

イチゴ炭疽病の病原菌，生態ならびに環境に配慮した防除技術開発

石 川 成 寿

目 次

I 緒 言	1
II 研究史	2
III 発生実態ならびに病徴	2
1. 栃木県における多発年の発生実態	2
1) 1987年の発病状況調査	2
2) 1988年の発病状況調査	5
2. 病徴	5
1) 斑点型病斑の発生と葉位との関係	5
2) 葉に生じる大型病斑	5
3. 考察	7
IV 病原菌	8
1. 分類上の所属	8
1) 分離および完全世代形成	8
2. 分布調査	11
3. 病原性	12
1) 野菜および雑草に対する病原性	12
2) カワラケツメイおよびクサネムに対する病原性	13
3) 2, 3の鉢物類に対する病原性	15
4) ノズル散水によるイチゴとシクラメン間の相互寄生	16
5) 腐生生活	18
4. 培養的性質	20
1) 菌糸生育と温度との関係	20
2) 分生子の発芽率	20
① イチゴ煎汁液での発芽率および形態	20
② 数種植物煎汁液およびイチゴ栽培土壌混入液での発芽率	21
3) 分生子層形成と温度との関係	22
4) イチゴ葉上での発芽および付着器形成	22
5) 菌糸の致死温度	23
6) 子のう殻および分生子の死滅に要する温度と時間との関係	24
7) 菌糸生育と水素イオン濃度との関係	24
8) 子のう殻形成および発達に及ぼす温度の影響	27
9) 非根圏土壌中での生存に及ぼす温度の影響	27
5. <i>Colletotrichum acutatum</i> によるイチゴ炭疽病	31
1) 病徴	31
2) 供試菌株および病原性	31
3) 菌糸生育と温度との関係	32
4) 分類上の所属	32
6. <i>nit</i> 変異株の作出とその性質	34

1) <i>nit</i> 変異株作出培地および作出	-----	34
2) <i>nit</i> 変異株phenotypeの分類	-----	34
3) <i>nit</i> 変異株の病原性	-----	36
7. 考察	-----	36
V 発生生態	-----	39
1. 越冬形態	-----	39
1) イチゴ株での越冬	-----	39
2) 土壌中の罹病残渣での越冬	-----	40
3) <i>C.gloeosporioides</i> の <i>nit</i> 変異株での越冬	-----	41
(1) イチゴ株での越冬	-----	41
(2) 土壌中の罹病残渣での越冬	-----	42
(3) <i>nit</i> 変異株phenotypeの越冬後の安定性	-----	43
4) <i>C.acutatum</i> の <i>nit</i> 変異株での越冬	-----	43
(1) イチゴ株での越冬	-----	43
(2) 土壌中の罹病残渣での越冬	-----	45
(3) <i>nit</i> 変異株phenotypeの越冬後の安定性	-----	45
2. 分生子の飛散に及ぼす風と水の影響	-----	45
1) ヘアードライヤーを風源とした分生子飛散	-----	45
2) 発病葉柄に対する水滴滴下による分生子飛散	-----	46
3) 風洞内での分生子飛散	-----	46
4) 野外での分生子飛散	-----	48
3. 発生環境	-----	49
1) 温度と発病との関係	-----	49
2) 濡れ時間と発病との関係	-----	50
3) 土壌水分と発病との関係	-----	50
4) 窒素施用量と発病との関係	-----	51
4. 考察	-----	52
VI 品種系統間の発病差異	-----	53
1. 各年における品種系統間の発病差異	-----	53
1) 1988年における品種間の発病差異	-----	53
2) 1992年における品種系統間での発病差異および病徴	-----	54
3) 1993年における品種系統間の発病差異	-----	54
4) 1997年における品種系統間の発病差異	-----	56
5) 1998年における品種系統間の発病差異	-----	57
6) 1999年における品種系統間の発病差異	-----	57
2. 考察	-----	61
VII 防除方法	-----	62
1. 耕種および物理的防除方法	-----	62
1) 育苗期の雨除け栽培による防除効果	-----	62
2) 底面給水法による防除効果	-----	62
3) 嫌氣的発酵による罹病残渣の不活化	-----	63
4) 越冬期における嫌氣的発酵による罹病残渣の不活化	-----	66
5) バックサイロを用いた罹病残渣の大量不活化	-----	66
6) 嫌氣的発酵処理後における農薬残留量	-----	67
7) 汚染圃場に対する太陽熱利用熱水士壤注入法の防除効果	-----	68

8) 考察	69
2. 生物的防除方法	70
1) 拮抗糸状菌 <i>Chaetomium aureum</i> による防除効果	70
(1) 分類上の所属	70
(2) 菌株の選抜	71
① 同時対峙培養での菌糸生育抑制	71
② 培養後の対峙培養での菌糸生育抑制	71
③ 孢子発芽への影響	72
(3) 菌糸生育と温度との関係	73
(4) 致死温度と時間との関係	73
(5) 菌体摩砕液への子苗浸漬による防除効果	74
(6) 1992年における菌体摩砕液散布による防除効果	75
(7) 1993年における菌体摩砕液散布による防除効果	76
(8) 拮抗糸状菌の定着性	77
2) 拮抗糸状菌 <i>Talaromyces flavus</i> による防除効果	78
(1) 分類上の所属	78
(2) 菌株の選抜	79
(3) 菌糸生育と温度との関係	80
① PDAおよびWA培地上での菌糸生育と温度との関係	80
② IK-153水和剤由来菌糸の生育と温度との関係	81
(4) 菌糸生育と水素イオン濃度との関係	81
(5) 分生子発芽率に及ぼす温度と時間との関係	82
(6) 致死温度と時間との関係	83
(7) 1993年における菌体摩砕液散布による防除効果	84
(8) 1994年における菌体摩砕液散布による防除効果	85
(9) 1995年における菌体摩砕液散布による防除効果	86
(10) 拮抗糸状菌の定着性	86
3) 拮抗糸状菌 <i>T. flavus</i> の作用機作の解明	87
(1) 菌糸寄生の検討	87
① ベノミル耐性炭疽病菌に対する菌糸寄生	87
a 光学顕微鏡観察	87
b 走査電子顕微鏡観察	88
② イチゴ体上での菌糸寄生	88
③ 主要なイチゴ病原菌に対する菌糸寄生	89
a うどんこ病菌に対する菌糸寄生	89
b 多剤耐性灰色かび病菌に対する菌糸寄生	89
c 2000年における数種の病原菌に対する菌糸寄生	90
d 2002年における3種の病原菌に対する菌糸寄生	92
④ 他作物の主要病原菌に対する菌糸寄生	92
a 2000年における3種の病原菌に対する菌糸寄生	92
b 2001年における各種病原菌に対する菌糸寄生	93
⑤ 数種の担子菌類に対する菌糸寄生	95
⑥ <i>Gliocladium virens</i> に対する菌糸寄生	96
⑦ 葉面微生物および空中飛散菌の生育に及ぼす影響	97

a 葉面糸状菌の生育に及ぼす影響	-----	97
b 葉面細菌の生育に及ぼす影響	-----	97
c 空中飛散菌の生育に及ぼす影響	-----	97
(2) 培養苗へのリグニン沈着に及ぼす影響	-----	98
① 葉へのリグニン沈着に及ぼす影響	-----	98
② リグニン沈着に及ぼす拮抗糸状菌世代との関係	-----	98
③ リグニン沈着に及ぼす殺菌処理された拮抗糸状菌の影響	-----	99
④ 局所処理による他部位への影響	-----	100
⑤ 根へのリグニン沈着に及ぼす影響	-----	101
4) IK-153およびIK-154水和剤のイチゴ炭疽病防除効果	-----	102
(1) IK-153水和剤中の <i>T. flavus</i> の致死温度と時間との関係	-----	102
(2) IK-153水和剤中の <i>T. flavus</i> のイチゴへの定着性	-----	103
(3) 1996年におけるIK-153およびIK-154水和剤の防除効果	-----	104
(4) 1998年におけるIK-153水和剤の予防効果	-----	105
(5) 1998年におけるIK-153水和剤の治療効果	-----	106
(6) タラロマイセスフラバス水和剤散布時期と発病との関係	-----	107
5) タラロマイセスフラバス水和剤を基軸にした防除体系の確立	-----	108
(1) 防除効果	-----	108
(2) 防除体系内における定着率	-----	109
6) 考察	-----	113
3. 化学的防除方法	-----	115
1) 薬剤散布による防除効果	-----	115
2) 潜在感染株に対する薬剤浸漬による防除効果	-----	117
(1) 2種薬剤の防除効果	-----	117
(2) ベノミル水和剤の株浸漬による防除効果	-----	117
① 自然発生潜在感染株に対する防除効果	-----	117
② 人工接種株に対する防除効果	-----	118
(3) 潜在感染株に対する温度処理およびベノミル剤による防除効果	-----	118
3) 薬剤浸漬および灌注による防除効果	-----	120
(1) 促成栽培での防除効果	-----	120
(2) 半促成栽培での防除効果	-----	120
4) ベノミル耐性菌の発生状況	-----	121
(1) 1987年から1989年の調査	-----	121
(2) 1995年の調査	-----	122
5) 粒状薬剤による防除効果	-----	122
(1) 地床仮植育苗圃での防除効果	-----	122
(2) ポット育苗栽培での防除効果	-----	123
(3) プロベナゾール粒剤の施用方法の検討	-----	124
6) 土壌消毒による防除効果	-----	124
(1) 子のう殻に対する殺菌効果	-----	124
(2) 汚染圃場に対する防除効果	-----	126
7) 考察	-----	126
4. 潜在感染株の簡易診断法	-----	128
1) <i>G. cingulata</i> 潜在感染株に対する診断標徴の誘導	-----	128
(1) エタノール浸漬処理およびUV照射による標徴誘導	-----	128

(2) 誘導胞子塊の病原性	-----	129
(3) 胞子塊形成と温度との関係	-----	130
(4) 胞子塊形成と葉位との関係	-----	132
(5) 胞子塊形成と接種後日数との関係	-----	133
(6) 胞子塊形成に及ぼす菌株および品種間の影響	-----	134
2) <i>C. acutatum</i> 潜在感染株に対する診断標徴の誘導	-----	134
(1) 誘導標徴	-----	134
(2) 誘導胞子塊の病原性	-----	135
3) イチゴ輪斑病菌潜在感染株に対する診断標徴の誘導	-----	138
(1) 誘導標徴	-----	138
(2) 誘導胞子塊の病原性	-----	140
(3) 誘導標徴に対する水滴滴下による変化	-----	141
4) 潜在感染株に対するエタノール浸漬簡易診断法の現地適用	-----	141
(1) 露地育苗床における潜在感染株の拡大	-----	141
(2) 潜在感染葉採取元株の萎凋枯死株発生率	-----	143
(3) 現地収穫圃場定植苗への適用	-----	144
5) 考察	-----	145
VIII 総合考察	-----	148
摘要	-----	153
引用文献	-----	156
Summary	-----	164
写真説明	-----	168
写真	-----	171

I 緒 言

イチゴの栽培種は、北米東部原産の *Fragaria virginiana* と南米チリ原産の *F. chiloensis* とが18世紀にオランダで交雑された種間雑種に始まる。*F. virginiana* は、16世紀にヨーロッパに移入された。*F. chiloensis* は、ルイ14世のもとで展開された植物収集(Plant hunting)の結果、18世紀にチリからフランスに移入された。イチゴの学名は *Fragaria* × *ananassa* Duchesne であり、ヨーロッパに移入された *F. chiloensis* がオランダで他の *Fragaria* 属と交雑され、果実の形が *Ananassa* (パイナップル) に似ているため、*F. ananassa* と称される雑種が生れた。それを、フランスの園芸家 A. N. Duchesne が *F. ananassa* が *F. virginiana* と *F. chiloensis* の雑種であることを確認したことによる (Darrow 1965)。

日本では、イチゴはイチビと呼ばれ、*Rubus* 属のキイチゴやヘビイチゴなども含めた総称として用いられていた。枕草子には、イチゴが、あてなるもの(上品なもの)として登場し、「いみじううつくしきちごのいちごなどくひたる」と、イチゴを食べる様子がとても上品であると述べられている(1001年頃 清少納言)。しかし、ここに記載されているイチゴは、現在のイチゴではなく、キイチゴの類いと思われる。栽培種は、江戸時代末期にオランダから長崎に伝搬された。このことに由来して、オランダイチゴの別名もある。その後、日本でのイチゴ栽培は、多くの傑作品種と日本独自のビニルハウス栽培とともに発展した。イチゴは、昭和40年代から大衆果実となり、現在に到っている。

イチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*=*Colletotrichum gloeosporioides*) は、女峰、とよのかの2大品種の作付増加にともない全国で発生し、栽培を左右する Key pest になっている。1987年の栃木県を例にとると、仮植床での枯死株数は、200万株以上にのぼり、他県から緊急にイチゴ株を買い付ける状況であった。収穫圃では、栽植密度を粗くするなどして対応したが、収穫期に入っても萎凋枯死株が発生し、大きな被害を与えた(橋田ら1988)。そこで、イチゴ炭疽病について、病原菌の性状と発生生態および発病環境を詳細に調べ、その防除対策を種々検討し、栃木県育成品種である女峰およびとちおとめを始めとするイチゴの栽培安定を目的として行なった。特に、本病菌の生活史を明らかにし、イチゴ以外にも病原性を有することを明らかにした。本病菌の *nit* 変異株を作出し、生態研究の手法とした。研究の過程で *Colletotrichum acutatum* による炭疽病も発見し、我国初報告とした。イチゴ炭疽病罹病残渣に対する嫌気

的発酵処理が、圃場衛生向上方法として有効であること、雨除け栽培および底面給水法が第二次伝染防止に極めて効果的であることを実証した。また、最重要伝染源である潜在感染株の簡易診断方法も開発普及させた。さらに、本病菌に対する拮抗糸状菌を発見し、出光興産株式会社と共同研究を行い、世界初の生物農薬タラロマイセスフラバス水和剤の開発に成功した。本研究は、1988年～2003年栃木県農業試験場で実施した。

これらの研究の一部は、既に報告(石川1990, Ishikawa 2003, 2004a, 2004b, 石川・中山1991b, 石川ら1988, 1995, 1996, 1989a, 1989b, 1989c, 1989d, 1989e, 1989f, 1989g, 1990a, 1990b, 1990c, 1990d, 1991a, 1991b, 1992a, 1992b, 1993a, 1993b, 1994a, 1994b, 2001) したところである。

本論文を草するに当たり、宇都宮大学教授奥田誠一博士に懇切な御指導と御校閲を賜った。宇都宮大学名誉教授若井田正義博士、同寺中理明博士、同教授夏秋知英博士には、つねに暖かい御指導と激励を賜った。ここに謹んで深甚なる感謝の意を表する。

本研究を行なうに当たり、前栃木県農業試験場栃木分場長(現タイ王国ロイヤルプロジェクト) 赤木 博氏、宇都宮大学助教授福井 糧博士、独立行政法人農業技術研究所微生物生態ユニット長松本直幸博士、同農業技術研究機構東北農業研究センター野菜花き部長萩原 廣氏、同九州沖縄農業研究センター小板橋基夫氏、栃木県農業試験場野菜研究室室長石原良行氏、元農業研究センター土壌病害研究室長国安克人博士には、有益な御助言と御援助を頂いた。

栃木県農業試験場元場長三宅 信氏、故同元場長茂木 惣治氏、同元場長松浦永一郎氏、同元場長高橋 馨氏、同場長渋谷 修氏、前栃木県農業大学校校長篠川憲一氏からは、御鞭撻を賜った。栃木県南那須農業振興事務所所長大兼善三郎氏、栃木県農業試験場病理昆虫研究室室長中山喜一氏、同後藤知昭氏、那須農業振興事務所山崎周一郎氏、河内同事務所大野義文氏、芳賀同事務所植木正明氏、下都賀同事務所田村恭志氏、栃木県庁経営技術課鈴木 聡氏、栃木博美氏、同農政課上野臣一氏、常見譲史氏、農業環境指導センター野沢英之氏、安足農業振興事務所四方田純一氏、栃木農試応用生物研究室高野純一氏ならびに出光興産株式会社チームリーダー伊豆 進氏、同尾川新一郎氏、岩上直子氏、鳴滝昭彦氏、長嶋 協氏には、共同研究者として惜しめない研究協力をいただいた。各県農業試験場、園芸試験場の各位には病原菌の分譲、文献の収集等でお世話になった。当時関係研究室の方々からは、常に多大の労をあたえられ、特に斉藤芳彦氏は、実験準備、遂行などに協力助言を惜しまなか

った。また、栃木県内各地の農業振興事務所の方々には試料の採集ならびに現地試験に際して多大の御尽力をいただいた。これらの方々に衷心より深謝する。

II 研究史

病原菌

イチゴ炭疽病は、Brooks(1931)によって新種*Colletotrichum fragariae* Brooksによる新病害として報告された。その後、*Gloeosporium* spp. , *Colletotrichum dematium* (Persoon ex Fries) Grove および*C.acutatum* Simmonds ex Simmondsもイチゴに炭疽病を起こすと報告され(Mass1984, Simmonds1965, Smith and Black 1986), また、炭疽病に罹病したイチゴクラウン部から分離された*Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding & Schrenk が果実腐敗を起こすことが明かにされている(Howard and Albregts1984)。わが国では山本・福西(1970)が徳島県でイチゴ品種芳玉に発病を確認し、*C. fragariae*による初記録病害として報告した。病原性の検討は、Brooks(1931)がキンギョソウ、ハウレンソウ等で行ったのみで宿主範囲の検討はその後行われていない。また、*C.acutatum*による炭疽病は、我国では報告されていなかった。

病徴ならびに発生態

病徴は、クラウン部が侵される萎凋枯死症状、果実腐敗や葉、葉柄での斑点型病斑などが知られていた(Howard1972, 1983)。しかし、葉での大型病斑は報告されていなかった。本病菌(*C. fragariae*)の越冬形態は、Horn and Carver(1968)は保菌株で越冬し、発病土壌は伝染源にならないと考えた。山本(1970)は、汚染土壌、保菌株によって越冬し、第一次伝染源になると観察により推測した。また、岡山(1988)は、罹病残渣上の子のう殻によっても越冬すると考えた。本病菌の第二次伝染について検討はなく、山本(1970)は、他作物の炭疽病伝搬方法を参考に雨滴によって伝搬するのであろうと考えた。

品種間の発病差異

本病に対する品種間の発病差異について、山本(1970)は、芳玉は罹病性、宝交早生が抵抗性とした。小玉(1978)は、福羽、芳玉、麗紅が罹病性で、宝交早生は抵抗性とした。池田(1987)は、とよのかが麗紅より抵抗性であるとし、岡山(1988)は、宝交早生が抵抗性で、とよのかが、女峰は罹病性であるとした。Howard *et al.*(1992)は、イチゴ各部位の抵抗性を比較し、Pajaro, Irvine の走茎、葉、果実および根冠が罹病性で、Dover は各部

位で抵抗性であるとした。しかし、これら供試品種は、実勢に合っていない。また、育種素材である系統には検討が及んでいなかった。

防除方法

化学薬剤防除については、山本(1970)は鉢実験でダイホルタン、T P N、プロピネブ、トリアジン各水和剤の防除効果、木曾・野村(1984)は、マンゼブ、ポリカーバメイト、キャプタンおよびプロピネブ水和剤の予防効果、その後、池田(1987)は、それ等に加えてスルフェン酸系、グァザチン・ポリオキシシン水和剤も有効であるとした。岡山(1989a)は、ベノミル水和剤の株浸漬、土壌灌注が有効であるとした。しかし、省力的な粒剤による防除は未検討であった。また、土壌消毒では、臭化メチルの防除効果が認められていた(篠原・植松1989)。

耕種の防除の検討は少ないが、信夫・岡山(1990)は、親株の寒冷紗による被覆の防除効果を認めていた。

生物的防除は、世界的にも検討されていなかった。

潜在感染株の判別方法では、岡山(1993)は、検定株をポリエチレン袋に収め、28℃30日後に発病の有無で検定した。また、有江ら(1992)は、*C. fragariae* に対する抗体を作製し、寄主からの検出を試みたが実用化には至っていない。そこで、簡易な潜在感染株の診断方法の開発が強く求められていた。

III 発生実態ならびに病徴

1987年に栃木県中南部のイチゴ産地において、イチゴ品種女峰の仮植床を中心に、イチゴ炭疽病と考えられる萎凋枯死症状が発生し、大問題となった。そこで、1987年から1988年にかけて発生実態を把握し、本病の効率的な防除対策を確立するため発生状況調査を行なった。

1. 栃木県における多発年の発生実態

1)1987年の発病状況調査

調査方法

栃木県内各産地における発生経過および仮植床での発生状況について、聞き取り調査および発病調査を行なった。収穫圃については、1987年10月15日、19日、20日(定植2～3週間後)および11月12日(保温直後)に病徴、発生経過および枯死株率について調査した。

調査結果

(1) 病徴

本病の病斑は、走茎および葉柄上に発生しやすい。それらの上では少し陥没した紡錘形で、進展すると折損し、多湿時には病斑上に鮭肉色の分生子層由来の胞子塊を形成する。葉では、汚斑状の直径2～3mmの黒色斑点型の病斑を生じる(写真1)。これらの斑点型病斑は、秋期以降は赤紫色の斑点に変化する(写真2)。現地調査では、親株床、仮植床において斑点型病斑とは異なる葉縁部から進展し、典型的な葉枯れ症状を呈する大型の病斑が観察された。その病斑上には、鮭肉色の分生子層が多く形成された(写真3)。また、根冠部が侵されると萎凋枯死する。品種女峰およびとよのかに発生すると根冠部が侵され、萎凋枯死に至ることが多く、疫病の根冠部の症状と酷似する(写真4)。なお、現地圃場の発病株の枯死部および罹病残渣上には、小黒点状の子のう殻が形成される(写真5)。

(2) 発生経過

親株や子苗の枯死症状は、5月下旬頃から各地の親株床で観察され始め(写真6)、子苗の増殖が活発化する6月に、走茎や子苗での被害が認められた(写真7)。

その後、7月下旬から仮植床での萎凋枯死株の発生が観察され始め、7月20日以降に仮植された圃場で多発生する傾向であった(写真8)。また、発生最盛期は8月中～下旬に認められた。

本病の仮植床における発生状況を第1表に示した。本病の発生は全県下で観察され、仮植床面積275 haの内、発生面積は40.5ha(発生面積率14.7%)であった。特に、イチゴ主産地の芳賀郡で発生面積率が32%、下都賀郡で16%と高かった。親株床で発生が見られた圃場では、仮植床でも多発しており、また、親株床における防除が良く実施された圃場では、仮植床での発生は少ない傾向が認められた。

収穫圃における発生状況を第2表に示した。定植2～3週間後(10月中旬)の調査では、枯死株率が真岡市11%、二宮町5%と高かったが、他の地域での発生は少なかった。また、保温直後の11月12日の調査では、栃木市の一部および栗野町で多発生圃場が観察された。しかし、一般的には各地とも枯死株の発生は少なかった。また、収穫期の枯死株発生は、散見される程度であった。

第1表 1987年栃木県におけるイチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*) の仮植床での発生状況

調査場所	発生面積 (ha)	仮植床面積 (ha)	発生率 (%)
河内地区	1.2	1.7	7
上都賀地区	3.1	6.2	5
芳賀地区	22.1	6.9	32
下都賀地区	10.4	6.5	16
塩谷地区	0.18	9	2
那須地区	0.24	6	4
南那須地区	0.06	3	2
安蘇地区	1.15	2.3	5
足利市	2.1	2.1	10
合計	40.53	27.5	14.7

第2表 イチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*) の栃木県における定植後の枯死株発生状況

調査場所	調査時期			
	定植2～3週間後		保温直後	
	調査圃場数	枯死株率(%)	調査圃場数	枯死株率(%)
真岡市	6	11	1	0.1>
二宮町	12	5	9	0.1>
小山市	1	0		
栃木市			3	5
都賀町	8	0.1>	1	3
西方村	3	1	2	3
粟野町	1	0.1>	1	
喜連川町	1	0		
黒羽町	1	0		
佐野市	4	0		
足利市	1	0		

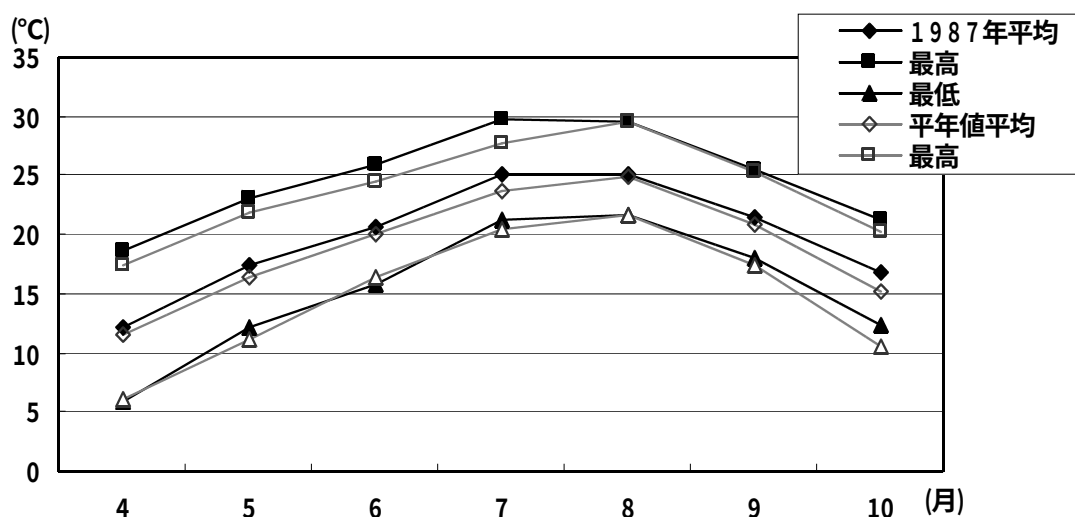
注) 調査は1987年に実施，品種は女峰．保温直後調査は11月12日．

(3) 気象経過

1987年栃木県宇都宮市の4月から10月の気温を第1図に示した．親株植え付けから定植までの全期間を通じて，平均気温は平年を上回った．特に，5月第4半旬から6月第2半旬は，高温に経過し，6月5日から9日の5日間は，最高気温が30℃を越えた．

梅雨期の降水量は，少なめであったが，まとまった降

雨であった．特に，最高気温が30℃を上回った．6月第2半旬のうち，6月9日には35.5mmのしゅう雨がかった．また，梅雨明けは，7月25日で平年より遅れ，それ以降も15日間は3，4日間隔にしゅう雨がかった．この期間は7月20日以降に仮植された苗の未活着時期であった．



第1図 1987年イチゴ炭疽病多発年の気温の推移

2)1988年の発病状況調査

調査方法

調査場所は、1987年に本病が多発した栃木県芳賀郡二宮町および下都賀郡都賀町の各3圃場とした。調査は、各圃場の50親株および500 仮植株について、定期的に発病株率を算出した。また、本病に対する各圃場の防除状況および収穫圃での発生状況についても聞き取り調査を行った。

調査結果

1988年における本病の発病調査結果を第3表に示した。親株床での発病は、二宮町A圃場が6月第6半旬から親株や走茎で認められ、都賀町B圃場でも7月第4半旬に認められた。仮植床では、8月第3半旬から萎凋枯死株の発生が認められ、8月第6半旬には6圃場ともに発生し、二宮町A、C圃場では、多発生となった。特に、二宮町A圃場では、定植後から収穫期に萎凋枯死株が多発生し、大きな被害を受けた。本病に対する防除は、二宮町A圃場を除く各圃場ともベノミル水和剤、チオファネートメチル水和剤による根部浸漬およびプロピネブ水和剤等の薬剤散布が行われた。しかし、収穫圃で多発生した二宮町のA圃場では、親株植え付け時の根部浸漬が行われず、また育苗床での防除も不十分であった。

2. 病徴

1)斑点型病斑の発生と葉位との関係

実験材料および方法

恒温室実験：栃木県農業試験場病理昆虫部恒温室で行った。供試イチゴは、完全展開葉を3枚に整えた女峰を用いた。培養土は、栃木県の育苗標準培養土(容積比で鹿沼土細粒2に対し籾殻燐炭1)を用いた。3号ポットには、本培養土を300 ml用いた。以後の実験では、特に断らない限り、供試株は本実験と同様に栽培したポット株を用いた。

供試株は、1988年9月18日、本病菌(*G.cingulata*, NM-1菌株)をブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天(PDA)平板培地で培養し、分生子懸濁液(5.0×10^5 個/ml)をペーパークロマトグラフ用噴霧器で噴霧接種した。以後、本接種方法を噴霧接種の常法とした。その後28℃、12時間照明の恒温室で管理した。水管理は、ポットを収穫パックに収め底面給水した。調査は、経時的に発生葉位と病

斑数を計数した。

ガラス室実験：栃木県農業試験場病理昆虫部ガラス温室で行った。供試材料は、恒温室実験と同様とした。接種後は、15～30℃のガラス室で管理した。調査は、恒温室実験と同様に行った。供試株数は、各々10株ずつとした。

実験結果

恒温室実験：斑点型病斑と発生葉位との関係を検討し、その結果を第4表に示した。

斑点型病斑は、接種4日後から発生した。発生葉位は、接種時の最上位葉および次葉に集中して発生した。また、接種後出葉した葉には、病斑は観察されなかった。

ガラス室実験：圃場条件に近い変温条件下での斑点型病斑と発生葉位との関係を検討し、その結果を第5表に示した。斑点型病斑は、接種4日後から接種時の最上位葉および次葉に発生した。特に、接種時の最上位葉に集中して発生したが、最下位葉には、発生しなかった。また、接種後出葉した葉には斑点型病斑は観察されなかった。斑点型病斑の発生は、感染時上位葉の柔らかい葉に発生することから気温が15～30℃の場合、感染時期(日前) = (斑点型病斑発生葉位 - 1) × 出葉期間(日) + 4日(潜伏期間)で算出できると考えられる。

2)葉に生じる大型病斑

実験材料および方法

1987年8月20日、栃木県栃木市大塚町品種女峰の親株床で、葉縁から黒色の葉枯れを生じ、病斑上に分生子層を盛んに形成する症状が観察された。それらから常法に従い組織分離を行った。組織分離は、供試材料を約3mm角に切り出し70%エタノール液に30秒間浸漬攪拌して、表面殺菌し、殺菌水で洗浄後直ちにPDA平板培地に置床する方法とした。以後、本方法を組織分離の常法とした。分離菌は、PDA平板培地で25℃5日間培養し、形成された分生子を単孢子分離し、TOL-01菌株、TOL-02菌株を得た。対照菌株は、葉に斑点型病斑を有する萎凋株根冠部由来のNM-1菌株とした。

接種実験は、9月1日に大型病斑由来の2菌株の分生子を1ml当たり 4.3×10^4 個に調整して品種女峰に噴霧接種した。接種後、ポリエチレン袋に収め25℃48時間多湿条件において発生病徴を観察した。

第3表 1988年栃木県におけるイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)多発年の発病株率推移

調査圃場	発病株率（％）								本圃における発病株率(％) ^a			
	6・5	6・6	7・3	7・4	8・1	8・3	8・6	9・4(月・半旬)	定植後	保温開始後	開花後	
二宮町A	【 0	2	4	4	】	[0	0.2	3	4] ^b	20	4	15
二宮町B	【 0	0	0	】	[0	0	0	1	2]	0.1	0	0
二宮町C	【 0	0	0	】	[0	0	0	6	7]	0	0	0
都賀町A	【 0	0	】	[0	0	0	0.2	0.2	0.2]	0	1	1
都賀町B	【 0	0	0	2	】	[0	0	0.2	0.2]	0.5	0	0
都賀町C	【 0	0	0	0	】	[0	0	1	1]	0	0	0.1

注) a:聞き取り調査による。

b: 【 】内は50親株調査，[]内は500仮植株調査。

第4表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)の斑点型病斑の発生葉位と接種後日数との関係

調査時の葉位	1葉当たりの病斑数(個)				
	0	1	3	4	7(日後)
第1葉	0	0	0	0	0
第2葉	0	0	0	10.3	17.6
(第1葉)					
第3葉	0	0	0	8.2	11.2
(第2葉)					
第4葉	0	0	0	1.5	4.0
(第3葉)					
第5葉	0	0	0	0	1.3
(第4葉)					

注) 28℃の陽光恒温温室で管理した。
供試株数10株。():接種時の葉位

第5表 変温条件下におけるイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)斑点型病斑の発生葉位と接種後日数との関係

調査時の葉位	1葉当たりの病斑数(個)				
	0	1	3	4	7(日後)
第1葉	0	0	0	0	0
第2葉	0	0	0	7.3	12.3
(第1葉)					
第3葉	0	0	0	0.3	1.2
(第2葉)					
第4葉	0	0	0	0	0
(第3葉)					
第5葉	0	0	0	0	0
(第4葉)					

注) 1988年9月18日接種，品種は女峰。
ガラス室温度15～30℃。
供試株数10株。():接種時の葉位

実験結果

大型病斑の再現実験結果を第6表に示した。接種実験の結果，供試3菌株とも接種4日後に上位葉に斑点型病斑が生じた。接種7日後には，斑点型病斑葉に葉縁部から大型の典型的な病斑が生じ，接種13日後には全大型病

斑上に分生子層が形成された。供試株は，接種3週間後に萎凋枯死した。斑点型および大型病斑から接種菌が再分離された。以上から，本病の葉での病徴は，斑点型および葉縁からの典型的な葉枯れ症状を示す大型病斑の2種類あることが明らかになった。

第6表 イチゴに対するイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)大型病斑由来菌株接種による原病徴再現

供試菌株	供試株数 (株)	斑点病斑発 生株数 (株)	大型病斑発生 小葉数 (枚)	分生子層形成 小葉数 (枚)
T O L - 0 1 菌株	3	3	8	8
T O L - 0 2 菌株	3	3	7	7
N M - 1 菌株	3	3	3	3
無 接 種	3	0	0	0

注) 接種は無傷噴霧接種とした。T O L 菌株は大型病斑由来。
 N M - 1 菌株は、斑点型病斑発生株の根冠部発病部位から分離。
 調査は接種13日後。

3. 考察

1987年の発病状況調査によると、イチゴ炭疽病(*G. cingulata*)による萎凋枯死株は、全栽培期間に発生し、特に仮植床で多く発生した。多発生地区の収穫圃での萎凋枯死株発生は、苗不足のため、発生程度の軽い罹病株や外観からは判別困難な潜在感染株が定植されたためと考えられる(橋田ら1988)。また、栽培者は、斑点型病斑が本病の病徴であると認識しておらず、防除対策が遅れたことも被害を拡大させた要因の一つと考えられる。なお、ベンズイミダゾール系薬剤の根部浸漬処理圃場の萎凋枯死株の発生が少ないことから、本病にも有効であると考えられる。

本病の発病適温は、25～35℃で病状進展が激しい(石川ら1990a)、また、本病菌分生子は、野外では、降雨および灌水により飛散伝搬するので(秋田1993b、石川1989f、1993a,b、岡山1993)、高温多雨は本病の発病蔓延を助長する。多発年である1987年の気温は、5月第4半旬から6月第2半旬が高温に経過した。特に、6月5日から9日の5日間は、最高気温が30℃を越え、かつ、6月9日には35.5 mmのしゅう雨があり、親株床での発病を助長したと考えられる。また、梅雨明けは、7月25日で平年より遅れ、梅雨明け後も3～4日間隔にしゅう雨がかった。この期間は、7月20日以降に仮植された苗

の未活着時期にあたり、感染には好適であったと考えられる。1987年の栃木県での本病の多発生は、親株床における防除が不十分であったこと、育苗期間が高温に経過し、かつ、しゅう雨、雷雨等の強い雨が多く、本病菌の増殖、伝搬に好条件であったことが主な要因となり、多発したと考えられる。

本病の発生病消長は、5月上旬親株床での走茎の発病、親株や子苗の萎凋枯死が認められ始める。その後仮植床では、降雨、灌水により蔓延し、萎凋枯死株が発生する。収穫期の萎凋枯死症状は、無病株の選別不徹底等により、イチゴ株に負担のかかる活着前、保温開始後および開花期～収穫期に感染株が発生する。

イチゴ炭疽病の葉における病徴は、山本(1971)によると直径2～3 mmの円形のうす汚れた病斑で、これが典型的な病斑に進むことは希で、人工接種では黒色の病斑が生ずることがあるとしている。また、Howard and Albregts (1983)は、斑点型病斑をBlack leaf spotとして報告し、圃場での大型の病斑については記載していない。本調査で観察した大型病斑は、山本(1971)の報告した人工接種で生じる黒色の病斑と同一のものと考えられるが、分生子層形成については記載していない。大型病斑再現実験において、根冠部由来菌株の接種でも生じることから、本病の新病徴であると考えられる。本大型病斑は、自然発生株にも容易に観察され、多数の分生子層

を形成するので、伝染源として重要であると考えられる。また、本病の感染時期推定に関する報告はない。しかし、葉における斑点型病斑の発生には、規則性があることが明らかになった。本病発生期(気温15~30℃)の斑点型病斑発生は、感染時の最上位葉に発生することから、感染時期(日数)=(斑点型病斑発生葉位-1)×出葉期間(日)+4日(潜伏期間)で算出でき、感染時期推定の有力な指標になると考えられる。

IV 病原菌

1. 分類上の所属

1) 分離および完全世代形成

実験材料および方法

1987年8月20日、栃木県芳賀郡二宮町物部および栃木市大塚町の品種女峰の発病根冠部から常法に従い組織分離を行なった。分離された*Colletotrichum*属菌は、単孢子分離を行ないNM-1、T0-01およびT0-02菌株と実験番号をつけ以下の実験に供した。

病原性検定は、含菌寒天はりつけ法および噴霧接種法で行なった。含菌寒天はりつけ法(高坂1965)は、PDA平板培地で4日間培養した菌そう周辺部を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜きイチゴ葉柄にはりつけた。本方法をはりつけ接種の常法とした。はりつけ法の無接種区は、素寒天(WA)平板培地のディスクのみをはりつけた。噴霧接種法は、本菌株をPD液体培地で25℃3週間振盪培養し、1ml当たり 3.9×10^4 個の分生子懸濁液を得て品種女峰に噴霧接種した。接種は、有傷および無傷接種とし、付傷は9本束の昆虫針で行なった。発病調査は、接種14日後に行なった。供試株数は各々3株とした。

病原菌の形態観察：形態観察は、NM-1、T0-01およびT0-02菌株をPDA平板培地上で25℃1ヵ月間培養して、培地上に形成された子う殻および子う胞子について行なった。不完全世代の形態観察には、PDA平板培地上の菌体および発病走茎を用いた。

実験結果

病原菌の分離と接種：供試菌株の病原性検討結果を第7表に示した。噴霧接種で接種4日後に葉および葉柄に斑点型病斑が生じ、接種2週間後には根冠部が黒褐変色し、萎凋枯死した。人工接種による病徴は、自然発病圃

場で観察される葉、葉柄および根冠部の原病徴と一致した。また、これらの病斑からは接種菌が再分離された。

病原菌の完全世代形成の確認：NM-1菌株、T0-01菌株はPDA斜面培地上で25℃2週間培養後に小黑点を形成し、検鏡の結果これは子う殻であった。子う殻中の子う胞子から得た単孢子分離菌株と分離源であるNM-1菌株、T0-01菌株とを比較したところ両菌株は菌そうの性状が等しく、ともにPDA培地上に同一形態を有する子う胞子と分生子を形成したことから、同根であることが明らかになった。

子う胞子由来菌株の病原性検定結果を第8表に示した。供試菌株の有傷および無傷の含菌寒天はりつけ接種および噴霧接種により、原病徴が再現され、接種菌が再分離された。また、同菌の子う殻は、自然発病株の罹病残渣上にも容易に観察された。

病原菌の形態および分類上の所属：本病菌の完全世代形態観察結果を第9表に示した。PDA平板培地上での本病菌菌そうは、生育良好で綿毛状、初め白色~淡灰緑色、後に灰色~暗灰褐色を呈する。子う殻は、黒色の球形ないし洋梨形で、集生あるいは散生し、頂部は嘴状に突出しており、大きさはNM-1菌株で、直径97~161μm(平均123μm)、T0-01菌株で直径95~170μm(平均126μm)である(写真9)。嘴状部は黄白色で、子う殻の下部は、組織中に埋没している(写真10)。子う殻の内部には多数の子うが形成され、子うは、一重壁の長楕円形で、大きさはNM-1菌株が48~73×14~16μm(平均62×15μm)、T0-01菌株が46~70×14~16μm(平均61×15μm)、充実した子うの中には8個の子う胞子がらせん状に詰まっている(写真11)。子う胞子は、無色、単胞でわずかに屈曲しており、大きさはNM-1菌株が、15~20×7~9μm(平均16~8μm)、T0-01菌株が15~21×7~9μm(平均16~8μm)である。

本病菌不完全世代の形態観察結果を第10表に示した。分生子層は、大きさ0.2~0.5mmで鮭肉色粘塊状を呈する。分生子は円筒形で両端が丸く、無色、単胞、大きさは17~22×4~7μm(平均17~5μm)(写真12)、分生子層には褐色の剛毛がよく観察された(写真13)。付着器は、褐色で根棒状または不整形で、直径はNM-1菌株およびT0-01菌株で15~17μmである。

以上の結果から、本病菌をArx(1957)およびSutton(1980)の検索表に従い、Arx(1957)の記載した *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding & Schrenk (不完全世代: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Saccardo)と同定した。

第7表 イチゴに対する分離菌株の病原性

供試菌株	接種方法		供試株数 (株)	発病株数 (株)
NM-1 菌株	含菌寒天 ^a	有傷	3	3
		無傷	3	3
	噴霧接種	有傷	3	3
		無傷	3	3
TO-01 菌株	含菌寒天	有傷	3	3
		無傷	3	3
	噴霧接種	有傷	3	3
		無傷	3	3
TO-02 菌株	含菌寒天	有傷	3	3
		無傷	3	3
	噴霧接種	有傷	3	3
		無傷	3	3
無接種	含菌寒天	有傷	3	0
		無傷	3	0
	噴霧接種	有傷	3	0
		無傷	3	0

注) a: 含菌寒天はりつけ接種法.

**第8表 イチゴに対するイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*)
子のう胞子由来菌株の病原性**

供試菌株	接種方法		供試株数 (株)	発病株数 (株)
NM-1	含菌寒天 ^a	有傷	3	3
		無傷	3	3
	噴霧接種	有傷	3	3
		無傷	3	3
TO-01	含菌寒天	有傷	3	3
		無傷	3	3
	噴霧接種	有傷	3	3
		無傷	3	3
無接種	含菌寒天	有傷	3	0
		無傷	3	0
	噴霧接種	有傷	3	0
		無傷	3	0

注) a: 含菌寒天はりつけ接種法

第9表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)完全世代の大きさの比較

病原菌	子のう殻 (μm)	子のう		子のう胞子		子のう 胞子数
		長さ(μm)	幅(μm)	長さ(μm)	幅(μm)	
本病菌 NM-1 菌株	97 ~161 (123) ^a	48 ~73 (62)	14 ~16 (15)	15~20 (16)	7 ~9 (8)	8
TO-01 菌株	95 ~170 (126)	46 ~70 (61)	14 ~16 (15)	15~21 (16)	7 ~9 (8)	8
<i>G. cingulata</i> (Arx 1957)	85 ~300	42 ~60 (35 ~80)	10 ~12 (8 ~14)	12~24 (9~30)	4 ~6 (3 ~8)	8
(岡山 1988)	110 ~170 (128)	50 ~72.5 (59)	7.5~12.5 (9.4)	16 ~17.5 (17.3)	5 ~5.5 (5.5)	8

注) a:嘴状部を含めると NM-1菌株で250 μm (199~298 μm)，TO-01 菌株で252 μm (202~300 μm)。
() は主要な大きさまたは平均値。

第10表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)不完全世代の大きさの比較

病原菌	分生子		剛毛	剛毛		付着器 (μm)
	長さ (μm)	幅 (μm)		長さ (μm)	幅 (μm)	
本病菌 NM-1菌株	17~22 (17)	4 ~7 (5)	2~3	161 ~186 (171)	8 ~12 (10)	15~18
TO-01菌株	17~21 (16)	4 ~7 (5)	2~3	160 ~184 (169)	8 ~11 (10)	15~18
<i>Colletotrichum fragariae</i> (Brooks 1931)	14~21 (16.4)	3.7 ~6. (4.8)	1~2	97 ~142 (115)	3.8 ~5.4 (4.3)	—
(山本 1971)	13.5 ~20.0 (16.4)	4.5~6.3 (5.3)	1~3	38 ~200 (100.3)	3.0 ~5.0 (3.7)	—
(岡山 1988)	16.3 ~21.3 (17.0)	3.8~6.3 (5.1)				—
<i>C. gloeosporioides</i> (Arx 1957)	12 ~19	4 ~6				—

注) () は主要な大きさまたは平均値

2. 分布調査

調査方法

○1988年栃木県内調査

1988年4月下旬～9月下旬に栃木県内の主要栽培地から本病発病株を採集し、常法により病原菌を分離した。それら菌株をPDA斜面培地上に移植し、30日後に検鏡して子のう殻形成の有無を調査するとともに、病原性を含菌寒天はりつけ接種法によって確認した。供試菌株数は、1地点3～5菌株とした。

○1989年全国および栃木県内調査

1989年以降、病害診断依頼イチゴ株から分離を行ない菌株を採集した。同時に、福島県、福岡県3菌株、群馬県4菌株、茨城県、静岡県、三重県、奈良県から2菌株および長崎県1菌株の分譲を受け実験に供した。

調査結果

○1988年栃木県内調査

結果を第11表に示した。1988年、全ての分離菌株は、子のう殻を形成した。また、現地圃場では、発病株および罹病残渣上に子のう殻形成が観察された。

第11表 栃木県各地から分離されたイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)の完全世代形成の有無

採取地	採集月日	有無	採取地	採取月日	有無
大田原市 佐久山	8月16日	+(4/4) ^a	佐野市 並木	9月26日	+(5/5)
喜連川町 松田	8月16日	+(4/4)	佐野市 伊保内	9月26日	+(5/5)
喜連川町 下河戸	8月16日	+(4/4)	佐野市 飯田	9月26日	+(5/5)
氏家町 富野岡	8月8日	+(5/5)	足利市 川崎	9月26日	+(5/5)
小川町 小川	8月16日	+(3/3)	足利市 梁田	9月26日	+(5/5)
宇都宮市 下金井	8月16日	+(5/5)	二宮町 阿部品	9月26日	+(4/4)
鹿沼市 加蘇	8月26日	+(5/5)	二宮町 横田	5月18日	+(4/4)
鹿沼市 磯	8月26日	+(5/5)	二宮町 長沼	5月18日	+(4/4)
西方町 金崎(1)	8月26日	+(5/5)	二宮町 物井	5月18日	+(5/5)
西方町 金崎(2)	8月26日	+(5/5)	真岡市 飯貝	5月18日	+(5/5)
都賀町 家中	8月14日	+(5/5)	真岡市 中	5月18日	+(3/3)
都賀町 赤塚(1)	8月14日	+(5/5)	益子町 田野	5月18日	+(5/5)
都賀町 赤塚(2)	8月27日	+(5/5)			

注) a: (完全世代形成菌株数/供試菌株数)。

+: 完全世代が形成される。-: 完全世代が形成されない。

日付はすべて1988年。供試品種は女峰。

○1989年全国および栃木県内調査

結果を第12表に示した。1990年分離の栃木市大塚菌株(品種：とよのか)および都賀町家中分離菌株(品種：女峰)は、完全世代を形成しなかった。他県分譲菌株では、長崎県Sc8704菌株およびイチゴ品種女峰から分離した静

岡県№1, №19菌株、三重県一志、オバタ菌株で完全世代を形成しなかった。なお、両年の供試菌株は、イチゴに対して病原性を有していた。

第12表 日本各地から採集されたイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)の完全世代形成の有無

採集地		供試品種	有無	採集地		供試品種	有無
栃木県							
都賀町	家中	女峰	+(5/ 5) ^a	福島県	女峰	+(3/3)	
都賀町	家中	女峰	±(5/15)	福島県	麗紅	+(2/2)	
都賀町	赤塚	女峰	+(5/ 5)	群馬県	女峰	+(4/4)	
栃木市	大塚	とよのか	-(0/ 6)	茨城県	女峰	+(2/2)	
佐野市	並木	アイビー	+(5/ 5)	神奈川県	女峰	+(3/3)	
佐野市	伊保内	女峰	+(5/ 5)	静岡県	女峰	-(0/2)	
佐野市	飯田	女峰	+(5/ 5)	奈良県	女峰	+(2/2)	
足利市	川崎	女峰	+(5/ 5)	三重県	女峰	+(3/3)	
二宮町	久下田	女峰	+(5/ 5)	長崎県	とよのか	-(0/1)	

注) a: (完全世代形成菌株数/供試菌株数)。

+: 完全世代が形成される。-: 完全世代が形成されない。

±: 両世代が分離される。

採集および分譲菌株の検討は、1989年以降随時行なった。

3. 病原性

Brooks(1931)は、*C. fragariae*の宿主範囲を検討し、イチゴのみに病原性があるとしたが、イチゴ以外の植物に対する病原性の検討は不十分である。そこで、イチゴ圃場周辺の雑草および作物に対する病原性を検討した。また、Howard and Albregts(1973)が、宿主として示唆しているCoffeeweedと同属のカワラケツメイおよび近縁のクサネムに対する病原性も検討した。

1) 野菜および雑草に対する病原性

実験材料および方法

供試植物は、トマト(品種：桃太郎)、ナス(品種：千両2号)、ピーマン(品種：土佐グリーン)、キュウリ(品種：貴婦人)、メロン(品種：プリンスメロン)、スイカ(品種：縞王)、カボチャ(品種：つるなしやっこ)、ユウガオ(品種：しもつけしろ)、ニラ(品種：グリーンベルト)およびイチゴ(品種：女峰)とした。雑草は、スズメノテッポウ、セイヨウタンポポ、ハルジオン、キツネアザミ、オランダミミナグサ、ハコベ、ウシハコベ、ヤエムグラ、アカザ、キツネノボタン、ミツバツチグリおよびヘビイチゴの合計10科22種とした。

接種方法は、本病菌NM-1菌株をPDA平板培地で25℃3日間培養し、含菌寒天をはりつけ接種した。対照は、病原菌を含まないWA片をはりつけ接種した。接種は、

有傷および無傷接種を行なった。供試植物は、接種後24時間ポリエチレン袋に収め、接種4日後に含菌寒天を除き、25～35℃のガラス室内で管理した。発病調査は、14日後に行なった。さらに、はりつけ接種で病原性が認められた供試植物は、1988年9月8日に前培養した本病菌分生子懸濁液(7.3×10^4 個/ml)を点滴接種した。接種植物は、28℃12時間照明の陽光恒温器に収め、病原性の有無を調査した。

実験結果

本病菌の宿主範囲について検討し、結果を第13表に示した。含菌寒天はりつけ有傷接種では、ナス、キュウリ、スイカ、カボチャ、ユウガオおよびミツバツチグりに自然発病イチゴに生じる紡錘形の病斑が観察された。イチゴでは有傷無傷にかかわらず発病した。それらの病斑からは、本病菌が再分離された。

点滴接種による病原性検定結果を第14表に示した。点滴接種では、有傷接種においてもキュウリ、スイカ、カボチャ、ユウガオおよびミツバツチグりに対する病原性が認められなかった。イチゴでは、有傷、無傷にかかわらず発病し、病原性が認められた。

2) カワラケツメイおよびクサネムに対する病原性

実験材料および方法

実験は農林水産省農業研究センター土壌病害研究室で行なった。供試植物は、カワラケツメイ属カワラケツメイ(*Cassia nomame* (Sieb.) Honda)、クサネム属クサネム(*Aeschynomene indica* L.)とした。供試菌株は、*G. cingulata* NM-1菌株、T0-01菌株および*C. gloeosporioides* 静岡県№1菌株とした。接種は、1989年8月1日に含菌寒天はりつけ法および噴霧接種法で行なった。噴霧接種は、前培養した供試菌株分生子を1ml当たり 3.2×10^4 個に調整して行なった。供試株は、接種後24時間ポリエチレン袋に収め、15～30℃のガラス室に置き管理した。接種は、有傷と無傷の2処理とした。調査は、接種10日後に発病程度を、－：病斑の形成なし、＋：長径10mm未満の病斑、++：長径10mm以上20mm未満の病斑、+++：長径が20mm以上の病斑に程度別に類別した。供試株数は、各々5株とした。

実験結果

本病菌のカワラケツメイおよびクサネムに対する病原性を検討し、実験結果を第15表に示した。供試菌株は、含菌寒天はりつけ有傷接種で病原性が認められた。子のう殻は、接種2週間後に病斑上に形成され、そこから接種菌が再分離された。NM-1およびT0-01菌株は、静岡県№1菌株より発病程度が大きかった。しかし、含菌寒天はりつけ無傷接種および噴霧接種の有傷および無傷接種では、病原性が認められなかった。

第14表 数種の植物に対するイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 点滴接種による病原性

供 試 植 物 (学名、品種名)	接種 方法	接種数	発病数
キュウリ (<i>Cucumis sativus</i>) (貴婦人)	有傷	5	0
	無傷	5	0
スイカ (<i>Citrullus lanatus</i>) (縞王)	有傷	5	0
	無傷	5	0
カボチャ (<i>Cucurbita pepo</i>) (つるなしやっこ)	有傷	5	
	無傷	5	0
ユウガオ (<i>Lagenaria siceraria</i>) (しもつくり)	有傷	5	
	無傷	5	0
ミツバツチグリ (<i>Potentilla freyniana</i>)	有傷	5	0
	無傷	5	0
イチゴ (<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i>) (女峰)	無傷	5	5

第13表 イチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) の各種植物に対する含菌寒天はりつけ接種による病原性

供試植物 (学名)	品種名	接種 方法	接種 数	発病 数	発病 程度
トマト (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	桃太郎	有傷	5	0	
		無傷	5	0	
ナス (<i>Solanum melongena</i>)	千両2号	有傷	4	4	+
		無傷	4	0	
ピーマン (<i>Capsicum annuum</i>)	土佐グリーン	有傷	5	0	
		無傷	5	0	
キュウリ (<i>Cucumis sativus</i>)	貴婦人	有傷	5	2	+
		無傷	5	0	
メロン (<i>Cucumis</i> spp.)	グリーンメロン	有傷	5	0	
		無傷	5	0	
スイカ (<i>Citrullus anatus</i>)	縞王	有傷	5	5	+
		無傷	5	0	
カボチャ (<i>Cucurbita moschata</i>)	つるなしやっこ	有傷	5	5	++
		無傷	5	0	
ユウガオ (<i>Lagenaria siceraria</i>)	しもつけしろ	有傷	5	5	
		無傷	5	0	+
ニラ (<i>Allium tuberosum</i>)	グリーンパルト	有傷	5	0	
		無傷	5	0	
スズメノテッポウ (<i>Alopecurus aequalis</i>)		有傷	5	0	
セイヨウタンポポ (<i>Taraxacum officinale</i>)		有傷	5	0	
ハルジオン (<i>Erigeron philadelphicus</i>)		有傷	5	0	
キツネアザミ (<i>Hemistepta lyrata</i>)		有傷	5	0	
オランダミミナグサ (<i>Cerastium glomeratum</i>)		有傷	5	0	
ハコベ (<i>Stellaria media</i>)		有傷	5	0	
ウシハコベ (<i>Myosoton aquaticum</i>)		有傷	5	0	
ヤエムグラ (<i>Galium spurium</i> var. <i>echinospermon</i>)		有傷	5	0	
アカザ (<i>Chenopodium amaranticolor</i>)		有傷	5	0	
キツネノグサ (<i>Ranunculus silerifolius</i>)		有傷	5	0	
ミツハツチガリ (<i>Potentilla freyniana</i>)		有傷	5	4	+
		無傷	5	0	
ハレイチ (<i>Duchesnea chrysanthia</i>)		有傷	5	0	
		無傷	5	0	
イチゴ (<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i>)	女峰	有傷	5	5	++
		無傷	5	3	++

注) + : 長径 10 mm 未満の病斑，++ : 長径 10 mm 以上の病斑．

第15表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)のカワラケツメイおよびクサネムに対する病原性

供試植物(学名)	供試菌株	接種方法	発病株数/供試株数(株)	発病程度
カワラケツメイ (<i>Cassia nomame</i>)	NM-1 菌株	含菌寒天 ^a	有傷 5/5	+++
			無傷 0/5	
		噴霧接種	有傷 0/5	—
			無傷 0/5	
	TO-01 菌株	含菌寒天	有傷 5/5	+++
			無傷 0/5	
		噴霧接種	有傷 0/5	—
			無傷 0/5	
	静岡県№1 菌株	含菌寒天	有傷 4/5	++
			無傷 0/5	
		噴霧接種	有傷 0/5	—
			無傷 0/5	
クサネム (<i>Aeschynomene indica</i>)	NM-1 菌株	含菌寒天	有傷 5/5	+++
			無傷 0/5	
		噴霧接種	有傷 0/5	—
			無傷 0/5	
	TO-01 菌株	含菌寒天	有傷 5/5	+++
			無傷 0/5	
		噴霧接種	有傷 0/5	—
			無傷 0/5	
	静岡県№1 菌株	含菌寒天	有傷 4/5	++
			無傷 0/5	
		噴霧接種	有傷 0/5	—
			無傷 0/5	

注) a: 含菌寒天はりつけ接種

b: —: 病斑の形成なし, +: 長径10mm 未満の病斑, ++: 長径10mm 以上20mm 未満の病斑, +++: 長径20mm 以上の病斑.

3) 2, 3の鉢物類に対する病原性

イチゴ4株とした。調査は、接種10日後に発病株数、接種14日後に枯死株数を計数した。

実験材料および方法

1990年7月7日、栃木農試病理昆虫部ガラス室で実験を行なった。供試植物は、シクラメン(品種: あけぼの)、ペゴニア(品種: Lucerna) シンビジウム(品種: Gold enlime)およびイチゴ(品種: 女峰)とした。供試菌株は、イチゴに対する病原性が確認されている *G. cingulata* NM-1, T090-2, KA-3ならびに *C. gloeosporioides* 静岡県№1, №19菌株, 三重県一志菌株, オバタ菌株, 長崎県Sc 8703菌株の合計8菌株とした。シクラメン炭疽病菌(*G. cingulata*)は、栃木県宇都宮市および益子町のシクラメン炭疽病発病株(品種: あけぼの)から常法に従い分離し、病原性を確認したCUT-1, 2およびCHM-1菌株とした。

接種は、分生子を1ml当たり 4.3×10^4 個に調整し噴霧した。接種株は、接種48時間多湿条件とし、その後25～35℃に管理したガラス室内で管理した。供試株数は、シクラメン8株、シンビジウム3株、ペゴニア2株および

実験結果

本病菌のシクラメンに対する病原性検討結果を第16表に示した。接種実験の結果、接種6日後から葉に直径2～3mmの油浸状の円形小斑点が生じた(写真14)。その後、病斑は拡大し、10日後には輪紋状に鮭肉色の分生子層が形成され(写真15)、2週間後には枯死した。その病徴は、シクラメン炭疽病の原病徴に一致した。全供試菌株は、完全世代形成の有無にかかわらず、シクラメンに対して病原性が認められた。

本病菌のシンビジウムおよびペゴニアに対する病原性検討結果を第17表に示した。本病菌の噴霧接種により、接種10日後にはシンビジウム葉の先端が黒褐変した。また、ペゴニアは、接種6日後には葉縁部に黒褐色の病斑が生じ、病原性が認められた。発病シクラメン、ペゴニアおよびシンビジウムからは、接種菌が再分離された。

イチゴに対するシクラメン炭疽病菌の病原性検討結果

を第18表に示した。接種実験の結果、接種5日後にはイチゴ葉および葉柄に斑点型病斑が生じた。葉柄では、接種7日後の病斑上に分生子層が形成され、2週間後に枯死した。それらの病徴は、イチゴ炭疽病菌の原病徴に一

致した。発病イチゴからは、接種菌が再分離された。

第16表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)のシクラメン(*Cyclamen persicum*)に対する病原性

供試菌株	供試株数(株)	接種10日後の発病株数(株)	接種14日後の枯死株数(株)
栃木県			
NM-1菌株	8	8	8
TO90-2菌株	8	8	7
KA-3菌株	4	4	4
静岡県			
静岡県№1菌株	8	8	6
静岡県№19菌株	4	4	4
三重県			
一志菌株	4	4	4
オバタ菌株	4	4	4
長崎県			
Sc8703菌株	4	4	4
無接種	4	0	0

注) 接種は無傷噴霧接種とした。
シクラメン品種：あけぼの。

第17表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)のシンビジウムおよびベゴニアに対する病原性

供試植物 (学名、品種)	供試菌株	供試株数(株)	発病株数(株)
シンビジウム (<i>Cymbidium</i> spp. cv. Golden lime)	NM-1菌株	3	3
	無接種	2	0
ベゴニア (<i>Begonia</i> spp. cv. Lucerna)	NM-1菌株	2	2
	静岡県№19菌株	2	2
無接種		2	0

注) 接種は無傷噴霧接種とした。

第18表 イチゴに対するシクラメン炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)の病原性

供試菌株	供試株数(株)	接種10日後の発病株数(株)	接種14日後の枯死株数(株)
CTU-1菌株	4	4	4
CTU-2菌株	4	4	4
CHM-1菌株	4	4	4
無接種	4	0	0

注) 接種は無傷噴霧接種とした。
イチゴ品種：女峰。

4) ノズル散水によるイチゴとシクラメン間の相互寄生

実験材料および方法

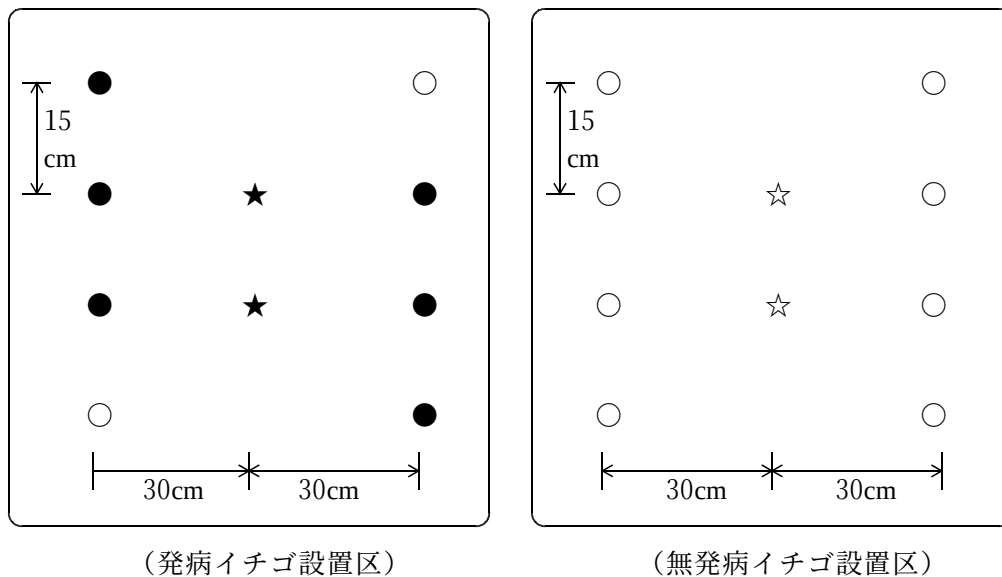
栃木農試病理昆虫部ガラス室で、シクラメン(品種：あけぼの)とイチゴ(品種：女峰)間でのノズル散水による伝搬実験を行なった。供試菌株は、イチゴ炭疽病菌が*G. cingulata*T090-2菌株、シクラメン炭疽病菌が*G. cingulata*CUT-1菌株とした。伝染源は、各々の菌株を噴霧接種し、分生子層を形成させたポット株である。生物検定用の無病シクラメンおよびイチゴは、伝染源株の周囲にそれぞれ配置した。水管理は、各々の供試植物の頭上からノズル散水した。対照は、無病株を伝染源にし、周囲に検定株を配置した。発病調査は、経時的に行い、処理14日後に発病株率を算出した。供試株数は、生物検定用イチゴ株が6株、シクラメンが8株とした。

実験結果

圃場レベルでのイチゴ炭疽病菌とシクラメン炭疽病菌の相互寄生を検討した。イチゴ炭疽病発病株を伝染源にした実験結果を第2図に示した。発病イチゴにノズル散水すると、処理5日後に無病シクラメン葉にシクラメン炭疽病の油浸状の小斑点が生じた。14日後の発病株は、8株中6株（75%）で病斑上には鮭肉色の分生子層が輪紋状に形成された。生物検定シクラメン株に発生した病徴は、シクラメン炭疽病の原病徴であり、発病シクラメ

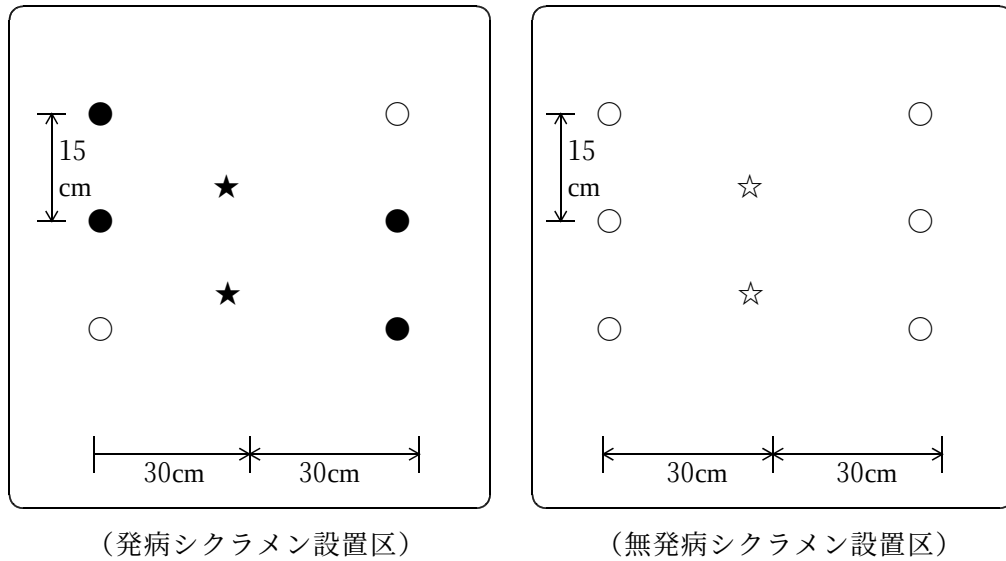
ンからは*G. cingulata*T090-2菌株が再分離された。なお、無病イチゴ株のシクラメン株は発病しなかった。

シクラメン炭疽病発病株を伝染源とした実験結果を第3図に示した。実験開始5日後に検定用イチゴ株に斑点型病斑が生じた。14日後の発病は、6株中4株（83%）で分生子層形成および葉柄の折損が観察された。生物検定イチゴ株に発生した病徴は、イチゴ炭疽病の原病徴であり、発病イチゴ株からは*G. cingulata*CUT-1菌株が再分離された。なお、無病シクラメンの検定イチゴ株は発病しなかった。



第2図 ノズル散水によるイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)発病株からシクラメンへの伝染状況

- | | |
|------------------|----------------|
| ★：伝染源（分生子層形成イチゴ） | ☆：無病イチゴ |
| ●：検定用シクラメンが発病 | ○：検定用シクラメンが未発病 |
- 伝染源設置14日後に調査した。



第3図 ノズル散水によるシクラメン炭疽病 (*Glomerella cingulata*) 発病株からイチゴへの伝染発病状況

★：伝染源（分生子層形成シクラメン） ☆：無病シクラメン
●：検定用がイチゴ発病 ○：検定用イチゴが未発病
伝染源設置14日後に調査した。

5) 腐生生活

実験材料および方法

本病菌の腐生生活能を，栃木農試場内に生育する雑草をさく葉標本にして検討した．実験は栃木農試病理昆虫部実験室で1990年8月18日に行った．供試材料は，ハキダメギク，オニノゲシ，スベリヒユ，ヒメジョオン，ハハコグサ，ヨモギ，キンミズヒキ，ノイバラ，エノキグサ，イタドリ，エゾノギシギシ，イヌタデ，シロザ，ヤブガラシ，オオバコ，シロツメクサ，オヒシバ，イネ，オオムギ，ツユクサ，イヌビユ，キツネノボタンおよびイチゴの12科23種とした．供試材料は，水洗後新聞紙に2日間はさみ込みさく葉標本にした．それらを長さ5cmに切断し，*G. cingulata* NM-1菌株の分生子を1ml当たり 4.0×10^4 個に調整して噴霧接種し，湿したろ紙を敷いたペトリ皿に供試材料を置き28℃の恒温器に収めた．調査は，処理28日後に子う殻の形成を顕微鏡観察した．また，イチゴに対する病原性は，単殻分離由来の分生子懸濁液を噴霧接種した．供試菌株は3ないし4菌株とし，接種

用のイチゴ株数は1菌株に2株とした．

実験結果

雑草に対する本病菌の腐生生活能を，子う殻形成の有無で検討した．その結果を第19表に示した．子う殻形成は，オニノゲシ，キンミズヒキ，イタドリ，エゾノギシギシ，イヌタデ，ツユクサおよびイチゴに認められた．無接種の材料には，子う殻が形成されなかった．病原性検討結果を第20表に示した．各さく葉由来菌株は，イチゴ株に病原性を有していた．イチゴ病斑部からは，接種菌が再分離された．

第19表 イチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) の各種植物遺体上での子のう殻の形成

供試植物	学 名	接種の有無	子のう殻の形成
ハキダメギク	<i>Galinsoga ciliata</i>	接種	— ^a (0 / 5) ^b
		無接種	— (0 / 5)
オニノゲシ	<i>Sonchus asper</i>	接種	+ (5 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
スベリヒユ	<i>Portulaca oleracea</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
ヒメジョオン	<i>Stenactis annuus</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
ハハコグサ	<i>Gnaphalium affine</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
ヨモギ	<i>Artemisia princeps</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
キンミズヒキ	<i>Agrimonia pilosa</i> var.	接種	+
	<i>japonica</i>	無接種	— (0 / 5)
ノイバラ	<i>Rosa multiflora</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
エノキグサ	<i>Acalypha australis</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
イタドリ	<i>Reynoutria japonica</i>	接種	+
		無接種	— (0 / 5)
エゾノギシギシ	<i>Rumex obtusifolius</i>	接種	+
		無接種	— (0 / 5)
イヌタデ	<i>Persicaria longiseta</i>	接種	+
		無接種	— (0 / 5)
シロザ	<i>Chenopodium quinoa</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
ヤブカラシ	<i>Cayratia japonica</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
オオバコ	<i>Plantago asiatica</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
シロツメクサ	<i>Trifolium repens</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
オヒシバ	<i>Eleusine indica</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
イネ	<i>Oryza sativa</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
オオムギ	<i>Hordeum vulgare</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
ツユクサ	<i>Commelina communis</i>	接種	+
		無接種	— (0 / 5)
イヌビユ	<i>Amaranthus lividus</i> var.	接種	— (0 / 5)
	<i>ascendens</i>	無接種	— (0 / 5)
キツネノボタン	<i>Ranunculus silerifolius</i>	接種	— (0 / 5)
		無接種	— (0 / 5)
イチゴ	<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i>	接種	+
		無接種	— (0 / 10)

注) a: +, 子のう殻が形成される. —, 子のう殻が形成されない.

b: (子のう殻形成数 / 供試数).

