

## 水耕装置を用いたトルコギキョウ立枯病 (*Fusarium solani*) 抵抗性簡易検定法 マニュアル



奥：*Eustoma exaltatum* 大川1号（無病徴）、手前：‘紫盃’（90%発病）

2021年（令和3年）1月

農研機構 野菜花き研究部門 編

## はじめに

トルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) は、我が国の主要な切り花品目の一つである。農林水産省の統計資料によると、2018年のトルコギキョウ切り花算出額は、キク(614億円)、ユリ(202億円)、バラ(164億円)に次ぐ第4位(121億円)、2019年のトルコギキョウ作付面積は424ha、出荷量は9,710万本であり、重要な花き品目となっている。他の主要品目の産出額が低下傾向の中、トルコギキョウは安定した需要が維持されている。

トルコギキョウは原産地の北アメリカから日本へ1930年代に導入され、それ以来、我が国の種苗会社や個人育種家が多く品種を開発してきた。1963年に最初の固定品種‘紫盃’が福花園種苗(株)から発売され、1981年には最初のF<sub>1</sub>品種の峰シリーズが(株)サカタのタネから発表された。2020年現在、我が国では8社もの種苗会社がトルコギキョウの品種改良を行っており、また、長野県、千葉県などの生産者や個人育種家による育種も活発に行われ、毎年多くの品種が作出されている。日本はトルコギキョウ育種をリードする世界的な育種中心地となっており、我が国で育種された品種が、オランダ、中国、ブラジル、ベトナム、台湾など世界各地で栽培されている。

近年、フザリウム属菌 (*Fusarium solani*, *F. oxysporum*) によるトルコギキョウ立枯病が全国の生産地で頻発している。静岡県の生産者団体の被害額を元に算出した国内被害規模は、8.5億円/年と推定される。地床栽培のトルコギキョウでは、いったん発生すると防除が極めて困難であるため、被害が急速に拡大する。本病害は、我が国だけでなく世界中の産地で発生し、問題となっている。

国内の生産現場では、土壌病害防除を目的に薬剤等による土壌消毒を行っているが、その効果は一定の効果があるものの完全ではなく、圃場回転率の低下や生産者への費用的、身体的負担も大きい。このような状況から化学防除に代わる病原菌の封じ込め対策が強く求められており、特に、フザリウム属菌に対する抵抗性品種の開発が強く望まれている。

トルコギキョウにおけるフザリウム属菌の発生生態については、十分な研究が行われていない。*F. solani* と *F. oxysporum* によって生じるトルコギキョウ立枯病は、日本植物病名目録(日本植物病理学会, 2020)において、2つの菌種とも同じ病名で区別がなく、栽培現場での品種抵抗性の強弱についてどの菌種に対

してなのか区別されていないなど、問題点が多い。

2つの菌種に対する抵抗性の品種間差を明らかにし、抵抗性育種を効率的に進めるには、それぞれの菌種に対する抵抗性を正確に判定できる評価系を確立すること、その評価系を用いて抵抗性遺伝資源を探索することが重要である。

そこで、生物系特定産業技術研究支援センター イノベーション創出強化研究推進事業（基礎研究ステージ）「トルコギキョウ立枯病害因子の探索と比較ゲノム解析を利用した抵抗性遺伝子座の同定」で、水耕装置を用いたトルコギキョウ立枯病（*F. solani*）抵抗性簡易検定法の開発に取り組み、多数の試験を繰り返し、接種方法、発病条件等を明らかにしてきた。

本マニュアルでは、開発した *F. solani* 抵抗性簡易検定法の実施方法について解説し、さらに、その検定法を用いて抵抗性素材を探索した結果について紹介する。本マニュアルが、トルコギキョウ立枯病の抵抗性育種研究に携わる、民間種苗会社、都道府県、大学等の育種研究者、植物病理研究者の皆様や、品種抵抗性の情報を求める都道府県の普及指導センター等の皆様のお役に立つことを願っている。

2021年（令和3年）1月

マニュアル編集担当 小野崎 隆

**水耕装置を用いたトルコギキョウ立枯病  
(*Fusarium solani*) 抵抗性簡易検定法マニュアル**

Manual of simple evaluating method for  
resistance to fusarium root rot (*Fusarium solani*)  
of lisianthus using hydroponic equipment

**目 次**

はじめに .....	1
免責事項および著作権等に関する事項 .....	4
1. 序論	
フザリウム属菌によるトルコギキョウ立枯病の発生病態 .....	5
2. マニュアル	
2-1. 本検定法の概要と特徴 .....	6
2-2. 検定材料の育苗と水耕装置への苗定植 .....	7
2-3. <i>Fusarium solani</i> の菌増殖法 .....	14
2-4. 接種液の作成法と菌濃度の調整法 .....	18
2-5. 針刺し付傷処理による菌の接種法 .....	22
2-6. 発病程度の調査と発病度, 発病株率の算出法 .....	25
3. 実施例	
トルコギキョウ品種・系統における <i>F. solani</i> 2 菌株に対する抵抗性程度の評価	
3-1. 接種条件の概要 .....	32
3-2. 接種条件の検討 .....	33
3-3. 抵抗性の品種・系統間差 .....	37
4. 参考文献 .....	46
5. 謝 辞 .....	48

## 免責事項および著作権等に関する事項

### 免責事項

- ・本マニュアルは発行時点での情報に基づいて作成しています。
- ・農研機構は、利用者が本マニュアルに掲載された情報をご利用になったことにより損害が生じて、一切の責任を負いません。
- ・本マニュアルに記載された実施例のデータは、農研機構（つくば）において行った試験のデータであって、地域、気候条件、その他の条件等により異なる場合があります。
- ・フザリウム菌の中には、ヒトに有害な毒素を産出するものや、ヒトに感染する事例が報告されているものがあります。本マニュアルで取り扱う *Fusarium solani* も、ヒトに全く害がないとは断定できないことから、作業の際には、必要に応じて植物病原菌の専門家の指導の下で作業をしていただくようお願いいたします。

### 著作権等に関する事項

- ・本マニュアルの記載内容は、「私的使用」または「引用」など著作権法上認められた場合を除き、無断での複製、転載、販売を禁じます。
- ・本マニュアルに掲載の表 3-2 は、園芸学会英文誌 *The Horticulture Journal* に掲載された、以下の原著論文のデータに、2019 秋、2020 春のデータを加えたものです。第 2 章マニュアルに掲載の写真 2-12、2-31、2-45（右）、第 3 章実施例に掲載の図 3-6、3-10 は、以下の原著論文から転載しており、園芸学会から転載許可を得ています。  
Onozaki, T., M. Satou, M. Azuma, M. Kawabe, K. Kawakatsu and N. Fukuta. 2020. Evaluation of 29 Lisianthus Cultivars (*Eustoma grandiflorum*) and One Inbred Line of *E. exaltatum* for Resistance to Two Isolates of *Fusarium solani* by Using Hydroponic Equipment. *The Horticulture Journal* 89: 473–480.
- ・本マニュアルに掲載された上記以外の図表は、すべて農研機構が著作権を保有しているか著作権が放棄されたものです。

# 1. 序論 フザリウム属菌によるトルコギキョウ立枯病の発生生態

トルコギキョウの重要病害の一つとして、トルコギキョウ立枯病がある。この病害に関しては、*Fusarium solani* と *F. oxysporum* が病原としての記載があり、土壌伝染性の病害である（作物のフザリウム病（1980）：471）。国内において2種の病原に関しては病徴が異なる傾向も報告されており（日植病報（2003）69:49）、今後のさらなる検討が必要である。また、国内のみならず国外でも *F. solani* によるトルコギキョウに対する被害は報告されており、報告によって病徴も異なる（Plant Dis. (2001) 85:443, Plant Dis. (2004) 88:573, J. Gen. Plant Pathol. (2011) 77:132-135, Can. J. Plant Pathol. (2018) 40:455-460）。そのため診断に関して注意を要する。

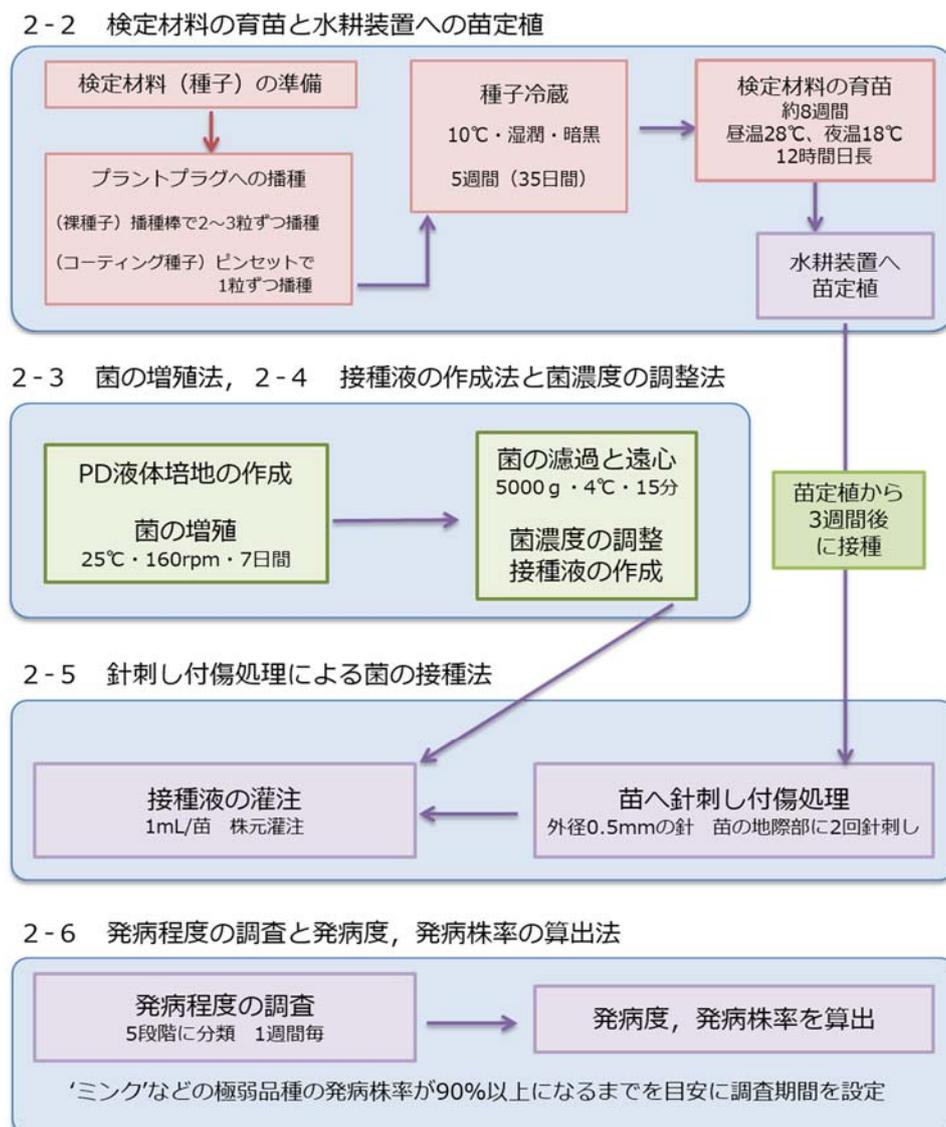
本マニュアルでは *F. solani* に関する技術の報告を行う。*F. solani* は一般的に広い宿主範囲を示し、多くの作物に立枯症状や腐敗症状を示す。*F. solani* の代表的な形態としては、大分生子と小分生子の形成、長い分生子柄上のモノ・フィアライドから擬頭状に形成される小型分生子、厚壁胞子の単生あるいは連鎖での形成などがあるが、現在も分類学的な見直しが進んでいる。*F. solani* 被害に対する効果的な防除方法としては土壌消毒などが知られているが、経営や栽培上行えないことも多く、抵抗性品種の作成が求められている。

