Phytophthora fragariae によるイチゴ根腐病に関する研究*

第1報 病原菌の同定

森 田 傳**

Hitoshi MORITA** : Red stele root disease of strawberry caused by *Phytophthora fragariae*.

I. Identification of the causal fungus.

I. 緒 言

イチゴ根腐病の発生はかなり古く、静岡県下では昭和 24 年に静岡市下川原の露地栽培地帯でみとめられた。その後、静岡県の中部栽培地帯に広く蔓延し、生産地に大きな被害を及ぼした。原因については、発生以来種々な方法で検討が加えられたが明確な結論は得られなかつた。一方、わが国では静岡県以外に、兵庫県、大阪府にも古くから発生がみとめられており、兵庫県のものについては *Pythium* sp. によつて起る根腐病⁹⁾であると報告された。静岡県で発生したものの被害根からも 5 種類の *Pythium* 属菌が分離されたが、接種試験でいずれの菌も自然発病のものと同じ病徴を示さず、他の病原菌によつて発病するのではないかと考えられた。発生の最盛期に、岸¹⁰⁾も農林省園芸試験場興津支場において本病を調査し、数種類の *Pythium* 属菌を分離し病原性の検討を行なつたが、病原菌とみとめられるものは得られず、本病は他の菌によつて起るものであろうとの結論を下した。本病の病徴の一つは、被害根の中心柱が赤褐色に変色することであるが、その病徴は 1940 年に Hickman⁹⁾ により報告され、その後諸外国で報告されている red stele root disease と全く一致している。それらのことから、本病は *Phytophthora* によるものではないかと推定されたが、被害根から病原菌が検出されないままに終わり、原因は依然としてここ数年間不明のままであつた。しかし、繰返し調査した結果、昭和 37 年 12 月に被害根から *Phytophthora* 菌を検出し、分離培養することができたので接種試験を行なつた結果、自然発病のもの

と同じ病徴を起す菌であることが明らかとなつた。この根腐病を著者⁹⁾はフィトトラ根腐病として昭和 39 年度植物病理学会大会で報告したが、その後、大阪府・兵庫県に発生している病害も静岡県に発生しているものと同じ病徴のもので、数多くの被害根から *Phytophthora* 菌が分離培養され、静岡県に発生しているものと同一菌と同定されたので、いままで慣用されていた根腐病の病名を用いることにした。本病は *Phytophthora fragariae* Hickman によつて起る病害であることも確かめ得たので、イチゴ根腐病は *Phytophthora fragariae* Hickman による病害とし、その他の *Pythium* sp. などによる場合は根腐症と呼んで区別することを提案したい。

本研究の実施にあたり御指導を賜つた元場長河合一郎博士、山下俊平部長、森喜作科長に深謝し、絶えず助言と御指導を賜つたアメリカ農務省研究部 Richard H. Converse、農業技術研究所鈴木直治、荒木隆男、農薬検査所長堀正侃の諸博士ならびに *Pythium* 属菌の分類、接種方法について御指導下さつた大阪府大高橋実博士に併わせて感謝の意を表する。

II. 供試材料と試験方法

前述のように、本病の病原菌については、*Pythium* sp., *Phytophthora* sp. などの諸説があり、結論が出されていないので、病原菌決定を主眼として試験を行なつた。

1. 病 徴：静岡市下川原、島田市六合に発生したマーシャル、幸玉などの品種を取材として調査した。

2. 病原菌の分離：藻菌類の分離は宇井¹¹⁾によつてサトウダイコンの黒根病において指摘されているように培地による分離と水浸による分離とでは検出される

* 静岡県農業試験場臨時報告第 93 号

** 静岡県農業試験場

菌が異なる。被害根からの水浸による調査は昇汞 1000 倍液で表面殺菌し、殺菌水で洗浄後、red stele だけを取りだし、殺菌水に浸漬、14°C~18°C の恒温室に 3~6 日間置いて調査した。培地による分離は、Eckert⁵⁾、桂⁷⁾、による選択培地があるが、被害根を各種抗生物質に浸漬した場合には青かびの発生が多く、ストレプトマイシンなどの培地への添加は菌の生育を阻止したので、常法により 2% しょ糖加用ジャガイモ煎汁寒天、水 1 l 当り、インゲンマメ 150 g 煎汁寒天培養基を使用して分離を行なった。供試した被害根は静岡県のものは幸玉、大阪府、兵庫県のものは、現地で採集したものおよび被害根を殺菌土に入れ、それに健全なマーシャル、ブレイクモアーを植えて発病させたものから分離を行なった。

