

スギ黒粒葉枯病の発生生態に関する研究

— 特に病原菌の生理・生態的性質と病原性 —

庄 司 次 男⁽¹⁾

SHOJI, Tsugio: Studies on the Occurrence of
Chloroscypha Needle Blight of *Cryptomeria japonica* D. DON

— Physiological and ecological characteristics
and pathogenicity of the causal fungus —

要 旨: スギ黒粒葉枯病菌の生態, 特に子のう盤の形成, 子のう胞子の放出・発芽と環境条件並びに病原菌の侵入機構と病原性について調べた。

病原菌 *Chloroscypha seaveri* は, 欧州, 北米及び日本に分布する菌で, スギ科, ヒノキ科数属に寄生し, スギに強い病原性を示す。自然状態において, 子のう盤が多く形成され, 子のう胞子が成熟する時期は春と秋である。東北地方では, 積雪量ほぼ1 mを境にして, 少雪地帯では春, 多雪地帯では秋形成と明白に分かれる。子のう盤形成適温は多湿条件下で10~20℃である。発病と病徴進展が早い少雪地帯では6月に子のう盤が形成され, 子のう胞子が成熟するが, 多雪地帯では子のう盤形成時期である8月が高温期となるため子のう盤形成が抑制され, 低温期の秋にずれ込む。子のう胞子の発芽の良否は子のう盤形成時期と関係し, 春に形成される子のう胞子は相対湿度98%以上, 温度10~20℃で発芽するが, 秋に形成された直後の子のう胞子はこの条件で発芽せず, 5℃で約3か月間の加齢 (aging) を必要とする。菌叢の発育は天然培地で良好, 合成培地では不良である。菌叢発育適温は20~25℃, 最適 pH は弱酸性である。病原菌は気孔からスギ組織内に侵入する。菌糸及び子のう胞子の接種試験では, 明確な病徴発現まで, 春接種では1年, 秋接種では1年半を要し, 潜伏期間は長い。本菌の感染期間は子のう胞子が存在する5~7月の3か月間であった。

目 次

1	はじめに	24
2	黒粒葉枯病菌の分類的位置及び病徴と標徴	25
2.1	病原菌の分類的位置	25
2.2	病徴及び標徴	26
3	黒粒葉枯病病原菌の生理・生態的性質	27
3.1	子のう盤の発生消長及び埋雪期間と病徴進展	28
3.1.1	調査地及び調査方法	28
3.1.2	結果及び考察	28
3.2	病葉の採取時期と子のう盤形成	32
3.2.1	材料及び方法	33
3.2.2	結果及び考察	33
3.3	子のう盤の形成と温度・湿度及び光条件との関係	33

3.3.1	材料及び方法	34
3.3.2	結果及び考察	34
3.4	子のう胞子の放出と温度・湿度及び光条件との関係	34
3.4.1	材料及び方法	36
3.4.2	結果及び考察	37
3.5	子のう胞子の発芽	40
3.5.1	材料及び方法	41
3.5.2	結果及び考察	42
3.6	菌叢の培養的性質	47
3.6.1	材料及び方法	47
3.6.2	結果及び考察	47
4	病原菌の病原性	48
4.1	病原菌のスギ針葉組織内への侵入様式	48
4.1.1	材料及び方法	48
4.1.2	結果及び考察	48
4.2	接種試験	50
4.2.1	材料及び方法	50
4.2.2	結果及び考察	51
4.3	病原菌の感染時期	54
4.3.1	材料及び方法	54
4.3.2	結果及び考察	54
	謝 辞	55
	引用文献	55
	Summary	58

1 はじめに

現在、我が国のスギ人工林面積は約440万 ha に達している。しかし、その林齢構成を見ると30年生以下の林分が80%を占め（坂口，1983），多くはまだ育成途上であって，諸害に対する十分な保護対策を必要とする時期にあると考えられる。

スギ造林木の病害はおよそ30種類あるが，重要病害は数種に限られる。溝腐病，各種枝枯性病害，黒粒葉枯病などは材質劣化や成長阻害を起こすことから重要病害である（伊藤，1973，1974）。

黒粒葉枯病は被害程度の多少を別にすればスギ造林地でごく普通に見られ，大きな被害を与えることは少ないが，時として大発生することがある（Photo. 1-A, B）。この場合，ほとんどの枝葉が枯死するが，このために罹病木は枯れることがなく，やがて新葉が展開して緑色を回復し目立たなくなる。しかしながらその年の成長は皆無に等しいなど，甚だしい成長阻害を受ける。さらに近年，本病が日本海側の多雪地帯で激発し，このため不成績造林地が増加して，一部では改植を余儀なくされた林地もあり，

大きな問題となった (佐藤, 1972, 1978)。本病は 8~40年生の木に発生するが、特に10年生前後が侵されやすく、スギの最大成長期であるこの時期の被害はその後の成長に影響するものと考えられる。

本病は、古くから知られていたが (北島, 1927)、ほとんど注目されなかった。ところが1951年、埼玉、群馬両県を中心として北関東一帯のスギ造林地で大発生し、また1964年には、関東、中部、関西、四国、九州地方の広範囲にわたって数万 ha の激害林が見いだされ大きな問題となった (伊藤, 1965)。さらに1974年以降は東北地方太平洋沿岸部の少雪地帯あるいは内陸部の多雪地帯でもたびたび大発生が報告された (全国森林病虫獣害防除協会, 1974~1983)。以来、本病はスギ造林地の重要病害として認識されるようになった。

本病に関する研究成果は、分類学的研究を除いて極めて乏しい。発生環境について、伊藤 (1965)、佐藤 (1972) 及び庄司 (1985 a) は前年あるいは前々年の寒風害が誘因となって大発生を起こすと述べ、千葉 (1975) はスギ生育限界に近い風衝面では被害が著しいことを指摘している。このように、本病発生は気象条件と密接な関係にある。激害地において抵抗性品種の存在を認めた下川 (1964)、佐藤 (1972, 1978) によれば、エンドウスギ、ウラ系スギは抵抗性、オモテ系スギ、ヨシノスギ、サンプスギ及びボカスギは感受性であることを述べている。被害解析については、横川ほか (1966)、吉田 (1966)、野村ほか (1970)、井沼ほか (1974) によると上長成長よりも肥大成長に影響があると指摘している。防除については、野原ほか (1957)、新井ほか (1970) は病葉の切除と薬剤散布の併用、また林地肥培による樹勢回復などにより被害を軽減することができると報告している。しかし、一般的に植物病害の研究の中で重要な位置を占めている病原菌の生理・生態的性質、感染時期、病原性など、本菌については、国内外ともに見るべき知見がほとんどない。この理由の一つに、病原菌の子のう胞子を人工的に高率に発芽させることが困難であったことが挙げられる (田辺, 1963; 小林, 1964, 1965)。病原菌の生理・生態的諸性質を解明するためには伝染源である胞子を高率に発芽させる手法の開発が必要とされる。これまでの黒粒葉枯病の研究において、前述した部分の解明がなされなかったために、防除法の確立に至らなかった。そこで筆者は、1972年以来本病の研究を進め、特に本病の発生生態、中でも子のう盤の形成、子のう胞子の放出、発芽と環境条件との関係並びに病原性を明らかにすることに努めた。その結果、防除法を確立するための基礎資料を得ることができたのでここにとりまとめた。

2 黒粒葉枯病菌の分類的位置及び病徴と標徴

本章では、本菌の分類的位置を既往の研究成果に基づいて明確にした。

2.1 病原菌の分類的位置

1927年、北島 (1927) はスギ造林木に激しい赤枯病類似症状を呈する病害を報告したが、病原菌の所属や病名を決定していない。その後、富樫 (1948) は岩手県下で前記と同様の症状を認め、病原菌を *Mollisia* 属菌の一種として報告した。1950年、沢田 (1950) は本菌を新種と認め *Mollisia cryptomeriae* と記載、病名をスギ黒粒枝枯病と命名した。しかし、1951年、伊藤 (1951) は病状が葉枯症状を呈する特徴から判断して前記の病名は適切さを欠くとしてこれを変更し、スギ黒粒葉枯病と訂正した。1965年、小林 (1965) は沢田の記載した病原菌の所属に疑義を持ち、我が国と欧米諸国の菌を比較検討の結

果, *Mollisia* 属ではなく *Chloroscypha* 属の菌として所属の変更を行った。これにより, 本菌は, 子のう菌亜門(Ascomycotina), 盤菌綱 (Descomycetes), ビョウタケ目 (Helotiales), ヘソタケ科 (Dermateaceae), *Chloroscypha* 属に所属する。本論文ではこれに従い, 本菌を *Chloroscypha seaveri* (REHM) SEAVER とする。

近年, PETRINI (1982) は, *Chloroscypha seaveri* の菌叢の特徴, 子のう盤, 子のう, 子のう胞子の形態が異なることから, 二つの分化型に分けることを提唱した。すなわち, アメリカネズコ (*Thuja plicata*), スギ (*Cryptomeria japonica*), ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) を宿主とするものを *C. seaveri* f. *seaveri* とし, ローソンヒノキ (*Chamaecyparis lawsoniana*) を宿主とするものを *C. seaveri* f. *lawsoniana* とした。

我が国に分布する *C. seaveri* の分化型については, 検討されていない。

C. seaveri の分布は, 欧州, 北米及び日本で知られている。寄主範囲は, 我が国ではスギ (*Cryptomeria japonica*) (伊藤ほか, 1952; 小林, 1964, 1965; 沢田, 1950) とヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) (小林, 1964) に, 欧米ではローソンヒノキ (*C. lawsoniana*) (DENNIS, 1954, 1956, 1978), アメリカネズコ (*Thuja plicata*) (SEAVER, 1931) 及びニオイヒバ (*T. occidentalis*) (SEAVER, 1931) で知られている。しかしスギにのみ激害を及ぼし, その他の樹種では問題となる被害は発生していない。スギに対して黒粒葉枯病と同様の葉枯症状を起こす同属の菌としては *Chloroscypha thujopsidis* (ヒバ黒粒葉枯病) があるが, 現在まで一例の被害が報告されているにすぎない (小林, 1964)。

この他に, *Chloroscypha* 属には以下の種が知られている。

C. alutipes (宿主 *Chamaecyparis* 属), *C. cedrina* (宿主 *Juniperus* 属), *C. chloromela* (宿主 *Sequoia* 属), *C. enterochroma* (宿主 *Calocedrus* 属) *C. sabiniae* (宿主 *Juniperus* 属), *C. chamaecyparidis* (宿主 *Chamaecyparis* 属), *C. limonicolor* (宿主 *Thuja* 属), *C. thujopsidis* (宿主 *Thujopsis* 属) (小林, 1965; PETRINI, 1982)。

我が国では *C. seaveri* (スギ黒粒葉枯病), *C. chamaecyparidis* (ヒノキ黒粒葉枯病) 及び *C. thujopsidis* (ヒバ黒粒葉枯病) の3種が分布している。これらの菌は寄主範囲が互いに重複する。*C. seaveri* はスギのほかヒノキに, *C. chamaecyparidis* はヒノキのほかサワラ (*Chamaecyparis pisifera*), ローソンヒノキに, そして *C. thujopsidis* はヒバ (ヒノキアスナロ) (*Thujopsis dolabrata* var. *hondai*) のほかに, アスナロ (*T. dolabrata*), ネズコ (*Thuja standishii*), スギ及びサワラに寄生する (小林, 1965)。

2.2 病徴及び標徴

病徴: 被害発生は5月頃から旧針葉上に褐色小斑点の病斑が現れ, 病斑形成葉は黄褐色に退色する。また, 針葉が先端部から侵されて赤褐色に変色し, 健全部との境界には濃褐色の線が形成されることもある。やがて7月頃には病斑形成葉も鮮やかな赤褐色を呈し, 感染葉はすべて枯死する。しかし, 8月以降は新葉の伸長と不定芽の発生により樹冠は緑色を回復して被害は目立たなくなる。

標徴: 子のう盤は杯形である。乾燥時は黒色で硬く, 吸水すれば膨潤して軟らかく暗緑色を呈する。乾燥時の大きさは $160\ \mu\text{m} \times 600\ \mu\text{m}$ である。各地から採取した本菌の形態測定値を Table 1 に示したが, 特に大きな地域差は見られない。子のうは長紡すい形, 基部に短柄を有して無色, 大きさ $105 \sim 175$

Table 1. スギ黒粒葉枯病菌 (*Chloroscypha seaveri*) の測定値
Dimensions of *Chloroscypha seaveri*

採取地 Locality of collection Pref.	採取年月 Date of collection	子のう Ascus (μm)	子のう胞子 Ascospore (μm)
岩手県 盛岡市 Iwate Morioka	1973. 4	110~160×20~24	25~35×7.5~10
山形県 真室川町 Yamagata Mamurogawa	1973. 11	130~175×25~35	25~40×10~12.5
秋田県 雄勝町 Akita Okatsu	1973. 11	140~160×30~35	30~40×10~12.5
岩手県 雫石町 Iwate Shizukuishi	1974. 11	130~165×20~24	25~35×10~12.5
岩手県 大迫町 Iwate Oohazama	1974. 11	140~175×25~30	25~35×10~13
岩手県 湯田町 Iwate Yuda	1976. 11	130~158×17.5~27	25~35×7.5~15
青森県 弘前市 Aomori Hirosaki	1978. 10	135~160×30~35	20~40×10~13
奈良県 吉野市 Nara Yoshino	1980. 5	105~130×22~25	22~27×7.5~10
宮城県 気仙沼市 Miyagi Kesenuma	1982. 6	140~175×25~35	20~27×10~12.5
宮城県 石巻市 Miyagi Ishinomaki	1982. 6	130~138×20~22	20~27×10~12.5
福島県 葛尾村 Fukushima Kuzuo	1983. 3	140~160×20~25	25~35×10~13.5
長野県 長野市 Nagano Nagano	1983. 10	135~170×25~35	25~40×8~13
沢田 (1950) SAWADA		104~162×27~39	24~33×9~11
伊藤ら (1952) ITO <i>et al.</i>		120~140×19~27	21~32×7~14
GREMMEN (1963)		130~180×25~29	27~31×10.2~12
小林 (1965) KOBAYASHI		105~160×18~28	18~34×7.5~11

$\mu\text{m} \times 17.5 \sim 35 \mu\text{m}$ で8個の子のう胞子を有する。子のう胞子は長楕円形、無色か淡緑色で単胞、大きさ $22 \sim 40 \mu\text{m} \times 7.5 \sim 15 \mu\text{m}$ である。側糸は糸状で無色、幅は $2.0 \sim 2.5 \mu\text{m}$ である (Photo. 1-C-F)。

3 黒粒葉枯病病原菌の生理・生態的性質

樹木病害の多くは樹木の生育期が病害発生と病原体の繁殖・伝播の時期であり、成長休止期 (冬季) には成育・繁殖を停止して休眠し越冬する。このような病原体の1年を通しての生態 (生活史) 及び病原菌の発育に及ぼす生理的諸性質を明らかにすることは予防・防除手段を考える上で極めて重要である。本章では、子のう盤の発生生態、子のう胞子の放出・発芽条件及び菌叢の培養性質について調べた。

3.1 子のう盤の発生活消長及び埋雪期間と病徴進展

黒粒葉枯病は春季から夏季にかけて発生し、病葉上に子のう盤を形成して子のう胞子が成熟する。また、秋季から冬季に子のう盤が形成され子のう胞子が成熟する地域も見られる。このような子のう盤形成時期に差の現れる原因を明らかにするため、東北地方各地のスギ造林木について子のう盤形成時期の実態と自然状態での発生活消長を調べ、これに基づいた実験的裏付けを行った。

本論文では便宜上、春季に形成される子のう盤を春型、秋季のそれを秋型と呼称して区別した。

自然状態における発病経過は春型和秋型に分かれ、これらの病状進展の遅速は埋雪期間が関係していることが示唆された。そこで、接種後に埋雪期間を変えた場合に病状進展に違いがあるか否かについて検討を加えた。

3.1.1 調査地及び調査方法

東北地方各地の少雪地帯及び多雪地帯において春型、秋型子のう盤の分布と形成時期を調査した。

春型和秋型になる要因を詳細に調べるために、次の2か所の試験地を選んだ。春型になる地域として宮城県気仙沼市(積雪条件は1974～1978年の平均埋雪期間50日、平均積雪深18 cm)(日本気象協会, 1974～1978)を選び、1978年4月～11月まで4回観察した。また秋型になる地域として岩手県湯田町(積雪条件は1971～1976年の平均埋雪期間150日、平均積雪深195 cm)(日本気象協会, 1971～1976)を選び、1975年4月～1976年8月まで9回観察を行った。

