イチゴ苗の長期冷蔵処理による炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 潜在感染株の低減

岡山 健夫^{1*}・平山 喜彦²

ABSTRACT

OKAYAMA, K.^{1*} and HIRAYAMA, Y.² (2013). Reduction of latent infection of strawberry anthracnose by long-term cold seedling storage below freezing. Jpn. J. Phytopathol. 79: 269–274.

The incidence of strawberry anthracnose, caused by *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*), is increasing nationwide in Japan. The fungus, which overwinters in latently infected strawberry plants can act as an inoculum source in nursery beds next year. We monitored isolation frequency of the fungus on semiselective medium from latently infected plants in December, February and April and studied the effect of cold conditions on mycelial growth and the influence of long-term cold storage on infected strawberry plants. The isolation frequency of *G. cingulata* from plants latently infected with strawberry anthracnose was remarkably decreased after overwinter. The isolation frequency from infected strawberry plants placed in open field was lower than those placed in a plastic house. To further study this reduction, we pre-incubated colonies of *G. cingulata* on PSA and stored them at -2°C , then transferred a 6-mm mycelial disk from each colony to PSA at 25°C ; after 21 days, the fungus had died. The isolation frequency of *G. cingulata* from pre-inoculated petioles and from pre-inoculated plants remarkably decreased after cold storage at -2°C for over 90 days. And after cold storage for 180 days, the fungus of *G. cingulata* was not isolated from any part of the plant (leaves, petioles, base of petioles or crowns). These results show that the infection frequency of strawberry anthracnose is significantly reduced by long-term cold storage and indicate that latently infected strawberry plants can become pathogen-free by this treatment.

(Received November 29, 2012; Accepted April 15, 2013)

Key words: cold storage, *Glomerella cingulata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, strawberry anthracnose, latent infection, *Fragaria* × *ananassa*

緒 言

Glomerella cingulata (アナモルフ: *Colletotrichum gloeosporioides*) によるイチゴ炭疽病は、全国的に被害が拡大しているイチゴの重要病害である (Suzuki *et al.*, 2010). 本病は発病後の蔓延が急激であるため、高温期に育苗圃全体に発病が拡大して大被害につながる。本病の主要な第1次伝染源は、低温期に外見上無病徴となる潜在感染株と考えられ (Horn and Carver, 1968; 岡山, 1988; Okayama, 1993), 潜在感染株の早期発見とその除去が重要である。

潜在感染株は、鉢植え子苗や葉、葉柄をビニル袋に入れて $25 \sim 28^{\circ}\text{C}$ の高温多湿状態に1～2週間保つことで発病を促し、葉や株の中心部に形成させた分生子の確認により検出で

きる (広田ら, 2006; 岡山, 1993). さらに、潜在感染株の簡易検出法として葉をエタノールに浸漬し、形成される分生子塊を確認する方法が考案されている (Ishikawa, 2003). しかし、これらの方法では、イチゴ炭疽病菌 *C. gloeosporioides* と胞子の形態で区別できない非病原性菌が分離されることがしばしばある (植松ら, 2002). しかもこれらの非病原性菌は *C. gloeosporioides* の種特異的プライマーを使った Polymerase Chain Reaction (PCR) (Mills *et al.*, 1992) でも分別できないため、両者の区別にはイチゴへの接種によって病原性を確認する必要があった。PCR 診断法は、その後イチゴ炭疽病菌を非病原性菌と識別する病原菌特異的プライマーを用いた方法が開発され (鈴木ら, 2008; Suzuki *et al.*, 2010; 鈴木・吉田, 2012), 生産現場における潜在感染株の検出が試みられてい

¹ 奈良県植物防疫協会 (〒634-0813 奈良県橿原市四条町 88 奈良県農業総合センター内) Nara Plant Protection Association, In Nara Prefectural Agricultural Experiment Station, 88, Shijo-cho, Kashihara-shi, Nara 634-0813, Japan

² 奈良県農業総合センター (〒634-0813 奈良県橿原市四条町 88) Nara Prefectural Agricultural Experiment Station, 88, Shijo-cho, Kashihara-shi, Nara 634-0813, Japan

* Corresponding author (E-mail: narasyokubo-okayama@way.ocn.ne.jp)

本研究は、農林水産省の先端技術を活用した農林水産研究高度化事業 (課題番号 18046) の助成を受けて行った。

る(平山ら, 2008). この診断技術は高精度であり, 健全親苗の確保につながるものと期待されているが, 全株検査を実施するには多大な時間と費用がかかり, また抽出検査では感染株の見落としが避けられない. このため潜在感染株対策には病原菌の検出だけでなく, 全株を対象にした炭疽病潜在感染株のフリー化技術が必要になっている.

