

新品種育成のためのサトイモ萎凋病 抵抗性検定法の開発

伊藤 実佐子*・小原 麻里・崎山 一・鈴木 健司・竹内 妙子

キーワード：サトイモ、萎凋病、*Fusarium oxysporum*、培養苗、抵抗性検定技術

I 緒 言

千葉県の主要なサトイモ産地では、親離れと呼ばれる乾腐症状（以下乾腐症とする）が発生し、以前より問題となっていた。乾腐症は9月上旬以降に発生し、地上部が生育不良もしくは枯死した株を掘り上げると、親芋がスポンジ状に乾燥腐敗し（第1図）、維管束が赤変する。激しいときには維管束を通じて子芋、孫芋にまでその症状が広がる。

乾腐症を引き起こす病害としては、*Fusarium oxysporum* f. sp. *colocasiae*（以下F.o）による萎凋病と*Fusarium solani* f. sp. *radiciola*（以下F.s）による乾腐病が記載されている（岸ら、1998）。両者ともその症状が極めて似ていることから、千葉県で発生する乾腐症がどちらの菌によるものかは明らかでなかった。

これら2種類の病害は土壌及び種芋により伝染することが知られている。これらの防除対策として薬剤を用いた土壌消毒や輪作が挙げられるが、薬剤処理は大面積を処理するには労力と費用を要し、実用性に欠けている。また、萎凋病では8～10年の非宿主栽培後もその菌が検出されることから（西村、2000）、輪作の効果も期待できない。

そのため乾腐症に対する抵抗性品種の育成が強く求められている。そこで本研究では千葉県で発生している乾腐症の原因菌を明らかにし、小面積で短期間にその抵抗性を検定する方法を開発した。本研究を実施するにあたり、千葉県農業総合研究センター生産環境部病理研究室の方々には多大なるご協力をいただいた。ここに感謝の意を表す。

II 材料及び方法

1. 乾腐症からの菌の分離

現地での乾腐症の発生実態を明らかにするため、2001年9月～2002年11月に八街市の現地圃場11ヶ所より乾腐症を呈する株を採取した。採取した株は地上部を地際部で切断後、芋を流水中でよく洗浄し、水分をペーパータオル（商品名：キムタオル）で十分に除去した。乾腐症発生部位と健全部の境部より5mm角の切片を切り出し、素寒天培地（以下、WA培地とする）に置床した。20℃暗黒条件下で2日間培養し、伸長した菌糸体を切り取り、ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地（以下、PSA培地とする）に移植し菌株を得た。

2. 接種試験

分離菌の病原性を確認するため、ポット及び圃場で接種試験を行った。

試験1. ポット試験

2001年に八街市の現地圃場4ヶ所から採取したサンプルより分離した12菌株及び2000年に千葉県農業試験場畑作園芸研究室圃場（現千葉県農業総合研究センター北総園芸研究所畑作園芸研究室圃場・佐原市）から採取したサンプルより分離した7菌株の計19菌株を接種に用いた。供試菌をPSA平板培地で25℃、暗黒条件下で9日間培養し、形成された分生子を約 10^5 CFU/mlの胞子懸濁液に調整して接種源とした。2001年10月4日に、乾腐症無発病圃場で栽培したサトイモ「土垂」を掘り上げ、翌日、地上部が約1cmに伸長した孫芋を親株から掻き取り、流水中でよく洗浄し、ペーパータオル（商品名：キムタオル）で水分を良く除去した後、分生子懸濁液400mlに約5分間浸漬して接種した。1区8株供試した。なお、対照区は蒸留水に浸漬した。接種後直ちにクレハ園芸培土（呉羽化学）を重填した直径10.5cmの黒ポットに定植し、最低気温15℃のガラス温室内に、地温を30℃に保てるよう電熱温床線を設置し、トンネル被覆をして栽培した。

2002年4月17日に最大葉の葉柄長及び葉数を測定した。測定後、芋をポットから掘り上げ、3ヶ所水平に切断し発病株率、発病程度を調査した。発病程度の指数は、0：無発病、1：維管束の赤変もしくは褐変が芋の切断面に1ヶ所