それぞれの試験地において、時期別に病状進展状況を観察し、同時に子のう盤の形成程度を調査した。さらに光学顕微鏡下で子のう盤内の子のう胞子の成熟程度を調べた。

埋雪期間と病徴進展との関係を調べるために次のような試験を行った。1986年8月6日、秋田県田沢湖町から採取した子のう盤の多数形成されている病葉を接種源とした。1986年8月19日、病葉を鉢植えした2年生実生苗の葉に密着させた後、20℃、湿度100%、12時間照明に設定した恒温器に10日間置き、感染させた。8月29日から11月19日までその感染苗を野外(盛岡市、東北支所構内)に置いた。11月19日、そのまま野外に放置する区(以下野外区)とグロースキャビネットに入れた区(以下低温暗区)を設け、後者は6か月間このままにした。野外区では1987年1月5日から2月23日まで連続して49日間埋雪していた。東北支所構内では長期間埋雪させることが不可能なためにグロースキャビネットを使用し、積雪下の状態に近い条件として、暗黒、0℃、湿度100%とした。1987年5月20日、両区の鉢を同一条件下で病状進展経過を観察するために恒温器(12℃、暗黒、湿度100%)に移し観察を続けた。

3.1.2 結果及び考察

1972～1992年まで東北地方の35市町村で調べた子のう盤形成時期と分布を Fig. 1 に示した。

子のう盤は、大平洋沿岸部(青森県横浜町、岩手県大船渡市、陸前高田市、住田町、宮城県気仙沼市、歌津町、北上町、雄勝町、河北町、女川町、石巻市、松島町、福島県いわき市)、日本海沿岸部(秋田県男鹿市、象潟町)及び岩手県内陸部(盛岡市、滝沢村、北上市、一関市)では5～7月に形成された。岩手県の山岳部(川井村、雫石町、湯田町)、青森県内陸部(弘前市、十和田市、碓ヶ関村、大鰐町)、秋田県内陸部(鷹巣町、鳥海町、雄勝町)、山形県内陸部(真室川町、新庄市、古口町、寒河江市)、阿武隈山系中腹の福島県葛尾村、会津若松市では9～12月に形成された。積雪深(森林立地懇話

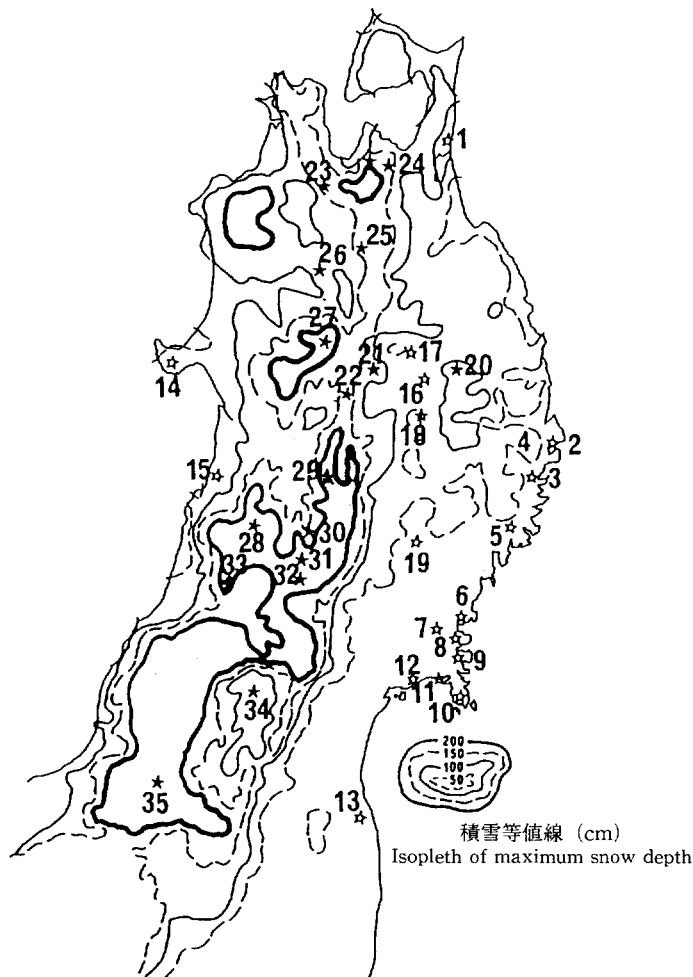


Fig. 1 東北地方におけるスギ黒粒葉枯病菌子のう盤形成時期の地域区分

Zoning of apothecial formation time of the fungus *Chloroscypha seaveri* in the Tohoku district

☆ 5～7月形成(春型) Developed from May to July, ★ 9～12月形成(秋型) Developed from September to December

調査地番号 Surveys No.

- | | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1. 青森県横浜町 Yokohama ; Aomori | 19. 一関市 Ichinoseki ; Iwate |
| 2. 岩手県大船渡市 Oohunato ; Iwate | 20. 川井村 Kawai ; Iwate |
| 3. 陸前高田市 Rikuzentakada ; Iwate | 21. 雫石町 Shizukuishi ; Iwate |
| 4. 住田町 Sumita ; Iwate | 22. 湯田町 Yuda ; Iwate |
| 5. 宮城県気仙沼市 Kesennuma ; Miyagi | 23. 青森県弘前市 Hirosaki ; Aomori |
| 6. 歌津町 Utatsu ; Miyagi | 24. 十和田市 Towada ; Aomori |
| 7. 北上町 Kitakami ; Miyagi | 25. 碓ヶ関村 Ikarigaseki ; Aomori |
| 8. 雄勝町 Ogatsu ; Miyagi | 26. 大鰐町 Oowani ; Aomori |
| 9. 河北町 Kahoku ; Miyagi | 27. 秋田県鷹巣町 Takanosu ; Akita |
| 10. 女川町 Onagawa ; Miyagi | 28. 鳥海町 Chokai ; Akita |
| 11. 石巻市 Ishinomaki ; Miyagi | 29. 雄勝町 Okatsu ; Akita |
| 12. 松島町 Matsushima ; Miyagi | 30. 山形県真室川町 Mamurogawa ; Yamagata |
| 13. 福島県いわき市 Iwaki ; Fukushima | 31. 新庄市 Shinjo ; Yamagata |
| 14. 秋田県男鹿市 Oga ; Akita | 32. 古口町 Furukuchi ; Yamagata |
| 15. 象潟町 Kisakata ; Akita | 33. 寒河江市 Sagae ; Yamagata |
| 16. 岩手県盛岡市 Morioka ; Iwate | 34. 福島県葛尾村 Kuzuo ; Fukushima |
| 17. 滝沢村 Takizawa ; Iwate | 35. 会津若松市 Aizuwakamatsu ; Fukushima |
| 18. 北上市 Kitakami ; Iwate | |

会, 1972)と子のう盤形成時期との関係を見ると, 積雪深1 m以下の場所では5~7月に形成するが, 1 m以上になる場所では9~12月に形成された。この結果から東北地方の子のう盤形成は, 少雪地帯では春型に, 多雪地帯では秋型になる。

全国的な子のう盤形成時期を見ると, 宮崎, 徳島, 広島, 京都, 長野各県では春と秋に形成している(林野庁, 1955~1960, 1961~1975)。例えば, 広島県の子のう盤形成時期を見ると, 1962年には佐伯郡佐伯町で6月20日に, 比婆郡口和町で10月20日に形成している。両地における1961~1962年の最大積雪深と根雪期間を比較すると, 佐伯町では最大積雪深39 cm, 根雪期間10日間であり, 口和町ではそれぞれ144 cm, 47日間となっている(日本気象協会, 1962)。両地の気象条件から見て佐伯町は少雪地帯, 口和町は多雪地帯と区分してよい。このように子のう盤が少雪地帯では春に, 多雪地帯では秋に発生するという現象は全国的に見られる。

他の病害では, マツの群状枯損を起こす, つちくらげ病菌 (*Rhizina undulata*) は, 同一場所で春季と秋季に子のう盤の形成が最盛期になる(佐藤ほか, 1974)。黒粒葉枯病の子のう盤形成も春季と秋季が最盛期となる点と同じでも, 場所が異なるとどちらかに限定されるという病害は他に例を見ない。

病状進展と子のう盤形成の関係について気仙沼試験地の観察結果を Table 2 に示した。1978年4月15日に黄褐色の病葉が多数観察されたが, 子のう盤の形成は見られなかった。6月5日, 黄褐色病葉は鮮やかな赤褐色に変色し, 子のう盤の形成が見られた。7月15日には子のう盤数が増加した。子のう胞子の成熟期間は6月上旬から7月中旬であった。8月20日には子のう盤は存在したが, その中には子のう胞子が全く見られなかった。

4月15日~6月5日の間に子のう盤の形成が見られたのでその間の気温及び降水量を Fig. 2 に示した。気温は8~19℃で推移し, 降水量は4月と5月上旬は平年より少なく, その他は平年並みであった。

湯田試験地の観察結果を Table 3 に示した。6月19日には黄褐色病葉が目立った。7月21日では, 黄褐色病葉が鮮やかな赤褐色となった。しかし, 病葉上には子のう盤が認められず, 9月30日になって子のう盤の形成が初めて見られるようになり, 10月27日ではそれが増加し, 子のう胞子が成熟していた。この状態は越冬後の1976年6月20日まで認められたが, 8月24日には子のう盤が脱落したためか認

Table 2. 気仙沼試験地における子のう盤の発生消長
Development of *Chloroscyph* apothecia at Kesenuma

調査月日 Date of observation	発生状況 Development of apothecia
1978年4月15日 Apr. 15, 1978	病葉黄褐色, 子のう盤形成なし Yellow browning of the infected needles. No apothecial development.
6月5日 Jun. 5	病葉赤褐色, 子のう盤多数形成, 子のう胞子成熟 Red browning of the infected needles. Development of apothecia. Maturation of ascospores.
7月15日 Jul. 15	子のう盤著しく多数形成, 子のう胞子成熟 Development of apothecia. Maturation of ascospores.
8月20日 Aug. 20	子のう胞子なし No ascospore in apothecia

められなかった。

1975年8月17日から子のう盤が形成された9月30日までの気温と降水量をFig. 3に示した。気温は13~26℃であった。降水量は9月下旬で少なかったほかは平年並みであった。

以上の観察経過から、少雪地帯と多雪地帯では病徴進展と子のう盤形成に時期的な差が生じている。すなわち、少雪地帯では早春(4月中旬)に病状進展が始まり、6月上旬に子のう盤が形成されるが、多雪地帯では約2か月遅れの初夏(6月中旬)に始まり、子のう盤は9月下旬に形成される。このような時期のずれは根雪期間の長さが関係していると考えられた(少雪地帯50日、多雪地帯150日)。また、子のう盤の形成は気温が20℃を下回る時期のように見える。

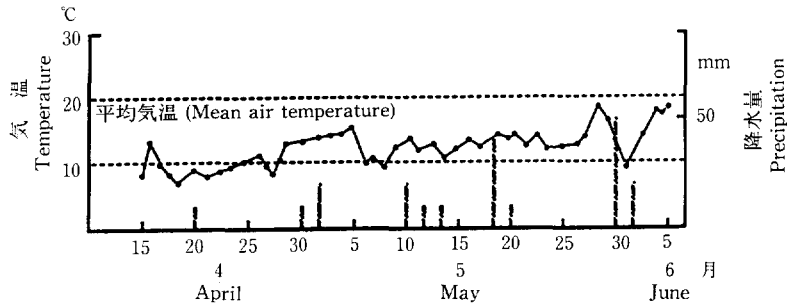


Fig. 2 気仙沼試験地における子のう盤形成時期の気象条件(1978)

Temperature and precipitation during the development of apothecia at Kesenuma (1978)

点線グラフ：平均気温

棒グラフ：降水量

Segmented line: Mean air temperature

Bar: Precipitation

Table 3. 湯田試験地における子のう盤の発消長

Development of *Chloroscypha* apothecia at Yuda

調査月日 Date of observation	子のう盤発生状況 Development of apothecia
1975年6月19日 Jun. 19, 1975	黄褐色病葉目立つ, 子のう盤形成なし Yellowing of the infected needles. No apothecial development.
7月21日 Jul. 21	病葉赤褐色, 子のう盤形成なし Red browning of the infected needles. No apothecial development.
8月17日 Aug. 17	病葉赤褐色, 子のう盤形成なし Red browning of the infected needles. No apothecial development.
9月30日 Sep. 30	子のう盤少数形成, 子のう胞子未熟 Development of a few apothecia. Immaturity of ascospores.
10月27日 Oct. 27	子のう盤著しく多数形成, 子のう胞子成熟 Development of numerous apothecia. Maturation of ascospores.
1976年3月15日 Mar. 15, 1976	子のう胞子成熟のまま越冬 Apothecia and mature ascospores formed on the overwintered infected needles.
5月15日 May 15	子のう盤, 子のう胞子多数有り Development of numerous apothecia and ascospores.
6月20日 Jun. 20	子のう盤, 子のう胞子多数有り Development of numerous apothecia and ascospores.
8月24日 Aug. 24	子のう盤, 子のう胞子なし No development of apothecia and ascospores.

病状進展と埋雪期間との関係を Table 4 に示した。野外区の針葉は4月上旬から退色し発病が認められ、5月20日では部分的に針葉が褐変した。他方、低温暗区では、5月20日時点で針葉に何の変化も見られなかったが、21日後（6月上旬）には針葉先端部に褐変部が現れた。このように埋雪期間の短い方が長い場合よりも病状進展が2か月速かった。佐藤（1972）は豪雪地帯に造林されたオモテ系スギでは、長期間にわたる暗黒下において生理的に衰弱し本病の異常発生を起こすと報告している。しかし、長期間の埋雪がスギの生理的衰弱（光合成、呼吸、水分生理の低下）を起こさないとの報告がある（大原ほか、1985）。積雪下でのスギ苗の生理的条件については異なる見解があるが、他の原因として考えられることは、埋雪期間が短いほど冬季の気象条件の影響を受けやすいことであろう。

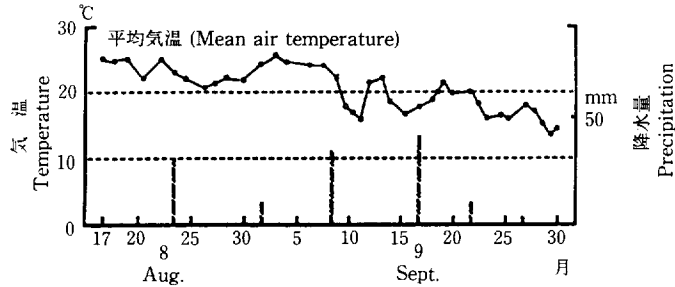


Fig. 3 湯田試験地における子のう盤形成時期の気象条件(1975)
 Temperature and precipitation during the development of apothecia at Yuda (1975)
 点線グラフ：平均気温 棒グラフ：降水量
 Segmented line: Mean air temperature Bar: Precipitation

Table 4. 黒粒葉枯病の病徴進展と埋雪期間との関係
 Relation between disease occurrence and the snow-cover period

処理 Treatment	処理月日 Date of treatment	埋雪期間 Snow-cover period	埋雪期間(日) Snow-cover period (days)	病徴発現時期 Time of symptomatic development
野外区 Outdoors	1986年 11月19日 Nov. 19, 1986	1987年1月5日 ～2月23日 Jan. 5, 1987- Feb. 23, 1987	49	1987年 4月7日 Apr. 7, 1987
低温 暗区 Kept at 0°C in dark room	1986年 11月19日 Nov. 19, 1986	1986年11月19日 ～1987年5月20日 Nov. 19, 1986- May 20, 1987	183	1987年 6月10日 Jun. 10, 1987

接種月日：1986年8月19日*
 Date of inoculation: Aug. 19, 1986

3.2 病葉の採取時期と子のう盤形成

子のう盤発生消長調査によると(Tables 2～3)、少雪地帯では病徴進展とともに子のう盤が形成され、多雪地帯では夏季間、病徴が進んでも直ちに子のう盤が形成されることがなく秋季にずれる。そこで、子のう盤が秋型になる要因を探るため、時期別に採取した病葉を用いて、子のう盤の人工的形成及び組織解剖を行った。

病葉上に子のう盤が形成される場合、気孔下のう内に菌糸が集合して塊状(菌糸塊)になる(Photo.1—H)。これを指標として子のう盤形成可能な状態になる時期を組織解剖的に確認した。

3.2.1 材料及び方法

1978年湯田町において、自然状態の子のう盤形成経過を観察した。供試木のほぼ一定の部分から時期別に採取した病葉について、子のう盤の人工的形成を試みた。病葉を9 cm ペトリ皿内の吸水ろ紙上(ペトリ皿内湿度100%)に20本ずつ並べ、15℃に保ち(以下、湿室処理)、20日間観察した。実験は3反復とした。6月23日と8月26日及び10月7日に採取した病葉をFAAに固定、パラフィン包埋後13 μ mの切片を作り、サフランin・ファーストグリーン2重染色またはフレミング3重染色し、気孔下のう内における菌糸塊の存否を光学顕微鏡下で調べた。なお、9月以降自然状態でも子のう盤が形成されるようになるが、この実験では未形成病葉を供試した。

