

# モモ黒斑病の病原体，発生生態 及び防除に関する研究

井上 幸次

Studies on Pathogen, Epidemiology and Management of  
Black Spot of Peach

Koji Inoue



## 序

岡山県特産のモモを代表する「清水白桃」は、県内での栽培面積が34%を占める主力品種であり、全国に名声を博している。

ところが、平成3年ころから県南部の一部産地で、「清水白桃」の果実にかさぶた状の斑点が生じる障害が多発して、外観を損ね商品価値が著しく低下したことから深刻な問題となり、他産地への蔓延も危ぐされたため、防除対策の確立が強く要請された。

そこで、本障害の原因究明と防除対策確立に向けた研究が開始され、この障害は我が国では未知の病害であることが判明し「黒斑病」と命名された。そして、病原菌の病理学的諸特性、伝染方法並びに多発要因、耕種的・化学的防除法が解明された。さらに、本病に抵抗性を持つ新品種「清水白桃RS」が育成され、農薬への依存を大幅に削減できる総合防除法が樹立された。これらの成果により、崩壊が危ぐされた産地での広域的な蔓延を阻止することができ、安定生産を可能にした。

本論文は、病虫研究室井上専門研究員が平成7年の研究開始以来逐次発表してきた一連の研究成果を取りまとめたもので、実用性は勿論のこと、学術的にも貴重な業績であるので、広く刊行し、一般の参考に供する次第である。

なお、本論文は同氏が平成14年3月25日に岡山大学から授与された博士（農学）の学位論文であることを付記しておく。

平成18年9月

岡山県農業総合センター農業試験場長

沖 和 生

## 目 次

緒 言	79
第1章 モモ黒斑病の病徴及び病原体	82
第1節 病 徴	82
1 黒斑病の病徴	82
2 黒斑病と類似病害との病徴比較	82
第2節 病原菌の分離	83
第3節 病原菌の病原性	83
1 モモに対する病原性	83
(1) 果実への病原性	83
(2) 果実の生育ステージと発病	85
(3) 葉位と発病	86
(4) 葉の生育ステージと発病	86
(5) 1年生枝の部位と発病	86
(6) 果実, 葉における発病までの期間	87
(7) 温度と果実, 葉の発病	88
(8) モモ品種と発病	88
1) 接種による発病の品種間差異	88
2) 自然発生圃場における発病の品種間差異	88
2 モモ以外の植物に対する病原性	90
第4節 病原菌の形態, 同定	91
1 病原菌の形態	91
2 生育に及ぼす温度の影響	92
3 リボソームRNA遺伝子(rDNA)のRFLP解析	93
第5節 考 察	93
第2章 モモ黒斑病菌の毒素産生	95
第1節 モモ黒斑病菌の産生する宿主特異的毒素	95
1 培地の種類が毒素産生に及ぼす影響	95
2 培養日数が毒素産生量に及ぼす影響	96
3 毒素作用の宿主特異性	96
4 モモ品種間の毒素感受性	97
5 分生子発芽時の毒素産生能	98
6 病原性と毒素産生能との相関	98
7 毒素で処理されたモモにおける非病原菌の感染誘導	98
第2節 毒素によるモモ葉中のエチレン生成の誘導	99
1 モモ黒斑病菌の接種によるモモ葉のエチレン生成	99
2 毒素処理によるモモ葉のエチレン生成	100
第3節 考 察	103

第3章	モモ黒斑病菌の伝染並びに伝染・発病と気象との関係	105
第1節	枝病斑における <i>Alternaria</i> spp. の分生子形成	105
1	<i>Alternaria</i> spp. の分生子形成消長	105
2	枝病斑上に形成された <i>Alternaria</i> spp. の分生子中のモモ黒斑病菌の頻度	106
3	<i>Alternaria</i> spp. の分生子形成と気象との関係	106
第2節	発生圃場における空気中の黒斑病菌の飛散	108
1	空气中を飛散する <i>Alternaria</i> spp. の捕捉と時刻別飛散消長	108
2	時期別飛散消長	110
第3節	黒斑病の発病推移と気象との関係	110
1	果実、葉、枝の発病推移	110
2	果実の発病部位と病斑の拡大	111
3	枝における発病位置と進展状況	113
4	発病推移と気象との関係	114
5	多発生圃場と未発生圃場との気象条件の比較	114
第4節	考 察	115
第4章	防除法	118
第1節	袋掛け及び雨よけによる防除	118
1	袋掛けによる防除	118
(1)	慣行袋の効果	118
(2)	殺菌剤処理袋の効果	118
2	雨よけによる防除	118
第2節	有効薬剤の選抜	119
1	室内試験における有効薬剤の選抜	119
(1)	分生子発芽に対する抑制効果	119
(2)	葉、果実の発病に対する予防効果	120
(3)	葉、果実の発病に対する治療効果	121
(4)	枝病斑の分生子形成に対する抑制効果	121
2	圃場における有効薬剤の選抜	122
(1)	圃場で散布した薬剤の発病抑制効果と残効	123
(2)	幼果の生育ステージと薬剤の効果及び残効	125
(3)	自然発生圃場における薬剤の防除効果	125
第3節	有効薬剤を用いた体系防除	126
1	体系防除の効果	126
2	体系防除による枝病斑の分生子形成抑制効果	128
3	体系防除区における薬剤の残効	129
第4節	考 察	131
第5章	放射線照射法による抵抗性品種の作出と総合防除	133
第1節	抵抗性系統の選抜	133
第2節	選抜された抵抗性系統‘清水白桃RS’の抵抗性と諸形質	134
1	室内における抵抗性試験	134
2	県内各地の黒斑病菌に対する抵抗性	135
3	黒斑病発生圃場における抵抗性	135
4	‘清水白桃RS’の諸形質	135

第3節 総合防除.....	136
1 ‘清水白桃RS’ と薬剤との組合せ効果（室内試験）.....	136
2 ‘清水白桃RS’ と薬剤との組合せによる省力防除（圃場試験）.....	137
第4節 考 察.....	137
第6章 総合考察.....	138
摘 要.....	142
引用文献.....	144
英文摘要.....	148

## 緒言

岡山県におけるモモ栽培は明治時代の初頭に‘上海水蜜’、‘天津水蜜’が導入されたのを機に本格的に始まり、瀬戸内地方の温暖な気象条件を生かして、1900～1960年頃までは全国で常に第1、2位の栽培規模を誇り、1958～1961年のピーク時には栽培面積2,050ha、生産量19,300tに達した。その後、県南部を中心に工業化の進展や産業構造の変化などにより栽培面積の減少が続いたが、岡山市、倉敷市、赤磐市などの古くからの産地では、新改植・品種の転換による産地の維持・強化が進められるとともに、県中北部の新見市、岡山市（旧御津郡）、勝田郡などにおいても1970年頃から産地形成が図られ、1975年以降、栽培面積、生産量ともほぼ横ばいで推移してきた。2000年現在、岡山県のモモの栽培面積は約749ha、生産量は約9,660tで、新興産地の山梨、福島、長野県などに次いで全国第5位、粗生産額は約46億円（中国四国農政局統計情報部 1999年）で第4位である。県内の果樹としてはブドウの約102億円（同上）に次いで、第2位の品目であり、岡山県の果樹生産の重要な柱になっている。

1901年に岡山県赤磐郡瀬戸町において大久保重五郎氏は‘上海水蜜’を品種改良して‘白桃’を生み出し、その強い甘みとねっとりとした舌触りから最高の「水蜜桃」と評され、本県特有の白い桃のイメージが定着した。本県におけるモモの品種構成は‘日川白鳳’、‘橋場白鳳’、‘白鳳’などの白鳳系と‘紅清水’、‘清水白桃’、‘大和白桃’、‘川中島白桃’、‘白桃’などの白桃系に大別されるが、このうち、‘清水白桃’は1932年に岡山市佐山の清水地区で西岡伸一氏によって育成され、甘み、肉質、芳香に優れ、果皮色が乳白色で美しく、自家結実性も有していたことから県内各地に次第に拡大した。現在では本県の栽培面積の34%を占め、外観、品質とも王座と言われる岡山県のモモの主要品種となり、進物用モモの中核として生産農家の経営に大きく貢献している。

ところが、1991年頃から、岡山県南部の一部のモモ産地で‘清水白桃’の果実表面に茶褐色のかさぶた状の斑点が生じて、商品価値を著しく低下させる病害が問題となった。多発圃場ではこの病害のために全く出荷ができないほど深刻で、一部の園では‘清水白桃’の栽培をあきらめ、樹を伐採したところもあった。本症状は、果実表面に亀裂や窪みを伴う斑点を生じる点ではモモせん孔細菌病に類似していたが、斑点の色、形状、大きさ等が異なっており、既知の病害で該当するものはなかった。発生圃場においては、黒星病、灰星病、せん孔細菌

病などに対する薬剤防除は十分に行われており、いずれの病害の発生も全く認められなかったが、本症状だけは多発し、発生地域の拡大が懸念された。このような状況の中で、1995年になって、現地の栽培者、農業協同組合の要請によって、岡山県農業総合センター農業試験場が本病の原因究明に乗り出した。この結果、かさぶた状の病斑からは糸状菌の一種である *Alternaria* 属菌が高率に分離され、本菌をモモの幼果に接種すると自然発病と同様の症状が再現されることを明らかにし、この菌が本病害の病原菌であることを突きとめた。続いて、病原菌の培養上の諸性質、形態を詳細に調べるとともに、遺伝子の制限酵素断片長多型（Restriction Fragment Length Polymorphism: RFLP）の解析結果を総合して、本菌をナシ黒斑病、リンゴ斑点落葉病菌と同種の *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler と同定した。本菌によるモモの病害は国内では未報告であることから、本病を黒斑病 (black spot) と命名した。本菌はモモに対してのみ強い病原性を有しており、生育期のモモの果実、葉、枝を激しく侵す *A. alternata* としては世界初の発見となった。

植物病原性の *A. alternata* にはこれまでに7種の病原型 (pathotype) が報告されており、それぞれ異なる宿主特異的毒素 (host-specific toxin: HST) を生産する (Nishimura and Kohmoto, 1983)。本論文では、モモ黒斑病菌が培養濾液や分生子の発芽液中に、モモの葉や果実に褐変を引き起こす毒素成分を産生することを見い出し、この毒素が本菌のモモに対する宿主特異的な病原性を決定づけている新規の HST であることを明らかにした。

以上のように、本症状がモモの新病害であることが判明したが、先述したように本病の病原体 *A. alternata* は、ナシ黒斑病菌、リンゴ斑点落葉病菌、イチゴ黒斑病菌などと同種の病原菌である。ナシ黒斑病は罹病性品種‘二十世紀’の栽培100年間の歩みの中で最も重大な減収要因であり、今なお防除のために多大の資材と労力を必要としている。また、リンゴ斑点落葉病は1956年に岩手県南部で激しい落葉を伴う病害として発見され、‘印度’やデリシヤス系品種を中心に、2～3年の内に東北地方を中心にリンゴ生産県のほぼ全域に拡大し、猛威をふるった (平良木, 1973)。本病は多発すると早期落葉を招き、被害が大きく、発生期間も長期に及ぶことから、現在でもリンゴの重要病害と位置づけられている。また、イチゴ黒斑病は1977年に岩手県で当時イチゴの新品種として作付けが拡大しつつあった‘盛岡16号’に突発的に激発し、本品種の重大な生産阻害要因となった (渡辺ら, 1977; Maekawa *et al.*, 1984)。このように *A.*

*alternata* による病害は、罹病性品種の栽培圃場では激発型となる事例が多く、分生子による空気伝染が行われるため伝染力が強いことが特徴である。

モモ黒斑病はその発生が県南部のごく一部の圃場に限定されていたが、岡山県の主要品種である‘清水白桃’に特異的に多発したため、発生地域の拡大が懸念され、緊急的な対策が強く求められていた。しかし、本病は新病害であり、前述のように従来の慣行的な糸状菌病の防除法では抑えることができず、防除法は全く不明であった。そこで、筆者らは1996年から発生生態の解明と防除法の確立を目指して試験研究を開始した。

まず、防除対策に向けた基礎的知見を得るため、発病に関わる諸要因、伝染方法、耐病性の品種間差異、発病推移と気象との関係など本病の発生生態を詳細に解析した。その結果、‘清水白桃’が本病に対して極めて罹病性の高い品種であること、果実は袋掛け前の果実生長第1期が最も罹病しやすいこと、本病菌の感染力は非常に強く、伝染源となる本菌の分生子はモモの生育期の長期間にわたり飛散すること、降雨により発生が助長され、病勢の進展が急激であることなどが明らかになった。黒斑病の被害を抑えるには、‘二十世紀’ナシの黒斑病対策と同様に、伝染源の除去による圃場衛生対策、袋掛けと有効薬剤の定期的な散布の徹底が必須と考えられた。そこで、袋掛けや雨よけなどの耕種的防除法の効果を確認するとともに、本病に対する予防効果、分生子形成の抑制、残効性に優れる薬剤を選抜した。さらに、選抜された有効薬剤を中心に、黒星病、灰星病などとの同時防除も考慮しながら、モモの生育期間を通じた体系防除を組み立て、その効果を経年的に解析した。その結果、袋掛けと体系防除を組み合わせることによって平年並の発生であれば、‘清水白桃’果実の被害がほとんど出現しない程度にまで防除することが可能となった。

しかしながら、年次によっては、成熟果に出現する径1～2mm程度の病斑を十分に防除できない事例もあり、多発時における防除には課題が残されていた。また、体系防除は特に4～5月を中心に年間の散布回数が多くならざるを得ないため、労力、コスト、環境保全や社会的要請の面から問題があった。一方、生産者の‘清水白桃’に対する栽培意欲は強く、また、消費者からも進物向け品種としての需要が高いことから、抜本的な解決策が求められた。こうした背景から、ナシ黒斑病対策で実績のある放射線照射を利用した突然変異育種法による「黒斑病抵抗性の清水白桃」の作出に取り組んだ。その結果、1997年に黒斑病抵抗性を有する1系統を選抜し、果実の諸形質が従来の‘清水白桃’と同等であるこ

とを確認した。本系統の抵抗性は中程度であるため、先に述べた防除対策を併用することが必要であるが、体系防除における効果の安定化、散布回数の削減を図り、モモ黒斑病の総合防除法を確立するための基盤が築けたものと考えられる。これらの成果の一部は既に公表した(那須ら, 1996; 井上ら, 1996a; 井上ら, 1996b; 井上ら, 1997a; 井上ら, 1997b; 井上ら, 1998; 那須ら, 1998; 岩本ら, 1998; 井上ら, 1999; 辻井ら, 1999; Inoue *et al.*, 2000; 井上ら, 2000a; 井上ら, 2000b; 井上ら, 2001) が、本論文は未発表の成果も含めて取りまとめたものである。

本論文を草するに当たり、懇切なご指導を賜りご校閲の労をとって頂いた岡山大学農学部教授白石友紀博士、同教授稲葉昭次博士、同教授杉尾剛博士に心から深謝の意を表す。また、共同研究者としてご協力頂くとともに終始懇切なご指導と本稿のご校閲を賜った岡山大学農学部助教授山本幹博博士、本稿のご校閲を賜った岡山大学資源生物科学研究所助教授鈴木信弘博士、病原菌の同定に当たり懇切なご指導と供試菌株の分譲を賜った名古屋大学大学院生命農学研究科教授柘植尚志博士、佐賀大学農学部助教授草場基章博士、鳥取県米子農業改良普及所渡辺博幸氏、鳥取県園芸試験場環境研究室安田文俊氏、放射線照射にご尽力とご指導を賜った前農林水産省農業生物資源研究所放射線育種場業務科長大内進氏、ご助言と激励を賜った岡山大学農学部名誉教授奥八郎博士、元弘前大学農学部教授沢村健三博士、元岡山県立農業試験場長藤井新太郎博士、同元病虫部長岡本康博博士、同元病虫部長畑本求博士、本論文の取りまとめにご高配を頂いた同元場長高木伸友博士、本研究の端緒を与えられ研究当初から多大なご支援とご指導を賜った同元病虫部長平松高明氏、終始暖かい激励とご指導を頂いた岡山県農業総合センター農業試験場元副場長故田中福三郎博士、同元副場長依田征四氏、同元副場長粕山新二氏、共同研究者として研究の遂行に多大なご援助とご指導頂いた同北部支場長那須英夫博士、有益なご助言とご指導を頂いた同作物研究室長伊達寛敬博士、同病虫研究室長永井一哉博士、研究遂行上ご助力をいただいた同主任技術員藤原恭一氏、同病虫研究室関係各位、抵抗性品種育成で共同研究にご協力頂いた同果樹研究室各位、現地試験・調査でご支援を頂いたJA全農岡山和田泰氏、元JA全農岡山竹原節氏、元JA岡山斎藤温郎氏、JA岡山青木定彦氏、同武田祐一氏ほか関係の農業協同組合、専門技術員(現普及指導課)、農業改良普及センター(現農業普及指導センター)、現地農家の各位に心から感謝の意を表す。



なお，本研究は農林水産省から1997～1999年には「モモ黒斑病の発生生態の解明と防除対策の確立」及び2000，2001年には「モモ黒斑病の多発要因の解明と総合防除法の開発」の研究費として，また，1997年から

4か年間は岡山県から「放射線照射によるモモの新品種育成」の研究費として助成を受けた。記して謝意を表す。

## 第1章 モモ黒斑病の病徴及び病原体

1991年頃から、岡山県南部の一部のモモ産地で‘清水白桃’の果実表面に茶褐色のかさぶた状の斑点が生じて、商品価値を著しく低下させる病害が発生して問題となった。以下の結果が示すように、本症状はモモの新病害であることを明らかにし、「黒斑病」と命名した。本章では黒斑病の病徴を詳細に記載するとともに、類似した既知の病害との違いを検討した。

また、罹病したモモ果実、葉及び枝から病原体の分離を行い、分離菌のモモに対する病原性を調べることで、病原体を特定し、その形態的諸性質から病原体の同定を行った。

さらに、病原体の接種による果実・葉の生育ステージ、葉位及び1年生枝の部位と発病との関係、果実・葉における潜伏期間、発病と温度との関係、モモ品種と発病との関係を検討するとともに、モモ以外の植物に対する病原性を調べ、病原体の病理学的な性質について検討した。

### 第1節 病徴

黒斑病はモモの果実、葉、枝に発生し、収穫果実の商品性を著しく低下させる。本病害の果実、葉、枝での病徴を詳細に観察するとともに、類似した既知病害との病徴比較を行った。

#### 1 黒斑病の病徴

##### 材料及び方法

1995～2000年の4月から10月に、岡山市大窪地区の本病が発生している圃場において、モモ‘清水白桃’における病徴を肉眼及び光学顕微鏡で観察した。

##### 結 果

本病は幼果、成熟果、葉、枝に発生し、まれに花器、芽にも発生する。

花器では開花1週間後頃から、萼全体が茶褐色に変色し萎れ、いわゆる「花腐れ」症状を呈する(図版I-1)。芽では開花期以後に不発芽または発芽間もない芽が茶褐色になって枯れる「芽枯れ」症状を呈する(図版I-2)。

幼果では初め径約2～3mmの淡褐色ないし茶色の円形病斑(図版I-3)で、次第に拡大して中心部はやや窪む(図版I-4)。後に拡大して、5～10mmの褐色～黒褐色のかさぶた状となり、病斑内部に亀裂や樹脂の

漏出を伴う。病斑上には分生子を形成する。成熟果では数mm～約20mmの不整形でかさぶた状を呈し(図版I-5, 6, 7)、果肉の腐敗は伴わない。果実の肥大に伴い病斑周囲の健全部にまで1～数cmにもなる大きな亀裂を生じるものもある(図版I-8)。

葉では初め5～10mm、退緑色または灰色(図版II-1, 白矢印)で、円形ないし不整形の斑点を生じ、数日後に茶褐色となり、穿孔する(図版II-1 黒矢印, II-2)。また、しばしば葉脈に沿った大型の褐変や穿孔がみられたり(図版II-3)、葉柄や蜜腺付近に病斑を生じる(図版II-4)。多発すると早期落葉する。

1年生枝では初め径2～5mmの赤～淡褐色の円形ないし楕円形病斑を形成する(図版II-5)。その後、拡大して暗褐色の輪紋状となり、やや窪む。しばしば病斑周辺は赤紫色を呈する(図版II-6)。1～2週間後には、病斑の中心に縦に亀裂を生じ、樹脂を漏出する(図版II-7)。病斑部の褐変は木質部まで達する(図版II-8)。病斑がいくつか癒合して長さ数cmに達することもあり、細い枝では病斑から先が枯れることもある。枝の成熟が進むと病斑の中心は灰褐色、周辺部は黒褐色でかさぶた状の越冬病斑となる(図版II-9)。

#### 2 黒斑病と類似病害との病徴比較

##### 材料及び方法

黒斑病のモモの部位別の病徴について、類似病害のせん孔細菌病、黒星病の病徴と比較した。また、葉の病徴は除草剤の薬害とも類似するので、両者を比較検討した。

##### 結 果

モモ黒斑病の果実の症状は、茶褐色ないし黒褐色を呈し、周囲がやや不定形のかさぶた状で果肉が腐敗しないのが特徴である。類似病害のせん孔細菌病は、果実病斑の色調が濃い黒褐色で径5mm以下の円形であること、黒星病は、暗緑色ないし緑黒色で径5mm以下の円形でかさぶた状を呈しない点で、黒斑病とは異なる。また、黒斑病の枝の症状は、円形ないし楕円形または不定形で暗褐色の輪紋状となり、窪み、縦方向の亀裂、樹脂漏出のいずれかを伴うのが特徴である。これに対し、せん孔細菌病は紫紅色ないし暗紫色で、病斑部が縦に深い亀裂を生じた後に病斑全体が平たく窪み、芽付近に形成されることが多い。黒星病では窪み、亀裂及びヤニを生じることはなく、しかも組織の褐変は表皮のみで木質部に達しない点で本病とは異なる。黒斑病の果実や枝の病斑上には

光学顕微鏡により、茶褐色の菌糸や後述するような倒こん棒状の分生子が多数認められる。さらに、黒斑病の葉の症状は、茶褐色の円形ないし不整形で、健全部との境界が明瞭で、径数mmないし数cmと大きく、葉脈沿いに拡大し、抜け落ちるのが特徴である。なお、黒斑病の発病2～3日後の葉の病斑周辺部では病原菌の増殖はほとんど認められない。せん孔細菌病の症状は1～2mmの多角形で大きさが揃っており葉脈沿いに拡大しない点で異なる。また、黒星病は葉に発病しない。このように、黒斑病は既知病害のせん孔細菌病、黒星病とは異なる病徴を示すことから、肉眼的にも診断可能であった。

また、葉の病斑は接触型除草剤の飛沫による葉害と類似していたが、この場合は地表面に近い樹の低い位置を中心に分布し、円形で葉脈に沿うことはなく、病斑内部の色調が単一の淡褐色であること及び出現時期が斉で一過性であることなどの点で黒斑病とは明らかに異なっている。

以上の観察結果、本病は果実、葉、枝に発病し、既知の伝染性病害とは病徴が異なること及び病斑部に特定の糸状菌が高頻度に観察されることから、本病は新規の病原糸状菌に起因する病害と推察した。

## 第2節 病原菌の分離

本病の病原菌を明らかにするため、罹病した果実、葉及び枝から病原菌の分離を行った。

### 材料及び方法

1995年5～8月、岡山市大窪地区の本病が発生しているモモ圃場で採集した‘清水白桃’の幼果、成熟果、枝(1年生枝、2年生枝)及び葉の病斑部を供試した。これらの組織片を次亜塩素酸ナトリウム水溶液(有効塩素2%)で約30秒間表面殺菌し、殺菌水で洗浄後、ショ糖

加用ジャガイモ煎汁寒天(以下PSA)培地上に置床し、25℃で約10日間培養した。各病斑から分離された糸状菌は顕微鏡観察により属名を調べ、分離頻度を算出した。

## 結 果

幼果、成熟果、枝、葉の病斑部からは、*Alternaria*属菌が高率に分離された。*Alternaria*属菌はPSA培地上で灰黒色、ピロード状、気中菌糸が多く、分生子形成の少ないタイプ(Aタイプ)、濃緑色ないし黒色、フェルト状、気中菌糸がほとんどなく、分生子形成が旺盛なタイプ(Bタイプ)の2タイプに大別され、Aタイプの分離率が高かった。*Alternaria*属菌以外には*Cladosporium*、*Phomopsis*、*Fusarium*属菌などが分離された(表1-1)。

## 第3節 病原菌の病原性

前節の実験で分離した*Alternaria*属菌及びその他の分離菌の病原性を確認するため、モモ幼果に対する接種試験を行い、病徴が再現されるかどうかを検討した。次に、病原性の認められた菌を用いて、果実・葉の生育ステージ、葉位及び1年生枝の部位と発病との関係、果実・葉における接種後の潜伏期間、発病と温度との関係、モモ品種と発病との関係を検討するとともに、モモ以外の植物に対する病原性も検討した。

### 1 モモに対する病原性

#### (1) 果実への病原性

### 材料及び方法

モモ果実への病原性試験は1995、1996年に黒斑病が発生していないモモ圃場で行った。1995年には、前年に罹病幼果から分離した*Alternaria*属菌Aタイプ9菌株、同Bタイプ2菌株、酵母菌2菌株、未同定菌1菌株を供

表 1-1 モモの病斑部位からの糸状菌の分離頻度

分離月日	分離部位	供試病斑数	分離菌の検出頻度 (%) <sup>a)</sup>						
			<i>Al.</i> (Aタイプ) <sup>b)</sup>	<i>Al.</i> (Bタイプ) <sup>b)</sup>	<i>Cl.</i>	<i>Ph.</i>	<i>Fu.</i>	酵母菌	その他
1995.5.31	幼果	57	83	16	9	0	18	9	22
7.27	成熟果	25	64	12	0	0	4	0	0
7.31	成熟果	18	94	17	0	17	6	0	3
7.31	1年生枝・葉	12	67	22	0	0	0	0	0
8.8~11	成熟果	20	85	10	20	15	30	0	15
8.17~23	1年生枝	42	64	40	29	2	0	0	38
8.17	2年生枝	6	100	33	0	0	0	0	0
8.17	葉	20	75	5	10	0	0	0	55

a) *Al.*:*Alternaria*属菌, *Cl.*:*Cladosporium*属菌, *Ph.*:*Phomopsis*属菌, *Fu.*:*Fusarium*属菌

b) Aタイプ: 灰黒色, ピロード状, 気中菌糸が多, 分生子形成が少

Bタイプ: 濃緑色ないし黒色, フェルト状, 気中菌糸が無, 分生子形成が多

試した。PSA培地上に25℃で約10日間培養した各菌株の5mm角の菌叢片を、あらかじめ袋掛けしておいた樹上のモモ‘白鳳’、‘清水白桃’の幼果の赤道部に6月2～4日に張り付け、ビニルテープで固定し接種し、再び袋掛けした。1果に1菌叢を張り付け、1菌株当たり10果を供試した。果実の発病調査は、‘白鳳’では7月21日、‘清水白桃’では8月1日に行った。

1996年は、1995年にモモから分離した *Alternaria* 属菌の単孢子分離菌株を供試して、それらの分生子による接種でモモに対する病原性を検討した。モモ罹病果実由来の2菌株(9544, 9549株)、罹病枝由来の2菌株(9502, 9506株)、罹病葉由来の2菌株(9528, 9533株)、比較対照として、名古屋大学より分譲を受けたナシ黒斑病菌 (*Alternaria alternata* Japanese pear pathotype) 1菌株(15A株)、リンゴ斑点落葉病菌 (*A. alternata* apple pathotype) 1菌株(B-2-2株)を供試した。モモからの6菌株はPSA培地上での分生子形成が不良であったので、以下の方法で分生子を形成させた。各菌株を300ml三角フラスコに分注したアンズ煎汁液体培地(干しアンズ30gの煎汁にショ糖40gを加え、pH6.5に調製し、蒸留水で1Lとした)で25℃に、約3週間静置培養した。培地表面に形成された菌叢マットを水道水で十分洗浄した後、ティッシュペーパーで水分を除き、濾紙を敷いたシャーレに裏返しに並べた。室温、自然光下で7～10日間分生子形成を促した。分生子を綿棒で掻き取り、0.05% Tween20加用蒸留水中で懸濁し、濃度を約10,000個/mlに調製した懸濁液を接種源とした。モモ幼果への接種は分生子懸濁液に浸したペーパーディスク(径8

mm, 厚手, アドバンテック社製)をモモ‘白鳳’、‘清水白桃’の幼果に張り付ける方法で6月17, 26日の夕方に行った。1菌株あたり‘白鳳’、‘清水白桃’をそれぞれ10～17果ずつ供試した。成熟期に果実の発病状況を以下の基準で調査した。

$$\text{発病度} = [\sum (X_i \cdot n_i) / 4N] \times 100$$

$X_i$  = 発病指数 (0: 病斑のないもの, 1: 茶褐色の病斑が9個以下のもの, 2: 茶褐色の病斑が10個以上のもの, 3: 接種部の病斑が癒合し、かさぶた状を呈するもの, 4: 接種部が褐変し、へこみや亀裂を生じているもの)

また、病斑から再分離した *Alternaria* 属菌について以下の方法でモモ葉への病原性を調べた。すなわち、モモ‘清水白桃’の1年生枝の先端から3～5葉を2×3cmにトリミングし、蒸留水で湿らせた脱脂綿を敷いたシャーレに葉片の裏面を上にして並べた。シャーレ内の葉片に供試菌のPSA平板培地の培養菌叢片(4mm角)を葉片の両側に裏向きに置床して接種し、蓋をした。その後、24～27℃で温室に保ち、接種7日後まで葉の褐変状況を調査した。各区7葉片を供試した。

## 結 果

1995年の接種試験では、*Alternaria* 属菌Aタイプの9菌株のうち、8菌株は高い病原性を示し、接種部位に茶褐色のかさぶた状病斑を形成した。他の1菌株では淡褐色の斑点を形成したが、発病果率が低かった。*Alternaria* 属菌Bタイプの2菌株、酵母菌、未同定菌では病原性が

表 1-2 モモ果実病斑からの分離菌のモモ幼果に対する病原性

分離菌	菌株番号	供試品種 <sup>b)</sup>		
		白鳳	清水白桃①	清水白桃②
<i>Alternaria</i> sp. (Aタイプ)	9508	7/7 <sup>b)</sup>	3/3	4/4
	9515		3/3	3/3
	9520		3/3	4/5
	9527		(2)/10	
	9530		3/3	
	9538		3/3	
	9542		4/4	4/4
	9544		7/7	
	9546		3/3	
<i>Alternaria</i> sp. (Bタイプ)	9513		0/8	
	9521	0/10	0/9	0/10
酵母菌	9526		0/9	
酵母菌	9531	0/8		
未同定糸状菌	9532	0/14	0/10	0/9

a) 白鳳は1995年6月2日接種、清水白桃①は1995年6月3日接種、清水白桃②は1995年6月4日接種

b) 発病果実数(症状が軽微な果実数) / 調査果実数

認められなかった (表 1-2)。

1996年の接種試験では、モモ果実、枝、葉由来の6菌株ではいずれも‘白鳳’、‘清水白桃’の接種箇所やその近傍の果実表面に茶褐色のかさぶた状の病斑や褐色斑点病斑を形成した。発病程度には菌株間で差がみられたが、激しいものでは病斑径が2 cm程度となり、中心部が窪み、亀裂やヤニを生じて、自然発病のものと同様の病徴が再現された (図版Ⅲ-1)。いずれの菌株も‘白鳳’の果実に比べて、‘清水白桃’での発病度が高かった。また、接種で生じた病斑からは *Alternaria* 属菌が高率に再分離され、そのほとんどがモモ葉への無傷接種で病原性を有した。一方、ナシ黒斑病菌 (15A 株)、リング斑点落葉病菌 (B-2-2 株) はモモ果実に対する病原性は全く認めなかった (表 1-3)。

## (2) 果実の生育ステージと発病

### 材料及び方法

PSA 培地で培養したモモ黒斑病菌 96147株の分生子懸濁液を約120,000個/ml (Tween20 5,000倍加用) に調製して、接種源とした。供試果実は岡山農試内で栽培されたモモ7品種の幼果を用いた。1998年5月1, 8, 18, 25日, 6月11, 30日に採取した果実 (1品種あたり約10~24果) を横向きにして蒸留水で湿らせた脱脂綿上に並べた。分生子懸濁液25 $\mu$ l ずつを赤道部の1箇所に点滴接種した。接種後は20 $^{\circ}$ Cの定温器内の湿室に保持し、5日後に発病程度を調査した。発病度は、下記の式で算出した。

$$\text{果実の発病度} = [\sum (X_i \cdot n_i) / 3N] \times 100$$

$X_i$  = 発病指数 (0: 褐変のないもの, 1: 接種部のみに薄い褐変斑を生じているもの,

2: 接種部のみに濃い褐変斑を生じているもの, 3: 接種部が濃く褐変し窪みを生じたり、褐変部が接種部の外側に大きく拡大したもの)

## 結 果

5月1, 8及び18日接種区の‘清水白桃’では、接種部が濃く褐変し窪みを生じたり、褐変部が拡大する果実が多かったが、6月11, 30日接種区の生育が進んだ果実では褐色程度が薄く、窪みを生じなくなった。他の品種の発病程度は、‘清水白桃’に比較して生育初期にはやや低く、5月中旬頃の果実成長第1期に高まり、硬核期から成熟前には再び低下する傾向であった。品種間差異を発病度で比較すると、‘清水白桃’が最も高く、次いで‘紅清水’、‘白鳳’、‘大和白桃’で、‘白桃’、‘八幡白鳳’、‘川中島白桃’が低い傾向であった (図 1-1, 図版Ⅲ-3)。

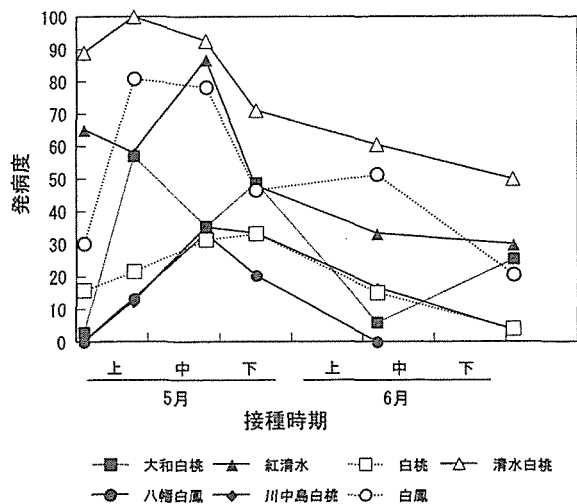


図 1-1 果実の生育ステージと接種による発病

表 1-3 モモ果実に対する分離菌の病原性

接種月日	供試菌株		白 鳳			清水白桃		
	番号	由来	発病 <sup>a)</sup>	発病度	再分離菌の病原性 <sup>b)</sup>	発病 <sup>a)</sup>	発病度	再分離菌の病原性 <sup>b)</sup>
1996.6.26	9544	モモ幼果	14/14	70	4/4	11/11	93	5/6
6.17	9549	モモ成熟果	10/10	50	3/5	9/9	81	4/4
6.17	9502	モモ新梢	7/8	31	5/5	9/9	53	5/7
6.26	9506	モモ新梢	8/8	63	3/3	10/10	70	6/8
6.26	9528	モモ葉	6/9	28	4/7	8/10	35	2/10
6.26	9533	モモ葉	7/7	50	2/2	11/11	75	9/10
6.17	15A	ナシ黒斑病菌	0/9	0		0/10	0	
6.26	B-2-2	リング斑点落葉病菌	0/10	0		0/10	0	
		無接種	0/10	0		0/10	0	

a) 発病果数/調査果数

b) モモに病原性を有した菌株数/供試菌株数

(3) 葉位と発病

材料及び方法

本節1(1)と同様の方法でモモ黒斑病菌 9544株の分生子懸濁液を約20,000個/ml (Tween20 2,000倍加用) に調製して、接種源とした。

1996年7月19日に‘清水白桃’の1年生枝3本を採取し、1年生枝先端の未展開葉を除く全葉について1葉から約2cmの長さで3葉片ずつ切り裏面を上にして、蒸留水で湿らせた脱脂綿上に並べた。1葉片当たり分生子懸濁液25μlを主脈の両側2箇所にて点滴接種し、懸濁液上にペーパーディスク(アドバンテック社製、径6mm、薄手)を置いた。接種後は23~26℃の湿室に保持し、適宜発病程度を調査した。葉の発病度は、以下の式で算出した。

$$\text{発病度} = [\sum (X_i \cdot n_i) / 3N] \times 100$$

$X_i$  = 発病指数 (0: 褐変のないもの, 1: 褐変斑が接種部のみにみられ拡大していないもの, 2: 褐変斑が接種部の外側にやや拡大したもの(外側約5mm未満), 3: 褐変斑が接種部の外側に大きく拡大したもの(外側約5mm以上))

結 果

供試したいずれの1年生枝とも、基部に近い葉より、先端部の若葉の方が発病が早く、発病度も高かった。接種3日後までの観察では、先端から3~5葉目が最も感受性が高かった(図1-2)。

(4) 葉の生育ステージと発病

先端から3~5葉が黒斑病菌に対する感受性が高かったため、この部位を用いて品種ごとに生育ステージと発病の関係調べた。

材料及び方法

PSA培地で培養したモモ黒斑病菌 96147株の分生子

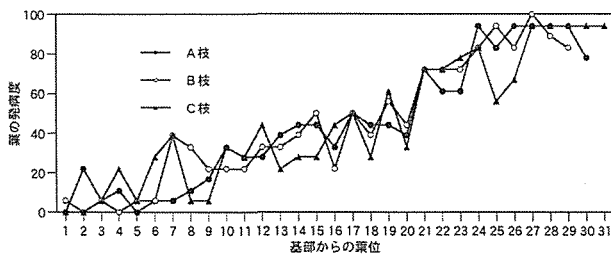


図1-2 1年生枝における基部からの葉位と発病

懸濁液を約20,000個/ml及び120,000個/ml (Tween20 5,000倍加用) に調製して、接種源とした。岡山農試内で栽培されたモモ6品種を5月1, 8, 18及び25日, 6月11, 30日, 7月17, 30日に1年生枝の先端から3~5葉目の葉(1品種あたり10葉)を採取して前項(3)の方法で分生子懸濁液を点滴接種した。接種後の葉片は20℃の定温器内で湿室に保持し、7日後に葉片の発病程度を調査した。葉の発病度は前項(3)と同様に算出した。

結 果

生育時期別の葉の感受性は、接種源の分生子濃度が低い(約20,000個/ml)場合には各品種とも生育が進むにつれて高くなる傾向であった。一方、分生子濃度が高い場合(約120,000個/ml)には、‘清水白桃’、‘白鳳’、‘紅清水’ではいずれの接種時期でも感受性はほぼ一定であったが、‘大和白桃’、‘八幡白鳳’、‘白桃’、‘川中島白桃’では生育が進むにつれて発病度が高くなる傾向であった(図1-3)。品種毎の感受性は、‘清水白桃’が最も高く、次いで‘紅清水’、‘白鳳’で、‘大和白桃’、‘白桃’、‘八幡白鳳’、‘川中島白桃’は低く、果実での反応と類似していた(図版Ⅲ-4)。発病度によるモモの品種間差異は接種源の分生子濃度が高い方が明確に現れた。

(5) 1年生枝の部位と発病

材料及び方法

PSA培地で培養したモモ黒斑病菌 96147株の分生子懸濁液を約10,000個/ml (Tween20 5,000倍加用) に調製して接種源とした。1999年6月14日に岡山農試内で採取した‘清水白桃’(殺菌剤無散布)の1年生枝10本の基部から10cm, 15cm, 20cmの距離に、7月26日には基部から10~100cmまでの範囲に10cm間隔で接種した。接

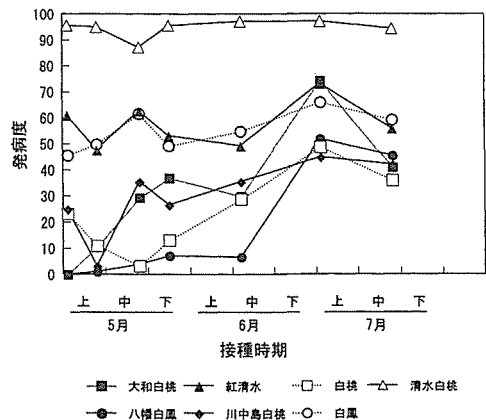


図1-3 葉の生育ステージと接種による発病

種は分生子懸濁液に浸したペーパーディスク（アドバンテック社製、径6mm、薄手）を無傷で枝に付着させ、17℃の温室、暗黒下に7～9日間保った。枝の発病度は、次の式により算出した。

$$\text{枝の発病度} = [\sum (X_i \cdot n_i) / 3N] \times 100$$

$X_i$  = 発病指数 (0 : 褐変のないもの, 1 : 褐変部位の長さ5mm以下, 2 : 褐変部位の長さ6～15mm, 3 : 褐変部位の長さ16mm以上)

## 結 果

‘清水白桃’の1年生枝に室内で黒斑病菌を接種すると、2日後には水浸状の微小な斑点が現れ、3日後から長さ数mmの楕円形～不定形の褐色斑が形成された。枝の基部からの距離別にみると、6月14日の接種では枝基部から10、15、20cmの発病度はそれぞれ80、70、53で、10cmで高い傾向であったが、7月26日接種では枝基部に近い部位では発病程度が低い傾向であった（表1-4）。7月以降、1年生枝の成熟につれて表皮が淡褐色になった部位では、黄緑色の部位に比べて、病斑形成率が低かった。

### (6) 果実、葉における発病までの期間

#### 材料及び方法

PSA 培地で培養したモモ黒斑病菌 96147株の分生子懸濁液を約10,000個/ml (Tween20 5,000倍加用) に調製して、接種源とした。1998年5月13、22日（接種後7日間の平均気温19～20℃）、6月1、9及び26日（同19～26℃）の夕方に現地圃場で、‘清水白桃’4～5年生の樹上の果実、葉に接種した。果実には分生子懸濁液に浸した綿棒を側面部に無傷で直径約5mm大に押し当て

て接種した。1果当たり1～3箇所接種し、1回に5～10果を供試した。接種後は無袋区と有袋区を設けた。また、5～8葉の表面と裏面のそれぞれ半分は3箇所ずつ同様の方法で接種した。果実、葉とも接種部位は油性マジックペンでラベルした。

接種後は適宜、果実、葉の発病を肉眼観察した。果実の発病度は、本節1(2)項の式により算出した。

## 結 果

果実の5月13日、5月22日及び6月1日の接種区では、接種4日後から、6月9日、6月26日接種区では接種3日後から発病が認められた。しかし、遅い場合は発病まで6日間かかる場合もあった（表1-5）。

葉では6月26日の裏面への接種区で接種3日後から発病がみられたが、発病までに5～7日間かかる場合が多かった。葉への接種は裏面の方が表面より高率に発病した（表1-6）。

