

噴霧接種法を用いたイチゴ炭疽病抵抗性の評価方法

片山貴雄*・末信真二・三井寿一・浜地勇次¹⁾

イチゴ品種や育成系統の炭疽病抵抗性の評価方法を確立する目的で、抵抗性の異なるイチゴ10品種に炭疽病菌の噴霧接種を行い、評価の時期、調査部位、接種濃度および接種時期について検討した。

- 1 病斑の進行速度は、接種時の気温が高く、接種濃度が高いほど早く、その程度に品種間差が認められた。
- 2 炭疽病抵抗性の判別は、品種間差が大きかった接種 8日後から 5日ごとに、供試品種の中で枯死が最も早かった‘さちのか’の全株が枯死するまでの期間が適当と考えられた。
- 3 この期間における葉柄の発病指数の平均値は、葉身に比べて炭疽病抵抗性の品種間差を明瞭に判別できた。
- 4 接種濃度が 1×10^4 個/mL ~ 1×10^6 個/mLの範囲では炭疽病抵抗性における品種間の順位は変動しなかった。
- 5 接種時期は発病の様相が高温時期と低温時期とで大きく異なる品種が見受けられることから、平均気温が28前後の高温時期と、22前後の低温時期との2水準設ける必要があると考えられた。

[キーワード：イチゴ、接種時期、接種濃度、炭疽病、噴霧接種、葉柄発病指数]

A Method for Estimating the Resistance to Strawberry Anthracnose Disease. KATAYAMA Takao, Shinji SUENOBU, Hisakazu MITSUI and Yuji HAMACHI (Fukuoka Agric. Res. Cent., Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 27: 39 - 43 (2008)

The objective of this study was to develop a screening assay for anthracnose resistance in strawberry cultivars/selections. Time of the evaluation, position of subject tissue, density and timing of inoculation were investigated among the ten cultivars with different degrees of resistance by spray inoculation of the conidial suspension.

1. Varietal differences in the rate of disease severity were observed when the temperature and inoculation density were high.
2. Evaluation of the anthracnose resistance could be performed using an infection index.
3. The assay of the infection index of petiole was better than that of the leaf blade to elucidate varietal difference in the anthracnose resistance.
4. Although the degrees of infection indexes were varied, ranking of anthracnose resistance among the cultivars was stable with the range of inoculation density at 1×10^4 spores/ml to 1×10^6 spores/ml.
5. Timing of inoculation requires the respective treatment period of high-temperature at average 28 and low-temperature at average 22 because of the varietal differences in the disease symptoms between high- and low-temperature periods.

[keywords: strawberry, anthracnose, spray inoculation, petiole infection level]

緒言

福岡県におけるイチゴは、野菜第1位の生産額であり、最も重要な品目の一つである。しかし、近年は、夏季における高温傾向や台風の影響により、*Glomerella cingulata*の感染によるイチゴ炭疽病（以下、炭疽病）の発生が増加する傾向にある。

現在、県内で栽培されているイチゴの主要品種‘福岡S6号（商標名：あまおう）’は、県内JA共販出荷者の栽培面積の98%を占める。‘福岡S6号’はこれまで炭疽病抵抗性が‘とよのか’の抵抗性^{2,5,15)}と同等の中程度と評価されてきた。しかし、近年では、‘福岡S6号’においても炭疽病の発生が増加し、その対策が緊急の課題となっている。

炭疽病は育苗期から本圃定植後にかけて株の萎凋枯死を引き起こし、苗不足や大幅な収量低下を招く^{1,14,15)}。主要発生時期は7～8月で、高温期の降雨で発生しやすい^{1,4,15)}。また、発病適温は25～30℃で、28℃以上で萎れや枯死が激しくなること、過湿状態では20℃でも萎れや枯死が発生すること、ビニル被覆後のハウス内気温の上昇で潜

