

トマトにおけるネコブセンチュウと萎ちょう病菌 との複合病因による疾病論的考察*

平野和弥
(環境植物病理学研究室)

Conceptual Consideration of Complex Disease Caused by Root-knot Nematode and *Fusarium* Wilt Fungus in Tomato

Kazuya HIRANO
Laboratory of Plant Pathology

目 次

第1章 序 論	131
第2章 研究史	131
第3章 複合病の定義	135
第4章 サツマイモネコブセンチュウ汚染土壌における トマト萎ちょう病発病の実態	138
第1節 トマトの連作圃場における発病	
1. 実験材料ならびに方法	138
2. 実験結果ならびに考察	140
第2節 品種による発病の差異	
1. 実験材料ならびに方法	142
2. 実験結果ならびに考察	143
(1) ポット実験	144
(2) 圃場実験	145
(3) 小 括	148
第5章 サツマイモネコブセンチュウと萎ちょう病菌 との混合接種による複合病の発現	148
第1節 線虫と萎ちょう病菌の接種濃度と複合病の発 現	
1. 実験材料ならびに方法	148
2. 実験結果	150
3. 考 察	151
第2節 線虫と萎ちょう病菌との同時接種または時差 接種による発病の変化	
1. 実験材料ならびに方法	152
2. 実験結果	153
3. 考 察	154
第3節 接種方法の違いによる萎ちょう病感受性品種 と抵抗性品種との発病比較	
1. 実験材料ならびに方法	155
2. 実験結果	156

3. 考 察	158
第4節 生育日数の異なるトマト苗での線虫と萎ちよ う病菌とによる複合病の発現	
1. 実験材料ならびに方法	160
2. 実験結果	161
3. 考 察	161
第5節 線虫の接種形態の相違による複合病の発現の 変化	
1. 実験材料ならびに方法	162
2. 実験結果	162
3. 考 察	163
第6章 サツマイモネコブセンチュウと萎ちょう病菌に よる混合感染の経過と複合病の発現	164
第1節 実験材料ならびに方法	
第2節 実験結果	
1. 線虫の寄生と萎ちょう発病の経時的推移	164
2. 根における混合感染の部位と萎ちょう病の発 現	166
3. 混合感染組織の病態解剖学的観察	166
第3節 考 察	
第7章 寄生性の異なる3つの <i>Fusarium</i> 分化型菌とサ ツマイモネコブセンチュウとの混合感染による複 合病の発現	170
第1節 実験材料ならびに方法	
第2節 実験結果	
1. 混合感染による萎ちょう症状の発現	171
2. 根部病徴	173
3. 根部感染組織からの <i>Fusarium</i> 菌の再分離	175
4. 根部感染組織の病態解剖	175
5. 土壌中の線虫密度	176
第3節 考 察	
第8章 サツマイモネコブセンチュウに感染したトマト	

※ 本論文は北海道大学審査学位論文である

の複合病の発現と根圏微生物相の変化……………	177
第1節 実験材料ならびに方法	
第2節 実験結果	
1. 圃場におけるネコブセンチュウ感染トマトの萎 ちょう発病と根圏微生物相……………	178
2. 病原を接種した滅菌土ならびに非滅菌土での萎 ちょう発病と根圏微生物相……………	180
3. ゴール組織の糸状菌相……………	182
第3節 考 察	
第9章 サツマイモネコブセンチュウの感染組織浸出液 の病原菌生育におよぼす影響……………	184

第1節 実験材料ならびに方法	
第2節 実験結果	
1. 菌糸生育におよぼす影響……………	185
2. 胞子発芽におよぼす影響……………	186
第3節 考 察	
第10章 総合考察……………	187
第11章 摘 要……………	190
引 用 文 献	
Summary	
図 版	

第1章 序 論

栽培作物は通常その生育期間を通じて、さまざまな病原体の侵害をうけ、それらによる経済損失は著しいものがある。しかも、作物はある生育期に単一の病原体によって侵されるとは限らず、実際には2種またはそれ以上の病気が発生する事例が多い。その場合 Koch の法則に従うならば、一つの感染性の病気は単一の病原体に起因するということが原則である。しかしながら自然条件下で起こる作物病害にあつては、必ずしもその原則に適合しないか、もしくはそれぞれ独自に起こる病気の相互作用によって複雑な疾病現象を招くことが少なくない(25,35,147,159)。

植物寄生線虫と他の病原体による複合病 (Complex disease) は、そのような疾病現象のもっとも典型的な表われの一つであり、単一の病原体による疾病と比較して経済的損失が大きく、重要な問題となっている。

病原としての植物寄生線虫は、元来土壌生息動物であるが、大部分は寄主作物の絶対寄生者である。また寄主作物に対する作用は、その種類によって著しい相異があるが、他の病原微生物と比較して、行動性に富み、組織の機械的破壊や寄生体の体質変化を起こす点で特徴的である。このような植物寄生線虫が何故に他の植物病、とりわけ土壌伝染病と深いかわりをもち、複合病を起こすかは、植物疾病論の観点からきわめて興味ある問題といえる。

作物の土壌伝染病は、通常感染の場が土壌中であり、多くの土壌生物の存在下で発生する。その場合、相異なる二つ以上の病原体が存在するときは、それらによる感染が重なり合う可能性がある。しかしその点についてはまだほとんど明らかにされていない。ただその中で、植物寄生線虫は、それ自体の病原力を示すだけでなく、他の病原体との相互的な働きをするもっとも有力な特性を備えているものと考えられる。

植物寄生線虫と他の病原体との関連性については、これまで多くの知見がある^(123,128)。とくにネコブセンチュウとフザリウム病との相互関係は古くから知られ、論議されてきた^(8,126,127)。しかし、その焦点はつねにフザリウム病に対するネコブセンチュウの役割におかれており、両病原による複合病としての疾病論的な論議に欠けるきらいがある。ネコブセンチュウがフザリウム病の発病を助長する役割は既往の研究から疑うまでもないが、ネコブセンチュウとフザリウム菌との混合感染の経過に伴う両者の動静や発病の実態についてはなお検討すべき点が多い。

トマトの萎ちょう病および根こぶ線虫病は、ともに古

くから世界各地で発生が認められ、防除の困難な重要病害として多くの研究が行われてきた^(21,44,158)。わが国でも太平洋戦争以前からともに発生が認められており⁽¹⁷⁰⁾、とくに戦後トマトの栽培が普及するにつれて次第に被害も増大した。近年トマト栽培は、施設を中心に固定化もしくは集団化する傾向にあり、かつ作型も多様になってきている。それに伴って連作障害が問題となり、その重要要因の一つに土壌伝染病があげられ、とくに複合病因による病害が問題とされてきた^(94,117)。

この研究の目的は、トマトにおける萎ちょう病菌とネコブセンチュウとによる複合病の実態を把握するとともに、さまざまな条件のもとでの複合病の発現経過を検討し、また両病原による寄主植物の混合感染の進展とその間の相互作用の様態を病態解剖学的観察によって明らかにし、それに併せて、複合病の発現に關与する2、3の要因を考察し、疾病論的観点からその特性を究明することにある。なお植物寄生線虫と他病原体による複合病の概念については、種々の解釈があり、その混乱をさける目的で、第3章に本研究で用いた複合病の定義についての見解を提示した。

本研究を行なうに当り、終始御指導ならびに御助言、御激励を賜った千葉大学名誉教授河村貞之助博士、千葉大学教授飯田格博士に深く感謝の意を表する。また本論文の原稿を詳細に検討し、有益な御教示をいただき、かつ校閲に多大の労をとられた北海道大学教授宇井格生博士、四方英四郎博士、森樊須博士に対し深甚なる謝意を表する。

さらに複合病因の疾病論について有意義な御助言を下された千葉大学名誉教授川喜田愛郎博士、研究の推進に多くの御支援をいただいた農林水産省北海道農業試験場病虫部長一戸稔博士に心から感謝する。

本研究の遂行に際して、千葉大学園芸学部植物病学研究室雨宮良幹教官はじめ、多数の専攻学生諸君の御助力をいただいた。また供試材料の一部は財団法人日本園芸生産研究所の御援助により入手した。記して謝辞にかえたい。

第2章 研究 史

植物の疾病における植物寄生線虫と他の病原体とのかわりは、すでに19世紀末 ATKINSON が指摘して以来、きわめて多岐にわたることが知られている^(57,122,128,163)。その中でも、とくに農作物の栽培上重要な問題として多くの関心を集めてきたのはフザリウム病と植物寄生線虫との関連であり、今日までさまざまな知見が集積されている^(8,57,61,85,110,113,126,127)。

本章では、フザリウム病と植物寄生線虫、そのうちと

くにネコブセンチュウとの相互関係に焦点をあて、既往の研究の概要について述べる。

フザリウム病と植物寄生線虫との関係については、1892年に公表された ATKINSON⁽⁴⁾によるワタの立枯病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) の報告が端緒といわれ、その中で、ネコブセンチュウにより被害を受けたワタでは、立枯病の発生が著しくなる現象が指摘されている。これが契機となり、種々の作物における土壌伝染病の発生と植物寄生線虫との関係について多くの関心がよせられた。YOUNG⁽¹⁷¹⁾は、1939年にトマトの萎ちょう病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) とネコブセンチュウとの関係をはじめて報告し、各種の萎ちょう病抵抗性品種がネコブセンチュウの寄生により抵抗性が失われることを指摘した。また HARRISON⁽⁵²⁾は、トマト (Marglobe) の輪作試験で、前作にネコブセンチュウ感受性のカウピーを栽培した区より、ネコブセンチュウに強抵抗性の落花生を栽培した区で萎ちょう病の発生が減少するとし、輪作圃場のネコブセンチュウ密度の低下が萎ちょう病の発病軽減と関係があることを示唆した。さらに、トマト萎ちょう病抵抗性品種にネコブセンチュウが寄生した場合、多くの品種で萎ちょう病の発病が激しくなると報告した。このような事実は、当時すでにワタでも知られており⁽¹⁰³⁾、フザリウム病の抵抗性品種の選抜育成に大きな問題となった。HOLLIS⁽⁶⁷⁾は圃場で発生したワタ立枯病の罹病個体における導管褐変の進展がネコブセンチュウの寄生度と高い相関を示すことを明らかにした。

フザリウム病とネコブセンチュウとの関係が注目されるようになった初期の頃 (1940~50年代) は、次々と新しい殺線虫剤が開発された時代であった。ネコブセンチュウはじめ、その他の植物寄生線虫の発生圃場に殺線虫剤を処理することによって、線虫病に対する卓越した防除効果が確かめられた。と同時に、線虫病のみならず、フザリウム病の発生まで減少する事例が相次いで報告された^(39,104,107,144,145,152,172)。こうして、線虫とフザリウム病あるいは他の土壌病害との関係が作物栽培上の頻繁な問題として広く認識されるようになった。

フザリウム病とネコブセンチュウとの相互作用についての研究は、それまでの圃場観察から、次第に人為的な接種実験による実証へと発展した。MARTIN⁽⁹³⁾は、殺菌土壌にワタ立枯病菌と数種の植物寄生線虫とを種類別に混合接種した場合とそれぞれを単独接種した場合のワタ立枯病の発病状況を調べた。供試した立枯病感受性品種 (Deltapine15) と抵抗性品種 (Coker100) での立枯病の発生はネコブセンチュウの *Meloidogyne incognita* または *M. incognita* var. *acrita* と病原菌との混合接種区で

菌単独接種区より増加し、またネコブセンチュウの種類によっても発病に対する影響に差異がみられた。しかし、外部寄生線虫の *Trichodorus* sp., *Tylenchorhynchus* sp., *Helicotylenchus* sp. と病原菌とを混合接種した区では、立枯病の発病は線虫によって影響されなかった。また JENKINS⁽⁷¹⁾は、トマト萎ちょう病抵抗性品種 (Chesapeake) において、萎ちょう病の発病に対するネコブセンチュウの影響を検討したところ、線虫の種類によってその程度に差異があり、*M. incognita* var. *acrita* の方が *M. hapla* に比べてより発病が激しくなることを認めた。しかしこれと同じ萎ちょう病抵抗性品種でも、萎ちょう発病に対して *M. incognita* var. *acrita* の影響が認められない別の事例⁽¹¹⁾もある。ネコブセンチュウとフザリウム病との関係は病原の系統もしくは個体群の違いによっても異なることが推察された⁽¹²⁶⁾。

ネコブセンチュウの寄生が寄主植物のフザリウム病の発生を増加させたり、品種の抵抗性を弱める事実が多く症例で明らかになるにつれて、研究はそれらの相互作用の機構の解明に向けられ、そのための実験条件もいろいろ工夫されるようになった。

線虫と他の病原体との相互作用機構について、線虫の侵入に伴う機械的傷害が他の病原体の侵入門戸であるとする見解^(4,66,71,92,105)は、両者の関連性が知られ始めた当初からの暗黙的認識にすぎない。そして、この見解に対する論議もまた、人為的に傷をつけた供試植物との発病の比較、あるいは双方の病原の接種時期を変えたときの発病傾向から推測した、いわば間接的な裏付けによるものが多かった⁽¹²⁵⁾。

線虫の寄主体侵入に伴う傷が他の病原体の侵入門戸となりうるか否かの実証は、線密な組織解剖学的観察によらねばならない。PERRY⁽¹¹⁹⁾は、ワタの根におけるサツマイモネコブセンチュウと立枯病菌による初期感染組織の切片標本の観察所見から、寄主根に対する2期幼虫の侵入部位の傷は病原菌の侵入と直接的な関係は認められず、感染初期において両者は別々に働くものと結論した。この点については、この PERRY の研究のほかにその後ほとんどみるべき報告がない。

ところで、ここ10数年来、ネコブセンチュウとフザリウム病との相互作用機構をめぐる関心は、次第にネコブセンチュウに感染した寄主植物の predisposition へと向けられるようになった。その先鞭をつけたのが BOWMAN⁽¹⁵⁾の研究である。彼らはトマトに対する *M. incognita* の寄生が萎ちょう病抵抗性におよぼす影響を明らかにするため split method (根系区分接種法) を用いた。すなわち6週間生育させたトマトの根もとから根群を2つに区分し、それらを仕切りのある別枠の容器に植えて、一

方の根に線虫を接種し、2週間後他の方の根に病原菌を接種して萎ちょう病の発病を調べた。その結果、対照として線虫と菌とを同一容器に接種した場合の萎ちょう病の発病と、両者を別々の容器に接種した場合の発病には差が認められず、萎ちょう病菌単独接種のものより激しかった。このことから、ネコブセンチュウのゴール組織に直接 *Fusarium* 菌の感染が起ころなくとも、区分された根にゴールを形成した寄主体の生理的变化によって個体としてのフザリウム病に対する抵抗性が弱められるとした。この実験は従来の線虫による傷が菌の侵入門戸となるとの見解を明快に否定するものとして注目された。

PORTERら⁽¹²⁵⁾は、タバコの萎ちょう病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae*) に対する *Meloidogyne* spp. の影響について、線虫と病原菌とを同時接種した場合よりも線虫を接種してから2~4週間後に病原菌を接種した場合に萎ちょう病感受性または抵抗性品種の双方とも発病が増加することを明らかにし、線虫の寄生によるゴール形成に伴う寄主体の生理的变化が病原菌の感染を容易にし、発病の増加をもたらしたと考察した。

またSIDHUら⁽¹⁴¹⁾は、鉢植えした萎ちょう病抵抗性のトマトの根に、まずサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) を接種しておき、一方地上部の茎を曲げて横に這わせ、生長するにつれて茎の4箇所を順次橋渡し式に別々の鉢に接地して不定根を発根させ、それぞれに萎ちょう病菌を接種して株全体での病徴の発現と茎の各部分から集めた導管浸出液中の病原菌胞子数を調べた。その結果、抵抗性品種の植物体でも茎の各部位の不定根を通じて病原菌による感染が起こり、全身的な萎ちょう病の病徴が現われ、導管浸出液中から多くの胞子が検出された。この結果から、もとの根に対するネコブセンチュウの感染により、萎ちょう病抵抗性が植物体の全身にわたって弱められていることを明らかにした。

以上いくつかの研究例は、ネコブセンチュウに感染した植物体で、明らかな生理的な変化が起こり、寄主体としての特性に影響をおよぼしていることを示唆する。それを裏付ける事実として、寄主植物の感染組織内における病原菌の活動が明らかにされている。

MELENDEZら⁽¹⁰¹⁾によれば、ネコブセンチュウと萎ちょう病菌とを接種して発病させたタバコの根部組織では、萎ちょう病感受性、抵抗性いずれの品種もゴール内の巨大細胞における病原菌の感染が著しく進展し、菌糸生育およびこれに伴う細胞内容物の消失が目立ち、さらにその周辺部の組織あるいは根部から離れた茎の維管束系組織内でも菌糸生育が極めて旺盛に認められ、そのために発病が促されるとした。ワタの場合 *M. incognita* var. *acrita* と立枯病菌とを接種した根部での病原菌の活動

は、剝離した表皮細胞や、崩壊した皮層部で生育良好となり、またゴールの巨大細胞と木質組織でも旺盛な増殖を示すのに対して、健全部の皮層では病原菌の生育は劣り、節部、形成層では全く認められず、また病原菌の木質部への侵入は崩壊組織の部分から起こり、発病に至るという⁽¹⁰⁵⁾。

このように、ネコブセンチュウの感染植物では、フザリウム菌との相互作用により特異な疾病現象が展開されるが、その引き金となる寄主体の如何なる生理的变化が発病に影響するかは明らかでない。ネコブセンチュウの感染によって形成される根のゴールでは、健全部と比べて単糖類、遊離アミノ酸、リン酸化物、核酸などの含有量が多くなり、蛋白質にもさまざまな変化がみられる⁽¹¹⁸⁾。酵素作用の異常は、パーオキシダーゼの活性が線虫の発育時期によって変動し、侵入後間もない2期幼虫と約1ヶ月経過した成虫の時期に高く、3~4期幼虫の期間すなわち非摂食期間は活性が低い⁽⁶⁸⁾。ゴール組織の巨大細胞で活性が高いのはアミラーゼ、インペルターゼであり、オーキシン含有量もゴール組織で多く、線虫が直接または間接にオーキシンの生成に関与しているようである。またゴール組織の細胞では、物質の透過性に変化がみられ⁽¹⁶¹⁾、トマトでは感染植物の木質部汁液中に含まれる全糖類の増大とアミノ酸量の減少が認められる⁽¹⁶⁰⁾。このようなネコブセンチュウ感染植物におけるゴール組織や巨大細胞での局部的異常代謝と物質的变化、さらに寄主全体としての体質的变化が病原菌の活性に刺激的に働き、混合感染を起こさせる要因となるものと推察されている⁽¹⁶⁶⁾。また感染植物体に起こる生理的变化は、おのずから根圏など周囲の環境における病原菌や土壤微生物の活動に対しても影響することが考えられる。

BERGESONら⁽¹⁰⁾は、*Meloidogyne javanica* に感染したトマトの根圏では、健全根と比較してフザリウム菌の密度が増大する一方、放線菌数が著しく減少するとし、萎ちょう病の発生しやすい根圏微生物相に変化していることを示唆した。ネコブセンチュウ感染植物根圏の病原菌数の増加は、松田ら⁽⁹⁶⁾がキュウリでも認めている。根圏微生物相の変化を誘起する要因には、ネコブセンチュウに感染した根からの浸出物が重要な役割をなしていると考えられ、近年それを裏付けるための研究が進められている。WANGら⁽¹⁶⁰⁾は、*M. incognita* を接種して2週間後におけるトマトの根の浸出物の組成を定量的に分析した結果、健全植物と比べて糖含有量が著しく増大し、逆にアミノ酸含量が低下することを認めた。

VAN GUNDYら⁽¹⁵⁵⁾は、*M. incognita* に感染したトマトの根からとった浸出濾液の組成を経時的に調べ、感染後最初の14日間は炭水化物が主要な成分であるが、その後

は窒素化合物を主成分とするものになり、その C/N 比も変ることを明らかにした。この浸出濾液は *Rhizoctonia solani* による根腐れ病の発生やゴール組織上での菌核形成を増加させるとした。

これまでに述べたネコブセンチュウの感染植物における生理的变化や根からの浸出物の変化は、土壤微生物との間に複雑な相互作用を引き起こすが、その中で、元来土壤病原菌として病原性が弱いまたは腐生的微生物が二次的寄生者として活性を示すことが問題となる。

POWELLら⁽¹²⁹⁾は、*M. incognita*が感染したタバコでは、*Penicillium martensii*, *Aspergillus ochraceus*, *Botrytis cinerea*, *Curvularia triforii*, *Trichoderma harzianum* など土壤糸状菌類の二次感染により根腐れが起こり、生育

が阻害されるとした。これはいわば線虫と他の土壤微生物との不定性的な相互作用を示しており、ほかにもこのような線虫感染植物の根圏における土壤糸状菌や常在細菌の潜在的な役割を指摘した例がある⁽⁹⁸⁾。また YANGら^(166,167)は、ワタの実生を用いてネコブセンチュウと立枯病との相互作用に対する *Trichoderma harzianum* の影響を種々の接種条件のもとで検討し、*Trichoderma* 菌が立枯病の発生や線虫の感染に助長あるいは抑制的役割を演じていることを明らかにした。

ネコブセンチュウの感染により寄主植物のフザリウム病抵抗性が破壊されることはすでに記したが、この問題を解明する基礎的な研究が行われるようになったのは近年になってからである。既往の報告で、ワタ⁽⁶⁶⁾、トマ

Table 1 Selected list of literature references to *Fusarium oxysporum*-*Meloidogyne* interrelations

<i>F. oxysporum</i>	<i>Meloidogyne</i>	Host	Disease appearance*	Reference
forma specialis:				
<i>conglutinans</i>	<i>M. incognita</i>	Cabbage	S+, RO	34
<i>cubense</i>	<i>M. incognita</i>	Banana	S+	114
<i>cucumerinum</i>	<i>M. incognita</i>	Cucumber	S+	21, 62, 96, 24
<i>lycopersici</i>	<i>M. incognita</i>	Tomato	S+	91, 96
"	"	"	S+, RO	76
"	"	"	S+, R+	20
"	"	"	RO	11
"	"	"	R+	15
"	"	"	R+(systemic)	15, 140, 141
"	"	"	S+, RO, R+	58, 62, 83
"	<i>M. javanica</i>	"	S+	10
"	<i>M. sp.</i>	"	S+, R+	170
"	<i>M. spp.</i>	"	R+	71
<i>dianthi</i>	<i>M. incognita</i>	Carnation	S+	137
<i>melonis</i>	<i>M. incognita</i>	Muskmelon	S+, RO, R+	9
<i>nicotianae</i>	<i>M. incognita</i>	Tobacco	S+, R+	101, 107
"	<i>M. spp.</i>	"	S+, R+	125
<i>niveum</i>	<i>M. incognita</i>	Watermelon	S+	62
"	<i>M. spp.</i>	"	S+, R+	149
<i>pisi</i>	<i>M. spp.</i>	Pea	S+, R+	26
<i>tracheiphilum</i>	<i>M. javanica</i>	Cowpea	S+, R+	153
<i>vasinfectum</i>	<i>M. incognita</i>	Cotton	S+	40, 43, 106, 119, 166
"	"	"	S+, R+	67, 144, 145
"	<i>M. sp.</i>	"	S+, R+	4, 103
unknown	<i>M. spp.</i>	Chrysanthemum	S+, RO	75

* S: Wilt susceptible cultivar R: Wilt resistant cultivar

+: Indicates increase of wilt disease appearance, O: Indicates noneffect to wilt disease appearance.

ト⁽⁷¹⁾、タバコ⁽¹²⁵⁾、エンドウ⁽²⁶⁾、ササゲ⁽¹⁵³⁾など、各種の寄主植物でネコブセンチュウによるフザリウム病抵抗性の破壊が知られるが、それもすべての品種で一様でなく、カンラン⁽³⁴⁾、キク⁽⁷⁵⁾などのようにネコブセンチュウが感染してもフザリウム病抵抗性に变化がない事例もある。各種作物のフザリウム病抵抗性品種には、単一優性遺伝子に支配される強抵抗性品種から多数同義遺伝子の支配による抵抗性の比較的弱いものまである。そこで問題解明の糸口を寄主植物に求めるか、あるいは病原菌の側に求めるかの2つの立場が考えられた。FASSULIOTISら⁽³⁴⁾は、*M. incognita*に感染したカンランにおける萎黄病抵抗性の品種比較実験で、抵抗性が質的に変らない強抵抗性のタイプのものと、抵抗性が量的に低下する弱抵抗性タイプのものとに分けて供試品種の特性を考察した。またSIDHUら⁽¹⁴⁰⁾は、*M. incognita*に感染したトマトにおける萎ちょう病抵抗性の破壊が寄主植物の遺伝的な形質変異に由来する現象であることを実験的に説明した。すなわち線虫と病原菌に対して感受性または抵抗性の異なる2つの品種を交雑して得たF₂における線虫・菌混合接種個体の両性雑種分離比を見ると、線虫または菌単独接種個体におけるそれが9:3:3:1であるのに対して9:3:4に変わりフザリウム感受性(S-S)の反応を示す個体の割合が多くなるとした。一方病原菌の側については、GOODEら⁽⁴⁶⁾の実験で萎ちょう病菌 race 1 に汚染した圃場にトマト (race 1 抵抗性品種) を栽培したところ、ネコブセンチュウ感染個体から race 2 とみられる菌株が分離され、病原性の変異の可能性が示された⁽⁴⁶⁾。最近SIDHUら⁽¹⁴²⁾は、ネコブセンチュウ感染トマトの萎ちょう病抵抗性におけるアミノ酸の役割を知るために、トマト萎ちょう病菌の各種アミノ酸栄養変異株を人工的に誘導し、それらをネコブセンチュウに感染したトマト品種に接種したところ、健全トマトにおける発病と比較して明らかな発病程度の差異が認められ、アミノ酸栄養変異株が萎ちょう病抵抗性の破壊に重要な役割をもつことを指摘した。

以上述べたフザリウム病とネコブセンチュウとの相互関係に関する研究の概要は、これまでに報告されたもののごく一部に過ぎない。ここに触れなかった研究事例を含めて、おもな研究例を整理したのが第1表である。

第3章 複合病の定義

植物寄生線虫と他の病原体との相互作用によって起こる植物疾病に対して「関連病害」または「複合病 (Complex disease)」という用語が用いられている。これらは単一の病原体により起こる通常の疾病の概念との相異を表現した用語に違いはないが、その内容を正しく理解するための共通的認識は欠けている現状にある。この二つ

の用語は、しばしば混同して用いられ、あるいは同一語として扱われていることすらある。

そこで本研究の立場を明確にする意味からも、上記の二つの用語の概念について考察し、複合病の範囲を提示することにした。

線虫と他の病原体との相互関係についての既往の研究は、非常に広範囲にわたるさまざまな内容を包含している。それらの総説も多くあり、いろいろな観点から論じられている^(8,16,18,25,28,29,36,57,69,72,79,82,121,122,123,126,127,128,131,147,150,151,159,163)。これらの中で、線虫と他の病原体との相互関係がどのような観点から認識されているかをみると、基本的に二つの場合が考えられる。すなわち病因の側からみる場合と寄主植物の側からみる場合である。前者の立場においては、線虫と一方の病原体とをそれぞれ固有の存在として対立的に取り扱い、感染および発病の過程において異なった働きをもって寄主体に影響をおよぼすものとして認識される。

STEINER⁽¹⁴⁷⁾は、土壤伝染性病害の病因に関して、二つ以上の病原体による複合作用の意義を強調しており、その中で線虫は疾病の発生における Initiator, Cooperator, Synergist, Aggravator, Carrier としての役割を演じ、つねに他の病原体の相手役となる重要な存在であるとした。PITCHER⁽¹²²⁾は、線虫と他の植物病原との相互作用について、その様式と機構を類別し、線虫の役割を明解に説明した。それによれば、線虫は1) 寄主体表面への病原菌の接触的運搬、2) 寄主体表皮下への病原伝搬、3) 寄主体における機械的傷害の発現、4) 寄主体における壊死感染部位の提供、5) 寄主体物質の改変、6) 病害抵抗性の破壊、7) 発病の抑制などの役割や機構に関与し、また線虫自体も他の病原と寄主との相互作用による影響をうけるとした。

またBERGESON⁽⁸⁾は、線虫と糸状菌とによる病害の発病に対する線虫の役割について論じ、Pitcherの考え方をほぼ踏襲する見解を示した。このような線虫のもつ固有な作用による他の病原体あるいはそれによる疾病におよぼす役割の類別は、わが国でも桂⁽⁷⁹⁾、稲垣⁽⁶⁹⁾が示している。以上あげたいくつかの考え方に共通している点は、線虫が他の病原体による疾病の相対的存在として認識されることで、そこに「線虫関連病害」という用語が適用される動機があると考えられる。

これに対し寄主体の側から考える立場では、線虫と他の病原体との相互作用がもたらす疾病の病徴発現の様態について考察し、それぞれの疾病の特性を認識しようとするものである。しかしながら、この立場でも両方の病原による機能的役割をまったく考慮しないわけではない。

DITTMANN⁽²⁸⁾は、糸状菌と線虫とによる複合病因の関連性を総括し、病原体の単なる運搬者、または病原体の接種作用をもつ伝搬者、あるいは病原菌に対する侵入門戸の提供者としての線虫の機能的役割を分類すると共に、寄主植物における病徴発現の様態にしたがって次の5項目をあげた。すなわち、(1)一方の病原による発病は他方による発病に何ら影響をおよぼさない。(2)両方の病原により発病は相加的になる。(3)両方により発病は相乗的になる。(4)両病原の間で拮抗的な作用がはたらき発病が影響される。(5)両病原相互に拮抗または相乗的な作用が交叉してはたらき、発病が影響される。

こうした観点からの類別は、線虫と病原糸状菌との相互作用の質的あるいは空間的な認識によるもので、寄主植物における特異な疾病現象としての複合病の特徴を評価する点で注目値する。のちに WEISCHER⁽¹⁶³⁾は、この立場をほぼ踏襲して、線虫と他の病原体との全般にわたる相互関係を総括的に論じている。

以上述べた二つの対称的な観点の相違について、そのいずれが妥当であるかという議論はさておき、ここでは、初めにあげた「関連病害」と「複合病」との用語の概念に限って考察したい。

ここで用いられる「関連病害」という用語の解釈は、

Table 2 Scope of complex diseases associate with plant parasitic nematodes

PLANT DISEASES ASSOCIATE WITH NEMATODES	Complex disease	True complex	Facilitation (Additive or synergistic)	<i>Fusarium</i>	<i>Meloidogyne</i>	61
				<i>Fusarium</i>	<i>Pratylenchus</i>	63, 64
				<i>Phytophthora</i>	<i>Meloidogyne</i>	130
				<i>Pythium</i>	<i>Meloidogyne</i>	60, 102
				<i>Rhizoctonia</i>	<i>Meloidogyne</i>	7, 45, 155
				<i>Verticillium</i>	<i>Pratylenchus</i>	100, 111
				other many instances		28, 123, 120
		Suppression (Antagonistic)		<i>Fusarium</i>	<i>Ditylenchus</i>	130
				<i>Pythium</i>	<i>Aphelenchus</i>	132
				<i>Rhizoctonia</i>	<i>Aphelenchus</i>	75, 135
	Duplicate complex	Facilitation (Additive)		<i>Alternaria</i>	<i>Meloidogyne</i>	6, 38
				CMV	<i>Meloidogyne</i>	37
				<i>Uromyces</i>	<i>Meloidogyne</i>	14
		Suppression (Antagonistic)		<i>Glomus</i>	<i>Meloidogyne</i>	143
				<i>Leptosphaeria</i>	<i>Aphelenchoides</i>	116
				<i>Rhizobium</i>	<i>Heterodera</i>	3
				TMV	<i>Meloidogyne</i>	47
	Indefinite complex	Facilitation (Additive)		Bacteria	<i>Meloidogyne</i>	98
				Soil fungi	<i>Meloidogyne</i>	129
				Soil microflora	<i>Meloidogyne</i>	146
				<i>Trichoderma</i>	<i>Pratylenchus</i>	31, 32
		Suppression (Antagonistic)		<i>Aspergillus</i>	<i>Meloidogyne</i>	49
				<i>Penicillium</i>	<i>Meloidogyne</i>	49
	Stylet-borne transmission	Virus diseases (NEPO & TOBRA virus)		Arabis mosaic v.	<i>Xiphinema</i>	50
				Raspberry r. s. v.	<i>Longidorus</i>	55
				Tomato black r. v.	<i>Longidorus</i>	51
				Tomato r. s. v.	<i>Xiphinema</i>	70
				Mulberry r. s. v.	<i>Longidorus</i>	164
				Pea early brown	<i>Trichodorus</i>	42
				Tobacco rattle v.	<i>Trichodorus</i>	88, 156
				other many instances		18, 131, 151
	Transmitted disease	Bacterial disease(?)		<i>Xanthomonas</i>	<i>Meloidogyne</i>	80
	Contact transmission	Obligative interrelation		<i>Corynebacterium</i>	<i>Aphelenchoides</i>	124
				<i>Corynebacterium</i>	<i>Anguina</i>	48
				<i>Dilophospora</i>	<i>Anguina</i>	3
		Facultative interrelation		<i>Corynebacterium</i>	<i>Ditylenchus</i>	53

つまり「線虫関連病害」であって、文字通り線虫と関連のある病害全般を指し、それらの関係のあり方や様式を問わない。その中には、たとえば線虫によって伝搬されるところの植物ウィルス病まですべてを含んだ非常に広い範囲が対象となる。またこの用語の語感には、線虫と病害とをおのおの独立した別の実体として認識していることも確かである。

一方「複合病」は、二つまたはそれ以上の病原の複合によっておこる疾病を指し、「関連病害」とは概念的に異なる内容を意味するものである。すなわち「複合病」は、その疾病の成立に線虫と他の病原体とが直接または間接に関与するが、その関与のしかた、両者による感染の組み合わせを広義に理解するか狭義に理解するかは研究者により見解がことなり、必ずしも統一されていない。CHRISTIE⁽²²⁾は、線虫と他の病原体との複合病は二つの場合に分けられるとし、一つは双方の病原が必須の因果関係によって発現するもの、他の一つはおのおのの病原が独自に感染し、それらの偶発的な作用によって発病するものと考えた。後者の場合は、いわば併発した疾病の相互作用を意味し、複合病の範囲を広義に扱う見解を示している。河村⁽⁸²⁾は、複合病をきわめて狭義に扱い、両方の病原によって引き起こされる混合感染の結果、まったく別の病徴が発現する場合のみを指すとした。いずれにせよ複合病について疾病論の立場から、双方の病原による感染の機構や様式を論じたものはきわめて乏しい。さらに複合病における病因論に関しても、FACETT⁽³⁵⁾の鋭い指摘を満足させる論議は少ない。ここで疾病論の立場から寄主植物における線虫と他の病原体とによる複合病の概念を明確にするためには、これまでの多くの知見や指摘を基礎にした上で新たな観点からの検討がなされなければならない。それには「線虫関連病害」といわれる全体的内容を体系的に整理し、その中での「複合病」の位置づけと範囲を明らかにすることが前提の課題である。

本研究では、まず線虫関連病害の特性からこれを二つに大別し、広義の複合病と線虫伝搬性の病害とした。そして複合病の内容をそれぞれの性格によって次の三つに類別した(第2表)。

(1) 真正複合病 (True complex disease)

寄主植物が線虫と他の病原体との混合感染の結果発病する場合それを真正複合病として扱った。ここで混合感染の確認は厳密には困難が多いが、少なくとも双方の病原の侵入または感染の部位が細胞もしくは組織レベルで共通しており、その感染の場で直接または間接の相互作用が認められるものを指す。また、この場合における病徴には、それぞれ単一の病原では認めることのない固有

な病徴を現わす場合——これを狭義の複合病とみなす見解がある⁽⁸²⁾——も稀にはあるが、大方の事例ではその病徴に質的な差異はなく、いわば単一の病原による発病との量的または時間的变化として認められるものが多い。かつそのときの発病には、単一病原による発病と比較して相加的もしくは相乗的である場合に対して、一方減少する場合も知られている。既往の研究事例にみられる多くの症例がこの複合病に該当する。

(2) 併発性複合病 (Duplicate complex disease)

寄主植物が、線虫と他の病原体のそれぞれ独自の侵入感染により同時に発病するが、その過程において双方の間で因果的な相互作用を生じ、互いに発病に影響をおよぼす場合、それを併発性複合病として扱った。この場合は、線虫と他の病原体との直接的な相互作用によるものではなく、したがって双方の感染の部位が明瞭に区別しうるものを指す。また病徴としては、前述の場合と同様に単独感染による発病との量的、時間的变化として認められることが多い。なおここで注意すべき点は、双方の病原により同時に感染しても、それぞれによる発病に変化が認められなければ、それは単なる併発であり、複合病として扱われない。

(3) 不定性複合病 (Indefinite complex disease)

寄主植物がまず線虫または他の病原体の感染をうけ、二次的に土壤に常在する元来病原性のない微生物群や線虫の感染により発病する場合、それを不定性複合病として扱った。これは不良環境条件下でしばしば起こる不定性病害の一つに該当するもので、この場合に二次感染する病原 (Secondary pathogen) は、特定のものと限らず、また感染の部位も限定されることがない。しかし不定性病原による二次感染の部位が、第一次病原による感染部位と重なり、混合感染との区別が困難な場合には真正複合病として扱われる可能性もある。不定性複合病としての病徴は、一般には第一次病原による病徴が主兆候として現われ、その後感染部位の腐敗、生育衰退などの不定性病的症状が進展する。また最初に病原菌の感染を受けた寄主植物に二次的病原として特定の食菌性線虫が関与する場合では、しばしば一次病原による病徴が衰退する例が知られている^(6,132)。

以上は疾病論的観点により複合病を類別したもので、実際にはこれらの中で相互に組合わされた形で起こることが考えられる。とくに(3)の不定性複合病として扱われるものでは、他の複合疾病の進展に伴って多かれ少なかれ起こる可能性もあろう。

一方、線虫伝搬性の植物病には、線虫が持ち運ぶ病原体によって起こるすべての場合が含まれる。この中には、線虫が他の病原体を伝搬する形式として、経口伝搬(媒

介)と接触伝搬に分けられる。経口伝搬は、線虫の口針を通して病原体が寄主植物体の表皮下に接種されるもので、その対象はすべて NEPO virus あるいは TOBRA virus と呼ばれる植物ウイルスに限定される。かつて桂⁽⁸⁰⁾は、ネコブセンチュウがダイコンの黒腐病菌 (*Xanthomonas campestris*) を経口的に伝搬することを実験的に示したが、線虫の口針内径が細菌細胞の大きさよりはるかに狭いことから考えて、その仮説は否定的である。またある種の自活性線虫が経口的に土壤病原菌の胞子を体内に含み、線虫の移動とともに運搬する知見が得られている⁽⁷³⁾が、それが寄主植物に接種され、病気が発生したという実証はない。

接触伝搬では、線虫が病原菌を体表に付着して持ち運び、それによって起こる病気が対象となる。これには、寄主植物の特定の部位に線虫が病原体を運び込む定向的伝搬——コムギツブセンチュウ (*Anguina triticii*) による *Dilophospora alopecuri* の伝搬⁽³⁾——と、単に線虫の行動によって病原体が分散される分散的運搬とが考えられる^(53,124)。

以上のように線虫関連病害の全体を複合病と線虫伝搬性の病害とに大別してそれぞれの範囲を定めたが、両者がつねに全く無関係であるとはいえない。たとえば、線虫が植物ウイルスを伝搬する場合に、たとえ一頭の保毒線虫でも植物ウイルス病を起こす可能性があるが、同時に、線虫の生息密度が高ければ、寄主植物の線虫自身による感染のためウイルス病との併発性複合病を起こす可能性が考えられる。その場合は線虫伝搬性の病気と複合病とが重なった特殊な例として扱わねばならない。このような例は線虫と細菌との関連でも認められる⁽¹²⁴⁾。

第4章 サツマイモネコブセンチュウ汚染土壌におけるトマト萎ちょう病発病の実態

トマト栽培における萎ちょう病ならびにネコブセンチュウの発生は各地で頻繁に認められており、それらによる経済的損失は著しいものがある。両者はともに寄主作物の連作によって発生が増大する土壤病害であり、かつ混合発生することも稀ではない^(94,112,117)。わが国では、昭和33年から行われた土壤病害虫防除改善試験(農林省)や植物寄生性線虫に関する応用研究(農林省)による現地圃場の調査から、萎ちょう病とネコブセンチュウとの混合発生が認められ、初めて両者が関連する可能性が注目された。松田ら⁽⁹⁶⁾は、多くの栽培農家のトマトあるいはキュウリ連作圃場における萎ちょう病やつる割れ病の発生とネコブセンチュウとの関連について検討し、それらの間に高い相関のあることを報告した。これまでの研究では、ネコブセンチュウ汚染圃場にトマトを連作した

場合の萎ちょう病の発病経過などについてはよく調べられておらず、複合病としての実態に不明な点が少なくない。また、外国では、ネコブセンチュウの汚染圃場で萎ちょう病抵抗性のトマト品種における萎ちょう病の発病が古くから研究されてきた⁽¹⁷¹⁾が、わが国ではほとんど検討されていない。

そこでこの研究では、まず実験圃場に設けたネコブセンチュウ汚染土壌区と非汚染土壌区にそれぞれトマトを連作し、萎ちょう病の発病の実態を明らかにするとともに、わが国で流通する栽培品種のうち、萎ちょう病抵抗性品種について発病を比較した。

第1節 トマトの連作圃場における発病

1. 実験材料ならびに方法

実験圃場：千葉大学園芸学部付属農場内に、コンクリート枠で仕切った5.0×4.6m (23m²) の実験区を隣り合せて設け、それぞれ線虫汚染区、非汚染区とした。線虫汚染区は、本実験を始める3年前に、サツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*) の寄生したキュウリの罹病根を混入し、その後キュウリ、トマトおよびナスを適宜栽培して線虫を増殖させ、均一な汚染土壌とした。非汚染区は、キュウリ罹病根を混入することなく、キュウリ、ナスを栽培した区で、実験開始時の調査ではネコブセンチュウの存在は認められなかった。土壌は関東ローム褐色火山灰の埴土で、pHは弱酸性(6.5)であった。

供試品種：トマトの3品種、松戸ボンデローザ、強力米寿、豊錦を用いた。これらは *M. incognita* に対してはいずれも感受性であるが、*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (race J1)には松戸ボンデローザのみが感受性で他の2品種は抵抗性である。

供試植物の育成および栽培方法：供試植物は蒸気滅菌土壌を入れた播種箱に Methoxy-ethyl-mercury chloride 40ppm 溶液で消毒した催芽種子を播き、本葉が2～3枚展開するまで生育したものをビニールポットに移植してビニールハウス内で約50日間育成後実験圃場に向幅90cm、株間20cmの間隔で定植した。

実験は1977年と1978年の2年間にわたり、全区トマトを3連作して行なった。1作目は1977年4月19日に定植し、約120日間、2作目は1978年の春作として4月30日から約100日間、3作目は同年の秋作として8月30日から約70日間それぞれ露地栽培した。供試個体数は、1作目は各品種とも線虫汚染区は30株、非汚染区は20株とし、2、3作目は両区とも松戸ボンデローザは35株、他の2品種はいずれも25株とした。施肥は、元肥に配合化成肥料と有機質肥料(あいのう有機)を用い、追肥には化成肥料のみ用いた。生育期間中の栽培管理は、一般慣行法にし

たがった。

萎ちょう病菌の接種：供試菌は、園芸学部付属農場内のトマトに発生した萎ちょう病罹病個体から分離した *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (race J1) で、接種源には Czapek 液体培地で 25°C12 日間振とう培養して得られた分生胞子を用いた。接種は線虫汚染区、非汚染区のそれぞれに対して 1 作目と 2 作目に行った。1 作目では 5 月 1 日に 1 株あたり 1.29×10^9 個、2 作目では 5 月 11 日に 5.60×10^7 個の分生胞子を 200ml の井水とともに株の周りに注ぎ、さらに十分に灌水して土中への胞子の分散を促した。

調査方法：萎ちょう病の発病調査は茎葉部に病徴が発現した後経時的に行なった。各個体の外部病徴はその程度により 1～4 の 4 段階に分け、各実験区の発病指数を次式により算出した。同時に各区ごとの発病株率を求めた。

萎ちょう病の病徴程度

- 4：激しい萎ちょうを伴い茎葉部のほぼ 70% 以上が枯れ上ったもの
3：株全体の 50% 前後が萎ちょうまたは黄化落葉を呈するもの

2：株全体のほぼ 30% の茎葉が萎ちょうまたは黄化を呈するもの

1：茎葉の一部が萎ちょうを呈し回復しないもの

0：無病徴で健全個体とみなされるもの

$$\text{発病指数}(\%) = \frac{\sum(n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4)}{4 \times N} \times 100$$

n_1 ：階級値 1 の個体数

n_2 ：階級値 2 の個体数

n_3 ：階級値 3 の個体数

n_4 ：階級値 4 の個体数

N ：総供試個体数

また各作の栽培終了時には、残存した供試植物全個体の地際部から茎を切断し、導管部の褐変症状を調査した。導管褐変の程度は、導管部全体に対して褐変部分の占める割合によって 1～4 の段階に分け、外部病徴と同じ方式で導管褐変指数を算出した。

ネコブセンチュウの寄生調査は、定植後任意に各実験区の供試植物を掘り上げてゴールの形成状態を観察し、それ以外は栽培終了時に掘り上げた全個体の寄生程度を記録し、区別のゴール指数を上述した萎ちょう病の発病指数の場合と同じ方式で算出した。各個体の寄生程度は、

Table 3 *Fusarium* wilt incidence in three tomato cultivars grown successively in the field infested with root-knot nematode or noninfested.

