

トマト種
葉かび病レース0抵抗性
特性調査マニュアル



(第2版)

令和7年3月10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 葉かび病レース 0 抵抗性 特性調査マニュアル

トマト葉かび病は、トマト葉かび病菌（学名：*Passalora fulva*、異名：*Cladosporium fulvum*）が引き起こすトマトの空気伝染性病害であり、現在までに宿主植物がもつそれぞれの抵抗性遺伝子に対応した病原性系統（レース）が数多く存在することが確認されている。

本病はハウス栽培などの多湿な環境で葉に斑点性の病徴が現れる。葉に白～黄色の円形～不整形の病斑が形成され、葉裏の病斑上には灰～薄紫、茶、黄褐色等のかびを生じ、大量の分生子が形成され、確認することができる。病勢が進むと生育不良や着果不良などを引き起こす。

1. 準備する器具及び試薬等

植物体の育成：セルトレイ、ポリポット（12cm 程度）、培養土、農業用ビニールフィルム、ピンセット、育苗箱、支柱、ビニールタイ、自記温度記録計、イレクターベンチ、フラワーラベル、プラ舟、電照器具、サインペン

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、滅菌シャーレ、ジャガイモ煎汁ブドウ糖寒天培地（PDA 培地）、白金耳（ループ型）、70%エタノール、オートクレーブ、乾熱滅菌器

接種源の調製：顕微鏡、血球計算盤、数取器、マイクロピペット、ピペットチップ、筆、ガラス器具類、噴霧器、紙ワイパー「キムワイプ」等、滅菌蒸留水

廃棄及び清掃：オートクレーブ、オートクレーブバッグ、インジケーターテープ、70%エタノール、塩化ベンザルコニウム、次亜塩素酸塩（ナトリウム・カルシウム）

2. 供試病原菌株

トマト葉かび病菌（学名：*Passalora fulva*、異名：*Cladosporium fulvum*）レース 0 を供試する。

種苗管理センターではトマト葉かび病菌レース 0 「MAFF 731168」等を供試している。MAFF 番号がつけられた菌株は、農研機構遺伝資源研究センターから入手することができる。

または、レース分類の判明している菌株があれば、それを用いても良い。

調査を行う前に供試菌株の病原性を確認する。なお、継代培養を重ねると分生子形成や病原性が低下する可能性があるため、継代回数が最小限となるよう努めるとよい。

3. 供試品種等及び供試個体数

(1) 供試品種

レース 0 に対する反応を表 1 に示した。なお、参考までに、各品種のレース 2、4、5、9 に対する反応も示した（網掛け部）。

レース 0 に対して表 1 に記載の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

品種名		抵抗性 遺伝子	レースに対する反応				
			0	2	4	5	9
標準品種	Monalbo	無	S	S	S	S	S
	ポンドローザ *	無	S	S	S	S	S
	Stirling Castle	Cf-1	R	R	R	R	R
	Vetomold	Cf-2	R	S	R	R	R
	V121	Cf-3	R	R	R	R	R
	Purdue135	Cf-4	R	R	S	R	R
	IVT1149	Cf-5	R	R	R	S	R
	Vagabond	Cf-2, 4	R	S	S	R	R
	F1“Vetomold×IVT1149”	Cf-2, 5	R	S	R	S	R
	F1“Vagabond×IVT1149”	Cf-2, 4, 5	R	S	S	S	R
	F77-38	Cf-6	R	R	R	R	R
	IVT1154	Cf-9	R	R	R	R	S
	タキイミディ 195 (商 品名：フルティカ) *	Cf-9	R	R	R	R	S
基準品種	Pontentate	無	S	S	S	S	S
	NIVFS-Cf2	Cf-2	R	S	R	R	R
	サターン	Cf-2	R	S	R	R	R
	NIVFS-Cf4	Cf-4	R	R	S	R	R
	桃太郎ファイト	Cf-4	R	R	S	R	R
	NIVFS-Cf5	Cf-5	R	R	R	S	R
	Moneymaker-Cf5	Cf-5	R	R	R	S	R
	NIVFS-Cf9	Cf-9	R	R	R	R	S
	Moneymaker-Cf9	Cf-9	R	R	R	R	S