在感染株が発病しやすくなること、逆に低温期には病徴は現われにくいこと等が報告されている^{4,11)}。

炭疽病の対策としては、健全な親株からの採苗や育苗期における薬剤防除の励行、雨よけ育苗の導入等が進められている。しかし、対策のためのコストが高く効果も不安定なことから、炭疽病抵抗性品種の導入が最も効果的と考えられる。炭疽病抵抗性品種については、1999年に三重県で‘サンチーゴ’⁷⁾、2002年に九州沖縄農業研究センターで‘いちご中間母本農2号’¹³⁾が育成された。しかし、北部九州では促成栽培に適した炭疽病抵抗性の実用品種がないため、生産現場から抵抗性品種の育成が強く求められている。

イチゴの炭疽病抵抗性については、これまで品種間差^{2,3,4,8,10,13,15,16)}や検定方法^{2,3,4,6,7,9,10,11,13,15)}に関する報告がある。検定方法は、圃場における自然発病調査²⁾、葉柄切断面への孢子懸濁液浸漬接種法⁹⁾、孢子懸濁液をポット育苗株全身へ噴霧する噴霧接種法^{2,3,4,7,13,15)}等があるが、これらの中では噴霧接種法が最も多く用いられている。しかし、同じ噴霧接種法を用いた場合でも、炭疽病抵抗性の評価は研究者間で異なっている事例があり、例えば‘とよのか’は中程度の抵抗性とする報告^{2,5,15,16)}と、罹病性とする報告^{4,10)}がある。一方、石川は‘女峰’の苗、森は‘女峰’と‘宝交早生’の交配実生に噴霧接種を行った結果、

* 連絡責任者（野菜育種部）

1) 現農産部

温度が高いほど炭疽病の発病や枯死株が増加すること^{4,6)}、岡山は‘女峰’の株に滴下、塗沫処理を行った結果、小葉当たりの病斑数は、接種濃度が高くなるとともに増加すること¹²⁾を報告している。このように、炭疽病菌の噴霧接種による発病の様相は、温度や菌接種濃度等の違いによって異なることから、イチゴ品種の炭疽病抵抗性の評価に当たっては接種条件を十分に検討しておくことが重要である。

そこで、本研究ではイチゴ品種、系統の炭疽病抵抗性を的確に評価する目的で、抵抗性の異なるイチゴ10品種を用いて、炭疽病菌の噴霧接種における、接種時期、接種濃度、調査部位および調査時期等、炭疽病抵抗性の評価に適した条件について検討した。

材料および方法

供試品種として、‘いちご中間母本農2号’（以下、‘中母農2号’）、‘サンチーゴ’、‘久留米58号’、‘福岡S6号’（商標名：あまおう）、‘さがほのか’、‘とよのか’、‘紅ほっぺ’、‘さちのか’、‘とちおとめ’および‘99-41（当場育成系統）’の10品種、系統（以下、品種）を用いた。各品種とも、福岡県農業総合試験場内（以下、場内）のガラス網室で9cmポリポットを使って苗受けを行った。苗受け20日後にランナーを切り離し、さらに30日間育苗した材料（概ね7葉期）を、炭疽病菌の噴霧接種に供試した。

炭疽病菌は2005年に福岡県のイチゴ主産地である八女市で発生した炭疽病罹病株から採取され、*Glomerella cingulata*と同定された保存菌株を用いた。炭疽病菌をPS液体培地で28℃、13日間振とう培養して得た分生胞子の懸濁液を、所定の濃度に希釈して接種菌液とした。試験は2006年に実施し、噴霧接種日を7月19日、8月2日および9月12日の3水準（以下、接種時期）、接種する炭疽病菌胞子懸濁液の濃度（以下、接種濃度）を 1×10^4 個/mL、 1×10^5 個/mLおよび 1×10^6 個/mLの3水準として組み合わせ、各品種ごとに合計9試験区を設けた。炭疽病菌の噴霧接種は場内のビニルハウス内で小型手動噴霧器を用いて、胞子懸濁液を1株あたり10mL噴霧した。接種後、苗への感染を促すため、15時間ハウスを密閉して湿度を保ち、その後は側窓を開放して雨よけ状態で管理した。各品種ともに1試験区当たり10株を供試した。