3. 接種方法：無病マーシャルの苗を供試し、次の方法で、殺菌土壌に供試菌を接種した直径 30 cm の素焼鉢に定植した。接種・定植は昭和 38 年 10 月 14 日に行なった。*Phytophthora* sp. はインゲン培地に培養したものを小さく切り、殺菌水に 3 日間浸漬後、水ごと土に灌注した。*Pythium* sp. No. 1, No. 2, *Pythium mastophorum*, *Rhizoctonia* sp. (当场分離菌) はフスマ 100 g・水 260 ml・しょ糖 0.5 g の培養基に 2 週間培養したものを 1 鉢当り 50 g 定植時に土の中に混入接種した。*Fusarium oxysporum* は前記ジャガイモ寒天培地に 2 週間培養後、菌そうごと胞子を取り、殺菌水と共に 1 鉢当り 500 ml フラスコに培養したものを接種した。1 処理 2 鉢で、1 鉢 3 本植え、*Fusarium* 区のみ 2 株とし、発病調査は 12 月 26 日と 5 月 16 日に行なった。

4. 病原菌の同定方法：イチゴの根に寄生して根腐病を起こす *Phytophthora* は *Phytophthora fragariae* Hickman しか報告されておらず、実験中の観察において *Phytophthora fragariae* とかなりの類似点が見とめられたので、アメリカ農務省研究部から送られたものとも比較したが、接種試験は病菌の性質上行なえなかつたので、Hickman, Bain らの記載と比較した。

培養的性質を知るために、インゲン培地上での、温度、pH と生育との関係について調査した。pH は HCl と NaOH を使用して調整し、寒天が固まつてからガラス電極 pH メーターで測定した。遊走子のうは培地上ではほとんど形成されないもので、水浸して形成させ調査した。水浸液は赤井¹⁾がイネ黄化萎縮病菌で遊走子のうの形成にリン酸塩、炭酸カルシウム、微量元素の添加が影響することを指摘しているので、M/15

KH_2PO_4 : M/15 Na HPO_4 : 蒸留水を 1 : 1 : 8 の割合にした液および、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, のそれぞれ 153, 807, 943, 486 ppm の混合液を供試した。藏卵器、卵胞子、藏精器の培地上での形成については Converse⁸⁾ の報告があるが、いずれの培地上でもはつきりと藏卵器とみとめられるものが得られなかつたので、無病苗に水中接種を行ない、Hickman, Bain らと同様に red stele をおこした罹病根に形成されたものについて調査を行なった。

