



Title	ニホンナシ黒星病の発生生態と防除に関する研究
Author(s)	梅本, 清作
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第4191号
Issue Date	1992-12-25
DOI	https://doi.org/10.11501/3065029
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/49854
Type	doctoral thesis
File Information	000000257067.pdf



ニホンナシ黒星病の発生生態と防除
に関する研究

梅本清作

①

ニホンナシ黒星病の発生生態と防除
に関する研究

梅本清作

目 次

第1章 緒 論	1
1 研究の背景	1
2 研究史	2
第2章 病徴および被害	7
1 病徴	7
2 被害	8
3 経済的損失	9
4 考察	9
第3章 病原菌の所属	11
1 病原菌の形態	11
2 交互接種	12
3 菌体内可溶性タンパク質のディスク電気泳動による ニホンナシ菌とセイヨウナシ菌の比較	15
4 考察	17
第4章 病原菌の培養的性質	20
1 培養的諸性質	20
2 培地上における完全世代の形成	22
3 考察	28
第5章 ナシ黒星病の発生生態	32

第1節 分生子懸濁液の効率的濃縮法	32
1 寒天液濃縮法	32
2 考察	37
第2節 分生子による伝染	39
1 落葉病斑上に残存している分生子の越冬の可能性	39
2 鱗片病斑上での越冬とその上における分生子形成	40
1) 感染時期	40
2) 鱗片上病斑の進展過程	45
3) 品種および芽の種類別鱗片発病に基づく芽基部の発病程度	47
3 鱗片および花(果)叢基部病斑上からの分生子の分散開始時期、 分散量および分生子の経時的発芽率	50
4 分生子の分散距離	52
5 分生子の発芽と温度	54
6 考察	54
第3節 子のう胞子による伝染	58
1 偽子のう殻および子のう胞子の形成と成熟経過	58
2 落葉の時期別乾燥と偽子のう殻形成	59
3 温度と放出される子のう胞子数	61
4 子のう胞子の放出される高さ	61
5 圃場における地表面からの高さと採集子のう胞子数	65
6 子のう胞子の分散開始時期と分散消長	65
7 子のう胞子の分散距離	69
8 子のう胞子の発芽と温度	70

9 考察	73
第4節 感染と発病	76
1 分生子および子のう胞子の葉に対する病原性の比較	76
2 分生子の葉への侵入経過	79
3 葉の濡れ時間および温度と発病程度	80
4 黒星病菌の鱗片への感染機構	82
1) 秋季に枝幹部を流下する雨水中の分生子数	82
2) 一年生枝上の腋花芽の着生順位、着生位置と発病率ならびに発病部位	84
3) 腋花芽鱗片における黒星病菌の侵入部位	86
(1) 走査電子顕微鏡による感染部位の観察	90
(2) 品種、芽の種類および芽の部位別露出鱗片生組織部分	93
5 葉の品種間差異	93
6 新梢の品種間差異	97
7 主要品種果実の生育時期別感受性の推移	97
8 幸水果実の生育時期別感受性および潜伏期間の推移	99
9 主要第一次伝染源の種類と発病経過	104
10 考察	106
第6章 ベンズイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌の検定法とその応用	112
1 発芽管隔膜法の確立	113
2 発芽管隔膜法と菌叢生育法の検定感度の比較	118
3 発芽管隔膜法における検定上の考慮点	119
4 分離耐性菌接種による防除効果低下の証明	121
5 千葉県内における耐性菌の発生分布	125

6 考察	125
第7章 ナシ黒星病の防除法	131
第1節 薬剤防除法	131
1 ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の各種殺菌剤に対する感受性	132
2 偽子のう殻形成阻止効果	134
3 生育期防除	135
4 秋季防除	136
5 果実の防除	140
6 ベンズイミダゾール系薬剤の使用を中止した場合の防除効果	141
7 考察	143
第2節 耕種的防除	146
1 基部発病花叢の切除時期と防除効果	147
2 耕種的防除のモデル実験	148
3 考察	151
第8章 総合考察	154
第9章 摘要	167
引用文献	174
図版	199

1 研究の背景

我が国では、ニホンナシ (*Pyrus serotina* Rehd. var. *culta*)、セイヨウナシ (*P. communis* L. var. *sativa* DC.) およびチュウゴクナシ (*P. ussuriensis* Maxim. var. *sinensis* Kikuchi) が栽培されているが²⁰⁾、ニホンナシの栽培面積は他の2種類のナシのそれと比べて著しく広く、1988年には20,488haに及んでいる¹⁴⁰⁾。現在、ニホンナシは北は北海道から南は九州まで広範囲に栽培され、1988年のニホンナシ黒星病(以下原則としてナシ黒星病または単に黒星病とする)の発生は、1988年には沖縄県、鹿児島県など統計上ナシが栽培されていない7府県およびセイヨウナシが主に栽培されている山形県を除いた全国で認められ、千葉県(発生面積率74.4%)、茨城県(同97.4%)、神奈川県(同86.0%)などでは多発している¹⁴⁰⁾。諸外国における本病の発生については不明な点が多いが、韓国では古い報告があり¹³⁾、台湾でも重要病害の一つになっていると中興大学の孫前教授から聞いている。チュウゴクナシも本病に罹病性であるので⁴⁷⁾、中国での発生も予想される。

ナシの主要栽培品種は、これまで赤ナシでは長十郎、青ナシでは二十世紀であったが、1970年代になって、消費者の嗜好に合った赤ナシタイプの幸水や豊水に品種更新されることが多く、千葉県においても1988年の品種別栽培面積割合は高い方から幸水44.2%、豊水20.1%、長十郎13.0%、二十世紀6.0%、その他16.7%となっている⁷⁰⁾。このように、日本におけるナシ品種の主流となった幸水は花芽の維持が困難であり¹¹⁹⁾、翌年の花芽の確保、樹勢の維持、果実の肥大ならびに収量の確保のために一年生枝を予備枝として残したり、花芽の着生数が少なくなった古い側枝を腋花芽が多く着生している一年生枝に更新する必要がある。また、豊水は花芽の維持は比較的容易であるが、樹勢の維持、果実の肥大ならびに収量

の確保などのために、一部の枝を腋花芽が多く着生している一年生枝に更新している。しかし、このような栽培方法を黒星病菌の生活史からみると、一年生枝上の腋花芽鱗片は重要な感染部位となり^{108, 111, 112)}、それが翌年の主要な第一次伝染源となる。また、一年生枝上の腋花芽鱗片の黒星病に対する感受性には品種間差異があり¹¹¹⁾、主要品種の中では豊水が最も高く、幸水もこれに近い。黒星病に対する幼果の感受性は幸水および二十世紀は高いが、豊水もかなり高く、さらに幸水は一度低下した果実の感受性が肥大後期になると再び徐々に高まる²²⁸⁾など防除上問題が多い。リンゴではすでに黒星病抵抗性育種が進められ、実用品種も作出されているが^{92, 168, 235)}、ニホンナシでは黒星病抵抗性品種の育種には今のところ本格的に着手されていないのが実状である。このように、品種の変遷に伴い黒星病の効果的な防除法の確立の必要性はますます増しつつあるが、これまで研究が不足していたり、過去の成績には相反するものがあったり、研究内容が古くなっていた。

2. 研究史

ニホンナシ黒星病は、田中¹⁸⁶⁾によりべっこう病として我が国で初めてその発生が報告され、1902年には農商務省農事試験場試験成績要報第11号¹³⁷⁾に記載された。その後、高橋¹⁸¹⁾、奥村¹⁴⁵⁾によって発生生態に関する調査・研究が開始された。

病原菌の分類学的所属について、田中¹⁸⁶⁾はFusicladium dendriticum (Wallr.) Fuck.と同定したが、農商務省農事試験場試験成績要報第11号¹³⁷⁾ではF. pirinum (Lib.) Fuckelと改められ、高橋¹⁸¹⁾もそれを採用していた。出田⁴⁵⁾は、諸外国で発表された研究結果に基づき、本病菌が子のう菌に属することを認め、初めてVenturia pirina (Cooke) Adh.と同定した。その後、最近まで本病菌はセイヨウナシ黒星病菌(以下原則としてセイヨウナシ菌とする)と同一種と考えら

れ、菌名として *V. pirina* が当てられてきた。しかしながら、田中・山本¹⁸⁹⁾は枝における病徴およびそこにおける分生子形成程度、病原菌の形態上および大きさ上の差異、交接種による病原性に明瞭な差異のあることから、本病菌をセイヨウナシ菌と区別して新たにニホンナシ黒星菌（以下ニホンナシ菌または単にナシ黒星病菌とすることもある）とし、*V. nashicola* Tanaka et Yamamoto と命名した。

ニホンナシ菌の生育適温は20°C前後⁴⁷⁾、炭素源として麦芽液、窒素源として $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、リン酸およびカリ源として K_2HPO_4 で生育が良く、培地の水素イオン濃度はpH 6.0~7.0で生育が良好であったが、かなり酸性側あるいはアルカリ側でも急激な生育量の低下は認められなかったと報告されている²⁴¹⁾。培地上における分生子の形成は良いとする古い報告があるが⁴⁷⁾、一般には非常に悪く、培養法の改善である程度形成させることができたと報告されている²⁴¹⁾。

本病原菌は当初枝、葉、果実等の病斑内に菌糸の形態で越冬し、翌春そこに形成された分生子が第一次伝染源になるものと考えられていた^{145, 181)}。その後、原³³⁾によって初めて落葉病斑上に偽子のう殻、すなわち本病菌の完全世代が確認され、鑄方・小谷⁴⁷⁾は、本病の最も重要な第一次伝染源は落葉病斑上に形成される子のう胞子である可能性が高いと考えた。一方、御園生・深津¹⁸⁸⁾は、落葉病斑上に形成された偽子のう殻内の子のう胞子は4月下旬~5月中旬に分散し、それに基づく発病は5月中~下旬であり、分生子は乾燥落葉病斑上では越冬する可能性はあるが、圃場に散乱している落葉上、枝病斑上および健全枝表面において越冬する可能性は無いことを確認した。これらの点を考慮すると、第一次伝染源として最も重要と考えられるのは、彼らが発見した伝染経路である鱗片病斑およびその病斑が芽の基部に進展して形成される芽基部病斑上に形成される分生子であると結論し、高梨ら¹⁸³⁾もこの結論を支持した。これに対し、清水¹⁷⁰⁾は子のう胞子の分散推移を調べるためにグリセリンゼリーを塗布したスライドガラスの設置方法を検討し、グリセリンゼリーの塗布面を上向きに設置すると採取効率が

明らかに高まることを発見した。この方法で調査したところ、初発病が認められる25日前に子とう胞子の初分散が認められた。また、伝染源の種類と初発病時期および発病程度から、落葉上に形成される子とう胞子が第一次伝染源として重要であると結論し、阿部¹⁾も同様な結論を得た。以上から、本病の第一次伝染源には落葉病斑上に形成される子とう胞子と鱗片およびその基部に形成される分生子とがあり、優先性については定説が得られていなかった。

ニホンナシ黒星病に対する品種間の感受性の差異については古くから報告があり、それらを総括すると弱い品種は細口、金龍、太平、玉水、長十郎、赤龍、世界一、一方、強い品種は富士、早生赤、土佐、土佐龍、日の丸、独己、二十世紀、巾着、今村秋などである^{6, 138, 145, 181)}。その後、御園生・深津¹¹⁴⁾は、生育前期病斑(春型病斑¹⁸⁹⁾)と生育後期病斑(秋型病斑¹⁸⁹⁾)に分けて多数の品種の葉の発病を調査するとともに、鱗片発病の品種間差異も調べ¹¹¹⁾、いずれも発生が多い品種は幸水、長十郎、菊水などであった。以上は葉および鱗片における発病に関する報告であり、果実の発病に関しては銆方・小谷⁴⁷⁾が圃場観察から晩三吉と鴨梨は多く、二十世紀や慈梨は少ないと報告している程度である。

本病の潜伏期間は、葉への接種実験の結果から13日内外¹⁴⁵⁾、最短21日で最長32日であると報告され⁴⁷⁾、さらに、山本・田中²⁴²⁾は、葉令と潜伏期間の関係から、展開5~6日後の葉では7~10日、最長35日で、通常15~16日であると報告している。

本病の防除法については、第二次世界大戦以前にも多くの報告がある^{5, 6, 15, 32, 33, 34, 37, 39, 45, 46, 137, 145, 181, 186, 236)}。これらを総括すると、休眠期には石灰硫黄合剤単用またはPCP剤との混用液の散布、生育初期以降にはボルドウ液や石灰ボルドウ液の散布を勧めている。戦後になると、各種有機合成殺菌剤が開発され、その実用化試験が行われた^{2, 48, 107, 110, 113, 114, 120, 126, 237)}。その中で、ベンズイミダゾール系薬剤は、従来使用がすすめられてきた薬剤とは異なり、薬

害発生心配が無く、高い治療効果があることから、御園生・深津^{113,114)}は、本病菌の生態に基づいて、休眠期散布、萌芽直後頃から開花直前頃までの散布、落葉直前の散布により、いずれの場合も高い効果を確認した。しかしながら、その後ベンズイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌（以下耐性黒星病菌または単に耐性菌とすることもある）が出現し^{49,62,121,135)}、防除上大きな問題となり、日本植物防疫協会が中心となって対策試験が実施されると共に¹²⁸⁾、耐性菌の検定法^{49,50)}、本病原菌の薬剤耐性程度と防除効果の低下程度⁵²⁾、耐性の遺伝^{53,54,55,59)}、耐性の機作⁵⁸⁾、負相関交差耐性剤の耐性菌に対する作用性と防除効果等の諸研究が行われた^{55,59,122,123,197,198)}。近年、エルゴステロールの生合成阻害を作用点とする全く新しいタイプの殺菌剤が実用化され^{35,184)}、この系統の薬剤はベンズイミダゾール系薬剤耐性菌に対しても感性菌と同様に高い効果のあることが報告された^{197,198)}。

以上、ナシ黒星病菌の分類、培養的諸性質および本病の発生生態と薬剤防除に関する過去の研究について述べたが、ナシの重要病害であるにもかかわらず効果的な防除法を確立するための研究は必ずしも多くなく、しかもその中には古いために実用性が低くなっている例が多い。また、これまでに発表されてきた諸研究において最も欠けている点として病原菌の定量法がある。それを解決する方法として、懸濁液中の孢子数を効率よく濃縮するために寒天液濃縮法を考案し²¹⁸⁾、孢子数を定量的に把握しながら発生生態の究明を行った^{214,219,220,221,224)}。また、培地上における完全世代の形成²⁰⁸⁾、菌体内可溶性タンパク質のディスク電気泳動によるニホンナシ、セイヨウナシ両黒星病菌の比較²⁰⁹⁾、幸水の果実における発生生態²²⁸⁾とその防除法^{213,225)}、葉への接種後の濡れ保持時間および温度と発病程度²²⁶⁾、第一次伝染源の種類と発病²²²⁾、秋季防除法^{206,211)}、薬剤防除法^{205,210,212,216,223)}、ベンズイミダゾール系薬剤に対する耐性菌の簡易迅速な検定法²⁰⁷⁾、耐性菌の発生推移と防除法²¹⁵⁾、葉中の全窒素およびその

他の成分濃度と発病程度²²⁷⁾など感染と発病に関与する諸条件およびその防除法を明らかにしてきた。本論文は、これらの主要な成果をニホンナシ黒星病の発生生態と防除として取りまとめたものである。

本論文を草するに当たり、貴重な助言と本論文の校閲を賜った恩師岩手大学名誉教授津山博之博士、北海道大学農学部教授生越 明博士、同教授木村郁夫博士、同教授喜久田嘉郎博士にはここに記して衷心より深謝の意を表する。

本研究を行うに当たり、農林水産省果樹試験場前保護部長田中寛康博士、同果樹試験場元場長山口 昭博士、同前連絡科長高梨和夫博士、同保護部長佐久間保博士、同企画連絡室長柳瀬春夫博士、同病害第二研究室長工藤 晟博士、同病害第一研究室長石井英夫氏、農林水産省東北農業試験場室長宮井俊一博士、農林水産省農業環境技術研究所元農薬動態課長上杉康彦博士には懇切な助言と指導を賜った。各県農業試験場、園芸試験場および青森県りんご試験場の各位には貴重な助言、病原菌の分譲、罹病標本の送付、文献の収集等でお世話になった。

本研究実施中在任された千葉県農業試験場長故稲子幸元氏をはじめ各場長には研究の遂行に当たって特段の御配慮と御鞭撻を賜った。当场病虫害研究室故御園生 尹氏、同元次長長井雄治博士、生物工学研究室長藤家 梓博士、果樹研究室長関本美知氏、同主任研究員石田時昭氏、同研究員川瀬信三氏、地力保全研究室研究員安西徹郎博士、病虫害防除所次長村田明夫氏などには成績の取りまとめや分析実験等で懇切な助言と指導をいただき、また、当场病虫害研究室室員の方々は実験を遂行上多大な協力を惜しまれなかった。また、現地実験遂行上担当の普及員、千葉県農業経済連技術普及室の室員および農家の方々に種々お世話になった。ここに記して感謝の意を表する。

1 病徴

鱗片上では冬季から発病し、その病斑は黒ずんだ灰色をしていた（図版V-6）。晩冬から病斑上に分生子が形成されると共に病斑は鱗片基部すなわち芽基部（後に花叢基部、さらに果叢基部となる。このようなナシの生育段階の変化を伴う場合は、以下では原則として花（果）叢基部とする）にも達し、そこに新たに病斑が形成されるとともに分生子が多量に形成され、第一次伝染源となった（図版I-2-3）。

葉身部に発生した病斑は、初め淡黄緑色の輪郭のはっきりしない小さな斑点で、やがて拡大しながらその上に分生子梗を密生し、そこには分生子が多量に形成され、黒色を呈した。葉肉部の古い病斑はやがて中心部からえ死する場合が多かった。中肋部や葉柄上には、初め分生子梗や分生子がまばらに形成されるため、黒色の細かな粒が散在しているように見えたが、やがて分生子梗が密生し、分生子が多量に形成され、黒色を呈するようになった（図版I-1-1）。以上の病徴は主に春から夏まで認められ、田中・山本¹⁸⁹⁾は「春型病斑」と呼び、また、夏季以降成熟した葉の裏面には、薄くまばらに分生子が形成され、一見薄墨色を呈し（図版I-1-2）、田中・山本¹⁸⁹⁾は「秋型病斑」と呼ぶことを提唱した。このように、葉の病徴は春季のものと夏～秋季のものとの間に違いがあった。

開花後約2週間以内に感染した幼果では、いくらか品種間差異は認められるがいずれも多発した。初め淡黄緑色の小さな斑点を生じ、その後病斑は急速に拡大するとともに、その上に分生子が多量に形成され、すすを塗り付けたように見えた（図版I-1-3）。その後の発生様相は主要栽培品種の中で幸水とその他の品種とでは明らかに異なり、幸水では幼果期の場合と同様に初め黄緑色のそして後にはだいたい色の病斑を生じ、その病斑上にややまばらに分生子梗が、次いで

その上に分生子が形成された（図版 I - 2 - 1 ~ 2）。病斑は、発病約 2 週間後には茶～黒褐色に変わる場合が多く、また、病斑部分は果実の肥大が妨げられ、えくぼ状となる場合もあった。一方、長十郎や豊水などでは初発病時から果実表皮の色の変化はほとんどなく、また、病斑上に分生子が形成されることはまれで、やがて黒色のかさぶた状となり、病斑の拡大程度も小さかった。また、病斑部を起点にしばしば裂果した（図版 I - 1 - 4）。

新梢上には初め黒褐色の斑点を生じ、その後病斑上に分生子がやや多量に形成されることが多かったが、雨などで分生子が一旦離脱した後には再形成されることはまれで、その後かさぶた状でへこみの浅い病斑となった（図版 I - 2 - 4）。新梢の感染部位は伸長後間もない若い組織の部分に限られていた。

2 被害

幼果期においては、肥大後期の果実では発病がほとんど問題とならない長十郎や豊水でも多発した。肥大後期に発病が問題となるのは現在の主要品種の中では幸水に限られ、しかもその生育段階に応じて感受性はかなり大きく変化した。すなわち、開花後約 25 日から一度急激に低下した感受性は開花後約 55 日から再び徐々に高まった。また、裂果の原因となり（図版 I - 1 - 4）、裂果しない場合でも病斑の大きさや数の多少に応じ、出荷基準が 1 ~ 3 段階下げられ、収入の低下に結び着いた。

葉における発病は、品種間差異がきわめて顕著で、豊水、八幸、長十郎、幸水には多発し、菊水、長寿、新水、新星などは中程度、新興、晩三吉、巾着などには、ほとんどまたは全く認められなかった。葉柄部に発病すると落葉しやすくなった。

枝における発病の品種間差異もかなり顕著で、幸水、豊水、新星、八幸などは多発し、長十郎、八雲、新水などは中程度、晩三吉、巾着などでは病斑の形成は

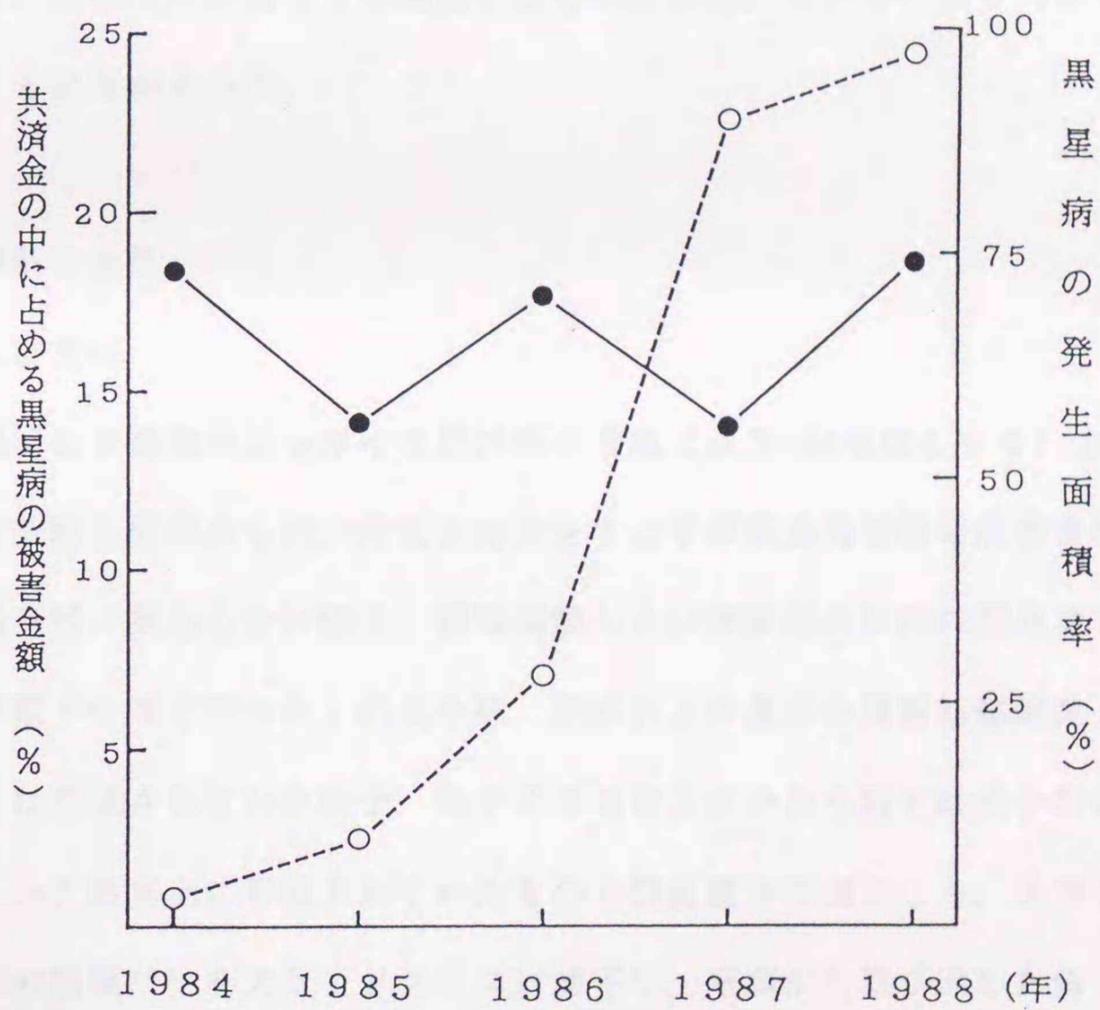
通常認められなかった。その被害は、発病部からやや折れ易くなる程度であった。

3 経済的損失

ナシの諸被害中に占める黒星病の比率を、千葉県農業共済連におけるナシの項の支払い共済金に対する黒星病の被害の補償額の割合として求め、この期間における黒星病の発生程度^{139, 140)}と関連させた(第2-1図)。この図で明らかのように、共済金中に占める黒星病を対象に支払われた割合は年度により大きく異なるが、1987年および1988年には20%以上にも達していた。

4 考察

ナシ栽培には多くの労力と高い栽培技術が要求される。そのために、水田転換作物などとして新たに栽培が始められる例は少なく、市場の需要に対して供給過剰となる可能性はほとんど無さそうである。従って、ナシの販売価格はかなり安定しており、この点では経済性の高い作物と言える。ところで、ナシ栽培において経営上最も不安定性をもたらす要因は、雹害、台風や晩霜などの自然災害を除けば病虫害の発生であり、最近では幸水と豊水の栽培面積比率が高まっているので、病虫害の中で主として問題となるのは黒星病である。千葉県では、黒星病の防除が完全に行われればその年の収入は確保されたと言っても過言ではなく、そのために、千葉県ナシ病虫害防除暦¹²⁾の病害の項では黒星病が防除の主対象病害とされ、薬剤の選択と散布時期が決定されている。その結果、薬剤散布回数は多いが、本病を対象とした散布の削減は仮に実験的には可能であったとしても、現状では農家に受け入れられる余地はほとんど無い。このように、本病の発生が生産および経営の両面に及ぼす影響はきわめて大きいと言わねばならない。



第2-1図 千葉県における共済金の中に占める黒星病の被害金額
および黒星病の発生面積率の推移

- 共済金の中に占める黒星病の被害金額
- 黒星病発生面積率

第3章 病原菌の所属

ニホンナシ黒星病菌の分類学的所属については、若干変遷があったが、現在は田中・山本¹⁸⁹⁾により、セイヨウナシ黒星病菌 (*Venturia pirina* (Cooke) Adh.) から分けられ、新種として *V. nashicola* Tanaka et Yamamoto と命名することが提唱され、今日に至っている。本研究を進めるに当たり、病斑上に形成された分生子および落葉上に形成された子のう胞子を供試し、また、自然発病の病斑を調査したので、これらがはたして本病菌であるか、また、それらによる病気であるかを確認する必要がある。

1 病原菌の形態

材料および方法

菌糸の幅はショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地（以下PSA培地とする）上で培養した単孢子分離2菌株のもの、分生子の大きさは千葉県農業試験場病害虫研究室ナシ園（以下特に断わらない限り、圃場実験および実験用の試料の採取はすべて病害虫研究室ナシ園で行った）の長十郎、幸水および豊水の果叢基部病斑上または葉病斑上に形成されていた胞子、偽子のう殻および子のう胞子は長十郎の樹下に散乱していた落葉上に形成されていたものを顕微鏡下で測定した。子のうの観察は、Melzer試薬²⁰¹⁾をスライドグラスに滴下し、落葉から取り出した偽子のう殻を試薬液中に浮かべ、カバーグラスで押しつぶし、顕微鏡下で行った。なお、菌糸の幅を除く対照には、岩手県園芸試験場内および青森県畑作園芸試験場内の無防除のFlemish Beautyの罹病果実上の分生子および落葉上の偽子のう殻および子のう胞子を供試した。

実験結果

菌糸の幅は分離菌によりやや異なり、約3.05~3.75 μ mであった。

ニホンナシ菌の分生子は無色から暗褐色で、通常単細胞であるがまれに2細胞

からなる胞子も認められ、長卵形から紡錘形であり、対照としたセイヨウナシ菌の分生子も長卵形から紡錘形であったが、ニホンナシ菌の方が小さく、長さおよび幅とも統計的に有意な差(0.1%)が認められた(第3-1表)。

ニホンナシ菌の偽子のう殻は茶~黒褐色で擬宝珠形から丸みを帯びた偏円錐形であり、高さは124.4 μm 、幅は133.15 μm であった。対照としたセイヨウナシ菌の偽子のう殻は正球形から楕円形を立てた形で、ニホンナシ菌の方が小さく、高さにおいて統計的に有意な差(5%)が認められたが、幅については認められなかった。

子のうはMelzer試薬により染色され、顕微鏡下で観察を行ったところ、二重壁構造であることが確認された。

ニホンナシ菌の子のう胞子は無色から黄褐色で、隔膜によって大小2室に分かれ、子のう中で見た場合先端部の細胞の方が大きく、靴底型であった。対照としたセイヨウナシ菌も同様に靴底型であり、ニホンナシ菌の方が小さく、全長および幅ともに統計的に有意な差(0.1%)が認められた(第3-2表)。

2 交互相種

ニホンナシ菌はニホンナシのみに、セイヨウナシ菌はセイヨウナシのみに病原性があるとされるので¹⁸⁹⁾、この事を確認しようとした。

材料および方法

ニホンナシ菌は殺菌剤無散布の長十郎に自然発病した葉病斑上の分生子、また、セイヨウナシ菌は岩手県園芸試験場場内圃場で殺菌剤無散布のFlemish Beautyに自然発病した葉および果実病斑上の分生子を展着剤のA剤(商品名:アイヤー20、主成分名および濃度;ポリオキシエチレンアルキルアリルエーテル10.0%+ポリオキシエチレンアルキルエステル10.0%、以下A展着剤とする)10,000倍希釈シヨ糖1%加用脱イオン水に懸濁(以下の実験では特に断わらない限りこの液に懸

第3-1表 ニホンナシおよびセイヨウナシ黒星病菌分生子の大きさ

病原菌	供試菌	長さ ^{a)} (μm)		幅 ^{a)} (μm)	
		\bar{x}	\pm S.D.	\bar{x}	\pm S.D.
ニホンナシ菌	1 ^{b)}	15.75	\pm 2.41	6.40	\pm 0.83
	2 ^{b)}	15.83	\pm 2.57	6.58	\pm 0.74
	3 ^{c)}	14.75	\pm 1.80	6.88	\pm 0.60
	4 ^{d)}	14.30	\pm 1.84	7.53	\pm 0.56
平均		15.15	\pm 2.16	6.85	\pm 0.68
セイヨウナシ菌	1 ^{e)}	23.03	\pm 3.04	8.18	\pm 0.63
	2 ^{e)}	22.03	\pm 2.10	7.83	\pm 0.39
	3 ^{f)}	21.65	\pm 2.28	8.10	\pm 0.64
	4 ^{f)}	23.83	\pm 2.92	7.60	\pm 0.70
平均		22.63	\pm 2.59	7.93	\pm 0.59

a) 各25分生子の測定結果、 \bar{x} ; 平均値、S.D. ; 標準偏差。

b) 長十郎(葉病斑上の分生子、以下cおよびdとも同じ)。

c) 幸水。

d) 豊水。

e) 岩手県産の果実病斑上の分生子。

f) 青森県産の果実病斑上の分生子。

g) 分散分析の結果統計的に長さ ($P < 0.001$) および幅 ($P < 0.001$) とも有意。

第3-2表 ニホンナシおよびセイヨウナシ黒星病菌子のう胞子各部の大きさ

病原菌	供試菌	全長 ^{a)} (μm)	長細胞 ^{a)} (μm)	短細胞 ^{a)} (μm)	幅 ^{a)} (μm)
		$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	$\bar{x} \pm \text{S.D.}$
ニホンナシ菌	1 ^{b)}	15.66 \pm 1.19	11.66 \pm 0.33	3.88 \pm 0.62	6.30 \pm 0.46
	2	15.21 \pm 0.70	10.91 \pm 0.60	4.28 \pm 0.40	6.14 \pm 0.44
	3	15.47 \pm 1.03	11.45 \pm 0.85	4.03 \pm 0.96	7.41 \pm 0.50
	平均値	15.45 \pm 0.97	11.34 \pm 0.58	4.06 \pm 0.66	6.62 \pm 0.47
セイヨウナシ菌	1 ^{c)}	18.47 \pm 1.09	11.99 \pm 0.77	6.49 \pm 0.35	7.21 \pm 0.39
	2 ^{c)}	17.75 \pm 1.06	11.7 \pm 0.76	6.05 \pm 0.80	6.97 \pm 0.36
	3 ^{d)}	18.33 \pm 1.24	11.4 \pm 0.82	6.93 \pm 0.87	7.29 \pm 0.19
	4 ^{d)}	17.56 \pm 1.81	11.05 \pm 1.17	6.39 \pm 1.01	7.11 \pm 0.44
	平均値	18.03 \pm 1.30	11.54 \pm 0.88	6.46 \pm 0.76	7.14 \pm 0.34

a) 1試料当たり20個の子のう胞子の測定結果、 \bar{x} ; 平均値、S.D. ; 標準偏差。

b) 1~3は千葉県産ニホンナシ菌。

c) 岩手県産セイヨウナシ菌。

d) 青森県産セイヨウナシ菌。

e) 分散分析の結果統計的に全長 ($P < 0.001$) および幅 ($P < 0.001$) とも有意、長細胞と短細胞については統計未処理。

濁し、常法と記す)し、その孢子濃度が約 4×10^5 /mlとなるようにトーマ式血球計算盤(以下単に血球計算盤とする)を用いて調製した。この懸濁液を、鉢植えのニホンナシ品種の豊水、幸水、長十郎、セイヨウナシ品種のFlemish Beautyにクロマトグラフ用の霧吹器で葉が十分濡れるように噴霧し、蛍光灯照明下の20℃、湿度100%下に36時間保持後、周囲に伝染源の無い場所で管理し、接種20~45日後まで適時発病の有無を調べた。

実験結果

ニホンナシ菌を接種した3品種のニホンナシ(幸水、豊水および長十郎)には接種20日後の調査で発病が認められたが、セイヨウナシ(Flemish Beauty)には45日後においても発病が認められなかった。一方、セイヨウナシ菌を接種したセイヨウナシには接種30日後頃から秋型病斑と同様な病斑が裏面に認められたが、ニホンナシ3品種には発病が認められなかった。

3 菌体内可溶性タンパク質のディスク電気泳動によるニホンナシ菌とセイヨウナシ菌の比較

ディスク電気泳動は反応が鋭敏であり、菌体内可溶性タンパク質の泳動パターンの相違に基づいて病原菌や植物の分類に既に利用されているので^{24, 26, 27, 29, 30, 229)}、ニホンナシおよびセイヨウナシ両黒星病菌の分類に応用してみた。

実験材料および方法

ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の場合、種固有以外のバンドが出現する可能性があるため、すべて感性の単孢子分離菌のニホンナシ菌7菌株、セイヨウナシ菌2菌株、対照としてリンゴ黒星病菌(以下原則としてリンゴ菌とする)4菌株を供試し、予備実験で液体培地中で振とう培養した場合酵母MY培地(酵母粉末3g、麦芽粉末3g、ペプトン5g、グルコース10g、水1ℓ、pH6.5)において生育が良好であったので、この培地を用い、22℃、暗黒下で振とう培養した。この

方法で15~30日間前培養後、各菌体の一部を10mlの滅菌水中でホモジナイザーを用いて無菌的に破碎し、3mlの菌糸破碎液を50mlの同培地に移植し、最適培養日数についての検討結果から、同条件でさらに5~12日間培養した。培養後、蒸留水で洗浄した生菌体2gに、Staples and Stahmann¹⁷⁵⁾の方法に準じ、0.5Mシュークロースおよび0.05M 2-メルカプトエタノールを含む0.1Mトリス-HCl (pH 8.0) 抽出緩衝液10mlを加えてガラスホモジナイザーを用いて摩砕し、4℃、10,000回転で20分間の遠心分離によって得られた上清を、さらに4℃、40,000回転で90分間遠心処理を行い、得られた上清を50%シュークロース溶液中で透析して可溶性タンパク質を得た。試料のタンパク質含量はWilliams and Chase²³⁴⁾の方法によって定量し、そのタンパク質含量が3,000 μ g/mlとなるようにトリス-HCl抽出緩衝液を加えて調製し、泳動用試料とした。

ディスク電気泳動試薬は、Davis¹⁷⁾の方法を多少変用した宇井²⁰⁴⁾の方法に従い、電気泳動の具体的操作は宇井の方法²⁰⁴⁾に準拠し、泳動用ガラス管(内径5mm、長さ75mm)当たり試料50 μ l(タンパク質量150 μ g)を、通電開始から泳動先端部が濃縮ゲルを通過するまでは泳動管1本当たり2mA、分離ゲル内では3mAを流した。泳動終了後、直ちにガラス管を装置から外し、ガラス管からゲルを取り出した。なお、泳動は5℃に保った定温器内で行い、1試料当たり2~3回反復した。ガラス管から取り出したゲルを直ちに1%アミドブラック10B(7%酢酸液で溶解)で1時間染色し、その後7%酢酸液で余剰の色素を脱色した。

供試ゲルの泳動パターンは、散乱透過光線下で観察し、染色されたフラクションの位置と濃さからダイアグラムを作成した。各フラクションのRf値は、フラクションの濃縮ゲル基部からの移動距離を泳動先端部の移動距離に対するパーセントとして表示した。

実験結果

泳動パターンにおいて幅が広くまた濃く染色されるフラクション(以下主要な

フラクションとする)は、その濃淡にやや違いのある点を除けばニホンナシ菌では30個が確認され、その中23個は7菌株中少なくとも6菌株に共通してその存在が認められた(第3-3表)。セイヨウナシ菌では27個の主要なフラクションが確認され、その中20個のフラクションは2菌株に共通してその存在が認められた。リンゴ菌では30個の主要なフラクションが確認され、その中20個のフラクションは4菌株全てに共通して認められた。

ニホンナシ、セイヨウナシ両黒星病菌の泳動パターンの相違を比較するために、両菌と分類学上近縁のリンゴ黒星病菌を比較対照にし、ディスク電気泳動において各菌群間で共通に認められた主要なフラクションの数を調べた。その結果、ニホンナシ菌とセイヨウナシ菌間に共通して認められるフラクションは14個、ニホンナシ菌とリンゴ菌間に共通して認められるフラクションは15個、セイヨウナシ菌とリンゴ菌間に共通して認められるフラクションは12個であった。

4 考察

ニホンナシ黒星病菌は、古くはセイヨウナシ黒星病菌と同一種とみなされ、*Venturia pirina* (Cooke) Adh.とされていた⁴⁵⁾。その後、田中・山本¹⁸⁹⁾は枝病斑における病徴の違い、分生子、偽子のう殻、子のう胞子の大きさの違いおよび交互接種による病原性の違いから新種と判断し、*V. nashicola*とする学名を与えた。しかし、その後も*Venturia*属菌の分類¹⁷²⁾または病原菌の分類²⁰²⁾に関する成書では同種異名として扱われている。このように、両菌は形態上非常に似かよっている。そこで、ナシ園に自然発病していたニホンナシ菌の分生子、偽子のう殻、子のう胞子の大きさと既往の結果とを比較したところ、田中・山本¹⁸⁹⁾の報告した数値と同等かやや大きく、奥村¹⁴⁵⁾の報告した値よりはやや小さく、形態上は酷似していた。また、子のうは二重壁構造をしていた。さらに、石井・柳瀬⁵¹⁾はセイヨウナシ菌の分生子はニホンナシ菌に比べて長く、子のう胞子も同様に

第3-3表 3種黒星病菌体内可溶性タンパク質のディスク電気泳動による各黒星病菌内で共通する主要フラクシヨンのRf値

供試菌	フラクシヨンの番号 ^{a)}																															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
ニホンナシ菌	2.4	4.5	6.8	-	11.8	16.1	19.2	22.3	-	24.2	-	28.7	32.7	-	36.9	41.7	-	46.1	-	51.5	54.0	56.4	59.7	-	63.6	66.0	69.4	75.1	-	80.3	84.8	-
セイヨウナシ菌	2.4	4.6	-	10.3	11.6	16.0	-	21.7	23.2	-	25.6	28.1	31.9	-	37.0	41.4	-	48.3	51.2	54.1	55.6	-	61.3	-	-	69.8	75.0	78.4	-	-	-	
リンゴ菌	2.4	4.6	-	10.5	12.1	15.9	19.7	21.9	-	24.8	26.6	-	32.1	34.9	-	43.5	46.6	-	52.7	-	56.1	-	-	-	65.7	69.7	75.7	-	80.2	-	86.6	

a) Rf値の小さいものから並べた番号

b) セイヨウナシ菌は青森県と秋田県から送付を受けた罹病果実病斑上の分生子から単孢子分離で得た菌株。

c) リンゴ菌は青森県りんご試験場から分離を受けた単孢子分離菌株。

長く幅も広く、特に短細胞においてその差は顕著であると報告している。そこで、岩手県および青森県から送付を受けた自然発病の果実病斑上に形成されたセイヨウナシ菌の分生子の長さと幅をニホンナシ菌と比較したところ、ニホンナシ菌の方が小さく、両菌の大きさには統計的に有意(0.1%)な差が認められ、その後送付を受けた秋田県産のセイヨウナシ菌の長さも上記2セイヨウナシ菌と同じであった。また、同様に岩手県産および青森県産のセイヨウナシ菌の偽子のう殻および子のう胞子の大きさをニホンナシ菌と比較したところ、ニホンナシ菌の方が小さく、偽子のう殻では高さについてのみ統計的に有意(5%)な差が認められた。ただであったが、子のう胞子の全長および幅については統計的に有意(0.1%)な差が認められた。一方、糸状菌や植物の分類で試みられている菌体内可溶性タンパク質のディスク電気泳動法^{24,26,27,29,30,229)}により得られたフラクション数および位置について、ニホンナシ菌とセイヨウナシ菌とをリンゴ菌を対照にして比較した結果、3種菌間の相違は同程度であり、区別はかなり明瞭にできた。また、ニホンナシ菌とセイヨウナシ菌の病原性を調べたところ、従来の報告¹⁸⁹⁾と同様にニホンナシ菌はニホンナシのみに、セイヨウナシ菌はセイヨウナシのみに病原性を示した。セイヨウナシ菌は枝病斑上に分生子を多量に形成する^{11,19,82,101,189)}が、予備調査の結果、御園生・深津¹⁸⁸⁾、および高梨ら¹⁸³⁾の報告と同様に、ニホンナシ菌では分生子の形成は微弱か、または認められなかった。さらに、石井・柳瀬⁵⁶⁾は交雑実験により、ニホンナシ菌×チュウゴクナシ黒星病菌(以下原則としてチュウゴクナシ菌とする)では完全世代を形成したが、ニホンナシ菌×セイヨウナシ菌、チュウゴクナシ菌×セイヨウナシ菌の組合せでは完全世代は形成されなかったと報告している。これらの結果を基に、ニホンナシ菌とセイヨウナシ菌の異同を総合的に判断すると、田中・山本が報告¹⁸⁹⁾したように、両菌は別種とするのが妥当と考えられ、千葉県内に発生し、実験に供試した病原菌はニホンナシ黒星病菌(*Venturia nashicola*)と同定された。

第4章 病原菌の培養的性質

培養温度と培地上の菌糸の生育について、これまでにいくつか報告があり⁴⁷⁾、²⁴¹⁾、最適生育温度はほぼ20°Cとされている。さらに、山本・田中²⁴¹⁾は培地のpH、栄養源の種類と菌糸の生育量について実験し、最適pHは7.0だがそれよりアルカリ側および酸性側でも生育量はあまり低下せず、炭素源としては麦芽液、窒素源として $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ の添加は最良であったと報告している。ここでは黒星病菌の生態学的研究の一助とするために、培養的性質を検討することにした。

1 培養的諸性質

本病菌の生態的行動を把握するための一助として、千葉県内で分離されたナシ黒星病菌の培養的諸性質について検討した。

材料および方法

生育適温実験の培地にはPSAを用い、培地のpHと生育実験には滅菌処理によるpHの変化を避けるために、加熱溶解したPSA培地に細菌の増殖を抑え黒星病菌の生育には影響が認められないストレプトマイシン硫酸塩を $5\ \mu\text{g}/\text{ml}$ となるように添加した。このPSA培地中のpHが3~10になるように調整し、pH3の培地は直ちに直径9 cmのシャーレに分注した。その他の培地は、滅菌した三角フラスコに分注し、25°Cに一昼夜保ち、細菌など雑菌の汚染が無いことを確認した後、湯煎中で滅菌を兼ねて十分に溶解し、上記シャーレに分注した。

炭素源と生育、窒素源と生育、ビタミン類の種類と生育に関する実験にはリチャード培地（組成：硝酸カリ10 g、リン酸1カリ5 g、硫酸マグネシウム2.5 g、ブドウ糖20 g、蒸留水1 l）を基礎培地として用いた。炭素源の種類と生育実験では、基礎培地から糖を除き粉末寒天を1.5%添加した後1 NのNaOHでpH6.0に修正し、炭素源としてブドウ糖2%含有と当量になるように各糖（第4-3図）を加え、100°C、約30分間滅菌後直径9 cmのシャーレに分注し、平板とした。窒素源の

種類と生育実験では、基礎培地から硝酸カリを除き粉末寒天を1.5%添加し、窒素源を硝酸カリ1%含有と当量になるように各窒素化合物(第4-4図)を添加後、1NのNaOHでpH6.0に修正し、100°Cで30分間滅菌後上記シャーレに分注し、平板とした。ビタミンの種類と生育実験では、基礎培地に粉末寒天を1.5%添加した後1NのNaOHでpH6.0に修正し、内田²⁰⁰⁾が行った実験に準じて第4-1表に示した10種類のビタミンおよび濃度とし、その所定量を各1種添加した培地を作成し、100°Cで30分間滅菌後上記シャーレに分注し、平板とした。

第4-1表 供試ビタミン類の基礎培地に対する添加濃度

ビタミンの種類	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
チアミン	0.1
リボフラビン	0.5
ピリドキシン	1.0
パントテン酸カルシウム	1.0
ビオチン	0.005
ニコチン酸	1.0
コリン	1.0
p-Aminobenzoic acid	0.5
葉酸	0.005
i-イノシトール	1.0

供試菌として、生育適温、培地のpHと生育実験ではペノミルに対する最小生育阻止濃度(以下MIC¹⁵⁵⁾とする)が $0.19\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で感性菌と判定される1菌株、MICが $1.56\mu\text{g}/\text{ml}$ で中等度耐性菌と判定される1菌株およびMICが $100\mu\text{g}/\text{ml}$ で高度耐性菌と判定される1菌株の合計3菌株、その他の実験では感性菌を供試した。生育適温、培地のpHと生育実験では、PSA平板培地に移植し、15°C暗黒下であらかじめ約30日間培養した供試菌の菌糸を直径3.5mmのコルクボーラで打ち抜き、供試培地の中央部にその菌糸面が供試培地に接するように移植した。その他の実験では、あらかじめPSA平板培地で培養した供試菌の菌糸を10mlの滅菌水に取り、無菌的にホモジナイザーで破碎した菌糸細片を、直径約3mmの輪状にした白金耳で供試平板培地の中央部に移植した。実験は1区1シャーレ、3反復で行った。

供試菌を接種した培地は、生育適温実験では3、5、7、10、15、20、25、28および30℃、その他の実験では20℃暗黒下で培養した。生育適温実験および培地のpHと生育実験では移植した菌叢の直径(3.5mm)を除いた値、その他の実験では測定値を菌糸生育量とした。

実験結果

温度と生育では、各供試菌とも3℃でもわずかに生育し、10℃ではかなり良好に生育し、15~20℃で最も良好な生育を示した(第4-1図)。25℃では菌株により生育程度にかなりの差が認められ、28℃ではいずれの供試菌ともわずかに生育するだけであった。

培地のpHと生育では、全供試菌は実験を行ったpH3~10で生育した(第4-2図)。生育最適pHは4~8の間であったが、供試菌によりやや異なる反応を示した。

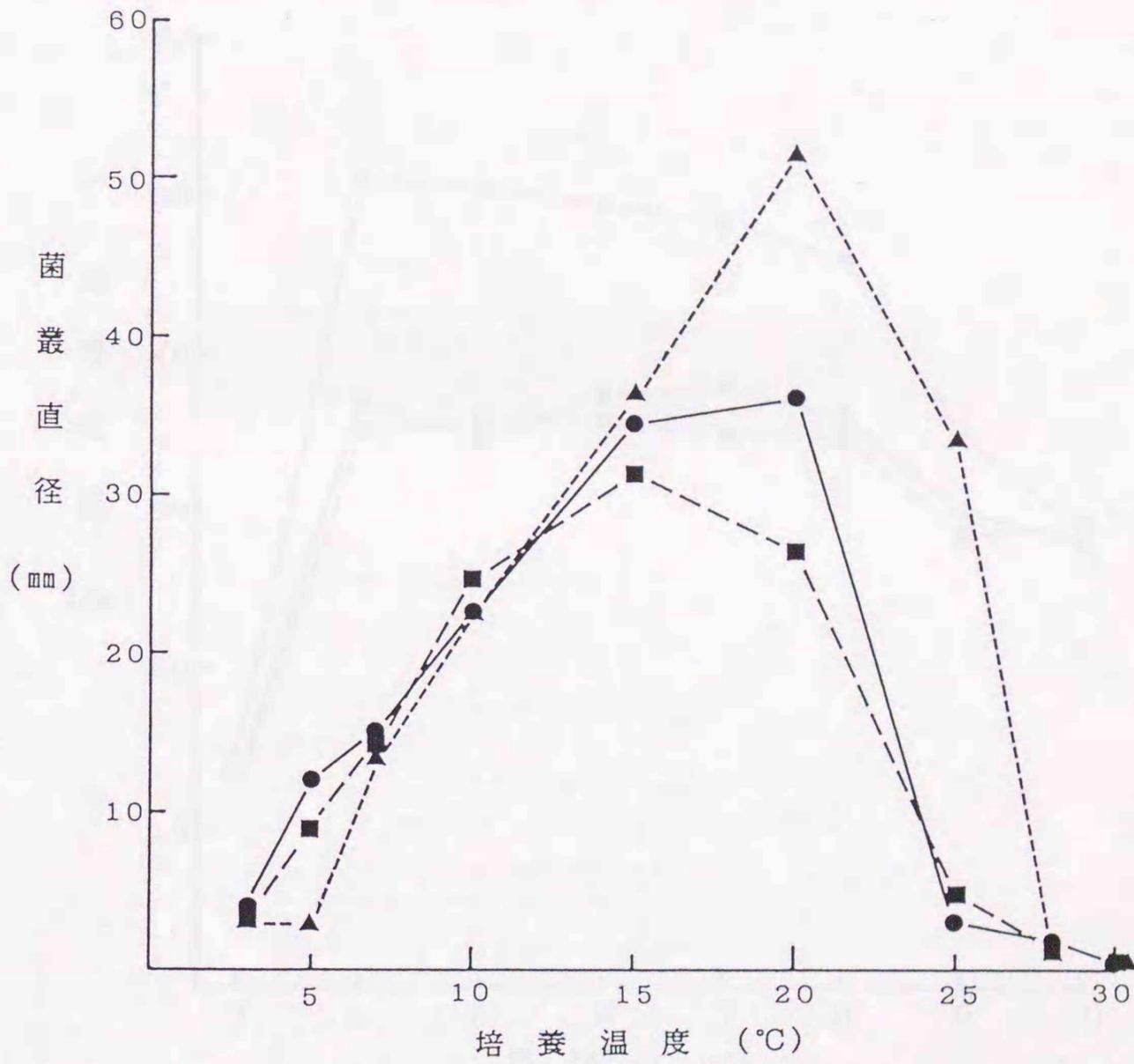
炭素源と生育では、糖の種類により明瞭な差を示した(第4-3図)。最も良好な生育は多糖類である可溶性澱粉を添加した場合であり、次いでデキストリンであった。