本菌は, イチゴの株内で潜在, 越冬し, 翌年の第 1 次伝染源となって被害が拡大する. 筆者らはこれまでに, イチゴが炭疽病に潜在感染する低温期に炭疽病菌がイチゴ株体内で高頻度に存在する部位を明らかにした(岡山ら, 2007)が, 越冬中の株内での炭疽病菌の動態は不明であった. そこで, 本研究では越冬株体内での炭疽病菌の動態を追跡し, 最も低温となる 2 月に分離頻度の激減が認められ, 露地でより顕著であること, 露地条件に近い低温条件が炭疽病菌の生育に深いダメージを与えることを明らかにした. さらに本知見を基に, 周年収穫のために確立された長期冷蔵技術の応用によるイチゴ苗の炭疽病フリー化の可能性について検討した.

実験材料および方法

供試菌株 イチゴ炭疽病の人工接種株や接種葉柄の調製には, イチゴ炭疽病菌 *G. cingulata* (アナモルフ: *C. gloeosporioides*) のベノミル耐性菌株 Nara-gc5 を用いた. 低温条件における本菌の生育を調査するため, *C. gloeosporioides* は, Nara-gc5, IZU-1, MAFF305913, Nara-gc6, Nara-gc17 および CHI-94 の計 6 菌株を供試した. さらに, 主に葉枯症状を起こす炭疽病菌として病名記載されている *Colletotrichum acutatum* MAFF306982 および MAFF306947 の 2 菌株を用いて比較調査した.

供試苗 接種試験には奈良県農業総合センター育成のイチゴ品種アスカルビーを用いた. 供試苗は健全株を確保するために雨よけハウス内で不織布を用いた底面給水管理(Okayama, 1993)によって育成し, 育苗中に炭疽病の発生は認められなかった. 接種用の苗はポリエチレン製の鉢(容量 300 ml)に植え, 5~7 葉期のものを供試した.

露地およびビニルハウス内で維持したイチゴからの炭疽病菌分離頻度調査 イチゴ炭疽病菌 Nara-gc5 菌株をシヨ糖加用ジャガイモ煎汁液体培地で 25°C, 2 週間振とう培養(150 rpm)して得られた分生子の懸濁液を調製し, 2005 年, 2007 年とも約 10^5 孢子/ml の分生子を株当たり 10 ml 噴霧接種後, 1 昼夜 25~30°C の湿室状態に置いて感染を促して感染株を作製した. 2005 年の人工接種株は 9 月 22 日に接種し, 無加温のビニルハウス内で維持した. 2007 年の人工接種株は 10 月 1 日に接種し, 露地状態で維持した. 感染株はいずれも 1 日につき 1~3 回, 1 回当たり 15 分間頭上灌水を行った.

炭疽病菌の分離には, シヨ糖加用ジャガイモ煎汁寒天

(PSA) 培地にベノミル 50 ppm, トリフルミゾール 30 ppm, オキシガル 100 ppm およびストレプトマイシン硫酸塩 50 ppm を添加した選択培地(岡山ら, 2007)を用いた.

潜在感染株の葉位別の分離には, 2005 年, 2007 年接種株とも 12 月, 2 月および 4 月に中心葉から外側第 7 葉位までの小葉, 葉柄を採取して行った. 小葉は約 1 cm 四方, 葉柄は約 1 cm の長さに切断して葉位毎に 4 切片を作製した. 切片は常法により 70%エタノール, 次いで有効塩素 1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で各 30 秒間表面殺菌後, 滅菌水で洗浄し, 選択培地上に置床して 28°C で 5 日間培養した. 2007 年は時期毎に 5 株, 2007 年は 8 株を越冬中の株から無作為に抽出して供試した. 分離頻度の調査は, 培養後の小葉および葉柄切片から生じる炭疽病菌の生育の有無を調査して葉位別分離率を算出した.

