

第2 複葉展開期の挿し苗採苗によるイチゴ萎黄病の苗伝染防止効果

森 充隆・十河和博・竹原利明*・萩原 廣**・鐘江保忠
(香川県農業試験場・*農業研究センター・**野菜・茶業試験場)

Prevention of Runner Transmission of Strawberry Fusarium Wilt Fungus
by Cutting Daughter Plants as Propagule at their Second Leaf Stage.

By Mitsutaka MORI, Kazuhiro SOGOU, Toshiaki TAKEHARA*, Hiroshi HAGIWARA**
and Yasutada KANEGAE

(Kagawa Prefectural Agricultural Experiment Station, Busshozan, Takamatsu, Kagawa
761-8078; *National Agriculture Research Center, **National Research Institute of
Vegetables, Ornamental Plants and Tea)

Recently, Fusarium wilt of seedlings that is transitted through runner caused severe damages to strawberry production in Kagawa Prefecture, Japan. The behavior of the pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* in the strawberry runner was investigated, using the *nit* mutant isolate of the pathogen and its selective isolation medium, CGMBP medium. The nursery plant propagation methods were compared for escaping effect from runner transmission of the disease. As a result, the pathogen could not reach the daughter plants on the runner within their second leaf stage period. When daughter plants with the runner tips were collected at their second leaf stage, they were prevented from the runner transmission of the pathogen.

緒 言

イチゴ萎黄病は *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* による病害で (岡本ら, 1970), 香川県のイチゴ生産地における重要病害である。本病の伝染は, 土壌伝染とランナーを介した苗伝染 (加藤・広田, 1972) が明らかにされている。平成6年度の香川県下主要生産地での本病の発生状況調査によると, 育苗期において既に, 78圃場中58圃場で発生が認められている。本県の現行の採苗方法は, 「苗受け採苗法」が主体である。この方法では, 地床またはプランターに定植した親株から発生するランナーの先端子苗を消毒土を詰めたポリエチレンポットに受け, 子苗が活着するまでランナーで親株とつないだままで育成される。そのため, 子苗が汚染土壌から直接感染する機会はない。そこで, 育苗期における発病は, 主に感染親株から子苗へのランナーを介した伝染によると推定された。

ランナー伝染防止対策の基本は無病親株の利用であるが, 外見上健全な無病微感染株 (牧野ら, 1982) と健全株とは識別できないので, 本病汚染地帯における無病親株の確保は実際には難しい。ランナー伝染は, ランナー先端子苗がある程度生育した後に起こり (岡本, 1984), また, ランナー内での本病菌の移行速度は速くない (加藤ら, 1971) とされている。このことは, ランナーの切り離し時期が早ければ, 未感染の子苗を採苗できる可能性を示唆している。

そこで, 筆者らは, 親株から発生するランナー先端子苗における感染と子苗の生育ステージとの関係について, 本病菌の *nit* 変異菌株 (Puhalla, 1985) を用いて検討した。さらに, イチゴの省力化育苗技術である「挿し苗採苗法」による本病のランナー伝染回避効果について検討し, 本法の有効性を確認したので報告する。

材料及び方法

直径90mmポリエチレンポットで無病土を用いて育成したイチゴ（品種‘女峰’）を、本病菌*nit*変異菌株の汚染土壌を充填した直径150mmポリエチレンポットに移植してガラス室内で栽培した。その後イチゴ植物体の各部から選択分離培地を用いて病原菌を検出し、ランナー内における病原菌の到達程度を調べた。供試菌株は香川県木田郡三木町で採集した罹病株から分離し、Puhalla(1985)により作出した*nit*変異菌株のMi13S3-2 (*nit* 1)を用い、土壌フスマ培地で培養したものを、オートクレーブ滅菌した園芸培土（呉羽社製）1ℓ当たり3g混和して汚染土壌を作成した。なお、灌水等による汚染土の飛散を防止するため、イチゴを移植した後に、汚染土の表面を5cmの厚さとなるよう滅菌土で覆った。

