

実験に先立って各種本属菌の抗原液内のタンパク質濃度を測定した。測定方法としては紫外部吸収法($E_{224} \sim E_{232}$)を用い、標準試料としては牛血清アルブミンを使用した(菅原 潔・副島正美(1977). 生物化学実験法7, 蛋白質の定量法・第2版, 学会出版センター, 東京, pp. 144-146.)。牛血清アルブミンについては、10, 20, 40および80 μ g/mlの濃度の試料液を調整し、これについて各波長における吸光度を測定してその差を求め、最小自乗法によって検量直線の式を求めた。次に各抗原液を500倍に希釈して同様に吸光度およびその差を求め、上記の式に代入して希釈液のタンパク濃度を算出し、ここから各抗原液のタンパク濃度を求めた。結果は第21表にあるとおりで、抗原の種類によるタンパク濃度の差は小さく、およそ6.5~7.5mg/mlの範囲にすべておさまった。このことから供試抗原液については、試験ごとにタンパク濃度を測定しなくても、ほぼ同一のタンパク濃度の試料が供試できるものと考えられた。

第21表 UV法 (E_{233.3}~E_{235.2}) による各抗原液のタンパク質濃度

抗原菌株名	E233.3	E224	吸光度差	500倍希釈液の タンパク濃度 (μ g/ml)	抗原液の タンパク濃度 (mg/ml)
SC-01	0.14149	0.10428	0.03721	12.9	6.5
GN-01	0.22416	0.18692	0.03724	13.0	6.5
YBM-01	0.09390	0.05773	0.03756	14.3	7.1
CO-01	0.14783	0.10989	0.03793	15.0	7.5
Sb9101	0.09119	0.05366	0.03753	13.9	6.9
YTD6	0.15674	0.11891	0.03783	14.8	7.4
Udo5	0.18462	0.14733	0.03729	13.2	6.6
Ar-02	0.11990	0.08255	0.03744	13.6	6.8
Ar-03	0.09119	0.05435	0.03765	14.2	7.1
Ar-04	0.12776	0.09047	0.03729	13.2	6.6
ET-01	0.16312	0.12576	0.03736	13.4	6.7
Ea-02	0.24550	0.20460	0.03765	14.2	7.1
牛血清アルブミン	0.06860	0.03660	0.02800	10.0	-
	0.11060	0.16296	0.05236	20.0	-
	0.14660	0.21860	0.07200	40.0	-
	0.26516	0.34676	0.08160	80.0	-

2) 抗血清の力価

本属菌の抗原液は粘性が高く、また遠心上清には凝集の核となるものが存在しないため、力価測定に際して一般的に用いられるリングテストや凝集法を用いることができなかった。従って作製された抗血清の力価測定はゲル内2重拡散法で行った。

その結果、コスモスそうか病菌、サトウキビ白星病菌およびヤツデそうか病菌

については、抗原希釈で 256倍および抗血清希釈で32~64倍、ラッカセイそうか病菌ではそれぞれ64および8倍、ウドそうか病菌およびタラノキそうか病菌ではそれぞれ 128および16~32倍の希釈まで、ホモログな抗原との間に沈降帯を確認することができた。以下コスモスそうか病菌に対する抗血清をasC0とし、同様にasSC, asGNおよびasYDと表記する。

3) ゲル内二重拡散法による各種本属菌の反応

ゲル内二重拡散法による各種本属菌抗原との反応は第22表のとおりであった。供試抗血清は、サトウキビ白星病菌 (*Elsinoe sacchari* SC1), コスモスそうか病菌 (*Sphaceloma bidentis* C001) およびラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis* GN2) に対して作製した抗血清で、以下これらの菌株をそれぞれ SC, C0およびGNと略記する。

asSCはコセンダングサ、ウド、タラノキ、ヤツデの各そうか病菌菌株との反応で、沈降帯の出現が0~1と少ないのが特徴であった。asC0では他の2種の抗血清に比べて全ての抗原に対し一般に沈降帯の出現本数が多いのが特徴であった。しかしこれら3種の抗血清を用いて各種菌株の血清学的関係を明らかにすることは困難と考えられた(図版-83~90)。

第22表 ゲル内二重拡散法による各種抗原-抗血清間の反応

抗原	抗 血 清					
	asGN ^{a)}		asSC		asCO	
	1 ^{b)}	2	1	2	1	2
<i>E. sacchari</i> SC1	+++	+	+++*	+++	++	++
<i>S. arachidis</i> GN2	+++*	++++	+++	++	+++	+++
<i>S. kurozawana</i> YBM1	+++	+++	+	++	+++	+++
<i>S. bidentis</i> COO1	+++	+++	++	+++	+++*	++++*
<i>S. bidentis</i> Sb-M1	++	++	+	+	++++	+++
<i>E. araliae</i> Udo5	+	++	+	-	+++	+++
<i>E. araliae</i> Ar-02	+++	+++	+	+	++	+++
Ar-03	++	++	+	+	++	+++
Ar-04	+	++	+	-	+++	+++
<i>E. araliae</i> YTD6	+	++	++	-	+++	+++
<i>E. fawcetti</i> Ef-01	++	++	++	+++	++++	++
<i>E. ampelina</i> Ea-02	+	+	++	++	+++	++

a) asGN: ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis* GN2) に対する抗血清,asSC: サトウキイビ白星病菌 (*E. sacchari* SC1) に対する抗血清,asCO: コスモスそうか病菌 (*S. bidentis* COO1) に対する抗血清

b) 数字は試験の回数

c) - : 沈降帯形成なし, + : 沈降帯を1本形成, ++ : 沈降帯を2本形成,

+++ : 沈降帯を3~4本形成, ++++ : 沈降帯を5本以上形成。

* はホモロガスな反応

4) 酵素結合抗体法による各種本属菌の反応

酵素結合抗体法による本属菌の反応は、第28表のとおりであった。酵素結合抗体法にはコスモスそうか病菌、サトウキビ白星病菌およびヤツデそうか病菌に対する抗血清（それぞれasCO, asSC, asYDという）を供試した。ラッカセイそうか病菌に対する抗血清からは、ガンマグロブリンが少量しか精製されなかったため、本実験には供試しなかった。

asCOに対してVerticillium属菌の2種はほとんど反応しなかったが、本属菌の各種菌株はすべて反応し、本属菌の検出に利用できると考えられる。しかし種間の差異は認められなかった。asSCに対しホモガスなサトウキビ白星病菌とは、0.840~1.080と強い反応を示したが、他種の菌株は0.209~0.345と弱く、また、Verticillium属菌でも0.155~0.220であったことから、本抗血清ではサトウキビ白星病菌の検出のみが可能と考えられた。asYDではホモガスな反応が0.204であり、一方対照（PBS）でも0.091であったことから、本抗血清による各種菌株の反応を特異的なものとみることはできなかった。

第23表 酵素結合抗体法による各種本属菌の反応^{a)}

供試菌名	抗血清		
	asCO ^{b)}	asSC	asYD
<i>Elsinoe araliae</i> Udol	0.820	0.345	0.179
Ar-02	0.704	0.336	0.214
TaraN1	0.331	0.225	0.108
YTD1	0.637	0.220	0.216
YTD6	0.667	0.289	0.204*
<i>E. ampelina</i> Ea-02	0.547	0.209	0.307
<i>E. fawcettii</i> Ef-01	0.401	0.276	0.151
<i>E. sacchari</i> SC1	0.301	0.840*	0.132
SC4	0.319	1.060	0.124
<i>Sphaceloma akebiae</i> ARN1	0.612	0.279	0.209
<i>S. arachidis</i> Sa-04	0.592	0.319	0.172
GN1	0.529	0.272	0.127
<i>S. bidentis</i> Sb-T1	0.393	0.237	0.162
C001	0.513*	0.273	0.157
<i>S. kurozawana</i> YBMC2	0.670	0.272	0.127
<i>S. violae</i> Sv-01	0.398	0.213	0.131
<i>S. zelkoveae</i> KYK1	0.705	0.297	0.138
<i>Verticillium albo-atrum</i>	0.181	0.220	0.108
<i>V. dahliae</i>	0.141	0.155	0.131
Control (PBS)	0.103	0.144	0.091

a) IgGは5 μ g/ml, conjugateは200倍を供試した。数字は405nmにおける吸光度。

* はホモロガスな反応

b) asGN: ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis* GN2) に対する抗血清,

asSC: サトウキビ白星病菌 (*E. sacchari* SC1) に対する抗血清,

asCO: コスモスそうか病菌 (*S. bidentis* C001) に対する抗血清

3. 考察

近年糸状菌の抗血清関係の研究がいくつか認められるが、この研究が進展してきたのはモノクローナル抗体の作製が行われるようになり、比較的特異性の高い抗血清が得られるようになったためである⁽¹⁾⁽²⁾。特異性の高い抗血清により、特定の種の検出が容易になり、検疫のように迅速な判別が求められたり、土壌検診のように定量困難であった部門においても、今後比較的短時間の内に正確な診断が可能となるであろう。

本研究において作製した抗血清はポリクローナル抗体であり、ポリクローナル抗体は多くの抗原決定基と反応するため、比較的高度な体制を示す糸状菌の同定には不向きである。しかし多くの抗体を含むため、特定の菌を検出するのではなく、類縁性の大小を検討する上においては使用可能ではないかと思われた。

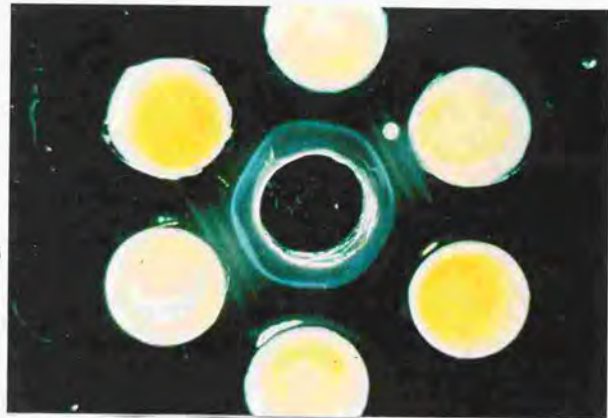
ゲル内二重拡散法における反応では、原則としてホモロガスな組合せにおいて、明瞭な多数の沈降帯を観察することができたが、それ以外の組合せにおいてホモロガスな組合せ以上の反応を観察することがあった。また酵素結合抗体法においても同様の傾向が認められ、抗血清作製時に抗原として供試した菌株よりも高い反応を示す同種の菌株があるだけでなく、別種であっても高い反応を示す菌株が存在した。

供試抗原のタンパク濃度はほぼ一定であることから、このような反応の傾向はタンパク質以外の抗原決定基の量的分布に起因するものではないかとの事が示唆された。近年研究が進展中の糸状菌のモノクローナル抗体については、抗原解析

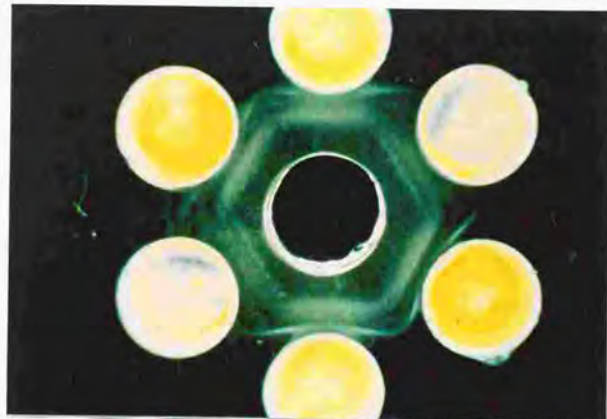
の結果多糖類が抗原となっているものがしばしば認められる。このことから、本研究において作製されたポリクローナル抗体も、その成分としては多数の多糖類に対する抗体を含むことが予想される。多糖類は生体の活動等に直接関与するタンパクとは異なり、生体内に余分に蓄積されたり分泌されることもあるため、本研究において作製された抗血清が、必ずしもホモロガスな組合せにおいて最大の反応を示さなかったことは、十分理解できる。なお、本属菌の中ではチャ白星病菌が、エルシナン(elsinan)というラフィノースを基本単位とする多糖類を産生することが知られており⁽¹⁹⁸⁷⁾、他の本属菌についても、量の多少はあるが同様の多糖類が産生されているものと思われる。

asSCについては、供試抗原であるサトウキビ白星病菌が他の本属菌とはかなり性質が異なる菌であつたらしく、酵素結合抗体法においてホモロガスな組合せで強い反応を示した。このことは本菌が唯一単子葉植物を宿主とすることと関係が深いと思われ、今後本菌以外で単子葉植物を宿主とする本属菌との比較に興味をもたれる。asCOについては、酵素結合抗体法において各種の本属菌に対し特異的反応が認められ、本属菌の検出に利用できるのではないかとと思われる。

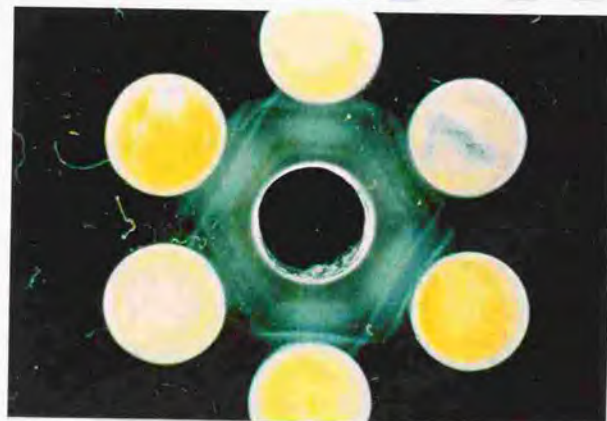
図版-83: 中央: E. sacchariに
対する抗血清
(asSC) ;
上下: S. arachidis ;
右上と左下
: E. sacchari ;
右下と左上
: S. bidentis(ジャズ)
(以下同順)



84: S. arachidis に対す
る抗血清
(asGN) ;
S. arachidis ;
E. sacchari ;
S. bidentis(ジャズ)



85: S. bidentis(ジャズ)に
対する抗血清
(asCO) ;
S. arachidis ;
E. sacchari ;
S. bidentis(ジャズ)



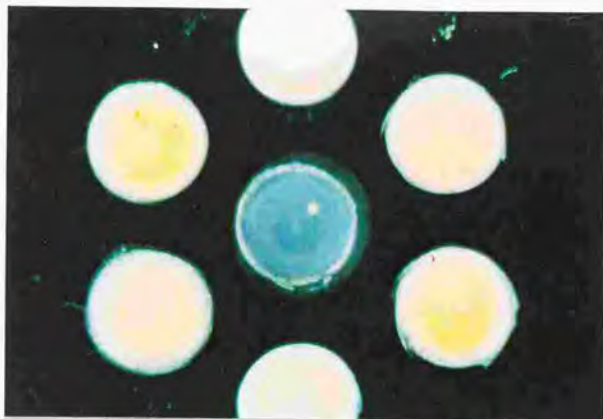
図版-86: asSC;

