

トマト種
萎凋病レース 1、2 及び 3 抵抗性
特性調査マニュアル



(第 4 版)

令和 6 年 3 月 22 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

トマト種 萎凋病レース1、2及び3抵抗性 特性調査マニュアル

トマト萎凋病は、トマト萎凋病菌（学名：*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*）が引き起こすトマトの土壌伝染性病害であり、現在までに3つのレース（レース1、レース2及びレース3）が確認されている（福田ら、2008）。

本病は高温の時期に発生しやすい。病徴は、最初下葉が黄化し、日中は葉がしおれ気味となり、日が経つにつれてその萎凋は株全体におよぶ。最終的には株全体が萎凋して枯死する。発病株の茎では維管束褐変がみられる。

1. 準備する器具及び試薬等

植物の育成： セルトレイ、9 cm ポリポット、培養土（タキイ種まき培土及びキセキ培養土等）、農業用ビニールフィルム

病原菌の培養： クリーンベンチ、電子天秤、三角フラスコ、ビーカー、メスシリンダー、試験管、9 cm 滅菌シャーレ、シリコ栓、ガーゼ、滅菌水、振とう器、インキュベーター、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）

接種源の調製： 顕微鏡、トーマ式血球計算盤、数取器、マイクロピペット、チップ、遠心分離機、ハサミ、メス、ピンセット

廃棄及び清掃： オートクレーブ、エタノール又は次亜塩素酸

2. 供試病原菌株

トマト萎凋病菌（学名：*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*）レース1、レース2及びレース3を供試する。種苗管理センターではレース1「千葉園試 80-1」株、レース2「MAFF103038」株、及びレース3は「FolyA003」株を供試しているが、レース分類の判明している他の菌株を用いても良い。

入手先としては、トマト萎凋病菌レース1、2については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。レース3については、発生報告のある各農業試験場等で保存されている場合があるため、問い合わせること。

なお、調査を行う前に供試菌株の病原性を確認する。

3. 供試品種等及び供試株数

(1) 供試品種

各レースに対する反応を表1に示した。レースごとに罹病性品種と抵抗性品種を最低1品種ずつ供試する。

表 1. 供試品種及びレースに対する反応

		レースに対する反応		
		1	2	3
標準品種	興津3号	R	S	-
基準品種	ボンデローザ	S	S	S
	桃太郎グランデ	R	S	-
	影武者	-	R	S
	Walter	-	R	-
	ブロック	-	-	R

S:罹病性 R:抵抗性

(2) 最低供試個体数

接種区: 20 個体、無接種区: 20 個体

(3) 反復

なし

4. 調査方法

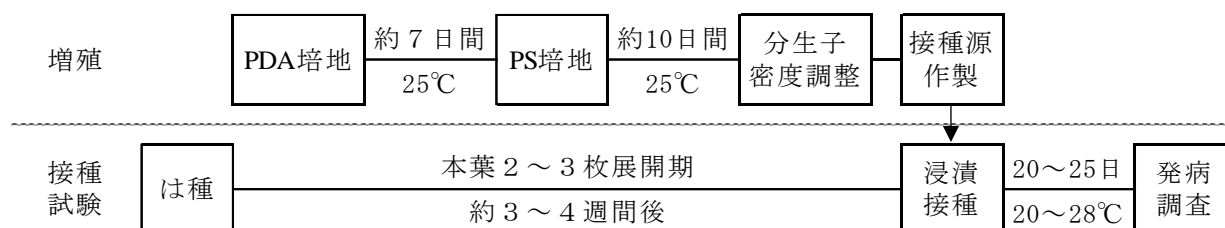


図 1. 接種試験の流れ

(1) 接種源の調製

PDA 培地で 25℃、約 7 日間培養した菌そうから、菌そう片（5 mm 角程度の大きさ）を切り出し、PS 培地に接種する。菌そう片は、PS 培地 100 mL あたり 3 個とし、約 25℃ で約 10 日間振とう培養（110 rpm 程度）する。

培養液を二〜三重のガーゼでこして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 1 mL 中の分生子密度を算出し、分生子密度が $1.0 \times 10^6 \sim 10^8$ 個/mL になるように滅菌水で調整したものを接種源とする。接種源は苗 1 株当たり 5 mL を目安に準備する。

なお、分生子密度が 1.0×10^6 個/mL 以下の場合は、培養ろ液を $2000 \times g$ で 5 分間遠心分離し、沈殿した分生子を滅菌水に再懸濁し、 $1.0 \times 10^6 \sim 10^8$ 個/mL になるよう調整する。

