

氏 名(本籍) まつ の みず ひこ
松 野 瑞 彦

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 農 第 321 号

学位授与年月日 昭和 62 年 3 月 12 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

学位論文題目 クワ胴枯病の発病生態に関する研究

論文審査委員 (主 査)

教授 江原 淑 夫 教授 星 川 清 親

助教授 羽 柴 輝 良

論文内容要旨

クワ胴枯病の発病生態に関する研究

クワ胴枯病は子のう菌の一種、*Diaporthe nomurai Hara* の寄生に起因する枝枯性の病害である。本病の発生は新潟県をはじめとする北陸の多雪地帯、長野県、岐阜県の山間地帯、また東北地方においては福島県、山形県および岩手県の主要養蚕県におよんでいる。

福島県における本病の発生は主に会津地方および奥羽山系、阿武隈山系の積雪の多い山間地帯である。発病時期はクワの発芽期の4～5月である。病徴は主に春蚕期の収穫予定の2年枝、またしばしば支幹および主幹にも発現する。枝条は発芽・伸長することなく枯死し、春蚕計画の大巾な変更を余儀なくされ、その被害は甚大である。

本研究は、クワ胴枯病の発病生態を解明するため、本病菌の生理・生態的ならびに化学的・血清学的諸性質、人為的発病法の確立、それに基づく発病条件の解析およびクワの本病に対する抵抗反応などについて検討した。すなわち、発病生態の研究を中心とし、効率的防除法に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

I クワ胴枯病菌の生理・生態的ならびに生化学的性質

1. 本病菌の栄養生理的諸性質

本病菌のジャガイモ煎汁寒天培地上での生育適温は25～27℃であり、5℃および35℃での生育は劣った。生育可能pH域は広くpH4～9.5、最適pHは7附近であった。さらに、各種の天然培地、合成培地上で生育可能であり、窒素源は無機化合物はアンモニア態窒素より硝酸態窒素でよく、アミノ

表1 発芽液の種類とクワ胴枯病菌柄胞子の発芽

試験区	D - 2		D - 8	
	発芽率(%)	発芽管長(μ)	発芽率(%)	発芽管長(μ)
脱塩水	4	11.6 ± 3.3	12	14.6 ± 9.1
ジャガイモ煎汁 グルコース培地	72	20.7 ± 8.0	88	67.8 ± 26.4
リリー・パー ネット培地	33	14.9 ± 5.4	29	16.2 ± 6.8
剣持枝汁	83	141.0 ± 61.4	84	125.1 ± 55.6
改良鼠返枝汁	91	131.7 ± 44.8	83	158.9 ± 45.5

表2 湿度とクワ胴枯病菌柄胞子の発芽

湿度(%)	使用塩類	発芽率(%)
20	CH ₃ COOK	0
32.3	CaCl ₂ ·6H ₂ O	0
52	NaHSO ₄ ·H ₂ O	0
66	NaNO ₂	0
72	CH ₃ COONa·3H ₂ O	0
81	(NH ₄) ₂ SO ₄	0
86	KHSO ₄	0
93	Na ₂ SO ₄ ·10H ₂ O	19
98	CaSO ₄ ·2H ₂ O	53
100	H ₂ O	菌糸

発芽液：改良鼠返皮層部熱水抽出液。

柄胞子濃度：5 × 10⁵個/ml。

発芽方法：スライドグラスに柄胞子液を点滴風乾後各湿度で48時間処理。

以後発芽液を滴下25℃15時間処理。

酸ではアスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギンなどで良好な生育を示した。炭素源の利用については単糖類はグルコース、フラクトース、アラビノース、二糖類として麦芽糖、乳糖、多糖類ではイヌリン、デキストリンおよびマンニットで良好な生育を示し広範囲な炭素源の利用が示唆された。

2. 本病菌柄胞子の発芽生理

本病菌柄胞子の発芽は殺菌脱塩水中では、きわめて不良であり、クワ枝煎汁液、各種糖類溶液中で良好な発芽を示し、発芽に際しては栄養物質（発芽促進物質）が必要なことが推察された（表1）。また、発芽最適温度は25~27℃附近にあり、湿度条件はきわめて重要で相対湿度（RH）93%で発芽率19%、98%（RH）でも53%であり、100%（RH）ではじめて良好な発芽を示した（表2）。

