

# トマトかいよう病の診断法と防除対策

北海道立花・野菜技術センター 小 松 勉

## はじめに

トマトかいよう病は *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* により引き起こされる病害で、本病原菌は数少ないグラム陽性の植物病原細菌としても知られている。本病は1958年に北海道で発見され（成田・馬場, 1959）、60年代には道内各地で発生が認められた。その後1998年ごろから全国的に発生が広まり、近年トマト栽培において大きな問題となっている病害である。

本病は種子伝染性の病害で、かいよう病菌は罹病トマトの維管束内を移行して果実内部へ侵入し、種子内部に保菌される。また、種子表面への付着汚染も認められている。種子発芽後は感染菌が子葉や胚軸に移行して気孔や傷口などから侵入するが、幼苗で発病することはほとんどなく、潜在感染苗として本圃に定植された後、発病が見られる場合が多い。

本病には小葉が黒褐色に変色して枯死する症状（口絵①）と莖葉が萎凋し（口絵②）、その後枯死する症状の2種類が見られる。萎凋症状が進行すると、莖内部の柔組織が粉状に崩壊し空洞化する。果実では白色でわずかに盛り上がった斑点が生じ、後に灰色から褐色になって堅くなり中心部に亀裂が生じる鳥目症状が見られる（口絵③）。しかし、典型的なかいよう病の症状を示さない萎凋症状の場合（折原, 2001）もあり、他の萎凋症状を呈する病害との判別に苦慮する場合がある。

## I 選択培地の利用

トマトに萎凋症状を呈する病害として、かいよう病のほか、同じ細菌病である青枯病、糸状菌による萎凋病、半身萎凋病などがあり、これらの病害との判別方法も必要である。萎凋性の病害では通常維管束の褐変が観察されるが、罹病組織の検鏡により維管束褐変部位から菌泥の噴出が観察されれば細菌病と判断できる。かいよう病の場合、青枯病に比較して菌泥の流出に時間がかかる場合があり、切片に水を滴下してからしばらくの間観察したほうがよい。また、かいよう病の場合、青枯病に比較

して着色が薄く、維管束全体の褐変は見られない場合があるので注意する。一般的な診断方法として、褐変部分の組織を1%ペプトン水中で磨砕し、汁液を白金耳で細菌培養用の平板に画線し培養することによって分離可能であり、分離した細菌の諸性質を検討することによりかいよう病であるかを判定する。しかし、本法では時間と労力を要するため、かいよう病菌の検出、診断をより迅速に行うことが求められる。かいよう病菌には選択分離培地が開発されており、D2 (KADO and HESKETT, 1970)、SCM (FATMI and SCHAAD, 1987)、SMCMM 培地（白川・佐々木, 1988）などがあるが、かいよう病菌の選択性をトマトを用いて検討したところ SMCMM 培地上でかいよう病菌が平滑な黄色の特徴的なコロニーとなり、雑菌混入も少なく選択性が高いと考えられた。発生現場で活用できる SMCMM 培地を用いた簡便な診断法について検討したところ、罹病莖を切断し、断面を平板に押しつけるスタンプ法によってかいよう病菌コロニーが識別可能であった（口絵④）。なお、スタンプ法では表皮などの雑菌による汚染を防ぐため、莖を70%エタノールなどで表面殺菌しペーパータオルなどで水分を拭き取ってから清潔なカッターナイフで切断するとよい。また、SMCMM 培地平板に罹病葉の磨砕汁液を塗布することによってもかいよう病菌のコロニーを観察できる。安藤・赤坂 (1995) は、ペンチでトマト莖を挟んで汁液を絞り、SMCMM 培地平板に滴下する方法でかいよう病菌のコロニーを確認している。かいよう病菌の選択培地による検出は簡便で利用しやすいが、培地作成に当たり滅菌、無菌操作、数種の抗生物質添加等が必要で、試験研究機関でなければ対応が難しい技術と考えられる。当センターも農業改良普及センターなど関係機関からの要望により SMCMM 培地平板を作成、送付し、診断に利用してもらっている。しかし、SMCMM 培地を現場で利用していく過程で、枯死個体や土壌からのかいよう病菌の検出は困難な場合が見られた。また、選択培地におけるコロニー出現の有無のみではかいよう病と診断することは困難な場合があり、診断に当たっては病徴、特に葉の枯れ方をよく観察し、他の萎凋症状を呈する病害とのおおまかな判別を行ったうえで選択培地による結果を利用するのが適当と考えられる。このように、選択培地は選択性があるものの完璧ではないため、より感度の高