炭疽病の発病程度は、沖村らの方法¹³⁾を第1表のように改変した葉柄、葉身における発病指数（以下、それぞれ葉柄発病指数、葉身発病指数）を用いて、株ごとにそれぞれ6段階で評価した。調査は1回目を接種3日後に、その後は5日おきに接種43日後までの合計9回実施した。枯死株率は、供試品種の中で枯死が最も早かった‘さちのか’が全株枯死した時点における枯死株の割合で表した。

結果

接種試験を行ったビニルハウス内の接種当日から43日目

第1表 イチゴ炭疽病抵抗性の評価に用いた発病指数

指数	発病程度	
	葉柄	葉身
0	病斑なし	病斑なし
1	1mm以下の微小病斑	1mm以下の微小病斑
2	1mm～3mmの小病斑	1～5mmの小病斑
3	3mm以上の拡大型病斑	5～10mmの中病斑
4	病斑の拡大による葉柄の折損	10mm以上の拡大型病斑
5	株の枯死	株の枯死

までの平均気温は7月19日 8月2日接種がそれぞれ28.7℃、27.9℃と高く、9月12日接種が22.0℃と低かった（第2表）。

第2表 各接種時期試験におけるハウス内気温の推移

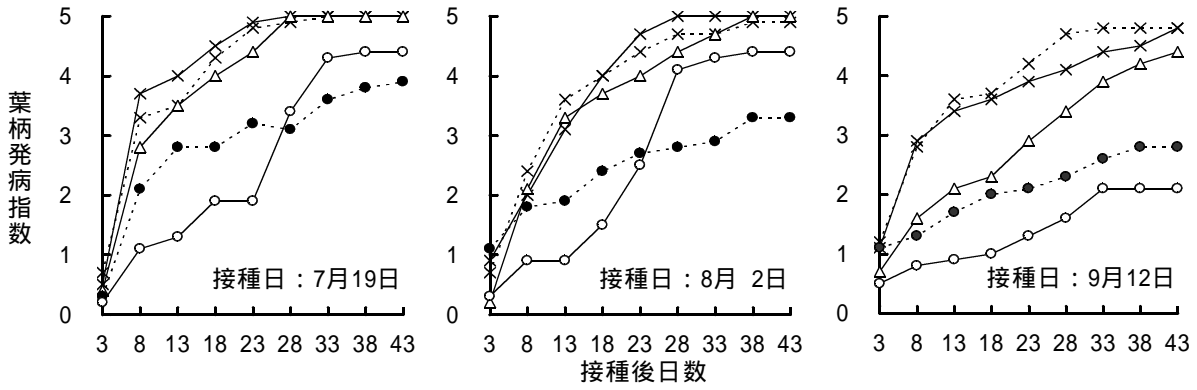
接種日	接種後日数(日)			
	0-14	15-29	30-43	0-43日
7月19日	27.7 ¹⁾	30.4	27.9	28.7
8月2日	30.4	28.1	25.1	27.9
9月12日	23.2	21.9	20.8	22.0

1) 平均値()

炭疽病菌の噴霧接種における葉柄発病指数の推移を接種時期別および接種濃度別にそれぞれ第1図、第2図に示した。7月19日、8月2日接種は、9月12日接種に比べて、また、接種濃度は高い方が病斑の進行は早く、葉柄発病指数が高くなった。供試品種の中で全株が枯死に至るまでの期間は、‘さちのか’が最も短く、9月12日接種における接種濃度が 1×10^4 個/mLと 1×10^5 個/mLの2つの試験区を除き、接種23～38日後までに全株が枯死した（第2図）。

