株枯病菌を接種したイチジク苗木における病徴の進展過程 (1) 木部の通水阻害と萎凋症状の関係

森田 剛成^{1*}・軸丸 祥大¹・黒田 慶子²

ABSTRACT

MORITA, T.^{1*}, JIKUMARU, S.¹ and KURODA, K.² (2016). Disease development in *Ficus carica* plants after inoculation with *Ceratocystis ficicola*. (1) Relationship between xylem dysfunction and wilt symptoms. Jpn. J. Phytopathol. 82: 301–309.

Ceratocystis ficicola causes serious wilt disease in many fig orchards in Japan. To elucidate the process of symptom development in the disease, we macroscopically examined external symptoms and assessed xylem sap flow in fig plants inoculated with *C. ficicola*. External symptoms were classified as follows: (1) no external symptoms (NS), (2) leaf wilt (LW), and (3) dead (D). Perithecial development of *C. ficicola* on stem segments was observed within a relatively narrow range, 5 cm above and below the inoculation site of each NS plants. In plants with LW, perithecial development was observed on segments from a wider range, 10 cm above and below the inoculation sites. In D plants, perithecial development was observed on segments from a narrower range than that of the LW plants. Xylem discoloration was observed near the inoculation site, in the range of 5 cm above and 10 cm below the inoculation site, in NS plants. The maximum percentage of xylem discoloration (discolored area/cross-section area) in each NS plants ranged from 1.3 to 16.4%. The range of discoloration extended 15 cm above and 10 cm below the inoculation site, and the maximum value of the xylem discoloration in each LW plants ranged from 16.5 to 52.4%. Discoloration similar to that in LW was observed in each D plants. Water conductivity was evaluated as the percentage of stem dyed pink with acid fuchsin solution absorbed by the roots. Water conductivity by NS plants was similar to that in the controls. Water conductivity was lower in each LW plant than in the NS, and the minimum dyed pink area on cut stem segments was less than 4.6%. The dyed area was barely recognizable in D plants. Leaves of LW or D plants did not have any dyed areas. Symptom development after inoculation of fig trees with *C. ficicola* can be explained as follows: (1) Xylem discoloration expands from the inoculation site corresponding to the expanding distribution of *C. ficicola*. (2) Xylem discoloration is correlated with xylem dysfunction. (3) When conductivity of the xylem falls to a certain threshold value in a cross section near the inoculation site, the water supply to leaves decreases, causing leaf wilting. (4) Extensive xylem dysfunction results in tree death.

(Received June 26, 2015; Accepted March 28, 2016)

Key words: Ceratocystis canker, *Ceratocystis ficicola*, *Ficus carica*, wilt disease, xylem dysfunction, xylem sap

緒 言

Ceratocystis ficicola Kajitani et Masuya (Kajitani and Masuya, 2011) 感染によるイチジク株枯病 (以下本病) は幼木・成木ともに枯死させ、イチジク栽培上最も警戒すべき病害の一つである (加藤ら, 1982; 三好ら, 2011). 本病の感染経路として、汚染土壌からの感染およびアイノキクイムシ

による媒介が知られている (梶谷, 1996; 梶谷, 1999). イチジク圃場での観察により、本菌に感染した個体は、葉の黄変および萎凋を経て枯死に至ることが知られ、地際部の幹表面には濃褐色のあざやひび割れが形成される (清水ら, 1999; 外側ら, 1999). 病徴が発現した個体の幹内部には褐変部が確認され、枯死時点には幹内部のほぼ全体に褐変が及ぶと報告されている (Kajii *et al.*, 2013; 外側ら, 1999). 本

¹ 広島県立総合技術研究所農業技術センター果樹研究部 (〒739-2402 広島県東広島市安芸津町三津 2835) Fruit Tree Research Division, Agricultural Technology Research Center, Hiroshima Prefectural Technology Research Institute, 2835 Mitsu, Akitsu-cho Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-2402, Japan

² 神戸大学大学院農学研究科 (〒657-8501 神戸市灘区六甲台町 1-1) Graduate School of Agriculture, Kobe University, 1-1 Rokkodai, Nada-ku, Kobe 657-8501, Japan

* Corresponding author (E-mail: t-morita86215@pref.hiroshima.lg.jp)

