

# *Lasiodiplodia theobromae* による カカオの果実腐敗病 (新称)

福田有希子\*・廣岡裕吏\*\*・小野 剛\*\*\*・小林享夫\*・夏秋啓子\*

(平成 20 年 2 月 29 日受付/平成 20 年 4 月 25 日受理)

要約: 2005 年 5 月, 東京都小笠原村父島で施設栽培されていたカカオの果実に, 初め茶褐色~暗褐色の不整病斑を生じ, のちに拡大して腐敗症状を呈する病害が観察された。その罹病部からは *Lasiodiplodia* 属菌が高率に分離され, 分離菌を用いた接種試験により原病徴が再現され接種菌が再分離された。分離菌は, 暗褐色から黒色の分生子殻内に, 隔壁の無い側糸と, 後に完熟すると 2 胞, 暗褐色で縦縞模様をもつ分生子を形成することから, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. と同定した。さらに rDNA 内の ITS 領域を用いた分子系統解析の結果からも同定を裏付ける結果を得た。小笠原で商業的に栽培されているパッションフルーツ, ババパイア, パナナ, マンゴーを用いた宿主範囲の検討では, ババパイア, パナナ, マンゴーにおいて病原性が確認された。これまでカカオにおける本病害は日本において報告がないため, *Lasiodiplodia* 果実腐敗病 (英名: *Lasiodiplodia pod rot*) と命名したい。

キーワード: *Lasiodiplodia* 果実腐敗, 新病害, *Lasiodiplodia theobromae*, *Theobroma cacao* L.

## 緒 言

カカオ (*Theobroma cacao* L.) は, アオギリ科 (Sterculiaceae) に属する熱帯アメリカ原産の常緑の小高木であり, 種子は一般にチョコレートやココアの原料として広く利用されている。

2005 年 5 月, 東京都小笠原村父島で施設栽培されていたカカオの果実に, 初め茶褐色~暗褐色の不整病斑を生じ, のちに拡大して果実全面に及び腐敗する病害が観察された。罹病部からは *Lasiodiplodia* 属菌が高率に分離され, 分離菌を用いた接種試験により原病徴が再現され接種菌が再分離された。*Lasiodiplodia* 属菌は熱帯, 亜熱帯に広く分布し, 果実腐敗や胴枯れ症状を起こす重要な植物病原菌の 1 つであり<sup>1)</sup>, 日本では果実・緑化樹木のほか数種の草本作物を加えて 19 科 23 属 28 種の植物上に記録されている (Table 1)。しかし, 本属菌によるカカオの病害は, 海外において *Lasiodiplodia canker* や *Pod rot* などとして知られているが, 国内での報告は無い。そこで本研究では, 本菌の病原性の確認と同定, さらに小笠原で経済的に栽培され, 日本で *Lasiodiplodia* 属菌による病害記録のある数種熱帯果実に対する病原性を検討し, 今後の研究や病害防除の資料として役立てることを目的に行った。なお, 本論文の一部は平成 18 年度日本植物病理学会関東支部会で報告を行った<sup>2)</sup>。

## 材料および方法

### 1) 発生状況・病徴および被害

2005 年 5 月, 東京都小笠原村父島の施設栽培カカオ (*Theobroma cacao* L.) の果実に, 初め茶褐色~暗褐色の不整病斑を生じ, 拡大後腐敗症状を起こす病害を観察した (Fig. 1A-C)。罹病部には *Lasiodiplodia* 属菌の分生子殻が多数形成されていたため, これを以下の実験に用いた。

### 2) 供試菌の分離と培養

供試菌は, 罹病部の果実表面に噴出した分生子塊を白金耳でかき取り寒天培地 (WA) 上に広げ, 室温で管理した。その後, 発芽した分生子のみを単孢子分離し分離菌株 (Strain No. MAFF 240388) を得た。培養にはポテトデキストロース寒天培地 (PDA 栄研化学株式会社) を用いた。

### 3) 病原性の確認

病原性の確認は, PDA 培地で 25°C, 3 日間培養した分離菌の菌叢を直径 4 mm のコルクボーラーで打ち抜き, 成熟した果実に置床した。置床部は束にした柄付き針で傷を付けた有傷区と無傷区をもうけた。接種部位は, 滅菌水を含ませた脱脂綿を被せて湿度を保ち, プラスチック容器または腰高シャーレに入れて, 室温で毎日観察した。

### 4) 形態および分子系統解析による同定

形態観察は, 果実表面に形成された分生子殻および噴出

\* 東京農業大学国際農業開発学科

\*\* 東京農業大学大学院農学研究科国際農業開発学専攻 (現 アメリカ合衆国 United States Department of Agriculture)

\*\*\* 東京都小笠原亜熱帯農業センター (現 東京都農林総合研究センター)

