

# イチゴ小葉における炭疽病による赤色小斑の発生

奈尾雅浩

Occurrence of the new 'small reddish spot' symptom caused  
by *Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* on field-grown strawberry leaflets

NAO Masahiro

## 要 旨

2013年に愛媛県内で採集したイチゴ炭疽病菌を県内主要品種の‘紅ほっぺ’等の小葉へ無傷接種したところ、既に現地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、露地圃場のイチゴ株にこの赤色小斑が確認されたことから、発症小葉を採集し常法による組織分離を行った結果、イチゴ炭疽病菌の特徴を有する菌叢が供試切片の30.0~81.8%の割合で生育していた。単孢子分離した菌株は形態的特徴から *Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* と同定された。また、本菌株の internal transcribed spacers (ITS) 1, ITS2 領域を含む rDNA の決定塩基を相同性検索したところ、*C. gloeosporioides*, *Glomerella cingulata* と100%の相同性を示したことから、形態観察の結果が支持された。本病の発病圃場では、赤色小斑を有するイチゴ株はクラウン部への潜在感染の危険性が高いことから、発病株として圃場からの除去対象になるものと判断した。

キーワード：イチゴ育苗床、局部病斑

## 1. 緒言

海外におけるイチゴ炭疽病の発生において、Saccardo (1884) は、炭疽病菌の *Gloeosporium fragariae*(Lib.)Mont.が、フランス、ドイツ、イギリス、オランダ、北米でイチゴ葉身から分離されていることを報告している。しかし、詳しい病徴等の記載はなく病原菌の分離記録のみであるため、Brooks (1931) が1926~1929年に米国中央フロリダのイチゴ栽培圃場で確認したことが世界最初の発生報告とされている(Howard and Albregts,1983)。我が国における本病の発生は、山本・福西(1970)が、1969年の徳島県内の品種‘芳玉’の発病を報じたのが最初である。一方、愛媛県内の発生は1973年9月14日に今治市近見地区の苗床での確認が最初であるが、当時は「被害は軽微である」と記載されるなど重要視されていなかった(愛媛県東予病害虫防除所, 1973)。本病による被害が全国的に拡大した理由は罹病性品種への更新が第一の理由である(小林, 1994)。愛媛県内でも品種‘女峰’(赤木ら, 1985), ‘とよのか’(本多ら, 1985)が1984年から試作され、1988年には県内栽培面積の

70%を占めるまでに更新が進んだ(日野, 1988)。本県では当時、‘女峰’での発生が甚大であり薬剤処理だけでは防ぎ切れないことが認識されていた(河野, 1988)。愛媛県病害虫防除所からは、本病を対象とする病害虫発生予察注意報が1992, 2003, 2006年に発表され、2013年には年間6回、本病に対する発生予察予報が発表されている(愛媛県, 1992; 愛媛県病害虫防除所, 2003, 2006, 2013)。この背景には、その後、本県で品種更新された、‘さちのか’(森下ら, 1997), ‘紅ほっぺ’(竹内ら, 1999), 本県育成品種の‘あまおとめ’(伊藤・松澤, 2008)等はいずれも本病への罹病性が高く重要病害の位置付けは変わらないことがある。この傾向は、曾根(2005)が指摘するように国内のイチゴの促成栽培の育種では耐病性よりも大果性、果実品質を重視し親株に罹病性品種が使われており、今後も被害は全国レベルで継続するものとみられる。本病の対策では罹病株の早期除去が耕種的防除として重要であり(石川, 1989; 中西, 1995; 愛媛県, 2014), 病徴把握がその第一歩となる。県内でも小葉の病徴では汚斑症状(山本, 1971; 秋田, 1993), 大型病斑(石川, 2005; 奈尾, 2013)