病は従来、土壤病害として認識されているが、アイノキクイムシによる病原菌の持ち込みが主要な侵入経路となって本病が激発した事例も示されている（森田ら，2012b）。

本病に関して、病原菌が特定され、発生・伝染経路は解明されてきたが、発病の仕組みについては、衰弱・枯死木が圃場で発生したのちの断片的な情報のみしか存在しない。これまでに本病の対策として抵抗性台木や薬剤を活用した防除技術が開発されている（細見・清水，2008；清水ら，1999）が、本病への防除効果は限定的である。生産現場ではより効果の高い防除技術の開発が望まれており、発病の仕組みを解明することは本病の防除対策を確立するための礎となる。

本病発病の仕組みを解明するための手掛かりとして以下の研究が知られている。Kajii *et al.* (2013) は、アイノキクイムシ媒介と推測される自然感染木の主幹組織を解体して解剖学的観察を行い、この媒介昆虫の孔道を中心とした菌の分布と木部変色の拡大について報告した。また、変色を伴う樹幹の通水停止と病徴発現の状況から、本病を萎凋病 (wilt disease) に区分するのが妥当であると指摘した。なお、樹木における木部変色と通水停止については、Hillis (1987) により以下のように定義されている：病原体の感染等に対して宿主樹木内で防御反応が起こると、二次代謝物質の増加によって木部は部分的に褐色～黒褐色に変色する。この変色部位は傷害心材とも呼ばれ通常の心材と同様に、道管などの通導組織は通水機能を失い柔細胞類は壊死している。

森林のナラ類やカン類に集団枯死を発生させているブナ科樹木萎凋病（病原菌：*Raffaelea quercivora*，通称：ナラ枯れ）は、養菌性キクイムシにより病原菌が媒介される。ナラ枯れの発病の仕組みについては、「キクイムシによる数百もの集中加害により孔道が広範囲に及び、病原体の感染に対して宿主組織の防御反応が起きて、樹幹木部における二次代謝物質の増加が見られ、変色および通水停止部位が水平方向に広がる。幹のある高さで通水機能が全面的に停止する部位が出現し、その部位より上部への水の供給が滞ることによって萎凋する」ことが確認されている（黒田・山田，1996；Kuroda，2001）。また、*Ceratocystis* 属菌によるエゾマツの萎凋病については、健全木主幹への接種実験によって病徴発現および萎凋が再現されている（Kuroda，2005；Yamaoka *et al.*，2000）。

本研究では、株枯病菌の接種によっておこる宿主内での病原菌の分布並びに内部病徴の進展を、外観健全な状態から萎凋枯死に至る一連の外部病徴の進展過程ごとにとりまとめ、ナラ枯れの病徴進展に関する知見と比較しつつ調査した。なお、同じサンプルを用いた病原菌の宿主組織内での動態

と宿主細胞の反応については、顕微鏡観察に基づいて隅田ら（2016）が報告する。土壤感染を模した接種、つまり植栽ポットの土壤に本菌を接種した場合には、病徴発現に長期間を要し、発病までの日数が個体間で大きくばらつくことを確認している（森田，未発表）ため、本研究ではアイノキクイムシにより主幹組織へ複数の感染が集中した場合を想定し、主幹部への有傷接種とした。

材料および方法

病原菌接種と試料採取

供試苗木：2011 年 2 月 14 日に剪定したイチジク品種「蓬莱柿」の一年枝を、使用するまで冷蔵保存した。2011 年 6 月 7 日に長さ約 5 cm に切断した一年枝を、ポット内に充填した培土（ハイポネックス® 培養土）に挿木した。その後、接種日まで本病が発生していない無加温ハウス内で管理・育成した。挿木 2 年目のクローン苗 40 本の平均茎長および接種部位の平均茎径はそれぞれ、103 cm および 17 mm であった。

接種源：広島県の主要なイチジク産地 5 ケ所から分離した本菌の菌株間に明瞭な病原力の違いが無いことが確認されている（森田ら，2012a）。本試験では広島 cf06 株（広島総研保存菌株；2006 年 5 月に広島県呉市安浦町のイチジク枯死木の地際周辺土壌から分離）を用いた。供試菌株は、PDA 平板培地で 2～3 週間前培養（25°C，暗黒下）し、培地上に形成された菌叢上に滅菌した爪楊枝（長さ 7 cm，径 2.2 mm）を置いて、約 15 日間培養を継続し、菌糸が十分に付着した爪楊枝を接種源とした。なお、後述の有傷無接種区には、滅菌爪楊枝を用いた。