窒素源と生育では、本病菌は対照の基礎培地上でもよく生育し、対照培地よりも生育が良好であったのは、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、グリシン、L-アスパラギン酸を添加した場合であった(第4-4図)。

ビタミンの種類と生育では、イノシトール、コリン、チアミンおよびニコチン酸をそれぞれ単独に添加した場合に生育がいくらか促進される傾向が認められたが、その他のビタミン類を添加した場合には変わらないか、むしろ抑制された(第4-5図)。

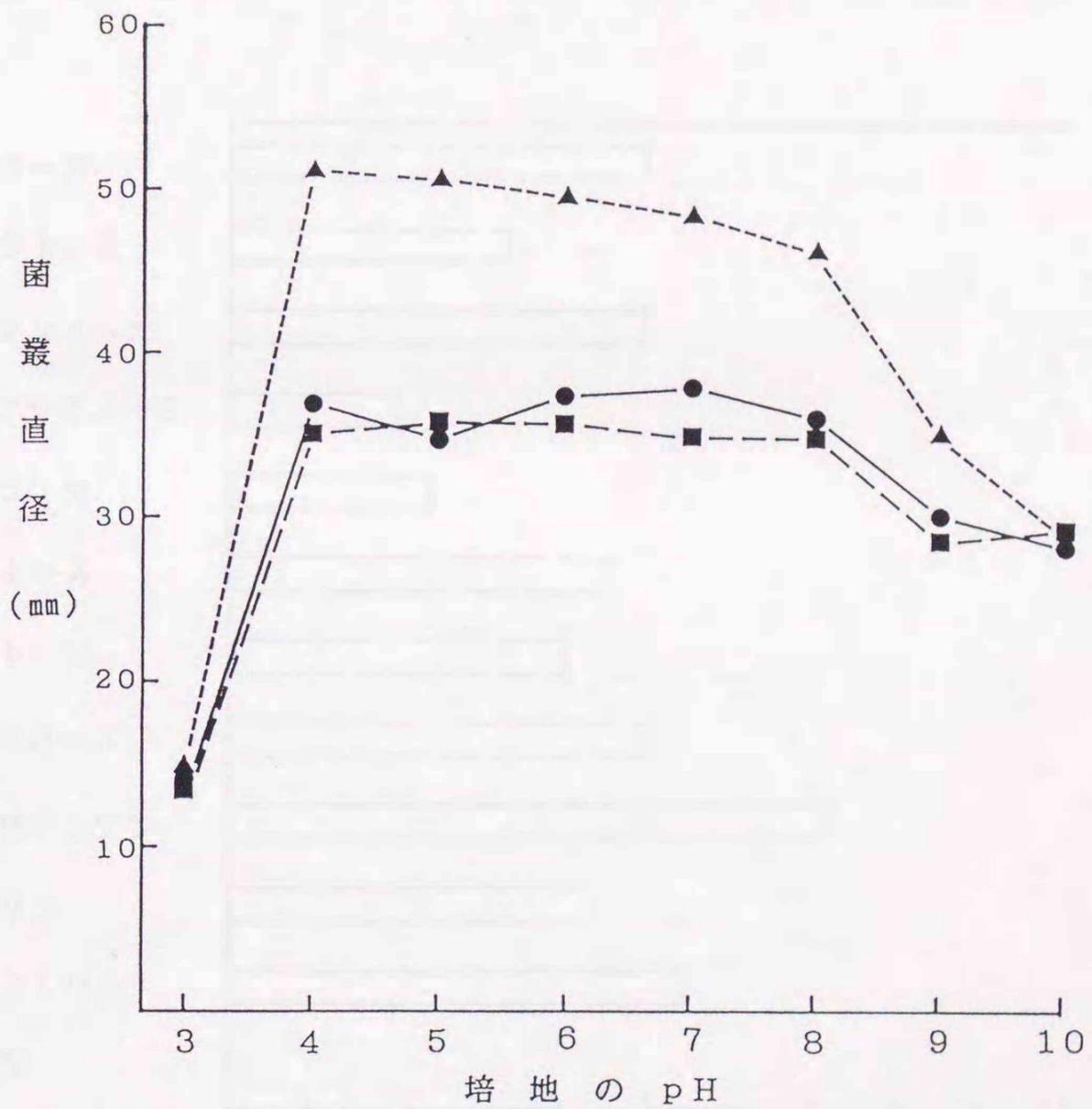
2 培地上における完全世代の形成

これまで、人工培養で検討されたことの無かった完全世代の形成について検討した。



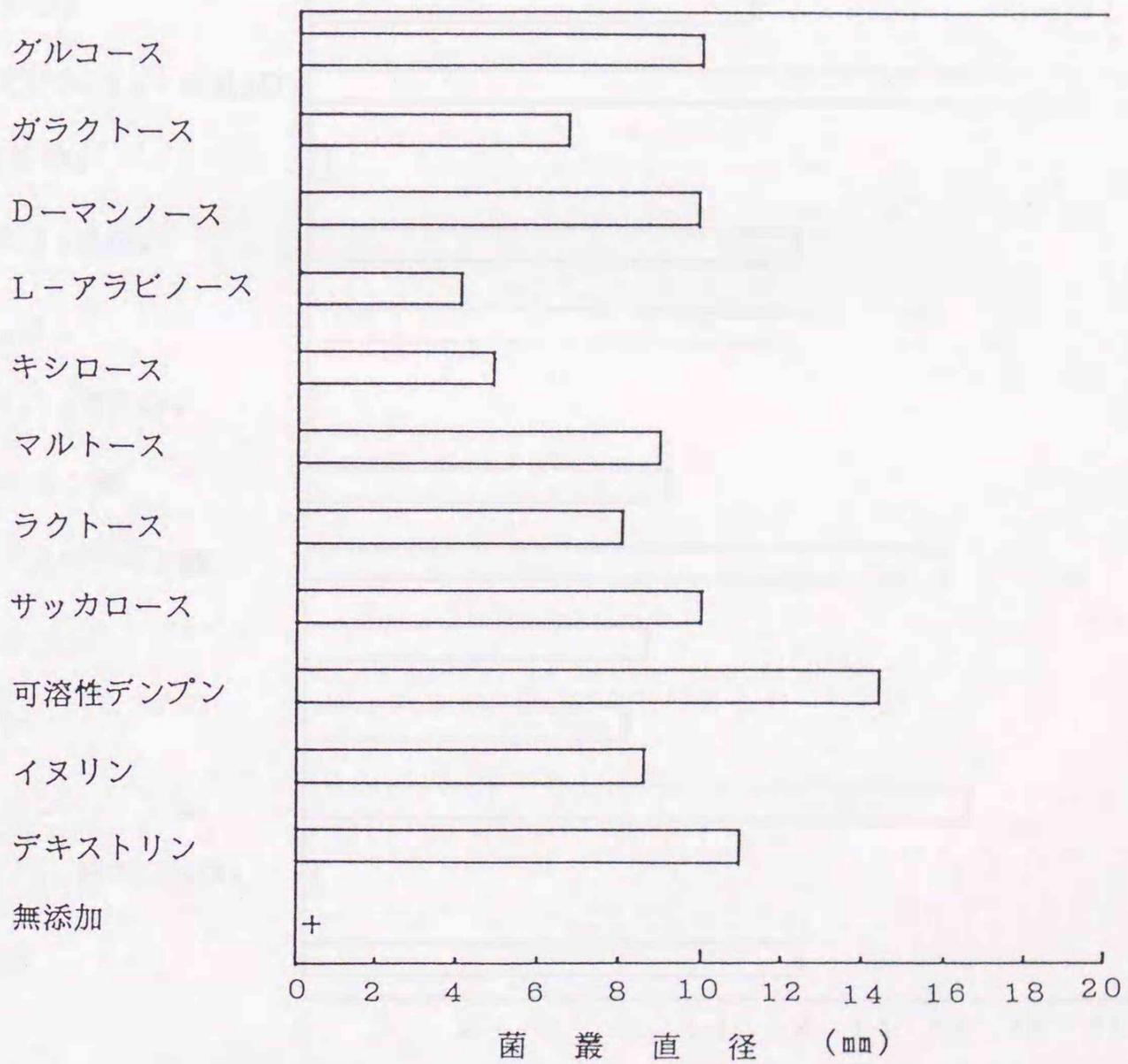
第4-1図 ナシ黒星病菌菌糸の生育と温度 (47日後)

●—● ベノミル 感性菌 ■---■ ベノミル 中等度耐性菌 ▲---▲ ベノミル 高度耐性菌

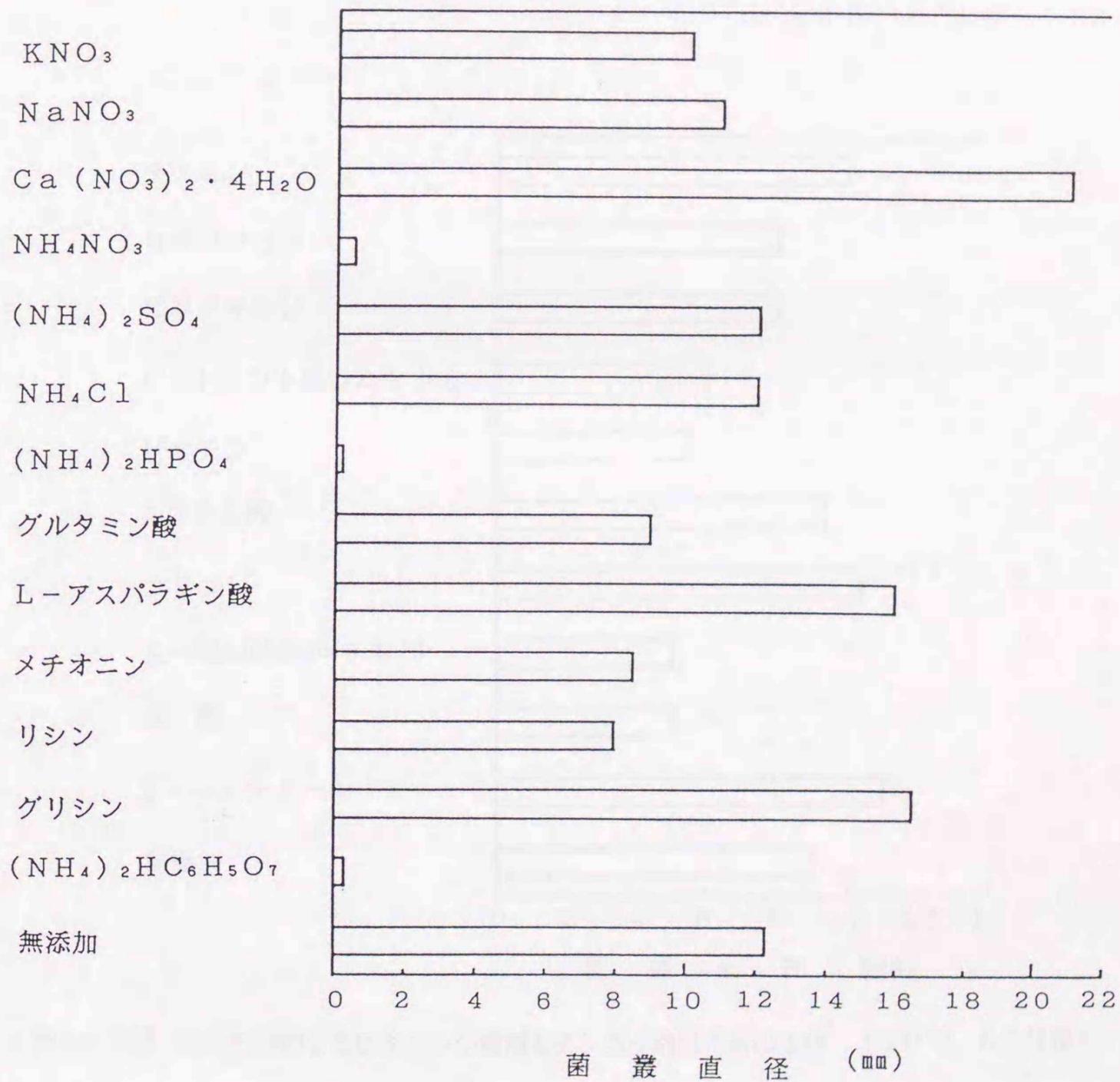


第4-2図 ナシ黒星病菌菌糸の生育と培地のpH (20°C、47日後)

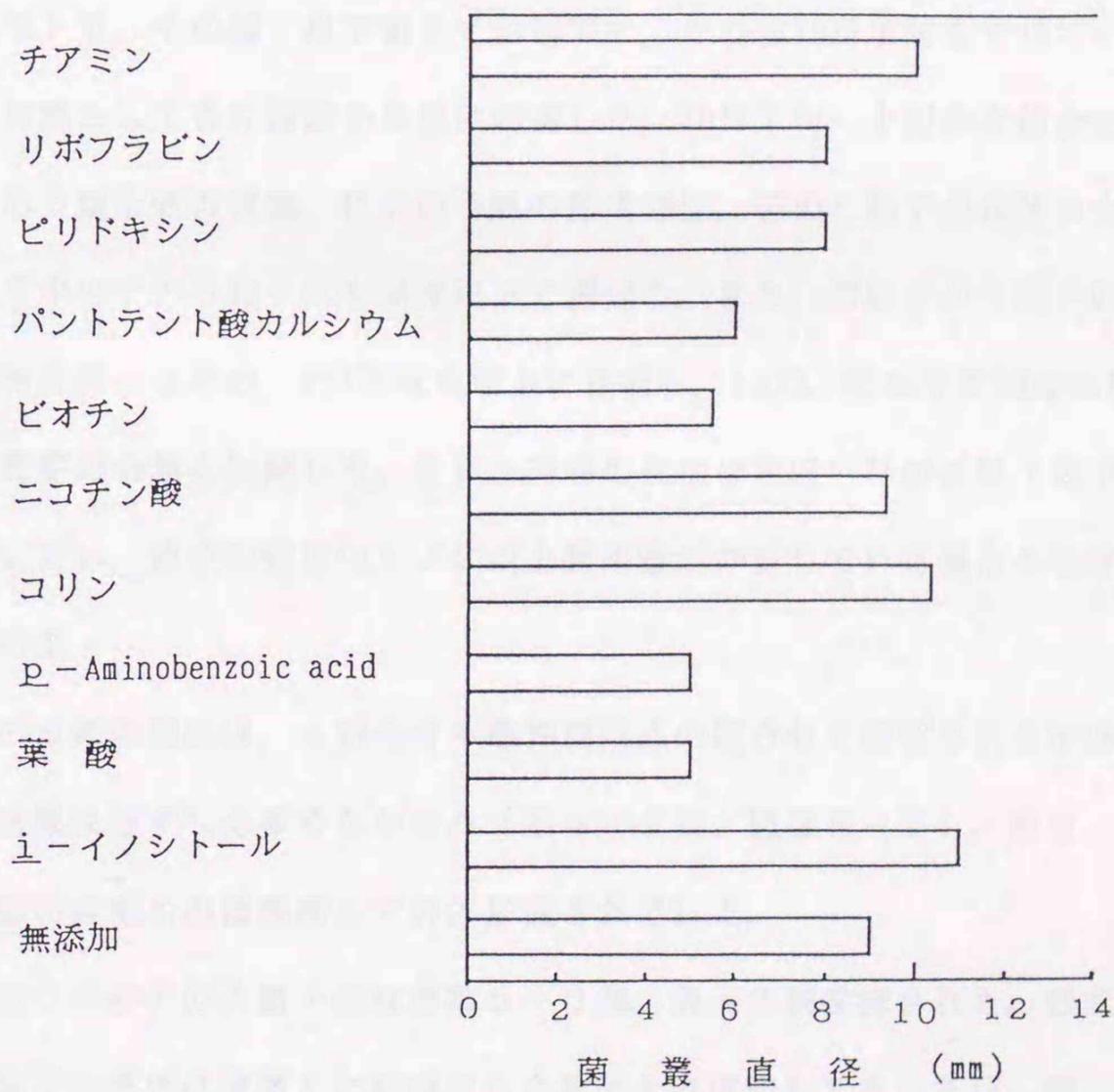
●—● ベノミル 感性菌 ■—■ ベノミル 中等度耐性菌 ▲—▲ ベノミル 高度耐性菌



第4-3図 培地に添加した炭素源の種類とナシ黒星病菌菌糸の生育 (20°C、61日後)



第4-4図 培地に添加した窒素源の種類とナシ黒星病菌菌糸の生育 (20°C、61日後)



第4-5図 培地に添加したビタミンの種類とナシ黒星病菌菌糸の生育 (20°C、61日後)

材料および方法

供試菌として、単孢子分離して保存してある菌株のうち、8菌株を供試した。各供試菌は、PSA斜面培地上、20°C暗黒下で前培養した後、PSA斜面培地上、25°Cで対峙培養を行った(図版II-1)。両菌の菌糸の先端部が互いに接触しているのを確認した1979年3月5日から6月16日まで野外の直射日光の当たらない場所(この期間最低気温約0°C、最高気温約27°C)で、それ以降は7月上旬まで室内(約25°C)で、その後7月下旬まで約10°Cで、その後10月下旬まで15°Cに保った。なお、対照として各分離菌を単独に培養した。10月下旬、上記の全組合せにおける偽子のう殻形成の有無、偽子のう殻の形成部位、子のう胞子の各部の大きさ、各子のう中の子のう胞子数を顕微鏡下で調べた。また、形成子のう胞子の発芽能力の有無を調べるため、PSA平板培地上に移植し、15°C、暗黒下で48時間培養後に胞子の発芽の有無を検鏡した。なお、発芽の判定は水沢¹¹⁷⁾の基準(以下常法と記す)に従い、胞子の短径の1/2以上発芽管が伸長している場合を発芽とした。

実験結果

偽子のう殻の形成は、4組合せ中感性菌同志の組合せで確認されたが偽子のう殻の形成数は必ずしも多くなかった(第4-2表、図版II-2)。なお、それらは供試菌の両菌糸の接触部分でのみ形成されていた。

各子のう中の子のう胞子数は通常5~6個、最大7個確認された。形成された子のう胞子の長さは落葉上に形成された胞子とほぼ同じであったが、幅は落葉上に形成された胞子よりやや狭かった(第3-2表および第4-2表)。形成子のう胞子の発芽は、この実験では認められなかった。

3 考察

人工培地上における、本病菌の菌糸生育の最低温度、最高温度、および最適温度ともこれまでに発表された報告^{47, 241)}とほぼ一致した。また、培地のpHと生育

第4-2表 培地上に形成されたナシ黒星病菌子のう胞子の大きさ

供試菌の ^{a)} 組合せ	全長 $\bar{x}^b \pm S.D.^b$	短細胞 $\bar{x} \pm S.D.$	幅 $\bar{x} \pm S.D.$
130×140	14.25 ± 0.87	4.18 ± 0.67	4.95 ± 0.23
123×131	15.73 ± 0.88	4.15 ± 0.59	4.88 ± 0.38

a) 各供試菌株の菌系統番号 ; 111 : 111-1-8、122 : 122-1-10、
123 : 123-1-10、130 : 130-1-10、131 : 131-1-10、140 :
140-1-10、143 : 143-1-10、150 : 150-1-11。

b) \bar{x} ; 平均値、S.D. ; 標準偏差。

に関して、山本・田中²⁴¹⁾はpH3において生育が認められないと報告したが、この点を除けばほぼ一致した。ちなみに、本病菌と分類学的に近いリンゴ菌に関するPalmiter¹⁴⁸⁾の結果ともほぼ一致した。一方、本病菌の生育は培地に添加した糖の種類によりかなり差を生じた。すなわち、キシロース、アラビノースの添加では生育は不良であったが、逆に可溶性澱粉の添加で最も生育が良かった。これらの結果は、山本・田中²⁴¹⁾が可溶性澱粉添加で生育が全く認められないと報告した点で問題が残るが、その他の点ではほぼ一致した。なお、リンゴ黒星病菌についてのLeben and Keitt⁹¹⁾の結果とはかなり一致した。無機の窒素源の種類と本病菌の生育量について行われた従来の報告²⁴¹⁾では NaNO_3 添加以外では生育は概して良好となっており、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、L-アスパラギン酸、グリシン以外では生育は変わらないかむしろ抑制された本実験の結果と異なった。この原因は、供試した基礎培地の違い、あるいはその他に原因があるのか否か明らかでない。一方、リンゴ菌では窒素源の添加により概して生育は向上した^{42, 91, 149)}。本病菌の生育に対するビタミン要求性についてはこれまで実験例がなかったので、クリ胴枯病菌の実験例²⁰⁰⁾に倣って実施した。各種ビタミン類を基礎培地に個別に添加した場合、生育を促進した例は少なく、また促進した場合でもその程度は低く、逆にパントテン酸カルシウムなどのように生育を抑制する例も認められた。一方、リンゴ黒星病菌では、ビタミン類を添加した結果生育が良好となった報告^{22, 42)}や、生育を促進したのはチアミンのみであったとする報告⁹¹⁾がある。しかし、リンゴ黒星病菌の生育においてビタミンは必須の栄養源ではないとされている⁴²⁾。本病菌について、リチャード培地を基礎培地に用い、ビタミン類をリンゴ黒星病菌で添加の効果があつたとされるFothergill and Ashcroftの実験²²⁾と同量添加してさらに実験を行ったが、上記実験で得られた以上に生育が良好となることはなく、ビタミン類は本病菌の生育には必須の物質ではないものと判定した。

培地上におけるニホンナシ菌の完全世代、すなわち偽子のう殻、子のうおよび

子のう胞子の形成に初めて成功した²⁰⁸⁾。この実験では、特定菌株の組合せでのみ完全世代が形成されたので、本病菌もセイヨウナシ菌⁸⁷⁾やリンゴ菌⁷⁷⁾と同様に異株性であることが示唆された。なお、本病菌は1子のうの中に通常8個の子のう胞子が形成されるのに対して、本実験では最大7個までしか確認されなかった。この原因として、偽子のう殻をスライドグラス上で押しつぶしてから調査したので、子のう先端部分が裂開しており、そのため子のう内にあった胞子が視野外に移動したことが考えられる。ここで得られた子のう胞子は、原因は不明であるが発芽能力を欠いていた。その後、Ishii and Yanase⁵³⁾は培地上で発芽能力のある子のう胞子を形成させることに成功し、これによって、リンゴ黒星病菌でBoone⁷⁾およびKeitte and Langford⁷⁸⁾が指摘したように遺伝学的解析が可能となり、薬剤耐性についてニホンナシ黒星病菌でも進められつつある^{53, 54, 55, 59)}。

第5章 ナシ黒星病の発生生態

ナシ黒星病の主な第一次伝染源は、古くはリンゴ黒星病と同じく病落葉上に形成される子のう胞子とされていた^{33, 47, 194)}。その後、御園生・深津¹⁰⁸⁾により、主として腋花芽の鱗片であるが、そこで秋季感染が起こり、翌年の厳寒期から発病し、早春には病斑上に分生子が形成されると共に鱗片基部すなわち芽基部（後に花叢基部、さらに果叢基部となる）にまで病斑が進展し、そこにも病斑が形成されるとともに分生子が多量に形成され、第一次伝染源になるという新たな伝染経路が発見された。そこで、これらの第一次伝染源の種類と初発病における重要性、第二次伝染に関する種々な問題点を明らかにすることに重点を置き、本病の発生生態について検討を行ったが、この研究を行う上で分生子懸濁液を効率的に濃縮する方法の確立が極めて重要であったので、この点についても検討した。

第1節 分生子懸濁液の効率的濃縮法

ナシ黒星病菌は雨媒伝染性の病原菌である。その生態学的研究において、伝染源から分散する胞子の状況、病気の蔓延過程などを究明するために、胞子数を定量的に把握し、その動向を調べることが必要である。従来、胞子の定量を行う場合、懸濁液を濃縮する方法がとられてきた。北島⁸³⁾はモモ炭そ病菌の胞子懸濁液を濃縮する場合に単純に遠心処理を行い成功し、ナシ黒星病菌の場合にもこの濃縮処理法がそのまま応用されてきた^{108, 183)}。しかし、本病菌の分生子は水に浮遊する性質が強いので、分生子懸濁液を単に遠心処理するだけでは非常に低率でしか胞子を濃縮できないことが明らかとなり²¹⁸⁾、新たに濃縮法を開発する必要がある。

1 寒天液濃縮法

材料および方法

供試菌は、本病が多発している長十郎の葉病斑上の分生子を脱イオン水に懸濁したものである。

最適寒天液濃度を明らかにするため、脱イオン水に粉末寒天を重量比0.05、0.1、0.2、0.3、0.4および0.5%となるように加え、約80°Cの湯煎中で十分に溶解させた。各濃度の溶解寒天液を2分し、約20°Cと約5°Cに保ち、寒天液の凝固の有無を調べた。寒天液を長期間保存するためには低温下に保つことが好ましく、また濃縮効率を高めるためには懸濁液に添加する量は少ないことが重要であるので、5°Cでも凝固しなかった0.1%寒天液が本実験の目的に最適であると判断した。

最適遠心処理時間を明らかにするために、規定容量10mlの遠沈管に10mlの分生子懸濁液を入れ、それに0.1%寒天液を0.5ml添加し、1、5、10、20および60分間650×gで遠心処理し、沈澱寒天液量と分生子数を調べた。

添加寒天液量と沈澱寒天液量との関係を明らかにするために、前述の方法で作製した0.05、0.1および0.2%の寒天液を用いた。規定容量10mlの遠沈管に10mlの分生子懸濁液を入れ、寒天液が0.05%の場合は1.0 ml、0.1%の場合は0.5ml、0.2%の場合には0.25mlをそこへ添加した。650×gで5分間以上遠心処理を行った後、寒天液を残して上清を捨て、沈澱寒天液量と分生子数を調べた。

沈澱寒天液中の分生子数を調査するため、遠沈管の底部に残った寒天液をタッチミキサーでよく攪拌し、その1滴を血球計算盤に取り、1サンプルについて顕微鏡下で5回以上反復調査した。なお、孢子数の少ない場合は、血球計算盤のスリット部とその周囲の平行線部分も加え、スリット部の体積に対して3.47倍の部分を調査対象とした。この場合、調査した孢子数を3.47で除した数を実孢子数とした。なお、以下の実験では全てこのようにして実孢子数を求めた。寒天液を添加しない従来の方法で調査する場合は、遠心処理直後に遠沈管の底部、上部から各0.2mlの懸濁液を採取し、寒天液を加えた場合と同様に調査を行った。

寒天液は冷蔵庫中（約5℃）で保存したが、寒天液の腐敗防止のために1ℓ当たりp-ヒドロキシ安息香酸2gとソルビン酸1gを添加する場合もあった。

分生子が水に均一に分散するために、界面活性作用のある市販のA展着剤50倍液を、5,000倍または10,000倍となるように分生子懸濁液に添加し、よく攪拌した。なお、分生子懸濁液に展着剤を添加した場合は、実孢子数を求めるために次式で補正した。調査孢子数×(100+孢子懸濁液100ml当たり添加展着剤液量)÷100。また、以下の実験で孢子懸濁液に展着剤を添加した場合は全てこのようにして補正した。

遠心処理後の孢子の発芽能力の調査は、シャーレに流し込んだ素寒天培地（以下WAとする）上で、あるいはスライドグラス上に滴下したショ糖1%加用懸濁液中で行った。孢子懸濁液を滴下後、WA培地の場合は直ちに上蓋をし、またスライドグラスの場合はシャーレの底に水道水で湿らせたろ紙を敷き、その上にスライドグラスを置き、上蓋をした。これらは15℃、暗黒下に48時間保った後、顕微鏡下で発芽の有無は常法に従い、さらに発芽管長も測定した。

実験結果

遠心処理を1分間行った場合、寒天液はほとんど沈澱しなかった。しかしながら、5分間以上遠心処理を行うと寒天層が遠沈管底部に集まった。しかも、寒天液量は処理時間とは関係なく0.2mlであった。その結果、5～60分間遠心処理を行った範囲では寒天液中にはほぼ同数の孢子数を計測できた。

寒天液の濃度、添加量別の沈澱寒天液量はいずれの場合でもほぼ0.2mlで同じであった（第5-1表）。すなわち、この実験の範囲内では添加純寒天量が同じであれば寒天液濃度が異なっても沈澱寒天液量は同じであった。そして、沈澱寒天液中の分生子数もほぼ同じであった。

遠心処理直後の分生子の存在部位を明らかにするために、前述の方法で分生子懸濁液に寒天液を添加し、対照は寒天液を添加しない分生子懸濁液を供試して遠

第5-1表 ナシ黒星病菌分生子懸濁液に添加した寒天液の濃度および添加量と遠心分離後の寒天層中に集まった孢子数^{a)}

添加寒天液		沈澱寒天液量 ^{b)} (ml)	分生子数 ^{c)}	
濃度(%)	添加量(ml)		\bar{x}	± S.D.
0	0	0	4.3	± 3.2
0.05	1.0	0.2	120.2	± 22.8
0.1	0.5	0.2	124.5	± 29.4
0.2	0.25	0.2	134.3	± 42.4

a) 分生子懸濁液量は10ml。

b) 遠沈管の底部に沈澱した寒天液量。

c) 10^{-3} ml中の分生子(12回調査の平均値)、 \bar{x} ; 平均値、S.D.; 標準偏差。

第5-2表 遠心分離後の遠沈管の部位別ナシ黒星病菌分生子数

分生子懸濁液の処理			遠沈管の 部位別懸 濁液 ^{d)}	分生子数 ^{e)}	
遠心 処理 ^{a)}	寒天液の 添加 ^{b)}	懸濁液の 再遠心 ^{c)}		\bar{x}	± S.D.
-	-	-	全体	2.94	± 1.47
+	-	-	上清	0.72	± 0.81
+	-	-	底部	3.75	± 2.97
+	+	-	上清	0.09	± 0.17
+	+	-	底部	112.10	± 47.87
+	+	+	底部	1.93	± 0.95

a) $650 \times g$ で25分間。

b) 0.1%寒天液を0.5ml添加。

c) 寒天液を添加し濃縮後の上清を再度遠心処理。

d) 遠沈管における寒天液の採取部位。

e) 10^{-3} ml中の分生子数(20回調査の平均値)、 \bar{x} ; 平均値、S.D.; 標準偏差。

心処理を行った。その結果、原液を遠心処理した寒天液中には非常に多数の分生子が認められたが、上清だけを再度遠心処理した寒天液中には極めて少数の分生子しか認められなかった（第5-2表、図版IV-1）。一方、懸濁液をそのまま遠心処理する従来の方法では、遠心処理直後においても遠沈管の底部に沈澱した孢子数は少なく、他方上部には原液の孢子数よりは少ないが、かなりの数の分生子が存在していた。以上の結果から、黒星病菌分生子の懸濁液を濃縮する場合、懸濁液をそのまま遠心処理すると濃縮され難いが、寒天液を少量添加したものを遠心処理すると高率に濃縮できることが明らかとなった。

少量の寒天液を分生子懸濁液に添加した場合の濃縮効率を明らかにするために、分生子濃度を異にしたいくつかの懸濁液を供試し、前述の方法で濃縮した。原液の平均孢子数と濃縮後の平均孢子数との比を濃縮効率として求めたところ、0.1%寒天液を0.5 ml添加した場合の濃縮効率は33.3~49.2で平均41.0（標準偏差±6.16）、1.0 ml添加した場合は12.0~24.9で平均22.1（標準偏差±5.1）であった。また、濃縮効率の理論値は、寒天液を添加前の遠沈管中の懸濁液量/残留寒天量となるので、実験値との差が濃縮時における損失となる。0.5 ml添加した場合の理論値は50であるので、損失は $(1 - 41/50) \times 100 = 18\%$ 、同様に1.0 ml添加した場合の理論値は25であるので、損失は $(1 - 22.1/25) \times 100 = 11.6\%$ であった。

寒天液の腐敗防止のために、昆虫飼育用の餌の腐敗防止に一般に使用されているp-ヒドロキシ安息香酸とソルビン酸を保存用の寒天液に添加した。また、分生子が水に均一に分散するためにA展着剤を懸濁液に添加した。そして、これらを使用した場合の分生子の発芽率および発芽管長に対する影響の有無を調べた。その結果、スライドグラス上の実験ではA展着剤を添加した場合孢子の発芽にはわずかに影響が認められたが、発芽管の伸長には影響は認められなかった。一方、WA培地上での実験では影響は全く認められなかった。なお、両者の相乗効果は認

められず、また、沈澱寒天液量にも差が認められなかった。

2 考察

ナシ黒星病菌分生子懸濁液中の分生子数を定量的にしかも効率よく計測するために、懸濁液を一定時間遠心処理後その上清を捨て、遠沈管の底部の残液を調査する方法^{108, 183)}が用いられてきた。しかし、この方法では分生子が水に浮きやすいために効率の悪いことが明らかとなった。そこで、沈澱した分生子が遠心処理終了後に浮遊しないように捕捉できれば、効率良く濃縮できると考え、実験室で容易に入手でき、透明に近く、変質しにくく、しかも効率良く分生子を捕え得る物質として寒天液を使うことに思い当たった。

本法による分生子懸濁液の濃縮効率は、添加する寒天液濃度、添加量および遠沈管の容量により決定される。本実験では遠沈管は10mlの規定容量のものを使用した。仮りに遠沈管を100mlの容量のものに替えれば濃縮効率は計算上10倍高まることになる。しかし、孢子懸濁液中には微細なゴミなどが多量に混入していることが多く、濃縮処理によってこれらのゴミも同時に濃縮された。濃縮後の試料中にゴミが多量に存在すれば、顕微鏡による分生子数の調査に障害となる。また、雨水が100ml未満しか採取されないような少雨量の場合も多い。一方、添加寒天液量を少なくして濃縮効率を高めることも可能であるが、この場合は沈澱寒天液量が少なくなるので調査反復数が制限される。以上のことを考慮すると、本方法では遠沈管の容量は10ml、添加寒天液は濃度が0.1%のものを0.5 ml添加する方法が良好な結果を得ると判断した。この場合の濃縮効率は平均41倍であった。血球計算盤を使った孢子数の調査では、スリット部の体積は 10^{-4} mlであるので濃縮効率が41倍の場合は $10^4 \div 41 = 243.9$ となり、1 ml当たり約244個の孢子が存在していれば1回の調査で平均1個の孢子が確認されることが明らかとなった。さらに調査効率を高めるために、スリット部とその周辺の平行線部分も調査対象に含め、

スリット部に対して3.47倍の部分で調査対象にすると、 $10^4 \div 41 \div 3.47 = 70.3$ となり、1 ml中に平均70.3個の胞子が存在すれば1回の調査で平均1個の胞子を確認できることが明らかとなった。また、総分生子数(X)は、 $X = \text{胞子懸濁液量} \times \text{調査平均胞子数} \times 10^4 \div 3.47 \div 41$ で求め得ることが明らかとなった。

雨水等を採取し、その中の黒星病菌の分生子数を調べようとする場合、胞子数は一般に少な過ぎるので、濃縮処理を行う必要がある。この場合、採取した雨水の一部を取り濃縮しようとする人が多いので、雨水中に分生子が均一に分散していることが必要であり、そのために界面活性作用を持つ薬剤の添加が考えられた。そこで、A展着剤を分生子懸濁液に5,000または10,000倍となるように添加し、前述の方法で濃縮後に分生子の発芽率および発芽管の伸長を調べたところ、ほとんど影響がなく、接種実験等胞子の発芽率が関係する実験に供しても、添加したA展着剤の影響は特に考慮する必要はないと判断された。また、寒天液の主成分は有機物であるので、長期間放置をすれば腐敗する。そこで、p-ヒドロキシ安息香酸とソルビン酸を添加してみたところ、黒星病菌分生子の発芽率や発芽管の伸長に対して問題となるような影響は認められなかった。一方、冷蔵庫中で保存をすると防腐剤は添加しない条件下でも6~7カ月間腐敗しなかったので、防腐剤はあえて添加する必要はないと判断した。

本方法を確立するために、黒星病菌の分生子を主対象として実験を行ってきたが、子のう胞子の場合にも分生子の場合と同様に効率よく濃縮された。従って、この手法は黒星病の生態学的研究において極めて有効な方法であると考えた。また、雨水を介して伝搬する他の病原菌の胞子を濃縮する場合にも本法は有効な方法であり、ブドウ枝膨病菌¹⁵⁴⁾の分生子懸濁液の濃縮には極めて効果的な手法として採用されている¹⁰⁰⁾。また、この濃縮法を寒天液濃縮法 {ASC (Agar Solution Concentration) 法}²¹⁸⁾と呼称することにした。

第2節 分生子による伝染

第一次伝染源の種類と役割については本章の後半で詳しく検討するが、それとはともかく、第二次伝染は分生子の分散によって起こるので、ここでは鱗片への感染時期、早春における分生子の形成場所と形成数の推移、分生子の分散の推移、分散距離など、分生子による伝染の基本的な点について検討することにした。

1 落葉病斑上に残存している分生子の越冬の可能性

落葉病斑上に残存している分生子が、第一次伝染源になるか否かを明らかにしようとした。

材料および方法

秋型病斑¹⁸⁹⁾のみまたは春型病斑¹⁸⁹⁾が混発している長十郎の発病葉を1986年10月2日、10月28日、11月10日に樹から採取し、各採取日毎に3個のナイロン製の網袋に入れ、(1)屋根があるだけで四方が開放している通風の良い小屋の中に吊す、(2)樹上に吊すおよび(3)果樹園の地面上に放置するの3方法で保管した。

分生子の発芽能力の調査は、これらの病葉採取時および4月22日までに約1ヶ月間隔で5回行った。まず、採取直後の病葉または採取時期別の各保管場所からナシ葉を3枚取り出し、その裏面を3mlの脱イオン水で絵筆を用いてていねいに洗い落とし、分生子懸濁液を得た。この懸濁液をストレプトマイシン硫酸塩5 μ g/ml添加WA平板培地上に滴下し、15°C、暗黒下で48時間培養後、常法に従って発芽調査した。

実験結果

病葉採取時の分生子の発芽率は、採取時期による大きな違いはなく、33.1~53.3%を示した。その後の経時的発芽率は、小屋の中に吊した場合が最も高く、次いで樹上に吊した場合であり、地面上に保管した場合は最も低かった。いずれ

の保管場所の分生子の発芽率とも、12月13日から1月9日または2月16日までの間に急激に低下した（第5-3表）。ことに、地面上に放置した病葉上の分生子は、2月16日の調査でわずかに発芽が認められたがその後は全く認められず、また分生子数は2月中旬までに急減した。これらの結果は、地面上に散乱している落葉上の分生子は第一次伝染源になり得ないことを示している。

2 鱗片病斑上での越冬とその上における分生子形成

落葉上に残存している分生子による越冬の可能性は前記実験の結果からほとんど無く、従って第一次伝染源に成り得ないことが明らかとなった。そこで、御園生・深津^{108, 112)}が明らかにした、鱗片における越冬とその上における分生子形成時期および量を明らかにし、第一次伝染源としての可能性を検討した。

1) 感染時期

ナシ黒星病菌の鱗片への感染時期を明らかにしようとした。

材料および方法

人工降雨処理による感染促進実験では、立木仕立ての長十郎を用い、1区4樹1連制で行った。供試樹の樹冠上約30cmに小孔の多数ある塩化ビニール製の灌水パイプを樹列と平行に約80cm間隔で2本設け、その一端を水道栓につなぎ、所定期間水滴粒径約1mmの人工雨を毎時約3mmで終日降らせた。対照区（B区）には処理区（A区）に隣接している樹を用いた。人工降雨処理は、その期間中の自然降雨の有無にかかわらず第5-4表に示したように実施した。黒星病菌の感染を防ぐため、各処理区の対照となる無処理区はその処理区の人工降雨の途中または終了時から、また、処理区は処理終了直後から5~11日間隔でS展着剤（商品名：ステッケル、主成分；パラフィン24.0%、以下S展着剤とする）の200倍液を肩掛け式噴霧器でていねいに散布した。なお、S展着剤は第7章で述べる実験で

第5-3表 ナシ黒星病罹病葉の採取時期および保管場所別病斑上の分生子の時期別発芽率

罹病葉 採取葉	発芽率調査日										
	1986年12月13日	1987年1月9日	1987年2月16日	1987年3月23日	1987年4月22日						
の											
採取時期	保管場所	調査胞子数	発芽率 (%)	調査胞子数	発芽率 (%)	調査胞子数	発芽率 (%)				
10月2日	屋根の下	347	24.5	293	4.4	300	4.7	300	8.7	154	0.6
10月28日	屋根の下	159	26.4	347	6.3	300	9.3	300	7.3	308	2.6
11月10日	屋根の下	187	8.6	89	2.2	300	4.3	100	5.0	306	3.3
10月2日	樹上	197	15.2	132	3.8	300	1.7	61	0	30	0
10月28日	樹上	172	5.2	200	2.5	300	2.7	77	1.3	30	3.3
11月10日	樹上	29	10.3	64	0	300	2.0	60	0	43	7.0
10月2日	地表面	62	3.2	74	8.1	18	0	17	0	21	0
10月28日	地表面	106	1.9	45	4.4	34	2.9	15	0	30	0
11月10日	地表面	35	2.9	49	6.1	18	0	15	0	29	0

第5-4表 人工降雨の処理期間およびS展着剤^{a)}の散布月日

実験区	10月				11月			
	1	10	20	30	1	10	20	30
A-1		←→ ^{b)}	←→ ^{sp^{c)}}	sp				sp
A-2		←→	←→	sp				sp
A-3		←→	←→	◆		←→		sp
A-4		←→	←→	◆		←→		←→
B-1		sp	sp	sp				sp
B-2				sp				sp
B-3								sp
B-4								sp

a) 主成分はパラフィン24.0%。

b) 人工降雨処理期間。

c) S展着剤の散布。

d) 処理は1978年に実施。

1,000倍液を7日間隔で散布したところ、黒星病菌の腋花芽鱗片への感染に基づく花叢基部の発病をほぼ完全に予防したことを確認している。

感染遮断実験は、立木仕立ての長十郎を用い、1区2樹、反復無しで行った。S展着剤500倍液の散布開始は第5-6表に示したよう実施し、さらに11月8日と15日には全散布区に散布した。なお、各区とも盛夏から散布終了まで殺菌剤は全く散布しなかった。

発病調査は、処理を行った翌春の開花期に一年生枝上の花叢基部の発病の有無について行った。

実験結果

感染促進実験で、10月上旬～中旬に1回処理したA-1区、それに同中～下旬を追加して2回処理区したA-2区、さらに同下旬と11月上旬を追加して4回処理したA-3区と回数が増えるに従って発病率は高くなった。しかし、その後、11月中旬過ぎまで人工降雨処理を追加したA-4区では、A-3区以上の発病率の増加は認められなかった(第5-5表)。一方、この対照区であるB-1～B-3区の発病はS展着剤無散布のB-4区に比べてかなり低く抑えられた。これらの結果から、この年は人工降雨処理により感染を促進した場合には主に10月上旬～11月上旬に、自然降雨下では主に11月上旬以降に感染が起きたことが明らかとなった。

別に行った感染遮断実験で、9月上旬～11月上旬の間ほぼ1～2週間間隔でS展着剤の500倍液を散布した結果、上記期間に7回散布したA区から順次回数を減らして2回散布したF区まではいずれも一年生枝上の花叢基部の発病率が0から2.0%の範囲内でほとんど差が無く、11月上旬1回のみ散布のG区や無散布のH区よりも明らかに発病率が低かった(第5-6表)。このことから、10月下旬のS展着剤の散布が最も有効であり、この実験では10月下旬が感染の最盛期であったものと考えられる。

第5-5表 人工降雨の処理時期と一年生枝上の花叢基部黒星病の発生程度

実験区	人工降雨期間	S展着剤 ^{a)} の散布		調査花叢数	発病花叢率(%)
		期間	回数		
A-1	10月9日~10月13日	10月17日~11月8日	3	126	14.3
A-2	10月9日~10月23日	10月28日~11月8日	2	133	18.8
A-3	10月9日~11月6日	11月8日	1	116	26.7
A-4	10月9日~11月17日	-	0	143	20.3
B-1	-	10月12日~11月8日	4	205	9.8
B-2	-	10月28日~11月8日	2	196	8.7
B-3	-	11月8日	1	205	9.3
B-4	-	-	0	124	20.2

- a) S展着剤については第5-4表の脚注を参照。
 b) 供試ナシ品種は長十郎。
 c) 処理は1978年秋、調査は1979年春に実施。

第5-6表 S展着剤^{a)}の散布開始時期と黒星病菌の腋花芽鱗片への感染に対する予防効果

実験区	S展着剤の散布 ^{b)}							調査花叢数	発病花叢率(%)
	9月		10月			11月			
	2	7	20	6	13	21	1		
A	sp ^{c)}	sp	sp	sp	sp	sp	sp	213	0.9
B	-	sp	sp	sp	sp	sp	sp	200	1.5
C	-	-	sp	sp	sp	sp	sp	237	0.8
D	-	-	-	sp	sp	sp	sp	147	2.0
E	-	-	-	-	sp	sp	sp	160	0
F	-	-	-	-	-	sp	sp	117	1.7
G	-	-	-	-	-	-	sp	115	7.0
H	-	-	-	-	-	-	-	263	7.6

- a) S展着剤については第5-4表の脚注を参照。
 b) 全区とも11月8日と15日に散布を追加。
 c) S展着剤の散布。
 d) 処理は1977年秋、調査は1978年春に実施。

以上2つの実験結果から、ナシ黒星病菌の腋花芽鱗片への主な感染期間は10月上旬～11月中旬であり、この間に鱗片の黒星病菌に対する感受性が次第に高くなり、10月下旬～11月中旬に感染の最盛期に達することが明らかとなった。

2) 鱗片上病斑の進展過程

前記実験により、主に10月上旬～11月中旬に黒星病菌が鱗片に感染することが明らかとなった。そこで、鱗片における病斑進展過程を詳細に調べることにした。

材料および方法

豊水の腋花芽鱗片上の病斑について、分生子梗の形成時期、分生子の形成開始時期、形成量、形成分生子の発芽率の推移、鱗片基部への病斑の到達時期など病斑の進展過程を経時的に調査した。また、鱗片上に形成される分生子数を計測するために、発病芽と健全芽を採取し、10mlの脱イオン水で十分に洗浄した後寒天液濃縮法²¹⁸⁾で濃縮し、孢子数を調べ、その後常法に従って分生子の発芽率を調べた。

実験結果

鱗片における病斑は、調査を開始した1月27日に既に形成が明瞭に認められた(第5-7表)。健全な腋花芽では中の生きている部分が肥大したために枯死鱗片では保護しきれなくなり、その間から生きている部分が露出していたが(第5-11図)、発病鱗片部の色は黒ずんだ灰色をしていた(図版V-6)。病斑部の縦断切片を顕微鏡下で観察すると、2月8日に帯黒灰色部に分化初期の分生子梗の群と判断されるいぼ状の突起が認められ、3月2日には既に分生子梗が形成され、分生子梗の先端部分には長楕円形をした未熟な分生子が形成されている場合もあった(図版V-2~5)。また、鱗片上の病斑先端から鱗片の基部に向かって菌糸は徐々に伸長し、3月下旬には基部近くまで伸長し、3月下旬から4月上旬の間に基部に達し、そこに病斑が形成され、その表面に分生子がかなり多量に形

第5-7表 ナシ腋花芽鱗片における黒星病病斑の進展過程

調査年月日	病徴進展経過
1989年1月27日	鱗片における発病が発見された。
2月 8日	発病部に分化初期の分生子梗と判断されるいぼ状の突起が顕微鏡下で観察された。
2月20日	分生子梗の形成が顕著となってきた。
3月 2日	分生子が形成され始め、それらの色は黄白色であったので未熟と思われたが、既に高い発芽能力(83.3%)を保持していた。
3月13日	病斑は鱗片の基部近くまで拡大していたが、新たな鱗片に発病が確認された病斑もあった。分生子の発芽率は96.8%であった。
3月23日	病斑は外見からは鱗片の基部に達しているように見えたが、解剖調査の結果、未だ基部には達していなかった。分生子の発芽率は60~73.9%であった。
4月 4日	鱗片基部に病斑が達し、鱗片が付着している花叢基部の近辺に病斑が形成され、その上に分生子が多量に形成され始めた。分生子の発芽率は40~95.1%であった。
4月12日	発病花叢基部には多量に分生子が形成されていた。分生子の発芽率は63.3~90.9%であった。

成され始めた。

病斑の進展に伴いその表面に形成された分生子数は、2月8日～3月23日まで
は1芽当たり190～1,137個で、この期間は明瞭な増加傾向は認められなかったが、
4月4日以降は急激に増加した（第5－8表）。ここで注目されたのは、2月8
日の健全芽の調査では、前年形成され、鱗片部に残存していた分生子が混入して
いた可能性が高かったが、それが3月23日以降は0を示したことであった。

鱗片上に形成された分生子の発芽率は、2月8日では30%内外であった。しか
し3月2日以降に採取した分生子の発芽率は一時低い場合もあったが、通常70%
以上で、新たに形成された活性のあるものが増加していることを示していた。

3) 品種および芽の種類別鱗片発病に基づく芽基部の発病程度

圃場観察の経験から、ナシ品種および芽の種類により黒星病の発生程度に差の
あることを感じていたので、その点を究めるために調査を行った。

材料および方法

夏期以降は殺菌剤を散布せず、また、調査時まで剪定および誘引作業は行わな
かった棚仕立ての長十郎、幸水、豊水、新高、二十世紀の芽の基部における発病
調査を、黒星病の発生を確認しやすくなった開花直前から開花期に、一年生枝上
の花芽（腋花芽）と葉芽、短果枝の花芽に分けて行った。

実験結果

一年生枝上の花叢基部の発病における品種間差異はかなり明瞭で、豊水の発病
率が最も高く、次いで幸水であり、それらよりはかなり少ないが長十郎でも発病
が認められた（第5－9表）。しかし、二十世紀と新高には全く発病が認められ
なかった。豊水では長十郎や幸水では発生がほとんど認められなかった一年生枝
上の葉芽や短果枝の花芽由来の花叢基部にも低率ではあるが発病が認められた。

第5-8表 ナシ腋花芽鱗片および花叢基部黒星病病斑上における分生子の経時的形成数および形成分生子の発芽率の推移

調査年月日	鱗片発病の有無	調査芽数	1芽当たり分生子数	分生子の発芽率(%)
1989年2月8日	有	1	1,137	26.8
	無	2	190~ 442	25.0~ 31.3
3月2日	有	1	758	83.8
	無	3	0~ 316	0 ~ 14.3
3月13日	有	1	758	96.8
	無	2	0~ 63	0
3月23日	有	2	228~ 253	60.0~ 73.9
	無	2	0	0
4月4日	有	3	126~4,486	40.0~ 95.1
	無	2	0	0
4月12日	有	3	1,137~8,340	63.3~ 90.9
	無	3	0	0
4月19日	有	3	442~8,593	82.7~100
	無	2	0	0

