

Colletotrichum dematium による アガパンサス炭疽病 (新称)

村田佑揮*・夏秋啓子**・小林享夫**

(平成 18 年 5 月 23 日受付/平成 19 年 6 月 8 日受理)

要約: 2004 年 5 月茨城県取手市で激しい葉枯症状を呈するアガパンサスを採集した。病葉上には剛毛を有する分生子層が肉眼では多数の小黒粒点として観察でき、培養菌叢は PDA 培地上で暗灰色～黒色、分生子は鎌形で大きさ $15.0 \sim 21.5 \times 2.5 \sim 3.7 \mu\text{m}$ であった。これらの形態的特徴から、本菌を *Colletotrichum dematium* (Per.: Fr.) Grove と同定した。接種試験による病原性の確認を行った結果、接種約 1 週間後に病徴が再現され、病斑部から本菌が再分離された。これらの結果から、本病は *C. dematium* によって引き起こされたことが明らかになり、病名としてアガパンサス炭疽病を提言した。

キーワード: 炭疽病, アガパンサス, *Colletotrichum dematium*

緒 言

アガパンサス (*Agapanthus africanus* (L.) Hoffmanns.) はユリ科ネギ亜科に属し、和名はムラサキクンシラン、英名はアフリカンリリー (African lily) である。南アフリカ原産の半耐寒性多年草で、日本では通常 6～7 月に開花する。開花期には葉間から長さ 20～40 cm の花茎を出して、その頂に淡藤紫色のユリ状小花を 10～30 輪くらい散形状に咲かせる¹⁾。丈夫な宿根を持ち関東以西では地上部が枯れずに越冬し、花壇、切花、鉢植え用に栽培されている¹⁾。現在までわが国においてアガパンサスの病害は、*Phytophthora nicotianae* によるアガパンサス疫病が報告されているのみである²⁾。

2004 年 4 月中旬より茨城県取手市の民家の庭で採集されたアガパンサス越冬株の葉身に淡褐色紡錘形の病斑、あるいは、葉先より枯れ下がる葉枯症状の発生が観察された (Photo 1)。5 月にはこの株のほぼ全葉が褐色から灰褐色の葉先枯れ症状となった。葉枯れ病斑上には多数の小黒点が発生し、実体顕微鏡観察では毛羽立った塊を呈し、その基部は淡橙褐色の粘塊に埋まっていた。これらの菌体は顕微鏡観察により、鎌形分生子をもつ *Colletotrichum* 属菌であることが判明し、分生子から容易に培養菌株が得られた。葉枯病斑は次第に灰白色となり、6 月には腐敗消失したが、開花後、新葉が展開するにつれて緑色が回復した。その後、2005 年春にはこのような被害はまったく発生しなかった。しかし、2006 年 4 月下旬から、初発生よりは軽微であったが、再び同様の症状が発生し、2004 年の *Colletotrichum* 属菌と同一種と考えられる分離菌と培養菌体を得られた。これらの経緯からアガパンサスに認められた病害が、日本においてはまだ記載のないアガパンサスの新病害

と考えられたので分離菌の形態調査による種の同定と接種による病原性の確認を行い、2, 3 の生理的性質も明らかにしたので報告する。

材料及び方法

(1) 病原菌の分離と培養

アガパンサスの病斑上に形成した分生子を柄付針でかきとり、スライドガラス上の滅菌水滴中に沈め、孢子浮遊液を作製した。その後、2% 素寒天平板培地 (WA) の裏面から三角形に線を引き、その線に沿って寒天表面に孢子浮遊液を塗布した。25℃ の恒温器内で約 24 時間保持し、低倍率 (100 倍) の光学顕微鏡下で発芽を確認した後、筒型白金耳を使って単孢子分離を行った。培養には Potato Dextrose Agar (PDA) 斜面培地を使用し、20℃ で約 1 ヶ月間培養した後、供試菌として使用した。

(2) 分離菌の形態観察

病害標本より徒手切片を作製し、Shaer 液 (2% 酢酸ナトリウム水溶液: 300 ml, グリセリン: 120 ml, 99% エタノール: 180 ml) を封入液として作製したスライド標本を光学顕微鏡で観察を行った。分生子の大きさとして、長さ、幅及び隔壁の数を 50 個体計測し、それぞれの計測値範囲と平均値を求めた。また付着器の観察のため、得られた分生子を WA 培地上で、25℃ 暗黒下、5 日間培養し、発芽した分生子より形成された付着器を観察した。