Table 1 List of the host and literature of *Lasiodiplodia theobromae* in Japan

Host plant		Locality	Literature	Disease name
Family	Genus and species			
Actinidiaceae	<i>Actinidia chinensis</i>	No locality record	Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup> ; Yamato 1997 <sup>4)</sup>	Soft rot
Annonaceae	<i>Annona squamosa</i>	Bonin islands (Tokyo)	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Sato 1990 <sup>6)</sup>	—
	<i>A. muricata</i>	Bonin islands (Tokyo)	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Sato 1991 <sup>7)</sup> ; Sato et al. 1991 <sup>8)</sup>	Stem blight
Apocynaceae	<i>Anodendron affine</i>	Okinawa island (Okinawa)	Nago and Matsumoto 1994 <sup>9)</sup>	—
Fabaceae	<i>Arachis hypogaea</i>	Chiba	Asuyama and Yamanaka 1952 <sup>10)</sup> ; Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup>	—
Oxalidaceae	<i>Averrhoa carambola</i>	Bonin islands (Tokyo)	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Sato 1990 <sup>6)</sup> , 1991 <sup>7)</sup> ; Sato et al. 1991 <sup>8)</sup>	Botryodiplodia rot
Caricaceae	<i>Carica papaya</i>	Post harvest disease	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup> ; Yaguchi and Nakamura 1987 <sup>11)</sup> , 1992 <sup>12)</sup>	Stem end rot
	<i>C. papaya</i>	Hachijo island (Tokyo)	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Matsushima 1975 <sup>13)</sup>	—
Fagaceae	<i>Castanea crenata</i>	Post harvest disease	Hino 1977 <sup>14)</sup>	—
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i>	Bonin islands (Tokyo)	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Sato 1990 <sup>6)</sup> , 1991 <sup>7)</sup> ; Sato et al. 1991 <sup>8)</sup>	Gummosis and dieback
	<i>C. unshiu</i>	Okinawa island (Okinawa)	Sato et al. 2002 <sup>15)</sup>	Trunk rot
Tiliaceae	<i>Corchorus olitorius</i>	Okinawa island (Okinawa)	Sato et al. 2002 <sup>15)</sup> , 2008 <sup>16)</sup>	Black Band
Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i>	Chiba, Kagoshima	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Yaguchi et al. 1999 <sup>17)</sup>	Black rot
Moraceae	<i>Ficus elastica</i>	Bonin islands (Tokyo), Okinoerabu island (Kagoshima)	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Kobayashi et al. 2007 <sup>18)</sup> ; Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup> ; Sato 1990 <sup>6)</sup> ; Sato et al. 1991 <sup>8)</sup>	Dieback
		Ishigaki island (Okinawa)	Nago and Matsumoto 1994 <sup>9)</sup>	—
Hernandiaceae	<i>Hernandia ovigera</i>	Ishigaki island (Okinawa)	Nago and Matsumoto 1994 <sup>9)</sup>	—
Convolvulaceae	<i>Ipomoea batatas</i>	No locality record	Kawada 1955 <sup>19)</sup> ; Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup>	Jawa black rot
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Bonin islands (Tokyo)	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Sato 1990 <sup>6)</sup> ; Takushi et al. 2000 <sup>20)</sup>	Stem end rot
Araceae	<i>Monstera edulis</i>	Yoron island (Kagoshima)	Kobayashi et al. 2006a <sup>21)</sup> , b <sup>22)</sup>	—
Musaceae	<i>Musa</i> spp.	Post harvest disease; Bonin islands (Tokyo); Okinoerabu island (Kagoshima)	Hirai 1938 <sup>23)</sup> ; Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Kobayashi et al. 2007 <sup>18)</sup> ; Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup> ; Sato 1990 <sup>6)</sup> ; Sato et al. 1991 <sup>8)</sup>	Stem end rot, Black rot
		Yoron island (Kagoshima)	Yumiki et al. 2006 <sup>24)</sup>	Fruit rot
Pandanaaceae	<i>P. tectorius</i>	Yoron island (Kagoshima); Miyako island (Okinawa)	Kobayashi et al. 2007 <sup>18)</sup> ; Yumiki et al. 2006 <sup>24)</sup>	Fruit rot
	<i>P. boninensis</i>	Bonin islands (Tokyo); Okinawa island (Okinawa)	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup> ; Sato et al. 2002 <sup>15)</sup> ; Yokoyama 1975 <sup>25)</sup> ; Yumiki et al. 2007 <sup>24)</sup>	Fruit rot
	<i>Parsonsia laevigata</i>	Iriomote island (Okinawa)	Nago and Matsumoto 1994 <sup>9)</sup>	—
Lauraceae	<i>Persea americana</i>	Bonin islands (Tokyo)	Sato 1990 <sup>6)</sup> ; Kobayashi 2007 <sup>5)</sup>	—
Passifloraceae	<i>Passiflora edulis</i>	Bonin islands (Tokyo)	Ono and Nakashima 2005 <sup>26)</sup>	Stem end rot
Rosaceae	<i>Pyrus serotina</i> var. <i>culta</i>	Tokushima	Kobayashi 2007 <sup>5)</sup> ; Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup> ; Yamato 1983 <sup>27)</sup>	Botryodiplodia canker
Rutaceae	<i>Toddalia asiatica</i>	Okinawa island (Okinawa)	Nago and Matsumoto 1994 <sup>9)</sup>	—
Apocynaceae	<i>Vinca minua</i>	Chiba	Phytopathological Society of Japan 2000 <sup>3)</sup> ; Uwai et al. 1989 <sup>28)</sup> ; Sakai et al. 1990 <sup>29)</sup>	Stem rot

**Table 2** List of the species of genus *Botryosphaeria* (anamorph : *Lasiodiplodia* and *Sphaeropsis*) used for molecular phylogenetic analysis

