

カルシウム吸収によるトマト青枯病抵抗性の向上に関する研究[†]

山 崎 浩 道*

(平成 15 年 10 月 31 日受理)

Studies on the Enhancement of Resistance to Bacterial Wilt of
Tomato by Calcium Uptake

Hiromichi YAMAZAKI

Synopsis

To contribute to the development of new integrated practices for the control of soilborne diseases, the relation between the development of bacterial wilt, a serious soilborne disease induced by *Ralstonia solanacearum*, and calcium (Ca) nutrition in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedlings was investigated. Increased application of Ca in the soil or increased Ca concentrations in the nutrient solution reduced the disease severity in the seedlings of resistant cultivars, and decreased the populations of the pathogen in stems. This Ca-dependent resistance was also observed in susceptible tomato seedlings grafted onto rootstocks of a highly resistant cultivar, and in various resistant cultivars. The resistance was affected by the Ca concentration after infection with the pathogen, but not before infection, suggesting that the Ca concentration in plant tissues after infection might regulate the expression of the resistance. When varietal differences in the resistance and nutrient uptake by the seedlings were examined, highly resistant cultivars were characterized by a high Ca uptake. This characteristic of high Ca uptake in the cultivars was due to differences in the Ca uptake of the roots, based on the results of experiments using mutually grafted seedlings of cultivars differing in resistance. Fertilization of solutions containing high concentrations of Ca was effective on the suppression of the disease. Moreover, application of composts with various Ca concentrations reduced the disease severity, and the degree of reduction was correlated with the increase of the Ca uptake in shoots. These results may contribute to the new integrated practices for the control of bacterial wilt in tomatoes.

Key Words: bacterial wilt, calcium uptake, disease resistance, *Lycopersicon esculentum*, *Ralstonia solanacearum*, tomato

		種の発病に及ぼす影響	5
	目 次	2 培養液養分濃度がトマト青枯病抵抗性品種の 発病に及ぼす影響	9
I 緒 言	2	III カルシウム吸収とトマト青枯病抵抗性との関係	13
II 養分吸収がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及 ぼす影響	5	1 カルシウム吸収が抵抗性品種における青枯病 菌の増殖に及ぼす影響	13
1 肥料および資材施用がトマト青枯病抵抗性品			

〒514-2392 三重県安芸郡安濃町草生 360
企画調整部

* 現 独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構東北農業研究センター総合研究部

† 本論文は東北大学学位審査論文(平成 14 年 4 月)を基に編集・加筆したものである。本報告の一部は、土肥誌, 64, 325-328 (1993); HortScience, 30, 91-93 (1995); Soil Sci. Plant Nutr., 42, 203-208 (1996); 土肥誌, 69, 76-78 (1998); Soil Sci. Plant Nutr., 45, 1009-1014 (1999); Soil Sci. Plant Nutr., 46, 529-534 (2000); Soil Sci. Plant Nutr., 46, 535-539 (2000); Jpn Agric. Res. Q., 35, 163-169 (2001) において発表した。

2 カルシウム吸収がトマト接ぎ木苗の青枯病の発病に及ぼす影響	18
3 カルシウム吸収とトマト青枯病抵抗性の品種間差異との関係	20
IV カルシウム吸収によるトマト青枯病抵抗性の向上に関わる要因の検討	23
1 接種前後の培養液カルシウム濃度処理が抵抗性品種の発病に及ぼす影響	23
2 トマト青枯病抵抗性品種間におけるカルシウム吸収の差異	26
3 トマト相互接ぎ木苗のカルシウム吸収と青枯病抵抗性との関係	30
V トマト青枯病の発病抑制を目的としたカルシウム施用法の開発	32
1 被覆カルシウム資材の施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響	32
2 カルシウムのかん水同時施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響	35
3 有機物施用がトマトのカルシウム吸収および青枯病の発病に及ぼす影響	39
VI 総合考察	43
1 植物体カルシウム濃度の差異によるトマト青枯病抵抗性発現調節のメカニズム	43
2 トマト青枯病の発病抑制を目的とした効率的カルシウム施用法	45
VII 摘 要	48
引用文献	49
Summary	55

I 緒 言

我が国の野菜栽培では、同一ほ場に同一作物を毎年栽培する連作が広く行われ、それに伴う生育障害、すなわち連作障害の発生が大きな生産阻害要因となっている（野菜試験場，1984）。この連作障害の主因は、土壤伝染性病原菌によって引き起こされる土壤病害であり、ナス科作物の青枯病やアブラナ科作物の根こぶ病などの難防除土壤病害が全国的に大きな被害をもたらしている。

この土壤病害への対策としては、臭化メチルなどの薬剤による土壤消毒や抵抗性品種の栽培あるいは抵抗性台木を用いた接ぎ木栽培が有効であり、多くの生産現場でそれらの手法が用いられている。しかし、土壤消毒剤の使用については、多くの剤が人体に有毒であり、また有機農業への関心が高まっていることから、その使用が制

限・自粛される傾向にあるほか、代表的な土壤消毒剤である臭化メチルについては、その地球環境への悪影響から使用が禁止されることが決定されている（楯谷，1996）。また、抵抗性品種・台木の利用についても、その抵抗性が病原菌のレース交代や環境条件等によって崩壊または低下する現象が広く認められており、その不安定性が指摘されている（山川，1978）。そのため、耕種的手法等の種々の防除技術を総合的に活用した土壤病害総合防除技術の確立が強く求められている。

一方、野菜栽培では、肥料・資材の多量投入が慣行的に行われ、それに伴う養分の過剰蓄積・アンバランス化等の土壤理化学性の悪化が広く認められる（土屋，1990；谷本，1991）。このような場合には、土壤理化学性の悪化に伴う作物栄養状態の攪乱が各種病害の誘因となることが指摘されており、「栄養病理複合障害」と称される（西尾，1984）。本現象は作物の栄養状態と各種病害の発病との間に密接な関連があることを示唆しており、その関係解明は生産現場における土壤病害多発の原因解明につながるとともに、その制御技術の開発は、土壤病害の新たな対策技術に発展する可能性がある。

前記の作物栄養状態と各種病害の発病との関係については、各種養分の施用が発病に及ぼす影響を検討した多くの研究があり、各種養分（HUBER，1981）あるいは病害毎（ENGELHARD，1989）にその作用が概説されている。養分元素のうち、窒素、リン酸、カリウム、マグネシウムの施用が発病に及ぼす影響については、作物と病害との組み合わせにより助長および抑制の双方の場合がみられ、その上、同種の病原菌による病害においても相反する結果が得られている場合があるなど、一定の傾向は認められていない（HUBER，1981）。一方、カルシウムの施用は、数種の例外を除き、多くの病害の発生に抑制的に作用することが示されている。また、病害毎に養分施用の影響をみた場合にも、各種作物の *Fusarium* 属菌による萎ちょう病、*Sclerotium rolfsii* による白絹病、*Pythium* 属菌による立枯病、根腐病、綿腐病、アブラナ科野菜の根こぶ病、ジャガイモ軟腐病などでカルシウム施用による発病抑制が認められている（ENGELHARD，1989）。このように、カルシウムの施用による発病抑制現象は、多くの作物と病害との組み合わせで認められているが、ほとんどの事例でその作用機構の解明はなされていない。

想定されるカルシウムの作用機構としては、まず、カルシウム資材の施用による土壤カルシウム濃度の上昇が病原菌の生育を直接阻害する可能性が考えられる。例え

ば、数種の*Pythium*属菌および*Phytophthora*属菌では、カルシウムの土壤施用あるいは高カルシウム濃度培養液により、宿主への感染過程におけるいくつかの段階で菌の生育が阻害され、そのために発病が抑制される (Koら, 1989; VON BROEMBSSENら, 1997). 次に、カルシウム資材の施用による土壌 pH の上昇が発病抑制に関与する可能性がある. この例としてはアブラナ科作物の根こぶ病の発病が土壌の高 pH 条件下で抑制される現象が認められている (CAMPBELLら, 1985; WEBSTERら, 1991).

一方、上記のような土壌中におけるカルシウムあるいは pH と病原菌との相互作用の他に、カルシウム施用による作物のカルシウム吸収の増加が各種病害の発病を抑制する事例がトマト萎ちょう病 (木谷ら, 1957; EDGINGTONら, 1958; CORDEN, 1965), トマトかいよう病 (FORSTERら, 1975; BERRYら, 1988), ハクサイ根こぶ病 (WEBSTERら, 1991), メロンつる割病 (SPIEGELら, 1987), トマト, ナス, トウガラシ, キュウリ, バラの灰色かび病 (VOLPINら, 1991; ELADら, 1992, 1993; STARKEYら, 1997), タマネギ黒かび病 (田中ら, 1990), ジャガイモ, アブラナ科作物の軟腐病 (McGUIREら, 1984; FLEGOら, 1997), 各種作物の苗立枯病 (BATEMANら, 1965; Koら, 1989), リンゴの数種貯蔵病害 (CONWAYら, 1992) 等で認められている. このような事例が数多く存在していることは、作物のカルシウム吸収の増加による発病抑制が広範囲にみられることを示唆しており、効果的なカルシウム施用法により人為的にカルシウム吸収を高めることで各種作物の病害の発生を抑制できる可能性を示している.

一方、カルシウム吸収の増加による発病抑制のメカニズムは、詳細に明らかにされていないが、いくつかの可能性が指摘されている. 数種の病害では、カルシウムによる細胞壁ペクチン分子間の架橋が増加することにより細胞壁の構造が強固となり、病原菌の産生する病原性因子である各種ペクチン分解酵素に対して耐性となることが発病抑制の一因とされている (BATEMANら, 1965; McGUIREら, 1986; CONWAYら, 1988, 1992; TOBIASら, 1993). また、トマト萎ちょう病では、砂耕で培養液カルシウム濃度を高めた場合に発病が著しく抑制され、このときの木部いっ泌液と同濃度のカルシウム濃度において、菌が産生するペクチン分解酵素の一つであり、病原性因子の一つとされるポリガラクトクロナーゼの活性が著しく阻害された (CORDEN, 1965). このような病原菌が産生するポリガラクトクロナーゼのカルシウムによ

る活性阻害は、他の病原菌においても認められている (PAGEら, 1990; VOLPINら, 1991). なお、FLEGOら (1997) は植物体内カルシウム濃度によりアブラナ科作物等軟腐病菌のポリガラクトクロナーゼ遺伝子の発現自体が抑制されることを報告している. この他、バラ灰色かび病では、高カルシウム濃度培養液で栽培した切り花で発病が抑制され、同時にエチレンの生成が抑制されたことから、発病抑制に対するエチレンの関与が示唆されている (VOLPINら, 1991).

なお、上記に示した事例の多くは、対象病害に対する抵抗性を持たないり病性品種を用いて得られた結果であることに注意する必要がある. 野菜栽培では、問題となる病害に対する抵抗性を持つ品種あるいはそれを台木とした接ぎ木植物の栽培が広く行われている (山川, 1978; 小田, 1993; 野菜・茶業試験場, 2001) が、品種の持つ病害抵抗性と養分条件、とくにカルシウム吸収との相互作用についての研究はほとんどなされていない. したがって、品種の抵抗性と養分吸収、とくにカルシウム吸収との関係を詳細に明らかにすることは、新たな知見となるだけでなく、抵抗性品種の利用とカルシウム施用によるその抵抗性の向上とを組み合わせた新たな総合防除技術を提示できる可能性がある.

本研究で対象としたトマト青枯病は、*Ralstonia solanacearum* を病原菌とする土壌病害である (YABUCHIら, 1995). 本病原菌はトマト、ナス、ピーマン、トウガラシ、ジャガイモ、タバコ等のナス科作物に対して病原性をもつほか、50 科 200 種以上の植物に病原性を示す (HAYWARD, 1991). 本病の発病適温は 30℃付近であることから、本病は高温期に多発し、我が国だけでなく世界的にも熱帯、亜熱帯および温帯の温暖地域でのトマト生産に大きな被害を及ぼしている. 病原菌は根から侵入し、木部組織に進展して地上部に移行した後、茎の木部で増殖し、菌体および菌が産生する菌体外多糖類等が木部組織の水分通導機能を弱め、典型的な病徴である萎ちょう症状をもたらす (VASSEら, 1995). 本菌は土壌深部においても長期間生存可能であるため、土壌消毒による防除が不完全となる場合が多く、本病は難防除土壌病害となっている. そのため、本病の対策として、抵抗性品種の育成がトマト近縁野生種等との交雑により進められてきたが、高度抵抗性と果実の実用形質を併せ持つ自根栽培用品種は未だに育成されていない (門馬, 1997). 一方、高度抵抗性をもつ台木品種が導入・育成されていることから、我が国では抵抗性台木を用いた接ぎ木栽培が青枯病対策として広く行われている (山

川, 1978; 小田, 1993; 門馬, 1997; 野菜・茶業試験場, 2001). なお, 本病に対する耕種の防除法として, 遮根シートを用いた栽培法が開発・実用化されている(上原, 1988)が, コスト, 労力等の点から広く普及するには至っていない. また, 非病原性青枯病菌(Trigaletら, 1990; Furuyaら, 1991; Arwiyantら, 1993)および拮抗微生物(Phaeら, 1992)による生物防除の試みも行われ, 一部で実用化の段階に達している(相野, 1993)が, 効果の不安定性等の問題からやはり広く普及するには至っていない.

青枯病対策として利用されている抵抗性品種および台木品種の抵抗性は, 複数遺伝子が関与するポリジーン支配とされる(山川, 1978). そのために, 抵抗性は完全ではなく, 高温, 断根, 過湿等の環境条件により, り病化すること(Krauszら, 1975; Dateら, 1994)が知られており, 実際に接ぎ木栽培での発病が全国的に大きな問題となっている.

これまでに, 多くの抵抗性品種で無病徴の状態であっても茎より高率に菌が分離され, 無病徴感染が生じていることが明らかとなっている(Priorら, 1990; Grimaultら, 1993, 1994a; NAKAHOら, 1996). 抵抗性品種とり病性品種における青枯病菌の動態を比較解析した場合, り病性品種では植物体各部位で菌の増殖が顕著にみられるのに対し, 抵抗性品種における菌の検出率および増殖量は, 主根から茎の上部にいくほど低下した(Grimaultら, 1993, 1994a; NAKAHO, 1997). これらの場合, 感染初期における主根の病原菌密度に品種間で差はみられず, 以後の地上部における菌密度の差異が顕著に認められた. 以上の結果より, 抵抗性品種の抵抗性発現部位は地上部, とくに茎であり, 抵抗性には茎での菌の増殖・移行の抑制が大きく関与するものと推定されている. このような抵抗性品種体内における菌の増殖・移行の抑制は, タバコ(小野ら, 1984), ジャガイモ(Bowmanら, 1982), ナス, トウガラシ(Grimaultら, 1994b)においても認められている. また, 抵抗性台木への接ぎ木トマトについても, 台木の無病徴感染により穂木への菌の感染が生じて発病に至ること(Grimaultら, 1994c; NAKAHOら, 1996), ならびに台木部における増殖抑制能が穂木での菌の増殖にも影響を及ぼし, その発病を量的に調節していること(Hikichiら, 1999)が示されている. これらの知見は, 上記の接ぎ木栽培でのり病化の一因が抵抗性台木の無病徴感染によることを示している.

上記のような抵抗性品種の茎における病原菌の増殖・移行抑制のメカニズムについては, これまでにほとんど

明らかになっていない. Grimaultら(1994d)はり病性品種と抵抗性品種の茎における病原菌の存在状態を電子顕微鏡観察で比較し, 抵抗性品種では病原菌の存在する導管および隣接する導管にチロースが形成され, それが物理的に菌の移行を阻害することを報告した. 一方, NAKAHO(1997)は抵抗性品種‘LS89’では同様のチロース形成が認められないにもかかわらず, 一次木部組織に菌が局在することから, そこでの菌の移行抑制が抵抗性に関与することを示した. この場合, り病性品種では導管周辺の柔細胞の壊死, 壁孔膜の崩壊・消失がみられ, 菌は崩壊した壁孔を通して木部組織全体に分布したのに対し, 抵抗性品種では菌が存在する導管周辺の柔細胞の壊死が軽微で, 柔細胞や壁孔膜およびその周辺の細胞壁に高電子密度の物質の集積が認められた(NAKAHOら, 2000). これらの知見は抵抗性品種の茎の木部組織における菌の増殖・移行の制限が抵抗性の主因であることを明確にしたが, 菌が感染した抵抗性品種の茎の木部より採取したアポプラスト液に菌の増殖抑制能がみられない(McGarveyら, 1999)など, その生化学的メカニズムは未だに不明である.

他方, 青枯病菌の病原性因子としては, 菌体外に産生される多糖類(extracellular polysaccharide: EPS)および細胞壁分解酵素(ポリガラクトクロナーゼ, グルカナーゼ)が主要なものとして同定されており(Husainら, 1958; Schellら, 1988; Dennyら, 1991; Cookら, 1991; KAOら, 1992; Saileら, 1997; ARAUD-RAZOUら, 1998; HUANGら, 2000), それらの産生の制御機構について分子生物学的に解析が進められている(Schell, 2000). しかし, これらの病原性因子およびその制御機構に対応する宿主側の抵抗性因子はこれまでに明らかになっていない.

本研究では, 上記の観点および知見から, トマト青枯病を対象に, 養分吸収とくにカルシウム吸収と抵抗性品種の発病との関係を明らかにし, その要因を明らかにするとともに, カルシウム吸収の制御と抵抗性品種の利用とを複合した新たな発病抑制技術を開発することにより, 総合防除技術の確立に資することを目的とした. IIでは, 養分条件と抵抗性品種の発病との関係を土耕および水耕法を用いて検討し, 植物体のカルシウム吸収が高まった場合に抵抗性品種の発病が著しく抑制されることを明らかにした. IIIでは, カルシウム吸収と抵抗性品種の発病抑制との関係を植物体内の菌密度の観点から明らかにするとともに, 接ぎ木苗や多くの抵抗性品種でカルシウム吸収を高めた場合の発病抑制が共通して認められること

を示した。Ⅳでは、カルシウム吸収の増加による抵抗性品種の発病抑制に関わる要因について検討し、茎の木部におけるカルシウム濃度の差異が抵抗性の調節に関与している可能性を示すとともに、高度抵抗性品種群が高いカルシウム吸収能を持つことを明らかにした。Ⅴでは、発病抑制を目的とした新たなカルシウム施用法の開発を試み、カルシウムのかん水同時施用法がトマトのカルシウム吸収を高め、発病を抑制する技術として有効であることを示すとともに、有機物施用がカルシウム吸収および青枯病の発病に及ぼす影響を検討し、有機物施用による発病抑制にカルシウム吸収が関与する可能性を新たに示した。

以上の研究成果は、カルシウム吸収によるトマト青枯病抵抗性の向上が総合防除技術の一手段として有効であることを示しており、その確立に大きく寄与するものと期待される。

本論文のまとめに際しまして、終始、御指導、御鞭撻と御高配を賜りました東北大学大学院農学研究科教授前忠彦先生に対し、謹んで深謝の意を表します。さらに、本論文の御校閲をいただくとともに御教授、御指導を賜りました東北大学大学院農学研究科教授金浜耕基先生と同農学研究科教授羽柴輝良先生に心から感謝申し上げます。

また、本研究の遂行にあたり、終始、御指導と御鞭撻をいただきました農業・生物系特定産業技術研究機構野菜茶業研究所企画調整部長保科次雄博士、同中央農業総合研究センター資材利用研究室木村 武室長に厚く感謝申し上げます。

さらに、農業・生物系特定産業技術研究機構九州沖縄農業研究センター企画調整部長門馬信二博士には、本研究の開始にあたり、また、東京大学大学院農学生命科学研究科教授米山忠克先生には、本研究の取りまとめに際し、数多くの御教示をいただきました。元農林水産省農業研究センター総合研究官故大野芳和博士、農業・生物系特定産業技術研究機構九州沖縄農業研究センター水田土壌管理研究室長土屋一成博士には、多くのご示唆をいただきました。同野菜茶業研究所葉根菜研究部土壌肥料研究室の木嶋伸行博士、菊地 直主任研究官、村山たつみ氏には常に御支援と御助言をいただきました。同東北農業研究センター野菜花き栽培研究室山崎博子博士には、公私にわたり多大なる御支援をいただきました。旧農林水産省野菜・茶業試験場環境部の皆様ならびに場内の多くの皆様には、研究全般にわたりご協力をいただきました。皆様に心より感謝し、厚くお礼申し上げます。

Ⅱ 養分吸収がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及ぼす影響

1 肥料および資材施用がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及ぼす影響

これまでに、各種養分の施用が病害の発生に影響を与えることが多くの病害で示されている (HUBER, 1981; ENGELHARD, 1989)。本研究の対象であるトマト青枯病についても、発病に対する窒素、リン、カリウムおよびカルシウム施用の影響について報告例がある。まず、HUBER (1981) の総説には、窒素施用による発病軽減、アンモニア態窒素施用による発病の助長との記載がある。しかし、トマトリ病性品種を砂耕条件下で窒素、リン、カリウムの施用濃度を変えて栽培し、発病を検討した例では、発病に大きな差異は認められていない (GALLEGLYら, 1949)。また、窒素形態と発病との関係を砂耕条件下で検討した場合には、硝酸アンモニウムの施用で顕著に発病がみられたのに対し、硝酸カルシウムの施用では発病が抑制されること、ならびに同一窒素濃度で硝酸態窒素とアンモニウム態窒素の比率を変えた場合には、硝酸態窒素単独の場合に最も発病程度が低く、アンモニア態窒素の比率が高い場合に顕著に発病することが示されている (KELMAN, 1950)。一方、カルシウム施用と発病との関係については、石灰 (lime) 施用による発病遅延あるいは発病抑制が示されている (向, 1951; LOCASCIOら, 1988; SSONKKOら, 1995; SHARMAら, 2000)。

このように、トマト青枯病の発病に施用窒素形態およびカルシウム施用が影響することが示されているが、上記に示した以外の養分元素については報告例が無い。また、上記の研究例の多くは、リ病性品種についての結果であり、養分施用が抵抗性品種の発病に及ぼす影響は詳細に検討されていない。その上、カルシウム施用による発病抑制については、施用による土壌 pH の上昇が同時にみられるが、発病抑制がそれに起因するものか、あるいは他の要因に起因するものかは明らかにされていない。

これらのことから、トマト青枯病抵抗性品種を対象に土壌への窒素、リン酸、カルシウム施用量が発病に及ぼす影響を調査した。なお、上記の3要素を選択した理由は、窒素、リン酸については、野菜栽培において過剰に施用される傾向にあり、それらの土壌蓄積が広く認められているため、実際の栽培現場で抵抗性品種の発病を助長している可能性が想定されたからである。また、カルシウムについては、上記の知見より施用による発病抑制

効果が期待されること、ならびにカルシウム欠乏症である尻腐れ果が栽培現場で頻発しており、カルシウム吸収が不十分であるほ場が広く分布すると予想されることから、その施用効果が期待されることによる。

a 材料および方法

以下の実験にはトマト‘瑞栄’（中程度抵抗性品種）を供試し、1kgの黒ボク土（野菜・茶業試験場ほ場）を充填したノイバウエルポットに2葉期の苗を1株移植し、温室内で栽培した（各処理区10ポット）。

1) 窒素施用量が発病に及ぼす影響

窒素施用量をポット当たり0.5, 2.5, 8.5gとした3処理区を設け、硝酸アンモニウムを施用した。各区とも元肥を0.5gとし、移植2週間後に所定量となるよう液肥で追肥を行った。リン酸、カリ、石灰、苦土施用量はそれぞれポット当たり3g, 2g, 15g, 1.8gとし、過リン酸石灰、硫酸カリ、苦土石灰で施用した。なお、苗の移植は1990年8月17日に行った。

移植24日後に断根接種法（KELMAN, 1953）により青枯病菌を接種した。野菜・茶業試験場ほ場のトマトリ病株より分離した青枯病菌をTTC培地（KELMAN, 1954）で30℃48時間培養し、生じたコロニーの形状より病原性を確認後、単コロニーをPSA液体培地に接種し、30℃48時間振とう培養した。得られた菌けん濁液の菌密度を細菌計数盤で計数し、これを適宜希釈して $10^8 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ としたものを接種に用いた。トマト苗の株元土壤にカミソリを刺し入れて断根し、そこに前記の菌けん濁液を10mlかん注し接種を行った。接種後2日毎に各株の発病指数を0：健全～5：枯死の6段階で評価し、その平均値を各区の発病指数とした。なお、調査終了時に無病徴あるいは軽度病徴株を各区3株採取し、地上部乾物重を測定後、粉碎して湿式灰化し、窒素含有率をケルダール法により、リン含有率をバナドモリブデン法により、カリウム、カルシウム、マグネシウム含有率を原子吸光法により測定した。また、調査株の跡地土壌を採取し、pHおよびECを測定した。

2) リン酸施用量が発病に及ぼす影響

リン酸施用量をポット当たり0, 3, 64gとした3処理区を設け、施用区には過リン酸石灰を基肥で施用した。窒素、カリ、石灰、苦土施用量はそれぞれ2g, 2g, 15g, 1.8gとし、硝酸アンモニウム、硫酸カリ、苦土石灰で施用した。なお、苗の移植は1990年9月7日に行った。

移植16日後に前項と同様の手法で接種を行い、発病

調査および植物体、跡地土壌の調査についても前項と同様とした。なお、リン酸無施用区では生育初期より著しいリン欠乏症状がみられ、多くの株が枯死したことから、本区を実験から除外した。

3) 石灰施用量が発病に及ぼす影響

石灰施用量をポット当たり0, 10, 20, 40gとした4処理区を設け、施用区には消石灰を移植前に施用した。窒素、リン酸、カリ、苦土施用量はそれぞれ2g, 3g, 2g, 1.8gとし、硝酸アンモニウム、過リン酸石灰、硫酸カリ、硫酸苦土で施用した。なお、苗の移植は1990年9月25日に行った。

移植20日後に前項と同様の手法で接種を行い、発病調査および植物体、跡地土壌の調査についても前項と同様とした。

b 結果

1) 窒素施用量が発病に及ぼす影響

各区の発病指数は、窒素施用量が増加するとともに高い値を示す傾向にあったが、接種20日後においては有意差は認められなかった（図1-1）。また、地上部乾物重、植物体のリン含有率、カルシウム含有率、跡地土壌のpHにも有意差はみられなかった（表1-1）。一方、窒素含有率は施用量が増加するとともに上昇した。また、処理区間でカリウムおよびマグネシウム含有率、跡地土

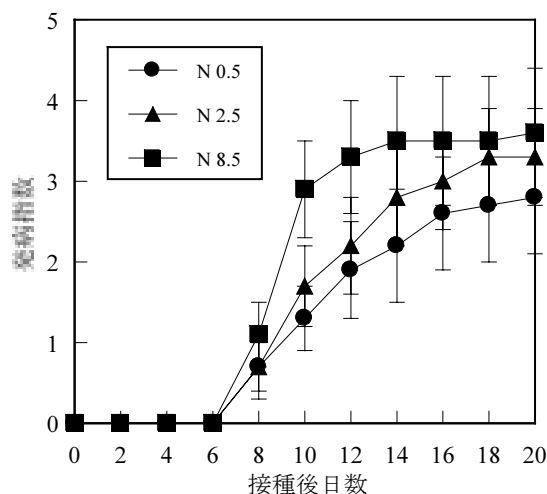


図1-1 窒素施用量がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

供試品種：‘瑞栄’（中程度抵抗性）

窒素施用量 N0.5：0.5gN/ポット（硝酸アンモニウム）

N2.5：2.5gN/ポット（ ” ）

N8.5：8.5gN/ポット（ ” ）

発病指数 0：健全～5：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

壤の EC に差がみられ、窒素多施用区でカリウム含有率の低下および EC の上昇が認められた。

2) リン酸施肥量が発病に及ぼす影響

発病指数はリン酸多施用区で低下する傾向がみられたが、接種 20 日後においては有意差は認められなかった (図 1-2)。リン酸 3g 施用区では、リン欠乏による生育抑制が認められ、地上部乾物重が著しく低い値を示した (表 1-2)。植物体のリン、カリウム、カルシウム、マ

グネシウム含有率および跡地土壌の EC に有意差が認められた。

3) 石灰施肥量が発病に及ぼす影響

接種 26 日後における発病指数は、石灰施肥量が増加するとともに有意に低下し、カルシウム施用による発病抑制が認められた (図 1-3)。養分含有率ではカルシウムでのみ有意差が認められ、カルシウム含有率は石灰施用により高まった (表 1-3)。跡地土壌の pH は石灰施

表 1-1 窒素施肥量がトマト幼植物の地上部乾重、養分含有率および跡地土壌の pH、EC に及ぼす影響

施用量 (gN pot ⁻¹)	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	養分含有率 (mg g ⁻¹)					跡地土壌	
		N	P	K	Ca	Mg	pH	EC(dS m ⁻¹)
0.5	4.14 ^{NS}	14.7c	4.24 ^{NS}	48.5ab	12.8 ^{NS}	6.58b	5.5 ^{NS}	0.36b
2.5	3.68	34.0b	4.38	56.6a	18.3	11.8a	5.5	0.40b
8.5	4.22	43.6a	3.33	39.8b	15.6	10.6a	5.5	0.93a

NS: 処理区間で分散分析による有意差 (5%水準) が無いことを示す。

異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差 (5%水準) があることを示す。

表 1-2 リン酸施肥量がトマト幼植物の地上部乾重、養分含有率および跡地土壌の pH、EC に及ぼす影響

施用量 (gP ₂ O ₅ pot ⁻¹)	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	養分含有率 (mg g ⁻¹)					跡地土壌	
		N	P	K	Ca	Mg	pH	EC(dS m ⁻¹)
3.0	1.63**	37.5 ^{NS}	7.83**	54.0*	21.2*	15.4**	5.6 ^{NS}	0.63**
64	6.13	30.3	17.9	44.1	11.4	7.36	5.4	2.69

NS, *, **: 処理区間でそれぞれ t-検定による有意差なし, 5%水準および 1%水準で有意差あり。

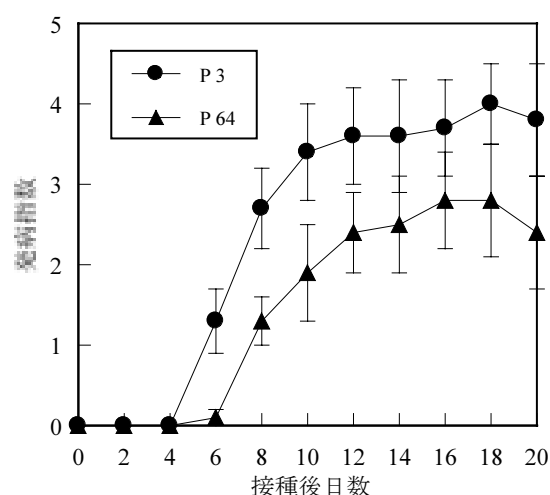


図 1-2 リン酸施肥量がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

供試品種: '瑞栄' (中程度抵抗性)

リン酸施用量 P3: 3gP₂O₅/ポット (過リン酸石灰)
P64: 64gP₂O₅/ポット (")

発病指数 0: 健全~5: 枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

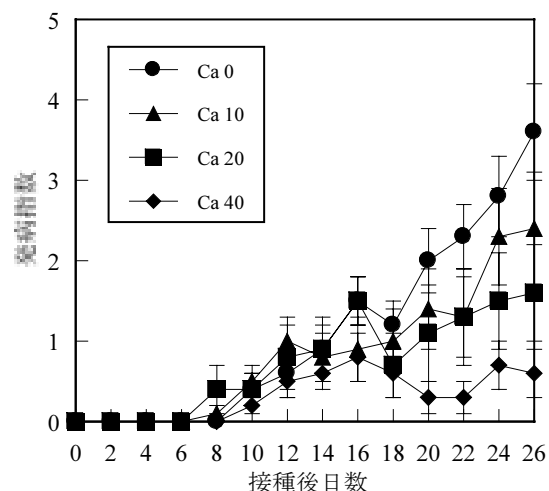


図 1-3 石灰施肥量がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

供試品種: '瑞栄' (中程度抵抗性)

石灰施用量 Ca0: 0gCaO/ポット (消石灰)
Ca10: 10gCaO/ポット (")
Ca20: 20gCaO/ポット (")
Ca40: 40gCaO/ポット (")

発病指数 0: 健全~5: 枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

表 1-3 石灰施用量がトマト幼植物の地上部乾重、養分含有率および
跡地土壌の pH、EC に及ぼす影響

施用量 (CaO pot ⁻¹)	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	養分含有率 (mg g ⁻¹)					跡地土壌	
		N	P	K	Ca	Mg	pH	EC(dS m ⁻¹)
0	7.04 ^{NS}	32.5 ^{NS}	3.04 ^{NS}	32.7 ^{NS}	17.0b	7.17 ^{NS}	4.9d	0.43b
10	7.68	33.2	3.57	35.2	23.4a	7.65	5.2c	0.44b
20	7.77	26.0	3.47	35.9	23.5a	6.87	5.5b	0.51b
40	7.83	26.1	3.58	34.3	24.3a	6.53	6.0a	0.62a

NS：処理区間で分散分析による有意差（5%水準）がないことを示す。

異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差（5%水準）があることを示す。

用量の増加に伴い有意に上昇し、EC についても上昇する傾向がみられた。

c 考 察

窒素施用量の増加に伴い、トマト青枯病抵抗性品種の窒素含有率は、有意に高まった（表 1-1）が、青枯病の発病に明瞭な差は認められなかった（図 1-1）。このことは、本実験で調査した窒素施用量あるいは窒素含有率の範囲では青枯病抵抗性品種の発病が影響を受けないことを示唆している。また、窒素以外の数種の養分含有率に有意差がみられた（表 1-1）が、発病指数との何らかの関係は認められず、それらと発病との関係は判然としなかった。KELMAN（1950）は砂耕条件下で施用窒素形態とトマト青枯病の発病との関係を検討し、硝酸アンモニウムの高濃度施用およびアンモニウム態窒素の施用が発病を助長することを示したが、本実験では同様の結果はみられなかった。本実験ではほ場土壌を供試しており、かつ硝酸アンモニウムの追肥を菌接種の約 10 日前に行っていることから、土壌中でアンモニア態窒素の硝化が進んだためにその影響がみられなかった可能性がある。通常、アンモニア態窒素を多量に施用した場合、地上部の生育抑制やカチオン吸収の拮抗作用によるカルシウム吸収の阻害などがみられる（WILCOXら、1973；HARTMANら、1986）が、本実験では地上部生育およびカルシウム含有率に差がみられなかったこと（表 1-1）から、アンモニア態窒素吸収の影響は小さいと考えられた。このように、発病と窒素施用量との関係を土耕条件下で検討した場合、施用量、施用形態、施用後の形態変化等の要因が複雑に関与するため解析が困難である。したがって、水耕等の手法により窒素濃度・形態等を制御した状態での実験が必要と考えられる。

