チャ葉面に生息するチャ炭疽病拮抗菌 *Sporothrix*

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構野菜茶業研究所*

山田 憲 吾

(平成19年7月20日受理)

Tea Phylloplane Fungus *Sporothrix* Antagonistic to *Colletotrichum theae-sinensis*.

Kengo Yamada

National Institute of Vegetable and Tea Science

National Agriculture and Food Research Organization

Summary

Tea phylloplane fungi were screened for antagonism to the tea anthracnose fungus, *Colletotrichum theae-sinensis*. *Penicillium*, *Sporothrix* and two unidentified species were screened by dual-culture test. Cultural filtrate of *Penicillium* and *Sporothrix* inhibited elongation of germ tube of conidia of *C. theae-sinensis*. But only *Sporothrix* suppressed lesion size of anthracnose by 65-50% in wound-inoculation experiments using detached tea leaves. In field experiments, spraying of conidial suspension of *Sporothrix* did not decreased the number of anthracnose diseased leaves. It was able to isolate *Sporothrix* selectively from tea leaves by the medium amended with cycloheximide 50mg/L and chloramphenicol 100mg/L. Population densities of *Sporothrix* from tea leaf surface were approximately 10^2 - 10^3 cfu/cm² when plating leaf washings onto the selective medium. *Sporothrix* was not isolated when leaf surfaces were sterilized with sodium hypochlorite solution. By microscopic observation, *Sporothrix* colonized and sporulated on trichomes of tea leaves. These results suggest that *Sporothrix* is epiphytic resident, not endophytic or casual on tea leaves.

Key words: *Sporothrix*, *Colletotrichum theae-sinensis*, anthracnose, phylloplane fungi, antagonism

1 緒 言

植物表面や土壌中には様々な微生物が生息しており、少ない養分や生存空間を求めて互

いに競合している。微生物間の拮抗作用には寄生、捕食、抗生、競争、溶菌などがあり、これらの作用は植物病原菌にもおよんでいるものと考えられる¹⁾。

* 〒428-8501 静岡県島田市金谷2769

チャ *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze は永年生の常緑樹であることから、その樹体上には豊かな微生物相を有しているものと推測される。これらの微生物は、病原微生物による病害の発生にも少なからぬ影響を及ぼしているものと考えられる。現在、チャの病害防除は主に化学合成殺菌剤により行われているが、これらの拮抗微生物を有効に利用することで、化学合成殺菌剤の使用量削減が可能になるものと期待される。

チャの主要病害の一つであるチャ輪斑病に対しては、拮抗性を有する糸状菌や放線菌が多数報告されている²⁻⁶⁾。一方、我が国におけるチャの最重要病害であるチャ炭疽病に対する拮抗微生物の報告は少なく、チャ炭疽病病斑から分離された細菌 1 種⁷⁾の報告があるのみである。

本研究では、チャ葉面に生息するチャ炭疽病拮抗菌を探索し、その結果得られた *Sporothrix* の生態およびチャ炭疽病抑制作用を調査した。

2 材料および方法

2.1 供試菌株

(1) チャ炭疽病菌

チャ炭疽病菌 *Colletotrichum theae-sinensis* (Miyake) Yamamoto は CT001 株 (静岡県島田市分離株) を用いた。培養は特に記述した場合を除き、オートクレーブ滅菌したチャ葉で 25℃、3-4 週間培養し、滅菌蒸留水を注いで振り混ぜた後、ガーゼでろ過して分生子懸濁液を得た。

(2) 葉面菌

葉面菌は、2000年10月に野菜茶業研究所金谷茶業研究拠点 (静岡県島田市、以下金谷拠点) 内の殺菌剤無散布圃場で採取したチャ葉より分離した。外観上健全なチャ葉 3 枚を 100mL の滅菌蒸留水 (0.01% Tween20 加用) に浸漬し、20回振り混ぜた後、10分間静置し

た。上澄み液を適宜希釈した後、100 μ L をジャガイモ煎汁シヨ糖寒天培地 (ジャガイモ 200g, シヨ糖 20g, 寒天 15g, 蒸留水 1 L, 以下 PSA) 平板に塗抹して 25℃ で 3 日間培養し、出現した糸状菌を PSA 斜面培地に移植した。分離された葉面菌は、PSA 上での分生子世代の形態および培養性状により分類した。

