

# いちご健全種苗生産のための炭疽病検査プログラムの構築

## 1. 試験のねらい

イチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*) の主な第一次伝染源は潜在感染株であり、健全種苗の生産・供給が極めて重要となっている。栃木県でのいちご苗生産は、原々苗を対象にエタノール浸漬簡易診断法 (SDEI: Ishikawa, 2003) による検定を実施しているが、それ以降の増殖過程では、見取り調査により感染が疑われる苗を除去している状況にある。一方、遺伝子診断法 (PCR 法) によるイチゴ炭疽病潜在感染株の検出が可能となっている (平山ら, 2008)。そこで、本法を利用した炭疽病検査プログラムの有効性を本県のいちご苗生産体制下で実証する。

## 2. 試験方法

### (1) エタノール浸漬簡易診断法 (SDEI) と遺伝子診断法 (PCR 法) による炭疽病菌検出

いちご苗から最下位葉を検定葉として採取し、SDEI では小葉を用いて Ishikawa (2003) の方法により感染を判定した。PCR 法では、平山ら (2008) の方法に従って葉柄基部の前培養、DNA 抽出を行った。その後、本病菌検出プライマー (鈴木ら, 2008) を用いて PCR を実施し、特異的な増幅の有無から感染を判定した。

### (2) 各苗生産段階での実用性の検討

生産ほ場において、本病に対する育苗期見取りおよび PCR 法による発生状況を調査した。また、無病苗生産・供給体制 (図-1) の上流から、各苗生産段階 (原々苗を除く) において、PCR 法による感染状況を段階的に追跡調査した。その際、各生産規模に合わせて全株もしくは抽出 (3~4%を目安) により検定を実施した。なお、各調査において炭疽病菌が検出された苗は施設から取り除いた。

### (3) 効率的な検定法を確立するため、現地生産ほ場の試料を用いて、バルク法 (10 個の試料を一まとめとしたものを 1 試料として検定する方法) を検討した。

## 3. 試験結果および考察

(1) PCR 法は SDEI に比べ迅速性に優れ、十分な実用性が認められた (表-1)。

(2) PCR 法は見取り調査に比べて高い検出率であり、見かけ上健全な苗 (潜在感染株) から本病菌を検出することができ、実用性が高いと考えられた (表-2)。

(3) 各苗生産段階で PCR 法により本病菌が検出された株を取り除くことで、以後の炭疽病発生を抑制できた (一部データ省略)。また、本県のいちご苗生産体制への導入によって、生産ほ場での炭疽病発生が大きく減少することを実証した (表-2)。

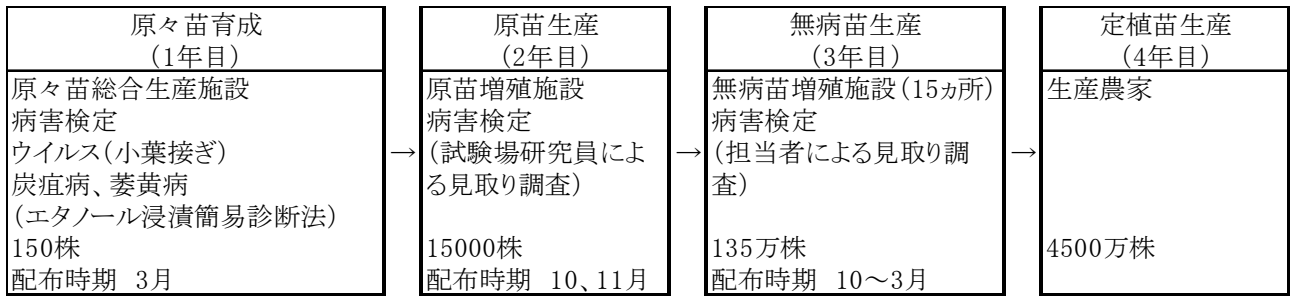
(4) バルク法による検定は、個別検定に比べて検出率がやや低かった (表-3)。一方で、作業時間や費用を大幅に削減することができた (データ省略)。今回のように本病の感染が少ない場合には検出されないことがあるため、本法の利用にあたっては、状況に応じて検定数やバルクの規模を検討する必要がある。

## 4. 成果の要約

イチゴ炭疽病に対して、PCR 法を利用した検査プログラムの実用性が実証された。各苗生産段階に本プログラムを導入し、潜在感染株を取り除くことで、生産ほ場での発生を少なく抑えることができる。また、バルク法によって、検定時間や検定費用を大きく削減できる。

※本研究は新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業 (H21~23) で実施した。

(担当者 環境技術部 病理昆虫研究室 森島正二\*) \*現 農業環境指導センター



図－1 栃木県におけるいちご無病苗生産・供給体制

表－1 いちご原々苗におけるエタノール浸漬簡易診断法および PCR 法によるイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 検出概要の比較<sup>1)</sup>

検定方法 <sup>2)</sup>	SDEI <sup>3)</sup>	PCR法 <sup>4)</sup>
検出率(%)	0.0	0.0
検定時間	14.5日	7.8日
費用	5000円 (20円/検体)	92500円 (370円/検体)

1)平成21年11月9日に250検体を検定。

2)SDEI、PCR法には同一試料を供試。

3)エタノール浸漬簡易診断法 (Ishikawa, 2003)。

4)イチゴ炭疽病菌検出プライマー (鈴木ら, 2008) を使用。

表－2 いちご生産ほ場における検査プログラム導入前後のイチゴ炭疽病 (*Glomerella cingulata*) 発生および検出状況 (%)

調査地点	導入前(平成21年) <sup>1)</sup>		導入後(平成23年) <sup>2)</sup>	
	見取り調査	PCR法 <sup>3)</sup>	見取り調査	PCR法 <sup>3)</sup>
A	0.0	2.0	0.0	1.5
B	15.3	28.0	0.0	1.0
C	1.1	12.0	0.0	1.5

1)育苗期の8月26日に300株を調査した。

2)育苗期の7月26日に200株を調査した。原苗生産(平成21年)、無病苗生産(平成22年)において、PCR法による検定を実施し、陽性株は取り除いた。

3)イチゴ炭疽病菌検出プライマー (鈴木ら, 2008) を使用。

表－3 いちご生産ほ場における個別およびバルク法によるイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 検出状況<sup>1)</sup>

生産者	ハウス	2月		4月		5月
		個別 <sup>2)</sup>	バルク法 <sup>2)</sup>	個別	バルク法	発病株率
A	1	0/50	0/8	1/50	1/8	0/300
	2	0/50	0/5	1/50	0/8	0/300
C	1	0/50	0/7	0/50	0/8	10/300
	2	0/50	0/7	2/50	0/8	23/300

1)イチゴ炭疽病菌検出プライマー (鈴木ら, 2008) によりPCRを実施した。

2)各ほ場100～130株から最下位葉を採取し、そのうち50葉を個別検定、残りをバルク検定に供試した。バルク検定は10葉を1試料として処理した。