

I－2. 東北地域におけるイチゴうどんこ病に対する拮抗微生物の収集と特性評価

野菜・茶業試験場
久留米支場病害虫研究室

小板橋 基夫

I－2. Antagonistic Interactions between Strawberry Powdery Mildew and Phylloplane Fungi of Strawberry in Tohoku Area

Motoo KOITABASHI

Laboratory of Plant Disease and Pest Management, Kurume Branch,
National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea,
Miimachi, Kurume, Fukuoka 839-0852, Japan

1. 目的

我が国のイチゴ栽培上において最も重要かつ深刻な問題にうどんこ病の発生が挙げられる。イチゴうどんこ病は年間を通じて発生に注意を払う必要がある上に、果実にうどんこ病が発生すると商品価値が著しく低下し出荷不能となる。東北地方においては西日本の‘とよのか’中心の品種構成とは異なる、青森県の‘エバベリー’、岩手県の‘ベルルージュ’、宮城県の‘女峰’、福島県の‘章姫’等の多様なイチゴ品種が栽培され重要な作目となっている。そこで東北地域各地で栽培されている様々なイチゴ品種上から多様な糸状菌を収集し、菌類相の調査を行い、さらに分離菌の中からイチゴうどんこ病菌に対して発病を抑制する菌株をスクリーニングし、生物防除法開発のための研究資材とするために本調査を行った。なお、東北地方と隣接し、東日本のイチゴ栽培の中心である栃木県からも収集を行った。

2. 実施の概要

探索は2000年1月18日から21日にわたり東北4県および栃木県から、西日本ではほとんど栽培されていないイチゴ品種の栽培状況を視察すると共に、施設内で栽培されているイチゴから葉、果実および果柄の各部位を採取した(図1および表1)。盛岡市では一部露地圃場からもイチゴ葉を採取した。試料採取時にうどんこ病の発病が見られた場合は各部位の罹病部も採取した。殺菌した器具で採取したイチゴ各部位は滅菌ビニール袋に密封後、冷蔵便で研究室に輸送し、菌の分離まで低温条件下で保存し実験に供試した。

3. 収集成果

1) 方法

I. 糸状菌の分離

本調査ではイチゴ体表上に偶着している菌も含めて洗浄法で微生物の検出を行った。各地から採取したイチゴ各部位から無菌的に試料の調整を行った。1 調査圃場あたり葉では任意に選んだ5枚の小葉から1 cm²の葉片を切り出し、果実では5個の果実から1 cm²の果実表面を1mmの厚さに削ぎ、果梗では直径2mm程度の5本の果梗から1 cmの長さに切断した各試料を10mlの殺菌水に入れた。その後、各試料の入った試験管を激しく振盪し(80回/1分間)、イチゴ組織から菌の脱着を図った。その後、処理液をペトリ皿3枚に1mlずつ分注し、直ちに固着寸前の麦芽エキス寒天培地(Difco社製 0.05g/lのクロラムフェニコール添加)を9ml流し込み、25℃の培養器中に置き10日後までに発生した菌叢を2%の素寒天培地に分離し、その後定法に従い同定した。同一のペトリ皿中に同一菌種が出現した場合には菌の分離はそれらの内から選択して行った。

II. うどんこ病菌に対する拮抗性の評価

イチゴ体上から分離された396菌株の糸状菌および酵母状微生物を用いてうどんこ病菌に対する菌体あるいは菌の生産物による拮抗性の評価を行った。うどんこ病フリーの‘とよのか’の展開直後の小葉から直径1.5cmのリーフディスクを作り、湿らせたろ紙を敷いた直径9cmのペトリ皿に5枚裏面を上にして並べた。その後、イチゴうどんこ病菌罹病葉から分生胞子を落下、付着させ接種を行った(ダスティング法)。その上からPDA培地に10日間培養した供試菌株をかぶせ20℃の室内に置いた。拮抗性の評価は処理7日後にリーフディスク上に形成された病斑の面積を基準に評価した。調査方法は武田ら(1998)の方法に基づき実体顕微鏡下で分生胞子形成を伴う病斑の面積率に下記の指数を与えて調査した。

