

矮性トマト品種“マイクロトム”の各種病害に対する感受性

深見正信・伊藤実佐子*・鈴木秀章・竹内妙子・丸 諭
(千葉県農業総合研究センター・*千葉県病害虫防除所)

The Susceptibility of the miniature *Lycopersicon esculentum* cultivar,
Micro-Tom, to 8 pathogens

Masanobu FUKAMI¹, Misako ITO, Hideaki SUZUKI, Taeko TAKEUCHI and Satoshi MARU¹

摘 要

病害抵抗性のモデル実験系を作る目的で、矮性トマト品種“マイクロトム”の8種病害に対する感受性を調べた。疫病、灰色かび病、青枯病は、いずれも接種による発病率がほぼ100%で、容易に発病させることができた。CMVの接種によるウイルス検出率は、20%であり、接種効率が低く、病徴は不明瞭であった。ToMVの接種によるウイルス検出率は、100%であったが、外見上病徴は認められなかった。半身萎凋病は、接種による病原菌分離率78%で、感受性ではあるが病徴は不明瞭であった。萎凋病(レース1)は、感染しなかった。

近年、植物病害の発生及びそれに対する抵抗性の分子的な機構の解明が急速になされてきており、病害抵抗性に関わるさまざまな遺伝子が単離されている(Dangl, J.L. et al., 2001; Theologis, A. et al. (2001))。また、各種植物のゲノムの一部もしくは全体の塩基配列が解明され(Theologis, A. et al., 2000; Lin, X. et al., 1999; Salanoubat, M. et al., 2000; Mayer, K. et al. 1999; Tabata, S. et al. 2000; Sasaki, T. et al. 2002; Feng Q et al. 2002)、既知の抵抗性関連遺伝子に類似した配列も数多く見出されている(Meyers, B.C. et al. 1999; Meyers, B.C. et al. 2003)。これらの情報をもとに病害抵抗性を持つ有用植物の開発が期待されている。

ゲノム研究から得られる膨大な情報をもとに病害抵抗性の実証を行うためには、小面積で栽培でき、短期間で世代が完了するモデル植物の利用が有効である。トマト品種“マイクロトム”は、トマトの1品種であるが、植物体が小さいため小面積で多くの個体を栽培でき、短期間で結実するという特徴があり、モデル実験植物として有望視されている(Meissner, R. et al. 1997)。

そこで、“マイクロトム”が病害抵抗性のモデル実

験植物として利用可能かどうか探るため、各種病害に対する感受性を調べたので報告する。

材料及び方法

1. 供試植物の栽培方法

供試植物(トマト *Lycopersicon esculentum*, 品種名“マイクロトム”)は、個別に記した以外は実生をさし芽して栄養繁殖し、草丈約6cmに生育したものをを用いた。育苗ポットは、黒色のポリスチレン製で直径6cm、高さ5.5cmのものをを用いた。また、一部の病害については切離葉での試験を行った。なお、対照として感受性品種である“大型福寿”を用いた。

2. 疫病菌接種法

千葉県農業総合研究センター(以下千葉農総研)野菜研究室で採集した罹病トマトから病原菌(*Pythophthora infestans*, '野菜1'株)を分離し、接種に用いた。菌の分離、増殖、接種源としての遊走子の調製などは佐藤の方法に従った(大畑貫一ら1995)。

接種に用いた切離葉は、さし芽をして育成した植物から採取した。用いた葉は、最も若い展開葉を1葉目として以下3~5葉目を用いた。

¹ Address: Chiba Prefectural Agriculture Research Center, Daizenno-cho 808, Midori-ku, Chiba-shi 266-0006, Japan
2004年3月1日受領

菌接種は、 10^6 個/mlの濃度の接種源（遊走子けん濁液） $10\ \mu\text{l}$ を、切離葉の裏面に点滴接種して行った。接種した葉を湿室に入れ、 20°C の恒温器内に置き、接種3日後に接種した部位の病斑の有無を調査し、また接種9日後に発病指数を病斑が、0：なし、1：葉の10%未満、2：50%未満、3：50%以上として記録し、以下の式により発病度を算出した。供試葉枚数は1処理あたり3枚とした。

$$\text{発病度} = \frac{\text{発病指数の合計} \times 100}{\text{供試葉枚数} \times 3}$$

3. 灰色かび病菌接種法

千葉農総研病理研究室保存菌株 (*Botrytis cinerea*, No.98044) を、ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天 (PSA) 平板培地で培養し、菌そうの周辺部分をコルクボーラーで打ち抜いて接種源とした。疫病の場合と同様の植物の3～5葉目を切離葉として用いた。

