

気生藻 *Cephaleuros* 属 5 種の各種樹木生葉への人工接種

周藤靖雄¹・大谷修司²

¹ (〒 690-0015 島根県松江市上乃木 5-11-46)

² 島根大学教育学部 (〒 690-8504 島根県松江市西川津町 1060)

Yasuo Suto¹ and Shuji Ohtani²: Inoculations of the aerial algae of five *Cephaleuros* species to living leaves of various woody plants. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 59: 131-138, November 10, 2011

Various woody plants were inoculated with cultures of five species of the algae *Cephaleuros*. The algal colonies on agar media were put on the leaves and the suspension of fragments of algal thalli were sprayed or applied onto the leaves. Algal leaf spots, that is, thalli of the *Cephaleuros* species were formed by the inoculation on the following woody plants: *C. aucubae* on *Aucuba japonica*; *C. biolophus* on *Quercus phillyraeoides*; *C. japonicus* on *Camellia japonica*, *C. sinensis*, *Persea thunbergii*, and *Symplocos lucida*; *C. microcellularis* on *P. thunbergii* and *S. lucida*; *C. virescens* on *C. japonica*, *C. sinensis*, and *P. thunbergii*. *Cephaleuros* species showed host selectivity in this inoculation experiment as is seen in natural infection. The leaves were similarly infected by all three methods of inoculation. Heavier infection was induced by inoculation on leaves wounded by cutting or rubbing than on non-wounded leaves.

Key Index Words: algal leaf spot, *Cephaleuros*, host selectivity, infection, inoculation

¹ 5-11-46, Agenogi, Matsue, Shimane 690-0015, Japan

² Faculty of Education, Shimane University, 1060, Nishikawatsu, Matsue, Shimane 690-8504, Japan

緒言

気生藻である *Cephaleuros* 属 (Trentepohliaceae, Chlorophyta) は樹木のおもに葉、ときに緑枝や果実にも感染して、藻体は角皮下、種によっては表皮細胞下や葉肉組織内にも進展する。わが国では古くから本属の 1 種 *C. virescens* Kunze の発生が知られており (西田 1914, 鶴田 1914, Molisch 1926, 江塚・木伏 1956, Akiyama 1961, Suématu 1962), 鶴田はこれを「白藻病」と呼んだ。Suto & Ohtani (2009) はわが国における *Cephaleuros* 属の形態を調査して分類学的な検討を行い、*C. virescens* に加えて *C. aucubae* Y. Suto et S. Ohtani, *C. biolophus* Thompson et Wujek, *C. japonicus* Y. Suto et S. Ohtani および *C. microcellularis* Y. Suto et S. Ohtani の計 5 種が分布することを明らかにし、また種によって宿主が異なることを報告した。すなわち、*C. aucubae* はアオキ *Aucuba japonica* Thunb. のみ、*C. microcellularis* はタブノキ *Persea thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kosterm. とクロキ *Symplocos lucida* Sieb. et Zucc. に生じ、また *C. biolophus* はウバメガシ *Quercus phillyraeoides* Asa Gray, スダジイ *Castanopsis cuspidata* (Thunb.) Schottky var. *sieboldii* (Makino) Nakai などブナ科樹木、*C. japonicus* はツバキ *Camellia japonica* L., サカキ *Cleyera japonica* Thunb., ヒサカキ *Eurya japonica* Thunb. およびクロキ、*C. virescens* はタブノキとタイサンボク *Magnolia grandiflora* L. に多発した。本属藻の感染によって樹木の葉、緑枝および果実にはその藻体が生じて美観を損じ (小林 1977, 周藤・小河 1968), ときに壊死斑を生じ、早期に落葉することもあり、病害とみなされる。

病原微生物の病原性を人工接種によって確認することは、その微生物がある生物種の病原であることを立証するために必要がある。また、人工接種によってその病原の宿主範囲や感受性を明らかにすることができ、発病の経過や機構など病理学的問題を解明するための手段になる。Joubert & Rijkenberg (1971) と Chapman & Good (1983) は *Cephaleuros* 属の種分化を明確にするには各種とそれらの宿主について相互に接種を行う必要があると提言している。*Cephaleuros* 属の 1 種 *C. virescens* については、Wolf (1930) はグレープフルーツ *Citrus paradisi* Macf. (Wolf は学名を *C. grandis* Osbeck としている) の苗木に対して遊走子嚢、藻体破砕片および培養藻の糸状塊を接種し、Chowdary & Jose (1979) は葉 (樹種名は記されていない) に遊走子を接種したが、藻体の発生を認めていない。Mann & Hutchinson (1907) はチャ *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze 葉上の藻体に形成された遊走子が健全な葉や枝に水を介して運ばれて新たな藻体が発生することを認めたが、野外での観察事例に留まる。なお、Ward (1884) は葉上に置いた *Mycoidea parasitica* Cunningham (= *C. virescens*) 遊走子からの藻体の成長を認めたとしたが、その図からは得られたのは *Phycopeltis* 属の藻体ではないかと疑われる。また、Roth (1971) も葉上に置いた遊走子の発芽と藻体形成を認めたが、供試藻を *Cephaleuros* 属や *Trentepohlia* 属に近似するものとして断定を避けている。本邦産の *Cephaleuros* 属 5 種については、その病原性と宿主を人為的に確認することが急務であると考えた。そこで、それらの培養した藻体を用いて各種樹木の苗木に対する接種試験を行った。

材料と方法

試験は島根県松江市上乃木 (35°26' 51" N, 133°4' 2" E, 標高 10 m) の露地で行った。試験地の北方 1.2 km に位置する松江地方気象台における年平均気温は 14.6°C である (島根県・松江地方気象台 2005)。

