Agrobacterium rhizogenes biovar 1 によるメロン毛根病*

塩見敏樹**・白川 隆***・竹内昭士郎**

大泉利勝****・植松清次****

Toshiki SHIOMI**, Takashi SHIRAKAWA***, Shoshiro TAKEUCHI**,
Toshikatsu ÔIZUMI**** and Seiji UEMATSU**** : Hairy Root of
Melon Caused by *Agrobacterium rhizogenes* Biovar 1*

Abstract

A new disease of melon in greenhouses, characterized by the symptoms of hairy roots and galls, has been observed in Chiba prefecture since 1976. The disease occurs around the year, especially in spring and autumn. Fourteen bacterial isolates obtained from the affected hairy roots and root galls were proved to be pathogenic to melon by needle prick inoculation, exhibiting similar symptoms to those produced by natural infection. The bacterium was also pathogenic to cucumber, watermelon, tomato, rose and others. Fourteen bacterial isolates obtained were quite uniform in their bacteriological characteristics. On the basis of bacteriological characteristics and pathogenicity, the bacterium was identified as the biovar 1 of *Agrobacterium rhizogenes* (Ricker, Banfield, Wright, Keitt & Sagen 1930) Conn 1942. The name of "hairy root of melon" was proposed for this disease.

(Received February 12, 1987)

Key words: new bacterial disease, melon, hairy root, *Agrobacterium rhizogenes*, identification.

緒 言

千葉県安房郡丸山町および千倉町の周年栽培型温室メロンに、1976年頃から、生育途中のメロンの根が地表面に異常に露出する病害が発生した。1985年、多発した温室では発病株率が20~45%になり、その被害が甚大であったことから、病原体の早急な解明が切望された。

そこで、筆者らは病原体を明らかにし、その防除対策を図る目的で、罹病株から多くの細菌を分離し、その諸性質を検討したところ、本病害は *Agrobacterium rhizogenes* (Ricker, Banfield, Wright, Keitt & Sa-

gen 1930) Conn 1942 の biovar 1 によることが判明した。ここにその結果を報告する。

本報告をまとめるに当たって、東京農業大学教授藤井 博博士には懇切なる御校閲をいただいた。記して感謝の意を表す。

病 徴

本病は年間を通じて発生するが、特に雨天日が多く、温室内の湿度が高くなる春季および秋季に多い。病徴は株元付近または株元から離れた地表面に多数の毛状根が露出し、白く見えるのが特徴である (Fig. 1-1)。このような株は根のところどころに径1 mm 以下

* 本報の概要は昭和61年度日本植物病理学会大会で発表した。

** 農林水産省野菜・茶業試験場 National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea. Anô, Mie 514-23, Japan

*** 現在：農林水産省野菜・茶業試験場盛岡支場 Present address: Morioka Branch, National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea. Morioka, Iwate 020-01, Japan

**** 千葉県暖地園芸試験場 Chiba Horticultural Experiment Station, Tateyama, Chiba 294, Japan

Fig. 1. Symptoms of a new bacterial disease on melon plants.

- 1) Hairy root produced by natural infection.
- 2) Gall produced by natural infection.

から 2~3 cm に及ぶこぶまたは肥大部（以下両者を一括してこぶと略す）が認められる。毛状根は根に形成されたこぶから発生し、その一部が地表面に露出する。このような毛状根は根毛を持たないものが多い。また、地際部の茎にこぶを形成する場合もある（Fig. 1-2）。このこぶからも多くの毛状根が発生する。被害株の茎葉には特に異常が見られない場合が多いが、生育初期に当たる本葉10枚から12枚頃に感染・発病した株では、不着果、果実の小型化、ネットの不良や糖度の低下などの被害を生じる。

実験材料および方法

細菌の分離 1986年6月に千葉県安房郡丸山町および千倉町の2地点から採集した自然発病株（品種：アールス・フェボリット夏系）の根のこぶまたは地表面に露出した毛状根を供試し、細菌の分離を行った。細菌の分離には普通寒天培地を用い、塗抹培養法によって単集落を得た。