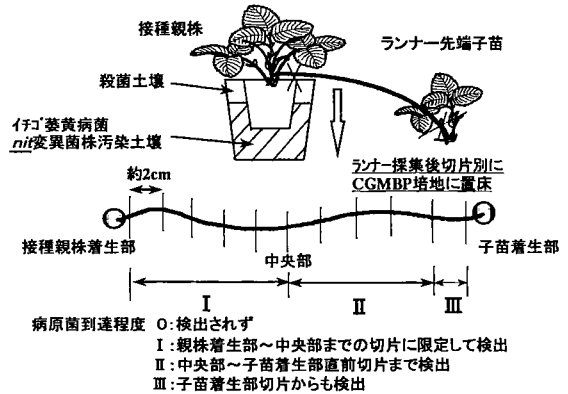
イチゴ植物体からの病原菌検出では、根、クラウン、葉柄、ランナーの各部位に分解した。根は太さ約1mmで長さ5cmの両端を、葉柄は基部を、ランナーは接種親株着生部と子苗着生部の両端の切断部を、加熱溶解した固形パラフィンで封入し、70%エタノール中で30秒間、続いて1%次亜塩素酸ナトリウム中で3分間浸漬した後にパラフィン封入部を除去して、ランナーは接種親株着生部から順に長さ約2cmの切片を作成し、順番に培地に置床した。接種親床のクラウン部からは直接導管部を切り出して培地に置床した。培地は*nit*変異菌の選択培地であるCGMBP培地(竹原ら, 1995)を用い、25℃、7日間培養後に各切片からの菌さうの発生の有無を調査した。

ランナー内の病原菌の到達程度は、次の0～Ⅲの4段階に区分した(第1図)。0：いずれの切片からも菌さう発生がみられない、Ⅰ：菌さう発生切片が接種親株着生部切片から中央部切片までに限定、Ⅱ：菌さう発生切片が中央部切片から子苗着生部直前切片までに及ぶ、Ⅲ：子苗着生部切片からも菌さうが発生する。

接種親株の発病は、発病程度0：無発病、1：奇形葉の発生、2：下葉の萎凋または枯死、3：枯死の4段階に分けて調べた。

接種親株およびランナー内の病原菌の存在部位の経時変化

親株イチゴの汚染土壌への移植は1月17日に行



第1図 イチゴのランナー内における萎黄病菌到達程度の調査方法

い、27℃の恒温ガラス室内で栽培し、検出のための分離は移植7、23、30および41日後に行った。各検出に6～10株を用いた。

ランナー内における病原菌の到達程度は、イチゴ植物体を分解したランナーからの分離調査時に加え、移植30、36および41日後に、ランナー先端子苗の生育ステージが第2または第3複葉展開期に達したものを採集して調べた。なお、移植41日後については、根からは検出を行わなかった。

採苗法の違いが本病の子苗伝染に及ぼす影響

イチゴの汚染土壌への移植は7月19日に行い、無加温のガラス温室内で栽培し、移植17、22、27および33日後の4回、「挿し苗採苗法」または「苗受け採苗法」により採苗を行った。「挿し苗採苗法」では、所定期日においてランナー先端子苗が第2複葉展開期(写真1)に達していた場合に、子苗をランナーから切り離して挿し苗を行い、発根に要する挿し苗後17～18日間はミスト室で管理した。「苗受け採苗法」では、親株から発生したランナー先端子苗が第2複葉展開期に達したものをポリエチレンポットに受け、採苗17～18日後にランナーを切断した場合(短期苗受け採苗区)と30～46日後に切断した場合(長期苗受け採苗区)とを設けた。なお、採苗は、オートクレーブ滅菌した園芸培土を充填した径90mmポリエチレンポットで行い、灌水による病原菌の飛散を防ぐため、接種親株および採苗した子苗は金網架台上に