(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）をは種し、本葉が2～3枚程度展開するまで育苗する。培養土は病原菌に汚染されていないもの（滅菌土あるいは市販の滅菌済み培養土）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があることに留意する。

(3) 接種方法

本葉が2～3枚程度展開した苗を掘り上げて根を水洗し、根に付着した用土を除く。水洗後、軽く水を切り、接種源に根を約10分間浸漬（浸根接種）した後、ポット等に定植する。無接種区も、接種区と同様に苗を滅菌水に約10分間浸漬後、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、まとめて接種を行うこともできる。また、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。

(4) 接種後の管理

室温を20～28℃に調整したガラス温室内（自然光下または明期12時間以上16時間以下の照明下）で管理する。接種後1週間は、ポット内部が常に湿った状態となるよう水分管理に十分留意し、その後通常の水管理とする。

(5) 調査

接種20～25日後に、接種株、無接種株について地上部の発病個体数と、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、萎凋等の症状を観察し、表2の通り発病評点を記録する。

表2. 発病評点

発病評点	発病程度
4	枯死
3	個体全体が萎凋し、生育は極めて悪い
2	個体の1/2が萎凋し、生育は悪い
1	個体の一部が萎凋し、生育はやや悪い
0	健全、萎凋していない

※発病評点が0か1かで迷う場合に、維管束褐変を参考として使用する。



図 2. 評点別発病程度

5. 評価方法

(1) 調査結果の整理

発病観察期間中に、物理的に茎を大きく折損した個体は調査個体から除外する。

発病観察期間中の個体毎の発病個体数、及び発病評点を用いて、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3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：調査個体数の内、下記の発病評点が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 3. 調査結果

品種名	供試 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（または基準品種）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 供試している標準品種（または基準品種）の抵抗性無の発病指数と、抵抗性有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。

抵抗性無の標準品種等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」の標準品種等の発病個体率が 50.0 を下回った場合。

(3) 病原菌の確認

発病調査終了後、発病が確認された株の罹病部位から小片（厚さ 3～5 mm 程度）を切り出し、選択培地（Fo-G2 培地等）を用いて気温 25°C、明期 12 時間-暗期 12 時間の条件で 10 日間程度培養した後、接種菌の再分離を行い、*Fusarium oxysporum* であることを確認する。

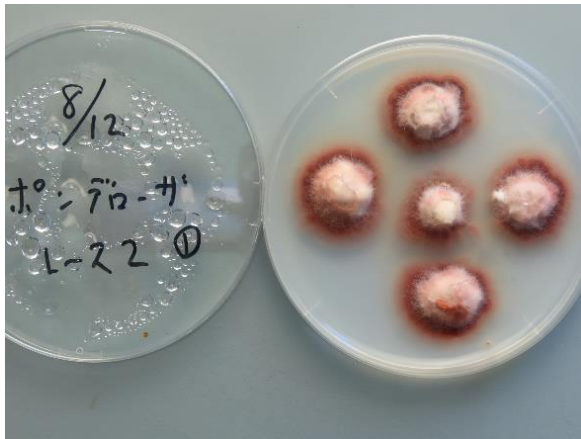


図 3. 病原菌の確認の菌そう例

6. 注意事項

病原菌の取り扱いについては、飛散防止に留意する。接種後及び調査終了後は、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、有効塩素を 0.7%含有する溶液（ケミクロン G など調整）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

福田ら（2008）トマト萎凋病菌（*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*）レース 2 の抵抗性遺伝子 *I-2* に連鎖する DNA マーカーの開発. 愛知農総試研報 40:41-46

農文協（2005）「図説 野菜の病気と害虫 伝染環・生活環と防除法」P170

石井ら (2001) 「我が国におけるトマト萎凋病菌 (レース 4) の発生」 植物防疫 第 55 巻 第 9 号 P13 表-1

日本植物防疫協会 (2007) 「植物防疫講座 第 3 版 病害編」 P240

日本植物防疫協会 Web 資料 圃場試験参考資料 野菜・花卉 殺菌剤 P20

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

本間ら. (1977) 次亜塩素酸カルシウム剤によるトマト萎凋病. 菌およびキュウリつる割病菌の殺菌効果 四国植防 12:15-17

斉藤ら. (1963) トマトの生育ならびに開花・結実に関する研究 (第 2 報) 園芸学会雑誌 32 巻 1 号:51-60