Cultivar	Field block	Cultivated successively in					
		Summer, 1977		Summer, 1978		Fall, 1978	
		W.I. ^{a)}	G.I. ^{b)}	W.I.	G.I.	W.I.	G.I.
Matsudo-Ponderosa (F-S, Mi-S)	Nematode infested	% 100	% 74.8	% 100	% 69.7	% 72.1	% 73.4
	Noninfested	75.0	0	62.5	1.8	16.4	2.8
Kyôryoku-Beijyu (F-R, Mi-S)	Nematode infested	0	69.7	41.7	65.7	5.0	72.5
	Noninfested	0	0	18.9	0.9	0	3.6
Toyonishiki (F-R, Mi-S)	Nematode infested	0	81.0	36.4	68.8	2.0	75.0
	Noninfested	0	0	19.1	1.5	0	4.4

a) Wilt index, b) Gall index

Data indicate results of final investigation in each experiment.

Spore suspension of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* was inoculated at the beginning of summer cultivation in 1977 and 1978.

ゴールの形成状態にしたがって1～4の段階に分けた。

ネコブセンチュウの寄生程度

- 4：大部分の根（75%以上）がゴールを形成し、著しい寄生をうけたもの
 - 3：過半数の根（50～75%）がゴールを形成し、かなりの寄生をうけたもの
 - 2：半数以上の根（25～50%）がゴールを形成し、比較的軽い寄生をうけたもの
 - 1：少数の根（1～25%）がゴールを形成し、わずかな寄生をうけたもの
 - 0：寄生が認められないもの
2. 実験結果ならびに考察

調査結果は第3表に示したとおりである。

1作目の栽培で萎ちょう病の発病がみられたのは、供試3品種のうち松戸ポンデローザのみであった。萎ちょう病発病指数は非汚染区にくらべ線虫汚染区の方が高かった。ネコブセンチュウの寄生状況は供試した3品種のいずれも線虫汚染区で激しかった。

2作目では、供試3品種とも萎ちょう病が発病し、線虫汚染区での発病指数は非汚染区にくらべていずれも高かった。松戸ポンデローザにおける発病は、おおむね1作目と同じ傾向を示し、強力米寿と豊錦では、線虫汚染区での発病指数がそれぞれ41.7%、34.6%に達し、非汚染区との差は明瞭であり、ネコブセンチュウの寄生による影響が認められた。しかし松戸ポンデローザにくらべて発病指数ははるかに低率であった。根こぶ指数は全般に1作目と大差はみられなかったが、非汚染区の供試植物の中にも僅かに寄生をうけた個体が現われた。

3作目では、3品種とも萎ちょう病発病指数が低く、非汚染区では松戸ポンデローザのほかは発病が認められなかった。線虫汚染区と非汚染区との発病指数の差は松戸ポンデローザで顕著に現われ、ネコブセンチュウの寄生による発病の助長が明瞭であった。強力米寿、豊錦の2品種では線虫汚染区での発病指数はそれぞれ5.0%、2.0%に過ぎず、ネコブセンチュウの寄生による影響は2作目ほどははっきりしなかった。根こぶ指数は3品種とも前作同様に顕著であったが、3作目に至り非汚染区にもネコブセンチュウの寄生した個体が次第に増加する傾向がうかがわれた。

つぎに線虫汚染区および非汚染区における萎ちょう病の発病推移とネコブセンチュウの寄生状況とを対比して示すと第1図のとおりである。ここでは3連作を通して発病が顕著であった松戸ポンデローザの結果を示した。栽培時期の違いによって発病推移に若干の変化はあるが、3作のいずれの場合も類似した経過をたどることがわかる。

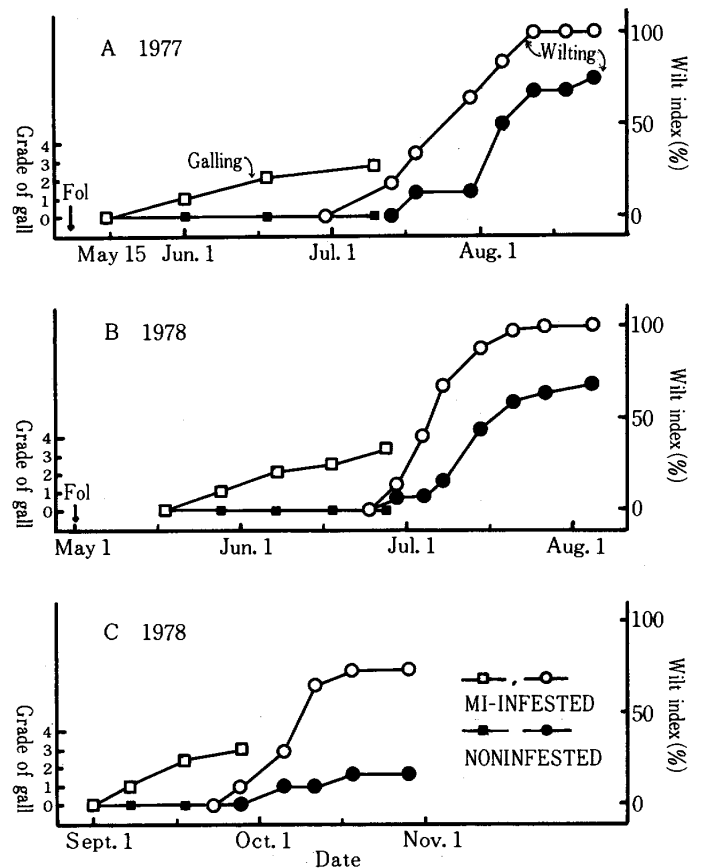


Fig. 1 Development of gall and wilt symptoms in Matsudo-Ponderosa tomato, susceptible to *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, grown successively in plots infested with both root-knot nematode and wilt fungus or wilt fungus alone.

初年度の1作目では、萎ちょう病は、線虫汚染区の方が非汚染区にくらべて数日早く病徴が現われ、7月中旬以降病勢は直線的に上昇し、8月中旬には大方の供試植物が枯死した。非汚染区では、7月中旬の初発生後病勢の進展はやや遅れた。一方ネコブセンチュウによるゴールは6月初めに形成が認められ、その後寄生度が高まった。2作目では、萎ちょう病の発病時期は線虫汚染区、非汚染区の間で変らなかったが、病勢の進展は線虫汚染区の方が顕著であり、7月中旬をすぎて供試植物のほとんどが枯死した。ネコブセンチュウによるゴールは5月下旬に形成が認められ、以後寄生度が増大した。引続いて栽培した3作目では、線虫汚染区で定植28日後にすべに萎ちょう病の発生がみられ、10月上旬に急激に病勢は進展したが、その後停滞した。非汚染区での発病はやや遅れ、かつ少なかった。一方ネコブセンチュウによるゴ

ール形成は、定植7日後すでに認められ、寄生度の上昇も1, 2作目のときにくらべて早かった。

以上のようにサツマイモネコブセンチュウ汚染土壌でトマトを連作したときの萎ちょう病の発病は、非汚染土壌におけるよりも著しく増大することが明白となった。各作ごとの発病指数や発病推移の変動は、栽培時期や病原体の初期密度などの違いによって左右されるため連作によって発病が増加するか否かはこの実験からは判断できない。実験開始前の調査で、実験圃場の土壌からはトマトに病原性を示す *Fusarium oxysporum* は検出されなかった。そのため1, 2作目の栽培では、トマトの定植後に病原菌を接種して感染のおこりやすい状態とした。1,

2作目はともに春作であり、栽培時期としてはほとんど変りはないが、1作目より2作目の方が萎ちょう病の病勢の進展が著しかった。これは連作の影響もあろうが、2作目を栽培した1978年の6・7月の気象条件が、1作目の前年と比較して晴天が続く、平均地温も高く推移したことが萎ちょう病の急激な進展を促した大きな要因として考えられる。また3作目の場合、9～10月の露地栽培であり、とくにその後期には気温が低下したため、初期発病が激しかったにも拘らず病勢の進展は急速に停滞した。そのような条件のもとで、とくに萎ちょう病感受性の松戸ポンデローザでは線虫汚染土壌における萎ちょう病の発病が非汚染土壌と比較してより顕著に現われた

Table 4 List of tomato cultivars used for pot and field experiments

Cultivars	Property to pathogens		Cultivars used for field experiment (*)
	<i>F. o. l.</i> (race 1)	<i>M. incognita</i>	
Beijyu (Sakata)	S	S	*
Fukujyu-II (Maekawa)	S	S	
Matsudo-Ponderosa (Sakata)	S	S	
Azusa (Musashino)	R	S	*
Eijyu (Takii)	R	S	*
First Queen (Matsunaga)	R	S	*
Hagoromo F (Iwakura)	R	S	*
Hôryu (Takii)	R	S	*
Kyôryoku-Beijyu (Sakata)	R	S	
Kyôryoku-Syûkô (Musashi)	R	S	*
Nankô-II (Sanyô)	R	S	*
Ôgata-Fukujyu MR (Kaneko)	R	S	
Ômiya FTVR(Tokita)	R	S	*
Ôsei MR(Kaneko)	R	S	*
Reisyû (Sakata)	R	S	*
Taian-III	R	S	
Takachiho (Musasino)	R	S	
Tough Grow (Mikado)	R	S	*
Toyonishiki (Sakata)	R	S	
TVR-2 (Sakata)	R	S	*
Yôrei (Kyowa)	R	S	*
House Top (Takii)	R	R	*
Kyôryoku-Kyokukô (Musashi)	R	R	*
Saturn (Takii)	R	R	
Seika (Sanyô)	R	R	
Taibyô-Shinkô-I (Takii)	R	R	
Yûyake A(Nihon-engeiseisanken)	R	R	*
Zuikô-102 (Sakata)	R	R	*

Initial marks indicate susceptible (S) or resistant (R) to each pathogen.

のは注目される。

各供試品種における萎ちょう病の発病を比較すると、萎ちょう病感受性の松戸ポンデローザと抵抗性の強力米寿ならびに豊錦とでは明らかな差異があった。抵抗性品種で萎ちょう病の発病が激しかったのは2作目の場合のみであり、ネコブセンチュウの寄生が抵抗性を弱めることは認められたが、栽培条件によってその影響は異なるものと推察された。

第2節 品種による発病の差異

ネコブセンチュウ汚染土壤にトマトを栽培したときの萎ちょう病の発病が、品種によってどのような差異を示

すかを知るために、ポット実験ならびに圃場実験を行った。

1. 実験材料ならびに方法

トマトの供試品種は、わが国で市販され、栽培が普及しているものの中から選んだ28品種である。それぞれの品種がもつ萎ちょう病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, race J1) およびサツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*) に対する特性は第4表に示すとおりである。なお圃場実験ではそのうち18品種を用いた。

(1) ポット実験

Table 5 Disease occurrence in different tomato cultivars grown with root-knot nematode-infested soil or noninfested soil in pot.

Cultivars	Nematode infested soil			Noninfested soil		
	Indices (%) of symptoms			Indices (%) of symptoms		
	wilting	vasc.browning	galling	wilting	vasc.browning	galling
Beijyu	69.4	85.2	83.3	19.4	22.1	0
Fukujyu-II	52.7	75.0	53.6	11.1	18.5	2.7
Matsudo-Ponderosa	50.0	77.8	83.3	13.8	18.5	0
Azusa	30.0	18.5	66.7	0	0	0
Eijyu	55.5	48.1	50.0	5.5	7.4	2.7
First Queen	8.3	29.6	91.6	0	0	0
Hagoromo F	11.1	7.4	80.5	0	0	2.7
Hōryū	11.1	18.5	66.7	0	0	5.5
Kyōryoku-Beijyu	22.2	25.9	75.0	0	0	0
Kyōryoku-Syūkō	13.9	18.5	61.3	0	0	5.5
Nankō-II	8.3	44.4	61.3	0	3.7	0
Ōgata-Fukujyu MR	30.5	29.6	80.5	0	0	0
Ōmiya FTVR	30.3	48.1	77.8	0	0	0
Ōsei MR	0	14.8	75.0	0	0	0
Reisyū	8.3	40.7	66.7	0	3.7	2.7
Taian-III	19.4	29.6	75.0	0	0	2.7
Takachiho	38.9	33.3	61.3	2.7	3.7	0
Tough Grow	11.1	18.5	75.0	0	0	0
Toyonishiki	8.3	7.4	80.5	0	0	0
TVR-2	33.3	14.8	83.3	0	0	0
Yōrei	50.0	33.3	91.7	2.7	7.4	5.5
House Top	0	0	± ^{a)}	0	0	0
Kyōryoku-Kyokukō	0	7.4	75.0	0	0	0
Saturn	0	3.7	±	0	0	0
Seika	8.3	7.4	±	0	0	0
Taibyō-Shinkō-I	0	0	±	0	0	0
Yūyake A	0	3.7	±	0	0	0
Zuikō-102	2.8	3.7	±	0	0	0

a) Observed rarely a few galls.

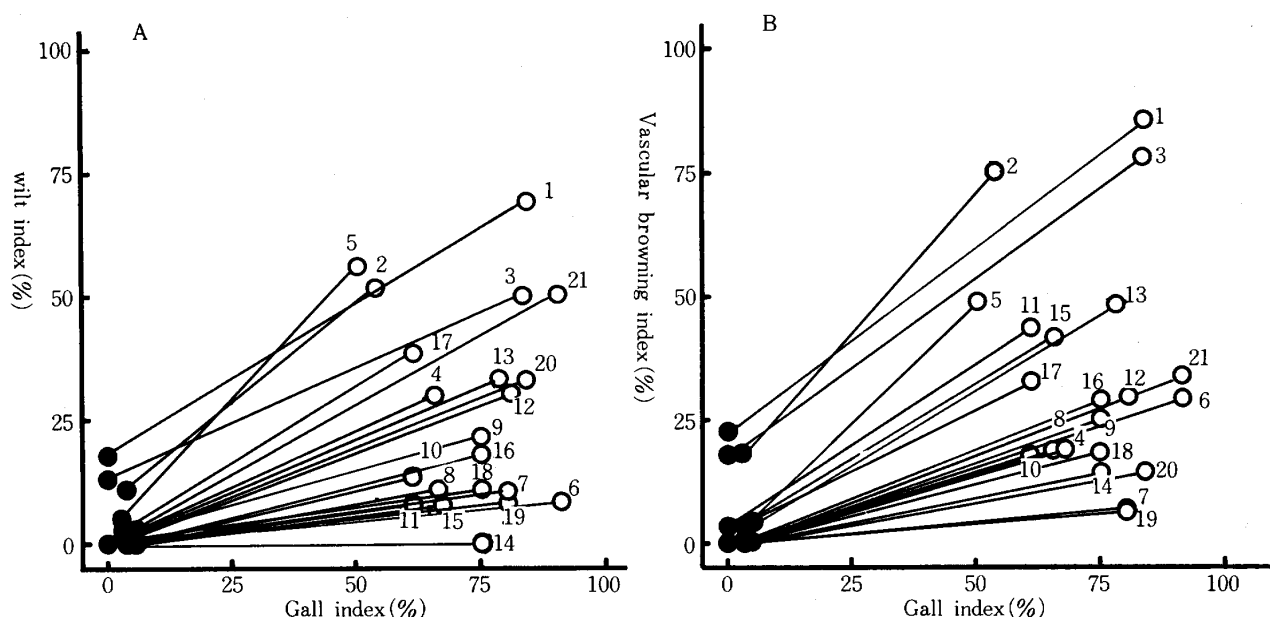


Fig. 2 Varietal difference of increasing wilt occurrence and vascular browning symptom in tomato plants grown in the soil infested with *Meloidogyne incognita* compare to those in noninfested soil (Pot experiment). [A] Denoted with wilt index, [B] Denoted with vascular browning symptom. Series number shows the name of tomato cultivar, as follows; (1) Beijyu, (2) Fukujyu-II, (3) Matsudo-Ponderosa, (4) Azusa, (5) Eijyu, (6) First-Queen, (7) Hagoromo F, (8) Hôryû, (9) Kyôryoku-Beijyu, (10) Kyôryoku-Syûkô, (11) Nankô-II, (12) Ôgata-Fukujyu-MR, (13) Ômiya-FTVR, (14) Ôsei-MR, (15) Reisyû, (16) Taian-III, (17) Takachiho, (18) Tough-Grow, (19) Toyonishiki, (20) TVR-2, (21) Yôrei. The other cultivars, resistant to both pathogens, excepted from these figures. Black sign (●) indicates plants grown in the soil noninfested with *Meloidogyne*, and circle sign (○) indicates plants grown in the soil infested with *Meloidogyne*.

供試土壌は、前節の実験に用いた線虫汚染区および非汚染区から別々に採取した土壌を 5 mm 目のふるいを通した後、別に用意した滅菌土壌——実験圃場の付近から採取し、同じく 5 mm 目のふるいを通して 1.5 気圧、20 分間蒸気滅菌した土壌——とほぼ 3 : 1 の割合で十分混合し調整した。ポットは直径 15 cm の素焼鉢を用い、これに供試土壌を 1 kg (生重) 宛入れ、あらかじめ播種床で 15 日間育成した各供試品種の稚苗を一鉢あたり 3 個体ずつ移植した。病原菌は供試植物が活着した後、予め Czapek 液体培地で 23°C 10 日間振とう培養し、3 重ガーゼで濾過して得られた分生孢子浮遊液 (7.2×10^6 /ml) を 50 ml ずつ各鉢に灌注接種した。実験には線虫汚染土壌、非汚染土壌の各区について 1 品種 3 鉢を用いた。実験はビニールハウス内 (実験期間中の平均気温は 27.8°C) で実施した。

調査は、供試植物を移植して 50 日後に地上部の萎ちょう症状、草丈を記録し、全個体を掘り上げて根を洗い、地際部の茎導管組織の褐変症状、根部のゴール形成状態

を調べた。調査方法は前節の実験方法に準じ、各区の品種ごとに萎ちょう発病指数、導管褐変指数、ゴール指数を算出した。さらに導管褐変個体について地際部の茎切片を Peptone-Dextrose-Rosebengal Agar の平板上におき、病原菌の分離を行なった。一方ネコブセンチュウの増殖程度を比較するために、鉢内の土壌を採取し、ベールマン法で線虫を分離し、2 期幼虫の密度を計数した。

(2) 圃場実験

さきに連作実験を行なった線虫汚染区、非汚染区に、18 品種のトマトを栽培した (第 4 表参照)。前年までの作歴の影響を避けるため、圃場は十分に耕起して萎ちょう病菌およびネコブセンチュウの均一化を計った。各品種の供試植物は前節の実験と同様に育てた。線虫汚染区、非汚染区にそれぞれ 1 品種 5 個体ずつ配置を変えて 5 月 16 日に定植し、75 日間栽培を行なった。なお病原菌の接種は行なわなかった。調査は前節の圃場実験と同様に実施した。

2. 実験結果ならびに考察

Table 6 Plant growth of different tomato cultivars grown with root-knot nematode-infested soil or noninfested soil, and frequency recovering of *Fusarium* wilt fungus from their stem samples and the final population of *M. incognita* larvae in pot soil.

Cultivars	Nematode-infested soil			Noninfested soil		
	Plant height	Recovering of <i>F. o. l.</i> from stems	Final population of <i>M. i.</i>	Plant height	Recovering of <i>F. o. l.</i> from stems	Final population of <i>M. i.</i>
	cm	%		cm	%	
Beijyu	34.2	100	640	55.7	100	+ ^{a)}
Fukuju-II	33.0	100	624	55.7	100	+
Matsudo-Ponderosa	36.5	100	710	48.9	100	0
Azusa	49.1	83.3	479	54.4	0	0
Eijyu	45.0	100	620	52.0	16.7	+
First Oueen	46.3	100	690	56.3	0	+
Hagoromo F	44.8	66.7	1000	51.7	0	0
Hôryû	42.0	100	785	55.0	0	+
Kyôryoku-Beijyu	44.3	100	748	50.8	0	+
Kyôryoku-Syûkô	42.7	83.3	780	51.3	0	+
Nankô-II	46.8	100	930	53.0	8.3	+
Ôgata-Fukuju MR	49.0	83.3	660	55.8	0	0
Ômiya FTVR	47.1	100	1200	57.1	0	0
Ôsei MR	47.0	50	985	54.0	8.3	+
Reisyû	44.0	100	910	55.6	16.7	+
Taian-III	48.6	100	479	53.0	0	+
Takachiho	47.7	100	370	56.1	16.7	0
Tough Grow	48.5	66.7	710	54.5	0	+
Toyonishiki	41.0	50	970	49.0	0	0
TVR-2	44.3	83.3	1120	51.9	0	0
Yôrei	47.1	100	720	54.0	25.0	+
House Top	54.0	16.7	988	56.1	0	0
Kyôryoku-Kyokukô	48.9	58.3	260	50.1	0	0
Saturn	53.2	33.3	53	55.4	0	0
Seika	51.0	33.3	75	55.0	0	0
Taibyô-Shinkô-I	55.8	16.7	68	56.5	0	0
Yûyake A	53.6	16.7	45	58.0	0	0
Zuikô-102	52.8	16.7	63	53.8	0	0

a)Recovered a few larvae.

(1) ポット実験

調査結果は第5表のとおりである。各品種について線虫汚染土壌と非汚染土壌で栽培したときの線虫の寄生度に対応する萎ちょう病発病の差をわかりやすいようにまとめると第2図のようになる。

萎ちょう病 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, race J1)

に対して感受性の松戸ポンデローザ、米寿、福寿2号の3品種は、線虫の非汚染土壌における萎ちょう病の発病指数がほぼ10~20%であったのに対して、線虫汚染土壌では50.0%以上に増加し、両土壌間で顕著な発病の差が認められた。一方萎ちょう病抵抗性の25品種では、線虫非汚染土壌における萎ちょう病の発病指数が0~7.4%

Table 7 Disease occurrence in different tomato cultivars grown in soils heavily or slightly infested with root-knot nematode in field.

Cultivars	Nematode heavily infested Indices (%) of symptoms			Nematode slightly infested Indices (%) of symptoms		
	wilting	vasc.browning	galling	wilting	vasc.browning	galling
Beijyu	90	95	65	65	55	10
Azusa	65	45	50	10	10	10
Eijyu	80	85	70	20	25	15
First Queen	25	40	85	5	5	15
Hagoromo F	45	35	80	5	10	20
Hôryu	55	65	70	25	40	25
Kyôryoku-Syûkô	45	65	75	10	35	10
Nankô-II	65	70	65	5	25	20
Ômiya FTVR	25	40	85	25	25	20
Ôsei MR	55	45	55	5	5	15
Reisyû	55	50	75	0	5	15
Tough Grow	40	40	70	10	10	25
TVR-2	65	60	90	5	5	5
Yôrei	55	50	60	0	20	15
House Top	5	± ^{a)}	± ^{b)}	5	10	±
Kyôryoku-Kyokukô	30	45	75	0	15	25
Yûyake A	5	±	±	5	5	±
Zuikô-102	0	0	±	0	±	±

a) Observed obscure symptom. b) Observed rarely a few galls.

の範囲で低かったにもかかわらず、線虫汚染土壌においては、多くの品種で発病が増加した。両土壌間での発病指数の差が50%を越えた品種は栄寿、陽麗であり、これについて高千穂、強力米寿、おおみや、FTVR、TVR-2、あづさ、大型福寿MRもかなりの差が認められた。ファーストクィーン、強力秀光、タフグロー、豊錦、豊竜、はごろもF、南光2号、麗秋、王星MRは両土壌間での萎ちょう病の発病指数の差は小さかった。ただし南光2号、麗秋は外部病徴としての発病指数の変動は少なかったが、地際付近の茎の導管褐変指数の変動は比較的大きかった。制夏、ゆうやけA、瑞光102、サターン、ハウストップの5品種は、萎ちょう病 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, race J1) とサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) の両者に対して複合抵抗性であり、萎ちょう病発病指数は線虫の汚染にかかわらず0%かまたは極めて低かった。また同じく複合抵抗性とされている強力旭光は、両土壌において萎ちょう病の発病指数は0%であったが、線虫汚染土壌の場合にゴールを生じた個体が一部含まれていたため、完全な複合抵抗性によるものではなかった。各供試植物のうち導管褐変を起した植物体の感染組織での病原菌の存在を調べたところ、萎ちょう

発病個体では高率で菌が検出されたが、ネコブセンチュウ抵抗性の品種で導管褐変のみ起したものでは検出頻度が低かった。(第6表)

線虫汚染土壌でのネコブセンチュウの寄生状況は、*M. incognita* 感受性品種におけるゴール指数で50~90%の範囲にわたる開きがあるが、各品種で多少とも生育抑制がみられ、とくに萎ちょう病の発病指数が高かった萎ちょう病感受性の品種で草丈が著しく短かった。ただし品種ごとのゴール指数と萎ちょう病の発病程度との関係は明らかでなかった。なお *M. incognita* 抵抗性の7品種のうち、強力旭光だけはゴール指数が52.8%であり、本線虫に感受性を示した。また土壌中の2期幼虫の密度は、品種による差が大きい、*M. incognita* 抵抗性品種のほかはいずれも増大がみられた。一方、非汚染土壌で生育させた供試植物で線虫の寄生が僅かに認められたが、萎ちょう病の発病に影響をおよぼすほどのものではなかった。

(2) 圃場実験

この実験は、線虫汚染区と非汚染区とに区分して設けた実験圃場で行なったが、非汚染区にもネコブセンチュウの混入がみられたため、ここでは高密度汚染区と低密

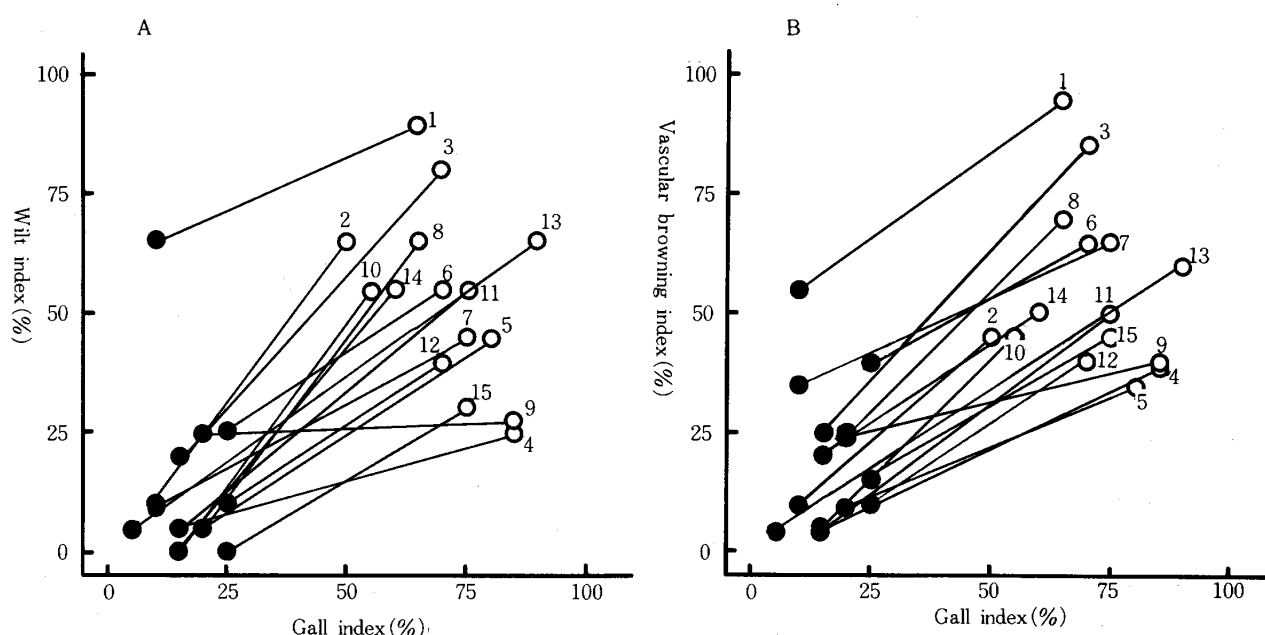


Fig. 3 Varietal difference of increasing wilt occurrence and vascular browning symptom in tomato plants grown in the soil heavily infested with *Meloidogyne incognita* compare to those in slightly infested soil (Field experiment). [A] Denoted with wilt index, [B] Denoted with vascular browning symptom. Series number shows the name of tomato cultivar, as follows; (1) Beijyu, (2) Azusa, (3) Eijyu, (4) First-Queen, (5) Hagaromo-F, (6) Hôryû, (7) Kyôryoku-Syûkô, (8) Nankô-II, (9) Ômiya-FTVR, (10) Ôsei-MR, (11) Reisyû, (12) Tough-Grow, (13) TVR-2, (14) Yôrei, (15) Kyoryuku-Kyokukô. The other cultivars, resistant to both pathogens, excepted from these figures. Black sign (●) indicates plants grown in the soil slightly infested with *Meloidogyne*, and circle sign (○) indicates plants grown in the soil heavily infested with *Meloidogyne*.

度汚染区として表わした。実験に用いた18品種における萎ちょう病の発病ならびにネコブセンチュウの寄生状態は第7表のとおりである。各品種ごとのネコブセンチュウの寄生度に対応する萎ちょう病の発病について線虫高密度汚染区と低密度汚染区との差を示すと第3図のようになる。

萎ちょう病感受性品種の米寿は、線虫の低密度汚染区における萎ちょう発病指数が65%であったのに比べて、高密度汚染区では90%と増大し著しい発病助長が認められた。一方萎ちょう病抵抗性の17品種では、線虫低密度汚染区における萎ちょう発病指数が0~25%の範囲であったのに対して、高密度汚染区においては、複合抵抗性品種をのぞいた大部分の品種で萎ちょう病の発病指数の増大を示した。両区間の発病指数の差が大きかった品種には、あづさ、栄寿、南光2号、TVR-2、王星MRなどがあり、これらは低密度汚染区よりも高密度汚染区における萎ちょう発病指数が50%以上高かった。また発病指数の変動が20~30%の範囲で比較的小さかった品種は、ファーストクィーン、強力秀光、タフグロー、豊竜、

強力旭光などであり、はごろもFはそれらの中間であった。またおおみやFTVRでは、ネコブセンチュウの寄生が激しかった高密度汚染区においても低密度区と比べて萎ちょう発病指数に変動がなかった。

各品種におけるネコブセンチュウの寄生状況は、ポット実験と同じく *M. incognita* 感受性品種の中でもゴール指数でかなりの幅があり、高密度汚染区では50~90%、低密度汚染区では5~25%を示した。また *M. incognita* 抵抗性といわれる強力旭光は、高密度汚染区でのゴール指数が65%に達し、ポット実験と同様に感受性を示す個体が含まれていた。

品種ごとのネコブセンチュウの寄生度と萎ちょう発病程度との関係を第4図に示した。品種によってばらつきはあるが、全体を通じてみると、萎ちょう病の発病程度の著しい個体では線虫の寄生度も高い傾向があった。線虫密度の異なる両区間で、萎ちょう病の発病指数の変動が大きかったあづさ、栄寿、南光2号、TVR-2などの品種と、発病指数が全く変わらないか、あるいは変動が比較的小さいおおみやFTVR、ファーストクィーン、強力秀光、

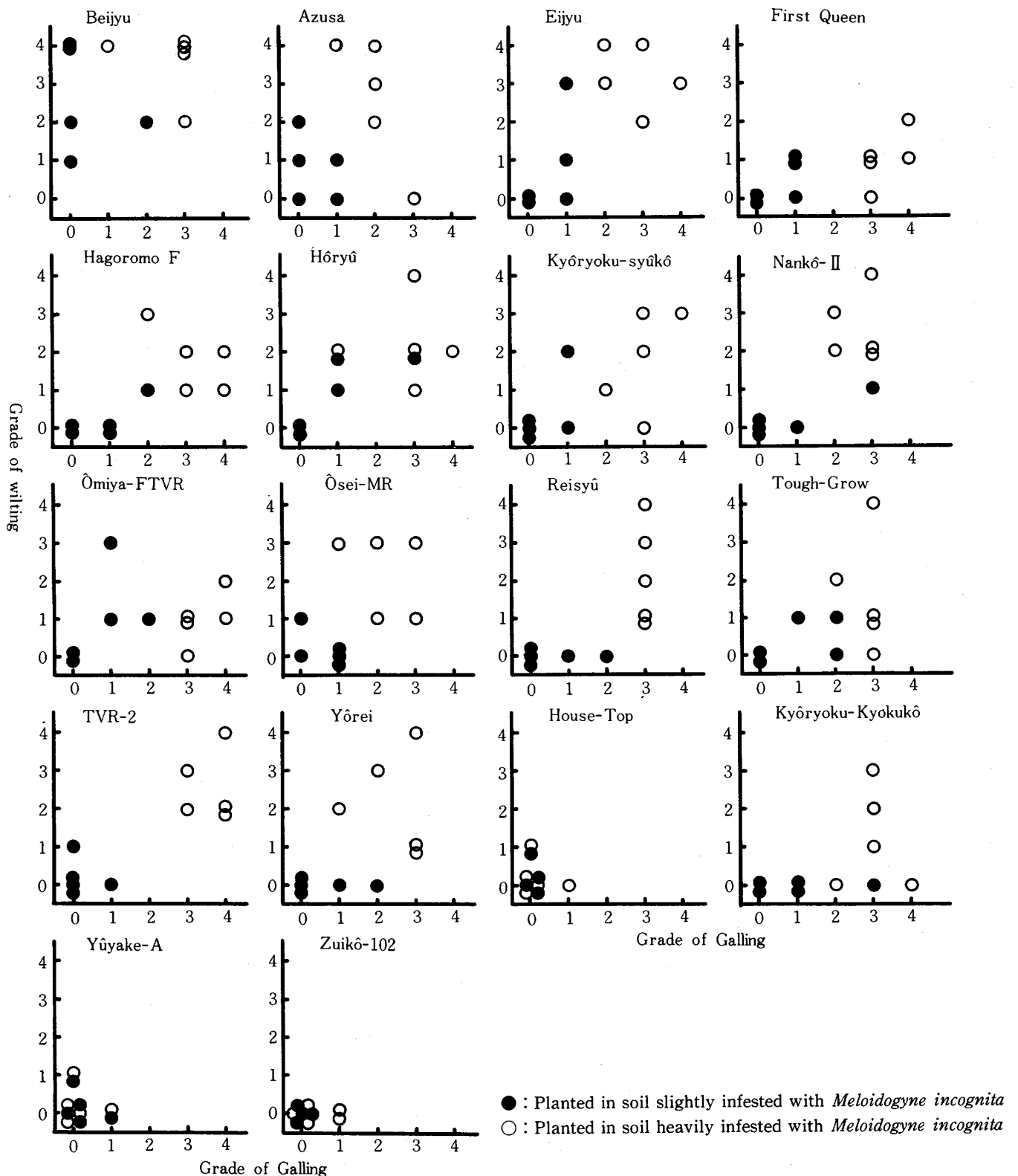


Fig. 4 Relation of the severity of wilting to the grade of gall formation in various tomato cultivars planted in the soil slightly or heavily infested with *Meloidogyne incognita* in field experiment.

豊竜、タフグローなどの品種とでは、各個体の萎ちょう病の発病程度と線虫寄生度の関連性に相異がみられ、また萎ちょう病・ネコブセンチュウ複合抵抗性品種の場合は、それぞれの病原による発病程度と寄生度はきわめて軽かった。

圃場実験における以上の結果は、さきのポット実験の結果と比較すると、品種によっては必ずしも一致しない。圃場実験では全般的にポット実験とくらべて萎ちょう病の発病指数が高い傾向があり、中でも王星 MR や強力旭光は圃場条件下ではじめて萎ちょう病が発病した。こうした圃場条件とポット条件との相異は、第一には実験期間の差異によることが考えられ、そのほかに感染源の量の問題、さらに植物体の生育環境などもかかわると考えられる。またおおみや FTVR のように、ポット実験とくらべて圃場実験において線虫による発病の増大がみられない例もある。

(3) 小 括

ネコブセンチュウ汚染圃場と非汚染圃場とのトマト連作実験の比較により、萎ちょう病の発病がネコブセンチュウの存在によって明らかに増大する実態が確認された。この実験結果は、松田ら⁽⁹⁶⁾が行なった栽培圃場での調査結果と全体的にほぼ一致した。萎ちょう病菌とネコブセンチュウとの混合汚染下での寄生植物における発病の経過(第1図)からみて、この場合、ネコブセンチュウによる寄生が原発病であるのに対し、萎ちょう病の発生は続発病であると理解される⁽¹⁰⁸⁾。これら二つの疾病はそれぞれ独自の発病の経過を示すとはいえ、両者間に因果関係が認められる点で合併症(Complication)とは区別されねばならない。ここではこれら二つの疾病の相互作用に起因する発病の変化をもって複合病と認定した。しかし本実験の段階では、発病の実態を把握することを目的としており、この複合病における病原菌と線虫との相互作用がいかなる機構によるかは説明できない。

トマトの品種ごとの萎ちょう病の発病を比較すると、萎ちょう病感受性または抵抗性を示す大多数の供試品種が、ポットならびに連作圃場での栽培実験を通じて、ネコブセンチュウの存在する場合に発病の増大を示した。トマトにおけるこうした現象は、YOUNG⁽¹⁷¹⁾により約50年前に指摘されている。当時の品種は選抜育種によって育成されたもので、優性の抵抗性遺伝子(I遺伝子)を導入した萎ちょう病抵抗性品種が普及する以前のことであり、今日広く用いられているI遺伝子を導入したF₁雑種とは全く状況を異にしている。FASSULIOTIS⁽³⁴⁾は、キャベツにおける萎黄病抵抗性品種の中に *M. incognita* の寄生をうけても萎黄病が発病しないものがあることを明らかにし、polygene の導入による量的抵抗性と優性単一遺

伝子の導入による質的抵抗性とでネコブセンチュウによる predisposition をうけた寄主体に対する反応が異なることを示唆した。本実験で供試した萎ちょう病抵抗性品種はいずれもI遺伝子を導入して育成された真正抵抗性の品種であるが、その中にもネコブセンチュウ汚染土壌においては、萎ちょう病の発病程度にかなりの差異があることが確かめられた。この原因については本実験からは明らかでない。山川⁽¹⁶⁵⁾によれば、トマトの萎ちょう病抵抗性品種では同一の抵抗性遺伝子を有する真正抵抗性品種間においても実際にはかなり強弱の差があることを指摘しており、遺伝子構成がヘテロの品種では抵抗性が劣るとしている。ネコブセンチュウの寄生をうけた抵抗性品種にあってその predisposition がどのように変化し、萎ちょう病抵抗性が影響されるかはきわめて重要な問題であり、とくに寄生植物の遺伝的特性の変化に関する機構の解明を急がねばならない。また実際栽培面でもこの問題について今後なお十分な配慮が必要であることを改めて指摘したい。

第5章 萎ちょう病菌とサツマイモネコブセンチュウとの混合接種による複合病の発現

トマトにおけるサツマイモネコブセンチュウと萎ちょう病菌とによる複合病の発現が両病原の汚染土壌で頻繁に起こる可能性があることは前章の実験から明やかとなった。とくにトマトを連作したときは、このような複合病が起こりやすいことを再確認した。

ところで複合病の発現機構を解明するには、まず第一に実験の設定条件が問題となる。とくに病原菌と線虫の接種方法は、実験結果を著しく左右するおそれがあり、複合病の発現機構を判断するのに重要な意味をもつと考えられる⁽¹⁵¹⁾。それ故ネコブセンチュウと萎ちょう病との複合病の解明に当っては、さまざまな方法で組合わせた接種実験に基づき多面的な判断をすることが必要である。

この章では、萎ちょう病菌とネコブセンチュウとの接種方法を異にしたときの複合病の発現がどのように変化するかを検討し、複合病としての発病形式について考察した。なおここで行なったいくつかの接種実験では、いずれも病徴の発現状況に重点をおいており、ネコブセンチュウと萎ちょう病菌との混合感染の機構については、両者による感染経過を明らかにする実験のもとで論議されねばならない。それらは改めて後の章で論ずる。

第1節 萎ちょう病菌とネコブセンチュウの接種濃度と複合病の発現

1. 実験材料ならびに方法

本実験で用いたトマトは松戸ポンデローザ（第4表参照）と興津1号の2品種である。興津1号は、*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (race J1) に強い抵抗性を示し、育種素材として有用されてきたものであり、一方 *M. incognita* には著しい感受性を示す。

供試線虫は、ナスから分離したサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) をトマトで増殖させ、集めた卵のうを井水中に7日間浸漬し、孵化した2期幼虫を接種源とした。萎ちょう病菌は、罹病トマトから分離した研究室保存菌株を用い、Czapek 液体培地で24°C、10日間振とう培養して得た菌体を遠心分離後、殺菌水を加えて3回洗浄し、ガーゼで濾過した所定濃度の菌浮遊液を接種源として調製した。

実験は直径7 cmのセルロイドポットで行なった。供試土壌は、そ菜圃場から採取した褐色火山灰土に少量の腐葉土を混ぜ合わせ、5 mmのふるいを通して調製した。実験にはあらかじめ供試土壌を120°Cで15分間蒸気滅菌して用いた。用意した土壌を1ポットあたり250gずつ入れ、これに methoxy-ethyl-mercurochloride 40

ppm 溶液で浸漬消毒後、催芽させた種子を2粒ずつ播種した。

実験区の基本構成は、線虫単独、菌単独、線虫および菌混合の各接種区ならびに無接種区からなるが、本実験では別に行なった予備実験にもとづいて、品種別に両病原の接種濃度を変えて検討した。すなわち松戸ポンデローザの場合は、1ポットあたり線虫頭数を100, 500, 1000, 2000頭、菌量は菌糸片および分生胞子を含む菌体の乾燥重量として、1, 5, 10, 20mgとし、ともに4段階を設けた。興津1号の場合は、1ポットあたり線虫頭数を1000, 2000頭の2段階、菌量は20, 40, 80mgの3段階とした。いずれの品種の場合も線虫・菌混合接種区は上記の接種濃度をそれぞれ組合わせて設けた。

両病原の接種は、供試植物を播種して20日後に同時に行なった。接種方法は、前もって準備した各濃度別の線虫ならびに病原菌懸濁液のおのおの5 mlを駒込ピペットを用いて地表に注いだのち、直ちに十分灌水を行なって土壌中での接種源の分散を促した。実験は1区5ポットを用い、2回反復して行なった。実験期間中ポットは

Table 8 Appearance of disease symptoms in seedlings of wilt susceptible tomato cultivar, Matsudo-Ponderosa, inoculated simultaneously with different inoculum levels of each pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

<i>Fusarium</i> ^{a)}	Inoculum <i>Meloidogyne</i> ^{b)}	Wilt index (%)	Vascular browning index (%)	Gall index (%)	Plant height (cm)	Rate of defoliation (%)
0	0	0	0	0	30.0	0
0	100	0	0	25.0	31.1	0.3
0	500	0	0	37.5	28.7	0.3
0	1000	0	0	67.5	29.4	0.3
0	2000	5.0	2.0	80.0	25.9	0.5
1	0	0	0	0	35.8	5.2
1	100	0	4.0	26.3	29.7	5.6
1	500	0	10.0	52.5	30.9	13.2
1	1000	9.0	10.0	67.5	27.3	2.6
1	2000	24.0	26.0	82.5	28.3	13.0
5	0	0	0	0	31.3	5.0
5	100	0	2.2	28.0	30.2	4.0
5	500	7.0	15.2	48.8	28.2	16.4
5	1000	18.0	18.0	60.0	27.7	14.6
5	2000	29.5	38.0	82.0	25.1	41.0
10	0	0	1.4	0	32.2	3.8
10	100	0	8.5	25.0	31.3	13.8
10	500	10.0	10.0	48.7	28.5	5.5
10	1000	40.0	38.0	68.3	25.6	12.5
10	2000	34.0	43.5	88.2	22.8	32.0
20	0	2.0	4.8	0	31.3	7.5
20	100	7.5	12.8	25.0	31.7	8.5
20	500	4.0	11.2	51.0	29.9	6.0
20	1000	10.0	27.8	66.0	28.0	14.8
20	2000	38.0	49.2	88.5	25.4	16.5

Data were taken on 30 days after inoculation.

a) Dry weight (mg) of fungus inoculum per pot.

b) Number of second stage larvae per pot.

