Colletotrichum acutatum Simmonds ex Simmonds による ブドウ晩腐病の発生*

山本 淳**・佐藤 豊三***・富岡 啓介***

Jun YAMAMOTO**, Toyozo SATO*** and Keisuke TOMIOKA*** : Occurrence of Ripe Rot of
Grapes (*Vitis vinifera* L.) Caused by *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds

Abstract

Glomerella cingulata (Stoneman) Spaulding et Schrenk (anamorph: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig et Saccardo) has been known as the pathogen of ripe rot of grapevine (*Vitis vinifera* L.). In addition to this fungus, another *Colletotrichum* species was isolated from fruits of grape cultivar 'Sekirei' with ripe rot in Shimane Prefecture in 1994. Colonies of the isolate on potato dextrose agar (PDA) were reddish to pale brown. Its conidia on PDA were one-celled, hyaline, ellipsoid to fusiform with acute ends and $12-17 \times 4-5 \mu\text{m}$. Appressoria formed on potato carrot agar were pale grayish brown, ellipsoid, rarely irregular in shape, and $8-11 \times 4-7 \mu\text{m}$. The isolate grew slower than that of *G. cingulata* isolates from grape fruits on PDA at the optimum temperature. These morphological and physiological characteristics agreed with those of *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds. The ripe rot symptom was reproduced on grapevine fruits after inoculation with the isolate of *C. acutatum*. These results lead us to propose that *C. acutatum*, as well as *G. cingulata*, causes ripe rot of grapevine.

Key words : *Colletotrichum acutatum*, ripe rot, anthracnose, grapevine, *Vitis vinifera*.

Colletotrichum acutatum Simmonds ex Simmonds によるブドウの病害は、1996 年、アメリカでマスカディニア亜属 (*Muscadinia*) のブドウでの発生が報告されており⁴⁾、ニュージーランドにおいては真ブドウ亜属 (*Euvitis*) のブドウから同菌が検出、分離されている⁶⁾。しかし、我が国ではこれまで、同菌によるブドウの病害の記録はない⁵⁾。1994 年、島根県出雲市産のブドウ '赤嶺' の晩腐病果粒から糸状菌を分離したところ、晩腐病菌の *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding et Schrenk と異なり、*C. acutatum* に酷似した菌が分離された。そこで、その糸状菌について同定および接種試験を行うとともに、ブドウの発病果粒からの分離頻度を調べた。

病徴 成熟果粒 (品種 '赤嶺') の表面に、はじめ淡褐色、円形の斑点が出現し、その後、斑点の拡大とともに、果皮に同心円状のしわが生じ、病斑中央付近には鮭肉色の分生子塊が形成される。発病果粒の症状は *G. cingulata* による晩腐病の症状とほとんど区別ができない (図版 I-1)³⁾。

病原菌の同定 1996 年、出雲市芦渡町島根県農業試験場 (以下島根農試) の圃場で栽培中の品種 '赤嶺' の罹病果粒から菌株を得た。分離は、20 倍希釈の次亜塩素酸ナトリウム溶液で 5 分間殺菌し、滅菌水で洗浄した病斑組織片を、

