

輸入検疫中の米国産キイチゴに発生した 枝枯症状とその病原菌

臺 喜吉・木村 茂・後藤 正昭

横浜植物防疫所

小 林 享 夫

林業科学技術振興所

Shoot Blight and its Causal Pathogen of Blackberry Seedling Imported from the United States. Kiyoshi DAI, Shigeru KIMURA and Masaaki GOTOH (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10, Shinyamashita, Naka-ku, Yokohama 231, Japan) and Takao KOBAYASHI (Forest Development Technological Institute, Rokuban-cho 7, Chiyoda-ku, Tokyo 102, Japan). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* **26**: 1-6 (1990)

Abstract: A species of *Pestalotia* was observed on and isolated from the shoot blight of blackberry seedlings, *Rubus allegheniensis* PORTER, which were imported from the United States. The fungus was proved to be pathogenic to *Rubus* plants through the inoculation experiments and was identified as *Pestalotia longiseta* SPEGAZZINI in comparison with an already known isolate from *Camellia chinensis*. New combination name, *Pestalotiopsis longiseta* (SPEG.) DAI et KOBAYASHI was proposed for the fungus according to Steyaert's classification. The other fungus, *Seimatosporium discosioides* (ELL. et EV.) SHOEM., was also found on the shoot blight of blackberry. Its connection with the disease could not clear, because of the failure of isolation.

Key word: *Pestalotiopsis longiseta*

はじめに

1987年5月、輸入検疫中の米国産キイチゴ苗の当年枝に、我が国では未報告と思われるかいようを伴う激しい枝枯症状を呈する病害が発生した。病斑部には *Pestalotia* 属菌および *Seimatosporium* 属菌の分生子が多数認められた。

病斑部から分離され、病原性の確認された *Pestalotia* 属菌および病斑部に認められた *Seimatosporium* 属菌について同定を行ったのでその結果を報告する。

なお、本試験を行うに当たり、貴重な菌株を分譲していただいた野菜・茶業試験場茶栽培部病害研究室成澤信吉博士に深甚な謝意を表する。

材料および方法

1. 病原菌の分離

神奈川県大和市の横浜植物防疫所大和ほ場で検疫中の米国産キイチゴ（ブラックベリー *Rubus allegheniensis* PORTER, 品種：Comanchee）の当年枝上に形成された病斑部から病原菌を分離した。

分離の方法は、病斑部から約5×2mmに切り取った組織を次亜塩素酸ナトリウム1%溶液に1分間浸漬後、直ちに殺菌水中で洗い、ジャガイモ煎汁寒天（PDA）平板培地上に置床して25℃で培養した。培養24時間後、伸長してきた単菌糸の先端を針で採り、再びPDA培地上に移植した。この操作を2回繰り返し、得られた菌株を分離菌株とした。

また、菌の形態等を比較するため、対照菌株として、野菜・茶業試験場から分譲を受けた *Pestalotia longiseta* SPEG.（菌株名：No.2）1菌株を供した。

2. 菌の形態観察

分生子層の形態は、枝の病斑上に形成されたものを実態顕微鏡で、また、樹皮組織内での分生子層の構造については、凍結マイクロームで切片を作製し、生物顕微鏡を用いて観察した。

分生子の形態等は、PDA平板培地上で3週間培養した後、培地上に形成された分生子をかき取ってプレパラート標本作製し、分生子60個について生物顕微鏡で詳細に観察した。

3. 接種試験

分離菌株の病原性を確認するため、PDA培地上で25℃、6日間培養した菌叢に殺菌水10 mlを加えた後乳鉢で擦り潰したものを接種源とし、接種試験を行った。

接種の方法は、鉢植えのキイチゴ（品種：Comanche）の当年枝の茎にナイフにより傷をつけた区、針で傷をつけた区および無傷区に区分し、各3ヶ所に、また、葉については針による有傷接種区および無傷接種区とし、各々5ヶ所に接種源を塗布し、その上をガーゼで覆い、48時間暗所で温室に保った。その後、20℃の室内で病徴の観察を行った。対照区には、PDAのみを接種した。

宿主範囲の調査は、病原性の確認試験と同様の方法で、ツバキ（*Camellia japonica*）、サザンカ（*C. sasanqua*）、チャ（*C. sinensis*）、ゲッケイジュ（*Lutulus nobilis*）、アザレア（*Rhododendron* sp.）、アカマツ（*Pinus densiflora*）、クロマツ（*P. thunbergii*）に接種し、接種後1ヶ月間病徴の発現状況を観察した。

