

IV 発 生 生 態

1. 胞子の分散と発芽

1) 柄孢子および子のう胞子の分散

リンゴ腐らん病の伝染源である柄孢子と子のう胞子に関する研究は少なく、不明の点が多い。そこで、これら胞子について、形成、分散の様式を明らかにするとともに、分散時期およびそれに関する要因を検討した。

(1) 胞子の形成時期

柄孢子の形成時期を知るために、時期を異にして接種した病斑上の柄子殻の形成程度を1カ月後に調査し、さらに、柄子殻の成熟に要する期間を検討した。また、子のう胞子の形成時期は子座における成熟子のう殻の形成程度から明らかにした。

実験材料および方法

供試圃場；主に北海道立中央農業試験場病虫部果樹園（北海道夕張郡長沼町）で行なった。同園は8年生スターキングデリシャス、旭および紅玉を混植し、面積20aである。

柄子殻の形成と成熟；1971年にスターキングデリシャスの2～3年枝に含菌寒天を接種し、接種1カ月に柄子殻の形成程度を肉眼で調査し、さらに、切り取った病斑部を湿室に入れ孢子角の噴出した柄子殻（Plate II-5）を成熟したとみなした。

子のう殻の形成と成熟；子のう殻の形成される時期を肉眼で観察し、その後成熟の過程は経時的に採取した子座を含む樹皮のパラフィン切片によ

り調査した。固定はホルマリン・氷酢酸・アルコール混液（2：1：16とし、エチルアルコールは70%溶液）で行なった。

実 験 結 果

柄子殻の形成時期および成熟；柄子殻の成熟までの期間を知るため、5月から7月までの間1カ月ごとに接種した樹皮の病斑部を8月初旬一斉に切り取り、25℃の湿室に保った。全調査病斑に柄子殻が形成されており、そのうち2日間湿室に保つ間に孢子角を噴出した成熟柄子殻は1.8～2.2%であった。この結果から、5～7月の間に接種したとき、8月には1部柄子殻が成熟し、最も短い成熟期間は1カ月であった。また、成熟した柄子殻の割合は古い病斑の方が若干高かった。

柄子殻形成の季節的変化を3月から12月までの間1カ月ごとに接種した病斑について、接種1カ月後に調査した（Table 5）。柄子殻は4月から11月の間に形成され、とくに5月から9月の間は旺盛であった。

子のう殻形成時期と成熟；1970年から3年間果樹園で子のう殻の形成を観察し、いずれの年も8月中旬になりはじめて子のう殻頸部が樹皮上に現われた。そこで子のう殻の成熟過程を8月中旬から経時的に罹病組織の切片を作り観察した。

子のう殻の成熟に至る段階は次の3つに分けた。

i) 子のう殻原基；成熟子のう殻の1/10程度の球状小型菌糸塊で、罹病組織内の菌糸に比べ、ラク

Table 5. Monthly fluctuation in the formation and maturation of pycnidia on the lesions produced by artificial inoculations

Month of inoculations	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
Degree of pycnidial formation	—	±	++	++	++	++	++	+	±	—

Note: Observations were made at one month after inoculation.

— = No pycnidial formation was detected.

± = Immature pycnidia were slightly produced.

++ = Mature pycnidia were slightly produced.

+++ = Mature pycnidia were abundantly produced.

トフェノール・アニリンブルーでよく染色される。時にはこの菌糸塊内部に造のう器 (ascogonium) 様の太い菌糸が認められた (Plate II-1)。

ii) 未熟子のう殻；子のう殻原基より大形の菌糸塊で、なかには洋梨形を呈するものもあるが、殻壁の分化はまだ明らかでなく、この部分の細胞も着色していない (Plate II-2)。

iii) 成熟子のう殻；形態は長頸を有するフラスコ形で、着色した殻壁が明らかに認められる

(Plate II-3, 4)。殻内部には子のう、子のう胞子が認められる。

園内のリンゴ枝における8月から11月までの子のう殻の各成熟段階にあるものの割合を見ると (Fig. 6), 8月下旬にはすでに成熟子のう殻がわずかに形成されるが、大部分は未熟であった。その後成熟子のう殻数は漸次増加し、11月上旬には全体の80%を占めるが、約15%は原基のままであった。

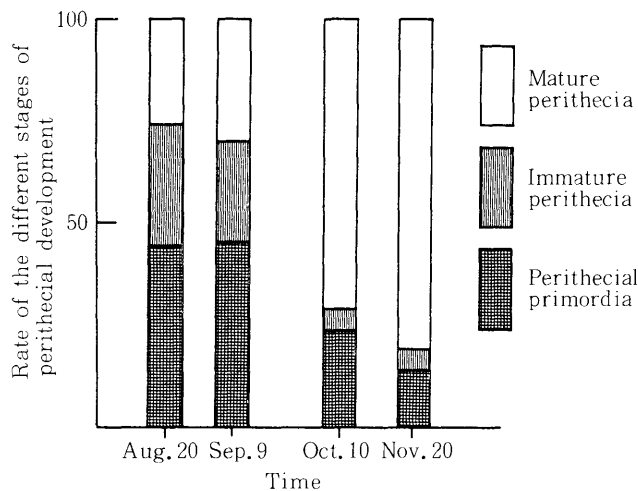


Fig. 6. Time course of perithecial development.

(2) 子のう胞子の分散

リンゴ腐らん病のリンゴ樹個体間の伝染方法については不明の点が多いが、比較的高い位置にある枝がしばしば発病することは空気伝染の重要性を示唆している。

しかし、柄胞子は昆虫体に付着し、あるいは雨のしぶきにより分散され空気伝染はしないとされる (富樫, 1924b, '50)。また、子のう胞子による空気伝染は明らかにされていない。そこで、室内において子のう胞子の分散様式を検討した。

実験材料および方法

子のう胞子の分散源；子のう殻を含む子座が多数形成されている自然病斑部の樹皮を剥ぎ取り、それより子座の数が均一になるように適当な面積を切り取り実験に供した。樹皮はすべて実験開始まで乾燥状態で室内に保った。

子のう胞子の射出と採集；乾燥した樹皮を吸水させるため、湿らせたろ紙上に置き、さらに小型噴霧器で水を樹皮表面に噴霧した。これを上向として9 cmベトリ皿に入れ、樹皮面から6~7 mm隔てた上にグリセリン・ゼリー (水42 ml, ゼラチン7 g, グリセリン50 g, フェノール1 g) を塗布したスライドガラスを下向に置いた。

射出子のう胞子の連続的採集；電動フラクションコレクター (東洋産業, SF-160 K型) を利用して試験管の代りにスライドガラスを置き、射出される子のう胞子を連続的にスライドガラスに捕捉した (Fig. 7)。すなわち、フラクションコレクターのダストカバー (d) にあけられている円孔 (直径20 mm, e) の上に、ポリエチレン製ケース (f) をかぶせた。その内側に湿ったろ紙と共に樹皮表面を下向に接着し、円孔の上に位置するように置いた。円孔の下を台 (b) に乗せた18×95 mmのス

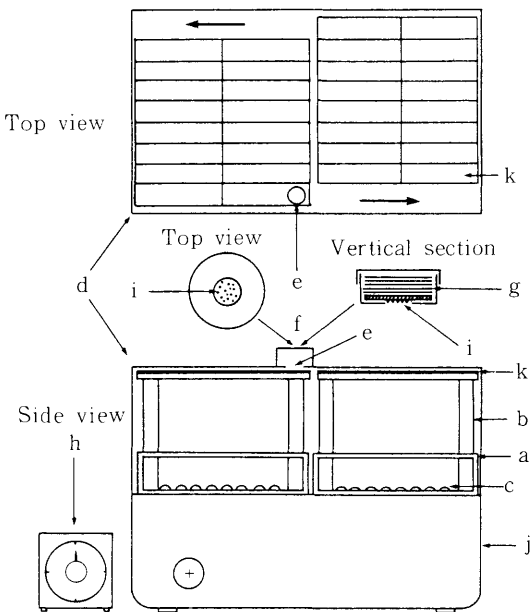


Fig. 7. Apparatus used in studying dynamics of ascospore discharge. a, Test tube holder; b, Slide glass holder; c, Iron ball as weight; d, Dust cover; e, Pore; f, Holder of bark specimen; g, Filter papers; h, Timer connecting with the fraction collector; i, Bark specimen bearing perithecial stromata; j, Electric fraction collector with test tube holder; K, Slide glass (18×95 mm).

ライドグラス (k) が付属のタイマー (h) により一定間隔で移動するようにした。一定時間内の子のう胞子の飛散数は5等分した各ライドグラスの各分画 (約18×18mm) に付着した胞子を数えた。

子のう胞子の飛散距離; 子のう胞子の飛散距離は子座を含む約8mmの樹皮を垂直に立てた板に接着し、子座より4mmあるいは10mm下のところに水平においたライドグラス面に捕捉される胞子の位置から求めた。なお、子座をぬらすため板の表面に吸水させたスポンジをはり、その上に樹皮を接着した。所定時間後ライドグラス面を0.7mmおきに1視野 (100倍) ごとの胞子を数え、その数と射出距離の関係を調べた。また、塊状に射出さ

れた胞子 (projectile) は、その中の数を調べ、その塊の胞子数と射出距離の関係もみた。

実験結果

i) 水と子のう胞子の射出

乾燥した罹病リンゴ樹皮をそのまま湿室中に3~4日間置くと、子のうは子のう殻より次第に押し出され、開口部に球状の子のう塊となって集積し (plate II-6), その中に遊離した子のう胞子も混在した。

これに対し、あらかじめ水分を含ませた樹皮の表面をさらに水でぬらすと、子のう胞子が射出された。乾燥した樹皮に水分を直接与えても子のう胞子の射出はただちにおきず、約70~270分後に認められた。また、一度胞子の射出された樹皮はその後一定時期毎に水を噴霧するとその度に射出される胞子数が増加した。射出された子のう胞子は子のう内の粘質物とともに塊状になっていた (胞子塊, plate III-1)。

ii) 子のう胞子の射出数

フラクションコレクターを用い3分間ごとに射出されライドグラスに付着した胞子塊の分布を見ると、胞子塊が1箇所群をなし、それが数箇所散在していた。それぞれの群は同一の子座から射出されたものと考えられる。

1子座当りの射出子のう胞子数を推定するため、5個の子座について、120分間における胞子飛散数を調査した (Fig. 8)。この結果から、1子座から1時間平均に射出される子のう胞子は子座により異なるが、最大8,662個、最少1,120個であった。

iii) 子のう胞子射出距離

子座から水平方向に射出された子のう胞子の数と到達距離を、子座から4mmおよび10mm下においたライドグラス面について調べた (Fig. 9)。その結果、4mm下方のライドグラス面では胞子の平均飛散距離は2.8mm、最長飛散距離6.3mm、10mm下方の場合は平均3.3mm、最長7.7mmであった。

水平方向に射出された1個の胞子塊に含まれる胞子数はおおむね8個であるが、しばしばこれ以下のものもあった。飛散距離と1胞子塊中の胞子数との間には明らかな関係が認められ、胞子数の

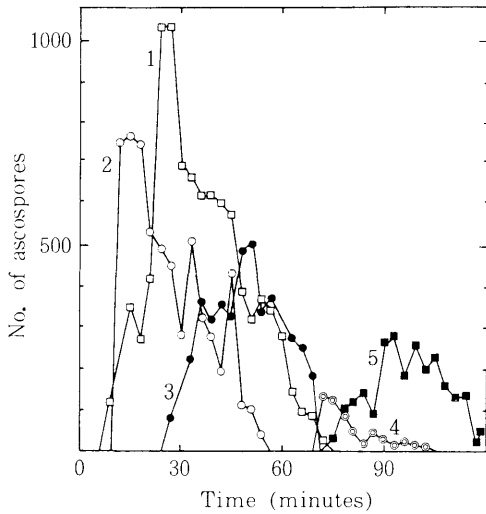


Fig. 8. Rates of ascospore discharge from individual stroma distributing on a bark specimen. The numbers of discharge per 1 hr. were estimated for each stroma as follows; stroma No.1, 8662; stroma No.2, 8225; stroma No.3, 5863; stroma No.4, 1120; stroma No.5, 2842.

