

加温によるイチゴ炭そ病潜在感染株の検定

岡山健夫

An Efficient Method for Detection of Latent Anthracnose Infection in Strawberry Plants.

Ken'ō OKAYAMA

Summary

An Efficient and reliable method was established for the detection of strawberry seedlings latently infected by anthracnose fungus (*Glomerella cingulata*, *Colletotrichum gloeosporioides*). During winter, most anthracnose infected plants become indistinguishable from healthy ones, because their leaves wilt and die. When over-wintered symptomless plants were incubated at 28°C after sealing in plastic bags under the light of 3,000lux, 10hrs/day, for 2weeks, visible external and internal symptoms developed in latently infected seedlings. The rate of disease incidence detected under these conditions was highly correlated with that assessed by reddish brown crowns in nursery beds infested to different degrees. Linear regression lines deduced from frequencies of reddish crowned seedlings in nursery beds and those of seedling which developed symptoms under high temperature. Latently infected plants were found at high rate from previously diseased nursery farm. These were indicated that the present plastic bag incubation method is applicable to the estimation of seedlings latently infected by anthracnose prior to transplanting.

Key words : detective methods, strawberry anthracnose, *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*), latent infection, *Fragaria* × *ananassa*.

緒 言

イチゴ炭そ病は全国のイチゴ産地で多発し、株の萎凋枯死を招き甚大な被害を与えている。本病は発病適温が25°C以上の高温域にあり、接種株を28°C以上の高温多湿条件下に置くと、激しく発病し萎凋枯死することが知られている^{4, 5, 7, 8)}。すなわち、本病は5月下旬から発生し始め高温期に蔓延するが、感染株は20°C以下の低温や乾燥条件では発病せず、高温期に発病した株は低温になるにつれて罹病葉が枯死して病徴が消失し、冬期には寒気によって赤褐色に変色した外葉と緑色の中心葉が残った状態になり、発病株と健全株の判別が困難になる。

本菌は外観上健全に見える株の根冠部で越冬し、根冠部に接種された感染株は30週間後でも発病することが知られ¹⁾、托葉や冠部の一部が侵された保菌株が第1次伝染源になると推察されている¹²⁾。第1次伝染源の除去は本病の防除対策上重要であるが、親苗の定植時期である4月に親苗の保菌を外観から診断することはきわめて困難であり、保菌苗を発見し除去する手法の開発が必要に

なった。本実験では、このような外観では見分けのつかない潜在感染株の発生様相と検出方法を検討した。

実験材料および方法

イチゴ炭そ病の潜在感染株の発生調査 1989年11月初旬に橿原市農業試験場内の本病が発生した育苗圃場、本圃および網室内(いずれも品種“女峰”)の発病調査を行い、発病株率を算出した。この苗を1月に掘り上げて鉢に植え、2月上旬に各区から無作為に50株を選んで、外観から病徴を観察した。同時に株の根冠部をナイフで切断して内部の褐変程度を調査し、褐変株率と褐変程度を算出した。褐変程度の調査基準は以下の通りである。褐変部から常法により病原菌を分離した。

褐変度 = $\{ \sum (\text{発病指数} \times \text{発病程度別株数}) / 4 \times \text{調査株数} \} \times 100$

発病程度 : 発病指数 0 : 褐変なし、1 : 根冠部内部の0~1/4が褐変、2 : 1/4以上~1/2未満の褐変、3 : 1/2以上~3/4未満の褐変、4 : 3/4以上~全体が褐変

