

キウイフルーツ果実軟腐病菌Diaporthe sp.およびBotryosphaeria dothideaによる枝枯症状

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	衣川,勝 佐藤,豊三
発行元	日本植物病理學會
巻/号	69巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 373-383
発行年月	2003年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



キウイフルーツ果実軟腐病菌 *Diaporthe* sp. および *Botryosphaeria dothidea* による枝枯症状

衣川 勝^{1*}・佐藤 豊三²

ABSTRACT

KINUGAWA, M.¹ and SATO, T.² (2003). Kiwifruit dieback caused by *Diaporthe* sp. and *Botryosphaeria dothidea*, kiwifruit soft rot fungi. Jpn. J. Phytopathol. 69: 373-383.

Dieback has been found frequently on kiwifruit branches more than 10 years old in Kagawa Prefecture in recent years. The dieback often begins at large cut ends and sunburned parts of kiwifruit branches. It usually occurs on thick branches and lateral branches, but in serious cases, primary and secondary scaffold branches and trunks are also affected. *Phomopsis* sp., *Fusicoccum aesculi* and several other fungi were isolated from the diseased branches. Both isolates of *Phomopsis* sp. and *F. aesculi* were pathogenic to kiwifruit branches. The two isolates of *Phomopsis* sp. were also pathogenic to fruits of kiwifruit, satsuma mandarin and apple and to branches of peach and Japanese pear. The two isolates of *F. aesculi* were also pathogenic to fruits of kiwifruit. Based on morphological and cultural characteristics, the causal pathogens were identified as *Diaporthe* sp. and *Botryosphaeria dothidea*, which are the same as kiwifruit soft rot fungi.

(Received October 16, 2002; Accepted May 1, 2003)

Key words: kiwifruit dieback, *Diaporthe* sp., *Botryosphaeria dothidea*, kiwifruit soft rot.

緒 言

香川県において樹齢10年以上のキウイフルーツ樹に、枝の一部、垂主枝、主枝、さらに著しい場合は主幹部まで枯れる被害が発生した (Fig. 1A)。これらの枝枯れ部から病原菌の分離・培養を行い、分離率が高い *Phomopsis* 属菌および *Fusicoccum* 属菌に着目し、接種試験ならびに病原菌の同定を行った。この結果、本菌はキウイフルーツの新病害であると報告した (衣川・佐藤, 2000)。その後、両病原菌の完全世代すなわち、*Diaporthe* 世代および *Botryosphaeria* 世代が明らかとなり、それらの病原性等について更に詳細な調査を行った結果、キウイフルーツ果実軟腐病菌のうち (日本植物病名目録, 2000)、*Diaporthe* sp., *Botryosphaeria dothidea* (Mougeot: Fries) Cesati & de Notaris と同一種であり、両菌は果実腐敗だけでなく枝枯れを起こすことが明らかとなった (衣川・佐藤, 2002) ので、その結果について報告する。

材料および方法

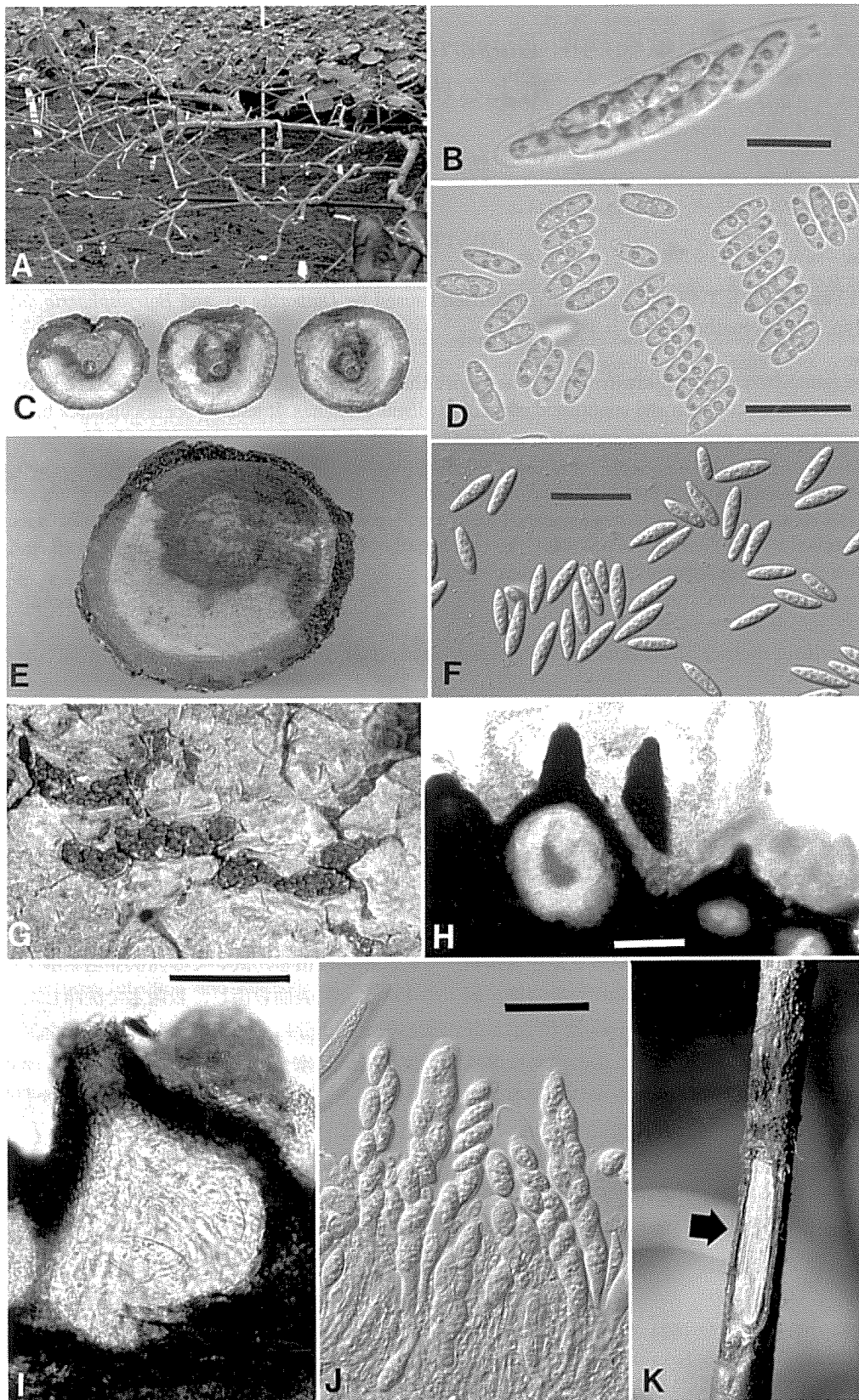
病原菌の分離 1998年5月、香川県下の32キウイフルーツ園地から約150本の枯枝を採集し、菌の分離を行った。枝枯れの外縁部を縦断し、枝内部の健全部と黒褐変部分の境界付近から1枝当たり平均3切片 (4~5 mm 角) 計445切片を切り取り分離源とした。これらを70%アルコールに約30秒間浸漬し、次いで3%次亜塩素酸ナトリウム溶液で1~2分間表面殺菌し、殺菌水で洗浄した。その後、殺菌ろ紙上で十分に水分を除去した分離源をブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天 (PDA) 培地に置床し、25°C で12時間照明 (蛍光管と近紫外線ランプ (BLB) を併用)・12時間暗黒条件下で2~3週間培養した。