指数0:無発病, 指数1:病斑面積率5%以下, 指数2:6~25%,

指数3:26~50%, 指数4:51~75%, 指数5:75%以上。

発病度 = $[\sum (\text{指数} \times \text{該当リーフディスク数}) / 25] \times 100$

さらにコムギのうどんこ病についても同様に拮抗性を評価した。人工気象器内で育苗した播種7日後のコムギ‘農林61号’の子葉から5~6cmの葉片を切って実験に供試した。湿らせたろ紙を敷いた直径9cmのペトリ皿に5枚の葉片の裏面を上にして並べてダスティング法を行った後にイチゴと同様に発病度を調査した。

2) 結果

I. 収集菌株の一次特性(分類学的位置づけ)

イチゴの健全およびうどんこ病罹病部を含む葉、果実、果梗の合計114の試料を供試して菌の分離を行った。その結果、総数で9418コロニーの糸状菌が分離された(表2)。その内で*Cladosporium*属菌が分離菌の63.3%を占め最優占種となった。*Cladosporium*属の中では*Cladosporium cladosporioides*が5177と最も多く分離された。それに続いて*Penicillium*属菌が22.1%で、この2属で全分離菌の85%以上を占めた。その他には*Aureobasidium pullulans*や*Alternaria*属菌などの分離数が多かった。

各県から採取した試料数と分離菌数を表3に示したが、地域的に分離される糸状菌数に大きな差は認められなかった。イチゴ各部位別の平均分離数を見ると果実からの分離数が最も多く、葉の1.7倍となった。うどんこ病罹病部と健全部から分離された糸状菌に量的質的な違いは認められなかった。各試料からの微生物の分離数は全く検出されない試料もあるが、多いものは 1.2×10^3 を越えるものもあり、かなりのばらつきが認められた(表4)。岩手県の露地で栽培されていたイチゴ葉から採取した7試料からの平均分離数は施設内試料と同程度であった。

II. うどんこ病菌に対する拮抗性

供試菌のうどんこ病菌に対する拮抗性を調査したところ、発病指数が0のうどんこ病を全く発病させない糸状菌が13菌株認められた(表5)。これらの菌株については2回の反復試験を行い、拮抗性の確認を行ったが、その効果は安定していた。供試菌株の中にはイチゴ葉を変色あるいは枯死させてしまう病原性のある菌株が32菌株認められた。

イチゴのリーフディスクでは新鮮な展開葉を使った対照におけるうどんこ病の発病度が68.0と比較的低かったことと、他のうどんこ病の抑制効果を検討するために接種葉の発病度が容易に100.0になるコムギうどんこ病菌についても拮抗作用の検討を行った。その結果、供試菌中の9菌株が発病指数0の強い発病抑制を示した(表6)。2種のうどんこ病に共通して拮抗性を持つ抑制菌株は7菌株であった。それらのうち多数の胞子を形成する *C. cladosporioides*, *Nigrospora* sp. および *Penicillium* sp. の3菌株が同定された。その他の菌株は白色菌糸体のみの菌株が3菌株、褐色菌糸体のみの菌株が1菌株であった。それら菌株以外にも、今回の調査では多数の菌株がリーフディスク上のイチゴうどんこ病の発病の抑制効果を示したので、これらの菌株についても併せて今後うどんこ病の生物防除法開発のための研究に供試したい。

4. 所感

今回の調査では冷涼な環境のイチゴ産地の調査を行うことができた。西日本のイチゴ栽培と比較して多様な品種が栽培されていることや、低温に対する加温施設が整備されているため微生物の生育に好適な条件となっていることなどにより、イチゴ上からは多様な微生物相が観察できた。分離された微生物は分離手法に洗浄法を用いたこともあり、一部の優占種の分離数がほぼ全体の80%近くを占め、試料間における分離数のばらつきなどが認められた。これらの特徴は、分離された微生物の種類について含めて筆者らが従来より調査していた西南暖地の植物上の葉面微生物相との共通性が認められた¹⁾。今回の調査で分離された糸状菌には胞子形成の認められない菌株が多数を占め、未同定菌が多くなったのでさらに同定作業を継続したい。

また、今回の遺伝資源探索の目的であるイチゴうどんこ病に対する拮抗糸状菌が多数選抜できた²⁾。今後は個々の抑制菌株の抑制要因について解析する必要がある。また、抑制菌株のイチゴ体上への定着性の検討、さらに実際の圃場における効果の試験をする必要がある。また、生物防除法開発のために有望な菌株については特性調査を進め、ジーンバンクへの登録を検討したい。

