

ナシ台木マンシュウマメナシに発生した灰色かび病

梅本 清作・山本 洋子*・塩田あづさ・上遠野富士夫・宇田川雄二

キーワード：ニホンナシ、実生台木、マンシュウマメナシ、灰色かび病、*B. cinerea*

I 緒 言

千葉県原種農場千葉分場（現千葉県農林総合研究センター育種研究所果樹育種研究室）では、県内の生産者にナシやビワ等千葉県の主要果樹の優良苗を配布する目的で苗木の生産を行っている。ナシの苗木生産では、通常ヤマナシやマメナシから種子を採取し、その実生を育てて台木として使用する。現在、一般的に使用されている台木はマンシュウマメナシ (*Pyrus betulaefolia*) である（河瀬、1995）。本分場でもナシの台木としてマンシュウマメナシのいくつかの品種を使用していたが、1997年の春に下葉から上葉に向かって葉が黒変する原因不明の症状が発生し、激しく発生した場合には地上部全体が枯死した。その原因を明らかにする目的で、常法に従い菌の分離、元宿主への接種、菌の再分離等病理学的研究を行った。その結果、本病は *Botrytis cinerea* Persoon : Fries による新病害であることが明らかになったので、ここにその結果を報告する。

II 材料及び方法

1. 菌の分離

直径9cmのペトリ皿に素寒天 (WA) 培地を分注し、平板培地とした。そこへ、枯死葉上に形成された分生子を含む菌糸塊を火炎滅菌した抜髄針（大畑、1995）を用いて画線移植し、25℃暗黒下で1～2日間培養した。そして、発芽した胞子1個を火炎滅菌した抜髄針で寒天ごと切り取り、ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天 (PSA) 平板培地へ移植し、単胞子分離菌とした。

一方、接種して発病した植物組織からの菌の再分離では、組織細片を1%次亜塩素酸ナトリウム液に浸漬することにより滅菌後（大畑、1995）、または表皮部分を無菌的に剥離した後内部の組織細片を滅菌処理は行わない

でWA平板培地上に置床した。そして、25℃暗黒下で培養開始2～4日後に、伸長してきた菌糸先端部を火炎滅菌した抜髄針を用いて単菌糸で切り、それを直径9cmのペトリ皿のPSA平板培地に移植し、単菌糸分離菌とした（梅本、1995）。

これらの菌は、PSA斜面培地に移植し、菌株番号を付けて保存菌株とし、以下の試験に供した。

2. 分離菌の病原性の確認

(1) 「満州マメナシ」に対する接種試験

マンシュウマメナシの発病部から単胞子分離した保存菌を直径9cmのペトリ皿に移植した。そして、25℃暗黒下で11日間培養後、15℃下で15Wのブラックライトブルー (BLB) ランプを照射してさらに6日間培養し、形成された分生子を供試した。分離菌を培養しているペトリ皿に20mLの滅菌水を入れ、分離菌により分生子濃度が $3.5 \times 10^5 \sim 4.5 \times 10^6$ 個/mLとなるように懸濁液を調整した。これらの懸濁液を、クロマトグラフィー用ガラス製噴霧器を用いて本葉が2～3枚展開している「満州マメナシ」幼苗に噴霧接種した。その後、直ちに高湿度状態を保つためにポリエチレン製の袋を被せ、約25℃に保った室内の窓際で管理した。接種14日後に、接種部の腐敗状況及び接種部における気中菌糸の発生状況を調査し、接種部が腐敗している場合を病原性有りと判定した。この接種試験では1区1苗、3反復で行った。

