

## イチゴ炭そ病に関する研究 第5報 病原菌の諸性質とくに子のう殻について

石川成寿・萩原 廣\*・中山喜一・国安克人\*

### I 緒 言

イチゴ炭そ病菌の完全時代は、我国では現在までに、奈良県<sup>5)</sup>及び栃木県において確認されている。筆者ら<sup>3)</sup>は栃木県内の25地点から採集した本病菌について完全時代形成の有無を検討した結果、すべての採集株が完全時代を形成したと報告した。しかし、本病菌の伝染環における子のう殻の意義については不明な点が多い。また、筆者ら<sup>2)</sup>は先に炭そ病菌が子のう殻の形態で土壤中で越冬し、移植された無病のイチゴを発病させ、第一次伝染源になり得ることを報告した。しかし、本病菌の子のう殻の形成と温度との関係及び子のう殻、子のう胞子及び分生胞子の土壤中での生存については知られていない。そこで、子のう殻の形成と温度との関係、病原菌の形態別の土壤中での生存並びに病原菌の諸性質についても検討したので、その結果の概要を報告する。

### II 試験方法

#### 1. 病原菌の生育と水素イオン濃度との関係

供試菌株は二宮町物部から分離したNM-1菌株、栃木市大塚町から分離したTO-1菌株及び静岡県No.1菌株を用いた。この中で静岡県No.1菌株は、完全時代を形成しない菌株である。試験1ではPDA培地を用い、1規定HClとNaClによってpH 5~10に規正した。試験2ではWAKSMAN寒天培地を用い、1規定H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>とNaOHによってpH 5~10に規正した。各培地はpH規正後100℃で15分間殺菌した。これらの培地をそれぞれ10mlをペトリ皿に流して平板と

し、その中央にPDA平板培地に伸長した供試菌株の先端部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜き移植し、25℃の定温器に収めた。5日後に菌そう直径を測定し、培養10日後に分生子層の形成程度を分生子層極めて密生++++、密生+++、散生++、僅かに散生+、形成を認めずーに分けて調査した。いずれの実験も各区3個のペトリ皿を供試した。

#### 2. 本病菌の菌糸の致死温度

菌糸の致死温度について、湿熱及び乾熱の両区を設けて調査した。供試菌株はNM-1、静岡県No.1菌株を用いた。湿熱区は殺菌した試験管に殺菌蒸留水10mlを分注し、温浴中で所定温度に保ち、あらかじめ準備した直径5mmの菌そうを投入し、一定時間浸漬した。温度処理を行った試験管は水道水流を外壁に注いで急速に冷却した後、供試菌そうを白金耳で拾い上げて用意したPDA平板培地に移し、25℃の定温器に収め、培養7日後に菌糸の伸長の有無によって生死を判断した。乾熱区は空虚の試験管を用い、供試菌そうを試験管の管壁低部に位置させ処理した外は湿熱処理の場合と同じ要領で実施した。

#### 3. イチゴ炭そ病菌子のう殻の形成及び発達に及ぼす温度の影響

試験1：PDA平板培地上で、25℃で3日間培養したイチゴ炭そ病菌(NM-1菌株)を菌そうの周縁部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜いて含菌寒天を作成した。これをPDA斜面培地上に移植置床し、5.5、10.0、13.0、16.5、20.0、23.0、25.5、29.0、32.0、35.5、39.0、43.0℃の温度に保持した。試験は1989年6月23日から行い、15、24、50日後に、子のう殻の形成量、

\*農林水産省 農業研究センター

ピークの形状を肉眼観察するとともに、スライドガラス上で子のう殻を押し潰して子のう胞子の有無を光学顕微鏡観察した。

試験2：試験1と同様にして作成した含菌寒天を、5 cmに切断したイチゴランナーにはり付け接種し、25°Cの恒温室に3日間保って病斑を形成させた。それらのランナー3本を殺菌水を含んだ脱脂綿を底に入れて多湿条件とした試験管に収めて、試験1と同様の温度に保持し、子のう殻の形成及び発達状況を調査した。試験は1989年8月17日から行い、調査は試験1と同様の方法で行った。