III. 結 果

1. 病 徴

病徴の現われ方はその年の気象状況によつて異なるが、地下部の根には定植前の 10 月頃の育苗期間中からはつきりした病徴がみとめられる。外見上、地上部は健全なものほとんど区別がつかないような株でも、根は先端からわずかに褐変し、中心柱は赤褐色に腐敗しはじめている。地上部にはつきりした病徴がみとめられるのは、定植後の 12 月中下旬からで、温暖で降雨の多い年には定植後の生育が悪く、日が経つにしたがつて定植時より株に生氣がなくなり、株全体が健全なものに比較すると萎縮した状態になる。これらの株はその後の生長を停止し、やがて葉縁から赤紫色に変色しはじめ、やがて株全体が茶褐色に枯れてしまう。このような状態の時にはほとんどすべての根は腐敗し、褐色になつている。もう一つの病徴は春先までは健全な株と地上部の生育はほとんど変りはないが、降雨が続いた後の晴天の日に急激に茎葉が萎凋するので、いわゆる「ぐったり病」といわれる症状を現わすものである。萎凋しはじめた株はその後だんだんと生氣を失い、やがて枯死するものもあるが、全く商品とならない生氣のない小さい果実をつける程度で、極めて生育不良のまま生存するものもある。これらの株の根は根端から 1 cm 位褐変しているだけにもかかわらず、中心柱だけが全部赤褐色に腐敗しているものが多くみとめられる。中心柱の変色は最初は淡橙色であるが、やがて淡赤色となり、病勢が進むと赤褐色となり、やがて皮層の部分まで褐変してしまう。枯死した株の根の多くは皮層も中心柱も共に褐変し腐敗してしまう。早くから罹病した根は第 2 次根の発生は極めて少ないが、3 月頃のも雨により罹病しはじめたものは、2 次根から中心柱が変色、すなわち red stele をおこし、1 次根に感染し、根の途中から red stele がみとめられる場合もある。石垣イチゴの福羽でも早い

年には12月下旬から発病しはじめるが、2～3月に発病が多く、葉縁から茶色に変色しはじめ、この変色はやがて全葉におよび枯死する。

Fig. 1. Diseased strawberry growing on lowland farms, Shizuoka Prefecture.

2. 病原菌の分離

被害根を水に浸漬した場合の調査結果は第1表のとおりで、各地のものから *Phytophthora*, *Pythium* の分生孢子が検出された。

培地上に分離された菌についての調査結果は第2表のとおりで、4月19日の病勢のかなり進んだ株からは *Pythium*, *Fusarium* などが多く分離されたが、罹病したばかりの根を供試した神戸市、池田市のものからは *Phytophthora* が多く分離された。

3. 接種試験

抜きとり調査を行なった結果は第3表、第4表のと

Fig. 2. Comparison of healthy and diseased roots.

- a. healthy, without showing red stele.
- b. heavily diseased, with red stele and brown-discolored tip.
- c. diseased, with characteristic red stele.

Table 1. Fungi obtained from red stele-diseased roots of strawberry soaked in the sterile water.

Locality from where samples were collected	No. of roots investigated	Fungi		
		<i>Phytophthora</i> (%)	<i>Pythium</i> (%)	Sterile hyphae (%)
Shizuoka-Shi, Shizuoka Pref.	28	42.8	75	17.8
Shimada-Shi, Shizuoka Pref.	24	33.2	41.5	12.5
Ikeda-Shi, Ōsaka Pref.	106	54.7	25.5	39.6
Kōbe-Shi, Hyōgo Pref.	23	65.2	47.8	8.7

Table 2. Fungi isolated from red stele-diseased roots of strawberry on potato and kidney bean agar media.

Locality	No. of roots investigated	Fungi					Date of isolation
		<i>Phytophthora</i> (%)	<i>Pythium</i> (%)	<i>Fusarium</i> (%)	<i>Rhizoctonia</i> (%)	Other (%)	
Shizuoka and Shimada-Shi	256	0.8	39.1	14.1	8.6	14.4	Apr. 19
Kōbe-Shi	73	86.3	16.4	0	1.4	12.3	Jan. 18
Ikeda-Shi	35	51.4	8.6	5.7	8.6	28.6	Feb. 25
Takarazuka-Shi	50	10	2	10	8	72	Feb. 26

Table 3. Pathogenicity test of the isolated fungi to the root of strawberry

Fungi tested	No. of roots sampled	No. of healthy roots	No. of red stele roots
<i>Phytophthora</i> sp.	34.7	8.3	26.3
<i>Pythium</i> sp. No. 1	41.7	41.7	0
<i>Pythium</i> sp. No. 2	33.3	33.3	0
<i>Pythium mastophorum</i>	36.7	36.7	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	32.5	32.5	0
<i>Rhizoctonia</i> sp.	57.7	57.7	0
Water	56.3	56.3	0

Each figure represents the average of 3 plants.