接種試験 接種試験にはメロン（品種：アールス・フェボリット夏系、ふかみどり、真珠、大井新一号、バーネット、プリンス PF）、スイカ（品種：光玉みどり）、ヘチマ（品種：太ヘチマ）、カボチャ（品種：鉄かぶと）、ユウガオ（品種：フレンド）、トウガン（品種：大丸）、ツルレイシ（品種：不詳）、キュウリ（品種：久留米落合）、ヒマワリ（品種：不詳）、レタス（品種：グレートレックス366）、マリーゴールド（品種：不詳）、トマト（品種：福寿二号）、インゲン（品種：尺五寸）、ニンジン（品種：不詳）およびバラ（品種：キャラミヤ80）を用いた。接種は、普通寒天斜面

培地に28℃、24時間培養した各分離菌株の懸濁液（約 10^9 ~ 10^{10} 個/ml）を、植物の地際部に多針（志賀昆虫針3号を5本使用）接種する方法で行った。ただし、ニンジンへの接種は Ark and Thompson²⁾ の root disk 法により、またバラへの接種は新梢部に行った。メロン（品種：ふかみどり）およびトマトには全供試菌株を接種したが、その他の植物には1菌株を用いて接種を行った。接種後の植物はガラス温室内に保ち、1~2カ月間発病の有無を観察した。

細菌学的性質 供試菌株の細菌学的性質は Schaad⁹⁾ および富永¹²⁾ の採用した方法に準じて行った。ただし、グリセロリン酸カルシウム寒天⁴⁾、Starr の基礎培地¹⁰⁾ およびセレン酸ナトリウム寒天⁵⁾ の各試験は原著の方法に準じて行った。供試14菌株は接種試験により予め病原性を確認したものである。

実験結果

病原細菌の分離と接種試験 メロンの毛状根およびこぶを示したいずれの試料からも常に白色、円型集落を形成する細菌が分離された。得られた25菌株をメロンおよびトマトに接種した結果、14菌株が両植物に病原性を示した。メロンでは、接種2~3週間後に接種部が肥厚し、そこから多くの毛状根を生じた。トマトでもメロンの場合と同様の病徴を示した（Fig. 2）。また、本細菌は、供試したメロン6品種を含む6科15種の植物にも病原性を示した。これら植物での病徴はメロンおよびトマトの場合と同様であった。

細菌学的性質 供試14菌株の細菌学的性質は Table 1 に示した。供試菌株はいずれも、大きさが1.2~1.8

Fig. 2. Hairy root of tomato seedling produced by needle prick inoculation.

×0.6~0.8 μ m, 1~3本の周毛を有するグラム陰性の桿菌であり、グルコースを酸化的に分解し、D-1培地に発育する。好気的条件下で生育し、普通寒天培地上の集落は円形で中高、全縁、平滑、湿光を帯び粘性があった。供試菌株はいずれもオキシダーゼ活性、カタラーゼ活性、ウレアーゼ活性、3-ケトラクトース産生、アルギニンの加水分解、レバンの産生、硝酸塩の還元、クエン酸鉄アンモニアでの薄膜の生成、単一の炭素源および窒素源としてのアスパラギンの利用性、2%塩化ナトリウム加用ペプトン水および35℃での生育などが陽性、レンチナーゼ活性、カゼインおよびデンプンの加水分解、発育因子の要求性などは陰性であった。メレジトース、マニトール、ソルビトール、エタノールなどを利用し酸を産生したが、エリトリットなどは

Table 1. Comparison of bacteriological characteristics of the present isolates with those of *Agrobacterium rhizogenes*