(2) 野菜類に対する接種試験

場内で栽培し、殺菌剤を散布していないキュウリ、トマト、シトウおよびイチゴの各果実を供試した。「満州マメナシ」への接種試験で病原性を示した6菌株（菌株番号：Bot.1-2、Bot.4、Bot.5、Bot.7-1、Bot.7-2、Bot.9-2）を供試し、PSA平板培地上で培養し、その菌叢をキュウリ、トマトおよびシトウは花落ち部に、イチゴへは果実の一部に、付傷または無傷で菌叢面が接するように張りつけて接種した。次に、これらの接種果実を、底に滅菌水で湿らせた濾紙を敷いたシール容器（300×155×135mm）に入れ、約20℃の室内に保った。接種3～4日後から腐敗の有無を観察していたが、接種7日後に接種部が腐敗している場合を病原性有りと判定した。この接種試験では1区1個体、2反復で行った。

受理日2008年9月30日

*元農業総合研究センター育種研究所果樹苗木育種研究室
本論文の一部は、平成10年度日本植物病理学会大会で発表した。

(3) ナシ属各種台木品種への接種試験

「満州マメナシ」に病原性を示した菌株の中からBot.4とBot.7-2菌を代表菌株として供試した。これらをPSA平板培地上に移植し、25℃暗黒下で数日間培養し、伸長してきた菌叢先端部を培地ごと切り、これをイチゴ果実に菌叢面が接するように貼り付けた。イチゴ果実は底面に滅菌水で湿らせた濾紙を敷いた直径25cmのペトリ皿に入れ、約15℃の実験室内で培養し、以下の試験の接種源とした。

分生子を含む菌叢を、ナシ属各種実生台木の老化した子葉に張りつけて接種した。接種後は、20℃に保った恒温恒湿接種装置（小糸工業製：TH-10A型）内に入れ、蛍光灯照明下で、5日間保った。接種5日後に接種部位である子葉が枯死すると共に菌糸の発生が認められる場合を病原性有りとして判定した。それ以降は、ガラス温室内の棚にポリエチレンフィルムでトンネル被覆した簡易な装置を作り、その中に入れて10日間発病の推移を観察した。この場合ポリエチレンフィルムの裾は日中の異常な高温を避けるために開けておいた。試験は、1区1苗、2反復で行った。

供試したナシ属各種台木品種として、マンシュウマメナシ (*P. betulaefolia*) は「満州マメナシ」、「奈良赤花Pb VI」、「平塚Pb I」、「タキイPb V」、「京大根挿Pb II」、マメナシ (*P. calleryana* var. *dimorphophylla*) は「マメナシ6」、「マメナシ10」、「三重マメナシ31」、チョウセンマメナシ (*P. calleryana* var. *fauriei*) は「朝鮮マメナシ」、アイナシ (*P. uyematsuana*) は「アイナシ」、トヨトミナシ (*P. mikawana*) は「豊富ナシ」、アオナシ (*P. hondoensis*) は「アオナシ」の6種12品種を用いた。これらの台木の種子は、水浸後1℃に4週間保って低温処理し、その後滅菌土を入れたプラスチック製のトレイに播種し、千葉県原種農場内のガラス温室内で管理した。約3ヶ月育苗し、本葉が4～5枚展葉した苗を用いた。

3. 分離菌の同定

肉眼で灰色かび病と判断された被害部分、分離しPSA培地で培養した菌（供試菌：Bot.4、Bot.7-2）及び野菜類に接種して発病しその病斑上に形成された分生子を含む菌叢（供試菌：Bot.1-2、Bot.4、Bot.5、Bot.7-1、Bot.7-2、Bot.9-2）を、スライドグラス上にウォーターマウントし、生物顕微鏡下で菌糸の色、分生子柄の分岐状況、菌糸先端部の状態と菌糸幅、分生子の形成状態、分生子の短径長と長径長及び色などを観察した。また、PSA培地上に形成された菌核（供試菌：Bot.4、Bot.7-2）についてもその形状状況、形態、大きさ及び色を観察した。なお、分生子柄からの分生子の離脱を防ぐためには、中性