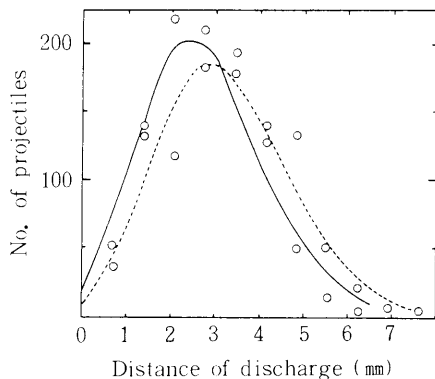


Fig. 9. Horizontal distances of projectiles discharged from stomata differing in height; —○— 4mm in height, --○-- 10mm in height.

多い塊りほど飛散距離は大であった (Fig. 10)。

(3) 胞子分散の季節的変動と分散に関与する要因

柄胞子および子う胞子の分散の時期的推移並びに両胞子の分散と降雨および気温の関係を明らかにするために、圃場において雨により樹皮表面

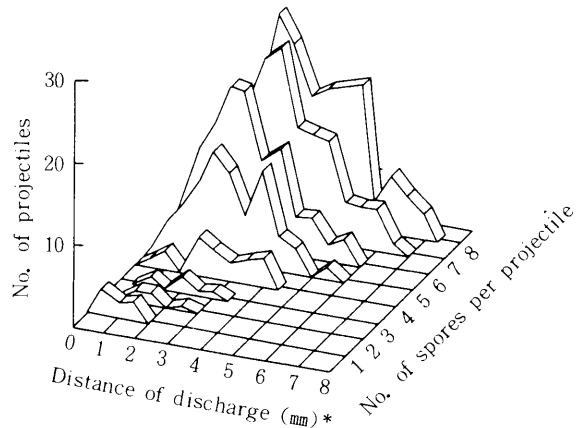


Fig. 10. Relation between the horizontal distance of discharge and the number of ascospores per projectile. *, Horizontal distance of discharge from stomata 10mm in height.

を流下する胞子と空中飛散する胞子を捕捉した。また、各温度においた子う殻を含む樹皮の表面に水を噴霧し、子う胞子の射出も検討した。

実験材料および方法

実験圃場および気象；実験は道立中央農業試験場病虫部隔離果樹園で行ない、降雨と気温は実験圃場から約200 m隔たった地点で観測した。

胞子捕捉法；

i) 柄胞子；柄胞子の捕捉は1971年7月から成熟した柄子殻をもつ病斑部について以下の手法を用いて行なった。すなわち、病斑の直下に Plate III-2 に示した雨どいと試験管（雨量の多い場合は250 cc容のポリエチレン製びんを用いた）を設置し、雨水等によって樹皮表面を流下する柄胞子を捕捉した。この方法を雨どいトラップ法と称した。試験管中には胞子発芽を阻止するため少量の昇汞結晶を入れ、降雨のたびに容器を取り替えて、捕捉される胞子の数は1週間毎にトーマ血球計算盤を用いて測定した。

ii) 子う胞子；飛散および樹皮表面を流下する子う胞子数の変動を調べるため1971年9月から次の方法も用いた。すなわち、成熟した子う殻が形成されている7年生の罹病リンゴ樹を選びグリセリンゼリーを塗布したスライドガラスを、

Plate III-3のようにその病斑面と平行に1 cm離して置き、これをスライドグラストラップ法と称した。捕捉数は1週間毎に測定した。これと同時に同じ病斑直下に柄胞子を捕捉する際用いた雨どいトラップを置き、流下する子う胞子も調査した。いずれの胞子捕捉によっても、子う胞子と同時に多数の柄胞子が捕捉されたが、大きさによって識別した。

子う胞子の分散と温度；前項で用いたフラクションコレクターを利用し、子う胞子の分散におよぼす温度の影響を検討した。この際、スライドグラスの移動時間を7分とした。また、胞子を射出させるために、実験開始前30分、開始100分および200分に樹皮表面に水を噴霧した。

実験結果

柄胞子の分散と降雨；罹病リングゴ樹上の柄子殻から雨水により分散される柄胞子は (Fig. 11), 試験開始時の7月にすでにかなり多く、その後8月にやや減少するが、9月下旬から12月中旬にかけては最も多くなった。厳寒期 (12月下旬～2月上旬)には比較的少なく、2月中旬以降5月までは再び

増加した後、徐々に減少し8月にはほぼ終息した。なお、厳寒期にも柄胞子が捕捉されるが、これは樹体上の融雪水とともに流下したものと考えられる。

全期間を通して柄胞子は降雪も含め降水が全くないか、あるいは1 mm以下の場合にはほとんど分散されず、降水に伴って認められた。そこで、7月から11月までの調査期間中の捕捉胞子数と降雨量および降雨回数との関係を検討したところ (Fig. 12), 捕捉胞子数と雨量間には有意な相関は認められないが、降雨回数との間には極めて高い相関があった。

子う胞子の分散と降雨；雨どいトラップ法とスライドグラストラップ法から (Fig. 13), 空中への飛散と水による樹皮表面の流下の何れの場合も、分散する子う胞子数の消長はほぼ同様であった。すなわち、子う胞子は9月下旬から翌年7月はじめまで捕捉されたが、その数は2月10日から同17日まで1時期増加し、その後4月下旬から6月下旬まで最大に達した。空中飛散する胞子の多くは1個ずつ遊離しているが、8個ずつ集合しているものもしばしば認められた (Plate. III-4)。また、樹皮表面を流下する子う胞子も多

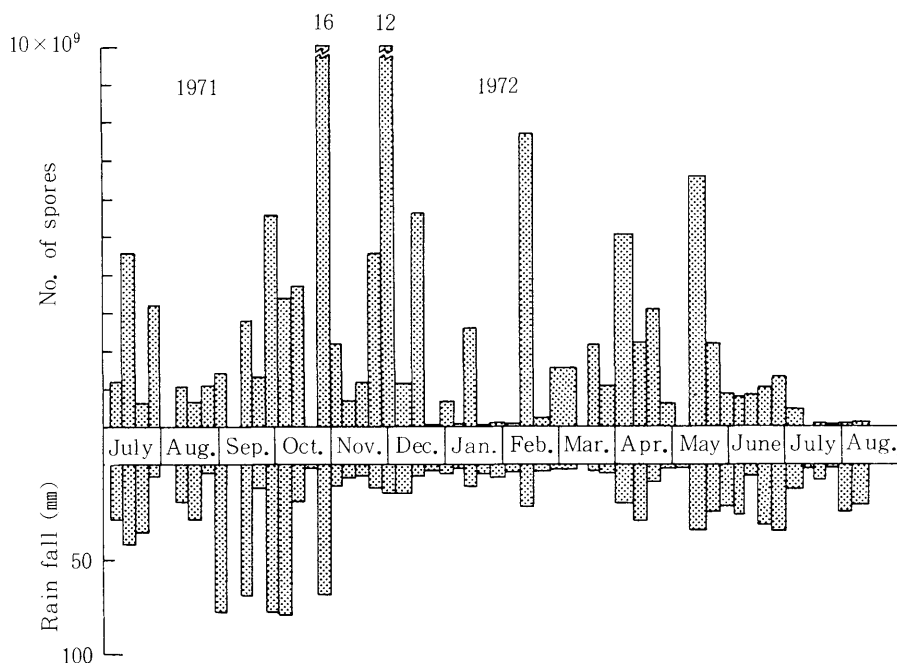


Fig. 11. Seasonal fluctuation of pycnospore dispersal in an orchard in relation to rain fall.

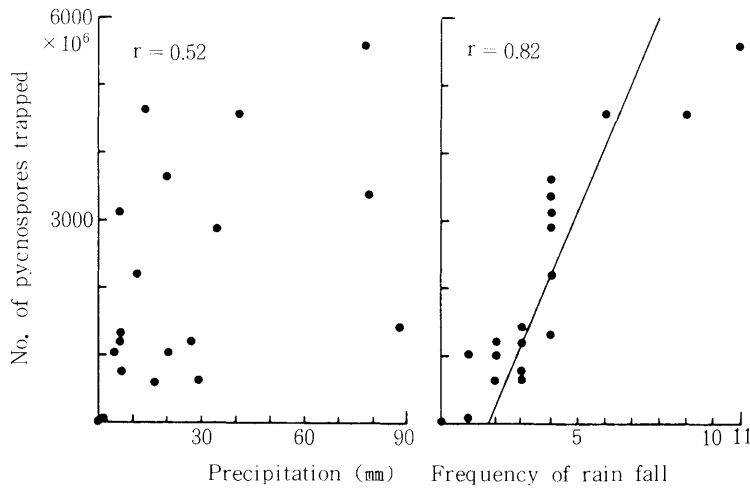


Fig. 12. Pycnospore dispersal in relation to precipitation and frequency of rain fall.

くは単個であるが、時に子のうに含まれた胞子も認められた。

子のう胞子は降雪も含め降水がないか、あるいは少ない場合にはほとんど分散されず、降水に伴って起きた。そこで、3月上旬から6月下旬までの期間にスライドグラストラップに捕捉

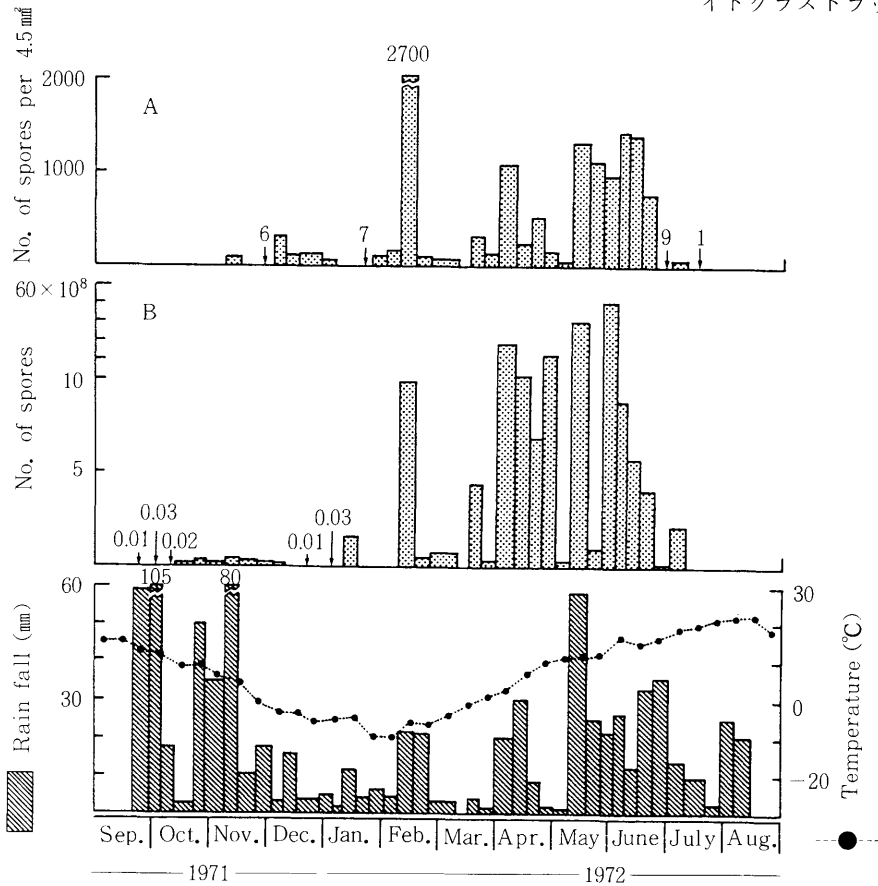


Fig. 13. Seasonal fluctuation of two types of ascospore dispersal in an orchard in relation to rain fall and temperature. Number of ascospores caught on glass slides A) and total number of those flowing into test tubes with rain water B).

された胞子数と降雨量および降雨回数との関係を調査したところ (Fig. 14), 捕捉胞子数と降雨量との間に高い相関が認められたが, 降雨回数との間には有意な相関が認められなかった。

気温の低い冬期間では一般に胞子の捕捉数は少ないが, 2月下旬から同17日までの間に20mmのみぞれが降ると多量の胞子が捕捉される例があり,

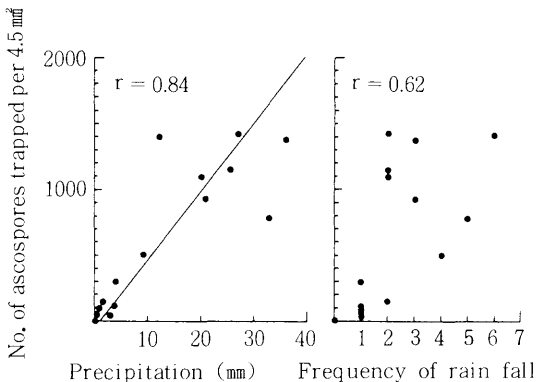


Fig. 14. Ascospore dispersal in relation to precipitation and frequency of rain fall.