## 2. マニュアル

### 2-1. 本検定法の概要と特徴

佐藤・福田（2016, 2019）は、トルコギキョウの水耕栽培の安定生産を目的に、小型水耕装置を用いた *Pythium* 属菌によるトルコギキョウ根腐病の農薬による防除法を検討した。これらの水耕装置による試験方法にヒントを得て、水耕装置を利用した *F. solani* 抵抗性簡易検定法を開発した。本検定法は、根部の温度条件を均一にして、省スペースかつ低コストで抵抗性検定を行うことが可能という特徴がある。以下に検定フロー図を示した。

#### 検定フロー図



## 2-2. 検定材料の育苗と水耕装置への苗定植

### 1) 播種

トルコギキョウは、10mL 当たりの種子数が 16 万～17 万粒（八代，1993）と種子が非常に微細であり、初期生育が緩慢であるため、育苗には 2 か月程度の期間が必要である。ロゼット化防止と抽だい促進のための吸水種子湿潤低温処理（以下、種子冷蔵と略す）を 5 週間行うので、定植の約 3 か月前に検定材料の播種を行う。

播種には、育苗用セル成型培養土プラントプラグ 200 穴（インチタイプ（542×278mm））、溝なし、（株）サカタのタネ）を用いる。プラントプラグは苗の土崩れがないため、水耕装置への苗定植や接種時の針刺しが容易にできる利点がある。

裸種子は、水に湿らせた播種棒（竹串、爪楊枝などの細い棒）の先に種子を 2～3 粒付着させてから、プラントプラグのセル表面に種子の付着した棒の先を軽くこすって播種する（写真 2-1）。市販のコーティング処理されている種子は、ピンセットで種子をつまみ取り、プラントプラグのセルに 1 粒ずつ播種する（写真 2-2）。



写真 2-1 裸種子の播種棒による播種



写真 2-2 コーティング種子のピンセットによる播種

播種後、噴霧機で十分にかん水する。コーティング種子の場合は噴霧機で十分にかん水後、コーティングが崩れていることを確認する。種苗メーカーによってはコ



ーティングが崩れにくい種子もあるので、崩れていない場合はピンセットの先でコーティングを崩す（写真2-3）。次の種子を崩す前にキムワイプ等でピンセットの先を拭き取る。

写真 2-3 噴霧機でかん水後、コーティングを崩した状態のプラントプラグ

## 2) 種子冷蔵

トルコギキョウは、育苗中の高温遭遇によるロゼット化の防止と抽だい率を向上するため、種子冷蔵を行う。種子冷蔵中に用土が乾燥すると発芽が不安定になるので、プラントプラグを入れたばんじゅうに約1Lの水道水を入れて（写真2-4）、底面給水した状態で厚手のビニールで包んで密閉する（写真2-5、2-6）。10℃の低温室に搬入し、10℃・湿潤・暗黒条件で、5週間（35日間）の種子冷蔵を行う。

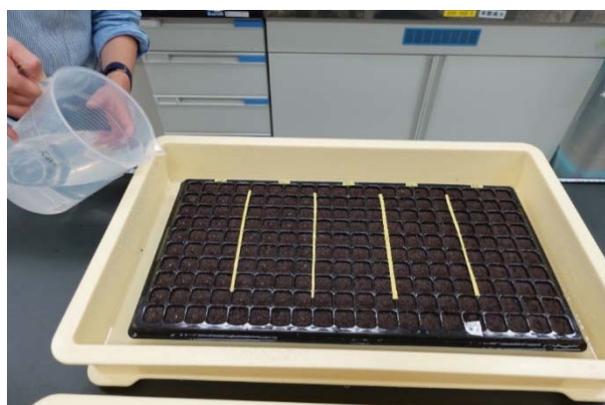


写真 2-4 プラントプラグを入れたばんじゅうに約1Lの水道水を注入



写真 2-5 厚手のビニールでプラントプラグを入れたばんじゅうを包む



写真 2-6 ビニール端をテープで止め、10°C  
の低温室に5週間入れる

### 3) 育苗と水耕装置への定植

種子冷蔵が終了後、昼温 28°C、夜温 18°C、光合成有効光量子束密度  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、12 時間日長のインキュベーター（日本医化器械 KCLP-1400 II）に移し、約 2 ヶ月間育苗する。裸種子のセルは、育苗開始 2~3 週間後に、ピンセットで 1 本/セルに間引く。育苗開始から約 8 週間後に、定植適期の本葉 3 対前後に展開したステージの苗が仕上がる（写真 2-8）。



写真 2-7 発芽直後のプラントプラグ



写真 2-8 育苗約 8 週間後 定植適  
期の本葉 3 対前後のステージの苗

育苗中に、チビクロバネキノコバエ (*Bradysia agrestis*) の幼虫が、プラントプラグに発生して根を食害されることがあるので、衛生管理に気をつける。大量発生した場合には、園芸用コバエ退治殺虫剤で防除を行う。

#### 4) 水耕装置、液肥の準備と根腐病防止のための薬剤添加



写真 2-9 循環ポンプとオートヒーターをセットし、液肥約 30L を注入したホームハイポニカ Sarah の液肥槽

抵抗性検定用の水耕装置として、ホームハイポニカ Sarah (協和(株)) を用いる。液肥槽に、液肥の水温を発病適温の 26°C 前後に自動調節するためのオートヒーター (プリセットオートヒーター, 100 W; (株) エヴァリス または テトラ 26°C ミニヒーター MHC-100; スペクトラム ブランズ ジャパン (株) など) を設置する。

水耕装置の取扱説明書に従い、循環ポンプ、オートヒーター等をセットし、液肥槽に液肥約 30L を注入する (写真 2-9)。

水耕栽培用の液肥は、ローリータンク (YB 型 200L ローリータンク, ダイライト (株) など) であらかじめ約 200L を作成する。ハイテンポ Ar 液 (住友化学 (株)) を 1,000 倍 (水道水 200L に対し 200mL)、ハイテンポ Cu 液 (同上) を 500 倍 (水道水 200L に対し 400mL) の濃度で 200L の水道水に添加して良く混合し、EC メーターで EC が約 1.5 dS/m になるように調整する。作成した液肥を、水耕装置の液肥槽に約 30L ずつ注入する。液肥注入終了後、栽培槽、葉菜用マルチなどの部品を組み立て、循環ポンプとオートヒーターの電源を入れて試運転を行

う。検定期間中の気温や栽培槽の液肥の水温は、温度記録計（Wireless Thermo Recorder RTR-502 おんどとり Jr.（株）ティアンドディ）などを用いて、定植から検定終了まで記録する。

なお、液肥槽には投げ込み式クーラー等の冷却装置は備えていないので、夏季の6～9月には、気温の上昇にしたがって水温が上昇する。この時期は、発病適温である26℃前後への水温の制御はできない。特に、7月下旬～8月中旬の盛夏には、装置上部を黒寒冷紗被覆しても液肥の水温が夜間を含めて常時30℃を越え（第3章-2 図3-2, 3-4 参照）、試験を実施しても病徴の進行が止まる。このため、夏季は本検定法による立枯病抵抗性評価には不適な時期である。

トルコギキョウの水耕栽培では、*Pythium* 属菌による根腐病の発生がしばしばみられ、株の萎凋・枯死などの被害を生じることがある（佐藤・福田，2016，2019）。本検定法で、*Pythium* 属菌による根腐病の発生が問題となる場合は、メタラキシールM剤をメタラキシールMの終濃度が0.002%となる濃度で、苗の定植前に水耕装置の液肥槽へ添加する。

## 5) 水耕装置への苗の定植

以上の手順でのセッティング終了後、プラントプラグ苗を水耕装置へ定植する。栽培槽の上部に設置する発泡スチロール製マルチには、22穴入りの葉菜用マルチを使用する。苗の根部が液肥に浸るように、栽培槽の水位調節管を調節する（発泡スチロールマルチの下端と液面が接する位の水位）。本葉が3対前後に展開したステージのプラグ苗をピンセットでプラグトレーから抜き、栽培槽へのプラグ

苗の落下防止のため、厚さ 1cm のウレタンロールを 1cm×8cm の大きさに切ったウレタン片をプラントプラグ苗に巻き付けて、葉菜用マルチの植え穴に定植する（写真 2-10）。その後 3 週間生育させた後に接種を行う。苗の供試数は、1 品種・系統当たり 10 株を標準とする。



写真 2-10 苗定植直後の水耕装置の様子

抵抗性程度が既知の標準品種を検定材料と同じ条件で育苗して、同時に供試することが望ましい。抵抗性の代表品種としては‘パピオンピンクフラッシュ’、‘アニーライトピンク’、感受性の代表品種としては‘ミンク’、‘渚 A’などがある（第 3 章-3 参照）。対照区（無接種区）として、病原菌を接種しない水耕装置を 1 台以上設け、任意の対照品種を供試する。

