

## 長崎県におけるイチゴ炭そ病菌の性状と同定

松尾 和敏 (長崎県総合農林試験場)

**Characteristics of *Colletotrichum fragariae* causing strawberry anthracnose in Nagasaki Prefecture.** Kazutoshi MATSUO (Nagasaki pref. Agricultural & Forestry Experiment Station, Isahaya, Nagasaki 854)

イチゴは近年需要の拡大と品質や生産性の向上によって、比較的安定した収入が見込める作物となっている。そのため栽培面積が全国的に増大しており、長崎県においては最も重要な施設野菜になっている。この増大の引金になったのは、1984年に従来の「麗紅」や「宝交早生」などの品種に比べて品質や生産性に優れた「とよのか」が登場したことや育苗方法としてポット育苗法が開発され、地床育苗法に比べ出荷の早進化が図られたことなどが考えられる。

しかし、この新しい品種や育苗技術が一挙に導入されるに伴って、育苗床や本圃でイチゴ炭そ病が多発し、苗不足や減収など大きな被害をもたらしている。本病はわが国では1969年に徳島県において初めて発生が確認された<sup>1)</sup>比較的新しい病害で、病原菌は *Colletotrichum fragariae* Brooks と報告されている<sup>17)</sup>。本病の発生生態および防除対策についてはこれまで研究が行われてきた<sup>3,8,9,10)</sup>が、1988年に岡山<sup>12)</sup>は奈良県での発病株に子のう殻の形成を認め、Von ARX<sup>15)</sup>の指摘に従って子のう胞子世代を *Glomerella cingulata* Spaulding et Schrenk, 分生胞子世代を *Colletotrichum gloeosporioides* と同定した。また、1989年に石川<sup>3)</sup>も栃木県での発病株や培地上に子のう殻の形成を認め、同様に同定した。

そこで、長崎県に発生する本病の防除技術確立に資するため本病菌の形態や性状を明らかにし、分類同定を行った。また、イチゴの各品種に対する病原性や各種薬剤に対する感受性を検討した。

なお、本研究を行うにあたり、病原菌の性状比較のため本病菌を分譲頂いた栃木県農業試験場石川成寿氏、奈良県農業試験場岡山健夫氏に深謝の意を表す。

### 材料および方法

#### 1. 供試菌株

##### 1) 長崎菌 (SC8705 菌)

1987年8月南高来郡愛野町、品種「とよのか」の罹病クラウン部から組織分離法により分離し、単胞子分離を

行って供試した。

##### 2) 栃木菌 (NM-1 菌)

栃木県農業試験場石川成寿氏より分譲、1988年品種「女峰」から分離。

##### 3) 奈良菌 (奈3 菌)

奈良県農業試験場岡山健夫氏より分譲、1988年品種「女峰」から分離。

### 2. 病原菌の性状と同定

#### 1) 分生胞子および剛毛の形態

PS 液体培地で28℃、14日間振とう培養して得た長崎菌の分生胞子懸濁液を二重ガーゼでろ過後、 $2 \times 10^5$ 個/mlに調整し、ポットに鉢上げした品種「とよのか」にハンドスプレーで株当たり25ml噴霧接種した。その後、28℃、湿室下に48時間置いたのち当試験場内のガラス室で管理し、接種14日後に葉柄の発病部分を観察した。

また、全供試菌株を PDA 斜面培地で、28℃、30日間培養したのち、分生胞子の形態を観察し、測定した。

#### 2) 菌糸の培地上における発育と温度

長崎菌と栃木菌について PDA 平板培地で28℃、3日間培養した菌そうの先端部分を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜いて PDA 平板培地に置床し、5、10、15、20、25、28、30、35および40℃の各温度下で培養した。各供試菌1温度区当たり5枚のペトリ皿を使用した。そして、培養72時間後と120時間後に菌糸の伸長を測定し、菌そうの色等を観察した。

#### 3) 分生胞子の形成量

長崎菌と栃木菌について、PS 液体培地を用いて28℃で振とう培養し、5日後と10日後に二重ガーゼでろ過後、分生胞子の濃度をトーマの血球計算板を用いて計数した。各供試菌3反復行った。