ジャガイモ煎汁寒天培地 (PDA) に置床し、そこから伸長した菌糸を移植することにより行った。分離した菌株は PDA 培地上、25°C、近紫外線 (東芝 FL20S BLB ランプ) 照射下で 10 日間培養し、形成された分生子を用いてさらに単孢子分離し菌株 S96a1 を得た。PDA 培地上 25°C 暗黒下で 16 日間培養した菌株 S96a1 の菌叢は、S96a1 と同じ圃場から同様に分離した *C. gloeosporioides* 菌株 (S96g2)、*G. cingulata* 菌株 (S96G3) や島根県大原郡加茂町の圃場から同様に分離した *G. cingulata* 菌株 (S96G4) とは異なった。すなわち、同菌は菌叢が灰白ピンク色であり (図版 I-2)、分生子層は灰黒～灰褐色、分生子塊は肌色～橙色で、分生子は両端が尖った楕円～紡錘形の無色単胞で (図版 I-3)、大きさは $12-17 \times 4-5 \mu\text{m}$ であった。また、S96a1 菌株をニンジン・ジャガイモ寒天 (PCA) 培地上、25°C 暗黒下で 6 日間培養した結果、菌糸から形成された付着器は灰褐色、楕円形まれに不整形で、大きさは $8-11 \times 4-7 \mu\text{m}$ であった (図版 I-4)。既報¹⁴⁾ の *C. gloeosporioides* および *C. gloeosporioides* 菌株 (S96g2) の分生子および付着器の形態と上記の S96a1 の各形態と比較すると、明確な差が見られ、菌株 S96a1 は *C. gloeosporioides* よりも *C. acutatum* の形態¹⁴⁾ と一致した (第 1 表)。

* 本報の概要は平成 9 年度日本植物病理学会関西部会で発表した。

** 島根県農業試験場 Shimane Agricultural Experiment Station, Izumo 693-0035, Japan

*** 四国農業試験場 Shikoku National Agricultural Experiment Station, Zentsuji 765-8508, Japan

第 1 表 ブドウ晩腐病様症状の果粒から分離された菌株と既知 *Colletotrichum* 属菌との形態比較

菌株および種	分生子 ^{a)}		付着器 ^{b)}	
	形態	大きさ(μm)	形態	大きさ(μm)
S96a1	楕円～紡錘形, 両端が尖る	12-17×4-5	楕円まれに不整形, 灰褐色	8-11×4-7
<i>C. acutatum</i> ¹⁴⁾	紡錘形, 両端が尖る	8.5-16.5×2.5-4	棍棒状	8.5-10×4.5-6
S96g2	円筒形, 先端が丸い	12-14 (-20.5)×4-5	不整形～楕円, 暗灰色	9-12×5-7
<i>C. gloeosporioides</i> ¹⁴⁾	円筒形, 先端が丸い	9-24×3-4.5	不整形または棍棒状	6-20×4-12

a) PDA 培地上で形成されたもの, b) PCA 培地によるスライドカルチャーで形成されたもの

次に, S96a1 およびそれと同種と推定された S96a5 (1996 年, 島根農試圃場の‘赤嶺’から同様の方法で分離された菌株), さらに, 比較用菌株として S96g2 を供試し, 温度別に生育を調べた。PDA 平板培地 25℃ 暗黒下, 4 日間培養後の菌叢周縁部を直径約 6 mm のコルクボーラーで打ち抜き, そのディスクを直径 9 cm ガラスシャーレに注入した PDA 平板培地の中央に置床した。これらシャーレを 8, 10, 15, 20, 22.5, 25, 27.5, 30, 35 および 40℃ の各温度に設定した定温器内に保ち, 3, 6, 10, 20 日後に菌叢

第 1 図 ブドウ晩腐病様症状の果粒から分離された菌株の生育と温度(直径 9 cm PDA 平板上, 暗黒下 6 日後の菌叢直径)

□: *C. acutatum* (S96a1), ■: *C. gloeosporioides* (S96g2), ▨: *C. acutatum* (S96a5).

直径を計測した。なお, 1 温度区当たり 5 枚の平板を用い 3 回反復した。その結果, 供試した S96a1, S96a5 菌株は 8～35℃ で生育し, 生育適温は 25℃ 付近と考えられた。これら 2 菌株の生育は, 菌株 S96g2 (*C. gloeosporioides*) の菌株に比べて緩慢で, *C. acutatum* の特徴^{2,8,10-13)}を備えていた(第 1 図)。また, 佐藤^{7,8)} および佐藤ら^{9,11)} はベノミル剤添加培地上での生育の違いにより, *C. acutatum* の菌株と *C. gloeosporioides* を簡易に判別できることを報告した。S96a1 菌株と S96g2 菌株に本法を適用した (1 菌株当たり各培地平板 5 枚を供試し, 3 回反復) 結果, S96a1 はベノミル添加培地上では無添加 PDA 培地上の生育に対して平均 21.9% の生育を示したが, S96g2 は 1.1% であった。したがって, 上記の簡易判別法によっても S96a1 は *C. acutatum* と判別された。