2.2 葉面菌がチャ炭疽病菌におよぼす影響

(1) 対峙培養において葉面菌がチャ炭疽病菌の生育におよぼす影響

チャ炭疽病菌および葉面菌を PSA で 25℃、約 1 週間培養した。直径 5 mm のチャ炭疽病菌菌叢ディスクと、葉面菌の菌叢ディスクもしくは菌叢からかき取った少量の分生子を PSA 平板に 30mm 間隔で接種した。25℃ で 2 週間培養後、阻止帯の有無を調査した。

(2) 葉面菌培養ろ液がチャ炭疽病菌の分生子発芽におよぼす影響

葉面菌 *Sporothrix* Sp1 および Sp2 株ならびに *Penicillium* Pe1 および Pe2 株を麦芽エキス・酵母エキス液体培地 (麦芽エキス 20g, 酵母エキス 2 g, 蒸留水 1 L) で 25℃、2 週間静置培養後、培養ろ液を採取し、孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルターでろ過滅菌した。チャ炭疽病菌分生子を緑茶煎汁⁸⁾に懸濁して 1.0×10^5 個/mL に調整し、等量の培養ろ液と混合した後、ホールスライドグラスに点滴した。対照には培地を混合した。25℃ で 24 時間培養後、顕微鏡下でチャ炭疽病菌分生子の発芽率および発芽管長を調査した。1 処理につき分生子 200 個以上を調査した。試験は 3 回行った。

(3) 葉面菌がチャ炭疽病の付傷接種による発病におよぼす影響

葉面菌 *Sporothrix* Sp1 および Sp2 株ならびに *Penicillium* Pe1 および Pe2 株を PSA で 25℃、約 2 週間培養後、滅菌蒸留水を注いで絵筆で軽

くこすり、ガーゼでろ過して分生子懸濁液を得た。接種は吉田・武田(2004)⁹⁾の方法を一部改変して行った。葉面菌分生子を 1.0×10^6 個/mL、チャ炭疽病菌分生子を 1.0×10^7 個/mL含む分生子懸濁液に増粘剤として3%量のメチルセルロース400cPを加え、懸濁液に浸したプラスドライバーでチャ品種‘やぶきた’の成葉裏面に1葉あたり2ヶ所付傷接種し、25℃の湿室に2日間保った後、オアシス®育苗成形培地P-1.5 (SMITHER-OASIS Co.)に挿して湿室に保ち、25℃、3,750lx、12時間照明のグロースチャンバー内に置いた。対照にはチャ炭疽病菌分生子のみを接種した。接種2週間後に病斑長径を測定した。1処理につきチャ葉8枚を用いた。試験は3回行った。各回毎に無処理区に対する葉面菌接種区の病斑長径減少率を算出し、3回の平均を病斑拡大抑制率とした。

(4) *Sporothrix*が圃場におけるチャ炭疽病の発生におよぼす影響

試験は金谷拠点内の圃場(‘やぶきた’, 1997年定植)において、2004年および2005年の二番茶期に行った。*Sporothrix* sp. Sp2株を麦芽エキス・酵母エキス寒天培地(麦芽エキス20g, 酵母エキス2g, 寒天15g, 蒸留水1L, 以下MYA)で25℃、3-4週間培養し、前項と同様に分生子懸濁液を調製して、200L/10a相当量を散布した。対照としてTPN水和剤700倍を散布した。

2004年は6月2日(0.5-1葉期)および6月10日(2-3葉期)に、 3×10^5 /mLの分生子懸濁液を散布した。チャ炭疽病菌の接種は、6月7日の降雨時に 2.5×10^6 個/mLの分生子懸濁液を100L/10a相当量噴霧接種した。発病調査は6月23日および7月1日に行った。試験区は1区4.5m²の3反復とし、試験区全面を調査した。

2005年は6月14日(0.5-1葉期)および6月21日に、 4×10^6 個/mLの分生子懸濁液を

散布した。チャ炭疽病菌の接種は、6月15日の降雨時に 2.5×10^6 個/mLの分生子懸濁液を100L/10a相当量噴霧接種した。発病調査は7月7日および7月14日に行った。試験区は1区5.4m²の2反復とし、50cm四方の固定枠を設置して1区あたり4ヶ所を調査した。