ガラス室内におき、毎日灌水した。期間中の平均気温は、 27.8°C であった。

調査は、供試植物の生育期間を通して地上部における萎ちょう症状の推移を観察し、萎ちょう発病率および発病指数を求めた。実験終了時には、植物体をポットから抜き取り、水洗したのち、個体別に生育状態、ネコブセンチュウの寄生状態、地際部の導管褐変症状を調査し、各区ごとのゴール指数、導管褐変指数を算出した。これらの調査方法はおおむね前章の場合と同様に行なった。なお以上のほか、必要に応じて線虫の寄生した根を酸性フクシンラクトフェノール液により染色し、双眼実体顕

微鏡で観察した。また萎ちょう病菌については、罹病植物組織からジャガイモ煎汁希釈培地の平板上で分離を行なった。

2. 実験結果

松戸ポンデローザについての最終調査結果を第8表に示した。これは2回の反復実験の結果を平均した数値で表わしたものである。またその時の各実験区における萎ちょう病の発病指数を図に示すと第5図のとおりである。萎ちょう病菌を単独接種したときの萎ちょう病の発病は、1ポットあたり20mg接種区で僅かに認められたにすぎず、植物体の生育は全般に良好であった。一方ネコブセンチュウを単独接種したときの寄生状態は、接種濃度を増すにつれてゴール形成が著しくなり、1ポットあたり2000頭接種区ではゴール指数が80.0%に達した。

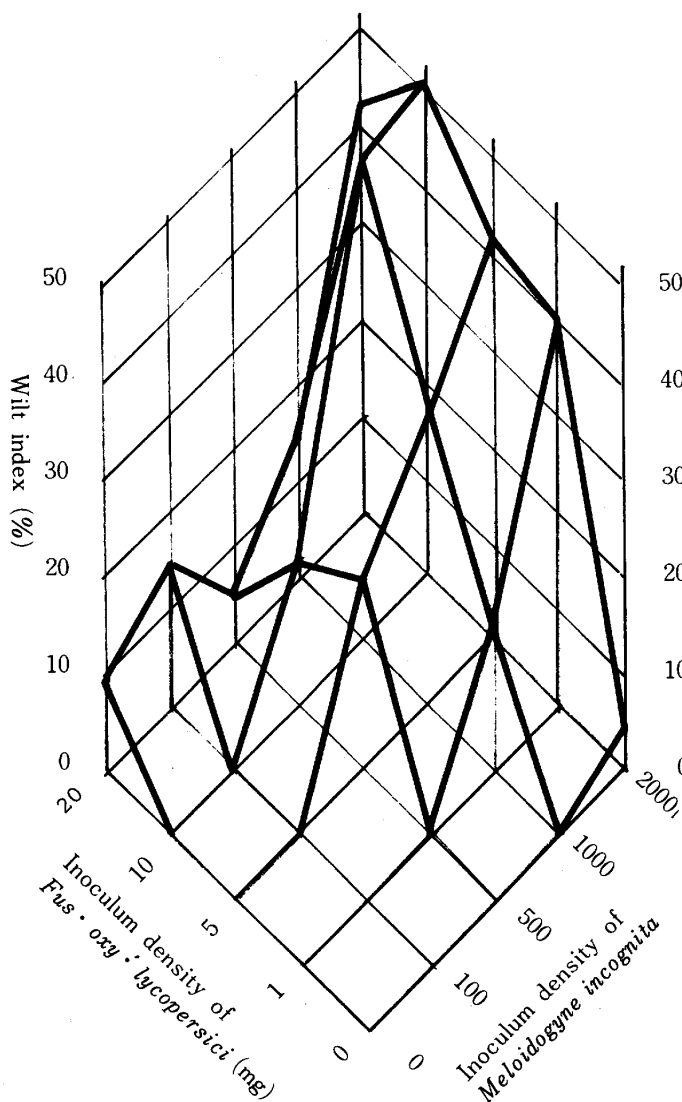


Fig. 5 Wilt severity in tomato seedlings of wilt susceptible cultivar, Matsudo-Ponderosa, inoculated simultaneously with different inoculum levels of each pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

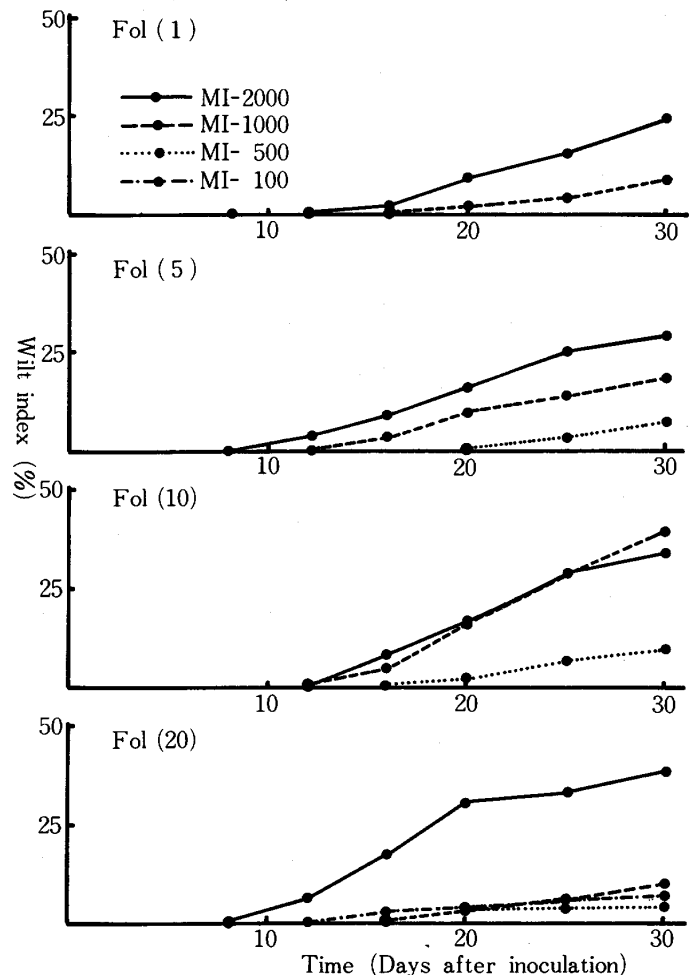


Fig. 6 Progress of wilt appearance in tomato seedlings of wilt susceptible cultivar, Matsudo-Ponderosa, inoculated simultaneously with different inoculum levels of each pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

また線虫の寄生度にともない供試植物の生育も漸次劣る傾向を示した。

萎ちょう病菌とネコブセンチュウとを混合接種した区では、両者の接種濃度を増すにつれて萎ちょう病の発病が増加した。各混合接種区の萎ちょう病の発病は、病原菌の接種濃度を増すことよりも線虫の接種濃度を増すことにより一層顕著になった。混合接種区のうち萎ちょう病が認められなかったのは、1ポットあたり線虫100頭に病原菌1, 5, 10mg接種した3区と、線虫500頭に病原菌を1mg接種した1区だけであった。

各混合接種区における萎ちょう病徴の発現時期は、第6図に示すように、同じ菌濃度で接種した区間で線虫の接種濃度を増すにつれて早くなる傾向があり、とくに病原菌の接種濃度が低い場合に明らかであった。各区のうちもっとも早く萎ちょう病徴が現われたのは、1ポットあたり線虫2000頭、病原菌20mgを混合接種した区で、接種8日後に発病が認められ、その後急速に症状が進展した。その他の線虫・菌混合接種区は、接種後12日から20日にかけて萎ちょう症状が現われ始め、次第に発病個体が増加した。

つぎに興津1号についての最終調査結果を第9表に示した。病原菌を単独接種した各区では、松戸ポンドローザの場合よりも接種濃度を高くしたにもかかわらず萎ちょう病は全くみられず、生育も旺盛であった。また線虫を単独接種したときの寄生状態は、接種濃度の増加に応じてゴール形成も顕著となり、松戸ポンドローザと比較して一層感受性が高く、茎葉部の生育は著しく抑制された。しかるに病原菌と線虫とを混合接種したときの各実験区では、いずれの接種濃度でも萎ちょう病の発病はま

ったく認められず、一部の区の供試個体にごく軽い導管褐変が認められたにすぎなかった。この結果から、萎ちょう病抵抗性品種の育種素材として利用性の高い興津1号それ自体は、ネコブセンチュウの寄生による抵抗性の消失はみられず、強い抵抗性を保持し得ることが明らかとなった。しかし本実験ではあくまでも接種後30日以内の幼苗期としての結果であり、最終的結論はさらに長期間栽培にわたる検討が必要である。

3 考 察

萎ちょう病菌とネコブセンチュウとの濃度別混合接種によって、萎ちょう病感受性品種の松戸ポンドローザにおける複合病の発現が確かめられ、両病原の接種濃度が増加すると発病は激化した。ネコブセンチュウの密度の増大によりフザリウム病や他の病害の発病が高まることはこれまでの報告でも指摘されており^(19,105)、本実験でも同様な結果が得られた。この実験で、萎ちょう病の発病は、線虫の接種濃度を変えた場合と比べて病原菌の接種濃度を変えた場合に変動があり、また菌による各種濃度間の発病の差も小さかった。これは、病原菌単独接種区での発病が少なかったことから考えて、設定した菌接種濃度の差が発病に影響をおよぼすほど大でなかったか、あるいは接種源が菌糸と分生孢子であるため溶菌するなど病原菌量が低下したためと考えられる。いずれにせよ萎ちょう病感受性品種での複合病の発現は、両病原の接種濃度に比例して著しく萎ちょう病の発病が増大することによって示され、一方萎ちょう病に対する強抵抗性品種では、両病原の接種濃度を増しても複合病が起こらないことが確かめられた。

Table 9 Appearance of disease symptoms in seedlings of wilt resistant tomato cultivar, Okitsu-ichigô inoculated simultaneously with different inoculum levels of each pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

<i>Fusarium</i> Inoculum ^{a)}	<i>Meloidogyne</i> ^{b)}	Wilt index (%)	Vascular browning index (%)	Gall index (%)	Plant height (cm)	Rate of defoliation (%)
0	0	0	0	0	23.6	0
0	1000	0	0	77.5	17.4	0.9
0	2000	0	0	91.7	15.3	11.6
20	0	0	0	0	27.1	0.5
20	1000	0	0	75.0	22.6	4.2
20	2000	0	0	87.5	17.7	19.1
40	0	0	0	0	26.8	0.3
40	1000	0	2.0	77.5	19.2	5.8
40	2000	0	0	90.0	17.5	12.7
80	0	0	0	0	25.2	0.3
80	1000	0	2.0	77.5	20.5	3.9
80	2000	0	0	82.5	18.5	15.5

Data were taken on 30 days after inoculation.

a) Dry weight (mg) of fungus inoculum per pot.

b) Number of second stage larvae per pot.

第2節 ネコブセンチュウと萎ちょう病菌との同時接種または時差接種による発病の変化

1. 実験材料ならびに方法

供試植物はさきの接種実験で明らかな複合病を生じた松戸ポンデローザを用いた。線虫および病原菌の接種源はともに前節と同じである。

実験は直径10cmの素焼鉢を用い、供試土壌(前の実験と同じ)を400gずつ入れ、これに催芽種子を3粒ずつ播種した。

実験区は、線虫と菌の接種時期を変えた混合接種6区のほか、それぞれの接種時期ごとに線虫または菌を単独接種した5区、および無接種区の合計12区である(第10表)。実験には1区3鉢を用い、2回くり返して行なった。両病原の接種量は全区それぞれ同一とし、1鉢あたり線虫が4000頭、菌が30mg(乾燥重量)とした。両病原の接種時期は、線虫については、トマト播種10日後もしくは26日後に所定の全頭数を一時に接種する場合(一括接種)と、播種10日後から4日おきに全頭数の5分の1ずつ5回接種する場合(分割接種)を設け、菌についてはすべて播種10日後もしくは26日後の一括接種とした。線虫・菌混合接種区における接種時期の組合わせは、同時または時差接種とし、同時接種では、供試植物の播種10日後または26日後のいずれかの時期に線虫と菌を一括接種する2通りを、時差接種では、播種10日後に線虫(全頭数)または菌のいずれかを接種してから26日後にそれぞれに対して菌または線虫を接種する場合(1括時差接

種)と、播種10日から26日後にかけて線虫を分括接種する際の最初かまたは最後に菌を接種する場合(分割時差接種)の4通りの方法をとった。

各接種区に対する両病原の接種方法は、いずれも1鉢あたり10mlずつ接種源懸濁液を地表から注ぎ、さらに十

Table 11 Appearance of symptoms in susceptible tomato seedlings, Matsudo-Ponderosa, inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita* under the various combinations.

Inoculation plot	Wilt index (%) ^{a)}	Gall index (%) ^{a)}	Initial wilt appearance ^{c)} (days)	Plant height (cm) ^{a)}
Cont.	0	0	—	28.6
Mi (10)	0	95.0	—	18.6
Mi (26)	0	86.1	—	28.2
Mi (10-26)	0	93.7	—	24.6
Fol (10)	42.5	0	24	29.5
Fol (26)	30.1	0	14	30.4
Mi+Fol (10)	100	— ^{b)}	8	— ^{b)}
Mi+Fol (26)	100	63.8	12	— ^{b)}
Mi (10)+Fol (26)	34.7	94.4	10	19.0
Fol (10)+Mi (26)	97.3	55.5	8	— ^{b)}
Mi (10-26)+Fol (10)	100	73.9	12	— ^{b)}
Mi (10-26)+Fol (26)	67.6	89.1	13	21.0

a) Data were taken on 25 days after final inoculation.

b) All seedlings died before final investigation.

c) Days required until initial wilt appearance after fungus inoculation.

Table 10 Plot construction for various inoculation of both *Meloidogyne incognita* (Mi) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) to wilt susceptible tomato seedlings.

Plot indication	Inoculation method	Inoculum sizes in each inoculation time (days) after seeding				
		10	14	18	22	26
Cont.	Noninoculation	—	—	—	—	—
Mi (10)	Mi alone, at a time	Mi 4000 ^{a)}	—	—	—	—
Mi (26)	Mi alone, at a time	—	—	—	—	Mi 4000
Mi (10-26)	Mi alone, at 5 times	Mi 800	Mi 800	Mi 800	Mi 800	Mi 800
Fol (10)	Fol alone, at a time	Fol 30 ^{b)}	—	—	—	—
Fol (26)	Fol alone, at a time	—	—	—	—	Fol 30
Mi+Fol (10)	Mi-Fol simultaneously, at a time	(Mi 4000 Fol 30)	—	—	—	—
Mi+Fol (26)	Mi-Fol simultaneously, at a time	—	—	—	—	—
Mi (10)+Fol (26)	Mi-Fol alternately, Mi inoculation at first	Mi 4000	—	—	—	(Mi 4000 Fol 30)
Fol (10)+Mi (26)	Fol-Mi alternately, Fol inoculation at first	Fol 30	—	—	—	Mi 4000
Mi (10-26)+Fol (10)	Mi inoculation at 5 times, Mi-Fol simultaneously at first only	(Mi 800 Fol 30)	Mi 800	Mi 800	Mi 800	Mi 800
Mi (10-26)+Fol (26)	Mi inoculation at 5 times, Mi-Fol simultaneously at last only	Mi 800	Mi 800	Mi 800	Mi 800	(Mi 800 Fol 30)

a) Number of second stage larvae of *Meloidogyne incognita*.

b) Dry weight (mg) of inoculum of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

分灌水を行なった。実験期間中供試植物はガラス室内で管理した。

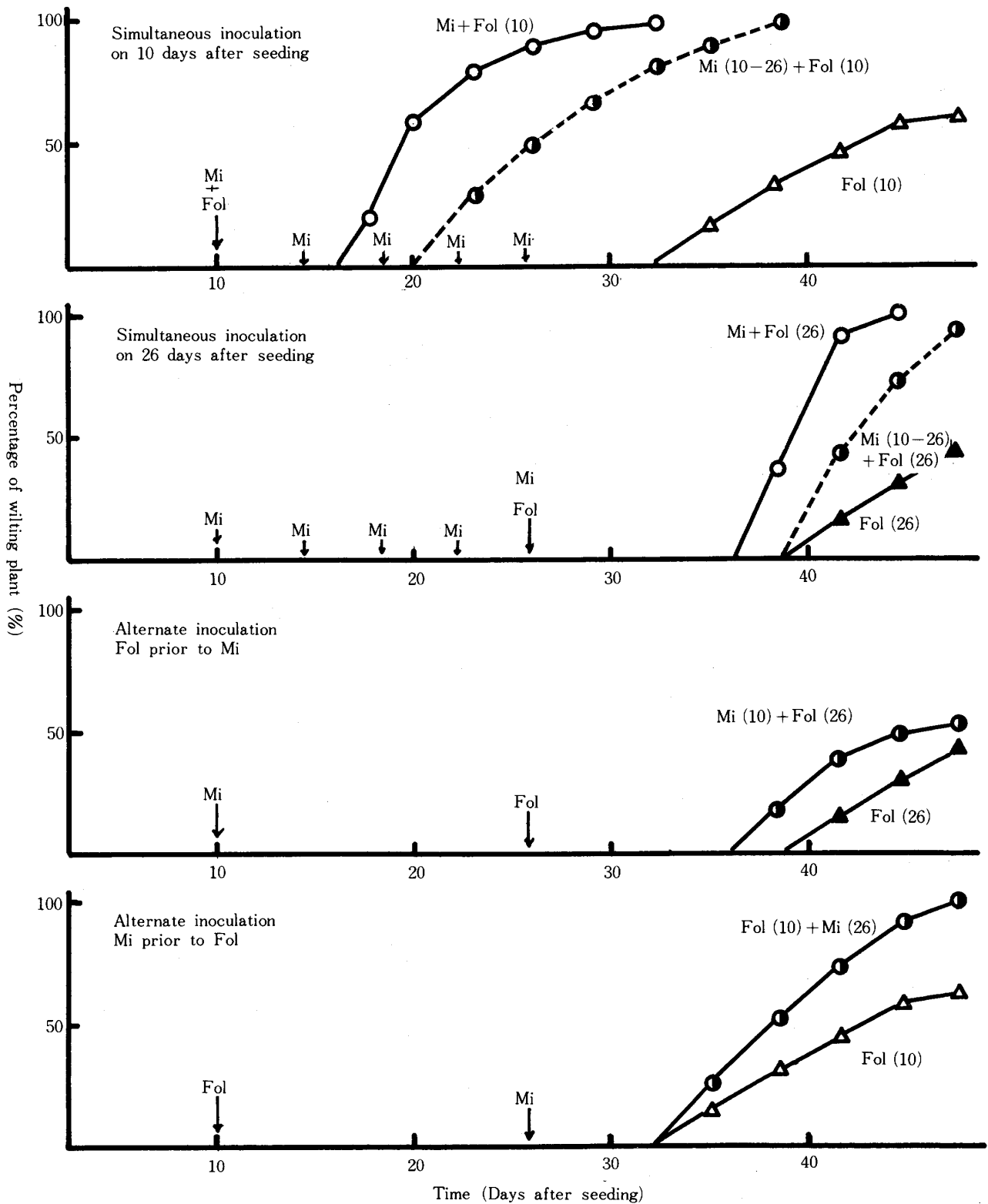
調査方法は、前節の実験とすべて同様である。実験終了後、ポット内の線虫密度をベールマン漏斗法（生土30

g, 3 反復）で調べた。

2. 実験結果

供試植物の播種51日後の調査結果を第11表に示した。期間中の発病推移は第7図のとおりである。菌単独接種

Fig. 7 Progress of wilt appearance in tomato seedlings inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita* under the various combinations.



区における萎ちょう病の発生は、接種時期によって病徴が現われるまでの期間に10日ほどの差が認められたが、その後の病勢の進展速度にはほとんど相違がなかった。

線虫・菌混合接種区の中で萎ちょう病の発病がもっとも顕著であったのは播種10日後または26日後に両病原を一括同時接種した場合であった(図版 I)。播種10日後接種区では接種してからわずか8日で病徴が認められ、同じ時期の菌単独接種区より16日早かった。また播種26日後接種区では接種11日後に初めて発病を認め、菌単独接種区より5日早かった。しかし初発後の病勢は播種26日後接種区においてむしろ激しく、一週間のうちに発病率が100%に達し、間もなく枯死する個体が多かった。

線虫と菌とを時差接種した場合は両病原の接種時期を変えることによって萎ちょう病の発病が大きく異なった。まず菌を接種してから16日後に線虫を一括した区では線虫接種8日後から萎ちょう病徴が現われ、以後急激な病勢進展により最終調査時の発病率100%、発病指数97.3%を示した。逆に線虫を先に一括接種し、病原菌を後から接種した区では、菌接種10日後から発病が認められ、その後の病勢進展も比較的緩く、最終調査時の発病率、同指数はそれぞれ55.0%、34.7%であった。また両病原の時差接種区で、線虫を播種後10日から26日にかねて分割接種し、その初回に菌を混合した区では、線虫の接種がすべて終了する以前(菌接種12日後)からすでに萎ちょう発病が認められ、播種10日後の線虫・菌一括同時接種区とくらべて病勢の進展は緩やかであったが、最終調査における発病率、同指数はともに100%に達した。一方線虫分割接種の最終回のとき菌を混合接種した区では、病徴が14日後に現われ、時差接種区の中でもっと

もおくれたが、その後病勢は急速に進展した。

最終調査時における供試植物のゴール指数をみると、播種10日後または26日後にネコブセンチュウを単独接種した各区のゴール指数はそれぞれ95.0%、86.1%できわめて高い寄生程度を示し、早くから線虫の寄生を受けた場合は地上部の生育が著しく抑制された。それに対して線虫・菌混合接種区では、萎ちょう病の発病にともなってそれぞれゴール指数が低下する傾向を示した。中でも播種10日後に菌を接種し、あとから線虫を一括接種した区のゴール指数は55.5%でもっとも低かった。そのほか播種26日後の線虫・菌同時接種区や、線虫を分割した初回に菌を混合接種した区でもゴール指数の低下が目立った。ゴール指数の低下は萎ちょう病が初発生ののち急速に病勢が進展した区でいずれも明らかであった。なお播種10日後の線虫・菌同時接種区では、最終調査の時点ですでに全個体が枯死していたため調査ができなかった。

第12表に全供試植物を掘り上げ後の土壌中の2期幼虫の密度を調べた結果を示した。この表では1ポットあたりの線虫数に換算し、接種後に対する増殖比で表わした。線虫・菌同時接種区あるいは菌を接種して16日後に線虫を時差接種した区ではそれぞれの同じ時期に線虫を単独接種した区よりも線虫密度が低かった。また逆の順序で線虫と菌を時差接種した区では線虫密度がやや増大する傾向を示した。とくに線虫を分割接種した区のうち、先に菌を接種したものでは、線虫のみを分割接種したものと比べて線虫密度が著しく低下したのに対して、菌を後から接種したものはかえって線虫密度が増大した。これらの結果は、萎ちょう病菌とネコブセンチュウとの相互作用が寄主植物における predisposition の違いによって複雑に変化することを示唆している。

3. 考 察

本実験では、ネコブセンチュウと萎ちょう病菌を同時あるいは時期をかえて接種した場合の発病の変化から両者間の相互作用の特徴を知ろうとした。供試植物における萎ちょう病の発病は、各実験区のうちで線虫と病原菌とを同時接種した場合にもっとも激しく、急速な病勢の進展が目立った。また時差接種を行なったものでは、さきに菌を接種して後から線虫を接種した場合の発病が同時接種したものと同じく激しかった。それとは対照的に、先に線虫を接種し、後に菌を接種した場合は、同時接種と比べて明らかに発病指数も低く、病勢の進展も相対的に緩やかであった。これら各区分での発病状態の変化は、両病原を接種する時期によりそれらの相互作用に何らかの差異があることを示している。各区とも両病原を接種して10日前後の比較的短期間のうちに発病し、それが急速に進むことから考えると、それぞれの病原が寄生体に

Table 12 Final population density of second stage larvae in soil of each inoculation plot after harvest of plants.

Inoculation plot	Final population of second stage larvae per pot ^{a)}	Rate of population growth to inoculum density
Cont.	0	—
Mi(10)	83125	20.8
Mi(26)	17556	4.4
Mi(19-26)	51870	13.0
Fol(10)	0	—
Fol(26)	0	—
Mi+Fol(10)	61845	15.5
Mi+Fol(26)	5719	1.4
Mi(10)+Fol(26)	89775	22.4
Fol(10)+Mi(26)	9576	2.4
Mi(10-26)+Fol(10)	21945	5.5
Mi(10-26)+Fol(26)	87780	21.9

a) Counted on the basis of number of second stage larvae recovered from 30 gram soil by Baermann funnel method.

侵入する過程からすでに相互に密接なかかわりがあるものと推察される。本実験に供試したトマト品種は、萎ちょう病 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, race J1) ならびに *Meloidogyne incognita* に対して感受性であり、それぞれの病原を単独で接種しても容易に感染し、発病する。しかも一般に知られるようにフザリウム病の多くは傷感染によって発病しやすい^(97,113)。一方ネコブセンチュウは2期幼虫が寄生体に侵入し、やがてゴールを形成するが、侵入に際して寄生細胞または組織に損傷を生ずることはしばしば指摘されている^(21,119,145)。したがって、これら二つの病原を同時に混合接種した場合に、単純な相互作用の形式として、線虫が菌の侵入を助長する働きをする可能性は、感受性品種である以上きわめて高いものと推察される。

また両病原の混合接種で急激に萎ちょう病が発生した場合、ゴール指数の低下が認められ、それに伴って土壌中の線虫密度も低下した。この事実は、絶対寄生者であるネコブセンチュウにとって、寄主植物における萎ちょう病の進展がマイナスに作用することを示している。また一方で、線虫より遅れて病原菌を接種した場合は、逆に寄主体内の線虫の発育を早め、線虫密度の増大をもたらす傾向がうかがわれた。これらの点については、さらに詳細に検討せねばならないが、いずれにしても寄主植物は萎ちょう病菌の感染をうけたことにより、ネコブセンチュウに対し何らかのストレスを与えることが推察され、複合病における相互作用の一面として注目しなければならない。

以上の実験結果は、既往の研究事例とは必ずしも一致しない。PORTERら⁽¹²⁵⁾は、ネコブセンチュウ (*Meloidogyne* spp.) と萎ちょう病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae*) によるタバコの複合病に関する実験で、両病原を同時接種するよりも線虫を接種してから2～4週間後に菌を接種したときに萎ちょう病が一層激しく起こることを示し、その発病機作について線虫が侵入する時点での病原菌との関連性は薄く、むしろネコブセンチュウの感染以後における寄主植物の生理的变化が病原菌の感染を容易にすると考え、寄主体の predisposition を重視した。同様な主旨の結論を支持する研究事例はほかにもある^(8,101,141)。この実験例と本実験結果を比較するとき注意すべき重要な点は、線虫の接種方法の違いがあげられる。PORTERら⁽¹²⁵⁾の実験では、ネコブセンチュウの接種源に卵塊を用いており、したがって菌との同時接種とはいえ、2期幼虫の孵化、遊出そして寄主体への侵入までには時間的にずれがある。本実験では、線虫の寄主根への侵入に要する時間のずれをそれぞれの接種区ごとに明らかに区別しようよう配慮し、あらかじめ孵化させた2期

幼虫を接種源として用いた。また接種方法についても、寄主体の生育に従いほぼ継続して線虫が侵入するように一定間隔で5回に分けて接種した場合(分割接種)と、一括接種した場合の2通りで行なった。このような実験方法の相違は、とくに線虫と菌との複合病に関する実験ではその結果にも大きく影響し、それぞれ違った現象をもたらすと考えられ、一概に結論だけを比べて論議することには問題がある。

他の一点は実験期間の問題である。本実験は、両病原を接種してから比較的短い期間で発病したので、播種後51日で実験を打切った。そのためネコブセンチュウの感染以後の生理的变化の影響を十分に追跡するには実験期間としてやや短かったことはいえない。しかし、ネコブセンチュウに感染した寄主植物の生理的变化は、ゴール形成にともなって進行し、生育適温下であれば接種後2週間以降には影響が現われ、寄主の生育は抑制されること⁽¹³⁾から、本実験で線虫の感染による生理的变化がまったく発病に関与しなかったとは考えられない。その点は、後に述べるゴール組織における病態解剖の観察結果からも指摘されることである。この実験に限っていえば、ネコブセンチュウと萎ちょう病菌とを同時接種した場合に起こる急激な発病の増加のため線虫の感染による寄主体の生理的变化の影響について判断しにくい結果となったと考えられる。

第3節 接種方法の違いによる萎ちょう病感受性品種と抵抗性品種との発病比較

前節の実験で、萎ちょう病感受性品種の場合についてネコブセンチュウと萎ちょう病菌との接種時点の違いによる発病の差異を明らかにした。本節では萎ちょう病抵抗性品種における発病の様相を検討するため以下の実験を行なった。

1. 実験材料ならびに方法

供試したトマトは、松戸ポンデローザ、強力米寿、豊錦の3品種(第2表参照)である。

接種源のネコブセンチュウには、第4章の実験圃場でトマトに寄生したサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) の卵塊を集め、清水中で孵化させた2期幼虫を用いた。

萎ちょう病菌は、研究室保存菌株をトマト(福寿2号)に接種して発病させ、その病株から得た再分離株を Czapek 液体培地で25°C10日間振とう培養し、ガーゼで濾過して用いた。

実験は直径15cmの素焼鉢で行なった。供試土壌は実験圃場で採取した褐色火山灰土に重量比で約1/20量の有機肥料を混ぜ合わせて素焼鉢に1kgずつ入れ、120°Cで30

分間蒸気滅菌した。これに消毒ずみの催芽種子を 5 粒ずつ播種した。

実験区は、線虫および菌のそれぞれ単独接種区、混合接種区、無接種区を基本とし、混合接種区には、線虫と菌との接種時点を異にする時差接種 2 区と、それぞれの接種時点に平行して同時接種 2 区を設けた。なお各病原を単独に接種した区も混合接種区の同じ接種時点に平行して 2 区を設けた。実験には 1 区につき 3 鉢を用いた。

両病原の接種量はすべて同一とし、1 鉢あたり線虫 10000 頭、菌 30mg (乾燥重量、分生孢子数 5.3×10^8 コと菌糸片を含む) とした。両病原とも全接種量をそれぞれ所定の時期に一括接種した。接種時期は、供試植物の播種 15 日あるいは 29 日後で、時差接種では 14 日間隔とした。接種に際しては、所定濃度に調整した各病原の浮遊液を 1 鉢あたり 50ml ずつ地表から注ぎ、さらに十分灌水を行なった。実験はビニールハウス内 (実験期間中の平均気温は 24.6°C) で実施した。

調査方法は前述と同じ手順でそれぞれの病徴を記録し、萎ちょう発病率、同指数、導管褐変指数、およびゴール指数を求めた。また供試植物の掘り取り後、根部および地際部茎の切片をつくり、サラシ粉飽和溶液で表面殺菌後 PSA 平板培地上におき、病原菌の検出を行なった。また根部はゴール箇所とそれ以外の部分についてそれぞれ褐変したものとしていないものに分けて分離に供した。鉢土壌内の線虫密度調査は植物体を掘り上げた後ベールマン漏斗法により行なった。

2. 実験結果

(1) 発病調査

調査結果を第 13 表と第 8 図に示す。トマト播種 15 日後に菌を接種した区は、地上部の萎ちょう病徴が著しかったが、播種 29 日後に接種した区では、萎ちょう症状を示した個体は僅かであった。そのため最終調査時の導管褐変株率により各区の感染状態を比較した。

供試した 3 品種のうち、萎ちょう病に感受性の松戸ボンデローザでは抵抗性の強力米寿、豊錦と比べて萎ちょう病の発生がきわめて激しかった。松戸ボンデローザの場合、播種 15 日後の菌単独接種区で病徴の発現が早く、最終時の萎ちょう発病率は 26.7% であり、播種 29 日後の菌単独接種区では外部病徴は認められなかったが、最終時の導管褐変株率で 66.7% を示した。一方、線虫・菌混合接種区の中では、播種 15 日後同時接種区の萎ちょう発病率がもっとも高く 66.7% であり、播種 29 日後同時接種区では外部病徴は軽かったが、最終時の導管褐変株率が 100% に達した。播種 15 日後にまず菌を接種し、その 14 日後に線虫を接種した区の萎ちょう発病もかなり激しく、最終調査時で発病率 40%、導管褐変率 90% となった。し

かしその逆の順序で接種した供試個体の発病率、導管褐変株率はいずれも低かった。根のゴール指数は、播種 15 日および 29 日後に接種した供試個体はそれぞれほぼ 90%、60% で、接種時期が同じ各区間に大きな違いは認められなかった。

つぎに強力米寿の場合は、単独接種区では接種時期にかかわらず地上部の病徴はまったく現われず、導管褐変した個体が少数認められたにすぎなかった。線虫・菌混合接種区のうち、播種 15 日後同時接種区では、接種 9 日後から萎ちょう病徴が現われ、最終時の発病率は 53.3%、導管褐変株率で 71.4% を示した。播種 29 日後同時接種区では萎ちょう症状はまったく生じなかったが、導管褐変株率は 66.7% であった。また時差接種区では、始めに菌を、14 日後に線虫を接種した区の導管褐変株率が 100% を示したのに対し、それらを逆の順序で接種した区では、14.2% と低かった。根のゴール指数は、松戸ボンデローザにおける各接種区の傾向とほとんど変らなかった。

豊錦については、いずれの実験区の供試個体も地上部に萎ちょう症状が認められなかったので最終調査時における導管褐変株率によって感染の程度を比較した。播種 15 日後菌単独接種区の導管褐変株率は 28.6% と低く、29 日後接種区では全く導管褐変株が認められなかった。線虫・菌混合接種区では、播種 15 日後同時接種区より 29 日後同時接種区の導管褐変株率が著しく高かった。また時差接種区では、始めに菌を接種し、14 日後に線虫を接種した区の導管褐変株率は 50% であったが、それらを逆の順序で接種した区では 0% であった。根のゴール指数はほかの 2 品種のそれと大差がなかった。

(2) 病原菌および線虫の検出調査

罹病個体から部位別に病原菌の検出を行なった結果は第 14 表に示すとおりである。線虫・菌混合接種区で導管褐変した茎組織片からの菌検出頻度は、品種または接種方法を問わずいずれも 100% であり、病原菌の存在が認められた。しかし菌単独接種区の方法からは、松戸ボンデローザでは高頻度で菌が検出されたのに対し、強力米寿、豊錦では、やや低かった。また導管に異常が認められない個体の茎組織片からは、3 品種とも病原菌は検出されなかった。ゴール組織から病原菌が検出される頻度は、変色した組織片では全般に高かったが、その場合 *Trichoderma* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp. など他の糸状菌類が同時に検出され、材料により差異が著しかった。変色がみられないゴール組織からの病原菌の検出頻度はきわめて低かった。またゴール組織以外の変色した根の切片では、病原菌の検出頻度は全体的には低かったが、変色ゴール組織に近い部位の根からは高い割合で病原菌

Table 13 Comparison of the wilt occurrence in seedlings of different tomato cultivars inoculated with both *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita* under the various combinations.

Inoculation plot	Wilting ^{a)}		Vascular browning ^{a)}		Gall ^{a)} index (%)	Plant ^{a)} height (cm)
	Percentage	Index (%)	Percentage	Index (%)		
[Matsudo-Ponderosa]						
Cont.	0	0	0	0	0	43.2
<i>Mi</i> (15), alone ^{b)}	0	0	0	0	92.5	39.5
<i>Mi</i> (29), alone	0	0	0	0	57.5	40.1
<i>Fol</i> (15), alone ^{c)}	26.7	13.3	62.2	37.5	0	38.6
<i>Fol</i> (29), alone	0	0	66.7	33.0	0	41.2
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (15) simultaneously	66.7	37.5	88.9	52.8	81.3	35.0
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (29) simultaneously	6.7	0.7	100	75.0	59.4	35.9
<i>Mi</i> (15)+ <i>Fol</i> (29) ^{e)} alternately	6.7	0.7	42.8	17.8	91.6	37.3
<i>Fol</i> (15)+ <i>Mi</i> (29) ^{f)} alternately	40.0	8.7	90.0	52.5	60.0	38.8
[Kyoryoku-beijyu]						
Cont.	0	0	0	0	0	40.0
<i>Mi</i> (15), alone ^{b)}	0	0	0	0	90.6	35.3
<i>Mi</i> (29), alone	0	0	0	0	60.0	36.7
<i>Fol</i> (15), alone ^{c)}	0	0	13.3	5.6	0	39.6
<i>Fol</i> (29), alone	0	0	22.3	9.7	0	37.4
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (15) simultaneously ^{d)}	53.3	40.0	71.4	39.3	85.4	28.0
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (29) simultaneously	0	0	66.7	33.8	57.5	31.4
<i>Mi</i> (15)+ <i>Fol</i> (29) ^{e)} alternately	0	0	14.2	3.5	89.6	34.1
<i>Fol</i> (15)+ <i>Mi</i> (29) ^{f)} alternately	6.7	1.3	100	45.0	55.0	32.6
[Toyonishiki]						
Cont.	0	0	0	0	0	31.8
<i>Mi</i> (15), alone ^{b)}	0	0	0	0	90.4	28.8
<i>Mi</i> (29), alone	0	0	0	0	52.2	32.3
<i>Fol</i> (15), alone ^{c)}	0	0	28.6	15.0	0	35.2
<i>Fol</i> (29), alone	0	0	0	0	0	34.4
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (15) simultaneously ^{d)}	26.7	17.3	50.0	20.0	84.1	26.7
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (29) simultaneously	0	0	100	62.5	62.0	33.5
<i>Mi</i> (15)+ <i>Fol</i> (29) ^{e)} alternately	0	0	0	0	91.7	30.4
<i>Fol</i> (15)+ <i>Mi</i> (29) ^{f)} alternately	0	0	50.0	33.0	57.5	33.9

a) Data were taken on 26 days after final inoculation.

 b) Ten thousands individuals of second stage larvae were inoculated per pot at a time on 15 days after seeding. Same inoculum level was given to all plots which should be inoculated with *Meloidogyne incognita*.

 c) Thirty mg (dry weight) of fungus inoculum was inoculated per pot at a time on 15 days after seeding. Same inoculum level was given to all plots which should be inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

d) Each pathogen was inoculated on 15 days after seeding.

 e) *Meloidogyne* larvae inoculated 14 days prior to *Fusarium* inoculation.

 f) Fungus inoculum inoculated 14 days prior to *Meloidogyne* inoculation.

