

Phytophthora syringae (Kleb.) Kleb. によるリンゴ果実疫病の
発生生態と防除に関する研究

藤 田 孝 二

(青森県りんご試験場)

Studies on the Ecology and Control of *Phytophthora* Fruit Rot of
Apple Caused by *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb.

Koji FUJITA

Aomori Apple Experiment Station
Kuroishi, Aomori, 036-03, Japan

目 次

I. 緒 言	40
II. 病徴および病原菌	41
1. 病徴、菌の分離・同定および分離菌の病原性	41
1) 病徴および菌の分離	41
2) 分離菌の同定および病原性	42
2. リンゴ疫病菌3種の生育速度、果実腐敗力および果実での病徴	44
1) <i>P. syringae</i> 、 <i>P. cactorum</i> および <i>P. cambivora</i> の生育速度比較	44
2) <i>P. syringae</i> 、 <i>P. cactorum</i> および <i>P. cambivora</i> 接種果実の病斑拡大と病徴比較	44
3. 考 察	45
III. 発生生態	46
1. 遊走子接種法および選択培地による <i>P. syringae</i> 検出法	46
1) 遊走子濃度と感染	46
2) <i>Phytophthora</i> 属菌分離用選択培地 (BNPRA-HMI) の利用による <i>P. syringae</i> の分離	47
3) 考 察	49
2. 病原菌の分布	50
1) 東北地方における <i>P. syringae</i> の生息分布	50
2) 土壌の母材の違いと <i>P. syringae</i> の密度	51
3) 土壌の深さと <i>P. syringae</i> の密度	51
4) 考 察	52
3. 越冬伝染源	54
1) 各種植物組織における <i>P. syringae</i> の卵孢子形成	54
2) リンゴ葉身と果実が伝染源として果たす役割	54
3) 疫病被害果の土壌混入による病原菌密度の変化	56
4) 疫病被害果の樹冠下放置による病原菌密度の変化	57
5) 各種草本植物の根からの疫病菌分離	57
6) 考 察	57
4. <i>P. syringae</i> に対する各種果実の感受性	58
1) 各種果実に対する <i>P. syringae</i> の病原性	59
2) リンゴ品種の罹病性差異	60
3) 考 察	60
5. 病原菌の発生消長	61
1) リンゴ園土壌から検出される各種疫病菌の時期的変動	61
2) 夏期土壌からの <i>P. syringae</i> の検出	62
3) 地表のリンゴ葉における <i>P. syringae</i> 蔵卵器または卵孢子の形成消長	62
4) <i>P. syringae</i> の卵孢子由来遊走子の病原性の確認	64

5) 考 察	65
6. 各種胞子および器官の形成条件と胞子の発芽条件	66
1) 卵胞子の成熟、休眠に及ぼす温度、光および湿度の影響	66
2) 成熟卵胞子の発芽条件	67
3) 遊走子のうの形成に及ぼす光、水分および温度の影響	69
4) 遊走子のうの間接発芽温度	70
5) 各温度条件下における <i>P. syringae</i> 遊走子の被のうと発芽	70
6) 考 察	71
7. 感染と発病	74
1) 果実感染温度	74
2) 果実感染成立時間	74
3) 遊走子による果実侵入過程の光顕および走査電顕観察	75
4) 感染果実の潜伏期間	76
5) 考 察	76
IV. 発 生 要 因	79
1. 降雨と果実疫病の発生	79
2. 反射シートの有無と病原菌密度	79
3. 地表の草の有無と病原菌密度	80
4. 冷蔵庫内における果実疫病の接触伝染	81
5. 考 察	81
V. 防 除 法	82
1. 果実への薬剤散布による防除	82
1) 各種薬剤の <i>P. syringae</i> 被のう胞子発芽阻止効果	82
2) キャプタン剤またはキャプタン・フォセチル水和剤散布の果実予防効果	83
2. 薬剤の地表散布による <i>P. syringae</i> 菌密度の低減	84
1) 各種薬剤の <i>P. syringae</i> 遊走子のう間接発芽阻止効果	84
2) 除草剤およびキャプタン剤の <i>P. syringae</i> 卵胞子発芽抑制効果	84
3) キャプタン剤の地表散布による果実疫病防除	85
3. 感染果実の温湯処理による発病防止	87
4. 考 察	87
VI. 摘 要	88
引 用 文 献	92
Summary	99
図 版	108

I. 緒 言

疫病は *Phytophthora* 属菌による病害の通称で土壌伝染性、水媒伝染性の共通の性質を有する。そのため一般に梅雨、台風、洪水など多湿条件下で発生し、農作物を含む多くの植物に被害を与える。*Phytophthora* 属菌は鞭毛菌亜門 (Mastigomycotina)、卵菌綱 (Oomycetes) に所属し (小林ら, 1992)、STAMPSら (1990) は変種を含め67種 (内、海洋生息菌10種) を記載している。日本有用植物病名目録 (日本植物病理学会編) には本属菌による病害が1992年までに103種の植物に記録され、病原菌は変種を含め27種が記載されている。リンゴ疫病菌は諸外国で7種知られているが (JEFFERS & WILCOX, 1990)、わが国で1990年までに記載された種はわい性台木を加害する *P. cambivora* (中沢ら, 1985; SUZUI & HOSHINO, 1979) と、主に果実を加害する *P. cactorum* (広間・尾沢, 1989; 柳瀬・佐久間, 1979) の2種であった。

青森県では1989年および1990年、県下全域で収穫後のリンゴ果実に新しい腐敗型の病害が多発した。本病は冷蔵中および出荷後も多発したため、仲買業者、市場および消費者から苦情が出、青森県産リンゴの信頼にかかわる社会的問題となった。本病の症状からは疫病と推察された。過去にもリンゴ果実の疫病は6~9月の長雨や水害時に発生し (田中ら, 1976)、しばしば局地的に問題になってきたが、収穫期以降の多発はこれまで例がなかった。被害果からは *P. cactorum* と異なる菌が分離され、分類学的調査および接種試験から本病は *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb. による疫病であることが明らかとなった。著者ら (1992, 1994) はこのことを既に報告した。

P. syringae は最初ライラックの根を加害する病原菌として1909年に KLEBAHN によって初めて記録された (HARRIS, 1979 a)。本菌による

リンゴ果実被害の最初の記録は1920年、アイルランドである (UPSTONE, 1978)。1970年代の中頃から本菌によるリンゴ、セイヨウナシの果実腐敗、特に貯蔵中の腐敗がイギリス、スイス、フランスなど北西ヨーロッパで多発した (HARRIS, 1991)。WATERHOUSE & WATERSTON (1964) は発生国としてアメリカ、カナダ、ニュージーランドなどを含め、20か国を記載している。本菌によるリンゴ果実の疫病は主に英国で研究されたが、未だ未解決の課題が多く残されている。*P. syringae* は1990年頃まで日本に存在しないと考えられ、外国からの侵入が警戒されてきた (君島, 1985)。そのためわが国での本菌に関する研究はなかった。著者は *P. syringae* によるリンゴ果実疫病的生態解明と防除法の確立を目的とし、さらに本菌が在来菌か否かを明らかにするため一連の研究を実施した。本報告は1991年から1995年までの研究成果を取りまとめたものであり、すでに発表した一部報告 (藤田・福島, 1992 b; 藤田, 1993; 藤田・原田, 1994; 藤田ら, 1994; 藤田・原田, 1995) も含めた。

本研究を遂行するにあたって御指導を賜り、本稿の校閲の労をとられた弘前大学農学部教授、原田幸雄博士に深く感謝する。また、本病原菌を同定するにあたっては元農林水産省農業生物資源研究所の鈴木孝仁博士から御指導賜わり、元青森県りんご試験場場長一木茂氏からは有益な助言と励ましをいただいた。疫病発生実態調査等では元青森県りんご試験場研究管理員福島千鳥氏、同研究管理員中沢憲夫氏、同技師牧野丈太郎氏、相馬村農業共同組合成田正晴氏に、室内実験等では元青森県農業大学校学生山口清人氏、同加川珠輝氏、同佐藤正彦氏、同町田 丙氏にそれぞれ御協力いただいた。青森県りんご試験場病虫肥料部長関田徳雄博士並び

に病理班研究員からは本報告の取りまとめにあたって色々と御配慮いただいた。上記の各位に深く感謝する。

II. 病徴および病原菌

青森県において1989年以降、収穫期から貯蔵中のリンゴ果実に発生している腐敗の原因解明のため、病徴観察、菌の分離・同定および分離菌の病原性調査を行った。その結果、病原菌はわが国未報告の *Phytophthora syringae* であることが明らかとなった。そこで *P. syringae* と既知リンゴ疫病菌2種との生育速度、果実腐敗力および果実病徴の比較を行った。

1. 病徴、菌の分離・同定および分離菌の病原性

1) 病徴および菌の分離

実験方法

1991年5月に、青森県津軽地方の4か所のリンゴ選果場（弘前市石川農協、相馬村農協、黒石市農協、尾上町ヤマダイりんご移出問屋）において、CA (Controlled Atmosphere) 貯蔵リンゴに発生した腐敗果（品種：ふじ）を合計487個採集し、病徴観察後、次の方法で菌を分離した。

果面を80%エタノールで表面殺菌後、滅菌刀で果皮を薄く剥ぎ、果肉腐敗部の周縁組織を約5mmの大きさに切り取り、下記処方 CV-8A 培地 (V-8ジュース寒天) に置床した。20°Cで3～4日培養後発達した菌そう周縁部から菌糸を取り PDA (ジャガイモ煎汁寒天) 斜面培地に移植した。なお、果実病斑からの菌の分離にはす

べてこの方法を用いた。

CV-8A 培地の作製法：V-8ジュース 195g (1缶) に炭酸カルシウム 2g を加え、遠心分離 (3500 r.p.m. 20分) 後、上清を取り、蒸留水を加えて1 l とする。粉末寒天 15g を加え、溶融、高圧滅菌する。

実験結果

病徴：選果場で採集した腐敗果の約8割に疫病とみられる症状が観察された。典型的な初期病徴は、大きさ1～2cm、輪郭不明瞭、淡黄褐色、円形～楕円形の病斑で、次第に拡大あるいは多数の病斑がゆ合してして大型の淡黄褐色～褐色病斑となった (図版 I - 1, 2, 3, 4)。病斑果肉部はやや弾力を帯び褐変したが、軟腐症状を呈することはなかった。一部の病斑果肉部では初めほとんど変色しないか又は水浸状を呈し (図版 I - 6)、その後褐変した。数か月間の貯蔵により腐敗の進行した果実では果面全体が褐変し、表皮にしわを生じた (図版 I - 5)。

菌の分離：腐敗果からは1種の疫病菌 *Phytophthora* sp. が77.8%の頻度で分離された。この菌は *P. cactorum* あるいは *P. cambivora* とは異なり (図版 IV - 2)、*P. cactorum* と *P. cambivora* は検出されなかった。疫病菌以外にも *Fusarium* sp. と *Penicillium* sp. が検出された (第1表)。

第1表 貯蔵中に発生したリンゴ腐敗果からの菌分離

採集地点	調査腐敗果数 (個)	菌の検出率 (%)	
		<i>Phytophthora</i> sp.	その他糸状菌
弘前市石川	100	92.0	8.0
尾上町	145	82.1	17.9
相馬村	133	82.0	18.0
黒石市	109	54.1	45.9
合計	487	77.8	22.2

2) 分離菌の同定および病原性

実験方法

上記実験で1991年に分離した *Phytophthora* 属菌 5 菌株、1990年分離菌 2 菌株、合計 7 菌株を供試し (第 2 表)、以下の調査を行った。

生育温度反応：2 菌株 (KU-10, S-040) を供試し、予め CV-8A 平板で培養した菌そうの周縁部を直径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、CV-8A 平板に移植した。0～28°C の 7 段階の温度下に遮光して保ち、4、6、および 10 日後に菌そう直径を測定した。実験は 3 反復し、結果は平均値で示した。

遊走子のう：KU-10 菌株を供試し、CV-8A 平板で培養した菌そうを直径 11 mm のコルクボーラーで打ち抜いた含菌寒天 (以下菌そうディスクと称する) を滅菌蒸留水に浅く浸漬した。20°C、遮光下で 3 日間培養後に形成された遊走子のうの形状と大きさを調査した。

蔵卵器、蔵精器：熱湯殺菌した麻の実から胚乳を取り出し、供試菌 (KU-10、KU-24、S-040、FI-4、IS-2、SO-18、ON-8) の各菌そうに接触させ、20°C、48時間の培養により接種した。接種胚乳を滅菌蒸留水に浸漬し、15°C、遮光下、14日間培養した結果、繁殖菌体中に 3 菌株で有性器官の形成が認められた。その中から KU-10 菌株を選び、蔵卵器と蔵精器の形状と大きさを調査した。また、36日後に KU-10 菌株で卵胞子の形成が認められたのでその形態を調査した。

分離菌の病原性調査：S-040 菌株を供試し、V8ジュース液体培地で 20°C、15日間の前培養で

得た菌体を、水洗後、滅菌蒸留水で 15°C、遮光下、16日間再培養して遊走子のうを形成させた。滅菌蒸留水を加えて 5°C、60分間の低温処理により遊走子を放出させた。この遊走子液 (濃度： 7×10^3 個/ml) にリンゴ果実 (品種：ふじ、ビスタベラ；7月31日採取) を浸漬し、15°C で 48 時間保った。対照として蒸留水浸漬区を設けた。接種後の果実は水を拭き取ってポリエチレン袋に入れ 15°C に置き、11日後に発病調査した。また、病斑からは菌の再分離を行った。

実験結果

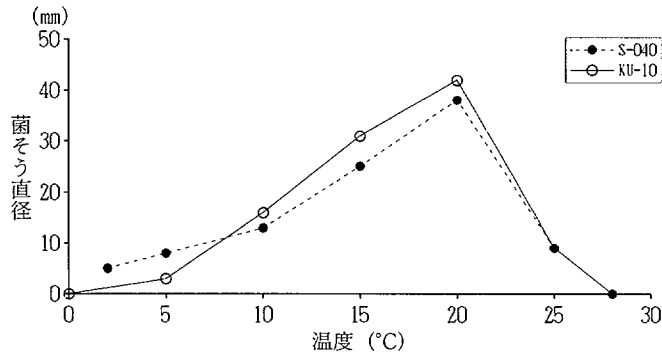
分離菌の同定：分離菌は CV-8A 上でバラの花弁状の生育紋 (rosette) を形成し (図版 IV-1)、菌糸には処々に膨潤がみられた (図版 IV-3)。生育最適温度は 20°C、生育可能上限は 25°C であった。0°C では 6 日後まで生育せず、10 日後にわずかに生育した (第 1 図)。28°C では 6 日間培養後 20°C に移動しても生育しなかったことから、死滅したものと考えられた。

遊走子のうは CV-8A 上でほとんど形成せず、菌そうディスクの水浸により多数形成した。形状は卵形、倒洋梨形、楕円形または円形で、頂部乳頭突起は無いかまたはわずかにみられた (図版 IV-5)。大きさは $23-60 \times 20-35 \mu\text{m}$ 、L : B 比 (長さとの比) の平均値は 1.5 であった (第 3 表)。小柄は $5 \mu\text{m}$ 未満で短かく、非脱落性であった。

有性器官の形成は 3 菌株 (KU-10、KU-24、ON-8) に認められ、同株性であった。形態の調査は KU-10 株について行った。蔵精器は蔵卵

第 2 表 供試菌の来歴

菌株番号	分離源	分離時期 (年・月)	採取場所
FI-4	リンゴ果実 (ふじ)	1990.11	三戸町
S-040	リンゴ果実 (陸奥)	1990.12	相馬村
KU-10	リンゴ果実 (ふじ)	1991. 5	黒石市
KU-24	リンゴ果実 (ふじ)	1991. 5	黒石市
IS-2	リンゴ果実 (ふじ)	1991. 5	弘前市
SO-18	リンゴ果実 (ふじ)	1991. 5	相馬村
ON-8	リンゴ果実 (ふじ)	1991. 5	尾上町



第1図 *Phytophthora* sp. の生育温度

第3表 分離菌 *Phytophthora* sp. と *P. syringae* の比較

調査項目		<i>P. sp.</i>	<i>P. syringae</i> *
菌糸生育温度	上限	25°C	23°C
	最適	20°C	20°C
	下限	0°C	5°C以下
遊走子のう	形成条件	水中、遮光下で形成良好	水中、遮光下で形成良好
	形状	卵形、倒洋梨形、楕円形、球形	卵形、倒洋梨形、楕円形、球形
	頂部	乳頭突起は無〜わずか	乳頭突起は無〜わずか
	大きさ	23-60×20-35μm (平均40×28μm)	40-75×30-42μm (平均57×36μm)
	L/B 比	1.0-1.8 (平均1.5)	1.6以下
	その他	遊走子のうは非脱落性	遊走子のうは非脱落性
遊走子のう柄	単純シンボジア	単純シンボジア	
小柄	<5μm	<5μm	
菌糸の膨潤	認められる	認められる	
寒天培地上での菌そう	ロゼット状	ロゼット状	
蔵精器	細胞数	単細胞	単細胞
	着生位置	側着まれに底着	側着まれに底着
	大きさ	10-13×5-8μm	10×7μm
蔵卵器	形状	球形、厚膜、表面平滑	球形、厚膜、表面平滑
	大きさ	20-38μm (平均33μm)	平均33μm (最大46μm)
卵胞子	形状	球形、淡黄色、蔵卵器に充満 〜ほぼ充満	球形まれに卵形、淡黄色 蔵卵器に充満
	膜の厚さ	2-2.5μm	2μm
	大きさ	15-35μm (平均27μm)	18-36×17-25μm

* *P. syringae* の形態は STAMPS et al. (1990), WATERHOUSE & WATERSTON (1964), WATERHOUSE (1970) の記載にしたがった。

器に主に側着し(図版IV-4)、まれに底着した。蔵精器は大きさ10-13×5-8μm、単細胞、蔵卵器は球形、厚膜、表面平滑、無色〜淡黄色、直径20-38μm (平均33μm)であった。

卵胞子(図版V-1)は蔵卵器に充満またはほぼ充満し、球形、淡黄色〜淡褐色、膜の厚さ

2-2.5μm、直径15-35μmであった(第3表)。

以上の形態と培養性質はこれまでに報告された *P. syringae* の記載 (STAMPS et al., 1990; WATERHOUSE & WATERSTON, 1964; WATERHOUSE, 1970) とほぼ一致することから、本種を *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb. と同定し

た。

分離菌の病原性：ふじでは5個中4個、ピスタペラでは4個中2個が発病した。病徴は初め黄褐色の小斑として現れ、11日後には拡大して疫病症状を呈した(図版II-1)。全ての発病果から *P. syringae* が再分離された。

2. リンゴ疫病菌3種の生育速度、果実腐敗力および果実での病徴

上記実験の結果、リンゴ果実にわが国未報告の *P. syringae* による疫病が発生することが明らかとなったので、これまで日本で知られているリンゴ疫病菌 *P. cactorum* および *P. cambivora* との違いを明らかにするため、生育速度、リンゴ果実腐敗力および果実における病徴を比較した。

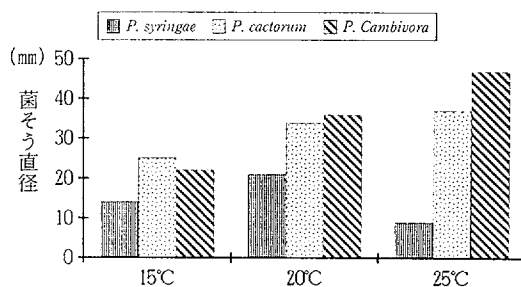
1) *P. syringae*、*P. cactorum* および *P. cambivora* の生育速度比較

実験方法

P. syringae (S-040)、果樹試験場盛岡支場より分譲された *P. cactorum* (PM-1)、五所川原市前田野目においてリンゴ台木 M. M. 106 より分離した *P. cambivora* (AP-3) の3菌種を供試した。予め CV-8A 平板で培養した供試菌の菌そうの周縁部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜き、CV-8A 平板に移植した。15、20、25°C の各温度条件下に遮光して保ち、4日後に菌そう直径を測定した。実験は3反復し、結果は平均値で示した。

実験結果

15~25°Cの範囲では *P. syringae* の生育は他



第2図 3種疫病菌の成育速度の比較

2菌種に比べて遅かった(第2図)。特に25°Cでの生育は *P. syringae* が極めて不良であったのに対し、*P. cactorum* と *P. cambivora* は比較的良好であった。

2) *P. syringae*、*P. cactorum* および *P. cambivora* 接種果実の病斑拡大と病徴比較

実験方法

P. syringae (S-040)、*P. cactorum* (PM-1)、*P. cambivora* (AP-3) の3菌株を供試し、CV-8A 平板で培養した菌そう周縁部を直径5mmの円盤に打ち抜き接種源とした。CA貯蔵したリンゴ果実(品種：ふじ)を各区3個ずつ供試し、果面を80%エタノールで消毒後、果皮にコの字型の傷を付け、果皮と果肉の間に接種源を入れた。接種は1果につき2か所行った。5、15、25°Cの各温度条件下に保ち、20日後まで病徴を観察し、病斑の長径と短径を測定した。また、発病病斑からは菌を再分離した。

実験結果

P. syringae は15°Cで病斑の拡大が速く、25°Cではほとんど拡大しなかった。*P. cactorum* と *P. cambivora* は25°Cで病斑の拡大が最も速か

第4表 3種疫病菌接種による病斑拡大の比較

温度 (°C)	病斑の大きさmm (7日後)			病斑の大きさmm (20日後)		
	<i>P. syri</i>	<i>P. cact</i>	<i>P. cambi</i>	<i>P. syri</i>	<i>P. cact</i>	<i>P. cambi</i>
5	0×0	0×0	0×0	15×13	19×13	6×5
15	22×17	21×13	15×12	—	—	—
25	3×3	53×44	54×42	—	—	—

注 1) 病斑の大きさは長径×短径で示し、6病斑の平均値

2) *P. syri* は *P. syringae*、*P. cact* は *P. cactorum*、*P. cambi* は *P. cambivora*

った(第4表)。15°Cでは3種疫病菌による病徴の違いは明らかでなかった(図版II-2、3)。しかし、9日後の調査では *P. cambivora* の病斑周縁果皮が少し淡白色火ぶくれ状となり(図版II-3)、病斑拡大が抑制された。25°Cでは *P. cactorum* の病斑は褐色で明瞭であったのに対し、*P. cambivora* では黄褐色で不明瞭であった。

3. 考 察

リンゴ樹体あるいはリンゴ果実を加害する疫病菌として、諸外国では *Phytophthora cactorum*、*P. syringae*、*P. megasperma*、*P. cambivora*、*P. cryptogea*、*P. drechsleri*、*P. citricola* の7種が記載されている(JEFFERS & WILCOX, 1990)。わが国においては1990年までに *P. cambivora* と *P. cactorum* の2種が記録され(SUZUI & HOSHINO, 1979; 柳瀬・佐久間, 1979)、前者は台木を、後者は主に果実を加害することが知られていた。これまで果実の疫病は6~9月頃に局地的に発生することはあったが、収穫期以降の発生記録はなかった。

青森県で1989年および1990年産のリンゴ果実に多発した疫病は発生時期が収穫後から貯蔵中の間であり、この時期の多発はこれまで例がないことから新しい病原菌に起因する可能性が考えられた。菌の分離結果、これらリンゴ被害果からは *P. cactorum* とは明らかに異なる *Phytophthora* 属の1種が高頻度に分離された。本菌の遊走子は無傷接種でリンゴ果実に強い病原性を示し、病斑から接種菌が再分離された。したがって、本 *Phytophthora* 属菌が果実腐敗の病原であることは明らかである。

分離菌はCV-8AまたはPDA上でバラの花弁状の生育紋を形成し、生育温度反応と各器官の形態、大きさは第1図、第3表のようであった。これらの培養性状と形態はこれまでに報告された *P. syringae* の記載(STAMPS et al., 1990; WATERHOUSE & WATERSTON, 1964;

WATERHOUSE, 1970) とほぼ一致した。分離菌の遊走子のうの大きさは WATERHOUSE (1970) の記載よりやや小さいが、遊走子のうの大きさは変動幅が大きいこと、培養条件で変化することなどから、本菌の測定値は *P. syringae* の範囲内と考えられる。以上の結果から本病原菌を *P. syringae* (Kleb.) Kleb. と同定した。

P. syringae によるリンゴ果実疫病の病徴については Upstone (1978) の記載があるが、青森県で今回発生した果実疫病の症状も同様であった。遊走子接種で発病した果実(品種: ふじ、ピスタペラ)の症状は自然発病病斑と若干異なった(図版II-1)。しかし、ふじ熟果への接種試験(項目IIIの5の4)およびIIIの7の4)では自然発病病斑と同様の症状が発現した(図版II-5、6)。

P. syringae は日本におけるリンゴ疫病の新しい病原菌である。本菌は北西ヨーロッパ、北アメリカ、ニュージーランドなど温帯地方以北に分布するが(HARRIS, 1991; WATERHOUSE & WATERSTON, 1964)、わが国での存在確認は今回が最初である。上記の調査結果については1992年に概要(藤田ら, 1992)、1994年に詳細をそれぞれ報告(藤田ら, 1994)した。

P. syringae と *P. cactorum* の果実疫病はそれぞれ発生時期が異なるため、自然条件下での病徴比較は困難である。そこで、*P. cambivora* を含めた3種のリンゴ果実に対する病徴の相違点を明らかにするため接種試験を実施したところ、培養温度15°Cでは明かな差異は認められなかった。これまで *P. syringae* によるリンゴ果実の疫病が発見されなかった一因として、病徴のみの判断から *P. cactorum* の被害と誤認したことが考えられる。*P. cambivora* も果実に腐敗を起こしたが、15°Cでは果実の抵抗反応がみられ、果実に対する病原性は弱いものと考えられる。しかし、本菌による果実感染の可能性の有無を知るためには遊走子による無傷接種試験が必要

である。

P. syringae の接種果実では、本菌の生育上限温度にあたる25°Cで病斑拡大しなかった。また、

本菌は28°C、6日以内で死滅することから、感染果実の温湯浸漬処理による防除の可能性が示唆される。

III. 発 生 生 態

本研究を進めるにあたり必要な研究手法として遊走子接種法と土壌からの *P. syringae* 検出法を検討した。次に、本菌の発生地域を明らかにするため、病原菌の生息分布調査を行った。また、本菌の生活環を解明するため、越冬伝染源、寄主植物、病原菌の発生消長、各種孢子および器官の形成条件と孢子の発芽条件につき実験した。さらに、本菌の果実への侵入過程と果実での潜伏期間を明らかにするため実験した。

1. 遊走子接種法および選択培地による *P. syringae* 検出法

自然条件下におけるりんご果実疫病の発生は遊走子による感染が主体と考えられるから、本疫病の生態解明試験および防除試験を進めるために、遊走子による接種法を検討した。また、土壌中の *P. syringae* 密度調査の手法として、選択培地の利用性を検討した。

1) 遊走子濃度と感染

実験方法

実験1. 蒸留水中の遊走子濃度と感染

下記に述べる「菌そうディスク水浸法」で得られた遊走子液を蒸留水で所定濃度(1mlあたり 2.5×10^3 個、 2.5×10^2 個、 2.5×10^1 個)に希釈し、接種に供試した。ふじの熟果を各区7個ずつ供試し、水洗後ポリエチレン袋に入れ、遊走子液を注ぎ、10°C照明下(昼白色蛍光灯)に48時間保った。果実を水洗後、15°Cに移動し、14日後まで発病の有無を調査した。発病病斑部からは菌の分離を行った。

菌そうディスク水浸法: CV-8Aで培養した *P. syringae* KU-10菌株の菌そうを直径5mmのディスクに打ち抜き、ペトリ皿1枚あたり20~30個入れ、滅菌蒸留水をディスク上面に達

する程度に注入した。遮光下、20°C、3日間の培養により遊走子のうの形成したディスクを蒸留水に移動し、5°C、90分の低温処理により遊走子を放出させた。

本法は HARRIS (1985c) の方法を改良したものである。以下の実験では主に本法により遊走子を得たが、遊走子のうを形成させるための培養期間は3~8日間とした。また、実験によっては蒸留水の代わりに高圧滅菌土壌浸出液または除菌フィルター(MILLEX-HA: 孔径0.45 μm)で濾過した土壌浸出液を用いた。低温処理時間は30~120分とした。

実験2. 滅菌土壌浸出液中の遊走子濃度と感染

下記に述べる濾紙培養法によって得られた遊走子液を下記の滅菌土壌浸出液で所定濃度(1mlあたり 4.4×10^3 個、 4.4×10^2 個、 4.4×10^1 個)に希釈した。以下実験1と同様、果実による菌の捕捉、菌の分離を行った。

滅菌土壌浸出液: 青森県りんご試験場C-1ほ場から採取した土壌1kgに蒸留水5lを加え、30分高圧滅菌後、上清を採取した。

濾紙培養法: 直径12cmのペトリ皿に濾紙を敷き、V-8ジュース液体培地を30ml入れた。滅菌後、あらかじめ菌そうディスク水浸法で得た遊走子懸濁液を1ml添加し、20°Cで約10日間培養した。菌そうの繁殖した濾紙を滅菌蒸留水で十分に水洗した後、滅菌蒸留水に浅く(菌そう表面が液の上に出る程度)浸漬した。20°C、遮光下、3日間の培養により遊走子のうが多量に形成された。その後5°C、90分の低温処理により遊走子を放出させた。本法は多量の遊走子が必要とする場合に有効である。

第5表 接種時の遊走子濃度とリンゴ果実の感染

遊走子懸濁液	遊走子濃度 (個/ml)	供試果数 (個)	発病果数 (個)	総病斑数 (個)
蒸留水	2.5×10^3	7	6	54
	2.5×10^2	7	0	0
	2.5×10	7	0	0
	0	7	0	0
土壌滲出液	4.4×10^3	7	7	多数
	4.4×10^2	7	5	59
	4.4×10	7	6	16
	0	7	0	0

実験結果

実験1では遊走子濃度 2.5×10^3 個/ml の遊走子懸濁液で感染し、 2.5×10^2 個/ml 以下の濃度では感染しなかった。実験2では遊走子濃度 4.4×10 個/ml 以上の遊走子懸濁液で感染した(第5表)。全ての病斑からは *P. syringae* が検出された。以上より、土壌滲出液では蒸留水より遊走子懸濁液の希釈倍数を高めても感染することが明らかとなった。

2) *Phytophthora* 属菌分離用選択培地 (BNPRA-HMI) の利用による *P. syringae* の分離

予備実験で BNPRA-HMI 培地 (MASAGO et al., 1977) は *P. syringae* の生育をかなり抑制することが判明したので、抗菌作用の強い3種薬剤 (ベノミル、PCNB、HMI) をそれぞれ半量にした修正 BNPRA-HMI 培地を作成し、*P. syringae* の検出効率を原培地と比較検討した。

実験方法

供試選択培地の構成成分

BNPRA-HMI 培地：ベノミル 10mg、ニスタチン 25mg、PCNB 25mg、リファンピシン 10mg、アンピシリン 500mg、HMI (3-hydroxy-5-methylisoxazole) 50mg、CV-8A 1l (ただし、実験4ではCV-8Aの代わりに1%素寒天1lに添加した)