接種方法：接種様式は、既往の研究（Kuroda *et al.*，2005；黒田，2007）を参考にした。電動ドリルを用いて、苗木の主幹中心部を垂直に貫通する穴（直径約 3 mm）をあけた。この穴に前述の爪楊枝を突刺し、主幹の反対側に先端が 1 cm 程度出るまで押し込んだ。差し込んだ爪楊枝は、主幹表面の位置で両端を切断し、接種部の主幹も含めて接木用テープで覆い、付傷部からの水分蒸発を防止した。本実験を行う前に、同様の材料を用いて接種点数に関する予備試験を行った。1 点、2 点、4 点および 6 点の有傷無接種を行ったところ、6 点接種では傷に起因すると思われる枯死樹が発生し、4 点接種以下では枯死樹は発生しなかった。このため、接種に伴う傷のみの影響でイチジクの苗木が枯死せず、より高い確率で本菌を苗木に感染させる方法として、本研究では 4 点接種を採用した。接種は、主幹の地際部から 10 cm 上の位置を中心に上下 2 ケ所（合計 4 ケ所）へ行った。近接する接種地点は Kuroda（2005）を参考に高さと角度をそれぞれ約 1 cm および 45° 違い、全体として接種地点を螺旋

状に配置した (Fig. 1). 2012 年 9 月 5 日に菌接種と滅菌爪楊枝を用いた有傷無接種処理を実施した. 供試苗木は, 露地圃場に置き, 日に 3 回の灌水 (灌水量は 1 l/回) 条件で一律に管理した.

外部病徴の把握と試料採取

本試験では, 菌接種苗木における外部病徴の区分を, 次のように定義した. 菌接種していない苗木と比較して見かけ上の違いが確認できない状態を外観健全 (No external symptoms: NS), 葉がしおれて下垂しているが枯死はしていない状態を萎凋開始 (Leaf wilting: LW), さらに全ての葉が褐色に変色した状態を枯死 (Dead: D) とした. 接種 4 日後および 7 日後以降 42 日後まで 7 日間隔で各 2~4 本をポットから抜き取り, 以下の手順で解体し観察した. なお, 病徴発現までは無作為に採取し, 一部の個体に病徴が発現した後は, 病徴ありと無病徴の個体の両方を採取した.

通水機能の測定と評価

通水機能を評価するため, 抜き取った苗木の根を 1% 酸性フクシン水溶液に浸して 2~4 時間吸水させた. 色素水溶液を植物の根から吸入させると, 木部で通水機能がある部分 (道管, 仮道管等) は染色されるが, 変色部やその周囲部などで通水機能を失った部分は染色されないことが知られており, 巨視的レベルの通水の把握に有用な手法である (Kuroda *et al.*, 1988; 黒田・山田, 1996; Kuroda, 2005). なお, 後述のとおり, 有傷無接種の健全な苗木は, 葉を摘み取っ

ても水を吸い上げることを確認している.

菌接種に伴う内部病徴の上下方向への広がりを知るため, 苗木の接種部を 0 cm とし, その上下方向に 5 cm と 10 cm で主幹を切断し, 幹横断面 (合計 5 ケ所) (Fig. 1) をデジタルカメラ (Nikon Coolpix P310) で撮影した. なお接種 21 日後の供試苗木の一部で, 接種地点より 15 cm 上部で木部褐変が確認されたため, 以降に採取した接種苗木については, 接種地点より上方向の試料採取は苗木の先端部まで実施し, 20 cm 以上の上部では 10 cm 間隔で切断して写真撮影した. 通水停止が確実な部位を明らかにするため, 供試木の各横断面について既往の研究 (黒田・山田, 1996; 黒田, 2007) により示された方法に沿い, 褐変部, 染色部を選定し, 目視で判定できる範囲をフリーハンドで指定した. その範囲の面積を画像解析ソフト Image J (National Institutes of Health) で計測し, それぞれ主幹木部の横断面積 (髄を除く) に対する割合を算出した. 木部褐変面積割合が 100% に近づくほど, 葉への水分供給の効率が低下していると言える. 酸性フクシンによる染色部位の面積割合と木部褐変面積割合の両者から, 接種苗木における通水阻害の進行状況を推定した.

接種菌の検出

写真撮影後の試料は本菌の検出調査に用いた. 5 cm 間隔に切断した主幹片の上側切口から約 1 cm の断片を採取し (Fig. 1), 表面を火炎殺菌した後に, ポリエチレン製袋内で温室条件下, 25°C に保ち, 30 日間静置した. この期間内に主幹の断片上に形成される子のう殻の有無により本菌の存在を判別した.