4. 培養的性質の調査

分離菌株および対照菌株について、PDA培地、オートミール寒天培地、コーンミール寒天培地およびツァベック寒天培地（いずれもDifco社製）の4種類の培地上に移植し、6日間培養した菌叢を比較した。

生育温度および生育適温の調査は、分離菌株と対照菌株をPDA平板培地上で、10、15、20、25、30および35℃の各温度区で6日間培養し、菌叢の直径を測定して調査した。

結 果

1. 病徴および標本

輸入キイチゴ苗では当年枝上のみに病徴の発生が確認された。病斑は初め、健全部との境界は不鮮明で暗褐色、直径3～5 mmの長円形で、後に、隣接する病斑と融合して、雲型～不整形のやや大型の病斑となるものもあった。病斑部の中央は、黒褐色に変色し、その周縁部は灰褐色となった。黒褐色の部分には、黒色の分生子層が多数形成された。湿潤条件になると、分生子層から黒色の分生子塊が溢出した。分生子層が密生した樹皮部は古くなると脱落し、木質部が露出した。このような病斑には2種類の菌類の分生子が認められた。その一つは5細胞で3本の長いapical appendage（頂端付属糸）を持つ *Pestalotia* 属菌、もう一つは4細胞

で1本の短いapical appendageを持つ *Seimatosporium* 属菌と考えられた。

2. 病原菌の分離

病組織からの病原菌分離の結果、*Pestalotia* 属菌は分離されたが、*Seimatosporium* 属菌は分離されなかった。このため、以後の接種試験および培養試験は *Pestalotia* 属菌について行った。

3. 接種試験

(1) 病原性の確認

有傷接種においては、接種後24時間で茎、葉の接種部に暗褐色の病斑が形成された。茎の病斑は主に縦方向に拡大し、接種3～4日後には、病斑は暗褐色から黒褐色になり、その病斑上には黒色の分生子層が形成されはじめた。接種6～7日後には病斑の中心部から次第に褐色に変色し、その上には分生子層が密生した。葉の病斑はあまり拡大しなかったが、分生子層の形成が認められた。茎への無傷接種区では病斑の形成は認められなかったが、葉では接種した5ヶ所中2ヶ所で病斑の形成が認められた。なお、対照区の有傷接種では、傷痕わずかに褐変したが、それ以上の変化はなかった。無傷接種では全く変化がなかった。

(2) 宿主範囲

第1表に示したとおり、キイチゴおよびゲッケイジュの茎と葉に有傷接種により病斑が形成されたが、他の植物では変化は認められなかった。

4. 培養的性質

分離菌株：PDA培地上での菌叢は白色で綿毛状、生育は旺盛であった。底から見ると、淡褐色を呈し、中心部から外側にかけて黒色粘塊状に分生子層が形成された。特に、中央部は密生した分生子層と噴出した分生子で黒色粘塊状となった。オートミール寒天培地上での菌叢は白く盛り上がり、中央部は分生子層で黒色粘塊状となった。ツァベック寒天培地上での菌叢は、無色～白色で気中菌糸はわずかに伸長し、分生子層は認められなかった。また、コーンミール寒天培地上で菌叢の生育はよくなく、無色～白色、気中菌糸および分生子層は認められなかった。

対照菌株：PDA、オートミール寒天、コーンミール寒天培地上での菌叢の生育および分生子層の形成の有無などの性質は、分離菌株とよく似ていた。ツァベック寒天培地上での菌叢は非常に薄く、不規則に伸長し、気中菌糸、分生子層は認められなかった。

Table 1. Result of inoculation test

Plant name	Part inoculated	Pathogenicity	
		Wounded	Unwounded
<i>Rubus allegheniensis</i>	Shoot	+	—
	Leaf	+	—
<i>Laurus nobilis</i>	Branch	+	—
	Leaf	+	—
<i>Rhododendron</i> sp.	Branch	—	—
	Leaf	—	—
<i>Camellia japonica</i>	Branch	—	—
	Leaf	—	—
C. <i>sasanqua</i>	Branch	—	—
	Leaf	—	—
C. <i>sinensis</i>	Branch	—	—
	Leaf	—	—
<i>Pinus densiflora</i>	Branch	—	—
	Leaf	—	—
<i>P. thunbergii</i>	Branch	—	—
	Leaf	—	—

+ : Symptoms and signs.

+ : Appear symptom only.