が確認されている。小葉に汚斑症状を生じている株はクラウン部にも本菌が感染している可能性が高く、本圃定植後に萎凋する可能性が高いので早期除去の対象となる（愛媛県病害虫防除所，2006；愛媛県，2014）。ところで，2013年に県内における大型病斑の発生を確認した際，採集したイチゴ炭疽病菌の分生子懸濁液を県内主要品種の‘紅ほっぺ’，‘あまおとめ’，‘さちのか’の小葉に無傷接種したところ，上述の汚斑症状，大型病斑に加え，大きさ1～3mm，葉の同箇所表側から裏側へ突き抜ける赤色小斑が発現した（図1；奈尾，2013）。今回，この症状が現地で自然発病しているのか，その症状から炭疽病菌が優占分離されるのかを確認し，今後の罹病株除去の指標になり得るのかを考察した。なお，本試験の概要は2014年11月25～26日に松山市で開催された第49回国植物防疫研究協議会大会で講演発表した。

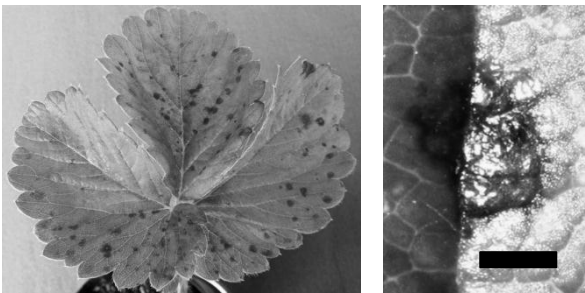


図1 イチゴ炭疽病菌の接種試験で発現した赤色小斑（2013）  
品種：‘紅ほっぺ’。右図：拡大写真（スケールバー：1mm）。

## 2. 材料及び方法

### 2.1 現地調査における病徴確認と組織分離

愛媛県西条市の異なる3圃場を調査対象とした。2013年10月5日には品種‘レッドパール’（芝，2012），10月24日，2014年8月5日には品種‘紅ほっぺ’の露地圃場で赤色小斑を有する小葉を観察・採集した。観察の目的は，自然発病している赤色小斑の特徴を把握するためである。なお，調査圃場では，汚斑症状，葉柄が病斑形成により折損するなど炭疽病が発生していることを確認した。いずれの圃場でも愛ポット（伏原，1996）を利用し育苗されていた。

採集した小葉から組織分離を行った。すなわち，赤色小斑を含むように4mm角で小葉から切り出し，

70%エタノール液と1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に順次15～20秒間ずつ浸漬し表面殺菌を行った。分離用培地には，PDA培地（佐藤ら，1983，粉末寒天量：18g/L）を用い，抗生物質であるクロラムフェニコールを200mg/L量で添加し，上記の殺菌済み切片を置床した。培養温度は25℃，培養7日後に生育した菌叢の一部を新たなPDA培地に移植した。8月5日分離菌から単孢子分離を行いR-1菌株，R-2菌株を，対照菌株として，同圃場より採集した汚斑症状葉から同様の分離法を取りB-1菌株，B-2菌株を得た。この4菌株を以下の分離菌の形態観察による同定と遺伝子解析，分離菌の病原性確認と赤色小斑の発現試験に供試した。

### 2.2 分離菌の形態観察による同定

Sutton（1980）の手法を参考にして分生子，付着器の形態観察を行った。すなわち，PDA培地（プラスチックシャーレ使用）で12時間近紫外線照射（FL-15 BL-B 15W ナショナル製）、12時間暗黒条件の25℃で供試菌株を培養し，菌叢の色調，菌核形成の有無，剛毛形成の有無，分生子の形態特性を観察した。PCA培地（ジャガイモ・ニンジン各20g/Lの煎汁液，寒天粉末18g/L）によるスライドカルチャーで形成させた付着器の色調，形態，大きさを調査した。

### 2.3 遺伝子解析による分離菌の判別

各菌株を25℃，暗条件下でPD液体培地を用い振盪培養（50rpm）し，生育した菌叢塊を取り出しシャーレ上で蒸留水洗浄した後，MagExtractor-Plant Genome-（TOYOBO製）を用いてDNAを抽出した。White et al.（1990）のinternal transcribed spacers（ITS）領域を増幅するITS1プライマー（5'-tccgtaggtgaacctgcgg-3'）とITS4プライマー（5'-tctccgcttattgatgc-3'）でITS1，ITS2を含むrDNAを増幅した。耐熱性ポリメラーゼは，Applied Biosystems製のAmpliTaq Gold® 360のMaster Mixを10μL，各プライマーは20pmol/μLの調整液を0.5μLずつ，DNAテンプレート量は2μL（沈殿DNAは50μLのミリQ水に再懸濁）添加し，20μLスケールで反応させた。PCR機器は日本バイオ・ラッドラボラトリーズ製のI Cycler（170-8720JA）を用いた。PCR反応は94℃・2分に続けて，94℃・30秒，50℃・30秒，72℃・1分を35サイクル繰り返し返