ビニールおよび寒冷紗被覆下で育苗したイチゴ苗の炭そ病被害調査 炭そ病の発病は育苗期の被覆によって発病が抑えられ、被覆資材の種類によって発病の軽減程度が異なることが知られている^{3, 4)}。このため、被覆資材を用いて被害程度の異なる苗を養成し検定に供した。前年に本病が多発した圃場1区15㎡を用い、ビニールまたは寒冷紗で被覆した。1989年5月に“女峰”、“とよのか”の親株をそれぞれ2株ずつ植え、発病程度が異なる苗を養成した。12月上旬に外観上無病徴となった子苗を掘り上げて育苗方法、品種および株の大きさ別に生存苗数および根冠部の褐変を調査した。なお、供試株は発病が生育に影響すると考えられたので根冠部の大きさ別に分け、根冠部の褐変は各区から80~240株を無作為に選んで調査した。これらの株を以下の加温による検定に供した。

検定時の温度、湿度の調整および検定期間の設定 検定時の湿度条件を明らかにするために、本病菌の接種感染株を用い、湿度条件を変えて発病を調査した。本病菌(菌密度105孢子/ml)の菌液を噴霧接種した後、28℃の温室に1昼夜置いて感染させた。湿度は、①90%±5%に調整した人工気象器内(日本医科器械社製、LPH-200-RD, 3000Lux, 10時間照明)に置く、②1株ずつビニール袋に入れて密閉し過湿状態にして陽光定温器内に置く、および③湿度60%以下の陽光定温器内に置くの、計3処理とし気温を28℃に設定した。1処理当り8株を供試し、3週間後に葉柄および小葉の発病を調査し、発病株の根冠部を鏡検し炭そ病菌の分生孢子を確認した。

検定の温度条件は、前年の本病発病圃および無発病圃から採苗した無病徴株を鉢に植え、1990年2月にこれらの株を1株ずつビニール袋に入れ、過湿状態にして25℃、28℃、32℃の陽光定温器内(照度3,000lux, 1日10時間照明)に置いた。1処理当り10株を供試し、1週間後、2週間後、3週間後にそれぞれ発病株数、枯死株数を調査した。

炭そ病による被害程度の異なる圃場から採取した潜在感染株の検定 1990年2月に前項2の圃場から採苗した無病徴の鉢植え株を1株ずつビニール袋に入れ、過湿状態で28℃の陽光定温器内に置き検定に供した。育苗方法、品種および株の大きさ別に処理当り12株を供試し、2週間後に発病株数、枯死株数を調査した。発病株は病変部の炭そ病菌の分生孢子を鏡検して確認した。この結果をもとに、圃場における被害調査結果と比較検討した。

増殖網室および育苗圃の無病徴株の検定 1990年11月か

ら1991年3月に大和郡山市の親苗増殖網室および農試場内の露地育苗圃、ガラス温室から無病徴苗を採取した。これらの苗を加温による検定に供試し、親株としての使用の可否を判定した。品種はとよのか、女峰を用い、前項3と同様の方法で検定し、3週間後に発病の有無を調査し、検定法の実用性を検討した。

実験結果

1. イチゴ炭そ病の潜在感染株の発生様相

11月初旬までの調査では育苗圃で全株が発病している状態であったが、その後株は外葉が次第に赤褐色に変色した。鉢上げ後の1月上旬以降には発病葉は外葉とともに黄変し枯死した。このため、残った葉や鉢上げ後に展開した新葉および葉柄にまったく病徴は認められず、外観上潜在感染株を識別することは困難であった。しかし、無病徴株の根冠は22%の株に組織内部の褐変が認められ、褐変部から炭そ病菌が分離された。褐変程度は組織の1/4以下の部分に褐変が認められる軽微なものが多かった。これに対し、網室から採取した無発病圃場の株にはまったく褐変が認められなかった(第1表)。

第1表 イチゴ炭そ病潜在感染株の発生状況

Table 1. Disease incidence and reddish brown discoloration of strawberry plants collected from infested and noninfested fields

育苗圃の発病 ^{a)}	採取時の発病株率%	冬期の病徴 ^{b)}	根冠部褐変率%	褐変度
発病圃	100	無	22	26
無発病圃	0	無	0	0
本圃枯死株	100	有	100	100