— : No symptom

5. 生育温度

調査結果は Fig. 1 のとおりである。分離菌株は 10～35℃ で菌叢の生育を認め、生育最適温度は 25℃ ではあった。対照菌株は、10～30℃ での生育は認められたが、35℃ では認められなかった。最適温度は 25℃ であり、分離菌株と同じような傾向を示した。

6. 菌の形態

Pestalotia 属菌

分生子層は樹皮下に形成され、のちに樹皮を破って表面に現れた。分生子層の色は黒色で、径 75～225 μm の円形底部には、無～淡褐色、一層の分生子形成細胞が認められた。形成時の分生子は無～淡褐色で、成熟した分生子は棍棒状～紡錘形、5 細胞で、多くはまっすぐで、わずかに湾曲したものもあった。PDA 培地上で形成された分生子の大きさは 20～28×6～8.5 μm 、分生子を形成する 5 細胞のうち、中央の 3 細胞は褐～黒褐色で、両端の細胞は無色、頂部細胞には無色で長い 3 本の apical appendage を、基部細胞には短い 1 本の basal appendage が認められた。apical appendage の長さは 18～32 μm で、basal appendage は 3.7～7.8 μm であった。

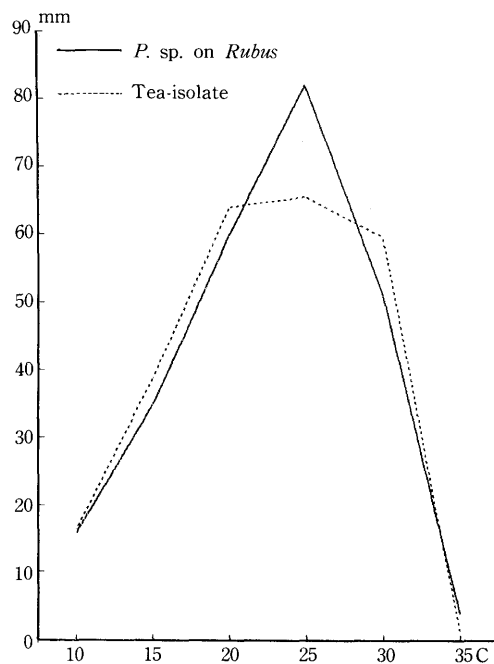


Fig. 1. Relationship between fungal growth and temperature

Seimatosporium 属菌

本菌は樹皮下に分生子層を形成し、分生子は紡錘形、4細胞からなり、大きさは $11\sim14\times3\sim4\ \mu\text{m}$ 、中央の2細胞は淡褐色を呈し、 $5.7\sim7.8\ \mu\text{m}$ であった。頂部および基部の細胞は無色で、各々に1本の appendage が認められた。apical appendage の長さは $3.5\sim5.2\ \mu\text{m}$ で、basal appendage は基部細胞の truncate 状の側部から発生し、その長さは $2.7\sim4.8\ \mu\text{m}$ であった。

考 察

1. 病原菌の同定

Pestalotia 属菌: GUBA (1961) によると、キイチゴ属植物から分離された *Pestalotia* 属菌で3本の apical appendage を持つものには *P. adusta*, *P. antennaeformis*, *P. laurocerasi*, *P. longiseta* そして *P. macrospora* の5種類がある。

P. antennaeformis と *P. laurocerasi* は、4細胞からなる分生子を形成することから、分離菌株とは異なった種である。*P. adusta* と *P. macrospora* は分離菌株と同じく5細胞の分生子を形成するが、*P. adusta* の分生子の大きさは $15\sim21\times4.5\sim7\ \mu\text{m}$ と小さく、また、*P. macrospora* の分生子は $35\sim45\times7.5\sim10\ \mu\text{m}$ と、分離菌株とは大きさにおいていずれも明らかな差が認められた。

P. longiseta の分生子は5細胞からなり、その大きさは $18\sim26\times7.5\sim10\ \mu\text{m}$ で分離菌株に極めて近いこと

から、GUBA の本種についての記載と比較した。また、我が国では、*P. longiseta* はチャ輪斑病菌として知られている(浜屋、堀川、1982)ことから、対照菌株として、野菜・茶業試験場から本菌株の分譲を受け、比較検討した。

その結果を第2表に示した。分離菌株と対照菌株の間では basal appendage について、対照菌株の方が長く、差が認められたが、*P. longiseta* の特徴である分生子の大きさ、有色細胞の色、apical appendage の形態については対照菌株および GUBA の記載とよく一致した。このことから、分離菌株を *Pestalotia longiseta* SPEG. と同定した。

従来、*Pestalotia* 属菌と呼ばれていた菌の分生子は4~6細胞からなっている。STEYAERT (1949) はこれらを再検討し、*Pestalotia* 属については、その基準種である *P. pezizoides* が6細胞の分生子をもつことからこれに対して用いるのが適当とし、それ以外のものは別の属へ編入した。即ち、5細胞の分生子を形成するものは *Pestalotiopsis* 属とし、4細胞のものには、*Truncatella* 属を当てた。GUBA (1961) はこれを否定し、再び *Pestalotia* 属に統合した。しかし、近年、SUTTON を始め多くの菌学者は STEYAERT の考え方を支持して採用しており、筆者等もこれを妥当と考え、本種について次のように学名を変更したい。

Pestalotiopsis longiseta (SPEG.) DAI et KOBAYASHI comb. nov.