接種に用いた藻株は筆者らが島根県で採集してその藻体、配偶子および遊走子から分離して培養したものである。供試した藻株は *C. aucubae* 2 株, *C. biolophus* 4 株, *C. japonicus* 5 株, *C. microcellularis* 3 株, *C. virescens* 6 株の計 20 株であり、健全に生長しているものを選んだ (Table 1)。本属藻の分離・培養法と藻体の形態的特徴についてはすでに報告した (Suto & Ohtani 2011) が、本試験では CA 寒天培地上で 20°C, 光量は培養ペトリ皿面で 16 ~ 23 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12 : 12 時間の明暗周期で 3 か月培養した藻体を用いた。葉上では藻体を構成する糸状体の全部または一部が側方に密着して偽柔組織を形成して拡大するが、培地上では糸状体が単細胞列で生長した。また、種によって生長量に差があり、糸状体の分枝方法や細胞の大きさが異なった。

試験は 2005 年 (試験-I), 2006 年 (試験-II) および 2007 年 (試験-III) に行った。発病は藻体の発生, また *C. biolophus* で

はそれに伴う病斑の発生も含めて判定した。試験では野外において藻体発生が観察される *Cephaleuros* 属の種と樹種との組み合わせについて接種による藻体の発生を確かめると同時に、試験-II と試験-III では藻体発生が観察されない組み合わせも設定して宿主選択性を検討した。接種に用いた樹種はアオキ, ツバキ, チャ, スダジイ, タブノキ, ウバメガシおよびクロキの 7 種で、野外で *Cephaleuros* 属各種の発生が高頻度で見られるものである。種子または 1 ~ 2 年生の苗木を素焼製の植木鉢に播種または移植して育苗した。接種時の苗木は 3 ~ 7 年生, 剪定を行い苗高 30 ~ 80 cm, 根元径 4 ~ 13 mm, 各藻株・樹種の試験区に 1 ~ 3 本を用い、健全な葉が附着したものを選んだ。

各試験の接種方法はつぎのとおりである。

試験-I: 培養コロニーを葉に貼り付けた。ツバキ, チャ, タブノキおよびウバメガシの 4 樹種を用いて、各樹種の当年葉の、ツバキとウバメガシでは前年葉にも、葉表と葉裏に接種した。各供試葉に接種 3 か所と無接種 1 か所を設けた。無傷と有傷で接種したが、有傷はカッターナイフで長さ 1.5 cm の切傷を十字形に付けた。藻の培養コロニーを寒天培地ごと剥ぎ取り、これを葉面に貼り付けた。無接種の場合は CA 寒天培地の切

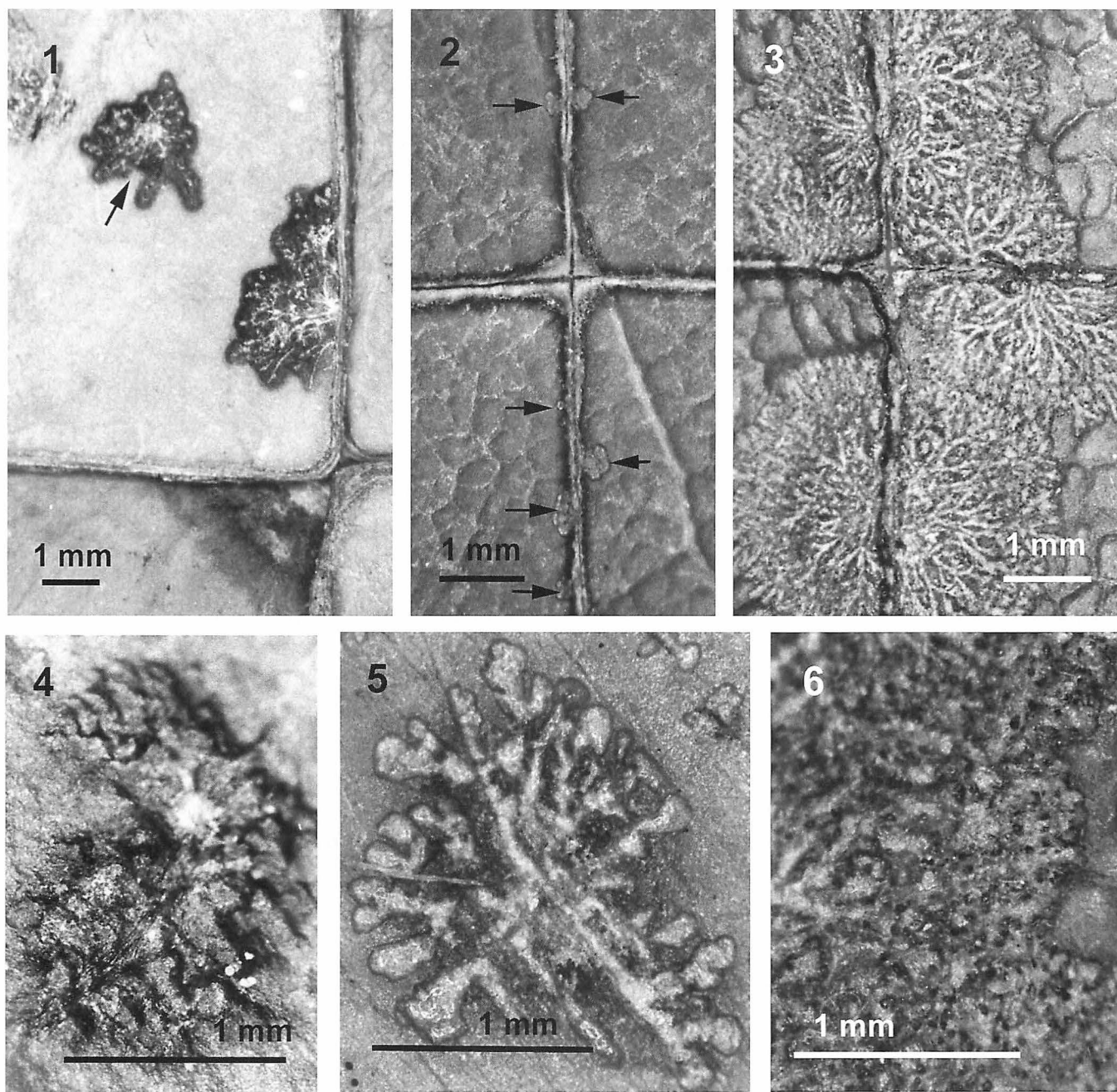
Table 1. *Cephaleuros* species used for the inoculation.