培養菌そうの冷蔵試験 イチゴ炭疽病菌の低温下における生育調査には, PSA 培地を用いて直径 9 cm のプラスチックシャーレで 25°C, 7 日間培養したイチゴ炭疽病菌(Nara-gc5)の培養菌そうを供試した. 培養菌そうをビニル袋に入れ, -2°C, 2°C, 5°C, 10°C および 25°C に設定した暗黒条件の冷凍冷蔵庫内に 21 日間静置後, 取り出して直径 6 mm のコルクボーラで菌そうディスクを抜いた. この菌そうディスクを PSA 培地に置床し, 28°C に設定した人工気象器内で 5 日間培養して菌そうの生育を調査した.

冷蔵処理による菌株間の生育比較には, 8 菌株を PSA 培地で上述の試験と同様に培養後, 菌そうを -2°C, 5°C に設定した冷凍冷蔵庫内に静置した. 所定の期間後取り出して, 前項と同様にして打ち抜いた菌そうディスクを PSA 培地に置床し, 25°C で 4 日間培養後, 菌そうの生育を調査した. それぞれの試験には, 設定温度および菌株当たり 3 枚の培養菌そうプレートを供試した.

冷蔵処理をしたイチゴ炭疽病菌接種葉柄および人工接種株からの炭疽病菌分離頻度調査 冷蔵処理に供した人工接種葉柄は, イチゴの葉柄部を約 1 cm の長さに切り, 約 10^5 孢子/ml の分生子懸濁液に浸漬して接種後, ビニル袋に入れて 25°C の湿室状態に 1 昼夜置いて作製した. 人工接種株は, 上述の通り作製した.

接種葉柄および株の冷蔵は, -2°C および 5°C に設定した冷凍冷蔵庫内に静置した. 接種葉柄は, ビニル袋に入れて冷蔵し, 接種株は直径 9 cm のポリエチレン製鉢に植えた子苗をプラスチック製の収穫容器に入れ, 容器と植物体全体をビニル袋で包んで冷蔵した.

冷蔵した接種葉柄および人工接種株は, 所定期間後に取り出して上述の通り表面殺菌後, 選択培地で培養して炭疽病菌の死滅状況を調査した. 人工接種葉柄は, 各冷蔵温度当たり

24 切片～48 切片を供試した。人工接種株は、外側葉位の 2 小葉を採取し、4 切片に切断して培養した。各時期の分離にはそれぞれ 5 株を無作為に抽出して供試した。

さらに、冷蔵 150 日後および 180 日後に人工接種株 8 株を無作為に抽出し、株当たり葉柄を 8 切片、葉柄基部を 4 切片およびクラウン 8 切片を前項と同様に培養した。

分離頻度の調査は、25°C で培養後の各切片から生じる炭疽病菌の生育の有無を調査して分離率を算出した。選択培地に置床して 5 日間培養後菌糸伸長が認められなかった切片は、その後も全く菌糸発生が認められず、炭疽病菌は死滅したものと判定した。

実験結果

露地およびビニルハウス内で維持した潜在感染イチゴ株からの炭疽病菌分離頻度の推移

人工接種株は 2005 年、2007 年とも 10 月末以降には病徴が認められず、潜在感染株となった。2005 年にビニルハウス内に置いたイチゴ潜在感染株から炭疽病菌を分離した結果、12 月には外側葉位 5～7 葉の小葉、葉柄から 80% 以上の高率で検出され、2～4 葉位まで低率ながら検出された (Fig. 1)。2006 年 2 月には最も外側の 7 葉位からの分離頻度が高かったが、5 ないし 6 葉位では分離頻度が低くなり、1～4 葉位からの分離頻度は顕著に下がった。4 月には 5 および 6 葉位でやや高まる傾向が見られた。

一方、2007 年に露地に置いた潜在感染株の分離結果は、12 月には外側葉位 6～7 葉の小葉および葉柄からの分離頻度は 85% 以上であり、1～4 葉位の葉全てから検出された。しかし、2008 年 2 月には分離頻度が低くなり、4 月には 1～4 葉位からの分離頻度は 10% 以下であった (Fig. 2)。

秋季の人工接種により調製した潜在感染株からの炭疽病菌の分離結果は、両年とも 12 月に分離頻度が高く、越冬後に低下する傾向が見られた。2 月には両年とも内側の葉位で分離頻度が低くなり、4 月の分離頻度は 2007 年に露地で越冬させた株が全葉位で最も低かった。