第5-9表 ナシ品種および芽の種類と鱗片および花叢基部の黒星病の発生状況

品種	芽の種類	調査年月日					
		1987年4月9日		1988年4月23日		1989年4月12日	
		調査芽数	発病率(%)	調査芽数	発病率(%)	調査芽数	発病率(%)
長十郎	腋花芽	207	9.7	263	5.7	242	2.1
	一年生枝葉芽	161	0	123	0	214	0
	短果枝花芽	160	0	- ^{a)}	-	-	-
幸水	腋花芽	26	23.1	337	20.8	74	6.8
	一年生枝葉芽	137	0	241	0	249	1.2
	短果枝花芽	100	0	-	-	-	-
豊水	腋花芽	192	29.7	204	39.1	249	15.3
	一年生枝葉芽	229	4.8	269	8.2	231	3.9
	短果枝花芽	160	6.3	-	-	-	-
二十世紀	腋花芽	35	0	-	-	74	0
	一年生枝葉芽	205	0	-	-	-	-
	短果枝花芽	160	0	-	-	-	-
新高	腋花芽	20	0	-	-	67	0
	一年生枝葉芽	-	-	-	-	-	-
	短果枝花芽	160	0	-	-	-	-

a) 調査未実施。

3 鱗片および花（果）叢基部病斑上からの分生子の分散開始時期、分散量 および分生子の経時的発芽率

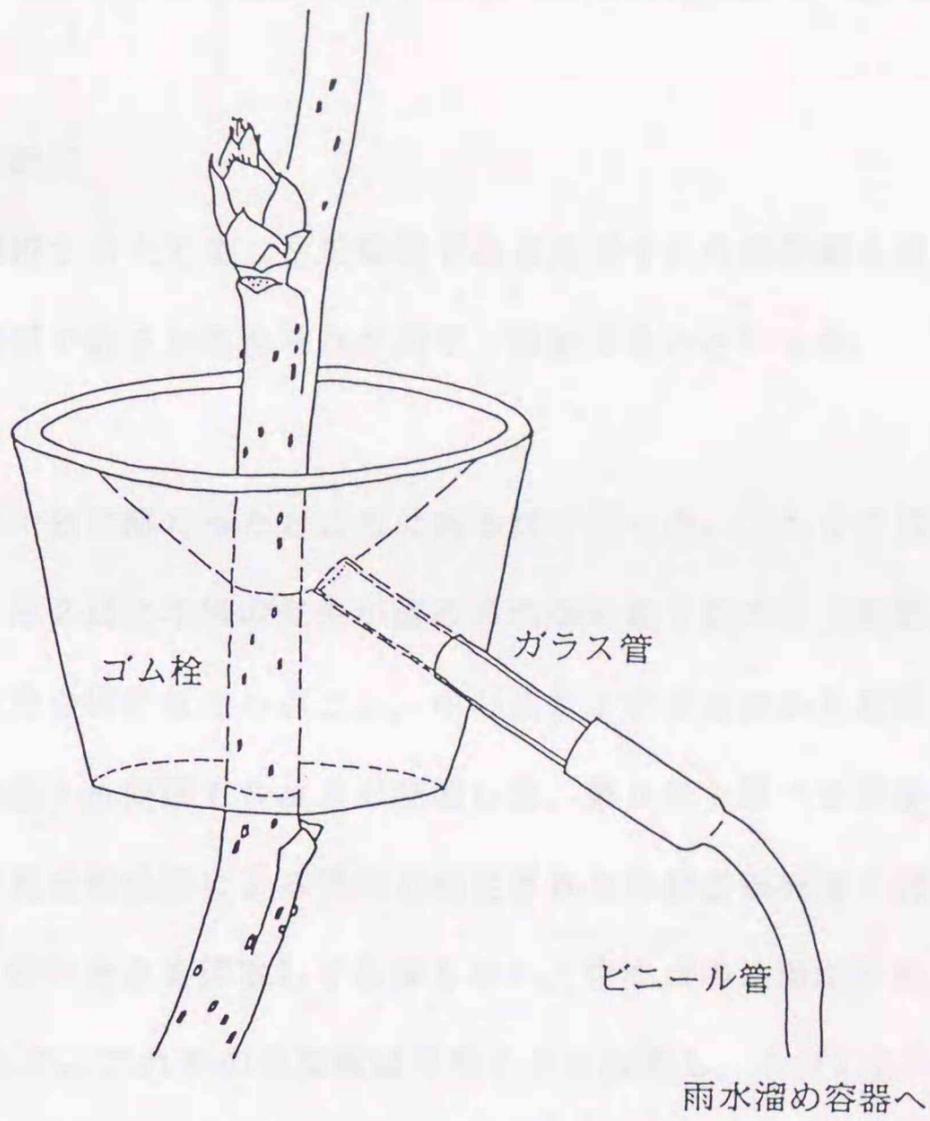
先に、鱗片病斑上に形成された分生子数とその発芽率について検討したので、本項では発病花（果）叢基部病斑上からの分生子の伝搬を検討することにした。

材料および方法

鱗片発病腋花芽の周辺から雨水を採取するために、ロート法（発病芽の直下にロートを固定する方法）とゴム栓法²²²⁾（発病芽のすぐ下の枝部分に第5-1図に示したようにゴム栓を装着する方法）で雨水を集め、各々集めた雨水がタンクに溜るようにした。この雨水の採取は雨後の毎午前9時に行った。そして、採取雨水が10ml以上の場合には、予め100倍に希釈してあるA展着剤を雨水量に対して1%の割合で添加した後に、また、10ml未満の場合は10mlになるように脱イオン水を加えた後に、寒天液濃縮法²¹⁸⁾で濃縮し、孢子数を計測した。総孢子数（X）は、 $X = \text{採取雨水量} \times \text{調査平均孢子数} \times 10^4 \div 3.47 \div 41$ で求めた（以下、総孢子数を求める場合にはこの式から算出した）。なお、3.47は血球計算盤のスリット部の体積を1とした場合、その回りの一部の平行線部分も調査範囲とした場合の体積である。なお、採取雨水が10ml以上の場合には前記に従って、また、採取雨水が10ml未満の場合は、 $10 \div \text{採取雨水量} (\text{mm})$ をXに乗じて補正した。以下、採集雨水中の分生子数を調べる場合この方法で行った。また、得られた孢子の発芽調査は常法で行った。

実験結果

雨水の採取方法の違いにより得られた結果はやや異なったが、分生子の分散開始時期と分散の推移という点に観点を絞ると、1987年には4月9日（幸水の開花始め1日後）、1988年は4月17日（幸水の開花当日）の降雨で初めて分生子の分散が認められ、その後降雨ごとの分散孢子数は漸増した。なお、この実験でロート法では数mm以上の降雨、ゴム栓法では10mm以上の降雨でほぼ安定して分生子を



第5-1図 ゴム栓法による雨水の採取法

捕捉でき、総胞子数はロート法の方が圧倒的に多かった。

採取分生子の発芽率は、4月から5月にかけてわずかな例外（ロート法の5月7日は38.5%、ロート法の5月12日は25%）を除いて常に60%以上であった。

4 分生子の分散距離

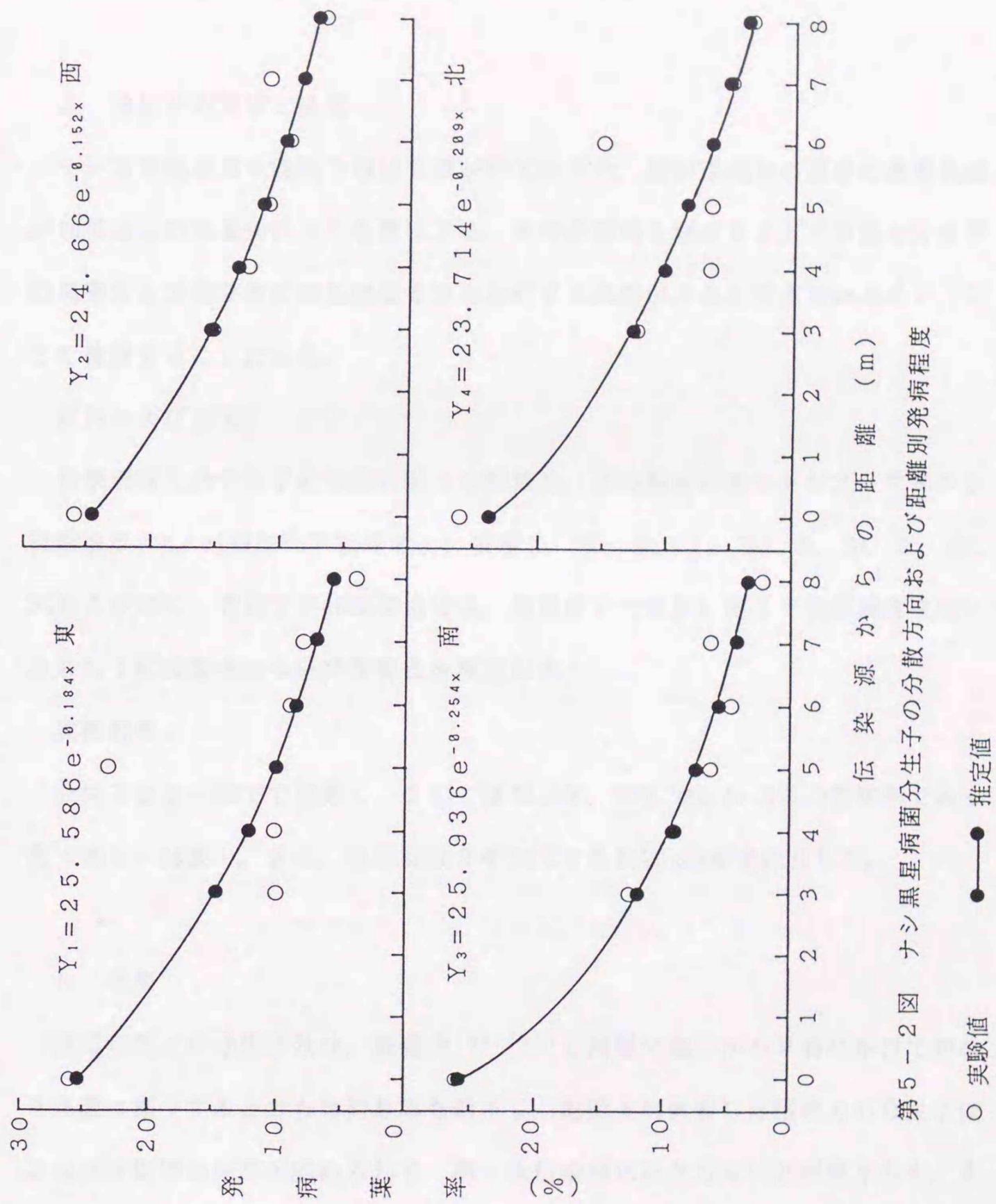
黒星病の蔓延を解析する上で第二次伝染者である分生子の分散距離を明らかにすることは極めて重要であると考えられたので、検討することにした。

材料および方法

実験をナシ園から十分に隔たったところにある畑で行った。これまで別の場所で管理し、1983年5月2日に本病の発生が認められない長十郎の苗（指標樹）を伝染源を設置する予定の場所を中心点とし、中心点および中心点から東西南北方向に先ず3m、その後1m間隔で8mまで配置した。第6章で述べる発芽管隔膜法²⁰⁷⁾による検定で高度耐性菌による発病と判定された果叢基部病斑7個を伝染源とするために枝に着けたまま採取して水挿しにし、中心点の地面から高さ約1.8mの位置に固定した。これらの伝染源は5月6日に設置し、5月27日に取り除いた。予期しない本病の伝染源による供試苗の汚染をベノミル剤等の散布で防ぐため、ナシ苗への殺菌剤の散布は4月14日ジネブ剤500倍液、4月19日トリアジメホン剤800倍液、4月30日チアジアジン剤600倍液、5月2日にトリアジメホン剤500倍とベノミル剤5,000倍の混合液を肩掛け式噴霧器で十分に行った。発病調査は、全葉について行った。

実験結果

本病の発生は中心点のナシが最も多く、中心点からの距離に比例して少なくなった（第5-2図）。しかし、東西南北いずれの方向においても、中心点から8mの地点でも発病が認められ、特に西方向へ8mの地点ではかなり多発した。また、1984年に実施した実験では、中心点から北方向へは8mまで、西方向へは16



第5-2図 ナシ黒星病菌分生子の分散方向および距離別発病程度

mまで発病が認められた。これらの結果から、本病菌の分生子は少なくとも8 m以上分散し、条件によって16m程度は分散することが明らかとなった。

5 分生子の発芽と温度

ナシ黒星病は春や晩秋の最低気温が10°C以下や、梅雨後期から夏季の最高気温が30°C以上の気象条件下でも蔓延する。本病の蔓延を解析する上で温度と分生子の発芽および発芽管の伸長程度を明らかにする必要があると考えられたので、ここで検討することにした。

材料および方法

幼果病斑上の分生子を常法に従って懸濁し、この懸濁液をストレプトマイシン硫酸塩5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加WA平板培地上に噴霧し、3、5、7、10、15、20、25、28、30および35°C、暗黒下で48時間培養後、顕微鏡下で常法に従って発芽調査を行い、さらに1区15孢子につき発芽管長を測定した。

実験結果

分生子は3~30°Cで発芽し、3°Cでは75.8%、30°Cでは44.8%の発芽率であった(第5-10表)。また、発芽管は3や30°Cでも約20 μm 程度伸長した。

6 考察

落葉病斑上の分生子数は、既報告^{108,103)}と同様に晩冬から早春にかけてかなり急激に減少するとともに発芽率も低下し、地面上に保管した落葉上の分生子は2月16日以降は発芽が認められず、第一次伝染源にはならないと判断された。また、セイヨウナシおよびリンゴ黒星病の場合、枝上の病斑も第一次伝染源になるとされているが^{11,19,82,101,127,132)}、ニホンナシ黒星病では枝上の病斑は第一次伝染源にならないことが既に確認されている^{108,103)}。また、著者らの予備実験でもこのことが確認されている²¹⁴⁾。一方、御園生・深津^{108,112)}によりニホ

第5-10表 ナシ黒星病菌分生子の培養温度と発芽率および発芽管長

培養温度 (°C)	調査 胞子数	発芽率 (%)	発芽管長 ^{a)} (μm)		
			\bar{x}	±	S.D.
3	359	75.8 e	17.9 g	± 6.00	
5	309	80.6 d	33.2 ef	± 8.10	
7	338	87.0 c	37.5 e	± 11.53	
10	321	94.7 ab	72.8 d	± 19.25	
15	333	93.7 ab	90.2 bc	± 23.99	
20	359	95.0 a	126.5 a	± 54.10	
25	355	91.3 abc	95.3 b	± 35.15	
28	322	86.6 c	76.7 cd	± 21.71	
30	315	44.8 f	19.8 gf	± 5.12	
35	0	0 g	0 h	-	

a) 発芽管長は15胞子調査の平均値、 \bar{x} ; 平均値、S.D. ; 標準偏差。

b) 同一英文字を付した平均値間にはDuncan's multiple range test
による有意差(5%)が無いことを示す。

ンナシ黒星病菌が秋季に主として腋花芽鱗片に感染し、厳寒期からそこに病斑を徐々に形成し、早春多量に分生子を形成し、リンゴ黒星病菌^{85, 104, 124, 147, 156)}と同様に、これが第一次伝染源になることが明らかにされた。

ナシ黒星病菌の鱗片への主な感染時期は、人工降雨処理による感染促進実験、時期別感染遮断実験、さらに、第7章3項で詳述する現地防除実験から、10月上旬～11月中旬であると判定した。ここで得られた結果は、御園生・深津¹⁰⁸⁾が7月下旬～9月下旬であると報告した感染期間とはかなり相違するが、その主原因は、彼らは鱗片の枯死時期と時期別防除実験の結果を重視したためと思われる。しかし、彼ら¹⁰⁸⁾の行った感染遮断実験で、10月上旬(12日)以前からの感染遮断処理では発病しなかったが、それ以降(10月21日)に感染を遮断した区では発病しており、この結果を重視すれば著者の結果とかなり合致する。一方、高梨ら¹⁸³⁾は芽への時期別接種実験の結果から感染期間は9月下旬～10月中旬であると報告したが、芽への接種は従来の実験では期待したよりもかなり低率にしか発病しないことが多く、接種法は必ずしも確立されているとは言い難い現状では、この方法による結果だけで感染期間を決定するのはやや早計と思われる。一方、日本においてもリンゴ黒星病菌が鱗片で越冬し、伝染源として重要であることが確認されており^{85, 124, 147)}、工藤ら⁸⁵⁾の実験では、その感染は7月に始まって9月中旬に急増するので、ナシで得た結果とはかなり違っているが、その原因は今のところ不明である。

鱗片病斑上に形成される分生子の分散開始時期および降雨に伴う分生子の分散の推移に関する実験結果は、御園生・深津¹⁰⁹⁾の報告とほぼ一致した。さらに、葉および葉柄病斑上からの分生子の分散を調べた予備実験で、ナシ苗に降雨が当たらないように軒下に置い場合、グリセリンゼリーを塗布したスライドグラス上には1日当たり1カバーグラス面積内に1～421個の分散が認められたが、ガラス温室内の風の当たらない場所では1例のみ10個認められただけで顕著に少なかった。

た。これらの結果から、すでに御園生・深津¹⁸⁹⁾が指摘しているように、降雨を伴わない期間の分散には風による病葉と他の葉との擦れなど物理的な要因が関与していることが強く示唆された。リンゴ黒星病でも降雨の無い期間に分生子が分散することが認められ^{38, 41, 177)}、Suttonら¹⁷⁷⁾は分散を促進する正の要因は気温、風速、日射であることを明らかにしている。一方、降雨の推移に伴う葉および葉柄病斑上からの分散分生子数を調べた予備実験で、人工降雨開始から1mm時の雨水中には5,610~8,178個/mlも存在していたので、黒星病の蔓延という観点から判断すると、分生子の分散は降雨に伴って起きていると判断された。また、降雨開始から30mm程度までは分生子は病斑部から連続的に分散し、21mmまで行った御園生・深津¹⁸⁹⁾の実験と分生子の分散傾向はかなり似ていた。

ナシ黒星病の伝染において、発病鱗片および花叢基部病斑を伝染源とした場合、発病は一般に伝染源の下部に扇状に広がっている¹⁸³⁾、分生子は比較的狭い範囲内に分散すると推定されてきた。しかし、分散距離についてこれまで検討されたことがなかった。伝染源量および伝染源からの距離と分散した胞子数の結果である発病葉率などとの関係についてMcCartney and Fitt¹⁸²⁾に従うと、 $Y = c e^{-dx}$ という関係式が期待される。ここで、 Y は発病葉率、 c は伝染源量、 e は自然対数、 d は病原菌の分散能力を示す。これに従って、1983年に行った実験結果について、伝染源からの距離と発病葉率との関係を東、西、南、北各方向について求めたところ、次のような関係式が得られた。

$$Y_1(\text{東}) = 25.586 e^{-0.184x}$$

$$Y_2(\text{西}) = 24.66 e^{-0.152x}$$

$$Y_3(\text{南}) = 25.936 e^{-0.254x}$$

$$Y_4(\text{北}) = 23.714 e^{-0.209x}$$

これらの式から、伝染源から南方向へ10m離れた地点における発病葉率は2.0%、同じく15m離れた場所における発病葉率は0.57%と推定された。この値と、1984

年に行った分生子の分散距離に関する実験の結果とは、伝染源から10m以上離れた地点での発病葉率についてもかなり良く一致した。また、本病と同様降雨を伴った風で分散すると考えられるリンゴ腐らん病菌 *Valsa ceratosperma* の柄胞子の分散距離は藤田ら²³⁾の実験によると15m以上であるので、分散距離に関して本病菌は腐らん病菌に近似していることが明らかとなった。

第3節 子のう胞子による伝染

ナシ黒星病の伝染における子のう胞子の第一次伝染源としての評価については、研究年代により大きく異なるので^{1, 33, 47, 108, 170, 183)}、本病の伝染における子のう胞子の役割について再度検討することにした。

1 偽子のう殻および子のう胞子の形成と成熟経過

偽子のう殻からの子のう胞子の分散時期を知る一助とするために、落葉上における偽子のう殻の形成経過を検討することにした。

材料および方法

供試葉として、長十郎の樹下に散乱している落葉の中から、前年秋に秋型病斑¹⁸⁹⁾が多発していた落葉を、調査の後半では偽子のう殻の形成が多量に認められる落葉を各調査毎に採取した。採取した落葉をハンドセクションにするか秋型病斑上の偽子のう殻をピンセットでかき取り、顕微鏡下で観察した。なお、未成熟子のう胞子とは、その色が透明に近く、胞子細胞壁が明瞭に認められない場合とした。

実験結果

落葉における完全世代の形成経過は調査年によりやや異なったが、概略述べると、2月中旬までは菌糸塊のみが認められ、3月上旬から中旬に子のうが成熟し、3月中旬または下旬に子のう胞子が形成され始め、その後徐々に成熟子のう胞子

の比率は高まった（第5-11表、図版Ⅲ-1~4）。

2 落葉の時期別乾燥と偽子のう殻形成

千葉県の晩秋から翌春までの気候の特徴の一つに、降雨日が少ないことが挙げられる。また、防風用の生け垣の下に集積した落葉には雨が当たりにくい。このような乾燥条件下の落葉上の偽子のう殻形成程度について検討することにした。

材料および方法

ナシ園の長十郎の樹下に散乱し、秋型病斑¹⁸⁹⁾が多発している落葉を11月下旬に採取し、5区分した。各区分の約50葉をナイロン製の網袋に入れ、乾燥処理を行うまで、また処理後も4月27日まではナシ園地上に保管した。乾燥処理は、落葉を網袋に入れたまま前記の四方が開放された通風の良い小屋に吊す方法で行った。各区の20葉について偽子のう殻形成程度を調査して指数化し、下記の式によって形成率と形成度を算出〔以下、葉、葉柄、果実、果梗および花（果）叢基部の発病、分生子の形成程度の調査において共通〕した。

$$\text{形成（発病）率} = \frac{\text{形成（発病など）葉数}}{\text{調査（葉など）数}} \times 100 (\%)$$

$$\text{形成（発病）度} = \frac{\sum \{ \text{形成（発病）指数} \times \text{該当葉（果実など）数} \}}{\text{指数の最大値} \times \text{調査葉（果実など）数}} \times 100 (\%)$$

実験結果

乾燥処理時期が早い実験区では偽子のう殻の形成程度が高く、処理時期が遅くなるにつれて形成程度はやや低下した。しかし、実験区間には有意差（5%）が認められず、落葉後から子のう胞子が成熟するまでの期間で1カ月程度の乾燥は偽子のう殻の形成程度にはほとんど影響しないことが明らかとなった。

第5-11表 ナシ落葉における黒星病菌偽子のう殻および子のう胞子の成熟経過

観察年月日	1986年	観察年月日	1987年
1986年2月15日	菌糸塊のみを確認。	1987年1月27日	菌糸塊のみを確認。
2月25日	偽子のう殻を確認。	2月10日	菌糸塊のみを確認。
3月10日	未熟子のうを確認。	2月19日	菌糸塊のみを確認。
3月13日	未熟子のうを確認。	2月26日	偽子のう殻を確認。
3月19日	未熟子のうを確認。	3月9日	偽子のう殻のみ確認。
3月26日	未熟子のう胞子を確認。	3月13日	子のうがほぼ成熟。
4月1日	成熟子のう胞子を確認。	3月16日	未熟子のう胞子を確認。
4月7日	子のう胞子の成熟が進展。	3月23日	未熟子のう胞子を確認。
4月9日	成熟子のう胞子の割合は約1割。	3月25日	未熟子のう胞子を確認。
4月11日	成熟が一層進展。	3月27日	成熟子のう胞子を確認。
4月18日	約半数の子のう胞子が成熟。	3月31日	成熟が進む。
4月6日	成熟子のう胞子の割合が5割以上。		

a) 1986年の子のう胞子の分散開始は4月10日（幸水の開花10日前）、最盛期は4月22日、終わりは5月29日。

1987年の子のう胞子の分散開始は3月23日（幸水の開花16日前）、最盛期は4月26日、終わりは5月23日。

3 温度と放出される子のう胞子数

偽子のう殻から放出される子のう胞子の数は温度条件により左右されるか否かを明らかにしようとした。

材料および方法

落葉の中で偽子のう殻を多量に形成している部分を直径12mmのリーフパンチで打ち抜き、1シャーレ当たり5葉片、1区当たり3シャーレで合計15葉片を供試した。葉片を湿らせるための水を入れた容量100mlの三角フラスコは実験開始48時間前から、上蓋の内側に水で湿らせたろ紙を張り付け、底蓋にWAを分注してあるシャーレと供試葉は2時間前から3、5、7、10、15、20、25、28、30および35℃の暗黒下に保った。供試葉片をろ紙に張り付けるために、各温度区の三角フラスコの水で約3分間湿らせ、シャーレの外蓋の内側に偽子のう殻形成面が外側に向くように張り付け（以下、落葉を水で湿らせてから張り付ける場合常法と記すことにする）、実験を開始した。実験開始2時間後に、各温度区の三角フラスコの水を葉片に補給し、全体で5時間放出させた。その後、直ちに子のう胞子の放出程度を調査して指数化し、放出率と放出度を算出した。

実験結果

子のう胞子の放出は3℃～35℃のいずれの温度下においても認められた。また、放出程度は3℃ではやや少なかったが、有意差（5%）が認められなかった。この結果から、ナシの生育期間中に予想されるいかなる温度下でも適度の水湿が与えられた場合には子のう胞子が放出されることが明らかとなった。

4 子のう胞子の放出される高さ

子のう胞子の分散動態を明らかにする上で、まず落葉面上の偽子のう殻から子のう胞子が放出される高さを明らかにする必要があるので、検討することにした。

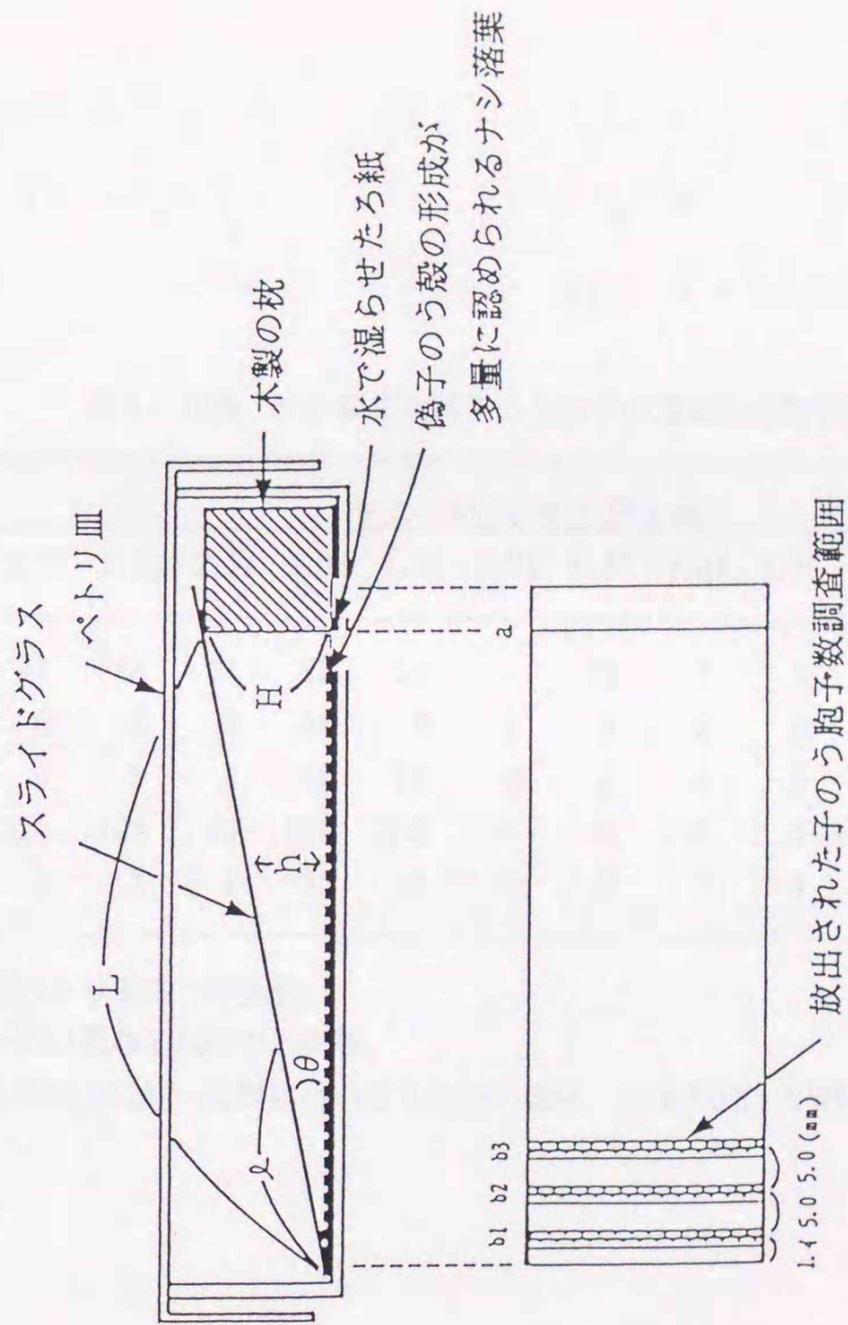
材料および方法

子のう胞子を放出させるため、第5-3図に示したように、直径9 cmのシャーレの底蓋の内側に脱イオン水で湿らせたろ紙を敷き、その上にスライドガラスよりやや短い程度に切った偽子のう殻が密に形成されている落葉を脱イオン水で十分に湿らせてから、偽子のう殻形成面が上になるように置いた。一方、放出された胞子を捕捉するため、シャーレの一端のろ紙上に高さ14.4mmで長さ2 cmの角材を枕とするために置き、グリセリンゼリーを塗布したスライドガラスを短辺の端から70.8mmの位置に油性インクで線を引き、グリセリンゼリー塗布面を下向きにしてこの線と角材の1頂点とを合わせて置いた。この場合、スライドガラスの一端は落葉からわずかに外して置いた。直ちにシャーレに上蓋をし、そのまま15~20°Cの明るい室内に24時間静置した。

放出子のう胞子数を、まず落葉に近いスライドガラスの端から1.4 mm枕側に向かった短辺に平行な線を中心線(b)とし、両側に0.8mmずつの合計1.6mmについて顕微鏡下で調べた。この調査幅の中心線を基線として枕側に向かって5 mm間隔で両側とも0.8mmについて子のう胞子が確認されなくなるまで同様に調査した。ただし、放出胞子が最も高くまで達している近辺では調査幅の移動距離を細かくして調査した。落葉面からスライドガラス上の調査位置までの高さ(h)は、スライドガラスの落葉側の端から枕側の調査部位までの距離(L)×sinθで求めた。なお、sinθは枕の高さ(H)÷落葉側から枕までのスライドガラスの長さ(L)=0.2034であった。なお、この実験では落葉の厚さは考慮に入れなかった。

実験結果

この方法で観察された子のう胞子数は低い部分ではやや少なく、最も高くまで放出された場合の約半分である3.34mm近辺で最も多く、最高7.36mmの高さまで観察された(第5-12表)。また、同じ落葉について2回実験を行ったところ、初回の方が観察された高さは1.71~1.99mm高かった。



第5-3 図 落葉上の偽子のう殻から放出される高さ別子のう胞子数調査のための実験装置

第5-12表 ナシ黒星病菌子のう胞子の放出高と胞子数^{a)}

実験 ^{b)} 区	子のう胞子の放出高 (mm)											
	0.28	1.30	2.32	3.34	4.35	4.71	5.37	6.06	6.39	6.71	7.36	7.69
A ₁	11	68	34	55	54	-	15	1	0	0	0	0
A ₂	9	3	3	38	8	0	0	0	0	0	0	0
B	0	3	3	150	18	9	0	0	0	0	0	0
C ₁	324	198	43	869	335	-	56	16	5	9	2	0
C ₂	2	2	1	32	11	-	3	0	0	0	0	0

a) 湿室ペトリ皿内での実験。

b) A~Cは異なる試料での実験。

c) 添え字の1は同一試料について1回目の実験、2は2回目の実験。

5 圃場における地表面からの高さと採集子づのう胞子数

地表面に散乱している落葉上の偽子づのう殻から放出された子づのう胞子は、棚面の高さにまで分散し伝染源となっているか否かを明らかにしようとした。

材料および方法

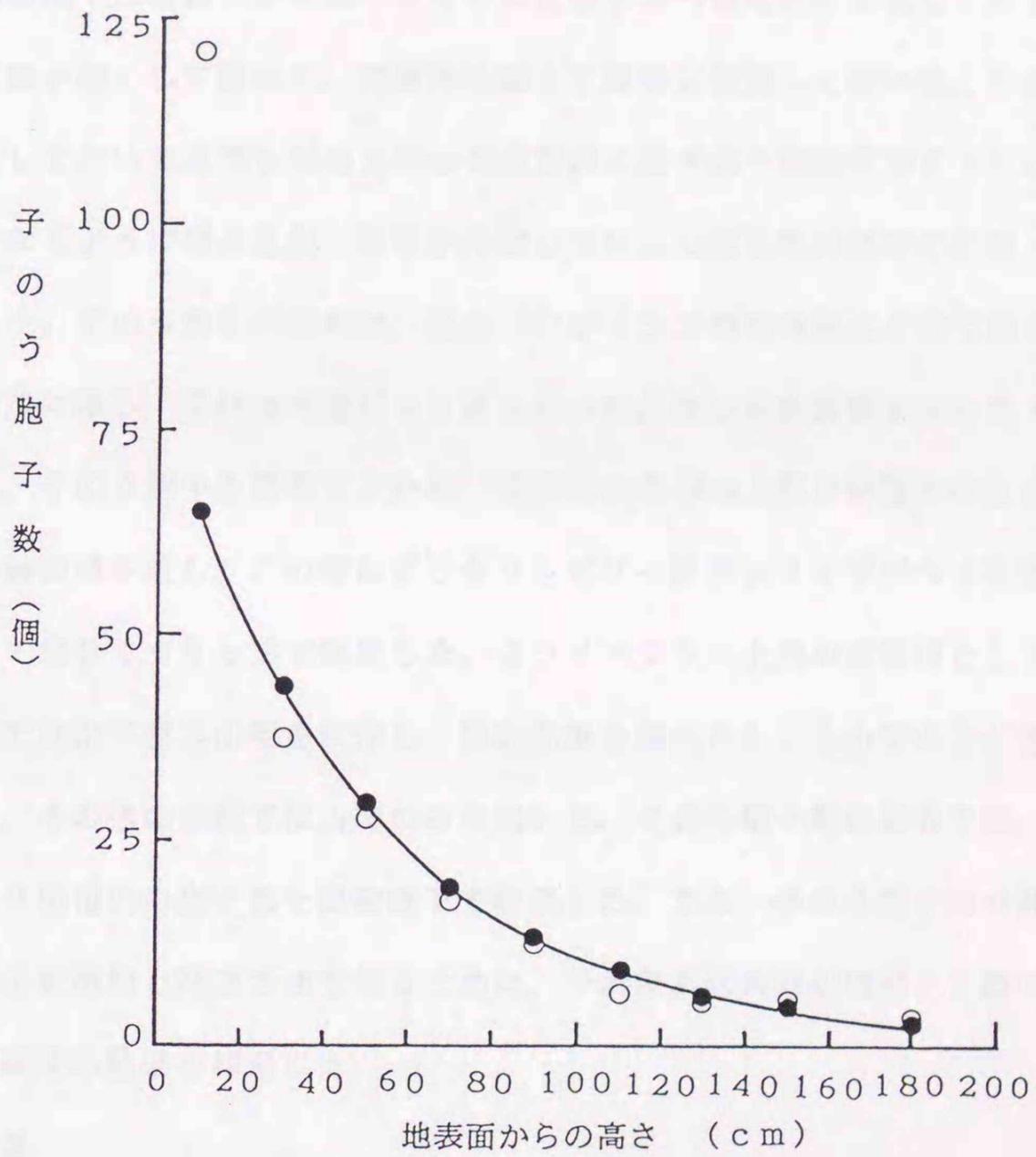
実験はナシ園の長十郎の樹下で偽子づのう殻を密に形成している落葉が多数散乱している生け垣のそばで行った。スライドガラスを固定するために、断面が3.5cm×4.5cm長さ20~200cmの木柱を9本用意し、所定の高さの位置に釘を打ち、また雨避けのために、その固定部位より約5cm上部の柱切断面に12cm×13cmの板片を地面と水平になるように取り付けた後、最下部のスライドガラスまでの高さを先ず地上10cmとし、その後150cmまでは20cm間隔で順次高くし、最も高いものは180cmになるように実験場所に立てた。グリセリンゼリーを塗布したスライドガラスを塗布面を上側にしてクリップで固定した。4日間の暴露後、採取した9枚のスライドガラスについてカバーガラス(18mm×18mm、以下の実験でもこの大きさのカバーガラスを使用した)面積内の子づのう胞子数を、顕微鏡下で計測した。

実験期間中降雨のあった1988年5月12日午前2時から午後9時までの降水量は23mm、5月15日午後1時から16日午前9時までの降水量は9mmであった。5月12日の降雨期間中の風速は最大7.0m/s、最小2.1m/s、5月15日から16日の降雨期間中の風速は最大4.7m/s、最小1.4m/sであった。

実験結果

地上10cmでは1カバーガラス面積当たり平均121個で、高さが増すにつれて採取された子づのう胞子数は減少していた(第5-4図)。しかし、少なくとも地面から180cmの高さまでは分散することが明らかとなった。このことは、子づのう胞子が春期の早期感染に関係している可能性を示唆している。

6 子づのう胞子の分散開始時期と分散消長



第5-4図 地面からの高さ別ナシ黒星病菌子のう胞子の採取数

○ 実測値 ●—● 推定値 ($Y = 78.886 e^{-0.0199x}$)

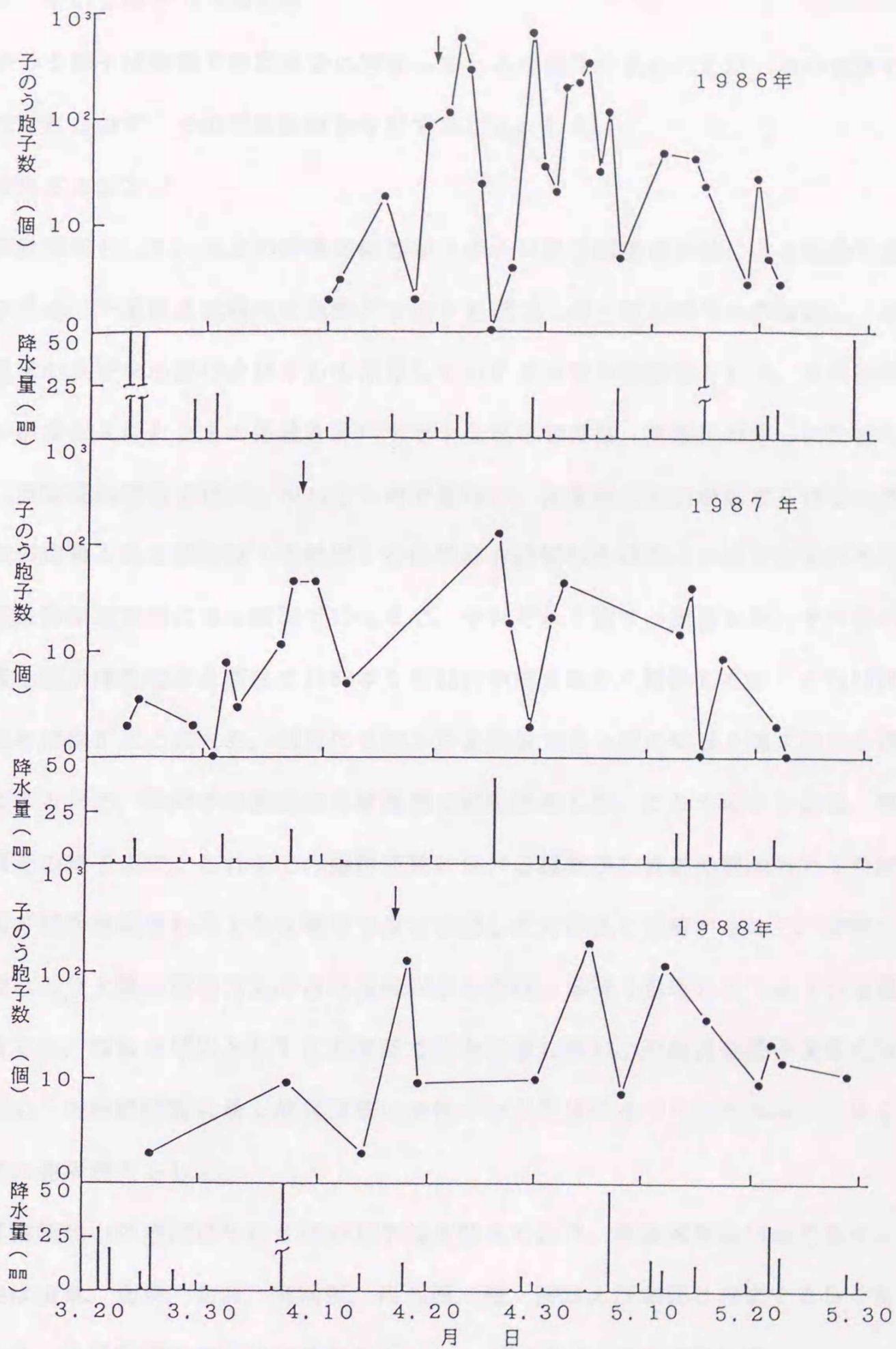
子のう胞子の第一次伝染における重要性を検討する上で、その分散消長を明らかにすることは重要であると判断されたので、検討することにした。

材料および方法

ナシ園の長十郎の樹下から毎年3月中旬に偽子のう殻を密に形成している落葉を子のう胞子源として採集し、実験開始時まで野外に放置しておいた。3月下旬、予め採集しておいた落葉を75cm×80cmの面積内に偽子のう殻形成面を上にして3～4層となるように積み重ね、落葉が分散しないように化学繊維製の防風ネットで押さえた。子のう胞子の採集は、西田¹³¹⁾がリンゴ黒星病菌の子のう胞子を採集した方法に準じ、縦46cm×横33cm×高さ60cmの自作の採集装置を用いた(図版IV-2)。子のう胞子を採取するため、落葉面から10cm上部の装置内の左右間に太さ約3mmの棒を渡し、この棒にグリセリンゼリー塗布スライドガラスを塗布面を上にして乗せてクリップで固定した。スライドガラス上部の雨避けとして1986年の実験では水平型と山型を試作し、採取効率を調べたところ山型の方が優っていたので、その後の実験では山型のみを用いた。子のう胞子数の調査では、1カバーガラス面積内の胞子数を顕微鏡下で計測した。また、子のう胞子の分散時期をナシの生育時期と関連させて知るために、千葉県農試果樹研究室ナシ園の幸水の開花期調査の結果を採用した。

実験結果

分散の開始は、早い年は幸水の開花始め22日前(1988年3月26日)、遅い年は幸水の開花始め10日前(1986年4月10日)であった(第5-5図)。分散の最盛期は早い年は4月26日(1987年)、遅い年には5月5日(1988年)であり、3年間の実験において分散の最盛期が5月であったのは1回だけであった。子のう胞子の分散数は最盛期を境に漸減し、実験を行ったいずれの年においても5月下旬にほぼ終息した。



第5-5図 ナシ黒星病菌子のう胞子の降雨に伴う分散消長

↓ 幸水の開花始め

7 子のう胞子の分散距離

子のう胞子は春期の早期感染に関係している可能性の高いことが一連の実験で示唆されたので、その伝染範囲を検討することにした。

材料および方法

実験場所として、所定の接種源以外からのナシ黒星病菌の分散による伝染を避けるため、千葉県農試場内の運動グラウンドを選び、長十郎の樹下から採取し、前記通風の良好な小屋の中に吊して保存していたナシ葉を伝染源とした。実験開始時に網袋に入れたままの落葉を井戸水で十分湿らせた後、実験区の中心に設置した。実験開始時までビニールハウス内で管理し、黒星病の発生が認められない長十郎の鉢植えの2年生樹（指標樹）を伝染源を設置した場所（中心）およびそこから東西南北方向に2 m間隔で10 mまで、それぞれ1 樹ずつ配置した。ナシ苗の暴露を雨が降り始めた直後の1988年5月12日午前6時から開始したが、5月12日の夜半に雨が止んだため、13日の早朝から正午までナシ葉の乾燥を防ぎ感染を確実にするため、井戸水を肩掛け式噴霧器で随時散布した。これらのナシ苗は、発病調査の終了まで、これまでの接種実験における経験から直射光線の当たる時間がある程度制限されるような場所で苗を管理した方が良く発病するので、建物が南側にあり太陽の直射日光の当たる時間がやや短い場所で管理した（以下の接種実験では、接種後原則としてこの場所で苗を管理した）。発病調査時の混乱を防ぐため、実験開始時に最上位展開葉に油性インクで目印をつけ、それ以下の葉を対象に発病調査をした。

暴露期間中の降雨は午前6時から午後9時までであり、総降水量は14 mmであった。風向は南東、北東、北西、南南西、西北西、西、南および北西と目まぐるしく変化した。降雨期間中の風速は最大7.0 m/s、最小2.1 m/sであった。

実験結果

実験期間中の風は、気象の項で述べたように、一定方向に吹かずむしろ舞って

いた。そのためと思われるが、東西南北いずれの方向に置いたナシ苗にも程度には差があるが発病した（第5-6図）。同図で明らかなように、接種源の置かれた中心点付近の発病は意外に少なく、中心点から北方向へ2 m離れた地点での発病が最も多かった。発病葉率は中心点および南方向を除き伝染源から離れるにつれて低下した。しかし、いずれの方向においても中心点から10メートル離れた地点の指標樹に発病が認められたことから、子のう胞子は少なくとも10m以上分散することが明らかとなった。

8 子のう胞子の発芽と温度

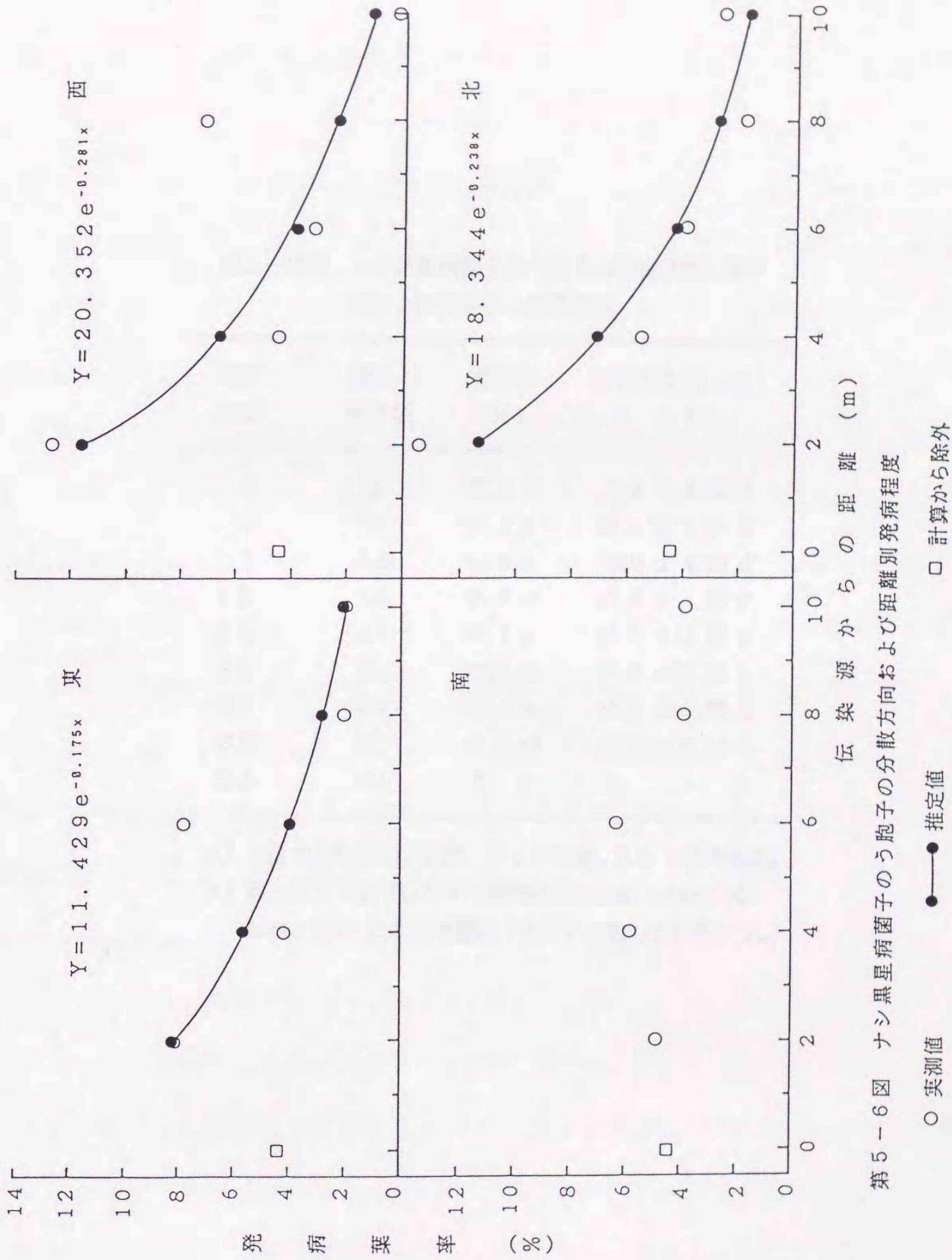
分生子を用いた実験と同じく、子のう胞子による発病条件のうち温度別の発芽状況について検討することにした。

材料および方法

供試葉として落葉の中から偽子のう殻が密に形成されているものを採取し、直径12mmのリーフパンチで打ち抜き、各温度区あたり5葉片を供試した。子のう胞子を放出させるため、予めWAを分注してある直径9 cmのシャーレの外蓋の内側に供試落葉を常法で張り付け、直ちに蓋をした。約15分間放置し、各シャーレのWA上に少なくとも3葉片から子のう胞子が放出されているのを確認した後、3、5、7、10、15、20、25、28および30℃、暗黒下で48時間培養した。胞子の発芽調査は常法で行い、発芽管長は各温度区あたり15個の胞子について測定した。

実験結果

子のう胞子の発芽は3～28℃の範囲内で認められたが、発芽率は5～7℃および25～28℃ではやや低く、10～20℃では非常に高かった（第5-13表）。また、発芽管は10～20℃では良く伸長し、胞子の発芽率と発芽管の伸長程度から、子のう胞子の最適発芽温度は15℃と判断された。



第5-6図 ナシ黒星病菌子のう胞子の分散方向および距離別発病程度

第5-13表 ナシ黒星病菌子のう胞子の培養温度と発芽率および発芽管の伸長程度

温度 (°C)	調査 胞子数	発芽率 (%)	発芽管長 ^{a)} (μm)	
			\bar{x}	± S.D.
3	323	25.7 f	17.6	± 5.50 d
5	308	67.2 c	20.4	± 5.54 d
7	308	51.6 d	19.9	± 4.59 d
10	350	94.3 ab	45.5	± 7.09 c
15	331	98.2 a	63.5	± 13.05 a
20	350	96.3 ab	52.8	± 17.23 b
25	404	45.3 e	21.5	± 4.51 d
28	445	47.5 ef	19.2	± 5.73 d
30	401	0 g	0	- e

a) 1区当たり15胞子調査、 \bar{x} ; 平均値、S.D. ; 標準偏差。

b) 同一英文字を付した平均値間にはDuncan's multiple range test による有意差 (5%) が無いことを示す。

9 考察

ナシ黒星病菌の偽子のう殻は古くは病落葉上および病枝上に形成されると報告され⁵⁾、鏝方・小谷⁴⁷⁾もその数は少ないが枝病斑上に形成されるとしている。その後、御園生・深津¹⁰⁸⁾は枝上には偽子のう殻は形成されないと報告し、著者も予備実験ではあったが調査したところ、認めなかった。しかし、仮に枝病斑上にわずかに偽子のう殻が形成されたとしてもそこに形成される子のう胞子数は病落葉上の形成数に比べると比較にならないほど少ないはずで、黒星病の伝染および防除の観点からは無視できるのではなかろうか。

