

Studies on the Disease of Root Tumor of Melon(*Cucumis melo* L.)

吉田, 政博

<https://doi.org/10.11501/3106939>

出版情報 : 九州大学, 1995, 博士 (農学), 論文博士
バージョン :
権利関係 :

第8章 病原放線菌接種によるメロンの病徴発現

メロンがんしゅ病が *Streptomyces* sp. によって起こることはこれまでの検討で明らかとなった。本病は土壌伝染性病害であり、その病徴はまず最初に根部に現れる。また、地上部において植物体の異常を確認できる時期には、すでに地下部での病勢は予想以上に進展している場合が多い。一方、メロンがんしゅ病の病徴の発現様相については明らかではなく、これらのことは現場での本病の診断や分離菌の病原性試験、および汚染土壌による発病試験などでの調査時期を決定することが難しく、調査の時期がその結果を左右することが懸念される。さらに、その発病を確認するには必ず根部を回収する必要があるが生じてくる。したがって、発生病態の解明や効率的な発病試験を実施するには、メロン植物体上での本病の病徴発現の特徴を把握することが重要であると考えられる。

このことから、本章では病原放線菌接種後のがんしゅ病の病徴発現の過程を観察し、本病の潜伏期間ならびに汚染土壌に播種したメロンの発病と生育状況について検討するとともに、異なった生育ステージのメロンにおける発病の比較、および、メロンの地上部組織への接種による形態異常の発現について検討した。

第1節 栽培中のメロンへの土壌灌注・混合接種による発病

栽培中のメロンの株元の土壌へがんしゅ病菌を灌注し、周辺土壌と混合することによって接種した後の発病状況を調査した。

材料および方法

供試菌株はがんしゅ病菌 B-7-2 菌株 (Table 9) を用い、ジャガイモ煎汁培地 (P S A 培地¹²⁸) より寒天を除く) で 28°C, 3 日間振とう培養した菌液 (約 10^{10} cfu/ml) を接種源とした。

市販の野菜床土をオートクレーブ殺菌後、13×21×9 cm のプランターに詰め、メロン (品種: 健脚) の種子を播種して栽培した。本葉 2 枚展開期に 1 株当り約 25 ml の接種源を株元に灌注後、周辺土壌と混合して接種した。接種植物は 25~35°C のガラス温室内で栽培し、接種 7, 14, 24, 31 日後にプランターより抜き取って、根部におけるこぶ形成の有無と形成されたこぶ数をその大ききごとに調べ、発病状況を比較した。

1 回の調査に 2 個のプランター、8~10 株のメロンを供試して、同様に無接種区には培地のみを接種した。

結 果

結果は Table 49 に示した。接種メロンは接種 7 日後までは発病しなかったが、接種 14 日後から 9 株中 8 株 (88.9%) にこぶの形成が認められ、そ

Table 49. Occurrence of root tumor of melon by pouring and mixing inoculation with the pathogenic *Streptomyces* sp.

Days after inoculation	No. of diseased plants ^{a)}	No. of root tumors / plant			
		Size of tumor (mm)			
		<2	2-5	5-10	10<
7	0 / 10	0	0	0	0
14	8 / 9	2.3	0.4	0	0
24	8 / 8	18.6	0.4	0.1	0
31	10 / 10	42.1	5.1	0.4	0

a) Number of diseased plants / number of inoculated plants.

の大きさは2 mm以下の小型のものが主体で、形成こぶ数は1株当り2.7個と極めて少なかった。その後、日数の経過とともに発病株率、形成こぶ数およびこぶの大きさは増加し、接種24日後には全接種株が発病した。また、形成こぶ数も接種24日後では接種14日後の約7倍に達し、さらに、接種31日後では接種24日後の約2.5倍に増加した。形成こぶの大きさも、接種後の日数が経つにしたがい徐々に大型となった。なお、無接種区においてはいずれの調査時期においても発病はみられなかった。

第2節 混和接種汚染土壌における栽培メロンの発病

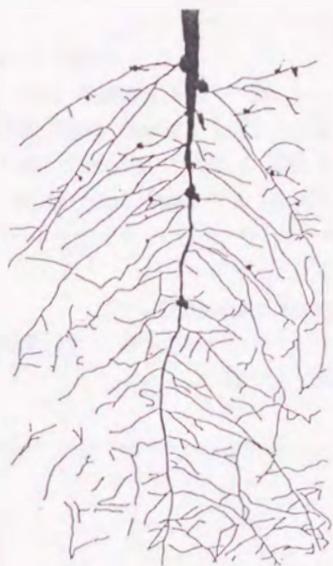
がんしゅ病菌をあらかじめ混和した汚染土壌にメロンを播種した場合、その後のメロンの生育と発病状況を観察した。

材料および方法

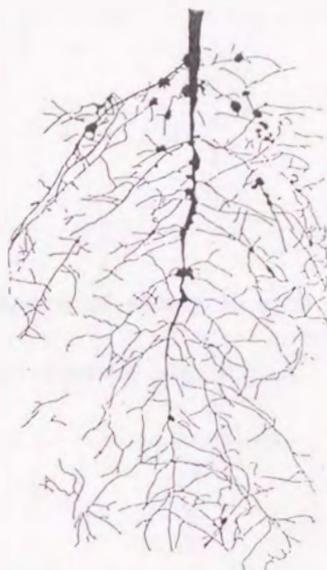
供試がんしゅ病菌はB-9-1菌株を用い、接種源は第4章第5節と同様に調製し、約 10^7 cfu/mlの菌液とした。供試土壌は市販の床土（商品名：宮崎焼土）をオートクレーブで殺菌後用い、上記の接種源を供試土壌に対し0.05%（V/V）量となるように混和接種した後、殺菌した直径15cmの素焼鉢に詰めて栽培用汚染土壌とした。これにメロン（品種：健脚）種子を1鉢当り2粒播種後、7日間隔で生育状況（葉数と草丈）と発病状況を調査し、さらに、形成こぶ数をもとにFig. 15 およびTable 50に示す被害水準（ネコブセンチュウの根こぶ指数の算出法⁴¹⁾に準拠して作成）により発病度の算出を行った。

