

特集：青枯病

接ぎ木トマトの青枯病発病過程と抵抗性 (品種抵抗性、誘導抵抗性) を利用した青枯病防除

中央農業総合研究センター 中 保 一 浩

はじめに

植物病原細菌 *Ralstonia solanacearum* が起こす青枯病は、トマト、ナス等のナス科作物を萎凋、枯死させる重要な病害である。本病がいったん発生すると、青枯病菌は宿主植物がなくとも長期にわたり土壤中で腐生的に生存する。また、病原細菌は圃場の深層部にも分布することから、輪作や間作などの耕種的防除や土壤くん蒸剤を用いた土壤消毒を行っても本病の発生を抑えることは困難である。このような状況下で、抵抗性品種の利用が比較的安定した効果の高い防除法となっている (HAYWARD, 1991)。

トマトの場合、抵抗性品種は果実の品質が悪いため、我が国では主に接ぎ木栽培の台木として利用されている。産地化やハウスなどの施設化に伴う連作により土壤病害が多発するようになったことから、その対策として接ぎ木栽培は顕著に増加しており、なかでも青枯病対策として重要な役割を果たしている (野菜・茶葉試験場, 2001)。しかし、接ぎ木栽培を行っても青枯病の発生する事例が近年、全国各地で認められ、大きな問題となっている。

本稿では、植物体内での青枯病菌の動態および組織病理学的解析によるトマト台木用品種の青枯病抵抗性機構、およびそれに基づいた接ぎ木トマトの青枯病発病過程について解説する (中保, 2005)。また、品種抵抗性および誘導抵抗性を利用した総合的な青枯病防除の可能性について考えてみたい。

I 接ぎ木トマトの青枯病発病過程と台木用品種の抵抗性機構

1 抵抗性品種における青枯病菌の無病徵感染

土壤中に分布する青枯病菌は、まず①根の先端や二次根発生部位に定着、その後、②皮層および維管束柔組織

に感染、③木部組織に侵入、④木部組織を通じて植物体全体に広がる、の過程をたどると考えられる。その間、病原細菌が産生する菌体外多糖質およびポリガラクチュロナーゼやエンドグルカナーゼといった病原性関連タンパク質（酵素）などが木部組織の水分通導機能を低下させるため、萎凋症状が生じると考えられている (SHELL, 2000)。したがって、抵抗性品種では上記のいずれかの過程を制御していると推測される。

トマトの青枯病抵抗性は主に *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* および *S. pimpinellifolium* に由来し、ポリジーン支配であることが知られている。遺伝資源を異にする抵抗性品種および感受性品種を供試し、グロースチャンバー内で約 30 日間育成した苗の根部に青枯病菌を接種したところ、感受性品種は全身萎凋・枯死したが、抵抗性品種はほとんど発病せず、明瞭な品種間差が見られた (NAKAHO et al., 2004)。しかし、無病徵の抵抗性品種の茎部（胚軸）から青枯病菌が分離され、抵抗性品種は無病徵感染していた。同様な抵抗性品種の無病徵感染は汚染圃場での栽培試験においても観察された。このことから青枯病に対するトマトの抵抗性は、「免疫性」ではなく、感染しても発病が抑制される「耐病性」であることが確かめられた。

2 無病徵感染した台木による穂木の発病

無病徵感染している抵抗性品種を台木に用いた場合の穂木への影響を見るため、抵抗性品種と感受性品種を台木および穂木として組み合わせた接ぎ木株に接種試験を行った (NAKAHO et al., 1996)。この結果、台木が無病徵感染している接ぎ木トマトでは、台木から穂木へ青枯病菌が移行し発病することが実証された (表-1)。無病徵感染している台木は穂木への「伝染源」となる。したがって、発病率や発病程度を指標とした台木用品種の青枯病抵抗性的評価は、接ぎ木株における発病程度とは必ずしも一致しないことが明らかとなった。台木用品種の抵抗性評価には、無病徵感染の程度も指標に加えていく必要がある。

3 抵抗性品種の植物体内での青枯病菌の移行と増殖

抵抗性の台木用品種が無病徵感染する接種条件下で、植物体内の青枯病菌の動態を感受性品種と比較したとこ

Disease Progress for Bacterial Wilt by *Ralstonia solanacearum* in Grafted Tomato Plants, and Integrated Management of the Disease of Tomato with Resistant Cultivar and Induced Resistance. By Kazuhiro NAKAHO