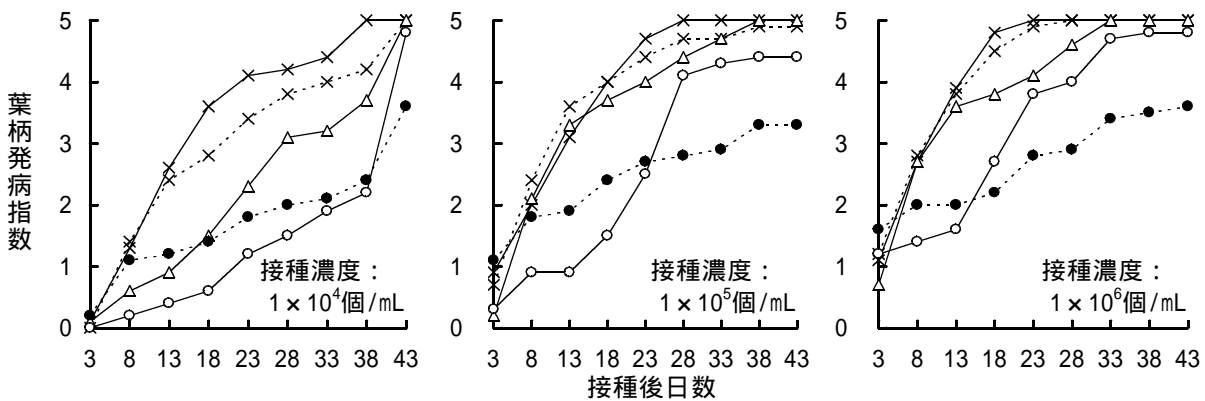
葉柄発病指数の品種間差は、接種時期や接種濃度によって異なっていたが、おおむね接種8日後から‘さちのか’の全株が枯死するまでの期間で大きい傾向にあった。また、調査日ごとに発病指数を比較すると、炭疽病抵抗性の品種間順位が上下する事例が認められた。これらの傾向は葉身発病指数でも同様であった。そこで、各品種の抵抗性程度は、接種8日後から‘さちのか’が全株枯死するまでの期間における葉柄発病指数、および、葉身発病指数の平均値（以下、平均葉柄発病指数、平均葉身発病指数）で検討した。ただし、9月12日接種における 1×10^4 個/mLと 1×10^5 個/mLの2試験区は、‘さちのか’が枯死しなかったため調査を終了した接種43日後までの平均値とした。

供試した10品種の平均葉柄発病指数について品種、接種時期および接種濃度を要因として3元配置分散分析を行った結果を第3表に示した。平均葉柄発病指数には、品種間、接種時期間および接種濃度間ともに1%水準で有意差が認められた。



第1図 炭疽病菌接種時期別の葉柄発病指数の推移

- 1) —○— 中母農2号 —●— サンチーゴ —△— 福岡S6号 —×— とちおとめ —*— さちのか
 2) 炭疽病菌の噴霧接種濃度: 1×10^5 個/mL



第2図 炭疽病菌接種濃度別の葉柄発病指数の推移

- 1) —○— 中母農2号 —●— サンチーゴ —△— 福岡S6号 —×— とちおとめ —*— さちのか
 2) 炭疽病菌の噴霧接種時期: 8月2日

また、品種と接種時期には1%水準で有意な交互作用が認められた。しかし、品種と接種濃度間には有意な交互作用は認められなかった。

第3表 イチゴ10品種における平均葉柄発病指数の分散分析表

要因	自由度	平均平方	F 値
品種 (A)	9	4.642	67.76 ** ¹⁾
接種時期 (B)	2	5.719	83.48 **
接種濃度 (C)	2	4.951	72.27 **
(A) × (B)	18	0.291	4.25 **
(A) × (C)	18	0.094	1.38 ns
(B) × (C)	4	0.078	1.14 ns
誤差	36	0.069	