修正BNPRA-HMI 培地：ベノミル 5mg、ニスタチン 25mg、PCNB 12.5mg、リファンピ

シン 10mg、アンピシリン 500mg、HMI 25mg、CV-8A 1l

供試菌株：主に *P. syringae* の KU-10 菌株を使用した。実験2では *P. syringae* MON-9110 菌株 (ナシ分離菌) も用いた。

卵胞子：リンゴ (品種：ふじ) の葉を *P. syringae* (KU-10) の遊走子液に 10°C 、72時間浸漬した。除水後、葉をビーカーに入れ、アルミ箔でふたをし、 10°C 、弱光下で保存した。6か月後には卵胞子が成熟し、発芽可能となった。卵胞子形成葉をホモジナイザーで磨砕後、2種類の微生物用ふるい (網目幅 53 または $26\mu\text{m}$) で濾過し、大きさ $25\sim 40\mu\text{m}$ の卵胞子を得た。これを蒸留水に懸濁し濃度調整した。

遊走子：菌そうディスク水浸法 (項目IIIの1の1)) により *P. syringae* 遊走子を得た。

実験1. BNPRA-HMI 培地と修正 BNPRA-HMI 培地における *P. syringae* の生育比較

CV-8A で培養した菌そう周縁部を直径 3mm のコルクボーラーで打ち抜き、平板培地の中央に移植した。 20°C で7日間培養後、菌そう直径を測定した。実験は3反復し平均値を求めた。

実験2. BNPRA-HMI 培地と修正 BNPRA-HMI 培地の雑菌抑制効果の比較

BNPRA-HMI 培地と修正 BNPRA-HMI 培地に、下記土壌滲出液をペトリ皿1枚あたり

0.5ml ずつ流し込み、全面に拡げた。クリーンベンチ内で風乾後、20°Cで培養し、40時間後と5日後の2回、細菌と糸状菌の発現数を調査した。実験は3反復した。

土壤滲出液：青森県りんご試験場ほ場から採取し、10°Cで7か月間保存しておいた黒ぼく土壌を供試し、土壌100gに蒸留水300mlを加え、10°Cで48時間培養後の上清を用いた。

実験3. *Phytophthora*属菌選択培地における *P. syringae*の被のう胞子発芽

BNPRA-HMI培地、修正BNPRA-HMI培地、およびCV-8A(対照)を供試し、遊走子懸濁液を培地上に滴下した。クリーンベンチで風乾後、20°C、照明下で培養した。26時間後に被のう胞子の発芽率、発芽管長を調査した。

実験4. BNPRA-HMI培地における *P. syringae*の卵胞子発芽

1%素寒天にBNPRA-HMI選択培地と同様の薬剤成分を添加した選択培地を供試し、卵胞子液を0.02ml滴下し、直径約1cmに拡げた。15°C照明下(1500ルクス)に置き、定期的に発芽率を調査した。なお、対照として1%素寒天も供試した。

実験5. *Phytophthora*属菌選択培地による *P. syringae*の検出と雑菌発生抑制効果

遊走子懸濁液に下記の泥水を加えて10倍及び100倍希釈の遊走子懸濁液をつくった(遊走子濃度不明)。実験3と同様の3種培地を供試し、ペトリ皿1枚あたりに遊走子懸濁液を0.2ml滴下し、コンラジ棒で全面に拡げた。クリーンベンチで風乾後、20°C照明下で培養し、10日後に *P. syringae*及び雑菌のコロニー形成数を調査した。なお、実験は5反復した。

供試泥水：青森県りんご試験場内C-1土壌を供試し、容量比で土壌1対蒸留水3の割合で混合し、遠心分離(2000r.p.m. 10分)後、その上清を供試した。

実験6. 修正BNPRA-HMI培地によるリン

ゴ園土壌からの各種疫病菌検出

あらかじめ温度を10°Cにした黒ぼく土壌(青森県りんご試験場ほ場より採取)2kgと水道水8lを24l容プラスチックコンテナに入れ、泥水を作った。10°Cに保ち、3、6、12、24時間後の4回上清を採取し検液とした。修正BNPRA-HMI培地を用い、ペトリ皿1枚当たり0.5mlの検液を滴下し、全面に拡げた。クリーンベンチ内で風乾後、20°Cで培養し、5日後まで発生コロニー数を調査した。検出された菌はコロニーの形態別にCV-8Aに移植し、*Phytophthora*属菌か否かを確認した。調査は5反復した。なお、選択培地による検出と同時に、果実による菌の補足を行った。リンゴ果実(品種：王林)10個を供試泥水に24時間浸漬し、水洗後、15°Cで貯蔵し、15日後まで病斑発生量を調査した。発病病斑部からは菌の分離を行った。

実験結果

実験1. *P. syringae*の生育はBNPRA-HMI培地に比べ修正BNPRA-HMI培地で良好であり、菌そう直径は1.2~1.3倍となった。

実験2. 細菌と糸状菌に対する繁殖抑制効果ではBNPRA-HMI培地と修正BNPRA-HMI培地の間に大きな差はみられなかった。

実験3. 26時間後の発芽率はBNPRA-HMI区が86.6%、修正BNPRA-HMI区が85.8%、CV-8A区が80.9%で、ほとんど差がなかった。平均発芽管長も25~31μmで区間差がみられなかった。

実験4. BNPRA-HMI培地では *P. syringae*卵胞子はほとんど発芽しなかった。したがって、本選択培地を用いて土壌中の本菌卵胞子密度を検定できない(第6表)。

実験5. 修正BNPRA-HMI培地の *P. syringae*検出率はBNPRA-HMI培地よりやや高かったが、細菌繁殖抑制効果はやや劣った(第7表)。

実験6. 選択培地により藻菌類の1種が検出

第6表 *P. syringae* の卵胞子発芽に及ぼす培地の影響

培養 期間 (日)	BNPRA-HMI		素 寒 天	
	調査数 (個)	発芽率 (%)	調査数 (個)	発芽率 (%)
5	200	0	212	14.2
9	200	0	201	22.4
20	204	1	207	37.2

第7表 2種の選択培地における *P. syringae* の検出と雑菌の発生

培 地	遊走子液の 希 釈 倍 数 (倍)	コロニー数 (ペトリ皿1枚あたり)		
		<i>P. syringae</i>	細菌	その他糸状菌
BNPRA-HMI		2.8	0.4	0
修正BNPRA-HMI	10	3.8	1.0	0
CV-8A (対照)		0	多数	多数
BNPRA-HMI		0	0.4	0
修正BNPRA-HMI	100	0.2	0.8	0.2
CV-8A (対照)		—	—	—

注) —: 試験なし 数値は5反復の平均

された。糸状菌の検出数は泥水作製後3時間目の検定で最も多く、時間の経過とともに減少し、24時間後では非常に少なかった。一方、供試泥水に浸漬したリンゴ果実の60%が発病し、1果あたり1.3個の病斑が発生した。全ての病斑部から *P. syringae* が再分離された。

以上より、泥水中の *P. syringae* 遊走子密度が低い場合はBNPRA-HMI培地および修正BNPRA-HMI培地による本菌検出は困難と考えられる。また、選択培地による検出法では培養初期の菌そう形態から菌種を判別することはできないので、コロニー毎の再培養と菌の同定が必要となり、多大の労力を要する。

3) 考 察

本研究を進めるにあたり遊走子接種法の確立は不可欠である。そのためには多量の遊走子のうを必要とする。*Phytophthora* 属菌の多くは菌体を土壤浸出液あるいは細菌培養液と接触させることにより遊走子のうを形成する (AYERS, 1971; AYERS & ZENTMYER, 1971; KENNEDY & ERWIN, 1961; 正子・桂, 1970; 中沢ら, 1985)。HARRIS (1985c) もまた *P. syringae* 培養

菌そうディスクの無殺菌土壤浸出液への浸漬により遊走子のうを形成させた。一方、EDNEY (1978) は KHEW & ZENTMYER (1973) の方法を参考に、純粋培養法で *P. syringae* 遊走子を得た。著者は *P. syringae* の遊走子のうの形成条件を実験し(項目IIIの6の3)、EDNEYの方法を一部修正して純粋な *P. syringae* の遊走子を得た。

遊走子接種を行う場合、遊走子放出に適する溶液および感染に適切な遊走子濃度を明らかにする必要がある。*Phytophthora* 属菌の遊走子放出液は蒸留水で希釈すると遊走子の破壊や被のう化がおこりやすく、活動時間も短縮するが (GOODING & LUCAS, 1959; MCKEE, 1964)、土壤浸出液では影響が小さいことが知られている (HARRIS, 1986)。今回の *P. syringae* の実験においても、土壤浸出液を用いた希釈液が蒸留水より感染能力が高かった。したがって、遊走子接種には土壤浸出液を用いるのが適当である。

土壤病原菌検出法として、感受性の植物体、植物組織、種子または果実を用いる捕捉法 (baiting) が数多く報告されており (TSAO, 1983)、*P. syringae* も baiting により捕捉される

(SEWELL et al., 1974)。本法の問題点として、新鮮かつ均一な捕捉材料の周年供給が困難なこと、捕捉するための土壤環境条件が必要なこと、baitingで捕捉困難な菌種もあることなどである。そのため、目的とする菌を直接土壤から選択培地を用いて検出する方法が研究されてきた (TSAO, 1970)。*Phytophthora*属菌の選択培地も考案され改良されてきたが (TSAO, 1969; ECKERT & TSAO, 1962)、*Pythium*属菌の繁殖が障害となっていた。MASAGOら (1977)は 3-hydroxy-5-methylisoxazole (HMI)が*Pythium*属菌の生育を選択的に抑制することを見だし、BNPRA-HMI培地を考案した。著者らは本選択培地により土壤中からの*P. syringae*検出が可能か否かを明らかにするため実験した。予備実験においてBNPRA-HMI培地は*P. syringae*の生育をかなり抑制したので、生育に比較的影響の強い3薬剤の添加量を半減し、修正BNPRA-HMI培地を作成した。修正BNPRA-HMI培地はBNPRA-HMI培地に比較して雑菌の繁殖抑制効果はやや劣るものの*P. syringae*の生育は勝った。しかし、選択培地による*P. syringae*検出効率はリンゴ果実を用いたbaitingより劣った。また選択培地による検出法の欠点として、培地上のコロニー形態からの菌種判定が困難なため、コロニー毎の再培養を必要とし、多大の労力を要した。*P. syringae*は厚膜胞子を形成し難いので乾燥土壤では主に卵胞子の形態で生息すると考えられるが、BNPRA-HMI培地は本菌の卵胞子発芽を阻害した。本選択培地は被のう胞子の発芽と菌糸の生育を大きく阻害することはなかったが、これらの器官は土壤中での生存期間が短いので、本選択培地による検出法は*P. syringae*の菌密度を正しく反映できない。しかし、BNPRA-HMI培地、修正BNPRA-HMI培地のいずれも細菌繁殖抑制効果が高く、*Phytophthora*属菌以外の糸状菌の繁殖も少ないことから、被害組織からの*P. syringae*の分離に利用

できるものと考えられる。JEFFERS & MARTIN (1986)はその後HMIを添加した別の選択培地を考案したので、今後、この培地による*P. syringae*検出効率の検討も必要である。

2. 病原菌の分布

*P. syringae*の生息地域を明らかにし、本菌が外国からの侵入菌か在来菌かを推定するため、東北地方および青森県下の植相の異なる各地土壤から本菌の検出を行った。また、本菌が生息する土壤深度についても調査した。

1) 東北地方における*P. syringae*の生息分布

調査方法

下記の青森県内各地および東北地方各地から1993年11~12月に、深さ5cmまでの表土を採取し、それら土壤から作製した泥水へのリンゴ果実浸漬により疫病菌の捕捉 (baiting)を試みた。

リンゴ果実浸漬法：供試土壤に水を加えて泥水にし、リンゴ果実を10°Cで48時間浸漬する (図版II-4)。果実を水洗後、水を拭き取って15°Cで保存し、15日後まで発病病斑数を調査する (図版II-5)。病斑部からは菌の分離を行い、病原菌の種類を同定する。

ただし、病原菌の分布調査では泥水の組成を供試土壤500gに対し水道水3lとし、供試果は1区あたり品種‘ふじ’の熟果10個、浸漬条件は10°C、72時間とした。発病病斑から分離された菌のうち、菌そうの形態から疫病菌と考えられた菌株については菌そうディスクを滅菌水に浅く浸漬し、20°C、遮光下、3~4日間培養後、遊走子のうの形態と菌糸膨潤の有無を観察した。その後10°Cで再培養し、有性器官の形成状況を随時観察して同定上の資料とした。

調査地点と植相および土壤の種類
青森県北津軽郡鶴田町宮内

ブドウ (水田転換園)

沖積土

青森県北津軽郡鶴田町胡桃館	
ブドウ、リンゴ（隣接）	沖積土
青森県西津軽郡森田村山田	
牧草、リンゴ、雑木（3地点近接）	火山灰土
青森県弘前市大森	
モモ、ブドウ、雑木（ブドウと雑木は隣接）	火山灰土
青森県弘前市弥生	
オウトウ、雑木、リンゴ（雑木とリンゴは近接）	火山灰土
岩手県花巻市山の神	
リンゴ	火山灰土
岩手県北上市成田	
リンゴ	火山灰土
秋田県阿仁町伏影	
リンゴ	沖積土
秋田県横手市金沢	
リンゴ	不明
秋田県平鹿町釜の川	
リンゴ、セイヨウナシ（近接）	火山灰土
山形県藤島町渡前	
カキ	沖積土
山形県鶴岡市高坂	
リンゴ、カキ（近接）	沖積土
山形県櫛引町三千刈	
リンゴ	沖積土
宮城県名取市川上	
リンゴ	褐色森林土
宮城県亘理郡山元町高瀬室原	
リンゴ	火山灰土
福島県飯坂町平野	
リンゴ	洪積土
福島県福島市松川町金沢	
リンゴ	残積土

調査結果

P. syringae は青森県、岩手県、秋田県、山形県、宮城県、福島県の各地土壌から検出された

（第8、9表）。本菌はリンゴ園のほかにブドウ、セイヨウナシ、オウトウ、モモの果樹園及び牧草地や雑木林の土壌からも検出され、特にリンゴ園での検出率が高かった。しかし、カキ園からは検出されなかった（第9表）。以上の結果から、本菌はわが国に広域に存在することが明らかになった。

2) 土壌の母材の違いと *P. syringae* の密度調査方法

1991年11月に、第10表に示した青森県津軽地方のリンゴ園14か所（火山灰土壌4か所、沖積土壌5か所、残積土壌5か所）から表土を採取した。土壌2kgに水道水6lを加えた泥水およびリンゴ熟果（品種：ふじ）各区10個を供試し、果実浸漬法（項目IIIの2の1）により疫病菌を捕捉、分離、同定した。また、土壌のpH（H₂O）を測定し、病原菌密度との関係を調査した。*P. syringae* の密度は発病病斑数から推定した。

調査結果

本調査では菌分離に供試した全ての病斑から *P. syringae* が検出されたことから、病斑数の多少が本菌密度を反映するものと考えられた。*P. syringae* の密度は場所によって著しく異なり、残積土壌では5か所中4か所で菌密度が低かった（第10表）。しかし、土壌のpHと菌密度との関係は明らかでなかった。

3) 土壌の深さと *P. syringae* の密度調査方法

りんご試験場内A7-1号ほ場の2か所（A、B）から、10cm間隔で深さ50cmまで土壌を採取し、同じ深さのA、B土壌を混合して供試した。土壌2kgに水道水12lを加えた泥水およびリンゴ熟果（品種：ふじ）を供試し、果実浸漬法（項目IIIの2の1）により捕捉された疫病菌を分離、同定した。なお、遊走子が湛水後遅く発生することも予想されるので、供試泥水は10℃に保ち、27日後に再度果実浸漬による捕捉を実施した。供試果数は第1回目浸漬では20個、第

第8表 リンゴ果実浸漬法による青森県内各地土壌からの *Phytophthora* 属菌の検出

調査地点	植相	発病果率 (%)	総病斑数 (個)	分離 病斑数 (個)	菌の検出病斑率(%)		
					<i>P. sy</i>	<i>P. sp.</i>	その他
鶴田町宮内	ブドウ	30	6	6	0	100	0
鶴田町胡桃館	ブドウ	30	6	6	66	17	17
〃	リンゴ	100	105	12	100	0	0
森田村山田	牧草	60	8	8	100	0	0
〃	リンゴ	100	82	12	100	0	0
〃	雑木	80	15	15	100	0	0
弘前市大森	モモ	60	10	10	90	0	10
〃	ブドウ	0	0	0	0	0	0
〃	雑木	10	1	1	0	0	10
弘前市弥生	オウトウ	50	10	10	80	0	20
〃	雑木	20	3	3	100	0	0
〃	リンゴ	90	51	12	100	0	0

注) *P. sy* : *P. syringae* *P. sp.* : 不明疫病菌

第9表 リンゴ果実浸漬法による東北地方各地土壌からの *Phytophthora* 属菌の検出

調査地点	植相	発病果率 (%)	総病斑数 (個)	分離 病斑数 (個)	菌の検出病斑率(%)		
					<i>P. sy</i>	<i>P. cac.</i>	その他
岩手県花巻市	リンゴ	0	0	0	0	0	0
岩手県北上市	リンゴ	40	4	4	100	0	0
秋田県阿仁町	リンゴ	60	16	12	100	0	0
秋田県横手市	リンゴ	70	26	12	100	0	0
秋田県平鹿町	リンゴ	90	146	12	100	0	0
〃	セイヨウナシ	20	2	2	100	0	0
山形県藤島町	カキ	0	0	0	0	0	0
山形県鶴岡市	リンゴ	60	45	12	100	0	0
〃	カキ	0	0	0	0	0	0
山形県楯引町	リンゴ	70	15	12	83	0	17
宮城県名取市	リンゴ	50	8	8	75	25	0
宮城県山元町	リンゴ	0	0	0	0	0	0
福島県飯坂市	リンゴ	20	4	4	50	25	25
福島県福島市	リンゴ	20	2	2	0	50	50

注) *P. sy* : *P. syringae* *P. cac.* : *P. cactorum*

2回目浸漬では10個とした。

調査結果

第1回目の採取土壌への果実浸漬では深さ0~10cmの土壌サンプルで高率に発病したが、深さ11cm以下の土壌サンプルでは全く発病しなかった。第2回目の採取土壌への果実浸漬では、深さ11~20cmの土壌サンプルでもわずかに発病したが、深さ21~30cmの土壌サンプルでは発病しなかった。発病病斑部からは *P. syringae* のみが検出された。以上の結果から、本

病原菌は土壌中で深さ0~10cmの比較的浅い位置に高密度で生息しているものと考えられる。

4) 考 察

疫病菌は灌がい用水から頻りに検出されており (KLISIEWICZ, 1970; MACDONALD et al., 1994; MCINTOSH, 1966)、池や川の水を灌水している園地では普通に疫病が発生することから (COVEY & HARRIS, 1990)、伝染経路は主に川や用水路と考えられる。そのため平地では一旦園地に疫病菌が侵入すると伝播は早い、高地

第10表 土壌の母材の違いと *P. syringae* の密度

土壌の種類	調査地点	pH (H ₂ O)	供試果数	総病斑数	<i>P. syringae</i> 検出数
火山灰	弘前市小栗山	6.85	10個	0個	
	〃 小沢	6.45	10	65	9 / 9
	〃 鬼沢	6.50	10	146	9 / 9
	黒石市花巻	4.95	10	54	9 / 9
沖積	弘前市中崎	5.70	10	100	9 / 9
	板柳町掛落林	6.70	10	94	9 / 9
	〃 小阿弥	5.65	10	70	9 / 9
	藤崎町高瀬	5.75	10	16	9 / 9
	〃 藤代	5.10	10	97	9 / 9
残積	黒石市浅瀬石	5.45	10	6	6 / 6
	りんご試 (3号園)	4.85	10	0	
	平賀町唐竹	5.70	10	150	9 / 9
	弘前市弥生	5.70	10	3	3 / 3
	〃 堂ヶ沢	5.60	10	12	9 / 9
対照 (水浸漬)			10	0	

注 1) 総病斑数は供試果10個の全病斑数。

2) *P. syringae* 検出数は、*P. syringae* 検出病斑数/菌分離病斑数

果樹園や森林などへの分布拡大は遅いものと考えられる。今回の東北地方の分布調査では *P. syringae* が平地の既耕地のほか未耕地や高地にも広く存在することが明らかとなった。もし本菌が近年外国から侵入したものであれば、その生息範囲は低地や耕地に限られるであろう。したがって、少なくとも東北地方では本菌は在来の可能性が高い。一方、KIMISHIMAら (1993) は1991年、米国産オレンジの輸入果実から本菌を検出しており、外国からの侵入もあり得ることが示唆された。本菌が外国からの侵入菌であった場合でも、その侵入時期はかなり古い時代と考えられる。

P. syringae によるリンゴ果実疫病の発生程度は園地間差異が大きい。青森県のリンゴ園土壌は火山灰土壌71%、沖積土壌21%および残積土壌8%からなる(相馬ら, 1987)。土壌の違いが本病の発生と関係があるか否かを明らかにするため調査した結果、4か所の残積土壌で本菌密度が低かった。残積土壌は火山灰土壌や沖積土壌に比較して養分に乏しいので(松坂ら, 1994)、本菌が増殖しにくいことが考えられる。

しかし、残積土壌の1か所では菌密度が高かった。その原因は明らかでないが、麦わらマルチによってリンゴ根部の疫病が著しく増加した例もあり (MERWIN et al., 1992)、地表管理の影響も考えられる。

火山灰土壌と沖積土壌の *P. syringae* 密度は比較的高かったが、火山灰土壌の1か所で本菌が捕捉されなかった。青森県では長年にわたるボルドー液の使用により土壌の銅含量が高まっており、一部園地では土壌上層で銅含量が1000 ppm を越えている(成田ら, 1987)。*Phytophthora* sp. の遊走子のう形成は銅イオン濃度0.2 ppm で阻害され (KENNEDY & ERWIN, 1961)、*P. syringae* の遊走子のうも水中の銅イオン濃度1 ppm 以上でほとんど形成されない(未報告)。したがって、長年ボルドー液を使用した古い園地では本菌密度が低下している可能性が考えられる。

病原菌の生息深度を明らかにすることは本病の防除法を確立するうえで重要である。リンゴ果実を用いた捕捉法 (baiting) による調査の結果、本菌は地表から深さ20 cm 以内に生息し、

菌密度は地表から10cm以内で高かった。本病の主な越冬伝染源は寄主植物の落葉に形成した卵胞子であるが、卵胞子は葉が腐敗消失した後、土壌の上層に留まる。*P. cactorum*の土壌中での菌糸生存期間は短かいことが知られており(SNEH & McINTOSH, 1974)、*P. syringae*の場合も主に卵胞子と遊走子のうの形態で常時存在すると考えられる。これらの器官は土壌深層に移動しにくいいため本菌の生息深度は比較的浅いものと推察される。しかし本菌はリンゴの根をも加害するので(SEWELL & WILSON, 1964)、このような場合は生息深度が深まる可能性がある。根を加害する紫紋羽病では深さ190cmから病原菌が検出されている(藤田, 1992)。今後、被害樹下での調査が必要である。

3. 越冬伝染源

リンゴの落葉に形成された*P. syringae*の卵胞子が本病の伝染源になると報告(HARRIS, 1979a; HARRIS, 1985c)されているが、リンゴ葉以外の植物組織については詳細な調査がない。また、リンゴ園に放置された落果や疫病被害果が土壌中の*P. syringae*密度にどのような影響を及ぼすかは明らかでない。以上の点を解明するため、実験、調査を行った。

1) 各種植物組織における*P. syringae*の卵胞子形成

実験方法

1994年11月に下記の各種植物の葉または果実を採取し、直径11mmのコルクボーラーで組織を打ち抜き供試した。一部の葉については10分間煮沸後供試した。材料を秤量管に入れ、*P. syringae* KU-10菌株の遊走子懸濁液(濃度 2×10^4 個/ml)を5ml加え、10°C、弱光下に72時間(セイヨウナシの葉と果実は100時間)置いて接種した。接種後は秤量管の水を捨てて10°C、弱光下に保ち、35日後に次の方法で卵胞子形成量を調査した。一種の植物につき5枚のディスクを供試し、1N-NaOH溶液で約5分間煮沸して

透明度を高めた後、倍率100倍(胞子数が多い場合は200倍または400倍)でディスク1枚につき5視野の卵胞子数を数え、1mm²当たりの卵胞子数に換算した。

供試植物：セイヨウナシ、リンゴ(品種：ふじ)、ウメ(品種：豊後)、オウトウ、プルーン、モモ、ニホンナシ(品種：長十郎)、ブドウ(品種：キャンベル)、カキ、ナナカマド、ミズナラ、イタリアポプラ、コバハンノキ、バラ、フジ、イチヨウ、ヤマモミジ、ハリエンジュ、ハコベ、シロツメクサ、セイヨウタンポポ、エゾノギシギシ、ナガハグサ、イタドリ、ヨモギ
実験結果

供試した25種の植物中、卵胞子の形成が良好であったのは、リンゴ(図版V-1)、バラ(図版V-3)、セイヨウナシ、ナナカマドで、1mm²当たりの卵胞子数が100個以上に達した。しかし、煮沸後のセイヨウナシとリンゴの葉では形成量が10個/mm²以下で、生葉に比べて著しく劣った。ついで、ニホンナシ、イタリアポプラ、コバハンノキ、カキでの卵胞子形成が良好であった。ヤマモミジ、ブドウ、モモ、オウトウ、プルーン、ハリエンジュ、イチヨウ、ミズナラには1mm²当たり10~25個形成された。ウメ、ヨモギ、イタドリにもわずかながら形成された。卵胞子が全く形成されなかったのは、フジ、ハコベ、シロツメクサ、セイヨウタンポポ、エゾノギシギシ、ナガハグサであった。果皮でもセイヨウナシとリンゴ(図版V-2)では卵胞子が多数形成された(第11表)。

2) リンゴ葉身と果実が伝染源として果たす役割

実験方法

直径30cmの素焼鉢に市販の黒ぼく土壌を入れ、120°Cで60分高圧滅菌した。下記の方法で*P. syringae*を接種した葉と果実を単独または両者を組み合わせ素焼鉢の土壌に載せた。対照として健全葉と健全果実を入れた区を設け(第12

第11表 各種植物の葉および果実における *P. syringae* 卵胞子の形成*

供 試 植 物	供試材料	卵胞子数 (個/mm ²)
セイヨウナシ <i>Pyrus communis</i> var. <i>sativa</i>	生 葉	254
	煮 沸 葉	7
	果 皮	92
リンゴ <i>Malus pumila</i> var. <i>domestica</i>	生 葉	174
	煮 沸 葉	10
	果 皮	58
ウメ <i>Prunus mume</i>	生 葉	1
オウトウ <i>Prunus avium</i>	生 葉	16
ブルーネ <i>Prunus domestica</i>	生 葉	15
モモ <i>Prunus persica</i> var. <i>vulgaris</i>	生 葉	17
ニホンナシ <i>Pyrus serotina</i> var. <i>culta</i>	生 葉	73
	果 皮	0.4
ブドウ <i>Vitis vinifera</i>	生 葉	19
カキ <i>Diospyros kaki</i> var. <i>domestica</i>	生 葉	64
ナナカマド <i>Sorbus commixta</i>	生 葉	100
ミズナラ <i>Quercus mongolica</i> var. <i>grosseserrata</i>	生 葉	10
イタリアポプラ <i>Populus nigra</i>	生 葉	73
コバノヤマハンノキ <i>Alnus hirsuta</i> var. <i>microphylla</i>	生 葉	67
バラ <i>Rosa</i> sp.	生 葉	191
フジ <i>Wistaria floribunda</i>	生 葉	0
イチョウ <i>Ginkgo biloba</i>	生 葉	12
ヤマモミジ <i>Acer palmatum</i>	生 葉	25
ニセアカシア <i>Pobinia pseudoacacia</i>	生 葉	15
ハコベ <i>Stellaria media</i>	生 葉	0
シロツメクサ <i>Trifolium repens</i>	生 葉	0
タンポポ <i>Taraxacum platycarpum</i>	生 葉	0
ギンギシ <i>Rumex japonicus</i>	生 葉	0
ナガハグサ <i>Poa pratensis</i>	生 葉	0
イタドリ <i>Polygonum cuspidatum</i>	生 葉	0.5
ヨモギ <i>Artemisia vulgaris</i>	生 葉	4

* 供試材料を遊走子懸濁液に浸漬接種、10°C、35日後に調査

表)、素焼鉢は黒色の寒冷紗で覆い屋上に置いた。1993年12月に以上の処理を行い、1994年5月に葉と果実の一部を採取し、下記の方法で卵胞子の形成量を調査した。その後直ちに葉と果実を鉢内土壌にすき込んだ。同年11月に各区の供試土500gと水道水2lで泥水をつくり、リンゴ熟果(品種：ふじ)を各区6個供試し、果実浸漬法(項目IIIの2の1)参照、ただし浸漬期間7日)により土壌中の*P. syringae*密度を調査した。

供試葉と供試果実：ふじの新梢葉(1993年11月26日に採取)とふじの熟果を供試し、*P. syringae* KU-10 菌株の遊走子懸濁液(滅菌した土壌

滲出液に放出させ、濃度 2.5×10^3 個/mlに調整)に10°Cで、葉は72時間、果実は48時間の浸漬による接種を行った。その後、接種葉は湿った状態で10°C、弱光下で保存した。果実は15°C、弱光下に移動し、発病を確認してから供試した。

卵胞子の形成量調査：葉は1鉢当たり2枚(合計6枚)採取し、1枚につき1cm²を切り取り、1N-NaOH溶液で約5分間煮沸後鏡視した。果実は1鉢当たり1果供試し、1果から長径約5mmの果肉片と果皮片を1個ずつ採取した。いずれの材料も顕微鏡下100~400倍で10視野を観察し、換算で1mm²当たりの卵胞子数を

第12表 *P. syringae* の越冬試験の方法

区	越冬源材料	供試数 (1鉢当たり)
1	接種葉	30枚
2	接種果実	3個
3	健全葉+接種果実	30枚、3個
4	健全葉+健全果実 (対照)	30枚、3個

第13表 越冬源の違いと翌年の *P. syringae* 密度

区	越冬源材料	菌捕捉の 処理果数	発病果率 (%)	病斑数 (個)
1	接種葉	6	100	多数
2	接種果実	6	6	1
3	健全葉+接種果実	6	61	5
4	健全葉+健全果実 (対照)	6	0	0

注 1) 1993年12月に越冬源材料を土壌表面に設置、1994年11月に果実浸漬法により *P. syringae* を検出
 2) 数値は3反復の平均
 3) 病斑数は発病果1個当たりの数

求めた。

実験結果

卵胞子の形成：1区（接種葉設置）では全ての葉片に卵胞子が観察され、1mm²当たりの平均卵胞子数は95個であった。3区（健全葉+接種果）では葉片6枚中1枚に卵胞子の形成が認められた。果実ではいずれの区でも卵胞子は観察されなかった。

果実浸漬による菌の捕捉：1区では全果が激しく発病し多数の病斑が生じた。2区（接種果設置）では18個中1個、3区では18個中11個が発病した。4区（対照）では発病が認められなかった（第13表）。以上の結果から、感染葉は伝染源として最も重要であり、被害果もわずかながら伝染源になることが明らかとなった。3区では *P. syringae* の捕捉数が2区より高まったが、これは発病果実から健全葉に伝染して卵胞子を形成したためである。なお、発病した病斑部からは全て *P. syringae* が検出された。