(キーワード：トマト、青枯病、接ぎ木、抵抗性)

表-1 接ぎ木トマトにおける青枯病菌の感染と発病（接種後14日目）

接ぎ木株 (台木/穂木)	発病株率 (%) (A)	青枯病菌 検出穗木率 (%) (B)	無病微感染 穗木率 (%) (B-A)
LS-89/ポンデローザ ^{a)}	58.3	93.8	35.5
LS-89/LS-89	0	68.8	68.8
ポンデローザ/LS-89	91.7	100	8.3
ポンデローザ/ポンデローザ	100	100	0

^{a)} LS-89：抵抗性品種、ポンデローザ：感受性品種。LS-89/ポンデローザ（本来の接ぎ木栽培の組み合わせ）は50%以上が発病した。一方、LS-89/LS-89は発病が見られなかったが、穂木から青枯病菌が高率に検出された。

ろ、台木の抵抗性には根部から茎部への病原細菌の移行と増殖の抑制が関与していることが明らかとなった（NAKAHO, 1997）。接ぎ木トマトは、抵抗性台木のもつ「抑制能」により、青枯病菌を穂木に感染させないことで発病を防いでいると考えられる。同様な抑制能はタバコ、ジャガイモ、ナス、トウガラシの抵抗性品種でも報告されていることから、青枯病菌に対するナス科植物の共通の抵抗性反応と見ることもできる。

トマトにおける青枯病菌の移行と増殖の抑制は感染時の植物体が大きいほど、また栽培温度および接種細菌の濃度が低いほど顕著であり（NAKAHO et al., 1996），高濃度のカルシウム処理によっても高まった（YAMAZAKI and HOSHINA, 1995）。これらの結果から、接ぎ木トマトは台木のもつ穂木への青枯病菌の移行の抑制能により発病に至らないが、台木が「抵抗性」として働くか、青枯病菌の「伝染源」になるかどうかは種々の条件によって影響されることが示された。連作による土壤中の青枯病菌密度の増加、高温や排水不良などの栽培条件の場合には、台木の「抑制能」では青枯病菌を移行阻止するには不十分で穂木が感染し、接ぎ木トマトは発病すると考えられる。また、このことは接ぎ木栽培を総合防除体系の中で導入することにより防除効果が向上することも示唆している。

他の接ぎ木トマトの発病原因としては、①芽かき、収穫等の農作業や穂木に生じた不定根による穂木の感染、発病、②強病原性（量的）の青枯病菌による台木の発病、③高温、高湿度等の環境条件、幼苗時の感染や高度汚染圃場等による台木の発病があげられる。

4 抵抗性品種の木部組織における青枯病菌の移行抑制機構

青枯病に対する防御機構を明らかにするため、感染木

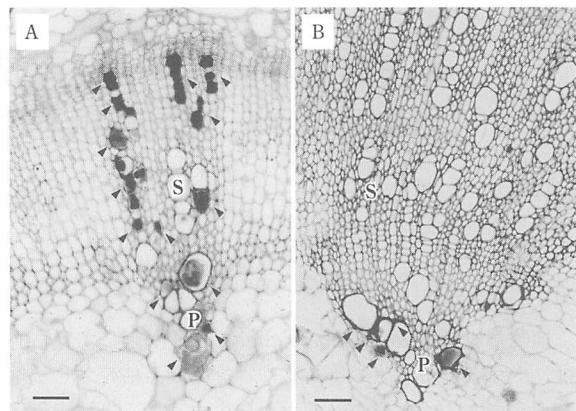


図-1 トマト感受性品種‘ポンデローザ’(A)と抵抗性品種‘LS-89’(B)の茎組織内での青枯病菌の分布

矢印：青枯病菌、P：一次木部組織、S：二次木部組織。Bar : 100 μm.