4. 土壌中におけるイチゴ炭そ病菌の生存に及ぼす温度の影響

試験1：本試験では分生孢子、子のう孢子、菌糸及び子のう殻を検定材料とした。分生孢子はイチゴ炭そ病菌NM-1菌株及び静岡県No.1菌株を、子のう孢子はNM-1菌株を用い、孢子懸濁液を滅菌スライドガラスに点滴した。菌糸はNM-1菌株及び静岡県No.1菌株を供試して、駒田<sup>4)</sup>の方法により、菌スライドを作成した。供試土壌は栃木農試イチゴ栽培土壌の地表～地下5 cmの土壌を用いた。それらを水道水で土壌湿度を40%に調節し、容量300ccのポリエチレン製カップ（デスポカップ）に250cc入れ、乾燥防止のため上面をアルミホイルで覆った。この土壌中へ、上記菌スライドを病原菌付着面を傷めないように垂直に埋没した。

処理温度は-20, 5, 15及び25°Cとし、恒温室に0, 5, 10, 15, 30, 60日間収めた。ただし、菌糸の観察は15日後までとした。

試験2：本試験で用いた菌スライドはNM-1菌株の分生孢子懸濁液（ $4.6 \times 10$ 個/ml）を滅菌スライドガラスに噴霧した後風乾し、栃木農試のイチゴ栽培土壌を水道水で土壌水分40%に調節したもの及び風乾土を容量300ccのデスポカップの中へ250cc入れ、以下試験1と同様の方法手順で行なった。処理温度を5, 15及び

25°Cとした恒温室の中に0, 10, 20日間収めた。

試験3：ランナーにNM-1菌株の分生孢子懸濁液を接種し、25°C21日間培養し、子のう殻を形成させた。これを試験1と同様にして調節した土壌の表層または地表下3 cmの深さに埋め込み、所定温度下で30, 60, 150日間処理し、菌の検出を試みた。

調査方法 各処理後に菌付着面が傷まぬようにスライドガラスを掘り上げ、直径4 mmのPDA片を病原菌付着面に付着させ、硫酸ストレプトマイシン50ppm添加PDA培地に置床して、接種菌の検出を試みた。菌糸は駒田<sup>4)</sup>の方法に準拠し、スライドガラスを火焰固定、石炭酸・ローズベンガル液で3分間染色し、水洗した後、室内で自然乾燥させて顕微鏡観察した。また、ランナーは30, 60, 150日後に取り出し、組織から子のう殻を摘出し、硫酸ストレプトマイシン50ppm添加PDA培地に置床して検出した。

### III 結果及び考察

1. 病原菌の生育と水素イオン濃度との関係

試験1：PDA培地を用いた試験結果を第1表に示す。菌そう生育の最も良好であったpHはNM-1菌株及びTO-1菌株はpH7、静岡県No.1菌株はpH9であった。菌株間で結果はやや異なったが、pH5～10の間では顕著な伸長の差は認められなかった。分生子層の形成程度は、NM-1菌株pH9、TO-1菌株ではpH8, 9で多量に形成され、静岡県No.1菌株ではpH7で良好であった。分生子層の形成の形状は、NM-1菌株は散在したが、TO-1菌株はpH6で、静岡県No.1菌株はpH7で日輪状に形成された。供試菌株の中で、TO-1菌株が最も良好に分生子層を形成し、分生孢子を得るのに好適な菌株と考えられた。

試験2：WAKSMAN培地を用いた試験結果を第2表に示す。菌そうの発育程度はPDA培

第1表 イチゴ炭そ病菌の菌そう生育・胞子形成とpHとの関係 (PDA培地)

供試 菌株	PH 5		PH 6		PH 7		PH 8		PH 9		PH 10	
	菌そう 発育	胞子 形成										
	mm		mm		mm		mm		mm		mm	
NM-1	56	+	74	++	79	++	78	++	77	+++	74	++
TO-1	58	++	63	+++R	64	+++	62	++++	59	++++	57	+++
静岡県 No. 1	55	+	56	++	50	+++R	58	++	60	+	59	

注. 胞子形成程度は分生子層形成極めて密生 (++++), 密生 (+++), 散生 (++) , 僅かに散生 (+), 形成認めず (-).