3) 疫病被害果の土壌混入による病原菌密度の変化

実験方法

黒ぼく土壌（市販品）を1.8m四方のコンクリート枠（無底）に厚さ30cmに入れた。1991年7月に *P. syringae* による疫病被害果（1990年産ふじ）を20kg表面にまき散らし、漬しながら表土と混和した。対照として無処理区を設けた。

1991年9、10月には下記に述べる果実埋め込み法により、1991年11月と1992年11月には果実浸漬法（項目IIIの2の1）により疫病菌を捕捉、分離、同定した。なお、果実浸漬に用いた泥水は土壌1kgあたり水道水6l（1991.11.22～24浸漬）、または土壌1kgあたり水道水4l（1992.11.18～20浸漬）とした。浸漬後、15°Cで10日間保存し、発病病斑数から病原菌密度を推定した。

果実埋め込み法：試験土壌中にりんご果実（品種：ふじ又は王林）を埋め込み、所定日数経過後、果実を回収した。水洗後15°Cに10日間保ち、発病状況を調査した。

実験結果

疫病菌捕捉果実の総病斑数は、1991年9月の調査では両区とも4個、1992年11月の調査では

処理区が0個、対照区が1個であった。これらの病斑からは *P. cactorum* のみが検出された。したがって、被害果の混入によって、*P. syringae* の菌密度が高まる可能性は小さいと考えられる。

4) 疫病被害果の樹冠下放置による病原菌密度の変化

実験方法

1991年11月、りんご試験場 C-1 圃場において、りんご樹ふじ/M. 26、6年生を各区2本ずつ供試し、樹冠下(半径60cm)に、*P. syringae* による疫病被害果を1樹あたり60kg放置した。対照区は同圃場の無処理樹とした。放置直前に樹冠下表土を採取し、0°Cで3日保管後、果実浸漬法(ただし、泥水は土壌1kgあたり水道水6lの割合とし、ふじ熟果を10°Cで67時間浸漬)により病原菌密度を調査した。1992年11月には前述(項目IIIの3の3)の果実埋め込み法(ただし、スターキングデリシャス熟果を供試し、埋設期間7日)により再び病原菌密度を調査した。また、病斑からは菌を分離して菌種を同定した。

実験結果

1991年11月の試験開始前の調査では *P. syringae* 被害果放置予定区 No. 1 で総病斑数1個発現したにすぎなかった。1年後の調査では被害果放置区の総病斑数が対照区より著しく高かった(第14表)。捕捉用果実の発病病斑部からは *P. syringae* のみが検出された。本実験では被害果から落葉に病原菌が伝染し、落葉に卵胞子

を形成したため菌密度が高まったものと考えられる。

5) 各種草本植物の根からの疫病菌分離調査方法

P. syringae の菌密度が高いりんご試験場内 A7-1 ほ場から1994年12月9日に下記の各種草本植物を採取した。根を水洗後、長さ約5mmに切断し、水道水で3~4時間流水洗浄した。さらに滅菌水で2回洗浄後、滅菌ろ紙で水を吸い取り、BNPRA-HMI 選択培地に置床した。分離用組織片数は各植物とも20個とした。20°C、照明下(白色蛍光灯、1300ルクス)で27日間培養し、出現した糸状菌を随時 PDA 斜面培地に移植し、同定に供試した。

供試植物：アキメヒシバ、ナズナ、タンポポ、ハコベ、スズメノカタビラ、シロツメクサ、オランダミミナグサ

調査結果

アキメヒシバの1組織片から *Phytophthora* sp. が検出された。その他の植物では *Phytophthora* 属菌が検出されなかった。検出された糸状菌の中で最も多かったのは *Fusarium* 属菌で、そのほか *Phoma* sp., *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. がみられた。

6) 考 察

疫病の第1次発生源は菌糸、卵胞子または厚膜胞子であるが(桂, 1971)、*P. syringae* は厚膜胞子をほとんど形成せず、菌糸は被害組織の腐敗が進むと死滅することから、本菌の主な越冬形態は卵胞子と考えられる。したがって、卵胞

第14表 疫病被害りんご果実の放置による *P. syringae* 菌密度の変化

調査時期 (年・月)	捕捉方法	反 復	被害果放置区		対 照 区	
			捕捉用果数	総病斑数	捕捉用果数	総病斑数
1991.11	果実浸漬	No. 1	10個	1個	10個	0個
		2	10	0	10	0
1992.11	果実埋め込み	No. 1	24	34	32	4
		2	31	28	32	5

注) 1991年11月に被害果実を放置

子形成可能な植物を明らかにすることは本病の伝染様式解明の上で重要である。*P. syringae* の卵孢子形成は合成培地で成功していないが (RIBEIRO et al., 1975)、HARRIS (1979a) は本菌卵孢子がリンゴおよびセイヨウナシ落葉に形成されることを発見し、特に卵孢子形成量の多いリンゴ落葉が伝染源として重要であると報告した。DOSTER & BOSTOCK (1988a) は各種果樹の磨砕葉エキス添加培地での本菌卵孢子形成量を比較し、アーモンド、アンズ、オウトウ、ブルー、モモ、スモモに多量の卵孢子形成を認めたが、生葉ではアーモンド葉にのみ卵孢子の形成を認めている。著者の各種植物葉片への遊走子接種試験では、供試した25種植物中19種に卵孢子の形成が認められ、その中には林木および草本植物も含まれた。前述の調査(項目IIIの2の1))で本菌が果樹園のほか林地や草地など広域に存在していた原因は、本菌の卵孢子形成可能な植物が多いことにあると考えられる。*P. syringae* の卵孢子形成量は一般にバラ科植物で良好であったが、DOSTER & BOSTOCK (1988a) はアーモンドからの分離菌がアーモンド葉エキス培地で卵孢子形成が良好であり、リンゴ葉エキス培地では生育しなかったと報じている。各種植物における *P. syringae* の卵孢子形成能力は菌株により異なるものと考えられ、今後、リンゴ以外の分離菌株での調査が必要である。

HARRIS (1985c) は *P. syringae* の寄生能力が新鮮葉に対して高く、枯死葉には低いと報告している。著者らの実験においても本菌の卵孢子形成量は煮沸処理した葉では著しく劣った。すなわち本菌は腐生能力が劣ると考えられる。青森県では果実の着色増強のため、収穫の約1か月前から果実周辺の葉をつみとる作業(摘葉)を行うが、これは卵孢子形成に好適な新鮮葉を大量に供給するので本病原菌密度を著しく高める。毎年の摘葉作業でリンゴ園の *P. syringae* 菌

密度が高まっていることも考えられる。

P. syringae によるリンゴの被害果実と被害樹皮は伝染源としての重要性が低いと考えられているが (HARRIS, 1979a)、*P. cactorum* の場合は摘果によって落とされた幼果に多量の卵孢子が形成されるので伝染源として重要である (HARRIS, 1989)。果実が *P. syringae* の伝染源になり得るか否かを調べる目的で、リンゴおよびセイヨウナシ果皮切片に遊走子を接種した結果、いずれの果皮にも卵孢子が多量に形成された。しかし、本菌によるリンゴ被害果を *P. syringae* の存在しない土壤に混和しても菌密度の高まりは認められなかった。よって、自然条件下では被害果の伝染源としての役割は小さいものと推察された。この原因は、リンゴ熟果は葉に比べて各種腐生菌の寄生と繁殖が著しく早く、本菌の卵孢子が形成される以前に果実組織が腐敗するためと考えられる。しかし、リンゴ樹冠下に被害果を放置した実験では本菌密度が高まった。その原因は被害果の *P. syringae* が落葉に伝染するためであることが、ポットによるモデル実験(項目IIIの3の2))で明らかになった。したがって、本菌密度の高いほ場では被害果の伝染源としての役割は比較的小さいが、本病未発生地への伝播上重要な役割を果たすことができる。

P. syringae は植物の根にも寄生するので、根が伝染源になる可能性を明らかにするため、本菌密度の高いほ場に生えた各種草本植物の根から、BNPRA-HMI 選択培地を用いて本菌の検出を試みた。しかし、*P. syringae* は検出されず、草本植物の根が伝染源になる可能性は小さいと考えられた。今後、本菌に罹病性の根を有する植物につき調査を要する。

4. *P. syringae* に対する各種果実の感受性

P. syringae の寄主植物を知るため、各種果樹の果実に対する接種試験を行った。また、リンゴでは各品種の本菌に対する感受性程度を調べ

た。

1) 各種果実に対する *P. syringae* の病原性

実験方法

実験 1. 含菌寒天接種

P. syringae KU-10菌株を供試し、CV-8A 平板培地で20°C、8日間培養後、菌そう周縁部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜き接種源とした。下記の各種果実を各区3個ずつ供試し、水洗後、表面を80%エタノールで殺菌してから果皮にコの字形の傷を付け、果皮と果肉の間に含菌寒天を接種した。ただし、ブドウでは果皮の針穿刺傷に接種した。接種後20°Cに保ち、4日後と6日後の2回発病状況を調査した。また、発病果の病斑部からは菌の再分離を行った。

供試果実：ニホンナシ(品種：二十世紀)、セイヨウナシ(品種：バートレット)、ネクタリン、モモ、ブドウ(品種：ポートランド)、キウイフルーツ、リンゴ(品種：つがる)

実験 2. 泥水接種

りんご試験場 A7-1 ほ場から採取した *P. syringae* 保菌土壌 3kg に水道水 6l を加えて泥水とし接種に用いた。下記の各種果実をそれぞれ2~3個ずつ供試し、水洗後、プラスチック容器に入れ、10°Cで48時間泥水に浸漬し接種した。接種果実は水洗後14°Cに置き、8日後と14日後の2回発病状況を調査した。また、発病果の病斑部からは菌の分離を行った。

供試果実：ニホンナシ(品種：長十郎)、セイヨウナシ(品種：ラ・フランス)、ネーブルオレンジ、ブドウ(品種：スチュウベン)、キウイフルーツ、ウンシュウミカン、カキ、リンゴ(品種：ふじ)

実験結果

含菌寒天接種で病斑の拡大が早かった果実はネクタリン(図版III-4)、セイヨウナシ、リンゴ、ニホンナシ、モモ(図版III-5)であった。キウイフルーツは病斑拡大が遅く、果肉が水浸状に腐敗した。ブドウは果皮がわずかに褐変した。病斑部からは *P. syringae* が分離された。なお、対照の無接種付傷果実は6日後にネクタリンで灰星病が6か所中1か所に発病し、セイヨウナシでは病原不明の水浸状腐敗が2か所に発病した。その他の対照果実では発病はみられなかった。

泥水接種では、8日後にブドウ、ウンシュウミカン、カキ、リンゴが発病し、14日後にはニホンナシ、セイヨウナシが発病した。キウイフルーツは果皮に病斑が認められなかったが、果肉の一部が水浸状に腐敗し(図版III-3)、腐敗組織から *P. syringae* が検出された。ブドウは果皮が赤紫色に淡く変色する症状を呈し、その部分から *P. syringae* が検出された。ネーブルオレンジは発病しなかった(第15表)。ニホンナシとセイヨウナシの病徴は、果面が薄墨状に変色するものと、暗褐色小斑が集合して水浸状を呈す

第15表 各種果樹の果実に対する *P. syringae* の病原性(泥水接種)

供試果実	供試果数 (個)	発病果数 (個)	<i>P. syringae</i> 分離病斑率	
			供試病斑数	検出病斑数
ニホンナシ	3	3	9	9
セイヨウナシ	3	3	9	8
ネーブルオレンジ	2	0	—	—
ブドウ	50粒	17粒	6	4
キウイフルーツ	3	0(果肉)	12(果肉)	1
ウンシュウミカン	3	1	2	2
カキ	3	3	3	3
リンゴ	3	2	3	3

るものの二種類があり、そのいずれからも *P. syringae* が検出された。ウンシュウミカンでは果皮が水浸状に腐敗した (図版III-2)。また、カキでは果実全体が軟腐し、白い菌そうが表面に繁殖した (図版III-1)。なお、いずれの果樹の果実でも対照の水道水浸漬では発病がみられなかった。

2) リンゴ品種の罹病性差異

実験方法

青森県森田村のりんご園から1991年10月29日にりんごの各品種を採取して冷蔵保存し、11月14日に供試した。ただし、国光は青森県りんご試験場ほ場から採取した。1.8m 四方、深さ 30 cm の水槽に水道水 500 l と保菌土壌 (りんご試験場 A7-1 ほ場から採取) 50 kg を入れて泥水をつくり、これに果実を72時間浸漬して接種を行った。この間の水温は5~8°Cであった。果実を水洗後10°Cに保ち、16日後に発病果率及び病斑拡大程度を肉眼調査した。

実験結果

印度と国光は病斑面積が小さく抵抗力が強いものと判定された。次いでジョナゴールドの病斑が小さかった。その他の品種(スターキング、世界一、陸奥、北斗、紅玉、千秋、ふじ、王林)

はいずれも100%発病し、病斑も大きかった(第16表)。

3) 考 察

WATERHOUSE & WATERSTON (1964) は *P. syringae* の寄主植物を、接種で発病するものを含めて20種記載した。わが国では藤田ら(1994) がりんご、ニホンナシおよびセイヨウナシで本菌による自然発病を報告したが、それ以外の寄主植物は知られていない。今回の遊走子を用いた無傷接種では、新たにカキ、ブドウおよびキウイフルーツに発病が認められた。特にカキの発病は激しく、本菌に対する感受性は高いものと考えられた。しかし、自然条件下では樹上の着果位置が高く、収穫期が10月以前であることから果実被害は少ないものと考えられる。本菌は多犯性であり、アーモンドでは剪定痕からの感染も報告されていることから (BOSTOCK & DOSTER, 1985)、今後多面的な調査が必要である。

病害に対するりんご品種の感受性を明らかにすることはりんご育種の面からも重要である。疫病の発生は種間あるいは品種間差異が大きく、*P. cactorum* および *P. cambivora* によるクラウンロットでは台木の種類によって感受性が

第16表 *P. syringae* に対するりんご品種の感受性

品 種	袋の有無	供試果数	発病果率	病斑拡大程度
ジョナゴールド	有	19個	95%	38
スターキング	無	19	100	90
国 光	無	20	90	15
世 界 一	無	5	100	96
陸 奥	有、無	16	100	78
北 斗	無	20	100	82
紅 玉	無	22	100	89
印 度	無	21	67	9
千 秋	無	19	100	92
ふ じ	有	20	100	83
ふ じ	無	20	100	84
王 林	無	21	100	72

注 1) 保菌泥水接種、10°Cで16日保存後調査
 2) 病斑拡大程度は果実表面積に対する病斑面積の占める比率 (平均値)
 3) 袋の有無: 有は有袋果、無は無袋果

著しく異なるほか (HARRIS, 1991; 中沢ら, 1985; UTKHEDE & QUAMME, 1988; WATKINS & WERTS, 1971)、台木の違いによっても品種の抵抗力が変化する (SEWELL & WILSON, 1973 b)。 *P. syringae* においても発病の品種間差異が考えられるので調査した結果、印度、国光でやや抵抗性が認められた。国光は本菌密度が最も高まる11月中旬頃から収穫する晩生種であり、1965年までは栽培面積50%以上を占めた主要品種であったが (波多江・斉藤, 1977)、これまで本菌発生の報告はない。その原因として本品種の抵抗性が考えられる。一方、かつて主要品種であったスターキングデリシャス、紅玉は本菌に感受性であるが、収穫期が本菌密度のピークに達する前の10月中旬頃であるため大きな被害を免れたことが考えられる。それに対し、現在の主要品種ふじ、王林は感受性、かつ晩生種 (収穫期が11月上旬頃) であるため本病の被害を最も受けやすく、多発の原因になったものと考えられる。しかし、本病の発生要因には品種構成以外にも、気象、地表管理、栽培様式、除草剤、防除薬剤などが関係するものと考えられる。

5. 病原菌の発生活長

本病は晩秋期に感染・発病するが、土壌中における周年の病原菌の動向は明らかでない。そこで、リンゴ果実を用いた疫病菌の捕捉を2年間にわたり実施した。

本菌はリンゴ落葉に卵胞子を形成して越冬す

ることは明らかであるが、越冬卵胞子由来の遊走子接種による発病はこれまで確認されていない。そこで、本病の生活環を実験的に証明するため、自然界での卵胞子形成消長調査と卵胞子由来の遊走子の病原性調査を行った。

1) リンゴ園土壌から検出される各種疫病菌の時期的変動

調査方法

1992年は黒石市牡丹平 (青森県りんご試験場1号園 A7-1 ほ場：黒ぼく土壌) の1園地、1993年はりんご試験場1号園、黒石市牡丹平 (りんご試験場3号園：残積土壌) と南津軽郡藤崎町藤越 (沖積土壌) の3園地を対象とし、4月から12月まで毎月1~2回表土を採取し供試した。土壌1kg に対し水4l の割合で泥水をつくり、菌捕捉のためリンゴ果実を浸漬した。捕捉用果実として4~5月には前年産の貯蔵果、6月には貯蔵果と当年の結実果、6月以降には当年の結実果を用いた。品種はいずれも‘ふじ’である。果実浸漬中の温度条件は、1992年の調査では10°C下と野外日陰の2条件、1993年の調査では野外日陰の1条件とした。果実を48時間浸漬後水洗し、水を拭き取って15°Cで保存し、14日後まで発病果率を調査した。発病病斑部からは菌の分離を行い、菌種を同定した。また、1993年の泥水浸漬期間中の平均気温をりんご試験場気象観測データから求めた (第17表)。

1993年の調査では8月以降の疫病菌密度の変

第17表 菌捕捉のためのリンゴ果実浸漬期間とその間の平均気温

回数	浸漬処理時期	平均気温 (°C)
第1回：	1993.4.14 A.M.11:30~4.16 A.M.11:30	8.5
2	5.17 A.M.11:00~5.19 P.M.3:00	14.8
3	6.16 P.M.4:00~6.18 P.M.4:00	16.5
4	7.16 A.M.10:00~7.18 A.M.10:00	18.0
5	8.16 A.M.11:00~8.19 A.M.9:00(70hr)	21.2
6	9.14 A.M.11:00~9.16 A.M.11:00	18.7
7	10.15 P.M.3:00~10.17 P.M.3:00	11.8
8	11.19 P.M.4:00~11.21 P.M.4:00	5.8
9	12.14 A.M.10:00~12.16 A.M.10:00	-3.9

動を次の方法で推定した。果実を球形とみなし、供試果実の横径と高さを測定して両者の平均値を球（果実）の直径とし、果実の表面積を算出した。果実表面積 100 cm²あたりの病斑数を時期毎に求めた。

調査結果

1992年の調査：10°C浸漬区では *P. syringae* は4月上旬にわずかに捕捉されたが、4月中旬から9月まで捕捉されず、10月上旬から再び捕捉された。野外温度浸漬区では10月上旬まで *P. syringae* は捕捉されず、10月中旬から捕捉された。*P. syringae* の捕捉数は両区とも10月中旬から12月中旬の間で多かった。*P. cactorum* 捕捉数は10°C浸漬区、野外温度浸漬区のいずれも6月から10月上旬の間で多かった。

1993年の調査：*P. syringae* はりんご試験場1号園では4月、10月、11月に、りんご試験場3号園では11月に、藤崎町藤越園では10月、11月に捕捉された(第18表)。果実の単位表面積あたり病斑数は4月が非常に少なく、6～9月は零となり、10月から再び増加し、11月が最も多かった(第3図)。

一方、*P. cactorum* はりんご試験場1号園では4～10月に、りんご試験場3号園では6月、9月に、藤崎町藤越園では5～10月にそれぞれ捕捉された(第18表)。果実の単位表面積あたり病斑数は4月は少なく、8月は増加し、9月から減少して11月には零となった(第3図)。

両疫病菌の捕捉量は3地点で異なり、りんご試験場3号園で最も少なかった。また、*P. syringae* では捕捉時期にも園地間差異が認められ、りんご試験場1号園、藤崎町藤越園では10月から、りんご試験場3号園では11月から捕捉された。

2) 夏期土壌からの *P. syringae* の検出

実験方法

1992年8月20日、りんご試験場 A7-1 ほ場から表土を採取し、土壌 1 kg に対し水 4 l の割合

で混合した泥水を 20 l 容コンテナに入れ、5、10、15、20°Cの各温度条件に保った。泥水の調合直後、5日後、10日後、20日後、30日後の4回、果実浸漬法(項目IIIの2の1))により疫病菌の捕捉を試みた。供試果は各区ともりんご(品種：ふじ) 10個とした。発病した病斑部からは菌の分離を行い、分離菌の同定を行った。

実験結果

捕捉用果実の発病病斑数は調査直後の泥水浸漬で最も多く、5、10、15、20°C温度区でそれぞれ32、50、71、105個であった。これらの病斑からは *P. cactorum* のみが検出された。*P. syringae* は5°Cおよび10°C温度区で10日後に初めて捕捉され、*P. syringae* による発病病斑数は前者が合計1個、後者が2個であった。15°Cと20°C温度区では30日後でも *P. syringae* は捕捉されなかった。このことから、夏期の土壌では *P. syringae* 遊走子が生じる状態に至るには、5～10°Cで10日以上期間が必要と考えられる。

3) 地表のりんご葉における *P. syringae*

蔵卵器または卵胞子の形成消長

調査方法

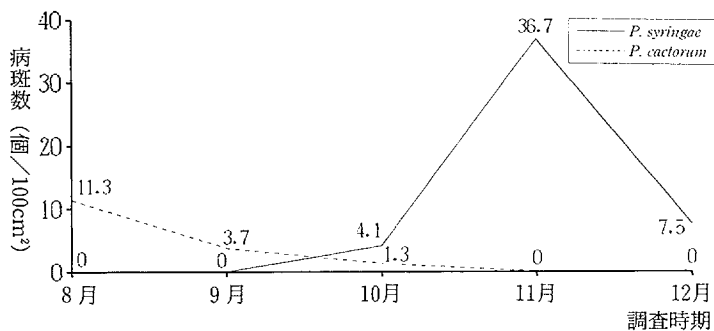
蔵卵器または卵胞子の形成消長：1992年11月6日にふじの新梢葉を採取し、*P. syringae* 菌の分布する青森県りんご試験場 A7-1 ほ場の裸地と草地の2か所に敷いて金網をかぶせた。以後翌年4月2日まで5回にわたり供試葉をそれぞれ5枚ずつ回収し、FAA(フォルマリン 5 ml、氷酢酸 5 ml、50%エタノール 90 ml) で固定した。本菌は1個の蔵卵器が成熟して1個の卵胞子となるので、次の方法により蔵卵器(または卵胞子)の形成程度を調査した。各回収葉から 1 cm² の葉身片を切り取り、ラクトフェノール液(容量比で乳酸 1 : フェノール 1 : グリセリン 0.5) で約20分間煮沸後、1 cm² の範囲を倍率 100倍で検鏡した。

蔵卵器または卵胞子形成程度の基準(1 cm² 当たり形成量)

第18表 各地土壌から捕捉される疫病菌 (*P. syringae*、*P. cactorum*) の時期的変動

調査地点	調査月日 (浸漬日)	供試果実	供試数 (個)	発病果率 (%)	疫病の 総病斑数 (個)	菌の検出病斑率			
						<i>P. syri</i>	<i>P. cact</i>	その他	
りんご ご 試 1 号 園	4.14~16	貯蔵果	10	40	10	2/10	8/10		
	5.17~19	貯蔵果	10	40	8	0/8	5/8	3/8	
	6.16~18	貯蔵果	10	40	7	0/7	1/7	5/7	
		結実果	20	100	20	0/20	19/20	1/20	
	7.16~18	結実果	20	15	3	0/3	3/3		
	8.16~19	結実果	10	100	57	0/24	24/24		
	9.14~16	結実果	10	100	50	0/22	22/22		
	10.15~17	結実果	10	80	27	7/20	13/20		
	11.19~21	結実果	10	100	175	20/20	0/20		
	12.14~16	結実果	10	100	43	20/20	0/20		
	り ん ご ご 試 3 号 園	4.14~16	貯蔵果	10	0	0	0/0	0/0	
		5.17~19	貯蔵果	10	0	0	0/0	0/0	
6.16~18		貯蔵果	10	10	3	0/2	0/2	1/2	
		結実果	20	15	3	0/3	2/3	1/3	
7.16~18		結実果	20	0	0	0/0	0/0		
8.16~19		結実果	10	0	0	0/0	0/0		
9.14~16		結実果	10	10	1	0/1	1/1		
10.15~17		結実果	10	0	0	0/0	0/0		
11.19~21		結実果	10	100	168	20/20	0/20		
12.14~16		結実果	10	80	37	20/20	0/20		
藤 崎 町 藤 越		4.14~16	貯蔵果	10	0	0	0/0	0/0	
		5.17~19	貯蔵果	10	70	22	0/22	20/22	2/22
	6.16~18	貯蔵果	10	30	12	0/12	11/12		
		結実果	20	75	15	0/15	15/15		
	7.16~18	結実果	20	70	7	0/7	7/7		
	8.16~19	結実果	10	100	81	0/40	40/40		
	9.14~16	結実果	10	50	8	0/8	8/8		
	10.15~17	結実果	10	90	58	19/20	1/20		
	11.19~21	結実果	10	100	296	20/20	0/20		
12.14~16	結実果	10	100	43	20/20	0/20			

- 注 1) 菌の検出病斑率は (検出病斑数/分離病斑数) で示した。
 2) *P. syri* は *P. syringae*、*P. cact* は *P. cactorum*
 3) 6月の結実果の病斑は幼果のため、1果を1病斑とした。



第3図 リンゴ疫病菌の時期的変動
(捕捉用果実上の病斑数から推定、3園地合計)

- : 0個, + : 1~10個, ++ : 11~500個, +++ : 501個以上

卵胞子の採取法および菌の分離、同定：裸地区の敷設葉を1993年4月22日に回収し、室温で8日間風乾後、アルミ箔で包み、さらにポリエチレン袋に入れ、暗黒下で室温または10°Cに保った。14か月後の1994年6月24日、ホモジナイザーで磨砕後、蒸留水で水洗しながら2種類の微生物用ふるい（網目幅53μmまたは26μm）で濾過し、大きさ25~40μmの卵胞子を得た。1.5%素寒天平板に卵胞子液を0.02ml滴下し、直径約2cmに拡げた。クリーンベンチ内で数分間風乾後、15°C、照明下（1300ルクス）に10日間保ち、卵胞子の発芽を確認した後、発芽卵胞子を含む寒天片をリンゴ熟果（品種：ふじ）3個に1個あたり3か所、有傷接種した。接種果実を15°C11日間保ち、発病した病斑果肉部から菌を再分離し、同定に供した。

調査結果

裸地に敷設したリンゴ葉では10日後わずかに蔽卵器の形成が認められ、30日後には急増した。草地に敷設したリンゴ葉では40日後まで形成量は少なかった。翌年4月の調査では両敷設区で多数の卵胞子の形成が認められた（第19表）。裸地区の敷設葉（14か月保存）から採取した卵胞子の6~8%が室内実験で発芽した。この発芽卵胞子の接種により発病した病斑部からの分離菌は、遊走子のうの形態と培養特性から *P.*

syringae と同定された。

4) *P. syringae* の卵胞子由来遊走子の病原性の確認

実験方法

1993年11月26日にリンゴ葉（品種：ふじ）を樹上から採取し、*P. syringae* KU-10 菌株の遊走子懸濁液（下記の滅菌土壌浸出液に放出させ、濃度： 2.5×10^3 個/ml に調整）に10°C、72時間浸漬して接種した。接種葉をピーカーに入れ、アルミ箔でふたをし、10°C、湿潤、弱光下で保存した。1994年5月に卵胞子の形成を確認し、上記実験（項目IIIの5の3）と同様の方法で卵胞子を採取し、1.5%素寒天平板上で発芽させた。15°C、連続照明下（白色蛍光灯、1300ルクス）、15日間培養後、遊走子のうを形成している培地の表面を蒸留水で洗浄した。次に土壌浸出液（青森県りんご試験場C-1ほ場の黒ぼく土壌に蒸留水を重量比で1対5の割合で加え、高圧滅菌後、上清を蒸留水で4倍希釈）を加え、5°C下に90分保ち、遊走子を放出させた。遊走子懸濁液（濃度： 2×10^4 個/ml）をガーゼに浸してリンゴ熟果（品種：ふじ）3個の表面に1果あたり10か所ずつ載せ、湿室に保ち、10°C、遮光下に72時間保持した。その後水を拭き取ってポリエチレン袋に入れ、15°Cに12日間保った後発病調査し、発病病斑部からは菌を分離して同定に供した。

実験結果

第19表 地表のリンゴ葉における *P. syringae* 蔽卵器または卵胞子の形成消長

調査日	葉の敷設期間 (日)	蔽卵器または卵胞子の形成程度												
		裸地					草地							
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5			
1992.11.16	10	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.26	20	++	++	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
12.6	30	+	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
12.16	40	+	++	-	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-
1993.4.2	147	+	++	+	++	+	+++	+	++	+	+	++	+	++

注) 5枚の回収葉（番号で表示）における卵胞子形成程度（1cm²当たり）
- : 0個, + : 1~10個, ++ : 11~500個, +++ : 501個以上

供試果 3 個のいずれも発病し (図版 II - 6)、病斑数は合計 28 個であった。対照の蒸留水接種は発病しなかった。15 個の病斑から菌を分離した結果、全てから *P. syringae* 特有の菌そうがバラの花弁状を呈する疫病菌が得られた。これら菌そうの水浸処理により膨潤菌糸が認められ、遊走子のうの形態は接種に用いた *P. syringae* (KU-10 菌株) と同様であった。

5) 考 察

P. syringae によるリンゴ果実疫病の感染時期を解明するためにはリンゴ園土壌からの各時期毎の遊走子放出程度を調査する必要がある。すでに述べたように *Phytophthora* 属菌選択培地では土壌からの *P. syringae* 検出は困難であったので (項目 III の 1 の 2)、リンゴ果実を用いた baiting により *P. syringae* の捕捉を試みた。この方法は自然感染に近いので果実感染時期の解明に相当と考えられるが、発育中の果実を供試した場合は、その感受性が問題となる。リンゴ樹皮への *P. syringae* の接種試験では 10~12 月の休眠期が最も感受性であった (SEWELL & WILSON, 1973 a)。また、*P. capsici* によるコショウ疫病でも果実の熟度によって抵抗力が異なる (BILES et al., 1993)。 *P. syringae* の遊走子接種試験では 7 月下旬の幼果でも発病したので (項目 II の 1 の 2)、7 月以降は当年の結実果を用いて *P. syringae* の捕捉が可能と考えられた。そこで著者は捕捉用の果実として 5 月調査までは前年産の貯蔵果、6 月は当年結実果と貯蔵果の両者を、7 月以降は当年結実果のみ供試した。

baiting による英国リンゴ園土壌からの *Phytophthora* 属菌検出では、*P. syringae* はリンゴ果実を用いた場合 6、7、8 月を除く全期間、特に春期と秋期に多量に捕捉され (SEWELL et al., 1974)、一方、マツ類の針葉を捕捉材料にすると、捕捉量が 3~5 月に最も高まる (McCRACKEN, 1985)。今回の青森県の調査では *P. syringae* は 4 月にわずかに捕捉されるこ