千葉県では、ナシの落葉は園の周囲に防風等を目的に設置されている生け垣の下などに、風によって吹き寄せられていることが非常に多い。子のう胞子は雨などによって十分な水湿が与えられた時に放出されるので、偽子のう殻の形成途中でかなり水湿が必要ではないかと考えられたが、実験の結果、落葉期頃から子のう胞子が成熟する頃までの間の1カ月間程度の乾燥は偽子のう殻の形成程度に影響を与えなかった。従って、生け垣の下など比較的雨に当たりにくい場所にある落葉でも偽子のう殻は成熟し、春からの雨で十分な水湿が与えられれば子のう胞子は放出され、伝染源になるものと考えられる。また、3℃のような低温下でもよく放出され、しかも発芽したことから、春の低温程度では子のう胞子による伝染にはほとんど影響しないと思われる。

子のう胞子が空中へ放出される高さについて、リンゴ菌では最大7mm¹³¹⁾、セイヨウナシ菌では御園生・深津¹¹⁴⁾の引用文献によれば6.3mm程度、ニホンナシ菌では6mm程度¹¹⁴⁾と報告されている。そこで、ニホンナシ菌の報告を確認するために実験を行ったところ、葉面上から最大わずか7.36mmの高さまでしか放出されず、御園生・深津¹¹⁴⁾の結果とほぼ一致した。このように、地表面に散在している葉面からわずか数mmの高さに放出された子のう胞子が、はたしてナシ棚の高さ(地上160~170cm)にまで分散し、感染できるかどうかは病原菌の生活環を考え

る上で非常に重要な点である。高梨ら¹⁸³⁾は、子とう胞子による発病は地表面から30~60cmの高さの部分に多く、最も高い場所での発病は127cmであったと報告している。そこで、偽子とう殻を密に形成している落葉が散乱している場所で、地表面からの高さを変えて子とう胞子を採取したところ、高くなるにつれて採集される胞子数は明らかに減少したが、180cmの高さでも1カバーガラス面積内当たり3個程度が認められた。また、別に行った予備実験でも4月上旬~5月中旬の胞子分散期に地上170cmの場所に設置した採取装置に子とう胞子が頻繁に採取された。これらの結果から、落葉面からわずか数mm放出された子とう胞子は風や上昇気流などわずかな空気の動きと共に浮遊し、このような高さにまで分散するものと判断された。従って、子とう胞子による伝染には微気象条件が大きく関与しているものと考えられる。

子とう胞子のその年の分散開始時期と分散量を知ることは第一次伝染源の防除開始時期を決める上において、また、分散の最盛期を知ることは黒星病の重要防除時期の把握と散布薬剤の選択上非常に重要である。鑄方・小谷⁴⁷⁾は、岡山県における子とう胞子の分散は4月下旬から始まり5月中旬に終息するとの結果を得た。その後、御園生・深津¹⁰⁸⁾は千葉県における実験(1964年実施)で4月30日に分散が始まり5月上旬に分散の最盛期があったことを確認している。また、高梨ら¹⁸³⁾は神奈川県において、分散は4月中旬(11日)に始まり、これは長十郎の開花期とほぼ一致しており、その最盛期は同月下旬であったと報告している。これらの報告と比べ、西田¹³¹⁾に従って自製した採集装置を用いた本実験では、子とう胞子の初分散が認められたのは幸水の開花10~22日前で、ほぼ催芽期¹⁴¹⁾に当たる3月下旬~4月上旬であった。この結果は、従来の報告と比べて著しく早く、リンゴ黒星病菌やセイヨウナシ黒星病菌で確認されている分散開始時期とほぼ同じであった^{38,41,65,66,90,105,131)}。このような結果が得られた主な要因は、子とう胞子の採集装置およびスライドガラスの設置法が従来の方法と比べて違う

ためであろうと思われる。すなわち、子のう胞子は偽子のう殻の形成面からわずか数mmの高さまでしか放出されないが、その後は空気の動きに乗って分散すると考えられる。落葉の上部に裾はわずかに開いている煙突状の装置を置けば、わずかな風の動きでもその内側は陰圧となり乱気流が発生し空気は上方へと移動しやすくなると考えられる⁹⁸⁾。空気のこの微妙な動きに伴って子のう胞子も上方へ移動し、雨避けの板に当たって再び下方向に移動するものと考えられる。従って、グリセリンゼリー塗布面を上にしてスライドガラスを固定すると、多量に子のう胞子が採取されることをリンゴ菌では西田¹³¹⁾、ニホンナシ菌では清水¹⁷⁰⁾が既に報告している。これらの条件が組み合さり、採集効率が高まり、少数の子のう胞子が分散した場合でも採集できるようになり、結果的に子のう胞子の分散を早く確認できるようになったものと考えられた。子のう胞子の分散開始時期が従来知られていた時期よりかなり早いことから、初期の発病において子のう胞子は重要な働きをしている可能性が高く、第一次伝染源としての重要性は従来考えられていたよりもかなり高いと判断される。

地表面からの高さで採取される胞子数との関係は、McCartney and Fitt¹⁰²⁾に従えば $Y = c e^{-dx}$ という関係が期待される。ここで、 Y は胞子数、 c は伝染源量、 e は自然対数、 d は病原菌の分散能力、 x は高さ (cm) を示す。地表面からの高さで採取される子のう胞子数との間には高い相関が認められ、この関係を式として求めたところ $Y = 78.886 e^{-0.0199x}$ が得られた。この式から150cmの高さでは4.0個、180cmでは2.2個が期待される。また、子のう胞子の水平への分散を、分散距離として調べたところ、伝染源から10m離れた地点でも発病が認められた。距離と発病率との関係は地面から上部への分散の場合と同様に $Y = c e^{-dx}$ という関係¹⁰²⁾ が期待される。ここで、 Y は発病率、 x は距離 (m) を示す。伝染源からの距離と発病率との間には、伝染源を置いた場所における発病率の結果を除外すれば高い相関が認められ、その関係を求めたところ次のような式が得

られた。なお、南方向については伝染源からの距離と発病葉率との間には明瞭な相関関係が認められなかったので計算から除外した。

$$Y_1(\text{東}) = 11.429 e^{-0.175x}$$

$$Y_2(\text{西}) = 20.352 e^{-0.281x}$$

$$Y_3(\text{北}) = 18.344 e^{-0.238x}$$

子のう胞子の分散範囲は分生子と同様、ナシ赤星病菌小生子の飛散距離²¹⁷⁾に比べればはるかに近いが、分散のパターンはよく似ており、この結果から発病葉率が1%になる点は東方向では約14m、西方向では約11m、北方向では約12mと推定できた。これらの結果から、一般ナシ園の棚の高さである160~170cmの場所へも子のう胞子は確かに分散し、水平方向へは10m以上分散し、十分に第一次伝染源になっていると考えられた。

第4節 感染と発病

本章の第2節で分生子による伝染、第3節で子のう胞子による伝染について検討したので、本節では、分生子と子のう胞子の第一次伝染源としての重要性、黒星病菌による感染と発病に関して検討することにしたが、また、果実における発病について古い報告^{6, 45, 46, 47, 130, 181)}はあるが最近の主要品種について正式な報告は無く、併せて検討することにした。

1 分生子および子のう胞子の葉に対する病原性の比較

生態の研究において、分生子と子のう胞子のニホンナシに対する病原性が同一であれば、接種実験においてどちらか一方の胞子を供試して得た結果を他方の胞子の感染の場面にも適用できると考えられる。そこで、このことについて検討することにした。

材料および方法

分生子懸濁液を得るために、病葉および幼果病斑上に形成されている分生子を常法に従って懸濁した。この懸濁液を、A展着剤10,000倍添加シヨ糖1%加用脱イオン水を用いて希釈し、高濃度(10^5 個/ml)区(調製後の分生子濃度は 9.7×10^4 個/ml)および低濃度(10^4 個/ml)区(同様に 1.2×10^4 個/ml)を用意した。一方、子とう胞子懸濁液を得るために、偽子とう殻を密に形成している落葉を脱イオン水で十分湿らせ、直径21.5cmのシャーレの底蓋にA展着剤10,000倍添加シヨ糖1%加用脱イオン水を約5ml入れて蓋をし、そのまま約1時間放置して子とう胞子を放出させた後、落葉の裏面を絵筆で軽く擦り、落葉上の子とう胞子を洗い流した。この懸濁液を希釈し、分生子の場合と同様にして、高濃度区(調製後の濃度は 1.0×10^5 個/ml)および低濃度区(同様に 1.3×10^4 個/ml)を用意した。なお、供試した分生子の発芽率は93.2%、子とう胞子の発芽率は95.8%であった。

供試ナシ苗は、鉢植えのマメナシ台木に当年2月に長十郎または幸水を接木し、ガラス温室内で管理した。1実験区当たり1樹で合計4樹を供試し、葉の表面接種区と裏面接種区とを設け、各樹とも最上位展開葉(第1葉)から新梢の基部に向かって第15葉位の葉までを接種対象にした。中肋部を境に子とう胞子または分生子を接種することに決め、その基部に近い部分に 10^4 個/ml、中央よりやや先端部に 10^5 個/mlの各懸濁液をピペットで滴下して接種した。供試ナシ苗は、接種後、蛍光灯照明下の20℃、湿度100%で48時間保持後、所定の場所で管理した。発病調査は接種13日後から開始した。なお、発病とは葉身部に黄白色の斑点が生じた時点とした。

実験結果

最短潜伏期間は、 10^4 個/mlの懸濁液を葉の裏面へ接種した場合は胞子の種類とは関係なく13~16日でほぼ同じであったが、表面へ接種した場合は長十郎および幸水で胞子の種類により相反する結果となった(第5-14表)。しかし、 10^5 個/mlの場合は胞子の種類、ナシ品種および葉の表裏を問わずいずれも13~16日であ

第5-14表 ナシ葉に対する黒星病菌分生子および子のう胞子の病原性の比較

接種 部位	接種した 胞子の種類	接種胞子濃度 ^{a)} (個/ml)	潜伏期間		発病葉位 ^{b)} (50日後)	
			長十郎	幸水	長十郎	幸水
表面	分生子	10 ⁴	30	16	1	1
		10 ⁵	16	16	1~6	1~11
	子のう胞子	10 ⁴	16	38	1~3	4
		10 ⁵	16	16	1~6	1~8
裏面	分生子	10 ⁴	16	16	1	3
		10 ⁵	13	16	1~6	1~7
	子のう胞子	10 ⁴	13	16	1~5	1
		10 ⁵	13	16	1~6	1~4

a) 分生子の10⁴区の胞子濃度は1.2×10⁴個/ml、10⁵区は9.7×10⁴個/ml、子のう胞子の10⁴区の胞子濃度は1.3×10⁴個/ml、10⁵区は1.0×10⁵個/ml。

b) 接種時の最上位展開葉を第1葉位とした。

った。

発病葉位は、 10^4 個/mlの子のう胞子および分生子を幸水に接種した場合は胞子の種類、葉の表、裏面および葉位とは無関係に1葉にのみ発病したが、長十郎の葉の表面および裏面に接種した場合にはいくらか違いがあった(第5-14表)。しかし、 10^5 個/mlの子のう胞子を幸水の葉の表面および裏面に接種した場合、同濃度の分生子の場合に比べて3葉位分発病が少なかったが、その他の接種条件では違いが認められなかった。

以上の結果から、厳密な接種実験を行う場合を除き、胞子濃度が 1×10^5 /ml程度あれば分生子と子のう胞子の葉に対する病原性には差が無いものとして実験を行っても良いと判断された。

2 分生子の葉への侵入経過

前項1の実験により、分生子と子のう胞子の葉に対する病原性は同一と見なして実験を行ってもよいことが明らかになった。そこで、分生子は接種源として多量に、容易にしかも長期間にわたって得られること、実際の伝染において分生子による伝染期間が子のう胞子のそれに比べて非常に長期に渡ることから、分生子を葉へ接種して侵入経過を観察することにした。

材料および方法

殺菌剤は無散布状態で栽培した長十郎の長さ約40cmの新梢を採取し、容量300mlの三角フラスコに水挿しした。これに、葉病斑上に形成された分生子を常法(ただしショ糖は除く)で懸濁し、その濃度を約 1×10^6 /mlに調製した液を低圧で噴霧接種後、新梢全体に、内側に水滴を付けたポリエチレン製の袋をかぶせ、口を縛って温室状態にし、散光下、 20°C の実験室の窓際に置いた。0、3、6、9、12、24および48時間保湿後、ビニール袋を外し、黒星病に対して感受性の高い新梢の最上位完全展開葉から数えて3~7枚目の葉を直径12mmのリーフパンチで打

ち抜く区と、その後は葉が乾いた状態で同じ場所で管理し、実験開始48時間後（葉の乾いている時間はそれぞれ48、45、42、39、36、24時間）に上記リーフパンチで打ち抜く区を設けた。発芽、発芽管の伸長、葉組織への侵入の観察は、供試葉片を直ちに抱水クロラール液に浸漬するか、常法¹⁵⁷⁾に従ってアルコールラクトフェノールコットンブルー液で固定染色後、抱水クロラール液に浸漬し、組織が透明化した後顕微鏡下で行った。

実験結果

接種葉を、20°C、濡れ状態に保持した場合、0～3時間の範囲では孢子の発芽は認められなかったが、その後時間の経過と共に発芽、発芽管の伸長および付着器の形成が認められるようになった（第5-15表）。48時間保湿後の発芽率、付着器形成率は24時間後のそれらと差はほとんど認められなかったが、侵入率はさらに高まった。一方、一定時間濡れ状態に保持した後、室内（湿度約60%）で実験開始から合計48時間に至るまで保持したところ、孢子の発芽および発芽管の伸長、付着器の形成率および葉への侵入率は高湿度に保持した時間にほぼ対応していることが明らかとなった。

3 葉の濡れ時間および温度と発病程度

リンゴ黒星病においては、葉の濡れ時間および温度と発病程度に関して詳細に検討され、コンピューターを利用して発生予察および薬剤散布の必要程度を算出する場合の極めて重要な基礎データとなっている^{73, 95, 106)}。そこで、ニホンナシ黒星病についてこのことを検討することにした。なお、濡れとは葉が水分（Free water）で湿っている状態とした。

材料および方法

供試ナシ苗は、鉢植えのマメナシ台木に当年2月中旬に長十郎を接木し、無加温の温室内で管理した。供試時の大部分のナシ苗の新梢の展葉数は17枚前後に達

第5-15表 ナシ黒星病菌分生子接種後のナシ葉の保湿保持時間と侵入経過

保湿 時間	乾燥保持 時間	分生子の発芽 ^{a)}		発芽の 進行程度	付着器の 形成	ナシ葉への 侵入 ^{b)}
		調査数	発芽率(%)			
0	0	47	0	—	—	—
3	0	50	0	—	—	—
6	0	50	2	主に発芽寸前	—	—
9	0	53	35.8	発芽管はやや伸長	やや低率に形成	10%未満
12	0	55	80	発芽管は良く伸長	かなり高率に形成	25%内外
24	0	50	98	発芽管は良く伸長	高率に形成	50%以上
48	0	62	77.4	発芽管は良く伸長	高率に形成	80%以上
0	48	41	0	—	—	—
3	45	33	0	—	—	—
6	42	51	11.8	わずかに伸長	一部に形成初期	—
9	39	70	31.4	発芽管はやや伸長	やや低率に形成	10%未満
12	36	53	77.4	発芽管は良く伸長	かなり高率に形成	25%内外
24	24	59	72.9	発芽管は良く伸長	高率に形成	50%以上

a) 発芽管が胞子の短径長以上に伸長している場合を発芽とした。

b) 発芽した胞子についての調査結果。

c) 室温約20℃下での実験。

しており、最上位展開葉に油性のインクで目印を付けた。このナシ苗に、花（果）叢基部病斑上の分生子を常法で懸濁し、孢子濃度を約 $1.0 \times 10^5 / \text{ml}$ に調製した後噴霧接種し、蛍光灯照明下の湿度は100%、温度は5、10、15、20、25および30°Cに3、6、9、12、24および36時間保持した。その後、他からの伝染による感染を防ぐために裾を外してあるビニールハウス内で約10日間管理し、さらに前記場所に移し、最上位展開葉を含めて13枚、それより展葉数が少ない新梢では全葉の発病程度を調査して指数化し、発病葉率と発病度を算出した。

実験結果

発病を起こす最短濡れ時間は、15°Cでは9時間であり、5~25°Cでは12時間以上の濡れ保持時間で発病した（第5-7図）。しかし、30°Cでは36時間濡れ状態に保持しても発病は認められなかった。12時間以上濡れを保持した場合の発病程度は20°Cで最も高かったことから、本病菌の感染最適温度は20°Cであると判断されたが、15°Cにおける発病程度は20°Cとほとんど差が無かった。以上の結果は、Mills and Laplante¹⁰⁶⁾がリンゴ黒星病菌で得た結果と酷似していた。

4 黒星病菌の鱗片への感染機構

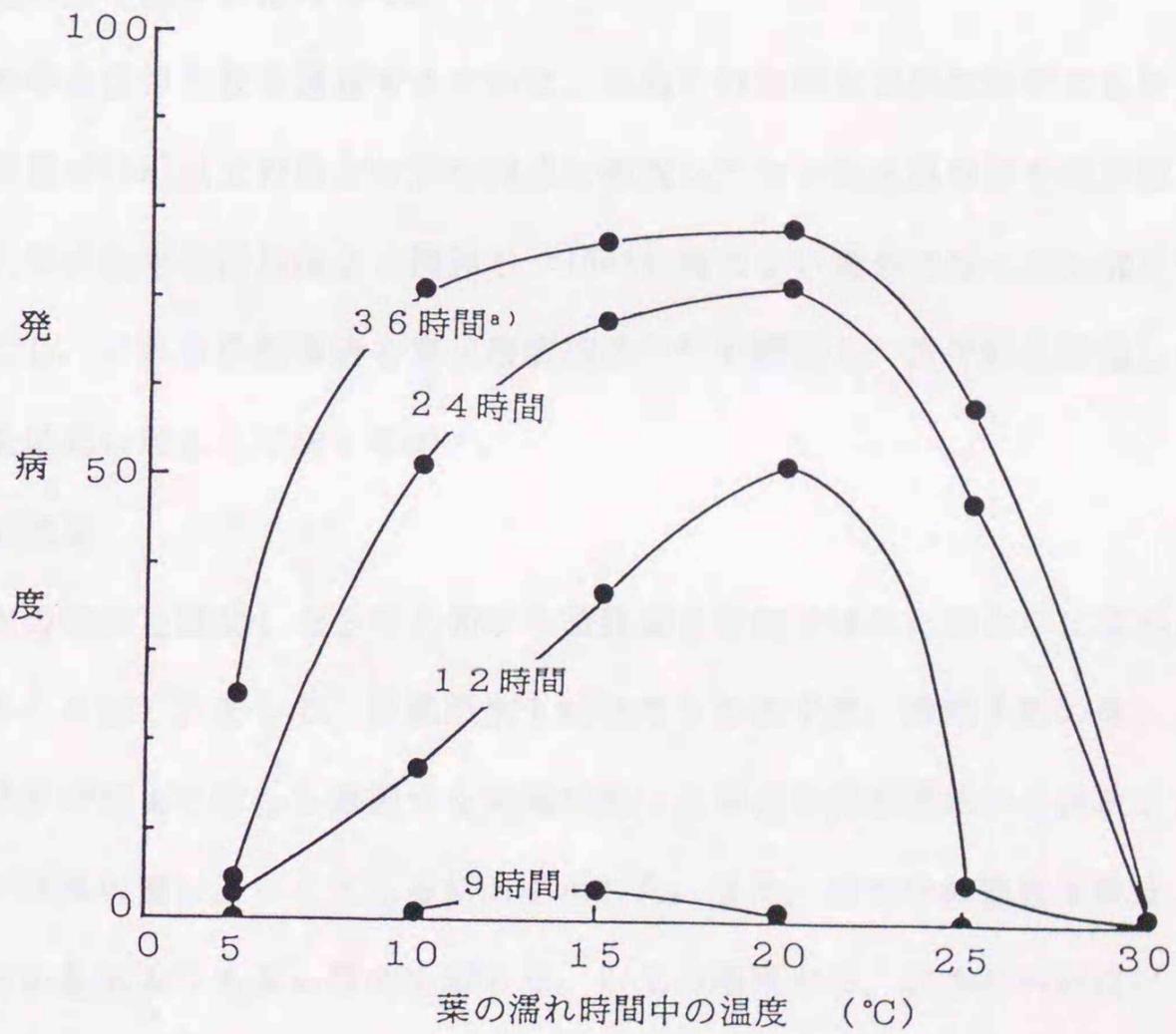
ナシ黒星病菌の分生子は秋季に主に腋花芽鱗片に感染することが既に明らかにされているが¹⁰⁸⁾、感染時期、感染部位等、感染の実態についてはこれまでほとんど明らかにされていなかった。そこで、このことについて検討することにした。

1) 秋季に枝幹部を流下する雨水中の分生子数

ナシ黒星病菌分生子の腋花芽鱗片への感染経路を明らかにするために、先ず秋季に枝を流下する雨水中の分生子数の実態について検討することにした。

材料および方法

枝から雨水を採取するために、棚仕立ての豊水および長十郎を供試した。水平



第5-7図 ナシ黒星病菌分生子の葉への接種後の温度および濡れ保持時間と発病程度

a) 葉の濡れ時間。

線に対して上向き約40度から60度の角度で生育している一年生枝の基部近くにアルミホイルを強く巻き付けてロート状にし、枝を流下してきた雨水をすべてここに集め、ビニール製のパイプを經由して地面に置いたポリエチレン製のタンクに導いた。タンクの口はパイプ以外から水等が入らないようにするため、アルミホイルで覆った。雨水の採取は9月上旬からほぼ落葉してしまった11月中旬まで、降雨後の毎午前9時に行った。

雨水中の分生子数を調査するために、採取された雨水は供試枝別に水量を計り、採集雨量が10ml以上の場合は予め50倍に希釈しておいたA展着剤を採取雨水に対して1%の比率で添加後よく攪拌し、10mlに満たない場合は脱イオン水を加えて10mlにし、これらの懸濁液を寒天液濃縮法²¹⁸⁾で濃縮し、胞子数を計測した。総胞子数は先に記した方法で求めた。

実験結果

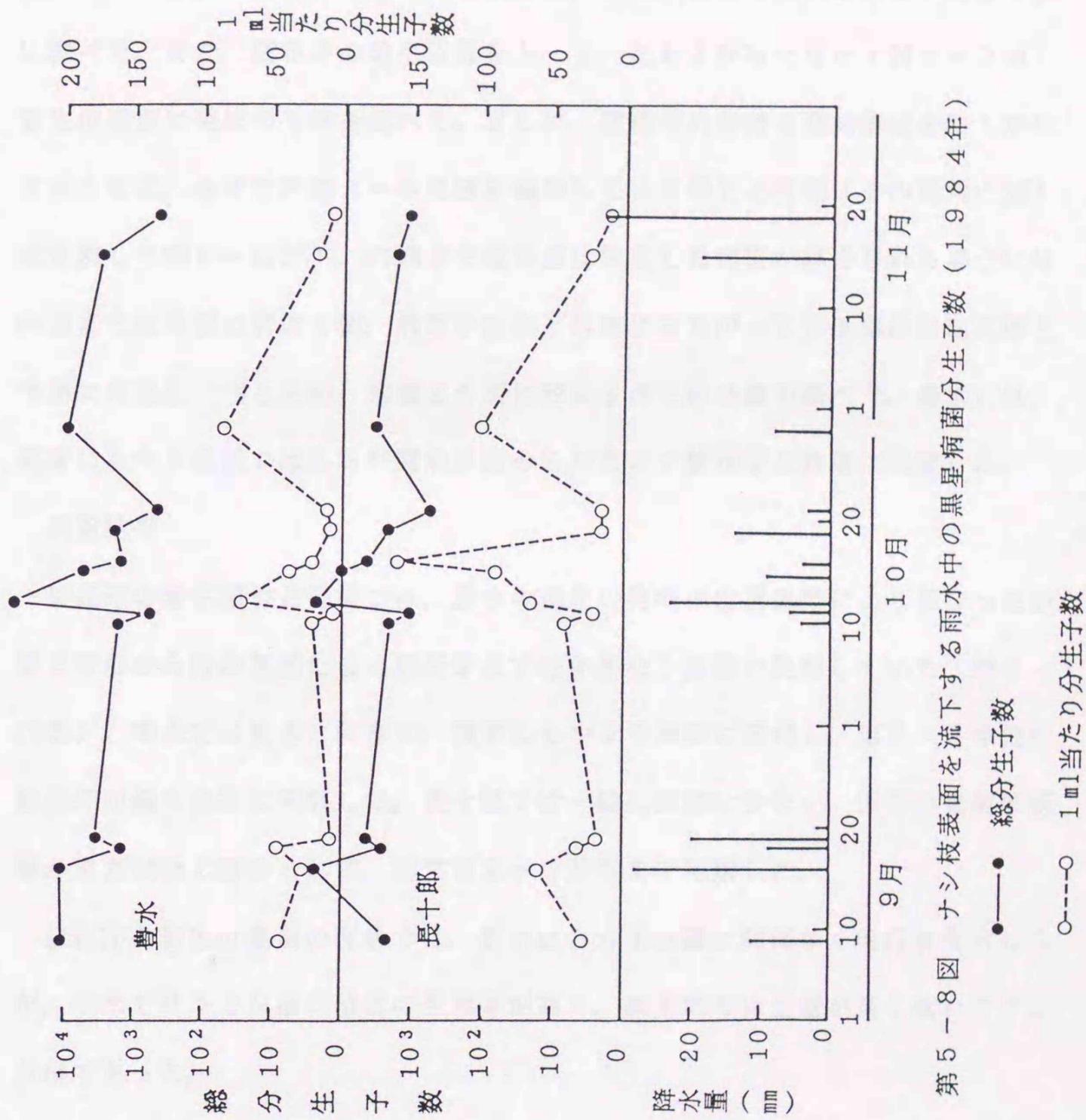
雨水の採取を開始した9月上旬から落葉期まで胞子は常に雨水中に認められた(第5-8図)。そして、採集雨水1ml当たりの胞子数、総胞子数の違いは、雨水の採取時期よりむしろ連続する降雨があった場合の降雨開始から採取日までの日数や採集雨量によって生じる傾向を示した。また、雨水中の総胞子数は、長十郎の方が豊水よりも多い傾向を示した。以上の結果から、秋季の降雨時には相当数の分生子が雨水とともに枝を流下していることが明らかになった。

2) 一年生枝上の腋花芽の着生順位、着生位置と発病率ならびに発病部位

圃場観察で、腋花芽の着生順位、着生位置および部位(内側と外側)により黒星病の発病率に差のあることに気付いたので、このことを詳細に調査することにした。

材料および方法

棚仕立ての豊水、幸水、長十郎の腋花芽を調査対象とした。調査時まで剪定は



第5-8図 ナシ枝表面を流下する雨中の黒星病菌分生子数(1984年)

もとより枝の誘引など栽培管理を行わないようにした。腋花芽の着生順位は、頂芽を第1芽位、それから枝の基部に向かって2、3、4、――芽位と定め、各腋花芽について鱗片発病に基づいて起こる花叢基部における発病の有無を開花時頃に調べた。また、腋花芽の着生位置を上、下、左および右に分け(第5-9図)、着生位置別に発病の有無を調べた。さらに、腋花芽における発病部位を明らかにするために、各芽を内側(一年生枝と相対している側)と外側(その反対の側)に区別し(第5-10図)、内側または外側に独立した病斑が認められる場合には内側または外側に病斑1個、病斑が内側と外側にまたがっている場合には内側と外側に病斑各1個と定め、内側と外側に形成された病斑数を調べた。豊水には、葉芽にもやや低率ではあるが発病が認められたので腋花芽と同様に調査した。

実験結果

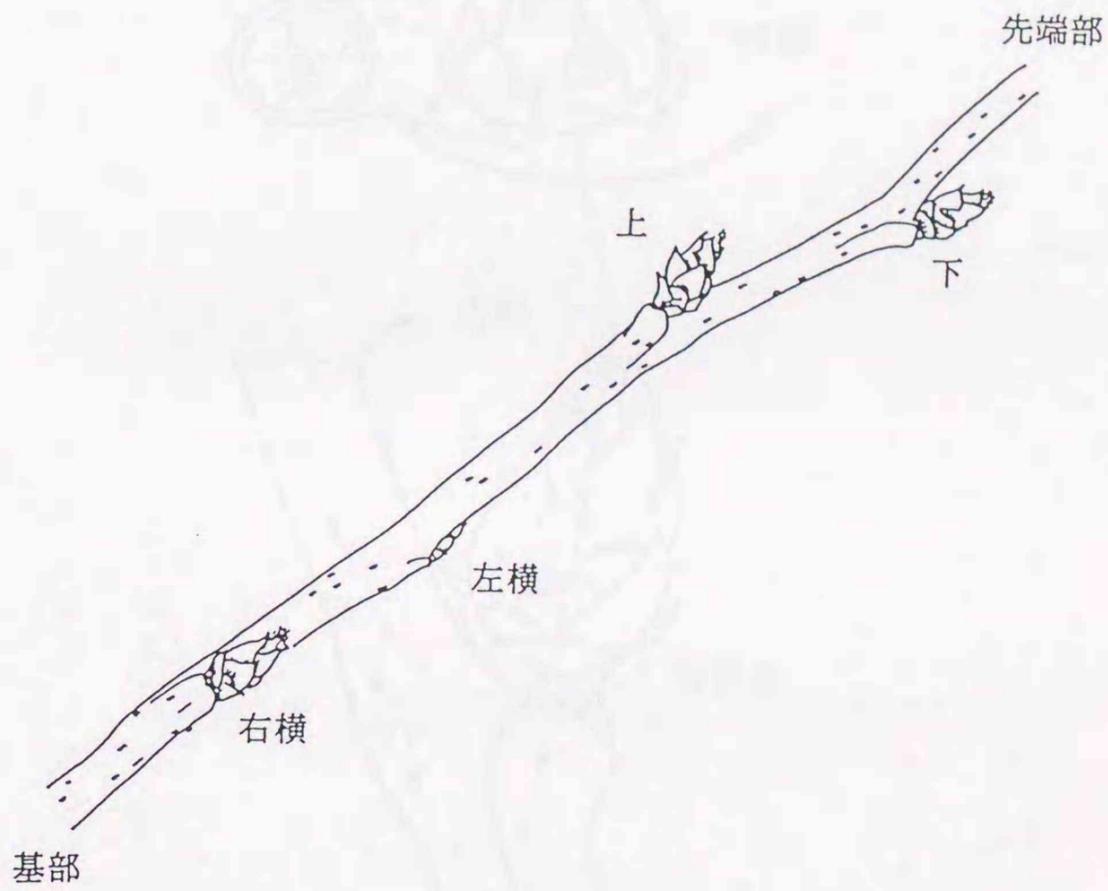
腋花芽の着生順位と発病では、豊水の頂芽の発病率は調査年により異なったが、第2芽位から枝の基部に近い腋花芽まで毎年かなり高率に発病していた(第5-16表)。幸水では豊水と同様に、頂芽にもかなり高率に発病し、第2~9芽位の腋花芽が最も高率に発病した。長十郎では一般に発病は少なく、頂芽の発病は低率かまたは全く認められず、通常第2~6芽位まで発病した。

腋花芽の着生位置別の発病では、豊水は各着生位置に関係なく同程度発病したが、幸水では下と左横の位置の発病率が高く、長十郎では左横が高く次いで下と右横であった。

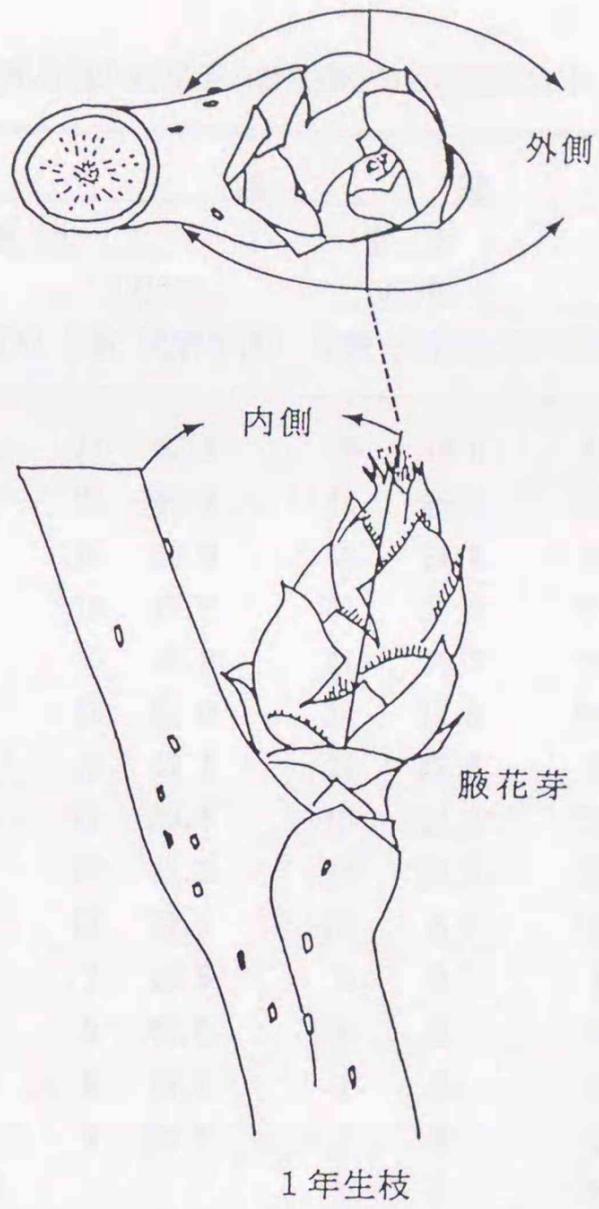
腋花芽における発病部位は、豊水、幸水および長十郎とも内側において多く、豊水では有意な差(1%)があり、さらに、豊水の葉芽でも内側において多かった。

3) 腋花芽鱗片における黒星病菌の侵入部位

腋花芽鱗片における侵入部位について走査電子顕微鏡観察および芽の形態から



第5-9図 ナシ一年生枝上における腋花芽の着生位置



第5-10図 ナシ一年生枝上における腋花芽の内側と外側

第5-16表 ナシ主要品種の腋花芽の着生順位別の基部における黒星病の発生程度

腋花芽 の 順位	品 種									
	豊 水				幸 水		長十郎			
	1987年		1988年		1988年		1987年		1988年	
	芽数	発病率(%)								
頂芽	18	11.1	21	52.4	46	13.0	21	4.8	29	0
2	18	44.4	22	40.9	45	15.6	20	25.0	28	14.3
3	16	37.5	20	50.0	45	24.4	19	36.8	22	13.6
4	18	22.2	18	27.8	41	26.8	21	9.5	27	3.7
5	17	23.5	20	40.0	41	31.7	19	0	27	7.4
6	15	33.3	17	52.9	34	17.6	21	4.8	25	4.0
7	15	20.0	19	42.1	24	25.0	18	5.6	20	0
8	11	18.2	17	29.4	18	22.2	12	8.3	21	0
9	8	25.0	15	33.3	17	23.5	12	8.3	17	0
10	7	42.9	13	23.1	12	8.3	11	0	12	7.4
11	4	25.0	7	28.6	5	0	7	0	10	10.0
12	4	25.0	5	40.0	6	0	5	0	6	0
13	3	0	6	16.7	1	0	6	0	5	0
14	2	50.0	4	50.0	1	0	4	0	5	0
15	2	0			1	0	2	50	4	25.0
16	1	0					2	50	1	0

検討することにした。

(1) 走査電子顕微鏡による感染部位の観察

走査電子顕微鏡（以下SEMとする）観察により、腋花芽鱗片のどの部位から黒星病菌が侵入するかを明らかにしようとした。

材料および方法

観察試料は、主に豊水の腋花芽を対象としたが幸水および長十郎も供試した。採取した枝全体または枝から切り取りシャーレの底蓋に敷いた水で湿らせたろ紙上に静置した腋花芽に、常法で懸濁した分生子液を噴霧接種後、枝全体の場合は暗黒下20℃、湿度100%で24～48時間保持し、切り取った腋花芽の場合は上蓋をして約20℃の室内に同時間置いたものと、7月下旬以降殺菌剤無散布のナシ園の豊水から11月上～中旬に採取した腋花芽であった。これらを、枯死組織部分（芽を採取した状態で観察した場合、露出し、枯死している鱗片部分；以下露出鱗片枯死組織部分とする）と生組織部分（芽を採取した状態で観察した場合、枯死鱗片によって覆いきれないために露出している部分；以下露出鱗片生組織部分とする）（第5-11図）に切り分け、常法に従い2.0%グルタルアルデヒドで固定した後洗浄し、エタノールシリーズで脱水後、酢酸イソアミルに置換し、臨界点乾燥を行った。また、一部試料は固定処理は行わずにシリカゲルを入れたデシケータ内に保ち、乾燥させた。これらの試料に常法で金を蒸着後、SEMにより加速電圧10～25kvで観察した。

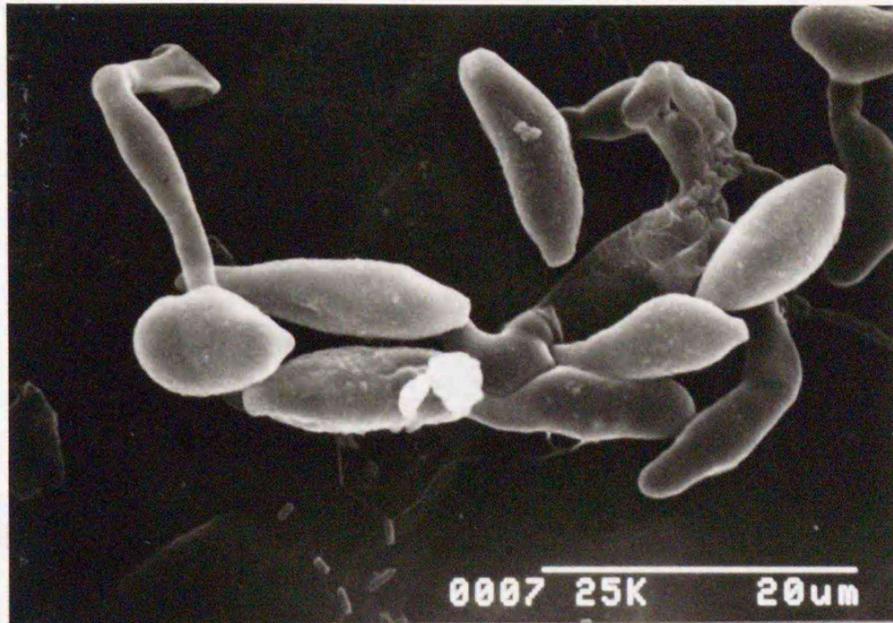
実験結果

人工接種した腋花芽の露出鱗片生組織部分においては、分生子の発芽は一般に良好であり、付着器の形成および侵入が認められた（第5-12図）。しかし、露出鱗片枯死組織部分における分生子の発芽は非常に悪く、しかも発芽管先端部における付着器の形成および組織への侵入は認められなかった。以上は、主に豊水



第5-11図 ナシ腋花芽における露出鱗片生組織部分と枯死組織部分

← 生組織部分 ← 枯死組織部分



1 鱗片生組織部分における状況



2 鱗片枯死組織部分における状況

第5-12図 鱗片生組織部分および枯死組織部分におけるナシ黒星病菌
分生子の発芽および付着器形成ならびに侵入状況

の接種腋花芽鱗片の観察結果について記したものであるが、幸水、長十郎および野外で採取した無接種の豊水の腋花芽においても同様な観察結果が得られた。以上から、黒星病菌の鱗片への感染部位は露出鱗片生組織部分であることが明らかとなった。

(2) 品種、芽の種類および芽の部位別露出鱗片生組織部分

ナシ黒星病菌による腋花芽鱗片への侵入部位は露出鱗片生組織部分であることがSEM観察の結果明らかになったので、ナシの品種および芽の種類別の露出鱗片生組織部分の存在状態を検討することにした。

材料および方法

露出鱗片生組織部分の有無の調査は、豊水、幸水および長十郎の一年生枝上の腋花芽、葉芽（いずれも頂芽は除く）および短果枝の花芽を対象にして行った。なお、腋花芽については着生している枝に面している側（内側）の半芽とその反対側（外側）にの半芽に切り分けて調査し、さらにその数も併せて調査した。

実験結果

腋花芽の露出鱗片生組織部分の保有率は、供試した豊水、幸水および長十郎の内および外側とも高く、その保有数は平均1個以上であり、供試した3品種とも内側でやや多いかまたはほとんど差がなかった（第5-17表）。また、豊水の一年生枝の葉芽には低率であるがその存在が認められたが、幸水と長十郎では認められなかった。短果枝の花芽では、幸水の保有率がやや高かったが、他の2品種では非常に低かった。

5 葉の品種間差異

葉における黒星病発生の品種間差異を調べた例は非常に少なく、しかも一般管理圃場における調査例であるので、遺伝に基づく品種固有の罹病性を示していな

第5-17表 ナシ品種および芽の種類と露出鱗片生組織部分保有率およびその数

供試品種	芽の種類	調査部位	調査芽数	生組織部分保有率(%)	生組織部分数 ^{a)}
豊水	腋花芽	内側	102	94.1	1.6
		外側	102	70.6	1.2
	一年生枝葉芽	- ^{b)}	140	3.6	- ^{c)}
	短果枝花芽	-	233	3.9	-
幸水	腋花芽	内側	31	87.1	1.2
		外側	31	83.9	1.1
	一年生枝葉芽	-	182	0	-
	短果枝花芽	-	105	19.0	-
長十郎	腋花芽	内側	102	89.2	1.5
		外側	102	74.5	1.1
	一年生枝葉芽	-	138	0	-
	短果枝花芽	-	224	0.9	-

- a) 内側または外側半芽当たりの平均露出鱗片生組織部分数。
 b) 芽全体の調査。
 c) 調査未実施。
 d) 調査は1986年11月10~18日に実施。

い。そこで、可能な限り殺菌剤の散布を省略し、各品種の葉が遺伝に基づいて固有に保持している黒星病に対する感受性の差異を検討することにした。

材料および方法

新たに開墾し、周辺にナシ園が存在しない圃場を品種発病比較圃場として設定し、豊水、幸水、長十郎など第5-18表に示した合計23品種の苗木を4×3m間隔で原則として1区1樹、2反復（ただし、独己、君塚早生、八君、雲井は反復無し）で定植した。1988年は黒斑病を主とする諸病害の防除を目的に、5月11日にジチアノン剤 1,000倍液、5月28日にジチアノン剤1,000倍液、6月16日にジチアノン剤1,000倍とイプロジオン剤1,000倍の混用液、6月27日にジチアノン剤1,000倍液、9月1日にポリオキシシン剤1,000倍液を肩掛け式噴霧器で散布した。春型病斑¹⁸⁹⁾の調査は春～夏季、秋型病斑¹⁸⁹⁾の調査は秋季に行った。

実験結果

供試した23品種の中には黒星病が多発するものから全く発生しないものまであった。

春型病斑では発病葉率と発病度との間の相関が高かったので、発病葉率で各品種の黒星病に対する感受性を判定した。最も病斑が多く、感受性が高いと判定されたのは豊水（発病葉率72.5%）であり、以下八幸、長十郎、幸水などの順であった（第5-18表）。逆に、発病が全く認められず感受性がきわめて低いか抵抗性であろうと判定されたのは祇園、新興、晩三吉および巾着の4品種であり、わずかに発病が認められたのは早玉、二十世紀および早生幸蔵などであった。一方、秋型病斑の発生程度についても春型病斑と同様に品種により著しい差異が認められた。春型病斑と同様に発病葉率で感受性を判定したところ、最も多発し感受性が高いと判定されたのは八幸（発病葉率86.4%）であり、以下長十郎、豊水、幸水などの順であった。逆に発病が認められず、感受性が極めて低いか抵抗性であろうと判定されたのは祇園、二十世紀、晩三吉および巾着の4品種であり、わず

第5-18表 ナシ品種の葉における春型および秋型病斑の発生の品種間差異

供試 ナシ 品種	春型病斑			秋型病斑		
	調査 葉数	発病 葉率	発病 度	調査 葉数	発病 葉率	発病 度
独己	150	53.7 ^{a)}	17.3	141	49.3	16.8
長寿	127	30.0 cde	8.7 de	142	13.9 bc	3.8 b
八雲	111	3.8 ef	1.4 e	116	1.1 c	0.7 b
君塚早生	138	15.2	7.3	185	6.7	1.8
翠星	144	49.3 abc	20.3 bcd	187	53.5 ab	24.9 ab
新水	112	25.1 cdef	11.0 cde	152	47.3 abc	25.2 ab
多摩	132	7.5 def	2.7 e	144	9.2 bc	2.7 b
早玉	133	0.8 f	0 e	200	4.5 bc	1.7 b
新星	134	32.5 bcd	11.8 cde	197	38.9 abc	16.1 ab
八君	135	15.3	4.4	137	16.9	7.3
新高	37	5.4 def	1.0 e	34	3.2 bc	0.7 b
祇園	126	0 f	0 e	158	0 c	0 b
豊水	132	72.5 a	31.0 ab	181	82.4 a	43.9 a
雲井	144	10.3	3.2	136	13.1 bc	3.9 b
巾着	132	0 f	0 e	135	0 c	0 b
幸水	132	55.5 ab	33.5 ab	50	54.0 ab	28.7 ab
菊水	132	31.5 bcd	12.0 cde	200	50.5 abc	22.6 ab
長十郎	130	62.0 a	25.8 abc	200	86.0 a	38.1 a
八幸	132	64.0 a	35.0 a	88	86.4 a	41.8 a
新興	132	0 f	0 e	200	2.5 bc	0.6 b
二十世紀	132	3.0 ef	1.2 e	110	0 c	0 b
晩三吉	79	0 f	0 e	91	0 c	0 b
早生幸蔵	29	2.9 ef	0.6 e	29	3 bc	1.2 b

- a) 春型病斑の発病程度指数 (0 : 発病無し、1 : 病斑数が1個、3 : 病斑数が2~3個、またはそれ相当の大きな病斑が1個、5 : 病斑数が4個以上、またはそれ相当の大きな病斑が2個以上)。
- b) 秋型病斑の発病程度指数 (0 : 健全、1 : 病斑面積が10%未満、2 : 病斑面積が10%以上20%未満、3 : 病斑面積が20%以上40%未満、4 : 病斑面積が40%以上60%未満、5 : 病斑面積が60%以上)。
- c) アルファベットの付いていないものは反復数不足のため多重比較検定からは除外。
- d) 同一英文字を付した平均値間にはDuncan's multiple range testによる有意差 (5%) が無いことを示す。
- e) 調査は1988年7月 (春型病斑) と10月 (秋型病斑) に実施。

かに発病が認められたのは君塚早生、早玉、新興および早生幸蔵の4品種であった。また、春型病斑と秋型病斑の発病葉率および春型病斑と秋型病斑の発病度との間にはそれぞれ有意(1%)な相関(発病葉率; $r = 0.951$ 、発病度; $r = 0.941$)が認められた。

6 新梢の品種間差異

ナシ品種の新梢が遺伝に基づいて固有に保持している黒星病に対する感受性の差異について明らかにすることは、ナシ品種の黒星病に対する感受性を判定する上で重要であると判断されたので、検討することにした。なお、ナシの枝は伸長中の若い部分だけが黒星病に感染することを予備実験で確認している。

材料および方法

供試圃場として、前項5の葉の品種間差異を調べた圃場の各品種を供試した。各品種の一年生枝をすべて調査対象とし、病斑数を調べ、枝の長さ1m当たりの病斑数として表した。

実験結果

幸水、豊水、新星、八幸などの品種では、形成病斑数が多く、長十郎、八雲、新水などは中程度であり、晩三吉、巾着などには病斑の形成は認められず、枝における黒星病の病斑数にはかなり顕著な品種間差異のあることが明らかとなった(第5-19表)。また、枝における病斑数と春型病斑の発病葉率または発病度との間には有意(1%)な相関(発病葉率: $r = 0.772$ 、発病度: $r = 0.816$)が認められた。

7 主要品種果実の生育時期別感受性の推移

無袋で栽培される主要ナシ品種の黒星病に対する果実の感受性の生育に伴った推移はこれまで検討されたことがなかったので、調べることにした。

第5-19表 ナシ品種の新梢における黒星病発生の商品間差異

品種	調査総新梢長 (m)	新梢 1 m 当たりの病斑数 (個)
独己	5.56	4.5 cd
長寿	5.58	0.9 de
八雲	3.05	3.6 cde
君塚早生	3.89	0 e
翠星	13.2	6.5 bc
新水	8.3	1.8 de
多摩	3.79	1.1 de
早玉	17.63	0.1 e
新星	10.93	7.0 abc
八君	5.42	1.1 de
新高	1.4	1.4 de
祇園	6.09	0.2 e
豊水	13.08	8.7 ab
雲井	5.32	0 e
巾着	5.57	0 e
幸水	3.3	10.9 a
菊水	14.25	1.5 de
長十郎	21.73	1.5 de
八幸	10.68	6.1 bc
新興	6.75	0 e
二十世紀	0.93	0 e
晩三吉	1.78	0 e
早生幸蔵	1.61	0 e

a) 同一英文字を付した病斑数平均値間にはDuncan's multiple range testによる有意差 (5%) が無いことを示す。

b) 調査は1989年2月に実施。

材料および方法

供試果実として、幸水、長十郎、豊水および新高を供試し、実験に供する前に果実が本病菌に感染するのを防ぐため、着果を確認した直後から有袋で管理した。これらの果実へ、常法で病斑上の分生子を懸濁し、その孢子濃度を約 1×10^5 個/ml に調節した孢子液を、6月上旬～7月下旬まで約10日間隔で区別に順次噴霧接種した。接種後も有袋で管理し、各品種とも初発病頃から収穫期頃まで果実上の病斑数を数日間隔で調査した。

実験結果

供試した4品種の中で、幸水の発病果率が顕著に高く、また、6月中～下旬接種区では1果当たりの病斑数が急増し、感受性が顕著に高くなるのが認められた(第5-20表)。他の供試品種の中では、新高の7月上～中旬接種区で同様な傾向が弱く認められた程度であった。また、豊水や長十郎の病斑は一般に小さく、かさぶた状を呈したが、幸水および新高の病斑は大きく、しかもその部分は陥没するが多かった。

8 幸水果実の生育時期別感受性および潜伏期間の推移

前項7で述べたように、主要品種の果実の中で幸水の感受性だけが黒星病に対して特異的に高いことが明らかになったので、果実の生育に伴う黒星病に対する感受性、潜伏期間および裂果率の推移等諸項目についてさらに詳細に検討することにした。

材料および方法

開花前から開花3週間後頃までに行った接種実験では鉢植えの苗の果実(開花前は花托、以下同じ)、着果が確認された5月上または中旬からの接種実験には棚仕立ての樹の果実を供試し、鉢植えでは接種時から、棚仕立ての場合は着果が確認されてから有袋で管理した。

第5-20表 ナシ果実に対する黒星病菌分生子の接種時期別発病
程度の品種間差異

供試品種	接種月日	供試果数	発病果率 (%)	1果当たり 平均病斑数
幸水	6月9日	27	88.9	5.6
	6月19日	30	86.7	22.4
	6月29日	30	86.7	55.1
	7月8日	29	79.3	13.6
	7月17日	29	48.3	2.9
	7月29日	29	3.4	0
	無接種	28	3.6	0.1
豊水	6月9日	25	8.0	0.2
	6月19日	28	25.0	0.8
	6月29日	26	38.5	0.5
	7月8日	24	4.2	0
	7月17日	29	3.4	0.1
	7月29日	30	0	0
	無接種	30	0	0
長十郎	6月9日	20	50	2.6
	6月19日	19	5.3	0.1
	6月29日	19	0	0
	7月8日	20	0	0
	7月17日	19	0	0
	7月29日	19	0	0
	無接種	20	5	0.1
新高	6月9日	10	80	4.4
	6月19日	10	0	0
	6月29日	10	0	0
	7月8日	10	100	6.6
	7月17日	10	90	6.5
	7月29日	10	0	0
	無接種	20	0	0

a) 実験は1987年に実施。

鉢植えの幼果への接種は、病斑上の分生子を常法で懸濁し、その濃度を $0.5\sim 1.0\times 10^5$ 個/mlに調製した後、クロマトグラフ用の霧吹器で花叢部に十分かかるように噴霧した。接種されたナシ樹は、直ちに蛍光灯照明下の 20°C 、湿度100%で48時間保持後、所定の場所で管理した。棚仕立ての幸水果実への接種では、病斑上の分生子を常法で懸濁し、その濃度を約 2.5×10^5 個/ml（1977年のみ）または約 1.0×10^5 個/mlに調製し、ハンドスプレーで十分噴霧後、直ちに袋を掛け直した。