#### 4) 子のう殻の形成

全供試菌株について、PDA 斜面培地を用いて28℃で培養し、10、20および30日後に子のう殻の形成の有無を調査した。

### 3. イチゴ各品種に対する病原性

培養した各供試菌株の分生孢子懸濁液を仮植期の鉢上げ苗に噴霧接種して検討した。

### 1) 供試品種

「とよのか」, 「女峰」, 「麗紅」, 「宝交早生」および「ひのみね」の5品種について, 1988年11月中旬に植付けた親株から発生したランナーを5月に置きポット方式でポリポット(径10.5cm)に鉢上げて供試した。各品種20株, ただし, 「麗紅」は17株供試した。

### 2) 菌の接種方法

1988年6月26日, 長崎菌と栃木菌についてPS液体培地で28°C, 14日間振とう培養して得た分生孢子懸濁液を二重ガーゼでろ過後, 長崎菌は $2 \times 10^5$ 個/ml, 栃木菌は $1.6 \times 10^5$ 個/mlに調整し, ハンドスプレーで株当たり25ml噴霧接種した。その後, 28°C, 湿室下に48時間置いたのち, 当試験場内のガラス室で管理した。

### 3) 調査方法

7月3日(接種7日後)に全株について完全展開の上位3複葉の小葉および葉柄, さらに7月10日(接種14日後)に葉柄の発病を調べ, 発病率と発病度を算出した。調査基準は下記のとおりである。また, 7月3日(接種7日後)から1週間毎に8月21日(接種56日後)まで萎ちょう枯死株の発生を調査した。

#### <調査基準>

小葉 甚(A):病斑数31個以上

多(B): " 21~30個

中(C): " 11~20個

少(D): " 1~10個

葉柄 甚(A):大型病斑による葉柄の折れ, 萎ちょう

多(B):小型病斑5個以上, または中~大型病斑1~2個

中(C):小型病斑2~4個

少(D): " 1個

$$\text{発病度} = \frac{4A+3B+2C+D}{4 \times \text{調査数}} \times 100$$

## 4. 各種薬剤に対する感受性

全供試菌株についてPDA平板培地で28°C, 3日間培養した菌そうの先端部分を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜き, 各種薬剤をアセトンで溶解して100ppmの濃度になるよう添加したPDA平板培地(20%乳酸1滴加用)に置床し, 28°Cで72時間培養した。そして, 菌そうの直径を測定し, 薬剤無添加培地における菌糸の伸長を基準にして菌糸伸長抑制率を算出した。各供試菌, 1供試薬剤当たり5枚のペトリ皿を使用した。

また, ベノミル剤に対する感受性について, 同様に10~3,200ppmの9段階濃度の寒天平板希釈法で行った。そして, 培養48時間および96時間後に菌糸の発育の有無を調査した。

## 結果および考察

### 1. 病原菌の性状と同定

#### 1) 分生孢子および剛毛の観察

長崎菌による発病株上に無色, 長円, 単胞の分生孢子が観察され, 第1表のように大きさは長さが平均18.1 $\mu\text{m}$ (13.9~21.5 $\mu\text{m}$ ), 幅が平均5.4 $\mu\text{m}$ (3.8~6.8 $\mu\text{m}$ )であった。また, まれに褐色で1~3個の隔膜を有する剛毛が観察され, 長さは平均92.6 $\mu\text{m}$ , 幅が平均4.5 $\mu\text{m}$ (3.6~5.0 $\mu\text{m}$ )であった。しかし, 子のう殻の形成は認められなかった。

次に, 28°Cで30日間培養したPDA斜面培地上の長崎菌の分生孢子は, 第2表のように長さが平均13.8 $\mu\text{m}$ , 幅が平均5.0 $\mu\text{m}$ であり, 発病株上で観察される分生胞

第1表 イチゴ炭そ病菌分生孢子世代の形態

分離菌および報告者	分 生 胞 子		剛 毛		
	長 　　　　　幅	長 　　　　　幅	長 　　　　　幅	幅	隔膜数
	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	(個)
<i>C. fragariae</i>	16.4	4.8	115	4.3	1~2
Brooks(1931)	(14 ~21 )	(3.9~6.3)	( 97 ~142 )	(3.8~ 5.4)	
山本(1971)	16.4	5.3	100.3	3.7	0~3
	(13.5~20.0)	(4.5~6.3)	( 38 ~200 )	(3.5~ 5.0)	
岡山(1988)	17.0	5.1	60.0	4.1	0~1
	(16.3~21.3)	(3.8~6.3)	( 50.0~ 67.5)	(3.8~ 5.0)	
石川(1989)	17.4	5.3	171	10.0	2~3
	(16.5~22.0)	(3.8~6.6)	(161 ~186 )	( 8 ~12 )	
長崎菌	18.1	5.4	92.6	4.5	1~3
	(13.9~21.5)	(3.8~6.8)	( 66.0~117.2)	(3.6~ 5.0)	

