

作物名	イチゴ	県名	愛媛県	所属	愛媛県病害虫防除所
			担当者	奈尾雅浩	
調査・研究課題名 イチゴ小葉における炭疽病による赤色小斑の発生について					

## 1. 目的

2013 年に県内で採集したイチゴ炭疽病菌を県内主要品種のイチゴ苗に無傷接種したところ、既に県内で発生している汚斑症状、大型病斑に加え、新たに大きさ 1~3mm、同箇所の葉表から葉裏へ突き抜ける赤色小斑が発現した。2013~2014 年の露地圃場のイチゴ株上にこの赤色小斑が確認された(図 1) ことから、分離菌株の所属と汚斑症状と比較した赤色小斑の発生割合を明らかにする。

## 2. 調査(試験)方法

### 1) 分離菌の形態と大きさ

供試菌株は 2014 年 8 月 5 日に品種‘紅ほっぺ’小葉の赤色小斑から分離した R-1, 2 菌株、対照となる汚斑症状から分離した B-1, 2 菌株とした。明条件は BLB ランプ(10W)の 12 時間照射、暗条件は 12 時間のサイクルで 25℃下に置いた PDA 培地上の分生子の大きさ、R-1, 2 菌株は PCA スライドカルチャー上の付着器の形態観察と大きさ測定を行った。

### 2) 分離菌の PCR による判別

分離菌 R-1, 2 菌株の各菌糸体から MagExtractor -Plant Genome- (TOYOBO 製) で DNA を抽出した。耐熱性ポリメラーゼは Applied Biosystems 社製の AmpliTaq Gold® 360 Master Mix を供試し、White et al. (1990) の ITS1 プライマーと ITS4 プライマーを用い ITS1、ITS2 を含む rDNA を PCR 増幅した。PCR 反応は 94℃・2 分に続いて、94℃・30 秒、50℃・30 秒、72℃・1 分を 35 サイクル繰り返し、72℃・7 分で最終伸長させた。PCR 産物のシーケンスはシグマアルドリッチジャパン(株)に依頼した。アライメントした塩基配列は国際塩基配列データベース (GenBank/EMBL/DDBJ) で BLAST により相同性検索を行った。

### 3) 分離菌の病原性確認と赤色小斑等の発生割合

ポット植えのイチゴ品種‘紅ほっぺ’(各区 5 株供試)に  $5.0 \times 10^5$  個/ml 調整の分離菌 R-1, 2、B-1, 2 菌株の分生子を葉表のみに無傷接種した。24、48 時間湿潤処理後、人工気象室にて気温 25℃、明条件が光量子束密度  $129 \mu \text{mol}/\text{m}^2\text{S}$  (照度 8,300lux) の 16 時間照射、暗条件 8 時間のサイクルで管理した。接種 14 日後に赤色小斑、汚斑症状の発生数と割合をカウントした。

## 3. 結果の概要

### 1) 分離菌の形態と大きさ

各菌株の分生子は無色、単胞、両端鈍円であった。分生子の大きさは、菌株によって異なっていたが、過去の県内分離菌または既報の測定値から大きく逸脱することはなかった(表 1)。R-1,2 菌株の付着器は褐色、不定形であり、2 菌株の最小、最大値による大きさは  $7.0 \sim 14.0 \times 5.0 \sim 10.0 \mu \text{m}$  であった。以上の形態は、*Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* (Weir et al.,2012) の特徴を示していた。

### 2) 分離菌の PCR による判別

R-1 菌株で 554 塩基、R-2 菌株で 566 塩基をアライメントして決定した。BLAST による相同性検索では、アクセッションナンバー GU066703, GU066619 の *Glomerella cingulata* や FJ550213

の *C.gloeosporioides*、JF730185 の *Colletotrichum* sp.と 100%の相同性を示した。なお、*G.cingulata* は *C.gloeosporioides* の完全世代となる (Sutton, 1980)。

### 3) 分離菌の病原性確認と赤色小斑等の発生割合

分離菌は全て病原性を有していた。被覆時間 24 時間よりも 36 時間の病斑形成数が多くなった。赤色小斑は汚斑症状に比べ形成数は少なかったが、汚斑症状から分離した B-1,2 菌株を接種したイチゴ株でも赤色小斑が確認された (表 2)。

以上の結果から、現地のイチゴ小葉で発生している赤色小斑 (small reddish spot) は、炭疽病の一つの症状であり、自然発病することを明らかにできた。

### 4. 主要成果の具体的数字

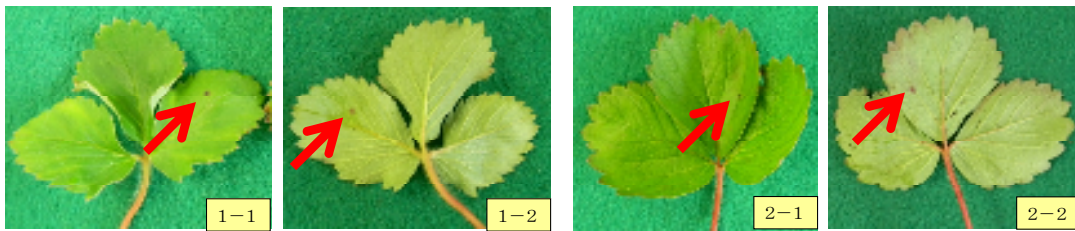


図1 現地で採集した赤色小斑を有する小葉

品種:紅ほっぺ, 同一葉で1-1, 2-1が葉表, 1-2, 2-2が葉裏.  
 ↑:赤色小斑の発生位置(葉表裏で左右対称となっている).

表1 分離菌と既報のイチゴ炭疽病菌の分生子の大きさ比較

菌株名または出典	長径 ( $\mu\text{m}$ )		短径 ( $\mu\text{m}$ )
R-1	13.0~20.0	×	5.6~8.0
R-2	12.0~18.0	×	4.0~8.0
B-1	12.0~19.0	×	5.0~7.0
B-2	13.0~18.0	×	5.0~7.0
愛媛県採集菌	14.0~23.0	×	4.0~7.0
岡山(1989)	16.3~21.3	×	3.8~6.3
石川ら(1989)	17 ~22	×	4 ~7
松尾(1990)	10.0~16.3	×	4.0~6.0

愛媛県採集菌は,1991年2月~1992年9月採集の5菌株.

R-1,R-2は赤色小斑より, B-1, B-2は汚斑症状より分離した菌株.

表2 分離菌の接種により生じた病斑の種別割合(接種14日後)

供試菌株	被覆		赤色小斑	汚斑症状
	時間	病斑総数	発生率(%)	発生率(%)
R-1	24	23	8.7	91.3
	36	42	2.4	97.6
R-2	24	4	0	100
	36	106	1.9	98.1
B-1	24	19	5.3	94.7
	36	32	0	100
B-2	24	12	0	100
	36	36	2.8	97.2

被覆時間は, 分離菌接種後のポリ袋内での湿潤時間.