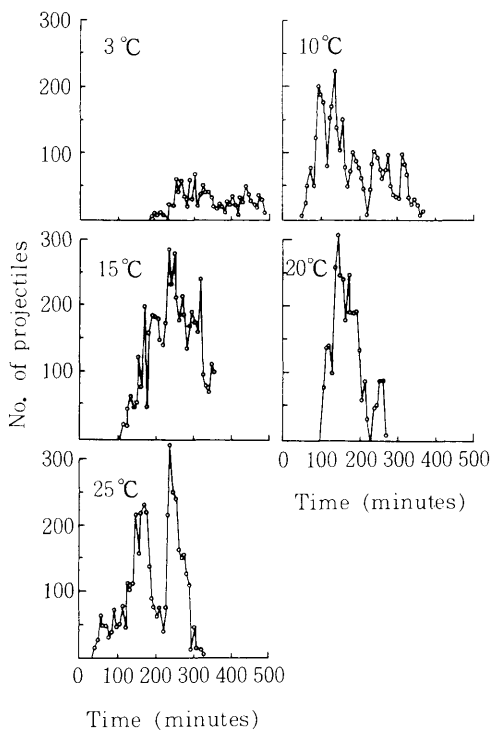


Fig. 15. Ascospore discharge at different temperature.

胞子分散と温度の関係は明らかでなかった。

室内で子う胞子分散と温度の関係を検討した結果 (Fig. 15), 射出する胞子の数は10°Cから25°Cの間では明らかな違いは認められなかった。3°Cでは射出の開始が遅れ, その数は少なかったが, 継続して射出された。

2) 柄胞子および子う胞子の発芽条件

分散した胞子は寄主体侵入に先立って, 寄主表面上で発芽する。柄胞子と子う胞子の発芽に重要な温度, 湿度および栄養条件を検討し, 両胞子の発芽条件の相違を明らかにしようと試みた。

実験材料および方法

供試胞子;

i) 柄胞子; 多数の柄子殻を形成した罹病枝を切り, 湿室で噴出させた胞子角を集め, 遠心分離によって反復洗浄し, 胞子を蒸留水にけん濁し所定濃度として用いた。

ii) 子う胞子; 湿らせた罹病樹皮から実体顕微鏡下で針を用いて子う殻を摘出し, 乳鉢中でつぶした。これに蒸留水を加え, 四重ガーゼでろ過した。これを遠心分離により反復洗浄後, 蒸留水を加え所定濃度の胞子けん濁液をつくった。

発芽温度; 胞子けん濁液をスライドガラス上に1滴滴下し, それに固寸前のグルコース (2%) とストレプトマイシン (200p.p.m) を含む水道水寒天培地を約0.2ml加え, 胞子を均一に分散させた。これを湿室としたペトリ皿内に入れ一定温度に保ち, 一定時間ごとに胞子の発芽率を調査した。

発芽湿度; 胞子けん濁液を滴下したスライドガラスをデシケーターに入れ水分を蒸発させた。次にこれを各種塩類の飽和溶液 (Yokota, 1966) を入れ湿度を変えたデシケーター内に入れ, 25°C, 3日後胞子の発芽を調査した。

発芽と栄養条件; スライドガラスに柄胞子けん濁液を1滴滴下し, 次の各種培地あるいは水道水寒天培地を0.2ml加え, 25°Cの湿室に保ち, 発芽を調査した。

基本培地 1ℓ当り, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, KH_2PO_4 1g, noble agar (Difco製) 20gである。これに樹皮煎汁 (樹皮200g/ℓ), 木部煎汁 (小枝の木部200g/ℓ), あるいは各種炭素源または窒素

源を単独あるいは両者を混合して加えた後、0.5 M 水酸化カリウムにより pH 6.0 に補正した。炭素源の濃度はグルコース 2 g に相当する量、窒素源はアスパラギン 1 g に相当する量をそれぞれ基本培地 1 ℓ に加えた。培地は 100℃30 分間 1 回滅菌し、固化直前にストレプトマイシン 200 p.p.m を加えた。

発芽調査； 500 個の胞子について、未発芽、

膨潤および発芽管を生じた胞子の数を調査した。なお、発芽管長は胞子 50 個について測定した。

実験結果

(1) 温度と発芽

柄胞子および子のう胞子は発芽管を生ずる前に著しく膨潤する。柄胞子と子のう胞子の大きさは $1 \times 4.7 \mu\text{m}$ と $1.8 \times 8.7 \mu\text{m}$ であるが、それぞれ $8.1 \times$

Table 6. Effects of temperature on germination of pycnospores and ascospores

A Pycnospore

Time	48hrs.			72hrs.			96hrs.			120hrs.			144hrs.			168hrs.			216hrs.		
Temperature	SG	G	GT	SG	G	GT	SG	G	GT	SG	G	GT	SG	G	GT	SG	G	GT	SG	G	GT
5 °C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1	17
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	12	1	13	17	14	33	48	22	75
15	0	0	0	13	1	20	32	11	45	38	20	117	*	*	*	*	*	*	*	*	*
20	2	0	0	47	7	43	64	48	97	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
25	68	1	26	72	47	91	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
30	26	4	40	65	55	125	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

B Ascospore

Time	40hrs.			68hrs.			89hrs.		
Temperature	SG	G	GT	SG	G	GT	SG	G	GT
5 °C	0	0	0	9	0	0	40	3	21
10	8	0	0	39	3	22	83	32	41
15	75	10	36	91	80	135	*	*	*
20	86	40	65	*	*	*	*	*	*
25	94	81	107	*	*	*	*	*	*
30	88	84	113	*	*	*	*	*	*

Note: SG, Percentage of germination based on both germ tube elongation and spore swelling.

G, Percentage of germination based on the elongation of germ tube.

GT, Length of germ tube.

*, Observation stopped.

Table 7. Effect of relative humidity on germination of pycnospores and ascospores

Relative humidity (%)	Oversaturated aq. solution of	Degree of germination (at 25 °C for 3 days)			
		Pycnospore		ascospore	
		Swelling ^{a)}	Germination ^{b)}	Swelling ^{a)}	Germination ^{b)}
100	(Water)	—	—	++	++
98	K ₂ SO ₄	—	—	++	+
95	NaHPO ₄	—	—	+	—
92	K ₂ HPO ₄	—	—	—	—
87	KCl	—	—	—	—

Note: a) Degree of swelling.

—, No swelling; +, Swelling occurred;

++, Swelling occurred in most spores.

b) Degree of germination.

—, No elongation of germ tube.

+, Elongation of germ tube occurred.

++, Elongation of germ tube occurred in most spores.

13.4 μ mと8.8 $\times$ 14.1 μ mとなり、とくに柄胞子はその膨潤する程度が大であった。胞子も湾曲した腸づめ形からレモン形～楕円形となった。

柄胞子および子の胞子は5～30℃の間で発芽し、その適温は25～30℃であった (Table 6)。子の胞子は柄胞子に比べ発芽が早く、5℃の低温でも89時間後にすでに3%が発芽していた。

Table 8. Effect of various carbon and nitrogen sources on pycnospore germination at 25℃

Carbon sources	Nitrogen sources	SGa)	Gb)
Arabitol	KNO ₃	23 %	0 %
Fructose	KNO ₃	70	21
Galactose	KNO ₃	60	4
Glucose	KNO ₃	87	41
Glucose	NaNO ₂	82	0
Glucose	(NH ₄) ₂ SO ₄	77	0
Glucose	Asparagine	80	0
Glucose	None	72	3
Mannose	KNO ₃	69	0
Sorbose	KNO ₃	72	17
Xylose	KNO ₃	33	11
Maltose	KNO ₃	37	6
Sucrose	KNO ₃	72	32
Soluble starch	KNO ₃	71	1
Glycerol	KNO ₃	29	0
Sorbitol	KNO ₃	78	31
None	KNO ₃	0	0
None	NaNO ₂	0	0
None	(NH ₄) ₂ SO ₄	0	0
None	Asparagine	0	0
Bark decoction ^{c)}	KNO ₃	93	79
Bark decoction ^{c)}	None	83	75
Wood decoction ^{c)}	KNO ₃	76	52
Basal medium ^{d)}	None	0	0
Water Agar	None	0	0

Note: a), Percentage of germination based on both germ tube elongation and spore swelling at 30 hrs. after inoculation. b), Percentage of germination based on the elongation of germ tube at 30 hrs. after inoculation. c), Data obtained 24 hrs. after inoculation. d), Components of basal medium: KH₂PO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, noble agar 20g, filled up to 1 liter with deionized water.

(2) 湿度と発芽

各相対湿度における柄胞子および子の胞子の発芽を比較した (Table 7)。

柄胞子は相対湿度100%に3日間保っても全く膨潤も発芽管の伸長も認められなかった。これに対し子の胞子は相対湿度95%でわずかに膨潤し、98%では一部発芽管が伸長し、100%では大部分の子の胞子は発芽管を生じた。しかし、発芽管は10～30 μ mほど伸びた後、生長を停止した。

(3) 栄養と発芽

柄胞子の発芽におよぼす炭素源および窒素源の影響を25℃、30時間後に調査した (Table 8)。

炭素源を含まない基本培地および水道水寒天培地では柄胞子は膨潤も発芽管の伸長もしなかった。培地に炭素源を加えると胞子の膨潤が認められ、とくにグルコース>ソルビトール>ソルボース、蔗糖、可溶性澱粉、フラクトース、マンノースの順に良好であった。その後の発芽管の伸長はグルコース>蔗糖、ソルビトール>フラクトース>ソルボースの順であったが、樹皮煎汁および木部煎汁には劣った。

窒素源とした供試したKNO₃、NaNO₂、(NH₄)₂SO₄およびアスパラギンは単独では胞子の膨潤と発芽管の伸長を起すことはなかった。しかし、これにグルコースを加えると KNO₃>NaNO₂>アスパラギン>(NH₄)₂SO₄の順で胞子の膨潤がみられ、KNO₃のみが発芽管の伸長を良好にした。

2. 温度と菌糸の生育

液体培養による菌糸生育を各温度の下で比較した。

実験材料および方法

50ml容の三角フラスコに10mlのブドウ糖加用ジャガイモ煎汁培地を入れ、病原菌の菌そう小片を接種し、3℃から35℃までの各温度に調節した恒温器に保った。7日目に乾燥菌体重量を測定した。

実験結果

菌糸の生育は3℃で認められ、高温となるに従って良好となり、25～30℃の間で最も旺盛で

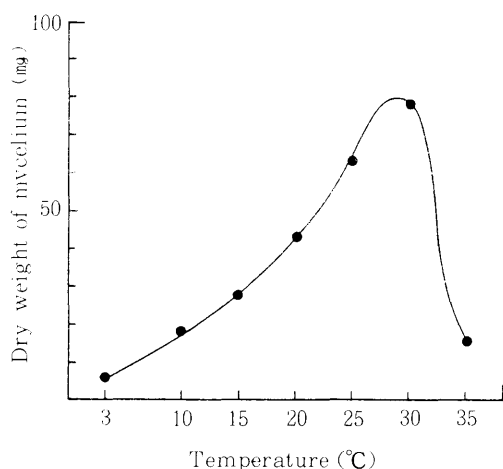


Fig. 16. The influence of temperature on the growth of mycelium on potato dextrose broth.