3. 本病発病枝条における柄胞子および子のう胞子形成と飛散

春期に伐採される発病枝条に形成される胞子の生態を明らかにするため、春期の発病枝条における柄胞子および子のう胞子の形成、飛散の時期的推移を調査した。その結果、柄胞子（A胞子、B胞子）は、5月上旬から形成され、6月下旬に最大に達する。子のう胞子は7月中旬より形成されはじめ、9月中旬に形成量は最大に達し、その後漸減する（図1、図2）。また、柄胞子の飛散は、5月上旬から9月中・下旬まで断続的に続き、6月下旬から7月上旬に最大に達した。子のう胞子の飛散は8月上旬からみられた。両胞子とも飛散は降雨の日に限られた。

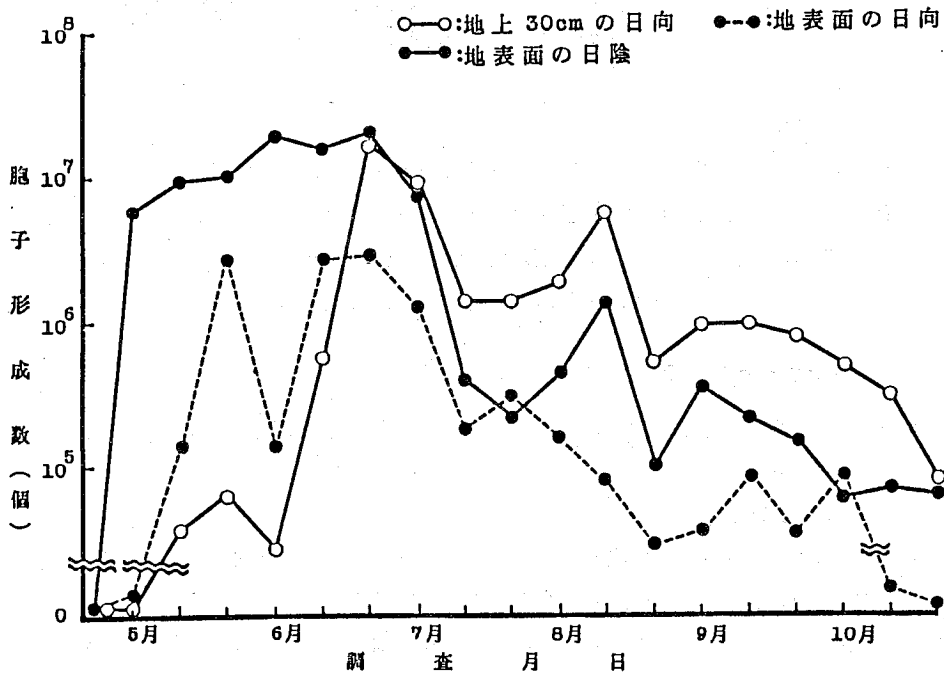


図1 伐採された発病枝条におけるA-胞子の形成量の時期的推移

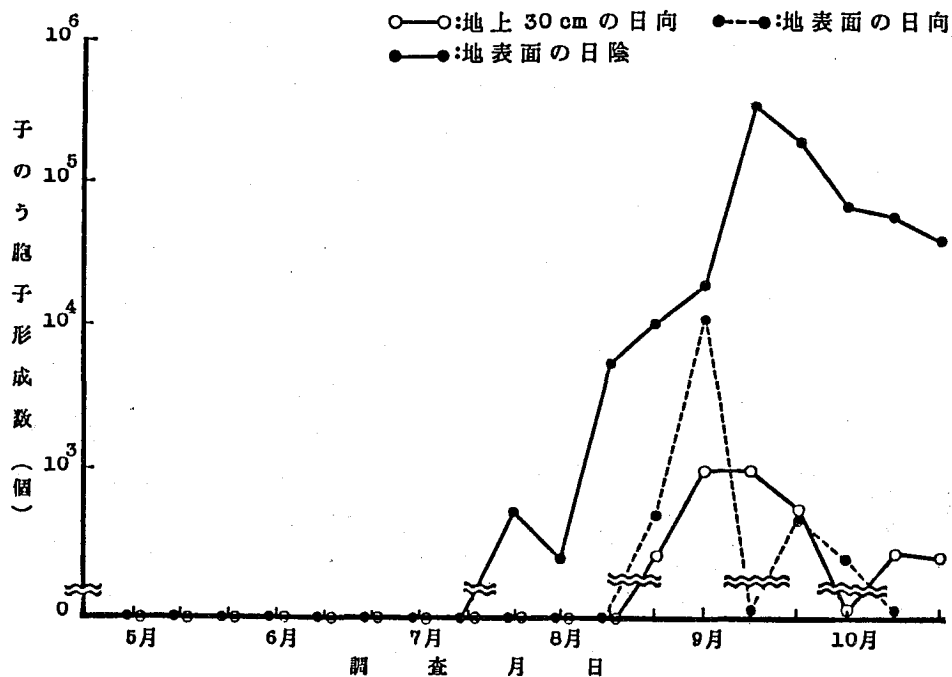


図2 伐採された発病枝条における子う胞子の形成量の時期的推移

4. 本病菌の生化学的性状

クワ枝枯性病害で重要な本病菌と芽枯病々原菌である *Fusarium* 属菌3種の菌体可溶性タンパク質の電気泳動のおよび血清学的類別を試みた。ポリアクリルゲルによる電気泳動像を比較すると両属菌間では類似性は認め難い。また、両属菌の抗血清を作製し、寒天内免疫拡散法によって検討し、その知見を基にクワ枝条内における両属菌の蛍光抗体法による検出法を確立した。

