

## シロクローバ菌核病抵抗性簡易検定法の開発

### (3) 模擬積雪下条件での周年簡易検定法の検討

松村 哲夫・中島 隆・米丸 淳一・樋口誠一郎

(東北農業試験場)

Simple Method for Testing the Resistance of White Clover Plant to *Sclerotinia trifoliorum* Eriks.

### (3) Inoculation in artificial condition

Tetsuo MATSUMURA, Takashi NAKAJIMA, Jun-ichi YONEMARU and Seiichirou HIGUCHI

(Tohoku National Agricultural Experiment Station)

#### 1 はじめに

シロクローバ (*Trifolium repens* L.) の主要な病害の一つであるシロクローバ菌核病は、糸状菌の一種 *Sclerotinia trifoliorum* Eriks. によって引き起こされ、主に冬季、特に積雪下で植物を枯死させ、大きな被害を与える。菌核病が草地でシロクローバの衰退・消滅の大きな原因になっているが、広大な草地では、薬剤等による防除は効果・費用の面から困難である。菌核病に対して抵抗性を有する品種を育成する必要があるが、効率的な検定法が確立されていないのが現状である。本試験では、抵抗性品種育成の基礎となる、簡易・迅速な抵抗性の検定法の確立を目指し、シロクローバの幼植物を用いた人工接種法を検討した。これまでの試験により、菌を接種したのち積雪下に埋設する方法での最適な接種期間と苗齢、及び供試する苗に対するハードニング（低温馴化処理）が抵抗性の発現に与える影響について明らかにした。

本報では、より簡易で周年的に実施可能な検定法を確立するため、雪を用いずにグロースキャビネット内に低温・高湿度の模擬積雪下条件を設定して接種を行う方法を検討した結果を報告する。

#### 2 試験方法

これまでの試験で、圃場での抵抗性と、雪の下に埋設する検定法での抵抗性が共に弱と判定された系統「東北20号」と、抵抗性強と判定された海外育成品種「ソーニア」を供試した。園芸培土（クレハ化学製）を詰めた育苗箱に3 cm × 3 cmの密度で播種し、20°C、12時間日長に設定したグロースキャビネット内で50日間育成した後、2°C、8時間日長の条件で20日間ハードニングを行った。ハードニングを終えた苗の10個体当たりの生体重量を測定し、70°Cで48時間乾燥した後乾物重量を測定し、乾物率を算出した。また、これらの苗をプログラム・フリーザーを用いて段階的に低温処理し、LT<sub>50</sub>値（半数致死温度）を検定した。菌核病菌の人工接種は、東北農試圃場で採集された菌核病菌をフスマとバーミキュライトを等量混合した培地で培養し、振りかける方法で行った。菌を接種した後、高湿度条件を保つ

表1 接種菌量、接種温度、接種期間の設定

	接種菌量	接種温度	接種期間
試験1	60mg/cm <sup>2</sup>	10°C	2,4,6,7,10日間
試験2	60mg/cm <sup>2</sup> , 30mg/cm <sup>2</sup>	0°C	1,2,4,8日間

表2 菌核病抵抗性検定に供試した苗の特徴

品種・系統名	菌核病抵抗性	生体重量 (g/10個体)	乾燥重量 (g/10個体)	乾物率 (%)	LT <sub>50</sub> (°C)
東北20号	弱	4.59	1.31	28.5	-13.9
ソーニア	強	4.97	1.60	32.2	-12.3

注. LT<sub>50</sub>: 半数致死温度

ため、蒸留水で湿らせた脱脂綿で覆い、さらにプラスチック製のバットをかぶせてビニールテープで密封した。設定温度に保ったグロースキャビネット内に収容し、設定した接種日数が経過したのち取り出し、病徴の進行を止めるため直ちに殺菌剤（トップジンM水和剤1000倍液）を散布し、最低温度20°Cの温室内で2週間育成した後、生存率を調査しLI<sub>50</sub>（半数致死日数）を算出した。

接種菌量、接種温度、取出日数は、表1のように設定した。

#### 3 試験結果及び考察

接種に用いた苗の特性を表2に示した。10個体当たりの生体重量、乾燥重量、及び乾物率はソーニアが東北20号よりも大きく、初期生育に優れていると考えられたが、LT<sub>50</sub>値は東北20号が低く、優れた耐凍性を示した。

接種温度を、菌の活性が比較的高くなる10°Cに設定し、接種菌量60mg/cm<sup>2</sup>で行った試験1の結果を表3に示した。全接種期間を通じてソーニアの生存率が東北20号を上回り、LI<sub>50</sub>はソーニアが3.55、東北20号が2.85となり、菌核病に対する抵抗性はソーニアが優位に優れていると判定された。この結果は、圃場での抵抗性、及び積雪下に埋設する検定法での結果と一致していた。しかし、接種温度10°Cの条件では、病徴の進行が予想以上に速く、LI<sub>50</sub>の差が小さかった。そこで、菌の活性を低下させるため、接種温度を積雪下の温度に近い0°Cに設定し、接種する菌量を2段階（60 mg/cm<sup>2</sup>, 30mg/cm<sup>2</sup>）設けて試験2を行った（表4、表5）。その結果、試験1同様、全接種期間を通じてソーニアの生