が検出された。しかし変色していない外観正常とみられる根から検出される糸状菌は、*Penicillium* spp.などの土壌糸状菌の頻度が高かった。

一方土壌中のネコブセンチュウ密度は、播種15日後に線虫接種した区のいずれの品種も最終調査時にはかなり

の卵塊を形成しており、それを反映して2期幼虫の密度は著しく高かった。しかし播種29日後に線虫接種した区では卵塊の形成は稀であり、したがって土壌中から検出される線虫密度もきわめて低かった。各接種区の線虫密度にはさほど大きな差異はないが、線虫単独接種区に比

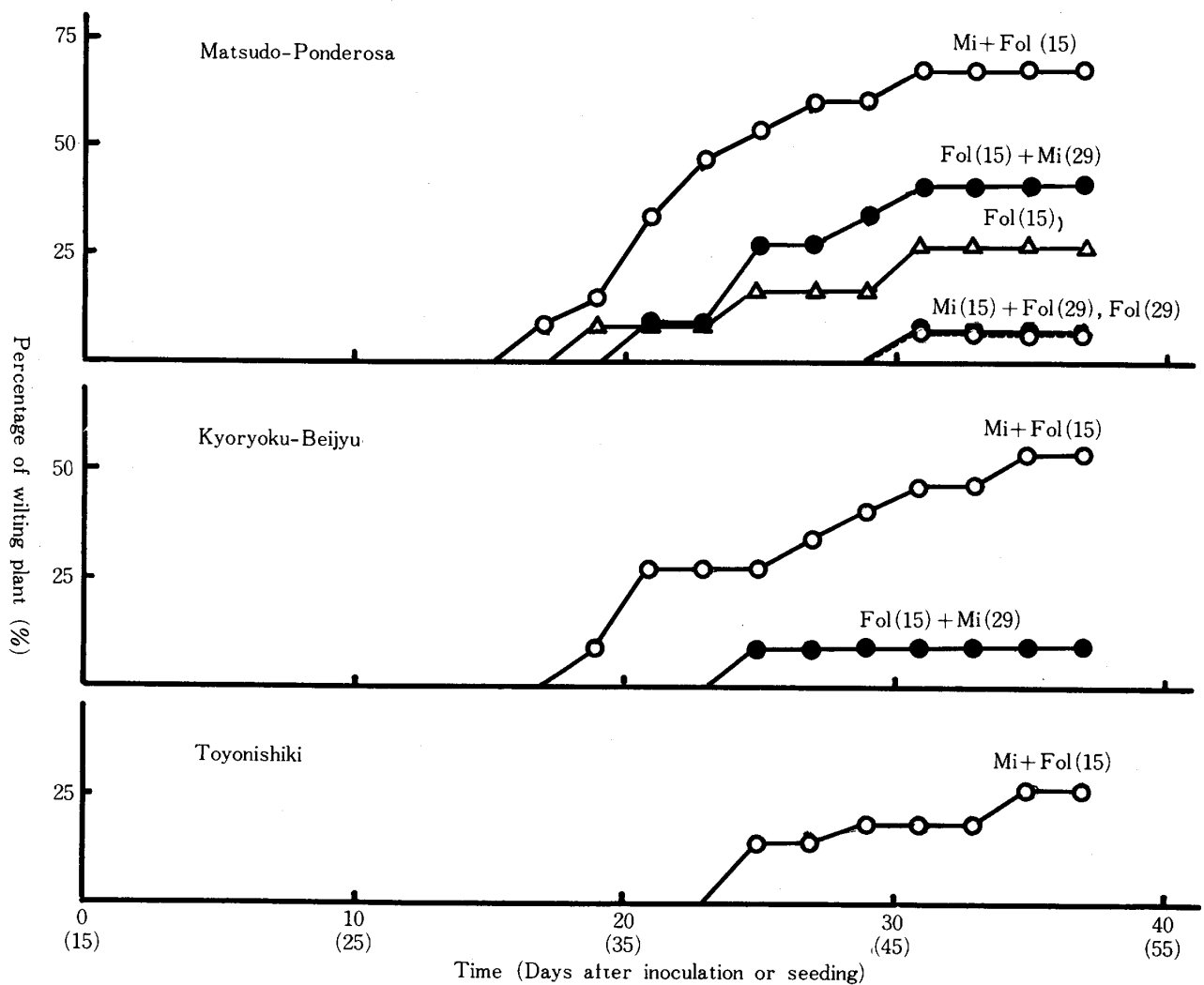


Fig. 8 Progress of wilt appearance in tomato seedlings of different cultivars inoculated simultaneously or alternately with both *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

べて播種15日後線虫・菌同時接種区でやや低下する傾向を示した。

3. 考 察

本実験に供試した萎ちょう病感受性品種松戸ポンデローザと抵抗性品種強力米寿および豊錦とでは、萎ちょう病の激しさに明瞭な差が認められたが、各接種区間の病徴の発現状況を比較すると、ともに類似した傾向を示した。いずれの品種も、播種15日あるいは29日後に線虫と菌とを同時接種するか、菌を接種したのちに線虫を時差接種したときに病徴が激しかった。このことは、線虫と病原菌を同時に接種した寄主植物は、たとえ萎ちょう病抵抗性品種であっても感受性品種と同じように線虫の侵入とともに菌が感染して寄主体の抵抗性が失われ、発病が増大する可能性を示している。その場合、萎ちょう病抵抗性品種における発病の激化は、必ずしも感受性品種での同時接種による発病増加と同じ考え方で論ずること

はできない。感受性品種では、線虫の加害により病原菌に対する寄主体の侵入抵抗が弱まったために発病が増加することはあっても、抵抗性品種では単に寄主体の侵入抵抗が弱まるだけで発病の増大を説明するわけにはいかない。とくに単一優性遺伝子に支配される強抵抗性品種であればいうまでもない。既往の研究では、ネコブセンチュウと萎ちょう病菌との混合接種による抵抗性の低下は、線虫を前接種したときの感染植物体における生理的变化に伴って発現するという^(101,125,141)。しかし、本実験のように線虫と菌を同時接種したときでも発病が増加したことから考えると、両者の寄主体侵入時における相互作用は品種の萎ちょう病抵抗性とはかかわりなく、極めて重要な意義をもつものと推察される。また両者を同時に接種した植物体でも、時間の経過とともにゴール形成がみられ、それに伴う生理的变化が起こり、発病の増加に影響を及ぼすと考えられるが、本実験の結果から

Table 14 Frequency of reisolation of the fungus inoculum in stem and root tissues, and final population density of second stage larvae in soil.

Inoculation plot	Stem Dis- colored	Nondis- colored	Galled root Dis- colored	Nondis- colored	Nongalled root Dis- colored	Nondis- colored	Final density of larvae
[Matsudo-Ponderosa]							
Cont.	—	0	—	—	0	0	0
<i>Mi</i> (15), alone	—	0	0	0	0	0	1855
<i>Mi</i> (29), alone	—	0	0	0	0	0	32.6
<i>Fol</i> (15), alone	100	0	—	—	30	5	0
<i>Fol</i> (29), alone	100	0	—	—	25	10	0
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (15) simultaneously	100	0	90	15	75	5	1671
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (29) simultaneously	100	0	95	5	90	20	26.0
<i>Mi</i> (15) + <i>Fol</i> (29) alternately	100	0	80	5	66.7	5	1745
<i>Fol</i> (15) + <i>Mi</i> (29) alternately	100	10	100	25	85	10	17.0
[Kyōryoku-beijyu]							
Cont.	—	0	—	—	0	0	0
<i>Mi</i> (15), alone	—	0	0	0	0	0	1563
<i>Mi</i> (29), alone	—	0	0	0	0	0	24.0
<i>Fol</i> (15), alone	66.7	0	—	—	15	0	0
<i>Fol</i> (29), alone	60	0	—	—	20	0	0
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (15) simultaneously	100	0	80	0	25	0	1287
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (29) simultaneously	100	0	100	5	15	10	28.0
<i>Mi</i> (15) + <i>Fol</i> (29) alternately	100	0	75	5	20	0	1618
<i>Fol</i> (15) + <i>Mi</i> (29) alternately	100	0	100	10	30	15	35.3
[Toyonishiki]							
Cont.	—	0	—	—	0	0	0
<i>Mi</i> (15), alone	—	0	0	0	0	0	1941
<i>Mi</i> (29), alone	—	0	0	0	0	0	25.3
<i>Fol</i> (15), alone	50	0	—	—	0	0	0
<i>Fol</i> (29), alone	—	0	—	—	0	0	0
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (15) simultaneously	100	0	80	0	15	0	1507
<i>Mi</i> + <i>Fol</i> (29) simultaneously	100	—	100	50	10	0	22.6
<i>Mi</i> (15) + <i>Fol</i> (29) alternately	—	0	35	0	10	10	1715
<i>Fol</i> (15) + <i>Mi</i> (29) alternately	100	0	100	15	15	0	30.6

a) Indication of each inoculation plot is the same with those of Table 13.

b) Data indicate percentage of reisolation of fungus inoculum in 15 to 20 tissue pieces used for each material.

c) Number of second stage larvae recovered from 30 gram soil by Baermann funnel method.

はその実態を明らかにし得なかった。

本実験で線虫と菌の時差接種のうち、病原菌を先に接種し、14日後に線虫接種を行なった場合に萎ちょう病の外部位徴もしくは内部病徴の発現がその逆の順序で接種した場合より明らかに激しかった。この傾向は供試したいずれの品種にも共通しており、前節で示した時差接種の発病傾向と同じであった。このことは、病原菌を接種したのちの寄主根圏での病原菌の活性にかかわりがある

と推察される。また病原菌に汚染された寄主根に対して線虫の侵入数が増すこともあり^(31,32,33)、混合感染が起こりやすい状態が想定される。しかしこの実験では供試個体の発病段階での観察に主眼をおいたため、それらのことを裏付ける結果は得ていない。また播種29日後に接種を行なったのちでは次第に気温が低下したため、病原菌自体の活動条件が悪化したことも発病傾向に影響しているものと考えられる。

第 4 節 生育日数の異なるトマト苗でのネコブセンチュウと萎ちょう病菌とによる複合病の発現

トマトの生育時期による複合病の発現の差異を明らかにするため、生育日数を異にした幼苗を用いて、ネコブセンチュウと萎ちょう病菌との混合接種を行なった。

1. 実験材料ならびに方法

トマトの供試品種は松戸ポンデローザを用いた。

ネコブセンチュウは第 1 節の実験で用いた材料と同じ

分離源から得たサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) を供試した。接種源はトマトの根に寄生した線虫の卵塊を集め、井水に 10 日間浸し、孵化した 2 期幼虫をまとめて所定濃度の浮遊液を調製した。萎ちょう病菌は、第 1 節の接種実験の発病個体から再分離した菌株を用い、Czapek 液体培地で 24°C 7 日間振とう培養した菌体を洗浄、濾過後、所定濃度の浮遊液を調製した。

土壌は褐色火山灰土壌で直径 10cm の素焼鉢に入れて

Table 15 Disease incidence in tomato seedlings inoculated with both *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* or with alone of each pathogen at the different ages of seedlings.

Age of seedling inoculated	Inoculation plot	Wilt percent ²⁾	Wilt index ^{a)}	Vasc. browning index ^{a)}	Gall index ^{a)}
		%	%	%	%
0 day old (at seeding)	Non-inoculation	0	0	0	0
	Mi alone ^{b)}	4.2	3.1	0	53.1
	Fol alone ^{c)}	33.3	22.9	31.3	0
	Mi (0) Fol ^{d)}	50.0	41.7	65.6	50.0
	Mi (7) Fol ^{e)}	41.7	27.1	36.5	60.4
	Fol (7) Mi ^{f)}	79.2	57.5	78.7	43.8
8 day old	Non-inoculation	0	0	0	0
	Mi alone	0	0	0	65.6
	Fol alone	16.7	10.4	12.5	0
	Mi (0) Fol	100	100	—	50.0
	Mi (7) Fol	50.0	26.0	36.5	52.1
	Fol (7) Mi	50.0	43.8	49.0	54.2
15 day old	Non-inoculation	0	0	0	0
	Mi alone	0	0	0	75.0
	Fol alone	20.8	12.5	28.1	0
	Mi (0) Fol	91.7	75.0	87.5	51.0
	Mi (7) Fol	25.0	32.3	33.3	58.3
	Fol (7) Mi	45.8	39.2	43.8	37.5
22 day old	Non-inoculation	0	0	0	0
	Mi alone	0	0	0	71.9
	Fol alone	22.9	14.6	29.2	0
	Mi (0) Fol	100	76.0	85.8	56.3
	Mi (7) Fol	29.2	27.1	26.0	60.0
	Fol (7) Mi	79.2	38.5	45.8	40.6
29 day old	Non-inoculation	0	0	0	0
	Mi alone	0	0	0	68.8
	Fol alone	50.0	16.7	28.8	0
	Mi (0) Fol	100	72.9	70.8	52.1
	Mi (7) Fol	41.7	20.8	24.0	68.8
	Fol (7) Mi	100	53.1	54.2	35.4
36 day old	Non-inoculation	0	0	0	0
	Mi alone	0	0	0	52.1
	Fol alone	79.2	24.0	36.5	0
	Mi (0) Fol	100	71.9	60.4	47.9
	Mi (7) Fol	26.7	14.6	19.8	58.3
	Fol (7) Mi	100	28.1	44.8	41.7

a) Data were taken on 30 days after final inoculation.

b) Three thousands individuals of second stage larvae were inoculated.

c) Twenty mg (dry weight) of fungus inoculum was inoculated.

d) Each pathogen was inoculated simultaneously.

e) *Meloidogyne* inoculated 7 days prior to *Fusarium* inoculation on the given age.

f) *Fusarium* inoculated 7 days prior to *Meloidogyne* inoculation on the given age.

蒸気滅菌したのち使用した。供試トマトは線虫と菌との接種を同一日にそろえるため、前もって播種時期をずらし、0日(播種当日)、8日、15日、22日、29日、36日の実生苗を用いた。種子は methoxy-ethyl-mercury-chloride 40 ppm 溶液で浸漬消毒後1鉢3粒ずつ播種した。

実験区の構成は、線虫単独、菌単独、線虫・菌混合の各接種区と無接種区を基本とし、さらに線虫・菌混合接種の場合は同時接種区と、7日間隔で線虫と菌とを交互に組合わせた時差接種区を設けた。

接種方法は、線虫を1鉢あたり2期幼虫で3000頭、病原菌は菌体乾燥重量で20mg(小型分生孢子数 5.5×10^8 コおよび菌糸片を含む)相当の濃度となるよう、駒込ピペットを用い10mlの懸濁液として注いだ。接種後十分灌水を行ない、接種源の分散を促した。実験は1区4鉢を用い、供試植物はビニール室内(実験中の平均気温は26.4°C)で管理した。

調査は接種後約1ヶ月間にわたって萎ちょう病の発病経過を観察し、最終時に全供試個体を掘り上げて、ネコブセンチュウの寄生状態、茎導管褐色変症を記録した。

2. 実験結果

発病調査の結果は第15表に示すとおりである。生育日数のことなるトマトに菌を単独接種した区の萎ちょう病の発病は、苗令の進んだ個体ほど増し、とくに播種後29日、36日のものでは発病率は著しく高くなった。ただし播種当日接種したものは発病率、同指数、導管褐色変指数とも若干高く、他の苗令のものにみられた発病状況の変化とは異なっていた。

線虫・菌混合接種区の中で発病がもっとも顕著に現われたのは同時接種した場合であり、播種当日接種した区以外はいずれも発病が激しかったため、各苗令ごとの発病率の比較が困難であった。しかし各区の最終調査時における枯死株率を比べてみると、接種時の苗令の違いにより一定の傾向を示し、8日、15日、22日、29日、36日と令が増すにつれてそれぞれ枯死株率は80%、33%、24.6%、20%、16.7%と順次低下した(第9図)。とくに苗令が8日のトマトに線虫と菌を同時接種したものでは、接種後8日目から病徴が現われ、その後の病勢進展は極度に速かった。苗令が15~36日のものでは、病徴の初発生が接種後12~14日であり、病勢の進展も苗令の進んだもので緩やかとなった。しかし播種当日に線虫と菌を同時接種したトマトの発病率、同指数そして導管褐色変指数はいずれも他のものより低かった。

同時接種に次いで発病が激しかったのは、菌を接種してから7日後に線虫を接種した場合であり、生育日数が8日以上いずれの苗令トマトにおいても同様であっ

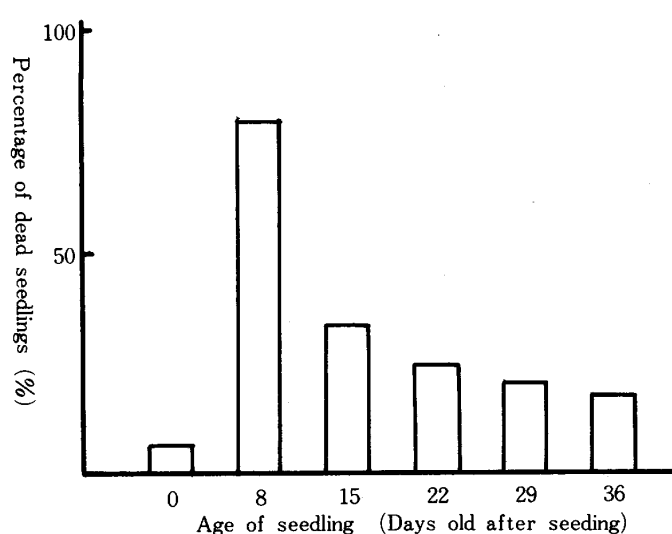


Fig. 9 Percentage of dead seedlings in wilt susceptible tomato cultivar inoculated simultaneously with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita* at the different ages of seedlings.

た。それらのうち苗令が29日以上トマトでは発病率が100%に達したが、病徴の程度は比較的軽く、導管褐色変指数も50%前後にすぎなかった。ただし播種当日に菌を接種して7日後に線虫を接種した場合には、線虫と菌とを同時接種したものより発病が激しかった。

線虫と菌を混合接種した中で、発病が比較的少なかったのは線虫接種7日後に菌を接種した場合であり、とくに苗令が15日以上経過した供試個体では病徴の発現がおそく、発病指数、導管指数も低下した。

一方ネコブセンチュウの寄生状態をみると、線虫単独接種区では、生育日数が15日の苗令トマトにおいてゴール指数がもっとも高く、苗令がより若い、あるいは進むにつれてゴール指数は低下した。また線虫と菌とを混合接種した場合には、生育日数が8~29日のときに同時接種したトマトにおいていずれも単独接種区と比較してゴール指数が低かった。

3. 考察

この実験で、ネコブセンチュウと萎ちょう病菌との混合接種による萎ちょう病の発病は、両病原の同時接種によって著しく増大することが一層明らかになった。接種時の生育日数が異なるいずれのトマトにおいても同様な結果が得られた。病原菌単独接種の場合には、接種時の苗令が進んだものほど感染の割合が高まる傾向を示したのに対し、線虫と菌との同時接種の場合には、接種時の苗令にはかかわりなく感染を起こし、しかもその発病は苗

令が若い植物体において著しく、枯死株率が高かった。このことは、供試個体の苗令によってネコブセンチュウの寄生状態に差異がある点とあわせて注目しなければならない。播種後2～3週間経過したトマトでは、線虫単独接種区のゴール指数がかなり高い数値を示したことから、接種された2期幼虫が比較的短い期間内に高い効率で侵入しうだけの根が生育していたと推察される。しかし苗令がさらに進み根の生育が旺盛となるにつれて線虫の侵入密度が相対的に薄まり、その結果見かけ上ゴール指数の数値が低まったものと考えられる。こうした植物体の苗令による線虫の寄生状態の差は、病原菌との混合感染が起こりうる機会に直接影響するものと推察される。線虫と菌とを同時接種したトマトでは、生育日数が8日のごく幼い苗令時に接種されたもので病徴の発現、病勢進展が早く、短期間で枯死した株が多かった。この場合線虫と菌との混合感染は、寄主体自身の抵抗力と密度に関係することが考えられ、苗令の若いもののほど発病が顕著に助長されたものとみなされる。

また播種と同時に線虫と菌を混合接種した場合は、植物体の根がいまだ生育していない段階であるので、両病原の接種時期を変えた時差接種の影響は生育の進んだ植物体に対して接種を行なった場合とは発病の状況も異なっている。このときの寄主体における感染は、線虫よりもむしろ菌が先行して展開する傾向がうかがわれ、そのことは、菌と線虫とを同時接種した場合よりも、菌を先に接種したときにかなり発病が増大する結果から推察される。

第5節 ネコブセンチュウの接種源の相違による複合病の発現の変化

これまでの実験では、ネコブセンチュウの接種はいずれの場合も2期幼虫を用いて行なったが、既往の多くの研究ではしばしば卵塊のまま供試する方法がとられている。こうした接種源の相違は、寄主体への侵入時期に差異を生ずる可能性があり、さらに発病傾向にも影響することも考えられる。そこで、ネコブセンチュウの接種源の相違によって複合病の発現がどのように変化するかを知るため実験を行なった。

1. 実験材料ならびに方法

供試品種として *M. incognita* および *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (race J1) の両方に感受性を示す福寿2号を用いた。

ネコブセンチュウは前節と同一個体群のサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) を供試し、その卵塊または2期幼虫をそれぞれ比較のための接種源とした。卵塊は、トマトに寄生した線虫がゴール表面に形成した

外観のほぼ同じ大きさのものを選んで集め、接種するまで冷蔵庫(6℃)中に保存した。2期幼虫は、あらかじめトマトの根から単離した卵塊を井水中に浸漬し、10日間で孵化したものを集めた。

萎ちょう病菌は、前節の実験で供試した再分離株を用い、Czapek 液体培地で10日間振とう培養した菌体を洗浄、濾別し、所定濃度の孢子浮遊液を調製した。

実験には直径10cmの素焼鉢を用い、褐色火山灰土壌を入れ、蒸気滅菌後 methoxy-ethyl-mercury-chloride 40 ppm 溶液で消毒したトマト種子を3粒ずつ播種した。

実験区は、ネコブセンチュウの接種源の形態別にこれまでの実験と同じく線虫または菌の単独接種区、混合接種区、無接種区を基本とし、混合接種の場合は、線虫・菌同時接種区と10日間隔の時差接種区とした。

接種に際し、ネコブセンチュウの卵塊を用いるときには、供試卵塊から孵化する2期幼虫の概数を知るため、前もって10コの卵塊を時計皿にとり、井水中で毎日遊出する幼虫を数え、20日間の累計頭数を求めた。一方2期幼虫頭数は、卵塊から孵化する推定頭数とほぼ同数とした。

接種方法は、ネコブセンチュウの卵塊では1鉢あたり10コとし、鉢内土壌4ヶ所に棒で穴をあけ、2～3コずつ埋めた。一方の2期幼虫は、前述した予備調査にしたがって1鉢あたり4800頭を10mlの浮遊液として地表面から注いだ。病原菌は、菌体乾燥量で1鉢あたり小型分生孢子数 5.8×10^8 コを含む10mlの浮遊液を駒込ピペットで注ぎ、接種後十分に散水した。実験には1区5鉢を用い、供試植物はビニールハウス内(平均気温26.8℃)で管理した。

調査は、接種後約1ヶ月にわたり前の実験と同様に行なった。なお、線虫接種後のポット内での密度変化を調べるため、別に設けた同じ条件の鉢から7日ごとに土壌を採集し、ベールマン漏斗法により線虫の検出を行なった。

2. 実験結果

調査結果は第16表に示すとおりで、線虫の接種源の違いにより、萎ちょう病徴の発現時期、病勢進展の速さ、各接種区間の発病傾向などに明らかな差異がみられた。2期幼虫を用いた場合と卵塊を用いた場合の線虫・菌同時接種区における萎ちょう病の発病を比べると、前者では接種9日後から急速に病徴が現われ、最終調査時の発病株率、同指数がそれぞれ100%、91.7%と激しかったのに対して、後者では接種16日後から緩やかに病徴が進展し、最終調査時の発病株率、同指数はそれぞれ46.7%、21.6%にとどまった。また線虫・菌時差接種区の発病傾

Table 16 Effect on the wilt appearance of tomato seedlings inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita* by using second stage larvae or egg-masses as inoculum of root-knot nematode.

Inoculation plot	Wilt occurrence Percentage ^{a)}	Index (%) ^{a)}	Vascular browning index (%) ^{a)}	Gall index (%) ^{a)}
Cont.	0	0	0	0
<i>Fol</i> (10), alone ^{b)}	13.3	5.0	8.3	0
<i>Fol</i> (20), alone	20.0	11.7	13.3	0
<i>Mi</i> -larvae(10), alone ^{c)}	0	0	0	85.0
<i>Mi</i> -larvae(20), alone	0	0	0	58.3
<i>Mi</i> -egg-mass(10), alone ^{d)}	0	0	0	48.3
<i>Mi</i> -egg-mass(20), alone	0	0	0	33.9
<i>Mi</i> -larvae+ <i>Fol</i> (10) simultaneously	100	91.7	93.3	76.7
<i>Mi</i> -egg-mass+ <i>Fol</i> (10) simultaneously	46.7	21.6	25.0	43.2
<i>Mi</i> -larvae(10)+ <i>Fol</i> (20) alternately	40.0	26.7	35.0	88.3
<i>Mi</i> -egg-mass(10)+ <i>Fol</i> (20) alternately	40.0	18.3	21.6	44.9
<i>Fol</i> (10)+ <i>Mi</i> -larvae(20) alternately	93.3	70.0	86.6	63.3
<i>Fol</i> (10)+ <i>Mi</i> -egg-mass(20) alternately	26.7	20.0	30.0	35.0

a) Data were taken on 30 days after each inoculation.

b) Twenty mg(dry weight) of fungus inoculum was inoculated on 10 days after seeding.

c) Four thousands and eight hundreds individuals of second stage larvae were inoculated on 10 days after seeding.

d) Ten egg-masses of *M. incognita* were inoculated on 10 days after seeding.

向をみると、両者の接種順序で差異があり、線虫を菌より10日前に接種した場合は、2期幼虫を接種したトマトと卵塊接種のものとの発病の程度は大差がなく、かつ発病株率、同指数は概して低かった。しかし菌を線虫より10日前に接種した場合は、2期幼虫接種のもので発病株率が93.3%と高く、急激に病勢が進展したのに対して、卵塊接種では発病株率が26.7%、同指数も20.0%と極めて低かった。

最終調査時における根のゴール指数は、各実験区とも2期幼虫を接種したものの方が卵塊を接種したものより高い傾向を示し、幼虫接種により寄主体への侵入がより早く起こったことをものがたっていた。

トマトの播種10日後に2期幼虫または卵塊を単独接種した場合の土壌中における線虫密度は、第10図に示したように、2期幼虫接種区では接種後3日目から10日目にかけて急激に減少し、その後はほぼ横ばいの状態であったのに対して、卵塊接種区では、接種3日後の土壌中における幼虫密度はごく低く、その後10日に最大となった

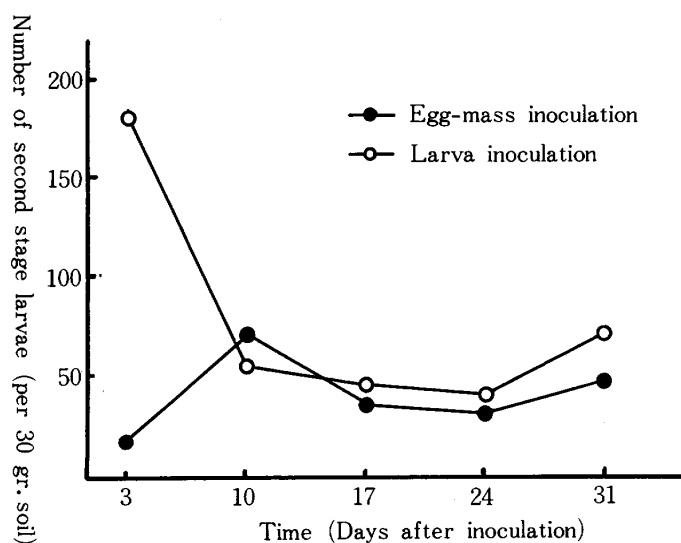


Fig. 10 Comparison of population fluctuation of second stage larvae in tomato-planted soil inoculated with egg-masses or hatched larvae as inoculum of *Meloidogyne incognita*.

ものの期間中の密度の変動は全般に少なかった。

3. 考察

ネコブセンチュウと萎ちょう病菌との混合接種において、線虫の接種源が2期幼虫の場合と卵塊の場合とでは、萎ちょう病の発病傾向に顕著な相違のあることが明らかになった。卵塊接種では、2期幼虫接種に比べて各実験区間の発病の差異が左程著しくなく、線虫と菌とを同時接種したものでも、それらを交互に時差接種したものでも発病指数や導管褐変指数の変化は少なかった。これは、卵塊接種したときに卵が孵化し、多くの2期幼虫が活動を始めるのに時間的な幅があり、土壌中での密度の増大がおくれ、また寄主体への侵入時期にもずれを生じ、そのため線虫と菌との同時接種を行なった場合でも、実際には時差接種した場合と類似した結果となり、各実験区間の差異が明らかにならなかったものと推察される。一方2期幼虫を接種したときは、土壌中の一時的な密度の高まりによって寄主体への侵入が時間的にかなり偏って起こるものとみられ、そのために、たとえば集団的な同時侵入に伴う組織破壊や根の伸長阻害などをもたらすことが考えられる。こうしたネコブセンチュウの接種源の形態による寄主体への侵入状況の微妙な差異が、萎ちょう病の発病と密接にかかわっているものと推察される。また接種する線虫の形態の違いによる発病傾向の変化を知ることにより、別の角度から複合病の感染機構についての手がかりが得られるかもしれない。

第6章 サツマイモネコブセンチュウと萎ちょう病菌との混合感染の経過と複合病の発病

これまでネコブセンチュウと萎ちょう病菌による複合病の発病傾向から両病原の相互作用について考察してきた。しかしそれらの混合感染の場については明らかでない。そこでトマトにおけるサツマイモネコブセンチュウと萎ちょう病菌との混合感染が起こる部位とその進展経過について病態解剖学的側面から検討し、複合病発病に至る機構の一端を明らかにしようとした。

第1節 実験材料ならびに方法

トマト品種：これまでの実験で複合病が顕著に認められた松戸ポンデローザを用いた。

供試病原：サツマイモネコブセンチュウならびにトマト萎ちょう病菌はいずれも第5章第1節の実験材料と同一のものであり、それぞれの接種源の準備、調製もすべて同様な手順によった。

供試植物の準備：あらかじめ120°Cで30分間蒸気滅菌した褐色火山灰土250gを直径7cmのセルロイドポットに入れ、それに消毒したトマト催芽種子を2粒ずつ直播し、稚苗を育成した。

実験区および接種方法：実験区は線虫または菌の単独接種区、線虫・菌混合接種区ならびに無接種区の4区とした。各区は、病態解剖のための標本採集用を含めて24ポットを用いた。両病原の接種量は、1ポットあたり線虫は2期幼虫2000頭、菌は菌体乾燥重量で20mgとした。接種はトマトの発芽が揃ってから10日後に、それぞれの接種源の浮遊液を5mlずつ駒込ピペットで地表から注ぎ、さらに如露で十分灌水して病原体の分散を促した。混合接種区はすべて同時接種を行なった。接種後ポットをガラス室(実験期間中の平均気温26.9°C)において管理した。

発病調査ならびに標本材料の採集：病原接種後地上部の萎ちょう病の発病を調査した。一方根部における病態変化を調べるため、1日おきに無作為に4ポット選んで8個体を掘り上げ、根を傷つけないように注意しながら水洗し、直ちに根の外観的症状、すなわちゴール形成および組織の褐変または壊死を伴う感染の有無、その部位などについて観察した。それらの調査を終った供試個体は2群に分け、その一つは永久プレパラートによる病態解剖の材料にするため、根部全体をそのままF.A.A.溶液に浸漬し、減圧固定して保存した。残りは根組織に対する線虫の寄生状況を調べるためひとまずラクトフェノール液に移して保存した。

永久組織標本の作成：さきにF.A.A.固定した根部材料の中から線虫の侵入部位(根端部付近)、ゴール形成

部位、褐変部位、さらに病原菌による感染経路を追跡するための根各部位の維管束組織を切り取った。また第5章、第1節の実験で調査した根部材料も補助的に供試した。これらの材料は10mm以下の大きさに切り、約10時間流水で洗浄後、常法によるn-ブチルアルコール溶液の系列で脱水、透徹し、パラフィン包埋し、大型回転式ミクロトームで厚さ8~10 μ mの連続切片を作成した。切片の染色はヘマトキシリンおよびエオシン溶液による二重染色法で行なった。染色後エチルアルコールで脱水し、バルサムで封入し、永久標本とした。

標本の観察：各実験区の永久標本を対比しながら、接種後の時間の経過を追って順次検鏡した。とくに線虫・菌混合接種区における線虫の侵入部位と菌の感染との関連性を知るため、混合感染の進展に伴う組織の病態変化に重点をおいて観察した。

侵入線虫の調査：ラクトフェノール液に保存した材料は、酸性フクシン・ラクトフェノール溶液に移して加熱染色したのち、8×11cmのガラス板上に根群全体を拡げ、その上から同じ大きさのガラス板を重ねて根の組織を軽く押しつぶし、根に侵入した線虫数を実体双眼顕微鏡下で計数した。

第2節 実験結果

1. 線虫の寄生と萎ちょう発病の経時的推移

地上部における萎ちょう病の発病は線虫・菌混合接種区にのみ認められた(第11図)。萎ちょう症状は接種8日後に初めて現われ、その後急激に進展して、12日後には発病株率が87.5%に達した(図版II; A, B)。一方根部における線虫の寄生は、第17表に示すように、接種2日後

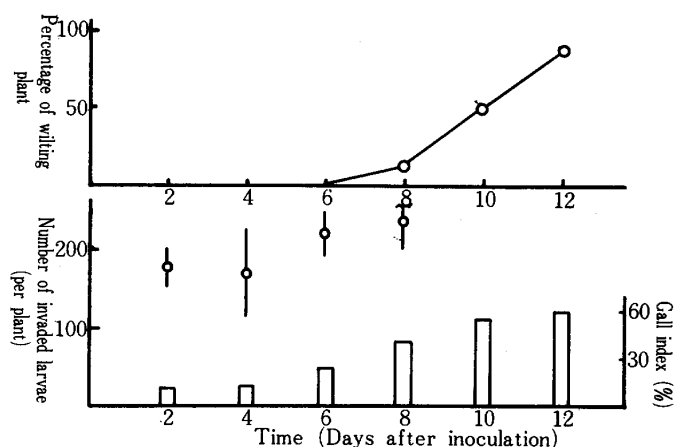


Fig. 11 Relations of wilt development, larval penetration and gall formation in tomato seedlings, Matsudo-Ponderosa, inoculated simultaneously with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

Table 17 Number of second stage larvae penetrated to roots of tomato seedlings inoculated with *Meloidogyne incognita* alone or with both *M. incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* simultaneously.

Inoculation plot	Days after inoculation					
	2	4	6	8	10	12
<i>M. incognita</i> alone	196.8 ± 57.6	209.6 ± 71.3	212.4 ± 48.9	251.3 ± 74.8	243.6 ± 63.4	264.3 ± 98.3
<i>M. incognita</i> plus <i>F. oxy. lycopersici</i>	188.4 ± 48.1	171.3 ± 109.0	216.7 ± 59.2	227.2 ± 65.7	259.8 ± 76.3	276.0 ± 88.1

Data show average number of second stage larvae recovered from roots per plant investigated four replication.

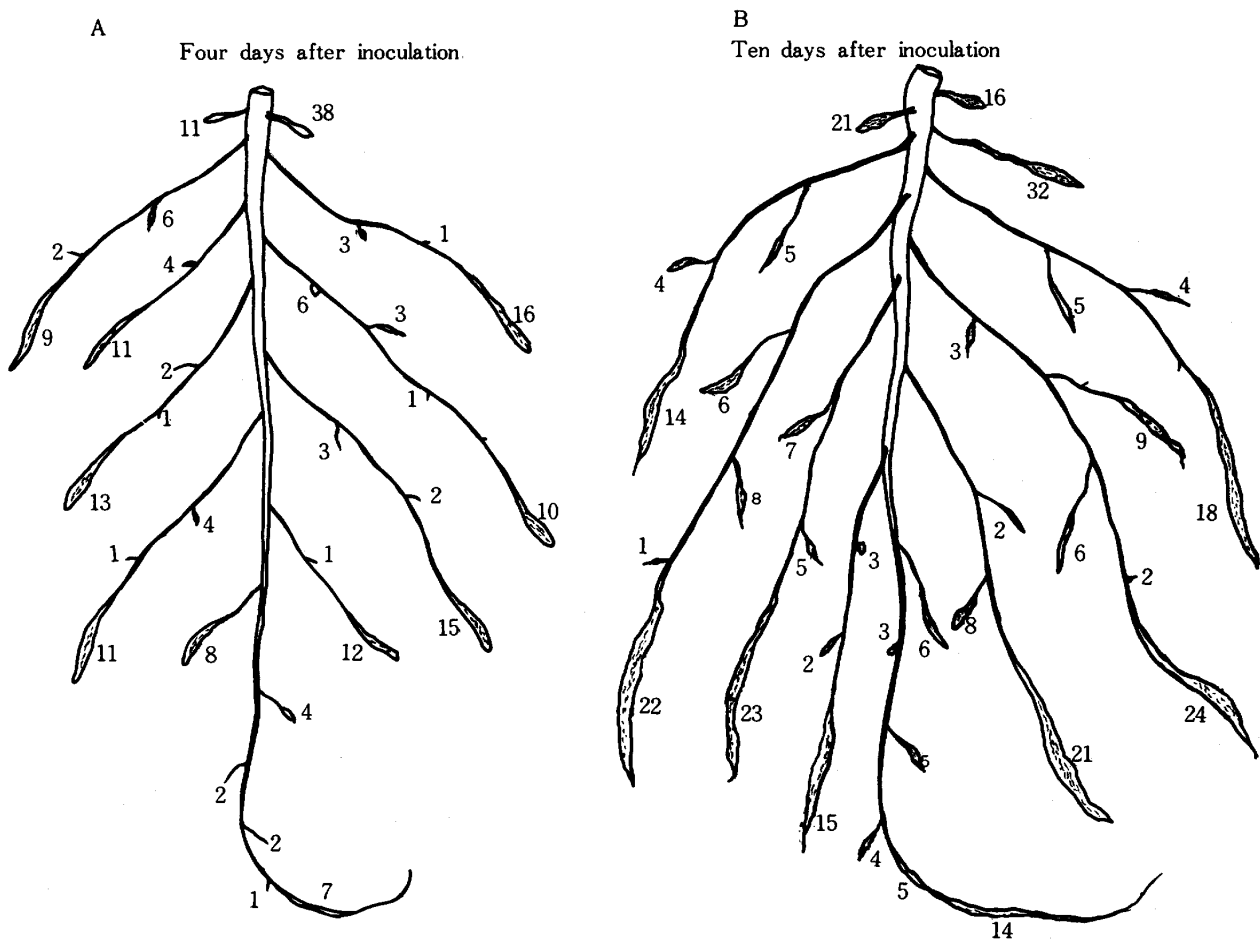


Fig. 12 Distribution and number of infected larvae in roots of young tomato seedling.

の調査個体ですでに多数認められ、1個体侵入線虫は188.4頭であった。各調査時に選んだ供試個体の間で検出線虫数にかなり変動があるが、接種後の日数の増加とともに侵入数が増える傾向があった。線虫単独接種区と線虫・菌混合接種区とでは侵入数に大きな差はみられなかった。根に侵入した線虫の分布は第12図に示すように、

接種後日数が短い間は、おもに根の先端付近に高密度で認められ、ときには数10頭におよぶ侵入幼虫が集団的に存在する例もあった(図版II; D, E)。地際部に近い茎から派生した不定根では、全般に侵入する線虫の密度が高く、また不定根と茎の分岐部の皮層内に侵入した線虫もみられた。

線虫が寄生した根では、一部の例外を除き、接種2日後の根で1次根の先端部付近にゴールの形成が認められ、接種後の日数の経過とともに次第に大きくなった(第13図, A~D)。また根の伸長につれて珠数状に連続した形態のゴールとなった。1次根から派生した側根には先端部付近からゴールが形成し、根群が発達するにつれて次第に形成箇所が増加した。地際部の茎から派生した不定根では、例外的にゴールをつくらず、根の先端組織が局部的に壊死するものがあり(図版II, C)、その組織内にはおびただしい数の線虫が見られた。

線虫・菌混合接種区の線虫の寄生と萎ちょう病の発病経過を対比すると、寄主体における萎ちょう病の発病に先行して、根部に線虫の侵入が起こることは明白であり、このときの菌の感染は、線虫の寄主体侵入と直接的な関係があるものと推察された(第12図)。

2. 根における混合感染の部位と萎ちょう病の発病

線虫・菌同時接種区で、両病原による混合感染が根のどの部位から起こるかを接種後1日おきに材料を採取して肉眼的に病徴を観察した。それらの調査個体の接種2日、4日、8日、12日後の症状の一例を第13図A~Dに示す。接種2日後の調査個体では、線虫の寄生により大部分の根に先端部付近のやや肥大する形態の変化を認めたが、組織の褐変もしくは壊死を伴う菌による感染の兆候は明らかでなかった(第13図[A])。混合感染の症状が初めて観察されたのは接種4日後の材料であった。8個体のうち1個体だけ地際部の近くに生じた短い不定根が褐変していて、その永久標本から線虫と菌とによる混合感染の症状であることが確かめられた。しかし、その個体の根群全体をみると、線虫によるゴールが各所に認められたが、菌との混合感染の形跡はまったく観察されなかった(第13図[B])。

接種6日後になると、調査材料のほとんどの個体で、地際部の不定根に混合感染の症状が顕著に認められた。そのうち感染の進んだ不定根では、組織が著しく壊死を起こしているのが観察され、その根に接続する茎の維管束部にまで褐変が進んでいた。また個体によっては、不定根以外の1次根でもゴールの形成された部位に局部的な褐変症状を呈するものが認められた。接種8日後に採集した材料では、すべての調査個体の不定根に混合感染の症状が認められ、中には1個体から2、3本生じた不定根のすべてが混合感染を起こしているものがあった。それら不定根の混合感染の症状には、ゴール形成されずに組織が壊死を起こしている場合と、著しく肥大したゴールが局部的に褐変している場合がみられた。いずれの場合も不定根に接続する茎の維管束部は明瞭な褐変を呈した。1次根および側根など不定根以外の根では、先端

に近い伸長部の付近に形成したゴール組織の一部分が褐変し、混合感染の症状とみられる箇所が2、3散在したが、それらはいずれも局部的であり、その部分から根の中心柱に沿って褐変が進展しているものはみられなかった(第13図[C])。この観察所見から接種8日後に現われた地上部の萎ちょう病の病徴は、不定根における早期の混合感染に起因するものと考えられる。なお線虫単独接種区から採取した調査個体の中には、稀に地際部から派生した不定根が壊死を呈するものがあった。しかしそれらの壊死範囲は根の先端部だけにとどまるか、もしくは不定根と茎との分岐点までに過ぎず、茎の維管束部に褐変は及んでいなかった。

接種10日後の各個体は不定根のほか1次根および側根などいずれにもかなり進展したとみられる混合感染の症状が認められた。不定根の中には、組織の壊死が激しいため掘り上げた時に茎から離脱したものもあった。1次根や側根における混合感染は、根群の全体からみて一部の根にすぎないが、その根の感染は著しく進展し、先端部付近のゴールの形成部位から茎部あるいは1次根との分岐部に到るまで中心柱に沿って暗褐色に変色するのが認められた。この時点で、すべての調査個体は地際部における茎の導管組織が明らかな褐変を呈しており、その中の多くは地上部にも萎ちょう病の病徴を現わしていた。さらに接種12日後には、前回より一層激しい混合感染の様相を呈し、その発現頻度が増し、とくに側根に新たに形成したゴールで褐変症状を呈するものが認められた(第13図[D])。しかし根群全体からみればやはり少数にすぎず、この場合の混合感染も全体的ではなく、むしろ局部的であるが、混合感染個体における茎の導管組織の褐変および地上部の萎ちょう症状はますます顕著となった。

以上述べたように、本実験でのネコブセンチュウと萎ちょう病菌とによる混合感染は、地際部付近の不定根で早くから起こる一方、一部分の1次根や側根において、いずれも先端部付近のゴール形成部位から病変が進展する場合が主であった。このような混合感染によって萎ちょう病が発病することは明白であり、しかもその感染部位に応じて発病の時期にずれを生ずるものと推察される。本実験でみられた地際部不定根の混合感染は、その個体の萎ちょう病の病徴をより速やかに発現する結果を招いたものと考えられた。

3. 混合感染組織の病態解剖学的観察

線虫・菌混合接種の2日後に採集した個体で、1次根の縦断切片から根頂端部付近の原表皮を破って侵入する2期幼虫がしばしば観察された(図版III; A)。単一の2期幼虫が侵入した箇所の原表皮細胞は、微細であるが明

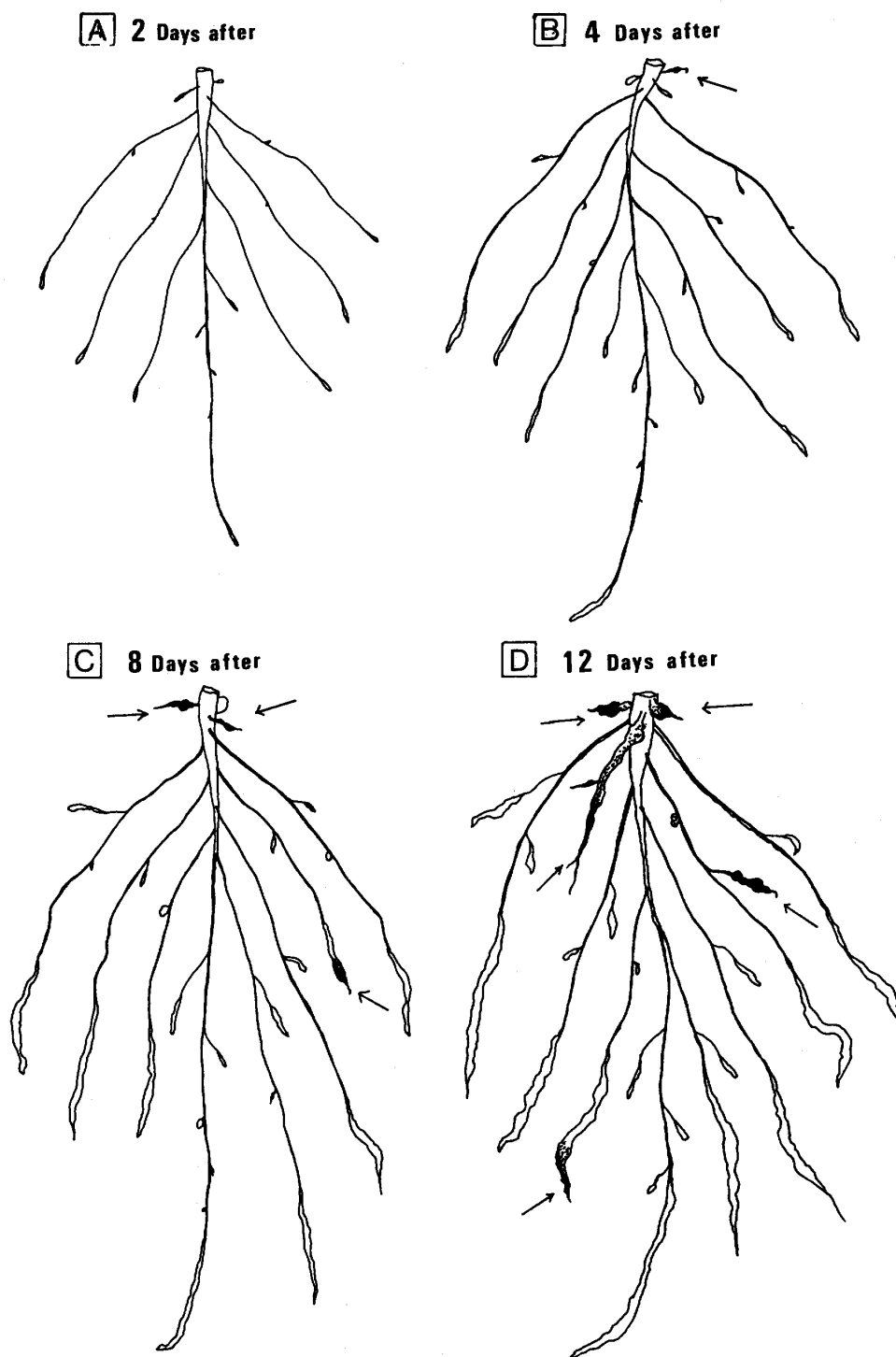


Fig. 13 Infecting portions on the root system in young tomato seedlings occurred coincidentally with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita* under the simultaneous inoculation of both pathogens. Arrows indicate the portion of mixed infection by both pathogens.