^{a)} 育苗圃の株は11月上旬に圃場の発病状況を調査した。

^{b)} 翌年1月に掘り上げて外観から病徴を観察した後、根冠内部の褐変を調査した。

2. 潜在感染株の検定湿度、温度および検定期間

接種感染株は検定時の湿度を90%以上に保った株およびビニール袋に入れて密閉し過湿状態に保った株が最も早く発病した。症状は葉柄の一部あるいは基部が黒変した後、小葉が萎凋し、次第に株全体が萎凋して枯死した。60%以下の湿度に置いた株は発病が遅れ、健全株は発病しなかった(第2表)。

発病圃から採取した無病徴株は高湿度に保った場合、1週間後に症状が現れ始め、その後株全体が萎凋枯死した。検定温度は32℃で最も早く発病し、1週間後には半

数の株が発病した。28℃がこれに次ぎ、25℃では発病が遅れた。32℃では1週間後に枯死株が現れ、3週間後には2/3の株が枯死し病勢の進展が早かった。発病株の葉柄基部の中心部から炭そ病菌の分生胞子が検出された。32℃では無発病圃場から採苗した株にも類似症状が現れたが、これらの株から本病菌はまったく検出されなかった。

検定期間は25℃、28℃ともに1週間では発病株が少なく、2週間以上の期間が必要であった。32℃では発病するまでの期間が短い、その後枯死株が急増して軟腐症状になった。28℃では、30日後まで症状が安定して現れ

たが、その後枯死腐敗する株が増加し、炭そ病の分生胞子の確認が困難になった(第3表)。

3. 圃場における被害程度と加温による検定結果

夏期の発病はビニル被覆による雨よけ区の発病が最も軽微であり、寒冷紗被覆区では発病が増加した。このため、圃場における生存苗数はビニル被覆区で多く、寒冷紗被覆区では減少した。根冠部が褐変する株は多発した“女峰”の寒冷紗被覆区が最も多く、ビニル被覆区では減少した。根冠部褐変株率には品種間差異が見られ、“女峰”は“とよのか”よりも高率に現れ、褐変程度の

第2表 イチゴ炭そ病の無病徴感染株の発病に及ぼす湿度の影響

Table 2. Influence of humidity on the disease development in symptomless strawberry plants

供試株	処 理 ^{a)}	発病株率(%)	発病葉柄率(%)	発病小葉率(%)
感染株	湿度=90±5% ^{b)}	100	69	84
	湿度≤60% ^{c)}	75	56	56
	ビニール袋 ^{d)}	100	59	63
無接種株	ビニール袋 ^{d)}	0	0	0

^{a)} イチゴ苗は28℃、3,000lux 10時間照明の条件で3週間置いた。

^{b)} 湿度を調整した人工気象器内に置いた。

^{c)} 加湿せずに陽光定温器内に置いた。

^{d)} 鉢植え苗に十分灌水した後、1株ずつビニル袋に入れ陽光定温器内に置いた。

第3表 イチゴ炭そ病潜在感染株の発病と検定温度および期間

Table 3. Disease development in latently infected strawberry plants as affected by incubation temperature and incubation period

供試株採集圃の発病	供試株数	培養 ^{a)} 温度(%)	検定後の発病株数 ^{a)}		
			1週間後	2週間後	3週間後
発病圃	12	32	6	9	9(9) ^{b)}
	12	28	2	8	8(8)
無発病圃	12	25	1	5	5(5)
	12	32	1	5	5(0)
無発病圃	12	28	0	1	1(0)
	12	25	0	1	1(0)

^{a)} 灌水後、ビニル袋に入れ人工気象器内に置いた。

^{b)} 炭そ病菌の分生胞子が検出された株数。

第4表 イチゴ炭そ病の被害程度と加温による潜在感染株の検定結果

Table 4. Infection frequencies of strawberry seedlings grown in infested nursery beds covered with plastic or screen cloth and disease development in selected symptomless seedlings after plastic bag incubation