第20表 イチゴに対する各種植物遺体上に形成されたイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 子のう殻由来菌株の病原性

分離源	学 名	供試菌株 数(株)	供試株 数(株)	発病株 数(株)
オニノゲシ	<i>Sonchus asper</i>	3	6	6
キンミズヒキ	<i>Agrimonia pilosa</i> var. <i>japonica</i>	3	6	6
イタドリ	<i>Reynoutria japonica</i>	3	6	6
イヌタデ	<i>Persicaria longiseta</i>	3	6	6
ツユクサ	<i>Commelina communis</i>	3	6	6
イチゴ	<i>Fragariae</i> × <i>ananassa</i>	4	8	8
無接種			3	0

注) 接種は無傷噴霧接種とした。

4. 培養的性質

本病菌に関する培養的性質の知見は少ない。そこで、培養的性質を知るため実験を行なった。

1) 菌糸生育と温度との関係

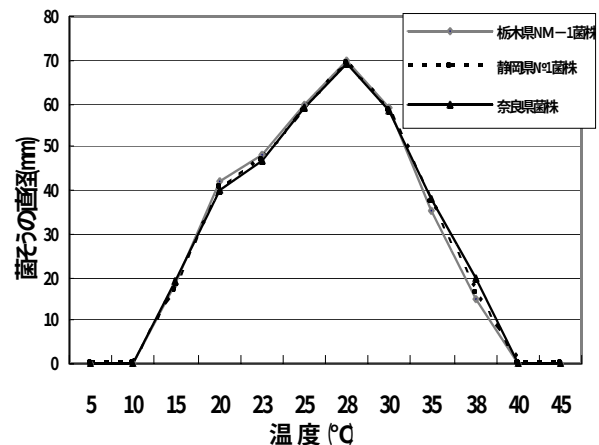
実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部実験室で行った。供試菌株は、*G. cingulata* NM-1菌株、奈良県菌株および *C. gloeosporioides* 静岡県No. 1 菌株とした。供試菌株は、PDA平板培地で28℃3日間培養し、菌そう周辺部の直径4mm含菌寒天ディスクをPDA平板培地中央に菌そう面を下に置床した。それらペトリ皿は、5、10、15、20、23、25、28、30、35、38および40℃の温度勾配恒温器に収め、114時間後に菌そうの直径を測定した。供試ペトリ皿は、乾燥を防止するためポリエチレン袋に収めた。1区当たりペトリ皿3枚とした。

実験結果

本病菌菌糸生育と温度との関係を検討した。その結果を第4図に示した。供試菌菌糸は、15～38℃の間で生育し、生育適温は28℃前後にあった。供試3菌株は、ほぼ同様の温度反応を示した。

2) 分生子の発芽率



第4図 イチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 菌糸生育と温度との関係

実験材料および方法

①イチゴ煎汁液での発芽率および形態

実験は栃木農試病理昆虫部実験室で行った。供試材料は、1988年12月2日、*G. cingulata* NM-1菌株分生子懸濁液 (8.7×10^4 個/ml) をイチゴ煎汁液 (100 ml の蒸留水にイチゴ生葉 3 g を入れ 121℃、20分オートクレーブで滅菌した液) で調整した。供試懸濁液は、平板培地上および殺菌水で湿したろ紙を敷いたペトリ皿に置いたスライドグラスに分生子懸濁液を点滴接種した。また、イチゴ生葉の分生子発芽に及ぼす影響を検討するため、葉身を 70℃ 4時間電気炉で灰化させ 100 ml に 1 g 混和した液および殺菌蒸留水も供した。供試材料は、5、10、12、15、20、25、30、35および40℃の温度勾配恒温器に収めた。

ペトリ皿は、乾燥を防止するためポリエチレン袋に収めた。発芽率調査は、接種24時間後に、光学顕微鏡下で22×40mmのカバーガラスを掛けその範囲内で計数した。分生子発芽は、発芽管が分生子の長径よりも長いものとした。実験は1処理当たり2ペトリ皿用いた。

②数種植物煎汁液およびイチゴ栽培土壌混入液での発芽率

実験は栃木農試病理昆虫部実験室で行った。煎汁材料は、ニラ、キュウリ、ユウガオ、トマト、カボチャ、エンドウおよびイチゴ栽培土壌(生重3g)とした。それらを前実験同様に、100mlの蒸留水に入れ、121℃20分間オートクレーブ処理した。本病菌分生子は、各希釈液に懸濁(8.7×10^4 個/ml)させた。供試分生子懸濁液は、スライドガラスに点滴接種し、25℃の恒温器に収め、分生子の発芽率を調べた。調査は前実験と同様に行なった。

実験結果

①イチゴ煎汁液での発芽率および形態

本病菌の分生子発芽率と温度との関係について検討した。その結果を第5図に示した。イチゴ葉煎汁液中の分生子発芽は、上およびスライドガラス上でほぼ同様の傾

向を示した。両者とも分生子発芽は、10～35℃の間で観察され、10～15℃で発芽率が急上昇し、35～40℃で急激に低下する台形状を示した。最適発芽温度は、15～35℃で発芽率が91.6～98.3%であった。イチゴ葉身灰化混和液に懸濁した分生子発芽率は、12～35℃の間で発芽し、30℃で9.7%であった。殺菌水懸濁液では、12～35℃の間で発芽し、25℃で7.6%であった。イチゴ煎汁液に比較して、殺菌水および灰化混入液の分生子発芽率は著しく低かった。分生子は、発芽時に隔膜を形成して2胞になり、35℃では発芽管を2本生じるものが多く観察された。また、褐色の径15～18μmの準円形または不整形の付着器がよく形成された。

②数種植物煎汁液およびイチゴ栽培土壌混入液での発芽率

実験結果を第21表に示した。ニラ、キュウリ、ユウガオ、トマト、カボチャおよびエンドウ煎汁液中での分生子発芽率は、92.8～95.1%でイチゴ煎汁液(96.8%)同様に極めて高かった。また、イチゴ茎葉浸漬処理(85.6%)でも発芽率は高まった。しかし、栽培土壌混入液の発芽率(9.4%)は、イチゴ灰化液(8.6%)、殺菌水(8.7%)と同様で、植物煎汁液に比較して著しく低かった。

第21表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)分生子の各種植物煎汁液およびイチゴ栽培土壌混入液での発芽率

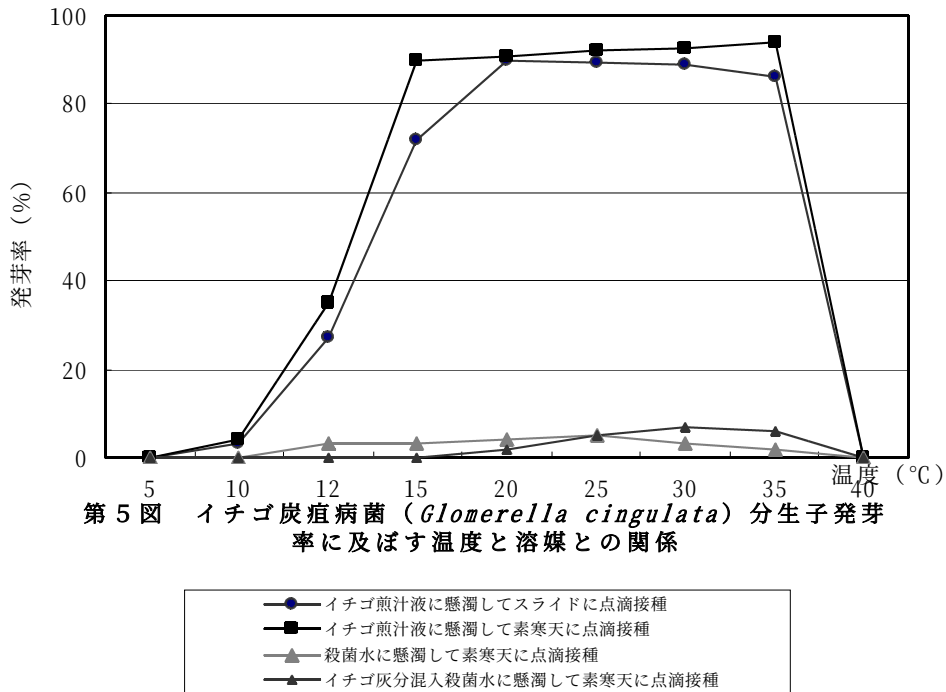
供試植物	調査分生子数(個)	発芽率(%)
ニラ ^a	1336	92.8
キュウリ ^a	1502	95.0
ユウガオ ^a	1354	94.6
トマト ^a	1407	94.2
カボチャ ^a	1547	94.8
エンドウ ^a	1327	95.1
イチゴ ^a	1550	96.8
イチゴ浸漬液 ^b	1599	85.6
イチゴ灰化 ^c	1322	8.6
イチゴ栽培土壌 ^a	1345	9.4
殺菌水	1135	8.7

注) 培養温度は25℃。

a:100ml 蒸留水に供試植物茎葉、イチゴ栽培圃場土壌を4g入れ121℃20分間滅菌した。

b:100ml 蒸留水に4gの茎葉を10分間浸漬した。

c:イチゴ茎葉を4gを700℃4時間処理し、灰化した。



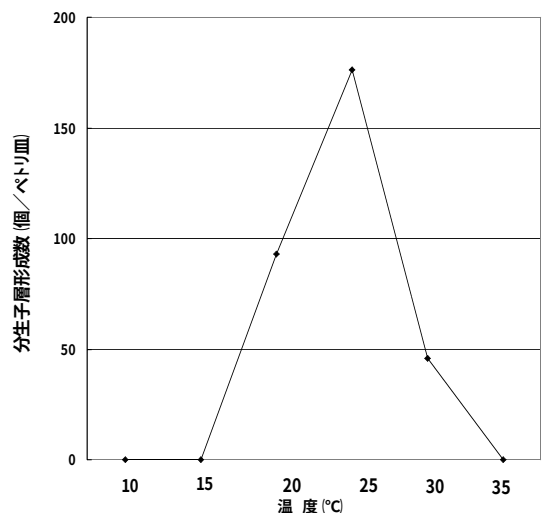
3) 分生子層形成と温度との関係

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部実験室で、*G. cingulata* NM-1菌株を供して行なった。供試材料は、3%サッカロース加用nutrient agar (NA) 培地で27°C 4日間培養後、菌そう周辺部を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜いた。それらディスクは、PDA平板培地中央に置床し、10、15、20、25、30および35°Cの恒温器に収めて、8日後に分生子層形成数を肉眼で計数した。実験は、1区当たり3ペトリ皿とした。

実験結果

分生子層形成と温度との関係を検討した。その結果を第6図に示した。PDA平板培地上での分生子層は、20~30°Cの温度範囲で形成され、25°Cで形成数が最多となり、次いで20°C、30°Cの順位であった。



4) イチゴ葉上での発芽および付着器形成

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部実験室で、品種女峰を用いて行なった。本病菌 *G. cingulata* NM-1菌株をPDA平板

培地で28℃7日間培養後、分生子を1ml当たり 5.4×10^5 個に懸濁調整し、イチゴ株に噴霧接種した。接種株は、25℃の陽光恒温器に収め、6、12および24時間後に完全展開次葉を採葉した。供試葉の脱色および染色は、アルコールラクトフェノールコットンブルー液20ml中で加熱し、1分間沸騰させ、48時間浸漬したまま放置した。その後、静かに水洗して抱水クロラール水溶液に30分間浸漬した。調査は、分生子発芽および付着器形成を光学顕微鏡下で計数した。

実験結果

実験結果を第22表に示した。接種6時間後の分生子発芽率は、13.3%、付着器形成率は0.4%であった。12時間後では、発芽率は57.1%、形成率は12.4%、24時間後では発芽率が70.6%、形成率が20.4%と高くなった。また、付着器の形成位置は、表皮細胞縫合部に集中していた。

第22表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)分生子のイチゴ葉上における発芽率および付着器形成

処理時間 (時間)	測定孢子 数(個)	発芽孢子 数(個)	発芽率 (%)	付着器形 成数(個)	付着器形 成率(%)
6	697	93	13.3	3	0.4
12	823	470	57.1	102	12.4
24	742	524	70.6	151	20.4

注) 供試温度25℃

5) 菌糸の致死温度

実験材料および方法

本病菌菌糸の致死温度について、湿熱および乾熱条件で検討した。本病菌は、*G. cingulata* NM-1および*C. gloeosporioides* 静岡県№1菌株を供した。供試材料は、PDA平板培地で25℃4日間培養後、菌そう周辺部を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜いた含菌寒天ディスクとした。湿熱は、試験管に殺菌蒸留水10mlを分注し、湿浴中で所定温度に保ち含菌寒天ディスクを投入した。処理後試験管は、水道水流を外壁に注いで冷却し、ディスクを白金耳で拾い上げ、PDA平板培地に置床した。乾熱区は空虚の試験管を用い、供試菌そうを試験管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。生死の判断は、置床ペトリ皿を25℃の恒温器に

収め、培養7日後に菌糸生育の有無によって行なった。実験は1区3反復した。なお、本方法を致死温度に関する実験の常法とした。

実験結果

本病菌の耐熱性の実験結果を第23表に示した。NM-1菌株は湿熱および乾熱で50℃-5分間で死滅した。静岡県№1菌株は湿熱50℃-10分間、乾熱で50℃-5分間で死滅した。

第23表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)菌糸の湿熱および乾熱条件下での致死温度

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

注) +：分離される。-：致死または分離されない。

静岡県№1菌株は，*Colletotrichum gloeosporioides*。

6) 子のう殻および分生子の死滅に要する温度と時間との関係

子のう殻および分生子の死滅温度を知ることは，物理的防除の基礎資料を得る上で重要である。通常，植物病原菌の死滅温度は，短時間で死滅する最も低い温度で示される。しかし，本実験では温度処理による病原菌不活化を考慮し，比較的低温度域の長時間処理について恒温条件下で行なった。

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部実験室で行なった。供試分生子は，本病菌 *G. cingulata* NM-1菌株を前培養し，1 ml当たり 4.1×10^4 個に調整し，殺菌濾紙に噴霧接種したものである。子のう殻は，1988年4月21日に品種女峰の5 cmに切断した走茎に分生子懸濁液を点滴接種し，25℃7日間恒温器に収め，2週間室内に静置して子のう殻を形成させものである。1988年5月12日に両材料は，殺菌水で湿らせたろ紙を敷いたペトリ皿に入れ，25，40，45，50，55および60℃の恒温器に収めた。ペトリ皿は，乾燥を防止するためポリエチレン袋に収めた。供試材料は，30分，1，3，6および30時間後に取り出し，ストレプトマイシン硫酸塩を50ppm 添加したPDA平板培地上で培養し，5日後の菌そう生育により生死を判定した。

実験結果

本病菌分生子および子のう殻の死滅温度に関する報告はなく，本実験で初めて検討した。それらの結果を第24表に示した。供試した両材料は，25，40℃では全調査期間生存していた。分生子および子のう殻は，45℃3時間，50℃では分生子が1時間，子のう殻が3時間で死滅した。また，両材料とも55℃1時間，60℃30分で死滅した。子のう殻の耐熱性は，分生子に比較してやや優れていた。

7) 菌糸生育と水素イオン濃度との関係

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部実験室で行なった。供試菌株は，*G. cingulata* NM-1菌株，T0-01菌株および *C. gloeosporioides* 静岡県№1 菌株とした。

実験1ではPDA培地を用い，1規定HClとNaClによって水素イオン濃度(pH)をpH5～10に規正した。

実験2ではWAKSMAN 寒天培地を用い，1規定 HPO_4 とNaOHによってpH5～10に規正した。各培地はpH規正後，100℃で15分間殺菌した。これらの培地をペトリ皿に10 mlずつ流して平板とし，含菌寒天ディスクを中央に置床して25℃の恒温器に収めた。調査は，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，-：形成を認めず，±：僅かに散生，+：散生，++：密生，+++：極めて密生に類別した。いずれの実験も各区3ペトリ皿を供した。

第24表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)子のう殻および分生子の致死温度と時間との関係

処理温度 (°C)	供試形態	検出の有無				
		30分	1時間	3時間	6時間	30時間
6 0	子のう殻 ^a	— ^b	—	—	—	—
	分生子	—	—	—	—	—
5 5	子のう殻	+	—	—	—	—
	分生子	+	—	—	—	—
5 0	子のう殻	+	+	—	—	—
	分生子	+	—	—	—	—
4 5	子のう殻	+	+	—	—	—
	分生子	+	+	—	—	—
4 0	子のう殻	+	+	+	+	+
	分生子	+	+	+	+	+
2 5	子のう殻	+	+	+	+	+
	分生子	+	+	+	+	+

注) a: 子のう殻：イチゴ罹病走茎上。
 分生子：殺菌ろ紙に分生孢子懸濁液を噴霧。
 b: +：分離される。—：致死または分離されない。

実験結果

実験1：PDA培地を用いた実験結果を第25表に示した。菌そう生育の最適pHは、NM-1菌株およびT0-01菌株でpH7，静岡県№1菌株でpH9であった。菌株間でやや異なったが，pH5～10の間では顕著な生育差は認められなかった。分生子層形成程度は，NM-1菌株でpH9，T0-01菌株でpH8，9で高く，静岡県№1菌株ではpH7で高かった。分生子層形成の形状は，NM-1菌株では散在し，T0-01菌株のpH6，静岡県№1菌株のpH7で日輪状に形成された。T0-01菌株が，最も良好に分生子層を形成し，分生子を得るのに好適な菌株であった。

実験2：WAKSMAN培地を用いた実験結果を第26表に示した。菌そう生育は，PDA培地と異なり，各菌株ともpH7で良好であった。分生子層形成は，PDA培地に比較して劣り，NM-1菌株のpH5～9で散生，T0-01菌株のpH9，10で僅かに散生された。しかし，静岡県№1菌株の分生子層形成は，観察されなかった。

第25表 PDA培地上におけるイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)菌そう生育および分生子層形成と水素イオン濃度(pH)との関係

供試菌株	pH 5		pH 6		pH 7		pH 8		pH 9		pH 10	
	菌そう	分生子	菌そう	分生子	菌そう	分生子	菌そう	分生子	菌そう	分生子	菌そう	分生子
	直径 ^a (mm)	層形成	直径 (mm)	層形成	直径 (mm)	層形成	直径 (mm)	層形成	直径 (mm)	層形成	直径 (mm)	層形成
NM-1 菌株	56	+ ^b	74	++	79	++	78	++	77	+++	74	++
TO-01 菌株	58	++	63	++ R ^c	64	++	62	+++	59	++	57	++
静岡県№1 菌株	55	+	56	++	50	+++ R	58	++	60	+	59	-

注) a:置床5日後の菌そう直径.

b:置床10日後の分生子層形成程度 - :形成認めず, ± :僅かに散生, + :散生, ++ :密生, +++:極めて密生.

c: Rは日輪状に分生子層が形成される.

第26表 WAKSMAN培地上におけるイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)菌そう生育および分生子層形成と水素イオン濃度(pH)との関係

供試菌株	pH 5		pH 6		pH 7		pH 8		pH 9		pH 10	
	菌そう	分生子	菌そう	分生子	菌そう	分生子	菌そう	分生子	菌そう	分生子	菌そう	分生子
	の直径 ^a (mm)	層形成	の直径 (mm)	層形成	の直径 (mm)	層形成	の直径 (mm)	層形成	の直径 (mm)	層形成	の直径 (mm)	層形成
NM-1 菌株	48	+ ^b	51	+	50	+	48	+	48	+	47	-
TO-01 菌株	41	-	44	-	52	-	53	-	47	±	46	±
静岡県№1 菌株	38	-	39	-	40	-	37	-	37	-	38	-

注) a:置床5日後の菌そう直径.

b:分生子層形成程度 - :形成認めず, ±:わずかに形成, +: 散生.

8)子のう殻形成および発達に及ぼす温度の影響

本病の伝染環における子のう殻の意義については不明の点が多い。そこで、本病防除の基礎資料とするため、世界的に知見のない子のう殻形成および発達に及ぼす温度の影響について検討した。

実験材料および方法

実験1：実験は1989年6月23日から農水省農業研究センター土壌病害研究室で行った。供試含菌寒天片は、*G. cingulata* NM-1菌株をPDA平板培地で25℃3日間培養し、菌そう周辺部を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜いたディスクとした。これらをPDA斜面培地上に置床し、5.0, 10.0, 13.0, 16.5, 20.0, 23.0, 25.5, 29.0, 32.0, 35.5, 39.0 および43.0℃の温度に保持した。調査は、15, 24および50日後に、子のう殻の形成量を肉眼観察するとともに、子のう殻のピーク発達、子のう胞子の有無を光学顕微鏡観察した。

実験2：実験は1989年8月17日から行なった。実験1と同様にして作成した含菌寒天片を、5cmに切断したイチゴ走茎にはりつけ接種し、25℃3日間恒温器に保って病斑を形成させた。それらの走茎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、実験1と同様の温度に保持し、子のう殻の形成および発達状況を調査した。調査は実験1と同様の方法で行なった。

実験結果

実験1：PDA培地上における子のう殻の発達過程を調査した。その結果を第27表に示した。子のう殻形成は、13.0～29.0℃で認められ、16.5～23.0℃で良好であった。ピークの発達は、13.0～29.0℃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℃で形成され、形成量は16.5～20.0℃で多かった。子のう胞子は、23.0～29.0℃の培養で24日後に認められたが、50日後には認められなくなった。15日後(13.0～16.5℃)では認められなかったが、50日後には形成がされていた。

実験2：走茎上における子のう殻の発達過程の調査した。その結果を第28表に示した。子のう殻の形成は、5.5～25.5℃で認められ、13.0～23.0℃で良好に形成された。ピークの発達は、5.5～25.5℃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℃で形成され、形成量は16.5～25.5℃で多かった。また、子のう胞子は、15日後の20.0～25.5℃に認められ、50日後には認められなかった。これに対して、10.0℃の24日後

まで形成は認められなかったが、50日後(10℃)には形成が認められた。

9)非根圏土壌中での生存に及ぼす温度の影響

実験材料および方法

実験1：実験は農水省農業研究センター土壌病害研究室で行った。検定材料は、分生子、子のう胞子、菌糸および子のう殻とした。分生子は、*G. cingulata* NM-1菌株および*C. gloeosporioides* 静岡県№1菌株、子のう胞子はNM-1菌株を供し、各胞子懸濁液を殺菌スライドグラスに点滴接種した。菌糸は、NM-1菌株および静岡県№1菌株を供して、駒田(1976)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圃の地表～地下5cmの土壌を用いた。それらを水道水で土壌水分を40%に調節し、容量300 mlのポリエチレン製カップ(デスポカップ)に250 ml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および25℃とし、恒温室に0, 5, 10, 15, 30および60日間静置した。ただし、菌糸観察は15日後までとした。

実験2：本実験で用いた菌スライドは、NM-1菌株の分生子懸濁液(4.6×10^4 個/ml)を殺菌スライドグラスに噴霧接種後、風乾したものである。それらを実験1の水分調節土壌および風乾土壌に埋没した。処理温度は、5, 15および25℃とし、恒温器の中に0, 10および20日間静置した。

実験3：NM-1菌株分生子懸濁液を走茎(品種：女峰)に接種し、25℃21日間培養して子のう殻を形成させた。これらを実験1と同様にして調節した土壌の表層または地表下3cmの深さに埋め込み、所定温度下で30, 60, 150日間静置した。

調査方法は、実験1, 2, 3とも各処理後に菌付着面が傷まぬようにスライドグラスを掘り上げ、直径4mmのPDAディスクを病原菌生育面に付着させ、ストレプトマイシン硫酸塩50ppm添加PDA平板培地に置床して、接種菌を検出した。菌糸は駒田(1976)の方法に従い、スライドグラスを火焰固定、石炭酸・ローズベンガル液で3分間染色し、水洗後、室内で自然乾燥させて顕微鏡観察した。また、走茎は30, 60, 150日後に取り出し、組織から子のう殻を摘出し、ストレプトマイシン硫酸塩50 ppm添加PDA培地に置床し検出した。

実験結果

実験1の結果を第29表に示した。土壌中での分生子および子のう胞子の生存は、温度および期間による差異は認められなかった。分生子と子のう胞子は、25℃では10日後、15℃では15日後まで検出された。5℃および-20℃では、60日後まですべて検出された。分生子および子のう胞子は、スライドグラス上で未発芽であった。菌糸は、埋没5日後の15℃、25℃で一部が溶菌し、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℃でも溶菌が認められ、15、25℃では溶菌および原形質消失の進行が著しかった。埋没15日後の15、25℃では、ほとんどの菌糸が消失した。なお、NM-1菌株の菌付着スライドグラスでは、材料作成中に形成された子のう殻が埋没15日後まで、全処理温度で良く染色された(写真16)。

実験2の結果を第30表に示した。分生子は、25℃では土壌水分の多少にかかわらず20日後には検出されなかった。しかし、5、15℃では20日後まで検出された。検出率は、15、25℃処理では、高水分土壌に比較して低水分土壌で低かった。

実験3の結果を第31表にした。走茎上に形成させた子のう殻は、25℃の土壌表面では30日後には検出されなかった。しかし、その他の全処理で60日後まで検出された。特に、5、15℃では、150日後まで地表および-3cmで検出された。

第27表 PDA培地上におけるイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)子のう殻発達に及ぼす温度の影響

処理温度 (℃)	15日後			24日後			50日後		
	子のう殻	ビーク	子のう胞子	子のう殻	ビーク	子のう胞子	子のう殻	ビーク	子のう胞子
5.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13.0	—	—	—	+	+	—	+	+	+
16.5	+	+	—	++	+	++	++	+	++
20.0	+	+	+	+++	+	+++	+++	++	+
23.0	++	+	+	++	+	+	++	+++	—
25.5	+	++	+	+	++	+	+	+++	—
29.0	—	—	—	+	++	+	+	++	—
32.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
39.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
43.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注) 子のう殻,子のう胞子の形成程度 —:未形成, +:形成量少, ++:形成量中, +++:形成量多。

子のう殻のビーク発達 —:未形成, +:やや突出, ++:球形基部の1/3程度, +++:球形基部の1/2程度

第28表 イチゴ走茎上におけるイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)子のう殻発達に及ぼす温度の影響

処理温度 (°C)	15日後			24日後			50日後		
	子のう殻	ピーク	子のう胞子	子のう殻	ピーク	子のう胞子	子のう殻	ピーク	子のう胞子
5.5	—	—	—	—	—	—	+	+	—
10.0	+	+	—	+	+	—	+	+	+
13.0	+	+	+	+	+	+	++	+	+
16.5	+	+	++	++	+	++	+++	+++	++
20.0	+	+	+++	++	++	++	++	+++	—
23.0	++	+	++	++	++	+	++	++	—
25.5	+	+	++	+	++	+	+	++	—
29.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
39.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
43.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注) 子のう殻, 子のう胞子の形成程度 —: 未形成, +: 形成量少, ++: 形成量中, +++: 形成量多.

子のう殻のピーク発達 —: 未形成, +: やや突出, ++: 球形基部の1/3程度, +++: 球形基部の1/2程度

 第29表 非根圏土壌中におけるイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)の検出に及ぼす温度と期間との関係

処理温度 (°C)	菌株および形態	検出の有無						60日後の土 壤水分 (%)
		0日	5日後	10日後	15日後	30日後	60日後	
2 5	NM-1菌株分生子	+	+	+	—	—	—	3 4
	NM-1菌株子のう胞子	+	+	+	—	—	—	
	静岡県 No.19 菌株	+	+	+	—	—	—	
1 5	NM-1菌株分生子	+	+	+	+	—	—	3 6
	NM-1菌株子のう胞子	+	+	+	+	—	—	
	静岡県 No.19 菌株	+	+	+	+	—	—	
5	NM-1菌株分生子	+	+	+	+	+	+	3 4
	NM-1菌株子のう胞子	+	+	+	+	+	+	
	静岡県 No.19 菌株	+	+	+	+	+	+	
— 2 0	NM-1菌株分生子	+	+	+	+	+	+	3 9
	NM-1菌株子のう胞子	+	+	+	+	+	+	
	静岡県 No.19 菌株	+	+	+	+	+	+	
室温	NM-1菌株分生子	+	+	+	+	+	+	
	NM-1菌株子のう殻	+	+	+	+	+	+	

注) +: 検出されることを示す, —: 検出されないことを示す.

第30表 非根圏土壌中におけるイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)分生子の生存に及ぼす温度と土壌水分との関係

処理温度 (°C)	土壌水分 の多少	検出の有無			20日後の土 壌水分 (%)
		0 日	10日後	20日後	
2 5	多	＋ (10/10)	＋ (3/15)	－ (0/15)	1 1
	少	＋ (10/10)	＋ (14/15)	－ (0/15)	3 8
1 5	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) 試験はデスポカップを供した. 十: 検出されることを示す. 一: 検出されないことを示す.
(イチゴ炭疽菌の検出数/供試数)

第31表 非根圏土壌中における走茎上のイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)子のう殻の生存に及ぼす温度と期間との関係

処理温度 (°C)	埋没深さ (cm)	菌検出の有無				150 日後の 土壌水分 (%)
		0	30	60	150 日後	
2 5	0	＋	－	－	－	3 1
	－3	＋	＋	＋	－	
1 5	0	＋	＋	＋	＋	3 3
	－3	＋	＋	＋	＋	
5	0	＋	＋	＋	＋	3 1
	－3	＋	＋	＋	＋	
－2 0	0	＋	＋	＋		3 9
	－3	＋	＋	＋		

注) 試験はデスポカップを供した.
十: 検出される. 一: 検出されない. 空欄は調査してない.

5. *Colletotrichum acutatum*によるイチゴ炭疽病

海外では、イチゴ炭疽病の病原菌として複数の炭疽病菌が報告されている(Maas, 1984). 我国では、河野・木曾(1990)が岩手県で、庶糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地(P S A培地)上で暗赤色を呈し、紡錘形の分生子を有する炭疽病菌が分離されたと報告した. しかし、属名および種名については記載されていない. 一方、1991年6月、栃木県二宮町、都賀町等の育苗圃(品種：女峰)において、紡錘形の分生子を有する*Colletotrichum*属菌による病害が発生した. そこで、病原菌の所属および2、3の植物種に対する病原性を検討した.

1) 病徴

自然発生病斑は、葉、葉柄、走茎および果実に生じた. 葉では、黒褐色不整形で健全部との境界は赤紫色を呈し、縮葉症状を生じた. 葉柄および走茎に発生すると、黒褐色のややへこんだ紡錘形の病斑を生じた. 果実に発生すると実腐れ症状になった. いずれの部位においても、多湿条件下で病斑上に鮭肉色の分生子層由来の胞子塊をよく形成した(写真17). しかし、萎凋枯死症状は観察されていない. 従来の炭疽病(*G. cingulata*=*C. gloeosporioides*)の病徴は、葉では直径2～3mmの汚斑状の斑点性病斑、時には葉縁部に黒色大型の葉枯性病斑を生じる. 葉柄および走茎では、黒褐色のややくぼんだ紡錘形の病斑を生じる. また、品種女峰、とよのか、とちおとめなどでは、根冠部が黒褐色に侵されることが多く、株全体が萎凋枯死する. 本研究で扱った炭疽病の病徴は、葉での斑点性病斑や株全体の萎凋枯死症状が観察されていない点で異なっていた.

2) 供試菌株および病原性

実験材料および方法

供試菌株は、品種女峰の罹病葉から常法に従い分離した. 分離菌は、P D A平板培地で25℃5日間培養し、形成された分生子を単胞子分離した. それぞれの分離菌株には、Na91-016、Na91-017と実験番号を付し実験に供した. 付着器の形態は、W A平板培地上に分生子懸濁液を滴下し、25℃4日間培養後に形成された付着器を観察・計測した. 植物体への接種は、P D A平板培地に供試菌株を置床し、25℃7日間培養して得られた胞子塊をかきとり、殺菌水中に懸濁し、胞子濃度を10⁶ 個/mlに調整

して噴霧接種した. また、果実に対する病原性は、試験管に形成された胞子塊を昆虫針で掻き取り接種した. 供試植物は、接種後28℃48時間多湿条件に保ち、その後ガラス室内で、底面給水で管理した.

病原性検定は、イチゴ(品種：女峰)、トマト(品種：桃太郎)、ヒエンソウ(品種：ライラック)およびピーマン(品種：土佐グリーン)を用いた. 供試株数は、1菌株当たり各々3株とした.

実験結果

接種試験の結果を第32表に示した. イチゴでは、病斑は主に葉の縁に発生し、その病斑上には分生子層が形成された. 希に直径2～3mmの小斑点も発生した. 接種株は、1か月後でも枯死しなかった. 接種試験による病徴は、現地圃場で観察される原病徴とよく一致した. 成熟果に対する接種試験では、接種4日後に淡褐色円形の水浸病斑を生じ、やがて病斑上に鮭肉色の分生子層が盛んに形成された. また、いずれの接種試験でも、発病株から接種菌が再分離された.

接種試験結果を第33表に示した. 本菌株は、ピーマン、トマトおよびヒエンソウに病原性が認められた. ピーマンでは、葉に斑点性病斑、葉柄および茎に黒色の条状のやや盛り上がった病斑を生じた. トマトでは、葉に斑点性病斑を生じた. また、ヒエンソウでは、葉に斑点性病斑、葉柄および茎に黒色の条状の病斑を生じ、さらに激しく発病すると地際部から折損する株も観察された.

第32表 イチゴに対する紡錘形胞子菌分離株の病原性

供試菌株	供試株数 (株)	発病株数 (株)
Na91-016	3	3
Na91-017	3	3
無接種	3	0

注) 接種は噴霧接種とした.

第33表 トマト，ヒエンソウおよびピーマンに対する紡錘形孢子分離菌株の病原性

供試植物 (学名・品種)	供試菌株	供試株 数(株)	発病株 数(株)
トマト (<i>Lycopersicon</i> <i>esculentum</i> ・桃太郎)	Na91-016	3	3
	Na91-017	3	3
	無処理	3	0
ヒエンソウ (<i>Delphinium</i> spp. ・ライラック)	Na91-016	3	3
	Na91-017	3	3
	無処理	3	0
ピーマン (<i>Capsicum annuum</i> ・土佐グリーン)	Na91-016	3	3
	Na91-017	3	3
	無処理	3	0

注) 接種は噴霧接種とした。

3) 菌糸生育と温度との関係

実験材料および方法

本病菌菌糸の生育と温度との関係を *C. acutatum* Na91-016, Na91-017 菌株および *G. cingulata* NM-1 菌株を供して行なった。各菌株を PDA 平板培地で 28℃ 3 日間培養し，菌そう周辺部の含菌寒天ディスクを PDA 平板培地中央に置床した。それらのペトリ皿を 5, 10, 15, 20, 23, 25, 28, 30, 35 および 40℃ の 10 段階で 4 日間培養し，菌そうの直径を測定した。いずれの実験も各区 3 枚のペトリ皿を供した。

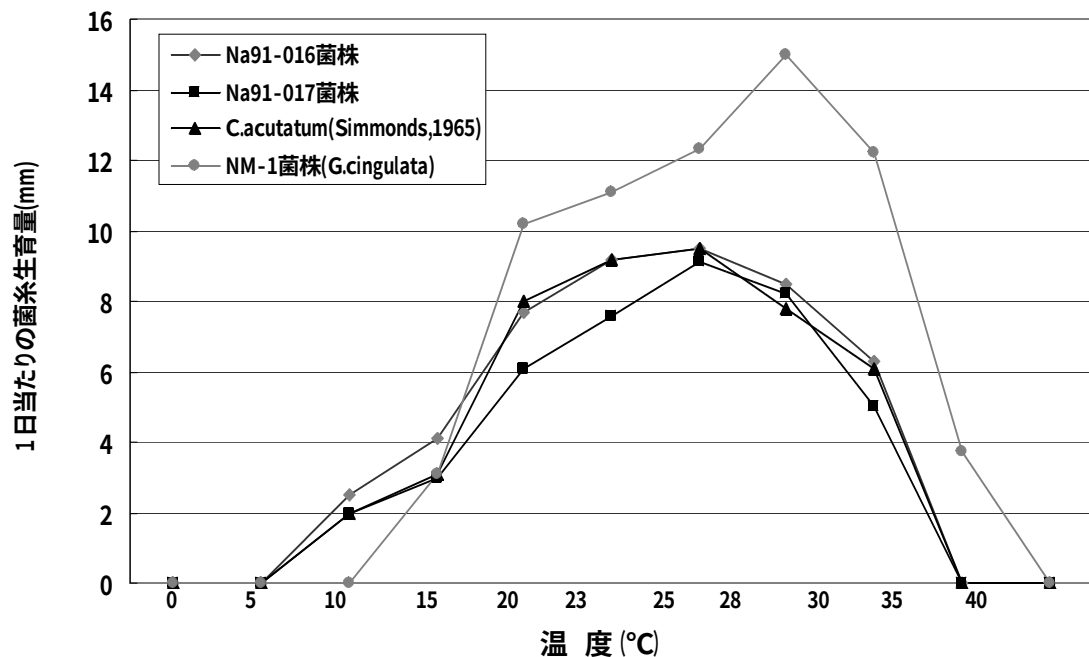
実験結果

本病菌菌糸の生育と温度との関係を第 7 図に示した。本病菌菌糸は，10～30℃ の間で生育し，最適生育温度は，25℃ 前後であった。菌糸生育速度は，*G. cingulata* NM-1 菌株に比較して遅かった。

4) 分類上の所属

供試菌株の PDA 斜面培地上の菌そうは，いずれも灰桃色から暗赤色を呈し，後に中央部分が灰色になる(写真18)。また，培地上に盛んに鮭肉色の分生子粘塊を形成する。培地上では，菌核および子のう殻の形成は認められない。分生子は，無色，単胞，紡錘形である(写真19)。分生子の大きさは，Na91-016 菌株で，8.9—16.2×3.2—4.9 μm(平均15.5×4.4 μm)，Na91-017 菌株で，8.9—17.0×3.2—4.9 μm(平均15.4×4.3 μm)である。付着器は，褐色，棍棒状である(写真20)。付着器の大きさは，Na91-016 菌株で，5.9—8.9×4.1—8.1 μm(平均7.8×5.7 μm)，Na91-017 菌株で，5.7—9.0×4.9—8.1 μm(平均7.8×5.6 μm)である。

以上の形態的特徴を Sutton(1980)の報告および類縁菌と比較して第34表に示した。紡錘形分生子を持つ，*C. cocodes*, *C. fuscum*, *C. higginsianum* とは，分生子の大きさが互いに重なり合う場合もあるが，分生子の形態および付着器の大きさ，形態が異なっていた。しかし，Sutton(1980)の報告した *C. acutatum* の分生子および付着器の大きさ，形態とは一致した。以上から，本病菌を *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds と同定した。



第7図 紡錘形の分生子を有する分離菌株の菌糸生育と温度との関係

第34表 紡錘形の分生子を有する炭疽病菌の形態比較

菌株名および菌名	分生子の大きさ (μm)	付着器の形態大きさ (μm)	菌核	剛毛
Na91-016	8.9-16.2 $\times$ 3.2-4.9 (15.5 $\times$ 4.4)	棍棒状 5.9-8.9 $\times$ 4.1-8.1(7.8 $\times$ 5.7)	欠く	欠く
Na91-017	8.9-17 $\times$ 3.2-4.9 (15.4 $\times$ 4.3)	棍棒状 5.7-9 $\times$ 4.9-8.1(7.8 $\times$ 5.6)	欠く	欠く
<i>C. acutatum</i> (SUTTON 1980)	8.5-16.5 $\times$ 2.5-4	棍棒状 8.5-10 $\times$ 4.5-6	欠く	欠く 有る ^a
<i>C. coccodes</i> (SUTTON 1980)	16-22 $\times$ 3-4	長棍棒状 11-16.5 $\times$ 6-9.5	有る	有る
<i>C. fuscum</i> (SUTTON 1980)	14-17 $\times$ 3.5-4	欠く	有る	有る
<i>C. higginsianum</i> (SUTTON 1980)	16.5-19 $\times$ 4	円状～長円状 ^b 4.1-9 $\times$ 3.1-6.4	記載 なし	有る

注) a: Dyko and Mordue (1979). b: 堀江ら (1988).
() は平均値.

6. *nit* 変異株の作出とその性質

近年、植物病原菌の硝酸塩利用能欠損変異株(*nit* 変異株)の作出および利用に関する報告は多いが (Brooker *et al.* 1990, 1991, Correll *et al.* 1987, Puhalla 1985, 佐藤ら 1993, 竹原 1992, 竹原ら 1994a, b, 上野ら 1993, 渡辺ら 1992), 炭疽病菌に関する報告はまだ少ない。

Chacko *et al.* (1990)は、分離場所によって炭疽病菌の菌糸和合性が異なることを報告している。Brooker *et al.* (1991)は、*nit* 変異株を用いて、5種の炭疽病菌の菌糸和合性と遺伝的関連を検討し、4種のphenotypeに類別している。本実験では、日本産炭疽病菌について、*nit* 変異株の作出を行ない、その病原性について検討した。

1) *nit* 変異株作出培地および作出

実験材料および方法

nit 変異株作出培地は、Puhalla (1985)の処方に従い作成した。MM(minimal medium)培地は、蒸留水 1 l に Sucrose 30g ; NaNO₃ 2g ; KH₂PO₄ 1g ; MgSO₄·7H₂O 0.5g ; KCl 0.5g ; Difco agar 20g ; trace elements solution 0.2mlを加えて作成した。trace elements solution は、蒸留水 95ml に citric acid 5g ; ZnSO₄·7H₂O 5g ; FeSO₄·7H₂O 4.75g ; Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O 1g ; CuSO₄·5H₂O 250mg ; H₃BO₃ 50mg ; Na₂MoO₄·2H₂O 50mg の組成で処方した。MMC培地は、MM培地に L- asparagine (1.6g/ml) および KClO₃ (15g/ml) を添加して作成した。

供試菌株は、栃木県内で分離した *C. gloeosporioides* Cg-CHO-06, Cg-CHO-07, Sawachi-1 および *C. acutatum* Na91-016, Na91-017, Na91-018 の合計 6 菌株とし、Puhalla (1985) および Correll *et al.* (1987) の方法に従い、*nit* 変異株作出を試みた。供試菌株を PDA 斜面培地で培養し、切り出した小ブロックを MMC 培地に 1 ペトリ皿当たり 4 ブロック置床した。1 菌株当たり 5 ペトリ皿 20 ブロックを供試し、25°C 14 日間培養した。MMC 培地で生育した全ての菌を PDA 斜面培地に移植保存した。*nit* 変異株は、MM 培地上で培地上の菌そう様に極薄く生育するので、それらを *nit* 変異株として保存した。

実験結果

nit 変異株の作出結果を第35表に示した。

C. gloeosporioides および *C. acutatum* の *nit* 変異株作出に成功した。*C. gloeosporioides* 3 菌株の *nit* 変異株出現率は 15~40% であった (写真 21)。*C. acutatum* の *nit* 変異株出現率は 5% であった。*C. gloeosporioides* に比較して *C. acutatum* の *nit* 変異株出現率は低かった。

第35表 2種のイチゴ炭疽病菌の *nit* 変異株出現率

供試菌株	<i>nit</i> 変異株 出現率 (%)
<i>C. gloeosporioides</i>	
Cg-CHO-06	40.0
Cg-CHO-07	15.0
Sawachi-1	40.0
<i>C. acutatum</i>	
Na91-016	5.0
Na91-017	5.0
Na91-018	5.0

注) MMC 培地に 1 菌株 20
ブロック移植した。

2) *nit* 変異株 phenotype の分類

実験材料および方法

Phenotype 分類用培地は、Correll *et al.* (1987) の方法に従い作成した。硝酸塩培地は MM 培地を用い、亜硝酸塩培地は、basal medium (MM 培地から NaNO₃ を除去した培地) に NaNO₂ 0.5g/ml, ヒポキサンチン培地は、basal medium に hypoxanthine 0.2g/ml, アンモニウム塩培地は、basal medium に ammonium tartrate を 1g/ml, 尿酸培地は、basal medium に uric acid 0.2g/ml を各々添加して作成した。Phenotype は、Brooker *et al.* (1991) の第 36 表により決定した。

実験結果

供試菌株の phenotype 別出現率結果を第 37 表に示した。*C. gloeosporioides* での各 phenotype の出現率は、*nit* 1 (37.5~66.7%) で最も高く、Nit 3 で 25.0~33.0%, Nit M で 37.5% であり、Brooker *et al.* (1991) が報告した *nit* 2 は出現しなかった。*C. acutatum* からは、*nit* 1 および Nit 3 が出現した。

第36表 炭疽病菌の *nit* 変異株の phenotype 指標^a

Phenotype	単一の窒素源培地上での生育 ^b				
	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	NH ₄ ⁺	Hypoxanthine	Uric acid
野生株	+	+	+	+	+
<i>nit1</i>	—	+	+	+	+
<i>nit2</i>	—	—	+	—	—
Nit3	—	—	+	+	+
Nit M	—	+	+	—	+

 注) a: Brooker *et al.* (1991)

b: +は旺盛に生育, —は極薄く生育.

第37表 2種のイチゴ炭疽病菌 *nit* 変異株各 phenotype の出現率

供試菌株	供試 <i>nit</i> 変異 菌株数（株）	Phenotype 別の出現率（％）			
		<i>nit 1</i>	<i>nit2</i>	Nit3	NitM
<i>C. gloeosporioides</i>					
Cg-CHO-06	8	37.5	0	25.0	37.5
Cg-CHO-07	3	66.7	0	33.3	0
Sawachi-1	8	37.5	0	25.0	37.5
<i>C. acutatum</i>					
Na91-016	1	0	0	100	0
Na91-017	1	100	0	0	0
Na91-018	1	100	0	0	0

3) *nit* 変異株の病原性

実験材料および方法

イチゴに対する *nit* 変異株の病原性検討は、*C.gloeosporioides* Cg-CHO-06, Cg-CHO-07, Sawachi-1-N-02 および *C.acutatum* Na91-016 菌株から作出した *nit* 変異株 Cg-CHO-06-N-08, Cg-CHO-07-N-03 および Na91-016-N-21 菌株を供した。病原性比較用の野生菌株は、Cg-CHO-06, Cg-CHO-07, Sawachi-1 および Na91-016 菌株とした。供試菌株は、PDA 平板培地で 25°C 7 日間培養し、殺菌水で分生子を 1 ml 当たり 4×10^6 個に調整して噴霧接種した。接種後、28°C 48 時間の多湿条件下に置き、その後、温度を 20~30°C に調節したガラス室で底面給水で管理した。供試株数は、各菌株について各々 3 株とした。発病調査は、接種 21 日後に行った。

実験結果

作出した *nit* 変異株の病原性検討結果を第 38 表に示した。*nit* 変異株 Cg-CHO-06-N-08, Cg-CHO-07-N-03 および Sawachi-1-N-02 菌株の接種により、イチゴ株根冠部が黒褐変して枯死した。その病徴は、野生株と同様であった。*nit* 変異株 Na91-016-N-21 の接種により、7 日後には葉縁部に葉枯縮葉症状が現われ、野生株と同様の病徴を呈した。全供試 *nit* 変異株は、野生株と同様に病原性を有していた。

第 38 表 イチゴに対するイチゴ炭疽病菌
(*Glomerella cingulata*=*C.gloeosporioides*)
nit 変異株の病原性

供試菌株	供試株数(株)	発病株数(株)
<i>nit</i> 変異株		
Cg-CHO-06-N-08	3	3
Cg-CHO-07-N-03	3	3
Sawachi-1-N-02	3	3
野生株		
Cg-CHO-06	3	3
Cg-CHO-07	3	3
Sawachi-1	3	3
無接種	5	0

注) 接種は無傷噴霧接種で行なった。

供試菌株は、完全世代を形成しなかった。

7. 考察

炭疽病菌は、広範囲の植物上に非常に多くの種が記載されていたが、Arx(1957)は基準標本を含む多数の標本を検討し、不完全世代を *Colletotrichum* 属、完全世代を *Glomerella* 属に統合し、多くの種を異名とした。特に、*C.gloeosporioides* には、600 以上の種を異名として整理された。その後、Sutton(1980)が、Arx(1957)の分類体系を菌核形成の有無、付着器の形態に着目して再整理し、22 種を独立種として認めた。

本病菌子のう殻の形態は、黒色の球形ないし洋梨形で、集生あるいは散生し、頂部は嘴状に突出している。子のう殻の内部には多数の子のうが形成され、子のうは一重壁の長楕円形で、子のう胞子は無色、単胞でわずかに中央部が屈曲している。分生子は、円筒形で両端が丸く、無色、単胞。分生子層は、鮭肉色粘塊状を呈し、しばしば隔壁を有する褐色の剛毛が観察される。付着器は、褐色で根棒状又は不整形である。以上の結果から、本病菌を Arx(1957)および Sutton(1980)の検索表に従い、Arx(1957)の記載した *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding & Schrenk (不完全世代: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Saccardo) と同定し、岡山・辻本(1994)と一致した。なお、本病菌の不完全世代は、Brooks(1931)、山本(1970)の報告した *C. fragariae* と良く一致する。しかし、同種名は Arx(1957)により原菌株の形態的検討の結果、*C. gloeosporioides* の同種異名とされている。この見解は、形態的のみならず、以下の理由によっても支持される。*C. fragariae* は、イチゴに対する強い病原性に基づいて命名、記載(Brooks 1931)されたが、その後イチゴ以外の植物から分離された *C.gloeosporioides* および *G.cingulata* もイチゴに強い病原性を示すことが明かにされたため(石川ら 1989e, 石川・中山 1991b, 岡山・辻本 1994)、病原性により *C. fragariae* を定義できなくなった。Smith and Black(1990)は、*C. fragaria* として分離されたものは、完全世代を決して形成せず、剛毛にも分生子を形成すること、*C.gloeosporioides* とは分生子の形態、大きさが異なることから独立種としている。しかし、そのような炭疽病菌は、本邦では報告されていない、*C. fragaria* への所属については後の論議を待ちたい。ところで、Howard and Albregts(1984)は、炭疽病の根冠部から分離された *G. cingulata* の分生子層は帯白色半透明で分生子が小型であるのに対して、*C. fragariae* の分生子はそれよりも大きく、分生子層は鮭肉色であると報告し、両者が系統的に異なることを示唆した。本病菌も上述のよう

に鮭肉色の分生子層を持ち、分生子も比較的大きいことから、Howard and Albregts (1984)の報告した*G. cingulata*とは系統的に異なり、むしろ従来*C. fragariae*として扱われてきた系統に近いものと考えられる。なお、NM-1菌株は、農林水産省微生物ジーンバンクにMAFF 305 913として登録保存した。

1988年栃木県下で採集された炭疽病菌は、完全世代形成菌株が分布していた。その後、1989年の採集菌株では、完全世代を形成しない菌株が一部分離された。また、完全世代を形成しない菌株は、静岡県、長崎県および三重県に分布していた。1990年栃木市大塚菌株(品種：とよのか)では、分離菌株全てが完全世代を形成しなかった。これは1987年の本病大発生時のイチゴ緊急移入によって、完全世代を形成しない菌株が宿主植物とともに持ち込まれた可能性がある。

本病菌の病原性について、Brooks(1931)は、キンギョソウ、ホウレンソウ、サヤインゲンなどの数種の植物に対して検討し、イチゴのみに病原性を認めた。その後、イチゴ以外の植物に対する病原性の検討はなく、詳細な検討をしたのは本実験が初めてである。本病菌含菌寒天のはりつけ接種によって、ナス、キュウリ、カボチャ、ユウガオおよびミツバツチグりに病原性が認められた。しかし、これら植物は、イチゴ栽培期間や栽培場所とは重複するが、含菌寒天はりつけ法の有傷接種のみに病原性が認められることから、イチゴとの間に伝染環が成立する可能性は少ないと考えられる。

一方、Howard and Albregts(1973)は、coffeeweed (*Cassia obtusifolia* L.)が本病の主要な伝染源になりえると指摘している。しかし、我国では生育していない。そこで、coffeeweedと同属のカワラケツメイ (*Cassia nomame* (sieb.) Hond)に着目して検討を加えた。本病菌は、カワラケツメイに対して、含菌寒天はりつけ法の有傷接種のみにしか発病が認められないことから、伝染環となる可能性は少ないと考えられる。しかし、1990年全国から収集した本病菌8菌株は、無傷噴霧接種でシクラメンに対して強い病原性を示した。さらに、栃木県分離菌株は、ベゴニア、シンビジウムにも無傷噴霧接種で病原性が認められた。シクラメン炭疽病菌のイチゴに対する病原性を検討したところ、いずれもイチゴに強い病原性を示し、イチゴ炭疽病の原病徴が再現された。また、発病シクラメンに隣接させたイチゴに対し、頭上灌水すると本病が伝搬した。また、その逆の実験においてもイチゴ炭疽病はシクラメンに伝搬した。このことから、シクラメン施設とイチゴ圃場が互いに隣接する場合、自然条件下で相互寄生する可能性が示唆される。また、雑草

さく葉標本に対する本病菌接種により、オニノゲシ、キンミズヒキ、イタドリ、ギシギシ、イヌタデ、ツユクサおよびイチゴ体上に子のう殻が形成され、本病菌は腐性生活能を有することが明らかになった。

本病菌の菌糸生育は、28℃前後を最適温として、25～30℃の温度範囲でよく生育し、山本(1971)、岡山・辻本(1989b)の報告とほぼ一致した。本病菌の分生子の発芽率および分生子層の形成と温度との関係については他に報告がない。イチゴ葉煎汁液中での分生子最適発芽温度は、15～35℃であり池田(1991)の報告と一致した。分生子層形成最適温は、25℃前後にあった。イチゴ葉上での分生子発芽率は、12時間後で57%、24時間後で71%であった。付着器形成率は、6時間後で0.4%と低率であるが、24時間後では20%と高率になった。イチゴに分生子が飛散し、多湿条件下では6時間後から感染侵入が始まると考えられる。また、付着器の形成位置は、葉組織の細胞縫合部に集中し、チャ炭疽病菌(浜野1984)、ラン類炭疽病菌(徳永1974)分生子の付着器形成位置の報告と一致した。

分生子発芽率は、殺菌蒸留水およびイチゴ灰分混入蒸留水での10%以下である。しかし、イチゴ葉浸漬液での発芽率は85.6%、さらに煎汁液では96.8%と高率になった。また、ニラ、トマトなどの煎汁液でも94%を超える発芽率であることから、121℃の温度に耐えられる、これら植物に共通する発芽促進物質の存在が示唆される。この現象は、チャ炭疽病では、サポニンやカテキン濃度が発芽率に関与していることが知られている(向井ら1989)。しかし、本研究ではその物質の特定には至らなかった。

本病菌菌糸の生育は、28℃前後、分生子の発芽が15～35℃、分生子層形成が25℃前後を最適温度としている。本病の多発時期(晩春から初秋)の気温は、伝染源の分生子層形成、分生子発芽および付着器の形成、侵入後の菌糸の生育に好適な温度帯に一致する。

本病菌菌糸は、湿熱および乾熱で50℃－5分間で死滅し、分生子および子のう殻は、55℃では両者とも1時間、60℃では30分で死滅した。PDA培地上での本病菌菌糸は、pHは7～9で良く生育し、pH5～10の間では顕著な生育差は認められなかった。分生子層の形成は、pH7～9で多量に形成された。また、WAKSMAN培地では、各菌株ともpH7で良好に生育したが各pH間に大きな差はなかった。Gullino *et al.*(1985)は、malt agarを用いて、同様の実験を行ない、*C. gloeosporioides*菌糸生育は、pH5～8で生育に大差がないとの報告に一致した。

本病菌の土壌中での生存および子のう殻形成過程につ

いて本実験で初めて検討を加えた。子のう胞子を内包した子のう殻は、PDA培地上で13~29℃の温度範囲で形成され、子のう殻および子のう胞子は20~25.5℃では早期に成熟し、子のう胞子を放出した。また、走茎上の子のう殻および子のう胞子は、13~25.5℃の温度範囲では早期に成熟し、20~25.0℃では子のう胞子を放出した。高温期には子のう殻は、第2次伝染源にもなり、低温条件下では、子のう殻および子のう胞子を序々に形成させ、越冬源になるものと考えられる。また、子のう胞子の形成量は、ピークの発達とは必ずしも一致しなかった。

非根圏土壌における子のう殻、子のう胞子、分生子および菌糸の動静について検討を加えた。走茎上の子のう殻は、25℃60日間、5℃、15℃で150日間生存した。土壌中の子のう殻は、分生子および子のう胞子より伝染源となる可能性が高いと考えられる。

北島(1951a)は、モモ炭疽病(*C. gloeosporioides*)の分生子の生存をベトリ皿中の殺菌畑土壌表面に接種し、半日陰の野外に置き7日間の生存を確認し、土壌表面に流下した分生子による伝染の可能性を示唆した。本実験においても、栃木農試栃木分場(栃木市大塚町)の表層の地温は約12~25℃であり、分生子は10~20日間生存できることから、分生子層から飛散または子のう殻から排出された分生子および子のう胞子は、土壌からイチゴへ再飛散する可能性が同様に示唆される。また、分生子の乾湿の生存に及ぼす影響をみると乾燥条件で検出率が低下することから、乾燥土壌は分生子の土壌中での生存に不利に働くものと考えられる。今後、本病菌の土壌での生存については、圃場レベルでの検討が必要であると考えられる。

本研究過程において紡錘形の分生子を有する炭疽病菌を発見し検討を加えた。Sutton(1980)の分類によると、分生子が円柱形(straight)か、鎌形(falcate)かによって大別され、円柱形の分生子のグループは、さらに先端が先細る紡錘形分生子(fusiform)と先端が半円形の円筒形分生子(cylindrical)に分類されている。紡錘形分生子を持つ炭疽病菌は*C. acutatum*, *C. cocodes*, *C. fuscum*および*C. higginsianum*の4種である。本研究の炭疽病菌は、先端が先細る典型的な紡錘形分生子で、付着器が棍棒状である。本病菌は、紡錘形の分生子を有する炭疽病菌のうち、*C. cocodes*の分生子は本病菌より大きく、付着器が長棍棒状で菌核を有することから区別できる。*C. fuscum*は分生子の長さや幅が本病菌とは互いに重なるが、付着器を欠くことで区別できる。また、*C. higginsianum*は分生子の大きさおよび付着器の形態(堀江ら1988)が異なるので区別できる。*C. acutatum*は、

分生子の大きさ、形態、付着器の大きさおよび形態が本病菌と良く一致した。また、菌糸の伸長と温度との関係もSimmonds(1965)の報告と良く一致した。さらに、*C. acutatum*は、宿主範囲が広いことが知られている。Simmonds(1965)によると、イチゴ以外にトウガラシ属、デルフィニウム属およびトマトなどに病原性を有する。本分離菌株は、トマト、ヒエンソウおよびピーマンに病原性が認められた。以上のように、分生子と付着器の形態、大きさ、菌糸の伸長速度と温度反応および宿主植物の範囲から、本分離菌株を *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds と同定した。

C. acutatum によるイチゴ炭疽病は、Simmonds(1965)によりオーストラリアにおいて、収穫後のイチゴ果実に腐敗を起こす新種の病原菌として報告された。その後、1983年にアメリカミシシッピ州で発生が確認された(Smith and Black)。イチゴ産地では、葉、葉柄、ランナーなどを侵すだけでなく、特に、果実腐敗の被害が大きく、問題となっている(稲田ら1999, Mass1984)。また、潜在感染することが知られている(築尾1994S, Smith and Black1983)。我国では本菌によるイチゴの病害は未記載であるので、本菌をイチゴ炭疽病の病原菌に松尾・太田(1992)とともに追加した(病名目録2000)。なお、Wright *et al.* (1960)の報告した実腐れを起こす炭疽病菌分生子の形態は、紡錘形で*C. acutatum*に酷似している。

*C. gloeosporioides*および*C. acutatum*の*nit* 変異株を作出に成功した。*nit* 変異株の出現率は、*C. acutatum*が低かった。供試菌株のphenotype別出現率は、*C. gloeosporioides*のphenotypeは*nit1*の出現率が最も高く、Brooker *et al.* (1991)が報告した*nit2*は出現しなかった。全供試*nit* 変異株は、イチゴに対して野生株と同様な病原性を有していたので、生態研究におけるマーカーとして利用できると思われる。今回の実験では、Brooker *et al.* (1991)の報告した*nit2*は出現しなかったが、その点については、供試数を増加するなどして、さらに検討を加える必要がある。なお、*nit* 変異株の生態研究への利用については、V章で述べる。

V 発生生態

1. 越冬形態

本病の発生生態の研究は不十分であった。特に、越冬形態に関する研究は極めて少ない。そこで、効率的な防除対策を行なうため、本病菌のイチゴ株および土壌での越冬形態について検討した。

1) イチゴ株での越冬

実験材料および方法

栃木農試病理昆虫部圃場において、品種女峰を用いて行なった。供試菌株は、*G. cingulata* NM-1菌株とした。1987年10月27日、分生子懸濁液（ 4.3×10^4 個/ml）をイチゴ株に噴霧接種し、28℃48時間恒温器に収め、感染させたものを感染株とした。無接種株は10月27日に露地に埋め込み、感染株は10月29日に露地に鉢ごと埋め込んだ。実験規模は1区5株とした。

1988年7月20日に越冬株の葉柄から常法により組織分離し、分離率を算出した。分離菌株のイチゴに対する病原性は、分離3菌株をPDA平板培地で28℃7日間培養し得た分生子懸濁液（ 10^4 個レベル/ml）を噴霧接種した。供試株数は各菌株に対して3株とした。発病調査は、接種14日後に行なった。

実験結果

本病菌の越冬形態をイチゴ株を用いて検討し、結果を第39表に示した。28℃の恒温器に48時間置いた感染株は越冬後発病した。発病株から本病菌が分離され、感染株での越冬が確認された。しかし、無接種株では発病せず、どの分離部位からも分離されなかった。

分離菌株のイチゴに対する病原性検討結果を第40表に示した。供試した3菌株は、分生子の無傷噴霧接種でイチゴに病原性を有し、本病原徴が再現された。

第39表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)
接種イチゴ株からの越冬後の分離状況

処理	供試株数 (株)	分離部位	分離率 (%)
感 ^a 染	4	葉柄の病斑	33.3 (1/ 3)
		葉柄の病斑なし	5.1 (3/59)
無 接 種	5	葉柄の病斑	0 (0/ 1)
		葉柄の病斑なし	0 (0/24)

注) a:本病菌分生子接種後48時間28℃多湿条件下におき野外に移植した。
(本病菌が分離された固体数/分離個体数)。
接種は1987年10月27日、野外移植は10月29日
分離は1988年7月20日。

第40表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)
感染株由来菌株のイチゴに対する
病原性

分離材料	供試菌株	供試株数 (株)	発病株数 (株)
感染越冬株	OWS-p1	3	3
	OWS-p2	3	3
	OWS-lp3	3	3
無接種		3	0

注) 接種は無傷噴霧接種とした。
OWS-p1, OWS-p2菌株は葉柄病斑部、
OWS-lp3無病徴部位由来。

2) 土壌中の罹病残渣での越冬

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部圃場で、品種女峰を用いて行なった。罹病残渣混入区は、1987年10月14日に栃木県芳賀郡二宮町の本病多発圃場から、*G. cingulata*子とう殻が形成されたイチゴ罹病残渣(生重1 kg)を採集、数cmに切断し、殺菌土壌と混合してプランター(縦24×横64×高さ16cm)に充填し、10月27日にプランターごと露地に埋め込んだ。分生子灌注区は、*G. cingulata*NM-1菌株分生子懸濁液(4.3×10^4 個/ml)を殺菌土壌を入れたプランターに260ml灌注して露地に埋め込んだ。対照は、殺菌土壌をプランターに入れ露地に埋め込んだ。1988年4月26日に生物検定用の無病株を各処理区に5株ずつ移植した。調査は、1988年5月11日に罹病残渣混入区からイチゴ罹病残渣を採集し、残渣上の子とう殻様構造物を解剖顕微鏡下で単殻摘出し、硫酸ストレプトマイシン50 ppm を添加したPDA平板培地に置床した。また、1988年5月13日に移植株の病斑と無病徴部から常法により組織分離し、分離率および発病株率を算出した。分離菌株

のイチゴに対する病原性は、残渣由来3菌株および子とう殻由来3菌株をPDA平板培地で28℃7日間培養し得た分生子懸濁液(10^4 個レベル/ml)を噴霧接種した。供試株数は各菌株に対して3株とした。発病調査は、接種14日後に行なった。

実験結果

本病菌の土壌での越冬について検討し、その結果を第41表に示した。罹病残渣混入区に移植した2株の葉柄基部に本病の病徴が観察され、本病菌が分離された。しかし、分生子灌注区、無処理区では、発病が観察されなかった。

越冬後罹病残渣からの分離状況を第42表に示した。残渣上に形成された子とう殻様構造物を摘出したところ、本病菌が27個中4個(14.8%)分離された。

分離菌株のイチゴに対する病原性検討結果を第43表に示した。全供試菌株のイチゴに対する接種により、原病徴が再現され接種菌が再分離された。

第41表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)罹病残渣および分生子灌注土壌に移植したイチゴ株からの越冬後の分離状況

処理	供試株数(株)	分離部位	分離率(%)
罹病残渣 ^a	4	走茎の病斑	0 (0/3) ^b
		走茎の病斑なし	0 (0/25)
		葉柄の病斑	40.0 (2/5)
		葉柄の病斑なし	0 (0/33)
分生子灌注 ^c	5	走茎の病斑	0 (0/11)
		走茎の病斑なし	0 (0/36)
		葉柄の病斑	0 (0/5)
		葉柄の病斑なし	0 (0/29)
無接種	5	走茎の病斑	0 (0/17)
		走茎の病斑なし	0 (0/38)
		葉柄の病斑	0 (0/3)
		葉柄の病斑なし	0 (0/31)

注) a:罹病残渣が混入している発病圃場の土壌。

b: (本病菌が分離された固体数/分離個体数)。

c:本病菌分生子懸濁液を土壌に灌注した。

接種は1987年10月27日、野外移植は10月29日、分離は1988年7月20日。

**第42表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)
越冬罹病残渣からの分離状況**

供試材料	供試殻数 (個)	本菌の分離率 (%)
罹病残渣	27	14.8
無病残渣	18	0

注) 残渣上に形成された子のう殻を単殻分離した。

**第43表 イチゴに対するイチゴ炭疽病
(*Glomerella cingulata*)罹病残渣由来菌株の病原性**

分離材料	供試菌株	供試株 数(株)	発病株 数(株)
移植発 病株	NM-1-OWR-1	3	3
	NM-1-OWR-2	3	3
	NM-1-OWR-3	3	3
罹病残 渣上の 子のう殻	NM-1-OWP-1	3	3
	NM-1-OWP-2	3	3
	NM-1-OWP-3	3	3
無接種		3	0

注) 接種は無傷噴霧接種とした。

3) *C.gloeosporioides* の *nit* 変異株での越冬

イチゴ炭疽病菌(*G.cingulata*=*C.gloeosporioides*)の *nit* 変異株を用いて、本病菌の越冬形態を検討した。

(1) イチゴ株での越冬

実験材料および方法

実験は1992年10月15日から1993年6月15日まで品種女峰を用いて行なった。供試菌株は、Puhalla (1985), Correll *et al.* (1987)の方法で作出した本病菌 *C.gloeosporioides* の *nit* 変異株 Cg-CH0-06-N-08(NitM), Cg-CH0-07-N-03(*nitI*)およびSawachi-1-N-02(Nit3)を供した。各供試菌株は、10月13日にPDA平板培地で25°C 7日間培養し、殺菌水で分生子を1ml当たり 4×10^4 個に懸濁調整し、イチゴ株に噴霧接種した。接種後イチゴ株は、28°C 48時間の多湿条件に置き野外に移植した。移植株は無病徴であった。

調査は1993年6月15日にイチゴ葉、葉柄、根(基部)および根冠の維管束外側、維管束および髓部から組織分離を行なった。組織分離培地は、MM培地にL-asparagine (1.6g/ml), KClO_3 (10g/ml)を添加し、pH 3に規正したMMC培地を用いた。

再分離菌株の病原性検討は、分離3菌株をPDA培地で28°C 7日間培養し、分生子を1ml当たり 10^4 個レベルに懸濁して噴霧接種した。供試菌株は、再分離3菌株で各菌株に4株を用いた。

実験結果

nit 変異株を用いた越冬実験結果を第44表に示した。供試菌は、越冬後の接種部位の葉、葉柄、根冠(表皮部)および根から再分離できた。特に、根冠の表皮部は、46.7~66.7%と高率であった。しかし、越冬後展開した葉、葉柄および維管束、髓部からは分離されなかった。また、菌株間には分離率に大きな差はなかった。

再分離菌株の病原性検討結果、供試3菌株の無傷噴霧接種によって、イチゴに原病徴が再現され、接種菌が再分離された。

第44表 イチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*=*C.gloeosporioides*)*nit* 変異株をマーカーにした潜在感染株からの越冬後の分離状況

供試菌株 (phenotype)	分 離 率 (%)							根 ^c
	接種葉	新葉	接種葉柄	新葉柄	表皮部 ^a	維管束	髓部 ^b	
Cg-CHO-06-N-08 (NitM)	26.7	0	46.7	0	46.7	0	0	20
Cg-CHO-07-N-03 (<i>nitI</i>)	40.0	0	33.3	0	66.7	0	0	13.3
Sawachi-1-N-02 (Nit3)	26.7	0	53.3	0	60.0	0	0	13.3

注) a:維管束の外側. b:維管束の内側. c:根冠部から2 cm までの越冬前発生根.

d:供試置床数は30組織. 接種は1992年10月13日, 10月15日野外に移植.

分離は1993年6月15日.

(2) 土壌中の罹病残渣での越冬

実験材料および方法

供試菌株は, *nit* 変異株 *C.gloeosporioides* Cg-CHO-06-N-08(Nit M), Cg-CHO-07-N-03(*nit I*) および Sawachi-1-N-02(Nit3) とした. 罹病残渣は, 品種女峰5株に噴霧接種し, 48時間多湿条件に置き7日後の発病株を長さ5 cmに切断したものである. 罹病残渣は, 1/5000ワグネルポットのイチゴ栽培土壌に混和し, 1992年10月15日に野外に設置した. 調査は, 1993年6月15日に残渣からの再分離を行なった. 分離方法および病原性検討は, 前実験と同様である.

実験結果

実験結果を第45表に示した. 供試 *nit* 変異株の越冬後分離率は, 66.7~76.7%であった. また, 菌株間に分離率の大きな差はなかった.

再分離菌株の病原性検討結果, 供試3菌株の無傷噴霧接種によってイチゴに原病徴が再現され, 接種菌が再分離した.

第45表 イチゴ炭疽病菌 *nit* 変異株をマーカーにした罹病残渣からの越冬後の分離状況

供試菌株(phenotype)	分離率 (%)
Cg-CHO-06-N-08 (NitM)	73.3
Cg-CHO-07-N-03 (<i>nitI</i>)	66.7
Sawachi-1-N-02 (Nit3)	76.7

注) 1992年10月13日接種, 15日野外設置, 分離1993年6月15日.
置床数は60個体

(3) *nit* 変異株 phenotype の越冬後の安定性

実験材料および方法

供試菌株は、イチゴ株および罹病残渣での越冬実験に供した *C. gloeosporioides* Cg-CHO-06-N-08 (NitM), Cg-CHO-07-N-03 (*nit 1*) および Sawachi-1-N-02 (*nit 2*) とした。1993年6月15日に両材料から MMC 培地を用いて組織分離し、イチゴ株由来の Cg-CHO-06-N-08 (NitM) 62 菌株, Cg-CHO-07-N-03 (*nit 1*) 68 菌株, Sawachi-1-N-02 (Nit3) 62 菌株 および罹病残渣由来の Cg-CHO-06-N-08 (NitM) 44 菌株, Cg-CHO-07-N-03 (*nit 1*) 40 菌株, Sawachi-1-N-

-02 (Nit3) 46 菌株を得て PDA 斜面培地に保存した。Phenotype 決定培地は, Correll *et al.* (1987) の方法により作成した。各供試菌株は, phenotype 決定培地に置床し, 4 日後に決定した。

実験結果

実験結果を第46表に示した。イチゴ株および残渣で越冬させた *nit 1*, Nit3, NitM の各 phenotype は変異せず, 越冬前の phenotype で 100% 再分離された。本病菌 *nit* 変異株の phenotype は変異せず安定していた。

第46表 イチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) *nit* 変異株各 phenotype のイチゴ株および罹病残渣での越冬後の安定性

供試材料	供試菌株 (phenotype)	供試置床数 (個)	同一 phenotype の分離率 (%)
感染株	Cg-CHO-06-N-08 (NitM)	62	100
	Cg-CHO-07-N-03 (<i>nit 1</i>)	68	100
	Sawachi-1-N-02 (Nit3)	62	100
罹病残渣	Cg-CHO-06-N-08 (NitM)	44	100
	Cg-CHO-07-N-03 (<i>nit 1</i>)	40	100
	Sawachi-1-N-02 (Nit3)	46	100

注) 接種1992年10月13日, 野外設置10月15日, 分離1993年6月15日。

4) *C. acutatum* の *nit* 変異株での越冬

(1) イチゴ株での越冬

実験材料および方法

実験は1992年10月15日から1993年6月15日まで, 品種女峰を用いて行なった。供試菌株は, Puhalla (1985), Correll *et al.* (1987) の方法で作出した *C. acutatum* の *nit* 変異株 Na91-017-N-01 (*nit 1*) および Na91-016-N-21 (Nit3) を供試した。供試菌株は, 10月13日に PDA 平

板培地で 25°C 7 日間培養し, 殺菌水で分生子を 1 ml 当たり 4×10^4 個に懸濁調整し噴霧接種した。その他の実験項目は, 3)-(1) と実験同様とした。再分離菌株の病原性は, 各供試菌株の分離 3 菌株を供し, 噴霧接種によって行なった。1 菌株あたり 4 株を供した。

実験結果

nit 変異株を用いた越冬実験結果を第47表に示した。本病菌 *nit* 変異株は, 接種葉 (26.7~33.3%), 葉柄 (46.7%), 根部表皮部 (46.7~53.3%) および根 (10%) から再

第47表 イチゴ炭疽病菌 (*Colletotrichum acutatum*) *nit* 変異株潜在感染株からの越冬後の分離率

供試菌株 (phenotype)	分 離 率 (%)							
	接種葉	新葉	接種葉柄	新葉柄	表皮部 ^a	維管束	髓部 ^b	根
Na91-017-N-01 (<i>nit I</i>)	26.7	0	46.7	0	46.7	0	0	10.0
Na91-016-N-21 (Nit 3)	33.3	0	46.7	0	53.3	0	0	10.0
Na91-017	16.7	0	33.3	0	46.7	0	0	2.5
Na91-016	10.0	0	40.0	0	46.7	0	0	5.0

注) a:維管束の外側. b:維管束の内側. c:根冠部から2 cmまでの越冬前発生根.
 接種は1992年10月13日, 10月15日野外に移植. 分離は1993年6月15日.
 供試置床数は, 根40組織その他は30組織.