リン酸施用量と発病との関係については、少量施用区で発病が助長される傾向がみられた（図 1-2）が、本区ではリン酸欠乏症状により生育が著しく抑制されてい

た（表 1-2）。したがって、本区では品種のもつ抵抗性を十分に発揮し得ない状態にあったものと推定され、それが高い発病指数に反映されたと考えられる。また、同様の理由により、養分含有率にも差が生じたものと考えられる。したがって、本実験ではリン酸施用と発病との関係を明らかにすることはできず、生育に差異がない条件で検討を行うなど、実験条件を再検討する必要があると考えられた。

石灰施用量と抵抗性品種の発病との関係については、施用量増加に伴い顕著に発病が抑制され（図 1-3）、これまでに主に病性品種で認められている現象（向、1951；LOCASCIOら、1988；SSONKKOら、1995；SHARMAら、2000）が抵抗性品種でも認められた。本実験では石灰施用によりカルシウム含有率および土壌 pH の上昇がみられること（表 1-3）から、カルシウム吸収の増加による抵抗性の向上および土壌 pH の影響の双方が要因として推定されるが、どちらが主因であるかは明らかでない。これはこれまでの研究例（向、1951；LOCASCIOら、1988；SSONKKOら、1995；SHARMAら、2000）においても同様である。一方、これまでにトマト青枯病および同種の病原菌に起因するタバコ立枯病に対する抑止土壌が多く知られている（Hoら、1988；PRIORら、1993；KOGAら、1997；YUANら、1997；NISHIYAMAら、1999）が、それらの中には土壌の理化学性が抑止要因と推定されるものが数種あり、それらはいずれも高 pH および高カルシウム含量の特性を持つ（PRIORら、1993；YUANら、1997；古賀、1998）。しかし、これらの場合も両特性のいずれが主因であるかは明らかになっていない。たとえば、土壌理化学性が抑止要因と判断されたタバコ立枯病抑止土壌（古賀、1998）では高 pH および高カルシウム含量の双方の特性が抑止性に関与することが示されているが、その詳細説明には至っていない。一方、土壌 pH とトマト青枯病の発病との関係については、古くから多くの研究例があるが、土壌の種類によって結果が大

大きく異なり、一定の傾向はみられていない (KELMAN, 1953)。また、水耕条件下で培養液 pH と発病との関係を検討した例では、作物生育に好適な範囲の pH 条件下では発病に差は認められなかった (竹内ら, 1994)。これらの結果から土壌 pH が発病に及ぼす影響は小さく、カルシウム吸収の影響が大きいものと推定されるが、これを明らかにするためには、pH 制御条件下においてカルシウム濃度と発病との関係を詳細に検討する必要がある。なお、カルシウム以外の養分元素の含有率に有意差がみられなかったこと (表 1-3) から、それらの元素が発病抑制に関与する可能性は低いと考えられた。

2 培養液養分濃度がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及ぼす影響

前節の実験では、窒素およびリン酸の施用量とトマト抵抗性品種の青枯病の発病との関係は明瞭ではなく、石灰施用でのみ顕著な発病抑制が認められた。このうち、窒素については、硝酸アンモニウムの施用形態で実験を行ったために硝酸態およびアンモニウム態窒素の影響を分離できず、それが不明瞭な結果を招いたものと推察された。リン酸については、リン酸の不可給化が著しい黒ボク土を供試したために、施用量により生育が著しく異なり、そのために施用と発病との関係を評価することができなかった。一方、石灰施用量の増加による発病抑制については、施用による植物体のカルシウム含有率の上昇および土壌 pH の上昇の双方が同時にみられたことから、要因の特定が不可能であった。

そこで、本節では静止液水耕法 (清水ら, 1991) を用いて培地養分レベルや pH を制御した条件下で培地養分レベルとトマト抵抗性品種の青枯病の発病との関係を評価することとした。具体的には、窒素ではトマト栽培における通常の吸収形態である硝酸態窒素の濃度が発病に及ぼす影響を検討した。リンでは、処理前の栽培条件を一定とすることにより生育をある程度揃えた状態で培地リン濃度と発病との関係を調査した。カルシウムについては、培養液 pH を一定とした条件下でカルシウム濃度と発病との関係を検討し、カルシウム吸収が発病に及ぼす影響を明らかにしようとした。また、培地カルシウム濃度を大きく変えた場合、カチオン吸収の拮抗作用 (MARSCHNER, 1995) によりマグネシウム吸収が大きく変化するものと予想されたことから、さらに培地マグネシウム濃度が発病に及ぼす影響を検討した。

一方、水耕法で培地養分濃度を大きく変えた場合、処理により随伴するカチオンおよびアニオンが培養液に新

たに加わり、それらが発病に大きく影響する可能性がある。上記の実験では、それらは主にナトリウムおよび塩素であることから、塩化ナトリウムの培養液への添加が発病に及ぼす影響についても併せて検討した。同時に、カルシウムの同族元素であるストロンチウムについても、その培養液への添加が発病に及ぼす影響を検討した。

なお、本実験では病原菌の接種方法にも変更を加えた。前節で用いた断根接種のような根に菌を接種する方法では、培地条件が直接病原菌に影響を与え、それが宿主に感染する菌の量および活性に影響すると考えられることから、得られた結果は培地養分レベルが病原菌に直接及ぼす影響と植物体の養分吸収の影響との双方を反映したものとなる。この場合、結果の解釈が非常に困難となることから、本実験では植物体の養分吸収のみの影響を明らかにするために、菌を地上部に直接接種する手法を採用した。前述のように、トマト青枯病では病徴発現部位が地上部の茎、とくにその本部であり (KELMAN, 1953)、かつ品種の抵抗性の発現部位も同部位であること (GRIMAUULTら, 1994d; NAKAHO, 1997; NAKAHOら, 2000) から、本手法による検討が可能である。本手法は既に抵抗性品種の選抜に用いられており、断根接種等の他の手法と同様の結果を与えることが示されている (KELMAN, 1953; FRENCH, 1986)。

以上のように、本節では、水耕法—地上部接種という実験系を用いて、養分レベルとトマト青枯病抵抗性品種の発病との関係を検討し、各養分の吸収が発病に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

a 材料および方法

1) 培養液硝酸、リン酸、カルシウム、マグネシウム濃度がトマト抵抗性品種の青枯病の発病に及ぼす影響

青枯病抵抗性の異なるトマト 2 品種 (‘瑞栄’: 中程度抵抗性, ‘LS89’: 高度抵抗性) を供試した。バーミキュライト・パーライト等量混合培地には種後、温室内で育苗した。本葉 2 葉期の幼植物の根を水洗し、市販培養液 (ハイメルト, ダイヤケミカル, 東京) 3l を入れた a/5000 ワグネルポットに 2 株/ポットとなるよう移植した。幼植物はポリウレタンスポンジおよびプラスチックザルで固定し、温室内で栽培した。市販培養液で 10 日間栽培した後、下記に示す処理培養液で栽培し、1 週間毎に培養液を更新した。基本となる標準濃度培養液の組成を以下に示す; 多量要素 (mM): N, 8 [4.0 KNO₃, 2.0 Ca(NO₃)₂], P, 1.0 (NaH₂PO₄), K, 4.0 (4.0 KNO₃), Ca, 2.0 [Ca(NO₃)₂], Mg, 1.0 (MgSO₄), 微量元素 (μM): Fe,

50(Fe-EDTA), Mn, 8.0(MnSO₄), B, 49(H₃BO₃), Zn, 0.77 (ZnSO₄), Cu, 0.20(CuSO₄), Mo, 0.016 [(NH₄)₆Mo₇O₂₄]. 硝酸濃度処理では, 8 および 32mM の 2 処理区を設け, 高濃度区では標準培養液に 24mM NaNO₃を添加した. リン濃度処理では, NaH₂PO₄添加量を変えて 0.2, 2, 20mM の 3 処理区とした. カルシウム濃度処理区では, 0, 2, 16mM の 3 処理区を設け, 低濃度区では Ca(NO₃)₂を NaNO₃に代替し, 高濃度区では Ca(NO₃)₂を 4mM とした上で 12mM CaCl₂を添加するとともに KNO₃を KCl に代替した. マグネシウム濃度区は, MgSO₄添加量を変えて 0, 1, 10mM の 3 処理区とした. 各処理培養液は水道水で作成し, pH 5.8 に調整した.

培養液処理 8 日後に病原菌の接種を行った. 病原菌には, トマトより分離され, 強い病原性を示す *Ralstonia solanacearum* MAFF 03-01487 株を用い, 同株を TTC 寒天培地 (KELMAN, 1954) に画線し, 30℃で 48 時間培養後, コロニーの形状から病原性と判断された単コロニーを CPG 液体培地 (KELMAN, 1954) に接種し, 30℃で 48 時間振とう培養した. 得られた菌けん濁液の菌密度を細菌計数盤で計数し, 10⁸ cells ml⁻¹の菌けん濁液を調製した. 接種は FRENCH (1986) の方法を改変し, 菌けん濁液に浸したはさみで各株の生長点直下の茎 (直径約 2~3 mm) を切除することにより行った. 以後, 各株の発病程度を 2 日ごとに 6 段階の発病指数 (0:健全~5:枯死) で評価し, その平均値を各区の発病指数とした. なお, 本実験は青枯病の発病に好適な温度条件となる 7~9 月に行った.

2) 培養液への塩化ナトリウムおよび塩化ストロンチウムの添加がトマト抵抗性品種の青枯病の発病に及ぼす影響

トマト '瑞栄' (中程度抵抗性) の 4 葉期の苗を前記と同様に移植し, 人工気象室 (昼 25℃/夜 18℃, 12 時間日長, 光合成光量子束密度 320 μmol・m⁻²・s⁻¹) 内で栽培した. 移植 7 日後に培養液を交換し, 市販水耕液 (N:8, P:1, K:4, Ca:1.8, Mg:1.3mM:対照区) およびそれに塩化ナトリウムまたは塩化ストロンチウムをそれぞれ 32, 16mM となるよう添加した 3 処理区を設けた. 処理翌日に前記と同様に青枯病菌を接種し, 発病を促進するために人工気象室の温度設定を昼 28℃/夜 20℃として, 以後の各株の発病程度を 5 段階の発病指数 (0:健全~4:枯死) で評価し, その平均値を各区の発病指数とした.

5 結果

1) 培養液硝酸, リン酸, カルシウム, マグネシウム濃度がトマト抵抗性品種の青枯病の発病に及ぼす影響

培養液硝酸濃度がトマト抵抗性品種の青枯病の発病に及ぼす影響については, 両品種ともに標準および高濃度区間で差は認められなかった (図 1-4). これはリン濃度についても同様であったが, この場合には高度抵抗性品種の発病はほとんど認められなかった (図 1-5). カルシウム濃度処理の場合, 中程度抵抗性品種では培養液カルシウム高濃度区で発病が明らかに抑制された (図 1-6). また, 高度抵抗性品種では全体に発病程度が低かったが, 高濃度区では全く発病がみられなかった. マグネシウム濃度と発病との関係については, 処理区間で発病

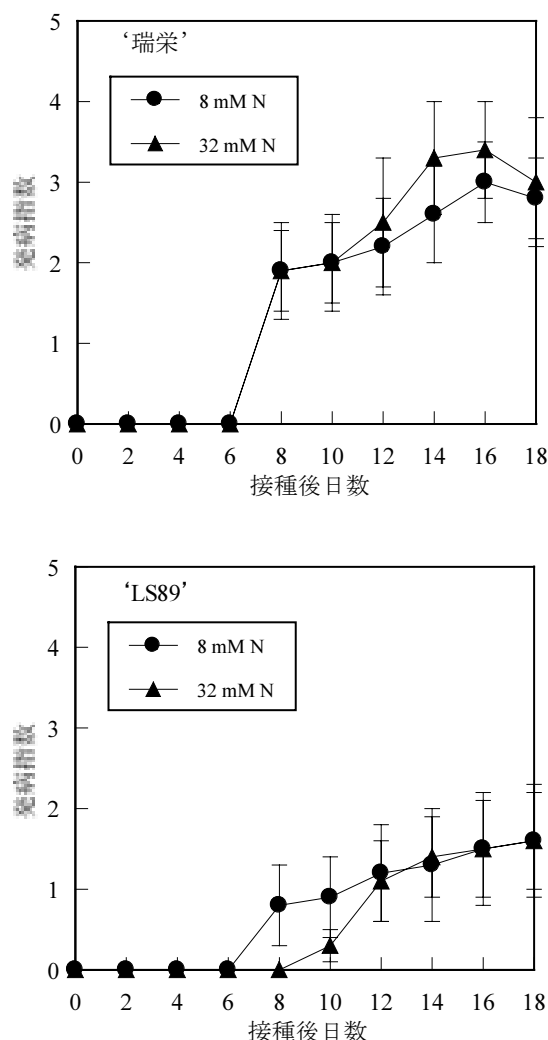


図 1-4 培養液窒素濃度がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及ぼす影響

供試品種 '瑞栄' (中程度抵抗性, 上段)

'LS89' (高度抵抗性, 下段)

発病指数 0:健全~5:枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

に大きな差は認められなかった（図1-7）。

2) 培養液への塩化ナトリウムおよび塩化ストロンチウムの添加がトマト抵抗性品種の青枯病の発病に及ぼす影響

対照区と塩化ナトリウム添加区との間に発病の差はみられず、塩化ナトリウム添加は発病に影響を及ぼさなかった（図1-8）。一方、塩化ストロンチウム添加区では接種12日後まで全く発病は認められず、培養液への塩化ストロンチウム添加は抵抗性品種の発病を抑制した。

c 考 察

水耕法—地上部接種の実験系を用い、培養液の養分濃度を変えて植物体の養分吸収を変化させ、それが抵抗性

2品種の青枯病の発病に及ぼす影響を検討した結果、硝酸態窒素、リンおよびマグネシウムではその吸収の違いが発病に及ぼす影響は認められなかった（図1-4, 5, 7）。したがって、これらの養分吸収が発病に影響する可能性は小さいと判断された。前節の土耕での実験では、窒素形態と発病との関係が不明瞭であったが、本実験により硝酸態窒素の吸収自体は、発病に影響しないことが示された。これまでに、硝酸態窒素の施用が発病を軽減することが報告されている（HUBER, 1981）が、本結果よりその軽減効果は、土壤中における菌への直接的作用等の他の要因に起因する可能性が示唆された。また、前節ではリン酸の施用量を変えた場合に生育が著しく異なり、そのために結果の解釈が困難であったが、本実験で

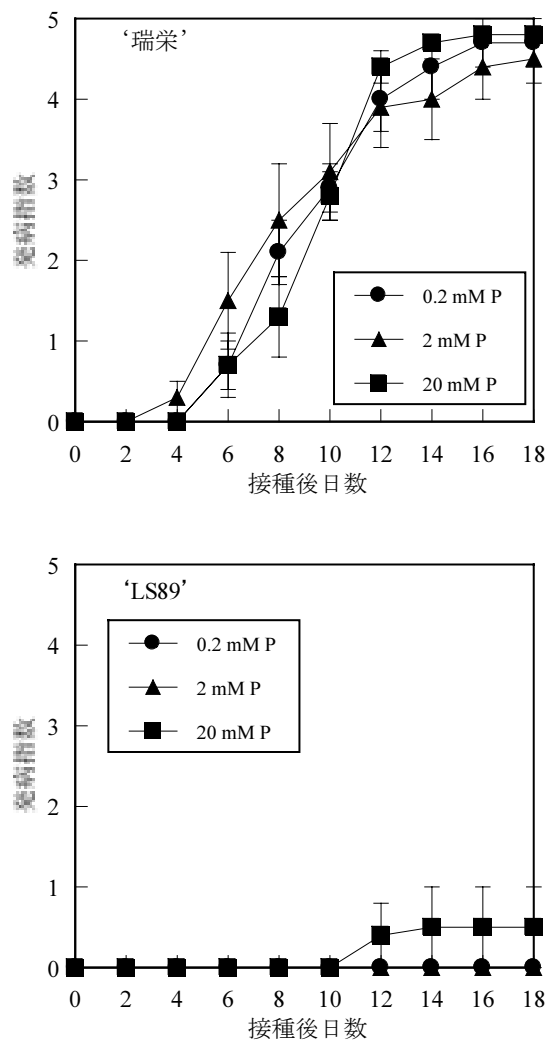


図1-5 培養液リン濃度がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及ぼす影響

供試品種 ‘瑞栄’（中程度抵抗性，上段）

‘LS89’（高度抵抗性，下段）

発病指数 0：健全～5：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

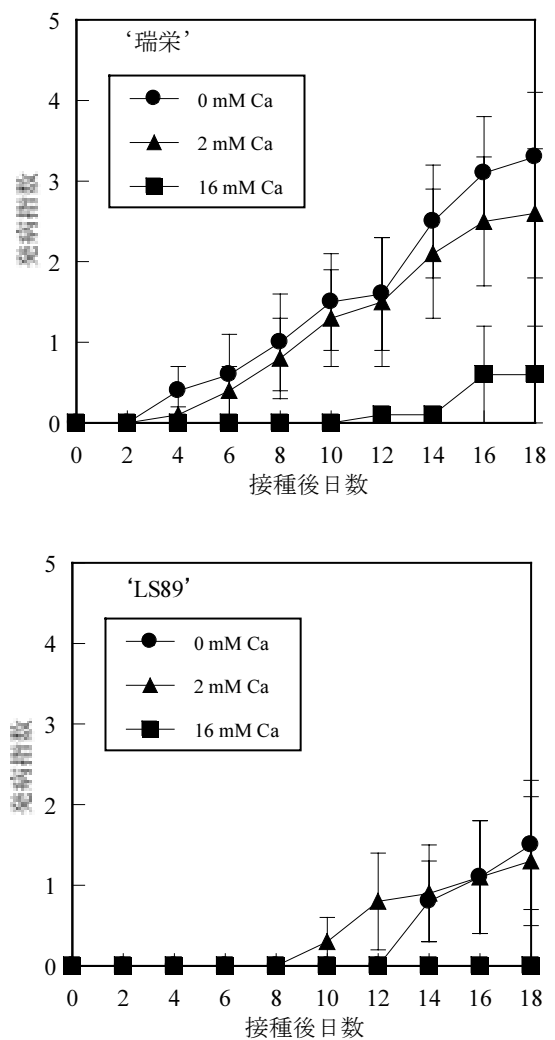


図1-6 培養液カルシウム濃度がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及ぼす影響

供試品種 ‘瑞栄’（中程度抵抗性，上段）

‘LS89’（高度抵抗性，下段）

発病指数 0：健全～5：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

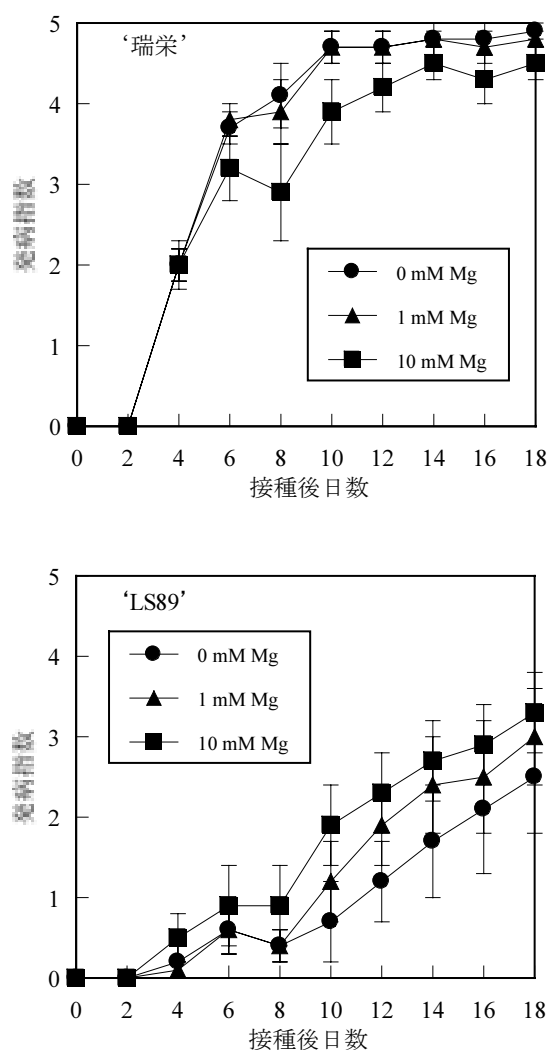


図1-7 培養液マグネシウム濃度がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及ぼす影響
 供試品種 '瑞米' (中程度抵抗性, 上段)
 'LS89' (高度抵抗性, 下段)
 発病指数 0: 健全~5: 枯死
 図中の垂線は標準誤差を示す

は接種時における生育(草丈, 葉数)に有意差が無い(データ略)条件下で検討していることから, 生育に差異が認められない条件下においては, リン吸収が発病に影響しないことを示した。これまでに, トマトり病性品種を砂耕条件下で窒素, リン, カリウムの施用濃度を変えて栽培し, 青枯病の発病を検討した例(GALLEGLYら, 1949)では, 発病に明瞭な差異は認められておらず, 上記の結果と同様であった。本研究では, 培養液カリウム濃度と発病との関係は未検討であるが, 上記の例よりカリウム吸収が抵抗性品種の発病に大きく影響する可能性は低いと判断された。

一方, 培養液カルシウム濃度は, 抵抗性品種の発病に

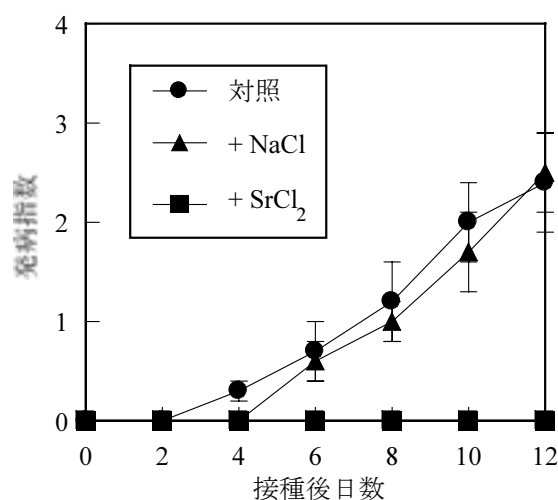


図1-8 培養液への塩化ナトリウムおよび塩化ストロンチウム添加がトマト青枯病抵抗性品種の発病に及ぼす影響
 供試品種 '瑞米' (中程度抵抗性)
 処理濃度 塩化ナトリウム: 32mM,
 塩化ストロンチウム: 16mM
 発病指数 0: 健全~4: 枯死
 図中の垂線は標準誤差を示す

大きく影響し, 高濃度区における発病抑制が明瞭に認められた(図1-6)。前節の土耕における石灰施用による発病抑制では, 同時に土壌 pH の上昇がみられ, その関与も示唆されたが, 本実験は pH を制御した条件下で行っていることから, 前記の結果は培地 pH 以外の要因によるものと推定された。

前記のように培養液カルシウム濃度を変化させた場合, 低濃度の場合には 4mM のナトリウムイオンが, また, 高濃度の場合には 28mM と高濃度の塩化物イオンがそれぞれ培養液に添加されることになる。したがって, それらが発病の差異に影響を与えている可能性がある。とくに塩化物イオンについてはこれまでに塩素を含む肥料の施用が数種の病害の発病に影響を与えることが知られており(MARSCHNER, 1995), その影響が想定される。しかし, 培養液に 32mM と高濃度の塩化ナトリウムを添加した場合においても, 抵抗性品種の青枯病の発病は全く影響を受けなかったこと(図1-8)から, 上記の随伴イオンの影響はないものと推定された。さらに, カルシウムの同族元素であるストロンチウムを塩化ストロンチウムで添加した場合には, 塩化物イオンが塩化ナトリウムの場合と等モルであったにもかかわらず, 発病抑制が顕著に認められた(図1-8)。ストロンチウムはカルシウムと同様の吸収・移行特性を示し, カルシウムの吸収アナログとして用いられていること(坂口, 1964;

LASZLO, 1994) から、ストロンチウムがカルシウムの効果を代替したために、上記の発病抑制がみられたものと推定された。したがって、本結果は前記の高カルシウム濃度条件下における発病抑制がカルシウム吸収によって生じていることを示すものである。

以上の結果は、トマト青枯病抵抗性品種の発病が植物体のカルシウム吸収によって大きな影響を受け、カルシウム吸収が高まった場合に抵抗性が向上することを示している。これまでに、カルシウム施用によるトマト青枯病の発病抑制が示されている（向, 1951; LOCASCIOら, 1988; SSONKKOら, 1995; SHARMAら, 2000）が、その要因は特定されていない。本結果はその要因の一つとして、植物体のカルシウム吸収が関与している可能性を強く示唆している。また、他の数種病害について、植物体のカルシウム吸収が高まった場合に発病が抑制されることがこれまでに示されている（木谷ら, 1957; EDGINGTONら, 1958; BATEMANら, 1965; CORDEN, 1965; FORSTERら, 1975; MCGUIREら, 1984; SPIEGELら, 1987; BERRYら, 1988; KOら, 1989; 田中ら, 1990; WEBSTERら, 1991; VOLPINら, 1991; CONWAYら, 1992; ELADら, 1992, 1993; FLEGOら, 1997; STARKEYら, 1997）が、抵抗性品種を対象に検討した例は、トマトかいよう病の事例（BERRYら, 1988）のみであり、ほとんど検討が行われていない。したがって、本研究で得られた上記の結果は、病害抵抗性とカルシウム吸収との関係に関する新たな知見といえよう。

Ⅲ カルシウム吸収とトマト青枯病抵抗性との関係

1 カルシウム吸収が抵抗性品種における青枯病菌の増殖に及ぼす影響

前章では、植物体のカルシウム吸収がトマト青枯病抵抗性品種の発病に大きな影響を及ぼし、カルシウム吸収を高めた場合に抵抗性が向上することを示した。しかし、それがどのような植物体内の要因によって生じるのかについては明らかにされていない。トマト青枯病の病徴発現部位は地上部、とくに茎であり、その木部における病原菌の増殖により導管閉塞が生じ、病徴である萎ちょう症状が現れる（KELMAN, 1953）。したがって、茎の木部における菌の増殖が発病に関する最も重要な要因である。また、トマト青枯病に対する病性品種と抵抗性品種との間で部位別の病原菌密度を比較した場合、主に茎で明瞭な差がみられ、抵抗性品種で有意に低い菌密度を

示すとともに、茎の上部になるに従いその差が拡大する（GRIMAULTら, 1993, 1994a; NAKAHO, 1997）。これらの知見はトマト品種の持つ抵抗性が主に茎で発現し、茎における病原菌の増殖抑制が重要な要因であることを示している。しかし、これまでにトマト青枯病について、カルシウム吸収と茎の病原菌密度との関係を調査した例はない。また、他の病害についてもカルシウム吸収による発病抑制と植物体内の菌密度との関係を調査した例は認められない。そこで、トマト青枯病抵抗性の異なる3品種をカルシウム濃度の異なる培養液で栽培し、地上部に青枯病菌を付傷接種して発病を調査するとともに、茎の青枯病菌密度を調査し、カルシウム吸収の差異と病原菌密度との関係を検討した。

a 材料および方法

1) 培養液カルシウム濃度処理が抵抗性の異なるトマト3品種の青枯病の発病および養分吸収に及ぼす影響

青枯病抵抗性の異なるトマト3品種（‘ポンデローザ’：弱病性、‘瑞栄’：中程度抵抗性、‘LS89’：高度抵抗性）を供試した。Ⅱ-2と同様に、市販培養液（ハイメルト、ダイヤケミカル、東京）3 Lを入れたa/5000 ワグネルポットに本葉2~3葉期の苗を2株/ポットとなるよう移植した後、人工気象室（昼25℃/夜18℃、12時間日長、光合成光量子束密度 $320 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）内で栽培した。移植1週間後に各品種の幼植物を3群に分け、カルシウム濃度3段階（低：0, 標準：4, 高：20mM）の培養液を施用した。すなわち、3品種および培養液カルシウム濃度3段階の組み合わせによる9処理区とし、1区は2株（1ポット）の9反復（18株）とした。標準カルシウム濃度培養液の各養分濃度および使用塩類は以下の通りである；多量要素（mM）：N, 14 [4.0 KNO₃, 4.0 Ca(NO₃)₂, 2.0 NH₄H₂PO₄], P, 2.0 (NH₄H₂PO₄), K, 4.0 (4.0 KNO₃), Ca, 4.0 [Ca(NO₃)₂], Mg, 2.0 (MgSO₄), 微量元素（mg L⁻¹）：Fe, 3.0 (Fe-EDTA), Mn, 0.5 (MnSO₄), B, 0.5 (H₃BO₃), Zn, 0.05 (ZnSO₄), Mo, 0.05 [(NH₄)₆Mo₇O₂₄], Cu, 0.02 (CuSO₄)。低カルシウム濃度培養液の場合はCa(NO₃)₂を8.0mM NaNO₃に置き換えた。また、高カルシウム濃度の場合は標準濃度培養液に16mM CaCl₂を添加した。培養液の調製には水道水（0.4mM Ca）を用いたため、各培養液の実際のカルシウム濃度は、それぞれ0.4, 4.4, 20.4mMとなった。すべての培養液のpHは1MNaOHを用いて5.8に調整し、1週間ごとに培養液を更新した。

カルシウム処理1週間後に各区6ポット（12株）に

対して病原菌の接種を行った。供試菌株、菌けん濁液の調製法および接種方法はⅡ-2と同様とし、接種後、発病を促進するために人工気象室の設定温度を昼 28℃/夜 20℃とした。以後、各株の発病程度を2日ごとに5段階の発病指数（0：健全，1：1～2葉の萎ちょう，2：3葉以上の萎ちょう，3：株全体の萎ちょう，4：枯死）で評価し、その平均値を各区の発病指数とした。

なお、菌接種と同日に各区3ポットより非接種株の地上部を採取し、葉と茎に分けて65℃で乾燥した後、乾物重を測定した。同試料を粉碎、湿式灰化後、窒素含有率をケルダール法により、リン含有率をバナドモリブデン法により、カリウム、カルシウム、マグネシウム含有率を原子吸光法により測定した。

2) 培養液カルシウム濃度処理がトマト茎の青枯病菌密度に及ぼす影響

前記と同様の実験系を用いて、トマト幼植物の茎における青枯病菌密度を調査した。各区5ポット（10株）を前記と同様に栽培し、接種を行った。接種5および11日後に各区3株を株元で切除し、接種部位から5cm毎に3部位の茎断片を採取した。各試料を滅菌したカミ

ソリで細断した後、その1gを99mlの滅菌水中で1時間ゆるやかに振とうし、試料中の病原菌を水中に分散させた。得られた試料液を数段階に適宜希釈し、一定量を選択培地（原ら，1984）に塗布した後、30℃48時間培養し、生じた青枯病菌のコロニーを計数して茎中の青枯病菌密度を測定した。

3) 培地カルシウム濃度が青枯病菌の増殖に及ぼす影響

培地カルシウム濃度が青枯病菌の増殖に及ぼす影響を *in vitro* で調査した。上記で用いた青枯病菌株を TTC 寒天培地（KELMAN, 1954）で培養し、得られたコロニーを滅菌水にけん濁した後、濁度法により菌濃度を測定し、 10^8 cfu ml⁻¹の菌けん濁液を調製した。1/2濃度のCPG液体培地（KELMAN, 1954）を基本に、塩化カルシウムまたは塩化マグネシウムを0, 10, 25, 50, 125mM, 塩化ナトリウムを20, 50, 100, 250mMとなるよう添加した培地を作成し、前記の菌けん濁液を用いて各培地に 6.0×10^2 cfu ml⁻¹となるよう菌を接種した。接種後、32℃で振とう培養し、0, 30, 48, 72, 96時間後に培養液の一部を採取して適宜希釈し、O.D._{600nm}を測定して菌の増殖程度を調査した。なお、各塩類の添加が青枯病菌

表2-1 培養液カルシウム濃度がトマト幼植物の地上部乾重および塩基含有率に及ぼす影響

品種	培養液 Ca 濃度 (mM)	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	塩基含有率 (mg g ⁻¹)					
			葉			茎		
			K	Ca	Mg	K	Ca	Mg
ボンデローザ	0.4	2.18	42.7	8.70	11.9	93.0	3.03	4.65
	4.4	2.33	50.7	25.2	6.96	103	13.1	4.61
	20.4	2.34	51.2	36.5	3.92	119	20.6	3.42
瑞栄	0.4	2.20	49.0	10.0	12.9	97.5	3.50	5.74
	4.4	2.55	51.4	27.7	7.70	103	15.2	5.95
	20.4	2.44	50.4	40.4	4.07	99.8	19.5	3.60
LS89	0.4	2.04	44.0	12.3	14.6	83.2	3.80	5.41
	4.4	2.20	47.1	33.0	8.34	93.9	15.8	5.99
	20.4	2.29	46.0	42.9	5.00	97.3	5.1	4.34
分散分析								
	品種	NS	NS	**	**	*	*	**
	Ca 濃度	NS	NS	**	**	*	**	**
	交互作用	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS
要因								
品種	ボンデローザ	2.28	48.2	23.5b	7.59b	105a	12.3b	4.23b
	瑞栄	2.39	50.3	26.0b	8.22b	100a	12.7b	5.10a
	LS89	2.18	45.7	29.4a	9.31a	91.5b	14.9a	5.25a
Ca 濃度	0.4	2.14	45.2	10.3c	13.2a	91.2b	3.44c	5.27a
	4.4	2.36	49.7	28.6b	7.67b	100a	14.7b	5.52a
	20.4	2.36	49.2	39.9a	4.33c	105a	21.7a	3.79b