あった。35℃では接種した菌糸片の周辺に肥厚した菌糸集落を形成するが、その生育は著しく不良であった (Fig. 16)。

3. 感染経路と発病

周年にわたり分散する胞子によるリンゴ樹の感染について、感染部位、感染のおこる時期と発病の関係および発病後の病斑進展について季節的な違いを検討した。

1) 感染部位

リンゴ腐らん病による感染部位を推定するため、

腐らん病の発病をリンゴ樹の部位別に調査し、その割合を比較した。

実験材料および方法

調査樹は道立中央農業試験場病虫部果樹園の14年生スターキングデリシャス36樹と4年生スターキングデリシャス55樹である。

供試リンゴ樹の全病斑について、病斑進展の中心となっている部分を次の8箇所に分けて調査し、それぞれの全病斑中の割合を比較した。

- ① 果台；摘果および採果後の痕跡。
- ② 剪定痕；剪定および整枝時に生じた切口。
- ③ 枯死枝先；2年枝先端の枯死部分。
- ④ 枯死芽；凍害その他の原因で枯死した芽。
- ⑤ 機械による裂傷；スピードスプレヤーなどの農業機械により生じた樹皮の傷痕。
- ⑥ 分岐部；主幹、主枝などの分岐部。
- ⑦ 食痕部；ネズミあるいは昆虫による食痕。
- ⑧ 無傷部；傷痕および粗皮の存在しない枝および幹部の樹皮。

実験結果

部位別の発病数とその割合をTable 9に、また各部位からの発病の状態はPlate IV-1,2,3,4に示した。

リンゴ腐らん病菌の感染は大部分有傷部から起り、そのうち14年生樹では果台>剪定痕>枯死枝先の順に多く、4年生の幼木では着果数が少ない

Table 1. Prime entry points of apple cankers observed on 4-year-old and 14-year-old trees

Prime entry points	4-yr-trees ^{a)}		14-yr-trees ^{b)}	
	No. of cankers	Incidence of cankers	No. of cankers	Incidence of cankers
Fruit scars	0	0 %	55	48.7 %
Shoot tips injured	4	5.3	20	17.7
Pruning wounds	64	84.2	30	26.5
Dead buds	2	2.6	2	1.8
Mechanical injuries	2	2.6	0	0
Crotches	0	0	3	2.6
Insect and vole wounds	0	0	1	0.9
Bark without wounds	4	5.3	2	1.8

Note: a) Number of trees observed, 55; Total number of cankers, 76.

b) Number of trees observed, 36; Total number of cankers, 113.

ために果台からの感染は殆ど認められず、大部分は剪定痕からであった。また、幼木で樹型を整えるための副木として整枝の際に切り捨てた枝を用いることがしばしばあるが、この副木に腐らん病菌が増殖して、それと接した樹体部分に病斑が進展している事例もあった (Plate IV-5)。

2) 感染時期と発病

感染の起こる時期と発病の関係を明らかにするために、果樹園で時期を変えてつくった枝の切口を放置し、それからのリンゴ腐らん病菌の分離を行ない、また発病を調査した。

実験材料および方法

感染率；試験樹は罹病部を完全に削り取った10年生スターキングデリシャス10樹で、その周囲の樹にある罹病部は伝染源とするため放置し、発病するにまかせた。12月、3月、6月および9月に1試験樹ごとに直径5～10mmの枝、10本の先端部を切り取り、切口を3カ月間放置した。その後、切口を含む小片を切り取り、リンゴ腐らん病菌を分離した。分離には組織を流水でよく洗い、アンチホルミンで常法により表面殺菌後、ABDA培地に置いた。病原菌が分離された切口は感染したとみなし、分離に供した組織片数に対する割合を感染率とした。

付傷時期と発病；同じ試験樹を用い、初冬から翌年の秋まで4回にわたり上と同じように枝を切り、3カ月間切口を放置し、切口からの発病を肉眼的に調査した。その後半数の切口はさらに3カ

月ごとに発病の調査を続けた。残りの半数は切口にポリエチレンフィルムをかぶせ、白色のビニール粘着テープを巻いて、切口からの感染を防ぎ、その後の発病の増加を調査した。

実験結果

12月から翌年9月まで3カ月おきにつくった枝の切口は3カ月たつ間にすべて感染し、腐らん病菌が分離された (Fig. 17)。とくに、3月につけた切口の3カ月後における分離率は最も高く、80%を越えた。次いで、12月から3月までが高かった。その他の時期に放置した切口の感染は比較的低かった。このことから、リンゴ腐らん病菌の感染率が高い時期はリンゴの休眠期とその前後の時期であり、2年目に引き続き行なった実験の結果もほぼ同様の傾向であった。

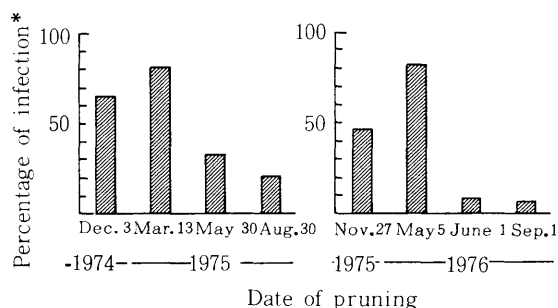


Fig. 17. Influence of the timing of shoot wounding to canker infection. *, Percentage isolation of *V. ceratosperma* from incision sites on 3 months after wounding.

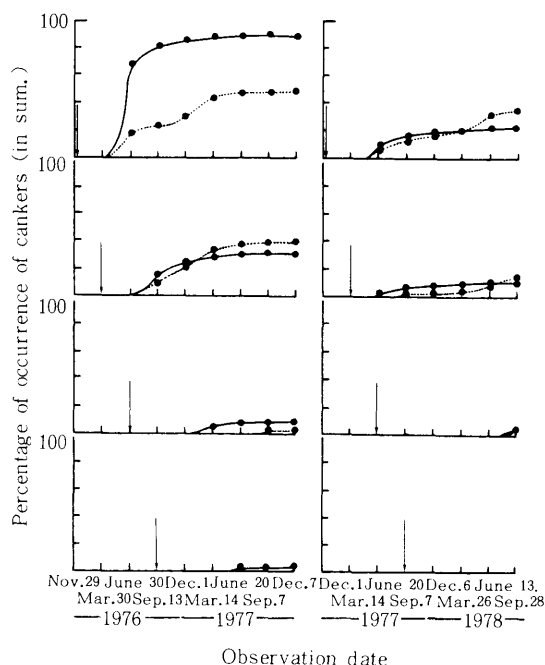


Fig. 18. Relation between the season of wounding and the canker occurrence. ↓, Date of wounding; —●—, Incisions were sealed after their exposure for 3 months; ---●---, Incisions were left to expose throughout the experiment.

この実験と同じ樹につくった切口からの発病を一定期間ごとに調査して感染時期と発病の関係を検討した (Fig. 18)。

1976年と1977年の2回繰り返した試験を比べると、1976年の発病は全般に高かったが、兩年の結果はほぼ同様の傾向が認められた。すなわち、切口を3カ月間放置したあと切口を被覆したものと、3カ月以上切口を放置し続けたものとの間に発病に大差はない。このことから、切口から3カ月の間に感染が起り、発病すると認められる。切口をつくった時期と発病の関係をみると、11月下旬に切口をつくった枝の切口は発病率が最も高く、次いで3月であった。他方、6月および9月につくった切口からは1年以上放置しても発病は極めて低率であった。

3) 発病および病斑進展の季節的変動

圃場で時期別に枝腐らんの発生数を調査し、自然発病の時期と発病消長を検討した。また、病斑進展の季節的变化を明らかにするために、接種し、生じた病斑について1カ月ごとにその進展を調査した。

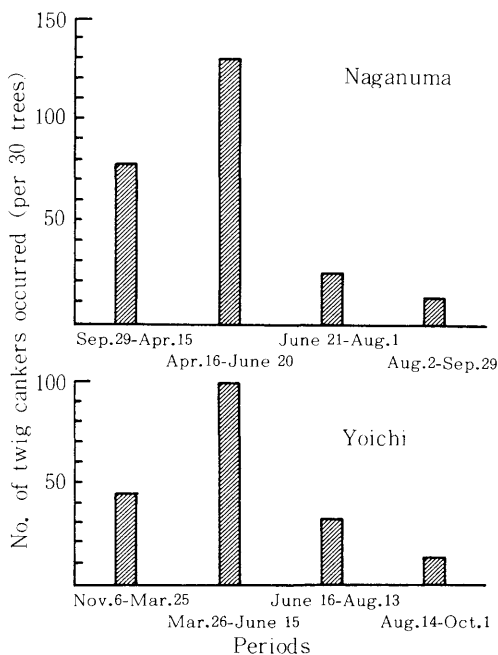


Fig. 19. Seasonal occurrence of die back in orchards.

実験材料および方法

発病消長；道立中央農業試験場および一般農家圃場（余市町登町）のリンゴについて、各時期に枝腐らんの発生数を調査した。調査後、罹病枝はすべて切除した。調査樹はスターキングデリシャス15樹およびレッドゴールド15樹である。

病斑進展の季節的变化；太さの均一な枝に接種して生じた20個の病斑について、枝の基部方向へ進展した病斑の長さを1カ月ごとに測定した。接種は1970年5月4日、傷をつけたスターキングデリシャスの3年枝に培養菌そうを用いて行なった。接種後病斑が現われるまで、その部分の乾燥を防ぐためポリエチレンフィルムで被い、さらにビニール粘着テープを巻いた。

病斑進展と温度の関係をみるため、調査圃場から200 m隔った地点で気温の測定を行なった。

実験結果

発病消長；園内のリンゴ樹について発病消長を調査した (Fig. 19)。その結果から、長沼町では4月中旬から6月中旬までの間に最も多く発病し、9月下旬から4月中旬までの間がこれに次ぎ、その他の時期は比較的少なかった。余市町における結果も長沼町とほぼ同様であり、自然感染による発病は春期に多く、夏期には少ないことが認められた。

病斑進展の季節的变化；リンゴ腐らん病病斑の

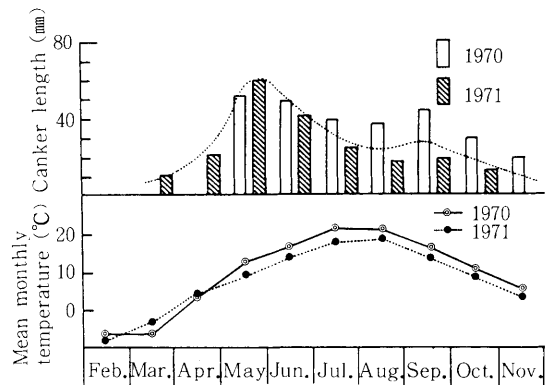


Fig. 20. Monthly development of Valsa canker in relation to mean monthly temperature.

進展は時期的に異なり (Fig. 20), 5月から6月にかけて最も旺盛であり, 次いで9月から10月の間であった。また, 12月中旬から3月中旬までの冬期間も病斑は緩慢ながら進展した。

気温と病斑進展の関係をみると, 年間で気温の最も高い7月から8月には病斑の進展は抑制され樹勢の旺盛な樹では健全部と病斑部の間に亀裂を生じ, 病斑の多くは完全に進展を停止した。

4. 発病に關与する諸要因

発病はリンゴ樹の休眠期とその前後に感染した切口から多くみられ, その他の時期, とくに夏期は少ない。この原因は寄主側の罹病性 (あるいは抵抗性) が時期的に違うためか, あるいは病原菌の活性の差によると考えられるが, そのいずれであるかの報告はない。そこで, 温度および樹皮水分を変え発病を比較した。

1) 枝の生育時期別発病温度

病原菌の発病と温度の関係を明らかにするために, 生育期および休眠期の枝に接種し, 各温度に保って発病を調査した。

実験材料および方法

柄孢子けん濁液とPDA上の菌体をそれぞれ接種源として, 太さの均一な切枝 (スターキングデリシャス2~3年枝) の切口あるいは中央部の樹皮を赤熱した径6mmのコルクボーラーで打ち抜いた部分に接種した。接種後, 切枝は湿室に入れ3~35℃に8日ないし17日間保ち, 所定の日に発病を調査した。実験は2月に採取した休眠期の切枝と7月の生育期切枝について行なった。

実験結果

柄孢子けん濁液 (孢子濃度; $8.4 \times 10^5 / \text{ml}$) を接種した切枝の病斑形成と温度の関係をみると (Table 10), 病斑は5~30℃の間で形成され, その適温は25~30℃であった。3℃では接種17日後でも病斑は形成せず, また35℃では接種3日目までは病斑の形成が認められなかったが, それ以降は雑菌が著しく繁殖したため調査不能となった。

次に, 含菌寒天を接種した切枝を25℃の湿室に

Table 10. Effect of temperature on the infection of pycnospora to wounded apple cuttings *

Temp., °C	Percentage of infected apple shoots					
	Days after inoculation					
	2	3	5	7	9	17
3	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	17	75
10	0	0	25	100	---	---
15	0	25	92	100	---	---
20	0	67	100	---	---	---
25	67	100	---	---	---	---
30	83	100	---	---	---	---
35	0	0	---	---	---	---

Note : *, Inoculation concentration, $8.4 \times 10^5 / \text{ml}$.