試験は第1節と同様ガラス温室内で実施し、対照（無接種）区を設け、1回の調査にそれぞれ10株のメロンを供試した。また、調製した接種汚染土壌を15×12×25cmの根箱（傾斜面：65度）に詰め同様にメロンを栽培し

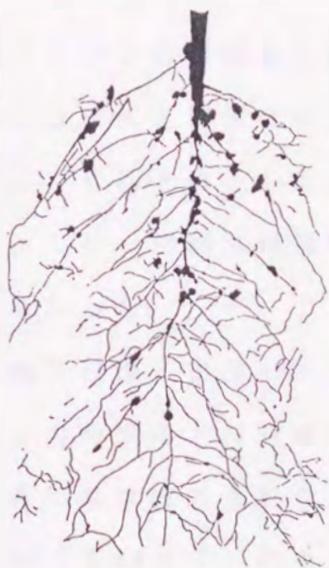
て、7日間隔でこぶ形成部位とその状況を観察した。



Disease index : 1



Disease index : 2



Disease index : 3



Disease index : 4

Fig. 15. Schematic diagram of the infected plant as to each disease index for the disease severity by artificial inoculation with the pathogenic *Streptomyces* sp.

Table 50. Estimation of the degree of disease severity in infected plants with the pathogenic *Streptomyces* sp. by artificial inoculation

Criterion (Number of root tumor formed)	Disease index
Not formed root tumor (0)	0
Formed scant root tumors (1 - 20)	1
Formed moderate root tumors (21 - 50)	2
Formed many root tumors (51 - 100)	3
Formed great many root tumors (≥ 101)	4

$$\text{Degree of disease severity} = \frac{\sum(\text{Disease index} \times \text{Number of plants in each index})}{\text{Total number of observed plants} \times 4} \times 100$$

結 果

汚染土壌でのメロンの播種後日数と発病株率、発病度の推移をFig. 16に、発病株のこぶ形成と肥大の状況をFig. 17に、メロンの生育程度の推移をFig. 18に、それぞれ示した。また、根箱栽培におけるこぶ形成状況をFig. 19に示した。対照（無接種）区ではいずれの調査時にもこぶの形成は認められなかった。

メロンは播種3日後に出芽し、7日後の汚染土壌ではこぶの形成は見られなかった。この時期のメロンは子葉が展開した状態で、対照（無接種）区との間に生育の差は認められなかった。播種14日後では発病株率が40%で、形成こぶは小型（2mm以下）のものが1株当たり2～3個認められ、発病度は10の軽度であった。しかし、播種21日後からは接種区のすべての株で発病がみられ、発病度も77.5と著しく増加した。また、その時期には1株当たり90個以上のこぶを形成し、2～5mmの比較的大型のこぶも認められるようになった。播種28日後にはさらに発病度は増加し、35日後からは発病度100を示す極めて激しい発病状況となって、形成こぶ数も播種28日～35日

後に約2倍に急増し、その数は49日後まで徐々に増大した。また、形成こぶの肥大状況は42日後まで各大きさのこぶ数で増加傾向を示したが、49日後には2mm以下のこぶ数は42日後より減少する傾向がみられる一方、2mm以上のこぶの占める割合が著しく増加した。

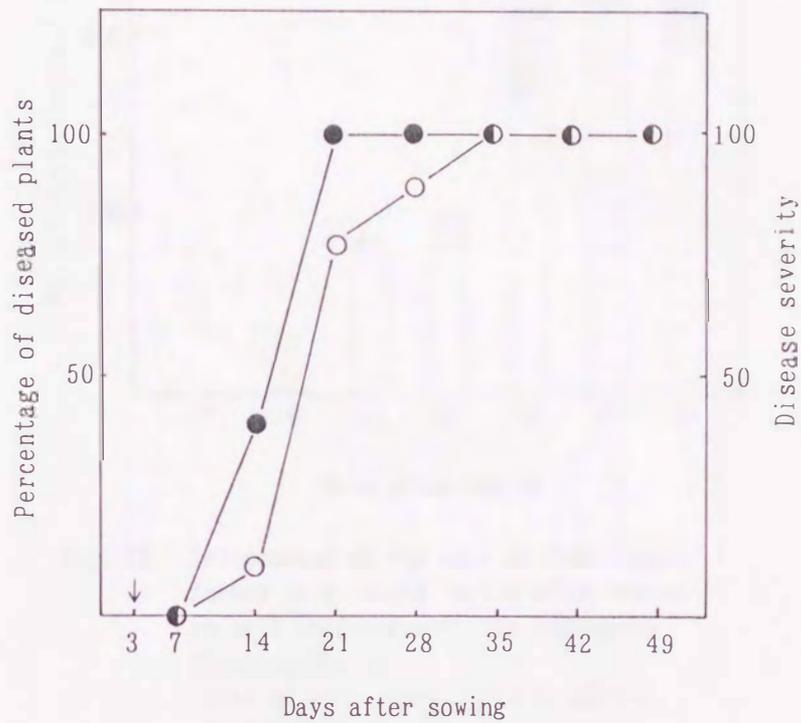


Fig. 16. Development of root tumor of melon after sowing in soil infested with the pathogenic *Streptomyces* sp.

●-●:percentage of diseased plants,
○-○:disease severity,
↓:emergence of seedling.