病原菌の形態観察と同定 枯枝上に形成された分生子殻、分生子、および子のう殻、子のう、子のう胞子を、また、分生子殻、分生子については PDA 培地上に形成されたものについても、50個の形態観察と大きさの測定を行

¹ 香川県農業試験場府中分場 (〒762-0024 坂出市府中町池田6117-1) Fuchu Branch of Kagawa Prefecture Agricultural Experiment Station, 6117-1, Ikeda, Fuchu-cho, Sakaide, Kagawa 762-0024, Japan

² 農業生物資源研究所 (〒305-0856 つくば市観音台2-1-2) National Institute of Agrobiological Sciences, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-0856, Japan

* Corresponding author (E-mail: MKinugawa@aes.gr.jp)



い、既報 (梶谷, 1994), (梶谷, 1996), (Pennycook and Samuels, 1985), (Sommer and Beraha, 1975), (Yamato, 1976), (大和, 1986) の値と比較した。分離菌株については、菌叢の観察も併せて行った。なお、*Fusicoccum* 属菌については、対照菌株 (*B. dothidea*; MAFF410083) を用いて比較した。

温度別菌叢生育 *Phomopsis* 属菌および *Fusicoccum* 属菌ともに直径 9 cm の PDA 平板の中央部に、直径 5 mm の各菌株の菌叢ディスクを置き、5, 15, 20, 23, 25, 30, 35 および 40°C 暗黒下で 4 日間培養し、各温度における菌叢直径を調べた。*Phomopsis* 属菌では最も分離頻度の高い黄白色の菌叢で分生子形成の少ない菌株群のうち代表的な菌株 PYT, および二番目に分離頻度の高い白色菌叢で培地上に赤色の色素を産生し、分生子形成の良好な菌株群のうち代表的な菌株 PKT の 2 菌株を供試した。他方、*Fusicoccum* 属菌については、分離頻度の高い灰黒色菌叢の菌株群のうち代表的な菌株 BST, 次に分離頻度の高い黒色菌叢の菌株群のうち代表的な菌株 BKS および子のう胞子由来菌株 KSA1 の 3 菌株を対照菌株 (*B. dothidea*; MAFF410083) と比較した。なお、以下の試験では *Phomopsis* 属菌、*Fusicoccum* 属菌ともに単胞子分離した菌株を供試した。

分離菌株の接種

***Phomopsis* 属菌** キウイフルーツの枝と果実、ミカンおよびリンゴの果実、モモおよびナシの枝に対して接種試験を行った。

キウイフルーツ枝：鉢植えの 2 年生枝 (品種：ヘイワード) および 3 年生枝 (品種：ヘイワードおよび香川県的主要品種：香緑) に対して菌株 PYT を用いて接種を行った。2 年生枝に対しては有傷接種のみを、3 年生枝については無傷接種も併せて行った。有傷接種では、熱したハンダゴテを枝に約 10 秒間押し当て、焦げた部分にメスで長軸に対して直角に切り傷をつけた。2 年生枝では、この付傷

部に菌叢片 (1.5×2 cm) を置き、これを殺菌水で湿らせた脱脂綿で被覆し、この上からパラフィルムを巻いた。なお、接種に用いた菌叢片は PDA 培地で 27°C 10~14 日間培養したもので、以下の各接種にも同様の接種源を供試した。3 年生枝では、分生子懸濁液 (約 4×10⁶個/ml) を含ませた脱脂綿を付傷部に置き同様にパラフィルムを巻いた。無傷接種では、枝に傷をつけなかったほかは有傷接種と同様の方法で行った。2 年生枝接種は試験区当たり有傷で「ヘイワード」7 本に対して 1999 年 10 月 12 日に行った。3 年生枝接種は試験区当たり有傷で「ヘイワード」3 本、「香緑」4 本に対して、また無傷では「香緑」7 本に対して同年 10 月 7 日に行った。発病調査および再分離は、接種した枝に枯死状態が見られた時点で行った。ハンダゴテにより焦げた接種部をメスで切り取り、枝枯れおよび黒褐変部の有無と広がり調べた後、同部位と健全部の境界付近から上記と同様の方法で接種菌の再分離を行った。

キウイフルーツの切り枝：子のう胞子由来菌株 PAsT を用いて有傷接種を行った。1 年生枝 (香緑) 10 本を長さ約 40 cm に切り、この中央部に長さ約 2 cm×幅約 0.5 cm の範囲に 2~3 mm 間隔で網目状にナイフで傷をつけ、この部分に上記と同じ条件で培養した菌叢片を置き上からパラフィルムを巻いた。接種後、切り枝の基部がビーカー内の水に浸かるように入れ、全体をポリエチレン袋で覆い 25°C の陽光恒温器 (12 時間照明・12 時間暗黒) に保持した。接種は 2002 年 2 月 17 日に行い、明らかに枝の褐変が見られた 4 月 10 日に、発病調査と接種菌の再分離を上記と同様の方法で行った。

キウイフルーツ果実：PYT および PKT の両菌株を用いて行った。1 菌株当たり有傷・無傷接種ともに 10 果実ずつ供試した。追熟の進んでいない硬い果実 (ヘイワード) を水道水の流水中で十分に洗浄し、70% アルコールを噴霧して表面殺菌し、殺菌水で洗浄後風乾して用いた。有傷接種では、火炎消毒した 4~5 本の針で数箇所穿孔した後、

Fig. 1. Symptoms and causal fungi of kiwifruit dieback.