発病調査は発病葉を摘み取りながら数え、2回の調査の合計値から防除率を算出した。発病葉数をTukey-Kramer法により多重比較検定した。

2. 3 *Sporothrix*選択培地の開発

(1) *Sporothrix*のシクロヘキシミド耐性の検定

麦芽エキス寒天培地(麦芽エキス20g, 寒天15g, 蒸留水1L, 以下MA)をオートクレーブ滅菌後、シクロヘキシミド50, 100, 500, 1000および2500mg/Lをエタノールに溶解して加え、平板培地とした。MAで培養した*Sporothrix* Sp1およびSp2株の直径5mmの菌叢ディスクをシクロヘキシミド加用MA平板に接種し、25℃で1週間培養後、コロニー直径を測定した。1処理につき平板4枚以上を用いた。

(2) シクロヘキシミドが*Sporothrix*のチャ葉面からの分離におよぼす影響

MYAをオートクレーブ滅菌後、シクロヘキシミド25, 50および100mg/Lならびにクロラムフェニコール100mg/Lをエタノールに溶解して加え、平板培地とした。2.1(2)項に準じて調製したチャ葉洗浄液100μLを塗抹し、25℃で1週間培養後、*Sporothrix*およびその他の糸状菌コロニー数を計測した。

2. 4 圃場における*Sporothrix*の消長

金谷拠点内の殺菌剤無散布圃場(‘やぶきた’, 1961年定植)において*Sporothrix*の消長を調査した。調査は一番茶および二番茶摘採残葉、三番茶硬化葉ならびに秋整枝後の越冬葉について行った。圃場内に4.5m²の調査区を3ヶ所設置し、1調査区につきチャ葉30枚

を採集した。チャ葉10枚から直径18mmのリーフディスクを20枚採取して1サンプルとし、50mLの滅菌蒸留水(0.01%Tween20加用)中で30分間振盪した。洗浄液を適宜希釈し、100 μ Lを前項試験で作製した *Sporothrix* 選択培地(麦芽エキス20g, 酵母エキス2g, 寒天15g, 蒸留水1L, クロラムフェニコール100mg, シクロヘキシミド50mg, 以下MYCCA)平板に塗抹して、25℃で1週間培養後、*Sporothrix* コロニー数を計測した。1サンプルにつき4枚以上の平板を用いた。3調査区の平均からチャ葉単位面積あたりの *Sporothrix* 菌量を算出した。

2. 5 チャ葉における *Sporothrix* の生息部位

(1) チャ葉の洗浄および表面殺菌が *Sporothrix* 分離率におよぼす影響

2. 4 項試験終了後のリーフディスクから直径5mmのリーフディスクを採取し、水洗または表面殺菌してMYCCA平板に置き、25℃で1週間培養後に *Sporothrix* の分離率を調査した。水洗は滅菌蒸留水中で10分間振盪して行った。表面殺菌は最初に70%エタノール、次いで次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度1%)にそれぞれ数分間浸漬して行い、その後滅菌水に2回浸漬した。洗浄液中の *Sporothrix* 菌量は前項に準じて調査した。

(2) 顕微鏡観察

2. 4 項の試験で2004年11月-2005年1月に採集したリーフディスクを酢酸エタノール(エタノール:酢酸=96:4, v/v)に1-2日間浸漬して固定・脱色した後、10%水酸化カリウム水溶液に1晩浸漬して透明化し、顕微鏡観察した。分生子柄の形態により *Sporothrix* を判別した。

3 結 果

3. 1 葉面菌の分離および拮抗菌の選抜

チャ葉面菌を分離した結果、*Cladosporium*

82菌株、*Penicillium* 24菌株、*Sporothrix* 35菌株、未同定菌の1種91菌株およびその他未同定菌129菌株を得た。チャ炭疽病菌との対峙培養の結果、*Penicillium*、*Sporothrix* および未同定菌2種3菌株で明確な阻止帯の形成が認められた。分離頻度の高かった *Penicillium* および *Sporothrix* それぞれ2菌株について、培養液のチャ炭疽病菌分生子発芽阻害効果を検定した結果、*Penicillium* ではチャ炭疽病菌分生子の発芽が完全に阻害された(図1)。*Sporothrix* では、発芽率の低下は少なかったが、発芽管長が対照に比べSp2株で51%、Sp1株で32%抑制された(図1)。一方、チャ葉への付傷接種における炭疽病病斑拡大抑制率は、*Penicillium* Pe1株では17%、Pe2株では7%だったのに対し、*Sporothrix* Sp1株では50%、Sp2株では65%と大きかった(図2)。圃場において *Sporothrix* sp. Sp2株の分生子懸濁液散布によるチャ炭疽病防除試験を行った結果、2004年の試験では、無散布区の発病葉数292.1枚/m²に対して *Sporothrix* sp. 処理区は212.8枚/m²で、防除率は27.1%であった。2005年は、無散布区の420.5枚/m²に対して *Sporothrix* sp. 処理区は372.0枚/m²で、防除率は11.5%であった(表1)。いずれの年次で