洗剤（商品名；ママレモン）を約1,000倍となるように水に加え、これを使用してウォーターマウントした。

III 結 果

1. 病徴及び発病経過

1997年に、発芽してから約50日経過したマンシュウマメナシ実生苗を観察したところ、一部の葉が葉縁部から褐変枯死しているものが多く、激しく発生している苗では地上部全体が枯死しているものもあった（写真1）。発病部を詳細に観察したところ、白～淡灰色の空中菌糸が認められるのも稀ではなかった。マンシュウマメナシは、各種品種の種子は混ぜて畝状に栽培されていた。そして、発病株は集中して畝の各所に散在しており、坪状に枯死している場合もしばしば観察された（写真2）。発病初期～中期の個体を詳しく調べたところ、実生の成長に伴い老化したり枯死した子葉から発病しているものが多く、そこを起点に上位葉や新梢に病気が拡大し、激しい場合には地下部を残して枯死し、黒褐色に変色していた（写真3）。本症状は通常5月上旬頃から発生し始め、最盛期は6月下旬で、終期は7月中旬であった。

2. 病原性

(1) 「満州マメナシ」幼苗に対する病原性

9分離菌株を供試し、「満州マメナシ」に対する病原性を試験した。その結果、6菌株に病原性が確認された（第1表、写真4、5）。この場合の病徴は、ほ場で自然発生した元病徴とよく似て、葉身が褐変枯死していた。

第1表 分離菌の「満州マメナシ」に対する病原性及び菌の再分離

分離菌株	病原性	菌の再分離
Bot.1-2	+	+
Bot.4	+	+
Bot.5	+	+
Bot.7-1	+	+
Bot.7-2	+	+
Bot.8-1	-	-
Bot.9-1	-	-
Bot.9-2	+	+
Bot.10-3	-	-
無接種	-	-

(2) キュウリ、トマトなどの野菜果実に対する病原性

「満州マメナシ」に対する病原性が確認された6分離菌株について、キュウリ果実、トマト果実、シントウ果実及びイチゴ果実に対する病原性を検討した。その結果、キュウリ果実への付傷接種では5菌株が病原性を示し、トマト果実への付傷接種では4菌株が病原性を示し、シ

シトウとイチゴ果実への付傷及び無傷接種では供試した6菌株とも病原性を示した(第2表)。

第2表 マンシュウマメナシ分離菌の野菜類に対する病原性

分離菌株	キュウリ		トマト		シトウ		イチゴ	
	付傷	無傷	付傷	無傷	付傷	無傷	付傷	無傷
Bot.1-2	+	-	+	+	+	+	+	+
Bot.4	+	-	+	+	+	+	+	+
Bot.5	+	-	-	-	+	+	+	+
Bot.7-1	-	-	-	-	+	+	+	+
Bot.7-2	+	-	+	-	+	+	+	+
Bot.9-2	+	-	+	-	+	+	+	+
無接種	-	-	-	-	-	-	-	-

(3) ナシ台木品種に対する病原性

供試したナシ台木6種で合計12品種 (*P. betulaefolia* (「満州マメナシ」、「奈良赤花PbVI」、「平塚PbI」、「タキイPbV」、「京大根挿PbII」)、*P. calleryana* var. *dimorphophylla* (「マメナシ6」、「マメナシ10」、「三重マメナシ31」)、*P. calleryana* var. *fauriei* (「朝鮮マメナシ」)、*P. uyematsuana* (「アイナシ」)、*P. mikawana* (「豊富ナシ」)、*P. hondoensis* (「アオナシ」)) に対して、供試した2分離菌株は全て病原性を示した(第3表)。この場合の病徴は、マンシュウマメナシで自然発生した病徴に酷似していた。なお、接種装置に5日間保持した後ガラス温室内のビニルトンネル内に接種実生台木を移動して管理したが、ガラス温室内に移してから発病が激しくなるようなことは認められなかった。