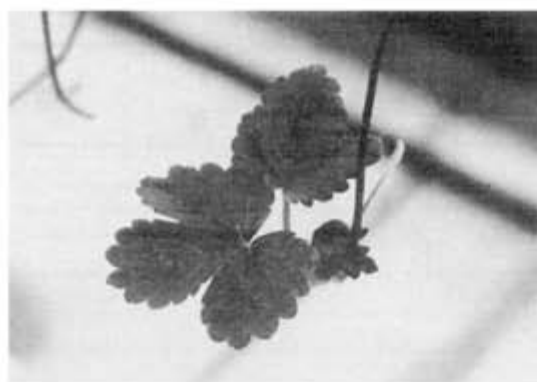


写真1 ランナー先端部の第2複葉展開期のイチゴ子苗

置き、点滴灌水法で管理した。

採苗子苗の発病は、9月20日に発病の有無を調査した。

ランナー内における病原菌の到達程度は、両採苗法ともに接種親株からランナーを切り離れた時点で採集して調べた。

結 果

接種親株およびランナー内の病原菌の存在部位の

経時変化

萎黄病菌汚染土に移植したイチゴ植物体各部位から経時的に行った病原菌の検出結果を第1表に示した。移植7日後には病原菌はどの部位からも検出されなかった。移植19日後に奇形葉が初めて観察され、その直後の移植23日後には、供試10株の半数以上の株の根およびクラウン部から病原菌が検出され、1株の葉柄基部からも検出されたが、ランナーからは検出されなかった。移植30日後には、供試6株中5株の根とクラウンから検出されたが、葉柄またはランナーでは各1株のみから検出された。移植41日後には、供試8株全てのクラウン部、1株を除く葉柄基部から検出され、ランナーでは2株から検出された。ランナー内の検出部位は、移植30日、41日後ともに接種親株着生部に近い切片のみからで、いずれも到達程度はIであった。なお、植物体各部位からの検出に供試した株のランナーの生育ステージはすべて第2複葉展開期には達していなかった。

ランナー先端子苗の生育ステージが第2または第3複葉展開期に達した時点で採集したランナー内の病原菌の到達程度を第2表に示した。移植後

第1表 萎黄病汚染土に移植したイチゴ親株の発病程度および植物体内における病原菌の存在部位の経時変化

| 接種親株 発病程度 | 移植7日後 | | | | 移植23日後 | | | | | |
|---------------|----------------------------|---|-------------------------------|--|---|--|---|--|--|--|
| | 部位別検出状況 | | | | 接種親株 発病程度 | 部位別検出状況 | | | | |
| | 根 | クラウン | 葉柄 | ランナー | | 根 | クラウン | 葉柄 | ランナー | |
| 供試株毎の 検出結果 | 0 0 0 0 0 0 | 0/16 0/15 0/17 0/12 0/16 0/12 | - a) - - - - - | 0/4 0/3 0/4 0/5 0/5 0/4 | N. T. b) - - N. T. N. T. N. T. | 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 | 0/20 0/17 0/26 0/28 1/22 5/24 2/21 13/25 2/20 1/25 | + - - - + + - - + - | 0/3 1/5 0/4 0/4 0/5 0/5 0/5 0/5 0/4 0/4 | - - - - - - N. T. N. T. N. T. - |
| 分離株率(%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 70.0 | 50.0 | 10.0 | | | |
| 接種親株 発病程度 | 移植30日後 | | | | 移植41日後 | | | | | |
| | 部位別検出状況 | | | | 接種親株 発病程度 | 部位別検出状況 | | | | |
| | 根 | クラウン | 葉柄 | ランナー | | 根 | クラウン | 葉柄 | ランナー | |
| 供試株毎の 検出結果 | 0 0 0 1 1 0 | 1/15 0/17 11/21 5/14 9/18 7/19 | + - + + + + | 0/3 1/5 0/4 0/4 0/5 0/5 | + I c) - - - - - | 0 1 1 1 1 2 2 1 | N. T. N. T. N. T. N. T. N. T. N. T. N. T. N. T. | + + + + + + + + | 3/8 3/4 1/5 4/4 0/5 1/3 N. T. N. T. | + I - - - N. T. + I N. T. N. T. |
| 分離株率(%) | 83.3 | 83.3 | 16.7 | 16.7 | | 100 | 83.3 | 40.0 | | |

a) : 病原菌の検出なし

b) : 調査なし

c) : 接種菌の検出の有無 (+または-) と到達程度

第2表 ランナー先端部子苗が第2～3複葉展開期に達したイチゴ萎黄病接種親株の発病株率および採集されたランナーにおける病原菌到達程度

| 親株接種後日数 | 接種親株 発病株率 (%) | 供試 子苗 株数 | ランナー内における病原菌 到達程度別*ランナー数 | | | |
|-----------|---------------------|----------------|-----------------------------|----|----|-----|
| | | | 0 | I | II | III |
| 30日 | 30.7 | 13 | 10 | 3 | 0 | 0 |
| 36日 | 72.2 | 18 | 10 | 5 | 3 | 0 |
| 41日 | 100 | 44 | 20 | 21 | 2 | 1 |
| 無接種(41日後) | 0 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 |

