

トマト種
根腐萎凋病抵抗性
特性調査マニュアル



(第4版)

令和7年3月13日 改正

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

種苗管理センター

トマト根腐萎凋病は、トマト根腐萎凋病菌（学名：*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*）が引き起こすトマトの土壌伝染性病害である。

本病は施設における促成・半促成栽培時に多発する。病原菌が根から侵入し、根部では細根基部に褐色斑点を生じ細根～維管束が褐変し、地際部の表皮組織が侵される。地上部では頂葉が日中のみ一時的に萎凋する。発病後期においては根部全体が褐変腐敗するが、茎部維管束の褐変は地際部に近い部位に留まる。地上部では慢性的な全身の萎凋症状を引き起こし下位葉～頂葉が黄化、枯死に至る。

1. 準備する器具及び試薬等

植物の育成： セルトレイ、ポリポット（径9cm）、培養土、農業用ビニールフィルム、ピンセット、自記温度記録計、イレクターベンチ、電照器具、園芸用ラベル

病原菌の培養： クリーンベンチ、インキュベーター、電子天秤、ガラス器具類、白金耳、コルクボーラー（径5mm）、滅菌シャーレ（径9cm）、シリコ栓、振とう器、2%ブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地（PDA培地）、2%ショ糖加用ジャガイモ煎汁液体培地（PS液体培地）、選択培地（Fo-G2培地等）又は2%素寒天培地

接種源の調製： 顕微鏡、血球計算盤、数取器、滅菌蒸留水、マイクロピペット、ピペットチップ、ガラス器具類、ガーゼ、遠心分離機

廃棄及び清掃： オートクレーブ、エタノール、次亜塩素酸塩（ナトリウム・カルシウム）、紙ワイパー

2. 供試病原菌株

トマト根腐萎凋病菌（学名：*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*）を供試する。

種苗管理センターでは「F212A」株（MAFF 番号：103048）を供試しているが、他の菌株を用いても良い。農研機構遺伝資源研究センター農業生物資源ジーンバンクから入手することができる。なお、調査を行う前に標準品種・基準品種等を用いて供試菌株の病原性を確認する。

3. 供試品種等及び供試個体数

(1) 供試品種

標準品種： IRB301-30（抵抗性有）

基準品種： 強力米寿（抵抗性無）

桃太郎ファイト、桃太郎ヨーク（抵抗性有）

(2) 最低供試個体数

接種区： 20 個体、無接種区： 5 個体

(3) 反復

なし

4. 調査方法



図 1. 接種試験の流れ

(1) 接種源の調製

供試菌株を PDA 培地で 25°C、約 7~10 日間培養する。菌そうの外縁部から菌そう片（直径 5mm 程度の大きさ）を切り出し、PS 培地で 25°C、約 7~10 日間振とう培養（110rpm 程度）する。菌そう片は PS 培地 100mL あたり 3 個以上とする。

培養液を二~三重のガーゼ等でろ過し、菌糸片を除いたものを原液とする。血球計算盤を用いた顕微鏡観察により原液 1mL 中の分生子密度を算出し、分生子密度が $1.0 \times 10^7 \sim 10^8$ 個/mL となるように滅菌蒸留水で調製したものを接種源とする。接種源は苗 1 個体当たり 5mL を目安に準備する。

なお、分生子密度が 1.0×10^7 個/mL 未満の場合、原液を 2000×g で 5 分間遠心分離後に上澄みを廃棄し、沈殿した分生子の密度が $1.0 \times 10^7 \sim 10^8$ 個/mL となるよう調製する。

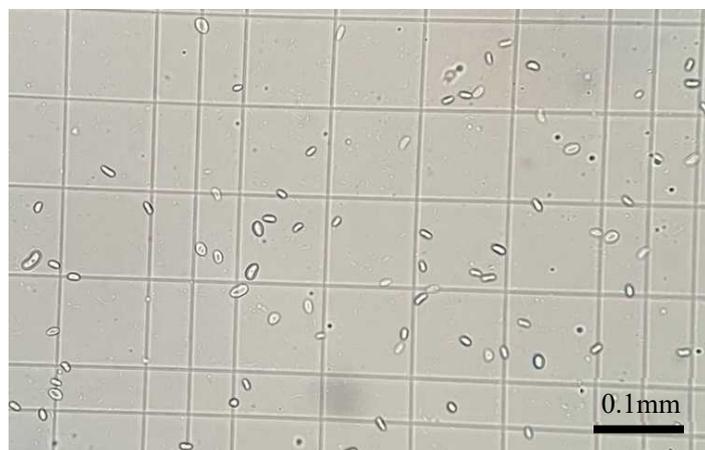


図 2. 血球計算盤上の分生子

(2) 供試品種の準備

培養土を敷き詰めたセルトレイに種子（又は催芽種子）を 1 穴あたり 1 粒ずつまき、軽く覆土する。本葉が 2~3 枚程度展開するまで育苗する。接種時の植え傷みを防ぐため、十分な根量が確保できるよう健全な育苗に努める。