1) **: 1%水準で有意差あり, ns: 有意差なし

葉身発病指数も、各処理区ともに葉柄発病指数同様の推移と品種間差を示した。平均葉身発病指数について、葉柄と同様の分散分析を実施した結果を第4表に示した。平均葉身発病指数にも、品種間、接種時期間および接種濃度間ともに1%水準で有意差が認められ、品種と接種時

期には1%水準で有意な交互作用が認められた。しかし、品種と接種濃度間には有意な交互作用は認められなかった。

第4表 イチゴ10品種における平均葉身発病指数の分散分析表

要因	自由度	平均平方	F 値
品種 (A)	9	2.129	39.08 ** ¹⁾
接種時期 (B)	2	6.328	116.16 **
接種濃度 (C)	2	4.973	91.28 **
(A) × (B)	18	0.175	3.21 **
(A) × (C)	18	0.035	0.63 ns
(B) × (C)	4	0.069	1.26 ns
誤差	36	0.054	

1) **: 1%水準で有意差あり, ns: 有意差なし

10品種の平均葉柄発病指数と平均葉身発病指数について3接種時期ごとに相関係数をみると $r = 0.98^*$, 0.93^* および 0.87^* と、すべての時期で 1%水準で有意であった。また、両者の分散を比較すると、平均葉柄発病指数の方が3接種時期ともに大きかった(第5表)。

第5表 イチゴ10品種における葉柄発病指数及び葉身発病指数の分散

	平均葉柄発病指数			平均葉身発病指数		
	7月19日	8月2日	9月12日	7月19日	8月2日	9月12日
平均値	3.18	3.34	2.98	2.99	3.48	2.59
最小値	1.70	1.98	1.49	1.98	2.48	2.73
最大値	4.50	3.88	4.18	3.56	3.92	3.46
分散	0.50	0.49	0.64	0.26	0.22	0.27

1) 炭疽病菌の噴霧接種濃度： 1×10^6 個/mL

第6表 イチゴ10品種における平均葉柄発病指数¹⁾

品種名	接種日			平均値
	7月19日	8月2日	9月12日	
中母農2号	1.9 a ²⁾	2.0 a	1.5 a	1.8 a
サンチーゴ	2.8 b	2.3 ab	2.2 ab	2.4 ab
久留米58号	3.2 b	2.8 bc	2.8 bc	2.9 abc
福岡S6号	3.9 c	3.5 cd	3.1 cd	3.5 bc
99-41	4.2 c	3.6 cd	2.8 bc	3.6 bc
さがほのか	4.2 c	3.8 d	2.8 bc	3.6 bc
とよのか	4.5 c	3.8 d	2.8 bc	3.7 bc
紅ほっぺ	4.1 c	3.9 d	3.7 de	3.9 c
さちのか	4.4 c	3.8 d	4.0 e	4.0 c
とちおとめ	4.2 c	3.8 d	4.2 e	4.1 c

1) 接種後8日目から‘さちのか’が全株枯死する時点までの葉柄発病指数の平均値。

2) 異英文字の品種間には1%水準で有意差あり (Tukey-kramer test)

3) 炭疽病菌の噴霧接種濃度： 1×10^6 個/mL

10品種における接種時期別の平均葉柄発病指数を第6表に示した。接種濃度 1×10^6 個/mLにおける平均葉柄発病指数は、‘中母農号’が3接種時期の平均値で1.8と最も低く、次いで‘サンチーゴ’の2.4、‘久留米58号’の2.9であり、3接種時期ともその順位は変らなかった。‘福岡S6号’、‘さがほのか’、‘とよのか’および‘99-41’は平均葉柄発病指数が3接種時期の平均値で3.5~3.7とやや高く、‘紅ほっぺ’、‘さちのか’および‘とちおとめ’の3品種は3.9~4.1と高かった。また、平均葉柄発病指数は、接種時期が遅くなるほど低くなる傾向があり、特に‘さがほのか’、‘とよのか’および‘99-41’で顕著であった。