- * 0：検出されず
 I：親株着生部～中央部までの切片に限定して検出
 II：中央部～子苗着生部直前切片まで検出
 III：子苗着生部切片からも検出

の経過日数が増すに従って、接種親株の発病株率およびランナーからの検出率が高まった。ランナーにおける病原菌の検出は、接種親株着生部からランナー先端部に向かって連続しており(写真2)、ほとんどのランナーでは検出されないか

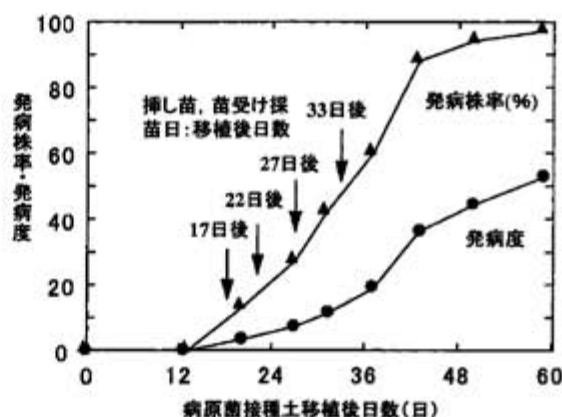


写真2 CGMBP培地によるランナー切片からのイチゴ萎黄病菌*nit*変異菌株の検出状況
 左上端切片：親株着生部切片から反時計回りに
 右上端切片：子苗着生部切片へ順に培地に置床

達程度Iに留まり、到達程度がII以上のものは供試44ランナー中3ランナーにすぎなかった。なお、ランナー先端部から病原菌が検出された(到達程度III)のは供試44ランナー中1ランナーのみで、そのランナー先端部子苗の生育ステージは第3複葉展開期に達していた。

採苗法の違いが本病の子苗伝染に及ぼす影響

接種親株における発病推移と採苗時期を第2図



第2図 イチゴの接種親株における発病推移ならびにランナー先端部第2複葉展開期挿し苗, 苗受け採苗日

に、各採苗法での子苗の発病状況およびランナー内における病原菌到達程度を、採苗時期別に第3, 4, 5, 6表に示した。接種親株の発病株率および発病度は移植後の日数が経過するに従って増加した。移植17日後の挿し苗採苗の子苗には発病が全く認められず、ランナー内の病原菌到達程度はI以下であった。これに対し、長期苗受け採苗区では、病原菌到達程度が全てIIIで、全子苗が発病した。短期苗受け採苗区では、病原菌到達程度は供試10ランナー中5ランナーでIIIとなり、子苗の発病株率は40%であった。移植22日後、移植27日後および移植33日後には、接種親株の発病度が高

第3表 挿し苗採苗法または苗受け採苗法におけるランナー切り離し時点でのランナー内の病原菌到達程度およびイチゴ子苗の萎黄病発病株率（親株移植17日後採苗）

| 採苗方法 | ランナー採集・分離日 (採苗後日数) | 供試子苗株数 | ランナー内における病原菌到達程度別*ランナー数 | | | | 子苗発病株率(%) |
|----------|-----------------------|--------|-------------------------|---|----|-----|-----------|
| | | | 0 | I | II | III | |
| 挿し苗採苗 | 8/5(採苗当日) | 21 | 20 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 短期苗受け採苗区 | 8/22(17日後) | 10 | 2 | 1 | 2 | 5 | 40.0 |
| 長期苗受け採苗区 | 9/20(46日後) | 17 | 0 | 0 | 0 | 17 | 100 |
| 無接種(全区計) | | 15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*：第2表脚注参照