States		GenBank No.	Strain No. <sup>a)</sup>	Country of origin	Host
Teleomorph	Anamorph				
<i>Botryosphaeria obtusa</i>	<i>Sphaeropsis malorum</i>	AY236953	CMW 7774	USA	<i>Ribes</i> sp.
<i>B. rhodina</i>	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	AB426283	MAFF 240388	Japan	<i>Theobroma cacao</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	AY160214	—	USA	<i>Pinus nigra</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	AY160201	—	USA	<i>Pinus nigra</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	AF243400	—	Sri Lanka	<i>Theobroma cacao</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	AF027761	—	USA	<i>Quercus</i> sp.
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	AF027760	—	USA	<i>Pistacia</i> sp.
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	AF027762	—	USA	<i>P.</i> sp.
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103526	CMW 13510	Venezuela	<i>Acacia mangium</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103529	CMW 13496	Venezuela	<i>A. mangium</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103530	CMW 13464	Venezuela	<i>Eucalyptus urophylla</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103536	CMW 14701	Australia	<i>E. pellita</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103535	CMW 14702	Australia	<i>E. pellita</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103527	CMW 13520	Venezuela	<i>Pinus caribaea</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103528	CMW 13530	Venezuela	<i>P. caribaea</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103538	CMW 14693	Australia	<i>Santalum album</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103539	CMW 14690	Australia	<i>S. album</i>
<i>B. rhodina</i>	<i>L. theobromae</i>	DQ103540	CMW 14689	Australia	<i>S. album</i>
Unknown	<i>L. gonubiensis</i>	AY639594	CMW 14078	Africa	<i>Syzygium cordatum</i>
Unknown	<i>L. crassispota</i>	DQ103552	CMW 13488	Venezuela	<i>Eucalyptus urophylla</i>
Unknown	<i>L. crassispota</i>	DQ103550	CMW 14691	Australia	<i>Santalum album</i>
Unknown	<i>L. crassispota</i>	DQ103551	CMW 14688	Australia	<i>S. album</i>
Unknown	<i>L. rubropurpurea</i>	DQ103553	CMW 14700	Australia	<i>Eucalyptus grandis</i>
Unknown	<i>L. rubropurpurea</i>	DQ103554	CMW 15207	Australia	<i>E. grandis</i>
Unknown	<i>L. rubropurpurea</i>	DQ103555	—	Australia	<i>E. grandis</i>
Unknown	<i>L. rubropurpurea</i>	DQ103556	—	Australia	<i>E. grandis</i>
Unknown	<i>L. venezuelensis</i>	DQ103547	CMW 13511	Venezuela	<i>Acacia mangium</i>
Unknown	<i>L. venezuelensis</i>	DQ103548	CMW 13512	Venezuela	<i>A. mangium</i>
Unknown	<i>L. venezuelensis</i>	DQ103549	CMW 13513	Venezuela	<i>A. mangium</i>

<sup>a)</sup> MAFF: NIAS Genebank, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki, Japan. CMW: Tree Pathology Co-operative Program, Forestry and Agricultural Biotechnology Institute, University of Pretoria, South Africa

した分生子を柄付き針でかき取り、Shear 液 (2% 酢酸ナトリウム溶液 : 300 ml, グリセリン 120 ml, 95% エチルアルコール 180 ml) を封入液としてスライド標本作製、光学顕微鏡下で行った。また、分生子殻は、表皮ごと切り取り、徒手切片により内部構造を観察した。

さらに、種間や種内間の分類に利用される核内リボソーム DNA (rDNA) の Internally Transcribed Spacers (ITS) 領域を用い、DNA Data Bank of Japan (DDBJ) に登録されている数種 *Lasiodiplodia* 属菌 (テレオモルフ : *Botryosphaeria* 属菌) (Table 2) との分子系統解析を行った。DNA は DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) により抽出し、ITS 4 と ITS 5 プライマー<sup>30)</sup> を用いて PCR 反応を行った。塩基配列の決定には、Applied

Biosystems 3130/3130 xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いた。得られた DNA は、CLUSTAL X<sup>31)</sup> によりアライメントし、塩基配列を決定した。分子系統樹は、PAUP 4.0b を用い、*Botryosphaeria obtusa* (Schwein.) Shoemaker (anamorph : *Sphaeropsis malorum* Peck) (DDBJ No. AY236953) をアウトグループとして、近隣結合法<sup>32)</sup> で作成した。距離推定には Kimura 2-parameter モデル<sup>33)</sup> を用い、挿入・欠損を系統解析から除外した。系統樹の信頼性の評価にはブートストラップ法<sup>34)</sup> を用いて、1000 回繰り返して求めた。

##### 5) 菌叢の生育と温度

菌叢の最適な生育温度を確認するために、PDA 平板培

**Table 3** Comparison of the morphological characteristics of the cacao isolate with five related species of *Lasiodiplodia*