II クワ胴枯病の人為的発病法ならびに発病生態

本病の発病には積雪が必要条件となる。しかし、本病の発病機構の解明には積雪に関係ない人為的発病法の確立が望まれる。

1. 本病の人為的発病法

本病菌柄胞子を夏～秋期に圃場栽植および鉢植クワ枝条に1～2回丁寧に塗布接種し、その後接種部位に脱脂綿を巻き、その一端から吸水させて7～10日間保湿する。あるいは、春期の発病枝条をクワ株元に敷きつめれば、枝条を保湿することなく本病菌を皮目に侵入・定着させ得る。次に本病多発地の降雪時期を考慮し、12月上旬からこれらの接種クワをおが屑、あるいはモミガラで埋没すれば、埋没後72～97日で病斑が出現した(表3)。この場合、クワ株の埋没は発病に不可欠であり、埋没しない場合は病斑は出現しなかった(表4)。

また、埋没期間は長期間になるほど、同期間では12月、1月の初期埋没が病斑形成を促進した(図3)。

表3 埋没期間とクワ胴枯病々斑数の推移 (ほ場栽培クワ)

調査月日	埋没日数(日)	残葉区病斑数(個)	摘葉区病斑数(個)
1979年12月10日	6	0	0
28日	28	0	0
1980年1月16日	43	0	0
29日	56	0	0
2月14日	72	10	42
25日	83	14	62
3月10日	97	17	28
25日	112	25	57
4月10日	128	95	141
22日	140	234	全面

接種条件:改良鼠返5年生春切株(当場下河原南1号桑園)
 1979年8月に2回クワ胴枯病菌柄孢子液を盆布接種
 接種部位に脱脂綿を巻き5日間吸水保湿。
 摘葉区は9月中旬に処理, 12月4日におが屑埋没。

表4 埋没の有無とクワ胴枯病々斑の形成

処 理	枝条数(株)	病斑数(個)	
ドラム籠処理	太条	30	4204
	細条	14	557
ドラム籠無処理	太条	28	0
	細条	8	0

試験場所:当場南1号桑園。
 クワ品種:改良鼠返5年生春切株
 試験方法:1980年6月~12月発病枝条を株元に敷きつめ, 5株は12月~翌年3月までドラム籠もみがら埋没, 5株は無処理。
 調査:1981年3月上旬。

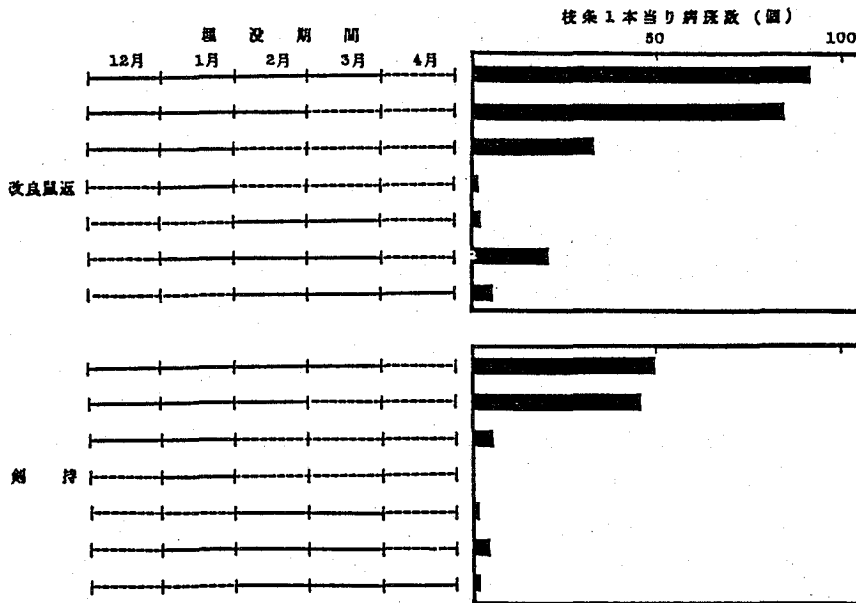


図3 埋没期間とクワ胴枯病々斑の形成差異

——|埋没処理 |---|無処理

供試クワ:改良鼠返, 剣持8年生春切株。
 接種方法:クワ株元に5~12月まで発病枝条を敷きつめる。
 埋没処理:1982年12月上旬からドラム籠おが屑埋没。
 調査月日:1983年5月上旬。