部組織を光顕および電顕を用いて組織病理学的に解析した（NAKAHO et al., 2000; 2004）。無病微感染をしている抵抗性品種の茎部（胚軸）では、青枯病菌は一次木部組織のみに存在し、発病している感受性品種株では一次および二次木部組織に分布していた（図-1）。このことから、抵抗性品種では青枯病菌は根部から茎部への垂直方向の移行が抑制されているだけでなく、茎部組織内の水平方向の移行も抑制されていることが示された。抵抗性品種は、青枯病菌を二次木部の形成に伴い水分通導機能が失われる一次木部に封じ込め、活発に機能している二次木部には移行させないことで水分通導への影響を回避し、発病を防いでいると考えられる。

木部を構成する導管は、両端にせん孔がある円筒状の導管要素が縦方向に連続してつながった管であり、末端は徐々に細くなり閉じて水が流失しない構造となっている（TYREE and ZIMMERMANN, 2002）。また、導管はその末端部が隣の導管と並列に重なり合い、水やミネラルは壁孔を通じて隣の導管を移行する。壁孔間には一次細胞壁とミドルラメラからなる壁孔膜（微細な穴が空いている）があり、細菌や胞子のような大きな粒子は通過できない。また、一細胞からなる仮導管、木部柔細胞にも同様に細胞壁に壁孔が認められる。

感受性品種の木部組織では青枯病菌が存在する導管周辺の柔細胞が崩壊し、壁孔膜の電子密度が低く、その厚さが薄くなっていた。導管および柔細胞の壁孔膜が崩壊（図-2 A, B）および消失し、青枯病菌が壁孔全体に分布している像も観察された。このことから、青枯病菌は壁孔膜が崩壊、消失した壁孔を通じて移行し木部組織全

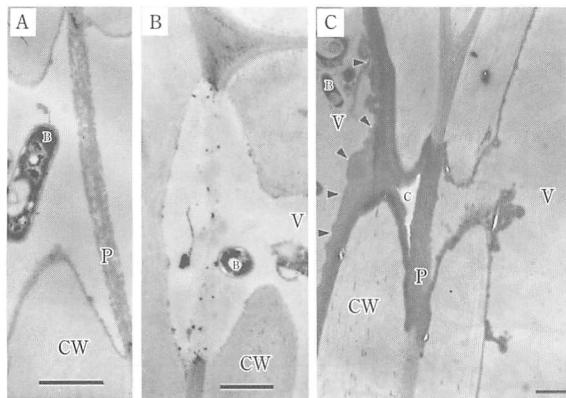


図-2 感受性品種‘ポンデローザ’と抵抗性品種‘LS-89’の青枯病菌感染木部組織の電顕写真

ポンデローザ（写真A, B）：青枯病菌（B）の存在する導管（V）の壁孔膜（P）が崩壊および消失している。LS-89（写真C）：青枯病菌（B）が存在する導管（V）内に高電子密度物質の集積（矢印）が観察される。CW：二次細胞壁。Bar: 1 μm。

体に広がると考えられる。

抵抗性品種の木部組織では青枯病菌が分布する導管周辺の木部柔細胞の壊死は少なく、病原細菌が存在する導管に接する柔細胞の壁孔膜とその周囲の細胞壁の電子密度が高くなり肥厚していた。また、壁孔膜近傍では菌体の変性が観察された。青枯病菌が存在する導管の壁孔膜およびその周辺の細胞壁に沿って高電子密度物質が集積し（図-2 C），柔細胞では壁孔膜に沿って apposition layer と呼ばれる層が形成されていた。壁孔膜の高電子密度化、高電子密度物質および apposition layer は、青枯病菌が存在する導管あるいは柔細胞の周辺でのみ観察されることから、病原細菌の侵入により特異的に侵入部位に誘導された反応であることが示された。抵抗性品種では、高電子密度物質や apposition layer による壁孔膜の強化あるいは壁孔周辺の青枯病菌の変性などによって壁孔を通じた青枯病菌の移行が効果的に抑制されているものと考えられる。図-3に、接ぎ木トマトの青枯病発病原因と台木用品種の抵抗性機構についてまとめた。

II 抵抗性（品種抵抗性、誘導抵抗性）を利用した青枯病防除

接ぎ木トマトの青枯病発病過程の解析から、接ぎ木栽培は土壤消毒や土壤改良など、他の防除法と組み合わせることで有効な防除法となることがわかった。そこで、抵抗性（品種抵抗性、誘導抵抗性）を核とした、総合的な青枯病防除技術を確立するため、総合的病害虫管理

(IPM) の基本の三点である「予防的措置」、「防除の判断」および「防除」について現状を整理し、問題点を示したい。

1 予防的措置

抵抗性品種の導入は、青枯病が発生しにくい環境を整えるための「予防的措置」に入る。トマトでは、‘LS-89’, ‘BF 興津 101 号’や‘B バリア’などの強度抵抗性（耐病性）の台木用品種が販売されている。また、抵抗性系統の‘Hawaii 7996’が‘LS-89’よりも強い抵抗性をもち、台木とした場合でも‘LS-89’より高い発病抑制効果があることが確認されている（NAKAHO et al., 2004）。一方、穂木用の品種についても接ぎ木栽培での台木から穂木への青枯病菌の感染を考慮して、抵抗性を付与した品種（母本）の育成が行われている（門馬ら, 2002）。

