

リンゴ腐らん病菌, *Valsa ceratospema* (= *V. mali*) の胞子形成および分散の季節的変動*

田村 修** 斎藤 泉** 高桑 亮** 馬場 徹代***

Seasonal Fluctuation of Spore Production and Dispersal
in *Valsa ceratospema* (= *V. mali*), the Causal
Fungus of Japanese Apple Canker

Osamu TAMURA, Izumi SAITO, Makoto TAKAKUWA and Tetsushiro BABA

リンゴ腐らん病菌の胞子形成と分散の季節的変動に関する具体的な数量値を示した報告がないので、圃場で検討した。その結果、柄子殻は5月から9月にかけて接種病斑上に旺盛に形成され、殻内からの柄胞子は季節的に変動しながら年間を通し分散された。この胞子の分散は降雨と密接な関係があり、特に降雨回数と捕捉胞子数間には明らかな相関がみとめられた。他方、成熟子のう殻は8月中旬から観察され、11月初旬時点で80%以上の子のう殻が完熟した。そして、子のう胞子は9月下旬から捕捉され、その後、冬期間は少なくなるが翌年の7月上旬まで継続して捕捉された。子のう胞子の分散は柄胞子の場合と同様に、降雨による水分供給と密接な関係が認められ、冬期間捕捉された子のう胞子は若干の融雪水により分散が促がされたものと考えられた。

緒 言

リンゴ腐らん病菌の柄胞子は雨水に混入し、しぶきとともに飛散するか、あるいは単に樹体流下し分散される¹⁴⁾。他方、子のう胞子は先に報告したように、柄胞子の場合とは異なり殻外へ射出され、積極的に空中飛散し、分散される⁹⁾。しかし、本病伝染源の野外での分散の時期的推移、さらには感染時期についてはほとんど知られていない。

本病の感染時期を明らかにすることは本病防除法確立のために重要であるので、筆者らは本病原菌胞子の形成および分散の季節的変動について検討したので、その結果を報告する。

実験材料および方法

実験圃場および気象観測： 胞子形成に関する圃場調査、罹病樹皮の採集および胞子捕捉は主に北海道立中央農業試験場病虫害隔離果樹園(北海道長沼町)で

行なった。同園は8年生スターキングデリシヤス、旭および紅玉の混植で、20aの面積を有する。

気温と降雨の観測は農業気象観測法に基づき、供試圃場から約200m隔たった地点で観測した。

子座の顕微鏡観察： 子のう殻成熟の時期的推移を観察するため、子座を含む樹皮を経時的に採取した。標本は徒手切片あるいはFAA固定後、常法によりパラフィン包埋切片とし、ラクトフェノール・アニリンブルーで染色後顕微鏡観察した。

胞子分散の季節的変動： 胞子捕捉は既報⁹⁾の方法により行なったが、柄胞子捕捉の雨どい式トラップは受容器として250cc容ポリエチレンびんを用い、2月以降に進展した病斑直下に設置した。これらの受容器は降雨の度にとり換え、捕捉される柄胞子の数は1週間毎に調べた。柄胞子の捕捉は昭和46年7月から昭和47年8月までの間に同程度の3病患部を供試して行なった。

他方、子のう胞子は雨どい式トラップおよびスライ

* 本報告の一部は日本植物病理学会北海道支部会において報告した。

** 北海道立中央農業試験場 夕張郡長沼町

*** 同上(現、北海道立道南農業試験場 亀田郡大野町)

ドガラストラップにより捕捉した。なお、スライドガラストラップは風の影響を受け易いと考えられるので、枝の全周にいきわたった病斑の随所に設置した。これら2方法による、子のう胞子の捕捉数は1週間毎に調査した。子のう胞子の捕捉は昭和46年8月下旬から昭和47年8月にわたって行なった。

実験結果

柄子殻の成熟および形成時期： 柄子殻の成熟に要する期間を知るため、含菌寒天接種の後1～3ヵ月の病斑組織片を8月初旬に25°Cの温室に保ち、成熟の指標として殻内からの胞子角の噴出状況を観察した(Table 1)。その結果、全供試病斑上の柄子殻から低率であったが胞子角の噴出が認められ、温暖な条件下では接種後1ヵ月で、胞子を分散し得るまでに成熟した柄子殻が病斑上に形成されることが知られた。また、柄子殻からの胞子角の噴出率は病斑が古いもの程、高くなる傾向がみられた。