3.2.2 結果及び考察

病徴進展と子のう盤形成時期をTable 5に示した。病徴は6～8月にかけて進展した。子のう盤は、9月23日に形成され、10月7日ではそれが増加した。子のう盤が形成されたと推定される8月26日から9月23日までの気温と降水量をFig. 4に示した。気温は9月上旬まで20℃以上であったが、それ以降は10～20℃で推移した。降水量は平年並みであった。湿室処理(15℃)で子のう盤形成を試みた場合は6月23日と7月19日の病葉では形成されず、8月26日以降の病葉に形成された。

組織解剖によると、6月23日採取の病葉では細胞内に菌糸のみが見られたが(Photo. 1-G)、8月26日では気孔下のうに菌糸塊が認められた(Photo. 1-H)。子のう盤は気孔下のう内の菌糸が気孔を通過して外皮上で発達して形成された。

以上の結果から、病徴は6～8月にかけて進展するが、子のう盤形成は9月下旬になる。組織解剖では夏季の病葉は、気孔下のうに菌糸塊が見られ、すでに子のう盤形成可能な状態になっている。自然状態での子のう盤形成は20℃を下回ることや15℃の湿室処理によって容易に子のう盤が形成されたことを考え合わせると、夏季間、子のう盤形成が抑制される要因として温度条件が考えられる。

3.3 子のう盤の形成と温度・湿度及び光条件との関係

病原菌の多くは形態形成に温度・湿度及び光条件が必要である。本項では子のう盤形成に及ぼす温度・湿度及び光条件の有無について明らかにするために検討を加えた。

Table 5. 湯田町における病葉変色状況と子のう盤の形成
Discoloration of the needles and apothecial development at Yuda

採取月日 Date of collection	針葉変色程度 Discoloration of the needles	子のう盤形成程度 Degree of apothecial development		気孔下のう内 菌糸塊 Hyphal mass in the stroma
		自然状態 Under natural conditions	湿室処理 Under moist conditions	
6. 23 Jun. 23	黄褐色 Yellow brown	—	—	—
7. 19 Jul. 19	黄褐色 Yellow brown	—	—	—
8. 26 Aug. 26	赤褐色 Red brown	—	+	+
9. 23 Sep. 23	赤褐色 Red brown	+ (IM)	+	+
10. 7 Oct. 7	赤褐色 Red brown	+++ (M)	+	+

(IM) : 子のう胞子未熟 Immature ascospore

(M) : 子のう胞子成熟 Mature ascospore

3.3.1 材料及び方法

病葉は、1980年6月1日宮城県気仙沼市（春型）と1979年10月4日山形県真室川町（秋型）から採取した。病葉は流水で洗浄した後、室内で24時間（20℃前後）風乾した。これらから子のう盤未形成針葉を取り、9 cm ペトリ皿内の吸水ろ紙上（ペトリ皿内湿度100%）に20本ずつ並べ、周囲をパラフィルムで封じた。ペトリ皿を、0℃から5℃間隔で7段階に設定した温度条件下に保った。また、径20 cm のデシケータ内部を各種過飽和塩類水溶液で相対湿度（R.H.）100%（H₂O）、98%（使用塩類：K₂SO₄）、94%（KNO₃）、92%（K₂HPO₄）、87%（KCl）にそれぞれ調節して、病葉を20本ずつろ紙上（無吸水）に並べたペトリ皿を入れた。各デシケータは20℃に保った。

これらの実験は3反復で行い、子のう盤の数と子のう胞子の成熟程度を比較した。

予備実験で本菌が殺菌スギ基質上で容易に子のう盤を形成することを明らかにしていたため、本法を用いて子のう盤形成と光条件との関係を調べた。供試菌（岩手県湯田町、1977年4月5日子のう胞子採取、単胞子分離）はMalt 寒天培地（麦芽エキス20 g、ペプトン5 g、グルコース20 g、寒天15 g/蒸留水1 l）で、25℃、7日間試験管で培養した。これに高圧殺菌（120℃、40分）したスギ枝（直径7 mm、長さ2 cm）を挿入し、同温度で菌糸がスギ表面にまん延するまで培養した（21日間）。その後、試験管を20℃のガラス張り恒温器に保った（明区）。暗区は試験管をアルミホイルと黒色ビニルで2重に包んだ。各区とも試験管を5本ずつ用いた。

3.3.2 結果及び考察

子のう盤の形成と温度との関係をTable 6に示した。春型、秋型病葉ともに3日目で10～20℃の範囲で形成されたが、10日目あたりから若干温度反応が異なった。春型病葉では5～25℃の範囲で形成されたが（23日目）、5℃と25℃では形成数も少なく、子のう胞子も未熟であった。30℃では形成されなかった。秋型病葉では0～20℃の範囲で形成された（20日目）。しかし、0℃では形成数も少なく子のう胞子が未熟であった。25℃以上では形成されなかった。形成範囲は春型に比べてやや低温側に広がった。

各湿度条件下における子のう盤形成をTable 7に示した。子のう盤の形成は、春型・秋型ともにR.H. 98%以上であった。この場合の病葉含水率はR.H. 100%区で78%、R.H. 98%区で50%であった。

光条件と子のう盤形成との関係をTable 8に示した。明区、暗区ともに33日目で子のう盤が形成され40日目で増加した。

以上の結果から、子のう盤形成条件として、湿度98%以上、温度5～20℃が適し、0℃以下、25℃以上の温度は不適であるといえる。

盤菌類には子のう盤形成に光条件を必要とする菌が多い。アカクロバー黒葉枯病菌（*Leptotrochila trifolii*）は紫外線照射で子のう盤形成が促進され（佐藤・酒井、1970）、*Monilinia fracticola* や *Sclerotinia* 属菌では菌核からの子のう盤発生に光条件が重要な要因となることが知られている（原田、1977）。黒粒葉枯病菌では子のう盤形成に及ぼす光条件の影響は少ないように思われる。

3.4 子のう胞子の放出と温度・湿度及び光条件との関係

樹病のまん延は、多くの場合、胞子の放出・分散によって行われる。胞子放出は温度・湿度及び光条

件の影響を受ける (INGOLD, 1953)。黒粒葉枯病の場合は子のう盤から子のう胞子が放出され分散するが、放出を左右する諸条件は明らかにされていない。本項ではこれらの諸点について検討を加えた。

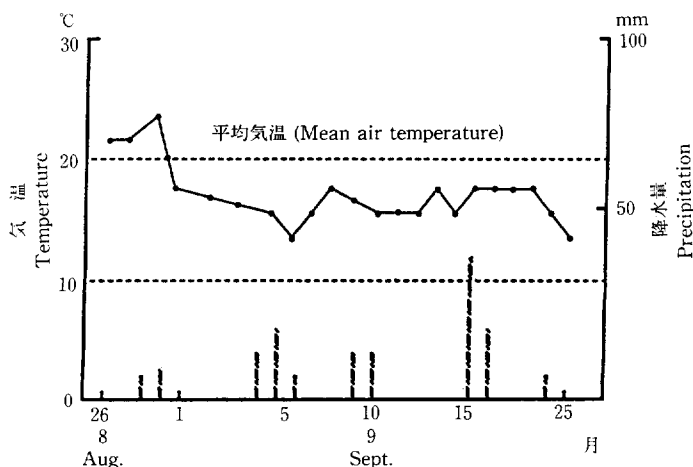


Fig. 4 子のう盤形成時期の気象条件

Temperature and precipitation during the development of apothecia

点線グラフ：平均気温

棒グラフ：降水量

Segmented line: Mean air temperature

Bar: Precipitation

Table 6. 病葉上における子のう盤の形成と温度との関係

Relation between temperature and apothecial development on the infected needles

温度 Temperature (°C)	経過日数 Elapsed time (days)					
	気仙沼市 (春型) Kesennuma (collected in June)			真室川町 (秋型) Mamurogawa (collected in October)		
	3	11	23	3	12	20
0	-	-	-	-	+	+(IM)
5	-	-	+(IM)	-	++	++(M)
10	+	++	++(M)	+	++	++(M)
15	+	++	++(M)	+	++	++(M)
20	+	++	++(M)	+	++	++(IM)
25	-	+	+(IM)	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-

子のう盤形成程度, - : なし, + : 少し, ++ : 多い
Degree of apothecial development; - : No apothecium,
+ : A few apothecia, ++ : Numerous apothecia
(IM) : 子のう胞子未熟, Immature ascospore
(M) : 子のう胞子成熟, Mature ascospore

Table 7. 病葉上における子のう盤の形成と相対湿度との関係

Relation between relative humidity and apothecial development on infected needles

相対湿度 Relative humidity (%)	経過日数 Elapsed time (days)					
	気仙沼市 (春型) Kesennuma (collected in June)			真室川町 (秋型) Mamurogawa (collected in October)		
	10	15	20	9	15	19
100	+	+	++(M)	+	+	++(IM)
98	+	+	++(IM)	+	+	++(IM)
94	-	-	-	-	-	-
92	-	-	-	-	-	-
87	-	-	-	-	-	-

子のう盤形成程度, - : なし, + : 少し, ++ : 多い
Degree of apothecial development; - : No apothecium,
+ : A few apothecia, ++ : Numerous apothecia
(IM) : 子のう胞子未熟, Immature ascospore
(M) : 子のう胞子成熟, Mature ascospore

3.4.1 材料及び方法

春型の材料は1978年6月に気仙沼市から、秋型は1976年12月に湯田町から採取した。

温度の実験は、Fig. 5に示すように、小木片を間に挟んだスライドガラスの上側の下面に、吸水して膨張した子のう盤をワセリンで張り付け、下面のスライドガラス上に放出させた。スライドガラスは温室(R.H. 100%)としたペトリ皿内に配置し、温室を保つため随時水を補給した。設定温度範囲は、自然条件下で成熟子のう胞子が認められる期間の気温*を想定して定めた。調査は約2週間行い、3個の子のう盤の胞子放出数を合計して表した。実験の最終日には供試子のう盤内の子のう胞子残存数を調査した。

湿度の実験については、子のう盤をペトリ皿に設置した後、室内で風乾した。これを各種の飽和塩類水溶液でR.H. を100, 98, 94, 92, 及び87%に調節したデシケータ内に収めた。実験は室温下(15~25℃)で行った。調査はほぼ3日間隔で行い、3個の子のう盤の胞子放出数を合計して表した。実験の最終日には、供試子のう盤内の子のう胞子残存数を調べた。

光条件の実験については、子のう盤をペトリ皿に設置後、ペトリ皿を無包装状態にしてこれを明区とし、アルミホイルと黒色ビニルで2重に包んだペトリ皿を暗区とした。実験はガラス張り恒温器を使用し、温度を20℃に保った。調査は2~3日間隔で行い、3個の子のう盤の胞子放出数を合計して表した。実験の最終日には子のう盤内の子のう胞子残存数を調べた。

自然状態における胞子放出実験は、森林総合研究所東北支所構内のスギ林下で行った。本試験地は密植で無手入れのため閉鎖された陰湿な環境下であった。子のう盤は気仙沼市(春型6月採取)と湯田町(秋型10月採取)から採取した。子のう盤形成枝葉を長さ10cmに切り揃え、底に金網を張った18×18cmの木箱の中に1列に並べ、林内の地上に設置した。この木箱との間に一定の空間を置いて、その真下にグリセリン塗布のスライドガラス2枚を塗布面を上にして固定し、子のう盤から放出落下する子のう胞子を捕捉した。スライドガラスの回収はなるべく降雨日の翌日に行ったが、無降雨が続いた場合は適宜回収した。調査は、春型の場合は6月27日から胞子放出を終了した9月28日までとした。秋型の場合は10月13日から翌年の5月14日まで行った。気温は、降雨が記録された日の最高気温を示し、無降雨の場合は調査日の最高気温を示した。また降水量は調査日間の雨量を累積し期間降水量として示した。

Table 8. 子のう盤形成と光条件との関係 (20℃)
Effect of light on development of apothecia of the fungus (at 20℃)

経過日数 (日) Elapsed time (days)			
33		40	
明 Light	暗 Dark	明 Light	暗 Dark
+	+	++	++

子のう盤形成程度 Degree of apothecial development
+ : 少ない A few apothecia
++ : 多い Numerous apothecia

* 盛岡市では1973年5月の最高気温の極値は28.3℃、同年11月の最低気温の極値は-3.6℃であった。しかし、冬季間は子のう盤がほとんど積雪下にあるので最低気温を0℃とした。

3.4.2 結果及び考察

温度と胞子放出結果を Tables 9, 10 に示した。春型の場合は 0～30℃ の範囲で子うの胞子を放出したが (Table 9), 20℃ 以上で特に著しく, 2 日間で子うの盤内の子うの胞子をほぼ全部放出した。15℃

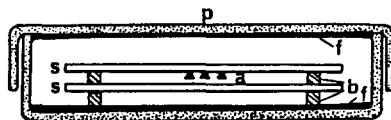


Fig. 5 子うの胞子採取方法

Slide method for ascospore collection

a : 子うの盤 Apothecia b : 小木片 Piece of wood f : 湿らしたろ紙 Wet filter paper
p : ペトリ皿 Petri dish s : スライドガラス Slide glass

Table 9. 温度と子うの胞子の放出 (春型 6月採取)

Discharge of ascospores at various temperatures under moist conditions (collected in June)

温度 Temperature (°C)	供試子 のう盤数 Number of apothecia examined	子うの胞子放出程度 ^{a)} Number of ascospores discharged 経過期間 (日) Elapsed time (days)						残存子うの 胞子程度 ^{b)} Apothecia at the end of experiment
		1	2	4	7	10	16	
0	3	++	+	++	++	-+	++	++
5	3	+	+	+	++	+	++	++
10	3	+	+	+	++	++	++	+
15	3	+	+++	+	++	-	-	-
20	3	++	+++	-	+	-	-	-
25	3	+++++	+	-	-	-	-	-
30	3	+++++	-	-	-	-	-	-

a) 子うの胞子放出程度

Number of ascospores discharged : - : 0, + : <100, ++ : 101~300, +++ : 301~500, ++++ : 501~1 000, +++++ : >1 000

b) 残存子うの胞子程度

Number of ascospores maintained in apothecia : - : なし No ascospores, + : 少し A few ascospores, ++ : 多い numerous ascospores

Table 10. 温度と子うの胞子の放出 (秋型 12月採取)

Discharge of ascospores at various temperatures under moist conditions (collected in December)

温度 Temperature (°C)	供試子 のう盤数 Number of apothecia examined	子うの胞子放出程度 ^{a)} Number of ascospores discharged 経過期間 (日) Elapsed time (days)								残存子うの 胞子程度 ^{b)} Apothecia at the end of experiment
		1	3	4	5	6	7	10	13	
0	3	+++	++	++	++	++	++	+++	++	++
3~7	3	+++	++	++	+	-	++	++	++	++
10	3	+++	+++	+	+	+	+	++	-	+
15	3	++++	+++	+	++	+	+	-	-	+
20	3	++++	+	-	-	-	-	-	-	+
25	3	++++	+	-	-	-	-	-	-	+
30	3	++++	+	-	-	-	-	-	-	+

a), b) : Table 9 の注に同じ

See the footnotes in Table 9

でも 7 日間で放出をほぼ終了した。しかし、10℃以下では少数ずつ16日間放出が認められた。子のう盤の内容調査から10℃では少数残存していたが、5℃以下ではまだ子のう胞子が充満しており、さらに放出が続くことを示した。

他方、秋型の場合 (Table 10) は、春型の結果とほぼ同様な傾向を示した。高温側 (20~30℃) では短期間で多数の胞子が放出され、10~15℃では7~10日間で放出を終了した。低温側 (0~7℃) では少数ずつ長期間にわたって放出が続き、子のう盤の内容調査から見ても、まだ放出が継続されることを示した。

湿度と子のう胞子の放出結果を Tables 11, 12 に示した。R.H. 100% では、春型及び秋型ともに3~6日間で子のう胞子がほぼ全部放出された。R.H. 98% ではわずかながら放出が認められたが、R. H. 94, 92及び87% では全く放出しなかった。

光条件と胞子放出結果を Table 13 に示した。胞子放出は春型・秋型ともに、明区及び暗区において放出数に全く差がなかった。

高温・高湿が継続して保たれると急激に子のう胞子の放出数が高まるが、高湿度条件下であっても低

Table 11. 相対湿度と子のう胞子の放出 (春型 6 月採取)