今回の調査を通じて協力機関の関係者の皆様には圃場案内や試料収集の補助などに多くのご支援を頂きました。最後になりましたが、この場をお借りいたしまして感謝申し上げます。

5. 協力機関

栃木県農業試験場

福島県原町農業改良普及センター

青森県畑作園芸試験場

野菜・茶業試験場野菜育種部

宮城県農業センター

6. 参考文献

- 1) 小坂橋基夫ら (1993) : コムギ葉面から分離された 3 種の糸状菌によるコムギうどんこ病の発病抑制. 日植病報 59: 720.
- 2) 小坂橋基夫ら (2000) : 東北各地のイチゴ体上から分離された各種糸状菌のイチゴうどんこ病発病に及ぼす影響. 日植病報 66: 257.
- 3) 武田敏幸ら (1998) : 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル (22) イチゴうどんこ病. 植物防疫特別増刊号 No.4 pp104-107.

Summary

Collection and Evaluation of strawberry phylloplane fungi were conducted in Tohoku area January 18-21, 2000. The total number of the isolates obtained from 114 samples were 9418, and these isolates were grouped into 15 genera. Among these, the most predominant was *Cladosporium*, the relative frequency of which was 63.3%. This genus was followed by *Penicillium* with 22.1%, and the remaining genera comprised of *Aureobasidium* (2.2%), *Alternaria* (0.5%), *Acremonium* (0.2%), *Fusarium* (0.1%), etc.

A total of 396 fungal isolates was obtained from strawberry phylloplane. The each isolate was tested for its suppressive effects on the symptom of strawberry powdery mildew. Strawberry leaf disks were inoculated with strawberry powdery mildew by shaking conidia from strawberry leaves infected with powdery mildew over them. Leaf disks were covered with testing microorganisms that had been previously cultured on potato dextrose agar media for 10 days and incubated at 20°C. Of the tested isolates, 13 isolates showed strong inhibition effects. Three isolates identified as *C. cladosporioides*, *Nigrospora* sp. and *Penicillium* sp. suppressed the disease on the leaf disks. These results indicate the possibility of finding antagonistic fungi in the nature for the control of strawberry powdery mildew.