(3) 病原性の確認

接種植物は 3 品種のアガパンサス (青花系、白花系、ピーターパン) を用いた。分離菌を PDA 平板培地で 25℃ の恒温器内において約 1 週間培養し、接種源として用い

* 東京農業大学大学院農学研究科国際農業開発学専攻, 現 日本フレッシュフーズ株式会社

** 東京農業大学国際食料情報学部

た。まず70%エタノールを浸みこませた脱脂綿で各接種部位を拭き、アガパンサスの葉に虫ピンを束ねたもので、2~3ヶ所傷をつけた有傷区と傷をつけない無傷区を設け、菌叢を培地ごと切り取り、菌叢面が直接葉に触れるように貼り付けた。滅菌水で濡らした綿で接種部位を覆い2~3日、室温で高湿度状態を保ち、それぞれの接種部位に対して発病の有無や経過を観察した。

(4) 分離菌の生育温度

分離菌叢の生育に及ぼす温度の影響を調査するため、菌叢培養温度を5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40℃の8段階に設定した8試験区について1区あたり5枚のPDA平板培地を用いて行った。供試菌株は、PDA平板培地、25℃、暗黒条件下で培養した菌叢周縁部を、直径4mmコルクポーターで切り抜き、菌叢面を下にしてPDA平板培地上に移植し、1日おきに菌叢の長径と短径をノギスで計測、長径と短径の平均値をコロニーの直径とし、90mmシャーレを満たすまで培養した。得られたコロニー直径は、各区5枚の平均値を求めた。

(5) 分離菌の生育水素イオン濃度

菌叢の生育に及ぼす水素イオン濃度の影響を知るため、1N・HCl溶液と1N・NaOH溶液で培地の水素イオン濃度をpH3, 4, 5, 6, 7, 8, 9の7段階に調節した7試験区を設置して1区あたり5枚のPDA平板培地を用いて行った。供試菌株は、PDA平板培地、25℃、暗黒条件下で培養した菌叢周縁部を、直径4mmコルクポーターで切り抜き、菌叢面を下にして、各濃度に調節したPDA培地上に移植し、1日おきに菌叢の長径と短径をノギスで計測、長径と短径の平均値をコロニーの直径とし、90mmシャーレを満たすまで培養した。得られたコロニー直径は、各区5枚の平均値を求めた。なお、pH3および4の酸性培地区には通常の粉末寒天量の2倍とした。

(6) 薬剤感受性試験

菌叢の薬剤感受性を調べるためにPDA培地上で1ヶ月以上生育させた菌叢で菌叢磨砕液を作製し、それをPDA平板培地に流し込み各有効成分の100, 250, 500, 1,000, 2,000倍に調整した薬剤を浸漬した8mmペーパーディスクを培地上に静置し抑制効果を観察した。供試した薬剤は、マンネブ、マンゼブ、ベノミルである。

結 果

(1) 病原菌の分離と形態

病斑部から分離された菌株のうち1株を、菌株番号Ag-1とし、以下、形態観察他に供試した。

分離菌Ag-1の分生子層は肉眼では病斑上に小黑粒点として観察でき、黒色の剛毛を有する(Photo 2, 3)。培養菌叢はPDA培地上で暗灰色~黒色、後に菌核を形成した。また、分生子は鎌形で大きさ15.0~21.5×2.5~3.7μmであった(Photo 4)。附着器はWA培地上で不整形、暗褐色で大きさ9.5~18.7×5.2~10.0μmであった(Photo 5)。こ

れらの形態的特徴から、SUTTON (1980, 1992)^{3,4)}、小林(1993)⁵⁾、佐藤(1996)⁶⁾の報告を参照し、本菌を*Colletotrichum dematium* (Per.: Fr.) Grove と同定した。

(2) 病原性の確認

アガパンサスの3品種(青花系、白花系、ピーターパン)に菌叢貼付接種による病原性の確認を行った結果、ピーターパンの有傷接種区では接種約1週間後に病斑が確認され10日後には葉全体が枯死するものもあった(Photo 6, 7)。無傷接種区での病斑形成は肉眼では確認できなかった。青花系と白花系では有傷接種区でも病斑が形成されず、病原性は確認できなかった。なお、ピーターパンに再現された病徴からは接種菌が再分離された。