Discharge of ascospores under various conditions of relative humidity (collected in June)

相対湿度 Relative humidity (%)	供試子のう盤数 Number of apothecia examined	子のう胞子放出程度 ^{a)} Number of ascospores discharged 経過期間 (日) Elapsed time (days)						残存子のう胞子程度 ^{b)} Apothecia at the end of experiment
		1	3	6	10	15	18	
100	3	+	++++	+	-	-	-	-
98	3	+	-	-	-	-	-	++
94	3	-	-	-	-	-	-	++
92	3	-	-	-	-	-	-	++
87	3	-	-	-	-	-	-	++

a), b) : Table 9 の注に同じ

See the footnotes in Table 9

Table 12. 相対湿度と子のう胞子の放出 (秋型 5 月採取)

Discharge of ascospores under various relative humidities (Apothecia collected in May, forming in autumn of the previous year)

相対湿度 Relative humidity (%)	供試子のう盤数 Number of apothecia examined	子のう胞子放出程度 ^{a)} Number of ascospores discharged 経過期間 (日) Elapsed time (days)						残存子のう胞子程度 ^{b)} Apothecia at the end of experiment
		1	2	3	4	5	6	
100	4	++++	++++	++	-	-	-	-
98	4	+	-	-	-	-	-	++
94	4	-	-	-	-	-	-	++
92	4	-	-	-	-	-	-	++
87	4	-	-	-	-	-	-	++

a), b) : Table 9 の注に同じ

See the footnotes in Table 9

温の場合は少数ずつ長期間にわたって放出される。このことは紺谷ほか (1960 a ; 1960 b) が高温と高湿は孢子放出に良好な条件であると述べていることに一致する。

同属のヒノキ黒粒葉枯病菌 (*Chloroscypha chamaecyparidis*) でも高温・高湿条件下で放出数が高まることが報告されており (庄司, 1990), このような生理的性質は *Chloroscypha* 属菌の共通した性質と思われる。

一般的に菌類の孢子は放出に光条件の影響を受けないものが多いが, 黒粒葉枯病菌の場合も孢子放出に光条件を特に必要としないようである。このような性質は, 自然状態で閉鎖された陰湿な環境条件下でも放出が可能であることを示し, 陰湿な環境下では被害発生が著しいとする報告 (佐藤, 1972) に対応するものと思われる。

自然条件下における春型の子のう孢子放出と気象条件との関係を Table 14 に示した。最高気温は 6 月下旬から 9 月上旬まで 22~35℃ の範囲で推移し, 平年を上回る高温が続いたが, 9 月には 15℃ 前後と平年並みになった。降水量は実験開始の 6 月 26 日から 1 週間後まで 10 mm 程度記録されたが, 7 月 8 日以降無降雨であった。8 月中旬と 9 月下旬に 50 mm を越す降雨が記録された。このような条件下での孢子放出結果を見ると, 6 月 27 日から 7 月 4 日まで多数の孢子放出が認められ, 特に 6 月 28 日, 7 月 3 日の降雨日には多く, その翌日あるいは翌々日まで継続された。また 7 月 4 日から 10 日まで 1.5 mm の降雨にもかかわらず放出が多かった。この時期には林内の地上は湿った状態であり, 子のう盤が膨潤していることが観察された。7 月上旬頃, 本試験地では早朝にしばしば霧が発生する。少ない降雨でも霧が発生する場合には林内湿度が保たれ, 子のう盤は放出可能な状態になっていたものと推定される。8 月の降雨日でもわずかに放出されたが, 9 月 7 日以降降雨があっても放出されなかった。孢子放出期間は約 2 か月間であった。他方, 秋型の場合の気象条件と子のう孢子放出結果を Table 15 に示した。最高気温は 3~18℃ の範囲で推移した。なお, 1 月以降は平年に比べ異常な高温であった。降水量は 11 月上旬と 12 月上旬で多く, その他の旬と翌年の 1 月中旬は少なかった。また, 2 月下旬, 4 月上・中旬及

Table 13. 子のう孢子の放出と光条件との関係 (20℃)
Effect of light on discharge of ascospores of the fungus (20℃)

処 理 Treatment	子のう孢子放出程度 ^{a)} Number of ascospores discharged 経過期間 (日) Elapsed time (days)				残存子のう 孢子程度 ^{b)} Apothecia at the end of experiment
	1	3	5	8	
(春型 5 月) (Collected in May)					
明 区 Light	+++++	++	—	—	+
暗 区 Dark	+++++	++	—	—	—
(秋型 12 月) (Collected in December)					
明 区 Light	++++	++	—	—	—
暗 区 Dark	++++	++	—	—	—

a), b) : Table 9 の注に同じ

See the footnotes in Table 9

び5月中旬に集中的に50 mm を超す雨量があった。子のう胞子の放出数を見ると、春型の場合と同じ傾向を示し、降雨日とその数日後に放出が多く、無降雨日には放出がないかごく少ない。11月中旬から12月下旬まで最高気温が10℃を下回る日が多かったが放出が認められた。また胞子放出期間は約6か月間であった。

以上の結果をまとめると、自然条件下では子のう胞子の放出には、降雨が必要である。降雨日は特に放出数が高まり、数日後まで放出が続く。また、霧が発生した場合は、無降雨でも放出される。胞子放出期間は春型は2か月、秋型は6か月と異なるが、室内実験でも示されたように、放出に及ぼす温度条件が影響したものである。

3.5 子のう胞子の発芽

放出・分散された胞子は宿主上に到達して発芽するが、葉上では他の微生物との競合または環境条件など種々の制約を受ける。一般的に発芽は温度、湿度、栄養及びpHなどが重要な因子とされている(AINSWORTH *et al.*, 1966)。

黒粒葉枯病菌の発芽条件については、見るべき知見がないので、子のう胞子発芽条件について、1) 各地から時期別に採取した子のう胞子の発芽、2) 秋型子のう胞子の後熟と発芽、3) 子のう胞子の発芽に及ぼす温度・湿度及びpHの影響の諸点に検討を加えた。

Table 14. 春型子のう胞子の放出と気象条件との関係

Relation between discharge of ascospores and air temperature, and precipitation during the period of observation

調査月日 Date of observation	放出子のう胞子数 Number of discharged ascospores	最高気温 (°C) Maximum air temperature	期間降水量 (mm) Precipitation
1978. 6. 27	122	23.9	0
28	285	27.3	3.5
29	123	31.5	0
30	48	29.8	0
7. 3	273	28.2	5.5
4	380	26.0	0.5
5	453	32.0	0
6	158	32.0	0
7	80	31.6	1.0
8	150	33.0	0
10	293	31.9	0
11	62	31.4	0
12	35	30.7	0
13	18	29.9	0
14	0	29.9	0
17	8	30.8	0
19	6	30.8	0.5
24	0	33.5	0.5
26	0	35.4	0
28	12	33.5	0
8. 3	20	32.7	5.0
8	22	30.0	27.0
15	35	26.0	60.5
17	46	25.6	36.5
25	5	28.1	1.0
29	5	29.8	0
31	4	27.8	2.5
9. 7	0	22.4	9.0
14	0	20.8	4.5
28	0	21.3	74.0

3.5.1 材料及び方法

東北地方各地と長野県, 奈良県から採取した春型・秋型子のう胞子について時期別に発芽試験を行った。

子のう胞子は採取後直ちに実験に供した。岩手県湯田町 (Table 16の採取地 No. 10), 大迫町 (同 No. 14), 盛岡市梁川 (同 No. 15) 及び長野県長野市 (同 No. 20) の材料については, 人為的に野外で越冬させた後 (2~7か月間) に再実験した。青森県碓ヶ関村と福島県葛尾村の子のう盤は採取時まで積雪下にあった。子のう盤からの子のう胞子の採取は Fig. 5の方法で得た。実験はスライドグラス法によった (明日山ほか, 1962)。すなわち, スライドグラス上の胞子に水を1~2滴滴下し, 白金耳で一定面積に広げ, 湿室ペトリ皿内のU字ガラス棒上に配置し, 20℃の温度に保った。胞子数は顕微鏡倍率100倍で1視野当たり100~200個程度に調節した。調査は48時間後に行った。

実験は3反復で行い平均発芽率で表した。発芽管長は30~50個測定しその最大長を表示した。

秋型子のう胞子の後熟試験については, 子のう盤を1974年11月に湯田町から採取した。実験条件として, 冬季間の子のう盤は積雪下において湿潤状態を保っていると推定されたので, 湿潤状態で行った。対照として乾燥状態でも行った。採取した病葉は実験室内 (20℃) で24時間乾燥させた後 (含水率21%), 9 cm 腰高ペトリ皿に入れ, これを乾燥区とした。また, 湿潤区では, 24時間水に浸漬した病葉 (含水率74%) を R.H. 100%の9 cm 腰高ペトリ皿に入れ, これを湿潤区とした。これらは5, 0及び-5℃の

Table 15. 秋型子のう胞子の放出と気象条件との関係

Relation between discharge of ascospores and air temperature, and precipitation during the period of observation

調査月日 Date of observation	子のう胞子放出数 Number of discharged ascospores	最高気温 (℃) Maximum air temperature	期間降水量 (mm) Precipitation
1978. 10. 13	0	12.1	4.0
16	9	18.2	1.0
30	100	13.0	101.5
11. 6	795	17.0	0
7	77	17.0	0
10	232	9.0	3.5
13	446	4.9	12.0
15	442	10.6	10.0
17	398	6.0	0.5
20	676	8.3	5.5
22	162	9.9	0
24	44	9.8	0
27	10	6.9	0.5
29	103	8.6	5.0
12. 4	236	6.0	16.0
11	504	4.4	42.5
13	118	14.9	0
18	187	3.7	2.0
22	0	6.1	0
1979. 1. 9	122	10.4	3.5
17	17	2.7	6.0
2. 21	399	14.4	104.0
3. 9	15	9.6	1.0
4. 1	38	8.8	69.5
14	125	11.6	76.0
19	6	14.1	22.5
27	0	8.6	15.5
5. 14	0	14.3	75.5

恒温器（暗所）に保った。比較のために室内放置（16～24℃）及び野外（東北支所構内）の積雪下に置いた区も設けた。実験は11月11日から開始した。貯蔵した子のう盤は約10～20日間隔で取り出し、スライドグラス法によって発芽実験を行った。

温度条件については、春型子のう盤は気仙沼市（6月）、秋型の越冬子のう盤は盛岡市梁川（5月）、秋型子のう盤は湯田町（11月）からそれぞれ採取した材料を用いた。また、湯田町から11月に採取した材料は、直ちに5℃の恒温器に入れ2月まで保存し、高率に発芽するのを確認してから再実験した。実験はスライドグラス法によった。調査は48時間後に行ったが、秋型子のう胞子（湯田町11月採取）は48時間後でも発芽しなかったので96時間後まで延ばした。

湿度条件については、スライドグラス上に採取した子のう胞子を室温下で風乾後、各種の飽和塩類水溶液で相対湿度（R.H.）を調整したデシケータ内に保った。調査は48時間後に行った。

pH条件については、秋型子のう盤を1976年11月に湯田町から採取して、東北支所構内のスギ林下で越冬させた後に、1977年5月9日に発芽することを確認した材料を用いて行った。実験はスライドグラス法によった。スライドグラス上の子のう胞子に1/10 NのHClと1/10 NのNaOHでpHを調整した脱イオン水を数滴下し、ペトリ皿内のU字ガラス棒上に設置した。さらに、ペトリ皿内のろ紙を乾燥防止のため発芽液で湿らせた。調査は48時間後に行った。

以上の3実験は3反復で行い、発芽率は平均値で表した。

3.5.2 結果及び考察

各地から採取した子のう胞子の発芽結果をTable 16に示した。春型子のう胞子及び秋型越冬子のう胞子は容易に発芽し、発芽率も56～98%と高く、発芽管も48時間後で39～54 μm 伸長した。しかし、秋型の採取直後の子のう胞子は、極めて低率か全く発芽しなかった。このような現象は採取場所が異なっても同様であった。

本菌子のう胞子の発芽については、紺谷ほか(1961)、GREMMEN(1963)、田辺(1963)、小林(1965)の報告に見られるように人工培地上での発芽はかなり難しいことがうかがえる。しかし、本実験で示されるように、春型あるいは秋型越冬子のう胞子は発芽が良好であった。ただし、秋型子のう胞子はよく放出されて、形態上も成熟しているように見えるが発芽能力がなかった。

一般的に胞子の発芽には種々の条件があって、条件が適合しない場合には一定の休眠期間（Dormancy）あるいは後熟期間（Afterripening）を経て発芽するといわれている（AINSWORTH *et al.*, 1966）。秋型子のう胞子の場合には越冬後に発芽することから、休眠あるいは後熟期間が必要と考えられた。

秋型子のう胞子の後熟試験結果をTable 17に示した。野外に設置された子のう盤は、設定日から3日目で降雪があり、以後積雪下となったため0℃前後の温度条件と推定された。各処理区の子のう胞子の発芽は78日目（1975年1月29日）まで0.3～9.7%と低率であったが、87日目では野外（84.1%）と-5℃を除く乾燥区（5℃区37.5%、0℃区91.0%）の発芽率が急激に高まり、野外区を除いて121日目まで高発芽率を維持した。また乾燥区の-5℃でも発芽率が低い（10～20%）、似た傾向を示した。湿润区（5, 0, -5℃）では56日後まで低率な発芽を示したが、78日目以後は子のう盤の腐敗が進み、これらからは子のう胞子が放出しなかった。野外区の98日目に取り出した子のう盤も腐敗していた。室

Table 16. 各地から採取された子のう胞子の発芽 (20℃)
Germination of ascospores collected at various localities (at 20℃)

No.	採取地 Locality	採取月日 Date of collection	総胞子数 Total number of ascospores	発芽率 ^{a)} Germination rate (%)	最大発芽 管長(μm) Max length of germ tube
(春型)(Collected in spring)					
1	Pref. 岩手県 滝沢村長根 Iwate Nagane, Takizawa	1974. 4. 4	421	84. 4	40
2	盛岡市鍋屋敷 Nabeyashiki, Morioka	1975. 6. 20	2 917	56. 5	39
3	盛岡市鍋屋敷 Nabeyashiki, Morioka	1977. 5. 8	455	92. 8	45
4	盛岡市鍋屋敷 Nabeyashiki, Morioka	1977. 5. 4	299	95. 0	54
5	宮城県 気仙沼市狼巣 Miyagi Oinosu, Kesenuma	1980. 6. 20	792	93. 8	47
6	宮城県 気仙沼市狼巣 Miyagi Oinosu, Kesenuma	1980. 7. 24	348	88. 5	42
7	宮城県 気仙沼市狼巣 Miyagi Oinosu, Kesenuma	1980. 7. 28	487	98. 0	40
8	奈良県 吉野市 Nara Yoshino	1980. 6. 8	216	76. 3	50
(秋型)(Collected in autumn)					
9	青森県 弘前市 Aomori hirosaki	1978. 10. 21	163	0	
10	岩手県 湯田町野野宿 Iwate Nonoshuku, Yuda	1974. 11. 6	666	0	
11	湯田町中畑 Iwate Nonoshuku, Yuda	1975. 12. 5	2 275	0. 04	
12	Nakanohata, Yuda 湯田町越中畑 Iwate Nonoshuku, Yuda	1976. 11. 11	1 277	0	
13	Ettyuhata, Yuda 湯田町川尻 Iwate Nonoshuku, Yuda	1976. 12. 22	1 032	0	
14	Kawashiri, Yuda 大迫町 Iwate Nonoshuku, Yuda	1974. 11. 21	3 023	0	
15	Oohazama 盛岡市梁川 Iwate Yanagawa, Morioka	1974. 12. 6	1 071	0	
16	秋田県 雄勝町 Akita Okatsu	1973. 11. 2	411	0	
17	山形県 真室川町釜淵 Yamagata Kamabuchi, Mamurogawa	1973. 11. 22	254	0	
18	真室川町釜淵 Yamagata Kamabuchi, Mamurogawa	1975. 12. 6	770	0	
19	Kamabuchi, Mamurogawa 真室川町大滝 Yamagata Kamabuchi, Mamurogawa	1976. 10. 26	889	0	
20	Ootaki, Mamurogawa 長野県 長野市 Nagano Nagano	1984. 10. 14	324	0	
(秋型越冬) Over winter apothecia collected in autumn					
⑩	青森県 碓ヶ関村 Aomori Ikarigaseki	1974. 3. 3	362	82. 8	40
⑭	岩手県 湯田町野野宿 Iwate Nonoshuku, Yuda	1974. 11. 6	273	72. 5	43
⑮	大迫町 Iwate Nonoshuku, Yuda	1974. 11. 21	634	79. 1	45
22	Oohazama 盛岡市梁川 Iwate Yanagawa, Morioka	1975. 12. 6	184	98. 4	51
23	秋田県 田沢湖町 Akita Tazawako	1974. 5. 16	209	88. 6	41
24	山形県 真室川町釜淵 Yamagata Kamabuchi, Mamurogawa	1974. 3. 27	258	61. 3	39
25	Kamabuchi, Mamurogawa 真室川町釜淵 Yamagata Kamabuchi, Mamurogawa	1976. 5. 8	110	79. 0	45
26	Kamabuchi, Mamurogawa 真室川町釜淵 Yamagata Kamabuchi, Mamurogawa	1977. 4. 20	226	81. 2	40
⑳	長野県 長野市 Nagano Nagano	1984. 10. 14	118	76. 2	43
27	福島県 葛尾村 Fukushima Kuzuo	1986. 3. 27	183	91. 9	41

a) : 48時間後の発芽率 Germination rate after 48 hours

○ : 人工的に越冬させた後に再試験 Germination test of ascospore after artificial end of winter

内放置区では、78日目から低率ながら発芽を開始したが、121日目まで発芽率の大幅な増加は認められなかった。このように、子のう盤を低温条件下（0～5℃）で保持して、約3か月の後熟期間を与えることによって発芽率が急上昇することが確認された（Photo. 2—C, D）。