し、72℃・7分で最終伸長させた。その後、クルードな状態のPCR産物をシグマアルドリッチジャパン(株)に送付し受託シーケンス解析した。カスタムプライマーは上記ITS1、ITS4プライマーとして、5'末端側、3'末端側から塩基配列を決定し、アライメントした塩基配列をBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)により、国際塩基配列データベース (GenBank/EMBL/DDBJ) で相同性検索を行った。

## 2.4 分離菌の病原性確認と赤色小斑の発現

接種に用いたイチゴ株はポリポット(直径:10.5cm)植えの品種‘紅ほっぺ’で1区5株供試した。供試菌株から滅菌水で $5.0 \times 10^5$ 個/mLに調整し株当たり1mLずつ葉表のみに少量接種した。接種後、湿潤処理として28℃の薄明下(新聞紙被覆)においてポリ袋内で24、36時間被覆後、接種イチゴ株は気温28℃、光量子束密度 $129 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{S}$ (照度8,300lux)、湿度60%、明条件16時間、暗条件8時間に設定した人工気象室(小糸工業(株)製、2kKG-106SHLD-特)内に置いた。接種14日後に病徴観察し、病斑総数、赤色小斑、汚斑症状の発生割合を求めた。

## 3. 結果

### 3.1 現地調査における病徴確認と組織分離

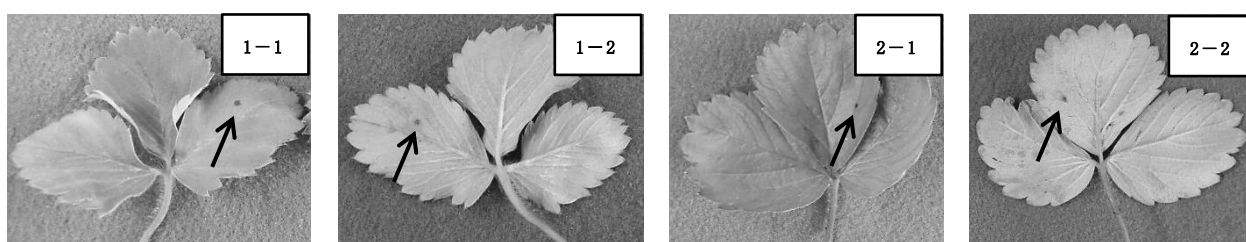


図2 現地で採集した赤色小斑を有する小葉

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 異なる圃場のイチゴ小葉の赤色小斑からの分離菌

採集年月日	品種名	供試 切片数	対象菌が分離された切片割合(%)		
			炭疽病菌	他の菌種	未分離
2013年10月05日	レッドパール	20	30.0	25.0	45.0
2013年10月24日	紅ほっぺ	12	50.0	0	50.0
2014年08月05日	紅ほっぺ	11	81.8	0	18.2

他の菌種は, *Alternaria*, *Chaetomium* 属菌。

2013年10月5日の‘レッドパール’, 10月24日の‘紅ほっぺ’が栽植された圃場では, ポット株は補植または次期作の親株として育成されており, 本病の発生時期からは日数が経過していたとみられる。よって, 赤色小斑は古くなりやや褐色にみえる場合や斑点内部が白変している場合がみられた。2014年8月5日の‘紅ほっぺ’は本病発生時期(初期)に当たり赤色の斑点となっていた。なお, 新旧いずれの症状も大きさは1~3mm, 葉の表側から裏側に病変部は突き抜けていた(図2)。表1に示す通り, 2013年10月の採集小葉の分離切片からは炭疽病菌の特徴を示す菌が30.0~50.0%の割合で, 2014年8月の分離切片からは81.8%の割合で分離された。なお, 2013年10月に分離された他の菌種となる*Alternaria*属菌, *Chaetomium*属菌は分離率からみて二次寄生菌等であり病原性はないと判断した。