- A. Dieback of kiwifruit.
- B. An ascus of *Diaporthe* sp. isolated from a branch with dieback. (Scale bar 20 µm)
- C. Vertical section of kiwifruit branch with dieback from which *Phomopsis* sp. was isolated.
- D. Ascospores of the *Diaporthe* sp. isolated from the dieback branch. (Scale bar 20 µm)
- E. Vertical section of a rotten kiwifruit trunk from which *Fusicoccum aesculi* was isolated.
- F. Conidia of *F. aesculi* isolate BST produced on PDA medium after about 20 days. (Scale bar 30 µm)
- G. Ascocarps and pycnidia of *B. dothidea* formed on cracks of kiwifruit trunk surface.
- H. Pycnidium of *F. aesculi* on dieback branch. (Scale bar 150 µm)
- I. An ascocarp of *B. dothidea* on dieback branch. (Scale bar 80 µm)
- J. Asci of *B. dothidea* on dieback branch. (Scale bar 50 µm)
- K. Dieback symptom on kiwifruit branch after inoculation with a *B. dothidea* isolate. Pycnidia of *F. aesculi* were produced on upper part of inoculated site (arrowhead).

PDA 培養菌叢片 (約 1×1.5 cm) を付傷部位に置き、この上に殺菌水で湿らした脱脂綿を置き、果実全体をポリエチレン袋で覆い、 25°C 恒温器内に保持した。無傷接種では、果実に傷をつけなかったほかは有傷接種と同様の方法で行った。追熟が進み軟化が認められた果実を順次剥皮し、病徴の発現を調査し、病斑部から接種菌の再分離を行った。

ミカン果実：雨がかからないハウス内のポットで栽培された完熟の果実 (品種：青島温州) を供試した。1 菌株当たり有傷・無傷接種ともに 10 果実ずつ供試した。接種源として分生子懸濁液を用いたほかは、キウイフルーツ果実に対する接種と同様の方法で行った。分生子懸濁液の濃度は、菌株 PYT と PKT とともに約 4×10^5 個/ml とした。網目状の病徴が見られた接種約 1 ヶ月後に、果実の病斑部から接種菌の再分離を行った。

リンゴ果実：1 菌株当たり有傷、無傷接種ともに市販されているリンゴ (品種：ふじ) を 5 果実ずつ供試した。上記のミカン果実に対する接種と同様の方法を用いた。接種源の分生子懸濁液の濃度は、菌株 PYT と PKT とともに約 2.3×10^7 個/ml とした。病斑が果実表面積の $1/3$ に達した接種約 3 週間後に接種菌の再分離を行った。

モモ枝：露地栽培のモモ (品種：橋場白鳳) の 1 年生枝を用いて有傷接種のみを行った。菌株 PYT および PKT を用い、1 菌株当たり 5 枝を供試した。接種方法は上記のキウイフルーツの切り枝接種に準じた。接種は 2000 年 10 月 16 日に行い、調査と発病枝からの接種菌の再分離は約 7 ヶ月後に行った。

ナシ枝：1 年生の切り枝 (品種：幸水) に対して、2001 年 8 月 2 日に有傷接種を行った。菌株 PYT および PKT を供試した。接種方法は上記のキウイフルーツの切り枝接種に準じた。1 菌株当たり 10 枝を供試した。無接種枝に比べて枝全体に明らかに萎凋症状が見られた接種約 3 週間後に、接種菌の再分離を行った。

Fusicoccum 属菌

キウイフルーツ枝：3 年生枝 (ヘイワードおよび香緑) を用いた。‘ヘイワード’ には、有傷接種のみを、また ‘香緑’ については無傷接種も併せて行った。BKS と BST の 2 菌株を供試し、上記の *Phomopsis* 属菌のキウイフルーツ 2 年生枝に対する接種と同様の方法で、菌叢片を用いて同日に行った。

キウイフルーツ果実：菌株 BST および子のう胞子由来菌株 KSA1 の 2 菌株について行った。菌株 BST の接種では、有傷および無傷接種ともに ‘ヘイワード’ 10 果実を供試した。また、菌株 KSA1 の接種では、有傷および無傷

接種ともに ‘香緑’ と ‘讃緑’ の 2 品種のそれぞれ 10 果実ずつを供試した。上記の *Phomopsis* 属菌のキウイフルーツ果実に対する接種試験と同様の方法で行った。

なお、上記の *Phomopsis* 属菌および *Fusicoccum* 属菌による各接種試験の対照無接種区では、接種源として殺菌水あるいは PDA 培地片を用いて同様に処理した。

両病原菌の病原性の比較 鉢植えの ‘ヘイワード’ の 1 年生枝を用いて *Phomopsis* 属菌と *Fusicoccum* 属菌との病原性の比較を行った。ハンダゴテによる焼傷処理を数秒間に短縮したほかは、両属菌ともに上記のキウイフルーツ 2 ～ 3 年生枝に対する菌叢接種と同様に 2001 年 8 月 7 日に行った。*Phomopsis* 属菌については、上記の試験で用いた菌株 PYT および PKT に加えて、三番目に分離頻度の高い灰白色で培養中に濃赤色の色素を培地中に産生し、 α 、 β 分生子のいずれもよく形成する菌株群の代表的な菌株 POT、およびこれに次いで分離頻度の高い白色の菌叢でほとんど分生子を形成しない菌株群の代表的菌株 PNT の計 4 菌株を用いた。また、*Fusicoccum* 属菌では、子のう胞子由来の菌株 KSA1、上記の試験で供試した菌株 BST、枝枯れが進行し胴枯れ症状を呈した部分から分離した菌株 BDT、および香川県の主なキウイフルーツ産地よりやや離れた場所に位置する小豆島の枝枯れから分離した菌株 BHT の計 4 菌株を用いた。接種後、枝枯れ症状が見られた枝について接種菌の再分離を行った。また、各供試菌株の分生子の大きさをチューキーの多重比較により比較し、病原性との関係を調べた。

結 果

病徴および分離菌の種類と分離頻度

発病初期では、枝枯れの内部は黒褐色を呈するが、病勢が進むと黒褐色の部分は木質化し (Fig. 1C)、典型的な枝枯れ症状となる。本症状は、枝の大きな切り口や日焼け部分から枯れ込みが始まり、枝の先端へ進む場合が多い。その後、病勢の進展に伴い主幹部へも進行し胴枯れ症状を呈してその内部は黒変して (Fig. 1E)、樹全体が枯死する場合がある。春の新梢伸長期になっても発芽せず、枝枯れの発生を認める場合が多い。発病は暖冬の年に多い傾向が見られる。若木では発生が少なく、樹齢が 10 年以上の着果過多樹、夏季剪定を強くやり過ぎた樹、そして樹勢が低下した樹に発生が多い。

枝枯れ症状を呈する部分からは、*Phomopsis* 属菌 (検出率 33.7%)、*Phoma* 属菌 (12.6%)、*Coniothyrium* 属菌 (10.1%)、*Fusicoccum aesculi* (8.3%)、*Epicoccum* 属菌 (5.2%)、*Alternaria* 属菌および *Nigrospora* 属菌 (2.2%)、

Cladosporium 属菌 (1.3%), *Pestalotiopsis* 属菌 (1.1%), *Fusarium* 属菌 (0.9%) が分離された. 枝枯れ症状は, 分離される糸状菌の種類にかかわらず, ほぼ同様であった.