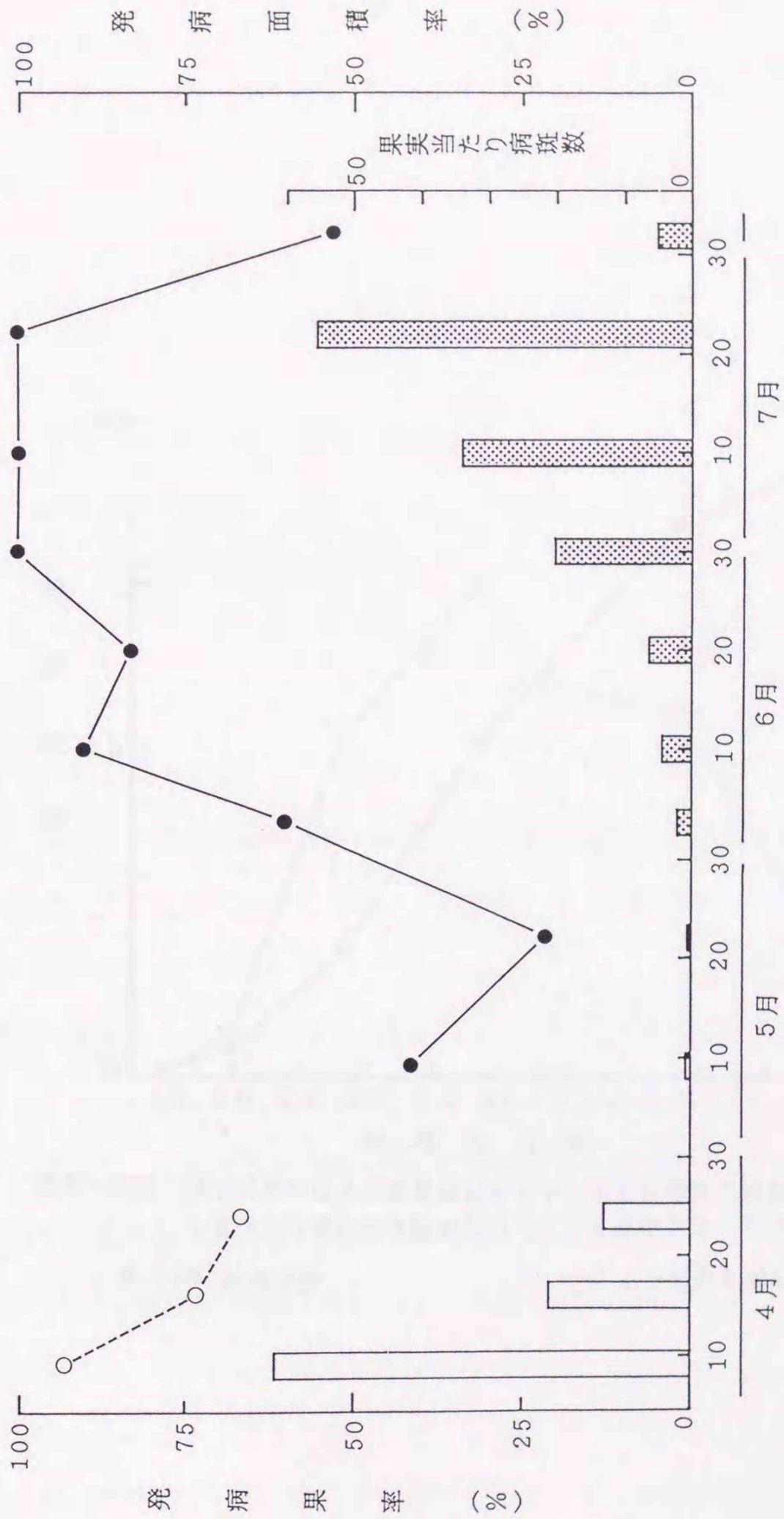
生育時期別に接種した果実の発病の推移の調査は、初発病頃から数日間隔で行った。発病調査は、鉢植えのナシ果実では発病面積率（発病面積÷全表面積×100%）について、棚仕立ての場合は1果当たりの病斑数について行った。裂果調査では、亀裂部分に黒星病の病斑が認められる裂果を対象として行った。

実験結果

ナシの開花前から開花後約2週間以内の幼果に接種した場合、形成された病斑は果実表面に大きく広がった（図版I-1-3）。しかし、その時期を過ぎた果実に形成された病斑は、常に独立していた（図版I-2-2）。

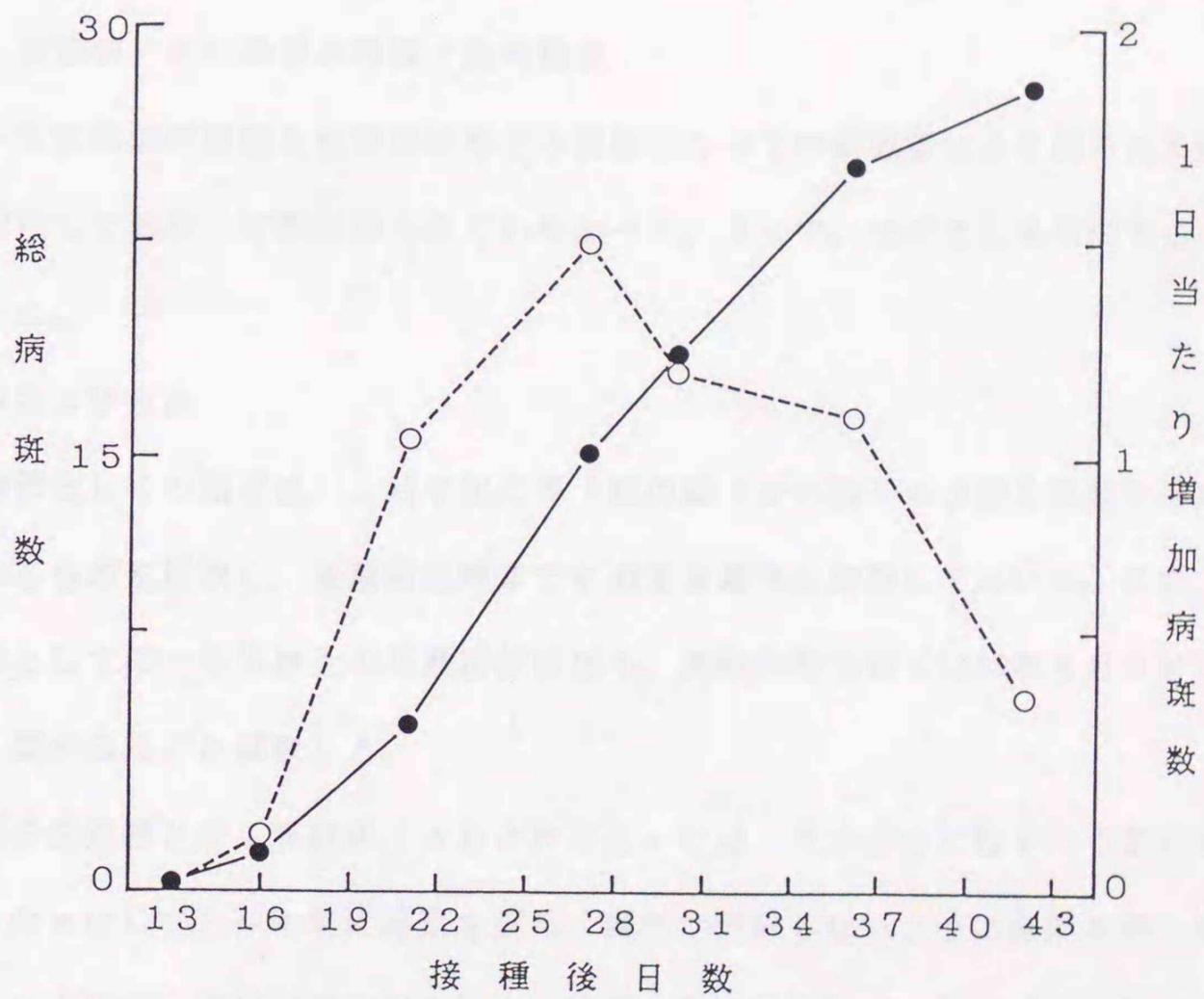
果実の生育時期別黒星病に対する感受性の推移を、幼果期には病斑面積率から、また幼果期以降には1果実当たりの病斑数から判定したところ、開花前から開花後約2週間頃までの幼果期の感受性は非常に高く、その後急激に低下し、6月上旬まではそのまま推移し、6月中旬から再び徐々に高まり、通常は7月上旬または中旬（満開後75~90日）にピークに達し、その後は急激に低下した（第5-13図）。ただし、1987年における発病のピークは例外的に6月下旬であった。また、幸水の果実が黒星病に対して最も感受性が高い時期に接種した場合の接種後日数と果実における黒星病の病斑数の増加状況は1山型を示し、総病斑数はS字状を示した（第5-14図）。

果実における潜伏期間は、開花前は平均18日間であったが、その後開花2週間



第5-13図 ナシ果実へのナシ黒星病菌分生子の生育時期別人工接種による黒星病の発生程度

○---○ 発病果率
 □ 発病面積率
 ●—● 発病果率
 ■ 果実当たり病斑数



第5-14図 幸水果実へのナシ黒星病菌分生子の人工接種後の総病斑数および1日当たり増加病斑数の推移(1980年7月9日接種)

●—● 総病斑数 ○---○ 1日当たり増加病斑数

後頃までの幼果ではやや短くなった。その後、6月中旬までは長くなり、6月下旬からは再び短くなった（第5-21表）。

接種時期別の黒星病による裂果率は、5月上～中旬の接種区で最も高く、その後6月上旬接種区までは低く、6月中旬に5月上～中旬よりは低いが再び高くなった。

9 主要第一次伝染源の種類と発病経過

第一次伝染源の種類と初発病における役割については研究者により得られた結果が相反しており、定説は得られていなかった。そこで、このことを検討することにした。

材料および方法

伝染源としての落葉は、3月中旬に長十郎の樹下から偽子のう殻を多量に形成しているものを採取し、実験開始時までそのまま屋外に放置しておいた。また、伝染源としての一年生枝上の花叢基部病斑も、実験開始当日（1989年4月4日）にナシ園から枝ごと採取した。

落葉を伝染源とする実験区（AおよびB区）には、その中心に偽子のう殻形成面を上向きにして3～4層に落葉を重ね、風等で飛散しないように金網を張った木枠をかぶせた。発病花叢基部病斑を伝染源とする実験区（AおよびC区）には、実験開始当日に1区当たり発病芽6個を枝に着けたまま採取して水挿しにし、地上約170cmに位置するように固定した。各実験区は別の実験区の伝染源による感染を避けるため、お互いに約20m離し、しかも建物等で実験区は互いに遮られる場所に設置した。

供試ナシ苗は前年から各実験区の場所に1区当たり3本植えて管理していた長十郎で、萌芽した時点で本病に罹病していないことを詳細に調査して確認した後供試した。また、実験開始前に樹下の落葉はていねいに拾い集め、処分した。

第5-21表 ナシ辛水果実への黒星病菌分生子の
接種時期別最短潜伏期間

接種時期	最短潜伏期間 ^{a)} (日)
4月9日	18
16日	14
24日	15
30日	14
5月1日	14
6日	16
8日	21
9日	21
11日	22
19日	27
23日	36
29日	26
6月2日	24
4日	27
9日	28
10日	29
11日	29
17日	28
19日	24
20日	24
29日	15
30日	21
7月8日	14
9日	16
17日	21
21日	17

a) 1980、1985、1986、1987年の結果を主とし、
1977年の結果も採用してとりまとめた。

発病調査では、発病初期と発病約2週間後に地面から120cmまでは60cm間隔、120cm以上は一括し、原則として全葉について発病程度を調査して指数化し、発病葉率と発病度を算出した。

実験結果

落葉および花叢基部病斑を伝染源としたA区および落葉のみを伝染源としたB区の初発病は同時期であり、しかも多発した(第5-22表)。一方、花叢基部病斑のみを伝染源としたC区は初発病が遅く、5月中旬頃までの発生はかなり少なく、その後も新たに増加した病斑数は少なかった。また、各実験区の地面からの高さ別の発病調査では、AおよびB区は地面に近い部分の葉にはもとより、120cm以上の部位でもかなり多発したが、花(果)叢基部病斑を伝染源とする実験区(C区)では、少発生でしかも地面からの高さで発病程度との間には一定の傾向は認められなかった。これらの結果は、初発生に関与している第一次伝染源として子のう胞子を形成している前年の病落葉を重視する必要があることを示唆している。

10 考察

リンゴ黒星病菌の子のう胞子は分生子に比べてやや短い濡れ時間でも発病するとの報告⁹⁵⁾があるが、ナシ黒星病菌の子のう胞子と分生子の葉に対する感染力の差異を比較した報告は見当たらない。いずれか一方の種類の胞子を供試して得た成果を、他方の胞子の感染に関する考察に利用できるか否かを明らかにするためにも、このことを検討することは重要であると思われた。実験の結果、孢子濃度が 10^5 /ml程度であれば両胞子の感染力はほぼ同等であることが明らかとなり、通常の接種実験においては子のう胞子または分生子のいずれか一方を供試すれば、少なくとも葉における感染・発病の場面においてはその結果を差別なく利用できるものと判断された。

第5-22表 ナシ黒星病の第一次伝染源の種類と発病程度

実験区	伝染源の種類	発病葉 調査部位 ^{a)}	1989年5月8日			1989年5月24日		
			調査葉数	発病葉率(%)	発病度	調査葉数	発病葉率(%)	発病度
A	落葉 ^{b)} + 花叢基部 ^{c)}	0~60	115	29.3 a	8.7 a	118	38.3 a	15.6 a
		60~120	341	21.7 bc	5.0 bc	368	29.0 b	9.3 bc
		120以上	417	15.8 cd	3.6 bcd	462	22.0 bc	5.1 cd
B	落葉	0~60	88	28.2 ab	5.6 b	108	28.9 b	11.4 b
		60~120	412	17.0 cd	3.9 bcd	412	24.2 b	7.7 bc
		120以上	376	9.8 de	2.1 de	406	17.0 c	6.0 c
C	花叢基部	0~60	70	0 f	- e	125	2.9 d	0.8 de
		60~120	252	2.7 ef	0.3 e	298	3.3 d	1.2 de
		120以上	223	0.9 f	0.3 e	217	2.0 d	0.8 de
D	無	0~60	86	0 f	- e	88	0 d	- e
		60~120	268	0 f	- e	315	0 d	- e
		120以上	421	0 f	- e	410	0 d	- e

- a) 調査部位（地面からの高さ：0~60とは地表面から60cm未満の範囲、以下同じ）。
- b) 前年発病し黒星病菌偽子のう殻が密に形成されているもの。
- c) 腋花芽の花叢基部に発病しているもの。これらの伝染源を樹下（落葉）または地表面上約170cmに設置した。
- d) 春型病斑の発病程度指数（0：発病無し、1：病斑数が1個、3：病斑数が2~3個、またはそれ相当の大きな病斑が1個、5：病斑数が4個以上、またはそれ相当の大きな病斑が2個以上）。
- e) 同一英文字を付した平均値間にはDuncan's multiple range testによる有意差（5%）が無いことを示す。

病原菌を葉面へ接種後の濡れ時間および保持温度と発病程度に関してリンゴ黒星病ではKeitt⁷³⁾およびMills and Laplante¹⁰⁶⁾の報告が有名である。また、最近MacHardy and Gadoury⁹⁵⁾は感染に要する温度および濡れ保持時間に関する自らの実験結果や既報告^{74, 75, 94, 118, 152, 163, 178, 199)}を取りまとめ、感染に要する時間をMills and Laplanteの基準よりやや少ない方向に修正した。ところで、濡れ保持時間および温度と発病程度についてニホンナシ黒星病で得た著者の結果とMills and Laplante¹⁰⁶⁾がリンゴ黒星病で得た結果とを比較してみると、著しく似ている。すなわち、一定時間濡れ保持後の発病程度から判断した発病適温は、両菌とも15~20℃であり、この温度で24時間濡れ状態に保持した場合激しく発病した。また、ナシ葉面における接種分生子の発芽・侵入行動に関する著者の観察結果および既報告¹³⁴⁾ともよく一致した。現在、リンゴ黒星病の発生予察にコンピューター等が利用されているが^{68, 173, 247)}、今後ナシ黒星病の発生予察にもコンピューターが利用される場合、ここで得られた結果は最も基礎的なデータの1つになるものと考えられる。

ナシ黒星病菌の鱗片への感染機構についてはこれまでほとんど検討されたことがなかったが、この点を解明することは防除対策を確立する上で重要なポイントになると考え、種々の実験等を組み合わせて検討した。その結果、秋季になると秋型病斑¹⁸⁹⁾上には分生子が薄く一面に形成され、それが雨水と共に枝の表面を流下し、枝の表面に突出している鱗片にその一部が定着し、主として一年生枝の下部や横に位置する腋花芽の内側に定着した分生子が秋雨後も比較的長時間濡れ状態に保たれた条件下で発芽して露出鱗片生組織部分から侵入し、感染が成立すると考えられた。この想定された感染機構は、病斑の出現場所に関する報告¹¹²⁾や簡易ビニールハウス内の腋花芽に接種をしても全く発病しなかった予備実験の結果ともよく一致した。ただし、豊水や幸水で多発する原因については、感受性が高いためか、芽の形態的特徴が黒星病菌の感染に適しているためか、またはそ

の他に原因があるのか今のところ明らかではない。

腋花芽の着生順位における発病率は、豊水に比べて幸水と長十郎では下位になると明らかに低くなり、長十郎を用いて実験した御園生ら¹¹²⁾の結果とかなり良く一致した。従って、剪定時には通常一年生枝の先端部分を切除する（切り返し剪定）が、黒星病の耕種的防除の一方法として、一年生枝の先端部を意識的に強く切除する方法が考えられる。

葉における黒星病の発生程度は、古くから報告されているように^{6, 47, 114, 145, 181)}、明らかな品種間差異が認められた。春型病斑の調査結果から、発病葉率を基準にしてナシ品種の黒星病に対する感受性に関してグループ分けを行うと、強感受性品種は豊水、八幸、長十郎、幸水、独己、中程度感受性品種は翠星、新星、菊水、長寿、新水、君塚早生、弱感受性品種は八君、雲井、多摩、新高、八雲、二十世紀、早生幸蔵、微～抵抗性品種は早玉、祇園、新興、晩三吉、巾着であった。この結果から、無袋で栽培される主要ニホンナシ品種である幸水、豊水および長十郎はいずれも最も多発するグループに入っており、これら品種の黒星病防除の重要性が強く示唆された。また、その年の黒星病の被害と直接関連を持つと考えられる春型病斑の発生程度と翌年の第一次伝染源の量と関連が深い秋型病斑の発生程度との間には有意（1%）な相関（ $r = 0.951$ ）が認められたが、この点についての御園生・深津¹¹³⁾の研究においては、明瞭な傾向は認められていない。この様な差異が生じた原因は、本実験では無防除に近い状態で管理した品種比較圃場での調査結果であったが、御園生らは少なくとも7月まで防除を行った一般圃場で調査したためであろうと考えている。

幸水の果実は、同じく無袋栽培される他の品種と比べて幼果期を過ぎた後も黒星病に対する感受性が著しく高く、また、その生育に伴って感受性が大きく変化することが明らかとなった。このことは、幼果期を過ぎた後も幸水の場合は果実の防除が非常に重要であることを示唆している。また、感受性が肥大後期まで高

い要因として、高村¹⁸²⁾は幸水果実のコルク層の発達不良であろうと推定しているが今のところ正確なことは不明であり、効果的な防除法の確立のために、今後この点について詳細な研究が望まれる。

ナシ黒星病の初発生に大きく関与している第一次伝染源は、これまでは病落葉上に形成される子のう胞子であるとする説^{1, 33, 47, 170)}と、鱗片病斑および花(果)叢基部病斑上に形成される分生子であるとする説^{108, 183)}があり、混乱していた。そこで、子のう胞子の分散消長を調べた結果、分散開始時期は従来報告されていた時期より少なくとも約2週間早い催芽期頃¹⁴¹⁾であり、一方、発病花(果)叢基部からの分生子の分散は、幸水の開花初期頃から始まることを確認した。また、第7章の第2節の1項で詳述するように、伝染源の一つである発病花(果)叢基部の直下に置いて暴露した鉢植えのナシ苗を時期別に撤去したところ、開花直前までに移動したナシ苗にはほとんど発病しなかった。さらに、第一次伝染源の種類と発病推移に関する実験を行い、子のう胞子が重要であるとする清水¹⁷⁰⁾と同様の結果を得た。以上の結果を考え合わせ、初発病に大きく関与している第一次伝染源は病落葉上に形成される子のう胞子であると結論できる。御園生・深津¹⁰⁸⁾によって新しい伝染経路が発見された以後、これを否定する清水¹⁷⁰⁾の実験結果が公表された後も一般には御園生・深津¹⁰⁸⁾の結果が支持され、黒星病の防除体系もそれに従って組み立てられてきた。しかしながら、今後は落葉が初発病に強く関与していることを認識し、落葉はできるだけ集めて焼くか埋めるようにするとともに、殺菌剤の散布開始時期を従来より早めて催芽期からとし、幼果の感受性が高く、子のう胞子の分散が盛んであり、分生子の分散が始まる開花直前から分生子の分散が多くなるその3週間後頃までは特に効果の高い薬剤の使用または散布間隔を短くして防除する必要があるだろう。ところで、鱗片発病に基づく発病花叢基部病斑は、初発生に結び付く第一次伝染源としての重要性は低いことが明らかになったが、黒星病の防除上軽視はできない。このことは、発病花叢を放置し

た場合、そこを伝染源として5月中旬以降本病が蔓延する事実がこのことを如実に証明している。

第6章 ベンズイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌の検定法とその応用

ベノミル剤およびチオファネートメチル剤は1970年代に実用化された。両剤はいずれも水溶液中または散布された後に主にmethyl 2-benzimidazolecarbamate (MBC)に変換し、これが子のう菌類や一部の不完全菌類に対して高い活性を速効的に示し²⁴⁵⁾、しかも各種作物に対して薬害発生の危険性が極めて低い。そのため、多くの農作物の各種の病害に対する主要防除殺菌剤として使用されてきた。しかし、その連用に伴ってリンゴ黒星病菌をはじめ本系薬剤の防除対象とされた多くの果樹および野菜などの各種病原菌に、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌（以下単に耐性菌とする場合もある）が発生し、世界的に大きな問題となった^{3, 18, 25, 48, 49, 62, 67, 81, 86, 97, 99, 121, 133, 135, 136, 142, 158, 160, 161, 164, 185, 190, 196, 230, 232, 233)}。千葉県においても、ナシ黒星病の防除に使用開始後4年目頃から多くのナシ園で防除効果の低下が指摘され始め、実験の結果、その原因は耐性菌の発生とその高密度化によることが明らかにされた²⁰⁷⁾。その実態を調査し、対策を考慮する場合、まず耐性菌の検定を行う必要があり、そのためには発病部から分離した菌を対象薬剤含有培地上で培養し、生育の有無または生育程度により判定するのが一般的な方法である^{155, 159, 176, 203)}。発病圃場を対象にして耐性菌の存否およびその密度を検定して対策を立てようとする場合には、多数の分離菌株を短時間に検定する必要があるが、ナシ黒星病菌の培地上における生育は極めて遅いため²⁴¹⁾、そのような検定方法⁴⁹⁾を実行することはほとんど不可能に近い。そこで、このような困難性を解決するために、耐性菌を簡易迅速に検定する方法を確立し、その上で耐性菌の検定のためのサンプリング法などの諸問題、耐性菌対策について検討することにした。なお、ナシ黒星病の防除において使用されるベンズイミダゾール系薬剤は、ほとんどがベノミル剤とチオファネートメチル剤であり、わずかにチアベンダゾール剤も使用されているが、予備実験の結果ベノミルとチオファネートメチルとは完全な交差耐性の関係にあり、ベノミルとチア

ベンダゾールとはわずかな例外を除けば交差耐性の関係にあったので、耐性菌の検定には原則として市販のベノミル剤を供試して行うことにした。

1 発芽管隔膜法の確立

ナシ黒星病菌は培地上での生育は非常に遅く、そのために菌叢生育法で検定する場合^{159, 203)}、完了までに数週間を要し、しかも同時に大量の分離菌を扱うのは困難である。そこで、簡易迅速に検定する方法について検討することにした。

材料および方法

野生型黒星病菌分生子のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性を検定するために、これらの薬剤が実用化される以前に栽培が放棄された千葉県内3カ所の廃ナシ園および1971年以来栽培が放棄され、本系薬剤は使用されることが無いと判断された廃ナシ園から1976年に病葉を採取した。一方、一般圃場に分布する黒星病菌分生子の本系薬剤に対する感受性を検定するために、本系薬剤が年間数回以上散布され黒星病防除の効果が低下しているとされているナシ園および当時なお効果が認められているナシ園から1976～1977年に病葉を採取した。野生型黒星病菌子のう胞子の本系薬剤に対する感受性を検定するために、前記1971年以来栽培が放棄されている廃ナシ園から1977年春に採取した病落葉を供試した。一方、本系薬剤が年間数回以上散布され、黒星病防除効果が低下していると園主が判断している千葉県八千代市内の3箇所のナシ園から、1976年秋に病落葉を採取した。

黒星病菌の培養時間と発芽率、発芽管長および隔膜形成の観察には、ベノミルに対するMIC¹⁵⁵⁾が $0.19 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の黒星病菌の単孢子分離菌株(感性菌)を選び、その菌糸破砕液をガラス温室内で栽培管理している鉢植えの長十郎の葉に噴霧接種し、形成された病斑上の分生子を供試した。

ベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性の検定には、PSA培地に市販のベノミル剤(水和剤; 成分量 50%)を培地中の有効成分濃度が $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ を中心に0

(無添加; 対照)、0.19、0.39、0.78、1.56、3.13、6.25、12.5、25、50、100、200、400および800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように加えたものを用いた。ペノミル剤添加培地は120°C、3~5分間程度の短時間の滅菌処理ではその活性は低下しないことが確かめられたので、特別な場合を除き、以下この方法で滅菌を行った。滅菌した培地は、44区画になるように格子柄が印刷されている特注の直径9 cmのシャーレ(以下特注シャーレと記す)に培地約12mlを分注し、平板とした。

分生子の培養時間と発芽率、隔膜形成率、隔膜数、発芽管長を調査する場合、PSA培地上にまばらに広がるように画線移植した。分生子を用いて検定する場合、1病斑を1菌株とみなし、その病斑上の分生子を白金耳でかき取り、直ちに検定用培地に画線移植した。子う胞子を用いて検定する場合、落葉を直径12mmのリーフパンチで打抜き、検定用培地を流し込んだ直径9 cmのシャーレの上蓋の内側に常法で張り付けた。

培養時間と発芽率、発芽管長、隔膜形成率および隔膜形成数に関する実験の場合は、培養開始0、3、6、12、24、48および72時間後に顕微鏡下で観察および測定した。検定用培地に移植した分生子または子う胞子は、15°C、暗黒下で48~72時間培養後、顕微鏡下で発芽管の隔膜形成の有無を観察し、形成が認められる場合には菌は活性を保持しており、全ての発芽管に隔膜の形成が認められない場合には菌が活性を消失していると判定した(図版VI)。なお、発芽の判定は常法で行った。単孢子分離菌を用いて菌叢生育法で検定する場合、原則として20°C、暗黒下で約2週間前培養後、菌糸細片を検定用平板培地に移植し、さらに約2週間同条件で培養後に培地中への菌糸の伸長の有無を調べ、菌糸が培地中へ伸長している場合は活性があると判定した(以下、菌叢生育法で検定する場合にはこれを基準として判定し、常法と記すことにする)。そして、菌が活性を消失する最低の薬剤濃度をMIC¹⁵⁵⁾とした。

発芽管に隔膜を形成している菌としていない菌のナシ葉に対する感染性を調べ

るために、接種源としてPSA培地上で発芽し隔膜を形成している菌、薬剤添加PSA培地上で発芽し隔膜を形成している菌、同培地上で発芽はしているが隔膜を形成していない菌を用いた。鉢植えの長十郎の新梢の最上位展開葉に、各供試菌培養の寒天細片（約10mm×10mm）を病原菌が葉の表面に接するように張り付け、そこへ内側に水滴を付着させたポリエチレン製の袋をかぶせ、温室とした。ナシ苗は48時間実験室内（約20℃）に静置後、袋を外し、屋外で管理し、発病調査を行った。

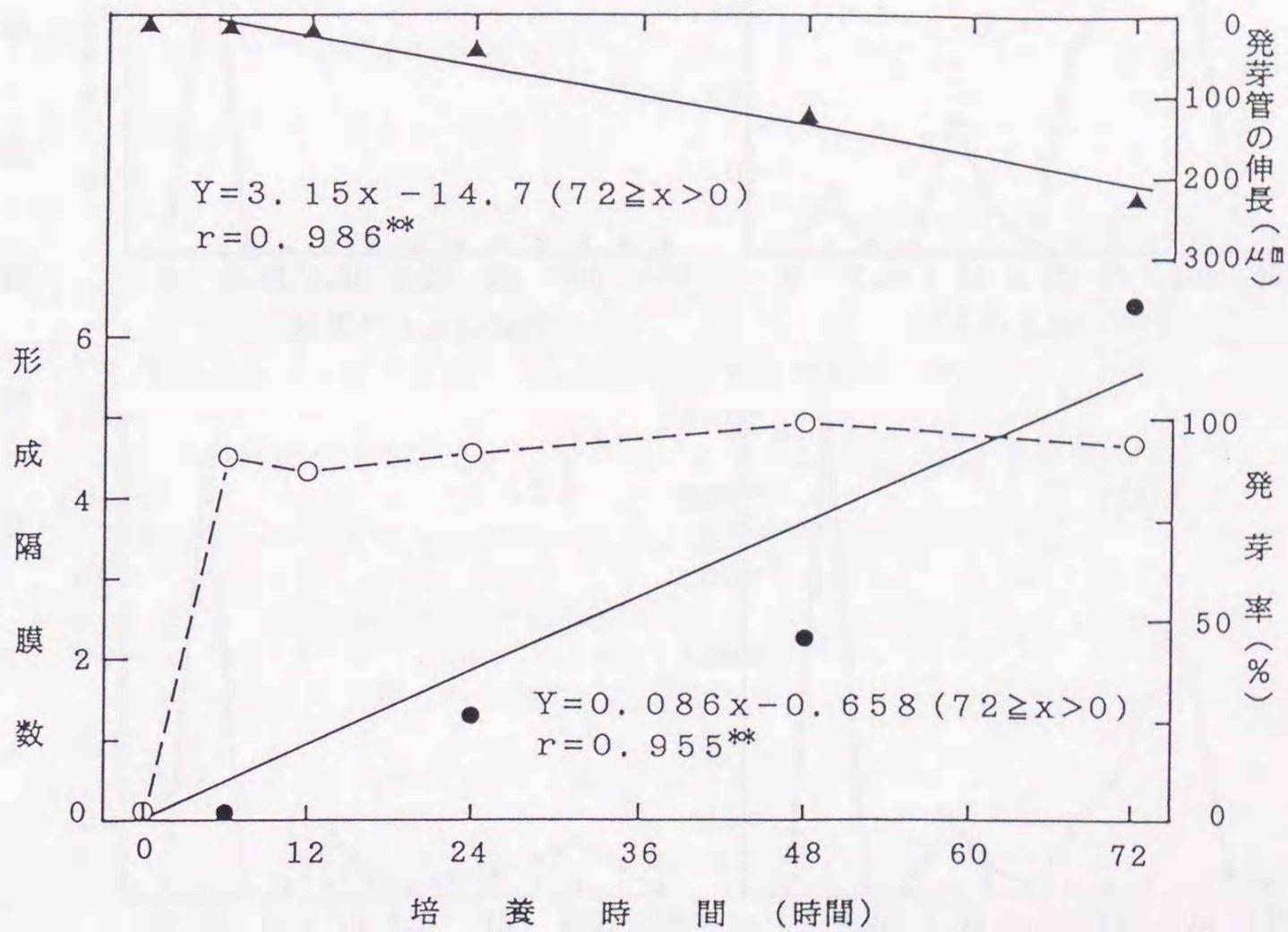
実験結果

ベンズイミダゾール系薬剤感性菌の培養時間と発芽、発芽管の伸長程度および発芽管における隔膜形成

ナシ黒星病菌の良好な生育温度であり、また、細菌などの増殖をかなり抑える15℃においてPSA培地上で分生子を培養したところ、発芽は培養後3時間までは認められなかったが、その後3時間の間に急速に増加していった（第6-1図）。発芽管は6時間後頃から伸長し始め、その後時間に正比例して伸長し（ $r = 0.986^{**}$ 、一次回帰式 $Y = 3.15x - 14.7; 72 \geq x > 0$ ）、隔膜の形成は培養開始12時間後では極めて低率であったが、24時間後には急増し、72時間後には100%に達した。培養時間と形成隔膜数との間には有意（1%）な相関（ $r = 0.955^{**}$ 、一次回帰式は $Y = 0.086x - 0.658; 72 \geq x > 0$ ）が認められた。このことから、隔膜形成の有無の判定は、培養開始後48または72時間が適当であることが明らかとなった。

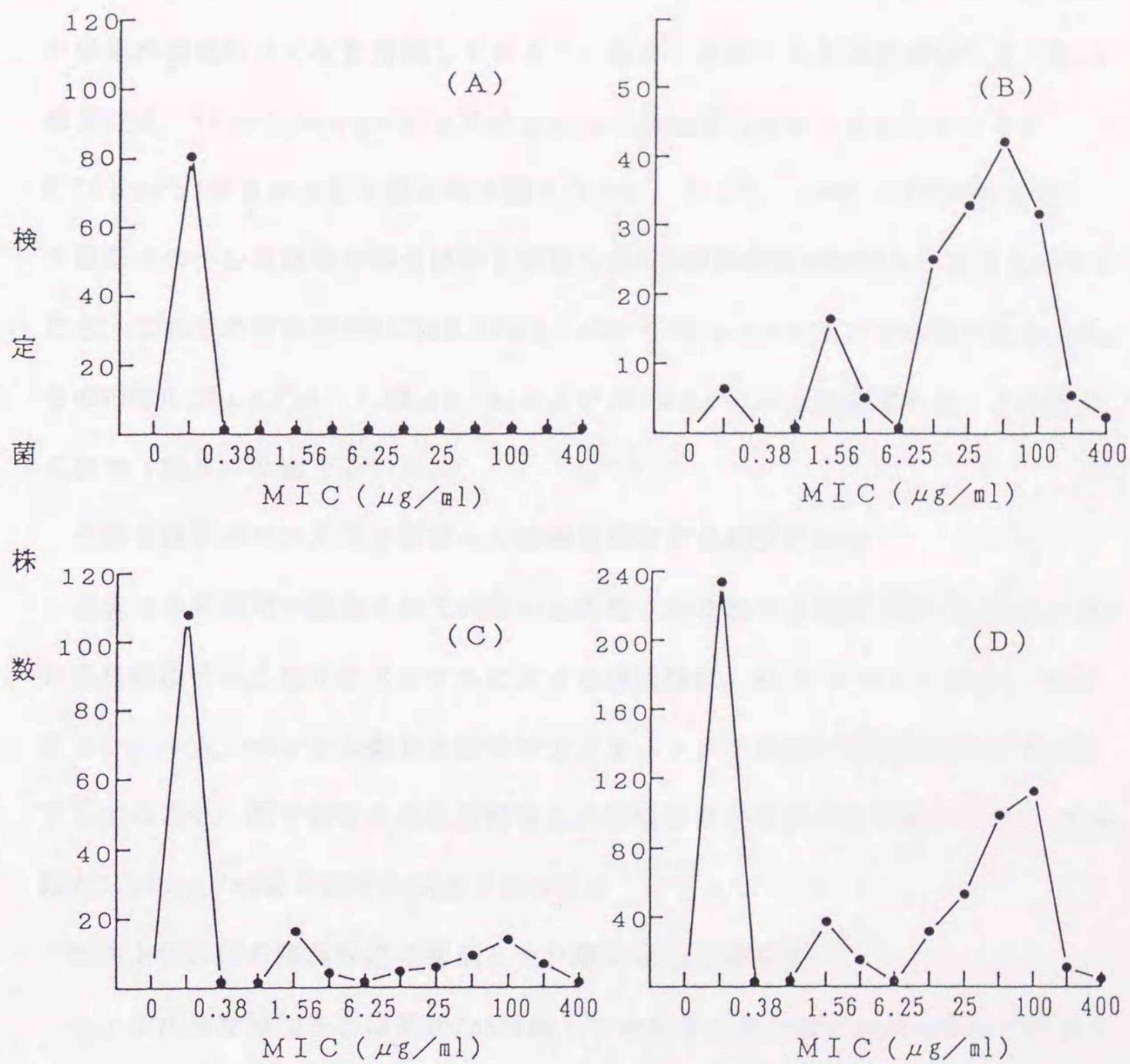
分生子を用いたベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性検定

過去に本系薬剤が散布されていないと判断された廃ナシ園に発生した黒星菌分生子群の本系薬剤に対する感受性は、すべてMICが0.19 μ g/mlであり、感受性が極めて高い菌株のみからなっていることが明らかとなった〔第6-2図（A）〕。これに対し、ベノミル剤およびチオファネートメチル剤による黒星病防除効果が



第6-1図 ナシ黒星病菌分生子をPSA培地上15°Cで培養した場合の培養時間と発芽率、発芽管の伸長程度および形成隔膜数

▲ 発芽管の伸長 ○ 発芽率 ● 形成隔膜数



第6-2図 ナシ黒星病菌のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性の頻度分布。

- a) (A) の供試菌は1971年以来または全くベンズイミダゾール系薬剤は使用されていない廃ナシ園で採取された菌、(B) の供試菌はベノミルおよびチオファネートメチル剤の効果が低いナシ園で採取された菌、(C) は未だ効果が持続しているナシ園で採取された菌、(D) は全供試菌の検定結果を取りまとめた結果。
- b) ベノミル剤を供試し、発芽管隔膜法で検定した結果。

低下しているナシ園から採取された黒星病菌分生子群の感受性は、MICが $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ またはそれより高濃度であった{第6-2図(B)}。また、これらの薬剤の効果が調査時点でなお持続しているナシ園から採取された黒星病菌分生子群の感受性は、MICが $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ またはこれより高濃度のものも含まれていたが、 $0.19 \mu\text{g}/\text{ml}$ が多かった{第6-2図(C)}。そして、1976~1977年にかけて、千葉県下のナシ栽培地帯の全域から採取した600菌株の検定結果を取りまとめたところ、これらの菌株群のMICは $0.19 \mu\text{g}/\text{ml}$ から $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ まで広い幅が認められ、その中で $0.19 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ および $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分離頻度のピークが認められた{第6-2図(D)}。

子のう胞子のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性検定

過去に本系薬剤が散布されていないと判断された廃ナシ園の落葉上に形成された黒星病菌子のう胞子のベノミルに対する感受性は、MICがすべて $0.19 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。一方、ベノミル剤およびチオファネートメチル剤の黒星病防除効果の低下しているナシ園で採取された病落葉上に形成された子のう胞子群のMICは、大多数が $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ またはそれ以上であった。

培地上における隔膜形成の有無とナシ葉に対する感染性

ベノミル剤無添加または添加PSA培地上で分生子の発芽管に隔膜の形成が認められた菌はナシ葉に病斑を生じたが、隔膜の形成が認められない菌では生じなかった。

以上述べてきた、薬剤添加培地上における発芽管の隔膜形成の有無による薬剤感受性の検定方法は、全く新しい考え方に基づく方法であり、また、簡易迅速に多くの菌系統について検定を行い得る点に利点がある。この検定方法をここに新たに発芽管隔膜法(Germtube Septum Method)と呼称することにした²⁰⁷⁾。

2 発芽管隔膜法と菌叢生育法の検定感度の比較

ここで確立された発芽管隔膜法は従来の検定法である菌叢生育法^{159, 203})と比べて検定感度において違いがあるのか検討する必要があると判断した。

材料および方法

分生子を用いて発芽管隔膜法により検定するために供試した同一の病斑から単孢子分離を行い、試験管内の斜面培地に保存した。ベノミル剤添加検定用培地を試験管に分注して斜面培地とするか、前記特注シャーレに分注して平板とし、供試菌を移植、20℃、暗黒下で2週間培養後常法でMICを求め、両MICを比較した。

実験結果

両検定法によって得られたMICは、一部の供試菌では検定方法によりすべて2倍濃度以内ではあるが差異はあったが、大部分の供試菌では一致した(第6-1表)。従って、両検定法の間には問題となるような感受性の差異はないと言える。

3 発芽管隔膜法における検定上の考慮点

発芽管隔膜法は、ナシ黒星病菌のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性を簡易迅速に、しかも一度に多量の菌を検定できる上で画期的な方法と言える。そこで、本検定法上または実用上で残された諸問題点について検討することにした。

材料および方法

ある病斑上に形成された分生子のベノミルに対する感受性が同一であるか否かを明らかにするために、殺菌剤無散布で栽培した長十郎の自然発病葉7枚から各1病斑を供試し、ベノミルに対する感受性を発芽管隔膜法で検定した後、病斑を脱イオン水で水洗し、付着分生子を離脱させ、温室下約20℃で4~5日間保持し、病斑に再び形成された分生子から1病斑当たり4~33菌株を単孢子分離した。この分離菌のベノミルに対する感受性を検定するため、前記濃度となるようにベノミル剤を加え、特注シャーレに分注し、菌叢周辺部の菌糸細片を移植した。20℃、暗黒下で約2週間培養後、常法でMICを求め、両MICを比較した。

第6-1表 発芽管隔膜法または菌叢生育法によるナシ黒星病菌に対するベノミルのMICの比較

発芽管隔膜法による ベノミルのMIC ($\mu\text{g/ml}$)	菌叢生育法によるベノミルのMIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	0.19	1.56	3.13	50	100	200
0.19	3 ^{a)}					
1.56		3	4			
3.13		1				
50.0				1	4	
100.0					4	
200.0						2

a) 該当菌株数。

b) 相関係数 $r = 0.954$ ($P < 0.01$)。

耐性菌の検定のためにナシ園から病葉を採取する場合、採取位置についてどの様に配慮すべきかを明らかにするために、樹齢7年生の豊水と幸水とが混植されている佐倉市の現地ナシ園（面積約70a）の中心部に植栽されている縦5列、横10列で合計50本の樹を供試し、①中央部の1樹のみから50葉、②縦の各列の中央部の1樹からそれぞれ10葉ずつ、③縦の各列の両端の各1樹から5葉ずつ、④供試した50本の樹から1葉ずつ採取する方法について検討した。供試菌のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性の検定では、原則として病葉1枚につき1病斑を供試し、その病斑上の分生子を発芽管隔膜法で検定した。

実験結果

同一病斑上に形成された分生子由来の分離菌株のペノミルに対する感受性は、MICから判断すると同一であることが明らかとなった。

圃場における耐性菌の分布を調査する場合、採取法の違いによる感性菌、中等度耐性菌および高度耐性菌の比率の有意差は認められなかった（ $0.25 > P > 0.10$ ）（第6-2表）。しかし、10樹から5葉ずつあるいは50樹から1葉ずつ採取した場合には高度耐性菌の出現比率が低い傾向が、逆に1樹から50葉を採取した場合には高度耐性菌の比率が最も高かった。

4 分離耐性菌接種による防除効果低下の証明

ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌発生による防除効果の低下を、コッホの三原則に準じて証明しようとした。

材料および方法

ペノミルに対して感性、中等度耐性および高度耐性の各単孢子分離菌の菌糸破砕液を鉢植えの長十郎に接種し、その葉病斑上に形成された分生子のペノミルに対する感受性を発芽管隔膜法で検定し、その感受性が接種した菌と同一であることを確認してから供試した。供試ナシ苗は、当年3月に鉢植えのマメナシ台木に

第6-2表 ナシ病葉の採取法の違いによる病斑上の黒星病菌分生子のペノミルに対する感受性の検定結果

採取方法	分離菌株数(%)			調査菌株数
	感性菌	中等度耐性菌	高度耐性菌	
1樹から50葉	7.7	57.7	34.6	52
5樹から10葉	8.5	70.2	21.3	47
10樹から5葉	7.7	78.8	13.5	52
50樹から1葉	8.1	75.8	16.1	62

a) $\chi^2=8.642$ ($0.25>P>0.1$)。

長十郎を接木し、無加温のガラス温室内で管理した。1接種区当たりベノミル剤散布と無散布を設け、ベノミル剤散布の苗には接種24時間前にベノミル剤3,000倍液（有効成分； $167\mu\text{g}/\text{ml}$ ）を肩掛け式噴霧器で十分に散布した。これらの供試苗に、病斑上の分生子を常法で懸濁し、孢子濃度が約 1.0×10^5 個/ ml となるように調製した懸濁液を噴霧接種し、蛍光灯照明下の 20°C 、湿度100%に36時間保った。その後はナシ苗に雨を当てないようにするために裾を開けたビニールハウス内で管理し、発病調査した。なお、接種時に最上位展開葉に油性インクで目印をつけておき、それより下位葉を調査対象に発病程度を調査して指数化し、病葉率および発病度を算出した。また、病斑上の分生子のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性を検定するために、ベノミル剤散布樹の葉に発生した病斑1個を1菌株とみなし、各接種区とも11菌株について発芽管隔膜法で検定した。

実験結果

ベノミル剤無散布ナシ苗における発病は、高度耐性菌、中等度耐性菌および感性菌接種とも多発した（第6-3表）。一方、ベノミル剤散布樹に、高度耐性菌を接種した場合は多発し、中等度耐性菌を接種した場合は中程度の発生であったが、感性菌の接種では全く発病しなかった。これらの結果について、次に示す計算式により防除価¹²⁵⁾を求めたところ、高度耐性菌接種区では発病葉率および発病度とも防除価は0、中等度耐性菌接種区では約40、感性菌接種区では100であった。また、ベノミル剤散布苗の葉病斑上に形成された分生子を採取し、ベノミルに対する感受性を発芽管隔膜法で検定したところ、耐性程度は接種に用いた分生子のそれと同一であった。

$$\text{防除価} = \frac{\text{無散布区の発病葉率（発病度）} - \text{散布区の発病葉率（発病度）}}{\text{無散布区の発病葉率（発病度）}} \times 100$$

以上から、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌が存在する場合にベノミル剤を使用した場合、ベノミルに対する耐性の高まり程度と防除効果の低下程度との間に

第6-3表 ベノミルに対する感受性程度の異なる黒星病菌分生子をベノミル剤散布および無散布ナシ樹に接種後の発病程度

供試菌	発病葉率 (%)			発病度		
	ベノミル剤散布	無散布	防除価	ベノミル剤散布	無散布	防除価
高度耐性菌	36.8	34.5	0	27.9	24.4	0
中等度耐性菌	20.0	33.8	40.8	11.2	20.9	46.4
感性菌	0.0	24.0	100.0	0	18.4	100.0

- a) 散布ベノミル濃度は167 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。
 b) 春型病斑の発病程度指数 (0 : 発病無し、1 : 病斑数が1個、3 : 病斑数が2~3個、またはそれ相当の大きな病斑が1個、5 : 病斑数が4個以上、またはそれ相当の大きな病斑が2個以上)。

は高い正の相関のあることが明らかとなった。

5 千葉県内における耐性菌の発生分布

千葉県内におけるベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の発生分布実態を明らかにし、耐性菌防除対策に役立てようとした。

材料および方法

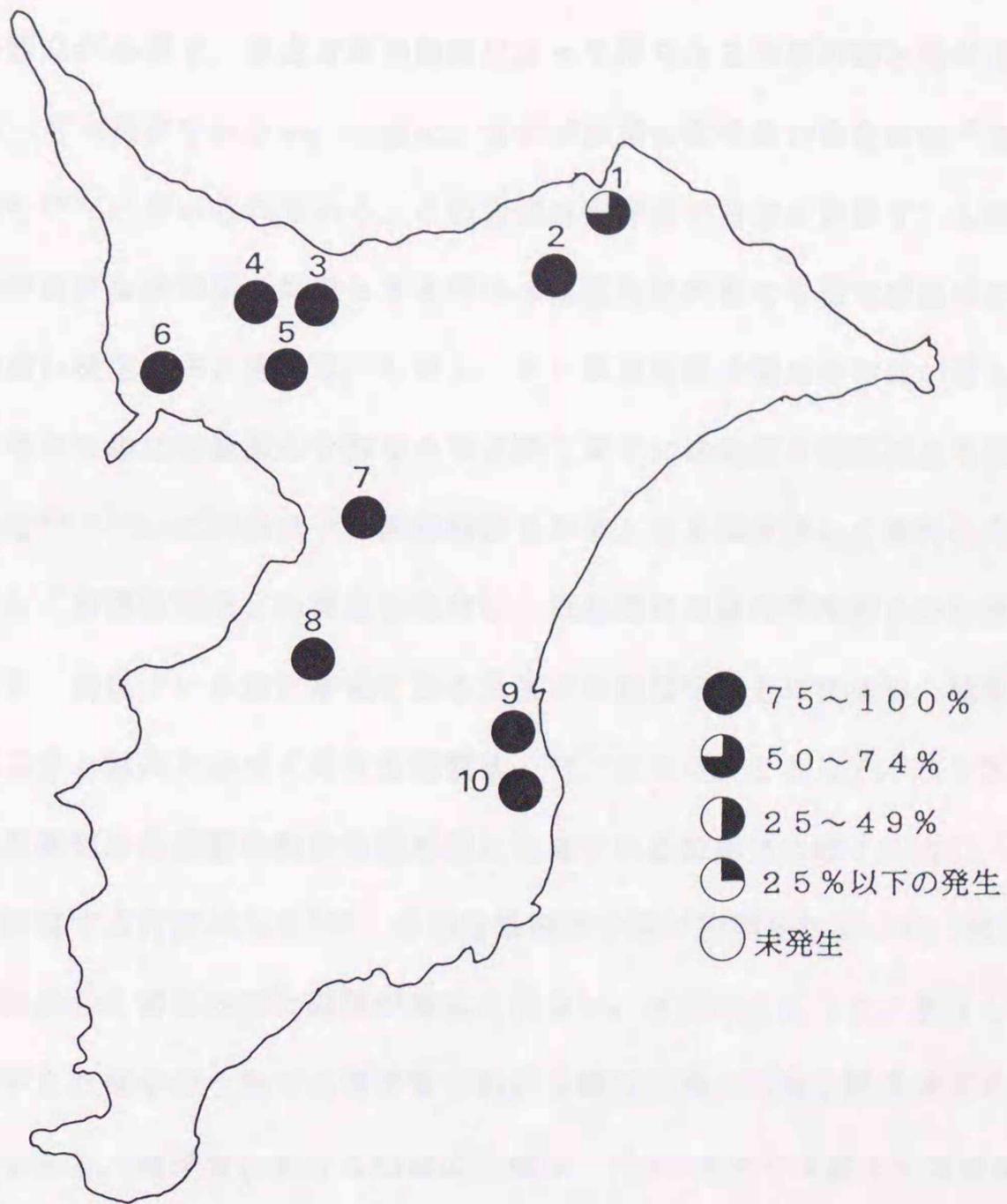
1976～1982年、千葉県内の主要ナシ産地である佐原市、大栄町、印西町など10市町にあるナシ園に発生している黒星病菌を調査対象とした。また、同一ナシ園でも調査年が異なる場合にはそれぞれ別圃場とみなした。病原菌の採取に当たっては、各ナシ園の圃場全体からできるだけまんべんなく行うように努め、病斑上の分生子のベノミルに対する感受性を発芽管隔膜法²⁰⁷⁾で検定した。