		Cacao isolate <sup>a)</sup>	<i>Lasiodiplodia theobromae</i> <sup>b)</sup>	<i>L. gonubiensis</i> <sup>c)</sup>	<i>L. rubro-purpurea</i> <sup>d)</sup>	<i>L. crassispora</i> <sup>d)</sup>	<i>L. venezuelensis</i> <sup>d)</sup>
Paraphysis		Aseptate	—	Aseptate	Aseptate	Septate	Septate
Thickness of immature conidial wall		Thick (> 2 μm)	—	Thick (> 2 μm)	Thin (< 2 μm)	Thick (> 2 μm)	Thin (< 2 μm)
Pycnidium	Color	Dark brown to black	Black	Leaden-black	Reddish-purple	Iron gray	Iron gray
	Surface	Villose	Villose	Fluffy	Fluffy	Smooth	Smooth
	Diameter (μm)	150-350	200	460	500-1500	500-1000	500-1000
Mature conidium	Size (μm)	17.5-31 × 10-15	25-35 × 12-15	28-39 × 14-21	24-33 × 13-17	27-33 × 14-17	26-33 × 12-15
	Number of septa	1	1	1-3	1	1	1

<sup>a)</sup> *Lasiodiplodia* on cacao from Ogasawara (Bonin Islands)

<sup>b)</sup> Saccardo 1895<sup>41)</sup>

<sup>c)</sup> Pavlic et al. 2004<sup>38)</sup>

<sup>d)</sup> Burgess et al. 2006<sup>35)</sup>

地上で約1ヶ月培養した菌叢をコルクボーラー（直径4mm）で打ち抜き、新しいPDA平板培地上に移植して、菌叢の生育を検討した。なお、5℃間隔で5~40℃に設定した恒温器内で倒置培養した菌叢の直径を5反復の平均値で計測した。

6) 数種熱帯果実への病原性

*Lasiodiplodia* 属菌は、熱帯・亜熱帯地域のさまざまな植物に病害を引き起こすことが知られている。そこで、日本で *Lasiodiplodia* 属菌による病害記録のある熱帯果樹のうち小笠原諸島で経済的に栽培されているパッションフルーツ (*Passiflora edulis* Sims), バナナ (*Musa sapientum* L.), パパイア (*Carica papaya* L.), マンゴー (*Mangifera indica* L.) の果実に対する分離菌を用いた病原性試験を行った。これら接種試験は上記で示した病原性試験と同様の手法で行った。

結 果

1) 発生状況・病徴および被害

2005年5月、東京都小笠原村父島の施設栽培カカオ (*Theobroma cacao* L.) に、果実の付け根部分から初め茶褐色~暗褐色の不整病斑を生じ、後に果実全体が腐敗する症状を観察した (Fig. 1A-C)。その後、腐敗した果実は落果するが、落下部位からの枝や幹への被害の進展は観察されなかった。

2) 病原性の確認

接種開始から3日後には有傷区、5日後には無傷区に原

**Table 4** Pathogenicity of cacao isolate to tropical fruits cultivated in Ogasawara islands<sup>a)</sup>

Plant name	Inoculated with Cacao isolate		Control	
	Wound	Intact	Wound	Intact
<i>Theobroma cacao</i>	++	+	—	—
<i>Carica papaya</i>	++	—	—	—
<i>Musa acuminata</i>	++	+	—	—
<i>Mangifera indica</i>	++	+	—	—
<i>Passiflora edulis</i>	—	—	—	—

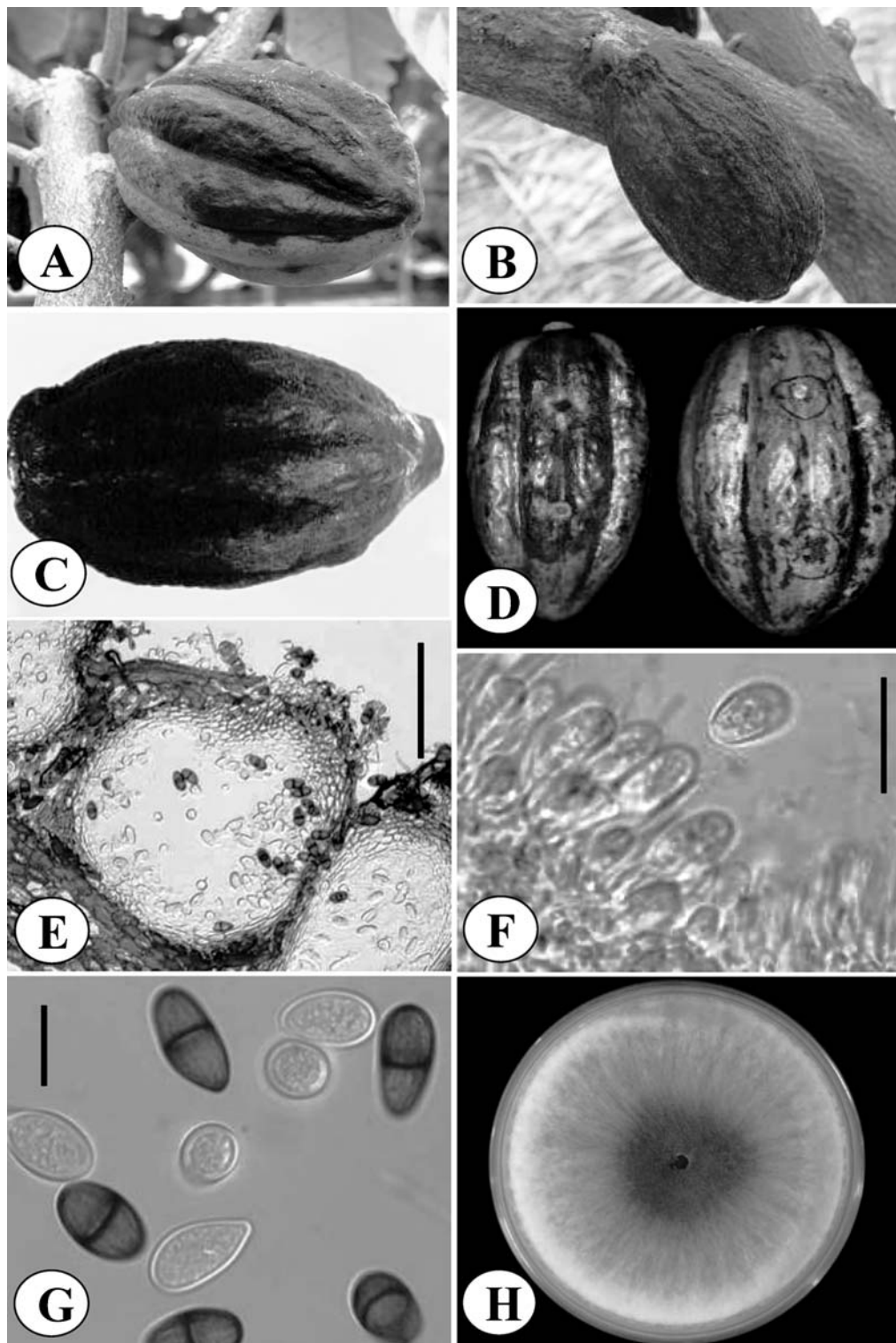
<sup>a)</sup> Observed three days after inoculation