### 3.2 分離菌の形態観察による同定

菌叢の色調は暗緑色, 菌核は形成せず, 剛毛形成もみられなかった。分生子は単胞, 円筒形, 両端鈍円であり(図3), 岡山(1989), 石川ら(1989)の記載と一致した。また, 岡山(1994)が示した一端が細い形態を有する分生子もみられた(図3)。大きさはR-1菌株が $13.0 \sim 20.0 \times 5.6 \sim 8.0 \mu\text{m}$ , R-2菌株が $12.0 \sim 18.0 \times 4.0 \sim 8.0 \mu\text{m}$ であった。比較に用いた1991年2月~1992年9月に県内で採集した

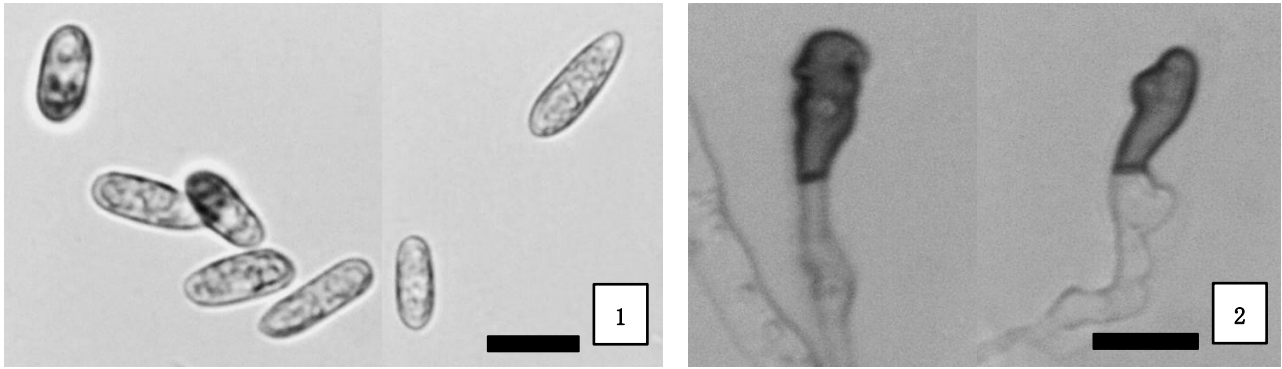


図3 分離菌 (R-1 菌株) の分生子と付着器の形態

1: 分生子, 2: 付着器. スケールバー: 10 $\mu$ m.

イチゴ炭疽病菌 5 菌株の最小値, 最大値となる 14.0~23.0 $\times$ 4.0~7.0 $\mu$ m, 過去に他県でイチゴ炭疽病菌を同定した岡山 (1989), 石川ら (1989), 松尾 (1990) が報告した大きさには変異もあり, 今回の分離菌の大きさだけが大きく逸脱することはないと判断した (表 2). なお, von Arx (1957) が測定した *Colletotrichum gloeosporioides* の分生子の大きさ 12~19 $\times$ 4~6 $\mu$ m とはほぼ一致した. 付着器は R-1 菌株, R-2 菌株とも褐色, 不定形を示した (図 3). 大きさは R-1 菌株が 7.0~13.0 $\times$ 5.6~10.0 $\mu$ m, R-2 菌株が 7.0~14.0 $\times$ 5.0~8.0 $\mu$ m であった. 稲田 (2006) は *C. gloeosporioides* の付着器の大きさを 6.7~16.1 $\times$ 4.7~10.5 $\mu$ m (Cs-1 菌株), 8.0~14.5 $\times$ 4.8~10.9 $\mu$ m (Cs-3 菌株) と測定しており, R-1 菌株, R-2 菌株の大きさとはほぼ一致した. なお, 本菌の所属であるが, 近年, Weir et al. (2012) は, *C. gloeosporioides* について, 遺伝学的解析から種複合体に分割することを提案している. よって, 今回の分離菌は, *C. gloeosporioides sensu lato* と同定した.