らかな機械的損傷が認められ、褐変した細胞壁が破壊され、ときには周囲2、3細胞まで損傷が広がる例も観察された(図版III; B, C). 寄生体内に侵入した2期幼虫は、原皮層の細胞間を通過し、原中心柱に沿って存在するものが多かった(図版III, D). この根の原皮層の細胞は形

態的にわずかに変化しており、健全根での細胞が整然と配列しているのに比較して細胞配列に乱れを生じ、原皮層全体の肥大が認められた。2期幼虫が通過した痕跡は、皮層細胞が剥離した空隙として観察され(図版III; E), その横断面はしばしば円形を呈していた。感染組織にお

ける機械的損傷の程度は切片標本によりかなり幅があった。しかし以上のような2期幼虫の単一個体による侵入箇所にもみられた寄主体の機械的損傷が病原菌の侵入門戸となった例は多数の切片標本を検鏡したにも拘らずまったく認められなかった。

2期幼虫の寄主体侵入は、単一個体が分散して起こるだけでなく、多数の個体が短時間の間に集団的に起こる例も少なくない。このような加害を受けた根では、先端部の原始分裂細胞周辺で個々の線虫の侵入部位が互いに接触し合い、そのため頂端細胞の壊死が起こり、原表皮や原皮層の機械的損傷も著しく拡大する様相がみられた(図版III; F)。そこで2期幼虫の集団加害部における病原菌の感染の有無を経時的に観察した。接種2日後の切片標本からは、菌との混合感染を証明しうる場合は見出せなかった。

接種4日後の材料の切片標本では、たまたまある個体の地際部の茎から派生した不定根で初めて線虫と菌とが同一組織内に侵入しているのを観察することができた。混合感染の症状は、根の先端部から約1.5mmの範囲にわたって認められ、原始分裂組織や原表皮、原中心柱などの壊死がすでに著しく進行しており、組織形態はことごとく異常を呈し(図版III; G, H, I)、壊死組織内には、多数の2期幼虫が主として原中心柱付近に群がって存在した。一部のものはさらに上方の中心柱の導管組織内やその周辺部を侵害しており、機械的損傷を起こしていた(図版IV; A, B)。一方病原菌の菌糸も壊死部のいたるところにみられ、おびただしい密度で増殖していた。混合感染によって先端部が壊死した不定根では、時間の経過とともに菌独自による病変が著しく進展し、混合感染の部位から隔った上方部の導管組織内で菌糸の旺盛な増殖がみられた(図版IV; C)。以上の観察所見から、この場合の混合感染の発現機構としては、まず根先端部の原始分裂組織や原中心柱に対する2期幼虫の集団的な侵入によって組織が著しく破壊され、局部的壊死を伴った異常形態となり、そこに侵入する機会を得た病原菌が増殖し、結果的には病原菌独自の顕著な病変が進展するにいたったものと考えられた。

なお混合感染の起こらなかった根の切片標本では、接種2日後に観察した状況と類似しており、侵入した2期幼虫が原始分裂組織や原皮層内に認められた。それらはいずれもかたまって侵害しておらず、根の先端部組織全体にわたる壊死はみられなかった。またその部位における菌の感染は認められなかった。初期に侵入したとみられる2期幼虫はすでに原中心柱付近の組織内に定着しており、頭部の周辺細胞では細胞壁が部分的に消失するとともに細胞融合が起こり、核の肥大と分裂がみられた(図

版IV; D)。その部分には菌の存在はまったく認められなかった。

接種6日後の永久標本のうち、混合感染の症状を示したいくつかの不定根の切片では、いずれも前回の試料ときわめて類似しており、先端部は壊死を呈した。ただし混合感染後時間が経過したとみられる試料では、初期の混合感染の部位から上方に蔓延した菌による病変がはなはだ盛んであり、導管組織での菌糸の増殖が目立った。さらにその不定根が接続した茎部の維管束内にも到達している多くの菌糸がしばしば観察された(図版IV; E)。そのため混合感染を起こした不定根のなかには、先端部の壊死だけでなく、根全体に壊死症状が拡がっていた。また不定根以外の根で外観上若干変色したゴールの組織片を観察すると、集団的に侵入した2期幼虫の頭部周辺に形成されつつある多核の細胞内に、かなりの密度で菌糸が増殖し、さらに周辺の細胞にも蔓延しているのが認められた(図版IV; F)。これらの切片では、2期幼虫自身の形態にほとんど変化がみられず、発育は進んでいないようであった。それは恐らく、初期の巨大細胞内で菌の増殖が起こり、線虫にとって不利な条件となっているためと考えられる。なお混合感染していない根のゴール組織では、やや発育した2期幼虫の頭部周辺に2~4コの多核細胞が形成されていた。また接種6日後の試料でも根の発育に伴って原始分裂組織や原皮層内には少数の2期幼虫が後続的に侵入している状態がみられた。

接種8日後の個体の切片標本では、混合感染による原始分裂組織付近の病態変化は、これまでの時点で観察したものと差異がみられなかった。壊死を生じた組織内には、集団的に侵入したままほとんど発育していない2期幼虫の群れと、増殖した菌糸とがからみ合って存在していた。接種8日後のゴール組織の異常形態は、線虫の頭部を取り囲んで形成した多核の巨大細胞と、肥大・増生に伴う維管束や皮層柔組織の乱れが著しく(図版IV; G)、多数の線虫によって激しく感染した場合は、局所性の壊死が組織内に認められた。混合感染したゴール組織での菌の所在は、巨大細胞、導管組織、そしてその周辺の柔組織などで比較的多かった(図版IV; H)。また地際部維管束周辺の壊死部における菌の蔓延が激しかった(図版V; A)。この時期になると、初めに先端部において混合感染が起こった根では、その後菌単独による感染の拡大が急激に進展するように観察された。とくに混合感染が比較的早くから起った不定根では、すでに病原菌による病変が根の導管組織内で一層著しく認められ、さらに茎部導管内で菌糸の旺盛な増殖が起こっていた(図版V; B)。

接種10日または12日後の個体の切片標本では、ゴール

組織の異常形態の発達は前回の採集試料よりさらに著しく目立ち、発育段階にある線虫は急速に肥大し形態の変化が認められた。発達した巨大細胞には顆粒状の内容物が充満していた(図版V;C)。一方混合感染したゴーむ組織での病原菌は、中心柱とその周辺部の組織に分布したが、その生育が旺盛なのは導管組織や巨大細胞、そして周辺部柔組織においてであった。菌糸が蔓延した巨大細胞では、顆粒状の細胞内容物の消失が著しく、まれに菌糸のみが観察された(図版V;D)。また巨大細胞に隣接し、不規則に分化、発達した導管組織内には、高い密度で菌糸の蔓延しているのが認められた。しかし皮層細胞における菌糸の生育は通常きわめて少なかった。切片標本における菌糸の分布状態からみて、ゴール組織内で増殖した病原菌の多くは、根先端部の原始分裂組織付近で線虫と混合感染を起こした後に、中心柱を経てゴールの部位に達したものと考えられた。また茎の維管束では、菌糸がおびただしく充満したが、それらは混合感染を起こした根を経て、その後菌が単独で病変を拡げ、増殖したものとみられた(図版V;E)。

以上の病態解剖所見から、本実験のネコブセンチュウと萎ちょう病菌とによる混合感染は、最初に根の先端部の原始分裂組織付近において起こり、その場合2期幼虫の集中的な寄主体侵入に伴う局部組織の壊死性損傷が、菌の感染をもたらし門戸となるものと判断された。次いで接種後、日数の経過にしたがい、すでに形成されたゴール組織における巨大細胞とその隣接導管組織における病原菌の旺盛な蔓延によって病勢の進展が一層激化するものと推察された。

本実験期間を通じ萎ちょう病菌単独接種の場合には、いかなる部分の根の切片標本においても感染を認めることができず、無接種の健全根と相異がなかった(図版V;F)。

第3節 考 察

以上の実験結果から、萎ちょう病感受性品種におけるネコブセンチュウと萎ちょう病菌とによる混合感染の実態ならびに複合病の発現経過の一面が明らかとなった。しかしそれは、あくまでも本実験で設定した条件下のことであり、実際にはさらに多様な側面があることを考えなければならない。

ネコブセンチュウの2期幼虫と病原菌とを同時接種したときの萎ちょう病の発病経過と線虫の寄生推移からみて、線虫の侵入と菌の感染とは、時間的にきわめて接近して起こることが推察された(第11図参照)。また根部病徴の観察から、接種4日以後の調査個体で明らかな混合感染の症状を見出すことができた。そこでまず混合感染

の成立をめぐる両病原の寄主体侵入の問題について考察する。

2期幼虫の寄主根への侵入部位については、すでに報告された事例^(21,44,90,119,139)とほぼ一致し、頂端部もしくは原表皮に覆われる部位に集中していた。侵入行動はさまざまな様態がみられるが、一頭ずつ分散して侵入する場合のほかに、多数の2期幼虫が集団をなして局部箇所から侵入する場合が認められた。集団的な侵入行動はこれまでしばしば観察されており^(44,90,139)、線虫の汚染密度によるものと考えられる。2期幼虫の侵入行動に伴って、寄主体細胞にどのような機械的損傷を起こすかは、複合病の発病機構と関連してしばしば論議されている^(8,64,122,126)。しかしそれらの中には、発病状況の結果から推論をくだす例が多く、直接その実態を明らかにした例は稀である⁽¹¹⁹⁾。本実験における病態解剖の観察から2期幼虫の侵入行動によってもたらされる細胞の損傷には著しい差異のあることが認められた。すなわち2期幼虫が分散して侵入する際の一頭がもたらす細胞の損傷範囲は、侵入部位の周囲2,3細胞にすぎないが、多数の2期幼虫が集団で侵入する際にみられる機械的損傷は、頂端部付近の組織が破壊され、著しい壊死を起こすものであった。

そこで病原菌との混合感染の起こる部位が問題となる。根部病徴の観察では、混合感染の症状は根系のうち一部の根で認められたにすぎない。また組織切片の観察では、2期幼虫が分散侵入した部位で病原菌の感染は認められていない。この点ではワタに関するPERRY⁽¹¹⁹⁾の結果と一致する。混合感染を起こした組織切片を観察すると、いずれの標本もおびただしい数の2期幼虫が集団で侵入し、崩壊した頂端分裂組織や原中心柱付近にからみ合い、さらに病原菌の蔓延も著しい。このことから病原菌の感染が起こるのに頂端部の著しい損傷が重要な要因となっていることは間違いない。したがって線虫の侵入による根の機械的損傷が明らかに菌の侵入門戸となるためには、頂端分裂組織付近に壊死性の損傷を起こすほどの線虫の集団侵入があって初めてその可能性が生ずるものと考えられる。このような混合感染の成立は、2期幼虫の生息密度が土壌全体として高い場合や不均一な分布による局部的な高密度のときにその頻度が増すことが予想される。本実験でみられた混合感染の部位とその頻度は、接種条件により著しく左右され、複合病の発病経過にも影響をおよぼしたものとみられる。

つぎに根のゴール組織における菌の感染状態について考察する。混合感染を起こした根では、壊死した頂端組織や原中心柱に定着した菌糸が、直接維管束の導管組織内に侵入し、さらに上方へと蔓延する。そして近くのゴ

ール組織に到達するとそこで新しく混合感染の場が生ずる。ゴール組織の切片標本の観察によれば、導管内に蔓延した菌糸は、導管組織がゴール部位で異常な増生を起こし形態配列が乱れるに伴ない、著しく増殖しており、またそれと隣接して形成された巨大細胞にも菌糸の旺盛な生育が認められた。菌の感染後かなり時間を経過したとみられる巨大細胞では、顆粒状の細胞内容物質が消失し、部分的にあるいは全体が空洞化する状態が認められる。このような状況は既往の報告^(26,101,119)でも知られており、恐らくそれらの巨大細胞が菌の増殖にとって好適な場であると推察される。しかしそのことは、一方の線虫にとっては、摂食活動の場としての巨大細胞が菌の感染により損なわれるため致命的であり、発育不良に陥り、やがてゴール組織の壊死とともに死滅する運命をたどるものと考えられる。巨大細胞をめぐるこのような線虫と病原菌との相互作用は他の例でも認められる^(101,136)。

以上のようにゴール組織における混合感染では、両病原の間に明らかな利害関係が認められ、結果的にネコブセンチュウは巨大細胞の場を通して萎ちょう病菌に対し一方的に感染の場を提供する役割を果たし、導管感染の進展を助長するものと考えられる。

これまで述べた一連の混合感染が起こるための要因として、両病原の感染の場が互いに根部維管束の導管組織あるいはその隣接部にあるという点で共通しており、おのずから混合感染を生じやすい状況にあることを見逃がすわけにはいかない。*F. oxysporum* の各種分化型は、いずれも導管感染を起こすことに特異性があり、無傷部だけでなく、傷からも侵入しやすく導管部に達する^(97,113)。ネコブセンチュウは、通常はその導管組織に接するように定着し、巨大細胞を形成し、と同時に組織の肥大増生に伴って導管組織形態の異常を起こす。したがって、導管内に蔓延する病原菌にとってゴール組織とりわけ巨大細胞は、感染拡大のための拠点としての意義をもつものと推察される。なお、本実験では、肥大したゴール組織の表皮細胞からの病原菌の侵入は多くの切片標本を通じて一例も認められなかった。ただしそれは、両病原の接種後12日までの範囲における観察である。別に行なった混合接種実験で、接種30日後に採取した材料のゴール組織切片では、稀に表皮ならびに皮層細胞内に菌糸の存在が認められた。しかしそれらが表皮から侵入したものか巨大細胞や導管組織から蔓延したものは判別し得なかった。いずれにせよ接種後比較的短い期間内に起こる混合感染では、ゴール組織の表皮から侵入した菌による病徴発現はほとんど可能性がないと考えられる。*M. incognita* が寄生したタバコの根のゴール組織では *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* や *Pythium ultimum*

は接種後短時間のうちに表皮を通して混合感染を起こすことが知られている^(102,130)が、それら皮層組織感染性で、しかも遊走子を形成する病原菌と *F. oxysporum* のような導管感染性のものとは感染の過程に相違があるのは当然のことと考えられる。

最後に本実験における混合感染の経過と発病との関係について考察しておきたい。前述したように、接種後間もなく起こる混合感染は、いずれも根の先端部から始まり、頂端分裂組織付近に対する2期幼虫の集団的な侵入に伴って原中心柱の部分に著しい壊死が起こり、病原菌の感染が認められた。原中心柱はやがて導管などの維管束系に発達する組織であり、ここに感染した菌は容易に導管内に侵入し、増殖しながら蔓延することができる。さらに茎まで病変が進展するにつれ地上部に萎ちょう症状が現われるに至る。しかしこの段階で感染個体の根系のうち大部分の根はゴールの形成のみ認められ、菌との混合感染により褐変症状を伴った根は根系全体の一部にすぎない。トマトの萎ちょう病では、通常発病個体の根系のうち、不定根を含む一部の根が病原菌の導管内感染を起こすだけでも病徴を発現する⁽⁸⁶⁾。本実験では、接種後早くから地際部の不定根に顕著な混合感染が認められ、それが地上部の病徴の早期発現に直接関与していることは間違いない。それは、不定根のようにもともと茎に近い部位で顕著な混合感染が起こることにより、茎部導管組織への菌の感染がより速やかに進むと考えられるからである。またこのように不定根の混合感染が著しかったのは、線虫と菌を地表面から灌注して接種したことにおもな原因があると考えられる。このことは混合感染の起こる部位によって、病徴発現の時期が大きく左右される可能性を示すものである。

第7章 寄生性の異なる3種 *Fusarium* 菌とサツマイモネコブセンチュウの混合感染による複合病の発現

すでに第4章で述べたように、サツマイモネコブセンチュウとフザリウム病との複合病でもっとも現実的な問題の一つは、線虫の感染に伴うフザリウム病抵抗性品種における発病増大、抵抗性の破壊である。このことは、ネコブセンチュウの感染植物で本来の病原菌に対する寄主特異性が低下する可能性を示唆し、甚しい場合には、本来寄生性のない *Fusarium* 菌による感染が起こり得ることを暗示している。例えば *Fusarium oxysporum* の分化型菌には、トマト萎ちょう病菌を含めて、ある特定の寄主植物に顕著な病原性を現わすほかに、多くの不特定植物に対して不顕性感染することが知られているが^(2,54,109)、線虫との混合感染によってその感染、発病が

顕在化する可能性が大いに考えられる。

これを明らかにするために、ネコブセンチュウと密接な相互作用をもつと考えられる *Fusarium oxysporum* の3つの分化型を用いて、それぞれの寄主および非寄主植物におけるネコブセンチュウとの混合感染と発病の可能性について検討した。

第1節 実験材料ならびに方法

1. 供試植物

トマトのほか4種のウリ科植物を用いた。それぞれの種類（品種）はつぎのとおりである。

トマト (*Lycopersicon esculentum* Mill; 松戸ポンデローザ), キウリ *Cucumis sativus* L.; あづま夏成), スイカ (*Citrullus vulgaris* SCHRAD.; 新大和2号), マクワウリ (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* MAKINO; 二十世紀ニューメロン), カボチャ (*Cucurbita ficifolia* BOUCHE; 黒だね(台木用))。これらはいずれも直径12cmの素焼鉢に入れた滅菌土壌（第5章、第2節の実験で供試したものと同じ）で生育させ、幼苗期における接種実験用に準備した。

2. 供試線虫

トマトから分離したサツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita* (KOFOID & WHITE) CHITWOOD) を用いた。この線虫は本実験のすべての供試植物に対して寄生性を有し、顕著なゴールを形成する。接種源は、あらかじめ線虫をトマトで増殖せしめ、それらの卵塊からふ化した新鮮な2期幼虫を集めて浮遊液として用意した。

3. 供試菌

Fusarium oxysporum の3分化型、トマト萎ちょう病菌 (*F. oxy.* SCHL. f. sp. *lycopersici* (SACC.) SNYDER et HANSEN, race J1), キウリつり割病菌 (*F. oxy.* SCHL. f. sp. *cucumerinum* OWEN), スイカつる割病菌 (*F. oxy.* SCHL. f. sp. *niveum* (E. F. SMITH) SNYDER et HANSEN) で、いずれも研究室保存菌株である。これらはあらかじめペトリ皿内で発芽種子の幼根に接種して、各供試植物に対する寄生性を確かめた。接種源は、いずれも Czapek 液体培地で24°C、7日間振とう培養した菌体を殺菌水で十分洗ったのち、2重のガーゼで濾別した菌糸片と分生胞子を含む浮遊液を用意した。

4. 実験区および接種方法

実験区は、各供試植物ごとに線虫および3種の病原菌それぞれの単独接種区、線虫とそれぞれの菌との混合接種区、および無接種区の合計8区で、各区3連制とした。

接種量は、1鉢あたり線虫4000頭、菌は *F. oxy.* f. sp. *lycopersici* が菌体乾燥重量で30mg、他の2種は20mgとした。接種方法は、所定濃度に調整した線虫または菌懸

濁液を各鉢に10mgずつ駒込ピペットで地表面から注ぎ、さらに如露で十分に灌水した。線虫と菌との混合接種の場合は、すべて同時接種とし、播種10日後に全区一斉に接種を行なった。

実験はガラス室内（期間中平均気温は27°C）で行なった。

5. 調査方法

地上部の病徴は、接種4日ごとに記録し、発病株率と発病指数で表わした。調査方法は、第4章におけるポット実験と同様である。地際部茎の導管褐変症状は最終時の根部調査と同時に調べ、導管褐変指数で表わした。一方根部病徴の調査は、接種後35～40日の間に行なった。全供試個体をていねいに掘り上げ、根部を水洗したのち、ゴール指数ならびに根における壊死症状を記録した。また根部感染組織からは常法により菌の分離を行ない、分離株のおのおのについて接種源に用いた分化型と同一か否かを発芽種子の幼根に接種して確かめた。さらに根部の感染組織における菌の動静を知るために、永結ミクロトーム切片により病理解剖学的観察を行なった。また土壌中の2期幼虫の密度を供試個体を掘り取ったのち、ベールマン漏斗法によって測定した。

第2節 実験結果

1. 混合感染による萎ちょう症状の発現

各供試植物における発病調査の結果を第18表および第14図に示した。供試植物により症状の発現程度に違いはあるが、*Fusarium* 菌とネコブセンチュウとの混合接種で、各病原菌の寄主植物および非寄主植物を含め複合病を発現しうることが明らかになった。以下各供試植物別に結果を述べる。

トマト：単独接種によりトマトに病徴を現わしたのは、3種の *Fusarium* 分化型のうち *F. oxy.* f. sp. *lycopersici* のみであり、接種26日後に最初の萎ちょう症状が発現し、34日後には発病率44%、発病指数38.9%に達した。3供試菌をそれぞれネコブセンチュウと混合接種した場合には、*F. oxy.* f. sp. *lycopersici* ばかりでなく、ほかの2分化型菌はいずれもトマトに萎ちょう症状を現わした。発病経過をみると、*F. oxy.* f. sp. *lycopersici* の場合、接種10日後から病徴が現われ始め、34日後には発病指数97.3%となり、菌単独接種区とくらべて顕著に発病が増大した。それに対して *F. oxy.* f. sp. *cucumerinum* もしくは *F. oxy.* f. sp. *niveum* を線虫と混合接種した場合には、両者とも接種22日後から症状が現われ始め、34日後には、前者による発病指数は22.2%、後者は33.3%となった。発病個体における症状は、おもに下葉からの枯れ上がりと落葉が目立ち、全身的なしおれは、本来の萎ちょう病菌 (*F. oxy.* f. sp. *lycopersici*) の感染によるとき

Table. 18 The wilt occurrence in seedlings of five vegetable crops inoculated with each of three different forma specialis belong to *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita*

Inoculation plot	Wilt index ^{a)}	Vascular browning index of stem ^{a)}	Plant height ^{a)}
<i>Citrullus vulgaris</i> SCHRAD (Watermelon)			
Noninoculated control	0	0	63.2
<i>M. incognita</i> (4000) ^{b)}	0	0	46.1
<i>F. o. cucumerinum</i> (20) ^{c)}	0	0	65.7
<i>F. o. lycopersici</i> (30) ^{d)}	0	0	66.6
<i>F. o. niveum</i> (20) ^{c)}	35.3	66.7	28.7
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i> ^{e)}	6.8	25.6	44.0
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i> ^{e)}	0	5.6	40.4
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i> ^{e)}	72.2	93.7	13.6
<i>Cucumis melo</i> var. <i>makuwa</i> MAKINO (Melon)			
Noninoculated control	0	0	46.1
<i>M. incognita</i> (4000)	0	0	14.5
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	0	0	45.8
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	0	0	41.5
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	0	44.3
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	10.6	12.1	11.8
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	0	0	13.0
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	0	5.5	14.0
<i>Cucumis sativus</i> L. (Cucumber)			
Noninoculated control	0	0	24.4
<i>M. incognita</i> (4000)	0	0	25.2
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	62.2	77.8	18.8
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	0	0	24.4
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	0	24.8
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	100	100	—
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	22.2	25.0	21.7
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	16.7	24.0	23.0
<i>Cucurbita ficifolia</i> BOUCHE (Pumpkin)			
Noninoculated control	0	0	26.7
<i>M. incognita</i> (4000)	0	0	26.0
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	0	0	31.1
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	0	0	34.4
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	0	32.1
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	0	5.3	29.7
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	0	7.5	33.0
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	0	2.5	30.1
<i>Lycopersicon esculentum</i> MILL (Tomato)			
Noninoculated control	0	0	32.4
<i>M. incognita</i> (4000)	5.5	0	22.0
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	0	0	36.8
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	38.9	47.6	37.0
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	0	30.7
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	25.0	22.2	23.3
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	97.3	100	11.0
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	33.3	27.8	24.2

a) Data were taken on 34 days after inoculation.

b) Four thousands individuals of second stage larvae were inoculated per pot.

c) Twenty mg (dry weight) of fungus inoculum was inoculated per pot.

d) Thirty mg (dry weight) of fungus inoculum was inoculated per pot.

e) Each pathogen was inoculated simultaneously.

ほど激しくはなかった (図版VI)。

キウリ：供試 3 分化型のうち単独接種により症状を起こしたのは *F. oxy. f. sp. cucumerinum* のみであり、接種 20 日以降に著しい病徴の進展がみられ、最終調査時に

おける発病率、同指数はそれぞれ 100%、62.2% となった。一方 3 分化型菌をそれぞれネコブセンチュウと混合接種した場合には、*F. oxy. f. sp. cucumerinum* をはじめ、すべてのものがキウリに症状を現わした。キウリに対し

病原性のある *F. oxy. f. sp. cucumerinum* との混合接種では、接種6日後で早くも発病が認められ、18日後には発病率100%となり、間もなく全個体が枯死し、菌単独接種区とくらべて顕著な発病の助長がみられた。またほかの2分化型菌をそれぞれ線虫と混合接種したものは、ともに接種22日後から症状が現われ、34日後には *F. oxy. f. sp. lycopersici* では発病率55.6%、同指数22.2%、*F. oxy. f. sp. niveum* では発病率45%、同指数16.7%となった。そのときの発病個体の症状は、トマトの場合と類似しており、全身的なしおれを起こすことは少なく、むしろ下葉の縁から不規則に退色を生じ、やがて葉枯れとなるものがおもであった。

スイカ：供試3分化型菌のうち単独接種による発病は *F. oxy. f. sp. niveum* の場合のみであり、接種22日以後に症状が現われ、34日後には発病率50%をこえた。それに対して3分化型菌をそれぞれネコブセンチュウと混合接種した場合をみると、*F. oxy. f. sp. niveum* の接種によって著しい発病の増大が見られた以外は、比較的発病が軽かった。すなわち、*F. oxy. f. sp. cucumerinum* と

線虫とを混合接種したものでは、接種26日以降軽い症状が現われ、最終調査における発病指数は6.8%にすぎなかった。また *F. oxy. f. sp. lycopersici* を接種したものでは、実験期間中地上部の症状は認められず、内部病徴としてわずかに茎導管の褐変が観察されただけであった。

マクワウリ：供試した3分化型菌の単独接種で外観に痛状を示したものはなかったが、ネコブセンチュウと混合接種した場合には、2分化型菌により軽い症状がみられた。*F. oxy. f. sp. cucumerinum* を接種したものは、接種26日以降になって地上部が枯れ上る症状が進み、最終調査時の発病指数は10.6%であった。また *F. oxy. f. sp. niveum* を接種したものでは地上部には症状が現われなかったが、地際部の茎導管組織にわずかな褐変がみられた。なお *F. oxy. f. sp. lycopersici* を接種した場合には、地上部の外部病徴、茎導管組織の内部病徴はともに認められなかった。

カボチャ：3分化型菌の単独接種で外観の症状はまったくみられなかったが、ネコブセンチュウとの混合接種の場合には、いずれも共通して地際部の茎導管組織に軽度の褐変が認められた。

2. 根部病徴

根部病徴の調査結果は第19表に示したとおりである。

各供試植物におけるネコブセンチュウの寄生状態は、いずれもゴール指数80%以上で重症であった。しかし生育におよぼす影響はことなり、キュウリ、カボチャではほとんど変化が認められず、トマト、スイカではかなり生育の抑制が目立ち、またマクワウリでは極度の生育障害が認められた。なおトマト、キュウリ、スイカにそれぞれ親和性のある病原菌と線虫とを混合接種した区では、供試個体の多くが早期に発病し、根の壊死が著しかったので、ゴール指数の調査から除外した。

一方、菌の感染による根部病徴は、菌単独で接種した場合と菌・線虫混合接種の場合とでその発現に明らかな違いがみられた。菌単独による病徴は、5種の供試植物のうちトマト、キュウリ、スイカでは、それぞれの病原菌である *F. oxy. f. sp. lycopersici*, *f. sp. cucumerinum*, *f. sp. niveum* を接種した発病個体に限って観察され、それらはいずれも根系全体からみて一部の根だけが感染し、中心柱に沿って淡褐色もしくは褐色を呈した。

菌・線虫混合接種による病徴には、形状の異なる2つの型があり、ネコブセンチュウの形成したゴール組織の表層部が部分的に褐変する局所型の壊死症状と、ゴール組織の部分からさらに隣接部へ広い範囲にわたって中心柱の変色が広がる蔓延型の症状に分けられる。それぞれの症状がみられる頻度は、地上部の病徴発現と関連があり、地上部に病徴が現われたほとんどの感染個体には蔓

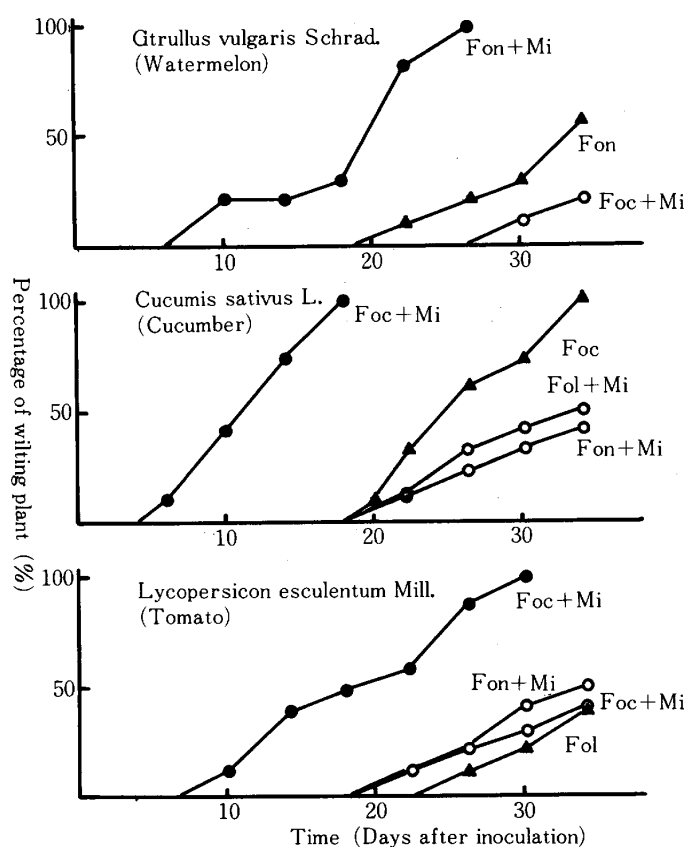


Fig. 14. Progress of wilt appearance in seedlings of three kinds of vegetable crops inoculated with each of three different forma specialis belong to *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita*.

Table 19 Root symptoms in seedlings of five vegetable crops inoculated with each of three different forma specialis belong to *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita*.

Inoculation plot	Gall index ^{a)}	Grade of root necrosis ^{a)}	Type of necrosis in galled root ^{a)}
<i>Citrullus vulgaris</i> SCHRAD (Watermelon)			
Noninoculated control	0	— ^{b)}	
<i>M. incognita</i> (40000) ^{b)}	94.4	—	
<i>F. o. cucumerinum</i> (20) ^{c)}	0	—	
<i>F. o. lycopersici</i> (30) ^{d)}	0	—	
<i>F. o. niveum</i> (20) ^{c)}	0	++	
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i> ^{e)}	89.2	+	extensive ^{c)}
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i> ^{e)}	91.7	±(+)	"
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i> ^{e)}	—	+++	"
<i>Cucumis melo</i> var. <i>makuwa</i> MAKINO (Melon)			
Noninoculated control	0	—	
<i>M. incognita</i> (4000)	88.9	—(±)	
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	0	±	
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	0	—	
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	—	
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	86.1	±(+)	slightly extensive
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	94.4	—(+)	local ^{d)}
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	88.9	—(+)	"
<i>Cucumis sativus</i> L. (Cucumber)			
Noninoculated control	0	—	
<i>M. incognita</i> (4000)	94.4	—	
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	0	++	
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	0	—	
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	—	
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	—	+++	severely extensive
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	91.6	+	"
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	93.7	+	"
<i>Cucurbita ficifolia</i> BOUCHE Pumpkin)			
Noninoculated control	0	—	
<i>M. incognita</i> (4000)	85.0	—	
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	0	—	
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	0	—	
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	—	
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	88.5	±(+)	slightly extensive
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	87.5	±(+)	"
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	87.5	±(+)	"
<i>Lycopersicon esculentum</i> MILL (Tomato)			
Noninoculated control	0	—	
<i>M. incognita</i> (4000)	97.2	—	
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	0	—	
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	0	++	
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	—	
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	88.9	+	severely extensive
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	—	+++	"
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	84.3	+	"

a) Data were taken on 35 to 40 days after inoculation.

b) — : Not observed, ± : Observed in a few parts, + : Observed in several parts, ++ : Observed in many parts, +++ : Observed in almost parts.

c) Necrosis presented in both galled and nongalled portion.

d) Necrosis presented only galled portion.

延型の症状が認められ、かつ病徴の激しいものほど多かった。しかし少なくとも発病初期の個体では、根群全体に蔓延型の症状がみられることはなかった。それに対して地上部に病徴を現わさない感染個体では、局部型の壊

死症状を呈するものが多かった。

線虫・菌混合接種により感染した各供試植物の根部病徴についてみると、トマトおよびキウリでは、それらに病原性をもつ分化型菌だけでなく、ほかの2分化型菌に

よっても全般に蔓延型の症状が目立ち、そのほかに局部型の壊死症状が根群の所々に散在していた。スイカでは、親和性のある分化型菌のほか、他の分化型菌によって蔓延型症状の発現程度にやや差異があり、また局部型の壊死症状も少なからずみられた。またマクワウリでは *F. oxy. f. sp. cucumerinum* を接種したときに蔓延型症状が若干みられ、そのほかではほとんどが局部型の壊死症状であったが、全般にそれらの程度は軽かった。カボチャでは、地上部に病徴は現われなかったが、根では軽い蔓延型の症状がみられ、他の供試植物と傾向を異にした。

これらの観察は、接種してから35日以上経過した時に行なったので、根部の病徴が直接線虫と菌との混合感染を裏付けるものではないが、地上部の症状との関連により各供試植物において親和性のある分化型以外の菌がネコブセンチュウとの混合感染を起こす可能性を示唆している。

3. 根部感染組織からの *Fusarium* 菌の再分離

混合接種した供試植物の根部感染が、接種した *Fusarium* 菌に起因するものかどうかを確かめるため、各供試植物の20箇所以上の感染部位からとった組織片を用いてPDA上で菌の再分離を行なった。さらに個々の分離菌については、その菌そう上に接種源とした当該供試菌の寄主植物の催芽種子をおき、初生根に対する感染の有無を調べ、接種した分化型菌との異同を確かめた。調査結果は第20表に示すように、用いた各供試植物の感染組織からは、接種したいずれの供試菌も高頻度で分離された。トマトでは、当該病原菌である *F. oxy. f. sp. lycopersici* と線虫とを混合接種したものの感染組織から100%の頻度で *Fusarium* 菌が分離され、しかもそれはトマトの初生根に容易に感染を起こすことから接種菌と同一の分化型と判定した。またトマトに病原性をもたない2分化型菌をそれぞれ線虫と混合接種したものの根部感染組織から分離された *Fusarium* 菌もそれぞれ接種菌と同一の分化型であることが確かめられた。同様にしてトマト以外

の供試植物について根部感染組織から *Fusarium* 菌の再分離を行ない、分化型を調べた結果、いずれも接種菌と同一のものであることが明らかになった。

また根部病徴の型別に選んだ感染組織からは、つねに共通の菌株が分離され、それぞれ接種菌と同一のものであることが確かめられた。導管の褐変した地際部付近の茎組織から分離されたものについても同様な結果が得られた。

4. 根部感染組織の病態解剖

根部病徴を呈した感染組織について永結ミクロトームで切片をつくり、*Fusarium* 菌の蔓延状態を観察した。供試材料は、掘り上げた罹病植物の中から、根部病徴のみられたゴール組織を選び、一旦F.A.A.固定液で減圧固定して保存した。切片は15~20 μ の厚さとし、ヘマトキシリン・サフラニンで二重染色後水で封入し、検鏡した。

供試植物のうち、発病が顕著であったキュウリ、トマトについての観察結果は次の通りである。キュウリに対して非親和性の分化型である *F. oxy. f. sp. lycopersici* を線虫と混合接種した個体の根からとったゴール組織切片では、線虫周辺における巨大細胞の形成と柔細胞の肥大、増生により中心柱の形態は著しく乱れ、導管組織が不規則に発達して巨大細胞を取り囲んでいた。それらの導管内には、おびただしく増殖した *Fusarium* 菌の菌糸が見られた。(図版VII; A, B, C)。菌糸は導管組織以外に、線虫周辺の巨大細胞内にも蔓延しており(図版VII; D, E)、さらに周囲の柔組織や線虫が形成した卵塊のゼラチン状物質の中にも存在が認められた(図版VII; F, G, H)。しかし皮層部における菌糸の分布は相対的に少なかった。ゴール内で増殖した菌糸が維管束系組織付近に多く分布することは、ネコブセンチュウが定着する部位と密接なかわりがあり、線虫の感染に伴う導管組織の異常な発達によって菌との混合感染をより容易に進展させる可能性を示している。同様な所見は、キュウリに *F. oxy. f. sp. niveum* と線虫とを混合接種したときの組織片にも認め

Table 20 Reisolation of fungus inoculum from the necrotic root tissues infected with *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita*.

Inoculation plot	<i>citrullus vulgaris</i>	<i>Cucumis melo</i> var. <i>makuwa</i>	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Cucurbita ficifolia</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>
Noninoculated control	—	—	—	—	—
<i>M. incognita</i> (4000)	—	—	—	—	—
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	—	+	+	—	—
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	—	—	—	—	+
<i>F. o. niveum</i> (20)	+	—	—	—	—
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	+	+	+	+	+
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	+	+	+	+	+
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	+	+	+	+	+

+ : Success to reisolation, — : Unsuccess to reisolation

られた。

トマトに対して非親和性の2つの分化型菌をそれぞれ線虫と混合接種したときの根部組織では、前章において感受性トマト品種に *F. oxy. f. sp. lycopersici* と線虫とを混合接種したときと共通性がみられ、ゴール組織における巨大細胞ならびにその周囲をとりまく導管組織のいずれにも菌糸の蔓延が顕著であった。

5. 土壌中の線虫密度

調査結果を第21表に示した。線虫単独接種区における2期幼虫の平均密度は供試植物の種類により著しく差異があった。中でもトマトにおける線虫の増殖は、他のウリ科作物と比較してほぼ数倍に達した。線虫・菌混合接種区における線虫密度を供試植物別に比較すると、トマト、スイカ、キュウリでは、それぞれの親和性分化型菌と線虫との混合接種区で著しく低かった。これは接種後短期間のうちに混合感染を起こした根部の壊死により線虫の増殖が抑制されたためと考えられる。しかし、そのほかの線虫・菌混合接種区間における線虫密度の変動は、必ずしも地上部の萎ちょう発病率や根こぶ指数とは関連が見られなかった。

第3節 考 察

本実験の結果は、ネコブセンチュウとフザリウム病との複合病においてこれまで指摘されたことのない新たな問題を提起している。すなわちトマトがネコブセンチュウの感染を受けたときに、元来トマトに対して親和性のない萎ちょう病菌以外の分化型によって複合病の発現する可能性のあることが明らかとなった。それはキュウリ、スイカなどの供試植物でも同様であった。このことは、ネコブセンチュウによって起こる植物体の生理的变化が、供試したそれぞれの分化型菌と植物との間の相互作用を攪乱した結果によるものと理解される。

Fusarium oxysporum の各分化型菌は、通常それぞれ親和性を異にする寄主植物に感染し、病徴を現わすが、

それとは別に不特定植物に対して不顕性感染することが知られている^(2,54,109)。また *F. oxysporum f. sp. batatas* のように、分化型菌として病原性の分化が必ずしも明確とはいえないものもある⁽²⁷⁾。しかし本実験の供試菌は、いずれもネコブセンチュウと同時接種しなければ寄主以外の植物体内に侵入することはなかった。

ネコブセンチュウに感染した植物の非親和性分化型菌による発病の様相は、親和性の分化型菌による激甚な発病にくらべて明らかに緩慢であり、病徴の型も異なっていた。それは、従来知られているトマト萎ちょう病抵抗性品種にみられるネコブセンチュウと病原菌との混合感染による発病増大の症状とも異なっている。しかし導管褐変の発現と導管内での菌糸の蔓延、とくにゴール組織における菌糸の旺盛な増殖は、これまでの観察所見（第6章参照）とは大差がなかった。なお供試植物の種類によって発病の程度に差異があるが、これはネコブセンチュウの感染による生理的变化がそれぞれの植物で質的に異なることを示唆している。

ネコブセンチュウの感染によるフザリウム抵抗性品種の抵抗性の破壊機構は明らかにされていないが、線虫感染植物体の生理的体質変化が関与することはしばしば指摘されるところである^(8,122,127)。ゴール組織では、単糖類、遊離アミノ酸、リン酸化合物、核酸などの含有量が増え⁽¹¹⁸⁾、酵素作用の異常⁽¹⁵⁷⁾、細胞透過性の変化⁽¹⁶¹⁾がみられる。またネコブセンチュウに感染した植物体における遊離アミノ酸レベルの増加とそれに伴う発病増大が注目され⁽¹⁴²⁾、生理的体質変化は単にゴール組織のみに限らず、全身的な影響をおよぼすことが知られている⁽¹⁴¹⁾。こうしたネコブセンチュウ感染植物体での体質的变化が、病原菌（親和性分化型菌）に対する抵抗性の低下を起こすとすれば、それは単にフザリウム病抵抗性品種に限って起こることではなく、寄主以外の植物においても同じであると考えられる。しかしフザリウム病抵抗性品種のすべてがネコブセンチュウとの混合感染で発病が増大する

Table 21 Final population density of second stage larvae of *M. incognita* in soil in each inoculation plot after harvest of plants.

