

リンゴ黒点病の発生生態と防除法に関する研究

荒 井 茂 充

(青森県農林総合研究センター りんご試験場 県南果樹研究センター)

Studies on the Ecology and Control of Brooks Fruit Spot of Apple Caused by *Mycosphaerella pomi* (Pass.) Lindau

Shigemitsu Arai

Kennan Fruit Tree Research Center, Apple Experiment Station,
Aomori Prefectural Agriculture and Forestry Research Center
Gonohe, Sannohe, Aomori 039-1527, Japan

キーワード：リンゴ黒点病, *Mycosphaerella pomi*, *Cylindrosporium pomi*,
病徴, 培養性質, 伝染源, 感染, 果実の感受性, 共通宿主,
生活環, 防除, ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤

目 次

I 緒 言	45
II 研 究 史	46
III 病徴および病原菌	46
1. 病 徴	46
1) 果 実	46
2) 葉	47
3) 病斑の光学顕微鏡観察	47
4) 病斑部の病理解剖観察	48
5) 考 察	48
2. 病 原 菌	49
1) 偽子のう殻世代	49
(1) 越冬罹病落下果実	49
(2) 越冬罹病落葉	49
2) 精子器世代 (spermogonialstate)	50
(1) 精子 (spermatium) の確認	50
(2) 形 態	51
3) “ <i>Phoma</i> 型分生子” 世代	51
4) <i>Cylindrosporium</i> 型分生子世代	52
(1) 果実および葉の病斑上に生じた <i>Cylindrosporium</i> 型分生子	52
(2) 越冬落下果実の病斑上に生じた <i>Cylindrosporium</i> 型分生子	52
5) 病原菌の分離および分離菌の病原性	52
(1) 分離源および分離菌	52
(2) 形 態	53
(3) 病 原 性	54
6) 考 察	55
3. 病原菌の培養性質	56
1) 培地の種類と光	56
2) 温 度	58
3) 培地の pH	58
4) 窒 素 源	58
5) 炭 素 源	59
6) 考 察	59
IV 病気の発生生態	60
1. 偽子のう殻の成熟と子のう胞子の飛散	60
1) 偽子のう殻の成熟と温度	60
2) 圃場における偽子のう殻の成熟過程	61
3) 子のう胞子の飛散	61

(1) 飛散消長	61
(2) 飛散時刻	62
4) 考 察	65
2. 子とう胞子の発芽と発芽子とう胞子からの <i>Cylindrosporium</i> 型分生子形成	66
1) 子とう胞子の発芽	66
(1) 温 度	66
(2) 空中湿度	66
(3) 光	66
(4) pH	67
2) 発芽子とう胞子からの <i>Cylindrosporium</i> 型分生子形成	67
(1) 温 度	67
(2) 光	67
3) 考 察	68
3. 子とう胞子の病原性	68
1) 果実に対する病原性	68
2) 葉に対する病原性	69
(1) 病徴の再現	69
(2) 接種葉に生じた偽子とう殻世代の観察	69
3) 考 察	70
4. <i>Cylindrosporium</i> 型分生子の伝染源としての働き	70
1) 圃場リンゴ樹の果実および葉上における <i>Cylindrosporium</i> 型分生子形成	70
2) 子とう胞子接種リンゴ葉面上における <i>Cylindrosporium</i> 型分生子形成	70
3) リンゴ葉面上で形成された <i>Cylindrosporium</i> 型分生子の病原性	71
4) 考 察	71
5. 病原菌の宿主への侵入	72
1) 果 実	72
2) 葉	72
3) 考 察	72
6. 感染と発病	72
1) 果実における発生消長	72
2) 果実の感染時期	73
3) 果実の感受性推移	75
4) 葉の若老と発病	76
5) 枝における発病の可能性	76
6) 考 察	77
7. リンゴ品種の感受性と宿主範囲	78
1) リンゴ	78
(1) 自然発病	78
(2) 接種による発病	80
2) 共通宿主	81
(1) 各種宿主における病徴	81
(2) 各種宿主からの分離菌	82
(3) 病原菌の培養性質	82

(4) 病原菌の形態	82
(5) 交互接種試験	84
(6) セイヨウナシ越冬罹病落葉からの <i>Mycosphaerella pomi</i> 子のう胞子飛散消長	87
3) 考 察	88
8. 病原菌の生活環	89
 V 防 除 法	91
1. 有効薬剤の検索	91
2. 実用化試験	92
1) 県南果樹研究センター内圃場における試験	92
2) 農家圃場における試験	95
3. 考 察	95
 摘 要	96
 引用文献	100
 Summary	103
 図版説明	109
 図版 (Plate)	112

I 緒 言

リンゴ黒点病は果実に多数の黒色小斑点を生じる病害であり、果実の外観を損ねるため、本病による販売上の損失は大きい。

わが国で本病はリンゴ栽培当初から発生していたと考えられている（青森県りんご試験場五十年史，1981）。三浦（1915）によれば，1902年（明治35年），本病を品種の特性として扱った岩淵による記録が初めてであるが，病害としての記録は1913年（大正2年），菅原が病原菌を *Cylindrosporium pomi* Brooks としたものが最初である。本格的な初めての研究は三浦（1915）により行われ，病徴および病原菌が記載され，防除法が検討された。その後木村（1938），堀内・工藤（1961），関口（1966），堀籠ら（1967），堀籠・津山（1969）および Tsuyama *et al.*（1973）により発生生態，病原菌の生活環，防除法に関する研究が行われたが，発生生態や病原菌の生活環は不明な点が多い。

黒点病菌によるリンゴ果実の感染はリンゴの落花間もない頃（5月中下旬）から7月末頃まで続くが，落花10日後頃～30日後頃が特に多い（青森県りんご試験場昭和29年度業務年報；同昭和30年度業務年報；同昭和31年度業務年報；同昭和33年度業務年報；同昭和34年度業務年報）。したがって落花直後頃から6月下旬頃（落花30日後頃）までがもっとも重要な防除期とされている（りんご生産指導要項・平成16年改訂版）。

青森県においては，1930年代にボルドー液が本病の防除に有効であることが確かめられたが，本剤は落花10日後頃から落花25日後頃までの幼果に，いわゆるさび（果面に粗造なヒビ割れを生じる一種の葉害症状）を発生させるため，落花25日後以降の散布で防除が行われた。しかし1950年代，有機硫黄剤のファーマ剤が本病に対して防除効果が高く，さび果の発生を助長しないことが明らかとなったので，1957年から採用され，落花25日後頃以前の散布が可能になり，防除はより確実なものになった（青森県りんご試験場五十年史，1981）。

1958年，リンゴ斑点落葉病（工藤ら，1968）が，また1969年にリンゴ黒星病（中澤・福島，1990）が青森県では新病害として発生し，これらは短期間に全県に拡大した。斑点落葉病や黒星病の防除法を開発するため，発生生態や病原菌の生活環を含めた広範な研究が行われ，リンゴの落花期前後から防除が必要であることが明らかとなった。その結果，斑点落葉病や黒星病の防除に有効で黒点病の防除にも有効な薬剤が多く開発され，斑点落葉病や黒星病を対象に防除していれば，黒点病も同時に防除できることが明らかとなった。黒点病は1960年代までたびたび多発してきたが，斑点落葉病や黒星病防除剤の

実用化に伴い減少し，1970年代，1980年代はほとんど発生がなく経過した（青森県りんご試験場五十年史，1981；田中，1984；津川力，1960）。

1980年代，黒星病にステロール脱メチル化阻害剤（DMI剤）が卓越した防除効果を示すことが明らかとなったため，青森県においては1987年からDMI剤を用いた新しい防除体系が採用された。しかし，そのころ使用されたDMI剤は黒点病に対して防除効果が低かったので，1988年に青森県下全域の多くのリンゴ園で黒点病が多発した（藤田ら，1989）。また1996年には南部地方で6月上旬から7月上旬までの期間，降雨日および降水量ともに多く，黒点病の発生に極めて好適な条件となったため，多くのリンゴ園で本病が多発した（新谷ら，1997）。

津軽地方では近年，黒点病の発生が少ないのでDMI剤を用いた新しい防除体系が採用されているが，南部地方ではたびたび多発しているためDMI剤を用いた新しい防除体系が実行できない。このため，DMI剤を用いた新しい防除体系に対応した，黒点病多発地における防除法の開発が必要とされた。

合理的な防除法を開発するためには，病害の発生生態を解明し病原菌の生活環を明らかにする必要がある。そこで著者は，1997年からリンゴ黒点病の発生生態の解明に関する研究を行い，また黒星病防除体系を考慮したDMI剤による防除法を開発することを目標として研究に着手した。さらに2002年4月からは，青森県が実施する「大学院派遣事業」により，岩手大学大学院連合農学研究科に籍を置き，弘前大学農学生命科学部において主としてリンゴ黒点病菌の生活環の解明に関する研究を行った。本報告は1997年から2004年にわたるリンゴ黒点病に関する一連の研究を取りまとめたものである。その一部はすでに発表した（荒井，2001；荒井ら，2003a；荒井ら，2003b；荒井ら，2004a；荒井・原田，2004b；荒井・原田，2004c；荒井ら，2005a；Arai *et al.*，2005b）。

本研究を遂行するにあたり弘前大学名誉教授原田幸雄博士，弘前大学農学生命科学部教授佐野輝男博士，帯広畜産大学畜産学部助教授小池正徳博士，山形大学農学部教授生井恒雄博士からはご指導と本稿の校閲の労を賜り，また弘前大学名誉教授沢村健三博士，岩手大学農学部教授吉川信幸博士には有益なご助言と貴重な文献を賜り，弘前大学農学生命科学部助手藤田隆氏には終始ご指導を賜った。さらに青森県植物防疫協会（元フラワーセンター21あおもり所長）松中謙次郎氏，青森県農林総合研究センターりんご試験場県南果樹研究センター所長藤田孝二博士には本研究の開始当初から有益なご指導とご教示を賜った。長野県果樹試験場岩波靖彦氏には長野県果樹試

験場式・胞子採集器の取り扱い方法の詳細をお教えいただいた。三戸町梅内・越後敏浩氏並びに五戸町倉石小渡・小渡敏真氏には、防除試験において圃場を使用させていただくとともに薬剤散布していただいた。実験等に際しては、青森県農林総合研究センターグリーンバイオセンター中澤憲夫氏、青森県農林総合研究センターりんご試

験場岩谷斉氏、雪田金助氏、福土好文氏、同県南果樹研究センター村井智子氏、小笠原博幸氏、月館重吉氏、山野芳朋氏にそれぞれご協力をいただき、また本論文の取りまとめにあたっては多大のご配慮をいただいた。上記の各位に深く感謝する。

Ⅱ 研 究 史

リンゴ黒点病は Brooks (1908) による病原菌 *Cylindrosporium pomi* Brooks としての記載が最初である。その後 Brooks and Black (1912) は貯蔵中の果実の病斑にみられた *Phoma* 属菌に基づき、病原菌名を *Cylindrosporium pomi* Brooks から *Phoma pomi* Pass. に変更した。また Walton and Orton (1926) はリンゴ圃場において越冬落葉上で発見した *Mycosphaerella* 属菌の偽子のう殻が本菌の完全時代であることを明らかにし、*Mycosphaerella pomi* Pass. と同定した。

わが国においては、三浦 (1915) は果実の発病のほか、縮葉症状、枝枯れ症状を認め、また果実から *Cylindrosporium pomi* を得、腐敗した果実および枝から *Phomopsis mali* を得た。腐敗果実から得た *Phomopsis mali* を培養した結果 *Diaporthe* 属菌を生じ、これを新種として *Diaporthe mali* M. Miura n. sp. と記載した。その後 *Diaporthe mali* M. Miura を *Diaporthe pomi* (Pass.) M. Miura に (三浦, 1916a)、さらに *Diaporthe pomigena* (Schw.) Miura に訂正した (三浦, 1927)。

木村 (1938) はリンゴ圃場で越冬した落下果実上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じることを報告した。関口 (1966) は自然発病した果実や葉から *Phyllosticta* 属菌を分離し、果実に対して病原性があり、また自然発病の落葉から得た *Phyllosticta* 属菌も病原性があることから、*Phyllosticta* 属菌が圃場において黒点病の伝染源として働いている可能性を示唆した。堀籠ら (1967) は果実の病斑部からの分離菌を培養して得た *Cylindrosporium* 型分生子を葉の焼傷斑に接種した結果、成熟した偽子のう殻の形成を認めた。また堀籠ら (1969) および Tsuyama *et*

al. (1973) は接種葉における偽子のう殻の形成過程の観察から本菌の生活史を

子のう胞子⇄*Cylindrosporium* 型分生子→*Phoma* 型分生子と推定した。

生態研究では、堀内・上藤 (1961) は落花期以降、降水量が多いほど発病が多いことを報告した。

防除法に関しては、三浦 (1915) は結論が得られていないとしているが、ボルドー液と石灰硫黄合剤の防除効果の検討を行ったことを記述し、また効果への袋かけが本病の予防に有効であることを明らかにした。木村 (1938) は当時すでに有効であることが明らかであったボルドー液の濃度と黒点病の防除効果について報告した。第二次世界大戦後はリンゴ主産県の各試験場において本病に有効な有機合成殺菌剤が検索され、青森県りんご試験場においては 1948～1972 年に試験が行われた (青森県りんご試験場五十年史, 1981)。1970 年代以降は本病が少発生に経過したので、その間研究はほとんど行われていない。

海外においては、本病は通常発生が少なくマイナー病害として扱われるが、年により多発することから果樹病学に関する多くの解説書に記載されている (Atkinson, 1971; Anderson, 1956; Yoder, 1990)。近年の研究では Sutton *et al.* (1987) は葉の病徴、葉への病原菌の侵入方法、偽子のう殻世代の形成過程、圃場における子のう胞子の飛散消長などを報告し、また Yoder (1982) は本病に有効な防除薬剤を報告している。しかし海外においても他のリンゴ病害に比べ研究報告は少ない。

Ⅲ 病徴および病原菌

1. 病 徴

1) 果 実

果点を中心としたやや円んだ病斑を生じ、病斑は果実のがく側で多く果こう側で少ない。成熟果の病斑は一般に赤色品種で暗褐色～黒色、黄色品種で暗緑色～褐色であり、病斑直下の果肉は褐変しているが、この部分から

腐敗することはない (Anderson, 1956; Brooks and Black, 1912; 三浦, 1915)。

近年の主要品種の病徴は明らかでないので、2000～2003 年の 4 か年、三戸郡五戸町の農林総合研究センターりんご試験場県南果樹研究センター (以下、県南果樹研究センター) 内圃場で「つがる」について詳細に観察し、

また2003年に赤色品種6品種および黄色品種2品種の成熟果についてそれぞれ観察した。

a. つがる

6月下旬または7月上旬から果点(気孔)が黒変した針頭大の小点病斑を生じ、この病斑は7月上中旬頃には光沢のある径1mm程度の黒色の小斑点となった。陽光面の着色部では赤色を呈していた(図版1A, B)。その後病斑部は果実の肥大に伴い凹みを生じた。成熟果(9月中下旬)の病斑は暗赤色であり、着色の劣る部分では濃緑色であった。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では1～3mmで8mm程度もみられ、がくあ部では2mm以下であった(図版1C, D)。病斑直下の果肉は深さ1～2mm程度褐変していた。

b. 赤色品種

紅玉(10月上旬調査)：病斑は暗緑色～黒色であるが、着色の劣る部分では緑色であった。病斑部の凹みは調査品種のなかでもっとも深かった。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では1～4mmで8mm程度もみられ、がくあ部では2mm以下であった(図版2A, B)。

ジョナゴールド(10月下旬調査)：病斑は緑色～暗緑色であった。病斑部の凹みは比較的深かく、がくあ部では病斑が癒合して横方向に亀裂を生じていた。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では1～3mmで8mm程度もみられ、がくあ部では2mm以下であった(図版2C, D)。

スターキングデリシャス(10月下旬調査)：病斑は黒色であるが、着色の劣る部分では暗緑色であった。病斑部の凹みは浅かった。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では1～3mmで、5mmを超える病斑はなかった。がくあ部では2mm以下であった(図版2E, F)。

北斗(10月下旬調査)：病斑は赤褐色であるが、着色の劣る部分では濃緑色～暗緑色であった。病斑部の凹みは比較的浅かった。かさぶた状の病斑が多く、がくあ部では果点を中心とした亀裂もみられた。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では1～3mmで8mm程度もみられ、がくあ部では2mm以下であった(図版2G, H)。

ふじ(11月下旬調査)：病斑は暗褐色～黒色であるが、着色の劣る部分では暗緑色であった。病斑部の凹みは比較的浅かった。病斑はしばしばかさぶた状となり、がくあ部では亀裂もみられた。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では針頭大～3mmで、5mmを超える病斑はなかった。がくあ部では2mm以下であった(図版3A, B)。

国光(11月下旬調査)：病斑は赤褐色～黒色であるが、着色の劣る部分では緑色であった。病斑部の凹みは浅かった。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では1～3mmで、5mmを超える病斑はなかった。がくあ部では2mm以下であった(図版3C, D)。

c. 黄色品種

陸奥(10月中旬調査)：病斑は暗緑色で、陽光面の着

色部では赤褐色を呈した。病斑部の凹みは比較的浅く、しばしば果点を中心とした亀裂がみられた。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では1～3mmで10mm程度もみられ、がくあ部では2mm以下であった(図版3E, F)。

王林(11月上旬調査)：病斑は暗緑色で、陽光面の着色部では暗赤色を呈した。病斑部の凹みは浅く、がくあ部～赤道部ではしばしばかさぶた状となり亀裂もみられた。病斑の大きさはこうあ部～赤道部では針頭大～3mmで8mm程度もみられ、がくあ部では2mm以下であった(図版3G, H)。

2) 葉

2000～2002年の3か年、県南果樹研究センター内圃場で‘ふじ’および‘つがる’で観察した結果は以下のとおりであった。

8月上旬～下旬から1～3mm、不正形、紫褐色の斑点を生じ、しばしば癒合して大型の病斑となった。時に褐色～灰褐色の壊死部を伴っていた。病斑は葉身のいずれの部分にも生じるが、葉縁に多い傾向であった。罹病葉はやがて黄化し落下した。黄変葉では、病斑は褐色～紫褐色で葉脈に囲まれた角形であった。落葉後、病斑は拡大することがなく、葉脈に囲まれた角形、暗褐色であった。発病は9月上旬頃までは果そうや新梢基部の葉でみられるが、9月中下旬には新梢の中位から上位葉においてもみられ、その後落葉期の11月中下旬まで続いた(図版4A～F)。

なお、‘紅玉’、‘ジョナゴールド’、‘スターキングデリシャス’、‘北斗’、‘国光’、‘陸奥’および‘王林’でも観察したが、病徴はほぼ同様であった。

3) 病斑の光学顕微鏡観察

材料および方法

a. 果 実

2002年および2003年、県南果樹研究センター内圃場で‘つがる’および‘紅玉’(台木:M.26、樹齢:6、7年)果実を発病初期の7月上旬から収穫期(つがる:9月中旬、紅玉:10月上旬)まで10～30日間隔で採取した。病斑部を鋭利なナイフで薄く切り取り(厚さ:0.3～1mm)、これをトリパンブルー・酢酸液(トリパンブルー 0.1 g、酢酸 45 ml、水 55 ml; Sutton *et al.*, 1987)で染色した後、水に封入して光学顕微鏡下で観察した。

b. 葉

2003年、県南果樹研究センター内圃場で‘つがる’(台木:M.26、樹齢:7年)葉を8月下旬から11月上旬まで10～30日間隔で採取した。病斑部を5mm角に切り取り、トリパンブルー・酢酸液で染色した後、光学顕微鏡下で病原菌を観察した。またDiener(1955)の方法、すなわち酢酸・エタノール液(氷酢酸:95%エタノール=1:

1) で固定、70～75%乳酸液で組織片を透明にし、アニリンブルー・ラクトフェノール液 (0.5%アニリンブルー水溶液：乳酸：フェノール：グリセリン＝1：1：1：1) で染色した後、病原菌の侵入状況も観察した。

結 果

a. 果 実

病斑はいずれも果点 (気孔) を中心として生じていた。果点 (気孔) からは発病初期の7月上旬から収穫期まで菌糸が伸長し、菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じていた (図版5 A, B)。

b. 葉

病斑部裏面を光学顕微鏡で観察した結果、紫褐色病斑部では気孔から菌糸が伸長し、この菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じ (図版5 C, D)、また壊死部では気孔直下の呼吸腔部に子座を形成し、気孔部に *Cylindrosporium* 型分生子を生じていた (図版5 E～G)。

4) 病斑部の病理解剖観察

材料および方法

a. 生育期における果実

2003年、県南果樹研究センター内圃場で‘つがる’ (台木：M.26, 樹齢：7年) 果実を発病初期の7月上旬から収穫期の9月中旬まで10～30日間隔で採取した。病斑部を3, 4 mm 角に切り取り、これをFAA (ホルマリン 6.5 ml, 氷酢酸 2.5 ml, 50%エタノール 91 ml; 小野, 1962) で固定した。病斑部試料を包埋材 (サクラ精機, Tissue-Tek O. C. T. Compound) で包み、-30℃で凍結後、滑走式マイクロトーム (カールツァイス, HM400R) を用いて厚さ20～30 μm の切片を作成し、アニリンブルー・ラクトフェノール液で染色した後、水に封入して光学顕微鏡下で病原菌を観察した。また生組織の徒手切片を随時作成し、スタンⅢにより組織のスベリン化、フロログルシン・塩酸法によりリグニン化の検出を行った (鈴木, 1962)。

b. 越冬落下果実

2004年5月、県南果樹研究センター内圃場で採取したミイラ化した‘ジョナゴールド’越冬落下果実 (図版7 A) の病斑部を3, 4 mm 角に切り取りFAAで固定、上述の方法で厚さ20～30 μm の切片を作成し、アニリンブルー・ラクトフェノール液で染色した後、光学顕微鏡下で病原菌を観察した。また3, 4 mm 角に切り取り病斑部をDienerの方法で透明にし、病斑部直下に生じた偽柔組織を観察した。

c. 葉

2003年9月、県南果樹研究センター内圃場で採取した‘つがる’葉から病斑部を3, 4 mm 角に切り取り、これをFAAで固定した。滑走式マイクロトームを用いて20～30 μm の切片を作成し、アニリンブルー・ラクトフェノール

ル液で染色した後、光学顕微鏡下で病原菌を観察した。

結 果

a. 生育期における果実

発病初期の病斑部では表皮および下皮5～6層、また収穫期では表皮から果肉10～20層程度が壊死し褐変していた。壊死部においては太さ1～2 μm の菌糸が認められた (図版6 A)。褐変した細胞はスタンⅢに染色されなかったが、フロログルシン・塩酸反応により細胞壁が顕著に赤色に染色されたので、リグニン化していると判断した。

b. 越冬落下果実

表皮および下皮部に偽柔組織が発達し、これら部分に偽子のう殻を生じていた (図版7 B～D)。また子座を生じ *Cylindrosporium* 型分生子を形成していた (図版6 B, C)。

c. 葉

発病初期の病斑 (不正形、紫褐色病斑) では柵状組織が褐変し、また海綿状組織側の表皮が壊死していた。菌糸は柵状組織および海綿状組織の細胞間隙でみられ、海綿状組織側では1.0～1.5 μm、柵状組織側ではやや太く1.5～2.0 μm であった。落葉5日後では、海綿状組織側で2～4 μm、柵状組織側で4～6 μm であり、細胞内に侵入する菌糸もみられた (図版6 D, E)。また、主として柵状組織側の表皮下に精子器 (spermogonium) が埋没して形成されていた (図版6 F)。

なお精子器世代 (spermogonial state) については、後の項「Ⅲ-2. 病原菌」で詳細を述べる。

5) 考 察

わが国でリンゴ黒点病は果実のほか葉および枝に発生し、葉では縮葉症状を生じ、枝では枝枯れ症状を生じるとされ、異名として縮葉病、枝枯病が採用されている (北島, 1989; 日本植物防疫協会, 2000; 田中, 1984; 富樫, 1950)。これらの異名はわが国で初めて本病の病徴を報告した三浦 (1915) の命名による。三浦によれば、葉では‘国光’の発病が多く‘柳玉’も希に侵され、その症状は葉身に不規則な1～2 cm の淡褐色病斑を生じ、この部分で葉の生育が止まるので縮葉するとしており、また枝では結実枝も発病するが、主として1年枝の先端部付近において、気孔および水孔部が縦横に不規則な褐色の亀裂を生じ粗皮状となり枯死するとしている。

2000～2003年の4か年、本病が毎年多発している圃場において、‘ふじ’、‘つがる’、‘紅玉’など9品種で病徴を詳細に観察した。その結果によれば、葉の病斑は1～3 mm の不正形、紫褐色を特徴とし、三浦が‘国光’および‘柳玉’で観察したような縮葉症状はみられなかった。また枝幹部についても、三浦が記載したような枝枯れ症状はまったく観察できなかった。したがって、三浦が記載した本病の縮葉症状および枝枯れ症状には疑問が

あり、再検討する必要がある。なお、Sutton *et al.* (1987) は黒点病の葉の病徴として1～3 mmのpurple fleckを特徴とすると記載しており、本観察の結果とほぼ一致している。

果実および葉の病斑面を切り取り直接顕微鏡で観察した結果、病斑は果実においては果点（気孔）を中心として生じ、果点から菌糸が伸長し菌糸上に*Cylindrosporium*型分生子を生じていた。また葉においては紫褐色病斑部では気孔から菌糸が伸長しこの菌糸上に*Cylindrosporium*型分生子を生じ、壊死部では気孔直下の呼吸腔部に子座を形成し、気孔部に*Cylindrosporium*型分生子を生じていた。Brooks (1908) および Brooks and Black (1912) は貯蔵中の果実の病斑上で*Cylindrosporium*型分生子を発見している。しかし生育期の罹病果実や葉上においては、この分生子世代を観察した報告はこれまでみあたらない。*Cylindrosporium*型分生子が生育期の果実や葉の病斑上に生じることを明らかにしたのは本研究が初めてである。

病斑部の組織解剖によると、果実では病原菌の菌糸は果肉組織の褐変部に限り観察され、果肉組織の褐変は収穫期においても表皮から果肉細胞20層程度までにとどまり、腐敗へと進行することはなかった。越冬した落下果実の観察では、表皮と下皮部の間隙に偽柔組織が発達し、偽子のう殻や分生子を生じていた。また葉では落葉前の病葉中の菌糸は太さ1.0～2.0 μm であったが、落葉後間もなく太さを増し、さらに主として柵状組織側の表皮下に精子器を生じていた。したがって、生育期間中の果実および葉では病原菌の生育は緩慢であるが、落下後の果実および落葉においては病原菌は活発に生育すると考えられる。

なお、りんご圃場で越冬した落下果実の病斑上に*Cylindrosporium*型分生子を生じることはすでに明らかにされている（木村, 1938）。しかし偽子のう殻世代はこれまで越冬落葉上で発見されているだけであり（Walton and Orton, 1926）、越冬した落下果実での記録はみあたらず、初めての観察記録である。

2. 病原菌

りんご黒点病菌は偽子のう殻世代（Walton and Orton, 1926）と2つの分生子世代、すなわち*Cylindrosporium pomii*および*Phoma pomii*（Brooks, 1908; Brooks and Black, 1912）が明らかにされている。本項では、偽子のう殻世代、*Cylindrosporium*型分生子世代および*Phoma*型分生子世代の形態を観察し、また罹病落葉上で精子器世代（spermogonial state）を発見したので、この形態も観察した。さらに、それぞれの世代の胞子から得た分離菌の形態を観察し病原性を検討した。

1) 偽子のう殻世代

偽子のう殻世代はアメリカ合衆国でWalton and Orton (1926) により越冬した罹病落葉上で初めて発見され、形態的特徴が記載された。わが国ではTsuyama *et al.* (1973) は越冬した罹病落葉上から子のう胞子単胞子分離菌を得て、生活環に関する一連の試験を行っている。しかしTsuyama *et al.* の報告を含め、偽子のう殻世代の形態を詳細に記載したものはみあたらない。ここでは、越冬した罹病落下果実および落葉上に生じた偽子のう殻世代の形態を記述する。

(1) 越冬罹病落下果実

材料および方法

県南果樹研究センター内圃場で2004年5月に採取したミイラ化した‘ジョナゴールド’越冬罹病落下果実（図版7A）の病斑部を切り取りFAAで固定した。病斑部試料を包埋材で包み、 -30°C で凍結後、滑走式マイクロトームを用いて厚さ20～30 μm の切片を作り、水に封入して光学顕微鏡下で病原菌の形態を観察した。偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子はそれぞれ50個について大きさを計測した。

結 果

越冬罹病落下果実上に生じた偽子のう殻世代の形態的特徴は第1表に示した。

偽子のう殻は果実の表皮と下皮の間隙部分に生じ、群生または単生、黒色、球形～亜球形、頂端に乳頭状の孔口を有し、径68～155 μm （平均90.3 μm ）、高さ55～133 μm （平均95.5 μm ）であった。子のうは殻底より束生、円筒形～棍棒状、二重壁、大きさ33～53 $\times$ 8～11 μm （平均42.5 $\times$ 8.8 μm ）、8個の子のう胞子を有していた。子のう胞子は不規則状2列に並んで生じ、長楕円形～紡錘形、まっすぐ～やや湾曲、2細胞、隔壁部でわずかにくびれ、無色、大きさ15～24 $\times$ 3～4 μm （平均18.4 $\times$ 3.6 μm ）であった。これら偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子の形態的特徴はWalton and Orton (1926) による*Mycosphaerella pomii*の記載と一致した（図版7B～F）。

(2) 越冬罹病落葉

材料および方法

県南果樹研究センター内圃場で1999年5月に採取した‘ふじ’越冬罹病落葉から偽子のう殻を生じている部分の徒手切片を作り、水に封入して光学顕微鏡下で病原菌の形態を観察した。偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子はそれぞれ50個について大きさを計測した。

結 果

越冬罹病落葉上に生じた偽子のう殻世代の形態的特徴は第1表に示した。

偽子のう殻は葉の両面の表皮下に埋没して生じ、群生または単生、黒色、球形～亜球形、頂端に乳頭状の孔口を有し、径63～115 μm （平均84.6 μm ）、高さ60～108

第1表 越冬罹病落下果実および落葉上に生じた *Mycosphaerella* 属菌偽子のう殻世代の形態的特徴

項 目	本 研 究		<i>M. pomi</i> (Walton and Orton, 1926)
	果実上菌 ^z	葉上菌 ^y	
偽子のう殻			
色	黒色	黒色	黒色
形態	球形～亜球形	球形～亜球形	—
径 (μm)	68–155	63–115	70–100
高さ (μm)	55–133	60–108	—
子のう			
形態	円筒形～棍棒状	円筒形～棍棒状	—
大きさ (μm)	33–53×8–11	36–57×8–12	40–66×8–10
子のう胞子			
色	無色	無色	—
形態	長楕円形～紡錘形	長楕円形～紡錘形	—
細胞数	2胞	2胞	2胞
大きさ (μm)	15–24×3–4	15–28×3–5	12.6–26.6×2.8–4.2

^z 品種：ジョナゴールド。^y 品種：ふじ。第2表 罹病落葉^zの病斑上に生じた柄胞子様体の発芽試験

採取年月日	培地	調査柄胞子様体数 (個)	発芽柄胞子様体数 (個)
2002. 9. 5	素寒天	50	0

2003. 1.23	素寒天	50	0
	PDA	50	0

^z 品種：つがる。

μm (平均 $84.8 \mu\text{m}$) であった。子のうは殻底より束生、円筒形～棍棒状、二重壁、大きさ $36 \sim 57 \times 8 \sim 12 \mu\text{m}$ (平均 $45.8 \times 10.4 \mu\text{m}$)、8個の子のう胞子を有していた。子のう胞子は不規則状2列に並んで生じ、長楕円形～紡錘形、まっすぐ～やや湾曲、2細胞、隔壁部でわずかにくびれ、無色、大きさ $15 \sim 28 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ (平均 $21.7 \times 4.0 \mu\text{m}$) であった。これら偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子の形態的特徴は Walton and Orton (1926) による *Mycosphaerella pomi* の記載と一致した(図版8A～F)。

2) 精子器世代 (spermogonial state)

Mycosphaerella 属菌の多くの種において、精子器世代が報告されている (Dring and Corbin, 1961; Ganapathi, 1979; Higgins, 1920; Higgins, 1929; Higgins, 1936; Kaneko

and Kakishima, 2000)。2002年8月下旬、落葉間もない罹病葉の病斑上に柄胞子様体を内包する柄子殻様構造が観察され、これらは翌2003年7月まで認められた。この柄子殻様構造は精子器であり、内包される柄胞子様体は精子 (spermatium) と考えられたので、詳しい形態を観察するとともに、柄胞子様体の発芽試験を行った。

(1) 精子 (spermatium) の確認

材料および方法

2002年9月5日および2003年1月23日、県南果樹研究センター内圃場で採取した「つがる」罹病落葉から柄子殻様構造を生じている部分の徒手切片を作り、この切片をスライドガラス上に滴下した滅菌水 $5 \mu\text{l}$ 中に置き、溢出した柄胞子様体を素寒天 (粉末寒天 20g, 蒸留水 1 l) およびジャガイモ・ブドウ糖寒天 (PDA; Difco) 平面に

塗布した後、クリーンベンチ内で通風して寒天表面を乾燥させた。いずれも20℃、暗黒下で20日間培養後、柄胞子様体の発芽の有無を調査した。

結 果

罹病落葉の病斑上に生じた柄胞子様体の発芽試験の結果は第2表に示した。

柄胞子様体は素寒天およびPDA平面で20℃、暗黒下で20日間培養したが、まったく発芽しなかった。このことから、柄子殻様構造は精子器であり、柄胞子様体は精子であると結論された(図版9A～C)。

(2) 形 態

材料および方法

2002年1月15日、県南果樹研究センター内圃場で採取した‘ふじ’罹病落葉から、精子器(前述の柄子殻様構造)を生じている部分の徒手切片を作り、水に封入して光学顕微鏡下でその形態と内部の精子(前述の柄胞子様体)を観察した。またそれぞれ50個について大きさを計測した。

結 果

罹病落葉上に形成された精子器世代の形態的特徴は第3表に示した。

精子器は葉の両面(主として表面)の表皮下に埋没して生じ、群生または単生、黒色、球形～亜球形、頂端に孔口を有し、径43～130μm(平均70.8μm)、高さ50～131μm(平均79.5μm)であった。精子は無色、円筒形、大きさ3～5×1μm(平均3.8×1μm)で、小柄(sterigma)上に1個ずつ生じ、精子器から粘質塊となって溢出した。

3) “*Phoma* 型分生子” 世代

“*Phoma* 型分生子”は貯蔵中の果実の病斑上に生じる(Brooks, 1908; Brooks and Black, 1912)。そこで冷蔵貯蔵中の果実の病斑上に生じた“柄子殻”および“*Phoma* 型分生子”について形態を観察し、さらに“*Phoma* 型分生子”の発芽試験を行った。

第3表 罹病落葉²上に形成された精子器世代の形態的特徴

項 目		形態的特徴
精子器	色	黒色
	形態	球形～亜球形
	径(μm)	43～130
	高さ(μm)	50～131
精子	色	無色
	形態	円筒形
	大きさ(μm)	3～5×1

² 品種：ふじ。

第4表 “*Phoma* 型分生子” 世代の形態的特徴

項 目		貯蔵果実 ² 上菌 (本研究)	<i>Phoma pomi</i> (Brooks and Black, 1912)
“柄子殻”	色	黒色	黒色
	形態	球形～亜球形 希に不定形	典型として球形
	径(μm)	45～126	50～115
“分生子”	形態	円筒形	円筒形
	細胞数	単胞	単胞
	大きさ(μm)	3.5～5×1	2～3.5×0.8～1

² 品種：ふじ。

材料および方法

2000年1月、5℃に貯蔵した1999年産の罹病‘ふじ’果実から、“柄子殻”を生じている部分の徒手切片を作り、水に封入して光学顕微鏡下で病原菌の形態を観察した。“柄子殻”および“*Phoma* 型分生子”はそれぞれ30個について大きさを計測した。

結 果

貯蔵果実上に生じた“*Phoma* 型分生子”世代の形態的特徴は第4表に示した。

“柄子殻”は果実の病斑部の表皮下に埋没して生じ、群生または単生、黒色、球形～垂球形で希に不正形、頂端に孔口を有し、径45～126 μm であり、“*Phoma* 型分生子”は無色、円筒形、単胞、大きさ3.5～5 $\times$ 1 μm であった。これらの形態的特徴はBrooks and Black (1912)による*Phoma pomi*の記載と一致した(図版9 D, E)。しかしこの胞子は寒天培地上(PDAおよび素寒天)でまったく発芽しなかった。またこれらの構造は形態上前述の精子器および精子と区別できなかった。

4) *Cylindrosporium* 型分生子世代

Cylindrosporium 型分生子は貯蔵中の果実の病斑上に認められる(Brooks, 1908; Brooks and Black, 1912)。また木村(1938)は越冬した落下果実の病斑上に*Cylindrosporium* 型分生子を生じることを報告しているが、この分生子の形態、分離菌の培養性質などの菌学的記載は行っていない。ここでは、生育期の果実や葉の病斑上および越冬した罹病落下果実の病斑上に生じる*Cylindrosporium* 型分生子の形態を記述する。

(1) 果実および葉の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子

材料および方法

2002年9月、県南果樹研究センター内圃場の‘つがる’果実および葉の斑点部を3、4 mm角に切り取り、それぞれ滅菌水に入れ分生子を懸濁させた。水封入プレパラート

トを作製し、光学顕微鏡下で分生子の形態を観察した。大きさはそれぞれ50個について計測した。

結 果

自然発病した果実および葉の病斑上に生じた*Cylindrosporium* 型分生子の形態的特徴は第5表に示した。

果実上に生じていた*Cylindrosporium* 型分生子は無色、糸状～円筒形、まっすぐ～湾曲、1～5隔壁、大きさ15～78 $\times$ 1.5～3 μm (平均39.1 $\times$ 2.2 μm)で、また葉上に生じていた*Cylindrosporium* 型分生子は無色、糸状～円筒形、まっすぐ～湾曲で、0～4隔壁、大きさ17～46 $\times$ 2～3.5 μm (平均28.1 $\times$ 2.6 μm)であった。したがって、この分生子の形態的特徴はBrooks and Black (1912)および三浦(1915)による*C. pomi*の記載と一致した。

(2) 越冬落下果実の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子

材料および方法

2004年6月、県南果樹研究センター内圃場において越冬した‘ジョナゴールド’落下果実の斑点部を3、4 mm角に切り取り、滅菌水に入れ分生子を懸濁させた。水封入プレパラートを作製し、光学顕微鏡下で分生子の形態を観察した。大きさは50個について計測した。

結 果

越冬落下果実の病斑部に生じた*Cylindrosporium* 型分生子の形態的特徴は第5表に示した。

分生子は無色、糸状～円筒形、まっすぐ～湾曲、0～4隔壁、大きさ12～54 $\times$ 1.5～3 μm (平均28.9 $\times$ 2.2 μm)であった。したがって、この分生子の形態的特徴はBrooks and Black (1912)および三浦(1915)による*C. pomi*の記載と一致した。

5) 病原菌の分離および分離菌の病原性

(1) 分離源および分離菌

a. 果実および葉の病斑

1998年9月、‘つがる’果実および葉に発生した病斑

第5表 生育期の果実、葉および越冬落下果実の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子の形態的特徴

病斑の形成部位	大きさ (μm)	隔壁数	備 考
生育期の果実 ^a	15 - 78 $\times$ 1.5 - 3	1 - 5	本研究
生育期の葉 ^a	17 - 46 $\times$ 2 - 3.5	0 - 4	〃
越冬落下果実 ^b	12 - 54 $\times$ 1.5 - 3	0 - 4	〃
貯蔵果実	20 - 50 $\times$ 2 - 3	0 - 4	Brooks and Black, 1912
人工培養	38 - 70 $\times$ 3 - 3.5	2 - 7	三浦, 1915

^a 品種：つがる。^b 品種：ジョナゴールド。

第6表 分離菌の *Cylindrosporium* 型分生子の形態的特徴^Z

菌 株	分 離 源	大 き さ (μ m)		隔壁数	備 考
No.12	果実病斑 (組織分離)	13-67	$\times$ 1.5-3	(33.6 $\times$ 2.6) ^Y	0-6 本研究
No.16	葉上病斑 (組織分離)	10-82	$\times$ 2-4.5	(37.1 $\times$ 3.1)	0-7 “
No.22	越冬落葉由来子のう胞子	10-85	$\times$ 1.5-2	(30.9 $\times$ 1.9)	0-7 “
No.82	果実病斑由来 <i>Cylindrosporium</i> 型分生子	20-88	$\times$ 2-4.5	(49.5 $\times$ 3.2)	1-7 “
No.85	葉上病斑由来 <i>Cylindrosporium</i> 型分生子	11-62	$\times$ 1.5-3	(27.7 $\times$ 2.3)	0-7 “
No.119	越冬落下果実由来 <i>Cylindrosporium</i> 型分生子	10-70	$\times$ 2.5-4	(33.2 $\times$ 3.1)	0-6 “
No.121	越冬落下果実由来子のう胞子	13-90	$\times$ 2-3.5	(33.1 $\times$ 2.7)	0-6 “
<i>C. pomi</i>	貯蔵果実上 <i>Cylindrosporium</i> 型分生子	20-50	$\times$ 2-3 ^X	0-4 ^X	Brooks and Black, 1912
<i>C. pomi</i>	果実病斑 (組織分離)	38-70	$\times$ 3-3.5	2-7	三浦, 1915