田辺（1963）は、子のう胞子の採取時期は明らかではないが、1 M のショ糖液で発芽（30%）が促進されると報告している。

子のう胞子の発芽に後熟期間が必要な菌として、成熟後1～2か月を経て放出と発芽を開始するマツの皮目枝枯病菌（*Cenangium ferruginosum*）（小林ほか，1963）や、より長期にわたる放出と未発芽期間をもつコフキタケ（*Elfvigia applanata*）（青島，1954）のほか、各種の菌類で知られている（AINSWORTH *et al.*, 1966）。本菌の場合は秋型子のう胞子に限って一定の後熟期間を必要とする点が大きな特徴といえる。また、低温条件下で約3か月経過後に子のう胞子の発芽活性が増すことは越冬後高率に発芽するという自然環境によく対応している。胞子が休眠状態となり環境条件が生育に適していても発芽しない場合を構成性休眠（constitutive dormancy）という（AINSWORTH *et al.*, 1966）。こうした胞子では発芽のために一定期間の加齢（aging）が必要である。本菌の秋季形成直後の子のう胞子はこれに該当すると考えられる。

温度と発芽の関係を Fig. 6 に示した。春型子のう胞子は10～20℃で発芽率が高く、25℃では低率であった。また、0、5及び30℃では全く発芽しなかった。秋型越冬子のう胞子の場合、5℃でごくわずかに発芽したが、5℃以外の温度条件での発芽結果は、春型とほぼ同様の傾向を示し、10～20℃では50%以上の高率発芽であった。30℃では発芽しなかった。11月採取の子のう胞子の場合、96時間後に10～20℃の範囲で発芽したが、その率は低かった。しかし、5℃で約3か月間保存した後では、10～20℃

Table 17. 秋型子のう胞子の後熟期間と発芽率との関係
Relation between aging period and germination rate of ascospores collected in autumn

貯蔵温度 Temperature of storage	調査月日 Date of observation	経過日数 Elapsed time (days)	1974年			1975年				
			11月 Nov. 12	11月 Nov. 21	12月 Dec. 11	1月 Jan. 7	1月 Jan. 29	2月 Feb. 7	2月 Feb. 18	3月 Mar. 13
			0	9	29	56	78	87	98	121
乾 燥 貯 蔵 Kept under dry conditions	5	0	6.5	7.1	0.3	37.5	54.9	77.9		
	0	0	0	4.6	7.6	0	91.0	30.6	33.5	
	-5	0	1.8	1.0	0	18.4	14.8	10.5		
湿 室 貯 蔵 Kept under wet conditions	5	0.6	—	(—)						
	0	1.5	0	9.7	(—)					
	-5	0	0	0.7	(—)					
野外 Outside (湿润 Wet)		0	—	0	0	0	84.1	(—)	(—)	
室内 Inside (風乾 Dry)		0	0	0	0	2.3	4.6	5.8	3.7	

— : 子のう胞子無放出 No ascospore discharge (—) : 子のう盤腐敗 Rotting apothecia

の範囲で30~80%と高い発芽率を示した。

相対湿度と発芽の関係を示した。R.H.100%で高い発芽率を示し、R.H.98%では低率であった。また、R.H.94%以下では全く発芽しなかった。

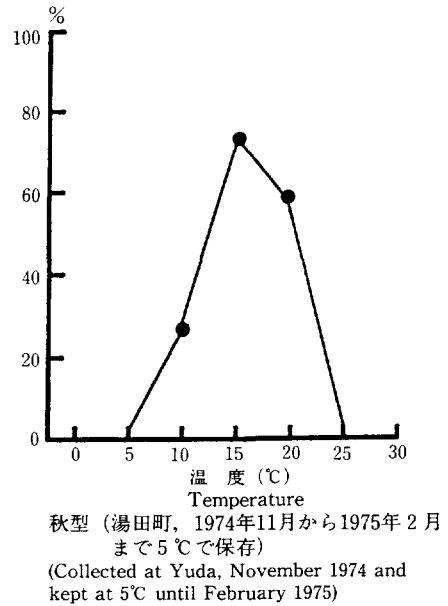
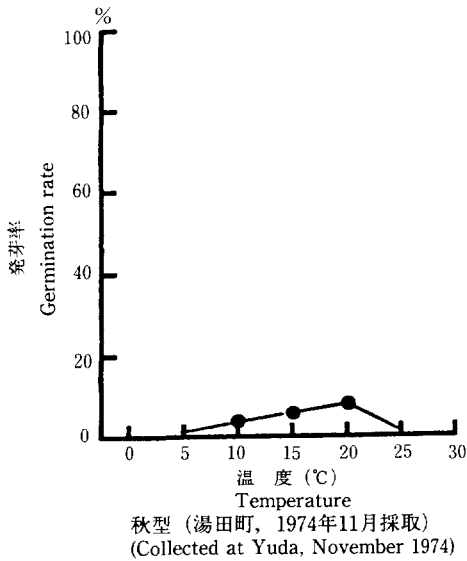
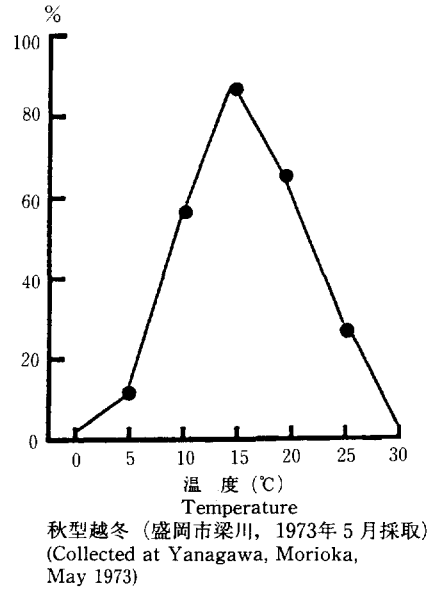
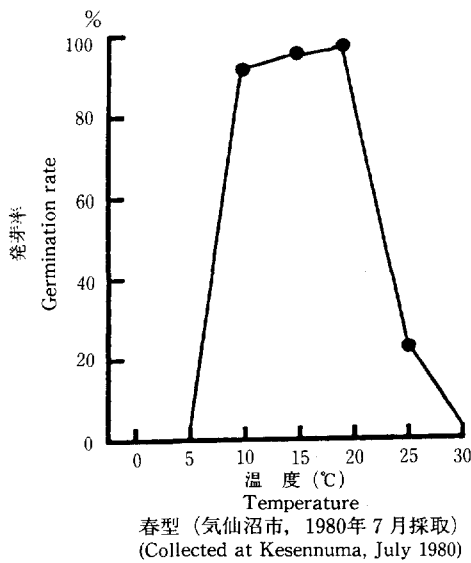


Fig. 6 子のう胞子の発芽に及ぼす温度の影響
Effect of temperature on germination of ascospores

pH と発芽の関係を図. 8 に示した。春型では pH 3.0~10.3 で高率に発芽して大差なく、pH 2.4 で低く、pH 10.8 では発芽しなかった。また、秋型では pH 3.3~10 の範囲で高い発芽率を示したが、pH 2.1 では低く、pH 11.4 では発芽しなかった。

以上の結果をまとめると、子のう胞子の発芽は高湿度条件下 (R.H. 98% 以上) で、10~20℃ の比較的低温下に適温を有し、pH 条件も 3~10 の広い範囲で発芽する。発芽に適した温度、湿度条件は、ちょうど梅雨期の気象条件に対応している。秋季にも子のう胞子の発芽適温時期があるが、すでに述べたよ

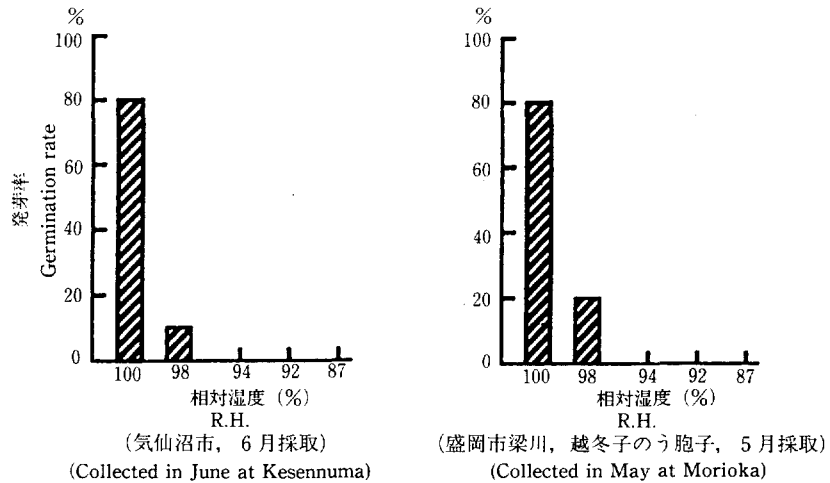


Fig. 7 子のう胞子の発芽に及ぼす相対湿度の影響 (20℃, 48時間後)
Effect of relative humidity on germination of ascospores (at 20℃, after 48 hours)

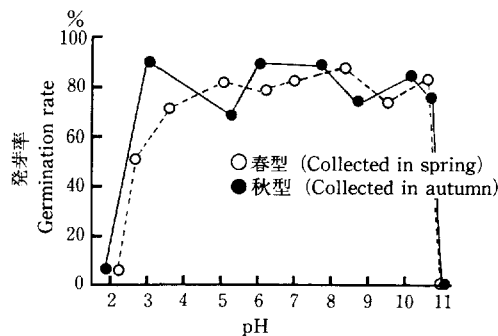


Fig. 8 子のう胞子の発芽に及ぼすpHの影響
(20℃, 48時間後)
Effect of pH on germination of ascospores (at 20℃, after 48 hours)

うに秋型子のう胞子は後熟期間を必要とするため、温度、湿度条件が適当でも発芽率が著しく低い。

スギ黒粒葉枯病菌子のう胞子の発芽に及ぼす温度、湿度及びpH条件を、同属のヒノキ黒粒葉枯病菌 (*C. chamaecyparidis*) と比較して見ると、ヒノキ黒粒葉枯病菌は、湿度100%の条件下では温度が10~20℃で高発芽率を示し、pH条件も3~9の広い範囲で発芽するなど一致する点が多く(庄司, 1990)、*Chloroscypha* 属菌に共通した性質のように思われる。

3.6 菌叢の培養的性質

黒粒葉枯病菌の培地上での基本的性質については全く知られていないので、菌叢の生育に及ぼす各種培地、温度及びpHの影響について調査した。

3.6.1 材料及び方法

各種培地上における菌の生育については、1977年6月21日岩手県湯田町から採取した子のう胞子から単胞子分離した菌株を用いた。供試培地は、天然培地としてジャガイモせん汁(以下PSA)、麦芽エキス(Malt 20g/1ℓ蒸留水)、Defco製ポテトエキス(Defco製ポテトエキストラクト5g、グルコース10g/1ℓ蒸留水)、スギ生葉せん汁(スギ生葉50g/1ℓ蒸留水、ろ液に2%しょ糖加用)、半合成培地としてYpSs(EMERSON)、(酵母エキス4g、可溶性デンプン15g、 K_2HPO_4 1g、 $MgSO_4$ 0.5g/1ℓ蒸留水)(宇田川, 1978)及びWAKSMAN培地を用いた。合成培地としてRICHARD, CZAPEK, CURRIE, MAYER, SMITH, HOPKINS, NEGELI及びAsparagine(明日山ら, 1963)の14種類を用いた。実験は液体培養と固体培養(液体培地に2%寒天を加用)とした。液体培養の場合は、200ml三角フラスコに各種培地を100mlずつ入れ、高圧殺菌(120℃, 20分)後、あらかじめPSAで培養しておいた菌叢(寒天ブロック5×5mm)を接種した。固体培養は、ペトリ皿による平板培養とネジロ試験管(直径24mm、長さ20cm、培地20ml)による斜面培養を行った。各区当たり平板培養の場合は5枚のペトリ皿を、斜面培養の場合は5本の試験管、そして液体培養の場合は3個のフラスコを用いた。培養温度は固体・液体培養ともに20℃で行った。培養期間は平板培養では15日、斜面培養では88日、液体培養の場合は41日間とした。

菌の生育の良好であったPSA培地を用いて温度の試験を行った。実験は斜面培養で行った。温度は0~35℃の範囲を5℃間隔で8段階に設定した。各区当たり5本の試験管を用いた。培養期間は68日間とした。ジャガイモせん汁を1/10NのHClと1/10NのNaOHでpHを調整して液体培養を行いpHについて調べた。各区当り3個のフラスコを用い、20℃で培養した。培養期間は41日間とした。

菌叢の生育比較は、ペトリ皿の場合は平均菌叢直径で行った。斜面培養の場合は、試験管を煮沸して寒天を溶かし菌叢を取り出し、蒸留水で洗浄した。液体培養の場合も菌叢を蒸留水で洗浄した。どちらも秤量管に入れ60℃、48時間乾燥し、菌体重量を測定した。

3.6.2 結果及び考察

菌叢の特徴をPSA平板培地の発育経過で見ると、はじめ白色か淡黄色の菌糸が発育し、やがて表面が凹凸のある厚い菌叢をつくる。のちにその一部から不規則に広がる薄い白色の菌叢を生じ、時間の経過とともに褐色から赤褐色となる。菌の生育は極めて遅い。

各種培地上での生育結果をFig. 9に示した。平板培養ではPSAが最も生育がよく、ついでスギ生葉せん汁寒天であったが、菌叢は薄かった。MaltとYpSs寒天培地も菌は同等の生育を示した。Defco

ポテトエキス及び WAKSMAN 寒天培地上では菌の生育は極めて不良で、RICHARD 及び CZAPEK 寒天培地上では生育しなかった。斜面培養における菌の生育は、YpSs 培地、Malt 培地、PSA 培地の順に良好であったが、Defco ポテトエキス、WAKSMAN 培地及びスギ生葉せんじ培地ではかなり劣った。平板培養で菌が生育しなかった RICHARD 及び CZAPEK 培地上では 3 か月間培養することによって発育した。液体培養の場合は、固体培養の結果と同様な傾向が認められた。しかし CURRIE 培地ほか 5 種類の合成培地上では、いずれの培養方法でも生育しなかった (Photo. 2-E)。

菌叢の生育と温度の関係を Fig. 10 に示した。菌は 0～30℃ の間で生育し、35℃ では生育しなかった。最適温度は 20～25℃ の範囲にあった。

菌叢生育と pH の関係を Fig. 11 に示した。pH 5.9, 6.4 の弱酸性で菌は最も良好な発育を示し、これより酸性側あるいはアルカリ側になると不良となった。

以上の培地の種類、温度及び pH 条件における菌叢生育は、同属のヒノキ黒粒葉枯病菌の菌叢生育と類似する点が多い (庄司, 1990)。

4 病原菌の病原性

本病は子のう胞子による感染で発生すると予想されるが、これまでにその病原性は確かめられていなかった。病原体として確定されるには、Koch の 4 原則 (GEORGE, 1988) に適合する必要がある。すなわち、1) 病原体が病気または症候群に常に随伴する。2) 病原体を純粹に分離・培養ができる。3) 病原体を健全な植物に接種すると同じ病気または症候群が発現する。4) 接種によって発病した宿主から接種したのと同じ病原体を再分離できる。このような 4 項目を満たすことが必要である。