炭疽病菌の噴霧接種における‘さちのか’の全株が枯死した時点での各品種の時期別の枯死株率 (接種濃度 1×10^6 個/mL) を第7表に示した。枯死株率は、3接種時期の平均値でみると、‘サンチーゴ’が0%と最も小さく、次いで‘久留米58号’の22.5%、‘中母農2号’の30%の順で、3接種時期ともに低かった。一方で、‘99-41’、‘さがほのか’、‘とよのか’および‘紅ほっぺ’の4品種の枯死株率は、接種時期によって大きく異なり、7月19日や8月2日接種の60~90%に対して、9月11日接種では0~10%と極めて低かった。

考察

イチゴの炭疽病抵抗性を評価するための指標形質としては、葉身の病斑の個数¹²⁾、葉柄の病斑の大きさ¹³⁾、葉柄と葉身の発病指数と枯死株率^{2,3,4,16)}、枯死株率⁷⁾等の報告

第7表 イチゴ10品種における枯死株率¹⁾

品種名	接種日			平均値
	7月19日	8月2日	9月12日	
中母農2号	20	50	20	30.0
サンチーゴ	0	0	0	0.0
久留米58号	38	10	20	22.5
福岡S6号	100	40	50	63.3
99-41	100	100	0	66.7
さがほのか	90	60	10	53.3
とよのか	90	80	0	56.7
紅ほっぺ	80	90	0	56.7
さちのか	100	100	80	93.3
とちおとめ	90	90	80	86.7

1) ‘さちのか’が全株枯死した時点、9月12日接種は調査を終了した接種後43日目。

2) 炭疽病菌の噴霧接種濃度： 1×10^6 個/mL

がある。そこで、本試験では、葉柄および葉身の平均発病指数、枯死株率を用いた抵抗性の評価を試みた。また、評価を的確に行うための調査部位についても検討した。

供試した10品種について品種、接種時期および接種濃度を要因として3元配置分散分析を行った結果、葉柄および葉身の平均発病指数ともに1%水準で品種間差異が認められた。また、葉柄と葉身の平均発病指数に1%水準で正の相関が認められた。したがって、どちらの発病指数を用いても同じ傾向を持った抵抗性評価ができると考えられたが、平均葉柄発病指数の方が分散が大きく、品種間差がより明瞭であった。このことから、炭疽病抵抗性を評価する際の調査部位は、葉柄の方が適すると考えられる。その一方で枯死株率は‘とよのか’、‘さがほのか’

、‘紅ほっぺ’および‘99-41’の9月12日接種における枯死株率が7月19日、8月2日接種と比べて極めて低くなり、時期により著しく異なった。このため、枯死株率は単独で指標形質に用いることは適さないと考えられる。

これまでのイチゴ育種における噴霧接種法を用いた炭疽病抵抗性の評価は、ある一定の調査日における葉柄や葉身の発病指数によるものである^{3,4,13,15}。しかし、本試験でみられるように、接種条件が同じ試験区でも、調査日により発病指数の品種間順位が上下する事例があるため、ある一定の調査日の結果のみでは抵抗性の強弱を評価することは困難であると考えられた。そのため、どの試験区でも品種間差が見られる接種8日後から‘さちのか’が全株枯死するまでの発病指数を定期的に調査し、その平均値を用いることにより、よりの確な抵抗性の評価が可能であるものと考えられる。