Species	Isolate	Host	Locality	Origin	Date of isolation
<i>Cephaleuros aucubae</i>	YSC-73**	<i>Aucuba japonica</i> (Aoki)	Ohba, Matsue	Filaments	5 Mar. 2005
	YSC-76G**, ***	<i>Aucuba japonica</i>	Ohba, Matsue	Gametes	4 Jun. 2005
<i>Cephaleuros biolophus</i>	YSC-19**	<i>Myrica rubra</i> (Yamamomo)	Gakuen-minami, Matsue	Filaments	13 Jul. 2002
	YSC-41*, ***	<i>Castanopsis cuspidata</i> var. <i>sieboldii</i> (Sudajii)	Nishikawatsu, Matsue	Filaments	7 Aug. 2003
	YSC-63G**	<i>Castanopsis cuspidata</i> var. <i>sieboldii</i>	Nishikawatsu, Matsue	Gametes	8 Jul. 2004
	YSC-65G*, ***	<i>Quercus phillyraeoides</i> (Ubamegashi)	Agenogi, Matsue	Gametes	25 Jul. 2004
<i>Cephaleuros japonicus</i>	YSC-46G**, ***	<i>Eurya japonica</i> (Hisakaki)	Gakuen-minami, Matsue	Gametes	23 Jun. 2003
	YSC-57Z*	<i>Camellia japonica</i> (Tsubaki)	Ohba, Matsue	Zoospores	19 Apr. 2004
	YSC-59G*	<i>Symplocos lucida</i> (Kuroki)	Nishikawatsu, Matsue	Gametes	27 Apr. 2004
	YSC-66G**	<i>Camellia japonica</i>	Ohba, Matsue	Gametes	29 Jul. 2004
	YSC-72**	<i>Vaccinium bracteatum</i> (Shashanbo)	Ohba, Matsue	Gametes	5 Mar. 2005
<i>Cephaleuros microcellularis</i>	YSC-22**, ***	<i>Symplocos lucida</i>	Ohba, Matsue	Filaments	20 Jul. 2002
	YSC-53*, **, ***	<i>Persea thunbergii</i> (Tabunoki)	Nishikawatsu, Matsue	Filaments	26 Nov. 2003
	YSC-55*	<i>Symplocos lucida</i>	Nishikawatsu, Matsue	Filaments	1 Apr. 2004
<i>Cephaleuros virescens</i>	YSH-49Z**	<i>Persea thunbergii</i>	Gakuen-minami, Matsue	Zoospores	6 Jul. 2003
	YSH-58Z*, ***	<i>Persea thunbergii</i>	Gakuen-minami, Matsue	Zoospores	19 Apr. 2004
	YSH-60G*, **	<i>Magnolia grandiflora</i> (Taisanboku)	Gakuen-minami, Matsue	Gametes	1 Jul. 2004
	YSH-64Z*	<i>Persea thunbergii</i>	Agenogi, Matsue	Zoospores	7 Jul. 2004
	YSH-67G*	<i>Trachelospermum asiaticum</i> (Teikakazura)	Yakumo, Matsue	Zoospores	4 Aug. 2004
	YSH-79***	<i>Persea thunbergii</i>	Agenogi, Matsue	Filaments	8 Nov. 2006

* Used in Experiment I.

** Used in Experiment II.

*** Used in Experiment III.



Figs 1-6. Appearance of thalli and spots induced by inoculation of *Cephaleuros* species. 1. Thalli with stains caused by *C. japonicus* (Isolate: YSC-46G) on *Camellia sinensis* (Tsubaki). Loose thalli developed along wound after cutting and on a non-wounded spots (arrow). 2. Thalli caused by *C. microcellularis* (Isolate: YSC-53) on *Persea thunbergii* (Tabunoki). Small thalli (arrows) developed along wound by cutting. 3. Thalli caused by *C. virescens* (Isolate: YSC-58Z) on *Persea thunbergii*. Large and compact thalli develop along wound by cutting. 4. An infected spot caused by *C. biolophus* (Isolate: YSC-47) on non-wounded leaf of *Quercus phylliraeoides* (Ubamegashi). 5. Thalli caused by *C. japonicus* (Isolate: YSC-134) along wound by rubbing on *Camellia japonica*. 6. Thallus caused by *C. virescens* (Isolate: YSC-58Z) on *Persea thunbergii*. Gametangia are formed on the thallus as black spots.

片を貼り付けた。これを湿した脱脂綿で覆い、小さく切ったポリエチレンシートを被せてセロテープで留めた。

試験-II：培養コロニー破砕片けん濁液を葉に噴霧した。アオキ、ツバキ、チャ、スダジイ、タブノキ、ウバメガシおよびクロキの7樹種を用いて、当年葉と前年葉についてそれぞれ無傷、有傷（切傷、こすり傷）の葉を設けた。切傷の方法は試験-Iと同様であり、こすり傷は葉の表面を目の細かいサンドペー

パーで軽くこすった。培養した藻のコロニーを培地から剥ぎ取り、ホモジナイザーで破砕して糸状体破砕片のけん濁液を作り、これに展着剤として Tween #20 を微量添加して噴霧器で葉の表裏に噴霧した。無接種の場合は無菌水に Tween #20 を添加して噴霧した。