R : 日輪状に形成.

第2表 イチゴ炭そ病菌の菌そう生育・胞子形成とpHとの関係 (WAKSMAN培地)

供試 菌株	PH 5		PH 6		PH 7		PH 8		PH 9		PH 10	
	菌そう 発育	胞子 形成										
	mm		mm		mm		mm		mm		mm	
NM-1	48	+	51	+	50	+	48	+	48	+	47	-
TO-1	41	-	44	-	52	-	53	-	47	±	46	±
静岡県 No. 1	38	-	39	-	40	-	37	-	37	-	38	-

注. 胞子形成程度は分生子層形成極めて密生 (++++), 密生 (+++), 散生 (+), 形成認めず (-).

地における結果とは異なり, 各菌株ともpH 7で良好であった. 分生子層の形成程度はPDA培地に比較して劣り, NM-1菌株ではpH 5~8まで僅かながら形成されたが静岡県No. 1菌株では形成が観察されなかった.

## 2. 病原菌の致死温度

本病菌の耐熱性の試験結果を第3表に示す. 供試菌は湿熱に対する抵抗性よりも乾熱に対する抵抗性が大きい傾向があった. NM-1菌株は湿熱及び乾熱で50℃-5分間で死滅すると考えられた. 静岡県No. 1菌株は湿熱50℃-10分間, 乾熱で50℃-5分間で死滅すると考えられた.

## 3. イチゴ炭そ病菌の子のう殻の形成及び発達に及ぼす温度の影響

試験1: PDA培地上における本病菌の子のう殻の発達過程を調査した. その結果を第4表に示す. 子のう殻の形成は, 16.5~25.5℃の温度範囲で15日後から認められ, 16.5~23.0℃で良好であった. ビークの発達は20.0~29.0℃で認められ, 23.0~25.5℃で著しかった. 子のう胞子は13.0~29.0℃の範囲で形成され形成量は16.5~20.0℃で多かった. 23.0~29.0℃では15, 24日後で認められたが50日後には認められなかった. これに対して13.0~16.5℃では15日後の形成は無かったが, 24, 50日後には形成量は増加

第3表 イチゴ炭そ病菌の菌糸の致死温度

供試 菌株	湿 熱								乾 熱							
	40		45		50		55℃		40		45		50		55℃	
	5	10	5	10	5	10	5	10分	5	10	5	10	5	10	5	10分
NM-1	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
静岡県 No.1	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-

注. + : 分離される. - : 致死または分離されない

した. 以上からPDA培地上では, 子のう胞子を内包した子のう殻は13.0~29.0℃の温度範囲で形成され, 子のう殻及び子のう胞子は20.0~25.5℃では早期に成熟し, 子のう胞子を放出し, 低温条件下では子のう殻及び子のう胞子の形成には長時間を要し, 子のう殻及び子のう胞子を徐々に形成させると考えられた.

試験2: イチゴランナー上における本病菌子のう殻の発達過程を調査した. その結果を第5表に示す. 子のう殻の形成は5.5~25.5℃の温度範囲で認められ, 29.0℃以上では認められなかった. 13.0~23.0℃で形成が良好であった. ピークの発達は16.5~25.5℃で認められ16.5~20.0℃で著しかった. 子のう胞子は10.0~25.5℃の範囲で形成され, 形成量は16.5~25.5℃で多かった. また, 20.0~25.5℃で15日後に形成が認められ50日後には認められなかった. これに対して10.0℃では24日後まで形成は認められず, 50日後には形成が認められた. 以上から, ランナー上では子のう殻及び子のう胞子は13.0~25.5℃の温度範囲では早期に成熟し, 20.0~25.5℃では子のう胞子を放出するので, 実際の栽培ほ場では第2次伝染源になり, 低温条件下では子のう殻及び子のう胞子の形成には長時間を要することから, 子のう殻及び子のう胞子を徐々に形成させ, 越冬源になるものと考えられた. また, PDA培地上における発達過程と比較すると, ランナー上ではより低温条件でも形成される傾

向にあった. 本病菌の菌糸は10~38℃の温度範囲で生育し, 生育適温は28℃前後である<sup>3)</sup>. これに対して, 本試験で得られた本病菌子のう殻の形成温度は13.0~29.0℃(PDA培地上)であり, 子のう殻の形成適温は16.5~23.0℃であり, 菌糸の生育適温に比較して低温であった.