平均葉柄発病指数について、品種、接種時期および接種濃度を要因として3元配置分散分析を実施した結果、品種と接種時期との間に1%水準で有意な交互作用が認められた。この要因としては、供試した10品種の中で、特に‘さがほのか’、‘とよのか’および‘99-41’の3品種における平均葉柄発病指数が、接種時期が遅くなるにつれて、他の品種と比べて顕著に低くなる傾向を示したことが考えられる。一方、品種と接種濃度間には有意な交互作用は認められなかった。このことは、接種時期(温度条件)が、接種濃度に比べて、平均葉柄発病指数に基づく品種の炭疽病抵抗性の評価に影響を与えやすいことを示唆するもので、池田²⁾や石川³⁾などの報告で‘とよのか’の炭疽病抵抗性の評価が中程度の抵抗性および罹病性と異なった事例も、それぞれの温度条件の違いが影響したのではないかと推察される。本試験では、炭疽病の発病の様相が28前後の高温期と22前後の低温期とで異なる品種が見受けられた。したがって、炭疽病抵抗性の評価は高温期と低温期のそれぞれで検討する必要があるものと考えられる。

接種濃度については、本試験で実施した 1×10^4 個/mL ~ 1×10^6 個/mLの範囲ではイチゴ品種の炭疽病抵抗性の評価は変わらなかった。

以上のことから、炭疽病抵抗性を評価する場合には、28前後の高温期と22前後の低温期の2時期について、接種濃度 1×10^4 個/mL ~ 1×10^6 個/mLで炭疽病胞子懸濁液を接種し、接種8日後から‘さちのか’が枯死するまでの期間に定期的に葉柄における発病指数を調査し、その平均値を用いることが適当であることを明らかにした。

今後は、この方法を交配母本や育成系統の炭疽病抵抗性の評価に活用し、抵抗性品種を育成するとともに、炭疽病抵抗性の発現様式を解明していく必要がある。

引用文献

- 1) 橋田弘一(1989)栃木県におけるイチゴ炭そ病の発生推移. 関東病虫研報36: 84.
- 2) 池田弘(1987)イチゴ炭そ病の品種間差異および薬剤防除. 九病虫研会報33: 73-75.
- 3) 石川成寿・中山喜一・大兼善三郎(1989)イチゴ炭そ病に対する品種間差異. 関東病虫研報36: 85-86.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 森利樹(1998)実生幼苗を利用したイチゴ炭そ病抵抗性の選抜に及ぼす管理温度の影響. 園学雑67: 934-938.
- 7) 森利樹・戸谷孝・藤原孝之(2000)炭そ病抵抗性イチゴ新品種‘サンチーゴ’の育成. 三重農技研報27: 27-36.
- 8) 森利樹(2001)イチゴにおける炭そ病抵抗性の遺伝と選抜反応. 三重農技研報28: 15-21.
- 9) Noguchi, Y., T. Mochizuki and O. Yamakawa(1994)Petiole dip inoculation is a convenient method for screening strawberry for resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum fragariae*. Bull. Natl. Res. Inst. Veg., Ornam. Plants Tea, Japan. A9: 13-26.
- 10) 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.
- 11) 岡山健夫(1993)加温によるイチゴ炭そ病潜在感染株の検定. 奈良農試研報24: 41-46.
- 12) 岡山健夫(1994)イチゴ炭そ病菌 *Glomerella cingulata* (= *Colletotrichum gloeosporioides*) 分生子の飛散および障壁による防除効果. 奈良農試研報60: 113-118.
- 13) 沖村誠・野口裕司・望月龍也・曾根一純・北谷恵美(2004)炭そ病抵抗性の「いちご中間母本農2号」の育成とその特性. 園学雑3: 257-260.
- 14) 手塚信夫・牧野孝宏(1989)イチゴ炭そ病の発生様相と防除. 関東病虫研報36: 92-94.
- 15) 山川理・野口裕司・小林紀彦(1990)ランナー苗及び実生苗を用いたイチゴ炭そ病抵抗性の検定法. 園学雑59: 426-427.
- 16) 山本勉・福西務(1970)イチゴ炭そ病について. 日植病報36: 165-166.