Inoculation plot	<i>Citrullus vulgaris</i>	<i>Cucumis melo</i> var. <i>makuwa</i>	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Cucurbita ficifolia</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>
Noninoculated control	0	0	0	0	0
<i>M. incognita</i> (4000)	1900 ^{a)}	2550	1200	2150	7900
<i>F. o. cucumerinum</i> (20)	0	0	0	0	0
<i>F. o. lycopersici</i> (30)	0	0	0	0	0
<i>F. o. niveum</i> (20)	0	0	0	0	0
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. cucumerinum</i>	900	1700	50	400	8500
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. lycopersici</i>	1450	1300	650	2200	2700
<i>M. incognita</i> + <i>F. o. niveum</i>	50	2650	950	3500	5950

a) Counted on the basis of diluting number of second stage larvae recovered from 30 gram soil by Baermann funnel method.

わけではないことから、抵抗性低下は普遍的とは考えられない。

一方病原菌の側から混合感染植物体での病原菌の変異という問題も考えられる⁽⁴⁶⁾。かつて平野ら⁽⁶²⁾は、この実験結果に関してネコブセンチュウとの混合感染における病原菌の寄生性の転換によるものと考察した。しかしその後混合感染組織から再分離した供試菌を継代培養し、病原性を確めた結果、健全寄主植物に対してのみ発病が認められたことから、寄生性の転換はネコブセンチュウの感染植物における見かけ上の現象であったものと考えられる。

ネコブセンチュウの感染植物では、既往の研究でしばしば根圏在来の腐生菌または病原性の極めて弱い二次的病原微生物などとの混合感染により不定性的な複合病を発現することが認められている^(98,129)。本実験における3つの *F. oxysporum* 分化型菌の非寄主植物に対する複合病の発現は、病因的にそれと類似した疾病現象として扱ってもよいが、双方による感染の場が同一であり、かつ特定部位において混合感染を起こす点から考えて、むしろ真正複合病の範ちょうに含めるのが妥当であろう。

第8章 サツマイモネコブセンチュウに感染したトマトの複合病の発現と根圏微生物相の変化

ネコブセンチュウに感染した寄主植物の根部においては、ゴール形成に伴って他の病因との多様な相互作用が起こるが、とくにフザリウム病との場合、その根圏の生物的環境要因が複合病発現に影響することが指摘されている。たとえば寄主根でのゴール形成が病原菌密度の増大や土壤微生物相の変化を招き、フザリウム病の発病を促す可能性があるとするものである⁽¹⁰⁾。また根圏から分離される非病原細菌や、病原性の弱い糸状菌群が、不定性的な複合病を誘起することもある^(98,129)。しかしそのような根圏の微生物活動が *Fusarium* 菌との混合感染の進展にどのように作用するかは明らかにされていない。そこでサツマイモネコブセンチュウに感染したトマトにおける萎ちょう病の発病とその根圏微生物相の関連性について検討した。

第1節 実験材料ならびに方法

1. 圃場実験

本実験は、第4章で述べた圃場実験の1作目に平行して実施した。したがって供試品種、実験区、供試植物の育成、栽培方法、供試菌の接種方法についてはすでに第4章に記述したとおりである。なお本実験で対象とした供試品種は、圃場実験に用いた3品種のうちの松戸ポンデローザと豊錦の2品種である。

2. ポット実験

供試土壌は、圃場実験と同じ場所から採取した褐色火山土壌を5 mm 目の篩を通して用いた。滅菌土壌は120°C、30分間蒸気滅菌して用いた。実験は直径15cmの素焼鉢に各供試土壌を約1 kg ずつ入れ、これに供試品種の松戸ポンデローザを3株ずつ栽培した。種子はMethoxy-ethyl-mercury-chlorideで消毒し、催芽後播種した。

供試菌は圃場実験と同一菌株を用い、Czapek 液体培地で25°C、15日間培養して得られた分生胞子を接種源とした。供試線虫はナスの根に寄生したサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) の卵塊から2期幼虫を孵化させ、回収後、Streptomycin sulfate (100ppm)、Methoxy-ethyl-mercury-chloride (5 ppm) 混合液で約16時間処理し、水に浮遊させたものを接種源とした。

実験区は滅菌土壌、非滅菌土壌について、線虫単独、線虫・菌混合の各接種区および無接種区とした。*Fusarium* 菌はトマトの播種2日前に1鉢あたり 4.28×10^8 個に相当する分生胞子を50mlの水とともに灌注接種し、翌日土壌をよく攪拌した。線虫は播種9日後に1鉢あたり15000頭を50mlの水に浮遊させて灌注接種し、さらに十分に灌水して土中での分散を促した。各実験区の反復数は、線虫単独区および無接種区は5鉢、菌単独区、線虫・菌混合区は経時的調査に用いるものを含めて10鉢とした。実験はビニールハウス内で実施し、期間中の最高気温は37°C 最低気温は20°Cであった。

3. 調査方法

圃場実験における発病調査の要領は第4章で述べたとおりである。ポット実験についてもほぼ圃場実験に準じて行なった。

根圏微生物相の生菌数の調査方法は次の通りである。

圃場実験については、萎ちょう病の発病前の経時的調査と発病後の罹病個体調査に分けて行なった。発病前の供試個体根圏の生菌数測定は、石沢らの水中分画法に準じて実施した。線虫汚染区および非汚染区の任意の個体について地上部を切除し、根部の余分な土壌を静かに振り落したのち、300ml 容三角フラスコの滅菌水 (100ml) 中に根全体を20分間浸漬し、さらに水中でやや強く振とう後根を取り除いて、土壤懸濁液の入ったフラスコを20分間振とう (130往復/分) した。この懸濁液を原液として、以下常法により希釈液を調製し、希釈平板法で生菌数を調べた。この調査は各品種とも4月30日 (定植11日後) 以降2~3週間ごとに5回行なった。各回の調査反復数は各区とも2個体とした。

発病後の罹病個体調査では、線虫汚染区、非汚染区の松戸ポンデローザから萎ちょう病の症状が3~4の階級値に進んだ個体を用いた。調査個体の根系のうち、すで

に病原菌によって感染が進展している感染根——根に導管褐変が認められているもの——と、未感染根——外観上異常の認められないもの——に区分して、それぞれの根圏微生物相を比較した。採集した個体の根を一本ずつ切断して感染根と未感染根に分け、別個に滅菌水中に浸漬し、根を含めたまま20分間振とうしたのち前述と同じ方法で生菌数を測定した。調査は8月12日に行なった。反復数は各区2個体とした。

ポット実験における根圏微生物相の調査は、播種8日後以降各区3回ずつ実施した。なお萎ちょう病の病徴がみられたときには発病個体と健全個体に分けて生菌数の測定を行なった。各区とも調査反復数は2～3個体とした。

根圏微生物は *Fusarium oxysporum*, 糸状菌, 細菌, 色素耐性菌および放射菌の各群を対象とし、それぞれの分離選択培地の種類, 培養の温度と期間はつぎのとおりである。

Fusarium oxysporum: 駒田氏培地, 20°C, 5～10日間

糸状菌: Peptone-Dextrose-Rosebengal Agar, 25°C, 3～5日間

細菌: Sodium Albuminate Agar, 30°C, 7～10日間

色素耐性菌: Sodium Albuminate Agar, に Gentian violet 0.1%液を培地 1 l 当たり 5 ml 添加, 30°C, 7～10日間

放線菌: Jensen's Agar, 30°C, 9～12日間

微生物の種類に応じて菌数測定の希釈倍率を適宜変え、プレート上のコロニーを計数して3反復の平均値により乾土 1 gr あたりの菌数を求めた。

第2節 実験結果

1. 圃場におけるネコブセンチュウ感染トマトの萎ちょう病の発病と根圏微生物相

(1) 線虫の寄生度と萎ちょう病の発病

ゴール形成は6月以降線虫汚染区でのみ認められ、品種間では差がなかった。萎ちょう病の発生は、松戸ボンデローザで顕著であったのに対して、豊錦ではまったく発病がみられなかった(第15図)。松戸ボンデローザにおける線虫汚染区での萎ちょう病発病指数は、8月中旬で100%に達したが、非汚染区では8月28日で75%であった。

(2) 萎ちょう病の発病前における寄主根圏微生物相の変動

4月30日から7月9日までのトマト根圏における生菌数の調査結果を第16図に示した。*F. oxysporum* の変動をみると、線虫汚染区では病原菌接種2週間後に両品種とも 10^6 /g (乾土) と高い密度で最大となり、その後急速に低下する傾向があった。非汚染区では、松戸ボンデローザの場合2週間後の菌数増大は線虫汚染区ほど顕著ではなく、その後の密度低下もやや緩やかであった。豊錦の根圏では区間に大差がなかった。

その他の微生物相をみると、糸状菌数は接種した病原菌を含むため、初期の変動の傾向にその影響がみられたが、調査期間を通じて 10^6 /g (乾土) 前後であった。線虫汚染区と非汚染区の間では、菌数に差は認められず、松戸ボンデローザにおける菌数の増減が豊錦と比べてやや目立った。

細菌数は全般に 10^8 /g 以上の高密度を維持したが、その変動は線虫汚染区の方が非汚染区より若干大きく、豊錦の根圏でその傾向が明らかであった。色素耐性細菌は全細菌とくらべて密度変動が大きく、6月の調査時に最大となった。この傾向は両品種とも線虫汚染区におけるゴール形成初期の根圏で顕著にみられた。

放線菌数はほぼ 10^7 /g であり、両品種とも線虫汚染区の根圏でゴール形成にともなう密病の変動は認められなかった。

以上の根圏菌数の測定値から微生物相互間の菌数比を求めると、両品種の間でトマトの生育につれてことなった傾向がうかがわれた。糸状菌数において *F. oxysporum* の占める割合が全般に高い中で、松戸ボンデローザの根圏では線虫汚染区の方が非汚染区よりも、一方豊錦では非汚染区の方が線虫汚染区よりも *F. oxysporum* の比率の高いことが注目された。

(3) 萎ちょう病発病個体における根圏微生物相

線虫汚染区と非汚染区から松戸ボンデローザの萎ちょう病発病個体を選び、根圏微生物数を調べた結果が第17

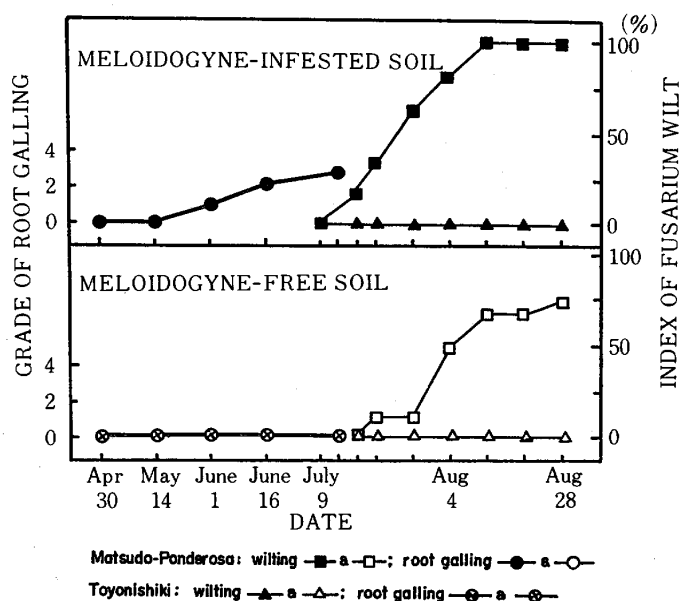


Fig. 15 Occurrence of *Fusarium* wilt and root-knot formation in two tomato cultivars grown in *Meloidogyne*-infested and non-infested soil.

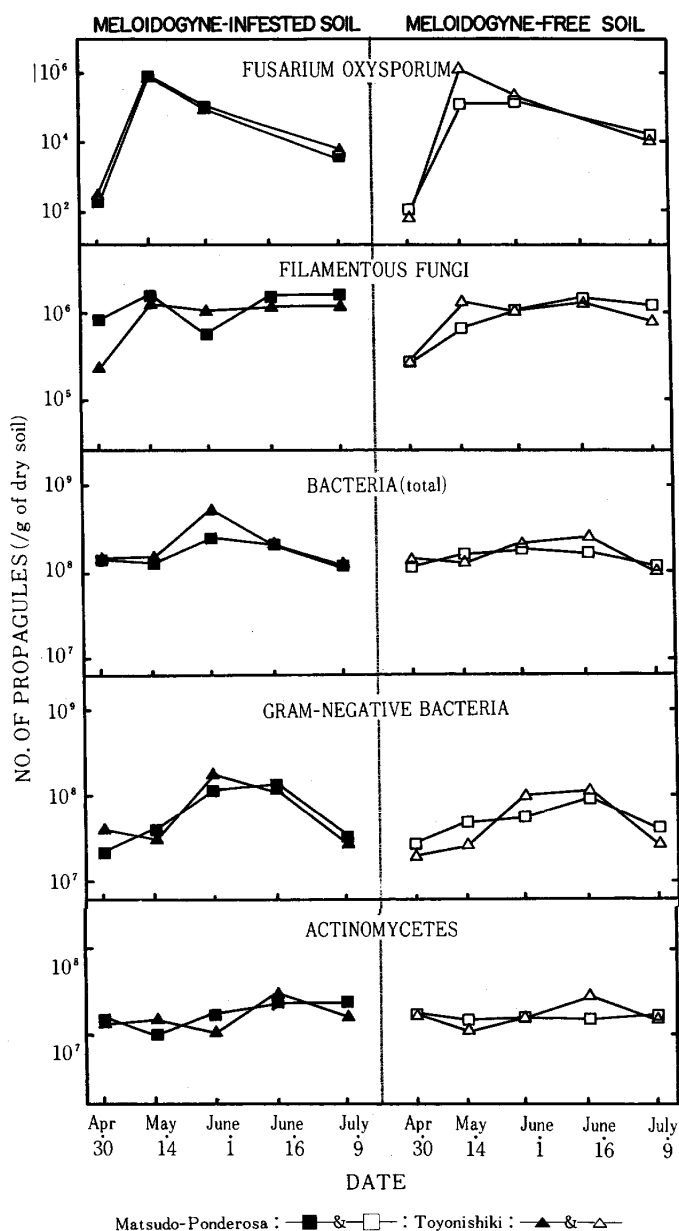


Fig. 16 Changes of population density of rhizosphere microorganisms in a period before emergence of *Fusarium* wilt symptom in tomato plants grown in *Meloidogyne*-infested and non-infested soil.

図である。ここでは発病個体の感染根と未感染根についての調査結果を平均して表わした。線虫汚染区の調査個体の根こぶ階級値は3~4であり、非汚染区のものは0であった。根圏微生物の密度は、全細菌、色素耐性細菌、糸状菌および *F. oxysporum* いずれの数も線虫汚染区の発病個体の方が非汚染区のそれよりかなり高いが、放線菌数は両区の間には差がみられなかった。

つぎに各区の萎ちょう病発病個体の根を *Fusarium* 感

染根と未感染根とに区分して根圏における各微生物の菌数を表わしたのが第18図である。ゴール形成の著しい線虫汚染区の感染根において細菌、色素耐性菌、放線菌の各菌数が未感染根とくらべて約2倍多く、糸状菌数はその差が小さかった。*F. oxysporum* の数は逆に未感染根の方がより多かったが、反復個体によって極端にちがいがあ、一定の傾向はみられなかった。一方非汚染区発病個体の感染、未感染根圏の間でも *F. oxysporum* の数に差は認められなかったが、その他の各微生物の菌数は線

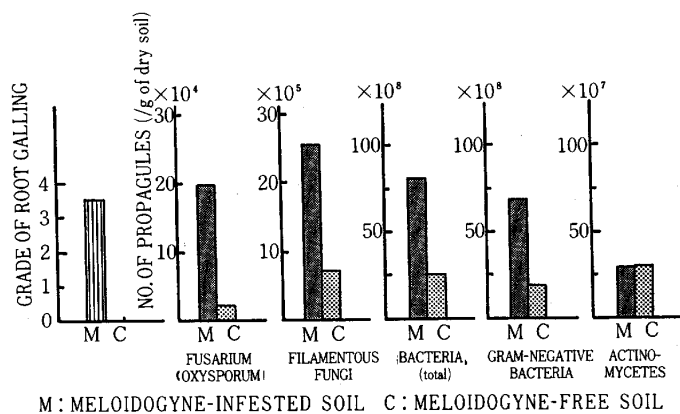


Fig. 17 Influence of *Meloidogyne incognita* on population density of rhizosphere microorganisms of diseased Matsudo-Ponderosa tomato plants.

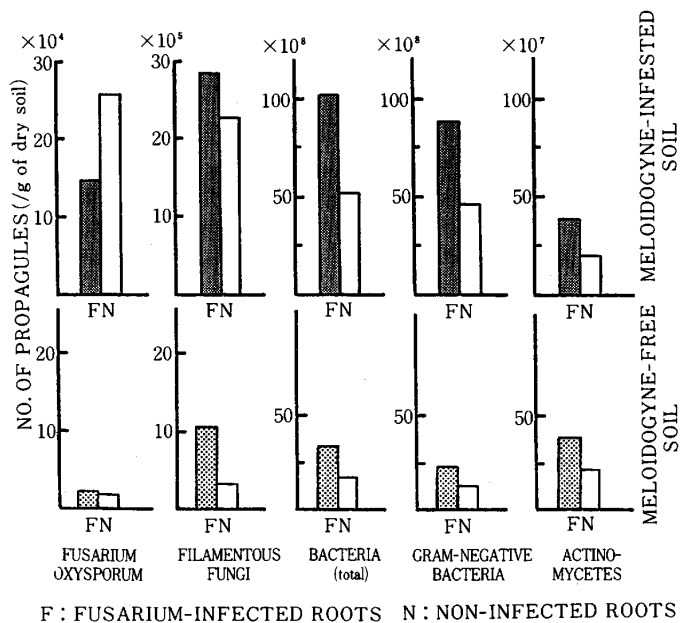


Fig. 18 Comparison of population density of rhizosphere microorganisms between *Fusarium*-infected and non-infected roots of diseased Matsudo-Ponderosa tomato plants.

虫汚染区の場合と同様に感染根においてより多かった。

これらの根圏菌数の測定値から各微生物相互の菌数比を求めると第22, 23表ようになる。線虫汚染区と非汚染区における各発病個体を比較した場合、糸状菌の全細菌に対する比率は線虫汚染区でやや高かった。放線菌の全細菌に対する比率は線虫汚染区で著しく低かった。また色素耐性細菌の全細菌に対する比率および *F. oxysporum* の糸状菌に対する比率はそれぞれ線虫汚染区で大きかった。発病個体のなかの感染根と未感染根の間では、糸状菌の全細菌および放線菌に対する比率が線虫汚染区と非汚染区でそれぞれ異なり、発病個体における根圏微生物相は線虫の感染により複雑に変動することがわかった。

2. 病原を接種した滅菌土ならびに非滅菌土での萎ちょう病の発病と根圏微生物相

(1) 線虫の寄生病と萎ちょう病の発病

播種25日以後の線虫・菌混合接種区における調査個体の根こぶ階級値は、滅菌土では2.2~4.0, 非滅菌土では2.0~3.0であった。萎ちょう病の発病状況は第19図に示すように、非滅菌土にくらべて滅菌土の方が激しかった。各接種区の発病経過をみると、滅菌土では播種後9日目に病徴が現われ、発病初期は菌単独接種区の発病指数が線虫・菌混合接種区を上廻ったが、播種18日以後は線虫・

菌混合接種区の病勢は急速に進展し、35日後には全個体が枯死した。一方非滅菌土のトマトでは、全般に病勢の進展は緩慢であったが、発病指数は線虫・菌混合接種区の方が菌単独区より終始高く推移し、播種41日後にそれ

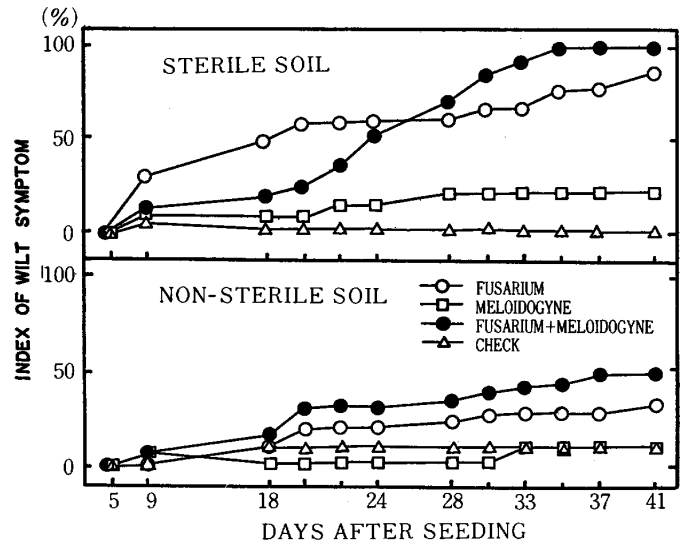


Fig. 19 Difference in *Fusarium* wilt development on Matsudo-Ponderosa tomato plants inoculated with *Fusarium* alone or *Fusarium* and *Meloidogyne* in combination in sterile and non-sterile soil.

Table 22 Comparison of relative rates of the propagule number to each major group of microorganisms detected from rhizosphere of wilt infected plants grown in root-knot infested or noninfested soil^{a)}.

Field plot	Relative rates of rhizosphere microorganisms ^{b)}				
	F/TB	A/TB	NB/TB	F/A	FO/F
<i>Meloidogyne</i> -infested	0.031	3.7	84.3	0.85	7.8
<i>Meloidogyne</i> -noninfested	0.027	12.0	72.4	0.25	2.9

a) Average of two replicates. Tomato plants used had showed 3 to 4 grade of wilt index.

b) A : Actinomycetes ; F : Filamentous fungi ; FO : *Fusarium oxysporum* ; NB : Gram-negative bacteria; TB : Total bacteria.

Table 23 Comparison of relative rates of the propagule number to each major group of microorganisms detected from rhizosphere of both *Fusarium*-infected and noninfected roots separately, in whole root system of wilted tomato plants^{a)}.

Field plot	Root materials	Relative rates of rhizosphere microorganisms ^{b)}				
		F/TB	A/TB	NB/TB	F/A	Fo/F
<i>Meloidogyne</i> -infested	<i>Fusarium</i> -infected ^{c)}	0.026	3.54	80.4	0.72	4.9
	Noninfected	0.043	3.96	90.4	1.09	11.4
<i>Meloidogyne</i> -noninfested	<i>Fusarium</i> -infected	0.032	11.5	69.7	0.27	2.2
	Noninfected	0.018	13.0	78.0	0.14	5.2

a) Average of two replicates. Tomato plant used had showed 3 to 4 grade of wilt index.

b) A : Actinomycetes; F : Filamentous fungi; FO : *Fusarium oxysporum* ; NB : Gram negative bacteria; TB : Total bacteria.

c) *Fusarium* infection was diagnosed by browning of vascular system of roots.

それぞれ47.6%, 30.0%を示した。

(2) 根圏微生物相の変動

各微生物の生菌数測定結果を第20図にまとめて表わした。*F. oxysporum* の菌数は滅菌土の根圏では非滅菌土よりやや多いが、何れも日数の経過とともに漸減した。菌密度の低下は線虫・菌混合接種区のトマト根圏の方が菌単独区よりも著しく、非滅菌土では播種40日後の菌数は滅菌土と明らかな差が認められた。なお萎ちょう病の発病個体と健全個体の間で根圏の菌数には差がほとんどみられなかった。糸状菌数は *F. oxysporum* の密度変動に類似しているようにみえたが、滅菌土と非滅菌土の間で密度の差は少なかった。また線虫・菌混合接種区と菌単

独区の糸状菌数の差は *F. oxysporum* ほど明らかでなく、発病個体と健全個体の間もとくに顕著な差ではなかった。

細菌数はほぼ $10^8 \sim 10^9$ /gであったが、滅菌土の植物根圏では非滅菌土より高い密度が続いた。接種区の菌数は、滅菌土では菌単独区で変動し、非滅菌土では線虫・菌混合接種区で明らかに増加した。とくに萎ちょう発病個体の根圏細菌密度が高かった。色素耐性細菌の密度は全細菌より若干低かったが、その増減は全細菌と変らなかった。非滅菌土における線虫・菌混合接種区の植物根圏では色素耐性細菌数の増加が著しく、播種40日後に菌単独区の約10倍に達した。

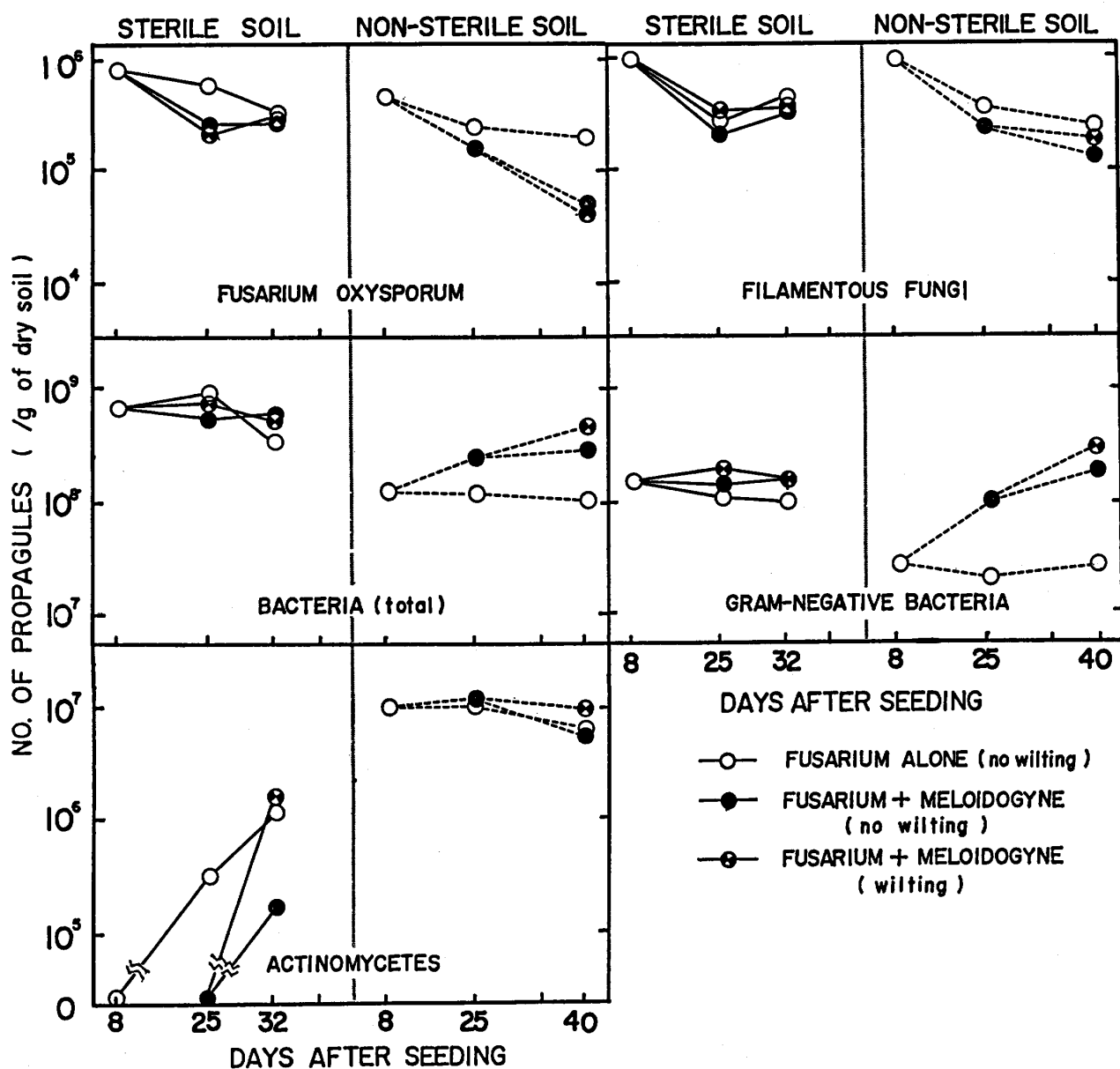


Fig. 20 Changes of population density of microorganisms in the rhizosphere of Matsudo-ponderosa tomato plants inoculated with *Fusarium* alone or *Fusarium-Meloidogyne* combination in sterile and non sterile soil.

放線菌数は非滅菌土の場合 10^7 /g程度で、全般に密度の変動が少なく、また各接種区間の差も僅かであった。滅菌土からは、播種8日後には各接種区とも放線菌が検出されなかったが、25日後には菌単独区で、32日後には菌単独および線虫・菌混合接種の両区から検出され、急激に密度が増加した。

以上の根圏における菌数測定値から各微生物相互の割合を求めると、第24表のとおりである。ここでは滅菌・非滅菌土壌について1回目（接種8日後）と3回目（32日または40日後）の結果から得た数値を示した。土壌の滅菌処理により各微生物相互の比率は著しく相違し、また線虫・菌混合接種区と菌単独区の間でも明らかに異なった。滅菌土では、放線菌密度の急激な増加による比率の変動を除き各接種区間の数値に大きな差はなかった。一方非滅菌土では、線虫・菌混合接種区の植物根圏における色素耐性菌の全細菌に対する比率が菌単独区より著しく高かった。また糸状菌の全細菌や放線菌に対する比率、放線菌の全細菌に対する比率、また *F. oxysporum* の糸状菌に対する比率はいずれも線虫・菌混合接種区の植物根圏の方が菌単独区におけるより低い傾向が認められた。これらは土壌の殺菌による微生物環境要因の変動によって線虫感染植物根圏における微生物相が異なることを示唆している。

3. ゴール組織の糸状菌相

圃場実験の線虫汚染区に栽培した各品種供試個体のゴール組織表層は、大小さまじな褐変した壊死部が認め

られ、ゴール形成後の時間の経過とともに著しくなった。そこでそれらの褐変壊死部と萎ちょう病の発現との関連を明らかにするため、ゴールの壊死部ならびに健全部の組織から糸状菌の分離を行なった。

供試材料は、松戸ボンデローザの根に形成されたゴールのうち、直径1 cm以上に肥大した大型のものを選び、淡褐色もしくは茶褐色の壊死部表層組織と健全部組織とを約 3×3 mmの大きさにメスで切り取った。分離にはwater agar培地を用い、組織片は70%アルコールで数秒間処理したのち滅菌蒸留水で2回洗浄をくりかえし、直ちに平板地上においた。これらは25°Cの恒温器内に収容し、3日後、7日後、14日後にとり出して菌糸を観察し、適宜PDA培地に移して同定に供した。

結果は第25表に示すように、152箇所からとった壊死部表層組織のうち68.4%のものから糸状菌が検出され、残りの31.6%からは細菌のみであった。糸状菌のうちもっとも頻度が高かったのは *Fusarium solani* で59.6%、ついで *F. oxysporum* が28.8%、*Rhizoctonia* 9.6%、*Pythium* 7.7%であり、他の土壌菌類は *Pennicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Chaetomium*, *Mortierella*, *Mucor*, および未同定菌3種であった。症状の進んだ茶褐色壊死部からは『淡褐色の部分とくらべて糸状菌の検出頻度がさらに高まり、その内訳は *F. solani* が約70%を占める一方、*F. oxysporum* は低下した。また外観上健全とみなした表層組織の25.0%から糸状菌が分離され、その約半数は *F. oxysporum* で

Table 24 Comparison of relative rates of the propagule number to each major group of microorganisms detected from rhizosphere of tomato plants inoculated with *Fusarium* alone or *Fusarium-Meloidogyne* combination in sterile and nonsterile soil.

Inoculation plot	Relative rates of rhizosphere microorganisms ^{a)}				
	F/TB	A/TB	NB/TB	F/A	Fo/F
Sterile soil :					
<i>F. oxy. lycopersici</i> alone ^{b)}	0.17	—	21.8	—	63.3
<i>F. oxy. lycopersici</i> alone ^{c)}	0.12	0.22	21.3	55.4	74.9
<i>M. incognita</i> + <i>F. oxy. lycopersici</i> ^{c)}	0.086	0.029	28.2	—	71.5
<i>M. incognita</i> + <i>F. oxy. lycopersici</i> ^{d)}	0.095	0.30	28.7	31.3	76.9
Nonsterile soil :					
<i>F. oxy. lycopersici</i> alone ^{b)}	0.71	6.47	27.0	10.9	58.5
<i>F. oxy. lxy. lycopersici</i> alone ^{e)}	0.44	7.76	43.3	5.69	64.1
<i>M. incognita</i> + <i>F. oxy. lycopersici</i> ^{e)}	0.042	1.67	72.9	2.46	33.1
<i>M. incognita</i> + <i>F. oxy. lycopersici</i> ^{f)}	0.056	1.53	80.6	3.65	18.1

a) A : Actinomycetes; F : Filamentous fungi; FO : *Fusarium oxysporum*; NB : Gram-negative bacteria; TB : Total bacteria.

b) Data were taken on eight days after seeding of healthy materials.

c) Data were taken on thirty two days after seeding of healthy materials.

d) Data were taken on thirty two days after seeding of wilted materials.

e) Data were taken on forty days after seeding of healthy materials.

f) Data were taken on forty days after seeding of wilted materials.

あった。

F. oxysporum の分離株について、トマトの発芽種子を用い、病原性の検定を行なったところ、30%弱のものが著しい褐変を起こしたので、それらを *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* と同定した。ここに述べた褐変壊死部はいずれも表層性のものであり、ゴール内部の維管束部に褐変症状が達するものはみられなかった。

第3節 考 察

圃場実験で、萎ちょう病の発病は7月中旬から認められ、線虫汚染区では非汚染区よりも速やかに病勢が進展した。トマトの根に対する線虫の侵入は5月中に始まったとみられ、6月以降の調査でゴール形成が認められている。一方萎ちょう病の発病以前における根圏微生物相の動態をみると、5月中旬から6月の間にさまざまな推移がある。その中で線虫の感染に伴ない注目されるのは、5月半ばの松戸ポンドローザの根圏で *F. oxysporum* の菌数が多く糸状菌に対する比率の高いこと、6月初旬から中旬にかけて全細菌、中でも色素性細菌の密度が増すことなどである。したがって萎ちょう病の発病以前から線虫の感染と平行して根圏微生物相の変動が起こっていることは間違いない。なお5月14日には線虫汚染区のトマトにはゴールは認められず、恐らく2期幼虫が侵入しつつあった時期にあたると推測される。その時期の根圏

で *F. oxysporum* の密度が高かったことは、*Fusarium* 菌の感染ポテンシャルが増し、感染を起こしやすい状況におかれていたことを暗示している。

根圏微生物相の動態は、いうまでもなく根からの浸出物によって影響をうけると考えられる^(133,134)。VAN GUNDY ら⁽¹⁵⁵⁾によれば、*M. incognita* に感染したトマトの根浸出物は、感染後始めの14日間には炭水化物が多く、それ以後になると窒素質化合物が増大して C/N 率が転換するという、このことは、病原菌を含めて根圏微生物に対する栄養供給の点で重要な意味があろう。本実験でみられた萎ちょう病の発病前における線虫感染植物根圏での微生物相の推移は、浸出物の変化を反映している可能性が考えられるが、その後の発病に対する影響は明らかでない。

つぎに萎ちょう病発病個体における根圏微生物相の変動をみると、線虫汚染区と非汚染区の間で放線菌を除いて菌数レベルに明らかな差が認められる。それらの微生物相互間では、線虫汚染区において放線菌の細菌に対する比率が低下し、全細菌の中では色素耐性細菌の比率が高くなっている。BERGESON ら⁽¹⁰⁾は、*M. javanica* と *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* との混合接種により発病したトマト (Bonny Best) の根圏で、放線菌密度が激減して *Fusarium* 菌数が増加することを認めた。松田ら⁽⁹⁶⁾も *Meloidogyne* sp. の寄生したキュウリ根圏では、つる割病の

Table 25 Frequency of infestation with fungi to discolored epidermal tissues of galled roots in tomato grown in *Meloidogyne*-infested soil.

Materials & Isolated fungi	Type of discolored tissue Pale-browning	Browning	Total/Average	Nondiscolored tissue
Materials used :				
Total no.	86	66	152	64
No. of tissue pieces with fungal isolation	51	53	104	16
Frequency of infestation	59.3%	80.3%	68.4%	25.0%
Frequency of isolated fungi :^{a)}				
<i>Alternaria</i> sp.	2.0%	1.9%	1.9%	0%
<i>Aspergillus</i> sp.	2.0	5.8	3.8	0
<i>Cephalosporium</i> sp.	5.9	3.8	4.8	0
<i>Chaetomium</i> sp.	2.0	1.9	1.9	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	31.3	23.0	27.8	50.0
<i>Fusarium roseum</i>	2.0	3.8	2.9	0
<i>Fusarium solani</i>	51.0	69.7	59.6	18.7
<i>Mortierella</i> sp.	2.0	3.8	2.9	6.3
<i>Mucor</i> sp.	0	1.9	1.9	0
<i>Penicillium</i> spp.	9.8	7.7	8.7	31.3
<i>Pythium</i> spp.	9.8	5.8	7.7	6.3
<i>Rhizoctonia solani</i>	11.7	7.7	9.6	12.5
<i>Trichoderma</i> sp.	2.0	3.8	2.9	0
Unidentified fungus(a)	2.0	3.8	2.9	0
" (b)	0	1.9	1.0	0
" (c)	2.0	0	1.0	0

a) Percentage to number of tissue pieces with fungal isolation.

発病の有無にかかわらず病原菌密度が増大したと報告している。この実験で、萎ちょう病の発病個体の根圏では、線虫の感染によりゴール形成したもので *F. oxysporum* の菌数が多かったが、反復個体間の変動が著しく大きかった。萎ちょう病では、個体の根群中で一部の根が病原菌に感染しただけでも発病する（第 6 章参照）⁽⁸⁶⁾。したがって第 18 図に示したように、感染根と未感染根との間で根圏微生物相が著しくことなる点から、萎ちょう病発病個体の全根群に対する感染根の割合によっても、個体としての根圏微生物の測定値が変動すると考えねばならない。このように萎ちょう病発病個体における根圏微生物数は、さまざまな要因により影響されるので個体差が大きいが、*F. oxysporum* を含めて糸状菌の細菌に対する比率は、発病前とくらべて著しく低下しており、また *F. oxysporum* の糸状菌に対する比率も低くなることから、線虫との混合感染で発病した個体では、病原菌以外の微生物による 2 次的感染が起こりやすくなっているものと推察される。そのことは線虫の感染に伴う時間の経過とともに、初期における線虫と病原菌との混合感染による複合病が次第に不定性的な混合感染に変わっていくことを示唆している。

圃場実験で観察されたゴール組織表層の褐変壊死部に見出される糸状菌相をみても、萎ちょう病菌のような導管感染を起こすものより表層部に定着または感染を起こしやすい種類が優占する傾向があり、それらが直接萎ちょう症状の発現に関与するとは考え難い。

滅菌土と非滅菌土を用いた接種実験では、両土とも線虫・菌混合接種区において菌単独接種区より萎ちょう病の発病が助長されるが、病勢の進展は非滅菌土よりも滅菌土の場合に顕著であった。この差異は両土における根圏微生物相の違いによる可能性が強い。非滅菌土における線虫・菌混合接種区の根圏で色素耐性細菌の密度の増加が著しいことは、*F. oxysporum* の密度低下と合わせ注目される。一方滅菌土では、線虫の接種にかかわらず非滅菌土に比べ色素性細菌も含めて細菌密度が全般に高いが、*F. oxysporum* の密度の低下はみられない。これらは両土間で根圏微生物相が質的にことなっていることをものがたっており、微生物間の相互作用とともに今後明らかにすべき課題である。

第 9 章 サツマイモネコブセンチュウの感染組織浸出液の病原菌生育におよぼす影響

ネコブセンチュウと病原菌による複合病の発生が線虫感染植物の生理的变化のために促進されるという見解は、今日では広く支持されている。線虫による感染組織

の成分変化⁽¹¹⁸⁾や組織からの浸出物の変化^(155,161)がそれを裏付ける主要因としてあげられている。と同時に、その生理的变化は、単に感染組織だけでなく、植物体の全体的変調を引き起こすことが明らかにされている^(15,141)。線虫感染組織での病原菌の蔓延、増殖は、ゴール部位における巨大細胞とその周辺柔組織、導管組織内で著しく^(101,105)、根圏での増殖もまた認められている^(10,96)。

ここでは、ネコブセンチュウによるゴール組織からの浸出液が病原菌の菌糸生育ならびに胞子の発芽におよぼす影響について検討した。

第 1 節 実験材料ならびに方法

供試植物：松戸ポンデローザ、豊錦の 2 品種を用い、蒸気滅菌した褐色火山灰土壌を入れた直径 12cm の素焼鉢で栽培した。種子はサラシ粉飽和溶液により消毒し、1 鉢あたり 2 粒ずつ播種した。

供試線虫：線虫汚染圃場に植えたトマトで増殖させたサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) を用いた。接種源は根に形成した卵塊を集め、清水中で孵化させた 2 期幼虫である。接種方法は播種後 14 日を経た供試植物に 1 鉢あたり 5000 頭の 2 期幼虫を 50ml の滅菌水に浮遊させ、地表から注いだ。

浸出液の調製：線虫を接種して 26 日後に植物体をていねいに掘り上げ、十分に水洗して土粒を取り除いた。根はゴール形成の著しい部分を残して他は切り落した。それらを Streptomycin sulfate 1000 倍液に 10 分間浸漬したのち、さらに滅菌水で洗浄し、濾紙で水を吸い取ってから 300ml の滅菌蒸留水を入れたビーカーに 20 個体の供試植物を浸漬して室温 (19~23°C) で 24 時間静置した。対照として線虫無接種の健全個体を同様な方法で処理した。所定時間後植物体を取り出し、浸漬液をザイツ濾過器で濾過したのち、ロータリーエバポレーターで約 1/3 量に濃縮した液を浸出液として用いた。浸出液は 100ml 容三角フラスコに 20ml ずつ分注し、コッホ消毒釜で間けつ滅菌した。

供試菌の培養と菌糸生育の測定：供試菌は第 4 章の圃場実験で接種に用いたものと同一菌株である。PSA の平板培地に培養した菌そうから、直径 4 mm のコルクボーラで切り取った菌そう片を浸出液を入れたフラスコに移植し、27°C 10 日間静置培養を行なった。

培養終了後菌糸体を取り、常法により 70°C で乾燥、恒量としたのち菌体乾燥重量を測定した。実験は 1 区につき 4 反復した。

分生孢子浮遊液の調製と発芽実験：PSA 斜面培地で 10 日間培養した供試菌に 10ml の滅菌蒸留水を入れ、ニクロム線で菌そうを掻き、胞子を浮遊させ、ガーゼで濾過

後滅菌蒸留水を加えて遠心分離により3回洗浄し、さらに滅菌蒸留水で稀釈して分生孢子浮遊液を調製した。

孢子発芽の実験は2つの方法によった。浸出液を直接用いる方法では、コロジオン膜処理を行なった清浄なスライドグラスに、さきに準備した浸出液を滴下し、これに毛細管ピペットで孢子浮遊液の小滴を落して白金耳で混合した。孢子濃度は、液滴にカバーグラスをかけ、200倍の光学顕微鏡で観察したときにほぼ10個の孢子が数えられるようにした。スライドグラスは湿室にした大型ペトリ皿に収め、25°Cの定温器に入れ、16時間後および22時間後にホルマリンにより発芽を停止し、1滴あたり約300個の孢子を計数し、4反復して発芽率の平均を求めた。

ゴール組織を用いる方法は、直径5～8 mmに肥大した新鮮なゴールを選び、その中心部を縦に切断して、切断面をあらかじめ用意したペトリ皿中の素塞天平板上に拵げたセロファン膜上に密着させ、滅菌蒸留水の小滴を浸ませて組織を湿潤に保った。24時間後組織とセロファン膜を取り除き、その接触面に孢子浮遊液を滴下して25°Cの定温器に入れた。16時間後および22時間後に接触面を含む塞天片を切り取り孢子の発芽率を調査した。対照として直径2～3 mmの健全根の組織を中心柱に沿っ

て切断し、同様の方法で扱った。孢子数は1組織片あたり約100個、各区5～8反復して発芽率の平均を求めた。

厚膜孢子の形成と発芽実験：前記の方法で得た分生孢子の濃厚浮遊液を10倍に稀釈したPSAを塗布したスライドグラス上に3箇所点滴して24時間湿室ペトリ皿に入れ、25°Cに保ったのち風乾させ、これを深底ペトリ皿に入れた非滅菌土中に10日間埋没して厚膜孢子を形成させた。スライドグラスを取り出し、緩やかに水洗して土粒を落としたのち濾紙で水を吸い取り、さきに調製した浸出液を注いだペトリ皿に移し、25°Cで24時間静置して孢子の発芽を促した。所定時間後スライドグラスを取り出し、風乾後ローズベンガル液で染色し、厚膜孢子の発芽を調査した。孢子数は1箇所につき50～100個を数えスライドグラス4枚反復した。

第2節 実験結果

1. 菌糸生育におよぼす影響

病原菌の菌糸生育におよぼすゴール組織浸出液の影響は第26表に示すとおりである。松戸ポonderosaおよび豊錦の両品種から得たゴール浸出液における菌体乾燥重量は、健全根から得た浸出液と比べ約3倍に達した。品種による差はほとんど認められなかった。

Table 26 Effect of the galled root exudates prepared in two tomato cultivar seedlings on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Cultivar	Mycelial growth(mg) ^{a)}	
	Galled root	Nongalled root
Matsudo-Ponderosa	34.1	12.7
Toyonishiki	31.8	11.4

a) Average of four replicates. Data were taken on ten days after inoculation.