### 3.3 遺伝子解析による分離菌の判別

ITS1, ITS2 を含む rDNA の塩基配列を 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, 表 3 に示すとおり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).

### 3.4 分離菌の病原性確認と赤色小斑の発生

分離菌は全て病原性を有していた. 被覆時間 24

表 2 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 ( $\mu$ m)		短径 ( $\mu$ 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, B-1, B-2 は汚斑症状より分離した菌株.

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. 汚斑症状から分離した B-1, B-2 菌株を接種したイチゴ株でも赤色小斑が確認された. なお, 病斑総数の多少と赤色小斑の発生率には関係がみられなかった (表 4).

## 4. 考察

イチゴ炭疽病菌は, 完全世代を *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding et Schrenk と同定されている (岡山, 1988). このため, 不完全世代は *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Saccardo となる (Howard et al., 1992). 今回, ITS1, ITS2 領域を含む rDNA の塩基配列を BLAST により国際塩基配列データベースで相同性検索を行ったところ, *G. cingulata*, *C. gloeosporioides* または *Colletotrichum* sp. と 100% の相同性を示した. この

表3 分離菌の ITS1,ITS を含む rDNA 塩基配列による相同性 (%)

アクセッションナンバー 微生物名 (学名)	供 試 菌 株			
	R-1 (554bp)	R-2 (566bp)	B-1 (555bp)	B-2 (553bp)
GU066703 <i>Glomerella cingulata</i>	100	100	100	100
GU066619 <i>Glomerella cingulata</i>	100	100	100	100
FJ550213 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	100	—	100	100
JF730185 <i>Colletotrichum</i> sp.	—	100	—	—

( bp ) はアライメント後の決定塩基数.

表4 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 時間	病斑 総数	赤色小斑 発生率 (%)	汚斑症状 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、分離菌の接種後にポリ袋内で湿潤処理をした時間.

ことは Sreenivasaprasad et al. (1992) が *C. gloeosporioides* は rDNA の ITS 領域では菌株間で塩基配列には差異が無いと述べていることから、本遺伝子解析は、形態観察による同定結果を強く支持した。但し、近年、本菌は、Weir et al. (2012) が、*C. gloeosporioides* を *C. asianum* 等 22 種及び *C. kahawae* subsp. *ciggaro* の 1 亜種に分割することを提案し、①多くの種は ITS 領域では区別できないこと、②グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) とグルタミン合成酵素 (GS)、 $\beta$ -チューブリン-2 (TUB2) がバーコード遺伝子候補とされていること、③各対象遺伝子の供試には一長一短あり、単独で識別できないことを報告し

ている。このため、今回の分離菌は、*Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* と同定し、種複合体に含めた。

権藤 (1967) は、病徴とは植物体は何らかの原因によって、細胞等に異常を来し外部形態の変化を示すものであり、病徴が植物体の一部器官に限られている場合は局部病徴、全植物体に及ぶ場合を全身病徴と呼ぶことを示している。イチゴ炭疽病では、局部病斑を示す小葉の汚斑症状はクラウン部への感染の疑いが強いことに加えて、分生子を形成する大型病斑 (石川, 2005) は周辺健全株に伝染するため、伝染源の排除を目的に局部病斑発現株は圃場外へ早期に搬出する必要がある (愛媛県, 2014; 愛媛県病害虫防除所, 2013)。すなわち、クラウン部の発病による萎凋・枯死の全身病徴を示す株を減らすための対策と言える。

葉身の汚斑症状は複数の呼称があり、岡山 (1988) は「黒褐色の病斑」、池田ら (1991) は「黒色円形病斑」、秋田 (1993) は「薄墨色の汚斑型」と記載している。また、Smith (2008) は、これらと同じ病徴になる black leaf spot では壞疽を示さないこと、Kim et al. (1992) は、葉身の病斑は病勢進展しないことや秋田 (2001) が葉身での病斑は薄墨色で葉裏まで進行しないことを観察している。今回現地で確認された赤色小斑は、壞疽部分を生じ、葉表側から葉裏側まで病斑が突き抜ける特徴を有するため、汚斑症状の記載とは明らかに異なっていた。今回の接種試験において、汚斑症状の発生の多い区で赤色小斑が必ずしも多くなることはなかった。また、同一葉で汚斑症状と赤色小斑が混在