培養土は病原菌に汚染されていない滅菌土あるいは市販の滅菌済培養土を使用する。

試験を実施する時期及び供試する培養土の種類等により、接種適期に至るまでの日数が前後することに留意する。

(3) 接種方法

本葉が2~3枚程度展開した供試植物の根を水洗し、根に付着した培養土を除く。分生子密度を $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 個/mL程度に調製した接種源に根を15分~一晩浸漬（浸根接種）した後、ポット等に定植する。無接種区については供試植物の根を水洗し、滅菌蒸留水に15分~一晩浸漬した後、ポット等に定植する。

なお、浸根接種時は苗1個体当たり5mLとなるよう接種源を確保できていれば、複数個体をまとめて接種を行うこともできる。

(4) 接種後の管理

室温を15~25°Cに調整したガラス温室内（自然光下または明期12時間の照明下）で管理する。27°Cを超過しないように室温を管理する。

(5) 調査

接種14~28日後に地上部の発病程度を調査する。無接種区と比較して個体ごとの生育程度、地際部の褐変腐敗の有無、本葉の萎凋・黄化等の症状を観察し、表1の通り発病評点を記録する。生育不良及び枯死の原因が根腐萎凋病の症状によるものであることが確認できない場合、調査個体から除外する。

表1. 発病評点

発病評点	発病程度
4	枯死
3	地際部の褐変腐敗に加え、重度生育不良及び中位葉~上位葉の萎凋・黄化が観察される。
2	地際部の褐変腐敗に加え、生育不良又は下位葉の萎凋・黄化が観察される。
1	地際部の褐変腐敗が観察されるが、生育不良及び葉の萎凋は観察されない。
0	健全

評点	草姿	地際部	発病程度
0			健全

評点	草姿	地際部	発病程度
1			地際部の褐変腐敗*が観察されるが、生育不良及び葉の萎凋は観察されない。
2			地際部の褐変腐敗に加え、生育不良又は下位葉の萎凋・黄化が観察される。
3			地際部の褐変腐敗に加え、重度生育不良及び上～中位葉の萎凋・黄化が観察される。
4			枯死

*地際部の褐変のみ観察されることがある。その場合は根部の腐敗の有無を確認し、腐敗が観察できなければ評点0、腐敗が観察できれば評点1とする。

図3. 評点別発病程度（例）

5. 評価方法

(1) 調査結果の整理

発病観察期間中の品種毎の発病個体数、及び個体毎の発病評点を用いて、以下の算出式により発病個体率*、発病指数**を算出し、調査結果を表2のようにとりまとめる。

$$* \text{ 発病個体率} = \frac{\text{発病個体数}}{\text{調査個体数}} \times 100$$

注) 発病個体数：供試個体の内、発病評点が1～4と判定された個体を合計した数。

$$** \text{ 発病指数} = \frac{\sum (\text{発病評点} \times \text{発病評点別の個体数})}{\text{調査個体数} \times 4} \times 100$$

表2. 調査結果

品種名	調査 個体数	発病評点別個体数					発病個体率 (%)	発病 指数
		0	1	2	3	4		
出願品種								
対照品種								
標準品種等								

(2) 特性評価

標準品種・基準品種の発病指数と比較して、抵抗性の有無を判定する。

なお、以下の手順で、抵抗性有品種の階級範囲の目安を算出することができる。

- ① 抵抗性無基準品種の発病指数と、抵抗性有標準品種・基準品種の発病指数の差を算出する。
- ② 発病指数の差/階級数が抵抗性有の階級幅として算出され、目安として利用できる。