(3) 分離菌の生育温度

菌叢は10~35℃で生育可能であり、生育適温は25℃であった(図1)。

(4) 分離菌の生育水素イオン濃度

pH3ではほとんど生育せず、pH4では生育が劣った。pH5からpH9ではpH7での生育が一番良かったが、生育に対する水素イオン濃度の影響はほとんどみられなかった(図2)。

(5) 薬剤感受性試験

分離菌に有効とされるマンネブ、マンゼブ、炭疽病防除に広く使われるベノミルに対する薬剤感受性試験を行った⁷⁾。その結果、培地上の培養菌叢の生育はマンネブおよびベノミルでは1,000倍希釈まで、また、マンゼブでは2,000倍希釈まで阻止された。

考 察

アガパンサスは南アフリカから1689年にイギリスに持ち込まれ、日本に渡来したのは明治中期と言われている⁸⁾。現在では、一重咲や八重咲の品種など約20種が知られており⁹⁾、真夏の暑い時期に涼やかな花を咲かせるため花壇等で多く使用されている。

炭疽病は、世界中の広範な作物に発生し、それらの生育期間のみならず、収穫後にも様々な部位に被害を及ぼすため、重要な植物病害として恐れられている⁶⁾。日本においても古くから炭疽病菌による各種の病害が報告されている。本研究ではアガパンサスから*C. dematium*を分離し、病原菌であることを確認した。本研究でのアガパンサスからの分離株(菌株番号Ag-1)は、既報の*C. dematium*と形態学的性質、培養的性質がよく一致していることから*C. dematium*であることを確認し、アガパンサスへの病原性を認めた。日本では*C. dematium*による17種類の病害が報告されているが、同菌によるアガパンサスの病害は含まれていない¹⁰⁾ことより本報告は、アガパンサスにおける炭疽病として日本における最初の報告である。また、アガパンサスにはアメリカにおいても*C. gloeosporioides*による炭疽病が記載されているが、*C. dematium*による炭疽病の

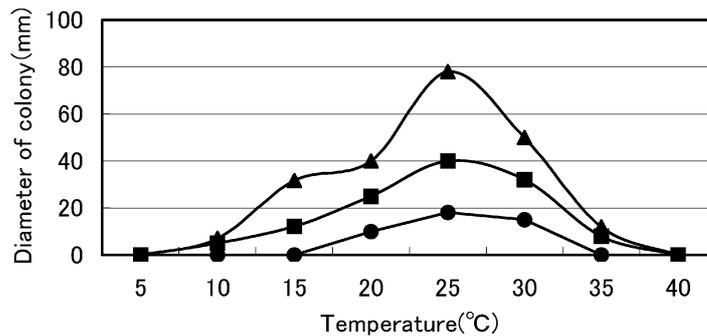


図 1 アガパンサスから分離した *Colletotrichum dematium* (菌株番号 Ag-1) 菌叢の生育と培養温度との関係
 ● 2 days ■ 4 days ▲ 6 days

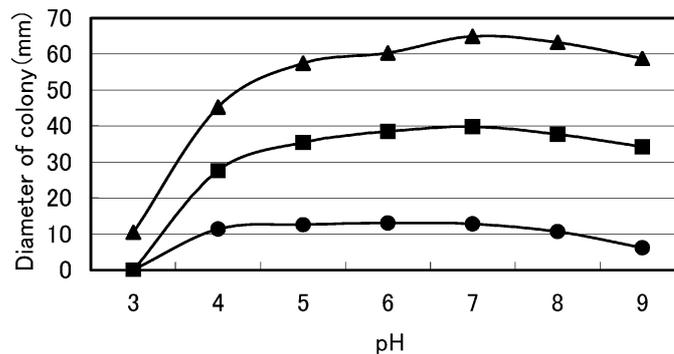


図 2 アガパンサスから分離した *Colletotrichum dematium* (菌株番号 Ag-1) 菌叢の生育と水素イオン濃度との関係
 ● 2 days ■ 4 days ▲ 6 days

記載は見当たらない¹⁰⁾。

本研究から本菌の菌叢は 10~35°C で生育可能で、生育適温は 25°C であった。そのため、防除においては高温状態を避けることが必要であると考えられた。特に切花生産ではアガパンサスの開花時期が 6~7 月と高温期のため注意が必要である。更に、温室内では湿度に注意し、栽培土壌の消毒や残渣の処理を定期的に行うことが必要であると考えられた。殺菌剤を用いた防除については、いずれの薬剤も効果があり、マンゼブでは 2,000 倍希釈まで有効であったが、圃場での実用性にはさらに検討が必要である。なお、野外に定植された同一株であっても、越冬後の前年葉に炭疽病が発生する年としない年とがあることが観察されていることから、越冬中の気象条件が発病に関与している可能性が考えられた。