結 果

接種後の外部病徴の進展

病原菌接種後の病徴進展状況を Fig. 2 に示した (対照も含めて 32 本分). 萎凋症状の開始時期は, 最も早い例で接種の 10 日後であったので, 外部病徴の進展については接種 2 週間後以降に調査した. 本菌を接種した多くの供試苗木では接種 2~3 週間後に萎凋症状が発現し, その後 2~4 日で枯死が確認された. しかし, 42 日後に病徴が発現していない個体も 1 本存在した. このように病徴発現の時期が個体によりずれており, 接種後の日数に沿った解析では病気の進展プロセスの記述が困難であることから, 以下の記述では病徴によるグループ分け (NS, LW, D) によって行い, Fig. 3 には対照木と病徴による 3 グループの代表例について, 酸性フクシン液吸入前 (Before dye) と後の外観 (After dye), 主幹部の横断面を示した. 無傷無接種の対照木, 有傷無接種の対照木および外観健全木では, 色素が葉の維管束まで

Fig. 1. Schematic diagram of inoculation of fig plants *Ficus carica* with *Ceratocystis ficicola* and sampling procedures. Four holes were made on the main stems, shifting 45° between each hole.

Fig. 2. Disease development of fig plants inoculated with *C. ficicola*. Abbreviations

○: Beginning of leaf wilting, ●: date of death, S: sampling date.

C: Control without wound, WC: wound control, NS: no external symptoms, LW: leaf wilting, D: dead.

到達することによって全ての葉が赤く染色された。しかし、葉に萎凋が見られる個体や枯死した個体では葉が染色されなかった。

本菌の子のう殻形成が確認された範囲

接種地点を基準とし切断した主幹上に、本菌の子のう殻形成が確認された範囲を Table 1 に示した。外部病徴別の 3 グループに分けたうえで、接種後の日数の順に整理した (Table 1)。接種後 42 日間のいずれの時期でも、また外部病徴が NS, LW, および D のどの段階でも、接種苗木の大半から接種部 (0 cm) を中心に子のう殻形成が認められた (Table 1)。6 本の外観健全木のうち 4 本では接種部から上または下方向に 5 cm 以内の範囲でのみ子のう殻形成が確認された (Table 1, NS)。接種 28 日後に採取した NS4 では接種地点から上下方向各 5 cm の範囲で子のう殻形成が確認された。接種 42 日後に外観健全であった 1 本 (NS6) のみ、子のう殻形成が確認されなかった。

外部病徴が発現し、苗木が萎凋し始めた段階では、子のう殻形成が確認された範囲は外観健全木よりも広がっていた (Table 1, LW)。萎凋症状が発現した初日の採取 (LW2)、萎凋症状発現の 3 日後 (LW1) および 4 日後 (LW5) に採取した萎凋初期段階の 3 本では、接種部および下方 10 cm の範囲で子のう殻形成が確認された。萎凋症状発現の 7 日後 (LW4) と 13 日後 (LW3) の 2 本では、接種部を含めて上下両方向に各 10 cm の範囲で子のう殻形成が確認された。接種地点から上方 15 cm 以上では子のう殻形成が確認されず、20 cm から先端部までのデータは表から割愛した。枯死後に採取した個体では、接種部とその下方 10 cm の範囲から子のう殻形成が確認されたが、接種地点の上方からは確認されなかった (Table 1, D)。枯死を確認してから 12 日後 (D3) および 30 日後 (D4) に採取した 2 本は、枯死当日に

Table 1. Perithecial development of *Ceratocystis ficicola* on stem segments fig plants seedlings of *Ficus carica*.

		External symptoms														
		No external symptoms (NS)						Leaf wilting (LW)					Dead (D)			
Distance from inoculation site (cm)	20	a)			—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—
	15				—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—
	10	b)	—	—	—	—	—	—	—	●	●	—	—	—	—	—
	5		—	—	●	—	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—
	0	●	b)	—	●	●	●	—	●	●	●	●	●	●	●	—
	−5	—	●	—	●	—	—	●	●	—	●	●	●	●	—	—
	−10	—	—	—	—	—	—	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	Test tree no		NS 1	NS 2	NS 3	NS 4	NS 5	NS 6	LW 1	LW 2	LW 3	LW 4	LW 5	D 1	D 2	D 3
Days after inoculation ^{c)}		14	14	14	28	35	42	21 (3)	21 (0)	28 (13)	28 (7)	35 (4)	21 (0)	28 (0)	35 (12)	42 (30)

a) “\” indicates data not available.

b) “●” and “—” indicate perithecial development and non-development of *C. ficicola*, respectively.

c) Numerals in parentheses indicate days from the initiation of symptoms to harvest date.