Characteristics	Present isolates	<i>A. rhizogenes</i> ^{a)}	
		Biovar 1	Biovar 2
Gram stain	— ^{b)}	—	—
Arrangement of flagella	Peritrichous	Peritrichous	Peritrichous
No. of flagella	1-3	1-3	1-3
Motility	+	+	+
Oxygen relation	Aerobic	Aerobic	Aerobic
O-F test	O	O	O
Fluorescent pigment	—	—	—
Pyocyanin	—	—	—
Kovacs' oxidase	+	+	—
Catalase reaction	+	+	+
Urease activity	+	+	+
3-ketolactose production	+	+	—
H ₂ S production	+	+	—
Arginine dihydrolase production	+	+	—
Levan formation	+	+	+
NH ₃ production	+	+	+
Arbutin hydrolysis	+	+	+
Esculin hydrolysis	+	+	+
Nitrate reduction	+	d	—
Nitrate respiration	+	+	—
Voges-Proskauer test	—	—	—
Methyl red test	—	—	—
Lecithinase production	—	—	—
Tyrosinase production	—	—	—
Indol production	—	—	—
Gelatin liquefaction	—	—	—
Hydrolysis of :			

Table 1. (Continued)

Characteristics	Present isolates	<i>A. rhizogenes</i>	
		Biovar 1	Biovar 2
Starch	—	—	—
Casein	—	—	—
Tween 80	—	—	—
Formation of pellicle in ferric ammonium citrate solution	+	+	—
Growth factor requirement	—	—	+
Utilization of asparagine as a sole source of C & N	+	+	—
Litmus milk reaction	Alkali	Alkali	Acid
Growth in :			
Nutrient broth	+	+	+
Peptone water	+	+	+
Uschinsky's solution	+	+	+
Fermi's solution	+	+	+
Cohn's solution	+	+	+
2% NaCl peptone water	+	+	—
Growth on :			
D-1 agar	+		
Schroth <i>et al.</i> 's medium	+	+	—
New and Kerr's medium	—	—	+
Calcium glycerophosphate mannitol nitrate agar	+	+	±
Sodium selenite yeastwater glucose agar	+	+	±
Starr's basal salts medium	—	+	±
Growth at :			
35 C	+	+	—
28 C	+	+	+
Hypersensitivity reaction	—	—	—
Potato rot	—	—	—
Acid production from :			
Arabinose	+	+	+
Xylose	+	+	+
Rhamnose	+	+	+
Glucose	+	+	+
Fructose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Mannose	+	+	+
Sucrose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Lactose	+	+	+
Raffinose	+	+	—
Cellobiose	+	+	+
Melezitose	+		

Table 1. (Continued)

Characteristics	Present isolates	<i>A. rhizogenes</i>	
		Biovar 1	Biovar 2
Glycerol	+	+	+
Mannitol	+	+	+
Sorbitol	+	+	+
Inositol	+	+	+
Dulcitol	+	+	+
Salicin	+	+	+
Erythritol	—	—	+
Starch	—	—	—
Inulin	—	—	—
Dextrin	—	—	—
Ethanol	+	+	—
Utilization of :			
Citrate	d	+	+
Malonate	—	—	+
Mucic acid	d		
Propionate	+		
Tartrate	—	—	+

a) Cited from Ohta, K.⁸⁾

b) + = positive for 100% of isolates, — = negative for 100% of isolates, d = reactions differ, positive for 35-79% of isolates, ± = scanty growth

利用しなかった。マロン酸および酒石酸は利用しなかった。クエン酸および粘液酸の利用は菌株間で差があった。Schroth らの培地、グリセロリン酸カルシウム、セレン酸ナトリウムの各培地でよく生育したが、New and Kerr の培地では生育しなかった。

このように、供試14菌株の細菌学的性質はほぼ斉一で、菌株間の差はクエン酸および粘液酸の利用で認められるだけであった。したがって、これらはすべて同一種の細菌とみなされた。

考 察

メロンの毛状根やこぶから分離された供試細菌はいずれも1～3本の周毛を有する桿菌であり、グラム陰性、グルコースを酸化的に分解し、D-1 培地に発育し、発根性が確認されたことから、*Agrobacterium* 属細菌と考えられる。