病原菌の形態および培養上の諸性質

Phomopsis 属菌 枝枯れ部分では, 子のう殻は, 樹皮の深部に単生または少数群生し, 球形~偏球形で, 大きさは内径で $153\sim347\times255\sim561\mu\text{m}$ であり黒色の頸部がわずかに樹皮表面上に突出していた. 子のうは, 長こん棒形, 頂部に apical ring を有し, 8 個の子のう胞子を単列ないし複列で含み, 大きさは $39.5\sim53.3\times6.0\sim7.8\mu\text{m}$ であり (Fig. 1B), 子のう胞子は無色, 2 細胞, 長紡錘形~長橢円形, 隔膜部でくびれ, 大きさは $9.1\sim13.0\times3.4\sim5.2\mu\text{m}$ であった (Fig. 1D). 単子のう胞子由来菌株を

PDA 上で培養した結果, 菌叢上に分生子殻を形成し, α および β 型分生子を形成した. 枯枝れ上の分生子殻は表皮下に形成され, 褐色のフラスコ形で殻壁は厚く, 子座の発達は見られなかった. 分生子殻の大きさは内径で $140\sim600\times90\sim470\mu\text{m}$ であった. α 型分生子は, 紡錘形または橢円形で主に 2 個の油球を含み, 大きさは $5.2\sim9.1\times2.1\sim3.9\mu\text{m}$ であり, β 型分生子は鞭形, 無色, 単細胞で大きさは $18.2\sim29.9\times1.3\sim2.6\mu\text{m}$ であった. これらの形態は, 梶谷 (1996) が調査したキウイフルーツ果実軟腐病菌 (*Diaporthe* sp.) および大和 (1976) が報告したカンキツ小黑点病菌 (*D. medusaea*) の形態とほぼ一致したが, Sommer (1975) が計測したキウイフルーツ stem-end rot の病原菌の値よりやや大きかった (Table 1).

Table 1. Morphological comparison of kiwifruit dieback isolates with other *Diaporthe* spp.

Character	Kiwifruit dieback isolates (PYT, PKT, POT)		Kiwifruit soft rot pathogen		Kiwifruit stem-end rot pathogen	Melanose-like blemish pathogen
			<i>Diaporthe</i> sp. ^{a)}		<i>D. actidinae</i> ^{b)}	<i>D. medusaea</i> ^{c)}
	On host	On PDA	On prunings	On PDA	On PDA	On citrus
Perithecium						
length (μm)	153-347	—	—	—	—	—
(average)	(224)					
width (μm)	255-561	—	—	—	150-460	250-800
(average)	(375)					
Asci						
length (μm)	39.5-53.3	—	43.7-66.3	—	29-40	38-58
(average)	(46.5)					
width (μm)	6.0-7.8	—	8.8-12.9	—	5.2-7.3	7-10
(average)	(7.1)					
Ascospore						
length (μm)	9.1-13.0	—	10.9-16.9	—	8.9-9.4	9-14.5
(average)	(11.1)					(11.6)
width (μm)	3.4-5.2	—	3.8-5.2	—	3.1	2.3-4.5
(average)	(4.1)					(3.1)
Pycnidium						
length (μm)	140-600	134-567	—	—	—	—
(average)	(308)	(304)				
width (μm)	90-470	391-927	—	—	250-1000	150-500
(average)	(208)	(675)				
α -conidium						
length (μm)	5.2-9.1	6.5-10.4	—	5.8-10.1	—	5-9
(average)	(7.4)	(7.9)			(6.9)	(7.0)
width (μm)	2.1-3.9	2.3-3.9	—	2.1-3.0	—	1.5-3
(average)	(3.0)	(2.9)			(2.4)	(2.1)
β -conidium						
length (μm)	18.2-29.9	20.8-36.4	—	17.8-33.2	—	17-36
(average)	(24.0)	(27.8)			(20.5)	(27.4)
width (μm)	1.3-2.6	1.0-2.6	—	1.2-1.7	—	0.7-1.5
(average)	(2.3)	(1.8)			(1.6)	(1.0)

—: absent or not described, a) Kajitani (1996), b) Sommer (1975), c) Yamato (1976)

Fusicoccum aesculi 子のう殻および分生子殻は、樹皮の亀裂部に隆起した黒色子座 (Fig. 1G) 内に群生することが多く、同一子座内に混在する場合があった。子のう殻は、球形で頂部に乳頭状の孔口部を有し、大きさは内径で $102\sim219\times128\sim184\ \mu\text{m}$ であった (Fig. 1I)。子のうは、基底柔組織から直立して生じ、二重壁を有し、こん棒状で、子のう内に8個の子のう胞子を単列ないし複列で内蔵し、大きさは $96\sim145\times15.3\sim20.4\ \mu\text{m}$ であった (Fig. 1J)。子のう胞子は、無色、単細胞、楕円形ないし長卵形で、大きさは $22.0\sim32.0\times9.0\sim12.8\ \mu\text{m}$ であった。単子のう胞子分離菌株を PDA 培地上で培養した結果、*F. aesculi* の菌叢、分生子殻および分生子を形成した。分生子殻の大きさは内径で $160\sim490\times120\sim350\ \mu\text{m}$ のものが多かった (Fig. 1H) が、2室が融合して幅が $400\ \mu\text{m}$ 以上になるものも観察された。分生子殻室の形状は子のう殻室とほぼ同様で、内壁全面に無色、単条の分生子柄を生じ、その頂端に全出芽により分生子を単生した。分生子は、無色、単細胞、紡錘形ないし長紡錘形で基部はさい切 (裁断) 状、大

きさは $17.7\sim26.0\times5.2\sim9.1\ \mu\text{m}$ であった (Fig. 1F)。スベルマチアの大きさは $4.9\sim7.8\times1.6\sim2.1\ \mu\text{m}$ であった。PDA 培地で培養した菌叢は、初め白～灰色の綿毛状で灰緑色～濃灰色を経て黒または灰黒色となった。気中菌糸の伸長は極めて旺盛であった。これらの形態は、梶谷 (1994)、大和 (1986) および Pennycook and Samuels (1985) の記載したキウイフルーツ果実軟腐病菌 *B. dothidea* (Mougeot: Fries) Cesati & de Notaris の形態とほぼ一致した (Table 2)。