Table 1 Oozing of spore-horns from the pycnidia produced on cankered twigs at different times after inoculation

Months after inoculation	Percentage of spore-horn oozing pycnidia in a moist chamber after	
	2 days	5 days
1	1.8	2.2
2	2.6	3.0
3	2.2	4.0

次に、野外において昭和46年3月から12月まで、1ヵ月毎に含菌寒天で接種を行ない、柄子殻形成の季節的变化を調査した。接種後、各1ヵ月目の形成数によって判定した結果、柄子殻は4月から11月までの範囲で形成され、特に5月から9月にかけては旺盛に形成された(Table 2)。

Table 2 Monthly fluctuation of pycnidial production

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

Notation : — = No pycnidial production was detected.
 ± = Immature pycnidia were slightly produced.
 + = Mature pycnidia were slightly produced.
 ++ = Mature pycnidia were abundantly produced.

子のう殻形成時期： 昭和45年から昭和47年にわたって、2月以降に進展した病斑を継続的に外部所見で野外観察したところ、いづれの年も8月中旬に初めて子のう殻開口部を観察出来た。この時期の子座を鏡したところ、外部に開口した子のう殻は少なく、大部分は子のう殻原基様菌糸塊および未熟な子のう殻で柄子殻の周辺部に配列していた。そこで、子のう殻成熟の時期的推移を知るため、病組織切片を作り調査した結果、子のう殻の形成段階は形態的差異に基づいて次のように大別出来た。

1) 子のう殻原基： 成熟子のう殻球部直径の $\frac{1}{4}$ 程度の球状小型菌糸塊で、病斑組織内の他菌糸に比して、ラクトフェノール・アニリンブルーで良く染色される。この菌糸塊内部には通常の菌糸より極端に太いアスコゴニウム様の菌糸が認められる場合が多い(Plate I-2, 3)。

2) 未熟な子のう殻： 1)より大型の菌糸塊で、なかには洋梨状を呈するものもあるが、まだ殻壁の分化は明らかでなく着色もみられない(Plate I-4, 5)。

3) 成熟子のう殻： 長頸を有するフラスコ状で、着色した殻壁が明らかに認められる。頸部は外部に開口し、子のう、子のう胞子が形成されている(Plate I-6, 7)。

そして、8月20日では子のう殻原基および未熟な子のう殻が大部分を占めていたが、その後成熟子のう殻が漸次増加し、11月1日には80%以上を占めることが知れた(Fig. 1)。

柄胞子分散の季節的変動： 昭和46年2月以降に進展した病斑を供試し、胞子角の噴出が顕著に観察される7月から、柄胞子の捕捉を開始し、柄胞子分散の季節的変動について調査した。その結果は Fig. 2 に示したように試験開始時点ですでにかなりの胞子が捕捉された。その後、捕捉胞子数は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かった。厳寒期(12月下旬～2月上旬)はその数は比較的少なく経過し、2月中旬以降5月までは再び増加した。そ

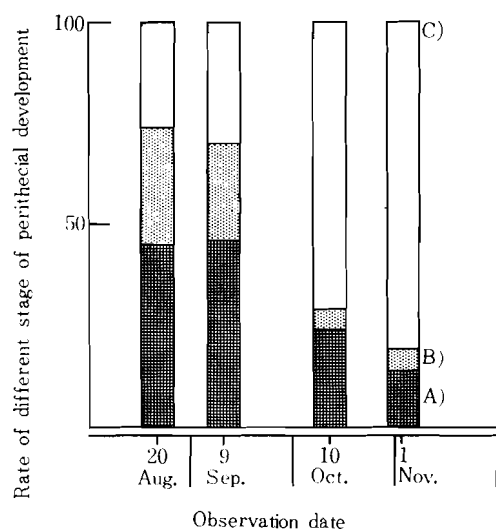


Fig. 1 The rate of different stages of perithecial development at different times: A) perithecial primordia, B) immature perithecia, C) mature perithecia.