2003年9月10日受理

* 千葉県病害虫防除所

発生、2:同症状が2ヶ所に発生、3:スポンジ状乾燥腐敗が1ヶ所に発生、4:同症状が2ヶ所に発生、5:維管束の赤変もしくは褐変が3ヶ所に発生、6:スポンジ状乾燥腐敗が3ヶ所に発生とし、以下の通り発病度を算出した。

発病度= $\{\Sigma(\text{発病程度別指数} \times \text{株数}) \div (6 \times \text{総株数})\} \times 100$ 。

試験2. 圃場試験及び品種比較

ポット試験の結果から選定したS-13 (*Fusarium oxysporum*) 及びS-16 (*Fusarium solani*) の2菌株を接種に用いた。供試菌株を土壌フスマ培地で25℃、暗黒条件下で、約2週間培養後、千葉県農業総合研究センター病理研究室石柵圃場 (1.8m×1.8m=3.24㎡) に1㎡当たり100g土壌混和し、2002年6月17日に種芋を定植した。条間55cm、株間30cmの3条植えとし、1区5株で3反復とした。また品種比較のため、「土垂」、「えぐ芋」、「石川早生」、「大和早生」の4品種を供試した。

11月21日に芋を掘り上げ、親芋、子芋、孫芋のそれぞれ数ヶ所を切断し、乾腐症発病芋数を調査した。

3. PLB苗における接種濃度、栽培温度と萎凋病の発病との関係

効率的に小面積で短期間に行える病害抵抗性検定法を確立するため、小原・鈴木(2001)の方法により培養された「大和早生」由来プロトコム様体苗(以下、PLB苗)を用いて試験を行った。300mlの三角フラスコに100mlのショ糖加用ジャガイモ煎汁液体培地(以下、PS液体培地)を分注し、これにサトイモ萎凋病菌S-13を少量加え、25℃、暗黒条件下で5日間、回転数100rpmで振とう培養した後、分生子懸濁液を 10^5 、 10^6 、 10^7 CFU/mlになるよう蒸留水で調整して接種源とした。PLB苗の根を蒸留水でよく洗浄して、1個体当たり1~2芽になるよう脇芽を取り除き、約30mlの分生子懸濁液にその根を約5分間浸漬して接種した。接種は2003年1月29日に行った。接種後、36穴連結ポット(ピーポット、キャネロン社製)にクレハ園芸培土(呉羽化学)を1、市販のパーミキュライトを3の割合で重層し、下層のクレハ園芸培土に根が直接接触ないように苗を定植した。連結ポットをプラスチック製トレイの中に入れ、水位を約1cmに保って底面給水し、気温25℃及び30℃に設定したグロースチャンバー(SANYO製、12時間日長、約6,000lux、RH80%)に入れて栽培した。試験開始後10日間は、苗の馴化を促すため市販の食品包装用ラップフィルム(商品名:サランラップ)でプラスチック製トレイを被覆した。なお、対照区として無接種区を設けた。1区12株で3反復とした。

試験開始約40日後の3月10日に芋を縦割し、芋の萎凋病発病株率、発病程度を調査した。発病程度の指数は、

0:無発病、1:芋の体積の25%以下に乾腐症状もしくは維管束の赤変が発生、2:芋の体積の26~50%に同症状が発生、3:芋の体積の51~75%に同症状が発生、4:芋の体積の76%以上に同症状が発生とし、発病度を以下の通り算出した。

発病度= $\{\Sigma(\text{発病程度別指数} \times \text{株数}) \div (4 \times \text{総株数})\} \times 100$ 。

発病した芋は萎凋病であることを確認するため、発病部位を駒田培地(大畑、1995)上に置床し、25℃、暗黒条件下で8日間培養した。

4. 多芽体苗とPLB苗との比較

接種に適した培養苗の種類を明らかにするため、PLB苗で検討した接種条件に基づき、多芽体苗とPLB苗の比較を行った。300mlの三角フラスコに100mlのPS液体培地を分注し、これにサトイモ萎凋病菌S-13を少量加え、25℃、5日間、回転数100rpmで振とう培養した。分生子懸濁液が 10^6 CFU/mlになるよう蒸留水で調整して接種源とした。