新しい接ぎ木栽培の手法として「高接ぎ木」による青枯病の発病抑制が報告されている（鍛治原, 2008）。「高接ぎ木」は、先に解説した台木用品種のもつ植物体内での青枯病菌の移行・増殖を抑制する機構を上手く利用した栽培方法であり、接ぎ木部位が高いほど抑制効果が認められる。さらに土壤などから穂木への直接の病原細菌の侵入を阻止することもできる。今後、接ぎ木手法の検討、栽培管理技術等の研究とともに発病抑制効果、生育、収量および品質などについて圃場レベルでの詳細な試験が必要である。

品種抵抗性と組み合わせる予防的措置として、①作期移動、②輪作体系の導入、③排水対策、④マルチや遮光資材による地温、気温の抑制の実施、⑤堆肥の施用などによる土壤改良などの耕種的防除、⑥熱水、還元、太陽熱等の土壤消毒や遮根シートなどの物理的防除、⑦土壤くん蒸剤による化学的防除などがあげられる。いずれの予防的措置も土壤中の青枯病菌密度を低下させたり高温期（条件）を回避するなど、病原細菌にとって不適な環境を作るものである。接ぎ木栽培は、深耕還元土壤消毒と組み合わせることでトマト青枯病に対して高い防除効果が認められている（小松ら, 2006）。一方で、産地化、施設化や作型などの制約により作期移動や輪作体系の導入が難しい場合や水田転換畑では排水対策が困難な場合がある。また、土壤消毒では青枯病のリサージェンスも問題となる。種々の制約の中で、接ぎ木栽培と他の予防的措置をどのようにして組み合わせるかが防除効果に関わってくる。