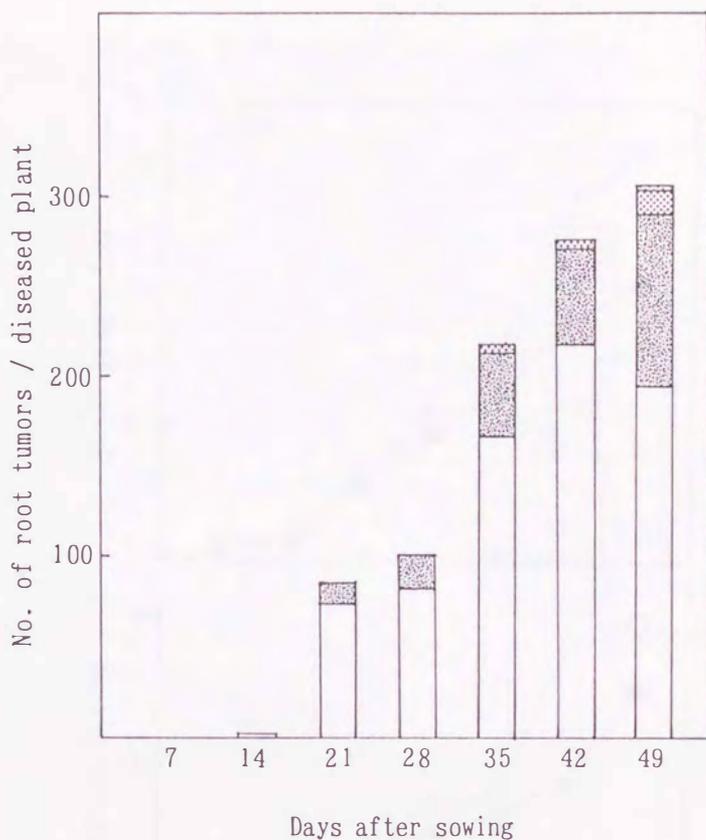


Fig. 17. Development of the size of root tumors formed on diseased melon after sowing in soil infested with the pathogenic *Streptomyces* sp.

Size of root tumor; □: <2, ▨: 2-5, ▩: 5-10, ▪: 10 < (mm).

さらに、接種区のメロンの生育 (Fig. 18) は、本葉数および草丈においても、発病がみられはじめた播種14日後頃から対照 (無接種) 区との間に相違が認められ、それは栽培日数とともに徐々にその差が大きくなる傾向を示し、49日後には本葉数で約2枚、草丈においても約30cm、それぞれ劣ることが確認された。

一方、根箱栽培メロンの観察結果 (Fig. 19) でも、播種7日後まではこぶの形成はみられなかったが (Fig. 19-A)、14日後には根の伸展とと

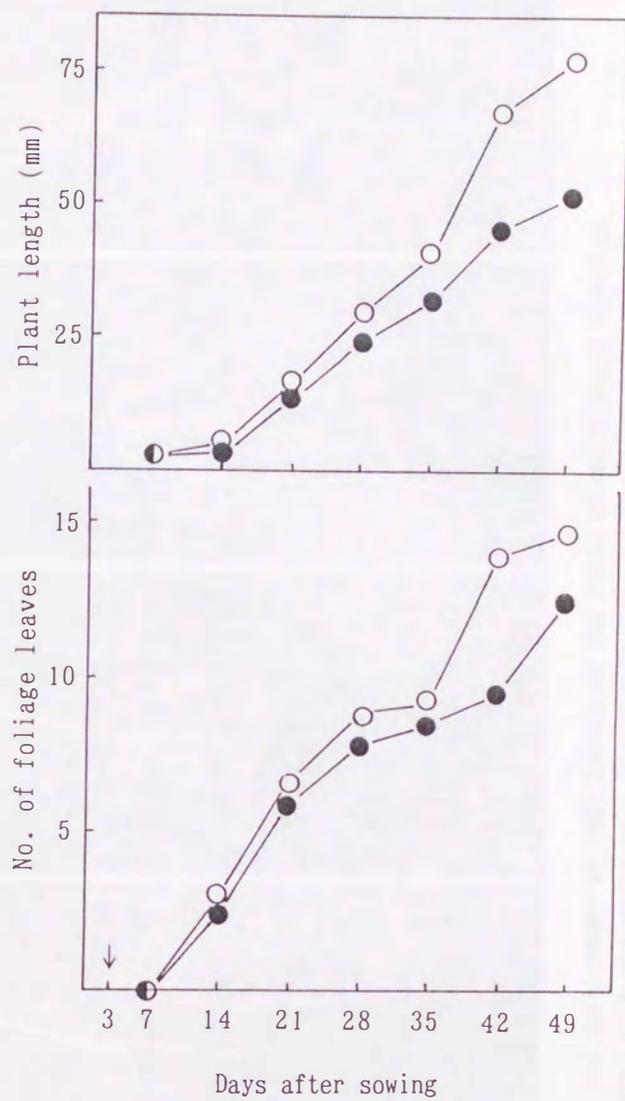


Fig. 18. Growth of melon sown in soil infested with the pathogenic *Streptomyces* sp. and that in unfested soil.
 ●—●:infested soil,
 ○—○:unfested soil,
 ↓:emergence of seedling.