菌接種は、接種源の菌そう面を、葉の表面に付着することにより行った。無接種区には、菌そうの無い寒天片を付着した。有傷接種区では、接種を行う前に接種部位に注射針で突き刺して傷を付けた。

接種した葉を湿室に入れ、 23°C の恒温器内に置き、接種2日後に病斑の有無と直径を記録した。

4. 半身萎凋病菌接種法

千葉農総研病理研究室保存菌株 (*Verticillium dahliae*, No.8804) を、PSA平板培地で2週間培養し、得られた分生胞子を 3×10^6 個/mlの濃度で蒸留水に懸濁させ接種源とした。菌接種は、播種3週間後の植物を掘り上げて、根部を軽く水道水で洗浄し、接種源に1秒程度浸すことにより行った。接種後、園芸培土（呉羽化学）に植え付け、 25°C の人工気象室で管理し、32日目に地上部の発病指数、草丈、胚軸部の導管褐変を記録し、根部からの病原菌の分離を行った。発病指数は、0：健全、0.5：葉の黄化あるいは生育遅延、1：わずかな萎凋、2：激しい萎凋、3：枯死とし、以下に示した式を用いて発病度を算出した。

$$\text{発病度} = \frac{\text{発病指数の合計} \times 100}{\text{供試株数} \times 3}$$

5. 萎凋病菌接種法

千葉農総研病理研究室保存菌株 (*Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* race1, No.80-1) を、PSA平板培地で1週間 27°C で培養し、シャーレに蒸留水を流し込み、菌そうをかき取って懸濁させた。懸濁液を小型分生子の濃度が、 10^6 個/mlになるように希釈し、接種

源とした。菌接種は、植物を掘り上げて、根部を軽く水道水で洗浄して接種源に1秒程度浸すことにより行った。接種した植物を、前述の育苗ポットに入れた園芸培土（呉羽化学）に植え付け、 25°C の人工気象室で管理した。経時的に外部病徴を調査し、接種23日後に根部及び胚軸部を切断して導管褐変の有無を記録し、褐変部分から常法により、病原菌の再分離を行った。また、“マイクロトム”については草丈を測定した。

6. 青枯病菌接種法

千葉農総研病理研究室保存菌株 (*Ralstonia solanacearum*, 青枯2) を、脳本処方PSA平板培地で3日間 28°C で培養し、シャーレに蒸留水を流し込み、コロニーをかき取って懸濁させ、濃度が 10^7CFU/ml になるように希釈して、接種源とした。病原菌接種は、植物を掘り上げ、根部を軽く水道水で洗浄して接種源に1秒程度浸すことにより行った。

接種した植物を、園芸培土（呉羽化学）に植え付け 28°C の人工気象室で栽培し、萎凋の有無を経時的に観察し、記録した。

7. キュウリモザイクウイルス (CMV) 接種法

千葉農総研病理研究室保存ウイルス株 (千葉1) を、タバコ品種キサンチNCで増殖させ、罹病葉を -80°C で保存した。この罹病葉1gに対して、10mlの割合で0.1Mリン酸緩衝液 (pH7) を加え、磨砕し接種源とした。

ウイルス接種は、接種源1mlあたり0.1gのカーボランダムを混合し、最も若い展開葉から2～3葉目に擦り付けて行った。

接種9、14、27日後に発病程度を記録し、27日後の調査では草丈を測定した。さらに、最も若い葉を採集して、接種源の調製法に従って磨砕し、ササゲの初生葉に擦り付け接種し、感染の確認を行った。発病指数は0：健全、0.5：新葉が糸葉、1：わずかなモザイク、2：明瞭なモザイク、3：葉の大部分がモザイクとし、以下に示した式を用いて発病度を算出した。

$$\text{発病度} = \frac{\text{発病指数の合計} \times 100}{\text{株数} \times 3}$$

8. トマトモザイクウイルス (ToMV) 接種法

千葉農総研病理研究室保存ウイルス株 (C1株, -80°C で保存) の、罹病葉1gに対して10mlの割合で0.1Mリン酸緩衝液 (pH7) で磨砕し接種源とした。ウイルス接種は、CMVの場合と同様に行った。接種9、14、27日後に発病程度を記録し、27日後の調査では草