菌叢生育温度

Phomopsis 属菌の菌株は、 $10\sim35^\circ\text{C}$ の範囲で生育し、 27°C において最も生育が早かった (Fig. 2)。*F. aesculi* の菌株は、対照菌株 *B. dothidea* (MAFF410083) とほぼ同様に $10\sim35^\circ\text{C}$ の範囲で生育し、 $27\sim30^\circ\text{C}$ で菌叢の生育が最も早かった (Fig. 3)。

分離菌の病原性

***Phomopsis* 属菌** キウイフルーツの2年生枝 (ヘイワード) および3年生枝 (ヘイワードおよび香緑) に対して菌

Table 2. Morphological comparison of kiwifruit dieback isolates with *Botryosphaeria dothidea*

Character	Kiwifruit dieback isolates (KSA1, BST, BKS, BDT)		<i>B. dothidea</i> (Kiwifruit soft rot pathogen)				
			Kajitani ^{a)}		Yamato ^{b)}	Pennycook and Samuels ^{c)}	
	On host	On PDA	On prunings	On PDA	On host	On prunings	On PDA
Perithecium							
length (μm)	102-219	—	210-320	—	100-200	150-250	—
(average)	(154)						
width (μm)	128-184	—	—	—	100-220	—	—
(average)	(146)						
Asci							
length (μm)	96-145	—	108-180	—	80-125	75-112	—
(average)	(119)						
width (μm)	15.3-20.4	—	15.5-25.5	—	15-20	18-20	—
(average)	(18.0)						
Ascospore							
length (μm)	22.0-32.0	—	19.5-34	—	17-28	19-27	—
(average)	(26.8)					(22.8)	
width (μm)	9.0-12.8	—	8-14.5	—	6-10	8-11	—
(average)	(10.2)					(9.3)	
Pycnidium							
length (μm)	160-490	—	—	—	80-350	—	—
(average)	(261.6)						
width (μm)	120-350	—	—	—	90-300	—	—
(average)	(206.1)						
Conidium							
length (μm)	17.7-26.0	15.3-29.1	—	16.8-29.5	13-30	—	20-26
(average)	(21.9)	(23.6)					(23.1)
width (μm)	5.2-9.1	5.2-9.7	—	4.9-8.5	4-8	—	5-6
(average)	(7.5)	(7.2)					(5.4)

—: absent or not described, a) Kajitani (1994), b) Yamato (1986), c) Pennycook and Samuels (1985)

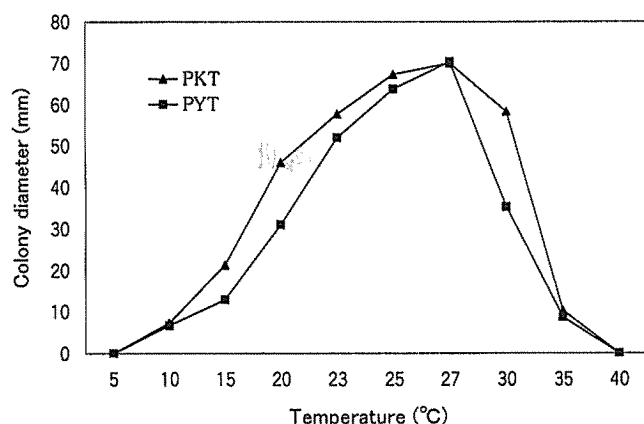


Fig. 2. Colony growth of two isolates of *Phomopsis* sp. at different temperatures on PDA for 4 days.

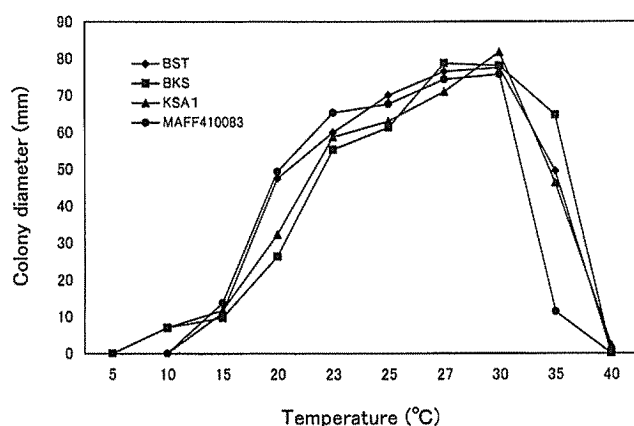


Fig. 3. Colony growth of four isolates of *Fusicoccum aesculi* at different temperatures on PDA for 4 days.

株 PYT を接種した結果、2 年生枝有傷接種区では、接種したすべての枝に接種 2～3 週間後に葉の萎凋、落葉および枝先端の激しい萎凋等が見られた。接種枝の 14% は、4 ヶ月後に枝全体が枯死した。残りの 86% は枯死には至らなかったが、接種部の焼き傷を取り除き観察した結果、原病徴と同様の黒褐変症状が接種部を中心として上下に拡大していた。3 年生枝有傷接種区では、接種した‘ヘイワード’の枝すべてに上記と同様の症状が見られ、接種部に黒褐変症状が認められたが、枯死には至らなかった。他方、‘香緑’では、大部分の接種枝に接種後約 10 日目から‘ヘイワード’より激しい枝枯れ症状が見られた。接種枝の 50% は、病勢の進展が早く 1 ヶ月後には枯死した。また、残りの 50% は枯死には至らなかったが、接種部に黒褐変症状が見られた。これらの接種により生じた枯枝部および黒褐変部から、接種菌が再分離された。無傷接種区、および対照無接種区では枝枯れ等は認められなかった。‘香緑’は‘ヘイワード’に比べて菌株 PYT に対して弱かった (Table 3)。

子のう胞子由来菌株のキウイフルーツ切り枝接種区では、接種枝の 80% に枝枯れ症状が見られ、同部位から接種菌の再分離を行った結果、PDA 培地上で *Phomopsis* 属菌の α および β 型分生子を形成する菌株が分離された。

キウイフルーツ果実への有傷接種では、菌株 PYT および PKT のいずれの場合も接種した果実の大部分に果実軟腐病と同様の症状が観察された。また、無傷接種では、菌株 PYT を接種した 10 果実のうち 5 果実には発病が見られたが、菌株 PKT を接種した果実には発病が見られなかった。発病果実の病斑部からは接種菌が再分離された (Table 4)。

PKT および PYT の両菌株を無傷接種したミカン果実

Table 3. Pathogenicity of an isolate (PYT) of *Phomopsis* sp. to kiwifruit branches