本章では病原菌糸のスギ組織内への侵入様式、接種試験による病原性並びに感染時期について検討を加えた。

4.1 病原菌のスギ針葉組織内への侵入様式

子のう胞子発芽菌糸及び培養菌糸がスギ葉組織内に侵入する様式について調査した。

4.1.1 材料及び方法

健全なスギ針葉を 1 本ずつ切り取り水洗後、20 倍アンチホルミンで 20 分間表面殺菌を行った。その後針葉を殺菌水で十分に洗ってスライドグラス上に並べ、R.H. 100% のペトリ皿の中央部に設置した。スライドグラスの両側に小木片を置き、この上に金網をのせて一定の空間を作り、十分水洗した子のう盤形成枝葉を並べ、20℃ で 24 時間保ち、下面のスギ針葉上に子のう胞子を放出させた。他方、培養菌糸については、9 cm ペトリ皿の PDA 培地上で発育した菌叢の周囲に、アンチホルミン (20 倍液で 20 分) で表面殺菌後、殺菌水で十分洗浄したスギ針葉を先端から浅く挿し 20℃ で培養した。スギ針葉は 3～4 日ごとに取り出して、2% グルタルアルデヒドを用い、5℃ で 24 時間固定した。固定後エタノールシリーズで脱水し、酢酸イソアミルで置換後、臨界点乾燥して金蒸着し (佐藤昭二ほか, 1983)、走査電子顕微鏡で観察した。また解剖するための試料を FAA 液で固定し、パラフィン包埋後、13 μm の厚さで切片を作り、サフラニン、ファーストグリーンで 2 重染色し光学顕微鏡下で観察した。

4.1.2 結果及び考察

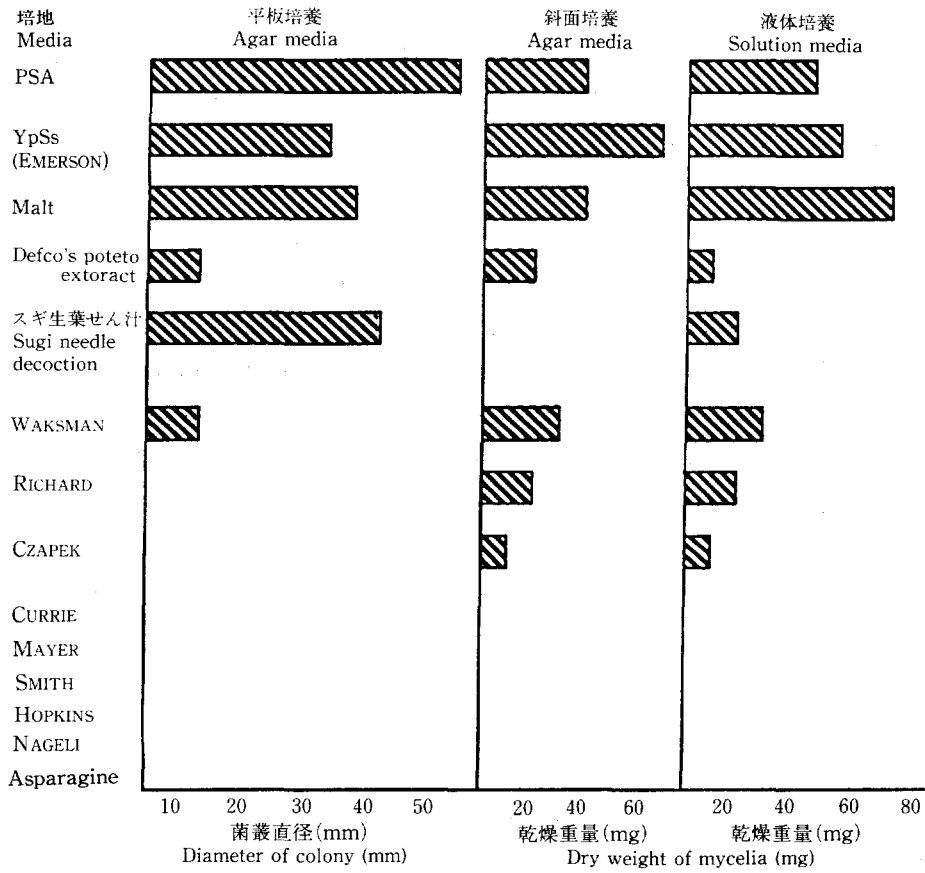


Fig. 9 各種培地上における菌叢の発育
Mycelial growth of the fungus on or in various media

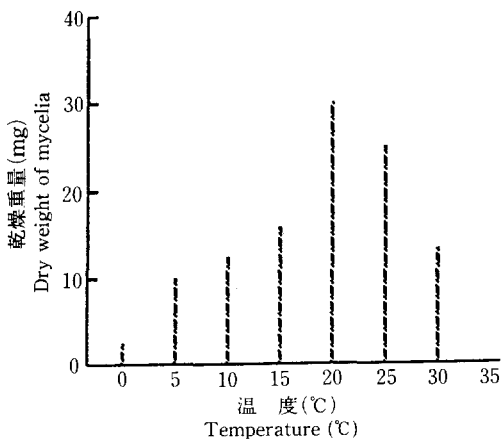


Fig. 10 菌叢発育と温度との関係
Relation between temperature and mycelial growth of the fungus

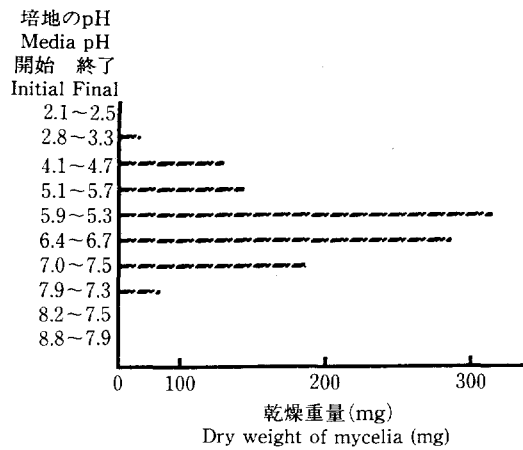


Fig. 11 菌叢発育とpHとの関係
Relation between pH and mycelial growth of the fungus

子のう胞子の組織内侵入を観察した結果について見ると、3日目では、胞子が発芽し、発芽管の伸びもわずかであった。7日目では分岐した菌糸が特に気孔に集まるということではなく、葉上を迷走しながらランダムに気孔に侵入するのが見られた。9日目では気孔上に伸びた菌糸が、その真上で分岐する現象が見られた (Photo. 2—A, B)。

培養菌糸を用いた侵入方法を見ると、培養開始21日目から菌糸の針葉への侵入が見られた。侵入様式は子のう胞子の場合に見られたように、葉上を迷走した菌糸が気孔上で分岐し侵入するのが見られた。さらに、組織解剖による横断切片の観察結果では、組織内への侵入は気孔からであった。

病原体の宿主組織内侵入様式には、表皮を直接貫入して侵入する方法、自然開口部 (気孔、水口) から侵入する方法、傷から侵入する方法などがある (真宮, 1992)。盤菌類で角皮侵入する菌としてはトドマツ枝枯病菌 (*Scleroderris lagerbergii*) が知られている (松崎, 1985)。黒粒葉枯病菌の場合は、子のう胞子及び菌糸の針葉表面上での動態と、菌糸侵入後の組織解剖結果から見て、菌糸は気孔から侵入すると考えられる。

4.2 接種試験

本項では培養菌糸と子のう胞子を用いて接種を行い、本病原菌の病原性について検討を加えた。

4.2.1 材料及び方法

培養菌糸による春接種については、1978年6月、森林総合研究所東北支所構内で行った。供試菌株 (岩手県湯田町, 1977年4月5日胞子採取, 単胞子分離) は、PS液体培地で20℃、18日間の振とう培養を行った後、培養液を殺菌ガーゼ2枚でろ過して菌体を得た。菌体を蒸留水で2回洗浄した後、さらに蒸留水を加えてホモジナイズし、6月26日、鉢植え2年生実生苗 (平均苗高75cm) に対して、苗木1本当たり100ml噴霧接種した。接種後苗木はシラカンバ林内に置き、晴天日には灌水を行い、接種苗をなるべく湿潤に保った。接種区は6本、無接種区は3本供試した。調査は接種年の12月7日と1979年4月21日に行った。

秋接種については、森林総合研究所構内で行った。供試菌株 (福島市半田山, 1978年3月30日胞子採取, 単胞子分離) はPDA培地で20℃、27日間培養後、菌叢を培地から取り出し、蒸留水とともにホモジナイズした。1985年9月30日、本病に感受性の3年生サンプスギ (平均苗高63cm) に対して、苗木1本当たり100ml噴霧接種した。接種後は接種装置 (20℃, R.H. 100%) に14日間置き、その後は野外のアカマツ林内に移した。接種区、無接種区ともに6本ずつ供試した。水管理は特に行わなかった。調査は1986年6月18日、11月25日及び1987年3月9日に行った。

春型子のう胞子を用いた接種は、森林総合研究所東北支所構内で行った。サンプスギさし木苗 (3年生, 平均苗高45cm) を1鉢当り5本を植え、1年間おいて活着させた。これらの苗木を1983年6月27日、接種装置 (23℃, R.H. 100%) に入れ、苗木の直上に設置した金網に子のう盤を多数形成している病葉を並べた (気仙沼市から1983年6月25日に採取)。病葉に対して随時灌水して子のう盤からの子のう胞子放出を促した。48時間後の観察によると、子のう胞子は多数放出され、高率に発芽していた。本装置に10日間置いた後、野外に出し、寒冷しゃを用いて照度を100, 62, 47及び14%に設定した囲いの中に入れ、9月15日 (70日間) まで被陰処理を行った。その後は、散光の当たるスギ林内に移し観察した。供試苗は1被陰処理当り、接種区10本 (2鉢), 無接種区5本 (1鉢) とした。調査は、1983年9月15日、1984年10月19

日に行った。

秋型子のう胞子による接種は、森林総合研究所構内で行った。供試苗は、サンプスギさし木苗(3年生、平均苗高58 cm)を用いた。接種源の子のう盤は、1986年3月27日福島県相馬郡葛尾村から採取した。子のう盤は積雪下にあったことから越冬子のう盤と推定された。これらの子のう盤形成枝葉は当所構内のスギ林内の地上に放置して、子のう胞子が高率に発芽するまで待った。子のう胞子が高率に発芽を開始した1986年5月23日、春接種に準じて接種装置内(23℃, R.H. 100%)の苗木に接種した。14日間後、野外の散光の当たるアカマツ林内に置いて観察を続けた。最終調査は1987年5月23日に行った。供試苗は接種区、無接種区ともに6本ずつ用いた。

4.2.2 結果及び考察

春接種の試験期間中の気象条件を Fig. 12 に示した。気温は平年並みであった。接種した6月下旬の降水量は30 mm 前後であり、7月上旬は10 mm 程度で少なかった。8月と9月では100 mm 前後の降雨があった。

1978年12月7日の観察では病斑や枯死した枝葉は見られなかった。1979年4月21日の発病結果を Table 18 に示した。接種苗では針葉あるいは枝全体が枯死したのが見られ、自然状態で見られるような、褐色小病斑や針葉先端から枯死する典型的な病徴を呈した。発病は下枝に限られていた。発病した枝葉には子のう盤が形成され、本菌の病原性が確認された。無接種区でも8%の枯死枝が見られたが、子のう盤の形成がなく、*Phoma* や *Pestalotia* 属菌が形成されていた。

秋接種の試験期間中の気象条件を Fig. 13 に示した。1985年の気温、降水量はともに平年並みであった。1986年は8月まで平年より低めに推移したが、9月以降平年並みに戻った。雨量は平年に比べて多かった。1986年6月及び11月の観察では、病斑や枯死枝葉が認められなかった。1987年3月9日の調査結果を Table 19 に示した。調査時点における接種区の発病枝はすでに枯死していた。発病は下枝の部分で多かった。枯死した枝葉には子のう盤が多数形成されていた。無接種区でも枯死した枝葉が見られたが、子のう盤の形成はなく、*Phoma* や *Pestalotia* 属菌が形成されていた。

春型子のう胞子による接種試験期間中の気象条件を Fig. 14 に示した。1983年の気温は平年に比べ6~7月が低温で推移したが、8月上・中旬で高温となった。1984年は8月で高温であったほかは平年並みであった。降水量は1983年1984年ともに平年並みであった。

発病結果を Table 20 に示した。1983年の9月の観察では(接種3か月後)、接種区の一部の葉上に褐色小斑点が見られ、これが互いに融合して大型の斑点となったものも認められた(この斑点上に、翌春子のう盤の形成があり本病の初期病徴であったと確認できた)。1984年10月19日の調査では、31~59%の枯死枝葉が認められ、これらには多数の子のう盤が形成されていた。無接種区でも枯死枝葉があり、少数の本菌子のう盤が認められ自然感染があったと思われたが、これらには *Phoma* や *Pestalotia* 属菌が優占して形成されていた。照度と発病との関係では、相対照度100%区が平均発病枝率54%、それぞれ62%区が33%、47%区が37%、14%区が35%であり、処理間には有意な差は認められなかった。

秋型子のう胞子による接種試験期間中の気象条件は Fig. 13 と同じである。1986年6月から11月までの観察では病斑や枯死した枝葉は認められなかった。12月の観察では接種区の下枝に数本の枯死枝が認

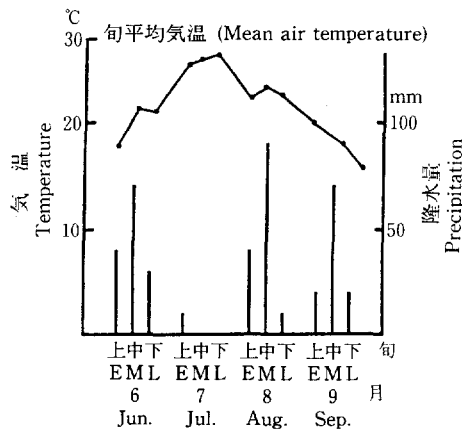


Fig. 12 試験期間中の旬別気温と降水量 (盛岡, 1978)
Temperature and precipitation during the period of experiment (at Morioka, 1978)

E: first ten days M: middle ten days L: last ten days

点線グラフ: 平均気温
棒グラフ: 降水量
Segmented line: Mean air Temperature
Bar: Precipitation

Table 18. 菌糸による接種試験結果 (春接種)

Inoculation experiment with mycelial suspension (in spring)

処理 Treatment	全枝数 Number of shoots	枯死枝数 Number of dead shoots	枯死枝率(%) Rate of dead shoots
接種 Inoculated	101	31	31
無接種 Control	48	4	8

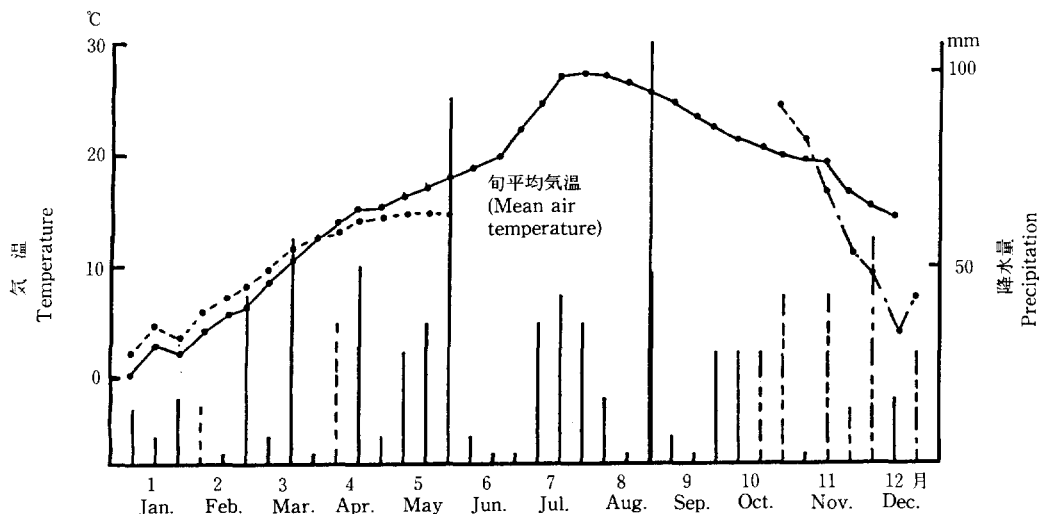


Fig. 13 試験期間中の旬別気温と降水量 (森林総合研究所)

Temperature and precipitation during the period of experiment (at Ibaraki, 1985, 1986, 1987)

---- 1985 ——— 1986 --- 1987

点線グラフ: 平均気温
棒グラフ: 降水量
Segmented line: Mean air temperature
Bar: Precipitation

Table 19. 菌糸による接種試験結果 (秋接種)
Inoculation experiment with mycelial suspension (in autumn)