NS, *, **: それぞれ有意差なし, 5%, 1%水準で有意差あり

異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差 (5%水準) があることを示す

の増殖に及ぼす影響は、塩類無添加培地の菌の増殖に対する相対値で評価した。

b 結 果

1) 培養液カルシウム濃度が抵抗性の異なるトマト3品種の青枯病の発病および養分吸収に及ぼす影響

トマト各品種の生育は、低カルシウム濃度培養液の処理によりやや抑制される傾向を示したが、地上部乾物重に有意差は認められず（表2-1）、生理障害等の発生も認められなかった。カルシウム処理1週間後の葉および茎のカルシウム含有率は、培養液カルシウム濃度が高まるとともに上昇した。一方、カリウム含有率は影響を受けなかったが、マグネシウム含有率は培養液カルシウム濃度の上昇とともに低下した。また、各塩基含有率には品種間差異が認められ、とくに高度抵抗性品種の‘LS89’が高いカルシウムおよびマグネシウム含有率を示した。

トマト青枯病の発病は、品種および培養液カルシウム濃度により大きく異なった。り病性品種の‘ボンデローザ’の場合、接種4日後より発病した後、病徴が速やかに進展した（図2-1A）。この場合、高カルシウム濃度区でわずかに発病が遅延したが、各区とも接種14日後までに全株枯死した。これに対し、中程度抵抗性品種の‘瑞栄’では、培養液カルシウム濃度が発病に大きく影響し、低カルシウム濃度区では発病が著しく促進されたのに対し、高カルシウム濃度区では接種18日後まで無病徴であった（図2-1B、図2-2）。また、高度抵抗性品種の‘LS89’では、標準および高カルシウム濃度区において接種20日後まで無病徴であったが、低カルシウム濃度区では顕著に発病した（図2-1C）。

2) 培養液カルシウム濃度処理がトマト茎の青枯病菌密度に及ぼす影響

接種5日後における茎内の青枯病菌密度を品種間で比較した場合、品種の抵抗性が高まるとともに菌密度は低下した（図2-3）。また、品種内で比較した場合、処理カルシウム濃度が高まるとともに、および試料部位が接種部位から離れるに従い、菌密度が低下する傾向がみられた。とくに、高カルシウム濃度区における、最も接種部位から離れた部位（10-15cm）の試料では、各品種ともに菌密度が低下し、その程度は抵抗性の2品種で顕著であった。

接種11日後におけるり病性品種の低カルシウム濃度処理区では、ほぼ全株が枯死しており、試料採取が不可能であった。接種11日後においても、品種間の菌密度の差異は明瞭にみられ、り病性品種で高い菌密度を示し

たのに対し、高度抵抗性品種では低密度に止まっていた（図2-4）。り病性品種の場合、いずれの試料も高い菌密度を示し、標準および高カルシウム濃度区間および採取部位間で菌密度に差異は認められなかった。一方、中程度抵抗性品種では、カルシウム濃度が高まるとともに

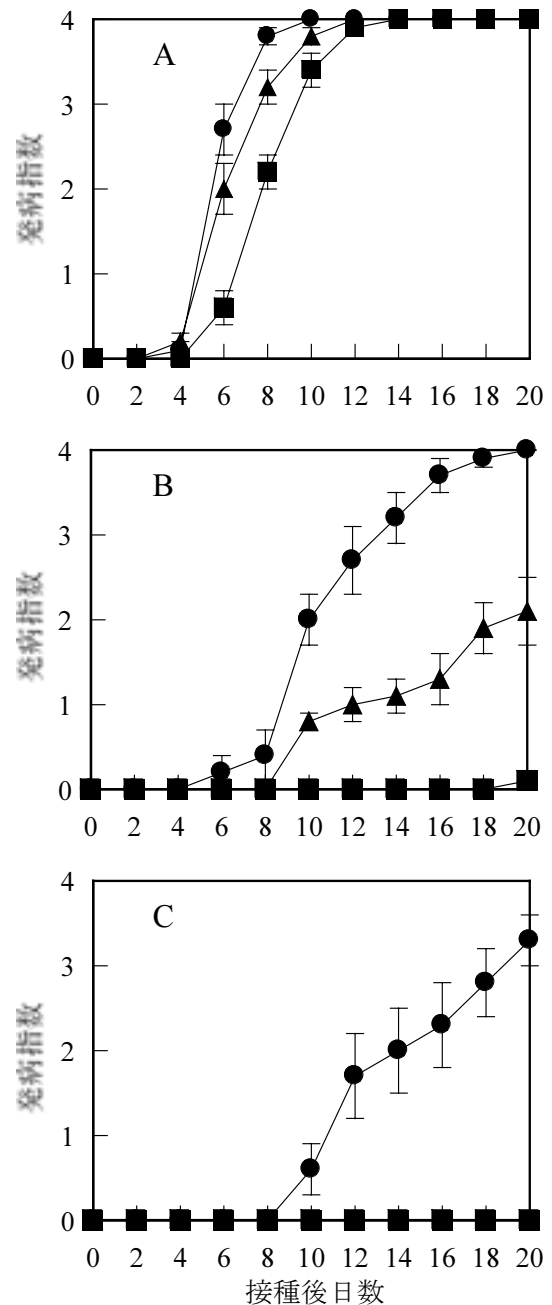


図2-1 培養液カルシウム濃度がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

A：り病性品種（ボンデローザ），B：中程度抵抗性品種（瑞栄），C：高度抵抗性品種（LS89）

培養液カルシウム濃度 ●：0.4，▲：4.4，■：20.4mM

発病指数 0：健全～4：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

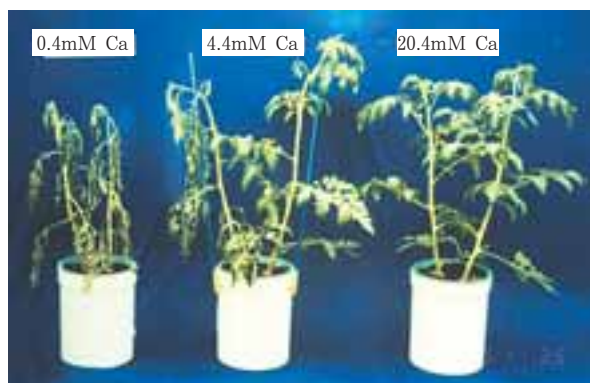


図2-2 培養液カルシウム濃度がトマト青枯病中
程度抵抗性品種の発病に及ぼす影響
培養液カルシウム濃度 左：0.4，中央：4.4，右：20.4mM

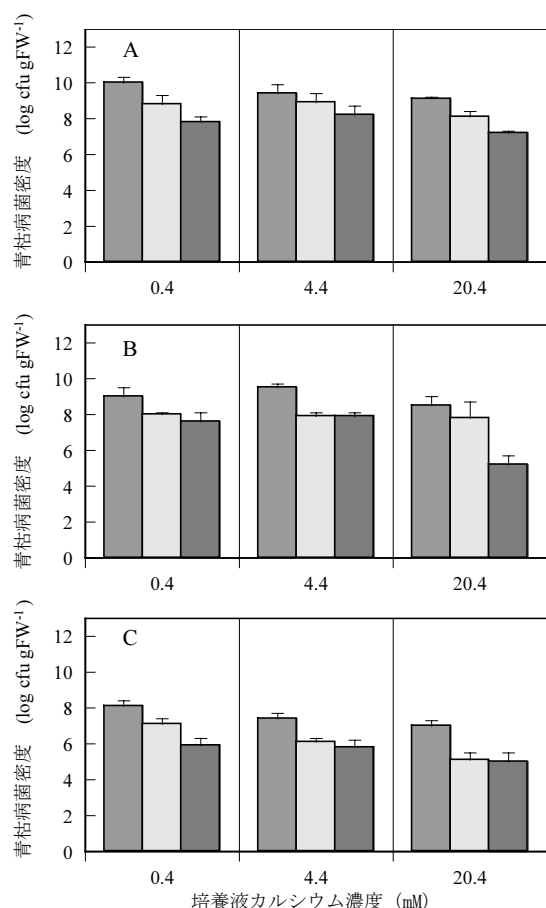


図2-3 培養液カルシウム濃度がトマト茎中の青
枯病菌密度に及ぼす影響（接種5日後）

A：'ポンデローザ'（り病性），B：'瑞栄'（中程度抵抗性），
C：'LS89'（高度抵抗性）

茎試料部位 ■：0-5 cm，□：5-10 cm，
■：10-15 cm（接種部位からの距離）

cfu：colony forming unit

図中の垂線は標準偏差を示す

菌密度が明らかに低下したが，部位間の差異は接種5日後の場合に比べ縮小した．高度抵抗性品種においても，カルシウム濃度上昇による菌密度低下がみられ，かつ高カルシウム濃度区における接種部位より離れた部位の試料では，接種5日後と同程度の低菌密度が維持されていた．

3) 培地カルシウム濃度が青枯病菌の増殖に及ぼす影響

塩類無添加の培地における青枯病菌の増殖量は，接種72時間後に最大となり，以後若干低下した（図2-5）．塩化カルシウムを培地に添加した場合の菌の増殖は，添加カルシウム濃度が高まるとともに抑制され，125mMでは全く増殖が見られなかった．塩化カルシウム，塩化マグネシウム，塩化ナトリウムで増殖抑制能を比較した場合，カチオンの種類により差がみられ，その程度は塩

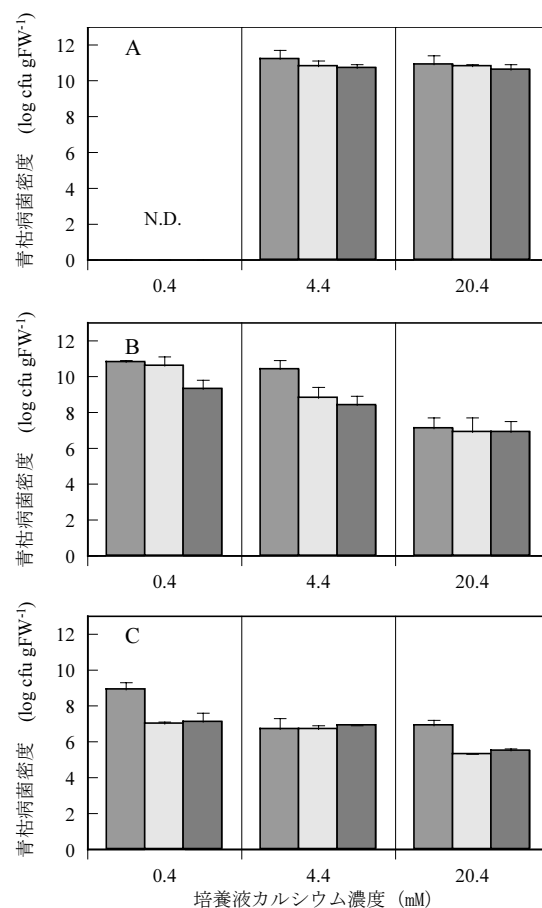


図2-4 培養液カルシウム濃度がトマト茎中の青
枯病菌密度に及ぼす影響（接種11日後）

A：'ポンデローザ'（り病性），B：'瑞栄'（中程度抵抗性），
C：'LS89'（高度抵抗性）

茎試料部位 ■：0-5 cm，□：5-10 cm，
■：10-15 cm（接種部位からの距離）

N.D.：植物体枯死のため調査せず

cfu：colony forming unit

図中の垂線は標準偏差を示す

化カルシウム>塩化マグネシウム>塩化ナトリウムの順に高かった(図2-6)。

c 考 察

トマト幼植物の生育は、品種およびカルシウム濃度処理区間で地上部乾物重に有意差が認められず(表2-1)、また生理障害等もみられなかったことから同程度であったと考えられた。一方、培養液カルシウム濃度が高まるとともにマグネシウム含有率が明らかに低下した。これはカチオン吸収の拮抗作用(MARSCHNER, 1995)によ

るものと考えられるが、II-2の培養液マグネシウム濃度と発病との関係の検討結果より、このマグネシウム吸収の差異が発病の差異に直接影響を及ぼすことはないと思定された。

青枯病の発病は、培養液カルシウム濃度に影響を受け、とくに抵抗性品種で顕著な影響が認められるなど、前章における結果が明瞭に再現された(図2-1)。本実験においても、培養液pHの影響を排除するために水耕法を採用し、また、培養液カルシウム濃度が病原菌の地下部での増殖等に及ぼす影響を排除するために病原菌を地上部に接種する方法を採用したことから、本結果もトマト体内のカルシウム吸収の差異が発病に影響したと判断される。

本実験では、発病に対する培養液カルシウム濃度の影響を病性品種についても検討したが、この場合、高カルシウム濃度処理区でやや発病遅延がみられたものの接種2週間後には全株枯死し、カルシウム吸収の影響は軽微であった(図2-1)。一方、発病の反応が大きく異なる病性品種と中程度抵抗性品種との間でカルシウム含有率に有意な差は認められなかった(表2-1)。この結果は、単にカルシウム吸収の差異のみでは病性および中程度抵抗性品種間の発病の差異を説明できないことを示している。前述のように、植物体のカルシウム吸収が高まった場合に発病が抑制されることが多くの病害で明らかとなっている(木谷ら, 1957; EDGINGTONら, 1958; BATEMANら, 1965; CORDEN, 1965; FORSTERら, 1975; MCGUIREら, 1984; SPIEGELら, 1987; BERRYら, 1988; KOら, 1989; 田中ら, 1990; WEBSTERら, 1991; VOLPINら, 1991; CONWAYら, 1992; ELADら, 1992, 1993; FLEGOら, 1997; STARKEYら, 1997)が、これまでに品種の抵抗性の観点からカルシウム吸収の差異と発病との関係を検討した例はほとんどない。したがって、本結果はこれまでの報告例と異なる新たな知見であり、トマト青枯病抵抗性品種の持つ抵抗性の発現に植物体のカルシウム吸収が大きく関与することを示している。

一方で、高度抵抗性品種が他の2品種と比較して有意に高いカルシウム含有率を示した(表2-1)。この結果は、抵抗性品種間の抵抗性の差異にカルシウム吸収の差異が関与する可能性を示している。これまでに、養分元素の吸収が発病に関与する一部の病害では、その養分吸収能が抵抗性品種で高い事例が報告されている(BERRYら, 1988; SAVANTら, 1997)。したがって、このトマト青枯病抵抗性の場合にも抵抗性とカルシウム吸収の品種間差異に何らかの相互作用が存在する可能性は否定で

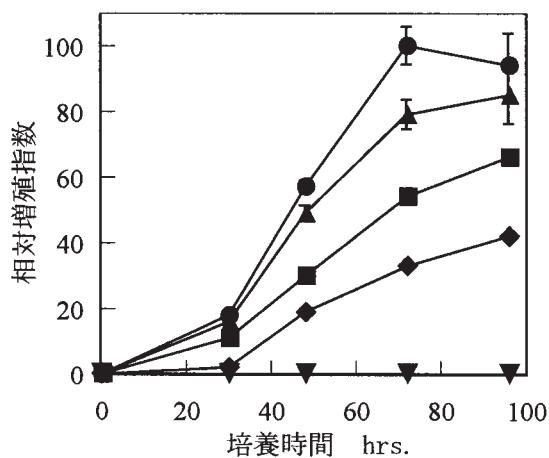


図2-5 培地への塩化カルシウム添加濃度が青枯病菌の増殖に及ぼす影響

塩化カルシウム添加濃度 ●: 0, ▲: 10, ■: 25, ◆: 50, ▼: 125mM

相対増殖指数: O.D._{600nm}の最大値を100とした場合の相対値
図中の垂線は標準誤差を示す。

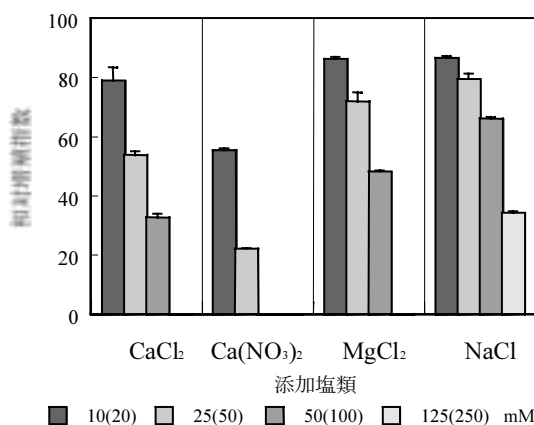


図2-6 培地への塩類添加濃度が青枯病菌の増殖に及ぼす影響

相対増殖指数: 無添加区のO.D._{600nm}値を100とした場合の相対値(接種72時間後)

括弧内の数値はNaCl区の添加濃度を示す

図中の垂線は標準誤差を示す

きない。この点については、次章でより多くの品種を用いて詳細に検討する。

選択培地を用いて計数した茎内の青枯病菌密度は、接種5および11日後ともに品種の抵抗性が高いものほど低くなった(図2-3, 2-4)。これはこれまでに認められている抵抗性の異なるトマト品種間における茎の青枯病菌密度の差異と同様であり、抵抗性が茎における病原菌の増殖抑制に因るものであるとするこれまでの報告(GRIMAULTら, 1993, 1994a; NAKAHO, 1997)と一致する。さらに、本実験では、培養液カルシウム濃度を变化させ、カルシウム吸収を高めた場合に抵抗性品種の茎内での青枯病菌密度の上昇が抑制されることを明らかにした。本結果はカルシウム吸収の差異が抵抗性品種の抵抗性の主因である茎内での病原菌の増殖抑制程度に影響し、それが発病の差異に反映されたことを示している。一方、試料採取部位間の菌密度の差異も認められ、抵抗性品種の高カルシウム濃度処理区で接種部位より離れた部位における菌密度上昇の抑制が認められた。これは高カルシウム条件下では抵抗性品種茎内における病原菌の移行も抑制されていることを示唆している。これまでに、トマト青枯病抵抗性には、上記の茎内での増殖抑制のほか、同時に菌の移行抑制が関与することが示されている(GRIMAULTら, 1994a, 1994c; NAKAHO, 1997; NAKAHOら, 2000)。したがって、本結果はカルシウム吸収の差異が抵抗性品種の茎内における病原菌の移行にも影響していることを示している。

これまでに、トマト青枯病抵抗性品種では、茎内に青枯病菌が無病徴感染することが明らかになっている(PRIORら, 1990; GRIMAULTら, 1993, 1994a; NAKAHOら, 1996)。本結果においても、無病徴である標準および高カルシウム濃度区の高度抵抗性品種において、 $10^5 \sim 10^7$ cfu g^{-1} の菌の存在が認められ、青枯病菌の無病徴感染が生じていた(図2-3, 2-4)。青枯病菌では培地上に生じたコロニーの形状からその病原性を判別できる(KELMAN, 1954)が、上記処理区で計数された菌のコロニーの形状はすべて病原性を有するタイプであり、無病徴感染していた菌は病原性を保持していたと判断された。したがって、上記のカルシウム吸収の差異による抵抗性品種の発病の差異は、病原菌の病原性の変異によるものではなく、前述のような病原菌の増殖程度の差異に起因するものと考えられた。

培地カルシウム濃度が*in vitro*における青枯病菌の増殖に及ぼす影響を検討した結果、培地への25mM以上の塩化カルシウムの添加で菌の増殖が明らかに抑制され

た(図2-5)。また、塩化カルシウム、塩化マグネシウムおよび塩化ナトリウムを添加し、それらのカチオンの濃度が増殖に及ぼす影響を比較した場合、塩化カルシウム添加の場合に菌の増殖抑制効果が高いことが認められた(図2-6)。これらの結果はカルシウムイオンが他のカチオンと比較して青枯病菌に対する高い増殖抑制効果をもつことを示している。したがって、上記でみられた発病の差異は、病徴発現部位である茎の本部やその周辺のアポプラスト中におけるカルシウム濃度の差異が直接に病原菌の増殖に影響を与えたために生じたと考えることができる。しかし、上記のように、り病性品種と中程度抵抗性品種の茎におけるカルシウム含有率に差が認められず(表2-1)、各カルシウム濃度区の木部等でのカルシウム濃度が両品種間で大差無いものと推定されることから、上記の仮説のみでは両品種間の発病の差異を説明できない。また、木部いっ泌液やアポプラスト液のカルシウムイオン濃度は、通常数mM程度であり(ATKINSONら, 1992; MARSCHNER, 1995; 三村, 1997)、ほぼ培地カルシウム濃度を反映することから、低および標準カルシウム濃度区でのそれらのカルシウム濃度は、10mM以下と推定され、菌の増殖に直接影響するカルシウムイオン濃度範囲より低いと考えられることから、各抵抗性品種における低および標準カルシウム濃度区間の著しい発病の差異をカルシウムイオン濃度の差異のみで解釈することは不可能である。したがって、上記の抵抗性品種における発病の差異は、単なるカルシウム濃度の差異によって生ずるのではなく、抵抗性品種における抵抗性の主因である茎内における青枯病菌の増殖・移行抑制がカルシウム濃度の差異によって何らかの影響を受けることによって生じたものと推定される。

2 カルシウム吸収がトマト接ぎ木苗の青枯病の発病に及ぼす影響

我が国のトマト栽培では、青枯病対策として、り病性品種の穂木に抵抗性台木を接ぎ木した栽培方法が広く普及している(山川, 1978; 小田, 1993; 門馬, 1997; 野菜・茶業試験場, 2001)。しかし、用いられる抵抗性台木の青枯病抵抗性は不完全であり(山川, 1978; 門馬, 1997)、全国的に接ぎ木栽培での発病が問題となっている。これまでに、トマト抵抗性台木品種が高温や高菌密度の条件下で高率に発病するとともに、無病徴の場合にも茎内に菌の感染が高頻度に認められ、台木品種においても地上部への菌の移行および増殖が生じていることが示されている(NAKAHOら, 1996; NAKAHO, 1997)。

また、抵抗性品種とり病性品種をそれぞれ穂木および台木に用いて相互に接ぎ木した苗を用いて、その発病を調査した場合、り病性穂木－抵抗性台木の組み合わせにおける発病指数あるいは穂木の菌密度、感染頻度は、り病性品種同士および抵抗性品種同士の組み合わせの場合の中間の値を示した（GRIMAUDTら、1994c；NAKAHOら、1996）。これらの知見は、接ぎ木苗においても病原菌の穂木への移行が生じ、その穂木での増殖がその発病に大きく関与することを示している。しかし、カルシウム吸収の差異が接ぎ木苗の発病および穂木への感染に及ぼす影響についてはこれまでに検討されておらず、また他の病害についてもそれらに関する検討例はない。そこで、前節と同様の手法を用いて、培養液カルシウム濃度が接ぎ木苗の発病および病原菌の穂木への感染に及ぼす影響について検討した。

a 材料および方法

1) 培養液カルシウム濃度がトマト接ぎ木苗の発病に及ぼす影響

トマトり病性品種‘桃太郎’および高度抵抗性台木用品種‘LS89’をバーミキュライト・パーライト等量混合培地には種し、温室内で育苗した。本葉5葉期に‘LS89’を台木、‘桃太郎’を穂木として、斜め合わせ接ぎ法（ODA, 1995）により子葉上部で接ぎ木を行った。順化した接ぎ木苗を前節と同様の条件下で栽培し、培養液カルシウム濃度3段階（0.4, 4.4, 20.4mM）の処理を同様に行った。

カルシウム処理1週間後に、前節と同様に調製した青枯病菌液（ 10^8 cells ml^{-1} ）を用いて、菌液に浸した注射針を接ぎ木苗の台木基部に突き刺すことにより青枯病菌の接種を行った。接種後の栽培条件および調査方法も前節と同様とした。

病原菌接種と同日に、各区より非接種株4株を採取し、地上部のカルシウム、カリウム、マグネシウム含有率をICP発光分光分析装置（島津製作所、ICPS-1000IV）で測定した。

2) 培養液カルシウム濃度処理が穂木の青枯病菌密度に及ぼす影響

上記と同様に栽培、カルシウム処理および病原菌接種を行ったトマト接ぎ木苗（各区3または4株）の穂木の茎を接種5日後に接ぎ木部上3cmの位置で切断した。マイクロピペットを用いて切断面からいっ出する木部いっ泌液を1時間採取し、得られたいっ泌液のカルシウム濃度をICP発光分光分析装置（島津製作所、ICPS-1000IV）

で測定した。また、いっ泌液に含まれる青枯病菌の密度を前節と同様の希釈平板法で計数した。さらに、いっ泌液中の青枯病菌の病原性を確認するために、平板上に生じたコロニーを各処理区15または20個分離し、り病性品種‘桃太郎’の幼苗に再接種してその発病を調査した。

b 結 果

トマト接ぎ木苗の地上部乾重に培養液カルシウム濃度による有意差は認められなかった（表2-2）。また、実験期間中、カルシウム処理による生育異常等もみられなかった。

トマト接ぎ木苗の地上部のカルシウム含有率は、培養液カルシウム濃度の上昇に応じて高まった（表2-2）。カリウム含有率に有意差はみられず、マグネシウム含有率はカルシウム濃度の上昇により有意に低下した。

低および標準カルシウム濃度培養液を施用したトマト接ぎ木苗は、接種9日後以降、速やかに病徴が進展し、両区間で発病の差異は認められなかった（図2-7）。これに対し、高カルシウム濃度培養液を施用したトマト接ぎ木苗の発病は顕著に抑制された。

接種5日後に穂木より採取した木部いっ泌液のカルシウム濃度は、培養液カルシウム濃度の上昇に応じて高まった（表2-3）。一方、いっ泌液中の青枯病菌密度はカルシウム濃度が高まるとともに有意に低下した。さらに、いっ泌液より分離された青枯病菌は、再接種したトマトり病性品種の幼苗をすべて発病・枯死させた。

c 考 察

高度抵抗性品種を台木としたトマト接ぎ木苗の青枯病の発病は、高カルシウム濃度の培養液を施用した場合に顕著に抑制された（図2-7）。本結果においても、培養液カルシウム濃度が高まるとともにマグネシウム含有率が低下した（表2-2）が、前節と同様にマグネシウム

表2-2 培養液カルシウム濃度がトマト接ぎ木苗の地上部乾重および塩基含有率に及ぼす影響^a

培養液カルシウム濃度 (mM)	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	塩基含有率 (mg g ⁻¹)		
		Ca	K	Mg
0.4	2.26	10.2c ^b	43.2	10.6a
4.4	2.71	27.1b	48.6	8.45b
20.4	2.79	37.5a	45.0	4.64c
分散分析 ^c	NS	**	NS	**

^a 穂木：桃太郎，台木：LS89

^b 異なる文字を付した平均値間にはTukey法による有意差（5%水準）があることを示す

^c NS, **: それぞれ有意差なし, 1%水準で有意差あり

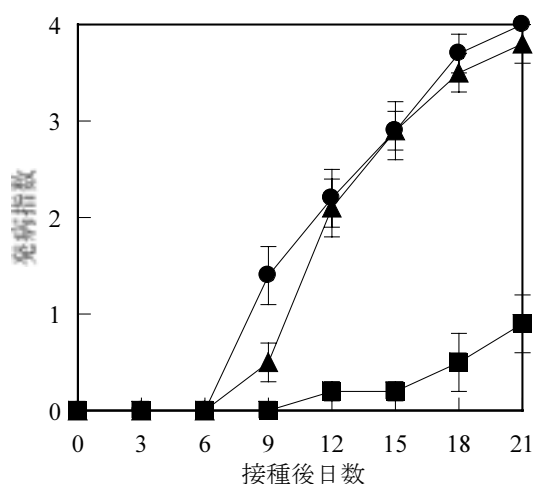


図 2-7 培養液カルシウム濃度がトマト接ぎ木苗の青枯病の発病に及ぼす影響

穂木：桃太郎，台木：LS89

培養液カルシウム濃度 ●：0.4，▲：4.4，■：20.4mM

発病指数 0：健全～4：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

表 2-3 培養液カルシウム濃度がトマト接ぎ木苗の木部いっ泌液カルシウム濃度および青枯病菌密度に及ぼす影響^a

培養液 カルシウム濃度 (mM)	木部いっ泌液 ^b	
	カルシウム濃度 (mM)	青枯病菌密度 (log cfu ml ⁻¹)
0.4	2.01c ^c	11.4a
4.4	8.39b	10.2b
20.4	28.9a	9.2c

^a 穂木：桃太郎，台木：LS89

^b 接種 5 日後に穂木部より採取

^c 同一文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差（5%水準）が無いことを示す

栄養の影響は無視しうる。したがって、本結果は前章で認められたトマト青枯病抵抗性に対するカルシウム吸収の影響が接ぎ木苗においてもみられることを示している。

抵抗性品種を台木としたトマト接ぎ木苗における青枯病の発病および菌の穂木への感染については，NAKAHOら（1996）および GRIMAULTら（1994c）が検討を行っている。前者では，り病性品種と抵抗性品種とをそれぞれ相互に接ぎ木した苗に接種し，発病および穂木の菌の感染を調査した結果，抵抗性台木ーり病性穂木の場合の発病程度は，り病性品種および抵抗性品種それぞれの共台の場合の中間を示し，無病徴の場合にもほとんどの株で穂木への感染が生じていることを示した。後者では，同様の相互接ぎ木苗を用いて発病および茎部位別の菌密度，感染頻度を調査した結果，抵抗性品種を台木とした

場合には発病が認められなかったが，抵抗性台木ーり病性穂木の場合および抵抗性品種の共台の場合に同程度の穂木の感染頻度（30～40%）および菌密度を示すことを明らかにした。両者の結果の差異は温度条件等の差異に起因すると考えられるが，いずれも穂木における菌の感染が生じていることを示しており，穂木への菌の移行およびそこでの増殖が接ぎ木苗の発病に大きく関与するものと考えられる。

そこで，各カルシウム濃度処理区の穂木より採取した木部いっ泌液のカルシウム濃度および青枯病菌密度を調査した結果，いっ泌液中の菌密度はそのカルシウム濃度が高まるとともに有意に低下した（表 2-3）。本結果は菌の穂木の木部への移行あるいはそこでの菌の増殖が高カルシウム濃度条件下で抑制されていることを示しており，前記の発病の差異がそれらによって生じたことを示唆している。

なお，いっ泌液から分離した青枯病菌は，再接種したトマト幼苗をすべて発病させた。本結果は，り病性の穂木に感染した青枯病菌はカルシウム処理にかかわらず，病原性を保持していることを示しており，前節と同様に発病の差異が病原性の変異によるものではないということが確認された。

3 カルシウム吸収とトマト青枯病抵抗性の品種間差異との関係

前節までに代表的なトマト青枯病抵抗性品種および抵抗性台木への接ぎ木苗について，カルシウム吸収がそれらの発病に大きく影響することを示した。しかし，栽培現場においては多種の抵抗性台木品種が用いられており（小田，1993；野菜・茶業試験場，2001），同様の現象がそれらにおいても認められるかは明らかになっていない。また，抵抗性品種は抵抗性を野生トマトや近縁野生種などの異なる抵抗性素材から導入しており（山川，1978），品種によって抵抗性の遺伝的背景が異なると考えられるが，抵抗性の遺伝的背景が異なる抵抗性品種においても同様の現象が認められるかは明らかになっていない。これらを明らかにすることは，カルシウム吸収の制御による青枯病抑制技術を開発し，それを栽培現場に応用する上で重要となるだけでなく，カルシウム吸収による抵抗性の向上に関するメカニズムを推定する上で有用である。そこで本節では，抵抗性の異なるトマト 20 品種・系統の幼苗を用い，培養液カルシウム濃度処理がそれらの発病に及ぼす影響について検討した。

a 材料および方法

青枯病抵抗性の異なるトマト 20 品種・系統を供試した (図 2-9)。このうち、‘おどりこ’、‘桃太郎’が病性品種、‘サンロード’、‘メリーロード’、‘桃太郎 8’、‘桃太郎 T93’、‘大王’、‘パステルヨーズ’、‘瑞栄’が低～中程度抵抗性の自根栽培用品種、‘カップル T’、‘BF 興津 101 号’、‘新メイト’、‘ヘルパー M’、‘影武者’、‘アキレス M’、‘メイト’、‘LS89’が中～高度抵抗性の台木用品種、‘CRA66’、‘安濃 6 号’、‘安濃 7 号’が抵抗性育成系統である。

バーミキュライト・パーライト等量混合培地を充填した 50 穴セルトレイに各品種・系統をは種し、温室内で育苗した。は種 27 日後よりカルシウム濃度の異なる培養液 (0.4, 4.4, 12.4mM) を底面給水により施用した (20 品種, 3 カルシウム濃度で計 60 区, 1 区 5 株 3 反復)。カルシウム処理開始 8 日後に第 1 節と同様の手法を用いて青枯病菌を各株に接種し、人工気象室 (昼 28℃/夜 22℃) 内で以後の発病を前記と同様に調査した。また、接種時に各カルシウム濃度区より非接種株 3 株を採取し、そのカルシウム、カリウム、マグネシウム含有率を ICP 発光分光分析法により測定した。

b 結 果

培養液カルシウム濃度の要因がトマト幼苗の生育および塩基含有率に及ぼす影響をみた場合、培養液カルシウム濃度が高まるとともにカルシウム含有率は有意に上昇し、マグネシウム含有率は低下したが、地上部乾重およびカリウム含有率に有意差は認められなかった (表 2-4)。また、接種 10 および 20 日後の青枯病の平均発病指数は、培養液カルシウム濃度が高まるとともに有意に低下した (図 2-8)。

各品種・系統について培養液カルシウム濃度が青枯病の発病に及ぼす影響をみた場合、すべての品種・系統で培養液カルシウム濃度が高まるとともに発病指数が低下する傾向が認められた (図 2-9)。り病性品種の‘おどりこ’、‘桃太郎’および低度抵抗性の自根栽培用品種である‘サンロード’、‘メリーロード’、‘桃太郎 8’、‘桃太郎 T93’、‘大王’、‘パステルヨーズ’では、各区とも高い発病指数を示し、いずれも高カルシウム濃度 (12.4mM) 培養液処理区でやや発病指数が低下する傾向がみられたが、その差は小さかった (図 2-9)。これに対し、中程度抵抗性の自根栽培用品種‘瑞栄’、中～高度抵抗性の台木用品種‘カップル T’、‘BF 興津 101 号’、‘新メイト’、‘ヘルパー M’、‘影武者’、‘アキレス M’、‘メ