Age of branches	Kiwifruit cultivar	Inoculation method	Pathogenicity ^{a)}			
			Number of diseased branches / number of branches inoculated			
			—	+	++	+++
2	Hayward	wounded			6/7	1/7
3	Hayward	wounded			3/3	
3	Kouryoku	wounded			2/4	2/4
		intact	7/7			
Control						
2	Hayward	wounded	7/7			
3	Hayward	wounded	3/3			
3	Kouryoku	wounded	4/4			
		intact	7/7			

a) +++: Severe symptom with typical dieback, ++: Moderate symptom with dark browning of branch, +: Weak symptom with browning of branch, —: No symptom

Table 4. Pathogenicity of two isolates (PYT, PKT) of *Phomopsis* sp. to fruits and twigs of fruits trees

Isolate	Inoculation method	Pathogenicity				
		Fruits			Twigs	
		Kiwifruit (cv. Hayward)	Satsuma mandarin (cv. Aoshima)	Apple (cv. Fuji)	Peach (cv. Hashiba)	Japanese pear (cv. Kohsui)
PYT	wounded	10/10 ^{a)}	—	5/5	2/5	10/10
	intact	5/10	8/8	0/5	—	—
PKT	wounded	9/10	—	5/5	5/5	1/10
	intact	0/10	8/8	0/5	—	—
control	wounded	0/10	—	0/5	0/5	0/10
	intact	0/10	0/8	0/5	—	—

a) Number of diseased fruits or twigs / Number of fruits or twigs inoculated

のすべてに、カンキツ小黑点病の網状病斑あるいは軸腐症状（牛山・倉本，1975）が見られ、接種菌が再分離された（Table 4）。PKT および PYT の両菌株を有傷接種したリンゴ果実のすべてに、リンゴ胴枯病（軸腐病）（照井・原田，1968）と同様に接種部を中心とした暗褐色の軟化腐敗が見られ、接種菌が再分離された。無傷接種では発病が見られなかった（Table 4）。

モモ枝への有傷接種では、菌株 PYT を接種した 5 本の枝のうち 2 本に、また菌株 PKT を接種した枝 5 本すべてに、ホモプシス腐敗病（我孫子，1972）と同様の赤褐色ないし褐色の陥没した病斑が見られ、それらの病斑から接種菌が再分離された（Table 4）。また、ナシの切り枝に対する有傷接種では、菌株 PYT を接種した枝のすべてと菌株 PKT を接種した枝 10 本のうち 1 本のみに、接種部を中心に萎凋症状が見られ、接種部の表皮下には黒ないし黒褐色の変色が観察され、接種菌が再分離された（Table 4）。

以上の接種試験において、菌株 PYT の方が菌株 PKT に比べ病原性が強い傾向が見られた。

F. aesculi 2 菌株を用いてキウイフルーツ 3 年生枝（ヘイワードおよび香緑）に対して、有傷および無傷接種を行った。この結果、菌株 BKS および BST による有傷接種では、いずれも上記の *Phomopsis* 属菌の場合と同様に接種 2～3 週間後に「ヘイワード」および「香緑」に葉の萎凋、落葉、枝先端の激しい萎凋が見られたが、その程度は明らかに軽かった。この後、「ヘイワード」については著しい病勢の進展はなく枯死は見られず、すべての接種部に黒褐変症状が観察されたのみであった。しかし、「香緑」については、菌株 BKS 接種では病勢の進展が著しく 1 ヶ月後に接種枝の 33% が枯死し、残りの 67% の接種部に黒褐変症状が観察された。また、菌株 BST 接種では、病勢は徐々に進展し接種 4 ヶ月後に 25% の枝に枯死が見られ、残りの 75% の接種部に黒褐変症状が観察された。「香

緑」は、「ヘイワード」に比べ両菌株に対して弱い傾向が認められた。また、菌株 BKS の方が菌株 BST に比べて病原性がやや強い傾向が見られた。これらの接種により生じた枝枯れ部および黒褐変部からは、接種菌が再分離された。無傷接種区では、対照無接種区と同様に枝枯れ等の病変は見られなかった（Table 5）。

果実（ヘイワード）に対する菌株 BST による接種試験の結果は、有傷接種では 100% の果実が発病したが、無傷接種では 40% のみ発病した。子のう胞子由来菌株（KSA1）の果実に対する接種では、「香緑」、「讃緑」の両品種ともに有傷、無傷接種区のいずれにおいても 100% 発病した。発病した果実からはすべて接種菌が再分離された。

病原性の比較

Phomopsis 属菌および *F. aesculi* の各 4 菌株を供試し「ヘイワード」の 1 年生枝に対する有傷接種により病原性の比較を行った結果、*Phomopsis* 属菌では接種 2～3 週間後、また *F. aesculi* 接種では 3～4 週間後からそれぞれ枝枯れが認められ、*Phomopsis* 属菌の方が病徴の発現が早い傾向が認められた。両菌の接種において、枯死は見られない場合でも、接種部位には黒褐変が認められた。対照無接種区の枝には、黒褐変は見られなかった。*Phomopsis* 属菌接種による枝枯れは、菌株 PYT および POT を接種した場合に見られ、菌株 PKT および PNT の接種により枝枯れは生じなかった（Table 6）。

F. aesculi 接種による枝枯れは、胴枯れ部由来菌株 BDT が最も多く、次いで子のう胞子由来菌株 KSA1 であった。菌株 BST および BHT 接種を接種した枝では、枝枯れは見られなかった（Table 6）。子のう胞子由来菌株 KSA1 の接種により生じた枝枯れ部には分生子殻（Fig. 1K）および胞子角の形成が見られ、同部位から接種菌の再分離を行った結果、PDA 培地上で *F. aesculi* の分生子殻と分生子を形成する菌株が分離された。各菌株の分生子の

Table 5. Pathogenicity of two isolates (BKS, BST) of *Fusicoccum aesculi* to kiwifruit branches

Isolate	Kiwifruit cultivar ^{a)}	Inoculation method	Pathogenicity ^{b)}			
			Number of diseased branches / number of branches inoculated			
			—	+	++	+++
BKS	Hayward	wounded			3/3	
	Kouryoku	wounded		1/3	1/3	1/3
		intact	3/3			
BST	Hayward	wounded		2/4	2/4	
	Kouryoku	wounded		3/4		1/4
		intact	4/4			
Control	Hayward	wounded	7/7			
	Kouryoku	wounded	7/7			
		intact	7/7			

a) Three-year-old branches were inoculated

b) +++: Severe symptom with typical dieback, ++: Moderate symptom with dark browning of branch, +: Weak symptom with browning of branch, —: No symptom

Table 6. Pathogenicity of *Phomopsis* sp. and *Fusicoccum aesculi* isolated from kiwifruit dieback