処 理 Treatment	全枝数 Number of shoots	枯死枝数 Number of dead shoots	枯死枝率(%) Rate of dead shoots
接 種 Inoculated	199	41	21
無接種 Control	21	1	4

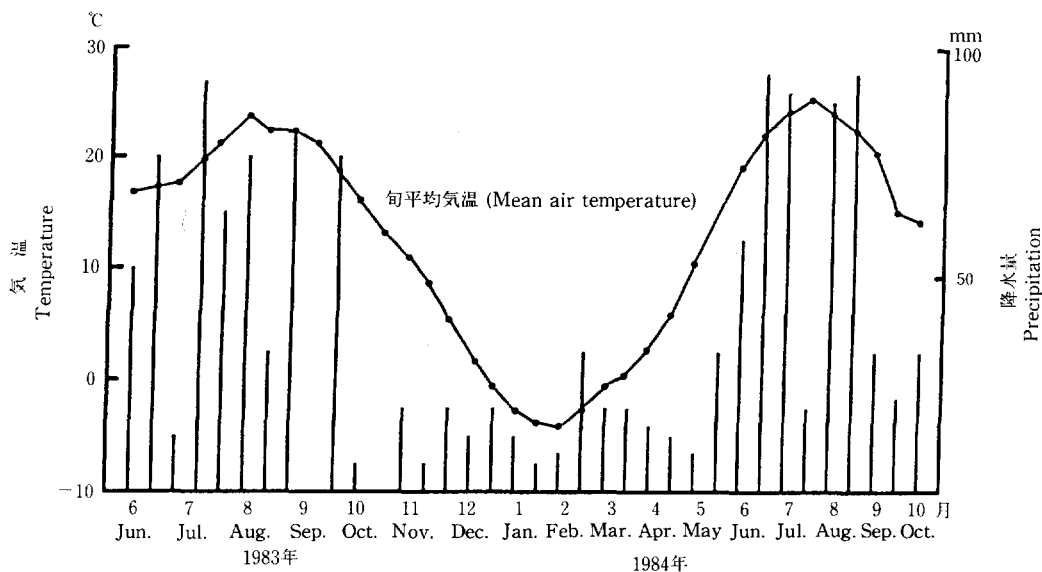


Fig. 14 試験期間中の旬別気温と降水量 (盛岡)

Temperature and precipitation during the period of experiment (at Morioka)

点線グラフ：平均気温

棒グラフ：降水量

Segmented line: Mean air temperature

Bar: Precipitation

Table 20. 春型子のう胞子による接種試験結果
Inoculation experiment with ascospores collected in spring

処 理 Treatment	相対照度(%) Relative illumination	全枝数 Number of shoots	枯死枝率 Rate of dead shoots(%)	子のう盤形成 Apothecial production
接 種 Inoculated	100	239	54	+
無接種 Control		111	6	-
接 種 Inoculated	62	220	33	+
無接種 Control		107	4	-
接 種 Inoculated	47	226	37	+
無接種 Control		133	11	-
接 種 Inoculated	14	111	35	+
無接種 Control		105	6	-

— : No apothecial development, + : Apothecial development

められたが、子のう盤の形成がなく本病によるものかどうか明らかではなかった。1987年5月23日の調査結果を Table 21 に示した。接種区の枯死枝率は6%と低率であったが、供試本数6本中3本に発病が認められ、子のう盤が多数形成されていた。無接種区では1本の枯死枝が認められたが、これには *Phoma* 属菌が形成されていた。

以上の結果をまとめると、菌糸による春・秋接種及び春型子のう胞子・秋型越冬子のう胞子による春接種はともに病気の進行状況と病葉上に形成される病原体から見て、自然状態で見られる発病経過及び発生状況と一致し、本菌の病原性が立証されたものと考えられる。菌糸による春接種の潜伏期間は1年であった。また、秋接種の場合は約1.5年を要した。秋接種の潜伏期間が長い理由は、菌叢の生育適温が20~25℃にあるので、気温の影響を受けたものと推測される。春型子のう胞子と秋型越冬子のう胞子の春接種の結果は、ともに1年後に顕著な発病が認められ、胞子形成時期による病原性の差異は認められなかった。伊藤(1965)は、本菌の潜伏期間について、発病葉が前年形成かあるいはそれ以前のものに限られること及び本菌菌叢の成長速度から見て潜伏期間は非常に長いと推論している。今回の実験結果では感染後約3か月(9月頃)で葉上に褐色小斑点が形成される。また、これらが融合したやや大型の病斑も見られる。このような病斑を形成して枯死した針葉上には翌春、病原体の子のう盤が形成されたことから、これらは本病の病斑と推測できる。このように初期病斑が年内秋に見られるが、出現する病斑数はごく少なくほとんど目立たない。病状が進展し、著しい子のう盤形成が見られるのは感染翌年の5~7月頃である。

病気の発生しやすい環境条件の一つとして、保育の遅れた密植林地が挙げられるが、そこでは下枝で特に多発し、この場合照度不足が発病を助長するといわれている(伊藤, 1965)。今回の実験結果では光条件と発病との関係は明らかでなかった。

4.3 病原菌の感染時期

本項では本菌の感染時期を確かめるために検討を加えた。

4.3.1 材料及び方法

試験は森林総合研究所東北支所構内で行った。鉢植え3年生サンプスギさし木苗(1鉢5本植え、平均苗高48cm)を、1983年5月から10月までの間に、1か月間ずつ本病発生スギ林内(春型子のう盤多数形成)に1処理2鉢づつ置いて自然感染させた後、回収して感染源のないシラカンバ林内に移した。感染の有無は供試苗に形成される子のう盤で判定した。

4.3.2 結果及び考察

試験期間中の気象条件は Fig. 14 と同じである。1983年11月と1984年5月に調査した結果を Table 22 に示した。発病は5、6及び7月の間に感染させた区で見られ、これらの区の病葉上には子のう盤が多数形成された。しかし、8月と9月設置の区では発病せず、子のう盤の形成も見られなかった。感染源とした試験地林内の子のう胞子は5~7月までに多数存在したが、8月以降は著しく少なくなった。従って、感染期間は子のう胞子が存在する5~7月の約3か月程度である。感染期間が比較的短いのは2次感染源となる分生胞子の形成がなく、子のう盤から放出される子のう胞子が唯一の感染源であるためと考えられる。

Table 21. 秋型子のう胞子による接種試験結果
Inoculation experiment with ascospores collected in autumn

処 理 Treatment	全枝数 Number of shoots	枯死枝数 Number of dead shoots	枯死枝率 (%) Rate of dead shoots
接 種 Inoculated	155	9	6
無接種 Control	216	0	0

Table 22. 病原菌の感染時期
Infection period of the fungus

林内設置時期 Infection period	調査月日 Date of observation	
	感染針葉上の子のう盤形成程度 ^{a)} Degree of apothecial development on the infected needles	
	1983. 11. 29	1984. 5. 15
5月4日～6月4日 May 4—Jun. 4	+	+++
6月4日～7月4日 Jun. 4—Jul. 4	+	+++
7月4日～8月4日 Jul. 4—Aug. 4	+	+++
8月4日～9月4日 Aug. 4—Sep. 4	—	—
9月4日～10月7日 Sep. 4—Oct. 7	—	—

a) 子のう盤形成程度：—：なし，+：少ない，+++：著しく多い
Apothecial development：—：No apothecia，+：A few apothecia，+++：Numerous apothecia

謝 辞

本稿は、東京大学学位論文「スギ黒粒葉枯病の発生生態に関する研究 —特に病原菌の生理・生態的性質と病原性—」(主査：鈴木和夫, 1993年11月) の、第3, 4章をもとにとりまとめたものである。本稿をまとめるに当たって、学位論文の審査をしていただいた先生方に心から謝意を表す。また、貴重なご意見を賜った森林総合研究所東北支所長緒方 健博士及び同所保護部長由井正敏博士に対して心からお礼申し上げる。

引用文献

- AINSWORTH, G. C. and SUSSMAN, A. S.: The fungi (II), Academic Press, 733-764 (1966)
 青島清雄：コフキタケの担胞子の発芽, 林試研報, 67, 1~18 (1954)
 新井雅夫, 中村克哉：スギ黒粒葉枯病に対する施肥および薬剤散布の効果について, 81回日林講, 251~253 (1970)
 明日山秀文, 向 秀夫, 鈴木直治：植物病理学実験法, 日本植物防疫協会, 843 pp. (1962)
 千葉 修：改訂 樹病学, 地球社, 240 pp. (1975)
 DENNIS, R. W. G.: *Chloroscypha Seaver* in Britain, Kew Bull, p. 410 (1954)
 ————: A revision of the British Helotiaceae in the Herbarium of the Royal Botanic Gardens, Kew, with notes on related European species. Commonw. Mycol.Inst., Mycol. Pap. 62, 1-

- 5, 122-124(1956)
- : British Ascomycetes, J. Cramer, p. 129 (1978)
- 遠田 武, 井沼正之: 豪雪地帯におけるスギ針葉形態と枝枯性病害との関係について, 日林東北支誌, **35**, 82~84 (1983)
- GEORGE N. A.: Plant Pathology, 3rd ed. Academic Press, 34-35 (1988)
- GREMMEN, J.: Conifer inhabiting fungi, II, Nova Hedwigia, **6**, 21-27 (1963)
- 原田幸雄: 日本産 *Monilinia* 属菌に関する研究, 弘前大農学術報, **27**, 30~109 (1977)
- INGOLD, C. T.: Dispersal in fungi, Oxford Univ. Press, 197 pp. (1953)
- 井沼正之, 遠田 武, 栗田稔美: 豪雪地帯におけるスギ黒粒葉枯病とスギ雪害との関連について, 日林東北支誌, **25**, 72~76 (1974)
- 伊藤一雄: スギの黒粒葉枯病—スギの奇病として騒がれている—, 山林, **809**, 16~18 (1951)
- : スギの黒粒葉枯病と黒点枝枯病—大被害発生にちなんで—, 森林防疫ニュース, **14**, 38~40 (1965)
- : 樹病学大系II, 農林出版, 302 pp. (1973)
- : 樹病学大系III, 農林出版, 405 pp. (1974)
- , 渋川浩三, 小林享夫: スギの赤枯病に関する病原学的並に病理学的研究(1), 赤枯症状部に認められる菌類の形態及び病原性, 林試研報, **52**, 79~152 (1952)
- 金子 繁, 庄司次男, 横沢良憲, 窪野高德: スギ苗の越冬条件と黒粒葉枯病の発病との関係について, 日林東北支誌, **39**, 217~219 (1987)
- 北島君三: 各地方の森林に於て近年注意せらるるに至りたる新病害に就いて, 林学会雑誌, **9**(8), 37 (1927)
- 小林享夫: 針葉樹の黒粒葉枯病菌の類別, 日林誌, **46**(10), 339~343 (1964)
- : 針葉樹黒粒葉枯病菌の属ならびに種の分類同定に関する検討, 林試研報, **176**, 55~74 (1965)
- , 真宮靖治: マツ類の皮目枝枯病, 林試研報, **161**, 123~149 (1963)
- 紺谷修治: スギ黒粒葉枯病菌に関する研究(予報), 日林関西支誌, **10**, 121 (1960 a)
- , 峰尾一彦: 林野病害防除試験, スギ造林地病害防除試験, 林試関西支場年報, **2**, 55~56 (1960b)
- , 峰尾一彦: 林野病害防除試験, スギ造林地病害防除試験—スギ黒粒葉枯病に関する研究—, 林試関西支場年報, **3**, 89-93 (1961)
- 真宮靖治: 森林保護学, 文永堂出版, 262 pp. (1992)
- 松崎清一: トドマツ枝枯病菌の寄主体侵入経路および侵入時期について, 96回日林論, 473~474 (1985)
- 日本気象協会(岩手, 東北, 茨城, 広島支部): (1963~1986)
- 野原勇太, 熊井正善, 佐野広欣, 高橋広明: スギ黒粒葉枯病の防除試験について, 67回日林大会講, 260~263 (1957)
- 野村静男: 森林諸被害による林木生長減退に関する研究(I), スギハダニ被害と黒粒葉枯病による被害との生長損失比較, 81回日林講, 276~279 (1970)
- 大原偉樹, 小野寺弘道, 栗田稔美, 遠田 武: 埋雪期間の違いとスギ苗の成長—処理後1生育期について—, 96回日林論, 441~442 (1985)
- PETRINI, O.: Note on some species of *Chloroscypha* endophytic in Cupressaceae of Europe and North America, Sydowia, **35**, 206-222 (1982)
- 林 野 庁: 森林有害動植物被害報告, 昭和30~35年度 (1955~1960)
- : 森林病害虫等被害報告, 昭和36~50年度 (1961~1975)
- : 森林国営保険事業統計, 昭和37~39年度, 昭和49~50年度 (1962~1964, 1975~1976)

- 坂口勝美(監修):新版 スギのすべて, 全国林業改良普及協会, 629 pp. (1983)
- 佐藤邦彦: 種子の産地と林木病害発生との関係について, 森林防疫ニュース, **109**, 79~82 (1961)
- : 東北地方における造林樹種とその品種の病害抵抗性(4), 東北の林木育種, **25**, 1~6 (1970)
- : 東北地方におけるスギ枝枯性病害と黒粒葉枯病—黒粒葉枯病の異常発生にちなんで—山林, **1057**, 34~44 (1972)
- : 実践森林病理, 農林出版, 248 pp. (1978)
- , 横沢良憲, 庄司次男: マツ類の群状枯死を起こす「つちくらげ」病に関する研究, 林試研報, **268**, 13~48 (1974)
- 佐藤倫造, 酒井隆太郎: アカクローバー黒葉枯病菌の培養基上における発育と子のう盤形成について, 北海道農試彙報, **97**, 99~105 (1970)
- 佐藤昭二, 後藤正夫, 土居養二: 植物病理学実験法, 講談社, 230 pp. (1983)
- 沢田兼吉: 東北地方に於ける針葉樹の菌類 I スギの菌類, 林試研報, **45**, 27~53 (1950)
- SEAVER, F. J.: Photographs and descriptions of Cup fungi, X IV a new genus, Mycol., **23**, 247~251 (1931)
- : The north american cap-fungi (Inoperculates), Hahner publishing company, 428 pp. (1951)
- 下川利之: スギ黒粒葉枯病の被害について, 森林防疫ニュース, **13**, 227~229 (1964)
- 森林立地懇話会: 日本森林立地図 (年降水量・最深積雪分布図) (1972)
- 庄司次男: スギ黒粒葉枯病 (*Chloroscypha seaveri* (REHM) SEAVER) 子のう胞子の生理・生態的性質, 日植病報, **41**(1), 89 (1975)
- : スギ黒粒葉枯病に関する研究 (I) 子のう胞子の放出および発芽条件, 日林誌, **60**(4), 139~146 (1978)
- : 野外における黒粒葉枯病菌 (*Chloroscypha seaveri* (REHM) SEAVER) の子のう胞子の放出と降雨および気温との関係, 日林東北支誌, **32**, 229~231 (1980)
- : スギ黒粒葉枯病に関する研究 (II) 春季形成子のう胞子の放出と発芽条件, 日林誌, **63**(5), 179~181 (1981)
- : スギ黒粒葉枯病の発生動向と寒・干害との関係, 森林防疫, **34**, 22~25 (1985a)
- : スギ黒粒葉枯病に関する研究 (III) 菌そうの培養的性質, 日林誌, **67**(7), 285~288 (1985 b)
- : スギ黒粒葉枯病に関する研究 (IV) —子のう胞子による接種試験, 96回日林論, 481~482 (1985c)
- : スギ黒粒葉枯病に関する研究 (V) —病葉上における子のう盤形成条件—, 37回日林関東支論, 169~170 (1986)
- : ヒノキ黒粒葉枯病菌の生理的性質, 日林誌, **72**(4), 329~334 (1990)
- 田辺三五: スギの黒粒葉枯病に関する研究 I, 京都府立大学学術報告, **15**, 67~70 (1963)
- 富樫浩五: 岩手県に於ける病害の基礎的調査, 日植病報, **13**, 60~61 (1948)
- 宇田川俊一, 椿 啓介: 菌類図鑑 (下), 講談社, p. 1284 (1978)
- 横川登代治, 野村静男, 今成政利: スギ黒粒葉枯病の林木生長におよぼす影響について(1), 77回日林講, 312~316 (1966)
- 吉田光男: 病害樹の被害解析—スギ黒粒葉枯病調査より—, 林業技術, **292**, 27~28 (1966)
- 全国森林病虫獣害防除協会: 被害速報, 森林防疫, **10~22** (1961~1973), **23~32** (1974~1983)

**Studies on the Occurrence of *Chloroscypha* Needle Blight
of *Cryptomeria japonica* D. DON.
-Physiological and ecological characteristics
and pathogenicity of the causal fungus-**

SHOJI, Tsugio ⁽¹⁾

Summary

In 1951 an outbreak of *Chloroscypha* needle blight of Japanese cedar, *Cryptomeria japonica*, caused by *Chloroscypha seaveri* (REHM) SEAVER was first recorded throughout the Kanto area. Since then, widespread occurrence of the disease has been recorded at 6-to-10-year intervals.