「大和早生」由来の多芽体苗及びPLB苗を小原・鈴木(2001)の方法により培養し、多芽体苗及びPLB苗の根を蒸留水で良く洗浄して、PLB苗では1個体当たり1~2芽になるよう脇芽を除去した。2003年7月23日に各苗の根を約30mlの分生子懸濁液に約5分間浸漬して接種した。定植後は、28℃に設定したグロースチャンバー(SANYO製、12時間日長、約6,000lux、RH80%)で栽培した。定植方法、栽培管理方法は前試験と同様に行った。対照区として無接種区を設けた。1区12株とし、接種区は3反復、無接種区は反復なしで試験を行った。

葉数、新葉3枚当たりの黄化葉数、最大葉の葉柄長、葉身長及び葉幅、芋の萎凋病発病株率、発病程度及び茎の地際維管束の褐変の有無を調査した。なお、芋の発病指数及び発病度の算出方法は前試験と同様とした。多芽体苗の調査は接種30、40、50日後に、PLB苗の調査は接種40日後に行った。

III 結果

1. 乾腐症からの菌の分離

八街市で採取した乾腐症発生親芋からの圃場別*Fusarium*菌の分離率を第1表に示した。いずれの圃場からでも*F.o*が高率に分離され、8圃場からは*F.s*も分離された。

症状別の分離菌の分離率を第2表に示した。スポンジ状乾燥腐敗からは*F.o*が57%、*F.s*が20%、維管束赤変部からは*F.o*が66%、*F.s*が16%、維管束赤変と褐変併発からは*F.o*が79%、*F.s*が10%、褐変腐敗部からは*F.o*が

100%と、いずれの部位からも*F.o*が*F.s*より高頻度で分離された。

第1表 八街市のサトイモ乾腐症から分離された圃場別*Fusarium* 菌の分離率

圃場番号	分離菌数	分離率 (%)		
		<i>F.oxysporum</i>	<i>F.solani</i>	その他の菌
1	38	68	21	11
2	39	46	39	15
3	37	46	5	49
4	20	55	10	35
5	10	90	0	10
6	19	100	0	0
7	7	100	0	0
8	32	66	25	9
9	43	86	14	0
10	70	40	10	50
11	28	86	11	3

第2表 各症状から分離された*Fusarium* 菌の分離率

菌分離部位	分離率 (%)		
	<i>F.oxysporum</i>	<i>F.solani</i>	その他
スポンジ状乾腐部	57	20	23
維管束赤変部	66	16	18
維管束赤変と褐変併発部	79	10	11
褐変腐敗部	100	0	0

2. 接種試験

試験1. ポット試験

ポット試験の接種結果を第3表に示した。発病が認められたのは、*F.o*では12菌株中9菌株で、*F.s*では7菌株中4菌株で、芋の一部に僅かな褐変がみられた。しかし、冬期の接種のため発病に十分な温度条件が確保できず、圃場で発生したような乾腐症状は再現できなかつた。また、本試験では発病による葉柄長及び葉数への影響は認められなかつた。

第3表 分離菌のポット接種試験による病原性

供試菌	採取場所	葉柄長 (cm)	葉数 (枚)	発病株率 (%)	発病度	
<i>F.oxysporum</i>	S-1 圃1 (八街市)	17.6	1.6	0	0	
	S-2 圃1 (八街市)	7.8	0.9	25.0	14.6	
	S-3 圃1 (八街市)	8.3	1.3	25.0	18.8	
	S-4 圃1 (八街市)	10.6	1.5	12.5	12.5	
	S-5 圃2 (八街市)	12.1	1.1	12.5	2.1	
	S-7 圃2 (八街市)	5.1	0.8	12.5	12.5	
	S-9 圃3 (八街市)	4.4	0.6	25.0	14.6	
	S-10 圃3 (八街市)	12.6	1.8	0	0	
	S-11 圃3 (八街市)	5.1	0.5	37.5	18.8	
	S-12 圃4 (八街市)	10.0	1.4	13.0	2.1	
	S-13 圃4 (八街市)	10.6	1.8	37.5	25.0	
	S-15 圃4 (八街市)	3.9	0.4	0	0	
	<i>F.solani</i>	S-6 圃2 (八街市)	15.0	1.3	0	0
		S-8 圃2 (八街市)	14.0	1.3	12.5	12.5
		S-14 圃4 (八街市)	10.5	0.9	12.5	12.5
S-16 畑園 (佐原市)		5.8	0.6	25.0	10.4	
S-17 畑園 (佐原市)		5.8	0.6	12.5	2.1	
S-18 畑園 (佐原市)		7.1	0.8	0	0	
S-19 畑園 (佐原市)		4.1	0.5	0	0	
滅菌水 (Cont.)	-	11.4	1.3	0	0	