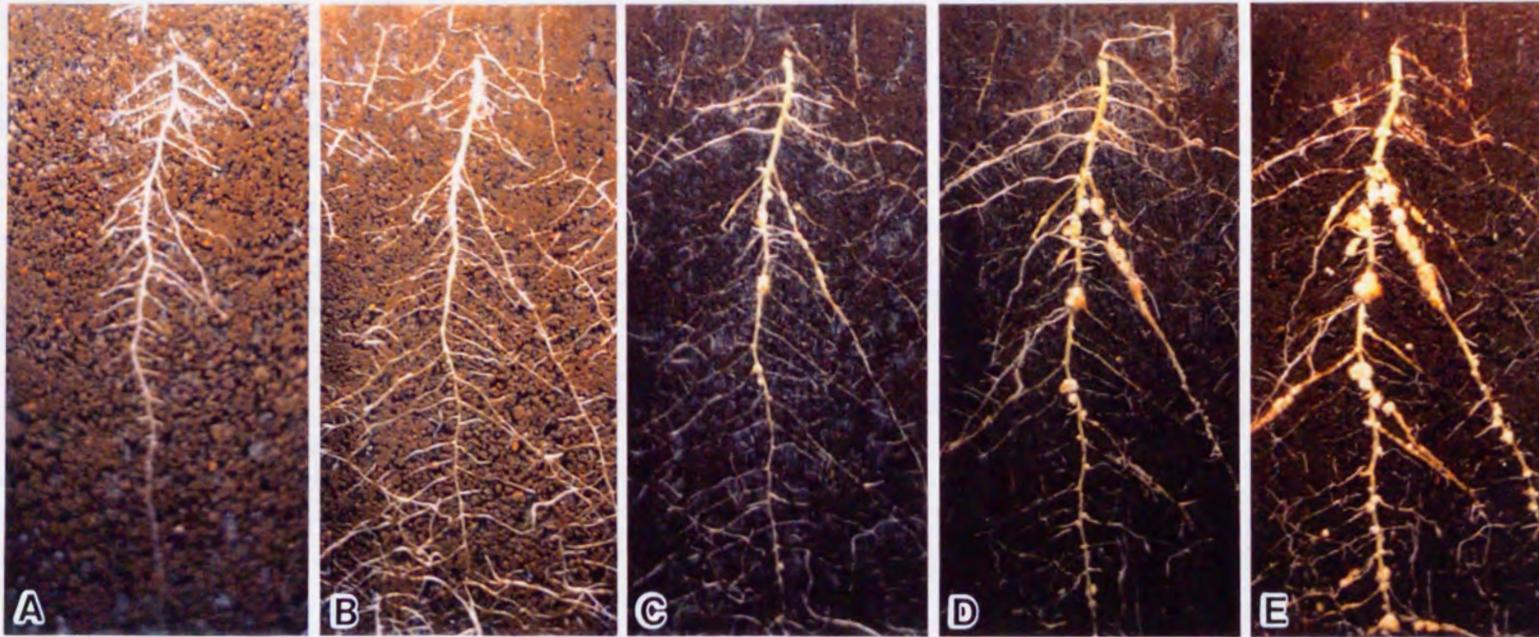


Fig. 19. Appearance and development of root tumors on the roots of melon plant sowed in soils infested with the pathogenic Streptomyces sp. causing root tumor of melon on root box cultivation system.
7 (A), 14 (B), 21 (C), 28 (D) and 35 (E) days after sowing.

もに主根と一次分枝根の分岐部に最初に小さなこぶ状の肥大組織が数か所認められ始めた (Fig. 19-B)。さらに、21日後にはこれらの部位に形成されるこぶ数も増加するとともに、初期に形成されたこぶ組織は肥大が進んだ (Fig. 19-C)。また、この頃には一次分枝根から分岐する二次分枝根の分岐部においても、こぶの形成が認められるようになった。播種28~35日後までの観察で、栽培日数とともにこぶの形成は増加したが、新たに形成されるこぶはそれぞれの根の分岐部を中心に形成が始まる場合が多くみられた (Fig. 19-D, E)。また、これらのこぶ組織は次第に肥大が進み、一方ではそれぞれのこぶの融合によりがんしゅ症状を呈する場合も認められ、主根や一次分枝根ではこぶが連鎖した状態となって、典型的ながんしゅ病の病徴を呈するに至った。

第3節 異なった生育ステージのメロンにおける発病

接種時のメロンの生育ステージとがんしゅ病の発病状況との関係を検討した。

材料および方法

供試土壌、供試菌株、接種源の調製、接種菌量、供試メロンの品種、栽培条件および調査方法は前節と同様である。

異なった生育ステージのメロンを得るために、殺菌した供試土壌を詰めたビニールポット (直径9 cm, 容量300 ml) に、1ポット当たりメロン種子2粒ずつを7日間隔で播種した。病原菌の接種は、播種後0 (播種と同時に接種)、7、14、21、28、35日齢のメロンをポットの土を付けたまま、予め混和接種して汚染させた土壌を詰めた素焼鉢 (直径15cm, 容量1,000 ml) に移植することによって行った。なお、接種源量はポットの全土壌に

対し 0.05 % (V/V) となるように換算した。1 試験区当たり10株のメロンを供試し、接種後栽培を続け、それらの発病調査は接種30日後に実施した。

結 果

接種時の生育ステージが異なったメロンにおける発病状況は、発病株率、発病度および形成こぶについて調査し、発病株率と発病度はFig. 20 に、こぶの形成と肥大の状況はFig. 21 に、それぞれ示した。