Date of inoculation: October 14, 1963.

Date of investigation: December 26, 1963.

Table 4. Pathogenicity test of the isolated fungi to the root of strawberry

Fungi tested	Height of plant (cm)	No. of stems	No. of roots	No. of healthy roots	No. of red stele roots	Length of roots	Fresh weight of plants (g)
<i>Phytophthora</i> sp.	16	13	38.7	2.7	36	24	35.3
<i>Pythium</i> sp. No. 1	20	21.3	31.3	31.3	0	47.7	63.3
<i>Pythium</i> sp. No. 2	20.3	20	38.3	58.3	0	46	67
<i>Pythium mastophorum</i>	25	30.3	55.3	55.3	0	47	92.3
<i>Fusarium oxysporum</i>	24.5	18.5	48.5	48.5	0	56.5	73.5
<i>Rhizoctonia</i> sp.	23	24	52.7	52.7	0	50.7	77.3
Control	26.8	29.3	61.3	61.3	0	46.3	98.3

Each figure represents the average of 3 plants.

Date of inoculation: October 14, 1963.

Date of investigation: May 16, 1964.

Fig. 3. Non-inoculated strawberry plants (left) and *Phytophthora*-inoculated plants (right).

おりであつた。12月26日調査のものでは枯死寸前のものが1株みとめられた。*Phytophthora* 接種以外のものの根には褐変腐敗根はほとんどみとめられなかつた。*Phytophthora* 接種区の被害根には多くの *Phytophthora* の胞子がみとめられた。

4. 病原菌の同定

培養的性質：温度と生育との関係は第5表のとおりで、で 22°C 最も生育が良好で、30°C では生育がみとめられなかつた。

Table 5. Relation between temperature and growth of *Phytophthora* sp. on kidney bean agar medium.

Temperature (°C)	Diameters of colony after 11 days (mm)
5	9.4
10	16.0
15	42.4
20	49.0
22	61.9
25	21.2
30	0

Each figure represents average diameter of 4 colonies at each temperature.

pH と生育との関係は第6表のとおりで、生育は pH 6.0~6.7 の間でよく、pH 7.3 で急に悪くなり、pH 7.6 では生育がみとめられなかつた。

Table 6. Relation between the initial pH of culture media and growth of *Phytophthora* sp.

Initial pH	Diameter of colony after 16 days (mm)
4.6	17.6
5.2	26.8
6.0	28.2
6.7	28.5
7.0	19.3
7.3	7.5
7.6	0
8.0	0

Each figure represents average diameter of 3 colonies at 15°C.

Kidney bean agar medium.

形態：インゲン培地上およびマーシャル被害根での調査結果は次のとおりであつた。

菌糸：透明で隔膜はなく生育中のものは内容物が充実している。古くなつたものには隔膜がみとめられた。

遊走子のう：形は一般に逆洋梨形、卵形または円状のものもある。乳頭突起はみとめられない。大きさは $30.0\sim102.5\mu\times20.0\sim62.5\mu$ で、352 の平均は $58.7\pm11.1\mu\times32.8\pm7.7\mu$ であつた。遊走子のうは 2°C、20°C ではほとんど形成されず、5°C では形成がみとめられたが、15°C でもつともよく形成された。

Fig. 4. Sporangia formed from the fungus grown on kidney bean agar medium immersed in water.

Fig. 5. A sporangium which is clearly nonpapillated.

Fig. 6. Oogonium and antheridium in fertilization.