Fig. 3. Symptoms and crosscut stem surfaces of fig plants inoculated with *C. ficicola* and treated with acid fuchsin solution (representative example).

Fig. 4. Typical examples of dyed pink area with acid fuchsin solution and brown discoloration on cross stem sections. Sampling plants and portions of ☆A and ☆B were shown in Fig. 3.

採取した 2 本 (D1 と D2) と比較して子う殻が形成される範囲は狭い傾向があった。なお、傷の有無にかかわらず無接種苗木からは子う殻形成は確認されなかった。

内部病徴としての木部褐変範囲の拡大

木部横断面の代表的な事例を Fig. 3 と Fig. 4 に示した。外部病徴の有無に関係なく接種苗木の木部褐変面積割合は、接種部を含めた上下 5 cm の範囲で値が高く、接種部から上下いずれの方向でも 10 cm 離れると値が低い傾向があった (Figs. 3, 5)。木部褐変は、接種部から上方 15 cm まで確認された。接種部より上方 20 cm 以上では褐変が認められず、データの図示を割愛した。本菌の子う殻形成が確認される範囲 (接種地点からの距離: 最大 10 cm) では木部褐変が認められたが、試料採取時に本菌が確認されなかった範囲もあった。外観健全木の 6 本のうち 4 本 (Fig. 5: NS1, 2, 3, 6) は、接種部でのみ褐変が確認され、褐変面積割合の最大値は 1.3~6.1% であった。残りの 2 本 (NS4, 5) は、褐変が確認された範囲が接種部に加えて 5 cm 下方に広がっており、褐変面積割合の最大値は 13.9 と 16.4% であった。外観健全木では褐変が確認された範囲が上下に広がると褐変面積割合の値が大きくなる傾向が見られた。萎凋開始木では、外観健全木と比べて褐変が著しく拡大した。褐変範囲は、接種部から下方 10 cm、上方 15 cm に広がり、木部褐変面積割合の最大値は 16.5~52.4% であった。枯死木の木部褐変は、萎凋開始木とほぼ同等の傾向であった。褐変範囲は接種部から下方 10 cm、上方 15 cm で、木部褐変面積割合の最大値は 21.6~46.9% であった。なお、有傷無接種苗木の一部で、接種部でのみわずかな木部褐変 (面積割合 1% 以下) が観察

された。無傷無接種苗木では、いずれの部位においても木部褐変は確認されなかった。

通水面積割合の変化

フクシン水溶液による染色範囲 (Figs. 3, 4) から算出した通水面積割合の最小値は、無傷無接種苗木では 40.8~60.8% であった (Fig. 6, C1~5)。有傷無接種苗木の通水面積割合は、付傷部での値が最も低い傾向があり (Fig. 6, WC1~12)、通水面積割合の最小値は、接種当日 3.7~10.8%, 21 日後 6.5~23.0%, 42 日後 16.4 と 17.1% であった。付傷後に日数の経過した個体では通水が部分的に回復し、通水面積割合が接種日より高い傾向が認められた。有傷無接種苗木では、付傷部の通水面積割合が低くなるものの、調査期間中に萎凋・枯死する苗木は発生しなかった (Fig. 2)。

本菌接種苗木のうち、外観健全木の通水面積割合 (Fig. 7, NS) は有傷無接種苗木の付傷日および 21 日後のグラフ (Fig. 6) と類似したパターンを示した。萎凋開始木 (Fig. 7, LW) では外観健全木より全般的に通水面積割合の値が小さかった。特に接種部の値が 4.6% 以下と低かっただけでなく、接種部の上部 (5 cm, 10 cm) の通水面積割合が接種部の下部の値と比較してより低い傾向があった。萎凋開始直後の 3 本 (Fig. 7, LW1, 2, 5) は接種部で通水面積割合の最低値を示したが、萎凋開始後に日数が経過した苗木 2 本 (Fig. 7, LW3, 4) は接種部の上部で通水面積割合が最低値となり、2.4% 以下であった。枯死木 (Fig. 7, D) 4 本のうち 3 本 (D1, 2, 4) で染色部位は確認されなかった。残りの 1 本 (D3) も接種部の下方でわずかに染色部位が確認されたのみであった。

Fig. 5. Development of discolored xylem area in fig plants inoculated with *C. ficicola*.

Fig. 6. Xylem sap conduction in the control fig plants checked by the acid fuchsin solution. "C" and "WC" represent control and wound control, respectively.

Fig. 7. Decrease in xylem sap conduction with the development of external symptoms on the fig plants inoculated with *C. ficicola*.