第2表 培地上におけるイチゴ炭そ病菌分生胞子の形態

菌株名	長さ(μm)	幅(μm)	隔膜数(個)
長崎菌	13.8 (10.0~16.3)	5.0 (4.0~6.0)	0~1
栃木菌	14.8 (11.3~18.8)	5.8 (4.0~8.8)	0~2
奈良菌	13.8 (11.3~16.3)	4.8 (3.5~6.0)	0~1

子と比べると大きさがやや小型となり、隔膜を有するものが多数観察された。また、栃木菌や奈良菌も同様に、石川(1989)<sup>5)</sup>や岡山(1988)<sup>11,13)</sup>の発病株上の観察結果と比べて小型であり、隔膜を有するものが多く認められた。

## 2) 菌糸の培地上における発育と温度

長崎菌の培地上における菌糸の発育は25°Cで最も良く、次いで28°C、20°Cであり、栃木菌は28°Cで最も良く、次いで25°C、20°Cであった。また、両菌とも5°Cおよび40°Cではまったく発育せず、20°C以下および30°C以上では発育が劣った。さらに、生育適温中では、長崎菌に比べ栃木菌が良く生育した(第1図)。

次に、生育適温中の菌糸の色は長崎菌が白色であるのに対し、栃木菌は灰色~黒色を呈するものが多かった。また、栃木菌は菌糸の先端の菌糸が密で揃っているのに対し、長崎菌はやや粗で不揃いであった。菌糸の形態は両菌とも同じであったが、栃木菌が褐色であるのに対し、長崎菌は無色に近かった。

## 3) 分生胞子の形成量

PS液体培養中の分生胞子の形成量は、第3表のように長崎菌が栃木菌に比べて多く、異なっていた。

## 4) 子のう殻の形成

栃木菌は培地での培養10日後に子のう殻の形成が認められたが、長崎菌は30日後においても観察されなかった。奈良菌は30日後にわずかに形成した。

以上のように長崎菌は分生胞子世代の分生胞子および

第3表 液体培地におけるイチゴ炭そ病菌分生胞子の形成量

菌株名	培養日数	
	5日	10日
	(個/ml)	
長崎菌	$3.9 \times 10^6$	$4.2 \times 10^7$
栃木菌	$4.4 \times 10^5$	$7.8 \times 10^5$

剛毛の形態あるいは菌の発育温度が、BROOKS(1931)<sup>1)</sup>や山本(1971)<sup>17)</sup>の記載とほぼ一致したので、*Colletotrichum fragariae*と同定した。岡山(1988)<sup>11)</sup>や石川(1989)<sup>5)</sup>は奈良県や栃木県における分離菌を同様に*C. fragariae*と同定し、さらに発病株や培地上に子のう殻の形成を認め、Von ARX(1957)<sup>15)</sup>の*C. fragariae*は*C. gloeosporioides*に含まれる1つの異名であり、完全時代は*Glomerella cingulata*であるとする指摘に従って、両者とも子のう胞子世代を*G. cingulata*(Stoneman) Spaulding et Schrenk、分生胞子世代を*C. gloeosporioides* Penzigとした。

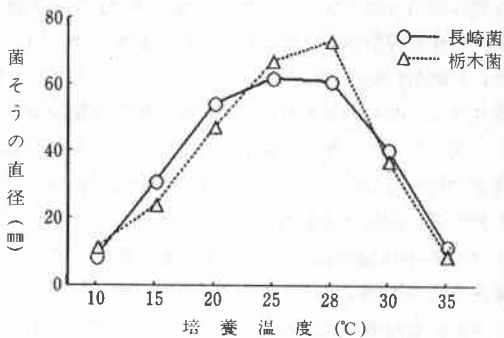
しかし、HOWARDら(1984)<sup>2)</sup>によれば*C. fragariae*は*C. gloeosporioides*と同じであるが、*C. gloeosporioides*のバイオタイプであるかについては研究者らによって保留されており、*C. gloeosporioides*は培地中に子のう殻を形成するが*C. fragariae*は形成しないとしている。また、分生胞子塊の色は*C. gloeosporioides*はやや白色か半透明であるのに対して*C. fragariae*は鮭肉色で、気生の分生胞子は*C. fragariae*が*C. gloeosporioides*より長くて産生が多いことなどから、本病には2種の病原菌が含まれているとしている。