水位計が下がり液肥槽内の液肥量が減少すれば、液肥を補給する。液肥濃度が過度に上昇することを避けるため、補給時には定植時の 1/2 濃度の液肥（ハイテンポ Ar 液を 2,000 倍希釈、ハイテンポ Cu 液を 1,000 倍希釈した混合液）をローリータンクに作成して、適宜液肥の補充を行う。

なお、水耕装置の稼働が 2 か月を越えると、水耕装置の循環ポンプ（特にインペラーユニット内のステンレスシャフト）に肥料成分が固着し、循環ポンプが停止することがある。稼働開始から 2 か月以降は、1～2 日おきに葉菜用マルチの廃液部フタを開けて、循環ポンプが止まっていないことを確認する。循環ポンプが停止していた場合は、取扱説明書に従って循環ポンプの分解・洗浄を行う。検定期間中に循環ポンプの分解・洗浄・再セットを行うのは手間と時間を要する。あらかじめ予備の循環ポンプを購入しておき、ポンプの交換作業のみで復旧できるように準備しておくのが望ましい。

8～9 月の高温期に定植する場合、長期冷蔵保存した苗を定植する場合は、定植から 1 週間程度、装置上部を黒寒冷紗で被覆することが望ましい（写真 2-11）。



写真 2-11 2018 年 8 月 28 日の苗定植後、黒寒冷紗被覆した水耕装置

冬季に接種試験を行う場合には、装置全体を農業用保温ビニール（トーカーエースぬくもり、東罐興産（株）など）で被覆し、温室暖房用小型パネルヒーター（SPZ-250、SP-250、昭和精機工業（株）など）を



写真 2-12 冬季接種試験でのビニール被覆

内部に設置して、最低夜温 15℃を維持し、日中の気温は 20～30℃前後の発病適温域を保つように保温する（写真 2-12）。水耕装置を設置する温室全体を温度制御できる場合は、上記の発病適温域を維持するように温度管理する。

## 2-3. *Fusarium solani* の菌増殖法

### 1) 培地の準備

PD培地 (ジャガイモ煎汁・デキストロース加用液体培地)

材料：1リットル作成のために、ジャガイモ 200g、ブドウ糖 20g、蒸留水適量。

作成方法：以下は1リットルの作成例である。

既製品を使用しての作成も可能であるが、本項では、ジャガイモを煮出して作成する方法を写真で解説する。煮崩れにくいジャガイモ品種を使用すると培地にイモのかすが残らず、きれいな透明に出来る。\*培地に煮崩れたイモが入っても、増殖には何ら影響はありません。

まずは、ジャガイモの皮をむき、適当な大きさに切り、蒸留水に入れる。  
作成する培地量 1 L あたり 200g のジャガイモを計量し、使用する。



写真 2-13 ジャガイモの皮をむく



写真 2-14 適当な大きさに切る



写真 2-15 蒸留水1リットルに 200g 入れる

次に、ジャガイモを中火で煮る。火が通り、煮崩れる前に火を止め、ガーゼなどで濾して、煮汁を集める。※やけどに注意して行う。



写真 2-16 中火で煮る



写真 2-17 ジャガイモが煮崩れる前に、ガーゼなどで濾す

1 Lあたりブドウ糖 20g を計り、濾した液に入れ、溶かす。ジャガイモを煮ることにより蒸留水は蒸発しているなので、作成予定の量になるよう、蒸留水を加える。三角フラスコに適量<sup>\*</sup>ずつ分注し、シリコ栓などでフタをする。

※振とう培養の時に口から飛び出ない程度の量にする  
(300ml 三角フラスコであれば、培地量は 200ml 程度)。



写真 2-18 ブドウ糖 20g を計り、濾した液に入れ、溶かす



写真 2-19 1リットルになるよう蒸留水を加えた後、適量分注する

三角フラスコへの分注を終えたら、オートクレーブ（120℃、20分以上）にて滅菌する。滅菌後は、培地が十分に冷めてから次の作業に移る。

※培地はある程度の期間は保管が出来るので、前もって作成しておくとも便利である。



オートクレーブ終了後は、作成した培地が十分に冷めてから、次の作業を行う

写真 2-20 オートクレーブで滅菌する



写真 2-21 培地作成については、もちろん既製品（POTATO DEXTROSE BROTH 等）の利用でも構わない

## 2) 増殖のための培養

クリーンベンチ内で作業を行う。

シャーレに培養済みの菌を、寒天ごと切り取り（2～3片）滅菌済みの培地に入れる。



写真 2-22 培養菌を寒天片ごと切り取る



写真 2-23 培地に入れる

25°C、160rpm～で振とう（本項ではロータリーでの振とう）する。

※往復振とうの場合も同様であるが、フラスコの肩口から上に液が跳ねない程度に振とうする。



写真 2-24 温度 25°C、160rpm～、7日～



写真 2-25 培養後の培地

## 2-4. 接種液の作成法と菌濃度の調整法

### 1) 菌液の濾過と遠心



写真 2-26 PD 液体培地中で振とう培養中の *F. solani* 菌液



写真 2-27 菌液をガーゼで濾過

25℃、160rpm で 7 日間、ジャガイモ煎汁・デキストロース加用 (PD) 液体培地で振とう培養した *F. solani* 菌液 (写真 2-26) を準備する。用意する菌液の量は、22 本植えの水耕装置 1 台当たり、培地 200mL 入りの 300mL フラスコ 1 本を標準としている (つまり水耕装置 10 台分なら培地 2L 分の菌液を準備する)。ガーゼ (白十字 (株), タイプ I 幅 30cm×長さ 10m) を適当な長さに切って、最初に 1 重、次に 3 重にしたガーゼで、培養した菌液を 1L ビーカーに濾過して、胞子の固まりや菌糸片を除去する (写真 2-27)。最初から 3 重ガーゼで濾過すると、ガーゼがすぐに目詰まりし、濾過に時間がかかるので、① 1 重ガーゼ濾過、② 3 重ガーゼ濾過の順で、2 回濾過を行う。

濾過した菌液を、250mL 容のポリプロピレン製遠心瓶に分注し、2 本の遠



写真 2-28 遠心する検体のバランス調整

心瓶を1組として、天秤（比量計）でバランスを合わせる（写真2-28）。

遠心分離機（写真2-29, 2-30 KUBOTA冷却遠心機6500型）に、バランスを取った250mL容遠心瓶が対になるようにセットし、遠心を行う（5000g, 4°C, 15分）。



写真2-29 250mL用固定角ローターに遠心瓶6個をセットした遠心分離機



写真2-30 フタをして5000g, 4°C, 15分の遠心を行う

遠心後、上澄みを捨て、遠心瓶の底の外側壁に沈殿して付着した菌を少量の滅菌水で懸濁して回収し、すべての菌液を1本の容器に集める（写真2-31, 2-32）。



写真2-31 菌が底の外側壁に沈殿して付着する



写真2-32 沈殿した菌を少量の滅菌水に懸濁して集めた菌懸濁液（原液）

## 2) 菌濃度の調整法と接種液の作成

3 個の 1.5 mL チューブに滅菌水を 900  $\mu$ L ずつ分注する。菌懸濁液（原液）100  $\mu$ L を 1 個目のチューブに入れ混合する（10 倍希釈区）。10 倍希釈区から 100  $\mu$ L を 2 個目のチューブに入れ混合する（100 倍希釈区）。100 倍希釈区から 100  $\mu$ L を 3 個目のチューブに入れ混合する（1000 倍希釈区）。



写真 2-33 顕微鏡で血球計算盤を検鏡して菌濃度を測定する



写真 2-34 完成した *F. solani* の接種液  
( $5 \times 10^7$  bud-cells/mL)

(バクテリアセルフチェッカーmil-kin で撮影)

希釈した菌懸濁液をマイクロピペットで取り、血球計算盤とカバーガラスの間に満たす。血球計算盤を顕微鏡にセットして検鏡し（写真 2-33）、血球計算盤の一番外側の正方形内の細胞数をカウンターで正確にカウントする。同じ作業を数回繰り返し、細胞数の平均値を  $10^4$  倍し、さらに希釈倍率をかけ合わせて菌濃度を計算する（例えば、血球計算盤の正方形内の平均細胞数が 100 個で 100 倍希釈区の場合だと、 $100 \times 10^4 \times 100 = 1 \times 10^8$  bud-cells/mL）。算出した菌懸濁液（原液）の濃度をもとに、希望する接種液濃度に滅菌水で希釈して、接種液を作成する。

例： 100 倍希釈区で 68 個

→ 菌懸濁液（原液）の濃度は  $68 \times 10^4 \times 100 = 6.8 \times 10^7$  bud-cells/mL

したがって、菌懸濁液（原液）の量をメスシリンダーで測定し、滅菌水で 6.8 倍に希釈すれば  $1 \times 10^7$  bud-cells/mL の接種液、滅菌水で  $6.8/5 = 1.36$  倍に希釈すれば  $5 \times 10^7$  bud-cells/mL の接種液となる。

完成した接種液（写真 2-34）は、三角フラスコなどの容器に入れてパラフィルム等でフタをして、実験室から水耕装置の設置場所へ運搬し、次項で解説する方法にしたがって、接種を行う。

## 2-5. 針刺し付傷処理による菌の接種法

### 1) 苗の針刺し付傷処理

*F. solani*による立枯病は、根や茎の外側の皮層から病原菌が侵入し、地際部の茎を腐敗させ、立ち枯れを引き起こす土壌病害である。研究開始時に、*F. solani*菌液に室温条件で30分間浸漬する浸根接種法による接種を試みたが、浸根接種法は立枯病菌(*F. solani*)の接種方法としては不適であり、苗を3週間程度生育させた後、針刺し付傷処理後に菌液を灌注する方法が適していた。これらの接種方法に関する予備試験の結果については、第3章-2で詳しく解説する。

第2章-4までの手順にしたがって菌液を調整し、以下の手順で接種を行えば、安定して発病を引き起こすことが可能である。

第2章-2で解説した方法で育苗し、本葉が3対前後に展開したステージの苗を水耕装置へ定植する(写真2-35)。定植から3週間後に、写真2-36のように生育した苗へ接種を行う。



