

[研究成果名]イチゴ健全種苗生産のための炭疽病検査プログラム

[要約]イチゴ苗増殖・供給体制の各増殖段階において、PCR法による炭疽病感染株の検出と排除を行うことで、生産者圃場における炭疽病の発生を抑制することができる。

[キーワード]イチゴ炭疽病、PCR法、苗増殖体制

[代表連絡先]電話 028-665-7149

[研究所名]栃木県農業試験場・研究開発部・病理昆虫研究室

[分類]普及成果情報

[背景・ねらい]

イチゴ炭疽病の第一次伝染源は潜在感染株であり、健全種苗の生産・供給が極めて重要である。本県苗生産においては、原々苗を対象にエタノール浸漬簡易診断法（SDEI）による検定を実施しているが、それ以降の苗増殖過程では、見取り調査により感染が疑われる苗を除去している。一方で、近年PCR法による潜在感染株の検出が可能となっている（平山ら、2008）。そこで、千葉県を中核とした「イチゴ健全種苗生産のための病害検査プログラムの構築」のプロジェクトに参加し、イチゴ苗生産体制における炭疽病検査プログラムの有効性を実証した。

[成果の内容・特徴]

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
イチゴ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、イチゴ炭疽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。
PCR法はSDEI（従来法）に比べ迅速性に優れ（表-1）、見取り調査に比べ検出率が高く、潜在感染株から本病菌を検出することが可能であった（表-2）。
2. 各苗生産段階での実用性の検討
生産ほ場における炭疽病の発生状況を育苗期の見取り及びPCR法により調査した。
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、調査株数は、各生産規模に合わせて全体の3～5%とした。なお、各調査において炭疽病菌が検出された苗は随時施設から排除した。
3. 実証
苗生産体制の各段階でPCR法による検出と排除を行うことで、生産ほ場での炭疽病発生が大きく減少することを確認した（表-2）。
4. 効率的な検定方法の検討
バルク法（10個の試料をまとめて1試料として検定）は、個別検定に比べて検出率がやや低かった（表-3）ものの、作業時間や費用の大幅な削減ができた（データ省略）。

[成果の活用面・留意点]

1. イチゴ苗生産供給体制に組み込むことで大きな効果を発揮する。
2. サーマルサイクラー等機器の整備が必要である。
3. 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、効率的な検定ができる。
4. バルク法では感染株が少ない場合には検出されない事があるため、状況に応じて検定数やバルクの規模等を調整する必要がある。

[具体的データ]

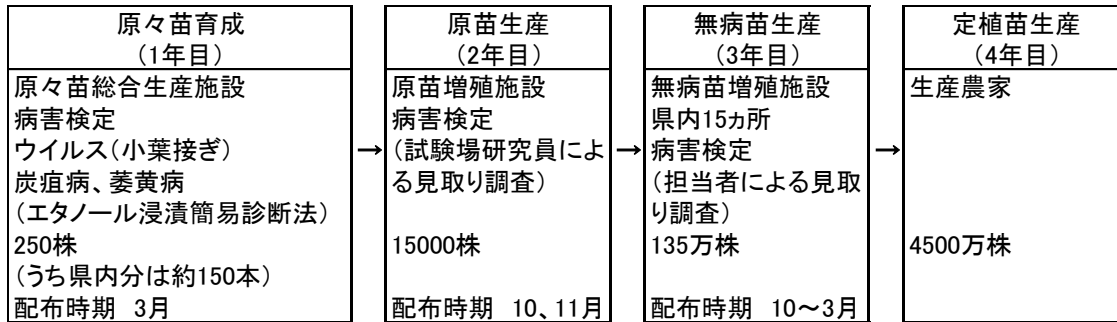


図-1 栃木県におけるイチゴ無病苗増殖・供給体制

表-1 SDEI及びPCR法の検定効率試算

検定方法 ²⁾	SDEI ³⁾	PCR法 ⁴⁾
検定時間	14.5日	7.8日
費用	20円/検体	370円/検体

- 1)250検体を検定した場合の試算。
- 2)SDEI、PCR法には同一試料を供試。
- 3)エタノール浸漬簡易検定法(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 検査プログラム導入前後のイチゴ炭疽病発生及び検出状況(%)

調査地点	導入前(平成21年) ¹⁾		導入後(平成23年) ²⁾	
	見取り調査	PCR法 ³⁾	見取り調査	PCR法 ³⁾
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) 育苗期は8月26日に300株を調査した。
- 2) 育苗期は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、陽性株は排除した。
- 3) イチゴ炭疽病菌検出プライマー(鈴木ら, 2008)を使用。

表-3 個別及びバルク法による炭疽病菌検出状況

生産者	ハウス	2月		4月		5月 発病株率
		個別	バルク法 ²⁾	個別	バルク法 ²⁾	
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。

[その他]

研究課題名： イチゴ健全種苗生産のための病害検査プログラムの構築
 予算区分： 実用技術開発事業(中核研究機関：千葉県農林総合研究センター)
 研究期間： 2009~2011年度
 研究担当者： 森島正二、和氣貴光、山城都、福田充、小林誠