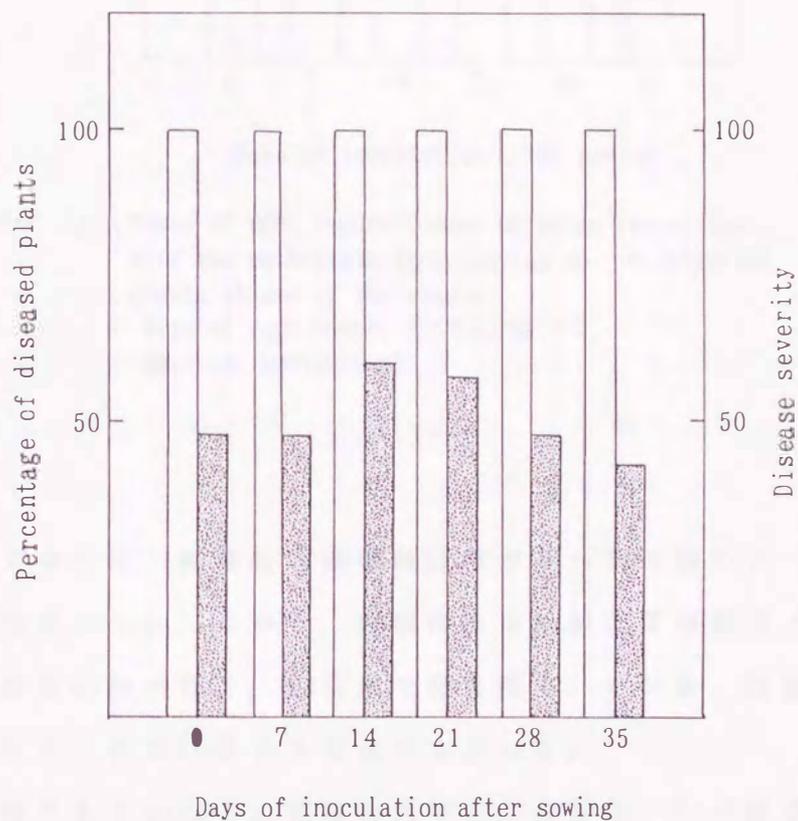


Fig. 20. Occurrence of root tumor of melon by inoculation with the pathogenic *Streptomyces* sp. in different growth stages of the plants.
 □:percentage of diseased plants,
 ▨:disease severity.

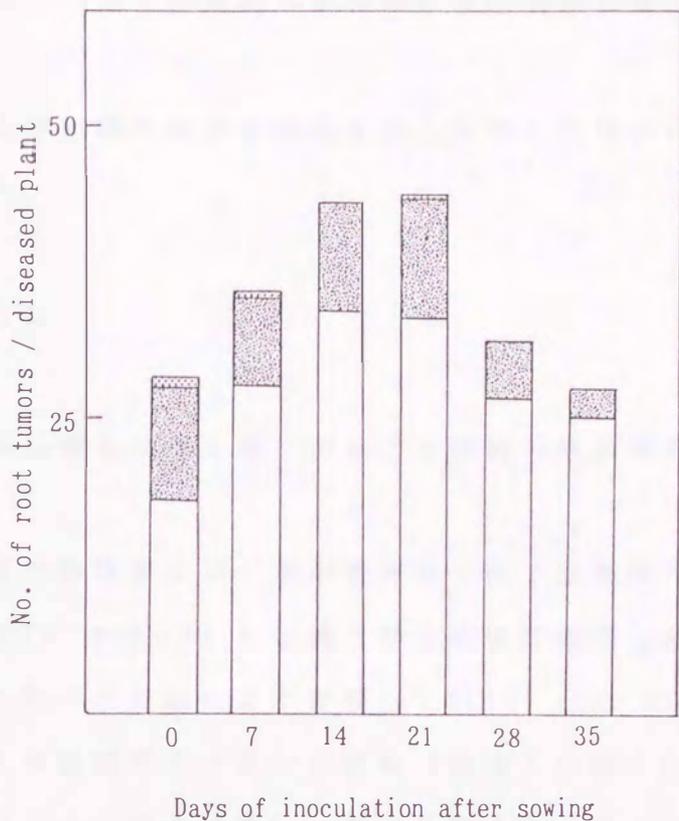


Fig. 21. Sizes of root tumors formed on melon inoculated with the pathogenic *Streptomyces* sp. in different growth stages of the plants.
 Size of root tumor; □: <math>< 2</math>, ▨: 2-5, ▩: 5-10, ▤: 10 <math>< (mm)</math>.

接種したメロンは、接種時の播種後日数が0～35日齢のすべての区で発病株率100%を示した。しかし、発病度は0日齢と7日齢のメロンで47.5を示し、他の区に較べ低く、14日齢で最も高く、その後、接種時の生育ステージが進むにしたがい低下する傾向を示した。

形成こぶ数でも2mm以上の比較的大型のこぶ数は、21日齢までは差異がみられず、それ以上の日齢では著しく減少した。また、2mm以上のこぶの割合は、接種と同時に播種した0日齢のメロンで高く、7日齢では減少し、21日齢までは差がなかったが、28日齢以上のメロンでは急減した。

第4節 メロンの地上部組織への接種による形態の異常

メロンの地上部組織へ病原放線菌を注入接種した場合の形態上の変化について観察した。

材料および方法

メロンの供試品種と栽培土壌、がんしゅ病菌の供試菌株は第2節と同じである。

がんしゅ病菌の接種源には、菌糸懸濁液と孢子懸濁液の2種を用いた。菌糸懸濁液(約 10^7 cfu/ml)は第2節と同様に調製した。孢子懸濁液は第5章第1節に述べた方法により作製して約 10^7 cfu/mlに調整した。接種は本葉3~4枚展開時のメロンの胚軸(地際より約1cm上部)、茎(第1葉の節より約1cm上部の節間)、葉柄(第2葉の節より約2cmの部位)に、1株当たり1部位1点、1点当たり0.08mlの接種源を注射器により注入接種した。

接種植物は各接種部位当たり10株を供試し、滅菌水を接種した対照区を設けた。約25℃のガラス温室内で栽培を続け、接種後5, 7, 14, 21, 28日後に接種部位における形態異常を示した植物数を調査した。

結果

接種部位における組織の形態異常の発現の推移をTable 51に示した。

菌糸体懸濁液による接種では、すべての接種部位において肥大や亀裂を呈する形態異常を認めた。とくに、胚軸において接種5日後までに20.0%の形態異常を認め、7日後で90.0%、さらに、14日後までには全接種植物が形態の異常を示した。異常の発現の始まりは胚軸において最も早く、接

Table 51. Appearance of morphological abnormality on different parts of melon injected with the pathogenic *Streptomyces* sp.

Inoculum	Inoculated part of melon	Days after inoculation				
		5	7	14	21	28
Mycelium	Hypocotyl	20.0 ^{a)}	90.0	100	100	100
	Stem (internode)	0	0	100	100	100
	Petiole	0	20.0	100	100	100
Spore	Hypocotyl	0	0	40.0	40.0	70.0
	Stem (internode)	0	0	0	0	0
	Petiole	0	0	0	0	0

a) Number is the percentage of morphologically abnormal plants to inoculated ones.