以上の結果、本菌の圃場における接種から発病までの日数は果実で3～6日間、葉で3～7日間と考えられた。

表 1-4 ‘清水白桃’の1年生枝における接種位置と発病<sup>a)</sup>

枝基部からの距離 (cm)	発病枝率 (%)	発病度
10	30	15
20	65	42
30	80	52
40	85	60
50	95	63
60	75	53
70	90	62
80	95	70
90	94	72
100	87	73

a) 接種月日：1999年7月26日

表 1-5 圃場における幼果での発病までの期間

接種後 日数 (日)	接種月日 (月・日)							
	5.13		5.22		6.1		6.9	6.26
	有袋	無袋	有袋	無袋	有袋	無袋	無袋	
1								
2	0/10 <sup>a)</sup>					0/15		
3	0/10	0/12	0/9			3/15 (7)	8/15 (20)	
4	8/10 (27)	9/12 (25)	0/9	15/15 (62)	15/15 (64)		12/15 (38)	
5		11/12 (39)	1/9 (4)				13/15 (47)	
6	10/10 (73)	12/12 (72)	2/9 (7)					
7	10/10 (93)					14/15 (49)	15/15 (60)	
8				15/15 (82)	15/15 (71)			
9	10/10 (97)							
10		12/12 (75)	9/9 (67)					
14		12/12 (75)	9/9 (67)					

a) 発病箇所数/接種箇所数 (発病度)

表 1-6 圃場における葉での発病までの期間

接種後 日数 (日)	接種月日 (月・日)							
	5.22		6.1		6.9		6.26	
	葉表	葉裏	葉表	葉裏	葉表	葉裏	葉表	葉裏
1								
2								
3	0/15 <sup>a)</sup>	0/15			0/15	0/15	0/24	2/24
4	0/15	0/15	0/15	0/15			0/24	3/24
5	0/15	0/15					1/24	7/24
6	0/15	2/15						
7					0/15	11/15	2/24	10/24
8			0/15	10/15				
9								
10	0/15	2/15					3/24	15/24
15			0/15	15/15				
17							5/24	15/24

a) 発病箇所数/接種箇所数

## (7) 温度と果実、葉の発病

## 材料及び方法

本節 1 (1)と同様の方法でモモ黒斑病菌 9544株の分生子懸濁液を約20,000個/ml (Tween20 2,000倍加用)に調製して、接種源とした。1996年6月6日及び6月17日に農試圃場から採取した‘清水白桃’の幼果、同年7月30日に採取した1年生枝の先端から3~4葉目の葉を供試して、本節 1 (3)と同様の方法で分生子懸濁液を点滴接種し、5、10、15、20、25、30及び35℃の温室に10日間保ち、適宜発病状況を調査した。1区20~24果、24葉片48箇所を供試した。果実の発病度は本節 1 (2)、葉の発病度は本節 1 (3)と同様に算出した。

## 結 果

幼果では、6月6日及び6月17日接種区とも、接種2日後から15~30℃区で接種部に褐変がみられた。接種7~10日後までに6月6日接種区の5~30℃区、6月17日接種区の10~30℃区に褐変がみられ、発病度から判断した発病適温は15~25℃であった(表1-7)。なお、5、30℃区の発病果実の褐変は、10~25℃区に比べて、かなり薄い色調であった。

葉では、接種1日後には25℃区で褐変が認められた。褐変は10~30℃区でみられ、発病適温は20~30℃であった(表1-8)。

## (8) モモ品種と発病

## 1) 接種による発病の品種間差異

## 材料及び方法

PSA 培地で培養したモモ黒斑病菌 96147株の分生子

懸濁液を約20,000個/ml (Tween20 5,000倍加用)に調製して接種源とした。岡山農試内で1997年5月28日にモモ44品種の幼果を1品種約20果、また同年6月30日に154品種の1年生枝の先端から3~4葉目の葉を1品種7葉ずつ採取した。本節 1 (1)及び(2)の方法と同様に幼果、葉に無傷で点滴接種し、幼果では8日後、葉では7日後に発病程度を調査し、発病度を算出した。

## 結 果

葉、幼果のいずれにおいても、モモ黒斑病菌に対して耐病性の高い品種から低い品種まで連続的にみられた。葉では‘よしひめ’、‘白麗’、‘箕島白桃’などの耐病性が特に高く、次いで‘ゴールデンピーチ’、‘滋賀白桃’、‘橋場白鳳’、‘白桃’、‘加茂川白桃’、‘山根白桃’、‘末木白桃’などであった。‘清水白桃’は供試品種の中でも罹病性が非常に高かった(表1-9)。

幼果では、‘ヒラツカレッド’、‘ヒタチレッド’などのネクタリンの耐病性が高く、次いで‘さおとめ’、‘ゴールデンピーチ’、‘川中島白桃’、‘末木白桃’などであった(表1-10)。

葉で罹病性の高かった品種は、幼果でも罹病性が高かった。一方、葉で耐病性の高かった品種では幼果での耐病性が高いものから低いものまでみられた(図1-4)。

## 2) 自然発生圃場における発病の品種間差異

## 材料及び方法

岡山市大窪の黒斑病発生圃場 (ON 圃場) で1996年12月に、‘八幡白鳳’、‘加納岩白鳳’、‘白鳳’、‘日川白鳳’、



表 1-7 幼果での発病までの期間と温度

温 度 (°C)	接種後日数			
	1日後	2日後	5日後	7日後
5	0 (0) <sup>a)</sup>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
10	0 (0)	0 (0)	60 (35)	100 (58)
15	0 (0)	100 (50)	100 (50)	100 (50)
20	0 (0)	100 (50)	100 (53)	100 (53)
25	0 (0)	100 (50)	100 (50)	100 (53)
30	0 (0)	10 (5)	25 (13)	25 (13)
35	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

a) 発病果率 % (発病度)

表 1-8 葉での発病までの期間と温度

温 度 (°C)	接種後日数			
	1日後	2日後	3日後	7日後
5	0 (0) <sup>a)</sup>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
10	0 (0)	0 (0)	0 (0)	73 (34)
15	0 (0)	2 (1)	85 (56)	100 (90)
20	0 (0)	46 (28)	98 (78)	100 (94)
25	13 (6)	83 (64)	94 (76)	98 (86)
30	0 (0)	44 (19)	79 (46)	100 (70)
35	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

a) 発病果率 % (発病度)

表 1-9 モモ黒斑病に対する耐病性の品種間差異 (葉での検定)

発病度	供 試 品 種
0	雪桃, よしひめ, 燕紅, 碧桃 (紅色, 重弁), 福州, 白麗, 箕島白桃, 燈香, スワトー, ネクタレッド2号, ヒラツカレッド
20未満	中務晩桃, 大和早生, 倉方早生, 雅都, 上海水蜜, 中山金桃, 明月, ゆうぞら, 寒露蜜, 早生桃山, シルバープロリフィック, ゴールデンピーチ (山陽系), 晩白桃, シズクレッド, 浮羽早生, フレーパトップ, みさか白鳳, 中津白桃, 早生玉露, チョダレッド, 百田白桃, 滝の沢ゴールド, 砂子早生, 朝倉早生, 勘助白桃, 吉富白桃, 早生ネクタリン (山梨系), プータン系, 黄金桃 (長野), 志賀白桃, 豊黄, 天津水蜜, 野生モモ (毛有), 初秋白桃, 橋場白鳳, 寿星桃, 北京8号, 春蕾, 加納岩白桃, 白桃, 都白鳳, まさひめ, 八幡白鳳, あかつき, 野々宮, 暁星, 一宮水蜜, 桃山白鳳, 西尾ゴールド, サンゴールド, 山根白桃, ヒタチレッド, 高倉, かなえ, 西農14号, 長沢白鳳, 歌田白桃, 末木白桃, 錦, 竹下白鳳, 小平早生
40未満	早生黄金桃, まなみ, 瀬戸内白桃, 布目早生, 未央2号, 嶺鳳, 黄蟠桃, 紅清水, 富田白桃, 紅錦香, 明星, 筑波台木1号, 千曲, 黄嶺, ファンタジア, 大紅蟠桃, 陽山白桃, 早雨露, めごひめ, 池田中生, 浅間白桃, スイートネクタリン晶光, 川中島白桃, インディペンデンス, 米倉金桃, 倉方黄桃, さおとめ, ゴールデンピーチ (離核), 丸田白桃, 美晴白桃, 橘早生, 日川白鳳, 大和白桃, いずみ白桃, ちよまる, 筑波台木8号, 興津, 紅鳳, 陽貴妃, おはつもも, 紅清水, 阿部白桃, 西野白桃, 早生水蜜, シルバースター, 白鳳
60未満	ふくえくぼ, 竜鳳, のと早生, あきぞら, 筑波台木3号, レイト・リ・グランド, 西農早蜜, スイートネクタリン黎明, 缶桃15号, かなめ, 入江白桃, 山加早生, 馬場白桃, 大久保, サマーエース, ニューヨーカー, 東王母, 筑波台木10号 (青), 武井白鳳, 野生モモ (毛無)
80未満	高陽白桃, 雨花露, ちよひめ, おどろき, 清水早生, 清水白桃, 華清水, 森上白桃, 新端陽
80以上	はなよめ, 河本黄清水, 石田白桃, 白陽, 山手清水, 肥城桃 (農水省系統), 夢富士

表 1-10 モモ黒斑病菌に対する耐病性の品種間差異 (幼果での検定)

発病度	供 試 品 種
0	ヒラツカレッド, ヒタチレッド
20未満	チョコダレッド, 上海水蜜, 天津水蜜, シズクレッド, 福州, 春蕾, 大紅蟠桃, さおとめ
40未満	みさか白鳳, ちよまる, めごひめ, よしひめ, ゴールデンピーチ (山陽系), あかつき, ゴールデンピーチ (離核), 野生モモ (有毛), 川中島白桃, 末木白桃, 加納岩白桃, 竜鳳, 志賀白桃
60未満	加茂川白桃, 浅間白桃, 瀬戸内白桃, 日川白鳳, ゆうぞら, 富田白桃, 勘助白桃, まさひめ, 白麗, 大久保, 千曲, 都白鳳, 山根白桃, 武井白鳳, 白陽
80未満	おはつもも, ちよひめ, 高陽白桃, 肥城桃, 長沢白鳳, 清水白桃

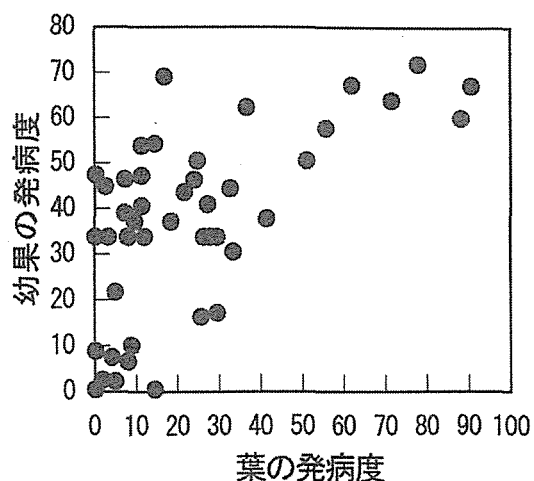


図 1-4 モモ品種の葉と幼果の発病との関係 (n=44)

‘末木白桃’、‘紅清水’、‘清水白桃’、‘大和白桃’、‘白麗’の9品種の苗木を4～5本ずつ定植した。肥培管理は現地の慣行とし、薬剤は生育期間中にはほぼ7～10日おきに体系散布を行った。幼果の発病をほぼ全果について2000年5月29日に調査した。2000年6月1日、2001年5月31日に袋(オレンジ袋、有底)を掛けた果実の成熟期の発病を、下記の基準で調査した。また、2000年10月19日に1樹約400～600葉、同年11月28日に1樹100～200枝の発病を調査した。成熟果の発病度は次式により求めた。

$$\text{成熟果の発病度} = [\sum (X_i \cdot n_i) / 4N] \times 100$$

$X_i$  = 発病指数 (0: 病斑のないもの, 1: 小型病斑が5個以内, 2: 小型病斑(径1～2mm)が6～20個以内, または中型病斑(径3～9mm)が数個以内, 3: 小型病斑が21個以上, または大型病斑(径10mm以上)が1～2個以内, 4: 大型病斑が3個以上, または大型病斑の外側まで大きな亀裂があるもの)

## 結 果

2000年は幼果の発病が‘清水白桃’、‘大和白桃’、‘白麗’でやや多かった。成熟果での発病は‘清水白桃’が最も多く、次いで‘末木白桃’、‘白鳳’、‘加納岩白桃’、‘紅清水’、‘白麗’などで、‘日川白鳳’、‘八幡白桃’では少なかった(表1-11)。2001年においても成熟果での発病は‘清水白桃’が最も多く、次いで‘加納岩白桃’、‘白鳳’で、他の品種では少なかった。2か年とも‘清水白桃’以外の品種では、病斑の大きさが径1mm程度と非常に小さいものがほとんどであった。

葉、枝の発病は、‘清水白桃’では多かったが、他の品種ではほとんど認められなかった(表1-11)。

## 2 モモ以外の植物に対する病原性

### 材料及び方法

本節前項1(1)で用いた菌株のうち、モモ由来の3菌株(9544, 9549, 9506株)、ナシ黒斑病菌(15A株)、リンゴ斑点落葉病菌(B-2-2株)と鳥取県園芸試験場から分譲を受けたナシ黒斑病菌(N-1-1株)の計6菌株を供試した。モモ‘清水白桃’、ナシ‘二十世紀’、リンゴ‘北斗’の1年生枝の先端から3～5葉を2×3cmにトリミングし、本節前項1(3)と同様の方法で無傷で点滴接種した。その後、24～27℃で温室に保持し、接種7日後まで褐変状況を調査した。各区7葉片を供試した。

また、モモと同じバラ科のスモモ、プルーン、アンズ、ウメ、オウトウ、サクラ及びイチゴの葉に、1996年にモモの罹病果実から分離したモモ黒斑病菌2菌株(96121, 96147株)を、上記の方法で接種した。各区15葉片を供試し、接種8日後に褐変状況を調査し、本節前項1(3)と同様に発病度を算出した。

## 結 果

交接種の結果を表1-12に示した。いずれのモモ黒斑病菌とも、モモの葉に接種2日目頃から暗緑色水浸状の壊死斑を起し、7日後には径15～20mmの茶褐色斑を形成させた。しかし、ナシ葉、リンゴ葉では、全く褐変や壊死が生じなかった。また、ナシ黒斑病菌(15A, N-1-1株)はナシ葉に、リンゴ斑点落葉病菌(B-2-2株)はリンゴ葉だけに褐変斑を生じさせた(図版Ⅲ-2)。

モモ黒斑病菌(96121, 96147株)の接種により、アンズ、ウメ、スモモ及びオウトウの一部の品種の葉にわずかに褐変斑が生じたが、褐変程度はモモ‘清水白桃’に比べて非常に軽微であった(表1-13)。

以上の結果から、モモ黒斑病菌はモモのみに強い病原性を有することが明らかとなった。

表1-11 現地圃場でのモモ品種別の黒斑病の発生状況(2000)

供試品種	幼果		調査果数	成熟果		葉	枝
	調査果数	発病果率 (%)		発病果率 (%)	発病度		
八幡白鳳	386	1.0	248	4.8	1.3	0.2	0
加納岩白桃	458	0.7	185	8.1	2	0.2	0
白鳳	635	0.8	340	13.8	3.7	0.1	0
日川白鳳	605	0.0	304	3.9	1	0.3	0
末木白桃	402	1.2	165	15.8	4.2	0.2	1.1
紅清水	521	1.2	187	9.6	2.5	0	0.3
清水白桃	360	3.3	366	33.1	10	9.1	28.9
大和白桃	196	3.1	190	7.4	1.8	0.2	0.9
白麗	618	2.4	298	8.7	2.3	0.1	0.7

表 1-12 モモ, リンゴ, ナシ葉に対するモモ分離菌, ナシ黒斑病菌及びリンゴ斑点落葉病菌の病原性

供試菌株	由来	供試植物		
		モモ '清水白桃'	ナシ '二十世紀'	リンゴ '北斗'
9544	モモ幼果	7/7 <sup>a)</sup>	0/7	0/7
9549	モモ成熟果	6/7	0/7	0/7
9506	モモ新梢	7/7	0/7	0/7
15A	ナシ黒斑病菌	0/7	7/7	0/7
N-1-1	ナシ黒斑病菌	0/7	7/7	0/7
B-2-2	リンゴ斑点落葉病菌	0/7	0/7	7/7
蒸留水		0/6	0/6	0/6

a) 発病葉数/接種葉数

表 1-13 モモ黒斑病菌 (No.96121, 96147 株) の各種植物の葉に対する病原性 (1998)

供試植物	品種	No.96121		No.96147	
		病原性	発病度	病原性	発病度
スモモ	ハニーローザ	4/30 <sup>a)</sup>	4	1/30	1
	ソルダム	0/30	0	0/30	0
	李王	0/30	0	0/30	0
	メスレー	0/30	0	1/30	1
	貴陽	0/30	0	0/30	0
	プラム井上	0/30	0	0/30	0
	ビューティ	0/30	0	0/30	0
ブルー	サンプルーン	0/30	0	0/30	0
	スタンレーブルー	— <sup>b)</sup>	—	0/14	0
	シュガーブルー	0/30	0	0/30	0
アンズ	信州大実	4/30	4	5/30	6
	平和	3/30	3	17/30	20
	筑波7号	6/30	7	5/30	10
ウメ	南高	0/30	0	5/30	6
	紅さし	0/30	0	0/30	0
	改良内田	0/30	0	0/30	0
オウトウ	佐藤錦	0/30	0	4/30	4
	ジャボレー	0/30	0	1/30	1
	高砂	0/30	0	0/30	0
	香夏錦	0/30	0	0/30	0
	スタークリムソン	0/30	0	1/30	1
	南陽	0/30	0	0/30	0
	ナポレオン	0/30	0	0/30	0
イチゴ	とよのか	—	—	0/36	0
サクラ	ソメイヨシノ	—	—	0/36	0
モモ	清水白桃	30/30	86	30/30	91

a) 発病箇所数/接種箇所数

b) 未試験

## 第4節 病原菌の形態, 同定

本節ではモモに病原性を確認した *Alternaria* 属菌の培養上の諸性質, 培地上の形態を明らかにするとともに, *Alternaria* 属菌の種の識別に有効と報告 (Adachi et al., 1993; Kusaba and Tsuge, 1994) されているリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) の RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism: 制限酵素断片長多型) 解析を行って, 本菌を同定した。

### 1 病原菌の形態

#### 材料及び方法

前節で供試したモモ由来の *Alternaria* 属菌 (9544株), ナシ黒斑病菌 (15A株), 比較対照として名古屋大学から分譲を受けた *Alternaria alternata* 基準菌株 (IFO 32416株) を供試して, PSA 培地及び素寒天培地で 25°C, 10日間培養して, 菌叢の性状, 分生子柄, 分生子

などの形態を調べた。

結 果

9544株のPSA培地上の菌叢は、初め灰白色、後に灰緑色または灰黒色のピロッド状ないし綿毛状で分生子の形成は少なかった。素寒天培地上での本菌の分生子柄は単条または分枝、淡オリーブ褐色、平滑でまっすぐ、または屈曲し、数個の隔膜、分離痕 (scar) を有し、長さ10~223 μm (平均33 μm)。分生子は淡黄褐色ないし暗褐色、倒こん棒状から卵型、頂端に短い褐色のピーク (1.3ないし17.7 μm) を有するものがあり、しばしば分枝して連鎖状に形成された (図版Ⅲ-5)。大きさは9~71×6~18 (平均32×13) μmで、0~10個の横隔壁、0~4個の縦隔壁があった (図版Ⅲ-6)。以上の形態は *A. alternata* の基準菌 (IFO 32416株) の形態や既報の *A. alternata* の記載 (Ellis, 1971; Rotem, 1994) とほぼ一致していた (表1-14)。

2 生育に及ぼす温度の影響

材料及び方法

1995年にモモの罹病幼果から分離し、モモ葉に病原性が認められた *Alternaria* 属菌2菌株 No.9508, 9530株の直径5mmに打ち抜いた菌叢片を、直径9cmのシャーレに流し込んだPSA平板培地の中央部に移植し、5, 10, 15, 20, 25, 30及び35℃の恒温器内で6日間培養し、菌叢直径を測定した。1区当たり5シャーレを供試した。

結 果

図1-5に示したように、供試した2菌株の培地上での生育は、5~35℃で認められ、菌叢直径から判断した生育適温は25~30℃であった。

表1-14 モモから分離された *Alternaria* 属菌と *A. alternata* 基準菌との形態比較

性状	モモ分離菌 No.9544	ナン黒斑病菌 No.15A	<i>A. alternata</i> 基準菌 IFO 32416 <sup>a)</sup>	Ellis (1971) による <i>A.alternata</i> の記載
分生子				
長さ (μm)	9-71 (avg. 32)	11-88 (avg. 31)	11-48	20-63 (avg. 37)
幅 (μm)	6-18 (avg. 13)	5-16 (avg. 13)	6/20	9-18 (avg. 13)
ピーク長 (μm)	1.3-17.7	1.3-25	1.3-12.5	
セブタ数				
縦隔壁数	0-4	0-5	0-3	
横隔壁数	0-10	0-10	0-7	< 8
分生子柄				
長さ (μm)	10-233 (avg. 33)			<50

a) インドにおける *Datura metel* からの分離株

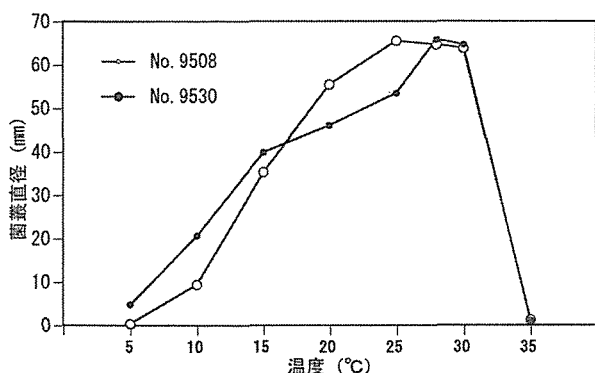


図1-5 PSA培地上の菌叢の生育と温度

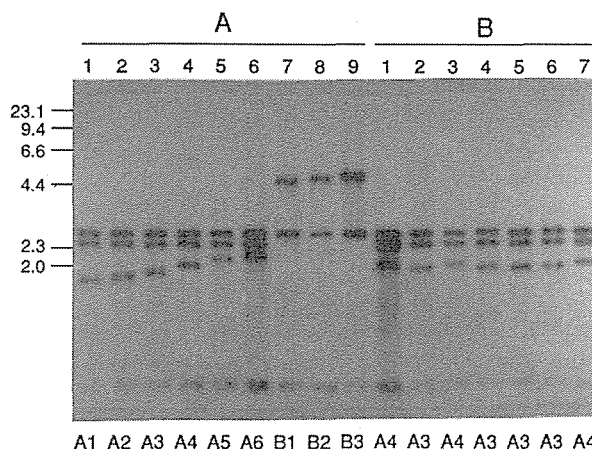


図1-6 *Alternaria alternata* (A1~A9)の基準菌及びモモから分離された *Alternaria* sp. (B1~B7) のリボソームRNA遺伝子のRFLP解析

### 3 リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) の RFLP 解析

#### 材料及び方法

供試菌株は1995年にモモ罹病幼果から分離してあらかじめモモ葉への病原性を確認した7菌株を用いた。全DNAの抽出は柘植ら(1989)の方法で行った。各DNAを制限酵素 *Xba*I で断片化し、常法である Sambrook *et al.* (1989) に従い、0.8% アガロースゲル電気泳動により分画した。得られたDNA分画をアルカリトランス法 (Reed and Mann, 1985) によりナイロン膜 (Hybond N+, Amersham 社製) に転写した。次に、ナシ黒斑病菌 No.15A 株から単離した rDNA クローン, *Alt*I をプローブとするハイブリダイゼーションを行った。なお、プローブの標識には非放射性標識キット (Boehringer Mannheim 社製) を用いた。

#### 結 果

RFLP の解析結果を図 1-6 に示した。レーン A 1 ~ A 9 は Adachi *et al.* (1993) により報告された植物に病原性のない *A. alternata* 基準菌及び HST を産生する病原菌 *A. alternata* に共通してみられる 9 種類の rDNA の多型を示す。レーン B 1 ~ B 7 のモモから分離した *Alternaria* 属菌由来の rDNA の多型は、いずれも A 3 型あるいは A 4 型と一致した。なお、*A. alternata* と形態が異なる他の *Alternaria* 属菌由来の rDNA の多型は、*A. alternata* 基準菌や HST を産生する *A. alternata* とは全く異なることが報告されている (Kusaba and Tsuge, 1994)。以上の結果から、モモから分離した *Alternaria* 属菌由来の rDNA の多型は、*A. alternata* の多型と一致しており、モモ分離菌が *A. alternata* であることを強く支持していた。

### 第 5 節 考 察

本章ではまず黒斑病の病徴を明らかにし、類似病害との病徴比較を行った。

本病は幼果、成熟果、葉、枝、花器に発生するが、‘清水白桃’における最も顕著な病徴は、成熟果にみられる茶褐色で周囲がやや不定形のかさぶた状の病斑である。果実の病斑を生じる病害で本病に類似しているせん孔細菌病は、病斑の色調が濃い黒褐色、径 5 mm 以下の円形でかさぶた状とならない点で明らかに異なり、診断は肉眼でもほぼ可能と考えられる。また、葉や枝では本章第 1 節 1 に述べたような特徴のある病斑が 5 ~ 6 月の新梢伸長期から認められる。この時期のモモの幼果、葉、枝が同時に侵され、茶褐色の壊死を生じる斑点性の病害は本

病とせん孔細菌病以外にはなく、本病の特徴であるといえる。

さらに、本章では本病害の原因を究明するため、関与する菌の分離、分離菌の接種、菌の同定を行うとともに、病原菌の病理学的諸性質を検討した。

モモの罹病果実、葉、枝からは菌叢の特徴が異なる 2 タイプの *Alternaria* 属菌が高率に分離されたが、モモ果実に対する接種試験の結果から、PSA 培地上で灰黒色、ピロード状、気中菌糸が多く、分生子形成の少ないタイプの *Alternaria* 属菌のみが病原性を有した。すなわち、モモ‘清水白桃’の幼果に分生子を無傷で接種すると、成熟期には自然発病のものと同様の亀裂を伴う、かさぶた状の病徴が再現された。さらに、この病斑からは接種菌が高率に再分離され、再分離菌についてもモモ葉に対する病原性を確認できた。また、葉や枝に対する接種試験でも強い病原性を確認できたことから、本菌が病原菌であると断定した。

本菌の素寒天培地上の分生子柄、分生子の形態は *A. alternata* の基準菌株とよく一致していた。本菌の分生子は連鎖状に形成され、しばしばその連鎖は分岐していた。長い連鎖状に分生子を形成する *Alternaria* 属菌には *A. alternata* と *A. brassicicola* が記載されている (Rotem, 1994)。しかし、*A. brassicicola* は PSA 培地上で気中菌糸がなく、黒くすす状の菌叢を有することから、灰緑色または灰黒色のピロード状ないし綿毛状を有する本菌とは異なっている。さらに、*Alternaria* 属菌の種の識別に有効と報告 (Adachi *et al.*, 1993; Kusaba and Tsuge, 1994) されている rDNA の RFLP 解析を行ったところ、モモから分離した *Alternaria* 属菌由来の rDNA の多型は、植物に病原性のない *A. alternata* 基準菌及び HST を産生する病原菌 *A. alternata* に共通してみられる 9 種類の多型のうち、2 種類の多型と一致していた。以上のことから、本菌を *A. alternata* (Fr.) Keissler と同定した。*A. alternata* によるモモの病害は国内では未報告であることから、本病害を黒斑病 (black spot) と呼称することを提案した。

海外では *A. alternata* によるモモの病害については、収穫後の市場病害として傷などから侵入したとの報告 (Kheswalla, 1936; Wei, 1941; Willison, 1939) がみられる。また、中華人民共和国では *A. alternata* による black spot と称するモモの病害が報告されている。その病徴は収穫期から収穫後にかけて果頂部の突起部に黒色輪紋状の病斑が形成される (Zhang *et al.*, 1995)。しかし、これらの病徴は、本報告で述べた幼果、成熟果、葉、枝に現れる本病の病徴とは明らかに異なっている。

インドでは *A. alternata* によるモモの葉の斑点性病害が報告されているが、果実や枝に対する寄生性は明らかにされていない (Madaan *et al.*, 1980)。したがって、生育期のモモ果実、枝、葉に病徴を生じる *A. alternata* の発生は、本研究が世界で最初の報告である。

果実の病斑は幼果から成熟果までのどの時期のものにも認められ、病斑の大きさも様々である。モモ灰星病 (落合, 1983)、ナシ黒星病、輪紋病 (梅本, 1993; 新田ら, 1996)、ブドウうどんこ病 (畑本ら, 1995) など多くの果樹病害において、果実の生育時期によって病原菌に対する感受性が変化すると報告されている。そこで、モモ果実の黒斑病菌に対する感受性の変化を接種試験で検討したところ、5月中旬頃の果実生長第1期が最も感受性が高いことが明らかとなった。この時期は、初発生後の幼果の病勢が急速に進展する時期と一致しており、果実の感受性の高さが、急速な病勢進展の1要因と考えられた。また、長さ約1mまで十分に伸長した1年生枝について葉位や枝の部位別に菌に対する感受性について検討した結果、若い組織の方が発病しやすいものの基部近くの葉や枝でも発病することが確認できた。このことは自然発生圃場において古い葉や伸長を停止した1年生枝でもモモの生育期間を通じて発病がみられることと合致している。同じ *A. alternata* に起因するナシ黒斑病では展葉1か月後 (北島ら, 1957)、リンゴ斑点落葉病では展葉20日後以降は菌の感染が起こらない (北島, 1989) とされているので、葉や枝の発病期間が長期間に及ぶことは本病の特徴であると考えられる。

室内の接種試験で、発病適温を調べたところ、果実では15~25℃、葉では25℃で果実の方がやや低い傾向であった。このことはリンゴ斑点落葉病における関口 (1976) の報告とよく一致している。この時、果実では接種2日後、葉では接種1~2日後に茶褐色の壊死斑が認められ、それぞれ温室下での潜伏期間が明らかとなった。しかし、圃場における感染場面とは環境や宿主側の条件が異なるため、樹上の果実や葉での潜伏期間を調査した。その結果、5~6月の接種による発病までの期間

(平均気温18.9~26.2℃) は、果実では3~6日間、葉では3~7日間であることが明らかとなり、圃場の方が1~5日間長かった。室内では一定温度の温室状態であるのに対し、圃場では温・湿度の変化があり、分生子の発芽、感染に時間を要するためと考えられる。

黒斑病の発生圃場では‘清水白桃’が激しく侵されていても、混植されている‘八幡白鳳’や‘紅清水’などの発病は少なく、モモ品種の黒斑病に対する耐病性には差があることが観察された。品種による耐病性の違いを明らかにすることは、代替品種の選定などの耕種的な防除対策上、極めて重要である。そこで、現地での自然発生及び接種試験により、モモ品種の耐病性程度について調査した。葉、効果での検定結果ともに、モモ黒斑病菌に対して耐病性の高い品種から低い品種まで連続的にみられ、中程度の耐病性を示す品種が多く、一山型の頻度分布であった。この中で‘清水白桃’は葉、果実とも非常に罹病性が高く、現地で‘清水白桃’だけに被害が集中していることが裏付けられた。さらに耐病性を持ち栽培的にも有望な品種として、‘橋場白鳳’、‘加納岩白桃’、‘日川白鳳’、‘紅清水’、‘白麗’などを選抜できた。ナシ黒斑病、リンゴ斑点落葉病抵抗性は一對の主導遺伝子が関与し、罹病性形質が優性とされており (小崎, 1973; 斎藤ら, 1984)、品種間における耐病性が比較的明確に区別できる (小崎, 1973; 平良木, 1973)。しかし、モモでは前述のように多数の中間的な耐病性を示す品種が多かったのも本病の特徴である。モモにおける接種試験の結果から葉では耐病性を示しても幼果では罹病性の品種が多くみられた。この点については、斎藤ら (1976) がリンゴの果実と葉における斑点落葉病抵抗性を支配する遺伝機構は同じでなく、幼葉の抵抗性をもって果実の抵抗性を判断することは困難とした報告と類似していた。しかし、モモの場合は葉の罹病性が高い品種は幼果でも罹病性が高いことから、果実を含めた耐病性品種を選抜する第1段階として葉の耐病性を検定することは効率的であると判断された。

## 第2章 モモ黒斑病菌の毒素産生

前章において，本病の病原菌が *Alternaria alternata* であり，かつモモに対して宿主特異性を持つことを明らかにした。これまでに *A. alternata* には宿主特異的毒素 (Host Specific Toxin : 以下 HST と略す) と呼ばれる低分子二次代謝産物を生成する 7 種類の植物病原菌が報告されている (Nishimura and Kohmoto 1983)。そこで，本章では，本菌も HST を生産するか否かについて解析した。また，毒素の性質及び生理作用を調べた。さらに，本病の罹病葉においては病斑部分が速やかに穴がいて抜け落ちたり，落葉することから，本菌の感染によりモモ組織においてエチレンの生成が誘導される可能性が示唆された。そこで，黒斑病菌の感染時におけるエチレン生成に注目し，本菌の産生する毒素を介してエチレン生成が引き起こされる否かを解析した。

### 第1節 モモ黒斑病菌の産生する宿主特異的毒素

本節では菌の毒素産生の有無と培地や培養期間が毒素産生に及ぼす影響を明らかにするとともに，精製を行った毒素がこれまでに報告されている HST として定義される以下の条件 (Pringle and Scheffer, 1964 ; Nishimura and Scheffer, 1965 ; Yoder and Scheffer, 1969)，すなわち，

①毒素作用の宿主特異性：病原菌の宿主植物に限って毒素作用が発揮され，宿主以外の植物には無作用であること，②宿主品種の毒素耐性度と病害抵抗性の序列が一致すること，③病原菌の毒素産生能の有無と病原性の有無が一致すること，④感染初期の宿主における生化学的変化が毒素処理によって再現できること，⑤胞子発芽時に毒素が放出されること，⑥放出毒素によって非病原菌の受容化が誘導されること，を満たしているかどうかを明らかにする。

表 2-1 培地の種類が毒素産生に及ぼす影響

培地の種類	培養濾液の希釈倍率									
	原液		2倍		4倍		8倍		16倍	
	有 <sup>a)</sup>	無	有	無	有	無	有	無	有	無
リチャーズ液体	0 <sup>b)</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
リチャーズ液体+酵母エキス	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
リチャーズ液体+麦芽エキス	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ツァペック液体	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ジャガイモ煎汁	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0
乾アンズ煎汁	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0
モモ幼果煎汁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a) 有：有傷処理，無：無傷処理

b) 処理3箇所当たりの褐変壊死箇所数

### 1 培地の種類が毒素産生に及ぼす影響

#### 材料及び方法

リチャーズ液体 (KNO<sub>3</sub> 10g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2.5g, FeCl<sub>3</sub> 0.02g, ショ糖50g / 1L), 0.2% 酵母エキス加用リチャーズ液体, 2.0% 麦芽エキス加用リチャーズ液体, ツァペック液体 (NaNO<sub>3</sub> 3g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g, KCl 0.5g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01g, ショ糖30g / 1L), ジャガイモ煎汁 (ジャガイモ200g, ショ糖 20g / 1L), 乾アンズ煎汁 (乾燥アンズ 30g, ショ糖 40g / 1L), モモ幼果煎汁 (モモ幼果 200g, ショ糖 40g / 1L) の 7 種類の液体培地を 100ml の三角フラスコにそれぞれ 50ml ずつ入れ，オートクレーブで殺菌後，モモ黒斑病菌の代表菌株 9544 株を 25°C，暗黒下で 8 日間静置培養した。各培養液の一部を 8,000rpm で 15 分間遠心分離し，上清を回収した。この上清を原液とし，2, 4, 8 及び 16 倍まで滅菌水で希釈した。モモ品種 '清水白桃' の新梢の先端から 3~4 葉を採取し，約 2 cm の長さで切った葉片の裏面の 2 箇所直径 1 mm のガラスキャピラリーで浅く加傷し，培養濾液上清を 30 μl ずつ滴下した。なお，無傷のまま被検液を滴下する区も設けた。1 区に 3 葉片を用い，処理後の葉片は 25°C で 6 日間温室に保持し，葉に現れた変化を肉眼により観察した。

#### 結 果

供試した 7 種の培養濾液上清のうち，ジャガイモ煎汁液体培地は有傷区で処理 2 日後，無傷区で 4 日後に病原菌接種時と類似の褐変壊死を引き起こした。乾アンズ煎汁液体培地では有傷区でのみ 2 日後に褐変壊死がみられた。褐変壊死は両培地とも培養濾液の 2 倍希釈まで認められた (表 2-1)。しかし，他の培地では褐変壊死は誘導されなかった。なお，菌を培養していない各培地の原

液処理ではいずれも褐変壊死は観察されなかった。したがって、ジャガイモ煎汁培地及び乾アンズ煎汁培地で培養した本菌の培養濾液中には病原菌接種時の病徴を再現する毒素が存在することが明らかとなった。また、本菌の毒素生成には植物成分の存在が必要と考えられたため、以降の実験においては、ジャガイモ煎汁培地あるいは乾アンズ煎汁培地のいずれかの培地を供試した。

## 2 培養日数が毒素産生量に及ぼす影響

前節で明らかにしたように、本菌は培養時に濾液に毒素を分泌するがその活性は必ずしも高くなく、実験に供試する毒素を回収して精製するために毒素産生の最適条件を明らかにする必要があった。そこで、毒素産生量と培養期間との関連を調べた。

### 材料及び方法

予備実験の分生子接種で葉に強い病原性を示したモモ黒斑病菌9506及び9544株を供試した。PSA平板培地で培養した両菌株の菌叢先端部5mmの菌叢片を細切し、それぞれ300mlのジャガイモ煎汁液体培地を分注した500ml三角フラスコに移植した。25℃で静置培養を行い、培養2、6、9、11、14、17、20及び30日後に培養濾液中の毒素活性を前項1と同様に‘清水白桃’葉を用いて検定した。処理濃度は培養濾液原液から256倍までの2倍希釈段階とし、処理は有傷条件で行い、処理2日後に褐変壊死の有無を調査し、褐変壊死を引き起こす最大希釈倍率から毒素活性を定量した。

### 結 果

供試菌の生育に伴い、急速に毒素産生量が増加し、培養9日後に毒素活性はピークに達した。9506株で原液の128倍、9544株で64倍希釈まで毒素活性が認められた。9544株においても前項1の結果と異なり、高い毒素産生が認められたことは、菌培養時の接種方法の改善が有効であったことによると考えられる。その後、両菌株の毒素活性は低下し、培養14日後にはほとんど活性が認められなくなり、30日後には完全に活性が消失した(図2-1)。なお、30日の培養期間中、菌体は徐々に暗緑色に変化しながら菌体量は増加し続けた。本菌の毒素産生が培養初期にピークを迎え、その後短期間で失活するという結果は、本毒素が比較的不安定な化合物であることを示している。

## 3 毒素作用の宿主特異性

前章で述べたように、本菌は種のレベルで厳密な宿主

特異性を示した。そこで、本菌培養濾液中に存在する毒素作用の宿主特異性を調べた。

### 材料及び方法

ジャガイモ煎汁液体培地で10日間培養したモモ黒斑病菌9530株の培養濾液原液を農試内圃場で採取したモモ‘清水白桃’の葉及び幼果、ナシ‘二十世紀’及びりんご‘王林’の幼葉に有傷下で点滴処理し、褐変の出現を6日間観察した。‘二十世紀’、‘王林’はナシ黒斑病菌及びりんご斑点落葉病菌に対してそれぞれ罹病性であり、同時にそれぞれの病原菌が生成するHSTであるAK毒素及びAM毒素に対して感受性である。また、モモに非病原性の*A. alternata*として、ナシ黒斑病菌15A株、イチゴ黒斑病菌NAF-8株、植物に非病原性のO-94株の培養濾液のモモ葉に対する毒素活性も同様の方法で調べた。

### 結 果

モモ黒斑病菌9530株の培養濾液は、モモ‘清水白桃’の葉に処理3日後に褐変を引き起こした。さらに、モモ幼果に対しても、処理2日後から褐変を誘起し、褐変部にへこみを生じた果実も多かった。壊死は果実内部においても進行していることから、葉緑体が本毒素の作用点である可能性は低いと考えられた。一方、モモ黒斑病菌の非宿主である日本ナシ品種‘二十世紀’の葉及びりんご品種‘王林’の葉では肉眼的変化は観察されなかった(表2-2)。

さらに、*A. alternata*に属し、かつHST生産が報告されている植物病原菌、トマトアルタナリア茎枯病菌、イチゴ黒斑病菌及びタバコ赤星病菌にそれぞれ感受性のトマト‘愛知ファースト’、イチゴ‘盛岡16号’、タバ

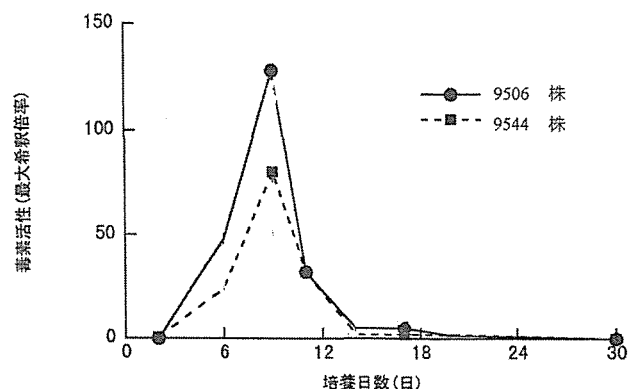


図2-1 培養濾液中に産生される毒素活性と培養日数



コ 'Blight Yellow' の葉に対して、本毒素は褐変を誘起しなかった。なお、ナシ黒斑病菌15A株、イチゴ黒斑病菌 NAF-8株、及び植物に病原性がないとされる *A. alternata* O-94菌の培養濾液はモモ葉に対する毒素活性を示さなかった。

#### 4 モモ品種間の毒素感受性

HST に対する植物の感受性程度は、毒素を生成する病原菌に対する罹病性程度と相関していると報告されている (Pringle and Scheffer, 1964)。そこで、モモ品種の本毒素に対する感受性と本菌による罹病程度との関連を調べた。

#### 材料及び方法

岡山農試内において保存されているモモ栽培品種あるいはそれらの交配母本となっている代表的な25品種を選び、新梢の先端から3~4葉目の葉を採取した。半葉法を用いて病原菌による罹病程度と毒素に対する感受性を比較した。すなわち、それぞれの葉の主脈をはさんだ半葉にモモ黒斑病菌9544株の分生子懸濁液 ( $5 \times 10^5$ 個/ml) を噴霧接種し、残りの半葉に10U濃度 (1Uは '清水白桃' 葉に褐変壊死を誘起しうる毒素溶液の最大希

釈限界濃度を示す) の毒素溶液を有傷下で点滴処理し、25°Cで3日間静置して、葉に出現する病斑及び毒素による褐変壊死程度を調査した。褐変程度は、0:褐変が認められない、1:30%未満の葉面積が褐変、2:30%以上60%未満の葉面積が褐変、3:60%以上の葉面積が褐変、の4段階とした。

#### 結 果

供試したモモ品種のうち、'清水白桃' 及び '上海水蜜' はモモ黒斑病菌の分生子接種及び毒素溶液の処理ともに葉のほぼ全面が褐変し、病原菌と毒素に高い反応性を示した。これに対して '川中島白桃'、'天津水蜜' の2品種は病原菌接種あるいは毒素処理による褐変が最も少ない褐変程度「1」であった。また、'紅清水'、'白鳳' などの21品種では接種及び毒素溶液の処理ともに葉の30~60%の面積に褐変がみられ、感受性品種 ('清水白桃'、'上海水蜜') と抵抗性品種 ('川中島白桃'、'天津水蜜') の中間の反応であった (表2-3)。