Control and Diagnosis Method of Bacterial Canker of Tomato.  
By Tsutomu KOMATSU

(キーワード: トマト, かいよう病, 選択培地, 温湯消毒, 土壌消毒)

い検出法が検討されている。

## II 血清学的検出

血清学的検出法については、白川・佐々木 (1990) がかいよう病菌の抗血清から酵素結合抗体を作成し ELISA 法により接種植物体からかいよう病菌の検出を行い、生葉 1 g 当たり  $10^6$  cfu の菌量であれば検出できることを報告している。しかし、問題点として検出感度が *Pseudomonas* 属菌の場合よりも低かったことや、土壌からの検出はできなかったことが挙げられている。草野ら (2001 a) は抗体をビオチン標識することによる ELISA の検出感度向上を試み、DAS-ELISA 法により感染初期のトマト植物体および土壌からのかいよう病菌の検出が可能であることを報告している。また石井・嶽本 (2001) は、より多試料の検定を行う方法としてシート上で抗原抗体反応を行う DIBA (Dot Immuno-Bindig Assay) 法、さらにこれを簡便化し、罹病植物葉断面をシートに押しつけて DIBA 法を行う TPI (Tissue Printing Immunoassay) によりかいよう病菌の検出が可能であったことを報告している。近年、血清学的検出が RIPA (Rapid Immuno-filter Paper Assay) 法としてキット化されており、かいよう病についても ImmunoStrip™ Cmm (Agdia 社, Indiana, USA) が市販されている。谷名ら (2007) はこれを用いて土壌中の罹病トマト残渣根からかいよう病菌が検出できることを報告し、かいよう病菌の迅速な検出に有効であるとしている。このような検出キットについては、価格面などを考慮する必要はあるが、生産現場でも利用可能な迅速で特異性の高い検出法として今後利用する機会が増加するのではないかと考える。

## III 分子生物学的検出

PCR による検出方法も検討されており、DREIER et al. (1995) は、病原性に関与するプラスミド *pat-1* 部位の塩基配列からトマトかいよう病菌の特異的プライマーである CMM-5 および CMM-6 を作成し、感染植物組織や汚染種子から PCR によりかいよう病菌の検出が可能であることを報告している。PASTRIK and RAINEY (1999) は、IGS 領域の塩基配列から設計した特異的プライマーにより *C. michiganensis* ほかの亜種 (ジャガイモ輪腐病 subsp. *sepedonicis*, アルファルファ萎凋細菌病 subsp. *insidiosus*, トウモロコシ葉枯細菌病 subsp. *nebraskensis* 等) との判別が可能であることを報告している。当センターでも、かいよう病菌の診断に当たって SMCMM 培地平板への罹病茎断面のスタンプ法による診断と併せ、

罹病組織から核酸を抽出し CMM-5, 6 を用いた PCR によりかいよう病であることを確認している。

また、SMCMM 培地を用いた希釈平板では、かいよう病菌の土壌からの検出や定量が困難であったことから、土壌消毒の効果を確認するため、景山ら (2003) の方法により土壌から直接核酸を抽出した。かいよう病菌の存在について PCR により検定を行ったところ、消毒前の土壌からかいよう病菌が検出されたものの消毒後の土壌からは検出されず、土壌消毒の効果を推定できた。