イチゴ炭疽病菌菌糸の生育に及ぼす低温の影響

露地で越冬した潜在感染株からの分離頻度が低下した原因を探るために、イチゴ炭疽病菌菌糸の生育に及ぼす低温の影響を調査した。炭疽病菌を冷蔵した結果、*C. gloeosporioides* (Nara-gc5) の培養菌そうは、-2°C、21 日間の冷蔵により菌糸伸長が見られなくなった。一方、2°C、5°C で冷蔵した菌そうは 10°C、25°C で維持した菌そうに比べて伸長速度が僅かに遅れたが、菌糸伸長が認められた (Table 1)。

他のイチゴ炭疽病菌株に対する低温の影響を調査した結果、*C. gloeosporioides* は 2 菌株 (Izu-1, MAFF305913) が -2°C の

Fig. 1. Mean frequency of re-isolation of *Glomerella cingulata* Nara-gc5 (*Colletotrichum gloeosporioides*) from leaflets and petioles sampled at different positions (from inner [1st] to outer leaves [7th]) on three dates during overwintering of strawberry plants that were pre-inoculated with *G. cingulata* Nara-gc5 then placed in a plastic house. After inoculation with 10 ml of conidia (10^5 /ml) on September 22, 2005, plants were watered with overhead irrigation. Viability of the fungus was checked at each sampling by incubating excised tissue samples on semiselective medium at 28°C for 5 days, then checking for mycelial emergence. Data for each sampling are means from 4 sections of a petiole or 4 sections of a leaf blade $\times$ 5 plants = 20 sections of leaves or petioles; vertical bars indicate 95% confidence intervals.

冷蔵 21 日間で菌糸伸長が認められず、残り 3 菌株 (Nara-gc6, Nara-gc17, CHI-94) は菌糸が伸長した。しかし、56 日間の冷蔵後には全菌株で菌糸伸長が認められなかった。一方、5°C では *C. gloeosporioides* の生育抑制は認められず、*C. acutatum* は、2 菌株とも -2°C 冷蔵による影響がなかった (Table 2)。

冷蔵処理をしたイチゴ炭疽病菌接種葉柄および人工接種株からの炭疽病菌分離頻度の推移

接種葉柄を -2°C で冷蔵した結果、炭疽病菌の分離頻度は、冷蔵期間が長くなるにつれて低下し、90 日および 120 日後では著しく低かった。一方、5°C の冷蔵では、120 日間の冷蔵後も分離頻度の低下が認められなかった (Fig. 3)。

人工接種株は -2°C で冷蔵した結果、小葉からの菌の分離頻度は 90 日以降で著しく低下し、180 日後の小葉からは、菌

Fig. 2. Mean frequency of re-isolation of *Glomerella cingulata* Nara-gc5 from leaflets and petioles sampled at different positions (from inner [1st] to outer leaves [7th]) from overwintering strawberry plants pre-inoculated with *G. cingulata* Nara-gc5 placed in an open field. Potted plants were inoculated with 10 ml of conidia (10^5 /ml) on October 1, 2007 and watered with overhead irrigation. Viability of the fungus was checked at each sampling by incubating excised tissue samples on semiselective medium at 28°C for 5 days, then checking for mycelial emergence. Data for each sampling are means from 4 sections of a petiole or 4 sections of a leaf blade $\times$ 8 plants = 32 sections of leaves or petioles; vertical bars indicate 95% confidence interval.

Table 1. Effect of low temperature on mean mycelial growth of *Glomerella cingulata* Nara-gc5 (*Colletotrichum gloeosporioides*)^{a)}

Temperature (°C)	Mean mycelial growth $\pm$ SE (mm)
-2	0
2	60.0 $\pm$ 0.0
5	63.0 $\pm$ 0.0
10	64.0 $\pm$ 0.0
25	64.0 $\pm$ 0.0

a) Colonies were pre-incubated on PSA at -2°C, 2°C, 5°C, 10°C, or 25°C for 21 days, then 6-mm-diameter mycelial disks were excised, placed on semiselective medium and incubated at 28°C in the dark. Colony diameter was measured after 5 days, subtracting the 6 mm diameter of the original disk. $N=3$ plates per temperature.