表3 各品種の菌核菌接種後の生存率とLI<sub>50</sub> (10℃, 接種菌量60mg/cm<sup>2</sup>)

品種名	接種後日数	個体生存率 (%)	LI <sub>50</sub> (日)
東北20号	2	62.9	2.85 (2.34~3.48)
	4	42.1	
	6	18.9	
	7	5.6	
	10	0.0	
ソーニア	2	73.0	3.55 (2.98~4.22)
	4	50.0	
	6	23.7	
	7	22.2	
	10	2.9	

注. LI<sub>50</sub>: 半数致死日数  
( ) 内の数値は95%の信頼限界

表4 各品種の菌核菌接種後の生存率とLI<sub>50</sub> (0℃, 接種菌量60mg/cm<sup>2</sup>)

品種名	接種後日数	個体生存率 (%)	LI <sub>50</sub> (日)
東北20号	1	62.9	2.29 (1.30~4.04)
	2	48.6	
	4	47.1	
	8	29.7	
ソーニア	1	92.3	6.18 (4.47~8.10)
	2	78.0	
	4	60.5	
	8	43.2	

注. LI<sub>50</sub>: 半数致死日数  
( ) 内の数値は95%の信頼限界

表5 各品種の菌核菌接種後の生存率とLI<sub>50</sub> (0℃, 接種菌量30mg/cm<sup>2</sup>)

品種名	接種後日数	個体生存率 (%)	LI <sub>50</sub> (日)
東北20号	1	92.3	3.38 (2.74~4.17)
	2	72.2	
	4	41.0	
	8	17.1	
ソーニア	1	91.7	6.96 (5.19~9.34)
	2	83.3	
	4	80.0	
	8	39.5	

注. LI<sub>50</sub>: 半数致死日数  
( ) 内の数値は95%の信頼限界

生存率が東北20号を上回り、接種菌量60mg/cm<sup>2</sup>の場合、LI<sub>50</sub>はそれぞれ6.18, 2.29となり、試験1の結果より品種間の差が顕著になった。接種量を30mg/cm<sup>2</sup>で行った場合のLI<sub>50</sub>はソーニアが6.96, 東北20号が3.38で、60mg/cm<sup>2</sup>の場合と比較してやや大きな値を示した。

以上の結果より、雪を用いずにグロースキャビネット内で温度・湿度を制御して接種を行う方法は、シロクロバの菌核病に対する抵抗性の検定に適用可能であることが明らかになった。その際、接種の条件は、接種温度0℃, 接種菌量60mg/cm<sup>2</sup>, または30mg/cm<sup>2</sup>程度が適当であると考えられた。

雪を用いない検定法における、苗の育成、菌の培養から接種検定までの手法の概略を図1に示した。

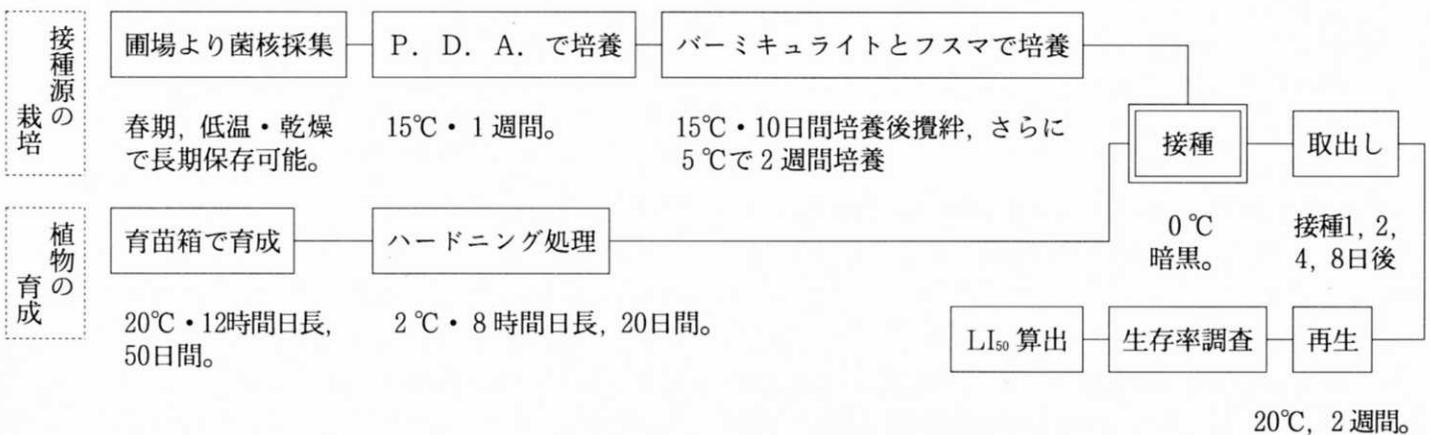


図1 雪を用いないシロクロバ菌核病抵抗性検定法

#### 4 まとめ

シロクロバのシロクロバ菌核病に対する抵抗性の検定をより簡易に、また周年的に実施するため、雪を用いずにグロースキャビネット内に低温・高湿度の模擬積雪下条

件を設定し、接種を行う方法を検討した。この方法で得られた結果は、圃場での抵抗性、及び積雪下に埋設する方法で得られた結果と一致する傾向を示し、シロクロバ菌核病の抵抗性検定に適用可能であることが明らかになった。