PCR による細菌類の検出について、トマト青枯病菌などでは罹病植物から作成した汁液を直接テンプレートとして用いた場合でも検出可能である。しかし、かいよう病菌はグラム陽性細菌であるため、汁液や平板上で出現したコロニーを直接 PCR テンプレートして用いることは困難であった。草野ら (2001 b) は、罹病果実からの果汁を遠心分離した上清を直接 PCR に用いて検出可能であると報告している。また草野ら (2001 c) は、ろ紙に感染植物の汁液を付けて乾燥させたものをテンプレートして利用する Print-capture PCR について検討し、汁液付着ろ紙を直接テンプレートしては利用できなかったものの、緩衝液でかくはんしたものが利用できることを報告している。当センターでも SMCMM 平板上で出現したコロニーを用いて PCR を行う場合、TE Buffer に菌体を懸濁したものをテンプレートして用いて良好な結果を得ている。特異プライマーによる PCR は高感度で、簡便な操作と短時間で検出が可能なことから試験研究機関などでは広く利用されていると考える。

## IV 種子消毒

本病は種子伝染性の病害であり、健全種子の使用が発生を防ぐ最良の手段である。しかし、生産現場において種子の汚染が心配される場合、種子消毒が必要である。かいよう病菌は熱に弱いので、熱による消毒が有効であるが、トマト種子は熱に弱く、熱処理により発芽不良が引き起こされるので注意が必要である。現在、各府県において、かいよう病の種子消毒法として乾熱消毒と温湯消毒がそれぞれ指導されている。乾熱消毒では、80℃ 48 時間、85℃ 24 時間処理、処理後乾燥状態で 2 か月間保存する方法、温湯消毒では、55～56℃ 25～30 分浸漬処理が有効とされている (植松, 1999)。北海道においても本病の対策として 55℃ 25 分温湯消毒による種子消毒法が指導されているが、その方法は二重なべを用いて温度を一定に保つというもので、現場ではほとんど利用できなかった。

そこで、近年水稻の種籾消毒で導入されている温湯種

表-1 温湯種初消毒機による種子消毒の効果と発芽率への影響

処理区	かいよう病菌 分離率 (%) <sup>a)</sup>	発芽率 <sup>b)</sup> (%)
54℃ 40分	0.0	93.8
55℃ 25分	0.0	92.7
55℃ 40分	0.0	65.6
56℃ 20分	0.0	83.3
無処理	12.8	99.0

<sup>a)</sup> かいよう病汚染種子での試験 (n = 52). <sup>b)</sup> 市販種子での試験 (n = 64). いずれも3反復以上の平均値.

初消毒器 (湯芽工房, (株)タイガーカワシマ) を用いてかいよう病汚染種子の消毒効果および発芽率への影響を調査したところ, 消毒器の設定温度維持能は高く, トマト種子の消毒に有効であると考えられた。北海道における指導内容の55℃25分を中心に様々な温度・時間で試験を行った結果, 55℃25分および54℃40分の温湯消毒により消毒効果と発芽率の維持が得られた(小松・堀田, 2006; 表-1)。

水稻の温湯種初消毒器によるトマト種子の温湯消毒は有効と考えられた。ただし, 温湯消毒後は速やかに水道水などで冷却し種子温度を下げることで, 種子が吸水するので消毒後ただちに播種することが必要である。また, 温湯消毒を行うと無処理に比較し発芽揃いが3~5日程度遅れるので注意する。ただし, コート種子は温湯消毒ができないため乾熱消毒を行う必要があるが, 北海道内におけるコート種子の乾熱消毒の試験事例はなく, 消毒効果や発芽率への影響は不明である。また, 本病汚染種子の消毒に酸 (乳酸や酢酸) を用いる方法も検討されているが, 現場で実施することは難しいと考える。