※S：罹病性 R：抵抗性 *：審査基準の特性表の標準品種欄に記載のある品種

※トマト葉かび病菌の場合、レース分類の表示はレースと同一表記の抵抗性遺伝子を保有する品種を侵すことができることを示している（例：Cf-9を持つ品種はレース9に親和性があり罹病する一方、他レースの菌株に対しては非親和性であり抵抗性を示す）。

※本マニュアルではレース0抵抗性遺伝子の有無を確認するが、更に品種の保持する抵抗性遺伝子（Cf-2、Cf-4、Cf-5 又は Cf-9 等）の種類を確認したい場合は網掛け部の各レースへの反応を参考に、レース2菌株（「MAFF 731175」他）、レース4菌株（「MAFF 731174」他）、レース9菌株（「MAFF 242535」）等を供試して調べることができる。

(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

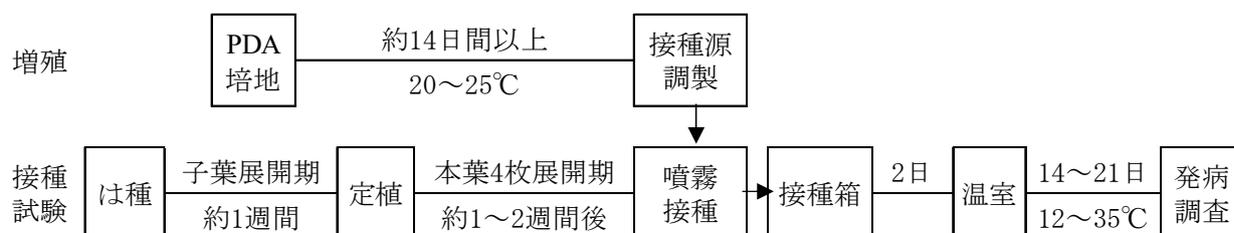


図1. 接種試験の流れ（目安）

(1) 接種源の調製

葉かび病菌株を PDA 又は PSA 平板培地に画線して 2 週間以上 20~25℃で培養する。なお、同菌は平板培地上では菌叢面積が広がらないので、画線により菌叢面積を大きくする。

菌叢面積が広がり、菌叢に分生子が十分形成されていることを確認し、菌叢の表面に滅菌蒸留水を注ぎ、筆やガラス棒等で軽く擦って分生子懸濁液を作製する。

分生子懸濁液は、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 10^4 分生子/mL 以上に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 株当たり約 3~4mL を目安に準備する。

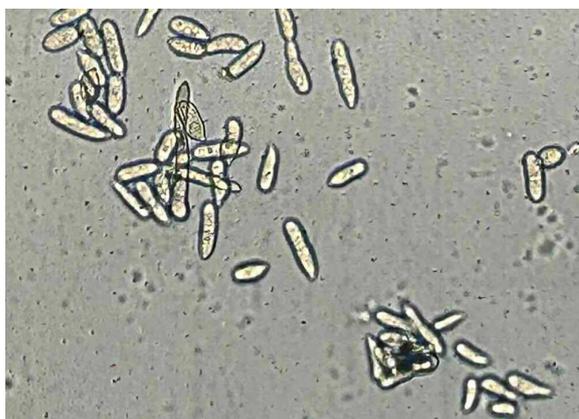


図2. 分生子（0~1 個の隔壁、円筒形~楕円形）

(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を 1 穴あたり 1 粒ずつまき、軽く覆土する。

子葉展開後、ポリポットに定植し、接種時の生育ステージ（本葉 4 枚程度展開）まで一般栽培条件下で育苗する。

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4枚程度展開している苗の葉裏に、調製した接種源を噴霧する。

噴霧後は直ちに水を薄く張った接種箱（衣装ケース等）に入れ、直射日光が当たらないよう2日間高湿度条件（理想は湿度80%以上）を保つ。2日後に取り出して一般栽培条件下で管理する。

無接種区も、接種区と同様に苗の葉裏に滅菌蒸留水を噴霧後、2日間高湿度条件に保つ。2日後に取り出して一般栽培条件下で管理する。

なお、高湿度条件下での管理時は、以下の2点に気を付ける。

1. 高湿度時に直射日光が当たると蒸れて苗が腐敗する。
2. 高温期に3日以上高湿度条件に置くと蒸れて苗が腐敗する。



図3. 本葉4枚程度展開期



図4. 接種箱の一例

(4) 接種後の管理

室温を18～28℃に調整したガラス温室内（自然光下又は明期12時間以上の照明下）で、14～21日間栽培管理する。なお、発病適温は20～25℃。開放条件では12～35℃の範囲で管理できれば検定可能。