2. 発病生態

(1) 初期病斑の形成時期

本病多発桑園における初期病斑の出現時期は、1月下旬から2月上旬であり時期の経過とともに増加し、3月中・下旬頃に枝条全面に拡大、融合した。また、人為的発病法による初期病斑の出現時期および推移も同様であった(図4)。

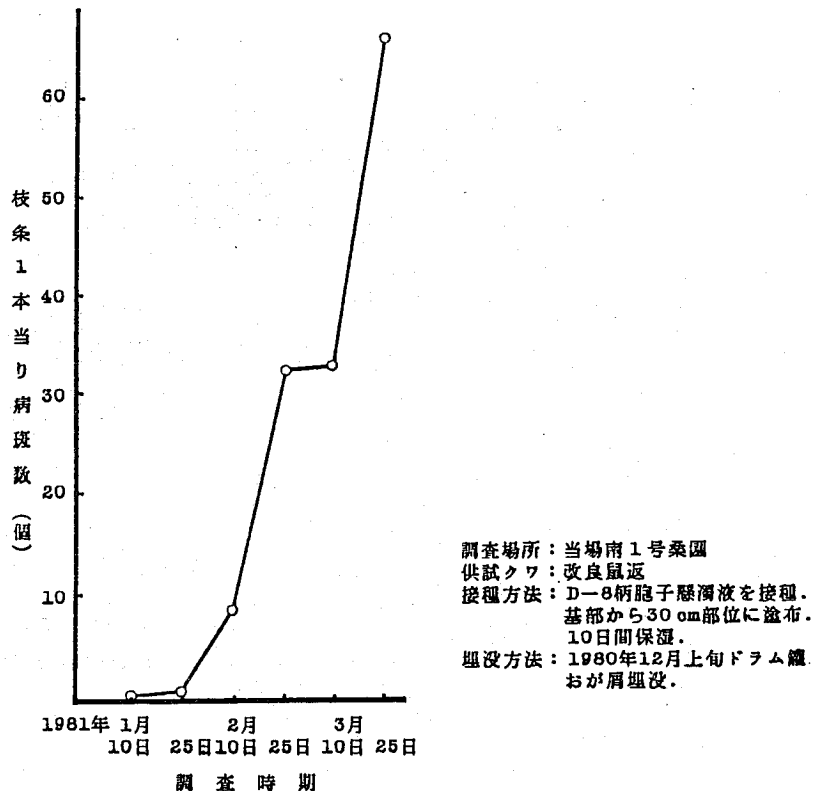


図4 接種クワ枝条における病斑の出現推移

(2) 病斑の出現部位、枝条内分布

本病々斑の出現部位は皮目が大部分であった。また、病斑の枝条内分布は基部に多かった。

(3) 伝染源との接触時期と発病

春期の発病枝条に形成され、飛散する本病菌孢子がいつの時期にクワ皮目・傷い部に侵入・定着したものが翌春の病斑形成に最も関与するのを知るため、5～12月まで1カ月間、あるいは6～9月まで10日間ずつ鉢植クワを伝染源と接触させ、人為的発病法によって検討した。その結果、6～9月の3カ月間、特に7月に伝染源と接触させたクワに病斑形成が最も多かった(表5、図5)。この場合、柄孢子、子のう孢子のいずれが主要に関与するのかわかりませんが、図1、図2から両孢子の形成、飛散量の時期的推移から、柄孢子が主に関与するものと推察された。

表5 鉢植クワの発病枝条との
時期別接触と発病 (1980~1981年)

接種期間 (月日~月日)	枝条数 (株)	発病枝条数 (株)	病斑個数 (個)	1枝条当り 病斑数(個)
5.20~6.20	24	6	8	0.33
6.20~7.20	23	23	286	12.43
7.20~8.20	17	17	462	27.18
8.20~9.20	16	15	298	18.63
9.20~10.20	22	12	39	1.77
10.20~11.20	20	1	1	0.05
11.20~12.20	22	0	0	0.00

供試クワ：改良鼠返3年生苗鉢植，各区10鉢供試。
 接種方法：発病枝条を敷きつめた所に，所定期間
 鉢植クワを放置。
 埋没処理：1980年12月上旬，鉢植クワをドラム罐
 に入れ，おが屑で埋没。
 調査月日：1981年5月10日。