第3表 マンシュウマメナシ分離菌のナシ台木用実生に対する病原性

学名	台木品種名	供試菌	
		Bot.4	Bot.7-2
<i>Pyrus betulaefolia</i>	満州マメナシ	+	+
	奈良赤花PbVI	+	+
	平塚 Pb I	+	+
	タキイPbV	+	+
	京大根挿PbII	+	+
<i>P. calleryana</i> var. <i>dimorphophylla</i>	マメナシ6	+	+
	マメナシ10	+	+
	三重マメナシ31	+	+
<i>P. calleryana</i> var. <i>fauriei</i>	朝鮮マメナシ	+	+
<i>P. uyematsuana</i>	アイナシ	+	+
<i>P. mikawana</i>	豊富ナシ	+	+
<i>P. hondoensis</i>	アオナシ	+	+
無接種 ¹⁾	満州マメナシ	-	-

1) *Pyrus betulaefolia*

2) 調査は2000年1月25日に実施した。

3. 病原菌の再分離

接種し発病した実生ナシ葉の細片をWA平板培地上に置床し、そこから伸長してきた菌糸から菌の再分離を行ったところ、発病葉からは接種に用いたのと同じ菌が再分離された(第1表)。また、キュウリ果実、トマト果実及びイチゴ果実に接種して発病した部位に生じた菌糸を生物顕微鏡下で観察した結果、灰色かび菌特有の菌糸、分生子柄、分生子が観察された(写真6, 7)。

4. 病原菌の同定

「満州マメナシ」に病原性を示した6菌株(菌株番号: Bot.1-2, Bot.4, Bot.5, Bot.7-1, Bot.7-2, Bot.9-2)を供試した。顕微鏡観察した結果、いずれの菌も菌糸は隔壁を有し、基部は濃い茶褐色で、先端部は淡い茶色〜クリーム色を呈していた(第4表)。分生子柄は直立し、円筒形であり、下部は褐色で上部は無色〜淡色であり、幅は13.7~16.5µm、先端付近で樹枝状に小枝を分岐していた。分生子は小枝頂端部に房状で無数に形成され、出芽型分生子で単細胞、無色〜淡黄色、楕円形〜倒卵形、基部に目立たない“へそ”が認められる場合があった。表面には微小ないぼ状構造があり、大きさは8~14(平均10.1)×7~9(平均7.4)µmであった。また、PSA平板培地上で培養したところ、菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)の菌核(宇田川ら、1993a)よりも小さい小型不整形の黒色〜黒褐色の菌核を形成した(写真8)。温度と菌糸生育の関係では、0℃と35℃では生育が認められず、5~30℃で生育し、最適生育温度は20~25℃であった。これらの事実から、分離菌は*B. cinerea*であることが強く示唆された。

第4表 マンシュウマメナシ分離菌と*Botrytis cinerea* との形態の比較

器官	マンシュウマメナシ分離菌 (Bot.: 1-2,4,5,7-1,7-2,9-2)	<i>B. cinerea</i> ¹⁾
菌糸	隔膜を有し、基部は茶色であるが先端部は淡い茶色〜クリーム色	—
分生子柄	分岐し、先端部は多数枝分かれしている 幅13.7〜16.5 μm	分岐し、先端部は多数枝分かれしている 幅16〜30 μm
分生子	単細胞、楕円形〜倒卵形 “へそ”がしばしば認められる 無色〜淡黄色、表面わずかにいぼ状 大きさ8〜14×7〜9 μm	単細胞、楕円形〜倒卵形 “へそ”がしばしば認められる 無色〜淡褐色、表面滑 大きさ8〜14×6〜9 μm
菌核	黒色で平ら	黒色で平ら
病原性	多犯性	多犯性

1) Ellis, M. B.(1993)