以上のように、モモ品種のモモ黒斑病菌による罹病程度と毒素に対する感受性程度が一致することが明らかとなった。

表 2-2 モモ黒斑病菌培養濾液のモモ、ナシ、リンゴに対する毒素活性

供試植物	処理部位	モモ黒斑病菌 (No.9530株)			対照 (ジャガイモ煎汁培地)		
		2日後	3日後	6日後	2日後	3日後	6日後
モモ	葉	0/11 <sup>a)</sup>	1/11	2/11	0/5	0/5	0/5
モモ	果実	4/10	10/10	10/10	0/3	0/3	0/3
ナシ	葉	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
リンゴ	葉	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8

a) 褐変した箇所数/処理箇所数

表 2-3 黒斑病菌に対するモモ品種の罹病性と毒素に対する感受性

供試品種	葉の褐変程度		供試品種	葉の褐変程度	
	分生子接種	毒素処理		分生子接種	毒素処理
清水白桃	3	3	加納岩白桃	2	2
上海水蜜	3	3	まさひめ	2	2
あかつき	2	2	末木白桃	2	2
浅間白桃	2	2	大久保	2	2
紅清水	2	2	春雷	2	2
千曲白桃	2	2	武井白鳳	2	2
ちよひめ	2	2	早生黄金桃	2	2
ちよまる	2	2	八幡白鳳	2	2
ゴールドンピーチ	2	2	大和白桃	2	2
白桃	2	2	ゆうぞら	2	2
白鳳	2	2	川中島白桃	1	1
白麗	2	2	天津水蜜	1	1
加茂川白桃	2	2			

## 5 分生子発芽時の毒素産生能

本病菌は培養濾液中に毒素を産生することを明らかにしたが、自然界における毒素の役割を考慮すると菌の感染時に分泌されることが重要である (Nishimura and Scheffer, 1965). そこで、感染場面を想定し、モモ黒斑病菌の分生子の発芽時における毒素の産生を調べた。

### 材料及び方法

モモ黒斑病菌9506及び9544株をジャガイモ煎汁液体培地250mlを分注したガラスビンで静置培養し、培地液面上に形成した菌体上に第1章第3節1(1)の方法で分生子を大量に形成させた。筆で分生子を蒸留水10ml中に懸濁し4重のキムワイプで濾過した。プラスチックチャンバーの蓋の内面に4重のキムワイプを並べ、得られた分生子懸濁液 ( $1 \times 10^6$ 個/ml) を噴霧し、25°Cの湿室で培養した。24時間後、キムワイプを絞り、得られた液を3,000rpmで10分間遠心分離して発芽分生子を除去し、上清を減圧乾固後にメタノール100 $\mu$ lを加えて可溶性画分を得た。この分画を水に置換し、本節1と同様にモモ葉への有傷滴下処理により毒素活性を示す最大希釈限界を求めた。さらに、以下に述べる薄層クロマトグラフィー (TLC) を行い、 $R_f$ 値を比較した。TLCプレートはSilica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) を使用し、クロロホルム:メタノール=3:1 (v/v) の溶媒で検定溶液を展開後、溶媒を風乾させ、展開の始点から先端部までを4mm毎に切り取った。傷をつけたモモ葉片上に蒸留水10 $\mu$ lを滴下し、TLCプレート切片を置き、処理2日後の壊死斑形成の有無で毒素活性を調べた。 $R_f$ 値は同菌株の培養濾液についても調べ、分生子発芽液の $R_f$ 値と比較した。

### 結 果

分生子発芽液の毒素産生能は、2倍希釈まで認められた。また、TLCの結果から、9506及び9544両菌株の分生子発芽液には同様な $R_f$ 値 (0.5~0.6) を示す単一の毒性分画の存在が認められた。また、この $R_f$ 値は培養濾液中の毒素活性画分の $R_f$ 値と一致したことから、分生子発芽液中には培養濾液と同一の毒素が産生されると推察した。

## 6 病原性と毒素産生能との相関

HSTは生産菌の病原性決定因子 (determinant of pathogenicity) (Nishimura and Kohmoto, 1983) と考えられている。すなわち、病原性菌株は毒素産生能を有し、一方、非病原性菌株は毒素を産生しないと考

えられる。そこで、本病の発生圃場から採取した菌株において、病原性と分生子発芽時の毒素産生能との相関関係を調べた。

### 材料及び方法

岡山市大窪の自然発生圃場A、N圃場の‘清水白桃’の発病葉から分離し、*A. alternata* と同定した24菌株を供試し、第1章第3節1(1)項の方法で分生子を形成させ、 $5 \times 10^5$ 個/mlに調製した分生子懸濁液の葉に対する病原性と各菌株の分生子発芽液中の毒素活性程度との関係を本節4と同様に調べた。

### 結 果

供試24菌株中モモ葉への分生子接種で病原性を示した菌株はいずれも分生子発芽液中の毒素活性が認められ、一方、病原性を示さなかった菌株ではいずれも毒素活性が認めらなかった (図2-2)。したがって、各菌株の病原性と発芽分生子の毒素産生能とは明確な相関が認められた。

## 7 毒素で処理されたモモにおける非病原菌の感染誘導

HSTにおいては、菌の感染に果たす役割が植物病理学上最も重要な作用であると考えられている (Pringle and Scheffer, 1964; Yoder, 1980)。そこで、病原性を持たない*A. alternata* の感染時に本毒素を添加することで感染が誘導されるか否かについて調べた。

### 材料及び方法

モモ品種‘清水白桃’葉を供試し、モモ黒斑病菌の毒素溶液のみの噴霧処理区、非病原性菌株*A. alternata* O-

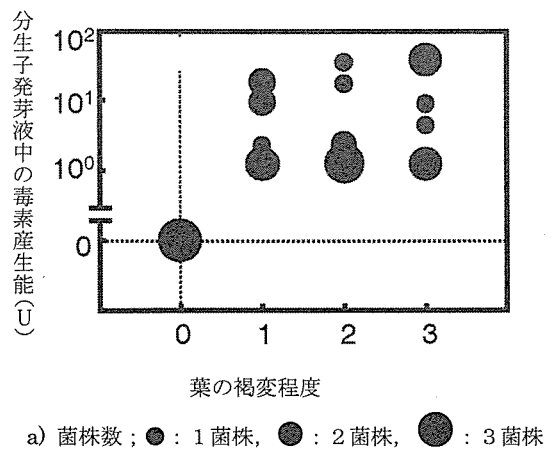


図2-2 モモ黒斑病菌24菌株の病原性と毒素産生能との関係

94菌株分生子懸濁液（ $5 \times 10^5$ 個/ml）の接種区及び分生子懸濁液に毒素を添加した接種区の3つの区を設けて比較を行った。25°Cで2日間培養し、毒素溶液の濃度は1U、10U及び20Uの3濃度とした。24時間後に葉面に占める壊死斑面積を調査した。

また、O-94菌株の分生子懸濁液を単独及び10U濃度の毒素溶液とともに噴霧接種した区について、分生子の発芽状況を光学顕微鏡で調べるため24時間後にエタノール及びラクトフェノール液を用いて脱色固定を行った。そして、分生子発芽率、総発芽管数に占める付着器形成発芽管数の割合（付着器形成率）、総付着器数に占める侵入菌糸形成付着器数の割合（侵入菌糸形成率）を調べた。

## 結 果

本来モモ葉に対して病原性を示さないO-94株分生子を単独及び毒素溶液に懸濁して噴霧接種した場合、分生子発芽率、付着器形成率には差がみられなかった。しかし、侵入菌糸形成率でみると、O-94株分生子単独では、付着器からモモ組織への侵入は全く認められなかったが、毒素の存在下では22.4%の付着器からモモ葉表皮細胞への侵入菌糸形成が認められた（表2-4）。

低濃度（1U）の毒素単独処理では壊死斑を生じなかったが、非病原性のO-94株菌と混合接種すると、病

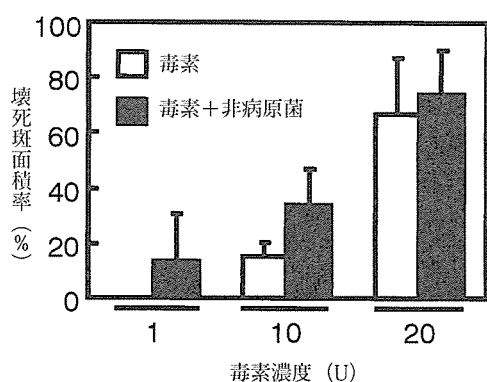


図2-3 毒素処理による非病原菌の感染誘導

原菌を接種した場合に類似した壊死斑が低率ながら出現した。中濃度（10U）処理では両処理区とも壊死斑が生じたが、O-94株菌との混合接種区が毒素単独処理区に比べて有意に壊死斑面積が大きかった（図2-3）。

以上の結果から、本毒素は非病原性の *A. alternata* O-94菌株の感染を誘導することが明らかとなった。

以上の1～7の結果から、本病菌の分生子発芽液中に産生される毒素は、HSTの条件を満たしていたことから、新規のHSTであることがわかった。

## 第2節 毒素によるモモ葉中のエチレン生成の誘導

前節において、本菌の生成する毒素がモモ葉に壊死を誘起する新規のHSTであることを明らかにした。予備的実験によれば既報のHSTの生理作用として知られている原形質膜を標的部位とするような宿主組織からの電解質漏出（Otaniら、1985）は観察できなかった。また、果実内部及び花弁が本毒素に反応することから、葉緑体を標的とするAM毒素に見られるような器官特異性は観察されなかった。酸素電極を用いた実験からはミトコンドリアを標的とする可能性も否定されるようであった。一方、これまでの知見から、本病に自然感染した罹病葉においては病斑部が速やかに脱落、せん孔し落葉すること、また、本菌の感染した花弁では褐変や脱離が速やかに誘導されることから、本菌の感染したモモ組織ではエチレンの生成が誘導されている可能性が示唆された。そこで、本節ではモモ黒斑病菌を接種あるいは本菌の毒素を処理したモモ葉におけるエチレン生成を解析した。

### 1 モモ黒斑病菌の接種によるモモ葉のエチレン生成

モモ黒斑病菌の感染過程におけるモモ葉からのエチレン生成の変動を経時的に計測した。また、本菌に対して感受性の異なる3品種を用い、エチレン生成の差異を測定した。

## 材料及び方法

モモ黒斑病菌9544株を培養後、分生子を形成させ、5

表2-4 毒素による非病原菌O-94株の感染誘導

	分生子の発芽率	付着器形成率 <sup>a)</sup>	侵入菌糸形成率 <sup>b)</sup>
非病原菌O-94株+毒素 <sup>c)</sup>	95.0±4.7 <sup>d)</sup>	43.7±8.4	22.4±7.1
非病原菌O-94株	94.0±10.5	38.3±10.3	0.0±0.0

a) 観察発芽管数の付着器形成率 (%)

b) 観察付着器数の侵入菌糸形成率 (%)

c) 毒素濃度：10U

d) 平均値±標準偏差

×10<sup>6</sup>個/mlに調製した分生子懸濁液10mlを‘清水白桃’、‘白鳳’、‘川中島白桃’の葉の全面に均一に噴霧接種した。1区1葉、3反復で実施した。対照菌株としてモモに対して病原性を持たないナシ黒斑病菌15A株を用いた。接種葉は保湿のため水を含ませたキムワイプを入れた235mlのガラス瓶に封入後、室温に静置した。接種0、1、2、4、8、16、24、32、48及び72時間後にシリンジで瓶内のガスを1ml採取し、ガスクロマトグラフィ（島津GC4CM）に注入してエチレン生成量を測定した。すなわち、接種後3時間までは封入状態で連続的にガスを採取し、4時間後以降から測定の1時間前にガラス瓶の蓋を開けて換気し、その後1時間で生成するエチレン量を測定した。エチレンの定量分析は以下の条件で行った。カラム：3mm×1mm（ステンレス製）、カラム温度：80℃、充填剤：活性アルミナ（60～80mesh）、キャリアーガス：N<sub>2</sub>、検出器：水素炎検出器（FID）、検出器温度：150℃。また、エチレン生成量は以下の式で算出した。検出器の感度を10<sup>4</sup>に設定した。

$$0.1 \times s / 16 \times H \times (V - W) / R / T / W = \text{nl} / \text{g} \cdot \text{h}$$

s=測定レンジ、V=容器の容積(ml)、R=注入量(ml)、H=ピークの高さ(cm)、W=サンプル重量(g)、T=封入時間(hr)

## 結 果

3品種の葉に接種後の、感染葉からのエチレン生成量を経時的に調べたところ、‘清水白桃’、‘白鳳’、‘川中島白桃’とも、モモには非病原菌であるナシ黒斑病菌15A株を接種した場合にも蒸留水を噴霧処理した場合にもエチレン生成は全く誘導されなかった。

一方、モモ黒斑病菌を接種した場合には接種1時間後に極微量のエチレンが生成された。この微量のエチレンの生成原因は不明であるが、病原菌に対する罹病性程度に関わらず、ほぼ同程度の生成が認められることから、接種刺激に対する共通の反応である可能性が示唆される。それから8～15時間後頃までは‘清水白桃’及び‘白鳳’では10nl/g・h以下、‘川中島白桃’では1nl/g・h以下の生成量であった。その後、‘清水白桃’では24時間後以降、‘白鳳’、‘川中島白桃’では32時間後からエチレン生成量が急激に増加し、3品種とも48時間後で最高値に達した。このときの生成量は‘清水白桃’が最も多く約750nl/g・h、次いで‘白鳳’の280nl/g・hで、‘川中島白桃’は‘清水白桃’の約1/9と少なかった。72時間後には‘清水白桃’、‘白鳳’のエチレン生成量は大幅に減少したが、‘川中島白桃’ではその減少が緩やかであった（図2-4）。

‘清水白桃’では接種32時間後には葉に病斑が現れ、72時間後には葉全体が褐変したが、‘白鳳’及び‘川中島白桃’では72時間後まで病斑形成は認められなかった。なお、接種に用いた病原菌のエチレン生成量を調べたが、モモ黒斑病菌及びナシ黒斑病菌が単独で本実験において検出されるような多量のエチレンを生成することはなかった。

以上のように、いずれの品種においてもエチレン生成は接種数時間後と24～48時間後頃に誘導され、‘清水白桃’での生成量は‘白鳳’及び‘川中島白桃’に比べて高いことが明らかとなった。

## 2 毒素処理によるモモ葉のエチレン生成

前項で検出された黒斑病菌接種モモ葉におけるエチレン生成が毒素作用に起因するかどうかを確認するために、毒素処理したモモ葉におけるエチレン生成量を経時的に計測した。

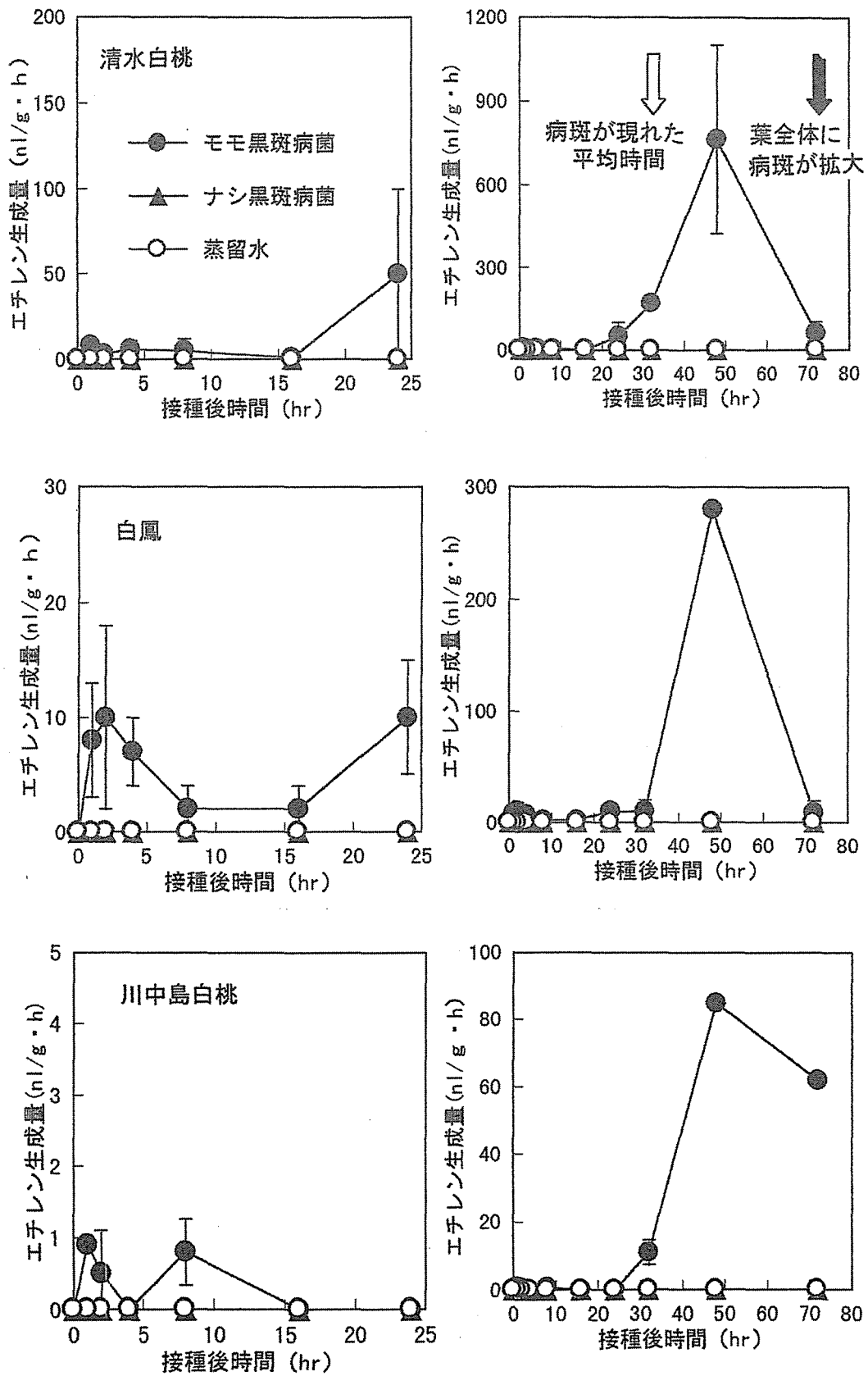
### 材料及び方法

部分精製した毒素を蒸留水で5U、10U及び50Uに調製し、10mlを圃場から採取した‘清水白桃’葉全面に均一に噴霧処理した。‘白鳳’及び‘川中島白桃’には5Uを処理した。1区1葉、3反復で実施した。対照には0.3%メタノール水溶液を散布した。その後、前項1と同様にそれぞれの葉のエチレン生成量を測定した。

## 結 果

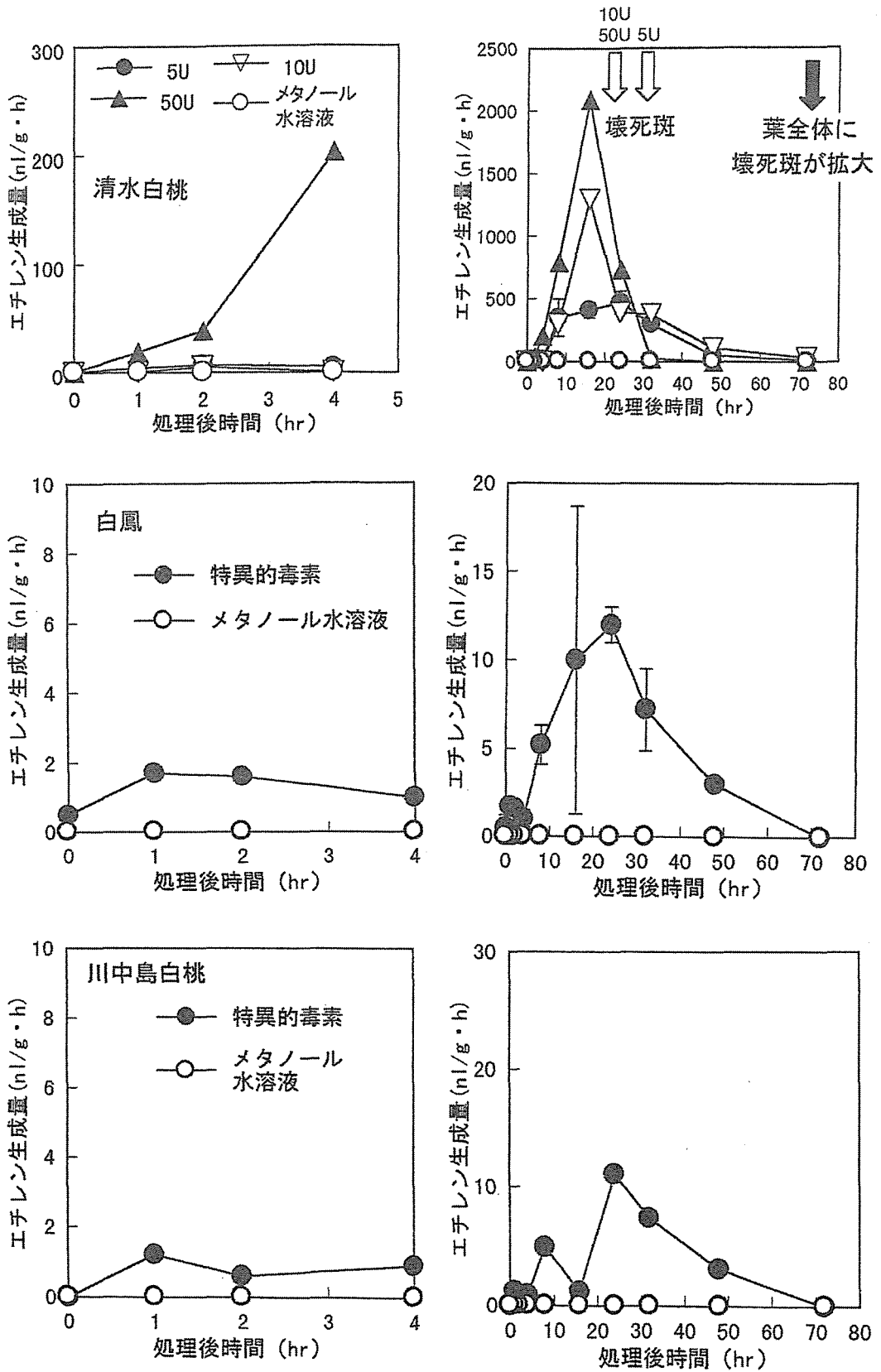
‘清水白桃’では毒素処理1時間後からわずかにエチレン生成が認められ、4時間後以降生成量が急増し10U、50U区では16時間後、5U区では24時間後に最高値（500～2,000nl/g・h）に達した。このときの生成量は毒素の処理濃度と正の相関が認められた。その後は各処理区とも減少し、葉の全体が褐変した72時間後にはほとんど検出されなかった。5U区において‘白鳳’及び‘川中島白桃’でも処理1時間後からわずかにエチレン生成が認められ、処理4時間後以降増加し、両品種とも24時間後にエチレン生成量が約10nl/g・hでピークとなったが、その時の生成量は‘清水白桃’の470nl/g・hに比較してかなり低かった。エチレン生成はその後減少し、両品種とも褐変が全面に広がっていないにも関わらず72時間後には検出されないレベルとなった。対照の0.3%メタノール水溶液を噴霧処理した場合には3品種ともエチレン生成は誘導されなかった（図2-5）。

毒素処理による葉の壊死斑は、‘清水白桃’では5U区で32時間後、10U及び50U区で24時間後に認められた。



注) 左列は接種 24 時間後までの拡大図, 右列は接種 72 時間後までを示す

図 2-4 モモ黒斑病菌を接種したモモ葉のエチレン生成



注) 左列は接種 4 時間後までの拡大図, 右列は接種 72 時間後までを示す

図 2-5 毒素処理したモモ葉のエチレン生成

一方、‘白鳳’では処理72時間後に壊死斑が形成されたが、‘川中島白桃’では72時間後においても壊死斑は形成されなかった。

以上の結果から、モモ黒斑病菌接種時にモモ葉で検出されたエチレン生成は本菌の生成する毒素によって誘導されることが明らかとなった。

### 第3節 考察

植物病原糸状菌は培養中に植物に対して毒性がある多様な代謝産物を生成するが、その多くは非宿主植物にも毒性を発揮する非特異的毒素である。これに対し、モモ黒斑病菌と同種の *Alternaria alternata* には、宿主特異的毒素 (HST) と呼ばれる低分子二次代謝産物を生成する7種類の病原菌が報告されている。以下の6つの条件、①毒素作用の宿主特異性、②宿主品種の毒素耐性度と病害抵抗性の序列が一致すること、③病原菌の毒素産生能の有無と病原性の有無が一致すること、④感染初期の宿主における生化学的変化が毒素処理によって再現できること、⑤胞子発芽時に毒素が放出されること、⑥放出毒素によって非病原菌の受容化が誘導されること、を満たす HST は単なる毒性物質ではなく、病原性発現に関する第一義的決定因子あるいは菌の感染を成功に導くための始動因子と位置付けられている (Nishimura and Kohmoto, 1983)。

そこで、本章ではモモ黒斑病菌が毒素産生能を有するか否か、また、その毒素が HST であるか否かを検討した。培地の種類と毒素産生の関係では、半合成培地であるジャガイモ煎汁、乾アズン煎汁培地でのみ毒素産生がみられ、リチャーズ、ツアベック培地などの合成培地では認められなかった。リチャーズ培地などの合成培地で容易に HST を産生するナシ黒斑病菌 (AK 毒素)、リンゴ斑点落葉病菌 (AM 毒素) とは異なり、本菌菌糸体による毒素産生の誘導には植物成分が必要であるのかもしれない。*A. alternata* は病原性のあるに問わず植物組織内へ物理的侵入を試みることが知られており、自然感染においては菌の侵入行動が毒素の組織内への浸透を助けられていると考えられた。さらに、培養日数と毒素産生の関係では、培養9日後に毒素活性がピークを示し、その後短期間に活性の消失がみられたことから本毒素は比較的不安定な化合物と考えられる。

本毒素が HST として具備すべき上記の6つの条件について検討した。

①本菌の培養濾液はモモの葉、幼果に対してのみ褐変を誘起し、他種植物の葉には毒素活性を示さなかったことから、毒素作用には宿主特異性が認められた。

②モモ25品種の幼葉における毒素処理による壊死誘導程度と分生子接種による発病程度の品種間差異が一致した。なお、供試した多くのモモ品種は中程度の感受性を示し、各 HST に対する品種の反応が all-or-non (発病するかしないかが明確) とされているナシ黒斑病 (Otani *et al.*, 1985) 及びイチゴ黒斑病 (Maekawa *et al.*, 1984) とは異なっていた。

③現地圃場の罹病葉の病斑から分離した *A. alternata* 24 菌株について、分生子接種による病原性の有無と分生子発芽液中の毒素活性の産生能が一致していた。

④分生子接種により葉や果実に誘起される速やかな褐変壊死及び幼果の窪みのような肉眼的変調が毒素処理によっても再現され、さらに分生子接種、毒素処理のいずれもがモモ葉にエチレン生成を誘導することも本条件に合致していると考えられる。

⑤モモ黒斑病菌の分生子発芽液及び培養濾液のメタノール分画中には葉の褐変を誘起する毒素分画が認められ、TLC による精製で両分画の  $R_f$  値は一致した。

⑥本毒素の存在下で本来植物に病原性のない *A. alternata* を毒素とともに接種するとモモ葉への非病原菌の侵入が認められ、感染が誘導された。先に述べたように自然病斑から病原性のない *A. alternata* がしばしば分離される現象は、毒素による感染誘導が影響していると考えられる。

以上のように、モモ黒斑病菌の産生する毒素は HST として定義される諸条件を満たしたことから、本毒素を新規の HST, 「AP 毒素」と命名することを提唱する。

HST 生成 *A. alternata* のほとんどは発生当初、明確な宿主特異性からそれぞれ新種として同定・分類されたが、Nishimura *et al.* (1978) は、これらの形態的特徴が地球上に広く存在する典型的な腐性菌 *A. alternata* と一致することを見出し、これらが *A. alternata* の病原性に関する変異系統であるとした。すなわち、腐性菌 *A. alternata* がそれぞれの HST 生産性を獲得することによって各宿主に病原性を示すようになったものと推定し、*A. alternata* の病原型 (pathotype) として位置付けることを提案した。Kusaba *et al.* (1994) はリボソーム RNA 遺伝子の RFLP 解析、ITS (internal transcribed spacer) 領域の塩基配列の比較による HST 生成 *A. alternata* の遺伝的類縁性から、Nishimura *et al.* の仮説を実証している。

モモ黒斑病菌は第1章で述べたように、分類上の形態が集合種 *A. alternata* に属していることから、本菌を他の HST 産生病原菌の例にならひ、*A. alternata* の種内病原型 「peach pathotype」と呼称することを提唱する。

毒素のモモに対する生理作用を明らかとすることは毒

素作用点の理解につながり、長期的な視点に立てば、品種の毒素感受性の定量的な評価、さらには毒素感受性部位の改変による抵抗性品種育成への可能性も持つ。本毒素ではナシ黒斑病菌のAK毒素及びイチゴ黒斑病菌のAF毒素の生理作用として知られている原形質膜を標的部位とするような宿主組織からの電解質漏出 (Otani *et al.*, 1985, Namiki *et al.*, 1986) は観察できなかった。また、モモ果実内部及び花卉が本毒素に反応することから、AM毒素のような葉緑体を標的とする毒素に見られるような器官特異性 (Kohmoto *et al.*, 1982) は認められず、カンキツ (ラフレモン) brown spot 病菌のACR毒素及びタバコ赤星病菌のAT毒素で知られるミトコンドリアを標的とする (Kohmoto *et al.*, 1984, Kodama *et al.*, 1990) 可能性も酸素電極を用いた検討から否定された。

本病に自然感染した罹病葉においては病斑部が速やかに抜け落ちせん孔、あるいは落葉したこと、また接種によって本菌に感染した花卉では褐変や脱離が速やかに誘導されたことから、本菌の感染によりモモ組織にはエチレンの生成が誘導されている可能性が示唆された。そこで、モモ黒斑病菌の感染時におけるモモ葉のエチレン生成を調べたところ、罹病性品種‘清水白桃’、中程度の耐病性品種‘白鳳’及び耐病性品種‘川中島白桃’のいずれにおいてもエチレン生成の誘導が認められ、罹病性の程度が高いほど多量に生成されることが判明した。しかし、‘白鳳’、‘川中島白桃’では葉の褐変壊死が認められなかったことから、エチレン生成の誘導が壊死斑形成に必ずしも関連しないようである。モモの非病原菌であるナシ黒斑病菌15A株を接種した場合及び蒸留水を噴霧処理した場合には3品種ともにエチレン生成は誘導されなかったことも、エチレン生成が抵抗性ではな

く、むしろ罹病性 (あるいは病斑形成) とリンクしていることを支持する結果と考えられる。しかしながら、眞山ら (1986) によれば、エンバクビクトリア葉枯病菌 (*Helminthosporium victoriae*) の産生する毒素ビクトリンCがエンバク罹病性品種のファイトアレキシン生成を誘導することも知られており、病原菌には無力であるが、ひとつの抵抗反応を強力に誘導している可能性もある。

モモ葉のエチレン生成に本菌の産生する毒素が介するかを検討したところ、毒素処理によって、‘清水白桃’、‘白鳳’、‘川中島白桃’のいずれの品種もエチレン生成の誘導が認められた。エチレン生成の誘導は毒素処理24時間後にピークとなった。‘清水白桃’を用いて濃度依存性を検討した結果、エチレン生成量は毒素の処理濃度と正の相関があったことから、エチレン生成には毒素が介していると考えられる。

これまでエチレンは病害抵抗性に関与する宿主の生理活性物質として、主に抵抗性反応と関連づけられてきた (Brogie *et al.*, 1986, Roby *et al.*, 1986)。しかし、モモとモモ黒斑病菌の系においてはエチレン生成が感受性反応の結果であり、病原菌の病原性因子、すなわち毒素がエチレン誘導因子であると考えられる。病原菌がエチレンを生成するために発病過程でエチレンが検出される事例は特に貯蔵時において報告されている (Waks, 1985)。病原菌の代謝物が感受性反応においてエチレンを誘導する例は、最近、同じHST生成 *A.alternata* に起因するトマトアルタナリア茎枯病において報告されているが (Moore *et al.*, 1999)、モモ黒斑病菌のように最も感受性の高い品種において最もエチレン生成が高いことを示した例は極めてまれである。今後、抵抗性育種面への応用を図るためにもモモ黒斑病菌が産生する毒素の初期作用点の解明が必要である。



### 第3章 モモ黒斑病菌の伝染並びに伝染・発病と気象との関係

病害防除において第一次及び第二次伝染源を明らかにすることは極めて重要である。ナシ黒斑病では枝の越冬病斑や枯死した芽が主要な伝染源とされている（鏑方，1927；人見，1930；北島ら，1957）。モモ黒斑病は果実，葉，枝に発病するが，発生圃場では被害果は土中に埋没させ，被害葉は集めて焼却処分されている。一方，枝においても重症の枝や明らかな病斑のある枝は剪定時に切り取られる。しかし，第1章第1節に示したように枝における越冬病斑は，栽培農家にとってわかりにくいので，完全に剪定で除去できないのが現状である。そこで，本章では，第一次伝染源として可能性が高い2年生枝病斑上における本病菌の分生子形成について調べた。また，*Alternaria* 属菌による病害の伝染は主に分生子による空気伝染とされている（Rotem，1994）ので，本病発生圃場における空気中の分生子の飛散状況について調査した。さらに，モモの果実，葉，枝における本病の初発生時期や初発後の病斑の進展過程，発病推移と気象との関係を解析した。

#### 第1節 枝病斑における *Alternaria* spp. の分生子形成

自然界では本病菌と形態が同一であるが，病原性のない *Alternaria* 属菌が広範に存在しており，本病の枝病斑に形成されたすべての分生子が本病菌に由来するか否かは明らかではない。そこで，病斑に形成された *Alternaria* spp. の分生子総数の消長を調べるとともに，それらに占める本病菌の頻度を調査し，伝染源としての

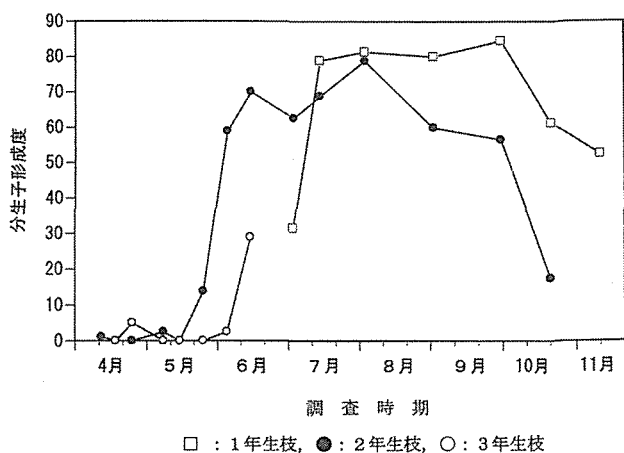


図3-1 枝病斑上の *Alternaria* spp. の分生子形成消長 (1996, A 圃場)

枝病斑の重要性を評価した。さらにその消長に及ぼす気象条件についても検討した。

#### 1 *Alternaria* spp. の分生子形成消長

##### 材料及び方法

1996～2000年の3月下旬から11月上旬まで，岡山市の多発圃場 (A, Y 圃場) で‘清水白桃’2樹の1～3年生枝の約30病斑について，約1週間おきに病斑の表面を蒸留水を含ませた市販の綿棒で拭いた後，綿を指で絞りスライドグラス上に水滴を滴下して風乾させ，*Alternaria* spp. の分生子数を計測した。

$$\text{分生子形成度} = [\sum (X_i \cdot n_i) / 4N] \times 100$$

$X_i$  = 分生子形成量の指数 (0 : 分生子形成なし，

1 : 分生子数20個以下，2 : 同21～100個，

3 : 同101～500個，4 : 同501個以上)

##### 結果

1996年には2年生枝の越冬病斑上の *Alternaria* spp. の分生子形成は4月11日にA, Y 圃場で初見されたが，分生子形成度は低かった。その後も5月中旬まで低く推移した。しかし，両圃場とも5月下旬から6月上旬にかけて形成度が急激に高まり，9月下旬までの長期間にわたって高い状態が続いたが，10月中旬には低下した。3年生枝の病斑にも分生子形成が認められたが，形成度は2年生枝に比べて低かった。1年生枝 (新梢) の病斑上には，調査を開始した7月初めから分生子形成がみられ，11月上旬まで高い形成度が続いた (図3-1)。

1997年にはA 圃場の2年生枝病斑上の分生子形成は3月中旬からごくわずかに認められ，その後4月第2半旬に

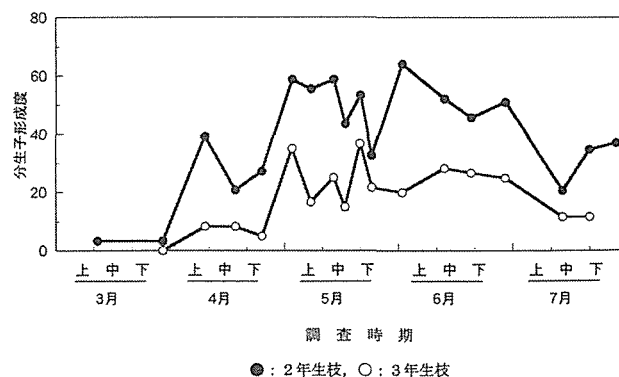


図3-2 枝病斑上の *Alternaria* spp. の分生子形成消長 (1997, A 圃場)

急増した。この時期は1996年より45日程度早かった。以後4月中旬に減少したが、5月第1半旬には再び急増した。5月下旬に一時的に形成度が低下したものの、6月下旬までは形成度が高い状態で推移した(図3-2)。

また、1998年には4月第2半旬、1999年には4月第5半旬に先述のような2年生枝での分生子形成度が急増した(図省略)。

2000年の2年生枝病斑上の分生子形成は4月第5半旬からみられたが、形成度は低かった。その後、5月第2～4半旬に形成度が急激に高まり、7月下旬まで高い状態で維持し、8月からやや低下した(図省略)。

以上の結果から、2年生枝病斑の *Alternaria* spp. の分生子形成は4～5月に急増し、以後8～9月頃まで多量の分生子が形成され続けることが明らかとなった。また、3年生枝においても2年生とほぼ同じ時期から分生子の形成がみられるが、その形成量はやや少ないこと、さらに1年生枝に形成された病斑上には7月頃から分生子形成が盛んになり、10月頃まで継続して多量の分生子が形成されることが分かった。

## 2 枝病斑上に形成された *Alternaria* spp. の分生子中のモモ黒斑病菌の頻度

### 材料及び方法

1998年4月7日、8月19日に岡山市の0圃場、T圃場の2年生枝病斑、A圃場の1年生枝病斑(8月19日のみ)上の分生子を病斑別に前項1の方法で採集し、分生子数を計測した後、スライドグラス上の分生子を滅菌水(約0.5ml)で洗い落とし、谷口ら(1991)の *Alternaria* 属菌用選択培地(トリアジメホン10ppm、ベノミル2.5ppm、硫酸ストレプトマイシン200ppm加用改変リチャーズ寒天培地(グルコース半量)、pH5.8)に塗布した。25℃で約7日間培養した *Alternaria* 属菌を釣菌して供試菌株とした。病原性の検定は、各菌株を素寒天平板培地で25℃で約10日間培養した後、モモ‘清水白桃’の葉片(1菌株当たり3葉片6箇所)に5mm角の菌叢を張り付けて行った。発病程度は第1章第3節1(3)項に準じて発病指数0～3の4段階とし、2箇所以上に発病がみられた菌株、または1箇所でも指数2以上の発病がみられた菌株を黒斑病菌と判定した。

### 結 果

*Alternaria* spp. の分生子形成量は、病斑10mm以上の大型病斑の方が3～5mmの小型病斑に比べて多かった。時期別に比較すると8月19日が4月7日に比べて形成量

がやや多かったが、全 *Alternaria* spp. の分生子中に占めるモモ黒斑病菌の検出頻度は低下する傾向であった。また、4月7日の調査で黒斑病菌の菌株率が高かった病斑は、8月19日の調査でも黒斑病菌の分生子を多く形成する傾向が認められた(表3-1)。以上から、病斑ごとで黒斑病菌の検出頻度に差異はあるものの、枝病斑の大小に関わらず、病斑上にはモモの生育期間を通じて黒斑病菌の分生子が形成され伝染源となる可能性が高いことが分かった。

## 3 *Alternaria* spp. の分生子形成と気象との関係

前述のように、2年生枝病斑上の分生子形成度は4～5月に急激に高まることが判明した。これには気象が影響していると考えられたので、4～5月の気象要因と分生子形成との関連を解析した。

### 材料及び方法

モモ圃場の気象は、地上高1mに設置した自然通風シェルター(YOUGH社製、MODEL41320、ABS樹脂製、白色)内で、温度・湿度データロガー(おんどとり® RH, TR72S, T & D社製またはTHERMO RECORDER RS-11, TABAI ESPEC社製)を用いて1996～2000年の4～7月に10分間隔で温度、湿度を記録し、日平均気温、日最低気温、日平均湿度、日最低湿度を求めた。降雨日は岡山地方気象台の気象月報(岡山)で0.5mm以上の降雨がみられた日とした。本節1項の分生子形成消長の調査結果と気象との関係を調べた。

### 結 果

前項2に示したように、越冬した2年生枝病斑上には4～5月に分生子形成が急増した。急増時期の早晩は年により1か月以上の差がみられたので、分生子形成の急増時期と気象要因との関係に注目した。図3-3に年次別にモモ圃場で測定した日平均気温、日最低気温、最低湿度、降雨日と2年生枝病斑上の分生子形成の急増時期を示した。1996、1997、1998年は調査期間内に2～5日の連続した降雨があり、かつ降雨日の日最低気温が12℃以上の日が出現した直後の調査で分生子形成の急増が確認された。1999年は、4月10、12日にこれに該当する気象条件が現れ、4月18、19日に再び同様の条件が現れた後に分生子形成の急増がみられた。2000年は分生子の初確認は、4月24日で、最低気温10～11℃で降雨が連続した4月20、21日の直後であった。その後、分生子形成の急増を確認したのは5月9日及び16日で、それぞれ最低気温が13.6℃(0.0mmの降雨で曇天、結露時間が晴天日

表 3-1 枝病斑別の *Alternaria* spp. の分生子形成量と黒斑病菌の検出頻度 (1998)