^Z PDA, 20℃, 暗黒下で5～7日間培養。^Y () 内数値は平均値を示す。^X 貯蔵果実の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子の大きさおよび隔壁数を示す。

部を2mm角に切り取り、70%エタノールに5秒間浸して脱気後、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素含量1%)で10秒間表面殺菌した。さらに滅菌水で2回洗浄、クリーンベンチ内で滅菌ろ紙上に並べ30～60分間通風して風乾させた後、ペニシリン添加素寒天(ペニシリンGカリウム200mg, 粉末寒天20g, 蒸留水1l; Sutton *et al.*, 1987) 平面に置床した。20℃, 暗黒下で培養後、菌叢上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子塊を滅菌水に懸濁し、これを素寒天平面に塗布した。20℃, 暗黒下で24時間培養後、発芽した分生子を顕微鏡下で単胞子分離した。果実および葉からの分離株をそれぞれNo.12およびNo.16とした。

b. 越冬落葉の病斑上に生じた子のう胞子

1999年5月、成熟偽子のう殻を生じた‘ふじ’越冬罹病落葉を採取し、偽子のう殻を生じている部分の徒手切片を作り、これを滅菌水中で碎き素寒天平面に塗布した後、クリーンベンチ内で通風して寒天表面を乾燥させた。20℃で24時間培養後、発芽した子のう胞子を顕微鏡下で単胞子分離し、分離株No.22とした。

c. 越冬落下果実の病斑上に生じた子のう胞子

2004年5月、成熟偽子のう殻を生じた‘ジョナゴールド’越冬落下果実を採取し、前述と同様の方法で子のう胞子を単胞子分離し、分離株No.121とした。

d. 生育期の果実の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子

2002年9月、‘つがる’果実に生じた斑点部を3, 4mm角に切り取り、これを滅菌水に入れ分生子を懸濁させた。この懸濁液を素寒天平面に塗布した後、クリーンベンチ

内で通風して寒天表面を乾燥させた。20℃で24時間培養後、発芽した分生子を顕微鏡下で単胞子分離し、分離株No.82とした。

e. 生育期の葉の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子

2002年9月、‘つがる’葉に発生した斑点部から、前述と同様の方法で *Cylindrosporium* 型分生子を単胞子分離し、分離株No.85とした。

f. 越冬落下果実の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子

2004年5月、‘ジョナゴールド’越冬落下果実を採取し、病斑部の表皮を剥き取り、表皮直下の *Cylindrosporium* 型分生子を形成している下皮部を2, 3mm角に切り取り、これを滅菌水に入れ分生子を懸濁させた。この懸濁液を素寒天平面に塗布した後、クリーンベンチ内で通風して寒天表面を乾燥させた。20℃で24時間培養後、発芽した *Cylindrosporium* 型分生子を顕微鏡下で単胞子分離し、分離株No.119とした。

(2) 形 態

材料および方法

各分離菌をPDA平面で20℃, 暗黒下で5～7日間培養し、生じた分生子を水に封入して光学顕微鏡下でそれぞれ50個について観察した。分生子形成様式は単子のう胞子分離株No.22を用い、寒天ブロック培養法(渡辺, 1978)に準じ、20℃, 暗黒下でスライド培養を行い、光学顕微鏡下で継続的に観察した。

結 果

PDA培養で得られた各分離菌の形態的特徴は第6表に

示した。

これらの分離菌の分生子はいずれも *Cylindrosporium* 型、無色、糸状～円筒形、まっすぐ～湾曲であり、隔壁数および大きさはいずれも 0～7 隔壁、10～90 × 1.5～4.5 μm の範囲内であり、Brooks and Black (1912) および三浦 (1915) が記載した *C. pomi* の形態的特徴と一致した (図版 9F)。

供試したいずれの分離菌も PDA 平面、20℃、暗黒下で、はじめ淡褐色、湿性の菌叢を生じた。菌叢はやがて中央部にしわのある灰色から黒色のフェルト状に変化した。単子う胞子分離株 No.22 は PDA 培養で菌糸上にわずかに突き出た小柄上に次々と押し出す様式 (フィアロ型) で分生子を形成した。形成された分生子は小柄部に集合し塊状を呈した (図版 9G)。

(3) 病原性

越冬落下果実の病斑上に生じた子う胞子、生育期の果実および葉の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子はいずれもこれまで観察記録がない。また越冬落下果実の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子は菌学的検討が行われていない。これらの子う胞子および分生子がリンゴ黒点病菌であることを確認するため、単胞子分離菌を供試して、リンゴ果実に対する病原性を検討した。

材料および方法

いずれの分離菌も PDA 培養で生じた分生子懸濁液 (Tween20, 0.02% 添加) を接種源とした。県南果樹研究センター内圃場の「紅玉」の無傷果実に、小型噴霧器を用いて分生子懸濁液を噴霧接種した。対照の果実には滅菌水を噴霧した。なお接種果実は自然発病を避けるため、接種約 30～40 日前にハトロニ紙製袋で被覆し、接種直前に除袋し、接種を行った後再びハトロニ紙製袋で被覆した。各区 10 果を供し、試験期間中の落下果実は調査から除いた。

a. 越冬落葉の病斑上に生じた子う胞子単胞子分離株 No. 22

2003 年 7 月 16 日に分生子懸濁液 (5.7×10^5 個/ml) を噴霧接種し、10 月 10 日に発病調査した。

b. 越冬落下果実の病斑上に生じた子う胞子単胞子分離株 No. 121

2004 年 7 月 12 日に分生子懸濁液 (6.4×10^6 個/ml) を噴霧接種し、9 月 13 日に発病調査した。

c. 生育期の果実病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子単胞子分離株 No. 82

2003 年 7 月 11 日に分生子懸濁液 (5.6×10^5 個/ml) を噴霧接種し、9 月 3 日に発病調査した。

d. 生育期の葉の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分

第 7 表 越冬落葉由来子う胞子単胞子分離菌のリンゴ果実に対する病原性²⁾

菌株	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1 果当たりの平均病斑数
No.22	6	6	121.7
無接種	10	0	0

²⁾ 「紅玉」果実を供試し、2003 年 7 月 16 日接種、同年 10 月 10 日発病調査。

第 8 表 越冬落下果実由来子う胞子単胞子分離菌のリンゴ果実に対する病原性²⁾

菌株	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1 果当たりの平均病斑数
No.121	10	10	17.3
無接種	10	0	0

²⁾ 「紅玉」果実を供試し、2004 年 7 月 12 日接種、同年 9 月 13 日発病調査。

第 9 表 果実病斑由来 *Cylindrosporium* 型分生子単胞子分離菌のリンゴ果実に対する病原性²⁾

菌株	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1 果当たりの平均病斑数
No.82	10	10	6.9
無接種	10	0	0

²⁾ 「紅玉」果実を供試し、2003 年 7 月 11 日接種、同年 9 月 3 日発病調査。

第10表 葉上病斑由来 *Cylindrosporium* 型分生子単胞子分離菌のリンゴ果実に対する病原性^z

菌株	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1 果当たりの平均病斑数
No.85	10	9	12.1
無接種	10	0	0

^z ‘紅玉’ 果実を供試し、2003年7月11日接種、同年9月3日発病調査。

第11表 越冬落下果実由来 *Cylindrosporium* 型分生子単胞子分離菌のリンゴ果実に対する病原性^z

菌株	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1 果当たりの平均病斑数
No.119	9	9	25.1
無接種	10	0	0

^z ‘紅玉’ 果実を供試し、2004年6月24日接種、同年9月13日発病調査。

生子単胞子分離株 No. 85

2003年7月11日に分生子懸濁液 (5.2×10^5 個/ml) を噴霧接種し、9月3日に発病調査した。

e. 越冬落下果実の病斑上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子単胞子分離株 No. 119

2004年6月24日に分生子懸濁液 (5.0×10^5 個/ml) を噴霧接種し、9月13日に発病調査した。

結 果

分離株 No. 22, No. 82, No. 85, No. 119 および No. 121 のリンゴ果実に対する病原性は第7表～第11表に示した。

分離株 No. 22, No. 82, No. 85, No. 119 および No. 121 の *Cylindrosporium* 型分生子を接種したリンゴ果実はいずれも黒点病を生じた。接種病斑部からは接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。なお、滅菌水を噴霧した対照区の果実ではいずれも発病はみられなかった。

6) 考 察

Walton and Orton (1926) は越冬罹病落葉上にリンゴ黒点病菌の偽子のう殻世代を発見し *Mycosphaerella pomi* と同定した。しかしわが国においては、偽子のう殻世代の形態を詳細に観察した報告はない。そこで、圃場から採取した越冬罹病落葉に生じた偽子のう殻、子のう、子のう胞子について形態的特徴を観察し、さらに越冬罹病落下果実上においても偽子のう殻を発見したので、この形態についても観察した。その結果、越冬した罹病落葉および罹病落下果実上のいずれに生じた偽子のう殻、子のう、子のう胞子も Walton and Orton (1926) による *M. pomi* の記載と一致することを確認した。さらに、越冬落葉上から得た子のう胞子単胞子分離株 No.22 および

越冬落下果実上から得た子のう胞子単胞子分離株 No.121 は、いずれも PDA 培養による分生子の形態的特徴が Brooks and Black (1912) および三浦 (1915) による *Cylindrosporium pomi* の記載と一致し、これらの分生子を接種したリンゴ果実は黒点病を生じた。したがって、いずれもリンゴ黒点病菌 *M. pomi* の偽子のう殻世代であることは明らかである。

Mycosphaerella 属菌の多くの種では精子器世代が報告されているが (Dring, 1961; Ganapathi and Corbin, 1979; Higgins, 1920; Higgins, 1929; Higgins, 1936; Kaneko and Kakishima, 2000), リンゴ黒点病菌での報告はない。Tsuyama *et al.* (1973) はリンゴ葉につけた火傷部にリンゴ黒点病菌を接種した結果、接種部に精子器様構造および胞子様体を観察し、それぞれ spermogonium-like-body, sperm-like-body とした。本観察においてもリンゴ圃場で採取した落葉の病斑上に柄子殻様構造および柄胞子様体が観察された。この柄胞子様体は素寒天および PDA 培養でまったく発芽しなかったことから、伝播に関与する胞子ではなく、有性生殖に関与する精子 (spermatium) であると結論された。

冷蔵貯蔵果実の病斑上に生じた“柄子殻”および“*Phoma* 型分生子”は、形態的に Brooks and Black (1912) による *Phoma pomi* の記載と一致した。しかし、この“*Phoma* 型分生子”は素寒天および PDA 上で発芽能がなく、またこの“柄子殻”および“*Phoma* 型分生子”の形態はそれぞれ罹病落葉上に生じた精子器および精子と区別できなかった。関口 (1966, 1968) は果実に生じた柄子殻世代を *Phoma pomi*、落葉上に生じた柄子殻世代を *Phyllosticta* sp. とし、両者の違いは形成部位の違いによるもので *Phyllosticta* sp. と *Phoma pomi* は同一種であると解説し、*Phyllosticta* 型分生子がリンゴ果実に病原性があることか

ら、*Phyllosticta* 型分生子が圃場において伝染源として働く可能性を示唆した。しかし本研究においては、“柄子殻”および“*Phoma* 型分生子”の形態はそれぞれ精子器、精子と一致し、また“*Phoma* 型分生子”は発芽能を有しないことから、この“*Phoma* 型分生子”世代は精子器世代であると結論される。

生育期の果実および葉の病斑部に生じる *Cylindrosporium* 型分生子は形態的特徴が Brooks and Black (1912) および 三浦 (1915) による *C. pomi* の記載とよく一致し、また果実の病斑部から得た *Cylindrosporium* 型分生子単胞子分離株 No.82 および葉の病斑部から得た *Cylindrosporium* 型分生子単胞子分離株 No.85 を接種したリンゴ果実はともに黒点病を生じた。越冬した落下果実の病斑上に生じていた *Cylindrosporium* 型の分生子の形態的特徴も *C. pomi* の記載と一致し、この分生子の単胞子分離株 No.119 を接種したリンゴ果実も黒点病を生じた。したがって、生育期のリンゴ果実や葉の病斑上および越冬した落下果実の病斑上に生じていた *Cylindrosporium* 型分生子はいずれもリンゴ黒点病菌と結論される。

三浦 (1915) は果実病斑から *Cylindrosporium* 属菌を分離し、また腐敗した果実および枝病斑から *Phomopsis* 属菌を分離した。腐敗した果実から分離した *Phomopsis* 属菌は培養により *Diaporthe* 属菌を生じ、三浦 (1927) はこの *Diaporthe* 属菌を *Diaporthe pomigena* (Schw.) Miura と同定した。著者は貯蔵果実を含め多くの果実を調査したが、黒点病による果実腐敗は観察できなかった。また果実からの分離菌は *Cylindrosporium* 属菌であり、*Phomopsis* 属菌と考えられる菌は分離されなかった。さらに枝病斑は本病が毎年多発している圃場でも確認できなく、*Diaporthe pomigena* も発見できなかった。木村 (1938) は果実病斑部から得た分離菌を *C. pomi* と同定したが、*C. pomi* と *Phomopsis* 世代および *Diaporthe* 世代との関係については詳細が不明なので、再検討する必要があることを指摘している。これらのことから、三浦はリンゴ黒点病菌とリンゴ軸腐病菌 (= リンゴ胴枯病菌) *Phomopsis mali* を混同した可能性が推察される。

3. 病原菌の培養性質

リンゴ黒点病菌の生育と培地の種類、光、温度、培地 pH、窒素源および炭素源との関係について調査した。

1) 培地の種類と光

材料および方法

単子のう胞子分離株 No.22 を用い、発芽直後の単分生子を移植源とした。供試培地は下記の天然培地 3 種、半合成培地 1 種、合成培地 3 種の合計 7 種とした。

a. ジャガイモ・ブドウ糖寒天 (PDA) : PDA (Difco)

39 g, 蒸留水 1 l

b. 麦芽エキス寒天 : 麦芽エキス 20g, 寒天 20g, 蒸留水 1 l

c. リンゴ生葉煎汁寒天 : リンゴ生葉 100g, 寒天 20g, 蒸留水 1 l

d. YpSs 寒天 (Emerson 寒天) : 酵母エキス 4 g, K_2HPO_4 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, 可溶性デンプン 15 g, 寒天 20 g, 蒸留水 1 l

e. Czapek 寒天 : $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, $NaNO_3$ 2 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g, K_2HPO_4 1 g, KCl 0.5 g, ショ糖 30 g, 寒天 20 g, 蒸留水 1 l

f. Richards 寒天 : KNO_3 10g, KH_2PO_4 5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.5g, ショ糖 50g, 寒天 20g, 蒸留水 1 l

g. Hopkins 寒天 : KNO_3 2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, KH_2PO_4 0.1g, ブドウ糖 10g, 寒天 20g, 蒸留水 1 l

これら培地は調製後、121℃、15 分間オートクレーブにかけ、径 9 cm シャーレに 16ml 分注し、各区 5 枚ずつ用いた。暗黒区と照明区を設け、照明区は 15 白色蛍光灯 (松下電器産業、FL15N) を光源として、照度 1,000 lux で連続照明を行った。寒天平面の中央部に菌を移植し 20℃で 30 日間培養後、菌叢直径を測定した。実験は 2 回繰り返して行い、結果は平均値で示した。

結 果

連続暗黒下における各種培地でのリンゴ黒点病菌の培養の特徴は第 12 表に示した。また菌叢の生育と培地の種類、光との関係は第 13 表に示した。

連続暗黒下では PDA、YpSs 寒天、Czapek 寒天、Richards 寒天および Hopkins 寒天は湿性で酵母様の菌叢を生じ、麦芽エキス寒天およびリンゴ生葉煎汁寒天はフェルト状の菌叢を生じた (図版 10A)。生育はいずれの供試培地でも遅いが、供試培地では麦芽エキス寒天がもっとも良好で、ついで PDA、Czapek 寒天、Richards 寒天の順に良好であり、リンゴ生葉煎汁寒天と YpSs 寒天がやや劣り、Hopkins 寒天がもっとも劣った。

連続照明下においても、連続暗黒下と同様に PDA、YpSs 寒天、Czapek 寒天、Richards 寒天および Hopkins 寒天は湿性で酵母様の菌叢を生じ、麦芽エキス寒天およびリンゴ生葉煎汁寒天はフェルト状の菌叢を生じた。菌叢生育は連続照明下でも麦芽エキス寒天がもっとも良好で、ついで PDA が良好であった。PDA、Czapek 寒天、Richards 寒天および Hopkins 寒天は連続暗黒区が連続照明区より菌叢生育が勝ったが、YpSs 寒天、麦芽エキス寒天およびリンゴ生葉煎汁寒天は連続暗黒区と連続照明区がほぼ同等であった。

第12表 連続暗黒下における各種寒天培地でのリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）の培養的特徴

培 地	菌叢の色 ^z	菌叢の特徴
PDA	light orange～ greyish orange	円形，湿性で酵母様に生育， 中央部が盛り上がりしわがある
麦芽エキスを寒天	pale grey～greenish grey	円形，フェルト状
リンゴ生葉煮汁寒天	brownish orange～ greyish brown	不正円形，フェルト状
YpSs寒天	mandarin orange～caramel	不正円形，湿性で酵母様に生育， 中央部がわずかに盛り上がりし わがある
Czapek寒天	orange	不正円形，湿性で酵母様に生育， 中央部がわずかに盛り上がりし わがある
Richards寒天	orange	不正円形，湿性で酵母様に生育， 中央部がわずかに盛り上がりし わがある
Hopkins寒天	orange	不正円形，湿性で酵母様に生育， 中央部がわずかに盛り上がりし わがある

^z 色名はMethuen Handbook of Colour (Kornerup and Wanscher, 1978) による。第13表 各種寒天平面におけるリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）の菌叢生育^z

培 地	菌 叢 直 径 (mm)	
	連続暗黒	連続照明 ^y
PDA	28.1	22.9
麦芽エキスを寒天	32.3	35.2
リンゴ生葉煮汁寒天	19.2	20.2
YpSs寒天	19.2	18.7
Czapek 寒天	24.2	17.8
Richards 寒天	20.7	14.1
Hopkins 寒天	18.3	14.8

^z 20℃で30日間培養。^y 光源：昼白色蛍光灯，照度：1,000 lux（連続照明）。

第14表 PDA平面におけるリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）の菌叢生育と温度との関係^z

温度 (°C)	菌叢直径 (mm)
0	0.7
5	2.7
10	9.3
15	16.6
20	29.4
25	33.4
30	18.3
35	0

^z 暗黒下で30日間培養.第15表 PDA平面におけるリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）の菌叢生育とpHとの関係^z

培地pH値	菌叢直径 (mm)
4.1	27.0
4.9	30.6
5.8	30.9
6.9	31.8
8.2	30.0
9.2	26.1
9.6	21.7

^z 20°C, 暗黒下で30日間培養.

2) 温 度

材料および方法

供試菌は単子のう胞子分離株 No.22 で、培地は PDA 平面（径 9 cm シャーレに 16ml 分注）を各区 5 枚用いた。寒天平面中央に発芽直後の単分生子を移植し、0°C から 35°C までの 7 段階の温度下（いずれも連続暗黒）で 30 日間培養後、菌叢直径を測定した。実験は 2 回繰り返して行い、結果は平均値で示した。

結 果

菌叢生育と温度との関係は第 14 表に示した。

本菌は 0 ~ 30°C で生育し、35°C では生育しなかった。適温は 20 ~ 25°C であった。35°C 区のシャーレをその後 20°C に移し 15 日間経過したが、生育はまったくみられなかった。

3) 培地の pH

材料および方法

単子のう胞子分離株 No.22 を供試した。PDA をオートクレーブで滅菌し、1 N-HCl および 1 N-NaOH で pH を

調整した後、径 9 cm シャーレに 16 ml 分注し、各 5 枚のシャーレを用いた。寒天平面中央に発芽直後の単分生子を移植し、20°C、暗黒下で 30 日間培養した後、菌叢直径を測定しその平均値で示した。

結 果

菌叢生育と培地の pH との関係は第 15 表に示した。

本菌は pH4.1 ~ 9.6 のすべての区で生育した。生育は pH6.9 でもっとも良好であったが、pH4.9 ~ 8.2 の酸性域から塩基性域までの広い pH 域で比較的良好であった。pH4.1 の強酸性および pH9.2 以上の強塩基性では劣った。

4) 窒 素 源

材料および方法

単子のう胞子分離株 No.22 を用い、発芽直後の単分生子を移植源とした。基本培地として Richards 寒天を用い、窒素源を各種の窒素化合物、すなわち無機窒素化合物の KNO₃, NaNO₃, NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, (NH₄)₂HPO₄, NH₄Cl および有機窒素化合物の尿素、L-asparagine, L-alanine, L-cystine, L-leucine, L-valine, L-tyrosine,

第16表 窒素源を変えたRichards寒天平面におけるリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）の菌叢生育²

窒 素 化 合 物		培養前の培地のpH	菌叢直径 (mm)
無機窒素化合物	KNO ₃	4.5	15.6
	NaNO ₃	4.5	16.3
	NH ₄ NO ₃	4.5	17.3
	(NH ₄) ₂ SO ₄	4.5	16.0
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	6.5	19.2
	NH ₄ Cl	4.4	15.6
有機窒素化合物	尿素	6.5	14.9
	L-asparagine	4.7	24.0
	L-alanine	4.8	27.4
	L-cystine	4.3	2.5
	L-leucine	4.8	17.5
	L-valine	4.8	20.1
	L-tyrosine	4.7	20.5
	L-glutamine	4.8	23.5

² 20℃、暗黒下で30日間培養。

L-glutamineで置き換え、いずれも培地1 l中に窒素250 mgと等量になるように用いた。

これらの培地は調整後、121℃、15分間オートクレーブにかけ、径9 cm シャーレに16 ml分注し、各5枚のシャーレを用いた。寒天平面の中央部に菌を移植し、20℃、暗黒下で30日間培養後、菌叢直径を測定した。実験は2回繰り返して行い、結果は平均値で示した。

なお、各区の培養開始前のpHは第16表のとおりである。

結 果

菌叢生育と窒素化合物との関係は第16表に示した。

菌叢生育は有機窒素化合物ではL-asparagine、L-alanineおよびL-glutamineで良好で、ついでL-valine、L-tyrosineで良好であった。尿素およびL-leucineで劣り、L-cystineで著しく劣った。無機窒素化合物では有機窒素化合物に比べて総じて劣り、尿素およびL-leucineと同程度であった。

5) 炭 素 源

材料および方法

単子のう胞子分離株 No.22を用い、発芽直後の単分生子を移植源とした。基本培地（Richards寒天）の炭素源を各種の炭素化合物、すなわち単糖類のfructose, galactose, glucose, mannose, 二糖類のlactose, maltose, sucrose, 多糖類のsoluble starchおよび多価アルコールのmannitolで置き換え、いずれも基本培地のsucrose 5%と等量になるように用いた。

これら培地は調整後、121℃、15分間オートクレーブ

にかけ、径9 cm シャーレに16 ml分注し、各5枚のシャーレを用いた。寒天平面の中央部に菌を移植し、20℃、暗黒下で30日間培養後、菌叢直径を測定した。実験は2回繰り返して行い、結果は平均値で示した。

なお、各区の培養開始前のpHは第17表のとおりである。

結 果

菌叢生育と炭素化合物との関係は第17表に示した。

菌叢生育は二糖類（lactose, maltose, sucrose）および多糖類（soluble starch）が総じて良好であり、ついで単糖類（fructose, galactose, glucose, mannose）で良好で、多価アルコール（mannitol）でもっとも劣った。

二糖類および多糖類では maltose でもっとも良好であり、ついで sucrose, soluble starch, lactose の順で良好であった。単糖類では glucose がもっとも良好であり mannose がもっとも劣ったが、生育の差は顕著でなかった。

6) 考 察

リンゴ黒点病菌はPDA、YpSs寒天、Czapek寒天、Richards寒天およびHopkins寒天上で、照明、暗黒条件のいずれにおいても、菌叢が湿性で、酵母様に豊富に分生子を形成した。一方、麦芽エキス寒天およびリンゴ生葉煎汁寒天上で、フェルト状を呈し菌糸生育が旺盛であった。

培地の種類と菌叢生育との関係をみると、PDA、Czapek寒天、Richards寒天およびHopkins寒天では連続暗黒区が連続照明区より菌叢直径が勝ったが、YpSs寒

第17表 炭素源を変えたRichards寒天平面におけるリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）の菌叢生育²

炭 素 化 合 物		培養前の培地のpH	菌叢直径 (mm)
単糖類	fructose	4.3	18.4
	galactose	4.5	18.2
	glucose	4.5	19.1
	mannose	4.5	17.3
二糖類	lactose	4.5	19.6
	maltose	4.5	27.7
	sucrose	4.5	22.4
多糖類	soluble starch	4.7	21.1
多価アルコール	mannitol	4.5	16.9

² 20℃、暗黒下で30日間培養。

天、麦芽エキスを寒天およびリンゴ生葉煎汁寒天では連続照明区と連続暗黒区の菌叢直径がほぼ同等であった。一般に殺菌効果のある紫外光は多くの菌の生育にとって抑制的に働くが、可視光線は直接には影響しない。しかし *Penicillium clavigerum* は麦芽寒天では光の影響を受けないが、Czapek 寒天では連続照明下で著しく菌糸伸長が抑制されるなど、他環境要因との組合せで反応が異なるものもある（諸見里善一、1995）。本菌においても同様に、菌叢生育は YpSs 寒天、麦芽エキスを寒天およびリンゴ生葉煎汁寒天では光の影響をほとんど受けないが、PDA、Czapek 寒天、Richards 寒天および Hopkins 寒天では光により抑制されると考えられる。

菌叢生育量（直径）は連続照明、連続暗黒のいずれでも麦芽エキスを寒天がもっとも良好で、ついで PDA が良好であった。したがって分生子形成の観点からは、暗黒下での PDA 培養がもっとも優れている。

菌叢生育と温度との関係では、最適温度が 20～25℃

であり、リンゴ黒点病菌は比較的高温域を好む性質がみられた。このことは、圃場においてリンゴ黒点病菌は夏期的高温時を除く比較的高温条件下で生育できることを示している。また培地の pH との関係では、pH 5～8 の酸性域から塩基性域までの広い pH 域で比較的良好に生育したことから、感染部位であるリンゴ果実や葉において、pH による生育への影響は少ないと考えられる。

Richards 寒天を基本培地として、窒素化合物の種類と生育への影響を調べた結果、総じて無機窒素化合物に比べて有機窒素化合物を添加した場合の生育が良好であった。また同寒天を基本培地として炭素化合物の種類と生育への影響を調べた結果、単糖類に比べ二糖類の maltose、sucrose および多糖類の soluble starch が良好であった。この結果は、本菌の感染部位であるリンゴ果実や葉において、これら物質のいずれかにより本菌の生育を促進させていることが示唆される。この点に関しては今後の検討課題としたい。

IV 病気の発生生態

堀内・工藤（1961）は果実の生育段階ごとの感染調査から、リンゴの落花期以降における降水量が多いほど発病が多いことを明らかにした。一方、木村（1938）および関口（1966）はそれぞれ *Cylindrosporium* 型分生子、*Phyllosticta* および *Phoma* 型分生子の伝染源としての働きを検討した。本項では、偽子のう殻の成熟、子のう胞子の飛散、子のう胞子の発芽および病原性、*Cylindrosporium* 型分生子の働き、病原菌の宿主への侵入方法、リンゴ果

実の感染時期および感受性の推移、リンゴ品種の感受性差異、宿主範囲などについて記述する。

1. 偽子のう殻の成熟と子のう胞子の飛散

1) 偽子のう殻の成熟と温度

材料および方法

2000 年 1 月 19 日、県南果樹研究センター内圃場で採取した「つがる」罹病落葉を水洗し、風乾後、水を含ん

第18表 リンゴ黒点病菌偽子のう殻の成熟と温度との関係[※]

温度 (℃)	経過日数ごとの成熟子のう胞子を有する偽子のう殻割合 (%)			
	10日	20日	30日	61日
5	0	0	0	2
10	0	25	70	67
15	2	69	60	41
20	0	75	53	7
25	23	7	0	0
30	0	0	0	0

[※] 供試罹病葉：2000年1月19日、県南果樹研究センター圃場で採取。

だミズゴケで湿室にした径15 cmの大型シャーレに入れ、5～30℃の6段階の温度下(いずれも連続暗黒)に保った。培養10日、20日、30日および61日後に葉の病斑部の徒手切片を作り、光学顕微鏡下で偽子のう殻100個について、成熟した子のう胞子を有する偽子のう殻の割合(以下、成熟偽子のう殻割合)を調査した。供試葉数は各区2、3葉とした。

結 果

偽子のう殻の成熟と温度との関係は第18表に示した。

25℃では10日後が成熟偽子のう殻割合がもっとも高く、その後低下し、30日後以降まったく子のう胞子がみられなくなった。15℃および20℃では20日後が成熟偽子のう殻割合がもっとも高く、その後順次低下した。10℃では20日後から成熟子のう胞子を内包する偽子のう殻がみられ、30日後が成熟偽子のう殻割合がもっとも高かった。5℃では61日後に低率であるが成熟する偽子のう殻がみられた。以上から、偽子のう殻は5～25℃の範囲で高温ほど速やかに成熟した。

2) 圃場における偽子のう殻の成熟過程

材料および方法

2003年4月2日から5月2日まで、県南果樹研究センター内圃場で採取した‘つがる’罹病落葉から偽子のう殻を生じている部分の徒手切片を作り、水に封入して光学顕微鏡下で偽子のう殻の成熟状況を調査した。

結 果

4月2日では偽子のう殻のなかに子のうを生じていたが、子のう内に子のう胞子は確認できなかった。4月9日、15日および20日では子のうのなかに子のう胞子がみられたが、子のう胞子の長さが15 μm未満であったことから、偽子のう殻は未熟であると判断した。5月2日では子のう胞子の長さが15 μm以上であり、また子のうの二重壁の外壁が容易に裂け、内壁だけの子のう先端から子のう胞子が射出されることを観察したので、偽子のう殻

は成熟したと判断した。

3) 子のう胞子の飛散

子のう胞子の飛散消長に関する研究は、アメリカ・ノースカロライナ州のリンゴ圃場において Sutton *et al.* (1987) により行われただけである。そこで、わが国における子のう胞子の飛散消長および時刻ごとの飛散量変化を検討した。

(1) 飛散消長

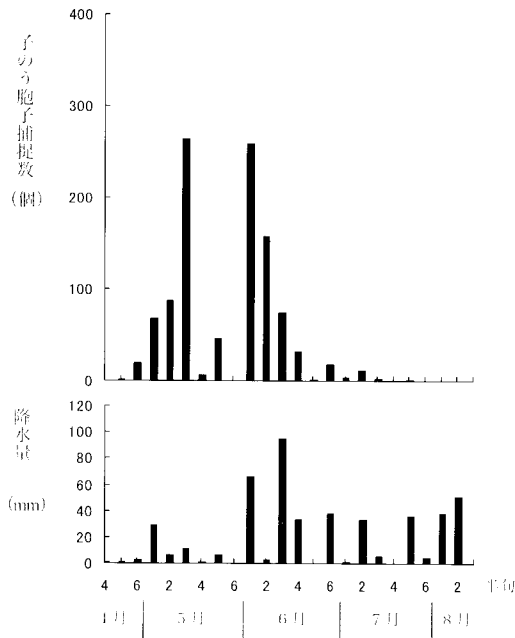
材料および方法

1998～2001年の4か年、県南果樹研究センター内圃場において、子のう胞子の飛散消長を調査した。いずれの調査も、前年の11月に幅30 cm、長さ60 cm、高さ50 cmの木枠に罹病落葉(ふじ)を均一に敷き詰めそのまま越冬させ、翌年の4月3半旬から7月6半旬まで、西田(1969)がリンゴ黒星病菌 *Venturia inaequalis* で行った子のう胞子捕捉法に準じ、リンゴ黒点病菌の子のう胞子を捕捉した。すなわち、グリセリンゼリー(ゼラチン7 g、グリセリン50 g、フェノール1 g、蒸留水42 ml; 北島, 1962)を塗布したスライドガラスを、塗布面を上にして木枠内の高さ10 cmの位置に2枚設置した。スライドガラスの交換は、1998年および1999年は毎日、2000年および2001年は1～3日ごと午前9時に行った。スライドガラスにアニリンブルー・ラクトフェノール液を滴下し、子のう胞子を染色後、18×18 mmカバーガラスの範囲にある子のう胞子数を光学顕微鏡を用いて計数した。捕捉数は2枚の合計とした。

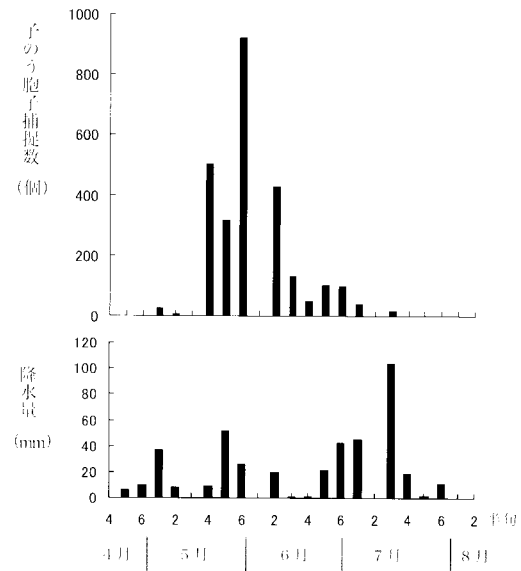
降水量は県南果樹研究センターに設置されている気象観測機器(横河電子機器、システム形式ZE765)による測定値を用いた。

結 果

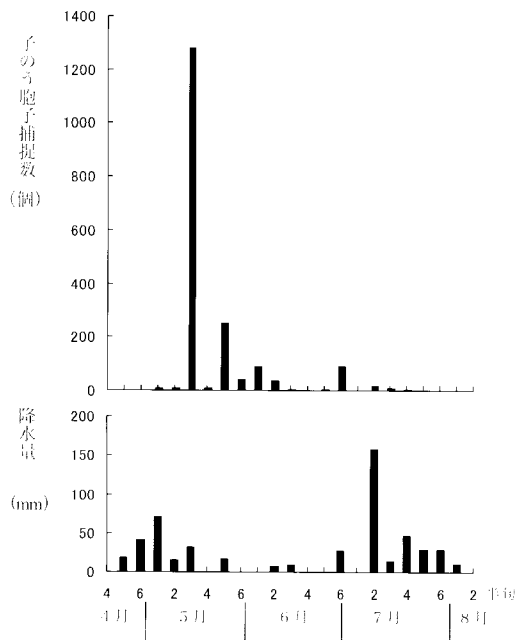
1998年から2001年までの子のう胞子の飛散消長は第1図～第4図に示した。子のう胞子の捕捉期間および捕捉最盛期はそれぞれ1998年が4月5半旬～7月5半旬、



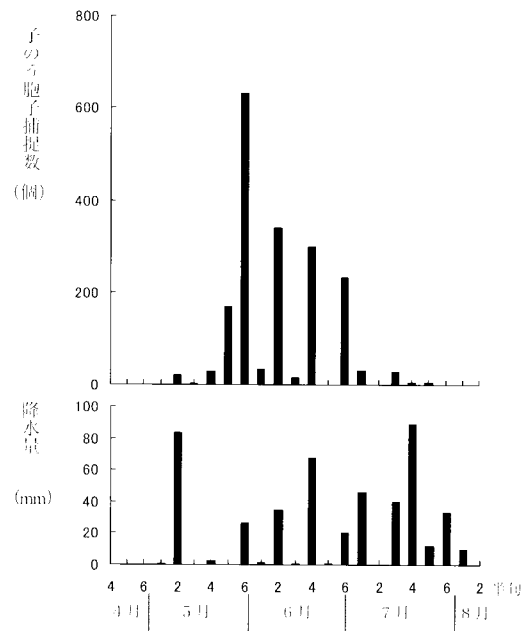
第1図 越冬罹病落葉からのリンゴ黒点病菌の子のう胞子飛散消長（1998年）
試験場所：県南果樹研究センター圃場
試験期間中に捕捉された子のう胞子数：1054 個



第2図 越冬罹病落葉からのリンゴ黒点病菌の子のう胞子飛散消長（1999年）
試験場所：県南果樹研究センター圃場
試験期間中に捕捉された子のう胞子数：2637 個



第3図 越冬罹病落葉からのリンゴ黒点病菌の子のう胞子飛散消長（2000年）
試験場所：県南果樹研究センター圃場
試験期間中に捕捉された子のう胞子数：1853 個



第4図 越冬罹病落葉からのリンゴ黒点病菌の子のう胞子飛散消長（2001年）
試験場所：県南果樹研究センター圃場
試験期間中に捕捉された子のう胞子数：1837 個

5月3半旬～6月1半旬、1999年が4月6旬～7月4半旬、5月6半旬、2000年が5月1半旬～7月4半旬、5月3半旬、2001年が5月2半旬～7月5半旬、5月6半旬であった。捕捉最盛期においては比較的少ない降水量でも多量の子のう胞子が捕捉された。

1998年および1999年における子のう胞子の飛散と降雨

日との関係を第19表に示した。子のう胞子は主に降雨日に捕捉され、それらが捕捉数の大部分を占めた。

(2) 飛散時刻

材料および方法

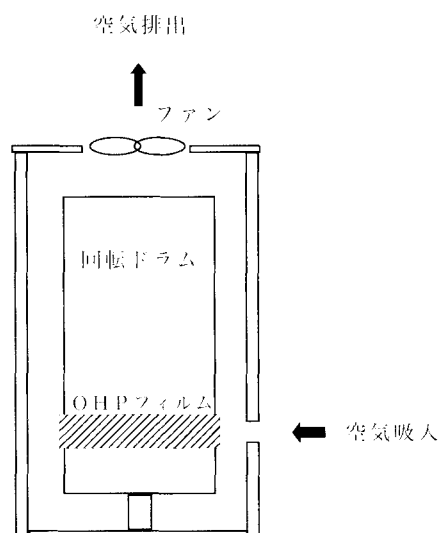
県南果樹研究センター内圃場において、いずれの試験も前年の11月に幅30 cm、長さ60 cm、高さ50 cmの

第19表 リンゴ黒点病菌子の胞子の捕捉量と降雨との関係[※]

年	胞子捕捉期間 (日数：日)	降雨日数 (日)	降雨日のうちの 胞子捕捉日数 (日)	胞子捕捉数	
				捕捉総数 (個)	降雨日捕捉数 (個)
1998	4.24～7.21 (89)	27	23	1054	1019 (96.7%) [※]
1999	4.26～7.16 (82)	32	28	2637	2614 (99.1%)

※ 試験場所：県南果樹研究センター圃場。

※ () 内数値は捕捉総数に対する降雨日の捕捉数の割合。



第5図 長野県果樹試験場式・吸引式胞子採集器の模式図

木枠に罹病落葉（ふじ、つがる）を均一に敷き詰めそのまま越冬させ、翌年木枠内に長野県果樹試験場式・吸引式胞子採集器（小池，1994；近藤ら，2000；近藤ら，2002）を設置し、この越冬罹病落葉から飛散する子の胞子を捕捉した。

長野県果樹試験場式・吸引式胞子採集器の模式図は第5図に示した。すなわち、高さ160 mm、内径104 mm、外径125 mmの亚克力製円筒で、底は亚克力製板で固定され、ふたは亚克力製板でネジで取り付けられる。ふた中央には径48 mmの穴がありその位置にファン（オリエンタルモーター，MDS510-12）が取り付けられ、円筒内の空気を外に排出し、円筒側面には底部から35 mmに長さ15 mm、幅1.8 mmの孔があり、外部からの空気がこの孔を通して円筒内に入る。円筒内には24時間で1回転する真鍮製回転ドラム（高さ102 mm、径93 mm）が取り付けられ、回転ドラムには粘着シート（3M製，Scotch両面テープ#666）を貼った幅20 mmに切断したOHPフィルム（富士ゼロックスオフィスサプライ，PPCレーザープリンター用ゼロックスフィルム）が円筒側面の孔中央を回転するような位置に巻き付けられ、空気

とともに吸入された子の胞子を粘着シートで捕捉する。なお、孔部内壁と回転ドラム上の粘着シートとの距離は約5 mmである。胞子採集器は吸引孔が高さ10 cmの位置に設置した。