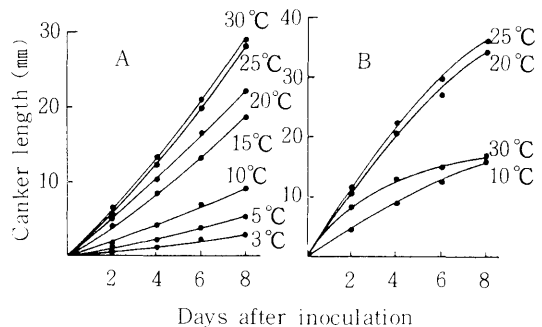


Fig. 21. Effect of temperature on the development of canker in apple cuttings collected in dormant season (Feb., A) and in actively growing season (July, B).

2日保ち, 病斑を形成させた後, 各温度に移し, 病斑の進展を比較した (Fig. 21)。休眠期 (2月) の切枝の病斑は3℃から30℃の間で進展し, 適温は25~30℃であった。しかし, 生育期 (7月) の切枝では, 25℃の病斑進展は20℃と同程度となり, 30℃でも著しく劣るので, 25~30℃間は病斑の進展が抑制されることがわかった。

これらから, 休眠期と生育期の枝における病斑の進展は温度により異なり, 生育期の枝では病原菌の生育適温下でも抑制され, この時期の枝組織の病斑拡大に対する抵抗性は休眠期より著しく高いことが明らかである。

2) 樹皮の水分と発病

病斑進展に対する生育期と休眠期の枝の抵抗性の違いを、樹体活性の指標とされる樹皮水分量と癒合組織の形成程度から検討した。

実験材料および方法

供試樹および樹皮水分量の測定；前項と同じ樹の2年枝について、1971年、2カ月ごとに樹皮水分量の測定を行なった。3年枝については北海道立中央農業試験場園芸部果樹科の測定結果（1972）を利用した。

樹皮水分量は以下のように測定した。すなわち、各供試個体から樹皮のみを剥ぎ取り、生重を秤量後直ちに80℃の通風乾燥器に入れ、乾燥重を測定した。これにより生重に対する含水量の百分率を樹皮水分量とした。

樹皮水分量の調整；休眠期の切枝（2月採取）の半数は基部を蒸留水に浸漬し、3℃で2日間吸水させた。他の半数は対照としてポリエチレン袋に入れ3℃で2日間保ち、それぞれに接種した。

生育期の切枝（7月採取）はすべて3℃の通風式恒温器内に保ち、徐々に樹皮水分量を低下させた。樹皮水分量が52%になった切枝の基部を蒸留水に浸漬し、浸漬日数を変えて樹皮水分量の異なる枝を得て、これに接種した。

幼木の樹皮水分調節は4月上旬に培養土（砂壤土）を入れた直径30cmの素焼鉢に、2年生のスターキングデリシャスを移植、栽培を続け、8樹ずつ6月1日より8月1日まで下記の方法で行なった。

i) 乾燥区；鉢植のリンゴ樹をガラス屋根の網室に保ち、葉が水分を失いかけた状態とし、その後適宜灌水して栽培した。

ii) 多湿区；リンゴを植えた鉢を上記網室内の常時10cmの深さに水位を保った水槽中に置いた。

iii) 正常区；リンゴ樹を植えた鉢を屋外の土壤中に埋め、適宜灌水した。

各区とも5樹は接種に用い、残りの3樹は樹皮水分量の測定に供した。接種時における樹皮水分量は乾燥区、多湿区および正常区それぞれ48%、61%および60%であった。

接種と発病調査；切枝に対する接種は前項にお

けると同じである。接種後、休眠期の切枝は10、20および30℃の温室に保ち、2日間ごとの病斑の拡大面積を調査した。病斑面積は病斑部分にセロファンテープを接着し、その境界部をトレースし、それをふたたび厚さの均一なトレーシングペーパーに転写して、病斑部分を切り抜き、秤量により面積を換算した。

生育期切枝の場合は接種後すべて20℃の温室に保ち4日目と6日目に病斑の進展した長さを測った。

幼木に対する接種は主幹部の樹皮を径8mmのコルクボーラーで打ち抜き、そこにPDA上の菌そうを埋めて行なった。接種後、6、11および17日目に病斑の進展した長さを測った。

癒合組織の形成程度；各月はじめに圃場に植栽した調査樹の樹皮を鋭利な刃物で1×2cmに剥離し、1カ月後に切口部における癒合組織の形成程度を調査し、指数として現わした。

実験結果

(1) 休眠期切枝の樹皮水分量と病斑進展

樹皮水分量52%の休眠期切枝とこれに吸水させ61%とした枝に接種をし、10、20および30℃における病斑進展を比較した（Fig. 22）。

休眠期の枝の病斑進展は速やかであるが、樹皮水分量を高めると、いずれの温度にあっても無処理に比し遅く、とくに高温では著しく劣った。このことから樹皮水分量の低い休眠期の枝の水分量を人為的に高めると病斑の進展は抑制される。

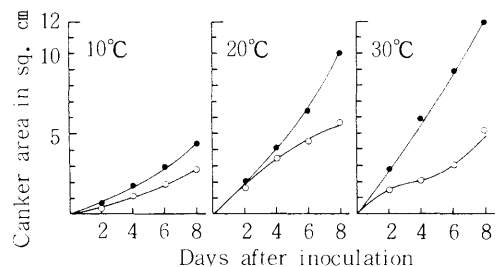


Fig. 22. Effect of bark moisture contents on the development of canker. Apple cuttings used were collected in February. —●—, Bark moisture contents 52% ; —○—, Bark moisture contents 61%.

(2) 生育期切枝の樹皮水分量と病斑進展

生育期切枝の病斑進展と樹皮水分量の関係を見ると、樹皮水分量が高い方がゆるやかであった (Table 11)。また、樹皮水分量の高い切枝では接種6日目頃から病斑部と健全部の境界が盛り上がり、カルス様組織が旺盛に形成された。このことから、樹皮水分量の多い枝は少ないものに比較し生理活性が高まっていると認められた。

(3) 幼木の樹皮水分量と病斑進展

灌水により樹皮水分量を変えた鉢植の幼木における病斑の進展は (Table 12)、乾燥区が最も速かった。多湿区と標準区はこれより劣ったが接種17日後には前者の方が病斑は若干大きくなった。

(4) 樹体における樹皮水分量の季節的変動

2月から11月までの間における果樹園内のリンゴ樹について樹皮水分量と病斑進展を調査した (Fig. 23)。樹皮水分量は4月までは低かったが、

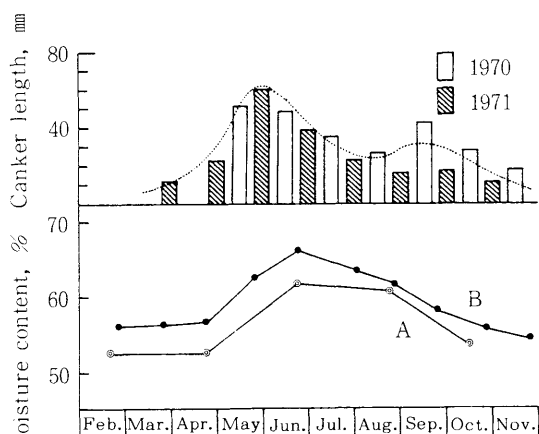


Fig. 23. Seasonal development of *Valsa* canker in orchard in relation to the bark moisture content. A, 2-year old shoots; B, 3-year old shoots (from results on fruits crop division in Hokkaido central Agric. Expt. Stn.).

Table 11. Effect of bark moisture contents on canker development in apple cuttings detached in July

Treatment	Bark moisture content at 6 days after inoculation	Canker length (mm)		Degree of callus-like tissue formation (at 6 days after inoculation)		
		Days after inoculation		+	±	-
		4	6			
Dry a)	52.3 %	9.7	20.4	4 d)	2 d)	14 d)
Watered 1 b)	64.4	6.8	12.0	16	4	0
Watered 2 c)	64.8	7.2	9.5	20	0	0

Note: a), Apple cuttings were placed upright without water.

b), Apple cuttings were placed with their bases in water before inoculation.

c), Apple cuttings were placed with their bases in water throughout the experiment.

d), No. of cuttings.

Table 12. Effect of bark moisture contents on the development of canker in potted apple trees^{a)}

Conditions	Treatment methods ^{b)}	Bark moisture content		Canker length ^{e)}			
		At inoculation ^{d)}	At 17 days after inoculation	20	40	60	mm
Dry	Potted apple trees were watered at the incipient wilting appearance. ^{c)}	48 %	48 %				
Watered	Potted apple trees were placed in water, which held constantly 10cm depth. ^{c)}	61	62				
Control	Potted apple trees were placed in soil and watered properly.	60	60				

Note: a), 3-yr-old Starking delicious.

b), Treatment was started at June 1.

c), Under the glassed-in rooftops.

d), Inoculations of causal fungus were conducted at July 17.

e), 6 days after inoculation.

11 days after inoculation.

17 days after inoculation.

5月頃より徐々に増加し、6月下旬に最も高くなった。その後、8月まで水分量は高いが、9月頃より漸次低下した。この間、樹皮水分量の高い7～8月には病斑の進展は著しく抑制された。

(5) 各時期における癒合組織の形成

毎月付傷した部分の1カ月後における癒合組織の形成を観察すると (Table 13), 2, 3月はほとんど認められないが、4月頃から徐々に増加し、5月に入ると活発となった。その後、6月から8月まで最も旺盛となり、9月頃より漸次形成が衰退し、11月には再び形成しなくなった。また、生育期の枝では前項の実験で示した通り、樹皮の水分が増加するとカルス様組織の形成が盛んになった。これらのことから、樹体の生理的活性は生育期、とくに6月から8月の間が最も高いと認められる。

5. 病斑および病斑痕の病理解剖

1) 病斑組織の内部形態とその季節的变化

病斑進展の抑制に関係する形態的要因を明らかにするため、時期別の病斑と傷痕木栓組織の形成の過程を病態解剖学的に観察した。

実験材料および方法

自然病斑；圃場のリンゴ樹（品種；スターキングデリシャス）の3～6年枝に形成された病斑と健全部の境界の組織を木部も含め約10×10×5 mmに切り取り、切片を作製した。試料は1974年2月12日、5月2日、6月26日、7月6日、8月14日および10月16日に採取した。

傷痕木栓組織；1975年2月28日に、圃場のスターキングデリシャス3年枝の健全樹皮組織を径

8 mmのコルクボーラーで打ち抜き、その後付傷部の切片を作製し、春期における傷痕木栓組織の形成を観察した。また、同年7月6日から8月7日まで5回にわたり、同様に付傷して、8月7日に各付傷部を切片とし、夏期における傷痕木栓組織の形成を観察した。

切片の作製；組織片はF.A.A.（ホルマリン6.5 ml, 氷酢酸2.5 ml, アルコール91.0 ml）で固定し、アルコール系列で脱水後、常法（田中ら, 1965）に従いセロイジン（ダイセル製組織学用）に包埋し、トーマ・ユング型ミクロトームで厚さ15～25 μmの切片を作製した。切片は染色を行なうまで70%アルコール溶液中に保存した。また、時に生組織の徒手切片も用いた。

染色；罹病組織内の菌糸は0.1%のアニリンブルー添加ラクトフェノール液で染色した。細胞壁のリグニン化は徒手切片についてフロログルシン塩酸あるいはシッフ試薬による反応で調べた（鈴木, 1957, '63）。細胞壁のコルク化はセロイジン切片および徒手切片、細胞内の脂質は徒手切片を用い、スダンブラック BあるいはスダンⅢによる呈色反応で調べた（鈴木, 1963）。でんぷん粒の分布状況はセロイジン包埋切片についてヨード・ヨードカリ溶液の処理によった。

実験結果

(1) 自然病斑の組織と組織内菌糸の形態

休眠期（2月中旬）；進展の緩慢な休眠期の病斑組織内菌糸は通常直径2.0～7.5 μm, 稀に10～17 μmの太いものも観察された。これらの菌糸は分岐し、その先端は多くの場合には単独で樹皮の柔組織、師管、師部柔組織および師部放射組織の

Table 13. Changes in monthly callus formation

Month	Feb.	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.
Degree of callus formation*	0	0	0.4	1.5	2.9	2.8	2.7	1.6	0.6	0

Note: *, Degree of callus formation = $\sum$ proper index of callus formation $\times$ No. of shoots in corresponding class $\div$ No. of used shoots.

Index of callus formation:

0.....No callus formation.

1.....Callus tissues were slightly developed.