する場合もみられた。この試験結果は、汚斑症状が赤色小斑に移行するものではないことや赤色小斑は株や小葉単位の違いではなく、本菌が感染した極めて限定的な葉組織部位の生理的な要因の関与により発現有無が決定するものと推察した。なお、今回、汚斑症状から分離した B-1、B-2 菌株でも赤色小斑が形成されたことから、炭疽病菌の性状差により発現するものではないことも証明された。

赤色小斑は、接種後 7 日後までには発現しなかった。汚斑症状が接種 3 日後に生じること(奈尾, 2006) に対して、赤色小斑の発現は接種 14 日後になって現れるため、汚斑症状よりも発現時期は遅かった。なお、他病害との比較では、発生の多い輪斑病の病斑は汚斑症状、赤色小斑とは初期症状は異なり、病斑径は明らかに大きく(岸, 1974; 奈尾, 2006)、下位葉に発生し易いことから、赤色小斑との区別は容易である。耕種的防除において、小葉の発病株の取り扱いでは、秋田(2001)は、葉身の病斑は本病の蔓延最盛期に多く現れるので、葉身の病斑で発生を確認していたのでは手遅れになることを指摘している。しかしながら、Howard et al. (1992) は、小葉での black leaf spot 発生後は、本病を制御するためにすべての可能な防除努力を開始すべきとしており、愛媛県では小葉に局部病徴がみられる株はクラウン部に本菌が感染している確率が高いため、このような発病株は徹底的に除去するよう指導されている(愛媛県, 2014)。赤色小斑の発生頻度は今回の分離菌による接種試験の結果が示すように、汚斑症状の発生率よりも低いようであった。但し、赤色小斑は本菌の分生子飛散により発生することが強く示唆され、発病株の病徴に該当するだけでなくクラウン部へ分生子飛散・感染している危険性が高いため、圃場外への除去対象と考える。

ちなみに、石川(1993); 石井(2006)は、エタノール浸漬による潜在感染株の簡易判別法の確立と現地導入について報告しているが、この検定で小葉に感染が認められた場合には、株全体の発病となり廃棄対象にしている。小葉のみの感染であれば、検定した小葉・葉柄の切除で発病部除去は可能となるが、株ごと廃棄する理由はクラウン部への感染が懸念されるためである。このことは、小葉に赤色小斑を生じた株も廃棄対象となる理由

に通じる。実際に現地の栽培株を観察すると小葉に 1 個のみ赤色小斑を生じている株もみられた。従来、小葉での斑点症状は、汚斑症状の特徴から①壞疽を生じないこと、②葉表から葉裏に突き抜けないことが指標となっている。従って、赤色小斑の特徴から、本病に該当しないとして見逃されていた可能性がある。また、赤色小斑は古くなるとやや褐色にみえる場合や斑点内部が白変している場合もあったが現場での呼称を複雑化させないため、一括して赤色小斑と呼称したい。なお、小葉への付傷等、生理障害によって今回の赤色小斑と類似症状を生じることが予想される。以上を踏まえ、本病発病圃場での耕種的防除との前提条件を置き、小葉に赤色小斑を生じる株は圃場外への除去対象にすることを提案したい。

#### 謝辞

*Colletotrichum gloeosporioides* の種分割についてご指導頂いた独立行政法人農業生物資源研究所の佐藤豊三博士に深謝する。

#### 引用文献

- 赤木博, 大和田常晴, 川里宏, 野尻光一, 安川俊彦, 長修, 加藤昭(1985): イチゴ新品種「女峰」について, 栃木農試研報, 31, 29-41.
- 秋田滋(1993): 自然発生におけるイチゴ炭そ病の圃場内における発生実態と病徴, 関東東山病虫研報, 40, 51-54.
- 秋田滋(2001): イチゴ炭そ病の発生生態と耕種的防除法, 農耕と園芸, 56(11), 76-79.
- Arx, J. A. von(1957): Die arten der gattung *Colletotrichum* Cda, *Phytopath. Zeitschr.*, 29, 413-429.
- Brooks, A. N.(1931): Anthracnose of strawberry caused by *Colletotrichum fragariae*, n.sp., *Phytopathology*, 21, 739-744.
- 愛媛県(1992): 平成 4 年度農作物有害動植物発生予察事業年報, 7.
- 愛媛県(2014): イチゴ炭疽病の防除方法, 農作物病害虫防除指針(平成 26 年), 337-338.
- 愛媛県病害虫防除所(2003): 平成 15 年度農作物有害動植物発生予察事業年報, 9.
- 愛媛県病害虫防除所(2006): 平成 18 年度農作物有害動植物発生予察事業年報, 11.