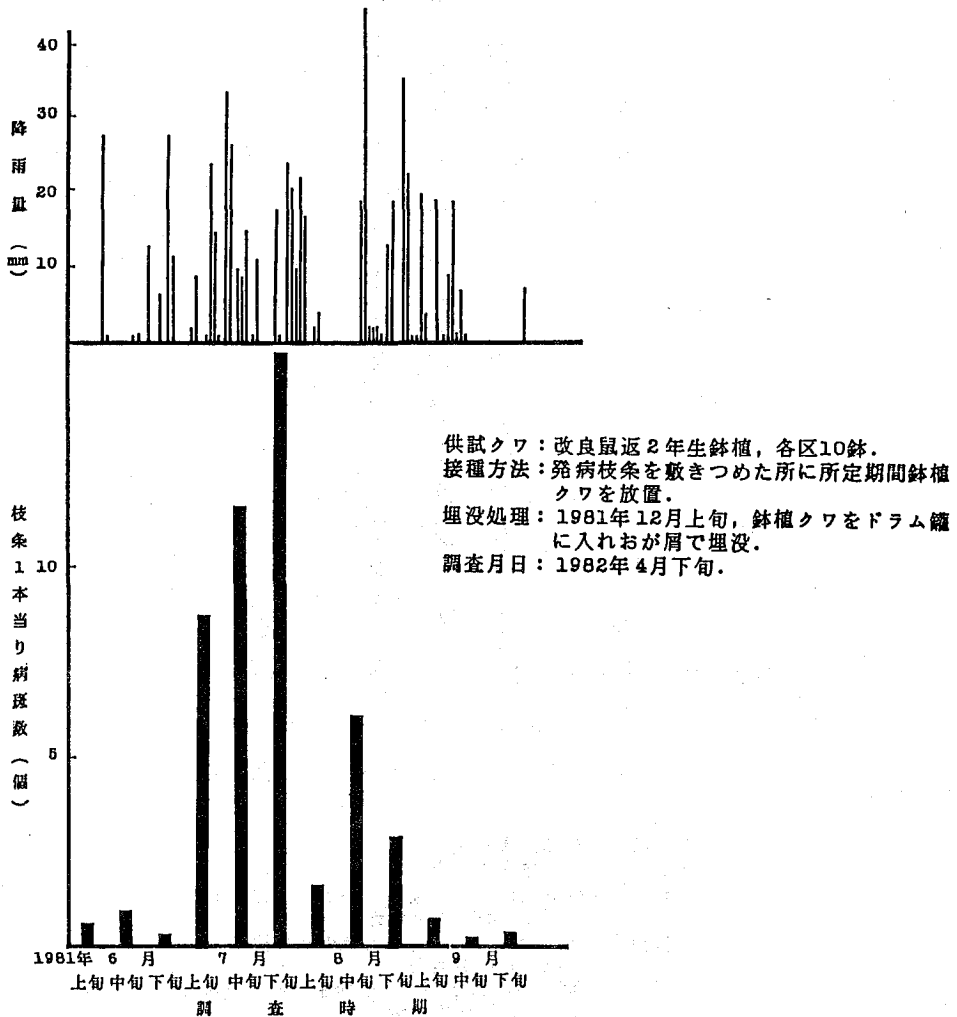


図5 伝染源との接触時期と病斑形成

(4) 伝染源からの距離と発病

圃場栽植クワにおける各方位別の枝条当りの病斑形成数をみると、伝染源を敷きつめた0 m地点が最も多く、次いで1 m地点、3 m地点であり、5 m地点では急減した。すなわち、本病菌の感染有効距離は比較的短距離と推定された(図6)。