E. araliae(ヤツデ);

E. araliae(タマノキ);

E. araliae(ウト);

沈降帯不形成

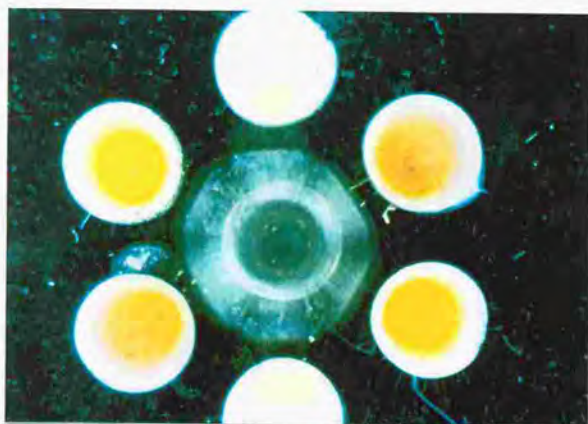


87: asGN;

E. araliae(ヤツデ);

E. araliae(ウト);

E. araliae(タマノキ)

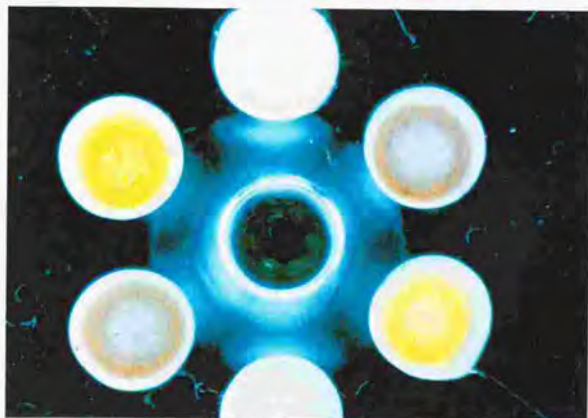


88: asCO;

E. araliae(ヤツデ);

E. araliae(ウト);

E. araliae(タマノキ)



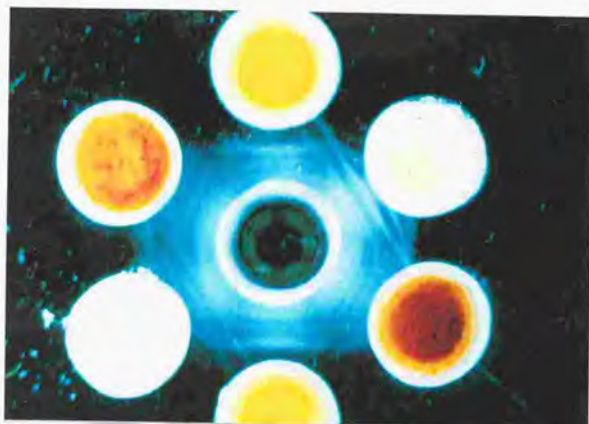
図版-89: asCO;

E. fawcetti;

S. bidentis

(3t77g' 77g' 77g);

E. ampelina

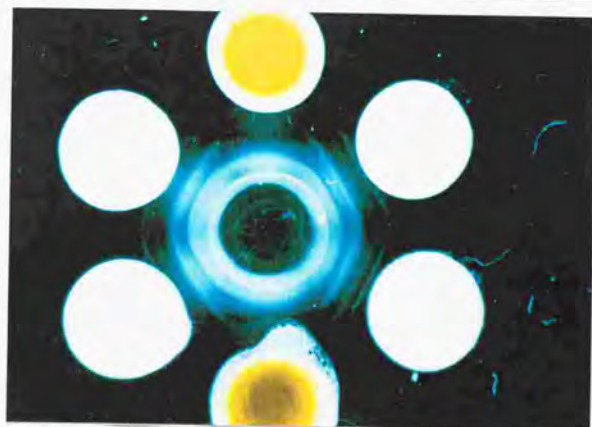


90: asCO;

S. kurozawana;

E. araliae (タリノキ);

E. araliae (タリノキ)



VII. 可溶性タンパク質の電気泳動パターンによる比較

電気泳動を糸状菌の分類に用いることは、1970年に Laemmliら¹⁴⁷⁾がT₄ファージのタンパクのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるパターンの比較を行ってからまもなく行われるようになり¹⁶⁴⁾、近年では単なる泳動パターンだけでなく、アイソザイム分析や2次元電気泳動等も行われている⁹⁵⁾。特に *Fusarium* 属菌については多くの研究が行われており、形態学的性質や宿主範囲等について蓄積された基本的な情報との比較対照が行われている²³⁴⁾。

本属菌については、これまでに *Fusarium* 属菌等について数多く蓄積されてきたような基本的情報が皆無に近いため、本研究においてはとりあえず可溶性タンパクの1次元SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動のパターンを単純に比較することにより、これまでの分類との整合性を検討し、また各種の性質の異同との比較対照を行った。

1. 材料および方法

電気泳動はLaemmliの方法に準じて行い^{147, 223)}、電気泳動のpHは9.6、ゲル濃度は15%とした。電気泳動用の器材にはBio-Rad Laboratories製Mini-PROTEAN IIを使用し、安定電源には同社製のModel 3000Xiを使用した。

1). 供試菌株

供試菌株は第24表のとおりであった。

第24表 電気泳動試験に供試した菌株

供試菌株名	分離源	発生地または採集地
<i>E. ampelina</i> Ea-02	ブドウ: <i>Vitis vinifera</i> ,	千葉県千葉市
<i>E. araliae</i> Udo5	ウド: <i>Aralia cordata</i> ,	北海道網走市
Ar-03, 04	クランボ: <i>Aralia elata</i> ,	長野県小県郡真田町
Ar-05		埼玉県秩父郡荒川村
TaraN1~13		東京都世田谷区
Ar-06~08	ヤンデ: <i>Fatsia japonica</i> ,	千葉県千葉市
YTD1~6		埼玉県東松山市
YTDK1~17		埼玉県越谷市
<i>E. fawcettii</i> Ef01~05	ウツクシ: <i>Citrus unshiu</i> ,	愛知県尾張一宮市
<i>E. sacchari</i> SC1, 2, 4	サトウキビ: <i>Saccharum officinarum</i> ,	沖縄県宮古島城辺町
SC12~15		
<i>Sphaceloma akebiae</i> AKB1~9	アケビ: <i>Akebia quinata</i> ,	山形県村山市
AKBF1~3		
<i>S. arachidis</i> Sa-04	ラッカセイ: <i>Arachis hypogaea</i> ,	千葉県千葉市
GN1, 2		千葉県八千代市
<i>S. bidentis</i> Sb-M1~M6	コセンダングサ: <i>Bidens pilosa</i> ,	東京都豊島区
Sb-K1~K3		埼玉県越谷市
Sb-T1, T2		和歌山県田辺市
C001, 02	コスモス: <i>Cosmos bipinnata</i> ,	神奈川県川崎市多摩区
C0K4~K6		埼玉県越谷市
<i>S. kurozawana</i> YBMC1~4, 5, 7	ヤブマメ: <i>Amphicarpaea edogewortii</i> var. <i>japonica</i> ,	埼玉県秩父郡荒川村
<i>S. violae</i> Sv-01~06	オシロイバナ: <i>Viola × wittrockiana</i> ,	千葉県四街道市
<i>S. zelkovae</i> KYK1~10	ケヤキ: <i>Zelkova serata</i> ,	東京都世田谷区

2). ゲル作製のための試薬の調整

A液: アクリルアミド (Bio-Rad Laboratoriesまたは第一化学薬品製) 15g,

およびBIS (N-N'-メチレン-ビス(アクリルアミド), Bio-Rad Laboratoriesまたは和光純薬工業製) 0.4gに蒸留水を加えて50mlとしたものの。

B液: 過硫酸アンモニウム (Bio-Rad Laboratories製) 75mgに蒸留水を加えて10mlとしたもの。必ず使用直前に調整した。

C液: SDS (ドデシル硫酸ナトリウム, 和光純薬工業製) 1gに蒸留水を加えて10mlとしたもの。

D液: Tris (トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン, 和光純薬工業製) 3gを蒸留水20mlに溶解し, 1N塩酸でpHを6.8に調整した後, 蒸留水を加えて50mlとしたもの。濃縮ゲル用の緩衝液。pH調整用に1N塩酸は約24ml必要であった。

E液: Tris 18.15gを蒸留水20mlに溶解し, 1N塩酸を加えてpHを8.8に調整した後, 蒸留水を加えて50mlとしたもの。濃縮ゲル用緩衝液。

F液: Tris 9.09g, グリシン (日本理化学薬品製) 43.2g, SDS 3gに蒸留水を加えて300mlとしたもの。pHを8.3に調整した。

これらの液は遮光ガラス瓶に入れ5℃に保存した。なお, A液の作製に当たっては, 超音波発生装置を用いて試薬を溶解させると, これに費やす時間が非常に短縮された。

3). ゲルの作製

分離用ゲル重合液は上記液のうちA液を15ml, C液を1.3ml, E液を3.75ml および蒸留水を9.45ml混合し, ここに15 μ lのTEMED (N',N',N',N'-テトラメチルエチレンジアミン, Bio-Rad laboratories製)を加えた後脱気し, 同様に脱気したB液1.5mlを加えて作製した。

2枚のガラス板間の両端に厚さ1mmの板状バックリングを挟み, ゲル作製器に垂直に立てて固定した。ここに分離用ゲル重合液を, 先端にポリエチレン製マイクロピペット用チップをとりつけたホールピペットを用いて, ガラス壁を伝わせながら上から約1cmを残すまでゆっくりと流し込んだ。その上に重合を促進させるために, 蒸留水を高さ約2~3mm静かに重層し, 室温で30~60分程度放置した。重合が進み蒸留水とゲルとの境界面がはっきりと確認できた時点で蒸留水を除去し, 余分の水分はろ紙等で吸い取った。

濃縮ゲル用重合液は, A液2.5ml, B液1.0ml, C液0.2ml, D液0.5mlおよび蒸留水11.3mlをとって混合し, ここにTEMEDを15 μ l加えてから脱気して作製した。重合が終了した分離用ゲルの上部に濃縮ゲル用重合液を静かに流し込み, ここにサンプルコウムを差込み, 室温で30~60分間放置した。重合終了後にサンプルコウムを静かに取り除いた。このゲルを挟んだガラス板を泳動槽にセットし, ここに蒸留水で10倍に希釈したF液を静かに注いだ。

4). 泳動用試料の調整

血清試験において使用したと同様の乾燥菌体を乳鉢で磨砕し、これを1% SDS、2mM EDTA (エチレンジアミンテトラ酢酸ジナトリウム塩、関東化学㈱製) - 10mM Tris-塩酸 (pH8.0) - 5% 2-メルカプトエタノール (東京化成工業㈱製) の混合液に、10mg/mlの濃度となるように溶かした後、5℃で5,000rpm、10分間の低速遠心 (CR15D, 欄白立工機製) し、上清を100℃で3分間加熱処理した。この試料に1% B P B (ブロムフェノールブルー、関東化学㈱製) を適宜加えて電気泳動用試料とした。

5). 電気泳動

電気泳動用試料を、サンプルコウムを抜き取った後にできた試料溝の底に、毛つきチップ (GE Loader Tips, Eppendorf 社製) を使用して 10 μ l ずつ注意深く注入した。これを室温下 20mA で泳動し、B P B による着色部がゲルの最下端から 5 ~ 10mm の位置に来るまで通電した。泳動の終了までには約 3 時間を要した。

6). 染色および脱色

泳動終了後、泳動槽からガラス板を取り外し、ガラス板からゲルを注意深く取り外した後、CBB (Coomassie Brilliant Blue R-250, No. 0149, Sigma Chemical Company 製) を 0.25% 含む、蒸留水 : メタノール : 酢酸の体積比 1 : 1 : 0.2 の混合液 (染色液) に 20 ~ 30 分間浸漬した。次いで染色されたゲルを 5% メタノール

—10%酢酸の混合液（脱色液）に浸漬し、これを1時間程度おきに数回繰り返して脱色を行った。脱色後のゲルはそのままの状態写真にとり、現れたバンドの相対的な位置関係を明らかにするとともに、ゲルスラブドライヤー（Slab Dryer SS, Bio-Rad Laboratories製）を用いて乾燥させ保存した。

2. 結果

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるタンパクのバンド数は20本以上認められた。このうち分子量22,000よりも小さなバンドは、バンドの幅が大きい上に比較的不明瞭であった（図版-91）。比較的明瞭なバンドが認められたのは、分子量21,500から97,400の範囲で、この間には10~10数本のバンドが認められた。このことから本属菌各種の比較に当たっては、この範囲における主要なバンドを対象とし、そのパターンを第1図に示した。

各種本属菌の電気泳動パターンを比較すると、菌株により多少の差異はみとめられるものの、ほぼ種ごとに類似したパターンが得られた。変異の大きいのは比較的分子量の小さい部分で、比較的大きな分子量の部分においては、少なくとも同一種内においては変異が少なかった。最も特異的なパターンを示したのはサトウキビ白星病菌で、分子量の大きな部分において、他の菌株とは明かに異なるパターンが認められた。その他の種間においては比較的類似したパターンが得られた。

ラッカセイそうか病菌とヤブマメそうか病菌の宿主はともにマメ科植物である

が、両菌のバンドパターンも比較的類似した。同一種内の菌株間においては、多少の差異が認められたものの、類似したパターンの得られることが多かった。コセンダングサそうか病菌とコスモスそうか病菌とはいずれも *S. bidentis* と分類され、その分離源が異なる菌であるが、菌株間の差異は非常に小さかった。ウコキ科植物3種を宿主とする3群の菌株については、タラノキとヤツデを宿主とする菌株については比較的類似したが、ウドを宿主とする菌株はこれらと類似はするがやや異なった。

3. 考察

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動のパターンについては、原則として宿主植物の種類が近いと類似する傾向が認められた。サトウキビ白星病菌の場合宿主がイネ科植物であり、供試菌の中では唯一の単子葉植物であることから、パターンが大きく異なったものと思われ、本菌の泳動パターンの特異性は全 *Sphaceloma* (*Elsinoe*) 属菌中でもきわめて高いものと思われ、本菌は他の菌とは明かに異なる種として位置づけられるものと考えられる。

なお、これまでに単子葉植物を宿主とする *Sphaceloma* (*Elsinoe*) 属菌はわずか4種しか見いだされていない。そのうち2種はイネ科植物を宿主とし、1種は本菌であり^{159, 167)} もう1種は *Panicum virgatum* を宿主とする *E. panic*²²⁵⁾ である。他の2種はショウガ科植物を宿主とし、1種はターメリック (*termeric, Curcuma* sp.) を宿主とする *S. curcuma*²²⁶⁾、もう1種はショウズク (cardamon, *Elettaria*