- 愛媛県病害虫防除所 (2013) : 平成 25 年度農作物有害動植物発生予察事業年報, 9.
- 愛媛県東予病害虫防除所 (1973) : 昭和 48 年度農作物病害虫発生予察年報, 49.
- 伏原肇 (1996) : 小型ポリポット (愛ポット) 棚式育苗システム, 農業技術体系 野菜編 3, 農山漁村文化協会, 東京, 基 418 の 4-9.
- 権藤道夫 (1967) : 疾病の診断, 植物病学 (赤井重恭, 獅山慈孝, 権藤道夫, 河村貞之助, 向秀夫, 松尾卓見著), 朝倉書店, 東京, 83-93.
- 日野正憲 (1985) : いちご「女峰」「とよのか」の栽培管理のポイント～栽培講演会より～, 営農指導 (愛媛県経済農業協同組合連合会), 1988. 10 No272, 40-47.
- 本多藤雄, 岩永喜裕, 松田照男, 森下昌三, 伏原肇 (1985) : イチゴ新品種「とよのか」の育種に関する研究, 野菜試験場報告 C8, 39-57.
- Howard, C. M and Albregts, E. E. (1983) : Black leaf spot phase of strawberry anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (= *C. fragariae*), Plant disease, 67, 1144-1146.
- 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 disease, 67, 976-981.
- 池田弘, 中村利宣, 梶谷裕二 (1991) : イチゴ炭そ病の発生生態と防除対策, 福岡農総試研報, B-11, 9-14.
- 稲田稔, 山口純一郎 (2006) : 促成栽培イチゴにおけるイチゴ炭疽病菌 *Colletotrichum acutatum* 及び *Colletotrichum gloeosporioides* による果実腐敗の発生, 九病虫研会報, 52, 11-17.
- 石井貴明 (2006) : イチゴ炭そ病の発生生態と防除法, 農耕と園芸, 61 (12), 154-157.
- 石川成寿 (1989) : イチゴ炭そ病の発生生態と防除, 今月の農業, 33 (5), 120-123.
- 石川成寿 (1993) : イチゴ炭そ病菌潜在感染株の簡易判別法, 農薬研究 (日本バイエルアグロケム(株)). 40 (2), 44-47.
- 石川成寿 (2005) : 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, 栃木農試研報, 54, 1-187.
- 石川成寿, 佐藤豊三, 中山喜一, 大兼善三郎 (1989) : 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およびその性質, 栃木農試研報, 36, 25-36.
- 伊藤博章, 松澤光 (2008) : イチゴ新品種「あまおとめ」の育成, 愛媛農試研報, 41, 16-20.
- Kim, W. G., Cho, W. D., and Lee, Y. H. (1992) : Anthracnose of strawberry caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., Korean J. Plant Pathol., 8(3), 213-215.
- 岸国平 (1974) : イチゴの新病害「輪斑病」, 野菜試報, 1, 225-231.
- 小林紀彦 (1994) : イチゴ炭そ病の発生動向と品種の変遷, 植物防疫, 48, 333-336.
- 河野美樹 (1988) : イチゴの新品種 女峰の栽培管理について, 営農指導 (愛媛県経済農業協同組合連合会), 1988.5, No267, 38-41.
- 松尾和敏 (1990) : 長崎県におけるイチゴ炭そ病菌の性状と同定, 九病虫研会報, 36, 41-45.
- 森下昌三, 望月龍也, 野口裕司, 曾根一純, 山川理 (1997) : 促成栽培用イチゴ新品種「さちのか」の育成経過とその特性, 野菜・茶業研報, 12, 91-115.
- 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 (1989) : 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 (1994) : イチゴ炭そ病の病原菌, 発生生態および発病抑制に関する研究, 奈良農試研報・特報, 1-128.
- 中西理 (1995) : 三重県におけるイチゴ炭そ病の耕種的防除について, 関西病虫研報, 37, 102.
- 奈尾雅浩 (2006) : イチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*) と輪斑病の病徴発現に基づく判別基準, 愛媛農試研報, 40, 32-40.
- 奈尾雅浩 (2013) : 愛媛県内のイチゴ主要品種の小葉における炭疽病の大型病斑の確認と病徴発現, 四国植防, 47, 71.
- Saccardo, R. A. (1884) : *Gloeosporium fragariae* (Lib.) Mont. Sylloge Fungorum, 3, 705-706.
- 佐藤昭二, 後藤正夫, 土居養二編 (1983) : 植物病理学実験法, 講談社サイエンティフィック, 東京, 12.