試験-III：培養コロニー破砕片けん濁液を葉に塗付した。アオキ、ツバキ、スダジイ、タブノキ、ウバメガシおよびクロキ

の6樹種を用いて、当年葉について無傷とこすり傷の葉を設けた。培養した藻のコロニーを培地から剥ぎ取り、さじで破碎して糸状体破砕片のけん濁液を作り、Tween #20を微量添加して筆で葉表にのみ塗布した。無接種の場合は無菌水にTween #20を添加して塗布した。

接種は筆者らの調査(未発表)からおもな感染時期と考える6月中旬～7月上旬に行ったが、松江地方気象台における接種年のこの期間の旬平均気温は21.9～26.9℃(鳥根県・松江地方気象台2005, 2006, 2007)であった。接種後苗木全体にポリエチレン袋を被せて日陰に2週間設置し、その後は半日日照のある野外に放置した。接種葉上での藻体発生の経過を観察して、最終調査は接種翌年の6月(試験-I, III)または9月(試験-II)に行った。藻体が生じた接種か所数(試験-I)または藻体発生葉数(試験-II, III)を記録した。発生した藻体については、その外観の形態的特徴を実体顕微鏡で、藻体をかみそりの刃で剥ぎ取り、また断面を作成して糸状体、配偶子囊および遊走子囊の形態を光学顕微鏡で観察した。

結果

接種による藻体の発生

接種葉上での藻体発生はいずれの試験でも接種当年の10月上旬から認めて、潜伏期間は最短3か月であった。藻体は翌年4月以降に拡大した。最終調査の結果はつぎのとおりである。

試験-I

*C. biolophus*の接種ではウバメガシ(Fig. 4)に、*C. japonicus*の接種ではツバキに、*C. microcellularis*の接種ではタブノキ(Fig. 2)に、*C. virescens*は接種ではタブノキ(Figs

3, 6)とチャに藻体が生じた。ウバメガシとツバキは当年葉ばかりでなく前年葉にも生じた。多くの接種では藻体は有傷で生じたが無傷でも生じた。*C. microcellularis*と*C. virescens*の接種での藻体の発生率(発生部位/接種部位)は葉表への有傷接種で70～100%と高く、葉裏への有傷接種でも20～70%であった。有傷接種葉では藻体はほとんどが傷痕に沿って生じた(Figs 1-3)が、傷から離れた無傷の場所に生じた藻体も少数あった(Fig. 1)。また、葉裏への有傷接種の場合、多くの藻体は傷に沿って葉表に至り葉表で進展した(Table 2)。無接種では無傷、有傷の場合とも藻体の発生を認めなかった。

試験-II

*C. aucubae*はアオキの有傷(切傷, こすり傷)接種した前年葉に藻体が生じたが、ツバキ、タブノキおよびウバメガシには生じなかった。*C. biolophus*の1株をウバメガシに有傷(切傷)接種した当年生には1葉にのみ藻体が生じが、スダジイには生じなかった。他の1株ではウバメガシを含む4樹種での藻体の発生を認めなかった。*C. japonicus*の接種ではツバキ(Fig. 5)、チャおよびタブノキには当年葉と前年葉、クロキには当年葉に藻体が生じたが、ウバメガシには生じなかった。*C. microcellularis*の接種ではタブノキとクロキの当年葉と前年葉に藻体が生じたが、ツバキとウバメガシには生じなかった。*C. virescens*の接種ではチャとタブノキには当年葉と前年葉に、ツバキには前年葉に藻体が生じたが、ウバメガシには生じなかった。藻体の発生率(発生葉/接種葉)をみると*C. japonicus*の接種では無傷、有傷とも50%以上の場合が多く、*C. microcellularis*と*C. virescens*の接種では無傷では50%以下の場合が多いが有傷では50%以上の場合が多かった。藻体は

Table 2. Infection rate on leaves of various woody plants inoculated with *Cephaleuros* spp. (Experiment I).

Algal species	Isolate	Woody plants inoculated	Number of spots infected / number of inoculated spots							
			Leaves developing in current year				Leaves developing in previous year			
			Upper surface		Lower surface		Upper surface		Lower surface	
Non wounded	Wounded by cutting	Non wounded	Wounded by cutting	Non wounded	Wounded by cutting	Non wounded	Wounded by cutting			
<i>Cephaleuros biolophus</i>	YSC-41	<i>Quercus phillyraeoides</i> (Ubamegashi)	0/9	0/9	0/9	0/7	1/6	0/6	0/6	0/6
	YSC-65G	<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/9	1/9	0/9	0/9	0/6	2/6	0/6	0/6
<i>Cephaleuros japonicus</i>	YSC-57Z	<i>Camellia japonica</i> (Tsubaki)	0/6	1/9	0/9	0/9	0/6	1/6	0/6	0/3
	YSC-59G	<i>Camellia japonica</i>	0/6	1/9	0/9	0/9	0/6	0/6	0/3	0/3
<i>Cephaleuros microcellularis</i>	YSC-53	<i>Persea thunbergii</i> (Tabunoki)	0/8	4/6	0/9	1/6*				
	YSC-55	<i>Persea thunbergii</i>	1/6	4/6	0/9	0/6				
<i>Cephaleuros virescens</i>	YSC-58Z	<i>Persea thunbergii</i>	1/9	3/3	0/9	3/6*				
	YSC-60G	<i>Persea thunbergii</i>	0/6	9/9	0/3	6/9*			(No inoculation)	
	YSC-64Z	<i>Camellia sinensis</i> (Cha)	1/12	6/6	1/8**	1/6**				
	YSC-67Z	<i>Camellia sinensis</i>	2/9	4/6	0/9	1/6*				

Inoculated on 15, 16, 17, 21, 22, and 31 June 2005.

Leaves were examined on 21 June 2006.

Infected plot is shown in boldface.

All the check spots (about one-third of the inoculated spots) remained uninfected.

*Thallus developed on upper leaf surface.

**Thallus developed on lower leaf surface.

Table 3. Infection rate on leaves of various woody plants inoculated with *Cephaleuros* spp. (Experiment II).