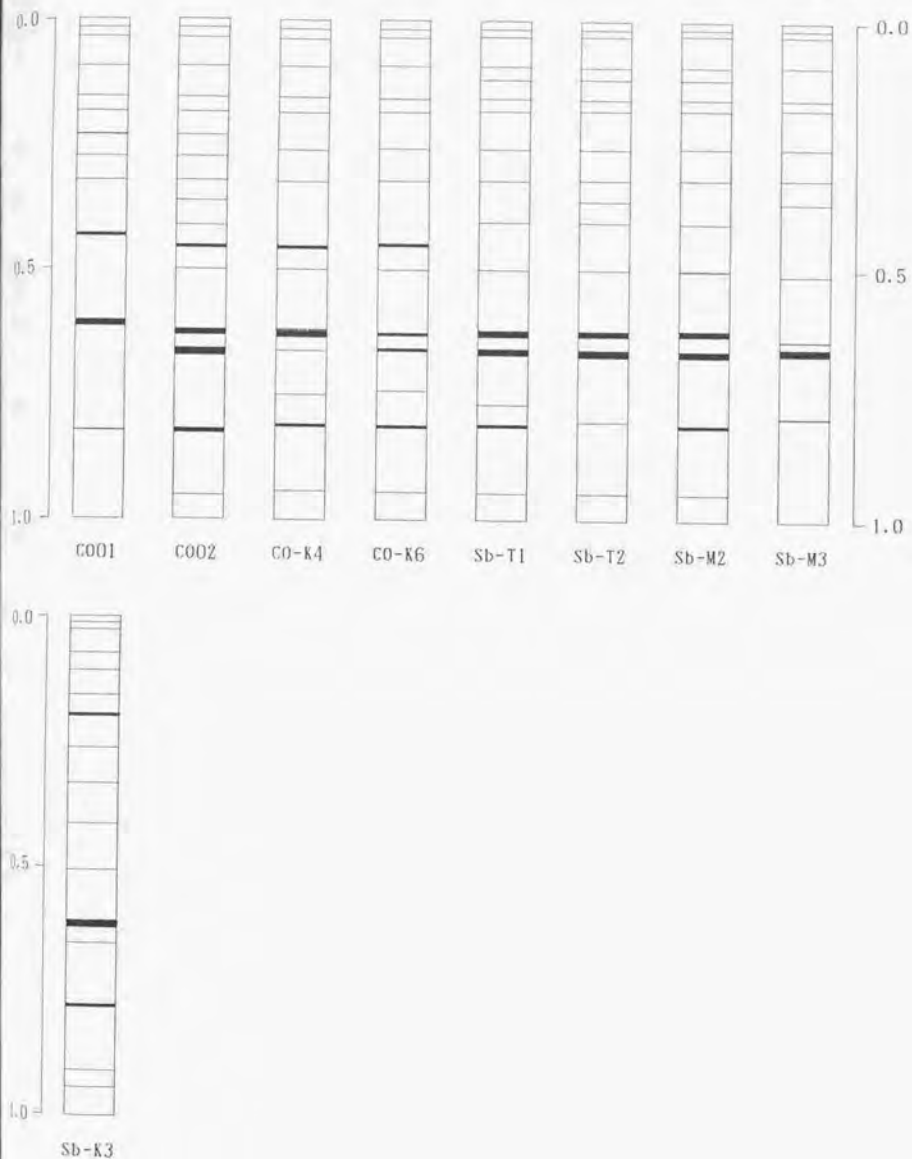
cardamomum)を宿主とする *S. cardamomi*^[17]である。これらの菌の泳動パターンは、サトウキビ白星病菌の泳動パターンと類似し、逆に他の双子葉植物を宿主とする菌とは泳動パターンに大きな差異があることが予想される。

非常に類似したパターンが認められたのは、キク科植物であるコセンダングサそうか病菌とコスモスそうか病菌で、両菌株の泳動パターンはほとんど見分けがつかなかった。この両菌株は同一種であり、電気泳動パターンは同一種内での分離源植物の違いにおまり影響されないものと思われた。また、3つの分離源植物をもつウコギ科植物のそうか病菌についても、キク科植物2種由来の菌株間とはではないが泳動パターンは類似しており、これと同様なことが言えると思われた。

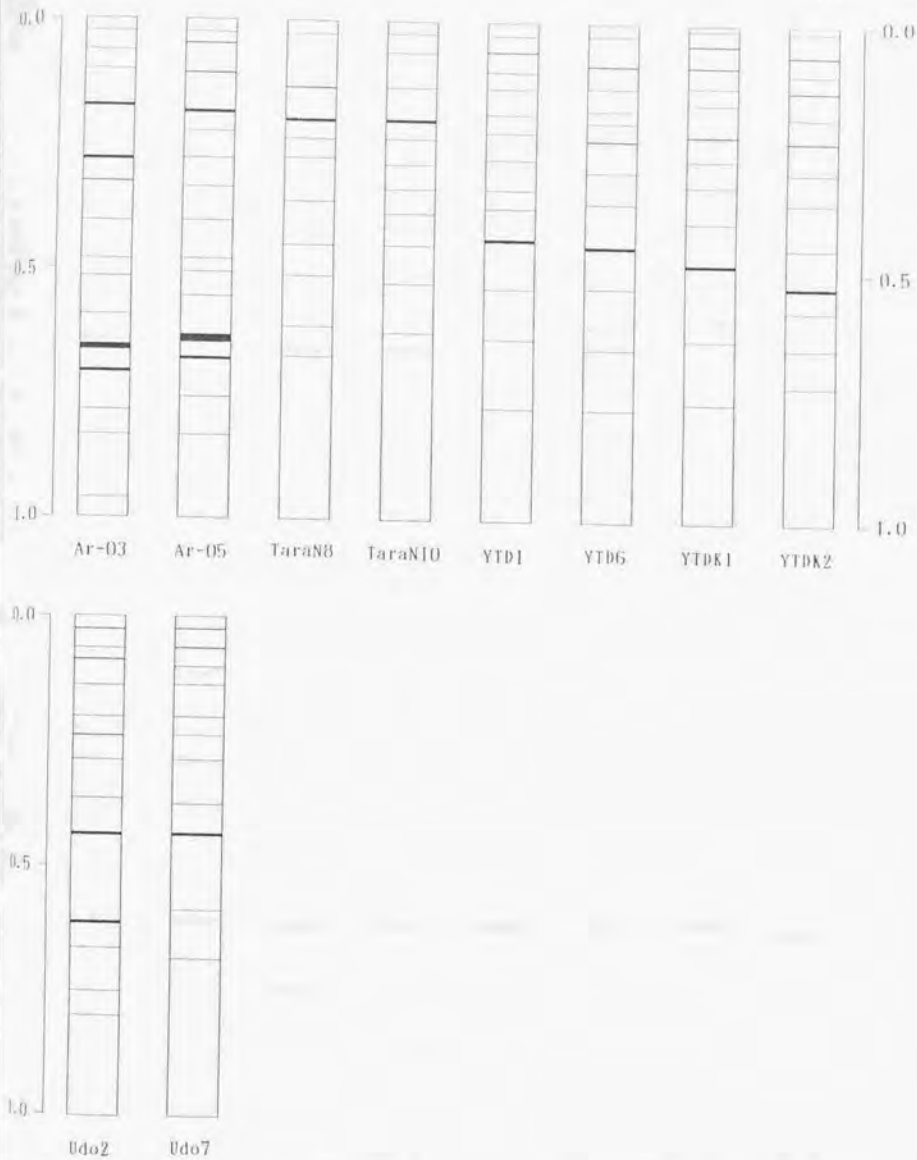
本研究で行ったSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動においては、たかだか10 cmに満たないゲル内に多くのバンドが認められ、しかもその一部は質的には異なるが分子量がきわめて近いタンパクによるバンドが重なって1本となっている可能性が否めない。菌ごとの比較を行うに当たっては、この多くのバンドをすべて考慮に入れるためかなり手間がかかると同時に、比較的不正確とならざるを得ない面がある。しかし、この方法においても分子量の比較的大きな部分の主要なバンドを対象とすることにより、種間の類似性や菌株間の差異について、かなりよく比較することが可能であった。

今後は単純に可溶性タンパク部分を電気泳動させるだけでなく、泳動の対象とするタンパクをリボゾーム等の一部細胞内器官に由来するものに限定したり、アイソザイム分析のように特定の性質を持った数少ないタンパクを選んで泳動し、

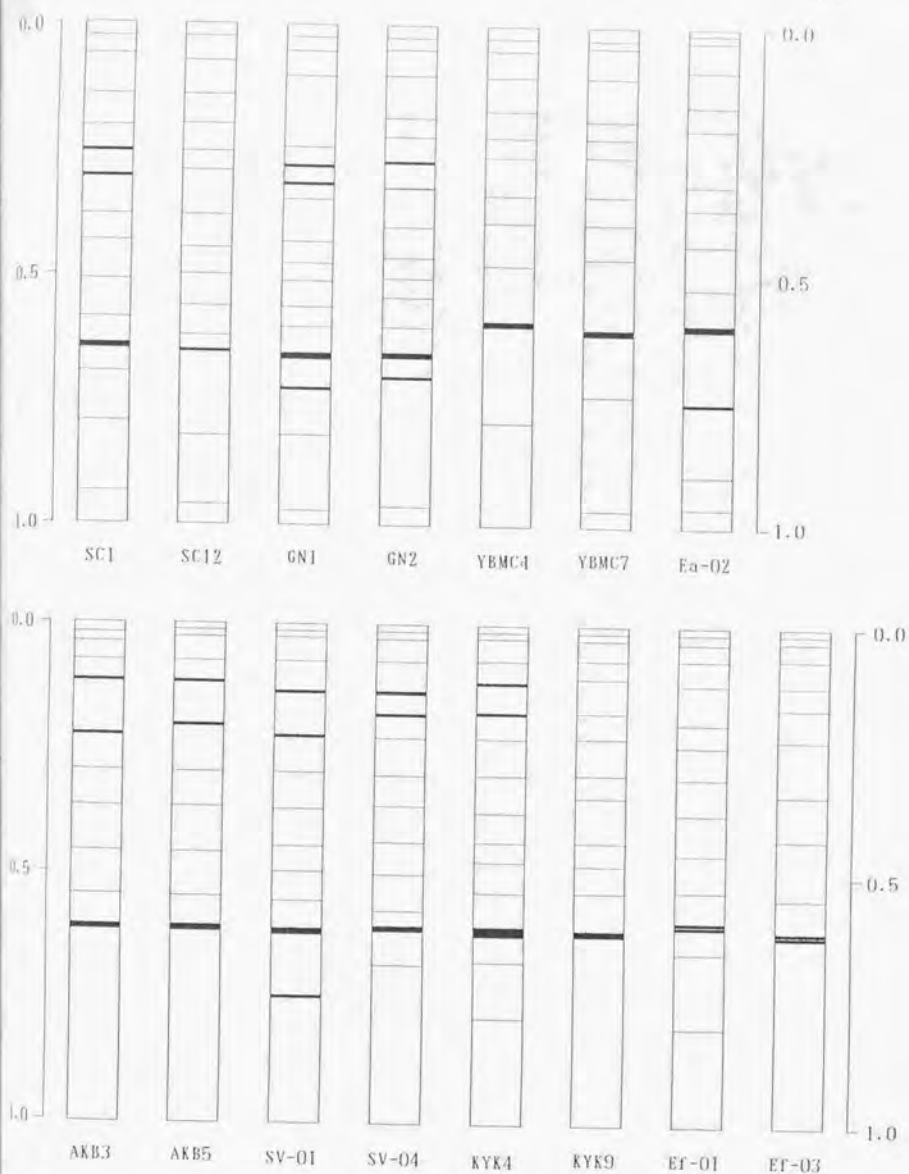
より明確な形での種間の比較を行うことが求められよう。また血清学的手法との組合せであるウエスタンブロット等の方法によっても、本属菌の各種間の類縁関係を検討して行きたい。



第1図 各種そうか病菌の可溶性タンパクのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターン (C001~K6: コスモスそうか病菌; Sb-T1~K3: コセンダングサそうか病菌, 0.0は分子量97,400, 1.0は分子量21,500の分子量マーカーバンドの出現位置, 第2図および第3図も同様)



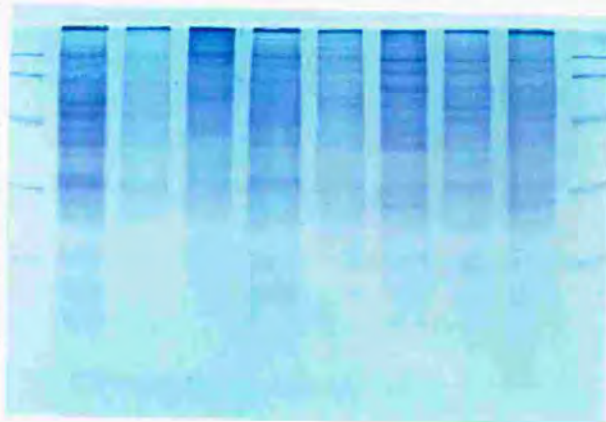
第2図 各種そうか病菌の可溶性タンパクのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターン (Ar-03, 05, TaraN8, 10: タラノキそうか病菌; YTD1~K2: ヤツデそうか病菌; Udo2, 7: ウドそうか病菌)



第3図 各種そうか病菌の可溶性タンパクのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターン (SC1, 12:サトウキビ白星病菌; GN1, 2: ラッカセイそうか病菌; YBMC4, YBC4:ヤブマメそうか病菌; Ea-02: ブドウ黒とう病菌; AKB3, 5: アケビそうか病菌; SV-01, 04: スミレそうか病菌; KYK4, 9: ケヤキそうか病菌; Ef-01, 03: ミカンそうか病菌)

図版-91: SDS-ポリアクリルア

ミドゲル電気泳動による泳動パターン。左からウドそうか病菌, タラノキそうか病菌, ヤツデそうか病菌, サトウキビ白星病菌, ラッカセイそうか病菌, ヤブマメそうか病菌, コスモスそうか病菌, およびコセンダングサそうか病菌。左端と右端のレーンは分子量マーカー。



Ⅷ. 総合考察

わが国に発生との認められる *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌は、日本有用植物病名目録¹²⁵⁻¹²⁶⁾によれば約30種が知られる。一方最近発行された植物病原菌類図説によれば *Elsinoe* 属菌は世界に約40種ほどが知られ、このうちわが国には12種が発生するとされるが、国内で完全時代が確認されたものは、ウコギ科植物のそうか病菌である *E. araiiae* と、コウゾかさぶた病菌の *E. brousonetiae* の2種にすぎない¹²⁷⁾。同様に *Sphaceloma* 属菌は約50種が知られ、わが国にはそのうち30種が発生するとされる¹²⁸⁾。また Zeigler らは *Elsinoe* 属菌は世界に40種以上、*Sphaceloma* 属菌は50種以上があるとした²⁵⁹⁾。しかし、過去における本属菌の記載・命名について慎重に文献を当たって行くと³⁸⁾、*Elsinoe* および *Sphaceloma* 両属菌を合計して約180種が数えられる。

なお、近年わが国に発生したラッカセイそうか病は、ブラジルと日本だけで発生が認められる病害であるが²⁶⁾、ラッカセイは外国からの導入作物であることから、わが国における本病の発生源は何等かの輸入資材である可能性が大きい。今後、有用植物やその加工品の輸入は増加の一途をたどることが予想されるが、一般的にわが国未発生の病害は、このような輸入品に予期せぬかたち付着して侵入することが多い。このような知識については、植物検疫関係者はもとより、一般旅行者に対しても周知徹底させ、警戒を怠ることがないように留意することが必要であろう。

本属菌の宿主は多岐にわたり、明瞭にわかるものだけでも63科の植物に病害を引き起こし、マメ科植物で17種^{12, 28, 29, 30, 31, 34, 67, 68, 95, 117, 131, 149, 154, 189}、キク科の植物で8種^{20, 31, 91, 104, 119}、トウダイグサ科植物で7種^{19, 27, 28, 30, 35, 102, 249}の本属菌の発生が知られる。しかし、単子葉植物を宿主として記載された菌は、ショウガ科の植物でウコンの一種である *termeric* (*Curcuma* sp.) を宿主とする *S. curcumae*^{22, 31}、同じくショウガ科のショウズク (*Elettaria cardamomum*) を宿主とする *S. cardamomi*^{17, 31}、サトウキビ白星病菌 (*E. sacchari*)^{106, 137}、イネ科植物牧草の *Panicum virgatum* を宿主とする *E. panici*^{2, 35} の4種である。また、裸子植物に対してはシシガシラ科の *Blechnum serrulatum* を宿主とする *E. blechni* がただ1種報告されているにすぎない²⁶。