この胞子採集器により子の胞子を捕捉した粘着シートを適当な長さに切断し、アニリンブルー・ラクトフェノール液を滴下し子の胞子を染色後、光学顕微鏡を用いて×300視野幅で1時間ごとに捕捉された胞子数を計数した。

試験期間は以下とおりである。

試験1：2001年5月25日12時～5月28日12時

試験2：2001年6月18日12時～6月21日12時

試験3：2003年5月15日12時～5月17日24時

温度、相対湿度および降水量は県南果樹研究センターに設置されている気象観測機器（横河電子機器，システム形式ZE765）による測定値を用いた。

結 果

試験1（2001年5月25日12時～5月28日12時；第6図）

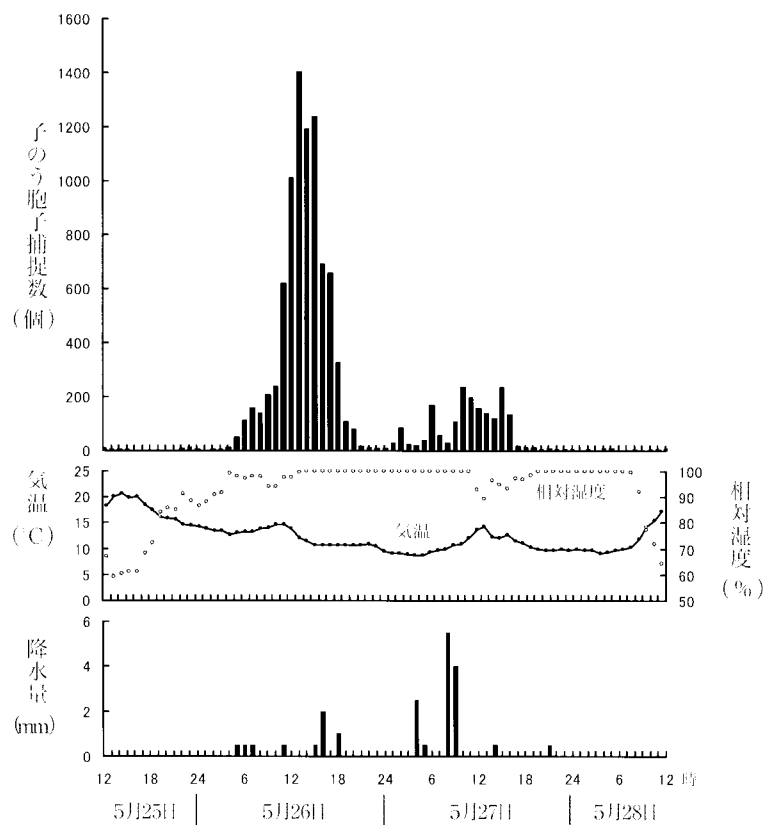
子の胞子は相対湿度90%を超えた25日22時から捕捉されはじめたが、捕捉数は極めて少なかった。降雨があった26日5時から捕捉数が増加し、7時間後の12時がもっとも多かった。その後断続した降雨があり、降雨時にやや増加したが、漸次減少した。

試験2（2001年6月18日12時～6月21日12時；第7図）

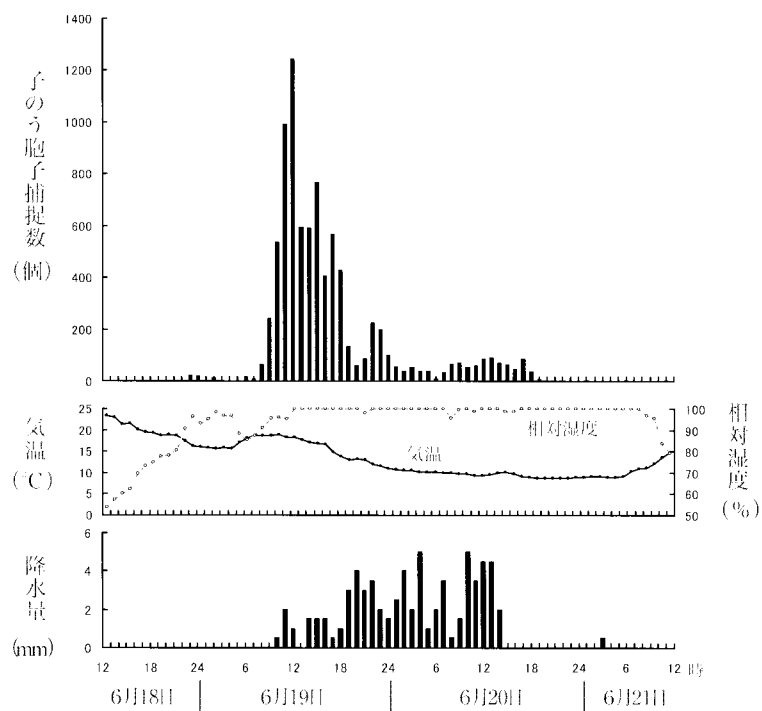
子の胞子は相対湿度90%を超えた18日23時から捕捉されたが、捕捉数は極めて少なかった。降雨があった19日10時から捕捉数が増加し、2時間後の12時がもっとも多かった。その後断続した降雨があり連続して捕捉されたが、漸次減少した。

試験3（2003年5月15日12時～5月17日24時；第8図）

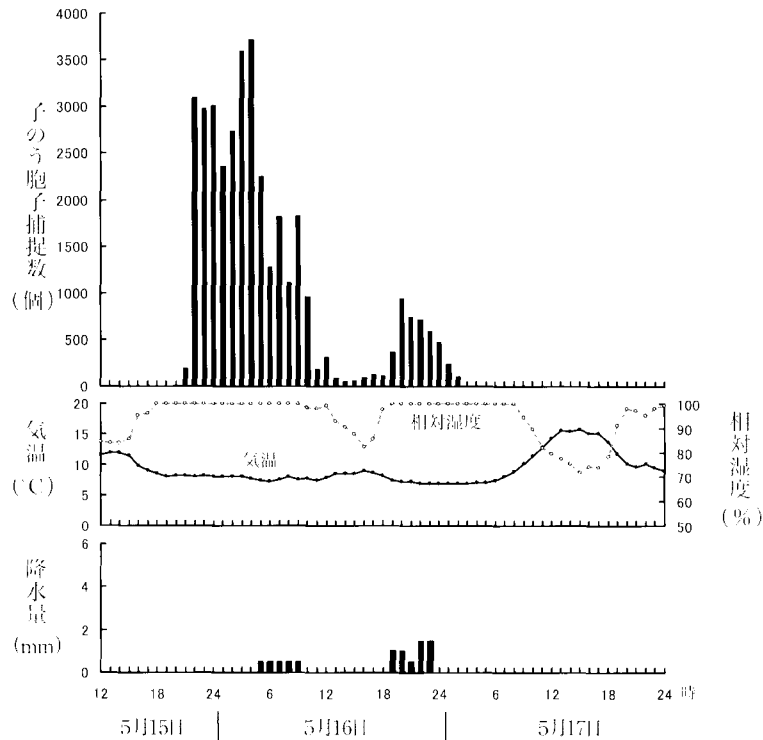
2003年5月15日18時から翌16日9時まで、相対湿度100%で推移した。子の胞子は相対湿度100%で3時間経過した21時から捕捉され、その後捕捉数は急激に増加し、捕捉初めから7、8時間後に最多となった。相対湿度が100%以下になった16日10時から18時まで捕捉数は減少したが、19時から23時に降雨がありやや増加し、



第6図 越冬罹病落葉からのリンゴ黒点病菌子の子のう胞子の時刻ごとの飛散量変化と気温、相対湿度、降水量との関係 (2001年5月25日～5月28日)
試験場所：県南果樹研究センター圃場



第7図 越冬罹病落葉からのリンゴ黒点病菌子の子のう胞子の時刻ごとの飛散量変化と気温、相対湿度、降水量との関係 (2001年6月18日～6月21日)
試験場所：県南果樹研究センター圃場



第8図 越冬罹病落葉からのリンゴ黒点病菌子(u)胞子の時刻ごとの飛散量変化と気温、相対湿度、降水量との関係 (2003年5月15日～5月17日)
試験場所：県南果樹研究センター圃場

その後漸次減少した。

4) 考 察

2000年1月中旬に採取した罹病落葉上の偽子(u)殻を供試して、偽子(u)殻の成熟と温度との関係を検討した。偽子(u)殻は5～25℃で成熟したが、30℃の高温では成熟しなかった。25℃の比較的高温においてもっとも早く成熟したので、25℃が成熟適温と考えられる。5℃では培養61日後に成熟した偽子(u)殻がみられたことから、早春の低温下においても偽子(u)殻は着実に発育することが示唆される。

1998～2001年の4か年、越冬罹病落葉からの子(u)胞子の飛散に関する検討を行った。子(u)胞子の捕捉は4月下旬または5月上旬から始まり、最盛期は5月中旬～6月上旬で、その後は漸減しながら7月中下旬まで続いた。主として降雨日に捕捉され、最盛期の5月中旬～6月上旬においては、わずかな降水量でも多量に捕捉されたので、この期間の降雨は子(u)胞子の飛散要因として特に重要であると考えられる。

2003年4月2日～5月2日、圃場で採取した罹病落葉に生じた偽子(u)殻を供して偽子(u)殻の成熟過程を検討した。偽子(u)殻は4月上旬から下旬までは未熟であったが、5月上旬には成熟していた。子(u)胞子の飛散消

長調査において、子(u)胞子は4月下旬または5月上旬から捕捉されたので、偽子(u)殻は成熟後、主として降雨があった場合、ただちに子(u)胞子を飛散させるものと考えられる。

1時間ごとの飛散量調査では、子(u)胞子は降雨前に湿度が高まったところからわずかに捕捉されはじめ、降雨が始まって2～7時間後の捕捉量が多くなる。その後降雨の有無にかかわらず漸次減少した。また相対湿度100%の条件下では捕捉量は概して少ないが、長時間連続して相対湿度100%で推移した場合は多量の子(u)胞子が捕捉された。Sutton *et al.* (1987) はリンゴ黒点病菌の子(u)胞子は降雨時と激しい露時 (heavy dew) に飛散するが、飛散量は降雨時に比較して露時は極わずかなことを報告している。このことは本試験の結果とほぼ一致しているが、青森県南部地方でたびたび出現するヤマセ、すなわち初夏から盛夏にかけて北日本に吹く冷湿の北東風 (和達, 1974) 気象下においては、多湿条件が続くため多量の子(u)胞子が飛散すると考えられる。

リンゴ黒点病菌の子(u)胞子は昼間夜間のいずれでも捕捉されたので、光による飛散への影響はないと考えられる。降雨時に伝染源となる子(u)胞子を飛散させる病原菌として、リンゴ黒星病菌 *Venturia inaequalis*、リンゴ褐斑病菌 *Diplocarpon mali*、カンキツ黄斑病菌

Mycosphaerella citri などが報告されている。このうちリンゴ黒星病菌では主として昼間に子う胞子を飛散させ (MacHardy and Gadoury, 1986)、一方リンゴ褐斑病菌、カンキツ黄斑病菌はリンゴ黒点病菌と同様に昼間夜間のいずれでも飛散することが明らかにされている (近藤ら, 2002; Mondal *et al.*, 2003; Whiteside, 1970)。

2. 子う胞子の発芽と発芽子う胞子からの *Cylindrosporium* 型分生子形成

1) 子う胞子の発芽

子う胞子の発芽と温度、湿度、光および pH との関係について調べた。

(1) 温度

材料および方法

2004 年 5 月、県南果樹研究センター内圃場で成熟した偽子う胞を生じる「つがる」越冬落葉を採取し、流水中で 30 分間水洗した。遊離水を除いた後、偽子う胞を生じている葉身部分を 2、3 cm 角に切り取り、シャーレの上蓋内壁面に張り付け、20℃、連続照明下 (300 lux、昼光色蛍光灯) に 18～24 時間保ち子う胞子を落させた。この子う胞子を滅菌水で懸濁し、素寒天平面に

第20表 リンゴ黒点病菌子う胞子の発芽と温度との関係¹⁾

温度 (℃)	発芽率 (%)	最大発芽管長 (μm)
5	75	25
10	100	145
15	99	170
20	98	225
25	99	305
30	100	135

¹⁾ 素寒天平面を発芽床とし、暗黒下で24時間培養。

第21表 リンゴ黒点病菌子う胞子の発芽と空中湿度との関係¹⁾

相対湿度 (%)	発芽率 (%)
81	0
92	0
95	31.3
98	47.8
100	57.2

¹⁾ スライドガラスを発芽床とし、20℃、暗黒下で24時間培養。

塗布した後、クリーンベンチ内で通風して寒天表面を乾燥させた。5～30℃の6段階の温度下 (いずれも連続暗黒) で24時間培養した後、子う胞子 100 個について発芽率を調査した。また発芽した 30 個の子う胞子について発芽管長を調査し、その最大値を示した。

結 果

子う胞子の発芽と温度との関係は第 20 表に示した。

子う胞子は 10～30℃のいずれの温度でもほとんどが発芽していたが (発芽率 98～100%)、5℃ではやや劣った (発芽率 75%)。発芽管の生育は 25℃でもっとも良好であり、その長さは最大 305 μm であった。

(2) 空中湿度

材料および方法

前述と同様の方法で得た子う胞子懸濁液をスライドガラス上に 1 滴滴下し、室温下で風乾後、各種の飽和塩類水溶液で相対湿度を調整した径 15 cm シャーレ内の U 字ガラス棒上に設置した。相対湿度は 100% (H₂O)、98% (1 M ショ糖)、95% (Na₂HPO₄・12H₂O)、92% (K₂HPO₄)、81% ((NH₄)₂SO₄) の 5 段階に調整した (福山ら, 1962)。これらのシャーレは 20℃、暗黒下に置き、24 時間後に子う胞子 200 個について発芽率を調査した。実験は 2 回繰り返し、結果はその平均値で示した。

結 果

子う胞子の発芽と相対湿度との関係は第 21 表に示した。

子う胞子の発芽率は相対湿度 100%でもっとも高く、ついで 98%、95%の順に低下し、92%以下ではまったく発芽しなかった。

(3) 光

材料および方法

前述と同様の方法で得た子う胞子懸濁液をスライドガラス上に 1 滴滴下し、室温下で風乾後、相対湿度 100% の径 15cm シャーレ内の U 字ガラス棒上に設置した。照明区は昼白色蛍光灯を光源として照度 300 lux で連続照明した。20℃で24時間培養後、子う胞子 200 個について発芽率を調査した。実験は 3 回繰り返しした。

第22表 リンゴ黒点病菌子う胞子の発芽と光との関係¹⁾

区	発芽率 (%)			
	1 回目	2 回目	3 回目	平均
暗黒区	72.0	42.5	72.5	62.3
照明区 ²⁾	48.0	13.0	59.5	40.2

¹⁾ スライドガラスを発芽床とし、20℃で24時間培養。

²⁾ 光源：昼白色蛍光灯、照度：300 lux (連続照明)。

第23表 リンゴ黒点病菌子のう胞子の発芽とpHとの関係^z

pH	発芽率 (%)
2	31.6
4	45.4
6	41.7
8	50.8
10	41.2
12	31.1

^z pHを変えた蒸留水に懸濁させ、20℃、暗黒下で24時間培養。

結 果

子のう胞子の発芽と光との関係は第22表に示した。

子のう胞子の発芽率は3回の実験のいずれも暗黒区が照明区より勝った。

(4) pH

材料および方法

前述と同様の方法で得た子のう胞子懸濁液をスライドガラス上に1滴滴下し、室温下で風乾後、1 N-HClおよび1 N-NaOHでpHを調整した蒸留水を数滴滴下し、相対湿度100%の径15 cmシャーレ内のU字ガラス棒上に設置した。20℃の暗黒下で24時間培養した後、子のう胞子200個について発芽率を調査した。実験は3回繰り返し、結果は平均値で示した。

結 果

子のう胞子の発芽とpHとの関係は第23表に示した。

子のう胞子は実験を行ったpH 2～12のいずれでも発芽した。発芽率はpH 8でもっとも高くpH 2および12で低かったが、その差は比較的小さかった。

2) 発芽子のう胞子からの *Cylindrosporium* 分生子形成

発芽した子のう胞子は子のう胞子から直接または子のう胞子から生じた菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を形成する。発芽子のう胞子における *Cylindrosporium* 型分生子の形成と温度および光との関係について述べる。

(1) 温 度

材料および方法

前述と同様の方法で得た子のう胞子懸濁液を素寒天平面に塗布した後、クリーンベンチ内で通風して寒天表面を乾燥させた。5～30℃の6段階の温度下（いずれも連続暗黒）で24時間、48時間および72時間培養した後、発芽した子のう胞子100個について、*Cylindrosporium* 型分生子を形成する子のう胞子の割合（以下、分生子形成率）を調査した。

第24表 リンゴ黒点病菌子のう胞子からの *Cylindrosporium* 型分生子形成と温度との関係^z

温度 (℃)	分生子形成率 ^y (%)		
	24時間後	48時間後	72時間後
5	0	0	0
10	0	9	85
15	4	70	95
20	20	94	100
25	20	99	100
30	0	0	2

^z 素寒天平面を発芽床とし、暗黒下で培養。

^y 分生子を形成する子のう胞子の割合。

第25表 リンゴ黒点病菌子のう胞子からの *Cylindrosporium* 型分生子形成と光との関係^z

区	分生子形成率 ^y (%)
暗黒	28.3
照明 ^x	60.3

^z 素寒天平面を発芽床とし、20℃で24時間培養。

^y 分生子を形成する子のう胞子の割合。

^x 光源：昼白色蛍光灯、照度：300 lux（連続照明）。

結 果

発芽した子のう胞子における *Cylindrosporium* 型分生子形成と温度との関係は第24表に示した。

発芽した子のう胞子は24時間後では15～25℃、48時間後では10～25℃、72時間後では10～30℃で分生子を形成した。72時間後では分生子形成率は20℃、25℃が100%であり、15℃、10℃もそれぞれ95%、85%と高かったが、30℃では2%で著しく劣った。

(2) 光

材料および方法

前述と同様の方法で得た子のう胞子懸濁液を素寒天平面に塗布した後、クリーンベンチ内で通風して寒天表面を乾燥させた。照明区は昼白色蛍光灯を光源として照度300 luxで連続照明した。20℃で24時間培養した後、発芽した子のう胞子200個について分生子形成率を調査した。実験は2回繰り返し、結果は平均値で示した。

結 果

発芽した子のう胞子における *Cylindrosporium* 型分生子の形成と光との関係は第25表に示した。

発芽した子のう胞子における分生子形成率は、照明区が暗黒区より勝った。

3) 考 察

子の胞子は培養24時間後に10～30℃で良好に発芽した。また発芽管の生育は25℃でもっとも良好、10～20℃で比較的良好、30℃ではやや阻害される傾向であった。したがって、子の胞子の発芽およびその後の発芽管の生育適温は25℃付近の比較的高温であると考えられる。このことは、早春の4月末頃から夏季の7月末頃まで、越冬源から飛散した子の胞子は果実や葉に伝播した後速やかに発芽し、発芽管は果実や葉の表面を伸長することを示唆している。

子の胞子は相対湿度100%での発芽率がもっとも高く、98%、95%の順にやや劣り、92%以下ではまったく発芽しなかった。子の胞子は主として降雨時に飛散し、果実や葉に伝播した子の胞子の発芽は相対湿度95%以上の高湿度が必要であると考えられる。

光との関係では、暗黒区が照明区よりも発芽率が勝ったが、暗黒区と照明区での差は比較的小さかった。光質、照度などについて、さらに検討する必要があるが、光は発芽を抑制するがその程度は小さいと考えられる。子の胞子の飛散は昼間夜間のいずれでも飛散するので、圃場において果実や葉に伝播した子の胞子は昼間夜間を問わず速やかに発芽すると考えられる。

子の胞子の発芽とpHとの関係では、最適値はpH 8であるが、pH 2およびpH12でも比較的良好に発芽したので、pHによる発芽への影響は小さく、リンゴ果実や葉に付着した子の胞子はpHによりほとんど影響されることなく発芽するものと考えられる。

子の胞子からの*Cylindrosporium*型分生子形成と温度との関係を見ると、発芽子の胞子は20～25℃で*Cylindrosporium*型分生子を良好に形成した。10℃、15℃においても培養72時間後では比較的良好に形成していたが（形成率85%、95%）、30℃では形成が著しく抑制された（形成率2%）。この結果は、早春の4月末頃から夏季の7月末頃までは果実や葉に伝播した子の胞子は2、3日後に*Cylindrosporium*型分生子を多量に形成する一方、夏季の高温時（30℃以上）では形成が抑制されることを示唆する。

光との関係では、暗黒区および照明区のいずれも発

芽子の胞子は*Cylindrosporium*型分生子を形成したが、暗黒区より照明区の形成率が勝ったことから、光は*Cylindrosporium*型分生子の形成を促すと考えられる。したがって、果実や葉の表面上で発芽した子の胞子は夜間でも*Cylindrosporium*型分生子を形成するが、昼間での形成が勝ることを示唆する。

なお、この分生子の伝染源としての働きについては、後の項「Ⅳ－4. *Cylindrosporium*型分生子の伝染源としての働き」において詳細を述べる。

3. 子の胞子の病原性

リンゴ黒点病菌においては、子の胞子が確認された唯一の伝染源であるが、わが国ではこれを実験的に確認した報告はない。そこで、子の胞子を果実および葉に接種して、病徴を観察した。

1) 果実に対する病原性

材料および方法

2002年6月、県南果樹研究センター内圃場で採取した越冬落葉上の成熟偽子の殻から得た子の胞子懸濁液（ 3.0×10^4 個/ml、Tween20を0.02%添加）を接種源とした。6月11日、鉢植え6年生「ふじ」樹に結実した果実8個に子の胞子懸濁液を噴霧接種し、風乾後、鉢を20～21℃、8時間暗黒・16時間照明（4,000～6,000 lux、ハロゲン灯：松下電工、MF400S/VH）の温室下に7日間保った。その後は鉢を無加温のガラス温室に移し、発病状況を随時観察した。対照の果実には滅菌水を噴霧した。

結 果

果実に対する子の胞子の病原性は第26表に示した。

接種約40日後の7月下旬に、供試8果のうち1果で果点が黒変した小点を生じた。接種約2か月後の8月上旬には6果で典型的な黒点病の病徴、すなわち果点を中心としたやや円んだ暗緑色の病斑を生じた（図版10B）。したがって本菌の子の胞子接種による果実感染では潜伏期間が40～60日であった。病斑部からは接種菌と同様の菌（*Cylindrosporium* 属菌）が高率に再分離された。なお、滅菌水を噴霧した対照の果実では発病はみられなかった。

第26表 リンゴ黒点病菌子の胞子の果実に対する病原性²⁾

区	供試果数（個）	発病果数（個）		1果当たりの平均病斑数 （8月10日）
		7月22日	8月10日	
接種	8	1	6	6.3
無接種	12	0	0	0

²⁾ 鉢植え「ふじ」樹の果実を供試し、2002年6月11日に接種。

第27表 リンゴ黒点病菌子のう胞子の葉に対する病原性²

区	供試葉数 (葉)	発病葉数 (葉)	
		9月3日	10月5日
接種	10	1	10
無接種	10	0	0

²鉢植え「ふじ」樹の葉を供試し、2003年6月11日に接種。

第28表 リンゴ黒点病菌子のう胞子接種葉上に生じた偽子のう殻世代の形態的特徴

項 目		リンゴ葉上菌 (本研究)	<i>Mycosphaerella pomi</i> (Walton and Orton, 1926)
偽子のう殻	色	黒色	黒色
	形態	球形～亜球形	—
	径 (μm)	58-103	70-100
	高さ (μm)	73-125	—
子のう	形態	円筒形～棍棒状	—
	大きさ (μm)	33-61×9-12	40-66×8-10
子のう胞子	色	無色	—
	形態	長楕円形～紡錘形	—
	細胞数	2胞	2胞
	大きさ (μm)	17-28×3-5	12.6-26.6×2.8-4.2

2) 葉に対する病原性

(1) 病徴の再現

材料および方法

前述と同様の方法で得た子のう胞子懸濁液 (4.1×10^4 個/ml, Tween20 を 0.02% 添加) を接種源とした。接種植物には鉢植え1年生「ふじ」を1樹用いた。2003年6月11日、樹の当年枝1枝を残して剪去し、先端から下方へ10葉位までの葉の表裏両面に子のう胞子懸濁液を噴霧接種した。風乾後、鉢を20～21℃、8時間暗黒・16時間照明 (4,000～6,000 lux, ハロゲン灯) の温室下に7日間保った。その後は鉢を無加温のガラス温室で管理し、発病状況を随時観察した。対照の葉には滅菌水を噴霧した。

結 果

葉に対する子のう胞子の病原性は第27表に示した。

接種約3か月後の9月上旬に供試10葉のうち1葉で自然発病と同様の不正型、紫褐色の病斑を生じ、10月上旬では10葉のいずれも発病した。発病葉は順次黄変落葉し、10月下旬ではいずれも落葉した (図版10C)。した

がって本菌の子のう胞子接種による葉の感染では潜伏期間が3、4か月であった。病斑部からは接種菌と同様の菌 (*Cylindrosporium* 属菌) が高率に再分離された。なお、滅菌水を噴霧した対照の葉では発病はみられなかった。

(2) 接種葉に生じた偽子のう殻世代の観察

材料および方法

前項「(1)病徴の再現」における、子のう胞子接種黄変落葉3葉を供試した。10月2日、黄変落葉を流水中で水洗し、風乾後、水分を含んだミズゴケで湿室とした径15cmのシャーレに入れ、5℃の暗黒下に保った。約6か月後の2004年4月7、8日に葉の病斑上に生じた偽子のう殻部分の徒手切片を作り、光学顕微鏡下で病原菌の形態を観察した。偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子はそれぞれ50個について大きさを計測した。

結 果

子のう胞子接種葉上に生じた偽子のう殻世代の形態的特徴は第28表に示した。

偽子のう殻は葉の両面の表皮下に埋没して生じ、黒色、球形～亜球形、頂端に乳頭状の孔口を有し、径58～103

μm (平均 $78.4 \mu\text{m}$)、高さ $73 \sim 125 \mu\text{m}$ (平均 $91.8 \mu\text{m}$) であった。子のは殻底より束生、円筒形～棍棒状、二重壁、大きさ $33 \sim 61 \times 9 \sim 12 \mu\text{m}$ (平均 $44.3 \times 9.9 \mu\text{m}$)、8 個の子のう胞子を有していた。子のは不規則状 2 列に並んで生じ、長楕円形～紡錘形、まっすぐ～やや湾曲、2 細胞、隔壁部でわずかにくびれ、無色、大きさ $17 \sim 28 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$ (平均 $20.0 \times 3.8 \mu\text{m}$) であった。

したがって、偽子のは、子のはおよび子のはの形態的特徴は Walton and Orton (1926) による *Mycosphaerella pomi* の記載と一致した。

3) 考 察

リンゴ黒点病菌子のは胞子接種果実は接種約 40 日後から果点が黒変した小点を生じ、やがて病斑は果点を中心としたやや円んだ暗緑色となり、自然発病と同様のリンゴ黒点病の病徴を生じた。リンゴの落花期は青森県においては 5 月 20 日頃であり、この時期は伝染源である子のは胞子の飛散最盛期でもある。したがって 5 月下旬頃の落花期もない幼果が感染すれば、40 日程度の潜伏期間を経て、7 月上旬頃から発病すると見積られる。実際、圃場においては果実の発病は 6 月下旬または 7 月上旬からである。圃場における 30～40 日の潜伏期間と接種による潜伏期間とはほぼ一致した。

子のは胞子接種葉では接種約 3 か月後から自然発病と同様の不正型、紫褐色の病斑を生じ、やがて黄変落葉した。野外で子のは胞子は 4 月下旬または 5 月上旬頃から飛散するので、この時期に感染した葉は約 3 か月の潜伏期間を経て 7 月下旬～8 月上旬に発病すると見積られる。実際、圃場における葉の発病は 8 月上旬～下旬からである。したがって、圃場における 3、4 か月の潜伏期間と接種による潜伏期間とはほぼ一致した。

子のは胞子接種黄変落葉を低温 (5°C) の湿室に保持した結果、偽子のは、子のはおよび子のはの形成がみられ、それらの形態的特徴は Walton and Orton (1926) による *Mycosphaerella pomi* の記載と一致した。しかし三浦 (1927) が記載した *Diaporthe pomigena* は確認できなかった。Sutton *et al.* (1987) は子のは胞子接種落葉を野外で越冬させた結果、同様に *M. pomi* の偽子のはの殻を、また Tsuyama *et al.* (1973) も単子のは胞子分離菌を火傷をつけた葉に接種し *M. pomi* の偽子のはの殻を得ている。しかしいずれも *Diaporthe pomigena* に関してはまったく記載していない。

4. *Cylindrosporium* 型分生子の伝染源としての働き

2003 年 6 月、県南果樹研究センター内の無防除のリンゴ圃場から採取した果実および葉の表面を顕微鏡を用いて観察した結果、子のは胞子の本体に、あるいは子のは

胞子から生じた菌糸上に形成される *Cylindrosporium* 型分生子を発見した。この発見に基づき *Cylindrosporium* 型分生子の伝染源としての働きを検討した。

1) 圃場リンゴ樹の果実および葉上における *Cylindrosporium* 型分生子形成

材料および方法

2003 年 6 月 2 日から 6 月 28 日まで、県南果樹研究センター内の無防除の圃場から採取した‘つがる’または‘ふじ’の果実および葉を供試した。果実では果皮部を鋭利なナイフを用いて 5 mm 角 (厚さ $0.3 \sim 0.4 \text{ mm}$) に、また葉では 7 mm 角に切り取り、この果皮片および葉片の表面にトリパンブルー・酢酸液を滴下して付着する子のは胞子を染色した後、水封入プレパラートを作り、光学顕微鏡下で観察した。

結 果

調査を行った 6 月 2 日から 6 月 28 日までの期間、無防除の圃場から採取した果実および葉の表面のいずれにおいても、発芽する子のは胞子と新たに生じた分生子がみられた。子のは胞子は両端から発芽管を生じ、この子のは胞子から直接または子のは胞子から生育した菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じていた (図版 11A～C)。

2) 子のは胞子接種リンゴ葉面上における *Cylindrosporium* 型分生子形成

材料および方法

2003 年 6 月、県南果樹研究センター内圃場で採取した越冬罹病落葉から得た子のは胞子懸濁液 (5.0×10^5 個/ml, Tween20 を 0.02% 添加) を接種源とした。接種植物には鉢植え 1 年生‘ふじ’を 2 樹用いた。2003 年 6 月 13 日、樹の当年枝を 2 枝残して剪去し、各枝の全葉の表裏両面に子のは胞子懸濁液を小型噴霧器を用いて噴霧接種した。鉢は $20 \sim 21^{\circ}\text{C}$ 、8 時間暗黒・16 時間照明 ($4,000 \sim 6,000 \text{ lux}$ 、ハロゲン灯) の湿室下に保った。24 時間、48 時間、72 時間および 96 時間後に、それぞれ 1 樹から 2 葉を採取し 1 葉から 7 mm 角の 3 葉片を切り取った。この葉片にトリパンブルー・酢酸液を滴下し子のは胞子を染色した後、水封入プレパラートを作り光学顕微鏡下で観察した。

結 果

接種 24 時間後には、ほとんどの子のは胞子が発芽し、発芽した子のは胞子の多くが分生子を生じていた。発芽管は子のは胞子の両端から伸長し、しばしば子のは胞子は 3 隔壁となっていた。*Cylindrosporium* 型分生子は子のは胞子から直接、または子のは胞子から生育した菌糸上に形成されていた (図版 11D)。96 時間後では、菌糸は葉面上を分岐しながら生育し、多量に分生子を生じていた (図版 11E)。また気孔から侵入する菌糸も認められた。

第29表 黒点病菌子の子の胞子接種りんご葉面に新たに形成された *Cylindrosporium* 型分生子のりんご果実に対する病原性²⁾

区	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの平均病斑数
接種	12	12	29.6
無接種	12	0	0

²⁾ ‘紅玉’ 果実を供試し、2003年6月23日接種、同年9月3日発病調査。

なお、ここで生じた分生子は *Cylindrosporium* 型、無色、糸状～円筒形、まっすぐ～湾曲、大きさ $10 \sim 65 \times 1.5 \sim 3 \mu\text{m}$ 、 $0 \sim 5$ 隔壁であり、形態の特徴が Brooks and Black (1912) および三浦 (1915) による *C. pomi* の記載と一致した。

3) りんご葉面上で形成された *Cylindrosporium* 型分生子の病原性

材料および方法

2003年6月、上述と同様の方法で得た子の子の胞子懸濁液 (5.0×10^5 個/ml, Tween20 を 0.02% 添加) を上述と同様の方法で鉢植え1年生‘ふじ’葉に接種後、鉢を $20 \sim 21^\circ\text{C}$ 、8時間暗黒・16時間照明 ($4,000 \sim 6,000 \text{ lux}$, ハロゲン灯) の温室下に保った。10日後、葉面に生じた *Cylindrosporium* 型分生子を滅菌水に懸濁し、これを3重のガーゼを通し、*Cylindrosporium* 型分生子懸濁液 (2.0×10^5 個/ml, Tween20 を 0.02% 添加) を得た。なお懸濁液には子の子の胞子が 2.0×10^2 個/ml 含まれていたが、これらの子の子の胞子には細胞質がみられなかったため、死滅していると判断した。2003年6月23日、この分生子懸濁液を県南果樹研究センター内圃場の‘紅玉’の無傷果実に小型噴霧器を用いて噴霧接種し、9月3日に発病調査した。対照の果実には滅菌水を噴霧した。なお供試果実は自然発病を避けるため、接種約20日前にハトロン紙製袋で被覆し、接種直前に除袋し、接種を行った後再びハトロン紙製袋で被覆した。供試果実数は12果とした。

結 果

子の子の胞子の発芽により生じた *Cylindrosporium* 型分生子のりんご果実に対する病原性は第29表に示した。

発芽した子の子の胞子に由来する *Cylindrosporium* 型分生子を接種したりんご果実は黒点病を生じ、接種病斑部から接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された (図版11F)。なお、滅菌水を噴霧した果実では発病は認められなかった。

4) 考 察

Brooks (1908) および Brooks and Black (1912) は貯蔵中の果実の病斑上に *Cylindrosporium* 型分生子および

“*Phoma* 型分生子”が生じていたことから、りんご圃場においても越冬した落果実上に *Cylindrosporium* 型および“*Phoma* 型分生子”を生じ、これらの分生子が伝染源となることを推定した。木村 (1938) はりんご圃場で越冬落果実上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じることを認め「病斑部上に粘質状の胞子堆を生じ此れが乾燥して胞子を飛散せしめ蔓延するを認めたり」と記載している。しかし *Cylindrosporium* 型分生子が伝染源であることを実験的に証明していない。関口 (1966, 1968) は果実に生じた柄子殻世代を *Phoma pomi*、落葉上に生じた柄子殻世代を *Phyllosticta* sp. とし、両者の違いは形成部位の違いによるもので *Phyllosticta* sp. と *Phoma pomi* は同一種であると解説し、*Phyllosticta* 型分生子がりんご果実に病原性があることから、*Phyllosticta* 型分生子が圃場において伝染源として働く可能性を示唆した。しかし本研究ではりんご黒点病菌に *Phyllosticta* 型分生子世代は認められず、また“*Phoma* 型分生子”世代は精子器世代と結論した。したがってりんご黒点病においては子の子の胞子がこれまでに確認された唯一の伝染源である。Sutton *et al.* (1987) も本病に関する疫学的研究結果から、子の子の胞子が唯一の伝染源であると結論している。

しかし本研究において、本病多発圃場で果実および葉の表面に、子の子の胞子本体から直接あるいは子の子の胞子から生じた菌糸上に形成される *Cylindrosporium* 型分生子を発見した。自然発病を避けるため隔離した鉢植えのりんご樹を用いて、葉に子の子の胞子を接種し観察した結果、圃場下と同様、葉の表面において子の子の胞子本体および子の子の胞子の発芽により生じた菌糸上に多数の *Cylindrosporium* 型分生子が形成された。この分生子を回収してりんご果実に接種したところ、典型的な黒点病を生じた。この実験結果から、*Cylindrosporium* 型分生子は生育期の圃場において二次伝染源として働いていると結論される。りんご果実のがく側に偏っておびただしい多数の小斑点が発生する本病特有の病徴 (図版1A～D, 2A～H, 3A～H) は、このような *Cylindrosporium* 型分生子の二次感染に起因するものと考えられる。

なお、子の子の胞子を接種した葉面において、子の子の胞子から生じた菌糸は *Cylindrosporium* 型分生子を生じながら生育し気孔侵入することが観察された。本菌のりんご

果実や葉への侵入法に関しては、次項「Ⅳ－5. 病原菌の宿主への侵入」で述べる。

5. 病原菌の宿主への侵入

1) 果 実

材料および方法

単子のう胞子分離株 No.22 を PDA 培養して得た *Cylindrosporium* 型分生子懸濁液 (5.0×10^5 個 / ml, Tween20 を 0.02% 添加) を接種源とした。2004 年 6 月 19 日、県南果樹研究センター内圃場から採取した「紅玉」果実（供試果実は自然発病を避けるため、採取約 20 日前にハトロソ紙製袋で被覆）に分生子懸濁液を噴霧接種した後、水をしみ込ませた紙を敷き湿室とした径 12cm、高さ 12cm の腰高シャーレ内にこの果実を入れ、20℃、暗黒下に保持した。接種 24 時間、48 時間、72 時間、96 時間、120 時間および 240 時間後に、それぞれ果実を 2 個取り出し、鋭利なナイフを用いて 5mm 角の果皮片（厚さ 0.3 ～ 0.6 mm）をできるだけたくさん切り取った。この果皮片の表面にトリパンブルー・酢酸液を滴下し菌を染色した後、水封入プレパラートを作り光学顕微鏡下で観察した。

結 果

接種 24 時間後には、ほとんどの分生子は発芽していた。その後、分生子から生じた菌糸は果面上を生育し、接種 120 時間後に気孔から果実内に侵入した（図版 11G）。時間の経過とともに気孔から侵入する菌糸が多くみられたが、240 時間後においても気孔以外からの侵入は認められなかった。

2) 葉

材料および方法

越冬した罹病落葉から得た単子のう胞子懸濁液 (5.0×10^5 個 / ml, Tween20 を 0.02% 添加) を接種源とした。接種植物には鉢植え 1 年生「ふじ」（台木：マルバカイドウ）を 2 樹用いた。2003 年 6 月 13 日、樹の当年枝 2 枝を残して剪去し、各枝の全葉の表裏両面に単子のう胞子懸濁液を噴霧接種した。鉢は 20 ～ 21℃、8 時間暗黒・16 時間照明（4,000 ～ 6,000 lux、ハロゲン灯）の湿室下に保ち、接種 24 時間、48 時間、72 時間、96 時間、120 時間および 240 時間後に、それぞれ 1 樹から 2 葉を採取し 1 葉から 7mm 角の 3 葉片を切り取った。この葉片にトリパンブルー・酢酸液を滴下し菌を染色した後、水封入プレパラートを作り光学顕微鏡下で観察した。

結 果

接種 24 時間後には、ほとんどの単子のう胞子は発芽し、発芽した単子のう胞子の多くは分生子を生じていた。48 時間および 72 時間後には単子のう胞子から生じた菌糸は *Cylindrosporium* 型分生子を生じながら生育し、96 時間後

には気孔から葉組織に侵入した（図版 11H）。その後も時間の経過とともに気孔から侵入する多くの菌糸が認められたが、240 時間後においても気孔以外からの侵入は認められなかった。

3) 考 察

植物病原糸状菌類は固有の侵入法を備えていて、その方法は傷侵入、角皮侵入、気孔侵入などがある。気孔侵入では侵入に先立ち付着器を形成する場合としない場合がある（奥, 1995）。*Mycosphaerella* 属菌による病原菌では、主として角皮侵入を行うユウカリ leaf spot の病原菌 *M. cryptica* (Park and Keane, 1982)、気孔侵入を行うユウカリ leaf spot の病原菌 *M. nubilosa* (Park and Keane, 1982)、カンキツ黄斑病の病原菌 *M. citri* (Whiteside, 1972)、コムギ *Septoria tritici blotch* の病原菌 *M. graminicola* (Duncan and Howard, 2000) など、気孔侵入および角皮侵入のいずれも報告されている。

本研究においては果実では *Cylindrosporium* 型分生子を供し、葉では単子のう胞子を供して、リンゴ黒点病菌の侵入法を検討した。いずれにおいても胞子から生じた菌糸は果実や葉の表面を一定の傾向がなく生育し、たまたま気孔上に生育した菌糸が付着器を形成せず気孔から侵入した。一方、角皮侵入は果実および葉のいずれにおいても観察できなかった。圃場から採取した自然発病の果実および葉の病斑部を観察した結果においても、角皮侵入と思われる侵入は観察できなかった。Sutton *et al.* (1987) もリンゴ黒点病菌 *Cylindrosporium* 型分生子の接種葉において、気孔侵入だけを確認している。