2.....Callus tissues were vigorously developed.

3.....Callus tissues were most vigorously developed.

細胞間隙を進展し、後に細胞内に侵入した。

罹病樹皮の柔組織、師管、師管柔組織および師部放射組織の各細胞は収縮して、その結果各細胞は分離しているが、リングの生育期における罹病部に比べそれら細胞の褐変は軽微であった。このような樹皮組織の変化は病原菌の進展に先行して現われ、その範囲は菌糸の先端より数細胞層から時には数cmにもおよぶ場合があった (Plate V-1)。

生育初期 (5月上旬)；病斑の進展が最も旺盛な枝では、病斑部の菌糸は休眠期と同様に単独菌糸による場合が多かった (Plate V-2)。しかし、休眠期に見られた病原菌の進展に伴いおこる細胞の収縮と細胞の分離は認められず、病原菌に先行した細胞は褐変が著しかった。また、菌糸に接した細胞は内容が凝固していた (Plate V-3)。

生育中期前半 (6月下旬～7月上旬)；病斑進展速度が緩慢となるこの時期の病斑組織で、菌糸は周皮と皮層の間 (Plate V-4)、皮層 (Plate V-5) および師部 (Plate V-6) の各組織内を集団となり蔓延した。この集団状菌糸からのび出した単一の菌糸は周囲の細胞内に侵入する。菌糸の先端部と接する樹皮組織の数層の細胞は褐変、え死を起していた。え死した細胞層と健全組織細胞の間 (Plate V-7, TZ) には休眠期および生育初期には認められない数層から数十層に達する細胞が存在した。それらは細胞壁がリグニン化 (Plate VI-1, 2)、細胞内のでんぷん粒は減少、時には消失していた (Plate VI-3, 4)。でんぷん粒の消失した細胞内には脂質を含む顆粒が観察されることもあった (Plate VI-5)。さらにその外側の健全部との間には空胞化した細胞層とそれに接するち密な細胞層が形成され明瞭な帯状を呈している。空胞化した細胞の細胞壁はスタンブラック B 溶液によって黒青色に (Plate VI-6)、スタン III 溶液によって橙赤色に染まることから、これら帯状の細胞層はコルク化細胞からなる傷痕木栓組織と認められる。

この時期の傷痕木栓組織を構成するコルク化細胞は、細胞壁が薄く (Plate VI-6)、集団的に進展する菌糸により崩壊しているかの状態が多く見られた (Plate V-6)。すなわち、この時期には病斑の外側につくられた傷痕木栓組織は病原菌の進展

に伴って崩壊するが、さらに伸び出した菌糸に先行して、細胞壁のリグニン化が起こり、再び傷痕木栓組織が形成される。

生育中期後半 (8月中旬)；病斑進展が一時的に停止するこの時期には、傷痕木栓組織の形成が前期よりも盛んとなり、菌糸はそこで留まり、健全組織への進展はほとんど認められなかった (Plate VII-1)。この場合の傷痕木栓組織は3～7層の厚膜コルク化細胞より成り、6月下旬～7月上旬に観察されたものよりははるかに肥厚していた (Plate VI-7)。罹病組織は乾固収縮したため木栓組織との間に間隙が生ずる場合がしばしば観察され、この部分は肉眼で樹皮組織の亀裂として認められる (Plate VII-1)。この間隙には夏以降になると菌糸が徐々に増殖し、充滿している例も観察された (Plate VII-3)。

生育後期 (10月中旬以降)；病斑が再び進展するこの時期には、傷痕木栓組織に接する病斑部に菌糸が密に集合し、木栓組織の形成が不十分な周皮下 (Plate VII-4)、じん皮繊維にそった部分 (Plate VII-5) および師部と木部間 (Plate VII-6) から集団的に進展を始める。それに先行し、樹皮組織細胞壁のリグニン化、細胞内のでんぷん粒の減少および傷痕木栓組織の形成がおこる (Plate VII-4, 6)。しかし、気温の低下により、傷痕木栓組織の形成は不十分で、菌糸の集団的な進展により容易に崩壊した。

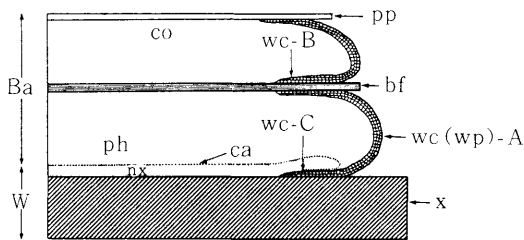


Fig. 24. Diagram of longitudinal section of apple twig showing the formation of wound cork layers after artificial wounding. pp, Primary periderm; wc (wp)-A, B, C, Wound cork layers (wound periderm); co, Cortex; bf, Bast fiber; ph, Phloem; ca, Cambium; nx, New xylem produced after artificial wounding; x, Xylem; Ba, Bark; W, Wood.

Table 14. Wound cork formation of apple bark by artificial wounding in dormant and growing season

Season (Date of wounding)	Days after artificial wounding	No. of cork cells ^{a)}	Length of wound cork along bast fiber ^{b)}	Length of wound cork along xylem ^{c)}
Dormant season (28. Feb.)	0	0	0 μm	0 μm
	11	0	0	0
	44	0	0	0
	51	0	0	0
	66	0	0	0
	76	1 - 2	0	97
	86	2 - 3	25	581
	100	2 - 3	73	904
Growing season	(7. Aug.)	0	0	0
	(4. Aug.)	0	0	0
	(25. July)	1 - 3	220	130
	(17. July)	1 - 3	270	170
	(6. July)	2 - 6	420	1690

Note : a), b), c), Each variables corresponds to wc-A, wc-B, and wc-C in Fig. 24.

(2) 人為付傷樹皮組織の形態

休眠期および生育最盛期の枝の健全樹皮に人為的に傷をつけ、その後の傷痕木栓組織の形成状況を観察した (Table 14, Fig. 24)。

休眠期のリンゴ樹の付傷部には76日後の5月14日までは傷痕木栓組織の形成が全く認められなかった。他方、夏期には付傷2週間目にすでに傷痕木栓組織の形成が認められた。このとき同組織は周皮から木部までの傷口表面1～3細胞が厚膜化コルク細胞よりなっていた (Fig. 24, WC-A)。また、じん皮繊維と接する部分の細胞は傷口表面から220 μm の深さまで (Fig. 24, WC-B)、さらに新生木部と木部の境界部でも表面から内部に130 μm までコルク化していた (Fig. 24, WC-C)。

自然病斑では、周皮下 (Plate VII-2, arrow 1)、じん皮繊維にそった部分 (Plate VII-2, arrow 2) および師部と木部間 (Plate VII-2, arrow 3) の傷痕木栓組織の発達是不充分であったが、人為的に作った傷口では傷口全面を被い、完全に形成された。

2) 癒合組織の形態

外科的治療を目的として、罹病部の樹皮を削り取った後、健全部樹皮から癒合組織が形成される。この組織の形態を観察した。

実験材料および方法

癒合組織の形態観察； 1976年4月に病斑部樹皮を削り取り、その周囲の樹皮に形成された癒合組織を同年12月に徒手切片で観察した。

病原菌の分離； 樹皮組織片を常法によりアンチホルミンで5分間表面殺菌した後、PDA培地上に置いて行なった。

実験結果

癒合組織の形態を模式的に Fig. 25に示した。

病斑部の樹皮を削り取ったあと、樹皮の切口には前項で示したように先ず周皮下から木部まで連続して傷痕木栓組織が発達した。その後、この組織は周皮となり、露出した木部は新生された周皮皮層、師部および木部により被われ、これが癒合組織となる。この場合、Fig. 25のAで示した削り取られずに残った部分に形成された傷痕木栓組織はコルク化細胞の数～十数層より成っていたが、露出した木部 (C) 面に接する部分 (B) は2～3層より成るに過ぎなかった。

木部 (C) 表面に新成された癒合組織の樹皮と木部は褐変している場合もあった (i 2)。この部分の病原菌の存在は顕微鏡下では明らかなでなかったが、培地上には分離出来た。また、癒合組織の外側には枯死した樹皮組織がしばしば付着している

が (db 1, db 2), db 1は病斑削り取りの際の樹皮切口表面が枯死して付着しているもので、その内部に菌糸塊が稀に認められることもあり、これらからも病原菌が分離された。

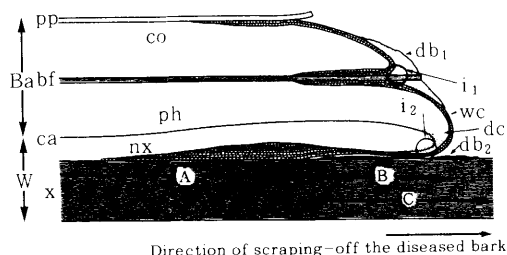


Fig. 25. Diagram of longitudinal section of callus tissues formed around the canker. A, Portion of healthy bark remained after scraping-off the diseased bark; B, Newly developed callus tissue; C, Portion of xylem exposed after scraping-off the diseased bark; pp, Primary periderm; co, Cortex; bf, Bast fiber; db 1, db 2, Dead bark tissue; ph, Phloem; wc, Wound cork layers (Wound periderm); ca, Cambium; nx, New xylem produced after scraping-off the bark; x, Xylem; dc, Discoloration of tissue; Ba; Bark; W, Wood; i1, i2, Sites of fungal isolation.

3) 病斑および病斑痕中の菌糸と再発病

病斑部の樹皮を削り取ると、周囲の健全部樹皮に癒合組織が形成され、あたかも治癒したかの状態となる。これを病斑痕と呼ぶことにする。ここから、しばしば新しい病斑がのび出し、再発病する例が多く、時には同じ病斑痕から数年にわたり再発病を繰り返す場合もある (Plate VIII-1)。再発病は組織中の病原菌が削り取りにより完全に除かれなかったためと考えられる。腐らん病の外科的処理を完全なものにするためには、病斑および病斑痕における病原菌の存在する場所と、それらが再び進展をはじめる状態を明らかにする必要がある。

(1) 組織内における病原菌の分布

病斑および病斑痕とそれに隣接した組織について、病原菌の分布を組織からの分離によって検討した。

実験材料および方法

1972年3月および8月にスターキングデリシャスおよび旭の4～7年枝上の自然病斑と、1976年4月に常法により病斑部を削り取り、チオファネートメチル塗布剤、硫酸オキシキノリン塗布剤あるいはポリオキシシンD亜鉛塩塗布剤を塗布した病斑痕のうち、外部所見から再発病していないと認めたものを8月および12月にそれぞれ10個ずつ供試し、分離を行なった。

病斑および病斑痕のある枝は鋸で縦断し、露出した面を改めて鋭利な刃物で削り直した後、樹皮および木部の各部位から組織の薄片を摘出した。それらの組織片は常法によりアンチホルミンで5分間表面殺菌した後、ABDA培地上に置き、25℃で病原菌の分離に供した。

実験結果

病斑における病原菌の分布

3月および8月における病斑とそれに隣接する健全部の組織中における病原菌の分布を比較した (Fig. 26, Fig. 27)。すなわち、3月の病斑部では樹皮のみならず木部からも、病原菌が分離された。さらに病斑に隣接する外観的に健全な樹皮と木部から病原菌は分離され、時には病斑から6 cm離れたところからも得られた。この場合、外観的に健全な部分の形成層とそれに接する木部はしばしば数cmにおよび褐変しており、その下の木部からも病斑部の木部と同じように病原菌が分離された。

8月には病斑とそれに隣接した健全組織中の病原菌の分布は3月とほぼ同様であった。しかし、3月に病原菌が存在した病斑外側の健全樹皮とそれに接した木部 (新生木部) からは分離されなかった。

病斑痕における病原菌の分布

8月および12月における病斑痕とその隣接する健全部の組織中における病原菌の分布を調べた (Fig. 28)。すなわち、病原菌は病斑痕の木部中だけでなく、それをとりまく外観的に健全な樹皮下の木部にも存在した。しかし、病原菌は健全樹皮下の新生木部 (nx) 中には認められなかった。

なお、12月における病斑痕とその隣接組織中の病原菌の分布は8月と同様であった。

(2) 病斑痕からの病原菌の進展

病斑痕からの再発病の過程を明らかにするために、病原菌の進展する部分を組織学的に観察した。

実験材料および方法

再発病した初期の病斑痕、とくに癒合組織を中心として鋭利な刃物で縦断し、観察した。また、1976年4月に常法によって病斑樹皮を削り取った

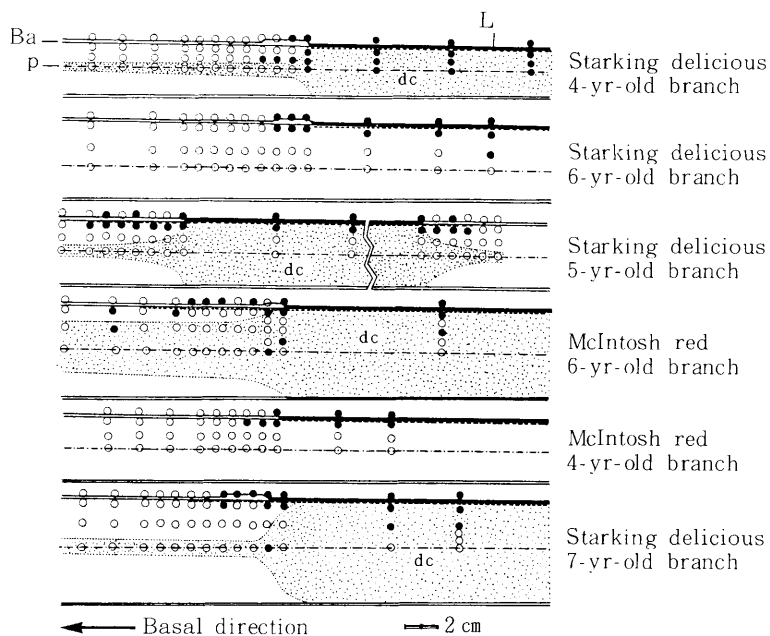


Fig. 26. Distribution of the pathogen in cankered branches (March). ●, The pathogen was isolated; ○, The pathogen was not isolated; L, Cankered bark; ---, Discoloration of cambium; dc, Discoloration of xylem; Ba, Bark; p, Pith.