その生育が全く認められなかった (Fig. 4). -2°C で冷蔵 180 日後の株では、小葉だけでなく葉柄、葉柄基部、クラウンなど株全体から炭疽病菌が分離されなかった (Table 3). 一方、5°C の冷蔵では接種葉柄の結果と同様に長期間冷蔵後も分離頻度に変化せず、180 日後でも高頻度で本菌が分離された。

考 察

イチゴ (*Fragaria* $\times$ *ananassa* Duchesne) の炭疽病菌には *Colletotrichum acutatum* Simmons ex Simmons (築尾ら, 1992; 石川ら, 1992; 松尾・太田, 1992), *C. fragariae* Brooks (山本, 1971), *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding & Schrenk (不完全世代 *C. gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Saccard (岡山, 1988) の 3 種が日本植物病名目録に記載されている。イチゴ産地では株の萎凋枯死を引き起こす被害が大きく、*G. cingulata*

Table 2. Effects of duration (21, 56 days) and temperature (-2°C, 5°C) of cold storage on mycelial growth of *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*) and *Colletotrichum acutatum* from strawberry^{a)}

Species	Isolate	Mean mycelial growth $\pm$ SE (mm)			
		21 days		56 days	
		-2°C	5°C	-2°C	5°C
<i>C. gloeosporioides</i>	Nara-gc5	0	44.0 $\pm$ 0.0	0	45.0 $\pm$ 0.6
<i>C. gloeosporioides</i>	Izu-1	0	44.0 $\pm$ 0.0	0	47.7 $\pm$ 1.5
<i>C. gloeosporioides</i>	MAFF305913	0	41.0 $\pm$ 0.0	0	41.7 $\pm$ 0.3
<i>C. gloeosporioides</i>	Nara-gc6	10.7 $\pm$ 6.1	41.0 $\pm$ 0.0	0	43.0 $\pm$ 0.0
<i>C. gloeosporioides</i>	Nara-gc17	33.0 $\pm$ 0.6	41.0 $\pm$ 0.0	0	43.3 $\pm$ 0.3
<i>C. gloeosporioides</i>	CHI-94	33.0 $\pm$ 1.2	44.0 $\pm$ 0.0	0	44.0 $\pm$ 0.0
<i>C. acutatum</i>	MAFF306283	34.0 $\pm$ 0.0	34.0 $\pm$ 0.0	35.0 $\pm$ 0.0	32.7 $\pm$ 0.3
<i>C. acutatum</i>	MAFF306947	34.0 $\pm$ 0.0	29.0 $\pm$ 0.0	33.7 $\pm$ 0.3	30.0 $\pm$ 1.0

a) After cold storage, 6-mm-diameter mycelial disks were excised from the stored culture and placed on fresh PSA and incubated at 25°C in the dark. Colony diameter was measured after 4 days, subtracting 6 mm for original disk. $N=3$ plates per temperature.

Fig. 3. Mean frequency of re-isolation of *Glomerella cingulata* Nara-gc5 from detached, cold-stored strawberry petioles pre-inoculated with *G. cingulata* Nara-gc5. Petioles were dip-inoculated with conidial suspension (10^5 /ml) and kept at 25°C in humid conditions for 1 day before cold storage for 30, 60, 90, and 120 days. They were then transferred onto semiselective medium and incubated at 25°C in the dark. From 24 to 48 tissue sections were used for each isolation; vertical bars indicate 95% confidence interval.

Fig. 4. Mean frequency of re-isolation of *Glomerella cingulata* Nara-gc5 from cold-stored strawberry plants pre-inoculated with *G. cingulata* Nara-gc5. Plants were inoculated with conidial suspension (10^5 /ml) and kept at 25°C in humid conditions for 1 day before cold storage. At 28, 60, 90, 120, 150 and 180 days cold storage, excised leaf tissues were transferred onto semiselective medium and incubated at 25°C in the dark; $N=4$ sections/outer leaf blade $\times$ 2 leaf blade/plant $\times$ 5 plants = 40 sections at 28, 60, 90 and 120 days; or 4 sections/outer leaf blade $\times$ 4 leaf blades/plant $\times$ 8 plants = 128 sections at 150 and 180 days. Vertical bars indicate 95% confidence intervals.