気孔侵入する *Mycosphaerella* 属菌病原菌においては、気孔上で菌糸先端に付着器様構造を生じた後、植物体に侵入するものが明らかにされている（Duncan and Howard, 2000; Whiteside, 1972）。リンゴ黒点病菌についても、Sutton *et al.* (1987) は接種した *Cylindrosporium* 型分生子の約 5% が気孔上で発芽管先端に付着器様構造を生じることを報告している。しかし本観察においては、付着器様構造は認められなかった。この点については今後の検討課題としたい。

6. 感染と発病

果実の感染時期および果実の生育段階に伴う感受性の推移を明らかにすることは、的確な防除を行ううえで重要である。そこで果実における発生消長、感染時期および生育段階に伴う感受性の推移を検討した。さらに葉齢と発病との関係、また枝における発病の可能性についても接種により検討した。

1) 果実における発生消長

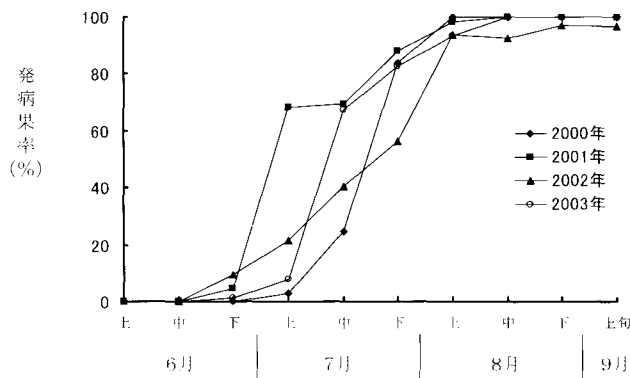
材料および方法

2000～2003年の4か年、県南果樹研究センター内圃場の‘つがる’（台木：M. 9、2000年における樹齢：26年）3樹を供試した。供試樹は毎年同一樹を用い、いずれの年も開花前まで一般防除管理し、それ以降無防除とした。6月上旬から収穫期の9月上旬までの期間、約10日間隔で1樹から50果（合計150果）を無作為に選び、発病果率を調査した。

結 果

果実における発生病消長は第9図に示した。

果実における自然発病は6月下旬または7月上旬からみられ、その後急激に発病果率が高まり、8月上旬ではほぼ全果が発病した。



第9図 リンゴ‘つがる’果実における黒点病の発生消長
試験場所：県南果樹研究センター圃場

2) 果実の感染時期

材料および方法

1997年に畑作園芸試験場（現県南果樹研究センター）内圃場、1999年と2000年に県南果樹研究センター内圃場において、‘つがる’果実（台木：M.26、樹齢：18～21年）を供試して、被袋除袋法、すなわち落花間もない果実を一斉に被袋して病原菌の侵入を防ぎ、袋を一定期間除いて病原菌を侵入させた後、再び被袋する方法により感染時期を検討した。なお、りんご果実の生育段階は‘ふじ’の落花後日数で示した。

試験1：1997年5月22日（落花4日後）、1区1樹を供試し、1樹から無作為に選んだ100果をハトロニ紙袋で被覆した。第30表に示したように、5月22日から7月7日（落花50日後）までの期間、5日間（ただし1区は4日間）袋を除き果実を露出させた後再び被袋した。9月1日に落下果実を除く全果について発病調査した。対照として、試験期間を通して果実を被覆した区と露出した区を設けた。なお試験圃場は5月7日（開花直前頃）まで一般防除管理し、7月7日以降全果から袋を除き再び一般防除管理した。

試験2：1999年5月24日（落花4日後）、1区1樹を供試し、1樹から無作為に選んだ50果をハトロニ紙製袋で被覆した。7月9日（落花50日後）に袋を除き、8月25日（落花97日後）に供試果実のうち30果を無作為に選び発病調査した。対照として、試験期間を通して果実を露出した区を設けた。なお試験圃場は5月10日（開花直前頃）まで一般防除管理し、それ以降は無防除とした。

第30表 リンゴ‘つがる’果実の生育段階と黒点病感染との関係^z（1997年）

区	果実の露出期間		調査果数 (個)	発病果率 (%)	1果当たりの 平均病斑数
	月 日	‘ふじ’の落花後 日数 (H) ^y			
1	5.22～5.28	4～10	93	95.7	17.0
2	5.28～6. 2	10～15	83	100	62.1
3	6. 2～6. 7	15～20	89	100	84.1
4	6. 7～6.12	20～25	88	88.6	17.8
5	6.12～6.17	25～30	91	76.9	7.4
6	6.17～6.22	30～35	76	84.2	9.5
7	6.22～6.27	35～40	76	80.3	6.0
8	6.27～7. 2	40～45	85	69.4	3.1
9	7. 2～7. 7	45～50	84	64.3	6.5
10	全期間被覆		86	77.9	5.0
11	全期間露出		100	100	58.0

^z 試験場所：県南果樹研究センター圃場、発病調査：9月1日。

^y ‘ふじ’の落花日：5月18日。

試験3：2000年5月25日（落花1日前）、1区1樹を供試し、1樹から無作為に選んだ50果をハトロソ紙製袋で被覆した。第32表に示したように、5月25日（落花1日前）から8月31日（落花97日後）までの期間、10日間（ただし1区は11日間、8区は27日間）袋を除き果実を露出させた後再び被覆した。8月31日に供試果実のうち30果を無作為に選び発病調査した。対照として、試験期間を通して果実を被覆した区と露出した区を設けた。なお試験圃場は5月11日（開花直前）まで一般防除管理し、それ以降は無防除とした。

結 果

試験1：1997年における果実の生育段階と感染との関係は第30表に示した。

試験期間を通して被覆した対照の果実でも軽微な発病がみられたが、落花4日後から25日後までの期間に露出

した各区の発病果率が高く、1果当たりの平均病斑数も多かった。特に落花10日後～15日後および落花15日後～20日後に露出した区の発病果率が高く、1果当たりの平均病斑数も著しく多かった。

試験2：1999年における果実の生育段階と感染との関係は第31表に示した。

落花50日後から落花97日後まで露出した果実は、発病果率が被覆区の10.0%に対して100%であり、1果当たりの平均病斑数も被覆区に比べ明らかに多かった。

試験3：2000年における果実の生育段階と感染との関係は第32表に示した。

試験期間を通して被覆した対照の果実でも軽微な発病がみられたが、落花1日前から落花50日後までの期間に露出した各区の発病果率が高く、1果当たりの平均病斑数も多かった。特に、落花10日後～20日後に露出した区

第31表 リンゴ‘つがる’果実の生育段階と黒点病感染との関係^z（1999年）

区	果実の露出期間		調査果数 (個)	発病果率 (%)	1果当たりの 平均病斑数
	月 日	‘ふじ’の落花後 日数 ^y (日)			
1	7.9 ~ 8.25	50 ~ 97	30	100	34.0
2	上記期間被覆		30	10.0	0.1

^z 試験場所：県南果樹研究センター圃場。発病調査：8月25日。

^y ‘ふじ’の落花日：5月20日。

第32表 リンゴ‘つがる’果実の生育段階と黒点病感染との関係^z（2000年）

区	果実の露出期間		調査果数 (個)	発病果率 (%)	1果当たりの 平均病斑数
	月 日	‘ふじ’の落花後 日数 ^y (日)			
1	5.25 ~ 6.5	~ 10	30	86.7	12.5
2	6.5 ~ 6.15	10 ~ 20	30	100	144.5
3	6.15 ~ 6.25	20 ~ 30	30	96.7	16.6
4	6.25 ~ 7.5	30 ~ 40	30	100	50.4
5	7.5 ~ 7.15	40 ~ 50	30	100	29.6
6	7.15 ~ 7.25	50 ~ 60	30	60.0	2.9
7	7.25 ~ 8.4	60 ~ 70	30	96.7	10.1
8	8.4 ~ 8.31	70 ~ 97	30	93.3	7.1
9	全期間被覆		30	76.7	3.5
10	全期間露出		30	100	222.9

^z 試験場所：県南果樹研究センター圃場。発病調査：8月31日。

^y ‘ふじ’の落花日：5月26日。

第33表 リンゴ‘つがる’果実の黒点病感受性の推移^z (1999年)

区	接種月日	‘ふじ’の落花後 日数 ^y (日)	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
接種 ^x	5.24	4	9	9	172.8
	6. 4	15	8	8	382.4
	6.23	34	8	8	302.4
	7. 7	48	4	4	236.8
対照 (水)	5.24	4	6	6	4.2

^z 試験場所：県南果樹研究センター圃場。^y ‘ふじ’の落花日：5月20日。^x 単子のう胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種，9月7日発病調査。第34表 リンゴ‘つがる’果実の黒点病感受性の推移^z (2000年)

区	接種月日	‘ふじ’の落花後 日数 ^y (日)	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
接種 ^x	5.31	5	10	9	18.3
	6.10	15	8	8	137.3
	6.20	25	10	10	77.6
	6.30	35	10	10	35.3
	7.10	45	10	10	16.6
対照 (水)	5.31	5	7	6	5.0

^z 試験場所：県南果樹研究センター圃場。^y ‘ふじ’の落花日：5月26日。^x 単子のう胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種，8月28日発病調査。

の発病果率が高く，1果当たりの平均病斑数も著しく多かった。

3) 果実の感受性推移

材料および方法

県南果樹研究センター内圃場の‘つがる’果実（台木：M.26，樹齢：20～22年）を供試し，病原菌接種法により果実の感受性の推移を検討した。単子のう胞子分離株No.22をPDA平面で培養して得た分生子から調製した懸濁液（ $5.1 \sim 5.9 \times 10^5$ / ml，Tween 20を0.02%添加）を接種源とした。なお，リンゴ果実の生育段階は‘ふじ’の落花後日数で示した。

試験1：1999年5月24日（落花4日後）から7月7日（落花48日後）までの期間，第33表に示したように11～19日間隔で分生子懸濁液を小型噴霧器を用いて，無傷果実に噴霧接種した。接種後は中澤（1995）がリンゴすす斑病の接種試験で行った方法，すなわち蒸留水を含ませた脱脂綿で果柄を巻き，さらに果柄を含む果実全体をア

ルミニウム箔で包む方法により湿室とした。5日後に脱脂綿およびアルミニウム箔を除き，その後ただちにハترون紙製袋で被覆した。9月7日に発病調査した。なお供試果実は自然発病を避けるため，いずれの果実も5月24日にハترون紙製袋で被覆し，接種直前に除袋した。各区10果を供し，試験期間中の落下果実は調査から除いた。

試験2：2000年5月31日（落花5日後）から7月10日（落花45日後）までの期間，第34表に示したように10日ごとに分生子懸濁液を無傷果実に噴霧接種し，8月28日にそれぞれ発病調査した。なお供試果実は5月25日にハترون紙製袋で被覆し，接種直前に除袋し，接種を行った後再びハترون紙製袋で被覆した。各区10果を供し，試験期間中の落下果実は調査から除いた。

試験3：2001年5月22日（落花2日後）から7月19日（落花60日後）まで，「試験2」と同様の方法で時期別に無傷果実に噴霧接種し，9月10日に発病調査した。なお供試果実は5月21日にハترون紙製袋で被覆し，接種直前

第35表 リンゴ‘つがる’果実の黒点病感受性の推移^z (2001年)

区	接種月日	‘ふじ’の落花後 日数 ^y (日)	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
接種 ^x	5.22	2	10	10	100.0
	5.30	10	9	9	229.2
	6.11	22	7	7	322.1
	6.19	30	10	10	342.6
	7. 5	46	10	10	180.4
	7.19	60	7	7	62.0
対照 (水)	5.22	2	4	4	3.0

^z 試験場所：県南果樹研究センター圃場。^y ‘ふじ’の落花日：5月20日。^x 単子のう胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種。9月10日発病調査。

に除袋し、接種を行った後再びハトロシ紙製袋で被覆した。各区10果を供し、試験期間中の落下果実は調査から除いた。

結 果

試験1：1999年における果実の感受性の推移は第33表に示した。

感受性程度は1果当たりの平均病斑数で評価した。5月24日（落花4日後）から7月7日（落花48日後）までのいずれの時期に接種した果実も発病した。1果当たりの平均病斑数は6月4日（落花15日後）に接種した果実がもっとも多く、その後順次減少したが、7月7日（落花48日後）においても236.8であり、発病程度は高かった。

試験2：2000年における果実の感受性の推移は第34表に示した。

5月31日（落花5日後）から7月10日（落花45日後）までのいずれの時期に接種した果実も発病した。1果当たりの平均病斑数は6月10日（落花15日後）に接種した果実がもっとも多く、その後順次減少した。

試験3：2001年における果実の感受性の推移は第35表に示した。

5月22日（落花2日後）から7月19日（落花60日後）まで、いずれの時期に接種した果実も発病した。1果当たりの平均病斑数は5月30日（落花10日後）から6月19日（落花30日後）までの期間に接種した果実で多く、その後順次減少した。

4) 葉の老若と発病

材料および方法

単子のう胞子分離株No.22をPDA平面で培養して得た分生子から調製した懸濁液（ 5.7×10^5 個/ml, Tween20を0.02%添加）を接種源とした。接种植物には

鉢植え1年生‘ふじ’（台木：マルバカイドウ）を2樹用いた。2002年7月16日、樹の当年枝1枝を残して剪去し、先端から10葉位までの葉の表裏両面に分生子懸濁液を噴霧接種した。風乾後鉢全体をポリエチレン袋で覆い湿室とし、7日間室内の散光下（24～29℃）に保持した。その後は、鉢を無加温のガラス温室に移し管理した。対照の鉢には滅菌水を噴霧した。

結 果

葉位と発病との関係は第36表に示した。

接種約2か月後の9月中旬から自然発病と同様の不正形、紫褐色病斑を生じ、10月上旬では接種した20葉のすべてが発病した。発病葉は順次黄変して落葉し、10月下旬ではほとんどが落葉した。新梢先端から10葉位までの葉について、葉位による発病差は認められなかった。

5) 枝における発病の可能性

材料および方法

単子のう胞子分離株No.22をPDA平面で培養して得た分生子から調製した懸濁液（ 5.7×10^5 個/ml, Tween20を0.02%添加）を接種源とした。接种植物には鉢植え1年生‘ふじ’（台木：マルバカイドウ）を2樹用いた。2002年7月16日、樹の当年枝1枝を残して剪去し、先端から基部までの枝と葉に分生子懸濁液を噴霧接種した（葉では表裏両面に接種）。風乾後、鉢全体をポリエチレン袋で覆い湿室とし、7日間室内の散光下（24～29℃）に保持した。その後は、鉢を無加温のガラス温室に移し管理し、翌年の4月3日まで発病の有無を観察した。4月3日には接種枝の皮目を2mm角に切り取り、70%エタノールに5秒間浸して脱気後、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素含量1%）で10秒間表面殺菌した。さらに滅菌水で2回洗浄、クリーンベンチ内で滅菌ろ紙

第36表 リンゴ当年枝上の葉位と黒点病発病との関係²

鉢No.	調査月日 (月日)	発 病 程 度 ³									
		(← 先端)		葉 位						(基部 →)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No. 1	9. 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9. 14	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+
	10. 2	+++	+++	+++	+	+	+++	+	++	++	+
	10. 16	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
	10. 31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	11. 13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
No. 2	9. 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9. 14	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
	10. 2	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+
	10. 16	+	+++	+++	+	++	+++	+	+	+	+
	10. 31	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	++
	11. 13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

² 鉢植え‘ふじ’樹を供試し、2002年7月16日単子のう胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種。³ 発病程度 - : 発病なし, + : 発病初期 (不正形、紫褐色病斑を生じている), ++ : 黄変, +++ : 落葉。第37表 リンゴ黒点病菌接種リンゴ枝の皮目からの糸状菌の分離試験結果²

供試皮目数 (個)	分離皮目数 (個)	
	黒点病菌	
	その他の糸状菌	
40	0	0

² 鉢植え‘ふじ’樹の当年枝を供試し、2002年7月16日単子のう胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種、翌2003年4月に分離。

上に並べ50～60分間通風して風乾させた後、PDA平面に置床し、20℃、暗黒下で7日間培養した。供試皮目数は1樹20個 (合計40個) とした。対照の鉢には滅菌水を噴霧した。

結 果

接種葉はいずれも接種約3か月までに発病したが、枝では接種約9か月後の4月3日においてもまったく発病がみられなかった。また接種枝の皮目からリンゴ黒点病菌は分離されなかった (第37表)。

6) 考 察

リンゴ黒点病菌に対する果実の感染時期を‘つがる’果実で被袋除袋法により検討した。1997年および2000年の試験において、試験期間を通して被覆した対照の果

実でも軽微な発病がみられたので、感染時期の詳細を明らかにできなかった。しかし1997年には‘ふじ’の落花4日後 (5月22日) から‘ふじ’の落花25日後 (6月12日) までの期間に露出した各区、2000年には‘ふじ’の落花1日前 (5月25日) から‘ふじ’の落花50日後 (7月15日) までの期間に露出した各区の発病果率が明らかに高く、1果当たりの平均病斑数も多かった。特に両年とも‘ふじ’の落花10日後～20日後 (1997年: 5月28日～6月7日、2000年: 6月5日～6月15日) に露出した区で発病果率が高く、1果当たりの平均病斑数も著しく多かった。したがって果実の感染は落花間もないころから‘ふじ’の落花50日後頃までが多く、特に‘ふじ’の落花10日後～20日後が激しいと考えられる。また1999年の試験で、‘ふじ’の落花50日後 (7月9日) から‘ふ

じ'の落花97日後(8月25日)に露出した果実が発病したので、'ふじ'の落花50日後以降も果実感染が起ると思われる。1950年代に青森県りんご試験場で行われた'紅玉'果実の試験では、感染は落花間もないころ(5月中下旬)から始まり、落花10日後頃～30日後頃が多く、その後7月末頃まで続くことが明らかにされており(青森県りんご試験場昭和29年度業務年報；同昭和30年度業務年報；同昭和31年度業務年報；同昭和33年度業務年報；同昭和34年度業務年報)、『つがる』を用いた今回の試験結果もほぼ同様であった。

果実の生育に伴う黒点病感受性の推移は『つがる』果実を供試し、病原菌接種法により検討した。1999年および2000年では、『ふじ』の落花15日後(1999年：6月4日、2000年：6月10日)に接種した区で1果当たりの平均病斑数がもっとも多く、その後『ふじ』の落花45日後頃まで順次減少した。また2001年では1果当たりの平均病斑数は『ふじ』の落花10日後～30日後(5月30日～6月19日)が多く、その後順次減少したが、『ふじ』の落花60日後(7月19日)でも発病がみられた。したがって1999～2001年の3か年の結果から、『ふじ』の落花10日後頃～30日後頃(5月下旬～6月中下旬)の感受性が高くその後順次低下するが、『ふじ』の落花60日後頃(7月中旬)においても程度は低い感受性が保たれていると考えられる。

リンゴ黒点病菌の侵入門戸は気孔である。リンゴ黒点病菌と同様に気孔侵入するリンゴ果実病害の病原菌に輪紋病菌 *Botryosphaeria dothidea* がある。尾形(2004)は福島県における輪紋病の研究において、果実の感受性は6～7月が高く、その後果実の生育に伴い低下することを明らかにした。この原因として、6月上旬頃までは孔辺細胞は開閉機能を有するため病原菌の侵入が困難であり、6～7月は開閉機能を失い果点として開口したままの状態にあり、この開口部から容易に病原菌が侵入できるが、その後は果実の肥大に伴い果点がコルク化し塞がれた状態となるため再び侵入が困難になると考察した。リンゴ黒点病においても、輪紋病と同様に果点がコルク化し塞がれた状態では病原菌の侵入は困難であると考えられる。しかしリンゴ黒点病は、輪紋病の感受性の推移と異なり、5月下旬頃から6月中旬頃(『ふじ』の落花10日後頃から30日後頃)の感受性が高く6月下旬頃以降低下する。6月末から7月末においては、果実の気孔は開閉機能が失われ果点として開口したままの状態であり、病原菌は容易に果実に侵入できるはずであるが、実際は黒点病に対してむしろ果実の感受性は低下した。したがってリンゴ黒点病に対する果実の感受性は、気孔の開閉機能だけで説明することはできない。

気孔侵入を行う病原菌には付着器を形成しないで発芽管が孔辺細胞近くにくると気孔内部へと向きを変え侵入

するものと、付着器を形成してそこから気孔へと侵入するものがある。付着器を形成しないで単に発芽管が方向を変えて気孔をくぐり抜ける病原菌は気孔が閉じているときは侵入できないが、付着器を形成して侵入する病原菌は付着器から出た侵入菌糸が閉じた気孔をこじ開けるように侵入するといわれている(奥, 1995)。Sutton *et al.* (1987) はリンゴ黒点病菌の *Cylindrosporium* 型分生子を葉に接種した結果、約5%の分生子において、気孔上に伸長した発芽管の先端に付着器様構造を生じ、侵入することを報告している。輪紋病菌のリンゴ果実への侵入は気孔の開閉機能に依存するが、黒点病菌は付着器様構造を形成し侵入菌糸により気孔をこじあけて侵入するとすれば、輪紋病菌ほど気孔の開閉機能に依存しないのかもしれない。またSutton *et al.* は *Cylindrosporium* 型分生子を接種した葉では葉齢間に発病の違いはみられなかったことを報告したが、本研究でも同様の結果を得た。このことから黒点病菌においては、侵入は気孔の開閉機能に大きく依存しないのかもしれない。

福田(1972)は『紅玉』のJonathan spotなど斑点性生理障害に対するカルシウム化合物の散布効果の検討において、 CaCl_2 および石灰乳は黒点病の発生を軽減することを明らかにし、この理由としてカルシウムが果皮を強化し病原菌の侵入を阻止するためではないかと考察している。6月末から7月末においては、果実は生育に伴う果皮構造の変化により黒点病菌の侵入を阻止していることも考えられる。これらの点は今後の検討課題としたい。

三浦(1915)は黒点病の枝症状について、1年生枝の先端部付近において気孔および水孔部が縦横に不規則な褐色の亀裂を生じ粗皮状となり枯死すると報告している。しかし今回鉢植え1年生『ふじ』樹を用いて行った接種試験では、葉は容易に発病したが枝の発病は観察できなかった。さらに、接種枝の皮目からは何ら病原菌を分離できなかった。前述のように(「Ⅲ-1. 病徴」)、本病多発の圃場において三浦が報告した枝病斑が観察できなかったことから、リンゴ枝が黒点病菌により発病する可能性は低いと考えられる。

7. リンゴ品種の感受性と宿主範囲

1) リンゴ

リンゴ黒点病は『国光』、『紅玉』、『柳玉』、特に『紅玉』で発生しやすく、『祝』で発生しにくく(三浦, 1915)、また新しい品種では『つがる』で発生しやすい(新谷ら, 1997)。本試験では圃場での自然発病および接種による発病状況の調査により、最近の主要品種について感受性の差異を検討した。

(1) 自然発病

材料および方法

2001年、2003年および2004年の3か年、県南果樹研

究センター内圃場の‘陸奥’、‘つがる’、‘紅玉’、‘ジョナゴールド’、‘王林’、‘ふじ’、‘北斗’、‘スターキングデリシャス’および‘国光’の9品種(台木:M.26)について、果実における自然発病の状況を調査した。

2001年: 1品種7樹(樹齢: 4年)を供試し、落花直後頃から落花45日後頃までを無防除とし、それ以外の時期は一般の防除管理を行った。8月22日～9月6日に供試樹に着果する全果を採取し発病調査した。

2002年: 1品種6樹(樹齢: 5年)を供試し、落花直後頃から落花60日後頃までを無防除とし、それ以外の時期は一般の防除管理を行った。8月22日～9月2日に各品種90果(‘国光’は36果)を採取し発病調査した。

2004年: 1品種2樹(樹齢: 7年)を供試し、落花直後頃から落花60日後頃までを無防除とし、それ以外の時期は一般の防除管理を行った。‘つがる’は9月13日、それ以外の品種は10月8日に各品種30果を採取し発病調査した。

結 果

圃場における各品種の自然発病状況は第38表～第40

表に示した。

供試したいずれの品種も発病した。各品種の発病果率および1果当たりの平均病斑数を‘紅玉’と比較した。

2001年: 発病果率は‘陸奥’および‘つがる’が‘紅玉’より高く、‘ジョナゴールド’がほぼ同等、‘王林’および‘ふじ’が低く、‘スターキングデリシャス’が著しく低かった。1果当たりの平均病斑数も‘陸奥’および‘つがる’が‘紅玉’より多く、‘ジョナゴールド’がほぼ同等、‘王林’および‘ふじ’が少なく、‘スターキングデリシャス’が著しく少なかった。

2002年: 発病果率は‘陸奥’、‘つがる’および‘ジョナゴールド’が‘紅玉’と同等、‘王林’、‘ふじ’、‘北斗’、‘国光’および‘スターキングデリシャス’が低かった。1果当たりの平均病斑数は‘陸奥’および‘つがる’が‘紅玉’より多く、‘ジョナゴールド’および‘王林’がほぼ同等、‘ふじ’および‘北斗’が少なく、‘国光’および‘スターキングデリシャス’が著しく少なかった。

2004年: 発病果率は‘陸奥’、‘つがる’および‘ジョナゴールド’が‘紅玉’とほぼ同等、‘ふじ’、‘北斗’、‘国光’

第38表 圃場²⁾におけるリンゴ黒点病自然発病状況 (2001年)

品種	調査果数 (個)	発病果率 (%)	1果当たりの平均病斑数
陸奥	32	100	16.8
つがる	23	95.7	14.2
ジョナゴールド	100	87.0	7.8
紅玉	122	90.2	8.7
王林	120	76.7	5.9
ふじ	95	65.6	3.2
スターキングデリシャス	44	13.6	0.4

²⁾ 県南果樹研究センター圃場。

第39表 圃場²⁾におけるリンゴ黒点病自然発病状況 (2002年)

品種	調査果数 (個)	発病果率 (%)	1果当たりの平均病斑数
陸奥	90	97.8	18.1
つがる	90	100	19.1
ジョナゴールド	90	98.9	14.4
紅玉	90	98.9	11.7
王林	90	92.2	10.9
ふじ	90	93.3	7.9
北斗	90	91.1	6.5
国光	36	77.8	2.5
スターキングデリシャス	90	67.8	1.7

²⁾ 県南果樹研究センター圃場。

第40表 圃場[※]におけるリンゴ黒点病自然発病状況（2004年）

品種	調査果数（個）	発病果率（％）	1果当たりの平均病斑数
陸奥	30	100	13.0
つがる	30	100	18.0
ジョナゴールド	30	100	8.2
紅玉	30	96.7	17.6
ふじ	30	86.7	5.1
北斗	30	76.7	2.9
国光	30	70.0	3.6
スターキングデリシャス	30	60.0	1.7

[※] 県南果樹研究センター圃場。

および「スターキングデリシャス」が低かった。1果当たりの平均病斑数は「陸奥」および「つがる」が「紅玉」とほぼ同等、「ジョナゴールド」および「ふじ」が少なく、「北斗」、「国光」および「スターキングデリシャス」が著しく少なかった。

(2) 接種による発病

材料および方法

2002年および2003年に、それぞれ県南果樹研究センター内圃場の8品種およびりんご試験場藤崎圃場（南津軽郡藤崎町）の7品種を供試した。単子のう胞子分離菌No.22をPDA平面で培養して得た分生子から調製した懸濁液（ $5.8 \sim 5.9 \times 10^5$ 個/ml、Tween20を0.02%添加）を接種源とした。2002年6月14日に小型噴霧器を用いて無傷果実に分生子懸濁液を噴霧接種し、9月2日に発病調査した。また2003年7月4日に同様の方法で接種し、9月2日に発病調査した。2002年および2003年のいずれも、供試果実は接種約1か月前にハترون紙製袋で被

覆し、接種直前に除袋し、接種を行った後再びハترون紙製袋で被覆した。各品種10果を供し、試験期間中の落果果実は調査から除いた。

結 果

接種による各品種の発病状況は第41表および第42表に示した。

各品種の1果当たりの平均病斑数を「紅玉」と比較した。

2002年：供試したいずれの品種も発病した。1果当たりの平均病斑数は「つがる」、「木希ライフ」および「ジョナゴールド」が「紅玉」よりやや少なく、「北斗」、「千秋」、「王林」および「ふじ」が著しく少なかった。

2003年：「国光」を除き、供試したいずれの品種も発病した。1果当たりの平均病斑数は「あおり13」が「紅玉」と同等、「ふじ」、「あおり9」、「金星」および「スターキングデリシャス」が少なかった。

第41表 リンゴ黒点病菌接種による品種の発病状況[※]（2002年）

品種	接 種			無接種		
	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
紅玉	9	9	91.2	10	0	0
つがる	9	9	30.3	9	0	0
木希ライフ	9	8	25.1	10	0	0
ジョナゴールド	9	9	11.7	8	1	2.3
北斗	8	8	6.5	10	0	0
千秋	7	7	5.9	8	0	0
王林	7	4	5.9	10	0	0
ふじ	10	8	5.0	9	0	0

[※] 6月14日単子のう胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種。9月2日発病調査。

第42表 リンゴ黒点病菌接種による品種の発病状況¹⁾ (2003年)

品種	接 種			無接種		
	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
あおり13	10	10	14.1	10	0	0
紅玉	10	8	12.6	10	0	0
ふじ	10	6	0.7	10	0	0
あおり9	9	3	0.6	10	0	0
金星	10	2	0.6	10	0	0
スターキングデリシヤス	10	2	0.2	10	0	0
国光	10	0	0	10	0	0

¹⁾ 7月4日単子のう胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種，9月2日発病調査。

2) 共通宿主

リンゴ黒点病菌 *Mycosphaerella pomii* の宿主は，わが国ではリンゴ以外で明らかにされていない。

1990年に八戸市および三戸郡名川町（現三戸郡南部町）の農家セイヨウナシ（*Pyrus communis* L. var. *sativa* de Candolle）圃場の‘ゼネラル・レクラーク’果実に黒色小斑点症状が発生した。また，1999年には県南果樹研究センター内圃場のニホンナシ（*Pyrus serotina* Rehder var. *culta* Rehder）‘幸水’果実に，2000年には同センター内圃場のマルメロ（*Cydonia oblonga* Miller）‘在来種’果実およびカリン（*Chaenomeles sinensis* Koehne）果実に黒色小斑点症状が発生した。これら植物の果実の斑点部からは，高率に *Cylindrosporium* 属菌が分離された。さらに1999～2002年の5月に，県南果樹研究センター内圃場においてこれら植物の越冬落葉上に *Mycosphaerella* 属菌の偽子のう殻を観察し，病原菌はいずれもリンゴ黒点病菌と同一であることを明らかにした。本項では各植物における病徴，病原菌の形態，培養性質，交互接種試験などについて記述する。

(1) 各種宿主における病徴

a. セイヨウナシ

1998～2000年の3か年にわたって，県南果樹研究センター内圃場の‘ゼネラル・レクラーク’および‘ラ・フランス’で，果実と葉の自然発病病徴を調査した。果実では，7月上中旬から果点を中心とした黒色の小斑点病斑が生じ，この病斑は収穫期ころ（ゼネラル・レクラーク：9月下旬，ラ・フランス：10月中旬）には大きさ0.5～3mm，やや円み，周囲が濃緑色を呈した。‘ラ・フランス’ではかさぶた状のものも多かった（図版12A，B）。病斑部の果肉は褐変していたが，この部分から腐敗することはなかった。葉では，8月中下旬から大きさ0.5～3mmの不正形，紫褐色～黒褐色の病斑を生じ，しばしば癒合して大型の病斑とな

癒合して大型の病斑となり，時に灰褐色の壊死を伴っていた。病斑は葉縁に多い傾向であった。罹病葉はやがて黄化し落下した（図版12C，D）。なお‘ゼネラル・レクラーク’および‘ラ・フランス’のほか，‘シルバーベル’，‘パートレット’，‘フレミッシュ・ビューティ’，‘プレコース’でも発生を確認している。

b. ニホンナシ

2000年に，県南果樹研究センター内圃場の‘幸水’で，果実の自然発病病徴を調査した。7月下旬から果点を中心とした針頭大，黒色の小斑点病斑が生じ，収穫期の9月下旬には針頭大，暗緑色病斑となった（図版14A）。病斑部の果肉はわずかに褐変していたが，この部分から腐敗することはなかった。なお葉の発病はみられなかった。

c. マルメロ

2001年および2002年に，県南果樹研究センター内圃場のマルメロ‘在来種’で，果実と葉の自然発病病徴を調査した。果実では，7月下旬から針頭大，黒色の小斑点病斑が生じ，やがてこれらは癒合し，収穫期の10月下旬には大きさ1～5mmのやや円んだ不正形，暗緑色病斑となった（図版13A，B）。病斑部の果肉は褐変していたが，この部分から腐敗することはなかった。葉では，8月中下旬から大きさ1～6mmの不正形，紫褐色～黒褐色の病斑を生じ，しばしば癒合して大型の病斑となった（図版13C）。11月中旬には葉脈に囲まれた1～3mmの角形，紫褐色病斑もみられた。罹病葉はやがて黄化し落下した。なお‘在来種’のほか，‘スミルナ’および‘かおり’でも発生を確認している。

d. カリン

2003年に，県南果樹研究センター内圃場で，果実の自然発病病徴を調査した。7月下旬から果点を中心とした針頭大，黒色の小斑点病斑が生じ，収穫期の11月中旬には大きさ0.5～2mmの暗緑色病斑となった（図版14D）。

病斑部の果肉はわずかに褐変していたが、この部分から腐敗することはなかった。なお葉の発病はみられなかった。

(2) 各種宿主からの分離菌

材料および方法

県南果樹研究センター内圃場のセイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリン果実上の病斑部を2mm角に切り取り、70%エタノールに5秒間浸して脱気後、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素含量1%）で10秒間表面殺菌した。さらに滅菌水で2回洗浄、クリーンベンチ内で滅菌用紙上に並べ30～60分間通風して風乾させた後、PDA平面に置床した。20℃、暗黒下で培養後、菌叢上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子塊を滅菌水に懸濁し、これをPDA平面に塗布した。20℃、暗黒下で24時間培養後、発芽した分生子を顕微鏡下で単胞子分離し、分離菌を得た。またセイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリン越冬罹病落葉上に生じた *Mycosphaerella* 属菌偽子のう殻から子のう胞子を単胞子分離し、分離菌を得た。

結 果

各種植物からの分離菌とその由来は第43表に示した。

セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリン果実のいずれの病斑部からも、高率に *Cylindrosporium* 属菌が分離された。また、越冬落葉上の偽子のう殻に形成された子のう胞子の単胞子分離菌はすべて *Cylindrosporium* 属菌であった。

(3) 病原菌の培養性質

材料および方法

セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリン越冬落葉上からそれぞれ得た単子のう胞子分離株 No.28, No.44, No.60 および No.70 を供試した。いずれも発芽直

後の単分生子を移植源とし、PDA平面の中央部に移植し、20℃の暗黒下で培養し培養性状を観察した。また各供試分離株の菌叢生育温度を明らかにするため、PDA平面の中央部に各分離株の発芽直後の単分生子を移植し、それぞれ0～35℃の暗黒下で30日間培養後、菌叢の直径を計測した。比較のため、リンゴ黒点病菌の単子のう胞子分離株 No.22 を用いた。試験は1区5シャーレを用い、結果は平均値で示した。

結 果

いずれの分離株もPDA平面、20℃、暗黒下で、はじめ淡褐色、湿性の菌叢を生じた。菌叢はやがて中央部にしわのある、灰色から黒色のフェルト状に変化した。

分離株 No.28, No.44, No.60 および No.70 における菌叢生育と温度との関係は第44表に示した。菌叢生育は No.28, No.60 および No.70 が0～30℃、No.44 が0～25℃でみられ、適温はいずれの分離株も20～25℃であった。

(4) 病原菌の形態

材料および方法

県南果樹研究センター内圃場のセイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリン越冬罹病落葉から、それぞれ偽子のう殻を生じている部分の徒手切片を作り、水に封入して光学顕微鏡下で病原菌の形態を観察した。偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子は水封入プレパラートを作製し、それぞれ50個について大きさを計測した。

また、セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンの罹病果実からの組織分離菌 (No.13, No.33, No.47, No.55) および越冬落葉上から得た単子のう胞子分離菌 (No.28, No.44, No.60, No.70) について、それぞれPDA培養により生じた分生子の形態を観察した。分生子の大きさはそれぞれ50個について計測した。

第43表 各種植物²からの分離菌とその由来

分離菌株	宿主植物	品種	分離源	分離年月
No. 13	セイヨウナシ	ラ・フランス	果実病斑（組織分離）	1998.10
No. 28	〃	〃	単子のう胞子	1999. 5
No. 30	〃	〃	単子のう胞子	1999. 5
No. 33	ニホンナシ	幸水	果実病斑（組織分離）	1999. 7
No. 43	〃	〃	単子のう胞子	2000. 5
No. 44	〃	〃	単子のう胞子	2000. 5
No. 47	マルメロ	在来種	果実病斑（組織分離）	2000. 9
No. 60	〃	〃	単子のう胞子	2001. 5
No. 61	〃	〃	単子のう胞子	2001. 5
No. 55	カリン	—	果実病斑（組織分離）	2000.10
No. 70	〃	—	単子のう胞子	2002. 5

² いずれも県南果樹研究センター内圃場から採取。

第14表 各種植物由来の *Mycosphaerella* 属菌子のう胞子単胞子分離菌の生育と温度との関係²

温度 (°C)	菌叢直径 (mm)				
	セイヨウナシ 分離株No.28	ニホンナシ 分離株No.44	マルメロ 分離株No.60	カリン 分離株No.70	リンゴ 黒点病菌 No.22
0	0.7	0.9	0.9	0.5	0.7
5	2.9	3.3	4.1	4.8	2.7
10	9.6	9.2	8.4	8.4	9.3
15	15.6	15.3	14.4	9.0	16.6
20	24.7	25.9	35.6	15.0	29.4
25	26.4	27.2	38.2	25.8	33.4
30	8.2	0	4.6	9.7	18.3
35	0	0	0	0	0

² PDA平面、暗黒下で30日間培養。第15表 セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリン越冬罹病落葉上に生じた *Mycosphaerella* 属菌偽子のう殻世代の形態的特徴

菌形態	セイヨウナシ (本研究)	ニホンナシ (本研究)	マルメロ (本研究)	カリン (本研究)	リンゴ (<i>M. pomi</i> ; 本研究)	リンゴ (<i>M. pomi</i> ; Walton and Orton, 1926)
偽子のう殻						
径 (μm)	60-125	63-110	53-105	67-123	63-115	70-100
高さ (μm)	60-123	53-113	60-125	79-125	60-108	—
形態	球形～垂球形	球形～垂球形	球形～垂球形	球形～垂球形	球形～垂球形	—
色	黒色	黒色	黒色	黒色	黒色	黒色
子のう						
大きさ (μm)	36-66×8-11	36-59×9-12	33-59×8-12	38-59×9-11	36-57×8-12	40-66×8-10
形態	円筒形～棍棒状	円筒形～棍棒状	円筒形～棍棒状	円筒形～棍棒状	円筒形～棍棒状	—
色	無色	無色	無色	無色	無色	—
子のう胞子						
大きさ (μm)	15-25×3-5	16-26×3-5	16-27×3-5	17-26×3-4.5	15-28×3-5	12.6-26.6×2.8-4.2
形態	長楕円形～紡錘形	長楕円形～紡錘形	長楕円形～紡錘形	長楕円形～紡錘形	長楕円形～紡錘形	—
細胞数	2胞	2胞	2胞	2胞	2胞	2胞
色	無色	無色	無色	無色	無色	—

結 果

セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリン越冬罹病落葉上 (図版 12E, 13D, 14B, 14E) に生じた *Mycosphaerella* 属菌の偽子のう殻世代の形態的特徴は第 45 表に示した。また分離菌の分生子の形態的特徴は第 46 表に示した。

いずれの植物においても、偽子のう殻は葉の両面の表皮下に埋没して生じ、群生または単生、黒色、球形～垂球形、頂端に乳頭状の孔口を有した。偽子のう殻の径および高さはそれぞれセイヨウナシが 60～125 μm 、60～123 μm 、ニホンナシが 63～110 μm 、53～113 μm 、マルメロが 53～105 μm 、60～125 μm 、カリンが 67～123 μm 、79～125 μm であった。子のうは殻底より東生、

円筒形～棍棒状、二重壁で、子のうの大きさはセイヨウナシが 36～66×8～11 μm 、ニホンナシが 36～59×9～12 μm 、マルメロが 33～59×8～12 μm 、カリンが 38～59×9～11 μm で、いずれも 8 個の子のう胞子を有していた。子のう胞子は、不規則状 2 列に並んで生じ、長楕円形～紡錘形、まっすぐ～やや湾曲、2 細胞、隔壁部でわずかにくびれ、無色で、大きさはセイヨウナシが 15～25×3～5 μm 、ニホンナシが 16～26×3～5 μm 、マルメロが 16～27×3～5 μm 、カリンが 17～26×3～4.5 μm であった (図版 15A～C, E, F, H～J, L, M)。

分離菌の分生子はいずれも *Cylindrosporium* 型、無色、糸状～円筒形、まっすぐ～湾曲であり、0～7 隔壁また

第46表 各種植物からの分離菌 *Cylindrosporium* 型分生子の形態的特徴^z

分離宿主	菌 株	分 生 子	
		大 き さ (μm)	隔壁数
セイヨウナシ	No. 13 ^y	12-83×1.5-3	0 - 7
	No. 28 ^x	12-74×1.5-3	0 - 7
ニホンナシ	No. 33 ^y	12-83×2.5-4	0 - 7
	No. 44 ^x	12-76×2 -4	0 - 7
マルメロ	No. 47 ^y	11-83×2 -3.5	0 - 7
	No. 60 ^x	12-87×1.5-4	0 - 7
カリン	No. 55 ^y	8-76×2 -4	0 - 7
	No. 70 ^x	12-61×2 -3	0 - 6

^z PDA培地, 20℃, 暗黒下で5~7日間培養.