本属菌の記載・命名については、Bitancourt および Jenkins のグループによって、1930～50年代に行われた一連の報告がある^{15, 22, 24, 32, 63, 73, 78, 90, 91, 97, 99, 101, 105, 154, 166, 247}。これらはおもにブラジルを中心に採集された標本について研究されたもので、一つの論文の中で10種以上もの新種の記載・命名が行われた例も認められる^{25, 30, 31}。わが国においては1930～50年代に黒沢および香月により、多数の新種の記載やわが国における初発生を記録した報告がなされている^{119, 122, 126, 140, 145}。またこれらと相前後してインドにおいても多くの種の記載・命名が行われた^{17, 23, 33, 34, 242, 245}。これらの一連の報告においては、宿主となる植物の種の確認がやや曖昧であったり、病原菌の分離・培養や接種試験による病原性の確認がなされていないものが多い。また、論文中に見られる病

寄試料の写真はそのほとんどが錯葉標本であり、発生地で採集された宿主植物標本について病徴観察および病原菌の顕微鏡レベルの観察を行い、病原菌の形態と宿主植物の種類に基づいて、本属菌の種の記載・命名または同定・分類を行ったことが推測される。

このような理由からか、同一または非常に近縁な植物を宿主として複数の本属菌が記載されている事例がかなり見受けられる。このような事例は、別々の研究者によって記載が行われ、情報伝達の不徹底のために複数の菌が存在するようになった場合もあるが、同一の研究者やそのグループ内において続々と記載された事例もある。このような事例を第25表に示す。

第25表 分類において混乱の認められる主な *Sphaceloma* (*Elsinoe*) 属菌 - 1

宿主植物	病名	病原菌名
クワ科		
<i>Ficus carica</i>	scab	<i>Sphaceloma caricae</i> ¹⁴⁵⁾
<i>F. glomerata</i>	-	<i>S. fici</i> ²³²⁾
Fig	-	<i>S. fici-caricae</i> ²¹⁾
シクンシ科		
<i>Terminalia chebula</i>	-	<i>Elsinoe indica</i> ²¹¹⁾
<i>T. catappa</i>	scab	<i>S. terminaliae</i> ¹⁶⁾
ツバキ科		
<i>Thea sinensis</i>	white scab	<i>E. leucospila</i> (Syn: <i>S. theae</i>) ^{22, 142)}
	motile scab	<i>E. theae</i> ²⁴⁾
バラ科		
<i>Prunus capuli</i>	-	<i>E. pruni</i> ⁶⁾
<i>P. amygdalus</i>	anthracnose	<i>S. siculum</i> ⁴⁷⁾
<i>P. domestica</i>	scab	<i>S. prunus-domesticae</i> ²⁷⁾

a) 記載文献不明, Review of Plant Pathologyより

b) 記載文献不明, Review of Applied Mycologyより

第25表 分類において混乱の認められる主な *Sphaeloma* (Elsinoe) 属菌 - 2

宿主植物	病名	病原菌名
ブナ科		
<i>Quercus ilex</i>	-	<i>E. querci-ilicis</i> ⁹⁸⁷
<i>Q. nigra</i>	-	<i>E. quercicola</i> ⁹⁸¹
<i>Q. falcata</i>	scab	<i>E. quercus-falcatae</i> ¹⁵⁵
マメ科		
<i>Canavalia ensiformis</i>	scab	<i>E. canavaliae</i> ²⁰⁹¹
<i>Phaseolus lunatus</i>	scab	<i>E. canavaliae</i> ²⁵¹
var. <i>macrocarpus</i>		<i>E. phaseoli</i> ²⁵¹
<i>P. vulgaris</i>	scab	<i>E. phaseoli</i> f. sp. <i>vulgare</i> ^{19, 171}
<i>P. aureus</i>	-	<i>E. phaseoli</i> ^{179, 179}
	scab	<i>E. iwatae</i> ¹⁷¹
ミカン科		
<i>Citrus</i> spp. 他	scab	<i>E. australis</i> ²⁰¹
		(Syn: <i>S. fawcetti</i> var. <i>viscosa</i>) ²⁰¹
	scab	<i>E. fawcetti</i> (Syn: <i>S. fawcettii</i>) ^{21, 22}
	scab	<i>S. fawcetti</i> var. <i>scabiosa</i> ²⁰¹
モクセイ科		
<i>Jasminum sambac</i>	scab	<i>E. jasminae</i> ²⁵¹
<i>J. heterophyllum</i>	-	<i>E. jasmini</i> ²⁵¹
<i>Olea europae</i>	-	<i>S. oleae</i> ⁴⁴¹
<i>O. dioica</i>	-	<i>S. olea-dioicae</i> ²⁴⁹³

c) 記載文献不明, Review of applied Mycologyより

この最大の原因は、本属菌の分離・培養が困難であったため接種および再分離の作業が難しく、菌の記載・命名に当たって必ずしもゴッホの原則を満たすことができなかったためであろう。このことは、記載に当たっての報告の中に、病斑上における菌の形態や病徴についての記述はあっても、病原菌を分離・培養したり接種試験を行ったとの説明がほとんど見られないことから推測される。今後

種々の本属菌について詳細な研究が進められるにしたがい、現在の 180 種ほどと思われる種数はかなり少なくまとめられると考えられるが、これまでもこのような種をまとめた報告として 3 例が知られている。

すなわち、常谷および端山は、キリ (*Paulownia tomentosa*) とうそう病菌の *S. tsujii* と、アメリカキササゲ (*Catalpa bignonioides*) およびバナキササゲ (*C. speciosa*) のうそうか病菌の *S. catalpae* について比較を行い、*S. catalpae* を *S. tsujii* の異名と結論した¹¹⁰⁾。さらに常谷および端山は、ウド (*Aralia cordata*) に発生する *E. araliae*^{266, 267)}、タラノキ (*A. elata*) とヤツデ (*Fatsia japonica*) に発生する *S. araliae*^{111, 112)}、キヅタ (*Hedera rhombea*) に発生する *S. hederac*¹¹³⁾ について比較検討を行い^{110-114, 115)}、それぞれの形態と病原性が一致することを確認し、これら 4 種の植物の病原菌を *E. araliae* に統一した⁹⁷⁾。また Zeigler らは、トウダイグサ科植物を宿主とする 10 種の本属菌のうち、中南米に発生の認められた 5 種を、形態、培地上の簡単な性質および病原性に基つき、*E. brasiliensis* と *S. poinsettiae* の 2 種に整理している²⁶⁹⁾。

常谷および端山、Zeigler らのこれら研究は、余りに種数が多くややもすれば混乱を招きかねない本属菌既知種を、形態および病原性を基準として多少なりとも統一して行こうとするものであり、貧弱な本属菌の研究史中においては特筆すべきものと言えよう。これらの研究において注意すべきことは、同一種とされた病原菌が、必ずしも宿主植物として近縁な種を宿主としないことである。*S. catalpae* 以外の菌については同一属の植物間ではなく、属の異なる植物間において

病原性を示す菌が認められた。このことは *S. bidentis* とされる菌がコセンダングサ (*Bidens pilosa*) とコスモス (*Cosmos bipinnatus*) を侵し、コセンダングサより近縁のアメリカセンダングサには病原性を示さず、野外においてもコセンダングサと同属の多くの *Bidens* 属植物がどうか病に罹病しないという事実とも合致している。したがって今後本属菌の宿主範囲を検討するに当たっては、このような事実に十分注意すべきであろう。

なお、宿主範囲の検討に当たって最も必要とされ接種源の確保については、本研究においてその簡便な作製方法を開発した。これまでの本属菌の接種源については、菌叢自体を用いる以外に、菌叢を砕いたもの (端山, 私信)、罹病植物体¹⁸²⁾、罹病植物体上に形成された分生胞子^{1, 140)}、偶然培地上に形成された分生胞子^{180, 187)} および人工的に培地上で形成させた分生胞子^{57, 225, 249)} などがあつた。一般に本属菌の菌叢は肉質塊状でそのままでは検定植物上に固定しにくく、また培地上では分離後比較的短時間のうちに分生胞子形成能力を消失することから²²⁵⁾、罹病植物体やそこに形成された分生胞子を供試せざるを得なかった。その点、人工培地上に形成させた分生胞子を用いる高屋らの方法は非常に簡便であるが、分離後間もない新しい菌株が必要であり²²⁵⁾、Whiteside の方法はやや煩雑であつた²⁴⁹⁾。本研究で開発した方法は、非常に簡便であるだけでなく、長期にわたって継代培養されてきた菌株でも、十分な分生胞子を形成させることが可能で、今後本属菌各種の病原性検定において、大いに活用が期待されるものである。

本属菌は完全時代、不完全時代を通じて形状が非常に類似しており、大きさに多少の違いが見られるものの、少なくとも本研究に供試したいくつかの菌株について明確に類別することは不可能であった。また病原性については、ウコギ科植物における病原性についての研究事例にみられるように、常に一定の結果が得られるとは限らないし^{1) 97)}、前述したように、菌によっては原宿主に近縁な植物よりも、植物分類学的にはやや離れた種に対して病原性を示す事例も認められている^{189) 258)}。このため本属菌の記載・命名あるいは分類・同定に当たっては、あまりに厳密な類別を行ってしまうと、かえって混乱を招くことが予想されるので、せいぜい宿主植物の科を大きな単位とし、さらにこれを細分化するとしても、宿主植物の近縁さの度合に応じて最小限の類別にとどめることが適当ではないかと思われる。この意味においてはウコギ科という大きな枠を設けた端山の方式は妥当なものであり⁶⁷⁾、Zeiglerらの方法はこれでもまだ少し細かすぎる嫌いがあると思われる²⁵⁸⁾。

糸状菌の分類は例えば研究の進んでいる *Fusarium* 属菌の場合、多数の種を形態の違いによって少数に統合し、宿主の違いは分化型レベルでの取扱とされるようになった²¹⁸⁻²³⁸⁾。最近ではこの分類方式をさらに分子レベルで確認する研究が進められ、可溶性の全タンパクやリボゾームのタンパクの電気泳動パターン²⁴⁴⁾、リボゾームRNA塩基配列²⁴⁵⁾、反復DNAクローンによるDNA指紋法¹⁷⁶⁾による種や分化型の分類が試みられており、分化型、レース、交配型および栄養体親和性群^{26, 73, 181)}との関係も検討されている。

また *Rhizoctonia solani* では、近年菌糸融合群や栄養体親和性群²⁰⁷⁾による類別が行われ、形態的な視点以外からの研究が進められ、さらに最近、その菌糸融合群ごとに相互のDNA-DNA 相同性を比較し、菌糸融合群による類別と相同性による類別がよく一致したとの報告も行われた¹⁸¹⁻¹⁸³⁾。この様に、糸状菌の分類にも核酸レベルの対応がせまられているといえよう。

Sphaceloma (Elsinoe) 属菌の場合、既に述べてきたように、各種ごとの詳細な性質についての情報がほとんどなく、例えば *Fusarium* 属菌のような分化型の概念を導入したり、いきなり核酸レベルの方法で分類を行うことは困難であろう。したがって現時点においては、本属菌相互の類縁関係の大小を単に形態や宿主範囲だけでなく、種々の生理・生化学的手法により大まかに把握しておくことがきわめて重要と思われる。

本研究においては、わが国に新たに発生の認められた、いくつかの *Sphaceloma* (Elsinoe) 属菌による病害を命名するとともに、これらの病原菌を含む多くの本属菌間の類縁関係を明らかにしようと、栄養生理学および血清学的性状の比較や、可溶性タンパクの電気泳動パターンについての検討を行った。

本研究に供試した本属菌については、これまで一般に認められてきたとおり、特に形態的な差異を見いだすことは困難であった。ただ、ラッカセイそうか病菌 (*S. arachidis*) にだけ大型の分生胞子が見いだされ、他の供試菌については本属菌一般に認められる小型の分生胞子だけが認められた。この大型の分生胞子については、比較的乾燥した状態において見いだされるとの報告があり²⁸⁹⁻²⁹¹⁾、本

研究の供試菌についても何等かの環境要因の変化により、大型の分生胞子を形成する可能性があると思われる。なお、これまでの本属菌についての報告の中には、これら2種の分生胞子を同一のものとして扱ったため、既報の文献に記載された分生胞子の大きさととの比較を誤り、本来同一とされるべきものを別種として記載したのではないかとと思われる事例が認められた^{2) 15), 20) 9)}。

分離された菌叢の形状については、Jenkinsらが表記したconvolute型と呼ばれる肉質塊状の菌叢が認められた^{12), 19), 20)}。ほとんどの供試菌の菌叢は、色彩については淡黄褐色から濃赤褐色までの変異はあったが、形態的には差異がなかった。供試菌中では、ヤブマメそうか病菌の菌叢がやや特異的であり、タイズ黒とう病菌に類似した。ヤブマメそうか病菌は非常に生長が遅く、菌叢の色彩は黒とう病菌褐色で、生育も他の菌に比べて非常に遅く、ラッカセイそうか病菌の菌叢よりも弾力が少なかった。本菌はSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターンにおいても、菌叢形状での違いと同様にやや特異性が認められたが、血清学的性質や泳動パターンでかなり特異性の認められたサトウキビ白星病菌については、菌叢形状にそれほどの特異性は見られなかった。供試菌の菌叢の色彩は必ずしも一定ではなく、培地の栄養条件によってかなり変化し、形状においても貧栄養下においては、塊状の菌叢を形成しないこともあった。このことから、菌叢の形状や色彩を本属菌類別の基準にすることは困難であろう。

本研究において本属菌の生育温度、培地の水素イオン濃度につき詳細な研究を行った。これまでにこのような研究はほとんどなく、いくつかの新しい知見が得ら

れた。しかしこれらの結果から、本属菌の分類に特に有効な情報は得られなかった。

炭素源および窒素源による影響については、ヤブマメそうか病菌がやや特異的な生育を示した。本菌の生育状況は宿主植物が比較的近縁と思われる、ダイズ黒とう病菌やラッカセイそうか病菌とも大きく異なり、このことは可溶性タンパクのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターンにおいても示された。サトウキビ白星病菌については、ヤブマメそうか病菌ほどではないがやや特異性が認められ、この傾向は血清学および泳動パターンの比較による結果とよく一致した。また、宿主が異なるが種が同一とされた *E. araliae* の3菌株と *S. bidentis* の2菌株については、炭素源および窒素源による影響がほとんど同じで、さらに血清学および泳動パターンによる比較においても非常に類似した。このことは生理学的性質が、血清学的性質や電気泳動パターンに直接関与する酵素等のタンパク質の働きに由来するためであると思われる。