2 防除の判断

IPM では病害の発生状況の把握を通じて、防除の要否、タイミングを判断することが必要である。トマト青枯病の場合、発生してから回復させる防除法がないこと

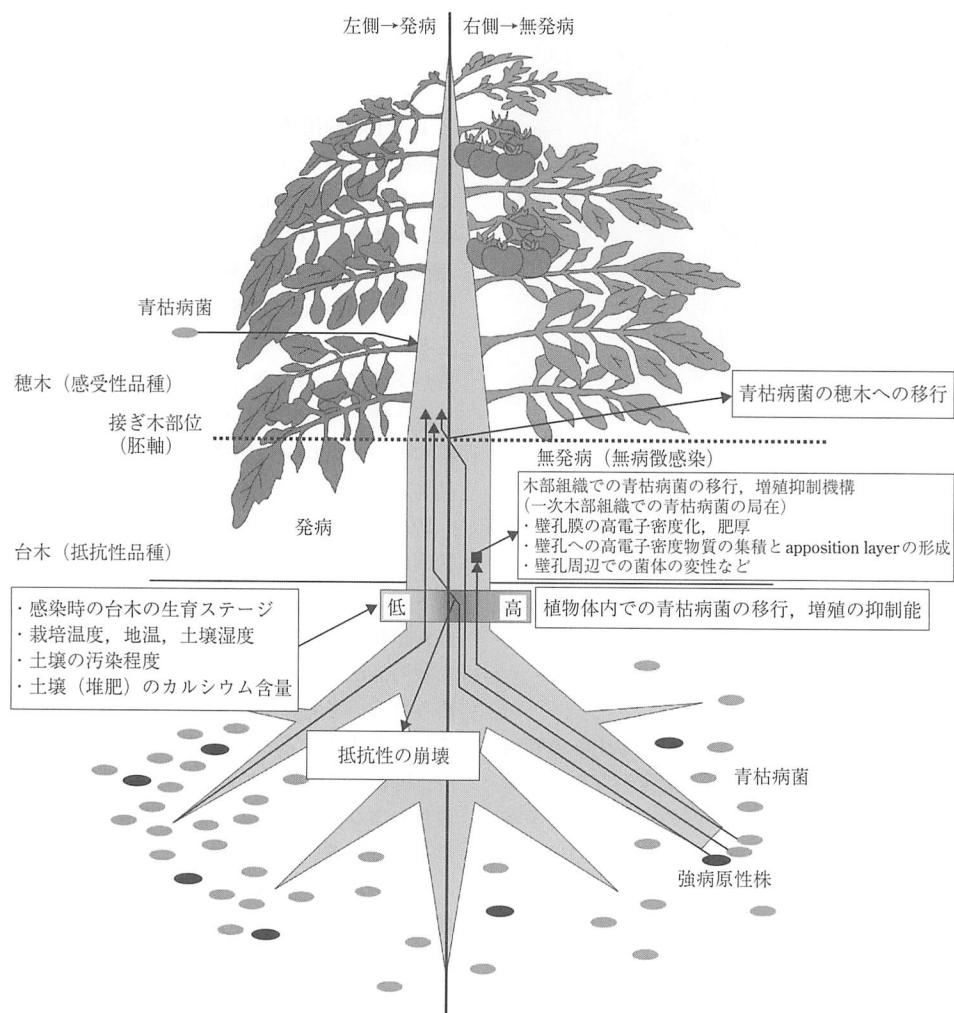


図-3 接ぎ木トマトの青枯病発病過程と台木用品種の抵抗性

- ①芽かきなどの農作業や穂木から生じた不定根を通じた穂木の感染、発病。
- ②高温、高湿度などの環境条件、幼苗時の感染や高度汚染圃場による台木の発病。
- ③強病原性の青枯病菌による台木の発病。
- ④無病徵感染した台木から穂木への移行による穂木の発病。
- ⑤台木の植物体内で青枯病菌の移行、増殖が十分に抑制され、接ぎ木トマトは無発病。

から、発病の把握・診断のためのモニタリング技術の開発はあまり進んでいない。CHIWAKI et al. (2005) は、トマト株葉温の熱赤外線画像を遠隔測定する方法（熱赤外線遠隔測定法）を提案している。本法は、最も早い場合で発病 12 日前から葉温の上昇を検出可能であり、発病予測に応用できることを示唆している。また、青枯病菌の拡散防止を目的として、トマトの腋芽の無病徵感染を検出することで、圃場での感染を非破壊でモニターする試みも行われている (STEFANI et al., 2005)。

一方、発病状況の把握や選択培地を利用した土壤中の病原細菌の汚染程度などのモニタリングは、次作の「予

防的措置」(例えば、接ぎ木栽培の導入や土壤消毒実施の要否)の判断に用いられている。近年、土壤からの青枯病菌の高感度検出法として選択培地による増菌とPCRを組み合わせた BIO-PCR 法が開発され、特異的プライマーを用いて nested PCR を行うことにより汚染圃場から本菌を 10^1 cfu/g 乾土レベルで検出が可能となっている (PRADHANANG et al., 2000; 根本ら, 2003)。同様に、増菌法と抗血清反応を利用した土壤からの青枯病菌検出が試みられている (中曾根, 2008)。青枯病菌は、宿主植物の根圏で急激に増殖するため (HAYWARD, 1991), 発病と土壤中の菌密度との関係から要防除水準を設定す

することは困難であるが、高感度検出法を活用することによって、より的確な予防的措置の要否判断が可能になると考えられる。

3 防除

IPMでは防除が必要と判断された場合には、病害の発生を経済的な被害が生じるレベル以下に抑制する多様な防除手段の中から適切な手段を選択して講じることになる。現在、土壤くん蒸剤を除き、青枯病に使用できる農薬は、散布剤としてナスで「バリダマイシン液剤」、微生物農薬としてトマト、ナス等で「シードモナスフルオレッセンス (Pf) 剤」が登録され、両剤とも誘導抵抗性が関与すると考えられている。Pf剤は、育苗期に処理することから、本圃でトマトに利用できる薬剤はない。筆者らは、酵母抽出液をトマト、ナス根部に処理することで高い青枯病発病抑制効果を認めている（中保ら、2007）。同液は、それ自身に抗菌活性がなく、タバコ葉処理時にシゲナル伝達物質のエチレンが発生することや感染特異的タンパク質の発現が認められることから、プラントアクティベーター（抵抗性誘導剤）であることが示唆されている（小原ら、2007）。また、細胞壁タンパク質がエリシター活性をもつ *Pythium oligandrum* が抵抗性を誘導し、トマト青枯病の発病を抑制することが報告されている（竹中・高橋、2007）。今後、「予防的措置」だけでなく栽培期間中でも効果があり処理可能な剤型をもつプラントアクティベーターなどが開発されれば、IPMの体系の中で誘導抵抗性を活用した「防除」が可能になり、トマト青枯病防除に大きく貢献すると考えられる。