したがって、長崎菌は発病株上や培養中に子のう殻の形成を認めないことや、液体培養中の分生胞子の形成量が栃木菌に比べると多いことなどから、*C. gloeosporioides*である栃木菌や奈良菌とは異なり*C. fragariae*と同定される。

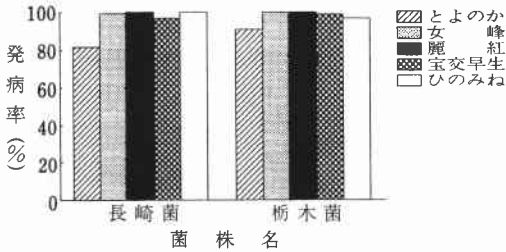
## 2. イチゴ各品種に対する病原性

長崎菌と栃木菌について、接種試験によりイチゴ各品種に対する病原性を比較検討した結果、第2~6図のように小葉および葉柄の病徴ならびに萎ちょう枯死の発生の推移はほぼ同じで、発病程度にも大差は認められなかった。品種間では概して「ひのみね」や「宝交早生」が両菌株に対して強く、次いで「とよのか」、「女峰」、「麗紅」の順であった。しかし、小葉においては「麗紅」より「女峰」の発病度が高い傾向にあった。

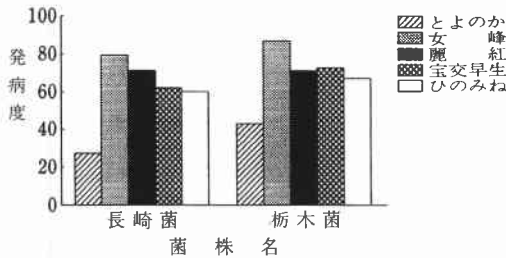
これまで本病の品種抵抗性については山本(1971)<sup>17)</sup>をはじめいくつかの報告<sup>3,5,7,9,11,13)</sup>があり、「宝交早生」を強いとする見解は多いが、その他の品種については見解が一致するものが少ない。とくに、今日わが国で主要



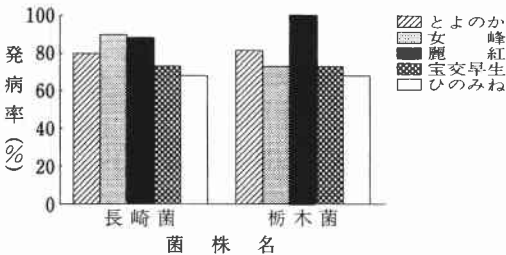
第1図 培地における菌糸の発育と温度



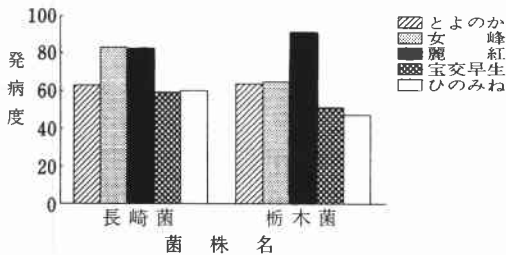
第2図 小葉の発病率の品種間差異



第3図 小葉の発病度の品種間差異



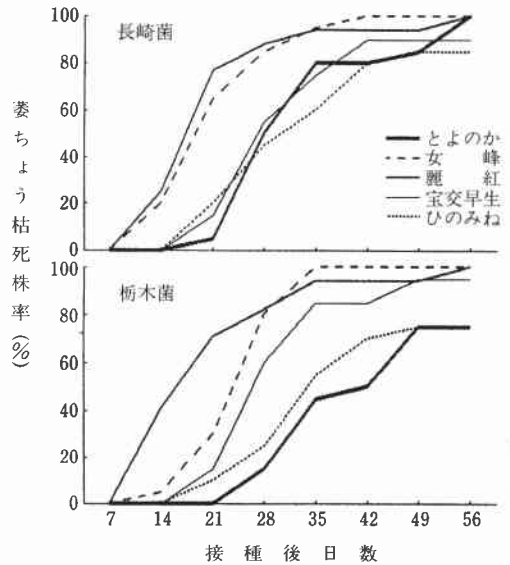
第4図 葉柄の発病率の品種間差異 (接種14日後)