第4表 挿し苗採苗法または苗受け採苗法におけるランナー切り離し時点でのランナー内の病原菌到達程度およびイチゴ子苗の萎黄病発病株率（親株移植22日後採苗）

| 採苗方法 | ランナー採集・分離日 (採苗後日数) | 供試子苗株数 | ランナー内における病原菌到達程度別*ランナー数 | | | | 子苗発病株率(%) |
|----------|-----------------------|--------|-------------------------|---|----|-----|-----------|
| | | | 0 | I | II | III | |
| 挿し苗採苗 | 8/10(採苗当日) | 12 | 10 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 短期苗受け採苗区 | 8/27(17日後) | 8 | 1 | 0 | 2 | 5 | 50.0 |
| 長期苗受け採苗区 | 9/20(41日後) | 10 | 0 | 0 | 1 | 9 | 90.0 |
| 無接種(全区計) | | 15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*：第2表脚注参照

第5表 挿し苗採苗法または苗受け採苗法におけるランナー切り離し時点でのランナー内の病原菌到達程度およびイチゴ子苗の萎黄病発病株率（親株移植27日後採苗）

| 採苗方法 | ランナー採集・分離日 (採苗後日数) | 供試子苗株数 | ランナー内における病原菌到達程度別*ランナー数 | | | | 子苗発病株率(%) |
|----------|-----------------------|--------|-------------------------|---|----|-----|-----------|
| | | | 0 | I | II | III | |
| 挿し苗採苗 | 8/15(採苗当日) | 16 | 9 | 6 | 1 | 0 | 0 |
| 短期苗受け採苗区 | 9/2(18日後) | 10 | 5 | 0 | 2 | 3 | 50.0 |
| 長期苗受け採苗区 | 9/20(36日後) | 10 | 1 | 0 | 3 | 6 | 80.0 |
| 無接種(全区計) | | 15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*：第2表脚注参照

第6表 挿し苗採苗法または苗受け採苗法におけるランナー切り離し時点でのランナー内の病原菌到達程度およびイチゴ子苗の萎黄病発病株率（親株移植33日後採苗）

| 採苗方法 | ランナー採集・分離日 (採苗後日数) | 供試子苗株数 | ランナー内における病原菌到達程度別*ランナー数 | | | | 子苗発病株率(%) |
|----------|-----------------------|--------|-------------------------|---|----|-----|-----------|
| | | | 0 | I | II | III | |
| 挿し苗採苗 | 8/21(採苗当日) | 6 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 長期苗受け採苗区 | 9/20(30日後) | 3 | 0 | 1 | 0 | 2 | 100 |
| 無接種(全区計) | | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*：第2表脚注参照

まり、挿し苗採苗区でのランナーからの病原菌検出頻度も高まったが、病原菌到達程度はⅡ以下に留まり、子苗の発病は全くみられなかった。これに対し、苗受け採苗法では移植17日後に採苗したものとはほぼ同様の傾向を示し、長期苗受け採苗区の病原菌到達程度はほとんどがⅢで大多数の子苗が発病し、短期苗受け採苗区での子苗の発病株率は長期苗受け採苗区の約半数となった。なお、接種親株からのランナー発生は、接種親株の発病株率が27%に達した移植27日後の採苗時から急激に減少し、移植33日後以降はほとんど認められなくなった。また、無病土に移植した親株では、4回の採苗時期を通じて、採苗法にかかわらず発病は認められず、ランナー発生数も減少しなかった。

考 察

イチゴの育苗法は、近年の技術革新により地床育苗からポット育苗への転換が進み、採苗法の技術開発も盛んに行われている。このような中において、萎黄病の伝染経路のうちランナー伝染の重要性が変化してきている。すなわち、ランナー内の病原菌の移行速度が遅いことから、ランナー伝染より土壌伝染が重要であるとした加藤・広田(1972)の結論は、子苗も親株と同一の土壌で育成する地床育苗における結論である。これに対して、現在、香川県下で定着している「苗受け採苗法」においては、子苗が汚染土壌に直に接しないことから、ランナー伝染が主体となっていることが予想されたが、本研究の結果はこれを裏付けるものである。

*nit*変異菌株を供試した本研究では、根から侵入した病原菌がクラウン部に至った後、子苗への病原菌の移行は早期には起こらないもののランナーを通じて先端の子苗に到達することが確認され、ランナー先端の子苗に病原菌が達するのは子苗の生育ステージが第2複葉展開期以降であった。これは、本病の病徴発現株から採集したランナーからの病原菌分離率がランナー基部で高く、先端部は低いことから、病原菌のランナー内での移行速度は遅いとする、加藤・広田(1972)の報告に一致する。本研究ではさらに、親株と子苗とがランナーでつながっている期間が長い場合に子苗の感染頻度が著しく高まった。このような過程により、苗受け採苗法においてランナー伝染がおきる