種5日後からみられ、次いで葉柄であったが、14日後までにはすべての接種部位で100%の発現率に達した。

一方、孢子懸濁液による接種では、茎および葉柄において接種28日後までに形態の異常はみられなかったが、胚軸では14日後から40.0%の接種部位で形態の異常を認め、28日後までには70.0%の割合に増加した。

接種21日後の接種部位の状況をFig. 22に示した。接種後の形態の異常は、胚軸ではまず接種点を中心に小さな裂け目を生じ、やがて、組織の肥大にしたがって大きな亀裂をとめない、その部分の組織は異常に増殖した様相を呈した (Fig. 22-A)。また、茎 (Fig. 21-B) と葉柄 (Fig. 21-C) では接種部の組織が肥大し、その後こぶ状となるにともない皮層の亀裂が発生した。

なお、本試験ではすべての対照区において形態異常は認められず (Fig. 21-D)、また、いずれの接種区においてもメロンの根部にはこぶ形成などの症状は確認されなかった。

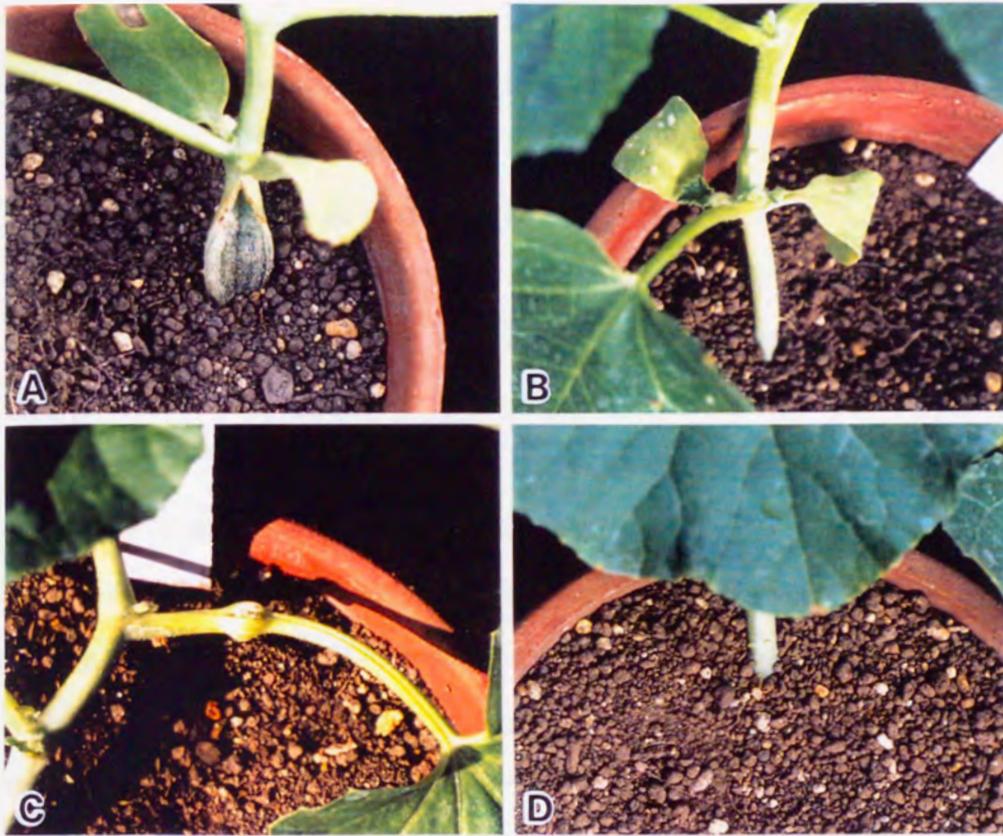


Fig. 22. Morphological abnormality on different parts of melon injected with the pathogenic *Streptomyces* sp. Hypocotyle (A), stem (B) and petiole (C) inoculated with the inoculum of mycelial suspension and uninoculated hypocotyle (D) at 21 days after injection.

第 5 節 考 察

メロンがんしゅ病の発病は、立毛中の栽培メロンに接種した時でも汚染土壌に直接播種したメロン（播種3日後に出芽）においても、病原放線菌とメロンが接触した7日後までは発病しなかったが、14日後には直径2mm程度のこぶが主根と一次分枝根との分岐部に形成された。このことは、本病の潜伏期間が約11~14日であることを示している。

こぶの形成は発病初期ではとくに主根から一次分枝根が発根する分岐部に多くみられ、その後の日数の経過にともなってさらに高次の分枝根の分

岐部を中心に形成されていくものと考えられた。また、形成こぶ数はメロンの生育にともないある時期までは増加傾向を示すものと思われる。すなわち、メロンが病原菌と接触してから42日後頃までは新たなこぶの形成も活発に行われるが、49日後には2 mm以下の小型のこぶが42日後より減少していることから、メロンの生育がある程度進行すると新しいこぶの形成は低下し、その後はそれまでに形成されていたこぶ組織が徐々に肥大し、病状が進展していくのではないかと考える。

本実験においては、このようながんしゅ病の進展状況下によっても、メロンは播種49日後までに萎ちようや枯死には至らなかった。しかし、それらの生育は約50日間の栽培において健全なメロンと比較した場合、草丈で約40%、葉数でも約15%の生育抑制を受けることが確認され、発病メロンでは節間が短くなる傾向が伺えた。また、このことはメロンの茎の伸長が水の吸収量に左右されることから¹³⁹⁾、罹病メロンでは根部のこぶ形成により吸水量が低下していることを示唆しており、メロンはその後の病状の進展によっては中山⁹⁶⁾の報告にあるように萎ちよう症状を起こすものと考えられる。