Algal species	Isolate	Woody plants inoculated	Number of leaves infected / number of inoculated leaves					
			Leaves developing in current year			Leaves developing in previous year		
			Non wounded	Wounded by cutting	Wounded by rubbing	Non wounded	Wounded by cutting	Wounded by rubbing
<i>Cephaleuros aucubae</i>	YSC-76G	<i>Aucuba japonica</i> (Aoki)	0/2	0/2	0/2	-	1/1	1/1
		<i>Camellia japonica</i> (Tsubaki)	0/8	0/5	0/5	0/6	0/3	0/4
		<i>Persea thunbergii</i> (Tabunoki)	0/6	0/5	0/5	0/3	0/1	0/1
		<i>Quercus phillyraeoides</i> (Uamegashi)	0/8	0/11	0/12	0/2	0/1	0/1
<i>Cephaleuros biolophus</i>	YSC-19	<i>Castanopsis cuspidata</i> var. <i>sieboldii</i> (Sudajii)	0/10	0/5	0/5	0/2	0/1	0/1
		<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/18	1/11	0/11	0/6	0/4	0/3
	YSC-63G	<i>Camellia japonica</i>	0/4	0/5	0/4	0/7	0/4	0/4
		<i>Castanopsis cuspidata</i> var. <i>sieboldii</i>	0/17	0/12	0/12	0/3	0/3	0/3
		<i>Persea thunbergii</i>	0/18	0/8	0/8	0/5	0/2	0/3
<i>Cephaleuros japonicus</i>	YSC-46G	<i>Camellia japonica</i>	0/9	0/7	0/7	6/8	3/6	1/6
		<i>Camellia sinensis</i> (Cha)	0/18	3/10	0/10	1/1	3/3	0/1
		<i>Persea thunbergii</i>	0/17	0/10	2/8	2/2	1/2	0/2
		<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/19	0/9	0/10	0/4	0/3	0/2
	YSC-72	<i>Camellia japonica</i>	0/14	0/10	1/9	1/8	1/7	0/4
<i>Cephaleuros microcellularis</i>	YSC-22	<i>Camellia japonica</i>	0/9	0/7	0/7	0/3	0/4	0/3
		<i>Persea thunbergii</i>	0/12	0/9	0/9	1/4	2/3	0/3
		<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/38	0/30	0/30	0/9	0/5	0/5
		<i>Symplocos lucida</i>	1/14	2/10	0/10	3/3	2/2	0/3
	YSC-53	<i>Persea thunbergii</i>	0/17	0/12	1/12	2/3	0/2	0/2
<i>Cephaleuros virescens</i>	YSC-49Z	<i>Camellia japonica</i>	0/18	0/12	0/13	1/6	1/4	0/4
		<i>Camellia sinensis</i>	4/21	7/13	0/12	1/4	2/3	0/2
		<i>Persea thunbergii</i>	1/10	1/9	5/9	2/3	2/2	0/2
		<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/28	0/9	0/11	0/9	0/5	0/4
	YSC-60G	<i>Persea thunbergii</i>	0/21	0/12	4/16	2/6	3/5	0/5

Inoculated on 28, 29, and 30 June; 1, 2, 7, 3, 6, 7, and 8 July 2006.

Leaves were examined on 10, 11, and 12 September 2007.

All the check leaves (below a half of the inoculated leaves) remained uninfected.

Infected plot is shown in boldface.

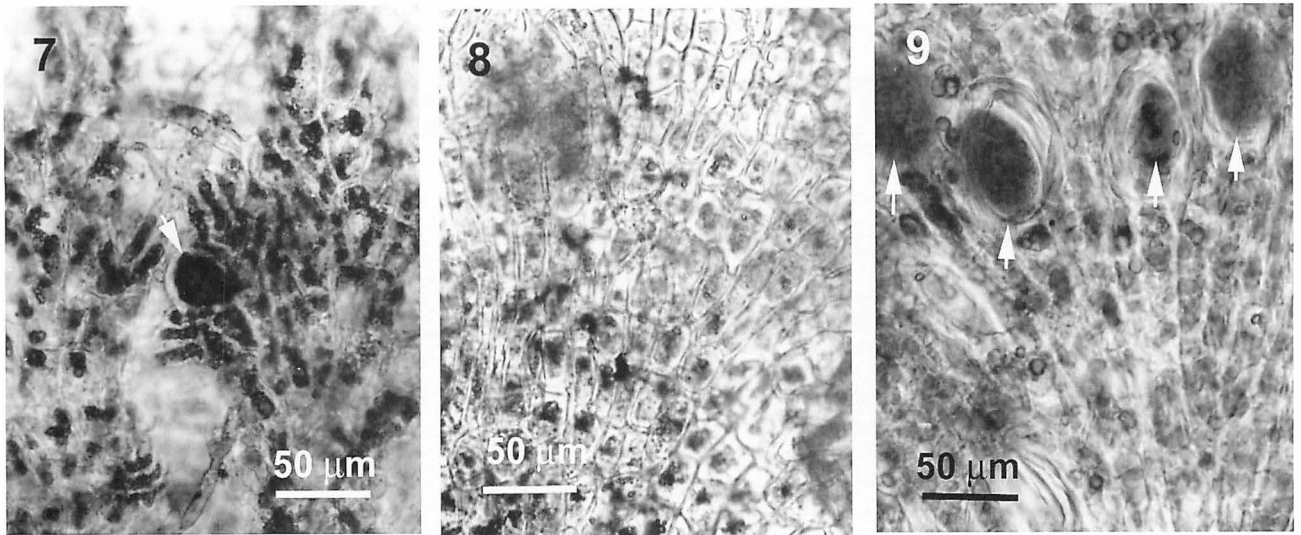
すべて葉表に生じた。切傷、こすり傷のいずれでも藻体が生じ、藻体はほとんどが傷痕に沿って生じた (Fig. 5) が、傷から離れた無傷の場所に生じた藻体も少数あった (Table 3)。無接種では無傷、有傷の場合とも藻体の発生を認めなかった。