アガパンサスにおける研究として開花時期を調節するための生育開花に関する研究¹¹⁾や新品種の開発、微細繁殖法の確立を目的とした研究¹²⁾は行われている。しかし、病害防除の研究は遅れているのが現状である。本研究でも、品種ピーターパンは他の品種と比べて同菌に対してより高い感受性が観察されたため、発病地では利用品種についても注意が必要である。激化する花卉市場競争の中では常に新たな種あるいは近縁種の導入や、新品種の開発が求められる。そのような現状では、十分な情報がまま病害が発生し、被害が拡大する恐れがあるため、今後もアガパンサスの病害に関する研究が必要である。

引用文献

- 1) 堀田 満, 1989. 世界有用植物事典. 平凡社. 東京. 53pp.
- 2) 日本植物病理学会編, 2000. 日本植物病名目録. 日本植物防疫協会. 328pp.
- 3) SUTTON, B.C., 1980. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Acervuli and Stroma. Commonwealth Mycological Institute: Kew, Surrey, U.K. 523-537.
- 4) SUTTON, B.C., 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. 1-26, (In: BAILEY, J.A. and JEGER, M.J. ed, *Colletotrichum* Biology, Pathology, Pathology and Control. 388pp., CAB International, Wallingford).
- 5) 小林享夫, 1993. *Colletotrichum* 属, 植物炭疽病菌. 防菌防黴. 21 (4): 215-224.
- 6) 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: 273-278.
- 7) 川勝正夫, 1986. テンサイ採種圃場における炭疽病の薬剤防除. テンサイ研究会報. 26: 146-150.
- 8) 木村陽二郎, 2005. 図説 花と樹の事典. 柏書房. 東京. 20 pp.
- 9) 白澤照司, 1996. 花図鑑 切花. 草土出版. 東京. 82pp.
- 10) FARR, D., BILLS, G., CHAMURIS, G. and ROSSMAN, A., 1989. Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press, USA, p271.
- 11) 森源治郎, 1998. アガパンサス (*Agapanthus africanus* Hoffmanns) の開花に及ぼす温度の影響. 園芸学会雑誌. 57 (4): 685-689.
- 12) SUPAIBULWATANA, K., MIL, M., 1997. Organogenesis and somatic embryogenesis from young flower buds of *Agapanthus africanus* Hoffmanns. Plant Biotechnology. 14 (1): 23-28.