ビタミンについては、マメ科を宿主とするラッカセイそうか病菌とヤブマメそうか病菌に完全な要求性が認められ、このことはダイズ黒とう病菌と同様であった¹⁴⁰⁾。ビタミン要求性についてはこれまでにいくつかの糸状菌について報告され、ビオチンに対する要求性もわずかに認められているが¹⁶⁷⁾、その主なものはチアミンである^{170, 162)}。ビタミン要求性は宿主植物内の成分にかなり関係することが考えられ、宿主植物に依存した本属菌の性質の違いを反映したものであると思われる。

血清学的手法および電気泳動パターンによる比較においては、供試菌内においてはサトウキビ白星病菌がかなり特異的なものであり、他の供試菌は比較的類似していることが示唆された。また類似した中でも特に、同一種として扱われている菌株間における変異は非常に小さく、このことは炭素源や窒素源の利用状況においてと同様の結果を得ることができた。

近年糸状菌の抗血清についてはいくつかの事例が知られ、その多くは、簡易同定や植物組織または土壌中からの病原菌の検出を目的としている^{21, 22, 23, 24, 25}。本研究ではこのような目的とは異なり、Mathewらが*Rhizoctonia solani*の菌糸融合群内の菌株間の比較を行ったと同様¹⁶⁾、種間の類縁関係を考察するために抗血清を用いたが、あまり明瞭な結果を得ることはできなかった。サトウキビ白星病菌については、その宿主が唯一単子葉植物であるためか、本属菌の中で多くの性質においてかなり特異的であり、血清学的にもその違いを認めることができた。しかし他の供試菌については、必ずしもホモログな関係の場合において最も強い反応が得られるとは限らないなど、抗血清を本属菌間の類縁関係の検討に供試することが困難な状況が見られた。このことは、抗血清の抗原決定基がタンパク質以外の多糖類である場合が多いためと推測された。本属菌においては既に、チャ白星病菌(*E. leucospila*)の産生する多糖類として *elsinan* という物質が知られる²⁶⁾。本属菌はP S A等で培養を行うと、しばしば菌叢周辺に粘性物質を産生することがあり、この物質は *elsinan* と同じかまたは非常に近い物質ではないかと考えられる。このように菌体外に産生される物質が抗原決定基となり

うる場合、抗血清による反応の大小は、細胞質または細胞壁のような種の特異性と密接に関連するものとは比較的關係の小さい物質の産生量に大きく左右されることとなる。したがって、種間の差異がかなり大きい場合を除いて、本属菌の類縁関係を抗血清で検討することは非常に困難であると考えられた。しかしながら、ほとんどすべての種が同一抗血清に対してほぼ同様に反応したということは、本属菌の多くが非常に大きな類縁関係をもつとも解釈でき、今後は、試料としてタンパク質のみを精製したものを用いるなど手法を改善し、より一層明確な類縁関係の解明を行う必要がある。

電気泳動による比較については、抗血清による比較において問題となった多糖類の影響を排除することができた。しかしながら、本研究においては菌叢の磨砕液中の可溶性タンパクをすべて供試したため、得られたバンド数が非常に多く、特定のバンドの存在の有無を比較するといった明確な方式がとれず、単に全体的なバンドパターンが類似するか否かを検証するにとどまった。既に *Fusarium* 属菌においては、可溶性の全タンパクだけでなく、リボゾームのタンパクの電気泳動パターンによる比較検討が行われており^{28, 29)}、本属菌についての比較においても、細胞内の部位を限定したり、アイソザイム分析のように対象とするタンパクの数を少ないものとし、より明瞭に比較ができるよう考慮すべきであろう。アイソザイム分析によれば、既に種内の変異についてもある程度明らかになることが知られており³⁰⁾、本属菌のなかでも同一種でありながら分離源の異なる菌株についての比較を行うなど、興味深い考察が可能になると思われる。しかし、本研究にお

ける単純な方法においても、サトウキビ白星病菌は他の供試菌とかなり異なるパターンを示し、また分離源植物が異なっても同一種とされた菌については、かなり類似したパターンが得られ、本属菌の種の類別において電気泳動がかなり有効であることが認められた。このことから、比較対象とするタンパクの分子量の範囲を限定することにより、多数の本属菌についてある程度の類別を行うことは可能であると思われる。

本属菌はすべて植物病原菌であり、その同定・分類に当たっては菌の形状や種々の性質を明らかにするとともに、宿主を確認することが最も大切であることは言うまでもない。これまで宿主植物の属が異なることから別種扱いとされている多くの本属菌については、病原菌そのものの詳細な性質を明らかにするとともに、改めてその宿主範囲を十分に検討し、種名を再検討する必要があるものと思われる。特に同一科の植物を宿主とする複数の本属菌を対象としてこの作業を行えば、現在 180 種といわれる本属菌の種数は、はるかに少ないものとなるう。しかしながら、本属菌の宿主植物の多くを占める野生植物については遺伝的変異が大きい。また、本研究において供試したわずかな種の中においても、宿主として植物分類学的に近縁の植物を侵すのではなく、全く属の異なる別種間に病原性を示すものが存在した。このため、宿主範囲を明らかにすることは簡単なようで非常に困難な作業である。近年糸状菌の分類についても核酸レベルでの対応が迫られているが、本属菌においても近い将来は核酸レベルによる何等かの分類基準を策定していく必要があるう。

IX. 摘要

本研究においては、これまでわが国に発生の認められていなかった *Sphaeceloma* (Elsinoe) 属菌による2種の病害を明かにし、全く新たな宿主植物を1種追加し、またこれらの病原菌を含め、多数の本属菌についてその培地上の性質を明らかにするとともに、病原性検定に必要な接種源として、分生胞子を大量に形成させる方法を開発した。さらに各種菌について栄養生理学的、血清学的および可溶性タンパク質のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターンを比較し、形態的特徴に乏しい本属菌について、その種間の類縁関係について考察を加えることができた。

各種そうか病とその病原菌について

ラッカセイそうか病は1976年千葉県にわが国で初めて発生し、地上部全体に激しいそうか症状を伴い、茎葉部だけでなく子実への栄養補給路である子房柄が侵されるため、激発時には収量が半減する。葉の病徴は淡黄褐色で直径1~2mm程度の円形そうか病斑で、特に葉裏の葉脈に沿って多数形成され、時に数個の病斑が融合したり、病斑中央部が穿孔した。新葉部には萎縮や変形を生じ、茎や葉柄では複数の病斑が拡大融合し、不正形の大型病斑を形成した。病斑組織のクチクラ層直下には菌糸が層状に重なり合い、時に球~垂球形の多数の菌糸細胞が石垣状を呈し、クチクラ層を貫通して表面に露出して分生胞子層となり、ここに無色、

単胞，楕円形で大きさ $5 \sim 7 \times 3 \sim 4 \mu\text{m}$ の小型の分生胞子を多数形成した。また表面が乾燥しているときは，長さ $10 \sim 20 \mu\text{m}$ の分生胞子柄および無色で単胞または2胞，長楕円形～紡錘形の大型の分生胞子を少数形成した。本病罹病植物体からは常に，P S A 上で淡黄褐色，肉質塊状の肉質塊状菌叢が分離された。スライドカルチャー試料では，直径 $5 \mu\text{m}$ 前後の数珠玉状菌糸や病斑上と同様の形状の小型の分生胞子が観察された。本分離菌をラッカセイ，インゲンマメ，エンドウ，ツルマメ，ダイズ，アルファルファ，ササゲおよびソラマメに接種したところ，ラッカセイだけに病原性を示した。以上のような病徴，病原菌の形態，宿主範囲から，本病病原菌を *Sphaeceloma arachidis* Bitancouri and Jenkins と同定した。

コセンダングサそうか病は，1977年東京都文京区で見いだされ，その後神奈川県足柄郡中井町，埼玉県東松山市，埼玉県越谷市，和歌山県田辺市および東京都世田谷区等，ほぼ全国各地に分布することが明かとなった。本病の病徴は，葉では直径 $1 \sim 2 \text{mm}$ 程度の円形小そうか病斑で，病徴が進行すると複数の病斑が拡大・融合して大型の不正形病斑を形成したり，病斑中央部が穿孔した。茎頂部では萎縮や変形が起こり，花形も異常となった。茎や葉柄では小型の円形病斑が拡大・融合して大型の不正形病斑となり，組織の肥大や変形を引き起こした。病斑組織のクチクラ層直下には，太さ $5 \mu\text{m}$ 程度の菌糸の層が形成され，これがしばしば石垣状となって表面に露出して分生胞子層となった。分生胞子層上にはほぼ直接，無色，単胞，楕円形で大きさ $4 \sim 7 \times 3 \sim 4 \mu\text{m}$ の分生胞子が多数形成された。本病罹病植物体からは P S A 上で淡黄褐色，肉質塊状の菌叢が分離された。スライド

カルチャー試料では、直径 $5\mu\text{m}$ 前後の数珠玉状菌糸や、病斑上と同様の分生胞子が観察された。本分離菌をコセンダングサ、アメリカセンダングサ、キンセンカ、ヒャクニチソウ、レタス、シュンキクおよびキクに接種したところ、コセンダングサのみに病原性を示した。本病の病徴、病原菌の宿主および形態が一致することから、病原菌を *Sphaceloma bidentis* Bitancourt and Jenkins と同定した。

コスモスそうか病は、1985年神奈川県川崎市多摩区において見いだされ、その後茨城県取手市、東京都文京区、埼玉県越谷市、静岡県静岡市や大分県においても認められた。葉での病徴は、淡黄褐色のそうか病斑で、茎や葉柄ではそれらの拡大・融合による大型不正形病斑や、肥大・変形、奇形花も認められた。病斑組織のクチクラ層直下には太く短い菌糸が生育して層をなし、時に石垣状に盛り上がって表面に露出し分生胞子層を形成した。分生胞子層上には、無色、単胞、楕円形で大きさ $4\sim 7\times 3\sim 5\mu\text{m}$ の分生胞子が形成された。病斑組織からは、PSA 上で淡黄褐色で肉質塊状の菌叢が得られた。スライドカルチャー試料では、直径 $5\mu\text{m}$ 前後の数珠玉状菌糸や病斑上と同様の分生胞子が観察された。本分離菌とコセンダングサそうか病菌をコスモスとコセンダングサに接種したところ、いずれの場合にも本病の病徴が再現され、また両菌の形態が全く一致したことから、本分離菌はコセンダングサそうか病菌と同種であることが確認された。従って本病病原菌を *Sphaceloma bidentis* Bitancourt and Jenkins と同定した。

ウコギ科植物3種（ウド、タラノキおよびヤツデ）のそうか病罹病植物からそれぞれ病原菌を分離した。病原菌の形状はよく類似しいずれも *Sphaceloma* (Els-

(*inoe*) 属菌の特徴を示したため、これらを *E. arajiae* と確認した。病原性については、ウド由来の菌株はウドだけに、タラノキおよびヤツデ由来の菌株はタラノキとヤツデの双方に病原性を示した。その他ブドウ黒とう病 (*E. ampelina*)、ミカンそうか病 (*E. lawcetti*)、サトウキビ白星病 (*E. sacchari*)、アケビそうか病 (*S. akebiae*)、ヤブマメそうか病 (*S. kurozawana*)、スミレそうか病 (*S. violae*) およびケヤキそうか病 (*S. zelkovae*) について試料を採集し、それぞれの病原菌を分離・培養してその形状について比較を行った。これらの菌の形状はいずれも類似し、すべて *Sphaeceloma* (*Elsinbe*) 属菌の特徴を有しており、それぞれの病原菌であることを確認した。

分生胞子の大量形成

ラッカセイそうか病菌を各種天然物の煎汁を用いた寒天培地上で数日間培養し、その菌叢を水に浸漬して分生胞子形成を誘導したところ、ニンジン煎汁ショ糖加用培地において比較的多数の分生胞子を得ることができた。ウドおよびタラノキそうか病菌については、ジャガイモ煎汁ショ糖加用液体培地で振とう培養して形成された球状菌糸塊をジャガイモ小片上に乗せて数日間培養し、これを水中に浸漬して分生胞子形成を誘導したところ、 $2 \sim 4 \times 10^6$ spores/ml の高濃度の分生胞子懸濁液を得ることができた。またコセンダングサおよびコスモスのそうか病菌についても同様の方法を試み、懸濁液濃度は 10^5 spores/ml レベルでやや低かったが、噴霧接種によりそれぞれ明瞭な病原性を有することが確認された。

培地上における性状

Sphaceloma (Elsinor) 属菌はいずれも20~30℃の間でよく生育し、特に25℃前後で最も生育が良好であった。15℃においてもかなりの生育を示したが、35℃ではすべて死滅した。水素イオン濃度による影響では、ブドウ黒とう病菌がpH6.0~8.0、ラッカセイそうか病菌がpH4.0~7.0と比較的狭い範囲で生育良好であったが、他の供試菌はいずれもpH3.0~9.0までの広い範囲において生育良好であった。

炭素源については、シュクロース、マニトール、フルクトース等の添加区で全供試菌の生育が良好であった。グルコース添加区ではヤブマメそうか病菌の生育が不良で、ラクトース添加区ではサトウキビ白星病菌の生育が他よりも良好であった。ソルボース添加区ではサトウキビ白星病菌、ヤブマメそうか病菌およびスマレそうか病菌の生育が不良であった。窒素源についてはアラニン、アルギニン、アスパラギン、グルタミン酸ナトリウム、グリシン、ヒスチジン、プロリン、セリンおよびバリンの添加区で全供試菌が生育良好であり、クレアチン、システイン、ロイシン、メチオニン、タウリンおよびトリプトフェンの添加区で生育不良であった。イソロイシン添加区ではヤブマメそうか病菌とコセンダングサそうか病菌、フェニルアラニン添加区ではヤブマメそうか病菌、コセンダングサそうか病菌およびコスモスそうか病菌、尿素添加区ではヤブマメそうか病菌、無機窒素源添加区ではヤブマメそうか病菌およびコスモスそうか病菌での生育が、他の供試菌より不良であった。

炭素源および窒素源の利用状況では、コセンダングサそうか病菌とコスモスそうか病菌が類似し、ウド、タラノキおよびヤツデのそうか病菌3菌株の生育状況も類似した。またヤブマメそうか病菌とサトウキビ白星病菌の生育状況がやや特異的であったが、全体を通じて大きな差異は認められなかった。ラッカセイそうか病菌およびヤブマメそうか病菌には、チアミン要求性が認められた。またサトウキビ白星病菌、ウド、タラノキおよびヤツデそうか病菌ではチアミンによる生育促進作用が認められた。

血清学的手法による比較

ゲル内二重拡散法にはサトウキビ白星病菌、ラッカセイそうか病菌およびコスモスそうか病菌に対して作製したポリクローナルな抗血清を供試した。サトウキビ白星病菌に対する抗血清はホモロガスな関係だけで強い反応が得られたが、コスモスそうか病菌に対する抗血清は全ての供試菌株と強く反応した。ラッカセイそうか病菌に対して作製した抗血清は、ホモロガスな関係以外に、ヤブマメそうか病菌、コスモスそうか病菌、タラノキそうか病菌、コセンダングサそうか病菌、ミカンそうか病菌およびタラノキそうか病菌の一部の菌株とも強く反応した。酵素結合抗体法にはコスモスそうか病菌、サトウキビ白星病菌およびヤツデそうか病菌に対する抗血清を用いた。サトウキビ白星病菌に対する抗血清はホモロガスな関係だけで強い反応を示し、コスモスそうか病菌に対する抗血清はほとんどの供試菌と強い反応を示したが、ヤツデそうか病菌に対する抗血清は、いずれの供