IV 考 察

ニホンナシ (*Pyrus serotina* var. *culta*) 灰色かび病の発生は既に報告されているが (日本植物病理学会、2000)、その台木の1種であるマンシュウマメナシ (*P. betulaefolia*) における灰色かび病の発生はこれまで報告がなかった。その理由は、類似の症状は以前から多少発生していたが、台木品種は接ぎ木時期を除き、栽培対象作物として比較的関心が低いために、今まで重視されて来なかったためと考えられる。1997年のマンシュウマメナシにおける本病発生の状況は、激発状態であった。本病菌は多犯性でしかも野菜類などの主要病害である (竹内、1987)。このことから、本病菌の分生子は原種農場一帯にも広く飛散しており、発病に好適な条件が整った場合には発生すると思われる。

分離菌の所属について、菌学的に検討した結果、菌糸の形態、分生子柄の形態と特徴、分生子の形態、大きさと色、菌核の形態と大きさ等はEllis, M. B. (1993) や宇田川ら (1993b) とよく一致した。また、分生子の表面にはいぼ状構造が観察された。*Botrytis* 属菌の分生子の表面構造は分類基準として重要であり、表面がいぼ状構造である菌は *B. cinerea*、*B. fabae*、*B. squamosa* が、そして毛状構造である菌は *B. allii*、*B. byssoidea*、*B. tulipae* がある (堀田、1995)。また、本病菌は0℃と35℃では生育が認められず、5〜30℃で生育し、最適生育温度は20〜25℃であった。これらの結果から、本病菌は *B. cinerea* Persoon : Fries と同定された。なお、ナシに発生する灰色かび病については既に報告があるが (日本植物

病理学会、2000)、マンシュウマメナシの実生に発生する灰色かび病については未報告であったので、本病をマンシュウマメナシ灰色かび病と称することを提案する。

灰色かび病の発生好適条件は、20℃前後の気温が続き、湿度の高い時である (岸、1982)。ナシ実生台木の栽培では、播種時〜5月中旬または6月上旬までは霜害を防ぐ目的で白寒冷紗でトンネル状に被覆して栽培をしている。そのため、年によっては白寒冷紗の被覆下では高湿度状態が続くことが予想される。一方、ナシ台木用実生の子葉は生育が進むと老化・枯死し脱落するが、その時期は5月上旬〜下旬になるようで、この頃の気温は高い日には20℃前後に達する (千葉県農林総合研究センター病害虫防除課、2008)。したがって、飛散している灰色かび病菌の分生子が老化または枯死した子葉に付着すると、灰色かび病の発生好適条件が満たされることになり、発病に至ると思われる。

ナシ台木用実生の栽培では、幅約1.2mの山砂を用いた畝状の播種床に3月上旬頃播種している。その後、直ちに霜の害を防ぐために鉄製パイプで床から中央部の高さが約50cmになるようにトンネルの骨を組み、そこを白寒冷紗で被覆している。白寒冷紗の除去はその年の作業の都合により5月中旬〜6月上旬頃である。このような栽培管理のため、今回顕在化した灰色かび病の多発生が今後においても問題となる可能性がある。また、発芽率が高く実生株が密生状態で生育したり、白寒冷紗で被覆しているために、雨が降った後などには内部が高湿度状態となり、発芽後ある程度生育が進み子葉が老化〜枯死状態になっていると灰色かび病の発生には好適条件となるので、多発生を助長したのであろうと推測した。

V 摘 要

1997年6月、千葉県原種農場（現千葉県農林総合研究センター育種研究所果樹育種研究室）で栽培管理しているナシ台木のマンシュウマメナシの実生に、初め子葉や本葉の一部が黒変し、激しくなると茎を含めて黒変枯死する症状が発生した。その発生原因について検討した結果、発病部からは観察上同じ菌が常に分離され、これら分離菌による接種試験で元宿主の1品種である「満州マメナシ」に対して病原性があり、発病部からは接種に供したのと同じ菌が再分離された。また、台木として使用される可能性のある、*Pyrus* 属6種12品種の実生に対して接種試験を行った結果、供試菌は全て病原性を示した。これらの分離菌の菌糸は隔壁を有していた。分生子柄は直立し、分岐し、円筒形、下部は褐色で上部は淡色～透明、幅13.7～16.5 μm 、先端付近で樹枝状に小枝を分岐していた。分生子は小枝頂端部に房状で無数に形成され、出芽型分生子で単細胞、無色～淡黄色、楕円形～倒卵形、基部に目立たない“へそ”が認められる場合があり、表面はいぼ状であり、その大きさは8～14（平均10.1） \times 7～9（平均7.4） μm であった。菌核は菌核病菌の菌核よりも明らかに小さかった。以上の菌学的特徴から分離菌は *B. cinerea* Persoon : Fries と同定された。マンシュウマメナシ実生における灰色かび病の発生はこれまで未報告であったので、本病をマンシュウマメナシ灰色かび病と称することを提案した。