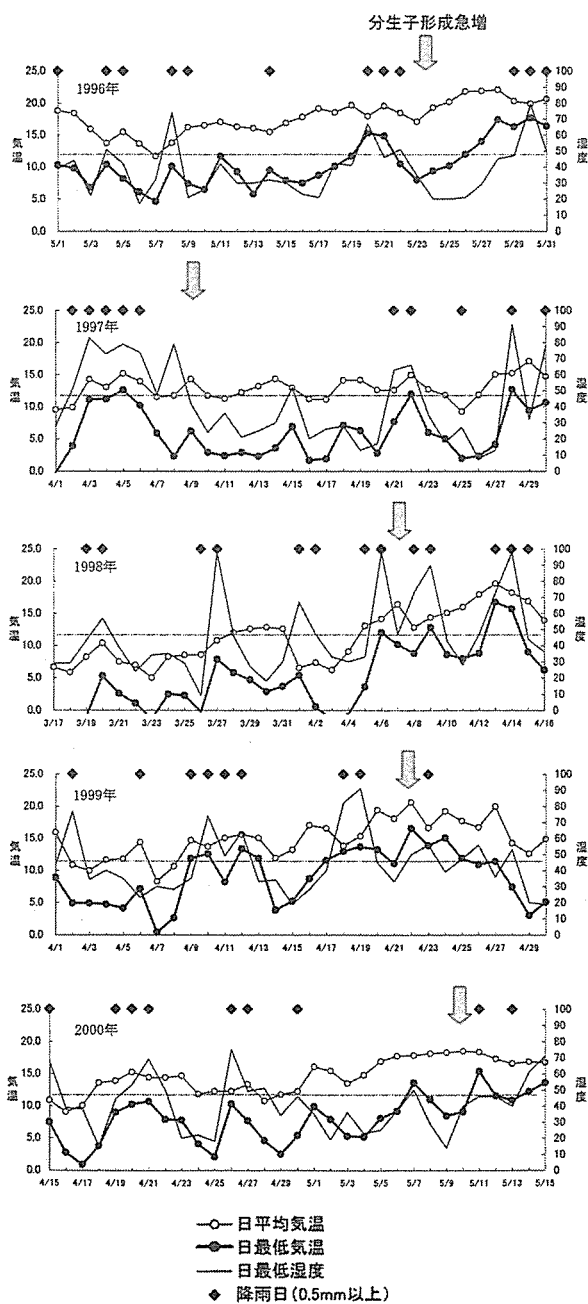
病斑番号	病斑長 (mm)	枝病斑の形態	4月7日		8月19日	
			分生子 <sup>a)</sup> 形成量	検出頻度 <sup>b)</sup>	分生子 <sup>a)</sup> 形成量	検出頻度 <sup>b)</sup>
(O圃場)						
1	3	だ円形, 亀裂	無	—	中	0/13
2	6	だ円形, 亀裂	中	4/20	微	0/1
3	7	凹み, 芽周辺	中	6/26	中	5/17
4	7	亀裂, 芽周辺	少	9/14	中	9/23
5	13	凹み, 芽周辺	少	19/31	少	11/15
6	20	亀裂, 癒合病斑	多	28/59	中	2/5
7	10	亀裂, 癒合病斑	少	8/20	少	3/8
8	8	凹み, 輪紋状	無	—	微	0/3
10	3	円形, 亀裂	少	10/17	中	0/3
11	7	だ円形, 亀裂, 芽周辺	中	10/20	多	0/30
12	3	円形, 微小亀裂	少	4/5	少	0/3
13	2	円形, 凹み	微	0/1	微	—
14	16	大型不定形, 芽周辺	多	36/46	中	4/30
15	2	円形, 微小亀裂	微	0/3	少	0/3
16	3	だ円形, 凹み	微	0/1	少	0/3
17	8	凹み, 亀裂, 芽周辺	少	20/26	中	6/29
18	3	凹み, 芽周辺	少	12/13	中	3/18
19	5	凹み, 芽周辺	少	10/16	中	—
(T圃場)						
1	4	円形, 凹み,	無	—	微	0/3
2	4	円形, 凹み	無	—	微	0/5
3	4	円形, 亀裂	少	1/8	少	0/12
4	5	だ円形, 亀裂	中	10/37	中	25/29
6	4	円形, 亀裂	微	0/6	微	0/9
7	4	円形, 亀裂	少	0/5	少	0/8
9	4	円形, 凹み	微	—	中	0/8
10	6	だ円形, 亀裂	少	0/7	中	0/25
11	6	円形, 亀裂	微	1/21	中	0/12
12	4	円形, 亀裂	少	0/3	少	0/3
13	11	だ円形, 亀裂	少	15/20	多	11/34
14	5	だ円形, 亀裂	中	1/19	中	1/27
15	10	癒合病斑, 亀裂	多	7/25	多	1/22
16	11	癒合病斑, 亀裂	少	6/11	多	9/25
17	5	円形, 亀裂	中	4/14	中	4/18
18	13	癒合病斑, 凹み	多	5/37	多	5/38
20	3	だ円形, 微小亀裂	少	17/25	中	1/3
21	4	円形, 微小亀裂	少	0/9	微	0/2
22	3	だ円形, 微小亀裂	無	—	少	0/15
23	5	凹み, 不発芽周辺	中	0/9	中	7/16
24	4	円形, 凹み	少	0/9	微	0/2
25	7	だ円+癒合病斑, 亀裂	中	11/40	多	19/27
26	13	だ円+癒合病斑, 亀裂	少	9/30	多	1/27
27	21	癒合病斑, 亀裂, 芽周辺	多	20/35	多	1/18
28	7	だ円形, 亀裂	少	0/15	少	4/14
(A圃場)						
1					中	20/26
2					少	0/2
3					中	0/7
4					多	19/31
5					中	12/12
6					多	32/33

a) 無：分生子形成なし，微：分生子数20個以下，少：同21～100個，中：同101～500個，多：同501個以上

b) モモ黒斑病菌菌株数/供試 *Alternaria* spp. 菌株数

よりやや長い10.7時間)となった5月7日と、最低気温が15.4℃で6.5mmの降雨が観測された5月11日の直後であった。

以上の結果から、2年生枝病斑上の分生子形成の急増時期には、気温(特に日最低気温)と降雨が強く影響しており、日最低気温が12℃以上の降雨日の出現が分生子形成の急増の引き金になっていると考えられる。



注) 矢印は分生子形成急増時期を示す

図 3-3 2年生枝病斑における分生子形成の急増時期と気象条件との関係(1996~2000)

## 第2節 発生圃場における空气中的黒斑病菌の飛散

前節において枝病斑上には4~5月の一時期に本菌の分生子形成が盛んになり、その後、モモの生育期間を通じて長期間形成され続けることが明らかとなった。これらの分生子は空气中に飛散し、モモの果実や葉などに伝搬されると考えられる。そこで、本節では本病の発生圃場を飛散する *Alternaria* spp. の分生子のうち、本病菌の頻度を明らかにするとともに、時刻別、時期別の飛散消長を調べた。

### 1 空气中を飛散する *Alternaria* spp. の捕捉と時刻別飛散消長

#### 材料及び方法

空气中を飛散する *Alternaria* spp. を捕捉する方法として最も簡便で捕捉効率の高い方法を選定するため、以下の3種類の方法を比較検討した。

回転式孢子採集器を用いる方法：岡山市の現地多発圃場(Y圃場)で、スライドガラスの位置が地上約100cmの高さになるように回転式孢子採集器(池田理化社製 SPORE COLLECTOR)を設置した。回転板にグリセリンゼリーを塗布したスライドガラス2枚を取り付け、1996年7月4日午前0時から7月6日午前0時まで及び7月16日12時から7月18日12時まで(天候：7月4日：晴のち曇、7月5日：雨のち曇のち晴、7月16~18日：晴時々曇、風はいずれも無風~弱)にスライドガラスを3時間おきに交換した。スライドガラス上のグリセリンゼリーを塗布した18mm×18mm内の *Alternaria* spp. の分生子数を光学顕微鏡観察で調査した。分生子数は2枚の平均値とした。

寒天平板培地を暴露する方法：Y圃場に隣接する多発圃場(O圃場)で、モモ清水白桃の樹下1.2mの高さに *Alternaria* 属菌用選択培地を流し込んだ直径9cmのシャーレ5枚を、上記の日時に3時間づつ暴露した。暴露後25℃で約7日間培養し、生じた *Alternaria* spp. の菌叢数を調査した。菌叢数は5枚の平均値とした。

エアースンプラーを用いる方法：O圃場で1996年7月4日午前6時から7月6日午前0時、及び7月16日12時から7月18日12時に、3時間おきにRCSエアースンプラー(BIOTEST社製)を地上約1.5mの高さで1~2分間作動させて空气中的 *Alternaria* spp. 菌を捕捉した。捕捉培地には *Alternaria* 属菌用選択培地を用いた。回転後のアガーストリップはアガーケースに入れ、25℃で約7

日間培養し、*Alternaria* spp. の菌叢数を計数した。捕捉は連続して2回行い、菌叢数は平均値をとった。

また、寒天平板培地を暴露して捕捉した *Alternaria* spp. について、本章第1節2項と同様の方法でモモ葉に対する病原性を検定し、モモ黒斑病菌の飛散数を明らかにした。

### 結 果

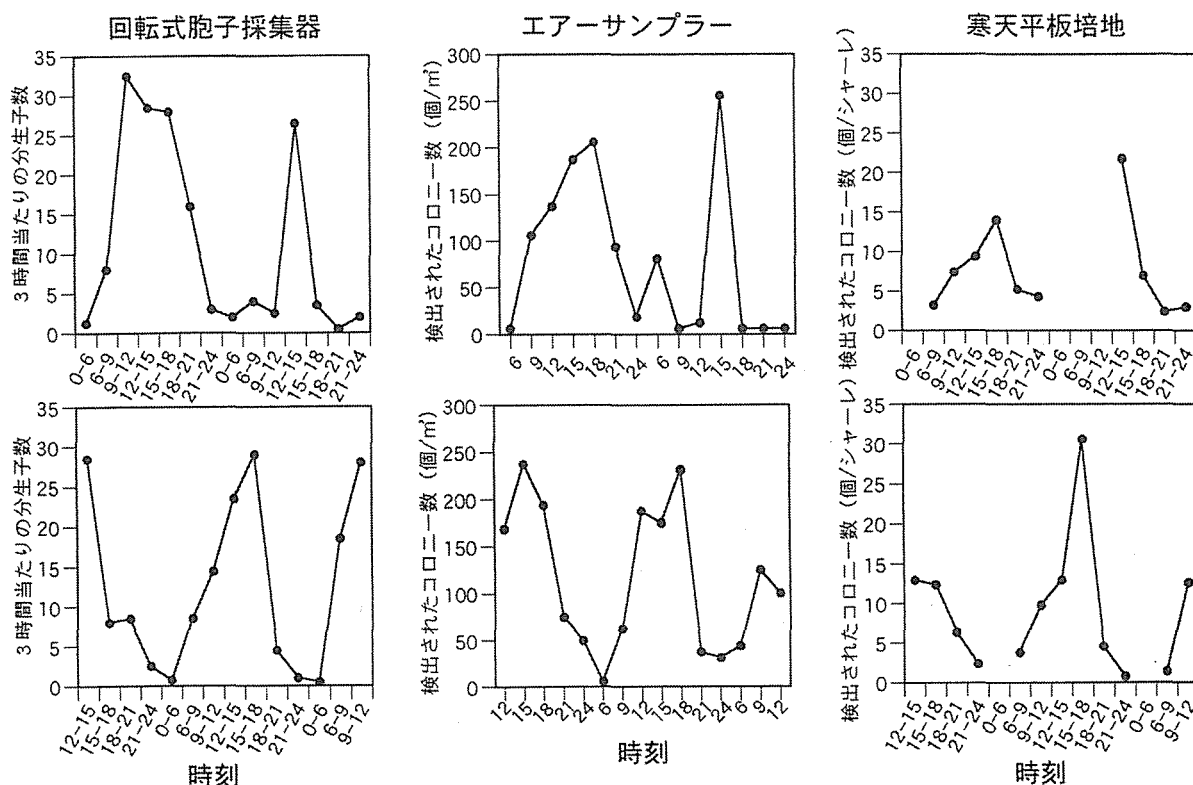
回転式孢子採集器、エアースンプラーによって捕捉された *Alternaria* spp. は、7月4～5日、16～18日ともに9～18時に多く、15～18時ころにピークを示す場合が多かった。寒天平板培地を暴露した場合も、ほぼ同様の消長を示したが、降雨があった7月5日午前中及び晴天の7月16と17日の午前0～6時の暴露時間帯には雨水や結露水が培地上にたまり、計測不能となった（図3-4）。単位時間当たりの *Alternaria* spp. 分子子の捕捉効率、エアースンプラーが最も高く、次いで回転式孢子採取器で、寒天平板暴露法はかなり低かった。

寒天平板培地で捕捉された *Alternaria* spp. のうち、モモに対して病原性を示す黒斑病菌は、7月4～5日が1.4%、7月16～18日が3.7%と低率なものの、空气中を

表3-2 時刻別に寒天平板法で捕捉した *Alternaria* spp. 中のモモ黒斑病菌の検出頻度（1996）

採集月日	採集時刻	検出頻度 <sup>a)</sup>
7.4	6-9	0/14
	9-12	4/36
	12-15	0/46
	15-18	0/53
	18-21	0/25
	21-24	0/17
7.5	12-15	0/48
	15-18	0/32
	18-21	0/5
	21-24	0/7
	小計	4/283
7.16	12-15	0/26
	15-18	0/25
	18-21	1/12
	21-24	0/6
7.17	6-9	2/16
	9-12	0/18
	12-15	0/24
	15-18	2/25
	18-21	2/19
	21-24	0/3
7.18	6-9	0/3
	9-12	0/14
	小計	7/191

a) モモ黒斑病菌菌株数/供試 *Alternaria* spp. 菌株数



注) 上段：1996年7月4～5日，下段7月16～18日

図3-4 時刻別の *Alternaria* spp. 分子子の検出数

飛散する本病原菌を捕捉できることが明らかとなった。捕捉時刻と黒斑病菌の捕捉率との関係を見ると、朝方と夕方に捕捉されやすい傾向がうかがえた(表3-2)。

## 2 時期的飛散消長

### 材料及び方法

回転式孢子採集器による調査は、前項1と同じ圃場、同じ方法で、1996年4～9月の毎日11～12時に採集器を回転させ、1～3日おきにスライドグラスを交換して行った。また、1996年4～9月にY圃場及び隣接するA圃場で、また、1997年3～10月にはA圃場で約1週間間隔で11～14時頃に、エアースンプラーを1～4分間作動させて前項1の方法で空中の*Alternaria* spp.の分生子を捕捉した。エアースンプラーで捕捉した*Alternaria* spp.の菌株は、本章第1節2項の方法でモモ葉に対する病原性を検定し、モモ黒斑病菌か否かを調べた。

### 結 果

回転式孢子採集器による1996年の*Alternaria* spp.の分生子の捕捉数は、5～6月に多く、7～8月上旬まで低く推移した後、8月中旬からやや増加する傾向であった

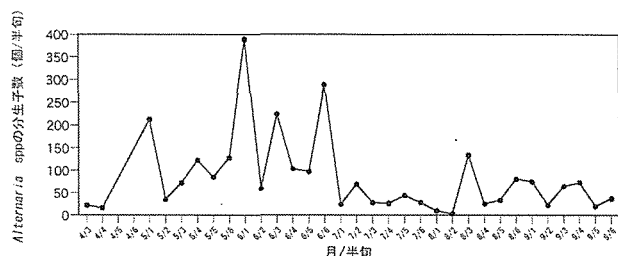


図3-5 回転式孢子採集器による*Alternaria* spp.分生子数の消長(1996)

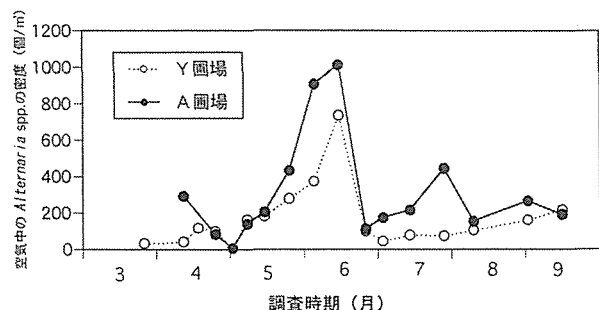


図3-6 エアースンプラーによる*Alternaria* spp.分生子の密度推移(1996)

(図3-5)。日別の飛散量は降雨後の晴天日に多い傾向であったが、必ずしもこれに該当しない日もみられた。

エアースンプラーによる*Alternaria* spp.分生子の捕捉数は、1996年はY, A圃場とも5月下旬～6月中旬にピークを示した(図3-6)。この捕捉数の推移はY圃場で調査した回転式孢子採集器による分生子数の捕捉消長と同様の傾向であった。1997年は4月下旬から増加し9月中旬までやや多く推移した(図省略)。

捕捉された*Alternaria* spp.のうち、年間を総計したモモ黒斑病菌の検出率は、1996年のY圃場で0.2%(409菌株中1菌株)、A圃場で0.8%(488菌株中4菌株)、1997年のA圃場で1.4%(440菌株中6菌株)とごく低率であったが、本節1項の寒天平板培地を暴露する方法と同様、エアースンプラーによっても、発生圃場でモモ黒斑病菌の空気中の飛散が確認された。

## 第3節 黒斑病の発病推移と気象との関係

病害の初発時期や病勢進展の特徴を明らかにすることは、発生病態を解明する上で極めて重要であり、防除対策のためにも有益な情報となる。

本節では、果実、葉、枝における初発時期とその後の発病推移を調べた。前述したように、成熟果の病斑は、径1～2cmのかさぶた状で大きな亀裂を生じるもの、数mm程度の斑点状のものなど形態や形成部位が様々である。そこで、果実における病斑の発病部位並びに果実の肥大に伴う初期病斑の経時的な拡大状況を調べた。また、1年生枝における病斑の進展過程を明らかにするため、枝での発病位置についても経時的に調べた。

病害の発生は気象要因と密接に関わっており、ナシ黒斑病においては5～7月の降水量が発生量を左右する大きな要因とされている(田中, 1949)。本病も気象要因は発病と密接に関わっていることが推定されるので、発病推移と気象要因との関係を解析した。

また、本病が発生している産地において、毎年発生がみられる圃場もあれば、その圃場に近接しているにも関わらず発生認められない圃場もある。両者の違いには圃場の立地条件に基づく微気象的な要因が関係していると考えられたので、数地点の圃場において、温度、湿度の違いを調べ、本病が蔓延しやすい圃場の特徴の解明を試みた。

### 1 果実、葉、枝の発病推移

#### 材料及び方法

1996～2001年の6年間にわたって、岡山市大窪の黒

斑病多発生圃場で、灰星病、黒星病対象の殺菌剤散布を必要最小限にしたモモ‘清水白桃’1～2樹について、4～9月まで7～10日おきに、果実（無袋栽培）、葉、枝の発病状況を調査した。果実は全果、葉は樹上の約1,000枚、枝は任意の1年生枝約200本を調査対象とした。なお、葉において病斑部がせん孔して抜け落ちたものは、発病葉から除外した。

果実、枝の発病度は次式によって算出した。

$$\text{発病度} = [\sum (X_i \cdot n_i) / 4N] \times 100$$

$X_i$  = 発病指数 (0: 病斑のないもの, 1: 病斑数1～2個, 2: 病斑数3～5個, 3: 病斑数6～10個, 4: 病斑数11個以上)

## 結 果

果実での初発生時期は4月28日～5月21日の範囲で年によりやや異なった(表3-3)。初発時期の早晩はモモの初期生育の早晩と相関が高かった。すなわち、モモの開花時期が平年より早かった1997、1998年には果実の初発生がそれぞれ5月1日、4月28日と早く、開花時期が遅かった1996、2000年には初発生がそれぞれ5月21日、5月9日と遅くなった。初発後の発病推移も年により様相が異なった。すなわち、1996、1997年のように初発後まもなく発病果率が急増した年、1999、2001年のように初発後10～15日程度停滞した後ある時点から急増した年、1998、2000年のように発病果率の目立った急増がなく漸増した年などがあつた。なお、1997、1998年には5月下旬に一時的に発病果率の低下がみられたが、これは摘果作業による調査果実の大幅な減少に伴うものである。発病果率の急増がみられる時期には、中心が淡褐色で周囲が肌色を帯びた新しい病斑がほぼ同時に多数観察され、短期間に多数の感染が起こつたと考えられた。1998年は成熟期までの発病果率が約80%で発病度もやや低かったが、その他の年は発病果率がほぼ100%に達して多ないし甚発生となつた(図3-7)。

葉での初発生時期は、果実の初発生時期とほぼ同じであつた(表3-3)。その後、1997、1998、2001年は5月中～下旬に、1996、1999、2000年は6月上旬に発病葉率の上昇が認められた。その時期は、6か年とも果実の発病果率が急増し始める時期とほぼ一致していた。その後、1996年を除いてはいずれの年もその1～2週間後には病勢の進展は停滞し、発病葉率が低下する傾向であつた。本試験の発病調査は、樹上の葉を無作為に選定して行つているため、7月頃までの1年生枝伸長期には樹全体の葉数が増加していくことや第1章で述べたように病斑部は速やかにせん孔したり、発病後に落葉してし

まうことが多いなどの理由により、見かけの発病葉率は図3-8に示すように変動した。

年次間の共通した特徴としては6月の入梅以後から7月中・下旬まで病勢進展が認められるものの、梅雨明け以後8月までは病勢が停滞気味となり、9月以降再び発病葉率の増加がみられたことが挙げられる。6年間の調査では1996、1997年は7月以降の発病が急増して多発生となつたが、1998年以降は全般的には少発生にとどまつた。

1年生枝での初発生時期は、年次変動が大きく、果実や葉の初発生時期より約2週間ないし1か月遅い5月中旬～6月上旬であつた(表3-3)。その後、6月下旬～7月下旬にかけて病勢が進展し、生育の旺盛な主枝、垂主枝の先端付近の枝や内向枝などに病斑形成が多かつた。この時期の病斑は長さ2cm程度まで達し、複数の病斑が癒合する場合もみられた。梅雨明け後の8月以降は葉の場合と同様にいったん病勢が停滞し、新しい病斑形成はほとんど認められなかつた。その後、9月中・下旬頃に、直径数mmの小型の円形ないし楕円形病斑の形成が進むことが分かつた(図3-9)。

## 2 果実の発病部位と病斑の拡大

果実の発病部位は、伝染方法、感染経路を反映していると考えられる。また、果実、特に有袋果の病斑の拡大、病斑数の変化は、袋掛け栽培における伝染方法を知る手がかりになると考えられる。そこで、果実の発病部位や有袋果の病斑の拡大状況、病斑数の推移を調べた。

### 材料及び方法

1996年7月4日に岡山市大窪の現地多発圃場で、結果枝からほぼ下向きに着果した無袋栽培の‘清水白桃’40果について、図3-10のように、果梗部、赤道部、果頂部に分けて病斑数を調査した。

1996年5月29日に1～2個の病斑がみられた清水白桃の幼果22果に袋(オレンジ色、無底)を掛け、底をクリップで閉じた。その後、成熟期まで約10日おきに袋内の果実上の病斑長、病斑数を調べた。

なお、調査樹の殺菌剤散布は灰星病、黒星病対象に必要な最小限とした。

## 結 果

果実の病斑は果梗部に最も多く、次いで赤道部で、果頂部には少なかつた。直径5～10mm大に拡大したかさぶた状の病斑の周囲には、二次伝染とみられる1～2mm大の小型の病斑が多数認められた。

表 3-3 モモ黒斑病の初発生確認日

調査年	開花最盛日 (月/日)	部位別の初発生確認日 (月/日)		
		果実	葉	1年生枝
1996	4/17	5/21	5/21	6/3
1997	4/9	5/1	5/1	5/12
1998	4/6	4/28	4/16	5/13
1999	4/7	5/6	5/10	6/11
2000	4/15	5/9	5/9	6/6
2001	4/10	5/7	5/1	6/4

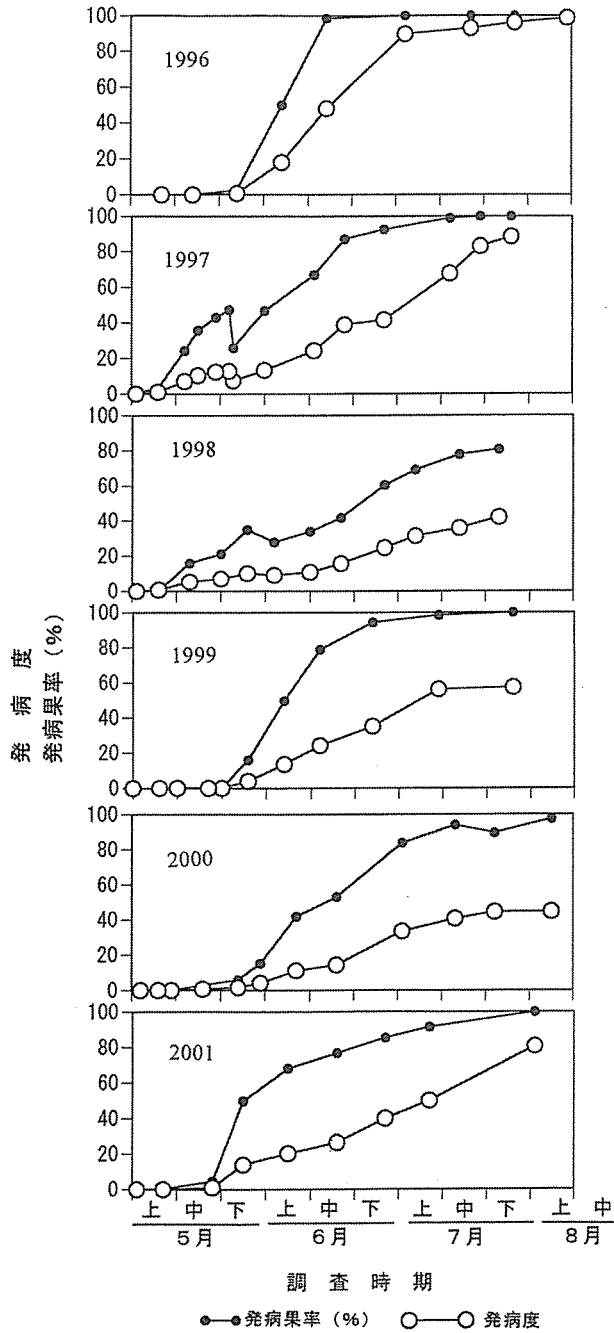


図 3-7 果実における発病推移 (清水白桃, 無袋, 1996 ~ 2001)

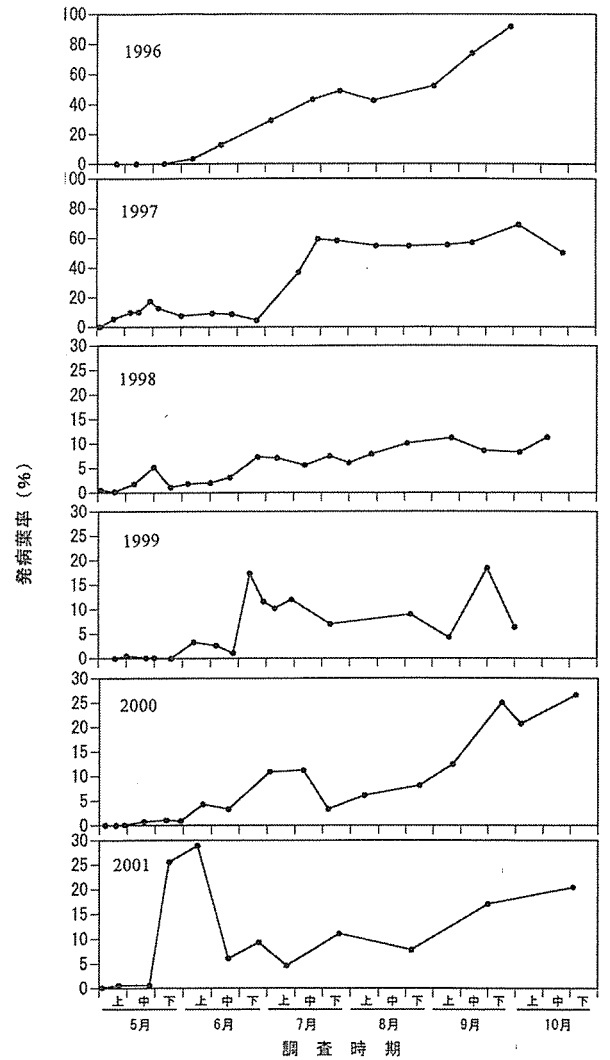


図 3-8 葉における発病推移 (清水白桃, 1996 ~ 2001)



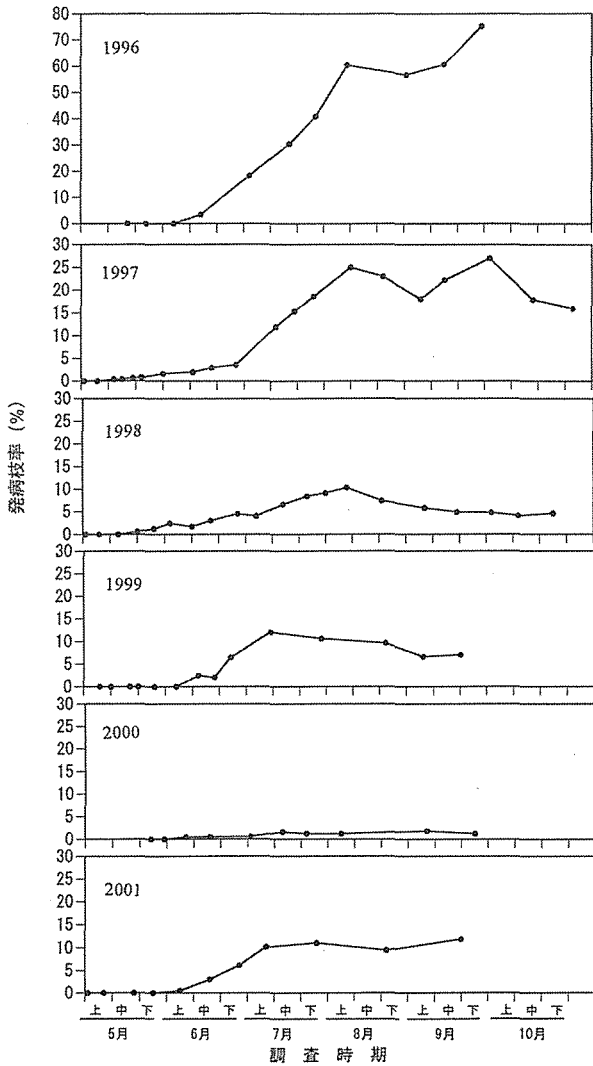


図3-9 1年生枝における発病推移 (清水白桃, 1996～2001)

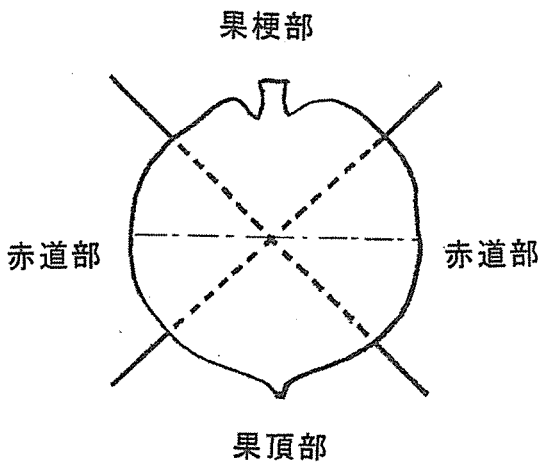


図3-10 果実病斑の調査部位

5月29日の袋掛け時の幼果の病斑は径1～2mmのものが多く，最大で径4mmであった。その後，病斑の大きさは果実によってかなり差がみられたが，収穫期まで次第に病斑は拡大した。6月中旬頃には，病斑表面に窪みやヤニを生じ，7月中旬以降にはかさぶた状を呈するものが多くなり，成熟期には亀裂を生じるものもあった。なお，7月以降も周囲に水浸状のハローを伴う新しい病斑も多数観察された。病斑数は，袋掛け時には1果当たり1～2個であった。しかし，その後はほとんどの果実で増加し，7月に急増した果実もあった (図3-11)。

### 3 枝における発病位置と進展状況

1年生枝における病斑の進展過程を明らかにするため，枝での発病位置について経時的に調べた。

#### 材料及び方法

1996年7月4日に岡山市大窪の現地多発圃場で，斜め上方向に伸長した1年生枝で病斑が認められたものを選び，8月下旬まで約10日おきに，枝の基部から10cm間隔で病斑数を太陽光の当たる表側面と当たらない裏側面に分けて調査した。

#### 結果

調査圃場における1年生枝の病斑は6月第1半旬に初発生し，8月中旬に増加した。病斑は枝の基部に近いほど多く，生育時期が進むにつれて基部から40～60cmの位置まで認められるようになった。また，伸長枝の病斑は枝の裏側面より表側面に多かった (図3-12)。なお，枝病斑は，生育の旺盛な徒長枝に多く，短い枝には少なかった。

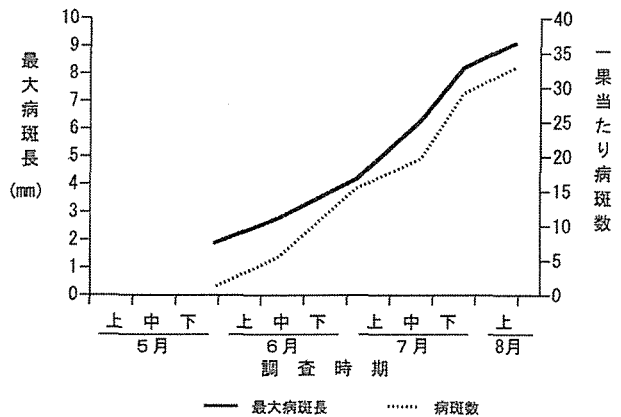


図3-11 有袋果実における病斑の推移 (清水白桃, 1996)

4 発病推移と気象との関係

本節1項の結果で述べたように、5月中旬～6月上旬の発病初期において、病勢が進展し始める時期は、果実と葉でほぼ一致していた。その後7月中旬ころまで短期間の間に病勢進展の著しい時期または停滞する時期などが現れた。特に葉の発病推移は、病斑の形成、病斑部のせん孔ないし落葉が繰り返されるので、気象要因の変化が発病に及ぼす影響を解析しやすいと考えられた。そこで、この時期に注目して、葉の発病推移と気象要因との関係について解析した。

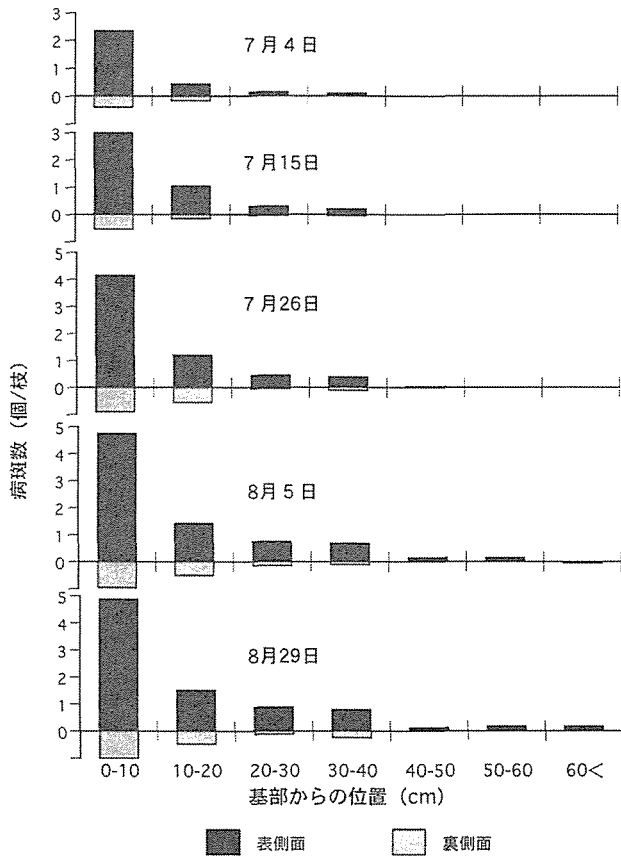


図3-12 1年生枝基部からの距離別の枝病斑の推移(清水白桃, 1996)

材料及び方法

本節1項で調べた5～7月の果実、葉の発病推移に影響する気象要因の解析を行った。気象要因のうち、気温、湿度は本章第1節3項で測定したモモ圃場のデータを用い、日最高気温、日最低気温、日平均気温、日最低湿度、日平均湿度、前日12時から当日12時までの湿度95%以上を示した時間を算出して供試した。降水量、降雨日数、日照時間は岡山地方気象台から発表されるアメダスデータ(岡山)を利用した。結露時間は、圃場の地上約1mの高さに電子式結露センサー(MH-050, 英弘精機社製)を水平面から約30度の傾斜をつけて設置し、5分おきに結露、雨滴による電気抵抗の変化をデータロガー(ログブックC1, ログ電子社製)で記録した。

結 果

1998～2001年の5～7月の発病葉率とその調査日の3～5日前及び3～7日前の気象要因との相関係数を表3-4に示した。調査日の3日前以前のデータを使用した理由は、第1章第3節1項(6)で述べたように圃場における葉での発病までの期間が3～7日間であったためである。発病葉率は調査3～5日前の最低湿度、平均湿度との正の相関が最も高くいずれも相関係数0.55で、次いで降雨日数の0.48、さらに降水量、湿度95%以上の時間などの要因も正の相関がみられた。一方、日最高気温、日照時間とは負の相関が認められた。調査3～7日前の場合は日最低気温と正の相関が高く、他の要因とは調査3～5日前に比べて全般に相関係数がやや小さかったが、それぞれの要因との相関関係は同様の傾向がみられた。

5 多発生圃場と未発生圃場との気象条件の比較

黒斑病が多発生した圃場と近隣の未発生圃場について、温度、湿度を比較し、本病が蔓延しやすい圃場環境

表3-4 1999～2001年の5～7月における気象要因と発病葉率との相関係数

期 間	気 温			降水量 (mm)	降雨日数 (日)	湿 度			結露時間 (hr)	日照時間 (hr)
	最高気温 (°C)	最低気温 (°C)	平均気温 (°C)			最低湿度 (%)	平均湿度 (%)	95%以上の 時間 (hr)		
調査日の 3～5日前	-0.44 <sup>a)</sup>	0.21	0.20	0.43*	0.48**	0.55**	0.55**	0.38*	0.42 <sup>b)</sup>	-0.44*
調査日の 3～7日前	-0.06	0.48**	0.20	0.30	0.33	0.46*	0.48*	0.44*	0.39 <sup>b)</sup>	-0.27

a) \* 5%, \*\* 1% で有意であることを示す

b) 1999年は6月17日～7月の結露時間を統計処理に用いた

の解明を試みた。

### 材料及び方法

岡山市大窪、岡山市佐山、総社市小寺の3地点で、2000年にモモ黒斑病が中～甚発生した圃場を各1圃場選定した。発生圃場はいずれも山林に近接しており、岡山市大窪は平坦地、岡山市佐山と総社市小寺は南向きの谷合いで傾斜地であった。比較対照としてそれぞれの圃場から200～300mの範囲で黒斑病の未発生圃場を各1圃場選定した。圃場の立地条件は、岡山市大窪では民家に囲まれた平地のモモ園、岡山市佐山と総社市小寺では山林に近いものの丘陵地の頂上付近に位置するモモ園であった。2001年4月～9月、各圃場で本章第1節3項と同様の方法でデータミニ温湿度ロガー3631（日置電気社製）を用いて10分間隔で温度、湿度を記録した。各地点の多発生圃場と未発生圃場における日平均気温、日平均湿度、湿度95%以上の時間を算出した。温度、湿度データの比較に当たっては、同一条件での測定値に基づいて、機器間の誤差を補正して行った。

### 結 果

岡山市大窪、岡山市佐山、総社市小寺で選定した黒斑病発生圃場の発生状況は、2000年ではそれぞれ多発生（発病果率約50%）、甚発生（同約90%）、中発生（同約20%）であった。2001年は岡山市大窪、岡山市佐山が前年よりやや発生程度が低く、いずれも中発生（同約20%）であった。総社市小寺では前年より発生程度がやや高く、発病果率は約30%であった。比較対照とした黒

斑病未発生圃場の3圃場は2001年も黒斑病の発生は認められなかった。

地点毎に発生圃場と未発生圃場の気温、湿度データを比較すると、平均気温は3地点とも4～9月のいずれも、発生圃場は未発生圃場に比べて0.2～1.8℃低かった。一方、平均湿度は発生圃場が岡山市大窪、同佐山では5～6%、総社市小寺では3～4%高かった。また、湿度95%以上の時間は3地点ともに、それぞれ発生圃場が未発生圃場に比べて1.2～1.8倍長かった（表3-5）。

以上の結果から、本病の発生圃場の特徴として近隣の未発生圃場に比べて、気温がやや低く、湿度が高い環境であることが示された。

### 第4節 考 察

病原菌 *A. alternata* の越冬源については、多くの報告がある。ナシ黒斑病では、枝病斑、芽の鱗片、枯死した芽及び病落葉内の菌糸、樹体や資材などに付着した分生子（鏝方、1927；人見、1930；北島ら、1957）、リング斑点落葉病では枝病斑、芽の鱗片、皮目、病落葉内の菌糸とされ（沢村、1972；落合ら、1968；木村ら、1962；工藤ら、1968；平良木、1973）、前者では枝病斑、後者では地域によって枝病斑または病落葉が主体である。

モモ黒斑病は葉、果実、芽、枝、すなわち地上部のいずれの器官にも発病する。ナシ、リング葉とは異なり、地表面の落ちたモモ葉は3月までに分解されほぼ消失してしまう。通常の栽培では落葉は12月までに集めて焼却（または埋没）されること、また、発病果は収穫時に土中に埋没されるため、病落葉や病果が翌年の伝染源にな

表 3-5 黒斑病の発生圃場と未発生圃場との温度・湿度の比較（2001）

黒斑病 発生の有無	調査月	地点1（岡山市大窪）			地点2（岡山市佐山）			地点3（総社市小寺）		
		日平均気温 （℃）	日平均湿度 （%）	湿度95%以上 の時間時 間（hr/日）	日平均気温 （℃）	日平均湿度 （%）	湿度95%以上 の時間 （hr/日）	日平均気温 （℃）	日平均湿度 （%）	湿度95%以上 の時間 （hr/日）
発生圃場	4月 <sup>a)</sup>	13.2	76.5	5.1	13.1	74.4	4.2	15.0	66.4	5.2
	5月	18.2 <sup>b)</sup>	82.1 <sup>b)</sup>	12.0 <sup>b)</sup>	18.0 <sup>b)</sup>	80.3 <sup>b)</sup>	11.1 <sup>b)</sup>	18.6	78.1	7.4
	6月	22.7 <sup>c)</sup>	90.3 <sup>c)</sup>	14.4 <sup>c)</sup>	22.6 <sup>c)</sup>	87.2 <sup>c)</sup>	12.8 <sup>c)</sup>	22.5	85.1	9.8
	7月	26.8	89.1	13.7	26.5	87.8	13.4	27.0	85.9	11.5
	8月	26.7	85.3	12.1	26.3	85.8	12.6	26.1 <sup>d)</sup>	84.8 <sup>d)</sup>	12.0 <sup>d)</sup>
	9月	21.9	87.5	13.8	21.7	86.8	14.4	22.1	83.8	11.2
未発生圃場	4月 <sup>a)</sup>	15.0	66.1	2.6	14.1	66.4	2.3	15.2	63.3	4.2
	5月	20.0 <sup>b)</sup>	76.0 <sup>b)</sup>	6.8 <sup>b)</sup>	18.9 <sup>b)</sup>	74.9 <sup>b)</sup>	5.9 <sup>b)</sup>	19.1	74.9	6.0
	6月	23.4 <sup>c)</sup>	84.0 <sup>c)</sup>	10.2 <sup>c)</sup>	23.1 <sup>c)</sup>	84.4 <sup>c)</sup>	10.2 <sup>c)</sup>	22.8	82.9	8.6
	7月	27.7	83.5	10.2	27.3	84.4	10.8	27.6	83.3	9.6
	8月	27.5	80.0	7.7	27.1	80.2	7.6	26.9 <sup>d)</sup>	79.9 <sup>d)</sup>	7.2 <sup>d)</sup>
	9月	22.6	82.2	9.6	22.4	81.2	8.6	22.7	79.6	6.4

a) 4月18～30日の測定値、b) 5月1～22日、26～31日の測定値、c) 6月8～30日の測定値、d) 8月1～7日、25～31日の測定値

る可能性は非常に低いと考えられる。芽の鱗片上で5月に分生子が形成され、幼果の果梗部に多数の病斑を形成した事例が観察されたことから、芽の鱗片で越冬する可能性もある。しかし、調査した限りでは、圃場において鱗片からの発病事例は極めて少なかった。一方、越冬した2年生枝病斑における *Alternaria* spp. の分生子形成は、4～5月のある時期に急増し、以後9月まで継続して多量の分生子が形成され続けた。しかも、急増した直後から幼果の発病が急速に進むことが多かった。さらに、枝病斑に形成された *Alternaria* spp. の分生子の病原性を調べたところ、4月で55%、8月でも44%の枝病斑から黒斑病菌が検出できた。このように、枝病斑上には黒斑病菌分生子が、モモの生育期間を通して長期に渡り形成され、しかもその形成頻度が高いこと、また枝病斑を剪定作業によって完全に除去することが困難であることなどを考慮すると、モモ黒斑病の主要な第一次伝染源は枝病斑であると考えられる。