Through these outbreaks, the disease has been recognized as one of the most important diseases of Japanese cedar. So far, however, only a few studies have been conducted on the disease.

This paper will describe the pathological aspects of the disease, with an emphasis on ecological and physiological characteristics and pathogenicity of the causal fungus.

The results obtained are summarized as follows :

1. First symptoms appear in late April or May. Old needles in the lower crown of Japanese cedar trees gradually turn brownish and discoloration spreads to the enter crown except the top of the stem and old branches. Almost all of the one-year-old needles and many small branches are killed in June and July (Photo. 1-A, B). Many black turbinate apothecia of the fungus are found on the dead needles and small branches.

Apothecium on needles is single or aggregate, non- or short-stipitate, black and turbinate under dry conditions, cup- to disk-shaped and yellowish green to olive under moist conditions, 160-600 μm in diameter, 300 μm in height. Ascus is hyaline, cylindric to clavate, 105-175 \times 17.5-35 μm , 8-spored. Ascospore is hyaline to pale yellowish green, fusoid to boat-shaped, sometimes elliptic, 22-40 \times 5-15 μm . Paraphysis is hyaline, fisiform, usually branched (Photo. 1- C, D, E, F).

2. Apothecial development under natural conditions was observed. The apothecia were produced during June and July in a low snowfall region (snow depth less than 1 m) in the coastal regions alons both the Pacific Ocean and the Sea of Japan. On the other hand, apothecia were produced from September through to December in the Kitakami, Oou and Abukuma mountains regions which receive heavy snowfall (snow of at least 1 m in depth). The occurrence of two strains was mainly due to the length of time that trees were buried under the snow (Fig. 1). Each group of seedlings which had previously been inoculated with ascospores were maintained under snow for

49 days and 183 days, respectively. The former group exhibited disease symptoms earlier than the latter (Table 4).

The time of apothecial development and maturity were examined at the Kesenuma National Forest (low snowfall region) and at Yuda Community Forest (heavy snowfall region). At the Kesenuma test stand, infected needles became discolored in mid-April and no apothecia of the fungus were observed. Early in June, many apothecia and mature ascospores were found on needles which had furred brown. It was estimated through these observations that apothecial development and maturation of ascospores of the fungus began at 10 to 20 °C average air temperature. On the other hand, at the Yuda test stand diseased needles became discolored late in June, but apothecial production did not occur. Abundant apothecia and mature ascospores were observed late in October. This suggests that the high temperature in summer was one of the factors limiting apothecial production (Tables 2-3, Figs. 2-3). Apothecial production on the diseased needles was examined under various conditions of temperature and humidity. Apothecia were produced at temperatures from 0 to 25 °C, with an optimum temperature of 10-20°C, but not at 30°C. Apothecia formed on the diseased needles which had been kept at 98 and 100% relative humidity. No relation between the light and apothecial production was found (Tables 6-7).

3. Discharge of ascospores from mature apothecia which were collected in June was examined under various conditions. Ascospore discharge occurred at 0 to 30 °C at 100% relative humidity. At temperatures above 10°C most ascospores in the apothecia discharged within 10 days after commencement of spore discharge, but a few discharged at 0 to 5°C during the observation periods. All ascospores in the apothecia discharged within 3 to 4 days at 100% relative humidity. At 98% relative humidity there were a few discharged ascospores, and at a relative humidity below 94%, discharge did not occur. Similar data was obtained on apothecia collected in October. No relation between light and ascospore discharge was found (Tables 9-13).

In order to ascertain the period and peak of discharge of ascospores under natural conditions, observations were made in a densely planted Japanese cedar stand. Glycerine was used to adhere ascospores onto a glass slide. Each slide was placed horizontally below diseased needles. Almost all ascospores from apothecia discharged from late June to mid-August, after which discharge ceased because apothecia empty. Ascospores discharged abundantly during rainy weather from late June to early July. During this time, it was often foggy early in the morning at the experimental stand. Rain and fog seemed to be important factors affecting ascospore discharge. The discharge of ascospores from apothecia produced in October was also examined. Ascospores discharged from late October to early March of the following year. The optimum period of discharge was early to late November. The discharge of ascospores usually occurred during rainy weather (Tables 14-15).

4. Germination of the ascospores was examined. Ascospores germinated at temperature ranging from 5 to 25°C. The highest rate of germination occurred at temperatures of 10 to 20 °C (Fig. 6). Ascospores from apothecia collected during April to July germinated at a high rate. None of the ascospores from apothecia collected during October to December germinated (Table 16, Photo. 2-C). After maintaining mature apothecia collected late in autumn at 5 °C for 3 months, however, ascospores from these apothecia began to germinate at a high rate (Table 17, Photo. 2-D). This indicated tendencies different from the previous results in which ascospores produced in June and July germinated without any maturation period. The relative humidity of 100% was favorable for germination of ascospores (Fig.7). When ascospores were kept in water of various degrees of acidity or alkalinity (pH 3.3 to 10), the rate of ascospore germination was high and there was no difference in the germination rate regardless of pH. However, the rate of germination decreased remarkably at pH 2.1 (Fig. 8).

5. Mycelial growth of the fungus was good on both agar and liquid media of potato sucrose, YpSs (EMERSON's) and malt extract. However, it was poor on both agar and liquid media of potato extract (Difco), Sugi needle decoction, WAKSMAN's, RICHARD's and CZAPEK's. No mycelial growth was observed on synthetic media such as CURRIE's, MAYER's, SMITH's, HOPKINS', NAGELI's and asparagin (Photo. 2-E). The fungus grew at temperatures varying from 0 to 30 °C, but the optimum temperature was 20 to 25 °C. The optimum pH for mycelial growth ranged from pH 5.9 to 6.4 (Figs. 9-11).

6. Pathogenicity of the fungus was examined. In order to clarify the invasion of mycelium of the fungus into the host tissues, inoculation experiments with mycelia and ascospores of the fungus to Japanese cedar needles was conducted. Observations under a scanning electron microscope (SEM) (Photo. 2-A, B) and histopathological studies (Photo. 1- G, H) showed that mycelia enter the host tissues only through stroma.

Inoculation experiments on Japanese cedar seedlings with mycelial suspension and ascospores were conducted to confirm the pathogenicity of the fungus. After spraying with the mycelial suspension to the test seedlings, plants were placed in a broadleaved tree stand. Inoculations were made in June and September. Symptoms of lesion and browning had not developed within a year of inoculation. Discolored and dying needles spread to the lower part of the seedlings early in April of the following year, but diseased seedlings did not die (Tables 18-19).

Inoculation tests with ascospores produced on infected needles and small branches were carried out. In these tests the diseased needles on branches bearing apothecia were placed directly on seedlings. The seedlings were kept at 100% relative humidity for 14 days and transferred to a Japanese cedar stand in July. Results identical to those from the inoculation tests using mycelial suspension were obtained (Tables 20-21).

写 真 説 明

(Explanation of photographs)

Photo 1.

- A : スギ黒粒葉枯病の激害地, 青森営林局気仙沼営林署 (宮城県)
An infected forest of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) (Kesennuma National Forest Photo, July 1978)
- B : スギ黒粒葉枯病の激害木
Severely infected Japanese cedar tree by the disease
- C : 罹病葉上に形成された子のう盤 (乾燥状態)
Apothecia produced on infected needle of Japanese cedar (Dry condition) $\times 20$
- D : 膨張した子のう盤 (湿潤状態)
Swollen apothecia (Wet condition) $\times 40$
- E : 子のう
Ascus $\times 800$
- F : 子のう胞子
Ascospore $\times 400$
- G : 病葉の組織解剖, 6月23日採取
Transverse section of the infected needle collected June 23, showing hyphae under the stoma $\times 160$
st : 気孔 Stoma h : 菌糸 Hypha
- H : 病葉の組織解剖, 8月26日採取
Transverse section of the infected needle collected August 26, showing hyphal mass under the stoma $\times 200$
st : 気孔 Stoma hm : 菌糸塊 Hyphal mass

Photo 2.

- A : 発芽管が気孔から侵入
Scanning electron micrographs of entrance of germ tube through the stoma $\times 700$
- B : 菌糸が気孔から侵入
Scanning electron micrographs of entrance of hyphae through the stoma $\times 750$
- C : 秋型子のう胞子, 未発芽
Ungerminated ascospores collected in late autumn
- D : 5°Cで3か月間保存後, 高率発芽した秋型子のう胞子
Germinating ascospores collected in late autumn after keeping at 5°C for 3 months
- E : 各種培地上における菌叢の生育
Mycelial growth on various kinds of media
a : PSA, b : Malt, c : YpSs, d : Potato extract (Defco), e : Japanese cedar needle decoction, f : WAKSMAN, g : RICHARD, h : CZAPEK

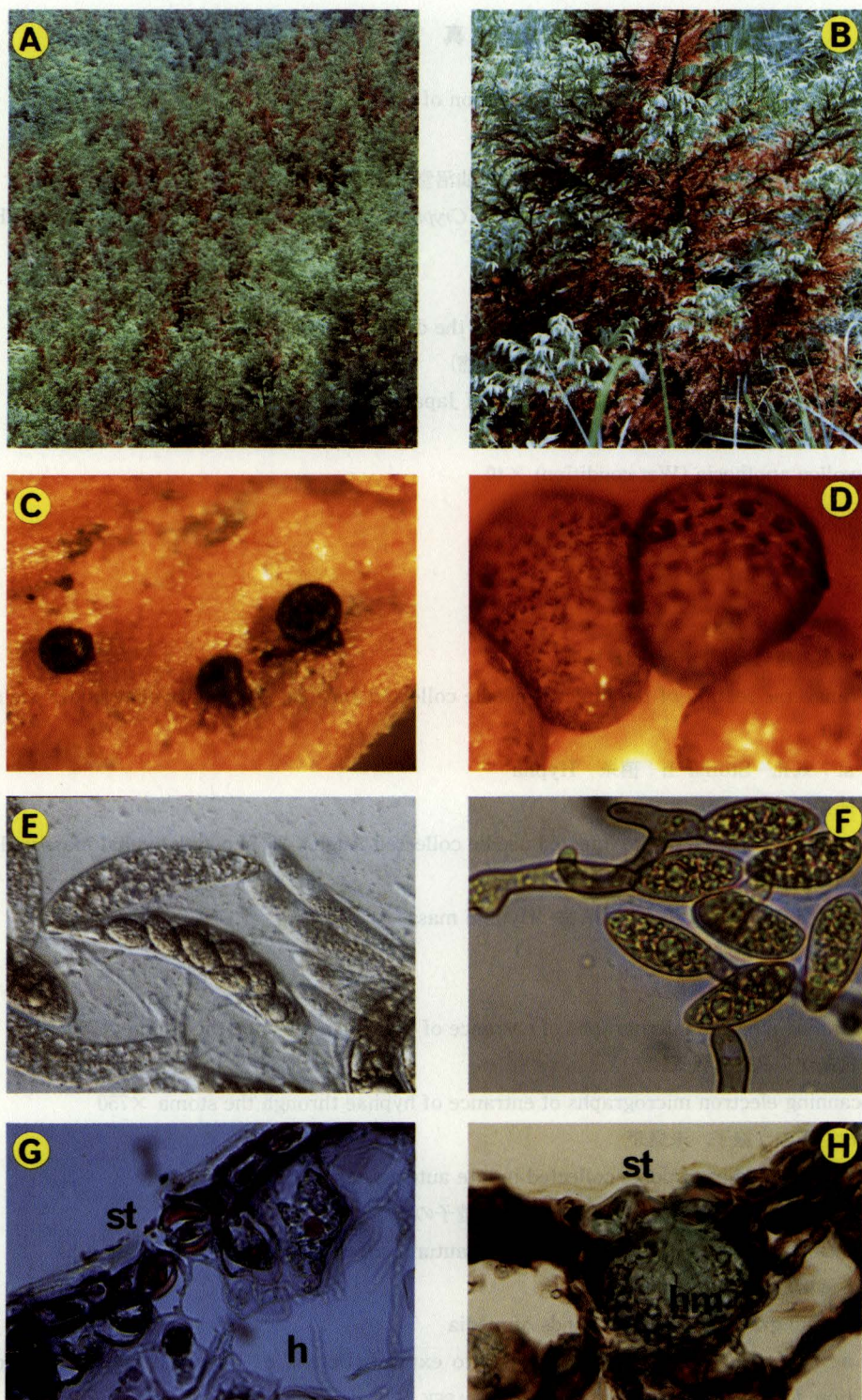


Photo 1

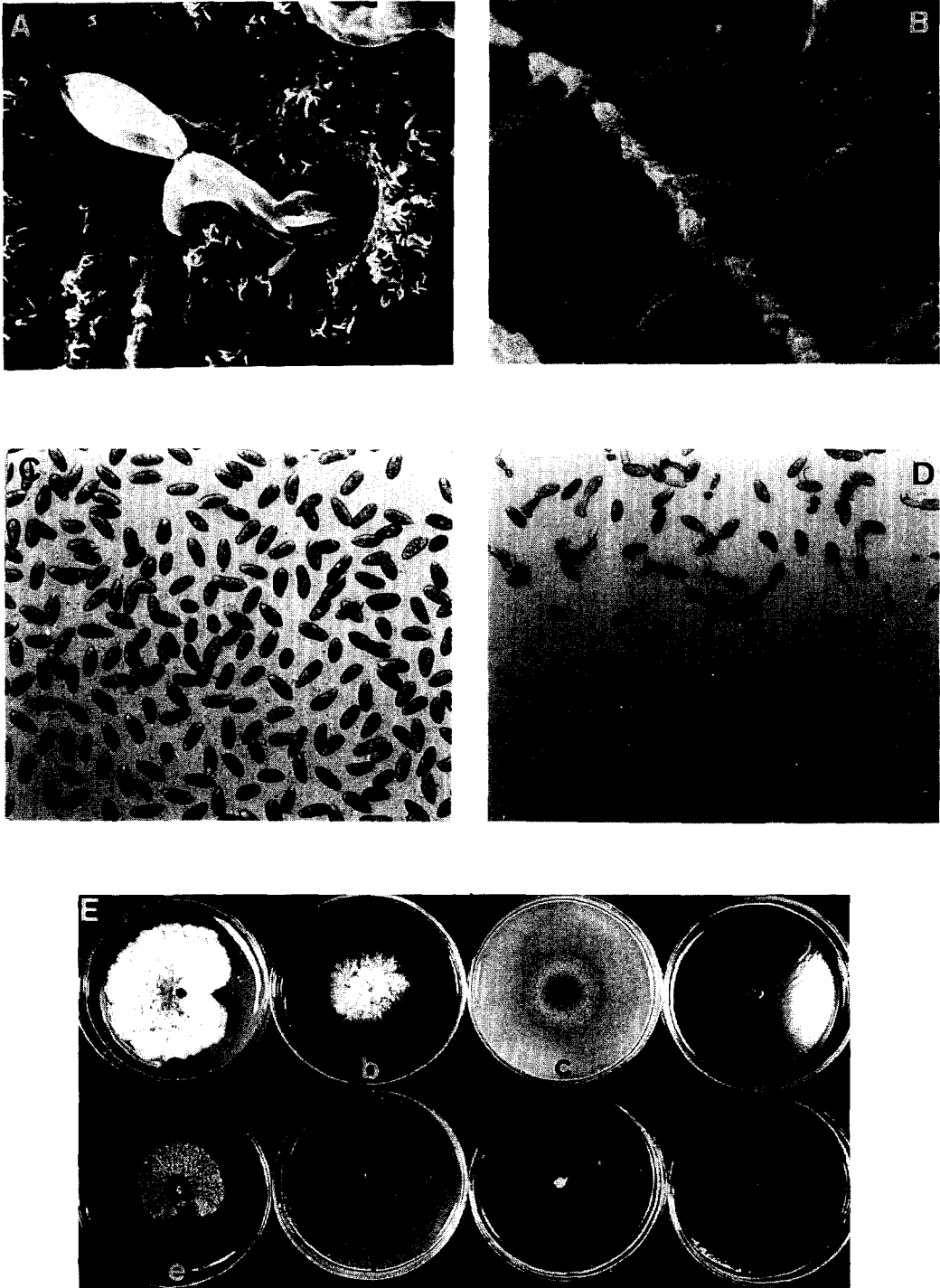


Photo 2