実験結果

千葉県内の佐原市では一部のナシ園で耐性菌の発生が確認されなかったが、他の地区にある全ナシ園では耐性菌の発生が確認され、耐性菌は千葉県内に高率に発生していることが明らかとなった(第6-3図)。

6 考察

ナシまたはリンゴの諸病害の薬剤防除において、薬剤耐性菌の存在が示唆された最初の例は、ボルドー液によるリンゴ黒ぐされ病(*Botryosphaeria obtusa*)の防除においてであった¹⁹¹⁾。その後、グアニジン剤に対して耐性を示すリンゴ黒星病菌の発生について多数報告された^{28, 69, 96, 150, 151, 153, 179, 246)}。ところが、ベンズイミダゾール系薬剤はその卓効の故に広く用いられるようになったが、その後、それに対する耐性菌の発生については著しく多く報告され^{49, 62, 81, 97, 121, 133, 135, 142, 158, 161, 164, 196, 233)}、薬剤防除におけるこの問題の大きさ、重要性が認識されるに至った。



第6-3図 千葉県におけるベンズイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌の発生状況(1976~1982年)

- | | |
|--------|-------|
| 1 佐原市 | 6 市川市 |
| 2 大栄町 | 7 千葉市 |
| 3 印西町 | 8 市原市 |
| 4 白井町 | 9 一宮町 |
| 5 鎌ヶ谷市 | 10 岬町 |

薬剤耐性菌対策を確立するには、まず耐性菌の発生状況を把握することおよびその性質を明らかにすることが重要である。そのためには、迅速かつ再現性のある検定方法の確立が必要で、検定方法の如何によって得られる情報の質と量が決定されると言っても過言ではない。一般に、各種病原菌の耐性菌の検定には「菌叢生育法」^{159, 203)}が用いられている。この方法は病原菌の分離が容易で、しかも菌糸の伸長が良好な病原菌を対象とする時には技術的に簡易で再現性が高いので、実用性の高い検定方法と言える。しかし、ナシ黒星病菌は菌糸の伸長が著しく遅く²⁴¹⁾、そのために病原菌の分離から検定終了までには最低3週間以上を要することになり^{49, 50)}、この点はナシ黒星病菌を対象とする場合著しく不利となる。このような「菌叢生育法」の弱点を改良し、短時間に多量の被検菌を取り扱う方法を模索し、病斑上に多量に形成される分生子を直接培地上に移植し、簡易迅速に検定しようと試みたのが「発芽管隔膜法」²⁰⁷⁾である。ところで、ベンズイミダゾール系薬剤は病原菌の細胞分裂の際に形成される紡錘体に強く結合し、有糸核分裂を阻害する作用があり¹⁶⁾、その結果細胞分裂が抑制されるので、発芽管など新たに伸長した菌糸内部に隔膜が形成されない。本法はこのことに着目し、供試した分生子または子のう胞子の発芽管における隔膜形成の有無を顕微鏡下で判定するものである。発芽管における隔膜の形成は、PSA培地上で本菌を生育適温に近い15°Cで培養した場合、24時間後には過半数の胞子で認められた。しかも、本法の有利な点は、培養時間が短いために特に無菌操作を必要としない。あえて純粋培養を必要とする時にはストレプトマイシン剤をPSA培地に添加することで細菌の汚染を防ぎ得る。従って、この技術は簡便であり、病虫害防除所、農業改良普及所、農協の営農指導担当者等が管内の各ナシ園について検定を行い、その結果からきめ細やかな防除指導を行うことが可能となった。

発芽管隔膜法は、竹内¹⁸⁵⁾が指摘したように菌の純粋分離を行わずに検定を行うので再現性に問題点があることは否定できないが、特定の実験結果について再

現を必要とする場合には常法で菌を分離し、菌叢生育法で再度検定すればよい。純粋分離した菌の感受性を菌叢生育法で検定した場合、検定感度において発芽管隔膜法と実用上差が無いことはすでに述べたとおりであり、石井ら⁵⁸⁾も確認している。従って、発芽管隔膜法は簡易迅速に感受性を検定できるものとして信頼できる。

発芽管隔膜法で病原菌のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性を検定する場合、問題点の一つは1病斑が1菌株の感染によって発生したという前提に立った点にある。この点に関して、すでにベンズイミダゾール系薬剤耐性チャ輪斑病菌⁴⁸⁾やカスガマイシン耐性イネいもち病菌^{64, 116)}で検討され、少なくとも当該薬剤に対する感受性に関しては同一であることが確認されている。そこで、ニホンナシ黒星病菌をこの点について検討したところ、既に石崎ら⁶³⁾や富川・長江¹⁹⁶⁾が報告しているように、少なくともベノミルに対する感受性を指標とした限り、ナシ黒星病菌でも1病斑上の分生子は同一株から構成されていることが明らかとなった。従って、1病斑を1菌株とみなして検定しても問題にはならないと言える。

耐性菌の発生とその分布を調べる場合、検定方法の精度もさることながら対象とする病原菌の採取方法によってもその結果が大きく左右すると予想される。この問題に関し、すでにIshiiら⁵⁷⁾および富川・長江¹⁹⁶⁾は本実験で行ったのと同様の方法で調べ、Ishiiらは採取方法の違いにより検定結果に有意な差を認めしたが、富川・長江は検定結果に差を全く認めなかった。一方、本実験では差異が生ずる確率は $0.25 > P > 0.1$ であった。このように、著者を含めて3者がそれぞれ異なる結果を得た主原因は、供試圃場における耐性菌の分布状態が異なるためであろうと考えられる。すなわち、圃場内に耐性程度の異なる菌が不均一に分布しているような場合には、採取方法により検定結果は大きく異なるが、同一耐性程度の菌が高率に分布している場合には、ほとんど差が無いと考えられる。以上の諸事実

を考え合わせると圃場全体に分布する菌の耐性をその程度別に把握するためには、病葉を圃場全体からできるだけ均一に採取する必要があると結論できる。

本系薬剤の効果が非常に低下している現地ナシ園から採取された菌は、MICが $0.19\mu\text{g}/\text{ml}$ でいわゆる野生型と判定される菌の比率に対して本系薬剤に対する感受性が低下している菌の比率が高いため、一般に耐性菌の蔓延が防除効果低下の原因と判断されている。しかし、その原因を証明するためにはIshii and Yamaguchi⁵²⁾が行ったように、コッホの三原則を適用することが必要であり、検討の結果、ベノミルに対する耐性の高まり程度と防除効果の低下程度との間には高い正の相関のあることが認められた。また、注目すべきことに、MICが $1.56\mu\text{g}/\text{ml}$ の中等度耐性菌を、MIC値より100倍以上も高濃度である $167\mu\text{g}/\text{ml}$ の薬液を散布した後接種した場合においても防除効果が低下した。このことは、Ishii and Yamaguchi⁵²⁾の報告にみられるように、中等度耐性菌も防除効果の低下に大きな役割を果していることを示唆している。

セイヨウナシ黒星病菌¹⁶⁷⁾やリンゴ黒星病菌^{71, 166)}では、ベノミルに対する感受性の違いから感性菌も含めて4または5つのグループに分けられている。また、ニホンナシ黒星病菌でもIshiiら⁵⁵⁾は分離菌のMBCに対する感受性を菌叢生育法で検定し、感性菌 ($1\mu\text{g}/\text{ml} \geq \text{MIC}$)、弱耐性菌 ($10\mu\text{g}/\text{ml} \geq \text{MIC} > 1\mu\text{g}/\text{ml}$)、中等度耐性菌 ($100\mu\text{g}/\text{ml} \geq \text{MIC} > 10\mu\text{g}/\text{ml}$)、高度耐性菌 ($\text{MIC} > 100\mu\text{g}/\text{ml}$) の4グループに分けた。しかし、市販のベノミル剤を供試した本実験ではMICが $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上 $400\mu\text{g}/\text{ml}$ までは1つのピークを形成し、全体で三峰性の図が得られた。このような違いが生じた原因として、千葉県にはMICが $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の菌は極めて少数しか発生していなかったためか、または、ベノミルは主にMBCに変換するが、低率ではあるがBIC (butyl isocyanate) にも変換し、この化合物も抗菌活性があるので³¹⁾、供試菌に作用したことが考えられる。

県内における耐性菌の発生分布を調べたところ、主要なナシ産地地域の耐性菌

発生ナシ園率は非常に高いことが明らかになった。さらに、全国における耐性菌の発生分布とそこで耐性菌の検定に用いられた方法について、農林水産省果樹試験場主催落葉果樹病害虫研究打ち合せ会議—病害部門—¹³⁸⁾で発芽管隔膜法を発表した翌年の1977年から、ベンズイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌に関する試験成績が比較的多く発表されている1981年まで、同会議資料を調べたところ、試験が実施された10県全てで耐性菌が発生しており、しかも耐性菌発生ナシ園率は非常に高かった。また、そこでは菌叢生育法^{159, 203)}や例外的に胞子の発芽状態で検定する方法も用いられていたが、23試験例中15例で発芽管隔膜法²⁰⁷⁾が用いられており、この点からも本法の有用性が深く理解されていることが明らかとなった。

第7章 ナシ黒星病の防除法

ナシ黒星病は、古くからナシ栽培上重要な病害であったため^{130,145,181}、これまで多くの薬剤防除試験が試みられている。まず、1907年に新潟県農事試験場で初めて薬剤防除試験が試みられ、石灰ボルドウ液の防除効果を認めている¹³⁰。その後もボルドウ液の種類、散布時期と効果および薬害などについて^{37,61,237}、クポイドおよび王銅の実用性について¹⁸⁷、萌芽期のPCP加用石灰硫黄合剤の散布効果について検討された^{188,237}。第二次世界大戦後、有機銅剤、有機硫黄剤など新たに有機合成殺菌剤が開発され^{84,107}、実用化された。さらに、1970年代の初め、薬害発生の危険性が極めて低く、予防効果と共に高い治療効果を持つベノミル剤やチオファネートメチル剤が相次いで実用化された^{110,113,120,243,244}。本系薬剤の実用化によって、その当時ナシ黒星病の最も重要な防除時期とされていた鱗片脱落期から開花直前時に使用され、そのために最も重要な第一次伝染源と考えられていた発病花（果）叢基部の防除が非常に容易となり、黒星病の薬剤防除体系はそれ以前と比べて大きく変わった。しかし、実用化して数年後には防除効果が著しく低下し、大きな問題となり、その原因は耐性菌の出現によるものであることが明らかにされた^{49,135,207}。その後、ベンズイミダゾール系薬剤より治療効果は弱いがこれまでの薬剤とは作用機作が全く異なり、エルゴステロールの生合成過程でラノステロールの14位脱メチル化反応を特異的に阻害する作用のある一連の薬剤（以下DMI剤とする）が開発・実用化され^{72,184}、これらの薬剤はベンズイミダゾール系薬剤耐性菌に対しても感性菌と同様に高い効果のあることが確認された^{197,198,216}。そこで、本章では薬剤によるナシ黒星病の効果的な防除法について検討することにした。

第1節 薬剤防除法

先に述べたような経過の中で、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌発生後、これ

に代わる、ナシの生育期ごとにそれぞれに適した薬剤防除法について検討することにした。

1 ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の各種殺菌剤に対する感受性

ナシの諸病害防除で、一般に使用されている薬剤に対して薬剤耐性ナシ黒星病菌が示す感受性について検定し、交差耐性の有無を確認することにした。

材料および方法

単孢子分離菌のベノミルに対する感受性を菌叢生育法^{159, 203)}で検定し、感性の6菌株、中等度耐性の3菌株、高度耐性の10菌株を選び、約2週間前培養した後供試した。

供試薬剤として、第7-1表に示したナシ黒星病の防除に使用される12薬剤（ダイホルタン剤はその後生産中止）を選び、ストレプトマイシン硫酸塩を5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加PSA培地に圃場における通常使用濃度およびその1/5倍希釈濃度（ただし、ベノミル剤は培地中の濃度が0.19 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）となるように各薬剤を添加し、供試培地とした。また、対照としてストレプトマイシン硫酸塩5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加および無添加PSA培地を供試した。これらの培地は、いずれも調製後加熱滅菌を施さず特注のシャーレに分注した。各供試培地に各供試菌の菌叢先端部から一白金耳分を移植し、20°C、暗黒下で2週間培養後に常法に従って調査した。

実験結果

全供試菌株はベノミルに対する感受性の程度とは関係なく、ベノミル剤を除くすべての供試薬剤に対して標準濃度ではもちろん実用濃度の1/5でも全く生育できなかった（第7-1表）。従って、ナシ黒星病の防除に一般に使用されている殺菌剤の中にはベンズイミダゾール系薬剤と交差耐性を示す薬剤は無いことが明らかとなった。なお、この実験においては完全対照を除くすべての培地に細菌

第7-1表 ベノミルに対して感受性を異にするナシ黒星病菌の各種殺菌剤に対する感受性

供試薬剤名	薬剤濃度 ^{a)}		菌糸の生育 ^{b)}	
	標準濃度	1/5希釈濃度	標準濃度	1/5希釈濃度
ダイホルタン剤	1,000	5,000	- : 19 ^{c)}	- : 19
キャプタン・有機銅剤	600	3,000	- : 19	- : 19
ジチアノン剤	1,000	5,000	- : 19	- : 19
ジネブ剤	500	2,500	- : 19	- : 19
ポリカーバメート剤	800	4,000	- : 19	- : 19
チアジアジン剤	600	3,000	- : 19	- : 19
有機銅剤	1,000	5,000	- : 19	- : 19
トリフルミゾール剤	2,000	10,000	- : 19	- : 19
ピテルタノール剤	3,000	15,000	- : 19	- : 19
キャプタン剤	800	4,000	- : 19	- : 19
ベノミル剤	6.25	0.19	- : 9, + : 10	- : 6, + : 13
キャプタン・ベノミル剤	600	3,000	- : 19	- : 19
対照	-	-	無添加 + : 19、5.0 ^{d)}	+ : 19

a) ベノミル剤の単位は ($\mu\text{g}/\text{ml}$)、その他の薬剤の単位は (倍)。

b) +は培地中への菌糸の伸長が認められ、-は認められない。

c) 該当菌株数。

d) ストレプトマイシン硫酸塩濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)。

の汚染を防ぐためにストレプトマイシン硫酸塩を添加したが、菌糸生育に及ぼす影響は認められなかった。

2 偽子のう殻形成阻止効果

罹病落葉上に翌春形成される子のう胞子は、ナシ黒星病の重要な第一次伝染源になることが一連の実験により明らかにされた。しかし、罹病落葉の処理には多大な労力を要するので、薬剤による処理が可能であるか否かを検討することにした。

材料および方法

長十郎の樹下から秋型病斑が多発している落葉直後の葉を採取し、約50葉ずつをビニール製の網袋に入れ、第7-2表に示した各薬剤からマンゼブ剤およびフェナリモル剤を除いた合計12薬剤を供試し、その所定濃度液中に網袋ごと約10分間浸漬した。その後、軽く薬液を振り切り、翌年の4月上旬までナシ園の地表面に保管した。なお、4月上旬からは前記した屋根があるだけで通風の良好な小屋に吊しておき、各区10葉について偽子のう殻の形成程度を解剖顕微鏡下で調査して指数化し、形成葉率と形成度を算出した。さらに、各薬剤処理区の偽子のう殻形成部分を直径12mmのリーフパンチで1葉当たり1~2片で合計15葉片を打抜き、あらかじめWA培地を分注してあるシャーレの上蓋に常法で張り付け、約15℃、散光条件下の室内に24時間放置後、培地上に落下している子のう胞子数を実体顕微鏡下で調査して放出程度を指数化し、放出率と放出度を算出した。

実験結果

DMI剤の一種であるピテルタノール剤の処理では偽子のう殻形成率と形成度は低く、子のう胞子放出率と放出度も低いことからかなり効果が高く、トリフルミゾール剤にも若干そのような効果が認められたが、他の薬剤処理による効果は認められなかった。また、ベノミル剤の効果は、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌

が発生していなかった時代における効果¹¹³⁾に比べて著しく低下していた。

3 生育期防除

ナシの萌芽期以降梅雨明け前までの生育期における散布薬剤の効果は、その年の黒星病防除の成否の鍵を握っていると言っても過言ではない。そこで、この期間にナシ黒星病の防除に使用される薬剤を定期的に散布し、各薬剤の効果について検討することにした。

材料および方法

花叢基部病斑上における分生子形成および形成分生子の発芽に対する効果を明らかにするために、長十郎を、1区1樹3反復で供試し、第7-2表に示した各供試薬剤の所定濃度液を花叢基部を主対象に肩掛け式噴霧器で1987年4月3日～27日までに合計4回散布した。4月30日に全花叢基部病斑を採取し、解剖顕微鏡下で病斑上における分生子形成程度を調査して指数化し、病斑形成率と形成度を算出した。

生育期の葉の黒星病に対する散布薬剤の効果を明らかにするために、前記の花叢基部病斑上における分生子形成に対する効果に関する実験終了当日の4月30日に、前年伸長した枝を数cm残す程度の強剪定を行い、前実験と同一樹には同一薬剤を同濃度で散布するように実験区を定めた。自然発病の黒星病を対象に、各供試薬剤を肩掛け式噴霧器で5月8日から7月16日まで合計8回、葉から滴る程度に散布した。1区当たり新梢着生葉100枚について発病程度を調査して指数化し、病葉率および発病度を算出した。

ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌に及ぼす供試薬剤の影響を明らかにするために、一部の薬剤散布区の4月30日は花叢基部病斑上の分生子、8月20日には葉病斑上の分生子を供試して本系薬剤に対する感受性を発芽管隔膜法²⁰⁷⁾で検定した。

実験結果

花叢基部病斑上における分生子形成抑制効果に対する散布薬剤の効果

分生子形成率および分生子形成度から判断すると、フェナリモル剤およびキャプタン・ベノミル剤の効果がやや高く、次いで効果の高い方からジネブ剤およびピテルタノール剤の順であった。しかし、最も効果の高かったフェナリモル剤の散布でも、薬剤無散布区における分生子形成度が79.8であるのに対して39.3であった。

生育期の葉における黒星病発生に対する各種薬剤の散布効果

4月30日に採取した病斑上の分生子の検定結果から、耐性菌率がベノミル剤散布区で84.6%、無散布区でも71.4%であり、耐性菌が高率に発生していることが確認された圃場で、DMI剤のフェナリモル剤、ピテルタノール剤およびトリフルミゾール剤の効果は著しく高かった(第7-2表)。これらより効果はやや劣るが、高い方からキャプタン・有機銅剤、キャプタン剤、ダイホルタン剤、キャプタン・ベノミル剤の順であった。また、ベノミル剤を除いたDMI剤を含む全供試薬剤は、薬剤耐性黒星病菌に対しても効果の高いことが圃場レベルで確認された。さらに、供試薬剤の散布に伴う耐性菌率の推移を調査した結果、薬剤散布終了後の8月20日ではベノミル剤散布区やキャプタン・ベノミル剤散布区では耐性菌率は90%以上になっており、ベンズイミダゾール系薬剤とは交差耐性の無いことが確認されているDMI剤のトリフルミゾール剤、ピテルタノール剤およびフェナリモル剤の各散布区においても耐性菌率は80~90%程度と高く、この結果からもDMI剤はこれらの耐性菌にも効果の高いことが示唆された。

4 秋季防除

ナシ黒星病菌は晩秋に主に腋花芽の露出鱗片生組織部分に侵入し、その主要な感染期間は10月上旬~11月中旬であることを、本論文において既に述べた。そこで、この感染を予防するために薬剤散布を行った場合の効果について検討するこ

第7-2表 生育期のナシの葉の黒星病に対する薬剤の効果

供試薬剤名	希釈 倍数	7月7日		8月7日	
		発病葉率(%)	発病度	発病葉率(%)	発病度
ダイホルタン剤	1,000	30.3 defgh	11.5 efg	55.3 cde	17.7 cde
キャプタン・有機銅剤	600	24.0 fgh	8.8 efg	34.3 fg	11.0 de
ジチアノン剤	1,000	38.0 cdef	13.5 efg	59.0 cde	19.5 cde
ジネブ剤	500	49.3 bc	20.3 cde	72.3 bc	31.8 bc
マンゼブ剤	600	37.0 cdef	15.9 defg	52.0 def	20.7 cde
ポリカーバメート剤	800	65.0 b	29.3 c	84.0 ab	43.6 b
チアジアジン剤	600	55.3 bc	27.3 cd	67.7 bcd	31.9 bc
有機銅剤	1,000	46.0 bcde	16.9 def	62.0 cde	23.6 cd
トリフルミゾール剤	2,000	16.3 gh	4.2 fg	31.3 gh	8.7 de
ビテルタノール剤	3,000	12.3 h	4.2 fg	15.0 hi	4.6 e
フェナリモル剤	3,000	11.3 h	3.5 g	11.7 i	3.9 e
キャプタン剤	800	27.3 efgh	8.9 efg	46.7 efg	15.6 cde
ベノミル剤	2,000	90.3 a	48.2 b	97.7 a	63.7 a
キャプタン・ベノミル剤	600	33.7 defg	11.5 efg	46.0 efg	16.2 cde
無散布	-	93.0 a	63.5 a	96.3 a	76.6 a

- a) 春型病斑の発病程度指数 (0 : 発病無し、1 : 病斑数が1個、3 : 病斑数が2~3個、またはそれ相当の大きな病斑が1個、5 : 病斑数が4個以上、またはそれ相当の大きな病斑が2個以上)。
- b) 同一英文字を付した平均値間にはDuncan's multiple range testによる有意差 (5%) が無いことを示す。
- c) 供試ナシ品種は長十郎。

とにした。

材料および方法

場内実験では、立木仕立ての長十郎を用い、第7-3表に示した各所定濃度液を肩掛け式噴霧器で、1976年9月20日から7、10および15日間隔で10月19日まで実験区により5、4、3回散布した。発病調査では、翌春一年生枝上の花叢32~440個の基部における発病の有無を調べた。

現地実験では、1982年には千葉県長生郡一宮町のナシ園3箇所、1983年にはそのうちの1箇所のいずれも幸水を供試し、上記の薬剤中特に耐雨性が高いとされるダイホルタン剤の1,000倍液をスピードスプレーヤで10a当たり約200ℓ散布した。発病調査では、散布の翌春各区剪定後の一年生枝上の花叢128~448個の基部における発病の有無を調べた。

実験結果

場内実験では、7および10日間隔で散布した場合、全供試薬剤は黒星病菌の鱗片への感染に対していずれも高い予防効果を示した(第7-3表)。また、15日間隔の散布では、ポリカーバメート剤およびチアジアジン剤の効果はやや劣ったが、その他の供試薬剤の効果は高かった。さらに、S展着剤は、その主成分がパラフィンであるので水滴をはじく作用があり、そのために鱗片への分生子の定着および鱗片の水分保持が困難となり、感染を回避できることを期待し、上記薬剤と同時に供試した。本剤は1,000倍液の7日間隔の散布では高い効果が認められたが15日間隔の散布では効果は認められなかった。

現地実験では、両年のいずれの散布区も無散布区に比べて高い予防効果が認められた(第7-4表)。そして、9月中旬~11月上旬の間では、どの時期の散布においても4回散布区が3回散布区よりも効果が高く、また、散布時期による効果の振れが小さかった。次に、散布時期と防除効果では、1982年実施のI園のAとB区、II園のEとF区の比較から、この期間の散布時期は遅い方がその効果は

第7-3表 殺菌剤等の秋季防除時期および回数とナシ腋花芽鱗片への黒星病菌の感染に対する予防効果

供試薬剤名	希釈 倍数	花 叢 の 発 病 状 況					
		7日 ^{a)}		10日		15日	
		調査数	発病率(%)	調査数	発病率(%)	調査数	発病率(%)
キャプタン・有機銅剤	600	100	0	65	0	32	0
キャプタン剤	800	34	1.6	36	0	62	0
ダイホルタン剤	1,000	72	1.4	60	0	89	0
ポリカーバメイト剤	1,000	119	1.7	83	1.2	107	2.8
チアジアジン剤	600	59	0	-	-	78	3.8
有機銅剤	800	49	0	-	-	52	0
S展着剤	1,000	43	0	-	-	78	14.1
無散布	-	-	-	420	10.2 ^{b)}	-	-

a) 薬剤の散布間隔日数。

b) 散布間隔とは無関係。

c) S展着剤については第5-4表の脚注を参照。

第7-4表 ダイホルタン剤の秋季防除時期および回数とナシ腋花芽鱗片への黒星病菌の感染に対する予防効果

供試 園 区	実験 区	ダイホルタン剤の散布時期 ^{a)}						花叢の発病状況	
		9月		10月		11月		調査数	発病率(%)
		中	下	上	中	下	上		
I	A	○	○	○	○	-	-	232	10.3
	B	-	○	○	○	○	-	230	6.1
	C	-	○	○	○	-	-	199	12.6
II	D	-	-	○	○	○	○	164	10.4
	E	-	-	○	○	○	-	204	19.1
	F	-	-	-	○	○	○	201	13.4
III	G	-	-	-	-	-	-	128	43.8

a) ○はダイホルタン剤1,000倍液の散布。散布年月日はI園は1982年9月16日、25日、10月1日、15日、25日、II園は1982年10月1日、13日、23日、11月1日。

b) 供試ナシ品種は幸水。

明らかに高いことが認められ、1983年の実験でも前年の実験と同様の結果が得られた。

5 果実の防除

ナシ果実黒星病の薬剤防除については、これまでほとんど検討されていなかったため、ここで検討することにした。

材料および方法

棚仕立ての幸水に着果が確認された直後に、二十世紀用の防疫小袋を掛け、さらに果実が肥大した6月中～下旬にハترون紙製防虫大袋を掛けた。7月上旬、葉病斑上に形成された分生子を常法で懸濁し、その孢子濃度を約 1.0×10^5 個/mlに調製した後、無接種区を除く各供試果実の袋を外してハンドスプレーで果面全体に十分噴霧接種し、直ちにパラフィン紙製の大袋を掛けた。なお、この接種に用いた分生子の発芽率は82.2%であった。

各供試薬剤の接種前散布の効果（予防効果とする）を調べるために、7日前または5日前に該当区の果実に各所定濃度液をハンドスプレーで十分に散布した。また、接種後の散布の効果（治療効果とする）を調べるために、2日後または5日後に該当区の果実に各所定濃度液を同様にして十分に散布し、その後再び袋を掛けた。8月中旬の果実が成熟する直前に各果実の病斑数を調査した。

全く同じ実験方法で、前実験で効果の高かった薬剤を主に選び、1990年に現地ナシ園で接種5日前散布と接種2日後散布の防除効果を検討した。この実験で供試した薬剤および濃度は、ミクロブタニル剤3,000倍、ヘキサコナゾール剤2,000倍、ジフェノコナゾール剤3,000倍、キャプタン・ベノミル剤600倍、イミノクタジナルキルベンゼンスルホン酸塩剤1,000倍、フルアジナム剤2,000倍であった。

実験結果

場内実験で、予防効果は接種7日前に散布した場合は供試したいずれの薬剤に

も認められず、5日前に散布した場合は出現病斑数から判断してミクロブタニル剤はかなり高かったが、その他の薬剤は低かった(第7-5表)。治療効果は、接種後2日に散布した場合は出現病斑数から判断して諸病害に対して治療効果があるとされるDMI剤の中でミクロブタニル剤だけが非常に高く、この薬剤に限って出現した病斑は小褐点となる場合が多かった。やや治療効果があるとされるキャプタン・ベノミル剤の効果はかなり高かった。また、その他の薬剤の効果もやや高かった。5日後に散布した場合、ミクロブタニル剤はかなり高かったが、DMI剤を含むその他の薬剤の効果は低かった。

現地実験で、予防効果は接種5日前に散布した場合ヘキサコナゾール剤とジフェノコナゾール剤が非常に高く、イミノクタジンアルキルベンゼンスルホン酸塩剤、ミクロブタニル剤、キャプタン・ベノミル剤はやや低く、フルアジナム剤は非常に低かった。治療効果は接種2日後に散布した場合ヘキサコナゾール剤とジフェノコナゾール剤は極めて高く、ミクロブタニル剤もそれらに近く、イミノクタジンアルキルベンゼンスルホン酸塩剤およびキャプタン・ベノミル剤もかなり高かったが、フルアジナム剤は低かった。なお、イミノクタジンアルキルベンゼンスルホン酸塩剤とジフェノコナゾール剤は現在開発中で農薬登録されていないので、以下の考察からは除外した。

6 ベンズイミダゾール系薬剤の使用を中止した場合の防除効果

薬剤耐性ナシ黒星病菌が発生している場合でも、耐性菌密度が低い場合や本系薬剤を作用機作の異なる保護剤などと混用することによりかなり高い効果が得られるので、この実験実施中の初期には県のナシ病害虫防除暦では本系薬剤を作用機作の異なる薬剤と混用して年間数回使用することになっていた。そこで、耐性菌対策の一つとして耐性菌発生圃場でベノミル剤やチオファネートメチル剤の使用を中止し、保護殺菌剤だけを使用した場合の実用的効果を確認しようとした。

第7-5表 ナシ黒星病菌分生子の人工接種による幸水果実に対する供試薬剤の散布時期別効果

供試薬剤名	希釈 倍数	7日前散布 ^{a)}		5日前散布		2日後散布 ^{a)}		5日後散布					
		調査果数	発病果率(%)	病斑数 ^{b)}	調査果数	発病果率(%)	病斑数	調査果数	発病果率(%)	病斑数			
フェナリモル剤	3,000	26	100	18.0 d	30	100	34.7 a	28	96.4	15.9 cd	22	100	14.9 de
ビデルタノール剤	3,000	30	100	16.2 d	30	93.7	12.8 cd	30	100	11.5 def	22	100	10.9 e
ミクロブタニル剤	3,000	30	100	24.7 cd	28	100	8.2 d	28	75	2.8 gh	24	83.4	4.2 f
トリフルミゾール剤	3,000	28	96.4	33.7 bc	28	100	21.3 abc	28	100	13.2 de	24	100	19.0 cd
キャプタン・ベノミル剤	600	30	96.4	23.4 cd	30	100	26.5 ab	26	83.3	6.5 fg	24	96.2	33.6 a
キャプタン剤	800	30	100	37.1 abc	26	96.2	15.0 cd	28	100	9.5 ef	24	100	31.0 ab
キャプタン・有機銅剤	600	28	100	16.9 d	26	100	18.6 3bc	30	100	8.5 ef	22	100	25.1 bc
キャプタン・ホセチル剤	600	28	100	50.8 a	28	100	33.7 a	30	96.7	7.3 fg	20	100	23.9 bc
有機銅剤	1,000	28	100	31.8 bcd	28	100	28.0 ab	28	100	20.8 bc	22	100	25.6 bc
チアジアジン剤	600	28	100	46.3 ab	28	100	15.2 cd	28	100	22.1 b	24	100	29.0 ab
無散布・接種	-	32	100	28.2 cd	32	100	28.2 ab	32	100	28.2 a	32	100	28.2 ab
無散布・無接種	-	36	0	0 d	36	0	0 e	36	0	0 h	36	0	0 f

a) 人工接種日からの日数。前散布とは接種前の散布、後散布とは接種後の散布。

b) 1果当たり病斑数。

c) 同一英文字を付した平均値間にはDuncan's multiple range testによる有意差(5%)が無いことを示す。

d) 実験は1989年に実施。

材料および方法

木更津市内の農道でほぼ2等分にされている同一園主のナシ園の幸水を供試した。農道の左右の圃場をそれぞれ実験区および慣行区と定め、実験区ではベンズイミダゾール系薬剤の使用を中止し、慣行区はその年の千葉県ナシ病害虫防除暦¹²⁾にほぼ準じ、本系薬剤を1976年は3回、1977年は4回、1978年は2回使用した。散布する殺菌剤の指定と実験区における耕種的防除の十分な実施以外、通常の栽培管理は園主に任せ、発病調査は毎年概ね6、7、8月の3回行った。

実験結果

1977年8月24日の調査で、葉および果実の黒星病の発生とも慣行区に比べて実験区で有意(1%)に少なかった。また、他の2ヶ年の実験においても実験区は慣行区と同等かそれより少ない発生であった。なお、両区の耐性菌率の推移も併せて調査したが、防除効果と関連するような特徴は見い出せなかった。

7 考察

ナシ黒星病の休眠期またはその直前時の散布の対象となるのは、落葉直前時の葉と早春の鱗片上の病斑あるいは内部に潜入した病原菌である。そこで、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌が発生する前は偽子のう殻形成の抑制のために落葉直前時に同系薬剤を散布していたが¹¹⁴⁾、耐性菌の発生のためそのような効果を望めなくなった。また、リンゴ黒星病でも同じ報告がある¹⁶²⁾。その後実用化された薬剤の中で、DMI剤は治療効果があるとされ^{89, 171, 180, 231)}、リンゴ黒星病では落葉処理としてベンズイミダゾール系薬剤の場合と同じ方法で散布して高い効果が認められているので^{89, 146)}、ナシ黒星病において同様な効果を検討したところ、偽子のう殻形成阻止効果は低かった。落葉処理による伝染源の排除は黒星病の予防上必須の作業と判断され、現在はナシ園に溝を掘り、自然に集まった落葉または垣根などに風で吹き寄せられた落葉を集めて焼くか埋めている。しかし、

労力の軽減等を考慮すれば、リンゴ黒星病で実施されているように、落葉前に尿素液を散布する防除法^{9,10,14,44,76,79,192)}の実用化は今後に残された重要な研究課題であろう。一方、鱗片上の病斑あるいは内部に潜入した病原菌の防除では、現地で行った予備実験でPCP銅剤の散布効果が高いことを見出したが²¹²⁾、本剤はPCP生産時における周辺環境に与える公害問題のため生産が不可能となった。そこで、近年実用化され、治療効果の認められるDMI剤も含めナシ黒星病の防除に使用される多種の殺菌剤について検討したが、効果の高かったフェナリモル剤でも分生子の形成程度を無散布区に比べて約50%低下させた程度であり、あまり大きな期待はできないことが明らかとなった。しかし、黒星病だけでなく胴枯病や輪紋病など枝幹性病害およびカイガラムシ類やダニ類の防除は休眠期にも行う必要があり、各種病虫害の総合的防除を考える上で休眠期防除の必要性^{126,188,238)}は明らかであり、今後に残された重要な研究課題の一つであろう。

ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌に対して、室内実験および耐性菌発生圃場でベノミル剤を除く全供試殺菌剤の有効性が確認され、なかでもDMI剤の効果は非常に高く、耐性菌対策としてこれらの薬剤が有効であることが圃場レベルで確認された。ただし、DMI剤を多用するとリンゴでは花芽の形成、収量および新梢の伸長などに悪影響があるとする報告^{43,80,88,93)}がある。わが国のナシ黒星病の防除では、DMI剤は耐性菌の発生を回避するために現在年間2~3回だけ使用するのが一般的であるが、本系薬剤は基本的にこのような性質を保持していると判断されたので、日本植物防疫協会はナシにおける現在の使用実態に比較してさらに多数回散布した場合の花芽形成および収量における影響調査を全国規模で行った¹²⁹⁾。その結果、とくに花芽の形成が悪化あるいは収量が低下するなどの悪影響は認められず、現在の使用時期および回数を守る限り、リンゴで確認されたような悪影響は発生しないものと思われる。

DMI剤として包括されるフェナリモル剤、ヘキサコナゾール剤やピテルタノール

剤などは病原菌の種類に対して選択性が強く、典型的な単一作用点阻害型殺菌剤であり、エルゴステロール生合成過程でラノステロールの14位脱メチル化反応を阻害することが知られている^{72,184)}。このような性質の薬剤は、連用したり、落葉処理のように散布後に長期間の薬効を期待するような場面に使用すると、病原菌に対して強い淘汰圧をかけることになる¹⁴⁴⁾。耐性菌発生の難易度は一般に薬剤や病原菌の種類によって異なると言われ、DMI剤とナシ黒星病菌との組合せでは容易には出現しないであろうと報告されている⁶⁰⁾。しかしながら、各種うどんこ病菌^{4,36,143)}、麦の網斑病菌¹⁶⁹⁾および分類学的にナシ黒星病菌と近縁のリンゴ黒星病菌^{174,193)}でDMI剤に対する感受性の低下が報告されているので、ナシ黒星病菌においても耐性菌出現の可能性が全く無いとは断言できない。従って、その発生を回避または遅らせる使用方法として、散布回数の制限や保護殺菌剤など作用機作の異なる薬剤との混用は有効であると考えられる。

ナシ黒星病菌は秋季に腋花芽鱗片に感染し、翌年病斑上に第一次伝染源となる分生子を形成することは既に述べたとおりである。従来、その防除を主目的として鱗片脱落直前と開花直前頃にペンズイミダゾール系薬剤を散布していたが、耐性菌が出現したためにその効果を期待できなくなり、また、それに代わる薬剤も無かった。そこで、本病菌の鱗片への感染時期である秋季に予防しようとしたのが秋季防除であり、梅本・長井²¹¹⁾によって開発された。その後、この防除方法は全国に普及し、1989年農林水産省主催平成2年度果樹病虫害防除暦検討会の資料によれば、赤ナシの防除暦は北は青森県から南は熊本県まで合計27県から提出されていたが、秋季防除は青森県、秋田県および宮城県を除く24県で指導されていた。秋季防除を実施すると年間総薬剤散布回数は3回程度多くなり、省農薬栽培上は逆行するが、収穫後の散布であるために収穫物の農薬汚染については問題とならない。秋季防除は可能な限り伝染源の減少を図るために行うものであり、催芽期¹⁴¹⁾以降の散布で鱗片上病斑に対して十分効果のある薬剤が実用化されな

い限り、黒星病の多発地域では必須の防除法として定着し続けられると思われる。

幼果期以降、果実の黒星病に対する感受性はナシ主要品種の中で幸水が特異的に高く、その感受性が最も高くなるのは7月上～中旬頃であることは既に述べたとおりである。幸水果実の黒星病の発生は栽培上問題が大きいにもかかわらず薬剤防除についてこれまでに正式に報告されたものはなかった。また、リンゴ黒星病においても果実の黒星病に関する報告は予想外に少ない^{8, 21, 195)}。そこで、人工接種による薬剤防除実験法を先ず確立し、それに従って検討した結果²²⁵⁾、実用化されている薬剤の中ではDMI剤の中のヘキサコナゾール剤の予防効果は非常に高く、ミクロブタニル剤の予防効果もかなり高かった。また、両剤の治療効果はさらに高く、しかもミクロブタニル剤を散布した場合に出現した病斑は小さな褐点となり、このような病斑は品質上ほとんど問題とならないので、商品価値は調査結果よりも高いと判断された。これに次いで予防および治療効果とも高かったのは、キャプタン・ベノミル剤であった。従って、果実の防除では、ヘキサコナゾール剤やミクロブタニル剤を重要薬剤として定め、さらに既存の薬剤の中では最も効果の高かったキャプタン・ベノミル剤などを重要防除時期に使用するのが効果的であると思われる。

薬剤耐性ナシ黒星病菌の発生園において、本系薬剤の使用を外し、保護殺菌剤だけを散布したところ、対照の本系薬剤をその年の防除暦に準じて数回散布した場合に比べて発病が少なかった。この事実は、今後新たに耐性菌問題が生じた場合、当該薬剤とは交差関係の無い保護剤だけの使用でも、防除の基本に立ち帰り、耕種的防除を確実に併用すれば十分対処できることを示唆している。

第2節 耕種的防除

ナシ黒星病の総合防除について考える場合、耕種的防除は薬剤防除と対を成している。農薬科学が発達し、黒星病に対して効果が高く薬害発生の心配が無く、

人畜にほとんど害の無い薬剤が開発・実用化されるようになった現在においても、耕種的防除は欠かすことのできない作業の一つであるので、その効果について検討することにした。

1 基部発病花叢の切除時期と防除効果

御園生・深津¹⁸⁹⁾は、ナシの催芽期前後に鱗片発病芽を除去した場合、黒星病の防除効果は非常に高いと報告している。しかし、催芽期前後に鱗片の発病を発見するのは非常に困難であり、しかも多大な時間を要するので、防除面では実用性が低い。そこで、鱗片発病芽の除去時期と効果について検討することにした。

材料および方法

伝染源として、基部発病花叢13個を枝に付けたまま実験開始当日である1988年4月16日に採取して水挿しにし、地表面から180~200cmの高さに設置した。この伝染源の下に、前年に長十郎を接木し、黒星病の伝染源の無い場所で殺菌剤を無散布で管理し、本病に罹病していないことをあらかじめ確認したナシ苗を置いて4月16日から暴露した。供試ナシ苗を実験区により開花初期、開花終了期および開花終了7日後、開花終了2週間後にこの場所から移動し、その後は感染のおそれの無い屋外で管理した。発病調査では、感染した菌が十分に発病したと判断される時期に全葉について発病程度を調べて指数化し、発病葉率と発病度を算出した。

実験期間中、降雨がほとんど無い期間があったので、4月27日には夕方5時頃から、5月4日には午後1時から夜の8時半頃まで、肩掛け式噴霧器で伝染源およびナシ苗全体に井戸水を噴霧し、葉が常時濡れているようにした。葉は翌朝5時頃の観察ではまだ濡れていた。

実験結果

開花初期に伝染源の下から移動したナシ苗にはほとんど発病しなかったが、開

花終了期に移動したものでは急増し、さらにそれ以降に移動したナシ苗では少なくともこの区と同程度多発した（第7-6表）。なお、この実験では伝染源となる鱗片発病芽を枝から除去する代わりに、病原菌の感染を受けるナシ苗を時期別に移動し、それによって発病程度がどのように変わるかを調べたもので、御園生・深津¹⁰⁹⁾の実験とは逆の発想によって実施したものである。

2 耕種的防除のモデル実験

落葉または鱗片上の病斑および花叢基部病斑を第一次伝染源として重視する必要があることは、先に述べたとおりである。そこで、既に述べてきたナシの生育および病原菌の生活史に対応して実施した耕種的および薬剤防除法の結果を考慮に入れて耕種的防除を主とした改善防除法を考案したので、ここでそれを実証することにした。

材料および方法

春からの殺菌剤の散布は、1988年度の千葉県ナシ病虫害防除暦¹²⁾に従い、また、前年の秋季防除および落葉の処分や基部発病花（果）叢の除去等の耕種的対策を行った改善区（千葉県農試果樹研究室ナシ園を供試）と、それらを行わずさらに3月31日に自実験区の長十郎の樹下から偽子のう殻を多量に形成している落葉を一部採取し、幸水と豊水の樹下に広げ、飛散を防ぐために化学繊維製の網で抑えておいた慣行区（千葉県農試病虫害研究室ナシ園を供試）との2区構成とした。これら両園に栽培されている棚仕立ての長十郎、幸水、豊水を供試し、第7-7表に示した供試薬剤を、改善区へはスピードスプレーヤ、慣行区へは動力噴霧機で散布した。

花（果）叢基部の発病調査は、改善区は剪定を行った後、慣行区は行わずに実施した。その後、葉の調査は春型病斑と秋型病斑について発病程度を指数化し、発病葉率と発病度を算出した。また、果実の調査では発病の有無を各品種の収穫

第7-6表 ナシ黒星病発病花(果)叢基部を伝染源として鉢植えナシ苗を暴露した期間と葉の発病程度

実験区	ナシ苗の暴露期間		5月31日		6月14日	
	ナシ苗の移動	期間	発病葉率(%)	発病度	発病葉率(%)	発病度
A	開花初期	4月16-21日	1.5 b	0.3 c	1.6 c	0.3 c
B	開花終了期	4月16-27日	25.0 a	10.7 b	38.8 ab	17.4 ab
C	開花終了7日後	4月16-5月4日	36.5 a	17.4 a	48.2 a	25.3 a
D	開花終了14日後	4月16-5月13日	22.5 a	6.9 bc	35.6 ab	10.6 b
E	対照無処理		0 b	0 c	0 c	0 c

- a) 春型病斑の発病程度指数(0:発病無し、1:病斑数が1個、3:病斑数が2~3個、またはそれ相当の大きな病斑が1個、5:病斑数が4個以上、またはそれ相当の大きな病斑が2個以上)。
- b) 同一英文字を付した平均値間にはDuncan's multiple range testによる有意差(5%)が無いことを示す。
- c) 実験は1988年に実施。

第7-7表 ナシ黒星病の耕種的防除のモデル実験におけるナシ圃場別殺菌剤の散布状況

散布年 月日	改善区(果樹ナシ園)		慣行区(病虫ナシ園)	
	殺菌剤の種類	希釈濃度(倍)	殺菌剤の種類	希釈濃度(倍)
1987年10月 3日	ダイホルタン剤	1,000	-	
10月13日	ダイホルタン剤	1,000	-	
10月23日	ダイホルタン剤	1,000	-	
1988年 4月 1日	-		トリフルミゾール剤	2,000
4月 9日	トリフルミゾール剤	2,000	-	
4月12日	ジネブ剤	600	ジネブ剤	600
4月15日	フェナリモル剤	3,000	-	
4月16日	-		フェナリモル剤	3,000
4月19日	チアジアジン剤	600	-	
4月20日	-		チアジアジン剤	600
4月26日	ビテルタノール剤	3,000	-	
4月28日	ジチアノン剤	1,000	-	
4月30日	-		ビテルタノール剤	3,000
5月 6日	ジチアノン剤	1,000	ジチアノン剤	1,000
5月16日	ジチアノン剤	1,000	ジチアノン剤	1,000
5月24日	キャプタン・有機銅剤	600	-	
5月26日	-		ジチアノン剤	1,000
6月 7日	キャプタン・有機銅剤	600	キャプタン・有機銅剤	600
6月16日	キャプタン・ベノミル剤	500	キャプタン・ベノミル剤	600
6月27日	キャプタン剤	800	キャプタン剤	800
7月 5日	-		キャプタン・ベノミル剤	600
7月 7日	キャプタン・ベノミル剤	500	-	
7月14日	キャプタン剤	800	-	
7月18日	-		キャプタン・ベノミル剤	600
7月25日	キャプタン剤	800	キャプタン剤	800
8月 9日	キャプタン剤	800	-	
10月18日	キャプタン・有機銅剤	600	-	

直前まで適時調査した。

実験結果

実験実施前年（1987年）の秋季防除を実施しなかった慣行区の花叢基部における発病率は品種により5.3%（長十郎）、21.6%（幸水）および39.4%（豊水）であったが、秋季防除を実施した改善区では、剪定後の調査であったために実際の発病よりも少なかった可能性があるが、豊水のみ0.5%発病しただけであった。慣行区の春型病斑の発病は常に改善区より多く、特に7月16日の調査では大きな差があり、秋型病斑ではその差がさらに大きくなった（第7-8表）。

摘果前の幼果の発病は慣行区でわずかに認められたが、実験区では認められず、その後も慣行区では各品種に少発したが実験区ではほとんど発生せず、葉における発病と比べ両区間における果実の発病率の差はかなり小さかったが、明瞭であった。

3 考察

黒星病の防除を前提とした鱗片発病芽の切除において、切除時期別の発病減少効果についてはこれまで検討されておらず、切除時期をいつに設定するかはこの耕種的防除法の指導上の問題点の1つとなっていた。この実験の結果、開花直前までの間に発病花叢を切除すればその防除効果は非常に高いことが確認された。別の実験で、発病鱗片および花叢基部からの分生子の分散は、開花後頃からの降雨に伴って起きていたので、ここで得られた結果を裏書している。ところで、鱗片が発病しているか否かを萌芽期頃に確認することは、熟達した人にとっても非常に難しく、またかなり時間を要する。しかし、開花直前頃になれば、枝に面している内側で発病が多く、その基部には枯死鱗片が固着しているなどの特徴が明瞭となり（図版I-2-3）、容易に発病の有無を判定できる。従って、その切除は開花直前に行うのが、作業効率と防除効果を上げるためには最適であると判

第7-8表 耕種的防除のモデル実験におけるナシ園別および品種別葉における黒星病の発生程度

実験区	供試品種	5月27日 ^{a)}		6月23日 ^{a)}		7月16日 ^{a)}		9月20日 ^{a)}		10月21日 ^{b)}	
		調査葉数	発病葉率(%)	調査葉数	発病葉率(%)	調査葉数	発病葉率(%)	調査葉数	発病葉率(%)	調査葉数	発病葉率(%)
改善区	長十郎	300	0	300	0	300	0.3	300	0.3 b	300	0.7 d
	幸水	300	0	300	0	300	0	300	0 b	300	0 d
	豊水	300	0	300	0	300	0	300	0 b	300	0 d
慣行区	長十郎	300	1.3	300	6.3	300	16.0	300	11.7 a	300	53.0 a
	幸水	300	0.7	300	4.3	300	3.0	300	4.3 b	300	31.7 b
	豊水	300	0	300	1.0	300	2.0	300	2.7 b	300	18.7 c
有意性 (危険率5%)		NS		NS		NS		NS		NS	

a) 春型病斑の発病程度指数 (0: 発病無し、1: 病斑数が1個、3: 病斑数が2~3個、またはそれ相当の大きな病斑が1個、5: 病斑数が4個以上、またはそれ相当の大きな病斑が2個以上)。

b) 秋型病斑の発病程度指数 (0: 健全、1: 病斑面積が10%未満、2: 病斑面積が10%以上20%未満、3: 病斑面積が20%以上40%未満、4: 病斑面積が40%以上60%未満、5: 病斑面積が60%以上)。

c) 同一英小文字を付した平均値間にはDuncan's multiple range testによる有意差(5%)が無いことを示す。

d) 実験は1988年に実施。

断された。

モデル実験では、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌対策としてかなり以前から本系薬剤の単用での使用の中止と保護殺菌剤との混用または混合製剤の使用を指導してきているので、ここでは耐性菌対策は検討しなかったが、この実験で秋季防除の重要性と落葉の処分および花叢基部病斑の切除という耕種的防除法の有効性が実証された。これらの結果および窒素肥料の施用量を増やすと多発する²²⁷⁾ことから、改めて黒星病の防除は総合的に行う必要があると言える。この実験で実行された改善方法によって、花叢基部、葉および果実における黒星病の発生が著しく減少したことは確かであるが、秋季防除を実施することにより農薬の総散布回数が3回程度増え、作業量も多くなる欠点を持っているので、将来これらのことについて一層改良すべき点も多い。

本論文はナシ黒星病の発生生態の究明とそれに基づいた効果的な防除法の確立を目的として行ってきた研究成果を取りまとめたものである。まず、病原菌の同定と培養的諸性質について改めて検討し、生態究明のための基礎データとした。次に、発生生態の究明を行う上で孢子懸濁液を効率的に濃縮できる手法を確立し、それを駆使して分生子による発生生態、子のう孢子による発生生態、さらには種々な場面における感染と発病の実態を明らかにした。さらに、ベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性を簡易迅速に検定できる手法を確立し、耐性菌の発生分布を調べた。これらの結果を基にして薬剤耐性菌対策も含めた薬剤防除法および耕種的防除法を検討し、効果的な防除対策を提示したものである。