品 種	育苗圃の被履	供試株の大きさ ^{a)}	育苗圃の被害程度		検定後の発病 ^{b)}	
			生存苗数 ^{b)}	根冠部褐変株率(%)	発病株率(%)	胞子形成株率(%)
女 峰	ビニル	大	598(100)	14	25	17
		小	275(85)	11	41	33
	寒冷紗	大	254(79)	22	92	75
		小	153(47)	16	67	33
とよのか	ビニル	大	158(100)	7	17	0
		小	130(82)	5	8	8
	寒冷紗	大	129(82)	5	33	25
		小	102(65)	10	25	17

^{a)} 根冠部の大きさ 大：根冠の直径>12mm. 小：根冠の直径≤12mm.

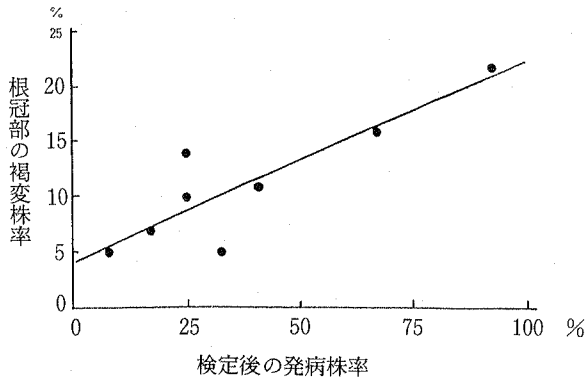
^{b)} 育苗圃15㎡当りの生存苗数。()内は指数。

^{c)} 各区からそれぞれ無病徴株12株を無作為に選び、1株ずつビニル袋に入れて28℃で2週間陽光定温器内に置いた。分生胞子は検鏡によって確認した。

高い株が多かった。株の大きさと根冠部褐変との関係は明らかでなかった。

無病徴株を検定した結果、「女峰」は2週間後に葉柄基部が黒変し、枯死株が多発した。発病株の根冠内部は全体が褐変し根冠部の周囲はやや軟化状態になった。葉柄基部の中心部には本病菌の分生胞子が確認され、本病の潜在感染株と判定した。根冠部の周囲や軟化腐敗が進んだ葉柄の表面にはフザリウム菌や細菌が多かった。根冠部の褐変株が多発した女峰の寒冷紗被覆区から採苗した苗が最も高率に発病枯死し、発病株から炭そ病菌の分生胞子を高率に検出した。供試株は5~22%に褐変が認められ、検定によって発病した株は8~92%に達し、最高75%の株で分生胞子を検出した(第4表)。

発病はビニル被覆区の「とよのか」の発病株率が最も低く、次いで寒冷紗被覆の「とよのか」、ビニル被覆の「女峰」の順に発病株が増加し、寒冷紗被覆区の「女峰」が最も高かった。これは育苗圃において根冠部の褐変株が出現する傾向と一致し、検定による発病株の出現率と品種、育苗様式および苗の大きさ別の褐変株率との関係に高い相関が認められた ($y=4.17+0.87x$, $r=0.87$, $P<0.01$) (第1図)。



第1図 潜在感染株の根冠部褐変株率と加温による発病株出現率の関係

Fig. 1 Relationship between the detected frequency of reddish brown crowns in nursery strawberry and the anthracnose incidence in latently infected plants after plastic bag incubation.