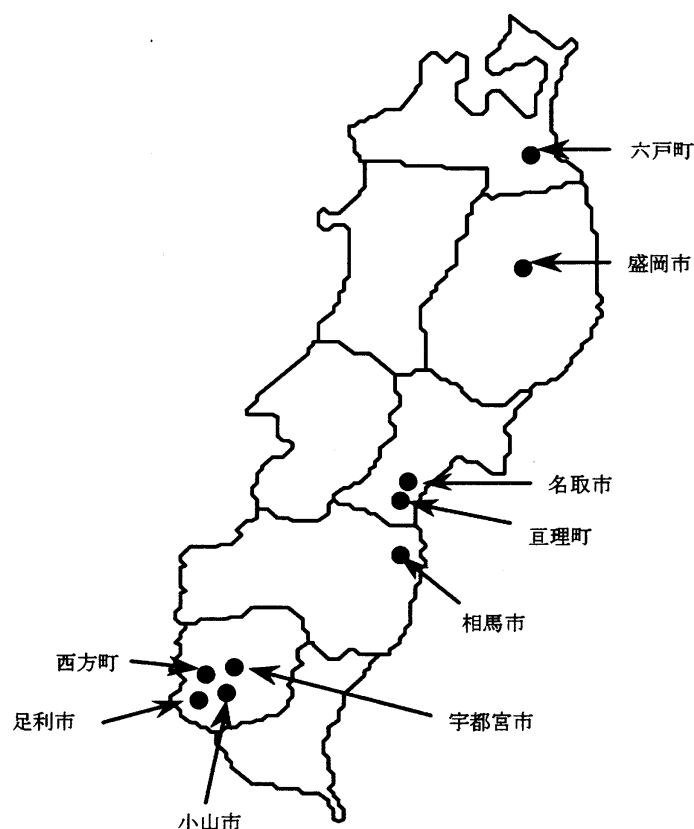


図1 東北地方および栃木県におけるサンプル収集地点

表1 東北地方および栃木県のイチゴ植物体上の糸状菌分離のための探索日程

年月日	行 程	行 動 内 容
2000 年		
1 月18日	久留米市→栃木県宇都宮市 小山市，足利市，西方町	移動 栃木農業試験場周辺および 隣接地域からの試料採取
19日	宇都宮市→福島県相馬市	福島県相馬市周辺からの試料採取
	相馬市 →青森県三沢市	移動
20日	三沢市 → 六戸町	青森県畑作園芸試験場内圃場から 試料採取
	六戸町 →岩手県盛岡市	野菜・茶業試験場野菜育種部場内 圃場から試料採取（事前採取依頼）
	盛岡市 →宮城県仙台市	移動
21日	仙台市 →亶理町，名取市	仙台周辺および宮城県農業センター 内圃場から試料採取
	仙台市 →久留米市	移動

表2 イチゴ植物体上から分離された糸状菌

属 名	分 離 数	分離率 (%)
<i>Cladosporium</i> spp.	5959	63.3
<i>Penicillium</i> spp.	2084	22.1
<i>Aureobasidium</i> spp.	94	1.0
<i>Alternaria</i> spp.	43	0.5
<i>Acremonium</i> spp.	22	0.2
<i>Fusarium</i> spp.	13	0.1
<i>Trichoderma</i> spp.	13	0.1
<i>Botrytis</i> spp.	12	0.1
<i>Pestalotiopsis</i> spp.	6	0.06
<i>Rhizopus</i> spp.	6	0.06
<i>Aspergillus</i> spp.	2	0.02
<i>Chaetomium</i> spp.	2	0.02
<i>Arthrrium</i> sp.	1	0.01
<i>Nigrospora</i> sp.	1	0.01
<i>Torula</i> sp.	1	0.01
Unidentified	1159	—
計	9418	

表3 イチゴ試料採取数と分離菌株数

県 名	試料数	小 葉	果 実	果 梗	分離菌株数
栃 木	26	4	12(5)	10(3)	2093
福 島	16	5	5	6(1)	395
宮 城	33	10(1)	12(5)	11(4)	3068
岩 手	21	21	0	0	1715
青 森	18	6	6	6	2147
計	114	46	35	33	9418

() は試料数中の罹病試料数

表4 イチゴ部位別の1試料あたりの分離糸状菌の比較

部 位	平均分離数	範 囲	サンプル数	罹病部平均
小 葉	75.4	0 ~ 1292	46	77.0
果 実	130.7	0 ~ 963	35	235.0
果 梗	30.4	0 ~ 167	33	12.8

表5 供試菌のイチゴうどんこ病発病に及ぼす影響

発病指数	菌 株 数
0	13
0.1 ~ 1	23
1.1 ~ 2	59
2.1 ~ 3	54
3.1 ~ 4	215
4.1 ~ 5	0
枯 死	32
計	396
対 照	発病指数 3.4 発病度 68.0

表6 供試菌のコムギうどんこ病発病に及ぼす影響

発病指数	菌 株 数
0	9
0.1 ~ 1	1
1.1 ~ 2	2
2.1 ~ 3	35
3.1 ~ 4	130
4.1 ~ 5	213
枯 死	6
計	396
対 照	発病指数 5.0 発病度 100.0

微生物の探索収集プロフィール



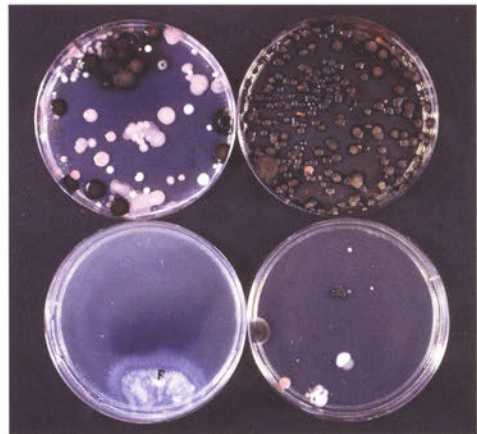
那覇市牧志市場・漬け物店（木元）



宮古島サイレージ採取（木元）



宮城県亶理郡亶理町の調査圃場（小板橋）



イチゴ葉からの葉面微生物の分離状況（小板橋）



サハリン Sokol 支所実験棟（写真中央）（吉田）



線虫の分離（机上のアイスクリームカップの中に土壌サンプルとハチノスツヅリガ幼虫が入っている。サハリン Sokol 支所にて）（吉田）