とがあったが、その捕捉量は極めて少なく、5~9 月の間は全く捕捉されず、10 月以降に捕捉量が高まった。このような違いが生じる原因は冬期間の気温の相違によるものと推察される。後述の卵孢子発芽試験 (項目 III の 6 の 1)) で明らかのように、本菌の卵孢子は 20°C 以下で一定の積算温度に達するまで成熟しない。冬期間の地表温度は英国 (TROWELL, 1971) より青森県が低いので、4 月までに卵孢子がほとんど成熟せず、卵孢子を包む葉組織の腐敗も進まない。6 月頃には成熟すると考えられるが、卵孢子が発芽しても遊走子のうの間接発芽には 15°C 以下の低温が必要なので、この時期の遊走子放出はほとんどない。夏期には高温により卵孢子が休眠する (項目 III の 6 の 1))。休眠した卵孢子は湿潤下での低温で覚醒することが、夏期土壌の低温湛水処理実験 (項目 III の 5 の 2)) で明らかとなり、室内実験 (項目 III の 6 の 1)) でも証明された。すなわち青森県では、越冬卵孢子がほとんど発芽しないまま夏期休眠に入り、秋期の低温によって覚醒するので、本菌の捕捉時期は概ね秋期の一山型になると考えられる。

なお、今回の調査では *P. syringae* の捕捉時期が 10 月以降であったが、過去には 9 月下旬にも落下リンゴから本菌が検出されており (牧野ら, 1992 a)、気象条件によってはこの時期から発生するものと考えられる。しかし、*P. syringae* と *P. cactorum* では発生時期は大きく異なる。リンゴ果実における両病害の症状は酷似するが、現場における両者の混同を避けるため、*P. syringae* によるリンゴ果実疫病を「おそ疫病」、*P. cactorum* によるリンゴ果実疫病を「はや疫病」と区別し呼称することを提案する。

HARRIS (1985 c) はリンゴ落葉への *P. syringae* の侵入過程につき、遊走子接種葉を 12-14°C で培養すると 4 日以内に寄生し、9 日以内に遊走子のうと有性器官が形成され、24 日後には卵孢子が形成されると報告した。しかし野外での

調査はない。よって著者はリンゴ園での卵胞子形成過程を調査した。その際、地表のリンゴ葉における卵胞子形成過程は地表植物の有無で異なると考えられるので、草生地と裸地の2か所で実施した。その結果、裸地に敷設したリンゴ葉では10日後からわずかに蔵卵器の形成が認められ、30日後には急増し、HARRISの室内実験結果とほぼ一致した。しかし、草地に敷設したリンゴ葉では裸地に比べて卵胞子形成時期が遅かった。その原因はHARRIS(1981)が述べたように、葉と病原菌との接触が草によって阻まれるため、本菌の寄生が遅れるためと考えられる。なお、本調査の対象とした卵胞子の多くが*P. syringae*であることは、菌の分離、同定結果から明らかである。

HARRISの調査(1979a, 1985c)から、*P. syringae*の主な越冬伝染源はリンゴ落葉に形成される卵胞子と考えられている。しかし、HARRIS(1979a)は卵胞子の病原性確認を、卵胞子形成葉磨砕組織の果実接種によって行っており、遊走子での接種は行っていない。本菌の生活環を実験的に証明するためには、卵胞子から最終的に生じた遊走子での接種試験が必要である。今回著者は、*P. syringae*の卵胞子由来の遊走子が無傷接種でリンゴ果実に病原性を示すことを実験的に証明した。以上の結果および後述の各種胞子の形成・発芽実験結果から、本菌の生活環は第7図(VI摘要に添付)のようになる。

6. 各種胞子および器官の形成条件と胞子の発芽条件

*P. syringae*は卵胞子の発芽(図版V-5)により生じた菌糸と遊走子のうからさらに増殖して多量の遊走子のうを形成する。遊走子のうより生じた遊走子(図版VI-1)は植物体に達すると被のう胞子に変わり、発芽して植物組織に侵入する。したがって、本病の発生生態解明および防除法確立のためには、これら胞子および器官の形成と発芽に関係する諸条件を明らかに

する必要がある。そこで、本研究では主に温度と光の影響について実験した。

1) 卵胞子の成熟、休眠に及ぼす温度、光および湿度の影響

実験方法

1994年12月にリンゴ葉(品種:ふじ)を樹上から採取し、水洗後直径11mmのコルクボーラーで打ち抜いた葉片(ディスク)を供試した。この葉ディスクを*P. syringae* KU-10菌株の遊走子懸濁液(滅菌土壌滲出液に放出させ、濃度: 3×10^4 個/mlに調整)に、10°C、遮光下で72時間浸漬して接種した。その後、直径9cmのペトリ皿内の、湛水しない程度に蒸留水を加えたケイ砂上に接種葉ディスクを置き、第20表のような各種条件下で培養した。

卵胞子形成量を知るため、培養32日後に各区から5ディスクを取り出し、1N-NaOHで約5分間煮沸して透明度を高めた後、1ディスクにつき5か所検鏡し、葉身1mm²当たりの卵胞子形成数を換算で求めた。次に、卵胞子の成熟状況を知るため培養61日後から189日後まで毎月1回発芽試験を行った。卵胞子の採取法および発芽試験法は前述の項目IIIの5の3)と同様である。調査卵胞子数は各区1回につき200個以

表20表 *P. syringae* 卵胞子形成のための培養条件

区	光	水分	温度(°C)
1	照明	湿	5
2	照明	湿	10
3	遮光	湿	10
4	照明	湿	15
5	照明	湿(3)→乾	15
6	照明	湿(3)→乾(1)→湿	15
7	遮光	湿	15
8	照明	湿	15(3)→25(2)
9	照明	湿	15(3)→25(1)→15
10	照明	湿	20

注 1) ()内の数字は保存期間(月)で、→は移動を意味する。
2) 湿潤区はペトリ皿にケイ砂を敷き、湛水しない程度に水を加えた。
3) 乾燥区は定温器内の湿度で、相対湿度約40%である。

上、5 反復とし、平均発芽率と標準偏差を求めた。

実験結果

遊走子接種葉ディスクでの卵胞子形成は 5～20°C 培養区でみられ、この温度範囲内では形成量の差は認められなかった。また、卵胞子形成量に与える光の影響も明らかでなかった (第 21 表)。接種葉ディスクの培養温度と葉組織内卵胞子の発芽開始時期の関係は、15～20°C 培養の卵胞子では実験開始から 61 日後に、10°C 培養の卵胞子では 90 日後にそれぞれ発芽が認められたが、5°C 培養の卵胞子では 189 日後まで発芽しなかった。10～20°C の培養温度では、接種葉ディスクの培養期間が長引くにつれて卵胞子の発芽能力は高まり、20°C 90 日培養の卵胞子の発芽率は 83% に達した (第 22 表)。

遮光培養下の接種葉ディスクに形成された卵胞子は照明下で形成された卵胞子より早くから発芽がみられた。しかし、最終的には両区の卵胞子の発芽率に差が認められなかった (第 23 表)。

成熟卵胞子は 1 か月間の乾燥 (相対湿度約 40%) で発芽率が著しく低下したが、再び高湿度下に移動すると 1 か月後には発芽能力を回復した (第 24 表)。したがって、卵胞子は乾燥時には一次的に休眠すると考えられる。

接種葉ディスクを 15°C、照明下、4 か月間培養して得た卵胞子の発芽率は 74% に達した。一方、同条件下で 3 か月間培養後、25°C で 1 か月間培養した区の卵胞子の発芽率は著しく低く、これを再び 15°C に移動することにより発芽能力は回復した (第 25 表)。したがって、卵胞子は高温 (25°C) 下で一次的に休眠するものと考えられる。

2) 成熟卵胞子の発芽条件

実験方法

1993 年 11 月 26 日にリンゴ葉 (品種：ふじ) を樹上から採取し、*P. syringae* KU-10 菌株の遊

第 21 表 *P. syringae* 遊走子接種リンゴ葉ディスクの培養条件 (温度、光) と卵胞子の形成量*

区	培養温度 (°C)	光の有無	卵胞子量** (個/mm ²)	標準偏差
1	5	有	214	42
2	10	有	170	48
4	15	有	186	39
7	15	無	262	90
10	20	有	148	20

* 接種 32 日後調査 ** 5 反復の平均

第 22 表 *P. syringae* 卵胞子形成葉ディスクの培養温度および培養期間と卵胞子の発芽

区	卵胞子形成葉ディスクの培養温度 (°C)	卵胞子の発芽率 (%)				
		培養期間 (日)				
		61	90	120	151	189
1	5	0	0	0	0	0
2	10	0	0.2	3.0	19.7	52.7
4	15	0.5	39.7	73.8	77.6	—
10	20	28.1	83.0	—	—	—

注) 発芽試験は 15°C、照明、湿潤下で行い、10 日後に調査

第 23 表 *P. syringae* 卵胞子形成葉ディスクの培養条件 (光、温度、培養期間) と卵胞子の発芽

区	培養期間中の光条件	培養温度 (°C)	卵胞子の発芽率 (%)			
			培養期間 (日)			
			61	90	120	151
2	照明	10	0	—	3.0	19.7
3	しゃ光	10	0	—	31.6	28.8
4	照明	15	0.5	39.7	73.8	77.6
7	しゃ光	15	4.1	51.0	65.3	79.0

注) 発芽試験は 15°C、照明、湿潤下で行い、10 日後に調査

走子懸濁液 (濃度：2.5×10³個/ml) に 10°C、72 時間浸漬して接種した。接種葉をビーカーに入れ、アルミ箔でふたをし、10°C、湿潤、弱光下で 6 か月間の培養により卵胞子を成熟させた。卵胞子形成葉をホモジナイザーで緩やかに磨砕後、蒸留水で水洗しながら 2 種類のテストイングシープ (微生物用ふるい；網目幅 53 μm または 26 μm) で濾過し、大きき 25～40 μm の卵胞子を得た。卵胞子濃度は蒸留水で 1.5×10⁵個/ml に調整した。実験 1～3 では 1.5% 素寒天平

第24表 *P. syringae* 卵胞子形成葉ディスクの培養条件(湿度、培養期間)と卵胞子の発芽

区	卵胞子形成葉ディスク の培養湿度と培養期間 (月)	卵胞子の発芽率(%)		
		培養期間(日)		
		90	120	151
4	湿(全期間)	39.7	73.8	77.6
5	湿(3)→乾(2)	—	3.0	2.7
6	湿(3)→乾(1)→湿(1)	—	—	78.8

- 注 1) 湿:加水ケイ砂上での培養
乾:相対湿度30~50%
2) 湿度以外の培養条件:照明下、15°C
()内は培養月数
3) 発芽試験は15°C、照明、湿潤下で行い、10日後に調査

第25表 *P. syringae* 卵胞子形成葉ディスクの培養温度の変化と卵胞子の発芽

区	卵胞子形成葉ディスク の培養温度(°C)と 培養期間(月)	卵胞子の発芽率(%)		
		培養期間(日)		
		90	120	151
4	15(全期間)	39.7	73.8	77.6
8	15(3)→25(2)	—	17.4	46.0
9	15(3)→25(1)→15(1)	—	—	73.4

- 注 1) 温度以外の培養条件:湿潤、照明下
()内は培養月数
2) 発芽試験は15°C、照明、湿潤下で行い、10日後に調査

板上に、実験4ではpHの異なる土壤滲出液寒天平板上にそれぞれ卵胞子液を0.02ml滴下し、直径約2cmの円形に拡げた。クリーンベンチ内で約3分風乾後、下記の各条件下に所定の期間保ち、卵胞子の発芽率を検鏡した。

実験1. 培養期間と発芽

15°Cの連続照明下(白色蛍光灯、1300ルクス)に置き、5日間隔で20日後まで5回発芽率を調査した。

実験2. 光の有無と発芽

15°Cの連続照明区(白色蛍光灯、1300ルクス)、1日当たり12時間照明区、連続遮光区の3区を設け、10日後と15日後に発芽率を調査した。また、15日間連続遮光区を連続照明下に移動し、さらに5日後(実験開始20日後)の発芽率を調査した。

実験3. 培養温度と発芽

5~25°Cの範囲で5°C間隔、5段階の培養温度区を設け、連続照明下(白色蛍光灯、1200~1800ルクス)で培養し、10日後と15日後に発芽率を調査した。また、25°Cで10日間培養した区の一部材料を15°Cに移動し、さらに5日後と10日後に発芽率を調査した。

実験4. pHと発芽

黒ぼく土壌1対水道水5(重量比)の割合で混合し、高圧滅菌後採取した土壤滲出液に、NaOHまたはHClを加えてpHの異なる液をつくり、粉末寒天を加えて溶かした。再びpHを測定し、滅菌処理をせずベトリ皿に培地を流した。卵胞子液を載せ、15°Cの連続照明下(白色蛍光灯、1300ルクス)に置き、10日後に発芽率を調査した。

実験結果

実験1. 卵胞子の発芽は15°C、連続照明下では試験開始の3日後から認められ(図版V-4)、15日後まで発芽率が高まった。しかし、20日後では発芽率の向上は認められなかった。15日後からは卵胞子の発芽によって生じた遊走子のうの直接発芽(遊走子のうから再び菌糸および二次遊走子のうを生じる発芽形態:図版V-6)が多数認められた(第26表)。

実験2. 15°C、連続照明下では15日後の発芽率が59.6%であったのに対し、遮光下では14.2%と低かった。しかし、15°C、15日間遮光下に置いた後、連続照明下に移すと5日後には発芽率は41.2%に高まった。したがって、光は本菌の卵胞子発芽を促進させる。なお、遮光区では10日後以降発芽率の向上は認められず、一旦形成された遊走子のうの直接発芽も認められなかった。これは発芽の進行が停止したためと考えられる(第27表)。

実験3. 15日後の発芽率は15°C区が59%と最も高く、本菌卵胞子発芽の最適温度と考えられた。20°Cでは発芽率が低く、卵胞子から生じた

第26表 *P. syringae* 卵胞子の発芽率の推移

経過日数 (日)	調査 卵胞子数 (個)	卵胞子の 発芽率 (%)	卵胞子から生じた 遊走子のうの直接 発芽率 (%)
3	207	8.7	0
5	207	30.0	0
10	203	49.8	0
15	214	56.5	34.1
20	223	57.0	48.4

第27表 光の有無と *P. syringae* 卵胞子の発芽

区	1日 あたりの 照明 時間	調査 時期	調査 卵胞子 数 (個)	卵胞子 の発芽 率 (%)	卵胞子から 生じた遊走子 のうの直接 発芽率 (%)
1	24	10日後	205	49.3	0
		15日後	235	59.6	30.2
2	12	10日後	219	36.5	0
		15日後	215	44.7	23.7
3	0	10日後	236	16.9	0
		15日後	219	14.2	0
4	遮光後 照明	20日後	245	41.2	8.6

第28表 温度と *P. syringae* 卵胞子の発芽

区	発芽 試験 温度 (°C)	調査 時期	調査 卵胞子 数 (個)	卵胞子 の発芽 率 (%)	卵胞子から 生じた遊走子 のうの直接 発芽率 (%)
1	5	10日後	207	9.7	0
		15日後	216	33.8	0.5
2	10	10日後	217	38.7	0
		15日後	212	48.1	1.4
3	15	10日後	205	53.2	0
		15日後	224	59.4	19.6
4	20	10日後	217	6.5	3.7
		15日後	213	5.2	5.2
5	25	10日後	245	0	0
		15日後	210	0	0
6	25°C 10日後 15°C で培養	15日後	216	3.7	0
		20日後	213	27.7	0

遊走子のうの多くが直接発芽した (図版 V-6)。25°Cでは発芽しなかったが、25°Cに10日間置いた後15°Cに移したところ、5日後には3.7%、10日後には27.7%と発芽率が高まった (第28表)。このことから、25°Cでは卵胞子の発芽能力を失わず、一時的に休眠するものと考えられ

る。

実験4. pH4.1、4.6、5.0、5.3、6.2、6.9、7.7の各培地上における卵胞子発芽率 (%) はそれぞれ11.9、12.6、19.3、19.0、26.2、7.8、6.4であり、発芽に適する pH は5.0~6.2と考えられる。

3) 遊走子のうの形成に及ぼす光、水分および温度の影響

P. syringae による果実疫病の感染源は遊走子のうから生じる遊走子が主体である。したがって、遊走子量を決定する遊走子のうの形成量が自然下における寄主体感染量を左右する。遊走子のうは卵胞子の発芽によって形成される以外に菌糸からも形成される。そこで、菌糸からの遊走子のう形成条件を明らかにする目的で実験した。

実験方法

供試菌：*P. syringae* KU-10 菌株を CV-8A 平板で20°C、7~9日間培養し、その菌そう周縁部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜いた含菌寒天 (菌そうディスク) を各区5個ずつ供試した。

実験1. 光の有無及び水浸処理の仕方と遊走子のうの形成

直径9cmのペトリ皿中の滅菌蒸留水に、菌そうディスクを完全に浸漬する区と菌そう面を水面に出す区を設け、20°C、遮光下又は照明下 (昼白色蛍光灯、1000ルクス) に保った。

実験2. 培養温度と遊走子のうの形成

直径9cmのペトリ皿中の滅菌蒸留水に、菌そうディスクを菌そう面が水面に出るように浅く浸漬し、5~25°C、5°C間隔の各温度下に遮光して置いた。

遊走子のうの形成量調査：培養終了後、ディスク周縁部を倍率100倍で5か所 (合計25か所) 検鏡し、遊走子のう形成数を調査した。調査時期は、実験1では3日後とし、実験2では11日後まで行ない、6日後の調査では間接発芽した

第29表 *P. syringae* 菌そうディスクの水浸処理および光の有無と遊走子のうの形成

区	菌そうディスクの処理方法		遊走子のうの形成数
	水浸処理	光の有無	
A	完全浸漬	照明	6.7 (53.7%)
B	表面露出	照明	267.5 (0.2)
C	完全浸漬	遮光	8.0 (8.8)
D	表面露出	遮光	385.8 (1.7)

注 1) 培養温度は20°C、調査は3日後
 2) 遊走子のう形成数は100倍1視野あたりの形成数で、25視野の平均
 3) ()内は一旦形成された遊走子のうが間接発芽(遊走子を生じる)して空になったものの割合

と思われる空の遊走子のう数も調査した。

実験結果

実験1. 遊走子のうの形成量は照明下で少なく、遮光下で多かった。また、菌そうディスクを水中に完全浸漬した場合は形成量が極めて少なく、菌そう面を気相に露出させた場合に旺盛な形成がみられた(第29表、図版VI-3、4)。したがって、遊走子のうは暗黒下、浅い水浸処理で最もよく形成される。

実験2. 遊走子のうは5~20°Cで形成され、25°Cでは形成されなかった。形成量は20°Cが最も多く、次いで15°Cであった。15~20°Cでは24時間後から遊走子のうの形成が認められ、6日後まで増加した。10°Cでは2日後から、5°Cでは4日後から遊走子のうの形成が認められ、11日後まで増加したが、形成量は少なかった。空の遊走子のうは低温で培養するほど増加した(第30表)。その原因は下記の実験(項目IIIの6の4)で明らかのように、低温で遊走子のうが間接発芽(遊走子を生じる)するためである。

4) 遊走子のうの間接発芽温度

実験方法

CV-8A 平板で培養した *P. syringae* KU-10 菌株の菌そうディスク(直径5mm)を20°C、4日間の水浸処理により遊走子のうを形成させた。直径6cmのペトリ皿に下記土壤滲出液を10ml 入れ、予め発芽試験温度に40分保ってか

第30表 *P. syringae* 菌そうディスクの培養温度および培養期間と遊走子のうの形成

菌そうディスクの培養温度(°C)	培養日数(日)と遊走子のう形成数					
	1	2	3	4	6	11
5	—	0	—	3	8(56%)	11
10	0	1	2	4	11(49)	17
15	5	38	178	315	588(37)	—
20	19	153	219	479	1003(18)	—
25	—	0	—	0	0	—

対照:無浸漬、遮光、15°C 2

注 1) 遊走子のう形成量は100倍1視野あたりの形成数で、25視野の平均
 2) ()内の数字は空の遊走子のうの占める割合

ら、供試ディスクを15個ずつ浸漬した。0~25°C、5°C間隔の各温度下で培養し、2、6、24時間後にディスクを2個ずつ回収し、空の遊走子のうを間接発芽したものとみなして発芽率を調査した。また供試液を採取し、トーマの血球計算盤を用いて液中の遊走子と被のう胞子の合計数を4反復調査した。

供試土壤滲出液:青森県りんご試験場C-1ほ場の黒ぼく土壌と蒸留水を重量比1対5の割合で混合し、高圧滅菌後、遠心分離(5000r.p.m.)し、上清を滅菌した。

実験結果

遊走子のうの間接発芽(図版IV-6)は0~15°Cで最も旺盛であった。20°Cでは6時間後にわずかに遊走子の放出が認められたが、その後ほとんど遊走子量は増加しなかった。5~15°Cでは6時間後に一部被のう胞子の発芽が観察された。25°Cでは遊走子のうが全く発芽しなかった(第31表)。以上より、本菌は15°C以下で遊走子形成が活発に行われるものと考えられる。

5) 各温度条件下における *P. syringae* 遊走子の被のうと発芽

遊走子のうの間接発芽により生じた遊走子は寄主体に達すると鞭毛を消失し、被のう胞子に変わる。この被のう胞子が発芽し(図版VI-2)寄主体に侵入する。ここでは遊走子が被のうし、

第31表 温度と *P. syringae* 遊走子のうの間接発芽および遊走子形成

発芽試験温度 (°C)	2 時間後		6 時間後		24 時間後	
	発芽率 (%)	遊走子数	発芽率 (%)	遊走子数	発芽率 (%)	遊走子数
0	18	2.0	33	5.5	46	4.3
5	32	4.5	41	8.8	35	10.5
10	20	2.0	32	7.5	25	8.0
15	6	1.5	36	6.8	27	9.8
20	0	0	0	0	0.5	0.5
25	0	0	0	0	0	0

注 1) 発芽率は間接発芽率で、1個のディスクにつき100個以上の遊走子のうを調査し、内容が空になったものを間接発芽したとみなした。

2) 遊走子濃度単位は、 $\times 10^4$ 個/ml である。

発芽するための温度条件と時間につき実験した。

実験方法

CV-8A 平板をあらかじめ所定温度に16時間保ち、培地の温度が発芽試験温度に到達してから供した。*P. syringae* KU-10 菌株の遊走子懸濁液を培地上に 0.04 ml 滴下し、0~30°C、5°C 間隔で白色蛍光灯照明下(1200~1800ルクス)に置き、48時間後まで経時的に発芽率と発芽程度を顕鏡調査した。

発芽程度

—：未発芽，+：発芽管長が胞子直径の1倍未満，++：発芽管長が胞子直径の1~2.9倍，+++：発芽管長が胞子直径の3~4.9倍，++++：発芽管長が胞子直径の5倍以上

実験結果

遊走子(図版VI-1)は0~25°Cの範囲で被のうし、被のう胞子となった後発芽した(図版VI-2)。15~20°Cでは2時間後に被のう胞子の発芽がみられ、8時間後には発芽率が80%を越えた。10°Cでは2時間後にわずかに発芽がみられ、8時間後には53%発芽した。0°Cでは48時間後、5°Cでは12時間後の調査で被のう胞子の発芽が認められた。このことから本菌の被のう化および被のう胞子の発芽最適温度は15~20°Cと考えられる(第32表)。25°Cでは2時間後から被のう胞子は僅かに発芽し、その後も発芽率がたかまったが、発芽管がある程度伸びた後、菌

糸の生育は停止し菌そう形成に至らなかった。30°Cでは被のう胞子の発芽はみられず、48時間後に20°Cに移動しても発芽せず、死滅したものと考えられた(第32表)。

6) 考察

Phytophthora 属菌の卵胞子は耐久性に富み、環境条件に応じて休眠あるいは発芽する。厚膜胞子も耐久性を有するが、*P. syringae* は厚膜胞子をほとんど形成しないので、卵胞子の形成は種を維持するうえで極めて重要である。したがって、本菌の生態を理解するためには卵胞子の形成および発芽に関する諸条件を明らかにする必要がある。疫病菌の卵胞子形成には基質、光および温度が大きく影響する(ELLIOTT, 1983)。*P. syringae* 卵胞子形成の好適培地はすでに DOSTER & BOSTOCK (1988a) が報告したが、光の影響は知られていない。著者は自然に近い条件下での卵胞子形成を明らかにするため、リンゴ葉片を基質に用いて実験した。*P. syringae* リンゴ分離菌の卵胞子形成は5~20°Cの温度範囲で認められた。自然界で本菌は晩秋期以降に卵胞子を形成するが(項目IIIの5の3)、その理由はこの時期には卵胞子形成に適した落葉などの基質が存在し、しかも気温が本菌卵胞子形成に好適となり、低温ほど競合微生物が少なくなるためである。なお、DOSTER & BOSTOSK (1988a) によると、*P. syringae* アーモンド分離菌のアーモンド葉における卵胞子形

第32表 温度と *P. syringae* 被のう胞子の発芽

発芽試験 温度 (°C)	時間 (h)	調査胞子数 (個)	発芽程度別の胞子数 (個)					発芽率 (%)
			発芽程度*					
			—	+	++	+++	++++	
0	24	202	202	0	0	0	0	0
	48	247	206	6	18	17	0	16.6
5	6	200	200	0	0	0	0	0
	12	205	160	17	25	3	0	22.0
	24	213	152	5	35	18	3	28.6
	48	220	89	3	14	52	62	59.5
10	2	205	202	3	0	0	0	1.5
	4	210	167	41	2	0	0	20.5
	6	206	131	33	41	1	0	36.4
	8	214	100	17	78	19	0	53.3
15	2	207	180	25	2	0	0	13.0
	4	207	101	29	74	3	0	51.2
	6	243	92	12	43	77	19	62.1
	8	202	38	14	37	79	34	81.2
20	2	201	142	45	14	0	0	29.4
	4	205	78	23	42	59	3	62.0
	6	252	77	3	30	119	23	69.4
	8	204	40	1	22	89	52	80.4
25	2	212	202	10	0	0	0	4.7
	4	218	118	34	66	0	0	45.9
	6	232	107	11	83	29	2	53.9
	8	209	91	9	75	33	1	56.5
30	24	230	230	0	0	0	0	0
	48	220	220	0	0	0	0	0

* 被のう胞子の発芽程度

—: 未発芽, +: 発芽管長が胞子直径の1倍未満

++: 発芽管長が胞子直径の1~2.9倍

+++: 発芽管長が胞子直径の3~4.9倍

++++: 発芽管長が胞子直径の5倍以上

成温度は2~12°Cで、著者の実験結果と異なっており、*P. syringae*には地域あるいは宿主により性質の異なる生態型の存在する可能性も考えられる。

Phytophthora 属菌の多くは暗黒下または弱光下で卵胞子の形成が良好であり (BRASIER, 1969a, 1969b; HARNISH, 1965; KLISIEWICZ, 1970)、光は卵胞子形成の阻害要因となる場合が多い。しかし *P. syringae* では卵胞子形成は光 (白色蛍光灯) によって明らかな影響を受けず、この意味では環境適応性が広いものと思われる。

る。

一般に *Phytophthora* 属菌の卵胞子は形成後成熟期間が必要で、その後発芽する。青森県では *P. syringae* によるリンゴ果実の疫病が10月以降に発生するが(項目IIIの5の1))、その原因解明のため本菌卵胞子の休眠および発芽条件につき実験した。予備実験において、*P. syringae* 遊走子接種リンゴ葉ディスクを20°C、30日間培養すると、葉組織に形成した一部卵胞子は既に発芽能力を有することが明らかになった。したがって本菌の卵胞子は20°Cの条件下では比較的

速やかに成熟し、しかも特別な休眠期間を必要としないものと考えられた。*Phytophthora* 属菌の卵胞子発芽は卵胞子発育期間中の環境条件に影響され、*P. megasperma* では温度に (ERWIN & McCORMICK, 1971)、*P. cactorum* では光に (BANIHASHEMI & MITCHELL, 1976) それぞれ強く影響されることが知られている。著者の実験では *P. syringae* 遊走子接種葉ディスクに形成される卵胞子の発芽率は、20°C下で形成・発育した場合に最も高く、形成・発育時の温度が低いほど発芽率も低かった。しかし、卵胞子形成・発育時の温度が低い場合でも培養期間が長くなるにつれて、採取された卵胞子の発芽率が高まった。このことから、本菌卵胞子の成熟は低温ほど遅れるものの、10~20°Cの卵胞子形成・発育温度では最終的な卵胞子発芽率に差は生じないものと推察される。ただし、5°Cの卵胞子形成・発育温度では189日後まで発芽せず、この温度以下では本菌卵胞子は成熟しないか、あるいは成熟に至るまで非常に長い期間を要するものと考えられる。また、本菌卵胞子は25°Cの高温あるいは空中湿度 RH40%の乾燥条件下では休眠状態に入ることが今回の実験で明らかとなった。以上の結果から、青森県では冬期間の低温、春の乾燥および夏の高温により卵胞子が秋期までほとんど発芽しないため、本菌捕捉消長が秋期の一山型になると考えられる。

HARRIS & COLE (1982) は *P. syringae* 遊走子接種リンゴ葉に形成された卵胞子で発芽試験を行ったが、著者もほぼ同様の方法を用いた。成熟卵胞子は15°C、連続照明下では3日後から発芽し、15日後まで発芽率が高まり、それ以降は卵胞子の発芽によって形成された遊走子のうの直接発芽(菌糸および二次遊走子のうの形成)が多くなった。このことから、本菌は増殖に好適条件が揃えば約2週間で急激に菌密度を高めるものと推察される。HARRIS & COLE は実験データを示していないが、本菌卵胞子の発芽が光

によって促進されるとした。著者の実験でも本菌卵胞子は照明下で発芽が良好であり、遮光下で発芽しない卵胞子を照明下に移すと正常に発芽した。したがって、光によって発芽が刺激あるいは誘導されるものと考えられる。HARRIS & COLE は卵胞子発芽の最適温度が12.5~15°Cであり、20°Cではほとんど発芽せず、7.5°Cでは発芽しなかったと報告したが、著者の実験では5°Cでも発芽した。その原因として、HARRIS & COLE は著者より低温で卵胞子の形成を促したので、卵胞子の熟度が遅れ、低温域で発芽しなかったことが考えられる。本菌の成熟卵胞子は20°Cでも発芽するので、青森県では9月上旬から遊走子のうが形成される可能性がある。しかし、遊走子のうの間接発芽には15°C以下の低温を必要とするので、本県では9月中旬までは本病が通常発生しない。

疫病の感染は主に遊走子によってなされるので、遊走子を用いての接種試験が重要である。遊走子を常時確保するためには遊走子のうの形成条件を明らかにし、多量形成培養法を確立しなければならない。遊走子のうの形成に関与する要因は多く、水ポテンシャル、養分、ステロール、通気、光、温度、陽イオン、菌体の培養期間、細菌、根の分泌物、土壌エキスなどが上げられている (RIBEIRO, 1983)。HARRIS (1985c) は *P. syringae* の培養寒天ディスクを無殺菌土壌エキスに浸漬する方法で、EDNEY (1978) は純粋培養菌体を蒸留水に浸漬する方法でそれぞれ遊走子のうを得たが、本菌遊走子のうの形成条件にはなお不明な点が多い。多くの *Phytophthora* 属菌の遊走子のう形成は光によって促進される (ALCONERO & SANTIAGO, 1972; FAWCETT & KLOTZ, 1934; HARNISH, 1965)。一方、*P. infestans* のように光によって形成阻害される例や (Cohen et al., 1975)、*P. parasitica* var. *nicotianae* のように光を必要としない例 (GOODING & LUCAS, 1959) もある。