数年間に渡って分生子形成の急増時期と気象との関係を検討したところ、いずれの年も日最低気温が12℃以上の降雨日が出現した直後に分生子の形成が急増した。ナシ黒斑病では、北島ら (1957) が休眠期の枝病斑を用いた室内試験で9～28℃で分生子形成を認めている。また、本間ら (1979) は圃場における枝病斑上の分生子形成と気温の関係を詳細に検討し、5日間または6日間の平均気温が11.5±0.7℃以上となれば分生子形成が始まり、17℃以上では形成量が増大することを認めた。工藤ら (1968) はリンゴ斑点落葉病の枝病斑上の分生子形成は、平均気温が10℃前後で始まり、10～15℃で漸増、15℃以上の降雨期に多くなったとしている。本研究の結果のように4～5月のモモ枝病斑上の分生子形成は気温の影響を強く受ける点では既報と一致したが、日平均気温より日最低気温が指標となるという新知見が得られた。4～5月に分生子形成が急増した後も、8または9月まで継続して多量の分生子の形成がみられ、その消長はナシ黒斑病における北島ら (1957) の結果と類似していた。6月以降の気温は分生子形成には十分であり、分生子が風で離脱したり、雨水で流されても、降雨や夜間の結露及び高湿度によって、繰り返し分生子の形成が行われると考えられる。

1年生枝(新梢)の病斑上における分生子形成は7月以降旺盛になり、2年生枝での形成量が減少する10月頃においても多量に形成され、しかも、*Alternaria* spp. の総分生子数に対する黒斑病菌の頻度が高かった。これは、本間ら (1979) も述べているように、1年生枝の病斑の方が越冬後の2年生枝病斑に比べて新しく、病斑

組織内の菌の生育が旺盛なためと考えられる。したがって、1年生枝病斑上に形成される黒斑病菌分生子は8月以降から秋期にかけての主要な第二次伝染源の可能性が高い。

圃場内を飛散する *Alternaria* spp. の分生子数の消長に関する報告(北島, 1957; Tamura *et al.*, 1980; 宇田川, 1988; 林ら, 1973; 平良木, 1973; 関口, 1976; 宮川ら, 1984) は多く、発生予察や防除時期の目安に利用されている。そこで、モモ黒斑病の発生圃場における分生子飛散の実態の解明を試みた。捕捉法の比較検討では、エアースンプラー(吸引式孢子採集器)、回転式孢子採集器、寒天平板培地の暴露はいずれも分生子飛散の日周性を把握することができた。このうち、エアースンプラーは捕捉効率が非常に高く、簡便かつ降雨時にも使用可能で、発芽能力のある分生子を捕捉し、病原性の検定にも供することができるなどの点で最も優れていた。エアースンプラーによる *Alternaria* spp. の分生子捕捉数は、5～9月に多く、晴天日の方が曇雨天日より多かった。また、時刻別では15～18時頃にピークとなり、夜間は少なかった。この結果はリンゴ、トマト圃場などにおける既報(林ら, 1973; Rotem, 1964; Pearson *et al.*, 1975) と一致した。したがって、*Alternaria* spp. の分生子と同様にモモ黒斑病菌の分生子も主に晴天日の日中に飛散してモモの果実、葉、枝に伝搬されるものと推察された。捕捉された *Alternaria* spp. 分生子中の病原菌の比率は、ナシ黒斑病菌やリンゴ斑点落葉病菌では時期や時刻によって変異が大きいものの、しばしば20%以上、多いときで50%程度に達したとの報告がある(北島, 1957; Tamura *et al.*, 1980; 宇田川, 1988; 関口, 1976; 宮川ら, 1984)。しかし、モモ黒斑病菌では、時期、時刻を変えて捕捉したにもかかわらず、*Alternaria* spp. 全体に占めるモモ黒斑病菌の割合は数%以下で、全く捕捉できない場合もあった。したがって、圃場に飛散する *Alternaria* spp. 分生子の消長から本病の発生時期、発生量を予察することは難しいと判断した。

殺菌剤散布をできる限り少なくした現地の‘清水白桃’について、黒斑病の発病推移を6年間に渡って調査した結果、本病の初発時期、病勢進展時期とその様相が明らかになった。本病はまず4月下旬～5月下旬に果実、葉に初発生が認められる。初発時期の早晩はモモの初期生育の早晩と相関が高く、開花時期が早い年ほど初発時期も早かった。モモの開花の早晩は春先からの気温の影響が大きいとされることから、越冬した病原菌の初期の活動も気温の影響を受けるものと推定される。果実、葉における初発生後の病勢進展も年によって様相が

異なった。すなわち、初発生後に発病果率、発病葉率が上昇する時期とその程度は初発時期とはあまり関係がなく、年によって差がみられた。病勢進展の初期には1～2日で一斉かつ広範囲に病斑が出現する現象がしばしば観察されたことから、果実や葉への黒斑病菌の感染がある時期に一斉に起こったものと考えられた。このような現象は、イネいもち病の発生初期にも観察され（小林，1984；越水，1988）、気象要因が深く関係していると推察された。モモの生育時期全体を通じてみると、本病の発病推移には大きく分けて、初発生から梅雨明けまでの病勢進展期、梅雨明けから8月までの停滞期、9～10月の再び病勢が進展する時期の3時期に大別されることが明らかとなった。第1章第3節で明らかにしたように、本病の発病適温は、果実で15～20℃、葉では20～25℃であることから、梅雨明けから8月中旬までの期間は年間で最も気温が高く、気温が発病に抑制的に働くことに加え、降水量も少ないことが病勢の停滞に影響しているものと考えられる。

果実、1年生枝の発病部位や病斑の拡大状況を定期的に調べたところ、果実では果梗から赤道部にかけての部位に病斑が多く、枝では太陽光の当たる表側に多かった。モモ果実の摘果はほぼ下向きの果実を残すことから、果実でも陽光面側の果梗付近に病斑が多くなる。このことは、黒斑病菌が果実の陽光面に飛散して付着しやすいためと考えられる。病斑の経時的な拡大状況の調査結果から、果実においては無袋栽培の場合はもちろんのこと、有袋栽培の場合でも、病斑数の増加は成熟期まで続いていることから、感染が長期間に及ぶことを示している。有袋栽培で袋掛け後に病斑が増加する要因としては、袋掛けによって菌を包み込むこと、袋外からの菌の侵入、袋内での二次伝染などの可能性が想定でき、防除

対策上考慮すべき事象と考えられる。

5月の発病初期から7月中旬の梅雨期間中にかけて、毎年病勢の進展と停滞に変動がみられたので、この時期の発病葉率と発病葉率調査3～5日前の気象要因との関係を解析したところ、最低湿度、平均湿度、降雨日数とに正の相関が高く、最高気温、日照時間とは負の相関が認められた。このことは降雨が2～3日続くとその3～4日後に葉の発病が増大することを示しており、ナシ黒斑病（宇田川，1988）、リンゴ斑点落葉病（落合，1976；関口，1976）における報告とほぼ一致していた。モモ黒斑病の発生圃場では病勢の進展と停滞は葉と果実でほぼ同時に起こることが観察された。第1章で明らかになったように、果実生長第1期の幼果は病原菌に対する感受性が最も高く、感染から発病までの期間も3～4日間と短いことから、この時期の連続した降雨が幼果の発病の蔓延を助長し、一斉かつ広範囲に病斑が出現する現象につながるものと考えられる。

モモ黒斑病が毎年発生している圃場とその近くでも未発生のまま経過している3地点の圃場の気温、湿度を比較したところ、3地点とも発生圃場では近隣の未発生圃場に比べて、気温がやや低く、湿度が高い環境であることが明らかになった。特に湿度95%以上の時間は発生圃場が未発生圃場に比べて1.2～1.8倍長く、雨滴や結露が乾きにくく、樹体の濡れは、付着したモモ黒斑病菌の分生子の発芽、感染、発病を助長すると考えられる。ナシ黒斑病菌は水滴がない状態でも90%以上の湿度があれば分生子が発芽し、果実の感染も起こることが明らかになっている（田中，1949；北島，1957）。モモ黒斑病の発生圃場は、周囲を山に囲まれた窪地で用水路やため池の近くである場合が多く、高湿度環境にあることが、毎年本病が発生する要因の一つと考えられる。

## 第4章 防除法

### 材料及び方法

慣行の病害防除体系を行っていた圃場でも、いったんモモ黒斑病が蔓延した場合にはほとんどの果実が侵され、大きな被害を生じていた。その原因には、本病が未知の病害であったため有効な薬剤が不明であったこと、伝染源や感染時期などの発生生態が全く不明であったことが挙げられる。第3章で述べたように本病の発生生態とその要因の解析から防除法の確立に必要な多くの知見が得られた。そこで、本章ではこれらの知見に基づき、耕種的及び化学的防除法の確立に関する研究を進めた。

1997～2001年に岡山市大窪の5圃場(N, O, Ta, To, Y圃場)で‘清水白桃’を各圃場2～4樹ずつ供試した。某果実袋工場においてモモ袋用原紙(オレンジ色)の片面に、1997年には殺菌剤OT-97を、1998～2000年にはOT-97, OT-98の2剤を同じパラフィンワックス系撥水剤に混合して大型のロールで塗布し、塗布面が外側になるように製袋加工した。5月第5～6半旬に各圃場で殺菌剤処理袋、無処理袋を供試樹に無作為に掛けた。薬剤散布はN, Ta, Toの各圃場は農家による慣行防除で、O, Yの各圃場は本章第3節1項の体系防除を毎年行った。収穫時に果実の発病を程度別に調査した。発病度は第1章第3節1(8)項の2)と同様に算出した。

### 第1節 袋掛け及び雨よけによる防除

袋掛けは本県のモモ栽培において種々の病害虫から果実を守るための基本技術として広く普及している。本節では本病に対する果実袋の防除効果及び殺菌剤を塗布した袋の効果について検討した。また、本病の被害が大きい‘清水白桃’は年により生理的落果が多く、梅雨末期の降雨が食味に影響することも多いなど高品質安定生産が難しい品種とされている。一部のモモ生産農家では生理的落果の軽減、糖度の向上などを目的として「雨よけ栽培」が導入されているので、この効果も検討した。

### 結 果

1997, 1998年度とも殺菌剤処理袋区は無処理袋区に比べて発病がやや少ない傾向であった。1999, 2000, 2001年のいずれの圃場でも殺菌剤処理袋区は無処理袋区に比べて発病が少なかった(表4-1)。特に1999年の多発生条件下でも、対照区に比べて処理区の発病果率はほぼ半減しており、殺菌剤処理袋の効果が認められた。

#### 1 袋掛けによる防除

##### (1) 慣行袋の効果

#### 材料及び方法

岡山市大窪の黒斑病多発圃場で、開花期以降に殺菌剤を散布せずに栽培した5年生の‘清水白桃’1樹を供試した。1996年5月29日の袋掛け時には、幼果でわずかに発病がみられていたが、そのまま無作為に袋(オレンジ色、有底)を掛けた。8月7日に有袋、無袋の各約50果について、発病の有無、病斑数を調査した。

### 結 果

試験圃場の本病の発生状況は多発生であった。このような状況下においては無袋栽培では100%の発病果率であったが、有袋栽培では83%の発病果率であり、さらに1果当たりの病斑数は4.8個と無袋栽培の41.5個に比べて大幅に少なかった。すなわち、袋掛けは完全ではないものの、防除効果が認められた。

##### (2) 殺菌剤処理袋の効果

殺菌剤処理袋の効果について調査した。

#### 2 雨よけによる防除

第3章第3節において、降雨は本病の発生を助長させる要因であることが判明した。そこで、生理的落果の軽減、糖度の向上などを目的として導入されている「雨よけ栽培」が本病の発生に及ぼす影響を調べた。

#### 材料及び方法

岡山市の黒斑病発生圃場(N圃場)で、雨よけハウス(間口6.2m, 長さ28m, 高さ5m, 高さ約2mまでサイド解放)の内外に主枝が分枝しているモモ‘清水白桃’を、1997年には1樹、1998年には2樹を供試した。ビニルの被覆期間は両年とも3月上旬～10月下旬とした。1997年5月20日、1998年5月14日に健全果実に慣行袋(オレンジ、有底、殺菌剤無処理)を掛けた。1997年には7月27日～8月3日に成熟果を、1998年には6月25日に摘果した幼果、同年の7月16～31日には成熟果の発病程度を調査した。また、1997年10月15日、1998年10月9日にハウス内と外の葉並びに1年生枝の発病を調査した。殺菌剤は発芽前から収穫までに殺菌剤同士の混用を含めて、1997年は21回、1998年は16回散布した。幼果の発病度は第1章第2節1項と、成熟果の発病度は前項1(2)に従い算出した。

## 結 果

1997, 1998年の試験とも、果実では幼果、成熟果ともに、雨よけ区は露地区に比べて、発病が少なかった。葉、枝でも、雨よけ区は露地区に比べて、発病が少なかった(表4-2, 1997年のデータは省略)。このように、雨よけ栽培では露地栽培に比べてモモ黒斑病の発病が減少することが明らかとなった。

## 第2節 有効薬剤の選抜

前節で述べた袋掛けや雨よけによる耕種的防除法だけでは本病の防除は十分とは言えない。したがって、灰星病、黒星病などと同様に薬剤による防除も組み合わせる必要がある。本病は新病害であり、従来の慣行防除を行っている圃場でも多発したことから、本病に対する有効薬剤を探索する必要があった。そこで、モモ栽培で使用される薬剤の効果を①分生子の発芽抑制、②モモ幼果や葉を用いた生物検定による発病抑制、③枝病斑上の分生子形成抑制の3点から調べた。さらに、これらの試験

で有効性が認められた薬剤について、圃場における効果や残効期間を調査した。特に第1章第3節で述べたように黒斑病菌に対する感受性が高い果実生長第1期の幼果について薬剤の効果、残効を検討した。

## 1 室内試験における有効薬剤の選抜

## (1) 分生子発芽に対する抑制効果

本菌は分生子で伝搬し、モモの果実、葉、枝上に付着して、適当な水分によって発芽し、付着器を形成した後、表皮細胞に角皮侵入すると考えられる。そこで、各種薬剤の分生子発芽に対する効果を室内試験で調べた。

## 材料及び方法

PSA 培地で培養したモモ黒斑病菌9502株の分生子懸濁液を80,000個/ml (Tween20 5,000倍加用) に調製して試験に供した。図4-1に示す各薬剤の薬液20 $\mu$ lと分生子懸濁液20 $\mu$ lをホールスライドガラス上で混和し、室温(19~23 $^{\circ}$ C)の湿室に2日間保った後、発芽状態を光学顕微鏡で観察した。なお、発芽管が分生子の長径の1/2以上伸長したものを発芽とみなした。薬剤の濃度は

表4-1 モモ黒斑病に対する殺菌剤処理袋の効果

調査年	圃場名	殺菌剤処理袋			慣行袋		
		調査果数	発病果率 (%)	発病度	調査果数	発病果率 (%)	発病度
1997	N	636	7.3	2.2 (8) <sup>a)</sup>	224	7.0	2.4
	O	326	17.2	5.2 (32)	142	24.1	7.7
	Y	97	12.4	3.4 (11)	46	15.2	3.8
1998	N	304	8.7	3.4 (0)	305	8.0	3.4
	O	217	5.6	2.0 (20)	249	9.2	2.5
	Ta	127	3.1	0.8 (71)	123	8.9	2.8
1999	O	526	41.0	11.5 (60)	503	87.1	28.5
2000	N	307	37.5	12.8 (23)	4831	51	16.6
	O	223	17.9	5.2 (53)	485	38.1	11.1
	To	313	31	9.3 (28)	883	42.6	13
	Y	149	15.4	4.7 (53)	164	32.9	10.1
2001	N	329	9.4	2.9 (58)	410	21.7	6.9
	O	196	13.3	3.6 (68)	201	31.8	11.3
	To	386	39.4	11.7 (31)	1111	52.1	16.9
	Y	172	10.5	2.9 (34)	175	16.6	4.4

a) ( ) 内は防除値を示す

$$\text{防除値} = \left[ (\text{無処理袋の発病度} - \text{殺菌剤処理袋の発病度}) / \text{無処理袋の発病度} \right] \times 100$$

表4-2 モモ黒斑病に対する雨よけの効果 (1998)

区 別	幼果 <sup>a)</sup>		成熟果 <sup>b)</sup>		葉 <sup>c)</sup>		枝 <sup>c)</sup>	
	調査果数	発病果率 (%)	調査果数	発病果率 (%)	調査葉数	発病葉率 (%)	調査枝数	発病枝率 (%)
雨よけ	71	11.3	158	8.9	1256	0.5	228	0.4
露 地	95	30.5	191	19.4	1787	7.1	214	4.7

a) 6月25日に摘果分を調査

b) 7月16~31日調査

c) 10月9日調査

分生子懸濁液と混和後に各薬剤の実用濃度及びその10倍希釈となるようにした。1区3～4反復で各区約200個の分生子を供試した。

結 果

オーソサイド（キャプタン80%）水和剤80、ビスダイセン（ポリカーバメート75%）水和剤、スペックス（ジラム50%、チウラム30%、フェナリモル1.8%）水和剤、ブルーク（ジラム32%、チウラム40%、トリフルミゾール8%）水和剤、ユニックスZ（シプロジニル12.5%、ジラム33.5%）水和剤、ピーチガード（イミノクタジン酢酸塩5%、チウラム70%）水和剤、YF-5711（ジラム50%）フロアブル、キノンドー（有機銅35%）フロアブル、ベルクガード（イミノクタジナルベシル酸塩20%、チウラム50%）水和剤などは実用濃度の10倍希釈でも分生子の発芽を完全に抑制した。次いで、ユニックス（シプロジニル47%）顆粒水和剤、ベルクロープ（イプロジオン30%、イミノクタジナルベシル酸塩20%）水和剤、パルノックス（ジラム50%、チウラム30%）水和剤、ダコニール1000（TPN 40%）フロアブル、フル

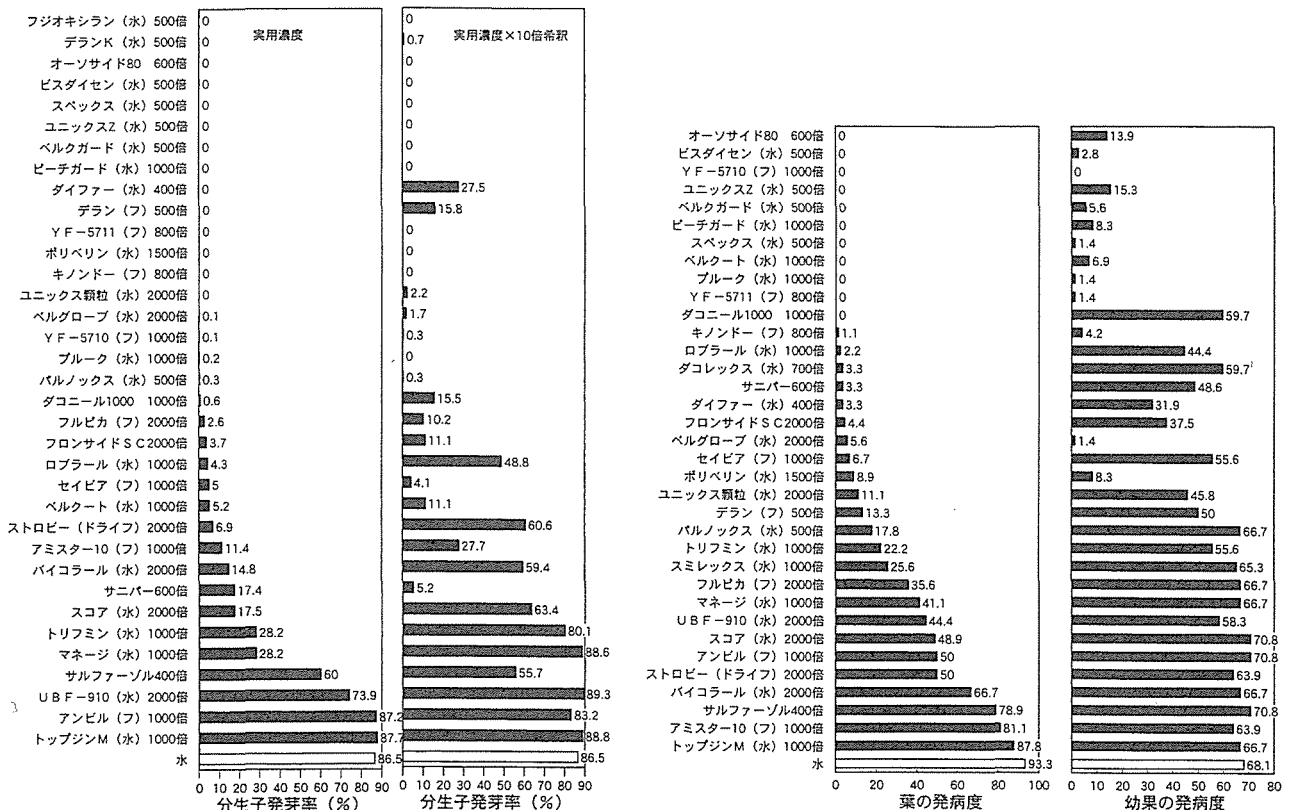
ピカ（メパリピリム40%）フロアブル、フロンサイド（フルアジナム39.5%）SC、ベルコート（イミノクタジナルベシル酸塩40%）水和剤、デラン（ジチアノン40%）フロアブル、サニパー（チアジアジン70%）水和剤なども発芽抑制効果が高かった（図4-1）。ポリベリン（イミノクタジン酢酸塩5%、ポリオキシソ複合体15%）水和剤の15,000倍区では、わずかに伸びた発芽管が膨潤する異常発芽が多数みられた。このうち、ビスダイセン水和剤、スペックス水和剤、ブルーク水和剤、ベルクロープ水和剤、パルノックス水和剤、ダコニール1000、ベルコート水和剤、サニパーはモモに慣行的に用いられており、実用性が高いと考えられた。

(2) 葉、果実の発病に対する予防効果

モモの葉、幼果を用いて、各種薬剤の黒斑病に対する予防効果を室内試験で調べた。

材料及び方法

PSA 培地で培養したモモ黒斑病菌96147株の分生子懸濁液を約80,000個/ml（Tween20 5,000倍加用）に調製して、接種源とした。1997年5月22～23日に‘清



注) 薬剤の希釈倍率は実用濃度を示す

図4-1 薬剤の分生子発芽抑制効果

図4-2 葉、幼果の発病に対する薬剤の予防効果



水白桃'の幼果及び1年生枝の先端から3~4葉目の葉を圃場から採取して試験に用いた。実用濃度の薬液(Tween20 5,000倍加用)を農薬散布機(Daiki社製, DIK-7320)で幼果及び約2cm長に切った葉片の裏面に十分散布して、室内で4時間風乾した。その後、分生子懸濁液を幼果には1果当たり赤道部の1箇所に25 $\mu$ l, 葉には1葉片2箇所に各30 $\mu$ lずつ点滴接種し、葉には分生子懸濁液上にペーパーディスク(アドバンテック社製, 径8mm, 薄手)を置いた。室温(21~27 $^{\circ}$ C)の湿室に6日間保った後、発病程度を調査した。1区それぞれ24果及び15葉片を供試した。発病程度、発病度の調査法は果実では第1章第3節1(2)項、葉では第1章第3節1(3)項と同様に行った。

## 結 果

各薬剤の葉、幼果での発病に対する効果を図4-2に示した。

葉を用いた検定では、ビスダイセン水和剤600倍、ピーチガード水和剤1,000倍、スペックス水和剤500倍、YF-5711フロアブル800倍、ユニックスZ水和剤500倍、ベルクガード水和剤500倍、サンパー600倍、ダイファー(ジネブ72%)水和剤400倍などの有機硫黄殺菌剤を含む薬剤やユニックス顆粒水和剤2,000倍、ベルコート水和剤1,000倍、ダコニール1000の1,000倍、ロブラール(イプロジオン50%)水和剤1,000倍、フロンサイドSC2,000倍、ベルクローブ水和剤2,000倍などの効果が高く、次いでポリベリン水和剤1,500倍、デランフロアブル600倍、パルノックス水和剤500倍などであった。

幼果を用いた検定では、ビスダイセン水和剤600倍、ベルクガード水和剤500倍、スペックス水和剤500倍、ブルーク水和剤1,000倍、YF-5710(アズキシストロビン10%, ジラム40%)フロアブル1,000倍、YF-5711フロアブル800倍、キノンドーフロアブル800倍、ベルクローブ水和剤2,000倍などの効果が高く、次いで、ベルコート水和剤1,000倍、ピーチガード水和剤1,000倍、ユニックスZ水和剤500倍、ポリベリン水和剤1,500倍などであった。

### (3) 葉、果実の発病に対する治療効果

前項(2)で予防効果の高い薬剤が選抜できた。実際の圃場では、モモの葉や果実に対する感染は継続的に起こっており、菌の感染後に薬剤散布を行う場面が生じる。そこで、各種薬剤の黒斑病に対する治療効果を調べた。

## 材料及び方法

PSA 培地で培養したモモ黒斑病菌96147株の分生子懸濁液を約80,000個/ml(Tween20 5,000倍加用)に調整して接種源とした。1998年5月15日に採取した'清水白桃'の幼果{スコア(ジフェノコナゾール10%)水和剤2,000倍を5月3日頃に散布以後は殺菌剤無散布}の1果当たり赤道部の1箇所に、分生子懸濁液25 $\mu$ lを無傷で点滴接種した。接種後は湿室に保持し、4日間は室温(25~30 $^{\circ}$ C)、以後は17 $^{\circ}$ Cで静置した。この間、接種4時間前、接種9、20、30、46及び67時間後にビスダイセン500倍、スペックス水和剤500倍、ベルクローブ水和剤2,000倍、ストロビー(クレソキシムメチル47%)ドライフロアブル2,000倍、ポリベリン水和剤1,500倍、蒸留水(いずれにもTween20 5,000倍加用)を小型のスプレーで十分散布し、室内で2時間風乾した後、再び湿室に戻した。1区24~26果供試した。接種9日後に発病を調査した。発病程度、発病度の調査法は第1章第3節1(2)項と同様に行った。

## 結 果

接種20時間後には一部の果実では接種部位に薄い褐変斑が認められた。

接種4時間前の散布でビスダイセン水和剤、スペックス水和剤区は、高い予防効果が認められ、次いでベルクローブ水和剤、ポリベリン水和剤区で、これらの剤は、接種9時間後の散布までかなりの発病抑制効果がみられた。しかし、接種20時間後の散布では効果が劣り、30時間以降はほとんど効果が認められなかった。また、ストロビードライフロアブル区では予防効果、治療効果ともに認められなかった(表4-3)。

### (4) 枝病斑の分生子形成に対する抑制効果

第2章で述べたように、本病の主要な第一次伝染源は越冬した2年生枝病斑上に形成される分生子であることが判明した。そこで、薬剤散布によってこの枝病斑を封じ込め、分生子形成を阻止できれば、圃場の菌密度を低下させ、高い防除効果が得られる。そこで、各種薬剤の枝病斑の分生子形成に対する抑制効果を調べた。

## 材料及び方法

岡山市の現地多発圃場で、1996年9月3日に'清水白桃'の1年生罹病枝及び1997年2月14日に2年生罹病枝を採集し、病斑部を中心に長さ4~5cmに切って、流水中で病斑の表面をスポンジで軽く洗い、供試罹病枝とした。罹病枝を図4-3に示す薬剤の実用濃度の希釈液

(Tween20 5,000倍加用)に5分間浸漬した後、4時間風乾した。各区ごとに湿室にしたイチゴパックに納め、20~23℃に保持し、6日後に病斑表面の分生子形成程度を光学顕微鏡で観察した。1区当たり罹病枝6~7本を供試し、対照区は蒸留水(Tween20 5,000倍加用)に浸漬した。分生子形成度は次式から算出した。

$$\text{分生子形成度} = [\sum (X_i \cdot n_i) / 3N] \times 100$$

$X_i$  = 分生子形成量の指数 (0 : 分生子形成なし, 1 : 分生子形成が少, 2 : 分生子形成が中, 3 : 分生子形成が多),  $n_i$  = 各分生子形成量を示す枝数,  $N$  = 全供試枝数

結果

1996年9月の試験では、フロンサイド SC 2,000倍、ポリベリン水和剤1,500倍、石灰硫黄合剤(全硫化態硫黄22%) 7倍液の分生子形成抑制効果が高く、次いで、石灰硫黄合剤20倍液であった。フロンサイド SC 2,000

倍、ポリベリン水和剤2,000倍、石灰硫黄合剤7倍液区では、処理17日後まで、顕微鏡観察、綿棒によるこすり取り(第3章第1節1項と同様の方法)によって調査したが、分生子形成はほとんど認められなかった(データ省略)。

1997年2月の越冬枝病斑を供試した試験でも、フロンサイド SC 2,000倍、石灰硫黄合剤7倍、ポリベリン水和剤1,500倍液の分生子形成抑制効果が高く、次いでサンパー600倍、石灰硫黄合剤20倍液であった。その他の薬剤の分生子形成抑制効果は低かった(図4-3)。

2 圃場における有効薬剤の選抜

上述の分生子発芽試験やモモ組織を用いた室内試験において、モモ黒斑病に対する有効薬剤が判明した。しかし、過去の事例から、室内試験で有効な薬剤でも実際の圃場では防除効果が劣る場合が少なくない。そこで、圃場における効果の検定を実施した。すなわち、モモ樹に

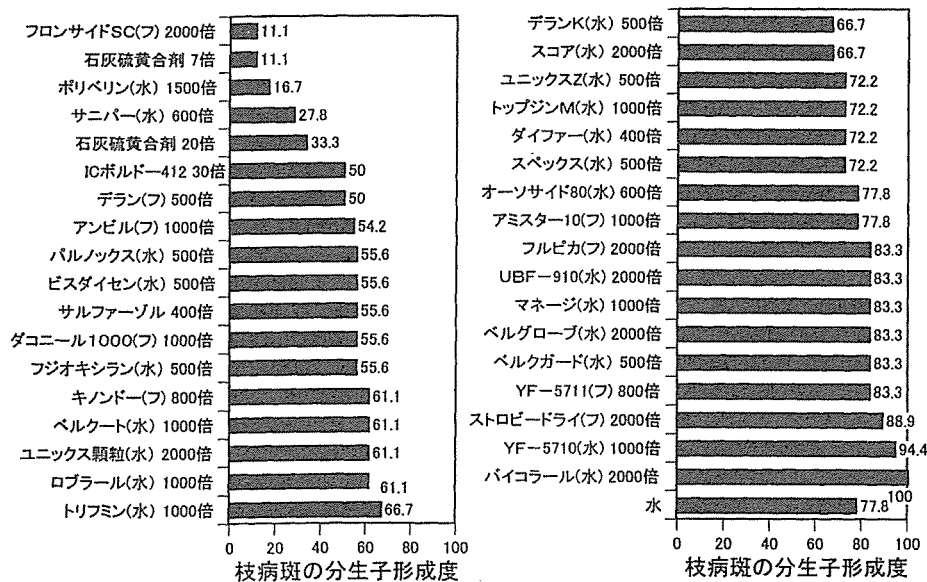


図 4-3 枝病斑上の分生子形成に対する薬剤の抑制効果

表 4-3 数種薬剤の予防効果及び治療効果

薬剤名・希釈倍率	薬剤散布時期				
	接種	接種	接種	接種	接種
	4時間前	9時間後	20時間後	30時間後	46時間後
ビスダイセン水和剤 500倍	0/26 ( 0 ) <sup>a)</sup>	5/23 ( 7 )	24/24 (40)	23/24 (51)	26/26 (69)
スベックス水和剤 500倍	0/25 ( 0 )	4/25 ( 5 )	24/26 (35)	24/24 (47)	24/24 (61)
ベルグローブ水和剤 2000倍	4/24 ( 6 )	13/25 (19)	23/24 (40)	23/24 (46)	24/24 (67)
ポリベリン水和剤 1500倍	11/24 (19)	11/26 (15)	21/24 (35)	24/24 (58)	25/25 (72)
ストロビードライフロアブル 2000倍	24/24 (64)	25/25 (61)	24/24 (64)	24/24 (61)	24/24 (64)
蒸留水	25/25 (68)	24/24 (75)	25/25 (69)	24/24 (67)	24/24 (67)

a) 発病果数/供試果数, ( ) 内は発病度を示す

薬剤を散布後、定期的に採取した葉や果実に病原菌を接種して薬効を調べた。

#### (1) 圃場で散布した薬剤の発病抑制効果と残効

体系的な防除における薬剤の散布間隔を決めるため、圃場で薬剤を散布した後、経時的に試料を採取して室内で接種を行って薬剤の残効期間を調べた。

#### 材料及び方法

岡山農試内圃場の3～4年生の「清水白桃」（無袋栽培）を用いた。1998年6月8日、午前11～12時（晴）に1区当たり8～10Lの薬液を肩掛式動力噴霧機で散布した。供試薬剤はビスダイセン水和剤500倍、スペックス

水和剤500倍、バルクローブ水和剤2,000倍、ストロビードライフロアブル2,000倍（いずれも展着剤の新グラミン5,000倍加用）を用いた。効果の検定は各試験区において、薬剤散布直前、散布2時間後、7、10、17、22及び32日後に果実（散布17日まで）及び1年生枝の散布時点で展開していた最上位葉から数えて3～10節位の葉を採取した。PSA培地で培養したモモ黒斑病菌96147株の分生子懸濁液を約20,000個/ml（Tween20 5,000倍加用）に調製して接種源とし、果実は1果当たり赤道部の1箇所に、葉は長さ約2cm（1葉から3葉片）に切って1葉当たり2箇所の裏面に分生子懸濁液25 $\mu$ lを無傷で点滴接種した。接種後は17℃で静置し7～8日後に発病程度

表 4-4 薬剤散布後の日数と果実での残効

薬剤名・希釈倍率	散布後日数 <sup>a)</sup>	果実 <sup>b)</sup>	葉 <sup>c)</sup>
ビスダイセン 水和剤 500倍	散布前	—	30/30 (89)
	散布2時間後	1/10 (3)	0/42 (0)
	7日後	1/11 (3)	3/60 (2)
	10日後	2/8 (13)	8/60 (7)
	17日後	4/11 (15)	3/60 (2)
	22日後	—	9/60 (7)
	32日後	—	36/60 (28)
スペックス 水和剤 500倍	散布前	—	60/60 (92)
	散布2時間後	0/9 (0)	0/84 (0)
	7日後	1/11 (6)	3/120 (1)
	10日後	2/8 (8)	19/120 (9)
	17日後	—	9/120 (3)
	22日後	—	14/120 (5)
	32日後	—	21/120 (10)
バルクローブ 水和剤 2000倍	散布前	—	60/60 (97)
	散布2時間後	2/12 (6)	1/84 (1>)
	7日後	7/11 (24)	57/120 (16)
	10日後	6/7 (38)	88/120 (26)
	17日後	9/9 (33)	68/120 (23)
	22日後	—	104/120 (48)
	32日後	—	104/120 (47)
ストロビードライ フロアブル 2000倍	散布前	—	60/60 (95)
	散布2時間後	9/9 (56)	28/80 (13)
	7日後	11/11 (48)	114/120 (60)
	10日後	—	119/120 (84)
	17日後	4/4 (50)	116/120 (70)
	22日後	—	120/120 (81)
	32日後	—	115/120 (65)
無散布	試験開始日	12/12 (47)	42/42 (94)
	7日後	11/11 (61)	60/60 (81)
	10日後	—	60/60 (96)
	17日後	—	58/60 (79)
	22日後	—	60/60 (94)
	32日後	—	59/59 (86)

a) 散布後6、9、16、21、31日間の降雨日数、降水量の合計（日数/mm）はそれぞれ4日/30、4日/30、7日/106.5、9日/117、11日/119.5であった

b) 発病果数/供試果数、( )内は発病度を示す

c) 発病箇所数/接種箇所数、( )内は発病度を示す

を調査した。検定数は1区当たり約10果、10~20葉とした。発病程度、発病度の調査法は果実では第1章第3節1(2)項、葉では第1章第3節1(3)項と同様に行った。

### 結 果

試験期間の31日間のうち、降雨日数は11日、降水量は119.5mmで期間の前半には降雨が多かった。

果実において、ビスダイセン水和剤、スペックス水和

剤区では散布10~17日後まで高い発病抑制効果が認められた。ベルクロブ水和剤区では散布7日後には効果がやや劣り、ストロビードライフロアブル区では散布直後でも効果があまりなかった。葉においては、ビスダイセン水和剤区では散布22日後まで、スペックス水和剤区では散布32日後まで高い発病抑制効果が認められた。ベルクロブ水和剤区は散布直後には発病抑制効果が高かったが、散布7~17日後には効果がやや低くなった。ストロビードライフロアブル区は散布直後には発病抑制効

表 4-5 薬剤散布後の日数と幼果での残効

散布日	供試薬剤 <sup>c)</sup>	5月6日 <sup>a)</sup>		5月13日		5月18日		5月21日	
		発/供 <sup>b)</sup>	発病度	発/供	発病度	発/供	発病度	発/供	発病度
4月30日	ビスダイセン	15/26	33	40/40	50	40/40	64	—	—
	スペックス	17/26	37	40/40	54	41/41	76	—	—
5月6日	ビスダイセン	3/28	6	31/39	40	41/41	66	40/40	68
	スペックス	2/27	4	35/40	46	39/40	53	40/40	59
5月13日	ビスダイセン	—	—	31/42	40	42/44	55	41/43	52
	スペックス	—	—	23/41	30	40/42	50	38/40	64
5月21日	ビスダイセン	—	—	—	—	—	—	32/40	43
	スペックス	—	—	—	—	—	—	31/40	48
無散布		26/26	64	20/20	63	42/42	78	40/40	85

散布日	供試薬剤	5月28日		6月1日		6月10日		6月16日	
		発/供	発病度	発/供	発病度	発/供	発病度	発/供	発病度
5月6日	ビスダイセン	42/42	56	29/29	66	—	—	—	—
	スペックス	40/43	56	41/41	65	—	—	—	—
5月13日	ビスダイセン	33/42	41	24/27	46	—	—	—	—
	スペックス	32/41	39	22/22	50	—	—	—	—
5月21日	ビスダイセン	2/42	3	35/40	32	9/32	16	—	—
	スペックス	19/41	25	24/40	30	3/15	10	—	—
6月1日	ビスダイセン	—	—	1/40	2	0/32	0	3/17	16
	スペックス	—	—	3/40	4	0/36	0	5/24	12
無散布		42/42	52	40/40	59	32/32	50	28/28	53

a) 検定月日

b) 発病果(葉)数/供試果(葉)数

c) ビスダイセン水和剤は600倍、スペックス水和剤は500倍(いずれにも新グラミン5000倍加用)

d) 試験期間4/30~5/5, 5/6~5/12, 5/13~5/17, 5/18~5/20, 5/21~5/27, 5/28~5/31, 6/1~6/9, 6/10~6/15の降雨日数、降水量の合計(日数/mm)はそれぞれ3日/58.5(5/4に57.0mmの大雨), 0日, 1日/8, 1日/1.5, 3日/99.5(5/24に53.5mm, 5/27に34.0mmの大雨), 0日, 3日/31.5, 0日であった

表 4-6 モモ黒斑病に対する薬剤の効果(1996)

供試薬剤	希釈倍率(倍)	幼果(袋掛け前)		成熟果		
		発病果率(%)	調査果数	発病果率(%)	発病度	
ベルクト水和剤	1000	0.2	309	34.6	10.8	
スペックス水和剤	600	0.0	471	39.3	12.3	
ストロビードライフロアブル	2000	1.4	490	41.4	14.1	
ロブラール水和剤	1000	0.0	451	31.0	9.4	
フロンサイドSC	2000	0.0	516	20.9	6.7	
キノンドーフロアブル	800	0.2	498	45.4	17.3	
無散布						

果がみられたが、7日後には効果がほとんどみられなくなった(表4-4)。

以上から、スペックス水和剤、ビスダイセン水和剤は果実成長第2期(硬核期)の果実で散布後10日間程度、葉の裏面では20~30日間残効があると考えられた。

### (2) 幼果の生育ステージと薬剤の効果及び残効

前項(1)の試験で果実成長第2期において残効の優れる薬剤として、スペックス、ビスダイセン水和剤を選抜した。第1章第3節及び第3章第3節の結果から、袋掛け前の幼果は本病に対して感受性が高く、数日間の降雨により発病が急速に進むことが明らかになった。したがって、この時期の果実の防除が重要と考えられる。そこで、果実成長第1期における薬剤の効果や残効を調べた。

### 材料及び方法

岡山農試内圃場の3~4年生の‘清水白桃’(無袋栽培)を用いた。1999年4月30日、5月6日、13日、21日及び6月1日に1樹当たり4~7Lの薬液を背負い式動力噴霧機でそれぞれ異なる樹に散布した。供試薬剤はビスダイセン500倍、スペックス水和剤500倍(いずれも新グラミン5,000倍加用)を用いた。効果の検定は各時期の薬剤散布直前に各区の果実を約20果/樹ずつ採取して、PSA培地で培養したモモ黒斑病菌96147株の分生子懸濁液を約20,000個/ml(Tween20 5,000倍加用)に調整して接種源とし、1果当たり赤道部の1箇所に分生子懸濁液25 $\mu$ lを無傷で点滴接種した。接種後は17 $^{\circ}$ Cで静置し5日後に発病程度を調査した。発病程度、発病度は第1章第3節1(2)項と同じ方法とした。

### 結 果

試験期間(46日間)中の降雨日数は11日と少なかったが、5月4日、24及び27日は大雨であった。5月6日の散布では両薬剤区とも散布7日以降は発病抑制効果が劣った。5月13日、21日の散布区では散布直後でも発病抑制効果が劣ったが、6月1日散布区では散布15日後でも効果が高かった(表4-5)。前項の試験結果からスペックス水和剤、ビスダイセン水和剤は果実成長第2期での黒斑病に対する予防効果が高いことが明らかになったが、果実成長第1期の果実肥大が盛んな時期には薬剤の効果が低いことが判明した。