以上の結果から本菌を *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds と同定した。

病原性 1997 年 3 月 31 日, 出雲市浜町の加温栽培施設で接種試験を行った。菌株 S96a1 を PDA 培地 25℃ 2 日間暗黒下で培養後, 近紫外線照射下で 3 日間培養して得た分生子を滅菌水に 4.7×10^6 個/ml の密度で懸濁し, これを 11 年生の‘赤嶺’の花穂 15 個に噴霧接種後, 2 日間ポリエチレン袋で覆い保湿した。対照として, 滅菌水を噴霧した区を設けた。同様の試験を島根農試の雨よけ栽培圃場で, 1997 年 7 月 1 日に 9 年生の‘赤嶺’を用いて, また, 1997 年 6 月 19 日に 13 年生の‘デラウェア’を用いて行った。調査終了後, S96a1 の分離と同じ方法によって接種菌を再

第 2 表 ブドウから分離された *Colletotrichum acutatum* 菌株 S96a1 の‘赤嶺’および‘デラウェア’に対する病原性 (1997 年)

	試験 1 ^{a)}		試験 2 ^{b)}		試験 3 ^{c)}	
	接種区	対照区 ^{d)}	接種区	対照区	接種区	対照区
供試果房数 (房)	15	15	19	11	13	10
発病果房率 (%)	66.7	13.3	68.4	9.1	100	0
発病度 ^{e)}	40	5	23.3	1.3	76.9	0

a) 試験 1: 品種‘赤嶺’, 接種: 3 月 31 日 (開花直前), 調査: 8 月 7 日 (成熟期)

b) 試験 2: 品種‘赤嶺’, 接種: 7 月 1 日 (幼果期), 調査: 9 月 18 日 (成熟期前)

c) 試験 3: 品種‘デラウェア’, 接種: 6 月 19 日 (幼果期), 調査: 8 月 25 日 (成熟期)

d) 滅菌水を噴霧した。

e) 発病度 = $\frac{4A+3B+2C+D}{4 \times \text{調査果房数}} \times 100$

A: 果粒の 51% 以上が発病している果房数, B: 果粒の 21～50% が発病している果房数, C: 果粒の 6～20% が発病している果房数, D: 果粒の 1～5% が発病している果房数, E: 果粒に発病を認めない果房数。

分離した。その結果、いずれの品種においても S96a1 の接種により高率に発病が再現され(第2表, 図版 I-5), 発病果から同菌が再分離された。以上の結果から, *C. acutatum* のブドウ果粒への病原性が確認された。なお, ‘赤嶺’ で対照区でも一部発病が認められたが, これは野外圃場試験のため自然感染があったものと考えられた。

菌の検出頻度 島根県下2地点(出雲市芦渡町, 出雲市浜町)の雨よけ栽培圃場(品種‘赤嶺’)で1994年から1996年に晩腐病症状を呈する果粒を8~117個採取し, 上記の分離方法により菌を分離し, 分生子の形態および培養コロニーの色等で同定した。なお, 2地点の3か年の平均発病果房率はそれぞれ33.6%, 12.7%であった。その結果, *C. gloeosporioides* の3か年の平均分離率は91.1%を占めたが, *C. acutatum* の平均分離率は8.9%と低く, *C. acutatum* による晩腐病の発生は少ないものと考えられた。