試菌に対しても反応が弱かった。

可溶性タンパクのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動による比較

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により、分子量22,000以上66,000以下の部分を対象とし、各供試菌株の泳動パターンを比較した。コセンダングサそうか病菌およびコスモスそうか病菌はパターンが非常によく類似し、ウド、タラノキおよびヤツデのそうか病菌3種のパターンもかなり類似した。サトウキビ白星病菌の泳動パターンは他の供試菌とやや異なったが、その他の供試菌については特に大きな差異を認めることはできなかった。

以上本属菌の十数種につき諸性質の比較試験を行った結果、これまで主として宿主範囲から同一種とされてきた菌は、栄養生理学的性質、血清学的性質および可溶性タンパク質の電気泳動パターンがかなり類似することが判明した。このことから、本属菌各種については病原性を中心とした種々の性質を十分に検討することにより、原則として宿主植物の科レベルで大きな類別が可能となることが示唆された。

IX. 参考文献

- 1) 赤池良久・浅利 寛・内田 勉(1985). タラノキそうか病の発生と対策. 関東
病虫研報 32:124-126.
- 2) Alexopoulos, C. J. (1962). Form-class deuteromycetes the imperfect fungi.
In Introductory Mycology 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York. pp.
387-425.
- 3) Alexopoulos, C. J. (1962). Sub-class loculoascomycetidae the asco-
stromatic fungi. In Introductory Mycology 2nd ed. John Wiley & Sons,
Inc., New York. pp. 364-368.
- 4) Alexopoulos, C. J. (1979). Class ascomycetes subclass loculoascomycetidae
the asacostromatic fungi. In Introductory Mycology 3rd ed. John Wiley
& Sons, Inc., New York. pp. 393-413.
- 5) 有江 力・難波成任・山下修一・土居養三(1988). アブラナ科野菜根こぶ病
菌(*Plasmodiophora brassicae* Woron.) 休眠分生胞子の蛍光抗体法による土
壌および植物体からの検出. 日植病報 54:242-245.
- 6) Arnaud, G. and Bitancourt, A. A. (1949). The perfect stage of the fungus
causing spot anthracnose of *Arbutus unedo* L. Mycologia 41:320-322.
- 7) 浅田泰次(1956). 秋落稲の胡麻葉枯病罹病性に関する研究 第1報 病原菌の
必須ビタミン類, 微量元素並びに最適合成培地. 日植病報 21:68-70.
- 8) Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (1972). *Sphaceloma, Colletotrichum, Gloeo-*
sporium. In Illustrate Genera of Imperfect Fungi 3rd ed. Burgess Publ.
Co. Minneapolis. pp. 200-201.
- 9) Barrus, M. E. and Horsfall, J. G. (1928). Preliminary note on snowberry
anthracnose. Phytopathology 18:797-801.
- 10) Bary, A. De (1973). Ueber den sogenannten Brunnen (Pech) der Reben. Ann.
Oenol. 4:165-167.
- 11) Basu, T. K. and Nandi, B. (1975). Effect of different carbon sources on
growth, sporulation and production of toxic metabolism in culture of
Sphaceloma curcuma. Indian Phytopathology 27:648-649. (RPP55:4236.)

- 12) Bates, G. E. (1957). Botany and plant pathology. In Rep. Minst. Agric. Rhod. Nyasaland. 1956-6. pp. 79-86. (RAM37:135.)
- 13) Bates, G. E. (1958). Report of the department of research and specialist services (South Rhodesia) for the year ended 30th September, 1957. In Rep. Minst. Agric. Rhod. Nyasaland. 1956-7. pp. 7-86. (RAM38:298-296.)
- 14) Beckman, C. H., Kuntz, L. E. and Ricker, A. J. (1953). The growth of the oak wilt fungus with various vitamins and carbon and nitrogen sources. *Phytopathology* 43:441-447.
- 15) Bitancourt, A. A. (1934). Relacao das doencas e fungos parasitas observados na seccao de fitopatologia durante os annos 1931 e 1932. *Arq. Inst. Biol.* 5:185-196.
- 16) Bitancourt, A. A. (1937). Novas especies de Sphaeceloma sobre Terminalia e Genipa. *Arq. Inst. Biol.* 8:197-200.
- 17) Bitancourt, A. A. (1937). Relacao das doencas e fungos parasitas observados na seccao de fitopatologia durante os annos 1931 e 1932. *Arq. Inst. Biol.* 8:315-322.
- 18) Bitancourt, A. A. (1945). Novas especies Sul-Americanas do genero Elsinoe. *Arq. Inst. Biol.* 16:19-26.
- 19) Bitancourt, A. A. and da Costa (neto), J. P. (1950). Elsinoaceae do Rio Grande do Sul. *Arq. Inst. Biol.* 20:29-34.
- 20) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1936). Perfect stage of two sweet orange fruit scab fungus. *Mycologia* 28:489-492.
- 21) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1936). Elsinoe fawcetti, the perfect stage of the citrus scab fungus. *Phytopathology* 26:393-396.
- 22) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1937). Sweet orange fruit scab caused by Elsinoe australis. *J. Agric. Res.* 54:1-18.
- 23) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1937). Ciclo evolutivo de Elsinoe australis Bitancourt and Jenkins, agente da verrugose da laranja doce. *Arq. Inst. Biol.* 10:129-146.
- 24) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1939). "Elsinoe theae n. sp.". agenta

- da verrugosa do chá. Arq. Inst. Biol. 10:193-198.
- 25) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1940). Novas espécies de 'Elsinoe' e 'Sphaeceloma', sobre hospedes de importância económica. Arq. Inst. Biol. 11:45-58.
- 26) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1941). Trez novas espécies de 'Elsinoe' do Brasil. Arq. Inst. Biol. 12:1-20.
- 27) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1942). New discoveries of myriangiales in the Americas. Proc. 8th Amer. Sci. Congr., 1940. 3:151-172.
- 28) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1943). Elsinoe viticola. Mycologia 35:510-516.
- 29) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1946). A verrugosa da mangueira. Arq. Inst. Biol. 17:205-228.
- 30) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1949). Estudos sobre as miriangiales. I. - Dez novas espécies de elsinoaceas descobertas no Brasil. Arq. Inst. Biol. 19:93-110.
- 31) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1949). Estudos sobre as miriangiales. II. - Vinte novas espécies de elsinoaceas neotropicas. Arq. Inst. Biol. 20:1-28.
- 32) Bitancourt, A. A. and Jenkins, A. E. (1956). Estudos sobre as miriangiales VIII - A antracnose maculada de seringueira, causada por Elsinoe. Arq. Inst. Biol. 23:41-66.
- 33) Blank, L. and Taylor, P. J. (1941). The carbon utilization and carbohy-drase activity of Phymatotrichum omnivorum. Am. J. Bot. 28:564-569.
- 34) Booth, C. (1971). Introduction to general methods. In Methods in Microbiology IV. Academic Press, London. pp. 1-48.
- 35) Booth, C. (1971). Fungal culture media. In Methods in Microbiology IV. Academic Press, London. pp. 49-94.
- 36) Bruner, S. C. and Jenkins, A. E. (1933). Identity and relations of the Elsinoe of lima bean. J. Agric. Res. 47:783-789.
- 37) Burkholder, W. H. (1917). The perfect stage of Gloeosporium venetum.

- Phytopathology 7:83-91.
- 38) C.A.B. (1968). Plant host-pathogen index to volume I-40 (1922-61). in Review of Applied Mycology vol.40.
- 39) Calam, C.T. (1971). The evaluation of mycelial growth. in Methods in Microbiology IV. Academic Press, London. pp.567-581.
- 40) Cheo, C.C. and Jenkins, A.E. (1945). Elsinoe and Sphaceloma diseases in Yunnan, China, particularly hyacinth bean scab and scab on castor bean. Phytopathology 35:337-352.
- 41) 千葉県農業試験場(1978).昭和52年度作物病虫害防除に関する試験成績.千葉県農試病虫害研究室資料 104:1-188.
- 42) Christensen, J.J. and Graham, T.W. (1934). Physiological specialization and variation in Helmithosporium gramineum Rab. Minn. Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. 95:1-40.
- 43) Ciccarone, A. (1959). A antracnose maculada da amendoeira (Prunus amygdalus Batch.). causada por Sphaceloma siculum n.sp. Arq. Inst. Biol. 26:11-16.
- 44) Ciccarone, A. (1959). Nuovi parassiti dell' olive e del mandorlo. Ital. Agric. 96:202-204. (RAM38:760.)
- 45) Clark, M.F. and Adams, A.N. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-483.
- 46) Correll, J.C. (1991). The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in Fusarium oxysporum. Phyto-pathology 81:1061-1064.
- 47) Costa, A.S. and De Souza, O.F. (1941). Nota sobre verrugose do amendoinzeiro. Arq. Inst. Biol. 7:347-349.
- 48) Cox, R.S. (1954). Effect of temperature on the development of downy mildew of lima bean. Phytopathology 44:325-327.
- 49) Creelman, D.W. (1956). Spot anthracnose of linden. Mycologia 48:552-557.
- 50) Cruz, B.P.B., Figueiredo, M.B. and Almeida, E. (1962). Chief diseases and

- pests of groundnut in Sao Paulo state. Arq. Inst. Biol. 28:189-195.
- 51) Cruz, B. P. B., Silveira, A. P. Da, Silveira, S. G. P. Da and Tella, R. De (1967).
Nota preliminar sobre asuseptibilidade de variedades e hebridos de
amendoim a algumas molesrias da falhagem. Arq. Inst. Biol. 33:191-195.
- 52) Cunningham, H. S. (1928). Histology of the lesions produced by
Sphaceloma fawcettii Jenkins on leaves of citrus. Phytopathology 18:
539-545.
- 53) Emechebe, A. M. (1980). Scab disease of cowpea (*Vigna unguiculata*)
caused by *Sphaceloma* a species of the fungus. Ann. Appl. Biol. 96:11-16.
- 54) 園芸学会 (1979). 園芸学用語集園芸作物名編. 養賢堂, 東京. 82pp.
- 55) Ezekiel, W. N., Taubenhaus, J. J. and Fudge, J. F. (1934). Nutritional
requirements of the root-rot fungus, *Phymatotrichum omnivorum*. Plant
Physiol. 9:187-216.
- 56) Paris, M. A., Sado, F. E. and Cloutier, Y. (1985). Intraspecific variation
in gel electrophoresis patterns of soluble mycelial proteins of
Phytophthora megasperma isolated from alfalfa. Can. J. Bot. 64:262-265.
- 57) 福田徳治・高屋茂雄 (1977). 接種試験による茶白星病の発病条件の検討. 茶業
技術研究 52:1-7.
- 58) Gardner, D. E. and Hodges, C. S. Jr. (1986). Hawaiian forest fungi. VII. a
new species of *Elsinoe* on native *Vaccinium*. Mycologia 78:506-508.
- 59) Gleason, M. L., Ghabriel, S. A. and Ferriss, R. S. (1987). Serological
detection of *Phomopsis longicola* in soybean seeds. Phytopathology 77:
371-375.
- 60) 五味唯孝 (1976). 八重山群島に発生するサトウキビの病害について. 九病虫研
会報 22:56-57.
- 61) 後藤和夫 (1937). 鹿児島県奄美大島に蔓延する甘藷の縮芽病. 日植病報 7:143
-145.
- 62) 後藤和夫・小林茂子 (1956). ニンジンの瘡癰病について. 日植病報 21:39-40.
(講要)
- 63) Grodzinsky, L. and Jenkins, A. E. (1943). *Sphaceloma murrayae* en diversas

- especies de salix. Rev. Argentina Agr. 10:55-58.
- 64) Hanna, W.P. (1928). A simple apparatus for isolating single spores. Phytopathology 18:1017-1021.
- 65) Hansford, C. G. (1938). Annual report of the plant pathologist, 1936. Rep. Dep. Agric. Uganda, 1936-37. 11. pp. 43-49. (RAM17:295-297.)
- 66) 原 摂祐 (1936). *Sphaceloma* de Bary. 日本害菌学. 養賢堂, 東京. pp. 302-303.
- 67) 端山重雄・常谷幸雄 (1971). ウドの瘡癰病菌について. 東農大農学集報特別号 創立80周年記念論文集. pp. 35-38.
- 68) Hibino, H. and Kimura, I. (1982). Detection of rice ragged stunt virus in insect vectors by enzyme-linked immunosorbent assay. Phytopathology 72:656-659.
- 69) 広川 敢 (1965). 茶白星病の病原菌について. 茶業技術研究 30:31-38.
- 70) 池田修一・奥田誠一・根岸寛光・夏秋知英・寺中理明・土居登二 (1991). 栃木県におけるラッカセイそうか病の発生と病原菌の性状. 関東病虫研報 38: 37-39.
- 71) Ishii, K. (1970). Development of thiophanate (Topsin), thiophanate-methyl (Topsin M), Japan Pesticide Information 7:27-31.
- 72) Jacobson, D. J. and Gordon, T. R. (1991). *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*: A case study of diversity within a formae speciales. Phytopathology 81:1064-1066.
- 73) Jenkins, A. E. (1925). The citrus scab fungus. Phytopathology 15:99-104.
- 74) Jenkins, A. E. (1931). Scab of *Canavalia* caused by *Elsinoe canavaliae*. J. Agric. Res. 42:1-12.
- 75) Jenkins, A. E. (1931). Lima-bean scab caused by *Elsinoe*. J. Agric. Res. 42:13-23.
- 76) Jenkins, A. E. (1932). *Elsinoe* on apple and pear. J. Agric. Res. 44:689-700.
- 77) Jenkins, A. E. (1932). Rose anthracnose caused by *Sphaceloma*. J. Agric. Res. 45:321-337.
- 78) Jenkins, A. E. (1933). Additional studies of species of *Elsinoe* and *Sphaceloma*. Mycologia 25:213-220.