### (3) 自然発生圃場における薬剤の防除効果

現地の発生圃場においてモモの幼果期~成熟期前に散布した薬剤の成熟果での防除効果を調べた。

### 材料及び方法

岡山市大窪の多発圃場の‘清水白桃’10~15年生を1区当たり1樹(1反復)供試して、1996年5月2日、10日、21日、29日、6月11日、7月1日、15日の7回、ベルコート水和剤1,000倍、スペックス水和剤600倍、ストロビードライフロアブル2,000倍、ロブラール水和剤1,000倍、フロンサイドSC 2,000倍、キノンドーフロアブル800倍を動力噴霧機で1樹当たり35L散布した。袋掛けは6月1~2日に行った。5月24日に1樹当たり幼果約500果の発病の有無、8月7~25日に全果実の発病程度を調査した。試験圃場に隣接する殺菌剤散布の少ない樹(5~7月にダコレート水和剤、トリフミン水和剤など5回程度散布)を対照区とした。成熟果の発病度は第1章第3節1(8)項の2)と同様に算出した。

### 結 果

幼果の発病は、ストロビードライフロアブル区で1.4%とわずかに見られたが、他の区ではほとんど見られなかった。成熟果では、フロンサイドSCの効果が最も高く、次いでロブラール水和剤、ベルコート水和剤、スペックス水和剤などであった(表4-6)。なお、キノンドーフロアブル区では6月以降、葉に小型のせん孔を

表4-7 試験区の殺菌剤散布層(1998)

散布月日	省力防除区	体系防除区
4.3 (開花期)		フロンサイドSC 2000(倍)
4.1	ロブラール水 1500(倍)	ロブラール水 1500
4.16	フロンサイドSC 2000	サニパー 600
4.23	ベルクロープ水 2000	ベルクロープ水 2000
4.3	スペックス水 500	スペックス水 500
5.7	ベルクロープ水 2000	ビスダイセン水 600
5.14		ベルクロープ水 2000
5.17	スペックス水 500	
5.21		スペックス水 500
5.26	ビスダイセン水 600	
5.28		ビスダイセン水 600
5.28	(袋掛け)	(袋掛け)
6.8	サニパー 600	サニパー 600
6.18		ブルーク水 1000
6.23	ブルーク水 1000	
6.26		ダコニール1000 1000
7.9	バルノックス水 500	ブルーク水 1000
7.16~8.4 (収穫期)		(収穫期)
7.23	ベルコート水 2000	ベルコート水 2000
8.5		ビスダイセン水 600
9.1	ビスダイセン水 600	ビスダイセン水 600
9.18		ダイファー 500
9.21	ダイファー水 500	
9.29		ic ボルドー-412 30
10.12	Ic ボルドー-412 30	ic ボルドー-412 30

表 4-8 モモ黒斑病に対する体系防除の効果 (1998)

区	樹 No.	幼果の発病		成熟果の発病			葉の発病 (10月9日調査)		枝の発病 (10月9日調査)	
		調査果数	発病果率 (%)	調査果数	発病果率 (%)	発病度	調査葉数	発病葉率 (%)	調査枝数	発病枝率 (%)
省力防除	K1 (成木)	1398	1.2	476	5.7	1.8	1388	2.2	296	0.0
	K2 (成木)	1038	4.1	364	8.3	2.5	1687	11.9	369	3.8
	Y7 (若木)	—	—	51	13.7	4.9	1382	4.6	352	1.7
	A7-1 (若木)	—	—	316	10.1	2.8	1728	3.9	444	0.4
	平均		2.7		9.5	3		5.7		1.5
体系防除	Y3 (成木)	452	0.2	703	3.0	0.9	1173	2.0	249	0.4
	A8 (成木)	672	1.5	477	9.6	3.2	1176	2.3	189	0.0
	Y9 (若木)	133	6.0	124	11.3	3.4	1414	3.8	494	1.7
	A7-2 (若木)	—	—	198	9.1	2.9	—	—	—	—
	平均		2.6		8.3	2.6		2.7		0.7
(対照) 慣行区 (A 圃場)		327	2.7	390	45.4	16.5	461	11.3	146	4.1

生ずる薬害が認められた。

### 第3節 有効薬剤を用いた体系防除

前節では本病に予防効果を有する薬剤及び枝病斑上の分生子形成を抑制する薬剤が選抜できた。そこで、1997～2001年に現地が多発圃場において、これらの有効薬剤を組み合わせた体系防除の効果を調べた。また、体系防除が枝病斑の分生子形成に及ぼす影響を明らかにするとともに、散布した薬剤の葉、幼果での残効を菌の接種によりモニタリングした。

#### 1 体系防除の効果

有効薬剤を組み合わせた体系防除の効果を経年的に行って、本病に対する効果を実証するとともに、効果の年次間差があるか否かを検討した。

#### 試験1 1998年試験

##### 材料及び方法

岡山市大窪の現地多発圃場の‘清水白桃’4～17年生樹(成木と若木の混植圃)を1区当たり2～4樹(1反復)供試して、表4-7に示すとおり、体系防除区、省力防除区の2種類の薬剤散布を行った。袋掛けは5月28日の薬剤散布後に行った。5月19～20日に摘果した幼果、7月16日～8月4日に収穫果、8月4～6日、10月9日に葉、長さ約30cm以上の1年生枝の発病を調査した。成熟果の発病度は第1章第3節1(8)項の2)と同様に算出した。施肥、除草、灌水などの一般管理は農家の慣行によった。

#### 結 果

試験圃場の果実での初発生は4月28日で例年より早

表 4-9 試験区の薬剤散布暦 (1999)

散布月日	省力防除区	体系防除区
3.26	キノンドー 500(倍)	キノンドー 500(倍)
3.31	キノンドー 500	キノンドー 500
(開花期)		
4.7	ロブラール 1500	ロブラール 1500
4.15	スペックス 500	スペックス 500
4.22		ビスダイセン 600
4.26	スペックス 500	
4.28		スペックス 500
5.6	ビスダイセン 600	ビスダイセン 600
5.13		ベルクローブ 2000
5.17	スペックス 500	
5.2		スペックス 500
5.27	ビスダイセン 600	ベルクローブ 2000
5.27～28	(袋掛け)	(袋掛け)
6.7	サニパー 600	サニパー 600
6.17		ブルーク 1000
6.23	ブルーク 1000	
6.28		ダコニール100 1000
7.9	ベルクート 2000	ブルーク 1000
7.23		ベルクート 2000
7.27～8.8	(収穫期)	(収穫期)
8.1	ダイファー 500	ダイファー 500
9.7	ビスダイセン 600	ビスダイセン 600
9.16	ダイファー 500	ダイファー 500
9.27		サニパー 600
10.7	ic ボルドー412 30	ic ボルドー412 30

かった。成木でみると、幼果では発病果率0.2～4.1%、成熟果では3.0～9.6%の範囲で、全般的に発病果率が低かった。成熟果では、体系防除区、省力防除区ともに慣行区(試験圃場に隣接する農家による慣行散布圃場)に比べて発病が少なく、体系散布の効果が見られた。薬剤散布回数の違いが効果に及ぼす影響は判然としなかった。なお、若木の方が成木より果実の発病が多かった(表4-8)。

8月4～6日の調査時点では、いずれの区も葉、枝の

表 4-10 モモ黒斑病に対する体系防除の効果 (1999)

区	樹 No.	幼果の発病		成熟果の発病			葉の発病	枝の発病
		発病果率 (%)	調査果数	発病果率 (%)	発病指数1を越える発病果率 (%) <sup>a)</sup>	発病度	発病葉率 (%)	発病枝率 (%)
省力防除	K1 (成木)	1.1	289	82.0	5.7	27	21.5	4.1
	K2 (成木)	2.8	214	92.1	24.6	30	31.7	9.7
	Y3 (成木)	1.4	379	77.3	14.5	23	15.9	5.4
	Y6 (若木)	0.4	65	83.1	38.5	31	29.4	7.8
	Y7 (若木)	2.9	68	88.2	45.6	35	18.1	7.8
	A2 (若木)	—	113	91.2	44.2	34	14.4	2.3
	A4 (成木)	—	367	84.7	26.7	28	8.1	1.7
	平均	1.7		83.9	23.2	28	19.9	5.5
体系防除	Y1 (若木)	0.8	59	74.6	13.6	22	17.8	8.8
	Y2 (成木)	0.1	369	59.6	4.3	16	13.7	3.7
	Y4 (若木)	3.3	27	85.2	22.2	27	24.6	13.1
	Y5 (成木)	0.9	238	58.8	4.6	16	12.7	2.8
	Y8 (若木)	1.0	113	59.3	10.6	18	18.4	6.2
	Y9 (若木)	0.7	99	50.5	4.0	14	17.5	5.3
	A1 (若木)	—	82	74.4	12.2	23	17.4	3.1
	A3 (成木)	—	277	75.5	11.6	22	伐採	伐採
	平均	0.8		64.4	7.8	18	17.4	6.1

a) 発病指数1 (径1~2mmの小型病斑が5個以内) を越える発病果率 (%) を示す

発病が少なかった。10月9日の調査では，省力防除区のK2樹で発病がやや目立ったが，他の樹では発病が少なかった (表4-8)。

試験2 1999年試験

材料及び方法

岡山市大窪の現地多発圃場の清水白桃5~18年生樹を1区当たり7~8樹供試して，表4-9に示すとおり，体系防除区，省力防除区の2種類の薬剤散布を行った。袋掛けは5月27~28日に行った。5月26日に摘果した1樹当たり200~900果の発病の有無，7月27日~8月8日に全収穫果の発病程度，10月19日に1樹当たり約1,000葉及び長さ約30cm以上の1年生枝約200本の発病の有無を調査した。収穫果の発病程度，発病度は第1章第3節1(8)項の2)と同様に算出した。施肥，除草，灌水などの一般管理は農家の慣行によった。

結 果

試験圃場では5月10日に果実での初発生を認めた。幼果での発病は5月26日の調査時点で体系防除区の発病果率が0.1~3.3%，省力防除区は0.4~2.9%と少なく推移していたが，成熟果での発病果率の平均値は，体系防除区で64.4%，省力防除区で83.9%と1998年の試験より多かった。しかし，病斑直径は1~2mmの小型のものがほとんどであった。葉，枝でも10月19日の調査では，発病

表 4-11 試験区の薬剤散布<sup>a)</sup> 暦 (2001)

散布月日	体系防除区①	体系防除区②
3.14	石灰硫黄合剤 7(倍)	石灰硫黄合剤 7(倍)
3.27	キノンドー 水 500	キノンドー 水 500
4.6	フロンスайд SC 2000	フロンスайд SC 2000
(開花期)		
4.13	ロブラール水 1500	ロブラール水 1500
4.2	ビスダイセン水 500	ビスダイセン水 500
5.1	スペックス水 500	スペックス水 500
5.8	ビスダイセン水 500	ビスダイセン水 500
5.15	スペックス水 500	スペックス水 500
5.24	ベルクロープ水 2000	ベルクロープ水 2000
5.29	スペックス水 500	スペックス水 500
5.29~30	(袋掛け)	(袋掛け)
6.7	サニパー 600	サニパー 600
6.15	ブルーク水 1000	トップジン M 水 1500 <sup>b)</sup>
6.25	ベルクロープ水 2000	ブルーク水 1000
7.3	ブルーク水 1000	トップジン M 水 1500 <sup>b)</sup>
7.11	ダコニール1000 1000	ベルクートフロ 2000
7.23	ベルクートフロ 2000	殺菌剤なし
(収穫期)		
8.2	ダイファー水 500	ダイファー水 500
9.5	ビスダイセン水 500	ビスダイセン水 500
9.24	サニパー 600	サニパー 600

a) 乳剤以外の場合には，新リノー 5,000倍 (展着剤) を加用した。

b) 黒斑病には効果がない。

葉率，発病枝率ともに前年より高く，防除効果は十分ではなかった (表4-10)。

試験3 2001年試験

材料及び方法

岡山市大窪の現地多発圃場の清水白桃7~10年生樹を1区当たり2~3樹供試した。表4-11に示すとおり、体系防除区①及び袋掛け以後収穫までに黒斑病に有効な薬剤の散布を減らして、袋掛け後の防除が成熟果の発病に及ぼす影響を検討するための体系防除区②を設けた。袋掛けは5月29~30日に行った。5月26日には摘果した1樹当たり200~900果の発病の有無、7月29日~8月10日には全収穫果の発病程度、8月20日、10月18日には1樹当たり約1,000葉の発病の有無を調査した。収穫果の発病程度、発病度は第1章第3節1(8)項の2)と同様に算出した。施肥、除草、灌水などの一般管理は農家の慣行によった。

結果

体系防除区①、体系防除区②とも、袋掛け前まで幼果の発病は非常に少なく推移していたが、袋掛け直前に

なって新しい病斑が目立つようになった。

成熟果での発病果率は、体系防除区①では平均値で18.7%と少なく、かなりの効果がみられた。病斑は直径1~2mmの小型のものがほとんどを占めた。体系防除区②では発病果率が33.4%で、体系防除区①に比べて発病が多かった。また、9月中旬以降、葉や枝の発病も体系防除区②の方がかなり多かった(表4-12)。以上のように、袋掛け以後収穫まで殺菌剤による防除圧を低くすると、成熟果や秋期の葉や枝の発病が多くなった。

2 体系防除による枝病斑の分生子形成抑制効果

本章第2節1(4)項で枝病斑の分生子形成に有効な薬剤として、発芽前に使用する石灰硫黄合剤、生育期に散布するフロンスайдSC、サニパーなどを選抜した。そこで、これらの薬剤を組み入れた体系防除を行った圃場における枝病斑の分生子形成が抑制されているか否かを調べた。

材料及び方法

1997年の3月下旬から7月下旬まで、岡山市の多発圃

表4-12 モモ黒斑病に対する体系防除の効果(2001)

区	樹 No.	幼果の発病		成熟果の発病			葉の発病発病葉率(%)	
		発病果率(%)	調査果数	発病果率(%)	発病指数1を越える発病果率(%) <sup>a)</sup>	発病度	8/20調査	10/18調査
体系防除区①	Y1	1.2	218	18.8	2.8	5.6	0.4	5.2
	Y3	1.0	175	16.6	1.1	2.9	—	8.3
	Y9	0.4	194	20.6	2.6	6.1	0.9	13.4
	平均	0.9		18.7	2.2	4.9	0.7	4.5
体系防除区② <sup>b)</sup>	Y2	2.1	143	32.2	4.2	9.1	2.1	49.6
	Y10	—	177	34.5	9.0	11.3	1.1	24
	平均	2.1		33.4	6.9	10.2	1.6	36.8

a) 発病指数1(径1~2mmの小型病斑が5個以内)を越える発病果率(%)を示す

b) 袋掛け後に黒斑病の有効薬剤を減らした区

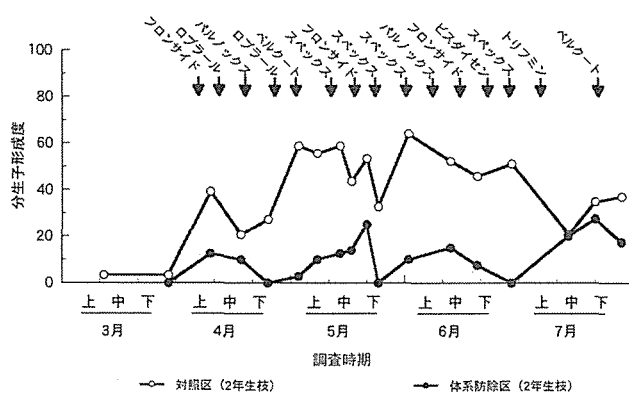


図4-4 体系防除における枝病斑上の分生子形成消長(1997, A圃場)

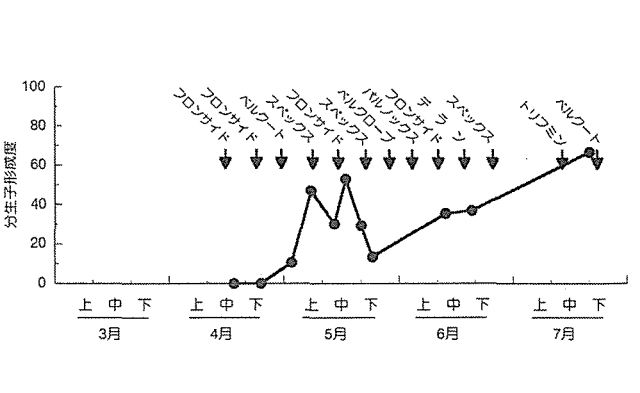


図4-5 体系防除における枝病斑上の分生子形成消長(1997, O圃場)



場 A 圃場の‘清水白桃’6樹, O 圃場の1樹を供試した。供試枝病斑は, 図4-4に示す薬剤の体系防除を行った A 圃場の2年生枝10病斑, 図4-5の体系防除を行った O 圃場の2年生枝33病斑とした。対照として A 圃場でトップジン M 水和剤などを数回だけ散布して黒斑病対象の薬剤散布をしなかった2樹の2年生枝23病斑を供試した。約1週間おきに病斑の表面を蒸留水を含ませた市販の綿棒で拭った後, 綿を指で絞りスライドグラス上に水滴を滴下して風乾させ, *Alternaria* spp. の分生子数を計測した。分生子形成度は第4章第1節1項と同様に算出した。

## 結 果

A 圃場の体系防除区では対照区と同様に, 4月上旬か

ら分生子形成が見られたが, 分生子形成度は低かった。その後6月下旬までの間, 分生子形成が見られないこともあり, 全体的に対照区に比べて分生子形成度は低く推移した(図4-4)。

O 圃場の体系防除区では2年生病斑の分生子形成開始時期は5月第1半旬で, A 圃場に比較して約3週間遅かった。しかし, 5月以降の分生子形成程度は A 圃場の体系防除区より高い状態で推移した(図4-5)。

### 3 体系防除区における薬剤の残効

体系防除法を確立するための基礎的知見を得るため, 体系防除した果実及び葉での薬剤の効果と残効を病原菌の接種によりモニタリングした。

表 4-13 体系防除区の幼果における薬剤の残効 (1998)

試験区	検定月日	散布薬剤 (散布後経過日数)	発病果数/供試果数 (発病度)
省力防除	5.17	ベルクロープ水和剤 2000倍 (10日後)	30/30 (52)
	5.26	スペックス水和剤 500倍 (9日後)	12/30 (17)
体系防除	5.13	ビスダイセン水和剤 600倍 (6日後)	27/30 (40)
	5.28	スペックス水和剤 500倍 (7日後)	1/22 (2)
対照 (無散布)	5.13	無 散 布	10/10 (93)
	5.28	無 散 布	8/8 (75)

表 4-14 体系防除区の葉における薬剤の残効 (1998)

試験区	検定月日	散布薬剤 (散布後経過日数)	発病果数/供試果数 (発病度)
省力防除	5.17	ベルクロープ 2000倍 (10日後)	5/84 (2)
	5.26	スペックス 500倍 (9日後)	6/120 (2)
	6.8	サニパー 600倍 (13日後)	1/60 (1)
	6.23	サニパー 600倍 (15日後)	23/84 (12)
	7.9	ブルーク 1000倍 (15日後)	59/84 (30)
	7.23	バルノックス 500倍 (14日後)	1/84 (1>)
	8.4	ベルコート 2000倍 (12日後)	11/84 (6)
	9.9	ビスダイセン 600倍 (38日後)	56/84 (34)
	体系防除	5.13	ビスダイセン 600倍 (6日後)
5.28		スペックス 500倍 (7日後)	0/84 (0)
6.8		サニパー 600倍 (11日後)	0/60 (0)
6.26		ブルーク 1000倍 (8日後)	3/84 (1)
7.9		ダコニール1000 1000倍 (15日後)	37/84 (31)
7.23		ブルーク 1000倍 (14日後)	1/84 (1>)
8.4		ベルコート 2000倍 (12日後)	6/84 (2)
9.9		ビスダイセン600倍 (38日後)	37/84 (22)
9.18		ビスダイセン600倍 (8日後)	1/84 (1>)
9.29		ダイファー500倍 (11日後)	41/84 (19)
対照 (無散布)	5.13	無 散 布	60/60 (76)
	5.28	無 散 布	58/60 (75)
	6.8	無 散 布	30/30 (91)
	8.4	無 散 布	84/84 (78)
	9.9	無 散 布	77/84 (62)
	9.29	無 散 布	49/84 (27)

## 試験 1 1998年試験

## 材料及び方法

本節1項の表4-7に示す省力防除区及び体系防除区の供試樹から、5月13日～9月29日の薬剤散布直前に無作為に果実（袋掛け前まで）及び葉を採取した。PSA培地で培養したモモ黒斑病菌96147株の分生子懸濁液（約20,000個/ml, Tween20 5,000倍加用）を第1章第

3節1(2), (3)項と同様の方法で果実、葉に無傷で接種して17℃で静置し、7～8日後に発病程度を調査し、発病度を算出した。

## 結果

果実では省力防除区及び体系防除区ともビスダイセン水和剤600倍、ベルクローブ水和剤2,000倍、スペックス

表 4-15 体系防除区の幼果における薬剤の残効 (1999)

試験区	検定月日	散布薬剤 (散布後経過日数)	発病果数/供試果数 (発病度)
省力防除	5. 6	スペックス 500倍 (10日後)	13/54 (14)
	5.17	ビスダイセン 600倍 (11日後)	15/26 (35)
	5.27	スペックス 500倍 (10日後)	18/22 (41)
体系防除	5. 6	スペックス 500倍 ( 8日後)	14/57 (16)
	5.13	ビスダイセン 600倍 ( 7日後)	54/65 (45)
	5.20	ベルクローブ 2000倍 ( 7日後)	25/25 (50)
	5.27	スペックス 500倍 ( 7日後)	15/24 (31)
対照 (無散布)	5. 6	無 散 布	26/26 (63)
	5.13	無 散 布	20/20 (63)
	5.18	無 散 布	42/42 (78)
	5.21	無 散 布	40/40 (85)
	5.28	無 散 布	42/42 (52)

表 4-16 体系防除区の葉における薬剤の残効 (1999)

試験区	検定月日	散布薬剤 (散布後経過日数)	発病果数/供試果数 (発病度)
省力防除	5.17	ビスダイセン600倍 (11日後)	裏: 20/84 (12)
	5.27	スペックス 500倍 (10日後)	裏: 11/84 ( 6)
	6.23	サニパー 600倍 (16日後)	裏: 8/84 ( 6)
	7. 9	ブルーク 1000倍 (16日後)	裏: 10/72 ( 7), 表: 0/72 ( 0)
	8.10	ベルクート 2000倍 (32日後)	裏: 56/72 (51), 表: 70/72 (88)
	9. 7	ダイファ-500倍 (28日後)	裏: 26/72 (15), 表: 26/72 (26)
	9.16	ビスダイセン600倍 ( 9日後)	裏: 26/72 (15), 表: 26/72 (26)
	9.27	ダイファ-500倍 (11日後)	裏: 27/72 (23), 表: 62/72 (65)
	10.7	ダイファ-500倍 (21日後)	裏: 20/72 (13), 表: 31/72 (26)
	体系防除	5.13	ビスダイセン600倍 ( 7日後)
5.20		ベルクローブ2000倍 ( 7日後)	裏: 0/84 ( 0)
5.27		スペックス 500倍 ( 7日後)	裏: 1/84 (1>)
6.17		サニパー 600倍 (10日後)	裏: 2/84 ( 1)
6.28		ブルーク 1000倍 (11日後)	裏: 7/72 ( 4), 表: 0/72 ( 0)
7. 9		ダコニール1000 1000倍 (11日後)	裏: 1/72 (1>), 表: 0/72 ( 0)
7.23		ブルーク 1000倍 (14日後)	裏: 11/72 ( 7), 表: 0/72 ( 0)
8.10		ベルクート 2000倍 (18日後)	裏: 18/72 (13), 表: 19/72 (13)
10.7		サニパー 600倍 (10日後)	裏: 3/72 ( 1), 表: 4/72 ( 4)
対照 (無散布)		5.14	無 散 布
	5.20	無 散 布	裏: 30/30 (83)
	7. 9	無 散 布	裏: 72/72 (99), 表: 27/72 (20)
	7.23	無 散 布	裏: 72/72 (99), 表: 67/72 (68)
	8.10	無 散 布	裏: 71/72 (88), 表: 28/72 (20)
	9.16	無 散 布	裏: 61/72 (61), 表: 43/72 (31)
	9.27	無 散 布	裏: 68/72 (74), 表: 52/72 (53)
	10.7	無 散 布	裏: 64/72 (59), 表: 67/72 (80)

水和剤500倍などの散布6～10日後でも比較対照として供試した殺菌剤無散布の果実に比べて発病度が低く、発病抑制効果が認められた。しかし、5月28日に検定した体系防除区のスペックス水和剤500倍液を散布した果実以外の発病抑制効果は不十分であった(表4-13)。

葉では省力防除区及び体系防除区ともほぼ全期間を通して殺菌剤無散布の葉に比べて発病抑制効果が認められた。特に、サニパー600倍、パルノックス水和剤500倍、ベルコート水和剤2,000倍、ビスダイセン水和剤600倍、プルーク水和剤1,000倍、ベルクロブ水和剤2,000倍などでは散布8～15日後でも高い発病抑制効果がみられた(表4-14)。

## 試験2 1999年試験

### 材料及び方法

本節1項の表4-9に示す省力防除区及び体系防除区の供試樹から、5月6日～10月7日の薬剤散布直前に無作為に果実(袋掛け前まで)及び葉を採取した。上記試験と同様の接種を行い、果実及び葉の発病程度を調査した。なお、6月28日以降の葉への接種は、葉を切らずに1葉当たり裏面及び表面の6箇所は無傷接種した。

### 結 果

果実では5月6日の検定時には、省力防除区及び体系防除区ともスペックス水和剤500倍は散布8～10日後でも発病抑制効果はかなり高かったが、5月13日以降の検定ではビスダイセン600倍、ベルクロブ2,000倍、スペックス500倍はいずれも発病抑制効果がやや低い傾向であった(表4-15)。

葉裏面での検定では、ほぼ全期間を通して無散布区に比べて発病抑制効果が認められた。しかし、葉表面での検定では8月以降に省力防除区で発病抑制効果が不十分な場合がみられた(表4-16)。

以上から、袋掛け直前の果実における薬剤の残効が1999年は1998年(体系防除区において、スペックス水和剤500倍散布7日後で発病度2であった)に比べて低かった。これは、5月24日(37.5mm)、26日(11.5mm)、27日(28mm)の強い降雨が影響しているものと考えられる。

## 第4節 考 察

本章ではモモ黒斑病に対する有効な防除法の開発を目的に、耕種的、化学的防除法の効果を解析した。

### 耕種的防除法

耕種的防除法として袋掛け及び雨よけの効果を検討し

た。慣行の果実袋の効果は認められたが、袋掛けだけでは果実の発病を防ぐことは困難であった。ナシ黒斑病では殺菌剤を処理した果実袋の防除効果について多くの報告(人見, 1930; 河村ら, 1951; 北島ら, 1960; 宇田川, 1988)がある。予備試験において袋紙に対するモモ黒斑病菌の貫通阻止効果が高かった殺菌剤で処理した袋を、現地圃場で供試したところ、圃場や試験年によって効果差はあるものの、慣行袋に比べて果実の発病程度を2～7割減らすことができた。薬剤処理袋の効果としては果実表面に付着している本病菌の分生子と袋が接触することにより発芽が抑制されること、袋掛け後に袋を貫通する菌に対して貫通を阻止することなどが考えられた。

雨よけ栽培では通常の露地栽培に比べ果実、葉、枝とも発病が少ないことが明らかになった。雨よけによってモモ樹体の濡れが少なくなり、枝病斑上の分生子形成、分生子の発芽、感染の頻度が減少するとともに、降雨による薬剤の流亡が抑制されるためと考えられた。しかし、これらの耕種的防除法だけでは、防除効果は十分ではなく、雨よけ施設を広く普及するには、コスト面、灌水などの管理面から問題がある。そこで、化学的防除法を明らかにする必要がある。

### 化学的防除法

化学的防除法としての薬剤散布は、本病の防除対策の重要な手段の一つである。本病の主要な第一次伝染源は越冬した2年生枝病斑上に形成される分生子であることは第2章で述べた。そこで、薬剤散布によってこの枝病斑を封じ込め、分生子形成を阻止できれば、高い防除効果が得られると考えられる。本試験の結果、枝病斑上の分生子形成抑制効果のある薬剤としてフロンサイドSC、石灰硫黄合剤、ポリベリン水和剤、サニパーを選抜した。石灰硫黄合剤は縮葉病の防除薬剤として黒斑病の発生以前から広く普及しているが、本剤を3月中～下旬に散布していても、4～5月には枝病斑上に分生子形成が認められるので、宇田川ら(1988)がナシ黒斑病の防除で指摘しているように石灰硫黄合剤の分生子形成抑制の残効は本病に対しても短いと考えられる。フロンサイドSCはモモの生育期に散布でき、枝病斑上の分生子形成抑制効果が最も高く、分生子の発芽抑制効果、葉での発病抑制効果も認められることから、生育初期の防除薬剤として有効と考えられた。

室内試験で本病に対する有効薬剤を選抜した。予防効果に優れた薬剤としてビスダイセン水和剤、スペックス水和剤、プルーク水和剤、ベルクガード水和剤、サニパー、ダイファー水和剤などの有機硫黄殺菌剤を含む薬剤やベルクロブ水和剤、ポリベリン水和剤などが見つ

かった。これらの薬剤は分生子発芽抑制効果が高いことから、モモ果実や葉の表面における分生子の発芽を抑制することで予防効果を発揮していると考えられた。

一方、予防効果に優れる上記のいずれの薬剤でも、接種9時間後までの散布では高い発病抑制効果が認められたが、20時間後では効果が劣った。このことは予防的散布を行っていない場合には、1～2日間でも降雨などで多湿条件が続くと、この間に付着していた病原菌の分生子が発芽して、果実、葉、枝への感染に成功し、降雨後の散布では発病を十分抑制できない、すなわち治療効果が低いことを意味している。したがって、本病の防除には予防的な散布が必須と考えられる。モモの生育期には、果実の肥大、新梢伸長、展葉が絶えず起こっている。また、露地栽培では、降雨による薬剤の流亡が避けられないことから、予防的な薬剤の効果を持続させておくには、定期的な散布が重要と考えられる。

室内試験で選抜した数種薬剤の予防効果の残効期間について、圃場の葉や幼果（果実生長第2期）で調べたところ、ビスダイセン水和剤、スペックス水和剤は、ベルクローブ水和剤に比べて長かった。ただし、5月上～下旬の果実生長第1期には、果実が急速に肥大すること、第2章で述べたように病原菌に対する感受性が非常に高いことから、両薬剤とも効果が劣ることが判明した。

以上のように、室内試験、圃場での残効試験などで有効と認められた薬剤と袋掛けなどを組み合わせた体系防除を薬剤の適正使用基準を考慮しながら、5年間にわたり実施した。すなわち、防除体系には、発病前に枝病斑上の分生子形成を抑制するフロンスайдSC、サニパーを組み入れた。果実の発病消長、病原菌に対する感受性などの調査結果から、落花後から袋掛けまでの幼果期を最も重要な防除時期と位置づけ、効果の顕著であったスペックス水和剤、ビスダイセン水和剤及びベルクローブ

水和剤などを用いて、約7日間隔の暦日散布を行った。袋掛け以後は梅雨期となり第1章に述べたように葉や1年生枝での発病が増加するため、7月中旬まで約10日間隔でプルーク水和剤、ベルクート水和剤などを散布した。その結果、試験開始前の数年間は発病率が80～100%あった甚発生圃場においても、10～30%程度の発病率となり、1果当たりの病斑数はほぼ1～2個にまで減少し、病斑径も径1～2mmの小型のものが主体で、高い防除効果が認められた。また、枝、葉の発病も減少させることができた。

このように、有効薬剤を組み合わせた体系防除は、慣行の防除体系に比べて本病に対し防除効果が認められ、実用上支障のない程度まで本病を防除することができた。なお、試験年によっては、発病程度は軽微であるものの発病率が30～60%と効果が劣る場合もあった。この要因の一つとして、薬剤の流亡が疑われたので、現地圃場の体系防除区における散布薬剤の残効を接種によって調べた。葉においてはサニパー、バルノックス、ベルクート、ビスダイセン、プルーク、ベルクローブの各水和剤などは散布8～15日後でも高い発病抑制効果がみられ、体系防除の有効性が裏付けられた。しかし、幼果では1999年の試験例のように袋掛け前に降雨が続くと、定期的にこれらの薬剤を散布していても効果が不十分であった。なお、有袋果実の病斑が袋掛け前の菌の感染か袋掛け後の感染かをみるために、袋掛けまでは同じ体系防除を行い、袋掛け後に有効薬剤の散布を省いて防除圧を低くした区と袋掛け後も散布を継続した区の比較を行った。その結果、袋掛け後の防除圧が低いと成熟果や秋期の葉や1年生枝の発病が多いことが明らかとなった。この結果は袋掛け後にも果実への菌の感染が起こることを示している。したがって、袋掛け後も防除を怠らないことが重要である。

## 第5章 放射線照射法による抵抗性品種の作出と総合防除

黒斑病の発生により薬剤防除回数が従来の防除体系に比べて増加しており、今回開発した耕種的防除法、化学的防除法を組み合わせた場合でも本病が蔓延する環境条件下では、年によっては防除効果が劣り、被害が生じた。このことは、労働力、生産コストの面からも問題がある。さらに、低農薬栽培への社会的な要請も高いことから、「清水白桃」に匹敵する高品質でかつ黒斑病に抵抗性の品種の導入が望まれていた。

ナシ黒斑病では放射線照射による突然変異を利用した抵抗性品種として「ゴールド二十世紀」、「おさゴールド」等が実用化されており、防除回数の低減に大きな成果を上げている(内田, 1991; 渡辺, 1998)。そこで、本節では放射線照射法によって「清水白桃」の優れた形質を持つ「黒斑病抵抗性の「清水白桃」」の作出を試みた。選抜された系統について、抵抗性の程度や諸形質について検討するとともに、本系統と薬剤の組合せによる効果を解析し、本系統を基幹品種とした総合防除の確立を目指した。

### 第1節 抵抗性系統の選抜

放射線照射を利用した突然変異育種は、イネ、ムギなどの穀物、野菜類、花卉類の育種に広く用いられてきた(山口, 2000)が、果樹では育種例が少なく、特にモモではほとんど事例がない。そこで、本節では、放射線照射がモモ苗木の生育に及ぼす影響を調べるとともに、放射線照射した「清水白桃」苗木の新梢からモモ黒斑病に抵抗性を有する系統の選抜を行った。

#### 材料及び方法

供試苗木は「清水白桃」(岡山市N氏系統、おはつモモ台接ぎ木苗)の1年生苗を用いた。放射線照射は1996年12月16~18日及び1997年12月9~11日、独立行政法人農業生物資源研究所放射線育種場ガンマールームにお

いて、1996年は線量 50, 80及び200Gy (それぞれ線量率 1.0, 1.6, 4.0Gy) の3段階で各100本、1997年は線量80, 100, 120, 140, 160及び180Gy (それぞれ線量率 1.6, 2.0, 2.4, 2.8, 3.2, 3.6Gy) の6段階で各50本のいずれも根部を保護しながらγ線(線源  $^{60}\text{Co}$ )を照射した。照射後に送付された苗木を直ちに岡山農試内の圃場に畝間100cm, 株間75cmで植え付け、除草のためマルチ(黒ビニル0.03mm)栽培した。生育期の防除は殺虫剤のみとし適直行った。

6月上旬~7月中旬に1年生枝の先端から3, 4及び5葉位の葉を採取して各葉の中央部分を約2cmの長さで切り、直径9cmのシャーレ内の蒸留水で湿らせた脱脂綿上に並べた。葉片の裏面に、モモ黒斑病菌96147株の分生子懸濁液(約20,000個/ml) 25μlを無傷で点滴接種し、ペーパーディスク(アドバンテック社製、径6mm, 薄手)を置いた。接種後の葉片は17~18℃で静置し、7~8日後に発病程度を調査した。また、1998年12月15~17日、1999年12月17~19日には上記と同様に、線量120, 160Gyの2段階でそれぞれ150本ずつ照射して上記と同様の検定を行った。

### 結 果

1996年12月に放射線照射した苗木では、線量50, 80Gy区は奇形葉がまれに発生する程度の軽微な障害がみられたが、新梢の伸長にはほとんど影響がなかった。しかし、線量200Gy区では、奇形葉、新梢の萎縮、芽の枯死、苗木全体の枯死など著しい生育障害が認められた。

1997年12月に放射線照射した苗木のうち、線量80, 100Gy区では奇形葉がまれに発生する程度の軽微な障害がみられたが、発芽や新梢の伸長にはほとんど影響がなかった。線量120, 140Gy区では芽の枯死がやや目立ち、新梢数が少なかった。160, 180Gy区では芽の枯死、新梢の萎縮、苗木全体の枯死などの顕著な生育障害が認められ、特に180Gy区では84%の苗木が10月までに枯死した(表5-1)。以上から、放射線(γ線)の線量が120Gy以上で芽の枯死、160Gy以上で新梢の萎縮や苗木

表5-1 放射線照射がモモ苗木の生育に及ぼす影響<sup>a)</sup>

線量 (Gy)	植付 苗数	発芽苗率 (%)	発芽芽数/苗	枯死苗率 (%)	障害の状況
80	50	100	9.4	0	まれに葉の奇形
100	50	100	9.8	0	まれに葉の奇形
120	50	100	7.1	0	まれに葉の奇形, 芽の枯死,
140	50	96	4.4	4	まれに葉の奇形, 芽の枯死,
160	50	90	2.5	32	葉の奇形, 新梢の萎縮, 芽の枯死, 苗木全体の枯死
180	50	16	0.3	84	葉の奇形, 新梢の萎縮, 芽の枯死, 苗木全体の枯死

a) 1998年7月2日調査(枯死苗率は同年10月30日調査)

の枯死が発生することが判明した。

1997年6～7月に線量50Gy区の1,443新梢、80Gy区の1,244新梢、200Gy区の131新梢の計2,818新梢の抵抗性を検定したところ、200Gy区の1新梢でモモ黒斑病に対する中程度の抵抗性がみられた。1998年は80Gy区の441新梢、100Gy区の485新梢、120Gy区の362新梢、140Gy区の235新梢、160Gy区の114新梢、180Gy区の12新梢の計1,649新梢を検定したが、いずれにも抵抗性は認められなかった。また、1999年は120Gy区の684新梢、160Gy区の381新梢の計1,065新梢、2000年には120Gy区の1,190新梢、160Gy区の1,193新梢の抵抗性を検定したが、いずれにも抵抗性は認められなかった。中程度の抵抗性が認められた1新梢を「R97C-12-5」としてそのまま育成した。この系統は2004年11月に「清水白桃RS」の名称で品種登録し、公表された。

## 第2節 選抜された抵抗性系統「清水白桃RS」の抵抗性と諸形質

### 1 室内における抵抗性試験

前節で選抜した系統「清水白桃RS」の葉、枝、果実での黒斑病抵抗性を室内における接種試験で調べた。

#### 材料及び方法

1997年に選抜された抵抗性系統「清水白桃RS」を1996年12月に定植した状態のまま育成し、本系統の原母樹とした。対照として同じ苗木の中で抵抗性を有しなかった1年生枝「97C-12-S」もそのまま育成した。1999年5月12日、「清水白桃RS」のうち、1年生枝の先端から3～5葉位の葉を10葉ずつ採取して、前節1項と同様の方法でモモ黒斑病菌を接種し、発病程度を調査した。また、同年8月30日に「清水白桃RS」の任意の1年生枝9本を採取し、基部から10、15及び20cmの位

置に、分生子懸濁液に浸したペーパーディスク（アドバンテック社製、径6mm、薄手）を無傷で枝に付着させ、17℃の温室、暗黒下に7～9日保った後、発病程度を調査した。2000年5月12日に垂主枝当たり20～32果の幼果を採取し、第1章第3節1(2)項と同様に接種し、発病程度を調べ、発病度を算出した。接種源にはいずれもモモ黒斑病菌96147株の分生子懸濁液（約20,000個/ml）を用いた。

## 結 果

1997年に選抜した抵抗性系統「清水白桃RS」の葉は、対照の「清水白桃」や「97C-12-S」に比べて発病程度が低く、中程度の抵抗性を示した（表5-2、図版IV-1）。1年生枝においても同様の傾向であった（表5-3）。また、いずれの枝由来の幼果でも対照の「清水白桃」や「97C-12-S」に比べて褐変程度が薄いものが多く、中程度の抵抗性が認められた（表5-4、図版IV-2）。

表5-2 「清水白桃RS」の葉における抵抗性<sup>a)</sup>

品種・系統名	接種箇所数	発病箇所率(%)	発病度
清水白桃RS 枝1	60	60	21
枝2	60	48	18
枝3	60	72	25
(対照) 97C-12-S	60	100	66
(対照) 清水白桃	60	95	61

a) 接種：1999年5月12日，調査：5月17日

表5-3 「清水白桃RS」の1年生枝における抵抗性<sup>a)</sup>

品種・系統名	接種箇所数	発病箇所率(%)	発病度
清水白桃RS	27	41	23
(対照) 清水白桃	30	67	53

a) 接種：1999年8月30日，調査：9月7日

表5-4 「清水白桃RS」の幼果における抵抗性<sup>a)</sup>

品種・系統名	枝番号	供試幼果数	発病指数別幼果数				発病度
			0	1	2	3	
清水白桃RS	枝1	20	0	20	0	0	33
	枝2	20	0	17	1	2	42
	枝3	26	0	26	0	0	33
	枝4	24	0	19	1	4	46
	枝5	22	0	22	0	0	33
	枝6	32	0	32	0	0	33
	枝7	31	0	31	0	0	33
(対照) 97C-12-S		37	0	3	7	27	88
(対照) 清水白桃		35	0	5	13	17	78

a) 接種：2000年5月7日，調査：5月12日

## 2 県内各地の黒斑病菌に対する抵抗性

モモ黒斑病は県南部を中心に数カ所の産地で発生が認められている。これまで抵抗性系統の選抜には、岡山市の1圃場から分離されたモモ黒斑病菌を用いてきたが、前節で選抜した抵抗性系統‘清水白桃RS’を県内各地で栽培する場合には、それぞれの圃場で発生しているモモ黒斑病菌に対して抵抗性を持っている必要がある。そこで、県内各地のモモ黒斑病菌に対する本系統の抵抗性を調べた。

### 材料及び方法

1996～2001年に岡山県内各地のモモ黒斑病発生圃場12圃場から採集した表5-5に示すモモ黒斑病菌16菌株を供試した。2001年10月2日、殺菌剤をほとんど散布していない岡山農試内の‘清水白桃RS’及び‘清水白桃’の葉を採取し、約2cmの長さに切り、蒸留水で湿らせた脱脂綿を敷いた直径9cmのシャーレに葉片の裏面を上向きにして並べた。各菌株をPSA平板培地で25℃、14日間培養後、4mm角の菌叢片を裏返しにして無傷で1葉片当たり2箇所に置床して接種した。18～20℃の湿室に8日間保った後、葉の発病状況を調査した。発病度は第1章第3節1(3)項と同様に算出した。