遊走子：遊走子のうから射出された遊走子は 43~45 個、休止した場合の大きさは $10\sim12\mu$ 、形は不規則な円状で片方の側面に溝がみとめられた。

藏卵器：red stele root の組織中に多く形成され

る。形は変化にとんでいるが、だ円形、基部が漏斗状の形態をしているものが比較的多かつたが、不規則円形状のものや、ラッキョウのような形のものもみとめられた。色は黄金色の強い黄褐色で、平滑である。大きさは $26.3\sim75.0\mu\times22.5\sim47.5\mu$, 214 個の平均値は $54.0\pm12.0\times36\pm5.2\mu$ であつた。

蔵精器: 頂生のものが多く、底着性で側着性のものはすくない。形は不規則なだ円形、円形、不正形で、大きさは $10\sim32.5\mu\times10\sim22.5\mu$, 209 個の平均値は円形状のもので $22.0\times4.1\mu\times16.3\pm2.5\mu$ であつた。

卵孢子: 蔵卵器中に一つ存在し、形は円形またはだ

Fig. 7. Oospores in diseased root tissue.

円形のものも多く、黄金色の強い黄褐色で、卵孢子の中に一つの大きな油球がみとめられるものもある。壁の厚さは $3.5\sim3\mu$, 大きさは円形状のもので $40.0\times22.5\mu$ で 214 個の平均は $31.6\pm3.4\mu$ であつた。

IV. 考 察

病徴は外国での報告とほとんど一致し、わが国の各地での病徴の特徴も red stele がみとめられている。わが国で現在、イチゴ根腐病と呼ばれているものは、病徴が同じであることと、被害根から *Phytophthora* が検出されることから、同一のものと考えられる。静岡県で発生したネグサレセンチュウによると考えられている病徴は、根の外皮から皮層へと腐敗していくので本病とは逆の形で、明らかに区別することができる。被害根から分離される菌は、分離する時期によつても異なるが、感染してから分離するまでの期間が問題になるようで、同じ2月では、病勢の進んだものからはあまり *Phytophthora* は分離できない。*Phytophthora* 以外の菌は、ここでの実験ではほとんど病原性がみとめられなかつたが、山本¹²⁾によつて報告された *Rhizoctonia candida* は発芽したばかりのイチゴに病原性があるとされているので、被害根から分離された *Rhizoctonia candida* に類似の *Rhizoctonia* sp. については今後検討すべきものと考えられる。*Pythium* についても、本病の病勢の進展にどのような役割を果し

Table 7. Comparison between *Phytophthora fragariae* investigated by Hickman, Bain Dimaree and the isolate of the present author's.

Investigation		Investigator		
		Hickman	Bain & Demaree	author
Growth temperature	Opt. growth at	20°C	22°C	22°C
	Die at	30°C	30°C	30°C
Growth hydrogen-ion concentration	Opt. growth at		pH 6.0~7.2	pH 6.0~6.7
	Die at		pH 7.8	pH 7.6
Sporangia	Terminal, nonpapillate, usually inversely pyriform*.			
	Average:	60~38 μ	65~38 μ	$59.7\pm11.1\sim32.8\pm7.7\mu$
Zoospores	Irregularly ellipsoidal, grooved on one side*.			
	Average:	12 μ	10 μ	10 μ
Oogonia	Terminal or lateral, commonly globose with funnel-shaped base, golden brown in colour			
	Average:	39 μ	$55\times39\mu$	$54.0\pm12.0\times36.0\pm5.2\mu$
Antheridia	Usually terminal, amphigynous or less paragynous*.			
	Average:	$22\times16\mu$		$22.0\pm4.1\times16.3\pm2.5\mu$
Oospores	Spherical, ellipsoidal or irregular, oospore wall 3 to 3.5 thick*.			
	Average in diameter of spherical spores:	33 μ	33.5 μ	$31.6\pm3.4\mu$

* The common descriptions reported by each investigator.