表 2-4 培養液カルシウム濃度が青枯病抵抗性の異なるトマト 20 品種・系統の地上部乾重および塩基含有率に及ぼす影響^a

培養液カルシウム濃度 (mM)	地上部乾重 (mg shoot ⁻¹)	塩基含有率 (mg g ⁻¹)		
		Ca	K	Mg
0.4	414	11.6c ^b	55.5	10.6a
4.4	419	22.5b	55.7	9.33b
12.4	430	30.8a	54.1	7.27c
分散分析 ^c	NS	**	NS	**

^a 全品種・系統の平均値を示す

^b 異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差 (5%水準) があることを示す

^c NS, **: それぞれ有意差なし, 1%水準で有意差あり

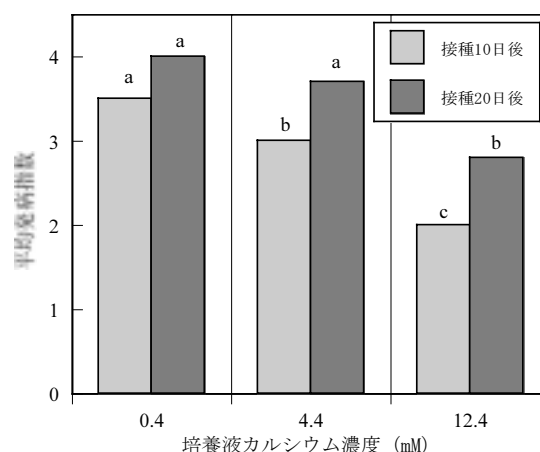


図 2-8 培養液カルシウム濃度が青枯病抵抗性の異なるトマト 20 品種・系統の平均発病指数に及ぼす影響

異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差 (5%水準) があることを示す

イト’、‘LS89’および抵抗性育成系統‘CRA66’、‘安濃 6 号’、‘安濃 7 号’では、高カルシウム濃度培養液処理区における発病抑制が明瞭に認められ、その差異は高度抵抗性の台木用品種でより顕著であった (図 2-9)。

c 考 察

培養液カルシウム濃度の高低は、トマト幼苗の生育、およびカリウム吸収には影響せず、またカルシウム濃度の上昇は、カルシウム吸収を高めるとともにマグネシウム吸収を抑制した (表 2-4)。この結果は前節までと同様であり、マグネシウム吸収の抑制はカチオン吸収の拮抗作用によるものと考えられた。

トマト青枯病の平均発病指数は、培養液カルシウム濃度が高まるとともに有意に低下した (図 2-8)。これは、各品種・系統ともにカルシウム濃度が高まるとともに発

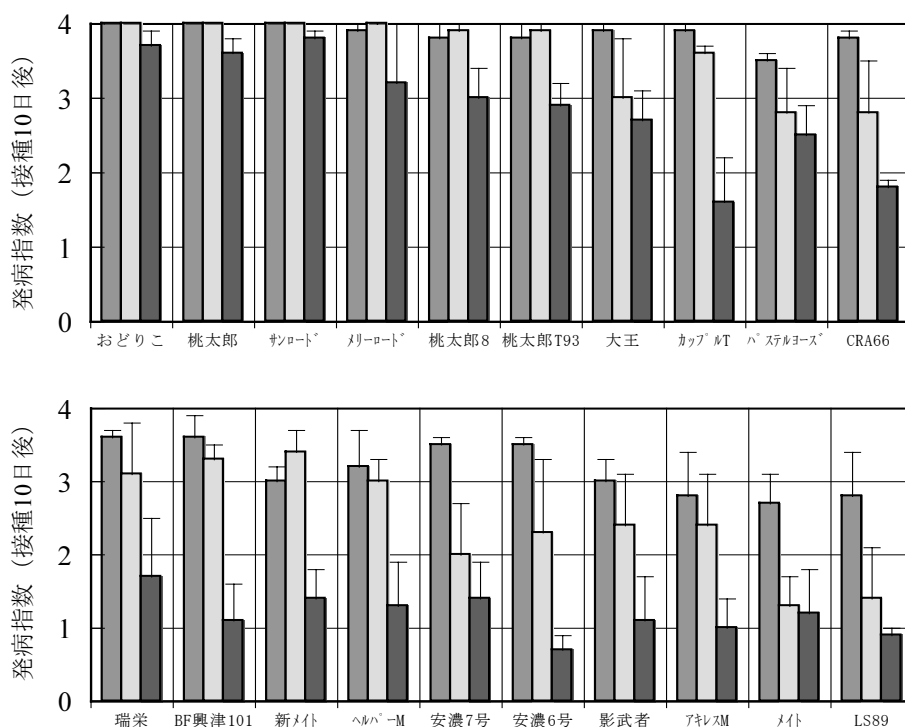


図2-9 培養液カルシウム濃度が抵抗性の異なるトマト20品種・系統の青枯病の発病に及ぼす影響

培養液カルシウム濃度 ■: 0.4, □: 4.4, ▨: 12.4mM

発病指数 0: 健全~4: 枯死, 図中の垂線は標準誤差を示す

病が抑制されていることを示している。しかし、その程度は品種・系統の抵抗性の程度によって大きく異なった(図2-9)。すなわち、り病性および低度抵抗性品種では、培養液カルシウム濃度が発病に及ぼす影響は小さく、高カルシウム濃度区における発病抑制が軽微であったのに対し、中程度および高度抵抗性品種・系統では、培養液カルシウム濃度が高まるとともに発病が抑制される傾向が明瞭に認められ、とくに高カルシウム濃度条件下において顕著に発病が抑制された。本結果は、第1節で認められた結果と一致しており、代表的な抵抗性品種で認められたカルシウム吸収の増加による発病抑制すなわち抵抗性の向上が多くの抵抗性品種・系統に共通して認められることを示している。

本実験で供試したトマト青枯病抵抗性品種の抵抗性の起源は、市販品種の場合、ほとんど明らかにされていないが、多くは抵抗性を示す野生トマトあるいは近縁野生種であると推測される。供試品種・系統のうち、‘CRA66’は小果トマト *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* 由来 (PRIORら, 1996; HANSONら, 1998), ‘BF興津101号’は前記とは別の *L. esculentum* var. *cerasiforme* および *L. esculentum* var. *pyriforme* 由来 (山川, 1978),

‘安濃6号’および‘安濃7号’は近縁野生種である *L. pimpinellifolium* 由来 (野菜・茶業試験場野菜育種部ナス科育種研究室より私信), ‘LS89’は前記とは別の *L. pimpinellifolium* 由来の抵抗性 (ACOSTAら, 1964; 山川, 1978) とされる。このように、これらの5品種・系統の持つ青枯病抵抗性は遺伝的背景が異なるが、いずれも培養液カルシウム濃度が高まるとともに発病が抑制され、その反応は類似していた(図2-9)。したがって、品種抵抗性の遺伝的背景が異なる場合にもカルシウム吸収の増加による抵抗性の向上が共通して認められるものと考えられた。このことは、本実験で未供試の抵抗性品種の場合にもおそらく同様の現象が認められることを示唆している。

これまでに、同一の抵抗性品種であっても、地域によってその発病程度が大きく異なることが報告されている (CHELLEMIら, 1994; HANSONら, 1996; WANGら, 1996)。この原因としては、菌株や菌密度の差異および温度、土壌等の環境条件の違い等が指摘されている (KRAUSZら, 1975; MEWら, 1977; PRIORら, 1990; HAYWARD, 1991; CHELLEMIら, 1994)。本結果は、その原因の一つとしてトマトのカルシウム吸収の差異が関

与する可能性を示している。すなわち、異なった環境下での栽培では、抵抗性品種のカルシウム吸収が異なり、それが抵抗性品種の発病程度の違いに反映された可能性がある。

IV カルシウム吸収によるトマト青枯病抵抗性の向上に関わる要因の検討

1 接種前後の培養液カルシウム濃度処理が抵抗性品種の発病に及ぼす影響

前章までに示したように、トマトのカルシウム吸収が青枯病抵抗性の発現に大きく関与することが明らかとなった。しかし、青枯病抵抗性自体の生化学的メカニズムが全く明らかになっていない（中保，1998；McGARVEYら，1999）ことから、カルシウム吸収による抵抗性の発現に対する影響に関する詳細なメカニズムについても明らかになっていない。一方、これまでに数種の病害で植物体のカルシウム含有率が高まった場合に発病が抑制される現象（木谷ら，1957；EDGINGTONら，1958；BATEMANら，1965；CORDEN，1965；FORSTERら，1975；McGUIREら，1984；SPIEGELら，1987；BERRYら，1988；Koら，1989；田中ら，1990；WEBSTERら，1991；VOLPINら，1991；CONWAYら，1992；ELADら，1992，1993；FLEGOら，1997；STARKEYら，1997）が知られており、そのメカニズムとしていくつかの仮説が提示されている。その一つはカルシウムが細胞壁のペクチン分子間を架橋し、その構造的強度を高め（MARSCHNER，1995）、そのために病原菌由来のペクチン分解酵素に対する耐性が高まり、結果として病徴進展が抑制される（BATEMANら，1965；McGUIREら，1986；CONWAYら，1988，1992；TOBIASら，1993）というものである。とくに、病原菌が病原性因子として産生するペクチン分解酵素のうち、ポリガラクトクロナーゼについては、植物体のカルシウム含有率が高まった場合に活性が阻害され（PLATEROら，1976）、その活性および遺伝子発現自体がカルシウム濃度上昇により阻害されることが報告されている（CORDEN，1965；PAGELら，1990；VOLPINら，1991；FLEGOら，1997）。

このほか、植物の病害抵抗性反応には多種多様な生化学的反応が関与しており、これまでにエチレン生成（VOLPINら，1991；RAZら，1992）、ファイトアレキシン生成（KUROSAKIら，1987；ZOOKら，1987）、カロース生成（SCHMELEら，1990；KAUSSら，1991）やそれ

らに対するシグナル伝達（DIXONら，1994）等について細胞内外のカルシウム濃度が影響を与えることが示されている。また、組織化学的には病原菌の侵入部位にカルシウムの集積が認められている（KUNOH，1990）。

このように、植物体中のカルシウム濃度の差異は多くの病害抵抗性反応に影響を与える可能性があることから、本研究で認められたカルシウム吸収によるトマト青枯病抵抗性発現の差異に関するメカニズムを特定することは容易でない。そこで、まず青枯病菌の接種前後で培養液カルシウム濃度を相互に変化させた条件下でトマト青枯病抵抗性品種の発病、すなわち抵抗性の発現を調査し、その結果より想定される作用メカニズムの推定を試みた。

a 材料および方法

トマト‘瑞栄’（中程度抵抗性品種）を供試し、Ⅲ-1と同様に温室内で育苗した後、水耕ポットに移植し、人工気象室（昼25/夜18℃，12時間日長）内で栽培した。移植1週間後、3段階の培養液カルシウム濃度（0.4，4.4，20.4mM）の処理を行った。なお、培養液組成はⅢ-1と同様とした。カルシウム処理1週間後、各区より6株の地上部を採取し、乾燥、粉碎後、湿式灰化して、カルシウム、カリウム、マグネシウム含有率を原子吸光分析法により測定した。残った各カルシウム濃度区の幼植物をさらに3区に分け、各区5ポット（10株）に対し、Ⅲ-1と同様の手法を用いて青枯病菌を付傷接種した。接種直後に3段階の培養液カルシウム濃度（0.4，4.4，20.4mM）の処理をさらにを行い、人工気象室の温度を昼28℃/夜20℃として以後の各株の発病を20日間調査した。すなわち、処理区は接種前カルシウム濃度3段階と接種後カルシウム濃度3段階との組み合わせによる9処理区とした。なお、接種1週間後に各区より非接種株3株の地上部を採取し、前記と同様にカルシウム、カリウム、マグネシウム含有率を測定した。

b 結 果

接種時におけるトマト幼植物の地上部乾重は、低カルシウム濃度区でやや低下したものの有意差はみられず、生育に大きな差は認められなかった（表3-1）。培養液カルシウム濃度が高まるとともに植物体のカルシウム含有率は有意に高まり、またカリウム含有率もやや高まったが、マグネシウム含有率は有意に低下した。

トマト青枯病の発病は、接種前の培養液カルシウム濃度の差異にかかわらず、接種後のカルシウム濃度が高まるとともに抑制された（図3-1）。

接種1週間後における地上部乾重には接種前カルシウム濃度の影響がみられ、接種前カルシウム濃度が低い場合にその値が低下する傾向が認められたが、接種後カルシウム濃度による有意差はみられなかった(表3-2)。また、カルシウムおよびマグネシウム含有率には接種前および接種後カルシウム濃度の双方の影響が認められ、カルシウム濃度が高まるとともにそれぞれ有意に上昇および低下した。なお、カリウム含有率には接種前および接種後カルシウム濃度の影響は認められなかった。

c 考 察

地上部植物体のカルシウム含有率は、培養液カルシウム濃度に対応して変化し、前章までの結果と同様に培養液カルシウム濃度を高めた場合にマグネシウム含有率が低下した(表3-1, 3-2)。II-2で示したように、培養液マグネシウム濃度処理が発病に影響を与えないことから、前章と同様にマグネシウム吸収が発病に影響した可能性は低いと考えられた。また、同様に培養液へのストロンチウムの添加が抵抗性品種の発病を抑制し、塩化ナトリウム添加ではそれがみられなかったことから、本節でみられた抵抗性品種の発病の差異は、主に植物体のカルシウム吸収の影響によるものと判断された。

トマト幼植物の青枯病の発病は、接種前の培養液カルシウム濃度の影響をほとんど受けず、接種後のカルシウム濃度が大きく影響した(図3-1)。すなわち、接種後カルシウム濃度が低い場合に発病が助長されるとともに、高い場合に発病が抑制され、その程度はIII-1における同品種の場合と同程度であった。したがって、本結果は接種後、すなわち病原菌感染後のカルシウム吸収が抵抗性品種の発病、すなわち抵抗性の発現に大きな影響を及ぼすことを示している。

これまでに、カルシウムが細胞壁のペクチン分子間を

表3-1 青枯病菌接種前の培養液カルシウム濃度がトマト幼植物の地上部乾重および塩基含有率に及ぼす影響

培養液カルシウム濃度 (mM)	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	塩基含有率 (mg g ⁻¹)		
		Ca	K	Mg
0.4	1.92	8.38c	57.9b	9.59a
4.4	2.20	22.8b	62.9ab	5.57b
20.4	2.23	32.2a	67.8a	3.69c
分散分析	NS	**	*	**

カルシウム処理1週間後

異なる文字を付した平均値間にはTukey法による有意差(5%)があることを示す

NS, *, **: それぞれ有意差なし, 5%, 1%水準で有意差あり

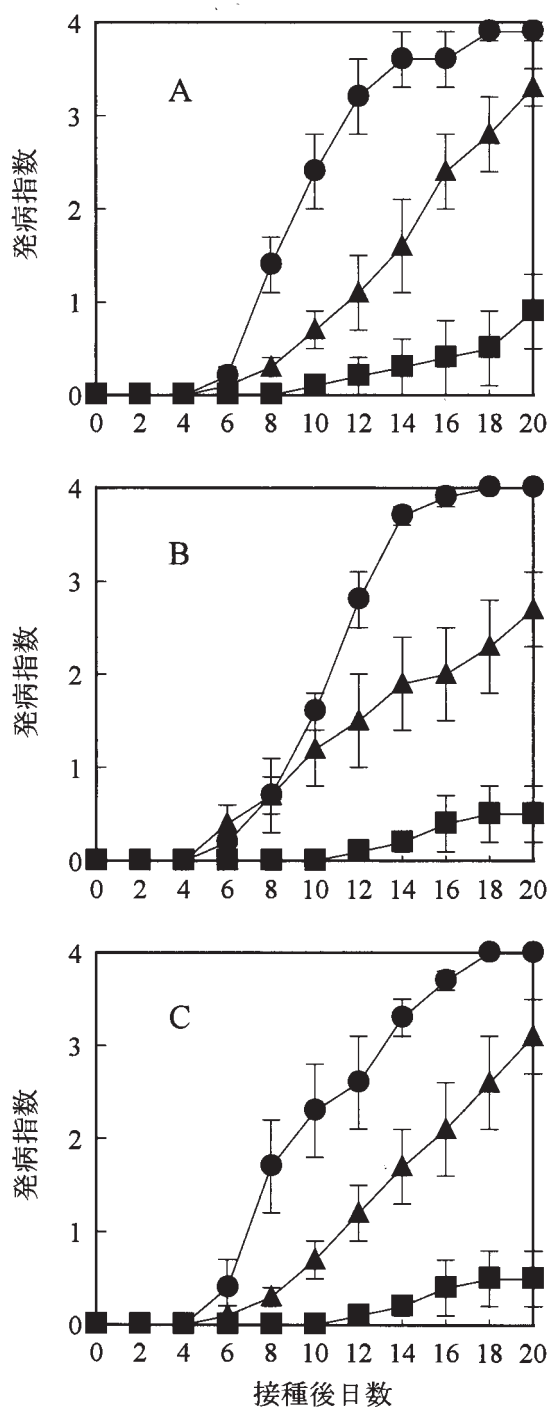


図3-1 青枯病菌接種前後の培養液カルシウム濃度がトマト抵抗性品種の発病に及ぼす影響

供試品種: '瑞栄' (中程度抵抗性品種)

接種前培養液カルシウム濃度 (mM) A: 0.4, B: 4.4, C: 20.4

接種後培養液カルシウム濃度 (mM) ●: 0.4, ▲: 4.4, ■: 20.4

発病指数 0: 健全~4: 枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

表 3-2 青枯病菌接種前後の培養液カルシウム濃度がトマト幼植物の地上部乾重および塩基含有率に及ぼす影響

培養液カルシウム濃度 (mM)		地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	塩基含有率 (mg g ⁻¹)		
接種前	接種後		Ca	K	Mg
0.4	0.4	7.42	4.92	43.0	9.16
0.4	4.4	7.28	17.7	49.7	8.92
0.4	20.4	7.23	26.8	43.3	5.00
4.4	0.4	8.47	9.81	46.5	7.95
4.4	4.4	7.95	22.7	49.0	6.88
4.4	20.4	7.43	32.2	44.4	3.19
20.4	0.4	8.35	13.8	49.3	7.55
20.4	4.4	8.15	26.9	48.8	6.37
20.4	20.4	8.98	35.9	49.4	2.68
分散分析					
接種前カルシウム濃度		* *	* *	NS	* *
接種後カルシウム濃度		NS	* *	NS	* *
交互作用		NS	NS	NS	NS
要因					
接種前カルシウム濃度					
0.4		7.31b ^c	16.5c	45.3	7.70a
4.4		7.95ab	21.6b	46.6	6.01b
20.4		8.49a	25.6a	49.2	5.53b
接種後カルシウム濃度					
0.4		8.08	9.51c	46.3	8.22a
4.4		7.79	22.4b	49.2	7.39b
20.4		7.88	31.6a	45.7	3.62c

接種後カルシウム処理 1 週間後

異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差 (5%) があることを示す
NS, **: それぞれ有意差なし, 1%水準で有意差あり

架橋し、その構造的強度を高め (MARSCHNER, 1995)、それが病原菌の病原性因子であるペクチン分解酵素、とくにポリガラクトクロナーゼに対する耐性を高め、病徴進展を抑制する可能性がいくつかの病害で示されている (BATEMANら, 1965; McGUIREら, 1986; CONWAYら, 1988, 1992; TOBIASら, 1993)。本研究の対象であるトマト青枯病菌についてもポリガラクトクロナーゼが主要な病原性因子の一つとされる (SCHELLら, 1988; SCHELL, 2000) ことから、同様のメカニズムが関与している可能性がある。一方、本結果では、接種前のカルシウム濃度はトマト抵抗性品種の発病にほとんど影響を与えなかった (図 3-1)。この場合、植物体のカルシウムの大部分は、細胞壁、とくにペクチンに結合して存在すること (MARSCHNER, 1995) から、接種前のカルシウム処理により細胞壁のカルシウム含有率には接種の時点で全カルシウム含有率に応じた差異が生じていたと推定される。したがって、このトマト青枯病抵抗性品種の

発病がカルシウム吸収によって変化する現象に、病原菌の感染前に生じた細胞壁カルシウム含有率の差異が影響する可能性は低いと考えられた。

一方、接種後のカルシウム濃度処理が発病に大きな影響を及ぼした (図 3-1) が、このことは病原菌感染後に生じた植物体内のカルシウム濃度の差異が発病すなわち抵抗性の発現に関与した可能性を示唆している。これまでに、カルシウム濃度の上昇が数種病原菌の病原性因子であるポリガラクトクロナーゼの活性等を直接に阻害すること (CORDEN, 1965; PAGELら, 1990; VOLPINら, 1991; FLEGOら, 1997)、ならびに細胞内外のカルシウム濃度がエチレン生成 (VOLPINら, 1991; RAZら, 1992)、ファイトアレキシン生成 (KUROSAKIら, 1987; ZOOKら, 1987)、カロース生成 (SCHEMELEら, 1990; KAUSSら, 1991) やそれらに対するシグナル伝達 (DIXONら, 1994) 等の各種病害抵抗性反応に影響を与えることが示されている。したがって、本結果の場合も

病原菌感染後に生じた植物体内のカルシウム濃度の差異が上記のような菌の病原性あるいは植物体側の抵抗性反応に影響を及ぼした可能性が示唆される。しかし、これまでに青枯病菌の病原性因子に対するカルシウム濃度の影響は未検討であるとともに、青枯病抵抗性に関与する生化学的反応は未解明である（中保, 1998; McGARVEYら, 1999）ことから、植物体内カルシウム濃度の差異が関与する上記の要因を特定することが必要である。

前章においても示したように、トマト青枯病抵抗性品種の発病には、茎とくにその木部における病原菌の増殖・移行程度の差異が大きく関与する（GRIMAULTら, 1993, 1994a; NAKAHO, 1997; NAKAHOら, 2000）。したがって、接種後カルシウム濃度処理によって生じた茎の木部およびその近傍でのカルシウム濃度の差異が上記のような要因を通して病原菌の増殖・移行に影響を及ぼしたと推測される。トマト青枯病抵抗性品種の感染木部の電子顕微鏡観察では、木部導管の周辺細胞に高電子密度物質の集積が認められ（GRIMAULTら, 1994d; NAKAHOら, 2000）、それが菌の増殖・移行抑制に関与するものと推定されているが、その実体は明らかにされていない。一方、KUNOH（1990）はオオムギうどんこ病菌等の病原菌胞子が発芽し、植物体に侵入する過程で、侵入部位において細胞質凝集（cytoplasm aggregate）やカロース集積などが生じると同時にカルシウムの集積が生じていることを示している。これまでに、青枯病等の導管病で木部における感染とカルシウム集積との関係に関する報告は為されていないが、同様の現象が生じている可能性も考えられ、上記のような抵抗性品種における高電子密度物質の集積とカルシウムの分布との関係を組織化学的に比較検討することが今後必要である。

2 トマト青枯病抵抗性品種間におけるカルシウム吸収の差異

カルシウム等の養分元素が発病に関与する一部の病害では、その養分吸収能が抵抗性品種で高い事例がみられる。例えば、トマトかいよう病の場合、培養液カルシウム濃度を高めた場合に発病が抑制されるが、各カルシウム濃度条件下において、抵抗性品種のカルシウム含有率は、り病性品種と比較して有意に高い（BERRYら, 1988）。また、低マンガン条件下で発病が助長されるコムギ立枯病においても、抵抗性品種のマンガン含有率が高いことが示されている（WILHELMら, 1990; RENGELら, 1993）。さらに、イネいもち病の場合、ケイ素吸収が発病に抑制的に作用することが古くから知られている

（SAVANTら, 1997）が、ケイ素吸収能の高い品種で抵抗性が高い事例が報告されている（DERENら, 1992, 1994; WINSLOW, 1992）。

一方、Ⅲ-1では、高度抵抗性品種がり病性および中程度抵抗性品種と比較して有意に高いカルシウム含有率を示し、品種の抵抗性とカルシウム吸収との何らかの関連性を示した。しかし、供試品種数が少ないためにその関連性の存在は明確でない。また、これまでに、多くの品種を用いて品種の病害抵抗性と養分吸収とくにカルシウム吸収との関係を検討した例は認められない。そこで、青枯病抵抗性の異なるトマト23品種の幼植物を用いて抵抗性を検定するとともに、それらの養分吸収とくにカルシウム吸収を比較検討することにより、品種の青枯病抵抗性とカルシウム吸収との関係を明確にすることを試みた。

a 材料および方法

青枯病抵抗性の異なる23品種を供試した（表3-3）。このうち、‘おどりこ’および‘ボンデローザ’はり病性品種、それ以外は青枯病抵抗性または耐病性として市販されている自根栽培用または台木用品種である。供試品

表3-3 供試したトマト23品種の青枯病抵抗性

品 種	発病指数	発病株率	抵抗性
おどりこ	4.0	100	S
ボンデローザ	4.0	100	S
サンロード	4.0	100	S
ヘルシー	4.0	100	S
新愛知	4.0	100	S
トマホーク	3.8	95	S
パステルヨーズ	3.7	100	S
ファーストメモリー	3.7	95	S
桃太郎 T93	3.6	95	S
ますらお	3.6	90	S
BF 興津 101 号	3.0	80	S
大王	3.0	75	S
ジョイント	2.1	75	MR
瑞栄	1.8	55	MR
カップル T	0.9	35	MR
カップル O	0.8	25	MR
PFNT 1 号	0.4	10	MR
メイト	0.3	20	MR
BFNT-R	0	0	HR
PFN1 号	0	0	HR
PFN2 号	0	0	HR
PFNT2 号	0	0	HR
LS89	0	0	HR

発病指数：接種20日後，0：健全～4：枯死

抵抗性 S：り病性，MR：中程度抵抗性，HR：高度抵抗性

表 3-4 トマト 23 品種の養分含有率

品 種	養 分 含 有 率							
	(g kg ⁻¹)					(mg kg ⁻¹)		
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
おどりこ	43.9	4.08	63.9	12.9	4.05	294	233	113
ボンデローザ	48.9	3.85	64.6	13.9	3.77	298	236	121
サンロード	45.9	3.72	65.5	13.9	3.72	275	227	108
ヘルシー	46.5	3.43	60.4	13.9	3.82	355	229	113
新愛知	43.1	3.34	62.7	13.3	3.99	225	305	114
トマホーク	48.9	3.91	63.5	15.8	4.12	256	265	118
パステルヨーズ	53.0	4.16	59.5	14.6	3.87	300	179	112
ファーストメモリー	49.9	4.55	70.5	17.1	4.34	268	225	127
桃太郎 T93	46.7	3.51	63.9	13.4	4.24	335	315	130
ますらお	46.3	3.91	65.9	13.0	3.82	349	316	110
BF 興津 101 号	50.2	4.27	62.8	15.8	3.88	221	168	129
大王	48.6	3.73	62.9	14.3	4.13	249	197	109
ジョイント	49.8	4.00	65.7	15.6	3.87	237	205	114
瑞栄	47.4	4.33	71.8	13.4	4.04	257	193	128
カップル T	46.0	4.17	65.6	14.0	3.87	219	201	121
カップル O	43.3	4.14	66.2	14.8	4.13	367	238	121
PFNT 1 号	46.9	3.99	57.8	17.7	4.13	243	256	114
メイト	47.2	3.78	65.8	14.6	3.81	247	183	115
BFNT-R	47.8	3.54	65.7	15.5	3.83	279	216	105
PFN1 号	47.7	3.68	58.9	16.9	4.35	292	237	110
PFN2 号	43.3	3.79	70.1	15.6	4.09	223	220	107
PFNT2 号	42.2	3.78	66.3	15.0	4.16	230	241	112
LS89	44.5	4.20	65.2	16.5	4.06	333	268	116
全品種平均	46.9	3.91	64.6	14.9	4.00	276	233	116
変動係数 (%)	5.7	7.8	5.4	9.2	4.6	16.7	17.5	6.2
有意差検定	NS	**	**	**	**	**	**	**

NS, **: それぞれ Kruskal-Wallis 法により有意差なし, 1%水準で有意差あり

種をバーミキュライト・パーライト等量混合培地には種し、温室内で育苗した本葉 2~3 葉期の幼苗を市販培養土（クレハ園芸培土，呉羽化学，東京）380g を充填したポットに移植した後、温室内で栽培した。

移植 15 日後、各品種 20 株に対しⅢ-1 と同様の手法を用いて青枯病菌を付傷接種し、以後の各株の発病を 20 日間前記と同様に調査した。

なお、移植 20 日後に各品種の非接種株 3 株を任意に選び、その葉および茎を分けて採取した。また、それらの根を水道水で洗浄し、蒸留水ですすいで採取した。各試料は乾重測定後、粉碎、湿式灰化し、窒素（セミクロケルダール法）、リン（バナドモリブデン法）、カリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、マンガン、亜鉛（原子吸光光度法）含有率を測定した。

b 結 果

トマト青枯病の発病は、品種により大きく異なった（表 3-3）。接種 20 日後の発病指数でみた場合、12 品種が全株枯死または著しく発病した。これに対し、6 品種では発病程度が低く、また、5 品種では全く発病が認められなかった。本結果より、供試品種を病性、中程度抵抗性、高度抵抗性の 3 群に分類した（表 3-3）。

トマト非接種株の各養分含有率には、窒素以外で有意な品種間差異が認められた（表 3-4）。また、植物体乾物重および調査したすべての養分の吸収量についても有意な品種間差異が認められた（表 3-5）。

つぎに、青枯病抵抗性の異なる品種群間で各養分含有率および吸収量を比較した場合、含有率には各元素とも有意差がみられなかったが、吸収量ではカルシウム吸収量について品種群間で有意差が認められ、高度抵抗性の品種群が有意に高いカルシウム吸収量を示した（表 3-6）。

表3-5 トマト 23 品種の地上部乾重および養分吸収量

品 種	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	養 分 吸 収 量 (mg plant ⁻¹)							
		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
おどりこ	3.86	170	15.8	247	49.8	15.6	1.13	0.90	0.44
ボンデローザ	3.01	148	11.7	194	42.3	11.3	0.89	0.71	0.36
サンロード	3.45	158	12.8	226	47.9	12.8	0.95	0.78	0.37
ヘルシー	3.70	172	12.7	224	51.6	14.1	1.31	0.85	0.42
新愛知	3.37	145	11.2	211	44.7	13.4	0.76	1.03	0.38
トマホーク	3.37	165	13.2	214	53.2	13.9	0.86	0.89	0.40
パステルヨーズ	2.37	126	9.9	140	34.5	9.2	0.71	0.42	0.27
ファーストメモリー	2.93	146	13.3	206	50.1	12.7	0.79	0.66	0.37
桃太郎 T93	3.29	154	11.5	210	44.2	13.9	1.10	1.04	0.43
ますらお	2.87	132	11.2	189	37.3	11.0	0.97	0.91	0.32
BF 興津 101 号	2.62	132	11.1	164	41.3	10.2	0.58	0.44	0.34
大王	3.04	148	11.3	191	43.5	12.5	0.76	0.60	0.33
ジョイント	3.16	157	12.6	207	49.4	12.2	0.75	0.65	0.36
瑞栄	3.43	163	14.9	246	46.1	13.9	0.88	0.66	0.44
カップル T	3.41	157	14.2	224	47.8	13.2	0.75	0.69	0.41
カップル O	3.61	156	14.9	239	53.5	15.0	1.32	0.87	0.44
PFNT 1 号	2.86	134	11.4	166	50.4	11.8	0.70	0.73	0.33
メイト	3.31	157	12.5	217	48.5	12.6	0.82	0.61	0.38
BFNT-R	3.22	155	11.4	211	50.0	12.3	0.89	0.69	0.34
PFN1 号	3.25	155	11.9	191	54.8	14.1	0.95	0.77	0.36
PFN2 号	3.71	161	14.0	260	57.8	15.2	0.83	0.82	0.40
PFNT2 号	4.19	175	15.8	278	62.9	17.5	0.98	1.01	0.47
LS89	4.09	180	17.0	266	67.7	16.6	1.38	1.10	0.47
全品種平均	3.31	154	12.9	214	49.1	13.3	0.92	0.77	0.38
変動係数 (%)	13.0	9.1	14.3	15.6	15.3	14.8	22.9	23.2	13.5
有意差検定	**	*	**	**	**	**	**	**	**

*, **: それぞれ Kruskal-Wallis 法により 5%水準, 1%水準で有意差あり

表3-6 青枯病抵抗性の異なる品種群における養分含有率・吸収量

青枯病抵抗性	養分含有率							
	(g kg ⁻¹)					(mg kg ⁻¹)		
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
り病性	47.7	3.87	63.8	14.3	3.98	285	241	117
中程度抵抗性	46.8	4.07	65.5	15.0	3.97	262	213	119
高度抵抗性	45.1	3.80	65.2	15.9	4.10	271	236	110
有意差検定	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

青枯病抵抗性	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	養分吸収量 (mg plant ⁻¹)							
		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
り病性	3.16	150	12.1	201	45.0b	12.6	0.90	0.77	0.37
中程度抵抗性	3.30	154	13.4	217	49.3b	13.1	0.87	0.70	0.39
高度抵抗性	3.69	165	14.0	241	58.6a	15.2	1.01	0.88	0.41
有意差検定	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS

異なる文字を付した平均値間には Kruskal-Wallis 法による有意差 (5%水準) があることを示す

NS, **: それぞれ Kruskal-Wallis 法により有意差なし, 1%水準で有意差あり

また、カルシウム含有率および吸収量を葉、茎、根の器官別に品種群間で比較した場合、葉のカルシウム含有率および葉、茎のカルシウム吸収量に有意差がみられ、いずれも高度抵抗性の品種群で高い値を示す傾向が認められた（表3-7）。

c 考 察

トマト青枯病抵抗性の異なる23品種の抵抗性をポット栽培した幼植物を用いて温室内で検定した結果、各品種の発病指数の差異により品種を病性、中程度抵抗性および高度抵抗性の3群に分類した（表3-3）。Ⅲ-3の結果と比較した場合、共通して供試した品種の発病指数は若干異なり、とくに中程度および高度抵抗性品種で低い発病指数を示した。この原因には、検定時の生育ステージおよび温度条件の違いが関与しているものと考えられる。青枯病抵抗性は一般に幼苗よりも生育の進んだ段階で高まること（HAYWARD, 1991）から、より生育の進んだ状態で検定を行った本実験において、抵抗性品種の抵抗性がより高度に発揮されたものと推測される。また、抵抗性品種の発病は温度条件に大きく左右されること（KRAUSZら, 1975；MEWら, 1977；NAKAHOら, 1996）から、発病に好適な温度条件に制御して検定を行った前章の場合よりも、温室内で検定した本実験の場合は積算温度が低かったと推測され、それが抵抗性品種の低い発病指数に反映されたと考えられる。