汚染種子をそのまま播種した場合, 発芽後灌水などにより苗床での伝染が考えられるが, 薬剤散布を行っても防除効果は認められておらず (佐々木, 1987), 苗床での感染拡大防止は難しい。

## V 本圃における第二次伝染の防除

本圃においては, かいよう病の発生が確認されても株が急激に萎凋することはなく, 発病を見逃したまま栽培管理が行われ, 芽かきなど管理作業により圃場内で拡大する場合は頻繁に見られる。したがって, 管理作業による第二次伝染防止策として剪定鋏の消毒, 発病が確認された株の早期抜き取りなどが必要である。漆原・原 (2002) は摘芽時に使用する鋏に70%カルシウムハイポクロライド500倍液を自動的に噴霧する装置を開発し,

表-2 青枯病抵抗性台木のかいよう病に対する抵抗性評価

品種名	発病度 <sup>a)</sup>	対ハウス 桃太郎比
ベスパ	40.1	52
Bバリア	42.2	55
助っ人	42.8	56
新メイト	52.7	69
がんばる根	58.3	76
PFNT2号	65.6	86
マグネット	69.8	91
スーパー良縁	78.3	102
PFNT1号	79.7	104
桃太郎ファイト	66.7	87
ハウス桃太郎	76.6	100

<sup>a)</sup> 発病度は次の指数により算出した (n = 24).

1: 葉先に萎れ, 2: 葉全体に萎れ, 3: 全体に萎れ, 4: 枯死. 試験は2反復行った.

本病第二次伝染の防止技術として活用している。また, 株同士の接触などによる拡大防止のためカスガマイシン・銅水和剤の茎葉散布を行うことも有効である。

## VI 土壌伝染の防除

かいよう病が圃場内で発生した場合, 感染した茎葉や根が地中に残り土壌伝染源となるため, 次作トマトにおける発病を防止するための対策が必要である。土壌病害が発生した場合, 抵抗性品種を利用することが考えられるが, かいよう病に対する抵抗性について接種試験により検討したところ多少の品種間差は見られるものの, 大玉, 中玉, ミニトマトいずれの品種でも抵抗性と考えられる品種はなかった。また, 抵抗性台木も市販されておらず, 市販の青枯病抵抗性台木品種について接種試験によりかいよう病の抵抗性を検討したが, 特に抵抗性と考えられる品種はなく (表-2), 現状では品種により本病を回避することは困難である。土壌伝染を防止するために土壌消毒が必要となるが, かいよう病に対する土壌くん蒸剤の登録薬剤はない。そのため薬剤以外の消毒方法として, ①通常の太陽熱消毒, ②太陽熱消毒から石灰窒素と稲わら施用を除いた深耕, 灌水, 被覆のみの簡易太陽熱消毒, ③米ぬかを散布し深耕, 灌水, 被覆を行う還元消毒, ④熱水消毒について検討した。①太陽熱消毒および②簡易太陽熱消毒では, 土壌深40cm部分の地温が1か月程度30℃以上に確保された場合, かいよう病の防除効果が得られた (表-3)。③還元消毒の効果は確認できなかったが, 還元消毒の処理時期が通常よりやや

表-3 かいよう病に対する土壌消毒の防除効果

処理法	維管束褐変株率 (%)	かいよう病菌分離株率 (%)	防除価
還元消毒	22.2	15.9	22
簡易太陽熱消毒	7.8	3.1	85
無処理	34.4	20.3	

2004年5月25日にかいよう病接種苗(品種:ハウス桃太郎)を定植し,7月30日まで栽培し罹病残渣を鋤込んだ。還元消毒:2004年9月15日~10月15日まで処理。簡易太陽熱消毒:2004年8月4日~9月1日まで処理。2005年5月26日定植(品種:ハウス桃太郎),8月23日発病調査。1処理64株で反復はなし。