<i>Phomopsis</i> sp.		<i>F. aesculi</i>	
Isolate	Symptom ^{a)}	Isolate	Symptom ^{a)}
PYT	1/6	BST	0/5
PKT	0/6	BHT	0/5
POT	1/6	BDT	2/5
PNT	0/6	KSA1	1/6
Control	0/6	Control	0/6

a) Number of diseased twigs / number of twigs inoculated

大きさ（平均）は、菌株 BDT が $25.0 \times 6.9 \mu\text{m}$ 、菌株 KSA1 が $24.3 \times 7.1 \mu\text{m}$ 、菌株 BST が $24.0 \times 7.6 \mu\text{m}$ 、および菌株 BHT が $24.9 \times 6.6 \mu\text{m}$ であった。このうち、長さについては各菌株間で有意差は認められなかったが、幅については菌株 BST のみが他の菌株に比べて有意に大きかった。分生子の大きさと病原性の強弱については、明確な関係は認められなかった。

考 察

牛山（1988）らは、キウイフルーツかいよう病により枯れ込んだ枝・幹部からは *Phomopsis* 属菌と *Fusarium* 属菌が高率に、また *Botryosphaeria* 属菌も分離・検出され、胴枯れ症状部や異常肥大により枯れ込んだ枝から *Phomopsis* 属菌が極めて高率に分離されたと報告した。さらに、外観健全な枝の皮目部や果梗枝などからも *Phomopsis* 属菌、*Botryosphaeria* 属菌および *Alternaria* 属菌が比較的高率に検出されると報告している。筆者も健全なキウイフルーツ結果枝の皮目から *Phomopsis* 属菌が比較的高率に検出され

ることを報告した（衣川，2000）。このことから *Phomopsis* 属菌は、キウイフルーツの枝幹部で高率に潜伏しており、樹勢の低下や部分的な日焼けなどに伴い枝枯れを起こす可能性が高いと考えられた。他方、*Botryosphaeria* 属菌については、大和（1986）がキウイフルーツ果実軟腐病の記述のなかで、本属菌によるキウイフルーツの枝幹病害の発生は確認していないが、キウイフルーツの枝幹に対して強い病原性を示す菌株が罹病果実から分離されることから、今後問題となるおそれがあると述べている。これらの報告および本研究の結果より *Diaporthe* 属菌および *Botryosphaeria* 属菌がキウイフルーツ枝枯れ症状の主な病原と考えられた。

枝枯れから分離された *Phomopsis* 属菌は、既報のキウイフルーツ果実軟腐病菌（*Diaporthe* sp.）と形態的特徴、菌叢の生育適温がほぼ一致し、キウイフルーツ果実に病原性を示すこと、および単子のう胞子分離菌株が培地上で α 、 β 型両分生子を形成し、キウイフルーツの切り枝に対して病原性を示したことから、果実軟腐病菌の *Diaporthe* 属菌と同一種であると考えられた。梶谷（1997）は、キウイフルーツ果実軟腐病菌（*Diaporthe* sp.）は、形態的特徴、接種試験および対峙培養試験からナシ胴枯病菌（*D. medusaea*）およびモモホボシス腐敗病菌（*D. eres*）と同一種であろうと報告した。Sommer（1975）は、キウイフルーツ stem-end rot の病原菌を PDA 培地上で培養し、形成された子のう、子のう胞子および分生子は、形態的に *D. medusaea* に類似するが、いずれもやや小さいため、その種名として *D. actinidiae* を提唱している。筆者らの結果および梶谷⁶⁾ の報告では、本菌は *D. medusaea* に形態的に類似しており、*D. actinidiae* とは明らかに異なる。また、

兼松ら (1999) は、モモホモブシス腐敗病菌 (*Phomopsis* sp.), ナシ胴枯病菌 (*Phomopsis fukushii* Endo & Tanaka) およびリンゴ胴枯病菌 (*Phomopsis mali* Roberts) は、形態的に識別できない小型の α 型分生子を形成し、圃場の立木に対する接種試験では、分離源に関係なく、G 型菌株 (コロニーの色が灰色) は W 型菌株 (同・白色) よりモモ、ニホンナシ、リンゴに強い病原性を示したと報告した。筆者らの行った試験においても、キウイフルーツ枝枯症状由来の *Diaporthe* 属菌は、ミカン、リンゴの果実およびモモ、ニホンナシの枝に対しても病原性を示した。兼松によれば、筆者らの供試菌株のうち最も分離率の高かった菌株群の菌株 PYT は分生子の形成がほとんどなく同定不能であったが、菌株 PKT, POT, および PNT はすべて W 型であった (兼松, 私信)。兼松ら (1999) は、W 型は腐生的あるいは半寄生的に果樹を含む樹木に寄生しており、果実の抵抗性の低下した時期に感染して収穫後に果実腐敗を引き起こし、リンゴやナシ樹では幼木時あるいは樹勢の低下した時になどに胴枯症状を引き起こすと推測している。これは、キウイフルーツ枝枯症状が樹齢 10 年以上を経過し樹勢が低下した樹に多く発生する事実とも一致する。以上のように、本種の所属については、果樹類に病原性を示す *Diaporthe* (*Phomopsis*) 属菌の再分類を含め今後の検討課題である。

F. aesculi については、分生子殻がよく発達した子座内に形成され、同一子座内に *Botryosphaeria* 属菌の子のう殻と混在する場合があります。子のう殻頂部の孔口は乳頭状に隆起しており、子のうは二重膜を有し子のう内に 8 個の子のう胞子を内蔵していた。これら分生子世代および子のう世代の形態的特徴は Pennycook and Samuels (1985) による *B. dothidea* の形態的特徴と一致した。また、単子のう胞子分離菌株を PDA 培地上で培養した結果、*F. aesculi* の分生子が形成され、同菌株をキウイフルーツ枝に接種した結果、枝枯れと接種部位に孢子角の形成が見られ、同部位から *F. aesculi* が再分離された。さらに、菌叢の形態的特徴および生育適温は対照菌株 (*B. dothidea*; MAFF410083) とほぼ一致した。これらの結果から、本菌を *B. dothidea* (Mougeot: Fries) Cesati & de Notaris と同定した。

なお、最近まで *B. dothidea* のアナモルフ (分生子世代) は *Dothiorella* 属菌とされていたが (小林, 1992)、近年 *Dothiorella* 属の基準種 *Dothiorella pyrenophora* Saccardo のタイプ標本が暗褐色の 2 細胞の分生子を持つことから、同属は *Diplodia* 属の異名であることが判明した (Crows and Palm, 1999)。このため、現在、単細胞無色ないし淡色の分生子を持つ *B. dothidea* のアナモルフは *Fusicoccum aesculi*

Corda とする意見が世界的に通用しつつある (Crows and Palm, 1999), (Dennman *et al.*, 2000), (Pennycook and Samuels, 1985)。そこで、本論文も Pennycook and Samuels に従い *Fusicoccum aesculi* Corda を *Botryosphaeria dothidea* の不完全世代の種名として採用することとした。