Table 3 Relation between rain fall and pycnospore liberation

Period of trapping	Precipitation (mm)	Frequency of rain fall	No. of trapped spores ($\times 10^6$)
July 5 - 10	27.0	3	1235
11 - 17	41.5	9	4582
18 - 24	15.5	2	614
25 - 31	5.5	4	3178
Aug. 1 - 7	0	0	0
8 - 14	20.0	2	1057
15 - 21	29.0	3	669
22 - 28	4.0	1	1060
29-Sep. 4	88.0	3	1412
5 - 11	0	0	0
12 - 18	34.0	4	2835
19 - 25	7.0	4	1340
26-Oct. 2	78.0	11	5574
3 - 9	79.0	4	3316
10 - 16	20.0	4	3677
17 - 23	1.0	1	trace
24 - 30	69.0	11	16368
31-Nov. 6	11.0	4	2243
7 - 13	6.5	3	708
14 - 20	5.5	2	1238
21 - 27	13.0	6	4628

Correlation coefficient $r = 0.82$
 $r = 0.52$

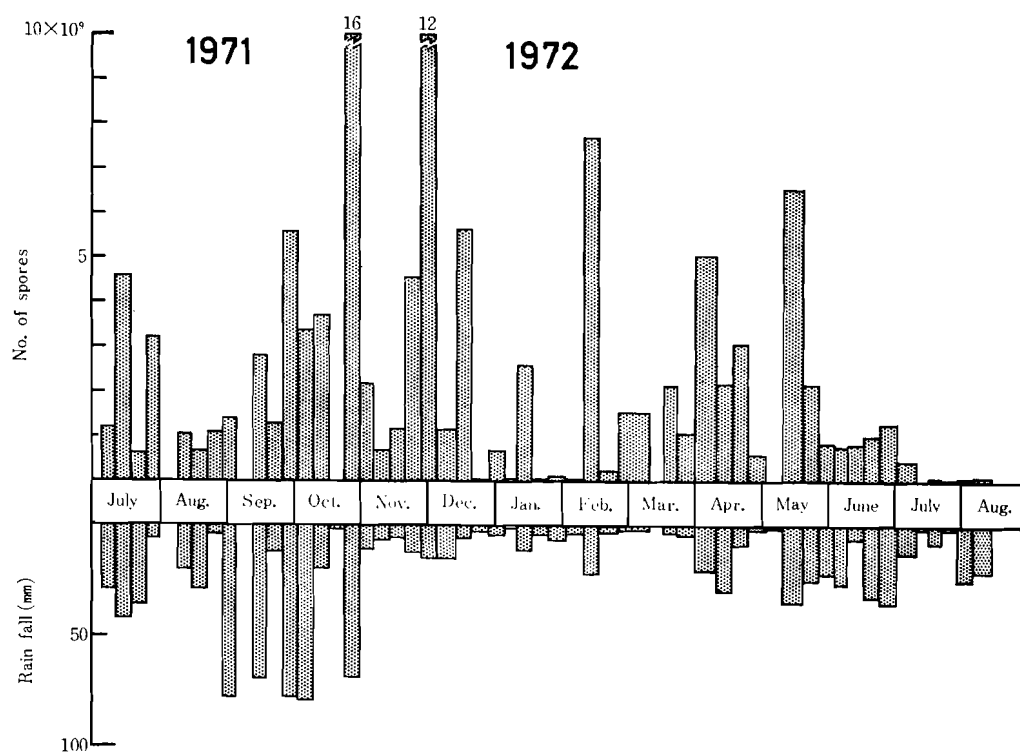


Fig. 2 Seasonal fluctuation of pycnospore dispersal in relation to rain fall.

の後、6月から、捕捉胞子数は徐々に減少し、7月中旬から8月中旬までは若干捕捉されるにすぎなかった。厳寒期において捕捉された柄胞子は樹体上の若干の融雪水とともに流下したものである。

全調査期間を通し、柄胞子は降雨（降雪も含めて）が全くないか、あるいは降雨量1mm以下の場合ではほとんど捕捉されず、柄胞子分散と降雨の間に密接な関係が認められた。そこで、7月から11月までの、各調査期間中の捕捉胞子数と降雨量および降雨回数の関係について検討した結果、捕捉胞子数と降雨量間には有意な相関は認められないが、調査期間中の降雨回数

については0.82の有意な相関係数が得られた（Table 3）。

子のう胞子分散の季節的変動： 子のう胞子の分散には、殻内からの射出による空中飛散と、射出に失敗し子のう殻開口部に集積後雨水とともに移動する2様式あることを先に報告した⁹⁾。このことから、本試験では各分散様式に適応する2方法で胞子を捕捉し、子のう胞子分散の季節的変動について検討した。