丈を測定した。さらに最も若い葉を採集して、接種源の調製法に従って磨碎し、*N.glutinosa*の展開葉に擦り付け接種し、感染の確認を行った。発病指数は0：健全、0.5：新葉が糸葉または縮葉、1：わずかなモザイク、2：明瞭なモザイク、3：葉の大部分がモザイクとし、以下に示した式を用いて発病度を算出した。

$$\text{発病度} = \frac{\text{発病指数の合計} \times 100}{\text{株数} \times 3}$$

結果及び考察

1. 疫病

接種3日後の調査では病斑の形成が認められ、9日後の調査では激しい発病が認められた(第1表)。切離葉を用いて点滴接種することにより、“マイクロトム”に本病を容易に発病させることができた。接種試験の対象病害として利用しやすいことが明らかになった。

2. 灰色かび病

接種を行った区では、葉位、傷の有無に関わりなく

発病が認められた。この接種方法を用い、この範囲においては、葉位及び傷の有無は発病に影響しないと考えられた(第2表)。以上から、本病に対して“マイクロトム”は感受性であり、切離葉での試験が可能なことから、接種試験の対象病害として利用しやすいと考えられる。

3. 半身萎凋病

“大型福寿”は接種区では生育が劣り、葉先の枯れ、明瞭な導管褐変も認められ、病原菌の再分離もできた。“マイクロトム”は、“大型福寿”のような明瞭な外部病徴はみられなかったが、導管褐変が認められ、病原菌の再分離もできた。このことから、“マイクロトム”は本病に対して感受性と考えられる(第3表)。しかし、本病は発病の判定までに1~2ヶ月を要するため、試験期間中に根の量がポット内で飽和に達してしまっていた。このため、本来の発病状況を再現できていないことが考えられる。今後、本病を“マイクロトム”に接種するには接種条件をさらに検討する必要がある。

4. 萎凋病

“大型福寿”では、明瞭な萎凋症状及び導管褐変が認められ、病原菌も再分離されたが、“マイクロトム”では萎凋症状は認められず、わずかな導管褐変は認められたが、病原菌の再分離はできなかった(第4表)。このため、“マイクロトム”は本病に対して抵抗性で

第1表 疫病菌感受性試験結果

品種	接種の有無	接種3日目 発病数/点滴数	接種9日目 発病度
マイクロトム	無接種	0/3	0
	接種	3/3	100
大型福寿	無接種	0/7	0
	接種	11/11	100

第2表 灰色かび病菌感受性試験結果

品種	傷の有無	接種の有無	病斑形成数/ 菌そう張り付け数	病斑直径(mm)		
				1葉目	3葉目	5葉目
マイクロトム	無傷	無接種	0/6	-	-	-
		接種	5/6	9.5	9	10
	有傷	無接種	0/6	-	-	-
		接種	6/6	9	11	10
大型福寿	無傷	無接種	0/6	-	-	-
		接種	5/5	12	11	12
	有傷	無接種	0/6	-	-	-
		接種	6/6	14	11.5	11.5

第3表 半身萎凋病菌感受性試験結果

品種	接種の有無	供試株数	発病度	草丈	導管褐変*	分離率(%)
マイクロトム	接種	11	11	11.0	+	78
	無接種	5	0	11.9	-	0
大型福寿	接種	12	43	23.0	+	100
	無接種	6	0	37.8	+	0

*導管褐変が認められた場合には+を、認められなかった場合には-を付した

あると考えられる。

5. 青枯病

“大型福寿”は接種5日目から萎凋し、11日目には全株枯死した。“マイクロトム”は接種5日目から萎凋し、接種13日後には全株発病した(第5表)。対照品種より発病が遅れるものの、高率に発病することから、接種試験の対象病害として利用できると考えられる。

6. キュウリモザイクウイルス(CMV)

“マイクロトム”ではモザイク病徴が“大型福寿”に比較して不明瞭で、ササゲによる生物検定でも検出率が低く、検出される場合にも局部病斑数が少なかった。しかし、生育には差が認められ、接種、無接種区間の草丈にt検定で5%水準で有意差が認められた(第6表)。展開葉を取り除いた場合には、接種区では新葉が伸長しなくなった。これらから、“マイクロトム”はCMVに対して感受性であると考えられる。