第5図 葉柄の発病度の品種間差異 (接種14日後)

な品種になっている「とよのか」と「女峰」については、池田 (1987)<sup>3)</sup> は「麗紅」が弱く、「とよのか」は抵抗性がかなり強いとし、岡山 (1988, 1989)<sup>11,13)</sup> は「とよのか」、「麗紅」、「女峰」は罹病性で、この中で「とよのか」が最も弱く、次いで「麗紅」とした。また、石川 (1989)<sup>5,7)</sup> は「麗紅」に比べて「女峰」は弱く、「とよのか」はさらに弱いとした。

しかし、本研究では「麗紅」が最も弱く、次いで「女



第6図 萎ちよう枯死株率の品種別推移

峰」,そして「とよのか」は比較的強い結果となり、池田 (1987)<sup>3)</sup> とほぼ一致した。

この品種抵抗性への見解が異なる要因の一つとして、*C. fragariae* と *C. gloeosporioides* という病原菌の違いが考えられるが、両病原菌を同時に供試した本研究の結果から、このことは要因でないことが判明した。このことより HOWARDら (1984)<sup>2)</sup> や石川 (1989)<sup>6)</sup> がイチゴの苗土やポット土の窒素用量が多いほど炭そ病の発病程度が高くなると報告していることから、供試する各品種の栄養状態や苗令、出葉間隔の違いなどが、この品種間差異についての見解の違いをもたらす大きな要因ではないかと推察される。したがって、今後このことを明らかにするとともに的確な品種抵抗性検定法を確立する必要があると思われる。

### 3. 各種薬剤に対する感受性

3 供試菌株の薬剤に対する感受性を比較するとともに、有効な薬剤の選抜を行うため、培地に各種薬剤を添加し菌糸の伸長抑制効果を検討した。その結果、第7図のように長崎菌に対してはキャプタン剤、ピテルタノール剤、スルフェン酸系剤がきわめて高い菌糸伸長抑制効果を示し、次いでキノキサリン系剤、トリアジメホン剤が高い抑制効果を示した。しかし、栃木菌や奈良菌に対してきわめて高い抑制効果を示したペノミル剤やチオファネートメチル剤は長崎菌に対しては効果が低く、チオファネートメチル剤はまったく効果がなかった。

また、奈良菌ではプロビネブ剤、マンゼブ剤、キノキサリン系剤、ポリオキシシン剤において、他の長崎菌や栃

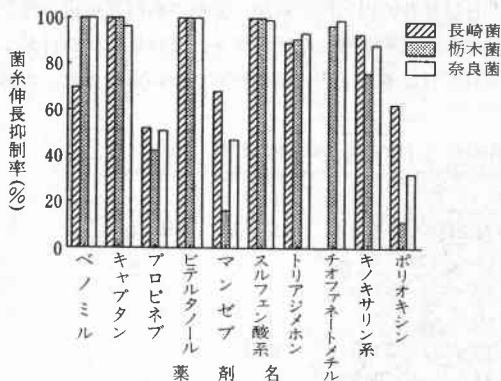
木菌に対してより抑制効果が低く異なった。なお、栃木菌に対しては石川 (1988)<sup>9)</sup> の培地上における同様な試験結果とほぼ一致した。

以上、本研究では *C. fragariae* である長崎菌と *C. gloeosporioides* である栃木菌と奈良菌を用いて培地上で薬剤感受性を検討した。その結果、各菌株の薬剤感受性はほぼ同じであったが、ベノミル剤、マンゼブ剤、チオファネートメチル剤、ポリオキシシン剤では異なった。