図1 葉面菌培養液がチャ炭疽病菌分生子の発芽におよぼす影響
誤差線は標準誤差

図2 葉面菌がチャ炭疽病菌の病斑拡大におよぼす影響

*無処理を100とした相対値。無処理の病斑長径は平均17.5mmであった。誤差線は標準誤差

も、*Sporothrix* sp.処理区で発病葉数が若干減少する傾向がみられたが、無散布区との間に有意差は認められなかった。

3. 2 *Sporothrix*選択培地の開発

Sporothrix Sp1およびSp2株のシクロヘキシミド耐性を検定した結果、培地中のシクロヘキシミド濃度が2500mg/Lでも生育が認められた。そこで、シクロヘキシミド0-100mg/Lおよびクロラムフェニコール100mg/Lを添加したMYAでチャ葉洗浄液を培養した結果、シクロヘキシミド無添加では雑菌の生育が旺盛で*Sporothrix*コロニーを判別することはできなかったのに対し、シクロヘキシミドの添加により雑菌の生育が抑制され、*Sporothrix*コロニーの計数が可能となった。雑菌のコロニー数はシクロヘキシミド濃度の増加に伴っ

図3 シクロヘキシミド濃度がチャ葉面からの*Sporothrix*の分離におよぼす影響

て減少し(図3),コロニー直径はシクロヘキシミド50ppm以上で強く抑制された。*Sporothrix*コロニー数は濃度に関わらずほぼ一定であった(図3)が、コロニー直径は濃度の増加に伴って減少する傾向にあった。MYCCA上において*Sporothrix*は白色～灰白色、表面は粉状で培地から大きく盛り上がったコロニーを生じ、他の糸状菌と容易に判別できた。以上の結果より、チャ葉面からの*Sporothrix*の分離には、MYAにシクロヘキシミド50mg/Lおよびクロラムフェニコール100mg/Lを添加したMYCCAが適していた(図4)。

3. 3 圃場における*Sporothrix*の消長

MYCCAを用いて殺菌剤無散布圃場における*Sporothrix*の消長を2年間にわたり調査した(図5)。一番茶および二番茶摘採残葉に

表1 圃場における*Sporothrix*のチャ炭疽病抑制効果

	2004年		2005年	
	発病葉数 ^{a)} (枚/m ²)	防除率 (%)	発病葉数 ^{a)} (枚/m ²)	防除率 (%)
<i>Sporothrix</i> sp.	212.8 ± 47.5	27.1	372.0 ± 25.0	11.5
TPN水和剤	1.3 ± 0.5	99.5	4.0 ± 1.0	99.0
無散布	292.1 ± 52.4	—	420.5 ± 39.5	—

a) 平均値 ± 標準誤差

図4 選択培地MYCCAによる *Sporothrix* のチャ葉面からの選択的分離

チャ葉洗浄液を塗抹し、25℃で1週間培養。MYAでは雑菌が平板全面を覆い、*Sporothrix*は確認できない。MYCCAでは雑菌（矢印）の生育が抑制され、白色小型の *Sporothrix* コロニーを容易に判別できる。

における *Sporothrix* 菌量は新葉では少なく、2004年一番茶摘採直後には9cfu/cm²であったが、その後徐々に増加し、次茶期の摘採もしくは出開き期には、一番茶摘採残葉では約200–300cfu/cm²、二番茶摘採残葉では約400–600cfu/cm²となった。また、越冬葉では気温の低下とともに菌量が減少し、2–3月には10cfu/cm²以下とほとんど検出されなくなったが、その後気温の上昇とともに急激に増加し、2004年一番茶摘採直前には2000cfu/cm²以上となった。