Table 27 Effects of the galled root exudates prepared in two tomato cultivar seedlings on the conidial germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Cultivar & Plot	Percentage of conidial germination			
	In solution		On agar plate	
	16 hr	22 hr	16 hr	22 hr
Matsudo-Ponderosa:				
Galled roots	89.5 %	97.8 %	77.8 %	96.1 %
Nongalled roots	77.3	93.6	55.1	79.2
Toyonishiki:				
Galled roots	84.1	95.2	75.2	94.6
Nongalled roots	73.9	92.7	59.3	83.8
Control (Distilled water)	69.1	91.6	53.4	81.5

2. 胞子の発芽におよぼす影響

分生胞子の発芽におよぼすゴール組織浸出液の影響は第27表に示すとおりである。スライドガラス上に滴下した浸出液中の胞子発芽率は、健全根の浸出液あるいは蒸留水においても良好なため、区間の差は必ずしも著しくはないが、全般にゴール組織浸出液中では発芽時間が早くなる傾向があった。すなわち処理16時間後の発芽率は、健全根の浸出液処理よりもゴール組織の浸出液処理において明らかに高かったが、22時間後の調査ではその差が狭まった。供試品種間で相異は認められなかった。

一方、ゴール組織を用いたときの分生胞子発芽率をみると、16時間後、22時間後のいずれにおいてもゴール組織の方が健全根と比べて発芽率が高く、発芽は促進された。なお健全根を用いたときの発芽率は対照として蒸留水を滴下したものと差が少ないが、これは健全根が細いため根の影響が現われなかったものと考えられる。ゴール組織の場合でも品種による相異はみられなかった。

つぎに厚膜胞子の発芽におよぼすゴール組織浸出液の影響をみた結果は第28表のとおりである。本実験における厚膜胞子の発芽は全般に良好とはいえないが、健全根浸出液に比べてゴール組織浸出液中では明らかに発芽率が高かった。また品種によってやや相異がみられ、松戸ボンデローザの方が豊錦より10%近く発芽率が高かった。蒸留水中では厚膜胞子の発芽はまったく認められなかった。

第3節 考 察

本実験の結果からネコブセンチュウ感染植物の根浸出液が病原菌の菌糸生育ならびに胞子発芽に対して促進的な作用をすることは明らかである。フザリウム病感受性品種と抵抗性品種の間では、必ずしもそれらの作用に相異が認められなかった。ネコブセンチュウの感染組織汁液が土壌病原菌の発育を促すことはすでに報告されているが⁽⁵⁶⁾、本実験から浸出液にも促進作用のあることが明らかである。

植物根からの浸出物が種々の土壌病原菌ならびに根圏微生物に影響をおよぼすことはこれまで多くの研究で明

らかにされている^(133,134)が、ネコブセンチュウ感染植物根の浸出物の影響を実証した例は少ない。BERGESONら⁽¹⁰⁾は、*M. javanica*に感染したトマト根圏で*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*の菌密度が増大するとし、松田ら⁽⁹⁶⁾もキュウリつる割病菌で同様な現象を認め、またゴール組織に接触した分生胞子の発芽が促進されるとした。BRODIEら⁽¹⁷⁾は、*M. incognita*が寄生したワタ実生苗のゴール組織汁液が*Pythium debaryanum*の胞子のうの形成を著しく増加させることを認めた。VAN GUNDYら⁽¹⁵⁵⁾によれば、*M. incognita*感染トマトの浸出液で処理した根では、*Rhizoctonia solani*で根腐れを起こしやすく、またトマトのゴール組織からの浸出物が*R. solani*の誘引や菌核形成を誘起するという観察がなされている⁽⁴⁵⁾。これらはゴール組織やネコブセンチュウ感染植物からの浸出物が直接病原菌の生育や病原力に影響することを示しており、本実験の結果と対比し一致する点が多い。

ネコブセンチュウ感染植物からの浸出物は線虫感染後経時的に増加し、感染21日後には最大に達し、その成分は各種無機塩およびアミノ酸が主のようである⁽¹⁵⁵⁾。したがって、浸出液が病原菌の生育や胞子発芽のための栄養源となることは十分考えられる。

本実験で、トマト品種に松戸ボンデローザと豊錦を用いたが、いずれの浸出液とも病原菌の菌糸生育および胞子発芽におよぼす影響にはほとんど相異がみられなかった。しかしこれまでの圃場実験やポット実験から明らかなように、*M. incognita*と*Fusarium*菌とによる複合病の発現は両品種間で顕著な差があり、萎ちょう病感受性の松戸ボンデローザでは発病が著しく増大するのに対して、抵抗性の豊錦は発病がみられないかあるいは極く軽微であった。本実験で両品種の浸出液の作用に差のないことは単にゴール組織浸出物の病原菌に対する栄養のみで抵抗性の違いは説明できないことを示している。

ネコブセンチュウ感染植物における浸出物の作用は、特定の病原菌に限らず、その植物根圏に存在するさまざまな微生物の活動にも影響するものと考えられる。前章で述べたネコブセンチュウ感染トマトの根圏微生物相の変化は、ゴール組織の浸出物の作用を反映しているにち

Table 28 Effect of the galled root exudates prepared in two tomato cultivar seedlings on the chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Cultivar	Percentage of chlamydospore germination a)	
	Galled root	Nongalled root
Matsudo-Ponderosa	32.7 %	15.3 %
Toyonishiki	24.9	16.5

a) Data were taken on 24 hours after treatment.

がないが、それぞれの微生物に対する浸出物の直接の作用は明らかでない。本実験で明らかにした萎ちょう病菌の生育や胞子の発芽に対する浸出物の促進作用が、混合感染を拡げるための一要因となるにしても、他の根圏微生物との相互作用によって複合病の発現に対する影響も変わる可能性がある⁽¹⁰⁾ので、線虫感染植物根圏で *Fusarium* 菌密度が増加する現象を直接本実験の結果で説明することはむずかしい。

第10章 総合考察

本研究ではまず複合病の定義について考察した。線虫関連病害と呼ばれる植物病において線虫の役割が著しく多岐にわたることは、第3章で触れたとおりである。ここでいう複合病は、ふたつ以上の病因の特殊な形式による疾病を指すものであり、したがってその複合病因として働く病原体の侵入や感染が寄主体にどのような経緯で発病の変化を起こすかを中心に論議されねばならない。各病原の特性に応じ相互作用には相違があり、それらを明確に区別することが複合病を理解するために必要である。本論文では複合病を真正複合病、併発性複合病、不定性複合病に類別して示した。しかし既往の研究の文献的検証では、複合病因による相互作用の特性を把握するのに限界がある。たとえば、既往の研究事例の多くは、ここでいう真正複合病の範ちょうに相当し、これらをさらに病徴の発現形式あるいは混合感染の様態にしたがって整理する必要があるが、病原体の種類が多い上に、それらの個々の組合わせによる混合感染の実態についてほとんど明らかにされていない。

DITTMANN⁽²⁸⁾、WEISCHERら⁽¹⁶³⁾は、単一病原による疾病と複合病との発病程度の差——病徴の激しさ、発病率の差異——によって相乗的 (synergistic) または相加的 (additive) 複合病に分けたが、それらは接種源濃度の差で変動することが多いために複合病の特性を示す根拠として妥当性が乏しい。また広義の複合病の中には、病原の相互作用の結果として、主として続発性病害の発病が抑圧される現象が知られている^(5,6)。このような現象を複合病として扱うべきかどうかなお疑問であり、相互作用の特性と併せそれらの扱いについて検討する必要がある。いずれにせよ複合病を定義づけるためにはさまざまな問題が残っているが、今後さらに混合感染の形式や相互作用の機構に関する研究が進められることによって、複合病の疾病論的特性をさらに明解に論ずることが可能となるであろう。

本研究で対象としたトマトにおけるネコブセンチュウと萎ちょう病菌との複合病因に関する一連の実験を通じて、真正複合病としての特性の一面が明らかにされた。

以下それらの中から主要な点について論議する。

第1に、サツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) と萎ちょう病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, race J1) による複合病を、寄主体の発病の観点から両病因の関係を考えてみたい。圃場実験による発病の実態 (第4章参照) や、ポット実験で線虫と菌を混合接種したときの発病の推移 (第6章参照) から明らかなように、それぞれの病原による発症の順序として原発病と続発病とに分けることができる。すなわちそれらの複合病においてネコブセンチュウはいかなる場合でも原発病の病因として位置づけられ、一方の萎ちょう病は続発病として把握することができる。それらの因果関係は明白であり、したがっていわゆる合併症⁽¹⁰⁸⁾ではない。ただしここでいう原発病と続発病との区別は上述したように病徴発現の順序によるもので、感染段階の相互作用を示すものではない。

複合病において両病因の関係がこのように位置づけられるのは、それぞれの病原による発症、すなわち病徴発現様式の相異によるものと考えられる。ネコブセンチュウの発症は、根部の感染部位に形成されるゴールにより直接確認されるのに対して、萎ちょう病では地上部の茎葉に現われる外部病徴および内部病徴によって発病が認知される。すなわち両者の病因的特性として、それぞれ感染と発病とで時間的にずれがあることをものがたっている。いずれにせよネコブセンチュウが原発性病因として位置づけられることは、寄主植物に対して複合病を発現させる predisposition を与える特性をもつものと理解される。この点は寄主体の発病傾向 (disease proness) におよぼす原発病の影響について論じた GAUMANN⁽⁴¹⁾ の指摘と照らして、複合病の疾病論を考察するのに見逃がせない。

第2に、萎ちょう病抵抗性品種の複合病発現について考察する。供試したトマト品種のうち、多くの萎ちょう病抵抗性品種がネコブセンチュウと病原菌との複合病因によって萎ちょう病が著しく発病した。供試品種の萎ちょう病抵抗性は、いずれも病原菌の race J1 を対象とする単一優性遺伝子 (I 因子) によるものであるが、複合病因による影響にはそれぞれの品種によって明瞭な差異があった。萎ちょう病抵抗性品種の育種素材として有用な興津1号は、ポット実験ではあるがネコブセンチュウと病原菌との濃厚接種によっても萎ちょう病が全く発病しない。一方市販されている萎ちょう病抵抗性品種は、サツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) との複合抵抗性品種を除き複合病因の影響の程度に著しい巾がある。FASSULIOTISら⁽³⁴⁾は、カンランにおける *M. incognita* と萎黄病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *conglutinans*) との複合病因による萎黄病抵抗性破壊現象が品種間で異なることに

いて、WALKERらが示したType-A(質的抵抗性)とType-B(量的抵抗性)の差に相当するものであろうと指摘している。トマトにおける複合病発現の品種間差異についてはすでに平野^(58,59)による報告があり、FASSULIOTISらの見解を支持した。しかしその後行なった上述の実験結果(第4章参照)は、I遺伝子を有する質的抵抗性品種の間でも萎ちょう病の発病はさまざまであり、いわゆる質的または量的抵抗性のちがいで説明できない。一般に病害に対する質的抵抗性は、種々の栽培環境要因等によって変化しない高度の抵抗性を有するものとされているが⁽¹⁶⁵⁾、少なくともネコブセンチュウとの複合病因による場合にはこのことは当てはまらない。

第7章で指摘したように、ネコブセンチュウと *Fusarium* 菌との複合病の発現が単に寄主植物品種間の範囲にとどまらないこともあるが、当面 *M. incognita* と萎ちょう病菌 (race J1) に関しては複合抵抗性品種の活用により複合病の回避は可能である。しかしトマトに寄生するネコブセンチュウの種類が多い上に、新しい race の発現が報告されている現状では、複合抵抗性品種の利用にも限界がある。

第3の問題として、混合感染の部位と萎ちょう病の発病増大について考察する。複合病という特異な疾病現象において、線虫と病原菌との混合感染の起こる場所、感染の拡大する経過と発病増大の一連の過程について実験された例は少ない。本研究で認められた複合病の場合、両病原による混合感染が認められた部位は極めて局所的であり、線虫の寄生がゴールの形成状態からみて根系全体にわたっているにも拘わらず、病原菌により感染した根は、発病の初期には不定根を含めて一部分にすぎない。この症状は圃場の発病個体、またポットで人工接種した発病個体でも同じである。このことから、ネコブセンチュウの寄主体侵入部位の大部分は病原菌の感染とかかわりがないと考えられる。両病原を混合接種した個体の病態解剖によると、線虫が分散して根に侵入した部位は両病原菌の感染の場とならないことが明らかで、上に述べた発病個体の症状を裏付けている。少なくともこの範囲では、PERRYの観察結果⁽¹¹⁹⁾やその他の研究者の見解^(8,123,127)と一致する。

ところが混合感染の初期の発現部位は、ポット実験の場合必ず根の頂端部である。しかも両病原を接種して4日以降のトマトの根に散発的に症状が現われてくる。これらの頂端部組織の病態解剖によると、いずれも線虫が集団をなして侵入しており、病原菌の菌糸の増殖も顕著であり、さらに組織の崩壊、壊死が認められる(第6章参照)。このような症状からみて、両病原による混合感染の発端は、線虫の集団侵入によって起こる頂端部の組織

損傷によるものと判断された。このような混合感染の症状については既往の知見の中に見出した例がない。

寄主根の頂端部における混合感染の発現については、ネコブセンチュウの2期幼虫と *F. oxysporum* 菌の両者ともその侵入部位が頂端部に偏在する点で共通性がある。2期幼虫の侵入は、通常の寄主根ではその頂端部付近に集中する^(21,44,139)ため、線虫密度や土壌中の不均一な分布に応じて侵入時に寄主組織がうける損傷は1様でない。一方 *Fusarium oxysporum* 菌の寄主体侵入は、カンラン、ダイコン、アマ、ウリ類などで知られるように根端分裂組織や伸長部から起こる^(2,87,120,168,169)ばかりでなく、導管部に達する傷から起こる場合が多い^(74,99,138,148)。したがって寄主植物に対し両病原が複合汚染する条件があれば根端部での混合感染が起こりうる機会は高いものと考えられる。この混合感染の場では、線虫の侵入が菌の感染に有利に作用するだけでなく、菌の定着した根に対して線虫の行動も活発となり、侵入が増大する現象^(31,32,33)もかかわりがある。ポット実験では、病原菌を先に接種し、線虫を後に接種したときの発病が、両者を同時接種した場合より急激に起こることが認められている。これまで、ネコブセンチュウと *Fusarium oxysporum* 菌による複合病の事例が特異的に多く知られる根拠の一つには、これら両病原の侵入時点における混合感染の成立が大きな意義をもつに違いない。最近の複合病研究では、線虫感染植物における predisposition に注目するあまり、上述の混合感染様式がむしろ否定的に考えられる傾向がある^(8,123,127,150)。しかし複合病という疾病現象の動的展開を全体として捉えることの重要性を見逃してはならない。

次に複合病の発現において、もう一つの混合感染の成立部位であるゴール組織について考察する。さきにも述べたとおり、発病初期の段階で病原菌に感染した根は根系全体の一部にすぎない。したがって根系全体に存在するゴールの大部分はネコブセンチュウによる単独感染である。しかし病原菌に感染した根におけるゴール組織は、巨大細胞や異常に分化した導管組織を含めていずれも顕著な病原菌の蔓延が認められる。この点についての病態解剖の所見は、既往の研究事例とほぼ一致するものであった^(26,101,119)。すなわちそれらの感染組織が、病原菌の増殖の場として好適であり、ゴール組織、中でも巨大細胞は、病原菌が感染を拡大するエネルギー供給の場として大きな役割を果していると考えられる。しかも単一のゴール組織による局所的な混合感染だけでなく、珠数状に連なった大型のゴール組織で混合感染が累積することによって、病原菌による感染根ではその導管組織で菌糸の著しい蔓延が起こり、さらに感染が茎部組織に拡がり、

病徴が急速に発現するものと考えられる。病原菌に感染した根の導管内部を通過する菌糸が、ゴール組織を感染拡大の拠点となしうるのは、線虫により、維管束系組織とくに導管組織の異常な分化が起こるため病原菌の増殖を容易にするものとみられる。

ゴール組織で混合感染が起こる場合、病原菌が外部から直接表皮細胞を経て導管内部に侵入する可能性は、圃場実験およびポット実験で、萎ちょう病の発病初期の個体の観察からはないと判断される。かりに表皮侵入が起こるとしても、皮層での蔓延がみられる程度にすぎず、導管感染には到達しない⁽¹¹⁹⁾。ゴール組織表層壊死部の糸状菌相を調べた結果では、*F. oxysporum* よりも、*F. solani* が優勢に認められ、他の糸状菌類も多く存在し、萎ちょう病菌がとくに著しく蔓延しているとは認めがたい。

通常 *F. oxysporum* は、導管感染という極めて特異的な性質をもつために、その他の表皮感染性のものとはことなっている。したがってタバコにおいて *M. incognita* と *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*、あるいは *Pythium ultimum* との混合感染の例^(102,130)にみられる病原菌の侵入機構とはその特性に明らかな相違があるものと考えねばならない。また同じ *Fusarium* 菌であっても、根腐れ病や立枯病を起こす *F. solani* や *F. roseum* とネコブセンチュウによる複合病の例が著しく少ないことも対称的である^(57,85)。一方病原線虫のうち感染様式のことなる他のもの、たとえば *Pratylenchus* spp. (ネグサレセンチュウ) と *F. oxysporum* 菌との複合病の例をみても、ネコブセンチュウの場合とは発病ならびに感染の経過において著しい相違がある^(63,64)。

以上のことから、ネコブセンチュウと萎ちょう病菌との混合感染の部位は、両病原による侵入ならびに感染の場がともに共通していることと重大なかかわりをもって、その混合感染の成立する箇所によって、発病に至る期間や病徴の進展にも差異が生じるものとみられる。

第4に、ネコブセンチュウ感染植物のフザリウム病に対する predisposition について考察する。既往の多くの知見で、ネコブセンチュウ感染植物における生理的变化が、*Fusarium* 菌や他の病原菌による発病を容易ならしめることが指摘されてきた^(8,123,127,150)。これらの現象は、寄主体それ自身の問題であると同時に病害抵抗性の変化にも関連がある。

ネコブセンチュウと萎ちょう病との複合病の発現で、線虫がつねに原発性の病因として関与する以上、続発性病因に対する predisposition は重要な要因である。とくに萎ちょう病抵抗性品種での複合病の発病要因に重要な関係をもつと考えられる⁽⁸⁵⁾。萎ちょう病感受性品種の場合は、寄主体の素因として病原菌に感染しやすい性質を

有するので、とくに *Fusarium* 菌のように傷感染する確率の高い病原菌に対しては、線虫の感染によって機械的侵入抵抗が弱められただけでも発病の増大は容易に起こり得る。そのことは線虫と菌との同時接種により短時間で発病が起こった実験結果から明白である。しかし萎ちょう病抵抗性品種の場合は、単に線虫によって侵入抵抗が弱められただけで発病することはあり得ず、むしろそれとは別に病原菌の感染拡大に対する抵抗を弱める要因が問題となる。ネコブセンチュウの感染で起こるゴール形成がそのような要因の一つとして菌の蔓延に極めて重要な役割をなすことは、抵抗性品種の発病個体における病態解剖の観察⁽¹⁰¹⁾、あるいは Bridge inoculation system を用いた SIDHU らの実験⁽¹⁴¹⁾で説明される。これらの事実は、ネコブセンチュウの感染植物に生じたフザリウム病に対する predisposition の一面を示すものである。しかしフザリウム病抵抗性品種の中には、複合病を起こさない強抵抗性のものがある。その理由は明らかでないが、いずれにせよゴール形成によって寄主植物に生ずる生理的变化と、抵抗性遺伝因子による支配との両面が働く結果としてフザリウム病に対する predisposition も変化するものと考えねばならない。また本研究で、親和性をもたない *F. oxysporum* 分化型菌とネコブセンチュウとの混合接種により、トマト、その他供試植物に複合病が発現することを認めた。こうした現象は、ネコブセンチュウ感染植物の predisposition として病原菌に対する寄主特異性が弱められていることを示唆する。それと関連して、ここでいう predisposition がフザリウム病のみに対する特異的な性質か、あるいは他の土壌病に共通する性質なのかが問題である。既往の研究で、線虫感染植物の predisposition の特性を比較した例はないが、個別的には線虫の感染植物に起こる生理的变化がさまざまな土壌病原菌との複合病の発現に影響をおよぼす事例は多い^(8,126,127,150)。またゴール組織汁液やゴール組織からの浸出物は種々の土壌病原菌の生育や器官形成に対して促進的に影響する^(17,45,56)。さらに土壌病原菌との複合病ばかりでなく、元来腐生菌とみられる土壌糸状菌類による不定性複合病が発現し^(98,129)、また地上部の病害に対して併発性複合病を発現する^(5,38)という問題がある。これらの多様な事実からみても、ネコブセンチュウに感染した植物体に生ずる predisposition は単に *Fusarium* 菌に対する特異的な性質と考えることは困難である。本研究で調査したネコブセンチュウ感染トマトの根圏微生物相は、病原菌や他の微生物、とくに色素耐性細菌の密度が明らかに変化していることから、微生物平衡に著しい乱れを生ずることが指摘される。根圏微生物相は寄主植物体における病害の発生や寄主の生育時期、栄養状態さらに土

壤環境などさまざまな要因により変化すると考えられ、複合病の発現をめぐる線虫感染植物の *predisposition* を論ずるためには、根圏微生物相との関連において対象病原菌の動態を知り、その発病とのかかわり合いを十分検討する必要がある。

以上のことから、ネコブセンチュウの感染寄主植物では、その生理的变化に伴ない病原菌に対する感受性が高まると同時に、寄主としての特異性が弱められる方向に性質が偏って行くものと考えられ、その場合の複合病としての特性は感染初期における真正複合病から次第に不定性複合病へと変化することが予測される。

本研究はトマトでのネコブセンチュウの萎ちょう病菌との複合病因による疾病現象の一つの側面を示したものである。しかし寄主植物あるいは両病原の種類、さらにそれらを取りまく環境条件の諸要因の違いによって、複合病の発現の様相もおおのずから変わってくるものと推察される。複合病問題の全ぼうを解明するには、個々の疾病現象における事実を着実に積み重ねることが必要である。

なお本論文では、これまで複合病の回避についてほとんど触れなかった。もともとネコブセンチュウと萎ちょう病とは独立した存在であり、両病原の共存下で初めて複合病が発現する。したがってその回避策は、両病原による複合汚染をなくすことにある。またたとえ複合汚染下でも、両病因のうち原発性病因としてのネコブセンチュウの役割を明らかにし、病原菌との相互作用を断ち切ることによって複合病は回避できる。それを確実なものとするためには、個々の場合に応じた複合病の成立を十分検討してかからねばならない。

第11章 摘 要

トマトの萎ちょう病菌 (*Fusarium oxysporum* SCHL. f. sp. *lycopersici* (SACC.) SNYD. et HANS., race J1) とサツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita* (K OFOID & WCHTE) CHITWOOD) との複合病因による病害について疾病論的観点からその特性を考察した。

この研究で、線虫関連病害における複合病の範囲を明確にし、その特性から真正複合病、併発性複合病、不定性複合病を定義した。

複合病発現の実態

1) 線虫汚染圃場と非汚染圃場で3品種のトマトを2年間3連作したときの萎ちょう病の発病状況から、線虫汚染圃場における萎ちょう病の多発生がネコブセンチュウとの複合病因によることを明らかにし、これを真正複合病と認定した。またその発症経過からみて、ネコブ

センチュウの寄生が原発病、萎ちょう病は続発病であると考えられた。萎ちょう病感受性の松戸ポンデローザは、他の抵抗性2品種、強力米寿、豊錦と比較して線虫汚染圃場での萎ちょう病の発病傾向が顕著であった。

2) トマト28品種を用いたポット実験の結果、萎ちょう病感受性の3品種は、線虫汚染土壌でいずれも萎ちょう病が激発し、非汚染土壌とくらべて発病が著しく助長された。一方萎ちょう病抵抗性品種では、その大部分が、線虫汚染条件下で萎ちょう病の発病が増し、萎ちょう病抵抗性が弱まった。しかし発病増加の程度は品種により大きな差が認められた。

3) トマト18品種を用いて圃場実験を行なった結果、萎ちょう病感受性品種の米寿は、線虫高密度汚染圃場において低密度汚染圃場よりも萎ちょう病の発病が著しく助長された。また萎ちょう病抵抗性品種のうち、線虫高密度圃場で発病が激しかったものは、あづき、栄寿、南光2号、TVR-2、王星MRであった。その他の品種は線虫高密度汚染区でも萎ちょう病の発病が少なかった。

4) 以上のことから、トマトにおける萎ちょう病菌とネコブセンチュウによる複合病は、両者による汚染条件下で高い頻度で起こる可能性があり、かつ単一優性遺伝子をもつ萎ちょう病抵抗性品種においてその抵抗性が失われやすいことが明らかとなった。

混合接種による複合病の発現

1) 病原菌と線虫とを接種濃度別にそれぞれ組合わせて同時接種したときの複合病の発現を検討した。萎ちょう病感受性の松戸ポンデローザでは、線虫・菌混合接種区において病原菌の接種濃度を増すよりも線虫の接種濃度を増したときに萎ちょう発病指数が激増し、かつ発病が早まる傾向があった。一方、萎ちょう病強抵抗性の興津1号では病原菌濃度を著しく高めたにも拘わらず、萎ちょう病の外部病徴はまったく認められなかった。

2) 病原菌と線虫の同時または時差接種による萎ちょう病の変化について松戸ポンデローザを用いて検討した。各接種区のうち、萎ちょう病がもっとも激しく発病したのは、両病原をトマトの播種10日後または26日後の同時接種区であった。時差接種したものでは、播種10日後に病原菌を接種し、その16日後に線虫を接種したとき、その逆の順序で時差接種したときより萎ちょう病の進展が激しかった。線虫・菌混合接種の中で萎ちょう病が急速に進展した場合は、根部のゴール指数が低下する傾向があった。

3) 病原菌と線虫の同時または時差接種による萎ちょう病の変化を萎ちょう病感受性品種と抵抗性品種で比較した。感受性品種の松戸ポンデローザでは、両病原を同時に接種するか、または病原菌を先に接種して14日後に

線虫を接種したときに萎ちょう病の発病が激しかった。一方萎ちょう度抵抗性品種の強力米寿、豊錦でも、それぞれの接種区における萎ちょう病の発病傾向は感受性品種の場合と変らなかった。しかし発病の程度は、各品種の間で明らかな差があった。

4) トマトの生育時期別の複合病の発現を比較した。生育日数の異なる萎ちょう病感受性トマト（松戸ポンデローザ）に病原菌を単独接種したときの萎ちょう病の発病は、播種後29日または36日のもので激しかったが、菌と線虫を同時接種したときは、苗令の若いものほど枯死株率が高かった。また苗令別に病原菌と線虫とを7日間隔で交互に時差接種したトマトでは、いずれの生育時期のものも菌を先に接種した方が発病率が高かった。

5) 線虫の接種形態別に病原菌と同時接種したときのトマト（福寿2号）における萎ちょう病の発生をくくると、2期幼虫接種では病徴が急速に進展し、最終調査時の発病指数が91.7%に達したのに対し、卵塊接種区では21.6%であった。また両病原を時差接種したときの発病傾向は、2期幼虫または卵塊を菌より10日前に接種したものでは、接種原別に大差がなく、発病指数は全般に低かった。逆に菌を先に接種したものは、2期幼虫接種で急激に進展したが、卵塊接種では発病指数が低かった。

混合感染の経過と複合病の発現

1) 病原菌とネコブセンチュウ（2期幼虫）を同時接種した萎ちょう病感受性トマト（松戸ポンデローザ）では、2日後にすでに根の先端付近に侵入した多数の線虫が検出され、その後次第に増加した。一方地上部の萎ちょう症状は接種8日後から現われ、以後急激に進展した。

2) 病原菌と線虫との混合感染は、接種4日後一部の不定根で最初に認められ、その後1次根にも認められたが、根群全体からみて一部分の根で起こるにとどまった。混合感染の症状は、まず根の先端付近でゴール組織が局部的に壊死を起こしたが、やがて上方部のゴール組織にも進展した。症状が進んだ個体では、根の中心柱、および茎の維管束部に顕著な褐変が認められた。

3) 根部組織の病態解剖学的観察から、2期幼虫の単一個体が寄主体に侵入した箇所を生ずる機械的損傷は病原菌の侵入門戸とはならないと判断した。

最初に起こった混合感染部位の病変は、まず根先端部の原始分裂組織や原中心柱に対する2期幼虫の集団的な侵入により組織が著しく破壊され、そこに侵入する機会を得た病原菌が増殖し、結果的に病原菌独自による顕著な感染が進行したものと考えられた。また、すでに形成されたゴール部位における混合感染は、巨大細胞や導管組織とその周辺部柔組織で顕著あり、他部位と比較しておびただしい密度の菌糸が蔓延していた。

4) 以上の混合感染部位の病変に続き、根および茎の導管組織における菌独自の蔓延が一層旺盛となり、萎ちょう病の症状が激化するものと推察された。

寄生性の異なる *Fusarium* 菌と線虫とによる複合病の発現

1) トマトに萎ちょう病菌ならびに寄生性の異なる2種の分化型菌をそれぞれネコブセンチュウと同時接種し、複合病の発現を検討した結果、供試したいずれの分化型菌もトマトに萎ちょう症状の発生をもたらした。しかし萎ちょう菌と線虫とを混合接種したものとくらべて発病程度は軽かった。同様な実験をキュウリ、スイカ、マクワウリ、カボチャ（台木用）で行なったところ、供試植物によって病徴の発現程度に差がみられた。

2) 各分化型菌と線虫とを混合接種したときの根部病徴は、局部型の壊死症状と蔓延型の褐変症状に類別され、地上部に病徴が現われた罹病個体では蔓延型の症状を呈するものが多かった。これらの根部感染組織からは接種した分化型菌がそれぞれ高頻度で再分離された。

3) 根部感染組織の病態解剖学的観察で、ゴール部位の巨大細胞や導管組織内に菌糸が著しく蔓延し、混合感染の症状が認められた。

複合病の発現と根圏微生物相の変化

1) 線虫汚染区と非汚染区の実験圃場で栽培したトマトにおける萎ちょう病の発病と根圏微生物相の変動との関連性を検討した。萎ちょう病発生前における松戸ポンデローザの根圏微生物数の変動は、線虫汚染区では5月中旬に *F. oxysporum* の密度が高く、その後減少し、6月中は色素耐性細菌の密度の増大が目立った。非汚染区では線虫汚染区よりもやや緩やかな変動傾向を示した。一方豊錦の根圏微生物相は線虫汚染区と非汚染区の間でさほど目立った差異はみられなかった。

2) 松戸ポンデローザの萎ちょう病罹病個体における根圏微生物相は、非汚染区にくらべて、線虫汚染区で変動が大きく、*F. oxysporum*、糸状菌、全細菌、色素耐性細菌の密度が高かった。また、萎ちょう病菌の感染根と未感染根の根圏微生物相に差異がみられた。

3) 線虫と菌を混合接種した滅菌土壌におけるトマト（松戸ポンデローザ）では同様に接種した非滅菌土壌のものと同様に萎ちょう病の発生が著しかった。そのときのトマト根圏微生物相の変動は両土壌の間で異なり、非滅菌土における線虫・菌接種区で特異的な密度変動がみられ、とくに色素耐性細菌の増大と *F. oxysporum* の減少が目された。

4) ゴール組織表層における病班部の糸状菌層は、健全部にくらべて多様化し、しかも *Fusarium solani* が *F. oxysporum* に変わって優占した。

ゴール組織浸出液が病原菌の生育におよぼす影響

1) 松戸ポンデローザ, 豊錦の線虫感染根と健全根の各浸出液を用いて病原菌の生育を比較した結果, 萎ちょう病菌の菌糸生育は両品種とも前者で著しく旺盛であり, また分生孢子ならびに厚膜胞子の発芽も促進する作用が認められた。

引用文献

- 1) ANDERSON, M. E. & WALKER, J. C. (1935) J. Agric. Res. 50: 823~836
- 2) ARMSTRONG, G. M. & ARMSTRONG, J. K. (1948) Phytopath. 38: 808~826
- 3) ATANAZOFF, D. (1925) Ibid. 15: 11~40
- 4) ATKINSON, G. F. (1892) Bull. Alabama Agric. Exp. Stn 41: 61~65
- 5) BARKER, K. R. (1972) Phytopath. 62: 801
- 6) BARKER, K. R. et al. (1972) Ibid. 62: 1201~1205
- 7) BATTEN, C. K. & POWELL, N. T. (1971). J. Nematol. 3: 164~169
- 8) BERGESON, G. B. (1972) Exp. Parasitol. 32: 301~304
- 9) ———, (1975). Pl. Dis. Repr. 59: 410~413
- 10) BERGESON, G. B., et al. (1970) Phytopath. 60: 1245~1249
- 11) BINDER, E. & HUTCHINSON, M. T., (1959). Pl. Dis. Repr. 43: 972~978
- 12) BIRD, A. F. (1961) J. Biophys. Biochem. Cytol. 11: 701~715
- 13) ——— (1974). Ann. Rev. Phytopath. 12: 69~85
- 14) BOOKBINDER, M. G. & BLOOM, J. R. Proc. Am. Phytopath. Soc. 4: 183~184
- 15) BOWMAN, P. & BLOOM, J. R. (1966) Phytopath. 56: 871
- 16) BREZESKI, M. W. (1970) 2nd Int. Congr. Parasit. Tech. Rev. 509~513
- 17) BRODIE, B. B. & COOPER, W. E. (1964) Phytopath. 54: 1023~1027
- 18) CADMAN, C. H. (1963) Ann. Rev. Phytopath. 1: 143~172
- 19) CARTER, R. W. (1978) Dissert. Abst. Internat. 39B: 466~467
- 20) CARTER, R. W. et al. (1977) Proc. Am. Phytopath. Soc. 4: 124
- 21) CHRISTIE, J. R. (1936) Phytopath. 26: 1~22
- 22) ——— (1960) Nematology, ed. SASSER, J. N. & JENKINS, W. R., Univ. North. Carolina Press. 432~436.
- 23) COOKE, R. C. & SNYDER, W. C. (1965). Phytopath. 55: 1021~1025
- 24) COSTACHE, M. et al. (1978) Productia Vegetală Horticul. 27: 3~6
- 25) DARPOUX, H. (1960) Plast Pathology, ed. HORSFALL, J. G., DAVIS, R. A. & JENKINS, W. R., Vol. 3, Academic Press. 521~565
- 26) DAVIS, R. A. & JENKINS, W. R. (1963) Phytopath. 53: 745
- 27) DAVIS, D. (1966) Ibid. 56: 824~828
- 28) DITTMANN, F. L. (1963) Zbl. Bakt. Abt. 2, 116, 716~749
- 29) DROPKIN, V. H. (1980) Introduction to Nematology, John Wiley and Sons, 217~230
- 30) DROPKIN, V. P. & KING, R. C. (1956) Exp. Parasitol. 5: 469~480
- 31) EDMUNDS, J. E. & MAI, W. F. (1966) Phytopath. 56: 1132~1135
- 32) ———, ———, (1966) Ibid. 56: 1320~1321
- 33) ———, ———, (1967) Ibid. 57: 468~471
- 34) FASSULIOTIS, G. & RAU, G. J. (1969) J. Nematol. 1: 219~222
- 35) FAWCETT, H. S. (1931) Phytopath. 21: 545~550
- 36) FIELDING, M. J. (1959) Ann. Rev. Microbiol. 13: 239~245
- 37) FRITZSCHE, von R. (1970) Biol. Zbl. 89: 225~232
- 38) 福留信明, 福田睦男 (1970) 日植病報 36: 345
- 39) GAINS, J. G. & GRAHAM, T. W. (1953) Year Book Agric., Plant Dis, 561~565
- 40) GARBER, R. H. et al. (1979) J. Nematol. 11: 133~137
- 41) GÄUMANN, E. (1950) Principles of Plant infection, Crosby Lookwood & Son. 543pp.
- 42) GIBBS, A. J. & HARRISOS, B. D. (1964) Ann. Appl. Biol. 54: 1~11
- 43) GLAZOVSKII, V. A. & SHAGALINA, L. M. (1976) Biologicheskies Nauki, 2: 56~62
- 44) GODFREY, G. H. & OLIVEIRA, J. (1932) Phytopath. 22: 325~348
- 45) GOLDEN, J. K. & VAN GUNDY, S. D. (1975) Ibid. 65: 265~273
- 46) GOODE, M. J. & MCGUIRE J. M. (1967) Ibid. 57: 812
- 47) GOSWAMI, B. K. et al. (1971) Zeitschr. Pflanzen-

- kr. Pflanzensch. 78: 355~356
- 48) GUPTA, P. & SWARUP, G. (1972) Nematologica 18: 320~324
- 49) GUPTA, P. et al. (1975) Indian J. Nematol. 5: 132~135
- 50) HARRISOS, B. D. & CADMAN, C. C. (1959) Nature, 184: 1624~1626
- 51) HARRISON, B. D. et al. (1961) Virology 14: 480~485
- 52) HARRISON, A. L. & YOUNG, P. A. (1940) Phytopath. 31: 749~752
- 53) HAWN, E. J. (1963) Nematologica 9: 65~68
- 54) HENDRIX, F. F. Jr. & NIELSEN, L. W. (1958) Phytopath. 48: 224~228
- 55) HEWITT, W. B. et al. (1958) Ibid. 48: 586~595
- 56) 平野和弥 (1966) 千葉大園芸学報 13: 1~8
- 57) ——— (1973) 日本線虫研誌 3: 1~8
- 58) HIRANO, K. (1975) Rev. Pl. Protec. Res. Vol. 8 55~68
- 59) 平野和弥, (1976) 植物防疫 30: 93~98
- 60) ——— (1976) 日本線虫研誌 6: 39~46
- 61) ——— (1980) 作物のフザリウム病, 松尾卓見ら編, 全国農村教育協会, 275~290
- 62) 平野和弥, 河村貞之助 (1971) 千葉大園芸学報 19: 29~38
- 63) ———, ——— (1971) 日植病報 37: 172~173
- 64) ———, ——— (1972) 同上 20: 37~43
- 65) HOLDEMAN, Q. L. (1956) Phytopath. 46: 129
- 66) HOLDEMAN, Q. L. & GRAHAM, T. W. (1954) Ibid. 44: 683~685
- 67) HOLLIS, J. P. (1958) Ibid. 48: 661~665
- 68) HUANG, C. S. et al. (1971) Nematologica 17: 460~466
- 69) 稲垣春郎 (1965) 植物防疫 29: 9~16
- 70) 岩城満郎, 小室康雄 (1971) 日植病報 37: 198~199
- 71) JENKINS, W. R. & COURSEN, B. W. (1957) Pl. Dis. Reptr. 41: 181~186
- 72) JENKINS, W. R. & TAYLOR, C. E. (1967) Plant Nematology. Reinhold Pub. Corp. 47~56
- 73) JENSEN, H. J. (1967) Pl. Dis. Repr. 51: 98~102
- 74) JOHNSON, J. (1921) J. Agric. Res. 20: 515~535
- 75) JOHNSON, A. W. & LITRELL, R. H. (1969) J. Nematol. 1: 122~125
- 76) JONES, J. P. et al. (1976) Phytopath. 66: 1339~1341
- 77) JOUAN, B. et al. (1972) Annales de Phytopathologie 4: 411~412
- 78) JURVIS, W. R. et al. (1977) Pl. Dis. Repr. 61: 251~254
- 79) 柱 琦一 (1960) 日植病報 25: 116~117
- 80) ——— (1962) 関西病虫害研報 4: 47~49
- 81) 川越仁, 後藤重喜 (1963) 九州病虫研報 9: 14~16
- 82) 河村貞之助 (1965) 日植病報 30: 115, 118
- 83) 河村貞之助, 平野和弥 (1967) 千葉大園芸学報 15: 7~19
- 84) ———, ——— (1968) 同上 16: 25~35
- 85) ———, ——— (1968) 植物防疫 22: 421~426
- 86) 木谷清美, 国安克人 (1968) 四国植防研 3: 53~57
- 87) KOMMEDAHL, T. et al. (1970) Minn. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull. 273
- 88) 小室康雄ら (1970) 日植病報 36: 17~26
- 89) KRUSBURG, L. R. (1963) Ann. Rev. Phytopath. 1: 219~240
- 90) KRUSBURG, L. R. & NIELSEN, L. W. (1958) Phytopath. 48: 30~30
- 91) LIBURD, O. & MAI, W. F. (1976) Proc. Am. Phytopath. Soc. 3: 308
- 92) LUCAS, G. B. et al. (1955) Phytopath. 45: 537~540
- 93) MARTIN, W. J. et al. (1956) Ibid. 46: 285~289
- 94) 松田明 (1977) 野菜の土壤病害 農文協
- 95) 松田明ら (1970) 日植病報 36: 163~164
- 96) ——— (1975) 茨城農試研報 16: 83~94
- 97) 松尾卓見ら編 (1980) 作物のフザリウム病, 全国農村教育協会 502 pp
- 98) MAYOL, P. S. & BERGESON G. B. (1970) J. Nematol. 2: 80~83
- 99) McCLURE, T. T. (1949) Phytopath. 39: 876~886
- 100) McKEEN, C. D. & MOUNTAIN, W. B. (1962) Ibid. 52: 744
- 101) MELENDEZ, P. L. & POWELL, N. T. (1967) Ibid. 57: 286~292
- 102) ———, ——— (1970) Ibid. 60: 1303
- 103) MILES, L. E. (1939) Ibid. 29: 974~988
- 104) MILLER, H. N. (1965) Proc. Soil Crop. Sci. Soc. Fla 24: 310~324
- 105) MINTON, N. A. & MINTON, E. B. (1963) Phytopath. 53: 624
- 106) ———, ——— (1966) Ibid. 56: 319~322
- 107) MORGAN, O. D. (1957) Pl. Dis. Repr. 41: 27~32
- 108) 森茂樹ら編 (1964) 病理学総論, 金原出版