おわりに

農林水産省（2002）の「近年の気候変動の状況と気候変動が農作物の生育等に及ぼす影響に関する資料集」によれば、青枯病は温暖化が進むにつれて増殖が盛んになり、相対的に作物の本病に対する感受性が高くなることから、被害が増加する重要な病害に位置づけられている。現在は夏季に被害が大きい青枯病が、春秋にも被害を及ぼしたり、寒冷地や高冷地にも被害を拡大する危険があることから、本病に対する早急な防除対策の確立が求められている。

これまで述べたように、青枯病のIPMにおいて、防

除を判断するためのモニタリング技術、要防除水準の設定や、それに基づいた有効な防除法が確立されていない。現状では、前作の発生状況や土壌中の青枯病菌の汚染程度などを参考に予防的措置の導入を判断している。このため、パーソ的な予防的措置を単に組み合わせる「総合防除」では効果が極めて不安定であり、核となる防除法が必要である。

接ぎ木栽培は、生物機能である「宿主抵抗性」を上手く利用した環境保全型の防除法であり、他の防除法と比べ効果も高く安定している。台木用品種の抵抗性機構や、それに基づいた接ぎ木トマトの発病過程が明らかになり、他の予防的措置と組み合わせることで台木用品種のもつ青枯病菌の移行と増殖の抑制能を高めることができることがわかった。今後、「高接ぎ木」などの接ぎ木栽培を主体として個々の予防的措置を組み合わせた試験結果を蓄積していく必要がある。現状では難しいが、宿主抵抗性とプラントアクティベーターを利用してIPM体系の構築も望まれる。抵抗性トマト品種は耐暑性もあわせもつことが知られており（HAYWARD, 1991），温暖化が進む中で抵抗性を核とした持続的な青枯病総合防除技術の開発がますます必要になってくると考えられる。

引用文献

- 1) CHIWAKI, K. et al. (2005) : J. Agric. Meteorol. 61 : 153 ~ 164.
- 2) HAYWARD, A. C. (1991) : Annu. Rev. Phytopathol. 29 : 6587.
- 3) 鍛治原寛 (2008) : 植物防疫 62 : 85 ~ 86.
- 4) 小松 勉ら (2006) : 北日本病虫研報 57 : 42 ~ 46.
- 5) 門馬信二ら (2002) : 野菜研研報 1 : 23 ~ 35.
- 6) NAKAHO, K. et al. (1996) : Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62 : 234 ~ 239.
- 7) _____ (1997) : ibid. 63 : 83 ~ 88.
- 8) _____ et al. (2000) : J. Phytopathol. 148 : 181 ~ 190.
- 9) _____ et al. (2004) : J. Gen. Plant Pathol. 70 : 115 ~ 119.
- 10) 中保一浩 (2005) : 新しい作物保護の展開, ソフトサイエンス社, 東京, p. 72 ~ 81.
- 11) _____ら (2007) : 日植病報 73 : 276.
- 12) 中曾根渡 (2008) : 植物防疫 62 : 80 ~ 84.
- 13) 根本和後ら (2003) : 同上 69 : 41 ~ 42.
- 14) 農林水産省 (2002) : 近年の気候変動の状況と気候変動が農作物の生育等に及ぼす影響に関する資料集, p. 166.
- 15) 小原直美ら (2007) : 日植病報 73 : 94 ~ 101.
- 16) PRADHANANG, P. M. et al. (2000) : Plant Pathol. 49 : 414 ~ 422.
- 17) STEFANI, E. et al. (2005) : J. Plant Pathol. 87 : 167 ~ 171.
- 18) SCHELL, M. A. (2000) : Annu. Rev. Phytopathol. 38 : 263 ~ 292.
- 19) 竹中重仁・高橋英樹 (2007) : 植物防疫 61 : 559 ~ 564.
- 20) TYREE, M. T. and M. H. ZIMMERMANN (2002) : Xylem Structure and the Ascent of Sap, 2nd ed., Springer-Verlag, Heidelberg, 283 pp.
- 21) YAMAZAKI, H and T. HOSHINA (1995) : HortScience 30 : 91 ~ 93.
- 22) 野菜・茶葉試験場 (2001) : 野菜試験資料 9 : 1 ~ 128.