考 察

株枯病菌を接種した苗木では、菌の分布と変色の拡大および通水阻害に以下のような関係が見られた。葉の萎凋前で外観が健全な個体では、本菌は接種部および上下5 cm程度の狭い範囲に分布していた。しかし、萎凋が開始した段階では本菌の検出範囲は接種部の上下方向に最大10 cmまで拡大し、木部の褐変面積割合は外観健全木と比べて著しく拡大していた。酸性フクシン液の吸入による染色面積とあわせて判断すると、萎凋が開始した時期には、通水機能

のある範囲が外観健全木より著しく狭くなっていたと考えられる。萎凋開始後には色素液による葉の染色が見られなくなったこと、接種部より上部の木部では染色部位がほとんど無くなったことから、主幹部の通水がほぼ停止し、葉に届く水分が著しく減少したことが推測された。なお、筆者らは葉の有無が通水に及ぼす影響について、本論文と同様な「蓬萊柿」の挿木2年目の健全クローン苗を用いて実験を行った（森田ら、未発表）。その結果、葉を除いた苗は、葉を除かない苗と比較して染色面積割合に大きな差が無いことが示された。このことから、本研究で議論している通

水部位（断面積）の減少は、葉の蒸散機能の低下に起因せず、木部の褐変面積の拡大に伴う通水阻害に起因するという判断が妥当である。また、株枯病菌を接種せず、傷による通水への影響を確認した試験において、傷をつけた直後の傷近辺の通水面積割合の値が顕著に低かったが、傷の上部では色素液による染色範囲は広く保たれ、通水の継続が認められた。この理由として、物理的な小さな傷の場合、破壊された道管は通水停止するが、根からの吸水に伴う木部樹液の上昇は破壊部位を迂回して上昇していることが知られており（Hillis, 1987）、有傷無接種の苗木では、横断面における通水面積の割合は付傷当日以降にやや回復して通水が継続し、どの個体も萎凋・枯死しなかったと考えられる。

枯死木で萎凋段階よりも本菌の子のう殻形成が確認された範囲が狭くなったことについては、通水停止によって宿主組織が乾燥して菌の生息に適さなくなったか、あるいは二次的に寄生した生育の早い腐生菌などが優占し、株枯病菌の検出が困難になった可能性がある（川口ら, 2011）。なお、本菌の子のう殻形成が確認されなかった外観健全木1個体では接種42日後に通水が維持されており、本菌が組織内で定着しなかった可能性がある。

木部組織の褐変は、樹木病害において頻繁に観察される現象であり、傷や昆虫、微生物等の活動に対する防御反応の一つとして知られている（Hillis, 1987）。本研究の接種で観察された木部の変色は、虫媒感染を経て萎凋したイチジクの樹幹について Kajii *et al.* (2013) が観察した褐色ないしは黒褐色の変色と同じものであると推測された。この木部組織の褐変という現象によって、感染した菌類が封じ込められることはあるが、Kajii *et al.* (2013) は、イチジク株枯病ではその封じ込め効果は部分的であることやアイノキイムシの孔道形成によって防御の境界線が破られた事例を報告した。ブナ科樹木萎凋病（ナラ枯れ）の場合は、媒介昆虫の密な孔道形成によって宿主の防御が木部内で広がり、変色の拡大による通水停止のため大径木が短期間に枯死することが明らかになっている（黒田・山田, 1996）。病原菌は異なるが、病徴進展、樹幹内部の変色と通水停止などで、本病とブナ科樹木萎凋病には類似点が認められることが本研究により示された。

本研究で把握した外部病徴と内部病徴の進展状況から、本病原菌接種によりイチジクが枯死する仕組みの概要は以下のように推測される。①接種部位を中心に病原菌が分布する範囲が拡大し、木部の褐変が広がる。②木部の褐変が広がると、木部の通導組織では通水停止した部分が増加する。③接種部位付近の横断面で通水面積割合が低下すると葉に届く水分量の著しい減少により萎凋症状が表れる。④

通水停止の状態が継続することにより、感染木は枯死に至る。なお本研究により、菌の進展範囲は接種地点から10 cm以内で、梢端を含む広域の分布は確認されなかった。感染への防御反応である木部褐変の範囲も最大15 cmであった。このデータから、葉の萎れ、褐変、梢端部の枯死は菌の直接的影響による壊死が原因ではなく、水分通導の減少～停止により発生した可能性が高いことが示された。黒田・山田（1996）により、ナラ枯れで示された萎凋・枯死に至る条件である通水機能の停止が、本試験では接種部付近で発生したものと考えられる。