芝一意 (2012) : レッドパール, イチゴの品種動向, 農業技術体系野菜第3巻イチゴ, (社)農山漁村文化協会, 東京, 基 215-218.

Smith, B. J. (2008) : Epidemiology and pathology of strawberry anthracnose: a North American perspective, *HortScience*, 43, 69-73.

曾根一純 (2005) : 促成栽培用品種の開発・普及状況, 平成17年度九州沖縄農業試験研究推進会議野菜花き推進部会研究会平成17年度地域農業確立研究検討会, 促成イチゴの品種・生産・流通の現状と問題点資料(平成17年11月24~25日) ((独)九州沖縄農業研究センター・(独)野菜茶業研究所編), 1-6.

Sreenivasaprasad, S., Brown, A. E. and Mills, P. R. (1992) : DNA sequence variation and interrelationships among *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose. *Physiol. mol. Plant pathol.*, 41, 265-281.

Sutton, B. C. (1980) : *Colletotrichum* Cda., The Coelomycetes Fungi Imperfecti with Pycnidia Acervuli and Stromata, COMMONWEALTH

MYCOLOGICAL INSTITUTE KEW, SURREY, ENGLAND, 523-537.

竹内隆, 藤浪裕幸, 河田智明, 松村雅彦 (1999) : イチゴ新品種‘紅ほっぺ(仮称)’の育成経過と主特性, 静岡農試研報, 44, 13-24.

Weir, B. S., Johnston, P. R. and Damm, U. (2012) : The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex, *Studies in Mycology*, 73, 115-180.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. (1990) : Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, PCR Protocols: a guide to methods and applications (Innis, M. A., Gelfand, D.H., Sninsky, J. J. and White, T. J. ed.), Academic Press, San Diego, 315-322.

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.

### Abstract

In 2013, a conidial suspension of *Colletotrichum gloeosporioides* collected in Ehime Prefecture, Japan was inoculated onto leaflets of major strawberry (*Fragaria × ananassa*) cultivars such as ‘Beni hoppe’, ‘Amaotome’ and ‘Sachinoka’ in our prefectural strawberry production. In addition to the occurrence of black leaf spot and irregular leaf spot, unfamiliar symptom was expressed, namely small reddish spots 1–3 mm in diameter, penetrating both sides of the leaflet. From 2013 to 2014, I observed these small reddish spots on leaflets in a few open-field strawberry cultures. Portions of diseased leaflet samples obtained from the fields were surface-sterilized and incubated on PDA medium. The resulting mycelial colonies, having the characteristics of strawberry anthracnose fungus, grew at a rate of 30.0 to 81.8% on the incubated leaf portions. Single-spore isolates R-1 and R-2 were identified as *C. gloeosporioides sensu lato* on the basis of morphological characteristics of colonies, conidia, and appressoria on the culture medium. This morphological identification was supported by DNA sequencing of the ITS1 and ITS2 regions of rDNA: the generated sequence was 100% homology to those of *Glomerella cingulata* or *C. gloeosporioides*. Because of the high risk of latent infection of rhizomes in the developing diseased field, strawberry plants with small reddish spots on the leaflets were immediately removed from the field.