結果は Fig. 3 に示したように、スライドガラス法と雨どい法による捕捉胞子数の季節的変動はほぼ同様な傾向を示した。すなわち、子のう胞子は9月下旬か

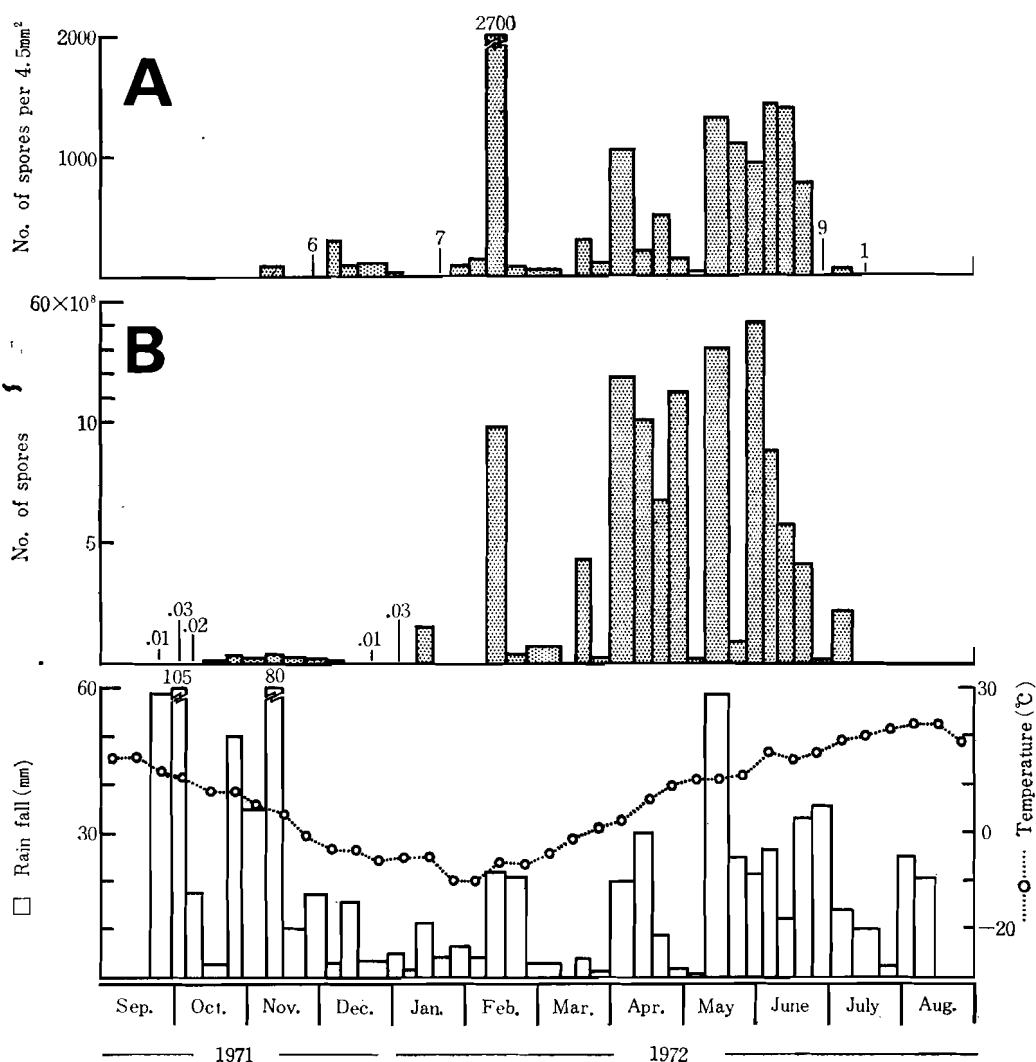


Fig. 3 Seasonal fluctuation of two types of ascospore dispersal in an orchard in relation to rain fall and temperature : number of ascospores caught on glass slides A) and total number of those flowing into test tubes with rain water B).