以上の結果から, *C. acutatum* もブドウの果粒腐敗を引き起こすことが明らかになった。我が国では, これまで *C. acutatum* によるブドウの果粒腐敗の報告はなく, 同菌による果粒腐敗は *G. cingulata* による晩腐病の病徴と識別できないため, *C. acutatum* をブドウ晩腐病の病原に加えることを提案する。なお, 本病菌は多犯性であり^{6~8,11,13)}, 我が国では, 1992年イチゴ²⁾およびトルコギキョウ¹²⁾の炭疽病菌として報告されたのをはじめ, 果樹では, リンゴ^{1,11)}, ビワ¹²⁾, プルーン¹⁰⁾の炭疽病を起因するほか, 野生植物からも検出, 分離されている^{7,8)}。本病の伝染源を明らかにするためにも, 今後他作物等から分離された菌株と本病菌との関係について検討する必要がある。

引用文献

1. 飯島章彦 (1994). リンゴ炭そ病のシナノグルミからの伝染. 関東病虫研報 41: 123-125.

2. 石川成寿・中山喜一・常見謙史・中澤靖彦 (1992). 栃木県で発生した *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds によるイチゴ炭そ病. 関東病虫研報 39: 129-133.
3. 北島 博 (1989). 果樹病害各論, 養賢堂, 東京, pp. 396-403.
4. Kummuang, N., Smith, B.J., Diehl, S.V. and Graves, C. H., Jr. (1996). Muscadine grape berry rot diseases in Mississippi: disease identification and incidence. Plant Dis. 80: 238-243.
5. 日本植物病理学会編 (1984). 日本有用植物病名目録第3巻第2版, 日本植物防疫協会, 東京, pp. 63-71.
6. Johnston, P.R. (1997). Relationships among *Colletotrichum* isolates from fruit-rots assessed using rDNA sequences. Mycologia 89: 420-430.
7. 佐藤豊三 (1996). 炭疽病菌の分類の問題点と同定法. 植物防疫 50: 273-280.
8. 佐藤豊三 (1997). 多犯性炭疽病菌 *Colletotrichum acutatum* の諸特性と同定法. 四国植防 32: 1-19.
9. 佐藤豊三・小金澤碩城 (1995). 日本産 *Colletotrichum acutatum* の *Colletotrichum gloeosporioides* 類似菌株と両種の判別法. 日植病報 61: 619-620 (講要).
10. Sato, T., Ueda, S., Iijima, A. and Tezuka, N. (1996). Re-identification of pathogens of anemone and prune anthracnose. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62: 170-174.
11. 佐藤豊三・植松清次・飯島章彦・小金澤碩城 (1998). 日本産灰色系 *Colletotrichum acutatum* よりリンゴ炭疽病の発生と他植物由来の *C. acutatum* および *Glomerella cingulata* のリンゴに対する病原性. 日菌報 39: 35-44.
12. Sato, T., Uematsu, S., Mizoguchi, H., Kiku, T. and Miura, T. (1997). Anthracnose of prairie gentian and loquat caused by *Colletotrichum acutatum*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 63: 16-20.
13. 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.
14. Sutton, B.C. (1980). The Coelomycetes. In Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata: *Colletotrichum*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, pp. 523-537.

(平成10年8月6日受付; 平成10年10月8日受理)

図版説明

図版 I *Colletotrichum acutatum* によるブドウ晩腐病の病徴およびその病原菌2種の形態

- I-1. 自然発病果粒(‘赤嶺’)の病徴
- I-2. ブドウから分離された晩腐病菌2種菌株の菌叢
A: S96a1 (*C. acutatum*) の菌叢 (表), B: (裏)
C: S96g2 (*C. gloeosporioides*) の菌叢 (表)
D: S96G3 (*Glomerella cingulata*) の菌叢 (表)
E: S96G4 (*G. cingulata*) の菌叢 (表)
- I-3. S96a1 の分生子 (バー: 10 μm)
- I-4. S96a1 の付着器 (バー: 10 μm)
- I-5. S96a1 の接種により‘赤嶺’の果房に再現された病徴

図版 I