試験 - III

C. aucubae の1株ではアオキの無傷、有傷の接種葉ともに藻体が生じたが、他の1株ではアオキを含む4樹種に発生を認めなかった。*C. japonicus* のツバキ、タブノキおよびクロキへの有傷接種では藻体が発生率 (発生葉/接種葉) 10~65%で生じたが、ウバメガシには生じなかった。*C. virescens* の2株はタブノキへの有傷接種では藻体が70~75%の高率で生じたが、ツバキとウバメガシには生じなかった。*C. biolophus* と *C. microcellularis* はそれぞれ2株を接種したが、供試したいずれの樹種にも藻体の発生を認めなかった。有傷接種では藻体はすべてこすり傷痕から進展した (Table 4)。無接種では無傷、有傷の場合とも藻体の発生を認めなかった。

接種葉に生じた藻体の形態

C. aucubae の接種ではアオキ葉上におもに粒状に隆起した藻体が生じたが、薄層の藻体も少数生じた。藻体の直径は1 mm 以下で微細であり、また局所的に生じた。*C. biolophus* の接種ではウバメガシの表皮細胞下に藻体が拡大して、葉表で紫色、裏面で褐色の直径3 mm 以下の病斑が生じ、その葉表の病斑中心部には直径1 mm 以下の角皮下藻体が生じている場合が多かった (Fig. 4)。*C. japonicus* の接種で生じた藻体の直径はツバキとタブノキで2 mm 以下、チャで2.5 mm 以下であった。糸状体が細い房になって放射状に拡大してその房間に割れ目が生じ、縁辺部が細く分裂した (Figs, 1, 5)。チャでは藻体の周囲の葉組織が紫色に変色した (Fig. 1)。*C. microcellularis* の接種ではクロキとタブノキに円形、直径1 mm 以下、全縁の藻体が生じた (Fig. 2)。*C. virescens* の接種で生じた藻体の直径はタブノキで3.5 mm 以下、ツバキとチャで2 mm 以下であった。糸状体が太い房になって放射状に拡大してその房間に隙間がなく、縁辺は細かい鈍鋸歯状または全



Figs 7-9. Filaments and immature gametangia (arrows) formed on thalli after inoculations of *Cephaleuros* species. 7. *C. japonicus* (Isolate: YSC-57Z) on *Camellia japonica* (Tsubaki). Small filamentous cells are rather loosely formed. 8. *C. microcellularis* (Isolate: YSC-53) on *Persea thunbergii* (Tabunoki). Small filamentous cells are compactly formed. 9. *C. virescens* (Isolate: YSC-60G) on *Persea thunbergii*. Large filamentous cells are compactly formed.

Table 4. Infection rate on leaves of various woody plants inoculated with *Cephaleuros* spp. (Experiment III).

Algal species	Isolate	Woody plants inoculated	Number of infected leaves / number of inoculated leaves	
			Non Wounded	Wound by rubbing
<i>Cephaleuros aucubae</i>	YSC-73	<i>Aucuba japonica</i> (Aoki)	2/4	1/1
	SC-76G	<i>Aucuba japonica</i>	0/4	0/3
		<i>Camellia japonica</i> (Tsubaki)	0/8	0/6
		<i>Persea thunbergii</i> (Tabunoki)	0/26	0/13
		<i>Quercus phillyraeoides</i> (Ubamegashi)	0/48	0/25
<i>Cephaleuros biolophus</i>	YSC-41	<i>Castanopsis cuspidata</i> var. <i>sieboldii</i> (Sudajii)	0/49	0/27
	YSC-65G	<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/22	0/10
		<i>Camellia japonica</i>	0/5	0/8
		<i>Castanopsis cuspidata</i> var. <i>sieboldii</i>	0/28	0/7
		<i>Persea thunbergii</i>	0/9	-
<i>Cephaleuros japonicus</i>	YSC-46G	<i>Camellia japonica</i>	0/14	2/15
		<i>Persea thunbergii</i>	0/26	6/9
		<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/20	0/5
	YSC-66G	<i>Camellia japonica</i>	0/24	2/22
		<i>Symplocos lucida</i> (Kuroki)	0/29	5/18
<i>Cephaleuros microcellularis</i>	YSC-22	<i>Camellia japonica</i>	0/16	0/18
		<i>Persea thunbergii</i>	0/20	0/26
		<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/43	0/19
		<i>Symplocos lucida</i>	0/21	0/21
	YSC-53	<i>Persea thunbergii</i>	0/16	0/21
		<i>Symplocos lucida</i>	0/15	0/30
<i>Cephaleuros virescens</i>	YSC-58Z	<i>Camellia japonica</i>	0/15	0/15
		<i>Persea thunbergii</i>	0/27	6/8
		<i>Quercus phillyraeoides</i>	0/29	0/5
	YSC-79	<i>Persea thunbergii</i>	0/42	25/36

Inoculated on 25, 27, 28, 29, and 30 June and 1, 2, 3, and 4 July 2007.

Leaves were examined on 1 June 2008.

Thallus developed on upper leaf surface, onto which the inoculum was applied.

Infected plot is shown in boldface.

All the check leaves (about half of the inoculated leaves) remained uninfected.