HARNISH (1965) の実験では *P. syringae* の遊走子の形成は暗黒下で良好であり、照明下(700 ftc) では形成されなかったが、著者の実験では照明、遮光の両区で形成がみられ、遮光区の形成量が勝った。*P. parasitica* var. *nicotianae* では酸素も遊走子の形成に必要であり、菌体を完全に水没させると遊走子の形成しない(GOODING & LUCAS, 1959)。*P. syringae* も同様であり、水浸菌そうディスクの表面を気相に曝すことにより遊走子の形成が多量に形成された。遊走子の形成は細菌や土壌エキスにより促進されることは多くの菌種で認められており、*P. syringae* の場合も菌体を土壌滲出液へ浸漬することにより多量の遊走子の形成する(藤田・福島, 1992a)。したがって、本菌においても遊走子の形成を促進させる何らかの物質が存在すると考えられるが、蒸留水への浸漬でも形成がみられることから、その形成促進効果は小さいものであろう。

一般に *Phytophthora* 属菌の遊走子の形成は発育最適温度より低温域で間接発芽する。*P. syringae* の遊走子の形成は発育最適温度にあたる20°Cでは極めて不良であり、15-5°Cの範囲で良好であった。さらに0°Cでも十分発芽したので、本菌による感染は12月頃でも可能である。

遊走子は寄主植物上で運動を停止して被のうし、被のう胞子となってまもなく発芽侵入する。被のう胞子の発芽に要する温度と時間を明らかにすることにより本病の感染可能温度および感染までの時間を推定できる。*P. syringae* の被のう胞子は0~25°Cの温度範囲で発芽したが、25°Cでは発芽後菌糸の生育が停止した。桂・奥野(1967)は *P. capsici* の被のう胞子の発芽管伸長が一時停止することを観察し、その後の伸長には栄養の補給を要すると考察した。*P. syringae* の場合、25°Cでは発芽に被のう胞子の栄養分を消費して、培地からの栄養補給ができ

ず生育停止に至ることが考えられる。よって本菌による感染は0~20°Cの範囲で成立する可能性が大きい。また、被のう胞子の発芽管の伸長状況からみてりんご果実に対しては15~20°Cで8時間以内に侵入することが予想される。

7. 感染と発病

P. syringae 遊走子によるりんご果点の感染可能温度および感染に必要とする時間を明らかにするため遊走子接種試験を行った。また、接種部位の光顕および走査電顕観察により病原菌の侵入過程を調査した。

1) 果実感染温度

実験方法

りんご熟果(品種:ふじ)を各区6個ずつ供試し、接種前の果肉温度を一定にするため果実を所定温度(0から25°Cまで、5°C間隔)に24時間保った。*P. syringae* KU-10菌株の遊走子懸濁液(濃度: 4×10^5 個/ml)をガーゼ(約1cm²で2重)に含ませ、果実の肩部に1果あたり5か所接種した。温室下、所定温度に6日間保った後、水洗、次いで70%エタノールによる表面殺菌を行った。風乾後、15°Cに移動し、15日後まで発病の有無を観察した。発病した部位からは菌の分離を行い、病原菌を確認した。

実験結果

0、5、10、15、20および25°C接種区の発病率(%)はそれぞれ77、80、100、77、37、0であった。発病部からは *P. syringae* のみが検出された。よって、遊走子による感染可能温度は0~20°Cであり、感染最適温度は10°C付近と考えられる。

2) 果実感染成立時間

実験方法

実験1. 遊走子接種後の果面水洗による感染成立時間の推定

りんご熟果(品種:ふじ)を供試し、あらかじめ果実を接種温度と同じ温度に16時間保った後、遊走子懸濁液(濃度: 1×10^4 個/ml)を含ま

せたガーゼ(約1cm²で四重)を果実の肩部5か所に載せて接種を行い、その後10°Cまたは15°Cの温室下に保った。接種開始の2時間後から10時間後まで2時間毎に2個ずつ果実を取り出し、布を用いて水道水流水で果実を丁寧に3回洗浄した。果実の水を拭き取り、風乾してポリエチレン袋に入れ15°Cに保ち、15日後まで発病調査した。発病病斑部からは菌の分離を行い、病原菌を確認した。

実験2. 遊走子接種後の果実表面殺菌による感染成立時間の推定

ふじ熟果を供試し、実験1と同様の温度処理後、接種した(ただし、遊走子濃度は1×10⁵個/ml)。その後、果実を10°Cまたは15°Cの温室下に保ち、接種開始から6、10、24時間後にそれぞれ果実を2個ずつ取り出し、70%エタノール液に30秒間浸漬後、水洗した。この処理で*P. syringae*の菌体(液体培地培養菌体：長さ約5mm)が死滅することはあらかじめ確認しておいた。その後の処理および調査は実験1と同様に行った。

実験結果

実験1. 遊走子接種後の果面水洗処理実験では10°C2時間および6時間接種果と、15°C4時間以内の接種果で発病がみられず、10°C4時間および8時間接種果では20%以下、10°C10時間接種果では90%、15°C6時間接種果では50%発病した。10°Cの4時間および8時間接種果では発病率が低いので、水洗処理で孢子が完全に落ちなかったための発病と考えられる。

実験2. 遊走子接種後の果実表面殺菌実験では、10°C6時間接種果で発病せず、10時間以上の接種果で発病した。15°Cでは6時間接種果でも発病した(第33表)。

両実験結果から、10°Cでは10時間、15°Cでは6時間が本菌のリンゴ果実組織への侵入時間と推定された。

なお、いずれの実験においても発病病斑部か

第33表 リンゴ果実への*P. syringae*遊走子接種時間と発病の関係

接種温度 (°C)	接種後の 表面殺菌 の有無	発病か所数*		
		接種時間(h)		
		6	10	24時間
10	有	0	6	6
	無	7	10	6
15	有	2	9	8
	無	9	9	8

接種10か所中の発病数

らは*P. syringae*のみが検出された。

3) 遊走子による果実侵入過程の光顕および走査電顕観察

実験方法

リンゴ熟果(品種：ふじ)を供試し、上記実験(項目IIIの7の2)と同様の方法により15°Cで遊走子を果実に接種した。接種4、8および12時間後にそれぞれ接種果皮を切り取り、FAA(ホルマリン5ml、氷酢酸5ml、50%エタノール90ml)で固定後、次の方法で解剖学的調査に供した。すなわち果皮試料を包埋材(Tissue-Tek® O.C.T. Compound)で包み、零下23°Cで凍結後、滑走式マイクロトーム(カールツアイスHM400R)を用いて厚さ16μmの切片をつくり、アニリンブルー・ラクトフェノール液またはコットンブルー液で染色し、光学顕微鏡下で観察した。

走査電顕観察では次のように試料を作成した。光顕観察と同様に接種した果実を供試し、接種2時間後から8時間後まで2時間毎にそれぞれ接種果皮を切り取り、グルタルアルデヒド・リン酸緩衝液で前固定、オスミウム酸・グルトン緩衝液で後固定し、アルコール系列で脱水後、酢酸イソアミルに置換した。臨界点乾燥、金コーティング処理し、走査電顕(日本電子JSM-T220)で果皮表面を観察した。

実験結果

光顕観察：15°Cでは接種4時間後に果点(皮

目部) 上に被のう胞子の集合が観察され (図版 VII-1)、一部胞子は発芽していたが細胞内への侵入は認められなかった。8時間後には被のう胞子の原形質が発芽管に移動して空になり、伸展した発芽管が果実組織に侵入した (図版 VII-2)。しかし付着器の形成は確認されなかった。12時間後にはさらに菌糸が伸展したが、侵入が細胞間隙か、細胞内部かの判別はできなかった。被のう胞子と発芽管は果点とクチクラ層の裂開部に観察され、健全なクチクラ層からの侵入は認められなかった。

走査電顕観察：一部果点および果皮のクチクラ層裂開部に遊走子の集合が観察された (図版 VII-3、4)。果面上の被のう胞子の発芽は接種2時間後に認められ、6時間後には発芽管が分岐し、8時間後には果点上に菌糸の蔓延が認められた。一部胞子の発芽管先端はクチクラ層の裂開部に伸展した (図版 VII-5)。

以上の結果から、本菌は果皮の果点のほかにクチクラ層裂開部からも侵入し、15°Cでは接種後8時間で果点組織内へ到達することが明らかとなった。

4) 感染果実の潜伏期間

実験方法

1992年11月20日に、りんご試験場 A7-1 ほ場から *P. syringae* 汚染土壌を採取し、土壌 1kg に対し水道水 4 l の割合で混合した保菌泥水をつくり、これにりんご熟果 (品種：ふじ) を 10°C で 48 時間浸漬した。水洗後、水を拭き取って下記の各条件下に 10 個ずつ保ち、その後の発病を調査するとともに、初期病徴を観察した。また、発病病斑からは菌の分離を行い、菌種の同定を行った。

保存条件

普通貯蔵区：0、5、10、15°C の各温度

CA (Controlled Atmosphere) 貯蔵区：0°C、
(最初の 1 か月は O₂ 5.0%、CO₂ 2.0% とし、
その後は O₂ 1.8%、CO₂ 1.0%)

変温区

A：10°C で 6 日保存後、0°C、普通貯蔵

B：10°C で 4 日保存後、0°C、CA 貯蔵 (空気組成は上記 CA 貯蔵と同様)

対照区：無接種 (10°C 貯蔵)

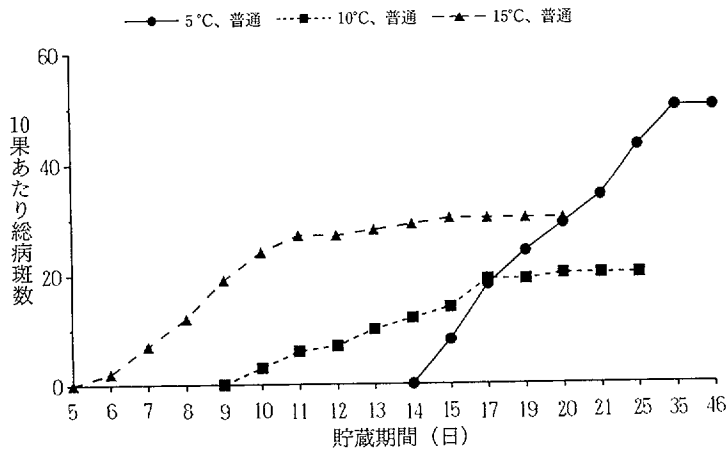
実験結果

泥水接種完了後初期病斑が発現するまでの日数は、普通貯蔵 15°C で 6 日、10°C で 10 日、5°C で 15 日であり、0°C では普通貯蔵、CA 貯蔵のいずれも 40 日であった。あらかじめ 10°C で 4 日間貯蔵後 0°C、CA 貯蔵した場合 (変温 B 区) は 25 日後に発病した。それぞれの病斑は一斉に発現せず、15°C では初発以降 9 日間、10°C では 10 日間、5°C では 20 日間、変温 B 区では 100 日間にわたって新しい病斑が発現した (第 4、5 図)。典型的初期症状は、径 1~2 cm の輪郭不明瞭、淡褐色、円形~楕円形病斑であった (図版 II-5)。果肉部は軟腐せず、褐変する場合が多かったが、ほとんど変色しない場合や水浸状を呈する場合もあった。遅く発現する病斑の中には輪郭が比較的明瞭で小形、不整形の褐色病斑も一部にみられ、自然発病病斑とやや異なった。これらの症状を呈した病斑果肉部のほとんどすべてから *P. syringae* が分離された。

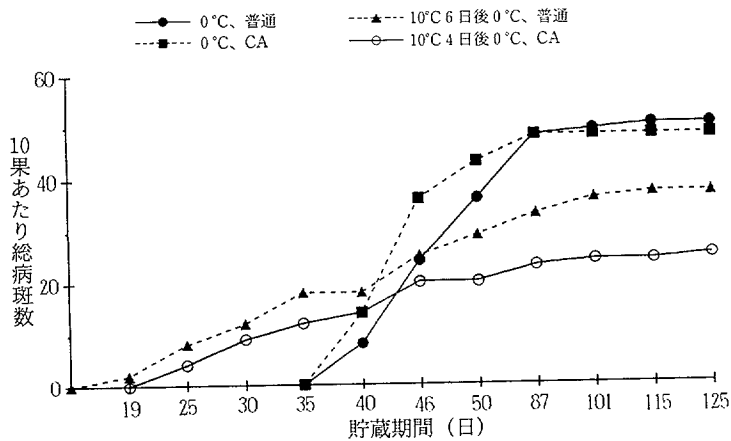
5) 考察

P. syringae によるりんご果実の疫病は晩生種の収穫時期にあたる 11 月頃に地表の保菌水が果実に付着して感染する。収穫期に降雨が続くと多発するが (福島ら, 1992; UPSTONE & GUNN, 1978)、台風による落下果実にも発生することがある (牧野ら, 1992 a)。このような場合、落下果実を水洗して病原菌を取り除こうとする試みが一部生産者の間で実施されているが、必ずしも有効な対策とはなっていない。著者は本病の感染可能温度を明らかにするとともに、病原菌が果実の組織内に侵入するまでの時間を特定し、侵入部位を解明するため実験した。

本菌は遊走子でりんご果実表面に到達し、そ



第4図 貯蔵条件と果実疫病の発病消長



第5図 貯蔵条件と果実疫病の発病消長

ここで被のう胞子に変わり、その後発芽して果実へ侵入する。したがって、被のう胞子の発芽過程を調査することにより、本菌のリンゴ果実組織への侵入時間を推定できる。被のう胞子の発芽実験（項目IIIの6の5）と果実への接種実験の結果から、本病の感染可能温度範囲は0～20°Cであることが明らかとなった。また、発芽管の伸長状況からみて本菌は15～20°Cでは8時間以内に果実組織に侵入することが予想された。

EDNEY (1978) はリンゴ果実に *P. syringae* 遊走子懸濁液を接種した場合、15°Cでは24時間後に果面を乾かしても発病することを報告しているが、22時間未満の接種は実施していない。そ

こで著者は本菌がリンゴ果実組織に侵入するまでの時間を推定するため接種実験を行った。本菌は果皮組織内に侵入すると果実を水洗または表面殺菌しても発病すると考えられる。そこで遊走子液への浸漬接種果実を、所定時間経過後に水洗または表面殺菌処理し、その後の発病状況から侵入時間を推定した。水洗処理果実では10°C 6時間浸漬接種後処理したもので発病しなかったにもかかわらず、10°C 4時間接種後処理した果実で10%発病するという矛盾する結果が生じた。その原因は、遊走子が被のう胞子に変わる際に植物体表面に強く付着し、水洗処理では容易に落ちないため (GUBLER et al., 1989; SING & BARTNICKI-GARCIA, 1972) と考えら

れる。この点を考慮すると、10°Cでは10時間、15°Cでは6時間が本菌の果実組織への侵入時間と推定される。したがって、台風などによる落下果実の水洗処理は上記の推定侵入時間内に、ていねいに行わなければ効果は低いと考えられる。

上記接種実験の結果を確認するため、リンゴ果実表面における遊走子の挙動について光顕および走査電顕観察を行った。本菌は遊走子から被のう胞子に変わり、8時間で果点組織に侵入した。しかし、付着器の形成は確認されなかった。*P. cactorum* は侵入時に付着器を形成するが (MILLER et al., 1966)、本菌の場合、被のう胞子の発芽実験でも付着器は認められず、付着器を形成しないものと考えられる。

これまで数種 *Phytophthora* 属菌で遊走子の誘引化合物が知られている (KHEW & ZENTMYER, 1973)。HARRIS (1985c) は *P. syringae* の被のう胞子が葉の気孔部に集合することを報告したが、著者も果点および果皮のクチクラ層裂開部に遊走子の集合を観察しており、本菌遊走子も走化性を有すると考えられる。しかし、本菌の誘引物質は不明である。

KAVANAGH ら (1969) は果実の果点、果点間隙および針傷に遊走子を接種し、本菌が果点と傷から侵入すると報告した。この実験では果点の間隙からも低率ながら感染しているが、その点については言及されていない。著者は滑走式マイクロトームと走査電顕を用いた調査により、本菌が果点および果皮のクチクラ層裂開部から侵入すること、また、本菌が15°Cでは接種後8時間で果点組織内へ到達することを明らかにした。しかし、本菌の細胞への侵入を見届けることができず、今後の検討課題として残った。

1989年、1990年に *P. syringae* によるリンゴ果実の疫病が大きな問題となった原因は、果実の

腐敗が庫内または出庫後に発生したため市場から返品されたり、消費者の信頼を失ったことであった。これは通常の貯蔵温度 (0°C) における本病の潜伏期間が40日以上と長いために生じた現象である。EDNEY (1978) によると、本病の潜伏期間は3.3°Cで3~4週間であるが詳細な調査例はない。EDNEY & CHAMBERS (1981a) はまた、本病の発生が普通貯蔵に比べてCA貯蔵で少ない傾向を認めているが、著者の実験ではCA貯蔵と普通貯蔵で本病の潜伏期間および発生率に差は認められなかった。その理由として、CA貯蔵中の空気組成の違いなどが考えられるのでなお検討を要する。

一般にリンゴ果実は約0°Cで貯蔵されるので、収穫後直ちに貯蔵した場合は著者の実験結果からみて約40日後から発病が始まる。しかし、農協などの貯蔵施設内における実際の発病はさらに早いようである (聞き取り調査)。その原因は収穫果を直ちに入库せず野外など0~15°Cに数日放置した後入库するので、潜伏期間が短縮するためと考えられる。0°Cで2か月間以上貯蔵した果実では庫内で発病するので、出庫時の選果で疫病被害果は取り除かれるはずであるが、実際には発病が市場にまで持ち越された。その原因は本病が一斉に発病しないためである。実験の結果、あらかじめ10°Cで4日保存後0°C、CA貯蔵した場合は初発から100日間にわたって新たな発病がみられた。しかし、その場合の発病継続期間は明らかにできなかった。10~15°Cでは感染後20日間で全てが発病するので、収穫果をこの条件下に20日間保ち、発病果を取り除いてから貯蔵することにより出庫後の発病を皆無にできる。しかし、この処理はある程度果実の鮮度や貯蔵能力の低下を伴うと考えられるので、その後の早期販売が見込まれる場合に可能な対策である。

IV. 発 生 要 因

P. syringae によるリンゴ果実疫病の発生要因を明らかにするため、本病が多発した1990年の収穫期の天候と発生の関係を解析するとともに、リンゴ園における反射シート(図版VI-5)の使用および草生栽培が土壌の疫病菌密度にどのような影響を及ぼすかを調査した。また、冷蔵庫内における接触伝染につき実験した。

1. 降雨と果実疫病の発生

果実収穫期の降雨が本病多発の主要因と考えられるので、入庫日毎の果実疫病発生率と降雨量の関係を調査した。

調査方法

青森県相馬村農業協同組合の無袋‘ふじ’を対象に、1990年11月に入庫した個々の農家の日別箱数を台帳記録から調査した。また、同じ農家の出荷時に記録された腐敗果箱数を調査した。腐敗果からの菌分離結果(*P. syringae* の占める比率80%)に基づいて入庫日毎の疫病発生率を算出した。降雨量は青森県りんご試験場(黒石市)の気象観測値を用いた。

調査結果

11月2日から20日までに入庫した箱数は13,336箱で、疫病被害果箱数は153箱(1.1%)であった。降水量は9月中旬、10月下旬、11月

上旬に多く、11月上旬は11月4日から10日まで7日間の連続降雨であった。入庫日別の疫病被害果率は11月5日から高まり、11月12日まで高かった(第6図)。連続降雨終了後の11月11、12日の被害果率もやや高かった。収穫果は2、3日以内に入庫されるので、入庫日と収穫日はほぼ一致すると考えられる。したがって、1990年の本病多発の最も大きな要因は近年稀にみる収穫期の降雨と考えられる。

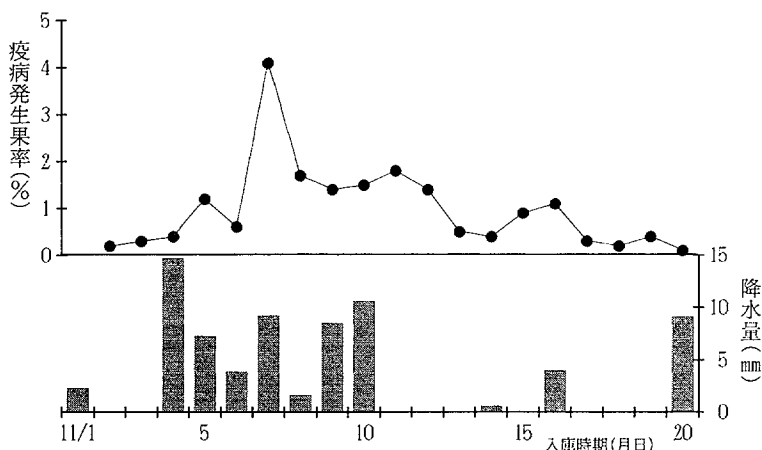
2. 反射シートの有無と病原菌密度

青森県のリンゴ生産者は果実の着色増強のため、樹冠下に反射シートを敷設することが多い。この処理が本病原菌密度を高めるか否かを明らかにするため以下の実験を行った。

実験方法

実験1.

りんご試験場内のわい化りんご園 A-7号ほ場の一列を供試して、樹列を二分し、一方の樹冠下には幅4m(片側2m)、長さ8mの範囲で反射シート(商品名：フラッシュ)を敷いた。残りの半分は被覆せず、露出区とした。被覆は1991年10月16日に実施した。両区には自記地温計を設置し、深さ5cmの位置の地温変動を調査した。反射シート敷設直前、敷設12日後、23



第6図 1990年産ふじ(無袋)の入庫日と *P. syringae* による果実疫病発生率

日後および33日後に、両区から深さ0~5cmの土壌をなるべく広範囲に採取し、混和して供試土壌とした。大きさ46×31×25cmのプラスチック容器に下記の比率で混合した泥水とリンゴ果実(品種:ふじ)20個を入れ、果実浸漬法(項目IIIの2の1)により病原菌を捕捉した。果実の病斑発生量から病原菌密度を推定した。また、対照として水道水浸漬区も設けた。

供試土壌と水道水の比率

第1回目浸漬 土壌 3.5kg : 水 5l

第2回目浸漬 土壌 2kg : 水 6l

第3回目浸漬 土壌 1kg : 水 8l

第4回目浸漬 土壌 1kg : 水 8l

実験2.

青森県森田村のリンゴ園において、反射シート(商品名:フラッシュ)を1991年9月下旬から敷設した区域と、それに隣接する露出区域から深さ0~5cmの土壌をなるべく広範囲に採取し、果実浸漬法(項目IIIの2の1)により疫病菌密度を推定した。泥水は土壌2kgに対し水道水6lの比率で作製した。調査方法及び菌の分離は実験1と同様に行った。

実験結果

実験1では試験開始直前の疫病菌密度は、反射シート敷設区が露出区より幾分高く、試験ほ場の菌密度は均一でないものと推察された。しかし、その点を考慮しても反射シート敷設後の疫病菌密度は、23日後まで敷設区が露出区を上回った。しかし、33日後には逆転した(第34表)。

水道水への果実浸漬(対照)では3回目(23日後調査)で総数1個(*P. cactorum*)発病したが、その他の調査では発病が認められなかった。菌分離の結果では、一部の病斑から*P. cactorum*も検出されたが、ほとんどの病斑から*P. syringae*が検出された。実験期間中の地温は、敷設区では日変化が小さく、露出区では日変化が大きかったが、平均地温は両区に大差が認められなかった。

実験2では反射シート敷設区の病原菌捕捉量が露出区より1.2倍高かった。発病病斑からは*P. syringae*が69%の頻度で検出された。

3. 地表の草の有無と病原菌密度

青森県のリンゴ園は樹冠下を清耕とし、樹列間を草生とするのが一般的である。そこで地表の草の有無と疫病菌密度の関係を調査した。

調査方法

青森県りんご試験場内の草生栽培ほ場2か所(A5-1、A5-3)と、それらに隣接するわい化栽培ほ場(A7-1)の樹冠下清耕域を調査の対象として、各区から深さ0~5cmの土壌をなるべく広範囲に採取し、混和して草を除き供試した。土壌2kgに水道水6lの比率で泥水を作製し、ふじの熟果を各区20個ずつ供試して上記実験(項目IVの2)と同様、果実浸漬法により病原菌密度を推定した。

調査結果

供試果実に発現した総病斑数は草生区のA5-1ほ場が111個、A5-3ほ場が217個であったの

第34表 リンゴ果実浸漬法による反射シート敷設区土壌および露出区土壌の疫病菌密度の比較

区	地表管理	泥水浸漬により発病した疫菌総病斑数(個)			
		処理前	反射シート敷設後日数(日)		
			12	23	33
A	反射シート敷設	102	222	374	131
B	露出	86	163	274	208
A/B比		1.2	1.4	1.4	0.6

注) 供試果数は各区各調査日につき20個

第35表 *P. syringae* によるリンゴ疫病被害果から健全果への貯蔵中における接触伝染

貯蔵方法	実験 1		実験 2	
	供試果数	発病果数	供試果数	発病果数
0°C、普通	17	1	20	0
5°C、普通	—	—	20	0
0°C、CA	17	0	20	0

注 1) CA 貯蔵は 0°C、酸素1.8%、二酸化炭素1.5%

2) 5°C区は 2～5°Cの範囲で変動した。

に対し、清耕区 A7-1 ほ場では348個であった。草生区 A5-1 の10病斑中 1 病斑から *P. cactorum* が検出された以外は *P. syringae* のみが検出された。

4. 冷蔵庫内における果実疫病の接触伝染

冷蔵庫内で *P. syringae* による疫病被害果から健全果に接触伝染するか否かを明らかにするため、以下の実験を行った。

実験方法

P. syringae による疫病被害果（自然発病、品種：ふじ）と健全果（品種：ふじ）をそれぞれ密着させ、新聞紙で包み貯蔵した。実験は 2 回実施し、実験 1 では1991年 5 月16日に普通冷蔵庫または CA 貯蔵庫に入れ、約 2 か月後（7 月12日）に接触伝染の有無を調査した。実験 2 では1991年11月22日から第35表の条件下で貯蔵し、0°Cおよび 5°C普通貯蔵区では翌年 3 月16日に、0°Cの CA 貯蔵区では 4 月 3 日に接触伝染の有無を調査した。発病果からは菌の分離を行い、菌種を同定した。

実験結果

実験 1 では普通冷蔵庫で接触果17個中 1 個に伝染し、病斑部からは *P. syringae* が分離された。CA 貯蔵では伝染しなかった（第35表）。

実験 2 ではいずれの貯蔵方法でも伝染しなかった（第35表）。

5. 考 察

収穫期の降雨が本病多発の大きな要因であることは英国の発生事例（UPSTONE & GUNN, 1978）からも明らかである。青森県では1989、

1990年の兩年とも 9 月の降水量が多く、10 月中・下旬以降に長雨が続いた。そのため *P. syringae* の菌密度が著しく高まったものと推察される。11月上旬は晩生種ふじの収穫適期であるが、1990年はこの間に 7 日の連続降雨があり、生産者は降雨の中で収穫せざるを得なかった。そのため、果実に地表からの保菌雨水が付着し多発したと考えられる。EDNEY (1978) は本菌遊走子が果実に付着しても 3.3°Cでは48時間以内に、15°Cでは22時間以内に乾燥すると感染率が低下すると報告したが、著者の接種実験では 15°C、6 時間後に果実を水洗しても発病を抑えることはできなかった（項目IIIの 7 の 2)）。長雨の中で収穫された果実は長時間果面が濡れているので容易に感染する。したがって、本病回避のためには降雨時や地面が濡れている条件下で収穫しないことが最も重要である。しかし、降雨時に収穫せざるを得ない場合は地表水が果実に付着しないように細心の注意を払う必要がある。

反射シートの敷設はリンゴ果実の着色増強のため、収穫の約 1 か月前に樹冠下に敷く作業で、青森県の生産者の間では一般的に実施されている。*P. syringae* の遊走子のうは暗黒下で形成促進されるので、地表を遮光することにより本菌密度が高まる可能性が考えられた。そこで、リンゴ果実を用いて baiting 法により地表遮光区と露出区の疫病菌密度を比較した。この方法による捕捉率は遊走子密度と正の相関があると考えられるので、間接的に遊走子のう密度も推定

できる。実験の結果、反射シート敷設によりやや本菌密度が高まる傾向が窺われたが顕著ではなかった。本病発生に及ぼす反射シート使用の影響についてはなお検討を要する。

著者は裸地と草生地における *P. syringae* 密度の差異を確認するためリンゴ園で比較した結果、草生地で *P. syringae* 捕捉量が少なかった。このような現象につき、HARRIS (1981) は *P. syringae* が枯死葉への寄生能力が低く、落葉後3週間経過した葉には着生しにくいことを明らかにしたうえで、園地に下草があると落葉が直ちに地面と接触しないため本菌の寄生率が低下し、土壌中の本菌密度も低下すると考察している。そのほか土壌微生物の影響も考えられる。*Phytophthora* 属菌には各種の拮抗性微生物が報告されており (DAFT & TSAO, 1984 ; SNEH et al., 1977 ; UTKHEDE & GAUNCE, 1983 ; UTKHEDE, 1984 ; WYNN & EPTON, 1979)、*P. syringae* 卵胞子も *Microdochium fusarioides* の寄生を受ける (HARRIS, 1985a, 1985b)。また、除草剤の使用は各種土壌病害の増減に関係することが知られている (ALTMAN & CAMPBELL, 1977)。リンゴ園においても長期間の草生栽培あ

るいは除草剤使用が土壌微生物相に影響し、*P. syringae* 菌密度に影響している可能性も考えられる。

本病は冷蔵庫内で発病果から健全果に伝染し (EDNEY, 1978 ; UPSTONE, 1978)、その被害拡大は大きいと報告されている (EDNEY, 1978)。著者はこの点を確認するため、発病果と健全果を密着させて貯蔵する方法により実験したが、接触伝染率は低かった。EDNEY と著者の結果が異なった原因として、供試品種および実験容器の違いが考えられる。また、本菌は果実の傷から感染しやすいので、供試果実の傷の多少が接触伝染率に影響した可能性も考えられる。英国では入庫前の薬液浸漬処理あるいは降雨時の収穫により果実が濡れたまま貯蔵され、本病多発の一因となったと EDNEY (1978) は考察している。果実収納容器の水分状態の違いにより接触伝染率が異なることも当然考えられる。

果実を一旦入庫すると選果時まで被害果を取り除くことは困難であるから、庫内での発生拡大を抑えるためには入庫前の被害果除去が重要である。

V. 防 除 法

P. syringae によるリンゴ果実疫病の防除法として、これまで主に収穫期の耕種的対策がとられてきた。これに加えて、近年は薬剤防除法の確立が望まれている。そこで、樹上果実への薬剤散布の防除効果および地表面への薬剤散布の病原菌密度低減効果を検討した。また、*P. syringae* は生育上限温度が25°Cと低いことから、感染後の果実の温湯浸漬処理による防除の可能性を検討した。

1. 果実への薬剤散布による防除

本菌は被のう胞子の発芽により植物組織に侵入するので、まず感染阻止効果の高い薬剤を見出すため、現在リンゴ防除に使用されている

各種薬剤の被のう胞子発芽阻止効果を比較検討した。次に、最も効果が高かったキャプタン剤 (オーソサイド水和剤) およびキャプタン・フォセチル水和剤 (アリエッティC水和剤) を供試し、樹上散布試験を行った。

1) 各種薬剤の *P. syringae* 被のう胞子発芽阻止効果

実験方法

実験1.