と考えられる。なお、親株の発病程度が高まるとランナー発生数が減少することから、親株のクラウン部が早期に病原菌に侵された場合にはランナーが発生しないか、または、第2複葉展開期に達する子苗は生育し得ないと考えられた。

ランナー内における病原菌の移行様式について、岡本(1984)は、病原菌がランナー全体にわたり連続して分離されないこと、およびランナー導管内部の観察結果から、ランナーの導管内を転流する小型分生子の役割が大きいことを示唆した。本試験におけるランナー切片からの検出結果では、ほとんどの場合に親株着生部から子苗先端に向かって連続的に検出された。このことから、病原菌の移行が小型分生子の転流によるとしても、短期間に親株からランナー先端子苗まで転流することは少なく、ほとんどの場合親株から子苗に向かって徐々に起こることが考えられた。

以上の結果から、苗受け採苗法でのランナー伝染が明らかになり、子苗が第2複葉展開期以降までランナーを切り離せないこの採苗法では、無病徴感染親株による苗汚染がおこる可能性が高いことが判った。この結果はまた、無病徴感染親株からの採苗であっても、子苗の生育段階が第2複葉展開期以前にランナーの切り離しを行えば、未感染の子苗を採苗できる可能性を示唆している。

最近、松崎(1997)によりイチゴの省力化育苗技術として開発された「挿し苗採苗法」の採苗適期はランナー先端子苗の発根、活着の面から第2～3複葉展開期であるとされる。そこで、本研究では第2複葉展開期の挿し苗採苗によりランナー伝染が防止できるか否かを検討した。その結果、親株が無病徴感染している場合でも、第2複葉展開期の挿し苗採苗によりランナー伝染を防ぐことが可能であった。また、慣行の苗受け採苗においても、活着後直ちに子株を親株から切り離すことで、萎黄病罹病親株からの伝染頻度を下げることができると考えられた。なお、本試験に供試した品種は「女峰」のみのため、他の品種での適用性については改めて検討する必要がある。

摘 要

イチゴ萎黄病の育苗期での発生が問題となり、ランナーを介した伝染を回避するための採苗方法について検討を行った。

1. *nit*変異菌株を用いて萎黄病菌の動態を調査した結果、イチゴの親株から出たランナー先端子苗への病原菌の伝染は、子苗の第2複葉展開期以降であることが示唆された。
2. ランナー先端子苗が挿し苗に適する第2複葉展開期に採苗する「挿し苗採苗法」により、子苗への萎黄病の伝染が完全に防止できた。
3. 慣行の苗受け採苗でも、活着後速やかに親株からランナーを切り離すことで、感染率を低下させることが可能であった。

引用文献

- 加藤喜重郎・広田耕作・中神喜郎・中込暉雄
(1971) : イチゴ萎黄病に関する研究 (第1報) 寄生性, 伝染方法および土壌消毒について. 愛知農総試研報B (園芸), 3 : 53-63.
- 加藤喜重郎・広田耕作 (1972) : イチゴ萎黄病に関する研究 第1報 寄生性および伝染法について. 関西病虫研報, 14 : 84-85.
- 牧野秋雄・中村秀雄・鈴木孝仁 (1982) : イチゴ萎黄病の発病経過と無病徴感染. 静岡農試研報, 27 : 41-47.
- 松崎朝浩 (1997) : イチゴの高設育苗における未発根ランナー子株利用による挿し苗育苗. 園芸学会中四国支部研究発表要旨, 36 : 37.
- 岡本康博 (1984) : イチゴ萎黄病に関する研究. 岡山農試臨時報, 73 : 1-92.
- 岡本康博・藤井新太郎・加藤喜重郎・芳岡昭夫
(1970) : イチゴの新病害「萎黄病」. 植物防疫, 24 : 231-235.
- Puhalla, J. E. (1985) : Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. Can. J. Bot., 63 : 179-183.
- 竹原利明・萩原 廣・國安克人 (1995) : *Fusarium oxysporum* の *nit* 変異菌株と野生菌株の土壌からの分別定量法. 日植病報, 61 : 606. (講要)