Syn. *Pestalotia longiseta* SPEG., *Michelia* 1: 478,

Table 2. Comparison of chief morphological characteristics between *Pestalotia* from blackberry and *P. longiseta*

Characters	P. sp. on Lubus	<i>P. longiseta</i>	
		Tea-isolate ¹⁾	Guba (1961) ²⁾
Conidiomata	acervulus	acervulus	acervulus
	75~225 μm	—	100~200 μm
Conidia	5-cell	5-cell	5-cell
	21~25 $\times$ 7-8	23~27 $\times$ 7~9	18~26 $\times$ 7.5~10
Colored cells	3-cell	3-cell	3-cell
	dark brown	dark brown	dark brown
	12~17	12~18	—
Apical appendage	3	3	3
	18.5~32.5	18.5~35	18~38
Basal appendage	1	1	1
	3.7~6.8	5~11	—

1): Isolate from National Research Institute of Vegetable, Ornamental Plants and Tea.

2): GUBA. E.M. (1961) Monograph of Monochaetia and Pestalotia, Harvard University Press.

1879, SACCARDO, Syll. Fung. 3; 787, 1884; GUBA, Monogr. *Monochaetia* and *Pestalotia*: 192, 1961; HINO, Plant Protection 16, 287, 1962

Seimatosporium 属菌: SUTTON(1980)によると、キイチゴ属植物から報告のある *Seimatosporium* 属菌には *S. caudatum* と *S. rosae* とがある。両菌と本菌を比べると、その分生子の大きさ、細胞数については一致するが、有色細胞の色および appendage の長さは一致しない。そこで、SUTTON の検索表で本菌の形態的特徴を照合したところ、*S. discosioides* とよく一致したので本菌を *Seimatosporium discosioides* (ELL. & EV.) SHOEMAKER と同定した。

2. 病名について

今回輸入検疫中に発見された枝枯症状部には、*Pestalotiopsis longiseta* と *Seimatosporium discosioides* の2種の菌の分生子層が形成されていた。分離の結果、前者のみが分離され、後者の分離は不成功であった。しかしながら、*Pestalotiopsis longiseta* 菌の接種の結果、自然病斑と同様の病斑の再現性が認められたので、本菌をこの枝枯症状の病原菌として病名を付けておくことにしたい。

我が国では *P. longiseta* によるキイチゴの病害の報告がないので、キイチゴのペスタロチア枝枯病とすることを提案する。

なお、*Seimatosporium discosioides* 菌が本症状の発現に関与するか否かは今回試験することができなかったが、もし将来、同様の材料が輸入される機会があれば、再度分離を試みて検討したい。

概 要

(1) 1987年5月、横浜植物防疫所大和ほ場において輸入検疫中の米国産キイチゴ苗の当年枝にかいようを伴う枝枯症状が発生した。

(2) 病患部に認められた2種の菌(*Pestalotia* および *Seimatosporium*) について分離を行った結果、*Pestalotia* のみが得られ、後者は分離されなかった。分離菌の形態観察および培養の性質の調査並びにキイチゴ等に対する病原性の確認および再分離を行った。