第36表に示した各種薬剤を1または10ppmとなるように添加したCV-8A平板に遊走子懸濁液(滅菌土壌滲出液に放出させ、濃度： 2×10^4 個/mlに調整)を0.02mlずつ滴下し、直径約

第36表 各種薬剤の被のう胞子発芽抑制効果

実験 No.	供 試 薬 剤	成 分 量 (ppm)	調査胞子数 (個)	発 芽 率 (%)
実 験 1	イミノクタジン酢酸塩液剤	1	200	7.5
		10	200	10.0
	キャプタン・フォセチル水和剤	1	200	1.0
		10	200	0
	フォセチル水和剤	1	200	3.5
		10	200	2.5
	キャプタン剤	1	200	0
		10	200	0
	硫酸銅	1	200	46.0
		10	200	46.5
	有機銅水和剤	1	200	24.0
		10	200	0
	無添加 (対照)	—	200	45.0
	実 験 2	キャプタン剤	0.05	200
0.1			200	22.0
0.5			200	0
無添加 (対照)		—	200	44.5

注) 数値は3反復の平均

2 cm に広げた。20°C、照明下(白色蛍光灯：1300ルクス)で4時間培養後に被のう胞子の発芽率を調査した。本実験では発芽管の長さが胞子直径の1倍以上に達した場合を発芽とみなした。

供試土壌滲出液：青森県りんご試験場C-1ほ場の黒ぼく土壌と蒸留水を重量比1対5の割合で混合し、高圧滅菌後、その上澄みを遠心分離(5000 r.p.m.)し、上清を再滅菌した。

実験2.

キャプタン成分濃度を0.05、0.1、及び0.5 ppmとなるように添加したCV-8A平板に遊走子懸濁液(土壌滲出液に放出させ、濃度： 5×10^4 個/mlに調整)を0.02 mlずつ滴下し、直径約2 cmに広げた。10°C、弱光下で16時間培養後に被のう胞子の発芽率を実験1と同様に調査した。

実験結果

実験1. 有効成分濃度1または10 ppmで被のう胞子発芽抑制効果の高かった薬剤はキャプタン剤とキャプタン・フォセチル水和剤であつ

た。次いで、フォセチル水和剤、イミノクタジン酢酸塩液剤の効果が高かった。有機銅は10 ppmで効果が認められたが、1 ppmでは効果がなかった。硫酸銅は10 ppmで効果がなかった(第36表)。

実験2. キャプタン剤は有効成分濃度0.5 ppmで被のう胞子の発芽を完全に抑制したが、0.1 ppm以下では効果がなかった(第36表)。

2) キャプタン剤またはキャプタン・フォセチル水和剤散布の果実予防効果

実験方法

青森県りんご試験場C-2ほ場のリンゴわい性台樹ふじ成木を供試し、8月22日にキャプタン剤(オーソサイド水和剤)またはキャプタン・フォセチル水和剤(アリエッティC水和剤)の各800倍液(展着剤は特性リノールを5000倍で加用)を散布した。散布後16日、30日および46日にそれぞれ各区から10個ずつ供試果を採取し、下記の方法で *P. syringae* 遊走子を接種した。ただし、散布16日後の果実では接種に失敗したので、10月4日に新たな供試樹に散布を行い、14

第37表 キャプタン剤またはキャプタン・フォセチル水和剤の果実予防効果

供試薬剤	希釈倍数 (倍)	接種か所数	発病率 (%)		
			14日後	30日後	46日後
キャプタン	800	50	2	24	40
キャプタン・フォセチル	800	50	0	38	—
無散布		50	36	40	42

日後に上記同様に接種を行った。

遊走子接種：供試果実の赤道面に *P. syringae* (KU-10 菌株) の遊走子懸濁液 (濃度： $2\sim 4\times 10^5$ 個/ml) を含ませたガーゼ (約 1cm^2) を1果あたり5か所張り付け、湿室条件のプラスチック容器に入れた。15°Cに保ち14日後まで発病率を調査した。また、発病病斑からは菌の分離を行い、病原菌を確認した。

実験結果

散布14日後の果実への接種では両薬剤とも高い効果を示した。散布30日後ではキャプタン剤がある程度の効果を示したが、キャプタン・フォセチル水和剤では効果がなかった。46日後ではキャプタン剤も効果がなかった(第37表)。発病病斑からは *P. syringae* のみが分離された。以上より、収穫前14~30日のキャプタン剤散布は *P. syringae* 果実疫病の発生防止に有効と考えられる。

2. 薬剤の地表散布による *P. syringae* 菌密度の低減

薬剤の土壌施用により疫病菌密度を低減させる方法がある。そこで、本病原菌の遊走子のうおよび卵胞子の発芽阻止効果の高い薬剤を検索し、有効と考えられたキャプタン剤のほ場散布実験を行った。

1) 各種薬剤の *P. syringae* 遊走子のう間接発芽阻止効果

実験方法

CV-8A 平板で培養した *P. syringae* の菌そうディスク (直径 5mm) を 20°C、8 日間水浸処理し遊走子のうを形成させた。前実験 (項目 V の 1) で供試した各種薬剤の 1 または 10 ppm

水溶液 50 ml に遊走子のう形成ディスクを 5°C で 4 時間浸漬後、遊走子のうの間接発芽率を調査した。本調査では内容が空の遊走子のうの間接発芽したものとみなした。なお、実験は 3 反復した。

キャプタン剤の処理をした遊走子のうが発芽能力を失うか否かを確認するため、成分 1, 10 および 100 ppm 水溶液に菌そうディスクを 5°C 4 時間浸漬した後の間接発芽率を調査してから、ディスクを蒸留水に移動してさらに 5°C、18 時間培養後の間接発芽率を調査した。ただし、本実験に供試した菌そうディスクの遊走子のうの 2% が実験開始時に間接発芽していたものと考えられた。

実験結果

遊走子のうの間接発芽阻止効果の高かった薬剤はキャプタン・フォセチル水和剤とキャプタン剤であった(第38表)。前者はキャプタンを含むので、主にその効果が発現したものと考えられる。本菌遊走子のうの発芽能力はキャプタン濃度 1~100 ppm の薬液に 5°C、4 時間浸漬することにより失われた。よって、本剤の土壌処理により *P. syringae* 菌密度を低減し得るものと考えられる。

2) 除草剤およびキャプタン剤の *P. syringae* 卵胞子発芽抑制効果

実験方法

下記の成熟卵胞子形成葉を供試し、項目 III の 5 の 3) と同様の方法で卵胞子を採取した。蒸留水で卵胞子濃度を $7\sim 10\times 10^4$ 個/ml に調製した懸濁液を、下記薬剤添加の 1.5% 素寒天培地に 0.02 ml 滴下し、直径約 2 cm に拡げた。クリ

第38表 各種薬剤の *P. syringae* 遊走子のうの間接発芽阻止効果

供 試 薬 剤	成 分 量 (ppm)	調査遊走子のう数 (個)	遊走子のう 間接発芽率 (%)
イミノクタジン酢酸塩液剤	1	223	66.1
	10	209	58.3
キャプタン・フォセチル水和剤	1	206	0.8
	10	200	0
フォセチル水和剤	1	213	83.1
	10	215	25.9
キャプタン剤	1	205	0.5
	10	200	0
硫酸銅	1	226	79.2
	10	218	8.5
有機銅水和剤	1	222	49.0
	10	231	38.8
対照 (無添加)	—	233	63.5

注) 数値は3反復の平均

ーンベンチ内で約3分間風乾後、15°C、照明下(白色蛍光灯1300ルクス)に7日間保ち、卵胞子の発芽率を鏡調査した。

供試卵胞子：1994年12月上旬にリンゴ葉を品種‘ふじ’の樹上から採取し、*P. syringae* (KU-10 菌株)の遊走子懸濁液に浸漬する方法で接種した。接種葉を15°C、温室、照明下で7か月間培養し、葉組織内に卵胞子の形成を確認後使用した。

供試薬剤

実験1. (濃度はいずれも0.1%)

ジクワット・パラコート液剤(商品名：プリグロックスL)、グリホサートイソプロピルアミン塩液剤(商品名：ポラリス)、グリホサートトリメシウム塩液剤(商品名：タッチダウン)、グルホシネート液剤(商品名：バスタ)、ピアラホス液剤(商品名：ハービー)、アシュラム液剤(商品名：アーザラン)、CAT水和剤(商品名：シマジン)

実験2. (濃度は各薬剤とも0.01、0.001、0.0001%の3段階)

ジクワット・パラコート液剤(プリグロックスL)、グリホサートイソプロピルアミン塩液剤(ポラリス)、グリホサートトリメシウム塩液剤

(タッチダウン)、ピアラホス液剤(ハービー)
実験3. (濃度は0.1、10、800 ppm)

キャプタン剤(オーソサイド水和剤)

実験結果

実験1ではジクワット・パラコート液剤、グリホサートイソプロピルアミン塩液剤、グリホサートトリメシウム塩液剤、ピアラホス液剤の各0.1%添加培地で卵胞子の発芽が完全に抑制された。実験2ではグリホサートイソプロピルアミン塩液剤とピアラホス液剤の各0.01%添加培地で高い抑制効果が認められた。実験3ではキャプタン100 ppm以上の添加培地で卵胞子の発芽は完全に抑制され、10 ppmでも高い抑制効果が認められた。以上の結果は第39表にまとめて示した。

3) キャプタン剤の地表散布による果実疫病防除

実験方法

青森県りんご試験場A7-1ほ場において、1995年10月13日にキャプタン1000 ppm水溶液(商品名：オーソサイド水和剤800倍、展着剤としてアプローチ BI 1000倍加用)を動力噴霧器を用いて地表に散布した。試験規模は1区50 m²の2反復とし、散布量は1 m²あたり0.5 l(10 a

第39表 各種薬剤の卵胞子発芽抑制効果(実験1、2、3のまとめ)

供 試 薬 剤	濃 度	卵胞子調査数	発芽率 (%)
ジクワット・パラコート液剤	0.1%	200	0
	0.01	211	35.1
	0.001	200	59.0
グリホサートイソプロピルアミン塩液剤	0.1	200	0
	0.01	200	11.5
	0.001	201	64.7
グリホサートトリメシウム塩液剤	0.1	200	0
	0.01	200	57.5
	0.001	200	64.5
ピアラホス液剤(ハービー)	0.1	200	0
	0.01	200	14.0
	0.001	200	49.5
グルホシネット液剤(バスタ)	0.1	200	3.0
アシュラム液剤(アージラン)	0.1	205	31.7
CAT水和剤(シマジン)	0.1	200	29.5
対照(実験1)	—	207	68.1
対照(実験2)	—	200	64.5
キャプタン水和剤	1ppm	203	39.4
	10	200	2.5
	100	200	0
	800	200	0
対照(実験3)	—	205	68.3

第40表 キャプタン地表面散布のりんご果実疫病防除効果

区	地表面への 薬剤散布量 (l/m ²)	1区あたり 放置果実数 (個)	総発病病斑数		疫病菌の検出病斑数	
			裸地放置	草地放置	<i>P. syri</i>	<i>P. cact</i>
1	0.5	20	1.5	0	2	1
2	1.0	20	1.5	0	3	0
3(対照)	0	20	3.5	0.5	5	3

- 注 1) 放置果実数と総発病病斑数は2反復の平均
 2) 発病病斑数は供試果20個の全病斑数
 3) *P. syri* は *P. syringae*、*P. cact* は *P. cactorum*
 4) 供試薬剤はキャプタン1000 ppm(商品名:オーソサイド水和剤、希釈倍数:800倍)

あたり500l)と1lの2区を設けた。また、対照として、無散布区を2か所設けた。

散布直前の病原菌密度を果実浸漬法(項目IIIの2の1))により調査した。その際の菌捕捉用泥水は土壌1kgに水道水3lの割合で調合し、りんご果実(ふじ)を1区あたり10個ずつ浸漬した。散布6日後の降雨時(10月19日)に各区地表の草地と裸地にふじの果実をそれぞれ20個ずつ置いた。10月23日に果実を回収した後、15°Cに保存して18日後まで発病病斑数を調査し、病

斑部からは菌の分離を行い、菌種を同定した。
 実験結果

薬剤散布直前の病原菌密度は場所によって異なり、この時期には *P. syringae* より *P. cactorum* が多かった。果実放置期間中の降水量は10月19日17.3mm、20日1.4mmであった。無処理区の総発病病斑数(2反復の平均)は裸地上放置果実では3.5個、草地上放置果実では0.5個にすぎなかった。薬剤処理区の裸地上放置果実では両区(1m²あたり0.5l処理区、1l処理区)

第41表 *P. syringae* 感染リンゴ果実の温湯処理の発病防止効果

区	温湯処理条件		接種個所数	発病個所率 (%)
	温度 (°C)	時間 (分)		
1	35	5	25	32
2	35	10	25	36
3	40	5	25	0
4	40	10	25	0
5	対照 (無処理)		25	52

とも総発病病斑数がそれぞれ平均1.5個、草地上放置果実では0個であり、顕著な効果は認められなかった。病斑部からは *P. syringae* と *P. cactorum* のいずれも検出された (第40表)。

3. 感染果実の温湯処理による発病防止

P. syringae 菌体は28°C、6日間培養で死滅する(項目IIの1の2))。そこで感染果実の温湯浸漬処理による防除の可能性を明らかにするため実験した。

実験方法

10月18日にリンゴ果実(品種：ふじ)を採取し供試した。果実の赤道面に *P. syringae* (KU-10菌株)の遊走子懸濁液(濃度： 4×10^5 個/ml)を含ませたガーゼ(約1cm²)を1果あたり5か所張り付け、温室条件のプラスチック容器に入れ、15°C、48時間培養により感染させた。その後、果実を35°Cまたは40°Cの温湯に5分または10分間浸漬した。供試果数は各区5個とした。処理後の果実は15°Cで保管し、14日後に発病調査した。発病病斑からは菌の分離を行い、病原菌を確認した。

実験結果

35°Cでは10分間の処理でも高率に発病したが、40°Cでは5分以上の処理で全く発病しなかった(第41表)。したがって、感染初期の侵入菌糸は40°C、5分で死滅すると考えられる。

4. 考 察

P. syringae によるリンゴ果実の疫病は果実に遊走子が付着して感染するので、果実に地表水が付着しないようにするなど、収穫時の注意

によって発生を大幅に軽減できる。しかし、現実には作業中収穫果を一時地面に置くことが普通で、この時に感染の危険性がある。そのため生産者からは薬剤による防除法の確立が求められている。

本病の薬剤防除法として樹上果実への薬剤散布による果実の保護または発病抑制が考えられる。これまでに *Phytophthora* 属菌に有効な薬剤としてフォセチル剤、メタラキシル剤が数多く報告されている(BIELENIN & JONES, 1988; DOSTER & BOSTOCK, 1988b; EDNEY & CHAMBERS, 1981a, 1981b; EL-HAMALAWI & MENGE, 1994; FERNANDO & LINDERMAN, 1994; TIDBALL & LINDERMAN, 1990; UTKHEDE, 1987)。 *P. syringae* にはキャプタン剤の効果が認められており(EDNEY, 1978; 牧野ら, 1992b)、スイスでは実用化されている(COVEY & HARRIS, 1990)。著者は被のう孢子に対する各種薬剤の発芽阻止効果を比較したが、キャプタン剤とキャプタン・フォセチル混合剤の効果が高かった。これらの薬剤を樹上果実に散布すると、散布14日後までは遊走子接種による感染をほぼ抑制し、キャプタン剤の場合は散布30日後でもかなりの抑制効果が認められた。農薬安全使用基準(農薬取締法の一部)によれば、本剤は収穫14日前までの使用が認められているので、樹上散布での実用性がある。しかし、9月以降のリンゴ樹では大枝に支柱を入れるためスピードプレーヤーでの薬剤散布作業が困難になること、収穫間近い早生種に薬剤がかからない

ようにしなければならないことなどの支障がある。したがって、当面は晩生種のみを対象とする手散布が実用的と思われる。

フララキシルまたはメタラキシルを *P. syringae* 感染初期のリンゴ果実に処理すると発病抑制効果があることから (EDNEY & CHAMBERS, 1981 a)、英国では収穫果の薬液浸漬処理により本病を防除した (COVEY & HARRIS, 1990)。しかし、わが国では収穫後の薬剤処理は認められていないので使用できない。

本病防除対策の一つに薬剤の地表面散布による病原菌密度の低減がある。アメリカでは灌がい水への硫酸銅添加により疫病を防除した例があるが (COVEY & HARRIS, 1990)、この方法は水質および土壌汚染の観点から日本では実用性がない。フララキシルは土壌処理で *P. syringae* 菌密度を著しく低減できるが (HARRIS, 1979 b)、その類似化合物であるメタラキシル剤は耐性菌を生み易い (CSINOS & BERTRAND, 1994 ; FERRIN & WADSWORTH, 1992 ; SUJKOWSKI et al., 1995 ; UTKHEDE & GUPTA, 1988)。したがって両剤とも土壌処理剤としては適当でないと思われる。一部除草剤は *P. cactorum* に対し生育抑制効果が認められており (UTKHEDE, 1982)、各種除草剤が土壌病害の増減に影響することが知られている (ALTMAN & CAMPBELL,

1977)。そこで、土壌汚染および耐性菌出現の心配が少ないと考えられる数種除草剤および有機殺菌剤につき、実験室内で遊走子のうまたは卵胞子の発芽抑制効果を検討した。その中で有望と考えられたキャプタン剤を実際に園地で地表面散布した結果、*P. syringae* と *P. cactorum* の菌密度低減効果が幾分認められたものの、顕著ではなかった。薬剤投下量を増やすことにより効果を高めることは可能であるが、経済面および水質汚染の面から実用性は低いと思われる。

P. syringae は28°C、6日間で死滅することから(項目IIの1の2)、果実品質に影響を与えない程度の温度処理により感染果実の発病抑制の可能性が考えられた。EDNEY & CHAMBERS (1978)は *P. syringae* が45°C10分間の温湯浸漬で死滅するとした。著者の実験では40°C、5分間の温湯浸漬で発病がみられなかった。このような結果の差異は、接種から温湯浸漬までの時間の相違により、供試果実への病原菌侵入程度が異なるために生じたものと考えられる。著者は15°C、接種48時間後に温湯処理したが、この時点では菌糸は果実表層に存在し、比較的短時間で滅菌されたものと考えられる。なお、温湯処理によって外見上の果実品質低下はみられなかったが、実用化に当たっては詳細な検討が必要である。

VI. 摘

これまでわが国で記録されたリンゴ疫病菌は、主に果実を加害する *Phytophthora cactorum* とわい性台木を加害する *P. cambivora* の2種であった。青森県では1989年以来、主として収穫期から貯蔵中にかけてリンゴ果実に腐敗をおこす新しい腐敗型のリンゴ疫病が発生している。特に1989年と1990年は被害が大きかった。そこで、本病害の病原菌を明らかにし、発生生態、発生要因の解明をすすめるとともに、防除法確立のため1991年以来一連の研究を実施

要

した。結果は以下のとおりである。

病徴および病原菌

- (1) 病徴、菌の分離・同定および分離菌の病原性

自然発病した果実病斑の典型的な病徴は、大きさ2~5 cm、円形~楕円形、輪郭不明瞭、淡黄褐色~褐色で、病斑果肉部はやや弾力を帯び褐変した。発病組織から疫病菌 *Phytophthora* 属の1種が高頻度に分離された。この分離菌は培養性状および形態から *P. syringae* (Kleb.) Kleb.

と同定された。*P. syringae* はわが国の初記録種である。本菌の遊走子による無傷接種でリンゴ果実に疫病症状が発現し、病斑部からは接種菌が再分離された。したがって、本病害は従来からわが国でリンゴ果実の疫病菌として知られている *P. cactorum* とは異なる *P. syringae* による新しい型の疫病であることが明らかとなった。

(2) リンゴ疫病菌 3 種の生育速度、果実腐敗力および果実での病徴

1) 15~25°C の範囲では *P. syringae* の生育は *P. cactorum* および *P. cambivora* に比べて遅かった。特に 25°C では *P. syringae* の生育は極めて不良であったが、*P. cactorum* と *P. cambivora* は比較的良好であった。

2) *P. syringae* は 15°C で病斑の拡大が速く、25°C ではほとんど拡大しなかった。*P. cactorum* と *P. cambivora* は 25°C で病斑の拡大が最も速かった。15°C では 3 種疫病菌による病徴の違いは明らかでなかった。

発生生態

(1) 遊走子接種法および選択培地による *P. syringae* 検出法

1) 遊走子接種には土壤滲出液を用いた遊走子放出液が適当であった。

2) 土壤からの *P. syringae* 検出には *Phytophthora* 属菌選択培地 (BNPRA-HMI) より供試土壤泥水へのリンゴ果実浸漬による捕捉法 (baiting) が有効であった。

(2) 病原菌の分布

リンゴ果実を用いた baiting 法による調査から、*P. syringae* は東北地方全域に存在することが明らかとなった。また、本菌は未耕地からも容易に検出されることから、わが国の在来菌と考えられる。本菌は火山灰土壤や沖積土壤より残積土壤で少ない傾向がみられた。また、本菌の生息土壤深度は 0~20 cm であり、表層から 10 cm まで密度が高かった。

(3) 越冬伝染源

25 種植物の生葉ディスクに *P. syringae* 遊走子を接種した結果、19 種で本菌卵胞子の形成が認められ、特にバラ科植物での形成量が多かった。*P. syringae* 遊走子接種でリンゴ果皮ディスクにも卵胞子が多数形成されたが、自然条件下で果実が土壤中の本菌密度を高める効果は葉に比較して非常に小さかった。その原因は、果実に卵胞子が形成される前に各種腐生菌によって腐敗するためと考えられる。なお、ほ場に生育した各種草本植物の根からは *P. syringae* を検出できなかった。よって、本病の主な越冬伝染源は数種植物の落葉に形成される卵胞子と考えられる。

(4) *P. syringae* に対する各種果実の感受性

1) *P. syringae* を含む泥水への果実浸漬接種でリンゴ、ニホンナシ、セイヨウナシ、ブドウ、ウンシュウミカン、カキ、キウイフルーツが発病し、病斑から本菌を再分離できた。

2) リンゴの 11 品種中、印度と国光の果実は病斑拡大が遅く抵抗性と考えられた。

(5) 病原菌の発生消長

リンゴ果実を用いた baiting 法によるリンゴ園土壤からの *P. syringae* 検出量は、4 月が極めて少なく、5~9 月は検出されず、10 月上旬から検出され、11 月に最も高まった。

一方、*P. cactorum* は 4~10 月に検出され、検出量は 6 月から 10 月上旬の間で高かった。11 月は検出されなかった。

夏期の土壤に水を加え、5~10°C 10 日以上の低温処理すると *P. syringae* を検出できた。11 月に裸地上に敷設したリンゴ葉には 10 日後から蔵卵器 (または卵胞子) が形成され、30 日後に急増した。*P. syringae* 遊走子接種葉に形成した卵胞子由来の遊走子接種によりリンゴ果実が発病し、病斑部から本菌を再分離できた。以上の結果および各種胞子の形成と発芽条件の結果から、本菌の生活環は第 7 図 (摘要の最終ページ

に添付) のようになる。

(6) 病名の提案

今回の調査で、*P. syringae* の捕捉時期は10月以降、*P. cactorum* の捕捉時期は4～10月と大きく異なることが明らかとなった。両病原菌の接種によるリンゴ果実の疫病症状は酷似するが、現場における両病害の混同を避けるため、*P. syringae* を病原とするリンゴ果実疫病を「おそ疫病」、*P. cactorum* を病原とするリンゴ果実疫病を「はや疫病」と区別し呼称することを提案する。

各種胞子および器官の形成条件と胞子の発芽条件

(1) 卵胞子の形成と成熟

P. syringae 遊走子接種リンゴ葉ディスクには5～20°Cの培養温度で32日後に本菌卵胞子が形成され、培養温度の違いによる形成量の差はなかった。光は卵胞子形成に大きな影響を与えなかった。卵胞子の発芽は遊走子接種葉ディスクの培養温度15～20°Cでは接種61日後に、10°C培養では90日後に発芽可能となった。5°C培養では189日後まで発芽しなかった。卵胞子発芽率は接種葉ディスクの培養期間が長引くほど高まり、20°C培養では90日後で83%に達した。遊走子接種葉ディスクの遮光培養により形成した卵胞子は照明培養より早期に発芽率が高まったが、最終的に差はなかった。相対湿度約40%の乾燥、あるいは25°Cの高温により成熟卵胞子は一次的に休眠した。

(2) 卵胞子の発芽

P. syringae の成熟卵胞子は5～20°Cの培養温度で発芽し、最適温度は15°Cであった。成熟卵胞子は照明下(白色蛍光灯)で良く発芽した。遮光培養では発芽率が低かったが、照明下に移動すると発芽した。発芽に好適なpHは5.0～6.2であった。

(3) 遊走子の形成と発芽

P. syringae の遊走子のうは含菌寒天ディス

クを滅菌蒸留水(または無菌土壌滲出液)に遮光下で浅く浸漬することにより多量に形成した。遊走子のうは5～20°Cの培養温度で形成し、20°Cが最適であった。遊走子のうは0～15°Cの範囲で間接発芽し、20°Cではほとんど間接発芽しなかった。

(4) 被のう胞子の発芽

P. syringae の被のう胞子は0～25°Cの範囲で発芽したが、25°Cでは発芽後、菌糸の生育は停止した。15～20°Cでは2時間後に発芽し、8時間後には発芽率が80%を越えた。

感染と発病

(1) 感染温度

P. syringae 遊走子によるリンゴ果実の感染可能温度は0～20°Cであり、感染最適温度は10°Cであった。

(2) 果実への侵入時間と侵入門戸

P. syringae 遊走子接種後の果面洗浄または表面殺菌実験から、本菌の果実組織への侵入時間は10°Cでは10時間、15°Cでは6時間と推定された。

遊走子接種果実の光顕および走査電顕観察により、本菌は15°Cでは8時間で果点組織に侵入し、侵入門戸は果点(皮目)と果皮のクチクラ層裂開部であることが明らかとなった。

(3) 潜伏期間

P. syringae 遊走子により感染したリンゴ果実における本菌潜伏期間は普通貯蔵15°Cでは6～15日、10°Cでは10～20日、5°Cでは15～35日であった。0°Cでは普通貯蔵、CA貯蔵共に40日以上であった。しかし、あらかじめ10°Cで4日間貯蔵後、0°C、CA貯蔵した場合は25日後から発病し始め、潜伏期間は最長125日に達した。

発生要因

(1) 降雨と果実疫病の発生

P. syringae によるリンゴ果実の疫病が多発した1990年は11月上旬に7日間の連続降雨があり、この期間に収穫された果実に疫病被害が激

引用文献

- 1) ALCONERO, R. and SANTIAGO, A. (1972). Characteristics of asexual sporulation in *Phytophthora palmivora* and *Phytophthora parasitica nicotianae*. *Phytopathology* 62 : 993-997.
- 2) ALTMAN, J. and CAMPBELL, C. L. (1977). Effect of herbicides on plant diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* 15 : 361-385.
- 3) AYERS, W. A. (1971). Induction of sporangia in *Phytophthora cinnamomi* by a substance from bacteria and soil. *Can. J. Microbiol.* 17 : 1517-1523.
- 4) AYERS, W. A. and ZENTMYER, G. A. (1971). Effect of soil solution and two soil *Pseudomonads* on sporangium production by *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology* 61 : 1188-1193.
- 5) BANIHASHEMI, Z. and MITCHELL, J. E. (1976). Factors affecting oospore germination in *Phytophthora cactorum*, the incitant of apple collar rot. *Phytopathology* 66 : 443-448.
- 6) BIELENIN, A. and JONES, A. L. (1988). Efficacy of sprays of fosetyl-Al and drenches of metalaxyl for the control of *Phytophthora* root and crown rot of cherry. *Plant Dis.* 72 : 477-480.
- 7) BILES, C.L., WALL, M. M., WAUGH, M. and PALMER, H. (1993). Relationship of *Phytophthora* fruit rot to fruit maturation and cuticle thickness of new Mexican-type peppers. *Phytopathology* 83 : 607-611.
- 8) BOSTOCK, R. M. and DOSTER, M. A. (1985). Association of *Phytophthora syringae* with pruning wound cankers of almond trees. *Plant Dis.* 69 : 568-571.
- 9) BRASIER, C. M. (1969 a). The effect of light and temperature on reproduction in vitro in two tropical species of *Phytophthora*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 52 : 105-113.
- 10) BRASIER, C. M. (1969 b). Formation of oospores in vivo by *Phytophthora palmivora*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 52 : 273-279.
- 11) COHEN, Y., EYAL, H. and SADON, T. (1975). Light-induced inhibition of sporangial formation of *Phytophthora infestans* on potato leaves. *Can. J. Bot.* 53 : 2680-2686.
- 12) COVEY, R. P. and HARRIS, D. C. (1990). *Phytophthora* fruit rot. In *Compendium of Apple and Pear Diseases.*, (ed. Jones, A. L. and Aldwinckle, H. S.), pp.30-31. The American Phytopathological Society, Minnesota.
- 13) CSINOS, A. S. and BERTRAND, P. F. (1994). Distribution of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* races and their sensitivity to metalaxyl in Georgia. *Plant Dis.* 78 : 471-474.
- 14) DAFT, G. C. and TSAO, P. H. (1984). Parasitism of *Phytophthora cinnamomi* and *P. parasitica* spores by *Catenaria anguillulae*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 82 : 485-490.
- 15) DOSTER, M. A. and BOSTOK, R. M. (1988 a). The effect of temperature and type of medium on oospore production by *Phytophthora syringae*. *Mycologia* 80 : 77-81.
- 16) DOSTER, M. A. and BOSTOCK, R. M. (1988 b). Chemical protection of almond pruning wounds from infection by *Phytophthora syringae*. *Plant Dis.* 72 : 492-494.
- 17) ECKERT, J. W. and TSAO, P. H. (1962). A selective antibiotic medium for isolation of