- 79) Jenkins, A.E. (1933). Application of the terms "anthracnose" and "scab" of plant disease by Sphaceloma and Gloeosporium. Phytopathology 23: 389-395.
- 80) Jenkins, A.E. (1933). A Sphaceloma attacking navel orange from Brazil. Phytopathology 23:538-545.
- 81) Jenkins, A.E. (1934). Sphaceloma perseae the cause of avocado scab. J. Agric. Res. 49:859-869.
- 82) Jenkins, A.E. (1935). Comparacoes culturais e inoculacoes em videira com oss fungus "Elsinoe fawcetti", "Elsinoe ampelina" e "Elsinoe veneta". Arq. Inst. Biol. 7:23-32.
- 83) Jenkins, A. E. (1936). Australian citrus scab caused by Sphaceloma fawcetti scabiosa. Phytopathology 26:195-197.
- 84) Jenkins, A.E. (1936). New species of Sphaceloma on Aralia and Mentha. Jour. Wash. Acad. Sci. 27:412-414.
- 85) Jenkins, A.E. (1938). Two new species of Sphaceloma diseases in the United States. Phytopathology 34:981-983.
- 86) Jenkins, A.E. (1945). Scab of Cinchona in South America caused by Elsinoe. Jour. Wash. Acad. Sci. 35:344-352.
- 87) Jenkins, A.E. (1961). Estudos sobre as mirianguais. XI Sphaceloma sp. sobre ameixeira (Prunus domestica L.). Arq. Inst. Biol. 28:251-254.
- 88) Jenkins, A. E. and Bitancourt, A. A. (1938). An Elsinoe causing an anthracnose on Hicoria pecan. Phytopathology 28:75-78.
- 89) Jenkins, A.E. and Bitancourt, A.A. (1938). Ilustracoes das doencas causadas por <<Elsinoe>> e <<Sphaceloma>> conhecidas na America do Sul do Sulate Janeiro de 1936. Arq. Inst. Biol. 11:31-60.
- 90) Jenkins, A.E. and Bitancourt, A.A. (1941). Revised description of the genera Elsinoe and Sphaceloma. Mycologia 33:338-340.
- 91) Jenkins, A.E. and Bitancourt, A.A. (1944). Identodate do hospedeiro de "Elsinoe boehmeriae Bitanc. & Jenkins". Arq. Inst. Biol. 15:343-344.
- 92) Jenkins, A.E. and Bitancourt, A.A. (1946). Obsrvacoes sobre especies

- do genero "Elsinoe" de Uganda. Arq. Inst. Biol. 17:47-54.
- 93) Jenkins, A. E. and Bitancourt, A. A. (1946). Duas verrugoses do cha. causadas por "Elsinoe" e sua distribuicao. Arq. Inst. Biol. 17:67-72.
- 94) Jenkins, A. E. and Bitancourt, A. A. (1937). Studies on the myriangiales VII. Elsinoe on evergreen eucynus, rose and English ivy. Mycologia 49:95-101.
- 95) Jenkins, A. E., Bitancourt, A. A. and Cheo, C. C. (1941). Description of Elsinoe dolichf n. sp. and Sphaceloma ricini n. sp. Jour. Wash. Acad. Sci. 31:415-417. (RAM21:45.)
- 96) Jenkins, A. E., Bitancourt, A. A. and Goidanich, G. (1957). Estudos sobre as miriangiales IX. - Elsinoe sobre carvalho (Quercus spp.). Arq. Inst. Biol. 23:117-123.
- 97) Jenkins, A. E., Bitancourt, A. A. and Pollack, F. G. (1946). Spot anthracnose in the Pacific coast states. Jour. Wash. Acad. Sci. 36:416-421.
- 98) Jenkins, A. E. and Grodinsky, L. (1943). Sphaceloma on willow in New Zealand. Trans. Brit. mycol. Soc. 26:1-3.
- 99) Jenkins, A. E. and Horsfall, J. G. (1929). A comparison of two species of Plectodiscella. Mycologia 21:41-51.
- 100) Jenkins, A. E. and Miller J. H. (1952). A new species of Sphaceloma on Magnoliae. Jour. Wash. Acad. Sci. 42:323-325.
- 101) Jenkins, A. E., Polhamus, L. G. and Hill, H. H. (1939). New hosts and distribution of Elsinoe solidaginis. Phytopathology 29:970-973.
- 102) Jenkins, A. E. and Ruele, G. (1942). A new species of "Sphaceloma" on poinsettia. Proc. Biol. Soc. Wash. 35:83-84.
- 103) Jenkins, A. E. and Shear, C. L. (1946). Gloeosporium venetum and G. necator : two distinct species on Rubus. Phytopathology 36:1043-1048.
- 104) Jenkins, A. E. and Ukkelberg, H. G. (1935). Scab of goldenrod caused by Elsinoe. J. Agric. Res. 6:515-525.
- 105) Jenkins, A. E. and Viegas, A. P. (1943). Stem and foliage scab of sweet potato. Jour. Wash. Acad. Sci. 33:244-249.

- 106) 常谷幸雄(1932). 柑橘瘡癰病についての知見(予報). 病虫雑 19:215-221.
- 107) 常谷幸雄(1932). 柑橘の瘡癰病についての知見(予報)(二). 病虫雑 19:215-221.
- 108) 常谷幸雄(1953). *Sphaceloma* 属菌の寄生によるキササゲの瘡癰病について. 日植病報 17:168. (講要)
- 109) 常谷幸雄(1958). アメリカキササゲの黒痘病について. 植物研究雑誌 33:278-284.
- 110) 常谷幸雄・端山重男(1958). 再び *Sphaceloma* 属菌の寄生するキササゲ属の一病害について. 日植病報 23:24. (講要)
- 111) 常谷幸雄・端山重男(1959). わが国における *Sphaceloma* 属菌によるウコギ科植物の瘡癰病に就て. 日植病報 24:20. (講要)
- 112) 常谷幸雄・端山重男(1959). ヤツデの瘡癰病について. 日植病報 24:38. (講要)
- 113) 常谷幸雄・端山重男(1959). キヅタ(*Hedera rhombea* S. et Z.) の瘡癰病について. 日植病報 24:49. (講要)
- 114) 常谷幸雄・端山重男(1960). 再び *Sphaceloma* 属菌によるウコギ科植物の瘡癰病について. 日植病報 25:37. (講要)
- 115) 常谷幸雄・端山重男(1960). スミレの瘡癰病菌 *Sphaceloma viole* Jenk. の日本産スミレ属植物に対する寄生性. 日植病報 25:46. (講要)
- 116) 常谷幸雄・端山重男(1965). キヅタのそうか病について. 東農大一般教育学術集報 3:16.
- 117) Kajiwaru, T. and Mukelar, A. (1976). Mung bean scab by *Elsinoe* in Indonesia. Contr. Centr. Res. Inst. Agric. Bogor 23:1-12.
- 118) 梶原敏宏・Mukelar, A.・Sudjadi, M. (1976). インドネシアにおけるmung bean (*Phaseolus aureus*) scab の発生と薬剤防除試験. 日植病報 42:108. (講要)
- 119) Katsuki, S. (1953). Notes on parasitic fungi of Yaku-Island. Journ. Jap. Bot. 28:279-288.
- 120) Katsuki, S. (1953). Notes on some new noteworthy fungi in Kyushu (6). Kyushu Agric. Res. 12:53-54.

- 121) 香月繁孝(1955). 屋久島産植物体寄生菌「フロラ」に就て(1). 植物研究雑誌 30:282-288.
- 122) 香月繁孝(1955). 屋久島産植物体寄生菌「フロラ」に就て(2). 植物研究雑誌 30:370-376.
- 123) 香月繁孝(1957). 数種の瘡痂病に関する来歴と学名. 植物防疫 11:397-398.
- 124) Katsuki, S. (1965). Miscellaneous notes on myriangiales from Japan IV. Trans. mycol. Soc. Japan 6:52-54.
- 125) 勝本 謙 (1992). *Sphaceloma* de Bary - Deuteromycotina, Coelomyces, Melanconiales, Melanconiaceae. 植物病原菌類図説. 全国農村教育協会, 東京. pp.406-407, 544.
- 126) 君島悦夫・西尾 健・高山睦雄・長尾記明(1984). *Phytophthora*属菌の血清学的検出法および同定法に関する研究 III. ELISAによる植物組織中の *Phytophthora syringae* Kieb. の検出. 植防研報 20:1-6.
- 127) Kishi, K. (1972). Evaluation of candidate pesticides and fungicides : fruit trees. Japan Pesticide Information 12:21-23.
- 128) Kitagawa, T., Sakamoto, Y., Furumi, K. and Ogura, H. (1989). Novel enzyme immunoassays for specific detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and for general detection of various *Fusarium* species. Phytopathology 79:162-165.
- 129) 北日本病害虫研究会(1957). 大豆黒とう病に関する研究. 北日本病害虫研究会特別報告 4:1-124.
- 130) 小林享夫(1992). *Elsinoe* Raciborski-Ascomycotina, Loculoascomycetes, Dothideales, Elsinoaceae. 植物病原菌類図説. 全国農村教育協会, 東京. pp.192-193.
- 131) Kuninaga, S. and Yokozawa, R. (1982). DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuehn I. genetic relatedness within anastomosis group 1. Ann. Phytopath. Soc. Japan 48:659-667.
- 132) Kuninaga, S. and Yokozawa, R. (1982). DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuehn II. genetic relatedness within anastomosis group 2. Ann. Phytopath. Soc. Japan 48:668-673.

- 133)Kuninaga, S. and Yokozawa, R. (1983). DNA base sequence homology in Rhizoctonia solani Kuehn III. genetic relatedness within AG-3, AG-5, AG-7 and AG-BI. Ann.Phytopath.Soc.Japan 49:647-652.
- 134)Kuninaga, S. and Yokozawa, R. (1984). DNA base sequence homology in Rhizoctonia solani Kuehn IV. genetic relatedness within AG-4. Ann. Phytopath.Soc.Japan 50:322-330.
- 135)Kuninaga, S. and Yokozawa, R. (1984). DNA base sequence homology in Rhizoctonia solani Kuehn V. genetic relatedness within AG-6. Ann. Phytopath.Soc.Japan 50:346-352.
- 136)Kuninaga, S. and Yokozawa, R. (1985). DNA base sequence homology in Rhizoctonia solani Kuehn VI. genetic relatedness among seven anastomosis groups. Ann.Phytopath.Soc.Japan 51:127-132.
- 137)Kuninaga, S. and Yokozawa, R. (1985). DNA base sequence homology in Rhizoctonia solani Kuehn VII. genetic relatedness between AG-BI and other anastomosis groups. Ann.Phytopath.Soc.Japan 51:133-138.
- 138)倉田 浩(1958). 大豆黒とう病菌の栄養生理ⅡビタミンB₁の生合成過程. 日植病報 23:14-15. (講要)
- 139)倉田 浩(1958). 大豆黒とう病菌の栄養生理Ⅰ特にビタミンの要求性について. 日植病報 23:36. (講要)
- 140)倉田 浩(1960). ダイズの糸状菌に関する研究. 農技研報C 12:1-154.
- 141)Kurata, H. and Kuribayashi, K. (1954). Soy bean scab caused by Sphaceloma glycines sp. nov. Ann.Phytopath.Soc.Japan 18:110-121.
- 142)黒沢英一(1939). 日本産そうか病菌について. 日植病報 9:129-133.
- 143)黒沢英一・香月繁孝(1955). 有用植物をおかす痘瘡病菌(1). 植物防疫 9: 367-368.
- 144)Kurosawa, E. and Katsuki, S. (1956). Miscellaneous notes on Myriangiales from Japan (I). Ann.Phytopath.Soc.Japan 21:13-16.
- 145)Kurosawa, E. and Katsuki, S. (1956). Miscellaneous notes on Myriangiales from Japan II. Bot.Mag.Tokyo 69:315-318.
- 146)Kurosawa, E. and Katsuki, S. (1957). Miscellaneous notes on Myriangiales

- from Japan III. Bot. Mag. Tokyo 70:131-136.
- 147) Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227:680-685.
- 148) Lasca, C.C. (1978). Estudos sobre a flora fungica de sementes de feijao (Phaseolus vulgaris L.). Arq. Inst. Biol. 44:125-134.
- 149) Lesvier, F.W., Leal, J. and Brewer, C.R. (1947). Nutrient studies on Piricularia oryzae. J. Bact. 54:401-408.
- 150) Leonian, L.H. and Lilly, V.G. (1938). Studies on the nutrition of fungi. I. thiamin, its constituents, and the source of nitrogen. Phytopathology 28:531-548.
- 151) Leslie, J. F. (1991). Mating population in Gebberella fujikuroi (Fusarium section Lesioia). Phytopathology 81:1058-1060.
- 152) Lewis, R. W. (1952). The vitamin nutrition of Alternaria solani. Phytopathology 42:657-659.
- 153) Lewis, R. W. (1957). Aminoacid nutrition of Alternaria solani. Phytopathology 47:121-125.
- 154) Limber, D.P., Pollack, A.E. and Jenkins, A.E. (1946). Elsinoe discovered on Sesbania and Cinnamomum in the United States. Mycologia 38:463-472.
- 155) Linfield, C.A. (1986). A comparison of the effects of temperature on the growth of Fusarium oxysporum f.sp. narcissi in solid and liquid media. Phytopath. Z. 116:278-281.
- 156) Lo, T.C. (1957). A new disease (white speck disease) of sugar cane in Taiwan. Taiwan Prov. Coll. Agr., J. Agr. For. 6:70-73.
- 157) Lo, T.C. (1964). Elsinoe stage of Sphaceloma sacchari. Proc. Biol. Sci. Wash. 77:1.
- 158) Malka, I., Erwin, D.C., Moje, W. and Jones, B. (1966). Effect of pH and carbon and nitrogen sources on the growth of Verticillium albo-atrum. Phytopathology 56:401-406.
- 159) Mason, D.L. and Buchs, M.P. (1969). Host-parasite relations in spot

- anthracnose of Desmodium. Mycologia 61:1124-1141.
- 160) Mason, D. L. and Willison, C. L. (1978). Fine-structure analysis of host-parasite relations in the spot anthracnose of Desmodium. Phytopathology 68:65-73.
- 161) Mathew, J. S. and Brooker, J. D. (1991). The isolation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies to anastomosis group 8 of Rhizoctonia solani. Plant Pathology 40:67-77.
- 162) 松田鋤男(1977). シソそうか病(新称)について. 日植病報 43:115. (講要)
- 163) 松田鋤男(1980). シソのソウカ病. 今月の農薬 1980(2):24-28.
- 164) Matsuyama, N. and Kozaka, T. (1971). Comparative gel electrophoresis of soluble proteins and enzymes of rice blast fungus Pyricularia oryzae Cav. Ann. Phytopath. Soc. Japan 37:259-265.
- 165) Miller, J. H. (1957). Elsinoe on southern red oak. Mycologia 49:277-279.
- 166) Miller, J. H. and Jenkins, A. E. (1955). A new species of Elsinoe on southern magnolia. Mycologia 47:104-108.
- 167) Milton, J. M. and Isaac, I. (1967). Studies on a biotin requiring strain of Verticillium dahliae. Trans. Brit. mycol. Soc. 50:539-547.
- 168) Misaki, A. and Tsumuraya, T. (1980). Structure and enzymatic degradation of elsinan, a new α -d-glucan produced by Elsinoe leucospila. In Fungal Polysaccharides. Amer. Chem. Soc., Washington, D. C. pp. 197-220.
- 169) 三沢正生・加藤 盛(1955). 稲小粒菌核病菌の生理 窒素代謝について. 日植病報 19:125-128.
- 170) 三沢正生・加藤 盛(1955). 稲小粒菌核病菌の生理(II)生育因子について. 日植病報 20:65-70.
- 171) Mukel, A. (1984). Studies on mung bean scab. Ph.D. Thesis. Tokyo Univ. Agric., Tokyo, Japan. 150pp.
- 172) Mukei, A., Sudjadi, M. and Kajiwar, T. (1976). Chemical control for mung bean scab. Contr. Cntr. Res. Inst. Agric. Bogor 24:1-7.
- 173) Muthappa, B. N. (1965). A new species Sphaceloma on cardamon from India. Sydowia 19:143-145. (RAM46:1061.)