本報告の巨視的レベルの観察では、外部病徴の各段階（発現前・萎凋・枯死）における内部病徴（株枯病菌の分布・木部の褐変・通水領域）の変化を明らかにできたが、病原菌の動態と通水阻害の進行を含めた感染から発病への仕組みは完全には明らかにできていない。宿主細胞の反応については隅田ら（2016）が報告する。加えて本報告は苗木での観察結果であり、今後成木を用いた解析や、より感度の高い遺伝子検出法を用いた解析も検討に値する。

イチジクの主要な栽培品種には、「蓬萊柿」の他に「榊井ドーフィン」がある。森田ら（2011）は、これらの幼苗主幹部に株枯病菌を有傷接種し、「榊井ドーフィン」も「蓬萊柿」と同様に病徴進展し枯死に至ることから、感受性が高いことを確認した。一方、「Celeste」や「Ischia Black」などの抵抗性台木がイチジク種内で選抜され利用されている。幼苗への病原菌の接種や汚染土壌へ定植後の継続調査により、これらの品種は上記の栽培品種に比べて抵抗性ではあるものの枯死する事例が知られている（細見・清水, 2008; 森田ら, 2011）。このため、イチジク産地からは、より強い抵抗性台木が求められている。この要望に対して、本病原菌を接種しても全く枯死しない近縁種のイヌビワとイチジクの種間交雑により新たな抵抗性台木を作出する動きもある（Yakushiji *et al.*, 2012）。今後、本研究で着目した木部の褐変範囲や通水範囲を指標とした内部病徴を比較する手法は、種間交雑を含む新たな抵抗性台木の候補を探索する研究への適用が可能であり、株枯病防除技術の確立に有益であると考えられる。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、筑波大学生命環境科学研究科の山岡裕一博士、名古屋大学大学院生命農学研究科の梶村恒博士には有益なご助言を賜りました。さらに、本論文の担当編集委員および2名の査読者の方には、論文修正にあたり建設的な意見をいただきました。上記の皆様に対して、ここに心から感謝の意を表します。本研究の一部は

JSPS 科研費 JP25292089 の助成を受けて行いました。

摘 要

株枯病は我が国のイチジク栽培地域で蔓延している。本病の感染から発病・枯死までの仕組みを正確に理解するため、株枯病菌接種苗木の通水機能の変化と外部病徴（外観健全 (NS)、萎凋開始 (LW) および枯死 (D) に3区分) の関係に着目し、肉眼および実体顕微鏡観察を行った。NS では本菌の子のう殻が形成される範囲は接種部および上下 5 cm 程度と狭く、LW では接種部の上下方向に最大 10 cm まで拡大した。D では子のう殻形成が認められる範囲が LW よりもやや狭くなる傾向があった。NS の木部の褐変は接種部を中心に広がり、接種部から下方 5 cm の範囲で認められた。NS の木部褐変面積割合（主幹部の横断面積に対する褐変部の割合）の最大値は 1.3~16.4% であった。NS と比べて LW で褐変は著しく拡大し、接種部から上方向に 15 cm、下方向に 10 cm の範囲で確認され、木部褐変面積割合の最大値は 16.5~52.4% であった。D の木部褐変は LW とほぼ同等の傾向であった。NS の通水面積割合（主幹部の横断面積に対する根部から吸収させた酸性フクシンによる染色面積）は、有傷無接種苗木と類似したパターンを示し、酸性フクシンが葉の維管束まで到達することにより、全ての葉が赤く染色された。LW では NS に比べて全般的に通水面積割合の値が小さくなった。通水面積割合が最小となる部位とその値は、萎凋開始直後の苗木では接種部で 4.6% 以下、萎凋開始から日数が経過した苗木では接種部より上部で 2.4% 以下であった。なお、D では主幹部の通水がほとんど確認されなかった。また、LW や D では、葉は赤く染色されなかった。以上の結果から、本病原菌接種によりイチジクが枯死する仕組みの概要は以下のように推測される。①接種部位を中心に病原菌が分布する範囲が拡大し、木部の褐変が広がる。②木部の褐変が広がると、木部の通導組織では通水停止した部分が増加する。③接種部位付近の横断面で通水面積割合が低下すると葉に届く水分量の著しい減少により萎凋症状が表れる。④通水停止の状態が継続することにより、感染木は枯死に至る。

引用文献

Hillis, W.E. (1987). Heartwood and tree exudates, pp. 268, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris.
 細見彰洋・清水伸一 (2008). 抵抗性台木を用いたイチジク株枯病防除技術の開発. 農業技術 63: 358-362.
 Kajii, C., Morita, T., Jikumaru, S., Kajimura, H., Yamaoka, Y. and Kuroda, K. (2013). Xylem dysfunction in *Ficus carica* infected with wilt fungus *Ceratocystis ficicola* and the role of the vector beetle *Euwallacea interjectus*. IAWA Journal 34: 301-312.