- Phytophthora* and *Pythium* from plant roots. *Phytopathology* 52 : 771-777.
- 18) EDNEY, K. L. and CHAMBERS, D. A. (1978). Diseases caused by *Phytophthora* species. Rep. E. Malling Res. Stn for 1977. pp. 83-84.
 - 19) EDNEY, K. L. (1978). The infection of apples by *Phytophthora syringae*. *Ann. appl. Biol.* 88 : 31-36.
 - 20) EDNEY, K. L. and CHAMBERS, D. A. (1981a). Post-harvest treatments for the control of *Phytophthora syringae* storage rot of apples. *Ann. appl. Biol.* 97 : 237-241.
 - 21) EDNEY, K. L. and CHAMBERS, D. A. (1981b). The use of metalaxyl to control *Phytophthora syringae* rot of apple fruits. *Plant Pathol.* 30 : 167-170.
 - 22) EL-HAMALAWI, Z. A. and MENGE, J. A. (1994). Effect of wound age and fungicide treatment of wounds on susceptibility of avocado stems to infection by *Phytophthora citricola*. *Plant Dis.* 78 : 700-704.
 - 23) ELLIOTT, C. G. (1983). Physiology of sexual reproduction in *Phytophthora*. In *Phytophthora : Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology.*, (ed. D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia & P. H. Tsao), pp. 71-80. American Phytopathological Society : St. Paul, Minnesota.
 - 24) ERWIN, D. C. and MCCORMICK, W. H. (1971). Germination of oospores produced by *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. *Mycologia* 63 : 972-977.
 - 25) FAWCETT, H. S. and KLOTZ, L. J. (1934). A procedure for inducing the production of the sporangial and swarm stages in certain species of *Phytophthora*. *Phytopathology* 24 : 693-694.
 - 26) FERNANDO, W. G. D. and LINDERMAN, R. G. (1994). Chemical control of stem and root rot of cowpea caused by *Phytophthora vignae*. *Plant Dis.* 78 : 967-971.
 - 27) FERRIN, D. M. and WADSWORTH, M. L. (1992). Effect of metalaxyl on sporulation and growth of metalaxyl-resistant and metalaxyl-sensitive isolates of *Phytophthora parasitica* in vitro. *Plant Dis.* 76 : 492-495.
 - 28) 藤田孝二 (1992). わい性台リンゴ樹紫紋羽病の生態と防除. 青森畑園試報 7 : 1-36.
 - 29) 藤田孝二・中沢憲夫・福島千男 (1992). *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb. によるリンゴ (貯蔵果実) の疫病 (新病害). 日植病報 58 : 121 (講要).
 - 30) 藤田孝二・福島千男 (1992a). リンゴ疫病菌, *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb. の遊走子の形成条件. 日植病報 58 : 559 (講要).
 - 31) 藤田孝二・福島千男 (1992b). 各種果樹の果実に対するリンゴ疫病菌 (*Phytophthora syringae*) の病原性. 北日本病虫研報 43 : 200 (講要).
 - 32) 藤田孝二 (1993). *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb. によるリンゴ果実疫病の潜伏期間と初期病徴. 日植病報 59 : 301 (講要).
 - 33) 藤田孝二・原田幸雄 (1994). リンゴ園土壌から検出されるリンゴ疫病菌、*Phytophthora syringae* と *P. cactorum* の時期的変動. 日植病報 60 : 358 (講要).
 - 34) 藤田孝二・中沢憲夫・福島千男・原田幸雄 (1994). *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb. によるリンゴ、ニホンナシおよびセイヨウナシ果実の疫病. 日植病報 60 : 717-724.
 - 35) 藤田孝二・原田幸雄 (1995). *Phytophthora syringae* のリンゴ果実への侵入時間と侵入門戸. 日植

- 病報 61 : 229 (講要).
- 36) 福島千萬男・中沢憲夫・藤田孝二 (1992). 青森県におけるリンゴ (貯蔵果実) 疫病の発生実態. 日植病報 58 : 121 (講要).
 - 37) GOODING, G. V. and LUCAS, G. B. (1959). Factors influencing sporangial formation and zoospore activity in *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Phytopathology* 49 : 277-281.
 - 38) GUBLER, F., HARDHAM, A. R. and DUNIEC, J. (1989). Characterising adhesiveness of *Phytophthora cinnamomi* zoospores during encystment. *Protoplasma* 149 : 24-30.
 - 39) HARNISH, W. N. (1965). Effect of light on production of oospores and sporangia in species of *Phytophthora*. *Mycologia* 57 : 85-90.
 - 40) HARRIS, D. C. (1979 a). The occurrence of *Phytophthora syringae* in fallen apple leaves. *Ann. appl. Biol.* 91 : 309-312.
 - 41) HARRIS, D. C. (1979 b). The suppression of *Phytophthora syringae* in orchard soil by furalaxyl as a means of controlling fruit rot of apple and pear. *Ann. appl. Biol.* 91 : 331-336.
 - 42) HARRIS, D. C. (1981). Herbicide management in apple orchards and the fruit rot caused by *Phytophthora syringae*. In *Pests, pathogen and vegetation*. (ed. Thresh, J. M.), pp.429-436., Pitman books limited, London.
 - 43) HARRIS, D. C. and COLE, D. M. (1982). Germination of *Phytophthora syringae* oospores. *Trans. Br. mycol. Soc.* 79 : 527-530.
 - 44) HARRIS, D. C. (1985 a). *Microdochium fusarioides* sp. nov. from oospores of *Phytophthora syringae*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 84 : 358-361.
 - 45) HARRIS, D. C. (1985 b). Survival of *Phytophthora syringae* oospores in and on apple orchard soil. *Trans. Br. mycol. Soc.* 85 : 153-155.
 - 46) HARRIS, D. C. (1985 c). The colonization of fallen apple leaves by *Phytophthora syringae* in relation to inoculum levels in orchard soil. *Ann. appl. Biol.* 107 : 179-188.
 - 47) HARRIS, D. C. (1986). Methods for preparing, estimating and diluting suspensions of *Phytophthora cactorum* zoospores. *Trans. Br. mycol. Soc.* 86 : 482-486.
 - 48) HARRIS, D. C. (1989). The significance of apple tree tissues for regeneration of *Phytophthora cactorum* in apple orchards. *J. Hort. Sci.* 64 : 389-393.
 - 49) HARRIS, D. C. (1991). The *Phytophthora* diseases of apple. *J. Hort. Sci.* 66 : 513-544.
 - 50) 波多江久吉・斉藤康司 (1977). 青森県りんご百年史, 青森県りんご百年記念事業会.
 - 51) 広間勝巳・尾沢 賢 (1989). *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet. によるわい性台リンゴ樹の疫病. 長野果樹試報 2 : 19-24.
 - 52) JEFFERS, S. N. and MARTIN, S. B. (1986). Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Dis.* 70 : 1038-1043.
 - 53) JEFFERS, S. N. and WILCOX, W. F. (1990). *Phytophthora* crown, collar, and root rots. In *Compendium of Apple and Pear Diseases*, (ed. Jones, A.L. and Aldwinckle, H.S.), pp.43-45. The American Phytopathological Society, Minnesota.
 - 54) 桂 琦一・奥野健治 (1967). *Phytophthora capsici* Leonian 菌の被のう胞子の発芽過程における

核現象. 京都府立大学報 19 : 17-22.

- 55) 桂 琦一 (1971). 植物の疫病 一理論と実際一, 誠文堂新光社, 東京.
- 56) KAVANAGH, J. A., O'MALLEY, M. and SIMMONDS, A. (1969). Some observations on the rotting of apple fruits by *Phytophthora syringae* Kleb.. Ir. J. Agric. Res. 8 : 439-441.
- 57) KENNEDY, B. W. and ERWIN, D. C. (1961). Some factors influencing sporangium formation of a *Phytophthora* species isolated from lucerne in certain salt solutions. Trans. Br. mycol. Soc. 44 : 291-297.
- 58) KHEW, K. L. and ZENTMYER, G.A. (1973). Chemotactic response of zoospores of five species of *Phytophthora*. Phytopathology 63 : 1511-1517.
- 59) 君島悦夫 (1985). わが国が侵入を恐れている果樹病害 (7) ファイトフトラ・シリングによる果樹類の疫病. 果実日本 40(2) : 74-77.
- 60) KIMISHIMA, E. and MIYAJIMA, S. (1993). Detection of *Phytophthora citrophthora* and *P. syringae* from orange fruit by serological methods. Res. Bull. Plant Prot. Japan 29 : 37-44.
- 61) KLISIEWICZ, J. M. (1970). Factors affecting production and germination of oospores of *Phytophthora drechsleri*. Phytopathology 60 : 1738-1742.
- 62) 小林享夫・勝本 謙・我孫子和雄・阿部恭久・柿島 真 (1992). 植物病原菌類図説, 全国農村教育協会, 東京.
- 63) MACDONALD, J. D., ALI-SHTAYEH, M.S., KABASHIMA, J. and STITES, J. (1994). Occurrence of *Phytophthora* species in recirculated nursery irrigation effluents. Plant Dis. 78 : 607-611.
- 64) 牧野丈太郎・藤田孝二・福島千男 (1992 a). 1991年台風第19号による落果リンゴの腐敗発生状況. 東北農業研究 45 : 185-186.
- 65) 牧野丈太郎・藤田孝二・福島千男 (1992 b). リンゴ疫病菌 (*Phytophthora syringae*) に対する有効薬剤の検索. 北日本病虫研報 43 : 200 (講要).
- 66) 正子 朔・桂 琦一 (1970). *Pseudomonas* sp.による *Phytophthora capsici* Leon. の遊走子のう形成刺激. 京都府立大学報 22 : 17-26.
- 67) MASAGO, H., YOSHIKAWA, M., FUKADA, M. and NAKANISHI, N. (1977). Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. Phytopathology 67 : 425-428.
- 68) 松坂泰明ほか (1994). 土壌・植物栄養・環境事典, 博友社, 東京.
- 69) MCCracken, A. R. (1985). The isolation of *Phytophthora* species from apple orchard soils. Record of Agricultural Research 33 : 31-36.
- 70) McINTOSH, D. L. (1966). The occurrence of *Phytophthora* spp. in irrigation systems in British Columbia. Can. J. Bot. 44 : 1591-1596.
- 71) McKEE, R. K. (1964). Observations on infection by *Phytophthora infestans*. Trans. Br. mycol. Soc. 47 : 365-374.
- 72) MERWIN, I. A., WILCOX, W. F., and STILES, W. C. (1992). Influence of orchard ground cover management on the development of *Phytophthora* crown and root rots of apple. Plant Dis. 76 : 199-205.

- 73) MILLER, C. R., DOWLER, W. M., PETERSEN, D. H. and ASHWORTH, R. P. (1966). Observations on the mode of infection of *Pythium ultimum* and *Phytophthora cactorum* on young roots of peach. *Phytopathology* 56 : 46-49.
- 74) 中沢憲夫・福島千男・長内敬明 (1985). リンゴわい性台木の疫病・発生実態と病原菌について. 青森りんご試報 22 : 21-35.
- 75) 成田春蔵・相馬盛雄・加藤 正・櫻田 哲・今 智之・岩谷 齊 (1987). リンゴ園における重金属塩類の蓄積とその影響. 青森りんご試報 24 : 49-82.
- 76) RIBEIRO, O. K., ERWIN, D. C. and ZENTMYER, G. A. (1975). An improved synthetic medium for oospore production and germination of several *Phytophthora* species. *Mycologia* 67 : 1012-1019.
- 77) RIBEIRO, O. K. (1983). Physiology of asexual sporulation and spore germination in *Phytophthora*. In *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology.*, (ed. D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia & P.H. Tsao), pp. 55-70. American Phytopathological Society : St. Paul, Minnesota.
- 78) SEWELL, G. W. F. and WILSON, J. F. (1964). Death of maiden apple trees caused by *Phytophthora syringae* Kleb. and a comparison of the pathogen with *P. cactorum* (L.& C.) Schroet. *Ann. appl. Biol.* 53 : 275-280.
- 79) SEWELL, G. W. F. and WILSON, J. F. (1973 a). *Phytophthora collar rot of apple : seasonal effects on infection and disease development.* *Ann. appl. Biol.* 74 : 149-158.
- 80) SEWELL, G. W. F. and WILSON, J. F. (1973 b). *Phytophthora collar rot of apple : influence of the rootstock on scion variety resistance.* *Ann. appl. Biol.* 74 : 159-169.
- 81) SEWELL, G. W. F., WILSON, J. F. and DAKWA, J. T. (1974). Seasonal variations in the activity in soil of *Phytophthora cactorum*, *P. syringae* and *P. citricola* in relation to collar rot disease of apple. *Ann. appl. Biol.* 76 : 179-186.
- 82) SING, V. O. and BARTNICKI-GARCIA, S. (1972). Adhesion of zoospores of *Phytophthora palmivora* to solid surfaces. *Phytopathology* 62 : 790.
- 83) SNEH, B. and MCINTOSH, D. L. (1974). Studies on the behavior and survival of *Phytophthora cactorum* in soil. *Can. J. Bot.* 52 : 795-802.
- 84) SNEH, B., HUMBLE, S. J. and LOCKWOOD, J. L. (1977). Parasitism of oospores of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*, *P. cactorum*, *Pythium* sp., and *Aphanomyces euteiches* in soil by oomycetes, chytridiomycetes, hyphomycetes, actinomycetes, and bacteria. *Phytopathology* 67 : 622-628.
- 85) 相馬盛雄・成田春蔵・加藤 正 (1987). 青森県のリンゴ園土壌, 青森県りんご協会, 弘前.
- 86) STAMPS, D. J., WATERHOUSE, G. M., NEWHOOK, F. J. and HALL, G. S. (1990). Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. *Mycological Papers* No.162, CMI, Kew, pp.1-28.
- 87) SUJKOWSKI, L. S., FRY, B. A., POWER, R. J., GOODWIN, S. B., PEEVER, T. L., HAMLEN, R. A. and FRY, W. E. (1995). Sensitivities of Mexican isolates of *Phytophthora infestans* to chlorothalonil, cymoxanil, and metalaxyl. *Plant Dis.* 79 : 1117-1120.

- 88) SUZUI, T. and HOSHINO, Y. (1979). Collar rot of apple caused by *Phytophthora cambivora* (Petri) Buism.. Ann. Phytopath. Soc. Japan 45 : 344-352.
- 89) 田中弥平・鈴木宣建・杉木 隆 (1976). リンゴ園の水害後における腐敗果の発生について. 北日本病虫研報 27 : 76.
- 90) TIDBALL, C. J. and LINDERMAN, R. G. (1990). *Phytophthora* root and stem rot of apple rootstocks from stool beds. Plant Dis. 74 : 141-146.
- 91) TROWELL, G. F. (1971). Weather conditions from 1st october 1969 to 30th september 1970. Rep. E. Malling Res. Stn for 1970. pp.137-139.
- 92) TSAO, P. H. and OCANA, G. (1969). Selective isolation of species of *Phytophthora* from natural soils on an improved antibiotic medium. Nature 223 : 636-638.
- 93) TSAO, P. H. (1970). Selective media for isolation of pathogenic fungi. Ann. Rev. Phytopathol. 8 : 157-186.
- 94) TSAO, P. H. (1983). Factors affecting isolation and quantitation of *Phytophthora* from soil. In *Phytophthora : Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology.*, (ed. D. C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia & P. H. Tsao), pp.219-236. American Phytopathological Society : St. Paul, Minnesota.
- 95) UPSTONE, M. E. (1978). *Phytophthora syringae* fruit rot of apples. Plant Pathol. 27 : 24-30.
- 96) UPSTONE, M. E. and GUNN, E. (1978). Rainfall and the occurrence of *Phytophthora syringae* fruit rot of apples in Kent 1973-75. Plant Pathol. 27 : 30-35.
- 97) UTKHEDE, R. S. (1982). Effects of six herbicides on the growth of *Phytophthora cactorum* and a bacterial antagonist. Pestic. Sci. 13 : 693-695.
- 98) UTKHEDE, R. S. and GAUNCE, A. P. (1983). Inhibition of *Phytophthora cactorum* by a bacterial antagonist. Can. J. Bot. 61 : 3343-3348.
- 99) UTKHEDE, R. S. (1984). Antagonism of isolates of *Bacillus subtilis* to *Phytophthora cactorum*. Can. J. Bot. 62 : 1032-1035.
- 100) UTKHEDE, R. S. (1987). Chemical and biological control of crown and root rot of apple caused by *Phytophthora cactorum*. Can. J. Plant Pathol. 9 : 295-300.
- 101) UTKHEDE, R. S. and GUPTA, V. K. (1988). In vitro selection of strains of *Phytophthora cactorum* resistant to metalaxyl. J. Phytopathol. 122 : 35-44.
- 102) UTKHEDE, R. S. and QUAMME, H. A. (1988). Use of the excised shoot assay to evaluate resistance to *Phytophthora cactorum* of apple rootstock cultivars. Can. J. Plant Sci. 68 : 851-857.
- 103) WATERHOUSE, G. M. and WATERSTON, J. M. (1964). *Phytophthora syringae*. C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 32
- 104) WATERHOUSE, G. M. (1970). The Genus *Phytophthora* de Bary. Mycological Papers No. 122, CMI, Kew, pp. 48-49.
- 105) WATKINS, R. and WERTS, J. M. (1971). Pre-selection for *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet. resistance in apple seedlings. Ann. appl. Biol. 67 : 153-156.

- 106) WYNN, A. R. and EPTON, H. A. S. (1979). Parasitism of oospores of *Phytophthora erythroseptica* in soil. Trans. Br. mycol. Soc. 73 : 255-259.
- 107) 柳瀬春夫・佐久間 勉 (1979). 疫病菌によるリンゴ及びセイヨウナシの幼果腐敗について. 果樹試報 C 6 : 105-119.

Studies on the Ecology and Control of *Phytophthora* Fruit Rot of Apple Caused by *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb.

Koji FUJITA

Aomori Apple Experiment Station
Kuroishi, Aomori 036-03, Japan

Summary

During the years 1989-90 and 1990-91, Aomori Prefecture, Japan, suffered unusual outbreaks of fruit rot disease with severe losses in stored apples (*Malus pumila* Miller var. *domestica* Schneider). A *Phytophthora* sp. was isolated from the rotted fruits as the causal fungus. The fungus was obviously distinct from either *P. cactorum* or *P. cambivora*, which had been recorded as pathogens affecting the fruits and rootstocks of apples, respectively. Since 1991, the author and his colleagues have been conducting a series of studies on the disease at Aomori Apple Experiment Station. This paper describes the results of studies so far obtained, with emphasis on the etiology, epidemiology and control measures of the disease.

1. Symptoms and causal fungus

(1) Symptoms

The typical symptom of naturally infected apples appears as light brown or brown, circular or oval lesions 2-5 cm in diameter (Plate I -1, 2, 3, 4). The edge of a lesion is unclear. The damaged flesh remains firm with a brown color (Plate I -4).

(2) Causal fungus

A *Phytophthora* sp. was isolated from the rotted fruits. Based on morphological and cultural characteristics (Fig. 1, Table 3, Plate IV), the fungus was identified as *Phytophthora syringae* (Kleb.) Kleb. This is the first record of the fungus in Japan. Zoospore inoculation of the fungus reproduced the same symptoms on unwounded apples (Plate II -1, 6), from which *P. syringae* was easily reisolated. The results demonstrated that *P. syringae* is responsible for the fruit rot in apples.

(3) Comparison of growth characteristics and pathogenicity of three species of *Phytophthora* occurring in apples or apple trees in Japan

P. syringae and *P. cactorum*, which are causal fungi of *Phytophthora* fruit rot in apples, were compared with root-rotting *P. cambivora* in order to clarify the differences in their growth

characteristics, pathogenicity and the symptoms they produce in apples.

1) On CV-8A (195g V-8 juice and 2g CaCO₃ mixture was clarified by centrifugation. The supernatant was diluted to 1000ml with distilled water, and 20g agar was added), *P. syringae* grew more slowly than either *P. cactorum* or *P. cambivora* at temperatures between 15-25°C. Furthermore, *P. syringae* scarcely grew at all at 25°C, in contrast to considerable growth of *P. cactorum* and *P. cambivora* at that temperature (Fig. 2).

2) *P. syringae* caused rapid rotting in apples at 15°C, but only slight rotting at 25°C. On the other hand, *P. cactorum* and *P. cambivora* rotted apples most rapidly at 25°C. The symptoms produced in rotted fruits at 15°C by these three *Phytophthora* spp. were very similar, and it was difficult to distinguish them (Plate II-2, 3).

2. Epidemiology

(1) Techniques for zoospore inoculation and detection of *P. syringae* from soils

1) In preparing zoospore suspension as inocula, soil extract (soil 1 kg, distilled water 5 l, autoclaved) is more preferable than distilled water for the release of zoospores and infection of apples.

2) A baiting method using apple fruits (Plate II-4, 5) was very useful in isolating *P. syringae* from orchard soils. The selective medium BNPR-HMI (Masago et al., 1977) proved not so effective in this case.

(2) Distribution of the causal fungus

1) A field survey using an apple fruit baiting method showed that *P. syringae* is widely distributed in the Tohoku district, not only in orchard soils but also in the soils of uncultivated land. It appears that the fungus was not recently introduced but was native to Japan.

2) The population density of the fungus was apparently low in residual soil, compared with that in volcanic ash soil and alluvial soil.

3) *P. syringae* was detected most frequently in soil ranging from 0 to 10 cm in depth, though it inhabited soil as deep as 20 cm from the surface.

(3) Overwintering of the fungus

1) Leaf disks (11 mm in diameter) of 25 plants species were inoculated with *P. syringae* zoospores to ascertain whether or not oospores of the fungus could be produced in the leaf tissues. Nineteen species including both herbaceous and woody plants supported the formation of *P. syringae* oospores in their leaf disks. Generally, species in the Rosaceae (for example, *Pyrus communis* var. *sativa*, *Malus pumila* var. *domestica*, *Sorbus commixta* and *Rosa* sp.) were more suitable for oospore production than other species (Plate V-3).

2) Although abundant oospores were produced in inoculated apple peels (Plate V-2), naturally affected apples did not produce an apparent increase in population of the fungus in the soil, when they were mixed with the soil. This is because the affected fruits may rapidly rot and disintegrate

through the action of microorganisms in the soil.

3) *P. syringae* was not isolated from roots of herbaceous plants growing on the ground of orchards where the soil was infested with the fungus.

From these results, the principal overwintering organ of the fungus was considered to be oospores which were produced in tissues of fallen leaves of susceptible plant species.

(4) The susceptibility of various kinds of fruits to *P. syringae*

1) Apples, Japanese pears, European pears, grapes, mandarin oranges, persimmons and kiwi fruit were affected with *P. syringae* zoospores, showing typical Phytophthora rot, after they were immersed in infested muddy water for 48 hr at 10°C (Plate III-1, 2, 3).

2) Among 11 cultivars of apple, Indo and Kokko (Ralls Janet) appeared somewhat resistant to the fungus because of slow development of fruit rot, compared to the others.

(5) Seasonal variation in inoculum density of *P. syringae* and *P. cactorum* in apple orchard soils

Inoculum density of *P. syringae* and *P. cactorum* in orchard soils was periodically surveyed by means of a baiting method using apples.

P. syringae was isolated rarely in April, while not at all through May to September. Isolation rates of *P. syringae* rapidly increased between October and November, attaining a maximum in November. In contrast, *P. cactorum* was isolated between April to October, attaining the highest rate from June to early October. No *P. cactorum* was isolated in November (Fig. 3).

Although *P. syringae* was never detected in soils collected during the summer season, it was possible to detect the fungus when muddy water was made from the soil and chilled at 5 or 10°C for more than 10 days prior to isolation.

(6) Oospore formation of *P. syringae* in apple leaves placed on infested orchard soil

Newly detached apple leaves were placed on the ground in an infested apple orchard to determine the period for *P. syringae* oospore production.

1) The oospores were first produced within the leaf tissue 10 days after the leaves being placed, with a remarkable increase in number after 30 days.

2) In inoculation test, zoospores released from sporangia which were formed from germinated oospores in the leaf tissue, showed pathogenicity in apples (Plate II-6). *P. syringae* was reisolated from the inoculated fruits.

Based on the ecological and physiological characteristics of *P. syringae* so far clarified, the life cycle of the fungus in an apple orchard is illustrated in Fig. 7. (P. 105)

(7) Distinction of two Phytophthora rots on apple fruit

For the convenience of extension work, particularly field surveys, the author has proposed the names 'Oso-Ekibyō' (late Phytophthora rot) for the apple fruit rot caused by *P. syringae*, and 'Haya-Ekibyō' (early Phytophthora rot) for that caused by *P. cactorum*. This distinction will be useful to clarify the species of fungi involved in these fruit rots.

3. Sporulation and spore germination

(1) Oospore formation and its maturity

Apple leaf disks 11 mm in diameter were inoculated with *P. syringae* zoospores. They were incubated under various environmental conditions to investigate the effects of temperature, light, humidity and time on the formation of oospore and its maturity. In these experiments, the author regarded oospores as matured when they could germinate on water agar within 10 days at 15°C (Plate V-4, 5, 6).

1) Oospores were abundantly produced in inoculated apple leaf disks which were incubated for 32 days in humid conditions with fluorescent lighting, at the temperatures ranging from 5 to 20°C.

2) Fluorescent light (about 1300 luxes) during the incubation period scarcely affected the number of oospores in leaf disks.

3) Some of the oospores matured in 61 and 90 day incubations at 15-20°C and 10°C, respectively. Then, the ratio of matured oospores steadily increased with incubation time. At 5°C, however, none of the oospores matured even in 189 day incubation. About 80% of the oospores were able to germinate when they were harvested from the leaf disks which had been incubated for 90 days at 20°C.

4) Incubation of leaf disks in darkness was more favorable for the maturation of oospores, especially in the early period of incubation.

5) Dry air condition (about 40% relative humidity) or high temperature (25°C) during incubation made the oospores in the leaf disks fall into temporary dormancy.

(2) Germination of mature oospores

1) Mature oospores could germinate at temperatures ranging from 5 to 20°C, with the optimum being 15°C.

2) Fluorescent light (about 1300 luxes) exerted a promoting effect on germination of oospores on water agar. The oospores which failed to germinate in darkness could germinate normally when they were transferred to an illuminated environment.

3) Most favorable hydrogen ion concentrations for oospore germination were between pH 5.0 and pH 6.2.

(3) Sporangial formation and its germination

1) Abundant sporangia were produced in mycelial agar disks which were partially immersed in sterilized distilled water or in sterilized soil extract (100 g soil, 500 ml distilled water; milipore-filtered or autoclaved) at temperatures between 15-20°C in darkness (Plate VI-3).

2) Favorable temperatures for sporangial production ranged from 5 to 20°C, with the optimum being 20°C.

3) Indirect germination (zoospore release) of sporangia occurred at temperatures between 0 and 15°C, but hardly at all 20°C.

(4) Cystospore germination

Cystospores were able to germinate at temperatures between 0–25°C, with the optimum being 15–20°C (Plate VI-2), but failed to germinate at 30°C. At 15°C and at 20°C cystospores started to germinate in two hours, and more than 80% of the cystospores germinated in eight hours. The germ tube attained a length of 50 μ m or more in 6 hr at 15–20°C. Further growth of germ tubes was markedly suppressed at 25°C.

4. Infection and disease development

(1) Temperature for infection

The temperature for zoospore infection of apples ranged from 0 to 20°C, with the optimum being 10°C.

(2) Infection of apples with *P. syringae* zoospore

The fungus invaded the apple tissue through lenticels in 8 hr at 15°C, when inoculated with zoospores. Under light microscope and scanning electron microscope, it was observed that the fungus could penetrate the fruit tissue through cracks in the cuticle, as well as through lenticels (Plate VII).

(3) The incubation period

Storage tests of apples which were just infected and stored at various temperatures showed that the incubation periods of the phytophthora rot were 6–15, 10–20 and 15–35 days under regular storage at 15, 10 and 5°C, respectively (Fig. 4).

Initial lesions appeared in 40 days in both regular and controlled atmosphere (CA ; CO₂ : 1.0 %, O₂ : 1.8%) storage at 0°C. The incubation period was 25–125 days when inoculated apples were subjected to a prestorage of 4 days at 10°C before being transferred to a CA storage at 0°C (Fig. 5).

5. Factors affecting disease occurrence

(1) Weather conditions

In the growing season of 1990, apple fruit rot caused by *P. syringae* was most prevalent in fruit harvested between of 5 Nov.-12 Nov. Rainfall continued for 7 days from 4 Nov. to 10 Nov (Fig. 6). These circumstances indicate that harvesting apples in wet weather is most responsible for the occurrence of the disease.

(2) Ground surface management

In Aomori, apple growers generally use reflective plastic sheets to make the fruit perfectly red (Plate VI-5). They spread sheets under the apple trees one month before harvest. It seems necessary to investigate whether or not such sheets have any effect on the occurrence of the disease.

1) The population of the fungus in the soil was not increased by the use of such films.

2) In apple orchards, *P. syringae* was more frequently isolated in soils from bare ground, compared with isolations from soils on grassy ground.

These results suggest that covering the soil with plastic sheets has little effect on the occurrence of the disease.

(3) The possibility of infection of sound fruit in contact with diseased ones in storage

It was very rare that sound apples were infected with the fungus when they were stored at 0°C in contact with diseased ones in a wooden box.

6. Disease control

(1) Cultural practices

1) The primary inocula for apple infection in orchards are zoospores of *P. syringae* (Plate VI-1), which are released in rain drops or in free water on the ground when the temperature falls below 15°C. Therefore, it is very important to harvest apples in dry weather. If growers have to harvest on rainy days, they should keep the harvested fruits from touching the soil or being splashed with water from the soil.

2) Infected fruits, if any, would show visible symptoms of rot and could easily be removed when harvested fruits are stored for 20 days at temperatures between 10 and 15°C.

(2) Chemical sprays for controlling fruit rots by *P. syringae*

Cystospores of *P. syringae* failed to germinate on V-8 juice agar plate with 0.5 ppm of captan.

Spraying captan (1000 ppm) on apples on the tree was effective against infection with *P. syringae* zoospore for about one month.

(3) Chemical spray on the ground for suppressing *P. syringae* population

Indirect germination of sporangia was completely inhibited when they were immersed in captan solution (1 ppm) for 4 hr at 5°C. Also, water agar with 10 ppm of captan strongly suppressed the germination of oospores which were spread on the agar surface.

However, a spray of captan solution (1000 ppm) on the ground surface had little effect on the population of *P. syringae* and *P. cactorum* in the orchard soil.

(4) Hot water treatment of infected apples

In this experiment, apples were experimentally infected with *P. syringae* zoospores by incubating the inoculated fruits for 48 hr at 15°C.

Hot water treatment (40°C, 5 min. or more) of such inoculated apples completely prevented the development of fruit rot when stored at 15°C for 14 days after the treatment.