(*C. gloeosporioides*) はその主要な病原である。葉枯れ炭疽病の病原である *C. acutatum* は、最近萎凋枯死を引き起こすことが報告されたが、その頻度は低い (三澤ら, 2010)。また、*C. fragariae* は、*C. gloeosporioides* との異同に関して議論があるため、本研究では完全世代が明らかな *C. gloeosporioides* を対象に試験を行った。

潜在感染株における菌の越冬について、イチゴ炭疽病菌の *C. fragariae* は外見上健全なイチゴの株で越冬し、クラウンで長期間生存する (Horn and Carver, 1968)。 *C. gloeosporioides*

Table 3. Frequency of re-isolation of *Glomerella cingulata* Nara-gc5 after long-term cold storage on pre-inoculated strawberry plants^{a)}

Cold duration (days)	Temperature (°C)	Mean frequency of isolation (%)		
		Petiole	Base of petiole	Crown
150	-2	0	0	0
	5	89.1 $\pm$ 7.6	75.0 $\pm$ 15.0	53.1 $\pm$ 12.2
180	-2	0	0	0
	5	50.0 $\pm$ 12.3	53.1 $\pm$ 17.3	46.2 $\pm$ 12.2

a) After cold storage, excised petioles, base of petioles and crown tissues from infected plants were placed on semiselective medium and incubated at 25°C in the dark. After 5 days, mycelial emergence of *G. cingulata* Nara-gc5 was checked. $N=64$ sections each from petiole and from crown of 8 plants, and 32 sections from base of petioles from eight plants were used for each isolation. Data are means $\pm$ 95% confidence interval.

は、発病ほ場から採取した潜在感染苗が翌年の伝染源になり、6月以降に高率に発病する (Okayama, 1993)。潜在感染株では株の外側の古い葉や葉柄、葉柄基部の感染頻度が高いことが明らかにされている (築尾, 1994; 岡山ら, 2007)。しかし、潜在感染株内での炭疽病菌の動態や衰退に関する研究報告はない。そこで、筆者らは、潜在感染株における菌の動態を追跡する過程で、越冬後に感染頻度が著しく低下し、しかも露地に置いた感染株がビニルハウス内に置いた株よりも越冬後の感染頻度が低下することを発見した。

次に越冬後に感染頻度が低下した原因を知るため、炭疽病菌の培養菌そうを冷蔵して生育に及ぼす影響を調査した。その結果、-2°Cの冷蔵が菌糸の生育を抑制することが明らかになった。この現象は、イチゴ炭疽病菌のうち *C. gloeosporioides* にのみ認められ、*C. acutatum* の生育には影響がなかった。イチゴ炭疽病菌の生育についてこれまで生育温度や発病適温が明らかにされ、低温 (4–10°C) では感染株のクラウンで菌が長期間生存することが知られている (Horn and Carver, 1968; Smith, 1998)。しかし、菌の生育に及ぼす冷蔵の影響は報告がなく、-2°Cの冷蔵でイチゴ炭疽病菌 *C. gloeosporioides* が生育しなくなり、死滅することが本研究によって初めて明らかになった。

人工接種葉柄を用いて冷蔵処理が菌の生育に及ぼす影響を調査した結果、炭疽病菌の分離頻度は-2°C冷蔵によって低下し、90日後以降に著しく低下した。-2°C冷蔵による分離頻度の低下は、感染株を用いても同様の結果を示し、180日後には葉、葉柄、葉柄基部およびクラウンから菌が全く分離されなかった。以上のことから、-2°Cの長期間冷蔵処理はイチゴ炭疽病感染株の感染頻度の低下に有効であること

が明らかになった。今後は、この方法をイチゴ苗に適用することによって炭疽病潜在感染株のフリー化が可能になると考えられる。

イチゴ苗の株冷蔵はイチゴ果実の周年収穫を目指して開発され、実用化された技術である。冷蔵は2月上旬から始まり、2月に掘り上げた株は -2°C で8ヶ月間貯蔵してもその後全く正常に生育することが報告されている(青柳ら, 1981)。最近の主要品種は休眠が浅いものが多く、夜冷育苗や株の部分冷却で早期収穫が可能になり、冷蔵技術は使われなくなった。しかし、今回の研究によって長期冷蔵による炭疽病菌の感染頻度の低下が明らかになり、冷蔵技術の再評価につながるものと期待される。