1 病徴の特徴と被害

ナシ黒星病が鱗片に発病すると黒ずんだ灰色を呈した。葉柄を含めた葉に発病した場合、田中・山本¹⁸⁹⁾が「春型病斑」と呼称するように提唱した病徴、すなわち初め淡黄緑色の輪郭の不明瞭な小さな斑点が生じ、後に拡大しながらその上に分生子梗が密生して形成され、やがて分生子が多量に形成されて黒色を呈するのが認められた。葉柄に発生すると容易に落葉した。また、夏を過ぎ老化した葉に発病した場合、田中・山本¹⁸⁹⁾が「秋型病斑」と呼称することを提唱した病徴、すなわち裏面の気孔部からのみ抽出した分生子梗上に分生子が形成され、一見薄墨色を呈するのが認められた。新梢の病斑は、初め黒褐色の斑点でその後病斑上には分生子がやや多量に形成されることが多かったが、雨などで分生子が一旦離脱した後に再形成されることはまれで、その後瘡痂状の病斑となった。幼果が開花後約2週間以内に感染した場合は、品種間に若干の差異は認められたがいずれも多発し、初め淡黄緑色の小さな斑点を生じ、病斑の急速な拡大とともにその上に分生子が多量に形成され、すすを塗り付けたような外観を呈した。幼果期以降

は、いずれの主要赤ナシ品種とも感受性は急激に低下したが、幸水だけは6月中旬（開花後約55日頃）から再び感受性が徐々に高まり、7月上～中旬にそのピークに達し、そこに形成された病斑はえくぼ状になる場合が多かった。また、5月上～中旬および6月中旬に感染した果実は高率に裂果した。一方、長十郎や豊水などでは瘡痂状の小さな病斑となった。黒星病による被害は落葉に伴う果実肥大の不良、幼果の発病および現在栽培品種の中心である幸水果実の黒星病に対する感受性が幼果期以降一度低下した後再び特異的に高くなり、裂果したり、しない場合でも発生した病斑数に応じて出荷基準を下げたり出荷不能になることであり、このことが現在の黒星病防除の重要性を一層高めていると考えられた。

2 病原菌および培養的性質

ニホンナシ黒星病菌の分類学的位置については当初 *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck. とされていたが、出田⁴⁵⁾が本病菌は子のう菌に属することを認め、セイヨウナシ黒星病菌と同一種であると判断して *Venturia pirina* (Cooke) Adh. と命名した。その後、田中・山本¹⁸⁹⁾は両者の詳細な比較研究を行った結果、ニホンナシ黒星病菌を新種として独立させ、*V. nashicola* Tanaka et Yamamoto と命名した。このような報告があった後も植物病原糸状菌の分類に関する成書^{172, 202)}には *V. nashicola* は *V. pirina* の同種異名として記されており、両菌の異同について再度確認することは本病菌の発生生態を究明する上でも重要であると判断された。

著者は田中・山本¹⁸⁹⁾が行ったのと同様の比較研究を行い、彼らと同じ結果を得た。さらに、ディスク電気泳動法により菌体内可溶性タンパク質の泳動パターンを比較検討したところ、ニホンナシ黒星病菌とセイヨウナシ黒星病菌間におけるパターンの相違程度はニホンナシ黒星病菌とリンゴ黒星病菌間およびセイヨウナシ黒星病菌とリンゴ黒星病菌間との相違程度と同程度であることを確認した。

また、石井・柳瀬⁵⁶⁾は交雑実験を行い、ニホンナシ黒星病菌とチュウゴクナシ黒星病菌間では交雑したが、ニホンナシ黒星病菌とセイヨウナシ黒星病菌間およびチュウゴクナシ黒星病菌とセイヨウナシ黒星病菌間では交雑しないことを報告した。以上述べた結果および既報告から、田中・山本¹⁸⁹⁾の報告したとおり、両菌を別種とし、ニホンナシ黒星病菌は *V. nashicola*、セイヨウナシ黒星病菌は *V. pirina* とするのが妥当であると判断された。

次に、ニホンナシ黒星病菌の培養的性質を検討したところ、菌糸の生育に対する栄養条件、培養温度および培地のpHによる伸長程度とも従来の報告²⁴¹⁾と基本的に大きな違いはなかった。また、単独のビタミンの添加も菌糸の伸長をほとんど促進することはなく、リンゴ菌⁴²⁾の場合と同様にビタミン類は本菌の生育には必須でないと判断された。また、培地上における完全世代の形成に初めて成功し、異なる分離菌の対峙培養でのみ形成されたことから、リンゴ菌⁷⁷⁾やセイヨウナシ菌⁸⁷⁾と同様に本菌も異株性であることが確認された。得られた子う胞子は原因は不明であるが発芽能力を欠いていた。その後、Ishii and Yanase⁵³⁾は発芽能力を保持した子う胞子の形成に成功し、薬剤耐性の遺伝学的解析が進められつつある^{53, 54, 55, 59)}。

3 黒星病菌の定量法

ナシ黒星病菌の生態を究明する上で基本的に重要なことは、病原菌数を定量的に把握することである。過去の黒星病の生態に関する研究の中で降雨に伴う分生子の生態を調べる場合、モモ炭そ病⁸³⁾の研究で採用された分生子懸濁液をそのまま遠心処理する方法が用いられてきた^{188, 183)}。しかし、本病菌の分生子はおそらくその表面構造によると思われるが、水に懸濁した場合大部分がその表面に浮かび、このような方法では濃縮効率は低いことが明らかとなった。そこで、懸濁液中の分生子を高率に濃縮でき、しかも定量できる方法を模索した。その結果、

分生子懸濁液に低濃度の寒天液を少量添加し、遠心分離を行い、沈澱した寒天液中の分生子数を計測する方法（寒天液濃縮法）²¹⁸⁾を考案した。この方法では懸濁液中の胞子の80%以上を少量の寒天液中に捕捉することができた。今後なお改良する余地はあるが、当面の研究に用いることにした。

秋季に鱗片が感染する場合の伝染源となっている分生子は秋雨時に雨水と共に枝を流下していると推定されたので、寒天液濃縮法²¹⁸⁾を用い、雨水中の分生子数を経時的に調査し、9月から落葉期まで常に相当数存在することを明らかにできた。次に、鱗片発病に基づく鱗片病斑上に形成された分生子数を経時的に調査したところ、4月上旬から形成分生子数は急増することを明らかにできた。また、黒星病の第一次伝染源の一つである鱗片病斑〔後に花（果）叢基部病斑となる〕上に形成された分生子の分散の推移を降雨時に発病鱗片直下で採取した雨水中の分生子数から検討し、分散は開花初期頃から始まり、その後ナシの生育とともに徐々に増加する傾向であることを明らかにできた。その他に、予備実験ではあったが枝病斑上における分生子形成の推移、鱗片上における定着分生子数の調査、葉病斑上に形成された分生子の降雨に伴う分散の推移と分生子の再形成について明らかにできた。

このように、寒天液濃縮法²¹⁸⁾は黒星病の生態学的研究の中で、胞子の分散動態および胞子の感染部位など発生生態の研究において極めて有効な方法と考える。また、この方法は既にブドウ枝膨病¹⁵⁴⁾の生態に関する研究において病斑部からの柄胞子の分散を調べる場合に採用され¹⁰⁰⁾、極めて有効な方法として認識されている。

4 ナシ黒星病の伝染

第一次伝染源の一つである分生子は、古くは枝病斑上に形成されるとされていたが^{145, 181)}、その後、御園生・深津¹⁰⁸⁾や高梨ら¹⁸³⁾は形成されないと報告し、

著者も予備実験ではあったが形成されないことを確認した。また、同じく御園生・深津¹⁰⁸⁾や高梨ら¹⁰³⁾は落葉病斑上の分生子は第一次伝染源にならないと報告しているが、著者の実験でも落葉病斑上の分生子数は萌芽前までに著しく減少し、しかも残存しているものも発芽能力を消失してしまい、伝染源にならないことを確認した。一方、御園生・深津¹⁰⁸⁾によって前年の秋季に鱗片が感染し、翌春その病斑〔花(花)叢基部病斑も含む〕上に分生子が形成され、それが重要な第一次伝染源になるとする新たな伝染経路が発見された。そして、御園生・深津¹⁰⁹⁾は花(果)叢基部病斑上に形成された分生子は通常は開花初期頃からの降雨に伴って分散すると報告したが、降雨に伴う花叢基部からの分散分生子数の推移に関する著者の実験の結果も幸水の開花初期頃からの降雨に伴って分散し、その後漸増した。また、これを裏付ける実験として、花(果)叢基部病斑を伝染源とし、その下に暴露したナシ苗を時期別に移動してその後の発病程度を調べたところ、開花終了期以降に移動した場合に多発した。これらの分生子は10~16m程度分散し、3℃のような低温下でも良く発芽したので、春、低温下の降雨で分散した分生子でも十分に第一次伝染源になると判断された。

一方、落葉上に2月上旬頃から偽子のう殻が形成され始め、3月下旬までに一部の子のう胞子が成熟することは従来⁴⁷⁾と同様であった。ところが、その分散開始時期は従来^{47, 108, 103)}よりも著しく早く、催芽期¹⁴¹⁾であり、リンゴ黒星病菌やセイヨウナシ黒星病菌で確認されているのと同時期であった^{38, 41, 65, 66, 90, 105, 131)}。このような結果が得られた原因は、子のう胞子の採取装置の改善およびスライドガラスの設置方法の改善^{131, 170)}の結果と考えられる。すなわち、子のう胞子の採取能力が高まったために従来⁴⁷⁾の方法では採取できなかった微量だけ分散した場合でも採取が可能となり、結果的に分散開始時期が早まったものと考えられた。子のう胞子は形成場所からわずか8mm以内しか放出されない^{114, 222)}ので、第一次伝染源になるか否かを明らかにすることは重要である

と考えた。高梨ら¹⁸³⁾は子のう胞子の分散に基づく高さ別の発病を調べ、地面から30~60cmの高さの部分で多発し、地面から127cmまでしか発病しなかったことを確認している。著者は地面から高さ別に子のう胞子を採取し、地面に近い場所に比べると明らかに減少したがナシ園の棚よりやや高い180cmの位置へも分散していることを確認できた。また、3℃のような低温下でも子のう胞子は発芽した。これらの事実から、微気象に伴って分散したと考えられる子のう胞子は確実に第一次伝染源になると判断された。

これら2種類の第一次伝染源と初発病との係わりについて、御園生・深津¹⁰⁸⁾は子のう胞子の分散開始時期が分生子の分散開始時期より遅いことを根拠に、分生子を主要な第一次伝染源に挙げ、高梨ら¹⁸³⁾も同様な結論に至った。一方、清水¹⁷⁰⁾は子のう胞子の分散の開始は従来言われていた時期よりもかなり早く、そのうえ子のう胞子を伝染源とした場合の方が分生子を伝染源とした場合よりも発病開始が早くしかも多発したことを根拠に、子のう胞子を主要な第一次伝染源に挙げ、阿部¹⁾も同様な結論に至った。このように相反する報告がある中で、千葉県においてはどちらの報告が実際の現象と合っているかを実証することは極めて重要であると判断した。そこで、子のう胞子と分生子の分散開始時期を検討すると共に清水¹⁷⁰⁾の実験と同様に両第一次伝染源を単独または組み合わせて設置し、そこにおける初発病時期と発病程度を調べた結果、清水¹⁷⁰⁾の得た結果と同様に、初発病に強く関係しているのは子のう胞子であることを改めて実証できた。鱗片が秋季に感染し、翌春そこに発生した病斑上に形成された分生子が分散するという御園生・深津¹⁰⁸⁾により発見された伝染経路は一般に広く受け入れられ、黒星病の防除体系はこのことを前提に組み立てられてきた。ここで、第一次伝染源として子のう胞子が重要であることが改めて明らかになったので、防除開始時期および防除の重点を早めるような方向で黒星病の防除体系を組み直す必要がある。

リンゴ黒星病において、Mills and Laplante¹⁰⁶⁾が接種葉の濡れ時間、温度お

よび発病程度に関して行った実験に基づいて得た相関表は著名であり、最近、MacHardy and Gadoury⁹⁵⁾は発病に要する最短濡れ時間と温度との関係に関する自らの実験結果や既報告^{74,75,94,118,152,163,178,199)}を基に感染に要する最短濡れ時間をMills and Laplanteの相関表よりもやや短くするように修正を加えた。一方、ニホンナシではこの種の実験はこれまで実施されたことがなかったので行った結果、Mills and Laplanteの相関表と酷似した図(第5-7図)を得た。この結果は葉の濡れ保持時間と分生子の発芽・侵入行動に関する著者の実験および西本・石井¹³⁴⁾の報告とも良く一致した。従って、リンゴ黒星病^{68,173,247)}で実施されているコンピューターの利用による予察や防除の必要程度の算出を、将来ナシ黒星病を対象に行おうとする場合、この図や葉上における発芽・侵入行動に関する実験の結果は最も基本的なデータとして活用されることになるはずである。

リンゴ黒星病菌もニホンナシ黒星病菌と同様に鱗片に感染し、翌春発病した病斑上に分生子が形成され第一次伝染源になることが明らかにされているが^{85,124,147)}、その感染機構については両黒星病菌の場合ともこれまで明らかにされていなかった。しかし、効果的な秋季防除法を確立するためにこのことを明らかにするのは非常に重要であると判断された。この感染機構の中で、秋になると春型病斑の分生子形成能力が極度に低下するのに対し秋型病斑が多発することから、伝染源となる分生子は主に秋型病斑上に形成されたものと判断された。次に、秋雨時に枝を流下する雨水中や鱗片上には常に一定量以上の分生子が確認された。また、芽が着生している枝に面している側(内側)の鱗片の発病率が高かった。さらに、走査電子顕微鏡による観察で露出鱗片生組織部分上の分生子の発芽率は露出鱗片枯死組織部分の場合に比べて高くしかも付着器の形成や侵入が観察された。この露出鱗片生組織の部分数は芽の種類の中で圧倒的に腋花芽で多く、また、発病も同様に多かった。また、御園生・深津¹¹²⁾の観察による病斑の出現部位も露出鱗片生組織部分であった。さらに、主成分がパラフィンであるために雨水を

はじくことが期待され、予備実験の結果予防効果が認められたS展着剤を秋季に定期的に散布した感染回避実験で、予防効果が認められた。また、秋季に腋花芽へ接種した実験で、ナシ樹を覆うように簡易ビニールハウスを設置した中の鱗片は全く発病しなかったことから、接種された分生子は降雨を遮断されることにより感染できないことが明らかになった。これらの結果を基にした鱗片への感染機構は、まず伝染源となる分生子は秋型病斑上に形成され、それが秋雨時に雨水と共に枝を流下し、その中の一部が鱗片に定着し、比較的長時間濡れ状態が保持された条件下で露出鱗片生組織部分上の分生子が発芽・侵入し、感染が成立するものと想定された²²⁴⁾。

ナシ果実の黒星病に対する感受性に関する報告^{6, 45, 46, 47, 138, 181)}は全て古い品種を対象としており、そのために実用性はかなり薄れてしまっている。著者の実験で千葉県で無袋で栽培される主要赤ナシ品種は幼果期を過ぎると黒星病に対して感受性が非常に低くなり、防除対象にする必要がないくらいであることが明らかになったが、現在の中心品種である幸水だけは肥大後期になると再び感受性が高まり、その発生は被害と直接結び付くことから、果実の防除は非常に重要であることが示唆された。主要品種の中でこのように幸水だけが特異的に感受性が高い原因は、コルク層の発達不良のためであると一部には考えられているが¹⁸²⁾、重要な品種であるので、この点についてはさらに詳細な研究が望まれる。一方、黒星病を無防除状態で管理した葉の春型および秋型病斑¹⁸⁹⁾の発生程度には明瞭な品種間差異があり、現在の主要品種はすべて感受性が最も高いグループに分類された。また、一般管理圃場で調査した御園生・深津¹¹⁴⁾の報告では同一品種の春型病斑と秋型病斑の発生程度との間には相関が認められない例が多かったが、著者の結果では秋型病斑と春型病斑の発生程度には統計的に有意(1%)な相関が認められ、さらに両型病斑の発生程度と枝における発生程度とも有意(1%)な相関が認められたので、これらの感受性は同一の遺伝子群により制御さ

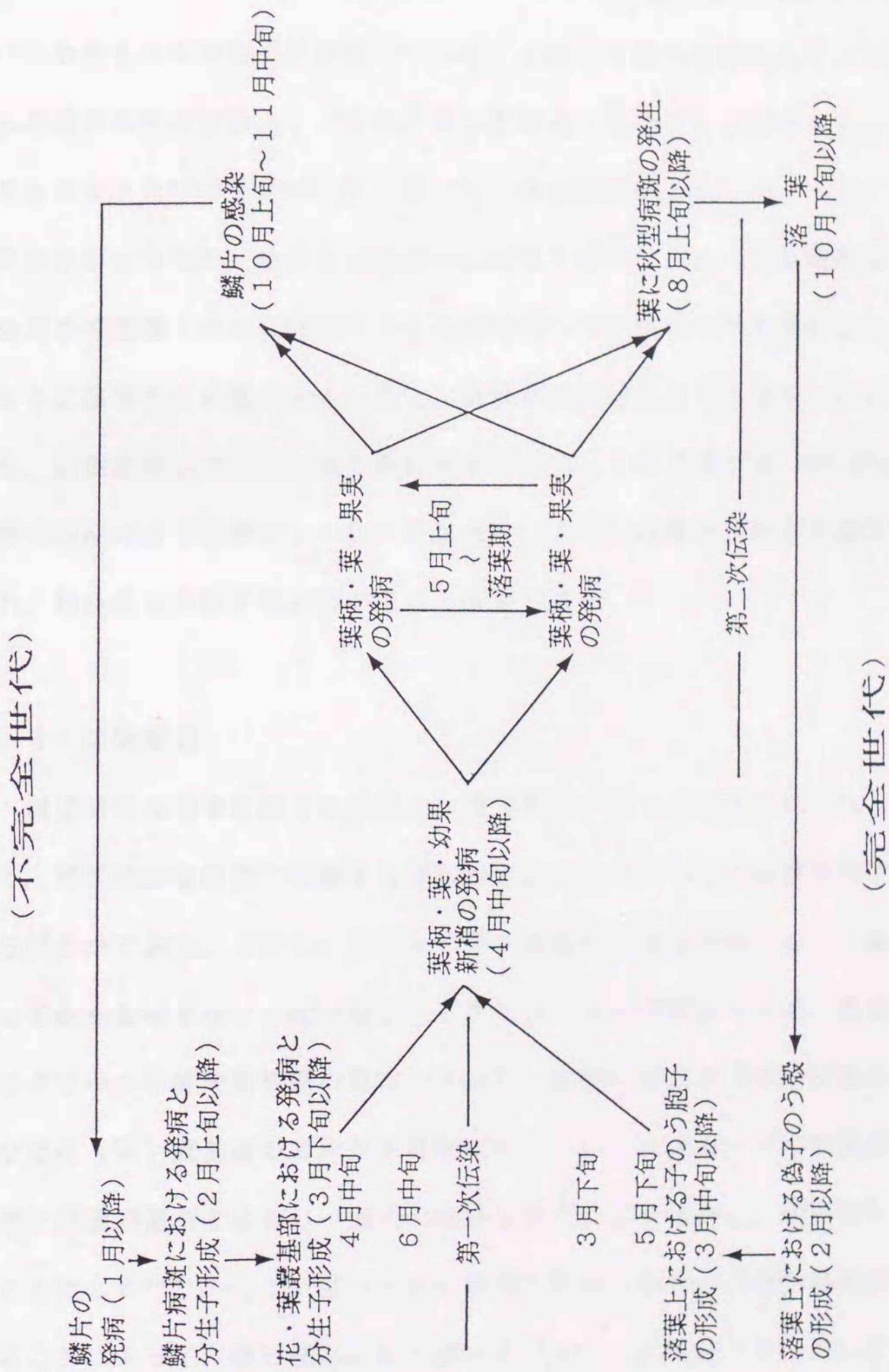
れているのであろうと推定された。

ここで、ナシ黒星病の越冬から葉および果実の発病に至る伝染経路など病原菌の生活史を既報告^{1, 33, 47, 108, 109, 112, 114, 145, 170, 181, 183, 189, 242)}や本研究の成果を踏まえて模式的に示すと第8-1図のようになった。

5 ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌

薬剤耐性菌の発生は各種植物病害の防除においてはもとよりナシ黒星病の防除においても重大な問題であった^{49, 62, 121, 135, 196, 207)}。その対策のために、日本植物防疫協会を中心にして千葉県を含む数県の公的試験研究機関による特別連絡試験が組織され¹²⁸⁾、精力的に研究が行われた。圃場レベルで耐性菌の実験を行う場合、最も重要な点の一つに採用する検定方法がある。ナシ黒星病の場合、本病菌は培地上における生育が非常に遅く²⁴¹⁾、そのために分離が比較的困難な種類の菌であり、簡易迅速に検定できる方法の確立が切望されていた。ベンズイミダゾール系薬剤の病原菌に対する作用機作は有糸核分裂の阻害であり、その結果細胞分裂が阻止される点に着目し¹⁶⁾、薬剤含有培地上における発芽管の隔膜形成の有無を指標にして感受性を検定する方法(発芽管隔膜法²⁰⁷⁾)を確立した。本法の検定感度は従来用いられてきた菌叢生育法と同じであり⁵⁰⁾、実験操作は容易で短時間に多数の菌を検定できるために、種々の関連文献等で紹介され^{203, 239, 240)}、普及するようになった。

ベンズイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌は、その野生株に本系薬剤を散布するという人為的な淘汰の結果顕在化したものである。ところで、ナシ園には野生型菌と耐性菌が混在しており、ベンズイミダゾール系薬剤を連用すると耐性菌の比率が増大し、耐性菌による発病が増加する²¹⁵⁾。そこで、本系薬剤の使用を中止して耐性菌率の低下を期待する耐性菌対策が考えられた。耐性菌と感性菌との競合において、カスガマイシン耐性イネいもち病菌の場合は感性菌の方が耐性



第8-1図 ニホンナシ黒星病菌の生活史

菌よりも強いとされており、本系薬剤の使用の中止により感性菌（野生株）の比率が高まった^{64,115)}。これに対し、ニホンナシ黒星病菌の場合はリンゴ黒星病菌¹⁰³⁾やセイヨウナシ黒星病菌¹⁶⁵⁾の場合と同じく競合力は少なくとも同等のため、本系薬剤の使用を中止しても耐性菌の密度低下をほとんど期待できないことが明らかになった^{57,63,196,215)}。従って、耐性菌対策としては、先ず、本系薬剤の使用を中止するか、使用する場合には回数を制限し、さらに保護剤など作用機作の異なる薬剤とは交互使用よりも混用使用の方が明らかに効果が高いため、そのように使用する必要がある。また、重要防除時期には本系薬剤とは交差耐性が無く、治療効果があり感性菌と共に耐性菌に対しても効果が高いDMI剤を使い、その他の時期には保護剤をていねいに散布し、さらに耕種的防除も可能な限り取り入れ、総合的に防除する必要があると結論できる。

6 防除対策

黒星病菌は秋季に鱗片に感染し、翌年発病することは良く知られている。従って、秋季防除を的確に実施すれば被害を少なくできることは植物病理学の原則から明らかである。しかし、これまでナシ黒星病の防除対策として、果実の収穫後に薬剤を散布することは検討されてこなかったのが実状である。著者はベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の発生のために、生育初期の本系薬剤を含めた薬剤散布では花（果）叢基部の防除が不可能になったことを認め、その感染時期である秋季に保護殺菌剤を散布し、鱗片の感染を防ぐ方法を確立し、秋季防除と呼称することにした²¹¹⁾。ここで確立された秋季防除法を新たに薬剤防除体系に組み入れることによって、第一次伝染源を減少させることが可能となった。この防除法の長所は、秋季防除を実施しない場合豊水や幸水などの腋花芽鱗片は2～4割が発病し、このような花叢は黒星病の防除のためにその基部から切除されるので新梢と花を失うことになり、これは直接減収に結びつくが、それを防除できるところ

にある。現在では、秋季防除は全国の主要ナシ栽培県と考えられる27県中ほとんどの県（少なくとも24県）で指導されている。

無病の果実を収穫し商品として販売網に出荷することは、果樹農家の目的である。ナシ黒星病菌は多くのナシ品種の開花後間もない幼果に発病を引き起こすが、これらは摘果作業で取り除かれるので実害は小さいと言える。ところが、幸水の果実は肥大後期になると再び黒星病に対する感受性が徐々に高まり、その被害は黒星病による実害の主体を成しており、その防除法について検討したので²¹³⁾、²²⁵⁾、重点的に考察する。感受性が最も高い頃と判定されている7月上旬（開花後80日頃）に接種を行い、接種前の薬剤散布による予防効果、接種後の薬剤散布による治療効果について検討した。予防効果はDMI剤のヘキサコナゾール剤は非常に高く、また、ミクロブタニル剤もかなり高く、ヘキサコナゾール剤やミクロブタニル剤が実用化になる前までは薬剤耐性菌の発生園においても最も効果が高いとされていたキャプタン・ベノミル剤の効果はかなり低かった。治療効果はヘキサコナゾール剤やミクロブタニル剤は非常に高く、キャプタン・ベノミル剤の効果は2日後の散布では非常に高かったが、ミクロブタニル剤が高かった5日後の散布（ヘキサコナゾール剤では未検討）ではかなり低かった。他のDMI剤や保護剤の保護効果は非常に低かった。しかし、2日後散布の治療効果はキャプタン・ベノミル剤よりは明らかに低かったが、ある程度認められた。このような実験結果に基づいて、収穫期頃に発生する幸水果実の黒星病の防除体系を考えると、ヘキサコナゾール剤またはミクロブタニル剤を7月上旬（開花後80日頃）を中心とした果実の感受性が最も高い時期に1～2回散布し、それを補うようにキャプタン・ベノミル剤等を数回散布するのが効果的であろう。ただし、DMI剤は使用され始めてから日が浅く、花芽形成の阻害等の生理活性的問題^{43, 80, 88, 93, 129)}および耐性菌問題^{4, 36, 60, 143, 169, 174, 193)}について検討すべき点がまだ残されていると考えられる。

耕種的防除のモデル実験では、種々検討して組み上げられた防除暦の中で、主に秋季防除の効果と耕種的防除の有効性を検討した。その結果、秋季防除と落葉の処分および発病花叢の切除は非常に有効であることが実証され、薬剤防除と共に耕種的防除の重要性が再確認された。

以上の成果を踏まえた黒星病の効果的な防除法は、落葉は集めて処分し、一年生枝の剪定は強めに行い、窒素肥料の施用は控え目にし、開花前までに基部発病花叢はその基部から切除し、その年の薬剤散布は催芽期から始め、鱗片脱落期から開花後約3週間頃までは生育の初期の中で特に重要な防除時期であるのでDMI剤を鱗片脱落期と満開後7日頃に散布し、その他の時期には薬害発生の心配の無い保護剤を十分量散布し、その後も約10日間隔で定期的に散布をするが6月下旬には幸水の果実を主防除対象にキャプタン・ベノミル剤、7月上旬にはヘキサコナゾール剤またはミクロブタニル剤、同中旬にはキャプタン・ベノミル剤、10月中旬から11月上旬にかけて約10日間隔でキャプタン・有機銅剤のような保護殺菌剤を散布することであると言える。なお、DMI剤の耐性菌対策を考慮に入れれば、保護殺菌剤の中でDMI剤の使用時に薬害発生の心配の無い種類の薬剤と混用するのが効果的であり、千葉県ではこの考えに基づいて全国に先駆けて既に平成2年度の防除暦から他殺菌剤と混用することになっている。

千葉県における黒星病の防除のための薬剤散布回数は秋季防除も含めると防除暦¹²⁾では18回となり、農家の実際の散布回数はこれを数回上回っている可能性が高く、現在種々な場面で社会問題化されている人間も含めた生物に対する農薬の影響を考慮すると、的確な散布による防除回数の削減が強く望まれるところである。そのためには、生態に関する基礎データをさらに蓄積するとともにリンゴ黒星病で実用化されているコンピューターを活用した病気の発生予察と薬剤防除の必要程度を算出する方法^{68, 173, 247)}の早期確立が望まれる。

第9章 摘要

本研究は、ニホンナシの栽培において最も大きな被害をもたらす黒星病の効果的な防除方法の提示を目的として行ったが、そのために病原菌の生態と病害発生との関係を究明し、それに基づく防除法について検討した。

1. 病徴

本病は鱗片および花（果）叢基部、葉、葉柄、果実および新梢に発生した。鱗片の病斑は黒灰色を呈し、その後基部に進展し、花（果）叢基部病斑を形成した。発病花（果）叢の鱗片は枯死後も固着していた。葉の病斑は黒色を呈し、その上には分生子が多量に形成された。また、葉柄に発病すると落葉しやすくなった。幼果期の果実が感染した場合には大きな病斑が形成されたが、その後に発生した場合、幸水や新高では凹んだだいたい色で後に黒色となるえくぼ状病斑が主に形成されたが、他の品種では瘡痂状の小さな斑点となった。

2. 黒星病による被害

千葉県におけるナシ黒星病の発生面積は年による大きな差は認められなかったが、支払い共済金中に占める黒星病の被害に対する補償額の割合は年により数%～20%以上であった。

3. 病原菌の所属

ニホンナシ黒星病菌はセイヨウナシ黒星病菌と比べ、分生子の長さおよび幅、子のう胞子の全長と幅とも統計的に有意（0.1%）で小さく、同様に偽子のう殻の高さも有意（5%）に小さかった。また、菌体内の可溶性タンパク質のディスク電気泳動パターンにおいて、ニホンナシ黒星病菌、セイヨウナシ黒星病菌およびリンゴ黒星病菌との間に共通する主要なバンド数はほぼ同じであった。さらに、交接種実験で、ニホンナシ黒星病菌はニホンナシ（幸水、豊水、長十郎）にだけ、セイヨウナシ黒星病菌はセイヨウナシ（Flemish Beauty）にだけに病原性が

認められた。これらの結果から、ニホンナシに発生している黒星病菌は *Venturia nashicola* Tanaka et Yamamoto とするのが妥当であった。

4. 病原菌の培養的性質

培地上における生育適温は20℃、また、最適pHは7.0前後であった。リチャード培地を基本培地としたとき、炭素源には可溶性澱粉、窒素源にはCa(NO₃)₂·4H₂Oを添加した場合に最も生育が良好となり、ビタミン類の中ではイノシトールを添加した場合に生育が若干良好となった。また、PSA培地上で単孢子分離菌間の対峙培養でのみ完全世代の形成に成功し、このことから異株性であることが確認された。

5. 分生子懸濁液の効率的濃縮法

0.1%寒天液を10mlの分生子懸濁液に0.5～1 ml添加後650×gで5分間以上遠心処理を行うと遠沈管底部に寒天液が集積し、その中に分生子を高率に集めることができた。その濃縮効率は、0.5ml添加した場合平均41倍（理論値の82%）、1 ml添加した場合平均22.1倍（理論値の88.4%）であった。本方法を寒天液濃縮法と呼称することにした。

6. 分生子による伝染

黒星病菌の鱗片への主感染期間は10月上旬～11月中旬であり、発病は厳寒期から起き、発芽能力のある分生子は3月上旬から形成された。一方、落葉病斑上の分生子は翌春までに感染能力を消失した。鱗片の発病に基づく花（果）叢基部の発病率は豊水が最も高く、幸水ではそれよりやや低く、長十郎では豊水よりかなり低く、二十世紀や新高では認められなかった。

鱗片病斑〔花（果）叢基部病斑も含む〕上に形成された分生子は、通常幸水の開花初期頃からの雨水に伴って分散し、その後漸増した。分散距離は東西南北いずれの方向へも少なくとも8 m以上、条件によっては16 m以上であった。また、分生子は3℃下でも適温である15～20℃の場合にかなり近い発芽率であった。

7. 子のう胞子による伝染

偽子のう殻は前年秋の落葉病斑上に2月上旬頃から形成され始め、子のう胞子は3月中旬以降に形成され始めた。その分散は早い年には3月下旬、遅い年でも4月上旬から始まり、幸水の開花の10~22日前であった。落葉期から子のう胞子の成熟までの期間で、約1カ月間程度の乾燥は偽子のう殻の形成量にはほとんど影響を与えなかった。偽子のう殻からの子のう胞子の放出は、3~35℃の間で起こり、温度による影響を受けなかった。

子のう胞子は降雨日にだけ放出され、その高さは偽子のう殻形成面から最大7.36mmまでであったが、ナシ園の柵の高さよりやや高い地上180cmの場所でも分散が確認された。また、分散距離は東西南北いずれの方向へも10m以上であった。子のう胞子は3℃下でも適温である15~20℃の場合の発芽率に比べればかなり劣るが発芽した。

8 子のう胞子と分生子のナシ葉に対する病原性の比較

長十郎と幸水の葉に対する子のう胞子と分生子の病原性は、 1×10^5 /ml程度の胞子液濃度であればほぼ同一であった。

9 葉への感染に及ぼす温度と濡れ時間

分生子は約20℃散光下に置いた濡れ状態の葉上で6時間後にはわずかに発芽し、9時間後には低率ではあるが侵入し、24時間後にはかなり高率に侵入を完了していた。一方、長十郎に分生子を接種し、湿度100%下に15℃で9時間保持したところわずかに発病し、12時間以上保持した場合20℃で最も多発したが、15℃でもそれに近い程度発病した。

10 腋花芽の着生順位、着生位置および側部別発病

腋花芽鱗片における黒星病の発病は、一年生枝の先端部分で多く、豊水では枝の基部にまで高率に発病する傾向が強かったが、幸水や長十郎では弱かった。腋花芽の着生位置別の発病は、豊水ではどの位置とも同程度に発病し、幸水と長十郎では横や下が多かった。さらに、豊水の腋花芽ではそれらが着生している一年

生枝に面している側（内側）における発病率が統計的に有意（5%）で高く、豊水の葉芽、幸水および長十郎の腋花芽でも内側における発病率が高かった。

11 鱗片への黒星病菌の感染機構

秋型病斑上に形成された分生子は秋雨時に雨水に混じって枝を流下し、一部の分生子は鱗片に定着し、比較的長時間濡れ状態が保たれた場合に発芽・侵入して感染が成立するものと推定された。その感染部位は、走査電子顕微鏡による観察により、露出鱗片生組織部分であった。露出鱗片生組織部分の存在は腋花芽では通常認められたがその他の芽ではほとんど認められず、鱗片における発病傾向と一致していた。

12 葉および新梢の黒星病に対する品種間差異

葉の発病は、春型病斑および秋型病斑とも八幸、豊水、長十郎および幸水に多発し、逆に、巾着、新興および晩三吉には認められなかった。一年生枝の発病は、葉の発病傾向とほぼ一致し、春型病斑および秋型病斑の発病程度との間には統計的に有意（1%）な正の相関が認められた。

13 主要赤ナシ品種の果実の黒星病に対する感受性

幼果期以降の感受性は、幸水、豊水、長十郎および新高の中では幸水が圧倒的に高かった。

14 幸水果実の黒星病に対する感受性の推移

開花前の花托および開花後約2週間までの幼果は黒星病に対する感受性が非常に高く、その後急激に低下し、6月中旬頃から再び徐々に高くなり、7月上～中旬頃（開花後75～90日）ピークに達した。また、その潜伏期間は開花前から開花後約2週間までは14～18日であったが、その後6月中旬までは21～36日と長くなり、6月下旬頃から再び短くなって14～21日になった。裂果発生率は5月上～中旬に感染した場合に最も高く、その後一度低下し、6月中旬に再びやや高くなった。

15 第一次伝染源の種類と発病の推移

子のう胞子を伝染源とした場合、分生子の場合に比べて初発病時期は明らかに早く、また、初期の発病も顕著に多かった。

16 ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の検定方法

黒星病菌のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性の検定を、薬剤含有PSA培地上に分生子を移植し、15℃、48～72時間培養後に発芽管の隔膜の形成の有無により判定する方法を考案した。この検定法と従来法である菌叢生育法とは検定感度において差異がなかった。この検定方法を発芽管隔膜法と呼称することにした。

17 ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の検定において考慮すべき点

病斑上に形成された分生子はベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性において同一であったので、1病斑を1菌株とみなして検定を行ってもよいことが明らかになった。また、ナシ園から耐性菌の検定のために病葉を採取する場合、できるだけ圃場全体から行うことが重要であった。

18 ベンズイミダゾール系薬剤耐性黒星病菌の発生による防除効果の低下

感性菌、中等度耐性菌および高度耐性菌のベノミル剤散布ナシ苗への単独接種で、耐性程度が高くなるにつれて防除効果が低下した。出現した病斑上の分生子のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性は接種に用いたのと同じであった。このことから、耐性菌による防除効果の低下が証明された。

19 千葉県におけるベンズイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌の発生状況

県内の主要なナシ産地10箇所の耐性菌発生園率は、1箇所を除き100%であった。

20 秋季防除

秋季防除の実施により翌年の鱗片発病に基づく花(果)叢基部の発病が高率に減少した。その散布を10日間隔の3回に絞った場合、適期は10月中旬、同下旬および11月上旬であり、保護殺菌剤であれば薬剤の種類はほとんど問題ではなかった。

21 果実の薬剤防除

人工接種実験において、接種5日前の散布の効果はヘキサコナゾール剤が非常に高く、ミクロブタニル剤もかなり高かったが、その他の薬剤の効果は低かった。一方、接種2日後の散布の効果は、ヘキサコナゾール剤とミクロブタニル剤が非常に高く、キャプタン・ベノミル剤もかなり高く、他の供試薬剤の効果も認められた。接種5日後の散布の効果は、ミクロブタニル剤（ヘキサコナゾール剤は未検討）が高かった。

22 耐性菌発生圃場において当該薬剤の使用を中止した場合の防除効果

当該薬剤は使用しないで耕種的防除を適切に実施したところ、当該薬剤をその年の防除暦に準じて年間2～4回他殺菌剤と混用して使用した場合に比べて黒星病の発生は少なかった。

23 発病花叢の除去による防除

基部発病花（果）叢の除去は開花直前までに行えば、発病は非常に少なかった。

24 耕種的防除のモデル実験

秋季防除および耕種的防除である基部発病花叢の除去や落葉の処分などを実施しなかった慣行区では実施した改善区に比べ、花（果）叢基部、春型病斑および秋型病斑とも多発し、果実もやや多発した。

以上の結果を踏まえ、ベンズイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌対策およびDMI剤耐性菌発生回避対策を含めた本病の防除では、薬剤防除の開始は従来より早めて催芽期からとし、春の重要防除時期である鱗片脱落直前時と満開後7日頃にDMI剤を薬害が無く作用機作の異なる薬剤（ただし、ベンズイミダゾール系薬剤は除く）と混用し、果実の重要防除時期である7月上旬頃にDMI剤のヘキサコナゾール剤またはミクロブタニル剤を保護剤と混用して使用すると共に耐性菌発生圃場でも効果の高いキャプタン・ベノミル剤をこの前後頃に使用し、その他の時期にはベンズイミダゾール系薬剤およびDMI剤とは作用機作の異なる薬剤を防除暦に従

ってていねいに散布し、特に秋季防除は必ず実施すると共に落葉の処分、発病花
叢基部の切除、一年生枝の強めの剪定および窒素肥料の施用を抑える等の耕種的
防除を積極的に取り入れて防除すべきであると結論される。

引用文献

1. 阿部寛二 (1978). ナシ黒星病 (*Venturia nashicola*) に関する研究 第1報 第一次伝染源について. 宮城園試研報 2:40-52.
2. 秋田県農業試験場 (1956). 黒星病 (*Venturina pirina* ADH) の発生消長と防除に関する試験. 秋田県農試報告 5:81-84.
3. Bagga, H. S. and Boone, D. M. (1968). Inheritance of resistance to *Venturia inaequalis* in crabapples. *Phytopathology* 58:1183-1187.
4. Bal, E. and Gilles, G. (1986). Problems of resistance in powdery mildew control on strawberries. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 51/2b:707-714.
5. ト蔵梅之丞 (1921). 梨黒星病、改訂増補、作物病害予防駆除法、初版、西ヶ原叢書刊行会、東京. pp. 546-547.
6. ト蔵梅之丞 (1934). 梨の黒星病と其の防除. *病虫雑* 21:419-422.
7. Boone, D. M. (1971). Genetics of *Venturia inaequalis*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 9:297-318.
8. Bratley, C. O. (1940). Development of scab on stored apples, 1938-1939. *Phytopathology* 30:174-178.
9. Burchill, R. T. and Hutton, K. E. (1965). The suppression of ascospore production to facilitate the control of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.). *Ann. appl. Biol.* 56:285-292.
10. Burchill, R. T. (1968). Field and laboratory studies of the effect of urea on ascospore production of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. *Ann. appl. Biol.* 62:297-307.
11. Cheal, W. F. and Dillon, W. A. R. (1938). Observations on pear

- scab (*Venturia pirina* Aderh.) Ann. appl. Biol. 25:206-208.
12. 千葉県農林部農産課. 昭和51年-平成3年、各年度農作物病虫害雑草防除基準(付 植物成長調整剤使用基準). 千葉県.
 13. 朝鮮総督府勸業模範場(1928). 朝鮮作物病害目録. 勸業模範場研究報告 15:130.
 14. Crosse, J. E., Garrett, M. E. C. and Burchill, R. T.(1968). Changes in the microbial population of apple leaves associated with the inhibition of the perfect stage of *Venturia inaequalis* after urea treatment. Ann. appl. Biol. 61:203-216.
 15. 大日本農会(1902). 梨黒星病. 大日本農会報 248:49.
 16. Davidse, L. C. (1973). Antimitotic activity of methyl benzimidazol-2-yl carbamate (MBC) in *Aspergillus nidulans*. Pesticide Biochem. Physiol. 3:317-325.
 17. Davis, B. J. (1964). Method and application to human serum proteins. Ann. N. Y. Acad. Sci. 121:404-427.
 18. Dekker, J. (1976). Acquired resistance to fungicides. Ann. Rev. Phytopathol. 14:405-428.
 19. Dillon Weston, W. A. R. and Petherbridge, F. R. (1933). Apple and pear scab in East Anglia. Jour. of Poml. 11:185-198.
 20. 園芸学会(1979). 園芸学用語集、園芸作物名編、初版、養賢堂、東京. pp. 3-4.
 21. Fisher, R. W. and Corke, A. T. K. (1971). Infection of Yarlington Mill fruit by the apple scab fungus. Can. J. Plant Sci. 51:535-542.
 22. Fothergill, P. G. and Ashcroft, R. (1955). The nutritional re-

- quirements of Venturia inaequalis. J. gen. Microbiol. 12:387-395.
23. 藤田孝二・杉木 隆・松中謙次郎・田中弥平 (1981). リンゴ腐らん病に関する研究 第1報 生態及び発生要因. 青森リンゴ試報 19:57-84.
24. Gairola, G. and Powell, D. (1971). Electrophoretic protein patterns of Cytospora fungi. Phytopath. Z. 71:135-140.
25. Georgopoulos, S. G. and Zaracovitis, C. (1969). Tolerance of fungi to organic fungicides. Ann. Rev. Phytopathol. 5:109-130.
26. Gill, H. S. and Powell, D. (1968). The use of polyacrylamide gel disc electrophoresis in delimiting three species of Phytophthora. Phytopath. Z. 63:23-29.
27. Gill, H. S. and Zentmyer, G. A. (1978). Identification of Phytophthora species by disc electrophoresis. Phytopathology 68:163-167.
28. Gilpatrick, J. D. and Blowers, D. R. (1974). Ascospore tolerance to dodine in relation to orchard control of apple scab. Phytopathology 64:649-652.
29. Glynn, A. N. and Reid, J. (1969). Electrophoretic patterns of soluble fungal proteins and their possible use as taxonomic criteria in the genus Fusarium. Can. J. Bot. 47:1823-1831.
30. Hall, R., Zentmyer, G. A. and Erwin, D. C. (1969). Approach to taxonomy of Phytophthora through acrylamide gel-electrophoresis of proteins. Phytopathology 59:770-774.
31. Hammerschlag, R. S. and Sisler, H. D. (1973). Benomyl and methyl-2-benzimidazole carbamate (MBC): Biochemical, cytological and chemical aspects of toxicity to Ustilago maydis and Saccharo-

- myces cerevisiae*. Pesticide Biochem. Physiol. 3:42-54.
32. 原 攝祐 (1916). 梨の黒星病、果樹病害論全、初版、日本柑橘会、静岡.
pp. 68-77.
 33. 原 攝祐 (1917). 梨黒星病菌の子嚢型に就て. 果樹 171:45-47.
 34. 原 攝祐 (1925). 黒星病、実用作物病理学、訂正再版、養賢堂、東京.
pp. 250-253.
 35. Hashimoto, S., Sano, S., Murakami, A., Mizuno, M., Nisikawa, H.
and Yasuda, Y. (1986). Fungitoxic properties of triflumizole.
Ann. Phytopath. Soc. Japan. 52:599-609.
 36. Heaney, S. P., Hutt, R. T. and Miles V. G. (1986). Sensitivity to
fungicides of barley powdery mildew populations in England and
Scotland: Status and implications for fungicide use. 1986 Br.
Crop. Prot. Conf. Pests and diseases. pp. 793-800.
 37. 広木孫重 (1923). 梨実葉蜂黒星病防除に就て. 病虫雑 10:272-275.
 38. Hirst, J. M. and Stedman, O. J. (1961). The epidemiology of apple
scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.). I. Frequency of airborne
spores in orchards. Ann. appl. Biol. 49:290-305.
 39. 堀 正太郎 (1917). 梨黒星病、農作物病害、第10版、成美堂書店、東京.
pp. 284-287.
 40. 堀川知廣 (1987). ペンズイミダゾール系殺菌剤に対する耐性の程度を異
にするチャ輪斑病菌 *Pestalotia longiseta* Spegazziniの病原力の差. 関
西病虫研報 29:21-26.
 41. Howitt, J. E. and Evans, W. G. (1926). Preliminary report of some
observations on ascospore discharge and dispersal of conidia of
Venturia inaequalis (Cooke) Winter. Phytopathology 16:559-563.

42. Hunter, L. D. (1979). The influence of biochemical factors on growth in culture and pathogenicity of *Venturia inaequalis*. Ann. appl. Biol. 91:119-123.
43. Hutcheon, J. A., Coyle, J., Holgate, M. E. and Byrde, R. J. W. (1986). Effects of fungicides on long-term cropping and fruit quality of apple. Plant Pathology 35:249-253.
44. Hutton, K. E. and Burchill, R. T. (1965). The effect of some fungicides and herbicides on ascospore production of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. Ann. appl. Biol. 56:279-284.
45. 出田 新 (1903). 梨ノ黒星病、日本植物病理学、初版、裳華房、東京、pp. 318-323.
46. 鑄方末彦 (1927). 黒星病、実験果樹病害篇、初版、養賢堂、東京、pp. 1-10.
47. 鑄方末彦・小谷 剛 (1940). 梨黒星病菌の性質と黒星病の予防法、農及園 15:133-144.
48. 猪瀬敏郎 (1958). 梨黒星病の潜伏期間と各種薬剤の効果試験、農及園 33:97-98.
49. Ishii, H. and Yamaguchi, A. (1977). Tolerance of *Venturia nashicola* to thiophanate-methyl and benomyl in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan 43:557-561.
50. 石井英夫・山口 昭・梅本清作 (1978). ナシ黒星病菌 *Venturia nashicola* のチオファネートメチル剤およびベノミル剤に対する耐性—耐性菌の簡易検定法、日植病報 44:406 (講要).
51. 石井英夫・柳瀬春夫 (1981a). ナシ黒星病菌とセイヨウナシ黒星病菌との分類学的関係 1. 病原菌胞子の形態比較、日植病報 47:131 (講要).

52. Ishii, H. and Yamaguchi, A. (1981b). Resistance of Venturia nashicola to thiophanate-methyl and benomyl: Existence of weakly resistant isolates and its practical significance. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 47:528-533.
53. Ishii, H. and Yanase, H. (1983). Resistance of Venturia nashicola to thiophanate-methyl and benomyl: Formation of the perfect state in culture and its application to genetic analysis of the resistance. Ann. Phytopath. Soc. Japan 49:153-159.
54. Ishii, H., Yanase, H. and Dekker, J. (1984). Resistance of Venturia nashicola to benzimidazole fungicides. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent, 49/2a:163-172.
55. Ishii, H. and Yanase, H. and Dekker, J. (1985a). Sensitivity of benzimidazole-resistant Venturia nashicola to N-phenylcarbamates in vitro and its inheritance. 1985 Fungicides for Crop Protection. BCPC Monograph 31: 323-326.
56. 石井英夫・柳瀬春夫 (1985b). ナシ黒星病菌とセイヨウナシ黒星病菌との分類学的関係 2. 病原菌の交雑能力および寄生性. 日植病報 51:92 (講要).
57. Ishii, H., Udagawa, H., Yanase, H. and Yamaguchi, A. (1985c). Resistance of Venturia nashicola to thiophanate-methyl and benomyl: Build-up and decline of resistance in the field. Plant Pathology 34:363-368.
58. Ishii, H. and Davidse, L. C. (1986). Decreased binding of carbendazim to cellular protein from Venturia nashicola and its involvement in benzimidazole resistance. 1986 Br. Crop Prot.

Conf. Pests and Diseases. pp. 567-573.

59. Ishii, H. and van Raak, M. (1988). Inheritance of increased sensitivity to N-phenylcarbamates in benzimidazole-resistant Venturia nashicola. *Phytopathology* 78:695-698.
60. Ishii, H., Takeda, H., Nagamatsu, Y. and Nakashima, H. (1990). Sensitivity of the pear scab fungus (Venturia nashicola) to three ergosterol biosynthesis-inhibiting fungicides. *Pestic. Sci.* 30:405-413.
61. 石山信一 (1926). 苹果の黒星病予防試験 (抄録). *病虫雑* 13:165-168.
62. 石崎 寛・三原隼人・久能 均・河野 満 (1977). チオファネート耐性ナシ黒星病菌の出現について. *日植病報* 43:497-498.
63. 石崎 寛・河野 満・土田 稔・海野 昌・羽澄康則・加藤晋郎・久能均 (1983). 三重県香良州町のナシ園におけるチオファネートメチル耐性ナシ黒星病菌出現率の年次変動. *日植病報* 49:347-351.
64. 伊藤征男・山口富雄 (1979). いもち病菌のカスガマイシン耐性菌と感性菌の競合. *日植病報* 45:40-46.
65. Jeger, M. J., Swait, A. A. J. and Butt, D. J. (1982). Overwintering of Venturia inaequalis, the causal agent of apple scab, on different cultivars. *Ann. appl. Biol.* 100:91-98.
66. Jehle, R. A. and Hunter, H. A. (1928). Observations on the discharge of ascospores of Venturia inaequalis in Maryland. *Phytopathology* 18:943-945.
67. Jones, A. L. and Walker, R. J. (1976). Tolerance of Venturia inaequalis to dodine and benzimidazole fungicides in Michigan.

Plant Dis. Repr. 60:40-44.