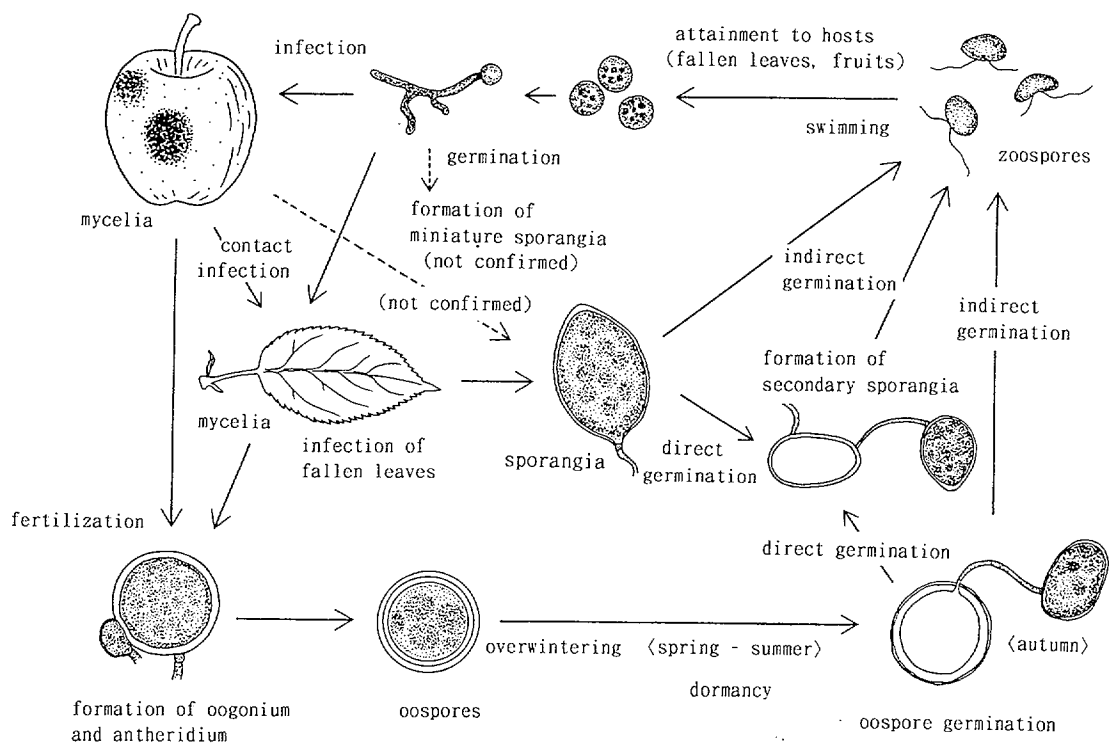


Fig. 7. Illustration of the life cycle of *Phytophthora syringae* in apple orchards

図版説明

図版Ⅰ *Phytophthora syringae* によるリンゴ果実疫病の自然発病の病徴

- 1, 2. 品種：ふじ
3. 品種：王林
4. 品種：陸奥
5. 0°C、普通冷蔵5か月後の被害果 品種：ふじ
6. 発病初期の果肉の水浸状病斑 品種：ふじ

図版Ⅱ リンゴ疫病菌 (*Phytophthora*) の接種により発現したリンゴ果実の病徴

1. *P. syringae* (S-040 菌株) の遊走子接種による‘ふじ’未熟果の発病 (15°C 11日後)
2. *P. cactorum* (PM-1 菌株：左) と *P. syringae* (S-040 菌株：右) の菌体有傷接種による病徴比較 (15°C 9日後)
3. *P. cactorum* (PM-1 菌株：左) と *P. cambivora* (AP-3 菌株：右) の菌体有傷接種による病徴比較 (15°C 9日後)
4. 泥水へのリンゴ果実浸漬による疫病菌の捕捉 (baiting)
5. baiting により発生したリンゴ果実 (品種：ふじ) の疫病病斑 (菌の分離で *P. syringae* であることが確認された)
6. *P. syringae* (KU-10 菌株) 卵孢子由来の遊走子接種で発病した病斑 品種：ふじ

図版Ⅲ 接種により発現した各種果樹の果実疫病 (*Phytophthora syringae*) の病徴

1. 泥水浸漬により発病したカキの *P. syringae* 疫病の病徴
2. 泥水浸漬により発病したウンシュウミカンの *P. syringae* 疫病の病徴
3. 泥水浸漬により発病したキウイフルーツの *P. syringae* 疫病の病徴
4. 含菌寒天ディスク (*P. syringae* KU-10 菌株) の有傷接種によるネクタリンの病徴
5. 含菌寒天ディスク (*P. syringae* KU-10 菌株) の有傷接種によるモモの病徴

図版Ⅳ 病原菌 *Phytophthora syringae* の形態

1. V8 ジュース寒天 (CV-8A) 平板上の *P. syringae* (KU-10 菌株) の菌そう
2. リンゴの疫病菌3種 *P. syringae* (左)、*P. cactorum* (中央) および *P. cambivora* (右) の CV-8A での培養菌そう比較
3. *P. syringae* の CV-8A 培養菌体の蒸留水浸漬による菌糸膨潤 (20°C 1日後)
4. *P. syringae* (KU-10 菌株) の蔵卵器 (O) と蔵精子器 (A)
5. *P. syringae* (S-040 菌株) の遊走子のう
6. *P. syringae* (KU-10 菌株) の遊走子のう内に形成した遊走子

図版Ⅴ *Phytophthora syringae* 卵孢子的形成と発芽

1. *P. syringae* (KU-10 菌株) の遊走子接種により形成したリンゴ葉内の卵孢子

2. *P. syringae* (KU-10 菌株) の遊走子接種により形成したリンゴ果皮内の卵胞子
3. *P. syringae* (KU-10 菌株) の遊走子接種により形成したバラ葉内の卵胞子
4. *P. syringae* (KU-10 菌株) の卵胞子発芽 (15°C、照明下、3日後)
5. *P. syringae* (KU-10 菌株) の卵胞子発芽 (15°C、照明下、5日後)
6. *P. syringae* (KU-10 菌株) 卵胞子から生じた遊走子のうの直接発芽により形成した二次遊走子のう (20°C、照明下、10日後)

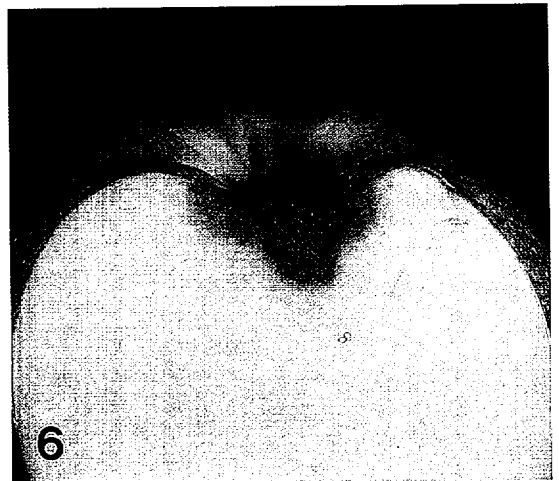
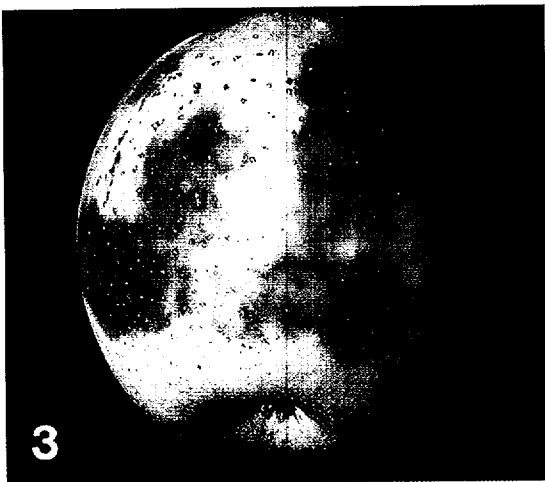
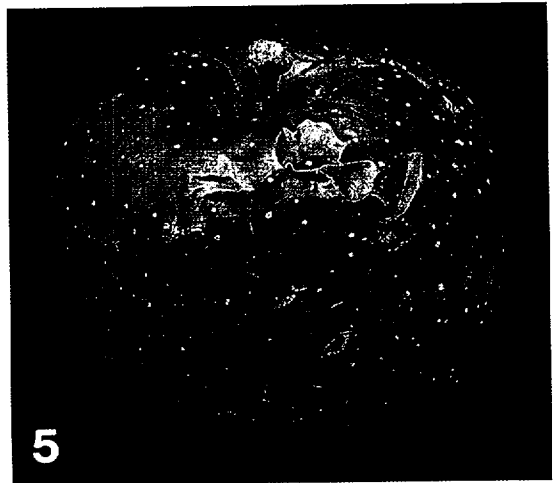
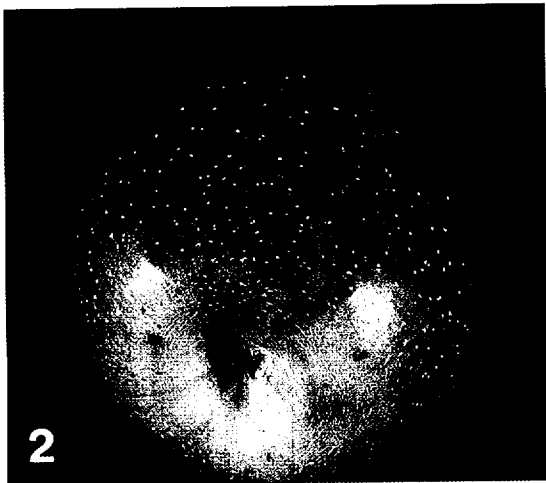
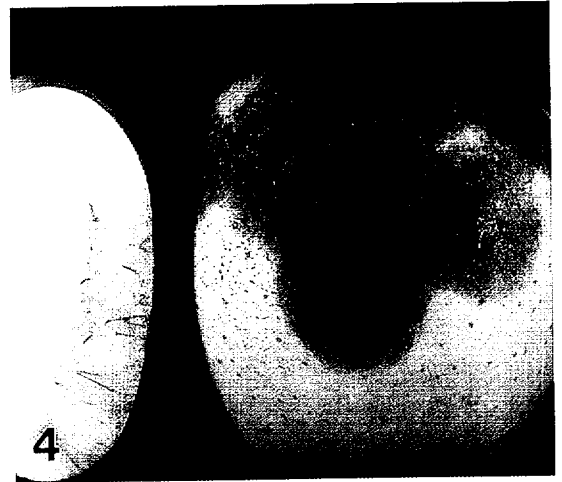
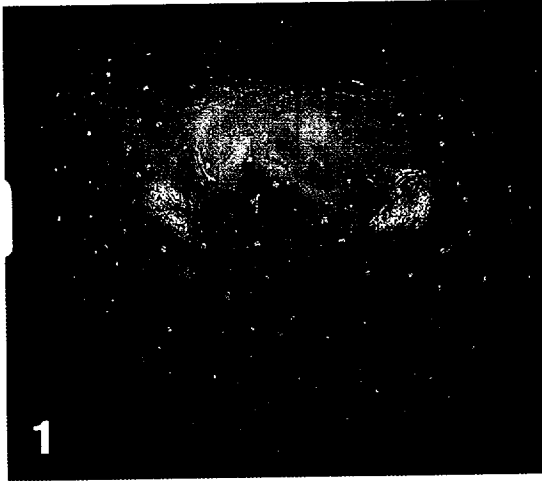
図版VI 被のう胞子の発芽実験、遊走子のうの形成実験、反射シートの敷設実験

1. *P. syringae* (KU-10 菌株) の遊走子 (アニリンブルー染色) FL: 鞭毛
2. *P. syringae* (KU-10 菌株) の被のう胞子の発芽 (CV-8A上、20°C、8時間後: アニリンブルー染色) CS: 内容物が空になった被のう胞子 GT: 発芽管
3. *P. syringae* (KU-10 菌株) 含菌寒天ディスクを蒸留水に浸漬処理 (菌そう面が気中に露出するように) し、暗黒下、20°C、3日間培養後に多量形成した遊走子のう
4. *P. syringae* (KU-10 菌株) 含菌寒天ディスクを蒸留水に完全浸漬し、照明下、20°C、3日間培養後の遊走子のう形成状況 (形成量は極めて少ない)
5. リンゴ果実の着色増強のため樹冠下に敷設する反射シート

図版VII *Phytophthora syringae* の果実侵入過程 (1, 2は光顕写真、3, 4, 5は走査電顕写真)

1. 果点上の被のう胞子 (CS) (15°C、4時間後)
2. 果皮クチクラ層裂開部からの侵入 (15°C、8時間後) CS: 被のう胞子 GT: 発芽管
3. 果点上に集合した被のう胞子 (15°C、6時間後)
4. 果皮クチクラ層裂開部 (CR) に集合した被のう胞子 (15°C、6時間後)
5. 果皮クチクラ層裂開部に伸展する被のう胞子の発芽管 (15°C、6時間後)

図版 I



図版 II

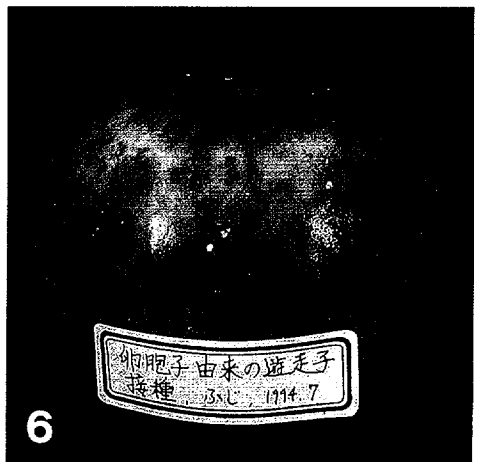
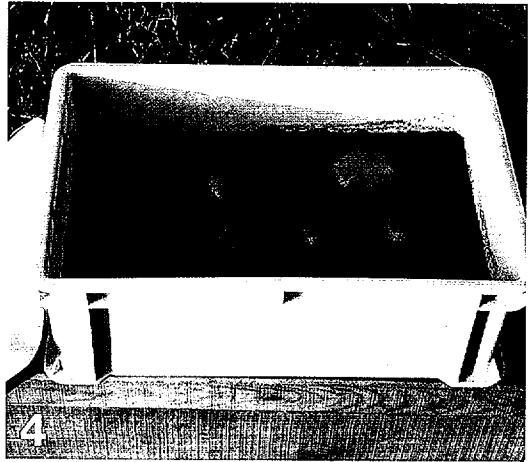
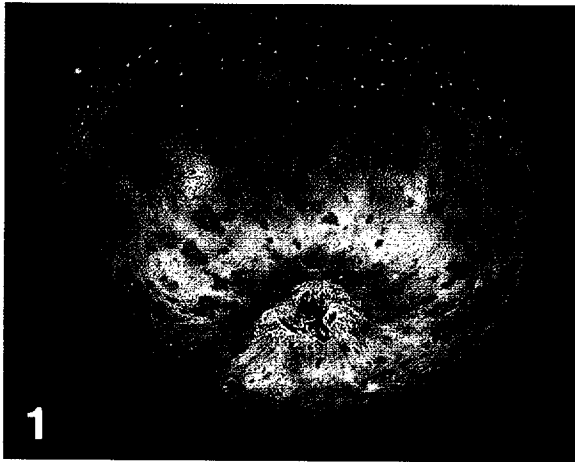


図 版 III

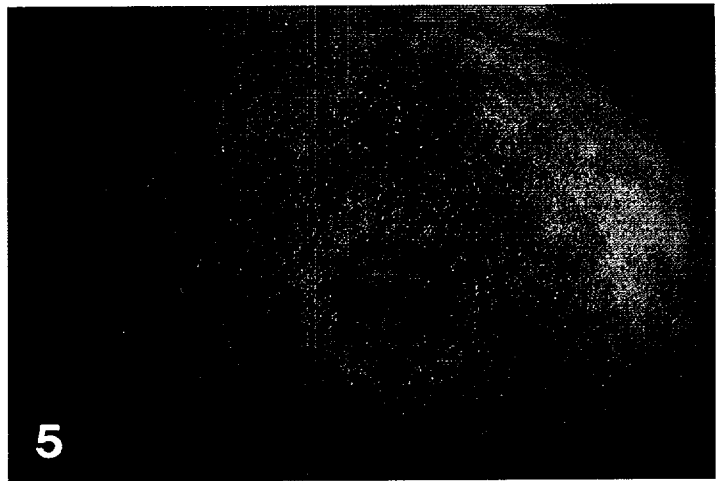
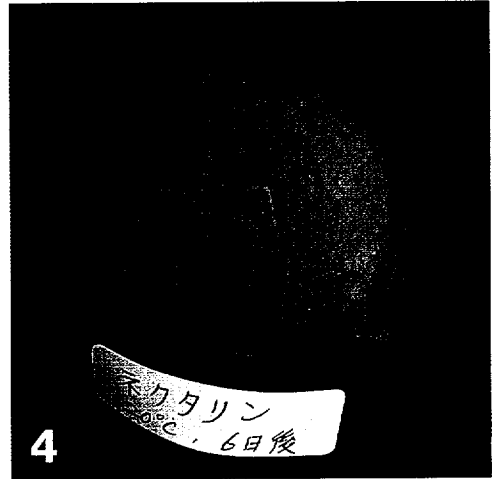
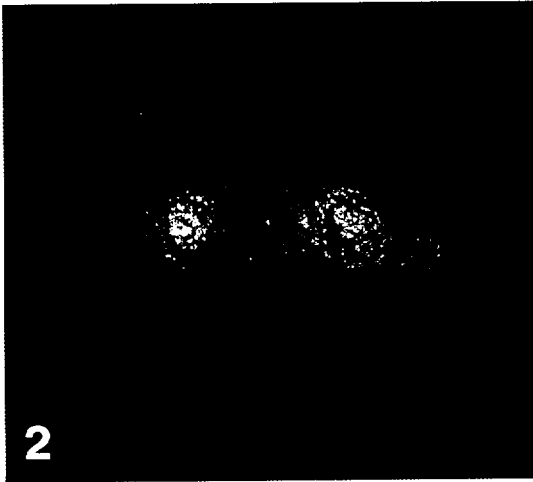
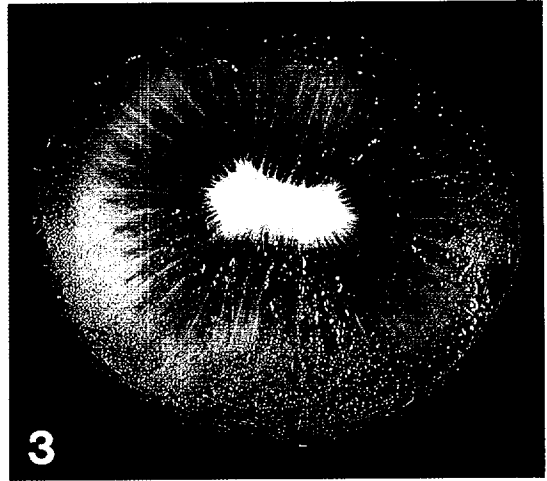
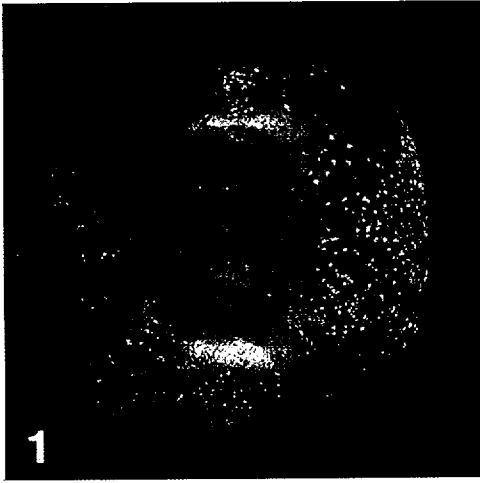
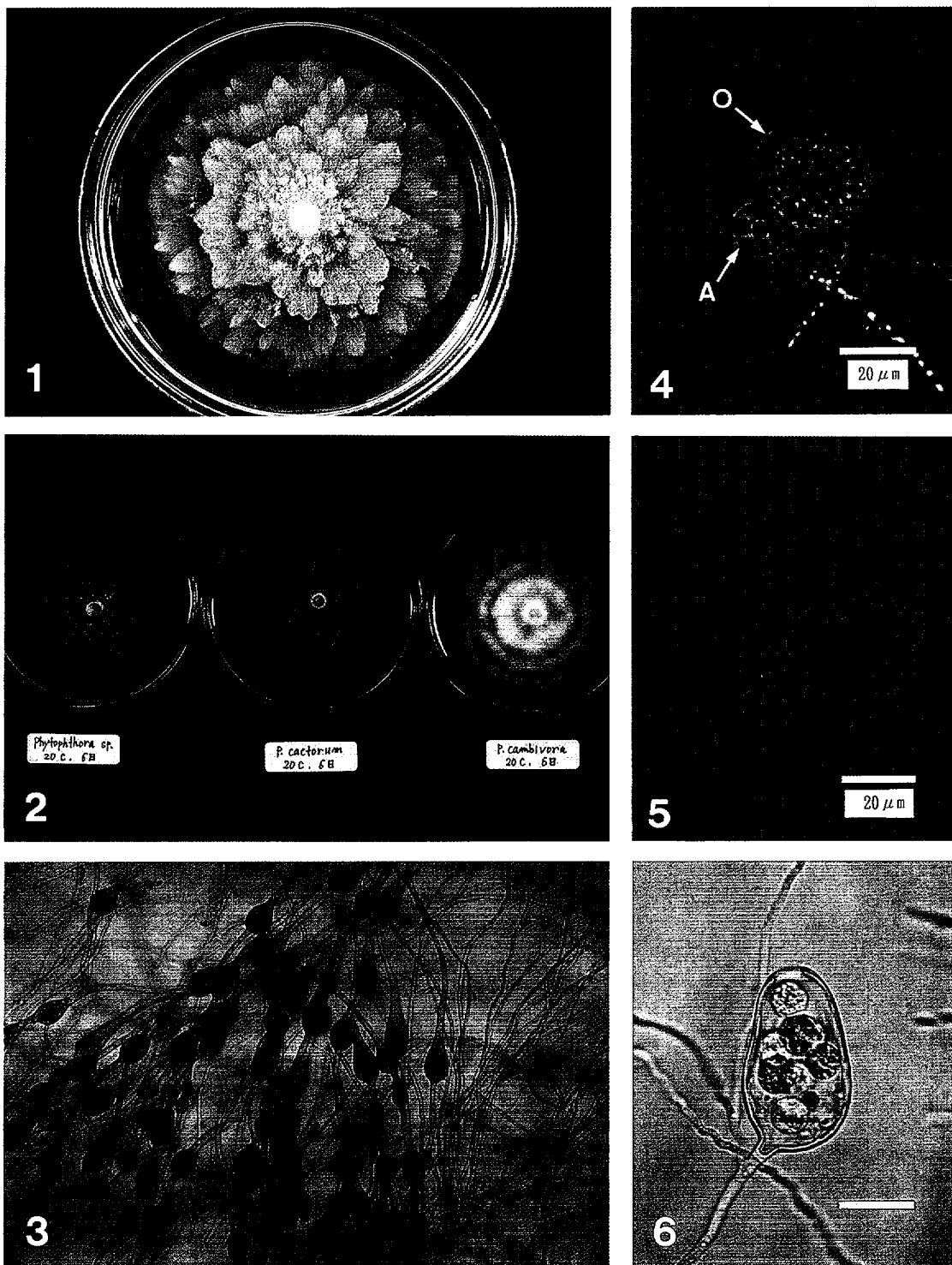
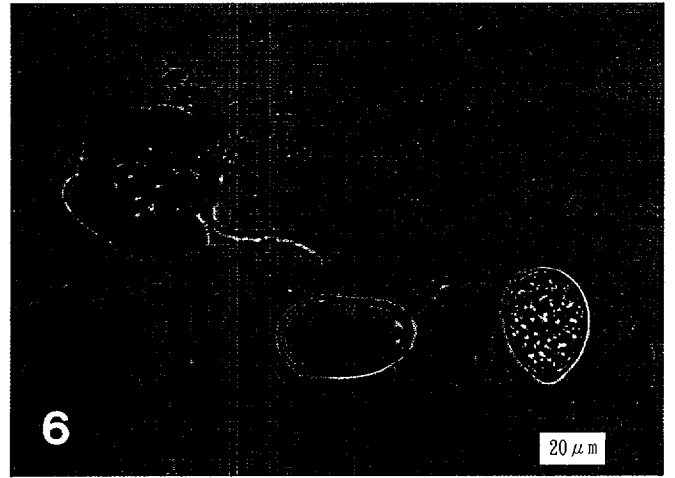
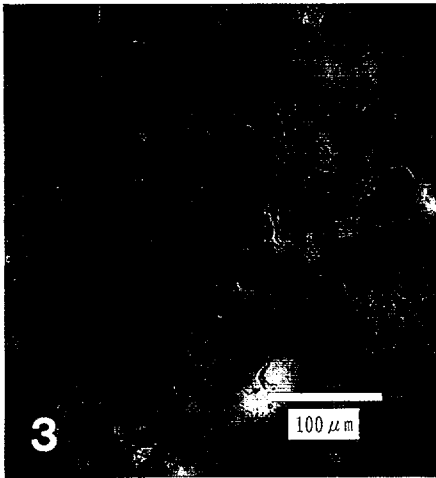
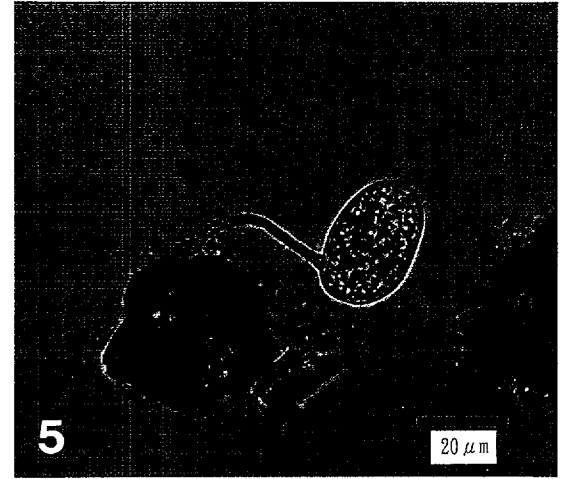
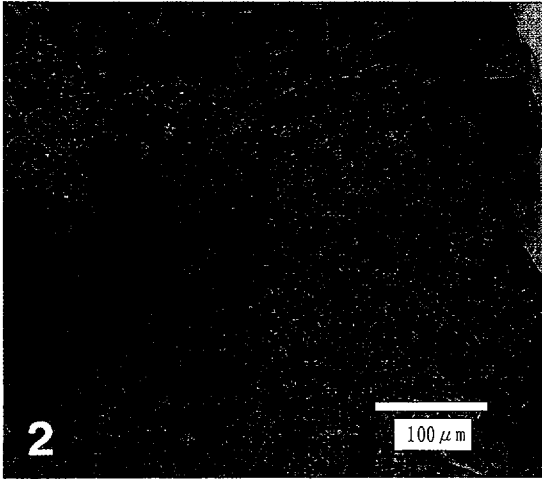
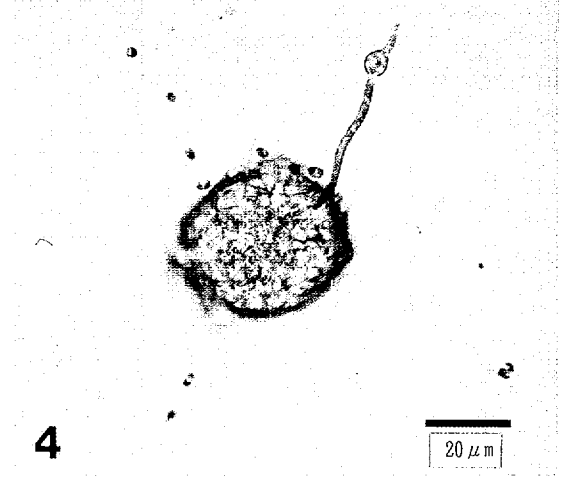
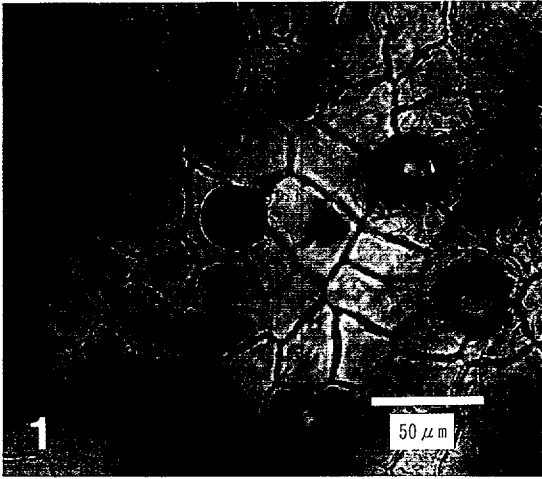


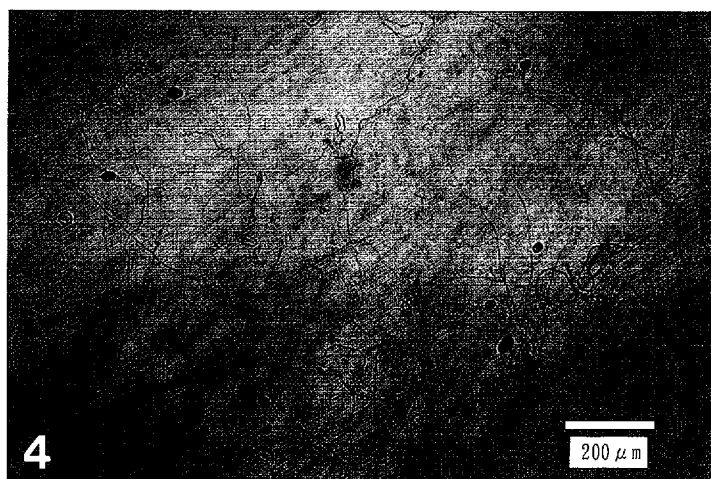
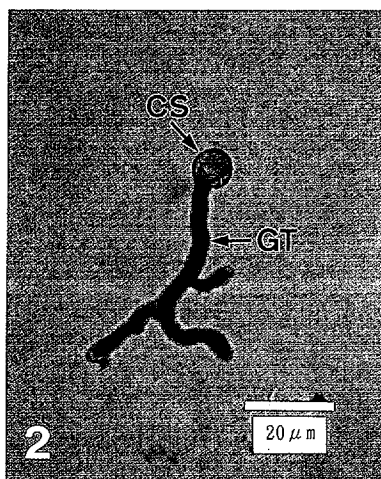
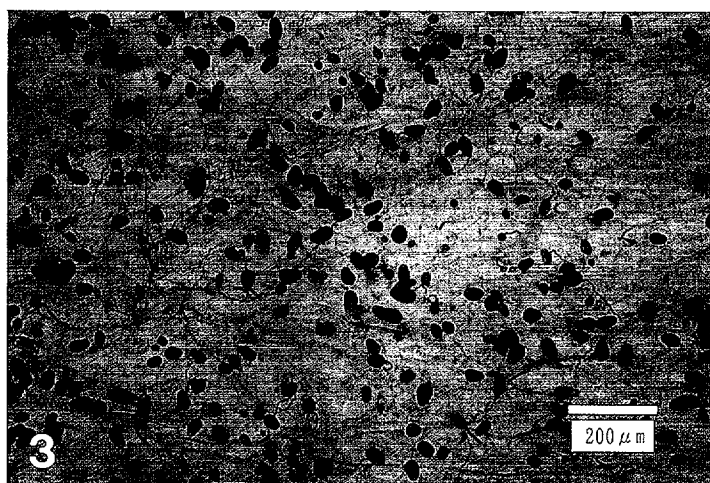
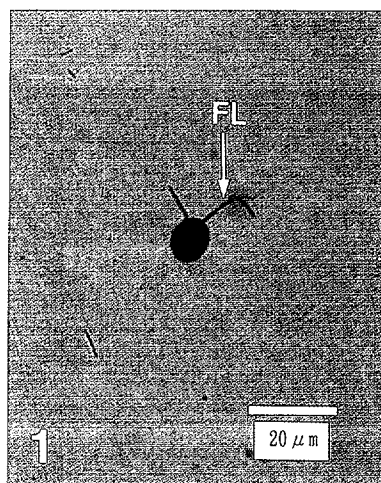
図 版 IV



図版 V



図版 VI



図版 VII