Bergey's Manual 第8版¹⁾ では、*Agrobacterium* 属細菌を病原性とその病徴により4種に分類している。すなわち、各種植物にがんしゅを作るものが *A. tumefaciens*、毛根を作るものが *A. rhizogenes*、キイチゴ属植物のみにがんしゅを作るものが *A. rubi*、非

病原性のものが *A. radiobacter* である。この4種は細菌学的性質による分類が困難である⁷⁾。

本研究に用いた菌株はいずれもメロンおよびトマトに多くの毛状根を作ることから、*A. rhizogenes* と類似する。

A. rhizogenes は細菌学的性質の違いによって2つの biovar (生理型) に分けられている⁷⁾。

わが国では、太田⁸⁾ がバラ毛根病に罹病したバラから *A. rhizogenes* を分離し、詳細に細菌学的性質を検討した結果、*A. rhizogenes* の2種の biovar に起因することを報告している。

供試細菌を、太田⁸⁾ がバラ毛根病菌で報告している *A. rhizogenes* biovar 1 および 2 と比較すると、biovar 2 とは多くの性質で異なっていたが、biovar 1 とは硝酸還元などにおいて異なるのみで、他の多くの性質で一致していた。これらの結果から、供試細菌を *A. rhizogenes* biovar 1 と同定した。

A. rhizogenes はリンゴ、ナシ、キイチゴ類、バラなどに寄生し、毛根を作る病原細菌として知られている⁹⁾。わが国では、前述のバラ毛根病のほか、立石¹⁰⁾ によりリンゴ毛根病の発生が報告されている。

ウリ類では、Holmes and Roberts⁶⁾ によりキュウ

りの毛根から *A. rhizogenes* biovar 1 が分離されている。しかし、本細菌によるメロンの病害は見当たらないので、本病をメロン毛根病 (hairy root of melon) と呼ぶことを提唱する。

摘 要

1976年頃から、千葉県下で温室メロンの根が地表面に異常に露出する病害が発生した。罹病メロンの根の

こぶおよび地表面に露出した毛状根から分離した細菌は、細菌学的性質が斉一で、メロンに自然発病株と同一の病徴を示したほか、キュウリ、スイカ、トマト、バラなどにも病原性を示した。

細菌学的性質および接種試験の結果から、供試細菌を *Agrobacterium rhizogenes* (Ricker, Banfield, Wright, Keitt & Sagen 1930) Conn 1942 の biovar 1 と同定した。病名をメロン毛根病 (hairy root of melon) と呼ぶことを提唱した。

引 用 文 献

1. Allen, O. N. and Holding, A. J. (1974). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. (Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. eds.), The Williams & Wilkins Co., Baltimore. pp. 264-267.
2. Ark, P. A. and Thompson, J. P. (1961). Phytopathology 51 : 69-71.
3. Elliott, C. (1951). Manual of Bacterial Plant Pathogens, 2nd ed. The Chronica Botanica Co., Waltham, Massachusetts. pp. 3-5.
4. Graham, P. H. and Parker, C. A. (1964). Plant and Soil XX, No. 3 : 383-396.
5. Hendrickson, A. A., Baldwin, I. L. and Ricker, A. J. (1934). J. Bact. 28 : 597-618.
6. Holmes, B. and Roberts, P. (1981). J. Appl. Bact. 50 : 443-467.
7. Kersters, K. and De Ley, J. (1984). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1 (Krieg, N. R. and Holt, J. G. eds.), The Williams & Wilkins Co., Baltimore. pp. 244-254.
8. 太田光輝 (1986). 日植病報 52 : 413-421.
9. Schaad, N. W. (1980). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Bacteriol. Commit. Amer. Phytopath. Soc., Minnesota.
10. Starr, M. P. (1946). J. Bact. 52 : 187-194.
11. 立石 晁 (1939). 日植病報 9 : 180-183.
12. 富永時任 (1971). 農技研報 C25 : 205-306.