- 109) 本橋精一ら (1964) 東京都農試研報 3: 27~51
- 110) MOUNTAIN, W. B. (1965) Ecology of Soil-borne Plant Pathogens, ed. Baker, K. F. & Snyder, W. C. Univ. Cal. Press., 285~300
- 111) MOUNTAIN, W. B. & MCKEEN, C. D. (1962) Nematologica 7: 261~266
- 112) 永沢実ら (1964) 東京都農試研報 3: 63~103
- 113) NELSON, P. E. (1981) Fungal Wilt Diseases of Plants, ed. Mace, M. E., Bell, A. A. & Beckman, C. H., Acad. Press, 51~80
- 114) NEWHALL, A. G. (1958) Pl. Dis. Reprtr. 42: 853~856
- 115) NEWSOM, L. D. & MARTIN, W. J. (1953) Phytopath. 43: 292~293
- 116) NONAKA, F. (1959) Sci. Bull. Fac. Agric. Kyushu Univ. 17: 1~8
- 117) 農林水産技術会議 (1977) 連作障害の要因に関する研究, 研究成果 98: 10~35
- 118) OWENS, R. G. & SPECHT, H. N. (1966) Contrib. Boyce Thompson Inst. Pl. Res. 23: 181~198
- 119) PERRY, D. A. (1963) Emp. Cott. Gr. Rev. 40: 41~47
- 120) PETERSON, J. L. & POUND, G. S. (1960) Phytopath. 50: 807~816
- 121) PITCHER, R. S. (1963) Phytopath. 53: 35~39
- 122) ——— (1965) Helm. Abstr. 34: 1~17
- 123) ——— (1978) Plant Nematology, ed. Southey, J. F., Her Majesty's Staff Off.
- 124) PITCHER, R. S. & CROSSE, J. E. (1958) Nematologica 3: 244~256
- 125) PORTER, D. M. & POWELL, N. T. (1967) Phytopath. 57: 282~285
- 126) POWELL, N. T. (1963) Ibid. 53: 28~35
- 127) ——— (1971) Ann. Rev. Phytopath. 9: 253~274
- 128) ——— (1971) Plant Parasitic Nematodes Vol. 2, ed. ZUCKERMAN, B. M. et al., Acad. Press. 119~136
- 129) POWELL, N. T. et al. (1971) Phytopath. 61: 1332~1337
- 130) POWELL, N. T. & NUSBAUM, C. J. (1960) Ibid. 50: 899~906
- 131) RASKI, D. J. & HEWITT, W. B. (1963) Ibid. 53: 39~47
- 132) RHOADES, H. L. & LINFORD, M. B. (1959) Pl. Dis. Reprtr. 43: 323~328
- 133) ROVIRA, A. D. (1965) Ann. Rev. Microbiol. 19: 241~266
- 134) ——— (1965) Ecology of Soil-borne Plant Pathogens, ed. BAKER, K. F. & SNYDER, W. C. Univ. Cal. Press. 170~181
- 135) ROY, A. K. (1973) Zeitschr. Pflanzenkr. Pflanzenschutz. 81: 23~33
- 136) RYDER, J. W. & CRITTENDER, H. W. (1965) Phytopath. 55: 506
- 137) SCHINDLER, A. F. & STEWART, R. N. (1956) Ibid. 46: 469
- 138) SEQUEIRE, L. et al. (1958) Nature, 183: 309~311
- 139) SHIBUYA, M. (1962) Mem. Fac. Agric. Kago-shima Univ. 1: 1~22
- 140) SIDHU, G. S. & WEBSTER, J. M. (1974) J. Heredity 65: 153~156
- 141) ———, ——— (1977) Nematologica 23: 436~442
- 142) ———, ——— (1977) Physical. Pl. Pathol. 11: 117~127
- 143) SIKORA, R. A. (1978) Zeitschr. Pflanzenkr. Pflanzensch. 85: 197~202
- 144) SMITH, A. L. (1948) Phytopath. 38: 943~947
- 145) ——— (1953) Yearbook of Agric. Pl. Disease 292~298
- 146) STARR, J. L. & MAI, W. F. (1976) Phytopath. 66: 1224~1228
- 147) STEINER, G. (1953) Pl. Dis. Reprtr. 37: 203~205
- 148) STOVER, R. H. (1962) Phytopathol. Paper No. 4, C. M. I. England
- 149) SUMNER, D. R. & JOHNSON, A. W. (1973) Phytopath. 63: 857~859
- 150) TAYLOR, C. E. (1977) Root-knot Nematodes, Systematics, Biology and Control, ed. LAMBERTI, F., & TAYLOR, C. E. Academic Press 375~398
- 151) TAYLOR, C. E. (1978) Plant Nematology, ed. Southey, J. F., Her Majesty's Staff Off., 232~243
- 152) TAYLER, A. L., et al. (1940) Phytopath. 30: 710
- 153) THOMASON, I. J., et al. (1959) Ibid. 49: 602~606
- 154) ULLSTRUP, A. J. (1937) Ibid. 27: 737~748
- 155) VAN GUNDY, S. D., et al. (1977) J. Nematol. 9: 113~121
- 156) VAN HOOF, H. F. (1968) Nematologica 14: 20~24
- 157) VEECH, J. A. & ENDO, B. Y. (1969) J. Nematol. 1: 265~276
- 158) WALKER, J. C. (1971) Monogr. No. 6, Am. Phytopathol. Soc. 56pp.
- 159) WALLACE, H. R. (1978) Ann. Rev. Phytopath. 16:

- 379~402
- 160) WANG, E. L. H. & BERGESON, G. B. (1974) J. Nematol. 6: 194~202
- 161) WANG, E. L. H. et al. (1975) Ibid. 7: 256~260
- 162) WEBSTER, J. M., Ed. (1972) Economic Nematology, Academic Press.
- 163) WEISCHER, B. (1968) Rep. 8th Symp. Int. Nematol., Antibes 1965, 91~107
- 164) 八木田秀幸, 小室康雄 (1972) 日植病報 38: 275~283
- 165) 山川邦夫 (1976) 野菜の病害抵抗性品種とその利用 全農教協 136pp
- 166) YANG, H. et al. (1976) J. Nematol. 8: 74~80
- 167) YANG, H. et al. (1976) Ibid. 8: 81~86
- 168) 米山伸吾 (1977) 茨城園試研報, 特報 2: 1~89
- 169) 吉井 甫 (1933) 九大農学芸誌 5: 313~326
- 170) ——— (1937) 日植病報 6: 347
- 171) YOUNG, P. A. (1939) Phytopath. 29: 871~879
- 172) ——— (1940) Ibid. 30: 860~865

Summary

The author studied a character of the complex disease by the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (KOFOID & WHITE) CHITWOOD and the *Fusarium* wilt fungus, *Fusarium oxysporum* SCHL. f. sp. *lycopersici* (SACC.) SNYDER et HANSEN, in tomato plants. In this paper, a conceptual definition of the complex diseases by multiple etiology associated with plant parasitic nematodes was also discussed on the basis of the results demonstrated in the present studies and abundant evidences which have been accumulated in the represented references.

(1) Actual incidence of the complex diseases caused by *Fusarium* wilt fungus and root-knot nematode in tomato plants.

To observe actual phenomena of the disease development, three tomato cultivars were planted successively in the field infested with both pathogens or with the fungus alone during 1977 to 1978. Disease symptoms occurred considerably severer in plants infected with both fungus and nematode. Infection in Matsudo-Ponderosa tomato, susceptible to *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (race J-1) and *M. incognita* as severer constantly than those in Kyōryoku-Beijyu and Toyonishiki, resistant to *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (race J-1) and susceptible to *M. incognita*, respectively. In all of these cases, the gall symptoms by the nematode were recognized primarily in whole roots before the wilt symptoms occurred. It suggested that the disease complex between *Fusarium* wilt fungus and root-knot nematode developed syndrome in two phases characterizing as a primary disease by the nematode and a secondary disease by the fungus.

Further investigations to compare the varietal differences of the disease incidence caused by both *Fusarium* wilt fungus and root-knot nematode to 28 tomato cultivars were done under the pot and/or the field situation.

Generally, the wilt incidence in tomato cultivars being suscept to root-knot nematode occurred severer in plants grown under the infestation of root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus than in those with the fungus alone. The severest development of wilt symptoms in plants infected with both fungus and

nematode occurred in the susceptible cultivars to both pathogens. On the other hand, the wilt incidence of *Fusarium* resistant cultivars planted under the heavily infested soil with both fungus and nematode occurred significantly greater than those planted with less infestation of the nematode. However, the rate of increasing wilt severity in plants accompanied with nematode infection varied widely between each cultivars. These results indicated that most of tomato cultivars disposing a monogenic dominant for *Fusarium* wilt resistance may break down frequently in plants predisposed with nematode infection.

(2) Some manner of development of the complex diseases induced by *Fusarium* wilt fungus and root-knot sematode under various situations for mixed inoculation in tomato seedlings.

In pot experiments to demonstate the influence of inoculum density and inoculation order of both pathogens to disease incidence, they showed noticeable changes in the rate and the severity of wilt symptoms. In Matsudo-Ponderosa, the wilt incidence in plants inoculated with different inoculum levels of each pathogen was more intensified by increasing nematode quantity than fungus. While in Okitsu-Ichigō, susceptible to *M. incognita* and resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (race J-1), there were no wilt symptoms in plants inoculated with both pathogens even by increasing inoculum density of them.

The severest development of wilt symptoms in Matsudo-Ponderosa occurred in seedlings inoculated simultaneously with both nematode and fungus at 10th or 26th day after seeded. The rate of wilt incidence of tomato seedlings varied with the inoculation order of nematode and fungus, introducing alternately at 16 day-intervals; wilt symptoms in seedlings inoculated with fungal suspension before nematode inoculation developed greater than those in plants inoculated with the nematode first. The plants occurred wilting rapidly after nematode inoculation were interrupted the development of galls in root systems and gall indices of these showed slightly decrease. In further experiments of similar situation concerning the inoculation order of nematode and fungus in tomato seedlings of different cultivars, the development of wilt symptoms occurred also greater in plants inoculated simultaneously with both pathogens or with fungus

first than those inoculated with nematode first even though the cultivars differed their susceptibility to *Fusarium* wilt fungus. It suggested that the fungal colonization on root tissues in tomato seedlings may relate to penetration of the nematode to a host plant.

When the tomato seedlings, Matsudo-Ponderosa, were inoculated with the fungus alone at different ages during 0 to 36 day old, wilt symptoms developed severely in plants inoculated at the ages of 29 or 36 day old after seeded, but if the seedlings were inoculated with both nematode and fungus simultaneously at different ages, they killed with higher rate in plants exposed both pathogens at so younger ages. Among the seedlings inoculated with the nematode and the fungus alternately at 7 day-interval at different ages, higher wilt incidence occurred in plants inoculated at every ages with the fungus before nematode inoculation than those inoculated with inverse order.

The experiment was attempted to compare the difference of wilt incidence by using the second stage larvae or egg-masses of root-knot nematode in mixed inoculation with *Fusarium* wilt fungus in tomato seedlings. Wilt symptoms in Fukujyu-Nigō, susceptible to *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, inoculated simultaneously with both the second stage larvae of root-knot nematode and the spore suspension of *Fusarium* fungus developed rapidly after inoculation and wilt index in the seedlings marked very high average. Whereas the seedlings inoculated with both root-knot nematode egg-masses, calculated almost the same density of the second stage larvae, and *Fusarium* spore suspension showed extremely lower wilt index than those used with larval inoculum. In other inoculation plots which changed the inoculation order of both pathogens, the wilt incidence differed apparently by the inoculum form of root-knot nematode.

(3) Histopathological studies of mixed infection associated with *Fusarium* wilt fungus and root-knot nematode in tomato seedlings and its effect on appearance of symptoms.

The experiment was designed to determine the mechanism of mixed infection in the complex disease. The root materials of root-knot and *Fusarium* wilt susceptible Matsudo-Ponderosa seedlings inoculated with both pathogens were prepared for histological

studies in every other day during two to twelve days after inoculation. A number of nematode larvae penetrated into the meristematic tissue of whole roots in two days after inoculation and then increased gradually. The nematode penetration brought some injury to the dermatogen and the periblem of the elongating root tissue. However, the fungus invasion was never seen in the injury portion where only single larva entered. When the numerous larvae penetrated massively into the meristematic tissue of a root, the apical meristem broken down largely and sometimes allowed colonization of the fungus. In such case, the fungal mycelium was found abundantly in all portions of the wounded meristematic tissue. From these histopathological observation, it considered that the minute mechanical wound associated with entering of a single larva of root-knot nematode into the root tissue is not suitable to penetrate of the fungal mycelium, whereas the severe mechanical and necrotic wound induced by entering simultaneously of the numerous larvae into the apical meristem of root may become the favourable court of fungus infection.

Mixed infection associated with the fungus and the nematode appeared first on the tip of adventitious root, and then developed on the several tips of primary or secondary roots, but it is limited in a little part of whole root system. The portion of mixed infection showed necrosis locally first on the galled root tip, and as soon as extended to the upper part of root. In the galled roots infected with both nematode and fungus, the mycelial invasion into the vascular bundle developed rapidly and vigorously, and it facilitated the wilt incidence. The giant cells in galled tissue seemed favourable site of the mycelial colonization, and it suggested that more extensive growth of the fungus in infected roots might happen from these sites.

(4) Possibility of the complex disease caused by incompatible *Fusarium* pathogens and root-knot nematode in different plants.

Five kind of plants, *Cucumis sativus* L., *C. melo* var. *akuwa* MAKINO, *Cucurbita ficifolia* BOUCHE, *Lycopersicon esculentum* MILL and *Citrullus vulgaris* SCHRAD., were inoculated simultaneously with the root-knot nematode, *M. incognita* and each one among three forma specialis of *Fusarium*, *F. oxy.* f. sp.

cucumerinum, *F. oxy. f. sp. lycopersici* and *F. oxy. f. sp. niveum*, including incompatible species to the test plants. Some incidence of wilt symptoms was recognized in each test plant inoculated with both nematode and *Fusarium* species in any combination. In tomato predisposed by nematode inoculation, wilt symptoms occurred not only in plants inoculated with the compatible pathogen, *F. oxy. f. sp. lycopersici*, but also in those inoculated with incompatible pathogens to tomato plant, *F. oxy. f. sp. cucumerinum* and *F. oxy. f. sp. niveum*, respectively. Other test plants showed also similar response. The appearance of wilting caused by combined inoculations of test organisms varied by plant species, it was observed to be severer in cucumber and tomato than in other plants. The roots of the plants affected with root-knot-*Fusarium* complex showed necrotic discoloration in the galled or non-galled tissues. The original fungus inoculated was also recovered from those necrotic tissues. By histological observation of the necrotic galled tissues in cucumber plants, mycelial colonization of the incompatible *Fusarium* species was recognized clearly in vascular tissues and giant cells of them. These results suggested that being possibility of the complex disease caused by incompatible *Fusarium* pathogens and root-knot nematode in various plants.

(5) Changes of rhizosphere microflora related to the development of the complex disease caused by *Fusarium* wilt fungus and root-knot nematode in tomato plants.

Wilting in the tomato plants grown in the soil infested with both root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus occurred in a wilt-susceptible cultivar Matsudo-Ponderosa, but not in the other wilt-resistant cultivar Toyonishiki. The wilt symptoms were severer in the plants grown in the nematode infested soil than in those grown in the noninfested soil. In a period before the symptom appeared, the rhizosphere microflora of the plants infected with nematodes changed variously in comparison to that of the noninfected plants. The population of *F. oxysporum* propagules was temporarily kept at a significantly high level

during the early stage of the plant growth and the nematode larvae were invading into the roots, then it decreased gradually as the plants grew. Whereas the total populations of bacteria, especially including the Gram-negatives, increased drastically as the root galls developed. The rhizosphere microflora of two tomato cultivars tested changed in a similar pattern during the young period of the plant growth despite the presence of the root galls. In those plants representing wilt symptoms, there was a highly significant increase in the number of each microorganisms except Actinomycetes in the rhizosphere of the galled roots, but the number of *F. oxysporum* propagules varied greatly in each replicated materials. Occurrence of *Fusarium* wilt in the tomato seedlings inoculated with both fungus and nematode in the sterile soil was greater than in those inoculated in the nonsterile soil. Considerable increase of Gram-negative bacteria and reduction of *F. oxysporum* propagules were characteristic in the rhizosphere microflora of the tomato seedlings inoculated with both pathogens in the nonsterile soil, while it was not recognized in that of the seedlings inoculated with the fungus alone.

The fungal flora in the discoloring lesions of the epidemmal tissues of galled roots changed more complicated than those of healthy tissues, particularly there were noticeable increase of *Fusarium solani* instead of *F. oxysporum*.

(6) Effects on the mycelial growth and the spore germination of *Fusarium* wilt fungus of the exudate from galled root tissues.

The mycelial growth of *Fusarium* wilt fungus of tomato was stimulated facilitatively by the exudate of the galled root tissues of tomato plant in comparison to that of the healthy root tissues. The germination of conidiospores and chlamydospores of the fungus was similarly stimulated by the exudate of the galled root tissues. The galled tissues infected with the root-knot nematode may be possible as the nutritional sources for *Fusarium* wilt fungus growth.

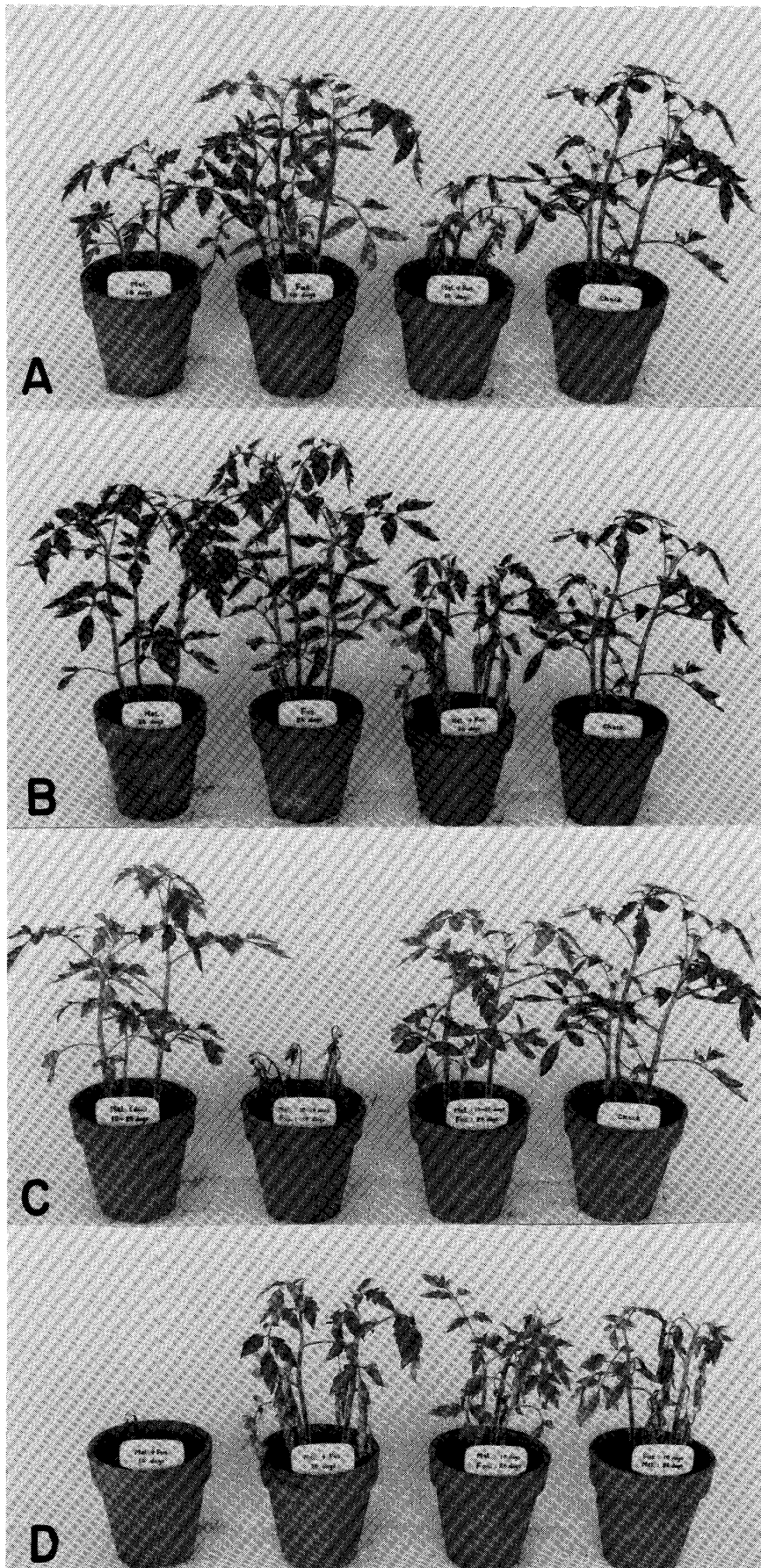


PLATE I

Plate I

Photographs show wilt symptoms in Matsudo-Ponderosa tomato seedlings inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*) and *Meloidogyne incognita* (*Mi*) under various combinations.

(A) Plants were inoculated simultaneously with *Fol* and *Mi* on 10 days after seeding. The order from left to right: *Mi* alone, *Fol* alone, *Mi* + *Fol* and noninoculation.

(B) Plants were inoculated simultaneously with *Fol* and *Mi* on 26 days after seeding. The order is the same above.

(C) Plants were inoculated with *Mi* four day interval at five times during 10 to 26 days after seeding and simultaneously with *Fol* at first or final inoculation. The order from left: *Mi* alone, *Mi* (10-26) + *Fol* (10), *Mi* (10-26) + *Fol* (26) and noninoculation.

(D) Plants were inoculated alternately with *Fol* and *Mi* on 10 to 26 days after seeding. From left: *Mi* + *Fol* (10), *Mi* + *Fol* (26), *Mi* (10) + *Fol* (26) and *Fol* (10) + *Mi* (26).

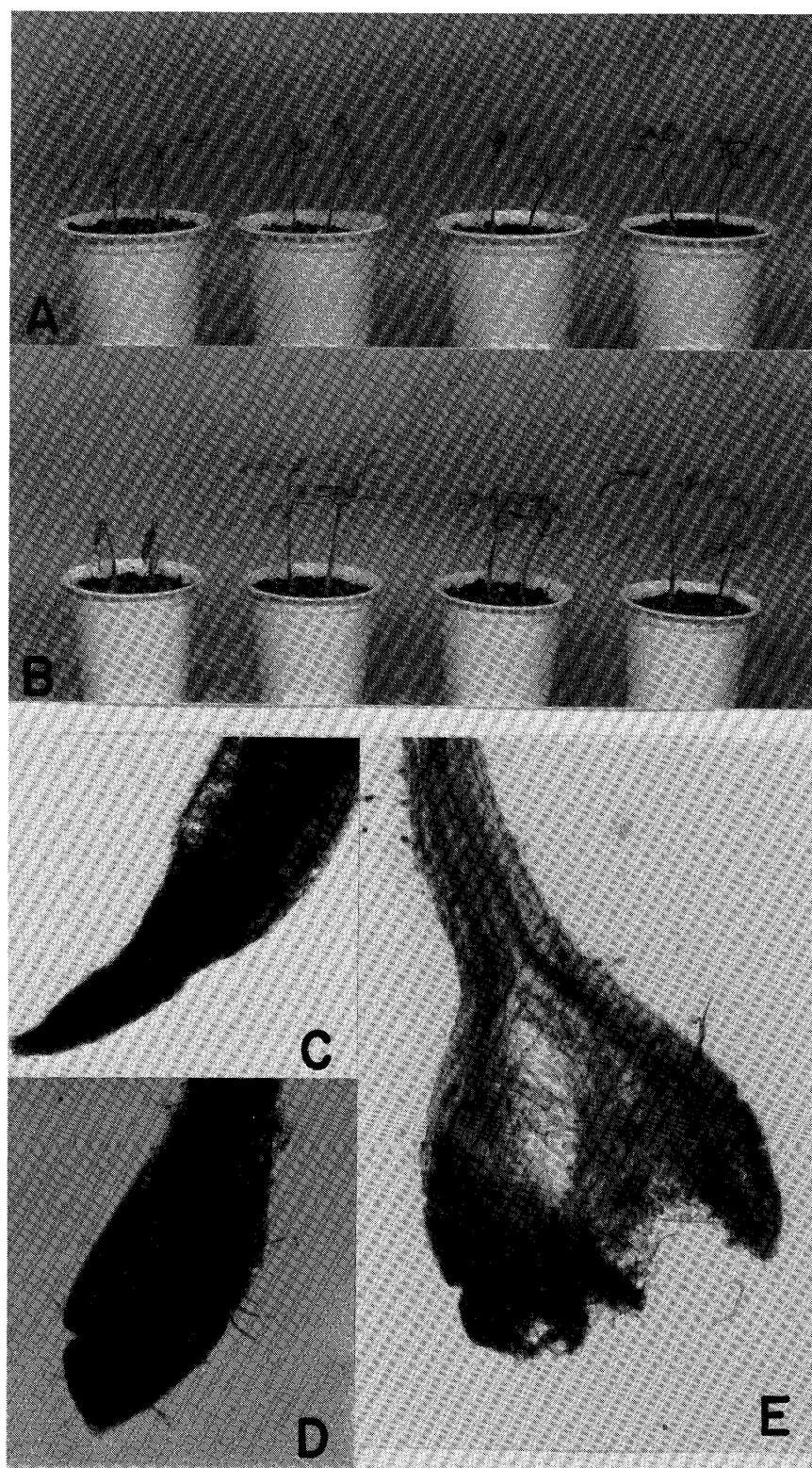


Plate II

PLATE II

Photographs, (A) and (B) show wilt development in young tomato seedlings inoculated simultaneously with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*, and (C)-(E) show root symptoms microscopically of its infected plant. (A) Initial wilt symptom appeared temporarily on eight days after inoculation. The order from left to right : *Mi* + *Fol* alone, *Mi* alone and noninoculation.

(B) Wilting developed rapidly in a few days after appearance of symptom primarily. The order is the same above.

(C) Tip necrosis of an adventitious root infected intensively with a large number of second stage larvae.

(D) Initial gall symptom in root tip region infected with second stage larvae on two days after inoculation.

(E) A large number of larvae were observed in the crushing root tissue.

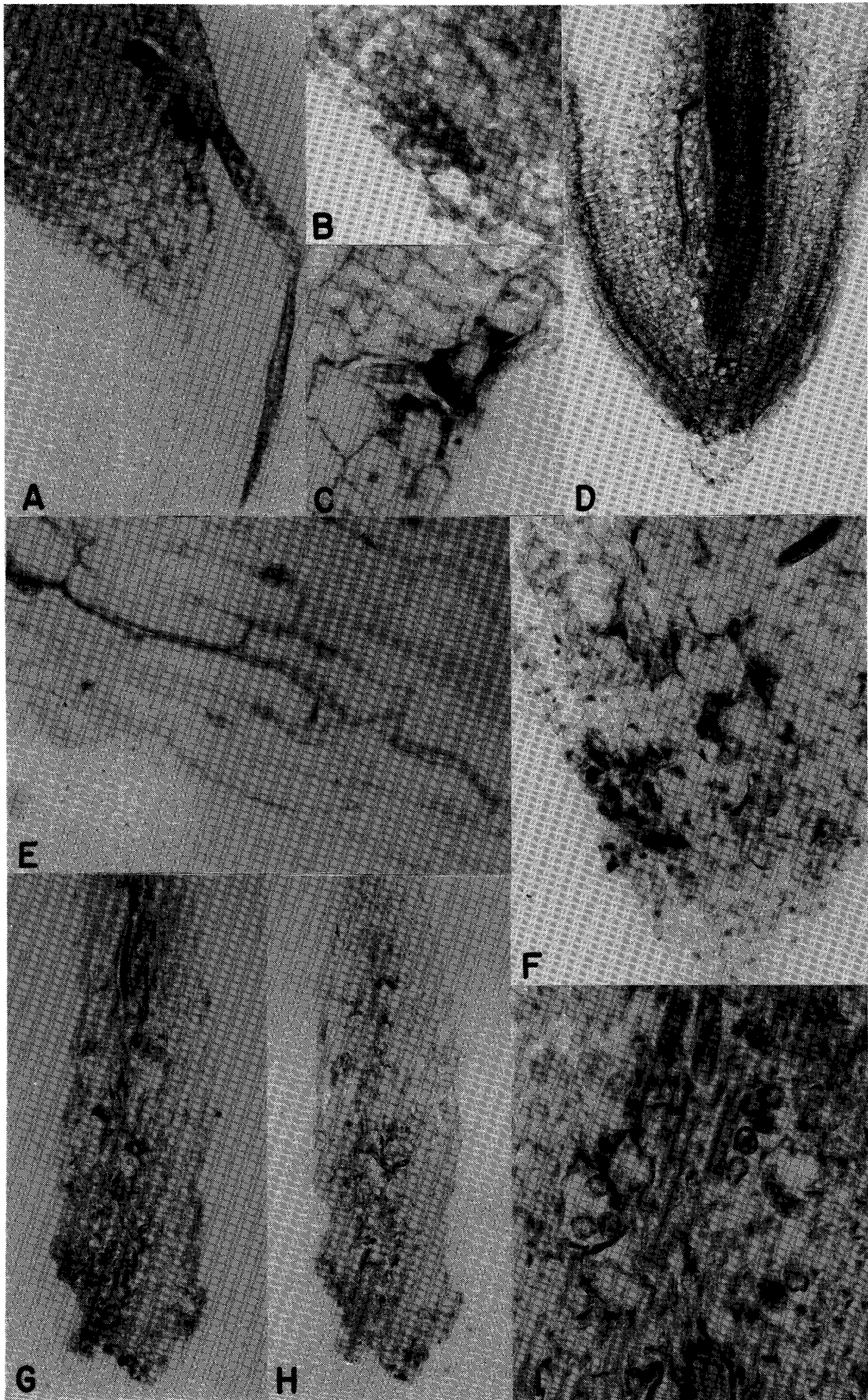


PLATE III

(PIATEIIIの説明は 206 頁)



PLATE IV

(PLATE IVの説明は 206 頁)



PLATE V

(PLATE V の説明は 206 頁)

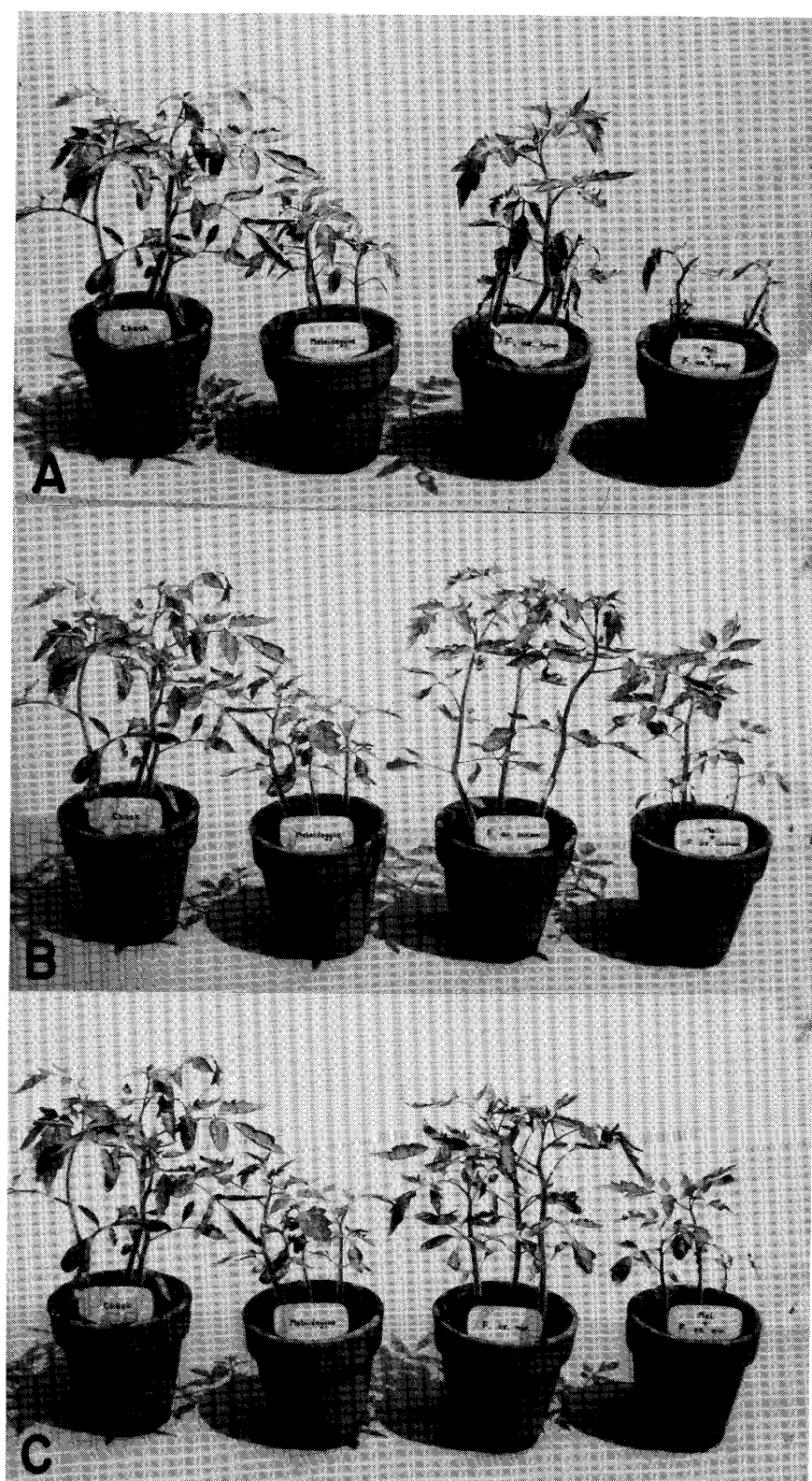


Plate VI

PLATE VI

Photographs show symptoms in Matsudo-Ponderosa tomato seedlings inoculated simultaneously with each couple between *Meloidogyne incognita* and the different forma specialis of *Fusarium oxysporum*.

(A) Symptoms appearing in plants inoculated with *M. incognita* and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. The order from left to right : Noninoculated control, *Meloidogyne* alone, *Fusarium* alone and *Meloidogyne-Fusarium* combination.

(B) Symptoms appearing in plants inoculated with *M. incognita* and *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. The order is the same above.

(C) Symptoms appearing in plants inoculated with *M. incognita* and *F. oxysporum* f. sp. *niveum*.

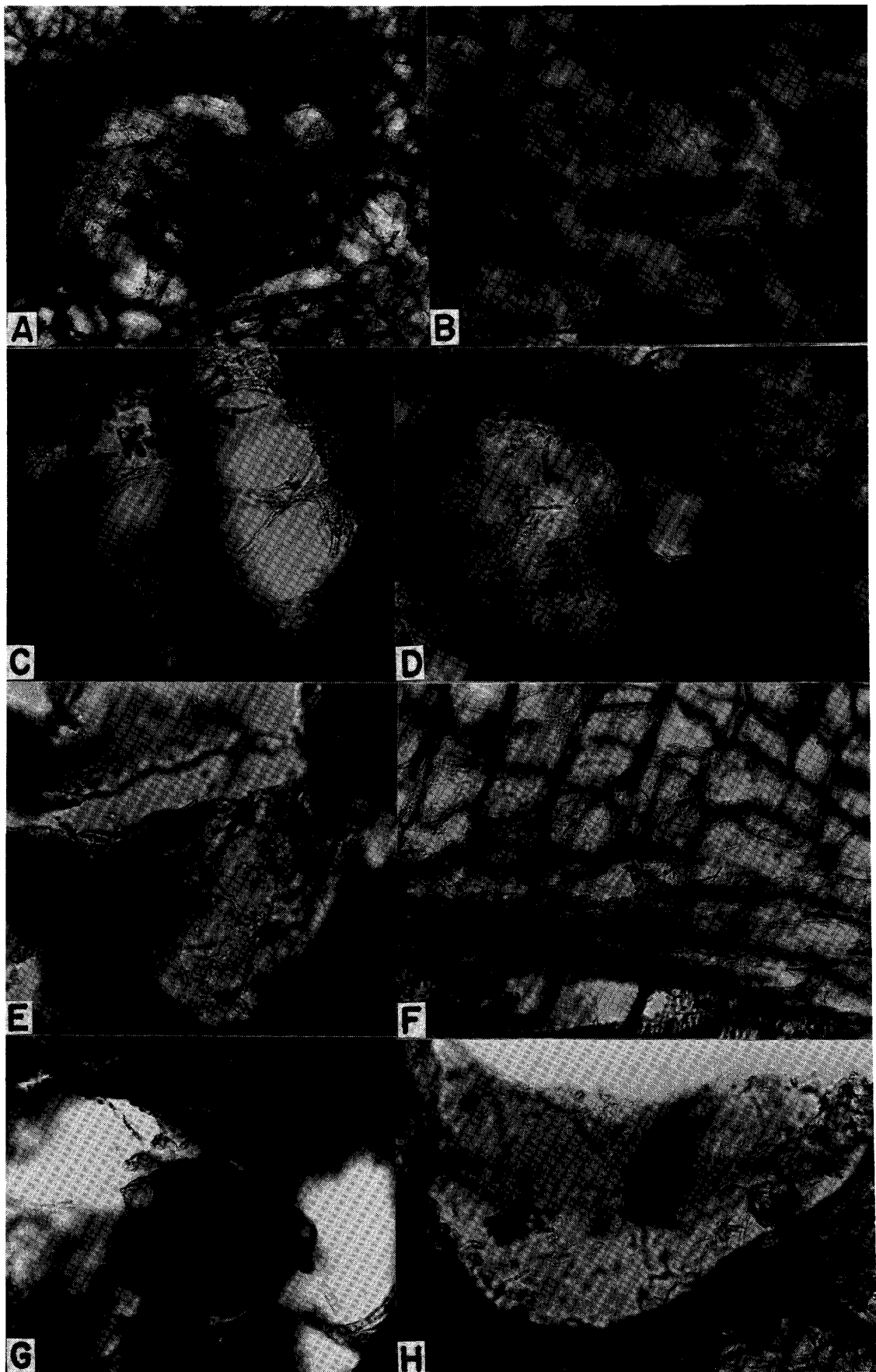


PLATE VII

(PLATE VII の説明は 206 頁)

Plate III

Photographs show histopathological studies of tomato roots inoculated simultaneously with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

- (A) Singly invasion of a second stage larva to root tip tissue (after 2 days of inoculation).
- (B) Mechanical wounds of the primordial epidermal and cortical cells remain after invasion of larva (after 2 days of inoculation).
- (C) Mechanical wounds invading larva remain clearly to epidermal and cortical cells, however, this site is never seen fungal infection (after 2 days of inoculation).
- (D) Second stage larva establishes a feeding site near the primordial central cylinder of root. Cell arrangement of the cortex is disturbed already with invading larva (after 2 days of inoculation).
- (E) The track by passing a larva in cortex recognized intercellulary with cell wall discoloration (after 2 days of inoculation).
- (F) Necrosis accompanied with mechanical wounds of meristematic cells caused by invading intensively with a lot of larvae (after 2 days).
- (G)(H) Break down of the tip tissue of an adventitious root caused by multiple infection with both root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus. The necrotic tissue shows crowding a large number of larvae and establishing mycelial colonization vigorously in each picture of the same specimen (after 4 days of inoculation).
- (I) Close up the necrotic tissue occurring multiple infection with root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus.

Plate IV

Photographs show histopathological studies of the infected roots and stems in tomato plants inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

- (A) Larva invaded into the vascular element in upper portion of infected adventitious root and the tissue broken mechanically (after 4 days of inoculation).
- (B), (C) *Fusarium* infection showing favorably mycelial growth develops extensively towards the upper portion of necrotic root, especially well in the vascular bundle (after 4 days).
- (D) Young giant cells form in a galled tissue infected with second stage larva alone (after 4 days).
- (E) Fungal infection developed into the vascular bundle of stem through those of an adventitious root infected with root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus (after 6 days of inoculation).
- (F) Fungus colonization recognized intensively young giant cells of a discolored galled root (after 6 days).
- (G) Longitudinal section of the galled tissue having typical giant cells (after 8 days of inoculation).
- (H) Fungal infection developed into the giant cells and their vicinal vascular tissues of a discolored galled root (after 8 days).

Plate V

Photographs show histopathological studies of the infected roots and stems in tomato plants inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita*.

- (A) Necrosis of the parenchyma surround vascular bundles in the stem connecting with an adventitious root occurred accompanied with invasion of a large number of larvae (after 8 days of inoculation).
- (B) Extensive fungus colonization developed into the vascular bundles of the stem connected with an adventitious root occurring multiple infection by root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus (after 8 days).
- (C) Giant cells developed well in the gall tissue infected with root-knot nematode alone, and the protoplasm of giant cells remain densely (after 10 days of inoculation).
- (D) Vigorous fungus colonization established into the giant cells of discolored galled tissue, and the protoplasm of giant cells disappeared extremely (after 10 days).
- (E) Mycelial growth developed vigorously in stem vascular tissue near ground in plant occurred multiple infection by root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus (after 12 days of inoculation).
- (F) No symptom in root tissue inoculated with *Fusarium* fungus alone.

Plate VII

Photographs show histopathological studies of cross sections of the galled roots in cucumber seedlings inoculated with *Meoidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

- (A) Mycelial colonization recognized in the vascular tissue near establishing the root-knot nematode.
- (B) Mycelial colonization extended widely in the vascular tissues of galled root.
- (C) Fungal hyphae established into the vascular tissue far from the infection site of root-knot nematode.
- (D), (E) Mycelial colonization developed well in giant cells of discolored galled tissue.
- (F) Mycelia grown extensively into the parenchyma near vascular tissues.
- (G) Fungal growth recognized inner space establishing the mature female of root-knot nematode in galled tissue.
- (H) Fungal hyphae distributed within gelatinous matrix producing mature female.