### 結 果

供試菌株によって発病程度の差が認められ、‘清水白桃’で発病度の高い菌株では、‘清水白桃RS’においても発病度が高い傾向であった。しかし、‘清水白桃RS’の葉の発病程度は、いずれの菌株を接種した場合でも、‘清水白桃’に比べて低く、ほぼ中程度の抵抗性を示した(表5-5)。

以上から、‘清水白桃RS’は岡山県内各地に分布するいずれのモモ黒斑病菌に対しても、中程度の抵抗性を示すことが明らかとなった。

## 3 黒斑病発生圃場における抵抗性

‘清水白桃RS’は室内の接種試験では中程度の抵抗性を示すことが判明した。そこで、黒斑病が発生している圃場において、抵抗性が認められるか否かを調べた。

### 材料及び方法

1997年9月に‘清水白桃RS’を芽接ぎした苗(おはつモモ台)を、1997年12月に岡山市大窪地区の4農家の黒斑病発生圃場に1～2本ずつ植え付けた。栽培管理は各農家の慣行とし、病害虫防除は各農家による体系防除によった。2000年10月6日、2001年10月18日に1樹当たり500～1,000葉の発病状況を調査した。各圃場の‘清水白桃RS’の芽接ぎ苗に近接している‘清水白桃’を対照とした。

### 結 果

現地の黒斑病発生圃場に植栽した‘清水白桃RS’の芽接ぎ苗は、それぞれの圃場の‘清水白桃’に比べて2000、2001年のいずれも葉の発病が少ない傾向であった(表5-6)。

## 4 ‘清水白桃RS’の諸形質

### 材料及び方法

本節1項の(1)に述べた‘清水白桃RS’の原母樹について、花器、果実の形態や諸形質について調査した。

表5-5 県内各地のモモ黒斑病菌に対する‘清水白桃RS’の抵抗性

菌株番号	採集場所	清水白桃RS		清水白桃	
		発病箇所率(%)	発病度	発病箇所率(%)	発病度
96147	岡山市①	97	80	100	100
201ya7	岡山市①	80	39	90	93
97102	岡山市②	83	43	100	89
97109	岡山市③	67	27	93	76
200078	岡山市④	73	47	100	96
201015	岡山市⑤	50	18	93	72
98001	赤磐市①	3	1	73	43
200093	赤磐市②	27	9	67	40
201td1	赤磐市②	37	16	97	79
200041	総社市①	83	51	100	96
200044	総社市①	83	69	100	99
200056	総社市②	53	22	100	93
200062	総社市③	37	13	87	81
201sf1	総社市④	63	29	100	93
201t9a	倉敷市①	80	47	100	96
201t9b	倉敷市①	28	38	100	94

表 5-6 現地圃場での‘清水白桃 RS’の葉の発病状況

圃場名	品種・系統名	発病率 (%)	
		2000年	2001年
N A	清水白桃 RS ①	0.5	1.0
	清水白桃 RS ②	0.4	0.9
	清水白桃①	12.3	6.9
	清水白桃②	11.2	13.1
K A	清水白桃 RS	12.3	1.9
	清水白桃	50.3	14.2
N O	清水白桃 RS	0.1	0.0
	清水白桃	2.9	1.1
T O	清水白桃 RS	0.1	0.2
	清水白桃	5.9	8.0

表 5-7 ‘清水白桃 RS’ と薬剤との組合せによる果実の発病抑制効果

薬剤名・希釈倍率	品種・系統名	供試果数	発病率 (%)	発病度
ストロビードライフロアブル 2,000倍	清水白桃	35	100	40
	清水白桃 RS	35	97	32
ロブラール水和剤 1,500倍	清水白桃	35	63	23
	清水白桃 RS	35	83	28
スペックス水和剤 500倍	清水白桃	35	0	0
	清水白桃 RS	35	0	0
ベルコート水和剤 2,000倍	清水白桃	35	57	24
	清水白桃 RS	35	37	12
サニパー 600倍	清水白桃	35	46	15
	清水白桃 RS	35	0	0
無 散 布	清水白桃	35	100	78
	清水白桃 RS	35	100	38

また、1997年9月に‘清水白桃 RS’を芽接ぎした苗を岡山農試内に定植し、その生育状況を調査した。

### 結 果

‘清水白桃 RS’の花器は花粉を有し、自家結実性が認められた。果実は大きく、糖度は高く、渋みや苦みも認められなかった。果皮着色は微であり、粘核、果肉内の着色はなかった。核周囲の着色は微で、果肉の粗密は密、肉質は溶質で繊維は少ない。果皮の剥皮性は容易で日持ちは在来の‘清水白桃’と同様であった(図版IV-3)。以上のように、果実特性では外観、内容ともに、従来の‘清水白桃’と‘清水白桃 RS’との間に相違は殆ど認められなかった。

### 第3節 総合防除

放射線照射法によって‘清水白桃’から選抜した黒斑病抵抗性系統‘清水白桃 RS’の抵抗性は中程度であることから、実際には薬剤防除との組合せによる総合防除法を確立する必要がある。そこで、本系統と薬剤散布とを組み合わせた場合の効果进行调查するため、現地圃場における省力防除試験を行った。

### 1 ‘清水白桃 RS’ と薬剤との組合せ効果 (室内試験)

#### 材料及び方法

2000年5月26日、岡山農試内の4年生の‘清水白桃’及び‘清水白桃 RS’の幼果を採取して横向きにフルーツパックに並べた。実用濃度の薬液(展着剤無加用)をハンドスプレーで十分散布して、室内で2時間風乾した。PSA平板培地で培養したモモ黒斑病菌96147株の分生子懸濁液(約20,000個/ml, Tween20 5,000倍加用)を、果実の赤道部の1箇所に25 $\mu$ lずつ無傷で点滴接種し、17~18 $^{\circ}$ Cの湿室に8日間保持した後、発病程度を調査した。発病度は第1章第3節1(2)項と同様に算出した。

#### 結 果

無散布区では、‘清水白桃 RS’は‘清水白桃’に比べて幼果の発病程度が低く、中程度の抵抗性を示した。幼果における‘清水白桃 RS’と薬剤散布との組合せによる発病抑制効果は、供試薬剤の種類によって異なった。すなわち、ストロビードライフロアブル区、ロブラール水和剤区では効果は両品種ともやや劣り、大きな差はみられなかった。一方、ベルコート水和剤区、サニパー区



では‘清水白桃 RS’は‘清水白桃’に比べて発病が減少し、組合せの効果が認められた(表5-7)。

## 2 ‘清水白桃 RS’ と薬剤との組合せによる省力防除(圃場試験)

### 材料及び方法

1999年9月に‘清水白桃 RS’を芽接ぎした苗8本を、同年12月に岡山市大窪地区の黒斑病発生圃場に植え付けた。このうち5樹は表5-8に示す体系防除①、残りの3樹は殺菌剤を減らした体系防除②の防除を行った。栽培管理は現地の慣行に従った。2001年10月18日に1樹当たり500~700葉の発病状況を調査した。

### 結果

体系防除①を実施した清水白桃では発病葉率が3.9%であったのに対し、同様の防除体系の‘清水白桃 RS’では0.2%と極めて発病は少なく、開花期以降の防除回数を大幅に削減した体系防除②を行った樹でも2.3%にとどまった。葉の発病についての調査結果からは、自然発生圃場において‘清水白桃 RS’と薬剤との組合せにより、省力防除が可能であることが分かった。

表 5-8 試験区の薬剤散布暦(2001)

散布月日	体系防除区①	体系防除区②
3.14	石灰硫黄合剤 7(倍)	石灰硫黄合剤 7(倍)
3.27	キノンドー水 500	キノンドー水 500
4.6	フロンスайд SC 2000 (開花期)	フロンスайд SC 2000 (開花期)
4.13	ロブラール水 1500	ロブラール水 1500
4.20	ビスダイセン水 500	ビスダイセン水 500
5.1	スペックス水 500	スペックス水 500
5.8	ビスダイセン水 500	ビスダイセン水 500
5.15	スペックス水 500	
5.24	ベルクローブ水 2000	ベルクローブ水 2000
5.29	スペックス水 500	
6.7	サニパー 600	サニパー 600
6.15	ブルーク水 1000	
6.25	ベルクローブ水 2000	ベルクローブ水 2000
7.3	ブルーク水 1000	
7.11	ダコニール1000 1000	ダコニール1000 1000
7.23	ベルクートフロ 2000	
8.20	ダイファー水 500	
9.5	ビスダイセン水 500	ビスダイセン水 500
9.24	サニパー 600	
10.5	ダイファー水 500	ダイファー水 500

## 第4節 考察

黒斑病の多発地域では‘清水白桃’から他の品種への更新は有効な耕種的防除法である。しかし、緒言で述べたように優れた形質を持つ本品種に対する農家の栽培意欲は強く、全面的な品種更新は進みにくいのが現状である。現時点では本病の発生は県内の一部の地域に限られているが、今後本病の発生に好適な環境下では、発生圃場が拡大することが懸念される。第4章で述べた防除体系は、従来の防除体系に比べて散布回数が多く、労働力、生産コスト、社会的要請の面からも問題がある。このような背景から、ナシ黒斑病で実績のある放射線照射による抵抗性品種の作出を試みた。4か年にわたり、モモ‘清水白桃’の苗木にγ線を照射して、圃場に植え付け、伸長してきた新梢の葉の抵抗性を検定したところ、中程度の抵抗性を示す1系統‘清水白桃 RS’を選抜できた。本系統は花器、葉、果実の諸形質、熟期が‘清水白桃’とほとんど差異はないが、従来の‘清水白桃’にはない黒斑病抵抗性を有している。接種試験の結果からは‘紅清水’、‘白鳳’などと同等の中程度の抵抗性と考えられた。黒斑病発生圃場においても、本系統の葉、果実での発生状況は、同じ圃場で栽培されている‘清水白桃’に比べて発病が少ないことが確認された。ただし、‘清水白桃 RS’の抵抗性は中程度であることから、実際には薬剤防除との組合せによる総合防除法を確立する必要がある。そこで、本系統と殺菌剤散布とを組み合わせた場合の発病抑制効果を調査したところ、数種の薬剤で‘清水白桃’に比べ発病程度が顕著に抑制された。さらに、現地圃場における殺菌剤散布回数の削減試験の結果、5~9月の殺菌剤散布を7回省いた体系防除によっても、7~10日間隔で15回の体系散布を行った‘清水白桃’に比べて葉の発病は少なく、本系統の導入により省力防除が可能と考えられた。今後、自然発生条件下での果実、枝の抵抗性を調べる必要があるが、‘清水白桃 RS’は本病の発生圃場における‘清水白桃’の代替品種として有望である。

## 第6章 総合考察

本論文は、1991年頃から岡山県南部のモモ産地で‘清水白桃’の果実の表面に茶褐色のかさぶた状の斑点を生じる障害が *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler による新病害であることを明らかにし、その発生生態の解明、防除法の確立を目的として、1996～2001年に行った試験結果を取りまとめたものである。まず、本病の病徴を明らかにし、病原菌の分離・同定、病原性の解明を行うとともに、病原菌が新規の宿主特異的毒素 (HST) を産生することを明らかにした。次に、伝染方法、発病推移と気象との関係を解明し、耕種的防除法、化学的防除法の効果を明らかにした。さらに、放射線照射を用いた突然変異育種法により‘清水白桃’の抵抗性品種‘清水白桃 RS’を作出し、総合的な防除法の基盤を築いた。本論文の研究結果についての考察は各章ごとに行ってきたが、本章ではさらにいくつかの項目について総括的な論議を行うことにする。

### モモ黒斑病の病徴と被害

本病はモモの幼果、成熟果、葉、枝のほか、多発圃場では花器、芽にも発生がみられることがある。第1章で述べたように本病の最も顕著な病徴は、成熟果に発生する茶褐色で、周囲がやや不定形のかさぶた状の病斑である。しかし、多くの罹病果を観察すると、径約20mmに達するかさぶた状の大型のものから、成熟期でも径1～2mmの褐点状のものまで様々な病斑がある。このような病徴は、幼果に黒色病斑が生じて亀裂を生じた後、落果したり、果頂部に亀裂を伴う大型の黒色病斑を生じるナシ黒斑病 (宇田川, 1988) とは異なっている。沢村 (1972) はリンゴ斑点落葉病による‘印度’果実の病徴を「黒点・さび型」、「そうか型」、「斑点型」、「果点褐変型」の4型に分類し、菌の感染時期と果実の成熟度による果実組織の細胞分裂能の差異が病斑型に影響していると報告している。モモ黒斑病における‘清水白桃’の果実病斑もこれに類似していた。すなわち、5月上旬頃の初発時の病斑は径約2mmの窪みを生じた後に健全部との境界に溝を生じて拡大を停止する 경우가多く、沢村の「黒点・さび型」(リンゴでは5～6月の感染)に相当する。しかし、5月下旬頃に感染した病斑は第1章で述べたような典型的な淡褐色～茶褐色斑で、成熟期までに次第に拡大してかさぶた状を呈し、亀裂を生じる 경우가多く、「そうか型」(リンゴでは6～8月の感染)に相当する。6月中旬～7月中旬の感染では、褐色斑点状の径約2～3mmの小型病斑となり拡大がほとんどみられず、「斑

点型」(リンゴでは9月の感染)に相当する。また、枝病斑についても6～7月の梅雨期頃に生じた病斑はしばしば大型化して樹脂漏出、亀裂を生じることが多いが、9月頃に生じる病斑は円形ないし楕円形で小型のものが多い。このようにモモにおいてもリンゴ斑点落葉病菌と同様に菌の感染時期の違いがその後の病徴に影響を及ぼすものと考えられた。

葉には径5～10mmの円形ないし不整形の斑点状の病斑の他に、菌が感染した部位から急速に葉脈沿いに大型で不整形やアザミ葉状の褐変壊死斑が形成されることがしばしば認められた (図版II-3)。このような壊死斑の周辺部からは病原菌が分離されないことから、これらの壊死斑はHSTによる病徴と考えられる。

本病は果実に発病しても腐敗は生じないが、病斑が外観を著しく損ねることから、秀品率の低下や出荷不能になるなどの経済的な損失が大きい。本県のモモは果皮着色が少ない乳白色の美しい外観が特徴であることから、果実での防除の重要性は非常に高い。また、葉に多発すると早期落葉して樹勢の低下につながると考えられる。

### 病原菌の病理学的性質及び毒素産生

果実の病斑から分離した菌のモモへの接種試験、形態観察から本病の病原菌は *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler であることを明らかにした。*A. alternata* によるモモの病害は国内では未報告であることから、本病害を黒斑病 (black spot) と呼称することを提案した。

本病菌は培養濾液中に葉の褐変壊死を誘起する毒素を産生すること、本毒素が Pringle *et al.* (1964), Nishimura *et al.* (1965), Yoder *et al.* (1969) の定義したHSTの条件に合致し、新規のHSTであることを明らかにしたので「AP毒素」と命名することを提唱した。Nishimura *et al.* (1978), Nishimura (1980) は、ナシ、リンゴ、カンキツ、タバコ、イチゴ、トマトなどに対してHSTを産生して寄生する *Alternaria* 属の病原菌について、いずれも腐生性の *A. alternata* と形態的差異が認められないことから、それぞれを *A. alternata* の病原性に関する変異系統と位置付けた。すなわち、腐性菌 *A. alternata* がそれぞれのHST産性を獲得することによって各宿主に病原性を示すようになったものと推定し、*A. alternata* の病原型 (pathotype) として位置付けることを提案している。第2章で述べたように、モモ黒斑病菌は、分類上の形態が集合種 *A. alternata* に属しており、新規のHSTとしてAP毒素を生成すること、さらに、モモ黒斑病菌の宿主特異性はAP毒素によって決定されていることが明らかとなった。

以上のことから、本菌を他の HST 産生病原菌の例に  
ならい、*A. alternata* の種内病原型「peach pathotype」と  
して位置付けるのが妥当であると考察した。

AP 毒素のモモに対する初期作用点が明らかになれば、  
将来的には品種の毒素に対する感受性を定量的に評価し  
たり、モモの毒素に対する感受性部位を改変することで  
完全な抵抗性を示すモモ品種の育成への緒となると考え  
られる。これまで、他の HST 産生 *A. alternata* の初期作  
用点として知られる原形質膜、葉緑体、ミトコンドリア  
はいずれも予備実験の結果から、AP 毒素の作用点でな  
いと考えられた。AP 毒素はその活性が他の HST に比  
べ失活しやすく、化合物として不安定であるため、毒素  
の精製には至っていない。今後は、病原菌と宿主の相互  
関係を詳細に解明するためにも毒素の構造解析、初期作  
用点の解明が必要である。

### 病原菌の伝染方法

本研究により明らかとなったモモ黒斑病の伝染環は次  
のように要約される (図 6-1)。本病菌の第一次伝染源  
は前年に形成された、すなわち 2 年生枝病斑上に形成さ  
れる分生子であり 4~5 月以降幼果、葉、枝へ飛散す  
る。幼果が感染すると 3~4 日の潜伏期間を経て病斑が  
形成される。罹病果は通常摘果されるが、見落としたも  
の、袋掛け作業時に潜伏期間にあるものは袋内に包み込  
まれる。袋内で発病し、病斑が拡大したものは、病斑  
上に形成される分生子によって成熟期まで袋内で二次伝  
染する。健全果として袋掛けされた場合でも、2 年生枝  
病斑や 1 年生枝病斑に形成された分生子が主に梅雨期間  
に紙袋を貫通したり、袋の止め金付近の隙間などから雨  
水とともに侵入して感染する可能性も推測される。罹病

葉は速やかに落葉するか、病斑部がせん孔して抜け落ち  
るため、罹病葉上に形成される分生子は少ない。罹病落  
葉や抜け落ちた病斑部は焼却されたり、地上部で分解す  
るため以後の伝染源とはなりにくいと考えられる。むしろ、  
剪定後に 1 年生枝に残った病斑が越冬して 2 年生枝  
病斑となり、翌年への伝染源となる。この伝染環を断ち  
切るためには生育期後半から休眠期にかけて徹底した枝  
病斑の処分が必要である。リンゴ斑点落葉病菌 (沢村、  
1972)、ナシ黒斑病菌 (渡辺、1999) では枝の皮目で病  
斑を形成せずに越冬することが知られている。モモの 1  
年生枝はナシ、リンゴに比べて皮目が未発達であるが、  
古い枝や主幹部には多数の皮目があり、樹皮の表面が粗  
造となることが多いので、このような部分で菌が越冬す  
る可能性もある。本菌は腐生生活が可能であることも考  
慮して、さらに枝病斑や芽の鱗片以外の第一次伝染源に  
ついては今後の課題である。

本研究では、圃場内に飛散する分生子を捕捉して定量  
することにより、発生予察、防除対策に役立てようとし  
た。モモ圃場における *Alternaria* spp. の分生子飛散の時  
期別消長や日周性はナシ、リンゴ圃場における既報 (北  
島、1957; Tamura *et al.*, 1980; 宇田川、1988; 林ら、  
1973; 平良木、1973; 関口、1976; 宮川ら、1984) と  
一致したが、捕捉された *Alternaria* spp. に占めるモモ黒  
斑病菌の比率が著しく低く、*Alternaria* spp. の分生子全  
体の飛散消長から、本病の発生時期、発生量を予察す  
ることは難しいと判断した。一方、越冬後の 2 年生枝病  
斑上における黒斑病菌の分生子形成はいずれの年も 4~  
5 月のある時期に急増した。この急増時期が 5 月下旬ま  
でずれ込んだ 1996 年及び 2001 年は、その直後から幼果  
の発病が急速に進展しており、2 年生枝病斑上に形成さ  
れる分生子が第一次伝染源となっていることを示してい  
る。したがって、モモ黒斑病の 2 年生枝病斑上における  
分生子の形成消長を把握することが、初期発病の予察に  
は重要と考えられる。

我が国における *A. alternata* に起因する果樹病害の発  
生経過をみると、ナシ黒斑病は 1920 年代には九州地方か  
ら東北地方までの各地で当時から普及していた「二十世  
紀」に発生がみられており (人見、1930)、リンゴ斑点  
落葉病は 1956 年に岩手県南部で確認され、1957~1958  
年には岩手県全域に拡大するとともに、他のリンゴ生産  
県でも発生を認め、1959 年には北海道を除く全国のリ  
ンゴ生産県に拡大した。さらに 1965 年には北海道南部  
地方でも確認されるに至った (平良木、1973)。最近で  
は、セイヨウナシ (棚橋、1998)、オウトウ (佐藤ら、  
2000) にも *A. alternata* を病原とする新病害が報告され

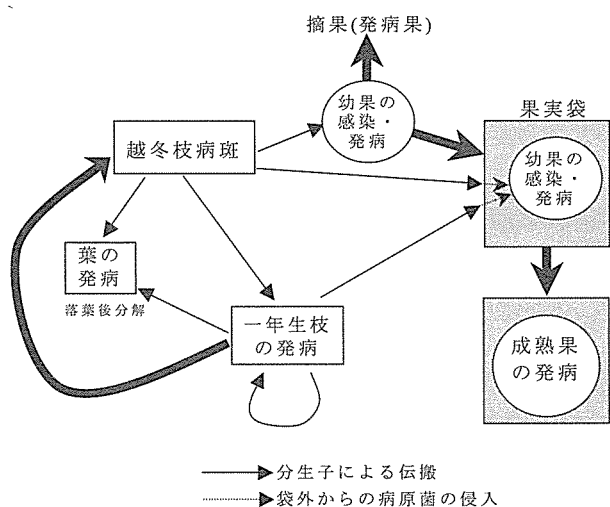


図 6-1 モモ黒斑病の伝染環

ている。一方、1991年頃から岡山県南部の一部の圃場で発生したモモ黒斑病は、2001年現在、県内数カ所の産地への拡大が確認されているものの発生面積は十数 ha と、県内全域への蔓延には至っておらず、他県での発生も認められていない。本研究で明らかにしたように本病害の蔓延しやすい圃場は、山際の窪地で、ため池や用水が近くにあるような湿度が高い環境の「清水白桃」栽培園であることから、リンゴ斑点落葉病のような急速かつ広域的な蔓延は起きにくいと推察される。このように本病害は *Alternaria* 属菌に由来する病害の疫学的解析を行うための好モデルを提供していると考えられる。近年、植物病原糸状菌の遺伝子解析が生態学的研究に応用され、種内の遺伝的多様性を明らかにすることで、病原菌の個体群構造やその動態が解明されつつある (Adachi, Y. *et al.* 1993, Adachi, Y. *et al.* 1994)。今後本病菌においても遺伝子解析を用いた詳細な生態学的研究が期待される。

#### モモ黒斑病の発生要因

本研究で明らかとなったモモ黒斑病の発生に及ぼす要因を表 6-1 にまとめた。まず、本病の発生には宿主側の要因が大きく影響していると考えられる。すなわち、果実では初期肥大の著しい果実成長第 1 期 (4 月下旬～5 月下旬頃) の感受性が高いことが判明した。さらに、果実の発病適温が 15～25℃ とやや低く、10℃ でもかなり発病が進むという点から、この時期の果実は発病しやすいと考えられる。葉・枝の感受性については若い組織の方が発病しやすいものの基部近くの葉や枝でも発病することが分かった。このことは自然発生圃場において古い葉や伸長を停止した 1 年生枝でもモモの生育期間を通じて発病がみられることと合致している。ナシ黒斑病では展葉 1 か月後、リンゴ斑点落葉病では展葉 20 日後以降は菌の感染が起こらないので (北島ら, 1957; 北島, 1989)、この点は本病の顕著な特徴であると考えられる。また、葉の発病適温は 20～30℃ と果実より高く、8 月下

旬から 9 月にかけて病勢進展がみられる現象とよく符合している。

また、モモの樹齢及び栄養状態も発病に大きな影響を及ぼすと考えられる。現地の薬剤防除試験圃場において同様の防除を行っても、樹齢が 3～4 年生の若樹は 10～15 年生の成木に比べて果実、枝、葉ともに発病が多かった。同じ樹齢でも生育の旺盛な樹に発病しやすい傾向も認められる。したがって、本病の発生圃場では必要以上に多肥栽培とならないような肥培管理が肝要と考えられた。ナシ黒斑病では施肥量が少ないと多発することが報告されている (毛利, 1957) が、この点はモモ黒斑病とは異なっている。

気象要因は、本病の発生に最も顕著な影響を及ぼす要因と考えられた。まず、第 3 章で明らかにしたように、第一次伝染源となる 2 年生枝病斑の分生子形成は、毎年 4～5 月の日最低気温が 12℃ 以上の降雨日が出現した直後に分生子形成の急増が認められた。それ以後は、2 年生枝、1 年生枝病斑ともに 8～9 月まで継続して多量の分生子の形成がみられ、7 月下旬～8 月上旬の高温・乾燥条件下でもほとんど形成量の抑制は認められなかった。これは夜半から朝方にかけての結露があるためと推察される。

モモの生育時期全体を通じてみると、本病の発病推移には大きく分けて、初発生から梅雨明けまでの病勢進展期、梅雨明けから 8 月までの停滞期、9～10 月の再び病勢が進展する時期の 3 時期があることを明らかにした。この現象は、落合ら (1976) の報告したリンゴ斑点落葉病やブドウべと病の発病推移とよく類似している。初めの病勢進展期は梅雨期間、停滞期は梅雨明け以後の高温・乾燥期、第 2 の進展期は初秋の長雨の時期と一致していることから、本病の発病推移には降雨が強く影響していることは明らかである。さらに、5～7 月の発病推移を詳しくみると袋掛け前の幼果や葉、梅雨入り後の葉において、病勢が急速に進展する時期と停滞する時期が

表 6-1 モモ黒斑病の発生に関与する要因

項目	助長要因	抑制要因
モモの感受性	・多肥、若木 ・果実成長第 1 期が最も弱い	・少肥、老木
枝病斑上の分生子形成	・日最低気温 12℃ 以上の降雨で形成量が急増。それ以後の形成量には気象の影響は小さい。	
空気中の分生子の飛散	・晴天	・曇雨天
感染、発病	・15～25℃ (果実) ・20～30℃ (葉) ・高湿度 ・降雨	・30℃ 以上の高温 ・低湿度

かなり明確であった。この短期的な病勢の変化は気象の変動、特に降雨日数、湿度との相関が高く、降雨日数が多く、日平均湿度、日最低湿度が高い日が続くと発病が急増することが判明した。5～7月には伝染源となる枝病斑上の分生子形成量は高い状態が続いており、主に風によって連続的に圃場内に飛散していると考えられる。また、いったん宿主であるモモに付着した分生子は降雨及び高湿度によって発芽し、感染しやすくなることから、発病が急増する要因と推定される。

さらに、本病発生の重要な要因として、圃場環境が挙げられる。モモ黒斑病が毎年発生している圃場は、周囲を山に囲まれた窪地で、近くに水路やため池があることが多い。このような圃場は、近隣の未発生圃場に比べて、気温がやや低く、湿度95%以上の時間が1.2～1.8倍長い高湿度の環境であることが本研究により判明した。したがって、特にこのような環境下の‘清水白桃’栽培圃場では、今後、本病の発生を警戒しておく必要がある。

#### モモ黒斑病の防除法

岡山県におけるモモ栽培では、灰星病、黒星病、シンクイムシ類などの防除や乳白色の美しい外観を保ち高品質の果実を生産するための袋掛けが広く普及している。薬剤散布は、縮葉病、カイガラムシ類、ダニ類などを対象とした発芽前散布を含め、様々な病害虫防除のため、年間7～10回行われてきた。本病の発生が初めて確認された圃場でも定期的な薬剤散布、袋掛けを行ってきたが、それにもかかわらず黒斑病の被害を抑えることが

できず、対応に苦慮していた。本研究において、有効な薬剤を選抜したところ、ビスダイセン水和剤、スペックス水和剤、プルーク水和剤、ベルクガード水和剤、サニパー、ダイファー水和剤などの有機硫黄殺菌剤を含む薬剤やベルコート水和剤、ベルクローブ水和剤、ポリベリン水和剤などが予防効果に優れることを見出した。これらの薬剤は分生子発芽抑制効果も高かった。また、フロンスайд SC、石灰硫黄合剤、ポリベリン水和剤、サニパーが枝病斑の分生子形成の抑制に有効であることも明らかにした。逆に、これまで灰星病、黒星病、うどんこ病、いぼ皮病を対象に使用されていたバイコラル水和剤やトリフミン水和剤などのエルゴステロール生合成系阻害剤、トップジン M 水和剤、水和硫黄剤、アミスター10フロアブルなどは本病に効果が低いことが判明した。このような試験結果と発病推移、伝染源となる枝病斑上の分生子形成消長、本病菌に対する感受性の変化などの調査結果から、モモ黒斑病の体系防除法を図6-2のように考案した。すなわち、3月の発芽前散布に続いて、4月に最も重要な第一次伝染源である2年生枝上の病斑に形成される分生子を減少させるため、4月上旬にサニパーまたはフロンスайд SC を散布する。開花後には灰星病菌による花腐れとの同時防除でロブラール水和剤を散布し、果実への最重要防除時期と考えられる落花後から袋掛けまでにビスダイセン、スペックス水和剤などを約7日間隔で散布する。袋掛け後は再び枝病斑上の分生子形成抑制のため、サニパーを散布し、以後は約10日間隔でプルーク水和剤、ベルクローブ水和剤などを数

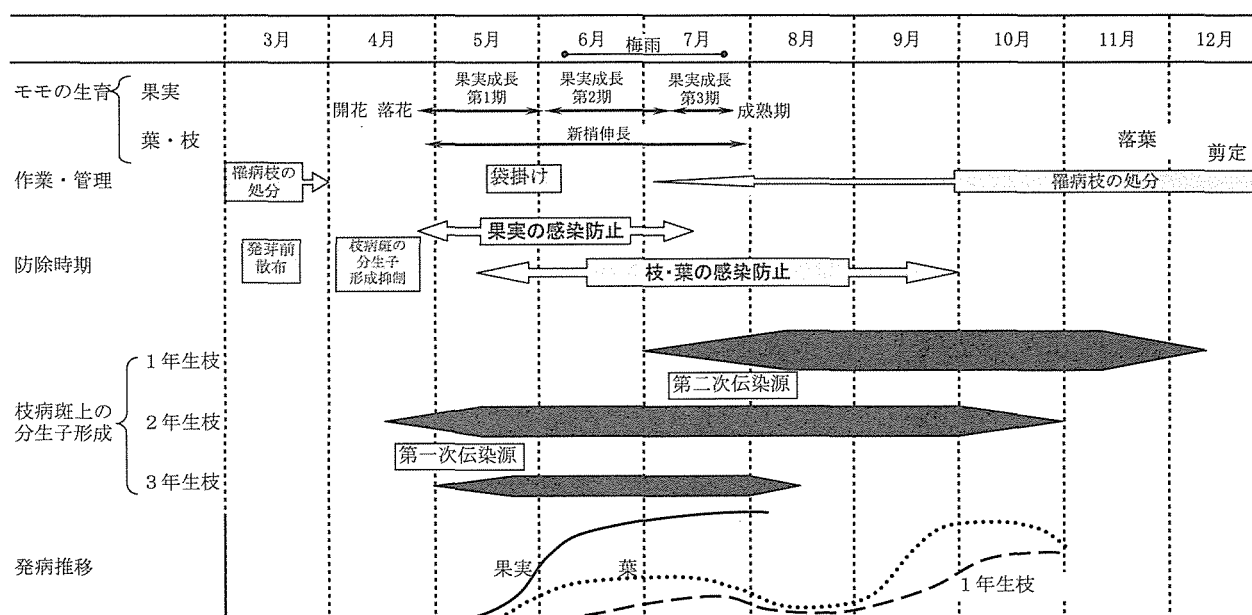


図6-2 ‘清水白桃’における黒斑病の発生模式図と防除時期

回散布する。収穫後は9月以降の病勢進展により翌年の伝染源となる枝病斑形成を防ぐため、さらに数回の散布を行う。市場出荷がほとんどできないほど多発していた圃場においても、この体系防除によって、平年並の発生量であれば実質的被害がない程度にまで果実の発病を抑えることが可能となり、今回作成した体系防除の有効性が実証できた。

鳥取県においては、‘二十世紀’ナシの黒斑病防除の要点として、①休眠期の越冬伝染源（枝病斑、病芽）の徹底除去、②果実は2回の袋掛けで菌の感染を防止、③薬剤散布による葉、果実の発病、蔓延の防止の3点を掲げ、特に①の圃場衛生による耕種的防除が重点指導されている（渡辺，1998）。モモ黒斑病においても圃場衛生の徹底は重要な対策と考えられる。本研究で明らかとなったように第一次、第二次伝染源として重要な枝病斑は見つけ次第、徹底的に除去することが、圃場の菌密度の低下につながり、生育期の薬剤散布の効果をより向上させるものと考えられる。また、本病が空気伝染性であることを考慮すると発生地域全域での圃場衛生が重要であろう。袋掛けについては、本県の‘清水白桃’栽培では通常5月下旬に行っているが、黒斑病防除の点からみると、幼果における病勢進展に対応した袋掛けのタイミングが最も重要と考えられる。5年間の体系防除試験において、毎年袋掛けは薬剤散布当日ないし翌日に行っていたが、その数日前に降雨が続いた場合には、袋掛け直前頃から袋掛け中に幼果の発病が増加しており、体系防除の効果が不十分であった。この場合には、潜伏期間中の菌や発病直後の果実を袋に包み込み易いので、成熟期の発病につながるものと考えられる。第5章第1節で述べたように、この時期の果実は病原菌に対する感受性が最も高いことが幼果期の防除を一層難しくしていると考えられる。このようなリスクを少なくするには、定期的に丁寧な薬剤散布を行うことが必要である。宇田川（1988）は‘二十世紀’ナシの有袋果実における黒斑病の異常発生は、主に小袋掛け前の雌しべに侵入・潜伏している菌を小袋で包み込むことによって起こると報告している。モモではナシのような雌しべからの感染が幼果の発病に結びつく現象はみられていないが、幼果の表面に付着した分生子の感染によって類似の現象が起こる可能性がある。

本研究では、袋掛け以後に薬剤防除圧を低くすると成熟果の発病が増加することが明らかとなった。室内試験では、有袋果実の袋の外に黒斑病菌の分生子を接種して温室に保つと果実の発病が認められることから、低い防除圧下で袋の外から菌が侵入したものと考えられた。し

たがって、袋掛け以後の薬剤散布では袋にも十分薬剤がかかるようにすることが必要である。

#### 黒斑病抵抗性品種「清水白桃RS」を基幹とした総合防除

本病の発生圃場における‘清水白桃’の体系防除は、圃場衛生などの耕種的防除と組合せても、従来の体系に比べて散布回数が多く、労働力、生産コストのみならず、環境保全の面からも課題が残る。また、この防除体系は平年並の発生であれば被害がほとんど問題とならない程度まで防除効果が認められるが、生育期に雨が多く多発条件の年には、効果が低下することが予想される。本研究において放射線育種法により‘清水白桃’から作出した抵抗性品種‘清水白桃RS’は、生育や果実の形質が‘清水白桃’とほぼ同等であることから、本病の発生圃場における代替品種として大いに期待できる。

既に鳥取県では‘二十世紀’ナシから放射線照射法で選抜した黒斑病抵抗性品種の‘ゴールド二十世紀’の選抜に成功し、品種更新が進められている。鳥取県の病害虫防除暦によると‘ゴールド二十世紀’の年間の薬剤散布回数は従来の1/2の9回まで減らすことができている（渡辺，1998）。‘清水白桃RS’の黒斑病に対する抵抗性は‘ゴールド二十世紀’と同様に中程度であることから、本品種に更新した場合でも黒斑病の発生圃場では本病を対象とした薬剤散布は必要である。本研究の現地実証試験の結果から、薬剤散布回数を15回から8回に削減しても高い防除効果が認められており、‘清水白桃RS’と有効薬剤の散布とを組合せた総合防除の基礎が確立された。

## 摘 要

本報告は岡山県南部のモモに発生した新病害「黒斑病」の病徴、病原菌の同定、病理学的性質、宿主特異的毒素産生、さらには伝染方法並びに発病と気象との関係、耕種的・化学的防除法、抵抗性品種の作出による総合防除法に関して1996～2001年に行った一連の研究結果を取りまとめたものである。

### 1 モモ黒斑病の病徴

本病は幼果、成熟果、葉、枝に発生する。まれに花器、芽にも発生して、「花腐れ」や「芽枯れ」症状を呈する。幼果では、初め径約2～3mmの淡褐色ないし茶色の円形病斑で、後に拡大して5～10mmの茶褐色ないし黒褐色のかさぶた状となり、病斑内部に亀裂や樹脂の漏出を伴う。成熟果の病斑は、数～20mmの不整形でかさぶた状を呈する。果実の病斑は、果梗部に最も多く、次いで

赤道部で、果頂部には少ない。葉では、初め5 mm～10 mm、退緑色または灰色で、円形ないし不整形の斑点を生じ、数日後に茶褐色となり、穿孔する。多発すると早期落葉する。

1年生枝の病斑は、初め径2～5 mmの赤ないし淡褐色の円形または楕円形で、1～2週間後にはやや凹み、病斑の中心に縦に亀裂を生じ、樹脂を漏出する。病斑部の褐変は木質部まで達する。

初発生時期は年次変動があるが、果実、葉では5月上旬頃、枝では6月上旬頃で、その後漸増する。曇雨天が続くと数日後に病勢が急速に進展する。7月下旬～8月下旬は病勢が停滞気味となるが、9月に再び病勢進展がみられる。

## 2 モモ黒斑病菌の病理学的性質

果実の病斑から分離した糸状菌を接種試験により病原菌と特定し、培養上の諸性質及び形態、リボソームRNA遺伝子のRFLP解析の結果から、本病菌を *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler と同定した。 *A. alternata* によるモモの病害は国内では未報告であることから、本病害を「黒斑病」(black spot) と呼称することを提案した。本菌はモモ以外の核果類、ナシ、リンゴなどには病原性を示さず、モモだけに病原性が認められた。モモの果実、枝、葉を侵し、宿主特異性を有する *A. alternata* の発見は、本研究が世界で最初である。

本菌の接種試験で、モモ果実では5月中旬頃の果実成長第1期が最も感受性が高く、6月以降感受性が低下した。伸長した1年生枝やその葉は若い部分ほど感受性が高かったが、基部付近の葉や枝でも発病した。発病適温は果実では15～25℃、葉では25℃で果実の方がやや低い傾向であった。5～6月の圃場における潜伏期間は、果実では3～6日間、葉では3～7日間であった。モモ品種の黒斑病に対する抵抗性は高い品種から低い品種まで連続的にみられ、中程度の抵抗性を示す品種が多く、一山型の頻度分布であった。葉では‘よしひめ’、‘白麗’、‘箕島白桃’などの抵抗性が高く、次いで‘ゴールデンピーチ’、‘橋場白鳳’、‘白桃’、‘加茂川白桃’、‘山根白桃’、‘末木白桃’などであった。幼果では、‘ヒラツカレド’、‘ヒタチレッド’などのネクタリンの抵抗性が高く、次いで‘さおとめ’、‘ゴールデンピーチ’、‘川中島白桃’、‘末木白桃’などであった。‘清水白桃’は葉、幼果ともに罹病性が非常に高かった。現地圃場でも‘清水白桃’が最も発病が多く、次いで‘末木白桃’、‘白鳳’、‘加納岩白桃’、‘紅清水’、‘白麗’などで、‘日川白鳳’、‘橋場白鳳’では少なかった。

## 3 モモ黒斑病菌の毒素産生

本菌はジャガイモ煎汁、乾アズン煎汁液体培地の培養濾液中、分生子発芽液のメタノール分画中にモモ葉の褐変壊死を誘起する毒素を産生した。毒素産生量は培養9日後にピークとなり、培養14日後にはほとんど失活した。本毒素の活性はモモに特異性があり、病原菌の宿主特異性と一致していた。また、モモ25品種の幼葉への毒素処理による褐変程度と分生子接種による褐変程度の品種間差異がよく一致した。さらに、現地圃場の罹病葉の病斑から分離した *A. alternata* 24菌株の毒素産生と病原性との関係を見ると、分生子発芽液中の毒素活性を有する菌株だけに病原性が認められた。以上から、モモ黒斑病菌の産生する毒素は宿主特異的毒素(HST)であることが明らかとなり、本菌が生成する新規のHSTを「AP毒素」と命名した。本菌は他のHST産生病原菌の例にならぬ、 *A. alternata* の種内病原型[peach pathotype]として位置付けるのが妥当であることを提唱する。

本菌を接種したモモ葉においてエチレン生成が誘導されることが明らかとなった。このエチレン生成はAP毒素処理によっても誘導され、毒素の処理濃度に依存的であったことから、エチレン生成が毒素作用を介しているものと考えられた。

## 4 モモ黒斑病菌の伝染方法

黒斑病の発生圃場には本病原菌の分生子が飛散していることが確認された。飛散分生子数の日周性は15～18時にピークを示し、夜間は少なかった。飛散期間は3～10月の長期にわたり、5～6月に多かった。捕捉した *Alternaria* spp. の分生子に占めるモモ黒斑病菌の比率は数%と非常に低かった。

本病菌の主要な第一次伝染源は2年生枝病斑上に形成される分生子と考えられた。この分生子の形成量は4～5月に最低気温が12℃以上で、降雨日が出現した後に急増することが明らかになった。急増後から9月頃までは形成量が多かった。3年生枝での形成量は2年生枝に比べて少なかった。1年生枝では7月頃から形成がみられ、11月頃まで多く、第二次伝染源になることが判明した。

## 5 モモ黒斑病の発病推移と気象との関係

初発生時期は年次変動があるが、果実、葉では5月上旬頃、枝では6月上旬頃で、その後漸増する。曇雨天が続くと数日後に病勢が急速に進展する。7月下旬～8月下旬は病勢が停滞気味となるが、9月に再び病勢進展がみられる。

5～7月の短期的な発病率の変動は、3～5日前の最低湿度、平均湿度、降雨日数などの正の相関が高かった。一方、日最高気温、日照時間とは負の相関が認められた。

モモ黒斑病が毎年発生している圃場と近隣の未発生圃場の気温、湿度を比較したところ、周囲を山に囲まれた窪地で用水路やため池の近くにある発生圃場は未発生圃場に比べて、気温がやや低く、湿度が高い環境であることが明らかになった。

## 6 モモ黒斑病の防除法

慣行の果実袋による袋掛けは効果が確認できたが、袋掛けだけで本病を防除することは困難であった。殺菌剤処理袋の防除効果を現地圃場で検討したところ、圃場や試験年次によってふれはあるものの、果実の発病に対して有効であることが確認された。一方、雨よけ栽培では通常の露地栽培に比べ果実、葉、枝とも発病が少ないことが明らかになった。

ビスダイセン水和剤、スペックス水和剤、ブルーク水和剤、ベルクガード水和剤、サニパー、ダイファー水和剤などの有機硫黄殺菌剤を含む薬剤やベルクロブ水和剤、ポリベリン水和剤などが予防効果に優れた。これらの薬剤は分生子発芽抑制効果も高かった。治療効果のある薬剤は見い出せなかった。枝病斑の分生子形成に対する抑制効果はフロンサイド SC、石灰硫黄合剤、ポリベリン水和剤が高く、次いでサニパーであった。

スペックス水和剤、ビスダイセン水和剤は果実成長第2期（硬核期）の果実で散布後10日間程度、葉の裏面では20～30日間程度まで高い残効が認められた。ベルクロブ水和剤は散布7日後には残効が劣った。