第48表 イチゴ炭疽病菌 (*Colletotrichum acutatum*) *nit* 変異株をマーカーにした罹病残渣らの越冬後の分離状況

供試菌株 (phenotype)	分離率 (%)	(分離数 / 供試置床数)
Na91-017-N-0 (<i>nit I</i>)	53.3	(32 / 60)
Na91-016-N-21 (Nit3)	50.0	(30 / 60)
Na91-017	45.0	(27 / 60)
Na91-016	41.7	(25 / 60)

注) 1992年10月13日接種, 10月15日野外設置, 分離1993年6月15日.

第49表 イチゴに対する越冬株および残渣由来イチゴ炭疽病菌 (*Colletotrichum acutatum*) *nit* 変異菌株の病原性

供試菌株 (phenotype)	分離源	供試菌株数	供試葉柄数 (本)	発病葉柄数 (本)
Na91-017-N-01 (<i>nit I</i>)	イチゴ株	3	12	12
	イチゴ残渣	3	12	12
Na91-016-N-21 (Nit3)	イチゴ株	3	12	12
	イチゴ残渣	3	12	12
Na91-017	イチゴ株	3	12	12
	イチゴ残渣	3	12	12
Na91-016	イチゴ株	3	12	12
	イチゴ残渣	3	12	12
無接種	イチゴ株		5	0
	イチゴ残渣		5	0

注) 接種菌株は根冠部から分離し, 1本の昆虫針で刺傷接種した.

分離できた。特に、根冠部表皮の分離率は(46.7~53.3%)、他部位に比較して高かった。野生株の分離率は、*nit* 変異株より低い傾向であった。越冬後展開した新葉、新葉柄、維管束および根冠の髄部からは分離されなかった。

再分離菌株の病原性検討結果を第49表に示した。供試3菌株の無傷噴霧接種によって、イチゴに原病徴が再現され、接種菌が再分離した。

(2) 土壌中の罹病残渣での越冬

実験材料および方法

菌株は、*nit*変異株 Na91-017-N-01(*nit I*)およびNa91-016-N-21(Nit 3)を供した。実験方法は、3)-(2)と同一方法で行なった。

実験結果

実験結果を第48表に示した。供試*nit* 変異株は、越冬後MM培地で再分離された。分離率は、Na91-017-N-01菌株で53.3%、Na91-016-N-21 で50.0%であった。野生株の分離率は、Na91-017 菌株で45.0%、Na91-016菌株

で41.7%であり、*nit* 変異株に比較してやや低かった。

越冬株および罹病残渣由来菌株の病原性検討結果を第49表に示した。再分離菌株の無傷噴霧接種によって、イチゴに原病徴が再現され接種菌が再分離した。

(3) *nit* 変異株phenotypeの越冬後の安定性

実験材料および方法

供試菌株は、*C. acutatum* Na91-017-N-01(*nit I*)80菌株、Na91-016-N-21(Nit3)73菌株とした。

Phenotypeの安定性は、3)-(3)の実験と同様にして行い。phenotype決定培地は、Correll *et al.*(1987)の方法により作成し、置床4日後に再現性を決定した。

実験結果

実験結果を第50表に示した。イチゴ株および残渣で越冬させた*nit I*、Nit 3の各phenotypeは変異せず、同phenotypeで100%再分離された。本病菌*nit* 変異株のphenotypeは変異せず安定していた。

第50表 イチゴ炭疽病菌*Colletotrichum acutatum nit*変異株各phenotype のイチゴ株および罹病残渣での越冬後の安定性

供試材料	供試菌株 (phenotype)	供試置床数(個)	同一phenotypeの分離率(%)
潜在感染	Na91-017-N-01 (<i>nit I</i>)	80	100
イチゴ株	Na91-016-N-21 (Nit3)	73	100
罹病残渣	Na91-017-N-01 (<i>nit I</i>)	60	100
	Na91-016-N-21 (Nit3)	63	100

注) 1992年10月13日接種、10月15日野外設置、分離1993年6月15日。

2. 分生子の飛散に及ぼす風と水の影響

筆者らは先に、雨除け栽培が*G. cingulata*によるイチゴ炭疽病防除に有効であることを報告した(石川ら1989f)。これは各種炭疽病の分生子の飛散が、風のみではおこらず水滴に伴って飛散すると考えられるからである(北島1951, 岸1954, 渡辺・若井田1956, 築尾1991, 1994, 上原・野田1961, Yang *et al.* 1990a,b,c, 1992,

Boudreau and Madden1995, Reynolds *et al.*1987ab)。しかし、本病菌(*G. cingulata*)では分生子飛散のメカニズムが未詳であるので、分生子の飛散条件について検討した。

1) ヘアードライヤーを風源とした分生子飛散

実験材料および方法

数種類の伝染源を用いて、ヘアードライヤーと噴霧器で風と水を作用させ、分生子飛散に及ぼす影響を検討した。実験は栃木農試病理昆虫部実験室で、品種女峰を用いて行った。伝染源は、分生子層を形成させたイチゴ株、葉柄およびPDA培地片とした。PDA培地片は、25℃7日間培養し分生子層形成部分および菌そう先端部の分生子のみが形成されている部分を用いた。発病イチゴ株および葉柄は、*G. cingulata*9262-1菌株を噴霧接種し、28℃48時間多湿条件に置き、その後28℃12時間照明の陽光恒温器内で管理し、分生子層を形成させたものとした。イチゴ葉柄およびPDA培地片は、スライドガラス上に固定し、ヘアードライヤーで風速毎秒0、4および8mとなるよう調節して1分間送風した。風速は、アネノマスター(カノマックス社製)で測定した。水は、ペーパークロマトグラフ用噴霧器を用いて霧状にして、水跳ねさせることなく材料に作用させた。飛散分生子は、伝染源の風下15cmに置いたグリセリンゼリー塗布スライドガラスで捕捉し、スライドガラス中央部にかけた22×40mmのカバーガラスの範囲内を顕微鏡下で直接計数した。実験時の室温は25℃、湿度は61%であった。

実験結果

実験結果を第51表に示した。本病菌分生子は、発病イチゴ株に霧と風を同時に作用させた場合に捕捉され、捕捉分生子数は風速が高まると増加した。風だけの発病株および固定した材料からは捕捉されなかった。発病イチゴ株に風と霧を作用させた場合、茎葉が揺れて風下に水滴が離脱飛散したが、固定した材料では水滴の離脱は観察されなかった。なお、霧を作用させるとスライドガラス上には、水滴が生じ、その中に分生子が懸濁していた。

2) 発病葉柄に対する水滴滴下による分生子飛散

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部実験室で、品種女峰を用いて行った。実験材料は、前実験と同様である。1992年6月29日スライドガラスに固定した分生子層形成葉柄の上方60cmに注射器を取り付け、直径約4mmの水滴を葉柄に直接滴下した。捕捉用のグリセリンゼリー塗布スライドガラスは、伝染源の四方に5cm間隔で8枚配置した。捕捉分生子数は、スライドガラス中央にカバーガラス(22

第51表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)
分生子の飛散に及ぼす水と風の影響

供試材料	霧の作用の有無	風速 ^a (m/秒)	捕捉分生子 (個/8.8cm ²)
発病イチゴ株	無	0	0
		4	0
		8	0
	有	0	0
		4	155
		8	327
発病葉柄 ^b	無	0	0
		4	0
		8	0
	有	0	0
		4	0
		8	0
培地上の分生子層 ^b	無	0	0
		4	0
		8	0
	有	0	0
		4	0
		8	0
培地上の分生子 ^b	無	0	0
		4	0
		8	0
	有	0	0
		4	0
		8	0

注) a:風はヘアードライヤーで送風した。
b:供試材料はスライドガラス上に固定した。

×40mm)をかけその範囲内で計数した。

実験結果

実験結果を第8図に示した。滴下水滴は、葉柄にあたり跳ね返って四方に飛び散った。飛散水滴は、分生子を懸濁していた。分生子は、第1滴目に比較して、第2滴から第20滴目ではより広い範囲で捕捉された。また、伝染源に近いほど捕捉数が多かった。

3) 風洞内での分生子飛散

実験材料および方法

実験は、1992年6月30日に栃木農試病理昆虫部実験室で行った。実験に用いた風洞は、写真22に示した。伝染源株は、*G. cingulata*9262-1菌株を品種女峰に噴霧接種し、28℃48時間多湿条件に置き、その後28℃12時間照明の陽光恒温器内で管理して分生子層を形成させたものである。風は、風洞内の伝染源に対して、扇風機で風速毎

秒0, 4および8mとなるよう調節し, 1分間送風した. 水は, 電池駆動の薬剤散布器を用いて, 雨滴状に調節して1分間に80ml作用させた. 飛散分生子の捕捉採集は, WA培地を流し込んだプランクトン用格子線枠付スライドグラスを回転孢子採集器に取り付け, 回転作動させて行なった. 回転孢子採集器は, 無風で水を作用させた場合, 水滴が到達しない伝染源の風下120 cmに設置した. 捕捉採集は3回反復した. 実験時の温度は21℃, 湿度は82%であった. 捕捉分生子の病原性検討には, プランクトン用格子線枠付スライドグラス上の分生子を, 顕微鏡下で単胞子分離して得た3菌株を供した. 単胞子分離菌株は, 乳酸加用PDA培地上で28℃10日間培養し, 分生子を殺菌水で1ml当たり 4×10^4 個に懸濁調整して噴霧接種した. 1菌株あたり3株を用いた.

実験結果

実験結果を第52表に示した. 発病イチゴ株に水と風を同時に作用させた時にのみ分生子が捕捉され, 捕捉分生子数は, 風速が高まると増加した. 実験後の顕微鏡観察では葉柄上の分生子層は崩壊していた. 風だけの作用では分生子は捕捉されず, ヘアードライヤーによる送風実験結果と一致した.

風洞実験で捕捉した分生子の病原性検討の結果, 供試

菌株は, イチゴに対して無傷噴霧接種で原病徴が再現され, 接種菌が再分離した.

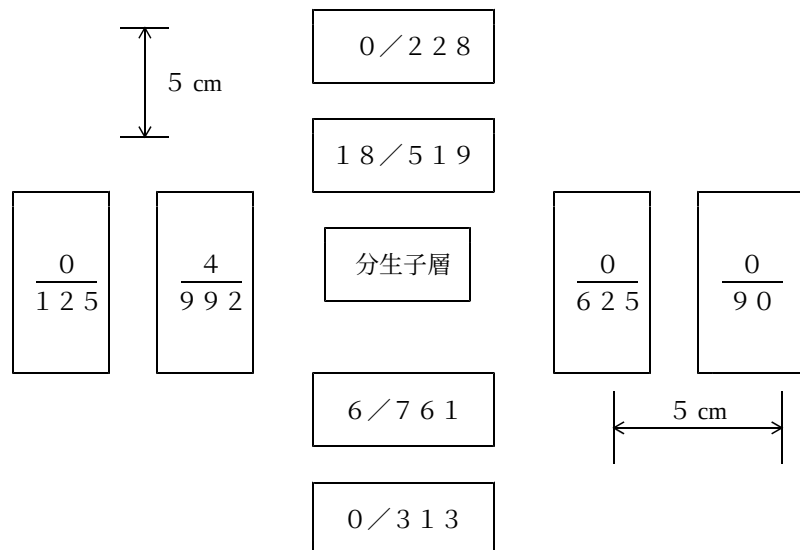
第52表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*) 分生子の飛散に及ぼす水と風速との関係

供試材料	水滴の有無	風速 (m/秒)	捕捉分生子数 (個/8.8cm ²) ^a
発病イチゴ株 ^b	無	0	0
		4	0
		8	0
	有	0	0
		4	11
		8	15
無病イチゴ株	無	0	0
		8	0
	有	0	0
		8	0

注) 風洞実験.

a: 3反復合計分生子数.

b: 葉柄に分生子層が形成されている.



第8図 イチゴ葉柄に形成されたイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*) 分生子層への水滴落下による分生子の飛散

注) 数字は第1滴目における分生子捕捉数/第2滴目から第20滴目の分生子捕捉数. いずれも8.8cm²当たりの捕捉数で示した.

4) 野外での分生子飛散

実験結果

実験材料および方法

実験は栃木農試内のイチゴ作付け前歴のない圃場で、品種女峰を用いて行なった。伝染源株は、*G. cingulata* T0-02 菌株を接種し、葉柄に分生子層を形成させた発病株とした。伝染源株は、圃場中央に移植した。生物検定用株は、本葉を3枚に調整し、東西南北の4方向に1m間隔で5株ずつ移植した。伝染源は、1991年9月30日午後1時から10月1日午前8時まで暴露した。暴露期間の気象は、雨量34mm、風速毎秒0～7m、風向が北ないし北東で、気温が16～22℃であった。生物検定用株は、野外で生育させ、暴露後7、14日目に斑点型病斑数を調査し、14日目には常法により外見無病葉から組織分離を行なった。対照区は、無病株を伝染源とした。

野外での分生子飛散実験結果を第53表に示した。斑点型病斑発病株が、暴露7日後に南方1および2m株、14日後には、5m株に発生した。暴露後の伝染源株は、顕微鏡観察すると分生子層が崩壊していた。また、組織分離（14日後調査）の結果、無病徴の葉および葉柄から本病菌が分離された。

無病株を伝染源とした生物検定用の無病株には、斑点型病斑が発生せず、無病徴部位から本病菌は分離されなかった。

第53表 野外におけるイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 分生子の発病株からの飛散伝搬状況

株の設置位置 方向 距離(m)		斑点型病斑数/株		14日後における病原菌分離の有無			
		1991年10月7日 (7日後)	10月14日 (14日後)	最上位展開葉 ^a		次葉	
				葉身	葉柄	葉身	葉柄
北	1	0	0	—	—	—	—
	2	0	0	—	—	—	—
	3	0	0	—	—	—	—
	4	0	0	—	—	—	—
	5	0	0	—	—	—	—
東	1	0	0	+	+	+	—
	2	0	0	+	—	—	—
	3	0	0	—	—	—	—
	4	0	0	—	—	—	—
	5	0	0	—	—	—	—
南	1	8	14	+	+	+	—
	2	2	5	+	+	+	+
	3	0	2	+	+	—	—
	4	0	2	+	+	—	—
	5	0	2	+	—	—	—
西	1	0	3	+	+	+	+
	2	0	0	+	—	+	—
	3	0	0	—	—	—	—
	4	0	0	—	—	—	—
	5	0	0	—	—	—	—

注) a: 伝染源設置時における最上位展開葉、伝染源は分生子層を形成している。
伝染源設置期間中の気象条件：風速0～7m/秒、雨量34mm、風向N～NE。
+：分離される。 —：分離されない。

3. 発生環境

1) 温度と発病との関係

本病の発病程度に及ぼす温度の影響について検討した。

実験材料および方法

実験は農業研究センターで品種女峰を用いて行なった。供試株は、1989年8月17日に*G. cingulata* NM-1菌株の分生子懸濁液(4.5×10^5 個/ml)を噴霧接種した。接種株は、48時間ポリエチレン袋で覆い多湿条件後、15～25℃、20～30℃および25～35℃に調整したコイトロンに収めた。接種10、30および40日後に発病指数を以下の基準で調査し、発病度を算出した。発病指数 0：無発病、1：葉柄数の1/2未満に発病、2：葉柄数の1/2以上に発病葉に

大型病斑、3：萎凋、4：枯死。発病度＝ Σ (程度別指数×同株数)×100/(4×調査株数)の式により算出した。供試株数は、1区6株とした。

実験結果

本病感染後の発病と温度との関係を検討し、結果を第54表に示した。6月中旬を想定した15～25℃では、病勢の進展は観察されなかった。7月下旬を想定した20～30℃では、30日後に発病度が43.8に上がったが、その後の進展は観察されなかった。8月上旬を想定した25～35℃では、病勢が進展し40日後には、発病度が75.0になり萎凋枯死株が発生した。また、無病株には発病は観察されなかった。

第54表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)の発病に及ぼす温度の影響

処理温度 (℃)	処理区	供試株数 (株)	発 病 度		
			接種10日後	接種30日後	接種40日後
25～35 ^a	接種区	6	25.0	62.5	75.0
	対照区	6	0.0	0.0	0.0
20～30	接種区	6	25.0	43.8	43.8
	対照区	6	0.0	0.0	0.0
15～25	接種区	6	25.0	25.0	25.0
	対照区	6	0.0	0.0	0.0

注) a：夜間温度～昼間温度，

発病度＝ Σ (程度別指数×同株数)×100/(調査株数×4)

程度別指数 0：無発病，1：葉柄数の1/2未満に発病，葉に病斑

2：葉柄の1/2以上に発病，3：萎凋，4：枯死。

2) 濡れ時間と発病との関係

本病の多発要因を解析するため、斑点型病斑の発生に及ぼす濡れ時間との関係を検討した。

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部ガラス室で、本葉4枚に調整した品種女峰を用いて行った。病原菌接種は、*G. cingulata* NM-1菌株の分生子懸濁液(2.3×10^4 個/ml)を噴霧した。接種株は、ポリエチレン袋に入れ、28℃の陽光恒温器に収めて0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 34および48時間後に袋から取り出し、扇風機で15分間強制的に送風し、濡れ状態を解いた。処理株は、ガラス室内

において底面給水で管理した。調査は、接種4, 7および15日後に葉の斑点型病斑数および枯死株数を計数した。供試株数は1区4株とした。

実験結果

実験結果を第55表に示した。各濡れ時間に発病が認められた。斑点型病斑の発生は、濡れ時間が24～48時間では、接種4日後に発生が観察された。しかし、濡れ時間が0～10時間では、接種7日後に観察され、斑点数も少なかった。48時間の濡れ時間では、枯死株が7日後に観察され、15日後には全株枯死した。

第55表 イチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*) 斑点型病斑数と濡れ時間との関係

濡れ時間 (時間)	供試株 数(株)	1株当たり斑点型病斑数(個) ^a			
		0	4	7	15(接種日後)
0	4	0	0	1	35
1	4	0	0	20	31
2	4	0	0	18	38
4	4	0	0	18	42
6	4	0	0	20	42
8	4	0	0	31	71
10	4	0	0	58	149
24	4	0	5	64	182
34	4	0	7	84	226(25%) ^b
48	4	0	7	61(50%)	(100%)

注)a: 葉に発生した斑点型病斑数。 b: (%)は枯死株率を示す。

3) 土壌水分と発病との関係

イチゴは、主に水田転換畑を利用して栽培されるので多湿条件になりやすい。そこで、本病の発生と土壌水分との関係について検討した。

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部圃場で、品種女峰を用いて行なった。土壌水分の高低は、階段状の木枠(180×90 cm)を作製し、土壌水分高(pf値: 1.2～1.5)、土壌水分中(pf値: 1.3～1.7)、土壌水分低(pf値: 1.6～2.0)の3水準を設定した。土壌水分は、地下5 cmで計測し、木枠底部に通じるパイプで注水し調整した。1989年8月4日に生物検定用の無病株を移植した。病原菌接種は、8月19日に*G. cingulata* NM-1菌株の分生子懸濁液($9.4 \times$

10^4 個/ml)を噴霧した。接種後2日間は、黒寒冷紗およびビニルで覆い多湿条件にし、その後は雨除け栽培とした。発病度は、3-1)実験の発病指数および計算式により算出した。実験規模は、1区24株1連制とした。イチゴ株地上部の乾物重は、無接種区の株を80℃で48時間乾燥後に計量した。

実験結果

土壌水分と発病程度との関係について検討し、結果を第56表に示した。接種後39日後の発病度は、土壌水分高(65.0)で高く、中(50.8)および低(48.4)ではほぼ同程度であった。乾物重は、土壌水分中(11.7g)が最も重く、高(10.7g)、低(4.8g)の順位であった。

第56表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)の発病と土壌水分との関係

処理	土壌水分 (pf 値)	調査株数 (株)	乾物重 (g/株)	発病度
接種区	低 (2.0 ~1.6)	15	6.5	48.4
	中 (1.7 ~1.3)	16	7.5	50.8
	高 (1.5 ~1.2)	16	4.1	65.0
対照区	低 (2.0 ~1.6)	8	4.8	0
	中 (1.7 ~1.3)	8	11.7	0
	高 (1.5 ~1.2)	8	10.7	0
畑	2.8~3.1			

注) 畑の pf 値は栃木農試N17圃場の計測値.

4)窒素施用量と発病との関係

発病度は、接種30日後に前実験と同様に算出した。実験規模は1処理9株とした。

実験材料および方法

実験結果

実験は栃木農試病理昆虫部圃場で、品種女峰を用いて行なった。窒素は硝安、リン酸は過リン酸石灰、加里は硫酸加里で調節した。処理量は第57表に示した。イチゴ株は、1988年11月30日に各肥料成分のポット培土に移植し、7日間ガラス室内で管理した。病原菌接種は、*G. cingulata* NM-1菌株をPD液体培地で25℃3週間振盪培養後、7日間室内に静置し、分生子懸濁液を殺菌水で1ml当たり 5.1×10^5 個に調整して12月6日に噴霧した。接種株は、28℃12時間照明、空気湿度を照明時55%、消燈時85%とした恒温器に収めた。発病調査は、接種5日後に上位から4枚の完全展開葉について、斑点型病斑を計数した。

実験結果を第57表に示した。斑点型病斑は、接種後4日後に観察された。株当たりの斑点型病斑数は、無窒素区(5.3個)、少窒素区および慣行窒素区(13.1個)に比較して、多窒素区(48.6個)で多かった。葉柄での発病は、多窒素区で接種11日後に認められ、他区に比較して発病株数も多かった。萎凋株の発生は、少窒素区、多窒素区で13日後に認められ、各区とも枯死株は、接種16、17日後に多く発生した。発病度(接種30日後)は、多窒素区(97.2)で最も高く、少肥区および慣行区で72.2、無窒素区(55.6)で最も低かった。

第57表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)の発病程度と窒素施用量との関係

処理	窒素 リン酸 加里 (kg/10a)			1 複葉当たり の病斑数 (個)	発病度
無窒素施用区	0	10	8	5.3	55.6
少窒素施用区	4	10	8	13.1	72.2
慣行窒素施用区	8	10	8	13.1	72.2
多窒素施用区	10	10	8	48.6	97.2

注) 窒素は硝安、リン酸は過リン酸石灰、加里は硫酸加里で調節した。

斑点型病斑数は、接種5日後、発病度は、接種30日後に調査した。

4. 考察

本病菌(*G. cingulata*=*C. gloeosporioides*)の越冬形態を明らかにすることは、効率的な防除対策を実施するために、極めて重要である。しかし、越冬形態に関する研究は極めて少ない。山本(1971)は、発病圃場からイチゴ株を持ち帰り、鉢上げした株に越冬後発病を観察し、感染株で越冬すると考えた。一方、Carver and Horn(1966)は、発病圃場から無病徴株を採集し、越冬後根冠部から本病菌を分離し、根冠部で越冬するとした。また、Horn and Carver(1968)は、分生子懸濁液を根冠部に注射して低温処理後、28~30℃の温度で管理して発病を認め、本病菌は根冠部で無病徴のまま越冬するとした。本実験では、本病菌(*G. cingulata*)接種株を無病徴で野外越冬させ、越冬後に再分離に成功し、潜在感染株によって越冬することを明らかにした。

本病菌の土壌伝染についてHorn and Carver(1968)は、病原菌の土中での残存を推察し、罹病残渣の埋没実験の結果から土壌中では越冬が不可能であるとしている。しかし、Horn and Carver(1968)の供試した炭疽病菌は子のう殻を形成しないので、子のう殻による越冬については検討されていない。また、岡山(1988)は、子のう殻が枯死株表面あるいは組織中で、組織が腐敗しても形をとどめているのを観察し、残渣組織とともに土壌中に生存して第一次伝染源になると推察した。

本実験により、土壌中に灌注した分生子は越冬できず、罹病残渣上に形成された子のう殻は越冬し、翌年の第一次伝染源になることが明らかになった。このことから、罹病残渣は重要な伝染源になると考えられる。一方、現地圃場では、イチゴ罹病残渣の適切な処理がなされることは希で大きな問題である。これら罹病残渣の処理方法については、VII章で述べる。

本病菌の越冬形態について、*nit* 変異株を用いる新手法によって追試を行なった。本病菌*nit* 変異株の感染株および罹病残渣混入土壌による越冬実験においても野生株と同様の結果が得られた。今後、*nit* 変異株を病原菌のマーカーとする実験手法は、病原菌の生態を検討する上で有効な方法であると考えられる。なお、*nit* 変異株を本病菌のマーカーとした生態研究は、本実験が初めてである。

炭疽病菌の第二次伝染は、分生子が雨滴によって伝搬すると考えられ、モモ炭疽病(北島1951ab)、ウリ類炭疽病(岸1954、渡辺・若井田1956)、テンサイ炭疽病(築尾1990)、オリーブ炭疽病(上原・野田1961)、イチゴ炭疽病菌(築尾1994、Yang et al.1990a,b, 1992、Boudreau 1995、Reynolds et al. 1987a,b)で証明されている。本病の第二次伝染については、山本(1971)は、風雨によって伝搬されると推測した。しかし、本病菌分生子の伝搬条件についての知見は少ない。そこで、*G. cingulata*分生子の飛散に及ぼす水と風の影響について検討し、飛散条件を解明した。ヘアードライヤーを風源とした送風実験では、発病イチゴ株に風と水を作用させると、茎葉が揺れて前方に水滴が離脱飛散した。伝染源に水滴を滴下すると分生子が水滴に懸濁され飛散し、伝染源に近いほど分生子数は多くなった。また、風洞内での実験でも水の作用時にのみ分生子飛散が観察され、捕捉された分生子は本病菌であった。以上から、本病菌分生子が飛散伝搬するには、まず分生子が水の作用により孢子塊(分生子層)の水溶性粘着物質から自由になり孢子懸濁液となる。次に、孢子懸濁液は、イチゴ株から水跳ねや振動によって、離脱飛散することが必須条件であると考えられる。また、野外実験による飛散距離は、5m以上になり親株床や仮植床に発病株があると、圃場全体に分生子が飛散し、発病または潜在感染すると考えられる。これらの結果は、他作物の炭疽病菌分生子の飛散条件と一致した。なお、キュウリ炭疽病では、ウリバエ(岸1954)やニホンアマガエル(保坂1974)でも伝搬されることが観察されているが、本実験では確認できなかった。今後、検討する必要がある。

本病(*G. cingulata*)の発病は、8月上旬の気温である25~35℃で激しく、高い土壌水分(pf値:1.2~1.5)で助長された。また、多窒素施用は、発病を早め、その程度を高めた。しかし、慣行窒素施用量(8kg/10a)では、発病を助長させることは少ないと考えられた。広田ら(1991)、Smith(1987)の実験でも同様の結果を得ている。イチゴ株の濡れ時間は、発病に大きな影響を及ぼし、長いほど斑点型病斑数が増加し、24時間以上になると発病が早まり、その程度が高くなった。イチゴ株が濡れない灌水方法(底面給水、ドリップ灌水等)や濡れ時間を短縮させる午前中の灌水は、有効な発病抑制方法であると考えられる。

VI 品種系統間の発病差異

本病(*G. cingulata*)に対する品種間の発病差異については、山本(1971)、池田(1987)、小玉(1978)、岡山(1989b)によって検討されている。しかし、品種の変遷にともない既報は、実勢に適合しない。イチゴの品種構成は、西のとよのか、東の女峰と呼称された期間が長かった(本田1994)。現に栃木県における女峰の作付け割合は、1993年～1996年には99%に達した。そこで、1988年に全国的に普及している7品種、1992年以降は、抵抗性品種育成母本検索をも目的に含めて、8品種4系統、1993年2品種5系統、1997年12品種11系統、1998年2品種7系統、さらに、1999年には8品種12系統を用いて *G. cingulata*による炭疽病の発病差異を検討した。

1. 各年における品種系統間の発病差異

1)1988年における品種間の発病差異

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部ガラス室で行なった。供試品種系統は、女峰、とよのか、宝交早生、麗紅、ダナー、アイベリーおよび新女峰とした。供試株は、1988年8月5日に栃木分場の本病未発生の親株床から1株ずつ4寸鉢に鉢上げし、ガラス室内で管理した。接種病原菌は、*G. cingulata* NM-1菌株とし、PD液体培地で25℃3週間振盪培養後、7日間室内に静置して得られた分生子懸濁

液(2.5～5.0 ×10⁵ 個/ml)を噴霧接種した。接種は、1988年9月27、29日および10月18日の計3回実施し、供試株数は各品種とも21株とした。接種後、28℃12時間照明、空気湿度を照明時55%、消燈時85%とした恒温室に収めた。斑点型病斑は、接種7日後に上位4葉を調査した。また、発病度は、接種40日後に以下の基準で調査した。

発病指数：0：無発病、1：葉柄数の1/2未満に発病、葉に大型病斑、2：葉柄数の1/2以上に発病、3：萎凋、4：枯死。 発病度 = $\Sigma(\text{程度別発病株数} \times \text{指数}) \times 100 / (4 \times \text{調査株数})$ 。

実験結果

多発生条件下での実験結果を第58表に示した。発病度および発病時期により抵抗性強、中、やや弱、弱の4ランクに類別した。強は宝交早生、中は麗紅、アイベリー、ダナー、やや弱は女峰、新女峰、弱がとよのかであった。斑点型病斑は、女峰、とよのか、新女峰に発生が多く、宝交早生、麗紅は少なくダナーには発生が観察されなかった。葉柄の分生子層形成は、接種10日後にとよのかに観察され、他の品種系統より2日早かった。

大型病斑の発生差異を第9図に示した。とよのかおよびアイベリーには、斑点型病斑とは明らかに異なる、葉縁部から生じる典型的な大型の病斑が多く観察された。ダナーには大型病斑が生じなかった。大型病斑上には、鮭肉色の分生子層がよく形成された。

第58表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する品種間の発病差異

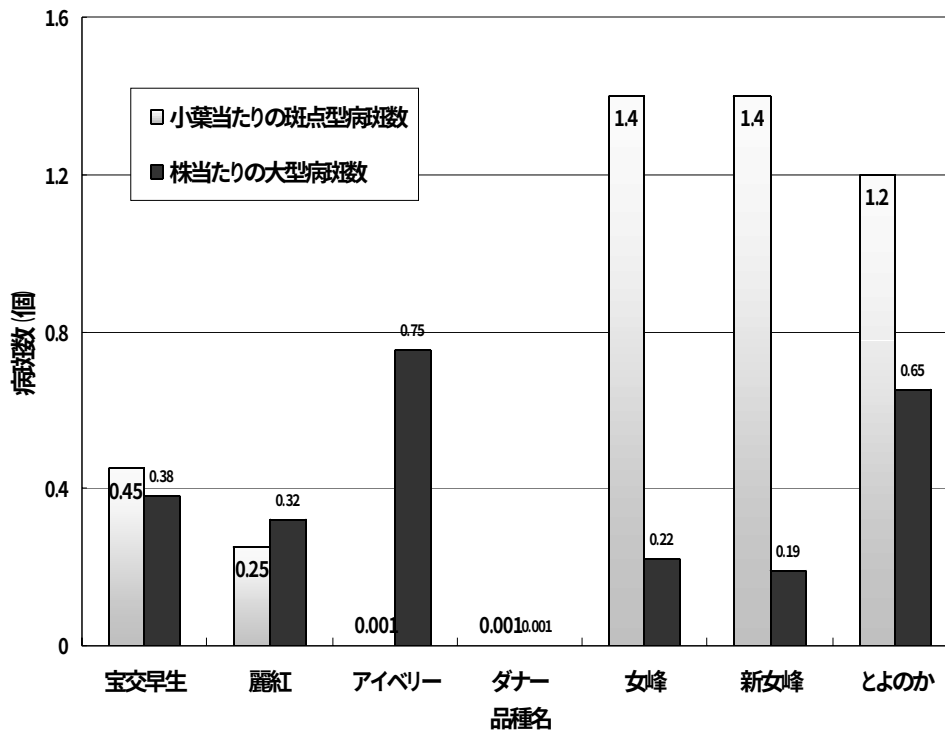
品種名	供試株数(株)	発病度	抵抗性
宝交早生	21	23.6 ^a	強
麗紅	21	39.3 ^c	中
アイベリー	21	40.2 ^c	中
ダナー	21	41.0 ^c	中
女峰	21	49.5 ^{bc}	やや弱
新女峰	21	58.3 ^{ab}	やや弱
とよのか	21	68.3 ^a	弱

注) 表中の同一英小文字はDuncanの多重検定(p=0.05)で有意差の無いことを示す。試験規模：1回7株3反復。

発病度 = $\Sigma(\text{程度別指数} \times \text{同株数}) \times 100 / 4 \times \text{調査株数}$

程度別指数 0:無発病、1:葉柄数の1/2に発病、葉に病斑、

2:葉柄数の1/2以上に発病、3:萎凋、4:枯死。



第9図 イチゴ葉におけるイチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*) 斑点型病斑および大型病斑の発生と品種間差異

2) 1992年における品種系統間での発病差異および病徴

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部ガラス室で行なった。供試品種系統は、ベリースター、アイベリー、サマーベリー、エバーベリー、みよし、女峰、宝交早生、Dover、久留米51号、久留米52号、系511およびF69-266とした。供試8品種4系統は、1992年8月15日に採苗し、1株ずつ4寸鉢に移植し、30日間ガラス室内で管理した。供試株は、9月11日に完全展開葉数を3枚に整えた。試験規模は、1品種26株とした。接種病原菌 (*G. cingulata* 9261-1菌株) は、PDA平板培地で28℃2週間培養し、分生子を殺菌水で1ml当たり 3.8×10^4 個に調整し、9月16日に無作為に配置した株に噴霧接種した。供試株は、接種後28℃48時間多湿条件下に置いた。その後、20～35℃に調節された頭上灌水のガラス室で管理した。

調査は、接種26日後に株当たりの斑点数、62日後に前実験の基準により発病度を調査し、発病度を算出した。

実験結果

中発生条件下での実験結果を第10図に示した。本病の初期病徴である斑点型病斑数は、エバーベリー、みよし、系511で少。アイベリー、久留米51号、女峰、ベリースター、宝交早生でやや多、久留米52号、Dover、F69-266で多、サマーベリー (136.6 個/株) で著しく多く甚であった。発病程度 (62日後) は、みよし、ベリースター、宝交早生、Dover、F69-266、サマーベリーは、病状の進展が少なく萎凋枯死株は観察されなかった。系511、アイベリー、久留米51号、久留米52号、女峰およびエバーベリーは、萎凋枯死株が発生し、病状進展が早かった。

3) 1993年における品種系統間の発病差異

実験材料および方法

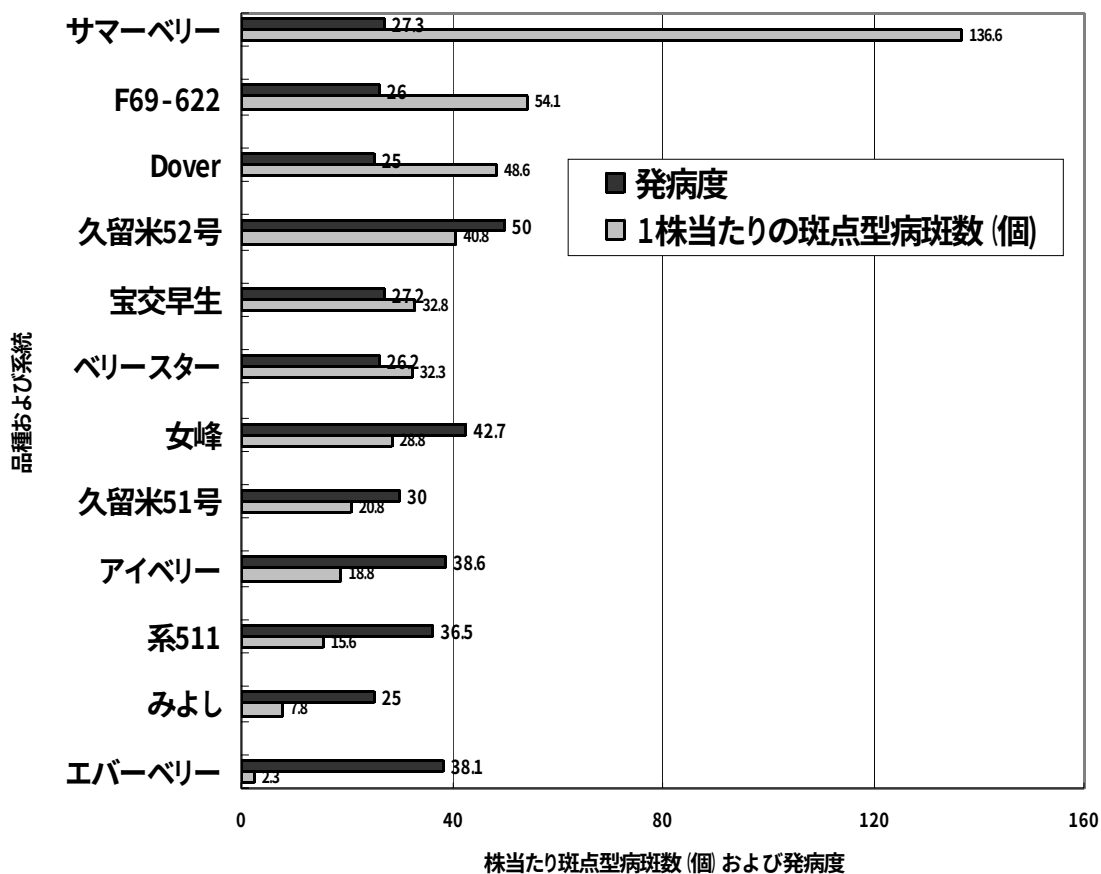
実験は栃木農試病理昆虫部ガラス室で行なった。供試品種系統は、女峰 (30株)、宝交早生 (8株)、栃木12号 (29株)、栃木13号 (30株)、とちおとめ (28株)、栃木14号 (32

株)および女峰×Dover(32株)とした。供試2品種5系統は、1993年7月22日に採苗し、4寸鉢に移植して30日間ガラス室内で管理した。供試株は、8月18日に完全展開葉を3枚に整えた。病原菌接種(*G. cingulata*9261-1菌株)は、分生子懸濁液(4.3×10^4 個/ml)を8月22日に無作為に配置された株に噴霧した。供試株は、接種後28℃ 48時間多湿条件下に置き、その後20～35℃に調節された頭上灌水のガラス室で管理した。

調査は、8月22日(接種8日後)に葉当たりの斑点型病斑数、9月14日(接種23日後)に萎凋枯死株率を算出した。

実験結果

多発生条件下での実験結果を第11図に示した。斑点型病斑は、宝交早生で多く、1葉当たり15.1個であった。23日後の萎凋枯死株は、宝交早生には認められず、栃木12号(6.9%)および女峰×Dover(3.3%)では発生が少なかった。萎凋枯死株率は、栃木14号(34.4%)、栃木13号(61.3%)、とちおとめ(50%)および女峰(46.7%)で高かった。栃木12号は、斑点型病斑(3.9個/株)および萎凋枯死株率(6.9%)の発生が少なかった。

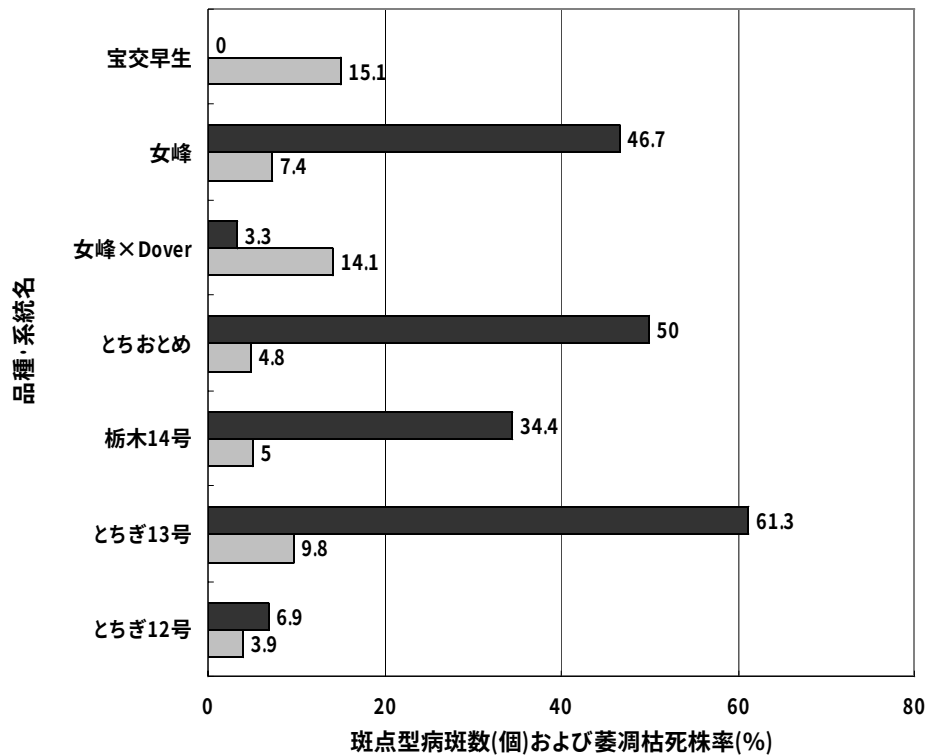


第10図 1992年におけるイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する品種間の発病差異

$$\text{発病度} = \frac{\sum (\text{程度別指数} \times \text{同株数})}{100 / (\text{調査株数} \times 4)}$$

発病程度

- 0: 無発病. 1: 葉柄数1/2未満に発病
2: 葉柄数の1/2以上に発病. 3: 萎凋.
4: 枯死.



第11図 1993年におけるイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する品種間の発病差異

■ 萎凋枯死株率(%)
□ 1葉当たり斑点型病斑数(個)

4)1997年における品種系統間の発病差異

本病(*G. cingulata*)の耐病性育成母本選抜に重点を置いて検討した。

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部ガラス室で行なった。供試品種系統は，女峰(20株)，とちおとめ(20株)，宝交早生(20株)，Dover(20株)，91-8-1(20株)，91-16-3(20株)，91-21-7(20株)，92-26-1(20株)，93-10-4(20株)，95-4-59(13株)，95-8-2(20株)，95-12-10(20株)，95-13-2(20株)，95-13-3(20株)，東北12-16(19株)，Belrubi,(9株)，Elsanta,(20株)，Darsellect(10株)，Korona,(16株)，Mamie (16株)，Manalime(10株)，Mrades Bois (16株)およびPajaro(8株)とした。

供試12品種11系統は，1997年7月15日に採苗してポット育苗した。病原菌接種は，*G. cingulata*96-03菌株を

前培養して分生子懸濁液(4.3×10^4 個/ml)を9月6日に噴霧した。接種株は，接種後28℃24時間多湿条件下に置き，その後ガラス室に1株ずつ無作為に配置した。なお，試験中に発生した萎凋枯死株は，鉢の間に均一に置き第2次伝染源とした。水管理は，頭上灌水とした。

発病度は，10月8日(接種32日後)に，以下の基準で発病程度を調査し算出した。

指数 0：発病を認めない。1：葉に斑点型病斑。2：葉に分生子層が形成される大型病斑。3：萎凋。4：枯死。 発病度 = Σ (程度別発病株数 × 指数) × 100 / (4 × 調査株数)。

実験結果

多発生条件下での実験結果を第12図に示した。91-8-1, Dover, Darsellectおよび95-4-5の発病度は，22以下で葉に斑点型病斑は発生するが，病状の進展が観察されず

極めて強い耐病性を示した。宝交早生, Mrades, Bois, 95-13-2, 91-16-3, Belrubi および Koronaは, 萎凋枯死株の発生が観察されず, 強い耐病性を示した。Pajaro, Manalime, Mamie および92-26-1 は, 耐病性が女峰より劣った。91-8-1(13.8), Darsellect(20)および95-4-5 (21.2)の発病度は, Dover(20) と同程度であり, 耐病性品種系統として優れていた。

5)1998年における品種系統間の発病差異

本病(*G. cingulata*)の耐病性育成母本選抜に重点を置いて検討した。

実験材料および方法

実験は, 栃木農試病理昆虫部ガラス室で行った。供試品種系統株数および系統の由来は, 以下の通りである。女峰(20株), 宝交早生(7株), Dover(20株)96-1-1(91-8-1×とよのか, 20株), 96-1-2(91-8-1×とよのか, 20株), 96-1-3(91-8-1×とよのか, 20株), 96-3-1(とちおとめ×久留米54号, 20株), 96-4-2(93-3-10 ×さちのか, 20株), 96-4-11(93-10-4 ×さちのか, 20株), 96-4-15(93-10-4 ×さちのか, 20株), 96-4-16(93-10-4 ×さちのか, 20株), 96-14-5(とちおとめ×さちのか, 20株), 96-20-1(とちおとめ×91-16-3, 20株), 96-22-1(とちひめ×91-8-1, 20株), 96-22-3(とちひめ×91-8-1, 20株), 96-22-4(とちひめ×91-8-1, 20株), 94-2-8(さちのか×栃の峰, 20株)および94-2-21(さちのか×栃の峰)。供試株は, 1998年7月15日に採苗してポット育苗した。病原菌接種は, *G. cingulata* 96-03菌株を供し, 9月7日にの分生子懸濁液(6.5×10^5 個/ml)を噴霧した。接種株は, 接種後17時間多湿条件下に置き, その後ガラス室に1株ずつ無作為に配置した。また, 試験中に生じた萎凋枯死株は, 鉢間に均一に置き第2次伝染源とした。水管理は, 頭上灌水および底面給水とした。

調査は, 10月8日(接種32日後)に前実験の基準および式で発病度を算出した。

実験結果

多発生条件下での実験結果を第13図に示した。宝交早生およびDoverは, 葉および葉柄に斑点型病斑が生じたが, その後の病状進展が観察されず強い耐病性を示した。96-1-3, 96-1-1, 96-4-11, 96-20-1および94-2-8系統は, 発病度が41.3以下で中程度であった。本病に対する耐病性の基準品種は, 最強を宝交早生およびDover, 女峰を

最弱としている。しかし, 本実験では, 女峰の発病度が31.3と低く, 萎凋枯死株の発生が認められなかった。

6)1999年における品種系統間の発病差異

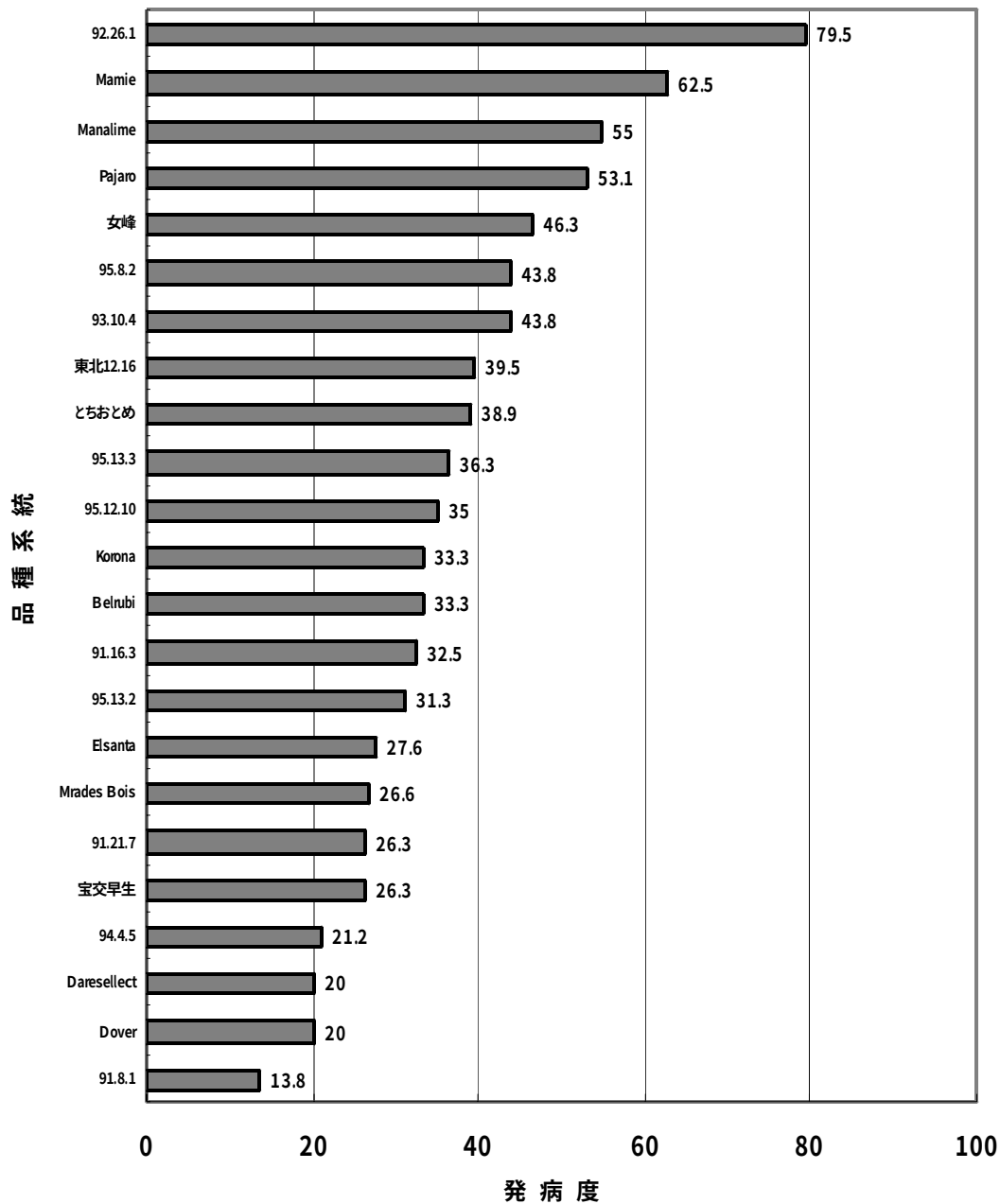
実験材料および方法

実験は, 栃木農試病理昆虫部ガラス室で行った。供試品種系統株数および系統の由来は, 以下の通りである。女峰(20株), 宝交早生(20株), Dover(20株), ELVIRA(11株), GENTO(11株), GORELLA(11株), VARELA(11株), 久留米素材1号(20株), 久留米素材2号(20株), 97-3-2(久留米54号×91-21-7, 15株), 97-3-4(久留米54号×91-21-7, 15株), 97-6-1(93-10-4×91-8-1, 11株), 97-6-2(93-10-4×91-8-1, 11株), 97-6-3(93-10-4×91-8-1, 15株), 97-6-4(93-10-4×91-8-1, 15株), 97-6-8(93-10-4×91-8-1, 15株), 97-7-2(93-10-4×91-21-7, 15株), 97-10-2(とちひめ×93-10-4, 15株)および97-21-2(とちおとめ×アスカウェーブ, 15株)。供試8品種12系統は, 1999年7月6日に採苗してポット育苗した。病原菌接種は, *G. cingulata*大田原親園菌株を前培養し, 8月26日に分生子懸濁液(9.5×10^5 個/ml)を噴霧した。接種株は, 接種後17時間多湿条件下に置き, その後, ガラス室に1株ずつ無作為に配置した。また, 試験中に生じた萎凋枯死株は, 株の間に均一に置き第2次伝染源とした。水管理は, 頭上灌水および底面給水とした。

調査は, 9月28日(接種32日後)に前実験の基準および式で発病度を算出した。

実験結果

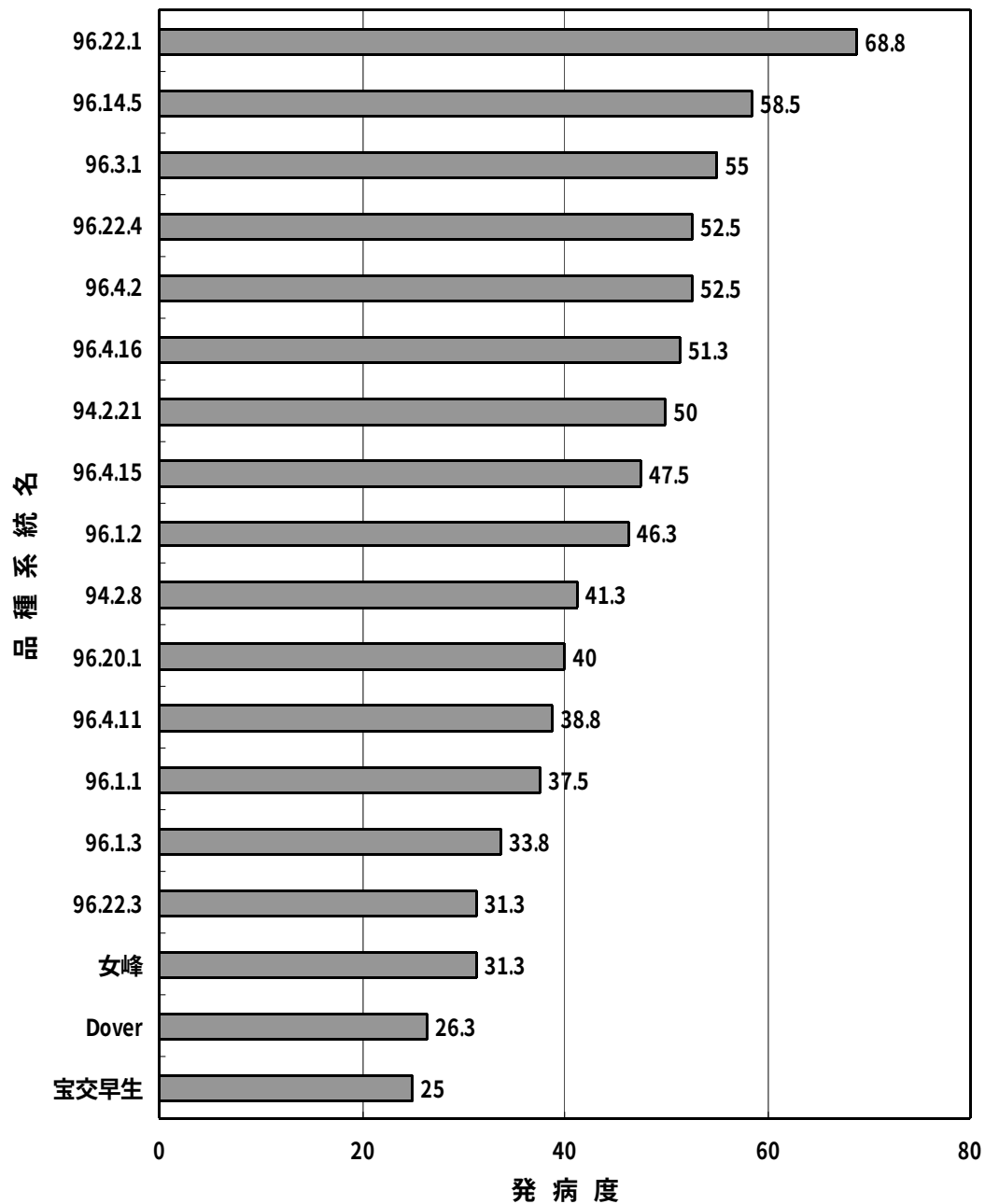
甚発生条件下における実験結果を第14図に示した。宝交早生, Doverおよび久留米素材2号は, 葉および葉柄に斑点型病斑が生じたが, その後の病状進展が観察されず, 強い耐病性を示した。久留米素材1号は, 耐病性示したが葉柄での斑点型病斑の拡大が観察され, 発病度(31.3)が指数2に至る株が発生した。ELVIRA, GENTOおよびGORELLAは, 実用性品種の中で発病度が50以下で中程度であった。その他の品種系統は, 本病に対して弱から極弱であった。栃木県選抜系統では, 97-3-4(43.8)が萎凋枯死株の発生が少なく有望であった。



第12図 1997年におけるイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する品種系統間の発病差異

発病度 = $\Sigma (\text{程度別発病指数} \times \text{同株数}) \times 100 / (\text{調査株数} \times 4)$

発病指数
 0: 発病をみとめない.
 1: 葉に斑点型病斑.
 2: 葉に分生子層.
 3: 萎凋. 4: 枯死.

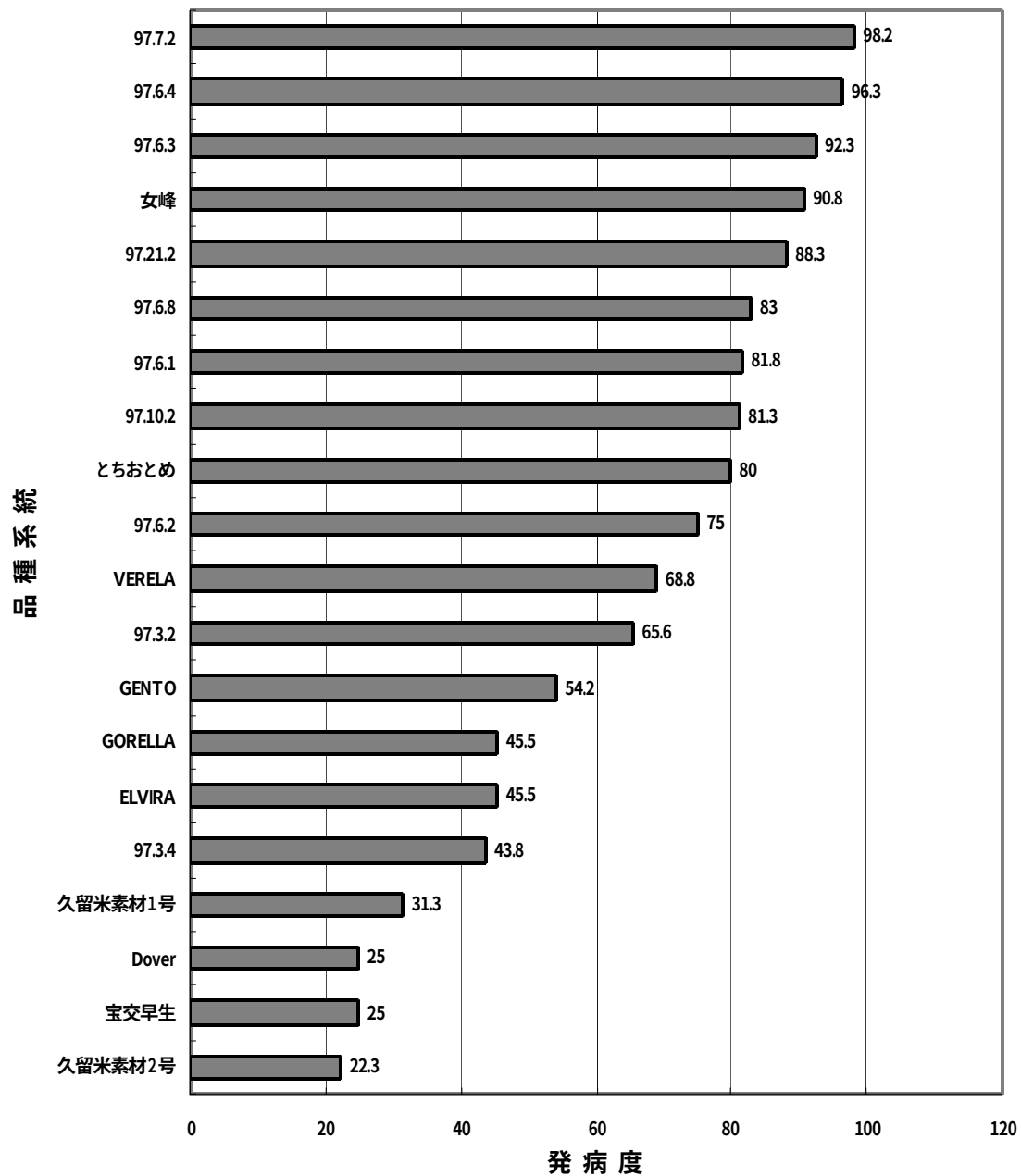


第13図 1998年におけるイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する品種系統間の発病差異

$$\text{発病度} = \frac{\sum (\text{程度別発病指数} \times \text{同株数})}{100 / (\text{調査株数} \times 4)}$$

発病指数

- 0: 発病を認めない. 1: 葉に斑点型病斑.
2: 葉に分生子層が形成される大型病斑.
3: 萎凋. 4: 枯死.



第14図 1999年におけるイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する品種系統間の発病差異

発病度 = $\Sigma (\text{程度別発病指数} \times \text{同株数}) \times 100 / (4 \times \text{調査株数})$

発病指数

- 0: 発病を認めない
- 1: 葉に斑点型病斑
- 2: 葉に大型病斑
- 3: 萎凋 4: 枯死

2. 考察

本病(*G. cingulata*)の発生には、品種間の発病差異が認められる。品種間の発病差異について、山本(1971)は葉身、葉柄の発病差で判定を行い、芳玉、久留米13号、促成3号、紅鶴、たかね、堀田ワンダー、はるのか、幸玉、アメリカおよび宝交早生を供試し、芳玉が最も弱く、宝交早生が最も強いとした。小玉(1978)は、小葉の発病から福羽、芳玉、麗紅などを罹病性とし、宝交早生は抵抗性とした。池田(1978)は、とよのか、麗紅、紅宝満、宝交早生を供試し、噴霧接種試験と自然発病調査の結果から、宝交早生が最も強く、とよのかは、麗紅および紅宝満より抵抗性とした。また、岡山(1989b)はアイベリー、紅宝満、とよのか、麗紅、女峰、明宝、はつくに、媛育および宝交早生の9品種に噴霧接種して発病状況を調査した。その結果、アイベリー、紅宝満、とよのか、麗紅、女峰が罹病性、明宝、はつくに、媛育、宝交早生を抵抗性とした。

本実験では、宝交早生、Dover、久留米素材2号を抵抗性、女峰、とよのかを罹病性と判定した。宝交早生については、既報と一致した。しかし、池田(1978)はとよのかの抵抗性はかなり強く、麗紅は弱いとしており、とよのかについては本実験とは反応が異なったが、岡山(1989b)とは一致した。

本病菌(*G. cingulata*=*C. gloeosporioides*)には、病原力の異なる菌株の存在が知られている (Smith and Black1990)。また、*C. acutatum*では品種間の発病差異をSequoiaとDoverを判別品種にして、それらを侵すグループ1と侵さないグループ2の菌群を報告している (Denoyes and Baudry 1995)。我国においても、*G. cingulata* のレースが存在する可能性をも考慮して研究を行うことが重要である。

宝交早生やDoverでは、*G. cingulata*を接種した場合に根冠部における病斑拡大がなく、萎凋枯死症状を示さなかった。しかし、斑点型病斑発生数は、宝交早生、Doverと、女峰、とよのかとの間に大きな差がなかった。また、本病菌(*G. cingulata*)接種シクラメンの初期病徴は、本病斑点型病斑とよく類似したが、その後拡大し、分生子層形成にまで至った。しかし、イチゴの場合、罹病性品種でも斑点型病斑の拡大は観察されない。また、Milholland(1982)は、*C. fragariae*抵抗性品種のApolloやSequoiaは、侵入菌糸に対してタンニンを集積し、病斑拡大を阻止する現象を観察している。病害抵抗性は、侵入抵抗性と拡大抵抗性に分けることができる。以上のことから、本病に対する病害抵抗性は、拡大抵抗性が主因と推察された。現在、本研究により、今まで知られていなかった品種系統の発病差異が明らかになり、多くの有望系統が選抜され、耐病性育種に用いられている。

VII 防除方法

本病による被害は甚大で，産地の存亡にも関わる．そこで，効率的かつ環境に配慮して防除するため耕種的防除方法，物理的防除方法，生物的防除方法，化学的防除法および潜在感染株の診断方法について検討した．

1. 耕種的および物理的防除方法

1) 育苗期の雨除け栽培による防除効果

育苗期の露地栽培では，降雨や灌水によって本病菌(*G. cingulata*)分生子が飛散するため発病が多くなる(石川ら1989f, 1993a,b, 信夫・岡山1990, Okayama1993)．そこで，仮植床および親株床でのビニル被覆による雨除け栽培の防除効果について検討した．

実験材料および方法

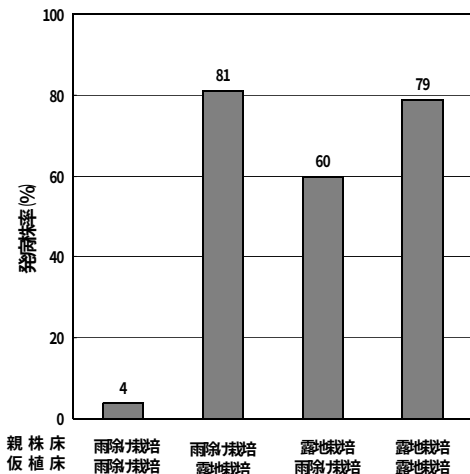
栃木農試栃木分場内の圃場で，品種女峰を用いて行なった．供試圃場は，1988年に本病(*G. cingulata*)が多発した圃場である．雨除け栽培は，天幕部のみをビニル被覆した間口4.5mのビニルハウス(K15型)内に親株床および仮植床を設けることにより行なった．実験規模は，親株床1処理当たり5株，仮植床は1処理当たり100株とした．親株床への移植は，1989年4月12日，仮植床への移植は8月3日に行なった．実験期間中の灌水は，畝間灌水とした．調査は，本圃定植時の9月13日に発病株率を算出した．

実験結果

実験結果を第15図に示した．発病株率は，雨除け栽培を親株床および仮植床の両者で行なうと4％で，露地栽培(79％)に比較して著しく低くなった．また，雨除け栽培をいずれかの期間実施しない場合は，発病株率が60～81％で，露地栽培(79％)と同様に高率であった．なお，雨除け栽培に起因する特異的な病害虫の発生は認められなかった．

2) 底面給水法による防除効果

底面給水法(青木1987)は，鉢物栽培に普及している省力的な灌水方法の一つである．通常のノズル散水で生ず



第15図 育苗期における雨除け栽培がイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)の発生に及ぼす影響

る水跳ねがないため，シクラメン炭疽病(*G. cingulata*)の蔓延を抑制することが明らかになっている(石川ら1991a)．そこで，本病に対する底面給水法の抑制効果について検討した．

実験材料および方法

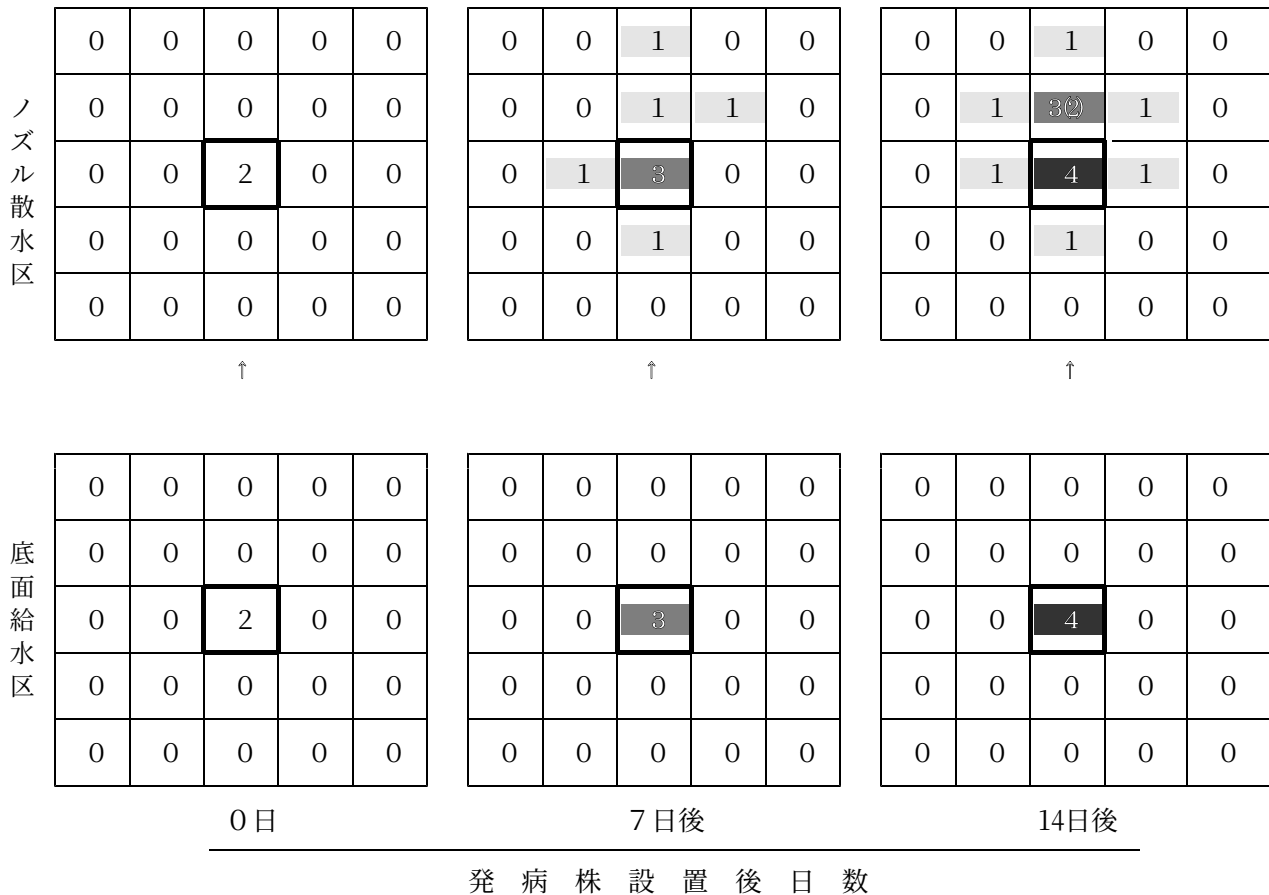
栃木農試病理昆虫部ガラス室で，直径12cmの塩化ビニル製ポットに一本ずつ植えられた品種女峰を用いて行なった．実験規模は，1区25株とした．底面給水は，ベンチに敷いたビニル上に3mm厚のポリエステル不織布マットを敷いて，その上にイチゴポットを置きマットに注水し，ポット底部から給水させた．ノズル散水は，ポリエステル不織布のみを敷き，ノズルでイチゴ株の上から灌水し，水滴を飛散させた．伝染源は，*G. cingulata*9261-1菌株を接種し，分生子層を形成させた発病株とした．生物検定株は，30cm間隔で正方形に配置した．伝染源株は，1992年7月6日に供試株中央に置き暴露した．ガラス室の温度は，25～35℃調節した．発病調査は，実験開始0，7および14日後に発病程度を1999年の品種間発病差異実験の基準で行なった．

実験結果

底面給水法による本病の伝染抑制効果を検討し，実験結果を第16図に示した．底面給水の伝染源株は，14日後には枯死した．しかし，生物検定株には，全実験期間を通して発病が認められなかった．しかし，ノズル散水では，伝染源株からの水滴飛散が観察され，生物検定株が発病した．発病株率は，実験開始7日後に20.8％，14日

後には29.2%に達し、発病蔓延した。また、実験開始14日後には、灌水時に伝染源の風下にあたる検定株葉柄に

分生子層が形成され、新たな伝染源になった。



第16図 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)伝染に及ぼす底面給水法およびノズル散水法の影響

↑:散水方向 □:伝染源

0:無発病 1:斑点型病斑 2:分生子層形成 3:萎ちょう 4:枯死

3) 嫌氣的発酵による罹病残渣の不活化

イチゴ栽培農家では、下葉かきなどの管理作業で排出される残渣を肥料袋等に詰めて圃場外に持ち出している(写真23)。一方、高水分含量罹病残渣の処理方法として嫌氣的発酵が有効であり(萩原1983, 萩原・竹内b, 1983, 萩原ら1990, 田中・野中1985), 本法を用いれば特別な労力は必要としない。そこで、本病に対する罹病残渣の嫌氣的発酵による不活化を検討した。

実験材料および方法

実験は農林水産省農業研究センター土壌病害研究室で、品種女峰を用いて行なった。本病菌の活性調査のための材料としては、含菌寒天片および分生子付着ろ紙を用いた。本病菌*G. cingulata* NM-1菌株をあらかじめ殺菌したイチゴ走茎およびPDA平板培地で25℃21日間培養し、子のう殻および分生子を形成させた。また、殺菌ろ紙(2×4cm)に分生子を1ml当たり 4.4×10^4 個に調整した懸濁液を点滴接種後風乾した。これらを#35μmのナイロンメッシュ袋(3×3cm)に収めた。圃場から採集し