4. 加温による無病徴親苗の検定結果

夏期に炭そ病が発生した大和郡山市の親苗増殖網室から採集した苗は検定時にまったく病徴が認められなかった。しかし、検定の結果、50株のうち33株が発病し、そ

のすべてから炭そ病菌の分生胞子を検出した。農試場内の露地育苗の株についてはとよのか、女峰ともに発病株が現れ、いずれも親株としての使用は不適であると判定した。温室内で育成した女峰については発病が認められなかった(第4表)。なお、増殖網室の発病株から分離した炭そ病菌はベノミル耐性であることが判明した。

第5表 加温による無病徴親苗の検定結果

Table 5. Result of disease development on symptomless strawberry plants after plastic bags incubation

採集場所	品種	育苗様式	検定株数	発病株数	親苗使用の判定
大和郡山市	とよのか	網室	50	33	不可
橿原市四条町	とよのか	露地	12	7	不可
橿原市四条町	女峰	露地	24	17	不可
橿原市四条町	女峰	温室	24	0	可

考 察

イチゴ炭そ病は本県では1987年に女峰を導入した地域で発生し、育苗圃だけでなく本圃で急性萎凋を起こし枯死株が多発した^{4, 5)}。潜在感染株は低温期には病徴が現れないが、発生圃場から採苗した株を植え付けると翌春に発病し、親株に使うと子苗が発病し大被害につながる。山本¹⁾は本病の伝染方法について、第1次伝染は土中に残存した菌によるよりも、托葉や冠部の一部が侵され保菌した株による比重が大きいと推察し、Hornら¹⁾は本病菌が根冠部の内部で越冬し、根冠部に接種した炭そ病菌は5℃で30週間経過した後も発病したとしている。発生圃場から採苗した株は根冠部の内部が褐変しており、この部分から病原菌を検出することができる。このことから、本病は冬期間保菌状態にあると考えられ、本実験ではこのような潜在感染株の検出方法を検討した。

池田ら²⁾は11月中旬に株の外観から無病徴株と発病株に分けて植え付けると、無病親株では翌年の子苗に発病が認められなかったが、発病親株では8月以降に子苗が発病し、親株から子苗に本病が伝染した可能性が高いとしている。本県においても11月中旬までは葉柄や小葉の病徴から発病株の識別が可能であるが、この時期を過ぎると発病葉は外葉とともに赤褐色に変色して識別が困難になる。このような潜在感染株は本病の重要な第一次伝染源であり、その発見除去は本病の防除対策上、きわめて重要である。

本病の発生生態について山本¹⁾は、高温時の降雨の影

響が大きいとし、Smithら^{7, 8)}および筆者⁴⁾は接種株を用い、25℃以上の高温多湿条件で発病が助長され、28℃以上で枯死株が多発することを明らかにした。本実験ではこの結果をもとに潜在感染株の発見方法を検討したところ、無病徴株を28℃で90%の湿度、あるいはビニル袋に入れた過湿状態で2週間以上経過させると潜在感染株を検出できることが明らかになった。湿度条件の設定には機器が必要であるが、ビニル袋に入れて過湿にしても検出率はほとんど変わらず、普及技術としては簡便性に優れるビニル袋が適すると考えられる。

検定期間は2週間以上を要し、28℃では3週間保持しても発病株数は変わらなかったが、30日を過ぎると株の生育に影響し、衰弱株が増加した。発病株の葉柄基部の中心から本病菌の分生胞子が検出され、本病の潜在感染株であることを確認した。しかし、株によっては腐敗が進み過ぎて確認できないものもあり、腐敗した根冠部や葉柄の表面には主にフザリウム菌や細菌が検出されるので診断部位に十分注意する必要がある。

汚染圃場で育苗したビニル被覆および寒冷紗被覆区の苗は、鉢上げ後、発病葉が枯死脱落し、全株が無病徴であり、健全株との識別が困難であった。加温による検定結果と圃場での調査結果を比較したところ、検定による発病株率は根冠部褐変率および分生胞子検出株率との相関がきわめて高く、本法が潜在感染株の検定に有効であることが明らかになった。本検定条件下での発病株率は、圃場での褐変株率に比べてはるかに高い。この結果は根冠の褐変部以外に生存している病原菌の発病への関与が大きいことを示すものであり、本法が潜在感染株の検出に有効であることを実証するものと考えられる。