- 174) 長井雄治・深見正信・竹内妙子(1985). ラッカセイそうか病の発生生態と防除に関する研究 第1報 発生生態. 千葉農試研報 26:101-111.
- 175) 長井雄治・深見正信・竹内妙子・村田明夫(1987). ラッカセイそうか病の発生生態と防除に関する研究 第2報 防除対策. 千葉農試研報 28:79-86.
- 176) 並木史郎・堀見敏樹・植村鶴雄・梅川 学・柘植尚志(1992). 反復DNAフingerprint法によるウリ科植物つる割病菌分化型間の遺伝的類縁性の解析. 日植病報 58:541. (講要)
- 177) Narashiman, M. J., Wani, D. D. and Thirumalachar, M. J. (1969). Studies on Elsinoe and Sphaceloma diseases of plants from Maharashtra (India). III. Sydowia 23:247-251. (RPP50:2207)
- 178) Nattras, R. M. (1957). Annual report of Department of Agriculture, Kenya, 1955. pp.1-237. (RAM37:135.)
- 179) Nattras, R. M. (1961). Host lists of Kenya fungi and bacteria. Mycological Paper 81:1-46. (RAM41:372.)
- 180) 根岸寛光(1986). センダングサ属植物のそうか病について. 東農大農学集報 31:111-118.
- 181) 根岸寛光(1987). コスモスそうか病. 原色新しい病害虫1987/1988. 全国農村教育協会, 東京, p.32.
- 182) 根岸寛光・沼田京太・林 義貴・山口智則・陶山一雄・藤井 博(1992). 数種の Sphaceloma 属菌の抗血清および電気泳動による比較. 日植病報 58:541. (講要)
- 183) 根岸寛光・小川慎治・石本ゆに・陶山一雄・藤井 博(1991). Verticillium dahliae 抗血清の反応特性. 日植病報 57:427. (講要)
- 184) 根岸寛光・陶山一雄(1993). 各種 Sphaceloma (Elsinoe) 属菌の培地上における諸性質(1). 東農大農学集報 38. (印刷中)
- 185) 根岸寛光・陶山一雄(1993). ウコギ科植物そうか病菌の分生子大量形成法について. 東農大農学集報 38. (印刷中)
- 186) 根岸寛光・陶山一雄(1993). コスモスそうか病に関する研究. 東農大農学集報 38. (印刷中)
- 187) 根岸寛光・陶山一雄・藤井 博・山下修一・土居養二・與良 清(1985). セ

- シダングサ (*Bidens biternata* Meer. et Sherff) に発生した *Sphaeceloma* sp. によるそうか病について. 日植病報 51:331-332. (講要)
- 188) 根岸寛光・竹内孝司・成田直樹・河原林主一・陶山一雄・藤井 博(1989). ウコギ科植物そうか病菌 3 分離系統の比較について. 日植病報 55:486-487. (講要)
- 189) 根岸寛光・山下修一(1979). ラッカセイそうか病とその病原菌. 植物防疫 33: 293-296.
- 190) 根岸寛光・山下修一・土居養二・長井雄治・與良 清(1977). ラッカセイに発生した *Sphaeceloma* sp. によるそうか病 (新称) について. 日植病報 43:121. (講要)
- 191) 根岸寛光・山下修一・土居養二・與良 清(1978). ラッカセイそうか病に関する研究 第2報 病原 *Sphaeceloma* 菌の形態, 培地上の性質ならびに寄主範囲. 日植病報 44:104-105. (講要)
- 192) 根岸寛光・山下修一・土居養二・與良 清(1978). ラッカセイそうか病に関する研究 (第3報) 病原菌の同定と培地上の性質. 日植病報 45:122. (講要)
- 193) 根岸寛光・與良 清・陶山一雄・藤井 博(1986). コスモスに発生したそうか病について. 日植病報 52:534. (講要)
- 194) 根岸寛光・吉田 宏・小川慎治・陶山一雄・藤井 博(1990). *Verticillium dahliae* の抗血清作製について. 日植病報 56:390. (講要)
- 195) 日本植物病理学会(1980). 日本有用植物病名目録第2巻 (第2版). 日本植物病理学会, 東京. 516pp.
- 196) 日本植物病理学会(1983). 日本有用植物病名目録第4巻 (第2版). 日本植物防疫協会, 東京. 232pp.
- 197) 日本植物病理学会(1984). 日本有用植物病名目録第3巻 (第2版). 日本植物防疫協会, 東京. 190pp.
- 198) 日本植物病理学会(1984). 日本有用植物病名目録第5巻 (第2版). 日本植物防疫協会, 東京. 504pp.
- 199) 日本植物病理学会(1990). 日本有用植物病名目録第1巻 (第3版). 日本植物病理学会, 東京. 492pp.
- 200) 西尾 健・川口嘉久・君島悦夫・高山睦雄・末次哲雄(1983). *Phytophthora*

- 属菌の血清学的検出法および同定法に関する研究 I, *Phytophthora syringae* 抗血清の作製とその寒天ゲル内拡散法における反応, 植防研報 19:47-53.
- 201) 西尾 健・君島悦夫・高山睦雄・末次哲雄(1983). *Phytophthora* 属菌の血清学的検出法および同定法に関する研究 II, *Phytophthora syringae* の蛍光抗体法による検出, 植防研報 19:55-62.
- 202) 大谷吉雄(1953). 稲熱病菌の炭素源, 日植病報 17:9-15.
- 203) 大谷吉雄(1953). 稲熱病菌の生長素及び窒素源, 日植病報 17:119-120.
- 204) Partridge, J. E. (1991). Specific gene products of *Fusarium*: analysis of ribosomal proteins. *Phytopathology* 81:1055-1058.
- 205) Peterson, S. W. (1991). Phylogenetic analysis of *Fusarium* species using ribosomal RNA sequence comparison. *Phytopathology* 81:1051-1054.
- 206) Plakidas, A. G. (1948). A convenient method for slow-growing pathogenic fungi from plant tissues. *Phytopathology* 38:928-931.
- 207) Puhalla, J. E. (1985). Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.* 63:179-183.
- 208) Raciborski, M. (1900). *Präsitische Algen und Pilze Javas*. Vol. I. Batavia, Indonesia. 39pp.
- 209) Rand, F. V. (1914). Some disease of pecans. *J. Agric. Res.* 1:303-337.
- 210) Reddick, B. B. and Collins, M. H. (1988). An improved method for detection of *Acremonium coenophialum* in tall fescue plants. *Phytopathology* 78:418-420.
- 211) Reid, D. A. (1955). A new species of *Elsinoe* parasitic on the fruits of a terminalia. *Kew Bull.* 1955. 3:351-352. (RAM35:314.)
- 212) Robbins, W. J. (1939). Growth substances in agar. *Am. J. Bot.* 26:772-778.
- 213) 栄 政夫・松田鋤男(1965). 白星病. サトウキビ病害虫図説, (財)甘味資源振興会, 東京. p. 29.
- 214) Shear, L. L. (1929). The life history of *Sphaceloma ampelinum* De Bary. *Phytopathology* 19:676-679.
- 215) Snyder, W. C. and Hansen, H. H. (1940). The species concept in *Fusarium*.

- Am. J. Bot. 27:64-67. (RAM19:495.)
- 216) Snyder, W. C. and Hansen, H. H. (1941). The species concept in Fusarium with reference to section Martiiella. Am. J. Bot. 28:738-742.
- 217) Snyder, W. C. and Hansen, H. H. (1954). Variation and speciation in the genus Fusarium. Ann. N. Y. Sci. 60:16-23. (RAM35:33-34.)
- 218) Snyder, W. C. and Hansen, H. H. (1954). Species concept genetics and pathogenicity in Hymomyces solani. Phytopathology 44:338-342.
- 219) Soave, J., Paradelo Filho, O., Reveiro, L. J. A., Sugimori, M. H., Savy Filho, A., Canecchio Filho, V. and Nelli, E. J. (1973). Avaliacao da resistencia de variedade de amendoim (Arachis hypogaea L.) a ver-rugose (Sphaceloma arachidis Bit. et Jenk.) in candidoes de campo. Revista de Agricultura 48:129-132. (RPP53:4670.)
- 220) 杉本順一(1982). 日本草本植物総検索誌 II 単子葉編. 井上書店, 東京. 630pp.
- 221) 杉本順一(1983). 増補改訂日本草本植物総検索誌 I 双子葉編訂正第2版. 井上書店, 東京. 871pp.
- 222) 杉本順一(1983). 改訂増補日本樹木総検索誌. 井上書店, 東京. 577pp.
- 223) 高木俊夫(1990). SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法. PAGEポリアクリルアミドゲル電気泳動法. 廣川書店, 東京. pp. 41-62.
- 224) 高屋茂雄・福田徳治・大池康子(1975). 病斑上における茶白星病菌 Elsinoe leucospila の分生胞子形成. 茶業技術研究 49:71-77.
- 225) 高屋茂雄・福田徳治・大池康子(1975). 分生胞子からの茶白星病菌 Elsinoe leucospila の分離および培養菌そう上における分生胞子大量形成法. 茶業技術研究 49:79-88.
- 226) 高屋茂雄・福田徳治・大池康子(1975). チャ白星病菌 Elsinoe leucospila の培養菌そうの形状, 性質と培地の栄養条件. 茶業技術研究 50:32-47.
- 227) 田中秀平・勝本 謙・湯川敬夫 (1974). ブドウ黒とう病菌 (Elsinoe ampelina) に関する研究. 1. 培養上の性質. 山口大学農学部学術報告 25:917-945.
- 228) 田中秀平・勝本 謙・湯川敬夫 (1974). ブドウ黒とう病菌 (Elsinoe ampelina) に関する研究. 2. 走査型電子顕微鏡による菌そうの観察. 山口大

学農学部学術報告 25:947-978.

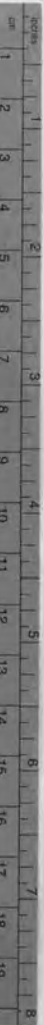
- 229) 田代暢哉・日本文孝(1992). ペンズイミダゾール系薬剤耐性ブドウ黒とう病菌(*Elsinoe ampelina*)の出現. 日植病報 58:609-610. (講要)
- 230) 田杉平司・茂木静夫(1958). 大豆黒痘病菌に就いて(第3報)病原菌の栄養生理. 日植病報 23:14. (講要)
- 231) 田杉平司・茂木静夫(1958). 黒痘病に対する大豆の病斑形成及び抵抗過程. 日植病報 23:159-164. (講要)
- 232) Tewari, I. (1968). On the morphology and taxonomy of *Elsinoe kamatii* spec. nov. on *Syzgium cumini* from India. Nova Hedwigia 15:213-221.
- 233) Thirumalachar, M.J. (1946). Doencas causadas por fungos dos generos '*Elsinoe*' e '*Sphaceloma*' em Misore (sul da India). Arq. Inst. Biol. 17: 55-66.
- 234) Thirumalachar, M.J. (1946). An undescribed species of *Elsinoe* from Mysore. Mycologia 38:220-225.
- 235) Tiffany, L.H. and Mathre, J.H. (1961). A new species of *Elsinoe* on *Panicum virgatum*. Mycologia 53:600-604.
- 236) 都丸敬一・夏秋啓子・根岸寛光(1987). 宮古島におけるサトウキビの病害徳にウイルス病等の発生について. 宮古島の農業に関する基礎的研究報告書第1報サトウキビ作に関する諸環境. 東農大総合研究所プロジェクト(昭和61年度プロジェクト研究). 東京農業大学, 東京. pp.59-65.
- 237) 富沢長次郎(1953). 稲熱病菌の栄養生理に関する研究. 日植病報 17:113-118.
- 238) Tuite, J. (1969). Media and nutrient solutions used by plant pathologists and mycologists. In Plant Pathological Method; Fungi and Bacteria. Burgess Publ. Co., Minneapolis. pp.1-80.
- 239) Tuite, J. (1969). Disinfection and sterilization; sterilization of laboratory equipments and media. In Plant Pathological Method; Fungi and Bacteria. Burgess Publ. Co., Minneapolis. pp.81-91.
- 240) Vegh, I. and Bourgeois, M. (1976). *Sphaceloma coryli* spec. nov. sur noisetier (*Corylus avellana* L.). Revue de Mycologie 40:273-281. (RPP 56:2230.)

- 241)Wallace, G. B., Jenkins, A. E. and Bitancourt, A. A. (1955). Estudos sobre as miriנגiales VI. verrugose do mamoeiro, causada por Sphaceloma. Arq. Inst. Biol. 22:79-86.
- 242)Wani, D. D. and Thirumalachar, M. J. (1969). Studies on Elsinoe and Sphaceloma diseases of plants from Maharashtra (India). IV. Sydowia 23:252-256. (RPP50:2207b.)
- 243)Wani, D. D. and Thirumalachar, M. J. (1969). Studies on Elsinoe and Sphaceloma diseases of plants from Maharashtra (India). V. Sydowia 23:257-260. (RPP50:2207c.)
- 244)Wani, D. D. and Thirumalachar, M. J. (1969). Studies on Elsinoe and Sphaceloma diseases of plants from Maharashtra (India). VI. Sydowia 23:261-264. (RPP50:2207d.)
- 245)Wani, D. D. and Thirumalachar, M. J. (1971). Studies on Elsinoe and Sphaceloma diseases of plants from Maharashtra state (India). VII. Sydowia 25:47-50. (RPP52:2215.)
- 246)Wani, D. D. and Thirumalachar, M. J. (1975). Studies on Elsinoe and Sphaceloma diseases of plants from Maharashtra state (India). X. Sydowia 26:306-315. (RPP55:3074.)
- 247)Watson, A. J. and Jenkins, A. E. (1969). New species of Elsinoe and Sphaceloma. Mycologia 61:273-280.
- 248)Whiteside, J. O. (1975). Biological characteristics of Elsinoe fawcetti to the epidemiology of sour orange scab. Phytopathology 65:1170-1177.
- 249)Whiteside, J. O. (1978). Pathogenicity of two biotypes of Elsinoe fawcetti to orange and some other cultivars. Phytopathology 68:1128-1131.
- 250)Whiteside, J. O. (1979). Citrus scab control with benomyl in relation to time of spraying and sites of fungicide deposition. Plant Dis. Reptre. 63:553-557.
- 251)山田峻一(1951).病原菌の分離に関する二つの考察.日植病報 16:10-12.
- 252)山田峻一(1953).糸状菌の分離及び観察のテクニック.日植病報 18:21.

- 253) 山田 稔 (1961). 温州ミカンそうか病の伝染病学的ならびに治病学的研究. 東海近畿農試園芸部特別報告 2:1-56.
- 254) Yamada, S. (1971). Development in control measures for major citrus diseases and insect pests in Japan. Japan Pesticide Information 9: 5-7.
- 255) 山本和太郎 (1956). ウドの瘡痂病 (新称) について. 植物防疫 10:69-70.
- 256) 山本和太郎 (1956). ウドの瘡痂病 (新称) について. 日植病報 20:180. (講要)
- 257) 吉野正義・橋本光司 (1980). ニンジンそうか病の発生生態に関する 2, 3 の知見と薬剤防除. 関東病虫研報 27:70-71.
- 258) Zeigler, R.S. and Lozano, J.C. (1983). The relationship of some *Elsinoe* and *Sphaceloma* species pathogenic to cassava and other Euphorbiaceae in Central and South America. Phytopathology 73:293-300.
- 259) Zeigler, R.S., Rowell, L.E. and Thurston, H.D. (1980). Gibberellin A₁ production by *Sphaceloma manihoticola*, causal agent of cassava super elongation disease. Phytopathology 70:589-593.
- 260) Zeller, S.M. and Deremiah, J.W. (1931). An anthracnose of *Ledum* caused by a species of *Elsinoe*. Phytopathology 21:965-972.

注: RAM は Review of Applied Mycology, RPP は Review of Plant Pathology の略.





Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