写真 2-35 本葉 3 対前後の苗を定植した水耕装置の様子(2015.10.1)



写真 2-36 定植 3 週間後の接種適期となった苗の状態(2015.10.22)

接種当日に、テルモ注射針 25G×1”（0.50×25mm）で供試株の地際部 2 カ所に、写真 2-37、2-38 の手順で針刺し付傷処理を行う。針は刺す方向を変えて、2 回完全に苗の茎を貫通させる。



写真 2-37 苗の地際部に 2 回針刺しする



写真 2-38 針は苗の地際部の茎を完全に貫通させる

1 苗について外径 0.5mm の針を 2 回完全に苗の地際部に貫通させて針刺しを行うので、本葉 3 対前後の苗を定植から 3 週間程度生育させて、針刺ししても折れない程度の基部茎径に、苗を生育させておくことが重要である。

## 2) 接種液の灌注

前述の方法にしたがって、接種当日にあらかじめ地際部に 2 カ所の針刺し付傷処理を行った後、第 2 章-4 の方法にしたがって作成した、菌濃度  $1 \times 10^7 \sim 5 \times 10^7$  bud-cells/mL に調整した接種液を、苗の株元にマイクロピペットを用いて 1 苗当たり 1mL ずつ灌注する（写真 2-39）。

菌の接種作業中に接種液に菌の沈殿が生じないように、接種液の入った三角フラスコなどの容器の底を回すようにして軽く振って、攪拌しながら灌注を行う。

対照区（無接種区）の水耕装置に定植した対照品種の苗については、接種区と同様に地際部に2カ所の針刺し付傷処理を行った上で、接種液の代わりに、蒸留水を1苗当たり1mLずつ株元に灌注する。

なお、*Fusarium* 属菌は角膜真菌症の原因菌となることが知られている。接種作業はゴム手袋、保護眼鏡等を着用して行い、接種終了後は十分な手洗いを励行する。



写真 2-39 接種液を苗の株元に灌注している様子  
マイクロピペットを用いて接種液を1苗当たり1mLずつ株元に灌注する

## 2-6. 発病程度の調査と発病度，発病株率の算出法

### 1) 発病程度の調査

接種日から1週間毎に、地上部の病徴を観察して、供試全品種・系統の全個体毎の発病程度を評価する。佐藤・福田（2016，2019）の評価法に基づき、発病程度を以下の表2-1に示したように、0：無発病、1：下位葉の萎れまたは生育不良、2：上位葉まで萎れ、3：株全体が青枯れまたは全身萎凋、4：枯死の5段階に分類して評価を行う（Onozakiら，2020）。

表2-1 発病程度の基準と発病度，発病株率の計算方法

指数	発病程度
0	無発病
1	下位葉の萎れまたは生育不良
2	上位葉まで萎れ
3	株全体が青枯れまたは全身萎凋
4	枯死

発病度、発病株率は、以下の式で算出する。

$$\text{発病度} = \{ \sum (\text{発病程度別の株数} \times \text{指数}) / (\text{調査株数} \times 4) \} \times 100$$

$$\text{発病株率}(\%) = \text{指数} 1 \text{ 以上の株数} / \text{調査株数} \times 100$$

フザリウム菌の生育適温は27～28℃である（吉松，2008）。第3章で解説するが、接種後の発病の進行には季節変動があり、発病には発病適温付近の26℃前後に維持している根部の水温だけではなく、地上部の気温も同様な温度に保つことが重要であること、夏期は高温のため立枯病の検定には適さないこと、発病の進行は春期が早く、秋期では中程度、冬期は遅いことが明らかになっている（Onozakiら，2020）。秋期や特に冬期の検定で発病が進行しない場合には、再接種を行う必要が

ある。最初の接種から 40 日目以降になると地際部の茎がかなり硬くなる品種があり、再接種時の針刺し付傷処理に長時間を要する。再接種する場合は、必要性を早めに見極め、40 日目以前に行うよう計画するのが望ましい。

## 2) 発病指数の判定について



写真 2-40 発病指数 0 (無発病)



写真 2-41 発病指数 1(下位葉の萎れ)

発病指数 0~4 の判定について、写真を示したので、参考にして欲しい。発病指数 0 は無発病で地上部が健全な個体である（写真 2-40）。病原菌接種による過敏細胞死で最下葉が壊死を起し、最下葉が溶けたような症状を示すことがある。この過敏反応（HR）は植物の抵抗反応の一つであり、他の下位葉、上位葉がすべて健全であれば発病には含まないので、発病指数 0 とする。

発病指数 1, 2 の判定は、手で葉を触るとペラペラとした感触の水気を失った状態の葉や、萎れた葉が下位葉に 1 対以上あり、萎れた葉が株全体の 50%未満の個体を発病指数 1 とする（写真 2-41）。接種後全く生長せず、生育が止まった個体についても 1 と判定する。上位葉を含む 50%以上の葉が萎れたが、茎上部は水気を失って



写真 2-42 発病指数 2(上位葉まで萎れ)

おらず、下を向いていない個体を発病指数 2 とする (写真 2-42)。

発病指数 1, 2 に該当する葉の萎れ症状は、天候や気温にも左右される。晴天で気温が高い日の調査では発病指数 1, 2 となった株でも、曇天や雨天で気温が低下した日の調査では発病指数 0 に戻ることがよく観察される。発病指数 0~2 の間は可逆性があり、天候や気温、時間帯により葉の萎れと一時的な回復を繰り返しながら病徴が進行することに注意する。発病指数が 3 以上になると天候や気温による萎凋症状の回復はなくなり、病徴は不可逆的となる。



写真 2-43 発病指数 3  
(青枯れまたは全身萎凋)



写真 2-44 発病指数 4(枯死)

茎上部が水気を失って下を向き、株全体が青枯れまたは全身萎凋を示す個体を発病指数 3 (写真 2-43)、茶色く変色して枯死した個体を発病指数 4 (写真 2-44) と判定する。発病指数 4 まで病徴が進行すると、基部の茎が完全に腐り、基部付近の茎表面に白褐色のスポロドキアが観察される (写真 2-45)。



写真 2-45 立枯病 (*F. solani* MAFF712411 菌株) による茎腐れと茎表面のスポロドキア  
‘ブルーフィズ’ (左), ‘バルカンマリン’ (右)

### 3) 調査結果の取りまとめ法

表 2-2 に示したような調査台帳をエクセルであらかじめ作成しておく。株ごとの発病指数を入力すると、発病指数別の個体数、発病度、発病株率が自動計算されるようにエクセルのセルに計算式を設定しておき、毎週の調査後に入力する。

調査期間については、‘ミンク’などの極弱品種の発病株率が 90%以上となるまでを目安に設定して、1 週間毎に調査を行う。

表 2-2 毎週の調査結果を入力する調査台帳の例

2019. 7. 23. 調査		接種後77日目		いわき菌接種区					
株	処理区	2	1	6	16	3	11	4	12
		大川1号	紫盃	パピオンピンク フラッシュ	バルカンマリン	カクテルブルー	ニューリネー ションピンクフ ラッシュ	アニーライト ピンク	ボレロホワイト
1		0	3	0	4	4	4	1	4
2		0	0	0	4	1	4	0	4
3		0	3	0	2	0	4	4	4
4		0	0	0	3	3	4	0	4
5		0	0	0	4	0	4	3	4
6		0	3	0	0	4	4	4	4
7		0	4	0	4	4	4	0	4
8		0	4	0	0	4	4	2	4
9		0	4	0	4	4	4	2	4
10		0	4	0	4	2	4	0	4
発病 指数	0	10	3	10	2	2	0	4	0
	1	0	0	0	0	1	0	1	0
	2	0	0	0	1	1	0	2	0
	3	0	3	0	1	1	0	1	0
	4	0	4	0	6	5	10	2	10
発病度		0.0	62.5	0.0	72.5	65.0	100.0	40.0	100.0
発病株率		0.0	70.0	0.0	80.0	80.0	100.0	60.0	100.0

発病程度： 0：無発病， 1：下位葉の萎れまたは生育不良， 2：上位葉まで萎れ， 3：株全体が青枯れまたは全身萎凋， 4：枯死

2019. 7. 23. 調査		接種後77日目		いわき菌接種区			
株	処理区	18	8	17	9	5	10
		ボヤージュ2型 ホワイト	ミンク	セシルパッショ ンME	渚A	クレアピンク (手前)	渚B (奥)
1		4	4	4	4	0	4
2		0	4	4	4	2	4
3		0	4	4	0	0	4
4		4	4	3	0	0	4
5		4	4	4	3	3	4
6		0	4	4	4	4	0
7		2	4	3	0		
8		4	4	3	4		
9		4	4	4	4		
10		4	4	0	4		
発病 指数	0	3	0	1	3	3	1
	1	0	0	0	0	0	0
	2	1	0	0	0	1	0
	3	0	0	3	1	1	0
	4	6	10	6	6	1	5
発病度		65.0	100.0	82.5	67.5	37.5	83.3
発病株率		70.0	100.0	90.0	70.0	50.0	83.3

発病程度： 0：無発病， 1：下位葉の萎れまたは生育不良， 2：上位葉まで萎れ， 3：株全体が青枯れまたは全身萎凋， 4：枯死

#### 4) 試験終了後の作業

試験終了後、病原菌を接種していない対照区（無接種区）の植物体、液肥は、そのまま廃棄する。接種区の植物体は、地下部、地上部とも回収し、オートクレーブ

滅菌をしてから廃棄する。接種区の水耕装置は、農業用資材・農業用水浄化剤のケミクロン G（日本曹達（株））約 20 g を液肥槽にいれ、半日程度液肥を装置内に循環させて装置全体を消毒し、液肥を浄化後、排水・洗浄する。液肥槽浄化後の液肥排水には、家庭用小型バスポンプ（ミニミニバスポンプ N-30P, Panasonic など）を使用すると楽にできる。試験終了の約 1 週間前からは、液肥の補充を止めて水耕装置内の液肥量を少なくしておくこと、消毒・排水作業を軽減できる。