<sup>b)</sup> Wound was produced by a bunch of needles

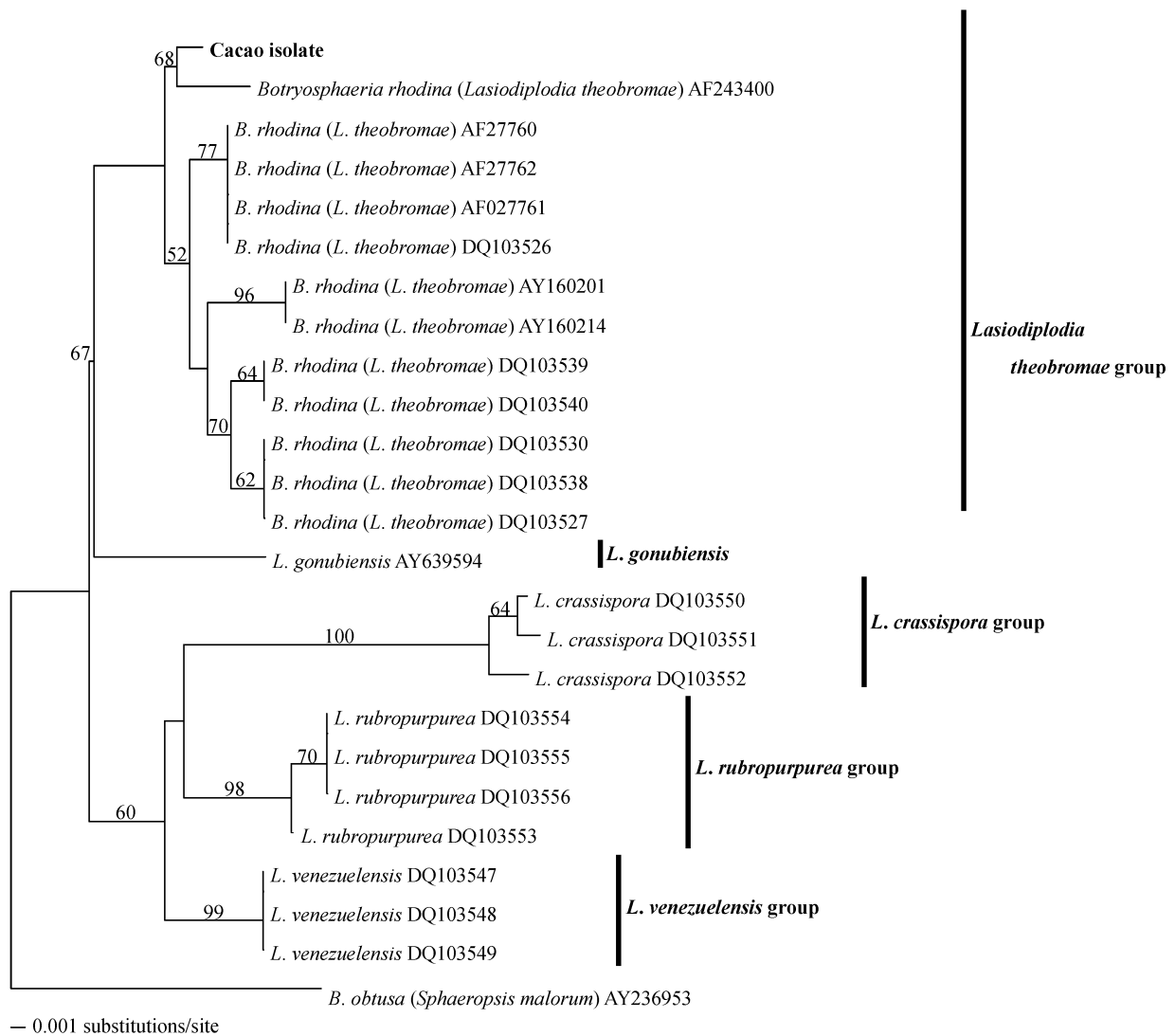
<sup>c)</sup> ++: Size of inoculated part was more than 5 cm; +: Size of inoculated part was 0-5 cm; —: No lesion was observed on the inoculated part