^y 果実病斑からの組織分離菌.

^x 単子のう胞子分離菌.

は0~6隔壁, 大きさが8~87×1.5~4 μm の範囲内であった(図版15D, G, K, N).

以上の結果から, セイヨウナシ, ニホンナシ, マルメロおよびカリン上に生じた病原菌はいずれも *Mycosphaerella pomi* (Pass.) Lindau (ア ナ モ ル フ : *Cylindrosporium pomi* C. Brooks) と同定した.

(5) 交互接種試験

材料および方法

各種植物から分離された *M. pomi* 菌株の病原性を確認するため, 果実では県南果樹研究センター内圃場で接種試験を行い, 葉では鉢植え樹を用いて接種試験を行った. いずれも PDA 培養により生じた分生子から調製した懸濁液 (Tween20 を 0.02% 添加) を接種源とした.

a. セイヨウナシ分離菌

果実: 2000 年 6 月 14, 15 日, セイヨウナシ菌単子のう胞子分離株 No.28 の分生子懸濁液 (5×10⁵ 個/ml) を 'ゼネラル・レクラーク' および 'ラ・フランス' の無傷果実に小型噴霧器を用いて噴霧接種した. またリンゴに対する病原性も確認するため, 'ふじ' の無傷果実にも分生子懸濁液を噴霧接種した. セイヨウナシは 8 月 29 日, リンゴは 9 月 18 日にそれぞれ発病調査した. 対照のセイヨウナシおよびリンゴ果実には分生子懸濁液の代わりに滅菌水を噴霧した. さらに 2000 年 6 月 21 日, セイヨウナシ果実に対するリンゴ黒点病菌の病原性を確認するため, リンゴ黒点病菌の単子のう胞子分離株 No.22 の分生子懸濁液 (5×10⁵ 個/ml) を 'ゼネラル・レクラーク' 果実に前述の方法で噴霧接種し, 8 月 29 日に発病調査した.

葉: 単子のう胞子分離株 No.28 および No.30 の分生子懸濁液 (4×10⁴ 個/ml) を 1 対 1 の割合で混合して接種源とした. 接种植物には鉢植え 1 年生 'ラ・フランス' を 2 樹用いた. 2000 年 8 月 18 日, 樹の当年枝を 2 枝残して剪去し, 各枝の先端から下方へ 5 葉位までの葉の表裏両面に分生子懸濁液を噴霧接種した. 鉢は 20~21℃ の湿室下に 72 時間保ち, その後は無加温のガラス温室に移し観察した. 対照樹の葉には滅菌水を噴霧した.

b. ニホンナシ分離菌

果実: 2000 年 6 月 15 日, ニホンナシ菌単子のう胞子分離株 No.44 の分生子懸濁液 (5×10⁵ 個/ml) を '幸水' の無傷果実に小型噴霧器を用いて噴霧接種した. またリンゴに対する病原性も確認するため, 'ふじ' の無傷果実にも分生子懸濁液を噴霧接種した. ニホンナシは 8 月 31 日, リンゴは 9 月 18 日にそれぞれ発病調査した. 対照のニホンナシおよびリンゴ果実には滅菌水を噴霧した. さらに 2000 年 6 月 15 日, ニホンナシ果実に対するリンゴ黒点病菌の病原性を確認するため, リンゴ黒点病菌 No.22 の分生子懸濁液 (5×10⁵ 個/ml) を '幸水' 果実に噴霧接種し, 8 月 31 日に発病調査した.

葉: 単子のう胞子分離株 No.43 および No.44 の分生子懸濁液 (5×10⁴ 個/ml) を 1 対 1 の割合で混合して接種源とした. 接种植物には鉢植え 1 年生 '幸水' を 2 樹用いた. 2000 年 7 月 4 日, 樹の当年枝を 1 枝残して剪去し, 各枝の全葉の表裏両面に分生子懸濁液を噴霧接種した. 鉢は 20~21℃ の湿室下に 72 時間保ち, その後は無加温のガラス温室に移し観察した. 対照樹の葉には滅菌水を噴霧した.

第47表 セイヨウナシ分離菌（単子のう胞子分離株No.28）およびリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）のセイヨウナシおよびリンゴ果実に対する病原性²

接種植物 (品種)	接種菌株	供試果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
セイヨウナシ (ゼネラル・レクラーク)	No. 28	10	10	149.0
	No. 22	8	8	289.8
	無接種	9	1	0.7
セイヨウナシ (ラ・フランス)	No. 28	9	9	278.6
	無接種	10	7	3.5
リンゴ (ふじ)	No. 28	9	9	95.2
	No. 22	10	10	51.1
	無接種	10	0	0

² 2000年6月14～21日分生子懸濁液噴霧接種、セイヨウナシは同年8月29日、リンゴは同年9月18日発病調査。

c. マルメロ分離菌

果実：2001年6月15日、マルメロ単子のう胞子分離株No.60の分生子懸濁液（ 5×10^5 個/ml）を接種源とし、‘在来種’の無傷果実に小型噴霧器を用いて噴霧接種した。またリンゴに対する病原性も確認するため、‘ふじ’の無傷果実に分生子懸濁液を噴霧接種した。さらにマルメロ果実に対するリンゴ黒点病菌の病原性を確認するため、リンゴ黒点病菌No.22の分生子懸濁液（ 5×10^5 個/ml）を‘在来種’果実に噴霧接種した。マルメロは8月21日、リンゴは8月22日にそれぞれ発病調査した。対照のマルメロおよびリンゴ果実には滅菌水を噴霧した。

葉：単子のう胞子分離株No.60およびNo.61の分生子懸濁液（ 1×10^4 個/ml）を1対1の割合で混合して接種源とした。2001年6月13日、鉢植え1年生‘在来種’2樹の葉の表裏両面に分生子懸濁液を噴霧接種した。鉢は20～21℃の湿室下に96時間保ち、その後は無加温のガラス温室に移し観察した。対照樹の葉には滅菌水を噴霧した。

d. カリン分離菌

2002年6月14日、カリン単子のう胞子分離株No.70の分生子懸濁液（ 5×10^5 個/ml）を接種源とし、無傷のカリン果実に小型噴霧器を用いて噴霧接種した。またリンゴに対する病原性も確認するため、‘ふじ’の無傷果実に分生子懸濁液を噴霧接種した。さらにカリン果実に対するリンゴ黒点病菌の病原性を確認するため、リンゴ黒点病菌No.22の分生子懸濁液（ 5×10^5 個/ml）をカリン果実に噴霧接種した。カリンは9月5日、リンゴは9月2日にそれぞれ発病調査した。対照のカリンおよびリンゴ果実には滅菌水を噴霧した。

なお、供試したセイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロ

およびカリン果実のいずれも、なるべく自然発病を避けるため、接種約2週間～20日前にハترون紙製袋で被覆し、接種直前に除袋し、接種を行った後再びハترون紙製袋で被覆した。セイヨウナシ、ニホンナシではそれぞれ10果、マルメロでは5果、カリンでは6果を供試し、試験期間中の落下果実は調査から除いた。

結 果

a. セイヨウナシ分離菌

セイヨウナシ単子のう胞子分離株No.28およびリンゴ黒点病菌No.22のセイヨウナシおよびリンゴ果実に対する病原性は第47表に示した。

単子のう胞子分離株No.28を接種したセイヨウナシ‘ゼネラル・レクラーク’（図版12F）および‘ラ・フランス’果実は自然発病と同様の黒色小斑点を生じ、またリンゴ‘ふじ’果実はリンゴ黒点病を生じた。リンゴ黒点病菌No.22を接種した‘ゼネラル・レクラーク’果実では黒色小斑点を生じた。これらセイヨウナシおよびリンゴ果実の接種病斑部からは、接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。なお、滅菌水を噴霧した対照の果実でも軽微な発病がみられた。しかし1果当たりの平均病斑数は発病果数が多かった‘ラ・フランス’においても、接種区（分離株No.28）の278.6に対して3.5にとどまった。

単子のう胞子分離株No.28とNo.30を接種した鉢植えの‘ラ・フランス’の葉は、接種約3か月後に自然発病と同様の不正形、紫褐色病斑を生じた（図版12G）。接種病斑部からは接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。なお滅菌水を噴霧した対照の葉では、発病はみられなかった。

b. ニホンナシ分離菌

第48表 ニホンナシ分離菌（単子のう胞子分離株No.44）およびリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）のニホンナシおよびリンゴ果実に対する病原性²

接種植物 (品種)	接種菌株	供試果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
ニホンナシ (幸水)	No. 44	10	10	8.5
	No. 22	9	7	1.4
	無接種	10	0	0
リンゴ (ふじ)	No. 44	8	8	73.1
	No. 22	10	10	51.1
	無接種	10	0	0

² 2000年6月15日分生子懸濁液噴霧接種。ニホンナシは同年8月31日、リンゴは同年9月18日発病調査。

第49表 マルメロ分離菌（単子のう胞子分離株No.60）およびリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）のマルメロおよびリンゴ果実に対する病原性²

接種植物 (品種)	接種菌株	供試果数 (個)	発病果数 (個)
マルメロ (在来種)	No. 60	5	5
	No. 22	3	2
	無接種	5	0
リンゴ (ふじ)	No. 60	10	10
	No. 22	10	10
	無接種	10	0

² 2001年6月15日分生子懸濁液噴霧接種。同年8月21、22日発病調査。

ニホンナシ菌単子のう胞子分離株 No.44 およびリンゴ黒点病菌 No.22 のニホンナシおよびリンゴ果実に対する病原性は第 48 表に示した。

ニホンナシ菌単子のう胞子分離株 No.44 を接種したニホンナシ「幸水」果実は自然発病と同様の黒色小斑点を生じ（図版 14C）、またリンゴ「ふじ」果実はリンゴ黒点病を生じた。リンゴ黒点病菌 No.22 を接種したニホンナシ「幸水」果実では黒色小斑点を生じた。これらニホンナシおよびリンゴ果実の接種病斑部からは、それぞれ接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。なお滅菌水を噴霧した対照のニホンナシおよびリンゴ果実では、いずれも発病はみられなかった。

単子のう胞子分離株 No.43 と No.44 を接種した鉢植え「幸水」の葉の発病は、自然落葉時（11 月）においても観察されなかった。しかし接種約 3 か月後の 10 月 5 日に接種葉 2 葉から無作為に切り取った 2、3 mm 角の葉片からは、低率（供試 18 葉片のうちの 1 葉片）であるが接種

菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が分離された。

c. マルメロ分離菌

マルメロ菌単子のう胞子分離株 No.60 およびリンゴ黒点病菌 No.22 のマルメロおよびリンゴ果実に対する病原性は第 49 表に示した。

マルメロ菌単子のう胞子分離株 No.60 を接種したマルメロ「在来種」果実は自然発病と同様の黒色小斑点を生じ（図版 13E）、またリンゴ「ふじ」果実はリンゴ黒点病を生じた。リンゴ黒点病菌 No.22 を接種したマルメロ「在来種」果実では黒色小斑点を生じた。これらマルメロおよびリンゴ果実の接種病斑部からは、それぞれ接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。なお滅菌水を噴霧した対照のマルメロおよびリンゴ果実では、いずれも発病はみられなかった。

単子のう胞子分離株 No.60 と No.61 を接種した鉢植えの「在来種」の葉は、接種約 5 か月後に自然発病と同様の不正形、紫褐色病斑を生じた（図版 13F）。接種病斑部

第50表 カリン分離菌（単子のう胞子分離株No.70）およびリンゴ黒点病菌（単子のう胞子分離株No.22）のカリンおよびリンゴ果実に対する病原性²

接種植物 (品種)	接種菌株	供試果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
カリン	No. 70	6	6	57.3
	No. 22	6	3	8.2
	無接種	6	0	0
リンゴ (ふじ)	No. 70	9	9	12.8
	No. 22	10	8	5.0
	無接種	10	0	0

² 2002年6月14日分生子懸濁液噴霧接種，同年9月2～5日発病調査。

からは接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。なお滅菌水を噴霧した対照樹の葉では、発病はみられなかった。

d. カリン分離菌

カリン菌単子のう胞子分離株 No.70 およびリンゴ黒点病菌 No.22 のカリンおよびリンゴ果実に対する病原性は第50表に示した。

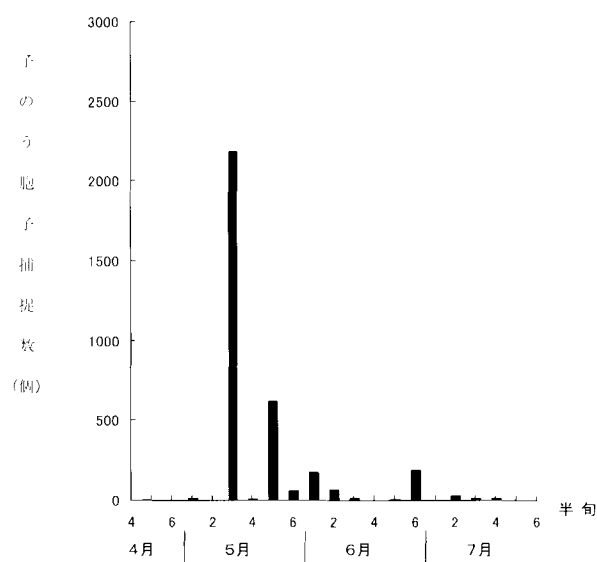
カリン菌単子のう胞子分離株 No.70 を接種したカリン果実は自然発病と同様の黒色小斑点を生じ（図版 14F）、またリンゴ‘ふじ’果実はリンゴ黒点病を生じた。リンゴ黒点病菌 No.22 を接種したカリン果実では黒色小斑点を生じた。これらカリンおよびリンゴ果実の接種病斑部からは、それぞれ接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。なお滅菌水を噴霧した対照のカリンおよびリンゴ果実では、いずれも発病はみられなかった。

(6) セイヨウナシ越冬罹病落葉からの *Mycosphaerella pomii* 子のう胞子飛散消長

セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンは *M. pomii* の共通宿主であり、越冬した罹病落葉（図版 12E, 13D, 14B, E）上に生じる子のう胞子はリンゴ黒点病の伝染源として働くものと考えられる。特に青森県では、セイヨウナシは2003年の栽培面積が169 ha で（東北農政局青森統計・情報センター，2004）、山形県につぐ産地である。そこでセイヨウナシについて、越冬罹病落葉からの子のう胞子飛散消長を調査し、リンゴ黒点病の伝染源としての重要性を検討した。

材料および方法

リンゴ越冬罹病落葉を供試して子のう胞子飛散消長を調査した同様の方法（「IV-1-3」子のう胞子の飛散）で、セイヨウナシ越冬罹病落葉からの子のう胞子の飛散消長を調査した。すなわち、1999年11月、県南果樹研究センター内圃場において、幅30cm、長さ60cm、高さ



第10図 セイヨウナシ黒点病越冬罹病落葉からの *Mycosphaerella pomii* 子のう胞子の飛散消長 (2000年)
試験場所：県南果樹研究センター圃場
試験期間中に捕捉された子のう胞子数：3386個

50cmの木枠内にセイヨウナシ‘ゼネラル・レクラーク’罹病落葉を均一に敷き詰めて越冬させ、翌2000年4月4半旬から7月6半旬まで、グリセリンゼリーを塗布したスライドグラスを、塗布面を上にして木枠内の高さ10cmの位置に2枚設置し、子のう胞子を捕捉した。スライドグラスの交換は1～3日ごとに午前9時に行った。スライドグラスにアニリンブルー・ラクトフェノール液を滴下し、子のう胞子を染色後、18×18mmカバーガラスの範囲にある子のう胞子数を光学顕微鏡を用いて計数した。捕捉数は2枚の合計とした。

結 果

セイヨウナシ越冬罹病落葉からの子のう胞子の飛散消長は第10図に示した。

子のう胞子は4月6半旬から7月4半旬まで捕捉され、捕捉最盛期は5月3半旬であった。捕捉した子のう胞子数の合計は3,386個であった。

3) 考 察

リンゴ品種の感受性：リンゴ黒点病に対して感受性の高い品種の一つとして、古くから‘紅玉’が知られている（三浦, 1915；三浦, 1916b；田中, 1968；新谷, 1997）。そこで‘紅玉’を基準品種として、黒点病に対する各品種の感受性程度を評価した。

圃場における自然発病調査では、総じて‘陸奥’および‘つがる’の発病程度が‘紅玉’より高く、‘ジョナゴールド’がほぼ同等、‘王林’、‘ふじ’および‘北斗’が低く、‘国光’および‘スターキングデリシャス’が著しく低いと評価された。病原菌の人工接種条件下の発病程度は‘つがる’および‘未希ライフ’が‘紅玉’よりやや低く、‘ジョナゴールド’が低く、‘あおり9’、‘金星’、‘スターキングデリシャス’、‘国光’、‘北斗’、‘千秋’、‘王林’および‘ふじ’が著しく低いと評価された。

したがって、圃場における自然発病調査および人工接種による発病調査の結果から、感受性程度は‘陸奥’、‘つがる’、‘ジョナゴールド’および‘あおり13’が‘紅玉’と同等～やや高く、‘王林’、‘ふじ’および‘北斗’は‘紅玉’より低く、‘国光’および‘スターキングデリシャス’は‘紅玉’より著しく低いと考えられる。‘千秋’、‘あおり9’および‘金星’は概ね‘ふじ’程度であると考えられる。

以上のように、黒点病感受性に顕著な品種間差異が認められる原因として、「IV-6-3」果実の感受性推移」と同様に、各品種の果点部の構造的相違によることが考えられる。この点に関しては今後の検討課題としたい。

共通宿主：八戸市および三戸郡名川町のセイヨウナシ圃場において、果実に黒色小斑点症状を生じる病害が発生した。また県南果樹研究センター内圃場のニホンナシ、マルメロおよびカリン果実に、黒色小斑点症状を生じる病害が発生した。これら病害が多発した圃場から採取した罹病落葉上に生じた偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子の形態的特徴は、いずれもWalton and Orton (1926) による *Mycosphaerella pomii* の記載と一致した。またいずれの植物由来の単子のう胞子分離菌 (No.28, No.44, No.60 および No.70) および果実病斑組織分離菌 (No.13, No.33, No.47 および No.55) も、PDA 培養により *Cylindrosporium* 型分生子を生じた。これらの分生子の大きさおよび隔壁数はBrooks and Black (1912) および三浦 (1915) による *Cylindrosporium pomii* の記載と一致した。したがって本菌を *Mycosphaerella pomii* (Pass.) Lindau (アナモルフ: *Cylindrosporium pomii* C. Brooks) と同定した。

接種試験で、セイヨウナシ単子のう胞子分離株 No.28

はセイヨウナシ果実に、ニホンナシ単子のう胞子分離株 No.44 はニホンナシ果実に、マルメロ単子のう胞子分離株 No.60 はマルメロ果実に、およびカリン単子のう胞子分離株 No.70 はカリン果実にそれぞれ自然発病と同様の黒色小斑点を生じさせた。またこれら分離菌のいずれもリンゴ果実にリンゴ黒点病を生じさせた。一方リンゴ黒点病菌 No.22 もセイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンのいずれの果実にも黒色小斑点を生じさせた。これら果実の接種病斑部からはそれぞれ接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。したがってセイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロ、カリンおよびリンゴは *M. pomii* の共通宿主であると結論される。なお滅菌水を噴霧した対照果実ではセイヨウナシ果実で若干の発病が認められたが、これは試験圃場がリンゴ黒点病の多発圃場であることから、自然発病によるものと考えられる。

各菌株の原宿主葉への接種では、セイヨウナシおよびマルメロの場合自然発病と同様の不正形、紫褐色斑点が生じたが、ニホンナシにおいては病徴は認められなかった。しかしニホンナシ接種葉からは接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が分離された。また無防除のニホンナシ‘幸水’圃場において葉の発病はまったく観察できなかったが、越冬後に偽子のう殻を生じる落葉を容易にみつけだすことができた。さらに落葉間もない無病徴の葉を野外で越冬させたところ、翌年成熟した偽子のう殻を生じた（試験結果、省略）。これらのことから、*M. pomii* はニホンナシ葉内に侵入後、無病徴のまま葉の組織内に生存していたと考えられる。感染後生きた宿主組織内で生育が抑制される段階、あるいは無病徴のままの宿主の組織内に潜在的に定着する段階があり、宿主の自然老化あるいは壊死が始まったとき宿主組織内で顕在化することにより特徴づけられる菌は一般に内生菌 (endophytic fungi) と呼ばれている (Stone and Petrini, 1997)。したがってニホンナシ葉においては、*M. pomii* は内生菌として存在すると考えられる。なお *Mycosphaerella* 属菌の同様の例として、ブナ (*Fagus crenata*) 葉の内生菌 *Mycosphaerella buna* が報告されている (Kaneko and Kakishima, 2001)。

カリン葉では分離菌の接種による発病の検討は行わなかった。カリン葉の病斑に関しては blotch とする記載 (Farr et al., 1989) があるが、圃場観察ではカリン果実に黒点症状が発生した樹においても葉の発病はまったく確認できなかった。今後、分離菌の接種による病徴発現の有無を確認する必要がある。

セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンのいずれにおいても、越冬罹病落葉の病斑上には多数の偽子のう殻がみられ、これらの子のう胞子はリンゴ黒点病をはじめ共通宿主の黒点症状の伝染源として発病に強く関与していることが予想される。そこで2000年、セイヨ

ウナシ越冬罹病落葉を供し、リンゴ越冬罹病落葉で行った方法と同様の方法で子とう胞子の飛散消長を調査した結果、セイヨウナシ越冬罹病落葉からの子とう胞子の飛散消長はリンゴ越冬罹病落葉からの子とう胞子の飛散消長(2000年)とほぼ同様であった。また捕捉した子とう胞子数は、同様の規模の伝染源(越冬罹病落葉)量でリンゴ越冬落葉からの捕捉数の1.8倍(セイヨウナシ:3386個、リンゴ:1853個)であった。したがって、セイヨウナシ越冬罹病落葉もリンゴ越冬罹病落葉と同様に多量の子とう胞子を飛散させ、リンゴ黒点病およびセイヨウナシ黒点症状の発病に大きく関わっているものと推定される。ニホンナシ、マルメロおよびカリンの越冬罹病葉の病斑上にもセイヨウナシ越冬罹病葉と同様に多数の偽子とう殻が観察されるので、これらの越冬罹病葉もリンゴ黒点病および各種果樹の黒点症状の伝染源として重要であると考えられる。

青森県における2003年のセイヨウナシ栽培面積は169 haであり(東北農政局青森統計・情報センター, 2004)、栽培は主として南部地方で行われている。南部地方ではリンゴ栽培面積が約2200 haあり、リンゴ圃場とセイヨウナシ圃場とが隣接することが多い。南部地方のセイヨウナシ圃場においては、黒点症状の果実を比較的容易に見つけだすことができる。このことから、セイヨウナシ黒点症状が *M. pomi* による病害であることが明らかにされる以前から、セイヨウナシ圃場ではある程度の病原菌密度が保たれてきたことが推測される。南部地方では、これまでたびたびリンゴ黒点病が多発してきたが(荒谷ら, 1997; 藤川ら, 1989)、この多発要因の一つとして、セイヨウナシ圃場がリンゴ黒点病の発生源となってきたことが考えられる。

M. pomi による病害は、わが国ではリンゴ以外で記録されていない(日本植物防疫協会, 2000)。セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンのいずれも病名はリンゴ病害に準じて「黒点病(セイヨウナシおよびニホンナシ: *Mycosphaerella fruit spot*, マルメロ: *blotch*, カリン: *fruit spot*)」と称することを日本植物病理学会に提案した(荒井, 2001; 荒井ら, 2003b; 荒井・原田, 2004b, 2004c)。なお、海外においてはリンゴ(Corlett, 1991; Farr *et al.*, 1989)のほか、crabapple (*Malus sylvestris*) (Farr *et al.*, 1989)、マルメロ(Brooks and Black, 1912; Farr *et al.*, 1989)、*Chaenomeles* 属植物のカリン(Farr *et al.*, 1989)、クサボケ(*C. japonica*) (Boewe, 1964)で記録されている。しかし、セイヨウナシおよびニホンナシを含め *Pyrus* 属植物の発病記録はみあたらない(Corlett, 1991; Corlett, 1995; Farr *et al.*, 1989)。本菌による *Pyrus* 属植物での病害の発生は、世界で初めての記録と考えられる。

8. 病原菌の生活環

1997年から2001年までの8年間にわたる、リンゴおよびその他果樹の黒点病に関する一連の研究の結果から、病原菌の生活環は次のように要約される(第11図)。

a. 偽子とう殻の成熟と子とう胞子の飛散

前年の罹病落下果実および罹病落葉の病斑上で越冬した病原菌の偽子とう殻は4月下旬または5月上旬から成熟し、第一次伝染源となる子とう胞子を飛散させる。子とう胞子の飛散最盛期は5月中旬頃頃から6月上旬頃までで、その後は漸減しながら7月末まで続く。

なお、越冬罹病落下果実の病斑上に5月に *Cylindrosporium* 型分生子を生じる。この分生子は第一伝染源として働くことが予想されるが、未実証である。

b. 子とう胞子からの *Cylindrosporium* 型分生子の形成

第一次伝染源の子とう胞子は主として降雨時に飛散し、果実や葉の表面に到達、発芽後、子とう胞子上に直接または子とう胞子から生育した菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じる。菌糸は果実や葉の気孔から侵入し、また生じた分生子は二次伝染源となる。

c. 果実および葉の感染

子とう胞子による感染は果実では5月下旬頃の落花間もない幼果期から、また葉では4月下旬頃の発芽間もない稚葉期から始まり、いずれでも7月末まで続く。果実では6月下旬頃から、また葉では8月上旬頃から発病しはじめ、いずれの病斑上にも *Cylindrosporium* 型分生子を生じる。この分生子は第二伝染源として働くことが予想されるが、未実証である。

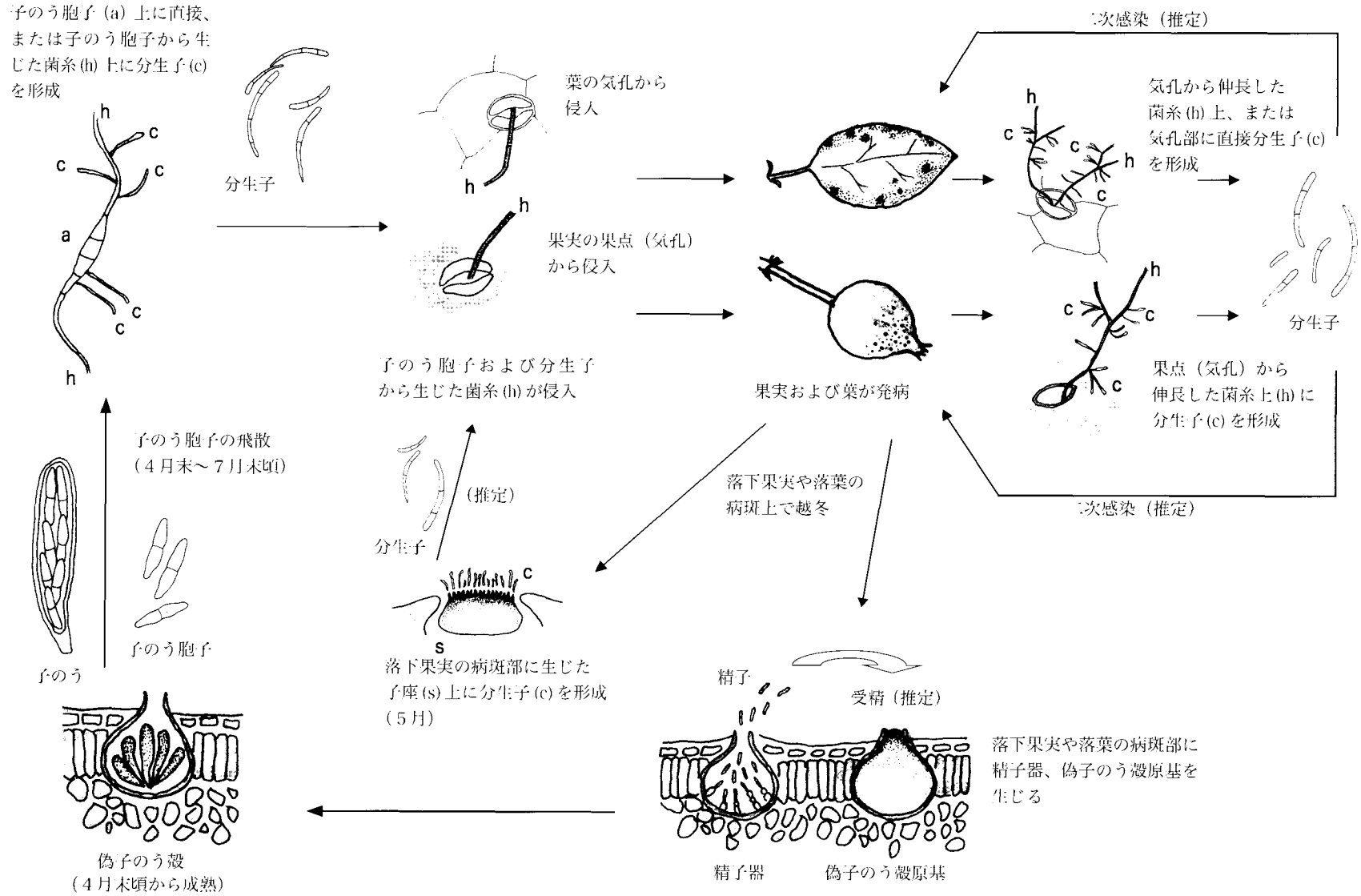
d. 罹病果実および葉での病原菌の越冬

落下果実および落葉の病斑上に秋口から精子器、偽子とう殻原基が発達する。精子器に形成される精子は、本菌の受精に関与するものと考えられる。偽子とう殻原基は越冬後の4月下旬または5月上旬には成熟した偽子とう殻となり、子とう胞子を飛散させる。

e. 共通宿主における病原菌の越冬と子とう胞子の形成

病原菌はリンゴのほか、セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンの罹病落葉上でも越冬し、翌年成熟した偽子とう殻から子とう胞子を飛散させる。この子とう胞子は上記共通宿主間で互いに黒点病の伝染源になる。

なお、Brooks (1908) および Brooks and Black (1912) が貯蔵中の果実の病斑上で発見した *Phoma* 型分生子は、精子(spermatium)であると結論された。よって *Cylindrosporium pomi* がリンゴ黒点病菌の唯一の分生子世代である。



第11図 リンゴ黒点病菌の生活環

V 防 除 法

青森県リンゴ病害虫防除暦では1970～1980年代、リンゴの落花期から落花30日後頃までの防除は黒星病を主対象として、「落花直後」、「落花10日後頃」、「落花20日後頃」および「落花30日後頃」にそれぞれ薬剤散布する防除体系が取られ、黒点病、斑点落葉病、赤星病、うどんこ病なども同時に防除が行われた。その結果、黒点病はほとんど発生がなく経過した。

1980年代、ステロール脱メチル化阻害剤（DMI剤）は黒星病に対して予防効果（保護効果）に加え、治療効果、すなわち感染成立後の散布による発病阻止効果があることから、その利用法が検討され（中澤・福島，1990）、また斑点落葉病、うどんこ病、赤星病などにも有効であることが確認された。このことから、青森県では1987年にDMI剤2剤、すなわちトリフルミゾール水和剤（商品名：トリフミン水和剤）およびビテルタノール水和剤（商品名：バイコラル水和剤）を「ふじ」の落花直後（以下、「ふじ」を省略）の散布薬剤として採用し、黒星病の防除をより確実にした。しかし、これらのDMI剤は黒点病に対する効果が低かったため、翌1988年、「落花10日後頃」または「落花20日後頃」にDMI剤を散布した圃場で黒点病が発生し、一部では多発した圃場もみられた（藤田ら，1989）。

またDMI混合剤、すなわちDMI剤とジラム・チウラム剤の混合剤を使用することにより、「落花10日後頃」と「落花20日後頃」の散布を「落花15日後頃」に統合し、散布回数を1回削減できることが明らかとなった。そこで1996年に「落花直後」および「落花15日後頃」の散布薬剤としてDMI混合剤3剤、すなわちジラム・チウラム・フェナリモル水和剤（商品名：スペックス水和剤）、ジラム・チウラム・ビテルタノール水和剤（商品名：ホシカット水和剤）およびジラム・チウラム・ピリフェノックス水和剤（商品名：フルトップDF）を採用し、散布回数を1回削減した（藤田，1998）。しかし、DMI混合剤による散布回数を削減した防除体系を採用した1996年、津軽地方では一部であったが、南部地方では多くのリンゴ圃場で本病が多発した。詳細な調査の結果、南部地方では6月上旬から7月上旬まで（落花10日後頃から40日後頃まで）の期間、降水量および降雨日数が過去20年間の中でもっとも多く、本病の発生に極めて好適な条件となり、このような気象条件のなかで6月中旬の散布（DMI混合剤散布）と次の散布までの間隔を13日以上あけた圃場で多発したことが明らかとなった（新谷ら，1997）。このため翌1997年以降、南部地方では1995年までの防除体系、すなわち「落花10日後頃」と「落花20日後頃」にそれぞれ薬剤散布する、津軽地方よりも1回

散布回数が多い防除体系が採られてきた。

近年環境保全の面から、できるだけ農薬の投下量を少なくした病害虫防除技術が求められている（行本，1992；梅本ら，2002）。そこで、南部地方のように黒点病の発生が多い地帯においても、津軽地方と同様に「落花10日後頃」と「落花20日後頃」の散布を「落花15日後頃」に統合した、散布回数を1回削減した防除体系を確立することを目標として研究を実施した。

1. 有効薬剤の検索

黒点病のもっとも重要な防除期であるリンゴの落花期から落花30日後頃までは、黒星病、うどんこ病、赤星病などの重点防除期でもある。したがって有効薬剤の検索では、黒点病だけでなく、黒星病、うどんこ病、赤星病なども考慮する必要がある。黒点病の発生の少ない津軽地方では、1996年以降、「落花直後」および「落花15日後頃」にDMI混合剤を使用する防除体系が取られ、この体系は黒星病を防除主体として、斑点落葉病、うどんこ病、赤星病なども防除対象としている。そこで1999年現在、青森県で採用のDMI混合剤について、黒点病に対して残効性の高い薬剤の検索を行った。

なお、青森県ではDMI混合剤は1996年においてはジラム・チウラム剤との混合剤だけであったが、1997年以降にマンゼブ剤との混合剤も採用した。

材料および方法

第51表に示したDMI混合剤6剤を供試し、県南果樹研究センター内圃場で試験を行った。これら薬剤のうち南部地方で黒点病が多発した1996年に採用されていたDMI混合剤、すなわちジラム・チウラム・フェナリモル水和剤、ジラム・チウラム・ビテルタノール水和剤およびジラム・チウラム・ピリフェノックス水和剤を対照薬剤とし、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤（商品名：スコアMZ水和剤）、イミベンコナゾール・マンゼブ水和剤（商品名：マネーJM水和剤）およびマンゼブ・ミクロブタニル水和剤（商品名：ブローダ水和剤）の残効性を検討した。なお供試薬剤には展着剤（商品名：新リノー、5,000倍）を添加した。

試験1：2000年6月6日、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍、イミベンコナゾール・マンゼブ水和剤600倍およびマンゼブ・ミクロブタニル水和剤500倍を小型噴霧器を用いて、それぞれ「つがる」（M.26台21年生樹）果実に散布した。散布15日後に、単子のう胞子分離株No.22をPDA平面で培養して得た分生子懸濁液（ 5.3×10^5 個/ml、Tween20を0.02%添加）を小型噴霧器を用いて噴霧接種し、8月22日に発病調査した。

第51表 リンゴ黒点病防除試験供試薬剤 (DMI混合剤)

薬 剤 (商品名)	希釈倍数 (倍)	有効成分と濃度 (ppm)
ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤 (スコアMZ水和剤)	500	ジフェノコナゾール ² 25 マンゼブ 1250
イミベンコナゾール・マンゼブ水和剤 (マネージM水和剤)	600	イミベンコナゾール ² 50 マンゼブ 1083
マンゼブ・ミクロブタニル水和剤 (ブロード水和剤)	500	マンゼブ 1300 ミクロブタニル ² 40
ジラム・チウラム・フェナリモル水和剤 (スペックス水和剤)	600	ジラム 833 チウラム 500 フェナリモル ² 30
ジラム・チウラム・ビテルタノール水和剤 (ホシカット水和剤)	600	ジラム 666.7 チウラム 400 ビテルタノール ² 66.7
ジラム・チウラム・ピリフェノックス水和剤 (フルトップDF)	750	ジラム 500 チウラム 300 ピリフェノックス ² 26.7

² DMI成分。

試験2：2001年6月4日、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍を小型散布器を用いて、それぞれ‘つがる’ (M.26台22年生樹) 果実に散布した。散布15日後に、単子のう胞子分離株No.22をPDA平面で培養して得た分生子懸濁液 (5.2×10^5 個/ml, Tween20を0.02%添加) を小型噴霧器を用いて接種し、8月21日に発病調査した。

なお、試験1および試験2のいずれも、供試果実は自然発病を避けるため、予め接種前にハトロン紙製袋で被覆し、薬剤散布の直前に除袋し、散布後から接種までの15日間は果実を露出させ、接種後再びハトロン紙製袋で被覆した。各区10果を供し、試験期間中の落下果実は調査から除いた。殺菌剤無散布区は薬剤の代わりに水を散布した。

結 果

試験1：ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍は、対照薬剤のジラム・チウラム・フェナリモル水和剤600倍およびジラム・チウラム・ビテルタノール水和剤600倍より発病果数および1果当たりの平均病斑数が少なく、高い残効性が認められた。イミベンコナゾール・マンゼブ水和剤600倍およびマンゼブ・ミクロブタニル水和剤500倍は、発病果数および1果当たりの平均病斑数が対照薬剤のジラム・チウラム・フェナリモル水和剤600倍およびジラム・チウラム・ビテルタノール水和剤600倍

と差がなかった (第52表)。

試験2：ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍は、対照薬剤のジラム・チウラム・フェナリモル水和剤600倍およびジラム・チウラム・ピリフェノックス水和剤750倍より発病果数および1果当たりの平均病斑数が少なく、高い残効性が認められた (第53表)。

2. 実用化試験

青森県で採用されている DMI 混合剤のなかでジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤 (500 倍) がリンゴ黒点病の防除剤として優れていることが明らかとなった。そこでジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤を用いて、「落花10日後頃」と「落花20日後頃」の散布を「落花15日後頃」に統合した、散布回数を1回削減した防除体系の実証試験を行った。

1) 県南果樹研究センター内圃場における試験

材料および方法

いずれの試験も、リンゴ果実の生育は‘ふじ’の落花後日数で示した。

試験1：2000年、21年生‘ふじ’および‘つがる’ (台木：M.26) 栽培園1区10aを供試した。散布月日および薬剤は第51表に示した。すなわち5月25日 (落花1日前)

および6月10日（落花15日後）にジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤 500 倍、6月25日（落花30日後）に有機銅剤 80（商品名：キノンドー水和剤 80）1,200 倍をスピードスプレーヤを用いて散布した。対照区として5月25日（落花1日前）にジラム・チウラム・フェナリモル水和剤 600 倍、6月5日（落花10日後）および6月15日（落花20日後）にマンゼブ水和剤（商品名：ジマンドイセン

水和剤）600 倍、6月25日（落花30日後）に有機銅剤 80 1,200 倍を散布した。‘つがる’が9月6日に、‘ふじ’が9月29日にそれぞれ各区の果実を無作為に 300 果選び発病調査した。なお供試薬剤には展着剤（商品名：新グラミン、5,000 倍）を添加した。

