

簡易検定法によるカーネーションの萎凋病抵抗性判定

新井正善

(秋田県農林水産技術センター)

Simple Evaluation of Resistance to Fusarium Wilt of Carnation

Masayoshi ARAI

(Agricultural Experiment Station,

Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Research Center)

1 はじめに

カーネーションの萎凋病は、定植前の土壌消毒しか防除法がなく、最も重大な病気の一つである。近年発表されている新品種の一部は抵抗性を保持しているといわれているものの、多くが外国育成品種であり、少量多品種化が進んでいる現状では、日本に適する品種は決して多いとはいえない。日本のカーネーション生産農家では、施設内に複数品種を栽培しているのが現状であり、栽培中に防除が難しいことから、新品種育成及び新品種の産地への普及には抵抗性判別が不可欠である。しかし、従来行われていた断根切断法（従来法）では検定に2ヶ月以上かかる上、検定に際し発根苗を用意しなければならないこと、発病適温が23℃であるため、加温施設が必要であり、天候にも左右されるため、検定期限が限られるなど、問題も多い。2004年、愛知総合農試の大石らは、萎凋病と同じく深刻な土壌病である萎凋細菌病の抵抗性判定に、*in vitro* 挿し穂接種法という簡易な検定法（簡易検定法）が有効であることを報告した。この手法は、発根していない挿し穂を用いること、一定条件のインキュベータ内で試験を行うことから、安定した結果が得られ、判定も短期間でできるメリットがある。そこで、この簡易検定法が萎凋病に応用できるかを検討したので報告する。

2 試験方法

(1) 供試品種系統

市販品種のノラ、ツンドラ、フランセスコ、パーバラ、農業生物資源研究所ジーンバンクとの研究協定により譲渡された原種 *Dianthus henteri*、筆者育成品種のポーレッド及びユアレッド。

(2) 供試菌株

農業生物資源研究所ジーンバンクとの研究協定により譲渡された *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* の保存菌株103072, 103073, 103074。

(3) 菌株の増殖及び接種菌混濁液の作成

液体 Czapek-Dox 培地で振とう培養 (100 cycles/min)

して得られた培養物を網目75μmのステンレスふるいで濾した濾液を用いた。菌糸断片濃度はトーマ式血球計算板により算出し、蒸留水で10⁴個/mlに希釈した。この希釈液を接種菌液とした。

(4) 従来法による接種検定

パーライトを挿床として得られた発根苗の根部を1/2に切りつめ、根部を接種菌液に5分間浸漬した後、育苗培土（げんきくん1号）を入れた7.5cm黒ポリポットに移植した。対照には接種菌液の代わりに蒸留水を用いた。栽培は最低温度20℃のガラス温室で行った。2ヶ月後、枯死個体、萎凋個体をすべて発病個体として、発病率を算出した。試験は各区10個体、3反復で行った。

(5) 簡易検定法

大石らの手法に準じたが、萎凋病の発病適温が23℃であることから、本試験では試験温度を23℃とした（表1）。対照には接種菌液の代わりに蒸留水を用いた。10日後、枯死個体、萎凋個体、維管束褐変個体をすべて発病個体として発病率を算出した。試験は各区10個体、2反復で行った。

表1 試験方法の比較

	大石ら	本試験
対象病害	萎凋細菌病	萎凋病
病原	<i>Burkholderia caryophylli</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>Dianthi</i>
供試植物材料	温室栽培株から得た挿し穂	温室栽培株から得た挿し穂
接種菌液濃度 (/ml)	2.7 × 10 ³ ～ 2.7 × 10 ⁴	10 ⁴
浸漬時間 (分)	5	5
培地	滅菌蒸留水	滅菌蒸留水
試験条件	30℃, 16時間日長	23℃, 16時間日長
試験期間	10日	10日

3 試験結果及び考察

(1) 従来法による供試菌株の検討 (試験1)