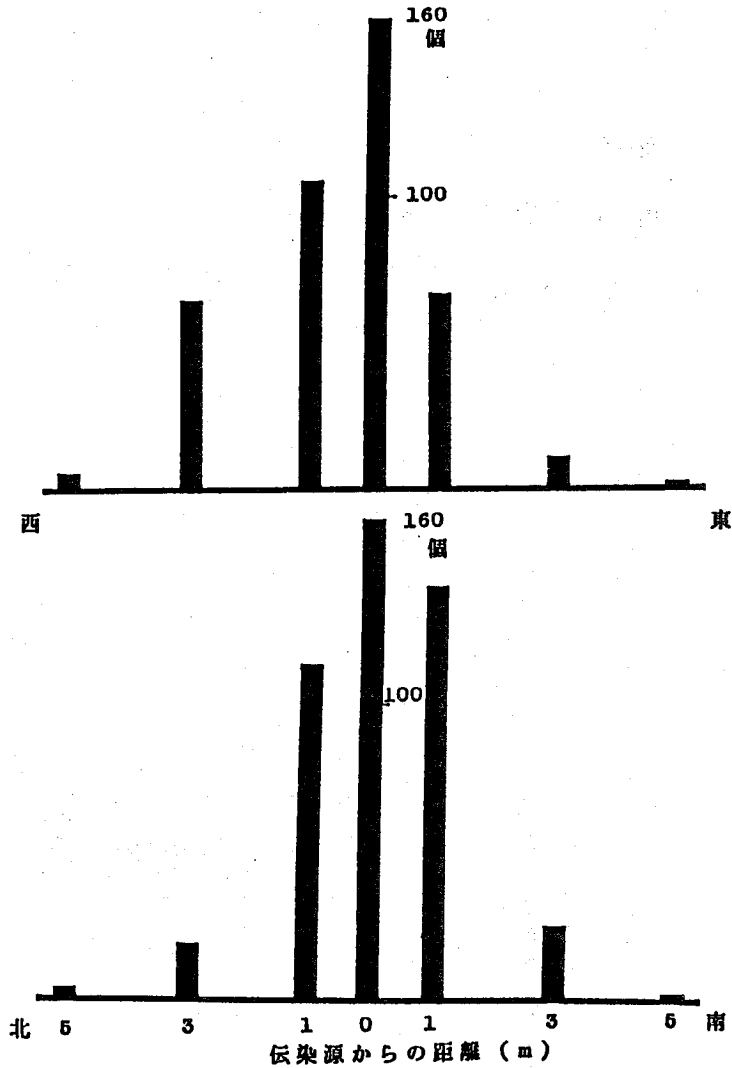


図6 伝染源からの距離と病斑形成

調査場所：当场病理桑園
 供試クワ：改良鼠返6年生
 接種方法：発病枝条を0 m地点に縦1 m、横0.5 m、厚さ15 cmに敷きつめる。
 埋没処理：1980年12月上旬に所定のクワ株をドラム罐・おが屑埋没。
 調査月日：1981年4月上旬に病斑数を調査。枝条1本当たり病斑数で表示。

(5) 接種クワ株の時期別消毒と発病

皮目内に潜在する本病菌が皮層部生活組織へ侵入する時期を明らかにした。すなわち、接種クワ株を11月～翌年2月まで殺菌剤で接種株を消毒し、その後埋没を続け、春期に枝条に形成される病斑数から推定した。その結果、11月上旬～12月下旬消毒区までの病斑数はごく少なく、1月上旬消毒区から増加した。消毒時期が遅れるに従って急激に増加する。このことから、本病菌が皮目から木栓形成層を貫通し、皮層部生活組織へ侵入する時期は1月上旬以降と考えられた(図7)。