3. 4 チャ葉における *Sporothrix* の生息部位

チャ葉を3回洗浄することにより、洗浄液中の *Sporothrix* 菌量は2.5cfu/mL以下とほとんど検出されなくなったが、洗浄後のリーフディスクをMYCCA上に置いて培養した結果、約2割のリーフディスクから *Sporothrix* が分離された。一方、表面殺菌すると *Sporothrix* はまったく分離されなくなった（表2）。このことから、*Sporothrix* はチャ葉表面に存在し、分生子の一時的な付着ではなく定着しているものと考えられた。顕微鏡観察の結果、チャ葉裏面の毛茸表面に *Sporothrix* の特徴的な単生、鋸歯状の分生子柄が観察された（図6）。リーフディスク数十枚を観察したが、

表2 チャ葉の洗浄および表面殺菌が *Sporothrix* 分離率におよぼす影響

反復	洗浄液中の菌密度 ^{a)} (cfu/mL)		リーフディスクからの分離率 ^{b)} (分離数/ディスク数)	
	1回目	3回目	水洗	表面殺菌
I	177.3	2.5	10/39	0/38
II	84.0	2.5	9/39	0/32
III	30.7	0.0	6/35	0/35

リーフディスクを3回水洗し、1回目および3回目の洗浄液中の *Sporothrix* 菌密度(a)および水洗もしくは水洗後表面殺菌したリーフディスクからの組織分離法による *Sporothrix* 分離率(b)を調査した。

図5 圃場における *Sporothrix* の消長

図6 チャ毛茸上の *Sporothrix*
矢印: *Sporothrix* 分生子柄, T: 毛茸, Bar = 20 μ m

チャ葉の他の部位では *Sporothrix* は観察されなかった。これらの結果から, *Sporothrix* はチャ葉の毛茸表面に定着しているものと考えられた。

4 考 察

チャ葉面から分離された糸状菌 *Sporothrix* は, 培地上およびチャ切り離し葉への付傷接種においてチャ炭疽病菌に対して拮抗性を示した。しかし, 圃場における防除試験では, *Sporothrix* 分生子懸濁液の散布により発病葉数が若干減少する傾向はみられたものの, 生物農薬としての利用が期待できる防除効果は認められなかった。

チャ葉上における *Sporothrix* のチャ炭疽病菌に対する作用機構としては, *Sporothrix* はチャ炭疽病菌との対峙培養において阻止帯を生じ, またその培養ろ液はチャ炭疽病菌分生子の発芽管伸長を阻害したことから, なんらかの抗菌物質を産生しているものと考えられる。一方, 圃場試験では, チャ炭疽病菌はチャの新芽に感染することから, 萌芽期に *Sporothrix* を接種しても *Sporothrix* がチャ葉面に定着する前にチャ炭疽病菌の感染が成立してしまうため, 明確な防除効果が認められなかったものと考えられる。しかし, *Sporothrix* はチャ炭疽病菌の侵入門戸である毛茸¹⁰⁾ の表面に

生息していることから, チャ炭疽病菌が感染する前に *Sporothrix* が毛茸に定着すれば, 生息場所の競合によってチャ炭疽病菌の毛茸感染を阻止する可能性もある。

Sporothrix の完全世代の一つである *Ophiostoma* は抗カビ抗生物質シクロヘキシミドに耐性を示し, これを利用した選択培地がこれらの菌の生態研究に用いられている¹¹⁾。チャ葉面から分離した *Sporothrix* もシクロヘキシミドに耐性であり, MYA にシクロヘキシミド 50mg/L および細菌の生育を抑えるためにクロラムフェニコール 100mg/L を添加した選択培地 MYCCA により, チャ葉面から *Sporothrix* を選択的に分離できた。

MYCCA を用いて調査した殺菌剤無散布圃場におけるチャ葉面の *Sporothrix* 菌量は, 一番茶摘採直後および冬季は 10cfu/cm² 以下と少なかったが, その他の時期はおおむね 100cfu/cm² 以上, 最大で約 2000cfu/cm² と多かった。今後, *Sporothrix* 菌量とチャ炭疽病の発生との関係について, 詳細に検討する必要がある。

チャには *Sporothrix* の他にも多くの拮抗菌が生息していることが報告されている。チャ炭疽病の越冬病斑から分離された細菌 *Flexibacter* sp. は培地上でキチナーゼを産生し, チャ炭疽病菌菌糸を溶菌する⁷⁾。チャ輪斑病病斑等からチャ輪斑病菌に随伴して分離される *Streptomyces*^{2,3)}, *Acremonia*⁴⁾, *Aspergillus* 等³⁾ は, チャ輪斑病菌に対して拮抗性を有する。また, 外観上健全なチャ葉に広く潜在する¹²⁾ チャ赤葉枯病菌 *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding et Schrenk は, チャ輪斑病および新梢枯死症の発生を抑制する^{5,6)}。