摘 要

Glomerella cingulata (*Colletotrichum gloeosporioides*) によるイチゴ炭疽病は、全国的に被害が拡大している。本菌は、潜在感染株で越冬し、翌年の育苗圃の伝染源となる。本研究では12月、2月および4月に炭疽病菌の動態を追跡し、本菌の生育に対する低温条件および感染株に対する長期冷蔵の影響を調査した。イチゴ潜在感染株から分離される炭疽病菌の頻度は、越冬後に著しく低下し、露地に置いた潜在感染株の方がビニルハウス内で維持した株よりも分離頻度が低下した。この原因を探るために、本菌に対する低温の影響を調査したところ、培養菌そうは、 -2°C 、21日間の冷蔵により生育せず死滅した。 -2°C で冷蔵した人工接種葉柄は、90日間以上の冷蔵により菌の分離頻度が顕著に低下した。 -2°C で冷蔵した人工接種株は、90日間の冷蔵によって菌の分離頻度が低下し、180日間の冷蔵処理後の株では、葉だけでなく、葉柄、葉柄基部、クラウンなど株全体から炭疽病菌が全く検出されなかった。以上のことから、イチゴ炭疽病感染株は -2°C の長期冷蔵によって感染頻度が有意に低下することが明らかになり、本技術による炭疽病潜在感染株フリー化の可能性が示唆された。

引 用 文 献

青柳光昭・牧野 朗・伊藤裕朗・岩本重治 (1981). イチゴの抑制栽培における苗株冷蔵法 温度管理および苗株の調整について. 愛知農総試研報 13: 174-182.
 築尾嘉章・小林紀彦・松尾和敏 (1992). イチゴ葉枯炭そ病 (新称) 菌の分類学的検討. 日植病報 58: 544. (講要)
 築尾嘉章 (1994). *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭そ病の伝搬方法. 九病虫会報 40: 47-50.

平山喜彦・鈴木 健・伊東靖之・岡山健夫・西崎仁博・松谷幸子 (2008). 病原菌特異的プライマーを用いた PCR による潜在感染株からのイチゴ炭疽病菌の検出. 日植病報 74: 198. (講要)
 広田恵介・中野理子・米本謙吾 (2006). イチゴに潜む炭疽病の簡単な検定法. 農業および園芸 81: 1119-1123.
 Horn, N.I. and Carver, R.G. (1968). Overwintering of *Colletotrichum fragariae* in strawberry crowns. Phytopathology 58: 540-541.
 石川成寿・中山喜一・常見譲史・中澤靖彦 (1992). 栃木県で発生した *Colletotrichum acutatum* Simmonds によるイチゴ炭そ病. 関東病虫研報 39: 129-133.
 Ishikawa, S. (2003). Method to diagnose latent infection by *Glomerella cingulata* in strawberry plants using ethanol. J. Gen. Plant Pathol. 69: 372-377.
 松尾和敏・太田孝彦 (1992). イチゴ葉枯炭そ病の発生. 日植病報 58: 544. (講要)
 Mills, P.R., Sreenivasaprasad, S. and Brown, A.E. (1992). Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates using PCR. FEMS Microbiol Lett 98: 137-143.
 三澤知央・栢森美如・堀田治邦 (2010). *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds による萎凋性のイチゴ炭疽病の発生. 日植病報 76: 92-96.
 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.
 Okayama, K. (1993). Effect of rain shelter and capillary watering on disease development of symptomless strawberry plants infected with *Colletotrichum gloeosporioides*. Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 59: 514-519.
 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.
 岡山健夫・平山喜彦・西崎仁博 (2007). 選択培地によるベノミル耐性イチゴ炭疽病菌 *Glomerella cingulata* の潜在感染株及び育苗培養土からの検出. 日植病報 73: 155-161.
 Smith, B.J. (1998). Anthracnose crown rot. Compendium of Strawberry Diseases, 2nd ed. (Maas J.L., ed.). pp. 46-48, APS Press, St. Paul, MN.
 鈴木 健・田中千華・伊東靖之・植松清次・石井英夫・平山喜彦・岡山健夫 (2008). イチゴから分離された *Colletotrichum gloeosporioides* の遺伝子多型と病原性. 日植病報 73: 215. (講要)
 Suzuki, T., Tanaka-Miwa, C., Ebihara, Y., Ito, Y. and Uematsu, S. (2010). Genetic polymorphism and virulence of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne). J. Gen. Plant. Pathol. 76: 247-253.
 鈴木 健・吉田奈々子 (2012). PCR 法を用いたイチゴ病害潜在感染苗検査法の開発. 植物防疫 66: 550-554.
 植松清次・海老原克介・鈴木 健・宮原秀一・小林敏満・野宮左近・川村栄一・河名利幸 (2002). 北海道の田畑輪換圃場を利用したイチゴリレー苗生産における *Colletotrichum gloeosporioides* の潜在感染とその病原性. 日植病報 68: 201-202. (講要)
 山本 勉 (1971). イチゴの新病害「炭そ病」. 植物防疫 25: 61-64.