調査した養分元素の吸収には有意な品種間差異が認められた（表3-4, 3-5）。とくに鉄およびマンガンでは、その含有率および吸収量の変動係数がやや高く、品種間差異が他の元素に比べて大きい傾向を示した。これまでに、トマト系統間で窒素、リン、カリウムおよびカルシウムの吸収能に差異があることが示されている（KALLOO, 1991）が、本結果はそれら以外の養分元素についても吸収能に品種間差異がある可能性を示唆している。

青枯病抵抗性の異なる品種群間で養分吸収を比較した

場合、カルシウム吸収のみが青枯病抵抗性との関連を示し、高度抵抗性の品種群でカルシウム吸収が多いこと（表3-6）、ならびにその差異が地上部の吸収の差異に起因すること（表3-7）を明らかにした。本結果は、高度抵抗性の品種群が高いカルシウム吸収能を有することを示しており、トマト青枯病抵抗性とカルシウム吸収との関連性を示唆している。このような品種の病害抵抗性とカルシウム吸収の品種間差異との関係については、これまでにトマトかいよう病（BERRYら, 1988）で報告されているのみであり、この場合も2品種を検討したのみであるため、多数の品種を用いて得られた本結果は、品種の病害抵抗性とカルシウム吸収との関係に関する新たな知見と考えられる。

トマトのカルシウム吸収の系統間差異については、これまでにカルシウムの移行、分布、存在形態等の観点から検討が加えられている（ENGLISHら, 1981, 1982；BEHLINGら, 1989）。その差異自体の起源については明らかにされていないが、栽培トマト（*Lycopersicon esculentum*）と近縁野生種の *L. pimpinellifolium* との交雑系統の1系統が高いカルシウム吸収能を持つこと（ENGLISHら, 1981）、およびトマトの高いカルシウム吸収能の形質は遺伝すること（GIORDANOら, 1982）が報告されている。一方、高度抵抗性品種の1つである‘LS89’は *L. pimpinellifolium* との交雑後代であり（ACOSTAら, 1964；山川, 1978）、葉の切れ込みが小さく丸みを帯びているなど特徴的な形態を持つ。本実験で用いた他の高度抵抗性品種も類似の形態を持つことから、同様の野生種より抵抗性を導入しているものと推測される。これらのことから、高度抵抗性品種群の持つ高いカルシウム吸収能は、近縁野生種からの抵抗性の導入の際に同時に導入された可能性が示唆される。

一方、このようなトマト青枯病高度抵抗性品種群における高いカルシウム吸収能が抵抗性の発現にどのように関与しているのかは明確でない。本節で認められたカル

表3-7 青枯病抵抗性の異なる品種群における部位別カルシウム含有率・吸収量

青枯病抵抗性	カルシウム含有率 (g kg ⁻¹)			カルシウム吸収量 (mg plant ⁻¹)		
	葉	茎	根	葉	茎	根
り病性	18.3b	8.61	4.50	37.0b	6.20b	1.80
中程度抵抗性	19.5ab	8.95	4.64	40.2ab	7.25b	1.82
高度抵抗性	21.6a	9.16	4.73	46.9a	9.49a	2.27
有意差検定	**	NS	NS	**	**	NS

異なる文字を付した平均値間には Kruskal-Wallis 法による有意差（5%水準）があることを示す
NS, **: それぞれ Kruskal-Wallis 法により有意差なし, 1%水準で有意差あり

シウム吸収の品種群間差異の程度は、培養液カルシウム濃度処理によって生じるカルシウム吸収の差異の程度(Ⅲ-1)と比較してかなり小さいことから、その差異が直接的に抵抗性発現に影響する可能性は小さいと推測されるが、ある程度の影響を与える可能性は否定できない。このカルシウム吸収の品種間差異が抵抗性の発現に寄与する可能性については、次節において検討する。

3 トマト相互接ぎ木苗のカルシウム吸収と青枯病抵抗性との関係

前節の結果より、トマト青枯病抵抗性の異なる品種群間でカルシウム吸収能が異なり、高度抵抗性の品種群が高いカルシウム吸収能を示すことが明らかとなった。このようなカルシウム吸収の品種間差異に関与する植物体側の要因としては、根の量や吸収能力の差異のほか、地上部への転流や地上部における移行・分配の差異などが想定され、トマトのカルシウム吸収の品種・系統間差異についても、カルシウムの移行、分配、存在形態等の観点から検討が加えられている(ENGLISHら, 1981, 1982; BEHLINGら, 1989)。しかし、前節で認められたトマト青枯病抵抗性品種群間におけるカルシウム吸収の差異がどのような要因によって生ずるのかは明らかにされていない。

一方、前述のように、高度抵抗性品種群における高いカルシウム吸収能が抵抗性の発現にどのように関与しているのかは明確でない。カルシウム吸収の品種群間差異の程度は小さいことから、その差異が直接的に抵抗性発現に影響する可能性は小さいと推測されるが、ある程度の影響を与える可能性は否定できない。したがって、この抵抗性発現に対するカルシウム吸収の品種間差異の寄与について、その程度を明らかにする必要がある。

そこで、上記の点を明らかにすることを目的として、青枯病抵抗性の異なるトマト品種間で相互に接ぎ木を行った相互接ぎ木苗を用いて、カルシウム吸収を調査するとともに、青枯病菌を穂木に接種し、その発病とカルシウム吸収との関係を検討した。

a 材料および方法

青枯病抵抗性の異なるトマト3品種(‘ボンデローザ’:り病性, ‘瑞栄’:中程度抵抗性, ‘LS89’:高度抵抗性)を供試した。バーミキュライト・パーライト等量混合培地には種後、温室内で育苗した。本葉4~5葉期にそれぞれ3品種を台木および穂木に用いて、子葉上部で斜め合わせ接ぎ法(ODA, 1995)により相互に接ぎ木を行っ

た。順化後、接ぎ木苗を1kgの市販培養土(クレハ園芸培土, 呉羽化学, 東京)を充填したノイバウエルポットに移植し、温室内で栽培した。なお、高度抵抗性品種を穂木とした接ぎ木苗は、移植後の生育が著しく劣ったため、本実験から除外した。そのため、穂木2品種(り病性, 中程度抵抗性)および台木3品種(り病性, 中程度抵抗性, 高度抵抗性)の組み合わせによる6種類の接ぎ木苗を供試した。

移植1週間後に、前節と同様に調製した青枯病菌液を用いて、各接ぎ木苗10株の穂木に対し、頂部より3葉目の葉の葉柄基部を菌液に浸したはさみで切除することにより付傷接種を行った。接種後、接ぎ木苗を人工気象室(昼28℃/夜22℃, 12時間日長)内で栽培し、以後の発病を20日間調査した。

また、移植11日後に、各接ぎ木苗の非接種株4株を採取し、乾燥後、地上部乾重、カリウム、カルシウム、マグネシウム含有率を前節と同様に測定した。

b 結 果

相互接ぎ木苗の地上部乾重に穂木および台木の品種による有意差は認められなかった(表3-8)。地上部のカルシウム含有率は、高度抵抗性品種を台木とした場合に有意に高まり、それに応じてカルシウム吸収量も増加していた(表3-8)。カリウムについては、含有率、吸収量ともに有意差はみられなかった。マグネシウムについては、台木の抵抗性が高まるとともに含有率が高まる傾向を示したが、吸収量に有意差は認められなかった。

穂木の葉柄に接種されたトマト相互接ぎ木苗の青枯病の発病は、穂木品種の抵抗性に依存していた(図3-2)。すなわち、穂木がり病性の場合に著しく発病し、中程度抵抗性の場合に発病がやや軽度となった。この場合、台木品種の抵抗性の差異は、発病に全く影響を及ぼさなかった。

c 考 察

トマト相互接ぎ木苗の生育に差は認められなかったが、カルシウム含有率および吸収量は、高度抵抗性品種を台木とした場合に有意に高まった(表3-8)。これは、前節までに認められた高度抵抗性品種の持つ高いカルシウム吸収能が接ぎ木苗の場合にも現れたものと考えられる。トマトのカルシウム吸収能の系統間差異に関与する要因については、地下部においてカルシウムを吸収する能力の差異、ならびに吸収したカルシウムの移行・分布パターンの差異が示唆されている(ENGLISHら, 1981, 1982; BEHLINGら, 1989)。本結果では、接ぎ木苗の穂木が大

表 3-8 青枯病抵抗性の異なるトマト品種間の相互接ぎ木苗における地上部乾重および塩基含有率・吸収量

品 種		地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	塩基含有率 (mg g ⁻¹)			塩基吸収量 (mg shoot ⁻¹)		
穂木	台木		Ca	K	Mg	Ca	K	Mg
ボンデローザ	ボンデローザ	3.23	15.1	66.0	3.93	48.9	212	12.7
ボンデローザ	瑞栄	3.19	15.3	66.1	4.35	49.0	210	14.0
ボンデローザ	LS89	3.07	20.1	66.6	4.63	60.7	202	14.2
瑞栄	ボンデローザ	3.13	15.0	66.2	3.99	46.6	206	12.4
瑞栄	瑞栄	2.96	16.4	70.2	4.21	48.3	209	12.5
瑞栄	LS89	3.50	19.1	69.0	4.58	66.4	240	16.0
分散分析								
穂木品種		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
台木品種		NS	**	NS	*	**	NS	NS
交互作用		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
要因								
穂木品種								
ボンデローザ		3.16	16.9	66.2	4.30	52.9	208	13.6
瑞栄		3.19	16.8	68.5	4.26	53.8	218	13.6
台木品種								
ボンデローザ		3.18	15.1b ^b	66.1	3.96b	47.8b	209	12.6
瑞栄		3.08	15.9b	68.2	4.28ab	48.7b	210	13.3
LS89		3.29	19.6a	67.8	4.61a	63.6a	221	15.1

‘ボンデローザ’：り病性，‘瑞栄’：中程度抵抗性，‘LS89’：高度抵抗性

異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差（5%）があることを示す

NS, *, **: それぞれ有意差なし, 5%, 1%水準で有意差あり

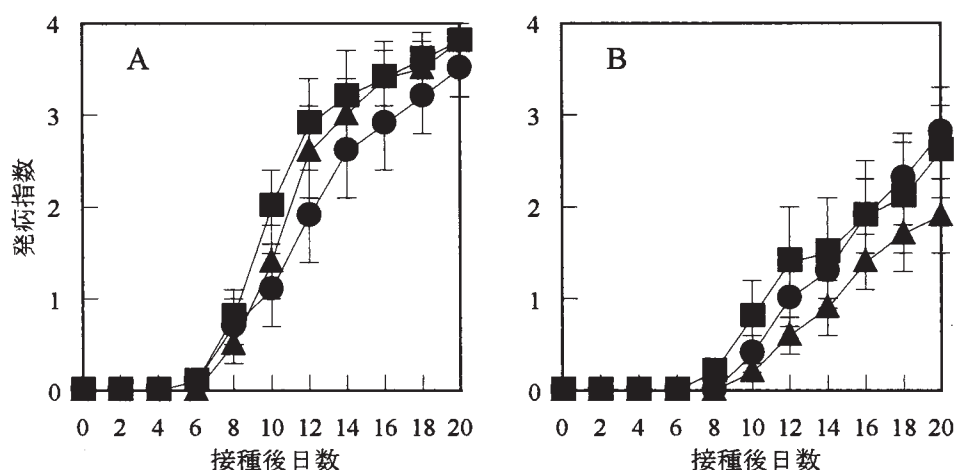


図 3-2 青枯病抵抗性の異なるトマト品種間の相互接ぎ木苗における青枯病の発病

接種方法：穂木の葉柄に付傷接種

A：穂木－り病性品種（ボンデローザ），B：穂木－中程度抵抗性品種（瑞栄）

台木品種 ■：り病性（ボンデローザ），●：中程度抵抗性（瑞栄），▲：高度抵抗性（LS89）

発病指数 0：健全～4：枯死，図中の垂線は標準誤差を示す

部分を占める地上部において、穂木の品種にかかわらずカルシウム吸収に差異がみられたこと（表 3-8）から、高度抵抗性品種の地下部すなわち根がより多くのカルシウムを吸収し、穂木に供給したものと推測される。この根におけるカルシウム吸収能の差異には、根の量的・形

態的差異や吸収部位における吸収能の差異が関与するものと考えられる。梶田ら（1985）は本実験で供試した‘LS89’を含む数種の病害抵抗性台木を用いた接ぎ木栽培トマトの養分吸収を調査し、共台の場合に比べ病害抵抗性台木を用いた場合に根量が多く、果実や葉のカルシ

ウム含有率が高まる傾向にあることを報告している。本実験では、接ぎ木苗の根量の調査は行っていないが、前記の報告から高度抵抗性品種を台木とした場合には根量が増加している可能性が示唆され、それがカルシウム吸収量の増加をもたらす、地上部のカルシウム吸収量の差異に反映された可能性が推定された。

地上部の穂木に対して青枯病菌を接種した場合、発病は穂木に用いた品種の抵抗性に依存し、台木品種の抵抗性の影響は認められなかった（図3-2）。この場合、高度抵抗性品種を台木とした接ぎ木苗では地上部のカルシウム吸収が高まっていたものと考えられるが、その影響は全く認められなかった。したがって、本結果は前節で認められた高度抵抗性品種群における高カルシウム吸収能の形質が青枯病抵抗性の発現にほとんど寄与しないことを示している。このことから、前節で認められた高度抵抗性品種群の高いカルシウム吸収能は、近縁野生種から抵抗性を導入する際に同時に導入された根量等の根の形質の差異によって生じた副次的なものであると推定された。

V トマト青枯病の発病抑制を目的としたカルシウム施用法の開発

1 被覆カルシウム資材の施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

前章までに示したように、植物体のカルシウム吸収がトマト青枯病抵抗性品種・台木の発病に大きく関与し、カルシウム吸収を高めた場合に発病が抑制されることが明らかとなった。このことは、抵抗性品種あるいは接ぎ木苗の栽培とカルシウムの施用を組み合わせることにより、ほ場栽培レベルで青枯病の発病を抑制できる可能性を示している。しかし、これまでのカルシウム資材施用法では、作物へのカルシウム供給を主目的としておらず、土壌の酸性矯正を主眼として炭酸カルシウム等の難溶性の資材を施用することが慣行的に行われている。そのために降雨等による溶脱の無い施設栽培土壌では炭酸カルシウムの過剰蓄積が認められている（和田ら、1996）。このことは、難溶性カルシウム資材を施用しても、そのカルシウムの大部分は作物に吸収・利用されずに土壌に蓄積することを意味しており、カルシウムの利用効率が著しく低いことを示している。実際に、資材施用を行った場合にも土壌溶液のカルシウム濃度が高まらず、したがって作物のカルシウム吸収が高まらない事例（小田原ら、1994）も認められている。また、難溶性カルシウム

資材の連用は、土壌 pH の過度の上昇を招き、そのために微量要素の吸収が阻害され、作物の生育に悪影響を及ぼす問題点が指摘されている（土屋、1990）。そのため、上記のようなカルシウム施用による青枯病抑制技術を確立するには、効率的にカルシウムを作物に吸収させ、かつ土壌 pH の過度の上昇を招かないようなカルシウム施用法を新たに開発する必要がある。

近年、各種肥料を樹脂で被覆し、溶出を制御する技術が高度化し、種々の被覆肥料が市販されている。なかでも、ポリオレフィン樹脂で硝酸カルシウムを被覆した被覆硝酸カルシウムは、緩効性カルシウム肥料としてその施用が各種野菜のカルシウム吸収を高めるとともにカルシウム欠乏症を軽減することが示されている（北嶋、1993；小田原ら、1994；高橋、1998a）。本肥料の施用は、土壌 pH に大きな影響を及ぼさないこと、ならびに重要土壌病害であるハクサイ根こぶ病（久保、1994）および黄化病（高橋、1998b）の発生を若干軽減する効果が示されていることから、前記目的に適したものと考えられるが、窒素を含むことからその施用量が窒素により制限される問題点がある。一方、これまでに塩化カルシウムの追肥が収量等に悪影響を与えずにカルシウム欠乏症の発生を抑制した事例が認められている（加治ら、1988；池田ら、1993；三角ら、2000）。そこで、塩化カルシウムを同様に被覆して試作した被覆塩化カルシウムを新たなカルシウム資材として用いることを着想した。

すなわち、樹脂被覆によりカルシウムの溶出を制御した被覆硝酸カルシウムおよび被覆塩化カルシウム資材について、その施用がトマト青枯病抵抗性品種および接ぎ木苗の生育、収量および発病に及ぼす影響をほ場試験で検討した。

a 材料および方法

野菜・茶業試験場（三重県安芸郡安濃町）内の青枯病汚染ガラス室において、対照区、被覆硝酸カルシウム施用区および被覆塩化カルシウム施用区の3区を設けて春夏作のトマトを栽培し、青枯病の発病および収量、尻腐れ果の発生、葉中カルシウム含有率、跡地土壌の化学性を調査した（1995 および 1997 年）。施肥量は各区ともに窒素、リン酸、カリをそれぞれ 10a 当たり 30kg、25.7kg、30kg とし、対照区には被覆複合肥料（商品名：ロング424）の100日タイプを施用した。被覆硝酸カルシウム区には、被覆硝酸カルシウム（商品名：ロングショウカル）の100日タイプを窒素およびカルシウム施用量がそれぞれ 10a 当たり 30kg、57.5kg となるよう施用し、

リン酸およびカリをそれぞれ硫酸カリ、重焼リンで対照区と同量となるよう施用した。被覆塩化カルシウム区には、対照区と同様の施肥を行い、かつ被覆塩化カルシウム（試作品）をカルシウム施用量が 10a 当たり 57.5kg となるよう施用した。処理区は 3 区 4 反復の乱塊法で配置し、1 区 9 株とした。1995 年には品種‘瑞栄’（中程度抵抗性）、1997 年には‘新メイト’（中程度抵抗性）を台木とし、‘桃太郎 8’（り病性）を穂木とした接ぎ木苗をそれぞれ栽培し、第 1 花房開花期の苗をそれぞれ 5 月 1 日および 4 月 14 日に定植した。定植後、各区の収量（第 1～5 花房）、尻腐れ果の発生率、上位葉（頂部より 3 葉目まで）の先端小葉（定植 61 日後に採取）のカルシウム含有率を調査した。青枯病の発病については、両年度とも栽培後期まで自然発病がみられなかったため、それぞれ 6 月 30 日および 7 月 17 日に、株元の土壤にナイフを垂直に刺し入れて断根し、そこに 10^7 cfu ml⁻¹ の濃度の青枯病菌（MAFF03-01487 株）けん濁液を一定量（1995 年：200ml、1997 年：10ml）かん注することにより断根接種を行った。なお、菌けん濁液の調製法は前章までと同様とした。接種後、各株の発病指数を 0～4 の 5 段階で評価し、その平均値を各区の発病指数とした。また、栽培終了後、各区の作土層より跡地土壌を採取し、pH、EC および交換性カルシウム含量を調査した。

b 結 果

対照区、被覆硝酸カルシウム区および被覆塩化カルシウム区の収量は、1995 および 1997 年ともにほぼ同等であった（図 4-1）。また、尻腐れ果の発生率は、両年度とも被覆カルシウム資材施用区で低下する傾向がみられ、上位葉の先端小葉のカルシウム含有率は、資材施用区で若干高まった（図 4-1）。跡地土壌の pH、EC および交換性カルシウム含量には両年度とも処理区間で大きな差は認められなかった（図 4-2）。青枯病の発病については、両年度ともに接種以後、急激な発病が認められ、ほぼ全株が枯死に至り、処理区間の差は認められなかった（図 4-3）。

c 考 察

本試験では、2 作にわたり、被覆硝酸カルシウムおよび被覆塩化カルシウム資材施用区で対照区と同等の収量が得られ、かつ春夏作においてその発生が問題となるトマト尻腐れ果の発生が軽減されたこと（図 4-1）から、両資材の施用は、可販収量の増加につながり、当該作型のトマト栽培に有効であると考えられた。また、調査し

た範囲では跡地土壌の化学性に対する資材施用の悪影響は認められず（図 4-2）、この点においても両資材は有用であると判断された。

トマト尻腐れ果は典型的なカルシウム欠乏症状の一つとされ、他のカルシウム欠乏症と同様に高温、乾燥、高塩類濃度条件がその発生を助長することが知られている（大木、1971；SHEAR、1975；KIRKBY、1979；BANGERTH、1979；草野、1990；ADAMSら、1992、1995；

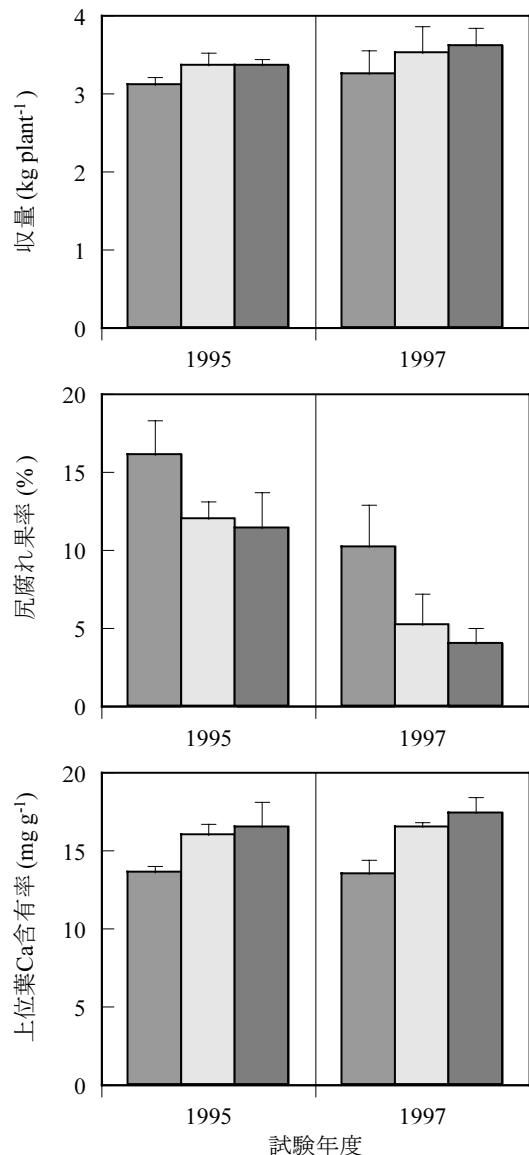


図 4-1 被覆カルシウム資材施用がトマトの収量、尻腐れ果率、上位葉カルシウム含有率に及ぼす影響

供試品種 1995 年：‘瑞栄’、1997 年：台木 ‘新メイト’、穂木 ‘桃太郎 8’

■：対照区、□：被覆硝酸カルシウム施用区、■：被覆塩化カルシウム施用区

図中の垂線は標準誤差を示す

Hoら, 1993; 宇井ら, 1995). そのような条件下で, 根のカルシウム吸収が抑制され, 吸収量が減少すること, ならびに蒸散流により地上部に転流するカルシウムが主に茎葉に分配され, 低蒸散器官である果実への分配量が低下することなどが発生要因であると考えられている (ADAMSら, 1992, 1993, 1995; MARSCHNER, 1995). 一方, 本試験で認められた被覆カルシウム資材施用による尻腐れ果発生の減少は, 上位葉のカルシウム含有率の上昇を伴っていること (図 4-1) から, 被覆カルシウム資材の施用によるカルシウム吸収量の増加が尻腐れ果の発生軽減の主因であり, 上記の茎葉・果実間のカルシウムの競合を量的に緩和したために尻腐れ果の発生が軽減されたものと推定された.

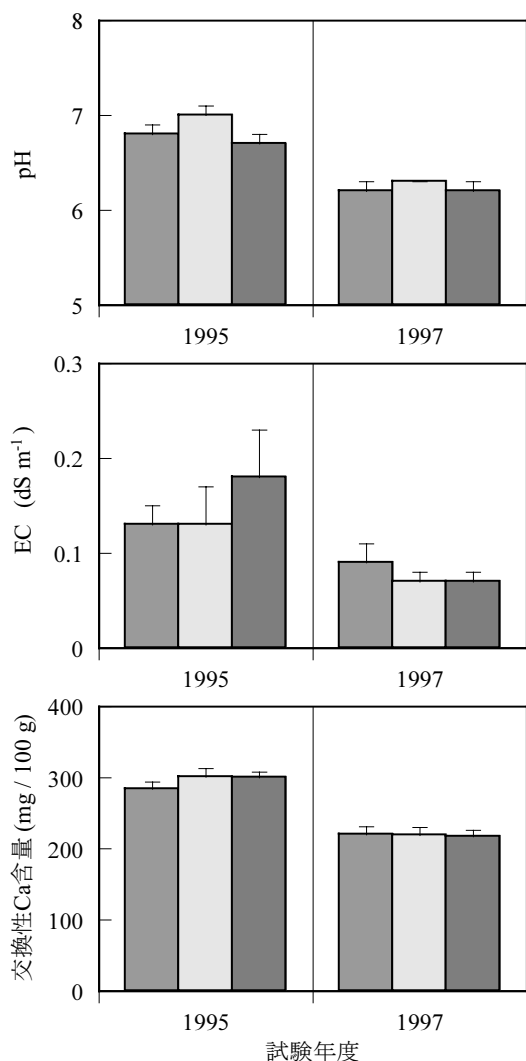


図 4-2 被覆カルシウム資材施用が跡地土壌の pH, EC, 交換性カルシウム含量に及ぼす影響

■: 対照区, □: 被覆硝酸カルシウム施用区,
 ■: 被覆塩化カルシウム施用区

図中の垂線は標準誤差を示す

このように, 尻腐れ果の軽減や上位葉カルシウム含有率の上昇から, 被覆カルシウム資材施用によるトマト青枯病抵抗性品種および抵抗性台木を用いた接ぎ木植物のカルシウム吸収の増加が示唆されたが, 目的とした青枯病発病抑制効果は全く認められなかった (図 4-3). この一因としては, 被覆カルシウム資材の施用によるカルシウム吸収増加の程度が軽微であったことが考えられる. 本試験での上位葉カルシウム含有率の上昇程度は数 mg g⁻¹オーダーであり (図 4-1), カルシウム吸収の増加により抵抗性品種および接ぎ木苗の発病が抑制された場合 (Ⅲ) のカルシウム含有率の上昇程度より 1 オーダー低い程度に留まった. すなわち, 被覆カルシウム資材の施用では, 青枯病の発病を抑制するレベルまでカルシウ

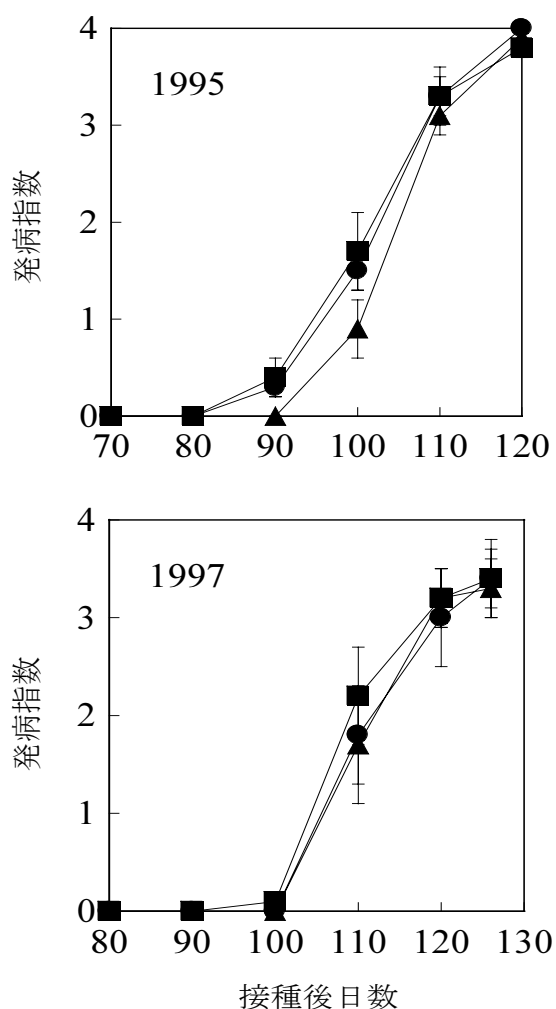


図 4-3 被覆カルシウム資材の施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

供試品種 1995: '瑞栄', 1997: 台木 '新メイト',
 穂木 '桃太郎 8'

■: 対照区, ●: 被覆硝酸カルシウム施用区,
 ▲: 被覆塩化カルシウム施用区

発病指数 0: 健全~4: 枯死, 図中の垂線は標準誤差を示す

ム吸収を高めることができなかったために発病抑制効果が認められなかったものと推測した。したがって、資材施用量を増加することによる発病抑制効果が期待されるが、被覆硝酸カルシウムではその窒素が制限要因となり、多量施用した場合には茎葉の過繁茂を招き減収要因となることからその施用量を増加させることは適当でないと考えられる。一方、被覆塩化カルシウムでは施用量の増加が可能であり、多量施用条件下での発病抑制効果について今後検討を要する。ただし、この場合、施用により多量の塩化物イオンが土壤溶液中に溶出することが想定されることから、その生育や土壤化学性への悪影響に注意する必要がある。

2 カルシウムのかん水同時施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

近年、作物の生育ステージに応じて、必要とする養水分をかん水チューブにより作物の株元へ液肥で施用するかん水同時施肥法、いわゆる養液土耕法の利用が野菜、花きの施設栽培において全国的に広まりつつある（六本木ら、2000）。本法は養水分を作物の根系に直接供給する手法であることから、養水分の利用効率が非常に高いことが示されている。これまでに、窒素、リン酸、カリについて、本法による施用法がトマト、キュウリ、バラ等の施設栽培において詳細に検討されている（六本木ら、2000）が、カルシウムについては、本法による施用を検討した例はない。そこで、本法のカルシウム施用への適用を試みた。すなわち、カルシウムをかん水同時施用することにより、トマトのカルシウム吸収を効率的に高め、トマト青枯病抵抗性品種の発病を抑制できるのではないかと考えた。そこで、カルシウムのかん水同時施用がトマトのカルシウム吸収および青枯病の発病に及ぼす影響について検討した。

a 材料および方法

1) 塩化カルシウム水溶液のかん水施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

市販培養土（クレハ園芸培土，呉羽化学，東京）を充填した a/5000 ワグネルポットに第 1 花房開花期のトマト‘瑞栄’（中程度抵抗性）を移植（1995 年 5 月 11 日）し、温室内で栽培した。カルシウムのかん水施用は、3 段階の濃度の塩化カルシウム水溶液（0.4：対照，4.4，8.4mM）を週 3 回ポット当たり 300～400ml 施用することにより行い、それ以外のかん水は慣行に準じた（各処理区 21 ポット）。

移植 50 日後（6 月 30 日）に青枯病菌（MAFF03-01487 株）を断根接種またはかん注接種し、以後の発病を 60 日間調査した（9 株／区，発病指数 0：健全～4：枯死）。断根接種は株元土壤に包丁を垂直に刺し入れて断根し、そこに 10^8 cfu ml⁻¹ の菌けん濁液を 20ml かん注することにより行った。かん注接種は 10^7 cfu ml⁻¹ の菌けん濁液を土壤に 200ml かん注することにより行った。また、移植 63 日後（7 月 13 日）に非接種株を各カルシウム処理区より 3 株採取し、地上部乾物重、部位別（上位葉：頂部より 5 葉目まで，中下位葉：6 葉目以下，茎）のカルシウム含有率および跡地土壤の pH，EC を調査した。

2) 異なるカルシウム塩溶液のかん水同時施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

第 1 花房開花期のトマト接ぎ木苗〔台木‘新メイト’（中程度抵抗性），穂木‘桃太郎 8’（り病性）〕を蒸気消毒した黒ボク土（野菜・茶業試験場ほ場）26kg を充填したコンテナに移植（1997 年 4 月 14 日）し、温室内で栽培した。施肥量はコンテナ当り窒素，リン酸，カリを 3.8g，3.2g，3.8g とし，被覆複合肥料（ロング 424-100）で施用した。また，土壤改良資材としてコンテナ当りパーライト 2l，炭酸苦土石灰 0.9g，熔リン 1.0g を施用した。移植後 17 日目（5 月 1 日）以降，水道水（対照区）およびそれぞれ 4mM の塩化カルシウム，硫酸カルシウム，ギ酸カルシウム水溶液をかん水する 4 処理区を設け，かん水時に一定量（生育初期：1l，生育後期：2l／株）を施用した（1 区 5 株，3 反復）。

カルシウムかん水処理開始 68 日後（7 月 7 日）に各株の株元土壤に垂直に包丁を刺し入れて断根し，そこに青枯病菌液（MAFF03-01487 株， 10^6 cfu ml⁻¹）を 100ml かん注することにより接種を行い，以後の各株の発病を調査した（発病指数 0：健全～4：枯死）。また，処理開始 75 日後（7 月 14 日）に非接種株を各カルシウム処理区より 3 株採取し，地上部乾物重，カルシウム含有率，跡地土壤の pH，EC，交換性カルシウム含量を調査した。

3) 異なるカルシウム濃度培養液のかん水同時施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

トマト接ぎ木苗〔台木‘影武者’（中程度抵抗性），穂木‘桃太郎 8’（り病性）〕を青枯病汚染ガラス室に定植（2000 年 4 月 18 日）し，カルシウム濃度の異なる培養液〔2.4mM：1/2 濃度園試処方培養液（対照），6.4 および 10.4mM：1/2 濃度園試処方培養液に塩化カルシウムを所定濃度となるよう添加，各 pH 6.4〕を点滴型か

ん水チューブによりかん水同時施用する3処理区を設け、乱塊法により配置した（各区12株4反復）。各区とも基肥無施用とし、定植後は1/2濃度園試処方培養液を施用して均一栽培した後、定植34日後（5月22日）より上記の処理を開始した。