たイチゴ残渣200gを2重にしたポリエチレン袋(厚さ0.03mm, 縦45cm, 横35cm, 以下, 特に断らない限り本袋を使用)に入れ, 上記ナイロンメッシュの袋を残渣の中心部に位置させた後, 袋内の空気を排出し, 口を結えて密封した。これらを所定温度の恒温室あるいは実験室内に置いた。実験は, 定温条件および変温条件で行なった。

実験1: 定温条件 処理温度を5, 15および25℃の3段階, 処理期間を0, 7, 15, 30, および60日間の5段階とした。それぞれについて, イチゴ残渣重の半分となるよう水道水を添加した場合と添加しない場合をも設定した。

実験2: 変温条件 1989年8月3日～9月8日(25～35℃), 8月3日～10月8日(20～35℃)および9月20日～10月20日(20～30℃)3期間を設けた。処理後の検定試料はストレプトマイシン硫酸塩を50ppm添加したPDA培地を用いて分離した。

病原性の検討: 30日間処理後の供試含菌PDA培地片を, イチゴ葉柄にはりつけ接種し, 発病の有無を調査した。

定温条件下での検討結果を第59表に示した。供試した3種の試料は, いずれもほぼ同様の傾向を示した。25℃7日後では, 水無添加のろ紙, 走茎から検出された以外には検出できなかった。15℃では水無添加, ろ紙から15日後まで, 走茎および含菌寒天片からは7日後まで検出されたが, それ以外では検出されなかった。5℃では, 水添加のろ紙から15日後, その他でも60日後には検出されなくなった。無処理では全試料で全期間検出された。高温条件および水の添加により, 本病菌は早期に検出されなくなる傾向が認められた。

含菌寒天片はりつけ接種による病原性検討結果を第60表に示した。嫌氣的発酵処理30日後のPDA寒天片からは, 15, 25℃からは本病菌は検出されず, 病原性も認められなかった。しかし, 処理温度5℃では, 検出され病原性も認められた。

変温条件下での検討結果を第61表に示した。0日のみ本病菌が検出されたが, 全処理期間ですべての試料から本病菌は検出されなかった。なお, 嫌氣的発酵処理をした袋からは, サイレージ臭がした。

実験結果

第59表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)に対する嫌氣的発酵を用いた定温条件下における不活化の効果

処理方法	処理温度(℃)	検定材料	注水の有無	検出の有無				
				0日後	7日後	15日後	30日後	60日後
嫌氣的発酵	25	分生子(ろ紙) ^a	有	+	—	—	—	— ^b
			無	+	+	—	—	—
		発病走茎	有	+	—	—	—	—
			無	+	+	—	—	—
	15	含菌PDA培地片	有	+	—	—	—	—
			無	+	—	—	—	—
		分生子(ろ紙)	有	+	—	—	—	—
			無	+	+	+	—	—
	5	発病走茎	有	+	—	—	—	—
			無	+	+	—	—	—
		含菌PDA培地片	有	+	—	—	—	—
			無	+	+	—	—	—
無処理 ^c	室温	分生子(ろ紙)	有	+	+	+	+	+
		発病走茎	有	+	+	+	+	+
		含菌PDA培地片	有	+	+	+	+	+

注) a: ろ紙に分生子を噴霧接種した。

b: + 本病菌が分離されることを示す。— 本病菌が分離されないことを示す。

c: イチゴ残渣を入れポリエチレン袋は開放した。

第60表 イチゴに対する嫌氣的発酵30日間処理後のイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 含菌寒天の病原性

処理方法	処理温度 (°C)	注水の有無	検出の有無	病原性 ^a の有無
嫌氣的発酵	25	有	— ^b	無 (0/6) ^c
		無	—	無 (0/6)
	15	有	—	無 (0/6)
		無	—	無 (0/6)
	5	有	+	有 (4/6)
		無	+	有 (5/6)
無処理	室温		+	有 (6/6)

注) a: PDA培地片をイチゴ葉柄にはりつけ接種した。
 b: +, 本病菌が分離されることを示す。
 —, 本病菌が分離されないことを示す。
 c: (発病葉柄数/供試葉柄数)

第61表 イチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) に対する変温条件下における嫌氣的発酵を用いた不活化の効果

処理方法	検定材料	注水の有無	検出の有無				
			1989年8月3日 (0日)	9月8日 (30日後)	10月8日 (60日後)	9月20日 (0日)	10月20日 (30日後)
嫌氣的発酵	発病走茎	有	+ ^a	— ^a	—	+	—
		無	+	—	—	+	—
	含菌PDA	有	+	—	—	+	—
		無	+	—	—	+	—
無処理 ^b	発病走茎		+	+	+	+	+
	含菌PDA		+	+	+	+	+

注) a: —は本病菌が分離されないことを示す。+は本病菌が分離されることを示す。
 b: イチゴ残渣を入れたポリエチレン袋は開放した。

4) 越冬期における嫌氣的発酵による罹病残渣の不活化

本病(*G.cingulata*)罹病残渣は、育苗が終了すると肥料袋等に入れられて圃場周辺に破棄され、適切に処理されることは希である(Hore and Burnside1972, 石川ら

1990c, 斎藤ら1989)。そこで、秋から翌春までの低温期間における罹病残渣の嫌氣的発酵処理による不活化について検討した。

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部圃場で、品種女峰を用いて1989年9月20日から1990年5月8日まで行なった。本病菌の活性検定材料には、発病枯死株および発病走茎を用いた。両材料は、*G.cingulata* NM-1菌株を接種し、枯死又は発病させたものである。供試走茎は、#35 μ mのナイロンメッシュ袋(3×3cm)、枯死株は#5mmの寒冷紗(15×20cm)に収めた。なお、枯死株の根冠部の直径は、約2cmであった。嫌氣的発酵処理は、圃場から採集してきた生重4kgのイチゴ残渣を2重にしたビニル袋

に入れ、袋内の空気を排出して口を結わえて密閉した。検定材料は、残渣の中心部に収めて嫌氣的発酵処理をした。

袋開放区は、嫌氣的発酵処理と同一検定材料とし、ビニル袋の口を結わえず開放した。野積み区は、イチゴ残渣を高さ約40cmの小山状に積み、その中心部に同一検定材料を収めた。供試袋数は、1処理期間1袋とし、袋の中に2つの検定材料を入れた。病原菌の検出は、1990年3月24日(処理190日後)、5月8日(230日後)に検定材料をPDA平板培地(ストレプトマイシン硫酸塩50ppm添加)に置床して行なった。

実験結果

実験結果を第62表に示した。袋開放区および野積み区からは、3月29日(処理190日後)および5月8日(230日後)に本病菌が再検出された。しかし、嫌氣的発酵区では、両調査日において再分離されなかった。

第62表 仮植床でのイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)罹病残渣に対する越冬期における嫌氣的発酵による不活化の効果

処理方法	検定材料	検出の有無		
		1989年9月20日 (0日)	1990年3月29日 (190日後)	5月8日 (230日後)
嫌氣的発酵	発病走茎	+	—	—
	含菌PDA培地片	+	—	—
袋開放	発病走茎	+	+	+
	含菌PDA培地片	+	+	+
野積み	発病走茎	+	+	+
	含菌PDA培地片	+	+	+

注) +：本病菌が分離されることを示す。—：本病菌が分離されないことを示す。

5) バックサイロを用いた罹病残渣の大量不活化

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部イチゴ圃場で、品種女峰を用いて1989年6月20日から1990年8月20日まで行なった。本病菌の活性検定材料は、*G.cingulata* NM-1菌株を接種し、枯死させたイチゴ株を用いた。供試枯死株は、#5mmの寒冷紗(15×20cm)に入れた。なお、枯死株の根冠部の直径は約2cmであった。嫌氣的発酵処理は、圃場から

から採集してきたイチゴ残渣60kgを1t用のバックサイロに入れ、袋内の空気を排出して口を結わえて密閉した。検定材料は、残渣の中心部に収めて嫌氣的発酵処理をした。罹病残渣野積み区は、残渣60kgを高さ約80cmの小山状に積み、その中心部に同一材料を収めた。検定材料数は、1処理期間3材料とした。

病原菌の検出は、前実験と同様に行なった。分離菌の病原性検定は、培地上に形成された分生子層を1本の昆虫針でかきとり、葉柄に刺傷接種した。

実験結果

その結果を第63表に示した。バックサイロ処理では、処理60日後の罹病残渣から本病菌は分離されなかった。しかし、罹病残渣野積み処理からは、処理60日後でも本病菌が分離された。また、分離菌の接種により、原病徴が再現され病原性が確認された。

**第63表 収穫圃でのイチゴ炭疽病
(*Glomerella cingulata*)罹病残渣に対する
バックサイロ利用嫌氣的発酵処理による不
活化の効果**

処 理	検出の有無	
	1989年6月20日 (0日)	8月20日 (60日後)
バックサイロ処理 ^a	+	— ^b
罹病残渣野積み ^c	+	+

注) a:イチゴ残渣60kgを入れ嫌氣的発酵処理をした
b: +は本病菌が分離されることを示す。
—は本病菌が分離されないことを示す。
c:イチゴ残渣60kgを野外に小山状に積み放置した。

6) 嫌氣的発酵処理後における農薬残留量

嫌氣的発酵処理されたイチゴ残渣は、サイレーズ飼料として活用できる可能性がある。そこで、イチゴ栽培で使用される代表的な殺菌、殺虫剤を供して嫌氣的発酵後の残留量を検討した。

実験材料および方法

実験は栃木農試環境保全部と共同で、品種女峰を用い

て行なった。1991年6月18日にイチゴ灰色かび病の防除薬剤プロシミドン水和剤2000倍液、アブラムシ類の防除薬剤フルバリネート水和剤8000倍液を10a当たり150lを手動式散布器で散布した。供試部位は、茎葉および根とし、水洗の有無を設けた。嫌氣的発酵処理は、材料を#15mmの寒冷紗に500g収め、前実験に組み入れ行なった。無処理は、分析試料500gを実験室内に保管した。残留試料は、6月19日および8月20日(処理60日後)に採取した。プロシミドンはNP-FID、フルバリネートはECDを検出して定量した。また、栃木県酪農試験場にイチゴ茎葉のサイレーズ飼料としての評価分析を依頼した。

実験結果

嫌氣的発酵処理の農薬残留量に及ぼす影響を検討した。その結果を第64表に示した。プロシミドンは、散布翌日(6月19日)の水洗および無水洗の茎葉に、フルバリネートは、無水洗の茎葉に検出された。残留量は、水洗処理によって著しく少なくなった。全処理材料の薬剤残留量は、検出限界(0.01ppm)以下で、室内に置いた無処理と同様の結果であった。

イチゴ残渣の飼料分析結果は、VBN/T-Nが5.1(10%未満が適正)、フリーク評点が15点であった(粗飼料品質カード:191KT025)。品質判定の結果は、劣質と判定されたが、香味があることからサイレーズの材料草として適していると考えられる。品質が低下した要因としては、材料草に土が混入していることと、サイレーズの詰め込み密度が小さいと考えられ、その点を注意して調整すれば良質のサイレーズができるとのコメントを得ている。

第64表 イチゴ残渣の嫌氣的発酵処理後におけるプロシミドン水和剤およびフルバリネート水和剤の残留量

処 理	供 試 部 位	残 留 量 (ppm)	
		プロシミドン	フルバリネート
嫌氣的発酵 (散布60日後)	水洗	茎 葉	<0.01
		根	<0.01
	無水洗	茎 葉	<0.01
		根	<0.01
無処理 (散布1日後)	水洗	茎 葉	0.08
		根	<0.01
	無水洗	茎 葉	0.36
		根	<0.01
無処理 (散布60日後)	水洗	茎 葉	<0.01
		根	<0.01
	無水洗	茎 葉	<0.01
		根	<0.01

注) 1991年6月17日にプロシミドン水和剤2000倍液、フルバリネート水和剤8000倍液を15l/a散布した。

7) 汚染圃場に対する太陽熱利用熱水灌注法の防除効果

実験材料および方法

栃木農試病理昆虫部の人工汚染圃場で、品種女峰を用いて行なった。本病菌 *G. cingulata* T0-1菌株を麦粒培地で28℃2週間培養し、親株床に含菌麦粒を1m²当たり100g散布接種した。汚染圃場は、1991年7月18日に激しく発病している親株床をトラクターで深さ15cmにロータリー耕をして作成した。

熱水注入処理は、幅190 cmの透明ビニルで小トンネルを作成し、その中に透明ビニルで作製したウォーターマットレス(幅120 cm, 高さ10cm, 長さ7 m, ビニル厚0.1 mm)を敷き、水深7 cmになるよう水道水を入れ、太陽熱を利用して熱水を得た。8月26日午後1時にウォーターマットレス底部に30cm間隔に92か所穴をあけ、熱水(水温63℃)を1cm²当たり70ml土壌に注入した。注入に要した時間は20分であった。臭化メチル処理は、7月22日に1m²当たり15g土壌処理した。透明ビニル被覆処理は、7月22日に仮植床上に透明ビニルを被覆した。無処理は、露地状態のまま放置した。また、無処理と透明ビニル被覆処理との間には、幅120 cmの小トンネルの片側だけを

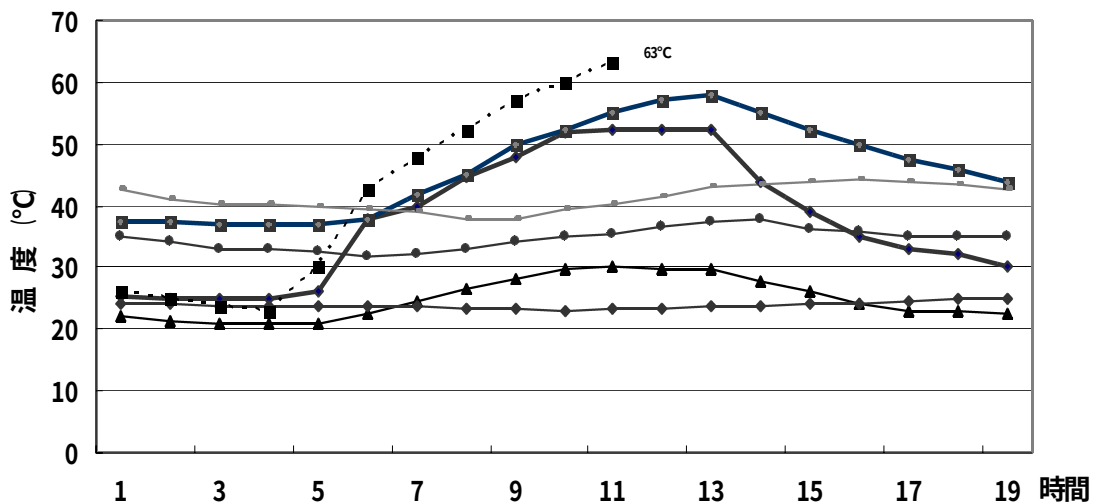
ビニル被覆し障壁とした。実験規模は、1区120株、一連制とし、生物検定株を8月29日に移植した。

調査は、9月3、9日および10月5日に発病株率を算出した。なお、発病株は発見しだい除去した。

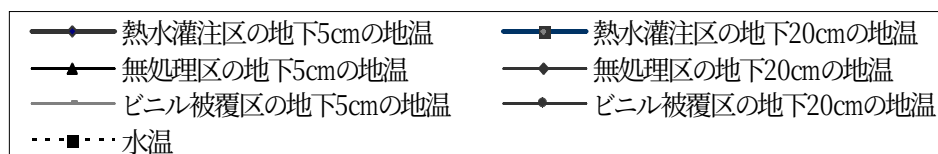
実験結果

本病菌汚染圃場に対する簡易熱水注入法の土壌消毒効果を検討した。水、土壌の温度変化を第17図に示した。熱水注入処理地下5cmの地温は、注入後からなだらかな高原状の曲線を描き、50℃以上の地温がほぼ3時間持続した。地下20cmの地温は、注入後上昇して最高温度は57℃に達し、55℃以上の地温が2時間30分、50℃以上の地温は5時間以上持続した。熱水処理の各地温は、本病菌の子のう殻および分生子の致死温度45℃、3時間を満たしていた。無処理および熱水処理前の熱水区では、50℃以上の地温は得られなかった。

発病調査結果を第65表に示した。熱水処理および臭化メチル土壌処理では、発病は認められなかった。しかし、透明ビニル被覆および無処理では発病が認められた。無処理の発病株率は、移植6日後に27%、10月5日(移植38日後)に79%に達し、大きな被害を受けた。



第17図 太陽熱利用熱水灌注処理による土壌温度の変化



第65表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)発生圃場に対する太陽熱利用簡易熱水処理による防除効果

処理区名	発病株率(%)		
	1991年 9月 3日 (6日後)	9月 9日 (12日後)	10月 5日 (38日後)
熱水処理区 ^a	0	0	0
臭化メチル区 ^b	0	0	0
ポリエチレンフィルム被覆区	2	19	26
無処理区	27	67	79

注) a:太陽熱を利用して63℃の熱水を得て70ml/cm²灌注した.

b:臭化メチルを15g/m²処理した.

8) 考 察

親株床および仮植床における雨除け栽培の防除効果を検討したところ、両栽培ステージで雨除け栽培を行なうと本病の発病(*G. cingulata*)が抑制された。この防除効果は、本病菌の分生子飛散には、降雨、灌水などによる水跳ねが必須条件(秋田1993b, 石川ら1989f, 1993a,b, 松尾・菅1993)であることから、雨除け栽培により飛散伝播が抑制されたためと考えられる。金磯(1995)は、ビニル被覆栽培がうどんこ病発生を助長としているが、本実験では特異的病虫害の発生は観察されなかった。イチゴ栽培は、作型の前進化が著しく、親株床での雨除け栽培により子苗生育を促進する栽培技術が普及しつつある。以上のことから、親株床および子苗床のビニル被覆による雨除け栽培は、本病の抑制効果も高く、普及性も高いと考えられる。

本病の伝搬は、シクラメン炭疽病と同様に底面給水により防止でき極めて有効であった(石川ら1991a)。これは灌水時の水跳ねによる分生子飛散を抑制できたためと考えられる。イチゴポット栽培での底面給水技術は未確立であるが、本方法が確立されれば、雨除け栽培との組み合わせによって本病の蔓延を著しく抑制できると考えられる。

一般に罹病残渣を除去し、速やかに圃場外に持ち出すことは、病害防除の基本であり、各種病害の防除法としても指導されている(萩原1983)。また、Easton *et al.*

(1975), 斎藤ら(1989)は、本病罹病残渣除去の発病抑制効果を認めているが、実践されることは少ない。この理由として、罹病残渣の持ち出しによる発病抑制効果が不明確なため重要性が認識されないことや、労働力不足があげられる。しかし、本研究によって罹病残渣をビニル袋を用いて嫌氣的発酵処理すると速やかに不活化することが明らかになった。さらに、イチゴ栽培農家では、下葉かきなどの管理作業の一環として、排出される残渣を肥料袋等に詰めて圃場外に投棄している(写真23)ので、本法を用いれば特別な労力は必要としない。一般管理による罹病残渣は、肥料袋を利用し、収穫終了後に出される大量の残渣には、バックサイロを利用する嫌氣的発酵処理体系で本病菌を不活化することができ、圃場衛生を向上できると考えられる。また、プロシミドン水和剤およびフルバリネート水和剤の残留量は、嫌氣的発酵条件下でも室内と同様に減少することが明らかになった。このことから嫌氣的発酵処理されたイチゴ残渣が飼料として活用できる可能性が示唆される。なお、本罹病残渣処理技術は、育苗基地などですでに実施されている(写真24)。

臭化メチルの使用は、モントリオール議定書により2005年に使用が禁止され、それにかわる防除方法の検討が急がれている。石川ら(1989e)は、本病菌の子のう殻および分生子の致死温度を検討し、45℃3時間で死滅すること、また、罹病残渣は土壤中に残存し、伝染源になり得ることを報告した(石川ら1989c)。一方、国安・竹内(1986)は、外部集熱型の太陽熱集熱装置で得た熱

水を土壌に注入してトマト萎凋病(*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*)に対する顕著な防除効果を認めた。その後、土壌消毒の手段として、ボイラーで得た熱水を土壌に注入する熱水注入法は、土壌病害虫に対して高い防除効果を有することが報告された(国安ら1990, 1993, 国安・竹内1986)。本研究では、化石燃料に拠ることなく、夏期の高温多照を利用して得た熱水の土壌注入による防除効果を検討した。太陽熱で得た63℃の熱水注入後、地下20℃の地温は、最高温度が57℃に達し、50℃以上の地温が5時間以上持続した。熱水処理の地温は、地下20cmまで本病菌を死滅温度およびその時間条件を満たした。処理土壌への生物検定の結果、熱水処理では本病が発生せず、臭化メチル処理と同等の高い防除効果が認められた。本防除法は、ガス抜き期間がなく、防除効果が高いので汚染圃場の土壌消毒方法として有効であると考えられる。国安ら(1991)のボイラー熱水注入方法に比較して、本方法は、ウオーターマットレスの使用が1度に限られること、天候に左右される点など欠点があり、改善する余地が多いが、防除の多様性を示した。

2. 生物的防除方法

1) 拮抗糸状菌 *Chaetomium aureum* による防除効果

本病罹病株の組織分離において、随伴糸状菌が分離された。その分離源イチゴは、病勢が衰えていることに注目し、生物防除剤のエージェントとしての可能性を検討した。

(1) 分類上の所属

実験材料および方法

1992年8月20日、栃木県芳賀郡二宮町の本病(*G. cingulata*)罹病株の組織分離で随伴分離された糸状菌の同定を行なった。供試菌株は、単孢子分離したSAY-03および09菌株とし、PDA斜面培地で25℃2週間培養後同定に供した。

実験結果

本菌の完全世代形態観察結果を第66表に示した。本菌(SAY-09菌株)のPDA培地上でのコロニーは、暗オリーブからオリーブ褐色を呈し、25℃2週間培養後に小点を形成した(写真25)。検鏡の結果これは子のう殻であった。子のう殻は、開孔型、暗いオリーブ色で長い頂毛、側毛で覆われている。頂毛は褐色で弓形、先端は内側に曲がり、粗面、隔壁を有する。子のう殻の形状は、垂球形で大きさは108~140×105~126 μm(写真26)。子のうは、こん棒状で8孢子。子のう胞子は、褐色からオリーブ褐色、レモン型、一端または両端がややとがり、明確な発芽孔を形成せず、アンプル状突起がない(写真27)。大きさは長さ8.4~10.3 μm、幅5.4~6.1 μm。不完全世代は、本実験では認められていない。以上の形態、大きさから、*Chaetomium* 属菌と考えられる。また、頂毛は褐色で直生~弓形、先端は内側に曲がり、粗面、隔壁を有することから *Chaetomium aureum* Chivers と同定された。

第66表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)に随伴分離された頂毛を有する拮抗糸状菌完全世代の大きさ比較

供試菌株	子のう殻 (μm)	子のう胞子		頂毛 (μm)	孢子数 (個)
		長さ(μm)	幅(μm)		
SAY-03菌株	106~138×104~129	8.2~10.8	5.7~6.1	140以上	8
SAY-09菌株	108~140×105~126	8.4~10.3	5.4~6.1	140以上	8
<i>Chaetomium aureum</i>					
宇田川・椿(1978b)	110~140×105~125	8.5~10.5	5.5~6		8
渡辺 (1993)	110~120×80~160	9.7~11.3	5~5.3	130以上	8

(2) 菌株の選抜

②培養後の対峙培養での菌糸生育抑制

①同時対峙培養での菌糸生育抑制

実験材料および方法

本病菌(*G. cingulata*)に対する*Ch. aureum*13菌株の菌糸生育抑制効果を同時置床による対峙培養で検討した。拮抗糸状菌菌株の採取場所は、SAY-01～04菌株が栃木市大塚、SAY-05～08菌株が真岡市大内、SAY-09～13菌株が二宮町物部で、分離源品種は、全て女峰である。供試本病菌は、*G. cingulata* T0-01菌株および*C. gloeosporioides* 久留米菌株とした。供試拮抗糸状菌および本病菌は、25℃4日間培養した含菌寒天ディスクをPDA平板培地に3cmの間隔に置床して対峙培養した。調査は、置床2日後に本病菌の菌そう直径を計測し、菌糸の生育状況を光学顕微鏡観察した。実験は1菌株について3ペトリ皿を供した。

実験結果

実験結果を第67表に示した。本病菌の無処理の菌そう直径は、T0-01菌株で24mm、久留米菌株で23mmであった。しかし、本病菌菌そう生育は、本拮抗糸状菌と対峙培養すると抑制された。特に、SAY-01, 03, 09および10菌株との対峙培養では、菌そう直径が6mm以下で著しく抑制された(写真28)。また、本病菌菌糸の先端部を観察すると無処理では正常に生育したが、対峙培養処理では肥大屈曲した(写真29)。

実験材料および方法

拮抗糸状菌ディスクを置床培養後に本病菌を対峙培養し、菌糸生育抑制効果を検討した。本拮抗糸状菌13菌株は、25℃3日間前培養した含菌寒天ディスクをPDA平板培地中央に置床した。その後、同様に培養したT0-01菌株および久留米菌株を拮抗糸状菌菌そうから3cmの位置に120度ずつ開けて3個のディスクを置床し、28℃7日間静置培養した。対照は、本病菌ディスクを培地中央に置床した。調査は置床5日後に本病菌の菌そう直径を計測し、生育の状況を光学顕微鏡観察した。実験は1菌株について3ペトリ皿を供した。

実験結果

実験結果を第68表に示した。本病菌無処理の菌そう直径は、T0-01菌株で76mm、久留米菌株で78mmであった。しかし、本病菌菌そう生育は、本拮抗糸状菌と対峙培養すると抑制された。SAY-03, 10菌株は、本病菌菌そう直径が5～6mm、特にSAY-09菌株では、菌そう直径が1～2mmで生育が著しく抑制された。また、本病菌菌糸の先端部を顕微鏡観察すると無処理区では正常に生育したが、処理区では肥大膨脹し屈曲していた。なお、*G. cingulata*および*Ch. aureum*の菌糸は接触していなかった。

第67表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)菌糸に対する拮抗糸状菌*Chaetomium aureum*の同時対峙培養での生育抑制

供試本病菌	置床2日後の菌そう直径 (mm)													
	無処理	SAY-01	-02	-03	-04	-05	-06	-07	-08	-09	-10	-11	-12	-13
<i>G. cingulata</i>														
T0-01菌株	24	5	7	5	9	8	14	14	10	5	6	15	7	7
<i>C. gloeosporioides</i>														
久留米菌株	23	7	6	6	8	8	15	12	12	5	6	15	7	7

注) *Ch. aureum*と本病菌の菌そうディスクを同時にPDA培地に対峙置床した。

第68表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)菌糸に対する拮抗糸状菌*Chaetomium aureum* 培養後の生育抑制

供試本病菌	置床7日後の菌そうの直径 (mm)													
	無処理	SAY-01	-02	-03	-04	-05	-06	-07	-08	-09	-10	-11	-12	-13
<i>G. cingulata</i>														
TO-01菌株	76	9	12	3	9	11	23	9	10	2	8	12	12	9
<i>C. gloeosporioides</i>														
久留米菌株	78	15	13	4	13	14	18	12	12	1	5	11	15	9

注) *Ch. aureum* をPDA培地で28℃3日間培養後に本病菌を対峙置床した。

③胞子発芽への影響

実験材料および方法

拮抗糸状菌を前培養し、本病菌分生子発芽に及ぼす影響を検討した。供試菌株は、SAY-03、SAY-09およびSAY-10とした。本病菌(*G. cingulata*)は、NM-1、TO-01および静岡県№1菌株を供試した。本病菌分生子は、PDA平板培地で28℃9日間培養し得た分生子をイチゴ煎汁液に1ml当たり 4.5×10^4 に調整したものである。イチゴ煎汁液は、常法に従い作成した。本拮抗糸状菌は、PDA平板培地で28℃4日間培養後、菌そうから2cmの位置に本

病菌分生子を点滴接種し、ガラス棒で塗抹した。ペトリ皿は乾燥を防ぐためにビニル袋に収め、28℃の恒温器に静置した。調査は接種2日後に20×20mmのカバーガラスをかけその範囲内で計数し、発芽率を算出した。菌糸生育状況は、光学顕微鏡で観察した。実験は1菌株について3ペトリ皿を供した。

実験結果

結果を第69表に示した。無処理3菌株の発芽率は、96.5～98.8%で発芽管も正常に生育した。拮抗糸状菌生育培地での発芽率は、9.5～14.5%に低下し、発芽管および菌糸は先端部が肥大屈曲し奇形化していた(写真30)。

第69表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)分生子の発芽に及ぼす拮抗糸状菌*Chaetomium aureum* の影響

供試菌・供試菌株	分生子発芽率(%) および発芽管の状況							
	無処理		SAY-03		SAY-09		SAY-10	
<i>G. cingulata</i>								
NM-1菌株	97.8	H	14.5	S	9.5	S	12.5	S
TO-01菌株	96.5	H	12.8	S	11.0	S	12.7	S
<i>C. gloeosporioides</i>								
静岡県№1菌株	98.8	H	11.8	S	9.5	S	13.8	S

注) 培養温度は28℃。H:健全, S:菌糸が肥大膨張し奇形化する。

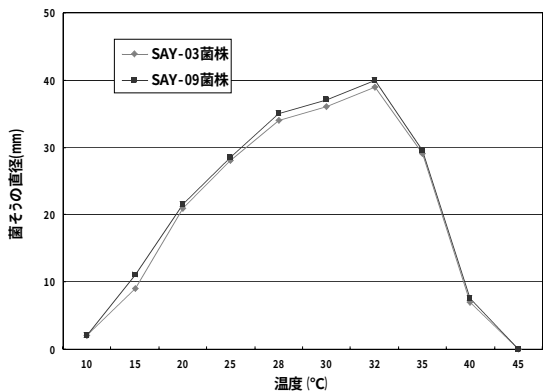
(3) 菌糸生育と温度との関係

実験材料および方法

供試菌株は、SAY-03およびSAY-09菌株とした。供試菌株をPDA平板培地に置床し、28℃4日間培養後、菌そう周辺部の含菌寒天ディスクをPDA平板培地中央に置床した。それらペトリ皿は、乾燥を防ぐためにポリエチレン袋に収め、10、15、20、25、28、30、32、35、40および45℃の恒温器に静置し、5日後に菌そう直径を測定した。いずれの実験でも各区3個のペトリ皿を供した。

実験結果

拮抗糸状菌菌糸の生育と温度との関係を検討した。その結果を第18図に示した。SAY-03およびSAY-09菌株菌糸は、10～40℃で生育し、生育適温は32℃前後であった。45℃処理ペトリ皿を25℃に戻しても菌糸は生育しなかった。



第18図イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)に拮抗作用を有する *Chaetomium aureum* の菌糸生育と温度との関係

実験材料および方法

子のう殻を含む含菌寒天の湿熱および乾熱条件での致死温度を検討した。供試菌株は、SAY-03およびSAY-09菌株を供した。子のう殻は、培養12日後の置床部周辺の子のう殻形成コロニーとした。処理温度および時間は、40、42.5、65℃で5分、10分間、45、50、55および60℃で5、10、60、120分間とした。実験は、常法に従い1区3反復した。

実験結果

実験結果を第70表に示した。SAY-03菌株の子のう殻含菌寒天は、乾熱条件で50℃－10分間、55℃－5分間、湿熱条件で55℃－5分間で死滅した。SAY-09菌株では、乾熱、湿熱条件で50℃－60分、55℃－5分間で死滅した。SAY-09菌株は、SAY-03菌株に比較して耐熱性がやや優れていた。

(4) 致死温度と時間との関係

(5) 菌体摩砕液への子苗浸漬による防除効果

第70表 *Chaetomium aureum* 子のう殻を含む菌体の致死温度と時間との関係

供試材料	処理条件	供 試 温 度 と 時 間																					
		40℃		42.5℃		45℃				50℃				55℃				60℃				65℃	
		5	10	5	10	5	10	60	120	5	10	60	120	5	10	60	120	5	10	60	120	5	10 (分)
SAY-03 菌株	湿熱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	乾熱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SAY-09 菌株	湿熱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	乾熱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注) +記号は置床含菌寒天からの菌糸伸長が観察される。—記号はされないことを示す。

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種女峰を用いて行なった。供試菌株は、SAY-03およびSAY-09菌株とした。供試菌株は、PDA平板培地で28℃6日間培養後、菌そう周辺部を直径10mmのコルクボーラーで10個打ち抜いた。それらをイノキュラムとして、200 ml三角フラスコ中のPD液体培地100 mlに接種し、28℃2週間静置培養した。浸漬液は、5.6 gの菌体を静かに取り出し、100 mlの蒸留水を入れたトルビーカーに入れ、5000回転のポリトロンCH-6010(KINEMATIKA社製)で3分間ホモジナイズ後(以下の実験の常法とした)、蒸留水で5倍希釈して作成した。供試液は、 1.0×10^3 cfuであった。

1992年7月30日にイチゴ苗をポットから取り出し、水洗後拮抗糸状菌摩砕液に5分間株全体を浸漬処理後、再度鉢上げした。無処理、無接種株は、同様に水道水に5分間浸漬した。病原菌接種は、8月10日に前培養して得た分生子を1 ml当たり 4.4×10^4 個に調整して噴霧した。供試株は、1鉢ずつベンチ上に無作為に配置した。萎凋枯死株は、伝染源として薬剤散布ごとに均一に配置し、その他の株は無作為に配置した。水管理は、ノズル散水とした。本管理方法を拮抗糸状菌による防除試験の常法とした。本供試株数は、処理株が10株、無処理および無接種株を8株とした。調査は、本病菌接種0、6、およ

び9日後に発病葉柄率、20日後に枯死株率を算出した。なお、防除価は枯死株率から算出した。

実験結果

実験結果を第71表に示した。葉柄での発病は、接種6日後の無処理で37.1%、拮抗糸状菌処理では0%であった。接種10日後の葉柄発病率は、無処理で48.6%と高かったが、拮抗糸状菌処理では7.5%と低かった。防除価は、無処理の枯死株率(75%)に比較して、SAY-03菌株(73.3、枯死株率20%)、SAY-09菌株(86.7、枯死株率0%)で浸漬処理によつて著しく低かった。なお、無接種のイチゴ株に発病は認められなかった。

第71表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する*Chaetomium aureum* 菌体摩砕液への株浸漬による防除効果

供試菌株	供試株数(株)	発病葉柄率 (%)			枯死株率 (%)	防除価
		0日	6日後	9日後	20日後	
SAY-03 菌株	10	0	0	7.5	20.0	73.3
SAY-09 菌株	10	0	0	7.5	10.0	86.7
無処理	8	0	37.1	48.6	75.0	
無接種	8	0	0	0	0	

注) 100mlのPD液体培地で2週間培養した菌体をホモジナイズし、5倍希釈液に5分間浸漬処理した。拮抗糸状菌浸漬1992年7月30日、本病菌接種8月10日。

(6) 1992年における菌体摩砕液散布による防除効果

拮抗糸状菌 *Ch. aureum* 2 菌株の本病 (*G. cingulata*) に対する菌体摩砕液散布の防除効果に及ぼす UV (紫外線) 照射の影響を検討した。

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種女峰を用いて行った。供試イチゴ株は、1992年9月5日に完全展開葉3枚に調整した。供試菌株は、SAY-03およびSAY-09菌株とした。それら菌株は、PDA平板培地で28℃6日間培養後、直径10mmのコルクボーラーで5個打ち抜きイノキュラムとした。供試ディスクは、100ml三角フラスコ中のPD液体培地50mlに接種し、28℃2週間静置培養した。菌体摩砕液は、培養液上部の2.6 gの菌体を静かに取り出し、常法に従いホモジナイズ後、蒸留水で3倍希釈して作成した。菌体摩砕液 (1.3×10^3 cfu) は、9月8日に手動噴霧器で1株当たり10ml噴霧散布し、48時間多湿条件下に置いた。UV照射処理は、ナショナル殺菌灯GL-15(波長253.7nm)を用いて、イチゴ株上30cmから3分間照射した。本法をUV照射の常法とした。病原菌接種は、9月15日(拮抗糸状菌接種7日後)に、*G. cingulata* 9262-1菌株分生子懸濁液 (10^4 個レベル/ml) を噴霧し、ガラス室内で管理した。プロピネブ水和剤は、500倍液を1株当たり15mlを手動式噴霧器で9月8日、15日、22日および29日の計4回散布した。また、UV単独照射処理も設けた。実験中の供試株は、前実験同様に管理した。調査は0、5および10日後に株当たりの斑点数を、40日後に萎凋枯死株率を算出し、防除価を求めた。供試株数は、無処理区は24株とし、その他は18株とした。

実験結果

本病に対する拮抗糸状菌摩砕液散布およびUV照射組合せの防除効果を検討した。その結果を第72表に示した。接種5日後の無処理の斑点型病斑は、株当たり80.8個、UV単独処理で74.8個であった。SAY-03菌株単独処理では、18.6個、SAY-03菌株+UV照射処理では4.3個と病斑数が減少した。接種10日後の単独処理では、20.3個、UV照射を組み合わせると4.9個に減少した。また、接種5日後のSAY-09菌株処理においても、病斑数が12.8個から5.8個に、10日後では15.7個から6.2個へとUV照射を組み合わせると同様に減少した。プロピネブ水和剤散布では、斑点型病斑は発生しなかった。

本病菌接種40日後の萎凋枯死株率は、無処理区で37.5%、UV単独処理で38.8%であった。本病菌接種40日後の防除価は、無処理に比較して、SAY-03菌株(70.4)、SAY-09菌株(85.1)で高かった。さらに、UV照射を組合せすと、萎凋枯死株が発生が認められなかった。本病に対する防除効果は、UVを前処理することにより拮抗糸状菌単独処理に比較して高くなった。なお、無接種では発病は観察されなかった。

第72表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する*Chaetomium aureum* 菌体摩砕液散布および紫外線(UV)照射組合わせによる防除効果

処理区	供試株数 (株)	株当たり斑点数(個)			40日後の萎凋 枯死株率(%)	防除価
		0日	接種5日後	接種10日後		
UV+SAY-03菌株 ^a	18	0	4.3	4.9	0	100
SAY-03菌株	18	0	18.6	20.3	11.1	70.4
UV+SAY-09菌株 ^a	18	0	5.8	6.2	0	100
SAY-09菌株	18	0	12.8	15.7	5.6	85.1
プロピネブ水和剤	18	0	0	0	0	100
UV照射	18	0	74.8	93.7	38.8	
無 処 理	24	0	80.8	98.4	37.5	
無 接 種	18	0	0	0	0	

注) a:波長253.7nmのUVをイチゴ株上30cmから3分間照射後拮抗糸状菌を散布した。

拮抗糸状菌散布日:1992年9月8日, 本病菌接種日:9月15日。

プロピネブ水和剤500倍液を9月8, 15, 22, 29日に鉢当たり15ml散布した

(7) 1993年における菌体摩砕液散布による防除効果

後に株当たりの斑点数を, 60日後に萎凋枯死株率から防除価を算出した。供試株数は25株とした。

実験材料および方法

実験は栃木農試病理昆虫部ガラス室で, 品種女峰を用いて行なった。供試株は, 1993年9月5日に上位葉3枚に調整した。供試SAY-09菌株は, PDA平板培地で28℃6日間培養後直径10mmのコルクボーラーで5個打ち抜きイノキュラムとした。供試ディスクは, 100ml三角フラスコ中のPD液体培地50mlに接種し, 28℃2週間静置培養した。菌体摩砕液は, 培養液上部の生重3.0gの菌体を静かに取り出し, 前実験同様ホモジナイズ後, 蒸留水で3倍希釈して作成した。菌体摩砕液(8.0×10^3 cfu)は, 9月9日に手動噴霧器で1株当たり10ml噴霧散布し, 48時間多湿条件下に静置した。UV照射処理は, 常法に従った。本病菌接種は, 9月16日(散布7日後)に前培養した*G. cingulata*9262-1菌株分生子を噴霧し, ガラス室内で管理した。プロピネブ水和剤は, 500倍液を1鉢当たり15mlを手動式噴霧器で9月9日, 16日, 23日および30日の計4回散布した。また, UV単独照射処理も設けた。実験中の供試株は, 前実験同様に管理した。調査は10日

実験結果

本病に対する拮抗糸状菌散布およびUV照射組み合わせの防除効果を検討した。その結果を第73表に示した。本病菌接種5日後調査では, 株当たりの斑点型病斑数が無処理で80.8個, UV単独処理75.3個であった。SAY-09菌株単独処理は8.6個で, SAY-09菌株処理とUV照射を組合わせた処理区では4.3個と病斑数が減少した。プロピネブ水和剤500倍液の散布は, 0.3個であった。

本病菌接種60日後の萎凋枯死株率は, 無処理区で44.0%, UV単独処理で40.0%であった。SAY-09菌株単独およびUV照射組合せ区では, 萎凋枯死株の発生が認められなかった。なお, 無接種では発病は観察されなかった。

第73表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する*Chaetomium aureum*の菌体摩砕液散布と紫外線(UV)処理組合せによる防除効果

供試菌株名	供試鉢数 (株)	株当たり 斑点数(個)	防除価	60日後の萎凋 枯死株率(%)	防除価
SAY-09菌株	25	8.6	94.7	0	100
SAY-09+UV菌株	25	4.3	77.0	0	100
プロピネブ水和剤	25	0.3	99.6	12.0	72.7
UV	25	75.3	6.8	40.0	9.1
無処理	25	80.8	—	44.0	—

注) 拮抗糸状菌接種は、1993年9月9日、病原菌接種は9月16日。

UVは殺菌灯(235.7 nm)で供試株上30cmから3分間照射した。

プロピネブ水和剤500倍液は9月9日、16日、23日および30日の計4回散布。

(8) 拮抗糸状菌の定着性

実験材料および方法

栃木農試病理昆虫部ガラス室で行なった。供試イチゴ株は、前実験で供した本病菌無接種株を無加温のガラス室で管理したものである。拮抗糸状菌定着調査は、1992年9月18日(散布10日後)、10月8日(散布30日後)、1993年1月6日(散布120日後)および5月16日(散布250日後)に葉、葉柄、根冠部、根、果梗、果実および種子を用いて組織分離法で行なった。分離部位は、葉では中央小葉の主脈中間部を3mm角に、葉柄、果梗では中央部を1mmの厚さの輪切りにした。果実は、成熟果中間部の種子を含まない部分とし、種子は1粒を分離材料とした。新展開部位は、分離時の最上位完全展開葉とした。組織分離の置床数は、葉、葉柄、果実および種子で15組織、根冠部、根で10組織とした。分離培地は、乳酸加用PDA平板培地を用いた。供試株数は各々4株とした。

実験結果

Ch. aureum SAY-03菌株およびSAY-09菌株散布の再分離率を調査し、実験結果を第74表に示した。SAY-03菌株10日後の分離率は、葉、葉柄40.0%、根冠33.3%、根20.0%であった。30日後の分離率は、10日後調査とほぼ同

様であった。120日後の分離率は、葉13.3%、葉柄、根冠20.0%、根10%であった。250日後では、葉柄13.3%であった。供試菌の分離は、全て接種部位からであった。SAY-09菌株10日後の分離率は、葉、葉柄46.7%、根冠33.3%、根20.0%および新展開葉柄で6.7%であった。30日後の分離率は、10日後調査とほぼ同様であった。120日後の分離率は、接種部位からのみで葉6.7%、葉柄26.7%、根冠25.0%および根30.0%であった。250日後では、接種葉および葉柄で6.7%であった。両菌株とも分離率は、同様の傾向を示し、接種部位に長期間定着できた。なお、無散布株からは、本菌は分離されなかった。

第74表 *Chaetomium aureum* 菌体摩砕液散布イチゴ株からの再分離状況

供試菌株	処理後期 間(日後)	分離率 (%)									
		接種葉	新展開葉	接種葉柄	新葉柄	根冠	接種根	新根	果梗	果実	種子
SAY-03菌株	10	40.0	0	40.0	0	33.3	20.0	0			
	30	33.3	0	33.3	0	20.0	30.0	0			
	120	13.3	0	20.0	0	20.0	10.0	0			
	250			13.3	0	0	0	0	0	0	0
SAY-09菌株	10	46.7	0	46.7	6.7	33.3	20.0	0			
	30	40.0	0	46.7	0	20.0	30.0	0			
	120	6.7	0	26.7	0	25.0	30.0	0			
	250	6.7	0	6.7	0	0	0	0	0	0	0
無散布	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

注) 拮抗糸状菌菌体懸濁液散布は1992年9月8日、本病菌の接種は9月15日。供試株数は各菌株16株。

供試分離組織数は葉、葉柄、果柄、果実および種子は15組織、根冠、根は10組織。

2) 拮抗糸状菌 *Talaromyces flavus* による防除効果

1993年、本拮抗糸状菌は、組織分離およびエタノール浸漬簡易診断法(石川1992, Ishikawa2003)によって採取された。その分離源イチゴの本病(*G. cingulata*)病勢が、衰えていることに着目し、生物防除剤資材としての可能性を検討した。

(1) 分類上の所属

実験材料および方法

随伴分離された糸状菌の単孢子分離菌株SAY-Y-01およびSAY-Y-07菌株をPDA斜面培地で25℃2週間培養し、形態観察および大きさ測定に供した。

実験結果

本菌の完全世代形態観察の結果を第75表に示した。SAY-Y-01菌株は、PDA培地上でレモンイエローのコロニーを形成し(写真31)、25℃2週間培養後に小点を形成した。これらは、検鏡の結果子のう殻であった(写真32)。子のう殻は、球形237~352μm、閉鎖型、黄色のゆるく薄い菌糸網が発達して壁となる。子のう殻原基は、長くこん棒形造のう器が発生し、造精器は細く造のう器の基部にまつわり、数回巻きつく(写真33)。子のうは8孢子、卵形から球形で直径8.1~9.6μm、菌糸が発達した子のう殻壁によって保護される。子のう殻壁は、柔らかく菌核様にはならず、しばしば集合し、軽く織り交ざった白色から黄色菌糸から構成される(写真34)。子のう胞子は、だ円形3.9~4.8×3.2~3.6μmで全体に刺面である(写真35)。

不完全世代の大きさを第76表に示した。分生子柄は、基底菌糸層から生じ、195~344×2~2.4μmで滑壁、ペニシリは複輪生体、メトレは4~6本で群生し、大きさは7.8~10.5×1.8~2.5μmである。フィアライドは、典

型的なペン先形で6～8本輪生し、大きさは8～11.2×2～2.6μmである。分生子の大きさは、2.5～3.2×1.4～2.5μm、滑面、連鎖は50～150μmである(写真36)。以上の形態、大きさから、Udagawa *et al.* (1959)に従い、

Penicillium dangeardii Pitt, 完全世代を *Talaromyces flavus* (Klocker) Stolk et Samsonと同定された。

第75表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)に随伴分離された黄色コロニーを形成する拮抗糸状菌完全世代の大きさ

供試菌株	子のう殻 (μm)	子のう	子のう胞子		胞子数 (個)
		長さ (μm)	長さ (μm)	幅 (μm)	
SAY-Y-01菌株	237～352	8.1～9.6	3.9～4.8	3.2～3.6	8
SAY-Y-07菌株	240～355	7.8～9.5	3.84～4.78	3.1～3.5	8
<i>Talaromyces flavus</i> ^a	250～350	8～9.5	4～4.8	3.2～3.5	8

注) a:宇田川(1959)

第76表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)に随伴分離された黄色コロニーを形成する拮抗糸状菌不完全世代の大きさ

供試菌株	分生子柄	メトレ		フィアライド		分生子胞子数	
		長さ	幅	長さ	幅	長さ	幅 (μm)
SAY-Y-01菌株	195～344×2～2.4	7.8～10.5	1.8～2.5	8～11.2	2～2.6	2.5～3.2	1.4～2.5
SAY-Y-07菌株	200～355×2～2.6	8～10.7	1.9～2.6	7.8～11	2～2.5	2.4～3.1	1.4～2.5
<i>Talaromyces flavus</i> ^a	200～350×2～2.5	8～10.5	2～2.5	8～11	2～2.5	2.5～3.2	1.5～2.5

注) a:宇田川(1959)

(2) 菌株の選抜

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種女峰を用いて行った。供試菌株は、女峰根冠部から随伴分離されたSAY-Y-01～09菌株と簡易診断法(Ishikawa 2003)に

よって葉上に誘導されたSAY-Y-10～12菌株である。採取場所は、第77表に示した。本菌をPDA平板培地で28℃5日間培養した後、直径10mmのコルクボーラーで5個打ち抜き、イノキュラムとした。供試ディスクは、200ml三角フラスコ中のPD液体培地100mlに入れ、28℃2週間静置培養した。菌体摩砕液は、培養液に浮遊する2gの菌体を常法に従いホモジナイズ後、蒸留水で10倍稀釈して作成した。1993年7月7日に本菌摩砕液を手動式噴

霧器で1株当たり15ml散布した。接種は、7月14日（散布7日後）に前培養した *G. cingulata* 9262-1菌株分生子を1ml当たり 4.2×10^4 個に調整し噴霧した。プロピネブ水和剤500倍液は、7月7日、14日および21日の計3回散布した。実験中の供試株は、常法に従い管理した。供試鉢数は、各々16株とした。調査は本病菌接種30日後に萎凋枯死株率を算出し、防除価を求めた。

実験結果

拮抗糸状菌 *T. flavus* の優良菌株を防除試験により選抜した。その結果を第77表に示した。本実験は、無処理の萎凋枯死株率が46.7%の多発条件下で行った。本菌の1回散布の萎凋枯死株率は、6.7～26.7%で対照薬剤のプロピネブ水和剤500倍液3回散布の26.7%に比較して、同等か優れていた。特に、SAY-Y-01菌株およびSAY-Y-07菌株は、防除価が85.7で優れていた。なお、供試イチゴ株には、拮抗糸状菌散布による特異的な障害は認められなかった。

第77表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する *Talaromyces flavus* 菌体摩砕液散布による防除効果

供試菌株	菌株の由来	30日後萎凋 枯死株率 (%)	防除価
SAY-Y-01	二宮町物部 C	6.7	85.7
SAY-Y-02	二宮町物部 C	13.3	71.5
SAY-Y-03	二宮町物部 C	6.7	85.7
SAY-Y-04	二宮町物部 C	20.0	57.2
SAY-Y-05	二宮町物部 C	20.0	57.2
SAY-Y-06	栃木市大塚 C	13.3	71.5
SAY-Y-07	栃木市大塚町 C	6.7	85.7
SAY-Y-08	栃木市大塚町 C	26.7	57.2
SAY-Y-09	栃木市大塚町 C	26.7	57.2
SAY-Y-10	鹿沼市酒之谷 L	13.3	71.5
SAY-Y-11	鹿沼市酒之谷 L	13.3	71.5
SAY-Y-12	鹿沼市酒之谷 L	20.0	57.2
プロピネブ水和剤		26.7	57.2
無 処 理		46.7	

注) C：根冠形成層内部， L：簡易診断法によって誘導された葉上。
1993年7月7日菌体散布，病原菌接種7月14日，供試品種は女峰。
プロピネブ水和剤500倍液散布は、7月7日、14日、21日の計3回。

(3) 菌糸生育と温度との関係

① PDAおよびWA培地上での菌糸生育と温度との関係

拮抗糸状菌SAY-Y-01菌株の富栄養および貧栄養条件下における菌糸生育と温度との関係を検討した。

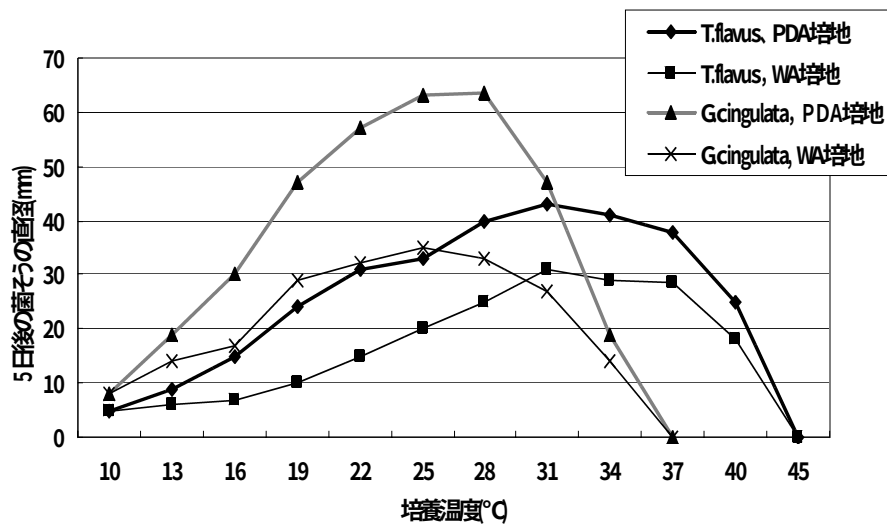
実験材料および方法

供試菌株は、SAY-Y-01菌株とした。供試菌株をPDA平板培地に置床し、28℃で4日間培養し、菌そう周辺部を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜いた。含菌寒天ディスクは、PDAおよびWA平板培地中央に置床した。

それらをそれぞれ置床したペトリ皿は、10、13、16、19、22、25、28、31、34、37、40および45℃の恒温器に収め、5日後に菌そう直径を測定した。対照として、対象病害菌 *G. cingulata* 大田原親園菌株をも供した。いずれの実験でも各区3個のペトリ皿を供した。

実験結果

拮抗糸状菌の菌糸の生育と温度との関係を検討した。その結果を第19図に示した。両培地上でのSAY-Y-01菌株菌糸は、10～40℃で生育し、生育適温は31℃前後であった。本拮抗糸状菌は、両培地上で、本病菌に比較して、10～31℃で生育が劣ったが、34℃以上では優った。



第19図 *Talaromyces flavus*および*Glomerella cingulata*の2種の培地での菌糸生育と温度との関係

② I K - 1 5 3 水和剤由来菌糸の生育と温度との関係

I K - 1 5 3 水和剤は、本病菌(*G. cingulata*)に拮抗を有する*T. flavus* SAY-Y-01菌株を孢子水和剤化したものである。本剤の孢子由来菌糸およびコロニー由来菌糸生育と温度との関係を検討した。

実験材料および方法

孢子由来菌糸は、I K - 1 5 3 水和剤(lot.N-D-2-0416)を白金耳で極少量取り、直接PDA平板培地中央に置床したものである。コロニー由来菌糸は、孢子由来菌糸をPDA平板培地で28°C 5日間培養した含菌寒天ディスクである。それらペトリ皿は、10、15、20、25、28、30、32、35、40および45°Cの恒温器に収め、6日後に菌そうの直径を測定した。対照として、*G. cingulata*大田原親園菌株をも供した。ペトリ皿は、各処理温度に3枚ずつ供した。

実験結果

孢子由来菌糸およびコロニー由来菌糸の生育と温度との関係を本病菌と比較した。その結果を第20図に示した。*T. flavus*孢子由来およびコロニー由来菌糸は、10~40°Cで生育し、最適生育温度は30°C前後であった。菌糸生育

は、45°Cでは観察されなかった。また、孢子由来菌糸生育は、コロニー由来菌糸に比較して、30°C以下の温度帯ではやや生育が遅延したが、32°C以上では大差なかった。両材料の菌糸生育は、*G. cingulata*に比較して、30~40°Cで優れていた。

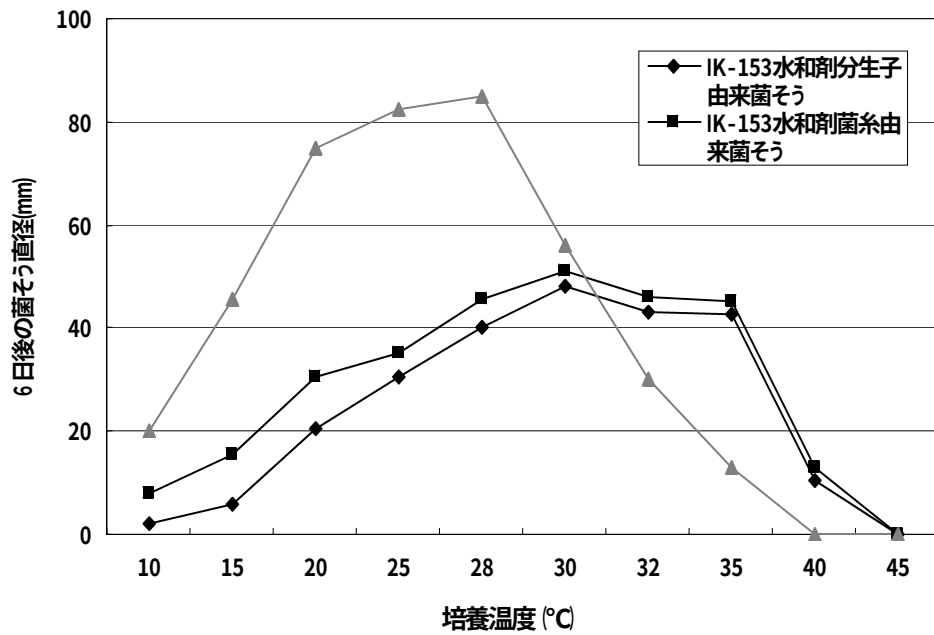
(4) 菌糸生育と水素イオン濃度との関係

実験材料および方法

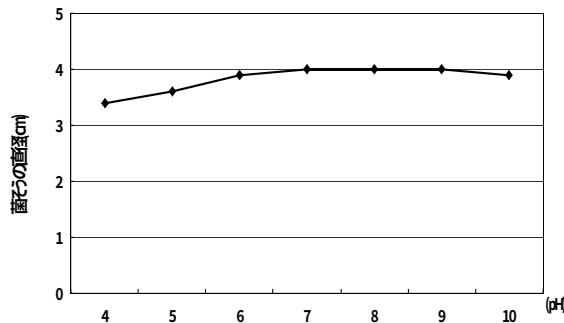
拮抗糸状菌SAY-Y-01菌株の菌糸生育とpHとの関係を検討した。PDA平板培地は、水酸化ナトリウムおよびリン酸でpH 4~10に規正した。供試菌株をPDA平板培地で28°C 4日間培養した菌そう周辺部の含菌寒天ディスクをpH規正PDA平板培地中央に置床し、5日後に菌そう直径を測定した。ペトリ皿は、各処理温度に3枚ずつ供した。

実験結果

本菌の菌糸生育とpHとの関係を第21図に示した。SAY-Y-01菌株は、pH 4~10で生育し、pH 8前後でよく生育するが、pH 6~10の間では顕著な生育差異は認められなかった。



第20図 IK-153水和剤由来菌そうのPDA培地上における生育と温度との関係



第21図 *Talaromyces flavus* SAY-Y-01 菌糸の生育と水素イオン濃度との関係

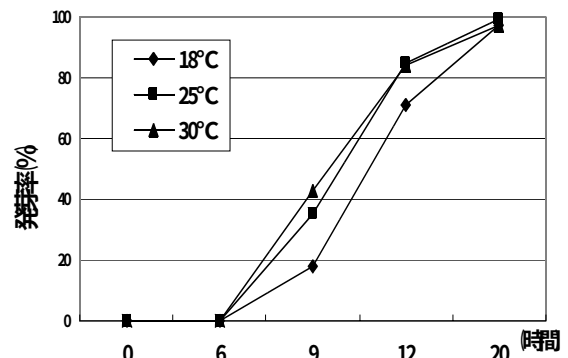
(5) 分生子発芽率に及ぼす温度と時間との関係

実験材料および方法

拮抗糸状菌 *T. flavus* SAY-Y-01 菌株の分生子発芽率に及ぼす温度と時間との関係を検討した。供試温度は、18、25および30℃とした。PDA平板培地で前培養した本拮抗糸状菌分生子を1ml当たり 10^5 個レベルに懸濁し、WA平板培地に塗布した。調査は、0、6、9、12および20時間後に分生子発芽率を検鏡し算出した。

実験結果

発芽率と温度との関係を第22図に示した。本拮抗糸状菌分生子は、0、6時間後では、発芽は認められなかった。発芽は、9時間後に全供試温度で観察され、12時間後の発芽率は、75～85%、20時間後には全処理温度で約100%に達した。



第22図 *Talaromyces flavus* 分生子の発芽率と温度および時間との関係

(6) 致死温度と時間との関係

実験材料および方法

本拮抗糸状菌の致死温度について、湿熱および乾熱条件で検討した。供試菌株は、SAY-Y-01およびSAY-Y-07菌株を用いた。供試菌糸は、コロニー周辺部を用い、子とう殻は培養12日後の菌そう中心部の子とう殻形成部位とした。菌糸の処理温度は、42.5、45、50および55℃とし、処理時間は42.5℃で5分、10分、1時間および2時間とした。その他の供試温度では、5分間および10分間とした。

子とう殻を含む含菌寒天は、40℃で5分、10分間とし、42.5、45、50、55、60および65℃では、5分、10分、1時間および2時間とした。実験は、常法に従い、3反復した。

本拮抗糸状菌の耐熱性実験結果を第78表に示した。SAY-Y-01菌株菌糸は、乾熱、湿熱条件の55℃-60分間で死滅した。SAY-Y-07菌株菌糸は、湿熱の55℃-60分間、乾熱の55℃-5分間では死滅した。

SAY-Y-01菌株の子とう殻を含む含菌寒天は、乾熱の60℃-60分間で死滅したが、湿熱の65℃-120分間では生育しなかった。SAY-Y-07菌株は、乾熱の60℃-120分間、65℃-60分間で死滅した。しかし、湿熱条件では、65℃-120分間でも生育しなかった。

実験結果

第78表 *Talaromyces flavus* 菌糸および子とう殻を含む菌体の致死温度と時間との関係

供試材料 および条件			供 試 温 度 と 時 間																			
			45℃				50℃				55℃				60℃				65℃			
			5	10	60	120	5	10	60	120	5	10	60	120	5	10	60	120	5	10	60	120
菌 糸	SAY-Y-01菌株	湿熱	+	+	nt.	nt.	+	+	nt.	nt.	+	+	—	—	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.
		乾熱	+	+	nt.	nt.	+	+	nt.	nt.	+	+	—	—	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.
	SAY-Y-07菌株	湿熱	+	+	nt.	nt.	+	+	nt.	nt.	+	+	—	—	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.
		乾熱	+	+	nt.	nt.	+	+	nt.	nt.	—	—	—	—	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.	nt.
子 の う 殻	SAY-Y-01菌株	湿熱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		乾熱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
	SAY-Y-07菌株	湿熱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		乾熱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	

注) 菌糸はコロニー最先端で菌糸のみ、子とう殻は子とう殻が形成されているコロニー。

+記号は置床含菌寒天からの菌糸伸長が観察される。-記号はされないことを示す。

nt.:試験を行なわなかった。

40、42.5℃は未掲載。

(7) 1993年における菌体摩砕液散布による防除効果

本病菌接種60日後に萎凋枯死株率を算出し、防除価を求めた。

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種女峰を用いて行なった。供試菌株は、SAY-Y-01およびSAY-Y-07菌株とした。菌体培養は、本菌をPDA平板培地で28℃5日間培養したのち、直径10mmのコルクボーラーで5個打ち抜き、イノキュラムとして200ml三角フラスコ中の100mlのPD液体培地に入れ、28℃2週間静置培養した。菌体摩砕液は、SAY-Y-01菌株の培養菌体(生重6.0g)およびSAY-Y-07菌株(生重5.3g)を静かに取り出し、常法に従いホモジナイズ後、蒸留水で4倍希釈して作成した。SAY-Y-01菌株摩砕液は、 1.7×10^6 cfu、SAY-Y-07菌株は 5.3×10^6 cfuであった。1993年9月9日に摩砕液を手動式噴霧器で1株当たり15ml散布した。無処理および無接種株は、水道水を同様にして散布した。UV照射処理は、常法に従った。本病菌の接種は、9月16日(散布7日後)に前培養した*G. cingulata*9262-1菌株分生子を1ml当たり 4.2×10^4 個に調整して噴霧した。また、UV単独照射処理も設けた。対照薬剤プロピネブ水和剤500倍液は、9月9日、16日、23日および30日の計4回散布した。供試株数は、25～27株とし、常法に従い管理した。調査は

実験結果

拮抗糸状菌SAY-Y-01およびSAY-Y-07菌株の菌体摩砕液散布およびUV照射処理組合せによる防除効果を検討した。その結果を第79表に示した。SAY-Y-01菌株単独処理の防除効果は、斑点型病斑で株当たり8.8個、萎凋枯死株率が0%であった。UV照射を組合せると斑点型病斑数(5.8個)は、減少し萎凋枯死株率0%であった。SAY-Y-07菌株単独散布では、斑点型病斑数で10.9、萎凋枯死株率で4%であった。UV照射を組合せても同様の結果であった。プロピネブ水和剤4回散布では、斑点型病斑数が0.3個、萎凋枯死株率が12%であった。UV単独処理の斑点型病斑は、75.3個、萎凋枯死株率40.0%、無処理の斑点型病斑では、80.8個、萎凋枯死株率44.0%と高率であった。

本拮抗糸状菌菌体摩砕液1回散布は、プロピネブ水和剤500倍液4回散布に比較して、斑点型病斑数では劣ったが、萎凋枯死株の発生が低率で優れていた。また、UV単独処理および無処理に比較して、著しい防除効果が認められた。なお、供試株は健全に生育した。

第79表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する*Talaromyces flavus*の菌体摩砕液散布と紫外線(UV)照射の組合せによる防除効果

供試菌株名	株当たり 斑点数(個)	防除価	60日後の萎凋 枯死株率(%)	防除価	葉害
SAY-Y-01	8.8	89.1	0	100	—
SAY-Y-01+UV	5.8	92.8	0	100	—
SAY-Y-07	10.9	86.5	4	90.9	—
SAY-Y-07+UV	10.2	87.4	4	90.9	—
プロピネブ水和剤	0.3	99.6	12.0		
UV	75.3	6.8	40.0	72.7	—
無処理	80.8	—	44.0	—	

注) 拮抗糸状菌接種は、1993年9月9日、病原菌接種は9月16日。供試鉢数は、全区25鉢。UVは殺菌灯(235.7 nm)で供試株上30cmから3分間照射した。
プロピネブ水和剤は、500倍液を9月9日、16日、23日および30日計4回散布した。

(8) 1994年における菌体摩砕液散布による防除効果

調査は、病原菌接種6日後に株当たりの斑点型病斑数、60日後に萎凋枯死株率を算出し、防除価を求めた。

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種女峰を用いて行なった。供試菌株は、SAY-Y-01(7.6×10^6 cfu)およびSAY-Y-07菌株(8.8×10^6 cfu)とした。菌体摩砕液の作成方法は、1993年と同様である。摩砕液散布は、1994年7月29日に株当たり15mlを手動式噴霧器で行なった。無処理および無接種株は、水道水を同量散布した。UV照射処理は、常法に従った。対照薬剤プロピネブ水和剤500倍液は、8月1日、8日、15日および22日の計4回散布した。本病菌接種は、*G.cingulata*9261-1菌株を8月6日に前培養して得た分生子を1ml当たり 4.2×10^4 個に調整し噴霧した。参考に*Ch.aureum*SAY-09菌株(3.7×10^3 cfu)も供した。供試株数は、各々13株ずつとし、常法に従い管理した。

実験結果

結果を第80表に示した。斑点型病斑は、SAY-Y-01菌株処理で株当たり10.5個、SAY-Y-07菌株処理で16.8個、無処理(55.9個/株)に比較して減少した。萎凋枯死株率は、SAY-Y-01菌株+UV処理で7.7%、その他で15.4%であり、プロピネブ水和剤4回散布(23.1%)に比較して低率で、高い防除効果が認められた。また、参考に供したSAY-09菌株の斑点型病斑数および萎凋枯死株率は同程度であった。なお、供試株には、生育障害が観察されなかった。

第80表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する*Talaromyces flavus*の菌体摩砕液散布と紫外線処組合せによる防除効果

供試菌株名	6日後の株当たり斑点数(個)	60日後の萎凋枯死株率(%)	防除価
SAY-Y-01	10.5	15.4	71.4
SAY-Y-01+UV	10.2	7.7	84.9
SAY-Y-07	16.8	15.4	71.4
SAY-Y-07+UV	15.4	15.4	71.4
SAY-09	11.2	15.4	71.4
SAY-09+UV	20.0	15.4	71.4
プロピネブ 水和剤	0.7	23.1	57.1
UV処理		53.8	—
無処理	55.9	53.8	—

注) 拮抗糸状菌接種は、1994年7月29日、病原菌接種は8月6日。
供試鉢数は、全区13株。
UVは殺菌灯(235.7 nm)で供試株上30cmから3分間照射した。
SAY-09菌株は、*Chaetomium aureum*。
プロピネブ 水和剤500倍液は8月1日、8日、15日および22日の計4回散布。

実験結果

(9) 1995年における菌体摩砕液散布による防除効果

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種女峰を用いて行った。供試拮抗糸状菌菌株は、1994年の防除実験において優れた結果を示したSAY-Y-01菌株とした。菌体摩砕液の作成は、前実験と同様の方法で行った。本菌摩砕液(9.1×10^5 cfu)は、1995年9月4日に1株当たり15ml散布した。無処理、無接種株は、水道水を同様に散布した。本病菌の接種は、*G. cingulata* 9261-1菌株を9月13日に前培養して得た分生子を1ml当たり 4.2×10^4 個に調整し噴霧した。UV照射組合せ処理および管理は、常法に従った。供試株数は、25～27株とした。調査は本病菌接種20、30および60日後に萎凋枯死株率を算出し、60日後の萎凋枯死株率から防除価を求めた。

拮抗糸状菌SAY-Y-01菌株およびUV照射組合せ処理による防除効果を検討した。その結果を第81表に示した。接種20日後の萎凋枯死株率は、拮抗糸状菌処理で4.0 %、UV照射組合せで3.9 %で、プロピネブ水和剤3回散布(16.0%)および無処理(29.6%)に比較して低かった。30日後調査でも同様の傾向にあった。60日後調査では、拮抗糸状菌処理で萎凋枯死株率が8.0 %、防除価78.4であった。UV照射組合せ処理では、萎凋枯死株率が3.9 %、防除価89.4で高い効果が得られた。プロピネブ水和剤4回散布では、萎凋枯死株率が24.0%(防除価35.1)、無処理では37.0%であった。プロピネブ水和剤500倍液4回散布およびUV単独照射処理に比較して、拮抗糸状菌散布およびUV組合せ処理は萎凋枯死株率が低く、高い防除価が得られた。なお、供試株は健全に生育した。

第81表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する*Talaromyces flavus* 菌体摩砕液散布の防除効果

供試菌株名	供試株数 (鉢)	株当たり 斑点数	萎凋枯死株率 (%)			60日後の 防除価
			接種20日後	30日後	60日後	
SAY-Y-01	25	8.9	4.0	8.0	8.0	78.4
SAY-Y-01+UV	26	5.3	3.9	3.9	3.9	89.4
プロピネブ水和剤	25	1.3	16.0	16.0	24.0	35.1
UV	25	6.0	28.0	32.0	36.0	2.7
無処理	27	93.1	29.6	29.6	37.0	

注) *T. flavus* SAY-Y-01菌株菌体摩砕液を1995年9月4日に散布した。本病原菌接種は9月13日。プロピネブ水和剤500 倍液を9月4日、13日、20日および27日に1株当たり15ml散布した。UVは、紫外線(殺菌灯235.7 nm)を3分間照射した。

(10) 拮抗糸状菌の定着性

実験材料および方法

栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種女峰を用いて行った。供試菌株は、SAY-Y-01およびSAY-Y-07菌株とした。供試イチゴ株は、1995年9月8日に拮抗糸状菌散布およびUV照射組合せ処理を行い、実験終了後無加温のガラス室で越冬させたものである。調査は、拮抗糸状

菌散布0日、90日および180 日後に散布葉、葉柄および根冠部から常法により組織分離した。分離材料は、葉では中央小葉の主脈中間部を3mm角に、葉柄では中間部を1mm厚さの輪切りにし、根冠では表皮を含めた3mm角(厚さ1mm)の切片とし、各部位の26組織を供した。供試株数は、各々6株とした。

実験結果

拮抗糸状菌SAY-Y-01およびSAY-Y-07菌株の定着を検討し、実験結果を第82表に示した。両菌株0日後の分離率は、全部位で100%であった。90日後の分離率は、SAY-Y-01菌株で89～92%、SAY-Y-07菌株で、50～85%であった。180日後の分離率は、SAY-Y-01菌株で77～85%、SAY-Y-07菌株で、46～81%であった。両菌株の分離率は、180日後においても顕著に低下せず、安定していた。なお、無散布株からは本菌は分離されなかった。

第82表 拮抗糸状菌*Talaromyces flavus* 菌体摩砕液散布イチゴ株からの再分離率

供試菌株	処理後 期 間	分 離 率 (%)		
		葉	葉柄	根冠
SAY-Y-01 菌株	90日後	88.5	92.3	88.5
	180日後	84.6	84.6	76.9
SAY-Y-07 菌株	90日後	84.6	84.6	50.0
	180日後	80.8	80.8	46.2
無散布	180日後	0	0	0