従来法の結果、接種菌株により、発病率が異なった(表2)。罹病性であるとされているノラでは、いずれの菌株でも発病率が高かった。抵抗性とされているツンドラでは菌株103073で発病率が高く、103072及び103074で発病率が低かった。同じく抵抗性とされているバーバラでは、103072で発病率が低く、103073で発病率が高かった。103074ではやや発病率が高かった。弱い抵抗性であるとされるフランセスコでは、103072で43%の株が発病せず、他の菌株ですべて発病した。菌株103072を用いたときのみ、すべての品種でカタログに記載されている抵抗性と一致する発病率を示したことから、萎凋病抵抗性判定にはこの菌株103072が適していると判断し、以下の試験にはこの菌株を用いた。

萎凋病菌には多くのレースが存在し、品種により各レースへの抵抗性が異なることが知られている。このうち、日本で問題となっているのはレース2といわれており、カタログに記載されている抵抗性もこのレース2への抵抗性と考えられる。本試験で用いた菌株のうち103072はレース2であり、103073及び103074は他のレース、あるいは、継代培養中に突然変異を起こしたものであると推察されるが、いずれであるかは確認できなかった。

表2 断根切断法による接種菌株別の萎凋病発病率

系統	カタログ記載	接種菌株	発病率(%)
ノラ	罹病性	対照	0
		103072	95
		103073	100
		103074	82
ツンドラ	抵抗性	対照	0
		103072	14
		103073	89
		103074	0
フランセスコ	弱い抵抗性	対照	0
		103072	57
		103073	100
		103074	100
バーバラ	抵抗性	対照	0
		103072	0
		103073	83
		103074	56

(2) 検定法の比較 (試験2)

菌株103072を用いて行った簡易検定法の結果は、従来法と同様であり、ツンドラで発病率が低く、ノラで発病率が高かった(表3)。このことから、簡易検定法は萎凋病の抵抗性判定にも適用できることが示唆された。

(3) 簡易検定法による抵抗性判定 (試験3)

萎凋病への抵抗性が確認されていない、*D. henteri*、ポーレッド、ユアレッドについて、簡易検定法を用いて抵抗性判定を行った(表4)。その結果、*D. henteri*では発病率が低く、抵抗性であると判定された。一方、ポーレッド及びユアレッドは供試個体すべてが発病し、罹病性であると判定された。*D. henteri*は萎凋細菌病抵抗性の原種であり、萎凋病にも抵抗性ではないかと推測されていた。また、ポーレッド及びユアレッドはノラの培養変異選抜により育成したものであり、ノラと同様に罹病性であると推測されていた。本試験の結果は推測されてきた抵抗性と同様であり、従来法で行った結果(データ省略)とほぼ一致したことから、この簡易検定法は有効な萎凋病抵抗性判定法であると思われる。

表3 検定法による発病率の比較

系統	発病率(%)		
	従来法	簡易検定法	対照
ツンドラ	14	0	0
ノラ	95	90	0

接種菌株は103072。

表4 簡易検定法による抵抗性判定

系統	発病率(%)	判定
<i>D. henteri</i>	20	抵抗性
ポーレッド	100	罹病性
ユアレッド	100	罹病性

接種菌株は103072。

4 まとめ

以上の結果から、大石らのin vitro挿し穂接種法は萎凋病抵抗性判定にも適用できることが確かめられた。

なお、本研究で用いた*D. henteri*、*F. oxysporum* f. sp. *dianthi*の保存菌株103072、103073、103074はいずれも、独立行政法人農業生物資源研究所ジーンバンクとの研究協定により譲渡されたものである。

引用文献

- 1) 井智史, 萩原廣. 1999. 国内から分離されたカーネーション萎凋病菌のレースおよび体細胞和合性グループについて. 日本植物病理学会関西西部会講演要旨集. pp86.
- 2) 新井正善. 2000. 培養変異選抜により育成したカーネーション新品種「ポーレッド」の育成経過と生育特性. 東北農業研究, 53:241-242.
- 3) 新井正善. 2001. 培養変異選抜により育成したカーネーション新品種「ユアレッド」の育成経過と生育特性. 東北農業研究, 54:235-236.
- 4) 大石一史, 小川ちひろ, 成田玲子, 神戸三智男. 2004. カーネーション萎ちょう細菌病に対する抵抗性の簡易検定法. 園芸学会雑誌, 73別1:142.