本試験では子のう殻の発達程度の指標としてピークの形状及び内部の子のう胞子の形成について調査した. しかし, 子のう胞子の形成量は子のう殻の形成あるいはピークの形状とは必ずしも一致しなかった. 今後, 子のう胞子が認められなくなった子のう殻で子のう胞子が再度形成されるか, 変温条件下における子のう胞子の形成についても検討する必要があると考えられた.

#### 4. 土壌中におけるイチゴ炭そ病菌の生存に及ぼす温度の影響

試験1の結果を第6表に示す. 分生胞子と子のう胞子の間に温度及び期間による差は認められなかった. 25℃には10日後まで, 15℃では15日後まで検出され, その後は検出されなかった. 5℃及び-20℃では60日後まですべて検出された. 分生胞子及び子のう胞子のスライドグラス上での状態を検鏡したところ, 未発芽のままであった. 菌糸は埋没5日後には, 15℃, 25℃で菌糸の一部が溶菌し, 原形質が消失していた. 5℃ではバクテリアが菌糸周辺に認められたが, 形状は保っていた. 埋没10日後には5℃でも溶

第4表 PDA培地上におけるイチゴ炭そ病菌子のう殻の形成及び発達に及ぼす温度の影響

処 理 温度℃	子のう殻形成 <sup>a)</sup>			子のう殻のピークの形状 <sup>b)</sup>			子のう胞子形成 <sup>a)</sup>		
	15日後	24日後	50日後	15日後	24日後	50日後	15日後	24日後	50日後
5.5	-	-	-	0	0	0	-	-	-
10.0	-	-	-	0	0	0	-	-	-
13.0	-	+	+	0	1	1	-	-	+
16.5	+	++	+++	1	1	1	-	++	+++
20.0	+	+++	+++	1	1	2	+	+++	+
23.0	++	++	++	1	1	3	+	+	-
25.5	+	+	+	2	2	3	+	+	-
29.0	-	+	+	0	2	2	-	+	-
32.0	-	-	-	0	0	0	-	-	-
35.5	-	-	-	0	0	0	-	-	-
39.0	-	-	-	0	0	0	-	-	-
43.0	-	-	-	0	0	0	-	-	-

注1. a) - : 無, + : 少, ++ : 中, +++ : 多.

2. b) 0 : 子のう殻未形成, 1 :  , 2 :  , 3 : 

第5表 罹病ランナー上におけるイチゴ炭そ病菌子のう殻の形成及び発達に及ぼす温度の影響

処 理 温度℃	子のう殻形成 <sup>a)</sup>			子のう殻のピークの形状 <sup>b)</sup>			子のう胞子形成 <sup>a)</sup>		
	15日後	24日後	50日後	15日後	24日後	50日後	15日後	24日後	50日後
5.5	-	-	+	0	0	1	-	-	-
10.0	+	+	+	1	1	1	-	-	+
13.0	+	+	++	1	1	1	+	+	+
16.5	+	++	+++	1	1	3	++	++	+++
20.0	+	++	++	1	2	3	+++	++	-
23.0	++	++	++	1	2	2	++	+	-
25.5	+	+	+	1	2	2	++	+	-
29.0	-	-	-	0	0	0	-	-	-
32.0	-	-	-	0	0	0	-	-	-
35.5	-	-	-	0	0	0	-	-	-
39.0	-	-	-	0	0	0	-	-	-
43.0	-	-	-	0	0	0	-	-	-

注1. a) - : 無, + : 少, ++ : 中, +++ : 多.