抵抗性無基準品種において以下の結果となった場合は、試験成立の妥当性が疑われるため、再試験を検討する。

- ・抵抗性「無」基準品種の発病個体率が50.0%を下回った場合。

(3) 病原菌の確認

調査終了後、発病が確認された個体の罹病部位から小組織片（厚さ3～5mm程度）を切り出し、70%アルコールにて1分間表面殺菌後、選択培地（Fo-G2培地等）に置床する。25℃、明期12時間-暗期12時間の条件で10日間程度培養し、培地上で形成された菌糸を観察して*F. oxysporum*であることを確認する。もしくは表面殺菌を行った小組織片を素寒天培地上に置床し、25℃で7日間程度培養、培地上で形成された分生子等の形態を観察し、*F. oxysporum*であることを確認する。

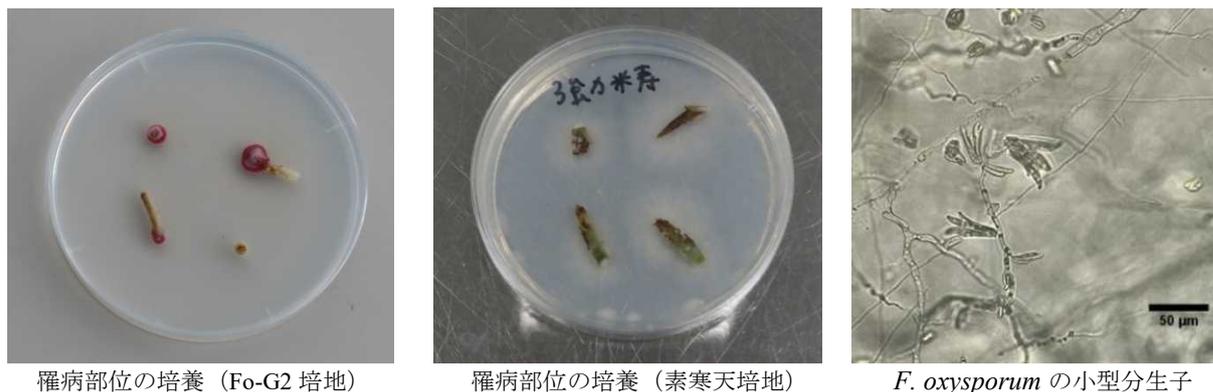


図 4. 病原菌の確認 (例)

6. 注意事項

病原菌を取り扱う際は、飛散防止に留意する。接種後及び調査終了後は、根腐萎凋病菌の付着した器具、植物体、使用済み培養土等はオートクレーブで滅菌処理する。調査に用いた施設、大型の器具やプラスチック製品等、オートクレーブ不可なものは次亜塩素酸ナトリウム等（有効塩素を 0.7%含有する溶液）に 3 分以上浸漬、もしくは 70%エタノール等の消毒剤を用いて殺菌処理を行う。

7. 参考文献

- 小倉・伴（1971）トマト萎ちょう病をおこす *Fusarium oxysporum* I. トマト根腐萎ちょう病の発生要因. 高知大学学術研究報告, 農学編 20, pp. 61-69.
- 山本ら（1974）トマトの根腐萎ちょうを起こすトマト萎ちょう病菌の新レース. 関西病虫害研究会報, 16 巻, pp. 17-29.
- 国安（1976）施設トマトの萎ちょう性病害の見分け方. 植物防疫, 第 30 巻, 第 2 号, pp. 59-63.
- 駒田ら（1989）トマト萎ちょう病（根腐萎ちょう）病原菌の分化型ならびに病名の改訂について. 植物防疫, 第 43 巻, 第 12 号, pp. 645-646.
- 国安（1990）トマト萎ちょう性病害（1）. 植物防疫, 第 44 巻, 第 1 号.
Fusarium oxysporum 及び硝酸塩代謝能欠損菌株の選択培地
https://www.naro.affrc.go.jp/org/karc/seika/kyushu_seika/2001/2001491.html
- 松尾（1969）フザリウム菌の見分け方. 植物防疫, 第 23 巻, 第 11 号, pp. 473-480.
- 松永（2015）果菜類における病害虫抵抗性育種の現状と展望. 植物防疫, 第 69 巻, 第 5 号 pp. 334-341.
- Alfonso López-Benítez ら（2018）Inoculation methods and conidial densities of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* in tomato. *Australian Journal of Crop Science*, 12(08), pp. 1322-1327.
- H.Benaouali ら（2014）Isolation, pathogenicity test and physicochemical studies of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*. *Advances in Environmental Biology*, 8(10) June, pp. 36-49.