縁であった (Figs 3, 6)。チャでは *C. japonicus* の接種葉と異なり、藻体の周囲の葉組織の紫色化はほとんど生じなかった。

藻体は *Cephaleuros aucubae*, *C. japonicus*, *C. microcellularis* および *C. virescens* では葉の角皮下に、また *C. biolophus* では主として表皮細胞下に、一部が角皮下に生じた。角皮下に生じた *C. biolophus* の藻体、また *C. microcellularis* と *C. virescens* の藻体の糸状体は側方に密着し偽柔組織を形成して拡大した。*C. aucubae* ではおもに1細胞列で、*C. japonicus* では中央部では偽柔組織を形成し、縁辺部は1細胞列で拡大した (Figs 7-9)。糸状体細胞の形態は *C. biolophus* と *C. virescens* は長円筒形であったが、*C. microcellularis* では短円筒形、*C. aucubae* と *C. japonicus* では短円筒形～不規則形であった。糸状体の分枝方法は *C. biolophus*, *C. microcellularis* および *C. virescens* では規則的に二又分枝をしたが、*C. aucubae* ではおもに単軸分枝であり、*C. japonicus* では不規則な二又または不規則に分枝した。また、糸状体細胞の大きさとし長さ/幅の割合は野生状態での計測値 (Suto & Ohtani 2009) の範囲内であった (Table 5)。

各種とも一部の藻体には配偶子嚢の形成を認め (Figs 7, 9)、藻体上に配偶子嚢の粒状隆起を観察した (Fig. 6)。また、*C. japonicus* と *C. virescens* の接種では少数であるが葉表に遊走子柄が毛羽立ちその先端に遊走子嚢が粒状に形成された。

考察

従来 *Cephaleuros* 属の接種試験で成功した例は報告されていないが、本試験では培養した藻体を用いて樹木生葉上に藻体を発生させることができた。Suto & Ohtani (2009) は野外での観察結果から本邦産の *Cephaleuros* 属の5種には宿主選択性があると報告した。本接種試験では野外において各種が

高頻度で見られる樹種に藻体の発生を認めた。すなわち、*C. aucubae* はアオキ、*C. biolophus* はウバメガシ、*C. japonicus* はツバキとクロキ、*C. microcellularis* はタブノキとクロキ、また *C. virescens* はタブノキに各種の藻体が生じた。また、*C. japonicus* のタブノキとチャでの、*C. virescens* のツバキとチャでの藻体の発生は野外においては少ないが、本試験ではこれらにも各種の藻体が明らかに生じた。一方、野外において藻体発生が観察されない種と樹木の組み合わせについては、藻体の発生を認めなかった。すなわち、*C. aucubae* はツバキ、タブノキおよびウバメガシ、*C. biolophus* はツバキとタブノキ、*C. japonicus* はウバメガシ、*C. microcellularis* はツバキとウバメガシ、また *C. virescens* はウバメガシには藻体が生じなかった。以上のように、本試験では供試樹種数は少なかったが、野外において観察されると同様の宿主選択性が示された。今後は多数の樹種を用いて *Cephaleuros* 各種の宿主範囲を検討する必要がある。なお、野外において藻体が観察される組み合わせでも本試験によっては藻体発生が生じないか発生率が低い場合であった。宿主選択性を明確にするためには効率的な接種方法の検討も必要と考える。

野外では各種の藻体はおもに葉表に生じるが、*C. aucubae*, *C. biolophus* および *C. japonicus* ではときに葉裏に生じることがある (Suto & Ohtani 2009)。接種-IとIIでは葉の両面に接種したが、接種-Iでは *C. microcellularis* と *C. virescens* の葉裏への接種で藻体の発生を認めたものの、藻体は葉裏に進展したものはまれで、ほとんどが傷を通して葉表に至り進展した。また、接種-IIでは葉裏での藻体の発生を認めなかった。本試験によって、いずれの種とも葉表が藻体のおもな成長場所であることを確認した。

接種葉上に生じた各種の藻体の形態を観察した結果、それ

Table 5. Size and Length/width ratio of filamentous cells of five *Cephaleuros* species on leaves with or without inoculation.

Species		On leaves with inoculation*		On leaves without inoculation**	
		Length × Width (μm)	L/W ratio***	Length × Width (μm)	L/W ratio
<i>Cephaleuros aucubae</i>	Thin layer thallus	24-55 × 5-15.5 (39 × 10.5)	3.8	17-70 × 6-17	3.1-3.8
	Raised spot thallus	19-41 × 8.5-14.5 (29 × 11.5)	2.5	12-48 × 7-26	2-2.9
<i>Cephaleuros biolophus</i>		19.5-50.5 × 7.5-17 (39 × 12)	3.3	17-67 × 7-20	2.5-3.3
<i>Cephaleuros japonicus</i>		14.5-40 × 9.5-19 (28.5 × 12)	2.4	7-50 × 5-19	2.2-3.5
<i>Cephaleuros microcellularis</i>		13-26.5 × 7-12 (19 × 9.5)	2.0	8-31 × 5-16	1.8-2.5
<i>Cephaleuros virescens</i>		31-72 × 8.5-13 (50 × 13)	3.8	22-79 × 7-24	2.7-4.4

*Sizes of filamentous cells were measured (n=30) on the leaves of the following woody plants: *Cephaleuros aucubae*, on *Aucuba japonica* (Aoki) inoculated with YSC-73; *Cephaleuros biolophus*, on *Quercus phillyraeoides* (Sudajii) inoculated with YSC-65G; *Cephaleuros japonicus* (Tsubaki) inoculated with YSC-57Z; *Cephaleuros microcellularis*, on *Persea thunbergii* (Tabunoki) inoculated with YSC-55; *Cephaleuros virescens*, on *P. thunbergii* inoculated with YSC-60G.