本菌の子のう殻、子のう、子のう胞子の形態は、果実軟腐病の *B. dothidea* に関する大和 (1986)、梶谷 (1994)、および Pennycook and Samuels (1985) の報告とほぼ一致し、本菌をキウイフルーツ果実に接種した結果、果実軟腐病の病徴が再現された。これらの結果から、本菌をキウイフルーツ果実軟腐病菌の *B. dothidea* と同一種であると判断した。

キウイフルーツ果実軟腐病の伝染源は、筆者らが報告した剪定痕および粗皮 (衣川, 1998), (衣川, 2000) のほかに、キウイフルーツ果実軟腐病菌の *Diaporthe* 属菌および *B. dothidea* による枝枯症状も関与すると考えられる。

大和 (1984) は、*B. dothidea* は病原性の異なる系統が多く存在し、ニホンナシ枝枯病菌では、強病原性株の方が弱病原性株より分生子がより小さいと報告した。筆者らが行った試験でも菌株間に病原性の差は認められたが、分生子の大きさや病原性については明確な関係は認められなかった。

なお、供試菌株のうち PYT (=MAF238691), KSA1 (=MAF238692), および BKS (=MAF238693) を農業生物資源研究所ジーンバンクに微生物遺伝資源として登録、保存した。

摘 要

近年、香川県で樹齢が 10 年以上のキウイフルーツ樹に枝枯れが多発している。枝の大きな切断痕や日焼け部から枯れ込みが進み、側枝、垂主枝が枯れる場合が多い。病勢の著しい場合、垂主枝、主枝まで枝枯れが進み胴枯れ症状を呈し、樹全体が枯れる場合もある。罹病枝から高率に分離された *Phomopsis* 属菌および *F. aesculi* をキウイフルーツの枝に接種した結果、いずれも枝枯れ症状が再現され、接種菌が再分離された。

Phomopsis 属菌については、子のう世代および分生子世代の形態、培養上の諸性質、およびキウイフルーツ、ミカン、およびリンゴの果実、またモモおよびナシの枝に対する接種試験の結果から、キウイフルーツ果実軟腐病菌のうち *Diaporthe* 属菌と同一種であった。また、*F. aesculi* についても、子のう世代および分生子世代の形態、培養上の諸性質、およびキウイフルーツ果実への接種試験の結果から、キウイフルーツ果実軟腐病菌 *B. dothidea* と同一種で

あった。これらの結果から、キウイフルーツ果実軟腐病菌の *Diaporthe* sp., および *B. dothidea* により枝枯症状が起ることが明らかとなった。

謝 辞

キウイフルーツ枝枯症状を起因する *Diaporthe* 属菌が、W 型あるいは G 型株のいずれに該当するかご判定いただいた独立行政法人農業技術研究機構果樹研究所リンゴ研究部 兼松聡子博士に深謝する。

引用文献

- 我孫子和雄 (1972). モモホモブシス腐敗病の生態に関する研究. 園試報告 A11: 127-137.
- Crows, P.W. and Palm, M.E. (1999). Reassessment of the anamorph genera *Botryodiplodia*, *Dothiorella* and *Fusicoccum*. *Sydowia* 51: 167-175.
- Denman, S.D., Crows, P.W., Taylor, J.E., Kang, J.-C. and Wingfield, M.J. (2000). An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria*, and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Stud. Mycol.* 45: 129-140.
- 梶谷祐二 (1994). キウイフルーツ果実軟腐病 (*Dothiorella* sp.) の完全時代. 日植病報 60: 339 (講要).
- 梶谷祐二 (1996). キウイフルーツ果実軟腐病菌 (*Phomopsis* sp.) の完全世代. 日植病報 62: 643 (講要).
- 梶谷祐二・兼松聡子 (1997). 既知の *Diaporthe* 属菌との対峙培養および交互接種による果実軟腐病菌 (*Diaporthe* sp.) の同定. 九州病害虫研究会報 43: 134 (講要).
- Kanematsu, S., Kobayashi, T., Kudo, A., and Ohtsu, Y. (1999). Conidial morphology, pathogenicity and culture characteristics of *Phomopsis* isolates from peach, Japanese pear and apple in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 65: 264-273.
- 衣川 勝・米澤晃子 (1998). キウイフルーツ果実軟腐病の伝染源と防除に関する研究. 1. 伝染源としての剪定痕について. 四国植防 33: 1-11.
- 衣川 勝 (2000). キウイフルーツ果実軟腐病の伝染源と防除に関する研究. 2. 伝染源としての粗皮について. 香川農試報 52: 41-54.
- 衣川 勝・佐藤豊三 (2000). *Phomopsis* sp. および *Dothiorella* sp. によるキウイフルーツ枝枯病 (新称) の発生. 日植病報 66: 99 (講要).
- 衣川 勝・佐藤豊三 (2002). キウイフルーツ枝枯病菌 (*Phomopsis* sp., *Dothiorella* sp.) の完全世代. 日植病報 68: 189-190 (講要).
- 小林亨夫 (1992). 植物病原菌類図説 (小林亨夫・勝本 謙・我孫子和雄・阿部恭久・柿島 真編). pp. 368-369, 全国農村教育協会, 東京.
- 日本植物病理学会編 (2000). 日本植物病名目録. p 372, 日本植物病理学会, 東京.
- Pennycook, S.R. and Samuels, G.J. (1985). *Botryosphaeria* and *Fusicoccum* species associated with ripe fruit rot of *Actinidia deliciosa* (kiwifruit) in Newzealand. *Mycotaxon* 24: 445-458.
- Sommer, N.F. and Beraha, L. (1975). *Diaporthe actinidiae*, A new species causing stem-end rot of Chinese gooseberry fruits. *Mycologia* 67: 650-653.
- 照井陸奥生・原田幸雄 (1968). リンゴ軸腐病の病原菌 *Phomopsis mali* について. 弘前大学農学報 5: 58-62.
- 牛山欽司・倉本 孟 (1975). カンキツの小黒点病 (新称). 植物防疫 29: 21-25.
- 牛山欽司・青野信男・北 宣裕 (1988). キウイフルーツの各部位の病害様症状部から検出された糸状菌. 関東病虫研会報 第35集: 109-111.
- Yamato, H. (1976). A species *Diaporthe* pathogenic to citrus. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.* 42: 56-59.
- 大和浩國 (1984). ニホンナシの枝枯病について. 徳島果試報 12: 17-27.
- 大和浩國 (1986). ボトリオスフェリア・ドチデア菌による果樹の病害. 今月の農業 30: 84-90.