2. b) 0 : 子のう殻未形成, 1 :  , 2 :  , 3 : 

第6表 土壤中におけるイチゴ炭そ病菌分生孢子及び子のう孢子の生存に及ぼす温度の影響

処理温度 ℃	菌の形態及び菌株	菌 検 出 の 有 無 <sup>a)</sup>					60日後の 土壤水分%
		0	5日後	10日後	15日後	30日後	
25	分生孢子(NM-1)	+	+	+	-	-	3.4
	(静岡No.19)	+	+	+	-	-	
15	子のう孢子(NM-1)	+	+	+	-	-	3.6
	(静岡No.19)	+	+	+	+	-	
5	分生孢子(NM-1)	+	+	+	+	+	3.4
	(静岡No.19)	+	+	+	+	+	
-20	分生孢子(NM-1)	+	+	+	+	+	3.9
	(静岡No.19)	+	+	+	+	+	
	子のう孢子(NM-1)	+	+	+	+	+	

注. <sup>a)</sup> + : 検出, - : 非検出.

第7表 土壤中におけるイチゴ炭そ病菌分生孢子の生存に及ぼす温度及び土壤水分の影響

処理温度 ℃	土壤水分 の多少	菌検出の有無 <sup>a)</sup>			20日後の 土壤水分%
		0日	10日後	20日後	
25	多	10/10	3/15	0/15	1.1
	少	10/10	14/15	0/15	3.8
15	多	10/10	3/15	3/15	1.1
	少	10/10	14/15	11/15	3.8
5	多	10/10	14/15	10/15	1.2
	少	10/10	15/15	13/15	4.1

注. <sup>a)</sup> イチゴ炭そ病菌の検出切片数/供試数.

菌が認められ、15、25℃では溶菌及び原形質の消失の進行が著しかった。埋没15日後には15℃、25℃ではほとんどの菌糸が消失した。Horn and Carver<sup>1)</sup>の行なった罹病残渣の埋没試験の結果と一致した。なお、NM-1菌株の菌附着スライドでは菌スライド作成中に形成された子のう殻が埋没15日後まで、全処理温度で本染色液により良く染色された。

試験2の結果を第7表に示す。25℃の場合、土壤水分の多少にかかわらず20日後には検出されなかった。5、15℃では20日後まで検出された。しかし、検出頻度は15、25℃では土壤水分

11%の区が土壤水分38%の区より低かった。土壤の乾燥条件は分生孢子の土壤中での生存に不利に働くものと考えられた。

試験3の結果を第8表に示す。ランナー上に形成させた子のう殻は25℃の土壤表面では30日後には検出されなかったが、-3cmでは60日後にも検出された。全供試温度で60日後まで子のう殻から本菌が検出され、5、15℃では150日後まで地表及び-3cmで検出できた。

本県の親株期間は4月中旬から7月下旬で、栃木分場（栃木市大塚町）での地下10cmの地温は約12~25℃であり、分生子層から飛散または土壤中の子のう殻から排出された分生孢子及び子のう孢子の形態でも比較的長く生存できると思われ、土壤から子苗に感染する可能性が示唆された。今後、本病菌の土壤中での生存については、ほ場条件下での長期間の検討が必要であると考えられた。

#### IV 摘 要

イチゴ炭そ病菌の子のう殻の形成、土壤中における生存について温度との関係及び本病菌の諸性質について検討し、以下の結果を得た。

1. イチゴ炭そ病菌NM-1菌株, TO-1

第8表 土壤中における罹病ランナー上のイチゴ炭そ病菌子のう殻の生存に及ぼす温度の影響

処理温度 ℃	埋没深さ	菌 検 出 の 有 無 <sup>a)</sup>				150日後の 土壌水分%
		0日	30日後	60日後	150日後	
2.5	0 cm	+	-	-	-	
	-3 cm	+	+	+	-	3.1
1.5	0 cm	+	+	+	+	
	-3 cm	+	+	+	+	3.3
5	0 cm	+	+	+	+	
	-3 cm	+	+	+	+	3.1
-2.0	0 cm	+	+	+		
	-3 cm	+	+	+		3.9

注. <sup>a)</sup> + : 検出, - : 非検出.

菌株はPDA培地ではpH7, 静岡県No.1菌株ではpH9で良く生育した. しかし, 各菌株ともpH5~10の間で顕著な伸長の差は認められなかった.