## 3. 実施例

### トルコギキョウ品種・系統における

### *F. solani* 2 菌株に対する抵抗性程度の評価

#### 3-1. 接種条件の概要

最初に、水耕装置を用いたトルコギキョウ立枯病 (*F. solani*) 抵抗性簡易検定法について、発病を良好に進行させるための接種条件の概要を説明する。

##### 1) 接種に適した気温

発病を良好に進行させるためには、26℃前後の発病適温域に維持している水温だけでなく、地上部の温度についても 20~30℃前後の発病適温域を保つことが重要である。水温や気温を発病適温域に維持できない夏季は、接種試験の実施時期として不適切であり、接種時期は6~8月以外の春、秋、冬に行うことを推奨する。

##### 2) 接種方法

*F. solani* の接種方法としては、苗定植時の浸根接種は不適である。本葉3対前後の苗を水耕装置へ定植し3週間生育させたあと、針刺し付傷処理を行い、菌液を苗の株元に1苗当たり1mLずつ灌注する方法が適している。

次の第3章-2では、接種条件の検討を行った予備試験結果について、データと併せて解説する。第3章-3では、本マニュアル「水耕装置を用いたトルコギキョウ立枯病 (*F. solani*) 抵抗性簡易検定法」の手法を利用して行った、抵抗性の品種・系統間差の検定結果を解説する。

## 3-2. 接種条件の検討

### 1) 2015 年試験 1、試験 2 材料および方法

2015 年試験 1. 菌接種法として、カーネーションの萎凋細菌病 (*Burkholderia caryophylli*) 抵抗性育種における抵抗性簡易検定法として有効であった浸根接種法 (小野崎, 2001) を用いた。2015 年 3 月 24 日に、図 3-1 に示した 22 品種各 10 株の苗の根 2 カ所にカミソリで縦傷をつけ、菌濃度  $5 \times 10^6$  bud-cells/mL の *F. solani* MAFF712388 菌株 (山形県内で発病したトルコギキョウから分離した菌株) 菌液に室温条件で 30 分間浸漬する浸根接種を行い、水耕装置に定植した。しかしながら、接種 45 日後 (5 月 8 日) に至っても全品種で無発病であったため、5 月 8 日に、第 2 章-5 で解説した針刺し付傷処理後に MAFF712388 菌株の菌濃度  $1 \times 10^7$  bud-cells/mL の菌液を 1 株あたり 1mL ずつ灌注する方法で再接種を行った。再接種 35 日後 (6 月 12 日) までの発病程度を調査した。

2015 年試験 2. 2015 年 6 月 23 日に、15 年試験 1 と同一の図 3-1 に示した 22 品種各 5~10 株の苗を、水耕装置に定植した。3 週間後の 7 月 14 日に針刺し付傷処理後に菌濃度  $1 \times 10^7$  bud-cells/mL の MAFF712388 菌株菌液を 1mL/株ずつ灌注する方法で接種を行い、接種 63 日後 (9 月 15 日) までの発病程度を調査した。

### 2) 2015 年試験 1、試験 2 結果および考察

水耕装置を用いて抵抗性評価を行う方法は、根部の温度条件を均一にして、省スペースかつ低コストで抵抗性検定を行うことが可能であった。病原菌接種方法について、2015 年試験 1 の苗定植時の浸根接種では、接種から 45 日経過後でも全く発病がみられなかったのに対し、針刺し付傷後菌液灌注による再接種では、再接種 1 週間後から発病がみられた。この他にも、‘レイナホワイト’に 2 つの方法 (下切除,

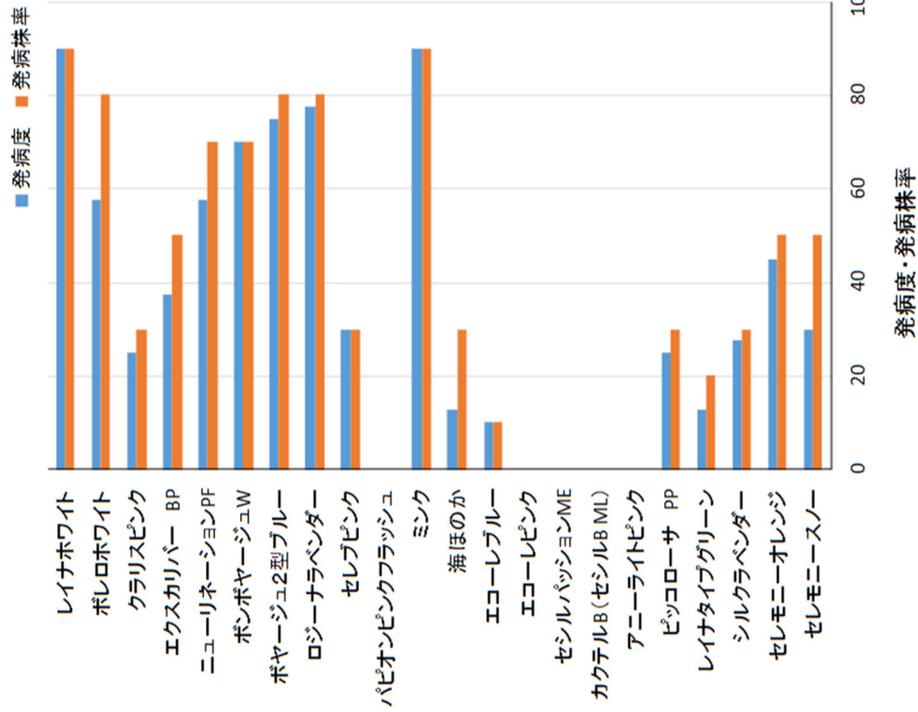
縦傷) で根に付傷処理後、 $1 \times 10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  bud-cells/mL の MAFF712388 菌株菌液に室温条件で 30 分間浸漬する浸根接種の予備試験 (2014 年 10 月実施) でも、浸根接種単独では全く発病を引き起こすことができず、接種から 21 日後に針刺し付傷処理による菌再接種後に発病がみられた (小野崎ら, 2016)。これらの浸根接種による試験に対し、針刺し付傷処理による菌接種のみを行った 2015 年試験 2 では、接種 1 週間後から発病が認められた。したがって、*F. solani* の接種方法としては、苗定植時の浸根接種は不適であり、苗を定植し 3 週間程度生育させた後、針刺し付傷処理を行い菌液を灌注する方法が適していた。

2015 年試験 1、試験 2 に供試した、22 品種の発病度、発病株率に大きな品種間差異が認められた (図 3-1)。「セシルパッション ME」、「カクテルブルー (セシルブルー ML)」、「アニーライトピンク」、「パピオンピンクフラッシュ」の 4 品種では、2 回の試験とも無病徴 (発病株率 0%) であった。一方、「ニューリネーションピンクフラッシュ」、「ミンク」は 2 回の試験とも発病株率 70% 以上であった。

水耕装置には投げ込み式クーラー等の冷却装置は備えていないため、夏季の高温条件下で行った 2015 年試験 2 における接種日 7 月 14 日から試験終了 9 月 15 日までの根部の平均水温は、装置上部を遮光率 60~65% の黒寒冷紗で遮光 (図 3-2) したにもかかわらず  $30.1^{\circ}\text{C}$  であった (図 3-4)。このため、平均水温が  $27.1^{\circ}\text{C}$  と発病適温域で推移した 2015 年試験 1 (図 3-3) に比較して、2015 年試験 2 では発病度、発病株率が低い傾向が認められた (図 3-1)。以上のように、夏季は *F. solani* の発病適温域を維持できないため、接種試験の実施時期として不適切であることがわかった。

(2015年試験1)

3月24日 浸根接種・定植  $5 \times 10^6$ 個/mL  
 5月8日 針刺し再接種  $1 \times 10^7$ 個/mL  
 6月12日 再接種35日目 試験終了



(2015年試験2)

6月23日 冷蔵苗を定植  
 7月14日 針刺し接種  $1 \times 10^7$ 個/mL  
 9月15日 接種63日目 試験終了

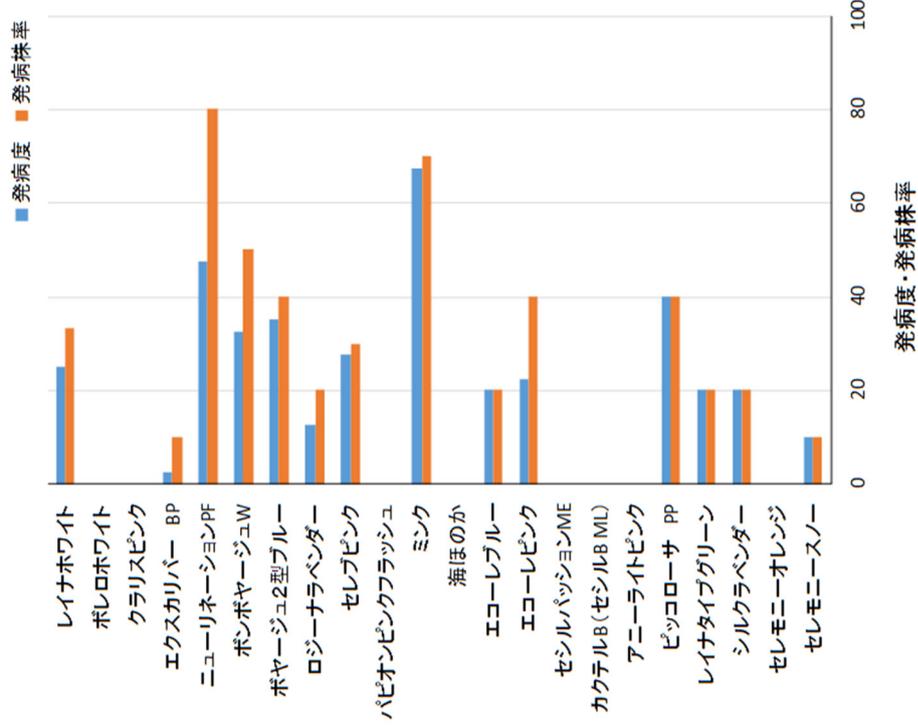


図3-1 22品種における*F. solani* MAFF712388菌株に対する発病度・発病株率



図 3-2 2015 年試験 2 菌接種後に装置上部を黒寒冷紗被覆

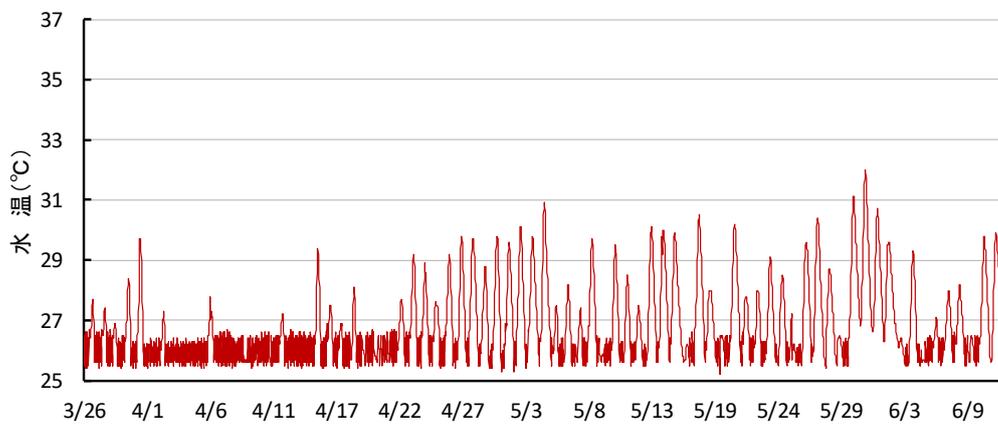


図 3-3 水耕装置の水温の推移 (2015 年試験 1)