注) 拮抗糸状菌の散布は1994年9月8日、
本病菌の接種は9月15日。
分離部位は散布時生育していた部位。
分離組織数26組織。

3) 拮抗糸状菌*T. flavus*の作用機作の解明

本拮抗糸状菌は、ヒマワリ菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)に菌糸寄生することが知られている(McLaren *et al.* 1986)。そこで、本菌の作用機作を明らかにするため、イチゴ炭疽病菌を中心にイチゴに発生する諸病原菌およびその他の重要な病原菌に対する菌糸寄生能について検討した。さらに、本菌のイチゴ細胞へのリグニン沈着に及ぼす影響についても検討を加えた。なお、タラロマイセスフラバス水和剤は、SAY-Y-01菌株を孢子水和剤化したものである。

(1) 菌糸寄生の検討

①ベノミル耐性炭疽病菌に対する菌糸寄生

本病(*G. cingulata*)の有力な防除剤の一つであるベンゾイミダゾール系薬剤には、既に耐性菌が発生し問題となっている(築尾・小林1991, 石川ら1989, 楠ら1992, 岡山ら1991, 棚橋・篠田1991, 手塚・牧野1989)。そこで、耐性菌に対する*T. flavus*の菌糸寄生能について検討した。

a 光学顕微鏡観察

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で、SAY-Y-01菌株を供して行なった。本病ベノミル感性菌は、ベノミル水和剤2.5ppm含有培地で生育できない*G. cingulata* NM-1菌株、TO-1菌株とした。耐性菌は、本剤1600ppm含有培地でも生育できる大田原親園菌株、二宮長沼菌株とした。各供試菌株は、PDA平板培地に5日間培養後菌そう周辺部の含菌寒天ディスクをWA平板培地上に3cm間隔で拮抗糸状菌に対峙させた。分生子は、拮抗糸状菌置床1日後に1cmの間隔に塗布接種した。観察は、光学顕微鏡およびノマルスキー微分干渉顕微鏡を用いて行った。菌糸寄生能の強弱を推定するため、対峙培養2週間後に、両ディスク間のコロニー重複部(2×4cm)からコルクボーラー(直径4mm)で36個のディスクを打ち抜いた。それらディスクは、25℃7日間PDA平板培地で培養し、形成コロニーを肉眼観察し、種を決定して分離率を算出した。各菌株に3ペトリ皿を供した。

実験結果

本拮抗糸状菌は、本病菌のベノミル感受性の差異にかかわらず菌糸寄生が観察された。両菌糸が接触する直前、拮抗糸状菌菌糸先端は樹枝状に分岐した(写真37)。分岐した菌糸は、病原菌菌糸に沿って生育した(写真38～40)。また、病原菌菌糸に沿って生育せず、短い菌糸を2、3本接触させる状況も観察された(写真41)。接触された病原菌菌糸は、内部が崩壊、空洞化した。そのようなコロニーには、*T. flavus*菌の分生子形成も観察された(写真42)。本病菌菌糸に巻き付く、coiling現象も観察された(写真43)。メラニン沈着菌糸への寄生は、観察されなかった(写真44)。また、分生子および分生子層に対しても孢子壁に沿って菌糸を生育させ内部を崩壊させた(写真45、46)。

両コロニーの重複部位からの分離結果を第83表に示した。*T. flavus*の分離率は、感性菌で27.8～30.6%、耐性菌で27.8～31.9%であり同程度であった。また、炭疽病菌の分離率も、感性菌(52.8%)、耐性菌(54.2～55.6%)で同様であった。両菌の分離率は、ベノミル感受性の差異によって影響されなかった。なお、単独培養処理からは、各々供試菌株が100%再分離された。

第83表 ベノミル耐性イチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) に対する *Talaromyces flavus* の菌糸寄生の有無および重複コロニーからの両菌の分離率

供試菌株名	菌糸寄生 の有無	コロニー形成数・分離率（％）		
		<i>T. flavus</i>	<i>G. cingulata</i>	<i>T. flavus</i> + <i>G. cingulata</i>
感性菌				
NM－1 菌株 単独培養	有	20/72(27.8)	38/72(52.8) 18/18(100)	14/72(19.4)
TO－1 菌株 単独培養	有	22/72(30.6)	38/72(52.8) 18/18(100)	12/72(16.7)
耐性菌				
大田原市親園菌株 単独培養	有	23/72(31.9)	40/72(55.6) 18/18(100)	9/72(12.5)
二宮長沼菌株 単独培養	有	20/72(27.8)	39/72(54.2) 18/18(100)	13/72(18.1)
拮抗糸状菌				
<i>T. flavus</i>		18/18(100)		

注) 供試菌のコロニー形成数/分離ディスク数.

b 走査電子顕微鏡観察

実験材料および方法

実験は，栃木農試病理昆虫部電子顕微鏡室で，*T. flavus* SAY-Y-01菌株を供して行なった．本病菌は，*G. cingulata* NM-1およびTO-1菌株を供した．観察材料は，対峙培養5日後の重複部を供した．走査電子顕微鏡観察は，常法に従い2.0%グルタルアルデヒドで24時間固定した．その後，0.1Mリン酸緩衝液，蒸留水で十分洗浄し，エチルアルコールの濃度系列(50～100%)で脱水，酢酸イソアミルに置換後，臨界点乾燥を行なった．以下，常法で金を真空蒸着し，日立S2150型走査電子顕微鏡を用いて加速10～25kVで観察した．

実験結果

イチゴ炭疽病菌に対する本拮抗糸状菌の菌糸寄生現象

が観察された．両菌糸が接触する直前，拮抗糸状菌菌糸先端部において樹枝状に二次，三次菌糸を分岐させ，病原菌菌糸に絡み付くように生育した(写真47)．

②イチゴ体上での菌糸寄生

実験材料および方法

実験は，栃木農試生物工学部実験室で，品種とちおとめを用いて行なった．病原菌接種は，*G. cingulata*大田原親園菌株をPDA平板培地で25℃7日間培養後，分生子を1ml当たり 10^4 個レベルに調整し，開花中のイチゴ株に噴霧した．接種後，供試株はビニル袋に収め，25℃の陽光恒温器に静置した．

拮抗糸状菌処理は，本病菌接種と同時にまたは17時間後に，SAY-Y-01菌株の分生子懸濁液(10^5 個/ml)またはタロマイセスフラバス水和剤(1000倍液)を株当たり10ml散布した．拮抗糸状菌孢子懸濁液は，PDA平板培地で25℃5日間培養したペトリ皿に殺菌水を注ぎ，菌そう表面

をコーンラージ棒で掻き取り、殺菌ガーゼで濾過して懸濁液を得た。本方法を拮抗糸状菌胞子懸濁液作成の常法とした。処理株は、本病菌接種3日後に観察に供した。また、対照としてWA平板培地での対峙培養も行なった。

観察材料の花弁、小葉およびWA培地片は、直接またはラクトフェノールコットンブルー液で染色して供した。観察には、光学顕微鏡、ノマルスキー微分干渉顕微鏡を用いた。

実験結果

本病菌生育に及ぼす拮抗糸状菌の影響を検討した。花弁上において、拮抗糸状菌および病原菌胞子懸濁液を同時散布すると、拮抗糸状菌分生子の発芽は観察されるが、病原菌分生子の発芽は観察されなかった(写真48)。葉上では、病原菌菌糸に沿って生育し、菌糸内部組織内部を崩壊、空洞化させた(写真49)。寄生状況は、WA培地上と同様であった。しかし、本病菌付着器に対する寄生は観察されなかった(写真50)。

③主要なイチゴ病原菌に対する菌糸寄生

我国のイチゴ主要品種は、うどんこ病に対して罹病性でその被害は甚大である(金磯1995)。一方、タラロマイセスフラバス水和剤は、本病に対しても適用が有り、高い防除効果がある。そこで、世界的に未検討である*T. flavus*のイチゴ各種病原菌に対する菌糸寄生能について検討を加え、本剤のその他の病害への適用拡大の指標とする。

a うどんこ病菌に対する菌糸寄生

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で、品種とちおとめの自然発病株を用いて行なった。イチゴうどんこ病菌(*Sphaerotheca aphani* var. *aphani*)に対する処理は、前培養した*T. flavus*SAY-Y-01菌株分生子を1ml当たり 6.3×10^5 個に調整し、株当たり10ml散布した。タラロマイセスフラバス水和剤は、1000倍液を散布器で同量散布した。処理株は、ガラス室内で管理し、処理7日後に観察に供した。観察材料は、花弁および小葉の病斑部を用い、直接またはラクトフェノールコットンブルー液で染色した。観察は、炭疽病菌同様に行なった。

実験結果

イチゴうどんこ病に対する*T. flavus* SAY-Y-01菌株分生子およびタラロマイセスフラバス水和剤散布による影響を検討した。両材料の分生子は、イチゴ体上で発芽し、菌糸を生育させ本病菌菌糸に寄生した。本拮抗糸状菌菌糸は、病原菌菌糸に沿って生育し、病原菌の気中菌糸間に菌糸を伸長させた。寄生された菌糸は、組織内部が崩壊、空洞化し萎凋収縮した(写真51)。本病菌分生子柄が、菌糸寄生されると連鎖形成されている分生子が萎凋収縮した。また、本拮抗糸状菌は、寄生菌糸上に分生子を二次形成した。なお、無処理のうどんこ病菌菌糸には、菌糸寄生が観察されなかった。

b 多剤耐性灰色かび病菌に対する菌糸寄生

灰色かび病菌(*Botrytis cinerea*)は、宿主範囲が極めて広く、作物の最重要病原菌の一つである。イチゴにおける被害も大きく、耐性菌の発生により防除が困難になりつつある(竹内1991)。そこで、世界的に未検討である*T. flavus*の多剤耐性菌に対する菌糸寄生について検討した。

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で、2000年7月26日から行なった。供試菌株は、JA全農営農技術センターから分譲されたイチゴ灰色かび病菌(*Botrytis cinerea*)4菌株とした。供試株の薬剤感受性の類別は、第84表に示した。対峙培養、分離および観察は、炭疽病菌同様に行なった。花弁を用いた実験は、70%エタノール消毒後、スライドグラス上に置き両菌を数mmの間隔に接種し、湿したろ紙を敷いたペトリ皿に収め、25℃の恒温器に静置して同様に観察した。

第84表 供試イチゴ灰色かび病菌(*Botrytis cinerea*)菌株の薬剤感受性類別

供試菌株名	薬剤感受性の類別
R-1	(R, S, S)
KN-001	(R, R, R)
MA304	(R, R, R)
S-9	(S, S, R)

注) (ハズイミダゾール, ジカルボキシミド, ジェトフェンカルブ)
Rは耐性, Sは感性を示す。

実験結果

本拮抗糸状菌は、イチゴ灰色かび病菌の多剤耐性菌株に菌糸寄生した。菌糸寄生の方法は、炭疽病菌同様で、樹枝状分岐して病原菌菌糸に沿って生育し、内部を崩壊させた(写真52, 53)。また、花卉上では、菌糸に直接沿って生育せず、短い侵入菌糸を2, 3本伸長侵入させる方法やcoiling現象も観察された(写真54, 55)。寄生

された菌糸は、内部が崩壊し、WA培地上と同様であった。

コロニー重複部からの再分離結果を第85表に示した。*T. flavus*コロニー形成率は、52.8～55.6%、本病菌コロニー形成率は23.6～30.6%であり、各菌株間に大きな差異は認められなかった。また、単独培養では、各々100%再分離された。

第85表 多剤耐性イチゴ灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) に対する *Talaromyces flavus* の菌糸寄生の有無および重複コロニーからの両菌の分離率

供試菌株名 (感受性)	処理および菌 糸寄生の有無	供試菌のコロニー形成数および分離率 (%)		
		<i>T. flavus</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>T. flavus</i> + <i>B. cinerea</i>
R-1 菌株 (R, S, S)	培地 有 単独培養 花卉 有	40/72(55.6)	17/72(23.6) 18/18(100)	15/72(20.8)
KN-001菌株 (R, R, R)	培地 有 単独培養 花卉 有	38/72(52.8)	17/72(23.6) 18/18(100)	17/72(23.6)
MA304菌株 (R, R, R)	培地 有 単独培養 花卉 有	38/72(52.8)	20/72(27.8) 18/18(100)	14/72(19.5)
S-9 菌株 (S, S, R)	培地 有 単独培養 花卉 有	38/72(52.8)	22/72(30.6) 18/18(100)	12/72(16.7)
<i>T. flavus</i>	単独培養	18/18(100)		

注) 供試菌のコロニー形成数/分離ディスク数。

c 2000年における数種の病原菌に対する菌糸寄生

栽培現場で問題となっている数種のイチゴ土壌病原菌に対する菌糸寄生の有無を検討する。

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で行なった。供試病原菌は、イチゴ萎黄病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*)、イチゴ萎凋病菌 (*Verticillium dahliae*)、

イチゴ芽枯病菌 (*Rhizoctonia solani*)、イチゴ疫病菌 (*Phytophthora cactorum*)、イチゴ白絹病菌 (*Sclerotium rolfsii*) およびイチゴ菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) の6種8菌株とした。対峙培養実験および観察は、炭疽病菌 (*G. cingulata*) 同様に行なった。培養温度は、萎凋病菌、疫病菌および菌核病菌が22℃、その他の病原菌は25℃とした。分離ディスクは、PDA平板培地上で5日間(萎凋病菌は10日後)培養し、形成コロニーを肉眼観察し、種を決定して分離率を算出した。

実験結果

T. flavus SAY-Y-01菌株は、萎黄病菌、萎凋病菌、芽枯病菌、疫病菌、白絹病菌および菌核病菌の6種8菌株の土壌病原菌に対して菌糸寄生が観察された。菌糸寄生方法は、炭疽病菌菌糸に対する状況とほぼ同様であった。萎黄病菌では、寄生後菌糸崩壊跡に結晶列が観察された(写真56, 57)。萎凋病菌では、厚膜化前は炭疽病菌同様に寄生された(写真58)。特に、芽枯病菌(写真59)、疫病菌の菌糸、遊走子のう(写真60, 61)および白絹病菌(写真62, 63)では、炭疽病に比較して菌糸が激しく崩壊した。

コロニー重複部からの再分離結果を第86表に示した。

萎黄病菌に対する試験では、本拮抗糸状菌コロニー形成率で50%、病原菌コロニー形成率で16.7%であった。萎凋病菌では、拮抗糸状菌コロニー形成率で55.6~59.7%、病原菌コロニー形成率で0%であった。白絹病では、拮抗糸状菌コロニー形成率で94.4%、病原菌コロニー形成率で0%であった(写真64)。菌核病菌では、拮抗糸状菌コロニー形成率で66.7%、病原菌コロニー形成率で30.6%であった。芽枯病菌および疫病菌では、拮抗糸状菌コロニーの形成率で100%、病原菌コロニーおよび両菌コロニーの形成率で0%であった。なお、無処理の拮抗糸状菌および病原菌の再分離率は、すべて100%であった。

第86表 数種のイチゴ病原菌に対する *Talaromyces flavus* の菌糸寄生の有無および重複コロニーからの両菌の分離率

病原菌名 (供試菌株名)	処 理 の有無	菌糸寄生 の有無	供試菌の形成コロニー数および分離率 (%)		
			<i>T. flavus</i>	病原菌	<i>T. flavus</i> +病原菌
萎黄病菌 (<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>fragariae</i>)					
(№297菌株)	有 無	有	36/72(50)	12/72(16.7) 18/18(100)	24/72(33.3)
萎凋病菌 (<i>Verticillium daliae</i>)					
(S- 25菌株)	有 無	有	40/72(55.6)	0/72(0) 18/18(100)	32/72(44.4)
(S- 27菌株)	有 無	有	43/72(59.7)	0/72(0) 18/18(100)	29/72(40.3)
芽枯病菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>)					
(№311菌株)	有 無	有	72/72(100)	0/72(0) 18/18(100)	0/72(0)
疫病菌 (<i>Phytophthora cactorum</i>)					
(F-V- 1 菌株)	有 無	有	72/72(100)	0/72(0) 18/18(100)	0/72(0)
(F-V- 7菌株)	有 無	有	72/72(100)	0/72(0) 18/18(100)	0/72(0)
白絹病菌 (<i>Sclerotium rolfsii</i>)					
(NI91- 01菌株)	有 無	有	68/72(94.4)	0/72(0) 18/18(100)	4/72(5.6)
菌核病菌 (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)					
(佐野菌株)	有 無	有	48/72(66.7)	22/72(30.6) 18/18(100)	2/72(2.8)
<i>T. flavus</i>					
(SAY-Y-01菌株)			18/18(100)		

d 2002年における3種の病原菌に対する菌糸寄生

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で行なった。供試病原菌は、イチゴ輪斑病菌(*Dendrophoma obscurans*, 九州沖縄農業研究センター分譲)744018菌株, 744074菌株, イチゴ根腐萎凋病菌(*Cylindrocarpon destructans*, 宮城県園芸試験場分譲)および栃木農試保存の青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)の3種4菌株とした。対照として、イチゴ炭疽病菌*G. cingulata*大田原親園菌株を供した。

糸状菌の対峙培養実験および観察は、炭疽病菌同様に行なった。青枯病菌は、斜面培地から直接釣菌し、拮抗糸状菌ディスクから3cmの位置に長さ3cmに画線培養した。

実験結果

イチゴ輪斑病菌、根腐萎凋病菌および青枯病菌に対する本拮抗糸状菌の菌糸寄生を検討した。輪斑病菌に対する本拮抗糸状菌菌糸の生育状況は、炭疽病菌に比較して生育が抑制され、樹枝状分岐は観察されなかった。根腐萎凋病菌では、コロニーの重複が認められず、阻止帯が形成され、生育が抑制された。しかし、対峙培養10日後には、緩慢であったが病原菌菌糸に沿って生育し、菌糸の一部を空洞化させた。青枯病菌に対しては、樹枝状分岐は観察されず無対峙培養同様に菌糸を生育させ、本病菌コロニーを通過した。対峙培養時の本病菌コロニーは、無処理コロニーと同様の生育状況であった。

④他作物の主要病原菌に対する菌糸寄生

a 2000年における3種の病原菌に対する菌糸寄生

最重要病害であるイネいもち病菌、紋枯病菌およびニラ紅色根腐病に対する宿主上での菌糸寄生を検討する。

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で行なった。供試菌株は、栃木農試保存のイネいもち病菌(*Pyricularia oryzae* 00-6-19菌株)、イネ紋枯病菌(*Rhizoctonia solani* 大田原市福原菌株)およびニラ紅色根腐病菌(*Pyrenochaeta terrestris* CT0-01菌株, CKU-01菌株)の3種4菌株とした。

実験材料には、WA平板培地と宿主植物体を用いた。イネ体上での観察は、葉身を数cmに切断し、70%エタノールで表面消毒後殺菌水で洗浄し、湿した濾紙を敷いたペトリ皿に収め、含菌寒天を貼り付け接種し、発病させた材料を用いた。さらに、いもち病菌は栃木農試場内の自然発病葉も材料とした。本拮抗糸状菌の接種は、前培養した*T. flavus* SAY-Y-01菌株分生子を1ml当たり 4×10^4 個に調整し噴霧した。ニラ紅色根腐病の宿主材料は、予め本病菌を土壌接種し、発病させた品種スーパーグリーンベルトの罹病根を用いた。対峙培養および観察は、炭疽病菌と同様とした。

宿主植物体からの分離は、イネ葉身の病斑部の中央部を約2mm四方に、ニラ根は、中央部を約1mm厚に横断し、PDA平板培地上に置床して種を判別した。

実験結果

T. flavus SAY-Y-01菌株を供して、イネいもち病菌、紋枯病菌およびニラ紅色根腐病菌に対する培地上および宿主体上での菌糸寄生を検討した。コロニー重複部および宿主からの分離結果を第87表に示した。

いもち病菌に対して本拮抗糸状菌は、培地上および葉身上で菌糸寄生した(写真65)。寄生方法は、炭疽病菌同様であった。しかし、培地上および葉身上でメラニン色素形成菌糸は、未形成菌糸に比較して菌糸寄生される頻度は低かった(写真66)。培地での分離率は、拮抗糸状菌が50%、両菌が22.2%であった。しかし、葉身の両菌分離率は、83.3%で培地に比較して高かった。

本拮抗糸状菌は、紋枯病菌に対しても菌糸寄生した。寄生状況は、炭疽病菌と同様であったが、菌糸の崩壊程度は激しかった(写真67, 68)。培地での分離では、本拮抗糸状菌のみが分離された。葉身では、両菌分離率で72.2%と高率であった。

本拮抗糸状菌は、ニラ紅色根腐病菌に対して根上で菌糸寄生した。寄生状況は、炭疽病菌と同様であった(写真69, 70)。再分離率は、本拮抗糸状菌のみが11.1~27.8%で、両菌の72.2~88.9%であった。

第87表 イネいもち病菌，イネ紋枯病菌およびニラ紅色根腐病菌に対する *Talaromyces fravus* の培地上および宿主上での菌糸寄生の検討

病原菌名 (供試菌株名)	処理 条件	菌糸寄 生有無	培地および宿主からの分離率 (%)		
			<i>T. flavus</i>	病原菌	<i>T. flavus</i> +病原菌
イネいもち病菌 (<i>pyricularia oryzae</i>)	対峙培養	有	18/36(50)	10/36(27.8)	8/36(22.2)
	単独培養			18/18 (100)	
	自然発病葉	有	0/18(0)	3/18(16.7)	15/18(83.3)
	人工発病葉	有	2/18(11.1)	1/18(5.6)	15/18(83.3)
イネ紋枯病菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>)	対峙培養	有	36/36(100)	0/36(0)	0/36(0)
	単独培養			18/18 (100)	
	葉身	有	5/18(27.8)	0/18(0)	13/18(72.2)
ニラ紅色根腐病菌 (<i>Pyrenocheta terretris</i>)	根	有	2/18(11.1)	0/18(0)	16/18(88.9)
	人工発病根	有	5/18(27.8)	0/18(0)	13/18(72.2)

注) 供試菌のコロニー形成数/分離ディスク数.

b 2001年における各種病原菌に対する菌糸寄生

実験結果

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で行なった。供試病原菌は、栃木農試保存のイチゴバラ色かび病菌 (*Trichothecium roseum*)、バラバラ色かび病菌 (*T. roseum*)、トマト萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*)、トマト半身萎凋病菌 (*Verticillium dahliae*)、ニラ葉腐病菌 (*Rhizoctonia solani*)、トマト灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*)、リンゴ腐乱病菌 (*Valsa ceratosperma*)、メロン菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) およびコンニャク白絹病菌 (*Sclerotium rolfsii*) の10種10菌株とした。対照として、イチゴ炭疽病菌 *G. cingulata* 大田原親園菌株を供した。

対峙培養実験および観察は、炭疽病菌同様に行なった。ただし、半身萎凋病菌の前培養および対峙培養期間は10日間とした。

T. flavus SAY-Y-01菌株は、10種10菌株に対して菌糸寄生が観察された。菌糸寄生状況は、炭疽病菌とほぼ同様であった。しかし、イチゴバラ色かび病菌 (写真71)、バラバラ色かび病菌およびリンゴ腐乱病菌 (写真72) では、細胞壁が溶失した。トマト萎凋病菌では、菌糸崩壊跡に結晶列が観察された。また、ニラ葉腐病菌 (写真73)、メロン菌核病菌およびコンニャク白絹病菌では、炭疽病菌に比較して菌糸崩壊が激しかった。

コロニー重複部からの分離結果を第88表に示した。イチゴバラ色かび病菌、バラバラ色かび病菌、トマト萎凋病菌、ニラ葉腐病菌およびコンニャク白絹病菌では、拮抗糸状菌が、高率(83.3~100%)に分離された。トマト灰色かび病菌、メロン菌核病菌およびイチゴ炭疽病菌の拮抗糸状菌コロニー形成率は、27.8~61.1%で他の供試菌株に比較して低かった。無処理の拮抗糸状菌および病原菌の再分離率は、100%であった。

第88表 各種病原菌に対する *Talaromyces flavus* の菌糸寄生の有無および重複コロニーからの両菌の分離率

病原菌名 (供試菌株名)	処 理 の有無	菌糸寄生 の有無	供試菌の形成コロニー数および分離率 (%)		
			<i>T. flavus</i>	病原菌	<i>T. flavus</i> +病原菌
イチゴバラ色かび病菌 (<i>Trichothecium roseum</i>)					
	有	有	36/36(100)	0/36(0)	0/36(0)
	無			18/18(100)	
バラバラ色かび病菌 (<i>Trichothecium roseum</i>)					
	有	有	36/36(100)	0/36(0)	0/36(0)
	無			18/18(100)	
トマト萎凋病菌 (<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>)					
	有	有	30/36(83.3)	0/36(0)	6/36(16.7)
	無			18/18(100)	
トマト半身萎凋病菌 (<i>Verticillium dahliae</i>)					
	有	有	20/36(55.6)	0/36(0)	16/36(44.4)
	無			18/18(100)	
トマト灰色かび病菌(<i>Botrytis cinerea</i>)					
	有	有	18/36(50)	6/36(16.7)	12/36(33.3)
	無			18/18(100)	
ニラ葉腐病菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>)					
	有	有	36/36(100)	0/36(0)	0/36(0)
	無			18/18(100)	
リンゴ腐乱病菌(<i>Valsa ceratosperma</i>)					
	有	有	28/36(77.8)	0/36(0)	8/36(22.2)
	無			18/18(100)	
メロン菌核病菌(<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)					
	有	有	22/36(61.1)	10/36(27.8)	4/36(11.1)
	無			18/18(100)	
コンニャク白絹病菌(<i>Sclerotium rolfsii</i>)					
	有	有	35/36(97.2)	0/36(0)	1/36(2.8)
	無			18/18(100)	
イチゴ炭疽病菌 (<i>Glomerella cingulata</i>)					
	有	有	10/36(27.8)	17/36(47.2)	9/36(25)
	無			18/18(100)	
<i>T. flavus</i>					
SAY-Y-01菌株			18/18(100)		

注) 供試菌のコロニー形成数/分離ディスク数.

⑤ 数種の担子菌類に対する菌糸寄生

観察にとどめた。

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で拮抗糸状菌 *T. flavus* SAY-Y-01 菌株を供して行なった。供試菌株は、栃木県林業センターから分譲されたシイタケ (*Lentinus edodes*) TL..ed.6 菌株, TL..ed.8 菌株, ナメコ (*Pholiota nameko*) 東北 N123 号菌株, ヒラタケ (*Pleurotus pulmonarius*) TP.os.2 菌株, マイタケ (*Grifora frondosa*) TG.fr.1 菌株, ブナシメジ (*Hypsizigus marmoreus*) TH.ma.3 菌株およびクリタケ (*Naematoloma sublateralitium*) TN.fa.2 菌株の 6 種 7 菌株とした。対峙培養および分離は、炭疽病菌と同様に行なった。また、対照としてイチゴ炭疽病菌 *G. cingulata* 大田原親園菌株を供した。ただし、コロニーの重複部が少ない場合は、分離は行わず顕微鏡

実験結果

担子菌類 6 種 7 菌株に対する本拮抗糸状菌の菌糸寄生について検討した。本拮抗糸状菌菌糸は、各供試菌菌糸に沿って伸長し、細胞内部を空洞化させた(写真74～76)。菌糸寄生状況は、炭疽病菌菌糸と同様であった。なお、無処理の供試菌に対しては、菌糸寄生は観察されなかった(写真77)。

コロニー重複部からの分離状況を第89表に示した。拮抗糸状菌コロニーの分離率は、シイタケ、ヒラタケ、マイタケおよびナメコが91.7～100%で、炭疽病菌に比較して高かった。

 第89表 各種担子菌類菌糸に対する *Talaromyces flavus* の菌糸寄生の有無および重複コロニーからの両菌の分離率

供試菌株名 (学名)	処理および菌 糸寄生の有無	供試菌のコロニー形成数および分離率(%)		
		<i>T. flavus</i>	供試菌	<i>T. flavus</i> +供試菌
シイタケ (<i>Lentinus edodes</i>)				
TL..ed.6 菌株	有 単独培養	36/36(100)	0/36(0) 18/18(100)	0/36(0)
TL..ed.8 菌株	有 単独培養	36/36(100)	0/36(0) 18/18(100)	0/36(0)
ナメコ (<i>Pholiota nameko</i>)				
東北 N123 号菌株	有 単独培養	33/36(91.7)	3/36(8.3) 18/18(100)	0/36(0)
ヒラタケ (<i>Pleurotus pulmonarius</i>)				
TP.os.2 菌株	有 単独培養	36/36(100)	0/36(0) 18/18(100)	0/36(0)
マイタケ (<i>Grifora frondosa</i>)				
TG.fr.1 菌株	有 単独培養	36/36(100)	0/36(0) 18/18(100)	0/36(0)
ブナシメジ (<i>Hypsizigus marmoreus</i>)				
TH.ma.3 菌株	有 単独培養	nt.	nt. 18/18(100)	nt.
クリタケ (<i>Naematoloma sublateralitium</i>)				
TN.fa.2 菌株	有 単独培養	nt.	nt. 18/18(100)	nt.
イチゴ炭疽病菌 (<i>Glomerella cingulata</i>)		10/36(27.8)	18/36(50)	8/36(22.2)
<i>T. flavus</i>	単独培養		18/18(100)	

注) 供試菌のコロニー形成数/分離ディスク数。
 nt.: 重複コロニー部からの分離を行わなかった。

⑥ *Gliocladium virens* に対する菌糸寄生

*Gl. virens*は，菌糸寄生を作用機作とする拮抗糸状菌である(Howell1992)．すでに，SoilGard, GlioGardとしてアメリカで市販されている(西尾・大畑1998)．一方，*T. flavus*も菌糸寄生能を有している．そこで，菌糸寄生菌相互の影響について検討した．

実験材料および方法

実験は，栃木農試生物工学部実験室で，2000年10月10日から行った．供試した*Gl. virens*は，菌糸寄生能が確認されているGL-21菌株およびG-2菌株(出光興産中央研究所分譲)である．拮抗糸状菌 *T. flavus*は，SAY-Y-01菌株を供した．対峙培養およびディスク間分離は，炭疽病菌と同様に行なった．

実験結果

菌糸寄生菌*Gl. virens*に対する*T. flavus*の菌糸寄生状況を検討した．*T. flavus*は，WA平板培地上において*Gl. virens*菌糸に炭疽病菌同様に寄生した(写真78)．また，*Gl. virens*の対峙培養後形成された分生子に対する寄生も観察された．寄生を受けた菌糸は，一部空洞化するが，隔膜間で保護され原形質が変質してない細胞も観察された．*T. flavus*菌糸に対する*Gl. virens*の菌糸寄生は観察されなかった．なお，*T. flavus*と*T. flavus*間の対峙培養では，菌糸寄生は観察されなかった．

コロニー重複部位からの分離結果を第90表に示した．供試菌は単独で分離されず，両菌が100 %分離された．分離コロニーは，セクタで棲み分けされず重なる様であった．培養初期は，*Gl. virens*の菌そうが優占するが(写真79)，14日後には*T. flavus*の菌そうが*Gl. virens*の菌そうを覆い優占した(写真80)．

第90表 菌糸寄生菌*Gliocladium virens* に対する*Talaromyces flavus*の菌糸寄生能の検討

対峙糸状菌 ^a (菌株名)	培養条件	菌糸寄 生状況	供試菌コロニー形成数・分離率(%) ^b		
			<i>T. flavus</i>	<i>G. virens</i>	<i>T. flavus</i> + <i>G. virens</i>
<i>Gl. virens</i>					
(GL-21菌株)	対峙培養	寄生される	0/72(0)	0/72(0)	72/72(100)
	単独培養			18/18(100)	
(G-2 菌株)	対峙培養	寄生される	0/72(0)	0/72(0)	72/72(100)
	単独培養			18/18(100)	
<i>T. flavus</i>					
(SAY-Y-01菌株)	対峙培養	寄生しない	72/72(100) 18/18(100)	0/72(0)	0/72(0)
	単独培養				
イチゴ炭疽病菌 <i>G. cingulata</i>					
(大田原市親園菌株)		寄生される	20/72(27.8)	38/72(52.8)	14/72(19.4)

注) a : *T. flavus*に対する対峙培養供試菌名．

b : 供試菌のコロニー形成数／分離ディスク数．

⑦葉面微生物および空中飛散菌の生育に及ぼす影響

タラロマイセスフラパス水和剤がイチゴに散布されると、葉面微生物に対しても菌糸寄生する可能性がある。葉面微生物に対して菌糸寄生能を有すれば、病原菌感染までの栄養源(エサ)としての役割が期待できる。そこで、葉面微生物に対する寄生能について検討した。

a 葉面糸状菌の生育に及ぼす影響

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で、*T. flavus* SAY-Y-01菌株を供して行なった。材料は、収穫圃場から2000年4月9日、12日、18日、親株床からは5月2日、6月7日に採葉した。供試イチゴ葉は、上位から第3番目の完全展開中間小葉とした。供試葉は、15mlの殺菌水を入れた試験管に収め、TAITEK AUTOMATIC MIXER S-100で30秒間振動洗浄し、洗浄液をペトリ皿に0.5ml加え、約45℃のPDA培地を10ml流し込み培養した。処理ペトリ皿は、25℃7日間培養し、発生したコロニーを随時PDA斜面培地に移植保存した。

供試糸状菌は、分離頻度が高い4.9C14菌株、4.16C19-1-3菌株、4.16L-3-2菌株、4.23C-3-2菌株、5.7C-3-1菌株、5.7D1-3菌株、5.8B-1-1(*Pestalotiopsis disseminata*)菌株、5.8S-8菌株、6.13M6-3菌株、6.12m-10(*Trichoderma* sp.)菌株、6.13(*Aspergillus flavus*)菌株、6.13(*Alternaria* sp.)菌株および分離培地上でその他の菌に抗菌性を有する6.13(*Aureobasidium pullulans*)菌株、6.13(*As. niger*)菌株の15菌株とした。対峙培養および観察は、炭疽病菌と同様である。

実験結果

イチゴ葉面糸状菌の生育に及ぼす、*T. flavus* SAY-Y-01菌株の影響を検討した。本拮抗糸状菌の菌糸寄生は、4.6CL3-1菌株、4.16L-3-2菌株、5.8B-1-1(*Pestalotiopsis disseminata*)菌株、4.23C-3-2菌株、4.16C19-1-3(*Alternaria* sp.)菌株、5.8S-8菌株、6.13M6-3菌株、6.12m-10(*Trichoderma* sp.)菌株および6.13(*Alternaria* sp.)菌株に認められた。4.6CL3-1菌株では、細胞壁が溶失し、菌糸崩壊跡に四角錐の結晶が観察された。5.8S-8菌株は、分離頻度が高い茶色の菌糸を有する未同定菌であるが、菌糸寄生された。6.12m-10(*Trichoderma* sp.)菌株は、菌糸崩壊するが、一部は厚膜化して生存した

(写真81)。無処理供試菌の生育状況は、写真82に示した。*Au. pullulans* 6.13菌株(写真83)、4.16L-3-2菌株、*As. flavus* 6.13菌株および*As. niger* 6.13菌株では、菌糸寄生は観察されなかった。また、*T. flavus* 菌糸は、6.13M6-3菌株と対峙培養すると異常分岐し、さらに、*As. flavus* 6.13菌株は、PDA培地上での菌糸生育を激しく抑制した(写真84)。

b 葉面細菌の生育に及ぼす影響

実験材料および方法

実験は、葉面糸状菌と同様に行なった。供試葉面細菌は、分離頻度が高い4.11C193-1菌株、4.160L-3-1菌株、4.23CC-1菌株、5.8C-2-1菌株、5.8C-3-3菌株、5.1BU3菌株、5.25P-1-2菌株、5.25A-3-2菌株および6.4D.0B菌株の9菌株とした。対峙培養実験および観察は、青枯病菌と同様である。

実験結果

イチゴ葉面細菌の生育に及ぼす*T. flavus* SAY-Y-01菌株の影響を検討した。6.4D.ob菌株は、分離培地上の糸状菌に対して阻止円を形成した菌株である。本菌株は、本拮抗糸状菌菌糸に対して異常分岐、退避反転現象を起こさせた。4.11C193-1、5.1BU3、5.8C-3-3、5.25P-1-2、5.25A-3-2および5.25P-1-2菌株では、本拮抗糸状菌菌糸が細菌コロニー内部に生育し、コロニーを崩壊させた。5.1BU3菌株では、コロニー内部で本拮抗糸状菌菌糸の樹枝状分岐が観察された(写真85)。また、4.11C193-1菌株および5.25P-1-2菌株では、崩壊コロニーに四角錐の結晶が多数観察された(写真86)。4.160L-3-1菌株は、菌糸は正常に生育するが、細菌コロニーに対する積極的な接触は観察されなかった(写真87)。

c 空中飛散菌の生育に及ぼす影響

実験材料および方法

空中飛散菌の採集は、栃木農試病理昆虫研究室の品種とちおとめ栽培ビニルハウス内において行った。トラップに用いたペトリ皿は、*T. flavus* SAY-Y-01菌株をWA平板培地で25℃7日間培養(コロニー直径5cm)したものである。本菌の暴露は、2000年11月19日の12~14時の2時間イチゴ株間のビニル上にペトリ皿を開放静置して

行なった。

観察は、暴露後25℃3日間培養し、採集菌コロニーと拮抗糸状菌菌糸が交差生育している部分の寒天を適宜切りだし、ノマルスキー微分干渉顕微鏡を用いて行った。実験は、3ペトリ皿を供試した。

実験結果

イチゴハウス空中飛散菌生育に及ぼす拮抗糸状菌の影響を検討した。ハウス内での2時間暴露により、糸状菌4コロニー、細菌10コロニーが本拮抗糸状菌菌糸と交差し生育した。

本拮抗糸状菌は、SA-01菌株(未同定、不完全酵母菌綱)およびSF-03菌株(未同定)菌糸に寄生し一部を崩壊させた。SF-04菌(*Cladosporium* sp.)に対しては、菌糸寄生は観察されなかった。

SB-01~10菌は、白色コロニーを呈する細菌である。本拮抗糸状菌は、コロニーに対して菌糸を生育させ、コロニー内部から菌糸を外側に生育させた(写真88)。コロニーを洗浄すると菌糸が樹枝状に分岐生育していた(写真89)。

(2) 培養苗へのリグニン沈着に及ぼす影響

*T. flavus*のイチゴ体への及ぼす影響について、生体防御の重要な役割を担っているリグニンの沈着誘導に着目して検討した。

①葉へのリグニン沈着に及ぼす影響

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で行った。無菌培養苗(品種：とちおとめ)は、2002年9月4日に200mlの培養液にホルモンフリーの1/2 Murashige-Skoog(MS)培地を40ml入れ、本葉3枚に調整した培養苗を1株移植し、3週間培養して作製した。本方法を培養苗作成の常法とした。培養苗に対する処理は、タラロマイセスフラバス水和剤、*T. flavus* SAY-Y-01菌株分生子懸濁液およびイチゴ炭疽病菌*G. cingulata*大田原親園菌株の散布(接種)処理とした。本水和剤は、1000倍液に希釈し、ペーパークロマトグラフ用噴霧器を用いて培養液内のイチゴに2、3回噴霧処理した。本拮抗糸状菌および本病菌は、PDA平板培地で25℃7日間培養後形成された分生子を殺菌蒸留水で1ml当たり 10^4 個レベルに調整し、本水和剤同様散布(接種)処理した。

リグニン沈着観察部位は、最上位完全展開葉の葉柄およびきょ歯とした。葉柄は、中間部をフリーハンドで横断し、きょ歯は2、3mmの長さに切り出した。供試数は、6葉柄、6小葉72きょ歯とした。リグニン染色は、Wiesner試薬(18%塩酸にフロログルシンを飽和させたもの)を用い、スライド上に1、2滴とり、供試切片を加えてカバーガラスをかけ、水流ポンプで5分間吸引し、気泡除去後に検鏡した。なお、本方法をリグニン染色および観察の常法とした。

実験結果

イチゴ培養苗へのリグニン沈着に及ぼす*T. flavus*の影響を検討した。本水和剤、本拮抗糸状菌分生子および炭疽病菌の散布(接種)処理1日後には、両材料の分生子発芽が観察された。両拮抗糸状菌処理では、処理3日後からレモンイエローのコロニーが培地表面全体を覆ったが、供試イチゴは無処理同様に生育した。本病菌接種処理では、5日後に培地表面全体が灰白色のコロニーで覆われ、本病菌微が観察された。両拮抗糸状菌処理3日後には、葉柄表皮、きょ歯表皮および毛茸全体が赤桃色に着色し、リグニン呈色反応が認められた(写真90)。処理葉柄は、無処理に比較して強い切断抵抗を有していた。リグニン呈色反応は、炭疽病菌接種および無処理において、主に毛茸基部に観察され、表皮には観察されなかった(写真91)。

②リグニン沈着に及ぼす拮抗糸状菌世代との関係

イチゴ体へのリグニン沈着に及ぼす本拮抗糸状菌完全世代(*T. flavus*)および不完全世代(*Penicillium dangeardii*)の影響並びに炭疽病抑制効果を検討する。

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で行った。無菌培養苗(品種：とちおとめ)は常法により作製した。拮抗糸状菌の両世代は、基本培地から第91表に示した成分を添加しない改変培地を用い形成させた。本拮抗糸状菌処理は、*T. flavus* SAY-Y-01菌株分生子を1ml当たり 10^7 個レベルに調整し、培養液内の苗(18日間培養)に均一に噴霧処理した。本病菌*G. cingulata*大田原親園菌株の接種は、拮抗糸状菌処理7日後に分生子懸濁液(10^4 個/mlレベル)を噴霧した。リグニン染色および観察は、常法に従い行なった。調査は、拮抗糸状菌処理5日後に無接種の各々3株に対して行なった。また、拮抗糸状菌の子のう殻形

成も観察調査した。沈着程度は、以下の基準で調査し沈着度を算出した。リグニン沈着指数 0:毛茸に沈着を認めない。1:沈着面積が25%未満。2:25%以上50%未満。3:50%以上75%未満。4:75%以上。沈着程度 $=\Sigma(\text{沈着別指数} \times \text{同調査毛茸数}) \times 100 / (\text{調査毛茸数} \times 4)$ また、炭疽病発病度は、本菌接種8日および17日後に調査し、以下の基準で調査し、発病度を算出した。調査株数は、各々8株とした。発病指数 0:発病を認めない。1:葉に斑点型病斑。2:分生子層が形成される。3:萎凋。4:枯死。発病度 $=\Sigma(\text{程度別発病指数} \times \text{同株数}) \times 100 / (\text{調査株数} \times 4)$ 。

第91表 1/2MS培地から削除した成分名

成分群 番号	成分名
1	KNO ₃ KH ₄ NO ₃ KH ₂ PO ₄
2	MnSO ₄ ZnSO ₄ CuSO ₄ ·7H ₂ O CuSO ₄ ·5H ₂ O CoCl ₂ ·6H ₂ O H ₃ BO ₃ Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O
3	MgSO ₄ ·7H ₂ O
4	CaCl ₂ ·2H ₂ O
5	KI
6	Fe-EDTA
7	ミオイノシトール ニコチン酸 塩酸ピリドキシン 塩酸チアミン グリシン

実験結果

実験結果を第92表に示した。№2成分群の無添加培地では、子のう殻が処理1ヶ月後においても形成されなかった。リグニン沈着程度は、拮抗糸状菌の散布処理によって、沈着程度が高まる傾向であった。№2無添加区においても、MS培地同様のリグニン沈着程度であった。無処理の炭疽病発病程度は、接種8日後(45.8~100)から高くなり、17日後調査では、85.7~100であった。しかし、拮抗糸状菌散布処理では、№4区を除いて接種8日後調査では、発病度(0~31.3)で低かった。17日調査では、病状は進展したが無処理に比較して発病度(42.9~75)は低かった。№2無添加区(不完全世代)でも完全世代形成区と同様の低い発病度であった。

③リグニン沈着に及ぼす殺菌処理された拮抗糸状菌の影響

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物学部実験室で、無菌培養苗(品種:とちおとめ)を用いて行った。材料は、培養21日後の展開葉きょ歯毛茸とした。処理は、分生子懸濁液(*T. flavus* SAY-Y-01菌株分生子の10⁷個/mlレベル)、殺菌分生子懸濁液、殺菌濾液、タラロマイセスフラバス水和剤1000倍液、乾熱殺菌同水和剤および殺菌蒸留水とした。供試株数は、各々5株とし一株当たり5mlを噴霧処理した。調査は、処理5日後の最上位完全展開葉きょ歯毛茸を対象とし、リグニン沈着度を常法に従って算出した。

実験結果

実験結果を第93表に示した。リグニン沈着程度は、殺菌蒸留水処理(13.3)に比較して、分生子懸濁液処理(35.2)およびタラロマイセスフラバス水和剤(36.3)で高かった。殺菌分生子懸濁液、殺菌濾液および乾熱水和剤処理(10.5~14.8)による沈着程度は、殺菌蒸留水処理(13.3)に比較してほぼ同程度であった。リグニン沈着は、生き拮抗糸状菌処理によって促進された。

第92表 拮抗糸状菌 *Talaromyces flavus* の世代形成に及ぼす各種培地の影響
およびリグニン沈着ならびイチゴ炭疽病の発病程度

処理区	拮抗糸状菌 処理の有無	子のう殻 形成程度*	リグニン 沈着程度	発病度	
				8日後	17日後
1/2 MS -1	有	+	26.5	31.3	62.5
	無		26.7	45.8	95.8
-2	有	—	40.7	7.1	42.9
	無		14.5	66.7	100
-3	有	++	48.9	31.3	62.5
	無		30.9	92.9	100
-4	有	+	20.1	71.9	81.3
	無		9.1	100	100
-5	有	++	33.8	0	62.5
	無		19.6	87.5	100
-6	有	++	29.5	0	75
	無		12.1	75.0	100
-7	有	++	37.4	18.8	65.6
	無		7.0	80	85.7
1/2 MS	有	++	35.2	14.3	42.9
	無		27.4	85	100

注) 処理区の一番号は添加しなかった第91表の成分を示す。
1/2MS 培地上の本拮抗糸状菌子のう殻の形成程度を++とした。
—は，完全世代形成にいたらなかったことを示す。

第93表 イチゴ毛茸におけるリグニン沈着に及ぼす各処理された *Talaromyces flavus* の影響

処 理	リグニン沈着程度
分生子懸濁液	35.2
殺菌分生子	10.5
殺菌濾液	11.6
タロマイセスフラグス水和剤	36.3
乾熱処理タロマイセスフラグス水和剤	14.8
殺菌蒸留水	13.3

注) 調査は処理5日後に行なった。
一処理5株を供試した。

④局所処理による他部位への影響

本拮抗糸状菌 *T. flavus* のイチゴ細胞へのリグニン沈着誘導が，全身のか局所的かを検討する。

実験材料および方法

実験は，栃木農試生物工学部実験室で，無菌培養苗（品種：とちおとめ）を用いて行った。拮抗糸状菌処理は， 10^6 個/mlレベルの *T. flavus* SAY-Y-01菌株分生子を最上位展開葉中間小葉きょ歯にマイクロピペットで30 μ lを点滴した。対照として殺菌蒸留水を同様に処理した。リグニン染色は，常法に従い行なった。調査は，拮抗糸状菌処理0，3，5，8および11日後に両隣りの小葉の沈着程度を算出した。供試株数は，各々3株とした。

実験結果

拮抗糸状菌分生子懸濁液の局所処理が隣接小葉リグニン沈着に及ぼす影響を検討した。実験結果を第94表に示した。拮抗糸状菌処理毛茸の沈着程度は26.4で、殺菌水処理(20.5)に比較して3日後から高くなった。しかし、

処理隣接小葉の沈着程度は、8日後まで殺菌水処理と同程度であった。

第94表 拮抗糸状菌 *Talaromyces flavus* の分生子懸濁液処理による隣接小葉へのリグニン沈着に及ぼす影響

材 料	沈 着 程 度				
	0	3	5	8	11(日後)
<i>T. flavus</i> 処理					
右小葉	13.8	16.5	23.7	29.7	nt.
*中間小葉	16.0	26.4	45.6	40.7	nt.
左小葉	16.5	20.5	25.1	31.7	nt.
殺菌水処理					
右小葉	19.6	26.5	21.6	30.9	31.3
*中間小葉	13.2	20.1	19.9	26.7	26.5
左小葉	20.5	22.5	19.7	19.7	31.3

注) 調査株数は、各々3株。

nt. : 培地に *T. flavus* 菌のコロニーが全面に形成されたため調査しなかった。

* : 処理葉を示す。

⑤根へのリグニン沈着に及ぼす影響

本拮抗糸状菌 *T. flavus* のイチゴおよびキュウリ根へのリグニン沈着に及ぼす影響を検討する。

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部実験室で、無菌培養苗(品種：とちおとめ)を用いて行った。観察材料根は、培養苗根部を切断し、殺菌水10mlを入れた平底試験管に静置し、18日間陽光定温器(23℃12時間照明)で管理し、新発生したものである。また、対照キュウリ(品種:F1新星耐病節成)は、種子消毒後、5mlの殺菌水を入れたペトリに播種し、発芽2、3日後の根とした。調査根数は、各々8本とした。

処理は、*T. flavus* SAY-Y-01菌株分生子懸濁液(10^5 個/ml)および本病菌分生子懸濁液(大田原親園菌株、 10^4 個/ml)を両植物の根に0.5ml塗布接種した。リグニン染色は、常法に従い行い。調査は、各処理0、4、8、16時間後、1、3および5日後に分生子の付着した細胞周辺および材料全体のリグニン沈着程度を観察した。なお、無処理には殺菌水を同様に処理した。リグニン沈着程度は、以下の基準で調査した。リグニン沈着指数 0:細胞に沈着を認めない。1:沈着面積が33%未満。2:33%以上66%未満。3:66%以上。

実験結果

イチゴ根へのリグニン沈着に及ぼす拮抗糸状菌 *T. flavus* の影響についてキュウリを対照として検討した。

実験結果を第95表に示した。

本拮抗糸状菌分生子処理によって、イチゴ根では、24時間後に若干の沈着が観察され始め、3日後には、沈着程度(1～2)が高まった(写真92)。キュウリは、リグニン沈着が処理8時間後には観察されなかった(写真93)。しかし、3日後には、リグニン沈着(0～2)が観察された(写真94)。

本病菌接種1日後のイチゴ根では、リグニン沈着が分生子および発芽菌糸周辺の細胞に観察されなかった。しかし、4日後には全体および付着器周辺に沈着(0～1)が観察された(写真95)。供試イチゴ根は、接種7日後に

は発病したことから、侵入後の沈着であった(写真96)。

キュウリ根では、4時間後に分生子周辺の細胞でリグニン沈着(1)が観察され始め、8時間後(2)には顕著になり、分生子はリグニンにより包囲された(写真97)。接種3日後、分生子細胞壁は、崩壊し痕跡が観察された(写真98)。無処理イチゴ根でのリグニン沈着は、5日後まで観察されなかったがキュウリ根では、破裂孔部で沈着(1)が観察された。

第95表 拮抗糸状菌 *Talaromyces flavus* および イチゴ炭疽病菌 *Glomerella cingulata* のイチゴ、キュウリ根のリグニン沈着に及ぼす影響

接種菌	接种植物	リグニン沈着程度						
		0	4	8	16(時間後)	1	3	5(日後)
<i>T. flavus</i>	イチゴ	0	0	0	0	0～1	1～2	3
	キュウリ	0	0	0	0	0	0～1	3
<i>G. cingulata</i>	イチゴ	0	0	0	0	0	0	0～1
	キュウリ	0	1	2	2～3	2～3	3	3
無処理	イチゴ	0	0	0	0	0	0	0
	キュウリ	0	0	0	0	0	0	0

注) 一処理5株を供試した *T. flavus* : SAY-Y-01菌株。

G. cingulata : 大田原親園菌株。

4) IK-153およびIK-154水和剤のイチゴ炭疽病防除効果

イチゴ炭疽病に対する *T. flavus* と *Ch. aureum* の菌体摩砕液散布の効果が高いことは既に明らかにした。しかし、生物農薬として実用化するには、栽培者が手軽に使用できるような製剤化することが必要である。そこで、共同研究者の出光興産株式会社と製剤化に取り組み *T. flavus* SAY-Y-01菌株をIK-153水和剤、*Ch. aureum* SAY-09菌株をIK-154水和剤にした。

(1) IK-153水和剤中の *T. flavus* の致死温度と時間との関係

実験材料および方法

実験は、IK-153水和剤を用い、湿熱および乾熱条件下で行なった。湿熱は、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、水和剤1ミクロスパール投入後攪拌し、0.1mlをPDA平板培地に塗布した。乾熱は、空虚の試験管を用い、水和剤1ミクロスパールを試験管底部に投入し、処理後室温の殺菌蒸留水10mlに希釈し、同様に塗布した。両処理とも塗布後、直ちに25℃の恒温器に収めた。処理温度は、40、42.5、45、50、55、60および65℃とした。処理時間は、5、10、60および120分とした。実験は、1区3反復した。

調査は、培養7日後に55℃60分間処理のコロニーを基準(+)として、-：形成されない、±：僅かながら形成される、++：多く形成されるに類別した。

実験結果

両拮抗糸状菌水和剤の致死温度について、湿熱および乾熱条件で検討した。その結果を第96表に示した。I K

－153水和剤中の*T. flavus*は、両処理の65℃－120分間でも生存でき、その致死温度は、実験の処理温度、処理時間内にはなかった。

第96表 I K－153水和剤中の*Talaromyces flavus*の致死温度と時間との関係

供試材料	供 試 温 度 と 時 間																			
	45℃				50℃				55℃				60℃				65℃			
	5	10	60	120	5	10	60	120	5	10	60	120	5	10	60	120	5	10	60	120(分)
IK-153 水和剤	湿熱	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	乾熱	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注) IK-153水和剤は *T. flavus*SAY-Y-01菌株を製剤化したものである。

＋記号は、cfu が55℃、60分間を基準にして、++は多い、±は僅かながら形成される、－は形成されないを示す。40、42.5℃は全て ++ であった。

(2) I K－153水和剤中の*T. flavus*のイチゴへの定着性

エタノールおよび殺菌水は、分離切片ごとに交換した。

実験結果

実験材料および方法

実験は、栃木農試および出光中央研究所で、品種女峰を用いて行なった。栃木農試散布株は、I K－153水和剤2000倍液を1998年9月2日、11日および21日の3回、ハンドスプレーを用いて1株当たり20mlを夕方に散布した。本病菌の接種は、*G. cingulata*96-03菌株を供し、9月7日に分生子懸濁液(5.5×10^4 個/ml)を噴霧接種した。

出光中央研究所散布株は、千葉県袖ヶ浦市の出光興産株式会社中央研究所ガラス室で、本水和剤2000倍液を9月24日の夕方にハンドスプレーを用いて1株当たり20ml散布した。本病菌の接種は、9月29日に1ml当たり 2.1×10^4 cfu の分生子懸濁液を噴霧接種した。

分離は、12月3日栃木農試病理昆虫部実験室において、乳酸加用PDA平板培地を用いて常法に従って行なった、分離部位は、葉、葉柄、根冠形成層外部および形成層内部とした。供試株数は、各々3株とした。なお、消毒用

I K－153水和剤の有効成分糸状菌*T. flavus*のイチゴでの定着率について検討した。その結果を第97表に示した。栃木農試株(散布73日後)の分離率は、葉で69.6%、葉柄で75%、根冠外側で73.1%および根冠内側で11.8%であった。出光中央研究所株(散布70日後)の分離率は、葉で67.9%、葉柄で67.9%、根冠外側で65.4%および根冠内側で19.6%であった。分離率は、葉、葉柄およびクラウン外側で高かった。また、炭疽病菌は再分離されなかった。

第97表 IK-153水和剤有効成分糸状菌 *Talaromyces flavus* のイチゴ各部位からの分離率

供試材料	分離菌	分離部位の分離率 (%)			
		葉	葉柄	クラウン外側 ^a	クラウン内側 ^b
栃木農試 散布株 ^c	拮抗糸状菌	69.6 (39/56)	75(42/56)	73.1(19/26)	11.8(6/51)
	炭疽病菌	0 (0/26)	0 (0/26)	0 (0/26)	0 (0/24)
出光中央 研究所散 布株 ^d	拮抗糸状菌	67.9 (38/56)	67.9 (38/56)	65.4(17/26)	19.6(10/51)
	炭疽病菌	0 (0/26)	0 (0/26)	0 (0/26)	0 (0/26)

注) a:根冠外側とは形成層外側, b:内部とは形成層内側内部. c:栃木農試散布株はイチゴ炭疽病防除試験のIK-153水和剤 (*T. flavus* 孢子 10^8 個/g) 2000倍液 1回散布処理, 散布日は1998年9月2日, 11日および21日. 炭疽病菌接種9月7日.

d:出光中央研究所散布株は, 拮抗糸状菌を9月24日1000倍液 1回散布, 炭疽病菌接種は, 9月29日. 分離は12月3日(栃木株散布73日後, 出光株70日後) 分離率調査は, 12月8日.

(3) 1996年における IK-153 および IK-154

水和剤の防除効果

実験材料および方法

実験は, 栃木農試病理昆虫部ガラス室で, 品種女峰を用いて行なった. 栽培方法は, 標準培土を用いたポット育苗栽培で, 1996年9月2日に鉢上げし, 各区17株を供した. 施肥管理は, 慣行に準じて行った. 病原菌接種は, 本病菌 *G. cingulata* 96-03菌株の分生子を1ml当たり 1.1×10^4 個に調整し, 9月30日, 10月7日の2回の噴霧接種した. 供試株は, 薬剤散布時および葉害観察時毎に, 発病株を伝染源として均一に配置し, その他の株は無作為に配置した. 両供試剤は, 500倍, 1000倍および2000倍に希釈し, 9月25日に薬液をハンドスプレーを用いて1株当たり50ml散布した. 対照剤のプロピネブ水和剤500倍液は, 9月25日, 10月2日, 11日の計3回散布した. 発病程度は, 12月4日(散布70日後)に全供試株を調査し, 常法に従い発病度を算出した. 防除価は, 発病度から求めた. また, 葉害は随時肉眼観察した.

実験結果

試験結果を第98表に示した. 本実験は, 無散布の発病度が41.2の中程度の発病条件下で行なわれた. IK-153水和剤500倍液1回散布は, 発病度10.3で防除価75.0であり, プロピネブ水和剤500倍液3回散布(発病度23.5, 防除価43.0)に比較して優れていた. 同剤1000倍液1回散布は, 発病度22.1で防除価46.4であり, 対照薬剤の3回散布に比較して同等の防除効果であった. 同剤2000倍液1回散布は, 発病度13.2, 防除価68.0で, 対照薬剤の3回散布に比較して優れていた.

IK-154水和剤500倍液1回散布は, 発病度26.5, 防除価35.7で, 対照薬剤の3回散布に比較して同等の防除効果であった. 同剤の1000倍液1回散布は, 発病度25.0, 防除価39.3であり, 対照薬剤に比較して同等の防除効果であった. 同剤の2000倍液1回散布は, 発病度23.5, 防除価35.7であり, 対照薬剤の3回散布に比較して同等の防除効果であった. なお, 両剤の3濃度とも葉害は認められなかった.

第98表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する2種の拮抗糸状菌製剤の防除効果

供試薬剤 (有効成分名)	使用濃度 (倍)	調査株数	発病度 (散布70日後)	防除価	葉害
I K-153 水和剤 (<i>Talaromyces flavus</i> SAY-Y-1菌株)	500	17	10.3	75.0	—
	1000	17	22.1	46.4	—
	2000	17	13.2	68.0	—
I K-154 水和剤 (<i>Chaetomium aureum</i> SAY-09菌株)	500	17	26.5	35.7	—
	1000	17	25.0	39.3	—
	2000	17	26.5	35.7	—
プロピネブ水和剤 (プロピネブ70%)	500	17	23.5	43.0	—
無 散 布		19	41.2		

注) I K-153, 154 水和剤は1996年9月25日に1株当たり50ml散布した。
プロピネブ水和剤は, 9月25日, 10月2日, 11日に1株当たり15ml散布した。

(4) 1998年におけるI K-153水和剤の予防効果

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種とちおとめを用いて行った。1998年8月12日に鉢上げし、標準培土を用いたポット育苗栽培した。1処理30～31株を供した。供試株は薬剤散布時毎に、発病株を伝染源として予め均一に置き、その他は無作為に配置した。本生物剤の株浸漬処理は、1998年8月12日、1000倍液に株全体を5分間浸漬した。同剤の1000倍液1回散布は、9月2日に行ない散布後17時間コンテナ内に収め多湿条件とした。また、同剤1000倍および2000倍液2回散布は、9月2日および16日、同剤1000倍および2000倍液3回散布は、9月2日、11日および21日の16時頃に所定濃度の薬液をハンドスプレーを用いて1株当たり20ml散布した。対照薬剤は、プロピネブ水和剤500倍液とし、9月2日、9日、16日、24日、30日および10月6日の計6回散布した。病原菌接種は、本病菌*G. cingulata* 96-03菌株分生子を1ml当たり 5.5×10^4 個に調整し、9月7日に噴霧した。調査は、1998年10月12日(接種35日後)に全供試株の萎凋枯死株を計数し、萎凋枯死率を算出し、防除価を求めた。葉害は、随時肉眼観察した。

実験結果

本病に対するI K-153水和剤の防除実験結果を第99表に示した。本実験は、無散布の萎凋枯死株率が46.7%の多発生条件下で行なわれた。対照薬剤のプロピネブ水和剤500倍液6回散布は、萎凋枯死株率が6.7%(防除価85.7)であった。

本剤の1000倍液5分間株浸漬処理は、萎凋枯死株率が15.4%(防除価67.0)で、対照剤散布に比較して、効果はやや劣ったが防除効果が認められ省力的であった。本剤の1000倍液1回散布(17時間多湿条件)は、萎凋枯死株率が6.7%(防除価85.7)で高い防除価であった。本剤の1000倍液3回散布は、萎凋枯死株率が10.0%(防除価は78.6)であった。本剤の2000倍液2回散布は、萎凋枯死株率が6.7%(防除価は85.7)で、3回散布では、萎凋枯死株率が3.2%(防除価93.1)であった(写真99)。本拮抗糸状菌剤散布は、各濃度、回数において、対照薬剤散布に比較して同等または優れた防除効果が認められ、省力的であった。なお、全ての処理区において葉害は認められなかった。

第99表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する I K-153 水和剤の予防効果

供 試 薬 剤 (有効成分量)	希釈倍率 使用方法 (倍)	散布使 用回数	供試 鉢数	萎凋枯死株 率 (%)	防除価	薬害
I K-153 水和剤 (<i>Talaromyces flavus</i> 孢子 10^8 個/g)	1000 倍液 5 時間浸漬	1	30	15.4	67.0	
	1000 倍液 17 時間多湿	1	30	6.7	85.7	—
	1000 倍液 夕方散布	3	30	10.0	78.6	—
	2000 倍液 夕方散布	2	30	6.7	85.7	—
	2000 倍液 夕方散布	3	31	3.2	93.1	—
プロピネブ水和剤 (プロピネブ70%)	500 散布 夕方散布	6	30	6.7	85.7	—
無 処 理			31	46.7		

注) 調査は1998年10月12日(本病菌接種35日後)。

17時間多湿：16時に供試剤散布後，コンテナ内に収め多湿条件とし，明朝9時に開放した。
夕方散布：16時に供試剤を散布し，ガラス室を17時間閉じた。

散布量は1鉢20ml。

(5) 1998年における I K-153 水和剤の治療効果

実験材料および方法

実験は，栃木農試病理昆虫部ガラス室で，品種とちおとめを用いて行った。供試株は，1998年7月31日に鉢上げし，供試数は21株とした。病原菌接種は，本病菌 *G. cingulata* 96-03 菌株分生子を 1ml 当たり 5.5×10^4 個に調整し，9月7日に噴霧した。栽培管理は，前実験と同様である。本剤は，9月8日および16日の16時頃に2回，1000倍液をハンドスプレーを用いて1株当たり20ml 散布した。対照薬剤のプロピネブ水和剤500 倍液は，9月8日，16日，24日および10月6日の計4回同量散布した。

調査は，1998年10月12日(接種35日後)に全供試株の萎凋枯死株を計数し，萎凋枯死率を算出し，防除価を求めた。薬害は，随時肉眼観察した。

実験結果

本病菌接種後の I K-153 水和剤散布による防除効果を検討し，結果を第100表に示した。本実験は，無散布の萎凋枯死株率が，95.2%の甚発生条件下で行われた。本剤1000倍液の治療散布は，萎凋枯死株率が57.1%(防除価40.0)で，プロピネブ水和剤500 倍液4回散布の85.7%(防除価10.0)に比較して高い防効防除であった。しかし，治療的散布の防除価は，劣り実用的でなかった。

第100表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する I K-1 5 3 水和剤の治療効果

供 試 薬 剤 (有効成分量)	希釈倍率 (倍)	散布 回数	供試 鉢数	萎凋枯死株 率 (%)	防除価	葉害
I K-1 5 3 水和剤 (<i>Talaromyces flavus</i> 孢子 10^8 個/g)	1000	2	2 1	5 7. 1	4 0. 0	—
プロピネブ水和剤 (プロピネブ70%)	500	4	2 1	8 5. 7	1 0. 0	—
無 処 理			2 1	9 5. 2		

注) 本病菌を1998年9月7日に噴霧接種した。発病調査は、35日後に行なった。

I K-1 5 3 水和剤の散布日は、9月8日、16日の計2回。

プロピネブ水和剤の散布日は、9月8日、16日、24日および10月6日の計4回。

散布量は1鉢20ml。調査は本病菌接種35日後。

(6) タラロマイセスフラバス水和剤散布時期と発病との関係

実験材料および方法

実験は、栃木農試生物工学部ガラス室で、品種とちおとめを用いて行なった。本病菌接種は、*G. cingulata*大田原親園菌株をPDA平板培地で25℃7日間培養後の分生子を殺菌蒸留水で1ml当たり 10^4 個レベルに調整し、2002年11月6日に株当たり5mlを噴霧した。本剤の処理時期は、炭疽病菌接種時を基準にして、±5日、±3日、±1日、±6時間および±0時間とした。処理株は、薬剤散布および本病菌接種後17時間ビニル袋に入れ、多湿条件とし、25℃の陽光恒温器に収め底面給水で管理した。調査は、本病菌接種前処理区は接種7日後に、その他の処理区は本水和剤散布7日後に全葉数の斑点型病斑数を計数した。

拮抗糸状菌*T. flavus* および炭疽病菌の分離率は、病原菌接種前の散布区では、病原菌接種2日後、その他では、散布2日後に行った。組織分離は、葉斑のある最上位展開葉を直径4mmのコルクボーラーで小葉当たり4箇所打ち抜き、扇型に4分割した192切片を乳酸加用PDA培地に置床し、分離率を算出した。

実験結果

本水和剤散布時期、病原菌接種時期の差異による斑点型病斑数および両菌の分離率との関係を検討した。実験結果を第101表に示した。斑点型病斑数は、本水和剤の予防散布(−5〜−1日前)で、発生数が0.2〜0.3個/株で少なかった。しかし、接種1〜5日後では、4.7〜7.5個/株で無処理株と同様に多発生した。

イチゴ葉上での*T. flavus*菌および本病菌の動態を検討し、実験結果を第102表に示した。本拮抗糸状菌は、全処理期間分離され、処理期間が短いほど分離率は高率で、本菌単独処理とほぼ同様であった。炭疽病菌は、±0時間処理で2.6%、+3日処理で0.5%分離されたが、その他では分離されず、単独処理とほぼ同様であった。

*T. flavus*の再分離率は、炭疽病菌に比較して著しく高かった。

第101表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)斑点型病斑発生数とタラロマイセスフラバス水和剤散布時期との関係

処 理	斑点型病斑数(個/株)								
	-5	-3	-1	-0.4	±0	+0.4	+1	+3	+5(日後)
タラロマイセス フラバス水和剤	0.2	0.2	0.3	1.0	1.0	1.3	7.5	6.3	4.7
無 処 理	—	—	—	—	6.5	—	—	—	—
無 接 種	—	—	—	—	0	—	—	—	—

注) 本病菌接種は，2002年11月6日，供試数は6株。
調査は，-5～±0区は本病菌接種7日後，その他は本剤散布7日後に行った。

第102表 タラロマイセスフラバス水和剤散布時期と *Talaromyces flavus* および *Glomerella cingulata*の分離率との関係

分離菌	両菌の分離率(%)								
	-5	-3	-1	-0.4	±0	+0.4	+1	+3	+5(日後)
<i>T. flavus</i>	21.9	26.0	72.9	66.6	49.5	63.0	74.0	45.8	58.3
<i>G. cingulata</i>	0	0	0	0	2.6	0	0	0.5	0
<i>T. flavus</i> 単独	24.0	30.2	66.6	49.5	74.0	—	—	—	—
<i>G. cingulata</i> 単独	—	—	—	—	2.0	1.6	0	0	0

注) 炭疽病菌接種は，平成14年11月6日(±0)に行った。
-5～±0の組織分離は11月8日，+0.4～+5は本剤散布2日後に行った。
供試組織片は，水洗および表面消毒を行わず，各処理192切片供した。

5) タラロマイセスフラバス水和剤を基軸にした防除体系の確立

生物農薬タラロマイセスフラバス水和剤は，新JAS法により有機農産物生産に使用でき，使用回数に制限がなく，散布回数もカウントされない。そこで，本剤を基軸にした化学農薬との防除体系を検討した。

(1) 防除効果

実験材料および方法

実験は，栃木農試病理昆虫研究室ビニルハウ

スで、品種とちおとめを用いて行った。

親株は、2002年3月22日に雨除けビニルハウス内に移植した。育苗は、雨除けポット栽培で7月9日に鉢上げし、本圃定植は9月17日に行なった。実験規模は、親株床が8株 0.2 a，育苗圃が214～216株，収穫圃が1区52株0.2 a，2反復とした。水管理は、親株床が灌水チューブを用いた頭上灌水，育苗期および本圃の保温開始前まではノズル散水による頭上灌水とした。

炭疽病の発病は、人工接種株の伝染源設置とした。伝染源イチゴ株は、前培養した*G.cingulata* No.470菌株を刺傷接種し、葉柄に分生子塊を形成させたものである。伝染源株は、1処理当たり2株とし、処理区中央に4月24日～6月10日まで水がかかる様に暴露した。

薬剤散布は、ビニルハウスを密閉し、多湿条件とした夕方に10日間隔で行った。散布量は、15 l/aとし、水和剤には展着剤（ソルピタン脂肪酸エステル・ポリオキシエチレン樹脂酸エステル）を1000倍となるよう加用した。また、各体系の散布処理月日、薬剤名とその希釈倍数は、第103表に示した。

親株の発病調査は、7月19日に全子苗を発病程度別に計数した。育苗期の発病調査は、7月19日、26日、8月2日、9日、16日、23日、30日および9月6日に発病株率を算出した。なお、本水和剤散布時の天候、気温および湿度は、おんどとりRHで測定した。

実験結果

本水和剤散布時の気象条件を第104表に示した。4月18日～7月29日の天候は、曇または雨で、8月9日以降は晴で、気温は14.5～32.5℃であった。散布後12時間の湿度は、84.7～99%で、90%以上の湿度が概ね確保できた。親株床での発病状況を第23図に示した。無処理区では、6月27日に初発が確認され、7月19日の発病株率は10.3%（発病度7.7）であった。体系防除では、発病が認められず、化学農薬Ⅰ区、Ⅱでも発病は少なかった。

ポット育苗期の防除効果を第24図に示した。無処理区では、7月中旬から発病が認められ、9月6日の発病株率は22.4%（発病度15.2）であった。しかし、体系防除Ⅰ区では、発病が認められず、体系防除Ⅱ区、化学農薬Ⅰ、Ⅱ区の発病は少なかった。

本圃での発病は、無処理区で枯死株が1.9%発生したが、体系防除および化学農薬区では発病しなかった。

（２）防除体系内における定着率

タラロマイセスフラバス水和剤有効成分糸状菌*T.flavus*の体系防除内での再分離率の変化を調査する。

実験材料および方法

分離材料は、薬剤処理直前の親株最下位葉4枚とし、葉身を3，4mm角に14組織切り出した。葉柄は、中間部を1，2mm厚に横断し、扇形に4分割した。それぞれの切片は、1切片ずつ3mlの殺菌蒸留水を入れた試験管中に収め、軽く洗浄して乳酸加用PDA平板培地に水分除去後置床した。分離率調査は、25℃7日間培養後に行った。

根冠部の分離材料は、根冠中間部を1，2mm厚に横断し、さらに扇型に16分割した。1区当たり3株を供した。その後の操作は、葉と同様である。

実験結果

体系防除内における*T.flavus*の分離率変化を調査した。体系防除Ⅰでの分離率を第25図に示した。葉の分離率は、葉柄に比較して高い傾向であった。しかし、化学薬剤散布後は、両材料とも低下し、ほぼ同程度になった。根冠部の分離率は、葉および葉柄に比較して常に高く、化学農薬散布後においても高位(37.5～58.3%)であった。また、本圃(10月25日)では、全供試部位で高率に分離された。