VI 引用文献

- 千葉県農林総合研究センター病害虫防除課（2008）. 平成20年度病害虫発生予報第2号. p.8. 千葉県農林総合研究センター. 千葉.
- Ellis, M. B. (1993). *Dematiaceous Hyphomycetes*. 1st ed. P.179. C M I. Kew.
- 堀田治邦（1995）. 北海道で発生した *Botrytis cinerea* による花き類の灰色かび病. 北海道立農試集報. 69 : 9-17.
- 河瀬憲次（1995）. 果樹台木の特性と利用. 第1版. (河瀬憲次編著). pp.259-262. 農文協. 東京.
- 岸国平（1982）. 新版 野菜の病害虫—診断と防除—. 第1版. (岸国平編). pp.127-128. 全国農村教育協会. 東京.
- 日本植物病理学会（2000）. 日本植物病名目録. 第1版. (日本植物病理学会編). p.415. 日本植物防疫協会. 東京.
- 大畑貫一（1995）. 作物病原菌研究技法の基礎—分離・培養・接種—. 第1版. (大畑貫一・荒木隆夫・木曾 皓・工藤 殷・高橋廣治編). pp.5-6, 239-240. 日本植物防疫協会. 東京.
- 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.
- 宇田川俊一・椿 啓介・堀江義一・三浦宏一郎・箕浦久兵衛・山崎幹夫・横山竜夫・渡辺昌平（1993a）. 菌類図鑑上、第8版. pp.736-738. 講談社. 東京.
- 宇田川俊一・椿 啓介・堀江義一・三浦宏一郎・箕浦久兵衛・山崎幹夫・横山竜夫・渡辺昌平（1993b）. 菌類図鑑下、第8版. pp.853-855. 講談社. 東京.
- 梅本消作（1995）. ナシ胴枯病菌による幸水果実の心腐れの発生. 千葉農試研報. 36 : 39-45.

First Report of Gray Mold Disease of Japanese Pear Rootstock of Manshumamenashi (*Pyrus betulaefolia*) by *Botrytis cinerea*