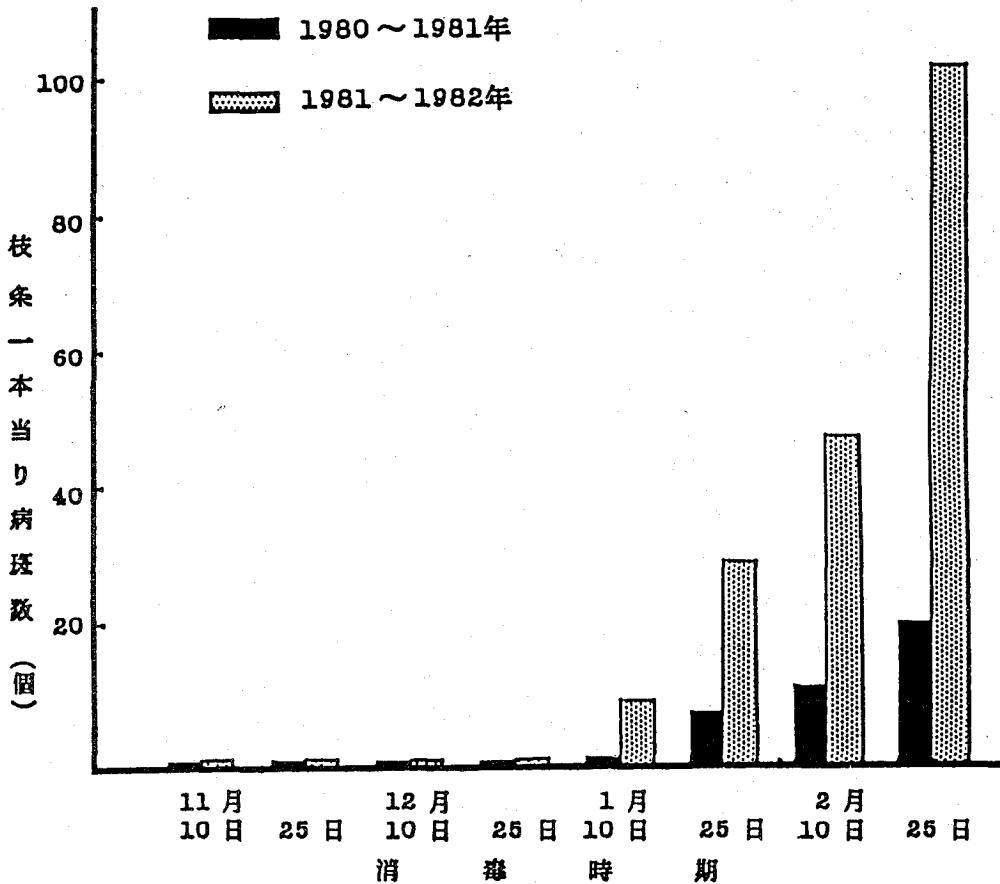


図7 時期別消毒と発病

調査場所：当场桑園。
クワ品種：改良鳳返6年生および7年生。
接種方法：1980～1981年はD-8柄胞子懸濁液を枝条基部30cm部位に塗布接種。
1981～1982年は発病枝条を5～12月まで株元に敷きつめる。
埋没処理：両年とも12月上旬にドラム罐・おが屑で埋没。
消毒方法：農薬用ホルマリン10倍、アピトン50水と和剤100倍の混合液で接種部位を消毒。
調査月日：両年とも5月上旬に病斑数を調査。

III クワ品種の本病に対する抵抗力

1. 本病々斑の形成および拡大における品種間差異

クワ品種の本病に対する感受性を、人為的発病法で比較すると、おむね自然発病の結果と一致した。すなわち、カラヤマグ系の改良鼠返、改良一ノ瀬、ログワ系の魯桑は極めて感受性であり、ヤマグワ系の剣持、島ノ内は抵抗力が中位であった。抵抗力品種としてはカラヤマグワ系の福島大葉、ヤマグワ系の赤木、市平、新桑2号および根小屋高助であった。また、新品種のしんいちのせ、あつはみどりは感受性、あさゆきは抵抗力中位、ふかゆきおよびゆきしのぎは抵抗力に区分された。

2. クワ各品種の組織抽出液における本病菌胞子の発芽と菌糸伸長

本病にきわめて感受性品種の改良鼠返、抵抗力の新桑2号を用いて、その皮目、皮層部切片上および皮目、皮層部抽出液中での本病菌柄胞子の動向を観察した。その結果、新桑2号の皮層部切片、皮目および皮層部抽出液においては、その発芽・伸長は阻害され、先在性抗菌成分の存在が示唆された。

3. クワ枝条の化学的成分の品種間差異

改良鼠返および新桑2号とも枝条の罹病に伴って、フェノール性成分は増加するが、量、質および抗菌活性様相も差異は認められなかった。また、主要なファイトアレキシンであるモラシンAおよびB含量においても両品種とも差異はなく、本病の抵抗力発現には直接関与してないものと推察された。さらに、罹病に伴って、両品種とも皮層部可溶性タンパク質が変動することが電気泳動像および血清学的知見から裏づけられた。

IV クワ胴枯病の効率的薬剤防除法

本病の薬剤防除体系はホルムアルデヒド剤を主として、PCP・銅水和剤を併用している。しかしながら、両薬剤の防除効果は不安定で、年度により異なるので、より効果的な使用法の検討が要望されている。そこで、抗菌スペクトルの広いチオファネートメチル剤に着目し、クワ裏うどんこ病防除も兼ねて、夏～秋期に皮目に侵入した本病菌を殺菌し、さらに現行の防除薬剤を散布し、防除効果の向上を試みた。その結果、福島県で最も多積地帯の改良鼠返でも現行防除薬剤の単独散布に比較し、チオファネートメチル剤の夏期散布との併用は効果が高く、特にホルムアルデヒド剤、PCP・銅水和剤混合液との併用散布の実用化が十分期待される(表6)。

V む す び

クワ胴枯病の効率的防除法の確立のために、本病菌の生理・生態的諸性質、発病生態およびクワ品種の抵抗力等について、系統的に明らかにした。すなわち、伝染源として重要な役割をはたす春期の発病枝条における本病菌の形成・飛散の時期的推移、人為的発病法、また、各種の発病生態実験から梅雨期から秋期に枝条皮目に侵入・定着した胞子が病斑形成に最も関与し、皮目に長期間潜在した本病菌は1月上・中旬頃より皮層部生活組織に侵入することが判明した。