病徴が再現され接種菌が再分離された。その後、病斑は果実全体に広がり、すべての接種果実で腐敗症状が観察された (Fig. 1D)。この腐敗症状部には、多数の分生子殻が観察された。このことよりカカオに腐敗症状を起こす原因が、*Lasiodiplodia* 属菌によるものと確認された。





**Fig. 1** A : Pod rot on a cacao fruit found in Ogasawara Islands (Initial symptom)  
 B, C : Severe pod rot on cacao fruit found in Ogasawara Islands (Severe symptom)  
 D : Pod rot caused by inoculation observed 7 days after inoculation (left : inoculated plants, right : control)  
 E : Aggregated pycnidia on cacao fruit (scale bar : 100  $\mu\text{m}$ )  
 F : Conidiogenous cell in pycnidium (scale bar : 20  $\mu\text{m}$ )  
 G : Immature and mature conidia on cacao fruit (scale bar : 20  $\mu\text{m}$ )  
 H : Colony of the cacao fruit isolate incubated on PDA for 3 days at 25°C



**Fig. 2** Phylogenetic tree for genus *Lasiodiplodia* and the present species by neighbor-joining analysis of the ITS sequences rooted with a sequence of *Botryosphaeria obtusa* (anamorph: *Sphaeropsis malorum*) (GenBank No. AY236953) as an out group taxon. Numbers above nodes represent bootstrap intervals from 1,000 replications. Sequences were retrieved from the DDBJ under the accession numbers indicated.

### 3) 形態および分子系統解析による同定

果皮病斑上には子座は形成されず、分生子殻を単生～群生する。分生子殻は暗褐色～黒色、球形～類球形、幅 150–350 $\mu$ m、主に滑面、埋生から時に外生で、殻室内層には分生子柄が並び、全出芽型の分生子形成細胞から、分生子が放出される。側糸は隔壁を持たない。未熟な分生子は初め無色、単胞、楕円形、平滑、大きさ 20–27 $\times$ 11–13.5 $\mu$ m で厚い外壁を持ち、その後、暗褐色、2胞、細かい縦縞模様が入り、大きさ 17.5–31 $\times$ 10–15 $\mu$ m の完熟した分生子を形成する (Fig. 1E-G)。PDA 培地上での生育は極めて早く、菌叢ははじめ白色で、やがて培地を黒色に着色する (Fig. 1H)。なお、テレオモルフは観察されなかった。これらの形態的特徴から分離菌を、*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. と同定した<sup>35-41)</sup> (Table 3)。

また、本菌の ITS 領域 (GenBank No.: AB426283) を

用いて、数種 *Lasiodiplodia* 属菌 (テレオモルフ: *Botryosphaeria* 属菌) (Table 2) との分子系統解析を行ったところ、*Botryosphaeria rhodina* (Berk. & M.A. Curtis) Arx (アナモルフ: *L. theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl.) と同じグループに含まれ、その中でもカカオから分離された菌株 (GenBank No. AF243400) と単系統群であることが明らかとなった (Fig. 2)。

### 4) 菌叢の生育と温度

分離菌は 15–40 $^{\circ}$ C まで生育可能で、最適生育温度は 30 $^{\circ}$ C であった。また、約 2 日間で 90 mm 径シャーレ全体を覆うという、生育の速さが特徴的であった。

### 5) 数種熱帯果実への病原性

4 種の熱帯果実に対する病原性を検討したところ、マン

ゴー, パパイア, パナナにおいて有傷, 無傷に関係なく接種3日以内にはっきりとした病斑が形成され, 一週間で果実全体まで広がった。パッションフルーツでは病原性を確認できなかった (Table 4)。

## 考 察

東京都小笠原村父島の施設栽培カカオ (*Theobroma cacao* L.) に激しい果実腐敗を生じる新病害が確認され (Fig. 1A-C), 病原菌はその形態から *Lasiodiplodia* 属菌であると考えられた。本菌を用いた果実表面への接種では, 有傷, 無傷に関係なく病徴が再現され, 病原菌が再分離された (Fig. 1D)。1890年以降, 本病は主に熱帯・亜熱帯地域を中心に *Lasiodiplodia* canker や Pod rot などとして数多く記録されている病害であり, 病原菌は *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., 1種として知られてきた。しかし日本ではこれまでカカオを栽培しなかったため, その病害記録は無い。