これまでも本病の薬剤防除についてはいくつかの報告<sup>3,4,5,8,11,13,14,17)</sup>があるが、薬剤によっては防除効果が異なっている。しかし、供試菌の分類同定がなされたものが少ないため、この2種の菌株間の感受性の相違については判然としない。また、本研究はこの2種の菌の薬剤感受性を同時に比較した初めての試験であるが、長崎菌については1分離菌株だけの検討であるため、この感受性の相違が各菌の潜在的な性質によるものか、あるいは薬剤耐性の変異によるものかについては言及しがたい。しかし、手塚ら (1988)<sup>10)</sup> がすでに静岡県における分離株においてベノミル剤に対する耐性菌の出現を認めていることから、長崎県における本病菌においても他の薬剤を含めてその可能性は高いと考えられる。

そこで次に、ベノミル剤に対する感受性を寒天平板希釈法で検討した結果、培養48時間後では、長崎菌は400ppmの濃度まで発育したが、栃木菌および奈良菌は10ppmにおいても発育しなかった。培養96時間後では、長崎菌は800ppmの濃度まで発育し、栃木菌は10ppmの濃度で発育した。しかし、奈良菌は10ppmでも発育が認められなかった(第4表)。

このように、3菌株間にはベノミル剤に対する感受性の違いが明らかに認められ、奈良菌および栃木菌は感受性がきわめて高いのに対し、長崎菌は低く、高度の耐性菌であることが明らかになった。



第7図 培地上における各種薬剤の菌糸伸長抑制率

第4表 各種分離菌株のベノミル剤に対する感受性

薬剤濃度 (ppm)	長崎菌		栃木菌		奈良菌	
	48hr <sup>a)</sup>	96hr	48hr	96hr	48hr	96hr
10	+	+	±	+	-	±
25	+	+	-	-	-	-
50	+	+	-	-	-	-
100	+	+	-	-	-	-
200	+	+	-	-	-	-
400	+	+	-	-	-	-
800	±	+	-	-	-	-
1,600	-	-	-	-	-	-
3,200	-	-	-	-	-	-

a) : 培養時間

さらにまた、現在本病に対して登録がある薬剤はプロピネブ剤だけであるため、長崎菌に対して培地上で菌糸伸長抑制効果が高かったキャプタン剤、ピテルタノール剤、スルフェン酸系剤、キノキサリン系剤については、圃場における防除効果や薬害など実用性について検討する必要がある。とくに、ピテルタノール剤やキノキサリン系剤は夏期の育苗床において本病と発生時期がほぼ同じうどんこ病に対して防除効果があるので、圃場において本病に防除効果が認められるならば同時防除が期待できると思われる。

以上、本研究では長崎県におけるイチゴ炭そ病菌の性状を栃木菌や奈良菌と同時に比較しながら明らかにしたが、1分離菌株だけの検討である。そのため、今後長崎県に発生する本病菌の分類同定、またベノミル剤などに対する薬剤感受性についても多数のかつ広範囲から採取した分離菌株を対象に検討することが必要と思われる。

## 引用文献

- 1) BROOKS, A.N. (1931) *Phytopathology* 21 : 739-744.
- 2) HOWARD, C.M. and ALBRECHTS, E.E. (1984) *Compendium of Strawberry Diseases*. The American Phytopathological Society 85-87.
- 3) 池田 弘 (1987) 九病虫研究会報 33 : 73-75.
- 4) 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎 (1988) 関東病虫研報 35 : 85-86.
- 5) 石川成寿 (1989) 今月の農業 33 : 120-123.
- 6) 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎 (1989) 昭和63年度関東東山試験研究成績・計画概要集.
- 7) 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎 (1989) 関東病虫研報 36 : 85-86.
- 8) 木曾 皓・野村良邦 (1984) 日植病報 50(1) : 105.
- 9) 小玉孝司 (1978) 関西病虫研報 20 : 89.
- 10) 野中福次・田中欽二・今村不二男 (1979) 九病虫研究会報 25 : 29-31.
- 11) 岡山健夫 (1988) 植物防疫 42 : 559-563.
- 12) 岡山健夫・辻本 昭・堀本圭一 (1988) 日植病報 54 : 353.
- 13) 岡山健夫 (1989) 奈良農試研報 20 : 79-86.
- 14) 手塚信夫・牧野孝宏 (1989) 関東病虫研報 36 : 92-94.
- 15) Von ARX, J.A. (1957) *Phytopath. Z.* 29 : 413-468.
- 16) 山本 勉・福西 務 (1970) 日植病報 36 : 165-166.
- 17) 山本 勉 (1971) 植物防疫 25 : 61-64.

(1990年4月27日 受領)