このように本法は病徴の現れない冬季に親株を検定し、潜在感染株を検出することができるが、検定には人工照明が必要であり、温度を正確に保つ必要がある。設定温度を誤ると炭そ病以外の原因による枯死株が発生したり、長期間、定温器内で育てるために株が衰弱しやすくなるので注意を要する。

県下の親苗は優良親苗増殖事業で養成されているが、罹病性品種が導入されて以来、増殖網室において発生が認められている。しかし、配布時には無病徴となるので潜在感染株を見逃しやすい。親株として配布される予定の苗を検定した結果、発生が認められた増殖網室から採集した苗に潜在感染株が混入していることが明らかになった。親苗は秋から春にかけて生産者に配布されるが、本実験の検定法により、この時期に増殖網室の苗から潜在感染株が発見できることが証明され、実用性が認められた。この結果をもとに、潜在感染株の配布の中止あるいは

は以後の発生防止に取り組むことができ、この地域におけるその後の蔓延を回避することができた。潜在感染株は高温期にも発生することが知られており¹⁰⁾、本法が産地における親株や増殖網室の原種株の検定だけでなく、子苗の抽出検査にも利用され産地全体の健全株確保に役立つことが期待される。

摘 要

イチゴ炭そ病に罹病した潜在感染株の発生様相と検出法を検討した。発病株は冬期には発病葉が枯死脱落し、外観から発病株を識別することはできないが、全株が発病した圃場から採苗した苗は22%に根冠部内部の褐変が認められ、炭そ病菌が分離された。潜在感染株は湿度90%に調整した人工気象器内あるいはビニル袋に入れて過湿状態を保つと高率に発病した。越冬した潜在感染株をビニル袋に入れ、陽光定温器内に置いて、照度3,000luxで1日10時間照明すると、28℃で2週間経過後から発病株が現れ、潜在感染株を検定することができた。陽光定温器内の温度は28℃が適し、25℃では発病が遅れ、32℃では炭そ病以外の原因による枯死株が増加した。検定期間は2週間以上30日以内が適し、発病株の葉柄基部から分生胞子が検出された。加温による潜在感染株の検定結果は、発病程度の異なる育苗圃における株の根冠部褐変率と高い相関関係 ($y=4.17+0.87x$, $r=0.87$, $P<0.01$) があった。増殖網室から採取した無病徴株を検定した結果、高率に潜在感染株を発見することができ、実用性が認められた。

引用文献

1. Horn N.I. and R.G. Carver (1968). Overwintering of *Colletotrichum fragariae* in strawberry crowns. 58:540-541
2. 池田 弘 (1989). イチゴ親株から子苗への炭そ病菌の伝染と薬剤防除効果. 九病虫研会報 36:46-47.
3. 信岡 尚・岡山健夫(1990). 育苗期の被覆条件がイチゴ炭そ病の発生に及ぼす影響. 関西病虫研報 32: 92.
4. 岡山健夫 (1988). イチゴ炭そ病の病原菌と発生病態. 植物防疫42: 559-563.
5. 岡山健夫 (1989). 奈良農試研報. 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. 20: 79-86.
6. 岡山健夫・中野智彦・萩原敏弘 (1992). イチゴ炭

そ病の越冬感染親株から子苗への伝染経路. 日植病報. 58: (1)139.

7. Smith, B. J., and Spiers, J.M. (1982). Evaluating techniques for screening strawberry seedlings for resistance to *Colletotrichum fragariae*. Plant Dis. 66: 559-561.
8. Smith, B. J., and Black, L. L. (1987). Resistance of strawberry plants to *Colletotrichum fragariae* affected by environmental condition. Plant Dis. 71: 834-837.
10. 手塚信夫・牧野孝宏 (1989) イチゴ炭そ病の発生様相と防除. 関東東山病虫研報. 36: 92-94.
11. 山本 勉(1971).イチゴの新病害「炭そ病」. 植物防疫 25:61-64.

脚注

※本報告の概要は、平成2年10月27日日本植物病理学会 関西部会で発表した。