また、調査前の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。このため、調査時に最低供試個体数を下回ることがないように植物体の管理には十分留意すること。

(5) 調査

接種14～21日後に接種葉の葉裏を観察して、発病の有無を調査する。

病徴として、円形～不整形の病斑が認められ、葉裏面に灰～薄紫、茶、黄褐色等のビロード状の菌叢が形成されたものを発病個体と判定する。参考として、罹病性標準品種の病徴を十分に発現させて比較・判定するとよい。

また、うどんこ病が発生すると、初期病徴での見分けが困難であることや、すすかび病が発生すると、病徴での見分けが困難であることから、他の病害の発生に注意する。

※抵抗性品種において、病徴に類似した抵抗反応が確認される場合がある。Cf-9 遺伝子を保有する標準品種「タキイミディ 195 (商品名：フルティカ)」においては、抵抗反応として葉にしばしびカルス形成が認められると報告 (窪田 (2019)) があるほか、Cf-9 遺伝子を保有する「MoneyMaker-Cf-9」は小型のネクロシスを多数生じるとの報告もある (山田 (2009))。

このため、病徴に類似する反応が確認された場合は経過観察を行い、葉の表裏において斑の拡大が見られず、カルス化や多数の小型のネクロシスの発生にとどまるものは抵抗反応と整理し、発病個体に含めない。参考として、無接種区と比較して植物体の生育への影響も考慮するとよい。



図 5. 葉の表面・裏面の病徴写真



図 6. 病徴の拡大



図 7. 抵抗性品種「タキイミディ 195」におけるカルス形成 (抵抗反応の例)

5. 評価方法

(1) 調査結果の整理

発病観察期間中の発病個体数を計測する。以下の算出式により発病個体率を算出し、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：調査個体数の内、発病が確認された個体の数。

表 2. 調査結果

品種名	調査 個体数	発病 個体数	発病個体率 (%)
出願品種			
対照品種			
標準品種等			

(2) 特性評価

接種した全ての株で無発病の品種は、接種したレースに対して抵抗性：有と評価する。

発病個体率が 0%の場合： 9. 有

発病個体率が 0%より大きい場合： 1. 無

なお、各抵抗性遺伝子は、真性抵抗性遺伝子のため、抵抗性の標準・基準品種において、疑わしい病徴（抵抗反応を除く）が確認された場合は、原因を検証した後、その結果次第で再試験を検討する。

(3) 病原菌の確認

発病調査終了後、発病が確認された新鮮な病斑上の分生子を滅菌した白金耳でかきとり、ジャガイモ煎汁ブドウ糖寒天培地（PDA 培地）もしくは素寒天培地上に接種する。

20～25℃で 1、2 週間程度培養し、培地上で形成された分生子等の形態を観察、*P. fulva* であることを確認する。

単菌分離する場合は、発病が確認された新鮮な病斑上の分生子を滅菌した白金耳でかきとり、PDA 培地や素寒天培地上に接種し、数日間培養して確認できた白い菌糸をいくつかマークしておき、その菌叢を切り取って PDA 培地上で分離培養する。その後、培地上で形成された分生子を観察する。

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、葉かび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等で滅菌処理する。

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

窪田ら(2019) 国内産品種を基にしたトマト葉かび病菌レース判別系統の作出. 関西病害虫研究会報, 第 61 号, pp.55-60.

飯田 (2010) トマト葉かび病菌の新たな病原性系統の収集. 生物遺伝資源探索収集調査報告書, 第 23 巻, pp.7-14.

日本植物防疫協会 (1995) 作物病原菌研究技法の基礎. pp.137-138.

日本植物防疫協会 (2007) 植物防疫講座 第 3 版 病害編. pp.234-235.

山田 (2009) トマト葉かび病菌 *Passalora Fulva*. 微生物遺伝資源利用マニュアル, No.28.

我孫子, 石井 (1986) トマト葉かび病の発病に及ぼす温度並びに湿度の影響. 野菜試験報告.A 14 号, pp.133-140.

黒田 (2023) 「葉かび病」に代わり施設トマトで多発する「すすかび病」. *iPlant*, 2023 年, 第 1 巻 第 2 号.