** From Table 2, Suto & Ohtani (2009).

***Average value.

らは野外において観察したもの (Suto & Ohtani 2009) とほぼ同様であり、接種したものと同一種であることを確認した。しかし、接種によって生じた藻体の大きさは野生状態で観察したものに比べて小さく、また配偶子嚢や遊走子嚢が形成された藻体は少なかった。これは自然感染によって10月以降発生する新たな藻体との混同を避けて最終調査を6月または9月に行ったために、この時点で藻体は十分に成長していなかったためと考える。また、*Cephaleuros* 属5種のCA寒天培地上での藻体コロニーでは糸状体は単細胞列で伸長するが (Suto & Ohtani 2011)、接種葉では藻体全体または種によってはその一部において糸状体が偽柔組織を形成して拡大して、野生状態の形態に還ることが注目された。

本試験において、無傷の葉にも藻体が発生したが、多くの接種では藻体は切傷、こすり傷など葉を接種直前に傷つけた場合にその傷痕から進展した。しかし、野外での観察では、藻体は傷とは無関係に生じて、傷痕に生じた藻体に気づかなかった (Suto & Ohtani 2009)。Wolf (1930) は *C. virescens* は葉の裂け目やこすり傷から侵入すると報告した。一方、Karsten (1891) は *C. virescens* は角皮を溶解して、また *C. parasiticus* Karsten は気孔から侵入すると報告した。感染に関与する傷はその付傷時期も関係するであろう。本属藻の侵入場所や方法については今後検討すべき課題である。

本試験では配偶子や遊走子による接種は行っていないが、本属の藻は遊走子ばかりでなく配偶子も接合することなく発芽する (未発表) ので、野外ではこれらの分散と発芽によって感染が起こる可能性がある。本病の感染は病葉上に形成された配偶子や遊走子が接種源になって起こることが古くから推察されている (Cunningham 1879, Ward 1884, Mann & Hutchinson 1907, Wolf 1930, Suématu 1962, Chowdary & Jose 1979)。したがって、これらを用いて接種を行うことが望まれる。しかし、BBM培地とCA培地上では配偶子や遊走子形成が認められない (Suto & Ohtani 2011)。Chowdary (1969) は無機合成培地にインドール酢酸、インドール酪酸またはインドールプロピオン酸を添加して *C. virescens* の遊走子嚢を、インドールを添加して配偶子嚢と遊走子嚢を形成させたと報告したが、それらの器官での配偶子や遊走子の形成については記していない。また、野外で採集した配偶子嚢や遊走子嚢から放出された配偶子や遊走子は試料によって発芽率の差が大きく、また低率の場合が多い (未発表)。今後、接種試験に先立って配偶子や遊走子を多量に得る方法、発芽率を高める条件、またこれらを使った接種方法を検討する必要がある。

引用文献

- Akiyama, M. 1961. Aerial and terrestrial algae in San-in region of Honshu, Japan. Bull. Shimane Univ. Natural Sci. 10: 75-88.
- Chapman, R. L. & Good, B. H. 1983. Subaerial symbiotic green algae: interactions with vascular plant hosts. In: Goff, L. J. (ed.) Algal symbiosis: a continuum of interaction strategies. pp. 173-204. Cambridge University Press, New York.
- Chowdary, Y. B. K. 1969. Induction of reproductive organs in *Cephaleuros virescens*. Indian Jour. Microbiology 3: 153-158.
- Chowdary, Y. B. K. & Jose, G. 1979. Biology of *Cephaleuros* Kunze in nature. Phycos 18: 1-9.
- Cunningham, D. D. 1879. On a new genus of parasitic algae, and the part which it plays in the formation of certain lichens. Trans. Linn. Soc. London, Bot. Ser. 2, 1: 301-316.
- 江塚昭典・木伏秀夫 1956. 茶白藻病原藻の寄主範囲. 茶業技術研究 15: 11-12.
- Joubert, J. J. & Rijkenberg, F. H. J. 1971. Parasitic green algae. Ann. Rev. Phytopathology 6: 45-64.
- Karsten, G. 1891. Untersuchungen über die Familie der Chroolepideen. Ann. Jard. Bot. Buitenzorg 10: 1-66.
- 小林享夫 1977. 緑化樹木の病害虫 (上) 病害とその防除. 日本林業技術協会. 東京.
- Mann, H. H. & Hutchinson, C. M. 1907. *Cephaleuros virescens* Kunze: the 'Red rust' of tea. Mem. Dep. Agr. India, Bot. Ser. 1(6): 1-33.
- Molisch, H. 1926. Botanische Beobachtungen in Japan V. *Mycoidea parasitica* Cunningham, eine parasitische und *Phycopeltis epiphyton* Millard, eine epiphyll Alge in Japan. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., Biology 1: 111-117.
- 西田藤次 1914. 新編柑橘病害と予防法. 嵩山堂. 東京.
- Roth, G. 1971. An algal leafspot disease on avocado pears (*Persea americana* Mill.) in South Africa. Phycopath. Z. 70: 323-324.
- 島根県・松江地方気象台 2005. 島根県の農業気象. 平成 17 年.
- 島根県・松江地方気象台 2006. 島根県の農業気象. 平成 18 年.
- 島根県・松江地方気象台 2007. 島根県の農業気象. 平成 19 年.
- Suématu, S. 1962. Morphological and ecological studies on Trentepohliaceae. Bull. Lib. Arts Coll. Wakayama Univ. Nat. Sci. 12: 15-52.
- 周藤靖雄・小河誠司 1968. ツバキ・サザンカ (1). 庭木・花木・林木の病害 (小林享夫編), p. 108. 養賢堂, 東京.
- Suto, Y. & Ohtani, S. 2009. Morphology and taxonomy of five *Cephaleuros* species (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from Japan, including three new species. Phycologia 48: 213-236.
- Suto Y. & Ohtani, S. 2011. Morphological features and chromosome numbers in cultures of five *Cephaleuros* species (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from Japan. Phycological Research 59: 42-51.
- 鶴田章逸 1914. 茶の白藻病. 病虫雑 1: 162-166.
- Ward, H. M. 1884. On the structure, development, and life-history of a tropical epiphyllous lichen (*Strigula complanata* Fée). Trans. Linn. Soc. London, Bot. Ser. 2, 2: 87-119.
- Wolf, F. A. 1930. A parasitic alga, *Cephaleuros virescens* Kunze, on citrus and certain other plants. J. Elisha Mitchell Sci. Soc. 45: 187-205.

(Received Dec. 16, 2010; Accepted Sep. 30, 2011)