各区の第1～5花房の収量を調査するとともに、摘心時（6月9日）に草丈および上位葉（頂部より3葉目まで）の先端小葉のカルシウム含有率を測定した。また、減圧法により株元土壌から経時的に土壌溶液を採取し、そのpH、EC、カルシウム濃度を調査した。なお、7月中旬まで青枯病の自然発病がほとんどみられなかったため、7月19日に各株の株元土壌に垂直に包丁を刺し入れて断根し、そこに青枯病菌液（MAFF03-01487株、 10^7 cfu ml⁻¹）を10mlかん注することにより接種を行い、以後の各株の発病を調査した（発病指数0：健全～4：枯死）。

b 結 果

1) 塩化カルシウム水溶液のかん水施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

異なる濃度の塩化カルシウム水溶液を施用したトマトの地上部乾物重は、8mMの塩化カルシウム水溶液施用区でやや低い値を示したが、有意差は認められなかった（表4-1）。一方、部位別のカルシウム含有率は、各部位ともに施用カルシウム濃度が高まるとともに有意に上昇した。跡地土壌のpH、ECについては、ECが施用カルシウム濃度の上昇とともに高まる傾向がみられた。

断根接種区における青枯病の発病は、0.4および4.4mM両区で顕著であったが、8.4mM区で遅延した（図4-4）。かん注接種区では、施用カルシウム濃度が高まるとともに発病が抑制された。

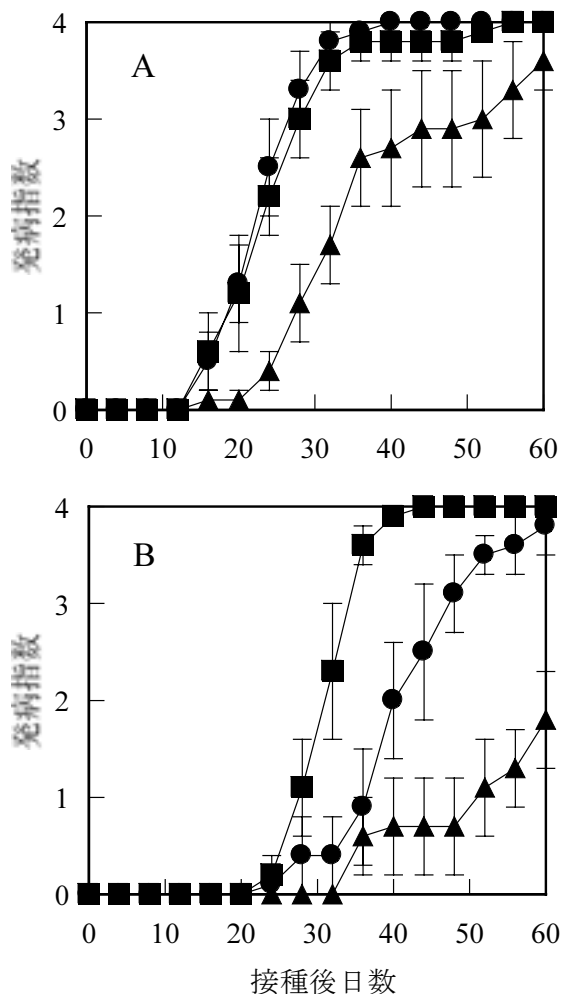


図4-4 塩化カルシウム水溶液のかん水施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

供試品種：‘瑞栄’（中程度抵抗性）

A：断根接種，B：かん注接種

施用カルシウム濃度（mM） ■：0.4，●：4.4，▲：8.4

発病指数 0：健全～4：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

表4-1 塩化カルシウム水溶液のかん水施用がトマトの地上部乾重、部位別カルシウム含有率および跡地土壌のpH、ECに及ぼす影響

施用カルシウム濃度 (mM)	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	カルシウム含有率 (mg g ⁻¹)			跡地土壌	
		上位葉	中下位葉	茎	pH	EC (dS m ⁻¹)
0.4	57.7	15.6b	32.4b	11.0b	5.7	1.47b
4.4	59.3	22.5ab	38.9a	12.1ab	5.8	1.66a
8.4	49.3	32.2a	41.6a	14.4a	5.8	1.87a
分散分析	NS	*	*	*	NS	*

移植63日後

上位葉：頂部～5葉目，中下位葉：6葉目以下

異なる文字を付した平均値間にはTukey法による有意差（5%）があることを示す

NS，*：それぞれ有意差なし，5%水準で有意差あり

2) 異なるカルシウム塩溶液のかん水同時施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

トマトの生育は、土壌の低 pH および蒸気消毒に起因すると推測されるマンガン過剰様症状の発生により、一般的にやや抑制されたが、地上部乾物重に処理区間で有意差は認められなかった（表 4-2）。カルシウム含有率についても区間で有意差は認められなかったが、カルシウム塩のかん水施用により上昇する傾向がみられ、とくに塩化カルシウム区でその程度が大きかった。また、跡地土壌の pH は硫酸カルシウムおよび塩化カルシウム区で低下した（表 4-2）。一方、EC および交換性カルシウム含量は両区で有意に高まった。

青枯病の発病は処理区間で大きな差が認められた（図 4-5）。ギ酸カルシウム施用区では発病が対照区と同程度であったが、硫酸カルシウム区で発病が軽減される傾向がみられ、塩化カルシウム区では明らかに発病が抑制された。

3) 異なるカルシウム濃度培養液のかん水同時施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

トマトの草丈、収量および平均 1 果重に処理区間差は認められず、各区とも生育は良好であった（表 4-3）。また、処理開始 18 日後における上位葉のカルシウム含有率についても区間で差は認められなかった。

経時的に採取した土壌溶液の pH は、カルシウム処理後に各区で上昇したが、処理区間で差は認められなかった（図 4-6）。一方、土壌溶液の EC およびカルシウム濃度は、施用した培養液のカルシウム濃度が高まるとともに経時的に上昇したが、定植後 80~100 日後以降に若干低下した。

トマト青枯病は定植 100 日後以降に顕著な発病がみられ、処理区間で大きな差は認められなかったが、高カルシウム濃度培養液（10.4mM）施用区で発病が遅延する

傾向が認められた（図 4-7）。

c 考 察

土耕ポット栽培のトマトにカルシウムを塩化カルシウムの形態でかん水施用し、青枯病菌を接種して長期間（60 日間）の発病を調査した結果、高濃度（8.4mM）の塩化カルシウム水溶液のかん水施用により発病遅延および抑制が認められた（図 4-4）。本結果は土耕栽培における青枯病の発病抑制にカルシウムのかん水施用が有効であることを示している。一方、高濃度の塩化カルシウム水溶液のかん水施用により、跡地土壌の EC が上昇し、生育が抑制される傾向が認められた（表 4-1）。これま

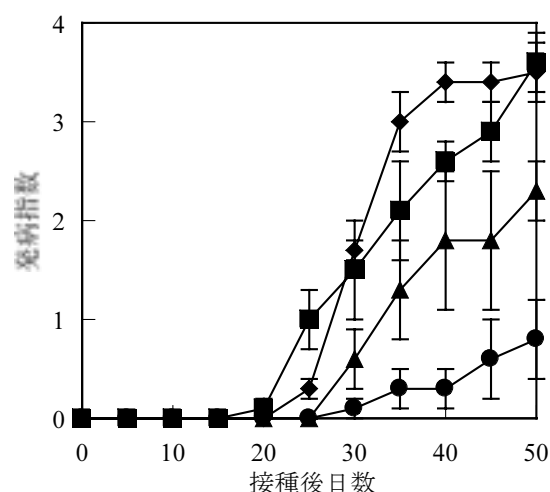


図 4-5 カルシウム塩溶液のかん水施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

供試品種 台木：‘新メイト’，穂木：‘桃太郎 8’

■：対照区，▲：硫酸カルシウム，●：塩化カルシウム，◆：ギ酸カルシウム

施用濃度：4mM

発病指数 0：健全～4：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

表 4-2 カルシウム塩溶液のかん水施用がトマトの地上部乾重、カルシウム含有率、跡地土壌の化学性に及ぼす影響

処 理	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	カルシウム 含 有 率 (mg g ⁻¹)	跡地土壌		
			pH	EC (dS m ⁻¹)	交換性 Ca 含量 (g kg ⁻¹)
対照	56.8	37.7	5.3a	0.10b	1.67b
塩化カルシウム	53.5	43.4	5.0b	0.31a	1.88a
硫酸カルシウム	55.9	39.3	5.1b	0.25a	1.90a
ギ酸カルシウム	53.0	41.0	5.4a	0.09b	1.84ab
分散分析	NS	NS	**	**	*

異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差（5%）があることを示す

NS, *, **: それぞれ有意差なし, 5%, 1%水準で有意差あり

表4-3 異なるカルシウム濃度培養液のかん水同時施用がトマトの草丈、上位葉カルシウム含有率、収量、平均1果重に及ぼす影響

培養液カルシウム濃度 (mM)	草 丈 (cm)	上位葉 Ca 含有率 (mg g ⁻¹)	収 量 (kg plant ⁻¹)	平均1果重 (g)
2.4	145	19.2	2.25	125
6.4	145	18.7	2.28	128
10.4	149	18.4	2.45	137
分散分析	NS	NS	NS	NS

草丈：移植52日後

上位葉 Ca 含有率：頂部～3葉目の先端小葉の Ca 含有率，処理開始18日後

収量：第1～5花房

NS：有意差なし

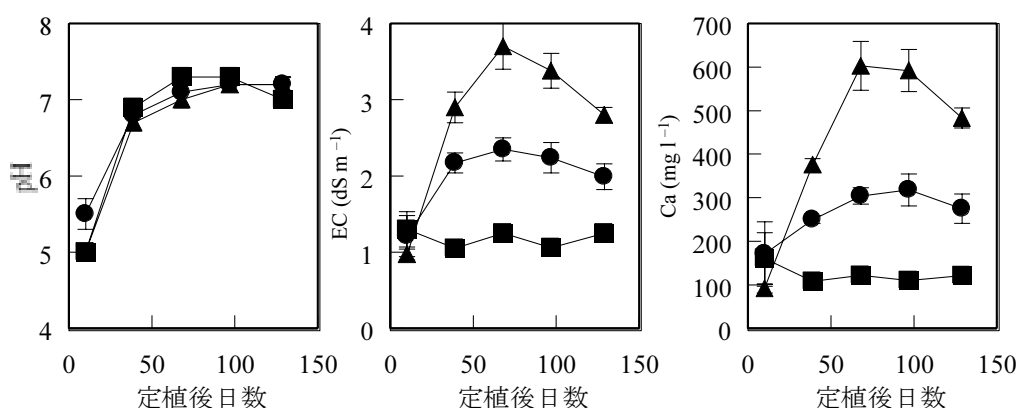


図4-6 カルシウム濃度の異なる培養液のかん水同時施用が土壌溶液の pH, EC, カルシウム濃度に及ぼす影響

培養液カルシウム濃度 (mM) ■：2.4, ●：6.4, ▲：10.4

図中の垂線は標準誤差を示す

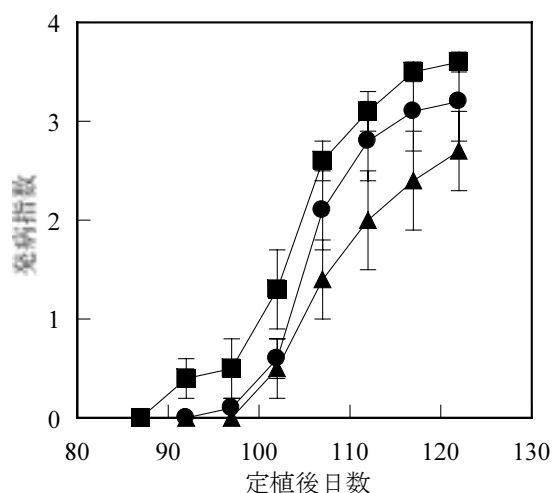


図4-7 カルシウム濃度の異なる培養液のかん水同時施用がトマト青枯病の発病に及ぼす影響

供試品種 台木：‘影武者’，穂木：‘桃太郎8’

培養液カルシウム濃度 (mM) ■：2.4, ●：6.4, ▲：10.4

発病指数 0：健全～4：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す

で土壌および培養液の塩類濃度がトマトの生育に及ぼす影響について検討した例では、培地の高塩類濃度が生育抑制をもたらすことが報告されている (ADAMSら, 1992; SATTIら, 1994; 宇井ら, 1995; AL-HARBI, 1995; CUARTEROら, 1999). この生育抑制については、高塩類濃度による吸水阻害が一因とされており、本実験においても、高濃度の塩化カルシウム水溶液のかん水施用により、土壌の塩類濃度が高まり、若干の吸水阻害が生じたものと推定される。したがって、カルシウムのかん水施用を実際栽培に適用するには、土壌の塩類濃度を高めないような施用形態および濃度の検討が必要と考えられる。

そこで、コンテナ栽培のトマトにおいて、かん水施用に用いるカルシウム塩の種類が青枯病の発病に及ぼす影響について検討した。本実験では、先に効果のみられた塩化カルシウムの他、硫酸カルシウム (石こう) およびギ酸カルシウムを供試した。硫酸カルシウムは古くから欧米でカルシウム資材として汎用されており、炭酸カル

シウム等の資材と比較してやや溶解度が高く、施用による pH の上昇を伴わないことから検討対象とした。ギ酸カルシウムについては、塩化カルシウムや硫酸カルシウムの施用が随伴するアニオンによる塩類濃度上昇や pH の低下をもたらすと予想されることから、有機酸カルシウムであればそれらが回避できると考え、その中で最大の溶解度を持つギ酸カルシウムを供試した。

これらのカルシウム塩類をかん水施用した場合、トマトの生育に差は認められず、カルシウム吸収もカルシウム塩類施用区で若干増加したものの有意差は認められなかった（表 4-2）。これは施用濃度が比較的低かった（4mM）ことが一因と考えられた。一方、塩化カルシウムおよび硫酸カルシウム施用区で跡地土壌の pH、EC、交換性カルシウム含量に有意差がみられたこと（表 4-2）から、両区で土壌溶液組成が施用により影響を受け、おそらくカルシウム濃度が高まったものと推定された。

本試験における青枯病の発病は、トマトのカルシウム吸収に有意差がなかったにもかかわらず、処理区間で大きく異なり、硫酸カルシウム区でやや軽減され、塩化カルシウム区で明らかに抑制された（図 4-5）。このようにカルシウム吸収と発病の差異に明瞭な関連性がみられなかった原因は明らかでないが、前記のように土壌溶液組成に変化が生じたと推定されることから、病徴発現部位である木部およびその近傍のカルシウム濃度が土壌溶液組成を反映して異なったために、それが発病の差異に繋がったと推定された。硫酸カルシウム区と塩化カルシウム区の発病の差異については、両資材間で溶解度が大きく異なることから、土壌溶液のカルシウム濃度が硫酸カルシウム区で低くなったためと推定されるが、本試験では、土壌溶液や木部におけるカルシウム濃度については未検討であることから、今後これらを調査項目に加えた試験を行い、上記の点を明らかにする必要がある。

また、本試験では比較的高い溶解度の高いギ酸カルシウムの施用区で発病軽減効果が全く認められなかった（図 4-5）。この結果は、土壌の交換性カルシウム含量およびトマト地上部のカルシウム含有率に有意差が認められなかったこと（表 4-2）から、ギ酸カルシウム施用によるカルシウム吸収の増加ならびに木部等でのカルシウム濃度の上昇がみられなかったためではないかと考えられた。この原因には何らかの要因によるギ酸カルシウムの不可給化などが想定されるが、ギ酸カルシウム等の有機酸カルシウムを土壌施用した場合のその動態については、これまでに検討例がないことから、その土壌溶液組成とくにカルシウム濃度に及ぼす影響について今後検討する必

要がある。

ほ場試験でカルシウム濃度の異なる培養液をかん水同時施用した場合、高カルシウム濃度（10.4mM）培養液施用区においても生育・収量に対する悪影響はみられず、逆に収量が増加する傾向が認められた（表 4-3）。本結果はかん水同時施用法によるカルシウム施用が実際栽培においても適用可能であることを示している。一方、株元土壌より採取した土壌溶液の EC およびカルシウム濃度は、施用培養液のカルシウム濃度が高まるとともに著しく上昇したこと（図 4-6）から、高カルシウム濃度の培養液をかん水同時施用した場合には土壌の塩類集積を招く危険性が示唆された。したがって、高カルシウム濃度培養液のかん水同時施用を繰り返した場合、土壌の塩類集積による収量低下が現れる可能性があり、その連用効果について今後検討する必要がある。なお、本法の特徴として培養液の影響は株元土壌の狭い範囲に限定されること（六本木ら、2000）から、栽培後、十分に土壌の耕起・攪拌を行えば、土壌の塩類集積の進行を緩和できるものと考えられる。

本試験における青枯病の発病は、施用培養液のカルシウム濃度が高まるとともに若干遅延された（図 4-7）。上記のように土壌溶液のカルシウム濃度が施用培養液のカルシウム濃度に応じて著しく異なったことから、病徴発現部位である木部周辺のカルシウム濃度は、土壌溶液カルシウム濃度に応じて著しく異なったものと推測されるが、発病抑制効果はわずかであった。この原因の一つとして、接種後の栽培期間の温度が非常に高温（平均最高気温 42.4℃）であったことから、作物の抵抗性が低下したことによると考えられた。このような高温による青枯病抵抗性の低下は、これまでにいくつかの例で報告されている（KRAUSZ ら、1975；MEW ら、1977；NAKAHO ら、1996）。したがって、遮光等の環境制御により栽培温度を下げた条件下で作物の抵抗性を維持できれば、高カルシウム濃度培養液のかん水施用による発病抑制効果がより明瞭に認められる可能性があり、適切な環境制御と組み合わせた条件下での今後の検討が望まれる。

以上の結果は、カルシウムのかん水同時施用法がトマトのカルシウム吸収を高め、青枯病の発病を抑制する手法として有望であることを示している。

3 有機物施用がトマトのカルシウム吸収および青枯病の発病に及ぼす影響

これまでに、数多くの病害について、各種有機物の施用が発病を抑制する現象が古くから知られている

(HOITINKら, 1986; 松田ら, 1988). そのメカニズムには, 土壌の理化学性の改善, 拮抗微生物の関与, 作物体質の改善による抵抗性の向上等が指摘されており (HOITINKら, 1986, 2001; 松田ら, 1988), とくに拮抗微生物の関与については数多くの検討例があるが, 有機物施用による発病抑制の詳細なメカニズムは未だに明らかになっていない. また, 本研究の対象であるトマト青枯病についても, これまでに数種の有機物の施用で発病が抑制される事例が報告されている (荒木ら, 1985; 上原ら, 1986) が, そのメカニズムについては, 土壌理化学性の変化や拮抗微生物の存在による菌密度の低下が一因として考えられているのみであり, やはりその詳細は明らかにされていない.

一方, 前章までに, 植物体のカルシウム吸収がトマト青枯病抵抗性品種の発病に大きな影響を及ぼし, カルシウム吸収を高めた場合に発病が抑制されることを明らかにした. このような高カルシウム条件下における作物の発病抑制は, 他の多くの病害で認められており (木谷ら, 1957; EDGINGTONら, 1958; BATEMANら, 1965; CORDEN, 1965; FORSTERら, 1975; MCGUIREら, 1984; SPIEGELら, 1987; BERRYら, 1988; KOら, 1989; 田中ら, 1990; WEBSTERら, 1991; VOLPINら, 1991; CONWAYら, 1992; ELADら, 1992, 1993; FLEGOら, 1997; STARKEYら, 1997), それらの病害が有機物施用により抑制される場合には, 有機物施用によるカルシウム吸収の変化が影響を及ぼしている可能性が想定される. 資材として施用される有機物は, 種類によってカルシウム含量が大きく異なり, 高カルシウム含量の有機物を施用した場合にはそれが作物のカルシウム吸収を高めている可能性がある (HEら, 2001). 実際, 有機物施用により土壌の交換性カルシウム含量が高まることが多くの例で示されている (伊東ら, 1982; 大西ら, 1984; 荒木ら, 1985; WENら, 1999; HEら, 2001). これらの場合, 同時に土壌に富化されるカリウム等との拮抗作用により, 必ずしも植物体のカルシウム吸収は高まらない (大西ら, 1980; 伊東ら, 1982; WENら, 1999) が, いくつかの事例では有機物施用により植物体のカルシウム吸収が高まることが示されている (SAINZら, 1998; WONGら,

1999). また, トマトについても堆肥施用により茎葉および果実のカルシウム含有率が若干高まり, 尻腐れ果が軽減されることが報告されている (馬西ら, 1996).

以上の知見より, 施用する有機物の種類や施用量によっては, 作物のカルシウム吸収が増加し, それが病害の発病抑制につながる可能性が示唆されるが, これまでに有機物施用によるカルシウム吸収の変化と病害の発病との関係を検討した事例はほとんど認められない. したがって, このような有機物施用によるカルシウム吸収と発病との関係を明らかにできれば, 有機物施用による発病抑制のメカニズムに関する新たな知見となるだけでなく, 有機物中のカルシウムの吸収を利用した新たな病害抑制技術につながる可能性がある. そこで, 本節ではその解明を目的として, カルシウム含量の異なる堆肥の施用がトマトのカルシウム吸収および青枯病の発病に及ぼす影響について検討した.

a 材料および方法

供試有機物資材には, バーク堆肥および牛ふんバーク堆肥を用いた. それらの化学性を表 4-4 に示す. 基本培地には市販の培養土 (クレハ園芸培土, 呉羽化学, 東京) を用い, ノイバウエルポットに 1kg を充填した. 有機物資材施用区については, 2mm ふるいを通した各堆肥 20g を基本培地に混和した. 本葉 3 葉期のトマト ‘ポンデローザ’ (り病性品種) 1 株を各ポットに移植し, 人工気象室 (昼 25℃/夜 18℃, 12 時間日長) 内で栽培した (40 株/区).

青枯病菌 (MAFF03-01487 株) の接種は移植 11 日後に行い, 1) 各ポットに菌けん濁液 (10^7 cfu ml⁻¹) 100ml をかん注する方法 (かん注接種), 2) 株元の土壌に包丁で切れ目を入れて断根し, 菌けん濁液 (10^8 cfu ml⁻¹) 10ml を注入する方法 (断根接種), 3) 菌けん濁液に浸したハサミで上位葉の葉柄を切除する方法 (地上部接種) の各 3 方法で接種した (12 株/接種方法). なお, 菌けん濁液の調製法は前節までと同様とした. 接種後, 発病を促進するために人工気象室の温度設定を昼 28℃/夜 20℃とし, 各株の発病を 20 日間調査した (発病指数 0: 健全~4: 枯死).

表 4-4 供試資材の化学性

資 材	含 有 率 (mg g 乾重 ⁻¹)						C/N 比
	C	N	P	K	Ca	Mg	
バーク堆肥	460	18.0	4.0	13.7	36.3	5.39	25.6
牛ふんバーク堆肥	384	21.4	10.6	29.2	59.8	8.37	17.9

なお、移植 17 日後に各堆肥施用区より非接種の 4 株を採取し、各株の地上部乾重および窒素、リン、カリウム、カルシウム、マグネシウム含有率を常法により測定した。

b 結 果

トマト非接種株の生育および養分吸収を堆肥施用区間で比較した場合、地上部乾重には有意差が認められなかったが、養分含有率には堆肥施用の影響がみられ、堆肥施用によりリン含有率が低下し、カルシウムおよびマグネシウム含有率が高まる傾向が認められた（表 4-5）。とくにカルシウム含有率は堆肥施用により著しく高まり、対照区に対してバーク堆肥では約 1.5 倍、牛ふんバーク堆肥区では約 2 倍の値を示した。カルシウム吸収量についても堆肥施用により有意に増加した。

青枯病の発病は、各接種方法ともに、堆肥施用により抑制または遅延された（図 4-8）。このうち、かん注接種で最も明瞭な差が認められ、牛ふんバーク堆肥、バーク堆肥施用の順に発病抑制程度が大となった。断根接種および地上部接種では、かん注接種に比較して病徴の進展が速やかであったが、堆肥施用による発病遅延が認められ、その程度は牛ふんバーク堆肥施用区で大きい傾向を示した。

c 考 察

トマト非接種株の生育に有意差が認められなかったにもかかわらず、堆肥施用によりカルシウム吸収は著しく高まり、とくに牛ふんバーク堆肥施用区でその程度が顕著であった（表 4-5）。このカルシウム吸収の増加程度は、概ね堆肥のカルシウム含量（表 4-4）に対応していることから、堆肥中に含まれるカルシウムの吸収によるものと推定される。これまでに有機物施用により土壌の交換性カルシウム含量が増加すること（伊東ら, 1982；大西ら, 1984；荒木ら, 1985；WENら, 1999；HEら, 2001）が知られているが、それらの場合には作物のカル

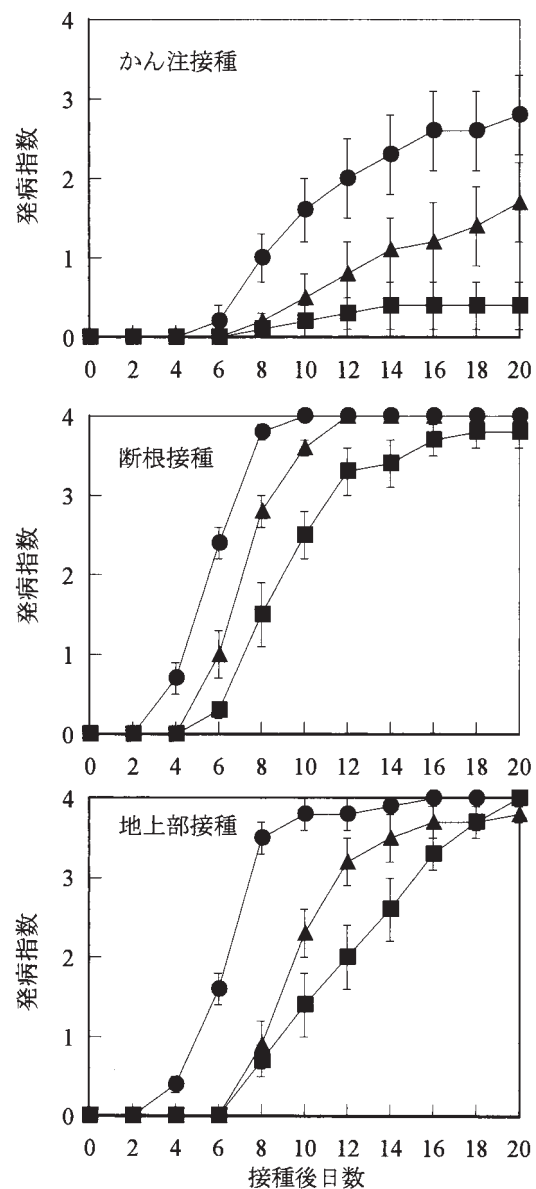


図 4-8 堆肥施用がトマト幼植物の青枯病の発病に及ぼす影響

グラフ上段よりそれぞれかん注接種、断根接種、地上部接種の場合

●：対照区、▲：バーク堆肥施用区、■：牛ふんバーク堆肥施用区

発病指数 0：健全～4：枯死

図中の垂線は標準誤差を示す。

表 4-5 堆肥施用がトマト幼植物の地上部乾重および養分吸収に及ぼす影響

処 理	地上部乾重 (g shoot ⁻¹)	養分含有率 (mg g ⁻¹)					養分吸収量 (mg shoot ⁻¹)				
		N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
対照	2.96	62.3	5.98a	67.3	15.1c	3.73b	184	17.7	200	44.5b	11.1
バーク堆肥	3.56	64.3	4.68b	73.0	22.4b	4.41b	229	16.7	260	79.9a	15.7
牛ふんバーク堆肥	2.90	61.1	4.60b	66.9	30.9a	5.61a	178	13.3	194	89.6a	16.3
分散分析	NS	NS	*	NS	**	**	NS	NS	NS	*	NS

異なる文字を付した平均値間には Tukey 法による有意差 (5%水準) があることを示す。

NS, *, **: それぞれ有意差なし, 5%水準, 1%水準で有意差あり

シウム含量の増加は認められていない（大西ら，1980；伊東ら，1982；WENら，1999）。これらの研究例では，施用有機物のカリウム含量が比較的高く，有機物施用により土壌および作物体のカリウム含量の増加が同時に認められることから，有機物施用による土壌へのカリウムの富化がカルシウムの吸収を拮抗的に阻害したものと推測されている。一方，堆肥施用がトマトのカルシウム吸収の増加および尻腐れ果の発生抑制を示した事例（馬西ら，1996）では，低カリウムおよび高カルシウム含量の堆肥を用いており，上記のようなカリウムによるカルシウム吸収の阻害が生じなかったことがカルシウム吸収の増加をもたらしたものと考えられる。本実験で用いた堆肥はカリウム含有率が比較的低く（表4-4），かつトマトのカリウム吸収に処理区間で有意差がみられなかったこと（表4-5）から，前記のようなカルシウム吸収の拮抗阻害が生じず，堆肥中のカルシウム含量に応じてカルシウム吸収が増加したものと考えられる。

本実験で認められた堆肥施用によるトマトのカルシウム含有率の上昇程度は，Ⅲでみられた培養液カルシウム濃度処理による含有率の差異に匹敵していた（表4-5）。このような堆肥施用によるカルシウム吸収の顕著な増加については，これまでに報告例がみられない。前出の堆肥施用によるトマトのカルシウム吸収の増加事例（馬西ら，1996）においても，その差異は小さく，本実験でみられた差異よりも1オーダー低かった。このような堆肥施用によるカルシウム吸収の増加程度の違いは，おそらく堆肥中のカルシウムの存在形態の差異に起因するものと推測されるが，これまでに堆肥中のカルシウムの存在形態に関する研究例は認められない。したがって，堆肥中のカルシウムの存在形態，とくに作物に吸収・利用されやすい形態を明らかにし，それと病害の抑制効果との関係を解明することが今後必要であろう。

トマト青枯病の発病は，堆肥施用により抑制または遅延された（図4-8）。このような有機物施用によるトマト青枯病の発病抑制は，他の有機物資材についても認められており（荒木ら，1985；上原ら，1986），資材施用による土壌の理化学性の変化や拮抗微生物の存在による土壌中の菌密度の低下が一因として考えられている。したがって，かん注接種でみられた堆肥施用による発病抑制においても，土壌中における菌密度の低下が関与している可能性がある。しかし，根や地上部に菌を直接感染させた断根接種や地上部接種の場合にも堆肥施用による発病遅延が認められたこと（図4-8）は，上記の要因以外に感染後の病徴進展を遅延させる何らかの植物体内

の要因が存在することを示している。

本実験でみられた堆肥施用による発病抑制の程度は，トマトのカルシウム吸収の増加程度と対応しており，カルシウム吸収増加程度の大きい牛ふんバーク堆肥区でより高い発病抑制効果が認められた（図4-8）。このことは，堆肥施用によるカルシウム吸収の増加が発病抑制に関与する可能性を示している。Ⅲで示したように高カルシウム条件下におけるトマト青枯病の発病抑制には，植物体内における病原菌の増殖および移行の抑制が関与することから，この場合にも堆肥施用によるカルシウム吸収増加に伴い，植物体内における病原菌の増殖および移行が抑制されたものと推測される。

本実験では，り病性品種を供試したため，断根接種および地上部接種における堆肥施用によるカルシウム吸収増加に伴う発病抑制は，若干遅延が認められる程度であり，Ⅲでみられた同品種における高カルシウム条件下での発病遅延とほぼ同レベルの結果となったが，かん注接種の場合は，り病性品種であっても明瞭な発病抑制が認められた（図4-8）。接種方法の違いによる接種強度の差異は，かん注接種＜断根接種，地上部接種であること（KELMAN，1953）から，病原菌密度が低い場合などの感染ポテンシャルが低い場合には，り病性品種であってもカルシウム吸収の増加による発病抑制がみられるものと推定された。これまでにり病性品種においてもカルシウム資材施用によりトマト青枯病の発病が若干抑制されることが示されており（向，1951；LOCASCIOら，1988；SSONKKOら，1995；SHARMAら，2000），それらの場合にもカルシウム吸収の増加が要因として関与している可能性がある。なお，Ⅲで示したように，カルシウム吸収の差異による青枯病発病の差異は，抵抗性品種においてより明瞭に認められることから，本実験でみられた堆肥施用による発病抑制効果についても抵抗性品種においてより顕著となる可能性があり，この点については今後の検討が必要である。

以上のように，堆肥施用によりトマト青枯病の発病抑制が認められ，それが堆肥施用によるトマトのカルシウム吸収の増加と高い相関を有することが示された。本結果は有機物施用による発病抑制にカルシウム吸収が関与することを示す新たな知見である。一方，本結果は幼植物レベルのものであり，今後，実際栽培レベルでの検討が必要である。実際栽培において同様の効果が認められれば，堆肥等の有機物施用によるカルシウム供給を基にしたトマト青枯病抑制技術の確立が可能であると考えられる。

VI 総合考察

本研究では、まずⅡにおいて、土耕および水耕条件下での各種養分施用レベルとトマト青枯病抵抗性品種の発病との関係を検討し、硝酸態窒素、リン酸、マグネシウムの施用レベルが発病に影響を及ぼさないことを示す一方、カルシウム施用レベルが発病に大きな影響を及ぼし、高カルシウム条件下で発病が抑制されることを明らかにした。Ⅲでは、水耕法を用いて培養液カルシウム濃度と発病および植物体内の青枯病菌密度との関係を詳細に検討するとともに、抵抗性台木を用いた接ぎ木苗や多くの品種・系統を供試してカルシウム濃度と発病との関係を調査し、高カルシウム条件下における抵抗性品種の発病抑制、すなわち抵抗性の向上現象が植物体地上部、とくに茎の基部における菌の増殖・移行抑制に起因すること、ならびにそれが接ぎ木苗および多くの抵抗性品種・系統に共通してみられることを示した。次にⅣでは、カルシウム吸収によるトマト青枯病抵抗性の向上に関わる要因の推定を試み、病原菌接種前後の培養液カルシウム濃度処理が抵抗性品種の発病に及ぼす影響について検討した結果、病原菌接種以後のカルシウム濃度が主に発病の差異に関与することを明らかにし、菌感染後の植物体内カルシウム濃度の差異が抵抗性品種の発病の差異、すなわち抵抗性の調節に関与する要因であることを示した。また、同一のカルシウム施用条件下において、青枯病に対する高度抵抗性品種群が高いカルシウム吸収能を持つことを示し、さらにそのカルシウム吸収能の差異が根のカルシウム吸収能の差異に起因することを明らかにした。Ⅴでは、上記の知見を基にトマト青枯病の発病抑制を目的としたカルシウム施用法の開発を試み、カルシウムのかん水同時施用が実際栽培レベルでのトマト青枯病の発病に及ぼす影響を検討した結果、施用カルシウム濃度あるいは用いるカルシウム塩の種類により発病抑制・遅延が認められ、本手法が青枯病発病抑制に有効なカルシウム施用法であることを明らかにした。さらに、堆肥の施用がトマトのカルシウム吸収および青枯病の発病に及ぼす影響を調査した結果、堆肥のカルシウム含量に応じた植物体カルシウム吸収の差異ならびにそれに対応した発病の差異が明瞭に認められ、有機物施用による発病抑制にカルシウム吸収が関与する可能性を新たに示した。

以上のような本研究で得られた知見を総合的に勘案した場合、1) トマト青枯病抵抗性の発現はカルシウム吸収の差異によって生ずる植物体内、とくに病徴発現部位

である茎の基部におけるカルシウム濃度の差異によって調節されていること、ならびに2) 何らかの手法によりトマト青枯病抵抗性品種のカルシウム吸収を大きく高めることができれば実際栽培における青枯病の発病抑制技術となり得ることが推定される。しかしながら、1) については植物体内のカルシウム濃度の差異による抵抗性発現調節メカニズムが詳細には明らかになっておらず、その解明が望まれる。また、2) についても実際栽培レベルでの顕著な発病抑制効果は認められておらず、より効率的・効果的なカルシウム施用法の開発が望まれる。そこで、本総合考察では、1) 植物体カルシウム濃度の差異によるトマト青枯病抵抗性発現調節のメカニズム、および2) トマト青枯病の発病抑制を目的とした効率的カルシウム施用法確立の可能性の2点について、これまでの知見を踏まえて考察を加え、今後の研究課題を提示したい。

1 植物体カルシウム濃度の差異によるトマト青枯病抵抗性発現調節のメカニズム

Ⅲ-1 およびⅣ-1 の結果より植物体カルシウム濃度、とくに茎の基部におけるカルシウム濃度の差異がトマト青枯病抵抗性の発現調節に大きく関与することが推定されたが、この場合1) カルシウム濃度が植物体側の抵抗性因子に直接影響を及ぼす可能性、および2) カルシウム濃度が病原菌側に影響を及ぼし、それが抵抗性品種の発病の差異に現れている可能性の2つが想定される。

1) 植物体カルシウム濃度が植物体側の抵抗性因子に及ぼす影響

トマト青枯病抵抗性品種においては、地上部における菌の増殖抑制が明瞭に認められること（GRIMAULTら、1993, 1994a；NAKAHOら、1996；NAKAHO, 1997）から、植物体側の抵抗性要因として、他の病原菌-宿主関係において認められているように、ファイトアレキシン等の抗菌性物質の産生がまず想定される。しかし、青枯病菌を接種したトマト抵抗性品種の基部から採取したアポプラスト液には全く抗菌性は認められない（McGARVEYら、1999）など、これまでに抵抗性に関与する抗菌性物質等の産生は認められていない。この点については、菌を接種した高度抵抗性品種の茎より採取した各種溶媒抽出液を用いて、ペーパーディスク法により抗菌性のアッセイを予備的に行ったが、抵抗性品種に特異的な抗菌活性は認められなかった。一方、興味深い知見としては、非病原性青枯病菌を凝集させ、増殖を抑制するタンパク性の凝集素がジャガイモより見出され、その活性が溶液

のイオン強度によって変化することが報告されている (LEACHら, 1982). しかし, この凝集素は病原性菌に対しては作用せず, また, 抵抗性品種に病原性菌に対する同様の凝集素は見出されていない. この点についても, 抵抗性品種の茎抽出液の病原菌凝集活性を予備的に調査したが, 活性は認められなかった. このように, 青枯病抵抗性品種体内における菌の増殖抑制に関与する因子は, これまでに全く特定されていない. また, 病原菌側の病原性因子として細胞外多糖およびポリガラクトースなどの細胞壁分解酵素がこれまでに同定されており (HUSAINら, 1958; SCHELLら, 1988; DENNYら, 1991; COOKら, 1991; KAOら, 1992; SAILEら, 1997; ARAUD-RAZOUら, 1998; HUANGら, 2000), それらに対応する何らかの抵抗性因子が抵抗性品種体内に存在するものと推定されるが, これについても見出されていない. なお, 上記以外の病害抵抗性反応, 例えばカロース生成やエチレン生成, 病害関連タンパク質の誘導あるいはサリチル酸やジャスモン酸の関与等についての青枯病抵抗性に関する報告はこれまでにない. 以上の点は, 他の作物の青枯病抵抗性についても同様であり, トマトを含む各種作物の青枯病抵抗性品種における菌の増殖抑制因子すなわち抵抗性因子の同定およびそのカルシウム濃度との関係解析が今後強く望まれる.