防除体系Ⅱでの分離率を第26図に示した。防除体系Ⅰ同様、葉柄に比較して葉の分離率が高い傾向であった。しかし、化学薬剤2回目散布後の分離率は、両材料とも著しく低下した。化学農薬2回散布後の根冠部からの分離率は、葉および葉柄に比較して常に高位(20.8～33.3%)であった。

*T.flavus*の分離率は、根冠部で常に高く、他部位に比較して農薬の影響は受けにくかった。体系間では、化学農薬の散布頻度の低い体系Ⅰでの分離率が高かった。また、分離率は、分生子を多く形成する糸状菌が随伴する場合、分離が困難になった。

第103表 タラロマイセスフラバス水和剤を基軸にした体系防除の供試薬剤と処理日

	月／日	防除体系Ⅰ	防除体系Ⅱ	化学農薬Ⅰ	化学農薬Ⅱ	無処理
親株床	4/18	A	A	—	C	—
	4/30	B	B	B	B	—
	5/ 9	A	E	E	E	—
	5/20	E	A	—	E	—
	5/30	A	E	E	E	—
	6/10	B	B	B	B	—
	6/20	A	A	—	C	—
	7/ 2	F	F	F	F	—
育苗期	7/19	A	C	C	C	—
	7/29	B	A	—	B	—
	8/ 9	A	C	C	C	—
	8/19	E	E	E	E	—
	8/29	A	A	—	C	—
	9/ 9	E	E	E	E	—
本ぼ	9/24	A	A	—	C	—
	10/ 4	D	D	D	D	—
	10/16	A	G	G	G	—
	10/25	B	A	—	B	—
	11/11	A	H	H	H	—
散布回数		19	19	12	19	0
(うち生物農薬)		(10)	(7)	(0)	(0)	(0)

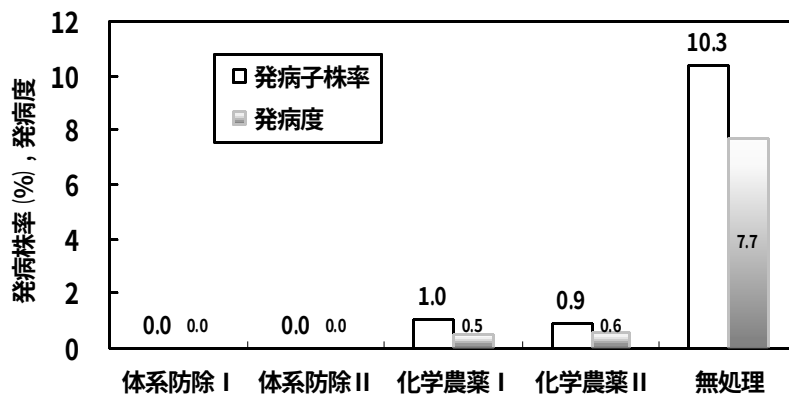
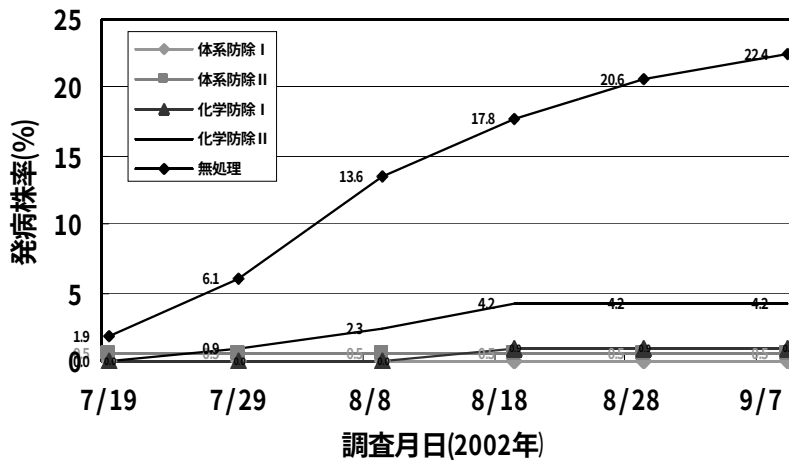
体系防除供試殺菌剤と希釈倍率

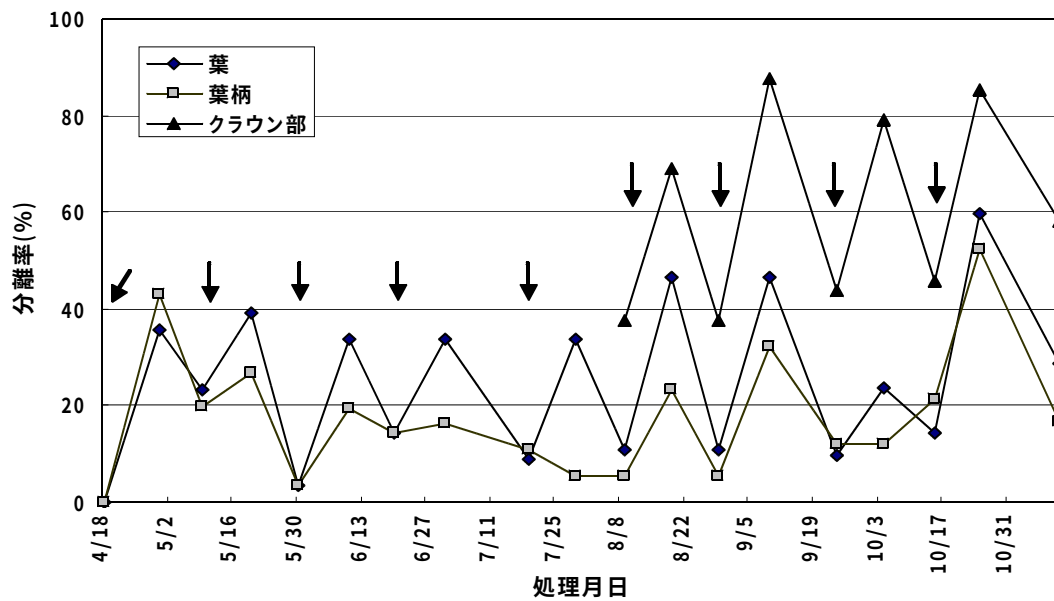
薬剤名	希釈倍率	対象病害	記号
タラロマイセス フラバス水和剤	1,000	炭疽病，うどんこ病	A
アゾキシストロビンフロアブル	2,000	うどんこ病	B
プロピネブ水和剤	500	炭疽病	C
ビテルタノール水和剤	5,000	炭疽病，うどんこ病	D
イミダクジソールベシ酸塩水和剤	1,000	うどんこ病	E
ミクロブタニル水和剤	4,000	うどんこ病	F
メパニピリムフロアブル	2,000	炭疽病，うどんこ病	G
DBEDC乳剤	800	うどんこ病	H

第104表 タラロマイセスフラバス水和剤散布時の気象条件

月／日	時刻	天候	温度(℃)	湿度(%)	散布後12時間の 平均湿度(%)
4/18	20:00	曇	14.5	99	95.3
5/ 9	17:00	曇	17.5	99	99.0
5/20	17:20	曇	23.9	79	97.1
5/30	17:25	曇	—	—	—
6/20	17:20	雨	21.9	99	99.0
7/19	17:25	曇	32.5	64	93.8
7/29	17:15	曇	28.9	71	95.3
8/ 9	17:00	晴	32.4	60	92.5
8/29	17:35	晴	32.0	60	89.7
9/24	17:15	晴	21.0	88	98.4
10/16	17:30	晴	17.4	61	82.7
10/25	16:30	晴	18.7	86	98.3
11/11	16:30	晴	16.8	66	84.7

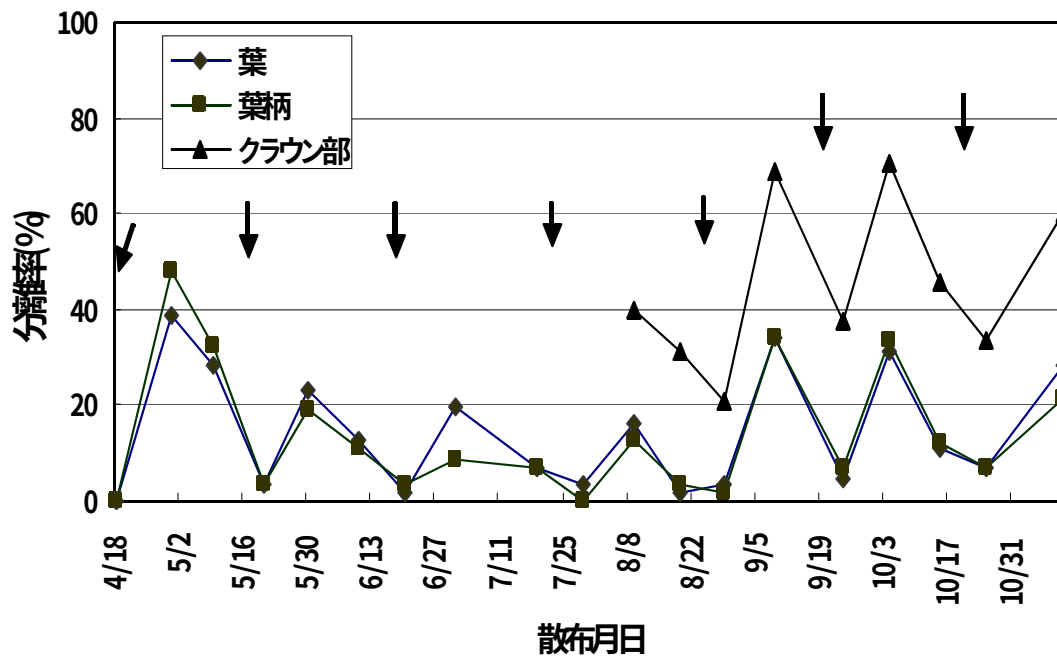
温度および湿度はおんどとりRHで測定した。


 第23図 親株床における炭疽病(*Glomerella cingulata*)発病状況

 第24図 ポット育苗期の各体系防除内でのイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)の発病株率の推移



第25図 *Talaromyces flavus* の防除体系Ⅰ内での分離率

矢印はタロマイセスフラバス水和剤の散布を示す



第26図 *Talaromyces flavus* の防除体系Ⅱ内での分離率

矢印はタロマイセスフラバス水和剤の散布を示す

6) 考察

生物農薬は、化学合成農薬に比較して、製造コストが安価で経済的である。また、製造過程においても環境負荷は小さいとされる。そのため、生物農薬のよる病害防除は、環境汚染が少ない防除法として社会的要請が大きい(山田2000)。また、生物農薬は、新JAS法により無農薬栽培に使用でき、使用回数にカウントされない。本研究は、環境保全的かつ効果的な防除方法を目指して、炭疽病菌(*G. cingulata*)に随伴分離された2種の糸状菌による生物防除技術の開発を行った。

1992年に分離された随伴糸状菌は、PDA培地上で頂毛を有する子のう殻を形成する。子のう殻は、垂球形で、暗いオリーブ色で長い頂毛、側毛で覆われている。頂毛は褐色で弓形、先端は内側に曲がり、粗面、隔壁を有する。子のうは、こん棒状。子のう胞子は、褐色からオリーブ褐色、レモン型、一端または両端がややとがる。以上の形態、大きさから*Chaetomium aureum* Chiversと同定される(Ames1949, 宇田川・椿1978, 渡辺1993)。本拮抗糸状菌は、世界中に広く分布し、セルロース分解菌として知られている。*Chaetomium*属菌を供した生物防除の報告は、土壌病害を中心になされている(雨宮ら1985, 諸見里ら1997, 福原ら1997)。本研究では、本病菌(*G. cingulata*, *C. acutatum*)に対する*in vitro*での菌糸生育および胞子発芽抑制効果確認後、直ちに菌体摩砕液散布による圃場レベルの防除効果検討を行い、防除実証を積み重ねた。なお、本病菌に対する*in vitro*での検討および圃場での防除効果検討は、世界的に報告されていない。

本拮抗糸状菌に本病菌を対峙培養すると、病原菌菌糸が肥大奇形化し、生育が著しく抑制された。分生子では、発芽率が低下し、発芽管および菌糸も奇形化した。最適生育温度は、32℃前後の高温で、本病菌に比較して耐熱性が優れていた。イチゴ体への定着状況は、処理部位で再分離され、分離率は徐々に低下するが8ヶ月以上定着することが明らかになった。

本病に対する*Ch. aureum* cfu 10³ レベルの菌体摩砕液の浸漬および散布処理は、プロピネブ水和剤の複数回散布に比較して高い防除効果が認められた。さらに、前処理にUV照射を組み合わせると単独散布に比較して防除効果が高まった。これはUV照射により、競合関係にある葉面微生物が除去され、本菌の定着に有利に働くためと考えられる。この現象は、クワ炭疽病菌およびイチゴ炭疽病菌潜在感染葉に対するUV照射による潜在感染菌の顕在化でも認められ、同様の現象と考えられる(白田 19

93, Ishikawa2003, 2004a)。

本研究のような微生物を用いた防除効果が、化学薬剤と同等以上であることは極めて希である。そこで、*Ch. aureum* SAY-09菌株をI K-154水和剤として製剤化した。

本剤は、日本植物防疫協会の生物農薬委託連絡試験において各公立試験研究機関等で防除試験された。栃木農試における本病中発生条件下の防除試験において、本剤500倍、1000倍および2000倍液1回散布の防除価は、プロピネブ水和剤の3回散布に比較して同等の防除効果が認められた。本水和剤の各濃度での散布は、省力的で効果が高く極めて実用性が高い。Udagawa *et al.* (1979)は、*Chaetomium*属菌の産生する物質を特定している。しかし、本研究では、抗菌物質の特定に範囲を広げなかったが、本菌コロニー周辺の着色寒天片に本病菌を置床しても菌糸生育が抑制され、諸見里ら (1997)、福原ら(1997)と同様に抗菌物質の存在が推測される。それらの物質の特定は、今後の課題である。本剤は、防除効果および出光興産社内における安全性試験に合格しているが、商品化には至っていない。

次のエイジェントは、イチゴ炭疽病菌に随伴分離された黄色コロニーを有する糸状菌である。本拮抗糸状菌は、PDA培地上に子のう殻を形成する。子のう殻は、球形、閉鎖型、子のう殻原基は、こん棒形造のう器が形成され、造精器は細く造のう器の基部にまつわり、数回巻きつき、受精後造のう器に隔壁が生じる。子のうは、卵形から球形、菌糸が発達した子のう殻壁によって保護される。子のう殻壁は、柔らかく菌核様にはならない。子のう胞子は、黄色だ円形で全体に刺面である。不完全世代の形態は、ペニシリは複輪生体、メトレは4～6本で群生する。フィアライドは典型的なペン先形で6～8本輪生し、分生子は滑面である。以上の形態大きさから、Udagawa *et al.* (1979)により、*Talaromyces flavus* (Klocker) Stolk et Samson, 不完全時代*Penicillium dangeardii* Pitt (異名:*P. vermiculatum* Dang)と同定される。本菌は自然界に多く存在し、世界各地に分布する(Fravel and Adams1986)。日本では、Udagawa (1959)が輸入タイ碎米から分離しているほか、全国の土壌からも分離されている。その後、*T. flavus* SAY-Y-01菌株は、I K-153水和剤として製剤化され、防除効果確認、最適使用方法および諸性質等の研究を行った。本剤の湿熱乾熱致死温度は、65℃-120分間でも生存でき、優れた耐熱性を有していた。一般に生物農薬は、化学合成農薬に比較してHandling、棚持ち性が悪く、コールドチェーンで流通させているものが多い(山田2000)。しかし、本拮抗糸

状菌の高い耐熱性は、製剤化後の流通販売の中で有利に働き、常温流通を可能にしている。

I K-153水和剤を生物農薬として登録を得るべく、日本植物防疫協会の生物農薬委託連絡試験に委託し、各公立試験研究機関で防除実験された。栃木農試における本病中発生条件下の防除実験において、I K-153水和剤の500～2000倍液1回散布は、プロピネブ水和剤500倍液3回散布に比較して同等から優る防除効果が認められた。本病多発生条件下の防除実験では、本剤の1000倍液5分間株全体浸漬処理および各希釈倍率の防除価は、プロピネブ水和剤500倍液6回散布に比較して同等か優れた。本剤は葉害がなく、省力性および予防効果に優れた効果を有し、極めて実用性が高いことが明らかになった。これらの防除効果は、女峰、とよのかおよびとちおとめの主要品種を供しても安定している。なお、これら委託試験においても散布は、夕方に行ないイチゴ体の濡れ時間を長くすることに極力配慮した。現場においても、*T. flavus*がイチゴに速やかに定着できる条件設定に留意する必要がある。

病害防除には、作用機作の異なる薬剤をローテーション散布するが、登録農薬は限られ、使用回数、時期等に制限がある。特に、イチゴの栽培期間は、3月の親株移植にじまり、翌春の収穫終了まで長期間続くので、化学農薬だけに依存できない。そこで、使用回数に制限がないタラロマイセスフラバス水和剤を体系防除の基軸にした実証試験を行なった。本剤を化学農薬との1回または2回ごとに使用する体系では、炭疽病が発生せず、無処理および化学農薬体系区に比較して、優れた防除効果が実証された。*T. flavus*は、イチゴの各散布部位、特に根冠部からよく分離され定着が確認できた。

本拮抗糸状菌の作用機構について考察する。本菌と本病菌(*G. cingulata*)の対峙培養において菌糸寄生現象が観察される。対峙培養中両菌糸が接触する直前、拮抗糸状菌菌糸先端は樹枝状に分岐し、二次、三次菌糸を生育させた。寄生菌糸は、病原菌菌糸にまず沿って生育し、菌糸内部を崩壊させた。また、本拮抗糸状菌菌糸が病原菌菌糸に直接沿って生育せず、短い侵入菌糸を2、3本侵入させた。また、病原菌菌糸に絡み付くcoiling現象も観察された。寄生を受けた菌糸は、内部が崩壊し空洞化した。この現象は、本病菌のベノミル剤感受性の差異にかかわらず同様に観察された。さらに、分生子に対しても胞子壁に沿って菌糸を生育させ内部を崩壊させた。寄生状況は、培地上、イチゴ花弁上および葉上とも同様であった。イチゴ体上での菌糸寄生は、本拮抗糸状菌分生子懸濁液の散布処理および培地上での菌糸、分生子に

対する寄生状況と同様であると考えられる。本実験では、Glucose-oxidaseに関する作用機作(Kim *et al.* 1990, Marois *et al.* 1982, 1984, Stosz *et al.* 1996, 1998, Fravel and Roberts 1991)について検討を加えなかった。今後の課題としたい。

本剤はうどんこ病にも適用がある。我国のイチゴ主要品種は、うどんこ病に対して罹病性でその被害は甚大である(金磯1995)。本剤がイチゴに散布された場合、標的外の病原菌および葉面微生物に対しての菌糸寄生し、栄養源(エサ)にできる可能性がある。そこで、イチゴ病原菌を中心に主要な病原菌に対する菌糸寄生能について検討した。本拮抗糸状菌菌糸は、うどんこ病菌糸に対して気中菌糸間に菌糸を生育させ、菌糸に沿って生育し、組織内部を崩壊・空洞化させた。分生子柄に寄生すると分生子が萎凋収縮した。さらに、寄生した菌糸上に*T. flavus*分生子を二次形成した。

灰色かび病菌は、宿主範囲が極めて広い最重要病害である。イチゴにおける被害も大きく、多剤耐性菌の発生により防除が困難な場合がある(竹内1991)。本拮抗糸状菌は、培地および花弁上において感受性差異にかかわらず、炭疽病菌と同様に菌糸寄生が観察された。これらのことから、本拮抗糸状菌*T. flavus*の菌糸寄生能は、薬剤感受性の差異に影響されないと考えられる。

イチゴ土壌病原菌に対する菌糸寄生能について検討では、6種の病原菌に対して菌糸寄生が観察された。菌糸寄生方法は、炭疽病菌菌糸に対する状況とほぼ同様であった。芽枯病菌、疫病菌および白絹病菌では、炭疽病に比較して菌糸が激しく崩壊した。さらに、最重要病原菌であるイネいもち病菌、紋枯病菌およびニラ紅色根腐病に対する培地上および宿主体上での菌糸寄生を検討においても、菌糸寄生が認められた。しかし、寄生方法は、炭疽病菌と同様であるが、いもち病菌菌糸は早くメラニンが沈着し寄生頻度は低かった。紋枯病菌は、培地上で激しく寄生を受けた。担子菌類に対して菌糸寄生能検討で、シイタケ、ヒラタケ、マイタケおよびナメコの菌糸に対して寄生能が高いことが明らかになった。

*Gl. virens*は、菌糸寄生を作用機作とする拮抗糸状菌であり(Howell 1982)、製剤化され市販されている(西尾・大畑1998)。本拮抗糸状菌は、*Gl. virens*に対しても寄生した。重複コロニー由来ディスクの培養初期は、*Gl. virens*が優占するが、14日後には*T. flavus*のコロニーが、*Gl. virens*のコロニーを覆い優占し、本菌の強い菌糸寄生能が明らかになった。

各種病原菌に対する*T. flavus*の対峙培養実験の結果、*Rhizoctonia*属菌、*Phytophthora*属菌、白絹病菌および

菌核病菌に対する菌糸寄生状況は、炭疽病菌に比較して激しかった。菌糸寄生状況から防除効果を推測すると、胞子を形成せず、菌糸を生育させ二次感染する *Rhizoctonia* 属菌、白絹病菌に対する高い防除効果が期待され、防除試験の実施が待たれる。

本拮抗糸状菌の葉面糸状菌に対する菌糸寄生能の検討では、炭疽病菌同様に菌糸寄生されるものが多かった。しかし、葉面糸状菌には、本拮抗糸状菌糸に対して、拮抗性を示すものもあった。また、細菌コロニーに対する、寄生を伺わせる樹枝分岐も観察された。本研究により、*T. flavus* は、多くの糸状菌に対する菌糸寄生能を有することが明らかになった。

次に、イチゴ体のリグニン沈着に及ぼす拮抗糸状菌の影響を検討した。糸状菌に侵された植物の細胞壁では、木化(Lignification)が起こる。木化細胞壁は、病原菌の侵入に対して防御壁の役割を果たす。リグニンは、化学的に極めて安定な物質で、生体防御の重要な役割を担っている(浅田1970, 1974, 1975, 松本・浅田1984)。そこで、本拮抗糸状菌のイチゴ細胞へのリグニン沈着に及ぼす影響について検討を加えた。イチゴ無菌培養苗に本水和剤および *T. flavus* の分生子を散布処理すると、処理3日後には葉柄表皮、きょ歯表皮および毛茸にWiesner試薬による赤桃色のリグニン呈色反応が観察された。また、供試イチゴ葉柄切断時、処理葉柄は、無処理に比較して強い切断抵抗を有していた。炭疽病菌接種および無処理においてもリグニン呈色反応が観察された。しかし、反応部位は、主に毛茸基部であり、イチゴが通常形成沈着させるいわゆる健全リグニンであり、その程度は明らかに低位であった。本拮抗糸状菌処理において、無処理苗で観察されない部位に *de novo* にリグニン呈色反応が観察されることから、リグニン沈着が促進されと考えられる。リグニン沈着誘導には、拮抗糸状菌の完全世代および不完全世代によってもリグニン沈着が促進され、炭疽病を抑制した。また、拮抗糸状菌分生子接種部位のリグニン沈着は促進されるが、隣接小葉にリグニン沈着を促進させないことから局所的であると考えられる。本拮抗糸状菌分生子処理のイチゴおよびキュウリ根上では、リグニン沈着が3日後に観察され、処理部に壊死症状が発生しないことから、誘導抵抗性様であった。しかし、キュウリに対する炭疽病菌処理によるリグニン沈着は、数時間後から観察され始め、処理部に壊死を生じることから獲得抵抗性様であった。また、ポット栽培イチゴの毛茸は、無処理イチゴに比較してリグニン沈着が多く観察された。リグニン沈着程度は、処理1日後に比較して、3日後さらに5日後観察でより高くなった。

本研究の拮抗糸状菌の生物農薬化は、新技術事業団(現：科学技術振興事業団)の生活・社会技術開発事業に拠り出光興産株式会社との共同研究による成果である。本剤は、日本植物防疫協会の生物農薬委託連絡試験において防除効果および薬害について委託し、1999年1月にイチゴ炭疽病に対して I K-1 5 3 水和剤の1000, 2000倍液散布処理で実用性有の合格判定を獲得した。その後、I K-1 5 3 水和剤は、2001年7月にイチゴ炭疽病およびうどんこ病に対して、タラロマイセスフラバス水和剤(商品名：バイオトラスト水和剤、農林水産番号20659号)として登録、販売されている。

3. 化学的防除方法

本病(*G. cingulata*)に対する化学薬剤防除は、実験例が集積しつつある(Delp and Milholland1980, Horn and Burnside1972, Howard1971, 石川ら1988, 1989b,g, 1996, 池田1987, 1989, 岡山1988,1989a,b, 1992, 岡山ら1991,1992, 佐藤・増田1991, 篠原・植松1989, 棚橋・篠田1991, 手塚・牧野1989)。しかし、いずれの実験でも、発病後の薬剤散布では効果が低く、予防散布が重要であるとしている。実際、現場においても、防除適期を逃し、大きな被害を受ける事例が多く観察される。また、本病は、潜在感染し、無病株との区別が困難である(秋田1993, 築尾1994, Corver and Horn1966, 石川1989, Ishikawa2003, 2004a,b in press, 岡山1993, 山本1971)。潜在感染株に対して高い防除効果をあげるには、植物組織内への浸透性および殺菌力が必須条件となってくる。そこで、薬剤の各種処理方法および処理時期について治療効果に重点を置き検討した。

1) 薬剤散布による防除効果

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部イチゴ圃場で品種女峰を用いて行なった。供試株は、1988年8月親株から採苗し、地床仮植育苗圃場に移植した。供試薬剤および希釈倍率は、プロピネブ水和剤500倍液、ベノミル水和剤2000倍液およびピテルタノール水和剤2500倍液とし、手動噴霧器を用いて1a当たり15l散布した。本病菌接種は、*G. cingulata* NM-1菌株を3%サッカロース加用NA培地で、25℃10日間培養して得た分生子を1ml当たり4.5×10⁴個に調整し噴霧した。接種株は、2日間ビニルと寒冷紗でトンネル状に被覆し、その後は露地栽培とした。

予防散布試験は、8月20日に薬剤を散布し、2日後に本病菌を接種した。治療散布試験は、8月20日に本病菌を接種し、2日後に薬剤を散布した。その後の薬剤散布は、両区とも9月1日、10日に行なった。調査は、10月25日に発病株、発病葉柄および発病走茎を計数し、発病率を算出した。

実験結果

実験結果を第105表に示した。予防散布は、無散布(発病株率84.0%)に比較して、全供試薬剤が高い防除効

果(防除価76.2～94.9)を示した。特に、ピテルタノール水和剤の発病株率は、4.3 %で高い防除効果が認められた。治療散布は、発病株率が予防散布に比べて全体に高くなった。ピテルタノール水和剤(防除価39.9)は、無散布(発病株率80.0%)および供試剤(防除価19.0～19)に比較して高い防除効果であった。ピテルタノール水和剤は、予防および治療散布とともに優れた防除効果を示した。

第105表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する薬剤散布の防除効果

処理	薬剤名	希釈 倍率	株		葉柄		走茎	
			調査数 (株)	発病率 (%)	調査数 (本)	発病率 (%)	調査本(本)	発病率 (%) ^a
予 ^b 防 散 布	ブロンズ 水和剤	500	47	17.5	193	5.7	4	25.0
	ノミル水和剤	2000	41	19.5	147	12.2	5	20.0
	ピテルタノール 水和剤	2500	54	4.3	175	1.1	16	0
	無散布	—	25	84.0	92	40.2	3	66.7
治 ^c 療 散 布	ブロンズ 水和剤	500	61	57.5	209	13.9	6	16.7
	ノミル水和剤	2000	54	64.8	150	30.7	3	33.3
	ピテルタノール 水和剤	2500	47	31.9	175	13.1	10	10.0
	無散布	—	25	80.0	89	39.2	3	66.7

注) a: 発病調査は1988年10月25日に行なった。

b: 薬剤散布は8月20日、9月1日および10日、本病菌接種は8月22日。

c: 本病菌接種は8月20日、薬剤散布は1988年8月22日、9月1日および10日。

2) 潜在感染株に対する薬剤浸漬による防除効果

(1) 2種薬剤の防除効果

実験材料および方法

供試材料は、1988年6月15日、栃木県二宮町長沼の本病(*G. cingulata*)多発圃場から外見健全な品種女峰を採集した。供試株は、栃木農試に持ち帰り、6月16日にイチゴ株をベノミル水和剤500倍液およびチオファネートメチル水和剤500倍液に10分間浸漬処理後鉢上げした。無処理株は、水道水に10分間浸漬処理後鉢上げした。処理株は、20～35℃に調節したガラス室で水はねのない水管理をした。実験規模は、チオファネートメチル水和剤区が183株、ベノミル水和剤区が186株、無処理が93

株とし、無作為に配分した。調査は、処理後51日後に発病株率、萎凋株率および枯死株率を算出した。

実験結果

実験結果を第106表に示した。処理51日後の発病株率は、無処理が14.0%、ベノミル水和剤浸漬処理が3.2%、チオファネートメチル水和剤区が5.5%であった。萎凋枯死株率は、チオファネートメチル水和剤が0.5%(防除価84.4)、ベノミル浸漬処理が1.1%(防除価65.6)、無処理が3.2%であった。ベノミル水和剤およびチオファネートメチル水和剤の浸漬処理は、潜在感染株に対して高い防除効果が認められた。

第106表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感染株に対する薬剤浸漬による防除効果

供試薬剤	希釈 倍数	調査株 数(株)	51日後の発病程度		
			発病株率(%)	萎凋株率(%)	枯死株率(%)
チオファネートメチル水和剤	500	183	5.5	0	0.5
ベノミル水和剤	500	186	3.2	1.1	0
無 処 理	—	93	14.0	2.2	1.1

注) 薬剤浸漬1988年6月16日に各薬剤10分間株全体を浸漬、無処理は水道水に浸漬した。

(2) ベノミル水和剤の株浸漬による防除効果

① 自然発生潜在感染株に対する防除効果

実験材料および方法

供試材料は、1988年6月21日、栃木県二宮町物部の本病(*G. cingulata*)多発圃場から外見健全な品種女峰を採集した。実験は栃木農試病理昆虫部ガラス室で行った。供試株は、6月22日にベノミル水和剤500倍液に30分間浸漬処理後鉢上げした。無処理株は、水道水で同様に処理した。処理株は、20～35℃に調節したガラス室で、1鉢ずつイチゴ収穫パック(M-500A)に収めて底面給水で管

理した。調査は、処理後経時的に枯死株の発生を計数した。実験規模は、ベノミル水和剤浸漬処理株64株、無処理株39株とした。

実験結果

実験結果を第107表に示した。枯死株の発生は、処理10日後にベノミル浸漬区(1.6%)、無処理区(10.3%)に認められた。84日後の枯死株率は、無処理区で41.0%、ベノミル浸漬処理区で4.7%(防除価88.5)であった。ベノミル水和剤500倍液30分間浸漬処理は、高い防除効果が認められ、枯死株発生を遅延させ発生率も著しく低下させた。

第107表 自然発生イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感染株に対する薬剤浸漬処理による防除効果

処理	供試株数 (株)	枯死株数(株)						枯死株計 (株)	枯死株率 (%)
		10	11	23	45	62	84(日後)		
ベノミル剤 浸漬処理	64	1		1	1			3	4.7
無処理	39	4	1	6	3	1	1	16	41.0

注) 1988年6月21日ベノミル水和剤500 倍液に30分間浸漬処理し、ガラス室内で底面給水で管理をした。

②人工接種株に対する防除効果

実験材料および方法

供試株は、1988年12月1日に品種女峰の親株から採苗し鉢上げした。予防浸漬処理は、1988年12月7日に鉢から取り上げ、付着土を落とし、イチゴ株全体をビテルタノール水和剤1000倍液、又はベノミル水和剤500 倍液に10分間浸漬後再度鉢上げした。本病菌接種は、12月9日に前培養して得た分生子を1ml当たり 7.3×10^5 個に調整し噴霧した。治療浸漬処理では、本病菌を12月7日に接種し、2日後に供試葉液に10分間浸漬した。その後、両処理とも28℃12時間照明、空気湿度を照明時55%、消灯時85%とした陽光恒温温室に収めた。供試株数は、1処理12株とした。調査は、接種23日後に常法に従い発病程度別に類別し、発病度を算出した。

実験結果

実験結果を第108表に示した。両剤の予防および治療浸漬処理は、1葉当たりの斑点型病斑数および発病度が無処理に比較して低く、防除効果が認められた。ベノミル水和剤の予防浸漬処理病斑数は、0.7 個で、無処理(8.7 個)に比較して少なかった。ビテルタノール水和剤の治療浸漬は、病斑数で 1.6 個で、無処理(9.5 個)に比較して少なかった。発病度は、ベノミル水和剤が22.9 (防除価63.4)で最も低かった。ビテルタノール水和剤は、葉縁部が黒褐変する葉害が生じ、実用上問題であった。

なお、無接種株は発病しなかった。ベノミル水和剤500 倍液10分間浸漬処理は、高い予防および治療効果が認められ、葉害も発生しなかった。

(3)潜在感染株に対する温度処理およびベノミル剤による防除効果

実験材料および方法

栃木農試病理昆虫部ガラス室で、品種女峰を用いて行った。伝染源は、1993年9月15日に、*G. cingulata* NM-1 菌株を接種し、葉柄に分生子層を形成させた3株とした。伝染源株は、20cm間隔の200株中に均等に設置し、ノズル散水で水管理した。潜在感染株は、1994年1月6日、外観健全株にエタノール浸漬簡易診断法(石川ら1992a, Ishikawa, 2003)を適用して判別した。ベノミル処理株は、水温15℃のベノミル水和剤500 倍液に10分間株全体を浸漬した。高温処理は、1993年1月28日にインキュベーターを用いて行なった。供試株は、30℃に4時間静置後、1時間当たり6℃上昇させ、43℃に8時間処理した。各処理株は、直径2cmの穴を4個開けたビニルに入れ、28℃12時間照明の陽光恒温器に収めた。発病は、萎凋枯死株を処理35日後まで調査した。供試株数は、ベノミル剤処理44株、温度処理46株、無処理44株とした。

病原性の検討は、枯死株から常法により分離し、1本の昆虫針で分生子層をかきとりイチゴ葉柄に刺傷接種した。供試菌株は、各処理4菌株とし、菌株当たり3葉柄を供した。

第108表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する薬剤浸漬処理の防除効果

処 理	供試薬剤	希釈 倍数	供試株 数(株)	1 葉当り 病斑数(個)	発病度 ^a	防除価 ^b	被害 ^c
予	ビタノール 水和剤	1000	12	2.4	27.5	56	+
防	ベノミル水和剤	500	12	0.7	6.3	89.9	—
浸	無処理	—	12	8.7	62.5		
漬	無接種		12	0	0		
治	ビタノール 水和剤	1000	12	1.6	32.5	48	+
療	ベノミル水和剤	500	12	7.0	22.9	63.4	—
浸	無処理	—	12	9.5	62.5		
漬	無接種		12	0	0		

注) a: 発病度 = Σ (程度別指数 × 同株数) / 4 × 調査株数, 発病程度指数 0: 無発病,

1: 葉柄の1/2未満に発病, 2: 葉柄の1/2以上に発病, 3: 萎凋, 4: 枯死,

b: 防除価は、発病度から算出

c: + 葉縁が黒褐化.

予防浸漬: 1988年12月7日10分間浸漬, 接種12月9日.

治療浸漬: 1988年12月7日接種, 12月9日10分間浸漬.

実験結果

実験結果を第109表に示した. 20日後の萎凋枯死株は, 無処理区にのみ2.6%発生した. 35日後の萎凋枯死株率は, 無処理(39.7%)に比較して, 温度処理38.6%(防除価2.8)では同程度であった. しかし, ベノミル浸漬処理は, 萎凋枯死株率31.8%(防除価19.9)でやや低下した.

萎凋枯死株由来菌株は, イチゴに対して病原性を有し, 炭疽病原病徴を再現した.

 第109表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感株に対する温度処理およびベノミル浸漬処理による防除効果

処理	供試株数 (株)	萎凋枯死株率(%)			防除価 ^a
		20	25	35(日後)	
温度 処理 ^b	46	0	4.3	38.6	2.8
ベノミル ^c 剤浸漬	44	0	2.3	31.8	19.9
無処理	78	2.6	14.1	39.7	

注) a: 防除価は、35日後の萎凋枯死株率から算出.

b: 温度43℃の恒温器内で8時間処理.

c: ベノミル水和剤500 倍液10分間浸漬.

3) 薬剤浸漬および灌注による防除効果

(1) 促成栽培での防除効果

実験材料および方法

ベノミル水和剤の定植時浸漬および保温時灌注処理の組合せによる防除効果を検討した。実験は、栃木農試栃木分場の促成栽培収穫圃場で、品種女峰を用いて行った。供試株は、1990年7月18日に本病(*G. cingulata*)発病親株床から採苗した。施肥は、9月8日に行ない、定植は9月25日に株間21cmの2条高畝様式で行なった。保温は10月20日に開始した。実験規模は、1区40株、1区制とした。株浸漬は、本剤500倍液に株全体を10分間処

理した。灌注は、保温直前に本剤500倍液を1㎡当たり3l処理した。調査は、11月18日、1月18日、2月17日、3月17日および4月4日に枯死株率を算出した。

実験結果

実験結果を第110表に示した。無処理の枯死株発生は、11月18日に7.5%観察され、各処理に比較して4ヶ月早かった。浸漬灌注処理(灌注176日後)の枯死株率は、2.5%(防除価90)で無処理の25%に比較して著しく低く、高い防除効果が認められた。しかし、浸漬単独処理(防除価20)および灌注単独処理(防除価30)では、浸漬灌注処理に比較して防除効果は劣った。

第110表 促成栽培でのイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対するベノミル水和剤の浸漬および灌注処理の防除効果

ベノミル水和剤 浸漬処理	灌注処理	供試株 数(株)	枯死株率(%)					防除価
			90年11月18日 (39日)	91年1月18日 (100日)	2月17日 (130日)	3月17日 (158日)	4月4日 (176日)	
無	有	40	0	5.0	10.0	12.5	17.5	30
有	無	40	0	5.0	15.0	15.0	20.0	20
有	有	40	0	0	0	2.5	2.5	90
無	無	40	7.5	10.0	15.0	20.0	25.0	

注) 浸漬処理：1990年9月25日、500倍液5分間浸漬、灌注処理：10月10日3l/㎡。

()は灌注処理後日数。防除価は、4月4日(176日後)の枯死株率から算出。

(2) 半促成栽培での防除効果

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部半促成栽培収穫圃場で、品種女峰を用いて行なった。供試株は、自然発病(*G. cingulata*、発病株率3.2%)仮植床由来の外見健全株で、1992年10月22日に5条の平床(株間20cm)に定植した。保温は、11月29日に開始した。試験規模は、1区384株の1区制とした。株浸漬は、ベノミル水和剤またはチオファネートメチル水和剤500倍液に株全体を10分間処理した。灌注は、保温直前に両水和剤500倍液のいずれかを1㎡当たり3l処理した。調査は、10月22日、11月29日、1993年4月6日および6月4日に枯死株率を算出した。

実験結果

実験結果を第111表に示した。4月6日調査の枯死株は、ベノミル水和剤無灌注区(0.5%)、チオファネートメチル水和剤全処理区(0.8~1%)および無処理区(2.9%)に観察された。枯死株の発生(灌注224日後)は、ベノミル水和剤浸漬、灌注処理では観察されなかった。しかし、無処理区では、枯死株率が4.2%に増加し、その他の薬剤処理区でも枯死株率がやや増加した。ベノミル水和剤の浸漬、灌注処理(防除価100)は、無処理に比較して、高い防除効果が認められた。

第111表 半促成栽培でのイチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*) に対するベンゾイミダゾール系薬剤浸漬および灌注処理の防除効果

供試薬剤	浸漬 処理	灌注 処理	供試株数 (株)	枯死株率 (%)				防除価
				10月22日 (0日)	11月29日 (38日)	4月6日 (165日)	6月4日 (224日)	
ベノミル水和剤	無	有	384	0	0	0	0.8	81
	有	無	192	0	0	0.5	1.3	69
	有	有	192	0	0	0	0	100
チオファネートメチル水和剤	無	有	384	0	0	0.8	1.0	76.2
	有	無	192	0	0	1.0	2.1	50
	有	有	192	0	0	1.0	1.6	61.9
無 処 理	無	無	384	0	0	2.9	4.2	

注) 浸漬処理：1992年10月22日，500倍液10分間，灌注処理：11月29日500倍液 3 l/m².
 () は浸漬処理後日数 防除価は，6月4日(224日後)の枯死株率から算出.
 防除価は，6月4日(224日後)の枯死株率から算出.

4) ベノミル耐性菌の発生状況

ベノミル剤の使用は，イチゴ萎黄病，萎凋病防除の浸漬処理が主であったが，炭疽病に対しても有効であることから同時防除されている．そこで，本病菌(*G. cingulata*)のベノミル耐性菌発生状況について調査した．

島県2菌株および奈良県2菌株は，MICが6.25ppm以下で感性菌と考えられた．しかし，静岡県№1， №19菌株および長崎県SC-8705菌株は，1600ppmでも生育し耐性菌と考えられた(写真100)．また，これらの耐性菌菌株はすべて完全時代を形成しない菌系であった．

(1) 1987年から1989年の調査

実験材料および方法

供試菌株は，1987年～1989年に栃木県下のイチゴ品種女峰から分離した123菌株および他県から分譲された合計130菌株とした．病原菌は，常法に従い罹病根冠部から組織分離した．検定用菌株は，分離培地上の胞子塊から分生子を白金耳でかきとりWA平板培地上に画線し，25℃1日間培養後，顕微鏡下で単孢子由来菌糸を一本切り取り分離した．耐性菌検定培地は，ベノミル水和剤(50%)の1.56， 6.25， 25， 100， 400， 800および1600ppmを含むPDA平板培地とした．検定含菌寒天ディスクは，供試菌株をPDA平板培地で4日間培養し，菌そう周辺部を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜き，菌そう面を培地に置床した．調査は，25℃5日間培養後に最小生育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration，以下，MICと略記)を決定した．

実験結果

実験結果を第112表に示した．栃木県下の123菌株，福

第112表 ベノミル剤に対するイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) の感受性の差異

採集地	供試菌 株数(株)	耐性菌 株数(株)	感性菌 株数(株)
栃木県			
氏家町	2	0	2
宇都宮市	11	0	11
上三川町	3	0	3
鹿沼市	27	0	27
西方町	7	0	7
粟野町	3	0	3
栃本市	17	0	17
都賀町	3	0	3
真岡市	17	0	17
二宮町	25	0	25
益子町	4	0	4
佐野市	2	0	2
足利市	2	0	2
福島県	2	0	2
静岡県	2	2	0
奈良県	2	0	2
長崎県	1	1	0
合計	130	3	127

注) 感性菌 ≤ MIC 6.25ppm，
 耐性菌 ≥ MIC 1600ppm.
 菌株は1987年～1989年に採集した．

(2) 1995年の調査

実験材料および方法

供試本病菌(*G. cingulata*)菌株は、1995年に栃木県下のイチゴ品種女峰から分離した92菌株とした。供試菌株は、1987年～1989年のベノミル耐性発生状況調査と同様の方法で検定した。

実験結果

耐性菌検定結果を第113表に示した。栃木県下から分離した92菌株の内、MICが6.25ppm以下の感性菌株は47菌株(51.1%)であった。前回調査(1987年～1989年)の栃木県分離株は、耐性菌が認められなかったが、今回の調査では、1600ppmで生育する耐性菌が45菌株(48.9%)認められた。

第113表 1995年のベノミル剤に対するイチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)の感受性の差異

採集地	供試菌株数(株)	耐性菌株数(株)	感性菌株数(株)
宇都宮市	8	3	5
上三川町	3	1	2
鹿沼市	13	10	3
西方町	7	2	5
粟野町	3	0	3
栃木市	7	5	2
都賀町	6	3	3
真岡市	11	5	6
二宮町	20	12	8
益子町	2	0	2
佐野市	9	2	7
足利市	3	2	1
合計	92	45	47

注) 感性菌 ≤ MIC 6.25ppm,
耐性菌 ≥ MIC 1600ppm.

5) 粒状薬剤による防除効果

本病に対する粒状薬剤施用の防除試験例はない。そこで、イネいもち病防除剤プロベナゾール粒剤およびピロキロン粒剤を供して地床仮植育苗栽培およびポット育苗栽培での防除効果を検討した。

(1) 地床仮植育苗圃での防除効果

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部の露地栽培の地床仮植育苗圃場で、品種女峰を用いて行った。土性は、表層多腐植質黒ぼく土、七本桜統である。実験規模は、2.2 m² (36株)、3連制とした。供試株は、1995年8月17日親株床から採取し、地床仮植圃に移植した。本病菌接種は、*G. cingulata*T0-94菌株を供試し、PDA平板培地で28℃10日間培養して得た分生子を殺菌蒸留水で1ml当たり 4.5×10^4 個に懸濁し、8月31日に噴霧した。供試薬剤は、プロベナゾール粒剤(9kg/10a)およびピロキロン粒剤(4kg/10a)とし、仮植時に作条土壌混和した。対照薬剤のプロピネブ水和剤(15l/a)500倍液は、9月4日、11日、18日および25日の計4回ハンドスプレーで散布した。調査は、9月13日(接種13日後)に発病葉率、9月29日(接種29日後)に萎凋枯死株率を算出した。また、葉害は経時的に観察した。

実験結果

実験結果を第114表に示した。本実験は、中程度の発病条件下で行なった。接種13日後(薬剤処理27日後)の発病葉率は、プロベナゾール粒剤で10.7%、ピロキロン粒剤で8.5%で、無処理(53.9%)およびプロピネブ水和剤(21.1%)に比較して低かった。接種29日後(薬剤処理43日後)の萎凋枯死株率は、両粒剤(プロベナゾール粒剤4.8%、ピロキロン粒剤2.4%)で、無処理区(14.3%)に比べて低く、プロピネブ水和剤(6.0%)と同程度の防除効果を示した。両粒剤による葉害は、観察されなかった。なお、薬剤処理後の降雨の影響はなかった。

第114表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する地床仮植育苗での粒剤作条混和处理による防除効果

供試薬剤 (処理量)	調査葉数 (枚)	発病葉率 (%) (接種13日後)	防除価	萎凋枯死株率 (%) (接種29日後)	防除価	葉害
プロベナゾール粒剤 (9g/m ²)	680	10.7 ^a	80.1	4.8 ^a	66.4	—
ピロキロン 粒剤 (4g/m ²)	698	8.5 ^a	84.2	2.4 ^a	83.2	—
プロピネブ水和剤 (2g/L)	675	21.1 ^b	60.9	6.0 ^a	58.0	—
無散布	595	53.9 ^c		14.3 ^b		

注) イチゴ苗仮植および粒剤作条混和处理は、1988年8月17日に行なった。

プロピネブ水和剤散布は、9月4日から7日おきに4回行なった。

病原菌の接種は、8月31日に分生子懸濁液の噴霧によって行なった。

同一小文字間には Duncan's Multiple Range Testによる5%有意差がないことを示す。

(2) ポット育苗栽培での防除効果

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部ガラス温室で、品種女峰を用いて行なった。供試株は、前実験と同様で、1995年8月17日、3号黒色ポリポットに移植した。3号ポットには、標準培土を300 mlを充填した。本病菌接種は、9月13日に前実験と同様に行なった。接種株は、ガラス室(23~38℃)でノズル散水で管理した。供試株数は、第116表に示した。供試プロベナゾール粒剤は、9月4日、鉢培養土表面に直径1 cm、深さ1 cmの穴を2か所あけ、2.5gずつ計5 g施用した。ピロキロン粒剤も同様の方法で鉢当たり1 g施用した。プロピネブ水和剤500倍液は、1株当たり15mlを9月4日、11日、18日および25日の計4回、ハンドスプレーで散布した。

調査は、10月10日に萎凋枯死株率から防除価を求めた。また、葉害は経時的に観察した。

実験結果

実験結果を第115表に示した。本病の発病程度は多発

生であった。プロベナゾール粒剤施用は、萎凋枯死株(接種27日後、薬剤処理36日後)の発生が認められず、著しく高い防除効果を示した。ピロキロン粒剤施用は、萎凋枯死株率で19.0%、無処理(37.0%)より低かったが、プロピネブ水和剤(19.0%)と同程度であった。また、ピロキロン粒剤施用は、下位葉の葉縁部が茶褐色に変色する葉害が生じ、実用上問題となる。

**第115表 ポット育苗栽培でのイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対する粒剤
土壌処理による防除効果**

供試薬剤 (処理量) (成分量)	調査株数 (株)	萎凋枯死株率(%) (接種27日後)	防除価	葉害
プロベナゾール粒剤 (5g/鉢)	23	0	100	—
ピロキロン粒剤 (1g/鉢)	21	19.0	48.6	+
プロピネブ水和剤 (500倍液15ml/鉢)	21	19.0	48.6	—
無 散 布	27	37.0		

注) イチゴ株は、1996年8月17日に直径9cm、容積300mlのポットに鉢上げした。
供試粒剤は、9月4日に鉢表土に2等分して置いた。プロピネブ水和剤散布は、
9月4日から7日おきに4回行なった。病原菌の接種は、9月13日に分生子
懸濁液の噴霧によって行なった。

(3)プロベナゾール粒剤の施用方法の検討

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部ガラス温室において品種
とちおとめを用いて行なった。供試株は、1996年9月2
日に、標準培養土を充填した3号黒色ポリポット(容積
300 ml)に移植した。

供試薬剤は、粒剤を用いた。本剤の土壌混和处理は、
9月2日、鉢上げ直前の培養土に鉢当たり5g、10gを
土壌混和した。埋め込み処理は、9月12日に鉢培養土表
面に直径1cm、深さ1cmの穴を2か所あけ、本剤を2.5g
ずつ計5g施用した。プロピネブ水和剤は、500 倍液を
株当たり15ml、9月24日、10月2日および11日の計3回
ハンスプレーで散布した。

本病菌接種は、*G. cingulata*96-03菌株を供し、PDA
平板培地で28℃10日間培養して得た分生子を殺菌蒸留水
で1ml当たり 4.0×10^4 個に懸濁し、9月25日に噴霧し
た。接種株は、ガラス室(15~38℃)でノズル散水で管理
した。供試株数は、第117表に示した。

調査は、10月23日(接種28日後)に発病度を常法に従い
調査算出した。葉害は、経時的に観察した。

実験結果

本病に対するプロベナゾール粒剤の省力施用法につい
て検討した。実験結果を第116表に示した。本病の発病

程度は少発生であった。省力的である仮植直前土壌混和
施用は、5g、10g処理とも根が黒褐変し、新根が発生
せず萎凋枯死して実用上問題である。

本粒剤の活着後5g埋め込み施用は、プロピネブ水和
剤500 倍液3回散布(発病度14.1、防除価43.6)比較して、
発病度9.4(防除価62.4)で優れた防除効果が認められた。
また、葉害および生育の遅延は観察されなかった。

6)土壌消毒による防除効果

(1)子のう殻に対する殺菌効果

実験材料および方法

実験は、栃木農試病理昆虫部圃場で、1処理25㎡(5
×5m)で行なった。供試子のう殻は、以下の方法で形
成させた。供試イチゴ走茎は、1988年4月20日、長さ5
cmに切断し、昆虫針で付傷後、*G. cingulata*NM-1菌株の
分生子懸濁液を点滴接種した。接種後、25℃の恒温器に
7日間収め、実験室内に21日間静置して子のう殻を形成
させた。子のう殻形成走茎は、5月17日に60メッシュの
ダイオネット袋に収め、地表、地下10cmおよび20cmに埋
め込んだ。臭化メチルは、1㎡当たり15gをポリフィル
ム内で開缶処理した。クロルピクリンは、1㎡当たり30
ml(1穴3ml)を地下15cmに注入し、ポリフィルムで被覆
した。また、ポリフィルム被覆は、ポリフィルムのみを
被覆することにより行ない、土壌温度も測定した。ポリ
フィルムは、6月6日に各々除去した。また、無処理材

第116表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)に対するポット育苗栽培でのプロベナゾール粒剤の土壌混和および埋め込み処理の防除効果と薬害

供試薬剤	処理量および施用方法	調査株数	発病度	防除価	薬害
			10月23日	(接種28日後)	
プロベナゾール粒剤	5 g 培土混和／鉢	16	(調査に至らず)		+
	10 g 培土混和／鉢	16	(調査に至らず)		+
	5 g (2.5g+2.5g) 埋込み	16	9.4	62.4	-
プロピネブ水和剤	500 倍液 15ml/鉢	16	14.1	43.6	-
無散布		17	25.0		-
無接種		15	0	0	-

注) イチゴ株は、1996年9月2日に直径9cm、容積300ml のポットに仮植した。
 プロベナゾール粒剤の土壌混和処理は、9月2日、埋め込み処理は9月12日に行なった。
 プロピネブ水和剤の散布は、9月24日、10月2日および11日の計3回行なった。
 病原菌の接種は、9月25日に分生子懸濁液の噴霧によって行なった。

料は、露地および室内に置いた。分離率調査は、6月6日にダイオネットを掘りあげ、走茎上の子のう殻を解剖顕微鏡下で単殻分離し、ストレプトマイシン硫酸塩50ppm を添加したPDA平板培地に置床して行なった。

実験結果

本病菌子のう殻の土壌処理による影響を検討した。その結果を第117表に示した。ポリフィルム被覆の最高温度は、地表で55℃、地下10cmで39℃であった。臭化メチル処理およびクロルピクリン処理では、全ての深度で本病菌が分離されなかった。ポリフィルム被覆処理は、地表では分離されなかったが、深度10cm(78.8%)、20cm(100%)で高率に分離された。露地処理は、地表(88.9%)、深度10cm(97.2%)および20cm(82.2%)で高率に分離され、室内(96.3%)とほぼ同率であった。

第117表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)子のう殻に対する土壌燻蒸剤の殺菌効果

供試土壌くん蒸剤	子のう殻埋め込み深度 (cm)	分離数 (個)	分離率 ^a (%)
臭化メチル ^b	0	45	0
	10	45	0
	20	45	0
クロルピクリン ^c	0	45	0
	10	45	0
	20	45	0
ポリフィルム被覆	0	45	0
	10	45	78.8
	20	45	100
露地	0	36	88.9
	10	36	97.2
	20	45	82.2
無処理 (室内)	—	54	96.3

注) a:走茎上の子のう殻を単殻分離した。
 b:サンヒューム98.5%, 15g/m²処理。
 c:クロルピクリン99.5%, 1穴3ml, 30ml/m²処理。

(2) 汚染圃場に対する防除効果

実験材料および方法

栃木農試圃場で品種女峰を用いて行なった。人工汚染圃場は，1992年6月13日に親株床に本病菌 *G. cingulata* T0-02菌株を噴霧接種し発病させ，8月13日に深さ15cmに耕耘して作成した。土壌くん蒸剤処理は，8月14日に行なった。ダゾメット微粉剤は，1 m²当たり1 g 散布し，深さ15cmに耕耘混和した。臭化メチルは，1 m²当たり15 g をポリフィルム内で開缶処理した。クロルピクリンは，1 m²当たり30ml (1穴3ml) を地下15cmに注入し，ポリフィルムで被覆した。ガス抜きのための耕耘は，8月28日，31日の2回実施した。供試圃場は，雨除け栽培とした。

水管理は，ノズル散水であるが，他区への水滴飛散がないように留意した。実験規模は，1区30株3連制とした。発病株率調査は，移植18および37日後に行なった。

実験結果

実験結果を第118表に示した。無処理の発病株率は，移植18日後で6.7%，37日後で16.7%であった。ダゾメット微粉剤，臭化メチルおよびクロルピクリン処理は，発病が認められず高い防除効果を示した。

第118表 イチゴ炭疽病発病(*Glomerella cingulata*)圃場に対する土壌くん蒸剤の防除効果

土壌くん蒸剤 (供試薬剤名)	処理量	供試株数 (株)	移植後の発病株率 (%)		
			0日	18日後	37日後
臭化メチル (サンヒューム98.5%)	15 g / m ²	30	0	0 ^a	0 ^a
クロルピクリン (クロルピクリン99.5%)	1穴3ml 30ml/m ²	30	0	0 ^a	0 ^a
ダゾメット微粉剤 (ダゾメット 微粒剤98.0%)	1g/m ²	30	0	0 ^a	0 ^a
無 処 理		30	0	6.7 ^b	16.7 ^b

注) 薬剤処理は，1992年8月4日，生物検定株移植は，8月17日に行った。
同一小文字間には，Duncan's Multiple Range Testによる5%有意差がないことを示す。

7) 考察

本病に対する薬剤防除について，山本(1971)は鉢試験でダイホルタン，TPN，プロピネブおよびトリアジン水和剤に防除効果を認め，走茎発生初期からの予防散布が重要であるとした。木曾・野村(1984)は，接種試験でマンゼブ，ポリカーバメート，キャプタンおよびプロピネブ各水和剤の予防効果が高いとした。Delp and Milholland(1980)は，ダイホルタンがマンゼブ，キャプタンおよびベノミルに比較して高い防除効果を示すとした。また，池田(1987)は，プロピネブ，ポリカーバメートおよびグアザチン・ポリキャプタン各水和剤の予防効果が高いとした。しかし，山本(1971)，Delp and

Milholland(1980)が，卓効であるとしているダイホルタンは，農薬登録が抹消されている。また，いずれの実験でも，発病後の薬剤散布は，効果が低く，予防散布および適期防除が重要であるとしている。そこで，治療効果に重点を置き検討を加えた。また，ベノミル耐性菌の発生状況についても調査した。さらに，世界的に報告のない粒剤による省力防除法も検討した。

ビテルタノール水和剤予防散布は，プロピネブ水和剤散布に比較すると発病株率が低く，高い防除効果を示した。また，ベノミル水和剤散布は，プロピネブ水和剤とほぼ同等の効果を示した。治療散布では，予防散布に比較して発病率が全体に高くなるが，ビテルタノール水和剤は，高い防除効果を示した。ビテルタノール水和剤を

含むE B I 剤の防除効果は、岡山ら(1992)も認めている。

自然発生潜在感染株に対するベノミル水和剤およびチオファネートメチル水和剤の500 倍液10分間浸漬処理は、高い防除効果が認められた。また、促成および半促成栽培における両剤の定植時浸漬および保温開始時灌注処理は、無処理に比較して高い防除効果が認められた。しかし、単独処理では、両処理に比較して防除効果が劣った。岡山(1989a)は、感染株を対象とした薬剤浸漬実験の結果、ベノミル水和剤500 倍液10分間浸漬の効果を認めており、これらの結果と一致した。浸漬処理は、省力的で防除適期を逃さない有効な防除方法であると考えられる。以上の結果から、散布剤としては予防、治療効果とも高いピテルタノール水和剤、浸漬灌注剤は、ベノミル水和剤が有効であると考えられる。なお、ピテルタノール水和剤は1992年、ベノミル水和剤は、浸漬で1991年、灌注で1994年に適用拡大された。

ベノミル剤耐性菌の1987年～1989年の発生調査では、栃木県分離株の123菌株は、M I C が6.25ppm以下で感性菌であった。しかし、静岡県および長崎県菌株は1600 ppm でも生育し、耐性菌であった。1988年および1990年におけるベノミル剤およびチオファネートメチル剤の潜在感染株等に対する防除が有効であったのは、感受性菌が分布していたためと考えられる。1995年の調査では、栃木県分離株の約半数が耐性菌であり、現地での本剤による防除効果低下現象と良く符合する。ベノミル耐性菌の発生は、各地において認められている(築尾・小林 1991, 楠1992, 石川ら1989g, 岡山ら1991, 棚橋・篠田 1991, 手塚・牧野1989)。なお、楠らは(1992)、ベノミル耐性菌に対する防除として、負相関交差耐性を利用したジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤の浸漬処理が有効であると認めている。

本病に対する粒剤施用の防除事例はない。そこで、イネいもち病防除剤プロベナゾール粒剤の誘導抵抗性およびピロキロン粒剤のメラニン生合成阻害に着目し、地床仮植育苗およびポット育苗での防除効果について検討した(石川ら1996)。両剤の地床育苗における作条土壌混和処理は、プロベナゾール水和剤散布に比較して防除効果が優れていた。プロベナゾール粒剤の活着後埋め込み施用(ポット育苗)は、プロベナゾール水和剤に比較して防除効果が高く、薬害の発生もないことから有望である。しかし、本剤の培養土混和処理は、根が黒褐変し、新根が発生せず枯死するので実用上問題である。また、ピロキロン粒剤は、標準培土を用いたポット育苗では、薬害が観察され実用上問題である。これら薬害は、土性の差異によるイチゴの薬剤吸収量や土壌の薬剤吸着力に差があるため

と考えられる。今後、それらに適合する薬量の検討も必要である。

イチゴ罹病残渣上の本病菌子のう殻は、耕耘等の一般管理で作土中に混入し、伝染源になることが知られている(石川ら1989c,1994, 山本1971)。本病菌汚染圃場は、臭化メチルまたはクロルピクリンの土壌処理で防除できた。また、地表の子のう殻は、ポリフィルム被覆のみでも死滅した。これは地温が、子のう殻の致死温度(60℃ 30分, 55℃ 1 時間)を超えたためと考えられる(石川ら 1989e)。しかし、地下10cmの本病菌は、高率に分離され、効果が不十分であった。本病汚染圃場に対する臭化メチル、クロルピクリンくん蒸剤およびダゾメット微粉剤処理は、高い防除効果が得られた。この結果は、子のう殻埋め込み試験と同様であった。しかし、臭化メチルは、オゾン層破壊物質としてモントリオール議定書で使用に厳しい制限がある。今後、代替剤としては、クロルピクリンくん蒸剤およびダゾメット微粉剤が有望である。

4. 潜在感染株の簡易診断法

本病潜在感染株は、無病株との外観判別が極めて困難である。潜在感染株は、無病株として流通し栽培されるので、本病の広範囲な蔓延の主要因になっている(秋田1993, 築尾1994, Horn and Carver1964, Ishikawa2003, 2004a,b, 石川1989c,1992, 稲田ら1998, 岡山1993, 山本1971)。常に、現場技術者からは、本病潜在感染の簡易な診断方法の開発が望まれてきた。一方、クワ炭疽病潜在病斑に対するUV（紫外線）照射で病斑が誘導できたと報告された(白田1993)。そこで、本病潜在感染葉に対するUV照射法の適用および新たに考案したエタノールに浸漬処理する方法について検討した。

1) *G. cingulata* 潜在感染株に対する診断標徴の誘導

(1) エタノール浸漬処理およびUV照射による標徴誘導

実験材料および方法

供試材料は、自然発病葉、人工接種葉および無病葉とし、品種女峰を用いて行った。自然発病葉は、1992年6月12日に栃木農試の発病株率5.0%の自然発病露地育苗圃場から無病徴株の最下位小葉を採取した(写真101)。人工接種葉は、*G. cingulata* NM-1菌株をPDA平板培地で28℃、7日間培養し、分生子を殺菌蒸留水で1ml当たり 10^3 個レベルに懸濁調整し5月13日に完全展開葉3枚の株に噴霧接種した。接種株は、20℃の陽光恒温器(3000Lx)に18時間保持した。接種株は、15～30℃のガラス室で底面給水で管理した。供試葉は、接種30日後に無病徴株の最下位小葉を採取した。無病葉は、別棟のガラス室内で管理した無病株から同様に採取した。

エタノール浸漬法は、供試葉を水道の流水で水洗後、クリーンベンチ内で300mlのビーカーに70%エタノール液を250ml入れ、検定葉全体を30秒間浸漬し、殺菌蒸留水で2回洗浄した。その後、処理葉は約2mlの殺菌蒸留水で湿したろ紙を敷いた9cmのペトリ皿に、葉表面を上にして1枚ずつ収め、28℃の恒温器に静置した(以下、Simple diagnostic method using ethanol immersion treatment, SDEI)。

UV照射法は、クリーンベンチ内でナショナル殺菌灯GL-15(波長253.7nm)でUVを葉上30cmから3分間ずつ供試葉表裏面に照射した。その後の操作はSDEIと同様に行なった。無処理は、水道の流水で洗浄後、クリーン

ベンチ内で殺菌蒸留水で洗浄し、ペトリ皿に収めて同様に処理した。供試小葉数は30枚とし、3反復した。組織分離材料は、供試葉の中間小葉の中肋中間部を約3mm角に4切片とし、常法により組織分離した。供試小葉数は、4枚16切片とし、3反復した。なお、以下の実験における恒温器中のペトリ皿は、ポリエチレン袋に収め乾燥を防いだ。

調査は、各処理後に誘導形成された孢子塊の形成小葉数を0, 2, 5, 7, 10, 12および15日後に肉眼観察し、形成率を算出した。また、処理15日後に誘導標徴および分離コロニー上の分生子を光学顕微鏡観察し、分生子の形態、大きさを観察し、本病菌の分生子と確認して検出率を算出した。

実験結果

本病潜在感染葉に対するSDEIおよびUV照射による標徴誘導の結果を第119表に示した。自然発病葉、人工接種葉および無病葉に対するUV照射、SDEIおよび無処理の何れでも孢子塊が誘導形成された。しかし、孢子塊の誘導形成時期や形成率には大きな差があった。

SDEIでは、自然発病葉で処理5日後で孢子塊形成小葉率は平均8%, 10日後で78%, 12日後に100%に達した。人工接種葉でも、同様に5日後に病斑が誘導され、10日後に100%に達した。両処理によって誘導された孢子塊は、黒褐変した葉上に鮭肉色の孢子塊が形成され、肉眼で容易に識別できた(写真102, 103)。両処理法とも15日後の本病菌検出率は、組織分離法に比較して高率であった。

UV照射処理では、自然発病葉で処理7日後に50%の孢子塊が形成され、順次形成率が高くなり12日後で100%の形成率であった。人工接種葉では、同様に7日後に52%観察されはじめ12日後で100%に達し、自然発病葉と同様の結果であった。また、無処理でも孢子塊は誘導されたが、両供試葉で14～17%と両処理法に比較して、誘導時期が遅延し、孢子塊の形成率も低く、しばしば雑菌が検定葉を覆いマーカーである孢子塊の識別には不適であった。無病葉では、いずれの方法によっても本病菌は誘導、分離されなかった。誘導された孢子塊中の分生子を顕微鏡観察すると無色、単胞で円筒形で両端が鈍円の接種菌と同様の分生子が形成された。

第119表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感染葉に対するエタノール浸漬簡易診断法(S D E I) および紫外線(U V)照射による孢子塊形成小葉率と期間との関係

処理方法	供試葉	孢子塊形成小葉率 (%) ^a					検鏡による 確認率(%) ^b
		5	7	10	12	15 (日後)	
S D E I ^c	然発病葉	7.8±1.1	63.3±1.9	77.8±1.1	100	100	100
	人工接種葉	11.1±1.1	64.4±1.1	100	100	100	100
	無病葉	0	0	0	0	0	0
U V照射 ^f	自然発病葉 ^d	0	50.0±1.9	70±1.9	100	100	100
	人工接種葉 ^e	0	52.2±1.1	87.8±1.1	96.7±1.9	100	100
	無病葉	0	0	0	0	0	0
無処理	自然発病葉	0	4.4±1.1	11.1±1.1	13.3±0	14.4±1.1	14.4±1.1
	人工接種葉	0	5.5±1.0	12.2±1.1	14.4±1.1	16.7±0	16.7±0
	無病葉	0	0	0	0	0	0
組織分離 ^g	然発病葉						75.7±1.8
	人工接種葉						92.4±0.7
	無病葉						0

注) a:供試小葉数は、30枚とし3反復した。±の数値は標準誤差を示す。

0, 2日後の形成率は、全て0%。

b: S D E I, U V照射および無処理は処理15日後、組織分離は10日後の検鏡により分生子を
同定した。

c: 70%エタノール液に30秒間浸漬処理した。

d: 1992年6月12日に発病株率5%の育苗圃場の無病徴株最下位葉を採取した。

e: 5月13日にイチゴポット株に本病菌を噴霧接種し、30日後に無病徴株最下位葉を採取した。

f: 波長253.7 nmの紫外線を葉上30cmから3分間照射した。

g: 組織分離は、常法により12小葉、48切片を分離した。

(2) 誘導孢子塊の病原性

実験材料および方法

誘導標徴の病原性検定は、1992年6月22日に噴霧接種
および刺傷接種で行った。噴霧接種菌株は、S D E I,

U V照射処理および組織分離由来の孢子塊を白金耳でかき取り、WA平板培地表面に画線し、25℃で24時間培養後、発芽した分生子を光学顕微鏡下でWA培地とともに切り出し、P D A斜面培地に移植して単孢子分離を行ったものである。それら菌株は、P D A平板培地で25℃10日間培養し、殺菌蒸留水で分生子を1ml当たり10⁵個レベルに懸濁調整し噴霧接種した。供試イチゴ株数は、1

菌株当たり2株とした。刺傷接種は，誘導分生子層および組織分離によるPDA平板培地上の孢子塊を3本束の昆虫針で直接かき取り，イチゴ葉柄に2～3回刺し接種した。1接種当たり5葉柄を供した。噴霧接種の無接種は，殺菌蒸留水を同様にして噴霧した。刺傷接種の無接種は，火炎消毒した昆虫針で刺傷した。対照接種菌株は，本病菌*G. cingulata* NM-1菌株とし，両接種法で行った。供試菌株数は，第121表に示した。接種後，供試株は17時間ポリエチレン袋に収め多湿条件とし，その後15～30℃のガラス室で底面給水で管理した。発病調査は，接種10日後に行い，発病が観察された場合，病斑部を常法により組織分離を行った。

実験結果

結果を第120表に示した。自然発病葉，接種葉に対するUV照射，SDEIおよび組織分離法で誘導分離された単孢子分離菌株の噴霧接種によって，無病イチゴ株は，接種4日後に新葉に直径3～4mmの黒色の斑点病斑が，葉柄には黒褐色でやや窪んだ紡錘形の病斑が生じ，7日後から葉柄の病斑上に鮭肉色の分生子層由来孢子塊が形成された。また，同様の処理によって誘導された孢子塊から3本束の昆虫針で直接掻き取り，葉柄への刺傷接種によっても発病した。それらの病徴は，*G. cingulata* NM-1菌株の噴霧および刺傷接種によるイチゴ炭疽病病徴と同様であった(写真104)。また，病斑部位から接種菌が再分離された。以上から，誘導形成された孢子塊は，本病菌の標徴であることが確認された。なお，無接種株は，発病せず無病であった。

(3) 孢子塊形成と温度との関係

実験材料および方法

SDEIによる孢子塊観察可能時期および形成小葉率と温度との関係を検討した。処理温度は，22，25，28および31℃とした。実験材料は，前実験と同一で，自然発病葉，人工感染葉および無病葉を供した。標徴誘導処理は，本法で行った。供試小葉数は，30枚とし3反復した。

調査は，各処理後の孢子塊形成小葉数を0，2，5，7，10，12および15日後に肉眼観察し，形成小葉率を算出した。

実験結果

結果を第121表に示した。孢子塊の形成は，自然発病葉および人工接種葉で供試各温度に認められた。22℃の処理温度では，両供試葉とも処理10日後に孢子塊の形成が確認され，15日後では，自然発病葉で平均54%，人工接種で52%の孢子塊形成小葉率であった。25℃処理では，人工接種葉で処理5日後に7%観察され，自然発病葉で7日後に13%形成が観察され，15日後では両者とも100%に達した。28℃では，5日後に自然発病葉で7%，人工接種で11%形成が観察されはじめ，12日後には両者とも100%に達した。31℃処理での孢子塊形成小葉率は，自然発病葉で7日後に7%，人工発病で8%確認され，15日後では自然発病で93%，人工発病で94%であった。しかし，本処理温度では，供試葉は乾燥傾向であった。28℃処理では，自然発病葉および人工接種葉とも孢子塊形成期間が短く，形成小葉率も高かった。なお，無病葉では，全処理温度で孢子塊の形成は認められなかった。

第120表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感染葉に対するS D E Iおよび紫外線(UV)照射によって誘導された胞子塊の病原性

処理方法	供試葉	接種菌株の由来	接種方法	菌株名	発病の有無 ^a （発病数／供試数）			
S D E I ^b	自然発病葉	単胞子分離	噴霧接種	Etoh-01	+	(2 ／ 2)		
				Etoh-02	+	(2 ／ 2)		
				Etoh-03	+	(2 ／ 2)		
		単胞子分離	刺傷接種	Etoh-01	+	(4 ／ 5)		
				Etoh-02	+	(5 ／ 5)		
				Etoh-03	+	(5 ／ 5)		
		胞子塊	刺傷接種	Etohm-01	+	(4 ／ 5)		
				Etohm-02	+	(5 ／ 5)		
				Etohm-03	+	(5 ／ 5)		
UV照射 ^h	自然発病葉 ^c	単胞子分離	噴霧接種 ^d	UVs-01	+	(2 ／ 2)		
				UVs-02	+	(2 ／ 2)		
			刺傷接種 ^e	UVs-01	+	(5 ／ 5)		
				UVs-02	+	(5 ／ 5)		
			胞子塊	刺傷接種 ^f	UVm-01	+	(5 ／ 5)	
					UVm-02	+	(5 ／ 5)	
		人工接種葉 ^g	単胞子分離	噴霧接種	RUV.NM-1	+	(2 ／ 2)	
				刺傷接種	RUVn.NM-1	+	(5 ／ 5)	
			胞子塊	刺傷接種	RUVm.NM-1	+	(5 ／ 5)	
				人工接種葉	単胞子分離	噴霧接種	REt.NM-1	+
			刺傷接種			REtn.NM-1	+	(5 ／ 5)
			胞子塊		刺傷接種	REtm.NM-1	+	(5 ／ 5)
	組織分離	自然発病葉			単胞子分離	噴霧接種	Ts-01	+
			Ts-02	+			(2 ／ 2)	
			刺傷接種	Ts-01		+	(5 ／ 5)	
Ts-02				+		(5 ／ 5)		
胞子塊			刺傷接種	Tsm-01		+	(5 ／ 5)	
				Tsm-02		+	(5 ／ 5)	
人工接種葉			単胞子分離	噴霧接種	R.NM-1	+	(2 ／ 2)	
				刺傷接種	R.NMn-1	+	(5 ／ 5)	
			胞子塊	刺傷接種	R.NMm-1	+	(5 ／ 5)	
				<i>G.cingulata</i> NM－ 1 菌株接種	噴霧接種		+	(2 ／ 2)
			刺傷接種			+	(5 ／ 5)	
			無 接 種		噴霧接種		－	(0 ／ 2)
	刺傷接種			－	(0 ／ 5)			

注) a:病原性は接種10日後に調査した。+は病原性あり, -はなしを示す。

b:70%エタノール液に30秒間浸漬処理した。

c:1992年6月12日に発病株率5%の育苗圃場の無病徴株から採取した。

d:噴霧接種は, 胞子塊から単胞子分離菌株を供した。

e:単胞子分離由来の刺傷接種は, PDA培地上の胞子塊を直接昆虫針でかき取り接種した。

f:葉上の胞子塊を直接昆虫針でかき取り接種した。

g:5月13日にイチゴポット株に本病菌を噴霧接種し, 30日後に無病徴株から採取した。

h:波長253.7 nmのUVを葉上30cmから葉の表裏に3分間ずつ照射した。

第121表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感染葉に対するS D E Iによる孢子塊形成葉率と温度および期間との関係

供試葉	処理温度 (°C)	孢子塊形成小葉率 (%) ^a				
		5	7	10	12	15 (日後)
自然発病葉 ^b	2 2	0	0	5.6±1.1	34.3±1.1	54.4±1.1
	2 5	0	13.3±1.9	54.4±1.1	71.1±1.1	100±0
	2 8	6.7±0	45.6±1.1	83.3±1.9	100±0	100±0
	3 1	0	6.7±0	44.7±2.2	67.8±1.1	93.3±1.9
人工接種葉 ^c	2 2	0	0	18.9±1.1	34.6±1.1	52.2±1.1
	2 5	6.7±0	35.6±1.1	76.7±0	91.1±1.1	100±0
	2 8	11.1±1.1	63.3±1.9	90±1.9	100±0	100±0
	3 1	0	7.8±1.1	62.2±1.1	75.6±1.1	94.4±1.1
無 病 葉	2 2	0	0	0	0	0
	2 5	0	0	0	0	0
	2 8	0	0	0	0	0
	3 1	0	0	0	0	0

注) a: 供試小葉数は，自然発病葉および接種葉で30枚，無病葉で20枚 3 反復した．±の数値は標準誤差を示す． 0， 2 日後形成率は，全て 0 %.

b: 1992年 6 月12日に発病株率 5 %の育苗圃場無病徴株から採取した．

c: 5 月13日にイチゴポット株に本病菌を噴霧接種し，30日後に無病徴株から採取した．

(4) 孢子塊形成と葉位との関係

実験材料および方法

実験は，栃木農試場内のガラス室で行った．供試イチゴ株は，1994年 8 月25日に完全展開葉を 5 枚に調整し，幅1.2m，長さ 4 mのベンチ上に縦に10鉢ずつ41列配置した．伝染源株は，以下の方法で作成した．接種菌は，*G. cingulata* NM-1菌株を供し，PDA培地で25°C10日間培養し，形成された孢子塊を 3 本束の昆虫針でかき取り，最上位展開葉柄に 8 月25日に刺傷接種した．接種株は17時間ポリエチレン袋に入れ，多湿条件下に置きその後，25°Cの陽光定温器で管理し，肉眼で孢子塊形成を確認されたものである．伝染源は，9 月 3 日に供試株の中央に 1 ポットを試験終了時まで置いた．実験中の水管理は，水道水をノズル散水した．供試葉は，9 月30日に無病徴株の完全展開本葉 8 枚の30株から採取して本診断法で処理した．供試小葉数は30枚とし，3 反復した．本供試葉

採取時の発病状況は，斑点型病斑株17.8%，分生子層形成株4.2%および萎凋枯死株3.2%であった．調査は，処理 7，10および12日後に孢子塊形成小葉数を肉眼観察し，形成小葉率を算出した．誘導孢子塊の病原性検定は，各葉位当たり 6 小葉を選び，1 枚当たり 1 個の孢子塊から 3 本束の昆虫針で各々かき取り，イチゴ葉柄に 2～3 回刺し接種した．対照接種菌株は，NM-1菌株とした．1 接種当たり 3 葉柄を供した．

実験結果

結果を第122表に示した．処理 7 日後調査には，全葉位に孢子塊形成が認められ，下位 3 葉で平均 81～88%であった．10日後の下位 4 葉の孢子塊形成率は，86%～96%であった．孢子塊形成率は，下位葉ほど高率になる傾向であった．また，無処理葉では，どの葉位にも孢子塊形成が観察されなかった．誘導形成された孢子塊を 3 本束の昆虫針で掻き取りイチゴ葉柄に刺傷接種すると，NM-1菌株同様の原病徴が再現された．

第122表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感染葉に対するSDEIによる孢子塊形成葉率と葉位との関係

供試株	供試葉位	孢子塊形成葉率(%) ^a		
		7	10	12(日後)
伝染源設置株	第1葉	13.3±1.9	17.8±1.1	20±1.9
	第2葉	26.7±0	33.3±1.9	40±1.9
	第3葉	37.8±1.1	43.3±1.9	45.6±1.1
	第4葉	53.3±1.9	65.6±1.1	72.2±1.1
	第5葉	77.8±1.1	85.6±1.1	95.6±1.1
	第6葉	81.1±1.1	93.3±0	100±0
	第7葉	80±0	95.6±1.1	97.8±1.1
	第8葉	87.8±1.1	95.6±1.1	100±0
無接種株	第2葉	0	0	0
	第6葉	0	0	0
	第8葉	0	0	0

注) a:処理区の供試小葉数は30枚, 無処理区は10枚 3 反復した.
 土の数値は標準誤差を示す.
 1994年9月3日に本病伝染源を設置し、27日後に無病徴株から採取した.