注) 品種は「土垂」を用いた。

試験2. 圃場試験及び品種比較

圃場試験の結果を第4表に示した。S-13接種区ではいずれの品種でも親芋及び子芋がスポンジ状に乾燥腐敗し、維管束が赤変する乾腐症が再現された。乾腐症の発生は親芋、子芋、孫芋の順で多かつた。しかし、S-16接種区では親芋、子芋及び孫芋に乾腐症が再現できず、病原性は認められなかつた。また、無接種区の一部の子芋に発病が認められ、菌の分離をしたところ*Fusarium*菌が分離された。

S-13菌接種区での乾腐症に対する品種比較の結果、親芋及び子芋の発病率は「土垂」及び「えぐ芋」でやや低く、「石川早生」、「大和早生」でやや高くなる傾向があった。

第4表 圃場試験における分離菌の病原性及び品種間差

供試菌	供試品種	発病率 (%)			
		親芋	子芋	孫芋	
<i>F.oxysporum</i>	S-13	土垂	53	14	1
		えぐ芋	47	9	2
		石川早生	80	25	0
		大和早生	67	39	2
<i>F.solani</i>	S-16	土垂	0	0	0
		えぐ芋	0	0	0
		石川早生	0	0	0
		大和早生	0	0	0
		無接種	土垂	0	1
	えぐ芋	0	0	0	
	石川早生	0	0	0	
	大和早生	0	0	0	

3. PLB苗における接種濃度、栽培温度と萎凋病の発病との関係

接種濃度及び栽培温度がPLB苗の萎凋病発病に与える影響を第5表に示した。30℃・10⁷CFU/ml接種区で1株枯死したが、それ以外の区では、接種約40日後には外観上無接種区と変わらなかつた。しかし、芋を切断したところ、接種した全ての区で乾腐もしくは維管束の赤変症状が発生しており、60%以上の高い発病株率となった。発病株を駒田培地上に置床したところ、接種菌と同様のピンク又は赤紫色を呈する*F.o*が検出された。

30℃で栽培した区は、25℃区に比べ発病株率及び発病度がやや高かつた。また、10⁵~10⁷CFU/mlの範囲では、接種濃度によって発病に大きな差は認められなかつた。

第5表 PLB苗における接種濃度、栽培温度と萎凋病の発病との関係

接種濃度 (CFU/ml)	栽培温度	発病株率 (%)	発病度
0	25°C	3	1
10 ⁵		67	51
10 ⁶		62	47
10 ⁷		67	51
0	30°C	0	0
10 ⁵		75	61
10 ⁶		75	58
10 ⁷		86	72

注) 品種は「大和早生」を用い、接種約40日後に調査した。

4. 多芽体苗とPLB苗との比較

多芽体苗及びPLB苗の地上部の生育と萎凋病の発病を第6表に示した。接種40日後の多芽体苗では、無接種区に比べ地上部の生育が激しく抑制されたが、PLB苗では無接種区とほぼ同等の生育を示した。また、多芽体苗区の発病度及び茎の維管束褐変株率はPLB苗接種区に比べてやや高かった。

多芽体苗における地上部生育と萎凋病の発病の経時的変化を第7表に示した。接種区では、接種26日後頃より葉脈間の黄化が認められ、接種30日後には新葉3枚当たりの黄化葉数が1.4枚となった。接種区の地上部は、接種30日目において外観上明瞭な生育抑制が認められた(第2図)。接種30日後には81%の株でスポンジ状の乾腐直前の褐変が発生し(第3図)、発病度が44となった。また、その42%の株で茎の地際の維管束が褐変した(第4図)。接種40日及び50日後の芋の発病度及び茎の維管束褐変株率は、接種30日後に比べやや高まった。