ているかは明らかでないで、二次的腐敗を助長する場合も検討すべきものと思われる。病原菌 *Phytophthora* の培養的性質および形態を *Phytophthora fragariae* と比較した結果は、ほとんどの記載において共通点が見い出された (Table 7)。生育と pH の関係では 0.2~0.5 の違いがみとめられたが、Davies⁴⁾ は 7.4 で生育が急に悪くなり、最適 pH 6.8 と報告している、pH の測定誤差 0.2 と考えるとほぼ一致している。Hickman と Bain らはオートミル寒天培地上で蔵卵器をわずかにみとめている。ここでは種々の培地上で培養したが、蔵卵器に類似したものはみとめられたが、はつきり蔵卵器と判断できるものはみとめられなかつた。Converse は前述のように red kidney bean 寒天培地上での形成を報告している。著者もこの点については現在、Converse から送られた red kidney bean で培地を作り分離菌について調査中であるが、race との関連もあるので、培地上での形成については今後検討したい。以上のことから著者のイチゴ根腐病を起す *Phytophthora* を *Phytophthora fragariae* Hickman と同定してよいものと考えられる。

摘 要

1. 昭和 24 年から静岡市下川原に発生し、その後静岡県の主要露地栽培地帯に蔓延したイチゴの根腐れは、red stele をともなっており、被害根から多数の *Phytophthora* 菌が検出された。

2. 大阪府と兵庫県に発生しているイチゴの根腐れも red stele をともない、これらのものからも *Phytophthora* 菌が検出され、静岡県で発生しているものと同一の病害と判断された。

3. 被害根の中心柱からは、*Phytophthora* sp. *Fu-*

sarium oxysporum, *Pythium* spp. *Rhizoctonia* sp. などが同時に分離されたが、接種試験の結果、*Phytophthora* sp. 以外のものには病原性はみとめられなかつた。接種試験での病徴は自然発病のものと同一であつた。

4. この *Phytophthora* は培養的ならびに形態的特徴から *Phytophthora fragariae* Hickman であると同定された。
(1965. 4. 10 受理)

引 用 文 献

1. 赤井重恭・土倉亮一 (1964). 病害虫発生予察特報 (赤井重恭編) 17 (2): 95-111.
2. Bain, F. H. and Demaree, B. J. (1945). Jour. Agr. Res. 70 (1): 11-30.
3. Converse, H. R. and Shiroishi, K. K. (1962). Phytopath. 52 (8): 807-809.
4. Davies, E. M. (1956). Trans. Brit. Mycol. Soc. 42 (2): 193-200.
5. Eckert, W. J. and Tsao, H. P. (1962). Phytopath. 52 (8): 771-777.
6. Hickman, C. J. (1940). Jour. Pomol. and Hort. Sci. 18: 89-118.
7. 桂崎一 (1964). 土壌病害の手引 II (日植防協会編): 20-24.
8. 森田儔 (1964). 日植病報. 29 (2). 講要.
9. 高津覚・江戸恒雄 (1954). 兵庫農試研報 1: 63-103.
10. 田中彰一・岸国平 (1963). 蔬菜の病害と防除. 東京. 101-103.
11. 宇井格生 (1962). 北大農邦文紀要 4 (11): 60-65.
12. 山本和太郎・竹内正 (1961). 日植病報. 26. 講要.

Summary

Strawberry root rot was first recorded in a small area in the suburbs of Shizuoka city in 1949, where strawberries are usually grown on paddy fields after rice plants have been harvested and the flooding water has been drained off. Since then this disease has spread in the strawberry growing areas in Shizuoka Prefecture. The symptoms were always accompanied by red stele which is characteristic to the *Phytophthora* infection. When the roots showing the red stele symptom were immersed in water, the pear-shaped sporangia characteristic to *Phytophthora* appeared abundantly on the root surface. The root rot disease of strawberry occurring in Osaka and Hyogo Prefectures was also accompanied by the red stele symptom. Abundant sporangia of *Phytophthora* were always detected from these diseased roots. The results indicate that the root rot disease is identical with that occurring in Shizuoka Prefecture. *Phytophthora* sp., *Fusarium oxysporum*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia* sp., and other unidentified fungi were isolated from the diseased roots. Inoculation experiments showed that only *Phytophthora* sp. was responsible for the unique red stele symptom. The *Phytophthora* sp. was identified as *Phytophthora fragariae* Hickman from the physiological and morphological characteristics.

(Shizuoka Agricultural Experiment Station, Shizuoka, Japan)