枝病斑の分生子形成抑制効果、葉、幼果に対する予防効果、残効性に優れる薬剤を組み合わせた体系防除は、平年並の発生量であれば、実質的被害がない程度にまで果実の発病を抑えることができ、葉、枝の発病に対しても有効であった。

## 7 放射線照射法による抵抗性品種の作出と総合防除

放射線照射法によって、黒斑病に罹病性の‘清水白桃’から抵抗性品種‘清水白桃 RS’を作出した。本品種の抵抗性は、果実、葉、枝ともに中程度で、抵抗性以外の形質は従来の‘清水白桃’と相違が認められない。現地圃場に植え付けた本品種は殺菌剤散布回数を年間15回から8回にほぼ半減しても、葉の発病が少なく、本品種を基幹とした総合防除の基礎が確立された。

## 引用文献

- Adachi, Y. and Tsuge, T. (1994) Coinfection by different isolates of *Alternaria alternata* in single black spot lesion of Japanese pear leaves. *Phytopathology*, 84 : 447-451.
- Adachi, Y., Watanabe, H., Tanabe, K., Doke, N., Nishimura, S. and Tsuge, T. (1993) Nuclear ribosomal DNA as a probe for genetic variability in the Japanese pear pathotype of *Alternaria alternata*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 : 3197-3205.
- Broblie, K. E., Gaynor, J. J., and Broblie, R. M. (1986) Ethylene-regulated gene expression; Molecular cloning of the genes encoding an endochitinase from *Phaseolus vulgaris*. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 83 : 6820-6824.
- Ellis, M. B. (1971) *Dematiaceous Hyphomycetes*. pp. 464-497 CMI, Kew, Surrey.
- Filajdic, N., and Sutton, T. B. (1995) Overwintering of *Alternaria mali*, the causal agent of *Alternaria* blotch of apple. *Plant Disease*, 79 : 695-698.
- 畑本 求・粕山新二・藤井新太郎 (1995) ブドウうどんこ病の発生生態 —特に発病条件— 岡山農試研報, 13 : 39-45.
- 林 重昭・落合政文・神林哲男 (1972) リンゴ斑点落葉病菌 (*Alternaria mali* Roberts) によるゴールデンデリシャスの果実感染. 福島園試研報, 3 : 43-48.
- 林 重昭・落合政文・神林哲男 (1973) リンゴ斑点落葉病 2. 第2次伝染源及び分生胞子の飛散. 福島園試研報, 4 : 33-50.
- 林 重昭・落合政文 (1975) リンゴ斑点落葉病 3. 葉の感染及び発病に関する要因. 福島園試研報, 5 : 23-29.
- 平良木 武 (1973) リンゴ斑点落葉病に関する研究. 岩手園試研報, 3 : 1-72.
- 平良木 武 (1985) リンゴ斑点落葉病の発生予察. 農及園, 60 : 909-914.
- 人見 隆 (1930) ナシ黒斑病に関する研究 (第1報). 鳥取農試臨報, 1-143.
- 本間宏基・沼田 巖 (1979) ナシ黒斑病の初発生及び増加の時期と気温との関係. 千葉農試研報, 20 : 19-31.
- 鏑方末彦 (1927) 梨黒斑病 (輪紋病). 岡山農試臨報, 30 : 1-118.
- Inoue, K. and Nasu, H. (2000) Black spot of peach caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. *J. Gen. Plant Pathol.*, 66 : 18-22.
- 井上幸次・那須英夫・草場基章・柘植尚志 (1996) モモ



- 黒斑病菌の同定. 日植病報, 62 : 264 (講要).
- 井上幸次・那須英夫・大内 進・粕山新二 (2000a) ガンマ線照射によるモモ黒斑病抵抗性「清水白桃」の作出. 日植病報, 66 : 100 (講要).
- 井上幸次・那須英夫・粕山新二 (2000b) 数種殺菌剤のモモ黒斑病に対する残効. 日植病報, 66 : 305 (講要).
- 井上幸次・那須英夫・粕山新二 (2001) モモ枝病斑上における黒斑病菌の分生子形成消長. 日植病報, 67 : 80 (講要).
- 井上幸次・那須英夫 (1996) モモ黒斑病の病徴の推移. 日植病報, 62 : 626 (講要).
- 井上幸次・那須英夫 (1997a) モモ黒斑病菌の宿主特異性. 日植病報, 63 : 212 (講要).
- 井上幸次・那須英夫 (1997b) モモ黒斑病に対する有効薬剤の選抜. 日植病報, 63 : 516-517 (講要).
- 井上幸次・那須英夫 (1998) モモ黒斑病に対するモモ品種の耐病性. 日植病報, 64 : 623 (講要).
- 井上幸次・那須英夫 (1999) 空気中のモモ黒斑病菌のモニタリング. 日植病報, 65 : 377 (講要).
- 井上幸次 (2000) モモ黒斑病 (新称) の発生生態と防除対策. 植物防疫, 54 : 70-73.
- 岩本和紀・山本幹博・井上幸次・那須英夫 (1998) モモ黒斑病菌の産出する植物毒素. 日植病報, 64 : 348 (講要).
- Kasai, T., Otani, H., Kohmoto, K., and Nishimura, S. (1975) Nature of specific susceptibility to *Alternaria kikuchiana* in Nijisseiki cultivar among Japanese pears. 4. Target tissues of *Alternaria kikuchiana* toxin and their characteristic responses. Jour. Fac. Agric. Tottori Univ., 10 : 6-14.
- 河村貞之助・石井賢二 (1951) ナシ黒斑病の臨床的実験 (第2報) 水銀製剤処理袋による黒斑病防除の実際例について. 千葉大園芸学部.
- Kheswalla, K.F. (1936). Fruit disease in Baluchistan. Agric. Live-Stk India. VI, 2 : 204-215.
- 木村甚弥・工藤祐基・瀬川一衛・大友義視・中田良一 (1962) リンゴ斑点落葉病 1. 斑点落葉病菌の越冬. 東北農業研究, 4 : 105-107.
- 北島 博・岸 国平・宮川経邦 (1957) 梨黒斑病の伝染に関する研究. 東海近畿農試研報:園芸, 4 : 66-98.
- 北島 博 (1989) 果樹病害各論. 養賢堂, 東京, pp581.
- 北島 博・渡辺 豊 (1960) 二十世紀梨黒斑病防除用の水銀処理袋について. 日植病報, 25 : 25.
- 小林次郎 (1984) 発生初期における葉いもちの疫学的研究. 秋田農試研報, 26 : 1-84.
- Kodama, M., Park, P., Tsujimoto, T., Otani, H., Kohmoto, K., and Nishimura, S. (1990) Ultrastructural studies of an action site of host-selective AT-toxin produced by *Alternaria alternata* tobacco pathotype in tobacco leaf cells. Ann. Phytopath. Soc. Japan, 56 : 637-644.
- Kohmoto, K., Kondoh, Y., Kohguchi, T., Otani, H., Nishimura, S., Nakatsuka, S., and Scheffer, R. P. (1984) Ultrastructural changes in host cell caused by host-selective toxin of *Alternaria alternata* from rough lemon. Can. J. Bot., 62 : 2485-2492.
- Kohmoto, K., Nishimura, S., and Otani, H. (1982) In Asada, Y. et al. (eds) Plant Infection: The physiological and biochemical basis. Japan Sci. Soc. Press/ Springer Verlag, pp. 253-263.
- 越水幸夫 (1988) アメダス資料による葉いもち発生の予察法. 東北農試研報, 78 : 67-121.
- Kusaba, M., and Tsuge, T. (1994) Nuclear ribosomal DNA variation and pathogenic specialization in *Alternaria* fungi known to produce host-specific toxins. Appl. Environ. Microbiol., 60 : 3055-3062.
- 工藤祐基・大友義視・福島千万男・瀬川一衛・中田良一・松中健次郎・山田 隆 (1968) リンゴの斑点落葉病に関する試験. 青森りんご試報, 12 : 29-116.
- Madaan, R. L., Suhag, L. S., and Gupta, P. C. (1980) A new leaf spot disease of peach (*Prunus persica*). Indian J. Mycol. Pl. Pathol., 9 : 108.
- Maekawa, N., Yamamoto, M., Nishimura, S., Kohmoto, K., Kuwada, M., and Watanabe, Y. (1984) Studies on host-specific AF-toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype causing Alternaria black spot of strawberry (1) Production of host-specific toxins and their biological activities. Ann. Phytopath. Soc. Japan, 50 : 600-609.
- Mayama, S., Tani, T., Ueno, T., Midland, S.L., Sims, J. J., and Keen, N. T. (1986) The purification of victorin and its phytoalexin elicitor activity in oat leaves. Physiol. Mol. Plant Pathol., 29 : 1-18.
- 宮川久義・佐久間 勉 (1984) リンゴ斑点落葉病 1 果樹園における *Alternaria mali* の動態. 果樹試報 C, 11 : 63-73.
- Moore, M., Martineau, B., Bostock, R. M., Lincoln, J. E., and Gilchrist, D. G. (1999) Molecular and genetic characterization of ethylene involvement in mycotoxin-induced plant cell death. Physiol. Mol. Plant Pathol., 54 : 73-85.
- 毛利亮太郎・渋谷博道 (1957) 和梨黒斑病の防除に関する

- る基礎的研究 6. 施肥量の相違が黒斑病の発生に及ぼす影響 2. 鳥取大学芸研報, 8 : 45-53.
- Namiki, F., Yamamoto, M., Nishimura, S., Nakatsuka, S., Goto, T., Kohmoto, K., and Otani, H. (1986) Studies on host-specific AF-toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype causing Alternaria black spot of strawberry (4) Protective effect of pretreatment with AF-toxin II on AF-toxin I induced toxin action and fungal infection against strawberry tissues. Ann. Phytopath. Soc. Japan, 52 : 428-436.
- 那須英夫・井上幸次 (1996) *Alternaria* 属菌によるモモ黒斑病 (新称). 日植病報, 62 : 264 (講要).
- 那須英夫・井上幸次 (1998) モモ黒斑病に対する体系防除の効果. 日植病報, 64 : 623 (講要).
- Nishimura, S. (1980) Host-specific toxins from *Alternaria alternata*. Problems and prospects. Proc. Japan Acad., 56B : 362-366.
- Nishimura, S. and Scheffer, R. P. (1965) Interactions between *Helminthosporium Victoriae* spores and oat tissues. Phytopathol., 55 : 629-634.
- Nishimura, S., Sugihara, M., Kohmoto, K., and Otani, H. (1978) Two different phase in pathogenicity of the *Alternaria* pathogen causing black spot disease of Japanese pear. Jour. Fac. of Agric. Tottori Univ., 13 : 1-10.
- Nishimura, S. and Kohmoto, K. (1983) Host-specific toxins and chemical structure from *Alternaria* species. Annu. Rev. Phytopathol., 21 : 87-116.
- 新田浩通・中元勝彦・小笠原静彦 (1996) ナシ輪紋病に対するニホンナシ果実の感受性の品種間差異. 近畿中国農研, 91 : 53-57.
- 落合政文・神林哲男 (1968) リンゴ斑点落葉病 1. 病原菌 (*Alternaria mali* Roberts) の越冬. 福島園試研報, 1 : 35-48.
- 落合政文・林 重昭 (1976) リンゴ斑点落葉病 4. ほ場における発病消長と気象条件との関係について. 福島園試研報, 6 : 17-26.
- 落合政文 (1983) モモ灰星病の生態ならびに防除に関する研究. 福島果試研報, 11 : 1-73.
- Otani, H., Kohmoto, K., Nishimura, S., Nakashima, T., Ueno and H. Fukami (1985) Biological activities of AK-toxin I and II, host-specific toxins from *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. Ann. Phytopathol. Soc. Japan, 51 : 285-293.
- 小崎 至 (1973) ナシ黒斑病抵抗性に関する育種学的研究 1. ナシ黒斑病抵抗性の遺伝. 園試報, A 12 : 17-27.
- Pearson, R. C., and Hall, D. H. (1975) Factors affecting the occurrence and severity of blackmold of ripe tomato fruit caused by *Alternaria alternata*. Phytopathology, 65 : 1352-1359.
- Pringle, R. B., and Scheffer, R. P. (1964) Host-specific toxins. Annu. Rev. Phytopathol., 2 : 133-156.
- Reed, K. C., and Mann, D. A. (1985) Rapid transfer of DNA from agarose gels to nylon membranes. Nucleic Acids Res., 13 : 7207-7221.
- Roby, D., Toppan, A. and Esquerre-Tugaye, M. T. (1986) Cell surfaces in plant-microorganism interactions. VI. Elicitors of ethylene from *Colletotrichum lagenarium* trigger chitinase activity in melon plants. Plant Physiol., 81 : 228-233.
- Rotem, J. (1994) The genus *Alternaria*. APS Press, Minnesota, pp.11-34.
- Rotem, J. (1964) The effect of weather on dispersal of *Alternaria* spores in a semi-arid region of Israel. Phytopathology, 54 : 628-632.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis T. (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y.
- 佐藤 裕・水野 昇 (2000) *Alternaria* sp. によるオウトウ黒斑病 (新称) の発生. 日植病報, 66 : 269.
- 斎藤健一・武田和義・中山林三郎 (1976) リンゴの交雑育種に関する基礎的研究 5. リンゴ斑点落葉病に対する果実ならびに葉身における抵抗性の相互関係. 弘前大農学報, 26 : 42-49.
- 斎藤健一・武田和義 (1984) リンゴの交雑育種に関する基礎的研究 8. リンゴ斑点落葉病抵抗性の遺伝. 育種, 34 : 197-209.
- 沢村健三 (1972) リンゴ斑点落葉病に関する研究. 弘前大農学報, 18 : 152-235.
- 関口昭良 (1976) リンゴ斑点落葉病に関する研究. 長野園試報, 12 : 1-63.
- Tamura, F., Nishimura, S., and Kohmoto, K. (1980) The use of AK-toxin in agriculture : Seasonal changes in the number of airborne spores of *Alternaria* causing black spot in Japanese pear orchards. Jour. Fac. Agric. Tottori Univ., 15 : 10-18.
- 棚橋 恵・横山泰裕・山口吉博 (1998) 新潟県に発生した西洋ナシ黒斑病 (新称) 日植病報, 64 : 434 (講要).
- 田中彰一 (1949) 2, 3 果樹病害の発生と気象との関係. 日植病報, 14 : 106-107.

- 谷口達雄・西村正暘・甲元啓介・尾谷 浩・深海 浩・上野民夫 (1975) リンゴ斑点落葉病菌の宿主特異的毒素の第一次作用点 日植病報, 41:104. (講要)
- 谷口和久・児玉基一郎・尾谷 浩・甲元啓介 (1991) *Alternaria* 選択培地の開発. 日植病報, 57:97-98. (講要)
- Timmer, L. W., Solel, Z., Gottwald, T. R., Ibanez, A. M., and Zitko, S. E. (1998) Environmental factors affecting production, release, and field population of conidia of *Alternaria alternata*, the cause of Brown spot of citrus. *Phytopathology*, 88:1218-1223.
- 柘植尚志・足立嘉彦・田辺憲太郎 (1989) RFLP 法—植物病原糸状菌の生態研究への応用—。第14回土壤伝染病談話会講演要旨集, pp.18-25.
- 辻井裕樹・山本幹博・井上幸次・那須英夫 (1999) モモ黒斑病菌および植物毒素によりモモ葉に誘導されるエチレン生成. 日植病報, 65:326-327 (講要).
- 内田正人 (1991) ゴールド二十世紀によるナシ産地活性化の方策. 農業技術, 46:297-301.
- 宇田川英夫 (1988) 日本ナシ ‘二十世紀’ の有袋果実における黒斑病異常発生とその防除技術に関する研究. 鳥取果試特報, 3:1-83.
- 梅本清作 (1993) ニホンナシ黒星病の発生生態と防除に関する研究. 千葉農試特報, 22:1-99.
- Waks, J., Chalutz, E., Schiffmann-Nadel, M., and Lomeniec, E. (1985) Relationship among ventilation of citrus storage room, internal fruit atmosphere and fruits quality. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 110:398-402.
- 渡辺康正・梅川 学 (1977) *Alternaria* 属菌によるイチゴの新病害について. 日植病報, 43:82 (講要).
- 渡辺博幸 (1998) ナシ黒斑病の耐病性品種 ‘ゴールド二十世紀’ による減農薬栽培. 植物防疫, 52:414-416.
- 渡辺博幸 (1999) ナシ黒斑病菌の ‘二十世紀’ 新梢への潜在感染. 日植病報, 65:377 (講要).
- Wei, C. T. (1941) Notes on the storage and market disease of fruits and vegetables. I. Market disease of stone fruits. *Sinensia*, XII:135-152.
- Willison, R. S. (1939) Brown rot of peaches in transit and storage. *Sci. Agric.*, XIX, 7:458-474.
- Yamamoto, M., Namiki, F., Nishimura, S., and Kohmoto, K. (1985) Studies on host-specific AF-toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype causing *Alternaria* black spot of strawberry (3) Use of toxin for determining inheritance of disease reaction in strawberry cultivar Morioka-16. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.*, 51:530-535.
- 山口勲夫 (2000) 突然変異育種の成果と展望. 農業技術, 55:176-180.
- Yoder, O. C., and Scheffer, R. P. (1969) Role of toxin in early interaction of *Helminthosporium victoriae* with susceptible and resistant oat tissue. *Phytopathology*, 59:1954-1959.
- Yoder, O. C. (1980) Toxins in pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathology*, 18:103-129.
- Zhang, Z., Wang, J., Li, Y., Zhao, Z., and Zao, J. (1995) The symptoms of peach black spot (*Alternaria alternata*) and identification on pathogen. *J. Agric. Univ. Hebei*, 18:49-52.

## Studies on Pathogen, Epidemiology and Management of Black Spot of Peach

Koji Inoue

### summary

This report summarizes results of series of studies conducted during 1996-2001 on a new peach disease “Black Spot” which occurred in peach orchards in a southern area of Okayama Prefecture. We describe its symptoms, identification, pathological properties, production of host specific toxin, infection cycle of the causal pathogen, the relationship between the development of the disease and weather. And control strategies based on the breeding of a resistant peach cultivar, which integrates agrotechnical or chemical control techniques.

#### 1. Symptoms of Peach Black Spot

Symptoms appeared on immature fruits, mature fruits, leaves, and branches. The disease affected rarely floral organs and buds, and induced so called “flower rot” and “bud blight” symptoms. In immature fruits, symptoms first appeared as round, light brown to brown lesions of 2-3 mm in diameter, which then expanded to be brown to dark brown scabs of 5-10 mm in diameter with cracks and gummosis inside. Diseased mature fruits developed irregular scabs of a few to 20 mm. Lesions on fruits occurred most frequently around the fruit stalk; the equatorial part comes next, and fewer lesions occurred on the fruit apex. Foliage symptoms first appeared as chlorosis or gray, round to irregular spots of 5-10 mm in diameter, and a few days later, the leaves became brown and perforated. Early defoliation was seen when the disease occurred at a high density.

Lesions in first-year old twigs appeared as circular or oval in shape with a diameter of 2-5 mm, and red or pale brown in color. They sank slightly 1-2 weeks after the initial appearance of symptoms. At a later stage of infection, cracks and gummosis appeared in the center of lesions. Browning of lesions reached the xylem.

#### 2. Pathological characteristics of causal fungus of Peach Black Spot

The causal fungus isolated from the lesions of peach fruits was identified as *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler based on its cultural characteristics, morphology, inoculation tests and RFLP profiles of its ribosomal RNA gene. The fungus was only pathogenic to peaches, but not to stone fruits other than peaches, pears, apples, and so on. This is the first report of *A. alternata* that infects fruits, branches, and leaves of peach trees and has such a narrow host specificity. We propose that this new disease of peach caused by *A. alternata* should be called “Black Spot”.

In inoculation tests of the pathogen, susceptibility of peach fruits was the highest in phase I of fruit growth in the middle of May, while it decreased after June. Susceptibility of 1-year old twigs and their leaves to the pathogen was inclined to decrease as they grew older, although lesions was also observed on leaves and twigs near the base. The optimum temperature for lesion formation tended to be slightly lower on fruits than on leaves: 15-25°C on fruits vs. 25°C on leaves. The latent period of the disease in field during May-June was 3-6 days on fruits and 3-7 days on leaves. Levels of resistance against Black Spot varied among cultivars of peach trees in inoculation tests, ranging from high to low resistance levels. Peach cultivars tested showed a unimodal frequency distribution in terms of resistance levels, and many cultivars showed moderate resistance. For example, cultivars such as ‘Yoshihime’, ‘Hakurei’, and ‘Mishima Hakuto’ showed high resistance on leaves, and ‘Golden Peach’, ‘Hashiba Hakuho’, ‘Hakuto’, ‘Kamogawa Hakuto’, ‘Yamane Hakuto’, ‘Sueki Hakuto’, etc. followed them. Nectarines, e.g., ‘Hiratsuka Red’ and ‘Hitachi Red’ were highly resistant on immature fruits, and ‘Saotome’, ‘Golden Pach’, ‘Kawanakajima Hakuto’, and others were next to the former cultivars. Extremely high susceptibility was observed in ‘Shimizu Hakuto’ on both leaves and immature fruits. In affected field, ‘Shimizu Hakuto’ also showed the highest frequency of disease occurrence, while ‘Sueki Hakuto’, ‘Hakuho’, ‘Kanoiwa Hakuto’, ‘Benishimizu’, and ‘Hakurei’, etc. were second highest. The frequency of the disease was lower in ‘Hikawa Hakuho’ and ‘Hashiba Hakuho’.

### 3. Toxin production of Peach Black Spot fungus

The fungus produced a toxin, able to induce browning and necrosis of peach leaves. The toxin was recovered in filtrates of mycelial cultures in potato infusion liquid media and dried prune infusion liquid media, and in methanol fraction of the culture medium of germinated conidia. The amount of produced toxin peaked after 9 days of culture, and its activity disappeared after 14 days of culture. The isolated toxin was active specifically on peach trees, in accordance with host specificity of the pathogen. Twenty-five cultivars of peach trees were tested for their resistance to toxin treatment and inoculation with conidia of the causal fungus. Levels of browning on treated young leaves with toxin correlated well with those caused by inoculation with the conidia. Moreover, the relationship between toxin production and pathogenicity was examined for 24 strains of *A. alternata* isolated from lesions on infected leaves in the experimental field. Pathogenicity was observed only in isolates that showed toxin activity in the culture medium of germinated conidia. The results described above indicate that the toxin produced by Peach Black Spot fungus proved to be a host specific toxin (HST). We termed the new HST produced by the fungus “AP toxin”. It is appropriate to consider the fungus as a “peach pathotype”, *i.e.*, an intraspecies pathotype of *A. alternata*, which conform to nomenclature system for other HST-producing pathogens.

Ethylene production was enhanced in peach leaves inoculated with the fungus, and was also induced by treatment with the AP toxin, in proportion to the concentration of the toxin treated. Therefore, we inferred that ethylene production was mediated by the toxin action.

### 4. The mode of Dissemination of the disease

Air-borne conidia of the pathogen were confirmed in the fields where Black Spot was seen. Diurnal conidia dispersal peaked at around 15:00-18:00, and was low during the night. The conidia dispersal was seen from March to October with a seasonal fluctuation. Relatively more conidia were observed in May and June. The frequency of Peach Black Spot fungus in trapped air-borne conidia of *Alternaria* spp. was very low, only a few percent.

The major primary infection source of this pathogen was inferred to be the conidia which were formed on lesions in 2-year twigs. It became clear that the amount of these conidia rapidly increased after rainy days with a minimum temperature over 12°C, as appeared in April-May. After a sharp increase, the amount of conidia formation remained high until September. Conidiation was less on third-year twigs than on second-year twigs. On first-year twigs, conidia formation was observed from July to November. Apparently, they could be a secondary infection source.

### 5. Relationship between Development of the disease and weather

Although the time of first appearance of symptoms was different between years, symptoms occurred in early May on fruits and leaves, and early June on twigs. Then the disease progressed gradually. When cloudy or rainy weather persisted, the disease developed rapidly after several days. The disease tended to be stationary from late July to late August, but progressed again in September.

Short-term frequencies of infected leaves during May-July showed a highly positive correlation with the minimum humidity of 3-5 days before symptom development, the average humidity, rained days, and other parameters. On the other hand, they exhibited a negative correlation with the daily maximum temperature and durations of sunshine.

The temperature and the humidity of the infested field every year were compared with those of a neighboring, unaffected field. The infested field, which was often a depression surrounded by mountains and near an irrigation canal and a reservoir, was in an environment with slightly lower temperature and higher humidity than the unaffected field.

### 6. Control of Peach Black Spot

The conventional bagging of peach fruits was effective to control the disease, but not sufficient to control completely. The controlling effect of bags treated with some fungicides was examined in affected fields. The bags were found to be effective against the disease of fruits, but their effects fluctuated between fields and years. Peach trees with growing in green-house lead to markedly less disease on fruits, leaves, and twigs than in usual open fields.

Fungicides such as polycarbamate, fenarimol-ziram-thiram, triflumizole-ziram-thiram, iminoctadine alkylbenzenesulfonic acid-ziram, milneb and zineb containing organic sulfur fungicide and iminoctadine alkylbenzenesulfonic acid-iprodione and iminoctadine-polyoxins had good preventive effects. These fungicides also showed good suppressive effects against conidia germination. No fungicide was found to have a curative effect. Fluazinam, calcium polysulfide and iminoctadine-polyoxins showed highly suppressive effects against conidia formation in lesions on twigs, and milneb followed. High residual activities were observed for fenarimol-ziram-thiram and polycarbamate for about 10 days after sprayed on fruits in the phase II of fruit growth (stone hardening stage) and for about 20-30 days on the back surface of leaves. Residual activity of iminoctadine alkylbenzenesulfonic acid-iprodione deteriorated after 7 days of spraying. A combination of the fungicides with suppressive effects against conidia formation in lesions on twigs, preventive effects for leaves and immature fruits, and good residual activity could suppress the disease on fruits sufficiently to prevent substantial damage, when disease incidence ranged within average level. This method was also effective against the disease on leaves and twigs.

#### **7. Breeding a resistant cultivar by gamma-ray irradiation and integrated control**

‘Shimizu Hakuto RS’ was a mutant strain of ‘Shimizu Hakuto’ obtained after gamma-ray irradiation and subsequent breeding procedure. The variety was moderately resistant to peach black spot disease and retained the same fruit quality as its parent cultivar ‘Shimizu Hakuto’. When the cultivar planted in affected fields, this cultivar showed low frequency of the disease even fungicide applications with 8 times a year in comparison with 15 times a year, common practice, in culture of ‘Shimizu Hakuto’.

## 図版Ⅰ モモ黒斑病の花芽・果実の病徴（自然発病の‘清水白桃’）

- 1 「花腐れ」症状
- 2 「芽枯れ」症状
- 3 幼果に生じた淡褐色の初期病斑
- 4 幼果に生じた窪みを伴う褐色の病斑
- 5 成熟果の軽微な小型の病斑
- 6 成熟果の果梗周辺部に生じた多数のかさぶた状の病斑
- 7 成熟果に生じた大型のかさぶた状の病斑
- 8 成熟果の病斑部に生じた亀裂

## 図版Ⅱ モモ黒斑病の葉・枝の病徴（自然発病の‘清水白桃’）

- 1 葉の灰色の初期病斑（白矢印）と葉脈に沿った大型の壊死斑（黒矢印）
- 2 葉に生じた多数の円形ないし不定形の茶褐色病斑
- 3 葉脈沿いに生じた大型の壊死斑
- 4 葉の密線部に生じた病斑
- 5 1年生枝の初期病斑
- 6 1年生枝に窪みを生じた輪紋状の病斑
- 7 1年生枝に亀裂、樹脂漏出を生じた病斑
- 8 1年生病斑内部の木質部の褐変
- 9 冬期（12月）の1年生枝病斑

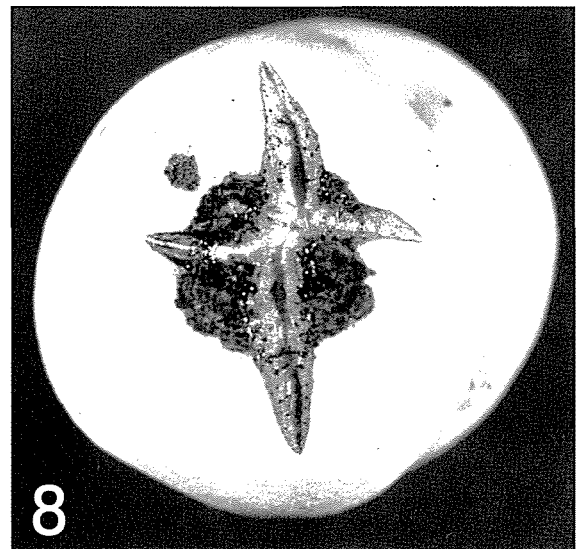
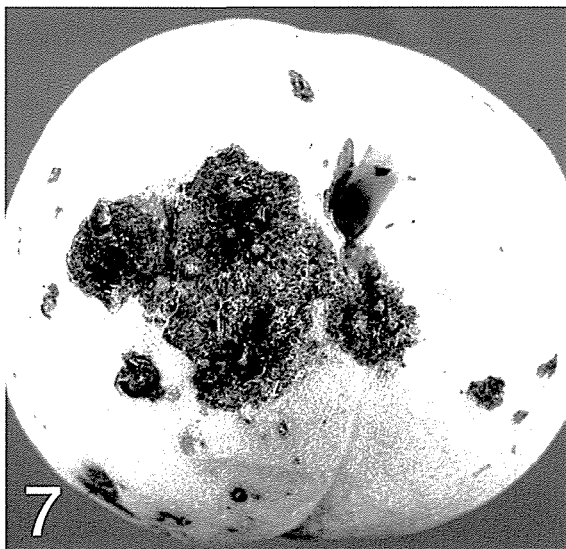
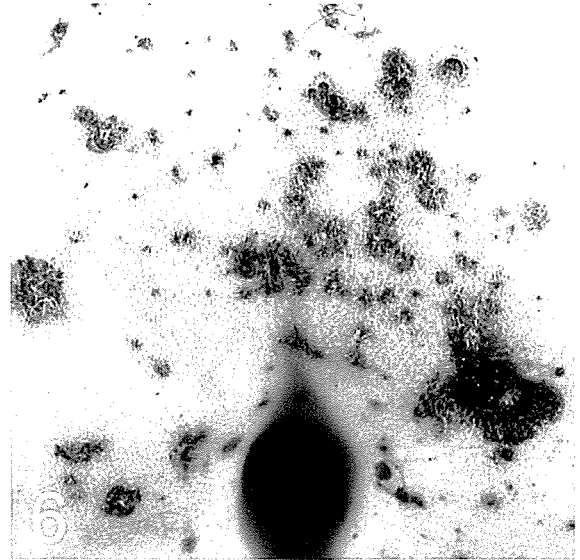
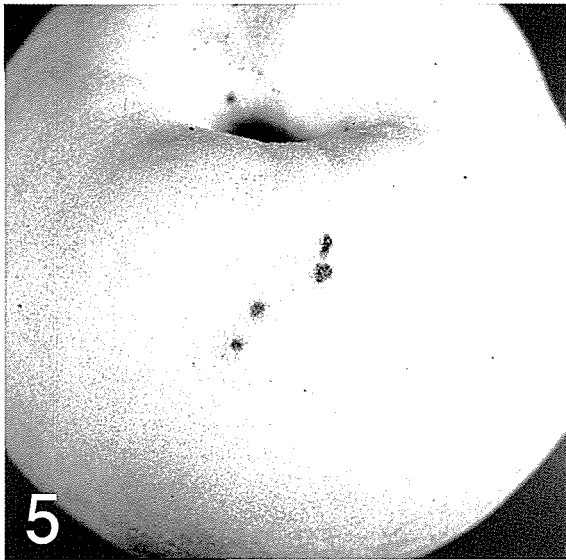
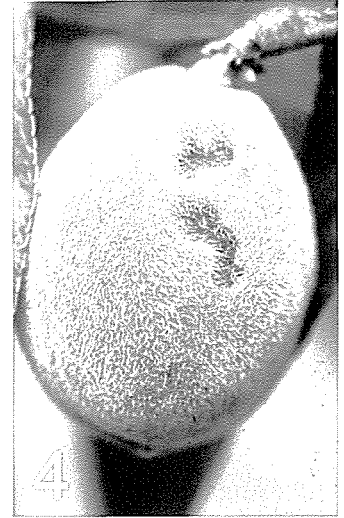
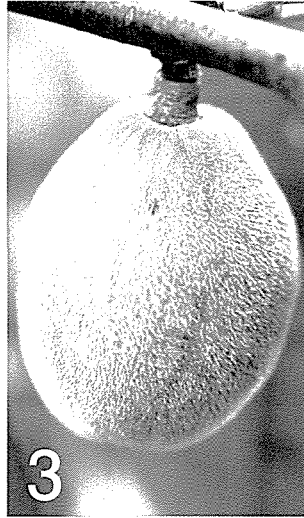
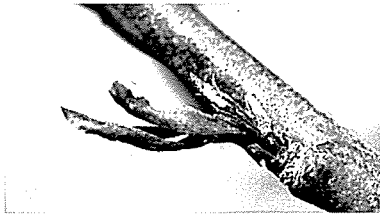
図版Ⅲ モモ黒斑病菌の病原性と病原菌 (*Alternaria alternata*) の形態

- 1 モモ黒斑病菌の幼果（清水白桃）への接種で再現されたかさぶた状の病斑
- 2 モモ葉（清水白桃）に対する *A.alternata* 菌の病原性  
左上からモモ黒斑病菌（9544, 9506, 9549株）、右上からナシ黒斑病菌（15A, N-1-1株）、リンゴ斑点落葉病菌（B-2-2株）
- 3 モモ幼果に対する病原性  
（1998.5.18, モモ黒斑病菌96147株の分生子接種）  
品種は上から‘八幡白鳳’、‘川中島白桃’、‘白桃’、‘大和白桃’、‘白鳳’、‘紅清水’、‘清水白桃’
- 4 モモの葉に対する病原性  
（1998.5.18, モモ黒斑病菌96147株の分生子接種）
- 5 素寒天培地上のモモ黒斑病菌（9544株）の分生子形成  
（しばしば分岐して連鎖上に分生子を形成、バー；50  $\mu$  m）
- 6 モモ黒斑病菌（9544株）の分生子（バー；30  $\mu$  m）

## 図版Ⅳ

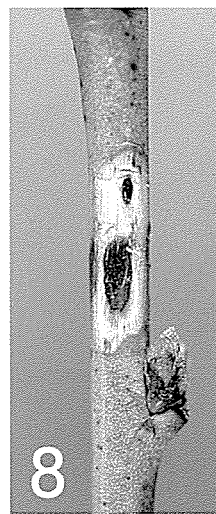
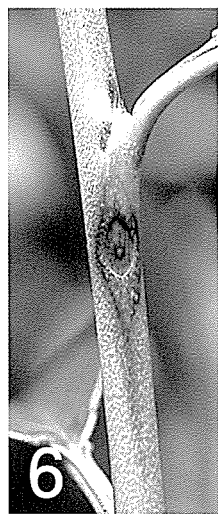
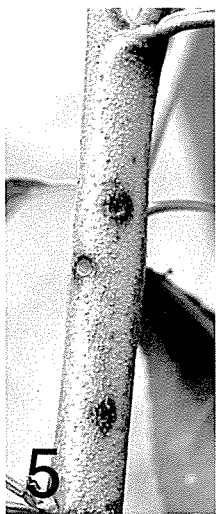
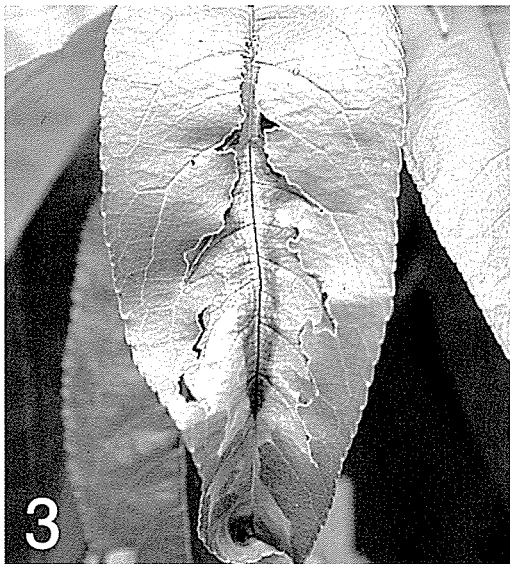
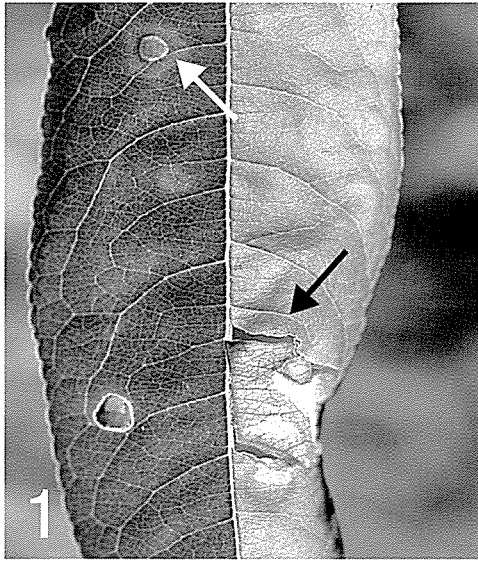
- 1 耐病性系統‘清水白桃RS’の葉の耐病性  
（左；清水白桃RS, 右；清水白桃, モモ黒斑病菌96147株の分生子接種）
- 2 耐病性系統‘清水白桃RS’の幼果の耐病性  
（上段；清水白桃RS, 右段；清水白桃, モモ黒斑病菌96147株の分生子接種）
- 3 耐病性系統‘清水白桃RS’の成熟果

図版 I

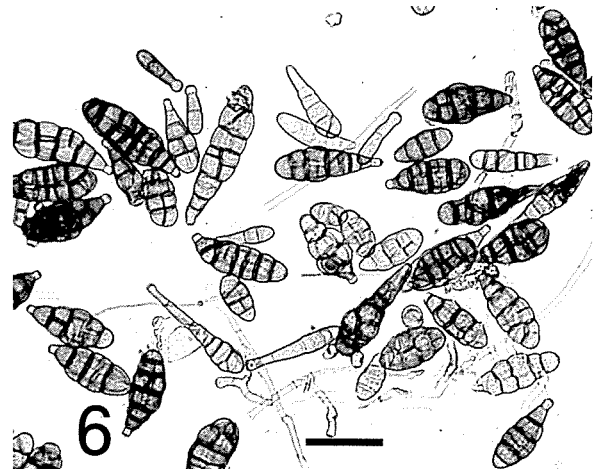
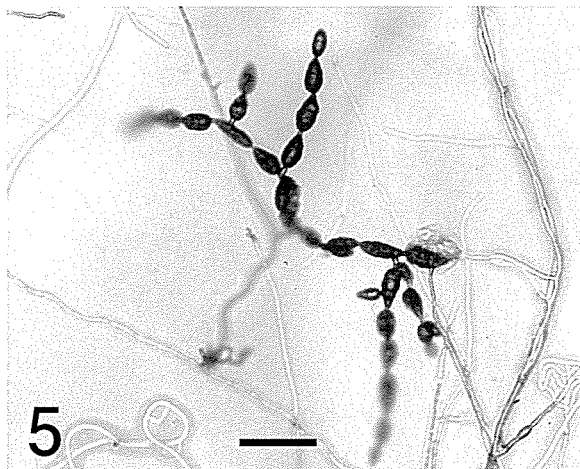
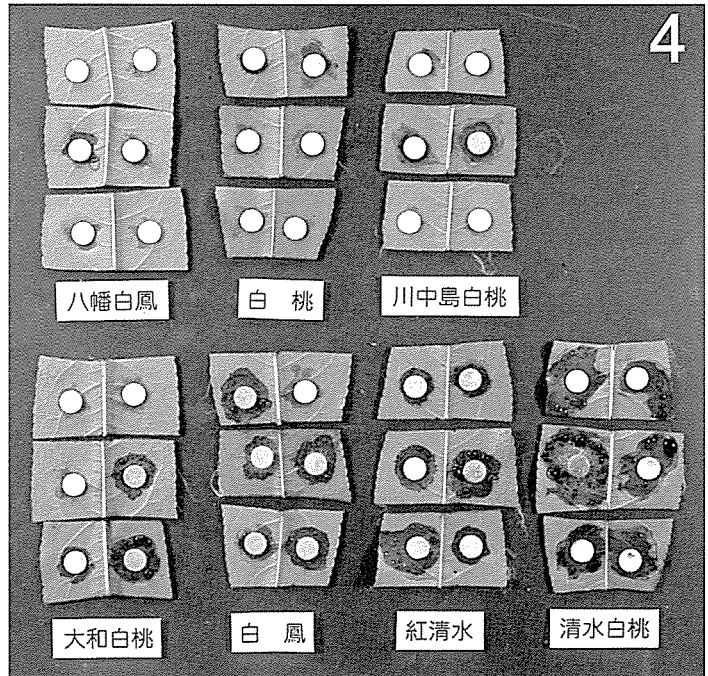
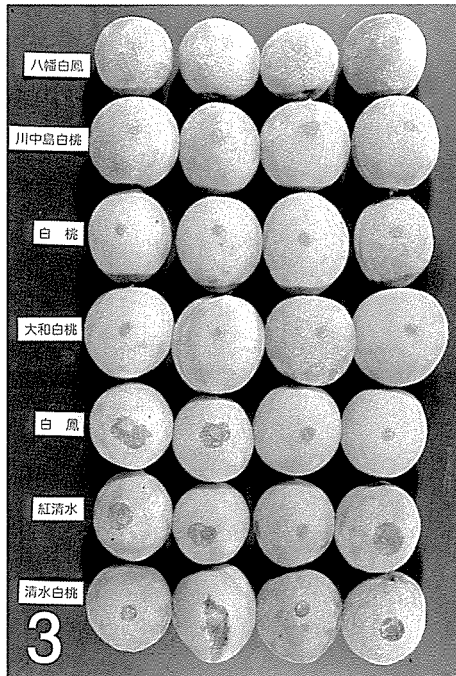
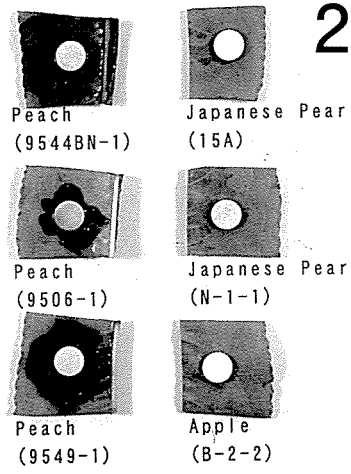
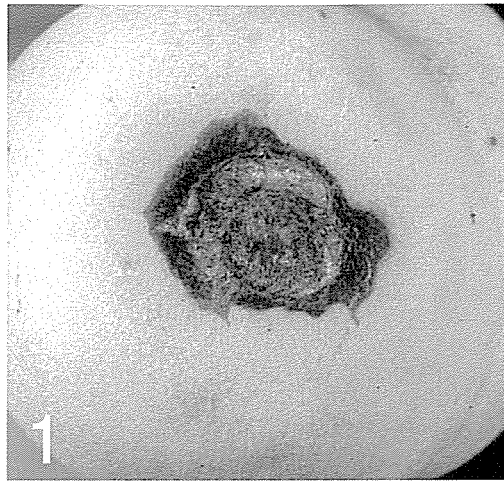




図版Ⅱ



図版Ⅲ



図版Ⅳ