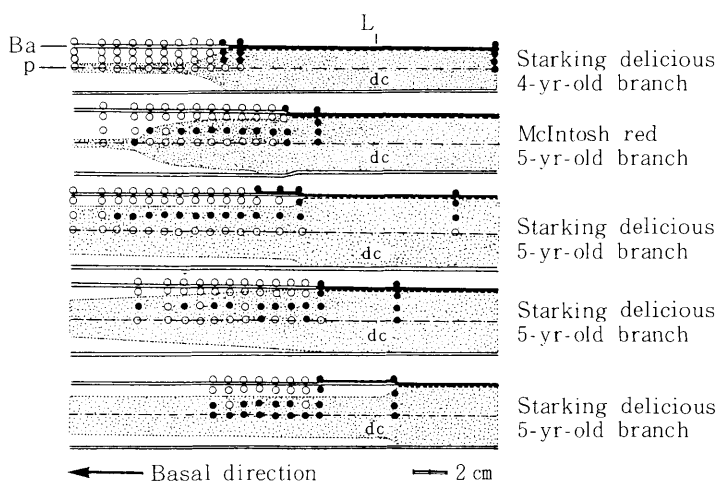


Fig. 27. Distribution of the pathogen in cankered branches (August). ●, The pathogen was isolated; ○, The pathogen was not isolated; L, Cankered bark; ---, Discoloration of cambium; dc, Discoloration of xylem; Ba, Bark; p, Pith.

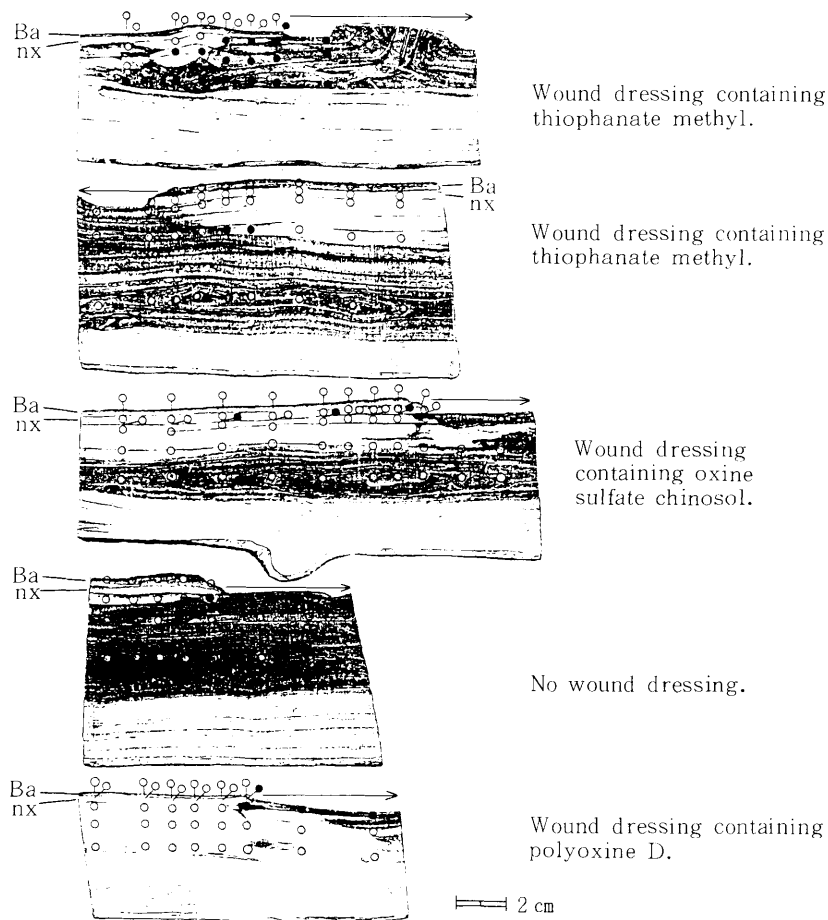


Fig. 28. Distribution of the pathogen in cankers and the adjacent tissues after scraping-off the diseased bark followed by the application of various wound dressing. Removal of canker by scraping was conducted in April, and isolation of the pathogen was conducted in August. →, Portion of scraping-off the bark; ●, The pathogen was isolated; ○, The pathogen was not isolated; Ba, Bark; nx, New xylem produced after scraping-off the bark.

病斑痕を供試し、その再発病する方向を調査した。

実験結果

病原菌が病斑痕から、再び進展を始める部分は2つあった。その1つは罹病樹皮の削り取りによって露出した木部と癒合組織先端部の接した部分 (Plate VII-2) である。この部分の樹皮は罹病樹皮の削り取りによって露出した木部と新生木部の間にはさみ込まれた状態になっており、前項で述べたように病原菌がしばしば分離された部分である。

他はこれに比べて極めて稀であるが、癒合組織先端から離れた部分 (Plate VIII-3) からである。この部分は枯死樹皮 (Fig. 25, db1) が存在する例が多い。それは癒合組織の形成が前記の通り旺盛で病斑痕の木部表面を被い拡がったため、癒合組織の先端から離れたところに病原菌が残存したもので、また病原菌がしばしば分離された部分でもある。

104箇所の再発病した病斑痕について、新しい病斑の進展した位置を病斑痕の上、下および左右に分け、それらの割合を調べた (Table 15)。すな

Table 15. Sites of disease recurrence from the region where cankers were removed by scraping.

Sites of disease appearance	No. of disease recurrence	$\frac{\text{No. of disease appearance at each sites}}{\text{Total number of disease recurrence}} \times 100$
Upwards of canker scraping portion	49 (1*)	47 %
Downwards of canker scraping portion	43 (4*)	41
Transverse of canker scraping portion	12 (2*)	12

Note: *, No. of disease recurrence from distant sites from callus edges (Plate VIII-3).

わち、枝に対し病斑痕の上端、下端の部分から再発病したものが最も多く、それぞれ47%および41%であった。これに対して、枝の円周方向のものは少なく12%であった。また、病斑痕の木部と接した癒合組織の先端から再発病した例が最も多く、枯死樹皮部からは少なかった。

以上の結果から、病斑の削り取りに際し、単に外観的な病斑だけでなく上下の方向に病原菌の存在しない部分まで木部を含めた組織を削ることが必要である。また、癒合組織の形成は枝の横方向の切口が良く、縦方向では劣るため、削り取る形を縦に長い紡錘形とすることが必要と考えられる。

6. 小 括

胞子分散と発芽

胞子の形成；クリ胴枯病菌 (*Endothia parasitica*, Rankin 1914) と同じく、リンゴ腐らん病菌の柄子殻は5月から10月の間では有傷接種後1カ月以内に形成され、その一部は胞子角を噴出し得るまでに成熟した。他方、子のう殻は8月から認められ、11月上旬には形態的に80%が成熟していた。この時、わずかながら子のう胞子が捕捉されたことから、子のう殻は機能的にも成熟したと認められ胴枯病菌科のクリ胴枯病菌 (Rankin, 1914) のほかカンキツ黒点病菌 (*Diaporthe citri*, 牛山 1973)、モモ胴枯病菌 (*Leucostoma persoonii*, 富樫 1950) と同様、晩秋までにはほぼ完全すると考えられる。

すなわち、本病菌の柄胞子はリンゴ樹のほぼ全生育期にわたり形成され、子のう胞子は秋期にのみ形成され、感染源は周年存在することが明らかとなった。

なお、子のう殻成熟時期について、Togashi

(1924) の未熟なままで越年し、2月に完熟するとの報告と異なったが、その原因はTogashiが子のう殻成熟の過程を量的に調査していなかったためと推察される。

胞子の分散様式；柄胞子の分散については富樫 (1950) によりすでに明らかにされているが、子のう胞子の分散様式については不明であった。室内実験と圃場で異なる胞子捕捉法を用い検討した結果、2通りの分散様式があることがわかった。その1つは射出による空中飛散である。すなわち、罹病樹皮の表面が水で十分に濡れると、子のう胞子は子のうより一団となって射出され、その数は1時間に1子座当り1,120～8,662個に達した。無風状態で、射出距離は2～3mmにすぎないが、野外ではこの程度の距離でも樹皮に付着せず気流に乗って分散されるものが多いと考えられる。

他は雨水による樹皮表面の流下で、このような様式で分散する子のう胞子の消長も空中飛散とおおむね同様の増減を示した。本病菌の子のう胞子もクリ胴枯病菌について Rankin (1914) が報告したと同様に飽和湿度の下では子のうに含まれたまま子のう殻開口部まで到達するが、そのまま集積し、子のう塊 (ascus ball) を形成する。これが降雨によって流されることは樹皮を流下する水を捕捉するとき、胞子を内蔵した子のうがしばしば見られることから明らかである。

子のう胞子が射出以外の分散を行なう例はチャコブタケ (*Daldinia concentrica*, Elliott 1920) でも知られているが、子のう胞子が胞子角を形成する点がリンゴ腐らん病菌、クリ胴枯病菌と異なる。子のう胞子によるリンゴ腐らん病の圃内への伝播は樹皮表面の雨水による流下より、射出による空中飛散がとくに重要と認められる。

胞子の分散時期；富樫(1950)は具体的な実験結果を示していないが、子のう胞子は春から分散し、第一次伝染源となり、柄胞子は高温・湿潤な天候の時に噴出し、第2次伝染源となることが多いと述べている。この説はかつてクリ胴枯病の子のう胞子と柄胞子を、形成と分散の時期から、それぞれ winter spore, summer spore と呼んだ考え方(Heald, 1913)に類似している。しかし、本実験の結果から、柄胞子は冬期間でも樹体上の融雪水によって分散がおこり、また、季節的に変動はあるが年間を通じ分散され、また一方、子のう胞子の分散は9月下旬から翌年7月までおこり、その数は4月下旬から6月下旬まで最大であることから、リンゴ腐らん病菌の胞子を winter spore, summer spore に分けることは不適当である。

以上の結果から、年間を通じて形成される本病菌の胞子は年間を通して分散し、感染源となりうることが明らかとなった。

胞子の分散要因；リンゴ腐らん病菌柄胞子の胞子角の噴出には霧、降雪あるいは降雨による水の供給が必要である。また、降雨の頻度と樹皮上を流れる胞子数との間に高い正の相関が認められた。これは降雨により噴出した胞子の流下とその後に胞子角が再噴出し、これが反復された結果とみられる。

胴枯病菌科菌類で、胞子角をつくる胞子は粘着性に富むが、水中で速やかに拡散するので、降雨により樹皮表面を流れる水で容易に分散する(Rankin 1914, 山田ら1961, Yokota 1966, Luepshen ら1969)。リンゴ腐らん病菌も同様であることは、降雨がないかあるいは1 mm以下の場合ほとんど捕捉されないことから知られる。