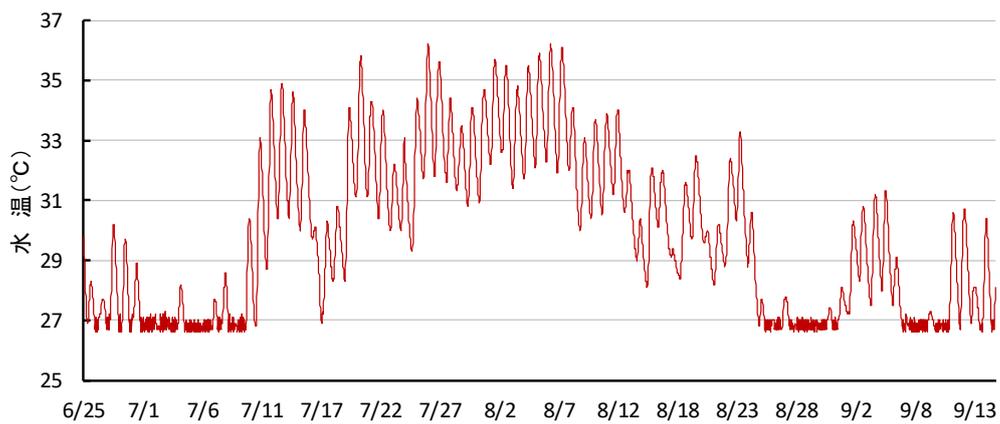


図 3-4 水耕装置の水温の推移 (2015 年試験 2)

以上の予備試験結果を踏まえて、2015 年秋以降に実施した本試験では、夏季の接種試験は行わずに、接種時期は 6~8 月以外の春、秋、冬に試験を実施した。また、接種方法はすべて、第 2 章-5 で解説した針刺し付傷処理法により接種を行った。

### 3-3. 抵抗性の品種・系統間差

#### 1) 材料および方法

第2章-5で解説した、針刺し付傷処理による菌の接種法を用いて、合計32品種・系統の抵抗性程度を評価した。ジャガイモ煎汁・デキストロース加用(PD)培地で25℃、約1週間の振とう培養を行った *F. solani* MAFF712388 菌株または MAFF712411 菌株(福島県いわき市で発病したトルコギキョウから分離した菌株)の2菌株を接種源として、第2章-4の手順にしたがって接種液を調整した。

MAFF712388 菌株については、2015年10月、2016年1、5月、2018年5月に合計4回の接種検定試験、MAFF712411 菌株については、2018年9月、2019年5、10月、

表3-1 接種試験の接種日、接種濃度、平均気温、水温などの詳細情報

#### (A) MAFF712388

	2015 秋	2016 春	2016 冬	2018 春
定植日	10月1日	4月15日	1月8日	4月17日
接種日	10月22日	5月20日	1月28日	5月8日
実験終了日	12月31日	6月24日	4月11日	8月7日
接種濃度(bud-cells/mL)	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^7$	$5 \times 10^7$	$5 \times 10^7$
再接種日	—	—	3月7日	6月19日
接種濃度(bud-cells/mL)	—	—	$5 \times 10^7$	$5 \times 10^7$
調査期間(日)	70	35	74 (35) <sup>Z</sup>	91 (49) <sup>Z</sup>
接種後1週間の平均気温(°C)	20.2	23.8	15.3	21.1
平均気温(°C)	17.7	23.6	18.3 (19.6) <sup>Y</sup>	25.9 (28.5) <sup>Y</sup>
平均水温(°C)	25.5	27.2	26.6	29.2

#### (B) MAFF712411

	2018 秋	2019 春	2019 秋	2020 春
定植日	8月28日	4月15日	9月19日	4月9日
接種日	9月18日	5月7日	10月10日	5月8日
実験終了日	11月19日	7月23日	2月17日	7月3日
接種濃度(bud-cells/mL)	$5 \times 10^7$	$1 \times 10^7$	$2 \times 10^7$	$3 \times 10^7$
調査期間(日)	62	77	130	56
接種後1週間の平均気温(°C)	23.9	21.6	22.1	24.4
平均気温(°C)	21.7	23.5	20.1	23.8
平均水温(°C)	26.7	26.7	25.6	26.7

<sup>Z</sup> 括弧内の数値は再接種後の調査期間。

<sup>Y</sup> 括弧内の数値は再接種後の平均気温。

2020年5月に合計4回の接種検定試験を行った(表3-1)。水耕装置(ホームハイポニカ Sarah, 協和(株))に各品種・系統4~20株の苗(本葉3対前後)を定植し、約3週間後に注射針で株元2か所に針刺し付傷処理後に菌濃度 $1 \times 10^7 \sim 5 \times 10^7$  bud-cells/mLの菌懸濁液を1mL/株ずつ株元灌注する方法で接種を行った。発病の調査期間は、‘ミンク’などの極弱品種の発病株率が90%以上となるまでを目安に設定した。MAFF712388菌株を用いた2016年1月、2018年5月の試験では接種後の発病が進行しなかったため、針刺し付傷処理後に菌濃度 $5 \times 10^7$  bud-cells/mLの菌懸濁液を1mL/株ずつ株元灌注する方法で再接種を行った。発病程度の調査は第2章-6で解説した方法で行い、最終調査時の発病度、発病株率を算出し、抵抗性程度の評価に用いた。

各品種・系統の抵抗性程度について、最終調査時の発病株率により、極強(発病株率:0%;赤橙色)、強(発病株率:1~20%;淡橙色)、中(発病株率:21~69%;無着色)、弱(発病株率:70~100%;水色)の4つに分類して、表3-2の各試験の調査結果に色分けして示した。

## 2) 結果および考察

接種後の発病の進行について、春期では早く、秋期では中程度、冬期は遅い傾向があった。合計8回の接種試験により、発病を良好に進行させるためには、26°C前後の発病適温域に維持している水温だけではなく、地上部の温度についても20~30°C前後の発病適温域を保つことが重要であることがわかった。

2016春の試験は、接種から35日目に終了したが、その試験の水温と地上部の気温を図3-5に示した。菌を接種した5/20から試験終了の6/24まで、水温が約26°C、地上部気温がほぼ20~30°Cの温度域に分布している(図3-5)。このような発病適

温条件を維持できた試験であれば発病の進行が早い。第2章-2でも述べたが、冬期の試験では、装置全体を農業用保温ビニールで覆い、内部を小型パネルヒーターで加温するなどして、水温だけでなく気温についても発病適温域を保つように保温することが必要である。

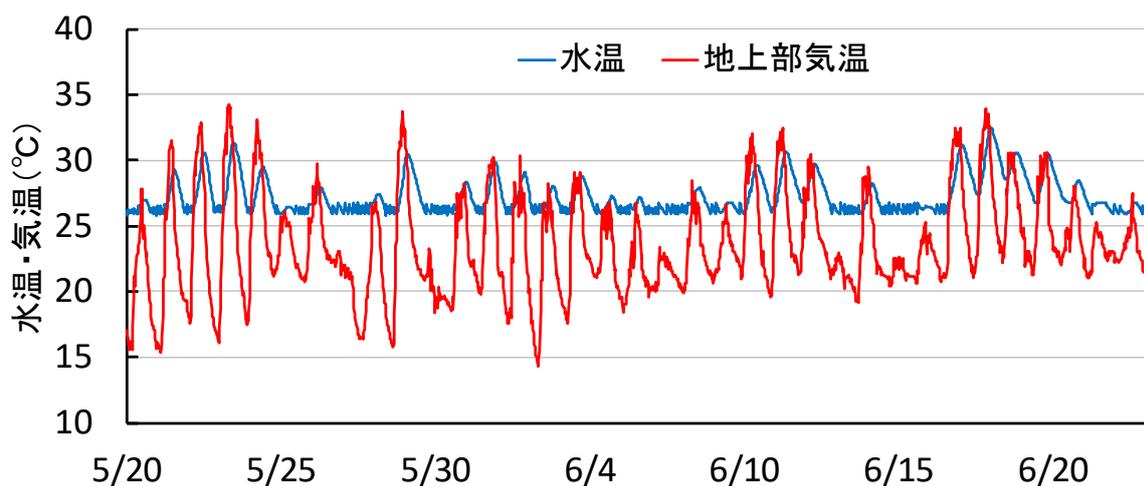


図 3-5 2016 春試験における水温および地上部気温の推移

*F. solani* 2 菌株 (MAFF712388, MAFF712411) に対するトルコギキョウ 32 品種・系統の発病程度 (発病株率、発病度) には顕著な品種・系統間差異が認められた (表 3-2)。接種区の発病株率、発病度はそれぞれ 0%~100%、0~100 まで分布した。一方、対照区 (無接種区) については、2016 春試験の ‘ミンク’ で 10 株中 1 株で萎凋した以外は、供試全品種の全株とも無発病であった。