このようにチャには多くの拮抗菌が生息しているが, これらの拮抗菌を含む葉面の微生物相は, 殺菌剤散布を始めとする栽培管理によって大きな影響を受ける。チャ輪斑病は不適切な殺菌剤散布によって発生が増加するこ

とがあり、その原因として *G. cingulata* の密度の低下があるものと推測されている¹³⁾。今後、これらの土着拮抗菌の機能を最大限に活用した栽培管理技術の開発が望まれる。*Sporothrix* はチャ葉面に高い密度で生息し、かつ選択培地によって比較的容易に分離、定量できることから、植物体上の土着拮抗菌と病原菌との相互作用を明らかにする上でモデル系として有用であると考えられる。

5 謝 辞

本稿をご校閲いただいた野菜茶業研究所園田亮一氏に厚くお礼申し上げる。

本研究は、(独)農業・食品産業技術総合研究機構運営費交付金プロジェクト研究No.166「作物及び家畜生産における気候温暖化の影響解明とその制御技術の開発」の助成により行われた。

6 摘 要

チャ葉面から分離された糸状菌 *Sporothrix* は、チャ炭疽病菌との対峙培養において阻止帯を形成し、その培養ろ液はチャ炭疽病菌分生子の発芽管伸長を抑制した。*Sporothrix* とチャ炭疽病菌を同時にチャ切り離し葉に付傷接種すると、チャ炭疽病の病斑長径を65-59%抑制した。圃場における防除試験では、*Sporothrix* 分生子懸濁液の散布によりチャ炭疽病発病葉数が減少する傾向がみられたが、明確な防除効果は認められなかった。シクロヘキシミドを添加した選択培地MYCCAを用いて、圃場における *Sporothrix* の消長を調査した結果、冬季は10cfu/cm²以下に減少するが、春から秋にかけてはおよそ10²-10³cfu/cm²の高い密度で生息していた。顕微鏡観察の結果、*Sporothrix* はチャ葉の毛茸表面に定着していた。

7 引 用 文 献

1) 小川 奎(1995)：拮抗微生物利用。日本

植物病理学会編、植物病理学事典、養賢堂、東京、pp.718-720。

- 2) 堀川知廣(1984)： *Streptomyces* 属菌による *Pestalotiopsis* 属菌分生胞子の不活化。日植病報，50，409。
- 3) 伊藤陽子・成澤信吉(1988)：チャ輪斑病菌の分生胞子形成に及ぼす各種放線菌、糸状菌の影響。茶研報，67，58-59。
- 4) 安藤康雄・鬼木正臣・成澤信吉(1988)：茶園より見出された *Acremoniella* 属菌について。日植病報，54，69。
- 5) 安藤康雄・成澤信吉(1989)：チャ葉でのチャ輪斑病の発生に及ぼすチャ赤葉枯病菌の影響。日植病報，55，267-274。
- 6) 安藤康雄・成澤信吉(1989)：チャの新梢枯死症状のチャ赤葉枯病菌 *Glomerella cingulata* による発生抑制。日植病報，55，261-266。
- 7) 安藤康雄・早津雅仁(1993)：チャ炭そ病病斑から分離される溶菌微生物。日植病報，59，278。
- 8) 安藤康雄・浜屋悦次(1985)チャ炭そ病菌分生胞子の発芽を促進するチャのサポニン。茶技研，67，13-19。
- 9) 吉田克志・武田善行(2004)：新しい付傷接種法を用いたチャ炭疽病抵抗性の検定法。野菜茶研研報，3，137-146。
- 10) 浜屋悦次(1982)：チャ炭そ病菌の感染経路。茶技研，63，33-38。
- 11) Harrington T. C. (1981)：Cycloheximide sensitivity as a taxonomic character in *Ceratocystis*. Mycologia, 73, 1123-1129.
- 12) 河野又四(1965)：チャ赤葉枯病に関する研究 特に外観健全なチャ樹新梢における病原菌の潜在性について。近畿大食品科学研特報，1，1-66。
- 13) 安藤康雄(1994)：チャ赤葉枯病菌によるチャ輪斑病の発生抑制に及ぼす殺菌剤散布の影響。野菜茶試研報B，7，21-26。