試験2：2001年、22年生‘つがる’（台木：M.26）栽植園1区10aを供試した。散布月日および薬剤は第55表

第52表 リンゴ黒点病に対するDMI混合剤の防除効果^z（2000年）

供試薬剤	希釈倍数 (倍)	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤	500	9	5	4.0
イミベンコナゾール・マンゼブ水和剤	600	10	8	23.8
マンゼブ・ミクロブタニル水和剤	500	8	7	29.8
ジラム・チウラム・フェナリモル水和剤	600	10	9	22.1
ジラム・チウラム・ピテルタノール水和剤	600	9	9	19.1
殺菌剤無散布（水）	—	9	9	165.7

^z 6月6日薬剤散布、6月21日単胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種、8月22日発病調査。

第53表 リンゴ黒点病に対するDMI混合剤の防除効果^z（2001年）

供試薬剤	希釈倍数 (倍)	調査果数 (個)	発病果数 (個)	1果当たりの 平均病斑数
ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤	500	10	4	3.0
ジラム・チウラム・フェナリモル水和剤	600	10	9	9.9
ジラム・チウラム・ピリフェノックス水和剤	750	10	10	22.1
殺菌剤無散布（水）	—	9	9	48.9

^z 6月4日薬剤散布、6月19日単胞子分離株No.22の分生子懸濁液噴霧接種、8月21日発病調査。

第54表 ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤を用いた散布回数削減体系におけるリンゴ黒点病の防除効果（2000年）

区	散布月日および薬剤					防 除 効 果 ^z		
	5月25日 (1日前) ^y	6月5日 (10日後) ^y	6月10日 (15日後) ^y	6月15日 (20日後) ^y	6月25日 (30日後) ^y	品種	調査果数 (個)	発病果率 (%)
試験区	ジフェノコナゾール・ マンゼブ水和剤 500倍	— ^x	ジフェノコナゾール・ マンゼブ水和剤 500倍	—	有機銅（80） 水和剤 1200倍	ふじ	300	1.0
						つがる	300	3.3
対照区	ジラム・チウラム・ フェナリモル水和剤 600倍	マンゼブ水和剤 600倍	—	マンゼブ水和剤 600倍	有機銅（80） 水和剤 1200倍	ふじ	300	0.7

^z 調査月日：つがる 9月6日、ふじ 9月29日。

^y ‘ふじ’の落花前または落花後日数。

^x —：散布なし。

第55表 ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤を用いた散布回数削減体系におけるリンゴ黒点病の防除効果^Z (2001年)

区	散布月日および薬剤					防 除 効 果 ^Y	
	5月21日 (1日後) ^X	5月30日 (10日後) ^X	6月5日 (16日後) ^X	6月11日 (22日後) ^X	6月21日 (32日後) ^X	調査果数 (個)	発病果率 (%)
試験区	ジフェノコナゾール・ マンゼブ水和剤 500倍	— ^W	ジフェノコナゾール・ マンゼブ水和剤 500倍	—	有機銅 (80) 水和剤 1200倍	150	4.7
対照区	ジラム・チウラム・ フェナリモル水和剤 600倍	マンゼブ 水和剤 600倍	—	マンゼブ 水和剤 600倍	有機銅 (80) 水和剤 1200倍	150	2.7

^Z 供試品種：つがる。

^Y 調査月日：9月6日。

^X ‘ふじ’の落花後日数。

^W —：散布なし。

第56表 ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤を用いた散布回数削減体系におけるリンゴ黒点病の防除効果^Z (2002年)

散布月日および薬剤			防 除 効 果 ^Y	
5月7日 (落花日) ^X	5月22日 (15日後) ^X	6月6日 (30日後) ^X	調査果数 (個)	発病果率 (%)
ジフェノコナゾール・マンゼブ 水和剤500倍	ジフェノコナゾール・マンゼブ 水和剤500倍	有機銅 (80) 水和剤 1200倍	500	3.0

^Z 供試品種：つがる。

^Y 調査月日：8月26日。

^X ‘ふじ’の落花後日数。

に示した。すなわち5月21日(落花1日後)および6月5日(落花16日後)にジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍、6月21日(落花32日後)に有機銅剤80 1,200倍をスピードスプレーヤを用いて散布した。対照区として5月21日(落花1日後)にジラム・チウラム・フェナリモル水和剤600倍、5月30日(落花10日後)および6月11日(落花22日後)にマンゼブ水和剤600倍、6月21日(落花32日後)に有機銅剤80 1,200倍を散布した。9月6日に各区の果実を無作為に150果選り発病調査した。なお供試薬剤には展着剤(商品名:新グラミン、5,000倍)を添加した。

試験3:2002年、23年生‘つがる’(台木:M.26)栽培園1区10aを供試した。散布月日および薬剤は第56表に示した。すなわち5月7日(落花日)および5月22日(落花15日後)にジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍、6月6日(落花30日後)に有機銅剤80 1,200倍をスピー

ードスプレーヤを用いて散布した。8月26日に果実を無作為に500果選り発病調査した。なお供試薬剤は展着剤(商品名:新グラミン、5,000倍)を添加した。

結 果

試験1:5月25日(落花1日前)から6月25日(落花30日後)までの期間、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍を用いた約15日間隔・3回散布体系における黒点病に対する防除効果は第54表に示した。ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍による約15日間隔で3回散布した試験区は、約10日間隔で4回散布した対照区と同等の防除効果を示した。

試験2:5月21日(落花1日後)から6月21日(落花32日後)までの期間、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍を用いた約15日間隔・3回散布体系における黒点病に対する防除効果は第55表に示した。ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍による約15日間隔で

第57表 農家圃場におけるジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤を用いたリンゴ黒点病防除試験⁴

場 所	品種	調査果数 (個)	発病果率 (%)
三戸町梅内	つがる	300	0
	紅玉	300	0
倉石村小渡	紅玉	300	1.7

⁴いずれの圃場も、2002年5月6日（‘ふじ’の落花直後）および5月22日（‘ふじ’の落花15日後頃）にジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍散布、9月2日に発病調査。

3回散布した試験区は、約10日間隔で4回散布した対照区と同等の防除効果を示した。

試験3：5月7日（落花日）から6月6日（落花30日後）までの期間、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍を用いた15日間隔・3回散布体系における黒点病に対する防除効果は第56表に示した。ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍による約15日間隔で3回散布した試験区は黒点病の発生がほとんどなかった。試験は本病の多発圃場で行っているの、高い防除効果を示したと判断した。

2) 農家圃場における試験

2000～2002年の3か年、県南果樹研究センター内圃場において、リンゴ黒点病の重点防除期、すなわちリンゴの落花期頃から落花30日後頃における薬剤散布回数をジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤を用いて15日間隔で3回に削減した黒点病防除体系を大規模試験により実証した。この防除体系を農家段階における現場の防除法として普及させるため、展示を目的として農家圃場で試験を行った。

材料および方法

2002年、三戸郡三戸町梅内の約15年生‘つがる’および‘紅玉’（台木：マルバカイドウ）栽植園で、また三戸郡倉石村小渡（現三戸郡五戸町倉石小渡）の約10年生‘紅玉’（台木：マルバカイドウ）栽植園でそれぞれ1区10aを供試した。いずれも5月6日（「落花直後」）および5月22日（「落花15日後頃」）にジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍をスピードスプレーヤを用いて散布し、「落花30日後頃」以降は農家慣行により防除した。9月2日に各品種について無作為に300果選び発病調査した。

結 果

5月6日（「落花直後」）および5月22日（「落花15日後頃」）にジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍をスピードスプレーヤを用いて散布した結果は第57表に示した。三戸郡三戸町梅内および倉石村小渡において、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍を「落花直後」

および「落花15日後頃」にスピードスプレーヤを用いて散布した結果、黒点病の発生がほとんどなく、高い防除効果を示した。

3. 考 察

1996年、青森県南部地方において、6月中旬（「落花15日後頃」）のDMI混合剤の散布と次の散布との間隔が13日以上あいた圃場でリンゴ黒点病が多発した（新谷ら、1997）。このことから、1996年採用のDMI剤混合剤、すなわちジラム・チウラム・フェナリモル水和剤、ジラム・チウラム・ビテルタノール水和剤およびジラム・チウラム・ピリフェノックス水和剤は「落花直後」および「落花15日後頃」の防除剤として、黒点病多発地帯では期待できないと考えられた。そこで、これらの薬剤よりも黒点病に対する残効性が高いDMI混合剤の検索を行った結果、散布後15日間は安定した残効性がある薬剤としてジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤（500倍）が検索された。

2000年から2002年にわたる3か年、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍について、県南果樹研究センター内圃場で「落花直後」および「落花15日後頃」にスピードスプレーヤを用いた実証的防除試験を行い、また2002年、農家圃場において展示を目的として同様にスピードスプレーヤ散布で防除効果を検討した。その結果、いずれの試験においても黒点病に対して高い防除効果が得られ、黒点病多発地における防除体系として実用性が高いと判断された。

以上から、2003年に青森県において黒点病多発地の防除剤として、「落花直後」と「落花15日後頃」にジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤500倍を採用した。これにより、黒点病多発地においても「落花10日後頃」と「落花20日後頃」の散布を「落花15日後頃」に統合し、県内共通の散布回数の防除体系（落花直後から落花30日後頃まで、15日間隔3回散布）を実現することができた。

摘 要

1997年から2004年までの8年間にわたり、リンゴ黒点病（病原菌：*Mycosphaerella pomii* (Pass.) Lindau）の発生生態および防除法に関する一連の研究を行った。成果は次のとおり要約される。

I 病徴および病原菌

1. 病 徴

‘つがる’果実では、6月下旬または7月上旬から果点（気孔）が黒変した針頭大の小点病斑を生じ、この病斑は7月上中旬には光沢のある径1mm程度の黒色の小斑点となった。陽光面の着色部では赤色を呈していた。その後病斑部は果実の肥大に伴い凹みを生じた。成熟果（9月中下旬）の病斑は暗赤色であるが、着色の劣る部分では濃緑色であった。病斑の大きさは1～3mmで8mm程度もみられた。その他赤色品種の‘紅玉’、‘スターキングデリシャス’、‘北斗’、‘ふじ’および‘国光’の成熟果の病斑は赤褐色～黒色、ただし‘ジョナゴールド’では緑色～暗緑色であり、黄色品種の‘陸奥’および‘王林’の病斑は暗緑色であった。病斑の大きさは品種によりやや異なるが、針頭大～4mmで8mm程度もみられた。

‘つがる’および‘ふじ’葉では、8月上旬～下旬から1～3mm、不正形、紫褐色の斑点を生じ、しばしば癒合して大型の病斑となった。時に褐色～灰褐色の壊死部を伴っていた。病斑は葉身のいずれの部分にも生じるが、葉縁に多い傾向であった。罹病葉はやがて黄化し落葉した。黄変葉では、病斑は褐色～紫褐色で葉脈に囲まれた角形であった。落葉後、病斑は拡大することがなく、葉脈に囲まれた角形、暗褐色であった。

2. 病斑の光学顕微鏡観察

果実の病斑はいずれも果点（気孔）を中心として生じていた。果点からは菌糸が伸長し、菌糸上に*Cylindrosporium*型分生子を生じていた。葉の紫褐色病斑部では気孔から菌糸が伸長し、この菌糸上に*Cylindrosporium*型分生子を生じ、また壊死部では気孔直下の呼吸腔部に子座を形成し、気孔部に*Cylindrosporium*型分生子を生じていた。

3. 病斑部の病理解剖観察

果実においては、発病初期の病斑部は表皮および下皮細胞5～6層、また収穫期では表皮から果肉細胞10～20層程度が壊死し褐変していた。壊死部では太さ1～2μmの菌糸が認められた。褐変した細胞はスタンⅢに染色されなかったが、フロログルシン・塩酸反応により細胞壁が顕著に赤色に染色されたので、リグニン化している

と判断した。越冬罹病落下果実においては、表皮および下皮部に偽柔組織が発達し、これら部分に偽子のう殻を生じていた。また子座を生じ*Cylindrosporium*型分生子を形成していた。

葉の発病初期病斑（不正形、紫褐色病斑）では、柵状組織が褐変し、また海綿状組織側の表皮が壊死していた。菌糸は柵状組織および海綿状組織の細胞間隙でみられ、海綿状組織側では1.0～1.5μm、柵状組織側ではやや太く1.5～2.0μmであった。落葉5日後では、海綿状組織側で2～4μm、柵状組織側で4～6μmであり、細胞内に侵入する菌糸もみられた。また、主として柵状組織側の表皮下に精子器（spermogonium）が埋没して形成されていた。

4. 病原菌

偽子のう殻世代：圃場から採取した越冬罹病落下果実および罹病落葉の病斑上に生じた偽子のう殻、子のう、子のう胞子の形態的特徴はWalton and Orton (1926)による*Mycosphaerella pomii*の記載と一致した。

精子器世代（spermogonial state）：落葉間もない罹病葉の病斑上にみられる柄子殻様構造および柄胞子様体はそれぞれ精子器、精子（spermatium）であると判断された。Brooks and Black (1912)の記述した“*Phoma*型分生子”世代も同様に精子器世代に相当した。

*Cylindrosporium*型分生子世代：生育期の罹病果実や罹病葉の病斑上および越冬した罹病落下果実の病斑上に生じる*Cylindrosporium*型分生子の形態的特徴はBrooks and Black (1912)および三浦 (1915)による*C. pomii*の記載と一致した。

分離菌の形態および培養性質：果実および葉の病斑からの組織分離菌、越冬落葉および越冬落下果実の病斑上に生じた子のう胞子単胞子分離菌、生育期の果実および葉の病斑上に生じた*Cylindrosporium*型分生子単胞子分離菌および越冬落下果実の病斑上に生じた*Cylindrosporium*型分生子単胞子分離菌の形態的特徴は、いずれも*C. pomii*の記載と一致した。これら分離菌はPDA平面で、はじめ淡褐色、湿性の菌叢を生じ、やがて中央部にしわのある灰色から黒色のフェルト状に変化した。分生子形成様式はフィアロ型、すなわち小柄上に次々と押し出す様式であった。

分離菌の病原性：越冬落葉の病斑上に生じた子のう胞子単胞子分離菌、越冬落下果実の病斑上に生じた子のう胞子単胞子分離菌、生育期の果実病斑上に生じた*Cylindrosporium*型分生子単胞子分離菌、生育期の葉の病斑上に生じた*Cylindrosporium*型分生子単胞子分離菌および越冬落下果実の病斑上に生じた*Cylindrosporium*型分

生子単孢子分離菌を接種したリンゴ果実はいずれも黒点病を生じた。いずれの接種病斑部からも接種菌と同様の *Cylindrosporium* 属菌が高率に再分離された。

5. 病原菌の培養性質

リンゴ黒点病菌は連続暗黒下および連続照明下のいずれでも、PDA、YpSs 寒天、Czapek 寒天、Richards 寒天および Hopkins 寒天では湿性酵母様の菌叢を生じ、麦芽エキスを寒天およびリンゴ生葉煎汁寒天ではフェルト状の菌叢を生じた。いずれの培地でも生育は遅いが、供試培地では麦芽エキスを寒天でもっとも生育良好、PDA がこれに次いだ。PDA、Czapek 寒天、Richards 寒天および Hopkins 寒天では光により生育が幾分抑制されたが、YpSs 寒天、麦芽エキスを寒天およびリンゴ生葉煎汁寒天では連続照明下および連続暗黒下ではほぼ同等であった。

本菌は 0～30℃ で生育し、生育適温 20～25℃ であった。また pH を変えた PDA 平面では pH4.1～9.6 で生育した。生育は pH6.9 でもっとも良好であったが、pH4.9～8.2 の酸性域から塩基性域までの広い pH 域で比較的良好であった。

Richards 寒天を基本培地とし、窒素源の種類と本菌の生育の関係を調査した結果、有機窒素化合物では L-asparagine、L-alanine および L-glutamine で良好、ついで L-valine、L-tyrosine で良好であった。尿素および L-leucine で劣り、L-cystine で著しく劣った。無機窒素化合物 (KNO_3 、 NaNO_3 、 NH_4NO_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 NH_4Cl) では有機窒素化合物に比べて総じて劣り、尿素および L-leucine と同程度であった。また炭素源の種類との関係では、二糖類の lactose、maltose、sucrose および多糖類の soluble starch で総じて生育が良好であり、ついで単糖類の fructose、galactose、glucose、mannose で良好で、多価アルコールの mannitol でもっとも劣った。

II 病気の発生生態

1. 圃場における偽子のう殻の成熟過程

2003 年、圃場から採取した‘つがる’罹病落葉上の偽子のう殻は 4 月 2 日には子のうを生じていたが、子のう内に子のう胞子は確認できなかった。4 月 9～20 日には子のう内に未熟な子のう胞子がみられたが、5 月 2 日には子のう胞子は成熟していた。なお、未熟偽子のう殻は 5～25℃ で成熟可能、25℃ でもっとも早く成熟したが、30℃ の高温では成熟しなかった。

2. 子のう胞子の飛散

1998～2001 年の調査では、子のう胞子の飛散は 4 月下旬または 5 月上旬から始まり、最盛期は 5 月中旬～6

月上旬で、その後は漸減しながら 7 月中下旬まで続いた。また 2001 年 5、6 月および 2003 年 5 月における、1 時間ごとの飛散量調査では、子のう胞子は降雨前に湿度が高まったころからわずかに飛散しはじめ、降雨が始まって 2～7 時間後の飛散量がもっとも多く、その後は降雨の有無にかかわらず漸減した。相対湿度 100% の条件下では飛散量は概して少ないが、長時間連続して相対湿度 100% で推移した場合は多量の子のう胞子が飛散した。子のう胞子は昼間夜間のいずれでも飛散したので、光による飛散への影響はないと考えられる。

3. 子のう胞子の発芽

素寒天平面上の子のう胞子は 10～30℃ で良好に発芽した。発芽管の生育は 25℃ でもっとも良好であり、30℃ でやや阻害される傾向であった。

スライドグラス上の子のう胞子は空中の相対湿度 100% でもっとも良好に発芽し、ついで 98%、95% の順に良好で、92% 以下ではまったく発芽しなかった。

素寒天平面上の子のう胞子の発芽は暗黒下が照明下より勝った。しかし暗黒下と照明下での差は比較的小さかった。光質、照度などについて、さらに検討する必要があるが、光は発芽を抑制するがその程度は小さいと考えられる。

pH 値が異なる蒸留水中の子のう胞子は pH2～12 のいずれでも発芽した。発芽は pH8 でもっとも良好で pH2 および 12 で劣ったが、その差は比較的小さかった。

素寒天平面上で発芽した子のう胞子は、子のう胞子から直接または子のう胞子から生じた菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を形成した。この子のう胞子からの分生子形成は 10～30℃ でみられたが、20～25℃ で良好であり 30℃ では著しく劣った。また光は分生子形成を促す傾向が認められた。

4. 子のう胞子の病原性

子のう胞子接種果実は接種約 40 日後から自然発病と同様の黒点病の病徴、すなわち果点が黒変し、やがて果点を中心としたやや円んだ暗緑色斑点を生じた。子のう胞子接種葉では接種約 3 か月後から自然発病と同様の不正型、紫褐色斑点を生じ、やがて黄変落葉した。また、子のう胞子を接種し黄変落した罹病葉を低温 (5℃) 下の湿室に保持した結果、偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子を生じた。それらの形態的特徴は *M. pomi* の記載とよく一致した。

5. *Cylindrosporium* 型分生子の伝染源としての働き

無防除のリンゴ圃場から採取した果実および葉の表面において、病原菌子のう胞子から生じた菌糸上に形成される *Cylindrosporium* 型分生子を発見した。そこでこの

Cylindrosporium 型分生子の伝染源としての働きを検討した。すなわち、鉢植えのリンゴ樹の葉に子う胞子を接種し、葉面上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じさせ、これを回収して健全なリンゴ果実に接種して典型的な黒点病を起こすことに成功した。これらのことから、発芽した子う胞子から生じる *Cylindrosporium* 型分生子は、圃場において本病の二次伝染源として働いていると結論される。

6. 病原菌の宿主への侵入

果実に接種された *Cylindrosporium* 型分生子は24時間後にはほとんどのものが発芽し、菌糸は果面上を生育し、接種120時間後に気孔（果点）から果実組織に侵入した。葉に接種された子う胞子は24時間後にはほとんどのものが発芽し、発芽した子う胞子の多くは分生子を生じた。48時間および72時間には子う胞子から生じた菌糸は *Cylindrosporium* 型分生子を生じながら生育し、96時間後には気孔から葉組織に侵入した。果実および葉のいずれにおいても、気孔以外からの病原菌の侵入は認められなかった。

7. 圃場における果実の感染時期、および果実と葉の感受性

2000～2003年の4か年の調査では、無防除樹の‘つがる’果実の発病は6月下旬または7月上旬からみられ、その後発病果率は急激に高まり、8月上旬にはほぼ100%に達した。

果実の感染時期を1997年、1999年および2000年の3か年、‘つがる’果実を供試し被袋除袋法により検討した。その結果、黒点病の感染は落花間もないころ（5月中下旬）から始まり、落花10日後頃～30日後頃（5月下旬～6月中下旬）が多く、その後7月中旬まで続いた。

果実の生育に伴う感受性の推移を1999～2001年の3か年、‘つがる’果実を供試し病原菌接種法により検討した。落花10日後頃～30日後頃（5月下旬～6月中下旬）の感受性が高くその後順次低下するが、落花60日後頃（7月中旬）においても、程度は低い感受性が保たれていた。

鉢植え‘ふじ’樹の葉に *Cylindrosporium* 型分生子を接種して、葉の老若と発病との関係を検討した。接種約2か月後から自然発病と同様の不正形、紫褐色病斑を生じ、発病葉は順次黄変して落下した。新梢先端から10葉位までの葉について、葉位による発病差は認められなかった。

Cylindrosporium 型分生子を接種した鉢植え‘ふじ’樹の当年枝は接種約9か月後においても発病がなく、またこの接種枝の皮目からリンゴ黒点病菌は分離されなかった。よってリンゴ枝が本菌に感染する可能性は低いと考えられる。

8. リンゴ品種の黒点病感受性

圃場における自然発病調査および人工接種による発病調査の結果から、黒点病に対するリンゴ品種の感受性程度を検討した。感受性の基準とした‘紅玉’に比べ、‘陸奥’、‘つがる’、‘ジョナゴールド’および‘あおり13’は同等～やや高く、‘王林’、‘ふじ’および‘北斗’は低く、‘国光’および‘スターキングデリシャス’は著しく低いと考えられる。‘千秋’、‘あおり9’および‘金星’は概ね‘ふじ’程度であると考えられる。

9. 共通宿主

セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンの自然発病病徴は次のとおりである。

セイヨウナシ・ゼネラル・レクラークおよび‘ラ・フランス’果実では、7月上中旬から果点を中心とした黒色の小斑点病斑が生じ、この病斑は収穫期ころ（ゼネラル・レクラーク：9月下旬、ラ・フランス：10月中旬）には大きさ0.5～3mm、やや凹み、周囲が濃緑色を呈した。‘ラ・フランス’ではかさぶた状のものも多かった。病斑部の果肉は褐変していたが、この部分から腐敗することはなかった。葉では、8月中下旬から大きさ0.5～3mmの不正形、紫褐色～黒褐色の病斑を生じ、しばしば癒合して大型の病斑となり、時に灰褐色の壊死を伴っていた。病斑は葉縁に多い傾向であった。罹病葉はやがて黄化し落下した。

ニホンナシ‘幸水’果実では、7月下旬から果点を中心とした針頭大、黒色の小斑点病斑が生じ、収穫期の9月下旬には針頭大、暗緑色病斑となった。病斑部の果肉はわずかに褐変していたが、この部分から腐敗することはなかった。葉の発病はみられなかった。

マルメロ‘在来種’果実では、7月下旬から針頭大、黒色の小斑点病斑が生じ、やがてこれらは癒合し、収穫期の10月下旬には大きさ1～5mmのやや凹んだ不正形、暗緑色病斑となった。病斑部の果肉は褐変していたが、この部分から腐敗することはなかった。葉では、8月中下旬から大きさ1～6mmの不正形、紫褐色～黒褐色の病斑を生じ、しばしば癒合して大型の病斑となった。11月中旬には葉脈に囲まれた1～3mmの角形、紫褐色病斑もみられた。罹病葉はやがて黄化し落下した。

カリン果実では、7月下旬から果点を中心とした針頭大、黒色の小斑点病斑が生じ、収穫期の11月中旬には大きさ0.5～2mmの暗緑色病斑となった。病斑部の果肉はわずかに褐変していたが、この部分から腐敗することはなかった。葉の発病はみられなかった。

上記共通宿主の罹病落葉上に生じた偽子う胞、子う胞および子う胞子の形態的特徴はいずれも *M. pomi* の記載と一致した。また各植物由来の子う胞子単胞子分離菌および果実病斑組織分離菌はいずれもPDA培養で

ンゴ黒点病菌によく似た菌叢を形成し、*Cylindrosporium* 型分生子を生じた。これらの分生子の大きさおよび隔壁数は *C. pomi* の記載と一致した。よって各宿主上の菌はいずれも *Mycosphaerella pomi* (Pass.) Lindau (アナモルフ：*Cylindrosporium pomi* C. Brooks) と同定された。

接種試験ではいずれの植物からの分離菌も、それぞれの実の宿主の果実に病徴を再現し、同時にリンゴ果実に黒点病を生じさせた。一方、リンゴ黒点病菌もセイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンのいずれの果実にも黒色小斑点を生じさせた。

共通宿主の一つ、セイヨウナシ越冬罹病落葉からの子実の胞子の飛散は、2000 年の調査では 4 月 6 半旬から始まり、最盛期は 5 月 3 半旬で、7 月 4 半旬まで続いた。これはリンゴ越冬罹病落葉からの子実の胞子の飛散消長とはほぼ同様で、飛散胞子数もリンゴ越冬罹病落葉からのものに匹敵した。したがって、この子実の胞子はリンゴ黒点病をはじめ共通宿主の黒点症状の発病に大きく関わることが明らかとなった。

M. pomi による病害は、わが国ではリンゴ以外で記録されていない。セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンのいずれも、病名はリンゴ病害に準じて「黒点病（セイヨウナシおよびニホンナシ：*Mycosphaerella* fruit spot, マルメロ:blotch, カリン:fruit spot)」とした。

10. 病原菌の生活環

リンゴおよびその他果樹の黒点病に関する一連の研究の結果から、病原菌の生活環は次のように要約される。

a. 偽子実の殻の成熟と子実の胞子の飛散

前年の罹病落下果実および罹病落葉の病斑上で越冬した病原菌の偽子実の殻は 4 月下旬または 5 月上旬から成熟し、第一次伝染源となる子実の胞子を飛散させる。子実の胞子の飛散最盛期は 5 月中旬頃頃から 6 月上旬頃までで、その後は漸減しながら 7 月末まで続く。

なお、越冬罹病落下果実の病斑上に 5 月に *Cylindrosporium* 型分生子を生じる。この分生子は第一伝染源として働くことが予想されるが、未実証である。

b. 子実の胞子からの *Cylindrosporium* 型分生子の形成

第一次伝染源の子実の胞子は主として降雨時に飛散し、果実や葉の表面に到達、発芽後、子実の胞子上に直接または子実の胞子から生育した菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じる。菌糸は果実や葉の気孔から侵入し、ま

た生じた分生子は二次伝染源となる。

c. 果実および葉の感染

子実の胞子による感染は果実では 5 月下旬頃の落花間もない幼果期から、また葉では 4 月下旬頃の発芽間もない稚葉期から始まり、いずれでも 7 月末まで続く。果実では 6 月下旬頃から、また葉では 8 月上旬頃から発病しはじめ、いずれの病斑上にも *Cylindrosporium* 型分生子を生じる。この分生子は第二伝染源として働くことが予想されるが、未実証である。

d. 病原菌の越冬

落下果実および落葉の病斑上に秋口から精子器、偽子実の殻原基が発達する。偽子実の殻原基は越冬後の 4 月下旬または 5 月上旬には成熟した偽子実の殻となり、子実の胞子を飛散させる。

e. 共通宿主における病原菌の越冬と子実の胞子の形成

病原菌はリンゴのほか、セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンの罹病落葉上でも越冬し、翌年成熟した偽子実の殻から子実の胞子を飛散させる。この子実の胞子は上記共通宿主間で互いに黒点病の伝染源になる。

III 防 除 法

リンゴ黒点病の発生に好適な気象・環境条件下においても、散布後 15 日間安定した残効性を有するステロール脱メチル化阻害剤 (DMI 剤) 混合剤として、ジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤 (500 倍) を検索した。本剤の有効性は、2000 年から 2002 年にわたる 3 年間、県南果樹研究センター内圃場で、さらに 2002 年、農家圃場においてスピードスプレーヤを用いた大規模な防除試験で実証された。これらの結果に基づいて、2003 年から青森県において黒点病の多発地の防除剤として、「ふじ」の落花直後」と「ふじ」の落花 15 日後頃」にジフェノコナゾール・マンゼブ水和剤を採用した。これにより黒点病多発地においても、「ふじ」の落花 10 日後頃」と「ふじ」の落花 20 日後頃」の散布を「ふじ」の落花 15 日後頃」に統合した。県内共通の散布回数の防除体系（「ふじ」の落花直後から落花 30 日後頃まで、15 日間隔 3 回散布）の実現に寄与した。

引用文献

- Anderson, H. W. 1956. Phoma fruit spot of apple and quince blotch. *In* Diseases of fruit crops. pp. 182-184, McGraw-Hill Book Co., New York.
- 青森県りんご試験場五十年史. 1981. pp. 671-680.
- 青森県りんご試験場昭和29年度業務年報. 1954. pp. 118-119.
- 青森県りんご試験場昭和30年度業務年報. 1955. pp. 111-112.
- 青森県りんご試験場昭和31年度業務年報. 1956. pp. 124-125.
- 青森県りんご試験場昭和33年度業務年報. 1958. pp. 151-152.
- 青森県りんご試験場昭和34年度業務年報. 1959. pp. 153-154.
- 荒井茂充. 2001. *Mycosphaerella pomii* によるニホンナシ黒点病 (新称). 日本植物病理学会報 67: 167.
- 荒井茂充・藤田隆・原田幸雄. 2003a. リンゴ黒点病菌 (*Mycosphaerella pomii*) の *Cylindrosporium* 型分生子の伝染源としての可能性. 日本植物病理学会報 69: 262.
- 荒井茂充・藤田孝二・中澤憲夫・原田幸雄. 2003b. *Mycosphaerella pomii* (Pass.) Lindau によるセイヨウナシ黒点病 (新称). 日本植物病理学会報 69: 198-204.
- 荒井茂充・藤田隆・原田幸雄. 2004a. リンゴ黒点病の葉の病徴観察. 日本植物病理学会報 70: 235.
- 荒井茂充・原田幸雄. 2004b. *Mycosphaerella pomii* (Pass.) Lindau によるカリン黒点病 (新称). 日本植物病理学会報 70: 54.
- 荒井茂充・原田幸雄. 2004c. *Mycosphaerella pomii* (Pass.) Lindau によるマルメロ黒点病 (新称). 日本植物病理学会報 70: 128-131.
- 荒井茂充・藤田隆・原田幸雄. 2005a. リンゴ黒点病菌子の胞子の飛散消長. 日本植物病理学会報 71: 231.
- Arai, S., Fujita, T. and Harada, Y. 2005b. Role of *Cylindrosporium*-type conidia of *Mycosphaerella pomii* (Pass.) Lindau: cause of Brooks fruit spot of apple, as an infection source in apple orchards. *Journal of General Plant Pathology* 71: 357-359.
- 新谷潤一・横山朋承・倉館公子・藤田孝二. 1997. 青森県南部地方における1996年のリンゴ黒点病の多発要因. 北日本病害虫研究会報 48: 131-133.
- Atkinson, J. D. 1971. Apple spot. *In* Diseases of tree fruit in New Zealand. pp. 40-42. A. R. Shearer, Government Printer, Wellington, New Zealand.
- Brooks, C. 1908. The fruit spot of apples. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 35: 423-456.
- Brooks, C. and Black, C. A. 1912. Apple fruit spot and quince blotch. *Phytopathology* 2: 63-74.
- Boewe, H. G. 1964. Some plant diseases new to Illinois. *Plant disease reporter* 15: 866-870.
- Corlett, M. 1991. *Mycosphaerella pomii*. *In* An annotated list of the published names in *Mycosphaerella* and *Sphaerella*. *Mycologia Memoir* 18. p. 219. J. Carmer, Berlin.
- Corlett, M. 1995. An annotated list of the published names in *Mycosphaerella* and *Sphaerella*; Corrections and additions. *Mycotaxon* 53: 37-56.
- Diener, U. L. 1955. Host-penetration and pathological histology in gray leaf spot of tomato. *Phytopathology* 45: 654-658.
- Dring, D. M. 1961. Studie on *Mycosphaerella brassicicola* (Duby) Oudem. *Transaction British Mycological Society* 44: 253-264.
- Duncan, K. E. and Howard, R. J. 2000. Cytological analysis of wheat infection by the leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Mycological Research* 104: 1074-1082.
- Farr, D. F., Bills, G. F., Chamuris, G. P. and Rossmann, A. Y. 1989. *Fungi on plants and plant products in the United States*. pp. 804-805. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- 藤田孝二・福上好文・清藤盛正. 1989. 青森県南部地方におけるリンゴ黒点病の発生状況と発生要因. 北日本病害虫研究会報 40: 194.
- 藤田孝二. 1998. リンゴ黒星病の防除体系変更による防除回数削減. 果実日本 53: 71-73.
- 福田博之. 1972. 紅玉果実の貯蔵生理障害発生に対するカルシウム散布の影響 (第2報) Jonathan spot とその他のはん点性障害. 園芸学会雑誌 41: 17-22.
- Ganapathi, A. and Corbin, J. 1979. *Colletogloeum nubilosum* sp. nov., the imperfect state of *Mycosphaerella nubilosa* on

- Eucalyptus* in New Zealand. Transaction British Mycological Society 72: 237-244.
- Higgins, B. B. 1920. Morphology and life history of some ascomycetes with special reference to the presence and function of spermatia. American Journal of Botany 7: 435-444.
- Higgins, B. B. 1929. Morphology and life history of some ascomycetes with special reference to the presence and function of spermatia II. American Journal of Botany 16: 287-296.
- Higgins, B. B. 1936. Morphology and life history of some ascomycetes with special reference to the presence and function of spermatia III. American Journal of Botany 25: 598-602.
- 堀籠健介・永井政次・津山博之. 1967. リンゴ黒点病菌の完全世代について. 日本植物病理学会報 33: 325.
- 堀籠健介・津山博之. 1969. リンゴ黒点病菌の生活史に関する研究, 特に子う胞形成過程. 日本植物病理学会報 35: 368.
- 堀内富美雄・王藤哲男. 1961. 秋田県北地域における黒点病の発生に関する一観察. 北日本病害虫研究会 12: 61.
- Kaneko, R. and Kakishima, M. 2000. *Mycosphaerella buna* sp. nov. with a *Pseudocercospora* anamorph isolated from the leaves of Japanese beech. Mycoscience 42: 59-66.
- 木村甚彌. 1938. 苹果黒点病に就いて. 日本植物病理学会報 8: 87-89.
- 北島博. 1962. 病気の生態, 果樹における病原菌の越冬, 分散. 植物病理学実験法. pp. 252-260, 日本植物防疫協会, 東京.
- 小池英彦. 1994. 試作胞子採集器の利用とリンゴ黒星病菌子う胞子の飛散様式. 日本植物病理学会報 60: 355-356.
- 近藤賢一・川合康充・広間勝巳. 2000. リンゴ褐斑病菌子う胞子の飛散消長と一次伝染期の防除. 日本植物病理学会報 66: 99.
- 近藤賢一・岩波靖彦・広間勝巳. 2002. 長野県におけるリンゴ褐斑病菌子う胞子の飛散消長. 日本植物病理学会報 68: 200.
- Kornerup, A. and Wanscher, J. H. 1978. Methuen handbook of colour. 3rd edn. Methuen, London.
- 王藤祐基・大友義規・福島千万男・瀬川一衛・中田良一・松中謙次郎・山田隆. 1968. リンゴ斑点落葉病に関する研究. 青森県りんご試験場報告 12: 29-116.
- MacHardy, W. E. and Gadoury, D. M. 1986. Patterns of Ascospore Discharge by *Venturia inaequalis*. Phytopathology 76: 985-990.
- 三浦道哉. 1915. 苹果樹の斑点病. 青森県立農事試験場農事試験成績 15: 77-116.
- 三浦道哉. 1916a. 苹果樹斑点病に関する調査. 青森県立農事試験場, 大正四年度業務功程. p. 51.
- 三浦道哉. 1916b. 苹果の斑点病に就て. 病虫害雑誌 3: 745-748.
- 三浦道哉. 1927. *Diaporthe Nitschke*. 満蒙植物誌, 第三輯隠花植物, 菌類. 南満州鉄道株式会社興業部農務課産業資料 27: 177-183.
- Mondal, S. N., Gottwald, T. R. and Timmer, L. W. 2003. Environmental factors affecting the release and dispersal of ascospores of *Mycosphaerella citri*. Phytopathology 93: 1031-1036.
- 諸見里善一. 1995. 微生物の生育と生殖に及ぼす要因. 植物病理学事典(日本植物病理学会編). pp. 390-399. 養賢堂, 東京.
- 中澤憲夫・福島千万男. 1990. リンゴ黒星病に関する研究(1) 治療効果のある殺菌剤の検索と防除への利用. 青森県りんご試験場報告 26: 15-38.
- 中澤憲夫. 1995. リンゴ果実のすす斑病に対する感受性の時期的推移. 北日本病害虫研究会報 46: 105-106.
- 日本植物病理学会. 2000. 日本植物病名目録. pp. 393-398, 日本植物病疫協会, 東京.
- 西田勉. 1969. リンゴ黒星病に関する調査, VI. 子う胞子の飛散. 北日本病害虫研究会報 20: 50.
- 尾形正. 2004. リンゴ輪紋病の研究, 特に病原菌の分類, 発生生態および病害防除. 福島県果樹試験場研究報告 20.
- 奥八郎. 1995. 病原体の病原性. 植物病理学事典(日本植物病理学会編). pp. 496-500. 養賢堂, 東京.
- 小野小三郎. 1962. 病態解剖. 植物病理学実験法(明日山秀文・向秀夫・鈴木直治編). pp. 381-391. 日本植物防疫協会, 東京.
- Park, R. F. and Kcane, P. J. 1982. Leaf diseases of *Eucalyptus* associated with *Mycosphaerella* species. Transactions of the British Mycological Society 79: 101-115.
- りんご生産指導要項(平成16年改訂版). 2004. 青森県りんご生産指導要項編集委員会編. pp. 144-145.
- 関口昭良. 1966. りんご黒点病に関する研究 第1報病原菌の確認. 日本植物病理学会報 32: 63.
- 関口昭良. 1968. 落葉果樹の病害虫・生態と防除(全講連編). pp. 12-15. 誠文堂新光社, 東京.
- Stone, J. and Petrini, O. 1997. Endophytes of forest trees: a model for fungus-plant interaction. In The Mycota V. Plant relationships Part B (by Carrol, G. C. and Tudzynski, P., eds). pp. 129-140. Springer-Verlag, Berlin.

- Sutton, T. B., Brown, E. M. and Hawthorne, D. J. 1987. Biology and epidemiology of *Mycosphaerella pomi*, cause of Brooks fruit spot of apple. *Phytopathology* 77: 431-437.
- 鈴木直治. 1962. 病態解剖. 植物病理学実験法 (明日山秀文・向秀夫・鈴木直治編). pp. 393-420. 日本植物防疫協会, 東京.
- 田中弥平. 1984. 新編リンゴ栽培技術 (津川力編). pp. 283-285. 養賢堂, 東京.
- 東北農政局青森統計・情報センター. 2004. 平成15年園芸作物統計. 青森農林水産統計協会.
- 富山宏平・酒井隆太郎・高桑亮. 1962. 病原菌の生理. 植物病理学実験法 (明日山秀文・向秀夫・鈴木直治編). pp. 335-380. 日本植物防疫協会, 東京.
- Tsuyama, T., Horigome, K. and Sasaki, S. 1973. Study on the life history of *Mycosphaerella pomi* (Pass.) Lindau. Rept. Tottori Mycol. Inst. 10: 465-472.
- 津川力. 1960. “りんご病害虫防除暦” から問題点を拾う. 青森農業 11: 11-13.
- 梅本清作・大谷徹・矢内浩二. 2002. ナシ病害防除における殺菌剤散布回数削減と問題点. 植物防疫 56: 334-339.
- Walton, R. C. and Orton, C. R. 1926. The perfect stage of *Cylindrosporium pomi*. *Science* 63: 236.
- 渡辺昌平. 1978. 菌類図鑑 (下). pp. 1232-1233. 講談社, 東京.
- Whiteside, J. O. 1970. Etiology and epidemiology of citrus greasy spot. *Phytopathology* 60: 1409-1414.
- Whiteside, J. O. 1972. Histopathology of citrus greasy spot and identification of the causal fungus. *Phytopathology* 62: 260-263.
- 和達清夫. 1974. やませ. 新版気象の事典. p. 533. 東京堂出版, 東京.
- Yoder, K. S. 1982. Fungicide control of Brooks fruit spot of apple. *Plant disease* 66: 564-566.
- Yoder, K. S. 1990. Brooks fruit spot. *In* Compendium of apple and pear diseases (Jones, A. L. and Aldwinckle, H. S., eds). pp. 25-26. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- 行本峰子. 1992. 環境保全型農業における農薬の役割. 植物防疫 46: 555-556.