(3) その結果、*Pestalotia* 菌による症状の再現性が確認され、本菌は *Pestalotia longiseta* SPEG. と同定できた。

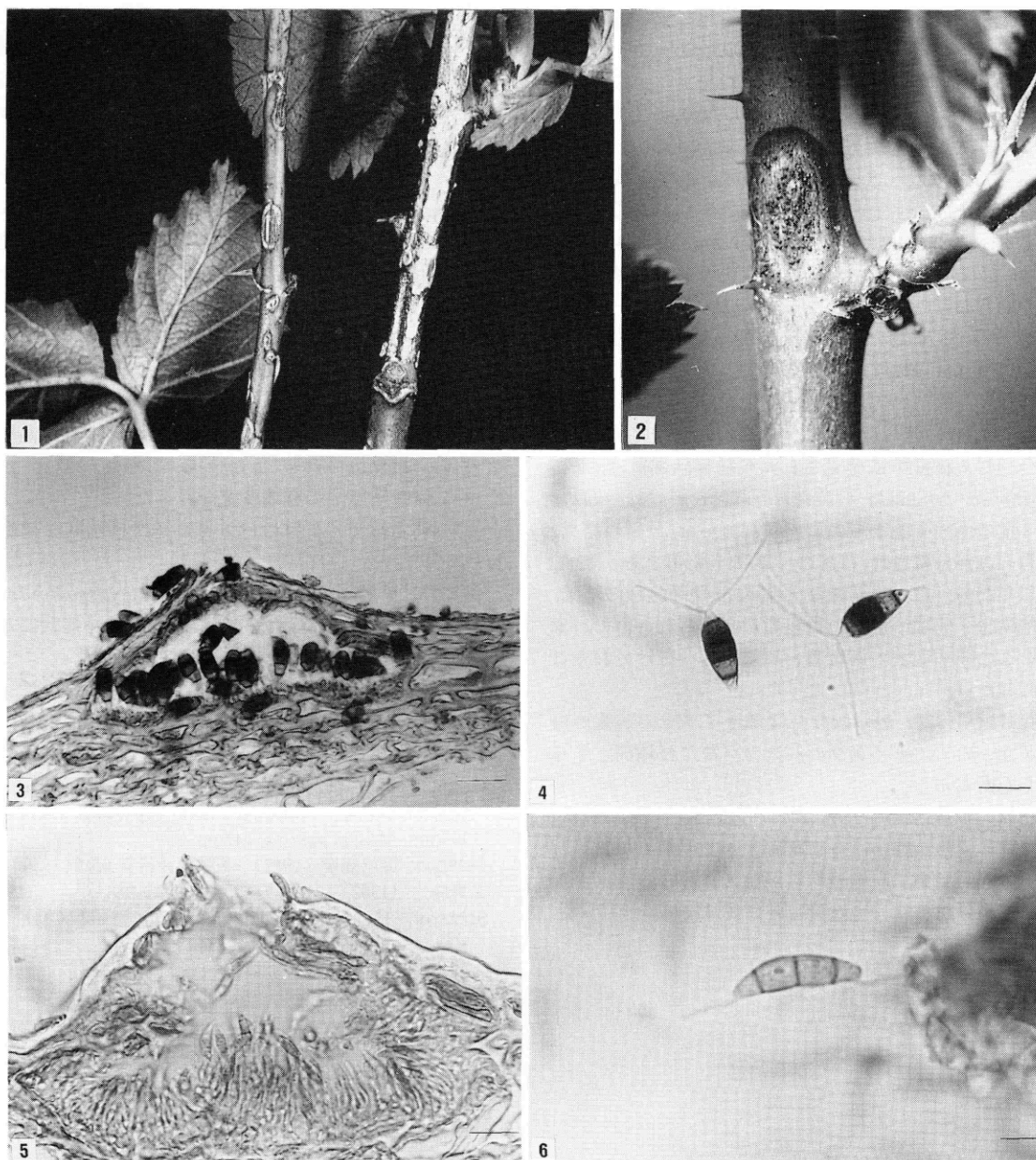
(4) 本菌の所属については STEYAERT の分類基準に従い、*Pestalotiopsis longiseta* (SPEG.) DAI et KOBAYASHI と学名の転属変更を行った。

(5) 病名はキイチゴのペスタロチア枝枯病を提案した。

(6) もう1種は *Seimatosporium discosioides* (ELL. et EV.) SHOEMAKER と同定され、枝枯症状に対する関連性は今後の検討課題として残された。

引用文献

- GUBA, E.M. (1962) Monograph of *Monochaetia* and *Pestalotia*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 342 pp.
浜屋悦次・堀川知廣 (1982) 茶業技術研究 62, 21~26.
日野隆之 (1962) 植物防疫, 16, 287~288.
SUTTON, B.C. (1980) The Coelomycetes, CMI, Kew, Surrey, 696 pp.
吉井 啓ら (1955) 日植病報, 20, 117.



1. Symptoms on shoot of blackberry.
2. Symptom on shoot by artificial inoculation.
3. Conidioma of *Pestalotiopsis longiseta*. (scale: 20 μ m)
4. Conidia of *P. longiseta*. (scale: 10 μ m)
5. Conidioma of *Seimatosporium discosioides*. (scale: 20 μ m)
6. Conidium of *S. discosioides*. (scale: 5 μ m)