梶谷裕二 (1996). アイノキクイムシによるイチジク株枯病伝播の可能性. 日植病報 62: 275. (講要)
 梶谷裕二 (1999). イチジク株枯病菌を媒介するアイノキクイムシの分散時期と保菌部位. 日植病報 65: 377. (講要)
 Kajitani, Y. and Masuya, H. (2011). *Ceratocystis ficicola* sp. nov., a causal fungus of fig canker in Japan. Mycoscience 52: 349-353.
 加藤喜重郎・廣田耕作・宮川寿之 (1982). イチジクの新病害「株枯病」. 植物防疫 36: 55-59.
 川口 章・神谷奈多紗・金谷寛子・井上幸次 (2011). 株枯病が疑われるイチジク枯死樹の遺伝子診断方法の改良. 近中四農研 18: 69-72.
 Kuroda, K., Yamada, T., Mineo, K. and Tamura, T. (1988). Effects of cavitation on the development of pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. Jpn. J. Phytopathol. 54: 606-615.
 黒田慶子・山田利博 (1996). ナラ類の集団枯損にみられる辺材の変色と通水機能の低下. 日本林学会誌 78: 84-88.
 Kuroda, K. (2001). Responses of *Quercus* sapwood to infection with the pathogenic fungus of a new wilt disease vectored by the ambrosia beetle *Platypus quercivorus*. J. Wood Science 47: 425-429.
 Kuroda, K. (2005). Xylem dysfunction in Yezo spruce (*Picea jezoensis*) after inoculation with the blue-stain fungus *Ceratocystis polonica*. Forest Pathology 35: 346-358.
 Kuroda, K., Ichihara, Y., Kanbara, Y., Inoue, T. and Ogawa, A. (2005). Tree Sap III. In Magnetic Resonance Micro-imaging of Xylem Sap Distribution in Tree Stems (寺沢 実編). pp. 149-160, 北海道大学出版会, 北海道.
 黒田慶子 (2007). MRI を使って樹木の病気を診断する. Isotope News 2 月号: 2-6.
 三好孝典・清水伸一・篠崎 毅・澤田宏之 (2011). リアルタイム定量 PCR 法によるイチジク株枯病菌の絶対定量および検出. 日植病報 77: 96-104.
 森田剛成・見世大作・軸丸祥大 (2011). 幼苗を用いたイヌビワとイチジク品種間の株枯病抵抗性の比較. 関病虫研報 53: 51-52.
 森田剛成・軸丸祥大・須崎浩一・中村 仁・山岡裕一 (2012a). 広島県に分布するイチジク株枯病菌は新種 *Ceratocystis ficicola* なのか? 日植病報 78: 222. (講要)
 森田剛成・原 敬和・見世大作・軸丸祥大 (2012b). アイノキクイムシが介在したイチジク株枯病の激害化事例. 関病虫研報 54: 29-34.
 清水伸一・三好孝典・越智政勝・橘 泰宣 (1999). 愛媛県におけるイチジク株枯病の発生とチオファネートメチル・トリフルミゾール水和剤による防除. 愛媛果樹試研報 13: 27-35.
 隅田皐月・梶井千永・森田剛成・黒田慶子 (2016). 株枯病菌を接種したイチジク苗木における病徴の進展過程 (2) 宿主細胞の防御反応と内部病徴に関する解剖学的検討. 日植病報 82: 310-317.
 外側正之・増井伸一・野村明子・増井 (塩崎) 弘子 (1999). イチジク株枯れ症状の発生と防除. 静岡柑試研報 28: 51-62.
 Yakushiji, H., Morita, T., Jikumaru, S., Ikegami, H., Azuma, A. and Koshita, Y. (2012). Interspecific hybridization of fig (*Ficus carica* L.) and *Ficus erecta* Thunb., a source of *Ceratocystis* canker resistance. Euphytica 183: 39-47.
 Yamaoka, Y., Takahashi, I. and Iguchi, K. (2000). Virulence of *ophiostomatoid* fungi associated with the spruce bark beetle *Ips typographus* f. *japonicus* in Yezo spruce. J. For. Res. 5: 87-94.