接種時の生育ステージが異なったメロンの発病において、播種後14~21日齢の植物体で最も激しく発病し、それ以降の日齢では加齢とともに減少していること、ならびに、形成こぶ組織の肥大状況などの結果から、本病は播種40~50日後頃までのメロンがとくに発病しやすく、また、移植栽培より汚染土壌に直接播種したメロンの方がこぶ組織の肥大が速いように推察される。一方、播種後14日齢より若いメロンに接種した場合に発病程度が低いのは、メロンの根の生育程度が影響しているものと思われる。すなわち、播種後齢の若いメロンでは根系の発達が不十分であり¹⁰¹⁾、こぶ形成の中心となる分枝根の分岐部が少なく、感染の成立が遅れる可能性が考えられる。

また、メロンの根の生育適温は‘パールメロン’が34℃であるように一般には比較的高く⁴⁷⁾、一方ではがんしゅ病菌の発育適温が30℃前後（第

4章)であることから、土壌温度が高い時期にはメロンの根系の発達も速く、病原放線菌の活性も高いことが示唆される。

このようなことから、メロンがんしゅ病の発生程度は土壌温度とメロンの根系の形成状況に密接に影響を受け、根が活発に分岐して根系の発達が著しい時期にとくに激しく発病するものと思われる。

ジャガイモそうか病においてLapwood and Adams⁷⁴⁾は、ジャガイモの塊茎が *Streptomyces scabies* に対して形成初期の6~8日間は抵抗性であるが、それから約6日間は抵抗性が低下し、その後再び抵抗力が上昇することを示し、この反応は、ジャガイモの節間での加齢にともなう気孔から皮目への変化の結果であることを報告している。また、サツマイモ立枯病菌 *S. ipomoeae* について、Clark and Matthews¹⁰⁾ はサツマイモのひげ根において並側壁から直接貫入する場合と表皮細胞の縫合部より侵入する場合があることを観察し、西村・工藤¹⁰⁰⁾ は、同菌がサツマイモの茎と葉柄において主に気孔から侵入することを明らかにしている。しかし、メロンの根には気孔や皮目などは存在せず、本実験の観察結果からは、メロンの根が分岐・発根する際に形成される破壊溝^{75, 171)} が本菌の侵入・感染の場となっているものと推察される。

一方、本病原菌はメロンの地上部への接種部位においても組織の肥大や亀裂などの形態異常を起こす病原性を有することが明らかとなった。また、その形態異常は胚軸に最も発現しやすく、次いで茎、葉柄の順であると考えられる。さらに、菌糸懸濁液と孢子懸濁液による接種菌体の差異において比較すると、胚軸では菌糸体による接種5日後に形態の異常が発現したが、孢子接種では14日後に初めて異常がみられ、明らかに菌糸体の方が形態異常の発現力が高く、この傾向は接種28日後でも認められた。とくに、茎、葉柄においては菌糸体接種で14日後までに100%の形態異常を認めたが、孢子では28日後までまったく異常の発現はみられなかった。酒井・美濃¹¹⁶⁾ はテンサイそうか病に関与する2~3の病原 *Streptomyces* 属菌が、テンサイ根およびジャガイモ塊茎の病斑部の褐変誘導および肥大誘起物質

を生産することを報告している。メロンがんしゅ病の病徴と本試験での組織の異常肥大の発現状況から、本病原放線菌もメロンの細胞を増殖させ、組織の肥大を促す何らかの誘因物質を産生している可能性が十分に考えられる。また、菌糸体接種の方が形態異常の発現力が優ったことから、耐久体である孢子より栄養細胞である菌糸体の方が増殖が速く、誘因物質の産生も早いのではないかとと思われる。

現在、分離放線菌ががんしゅ病の病原菌であることの検定には、分離放線菌を宿主植物の株元に灌注接種する方法を実施しているが、この方法では本試験結果でも明らかなように、がんしゅ病菌と判断できるまでには接種後少なくとも14~21日程度の期間が必要であり、また、根部のこぶ形成の状態を確認するためには、植物体を栽培土壌から取り出さなくてはならない不都合な点が存在する。

ジャガイモそうか病菌の病原性検定法についてはいくつかの試験報告があり^{5, 53)}、Hooker et al.³⁷⁾はジャガイモに病原性を有する菌株が茎にネクロシスを起こすことから、この現象を病原性の検定や品種抵抗性の検定方法に利用することを報告している。また、田代・松尾¹⁴⁵⁾はこれらの知見をもとに、さらに簡便な病原性の検定方法を提示している。

メロンがんしゅ病菌においても、メロン胚軸部への菌糸体接種は多量の接種源を調製する必要がないため、分離培地上に出現したコロニーの懸濁液を直接接種することも可能であり、その結果も接種5日~14日後に判明することから、本病原菌の簡易検定法としての利用が考えられる。さらに、接種後の温度条件を変えることによってより短期間での判定も可能となり、また、胚軸部以外の接種部位についても形態異常の発現率が高まる条件設定によって、少数の供試植物により同時に多数の菌株の検定が可能となるものと思われる。

今後はこれらの病徴発現の特徴をもとに、効率良い病原性検定法を確立するとともに、病原放線菌の侵入行動と病徴の発現機構を解明することが必須の課題である。

第9章 罹病根における病原放線菌の存在部位と組織学的変化

前章で本病の病徴の発現様相の特徴を接種試験によって明らかにした。このような病徴発現機構の解明に関連して、罹病根における病原菌の存在部位と組織の変化を知ることは重要であると思われる。

したがって、本章ではこぶ形成にともなうメロンの根部での病原放線菌の存在部位と組織学的変化を明らかにする目的で、光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡により罹病根部の解剖学的な観察を行った。