7. トマトモザイクウイルス(ToMV)

“大型福寿”では、明瞭なモザイクが認められ、生育に明瞭な差が認められた。これに対して、“マイクロトム”では病徴が全く認められず、明瞭な生育差も認められなかった。しかし、*N. glutinosa*を用いた生物検定により、高率にToMVが検出されたため感染はしているものと考えられる(第7表)。

今回供試した病害のうち、疫病、灰色かび病については対照品種と同程度に感受性であった。また、青枯病も容易に発病させられることから、これらの3病害をモデル実験系として利用できると考えられる。半身萎凋病、キュウリモザイクウイルスによるモザイク病については、対照品種より発病しにくかったことから、モデル実験系として利用するためには接種条件の改良等が必要と考えられた。トマトモザイクウイルスによるモザイク病については、明瞭な病徴を示さないが、高率に感染した。このため、感染しても病徴を示さな

第4表 萎凋病菌(レース1)感受性試験結果

品種	接種の有無	供試株数	発病指数		草丈 (cm)	導管 褐変	分離 結果(%)
			接種13日後	15日後			
マイクロトム	接種	16	0	0	13.1	+ -	0
	無接種	10	0	0	12.0	+ -	0
大型福寿	接種	16	29	48		+	100
	無接種	10	0	0		+ -	0

* 導管褐変が認められた場合には+を、導管褐変が不明瞭な場合には+ -を、認められなかった場合には-を付した

第5表 青枯病菌感受性試験結果

品種	接種の有無	供試株数	発病株率(% 日数は接種後経過日数)				
			5日	11日	13日	18日	32日
マイクロトム	接種	6	33	83	100	100	100
	無接種	6	0	0	0	0	0
大型福寿	接種	6	67	100	100	100	100
	無接種	6	0	0	0	0	0

第6表 キュウリモザイクウイルス感受性試験結果

品種	接種の有無	供試株数	発病度			草丈 ^{注)} (cm)	生物検定 (検出株数/検定株数)
			9	14	27日後		
マイクロトム	接種	10	0	30	27	7.4	2/10
	無接種	8	0	0	0	9.7	0/8
大型福寿	接種	10	17	67	100	22.6	10/10
	無接種	6	0	0	0	45.2	0/6

注) 接種、無接種区間にt検定で5%水準で有意差が認められた

第7表 トマトモザイクウイルス感受性試験結果

品種	接種の有無	供試株数	発病度			草丈 ^{注)} (cm)	生物検定 (検出株数/検定株)
			接種後9日	14日	27日		
マイクロトム	接種	10	0	0	0	8.4	10/10
	無接種	8	0	0	0	9.7	0/8
大型福寿	接種	11	10	29	73	25.8	11/11
	無接種	6	0	0	0	45.2	0/6

いタイプの抵抗性を調べることはできないが、感染が起きてもウイルスの濃度が低く抑えられるタイプあるいは感染が起きないタイプの抵抗性を検定するためのモデル実験系として利用可能と考えられる。萎凋病については、抵抗性と考えられることから、このレースに対しての実験には利用できないことが明らかとなった。

引用文献

Dangl, J.L. et al. (2001) Nature 411 : 826 - 833.

Feng Q et al. (2002) Nature 420 : 316 - 320.

Hulbert, S.H. et al. (2001) Annu. Rev. Phytopathol.39 : 285 - 312.

Lin, X. et al. (1999) Nature 402 : 761 - 768.

Mayer, K. et al. (1999) Nature 402 : 769 - 777.

Meissner, R. et al. (1997) Plant J.12 : 1465 - 1472.

Meyers, B.C. et al. (1999) Plant J.20 : 317 - 332.

Meyers, B.C. et al. (2003) Plant Cell 15 : 809 - 834.

大畑貫一ら (1995) 作物病原菌研究技法の基礎. 日本植物防疫協会, 東京. 342pp.

Salanoubat, M. et al. (2000) Nature 408 : 820 - 822.

Sasaki, T. et al. (2002) Nature 420 : 312 - 316.

Tabata, S. et al. (2000) Nature 408 : 823 - 826.

Theologis, A. et al. (2000) Nature 408 : 816 - 820.