ら捕捉されたが、翌3月上旬まで、1調査期間(2月10日から同17日まで)を除いて、その数は比較的少なかった。その後、捕捉胞子数は徐々に増加し、4月上旬から6月中旬まで最も多くなったが、6月下旬から徐々に減少した。そして、7月下旬以降子のう胞子はほとんど捕捉されなかった。なお、2月10日から2月17日までの間には大量に胞子捕捉されたが、この調査期間中には多量のみぞれが降っている。

子のう胞子の捕捉数は降雨(降雪も含めて)がないか、少ない場合には僅かに捕捉されるにすぎず降雨と密接な関係が認められた。

スライドガラス面に捕捉される子のう胞子は単独で附着している場合が多いが、しばしば胞子塊としても捕捉される(Plate I-1)。

考 察

胞子形成

柄子殻の成熟に要する期間について、リンゴ腐らん病菌と同じディアボルテ菌科のクリ胴枯病菌(*Endothia parasitica*)では有傷接種後3~4週間で形成され、1ヵ月で胞子を殻外へ噴出し得るまでに成熟するとされている⁸⁾。筆者らのリンゴ腐らん病菌もクリ胴枯病菌とほぼ同じで、柄子殻は温暖条件下で有傷接種後1ヵ月以内で形成され、その一部は胞子角を噴出するまでに成熟していた。また、柄子殻形成は接種すると、5月から9月までの長期間に最も旺盛であった。

子のう殻形成時期については、本病原菌と同菌科のクリ胴枯病菌⁸⁾、モモ胴枯病菌(*Leucostoma Persoonii*)¹⁴⁾、さらにカンキツ黒点病菌(*Diaporthe citri*)¹⁶⁾等では晩秋までに完熟するとされている。しかし、リンゴ腐らん病菌では、Togashi¹²⁾の札幌における観察によれば、*entostroma*は晩秋に生じ、未熟なままで越冬し、2月上旬に*entostroma*内の子のう殻が成熟し、子のう殻頸部を外部に開口するとしており、前述の病原菌と子のう殻形成時期を多少異にしている。しかし、リンゴ腐らん病菌での筆者らの結果では、子のう殻の成熟をその頸部の発達により判定するならば、成熟子のう殻はすでに8月から認めており、11月1日時点で少なくとも形態的に80%余りの子のう殻が成熟していた。さらに、この間捕捉可能な程度の子のう胞子の分散がみられるので、子のう殻頸部の発達が胞子放出のための機能的な成熟の指標となることは疑う余地のないところである。このように筆者らの得た結果では未熟なままで越冬する子のう殻は少なく、クリ胴枯病菌、モモ胴枯病菌、そしてカンキツ黒点病菌の子のう

殻形成時期とほぼ一致した。なお、筆者らはTogashiと結果を異にしたが、調査場所がほぼ同地域であったこと、またクリ胴枯病菌で病斑形成時期を異にしても晩秋までに子のう殻は成熟に達するとされており⁸⁾、さらに筆者らは病斑形成時期の異った試料で検討したことなどから、調査地域および調査病斑の形成時期の相違によるとは考えられない。このことから筆者らは子のう殻形成条件について検討している。

胞子分散

クリ胴枯病菌では、殻内で越冬した子のう胞子が春から分散され、次いで柄胞子が温暖な時期に形成、分散されるとし、それぞれ *Winter spore*, *Summer spore* とされた。しかし、この説は冬期間中でも多量の柄胞子が捕捉されることを Heald⁹⁾ らが明らかにしたことから、後に否定されている。一方、リンゴ腐らん病菌については、富樫¹⁴⁾は具体的な数量値を示してはいないが本病原菌の越冬は主として未熟な子のう殻で行なわれ、子のう胞子が春から分散され第一次伝染の因となり、二次的伝染は柄胞子によることが多い¹⁴⁾、さらに柄胞子は湿潤な蒸暑い天候の時に噴出する¹³⁾と述べている。すなわち、子のう胞子を *Winter spore*、柄胞子を *Summer spore* とする考えに類似した見解である。しかし、筆者らの得た結果によれば、柄胞子は適当な水分を得れば冬期間でもかなりの量の放出が認められ、また、季節的な放出量の変動があるにせよその期間は長い。他方、子のう胞子の分散は前述のように夏期に形成されたときみなされる子のう殻から、すでに9月下旬から認められ、その後冬期間は少なくなるが翌年の7月上旬まで継続して認められた。このようにリンゴ腐らん病菌についてもクリ胴枯病菌と同様、子のう胞子を *Winter spore*、柄胞子を *Summer spore* とはみなし難く、富樫¹⁴⁾の説に基いて従来一般に考えられていたよりもむしろこれら両胞子の分散期間は長いものと考えられる。なお、Heald⁹⁾ らは冬期間中捕捉されるクリ胴枯病菌柄胞子は胞子角の形成が温暖な時期に限られるので、分散後樹体上に附着していたものが、冬の雨で流出し、捕捉されたと考えた。しかし、リンゴ腐らん病菌の柄胞子が冬期に捕捉されるのは、夏期に分散され樹体表面に附着していた胞子の捕捉も否定出来ないが、冬期間の若干の融雪水によって新たに胞子角が形成されるのを圃場で観察出来るので、多くは冬期間に殻内より噴出した胞子が捕捉されたものと考えられる。