Studies on the Ecology and Control of Brooks Fruit Spot of Apple Caused by *Mycosphaerella pomi* (Pass.) Lindau

Shigemitsu Arai

Kennan Fruit Tree Research Center, Apple Experiment Station,
Aomori Prefectural Agriculture and Forestry Research Center

Keywords : Brooks fruit spot disease, *Mycosphaerella pomi*, *Cylindrosporium pomi*,
symptom, cultural characteristic, infection source, infection,
fruit susceptibility, common host, life cycle, disease control,
difenoconazole-mancozeb

Summary

Brooks fruit spot disease, caused by *Mycosphaerella pomi* (Pass.) Lindau, is an important disease of apples in eastern side (Nanbu district) of Aomori Prefecture, northern Japan. The study was conducted from 1997 through 2004 at Kennan Fruit Tree Research Center, Apple Experiment Station in Gonohe-machi, Aomori Prefecture, with special reference to the epidemiology and its chemical control of the disease.

I . Symptoms and causal fungus

1. Symptoms on fruits and leaves

On fruit of red-skinned cultivar 'Tsugaru', first symptoms appeared as black, pin-point spots on lenticels in late June or early July. The spots were about 1 mm in diameter, brilliant black in early or mid July, and brilliant red on colored surface of the fruit (Plate 1A, B). The spots became slightly sunken as the season advanced. On mature fruit (mid or late September), they were usually 1-3 mm in diameter, but sometimes reached about 8 mm in diameter, and were dark red on colored surface but dark green on lighter portion (Plate 1C, D). On red-skinned cultivars like 'Jonathan', 'Starking Delicious', 'Hokuto', 'Fuji', and 'Rolls Janet', spots on mature fruit were reddish brown to black, while spots on 'Jonagold' fruit were green to dark green (Jonathan, Plate 2A, B; Jonagold, Plate 2C, D; Starking Delicious, Plate 2E, F; Hokuto, Plate 2G, H; Fuji, Plate 3A, B; Rolls Janet, Plate 3C, D). On yellow-skinned cultivars like 'Mutsu' and 'Orin', spots on mature fruit were dark green, with the sizes of pin-point to 4 mm or sometimes reaching about 8 mm in diameter (Mutsu, Plate 3E, F; Orin, Plate 3G, H).

On leaves of cvs. 'Tsugaru' and 'Fuji', symptoms appeared as purple flecks, which were usually 1-3 mm in diameter but often coalesced to form large, irregular lesions, accompanied by necrotic areas (Tsugaru, Plate 4A, B; Fuji, Plate 4D, E). Diseased leaves gradually turned yellow and fell. Spots on fallen leaves turned dark brown and became angular in shape, 1-3 mm in diameter, delimited by small veins (Tsugaru, Plate 4C; Fuji, Plate 4F).

2. Light microscope observations on fruit and leaf symptoms

Spots of fruits occurred on lenticels. Hyphae protruded through the lenticels and *Cylindrosporium*-type conidia were produced on the hyphae (Plate 5A, B). On the purple flecks of leaves, hyphae protruded through stomata, and *Cylindrosporium*-type conidia were produced on the hyphae (Plate 5C, D). On necrotic areas of the leaf, stomata of

the fungus were formed at the respiratory cavity beneath the stoma, and *Cylindrosporium*-type conidia were produced through the stroma (Plate 5E-G).

3. Histopathological observations

On fruit lesions in early stage, necrosis was confined to the epidermal cells and hypodermal cells of 5-6 layers, but gradually extended inwards up to hypodermal cells of 10-20 layers at harvest time (Plate 6A). The hyphae in the necrotic tissue were 1-2 μm in diameter. With necrotic tissues, lignification of cell walls was shown by phloroglucinol (1% in 18% HCl). On overwintered, fallen diseased fruits, pseudoparenchyma appeared in the epidermis and hypodermis, which developed into stromata and pseudothecia containing asci with ascospores (Plate 7A-F). In addition, *Cylindrosporium*-type conidia were then formed from the stromata (Plate 6B, C).

Under microscope, necrosis of epidermal cells on lower surface of the leaf and browning of the palisade tissues were apparent on leaf lesions. The mycelium grew intercellularly into the palisade and spongy tissues. The hyphae were 1.0-1.5 μm in diameter in palisade tissue, while 1.5-2.0 μm in diameter in spongy tissue (Plate 6D, E). In 5 days after leaf fall, the hyphae were 2-4 μm in diameter in the palisade tissue, and 1.5-2.0 μm in diameter in the spongy tissue. Some hyphae were seen growing in the cells of both tissues. Spermatogonia were produced mainly in tissues on the adaxial surface, though they were seen in tissues on both leaf surfaces (Plate 6F).

4. Morphology of the causal fungus

The morphological characteristics of pseudoperithecia, asci, and ascospore formed on the overwintered, fallen diseased fruits (Plate 7A-F) and leaves (Plate 8A-F) were similar to the description of *Mycosphaerella pomi* by Walton and Orton (1926). Pycnidium-like organs and pycniospore-like bodies formed on the fallen diseased leaves were regarded as spermatogonia and spermatia, respectively, based on morphological and cultural experiments (Plate 9A-C). It is concluded that *Phoma*-type conidial state described by Brooks and Black (1912) is spermatogonial state (Plate 9D, E). *Cylindrosporium*-type conidia produced on lesions of fruit (Plate 5A, B) or leaf (Plate 5C-G) in growing season, and on lesions of overwintered fallen diseased fruit (Plate 6B, C) were similar to the descriptions of *Cylindrosporium pomi* by Brooks and Black (1912) and Miura (1915). Morphological characteristics of the fungus isolates (Plate 9F) from diseased apple fruit and leaf, single ascospore produced on overwintered, fallen diseased fruit and leaf, single *Cylindrosporium*-type conidium produced on lesions of fruit or leaf in growing season, or on lesion of overwintered, fallen diseased fruit, all well agreed to the descriptions of *C. pomi* by Brooks and Black (1912) and Miura (1915). Conidiogenesis in these isolates on PDA plate was phialidic (Plate 9G).

5. Pathogenicity of the causal fungus

Inoculations of unwounded apple fruit with *Cylindrosporium*-type conidia of the fungus isolates from single ascospore, single *Cylindrosporium*-type conidium on diseased fruit or leaf in growing season, as well as on overwintered, fallen diseased fruit, all produced typical symptoms of Brooks fruit spot disease on apple. And the same fungus was reisolated from these artificially produced fruit spot tissues.

6. Cultural characteristics of the causal fungus

The fungus developed slimy colonies with numerous conidia on PDA, YpSs agar (Emerson's agar), Czapek's agar, Richards' agar, and Hopkins' agar, while felty colonies on malt extract agar and apple leaves extract agar, both in total darkness and continuous light (daylight fluorescent light at a light intensity of about 1000 lux) (Plate 10A). Colony growth of the fungus was most vigorous on malt extract agar and PDA. Colony growth on PDA, Czapek's agar, Richards' agar, and Hopkins' agar were somewhat retarded in light rather than in darkness. No inhibitory effect of light, however, was observed with colony growth on YpSs agar, malt extract agar, and apple leaves extract agar. On PDA plates the fungus developed colonies at a temperature range of 0-30°C, with an optimum at 20-25°C. The optimum hydrogen ion concentration for colony growth on PDA plates is pH 6.9, but fairly good growth occurred also at between pH 4.9 and 8.2. On Richards' agar, L-asparagine, L-alanine, and L-glutamine were excellent nitrogen sources for colony growth, and L-valine and L-tyrosine were also good, but urea, L-leucine, L-cystine, and inorganic

nitrogen sources (KNO_3 , NaNO_3 , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and NH_4Cl) were not. On Richards' agar, lactose, maltose, sucrose, and soluble starch were good carbon sources for colony growth, and fructose, galactose, glucose, and mannose were also good, but mannitol was not.

II . Epidemiology

1. Development of pseudothecia

In the field observations in 2003, ascus formation in pseudothecia on the overwintered, fallen diseased leaves began in early April, when the asci were still immature with no ascospores; matured ascospores were formed by early May. Under controlled temperature in the laboratory, pseudothecia produced ascospore at a temperature range of 5 to 25°C .

2. Ascospore dispersal

In the field observations during the years 1998-2001, ascospores of the fungus were first trapped in late April or early May, showing peak discharge in mid May to early June and a few spores trapped in mid to late July. Ascospores discharge was greatly influenced by air humidity and rainfall; only a few ascospores were trapped before the initiation of rain, while a great numbers of ascospores were trapped in 2-7 hours after initiation of the rain. No differences were seen in ascospore discharge pattern during day and night.

3. Ascospore germination

On water agar, good ascospore germination occurred at a temperature range of 10-30°C . The germ tube grew most fast at 25°C , while germ tube growth were retarded at 10 and 30°C . On slide grass, best ascospore germination occurred under 100% RH, while no germination at 92% RH. On water agar, germination of ascospore was better in darkness than in daylight fluorescent light (about 300 lux). In distilled water, ascospores germinated at a range of pH 2-12, with an optimum at pH 8. On water agar, germinating ascospores then produced *Cylindrosporium*-type conidia on developing hyphae or directly on ascospores themselves at a temperature range of 10-30°C , with an optimum at 20-25°C . On water agar, the conidial formation was favored in daylight fluorescent light (about 300 lux) than in darkness.

4. Pathogenicity of ascospore

Unwounded apple fruits inoculated with ascospores showed numerous, small, dark green spots typical of Brooks fruit spot disease in 40 days after inoculation (Plate 10B); on the while, unwounded leaves inoculated with ascospores showed small purple flecks in 3 months after inoculation (Plate 10C).

5. Role of *Cylindrosporium*-type conidia as an infection source

On apple fruits and leaves on the tree in the growing season, *Cylindrosporium*-type conidia were commonly produced on hyphae arising from the ascospores (Plate 11A-C). Such *Cylindrosporium*-type conidia were artificially produced on leaves of potted apple trees by ascospore inoculation, and resultant conidia (Plate 11D, E) were collected and used as inocula for healthy apple fruits. The apple fruits inoculated in this matter produced typical symptoms of Brooks fruit spot disease (Plate 11F). Consequently, it is concluded that *Cylindrosporium*-type conidia naturally occurring on infected fruits and leaves could serve as secondary infection source for Brooks fruit spot disease development in the orchards.

6. Invasion of the causal fungus into apple fruits and leaves

On inoculated fruits, most of the *Cylindrosporium*-type conidia germinated by 24 h after inoculation to produce hyphae, which penetrated into the fruits through lenticels in 120 h (Plate 11G). Most of the ascospores sprayed for inoculation onto apple leaves germinated by 24 h to produce hyphae, which in turn produced *Cylindrosporium*-type conidia. By 96 h after inoculation, some of the hyphae penetrated into the leaves through the stomata (Plate 11H).

7. Critical time for fruit infection in the field

Field observations made during the years of 2000-2003 showed that the Brooks fruit spot disease on 'Tsugaru' fruits first appeared in late June or early July in case that no chemical sprays were used in the orchard.

In 1997, 1999 and 2000, field experiments were conducted to see the critical time for Brooks fruit spot disease infection using 'Tsugaru' fruits that were periodically bagged and unbagged. The results showed that the fruits were liable to the disease from soon after petal fall (mid or late May) to mid July, with the most critical times in 10-30 days after petal fall (late May to mid or late June).

In 1999-2001, field experiments were conducted to see the susceptibility of the fruits at different growth stages, where 'Tsugaru' fruits were periodically sprayed with conidial suspension. The results showed that the fruits were most susceptible in 10-30 days after petal fall (late May to mid or late June), then becoming gradually less susceptible for 60 days after petal fall (until mid July).

Healthy, unwounded leaves on potted 'Fuji' trees were inoculated with *Cylindrosporium*-type conidia in the glasshouse. In 2 months after inoculation, the leaves showed characteristic purple flecks typical of leaf infection with *M. pomi*. The diseased leaves then gradually turned yellow and fell. Any difference in susceptibility was not detected with leaf age.

8. Fruit susceptibility to Brooks fruit spot disease in various apple cultivars

Susceptibility of fruit of different apple cultivars was determined on the basis of degrees of natural infection and artificial inoculation with *Cylindrosporium*-type conidia. Cultivars 'Jonathan', 'Tsugaru', 'Jonagold', and 'Aori 13' were highly susceptible, followed by 'Orin', 'Fuji', 'Hokuto', 'Sensyu', 'Kinsei', and 'Aori 9'. 'Rolls Janet' and 'Starking Delicious' were only slightly susceptible.

9. Symptoms on common hosts and cross inoculations

European pear (*Pyrus communis* L. var. *sativa* de Candolle), Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehder var. *culta* Rehder), quince (*Cydonia oblonga* Miller) and Chinese quince (*Chacnomeles sinensis* Koehne) have so far been regarded as common hosts for *Mycosphaerella pomi*, cause of Brooks fruit spot of apple, with the following symptoms.

European pear (Plate 12A-D): On fruits of cvs. 'La France' and 'General Leclerc', black, pin-point spots appear at lenticels in early or mid July. The spots became slightly sunken, dark green, 0.5-3 mm in diameter at harvest time (La France, mid October; General Leclerc, late September). The spots of 'La France' were sometimes crustose. The flesh beneath the spots was browned, but no further rotting. On leaves, first brown fleck 0.5-3 mm in diameter appeared, which then frequently coalesced to form irregular shapes. The diseased leaves gradually turned yellow and fell.

Japanese pear (Plate 14A): On fruits of cv. 'Kosui', black, pin-point spots appear at lenticels in late July. The spots became dark green at harvest time (late September). The flesh beneath the spots was browned, but no further rotting. No leaf lesion was seen in the orchard.

Quince (Plate 13A-C): On fruits of cv. 'Zairai-syu', black, pin-point spots appear in late July. Then, the spots coalesced to form irregular shapes, slightly sunken, dark green, and 1-5 mm in diameter at harvest time (late October). The flesh beneath the spots was browned, but no further rotting. On leaves, irregular, brownish flecks, 1-6 mm in diameter appeared and frequently coalesced with each other. The spots were angular in shape and 1-3 mm in diameter at mid November. The diseased leaves gradually turned yellow and fell.

Chinese quince (Plate 14D): On fruits, black, pin-point spots appeared in late July. The spots were dark green and 0.5-2 mm in diameter at harvest time (mid November). The flesh beneath the spots was browned, but no rotting. No leaf lesion was seen in the orchard.

Morphological characteristics of pseudothecia, asci and ascospores found on diseased leaves of above hosts were all quite similar to those for apple Brooks fruit spot fungus, *M. pomi* (European pear, Plate 15A-C; Japanese pear, Plate 15E, F; quince, Plate 15H-J; Chinese quince, Plate 15L, M). In isolation tests, all isolates from diseased fruits and single ascospores from fallen, diseased leaves produced *Cylindrosporium*-type conidia on PDA for each common hosts. Morphological characteristics of these conidia well corresponded to the description of *C. pomi* (European pear, Plate 15D; Japanese pear, Plate 15G; quince, Plate 15K; Chinese quince, Plate 15N).

The isolates from European pear, Japanese pear, quince, and Chinese quince could cause numerous, small, dark

spots on fruits of their respective original hosts, which were similar to spots on fruits of original host in the field (European pear, Plate 12F; Japanese pear, Plate 14C; quince, Plate 13E; Chinese quince, Plate 14F).

In the field experiments in 2000, ascospores discharging from diseased leaves of European pear were first trapped in late April, with peak discharge in mid-May, and decreasingly continued to be trapped until mid July. The ascospore discharge pattern and degree of ascospore discharge well agreed with those in overwintered, fallen diseased leaves of apples. It was apparent that ascospores from diseased and overwintered European pear leaves serve as an important primary infection source for development of the fruit spot diseases on common hosts. The diseases on these common hosts, except apple, in Japan were first reported and newly named “Mycosphaerella fruit spot” (kokuten-byô in Japanese) for European pear and Japanese pear, “bloch” (kokuten-byô in Japanese) for quince, and “fruit spot” (kokuten-byô in Japanese) for Chinese quince.

10. The life cycle of the causal fungus

Based on the results of this study, the life cycle of the Brooks fruit spot fungus on apple in eastern side of Aomori (Nanbu district) is shown in Figure 11.

a. Dispersal of ascospore as a primary infection source

Pseudothecia mature on overwintered, fallen diseased fruits and leaves in late April or early May, from which the ascospores are discharged. Ascospore dispersal is very active from mid May to early June and then decreasingly continues until late July.

b. *Cylindrosporium*-type conidia as a secondary infection source

Ascospores that are discharged mainly during rain periods go over to fruits and leaves. The ascospores germinate to produce *Cylindrosporium*-type conidia from developing hyphae or sometimes directly from the spore itself on fruits and leaves. *Cylindrosporium*-type conidia serve as a secondary infection source. Hyphae from the ascospore penetrate into fruits and leaves through lenticels on fruit and through stomata on leaf.

c. Time of infection of fruits and leaves

Ascospores initiate leaf infection soon after the opening of the buds (late April), while fruit infection soon after petal fall (late May). Both infections then continue until late July. The disease symptoms on fruits are apparent from late June and on leaves from early August. In the field, *Cylindrosporium*-type conidia are produced both on fruit and leaf lesions. It is strongly suggested that *Cylindrosporium*-type conidia may serve as a secondary infection source, though it is not got clearly shown by the experiment.

d. Overwintering of the fungus

On fallen diseased fruits and leaves in the field, spermogonia and protopseudothecia of the fungus are formed in early fall. Mature pseudothecia are formed on overwintered fruits and leaves in late April or early May, and ascospores are discharged from the pseudothecia.

Also infected and overwintered fruits, *Cylindrosporium*-type conidia are produced in May. It is highly possible that the conidia may serve as an infection source, though it is not got experimentally proved. Besides apple, the fungus overwinters in fallen diseased leaves of European pear, Japanese pear, quince and Chinese quince, as well. The ascospores produced on and released from one of the common hosts may serve as an infection source for the other hosts in the near.

III . Disease control

Sterol demethylation inhibitor (DMI) and mancozeb mixtures, namely, difenoconazole-mancozeb, imibenconazole-mancozeb and myclobutanil-mancozeb, were evaluated for their controlling effect on Brooks fruit spot infection after spraying the chemicals and inoculated with the *Cylindrosporium*-type conidia onto the fruit. The results showed that the difenoconazole-mancozeb mixture was most effective preventing fruit infection for 15 days after spraying the chemical. The field experiments conducted in 2000-2002 on a large scale with a speed-sprayer demonstrated that difenoconazole-mancozeb mixture applied, twice on every 15 days from petal fall had promising effects in controlling the disease. The chemical had been adopted in Spray Calendar in Aomori prefecture for the districts where the disease is a problem since 2003.

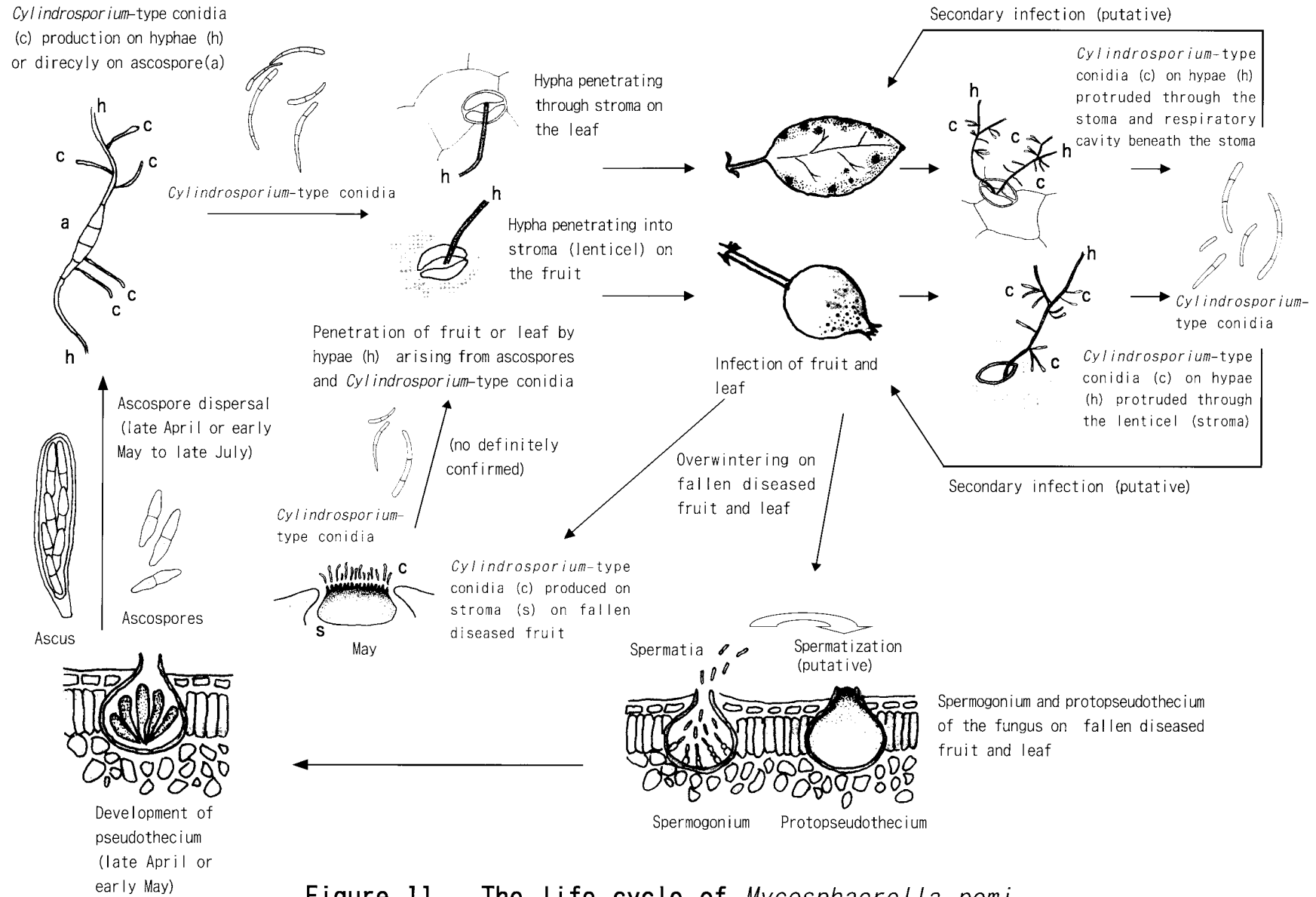


Figure 11. The life cycle of *Mycosphaerella pomi*

図版説明

図版1 リンゴ‘つがる (Tsugaru)’果実における黒点病の病徴

- A, B. 発病初期：光沢のある黒色の小斑点病斑を生じる(A)。着色部では赤色点となる(B)。
- C, D. 成熟果：病斑はやや凹み、暗赤色であるが、着色の劣る部分では濃緑色である。

図版2 リンゴ各品種果実上の黒点病の病徴－1

- A, B. 紅玉 (Jonathan)。
- C, D. ジョナゴールド (Jonagold)。
- E, F. スターキングデリシャス (Starking Delicious)。
- G, H. 北斗 (Hokuto)。

図版3 リンゴ各品種果実上の黒点病の病徴－2

- A, B. ふじ (Fuji)。
- C, D. 国光 (Ralls Janet)。
- E, F. 陸奥 (Mutsu)。
- G, H. 王林 (Orin)。

図版4 リンゴ葉の黒点病の病徴

- A, B. ‘つがる’罹病葉：不正形、紫褐色病斑を生じる。
- C. ‘つがる’罹病落葉。
- D, E. ‘ふじ’罹病葉：不正形、紫褐色病斑を生じる。
- F. ‘ふじ’罹病落葉。

図版5 リンゴ果実および葉の黒点病病斑部の光学顕微鏡による観察

- A, B. 果実の病斑部：果点（気孔）から菌糸が伸長し、菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じている。(Bar：50 μm)
- C, D. 葉の紫褐色病斑部：気孔から菌糸が伸長し、菌糸上に *Cylindrosporium* 型分生子を生じている。(Bar：50 μm)
- E, F. 葉の壊死病斑部：気孔直下の呼吸腔部に子座を形成し、気孔部に *Cylindrosporium* 型分生子を生じている。(Bar：100 μm)
- G. 気孔直下の呼吸腔部に形成された子座。(Bar：10 μm)

図版6 リンゴ果実および葉の黒点病病斑部の組織解剖学的観察

- A. 果実の病斑：気孔部に菌糸がみられ、表皮、下皮および果肉部が褐変している。(Bar：50 μm)
- B. 越冬した罹病落下果実の病斑部に生じた子座。(Bar：50 μm)
- C. 越冬した罹病落下果実の病斑部に生じた子座に形成した *Cylindrosporium* 型分生子。(Bar：10 μm)
- D, E. 葉の病斑：柵状組織が褐変し、海綿状組織側の表皮が壊死している。細胞間隙には菌糸が生育している。(Bar：50 μm)
- F. 落葉に生じた精子器：落葉5日後。(Bar：10 μm)

図版7 リンゴ越冬罹病落下果実（ジョナゴールド）に生じた黒点病菌偽子のう殻世代

- A. ミイラ化した越冬罹病落下果実。
- B. 病斑部直下の偽柔組織。(Bar：100 μm)
- C. 病斑部の断面。(Bar：100 μm)
- D. 成熟した偽子のう殻。(Bar：10 μm)
- E. 子のう。(Bar：10 μm)
- F. 子のう胞子。(Bar：10 μm)

図版 8 リンゴ越冬罹病落葉に生じた黒点病菌偽子のう殻世代

- A. 越冬落葉上の病斑.
- B. 病斑部の断面. (Bar: 50 μ m)
- C. 成熟した偽子のう殻. (Bar: 50 μ m)
- D. 成熟した偽子のう殻の断面. (Bar: 10 μ m)
- E. 子のう. (Bar: 10 μ m)
- F. 子のう胞子. (Bar: 10 μ m)

図版 9 リンゴ落葉および貯蔵果実に生じた黒点病菌精子器世代および培養により生じた黒点病菌 *Cylindrosporium* 型分生子 (単子のう胞子分離株 No.22)

- A, B. 落葉の病斑上に生じた精子器の断面. (Bar: 10 μ m)
- C. 落葉の病斑上に生じた精子器から溢出した精子. (Bar: 10 μ m)
- D. 貯蔵果実の病斑上に生じた精子器. (Bar: 50 μ m)
- E. 貯蔵果実の病斑上に生じた精子器から溢出した精子. (Bar: 10 μ m)
- F. PDA 培養により生じた *Cylindrosporium* 型分生子. (Bar: 10 μ m)
- G. PDA 上における分生子形成様式: フィアロ型. (Bar: 10 μ m)

図版 10 各種培地におけるリンゴ黒点病菌の菌叢(A)および人工接種によるリンゴ黒点病病斑 (B, C)

- A. 各種培地における単子のう胞子分離株 No.22 の菌叢 (20℃, 暗黒下で 30 日間培養).
- B. 子のう胞子接種のリンゴ果実 (ふじ): やや凹んだ黒色小斑点を生じた.
- C. 子のう胞子接種のリンゴ葉 (ふじ): 不正形, 紫褐色病斑を生じ, やがて黄変落葉した.

図版 11 リンゴ黒点病菌 *Cylindrosporium* 型分生子の伝染源としての働き (A ~ F) および病原菌の侵入 (G, H)

- A. リンゴ圃場から採取した果実の表面上において, 子のう胞子(a)から生じた菌糸(b)上に形成した *Cylindrosporium* 型分生子(c). (Bar: 10 μ m)
- B, C. リンゴ圃場から採取した葉の表面上において, 子のう胞子から生じた菌糸上に形成した *Cylindrosporium* 型分生子. (Bar: 10 μ m)
- D, E. 葉に接種した子のう胞子から直接または子のう胞子から生育した菌糸上に生じた *Cylindrosporium* 型分生子 (D: 接種 24 時間後, E: 接種 96 時間後). lh は毛じを示す. (Bar: 10 μ m)
- F. 子のう胞子から生じた *Cylindrosporium* 型分生子を接種したリンゴ果実 (紅玉): 黒点病を生じた. (Bar: 10 μ m)
- G, H. リンゴ果実(G)および葉(H)への病原菌の侵入: いずれも気孔から菌糸が侵入. (Bar: 10 μ m)

図版 12 セイヨウナシ黒点病の病徴

- A, B. 自然発病果 (A: ラ・フランス, B: ゼネラル・レクラーク): 病斑周囲が濃緑色を呈する黒色小斑点病斑を生じる.
- C, D. 自然発病葉 (C: ラ・フランス, D: ゼネラル・レクラーク): 不正形, 紫褐色~黒褐色病斑を生じる.
- E. 越冬罹病落葉 (ゼネラル・レクラーク).
- F. 接種 (単子のう胞子分離株 No.28) により発病した果実 (ゼネラル・レクラーク).
- G. 接種 (単子のう胞子分離株 No.28, No.30) により発病した葉 (ラ・フランス).

図版 13 マルメロ黒点病の病徴 (在来種)

- A. 自然発病果 (発病初期): 多数の黒色小斑点を生じる.
- B. 自然発病果 (成熟期): やや凹んだ不正形暗緑色病斑を生じる.
- C. 自然発病葉: 不正形, 紫褐色~黒褐色の病斑 (矢印) を生じる.
- D. 越冬罹病落葉.
- E. 接種 (単子のう胞子分離株 No.60) により発病した果実.
- F. 接種 (単子のう胞子分離株 No.60, No.61) により発病した葉 (病斑は矢印で示す).

図版 14 ニホンナシ (幸水) およびカリンの黒点病の病徴

- A. 自然発病したニホンナシ果実：暗緑色小斑点（矢印）を生じる。
- B. 越冬したニホンナシ罹病落葉。
- C. 接種（単子のう胞子分離株 No.44）により発病したニホンナシ果実（病斑は矢印で示す）。
- D. 自然発病したカリン果実：暗緑色小斑点（矢印）を生じる。
- E. 越冬したカリン罹病落葉。
- F. 接種（単子のう胞子分離株 No.70）により発病したカリン果実（病斑は矢印で示す）。

図版 15 セイヨウナシ、ニホンナシ、マルメロおよびカリンの越冬罹病落葉上に生じた黒点病菌 *Mycosphaerella pomi* の偽子のう殻世代および分離株の *Cylindrosporium* 型分生子

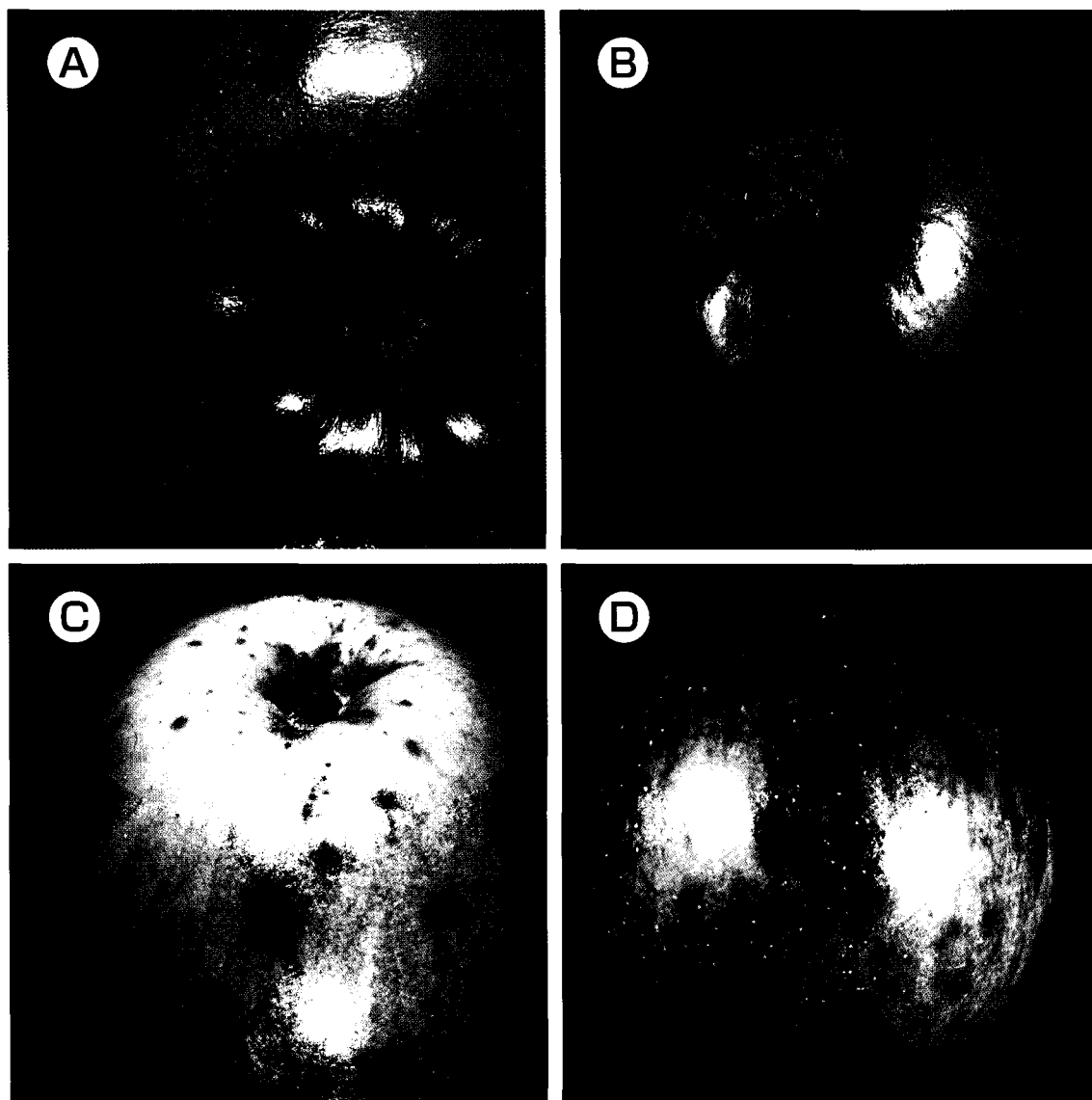
A～D. セイヨウナシ菌偽子のう殻(A), 子のう(B), 子のう胞子(C)および *Cylindrosporium* 型分生子（分離株 No.28, D）. (Bar : 10 μ m)

E～G. ニホンナシ菌偽子のう殻(E), 子のう(F)および *Cylindrosporium* 型分生子（分離株 No.44, G）. (Bar : 10 μ m)

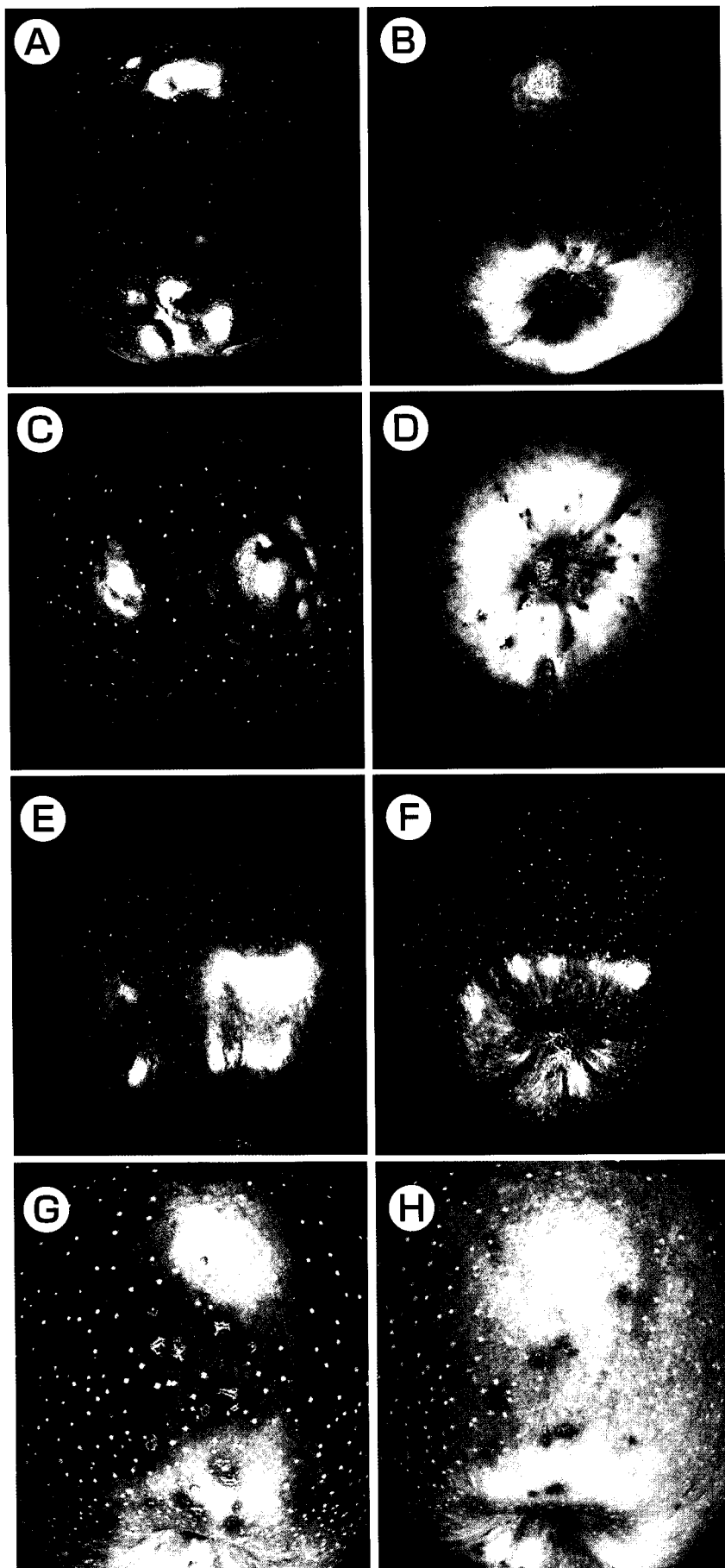
H～K. マルメロ菌偽子のう殻(H), 子のう(I), 子のう胞子(J)および *Cylindrosporium* 型分生子（分離株 No.60, K）. (Bar : 10 μ m)

L～N. カリン菌偽子のう殻(L), 子のう(M)および *Cylindrosporium* 型分生子（分離株 No.70, N）. (Bar : 10 μ m)

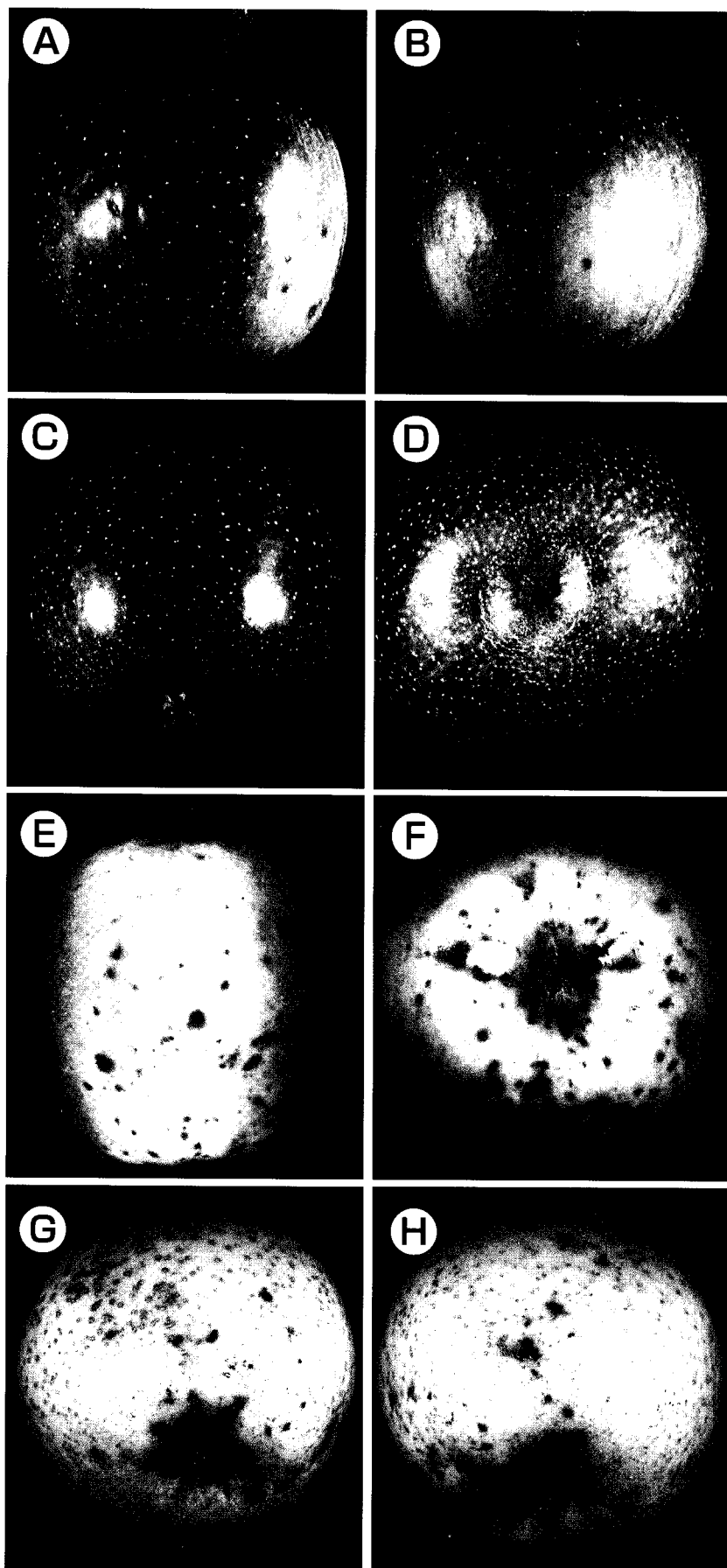
図版 1 (Plate 1)