Seisaku UMEMOTO, Yoko YAMAMOTO*, Adusa SHIOTA, Fujio KADONO and Yuji UDAGAWA

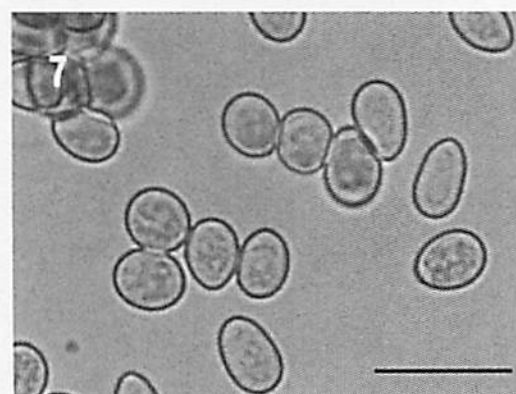
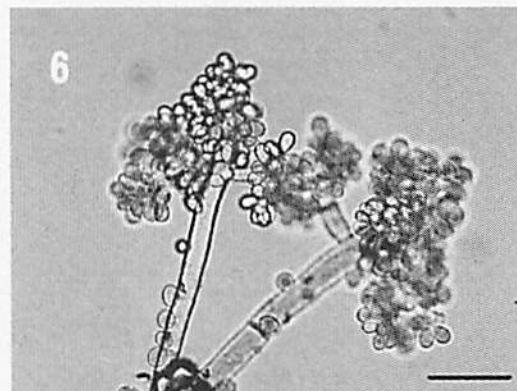
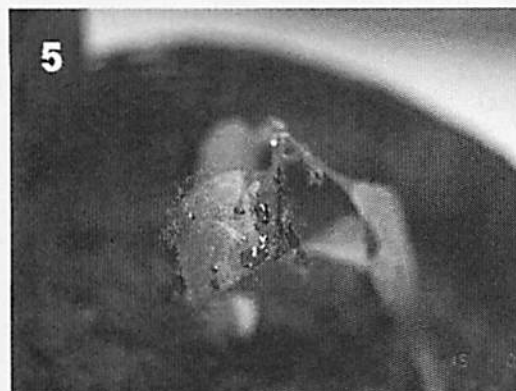
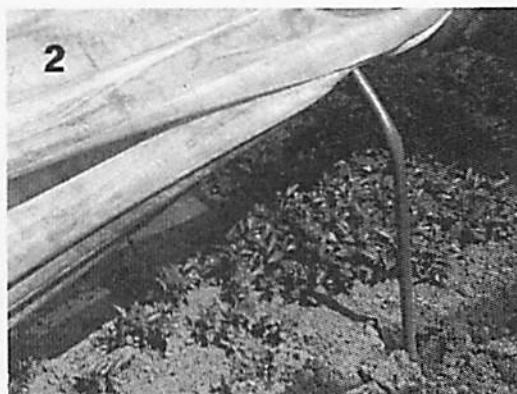
Key words : Japanese pear, seedling, rootstock, Manshumamenashi, gray mold, *Botrytis cinerea*

Summary

In June 1997, the symptoms first turning to brownish black and finally to dead, occurred on cotyledon and part of 1st true leaf including main shoot of Manshumamenashi (*P. betulaefolia*), a root stock of Japanese pear cultivated by Chiba Prefectural Foundation Seed and Stock Farm (now Chiba Prefectural Agriculture and Forestry Research Center, Department of Crop Breeding Institute, Fruit Trees Breeding Laboratory). One fungal species was constantly isolated from symptomatic plant tissue. The isolates showed pathogenicity to seedlings of original host of Manshumamenashi (*P. betulaefolia*), and the fungi as inocula were re-isolated from diseased seedlings. The causal fungus isolated also showed pathogenicity to seedlings of 6 species plants including 12 cultivars which were the candidates for the rootstocks of Japanese pears. The mycelia isolated are broad and septated, and dark brown at the base part and pale cream to brown color at the tip part. Conidiophores are up right, branching, cylindrical, pale brown color, septate, usually with short branches in the apical part. Conidia are produced synchronously by budding, ellipsoidal to obovoid shape, colorless to pale brown, often with a slightly protuberant hilum and scarcely wart shape surface. The sclerotia of the fungus are distinctly smaller than that of *Sclerotinia sclerotiorum*. The fungus associated with the disease was identified as *B. cinerea* Persoon: Fries based on the morphological characteristics. To our knowledge, this is the first report of *B. cinerea* on Manshumamenashi in Japan. We propose the name of gray mold (hairokabi-byo in Japanese) of Manshumamenashi.

*Former Chiba Prefectural Agriculture Research Center, Department of Crop Breeding Institute, Fruit Trees and Ornamental Trees Breeding Laboratory

写 真



1 灰色かび病発生枝、2 灰色かび病発生による坪枯れ、3 灰色かび病による枯死株と対照（右）、
4 接種発病株（左）と対照、5 接種発病葉、6 灰色かび病菌の分生子柄、分生子（スケールバーは40 μ m）、
7 分生子（スケールバーは20 μ m）、8 培地上に形成された菌核