上記のように, 現時点ではトマト青枯病抵抗性品種が有する抵抗性因子の実体は全く不明であるが, 植物体内のカルシウム濃度の差異がカルシウムイオンによる抵抗性シグナル伝達機構に影響を与え, 抵抗性の発現を調節している可能性がある. 動物細胞において見出されたのと同様に, 植物細胞においても細胞内カルシウムイオンがメッセンジャーとして生育, ストレス耐性等の多種多様な生理的反応のシグナル伝達を担っている (SANDERSら, 1999; REDDY, 2001). 近年, 病害抵抗性反応のシグナル伝達における細胞内カルシウムイオンの関与に関する研究が精力的に行われ, 各種病原菌感染時のファイトアレキシン産生 (KUROSAKIら, 1987; TADAら, 2000) やカロース (KAUSSら, 1991), エチレン生成 (RAZら, 1992), 病害関連タンパク質誘導 (HEOら, 1999) 等の多種の抵抗性反応におけるシグナル伝達に細胞内カルシウムイオンが関与することが明らかとなっている (DIXONら, 1994). したがって, 本研究の対象であるトマト青枯病抵抗性についても, 抵抗性反応のシグナル伝達には細胞内カルシウムイオンの動態が深く関わっているものと推定される. この抵抗性反応に関する細胞内カルシウムイオンの動態と細胞外カルシウム濃度との

関係は必ずしも明確とはなっていないが, 近年, 気孔開閉に関わる孔辺細胞のカルシウムシグナル伝達に関する研究において, 細胞外カルシウム濃度の差異が細胞内カルシウム濃度変化の周期性に影響を与え, その大きさおよび周期間隔を変化させることが示されている (McAINSHら, 1995). このことは, 病害抵抗性反応におけるカルシウムシグナル伝達機構においても, 細胞外カルシウム濃度の差異が細胞内カルシウム濃度変化に影響を与え, その結果として抵抗性の発現に影響を及ぼしている可能性を示唆している. 現時点では, トマト青枯病抵抗性に関するカルシウムシグナル伝達機構に関する研究は皆無であるが, 前記の抵抗性因子の同定とともにその発現調節に対する細胞内外カルシウムイオン濃度の影響に関する検討が今後望まれる.

2) 植物体カルシウム濃度が病原菌の増殖および病原性因子の産生に及ぼす影響

Ⅲ-1, 3 および V-3 で示したように, カルシウム吸収を高めた場合, 病性品種でも若干発病が抑制されることから, 植物体内のカルシウム濃度が高い場合に青枯病菌の増殖等が抑制され, その結果, 発病程度が低下する可能性が示唆される. Ⅲ-1 で示したように, 培地カルシウム濃度を高めた場合に青枯病菌の増殖が抑制され, その効果はマグネシウムおよびナトリウムと比較してカルシウムで高かった. この培地カルシウム濃度による菌の増殖抑制は 25mM 以上で明瞭に認められたが, 通常の栽培条件下での木部いっ泌液やアポプラストのカルシウム濃度は 10mM 以下であり (ATKINSONら, 1992; 三村, 1997), 病原菌の増殖に影響を与える可能性は低いと考えられる. しかし, 高カルシウム濃度 (20.4mM) の培養液を施用したトマト接ぎ木苗から採取した木部いっ泌液のカルシウム濃度は, 25mM 以上となったこと (Ⅲ-2) から, この場合にはカルシウム濃度による菌の増殖阻害が生じていた可能性がある. このような施用カルシウム濃度より木部いっ泌液のカルシウム濃度が高まる現象は他にもみられており (榎田, 1989), 植物体内におけるカルシウム濃度の上昇程度によっては, 菌の増殖の抑制につながる場合もあると推定される. 一方, 全体の平均的なカルシウム濃度が低い場合であっても, 局部的にカルシウム濃度が高まっている可能性があり, それが菌の感染部位である場合には, 菌の増殖が抑制され, 発病程度が低下する可能性がある. トマト青枯病抵抗性品種の茎における青枯病菌の存在状態を電顕観察した場合, 菌が存在する周囲の導管や柔細胞の細胞壁周辺には電子密度の高い物質の集積が観察される (GRIMAUDTら,

1994d; NAKAHOら, 2000). その実体は不明だが, オオムギうどんこ病等の場合には, 菌の侵入部位周辺にカルシウムが集積することが示されており (KUNOH, 1990), この青枯病の場合にも菌の感染部位周辺にカルシウムが集積している可能性がある. このようなカルシウムの集積が生じていれば, 局部的にカルシウム濃度が高まっていることになり, それによる菌の増殖抑制が生じるものと考えられる. 前記のような高電子密度物質の集積は, 抵抗性品種でのみ明瞭に認められていること (GRIMAULTら, 1994d; NAKAHOら, 2000) から, もしそれにカルシウムが含まれているならば, カルシウム濃度による発病の差異が抵抗性品種で明瞭に認められることが説明でき, 抵抗性の要因の一つとして菌感染部位へのカルシウム動員機能の差異を挙げることができる. この仮説を実証するには, 抵抗性品種の菌感染部位におけるカルシウムの局在を定量的に明らかにする必要があり, 今後, 分析電顕等の利用によるカルシウム局在性の検討が有効なアプローチとなろう. なお, 高カルシウム濃度条件下における青枯病菌の増殖抑制のメカニズムは不明である. 非病原性青枯病菌では高カルシウム濃度条件下で凝集が生じ, 増殖が抑制されることが認められており (美濃ら, 1983), 負の電荷を持つ菌の線毛がカルシウムイオンによって架橋され凝集が生じると推定されている. しかし, 細胞外多糖によって被覆され線毛が露出していない病原性菌では凝集が生じないことから, 菌の凝集による増殖抑制は関与しない可能性が高い. また, 一部の根圏細菌では高カルシウム濃度条件下において, 細胞分裂時の隔壁形成阻害による形態異常が生じ, 増殖が抑制されることが報告されている (境, 1995) が, 本研究で用いた青枯病菌では高カルシウム濃度条件下で培養した場合の形態異常は認められていない. したがって, 前記の青枯病菌の増殖抑制は, 高カルシウム濃度による何らかの生理的機能の阻害に起因するものと推測される.

このほか, 植物体内カルシウム濃度の差異が菌の病原性因子の産生に影響を及ぼしている可能性がある. 前述のように, 青枯病菌の主要な病原性因子は細胞外多糖とポリガラクトクロナーゼを主とする細胞壁分解酵素である (HUSAINら, 1958; SCHELLら, 1988; DENNYら, 1991; COOKら, 1991; KAOら, 1992; SAILEら, 1997; ARAUD-RAZOUら, 1998; HUANGら, 2000) が, このうち, ポリガラクトクロナーゼについては, 他の病原菌が産生する本酵素の活性がカルシウム濃度によって大きな影響を受け, 低カルシウム濃度下で活性が増大し, 高カルシウム濃度条件下で著しく活性が阻害されることが

示されている (CORDEN, 1965; VOLPINら, 1991; PAGELら, 1990; PLATEROら, 1976). 青枯病菌が産生する本酵素とカルシウム濃度との関係に関する報告は無いが, おそらく他の病原菌由来のものと同様のカルシウム濃度反応性を示すものと推定される. また, アブラナ科作物やジャガイモの軟腐病菌では, 本酵素が主要な病原性因子であるが, その遺伝子発現自体がカルシウム濃度による制御を受け, 高カルシウム条件下における発病抑制が植物体内の高カルシウム濃度条件による本酵素の遺伝子発現の抑制に起因することが推定されている (FLEGOら, 1997). 青枯病菌の場合には同様の報告はなされていないが, 軟腐病菌の場合と同様のカルシウム濃度による病原性因子の遺伝子発現調節が生じている可能性がある. 近年, 細胞外多糖や細胞壁分解酵素等の青枯病菌病原性因子の発現調節機構に関する研究が進展し, その調節因子のいくつかが明らかとなっている (SCHELL, 2000). したがって, それらの病原性因子の発現調節因子とカルシウム濃度との相互作用に関する研究が今後必要となろう.

上記のように, 植物体内カルシウム濃度の差異は, 植物体および病原菌双方の多種多様な生理的反応に影響を及ぼしていることが示唆される. おそらく, 実際にも植物体側の抵抗性ならびに病原菌側の増殖および病原性因子の産生にカルシウム濃度の差異が同時に関与しており, その結果として, 本研究で認められた現象が生じているのであろう. このような複雑な系のメカニズムの解明は困難であると予想されるが, 今後, 上記に示したいいくつかの観点から研究を進めることが重要であると考えられる.

2 トマト青枯病の発病抑制を目的とした効率的カルシウム施用法

IV-2において, カルシウムのかん水同時施用法がトマト青枯病抵抗性品種のカルシウム吸収を高め, 青枯病の発病抑制に有望であることを示したが, 実際栽培において適用しうる技術とするためには, さらに効率的にカルシウム吸収を高め, かつ生育・収量および土壌の理化学性に悪影響を及ぼさないような方策を確立することが必要である. そこで, ここでは土壌溶液や根系発達, あるいは高カルシウム含量を示す青枯病発病抑止土壌におけるカルシウム吸収およびその機構の観点からその可能性を考察するとともに今後の研究課題を提示する.

1) 土壌溶液カルシウム濃度の高濃度化

植物体のカルシウム吸収は主にマスフローによること (MARSCHNER, 1995) から, 根のカルシウム吸収能が一般に高い双子葉植物の場合には, 根近傍の土壌溶液カル

シウム濃度が植物体中の木部あるいはアポプラストのカルシウム濃度にほぼ反映されると考えられる。したがって、土壤溶液のカルシウム濃度を高めることができれば、結果的に植物体のカルシウム濃度を高めることにつながる。しかし、土壤溶液のカルシウム濃度を一時的に高めても、溶液中のカルシウムイオンは土壤中に生じた二酸化炭素と結合し、溶解度の低い炭酸カルシウムとなって不可給化する（小田原ら，1994；和田ら，1996）。また、溶液中の硫酸イオンまたはリン酸イオン濃度が高い場合にも硫酸カルシウムおよびリン酸カルシウムの沈殿が生じ不可給態となる（加藤，1989）。さらに有機物のカルボキシル基とも結合し、この場合も溶解度が極端に低下しカルシウムは不可給化される（小田原ら，1994）。このように土壤溶液中のカルシウムイオンは多くのステップで不可給化されることから、土壤溶液のカルシウム濃度を人為的に長期間高めることは困難と推定される。このことがV-1において、被覆カルシウム資材の施用によりカルシウム吸収が期待したほど高まらなかったことの一因であり、資材から溶出したカルシウムが速やかに不可給化され、土壤溶液のカルシウム濃度上昇につながらなかったものと推定された。そこで、この点をクリアするために採用した手法がV-2のカルシウムのかん水同時施用法であり、土壤溶液を施用溶液で定期的に置換することにより、高カルシウム濃度の状態を持続させることでカルシウム吸収を高めることが可能ではないかと考えられた。しかし、本実験では1日に1回ないし2回のかん水施用としたため、かん水間隔が長く、その間にカルシウムの不可給化が生じた可能性がある。一方、この場合にも青枯病の発病抑制効果はある程度認められていることから、かん水間隔を短縮し、植物の水分吸収パターンに合わせて少量多回数の高カルシウム濃度培養液の施用を実現できれば、不可給化の問題をある程度回避して、よりカルシウム吸収効率を高め、より高い発病抑制効果が得られる可能性がある。現時点で既に、日射センサーや土壤水分センサー等を用いた精密なかん水システムが実用化されていること（大須賀ら，1999）から、これらの技術とカルシウムかん水同時施用とを複合することにより、上記の新たなカルシウム施用法を構築できると考えられる。

2) 根系発達促進によるカルシウム吸収増加

根におけるカルシウム吸収は主にアポプラスト経路で行われ、成熟した根では皮層から中心柱へのカルシウムの移行がカスバリー帯で阻害されることから、根のカルシウム吸収は主に根端周辺部で生じる（MARSCHNER，

1995）。したがって、何らかの手法により根系発達を促進し、カルシウム吸収サイトである根端部の数を増加させることができれば、カルシウム吸収量の増加につながる。また、根系発達の促進は根端部を常に新鮮な土壤溶液に遭遇させることとなるため、吸収による根端部周囲の土壤溶液カルシウム濃度の低下を回避し、常に一定量以上のカルシウム吸収を持続させることができる。このように、根系発達を促進することは、カルシウム吸収の増加ならびに吸収の持続性を確保するための有効な手段となると考えられる。

一方、本研究のV-3においては、堆肥施用によりカルシウム吸収が顕著に増加し、それに伴い青枯病の発病が抑制または遅延される現象を認めたが、このカルシウム吸収増加の原因としては、堆肥に含まれるカルシウムの形態が何らかの吸収しやすい形態であった可能性のほか、堆肥施用による根系発達の促進がカルシウム吸収の増加に寄与した可能性が想定される。これまでに、有機物施用により作物の根系発達が促進される事例がみられ（松口ら，1987；鯨，1990）、施用による土壤物理性の改善あるいは施用有機物中に含まれる根系発達促進物質（竹中，1998）の存在がその要因と考えられている。上記実験では、根系の調査を行っていないため、堆肥施用による根系発達促進の寄与を確認できていないが、十数種の発酵有機質肥料を用いて青枯病抑制効果とカルシウム吸収との関係を予備的に検討した結果、数種の有機質肥料で発病抑制効果がみられるとともに発病とカルシウム吸収との間に負の相関が認められ、かつ発病抑制効果の高い肥料を施用した場合には、顕著な根量の増加が認められた。この結果は有機物施用による根系発達の促進がカルシウム吸収の増加をもたらす、発病抑制につながることを強く示唆しているが、その詳細は明らかになっていない。したがって、今後、有機物施用と発病抑制、カルシウム吸収および根系発達との相互関係を詳細に解明することが必要であろう。それらを明らかにできれば、有機物施用による発病抑制現象をカルシウム吸収および根系発達の点から説明でき、新たな知見となるだけでなく、新たな土壤病害抑制技術の確立に大きく寄与するものと予想される。

3) 高カルシウム含量を示す発病抑止土壌におけるカルシウム吸収とその機構

これまでに、各種土壤病害に対する発病抑止土壌、すなわち積極的な病害防除対策を行わずに感受性作物を栽培しても病害が発生しないか被害が問題とならない土壌の存在が古くから世界各地で知られている（HORNBY，

1983). その抑止要因については、主に拮抗微生物などの生物性の観点から検討が進められ、その関与が明らかにされているが、土壌の理化学性がその抑止性に関与しているという抑止土壌も数多く知られている (HÖPERら, 1996). 興味深いことに、このような土壌理化学性が抑止要因とされる抑止土壌では、高カルシウム含量および高 pH の特性を有する場合が多い。たとえば、古賀 (1998) は日本各地のタバコ栽培土壌を採取して、トマト青枯病と病原菌を同じくするタバコ立枯病に対する抑止土壌を探索し、得られた数種の抑止土壌のうち、1 種類の砂質土壌が熱処理後も抑止性を有することから、本土壌の抑止性が理化学性由来であることを明らかにした。本土壌および採取地周辺の砂質土壌は、土壌 pH 8.0 以上および交換性カルシウム含量 550mg/100g 乾土以上と高 pH および高カルシウム含量の特性を示した。また、非抑止型の砂質土壌に各種カルシウム資材等を施用した場合、発病と土壌 pH および交換性カルシウム含量との間に負の相関が認められた。したがって、前述の抑止土壌の抑止要因には、高 pH および高カルシウム含量の双方が関与することが示唆された。このような抑止土壌の特性は、これまでにアブラナ科野菜根こぶ病 (HSIEHら, 1986)、キュウリ苗立枯病 (KAOら, 1986)、ダイコン萎黄病 (小林, 1995) 等の抑止土壌においても認められているほか、本研究の対象であるトマト青枯病についても報告例 (PRIORら, 1993; YUANら, 1997) がある。このうち、中国で見出された抑止土壌 (YUANら, 1997) は「白泥土」(white-mud soil) と記述され、pH7.2 以上および高炭酸カルシウム含量の特性を示した。

このように、抑止土壌の抑止要因として高 pH および高カルシウム含量の特性が関与することが示されているが、その抑止メカニズムについては十分に明らかにはなっていない。上記の研究例では、いずれも抑止土壌中における病原菌密度の低下や胞子発芽の阻害などが認められ、土壌の高 pH あるいは高カルシウム濃度による菌の増殖・生育抑制が抑止性の一因と考えられているが、その詳細は明らかでない。また、本研究で示したトマト青枯病の場合をはじめとして、多くの病害でカルシウム吸収を高めた場合に発病が抑制されること (木谷ら, 1957; EDGINGTONら, 1958; BATEMANら, 1965; CORDEN, 1965; FORSTERら, 1975; MCGUIREら, 1984; SPIEGELら, 1987; BERRYら, 1988; KOら, 1989; 田中ら, 1990; WEBSTERら, 1991; VOLPINら, 1991; CONWAYら, 1992; ELADら, 1992, 1993; FLEGOら, 1997; STARKEYら, 1997) が明らかとなっており、同様の現

象が高カルシウム含量の特性を有する抑止土壌においても生じている可能性が推測されるが、これまでに抑止土壌におけるカルシウム吸収を比較検討した例は皆無である。したがって、今後、上記のような抑止土壌における作物のカルシウム吸収について検討し、その関与の可能性を明らかにしていく必要がある。

上記の点を明らかにするには、まず高 pH、高カルシウム含量土壌中におけるカルシウムの形態について考察を加える必要がある。前記のように、中国で見出されたトマト青枯病抑止土壌 (YUANら, 1997) では炭酸カルシウム含量が高く、そのため難溶性の炭酸カルシウムが土壌カルシウムの主体であり、これが高 pH の原因であると予想される。一方、前出のタバコ立枯病抑止砂質土壌 (古賀, 1998) では、高い交換性カルシウム含量を示したが、砂質土壌の陽イオン交換容量は一般に低いことから、「交換性カルシウム」とされたカルシウムがすべて土壌の交換基に保持されていたとは考えにくい。一般に交換性カルシウム含量の測定には酢酸アンモニウム抽出法が用いられるが、本抽出溶媒は土壌の炭酸カルシウムをも溶解し、そのために炭酸カルシウム含量の高い土壌では交換性カルシウム含量が過大評価されていることが指摘されている (和田ら, 1996)。したがって、本土壌の場合にも、交換性カルシウム含量は過大評価されており、土壌カルシウムの主体が炭酸カルシウムであるものと推測される。すなわち、上記抑止土壌は、炭酸カルシウムに富むアルカリ性の石灰質土壌であると考えられる。このような土壌では、高 pH による微量要素、とくに鉄の吸収阻害が生じ、生育が阻害される。しかし、上記タバコ立枯病抑止土壌におけるタバコの生育は、土壌 pH が 8.0 以上と高いアルカリ性を示すにもかかわらず阻害されないという (古賀よりの私信)。このことはアルカリ性石灰質土壌における作物側の何らかの適応機構が作用していることを示唆している。これまでに、アルカリ性石灰質土壌で多発する鉄欠乏に対する作物側の適応機構として、根の産生する還元酵素や還元性物質による三価鉄の還元、プロトンや有機酸の放出による難溶性鉄の可溶化、作物特異的な鉄キレート物質の放出によるキレート化などが示されている (MARSCHNER, 1995)。これらのうち、トマト、タバコ等の双子葉植物では鉄の還元能およびプロトン放出が重要な役割を果たしている (MARSCHNER, 1995; OLSENら, 1980; 飯田, 1984)。とくに、プロトン等の放出による根圏の酸性化が生じた場合、鉄だけでなく、土壌中に豊富に存在する炭酸カルシウムが可溶化し (WARFVINGEら, 1989)、結果的にカ

ルシウムの吸収が促進されることになる。このような高pH、高炭酸カルシウム含量土壌におけるカルシウム吸収と鉄吸収機構との関連性については、これまでに報告例がなく、あくまで仮説の段階であるが、SSONKKO (1995) は石灰の多量施用によるトマト青枯病の発病抑制に鉄吸収の変化が関与することを示唆している。また、生井ら (1997) は各種鉄化合物の水溶液をトマトの根に接種前処理した場合に青枯病の発病が抑制され、その効果が三価鉄の化合物を処理した場合に高いことを見出し、本研究におけるカルシウム吸収による発病抑制との類似性を指摘している。これらの知見はカルシウム吸収と鉄吸収機構との何らかの関連性を示唆しており、今後、高pH、高カルシウム含量の特性を示す抑止土壌におけるトマトのカルシウム吸収を、鉄吸収機構との関連から検討することも有望な研究課題であると考えられる。

以上のように、カルシウムかん水同時施用法の改善による土壌溶液カルシウム濃度の高濃度化および有機物等の施用による根系発達の促進がトマトのカルシウム吸収を促進する手法として有望であり、その青枯病抑制効果についての検討が今後望まれる。また、高カルシウム含量を示す青枯病抑止土壌における抑止メカニズムの解明は、非抑止土壌を人為的に抑止的に改変する技術の基となる可能性があることから、これについても今後検討を加える必要がある。さらに、前述のカルシウム吸収による抵抗性の調節メカニズムを解明することにより、新たな発病抑制技術を開発し得る可能性がある。将来的にはこれらの手法を総合的に活用することにより、連作障害に悩む栽培現場で適用可能な新たな青枯病抑制技術、ひいては各種土壌病害対策技術の確立が可能となると考えられ、今後その確立に向けてさらに研究を進めていくことが必要である。

VII 摘 要

野菜の連作障害の主因である土壌病害の新たな総合防除技術を開発することを目的として、難防除土壌病害の一つであるトマト青枯病を対象に、各種養分レベルと発病との関係を調査し、カルシウムレベルと発病との密接な関係を明らかにするとともに、カルシウム吸収と青枯病抵抗性との関係を詳細に検討し、カルシウム吸収を高めた場合にトマト青枯病抵抗性が顕著に高まることを見出した。さらに、カルシウム吸収による抵抗性向上に作用する要因について検討するとともに、トマト青枯病の

発病抑制を目的としたカルシウム施用法の開発を試みた。

まず、各種養分レベルが抵抗性品種の発病に及ぼす影響を土耕および水耕条件下で調査し、硝酸態窒素やリン酸等の施用レベルが発病に大きな影響を及ぼさないのに対し、カルシウムの施用レベルが発病に大きく影響し、高カルシウム条件下で発病が顕著に抑制されることを明らかにした。

つぎに、培養液カルシウム濃度が抵抗性の異なるトマト品種の発病および植物体内における病原菌密度に及ぼす影響を詳細に検討し、カルシウム濃度条件が抵抗性品種の発病に大きく影響することを明確にするとともに、高カルシウム条件下における抵抗性品種の発病抑制が植物体内における菌の増殖抑制に起因することを明らかにした。また、抵抗性品種を台木としたトマト接ぎ木苗においても同様の現象がみられることを示した。さらに、高カルシウム条件下における発病抑制が多くの抵抗性品種に共通して認められることを明らかにした。これらの結果はトマト青枯病抵抗性がカルシウム吸収により向上することを示すものである。

このようなカルシウム吸収による青枯病抵抗性の向上に関わる要因を明らかにするために、病原菌接種の前後でカルシウム濃度を相互に変化させて、抵抗性品種の発病を調査した結果、病原菌感染以前のカルシウム濃度は発病に影響せず、感染後のカルシウム濃度が高まるとともに抵抗性品種の発病が抑制されることが明らかとなった。本結果は、従来示されている細胞壁へのカルシウムの結合を介した抵抗性の変化とはカルシウムの作用機構が異なり、植物体内のカルシウム濃度が抵抗性の発現調節に関与している可能性を示すものである。このほか、トマト青枯病抵抗性と養分吸収との関係を比較検討し、高度抵抗性の品種群が高いカルシウム吸収能を有することを明らかにした。さらに、抵抗性の異なる品種間の相互接ぎ木苗を用いてカルシウム吸収の品種間差異に関する要因を検討し、その差異が主に地下部のカルシウム吸収の差異に起因することを示した。

上記の結果を基に、トマト青枯病の発病抑制を目的としたカルシウム施用法の開発を試み、被覆カルシウム資材の施用およびカルシウムのかん水同時施用法について、その発病抑制効果を検討した。被覆カルシウム資材の施用による発病抑制効果は認められなかったが、カルシウムのかん水同時施用により発病が抑制されることを示し、本手法が発病抑制に有効であることを明らかにした。また、カルシウム含量の異なる堆肥の施用が青枯病の発病およびカルシウム吸収に及ぼす影響を調査し、有機物施

用による発病抑制にカルシウム吸収が関与することを新たに示した。

以上の研究成果は、カルシウム吸収によるトマト青枯病抵抗性の向上が総合防除技術の一手段として有効であることを示しており、その確立に大きく寄与するものと期待される。

引用文献

- 1) ACOSTA, J. C., J. C. GILBERT, and V. L. QUINON (1964): Heritability of bacterial wilt resistance in tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **84**, 455–462.
- 2) ADAMS, P. and L. C. HO (1992): The susceptibility of modern tomato cultivars to blossom-end rot in relation to salinity. *J. Hort. Sci.*, **67**, 827–839.
- 3) ADAMS, P. and R. HOLDER (1992): Effects of humidity, Ca and salinity on the accumulation of dry matter and Ca by the leaves and fruit of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *J. Hort. Sci.*, **67**, 137–142.
- 4) ADAMS, P. and L. C. HO (1993): Effect of environment on the uptake and distribution of calcium in tomato and on the incidence of blossom-end rot. *Plant Soil*, **154**, 127–132.
- 5) ADAMS, P. and L. C. HO (1995): Uptake and distribution of nutrients in relation to tomato fruit quality. *Acta Hort.*, **412**, 374–387.
- 6) 相野公孝 (1993): 蛍光性シュードモナスによるトマト青枯病防除, 農業技術体系土壌施肥編, 第1巻, 148の3–6, 農山漁村文化協会, 東京.
- 7) AL-HARBI, A. R. (1995): Growth and nutrient composition of tomato and cucumber seedlings as affected by sodium chloride salinity and supplemental calcium. *J. Plant Nutr.*, **18**, 1403–1416.
- 8) 荒木浩一・伊藤秀文・岩崎清治・金森哲夫・安田 環・野々山芳夫 (1985): 施設トマトの連作ほ場に対するおがくず, パーク及びビートモス連用の影響, 野菜試報 A, **13**, 93–108.
- 9) ARAUD-RAZOU, I., J. VASSE, H. MONTROZIER, C. ETCHEBAR and A. TRIGALET (1998): Detection and visualization of the major acidic exopolysaccharide of *Ralstonia solanacearum* and its role in tomato root infection and vascular colonization. *Eur. J. Plant Pathol.*, **104**, 795–809.
- 10) ARWIYANT, T., K. SAKATA, M. GOTO, S. TSUYUMU and Y. TAKIKAWA (1993): Induction of tomatine in tomato plant by avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn*, **60**, 288–294.
- 11) ATKINSON, C. J., L. P. RUIZ and T. A. MANSFIELD (1992): Calcium in xylem sap and the regulation of its delivery to the shoot. *J. Exp. Bot.*, **43**, 1315–1324.
- 12) BANGERTH, F. (1979): Calcium-related physiological disorders of plants. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **17**, 97–122.
- 13) BATEMAN, D. F. and R. D. LUMSDEN (1965): Relation of calcium content and nature of the pectic substances in bean hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, **55**, 734–738.
- 14) BEHLING, J. P., W. H. GABELMAN and G. C. GERLOFF (1989): The distribution and utilization of calcium by two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) lines differing in calcium efficiency when grown under low-Ca stress. *Plant Soil*, **113**, 189–196.
- 15) BERRY, S. Z., G. G. MADUMADU, and M. R. UDDIN (1988): Effect of calcium and nitrogen nutrition on bacterial canker disease of tomato. *Plant Soil*, **112**, 113–120.
- 16) BOWMAN, J. E. and L. SEQUEIRA (1982): Resistance to *Pseudomonas solanacearum* in potato: Infectivity titrations in relation to multiplication and spread of the pathogen. *Amer. Potato J.*, **59**, 155–164.
- 17) VON BROEMSEN, S. L., and J. W. DEACON (1997): Calcium interference with zoospore biology and infectivity of *Phytophthora parasitica* in nutrient irrigation solutions. *Phytopathology*, **87**, 522–528.
- 18) CAMPBELL, R. N., A. S. GREATHEAD, D. F. MYERS, and G. J. DE BOER (1985): Factors related to control of clubroot of crucifers in the Salinas Valley of California. *Phytopathology*, **75**, 665–670.
- 19) CHELLEMI, D. O., H. A. DANKERS, S. M. OLSON, N. C. HODGE and J. W. SCOTT (1994): Evaluating bacterial wilt-resistant tomato genotypes using a regional approach. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **119**, 325–329.
- 20) CONWAY, W. S., K. C. GROSS, C. D. BOYER and C. E. SAMS (1988): Inhibition of *Penicillium expansum* polygalacturonase activity by increased apple cell wall calcium. *Phytopathology*, **78**, 1052–1055.
- 21) CONWAY, W. S., C. E. SAMS, R. G. MCGUIRE and A. KELMAN (1992): Calcium treatment of apples and potatoes to reduce postharvest decay. *Plant Dis.*, **76**, 329–334.
- 22) COOK, D. and L. SEQUEIRA (1991): Genetic and biochemical characterization of a *Pseudomonas solanacearum* gene cluster required for extracellular polysaccharide production and for virulence. *J. Bacteriol.*, **173**, 1654–1662.
- 23) CORDEN, M. E. (1965): Influence of calcium nutrition on Fusarium wilt of tomato and polygalacturonase activity. *Phytopathology*, **55**, 222–224.
- 24) CUARTERO, J. and R. FERNANDEZ-MUNOZ (1999): Tomato and salinity. *Sci. Hort.*, **78**, 83–125.
- 25) DATE, H., H. NASU and M. HAMAMOTO (1994): Breakdown of resistance of eggplant rootstock (*Solanum torvum* Swartz) to bacterial wilt by high ambient temperature. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn*, **60**, 483–486.
- 26) DENNY, T. P. and S.-R. BAEK (1991): Genetic evidence that extracellular polysaccharide is a virulence factor of *Pseudomonas solanacearum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **4**, 198–206.
- 27) DEREN, C. W., L. E. DATNOFF and G. H. SNYDER (1992): Variable silicon content of rice cultivars grown on Everglades Histosols. *J. Plant Nutr.*, **15**, 2363–2368.
- 28) DEREN, C. W., L. E. DATNOFF, G. H. SNYDER and F. G. MARTIN (1994): Silicon concentration, disease response and yield components of rice genotypes grown on flooded organic Histosols. *Crop Sci.*, **34**, 733–737.
- 29) DIXON, R. A., M. J. HARRISON and C. J. LAMB (1994): Early events in the activation of plant defense