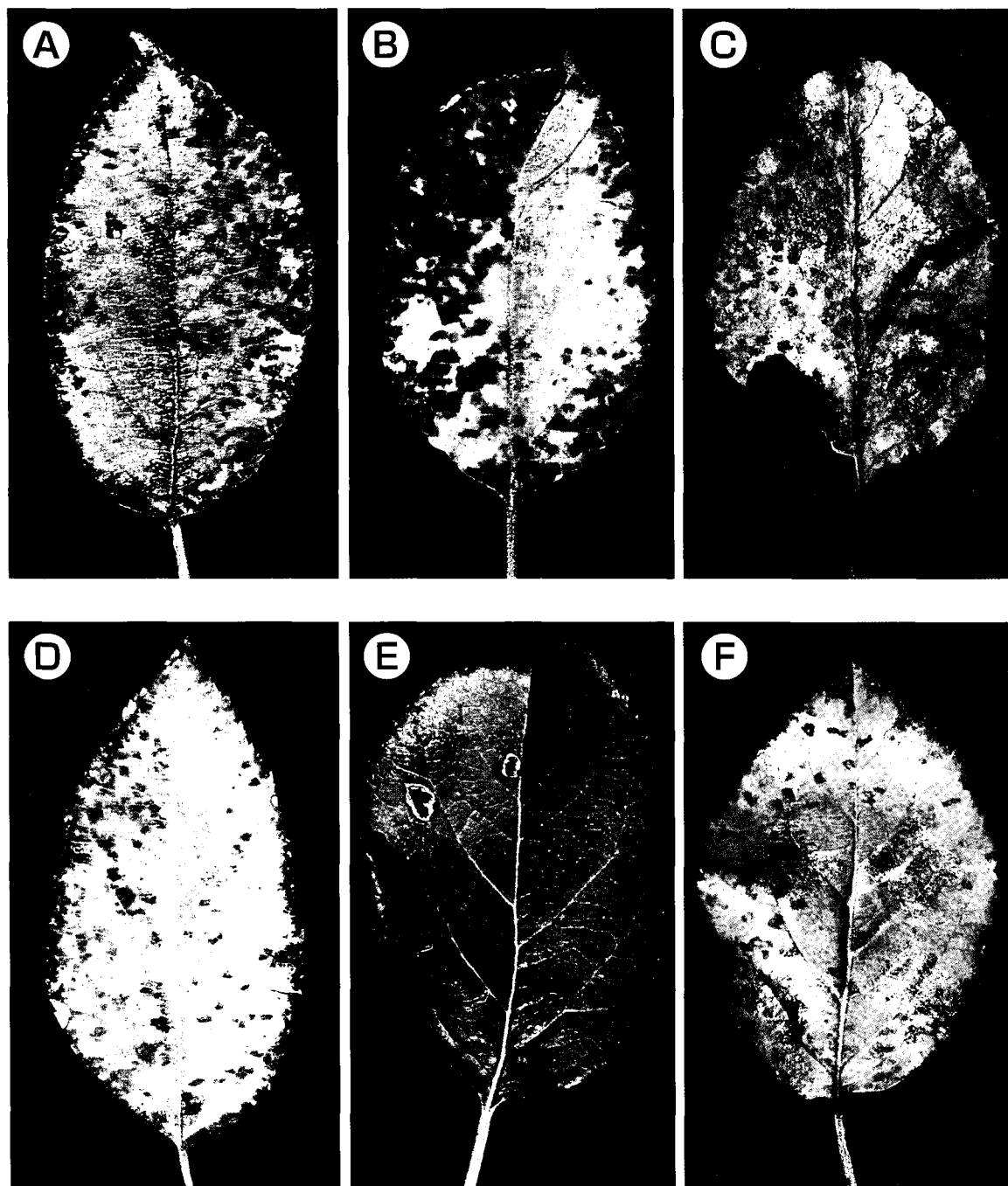
図版 2 (Plate 2)



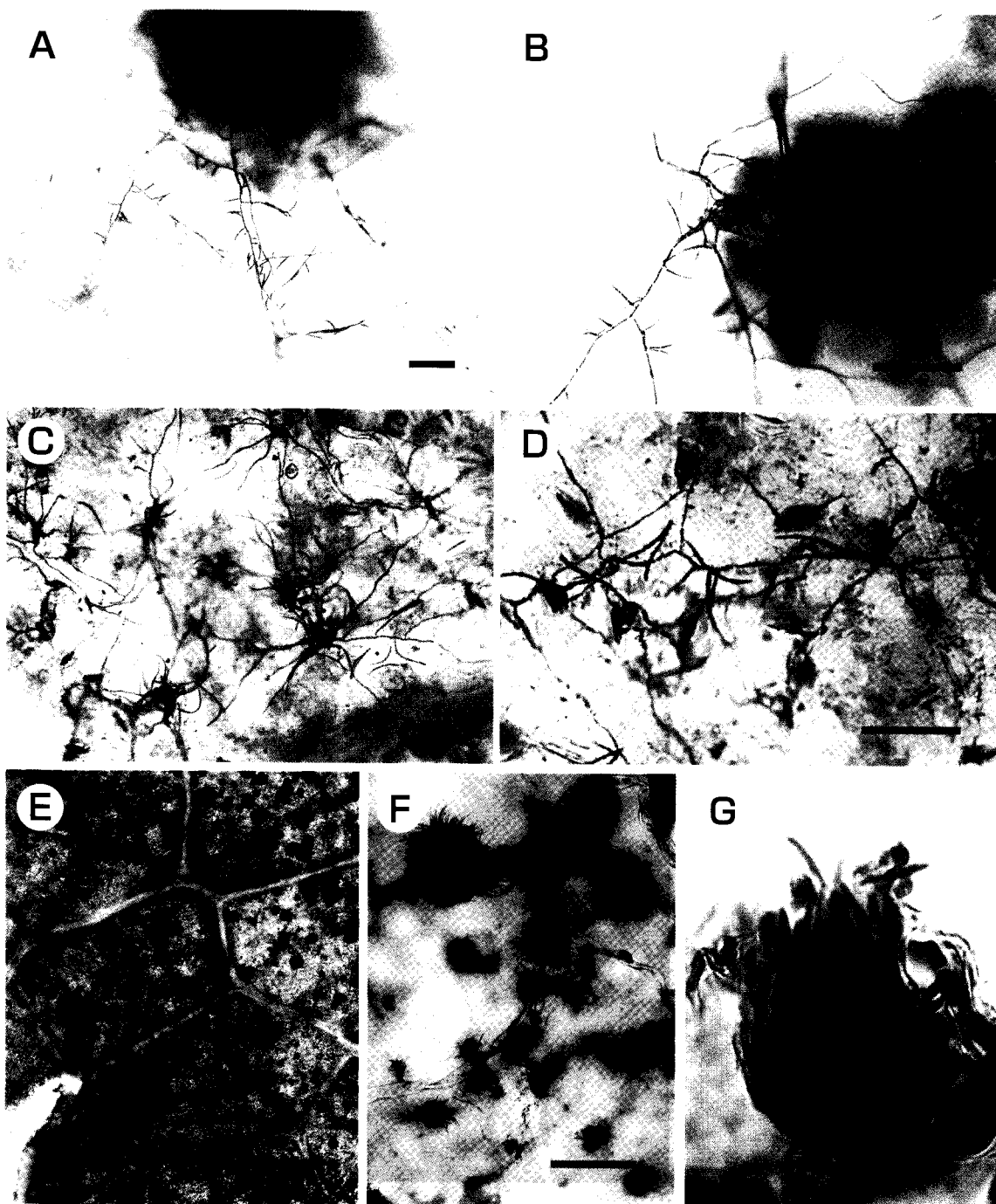
図版 3 (Plate 3)



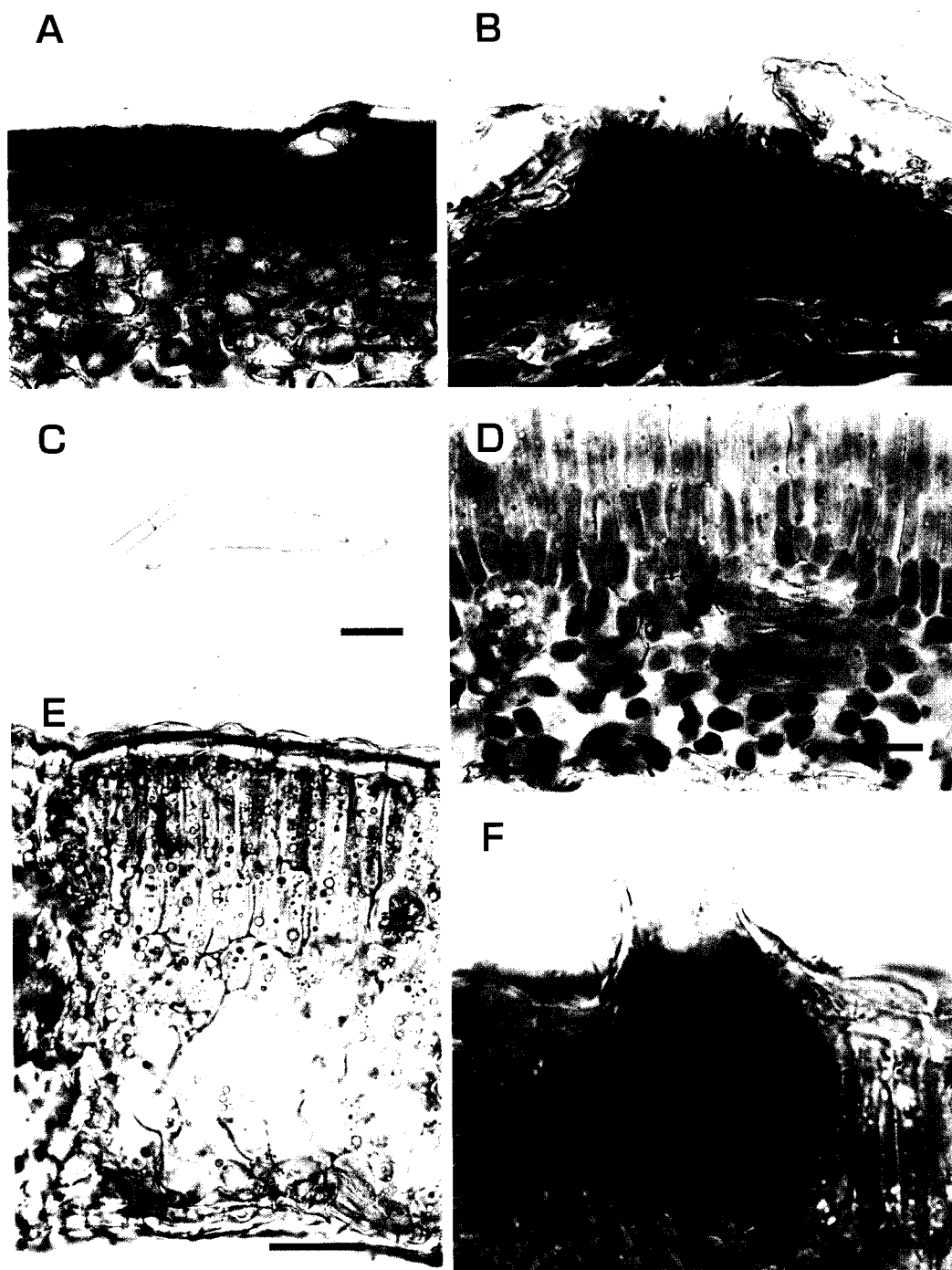
図版 4 (Plate 4)



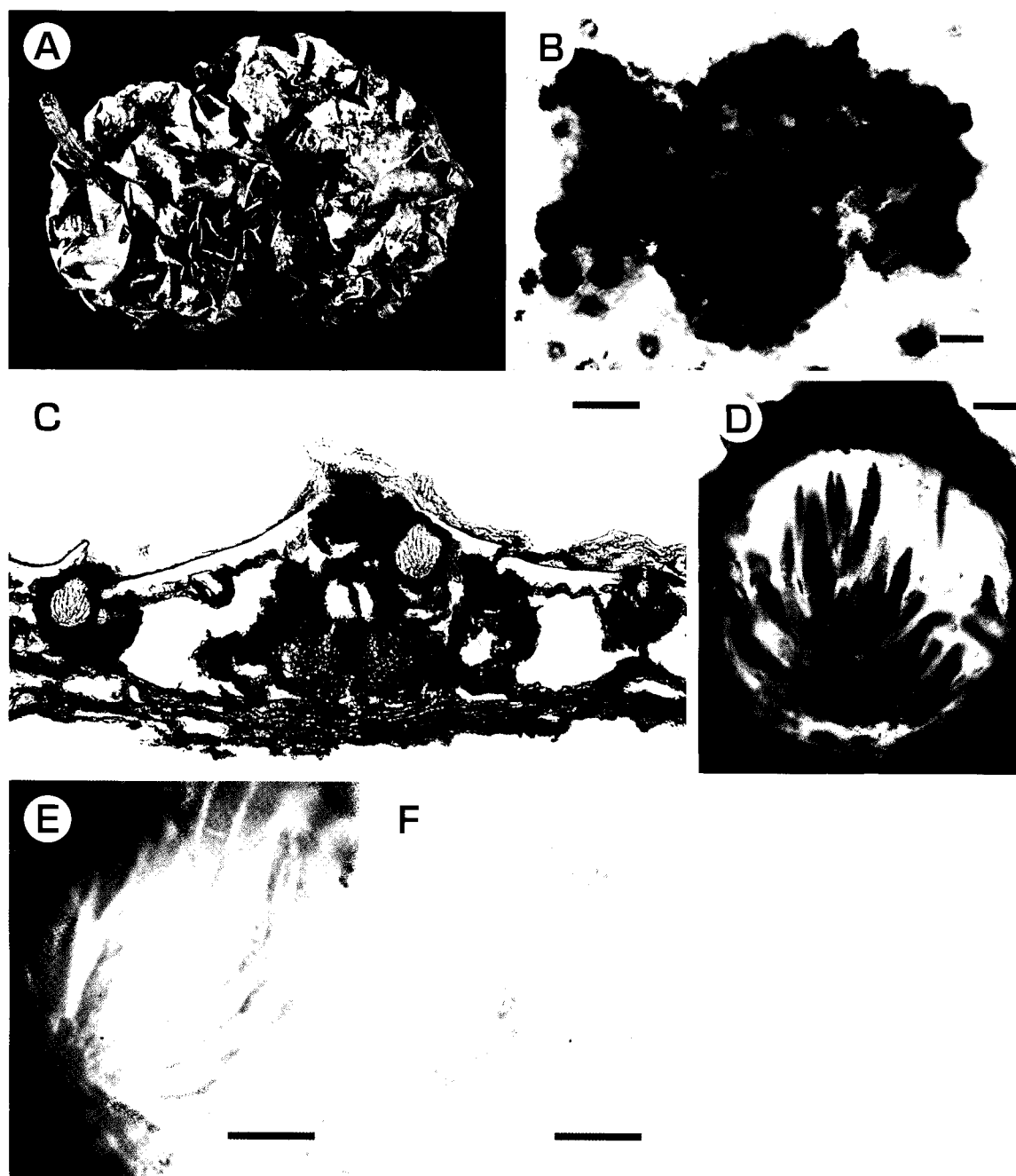
図版 5 (Plate 5)



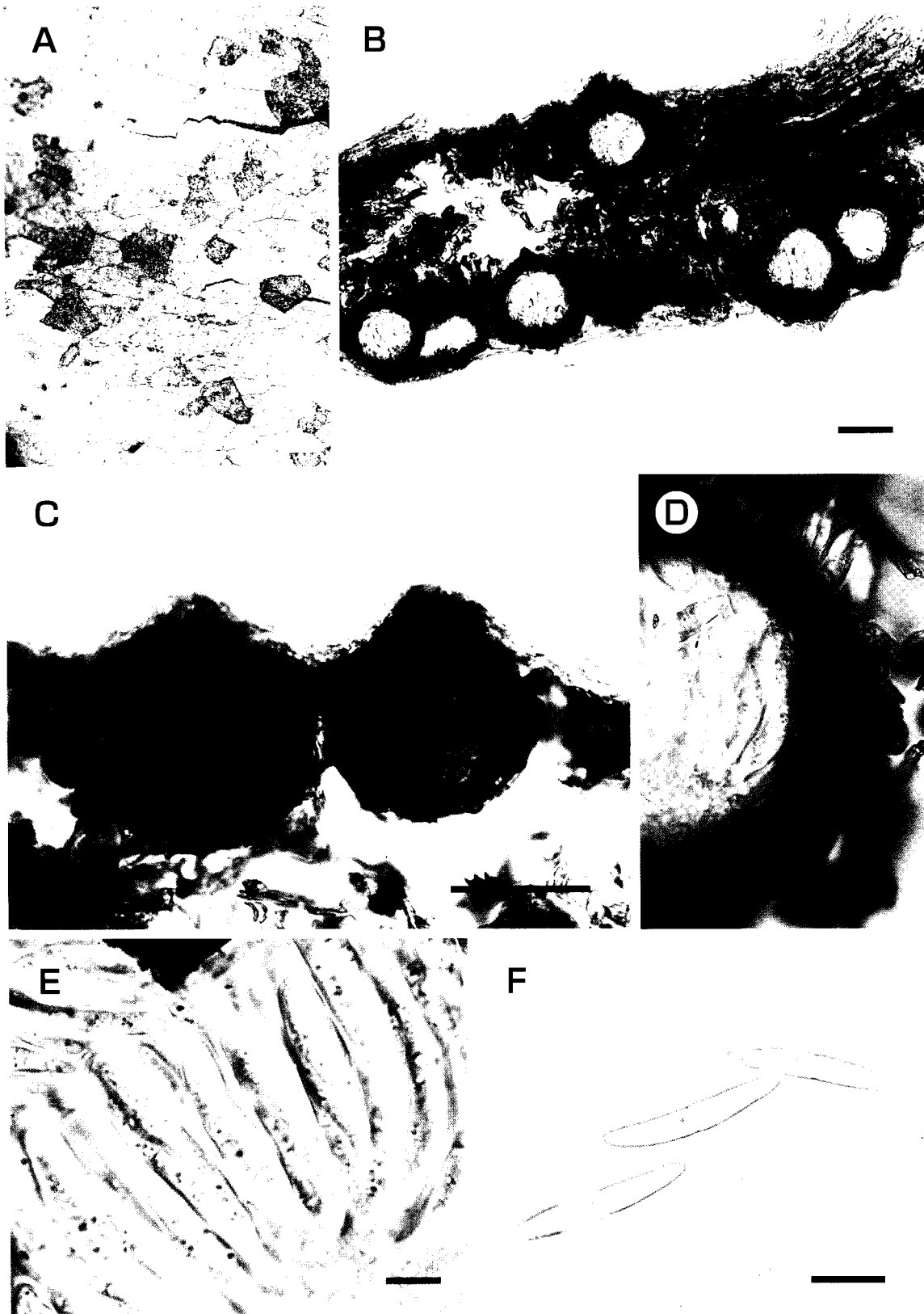
図版 6 (Plate 6)



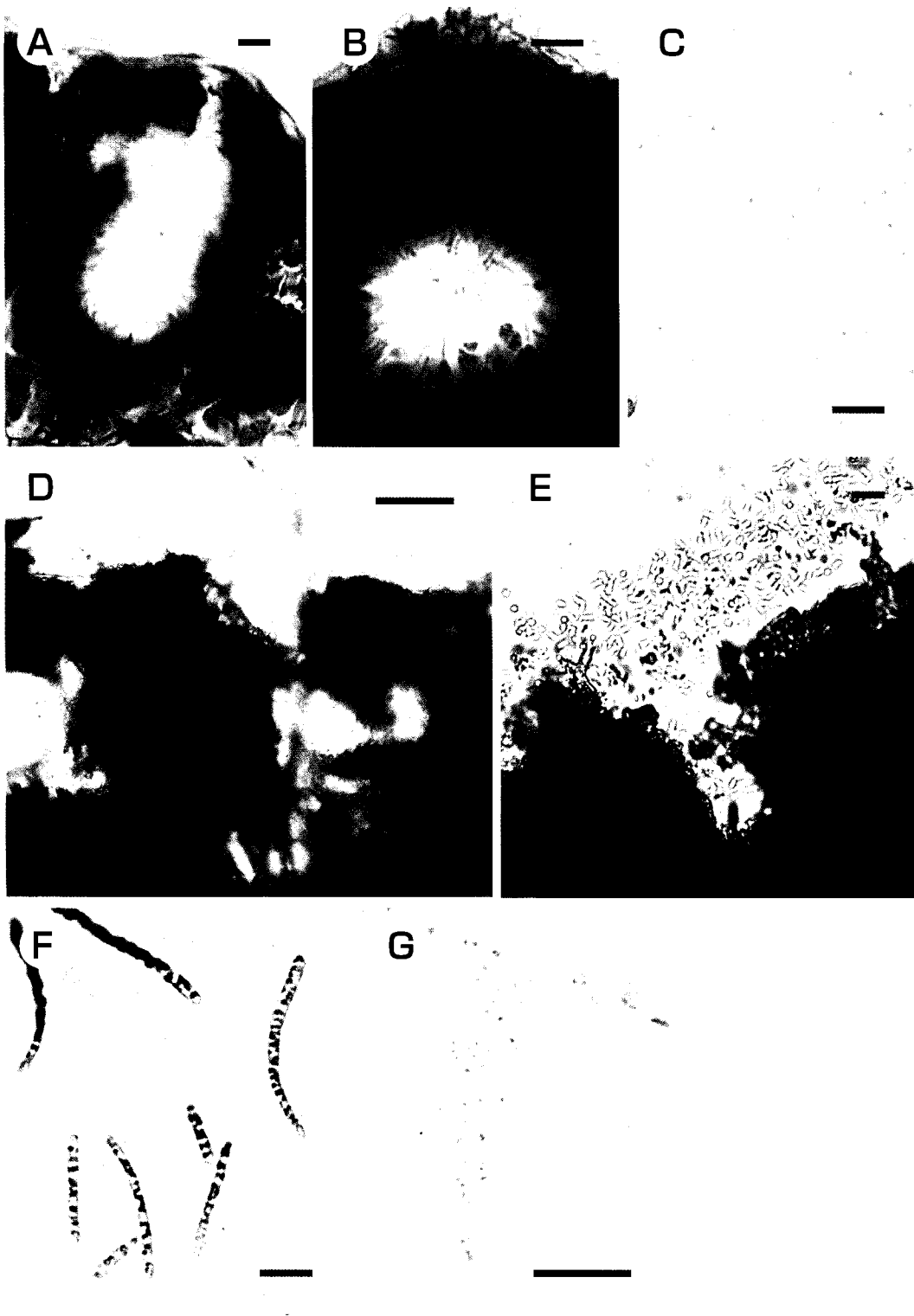
図版 7 (Plate 7)



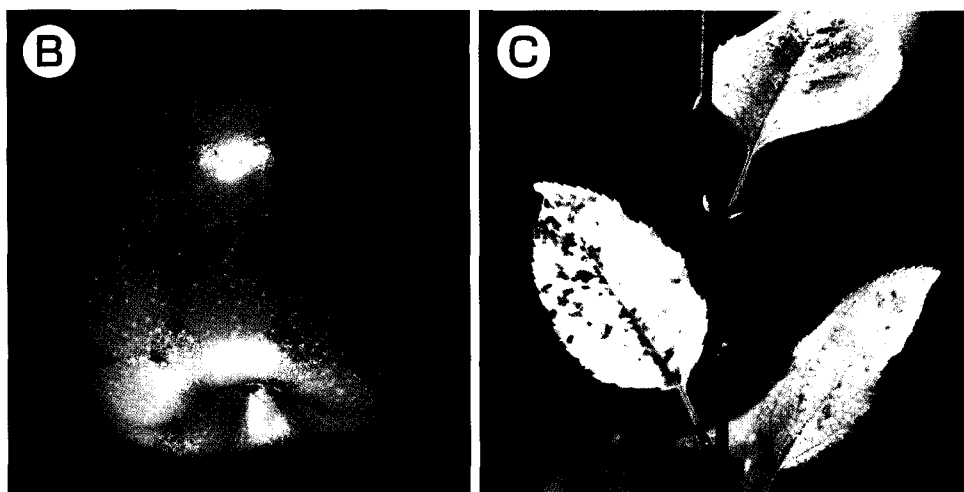
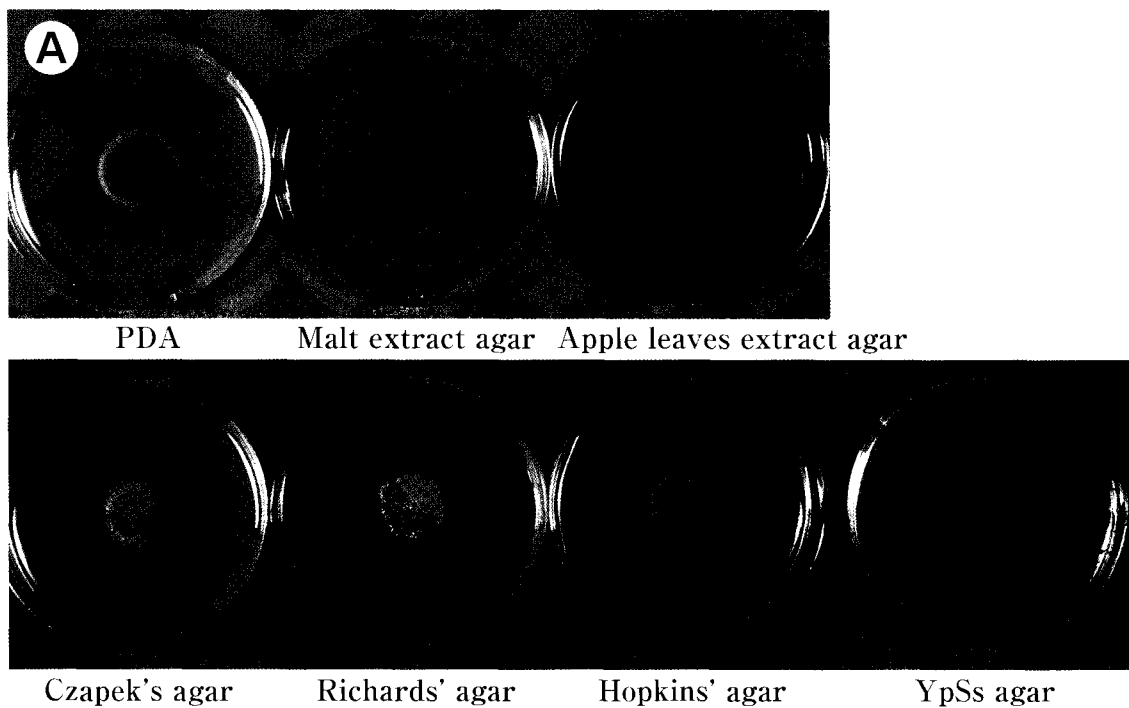
図版 8 (Plate 8)



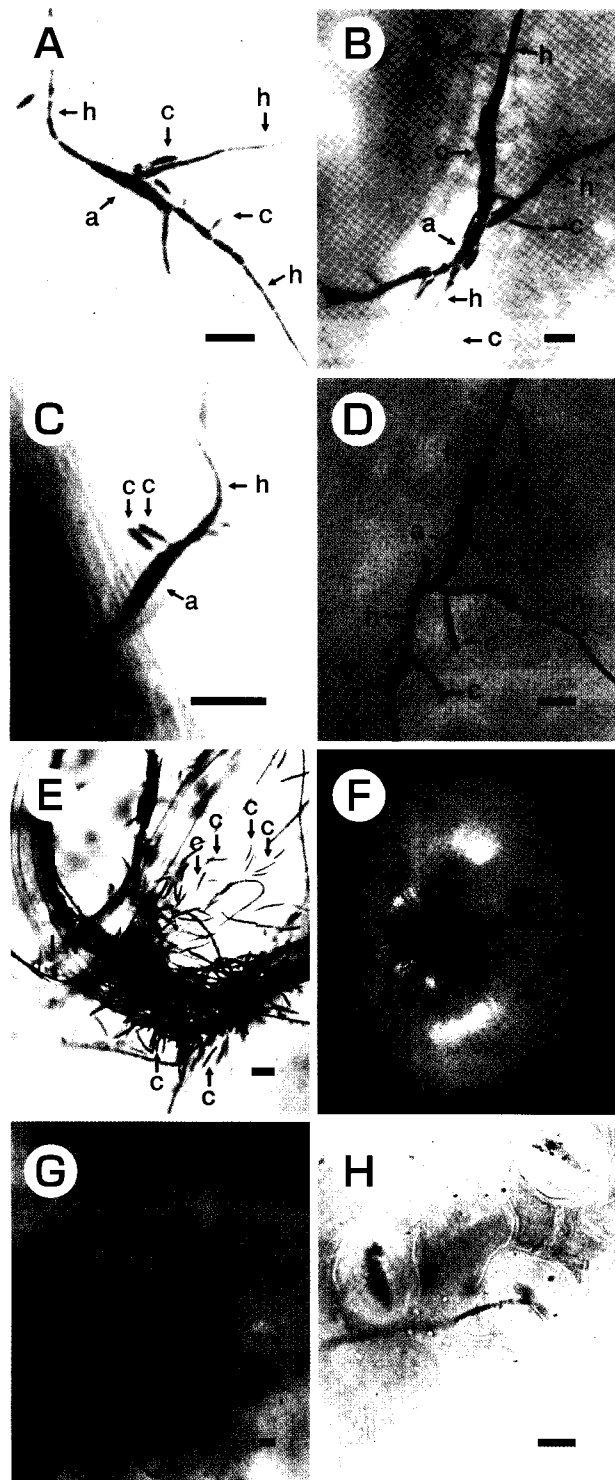
図版 9 (Plate 9)



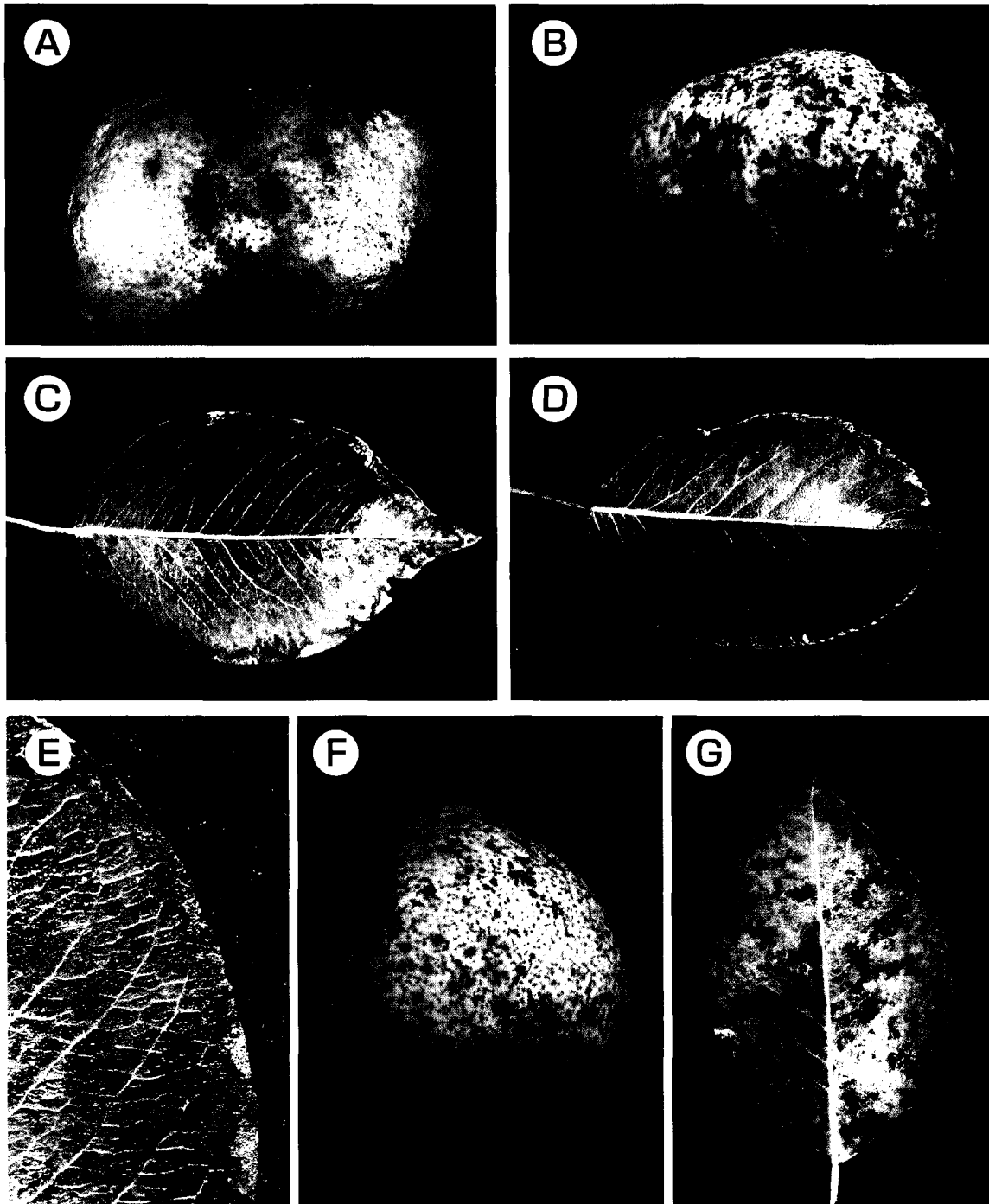
図版 10 (Plate 10)



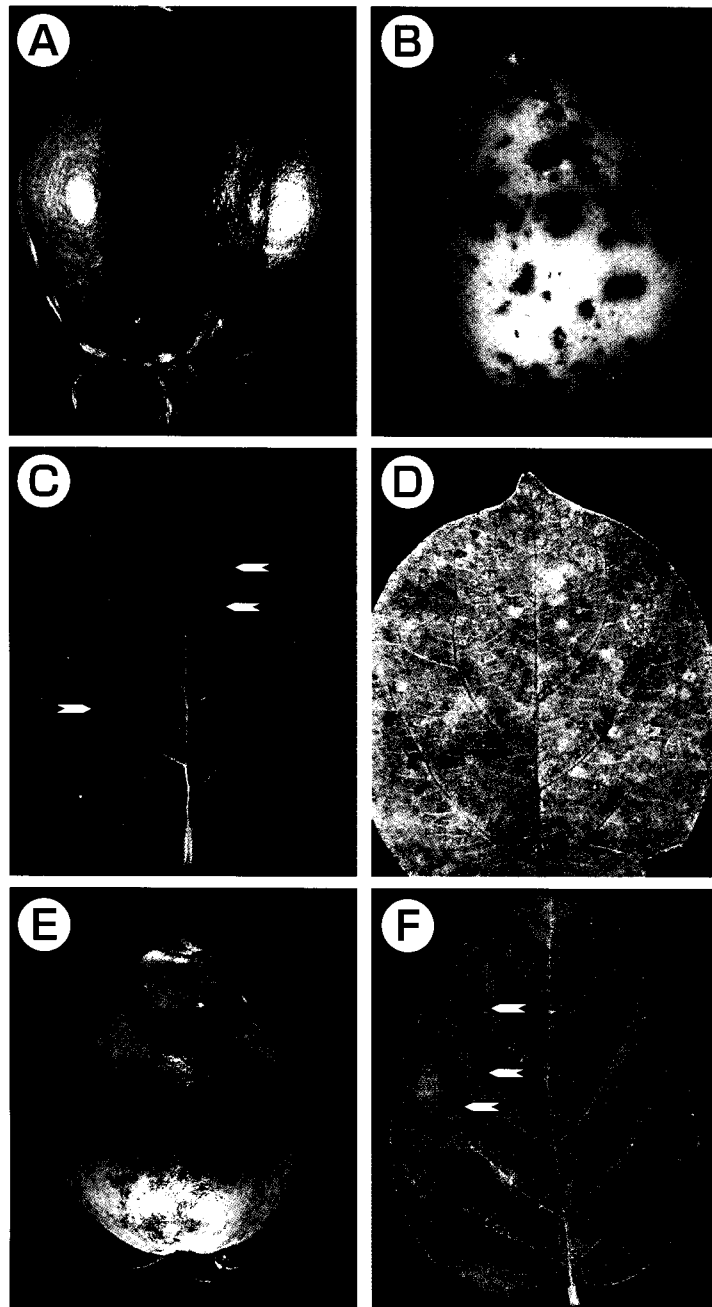
図版 11 (Plate 11)



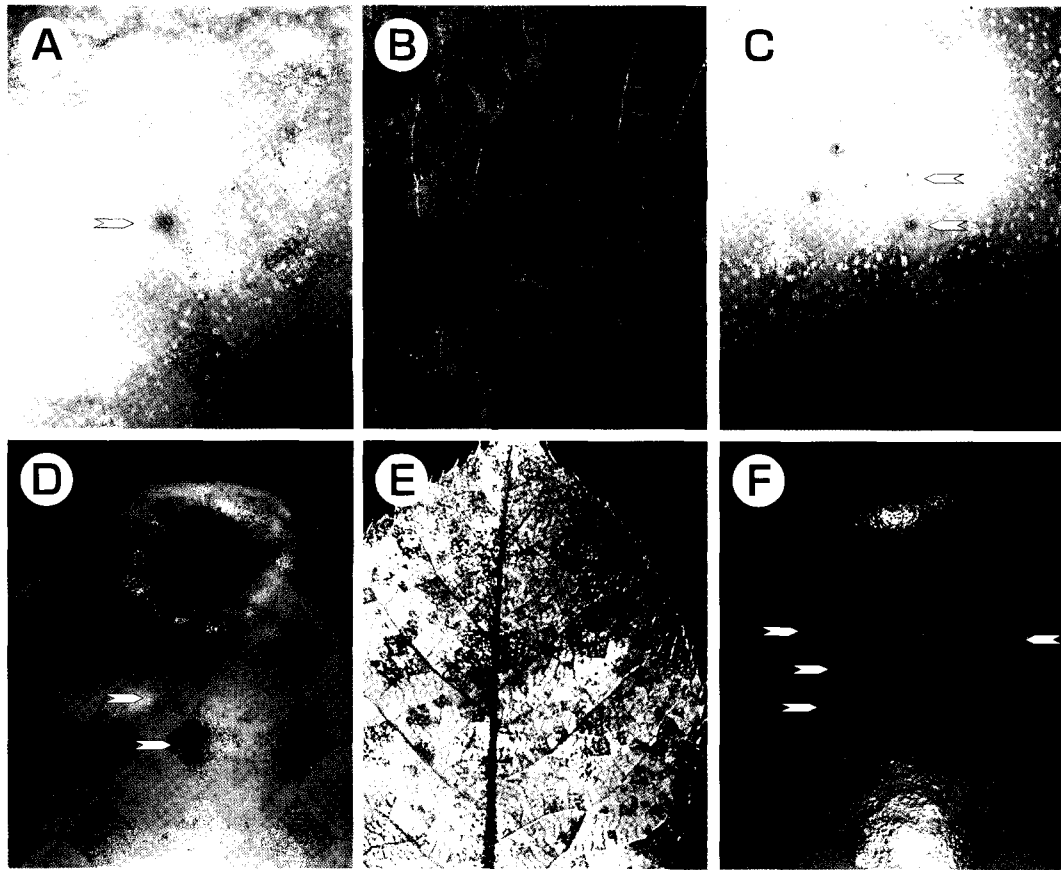
図版 12 (Plate 12)



図版 13 (Plate 13)



図版 14 (Plate 14)



図版 15 (Plate 15)