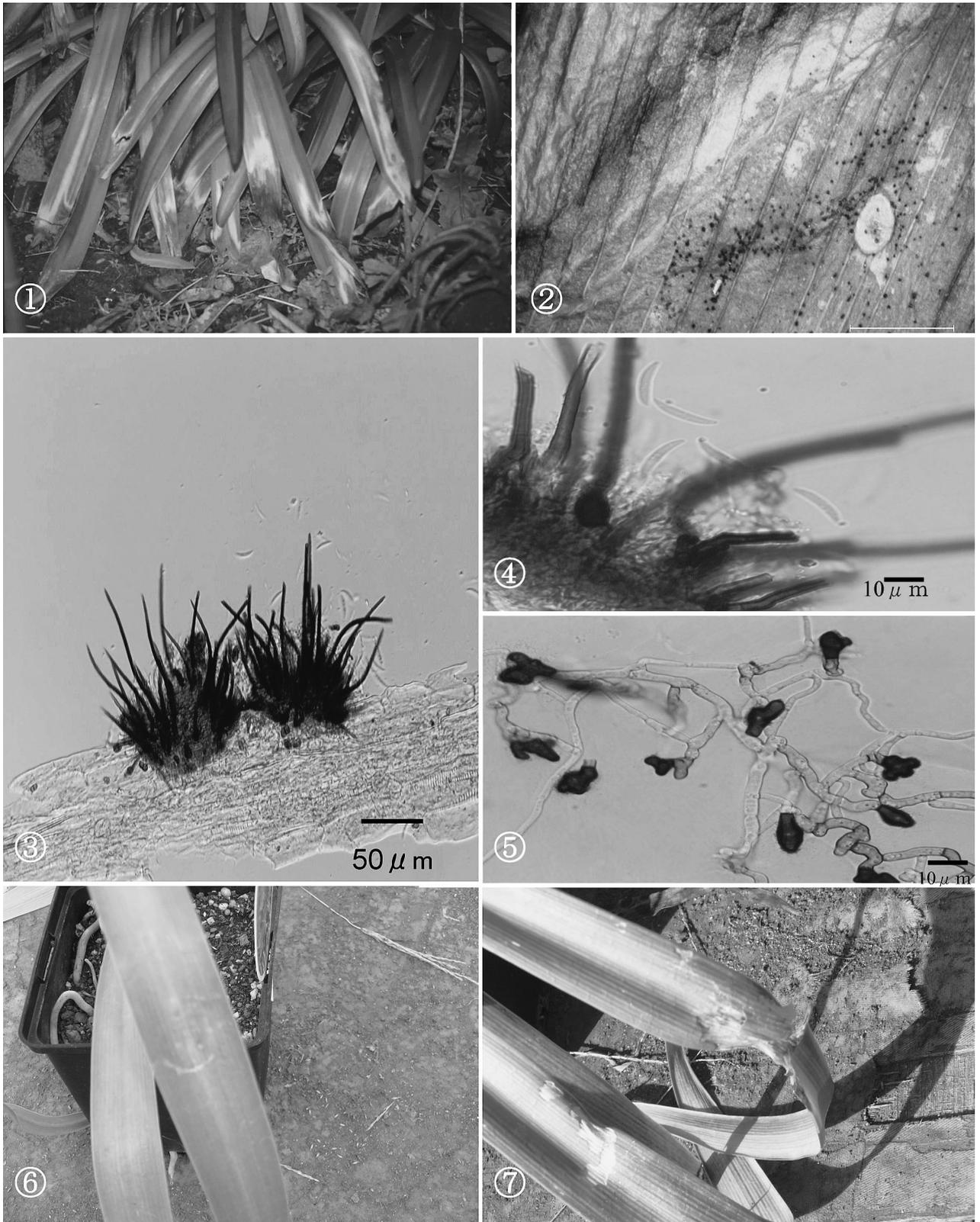


Photo 1 Leaf blight lesions appeared on overwintered agapanthus leaves.

Photo 2 Acervuli on leaf blight lesion.

Photo 3 A hand section of acervuli on agapanthus leaf.

Photo 4 Conidia of *C. dematium* isolated from agapanthus leaf.

Photo 5 Appressoria of *C. dematium* formed on water-agar.

Photo 6 Non-inoculated leaves as negative control in artificial inoculation test.

Photo 7 Lesions developed by artificial inoculation test.

Anthracnose of *Agapanthus* (African Lily) Caused by *Colletotrichum dematium*

By

Yuuki MURATA*, Keiko T. NATSUAKI** and Takao KOBAYASHI**

(Received May 23, 2006/Accepted June 8, 2007)

Summary : In 2004, a new disease was found on African lily (*Agapanthus africanus* (L.) Hoffmanns.) leaves, in Ibaraki prefecture, Japan. Brown to grayish brown leaf blight lesions were observed on over-wintered leaves. A fungus belonging to the genus *Colletotrichum* was observed on these lesions. Its acervuli had setae. The colonies were black or dark gray on PDA medium. Conidia were aseptate, hyaline, falcate, and $15.0\sim 21.5\times 2.5\sim 3.7\mu\text{m}$ ($17.3\times 3.0\mu\text{m}$ in average). Appressoria were oval or slightly irregular, dark brown colored and $9.5\sim 18.7\times 5.2\sim 10.0\mu\text{m}$ in size. Based upon these morphological characteristics, this fungus was identified as *Colletotrichum dematium* (Per. : Fr.) Grove. Isolated fungus was pathogenic to the original host plant in artificial inoculation test. This is the first report describing the African lily disease caused by *C. dematium* in Japan. Therefore, anthracnose of agapanthus (agapanthus tanso-byo) is proposed as a new disease in Japan.

Key words : anthracnose, *Agapanthus africanus*, African lily, *Colletotrichum dematium*

* Department of International Agricultural Development, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture
Present address ; Japan Fresh Foods Co. Ltd

** Department of International Agricultural Development, Tokyo University of Agriculture