IV 考 察

サトイモに乾腐症を引き起こす原因菌としては、*F.o*と*F.s*が知られている(岸ら、1998)。また、松尾も(1980)サトイモ乾腐病部位からは、*F.s*の他に病原性を持つ*F.o*が分離されることがあると報告している。本試験の結果でも、八街市で発生している乾腐症からは、*F.o*と*F.s*の2種類の菌が分離されたが、*F.o*は全ての圃場の各症状から分離されたのに対し、*F.s*はその一部に限られた。

ポットでの接種試験では、*F.o*で12菌株中9菌株、*F.s*で7菌株中4菌株で弱い病原性が認められたが、圃場と同様の乾腐症は再現されなかった。そこで、それぞれから2菌株を選び圃場で接種試験を行ったところ、*F.o*を接種した区では乾腐症が再現されたが、*F.s*では再現されなかった。西村ら(1988)も乾腐症部位より分離された*F.o*と*F.s*を土壌接種した結果、*F.o*では乾腐症が再現されたが、*F.s*では褐変した根に近い部分の親芋維管束が黄褐色することはあっても乾腐症が発生しなかったと報告している。これらのことから、千葉県のサトイモ主産地である八街市で発生している乾腐症は、主に*F.o*による萎凋病であると思われた。

西村ら(1993)は*F.o*による乾腐病(後に萎凋病に改変)の発病経過を調査し、サトイモを4月下旬に定植した場合、維管束の赤変を6月下旬に、地上部の葉脈黄化を8月上旬に確認している。すなわち、圃場では本病の初発生までには2ヶ月を要していた。一方、PLB苗及び多芽体苗を用いた場合は接種40日後に顕著な乾腐症が発生し、圃場での栽培より短期間で萎凋病を発病させる

第6表 多芽体苗及びPLB苗の地上部生育と萎凋病の発病

試験区	培養苗の種類	最大葉の大きさ			発病株率 (%)	発病度	茎の維管束 褐変株率 (%)
		葉柄長 (cm)	葉身長 (cm)	葉幅 (cm)			
接種区	多芽体苗	7.5	3.9	3.2	92	69	74
	PLB苗	2.9	2.4	1.9	92	53	19
無接種区	多芽体苗	12.3	5.9	4.8	0	0	0
	PLB苗	3.5	2.4	2.0	0	0	0

注) 品種は「大和早生」を用い、接種40日後に調査した。

第7表 多芽体苗における地上部生育と萎凋病の発病の経時的変化

試験区	接種後 日数	新葉3枚当 りの黄化数 (枚)	最大葉の大きさ			発病 株率 (%)	発病度	茎の維管束 褐変株率 (%)
			葉柄長 (cm)	葉身長 (cm)	葉幅 (cm)			
接種区	30日	1.4	8.4	4.4	3.7	81	44	42
	40日	1.0	7.5	3.9	3.2	92	69	74
	50日	0.8	8.0	3.9	3.1	78	66	58
無接種区	30日	0.0	11.8	5.5	4.5	0	0	0
	40日	0.0	12.3	5.9	4.8	0	0	0
	50日	0.2	13.1	6.0	4.9	0	0	0

注) 品種は「大和早生」を用いた。

ことができた。また、PLB苗及び多芽体苗は*in vitro*の条件下で、生育が均一な苗を時期を選ばず供給することができ、小面積で大量の個体を検定することが可能と思われた。

しかし、PLB苗は供給される品種が限定され（小原・鈴木、2001）、地上部の発病も顕著に現れなかった。それに対し、多芽体苗では、PLB苗よりさらに短期間の接種30日後において、地上部に生育不良を生じ、かつ芋に萎凋病が発病することから、検定には多芽体を用いることが適当であると考えられた。接種濃度は $10^5 \sim 10^7$ CFU/ml、栽培温度は 30°C でやや発病が多かったが、細菌等による感染を最小限に抑えるためにはやや低めの 28°C 程度が適当であると考えられる。