(5) 孢子塊形成と接種後日数との関係

実験材料および方法

供試イチゴ株は、1994年7月25日に完全展開葉3枚に調整した。潜在感染株の作成は、前実験と同様の方法で行った。病原菌接種は、8月1日に行った。本病菌接種後0、6時間後、1、5、15、30、90および180日後に無病徴株の最下位小葉を採取し、本簡易診断法に従い処理した。供試小葉数は、24枚で3反復した。無接種株は、同ガラス室内で隔離して同様に栽培管理し、18小葉を各々供した。調査は、処理10日後に孢子塊形成小葉数を肉眼観察し、形成小葉率を算出した。

実験結果

結果を第123表に示した。接種0時間および6時間後の検定葉では、孢子塊は形成されなかった。しかし、接種1、5、15、30、90および180日後の検定葉では、孢子塊の形成が観察された。孢子塊形成葉率は、1日後で

平均25%と低かったが、5～30日後で90～100%、90日後で88%、180日後で86%と孢子塊形成が観察され、いずれも高率であった(写真105)。無接種では、いずれの接種後期間でも孢子塊の誘導形成は認められなかった。

第123表 イチゴ炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)接種後期間とSDEIによる孢子塊形成小葉率との関係

接種後期間 ^a	12日後の孢子塊形成小葉率(%) ^b	
	接種葉	無接種葉
0	0	0
6(時間後)	0	0
1	25±2.4	0
5	100±0	0
15	98.6±1.4	0
30	100±0	0
90	87.5±2.4	0
180(日後)	86.1±1.4	0

注) a:本病菌を1994年8月1日に噴霧接種した。
 b:供試小葉は、各処理後無病徴株の最下位葉を供した。供試数は、接種葉で各処理最下位24小葉、3反復した。無接種で18小葉とした。土の数値は、標準誤差を示す。

(6) 孢子塊形成に及ぼす菌株および品種間の影響

実験材料および方法

供試品種は、女峰、とよのか、とちおとめ、宝交早生およびDoverの5品種である。供試株は、葉数を完全展開葉5枚に調整した30株とした。供試菌株は、福岡県分離のcf:2-3菌株、静岡県分離のSi №19菌株、福島県分離の麗紅菌株および栃木県分離NM-1菌株とした。供試葉の作成は、前実験と同様である。各病原菌の接種は、1997年9月21日に行った。供試小葉数は、接種株で30枚3反復、無処理株で10枚3反復した。SDEI処理は、10月11日(病原菌接種20日後)に常法に従い行った。また、対照として、無接種株の簡易診断処理も各品種の最下位21小葉に対して行った。

調査は、処理7および10日後に、孢子塊形成小葉数を肉眼観察し、形成小葉率を算出した。

実験結果

結果を第124表に示した。女峰に対する供試4菌株とも最下位葉に対する孢子塊形成小葉率は、7日後で平均67~70%、10日後98~100%、最下位次葉は7日後64~69%、10日後93~100%、最下位第3葉では、7日後66~69%、10日後96~99%であった。全葉位、全菌株では、7日後64~70%、10日後93~100%であり、葉位、菌株間に大きな差異は認められなかった。同様に、とよのかに対しては、全葉位、全菌株で7日後66~72%、10日後96~100%であった。とちおとめでは、7日後68~72%、10日後98~100%であった。宝交早生では、7日後が63~70%、10日後で96~100%であった。Doverでは、7日後64~71%、10日後97~100%であった。以上から、供試5品種間、供試4菌株間および下位から第3葉位による孢子塊形成小葉率に大きな差はなく、7日後調査に比較して10日後調査は、形成小葉率は常に高かった。また、無接種イチゴ葉には、孢子塊の形成は観察されなかった。

2) *C. acutatum* 潜在感染株に対する診断標徴の誘導

本病は、潜在感染することが知られ(築尾1994, Simmonds1965, Mass1985), 外観からの診断が極めて困難なことから、無病株の選別、防除時期の判断等が難しく対応に苦慮している。そこで、SDEIを*C. acutatum*による炭疽病への適用について検討した。

(1) 誘導標徴

実験材料および方法

SDEI供試葉は、自然発病株、人工接種株および無病株から葉を採取した。それらに対して、本診断法を適用し、組織分離法と比較検討した。自然発病株は、1995年6月16日に栃木県二宮町の品種女峰の発病株率8.4%の露地平床育苗圃場から無病徴株の最下位葉を採取し、4℃の低温恒温器に1日保存したものである。人工接種株の作成は、*C. acutatum* Na-91-016菌株をPDA平板培地で、25℃10日間培養し、殺菌蒸留水で分生子を1ml当たり 10^6 個に懸濁調整し噴霧接種した。供試葉は、接種7、30および60日後の無病徴株の最下位葉とした。対照として、*G. cingulata* NM-1菌株を同様に分生子を1ml当たり 10^3 個レベルに懸濁調整して噴霧接種し、接種30日後の無病徴株の最下位葉を本診断法に適用した。無病株は、別棟ガラス室で底面給水で管理したものを供した。簡易診断処理は、1995年6月16日に自然発病株葉、無病株葉および人工接種葉のに対して行った。無処理は、水道水流中で洗浄後、SWで2回洗浄後SDEIと同様である。供試小葉数は、無病徴株の自然発病葉、人工接種葉で各々30枚、無病葉で20枚とし3反復した。本診断法処理温度は、25、28℃とした。供試小葉数は、9小葉45切片で3反復した。調査は、処理後に誘導形成された孢子塊の形成小葉数を0、2、5、7、10、12および15日後に肉眼観察し、形成率を算出した。組織分離法では、置床10日後に本病菌形成コロニー数を調査した。いずれも、誘導および分離菌は光学顕微鏡観察で、分生子の形態、大きさから種を決定した。

実験結果

結果を第125表に示した。本方法は、*C. acutatum* を病原とする炭疽病に対しても病斑を誘導し、本病菌の標徴である鮭肉色の分生子層由来孢子塊を形成させることができた。自然発病葉の孢子塊の形成は、25℃および28℃の両処理温度で処理5日後から始まり、形成率は平均8%で、7日後から形成率が高くなり12日後には25℃で100%、28℃で98%と高率になった。人工接種葉では、接種7、30日および60日後採取葉25℃処理5日後から孢子塊の形成が認められた。処理7日後には、全処理で66~82%、15日後には100%に達した(写真106)。供試葉、処理温度および接種後期間の差異による孢子塊形成への影響は少なかった。無処理の孢子塊形成は、低率で雑菌が

生育した。また、対照としたNM-1菌株接種葉では、28℃処理が孢子塊形成率は5日後から高かったが、処理10日後には、処理温度による差は少なく78～92%で高率であった。*C. acutatum*による炭疽病の誘導標徴は、*G. cingulata*のそれに比較して、孢子塊の形成量および気中菌糸が多い傾向であった。しかし、分生子層由来孢子塊の形態や色で種を区別することはやや困難であった。組織分離法の本病菌分離率は、本診断法の孢子塊形成葉率に比較して低率であった。誘導病斑および組織分離由来孢子塊の顕微鏡観察によって、本病菌の無色、単胞、紡錘形の分生子が確認された。なお、無病葉では、本診断法および組織分離法において本病菌の誘導および分離はなかった。

(2)誘導孢子塊の病原性

実験材料および方法

誘導された分生子層由来孢子塊の病原性検定は、噴霧接種および刺傷接種で1)-(2)と同様に行った。供試菌株数は、自然発病葉で各々3菌株、人工接種葉では各々2菌株供した。それら菌株は、25℃で10日間培養し、殺菌蒸留水で分生子を1ml当たり 10^6 個レベルに懸濁調整して噴霧接種した。供試イチゴ株数は、1菌株当たり3株とした。

刺傷接種法は、対照菌株に*C. acutatum* Na-91-016および*G. cingulata* NM-1菌株を供した。供試葉柄数は、1菌株当たり5葉柄とした。供試株は、接種後ポリエチレン袋に収め17時間多湿条件下におき、その後23～35℃のガラス室で底面給水で管理した。以後の病原性検定試験は、接種後同様に管理した。発病調査は、接種10日後に発病の有無や病徴を調べた。

実験結果

結果を第126表に示した。自然発病葉および人工接種葉の各処理由来の各々3菌株は、無傷噴霧接種および刺傷接種により無病イチゴ株の葉身および葉柄に接種5、6日後に紫赤色の斑点が生じ、縮葉症状になり、葉柄ではやや窪んだ紡錘形病斑が生じ、全接種株に原病徴が再現され、7、8日後には病斑上に鮭肉色の分生子層由来孢子塊が形成された。それらの病徴は、対象菌株と同様な病徴であった。

第124表 イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感染葉に対するS D E Iによる孢子塊形成率に及ぼす品種および菌株との関係

品 種	供試菌株名 ^a	調査日 (日後)	孢子塊形成率 (%) ^b		
			最下位葉	最下位次葉	最下位第3葉
女 峰	栃木県NM-1菌株	7	66.7±1.1	66.7±0	68.9±1.1
		10	100±0	93.3±1.9	95.6±1.1
	福島県麗紅菌株	7	67.8±1.1	64.4±1.1	67.8±1.1
		10	98.9±1.1	100±0	98.9±1.1
	静岡県SiN ₂ 19菌株	7	67.8±1.1	67.8±1.1	65.6±1.1
		10	98.9±1.1	100±0	98.9±1.1
	福岡県cf.2-3菌株	7	70±0	68.9±1.1	67.8±1.1
		10	97.8±1.1	100±0	98.9±1.1
とよのか	栃木県NM-1菌株	7	67.8±2.2	65.6±1.1	72.2±1.1
		10	100±0	95.5±2.2	97.8±1.1
	福島県麗紅菌株	7	66.7±1.9	72.2±1.1	68.9±2.2
		10	100±0	97.8±1.1	96.7±1.9
	静岡県SiN ₂ 19菌株	7	67.8±1.1	71.1±1.1	68.9±1.1
		10	98.9±1.1	100±0	97.8±2.2
	福岡県cf.2-3菌株	7	67.8±1.1	68.9±1.1	66.7±1.9
		10	100±0	97.8±1.1	95.6±1.1
とち おとめ	栃木県NM-1菌株	7	67.8±1.1	72.2±1.1	70±0
		10	100±0	98.9±1.1	100±0
	福島県麗紅菌株	7	67.8±1.1	67.8±1.1	67.8±1.1
		10	100±0	100±0	97.8±1.1
	静岡県SiN ₂ 19菌株	7	68.9±1.1	67.8±1.1	67.8±1.1
		10	100±0	98.9±1.1	97.8±1.1
	福岡県cf.2-3菌株	7	67.8±1.1	67.8±1.1	67.8±2.2
		10	100±0	98.9±1.1	97.8±1.1
宝交早生	栃木県NM-1菌株	7	67.8±1.1	70±0	67.8±1.1
		10	100±0	98.9±1.1	97.8±2.2
	福島県麗紅菌株	7	65.6±1.1	67.8±1.1	64.4±1.1
		10	100±0	98.9±1.1	100±0
	静岡県SiN ₂ 19菌株	7	66.7±0	65.5±2.2	63.3±0
		10	100±0	100±0	97.8±1.1
	福岡県cf.2-3菌株	7	66.7±1.9	72.2±1.1	66.7±1.9
		10	97.8±2.2	100±0	100±0
Dover	栃木県NM-1菌株	7	65.6±1.1	68.9±1.1	68.9±1.1
		10	100±0	100±0	100±0
	福島県麗紅菌株	7	67.8±2.2	64.4±1.1	67.8±1.1
		10	100±0	98.9±1.1	100±0
	静岡県SiN ₂ 19菌株	7	68.9±1.1	66.7±0	64.4±1.1
		10	100±0	100±0	96.7±1.9
	福岡県cf.2-3菌株	7	68.9±1.1	71.1±1.1	65.5±2.2
		10	97.8±1.1	100±0	98.9±1.1

注) a:病原菌接種は，1997年9月21日に行ない，供試葉は，病原菌接種20日後に無病徴株から採取した。
b:供試葉数は，接種株が30枚，無処理株で10枚とし，3反復した。±の数値は標準誤差を示す。

第125表 *Colletotrichum acutatum*によるイチゴ炭疽病菌潜在感染葉に対するエタノール浸漬簡易診断法
 (S D E I)による孢子塊形成小葉率と処理後日数との関係

供試材料	処理 方法	接種後 日数(日)	処理 温度	胞子塊形成小葉率および分離率（％）					
				5	7	10	12	15（日後）	
自然発病葉	S D E I		25	7.8±1.1	61.1±1.1	94.4±1.1	100±0	100±0	
			28	7.8±1.1	56.7±1.9	87.8±1.1	97.8±1.1	97.8±1.1	
	組織分離	無処理	25	66.7±1.3					
			28	0	7.8±1.1	11.1±1.1	14.4±1.1	18.9±1.1	
人工接種葉 <i>C.acutatum</i> (Na-91-016菌株)	S D E I	7	25	8.9±1.1	78.9±1.1	100±0	100±0	100±0	
			28	3.3±0	72.2±1.1	95.6±1.1	100±0	100±0	
		30	25	4.4±1.1	82.2±1.1	97.8±1.1	100±0	100±0	
			28	3.3±0	73.3±1.9	92.2±1.1	100±0	100±0	
	60	25	1.1±1.1	65.6±1.1	97.8±1.1	97.8±1.1	100±0		
		28	0	66.7±1.9	91.1±2.2	96.7±1.9	100±0		
		組織分離	60	25	68.9±2.2				
				28	0	8.9±1.1	11.1±1.1	15.6±1.1	21.1±2.2
	<i>Glomerella cingulata</i> (NM－1 菌株)	S D E I	30	25	4.4±1.1	58.9±1.1	77.8±1.1	95.6±1.1	100±0
				28	11.1±1.1	64.4±1.1	92.2±1.1	100±0	100±0
無 病 葉			25	0	0	0	0	0	
			28	0	0	0	0	0	
	組織分離			0					

注) 供試小葉数は、自然発病葉、接種葉で30枚、無病葉で20枚とし3反復した。±の数値は標準誤差を示す。

自然発病葉は、1995年6月16日に発病株率8.4%の露地平床育苗圃場の無病徴株の最下位小葉を採取した。

組織分離は、中間小葉中肋中間部を3mm角に切り出し、9小葉45切片を供し3反復した。

無処理は、殺菌蒸留水で2回洗浄した。

本病菌を1995年4月17日、5月17日および6月9日に噴霧接種し、無病徴株の最下位小葉を採取した。

第126表 イチゴ炭疽病菌(*Colletotrichum.acutatum*)潜在感染葉に対するS D E Iによって誘導された胞子塊の病原性

処理方法	供試葉	接種菌株の由来	接種方法	菌株名	発病の有無（発病数／供試数）	
エタノール 浸漬	自然発病葉	単胞子分離	噴霧接種	Etoh-ca01	+	（2／2）
				Etoh-ca02	+	（2／2）
		単胞子分離	刺傷接種	Etoh-ca01	+	（3／4）
				Etoh-ca02	+	（4／4）
	人工接種葉	胞子塊	刺傷接種	Etohm-ca01	+	（3／4）
				Etohm-ca02	+	（4／4）
		単胞子分離	噴霧接種	REt.016-1	+	（2／2）
			刺傷接種	REtn.016-1	+	（4／4）
		胞子塊	刺傷接種	REtm.016-1	+	（4／4）
組織分離	自然発病葉	単胞子分離	噴霧接種	Ts-ca01	+	（2／2）
				Ts-ca02	+	（2／2）
		単胞子分離	刺傷接種	Ts-ca01	+	（4／4）
				Ts-ca02	+	（4／4）
		胞子塊	刺傷接種	Tsm-ca01	+	（4／4）
				Tsm-ca02	+	（4／4）
	人工接種葉	単胞子分離	噴霧接種	R.o16-1	+	（2／2）
			刺傷接種	R.016-1	+	（4／4）
		胞子塊	刺傷接種	R.016-1	+	（3／4）
<i>C.acutatum</i>			噴霧接種		+	（2／2）
Na-91-016菌株接種			刺傷接種		+	（4／4）
無 接 種				噴霧接種	—	（0／2）
				刺傷接種	—	（0／3）

注) 病原性は接種10日後に調査した。＋は病原性あり，－はなしを示す。
 1995年6月15日に発病株率8.4%の育苗圃場の無病徴株から採取した。
 噴霧接種は，胞子塊から単胞子分離菌株を供した。
 単胞子分離由来の刺傷接種は，PDA培地上の胞子塊を直接昆虫針でかき取り接種した。
 葉上の胞子塊を直接昆虫針でかき取り接種した。

3)イチゴ輪斑病菌潜在感染株に対する診断標徴の誘導

イチゴ輪斑病(*Dendrophoma obuscurans*)の病徴は，はじめ紫赤色の小斑点を生じ，拡大するに従い中心部は壊死する。さらに進むと内部は灰色ないし灰褐色になり破れやすくなり，病斑の中央枯死表面に大型の分生子殻がまばらに形成される。育苗期を中心に葉，葉柄ならびに走茎に発生する一般的な病害である。梅雨時期から夏期にかけて発生が多く，本ば定植後は被害が少なくなる(岸1974)。また，潜在感染することが知られている

(Eshenaur and Milholland1989)。本病はイチゴ炭疽病(*G.cingulata*, *C.acutatum*)と混発し，初期の診断を誤ることがある。さらに，S D E Iによって潜在感染が判別でき，その誘導病徴は類似する。そこで，輪斑病菌と炭疽病菌との誘導標徴の判別方法について検討を加えた。

(1)誘導標徴

実験材料および方法

実験結果

本診断供試葉は、自然発病株、人工接種株および無病株から葉を採取して実験に供した。自然感染葉は、1995年7月10日に栃木農試内の発病株率7.3%の慣行露地平床育苗圃場の無病徴株の最下位葉を採取した。人工接種葉の作成は以下の方法で行った。本病接種菌は、栃木県農業試験場保存の*D. obuscurans* №320菌株をPDA平板培地で、25℃で7日間培養し、殺菌蒸留水で分生子を1ml当たり 10^6 個レベルに懸濁調整した。1995年6月25日および7月3日に噴霧接種した。接種株は、20℃の陽光恒温器に18時間保ち、その後25～35℃のガラス室で管理した。無病株は、接種株とは別棟のガラス室で管理した。供試葉は、自然発病葉、人工接種葉および無病葉で無病徴株の最下位中間葉を30枚供し、3反復した。それら供試葉は、2)-(1)同様に処理した。調査は、処理0、2、5、7、10、12および15日後に誘導される標徴を肉眼またはルーペ(4倍)で観察し、分生子殻形成小葉率を算出した。組織分離法では、置床10日後に本病菌形成コロニー数を調査し、分離コロニー率を算出した。いずれも、形成された分生子を光学顕微鏡で形態および大きさを観察し、種を決定した。

結果を第127表に示した。供試した自然発病葉および人工接種葉は、処理3、4日後から葉色が淡褐色に変色し、炭疽病の黒褐色の変色とは異なった。自然感染葉で処理5日後から淡褐色～褐色の分生子殻の形成が平均4%観察された。10日後には、黒褐色分生子殻孔口周囲に淡い琥珀色の胞子塊が86%観察された。処理15日後の分生子殻形成率は100%であった。組織分離法による分離率は、10日後42%で簡易診断法に比較して低率であった。人工接種葉では、接種7日後葉の簡易診断処理7日で59%、接種15日後で52%で、12日後には両供試葉で90%以上の分生子殻形成が確認された。分生子殻は、主に葉脈に沿って形成され、基部は植物組織内に埋没し、長い首を突出させ、大きさは、200～500 μmで(写真107)。無処理の胞子塊は、形成は低率で雑菌が生育した。分生子殻は、肉眼でも容易に観察でき、*G. cingulata*および*C. acutatum*の胞子塊はやや類似するが区別は可能であり、分生子殻および分生子塊は重要な判別標徴になった。分生子は、無色長円形で油胞を有し、 $5.0\sim7.5\times2.0\mu\text{m}$ である。なお、無病葉には分生子殻は形成されなかった。

第127表 イチゴ炭疽病菌(*Colletotrichum.acutatum*)潜在感染葉に対するエタノール浸漬簡易診断法(SDEI)による胞子塊形成小葉率と処理後期間との関係

供試材料	処理方法	接種後 日数	胞子塊形成小葉率および分離率(%)				
			5	7	10	12	15(日後)
自然発病葉	S D E I		4.4±1.1	61.1±1.1	85.6±1.1	94.4±1.1	94.4±1.1
					42.4±1.8		18.9±1.1
組織分離	無処理		0	5.6±1.1	8.9±1.1	12.2±1.1	100±0
	簡易診断	7	0	58.9±1.1	82.2±1.1	93.3±1.9	100±0
人工接種葉		15	0	52.2±1.1	77.8±1.1	91.1±1.1	
	組織分離				47.9±1.2		22.2±1.1
	無処理		0	5.6±1.1	8.9±1.1	13.3±1.9	0
	簡易診断		0	0	0	0	
	組織分離				0		

注) 各供試株の無病徴株の最下位小葉を採取した。30枚とし、3反復した。±の数値は標準誤差を示す。
 自然発病葉は、1997年7月10日に発病株率7.3%の露地育苗圃場から無病徴株の最下位小葉を採取した。
 組織分離は、中間小葉中肋中間部を切り出し、12小葉48切片を供し、3反復した。
 殺菌水で2回洗浄した。
 人工接種葉は、1995年6月25日および7月3日に本病菌を噴霧接種した。

(2) 誘導胞子塊の病原性

実験結果

実験材料および方法

誘導標徴由来菌株の病原性検定は、噴霧および刺傷接種で行った。接種菌の作成方法、接種方法および対照菌株は、前試験の病原性検定と同様である。発病調査は、接種10日後に接種葉柄の発病の有無を調べた。再分離は、全接種菌株の接種株および葉柄から常法に従い組織分離を行った。

結果を第128表に示した。誘導分生子殻由来の単胞子分離菌株のイチゴ葉および株に対する噴霧接種や刺傷接種によって、イチゴ輪斑病菌№320菌株同様の紫赤色の小斑点や病斑が形成され、原病徴が再現され、接種菌が再分離された。無接種では、発病しなかった。刺傷接種法は、噴霧接種に比較して簡便かつ正確であった。無病徴葉に対して簡易診断法を適用して誘導された分生子殻は、イチゴ輪斑病菌分生子殻であることが明らかになった。

第128表 イチゴ輪斑病(*Dendrophoma obuscurans*)潜在感染葉に対するエタノール浸漬簡易診断法によって誘導胞子塊の病原性

供試葉	処理方法	接種菌株の由来	接種方法	菌株名	発病の有無 ^a	(発病数/供試数) ^b
自然発病葉	簡易診断 ^c	単胞子分離	噴霧接種 ^d	Edo-01	+	(2/2)
				Edo-02	+	(2/2)
				Edo-03	+	(2/2)
			刺傷接種 ^e	Edo-01	+	(4/5)
				Edo-02	+	(5/5)
				Edo-03	+	(5/5)
				Edom-01	+	(4/5)
				Edom-02	+	(4/5)
			刺傷接種 ^f	Edom-03	+	(5/5)
				Tdos-01	+	(2/2)
				Tdos-02	+	(2/2)
		組織分離	噴霧接種	Tdos-01	+	(4/5)
				Tdos-02	+	(5/5)
			刺傷接種	Tdom-01	+	(5/5)
				Tdom-02	+	(3/5)
人工接種葉	組織分離	単胞子分離	噴霧接種	Do.320-1	+	(5/5)
			刺傷接種			
		胞子塊	刺傷接種	Do.320-1	+	(5/5)
イチゴ輪斑病菌 <i>D. obuscurans</i>			噴霧接種		+	(2/2)
					+	(5/5)
			刺傷接種		—	(0/2)
					—	(0/5)

注) a: +は病原性あり, —はなしを示す. b: 噴霧接種は2株, 刺傷接種には5葉柄を供試した.
c: エタノール浸漬簡易診断法を適用した. d: 噴霧接種は, 分生子殻由来胞子塊からの単胞子分離菌株を供した.
e: 単胞子分離由来の刺傷接種は, PDA培地上の胞子塊直接昆虫針でかき取り接種した.
f: 胞子塊由来の刺傷接種は, 供試葉上またはPDA培地上の分生子殻を直接昆虫針でかき取り接種した.

(3) 誘導標徴に対する水滴滴下による変化

本診断法によるイチゴ輪斑病の誘導標徴は、炭疽病のそれと色や形態で類似点がある。そこで、それらの誘導標徴を炭疽病(*G.cingulata*, *C. acutatum*)と比較し、本診断法の精度、信頼性をさらに向上させる方法を検討した。

実験材料および方法

供試菌株は、*G.cingulata* NM-1, *C.acutatum* Na-91-016および*D.obuscurans* №320菌株とした。供試株は、以下の方法で作成した。供試菌をPDA平板培地で、25℃7日間培養後、殺菌蒸留水で分生子を1ml当たり 10^4 個レベルに懸濁調整した。病原菌の接種は、1995年9月28日、各病原菌孢子懸濁液を株当たり各々5ml噴霧接種した。その後、20℃の陽光恒温器に18時間保ち、ガラス室(15~35℃)において底面給水で管理した。接種15日後に無病徴株の最下位葉から15中間小葉を採取した。供試葉は、本診断法に従い処理し、処理10日後に誘導病斑上の分生子殻および分生子層由来孢子塊に対して蒸留水をスポイトで1、2滴を滴下し、その後の変化を観察した。誘導病斑由来の菌株の病原性検定は、10月23日に各処理の水滴滴下前の標徴から3本束の昆虫針で5カ所をかき取り、葉柄に刺傷接種し、10日後に発病の有無を観察した。

実験結果

炭疽病(*G.cingulata*, *C.acutatum*)および輪斑病の誘導標徴に対する水滴滴下による変化について検討した。本診断法による輪斑病誘導分生子殻に水滴を滴下すると、既に噴出している淡い琥珀色の孢子塊が白色に変化し、さらに、分生子殻内部の分生子が孔口から白色ひも状にゆるやかに噴出し、動的にも肉眼観察された(写真108)。両種の炭疽病菌孢子塊は、崩壊し乳白濁した濃厚な孢子懸濁液状になり、輪斑病菌の分生子殻、分生子塊とは容易に区別できた。また、分生子層および分生子殻由来菌株は、無病イチゴ葉柄に対する刺傷接種により、それぞれ原病徴が再現された。

4) 潜在感染株に対するエタノール浸漬簡易診断法の現地適用

一般にイチゴ栽培者は、イチゴ炭疽病(*G.cingulata*, *C.acutatum*)潜在感染株が重要な伝染源であることの認

識が十分でなく、潜在感染株を親株や収穫圃場定植苗として使用し、萎凋枯死などの大きな被害を受けている。また、潜在感染株が、次年度用の親株や共同育苗施設での原苗として使用された場合、第一次伝染源になり、個人圃場および苗配布地域に一気に被害が拡大する要因になる(築尾 1994, 石川1992a, Ishikawa2003, 2004b, 岡山1993)。そこで、SDEIを用いて、本病の育苗圃場における伝搬および潜在感染株の発生状況、潜在感染と診断した株の萎凋枯死株の発生や現地収穫圃場定植苗の潜在感染株の混入程度について検討した。

(1) 露地育苗床における潜在感染株の拡大

実験材料および方法

1995年7月2日に生物検定用株を葉数5枚に調整し、幅2.5 m、長さ6.5 mの育苗床に50cm間隔の方形に品種女峰を移植した。伝染源株は、1995年7月3日に*G.cingulata*NM-1菌株をPDA平板培地で28℃7日間培養し、分生子を1ml当たり 10^4 個レベルに懸濁調整して噴霧接種した。伝染源は、葉柄に分生子層の形成を確認した株で、7月15~29日の15日間、無病株の中央に移植し暴露した。対照として、伝染源を設置せず、検定株と同様に栽培した株を本育苗床とは隔絶した圃場に移植した。調査は、伝染源設置および無設置区の発病程度を実験開始7および14日後に0：発病なし、1：斑点型病斑が発生、2：分生子層形成、3：萎凋、4：枯死の段階に類別して調査した。さらに、そのつど検定株の最下葉を採取して本簡易診断法を適用して処理10日後に肉眼で孢子塊の形成を観察して、潜在感染の有無を調査した。暴露期間中の気象条件は、降雨が5回あり、最高21mm、計35.5mmの降水量があった。風向は全方位からあり、最大風速は7.4mで降雨時の最大風速は、4.9mであった。気温は、20.8~29.6℃、平均気温は、27.9℃、相対湿度64~88%であった。なお、灌水は降雨のない日にイチゴ株頭上からノズル散水した。

発病株および誘導孢子塊の病原性検定は、伝染源設置2週間後に誘導孢子塊を3本束の昆虫針でかき取り、12cmビニルポットに1株ずつ植えたイチゴ株葉柄に2~3回刺し接種し、接種7日後に発病の有無を調査した。供試孢子塊数は、12個で1孢子塊当たり3葉柄で、対照菌株は、*G.cingulata* NM-1菌株とした。

実験結果

結果を第27図に示した。伝染源設置までの7月2日～15日まで検定株には発病は観察されなかった。伝染源設置7日後の調査では、外見健全株率63%、斑点型病斑発生率28%、分生子層形成株率9.4%、萎凋株率および枯死株率0%であった。本診断の結果、無病徴株由来の検定葉の65%に孢子塊が形成された。伝染源からの最も遠い斑点型病斑発生株は、2.1mであったが、本診断法では2.7mでより遠い距離の潜在感染を診断できた。設置14日後の調査では、斑点型病斑株率66%、分生子層形成株率8%、萎凋株率11%で圃場全体に本病が蔓延し、発病程度が高くなった。S D E Iにより無病徴株の70%に

潜在感染が認められた。斑点型病斑発生株は、伝染源から約3.1mの距離であったが、簡易診断では3.3mの距離まで診断できた。本診断法が、斑点型病斑発生観察に比較してより正確に飛散距離を把握できた。また、発病程度は伝染源に近いほど同心円状に高くなった。対照圃場の検定株は、発病が観察および本診断法によっても検出されなかった。なお、誘導孢子塊および組織分離由来孢子塊の針接種によって原病徴が再現され、その病斑から接種菌が再分離された。

H	L i	L i	L i	L i	L i	●	●	L i	L i	L i	H	H
H	L i	L i	L i	●	●	▲	▲	●	●	●	H	H
H	L i	L i	L i	●	▲	■	▲	●	●	●	H	H
H	L i	L i	L i	●	▲	▲	●	●	●	L i	L i	H
H	H	L i	L i	●	L i	●	●	L i	L i	L i	L i	H

伝染源設置 1 週間後

L i	L i	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	H
H	L i	●	●	●	▲	■	■	■	●	●	●	●
L i	●	●	●	●	■	★	■	▲	●	●	●	●
L i	●	●	●	●	■	■	●	●	●	●	●	●
L i	L i	●	●	●	●	▲	●	●	●	●	●	H

伝染源設置 2 週間後

第27図 露地育苗床における *Glomerella cingulata* によるイチゴ炭疽病の伝搬と S D E I による潜在感染株の検出

発病程度：○：外見健全，●：斑点型病斑が発生，太枠は伝染源設置場所
▲：分生子層を形成，■：萎凋，★：枯死。 H：外見健全な潜在感染株

L i：S D E I による潜在感染株 イチゴ株は株間及び畝間50cmの方形植え。

(2) 潜在感染葉採取元株の萎凋枯死株発生率

実験材料および方法

供試材料は、本病が自然発病した試験場栽培株および現地農家栽培株の2種類を供した。試験場栽培株は、露地ポット育苗栽培の品種とちおとめを用いた。供試株は、3000株の内、葉および葉柄に斑点型病斑発病株率が12%の圃場由来である。現地栽培株は、栃木県二宮町イチゴ農家の露地ポット育苗の品種女峰を用いた。供試株は、1プロット2500ポット株の内、葉および葉柄に斑点型病斑発病株率が4.4%の圃場由来株である。両供試圃場の斑点型病斑株以外の発病株は、圃場外に撤去されていた。両供試株の本葉数は、4～5枚であった。

供試株は、まず無病徴株と斑点型病斑発病株とに類別した。さらに、無病徴株は、最下位葉を供して、本診断法によって処理10日後に分生子層の形成の有無によって潜在感染株と非潜在感染株とに類別した。供試葉の採取および本診断処理は、農試供試株は、1996年9月17日、現地栽培供試株は、9月19日に行った。農試供試株は、潜在感染株、非潜在感染株および斑点型病斑株を30株とし3反復した。現地栽培株も農試株と同様に類別し、30株を4反復した。供試株は1株ごと直径2cmの穴を上部

に4つ開けたポリエチレン袋(厚さ0.03×横300×縦450mm)に入れ多湿条件とし、28℃、12時間照明の陽光定温器(3000Lx)に収めた。灌水は、ポリエチレン袋中の塩化ポリエチレン製収穫パック500g用以供試株を収め底面給水させた。調査は、萎凋枯死株率を処理開始から7日間隔で第5週まで調査した。発病株の病原性検定は、組織分離によって形成された分生子層由来胞子塊を3本束の昆虫針でかき取り、葉柄に刺傷接種し7日後に発病の有無を調査した。供試胞子塊数は、各々6個で、1胞子塊当たり3葉柄とした。組織分離法は、常法により行った。対照菌株は、*G. cingulata* NM-1菌株とし、前試験と同様に接種した。

実験結果

結果を第129表に示した。試験場内株を供した試験では、斑点型病斑発病株の萎凋枯死症状は35日後に95%と高率であった。潜在感染株は、35日後で83%であった。簡易診断法検定の結果、非潜在感染株とした枯死率は、28日後で2%、35日後で6%であった。非潜在感染とした株の萎凋枯死株率は、潜在感染株とした株に比較して著しく低率であった。

第129表 エタノール浸漬簡易診断法によってイチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)潜在感染としたイチゴ株の発病条件下での萎凋枯死株の発生率

供試株 の由来	供試株 ^a	診断 結果 ^b	萎凋枯死株率(%) ^c				
			7	14	21	28	35(日後)
試験 場栽 培株 ^d	無病徴株	+	0	2.2±1.1	23.3±1.9	73.3±3.3	83.3±1.9
	無病徴株	—	0	0	0	2.2±1.1	5.6±1.1
	斑点型病斑株		0	5.6±1.1	31.1±1.1	85.5±2.2	94.5±2.2
現地 栽培 株 ^e	無病徴株	+	0	1.7±1.0	12.5±1.6	49.2±0.8	70±1.3
	無病徴株	—	0	0	0	2.5±1.6	6.7±1.4
	斑点型病斑株		0	4.2±1.6	14.2±0.9	40.8±0.8	77.5±3.7
	無病株		0	0	0	0	0

注) a: 供試株は直径2cmの穴を上部に4つ開けたポリエチレン袋に収め、28℃、12時間照明陽光定温器内で底面給水で水管理した。

b: +: 簡易診断により分生子層由来胞子塊が形成された潜在感染株。—: 簡易診断による健全株

c: 試験場栽培株の供試株数は、各処理30株を3反復、現地栽培株は、4反復した。±の数値は標準誤差を示す。

d: 1996年9月17日、斑点型病斑株率が12%の圃場から最下位小葉を採取した。

e: 9月19日、斑点型病斑株率が4.4%の圃場から最下位小葉を採取した。

(3) 現地収穫圃場定植苗への適用

実験材料および方法

栃木県内の収穫圃場定植株に対して S D E I を適用し、炭疽病感染状況および収穫終了直前の萎凋枯死株率を調査した。供試葉採取日および供試圃場は、1996年10月1日に宇都宮市、二宮町、10月2日に鹿沼市、栃木市合計4市町12カ所である。全供試圃場の定植苗は、外観観察から斑点型病斑および萎凋枯死症状が観察されない本葉を3～5枚に調整された無病微株である。供試葉は、定植苗の最下位中間小葉を1畝200株から無作為に30枚ずつ採取し、4反復した。また、同時に最終薬剤散布日および薬剤名を聞き取り調査した。採取葉は、試験場に持ち帰り、4℃の低温恒温器に保ち、翌日に本診断法を適用した。調査は、処理10日後に誘導された孢子塊の形成を肉眼観察し、形成率を算出した。イチゴ輪斑病菌分生子殻が誘導形成された場合も、合わせて観察調査した。また、処理14日後に誘導孢子塊および分離コロニーを光学顕微鏡で観察し、分生子の形態および大きさから種を決定した。なお、全供試収穫圃場は、臭化メチル剤により土壌薫蒸消毒処理されていた。収穫圃場での本病の発生調査は、収穫終了直前の1997年5月25日～6月10日に簡易診断供試葉採取畝の200株を合計800株に対して、萎凋枯死株数を調査し、発生株率を算出した。本病による萎凋枯死症状の診断は、小葉に奇形症状がないことを確認後、根冠部を切断して褐変症状を観察した。萎凋株の一部は、栃木農業試験場に持ち帰り、常法に従い組織分離した。

誘導標徴由来菌の病原性検定は、分生子層および分生子殻由来の孢子塊を3本束の昆虫針で各圃場3孢子塊ずつかき取り、無病イチゴ葉柄に刺傷接種した。発病調査は、接種10日後に調査した。対照菌株は、*G. cingulata* N M-1およびイチゴ輪斑病菌 №320 菌株とした。

実験結果

結果を第130表に示した。炭疽病潜在感染と診断された圃場は、圃場率で83.3%と高率で、潜在感染小葉率は、平均3～18%であった。また、同時にイチゴ輪斑病の分生子殻標徴も誘導され、小葉率で1～3%、発生圃場率で58.3%であった。2圃場で同一小葉に炭疽病菌と輪斑病菌が同時に誘導された。誘導された炭疽病菌の分生

子は、光学顕微鏡観察の結果から形態と大きさから *G. cingulata* (= *C. gloeosporioides*) と同定された。両誘導病斑標徴由来菌株の病原性検定結果、全接種葉柄に対照菌株同様の原病徴が再現され、誘導標徴が炭疽病および輪斑病であった。薬剤散布は、台風17号が栃木県を1996年9月22日に通過し、宇都宮市で最大風速22m、降雨量98.5mmの強風と大雨をもたらした。9月23日を中心にはほぼ一斉に薬剤散布がなされ、簡易診断までの期間がほぼ統一された。使用薬剤および使用方法は、プロピネブ水和剤、ピテルタノール水和剤の散布およびベノミル水和剤の浸漬処理であった。本診断の適用は、薬剤の散布圃場で8、9日後であったが本診断方法は適用できた。収穫終了直前の萎凋枯死株率は、本診断法で潜在感染小葉率を0%と診断した2圃場は、その後萎凋枯死株の発生は観察されなかった。また、宇都宮市ka2圃場は、3%の潜在感染株率と診断したが萎凋枯死株は発生しなかった。本病潜在感染株が定植され圃場では、萎凋枯死株が1～3%発生した。萎凋枯死株は、根冠部切断および萎凋株からの病原菌分離および病原性検定の結果、本病による萎凋枯死症状であった。

**第130表 現地収穫圃場定植イチゴ株に対するエタノール浸漬簡易診断法適用による炭疽病
 (*Glomerella cingulata*)および輪斑病(*Dendrophoma obuscurans*)標徴の誘導小葉率と萎凋枯死株
 率との関係**

供試圃場 ^a	誘導小葉率 (%) ^b			直近の使用 殺菌剤名	使用月日 (月/日)	萎凋枯死 ^c 株率 (%)
	炭疽病	輪斑病	炭疽病+輪斑病			
宇都宮市Ka-1	7.5±0.8	0	0	プロビネブ水和剤散布	(9/23)	0.8±0.5
Ka-2	2.5±1.6	0	0	ベノミル水和剤灌注	(9/23)	0
二宮町Mo	9.2±1.6	0.8±0.8	0	ビテルタノール水和剤散布	(9/24)	1.3±0.4
Na	9.2±2.1	2.5±1.6	0.8±0.8	ビテルタノール水和剤散布	(9/23)	1.3±0.1
ku	0	0	0	プロビネブ水和剤散布	(9/23)	0
Ak	10±1.3	3.3±1.4	0	プロビネブ水和剤散布	(9/23)	1.4±0.2
鹿沼市Ab	13.3±1.4	3.3±1.4	1.7±1.0	プロビネブ水和剤散布	(9/23)	2.3±0.1
Sa	17.5±2.8	1.7±1.0	0	プロビネブ水和剤散布	(9/23)	2.5±0.6
Ma	8.4±1.0	0	0	ビテルタノール水和剤散布	(9/23)	0.9±0.5
Mo	0	0	0	プロビネブ水和剤散布	(9/23)	0
栃木市Oh	15.9±2.1	1.7±1.0	0	ベノミル水和剤浸漬	(9/1)	1.9±0.1
Ya	12.5±1.6	2.5±1.6	0	プロビネブ水和剤散布	(9/23)	0.9±0.5

注) a:採取時期は、宇都宮市および二宮町は1996年10月1日、鹿沼市および栃木市は10月2日。

b:供試葉は、無病徴株の最下位中間小葉を1畝200株から30枚を採取し、4反復した。処理10日後に誘導標徴を肉眼および光学顕微鏡で観察した。±の数値は標準誤差を示す。

c:萎凋枯死株は、1997年5月25～6月10日に、採取畝の200株全株を調査し、4反復した。

5)考察

炭疽病菌の潜在感染は、イチゴ(秋田1993a, 築尾1994, Horn and Carver1968, 石川1989, 稲田1998, 岡山1994, 山本1971), クワ(青木1941, 白田1993), クリ(内田1976), カンキツ(Brown1975), みかん(山田1959), モモ(山内1959, 北島1949, 伊東1956), チャ(山本・野津1962), リンゴ(有馬・尾沢1963, 尾沢1965), カキ(伊東1956), ブドウ(石井1962, 1964, 1966, 山本ら1960), テンサイ(築尾1990), パナナ(Muirhead1981), アボガド(Binyamini1972), 広葉樹(寺下1973), 熱帯果樹(Simmonds1941, 1963), シクラメン(山崎1996), 雑草(Cerkauskas1988)などで知られている。その中で、重要園芸品目であるイチゴの炭疽病菌潜在感染を正確かつ簡

易に診断することは、本病を防除するために極めて重要である。これまでの潜在感染株診断方法は、岡山ら(1993)が、イチゴ株をポリエチレン袋に収め、28℃30日間置き発病の有無で判定した。しかし、検体は、軟弱徒長して栽培にも不適になり、他の病害によっても萎凋枯死するなどの問題点を有していた。有江ら(1992)は、*C. fragariae*に対する抗体を作製し、また、加藤らは(1993), DIBA法による寄主からの検出を試みた。しかし、これらの方法は、検体部位による誤差が想像され、さらなる検討が必要であると思われる。一方、白田(1993)は、クワ炭疽病菌潜在感染葉にUVを照射すると、病斑が誘導されると報告した。そこで、イチゴ炭疽病菌潜在感染株への新たに考案したSDEIおよびUV照射法(白田1993)の適用を検討した。本病自然発病葉および人工接種株の無病徴葉に対するSDEIおよびUV照射法を適用したところ、5日後から黒褐色病斑上に鮭肉色の分生

子層由来の孢子塊が形成されはじめ、10日後には100%近くに達し、常法の組織分離法に比較して、孢子塊誘導率が高かった。本診断法およびUV照射法の誘導孢子塊は、病原性検定により本病菌であることが確認された。両方法によって潜在感染葉を処理すると、肉眼で識別できるマーカーである鮭肉色の孢子塊を誘導できることが明らかになった。

SDEIは、UV照射法に比較して、孢子塊の誘導形成期間が短く、かつ誘導率が高かった。また、処理時間は、UV照射法が6分間照射するのに対しエタノール浸漬処理法は30秒間の処理であるので、簡便で普及性が高いと考えられる。白田(1993)は、クワ炭疽病菌潜在感染葉に対するUV照射で、潜在感染部分は病斑類似斑として出現し、そこに分生子層・分生子および剛毛が形成を観察している。しかし、イチゴ炭疽病の葉における病斑は、直径2, 3mmの黒色斑点病斑(Howard and Albrechts 1983, 石川ら1989b,d)であり、誘導病斑とは類似していなかった。しかし、葉縁部に発生する黒色の大型病斑(石川ら1989e)には類似していた。また、誘導された孢子塊は、自然発病圃場の高温多湿条件下で葉柄やランナーに観察される標徴と同様であった(石川ら1989d, 山本1971)。

誘導孢子塊の簡易病原性検定は、SDEI普及において必要になる。イチゴ葉柄に誘導孢子塊を昆虫針で掻き取り接種する方法は、単孢子分離菌株の噴霧接種法と同様に正確に病原性を確認できた。本接種法は、簡便かつ正確で現地での病原性検定法として適していると考えられる。

白田(1993)は、UV処理葉片と非照射片をPDA培地に置床し、非照射葉は雑菌が多く分離され炭疽病の分離が困難であったとしている。本試験の無処理葉孢子塊形成は、両処理法に比較して、形成時期が遅延し形成率も低く、しばしば雑菌が検定葉を覆い観察には不適であった。しかし、両処理によって孢子塊形成は、高率になり、かつ観察も容易になった。これは、SDEI, UV照射処理によって、葉面微生物(いわゆる雑菌)の多くが死滅したためと考えられる。

白田(1993)は、UV照射処理後の温度条件については未検討である。SDEI処理の孢子塊形成は、28℃の培養温度が最も高率であった。最適培養温度の28℃は、本病菌菌糸の最適生育温度とほぼ同一であった(石川ら1989e, 岡山1994, 山本1971)。また、山崎ら(1996)は、シクラメン炭疽病(*G. cingulata*)に対して本法を適用し、孢子塊誘導に28℃が最適であるとし、本報告と一致する。

SDEIの感染後の適用期間は、潜在感染後1~180

日の長期間適用できる。次年度用の原苗や親株に対して秋期診断すると、本病の発生盛期である春期~夏期の潜在感染を診断できると考えられる。孢子塊形成と葉位との関係では、生育期間の長い下位葉ほど高率であることが明らかになった。これは本病の二次伝染は、降雨や灌水による分生子の水はね伝染(石川1993a,b, Okayama 1993)に起因するので、生育期間の長い下位葉ほど分生子の飛散を受ける場面が多く、かつ長かったためと考えられる。下位葉は、一般的に下葉かき作業で除去され、ダニ密度の低下にもつながり(合田1985)、生育にも支障をきたさないで、検定葉として最適であると考えられる。

本診断法が広く普及する場合、品種および病原菌株の差異によって孢子塊誘導小葉率に差異があると普及性に乏しくなる。また、本病は、明確な抵抗性がありそれも考慮する必要がある。そこで、品種および菌株の影響を検討した。供試5品種は、宝交早生、Doverが抵抗性、女峰、とよのかおよびとちおとめが罹病性であると類別されるが(Howard *et al.* 1992, 池田1987, 石川ら1989d, 岡山1989b)抵抗性の強弱に関係なく孢子塊形成に要する期間、形成率は、大きな差は認められなかった。また、菌株間および葉位にも大きな差は認められなかった。このことから、本法は、品種間の罹病性、菌株の差異による孢子塊形成への影響は少ないと考えられる。

*C. acutatum*による炭疽病も*G. cingulata*と同様に潜在感染し、無病株との外観からの判別は極めて困難である(築尾1994, Ishikawa 2004a, Simmonds 1965)。本病菌の潜在感染を簡易かつ正確に診断することも極めて重要である。*C. acutatum*に対して本診断法を適用したところ、処理5日後から黒褐色病斑上に鮭肉色の孢子塊形成が認められ、10日後には、形成小葉率が90%に達した。孢子塊の病原性も確認され、本病菌であることが確認できた。*C. acutatum*の誘導標徴は、*G. cingulata*のそれと比較して気中菌糸および孢子塊の形成量がやや多かった。*C. acutatum*ならびに*G. cingulata*の潜在感染に対して本診断法を適用すると、本病の重要な標徴である鮭肉色の孢子塊が形成され、それをマーカーにして容易に潜在感染葉と診断できた。しかし、2種の炭疽病菌の種を決定する標徴としては不十分であった。最終的な種の決定は、顕微鏡観察により分生子の形態が紡錘形か円筒形(Sutton 1980)かで、診断する必要があると考えられる。

現在のところ、SDEIによる病斑顕在化の作用機構については不明である。バナナ炭疽病では、潜在感染菌による発病が果実組織への侵入菌糸でなく、付着器からの再発芽によることが知られている(Muirhead and

Daverall1982). その付着器は、UV, 昇汞に対して耐性であることから、本病菌の付着器もエタノールにも耐性であると想像されるが、葉組織内で無病徴的に感染していた菌糸による可能もあり、潜在感染の形態については、今後の研究課題である。

イチゴ輪斑病は、育苗期を中心に葉、葉柄ならびにランナーに発生する一般的な病害である。梅雨時期から夏期にかけて発生が多く、本ぼ定植後は被害が少なくなる(岸1974)。本病はイチゴ炭疽病 (*G. cingulata*, *C. acutatum*)と混発し、初期の診断を誤ることがある。また、本病は、変温条件下で 80日間潜在感染することが知られている(Eshenaur1989)。また、SDEIによって標徴が誘導され、それは炭疽病菌誘導標徴にやや類似している。そこで、炭疽病と輪斑病の誘導標徴に対するより明確な判別方法を得るため、3病原菌の誘導標徴に対して、水滴滴下を試みた。その結果、輪斑病菌の既に噴出している淡琥珀色の胞子塊が、白色に変化した。さらに、分生子殻内部の分生子が孔口からひも状に緩やかに噴出し、動的にも肉眼観察された。炭疽病の胞子塊は、両種とも分生子層が崩壊し、乳白色の濃厚な胞子懸濁液になり、輪斑病の分生子殻、分生子塊とは容易に区別できた。水滴滴下法は、炭疽病か輪斑病の診断のより正確な診断の補助技術である。

処理温度は、現場での普及を考慮するとき、一水準が望ましい。最適菌糸生育温度は、*C. acutatum* (石川ら1992b, Simmonds1965)が25℃前後、*G. cingulata* (石川ら1989e, 岡山ら1988, 1989c)が28℃前後、イチゴ輪斑病菌が28～30℃(岸1974)であり、*G. cingulata*と*D. obusculance*はほぼ一致するが、*C. acutatum*とは一致しない。しかし、胞子塊形成には、25℃および28℃でも大きな差はなかった。また、Ishikawa(2004a)は、本診断法をイチゴ萎黄病菌(*Fusarium oxysporum* f.sp.*fragariae*)に適用し、28℃で托葉部維管束に診断マーカーの白色菌糸塊の誘導に成功している。今後の本診断法の普及性から、処理温度は28℃が最適であると考えられる。

岡山(1994)は、斑点型病斑を飛散の目印にして伝搬状況を検討し、プラスチックフィルム障壁が第二次伝染防止に効果が高いとしている。しかし、本病は潜在感染するので、斑点型病斑の発生が飛散範囲を示さない。そこで、SDEIを用いて、露地育苗床における伝染源からの伝搬について検討した。露地育苗圃場において、伝染源設置7日後の調査では、発病株は38%であった。しかし、本診断の結果、潜在感染株率が82%で高い発生が明らかになった。また、飛散距離は、病斑観察に比較して、より長い伝搬が確認できた。本病の伝搬は、伝染源から

同心円状に広がり、発病程度は伝染源から離れるほど軽くなり、既報(築尾1991, 岡山1989c)と一致した。発病株や潜在感染株が、雨除け栽培や底面給水(石川ら1989f, 1993, Okayama1993, 松尾1993)がなされていない育苗圃場に混入した場合、本モデルと同様に圃場全体に蔓延すると思われる。

次に、自然発病条件下において、本診断法によって潜在感染とされた株の萎凋枯死株発生を発病条件下で調査した。斑点型病斑発病株の35日後の萎凋枯死率は平均78～95%、潜在感染株とされた検定株の枯死株率は70～83%と高かった。また、潜在感染株としなかった株の萎凋枯死率は、6～7%で、潜在感染と診断した株に比較して著しく低かった。ここで用いた高温多湿の発病最適条件下での潜在感染株の発病誘導法は、岡山(1993)の潜在感染株の判別方法とほぼ同様であるが、この方法は、検体に与える被害が大きく、他の病害によっても萎凋枯死することから診断技術として改良の余地があると考えられる。本研究から、無病徴株の簡易診断により、潜在感染とされた株の萎凋枯死率は、それとされなかった株に比較して、著しく高率であるので、本方法を用いれば、潜在感染株を効率的に除去できることが明らかになった。

栃木県内の主要イチゴ産地4市町12収穫圃の定植株に対して本診断法を適用して潜在感染株の混入、その後の萎凋枯死症状の発生について検討した。炭疽病潜在感染株定植と診断した圃場は、83%、それらの潜在感染小葉率は、3～18%で、潜在感染株の県内における広く、高率に定植されていることが確認できた。発生している炭疽病は、分生子の形態および大きさから *G. cingulata* (= *C. gloeosporioides*)であった。イチゴ輪斑病も潜在感染し、広く発生していることが明らかになった。岸(1974)は、イチゴ輪斑病の分布調査を行い、本病は栃木県を含めて広く分布し、一般的な病害であるとする報告に一致した。我国における輪斑病の発生は、育苗圃場での葉枯れ症状による被害が一般的であるが、アメリカでは果実腐敗を起こし問題となっている(Howard and Albregts1973)。イチゴ輪斑病も作型の変化により、果実被害の発生も考えられるので留意する必要がある。本診断法で潜在感染小葉率を0%と診断した圃場は、収穫終了直前まで萎凋枯死株は観察されなかった。しかし、本簡易診断で潜在感染と診断された圃場の萎凋枯死株率は1～3%であり、大きな被害を与えた。宇都宮市ka2圃場では、3%の潜在感染株率であったが、萎凋枯死株の発生は0%であった。これは、感染が軽微であったことや、ベノミル水和剤灌注処理以外に株浸漬処理も実施されているので、その防除効果が高かったことによると

考えられる。本研究に供した全収穫圃場は、臭化メチル剤により土壌消毒されており、本剤の防除効果は高いことから、土壌からの伝搬は考えにくい(石川ら1989, 篠原・植松1989, 岡山1989)。供試圃場での萎凋枯死株の発生は、潜在感染株の持ち込みによる発生と考えられる。

薬剤の簡易診断法に及ぼす影響について検討は加えていない。しかし、台風17号が栃木県を9月22日に通過により、薬剤散布は9月23日を中心に薬剤散布がなされ、簡易診断までの期間がほぼ統一された。主要使用薬剤は、プロピネブ水和剤、ペノミル水和剤およびピテルタノール水和剤で、本診断8, 9日後であったが影響は少ないと考えられる。これは、本診断法の前処理として流水で検定葉を良く洗浄すること、その後のエタノール浸漬処理における殺菌水での洗浄処理があり薬剤が少なからず除去されたためと考えられる。しかし、今後本診断に及ぼす薬剤の影響については検討する必要があると考えられる。

本研究により、イチゴ炭疽病潜在感染葉に対してSDEIおよびUV照射によって本病菌の識別標徴である鮭肉色の孢子塊を容易に誘導できること、特にSDEIは優れていることが明らかになった。イチゴ炭疽病菌(*G. cingulata*, *C. acutatum*)、イチゴ輪斑病に対しても適用できることが明らかになった。また、自然発病条件下の一般慣行栽培において、SDEIがイチゴ炭疽病、輪斑病の潜在感染診断に適用でき、効率的に潜在感染株を除去できることが明らかになった。山崎ら(1996)は、シクラメン炭疽病(*G. cingulata*)に対して本法を適用し、孢子塊誘導に成功している。また、白田(1993)は、UV処理によってクワ炭疽病の発生予察への利用を示唆している。SDEIにおいても、イチゴ炭疽病、輪斑病および萎黄病の発生予察法として利用できる可能性もある。SDEIは、イチゴ無病苗増殖システムの中で、無病苗選抜に活用できる有効な診断技術である。本方法は、病害防除の基本である伝染源を持ち込まない、持ち込ませない手段として極めて有効であると考えられる。

VIII 総合考察

本研究は、イチゴ品種女峰、とよのかの普及にともない急激に各地で発生し、大きな問題となっているイチゴ炭疽病について、その発生要因を明らかにし、環境に配慮した防除対策確立を目的として行なわれたものである。

本研究の結果、本病菌の性状、伝染経路、発病環境を

解明し、耕種的防除法、物理的防除法、圃場衛生向上法、化学的防除法、生物的防除法および潜在感染株の簡易診断法等を新たに解明または開発した。炭疽病の病原菌としては、我国未報告の*Colletotrichum acutatum*を新たに追加した。*G. cingulata*および*C. acutatum*の発生生態研究の新手段としてnit変異株利用の可能性を示した。防除方法では、潜在感染株の簡易な診断法(SDEI)を開発し、雨除け栽培、底面給水法による発病抑制効果を実証した。さらに、イチゴ栽培で排出される罹病残渣を嫌氣的発酵処理で不活化できることを発見して実用化させた。防除薬剤の種類、使用方法を検討し防除方法を確立した。加えて、本病菌に対する拮抗糸状菌を発見し、生物農薬タラロマイセスフラバス水和剤を世界で初めて開発し、上市させた。さらに、その防除メカニズムを明らかにした。ここにイチゴ炭疽病に対する得られた実験結果に基づき考察を試みる。

イチゴ炭疽病は、1931年にBrooksによりアメリカで初めて報告され、我国では、1970年に山本・福西によって報告された。しかし、1980後半までは被害は少なかったところが、イチゴ品種女峰、とよのかの普及に伴い本病が各地で発生し、育苗圃および収穫圃での萎凋枯死株が多発生し、大きな問題となった(石川ら1989)。

本病は、生育全期間を通して発病する。まず、4月～7月中旬の親株床では、潜在感染株または軽度の罹病親株が発病し、子苗へ発病蔓延する。7月中旬～9月中旬の育苗期間は、発病適温になり萎凋枯死症状が多発生し、発病最盛期になる。さらに、9月中旬～5月、収穫圃の潜在感染株が、定植後、保温開始後および収穫後期に発病し萎凋枯死する。この発病パターンは、本研究から明らかになった菌糸生育適温の28℃、好適分生子発芽温度の15～35℃および孢子塊形成最適温度25℃の各温度は、本病の初発時期から発生盛期の温度と良く符号する。

本病菌をArx(1957)およびSutton(1980)の検索表に従い、*Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding & Schrenk. (不完全世代:*Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Saccardo)と同定した。ところで、Howard and Albregts(1984)は、炭疽病の根冠部から分離された*G. cingulata*の分生子層は帯白色半透明で分生子が小型であるのに対して、*C. fragariae*の分生子はそれよりも大きく、分生子層は鮭肉色であると報告し、両者が系統的に異なることを示唆した。本病菌も上述のように鮭肉色の分生子層を持ち、分生子も比較的大きいことから、*C. fragariae*として扱われてきた系統に近いものと考えられる。また、Smith and Black(1990)は、*C. fragariae*を分生子の形態、大きさ、剛毛

にも分生子を形成することから別種としている。このように、本病菌の所属は、混乱している。しかし、本研究で用いた病原菌は、完全世代を形成し、子のう殻は現地罹病残渣上でも容易に観察され、シクラメン等に病原性を有することから *G. cingulata* (= *C. gloeosporioides*) と同定され、この混乱の中にはない。

本病菌の宿主範囲検討では、全国から収集した本病菌とシクラメン炭疽病菌 (*G. cingulata*) の相互接種や頭上灌水による発病株からの相互伝搬実験でも病原性が認められた。両病害は、圃場レベルでも相互寄生する可能性が示唆される。

本病 (*G. cingulata*) の越冬形態について、山本(1971) は発病圃場由来イチゴ株の越冬後発病を観察し、感染株で越冬すると考えた。一方、Carver and Horn(1966) は発病圃場から無病徴株を採集し、越冬後根冠部から本病菌を分離にし、根冠部で越冬するとした。また、Horn and Carver(1968) は、分生子懸濁液を根冠部に注射し低温処理後、高温で管理して発病を確認し、本病菌は根冠部で無病徴のまま感染し越冬するとした。本実験では、本病菌野生株および *nit* 変異株を用い、無病徴株を野外で越冬させ再分離に成功し、潜在感染株によって越冬することを明らかにした。

本病菌の土壌伝染について Horn and Carver(1968) は、病原菌 (*C. fragariae*) の土中での残存を推察し、罹病残渣の埋没実験の結果から、土壌中では越冬が不可能であるとした。しかし、本病菌子のう殻による越冬は、検討されていない。子のう殻の越冬については、岡山ら(1989) は、子のう殻が残渣組織とともに土壌中に生存して第一次伝染源になると推察した。本研究では、野生株および *nit* 変異株を用いて、罹病残渣混入土壌によっても越冬することを明らかにした。これは走茎上に形成された子のう殻が、15℃で150日後まで生存可能であり、低温条件下では子のう殻および子のう胞子を序々に形成させるので、第一次伝染源になり得るためと考えられる。走茎上では13～25.5℃の温度範囲では早期に成熟するので、栽培圃場では第二次伝染源にもなると考えられる。また、子のう殻ピークの発達程度と、子のう胞子の形成量は必ずしも一致しなかった。

殺菌蒸留水(25℃)中の分生子発芽率は、10%以下と低率であった。しかし、イチゴ葉浸漬液中では、発芽率が高くなり、さらにイチゴ、ニラ、トマトの煎汁液では高率になることから、分生子発芽を促進させる物質の存在が示唆される。

研究過程で発見した紡錘形分生子を有する炭疽病菌は、Sutton(1980)の分類に従い、*Colletotrichum acutatum*

Simmonds ex Simmondsと同定した。本病菌は世界的に広く分布し、宿主範囲の広い菌とされる(築尾ら1993、石川ら1992b, Sutton1980)。我国では、本菌によるイチゴの病害は未記載であるので、本病の病原菌として松尾・太田(1992)とともに新たに記載した(病名目録2000)。現在、本病菌による被害は、九州地方を中心に育苗期の葉枯れ症状、収穫圃場での果実腐敗が報告され、大きな問題となっている(築尾1994、松尾1991、稲田ら1999)。また、本病菌 (*C. acutatum*) は、*nit* 変異株を用いた実験で、潜在感染株および罹病残渣によって越冬することを明らかにした。

植物に発生する炭疽病 (*G. cingulata*, *C. acutatum*) の伝搬については、多くの作物で検討され、灌水や降雨との関係が明らかになっている(北島1951、岸1954、渡辺・若井田1956、築尾1990、上原、築尾1994、Yang *et al.* 1990a,b,c,1992、Boudreau1995、Reynolds1987, 1988)。本研究により、本病菌 (*G. cingulata*) 分生子は、風的作用だけでは飛散ず、水が孢子嚢に作用して分生子懸濁液になり、さらにその懸濁液がイチゴ株から水跳ねや振動によって、離脱飛散することが明らかになった。

本病は、25～35℃の気温、高土壌水分および多窒素施用により発病が助長された。また、イチゴ株の濡れ時間が長いほど斑点型病斑数が多く生じ、濡れ時間が24時間以上になると発病程度が高くなった。このことから、適切な肥培管理、特に、水田転換畑圃場では、明渠や暗渠を設け適切に土壌水分を管理する必要がある。灌水を午前中に行ない濡れ時間を短縮させることは、発病を抑制すると考えられる。

本病に対する品種間の発病差異は認められる(Howard *et al.* 1992、池田1987、石川ら1989d、小玉1978、岡山1989c、山本1971)。病害抵抗性には、侵入抵抗性と拡大抵抗性とがある。抵抗性品種の宝交早生やDoverは、発病しても実害がなく、葉での斑点型病斑数は女峰、とよのかと大差ない。しかし、葉柄や根冠部での病斑拡大には大きな差がある。また、Milholland(1982)は、*C. fragariae*の抵抗性品種が侵入菌糸をタンニン集積細胞で囲い込み拡大を抑制する現象を観察している。このことから、本病の抵抗性には、拡大抵抗性が大きく影響していると考えられる。女峰、とよのかのような罹病性品種が育成されたのは、育種過程において抵抗性検定が実施されなかったためである。現在、本病に対する抵抗性は、育種目標の一つである。

耕種の防除法として、親株床および仮植床の雨除け栽培は、防除効果が高いことを明らかにした。本実験で明らかにしたように、これは分生子の降雨による飛散伝

搬を抑制したためと考えられ、岡山(1989a,1990,1993)の実験によっても証明された。また、底面給水法(青木1987)は、灌水時の分生子飛散が防止でき、伝搬防止に極めて有効であることを実証した。本病に対する親株床および子苗床の雨除け栽培、ドリップ灌水などの水跳ねのない灌水方法は、すでに普及している。

物理的防除法として、太陽熱を利用してビニルトンネル内のウォーターマットレスで熱水(63℃)を得る土壤熱水注入法を開発した。熱水注入処理は、地下20cmで50℃以上の地温が5時間以上持続し、本病菌の死滅温度および時間条件を満たし、臭化メチル同様の高い防除効果を示した。土壤燻蒸剤(石川1989g,岡山1989c,篠原・植松1989)や国安ら(1986,1993),芳岡・小玉(1982)の方法に拠らない土壤消毒の可能性を示した。

本病(*G. cingulata*)罹病残渣は、重要な伝染源であり、それらを適切に処理することは防除上重要である(斎藤ら1989)。そこで、圃場衛生向上技術として、罹病残渣を肥料袋やバックサイロに収め、嫌氣的発酵処理(萩原1983)する簡易な罹病残渣処理技術を開発改良した。本方法は、その簡易性、有効性が認められ苗増殖基地を中心に普及している。

本病(*G. cingulata*)に対する予防防除は、ピテルタノール水和剤、プロピネブ水和剤およびベノミル水和剤が高い防除効果を示し、治療効果は、ピテルタノール水和剤が高かった。これら薬剤は、既に適用拡大された。