- responses. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **32**, 479–501.
- 30) EDGINGTON, L. V. and J. C. WALKER (1958): Influence of calcium and boron nutrition on development of Fusarium wilt of tomato. *Phytopathology*, **48**, 324–326.
 - 31) ELAD, Y., H. YUNIS, and H. VOLPIN (1992): Effect of nutrition in susceptibility of cucumber, eggplant, and pepper crops to *Botrytis cinerea*. *Can. J. Bot.*, **71**, 602–608.
 - 32) ELAD, Y. and H. VOLPIN (1993): Reduced development of gray mould (*Botrytis cinerea*) in bean and tomato plants by calcium nutrition. *J. Phytopathol.*, **139**, 146–156.
 - 33) ENGELHARD, A. W. (ed.) (1989): Soilborne Plant Pathogens: Management of Diseases with Macro- and Microelements. APS Press, St. Paul, USA.
 - 34) ENGLISH, J. E. and D. N. MAYNARD (1981): Calcium efficiency among tomato strains. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **106**, 552–557.
 - 35) ENGLISH, J. E. and A. V. BARKER (1982): Water-soluble calcium in Ca-efficient and Ca-inefficient tomato strains. *HortScience*, **17**, 929–931.
 - 36) FLEGO, D., M. PIHONEN, H. SAARILAHTI, T. K. PALVA and E. T. PALVA (1997): Control of virulence gene expression by plant calcium in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. *Mol. Microbiol.*, **25**, 831–838.
 - 37) FORSTER, R. L. and E. ECHANDI (1975): Influence of calcium nutrition on bacterial canker of resistant and susceptible *Lycopersicon* spp. *Phytopathology*, **65**, 84–85.
 - 38) FRENCH, E. R. (1986): Efficacy of five methods of inoculating potato plants with *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, **76**, 1078.
 - 39) FURUYA, N., Y. KUSHIMA, K. TSUCHIYA, N. MATSUYAMA and S. WAKIMOTO (1991): Protection of tomato seedlings by pre-treatment with *Pseudomonas solanacearum* from infection with *Pseudomonas solanacearum* and its mechanisms. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn*, **57**, 363–370.
 - 40) GALLEGLY, M. E. and J. C. WALKER (1949): Plant nutrition in relation to disease development. V. Bacterial wilt of tomato. *Amer. J. Bot.*, **36**, 613–623.
 - 41) GIORDANO, L. B., W. H. GABELMAN and G. C. GERLOFF (1982): Inheritance of differences in calcium utilization by tomatoes under low-calcium stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **107**, 664–669.
 - 42) GRIMAULT, V. and P. PRIOR (1993): Bacterial wilt resistance in tomato associated with tolerance of vascular tissues to *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Pathol.*, **42**, 589–594.
 - 43) GRIMAULT, V., G. ANAIS and P. PRIOR (1994a): Distribution of *Pseudomonas solanacearum* in the stem tissues of tomato plants with different levels of resistance to bacterial wilt. *Plant Pathol.*, **43**, 663–668.
 - 44) GRIMAULT, V. and P. PRIOR (1994b): Invasiveness of *Pseudomonas solanacearum* in tomato, eggplant and pepper: A comparative study. *Eur. J. Plant Pathol.*, **100**, 259–267.
 - 45) GRIMAULT, V. and P. PRIOR (1994c): Grafting tomato cultivars resistant or susceptible to bacterial wilt: Analysis of resistance mechanisms. *J. Phytopathol.*, **141**, 330–334.
 - 46) GRIMAULT, V., B. GELIE, M. LEMATTRE, P. PRIOR and J. SCHMIT (1994d): Comparative histology of resistant and susceptible tomato cultivars infected by *Pseudomonas solanacearum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **44**, 105–123.
 - 47) HANSON, P. M., J.-F. WANG, O. LICARDO, HANUDIN, S. Y. MAH, G. L. HARTMAN, Y.-C. LIN and J.-T. CHEN (1996): Variable reaction of tomato lines to bacterial wilt evaluated at several locations in Southeast Asia. *HortScience*, **31**, 143–146.
 - 48) HANSON, P. M., O. LICARDO, HANUDIN, J.-F. WANG and J.-T. CHEN (1998): Diallel analysis of bacterial wilt resistance in tomato derived from different sources. *Plant Dis.*, **82**, 74–78.
 - 49) 原 秀紀・小野邦明 (1984): タバコ立枯病菌の新しい選択培地による検出定量法, 植物防疫, **38**, 76–79.
 - 50) HARTMAN, P. L., H. A. MILLS and J. B. JONES (1986): The influence of nitrate: ammonium ratios on growth, fruit development, and element concentration in 'Floradel' tomato plants. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **111**, 487–490.
 - 51) HAYWARD, A. C. (1991): Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **29**, 65–87.
 - 52) HE, Z., X. YANG, B. A. KAHN, P. J. STOFFELLA and D. V. CALVERT (2001): Plant nutrition benefits of phosphorus, potassium, calcium, magnesium, and micronutrients from compost utilization. In *Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems*, ed. P. J. Stoffella and B. A. Kahn, pp307–320, Lewis Publishers, Boca Raton, USA.
 - 53) HEO, W. D., S. H. LEE, M. C. KIM, J. C. KIM, W. S. CHUNG, H. J. CHUN, K. J. LEE, C. Y. PARK, H. C. PARK, J. Y. CHOI and M. J. CHO (1999): Involvement of specific calmodulin isoforms in salicylic acid-independent activation of plant disease resistance responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 766–771.
 - 54) HIKICHI, Y., Y. NAKAZAWA-NASU, S. KITANOSONO, K. SUZUKI and T. OKUNO (1999): The behavior of lux-marked *Ralstonia solanacearum* in grafted tomato cultivars resistant or susceptible to bacterial wilt. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn*, **65**, 597–603.
 - 55) HO, W. C., L. L. CHERN and W. H. KO (1988): *Pseudomonas solanacearum*-suppressive soils in Taiwan. *Soil Biol. Biochem.*, **20**, 489–492.
 - 56) HO, L. C., R. BELDA, M. BROWN, J. ANDREWS and P. ADAMS (1993): Uptake and transport of calcium and the possible causes of blossom-end rot in tomato. *J. Exp. Bot.*, **44**, 509–518.
 - 57) HOITINK, H. A. J. and P. C. FAHY (1986): Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **24**, 93–114.
 - 58) HOITINK, H. A. J., M. S. KRAUSE and D. Y. HAN (2001): Spectrum and mechanisms of plant disease control with composts. In *Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems*, ed. P. J. Stoffella and B. A. Kahn, pp263–273, Lewis Publishers, Boca Raton, USA.

- 59) HÖPER, H. and C. ALABOUVETTE (1996): Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soils to plant disease. *Eur. J. Soil Biol.*, **32**, 41–58.
- 60) HORNBY, D. (1983): Suppressive soils. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **21**, 65–85.
- 61) HSIEH, W. H. and J. F. WANG (1986): Investigations on suppressive soils of clubroot of crucifers in Taiwan. *Plant Protection Bull. (Taiwan)*, **27**, 3–10.
- 62) HUANG, Q. I. and C. ALLEN (2000): Polygalacturonases are required for rapid colonization and full virulence of *Ralstonia solanacearum* on tomato plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **57**, 77–83.
- 63) HUBER, D. M. (1981): The use of fertilizers and organic amendments in the control of plant disease. In CRC Handbook of Pest Management of Agriculture, Vol. I. D. Pimentel ed., pp357–394, CRC Press, Boca Raton, USA.
- 64) HUSAIN, A. and A. KELMAN (1958): The role of pectic and cellulolytic enzymes in pathogenesis by *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, **48**, 377–386.
- 65) 飯田文吉 (1984): タバコ植物による鉄の吸収について, 岡山たばこ試報, **43**, 67–71.
- 66) 池田健一郎・野々山芳夫 (1993): 石灰施用によるサトイモの芽つぶれ症対策, 土肥誌, **64**, 634–641.
- 67) 生井恒雄・藤田雅一・富樫二郎 (1997): 鉄化合物処理によるトマト青枯病の発病抑制, 山形大学紀要 (農学), **12**, 407–412.
- 68) 伊東祐二郎・塩崎尚郎・橋元秀教 (1982): 多腐植質黒ボク土の畑地における牛ふん尿厩肥の大量連用と土壌の肥沃性, 九州農試報, **22**, 259–320.
- 69) 加治俊幸・伊藤秀文・野々山芳夫・池田健一郎 (1988): サトイモの芽つぶれ症に対する石灰追肥の効果, 土肥誌, **59**, 508–510.
- 70) KALLOO, G. (1991): Efficient mineral nutrition uptake. In Genetic Improvement of Tomato, ed. G. Kalloo, pp 163–164, Springer-Verlag, Berlin.
- 71) KAO, C. W. and W. H. KO (1986): The role of calcium and microorganisms in suppression of cucumber damping-off caused by *Pythium splendens* in a Hawaiian soil. *Phytopathology*, **76**, 221–225.
- 72) KAO, C. C., E. BARLOW and L. SEQUEIRA (1992): Extracellular polysaccharide is required for wild-type virulence of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Bacteriol.*, **174**, 1068–1071.
- 73) 加藤秀正 (1989): 土壌溶液, 土の化学, 季刊化学総説 No.4, 日本化学会編, pp96–109, 学会出版センター, 東京.
- 74) KAUSS, H., T. WALDANN, W. JEBLICK and J. Y. TAKEMOTO (1991): The phytotoxin syringomycin elicits Ca^{2+} -dependent callose synthesis in suspension-cultured cells of *Catharanthus roseus*. *Physiol. Plant.*, **81**, 134–138.
- 75) KELMAN, A. (1950): Influence of nitrogen nutrition on the development of bacterial wilt in tomato and tobacco. *Phytopathology*, **40**, 14.
- 76) KELMAN, A. (1953): The Bacterial Wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina Agric. Exp. Sta. Tech. Bul. No. 99, pp1–194.
- 77) KELMAN, A. (1954): The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology*, **44**, 693–695.
- 78) KIRKBY, E. A. (1979): Maximizing calcium uptake by plants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **10**, 89–113.
- 79) 北嶋敏和 (1993): 被覆硝酸石灰肥料によるトマト「尻腐れ果」対策, 関東東海農業の新技術 平成4年度, **9**, 49–54, 農林水産省農業研究センター編, つくば.
- 80) 木谷清美・井上好之利・夏目孝男・池上帷春 (1957): トマト萎凋病に関する研究 第2報 発病に及ぼす石灰の影響, 四国農試報, **3**, 163–171.
- 81) KO, W.-H. and C.-W. KAO (1989): Evidence for the role of calcium in reducing root disease incited by *Pythium* spp. In Soilborne Plant Pathogens: Management of Diseases with Macro- and Microelements. A. W. Engelhard ed., pp205–217, APS Press, St. Paul, USA.
- 82) 小林紀彦 (1995): 三浦ダイコン産地では何故ダイコン萎黄病が見られないのか? (その2), 農業と科学, **453**, 1–6.
- 83) KOGA, K., H. HARA and H. TANAKA (1997): Suppressive soils to bacterial wilt of tobacco in Japan and population dynamics of *Pseudomonas solanacearum* in these soils. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.*, **63**, 304–308.
- 84) 古賀一治 (1998): タバコ立枯病の発病抑止土壌, 土壌伝染病談話会レポート, **19**, 61–68.
- 85) KRAUSZ, J. P. and H. D. THURSTON (1975): Breakdown of resistance to *Pseudomonas solanacearum* in tomato. *Phytopathology*, **65**, 1272–1274.
- 86) 久保研一 (1994): キャベツ根こぶ病に対する被覆硝酸カルシウムの施用効果, 九州農研, **56**, 76.
- 87) 鯨 幸夫 (1990): コシヒカリの根系形態に及ぼす栽培条件の影響, 農業および園芸, **65**, 1193–1195.
- 88) KUNOH, H. (1990): Ultrastructure and mobilization of ions near infestation sites. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **28**, 93–111.
- 89) KUROSAKI, F., Y. TSURUSAWA and A. NISHI (1987): The elicitation of phytoalexins by Ca^{2+} and cyclic AMP in carrot cells. *Phytochemistry*, **26**, 1919–1923.
- 90) 草野 秀 (1990): カルシウム欠乏による園芸作物の生理障害の症状と対策及び展望 (その2), 農業と科学, **399**, 4–8.
- 91) LASZLO, J. A. (1994): Changes in soybean fruit Ca^{2+} (Sr^{2+}) and K^{+} (Rb^{+}) transport ability during development. *Plant Physiol.*, **104**, 937–944.
- 92) LEACH, J. E., M. A. CANTRELL and L. SEQUEIRA (1982): Hydroxyproline-rich bacterial agglutinin from potato: extraction, purification and characterization. *Plant Physiol.*, **70**, 1353–1358.
- 93) LOCASCIO, S. J., R. E. STALL and W. M. STALL (1988): Bacterial wilt expression in tomato as influenced by cultivar and lime. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, **101**, 356–358.
- 94) MARSCHNER, H. (1995): Mineral Nutrition of Higher Plants, Second Edition. Academic Press, London.
- 95) 榊田正治・戸高 朗・田中豊秀 (1985): 接ぎ木トマトの果実品質と化学組成に及ぼす台木の影響, 宮大農報, **32**, 187–196.
- 96) 榊田正治 (1989): トマトおよびキュウリの真昼と真夜中における木部いっ泌液の無機成分濃度, 園学雑, **58**, 619–625.
- 97) 松田 明・下長根鴻 (1988): 作物の病気と土の健康—土壌管理技術と土壌病害発生, 土の健康と物質循環, 日本

- 土壌肥料学会編, pp93-116, 博友社, 東京.
- 98) 松口龍彦・新田恒雄 (1987): きゅう肥, 作物残さの施用が畑作物の根群発達および生育に及ぼす影響, 土肥誌, **58**, 653-660.
 - 99) McAINSH, M. R., A. A. R. WEBB, J. E. TAYLOR and A. M. HETHERINGTON (1995): Stimulus-induced oscillations in guard cell cytosolic free calcium. *Plant Cell*, **7**, 1207-1219.
 - 100) MCGARVEY, J. A., T. P. DENNY and M. A. SCHELL (1999): Spatial-temporal and quantitative analysis of growth and EPS 1 production by *Ralstonia solanacearum* in resistant and susceptible tomato cultivars. *Phytopathology*, **89**, 1233-1239.
 - 101) MCGUIRE, R. G. and A. KELMAN (1984): Reduced severity of *Erwinia* soft rot in potato tubers with increased calcium content. *Phytopathology*, **74**, 1250-1256.
 - 102) MCGUIRE, R. G. and A. KELMAN (1986): Calcium in potato tuber cell walls in relation to tissue maceration by *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica*. *Phytopathology*, **76**, 401-406.
 - 103) MEW, T. W. and W. C. HO (1977): Effect of soil temperature on resistance of tomato cultivars to bacterial wilt. *Phytopathology*, **67**, 909-911.
 - 104) 三村徹郎 (1997): アポプラストにおける水と無機イオン, 化学と生物, **35**, 643-648.
 - 105) 美濃羊輔・L. SEQUEIRA・A. KELMAN (1983): *Pseudomonas solanacearum*の凝集に及ぼす無機イオンの影響について, 日植病報, **49**, 407-408.
 - 106) 三角洋造・江口 洋 (2000): 着莢制限およびカルシウムの施用がソラマメ種皮しみ様褐変症の発生に及ぼす影響, 九農研, **62**, 191.
 - 107) 門馬信二 (1997): ナス科野菜の青枯病抵抗性育種の現状と今後の課題 (1), 農業および園芸, **72**, 977-982.
 - 108) 向 秀夫 (1951): トマト青枯病とその防除法, 農業および園芸, **26**, 95-98.
 - 109) NAKAHO, K., S. TAKAYA and Y. SUMIDA (1996): Conditions that increase latent infection of grafted or non-grafted tomatoes with *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn*, **62**, 234-239.
 - 110) NAKAHO, K. (1997): Distribution and multiplication of *Ralstonia solanacearum* (synonym *Pseudomonas solanacearum*) in tomato plants of resistant rootstock cultivar LS-89 and susceptible Ponderosa. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn*, **63**, 83-88.
 - 111) 中保一浩 (1998): トマト台木品種の青枯病抵抗性, 化学と生物, **36**, 563-564.
 - 112) NAKAHO, K., H. HIBINO and H. MIYAGAWA (2000): Possible mechanisms limiting movement of *Ralstonia solanacearum* in resistant tomato tissues. *J. Phytopathol.*, **148**, 181-190.
 - 113) 西尾道徳 (1984): 最近の農業技術の変化に伴う土壌微生物の関与する新たな研究課題, 東北大農研報, **36**, 67-75.
 - 114) NISHIYAMA, M., Y. SHIOMI, S. SUZUKI, and T. MARUMOTO (1999): Suppression of growth of *Ralstonia solanacearum*, tomato bacterial wilt agent, on/in tomato seedlings cultivated in a suppressive soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **45**, 79-87.
 - 115) 小田雅行 (1993): 野菜の接ぎ木栽培の現状, 農業および園芸, **68**, 442-446.
 - 116) ODA, M. (1995): New grafting methods for fruit-bearing vegetables in Japan. *Jpn Agric. Res. Q.*, **29**, 187-194.
 - 117) 小田原孝次・和田信一郎・比良松道一・松江勇次 (1994): 石灰質肥料の施用が土壌溶液イオン濃度とナバナのカルシウム含有率に及ぼす影響, 土肥誌, **65**, 441-445.
 - 118) OLSEN, R. A. and J. C. BROWN (1980): Factors related to iron uptake by dicotyledonous and monocotyledonous plants. I. pH and reductant. *J. Plant Nutr.*, **2**, 629-645.
 - 119) 小野邦明・原 秀紀・赤沢順子 (1984): タバコ立枯病の発生生態に関する研究 第5報 タバコ植物体中における病原細菌の移動, 岡山たばこ試報, **43**, 41-46.
 - 120) 大木孝之 (1971): トマトの尻ぐされ防止のための施肥対策, 農業および園芸, **46**, 767-770.
 - 121) 大西成長・佳山良正 (1980): トマトの生育とミネラル分布に及ぼす過剰厩肥の影響, 生物環境調節, **18**, 111-117.
 - 122) 大西成長・吉田光二・佳山良正 (1984): 施設栽培における厩肥連用が土壌の化学性に及ぼす影響, 土肥誌, **55**, 311-315.
 - 123) 大須賀隆司・佐藤展之 (1999): フェンロー型温室における各種省力技術を利用した温室メロン省力生産システムの開発, 静岡農試報, **44**, 43-59.
 - 124) PAGEL, W. and R. HEITEFUSS (1990): Enzyme activities in soft rot pathogenesis of potato tubers: Effects of calcium, pH, and degree of pectin esterification on the activities of polygalacturonase and pectate lyase. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **37**, 9-25.
 - 125) PHAE, C. G., M. SHODA, N. KITA, M. NAKANO and K. USHIYAMA (1992): Biological control of crown and root rot and bacterial wilt of tomato by *Bacillus subtilis* NB22. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn*, **58**, 329-339.
 - 126) PLATERO, M. and G. TEJERINA (1976): Calcium nutrition in *Phaseolus vulgaris* in relation to its resistance to *Erwinia carotovora*. *Phytopath. Z.*, **85**, 314-319.
 - 127) PRIOR, P. H., M. BERAMIS, M. CHILLET and J. SCHMIT (1990): Preliminary studies for tomato bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum* E. F. Sm.) resistance mechanisms. *Symbiosis*, **9**, 393-400.
 - 128) PRIOR, P., M. BERAMIS, M. CLAIRON, H. QUIQUAMPOIX, M. ROBERT and J. SCHMIT (1993): Contribution to integrated control against bacterial wilt in different pedoclimatic situations: Guadeloupe experience. In *Bacterial Wilt, ACIAR Proc. 45G*, ed. L. Hartman and A. C. Hayward, pp294-304.
 - 129) PRIOR, P., S. BART, S. LECLERCQ, A. DARRASSE and G. ANAIS (1996): Resistance to bacterial wilt in tomato as discerned by spread of *Pseudomonas* (*Burkholderia*) *solanacearum* in the stem tissues. *Plant Pathol.*, **45**, 720-726.
 - 130) RAZ, V. and R. FLUHR (1992): Calcium requirement for ethylene-dependent responses. *Plant Cell*, **4**, 1123-1130.
 - 131) REDDY, A. S. N. (2001): Calcium: silver bullet in signaling. *Plant Sci.*, **160**, 381-404.
 - 132) RENGEL, Z., R. D. GRAHAM and J. F. PEDLER (1993): Manganese nutrition and accumulation of phenolics and lignin as related to differential resistance of wheat genotypes to the take-all fungus. *Plant Soil*, **151**, 255-263.

- 133) 六本木和夫・加藤俊博 (2000): 野菜・花卉の養液土耕—リアルタイム診断と点滴灌水・施肥の基本と実際—, 農山漁村文化協会, 東京.
- 134) SAILE, E., J. A. MCGARVEY, M. A. SCHELL and T. P. DENNY (1997): Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. *Phytopathology*, **87**, 1264–1271.
- 135) SAINZ, M. J., M. T. TABOADA-CATRO and A. VILARINO (1998): Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. *Plant Soil*, **205**, 85–92.
- 136) 坂口孝司 (1964): 各種作物におけるストロンチウム, カルシウムの吸収・移動, 土肥誌, **35**, 206–209.
- 137) 境 雅夫 (1995): 有用細菌の根圏定着機構と環境因子, 土と微生物, **46**, 9–18.
- 138) SANDERS, D., C. BROWNLEE and J. F. HARPER (1999): Communicating with calcium. *Plant Cell*, **11**, 691–706.
- 139) SATTI, S. M. E., A. A. IBRAHIM and S. M. AL-KINDI (1994): Enhancement of salinity tolerance in tomato: Implications of potassium and calcium in flowering and yield. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **25**, 2825–2840.
- 140) SAVANT, N. K., G. H. SNYDER and L. E. DATNOFF (1997): Silicon management and sustainable rice production. *Adv. Agronomy*, **58**, 151–199.
- 141) SCHELL, M. A., D. P. ROBERTS and T. P. DENNY (1988): Analysis of the *Pseudomonas solanacearum* polygalacturonase encoded by *pglA* and its involvement in phytopathogenicity. *J. Bacteriol.*, **170**, 4501–4508.
- 142) SCHELL, M. A. (2000): Control of virulence and pathogenicity genes of *Ralstonia solanacearum* by an elaborate sensory network. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **38**, 263–292.
- 143) SCHMELE, I. and H. KAUSS (1990): Enhanced activity of the plasma membrane localized callose synthase in cucumber leaves with induced resistance. *Physiol Mol. Plant Pathol.*, **37**, 221–228.
- 144) SHARMA, J. P. and S. KUMAR (2000): Management of *Ralstonia* wilt through soil disinfectant, mulch, lime and cakes in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Ind. J. Agric. Sci.*, **70**, 17–19.
- 145) SHEAR, C. B. (1975): Calcium-related disorders of fruits and vegetables. *HortScience*, **10**, 361–365.
- 146) 清水 武・森井正弘・内山知二・辻 博美 (1991): 静止液法による簡易水耕栽培とその応用, 土肥誌, **62**, 512–520.
- 147) SPIEGEL, Y., D. NETZER, and U. KAFKAFI (1987): The role of calcium nutrition on Fusarium-wilt syndrome in muskmelon. *J. Phytopathol.*, **118**, 220–226.
- 148) SSONKKO, R. N., S. J. LOCASCIO and D. N. MAYNARD (1995): Control of bacterial wilt of tomato by liming. ISHS 1st International Symposium on Solanacea for Fresh Market, Abstracts, p144.
- 149) STARKEY, K. R. and A. R. PEDERSEN (1997): Increased levels of calcium in the nutrient solution improve the postharvest life of potted roses. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **122**, 863–868.
- 150) TADA, Y., S. HATA, H. NAKAYASHIKI, Y. TOSA and S. MAYAMA (2000): Signal mediators for phytoalexin production in defense response of oats elicited by victorin as a specific elicitor. *J. Gen. Plant Pathol.*, **66**, 185–190.
- 151) 高橋正輝 (1998a): 肥効調節型肥料による施肥技術の新展開 5. 野菜の施肥技術 (その1), 土肥誌, **69**, 201–205.
- 152) 高橋正輝 (1998b): 肥効調節型肥料による施肥技術の新展開 5. 野菜の施肥技術 (その2), 土肥誌, **69**, 303–309.
- 153) 竹中 眞 (1998): 根伸長促進物質, 根の事典, 根の事典編集委員会編, pp244–246, 朝倉書店, 東京.
- 154) 竹内妙子・宇田川雄二 (1994): 養液栽培におけるトマト青枯病の発生生態と防除, 千葉農試報, **35**, 89–99.
- 155) 田中欽二・野中福次 (1990): タマネギ葉身角皮層のカルシウム含量と黒かび病菌による鱗茎腐敗との関係, 日植病報, **56**, 671–673.
- 156) 谷本俊明 (1991): 我が国の野菜畑における塩集積の実態と改良対策, 塩集積土壌と農業, 日本土壌肥料学会編, pp71–85, 博友社, 東京.
- 157) 楯谷昭夫 (1996): 臭化メチルの全廃決定—オゾン層を破壊する物質に関するモントリオール議定書第7回締約国会合—, 植物防疫, **50**, 69–70.
- 158) TOBIAS, R. B., W. S. CONWAY, C. E. SAMS, K. C. GROSS and B. D. WHITAKER (1993): Cell wall composition of calcium-treated apples inoculated with *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry*, **32**, 35–39.
- 159) TRIGALET, A. and D. TRIGALET-DEMERY (1990): Use of avirulent mutants of *Pseudomonas solanacearum* for biological control of bacterial wilt of tomato plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **36**, 27–38.
- 160) 土屋一成 (1990): 農業資材多投に伴う作物栄養学的諸問題 1. 野菜および畑作物の要素過剰の実態, 土肥誌, **61**, 98–103.
- 161) 上原洋一・野々山芳夫 (1986): トマト青枯病の生態的防除法, 農業および園芸, **61**, 1308–1312.
- 162) 上原洋一 (1988): 遮根シート利用によるトマト青枯病の防除, 農業及び園芸, **63**, 1305–1309.
- 163) 宇井 睦・高野泰吉 (1995): 果実肥大期における温度と培養液濃度が水耕トマトの尻ぐされ発生に及ぼす影響, 生物環境調節, **33**, 7–14.
- 164) 馬西清徳・福元康文・吉田徹志 (1996): 根域制限による水ストレス条件下でのトマトの生育と果実の品質に対する堆肥施用の影響, 土肥誌, **67**, 257–264.
- 165) VASSE, J., P. FREY and A. TRIGALET (1995): Microscopic studies of inter cellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Mol Plant-Microbe Interact.*, **8**, 241–251.
- 166) VOLPIN, H. and Y. ELAD (1991): Influence of calcium nutrition on susceptibility of rose flowers to Botrytis blight. *Phytopathology*, **81**, 1390–1394.
- 167) 和田信一郎・兼子 明 (1996): 塩基飽和度が100%を越える土壌における塩基の存在形態をめぐる問題, 農業および園芸, **71**, 447–452.
- 168) WANG, J-F., P. M. HANSON and J. A. BARNES (1996): Preliminary results of worldwide evaluation of international set of resistance sources to bacterial wilt in tomatoes. *Bacterial Wilt Newsletter*, **13**, 8–10.
- 169) WARFVINGE, P. and H. SVERDRUP (1989): Modeling limestone dissolution in soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, **53**, 44–51.

- 170) WEBSTER, M. A. and G. R. DIXON (1991): Calcium, pH and inoculum concentration influencing colonization by *Plasmodiophora brassicae*. *Mycol. Res.*, **95**, 64–73.
- 171) WEN, G., T. E. BATES, R. P. VORONEY, J. P. WINTER and M. P. SCHELLENBERG (1999): Influence of application of sewage sludges, and sludge and manure composts on plant Ca and Mg concentration and soil extractability in field experiments. *Nutr. Cycling Agroecosystems*, **55**, 51–61.
- 172) WILCOX, G. E., J. E. HOFF and C. M. JONES (1973): Ammonium reduction of calcium and magnesium content of tomato and sweet corn leaf tissue and influence on incidence of blossom end rot of tomato fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **98**, 86–89.
- 173) WILHELM, N. S., R. D. GRAHAM and A. D. ROVIRA (1990): Control of Mn status and infection rate by genotype of both host and pathogen in the wheat take-all interaction. *Plant Soil*, **123**, 267–275.
- 174) WINSLOW, M. D. (1992): Silicon, disease resistance and yield of rice genotypes under upland cultural conditions. *Crop Sci.*, **32**, 1208–1213.
- 175) WONG, J. W. C., K. K. MA, K. M. FANG and C. CHEUNG (1999): Utilization of a manure compost for organic farming in Hong Kong. *Biores. Tech.*, **67**, 43–46.
- 176) YABUCHI, E., Y. KOSAKO, I. YANO, H. HATTA and Y. NISHIUCHI (1995): Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1986) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. *Microbiol. Immunol.*, **39**, 897–904.
- 177) 山川邦夫 (1978): 野菜／抵抗性品種とその利用, 全国農村教育協会, 東京.
- 178) YUAN L. H., Q. SU, Y. YI and B. YUAN (1997): Study on the tomato bacterial wilt disease-suppressive mechanism of soils. *Acta Phytophylactica Sinica*, **24**, 121–125.
- 179) ZOOK, M. N., J. S. RUSH and J. A. KUC (1987): A role for Ca^{2+} in the elicitation of rishitin and lubimin accumulation in potato tuber tissue. *Plant Physiol.*, **84**, 520–525.
- 180) 農林水産省野菜試験場 (1984): 最近における野菜・花きの連作障害の実態, 野菜試験場研究資料第18号.
- 181) 農林水産省野菜・茶業試験場 (2001): 野菜の接ぎ木栽培の現状と課題, 野菜・茶業試験場研究資料第9号.

Studies on the Enhancement of Resistance to Bacterial Wilt of Tomato by Calcium Uptake

Hiromichi YAMAZAKI

Summary

To contribute to the development of new integrated practices for the control of soilborne diseases, the relation between the development of bacterial wilt, a serious soilborne disease induced by *Ralstonia solanacearum*, and calcium (Ca) nutrition in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedlings was investigated. The major results are as follows.

- 1) Effect of application rate of nitrogen (N) or phosphorus (P) in soil on the disease severity in the seedlings of a moderately resistant cultivar was unclear. However, increased application of Ca in the soil reduced the disease severity. Concentrations of nitrate-N, P or magnesium in nutrient solutions did not affect the disease severity in the seedlings of resistant cultivars. However, increased Ca concentrations in the nutrient solution reduced the disease severity.
- 2) The relation between the Ca concentration in the nutrient solution and the resistance to the disease was studied using seedlings of 3 tomato cultivars with various degrees of resistance. Disease severity was reduced markedly with increasing Ca concentration in the solution in moderately and highly resistant cultivars, but not in the susceptible cultivar. Populations of the pathogen in the stems were negatively correlated with Ca concentrations, and were significantly different among cultivars depending on the degree of varietal resistance. These results indicated that the resistance of tomato seedlings to the disease was markedly affected by the Ca nutrition of the host, and that the reduction in the population of the pathogen with increasing concentration of Ca contributes to the Ca-dependent resistance of tomato seedlings. This Ca-dependent resistance was also observed in susceptible tomato seedlings grafted onto rootstocks of a highly resistant cultivar, and in 20 cultivars and lines with various degrees of resistance.
- 3) The resistance was affected by the Ca concentration after infection with the pathogen, but not before infection, suggesting that the Ca concentration in plant tissues after infection might regulate the expression of the resistance. When varietal differences in the resistance and nutrient uptake by the seedlings were examined, highly resistant cultivars were characterized by a high Ca uptake. This characteristic of high Ca uptake in the cultivars was due to differences in the Ca uptake of the roots, based on the results of experiments using mutually grafted seedlings of cultivars differing in resistance.
- 4) Based on the results above, a trial for suppression of the disease with application of coated Ca

Received: October 31, 2003

Department of Research Planning and Coordination
360 Kusawa, Anō, Mie, 514-2392 Japan

Present Address:

Department of Integrated Research for Agriculture, National Agricultural Research Center for Tohoku Region, NARO
92 Nabeyashiki, Shimokuriyagawa, Morioka, Iwate, 020-0123 Japan

fertilizers or fertigation of solutions containing Ca was carried out. Application of coated Ca fertilizers was not effective on the disease suppression. However, fertigation of solutions containing high concentrations of Ca suppressed the disease development. Moreover, application of composts with various Ca concentrations reduced the disease severity, and the degree of reduction was correlated with the increase of the Ca uptake in shoots.

These results may contribute to the new integrated practices for the control of bacterial wilt in tomatoes.