分散に関与する要因

クリ胴枯病菌⁸⁾、モモ胴枯病菌¹⁴⁾、リンゴ腐らん病

菌^{6,12)}, カンキツ黒点病菌¹⁷⁾, さらにはカラマツ先枯病菌 (*Guignardia iaricina*)¹⁸⁾の柄胞子は分散されるにあたり、まず飽和湿度に近い条件下で柄子殻が吸湿し、一旦胞子角として殻外に噴出される。さらに、これら胞子角は粘着性に富んでいることから空中飛散に適さないとされているので、その分散には降雨による水分供給の占める役割が極めて高いと考えられる。リンゴ腐らん病菌における筆者らの結果によっても、降雨が全くないか、あるいは1 mm以下の場合にはほとんど捕捉されず、降雨と密接な関係が示された。そして、調査期間当りの捕捉胞子数は降雨よりもむしろ降雨の頻度と正の相関が認められた。また、前述した病原菌には温度が柄胞子分散に関与しているものがある。例えば、カラマツ先枯病菌では25°C前後で¹⁸⁾, モモ胴枯病菌⁷⁾, クリ胴枯病菌³⁾では温暖条件下で最もよく胞子が噴出され、分散されるとされている。しかし、リンゴ腐らん病菌では、宇井ら¹⁵⁾は温度は柄胞子噴出に影響の少ない要因と報告しており、筆者らの圃場における胞子捕捉試験によっても、温度との有意な関係が認められなかったことから、柄胞子分散に対して温度は直接的影響の少ない要因と考えられる。

他方、リンゴ腐らん病菌の子のう胞子分散に関与する要因については先に報告した⁹⁾。すなわち、子のう胞子分散の基本的外的要因は水分供給であり、温度は比較的影響の少ない要因であった。しかし、野外での胞子捕捉によれば、晩秋に多くの子のう殻内に胞子が内蔵されていたにもかかわらず冬期間はあまり捕捉されなかった。これに類似した事実はクリ胴枯病菌^{3,5)}, モモ胴枯病菌¹⁴⁾にみられ、特にクリ胴枯病菌では冬期間全く子のう胞子は捕捉されないという。この点に関し、Healdらは子のう胞子射出適温が20~26°Cであるため、冬期間は捕捉されないとしている⁴⁾。しかし、リンゴ腐らん病菌の場合、子のう胞子射出には温度は比較的影響の少ない要因であるので、冬期間子のう胞子の捕捉数が少ないのは子のう胞子射出の基本的要因である水分供給が、この間、主に固相の雪としてであったこと、液相の水分供給が日中のわずかな樹体上の融雪水であったことに起因すると考察出来る。2月中旬でもみぞれが降り、液相の水分供給が豊富な場合には、多量に胞子捕捉されたのはこの傍証であろう。なお、このことはまた、冬期間に柄胞子捕捉数が比較的小なかった原因とも考えられる。

本病原菌柄胞子を3月下旬から10月まで、樹体に接種したところ、枯死部に侵入、潜伏し、条件によっては発病に到った¹¹⁾。また、本試験の結果、本病伝染源

は年間を通し分散され、特に柄胞子は秋期に多量に捕捉された。これらの事実から、3月下旬から10月までは本病感染の可能な期間と考えられ、さらに、モモ胴枯病では秋期感染の重要性が知られており^{2,14)}, Bier¹⁾によれば本病のような病害に対し樹木は休眠期間中一般に感受的であるとされていることなどから、秋から初春にかけての感染状況、さらには秋期および発芽前防除の可能性についても更に検討を加える必要がある。