NISHIMURA (1994) は *F.o.* による乾腐病（後に萎凋病に改変）に対するサトイモ13品種の品種間差を試験し、「石川早生」は最も感受性が高いと報告した。本試験でも、萎凋病の発生は「大和早生」、「石川早生」が「えぐ芋」及び「土垂」に比べやや発病しやすかった。このことから「大和早生」及び「石川早生」は本検定時の感受性の基準品種として用いることができると考えられた。

以上から、多芽体苗を用いて $10^5 \sim 10^7$ CFU/mlの濃度の分生子懸濁液に浸根接種し、 $25^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ のグロースチャンバーで30日間栽培する方法により、小面積で短時間に萎凋病の抵抗性を検定できることが明らかになった。今後は、本検定法を用いて萎凋病抵抗性個体の選抜を行い、新品種育成につなげていきたい。

V 摘 要

1. 八街市のサトイモ圃場から乾腐症の芋を採取し、菌の分離を行ったところ、*Fusarium oxysporum* と *Fusarium solani* が分離されたが、前者が全ての圃場で優占してい

た。

2. 両菌を接種したところ、*Fusarium oxysporum* でのみ病徴が再現され、乾腐症の主原因は萎凋病であることが明らかとなった。

3. 萎凋病の抵抗性検定法として、 $10^5 \sim 10^7$ CFU/mlの *Fusarium oxysporum* 分生子懸濁液にサトイモ多芽体の根を浸漬し、 $25 \sim 30^\circ\text{C}$ のグロースチャンバー内で30日間栽培した後、発病調査を行う検定方法を開発した。

VI 引用文献

- 岸國平編 (1998). 日本植物病害大辞典. 430-431. 全国農村教育協会. 東京.
- 小原麻里・鈴木健司(2001). 新品種育成強化促進事業アグロ育種プロジェクト21研究成果集. 62-67.
- 大畑貫一編 (1995). 作物病原菌研究技法の基礎. 3. 日本植物防疫協会. 東京.
- 松尾卓見編 (1980). サトイモ乾腐病. 471. 作物のフザリウム病. 全国農村教育協会. 東京.
- 西村範夫・工藤和一 (1988). *Fusarium oxysporum*によるサトイモ乾腐病. 九州農業試験場報告. 50:121.
- 西村範夫・工藤和一 (1993). *Fusarium oxysporum*によるサトイモ乾腐病の発病経過と病原菌の厚膜胞子形成. 九州農業試験場報告. 28:45-51.
- NISHIMURA, N. and KUDO, K (1994). *Fusarium oxysporum* f. sp. *colocasiae* n. f. sp. causing dry rot of taro (*Colocasia esculenta*). Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 60:448-453.
- 西村範夫 (2000). 非病原性フザリウム菌によるサラダナ根腐病の防除法. 土壤伝染病談話会レポート No.20: 180-183.



第1図 スポンジ状に乾腐した親芋



第2図 接種30日後の多芽体地上部生育
(左:無接種区、右:接種区)



第3図 接種30日後の多芽体芋
における萎凋病発病
(左:無接種区、右:接種区)



第4図 接種30日後の多芽体
接種区での茎の維管束褐変

Establishment of Screening Method
for Breeding Resistant Variety to the
Wilt by *Fusarium oxysporum* f.sp.*colocasiae*
of Taro(*Colocasia esculenta*)

Misako ITO*, Mari OHARA, Hajime SAKIYAMA,
Kenji SUZUKI, and Taeko TAKEUCHI

Key words :Taro,wilt,*Fusarium oxysporum*,
in vitro-cultured plants,screening method

Summary

1. Taro plants with dry rot called “kanpushyou” were collected from taro fields in Yachimata City. *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* were isolated from taro taproot lesions. The former were predominate in all fields.
2. Inoculation testing revealed that dry rots was caused by *Fusarium oxysporum*, not *Fusarium solani*. It became clear that the main cause of “kanpushyou” was the wilt due to *Fusarium oxysporum*.
3. We established a method to screen resistance to *Fusarium oxysporum* of Taro by inoculating roots from multiple shoots grown *in vitro* with 10^5 to 10^7 CFU/ml spore suspension, incubating at 25 to 30°C for 30 days, and examining symptoms of the plants.

(Present Address : *Chiba Prefectural Plant Protection Office)