カラマツ先枯病菌(*Guignardia laricina*, Yokota 1966), モモ胴枯病菌(Luepshen ら, 1969) およびクリ胴枯病菌(Heald ら, 1913)では、柄胞子の噴出には温度が影響し、気候の温暖な時におこるとされている。しかし、リンゴ腐らん病菌の場合、柄胞子の噴出は温度に左右されることは少なく(宇井ら, 1966), 気温の低い2月中旬でもみぞれが降り充分の水が樹皮に供給されたとき、柄胞子が多量に捕捉される事実は、温度が主要な要因でないことを裏付けている。

子のう殻からの胞子の射出は子のう殻を形成している樹皮を飽和湿度に保ってもおきず、樹皮に前もって十分な水を与えたときに認められた。これらの事実から、*Hypoxylon pruinatum* (Walky ら, 1968), *H. fragiforme* (Gruenhalgh ら, 1967) および *Nectria cinnabariana* (Walky ら, 1968) と同じく、与えられる水が気相の水であるか遊離水であるかにより、胞子の射出が左右される。

一方、飽和湿度の下でも、子のうは子のう殻開口部まで到達するが、胞子は射出されない。このことは開口部に子のうが到達することは射出とは別の過程で、射出には更に別の要因が関与していることを示す。その要因としてまず考えられるのは Rankin (1914) がクリ胴枯病について述べているように、子のう殻開口部上の水であり、それにより同菌の子のう胞子は射出し続けるという。

子のう殻から射出する子のう胞子数はある時間たつと最大になるが、その後減少の一途をたどる。しかし、その間に樹皮表面に水を噴霧すると直ちに射出胞子数が急増した。この実験で樹皮の含水量を低下させぬように吸水したろ紙の上に樹皮を置いたので、子のう殻が乾燥するとは考えられず表面の水の膜が室内で次第に乾くためであろう。従って、この樹皮表面に水を新たに噴霧することは、単に子のう殻内にある子のうをさらに膨潤させるよりはむしろ子座上に水の膜を形成させることにあるものと考えられる。

以上の結果から、野外における子のう胞子の飛散数が降雨量と高い相関があった理由は、降雨量が多いときは一般に降雨時間が長いいため、樹皮表面に水が長く存在することによると説明できる。

子のう胞子は11月に多くの子のう殻内で成熟しているにもかかわらず、冬期間捕捉される数が少ない。これと同様な事実はクリ胴枯病でも認められているが、Heald ら(1914, '15)はその原因を子のう胞子の射出適温が20～26℃であることによるとしている。しかし、リンゴ腐らん病菌の子のう胞子の射出は水により左右されるもので、温度の影響は少ないと考えられる。従って、冬期間子のう胞子の捕捉数が少ないのは柄胞子と同様に子座表面に水の供給されることが少ないためと考えられる。

胞子の発芽条件；柄胞子と子の胞子は、いずれも5～30℃の間で発芽するが、前者は後者に比較して発芽が遅い。この両胞子の発芽温度からみると、野外では4月から10月までの間発芽できる。また、11月から3月までの間でも、1月の一時期を除き、日光の直射を受ける樹皮温度は5℃以上に到達することが多いので（宇井ら1966、西山ら1972）、冬期間も胞子が発芽する可能性は否定出来ない。従って、伝染源が周年分散される本病菌の胞子はほぼ年間を通じ発芽し、感染をおこす可能性がある。

空気湿度の高い時、発芽し寄主体に侵入する病原菌は多く、例えばカラマツ先枯病菌は94%以上の湿度で発芽する（Yokota, 1966）。リンゴ腐らん病菌の胞子の発芽も高湿度では発芽するが、スライドグラス上においた柄胞子は100%の湿度でも発芽しなかった。これは柄胞子の発芽には栄養源の供給を必要とするためと考えられる。

すなわち、柄胞子は可溶性の糖によってのみ膨潤し、それに続く発芽管の伸長がおこる。糖類のうち、リンゴ樹皮中あるいは主要な侵入門戸の一つである果台の採果痕にみられる（佐久間, 1975, '76）フラクトース、グルコース、ソルビトール、蔗糖によって発芽が促されるので、これらは寄主体に侵入する際の発芽を誘起する物質であろう。

感染経路と発病

リンゴ腐らん病の寄主組織への侵入は有傷部からおこり、それは果台、剪定痕および枯死枝先が主であることは、最近の本州における調査結果（民部田ら1977、佐久間ら1978、藤田ら1979）でも認められている。また、これら侵入門戸はモモ胴枯病菌（De Vayら1974、Tekauzら1974、Luepschenら1979）と共通するものが多く、いずれも休眠期とその前後に出来た傷が多い。

これまで、リンゴ腐らん病の感染は主としてリンゴの生育期について検討され、休眠期にはほとんど注意を払われていなかった。これは病原菌の胞子が休眠期中は分散されず、低温期にはその活性が低いと考えられたことによる。

しかし、人為的に作った切口についての実験で、感染はリンゴの休眠期とその前後に多く、とくに12月に作った切口の発病が最も多く、3月がこれ

に次いだ。これに対し、5月および9月に作った切口はある程度の感染がみられたにもかかわらず、ほとんど発病しなかった。このことから、リンゴの休眠期とその前後は感染が多いだけでなく、感染から発病への移行が速やかであるとみなされる。

切口からの感染時期が異なっても、大部分は4月から6月に発病した。このことと、果樹園で春から初夏にかけて枝腐らんの発生が多く、病斑進展も極めて速やかであることを合せ、この時期は侵入した病原菌が組織内に蔓延して発病に適した時期と言える。

また、休眠期でも病斑は緩慢ながら進展し、モモ胴枯病ではむしろ旺盛に進展するとされている（Dhanvantari 1968, Jones ら1971）。このように低温下でも程度に差があるにせよ、病斑進展が可能であることは胴枯性病害の1つの重要な特徴であるとみられる。

これに対して、*V.leucostoma* (= *L.persoonii*) によるモモおよびリンゴの胴枯性病害にみられるように（Togashi 1931, Leyendecker 1952, Dhanvantari 1968, Jones ら1971, Bertrand ら1976）、リンゴ腐らん病も気温の高まる盛夏期は発生数も少なく、また病斑進展が著しく抑制され、ときには停滞した。

発病に関与する諸要因

盛夏期に発病が抑制されるのは寄主側の抵抗性が増加しているか、あるいは病原菌の活性が低下しているかのいずれかに因ると考えられる。

病原菌の培地上の菌糸生育をみると、Togashi (1924) と同様25～30℃の間で旺盛であり、休眠期切枝上の病斑進展も同温度の範囲で良好である。しかし、生育期切枝（7月）の病斑は25℃～30℃で進展が抑制され、30℃ではほぼ停止した。

このように切枝における病斑進展は季節的に異なり、それは6月から8月にかけて高くなる樹皮組織の水分量（望月, 1955）の差異に関連することが認められた。すなわち、樹皮水分の少ない休眠期の切枝を吸水させると抵抗性となり、逆に多い生育期の切枝を乾燥させると罹病性となり、樹皮水分量と病斑進展には負の相関があった。

樹皮水分量の多い枝が抵抗的となる現象は各種樹木の胴枯性病害で認められているが（Bier 1959、

'62, '64, Bloomberg 1962 a, wihrheim 1964), その原因については十分に解明されていない。しかし, Bloomberg ら (1962 b, '63) は樹皮水分の多い枝では, 有傷部と接した組織にタンニンを生ずる細胞が増加し, さらに細胞壁のリグニン化, 傷痕木栓組織の形成が旺盛となることを示している。リンゴ腐らん病の場合も, 樹皮水分量の多い枝では病斑と健全部の境界にカルス様組織の発達がみられ病斑の進展は抑制され, とくに高温ほど顕著になることから, 病斑進展に対する抵抗性は寄主体の生理活性の増加と関係が深いと考えられる。

以上の結果から, 夏期に発病が抑制されるのは, モモ胴枯病で述べられているような夏期の気温による病原菌の不活化 (Togashi 1931, Bertrand ら 1976) によるものではなく, 気温の上昇と樹皮水分量の増加に伴う寄主抵抗性の増加によると結論できる。

病斑組織の内部形態とその季節的变化

抵抗性の低下する休眠期から生育初期 (5月) にかけては, 病原菌は単独菌糸で樹皮組織内の細胞間隙にそって進展している場合が多い。これに対し, 抵抗性の強い生育中期前半 (6月) から生育後期 (10月) まで, 菌糸は病斑組織内で増殖しクリ胴枯病菌にみられる菌糸の集合体 (mycelial-fan, Keefer 1914, Bramble 1936) を形成し, これが組織内を機械的に押し開くように進展している状態が観察された。

他方, リンゴ腐らん病菌菌糸の進展時におこる樹皮組織細胞の変化は, いずれの時期でも菌糸進展部に先行してある範囲の細胞に褐変やえ死がおきた。休眠期には細胞の収縮にともなって細胞間の分離がみられ, また褐変の程度も生育期に比べ少ない。生育初期になり気温が上昇するにつれて, 細胞の褐変とえ死は顕著になる。生育中期前半になるとこれらえ死組織と健全組織との間の2~3層から数10層の細胞壁はリグニン化し, さらにその外側に傷痕木栓組織が形成された。この時期に形成される木栓組織はコルク細胞壁も薄く, さらに病原菌の集団的な進展によって崩壊するが, 菌糸の進展部に先行してふたたび形成されるので, 菌糸の進展と木栓組織の新成が繰り返される。ここでみられる木栓組織の反復形成は病原菌の樹

皮組織内での進展を遅延させるため病斑の進展が緩慢になると考えられる。樹体活性の最も増加する生育期後半 (8月) には, 病原菌の進展に対して, 寄主組織は速やかに反応し, 厚膜化した3~7層のコルク細胞から成る木栓組織を形成し, これにより病原菌の組織内進展はほぼ完全に阻止される。

一方, 病原菌菌糸の生育は盛夏期でも旺盛であるため, 病斑と木栓組織の間に閉じ込められたような状態で増殖した菌糸は侵略力 (aggressiveness, Gäumann 1950) を高める。これに対し, 自然病斑に認められる木栓組織は, 人為付傷したときに形成されるものと異なり, 盛夏期でも周皮下, 師部と木部, あるいはじん皮繊維にそった部分で形成が不充分であり, 生育後期になると, 病原菌の菌糸はこれらの部分から健全組織へと集中的に進展するとみられる。

以上のことから, 傷痕木栓組織の発達の速さや程度は季節的に変動する樹体の活性によって著しく異なり, それによって発病およびその後の病斑進展が左右されると考えられる。

病斑および病斑痕中の菌糸と再発病

枝に生じた病斑の各組織における病原菌の分布は, 宇井ら (1966) が指摘したように, 春期では病斑樹皮部に認められるだけでなく, 病原菌は病斑より外の外観健全な樹皮部の形成層にも存在する。この場合, 形成層に褐変がみられ, その範囲は病斑の大きさによって vari, 特に枝に対して病斑の上端および下端に向い広範囲におよんだ。また, 病原菌は病斑樹皮下の木部のみならず, 病斑を取り巻く外観健全な樹皮下の木部中にも存在した。これら木部に存在する病原菌は病斑樹皮を削り取っただけでは除去されず, 残存した。

外科的处理により外観治愈した病斑痕の周縁部から再び病斑が進展する部分は2つあった。その1つは病斑樹皮の削り取りによって露出した木部と接した癒合組織の先端部分で, ここは樹皮組織と新生木部がしばしば褐変しており, 病原菌が分離される場合があった。他はこれに比べ稀であるが, 癒合組織の外側に付着している枯死樹皮からで, ここからもしばしば病原菌が分離された。

再発病するとき, 病斑が伸び出す部分は枝に対

して上方と下方であった。その理由として、春先の枝では外観的に認められる病斑よりも病原菌は上下の縦方向に広く伸び出しており、削り取りの際に残されること、また、枝における物質転流が縦方向に行なわれるため、削り取った部分の上部と下部は癒合組織の形成が不十分なことなどが考えられる。

これらの結果から、治療した病斑からの再発病を防止するためには、病原菌の存在しないところまで十分に病斑を削り取る必要がある。そのためには病斑樹皮を枝の上下の方向に外観健全部まで広い範囲に削り取り、さらに癒合組織の形成が劣る枝に対する直角方向の断面を小さくするため、切口を紡錘形とすることが必要である。