引用文献

- 1) BIER, J. E. 1964: The relation of some bark factors to canker susceptibility. *Phytopathology* 54: 250—253.
- 2) DHANVANTARI, B. N. 1968: Effects of selected fungicides on germination of conidia of *Cytospora cincta* and *C. leucostoma* in vitro. *Can. J. Plant Sci.* 48: 401—404.
- 3) HEALD, F. D. and M. W. GARDNER, 1913: The relative prevalence of pycnosporos and ascospores of the chestnut blight fungus during the winter. *Phytopathology* 3: 296—305.
- 4) ————— and R. C. WALTON, 1914: The expulsion of ascospores from the perithecia of the chestnut blight fungus, *Endothia parasitica* (MURR.) AND. *Am. J. Bot.* 1: 499—521.
- 5) ————— and R. A. STUDHALTER, 1915: Seasonal duration of ascospore expulsion of *Endothia parasitica*. *Am. J. Bot.* 2: 429—448.
- 6) 平良木 武 1972: リンゴ腐らん病に関する研究, 第一報 発生状況および発生生態に関する2,3の知見. 岩手園試研報 2: 29—42.
- 7) LUEPSCHEN, N. S. and K. G. ROHRBACH, 1969: *Cytospora* canker of peach trees: spore availability and wound susceptibility. *Plant Dis. Repr.* 53: 869—872.
- 8) RANKIN, W. H. 1914: Field studies on the *Endothia* canker of chestnut in New York State. *Phytopathology* 4: 233—260.
- 9) 斎藤 泉, 田村 修, 高桑 亮 1972: リンゴ腐らん病菌, *Valsa ceratosperma* の子のう胞子の分散様式. 日植病報 38: 367—374.

- 10) 田村 修, 斎藤 泉, 高桑 亮 1971: リンゴ腐らん病菌の孢子形成および分散の季節的变化. 日植病報 37: 406 (講要).
- 11) ———, ———, ——— 1972: リンゴ腐らん病菌の感染時期. 日植病報 38: 185—186 (講要).
- 12) TOGASHI, K. 1924: Some studies on a Japanese apple canker and its causal fungus, *Valsa mali*. Jour. Coll. Agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 12: 265—324.
- 13) 富樫浩吾 1924: リンゴ樹の腐らん病について. 園芸 16: 32—38.
- 14) ——— 1950: 果樹病学, 朝倉書店, 東京.
- 15) 宇井格生ほか 1966: リンゴ腐らん病に関する試験研究. 昭和40年道科研報.
- 16) 牛山欽司 1973: 温州ミカンの黒点病に関する研究, 第2報 完全時代存在と子のう孢子の病原力について. 日植病報 39: 120—126.
- 17) 山田峻一, 山本省二 1961: 柑橘黒点病および軸腐病の伝染に関する研究. 東海近畿農試研報 (園芸) 6: 108—116.
- 18) YOKOTA, S. 1966: Ecological studies on *Guignardia iaricina* (SAWADA) W. YAMAMOTO et K. ITO, the causal fungus of the shoot blight of larch trees, and climatic factors influencing the outbreak of the disease. Bull. Govt. For. Expt. Sta. 184: 1—79.

Seasonal Fluctuation of Spore Production and Dispersal
in *Valsa ceratosperma* (= *V. mali*), the Causal Fungus
of Japanese Apple Canker

Osamu TAMURA,* Izumi SAITO*, Makoto TAKAKUWA* and Tetsushiro BABA**

Summary

Accompanying with canker development, pycnidia were produced abundantly from May to September. Under favorable conditions, conidial spore-horns appeared within one month after the inoculation with mycelial inocula.

In July when a gutter-trap experiment was started, many pycnosporos were trapped with rain water from the canker areas which had been developing since early spring. These number slightly decreased in August and became swollen in late fall. Pycnosporos were dispersed even in winter by melting snow, and the dispersal from such over-wintered canker areas continued until August. Pycnosporos counts did not correspond with the rain precipitation, but with the rain frequency during a given period.

On the other hand, perithecial stromata, including immature perithecia, were at first detected in August on canker areas which had developed in the early spring. Subsequent microscopy on such stromata showed that perithecia mostly matured by the first of November.