‘パピオンピンクフラッシュ’ は、MAFF712388 菌株 3 回および MAFF712411 菌株 2 回、合計 5 回の試験で、いずれも発病株率 0% (無病徴) であり、強抵抗性を示した。さらに、*E. exaltatum* 大川 1 号は、MAFF712388 菌株に対し 4 回の試験でいずれも発病株率 0% (無病徴) の強抵抗性を示し、MAFF712411 菌株に対し 4 回の試験の発病株率が 0~20%、発病度が 0~15 であり、抵抗性を示した。

これらの品種・系統に対し、‘ミンク’、‘渚 A’は、いずれの試験でも発病株率 70%以上と安定した感受性を示した。‘渚 B’、‘バルカンマリン’は、2019 秋の MAFF712411 菌株の試験での発病株率がそれぞれ 30%、60%であった以外は、両菌株に対し、いずれも 70%以上の発病株率を示した。‘ボレロホワイト’と‘紫盃’は、MAFF712411 菌株に対しては発病株率 70%以上の抵抗性程度弱であったが、MAFF712388 菌株に対しては、50%~90%の発病株率を示した。

‘アニーライトピンク’は、MAFF712411 菌株の 2019 春試験では発病株率 60%に達したが、それ以外の MAFF712388 菌株の 2018 春の試験で抵抗性、MAFF712411 菌株に対して 2018 秋、2019 秋の試験で強抵抗性であり、‘パピオンピンクフラッシュ’、*E. exaltatum* 大川 1 号に次ぐ抵抗性を示した。

2 菌株間 (MAFF712388, MAFF712411) の発病程度を比較すると、MAFF712411 菌株の方が MAFF712388 菌株よりも発病力 (病原性) が高い傾向を示した。例えば、‘クリアピンク’、‘ボヤージュ 2 型ホワイト’、‘涼風’、‘カクテルブルー (セシルブルー ML)’、‘セシルパッション ME’は、MAFF712388 菌株に対しては、いずれの試験でも発病株率は 20%以下であり、抵抗性程度が極強または強であったが、MAFF712411 菌株に対しては、MAFF712388 菌株に対してよりも発病株率や発病度が高い傾向があった。

‘マーブルピンク’は MAFF712411 菌株で 2 回の試験を実施したが、2018 秋試験では発病株率 45%、2020 春試験では発病株率 20%と、発病力の高い MAFF712411 菌株に対して中程度の抵抗性を示した。

表3-2 トルコギキョウ立枯病 (*Fusarium solani*) 2菌株 (MAFF712388, MAFF712411) に対する発病株率、発病度および抵抗性程度の32品種・系統における差異

接種濃度 (bud-cells/mL)	MAFF712388												MAFF712411													
	1 × 10 <sup>7</sup>				5 × 10 <sup>7</sup>				5 × 10 <sup>7</sup> (再接種を実施)				1 × 10 <sup>7</sup>				2 × 10 <sup>7</sup>				3 × 10 <sup>7</sup>					
	2015秋	2016春	2016冬	2018春	2018秋	2019春	2019秋	2020春	2015秋	2016春	2016冬	2018春	2018秋	2019春	2019秋	2020春	2015秋	2016春	2016冬	2018春	2018秋	2019春	2019秋	2020春		
品種・系統名	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI	発病株率 (%)	DI		
会社																										
アニーライトピンク	90 (9/10)	80.0	10 (1/10)	5.0	10 (1/10)	10.0	0 (0/5)	0.0	95 (19/20)	93.8	0 (0/10)	10.0	0 (0/5)	0.0	60 (6/10)	40.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	100 (10/10)	100.0	0 (0/10)	0.0	100 (10/10)	100.0
ブルーフェイス	50 (5/10)	45.0	90 (9/10)	70.0	95 (19/20)	51.3	60 (12/20)	51.3	60 (12/20)	51.3	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	90 (9/10)	82.5	66.7 (4/6)	66.7	50 (5/10)	32.5	50 (5/10)	32.5	50 (5/10)	32.5
ポレロホワイト	40 (4/10)	32.5	30 (3/10)	25.0	50 (3/6)	50.0	70 (7/10)	60.0	80 (8/10)	65.0	0 (0/10)	0.0	80 (8/10)	65.0	0 (0/10)	0.0	80 (8/10)	65.0	60 (6/10)	55.0	20 (2/10)	5.0	20 (2/10)	5.0	20 (2/10)	5.0
ボンボヤージュタイプピンク	0 (0/10)	0.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	20 (2/10)	15.0	90 (9/10)	82.5	0 (0/10)	0.0	90 (9/10)	82.5	0 (0/10)	0.0	90 (9/10)	82.5	0 (0/10)	0.0	90 (9/10)	90.0	90 (9/10)	90.0	90 (9/10)	90.0
セシルハッシュIONME	0 (0/10)	0.0	50 (5/10)	42.5	80 (8/10)	80.0	75 (15/20)	38.8	45 (9/20)	38.8	80 (8/10)	80.0	75 (15/20)	38.8	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0
クレアピンク	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	80 (8/10)	80.0	95 (19/20)	86.3	0 (0/10)	0.0	95 (19/20)	86.3	0 (0/10)	0.0	95 (19/20)	86.3	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0
クラリスピンク	0 (0/10)	0.0	80 (8/10)	71.9	87.5 (7/8)	71.9	45 (9/20)	38.8	45 (9/20)	38.8	80 (8/10)	67.5	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0
カクテルブルー(セシルブルー-ML)	10 (1/10)	10.0	80 (8/10)	45.0	83.3 (5/6)	70.8	100 (10/10)	100.0	80 (8/10)	67.5	0 (0/10)	0.0	80 (8/10)	67.5	0 (0/10)	0.0	80 (8/10)	67.5	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0
E exakatum 大川1号	50 (5/10)	42.5	100 (10/10)	85.0	77.8 (7/9)	66.7	80 (8/10)	80.0	70 (7/10)	65.0	30 (3/10)	30.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0	100 (10/10)	100.0
エンドレスラブ	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0
ファーストラブ	80 (8/10)	70.0	100 (10/10)	100.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
イルミブルー(B3 seif)	70 (7/10)	65.0	80 (8/10)	75.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
マーブルピンク	80 (8/10)	70.0	80 (8/10)	71.9	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
ミンク	70 (7/10)	65.0	100 (10/10)	100.0	87.5 (7/8)	71.9	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
渚A	100 (10/10)	100.0	80 (8/10)	75.0	77.8 (7/9)	66.7	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
渚B	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0
ニューリーネーションピンクフラッシュ	20 (2/10)	10.0	10 (1/10)	5.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	5.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0
ハビオンピンクフラッシュ	80 (8/10)	70.0	80 (8/10)	71.9	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
ピッコロサグリーニ(Ver.2)	80 (8/10)	70.0	80 (8/10)	71.9	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
ピンクフェイス	80 (8/10)	70.0	80 (8/10)	71.9	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
レイナホワイト	50 (5/10)	25.0	80 (8/10)	75.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
ロゼーナ3型グリーン	80 (8/10)	70.0	80 (8/10)	71.9	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
セラホワイト	50 (5/10)	45.0	80 (8/10)	75.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
ローナナベンダー	50 (5/10)	45.0	80 (8/10)	75.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
紫盆	50 (5/10)	45.0	80 (8/10)	75.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
流風	0 (0/10)	0.0	70 (7/10)	57.5	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5
猫ほのか	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0	20 (2/10)	10.0
ポヤージュ2型ブルー	50 (5/10)	45.0	80 (8/10)	75.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
ポヤージュ2型ホワイト	0 (0/10)	0.0	70 (7/10)	57.5	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	10 (1/10)	10.0	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5	20 (2/10)	12.5
ハルカンマリ	70 (7/10)	65.0	80 (8/10)	72.5	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0	80 (8/10)	80.0
対照区(無接種区)																										
アニーライトピンク	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0
ブルーフェイス	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0
ポレロホワイト	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0
クレアピンク	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0	0 (0/5)	0.0
カクテルブルー(セシルブルー-ML)	0 (0/10)	0.0	10 (1/10)	10.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0
ミンク	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0
渚B	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0	0 (0/10)	0.0																				



図 3-6 2015 秋試験終了時(接種後 70 日目)の抵抗性程度の差異  
使用菌株:MAFF712388  
奥:*E. exaltatum* 大川 1号 発病株率 0%、手前:‘渚 B’ 発病株率 100%



図 3-7 2016 春試験終了時(接種後 35 日目)の抵抗性程度の差異  
使用菌株:MAFF712388  
奥:*E. exaltatum* 大川 1号 発病株率 0%、手前:‘紫盃’ 発病株率 90%