クワ枝枯性病原菌で重要な本病菌と、クワ芽枯病菌3種について、菌体可溶性タンパク質および2、3のイソ酵素の電気泳動的性質を明らかにするとともに、免疫化学的な類似性を指摘し、クワ枝条内の両属菌の蛍光抗体染色法を確立した。

表6 薬剤による防除効果

薬 剤 名	調査 枝条数	発病 枝条数	発病 枝条率	発病程度				被害率	
				0	1	5	10		
ホルマリン剤	———	80 ^(株)	80 ^(株)	100 ^(%)	0 ^(株)	46 ^(株)	17 ^(株)	17 ^(株)	38 ^(%)
		80	75	94	5	38	30	7	32
同 上	チオファネー トメチル剤	100	68	68	32	64	4	0	8
		72	71	99	1	47	24	0	22
PCP剤水和剤	———	110	110	100	0	37	28	45	57
		72	68	94	4	43	21	4	26
同 上	チオファネー トメチル剤	108	92	85	16	64	14	24	34
		77	46	60	21	36	10	0	12
ホルマリン剤 PCP剤水和剤	———	108	89	84	17	63	13	13	24
		72	43	60	29	29	11	3	16
同 上	チオファネー トメチル剤	103	56	54	47	51	3	2	8
		71	20	28	51	18	2	0	4
細 散 布	———	101	101	100	0	0	6	95	97
		70	70	100	0	0	3	67	96

試験場所：南会津郡只見町只見稚蚕共同桑園。

クワ品種：改良鼠返。

各試験区とも上段は1978年～1979年，下段は1979年～1980年の成績。

被害率の算出法：被害率 = $\frac{\sum (\text{枝条数} \times \text{発病程度})}{\text{全枝条数} \times \text{発病程度最大の重み}} \times 100$

発病程度： 0・・・全く病徴の認められない枝条

1・・・病徴があるが収量には影響のない枝条

5・・・1と10の中間の枝条

10・・・発病のため70～80%以上減収となる枝条

本病防除体系の確立は、耕種的、化学的防除法による総合防除体系の確立にまたねばならないが、本研究で明らかにされた知見から現時点においては、(1)抵抗性品種の積極的な植栽、(2)伝染源の密度低下を考慮した圃場衛生に留意した桑園管理の励行、(3)現行の防除薬剤であるホルムアルデヒド剤、PCP・銅水和剤にチオファネートメチル剤の夏期散布を組合せた薬剤防除体系は非常に有効と結論された。

審査結果の要旨

クワの重要病害である胴枯病は子のう菌の一種 *Diaporthe nomurai* Hara の寄生に起因する枝枯性病害である。本病は近年山間地帯に開発された桑園に多発し、その発生生態の解明と適切な防除法の確立が急務となった。本研究は本病病原菌の生理的、生態的諸性質、発病生態、クワ品種の本病に対する抵抗反応等を解明すると共に薬剤防除について検討した。

本病菌は各菌株とも生育適温25~27℃、最適pHは7付近にあり、各種天然倍地、合成倍地で良好な生育を示し、多くの窒素源、炭素源を利用し得る栄養生理特性を示した。また柄胞子の発芽適温は25~27℃、最適pHは6.5付近で湿度(相対, RH)は極めて重要で、100%(RH)でのみ良好に発芽を示した。

伝染源となる春期の伐採発病枝条における孢子形成は5~10月まで続き、柄胞子は6月下旬に、子のう孢子は9月中旬に最大に達した。又、柄胞子飛散量は6月下旬~6月上旬に最大となり、子のう孢子は8月上旬から認められ、両孢子とも飛散は降雨の日に限られた。

本病発病生態の解明のため積雪条件実験モデルを考察した。この結果、春期の発病に關与する孢子は前年の6~9月にクワ皮目に侵入定着し、年内は皮目内に潜伏し、1月上旬以降に皮層部に侵入する。本菌の感染有効飛散距離は比較的小さく5m程度であることが判明した。

本病菌と芽枯病菌(*Fusarium*属)の菌体成分は血清学的に類別され、蛍光抗体法により本菌のみを特異的に同定出来た。本法により、抵抗性品種新桑2号では感受性品種改良風返に比らべ皮目、皮層部での本菌の伸長が著しく抑制されることが判明した。また前者組織中に先在性抗菌物質の存在が示唆された。

本実験で発病生態が明らかとなり、本病の防除には夏~秋期に皮目侵入した本菌を殺菌することが最も効果的であること、薬剤としてはホルムアルデヒド剤、PCP・銅水和剤混合液との併用散布が有効であると判断した。

以上のように本論文はクワ胴枯病の発病生態を解明し、本病の防除体系の確立に大きく貢献した。よって審査員一同は著者に農学博士の学位を授与するに値すると判定した。