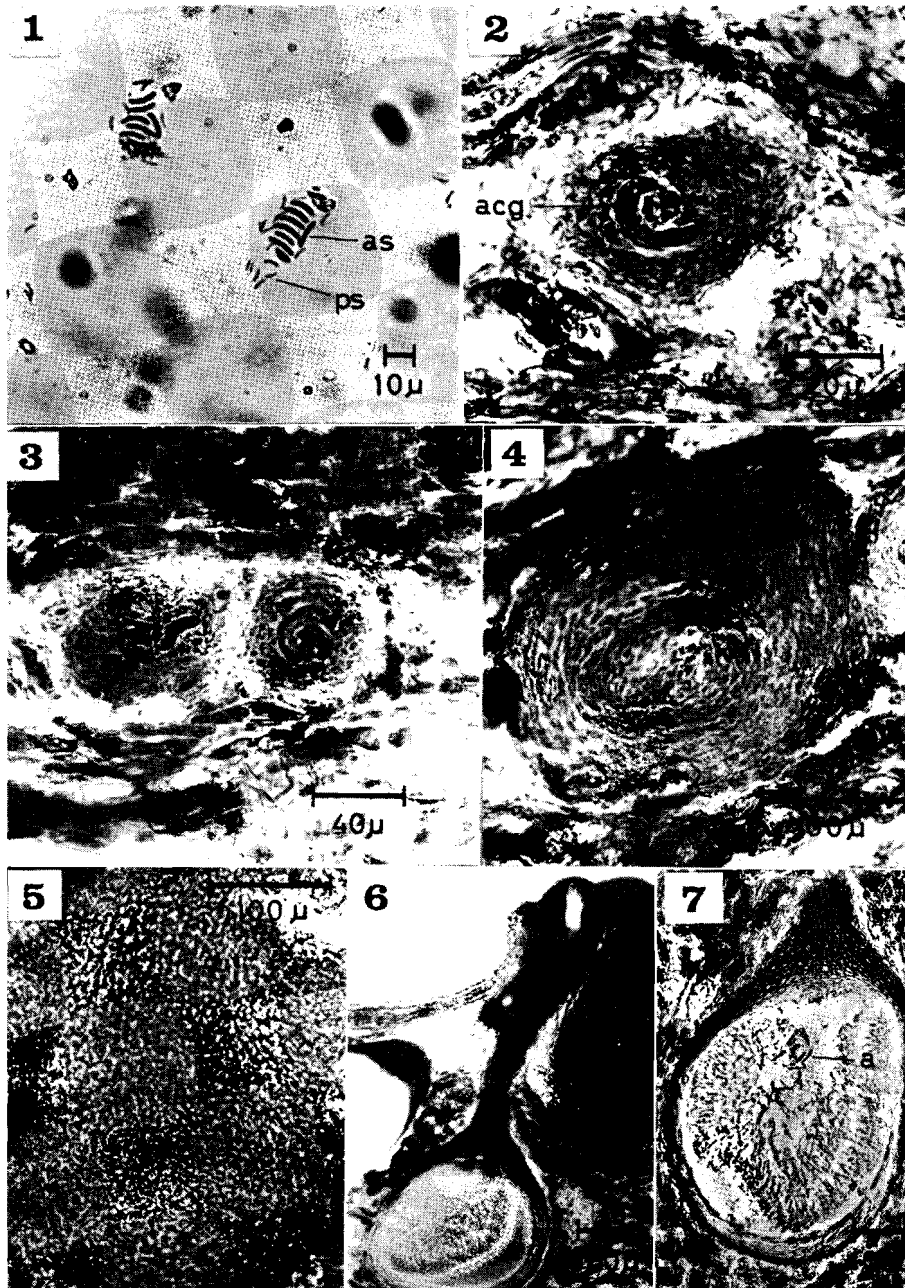
Ascospore dispersal was studied by the slide-trap method for the ascospores ejected into the air and by the gutter-trap method for those washed down with rain water. These two types of ascospore dispersal from the perithecia began in the early fall and ceased the next summer. The number of trapped ascospores was scarce from early fall to the first of March, and was most abundant from April to June.

From these results, it is concluded that although the doses fluctuate seasonally, inocula of Japanese apple canker are present throughout the year in an orchard by either dispersal of pycnosporos or that of ascospores; this raises a further problem of the most effective timing for fungicide application to control this disease.

* Hokkaido Central Agricultural Experiment Station, Naganuma, Hokkaido, 069—13 Japan.

** Ibid. (Present Address. Hokkaido Prefectural Donan Agricultural Experiment Station, Ono, Kameda, Hokkaido, 041—12 Japan.)

Plate I



Explanation of plate

- Fig. 1 Ascospores (as) and pycnosporos (ps) caught on a glass slide. Note 8 ascospores within a projectile.
- Fig. 2,3 Vertical section of perithecial primordia embedding in host tissue. Note dense cytoplasmic, ascogonium-like hyphae (acg) in the primordia.
- Fig. 4,5 Vertical section of an immature perithecium.
- Fig. 6 Vertical section of mature perithecia embedding in host tissue.
- Fig. 7 Vertical section of a mature perithecium containing asci (a).