ベノミル剤耐性菌の1987年～1989年の発生状況調査では、栃木県分離株は全て感性菌であった。しかし、1995年の調査では、供試菌株の半数が耐性菌であった。栃木県の栽培者が使用する親株は、3年間ウイルスフリー苗として増殖される。配布株に対するベノミル剤使用が、最低年2回でも6回の使用前歴を持つことになるので、栽培者の過度の連用によらなくとも耐性菌の発生に繋がると考えられる。このように、栄養繁殖性作物の苗生産には、使用薬剤に細心の注意を払う必要がある。

本病(*G. cingulata*)に対する粒剤の防除試験は、世界的に行なわれていない。地床育苗栽培では、プロベナゾール粒剤およびピロキロン粒剤の作条土壌混和、ポット育苗栽培では活着後の埋め込み施用が、1ヵ月間の高い防除効果を有し省力的であった(石川ら1996)。汚染圃場に対する土壌消毒では、臭化メチル、クロルピクリンくん蒸剤およびダゾメット微粉剤が有効であった。特に、ダゾメット微粉剤は使用が簡便で普及性が高かった。なお、これら薬剤は、既に適応を拡大している。

環境に配慮した防除を目指して、*Chaetomium aureum* および *Talaromyces flavus* 2種の随伴糸状菌をスクリー

ニングし、それらが炭疽病(*G. cingulata*)防除に有効であることを発見した。

これらの糸状菌を用いた炭疽病防除試験は、世界的に報告されていない。本研究で供した *Ch. aureum* は、本病菌分離時に根冠部から随伴分離されたものである。本病菌に本拮抗糸状菌を対峙培養すると、菌糸が肥大奇形化し生育が著しく抑制された。分生子に対しては、発芽率が低下し、発芽管および菌糸を奇形化させた。

本病に対するポット育苗での菌体懸濁液(10^3 cfu)の浸漬および散布処理は、プロピネブ水和剤の複数回散布に比較して高い防除効果が認められた。また、イチゴ体への長期間の定着が確認された。さらに、UV照射処理を組み合わせると単独散布に比較して防除効果の向上が認められた。これはUV照射により、競合関係にある葉面微生物が除去され、本菌の定着に有利に働くためと考えられる(白田1993)。

生物防除剤agent *T. flavus* は、イチゴ根冠部からの随伴分離およびSDEIによって誘導されたものである。本菌は自然界に多く存在し、世界各地に分布する(Udagawa1959)。 *T. flavus* を用いた生物防除に関する研究は、*V. dahliae* に対する研究がなされている(Easton *et al.* 1975, Fravel *et al.* 1987, Tjamos and Fravel1995)。本菌の作用機作は、Glucoseoxidaseが主要であるとされている(Kim *et al.* 1990, Marois *et al.* 1982, 1984, Stosz *et al.* 1996, 1998, Fravel *et al.* 1991)。また、菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) に対する菌糸寄生も報告されている(Mclaren *et al.* 1986)。本菌は、対峙培養で明確な生育抑制を示さないが、生物検定すると高い防除効果を示した。ポット育苗栽培における本菌体懸濁液1回散布の効果は、プロピネブ水和剤500倍液の多回数散布に比較して、萎凋枯死株率が低く、長期間の高い防除効果が得られた。さらに、UV照射を組み合わせると単独散布に比較して著しい防除効果の向上が認められた。本菌散布イチゴ株は、特異的な障害が発生せず健全に生育した。

本拮抗糸状菌は、散布180日後においても各部位から高率に再分離された。この長期間の高い定着能力が、1回散布でも長期間の防除を可能にしていると考えられる。3年間の *T. flavus* cfu 10^6 レベルの本菌懸濁液散布処理は、対照薬剤の数回散布に比較して常に優れた防除効果が認められた。このように拮抗糸状菌を用いた防除試験で、化学合成薬剤と同等以上の防除効果をあげることが極めて希である。本拮抗糸状菌は、省力かつ効果の高い生物防除剤のagentとして極めて有望である。

その後、共同研究者の出光興産株式会社と製剤化に取

り組み、筆者らは、製剤化された I K-153 および I K-154 水和剤の効果確認、最適使用方法および作用機作について実験を積み重ねた。I K-153 水和剤は、*T. flavus* SAY-Y-01 菌株を、I K-154 水和剤は *Ch. aureum* SAY-09 菌株を孢子水和剤化したものである。

I K-153 および I K-154 水和剤は、日本植物防疫協会の生物農薬委託連絡試験において各公立試験研究機関等で防除実験された。これは世界的に貴重な例となっている。栃木農試における本病 (*G. cingulata*) 中または多発生条件下の防除実験において、I K-153 および I K-154 水和剤の 1 回散布は、プロピネブ水和剤 3 回散布に比較して同等から優る防除効果が認められ、葉害も観察されなかった。両水和剤の各濃度での散布は、省力的で効果が高く極めて実用性が高かった。これらの防除効果は、女峰、とよのかおよびとちおとめの主要品種を供しても安定している。また、一般栽培において、使用回数に制限のない本剤の特徴を活かし、本剤を基軸とした長期間の化学農薬との体系防除を確立実証した。

これら実験の散布時刻は、夕方に行ないイチゴ体の濡れ時間ができるだけ長くなるように配慮した。これは、本剤が孢子水和剤であり、孢子の発芽に約 8 時間の濡れ時間が必須だからである。通常、これらの散布時間帯は、化学農薬では作業を行なわない時間帯である。本剤の使用にあたっては、特性を理解させ普及指導する必要がある。なお、生物農薬は、「生き物」を取り扱うので流通販売に不利である。しかし、本剤は、耐熱性に優れた分生子が有効成分なのでコールドチェーンで扱う必要がなく、流通、保管、価格設定などに有利である。

本拮抗糸状菌 *T. flavus* の作用機作について考察する。本拮抗糸状菌と本病菌 (*G. cingulata*) の対峙培養において菌糸寄生現象が観察される。対峙培養において両菌糸が接触する直前、本菌菌糸先端は、樹枝状に分歧し、寄生菌糸が病原菌菌糸に沿って生育、または短い寄生菌糸を 2, 3 本接触させた。また、本病菌菌糸に菌糸を巻き付ける coiling 現象 (McLarlen *et al.* 1986) も観察された。寄生を受けた菌糸は、内部が崩壊し空洞化した。この現象は、ベノミル剤感受性の差異にかかわらず同様に観察された。また、分生子に対しても孢子壁に沿って菌糸を生育させ内部を崩壊させた。寄生状況は、培地、花弁および葉上とも同様であった。

次に、本生物剤の他病害への適用拡大を考慮して、イチゴ病原菌を中心にして菌糸寄生範囲を検討した。本拮抗糸状菌菌糸は、イチゴうどんこ病菌糸に対して接近し、菌糸に沿って生育させ、組織内部を崩壊・空洞化させた。分生子柄に対して寄生すると分生子の萎凋収縮が観察さ

れた。さらに、寄生した菌糸上に分生子を二次形成した。

イチゴ灰色かび病菌の多剤耐性菌に対して本拮抗糸状菌は、培地および花弁上において感受性の差異にかかわらず、炭疽病菌と同様な菌糸寄生が観察された。現場で問題となっている土壌病原菌 6 種に対しても菌糸寄生が観察された。菌糸寄生方法は、炭疽病菌菌糸に対する状況とほぼ同様であった。特に、芽枯病菌、疫病菌および白絹病菌では、炭疽病に比較して菌糸が激しく崩壊した。イネいもち病菌に対しては、葉身上でも菌糸寄生した。寄生方法は、炭疽病菌と同様であるが、本病菌菌糸は早くメラニン化し、菌糸寄生が観察される頻度は少なかった。また、紋枯病菌は培地上で激しく寄生を受けた。また、シイタケなどの担子菌類対しても菌糸寄生能を有していることが明らかになった。さらに、菌糸寄生菌 *Gl. virens* に対しても炭疽病菌同様に寄生した。特に、*Rhizoctonia* 属菌、*Phytophthora* 属菌、白絹病菌および菌核病菌の菌糸寄生状況は、炭疽病菌に比較して激しかった。また、多くのイチゴ葉面微生物に対しても、菌糸寄生した。

本研究により、本拮抗糸状菌 *T. flavus* は、多くの糸状菌および細菌に対する菌糸寄生能を有することが明らかになった。このような多種の微生物に対する菌糸寄生検討の報告は世界的にない。

次に、イチゴ体へのリグニン沈着に及ぼす本拮抗糸状菌の影響を検討した。リグニンは、化学的に極めて安定な物質で、生体防御の重要な役割を担っている (浅田 1970, 1974, 松本・浅田 1984)。そこで、イチゴ体のリグニン沈着に及ぼす影響を Wiesner 試薬による呈色反応で検討した。本拮抗糸状菌を無菌培養苗に処理すると、葉柄表皮、きょ歯表皮および毛茸にリグニン呈色反応が観察された。切断時の処理葉柄は、無処理に比較して強い切断抵抗を有していた。本病菌 (*G. cingulata*) 接種および無処理においてもリグニン呈色反応が観察されるが、既に沈着させた健全リグニンで、その程度は明らかに低位であった。*T. flavus* 処理において、*de novo* にリグニン呈色反応が観察されることから、リグニン沈着が促進されと考えられる。また、本菌接種部位のリグニン沈着は促進されるが、隣接小葉には及ぼないことから局所的であり、処理部位に壊死症状が生じなかったことから誘導抵抗性様である。リグニン沈着による機械的侵入防止は、重要な防除機構と考えられるので、重点的に検討する必要がある。

イチゴ炭疽病菌に対する拮抗糸状菌を発見し、製剤化した I K-153 および I K-154 水和剤の防除効果を確認した。拮抗糸状菌に関する本研究は、新技術事業

団の生活・社会技術開発事業の支援により、出光興産株式会社と共同研究を行った。防除効果・葉害については、日本植物防疫協会の生物農薬委託連絡試験に委託し、1999年1月にイチゴ炭疽病に対してI K-1 5 3水和剤の1000, 2000倍液散布処理で実用性有の合格判定を獲得した。その後、I K-1 5 3水和剤は、2001年7月にイチゴ炭疽病およびうどんこ病に対して、タラロマイセスフラバス水和剤(商品名：バイオトラスト水和剤、農林水産番号20659号)として登録、販売されている。

生物防除は、環境汚染が少ないことが期待される防除法として社会的要請が大きい。微生物の培養は、原料および施設投資等の費用が、合成農薬に比べて安価で経済的である(西尾, 大畑1998)。生物農薬は、新J A S法により無農薬栽培に使用でき、散布回数に数えられない。本剤が、ウイルスフリーイチゴ苗配付システムや一般栽培の中に組み込まれ、体系防除の基軸になれば、効率的なI P Mが可能になると考えられる。

イチゴの最重要病害である炭疽病潜在感染を正確かつ簡易に診断することは、本病を防除するために極めて重要である。そこで、本病潜在感染株へのエタノール浸漬簡易診断法(S D E I)を世界で初めて開発した。まず、本病菌(*G. cingulata*)発病株の無病微葉に対してS D E Iを適用したところ、誘導病斑上に鮭肉色の孢子塊が形成され、10日後には100%近くに達し、組織分離法より優れていた。誘導孢子塊は、肉眼で容易に認識できる。S D E Iの適用期間は、潜在感染後半年後でも適用でき、次年度用の苗を秋期に診断すると、発生盛期の春期～夏期の潜在感染を診断できると考えられる。孢子塊形成率は、下位葉ほど高い。それら検定用の下位葉は、葉かき作業で除去され、ダニ密度の低下にもつながり(合田1985)、生育にも支障をきたさないで、最適であると考えられる。また、孢子塊形成は、品種間の罹病性、菌株の差異によって影響されない。

*C. acutatum*に対してS D E Iを適用すると、鮭肉色の孢子塊が形成され、それをマーカーにして容易に潜在感染を診断できる。しかし、2種の炭疽病菌の種を同定する標徴としては、不十分であるので顕微鏡観察が必要である。

S D E Iによるイチゴ輪斑病菌の誘導標徴は、炭疽病菌にやや類似し、診断を誤る可能性がある。そこで、診断補助技術を開発した。両病原菌の誘導孢子塊に水滴を滴下すると、琥珀色の輪斑病菌孢子塊は、白色に変化し、分生子が分生子殻孔口からひも状に緩やかに噴出する。両炭疽病菌は、孢子塊が崩壊し、乳白色の孢子懸濁液状になり、輪斑病菌とは容易に区別できる

(Ishikawa2004a,b)。

本病菌(*G. cingulata*)の伝搬を岡山(1994)は、斑点型病斑を目印として伝搬状況を検討した。しかし、潜在感染株の発生は考慮されていない。そこで、本病の伝搬状況をS D E Iを適用して検討した。潜在感染株は、斑点型病斑発病株より広範囲かつ高率に発生していることが明らかになった。S D E Iは、発病の外観観察より優れている。

S D E Iにより潜在感染とされた株の萎凋枯死率は、潜在感染とされなかった株に比較して、著しく高率である。S D E Iは、潜在感染株を効率的に除去できる優れた防除方法である。また、現地栽培イチゴにS D E Iを適用すると、炭疽病(*G. cingulata*)潜在感染株が県内のイチゴ産地に広く、高率に定植されていることが確認できた(Ishikawa2004b)。

本研究により、一般栽培において、S D E Iがイチゴ炭疽病菌(*G. cingulata*, *C. acutatum*)および輪斑病菌(石川ら2001a, Ishikawa 2004b)の潜在感染診断に適用でき、効率的に潜在感染株を除去できることが明らかになった。S D E Iは、病害防除の基本である伝染源を持ち込まない、持ち込ませない手段として極めて有効であると考えられる。また、S D E Iは、これら病害の発生予察法として有効であると考えられる。

摘 要

近年、イチゴ炭疽病が全国的に発生し、栽培を左右する最重要病害になっている。そこで、本病について、病原菌の諸性質、発生生態および発病環境を詳細に調べ、その防除対策、特に環境に配慮した防除技術を種々検討した。

本研究では、本病菌の生活史、病原性、諸性質を明らかにした。また、*nit* 変異株を生態研究の新手法とした。研究の過程で新炭疽病菌 *C. acutatum* を発見して病原菌を追加した。これは本菌の我国初報告になった。耕種的防除法として雨除け栽培および底面給水法の伝染防止技術を開発普及させた。罹病残渣処理方法として嫌氣的発酵に着目し、圃場衛生向上技術とした。有効薬剤の検索・使用方法等を検討し防除法を確立した。また、本病菌潜在感染株の簡易診断技術を開発し、世界的に普及させた。さらに、本病菌の拮抗糸状菌を発見し、出光興産株式会社と共同研究を行い、世界初の生物農薬タラロマイセスフラバス水和剤を実用化させた。本論文は、これらの成果を論述したもので、その概要は次の通りである。

1. 発生状況

イチゴ炭疽病は、5月(親株床)から親株、子苗の萎凋枯死症状が見られ始める。仮植床では、高温多雨条件により進展、蔓延し発生盛期になる。さらに、収穫圃では、潜在感染株が定植直後、保温開始後および収穫期後半に萎凋枯死し、直接的な減収になる。

2. 病原菌

*G. cingulata*による炭疽病

本病菌を *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding & Schrenk (不完全世代: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Saccardo) と同定した。本病菌菌糸は、10~38℃の温度範囲で生育し、生育適温は28℃前後であった。

PDA培地上での子う殻形成温度は、13.0~29.0℃で適温が16.5~23.0℃であった。また、子う胞子の形成量は、16.5~20.0℃で良好であった。分生子の発芽率は、台形状で15~35℃で92~98%であった。25℃6時間後の分生子発芽率(13.3%)および付着器形成率(0.4%)は、低いが24時間後では発芽率が70.6%、付着

器形成率が20.4%と高率になる。イチゴ葉の付着器の形成位置は、細胞縫合部に集中した。

殺菌蒸留水中の分生子発芽率(25℃)は、10%以下と低率であるが、イチゴ葉浸漬液で85.6%、さらに煎汁液では96.8%と高くなり、ニラ、トマトなどの煎汁液でも94%を超えた。

分生子層は、25℃で最もよく形成され、15℃および35℃では形成されなかった。また、走茎上の子う殻は、13.0~23.0℃で良好に形成され、ピークは16.5~20.0℃で良く発達した。土壌中の分生子、子う胞子は、25.5℃で10日後、15℃で15日後まで生存し、菌糸は埋没5日後には溶菌した。

非根圏土壌の走茎上に形成された子う殻は、地表下3cmで25℃60日後、5℃、15℃では地表部および地表下3cmで150日後まで生存した。

本病菌菌糸の湿熱および乾熱条件での致死温度は、50℃で5分間であった。ペトリ皿中の分生子および子う殻は、45℃3時間、子う殻が50℃3時間、分生子が1時間で死滅した。55℃では、両者とも1時間、60℃では30分で死滅した。本病菌菌糸は、pH5~10で生育し、その生育差は少なかった。

本病菌は、シクラメン、ペゴニアおよびシンビジウムに対して分生子の無傷噴霧接種で病原性が認められた。また、シクラメン炭疽病菌はイチゴに対して同様であった。発病イチゴに隣接させ頭上灌水で管理したシクラメンも、接種試験と同様に発病し、逆の場合も同様であり、自然条件下で相互寄生の可能性も示唆される。

*C. acutatum*による炭疽病

本研究過程において紡錘形の分生子を有する炭疽病菌を発見し検討を加え、本分離菌株を *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds と同定した。

病徴は、葉、葉柄、走茎および果実に生じた。葉では、黒褐色不整形で健全部との境界は赤紫色を呈し、縮葉症状を生じた。葉柄および走茎に発生すると、黒褐色のややへこんだ紡錘形の病斑を生じた。果実に発生すると実腐れ症状になった。いずれの部位においても、多湿条件下で病斑上に鮭肉色の分生子層をよく形成した。萎凋枯死する株は生じない。

本病菌は、ピーマン、トマトおよびヒエンソウに病原性が認められた。菌糸は、10~30℃の間で生育し、最適生育温度は、25℃前後であった。菌糸生育速度は、*G. cingulata* に比較して遅い。

3. 発生生態

本病菌(*G. cingulata*)は、イチゴ株に潜在感染して越冬し、第一次伝染源になった。罹病残渣上に形成された子のう殻は、土壤中で越冬し第一次伝染源になり、土壌中の分生子では越冬できなかった。本病の最適発病温度は、夜温25℃～昼温35℃で、土壌水分はpf値1.2～1.5で助長された。また、慣行窒素施用の1.5倍の多窒素条件は、発病を早め発病程度を高めた。

斑点型病斑は、25～28℃では接種4日後の最上位葉、いわゆる柔らかい葉に集中して発生し、下葉には発生しにくかった。また、葉の大型病斑は、分生子層をよく形成し、伝染源として重要であった。

分生子の伝染は、水溶性粘着物質で固着している胞子塊に降雨や灌水による水が作用すると、分生子懸濁液になり、それらがイチゴ株から水跳ねや振動によって離脱飛散する。

*C. acutatum*の*nit*変異株は、イチゴに対して野生株と同様に病原性を有していた。本菌の*nit*変異株を用いた越冬試験では、接種部位から再分離できた。特に、根冠部(表皮部)の分離率(46.7～53.3%)は、他部位に比較して高かった。接種後、新たに生育した部位からは分離されなかった。また、土壌中の罹病残渣で越冬し、phenotypeは変異せず安定していた。

4. 品種間の発病差異

本病菌(*G. cingulata*)に対する品種間の発病差異は認められ、宝交早生、Dover、久留米素材2号は優れた抵抗性を有していた。抵抗性品種の宝交早生やDoverは、発病しても実害がなく、葉での斑点型病斑数は女峰、とよのかと大差なかった。しかし、葉柄や根冠部での病斑拡大には大きな差があることから、本病の抵抗性には、拡大抵抗性が大きく影響していると考えられる。

5. 防除方法

耕種的防除方法

親株床および仮植床の雨除け栽培は、本病菌(*G. cingulata*)の第2次伝染防止に有効であった。また、底面給水法は、灌水時の分生子の飛散伝搬を防止でき極めて有効であった。

本病(*G. cingulata*)罹病残渣に対する嫌気発酵処理は、本病菌を不活化できる有力な圃場衛生向上技術であった。

物理的防除法

ビニル小トンネル内のウォーターマットレスで熱水(6

3℃)を得る太陽熱利用熱水土壤注入法(70 l/m²)は、臭化メチル剤と同等の高い防除効果が得られた。

生物的防除

Chaetomium aureum に関する実験

本病菌(*G. cingulata*, *C. acutatum*)と*Ch. aureum*との対峙培養では、菌糸生育は著しく抑制され、分生子は発芽率が低下し、それら菌糸および発芽管は肥大膨張し奇形化した。

ポット育苗栽培において、本菌体懸濁液の前散布処理によって、無処理に比較して萎凋枯死率が低下した。また、本菌の定着率を高めるためUV照射を組合せると、萎凋枯死株の発生は観察されず効果が高まった。最適生育温度は、32℃前後であった。SAY-09菌株の乾熱および湿熱致死温度は、55℃－5分間であった。本菌は、散布120 後でもイチゴの各部位から再分離され定着が確認された。

IK－154水和剤は、SAY-09菌株を胞子製剤化したものである。1996年のIK－154水和剤防除実験では、本剤500倍、1000倍および2000倍液1回散布の防除価は、35.7～39.3で、プロピネブ水和剤500倍液3回散布の防除価43.0に比較して同等の高い防除効果が認められた。3濃度とも葉害は認められなかった。

Talaromyces flavus に関する実験

T. flavus SAY-Y-01菌株菌糸の生育は、10℃～40℃で生育し、最適生育温度は31℃前後であった。1993年～1995年の3年間に於いて、SAY-Y-01菌株の菌体懸濁液散布による防除効果は、プロピネブ水和剤500倍液数回散布に比較して、安定した優れた防除効果が認められた。UV照射を組合せると防除効果はさらに大きくなった。本菌は、散布180 日後でもイチゴの根冠内部を含む各部位から再分離され定着が確認された。

IK－153水和剤は、*T. flavus* SAY-Y-01菌株を胞子製剤化したもので、致死温度は、65℃－120分間であり、湿熱乾熱とも高温耐性に優れていた。本剤の多発生条件下の予防効果は、1000倍液5分間株浸漬処理、1000倍液1、3回散布、2000倍液2回、3回の1鉢20mlの散布処理は、防除価67.0～85.7で、プロピネブ水和剤500倍液6回散布の防除価85.7と同等の防除効果が得られた。なお、全処理において葉害は認められなかった。本剤の甚発生条件下の治療的効果は、1000倍液2回は防除価40.0、対照のプロピネブ水和剤500倍液4回散布の防除価10.0に比較して高い防効効果であったが、実用の防除価には至らなかった。

作用機作の一つとして菌糸寄生が考えられる。本拮抗

糸状菌と本病菌(*G. cingulata*)の対峙培養すると、両菌糸が接触する直前、拮抗糸状菌菌糸先端は樹枝状に分岐し、二次、三次菌糸を伸長させた。寄生菌糸は、病原菌菌糸にまず沿って伸長した。また、本拮抗糸状菌菌糸が病原菌菌糸に直接沿って伸長せず、短い侵入菌糸を2、3本伸長侵入させた。寄生を受けた菌糸は、内部が崩壊し空洞化した。この現象は、*G. cingulata*のベノミル剤感受性差異にかかわらず同様に観察された。また、分生子に対しても胞子壁に沿って菌糸を伸長させ内部を崩壊させた。寄生状況は、培地上、イチゴ花弁および葉上でも同様であった。

本拮抗糸状菌は、イチゴうどんこ病菌、灰色かび病菌、イチゴ芽枯病菌、疫病菌、白絹病菌、イネいもち病菌、紋枯病菌、ニラ紅色根腐病菌、シイタケ、ヒラタケ、マイタケ、ナメコおよび菌糸寄生菌*G. vires*に対しても炭疽病菌同様に寄生した。特に、*Rhizoctonia*属菌、*Phytophthora*属菌、白絹病菌および菌核病菌に対する菌糸寄生状況は、炭疽病菌に比較して激しかった。また、大半の葉面微生物についても炭疽病菌同様菌糸寄生した。菌本研究により、供試した多くの糸状菌および細菌に対する菌糸寄生能を有した。

本菌分生子を無菌培養苗に散布処理すると、葉柄表皮、きょ歯表皮および毛茸に赤桃色のリグニン呈色反応が観察された。無処理苗で観察されない部位に観察されることから、リグニン沈着が促進されると考えられる。また、本菌接種部位のリグニン沈着は促進されるが、隣接小葉には及ばないことから局所的であり、処理部に壊死症状が生じなかったことから誘導抵抗性様であった。

I K-153水和剤は、2001年7月にイチゴ炭疽病およびうどんこ病に対して、タラロマイセスフラバス水和剤(商品名:パイオトラスト水和剤)として登録され販売されている。また、本剤を基軸とする化学薬剤との防除体系も構築した。

化学的防除法

ビテルタノール水和剤2500倍液散布は、治療および予防効果が高かった。ベノミル水和剤の500倍液10分間定植時浸漬および保温開始直前の500倍液3 l/m²灌注処理は、発病時期を遅らせ枯死株率を著しく低下させた。ベノミル耐性菌は、1987年～1988年調査で静岡県、長崎県分離菌に出現し、栃木県分離菌株には認められなかった。しかし、1995年調査では、栃木県の耐性菌率は48.9%であった。

汚染土壌に対する臭化メチル、クロルピクリン燻蒸剤およびダゾメット微粒剤の土壌処理は、有効であった。

地床育苗栽培の粒剤による防除は、プロベナゾール粒剤9 g/m²およびピロキロン粒剤4 g/m²の土壌混和、ポット育苗栽培では、苗活着後のプロベナゾール粒剤の5 g/鉢(2.5 gを2箇所置床)施用が防除効果が高く、葉害の発生もなかった。

潜在感染簡易診断方法

本病(*G. cingulata*)潜在感染株は、S D E IおよびU V照射法によって病斑が誘導でき、誘導病斑上に形成された鮭肉色の胞子塊をマーカーにして、肉眼でも検体葉の潜在感染の有無を診断できた。特に、S D E Iは操作が簡単で普及性が高かった。潜在感染株と診断された株は、発病条件下で高率に萎凋枯死した。S D E Iは、*C. acutatum*を病原とする炭疽病に対しても肉眼で識別できる同様の標徴を形成させることができた。輪斑病菌潜在感染葉に適用すると、*G. cingulata*および*C. acutatum*と類似する胞子塊が誘導され、診断をやや混乱させる。しかし、誘導病斑上に水滴を滴下すると分生子殻口部からゆるやかに白色胞子塊をひも状に噴出し、動的にも肉眼観察され、炭疽病の胞子塊とは容易に判別できた。本診断によってイチゴ炭疽病菌(*G. cingulata*, *C. acutatum*)イチゴ輪斑病(*D. obuscurance*)の潜在感染葉に対して適用できることが明らかになった。本法は適応範囲が広く、イチゴ無病苗増殖基地の移植前の原苗や栽培農家の自家親株に対する極めて有効な診断技術である。

以上を要するに、本研究はイチゴ炭疽病の発生生態を明らかにし、その防除対策を検討したものである。その結果、本病菌はイチゴ以外にも病原性を有することを発見した。本病の伝染経路として、第1次伝染は土壌伝染、潜在感染株によることを*nit*変異株を用いて明らかにし、第2次伝染方法をも解明した。さらに、我国初報告の炭疽病菌*C. acutatum*による炭疽病の発生を発見した。加えて、品種間の抵抗性の差異を明らかにした。

防除方法では、炭疽病菌(*G. cingulata*, *C. acutatum*)の簡易な潜在感染診断法を発見し、雨除け栽培、底面給水法による発病抑制を実証した。罹病残渣の嫌氣的発酵処理法を開発し実用化させた。太陽熱利用の熱水土壌注入法の防除効果を実証した。さらに、有効化学薬剤の探索し、多くを登録適用拡大させた。加えて、本病菌(*G. cingulata*)に対する拮抗糸状菌(*T. flavus*, *Ch. aurerium*)を発見し、I K-153水和剤およびI K-154水和剤の防除効果を確認した。それらを日本植物防疫協会の生物農薬委託連絡試験に委託し、1999年1

月にイチゴ炭疽病に対して I K-1 5 3 水和剤の1000, 2000倍液散布処理で実用性有の合格判定を獲得した。

I K-1 5 3 水和剤は、2001年7月にタラロマイセスフラバス水和剤(商品名:バイオトラスト水和剤)として上市された。さらに、本剤を基軸とする化学薬剤との防除体系を構築した。なお、本生物農薬開発は、新技術事業団の支援を受け出光興産株式会社との共同研究によった。このように本研究による成果は、イチゴ炭疽病防除に日本に限らず、世界中に広く普及している。

引用文献

- 合田健二 (1985). イチゴに寄生するハダニの密度推定法 第1報 半促成栽培における場合. 栃木農試研報 31:52-66.
- 秋田 滋 (1993a). 自然発生におけるイチゴ炭疽病の圃場内における発生実態と病徴. 関東病虫研報 40:51-54.
- 秋田 滋 (1993b). 雨除け施設での底面給水によるイチゴ炭疽病の蔓延抑制効果. 関東病虫研報 40:55-57.
- 雨宮良幹・平野和弥・飯田 格・小池正徳・久保田とも子・川島敦子(1985). トマトの根から分離された *Chaetomium*属菌のトマト半身萎ちょう病菌に対する影響. 日植病報 51:327-328 (講要).
- Ames, L.M. (1949). New cellulose destroying fungi isolated from military material and equipment. *Mycologia* 41:637-648.
- 青木 清 (1941). 健康桑樹の皮目に潜住する糸状菌と其病理学的意義に就て. 蚕試研報 10:229-281.
- 青木正孝 (1987). 鉢物人工培地の適正使用と養液栽培の実際(1) 農及園 62: 215-222.
- 有江 力・林 義雄・牧野孝宏・加藤公彦・山口 勇 (1992). イチゴ炭そ病菌(*Colletotrichum fragariae*)に対する抗体作製と寄主からの検出の試み. 日植病報 58:102 (講要).
- 有馬 博・尾沢 賢 (1963). リンゴにおける *Glomerella cingulata* の越冬場所について. 東病虫研報 10:23.
- Arx, J.von. (1957). Die arten der gattung *Colletotrichum* cda. *Phytopathol. Z.* 29:413-468.
- 浅田泰次(1970). 植物細胞壁の木化と病害抵抗性. 農及園 45:1035-1040.
- 浅田泰次(1974). 植物病態組織でのリグニン生合成 -宿主, 寄生菌相互作用の一場面- 農及園 49: 857- 862.
- 浅田泰次(1975). 病態植物組織におけるリグニンの生合成に関する研究. 日植病報 41:239-241.
- Binyamini, N. and Mini Schiffmann-Nadel (1972). Latent infection in avocad fruit due to *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* 62:592-594.
- Boudreau, M.A. and Madden, L.V. (1995). Effects of strawberry density on dispersa of *Colletotrichum acutatum* by simulated rain. *Phytopathology* 85:934-941.
- Brooker, N.L., Leslie, J.F. and Dickman, M.B. (1990). Nitrate non-utilizing mutants of *Colletotrichum*. *Phytopathology* 80:1057 (Abstract).
- Brooker, N.L., Leslie, J.F. and Dickman, M.B. (1991). Nitrate non-utilizing mutants of *Colletotrichum* and their use in studies of vegetative compatibility and genetic relatedness. *Phytopathology* 81:672-677.
- Brooks, A.N. (1931). Anthracnose of strawberry caused by *Colletotrichum fragariae*, n. sp. *Phytopathology* 81:672-677.
- Brown, G.E. (1975). Factors affecting postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruits. *Phytopathology* 65:404-409.
- Carver, R.G. and Horn, N.L. (1960). Summer killing of strawberry plants caused by *Colletotrichum fragariae*. *Phytopathology* 50:575 (Abstract).
- Carver, R.B. and Horn, N.L. (1966). Overwintering of strawberry crown rot fungus, *Colletotrichum fragariae*. *Phytopathology* 56:873 (Abstract).
- Cerkauskas, R.F. (1988). Latent colonization by *Colletotrichum* spp. : Epidemiological considerations and implications for mycoherbicides. *Can. J. Plant Pathol.* 10:297-310.
- Chacko, R.J., Correll, J.C., Weidemann, G.J. and Tebeest, D.O. (1990). Vegetative compatibility among isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschy nomene*. *Phytopathology* 80:1057.
- 築尾嘉章 (1990). テンサイ炭そ病に関する研究. 北海道農試研報 154:1-52.
- 築尾嘉章・小林紀彦 (1991). イチゴ炭そ病の発生生態の解明. 1)北九州地域から採取した炭そ病菌の子のう殻形成と薬剤耐性. 九病虫研会報 37:23-26.

- 築尾嘉章・小林紀彦・秋田 滋 (1993) . イチゴ葉枯炭そ病(仮称)菌の宿主範囲ならびに他作物から分離された *Colletotrichum acutatum* のイチゴに対する病原性. 九病虫研会報 39:32-35.
- 築尾嘉章 (1994) . *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭そ病伝搬経路. 九病虫研会報 40:47-50.
- Correll, J.C., Klittich, C.J.R. and Leslie, J.F. (1987). Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. Phytopathology 77: 1640-1646.
- Darrow, G.M. (1965) The strawberry. Holt, Rinehart and Winston New york USA pp.447.
- Delp, B.R. and Milholland, R.D. (1980). Control of strawberry anthracnose with captafol. Plant Dis. 64:1013-1015.
- Denoyes, B. and Boudry, A. (1995). Species identification and pathogenicity study of French *Colletotrichum* strains isolated from strawberry using morphological and cultural characteristics. Phytopathology 85:53-57.
- Dyko, B.J. and Mordue, J.E.M. (1979). CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria №630.
- Eastburn, D.M. and Gubler, W.D. (1990). Strawberry anthracnose: Detection and survival of *Colletotrichum acutatum* in soil. Plant Dis. 74:161-163.
- Easton, G.D., Nagle, M.E. and Bailey, D.L. (1975). Residual effect of fumigation with vine burning on control of *Verticillium* wilt of potato. Phytopathology 65:1419-1422.
- Eshenaur, B.C. and Milholland, R.D. (1989). Factors influencing the growth of *Phomopsis obscurans* and disease development on strawberry leaf and runner tissue. Plant Dis. 73:814-819.
- Fravel, D.R. and Adams, P.B. (1986). Estimation of United States and world distribution of *Talaromyces flavus*. Mycologia 78:684-686.
- Fravel, D.R., Kim, K.K. and Papavizas, G.C. (1987). Viability of microsclerotia of *Verticillium dahliae* reduced by metabolite production by *Talaromyces flavus*. Phytopathology 77:616-619.
- Fravel, D.R., Lewis, J.A. and Chittams, J.L. (1995). Alginate prill formations of *Talaromyces flavus* with organic carriers for biocontrol of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 85:165-168.
- Fravel, D.R. and Marois, J.J. (1986). Edaphic parameters associated with establishment of the biocontrol agent *Talaromyces flavus*. Phytopathology 76:643-646.
- Fravel, D.R. and Roberts, D.P. (1991). In situ evidence for the role of Glucose Oxidase in the biocontrol of *Verticillium* wilt by *Talaromyces flavus*. Biocontrol Science and Technology 1:91-99.
- 福原陽子・山田昌雄・藤森 嶺 (1997). *Chaetomium* 属菌のいもち病菌に対する抑制効果. 日植病報 63:220 (講要) .
- Gullino, M.L., Romano, M.L. and Garibaldi, A. (1985). Identification and response to fungicides of *Colletotrichum gloeosporioides*, incitant of strawberry black rot in Italy. Plant Dis. 69:608-609.
- 萩原 廣 (1983) . 野菜の土壤病害対策としての罹病残渣処理. 植物防疫 37:405-409.
- 萩原 廣・竹内昭士郎 (1982a) . 収穫残さ搬出によるダイコン萎黄病のほ場内まん延抑制効果. 日植病報 48:102 (講要) .
- 萩原 廣・竹内昭士郎 (1982b) . 罹病残さの好氣的または嫌氣的発酵処理によるダイコン萎黄病菌の不活化. 日植病報 48:688-690.
- 萩原 廣・竹内昭士郎 (1983) . 嫌氣的発酵によるダイコン萎黄病菌の不活化に対する環境温度の影響. 日植病報 49:101-102 (講要) .
- 萩原 廣・国安克人・金井幸男・小林和弘・茂木正道・剣持澄夫・町田信夫・天野哲郎・駒田 旦 (1990) . 嫌氣的発酵処理によるキャベツ根こぶ病罹病残さ処理. 日植病報 56:392 (講要) .
- 浜野悦次 (1984) . チャ炭そ病の侵入機作. 植物防疫 38:188-191.
- 橋田弘一 (1989) . 栃木県におけるイチゴ炭そ病の発生推移. 関東病虫研報 36:84.
- 橋田弘一・石川成寿・手塚紳浩 (1988). 栃木県におけるイチゴ炭そ病の発生実態. 関東病虫研報 35:83-84.
- 広田恵介・貞野光弘・加々美好信・酒井勇夫 (1991) . イチゴ炭そ病の発生におよぼす窒素施用量の影響. 日植病報 57:422 (講要) .
- 本田藤雄 (1994) . 果物の消費を変えた子供大好きなイチゴ 東の女峰, 西のとよのか 農及園 69:37-38.
- 堀江博道・菅田重雄・阿部善三郎 (1988). コマツナ炭そ病に関する研究. 東京農試研報 21:189-237.
- Horn, N.L. and Burnside, K.R. (1972). Control of

- the crown rot phase of strawberry anthracnose through sanitation, breeding for resistance, and benomyl. *Plant Disease Repr.* 6:515-519.
- Horn, N.L. and Carver, R.G. (1962). Anthracnose and powdery mildew on strawberry plants in Louisiana. *Plant Disease Repr.* 46:591-592.
- Horn, N.L. and Carver, R.G. (1963). A new crown rot of strawberry plants caused by *Colletotrichum fragariae*. *Phytopathology* 53:768-770.
- Horn, N.L. and Carver, R.G. (1968). Overwintering of *Colletotrichum fragariae* in strawberry crowns. *Phytopathology* 58:540-541.
- 保坂善行 (1974). キュウリ炭そ病のニホンアマガエルによる伝搬について. 山梨農試研報 17:61-67.
- Howard, C.M. (1971). Control of strawberry anthracnose with benomyl. *Plant Disease Repr.* 55:139-141.
- Howard, C.M. (1972). Strawberry fruit rot caused by *Colletotrichum fragariae*. *Phytopathology* 62:600-602.
- Howard, C.M. and Albregts, E.E. (1973). A strawberry fruit rot caused by *Dendrophoma obscurans*. *Phytopathology* 63:419-420.
- Howard, C.M. and Albregts, E.E. (1973). Cassia obtusifolia, a possible reservoir for inoculum of *Colletotrichum fragariae*. *Phytopathology* 63:533-534.
- Howard, C.M. and Albregts, E.E. (1983). Black leaf spot phase of strawberry anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (= *C. fragariae*). *Plant Dis.* 67:1144-1146.
- Howard, C.M. and Albregts, E.E. (1984). Anthracnose of strawberry fruit caused by *Glomerella cingulata* in Florida. *Plant Dis.* 68:824-825.
- Howard, C.M., Maas, J.L., Chandler, C.K. and Albregts, E.E. (1992). Anthracnose of strawberry caused by the *Colletotrichum* complex in Florida. *Plant Dis.* 76:976-981.
- Howell, C.R. (1982). Effect of *Gliocladium virens* on *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and damping-off of cotton seedlings. *Phytopathology* 72:496-498.
- 池田 弘 (1987). イチゴ炭そ病の品種間差異及び薬剤防除. 九病虫研会報 33:73-75.
- 池田 弘 (1989). イチゴ親株から子苗への炭そ病の伝染と薬剤防除. 九病虫研会報 36:46-47.
- 池田 弘 (1991). イチゴ炭そ病の発生生態と防除対策. 福岡県農総試研報 11:9-14.
- 稲田 稔・山口純一郎・御厨初子・松崎正文 (1998) イチゴ炭疽病無病徴感染株の分生孢子存在部位と飛散時期. 日植病報 64:585.
- 稲田 稔・山口純一郎・御厨初子・松崎正文 (1999) *Colletotrichum acutatum* および *C. gloeosporioides* によるイチゴの果実腐敗. 日植病報 65:406.
- 石井賢二 (1962). ブドウ晩腐病防除に関する研究, 第11報 越冬枝上における病菌潜在部位の解剖的観察. 27:71 (講要).
- 石井賢二 (1964). 葡萄晩腐病防除に関する研究, 第12報 枝・葉上潜在菌検出率と果房の発病との関係について. 日植病報 29:67 (講要).
- 石井賢二 (1966). 葡萄晩腐病防除に関する研究, 第14報 続 葉上潜在菌の検出について. 日植病報 32:79 (講要).
- 石川成寿 (1990). 嫌氣的発酵によるイチゴ炭そ病菌の不活化について. 施設園芸 32:34-36.
- Ishikawa, S. (2003). Methods to diagnose latent infection by *Glomerella cingulata* in strawberry plants using ethanol. *J. Gen. Plant Pathol.* 69:372-377.
- Ishikawa, S. (2004a). Simple diagnosis using ethanol immersion of strawberry plants with latent infection by *Colletotrichum acutatum*, *Dendrophoma obscurans*, and *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. *J. Gen. Plant Pathol.* (in press).
- Ishikawa, S. (2004b). Correlation between field disease and latent infection by *Glomerella cingulata* of strawberry plants as revealed by the simple diagnostic method using ethanol immersion. *J. Gen. Plant Pathol.* (in press).
- 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎 (1988). イチゴ炭そ病の薬剤防除. 関東病虫研報 35:85-86.
- 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎 (1989a). イチゴ炭そ病に対する品種間差異. 関東病虫研報 36:85-86.
- 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎 (1989b). イチゴ炭そ病の薬剤防除. 関東病虫研報 36:89-90.
- 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎 (1989c). イチゴ炭そ病に関する研究 第2報病原菌の越冬形態について. 栃木農試研報 36:37-42.

- 石川成寿・中山喜一・大兼善三朗 (1989d) . イチゴ炭そ病に関する研究 第3報 イチゴ炭そ病に対する品種間の発病差異. 栃木農試研報 36:43-48.
- 石川成寿・佐藤豊三・中山喜一・大兼善三朗 (1989e) . イチゴ炭そ病に関する研究 第1報 病原菌の分類上の所属及びその諸性質. 栃木農試研報 36:25~36.
- 石川成寿・田村恭志・中山喜一・大兼善三郎 (1989f) . イチゴ炭そ病の育苗期の雨除け栽培による防除効果. 関東病虫研報 36:87-88.
- 石川成寿・田村恭志・中山喜一・大兼善三朗 (1989g) . イチゴ炭そ病に関する研究 第4報 イチゴ炭そ病の防除法. 栃木農試研報 36:49-58.
- 石川成寿・萩原 廣・中山喜一・国安克人 (1990a) . 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. 栃木農試研報 37:133-140.
- 石川成寿・萩原 廣・中山喜一・国安克人 (1990b) . 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. 関東病虫研報 37:109-110.
- 石川成寿・萩原 廣・中山喜一・国安克人 (1990c) . 罹病残渣の嫌氣的発酵によるイチゴ炭そ病菌の不活化. 関東病虫研報 37:111-112.
- 石川成寿・萩原 廣・中山喜一・国安克人 (1990d) . 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. 関東病虫研報 37:113-114.
- 石川成寿・和久井 隆・中山喜一・峯岸長利 (1991a) . シクラメン炭そ病の底面給水法による発病抑制効果および濡れ時間と発病との関係. 日植病報 57:423 (講要) .
- 石川成寿・中山喜一 (1991b) . イチゴ炭そ病菌の2・3の鉢花類に対する病原性. 日植病報 57:78(講要) .
- 石川成寿・中山喜一・常見譲史 (1992a) . イチゴ炭そ病潜在感染株の簡易判別方法. 日植病報 58:580 (講要) .
- 石川成寿・中山喜一・常見譲史・中沢靖彦 (1992b) . 栃木県で発生した *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭そ病. 関東病虫研報 39:129-133.
- 石川成寿・中山喜一・常見譲史 (1993a) . イチゴ炭そ病菌分生子の飛散に及ぼす風と水の影響. 日植病報 59:41 (講要) .
- 石川成寿・中山喜一・常見譲史 (1993b) . ポット育苗時の底面給水法によるイチゴ炭疽病の蔓延抑制効果及び本病原菌分生子の飛散に及ぼす風と水の影響. 関東病虫研報 40:63-68.
- 石川成寿・上野臣一・中山喜一 (1993c) . イチゴ炭疽病の *nit* 変異株の作出とその病原性. 関東病虫研報 40:59-61.
- 石川成寿・中山喜一・大野義文・上野臣一 (1994b) . イチゴ炭疽病の *nit* 変異株による越冬形態の検討. 日植病報 60:356 (講要) .
- 石川成寿・山崎周一郎・大野義文 (1995) . イチゴ炭そ病潜在感染株簡易診断方法によって誘導される本病とイチゴ輪斑病との標徴比較. 日植病報 61:227 (講要) .
- 石川成寿・山崎周一郎・大野義文 (1996) . イチゴ炭そ病に対する粒状薬剤の防除効果. 関東病虫研報 43:95-97.
- 石川成寿・斎藤芳彦・野沢英之・荒川裕美 (2001) . イチゴ萎黄病潜在感染株に対するエタノール浸漬簡易診断法の適用. 日植病報 67:196.
- 伊東卓男・芳岡昭夫・辻本 昭 (1956) . 柿炭疽病の越冬に関する2, 3の実験について. 植物防疫. 10:27-28.
- 金磯康雄 (1995) . イチゴうどんこ病を巡る一栽培が増やすうどんこ病— 植物防疫 49:237-240.
- 加藤公彦・秋田 滋・牧野孝宏・有江 力 (1993) . イチゴ炭そ病菌のDIBA法による検出. 日植病報 58:587 (講要) .
- 河野敏郎・木曾 皓 (1990) . 岩手県下で発生したイチゴ炭そ病菌の2, 3の性質. 関東病虫研報37:115-116.
- Kim, K.K., Fravel, D.R. and Papavizas, G.C. (1990). Glucose oxidase as the antifungal principle of talaron from *Talaromyces flavus*. Can. J. Microbiol. 36:760-764.
- 岸 国平 (1954) 瓜類炭疽病に関する研究 第一報, 病原菌の生存期間, 越冬並びに胞子飛散に就いて. 東海近畿農試研報園芸部, 2:124-136.
- 岸 国平 (1974). イチゴの新病害輪斑病. 野菜試験場報告報 A 1:225-231.
- 木曾 皓・野村良邦 (1984). イチゴ炭そ病萎凋型の伝染経路. 九農研. 46:115.
- 北島 博 (1949) . 桃の炭疽病の伝染経路に関する研究 (第I報)越冬について. 日植病報 13:57-59.
- 北島 博 (1951a) . 桃の炭疽病の伝染経路に関する研究. 東海近畿農試研報 園芸部 1:72-104.
- 北島 博 (1951b) . 桃の炭疽病の伝染経路に関する研究 (第II報) . 日植病報 15:67-71.
- 小玉孝司 (1978). イチゴ炭そ病 (*Colletotrichum fragariae*) の奈良県下における初発生について. 関西病虫研 20:89.
- 駒田 旦 (1976) . 野菜のフザリウム病, *Fusarium*

- oxysporum* の土壌中における活性評価技術に関する研究. 東近農試研報 29:132-269.
- 近藤彰宏・雨宮良幹・加藤忠弘・蛭川俊史・平野和弥 (1988). *Chaetomium globosum*の生産する抗菌物質. 日植病報 54:359 (講要).
- 工藤哲男 (1968). リンゴ炭そ病の感染源に関する一観察. 日植病報 34:170 (講要).
- 国安克人・萩原 廣・河本征臣・西 和文・百田洋二 (1990). ホウレンソウ萎ちょう病に対する熱水土壤消毒の効果. 日植病報 56:393.
- 国安克人・西 和文・百田洋二・竹下定男 (1991). 熱水注入による土壤消毒. 植物防疫 45:247-251.
- 国安克人・竹原利明 (1993). 熱水土壤消毒によるダイコン萎黄病防除試験—熱水温度と防除効果. 日植病報 59:322 (講要).
- 国安克人・竹内昭士郎 (1986). 熱水注入による土壤消毒のトマト萎ちょう病に対する防除効果. 野菜試報 A 14:141-148.
- 楠 幹生・三浦 靖・十河和博・都崎芳久 (1992). イチゴ炭そ病に関する研究 第1報 香川県におけるイチゴ炭そ病のベノミル耐性菌発生と各種薬剤の効果. 香川農試研報 43:29-35.
- Maas, J.L. (1978). Anthracnose of strawberry fruit in Maryland. Plant Disease Reprtr. 62:488-492.
- Maas, J.L. (ed.) (1984). Compendium of strawberry diseases, APS Press, St. Paul 138pp.
- Maas, J.L. and Howard, C.M. (1985). Variation of several anthracnose fungi in virulence to strawberry and apple. Plant Dis. 69:164-166.
- Marois, J.J., Fravel, D.R. and Papavizas, G.C. (1984). Ability of *Talaromyces flavus* to occupy the rhizosphere and its interaction with *Verticillium dahliae*. Soil Biol. Biochem. 16:387-390.
- Marois, J.J., Johnston, S.A., Dunn, M.T. and Papavizas, G.C. (1982). Biological control of *Verticillium* wilt of eggplant in the field. Plant Dis. 66:1166-1168.
- 松本勲・浅田泰次 (1984). ダイコンベト病及びキュウリ炭疽病の誘導抵抗性における木可誘導因子の役割. 日植病報 50:483-490.
- 松尾和敏・小林紀彦 (1991). イチゴ炭そ病の発生生態の解明 1) 北九州地域から採取した炭そ病菌の子のう殻形成と薬剤耐性. 九病虫研会報 37:23-26.
- 松尾和敏・太田孝彦 (1992). イチゴ葉枯炭そ病 (新称) の発生. 日植病報 58:54 (講要).
- 松尾和敏・菅 康弘, 中須賀孝正 (1994). *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭そ病の薬剤防除法. 九病虫研会報 40:17-21.
- McLaren, D.L., Huang, H.C. and Rimmer, S.R. (1986). Hyperparasitism of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Talaromyces flavus*. Can. J. Plant. Pathol. 8:43-48.
- Milholland, R.D. (1982). Histopathology of strawberry infected with *Colletotrichum fragariae*. Phytopathology 72:1434-1439.
- 諸見里善一・上原弘樹・田盛正雄 (1997). 沖縄の土壌から分離された *Chaetomium* 属菌の抗菌物質産生について. 日植病報 63:216-217.
- 日本植物病理学会編 (2000). 日本植物病名目録. pp.247, 日本植物防疫協会, 東京.
- 西尾道徳・大畑貫一 (1998a). 農業環境を守る微生物利用技術. pp327. 家の光協会 東京.
- Muirhead, I.F. and Deverall, B.J. (1981). Role of appressoria in latent infection of banana fruits by *Colletotrichum musae*. Physiological plant pathology. 19:77-84.
- 向 秀夫・鍵渡徳次・陶山一雄・小管喜久弥 (1974). *Gnomonia* 属菌によるイチゴ葉枯性病害の発生について. 日植病報 40:116 (講要).
- 向井俊博・片桐政子・安藤康雄・袴田勝弘・原 征彦 (1989). 茶葉カテキンの孢子発芽阻害について. 野菜茶試研報 B 3:75-80.
- 西 和文・佐藤 剛・国安克人・萩原 廣・百田洋二・福田徳治 (1991). ダイズ黒根腐病に対する熱水土壤消毒の効果に及ぼす土壌水分含量の影響. 日植病報 57:422.
- 西 和文・高橋廣治・国安克人 (1990). 熱水土壤消毒によるダイズ黒根腐病の防除. 日植病報 56:392.
- 信夫 尚・岡山健夫 (1990). 育苗期の被覆栽培がイチゴ炭疽病の発生に及ぼす影響. 関西病虫研究会報 32:92.
- 岡山健夫 (1988). イチゴ炭そ病の病原菌と発生生態. 植物防疫 42:559-563.
- 岡山健夫 (1989a). イチゴ炭そ病に対する土壤消毒, 薬剤の灌注及び株浸漬による防除効果. 関西病虫研究会報 31:59.
- 岡山健夫 (1989b). 奈良県におけるイチゴ炭そ病の発生実態と薬剤防除について. 奈良農試研報 20:79-86.
- 岡山健夫 (1993). 加温によるイチゴ炭そ病潜在感染株の検定. 奈良農試研報 24:41-46.

- Okayama, K. (1993). Effects of rain shelter and capillary watering on disease development of symptomless strawberry plants infected with *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*). Ann. Phytopath. Soc. Japan 59: 514-519.
- 岡山健夫 (1994). イチゴ炭疽病 *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*) 分生子の飛散および障壁による防除効果. 日植病報 60:113-118.
- 岡山健夫・中野智彦・萩原敏弘 (1991). ペノミル剤耐性イチゴ炭そ病菌の出現とその対策. 関西病虫研究会報 33:15-19.
- 岡山健夫・中野智彦・萩原敏弘 (1992). E B I 剤によるイチゴ炭そ病防除効果. 関西病虫研究会報 34:71-72.
- 岡山健夫・辻本 昭 (1994). *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding et Schrenkによるイチゴ炭そ病菌の発生とその病原性. 日植病報 60:617-623.
- 尾沢 賢・有馬 博 (1965). リンゴ炭そ病に関する研究 第1報, 病原菌の越冬場所について. 日植病報 30:80 (講要).
- Pamela, S.G. and Gubler, W.D. (1992). Taxonomy and morphology of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. Mycologia 84:157-165.
- Puhalla, J.E. (1985). Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. Can. J. Bot. 63:179-183.
- Reynolds, K.M., Bulger, M.A., Madden, L.V. and Ellis, M.A. (1987a). New methods using simulated rain to study the splash dispersal of plant pathogens. Phytopathology 77:921-926.
- Reynolds, K.M., Madden, L.V. and Ellis, M.A. (1987b). Methods for study of raindrop impact on plant surfaces with application to predicting inoculum dispersal by rain. Phytopathology 77:226-232.
- 齊藤司朗・大貫文男・桑川郁男 (1989). イチゴ炭そ病に対する耕種的防除と薬剤防除の組合せによる防除効果事例. 関東病虫研報 36:90-91.
- 佐藤 郁・増田俊雄 (1991). イチゴ炭そ病に対する各種薬剤の防除効果. 北日本病虫研報 42:191.
- 佐藤 剛・福田徳治・西 和文 (1993). ムギ類赤かび病 *nit* 変異株作出について. 日植病報 59:43-44 (講要).
- 清少納言 (1001?). 枕草子 42段.
- 篠原茂幸・植松清次 (1989). 採苗床の土壌消毒及び耕種の対策によるイチゴ炭そ病の回避. 関東病虫研報 36:95-96.
- 白田 昭 (1993). 紫外線照射によるクワ葉でのクワ炭そ病の病斑誘発. 日植病報 59:259-262.
- Simmonds, J.h. (1941). Latent infection in tropical fruits diseased in relation to the part played by species of *Gloeosporium* and *Colletotrichum*. Proc. Royal. Soc. Qld. 52:92-120.
- Simmonds, J.h. (1963). Studies in the latent phase of *Colletotrichum* species causing ripe rots in tropical fruits. Queensl. J. Agric. Anim. Sci. 20:372-424.
- Simmonds, J.h. (1965). A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. Queensl. J. Agric. Anim. Sci. 22:437-459.
- Smith, B.J. (1987). Effect of nitrogen, phosphorus, and potassium on the severity of strawberry anthracnose-crown rot. Phytopathology 77:1691 (Abstract).
- Smith, B.J. and Black, L.L. (1986). First report of *Colletotrichum acutatum* on strawberry in the United States. Plant Dis. 70:1074.
- Smith, B.J. and Black, L.L. (1987). Resistance of strawberry plants to *Colletotrichum fragariae* affected by environmental conditions. Plant Dis. 71:834-87.
- Smith, B.J. and Black, L.L. (1990). Morphological, cultural, and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. Plant Dis. 74:69-76.
- Stosz, S.K., Fravel, D.R. and Roberts, D.P. (1996). In vitro analysis of role of Glucose Oxidase from *Talaromyces flavus* in biocontrol of plant pathogen *Verticillium dahliae*. Appl. Environ. Microbiol. 62:3183-3186.
- Stosz, S.K., Roy, S., Murphy, C., Wergin, W. and Fravel, D.R. (1998). Localization of glucose oxidase with immunocytochemistry in the biocontrol fungus *Talaromyces flavus*. Phytopathology 88:576-581.
- Sutton, B.C. (1980). The Coelomycetes, Commonwealth Mycological Institute, Kew. UK. 696pp.
- 高坂卓爾 (1965). 植物病理学実験法 (明日山秀文ほか編) 第3刷 187-203 日本植物防疫協会東京.

- 竹原利明 (1992). 糸状菌における *nit* 変異株の作出と利用. 植物防疫 46:395-399.
- 竹原利明・国安克人 (1994a). *nit* 変異菌株を用いたフザリウム病の発生生態の解明 I. *Fusarium oxysporum* の各分化型の *nit* 変異菌株の作成. 日植病報 60:699-704.
- 竹原利明・国安克人 (1994b). *nit* 変異菌株を用いたフザリウム病の発生生態の解明 II. *Fusarium oxysporum* の *nit* 変異菌株の選択分離培地を用いた分離. 日植病報 60:705-710.
- 竹内妙子 (1991). 野菜類灰色かび病菌の薬剤耐性とその防除. 植物防疫 45:113-116.
- 棚橋一雄・篠田昭子 (1991). イチゴ炭そ病の株浸漬による防除効果と薬剤耐性. 関西病虫研究会報 33:59.
- 田中欽二・野中福次 (1985). 罹病残さの嫌氣的発酵によるタマネギ乾腐病の防除効果. 日植病報 51:60 (講要).
- 寺下隆喜代 (1973). 広葉樹の炭そ病に関する研究 - 特にその潜在性について -. 林試研報 252:1-86.
- 手塚信夫・牧野孝宏 (1989). イチゴ炭そ病の発生様相と防除. 関東病虫研報 36:92-94.
- Tjamos, E.C. and Fravel, D.R. (1995). Detrimental effects of sublethal heating and *Talaromyces flavus* on microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 85:388-392.
- 徳永芳雄・柿島 真 (1974). ラン科植物の炭疽病について. 日植病報 40:377-379.
- 内田和馬 (1976). クリ実炭そ病の被害と枝葉内に潜在する炭そ病菌の密度との関係. 関東病虫研報 23:58-59.
- 内田和馬 (1978). クリ実炭そ病に関する研究, とくに病原菌の枝葉内潜在密度と果実被害との関係. 茨城園試研報 7:55-74.
- Udagawa, S. (1959). Taxonomic studies of fungi on stored rice grains III. *Penicillium* group (*Penicillia* and related genera) 2. Jour. Agr. Tokyo Nogyo Daigaku 5:5-27.
- 宇田川俊一・椿 啓介 (編著) (1978a). 菌類図鑑(上). 宇田川俊一 pp. 405-406. 講談社, 東京.
- 宇田川俊一・椿 啓介 (編著) (1978b). 菌類図鑑(上). 宇田川俊一 pp. 476-477. 講談社, 東京.
- Udagawa, S., Muroi, T. and Kurata, H. (1979). The production of chaetoglobosins, sterigmatocystin, *O*-methylsterigmatocystin, and chaetocin by *Chaetomium* spp. and related fungi. Can. J. Microbiol. 25:170-177.
- 上原 等・野田弘之 (1961). オリーブ炭疽病の伝染経路と防除に関する研究. 香川農試研報 12:30-38.
- 上野臣一・竹原利明・内藤秀樹・国安克人 (1993). ベノミル剤感受性及び採集地の異なるイネばか苗病菌 *nit* 変異株間の菌糸和合性. 関東病虫研報 40:19-24.
- 渡辺 健・竹原利明・国安克人 (1992). サツマイモつる割病菌と非病原性フザリウム菌の *nit* 変異株の作出およびその病原性と交差防御機能の確認. 日植病報 58:159-160 (講要).
- 渡辺龍男・若井田正義 (1956). 炭疽病菌分生胞子の飛散について. 日植病報 21:112 (講要).
- 渡辺恒雄 (1993). 土壌糸状菌—培養株の検索と形態— p113. ソフトサイエンス社, 東京.
- Wright, W.R., Smith, M.A., Ramsey, G.B. and Beraha, L. (1960). *Gloeosporium* rot of strawberry fruit. Plant Disease Repr. 44:212-213.
- 山田正和・石井英夫・中澤靖彦・大塚範夫 (1993). イチゴに病原性を示す炭そ病菌のカルペンダジム耐性機構について. 日植病報 59:320-321 (講要).
- 山田昌雄編著 (2000). 微生物農薬—環境保全型農業をめざして—. 全国農村教育協会. pp228
- 山田俊一・中島省二 (1959). みかんの炭疽病に関する研究—炭疽病菌の潜伏と伝染について—. 日植病報 24:18 (講要).
- 山本昌木・野津康敬 (1962). 感受体中におけるチャ赤葉枯病菌の存在と種子温湯処理について. 島根農大研報. 10A:23-25.
- 山本昌木・安盛 博・杉谷俊則 (1960). ぶどう晩腐病発生と感受体成分の季節的消長との関係について. 島根農大研報 8 A :69-71.
- 山本 勉 (1971). イチゴの新病害炭そ病. 植物防疫 25:61-64
- 山本 勉・福西 務 (1970). イチゴ炭そ病について. 日植病報 36:165-166 (講要).
- 山内己酉・塩見正保・岡本康博 (1959). 葉に潜在する桃炭疽病について. 日植病報 24:19 (講要).
- 山崎周一郎・石川成寿・大野義文 (1996). シクラメン炭そ病潜在感染株に対する簡易診断法 関東病虫研報 43:141-143.
- Yang, X., Madden, L.V., Reichard, D.L., Wilson, L. L. and Ellis, M.A. (1990a). Splash dispersal of *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* from strawberry fruit by single drop impactions. Phytopathology 82:332-340.
- Yang, X., Madden, L.V., Wilson, L.L. and Ellis, M.

- A. (1990b). Effects of Surface topography and rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. Phytopathology 80:1115-1120.
- Yang, X., Wilson, L.L., Madden, L.V. and Ellis, M. A. (1990c). Rain splash dispersal of *Colletotrichum acutatum* from infected strawberry fruit. Phytopathology 80 : 590-595.
- 横浜正彦 (1953) . ブドウ晩腐病の防除に関する研究. 第1報. 伝染機構について. 東京農試研報 1 : 36-42.
- 芳岡昭夫・小玉孝司 (1982) . 太陽熱による土壌消毒. 植物防疫 36:443-446.

Studies on Identification of Pathogen, Epidemiology and Integrated Disease Management of Strawberry Anthracnose

Seiju ISHIKAWA

Strawberry anthracnose caused by *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding & Schrenk, and *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds occurs worldwide and is regarded as the most serious disease on strawberry. Yamamoto and Fukunishi first reported its occurrence on Hougyoku strawberry in Tokushima and identified the causal fungus as *C. fragariae* according to Brooks. With the introduction of new cultivars, the disease has become more serious, in many areas in Japan.

This paper consists of the following major studies on; ecology and epidemiology of two anthracnose pathogens, practical application of biological control of disease using antagonistic fungi (*Talaromyces flavus* (klocker) Stolk et Samson and *Chaetomium aureum* Chivers), and development of assessment a simple diagnostic method using ethanol immersion treatment (SDEI). Control measures, with special integrated disease management, for the disease have been established based on the results.

The fungal isolates from diseased strawberry crowns in Tochigi Pref. developed teleomorph as well as anamorph, and were identified as *G.cingulata* (anamorph: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Saccardo based on morphological characteristics and pathogenicity. As a result, *C.fragariae* which has been applied to the pathogen of strawberry anthracnose was reused to a synonym of *C.gloeosporioides*.

Two anthracnose diseases affect strawberry leaves, black leaf spot and irregular, caused by *G.cingulata*, and irregular leaf spot, caused by *C.acutatum*. Black leaf spot lesions are round, usually black or light gray. Irregular leaf spot lesions are dark brown, which from on the margins and tips of leaflets. Both irregular leaf spot may be the inoculum.

When lesions girdle a runner, unrooted daughter plants beyond the lesion wilt and die. The crown infection is extensive and causes the entire plant to wilt and die. The most economically important of these diseases are anthracnose crown rot caused by *G.cingulata*. *C.acutatum* has not been associated with crown rot and death of plants in Tochigi Pref.

It was confirmed that this pathogen could infect the under noted crops as well as strawberry plant; Cyclamen persicum, Cymbidium spp. and Begonia spp..

Optimum temperature for growth of *G.cingulata* was on PDA ca. 28°C, and *C.acutatum* was ca. 25°C. The conidia germination of *C.gloeosporioides* was observed in 8 to 35°C, optimum being 20 to 30°C in juice of strawberry leaves. The acervulus formed profusely in 25°C.

Optimum H-ion concentration for growths of *G.cingulata* on PDA were follows; NM-1 and TO-1 pH7. Optimum H-ion concentration for formation of acervuli on PDA were pH7~9.

The thermal death range and times of conidia were found to be 3 hours at 45°C, 1 hours at 50°C and 55°C, 30 min. at 60°C.

The thermal death range and times for mycelium in dry-heat, NM-1 and Shizuoka Pref. №1 were 10min. at 45°C.

In wet-heat, NM-1 was 10min. at 45°C.

For the formation of perithecium on PDA, the optimum being around 16.5~23.0°C. Formation of beak on PDA, the optimum being 23.0~25.5°C. The optimum temperature formed ascospore were 16.5~20.0°C.

For the formation of perithecium, on runner of strawberry, the optimum being around 13.0~23.0°C. Growth of beak on PDA, the optimum being around 16.5~25.5°C. Formation of perithecium was lower temperature on runner of strawberry than PDA. When introduced into soil in cup, conidia and ascospore survived for more than 10 days at 25.5°C, 15 days. When introduced into soil in cup, perithecium survived for more than 150days at 5°C and 15°C.

The thermal death range for perithecium was 3 hours at 45°C and 50°C, 1 hours at 55°C, 30 min. at 60°C.

Optimum H-ion concentration for growths of *G.cingulata* on PDA were follows; NM-1 and TO-1 pH7. Optimum H-ion concentration for formation of acervuli on PDA were pH7~9.

C.gloeosporioides and *C.acutatum* were tested concerning their ability to give rise to chlorate-resistant *nit* mutants when they were cultured on a minimal medium containing 1.5% KClO₃. All strains gave rise to mutants that could be placed in phenotypes of *nit* mutants. *C.gloeosporioides* mainly gave rise to *nit*1. *C.acutatum* gave rise to *nit*1 and *Nit*3. *Nit* mutants were pathogenic on strawberry plants.

The fungus has an overwintering by infected strawberry stock and perithecium on residues of strawberry, which were the origin of inoculum that initiates the first infection in strawberry nursery.

It was demonstrated that conidia of *C.gloeosporioides* (*G.cingulata*) were effectually dispersed by water and wind. The conidia were hardly blown off by the wind in the absence of water. However, if the water contacted with the conidia, the latter were suspended in the water droplets that was splashed by the wind.

Varietal difference was observed by artificial inoculation, Dover, Kurumesozai №2, Houkouwase were resistant. Reiko, Aiberi, Donner were moderately susceptible, Nyoho and Toyonoka were susceptible. Black leaf spot phase occurrence, Nyoho, Aiberi were slightly, Houkouwase and Reiko were moderately susceptible.

The capillary watering system and sheet vinyl shelter from the rain film in nursery beds mechanically inhibited the dispersal of conidia and successfully controlled the infection of anthracnose of strawberry.

The occurrence of disease declines with the decrease of amount of the basal N-fertilizer.

The debris of diseased strawberry plants were anaerobically fermented, by sealing up in plastic-film bags. No *G.cingulata* was detected in the tissue samples collected from bags. *G.cingulata* is well inactivated under the condition of anaerobic fermentation.

Soil infested with pathogen of anthracnose, *G.cingulata* was sterilized with hot water (ca. 63°C) heated by solar heat. Hot water was dripped into soil at a rate of 70ml/cm². At the depth of 20 cm, the temperature rose above 50°C for 5 hours. Strawberry plants showed 0% died in the plot sterilized with hot water.

Fungal strains in *T. flavus* and *Ch.aureum* that were isolated from the strawberry crowns were screened for inhibition anthracnose. Of the tested 13 and 12 strains, all strains that inhibited disease was very high when the plants were pretreated with suspension. Among those strains, *Ch. aureum* SAY-09 (IK-154 WP) and SAY-Y-01

(IK-153 WP) was the most effective and had equivalent inhibiting activity as Propineb.

T. flavus is a destructive hyperparasite of *G. cingulata*, *C. acutatum*, *Sphaerotheca aphans* var. *aphans*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cactorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pyricularia oryzae*, *Pyrenocheta terrestris*, *Trichothecium roseum*, *Valsa ceratosperma*, *Lentinus edodes*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus pulmonarius*, *Grifora frondosa*, *Hypsizigus marmoreus*, *Naematoma sublateralium* and *Gliocladium virens*.

In dual culture, *T. flavus* grew toward and coiled around the host hyphal cells. Tips of hyphal branches often invaded the host by direct penetration of the cell wall. Infections of host cells by *T. flavus* resulted in granulation of the cytoplasm and collapse of the cell walls.

A lignin-like substance has been found in strawberry plant when conidia of *T. flavus* sprayed.

Conidia formulation which eventually became the commercial product, were developed by IDEMITSU KOSAN CO., LTD. Conidia had a shelf life of 18 months or more. IDEMITSU KOSAN sold the rights to BIOTRUST WP (IK-153 WP), and registered in 2002 (Registered No 20659) .

Prophylactic Dipping and therapeutic dipping plants in Benomyl WP at 500 times dilution respectively were effective. Prophylactic sprays and therapeutic sprays of Bitertanol at 2500times dilution were effective in controlling strawberry anthracnose.

The Benomyl-resistant strains of strawberry anthracnose were detected in Shizuoka and Nagasaki prefecture, but that were not detected in Tochigi prefecture in 1988. In 1995, 45 isolates (48.9%) having 1600ppm MIC values were considered resistant strains and others having 6.25ppm MIC values were considered susceptible strains.

In the nursery bed, Probenazole at 9g a.i./m² and Pyroquilon at 4g a.i./m² controlled the disease by row application. In raising seedlings in pots only Probenazole at 5g per pot adequately controlled the disease. Probenazole was the most active material against strawberry anthracnose in nursery bed and raising seedling in pot.

Soil fumigation with Methyl bromide and Chloropicrin were effective in perithecia in soil layer of 20 cm depth.

G.cingulata and *C.acutatum* can remain latent for long time, and infected runner plants without visible symptoms serve as the primary infection source, disseminating the disease. Signs on strawberry leaves with latent infection by *G.cingulata* became visible by SDEI.

Leaves treated with SDEI changed to dark brown or nearly black, and salmon-pink conidial masses were subsequently produced in the acervuli 5 to 10 days after incubation in moist Petri dishes.

The formation rate of conidial masses through SDEI was higher as the position of leaves became lower. Conidial masses were produced more readily and abundantly when SDEI was performed at 28°C than 22, 25 or 31°C. Latent infection was found to last from 1 to 180 days.

There was no difference in the time required for conidial production or in the rate of conidial formation regardless of isolate, cultivar, or leaf position. The varietal difference in resistance to strawberry anthracnose did not influence the rate of conidial mass formation after SDEI

Signs on strawberry leaves with latent infection by *Colletotrichum acutatum* became visible by SDEI. Salmon-pink conidial masses were produced on the treated leaves in the acervuli 5 days after incubation at 28°C.

In the case of *Dendrophoma obscurans*, formation of pycnidia with amber conidial masses was observed 5 days after incubation at 28°C. The pycnidia were observed mainly on the ribs, exuded conidial masses from the ostiole.

These conidial masses could be macroscopically observed and were similar to those of *G. cingulata* and *C. acutatum*. When water was dribbled to the lesion of *D. obscurans*, the pycnidia exuded white filamentous conidial masses, alleviating the distinction of *D. obscurans* from *G. cingulata* or *C. acutatum*.

Bioassay by SDEI revealed that 83% of the plants in growers' fields were latently infected by *G. cingulata* and 58% by *D. obscurans*. In such fields, only 0.8%–2.5% of the plants became wilted or died caused by *G.cingulata*.

When the latently infected plants from naturally infested fields were kept under the optimal conditions for disease development for 5 weeks, 70.0%–83.3% of them became wilted or died due to *G.cingulata*. However, only 5.6%–6.7% of the plants diagnosed as to be without latent infection by SDEI became wilted or died.

SDEI is useful for detecting latent infections in the process of selecting disease-free plants.

In conclusion, in these studies, the author confirmed ecology, epidemiology and integrated disease management that cultural, chemical and biological control. The results of these studies have already been adopted for the development of a standard method of control in many countries including Japan. As a result, it has become possible to alleviate the yield loss associated with the outbreak of strawberry anthracnose.