ところが近年, *Lasiodiplodia* 属は詳細な形態の再検討や分子系統解析を基に, 2004年から2007年までの3年間に5新種 (*Lasiodiplodia crassispora* T. Burgess & Barber, *L. gonubiensis* Pavlic, Slippers & M.J. Wingf., *L. plurivora* Damm & Crous, *L. rubropurpurea* T. Burgess, Barber & Pegg., *L. venezuelensis* Burgess, Barber & Mohali) が追加され, これまでにない大きな分類学上の変革期を迎えている。そこで本研究では, 近年の分類体系に沿った形態および分子系統学的解析を用いて分離菌の同定を行った。小笠原のカカオ上の *Lasiodiplodia* 属菌は, 幅 150–350 μm で暗褐色から黒色の分生子殻内に, 隔壁の無い側糸と, 大きさ 17.5–31 × 10–15 μm で比較的きめ細かい縦縞模様をもつ完全した分生子を形成することから, 新しい4種ではなく *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. と同定された (MAFF 240388) (Table 3)。さらに rDNA 内の ITS 領域を用いた分子系統解析の結果からも分離菌 (AB426283) は, 上記の4新種ではなく, *L. theobromae* のグループ内で, カカオから分離された菌株 (AF243400) と単系統群を形成し, 形態学的同定結果を裏付けた (Fig. 2)。日本において *L. theobromae* は, 15種の果樹に記録があり (Table 1), そのうちパッションフルーツ, パパイア, パナナ, マンゴーは小笠原で商業的に栽培されている。そこで, これら4種熱帯果実に対する分離菌の接種試験を行った結果, マンゴー, パパイア, パナナで病原性が確認された (Table 4)。パッションフルーツでの病原性が認められなかった理由については不明であるが, 分離源による病原性の違いがある可能性もあることから, 今後, 多くの分離株による各種熱帯果実に対する接種試験を行う必要がある。

カカオにおける本病害は, これまで日本での報告がないため, 病名を *Lasiodiplodia* 果実腐敗病 (英名: *Lasiodiplodia pod rot*) と命名したい。

謝辞: 本研究を行うに当たり, 東京農業大学森林総合科学科矢口行雄博士および独立行政法人農業生物資源研究所

ジーンバンク佐藤豊三博士には多くのご助言を頂いた。ここに記してお礼申し上げる。

## 引用文献

- 1) 小林享夫, 1994. 熱帯の森林病害 (熱帯林造成技術テキスト6), pp. 166, 国際緑化推進センター, 東京.
- 2) 福田有希子・小野 剛・小林享夫・夏秋啓子・矢口行雄・廣岡裕史, 2007. カカオに発生した *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. による果実腐敗病 (新称), 日本植物病理学会報, 73, 40–41 (講要).
- 3) 日本植物病理学会編, 2000. 日本植物病名目録, pp. 857, 日本植物防疫協会, 東京.
- 4) 大和浩国, 1997. キウイフルーツの軟腐症状に関連する *Botryodiplodia theobromae* *Lasiodiplodia theobromae*, 日本植物病理学会報, 63, 526 (講要).
- 5) KOBAYASHI, T., 2007. Index of fungi inhabiting woody plants in Japan—Host, Distribution and Literature—Zenkoku-Noson Kyoiku-Kyokai, Publ. Co., Tokyo, pp. 1270.
- 6) 佐藤豊三, 1990. *Lasiodiplodia theobromae* による小笠原産熱帯作物の病害, 日本植物病理学会報, 56, 388–389 (講要).
- 7) 佐藤豊三, 1991. 導入作物の糸状菌病とその防除, 農業技術, 46, 489–494.
- 8) 佐藤豊三・岡田 元・長尾英幸, 1991. 小笠原諸島の微小真菌類, 第二次小笠原諸島自然環境現況調査報告書, 56–75.
- 9) NAGO, H. and MATSUMOTO, M., 1994. An ecological role of volatiles produced by *Lasiodiplodia theobromae*, Biosci. Biotech. Biochem., 58, 1267–1272.
- 10) 明日山秀文・山中 達, 1952. 落花生の莖腐れ病 (立枯病) に就いて, 日本植物病理学会報, 16, 89 (講要).
- 11) 矢口行雄・中村重正, 1987. パパイア軸腐病 (新称) について, 日本植物病理学会報, 53, 378 (講要).
- 12) 矢口行雄・中村重正, 1992. パパイア軸腐病 (新称) とその病原菌, 日本植物病理学会報, 58, 30–36.
- 13) MATSUSHIMA, T., 1975. Icones microfungorum a Matsushima lectorum. pp. 17, By the author, Kobe.
- 14) 日野隆之, 1977. 天津グりに *Diplodia* 菌, 九州植物防疫, 407, 3.
- 15) 佐藤豊三・岩本由美・富岡啓介・高江洲和子, 2002. *Lasiodiplodia theobromae* によるモロヘイヤ黒枯病 (新称), ウンシュウミカン幹腐れおよびタコノキ果実腐敗, 日本植物病理学会報, 68, 186 (講要).
- 16) SATO, T., IWAMOTO, Y., TOMIOKA, K., TABA, S., OOSHIRO, A. and TAKAESU, K., 2008. Black band of Jew's marrow caused by *Lasiodiplodia theobromae*. J. Gen. Plant Pathol., 74, 91–93.
- 17) 矢口行雄・植松清次・野島秀伸・小林享夫・中村重正, 1999. ピワの新しい果実腐敗, 黒腐病 (1) *Lasiodiplodia theobromae*, 日本植物病理学会報, 65, 409 (講要).
- 18) 小林享夫・小野泰典・古川聡子・西川盾士・中島千晴・廣岡裕史, 2007. 沖永良部島の樹木病害と病原菌, 森林防疫, 56, 171–186.
- 19) 河田 党, 1955. サツマイモの病害, 作物病虫害ハンドブック, pp. 190, 養賢堂, 東京.
- 20) 澤崎哲也・高江洲和子・田場 聡・諸見里善一, 2000. *Lasiodiplodia theobromae* によるマンゴー軸腐病 (新称), 日本植物病理学会報, 66, 99–100 (講要).
- 21) 小林享夫・小野泰典・古川聡子・西川盾士, 2006a. 与論島の樹木病害と病原菌 (I), 森林防疫, 55, 28–33.
- 22) 小林享夫・小野泰典・古川聡子・西川盾士, 2006b. 与論島の樹木病害と病原菌 (II), 森林防疫, 55, 56–63.
- 23) 平井篤造, 1938. 台湾産甘蕉の輸送中に於ける病害, 日本植