2. PDA培地上でNM-1菌株, TO-1菌株はpH6~9, 静岡県No.1菌株はpH7で分生子層を良く形成した. しかし, WAKSMAN培地ではNM-1, TO-1菌株は分生子層を散生し, 静岡県No.1菌株は形成しなかった.

3. イチゴ炭そ病菌NM-1菌株, 静岡県No.1菌株の菌糸は乾熱条件下で45℃-10分間で死滅し, 湿熱条件下ではNM-1菌株は45℃-10分間, 静岡県No.1菌株は50℃-10分間で死滅した.

4. PDA培地上における子のう殻の形成は16.5~23.0℃の温度範囲で良好であった. ピークの発達は23.0~25.5℃で著しかった. 子のう胞子の形成量は16.5~20.0℃で良好であった.

5. イチゴランナー上における子のう殻の形成は13.0~23.0℃で良好であった. ピークは16.5~25.5℃で良く発達した. 子のう殻はラン

ナー上ではPDA培地上より低温条件で形成される傾向であった.

6. 土壤中での分生胞子, 子のう胞子は25.5℃で10日間, 15℃で15日間まで検出された, 菌糸は15, 25.5℃では埋没5日後には溶菌した.

7. デスポカップ中で子のう殻は5℃及び15℃では地表部及び地表下3cmで150日間以上生存した.

#### 引用文献

1. Horn, H.I. and Carver, R.B. (1968) Phyto pathology 56:873 (Abstract).
2. 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎 (1989) 栃木農試研報 36:37~42.
3. 石川成寿・佐藤豊三・中山喜一・大兼善三郎 (1989) 栃木農試研報 36:25~36.
4. 駒田 旦 (1976) 東近農試研報 29:132~269.
5. 岡山健夫・辻本 昭・堀本圭一 (1988) 日植病報 54:353 (講要).

Studies on Anthracnose of Strawberry, *Fragaria* × *Ananassa* Duch  
(V) Physiological Characters of Strawberry Anthracnose with Special on Perithecium.

Seiji ISHAKAWA, Hiroshi HAGIARA, Kiichi NAKAYAMA and Katsuto KUNYASU.

Summary

The present examination were projected to study the effect of temperature, H-ion concentration, various media and formation of perithecium and survival in soil. The results are summarized as below.

1. Optimum H-ion concentration for growth of fungi on PDA medium were pH7 NM-1 and TO-1, Shizuoka pref.No.1 was pH9.

2. Optimum H-ion concentration for formation of acervuli on PDA medium were pH7~9 to NM-1 and TO-1, Shizuoka pref.No.1 was pH7. Acervuli of NM-1 and TO-1 dispersed, and Shizuoka pref.No.1 did not form acervuli on WAKSMAN medium. Shizuoka pref.No.1 formed acervuli ring-like on PDA medium.

3. The thermal inactivation time for mycelium of NM-1 and Shizuoka pref.No.1 were 10 min. at 45 °C in dry heat and in moist heat, that of NM-1 was 10 min. at 45 °C, and that of Shizuoka pref.No.1 was 10 min. at 50 °C.

4. For the formation of perithecium on PDA medium, the optimum temperature was 16.5~23.0°C. For the growth of beak on PDA medium, the optimum temperature was 23.0~25.5°C. The optimum temperature for ascospore formation was 16.5~20.0°C.

5. For the formation of perithecium on runner of strawberry, the optimum temperature was 13.0~23.0°C. For the growth of beak on PDA medium, the optimum temperature was 16.5~25.5°C. On runner of strawberry the formation of perithecium was observed in lower temperature than on PDA medium.

6. When introduced into soil in descup, conidia and ascospores survived for more than 10 days at 25.5°C and 15 days at 15°C. Hyphae lysed 5days after burying at 15°C and 25.5°C in soil.

7. When introduced into soil in descup, Perithecia survived for more than 150 days at 5°C and 15°C.

\* NATIONAL AGRICULTURE RESEARCH CENTER

{ Bull.Tochigi Agr.Exp.  
Stn.No37:133~140(1990) }