表-4 トマトかいよう病に対する熱水土壌消毒の効果

	ハウス	出現密度 <sup>a)</sup>	出現コロニーのPCRによる確認 <sup>b)</sup>	備考
処理前	A	$9.77 \times 10^4$	+	
	B	$2.14 \times 10^4$	+	
処理後	A	$7.30 \times 10^2$	-	検出限界以下
	B	$2.48 \times 10^2$	-	検出限界以下

<sup>a)</sup> 乾土1g当たりのSMCMM培地平板に出現した黄色平滑なコロニー数。<sup>b)</sup> +:かいよう病菌の反応を確認, -:かいよう病菌ではない。

遅かったため,温度不足により消毒できなかったのか,本病に対して還元消毒そのものの効果が低いのかは十分検証できていない。現時点では,かいよう病対策の土壌消毒法として還元消毒は不向きと考えられる。④熱水消毒の効果は高く,消毒前後の土壌をSMCMM培地を用いて希釈平板法により黄色平滑なコロニー数を計測し,さらに平板から分離した菌株についてPCRによりかいよう病菌の検定を行ったところ消毒後の土壌からかいよう病菌は検出されなかった(表-4)。また,消毒翌年のトマト栽培においても本病の発生は見られなかった。以上のことから,かいよう病に対しては熱による消毒の効果が高いと考えられる。かいよう病の土壌伝染について

は,土中よりも表層に罹病残渣が存在する場合に発病が増加することが報告されており(大谷ら,2007)土壌消毒についても表層の残渣を処理することにより防除効果が高まると考えられる。そのため,土壌深部の消毒には不向きとされる蒸気消毒などについても,本病発生土壌の消毒効果が得られるのではないかと考える。

## おわりに

かいよう病の発生が近年頻繁に見られるようになったことは,健全種苗の供給という生産現場における大前提を揺るがす大きな問題であると考えられる。

またかいよう病は,発生が単発的であったり,被害が青枯病ほど深刻になっていないことから,土壌消毒剤の登録試験や抵抗性品種の育成などの対策が十分にされていない。今後,健全種苗の供給とともに感染の拡大防止や効率的な土壌消毒法,抵抗性品種などについて知見が進むのを期待する。

## 引用文献

- 1) 安藤義一・赤坂安盛(1995):北日本病虫研報 46:68~71.
- 2) DREIER, J. et al. (1995): Phytopathology 85:462~468.
- 3) FATMI, M. and N. W. SCHAAD (1987): ibid. 78:121~126.
- 4) 石井貴明・嶽本弘之(2001):福岡県農業総合研究所報告 20:42~47.
- 5) KADO, C. I. and M. G. HESKETT (1970): Phytopathology 60:969~976.
- 6) 景山幸二ら(2003):J. Gen. Plant Pathol. 69:153~160.
- 7) 小松 勉・堀田治邦(2006):日植病報 72:86(講要).
- 8) 草野成夫ら(2001a):九州病虫研報 47:9~12.
- 9) ————ら(2001b):同上 47:154(講要).
- 10) ————ら(2001c):日植病報 67:214(講要).
- 11) 大谷洋子ら(2007):関西病虫研報 49:31~33.
- 12) 折原紀子ら(2001):関東東山病虫研報 48:41~44.
- 13) 成田武四・馬場徹代(1959):北日本病虫研報 10:87~88.
- 14) PASTRIK, K. H. and F. A. RAINEY (1991): J. Phytopathology 147:687~693.
- 15) 佐々木次雄(1987):北日本病害虫研報 38:40~42.
- 16) 白川 隆・佐々木次雄(1988):日植病報 54:540~543.
- 17) ———— (1990):野茶試研究報告 C1:75~83.
- 18) 谷名光治ら(2007):日植病報 73:268(講要).
- 19) 植松 勉(1999):種子伝染病の生態と防除,日本植物防疫協会,東京,p.268~270.
- 20) 漆原寿彦ら(2002):関東東山病虫研報 49:39~41.