- 物病理学会報, 8, 67.
- 24) 弓木彩子・小林享夫・夏秋啓子・廣岡裕史・小野泰典, 2006. 数種糸状菌によるタコノキ果実腐敗病 (新称), 日本植物病理学会報, 72, 203 (講要).
- 25) YOKOYAMA, T., 1975. Descriptive catalogue of IFO fungus collection IV. IFO Res. Comm., 7, 113-142.
- 26) 小野 剛・中島千晴, 2005. 2種の熱帯果樹に発生した菌類病 パッションフルーツ軸腐病 (新称), パパイア褐斑病, 日本植物病理学会報, 71, 216 (講要).
- 27) 大和浩国, 1983. ナシのボトリオディプロディア枝枯病について, 日本植物病理学会報, 49, 401-402 (講要).
- 28) 上井憲治・長尾英幸・平野和弥・雨宮良幹, 1989. ヒメツルニチニチソウの茎枯病 (新称) について, 日本植物病理学会報, 55, 120 (講要).
- 29) 酒井 宏・長尾英幸・平野和弥・雨宮良幹, 1990. ヒメツルニチニチソウの茎枯病の病原菌について, 日本植物病理学会報, 56, 149 (講要).
- 30) WHITE, T.J., BRUNS, T., LEE, S. and TAYLOR, J., 1999. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322 In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNINSKY, J.J., WHITE, T.J., Academic Press Inc, New York.
- 31) THOMPSON, J.D., GIBSON, T.J., PLEWNIAC, F., JEANMOUGIN, F. and HIGGINS, D.J., 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res., 24, 4876-4882.
- 32) SAITOU, N. and NEI, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, Mycol. Biol. Evol., 4, 406-425.
- 33) KIMURA, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence. J. Mol. Evol., 16, 111-120.
- 34) FELSENSTEIN, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution, 39, 783-791.
- 35) BURGESS, T.I., BARBER, P.A., MOHALI, S., PEGG, G., BEER, W. and WINGFIELD, M.J., 2006. Three new *Lasiodiplodia* spp. from the tropics, recognized based on DNA sequence comparisons and morphology. Mycologia, 98, 423-435.
- 36) DAMM, U., CROUS, P.W. and FOURIE, P.H., 2007. Botryosphaeriaceae as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. Mycologia, 99, 664-680.
- 37) 小林享夫・勝本謙ら編, 1992. 植物病原菌類図説, pp. 685, 全国農村教育協会, 東京.
- 38) PAVLIC, D., SLIPPERS, B., COUTINHO, T.A., GRYZENHOUT, M. and WINGFIELD, M.J., 2004. *Lasiodiplodia gonubiensis* sp. nov., a new *Botryosphaeria* anamorph from native *Syzygium cordatum* in South Africa. Stud. Mycol., 50, 313-322.
- 39) PUNITHALINGAM, E., 1980. Plant diseases attribute to *Botryodiplodia theobromae*, In: Bibliotheca Mycologica. J. Cramer, Berlin.
- 40) SACCARDO, P.A., 1895. Sylloge Fungorum vol.11, Padova, p 522.
- 41) SUTTON, B.C., 1980. The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 696 p.



# Lasiodiplodia Pod Rot of *Theobroma cacao* L. Caused by *Lasiodiplodia theobromae*

By

Yukiko FUKUDA\*, Yuuri HIROOKA\*\*, Tsuyoshi ONO\*\*\*,  
Takao KOBAYASHI\* and Keiko T. NATSUAKI\*

(Received February 29, 2008/Accepted April 25, 2008)

**Summary** : Severe pod rot of cacao, *Theobroma cacao*, was observed at Chichijima, Bonin Islands, in May, 2005. The causal fungus was identified as *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. based on the morphological characteristics, inoculation experiments, and molecular phylogenetic analysis. Among the four tropical fruits cultivated in the Ogasawara Islands, cacao isolate showed clear pathogenicity on banana, mango and papaya fruits but not on passion fruit. This is the first report of Lasiodiplodia pod rot (kajitsufuhai-byô in Japanese) on cacao pods caused by *L. theobromae* in Japan.

**Key words** : Lasiodiplodia pod rot, *Lasiodiplodia theobromae*, New disease, *Theobroma cacao* L.

---

\* Department of International Agricultural Development, Tokyo University of Agriculture

\*\* Department of International Agricultural Development, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture  
(Present address ; United States Department of Agriculture, USA)

\*\*\* Ogasawara Subtropical Branch of Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center  
(Present address ; Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center)