68. Jones, A. L. (1978). Analysis of apple scab epidemics and attempts at improved disease prediction. In Proc. Apple and Pear Scab Workshop, Kansas City, MO., 1976. (Jones A. L. and Gilpatrick J.D. eds.). N.Y. Exp. Stn. Spec. Rep. No.28. pp. 19-22.
69. Jones, A. L. (1981). Fungicide resistance: Past experience with benomyl and dodine and future concerns with sterol inhibitors. *Plant Disease* 65:990-992.
70. 関東農政局千葉統計情報事務所 (1988). 昭和62年度青果物生産出荷統計 (千葉)、千葉農林統計協会. p. 119.
71. Katan, T., Shabi, E. and Gilpatrick, J. D. (1983). Genetics of resistance to benomyl in *Venturia inaequalis* isolates from Israel and New York. *Phytopathology* 73:600-603.
72. 加藤寿郎 (1979). ステロール生合成阻害剤、農薬デザインと開発指針 (山本 出ほか編)、ソフトサイエンス社、初版、東京. pp. 191-207.
73. Keitt, G. W. (1926a). Some relations of environment to the epidemiology and control of apple scab. *Rev. Appl. Mycol.* 5:495-496.
74. Keitt, G. W. and Jones, L.K. (1926b). Studies of the epidemiology and control of apple scab. *Wis. Agric. Exp. Stn. Res. Bull.* 73:1-104.
75. Keitt, G. W. (1927). Studies of apple scab and cherry leaf spot infection under controlled conditions. (Abstr.) *Phytopathology* 17:45.
76. Keitt, G. W. and Palmiter, D. H. (1937). Potentialities of eradicant fungicides for combating apple scab and some other plant

- disease. Jour. Agr. Research 55:397-437.
77. Keitt, G. W. and Palmiter, D. H. (1938). Heterothallism and variability in Venturia inaequalis. Amer. Jour. Bot. 25:338-345.
78. Keitt, G. W. and Langford, M. H. (1941a). Venturia inaequalis (Cke.) Wint. I. A groundwork for genetic studies. Amer. Jour. Bot. 28:805-820.
79. Keitt, G. W., Clayton, C. N. and Langford, M. H. (1941b). Experiments with eradicant fungicides for combating apple scab. Phytopathology 31:296-322.
80. Kelley, R. D. and Jones, A. L. (1981). Evaluation of two triazole fungicides for postinfection control of apple scab. Phytopathology 71:737-742.
81. Kiebacher, H. und Hoffmann, G. M. (1976). Benzimidazol-Resistenz bei Venturia inaequalis. Z. PflKrankh. PflSchutz 83:352-358.
82. Kienholz, J. R. and Childs, L. (1937). Twig lesions as a source of early spring infection by the pear scab organism. Jour. Agr. Research 54:667-681.
83. 北島 博 (1962). 植物病理実験法 (明日山秀文ほか編)、初版、日本植物防疫協会、東京。 pp. 257-258.
84. 北島 博・山本省二 (1963). ナシ黒星病に対する殺菌剤の効果とくに検定法について。園試報 B 2:193-204.
85. 工藤徹男・高橋俊作・水野 昇 (1976). リンゴ黒星病に関する研究 第1報 芽りん片越冬について。秋田果試研報 8:19-29.
86. Kuramoto, T. (1976). Resistance to benomyl and thiophanate-methyl in strains of Penicillium digitatum and P. italicum in Japan.

Plant Dis. Repr. 60:168-172.

87. Langford, M. H. and Keitt, G. W. (1942). Heterothallism and variability in Venturia pirina. Phytopathology 32:357-369.
88. Latham, A. J., Dozier, W. A., Jr., Knowles, J. W. and Hollingsworth, M. H. (1985). Suppression of apple bloom by fungicides that inhibit sterol synthesis. Plant Disease 69:776-778.
89. Latorre, B. A. and Marín, G. (1982). Effect of bitertanol, fenarimol, and urea as fall treatments of Venturia pirina ascospore production. Plant Disease. 66:585-586.
90. Latorre, B. A., Yáñez, P. and Rauld, E. (1985). Factors affecting release of ascospores by the pear scab fungus (Venturia pirina). Plant Disease 69:213-216.
91. Leben, C. and Keitt, G. W. (1948). Venturia inaequalis (Cke.) Wint. V. The influence of carbon and nitrogen sources and vitamins on growth in vitro. Amer. Jour. Bot. 35:337-343.
92. Lespinasse, Y., Olivier, J. M. et Godicheau, M. (1979). Etudes entreprises dans le cadre de la resistance a la tavelure du pommier. Proceedings of the Eucarpia Symposium, Fruit Section, Angers pp. 97-110.
93. Locke, T. and Andrews, L. (1986). Effects of fungicides on powdery mildew, tree growth and cropping of apple. Plant Pathology 35:241-248.
94. Louw, A. J. (1947). The incidence and economic importance of apple scab [Venturia inaequalis (Cke.) Wint.] in the winter-rainfall area of the Cape Province. S. Afr. Dep. Agric. For. Sic. Bull.

- 274:1-13.
95. MacHardy, W. E. and Gadoury, D. M. (1989). A revision of Mills's criteria for predicting apple scab infection periods. *Phytopathology* 79:304-310.
 96. MacNeill, B. H. and Schooley, J. (1973). The development of tolerance to dodine in *Venturia inaequalis*. *Can. J. Bot.* 51:379-382.
 97. 前田和彦・太田舜三 (1981). ナシ黒星病菌のTBZ、ベノミルに対する感受性の比較. *日植病報* 47:126 (講要).
 98. 真木太一 (1982). 防風網に関する研究 (4) 風洞実験による種々の防風網付近の風速分布特性. *農業気象* 38:123-133.
 99. 牧野秋雄・鈴木孝仁 (1980). 静岡県のとまとにおけるポリオキシシン、ベノミルおよびチオファネートメチル耐性灰色かび病菌の発生. *静岡農試研報* 25:19-25.
 100. 豆塚宏子・田代暢哉・貞松光男・山津憲治 (1990). ブドウ病害の休眠期防除における粗皮はぎの効果. *九病虫会報* 36:68-71.
 101. Marsh, R. W. (1933). Observations on pear scab. *Jour. of Pomol.* 11:101-112.
 102. McCartney, H. A. and Fitt, B. D. L. (1985). Advances in plant pathology: Mathematical modelling of crop disease. Academic Press Inc., London. p. 109.
 103. McGee, D. C. and Zuck, M. G. (1981). Competition between benomyl-resistant and sensitive strains of *Venturia inaequalis* on apple seedlings. *Phytopathology* 71:529-532.
 104. McKay, R. (1938). Conidia from infected bud-scales and adjacent wood as a main source of primary infection with the apple scab

- fungus *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. Rev. Appl. Mycol. 17:606.
105. Miller, P. M. and Waggoner, P. E. (1958). Dissemination of *Venturia inaequalis* ascospores. Phytopathology 48:416-419.
106. Mills, W. D. and Laplante, A. A. (1951). Diseases and insects in the orchard. Cornell Ext. Bull. 711:21-27 rev. 1951.
107. 御園生 尹・石渡英夫 (1966). ナシ黒星病の薬剤防除. 関東病虫研報 13:75.
108. 御園生 尹・深津量栄 (1968). ナシ黒星病の伝染と防除に関する研究 第1報 病原菌の越冬について. 千葉農試研報 8:42-52.
109. 御園生 尹・深津量栄 (1970a). ナシ黒星病の伝染と防除に関する研究 (第2報) 分生胞子の飛散と伝染源としての役割. 千葉農試研報 10:91-98.
110. 御園生 尹・深津量栄 (1970b). ナシ黒星病に対するベノミル剤 (ベンレート) 散布の効果. 関東病虫研報 17:59-60.
111. 御園生 尹・深津量栄 (1971b). ナシ黒星病の鱗片上発病の品種間差異. 関東病虫研報 18:62.
112. 御園生 尹・深津量栄 (1971c). ナシ黒星病の伝染と防除に関する研究 第III報 芽鱗片上の病斑型ならびに分生胞子の形成. 千葉農試研報 11:96-102.
113. 御園生 尹・深津量栄 (1971d). ナシ黒星病の伝染と防除に関する研究 第IV報 休眠期および鱗片脱落直前時の殺菌剤散布効果. 千葉農試研報 11:103-115.
114. 御園生 尹・深津量栄 (1973). ナシ黒星病の伝染と防除に関する研究 第V報 病落葉上に形成する病原菌の完全時代ならびに殺菌剤による形成抑制. 千葉農試研報 13:9-21.

115. 三浦春夫 (1975). カスガマイシン耐性イネいもち病菌の発生と対策. 植物防疫 29:183-186.
116. Miura, H., Katagiri, M., Yamaguchi T., Uesugi, Y. and Ito, H. (1976). Mode of occurrence of kasugamycin-resistant rice blast fungus. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 42:117-123.
117. 水沢芳名 (1962). 植物病理実験法 (明日山秀文ほか編)、日本植物防疫協会、東京. p.667.
118. Moore, M. H. (1964). Glasshouse experiments on apple scab. 1. Foliage infection in relation to wet and dry periods. Ann. appl. Biol. 53:423-435.
119. 向井武勇 (1978). 果樹の栽培新技術、果樹の栽培新技術編集委員会、初版、博友社、東京. p. 363.
120. 村山富男 (1971). ナシ黒星病に対する新農薬の効果. 農及園 46:935-936.
121. 長江春季・富川 章・渋谷久治・玉村浩司・真弓 齊 (1977). ナシ黒星病の薬剤防除 (薬剤耐性菌とその防除). 関西病虫研報 19:105.
122. 長江春季・富川 章・渋谷久治・玉村浩司 (1981). ナシ黒星病薬剤耐性菌に関する試験 第2報 ベンツイミダゾール剤耐性ナシ黒星病菌占有率の高い圃場に於ける防除対策の検討. 関西病虫研報 23:62.
123. Nakata, A., Sano, S., Hashimoto, S., Hayakawa, K., Nishikawa, H. and Yasuda, Y. (1987). Negatively correlated cross-resistance to *N*-phenylformamidoximes in benzimidazole-resistant phytopathogenic fungi. Ann. Phytopath. Soc. Japan 53:659-662.
124. 仲谷房治・佐藤正一・高橋 哲 (1989). リンゴ黒星病のりん片越冬病斑の形成. 日植病報 55:86 (講要).

125. 中沢雅典 (1962). 植物病理実験法 (明日山秀文ほか編)、日本植物防疫協会、東京. pp. 714-723.
126. 奈須田和彦・石本昭司・竹内祥晃 (1960). ナシコクハン病およびナシクロホシ病の防除に関する研究. 北陸病虫研報 8:102-106.
127. Nichols, L. P. and Petersen, D. H. (1971). Overwintering of *Fusicladium dendriticum*, the imperfect stage of the apple scab fungus, on twigs of flowering crab apples. Plant Dis. Reprtr. 55: 509.
128. 日本植物防疫協会 (1976-1978). 昭和51-53各年度薬剤耐性に関する委託研究試験成績、東京.
129. 日本植物防疫協会 (1987). ステロール阻害剤に関する試験成績集、東京. pp. 1-159.
130. 西 豊次 (1909). 梨樹黒星病予防としての石灰ボルドウ合剤. 日園雑 21:39-46.
131. 西田 勉 (1969a). リンゴ黒星病に関する調査 VI. 子のう胞子の飛散. 北日本病虫研報 20:50.
132. 西田 勉 (1969b). リンゴ黒星病に関する調査 VII. 越冬枝条病斑の消長. 北日本病虫研報 20:51.
133. 西田 勉・馬場徹代 (1975). リンゴ黒星病薬剤耐性菌の出現について. 日植病報 41:127 (講要).
134. 西本真一・石井英夫 (1989). ナシ黒星病抵抗性一病原菌の主要品種に対する寄生性と感染行動. 日植病報 55:121 (講要).
135. 野口保弘・野田政春 (1985). 福岡県におけるベノミル剤耐性ナシ黒星病菌の発生とその防除. 日植病報 51:61 (講要).
136. 野中寿之 (1981). チャ炭そ病菌のチオファネート・メチル剤耐性につい

- て(Ⅱ)耐性菌の消長. 日植病報 47:110(講要).
137. 農商務省農事試験場(1902). 農事試要報 11:49-50.
138. 農林水産省果樹試験場(1977~1981). 昭和52~56年各年度落葉果樹試験研究打合せ会議、病虫部会資料、一病害一.
139. 農林水産省農蚕園芸局植物防疫課(1984~1987). 昭和59~62年各年度植物防疫年報.
140. 農林水産省農蚕園芸局植物防疫課(1988). 昭和63年度病害虫防除関係資料. pp. 47-48.
141. 農山漁村文化協会(1963). 農業技術体系 果樹編 3、ナシ・西洋ナシ、初版、農文協、東京. p. 1.
142. Novacka, H., Karolczak, W. and Millikan, D. F. (1977). Tolerance of the apple scab fungus to the benzimidazole fungicides in Poland. *Plant Dis. Repr.* 61:346-350.
143. Ohtsuka, N., Sou, K., Amano, T., Ojima, M., Nakazawa, Y. and Yamada, Y. (1988). Decreased sensitivity of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) to ergosterol biosynthesis inhibitors. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 54:629-632.
144. 岡本 弘・上杉康彦(1983). 薬剤耐性菌対策(深見順一ほか編)、薬剤抵抗性—新しい農薬開発と総合防除の指針、初版、ソフトサイエンス社、東京. pp. 297-316.
145. 奥村謙吾(1907). 梨の黒星病に就て. 盛岡農芸会報 1:1-19.
146. O'Leary, A. L. and Sutton, T. B. (1986). Effects of postinfection applications of ergosterol biosynthesis-inhibiting fungicides on lesion formation and pseudothecial development of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 76:119-124.

147. 尾沢 賢・小森三郎 (1984). リンゴ黒星病の第1次発生時の発生様相.
関東病虫研報 31:77-78.
148. Palmiter, D. H. (1934). Variability in monoconidial cultures of
Venturia inaequalis. *Phytopathology* 24:22-47.
149. Pelletier, R. L. and Keitt, G. W. (1954). *Venturia inaequalis*
(Cke.) Wint. VI. Amino acids as sources of nitrogen. *Amer. Jour.*
Bot. 41:362-371.
150. Polach, F. J. (1973). Genetic control of dodine tolerance in
Venturia inaequalis. *Phytopathology* 63:1189-1190.
151. Powell, D. (1960). The inhibitory effects of certain fungicide
formulations to apple scab conidia. *Plant Dis. Repr.* 44:176-178.
152. Preece, T. F. (1964). Continuous testing for scab infection weath-
er using apple rootstocks. *Plant Pathol.* 13:6-9.
153. Ross, R. G. and Newbery, R. J. (1977). Tolerance of *Venturia*
inaequalis to dodine in Nova Scotia. *Can. Plant. Dis. Surv.* 57:57-
60.
154. 貞松光男 (1988). ブドウ枝膨病の病原菌と発生生態. 植物防疫 42:337
-341.
155. 桜井 寿 (1975). 薬剤耐性菌の検定法. 植物防疫 29:206-212.
156. Salmon, E. S. and Ware, W. M. (1931). A new fact in the life-
history of the apple scab fungus. *Gard. Chron.* 82:437-438.
157. 佐藤昭二・後藤正夫ら (1983). 植物病理実験法(佐藤昭二ほか編)、初版、
講談社、東京. pp. 38-41.
158. 沢村健三 (1975). チオファネート及びベノミル耐性リンゴ黒星病菌の発
生と対策. 植物防疫 29:187-188.

159. Sawamura, K., Fujita, T. and Goto, H. (1976). Tolerance of apple scab fungus Venturia inaequalis to thiophanate-methyl and benomyl fungicides in Japan. Bull. Fac. Agric. Hirosaki Univ. 26:1-9.
160. Schroeder, W. T. and Provvidenti, R. (1969). Resistance to benomyl in powdery mildew of cucurbits. Plant Dis. Repr. 53:271-275.
161. Schwabe, W. F. S. (1977). Tolerance of Venturia inaequalis to benzimidazole fungicides and dodine in South Africa. Phytophylactica 9:47-54.
162. Schwabe, W. F. S. (1979). The effectiveness of benomyl and thiophanate-methyl as post-harvest fungicides against the apple scab fungus (Venturia inaequalis) in cases of benzimidazole resistance. Decid. Fruit Grow. 29:474-477.
163. Schwabe, W. F. S. (1980). Wetting and temperature requirements for apple leaf infection by Venturia inaequalis in South Africa. Phyto-phyllactica 12:69-80.
164. Shabi, E. and Ben-Yephet, Y. (1976). Tolerance of Venturia pirina to benzimidazole fungicides. Plant Dis. Repr. 60:451-454.
165. Shabi, E. and Katan, T. (1980). Fitness of Venturia pirina isolates resistant to benzimidazole fungicides. Phytopathology 70:1172-1174.
166. Shabi, E., Katan, T. and Marton, K. (1983). Inheritance of resistance to benomyl in isolates of Venturia inaequalis from Israel. Plant pathology 32:207-211.
167. Shabi, E., Koenraad, H. and Katan, T. (1986). Further studies of the inheritance of benomyl resistance in Venturia pirina isolated

- from pear orchards in Israel. *Plant Pathology* 35:310-313.
168. Shay, J. R. and Hough, L. F. (1952). Evaluation of apple scab resistance in selections of *Malus*. *Amer. Jour. Bot.* 39:288-297.
169. Sheridan, J. E. and Grbavac, N. (1985). Cultivar differences in response to triadimenol seed treatment for control of barley net blotch caused by *Pyrenophora teres*. *Plant Disease* 69:77-80.
170. 清水寛二 (1972). ナシ黒星病に関する研究 一第一次伝染および防除薬剤について一. *富山農試研報* 5:51-57.
171. Siegel, M. R. (1981). Sterol-inhibiting fungicides: Effects on sterol biosynthesis and sites of action. *Plant Disease* 65:986-989.
172. Sivanesan, A. (1977). The taxonomy and pathology of *Venturia* species. Herausgegeben, Granter, A. R. Verlag Kommanditgesellschaft. pp. 94-99.
173. Smith, C. A. and Gilpatrick, J. D. (1980). Geneva leaf-wetness detector. *Plant Disease* 64:286-288.
174. Stanis, V. F. and Jones, A. L. (1985). Reduced sensitivity to sterol-inhibiting fungicides in field isolates of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 75:1098-1101.
175. Staples, R. C. and Stahmann, M. A. (1964). Changes in proteins and several enzymes in susceptible bean leaves after infection by the bean rust fungus. *Phytopathology* 54:760-764 .
176. Staub, T. and Sozzi, D. (1984). Fungicide resistance: A continuing challenge. *Plant Disease* 68:1026-1031.
177. Sutton, T. B., Jones, A. L. and Nelson, L. A. (1976). Factors affecting dispersal conidia of the apple scab fungus. *Phytopathol-*

- ogy 66:1313-1317.
178. Sys, S. and Soenen, A. (1970). Investigations on the infection criteria of scab (*Venturia inaequalis* Cooke Wint.) on apples with respect to the table of Mills and Laplante. *Agricultura* (Heverlee, Belg.) 18:3-8.
 179. Szkolnik, M. and Gilpatrick, J. D. (1969). Apparent resistance of *Venturia inaequalis* to dodine in New York apple orchards. *Plant Dis. Repr.* 53:861-864.
 180. Szkolnik, M. (1981). Physical modes of action of sterol-inhibiting fungicides against apple diseases. *Plant Disease* 65:981-985.
 181. 高橋良直 (1903). 梨の黒星病. 北海道農試報告 1:105-111.
 182. 高村尚武 (1990). 展着剤利用による“幸水”の果面コルク化促進. 東北農業研究 43:213-214.
 183. 高梨和雄・山本省二・北島 博 (1970). ナシ黒星病の第一次伝染源について. 園試報 A 9:17-33.
 184. 高野仁孝・加藤寿郎 (1988). エルゴステロール生合成阻害を作用点とする殺菌剤. 植物防疫 42:408-412.
 185. 竹内妙子 (1987). 薬剤耐性灰色かび病菌の発生生態と防除対策に関する研究. 千葉農試特報 14:1-75.
 186. 田中延次郎 (1890). なしノべっこう病害菌. 植物学雑誌 44:387.
 187. 田中彰一 (1940). 梨黒星病予防に対する新銅剤の価値. 農及園 15:1315-1323.
 188. 田中彰一 (1957). 果樹病害に対するPCP剤の使用法. 農及園 32:349-352.
 189. 田中彰一・山本省二 (1964). 梨黒星病に関する研究 第2報 日本梨黒

星病菌の所属について. 日植病報 29:128-136.

190. Tate, K. G., Ogawa, J. M., Manji, B. T. and Bose, E. (1974). Survey for benomyl tolerant isolates of Monilinia fructicola and M. laxa in stone fruit orchards of California. Plant Dis. Repr. 58:663-665.
191. Taylor, J. (1953). The effect of continual use of certain fungicides on Physalospora obtusa. Phytopathology 43:268-270.
192. Tew, R. P. and Sillibourne, M. J. (1965). Mercury residues in apples from trees receiving organomercurial fungicide in the previous autumn and winter. Ann. appl. Biol. 56:293-296.
193. Thind, T. S., Clerjeau, M. and Olivier, J. M. (1986). First observations on resistance in Venturia inaequalis and Guignardia bidwellii to ergosterol-biosynthesis inhibitors in France. Br. Crop Prot. Conf. Pest and Disease. pp. 491-498.
194. 富樫浩吾 (1950). 黒星病、果樹病害、初版、朝倉書店、東京. pp. 94-98.
195. Tomerlin, J. R. and Jones, A. L. (1983b). Development of apple scab on fruit in the orchard and during cold storage. Plant Disease. 67:147-150.
196. 富川 章・長江春季 (1984). ナシ黒星病菌 (Venturia nashicola) のチオファネートメチル耐性に関する研究 第1報 三重県におけるチオファネートメチル耐性ナシ黒星病菌の分布と耐性菌占有率の経年推移. 三重農技研報 12:21-28.
197. 富川 章 (1986). ナシ黒星病薬剤耐性菌に関する試験 第3報 ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌に対し特異的に有効な薬剤による防除. 関西病

- 虫研報 28:52.
198. 富川 章・長江春季・山本敏夫 (1988). ナシ黒星病菌 (*Venturia nashicola*) のチオファネートメチル耐性に関する研究 第2報 チオファネートメチル耐性菌に起因する黒星病の防除. 三重農技研報 16:33-55.
 199. Tosic, M. and Vasic, V. (1977). Prilog proucavanju primene aparata P. 173/74 u prognozi cadave krastavosti jabuke. Zast. Bilja 140: 167-172.
 200. 内田和馬 (1977). クリ胴枯病に関する研究. 茨城園試特別報告 4:1-65.
 201. 宇田川俊一 (1987). かび(2)一子のう菌類、長谷川武治編著、改訂版微生物の分類と同定<上>、第2版、学会出版センター. p. 110.
 202. 宇田川俊一・椿 啓介・堀江義一ら著 (1978). 菌類図鑑(上)、初版、講談社、東京. pp. 663-665.
 203. 上杉康彦 (1981). 抗菌活性測定法、農薬実験法(深見順一ほか編) 2 殺菌剤編、初版、ソフトサイエンス社、東京. pp. 37-61.
 204. 宇井信生 (1976). ディスク電気泳導、生化学実験講座1(日本生化学会編)、東京化学同人、初版、東京. pp. 222-261.
 205. 梅本清作 (1975). オイル加用ベノミル剤のナシ黒星病防除効果. 関東病虫研報 22:66.
 206. 梅本清作・長井雄治・宮本美智夫・及川 直・井上茂男 (1978). ナシ黒星病の秋季防除. 関東病虫研報 25:66-67.
 207. 梅本清作・長井雄治 (1979). ベノミル耐性ナシ黒星病菌の簡易検定法. 日植病報 45:430-435.
 208. 梅本清作・長井雄治 (1980). ナシ黒星病菌の培地上における完全時代の形成. 日植病報 46:110(講要).

209. 梅本清作 (1982). ベノミル剤に対して感受性を異にするニホンナシ及びセイヨウナシ両黒星病菌の菌体内可溶性タンパク質のディスク電気泳動法による比較. 千葉農試研報 23:31-39.
210. 梅本清作・長井雄治 (1983). ナシの受精に及ぼす数種殺菌剤の影響. 関東病虫研報 30:99-100.
211. 梅本清作・長井雄治 (1985a). ナシ黒星病菌の花芽りん片への感染時期と秋季防除. 千葉農試研報 26:129-135.
212. 梅本清作・笹島敏也・村田明夫 (1985b). ナシ黒星病の萌芽期の薬剤防除. 関東病虫研報 32:131-132.
213. 梅本清作・村田明夫 (1986). 収穫期頃に発生する幸水果実黒星病の薬剤防除. 日植病報 52:98 (講要).
214. 梅本清作・村田明夫 (1987). ナシ黒星病の枝上病斑の伝染源としての意義. 関東病虫研報 34:100-102.
215. 梅本清作・村田明夫 (1988a). ベンゾイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌の発生推移. 千葉農試研報 29:137-147.
216. 梅本清作・村田明夫 (1988b). ナシ黒星病に対する各種薬剤の散布時期別効果. 関東病虫研報 35:99-102.
217. 梅本清作・村田明夫・長井雄治 (1989a). ナシ赤星病菌小生子の飛散距離. 日植病報 55:250-253.
218. 梅本清作・村田明夫・長井雄治 (1989b). ニホンナシ黒星病菌分生子懸濁液の効率的濃縮法. 日植病報 55:309-314.
219. 梅本清作 (1989c). ナシ黒星病菌分生子の落葉上における越冬の可能性. 関東病虫研報 36:103-104.
220. 梅本清作 (1990a). ナシ黒星病菌のりん片における発病の推移、形成分生子数及び発芽率. 関東病虫研報 37:139-140.

221. 梅本清作 (1990b). ニホンナシ黒星病菌 *Venturia nashicola* 子のう胞子および分生子の分散. 日植病報 56:468-473.
222. 梅本清作 (1990c). ニホンナシ黒星病の第一次伝染源の種類と初発生における重要性. 日植病報 56:658-664.
223. 梅本清作 (1991a). ナシの花芽発芽に対する黒星病防除用殺菌剤の影響. 関東病虫研報 38:279-280.
224. 梅本清作 (1991b). ニホンナシ黒星病菌分生子によるえき花芽りん片への感染機構. 日植病報 57:188-195.
225. 梅本清作・笹島敏也 (1991c). ナシ幸水果実の肥大後期に感染する黒星病に対する薬剤効果. 日植病報 57:423 (講要).
226. Umemoto, S. (1991d). Relationship between leaf wetness period, temperature and infection of *Venturia nashicola* to Japanese pear leaves. Ann. Phytopath. Soc. Japan 57:212-218.
227. Umemoto, S. (1991e). Relationship between Japanese pear scab development and nutrients content in leaves on trees given different amounts of nitrogen fertilizer. Ann. Phytopath. Soc. Japan 57:623-628.
228. Umemoto, S. (1992). Seasonal changes in the susceptibility of Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cv. "Kosui" fruit to the Japanese pear scab fungus, *Venturia nashicola*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 58:8-15.
229. van Loon, L. C. and van Kammen, A. (1968). Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. "Samsun" and "Samsun NN"-I. Phytochemistry 7:1727-1735.

230. Vargas, J. M., Jr. (1973). A benzimidazole resistant strain of *Erysiphe graminis*. *Phytopathology* 63:1366-1368.
231. 渡辺博幸 (1989). ナシ黒星病に対するEBI (トリフルミゾール水和剤) の春季の防除適期について. *日植病報* 55:106 (講要).
232. Whiteside, J. O. (1980). Detection of benomyl-tolerant strains of *Elsinoë fawcetti* in Florida citrus groves and nurseries. *Plant Disease* 64:871-872.
233. Wicks, T. (1974). Tolerance of the apple scab fungus to benzimidazole fungicides. *Plant Dis. Repr.* 58:886-889.
234. Williams, C. and Chase, M. W. (1968). *Method in immunology and immunochemistry*. Academic Press, N. Y. and London 12:273-275.
235. Williams, E. B. and Kuc, J. (1969). Resistance in *Malus* to *Venturia inaequalis*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 7:223-246.
236. 矢後正俊 (1938). 昭和12年梨病虫害防除管見. *農及園* 13:142-148.
237. 山田 済・塩見正保 (1955). 新農薬による果樹の病害防除. *農及園* 30:1587-1590.
238. 山田峻一 (1955). 果樹病害の薬剤防除に関する新しい試み. *農及園* 30:291-296.
239. 山口 昭 (1979). 薬剤耐性菌問題の現状 - 果樹 -. *植物防疫* 33:482-489.
240. 山口 昭・石井英夫 (1983). 果樹病害、薬剤抵抗性 - 新しい農薬開発と総合防除の指針 - (深見順一ほか編)、ソフトサイエンス社、東京. pp. 215-232.
241. 山本省二・田中彰一 (1962). 梨黒星病に関する研究 第1報 培養上の諸性質特に孢子形成について. *園試報B* 1:163-171.

242. 山本省二・田中彰一 (1963). ナシ黒星病に関する研究 (第Ⅲ報) 分生子による葉の感染について. 園試報 B 2:181-192.
243. Yasuda, Y., Hashimoto, S., Soeda, Y. and Noguchi, T. (1973). Metabolism of thiophanate-methyl by pathogenic fungi and antifungal activity of its metabolites. Ann. Phytopath. Soc. Japan 39:49-52.
244. Yasuda, Y, Nakata, A. and Noguchi, T. (1973). Effect of thiophanate-methyl on the infection process of some plant pathogenic fungi. Ann. Phytopath. Soc. Japan 39:246-250.
245. 安田 康 (1979). ベンズイミダゾール系殺菌剤、農薬デザインと開発指針一 (山本 出ほか編)、初版、ソフトサイエンス社、東京. pp. 261-275.
246. Yoder, K. S. and Klos, E. J. (1976). Tolerance to dodine in *Venturia inaequalis*. Phytopathology 66:918-923.
247. Zuck, M. G. and MacHardy, W. E. (1981). Recent experience in timing sprays for control of apple scab: Equipment and test results. Plant Disease 65:995-998.

図版 I - 1 ニホンナシ黒星病の病徴



1 春型病斑



2 秋型病斑

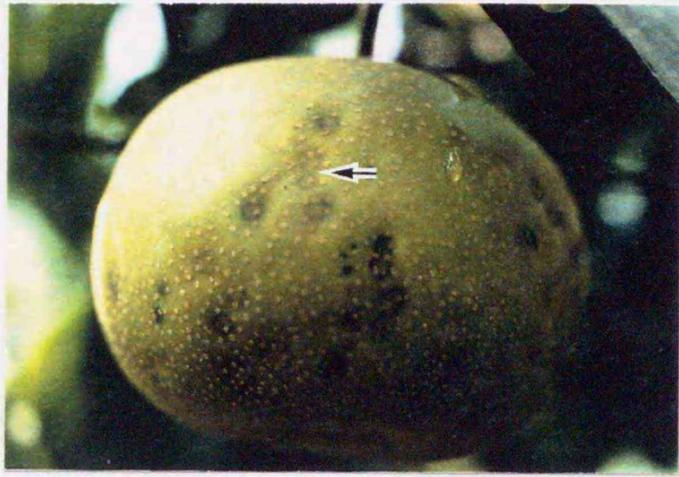


3 幼果の発病

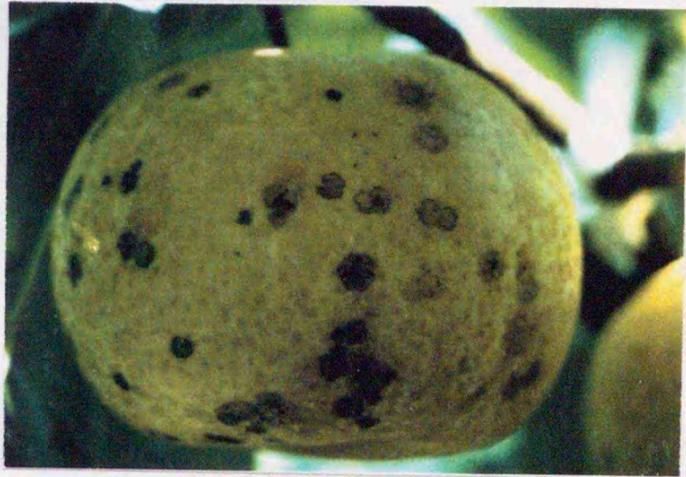


4 黒星病による裂果

図版 I - 2 ニホンナシ黒星病の病徴



1 幸水果実の初期病徴
← 初期病徴



2 幸水果実の典型的な病徴

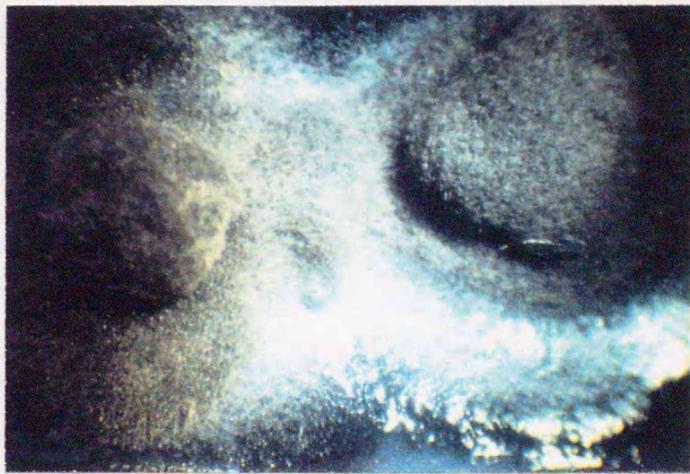


3 花叢基部病斑

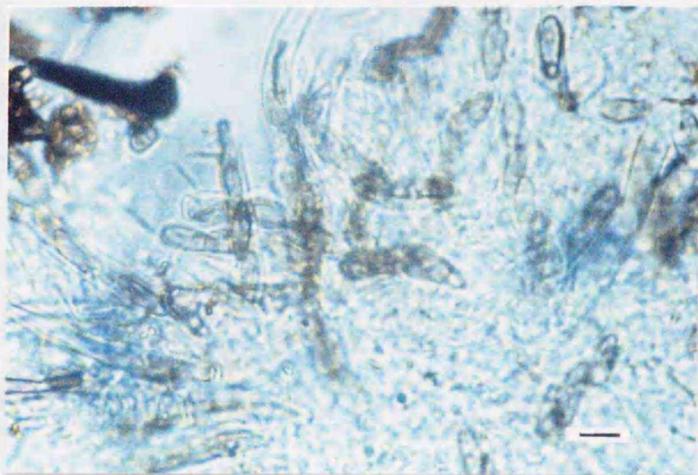


4 1年生枝の病斑

図版 II 培地上における完全世代の形成



1 分離菌の対峙培養

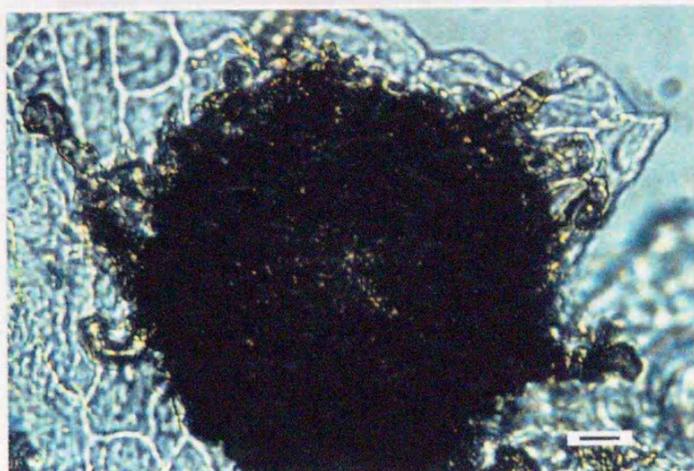


2 子のうおよび子のう胞子 (bar; 10 μ m)

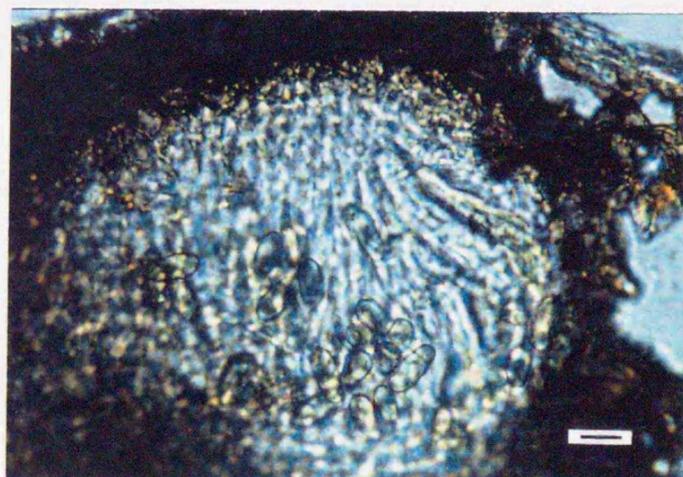
図版 III 落葉上における子のう胞子の形成経過



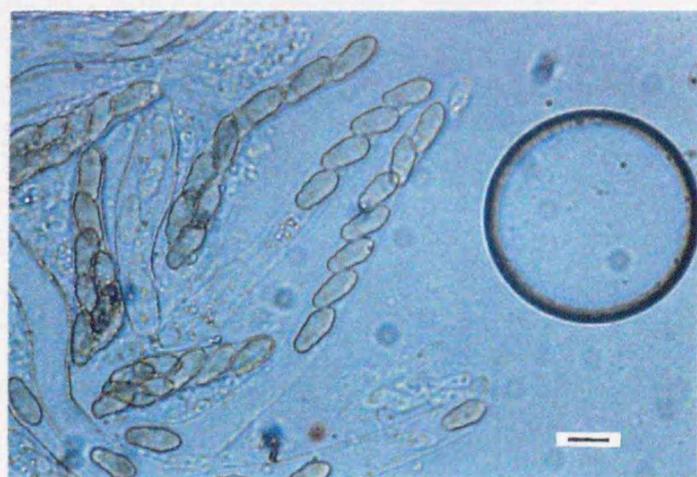
1 落葉上における偽子のう殻 (bar; 250 μm)



2 偽子のう殻 (bar; 10 μm)

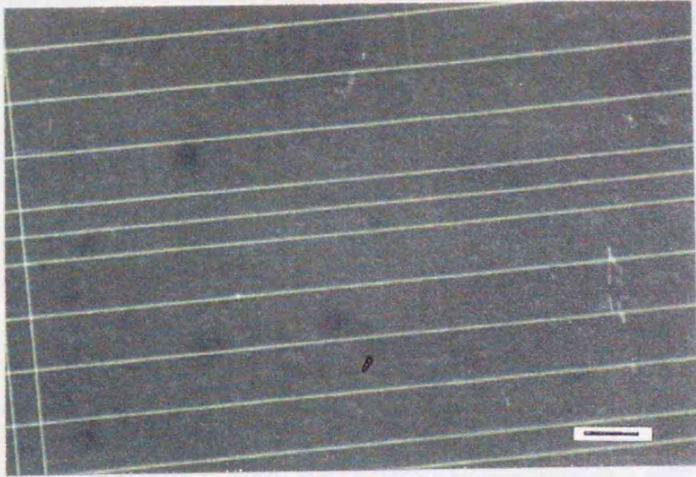


3 偽子のう殻、子のうおよび子のう胞子 (bar; 10 μm)

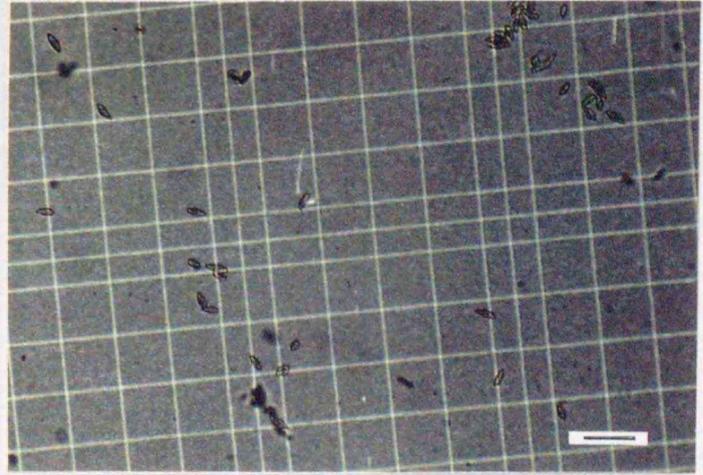


4 子のうおよび子のう胞子 (bar; 10 μm)

図版 IV 分生子懸濁液の濃縮および子う胞子の採取



濃縮前 (bar; 50 μm)



濃縮後 (bar; 50 μm)

1 寒天液濃縮法



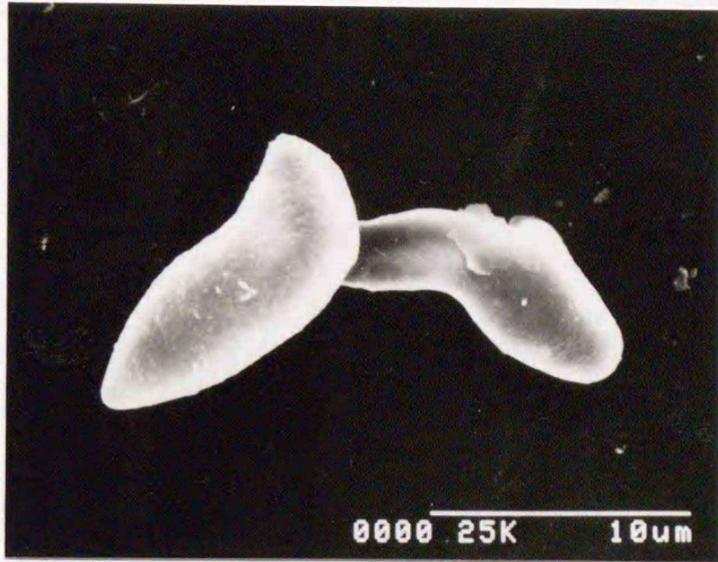
全景



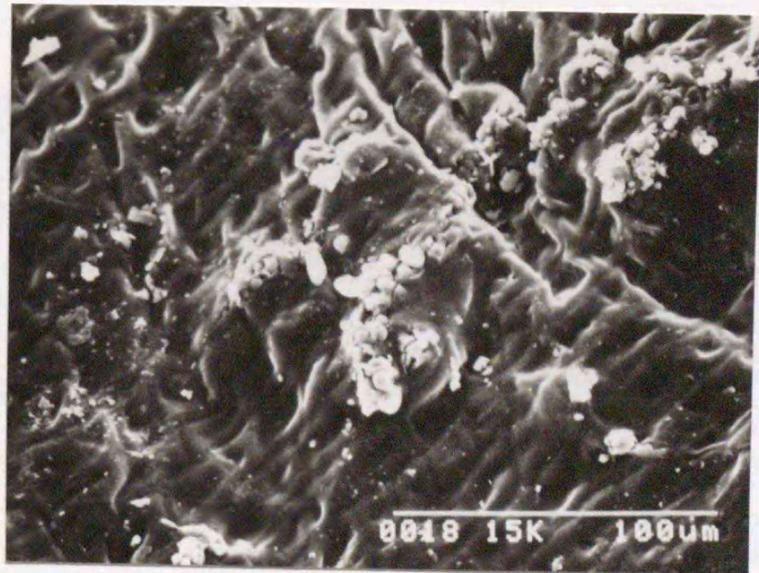
胞子採取部分

2 子う胞子の採取装置

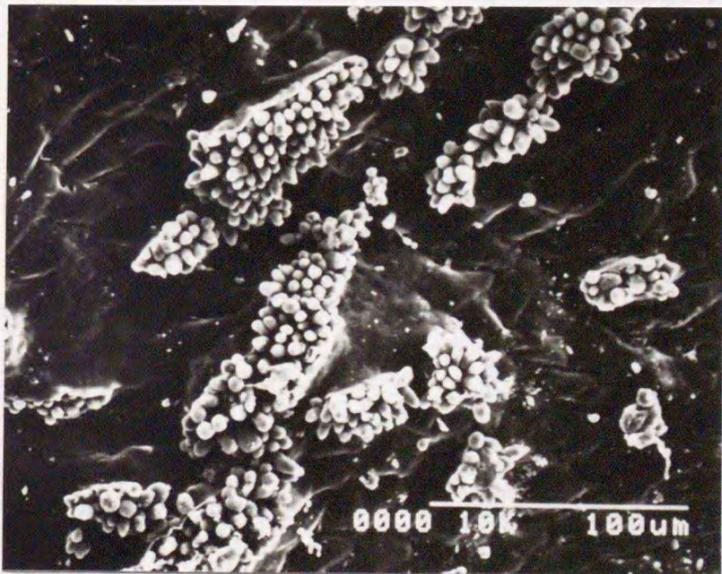
図版 V 腋花芽鱗片における発病経過



1 分生子の発芽と侵入



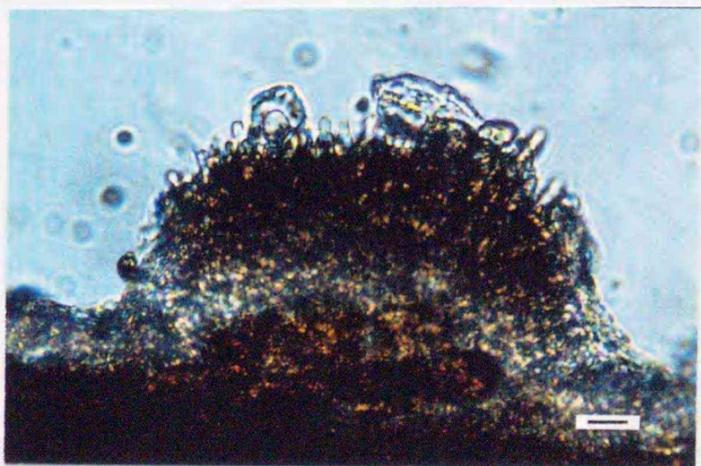
2 分生子梗の突出



3 分生子梗の増加と分生子形成初期



4 分生子の形成

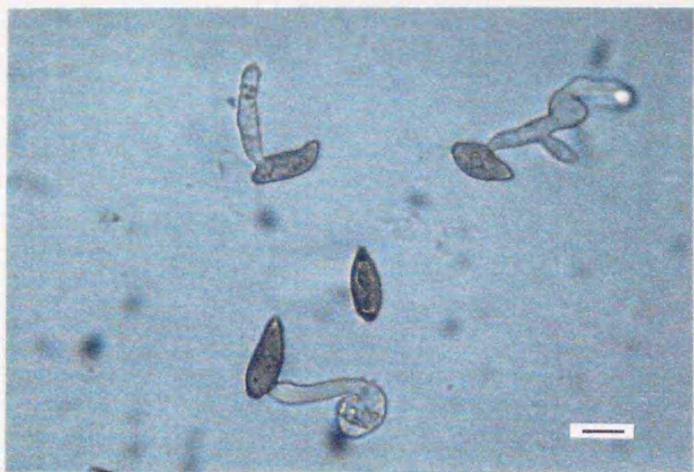


5 いぼ状突起 (bar; 10 μ m)



6 鱗片における病徴

図版 VI 発芽管隔膜法によるベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性の検定



感性菌 (bar; 10 μ m)

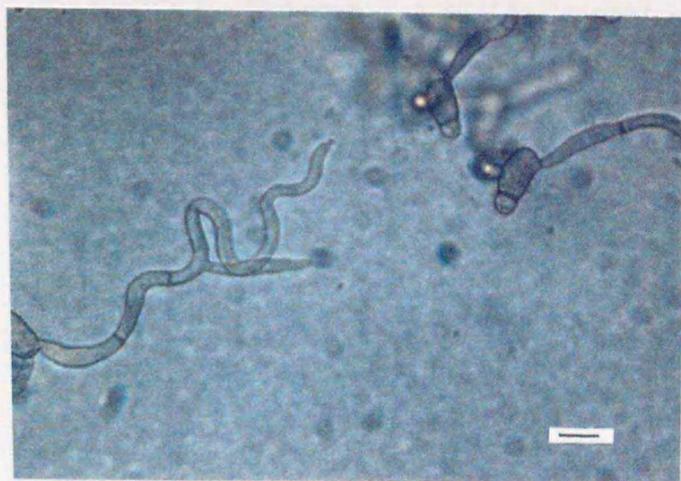


耐性菌 (bar; 10 μ m)

1 分生子の検定 (ベノミル含有培地上での発芽状況)

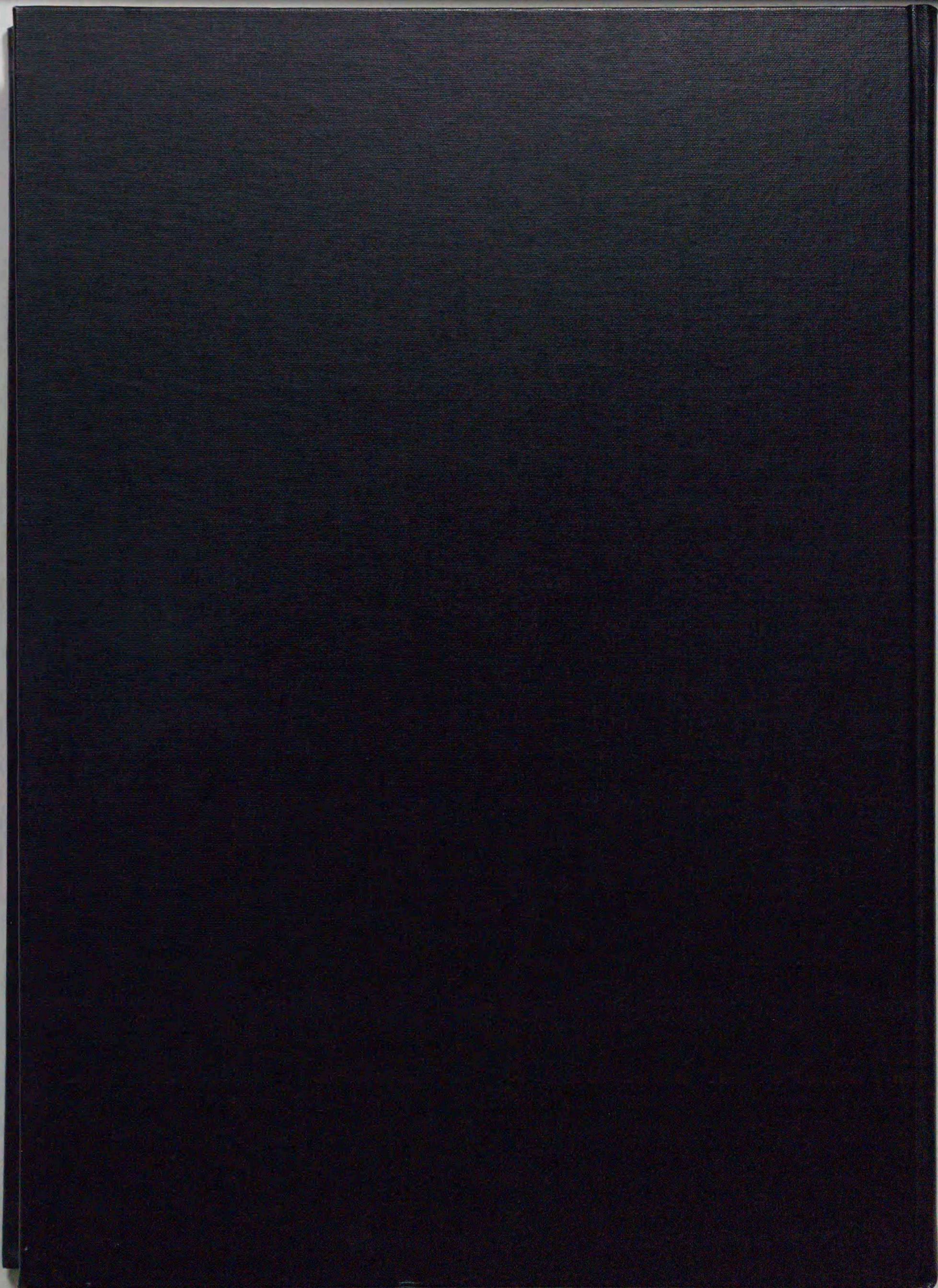


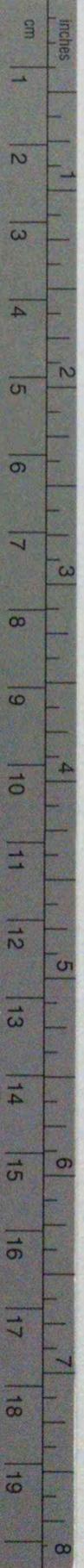
感性菌 (bar; 10 μ m)



耐性菌 (bar; 10 μ m)

2 子のう胞子の検定 (ベノミル含有培地上での発芽状況)





Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue	Cyan	Green	Yellow	Red	Magenta	White	3/Color	Black
[Patch]								

Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

- A** 1 2 3 4 5 6 **M** 8 9 10 11 12 13 14 15 **B** 17 18 19