図 3-8 2019 春試験終了時(接種後 77 日目)の抵抗性程度の差異

使用菌株:MAFF712411

奥: 'パピオンピンクフラッシュ' 発病株率 0%、手前: 'バルカンマリン' 発病株率 80%

右写真は、手前の 'バルカンマリン' を除去後に撮影

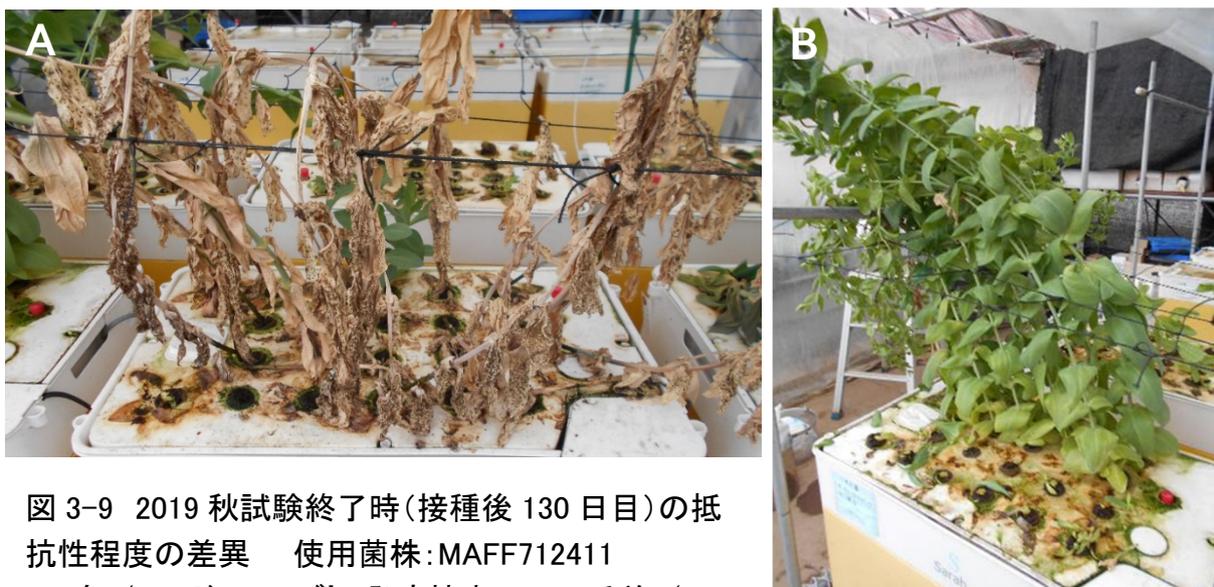


図 3-9 2019 秋試験終了時(接種後 130 日目)の抵抗性程度の差異 使用菌株:MAFF712411

A: 奥: 'エンドレスラブ' 発病株率 90%、手前: 'ミンク' 発病株率 100%

B: 'アニーライトピンク' 発病株率 0% 手前の品種を除去後に撮影

### 3) 総合考察

‘パピオンピンクフラッシュ’ (図 3-10A) は、(株) ミヨシ育成の小輪八重品種であり、*F. solani* 2 菌株に対し強い抵抗性を示した (表 3-2)。(株) ミヨシのトルコギキョウ担当者によると、‘パピオンピンクフラッシュ’は *F. oxysporum* f. sp. *eustomae* に汚染されたほ場では萎凋・枯死するとのことで、立枯病に弱い品種として情報提供を受けた。しかし、今回の試験結果では、*F. solani* 2 菌株に対して強い抵抗性を示し、*F. oxysporum* f. sp. *eustomae* 汚染下の観察結果とは全く逆の結果であった。したがって、*F. solani* と *F. oxysporum* f. sp. *eustomae* ではそれぞれの抵抗性に異なる遺伝子が関与している可能性が強く示唆された。

今回の研究結果から、MAFF712411 菌株の方が MAFF712388 菌株よりも強い病原性を有していたが、発病の傾向は 2 菌株間で類似しており (表 3-2)、異なるレースに属する可能性は低いと考えられた。*F. solani* の供試菌株数をさらに増やし、レース分化の有無について検討する必要がある、レース分化の有無の調査は今後の課題である。

*E. exaltatum* 大川 1 号 (図 3-10B) は MAFF712388 菌株に対し無病徴の強抵抗性、MAFF712411 菌株に対し発病株率 20%以下の抵抗性を示した (表 3-2)。故 大川 清博士は、1986 年 8 月にアメリカ合衆国コロラド州、テキサス州のトルコギキョウ自生地における野生種の生育状況調査および探索収集を行った (大川, 1988)。*E. exaltatum* 大川 1 号はそのときの収集物に由来する自殖系統である。自殖により遺伝子のホモ化が進んでいると推定されるので、DNA マーカーの開発のための抵抗性遺伝資源に適していると思われた。また、近年のほぼすべてのトルコギキョウ品種が F<sub>1</sub> 品種であるのに対し、‘紫盃’は 1963 年に育成された古典的な固定品種であり、



図 3-10 (A) ‘パピオンピンクフラッシュ’、(B) *E. exaltatum* 大川1号

本マニュアルに示した抵抗性程度の調査結果から、感受性の交配材料として適していると思われた。

以上のように、本マニュアルで解説した、水耕装置を用いた抵抗性簡易検定法を用いて抵抗性素材の探索を行った結果、トルコギキョウ立枯病 (*F. solani*) 2 菌株に対し強い抵抗性を示す有望な抵抗性素材が見いだされ、抵抗性育種の可能性や、抵抗性に連鎖した DNA マーカー開発の可能性が示された。

### 第3章 研究担当者

農研機構 野菜花き研究部門

小野崎 隆・佐藤 衛\*・東 未来\*\*・川部 眞登・川勝 恭子・福田 直子

(\*現在：農研機構 遺伝資源センター， \*\*現在：日本大学生物資源科学部)

## 4. 参考文献

### 1) 論文

- 小野崎 隆. 2001. カーネーションの萎ちょう細菌病抵抗性育種と薬剤および交雑育種による花持ち性の向上. 花き研報告. 1: 1-85.
- Onozaki, T., M. Satou, M. Azuma, M. Kawabe, K. Kawakatsu and N. Fukuta. 2020. Evaluation of 29 lisianthus cultivars (*Eustoma grandiflorum*) and one inbred line of *E. exaltatum* for resistance to two isolates of *Fusarium solani* by using hydroponic equipment. Hort. J. 89: 473-480.
- 佐藤 衛, 福田 直子. 2016. アゾキシストロビン・メタラキシル M 粒剤処理による水耕栽培におけるトルコギキョウ根腐病の防除. 日植病報. 82 : 93-100.
- 佐藤 衛, 福田 直子. 2019. 水耕栽培におけるトルコギキョウ立枯病のベノミル水和剤処理による防除. 日植病報. 85 : 18-24.
- 築尾嘉章, 清水時哉, 伊藤陽子, 井 智史. 2003. トルコギキョウ立枯症状に関与する *Fusarium solani*. 日植病報. 69: 49.
- Tomioka, K., Y. Hirooka, A. Takezaki, T. Aoki and T. Sato. 2011. Fusarium root rot of prairie gentian caused by a species belonging to the *Fusarium solani* species complex. J. Gen. Plant Pathol. 77: 132-135.
- Truter, M. and F. C. Wehner. 2004. Crown and root infection of lisianthus caused by *Fusarium solani* in South Africa. Plant Disease 88: 573.
- Wolcan, S., G. Lori and L. Ronco. 2001. First report of *Fusarium solani* causing stunt on lisianthus. Plant Disease 85: 443.
- Xiao, R. F., J. P. Wang, C. Q. Ruan, Z. Z. Pan, Y. J. Zhu and B. Liu. 2018. Root and stem rot on lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) in China caused by *Fusarium solani*. Can. J. Plant Pathol. 40: 455-460.

## 2) 著 書

松尾卓見ら. 1980. p.472. 作物のフザリウム病. 全日本農村教育協会. 東京.

日本植物病理学会. 2020. p.668. トルコギキョウ立枯病. 日本植物病名目録 (2020.8 版). <https://www.ppsj.org/pdf/mokuroku/mokuroku202008.pdf?0911>

八代嘉昭. 1993. トルコギキョウをつくりこなすー自生地に学ぶ高品質栽培ー.  
(社) 農山漁村文化協会. 東京.

吉松英明. 2008. 立枯病. p.21-23. 農文協編. 原色花卉病害虫百科〈3〉草花 3 (ト  
～ワ) トルコギキョウ、ペゴニア、リンドウほか 31 種. (社) 農山漁村文化協  
会. 東京.

## 3) シンポジウム資料・学会発表

大川 清. 1988. ユーストマ野生種とその利用. p.85-90. ユーストマの育種をめぐる諸  
問題 (花き部会). 昭和 63 年度日種協育種技術研究会シンポジウム資料. 日種協.  
東京.

小野崎 隆・佐藤 衛・水谷祐一郎・福田直子. 2016. トルコギキョウの立枯病抵抗性  
育種に関する研究 (第 1 報) 水耕装置を用いた抵抗性検定法の開発. 園学研. 15  
別 2 : 243.

## 5. 謝 辞

本マニュアルは、園芸学会英文誌である *The Horticulture Journal* に掲載された、以下の原著論文を元に作成しましたが、原著論文中の写真及びデータの転載について、園芸学会から転載許可をいただきました。

Onozaki, T., M. Satou, M. Azuma, M. Kawabe, K. Kawakatsu and N. Fukuta. 2020. Evaluation of 29 *Lisianthus* Cultivars (*Eustoma grandiflorum*) and One Inbred Line of *E. exaltatum* for Resistance to Two Isolates of *Fusarium solani* by Using Hydroponic Equipment. *The Horticulture Journal* 89: 473–480.

第3章の供試品種の選定に当たっては、毎年7月に群馬県、長野県、山梨県で開催されているトルコギキョウ展示会において、各民間種苗会社のトルコギキョウ担当者から、自社の立枯病害に弱い品種・強い品種等、耐病性の聞き取り調査を行い、様々な情報をいただきました。また、大分県農林水産研究指導センターの渡邊英城氏、深蔵知花氏、山形県庄内総合支庁農業技術普及課の佐藤武義氏、静岡県農林技術研究所の岩崎勇次郎氏から、各県の現地におけるトルコギキョウ品種の耐病性に関する情報をいただきました。

本マニュアルは、生物系特定産業技術研究支援センター イノベーション創出強化研究推進事業（基礎研究ステージ）「トルコギキョウ立枯病害因子の探索と比較ゲノム解析を利用した抵抗性遺伝子座の同定（課題番号 30004A）」の研究成果の一環としてとりまとめられました。

ここに記して、深く謝意を表します。

最後に、研究の遂行にあたりご協力いただいた、農研機構野菜花き研究部門非常勤職員の吉丸しづ香氏、本郷真弓氏、中村真菜美氏、高井理恵氏、腰塚和子氏、平山友紀子氏、飯島桐子氏、農研機構技術支援部 つくば第6業務科 藤本・大わし技術チーム 野菜花き班の職員各位に厚くお礼申し上げます。

マニュアル編集担当 小野崎 隆

# 水耕装置を用いたトルコギキョウ立枯病 (*Fusarium solani*)

## 抵抗性簡易検定法マニュアル

研究事業名：生物系特定産業技術研究支援センター

イノベーション創出強化研究推進事業（基礎研究ステージ）

研究課題名：トルコギキョウ立枯病害因子の探索と比較ゲノム解析を利用した抵抗性遺伝子座の同定（課題番号 30004A） 平成 30 年度～令和 2 年度



発行：農研機構野菜花き研究部門長 〒305-8519 茨城県つくば市観音台 3-1-1

発行年月：2021年（令和3年）1月

問い合わせ先：農研機構ウェブサイトの問い合わせ窓口

<http://www.naro.affrc.go.jp/inquiry/index.html>

本マニュアルの内容・図版等の無断での複製・転載は禁じます。

### 免責事項について：

本マニュアルは発行時点での情報に基づいて作成しています。農研機構は、本マニュアルに掲載された情報をご利用になったことにより損害が生じても、一切の責任を負いません。