第1節 現地発生汚染土壌によって発病し形成されたこぶの観察

まず、自然発生の汚染土壌で発病させたメロンのこぶ組織の切片について、病原菌の存在部位と組織学的変化の観察を光学顕微鏡下で行った。

材料および方法

熊本県球磨郡錦町のメロンがんしゅ病発生圃場より採取した汚染土壌を直径30cmの素焼鉢に入れ、メロン（品種：健脚）を播種してガラス温室内で栽培した。播種40日後に根部を採り、直径約2mmの形成こぶを集めた。こぶ組織は十分に水洗後、FAA No. 1（蒸留水：無水エタノール：氷酢酸：ホルマリン＝45：45：5：5）液中で24時間固定し、N-ブチルアルコール-無水エタノール-蒸留水の混合液の段階濃度系列で脱水・透徹処理を行った¹⁴¹⁾。試料は常法¹⁴¹⁾により厚さ14 μ mのパラフィン切片とし、チオニン・オレンジGにより染色¹³⁴⁾後プレパラートとして光学顕微鏡で観察した。また、健全根部についても同様にプレパラートを作製して観察を行った。

結 果

観察結果はPlate IV, Vに示した通りである。

チオニン・オレンジG染色による特異的な染色^{1,3,4)}組織は、健全根部ではみられなかった(Plate IV-1,2)。一方、こぶ組織では、こぶ(T)の表面部分と表皮(EP)の細胞間隙、ならびに、根(R)とこぶ組織の境界部分において局部的に濃い紫色の染色部が認められた。こぶ組織の内部では維管束構造物(VS)の周囲の組織が紫色に染色されていた(Plate IV-3,4)。また、こぶ組織中に分枝根(BR)が含まれる一部の連続切片では分枝根の表層にあたる組織(前中心柱のまわりの組織)が紫色に染色されている場合も多かった(Plate V-5~8)。

こぶ形成にともなう根部の組織学的変化を健全根部(Plate IV-1,2)と比較した場合、罹病根では根の内皮(EN)と内鞘(PE)および皮層(CO)の内側部分にあたる柔組織細胞が異常に増殖した細胞組織(HP)と、皮層の外側部分にあたる細胞が大きくなった細胞組織(HT)からこぶ組織は構成されていた(Plate IV-3,4, Plate V-5~8)。また、こぶ組織の中心部分には不規則な配列の維管束構造物あるいは分枝根が認められ、とくに、それらの周辺組織細胞の増生が顕著であった。

なお、罹病組織ではでんぷん粒(SG)を含んだ細胞はほとんどみられなかった。

第2節 病原菌接種によって発病し形成されたこぶの観察

分離した病原放線菌を無菌条件下で栽培したメロンに接種し、発病したメロンの根部を走査型電子顕微鏡により観察した。

材料および方法

1. 栽培メロンの発病によるこぶの形成と観察試料の調整法

がんしゅ病菌は B-9-1 菌株 (Table 9) を、栽培メロンは品種：健脚を供試した。また、すべての試験に対照 (無接種) 区を設けて比較した。

試験-I: Fig. 23 に示すように、試験管 (直径 18×高さ 180 mm) の中に 15ml の 1.2% 寒天含有ハイポネックス培地 (ハイポネックス 0.3%, pH 7.0) で斜面を作り、その培地表面にろ紙を敷き詰め、試験管の底部に 10ml の 0.8% 寒天含有ハイポネックス培地を注入し、その中へメロンの根を進展させることにより植物体の支持と養分補給を行った。試験管口部の培地上に表面殺菌したメロンの種子を 1 粒播種して、管口をアルミ箔で覆った。28°C の条件下に置き、発芽後子葉を試験管の外に誘引し、胚軸のまわりの試験管の口をパラフィルムで覆って植物体を固定した。メロンは根部を遮光して、28°C, 14 時間照明の陽光定温器内で栽培した。灌水は試験管中の水位が一定になるように随時滅菌水 (pH 7.0) を補充した。

がんしゅ病菌の接種は、第 5 章第 1 節の方法に準じて調製した約 10^3 cfu

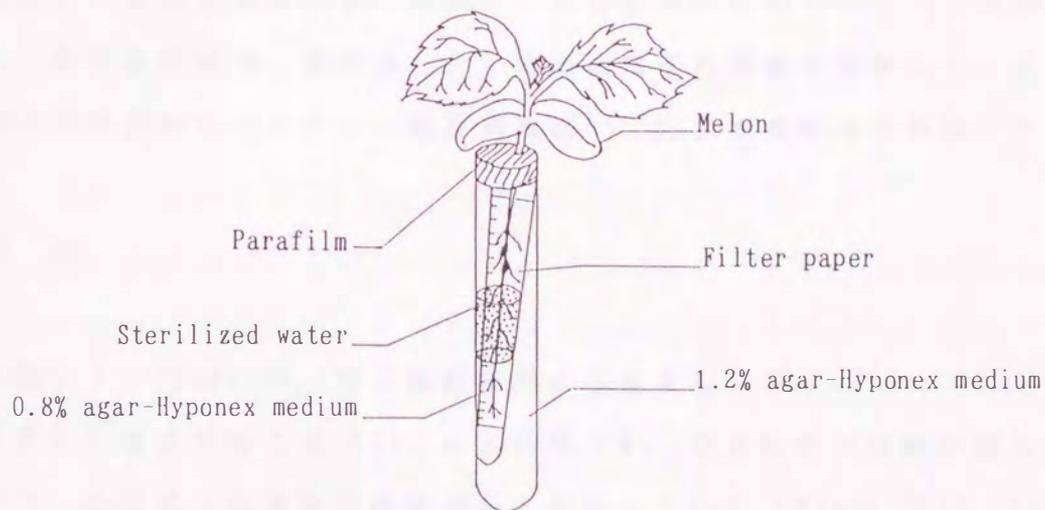


Fig. 23. Schematic representation of the culture of melon on medium in a test tube (18x180 mm) to obtain diseased roots without contamination.

／mlの孢子懸濁液を、栽培試験管内の本葉1枚展開期のメロンに注入し、この菌液に根部を28℃、12時間浸漬して行った。接種後はその菌液を抜き取り、栽培を継続した。

接種12～14日後に、空中に露出している根部に形成をみた直径約1～2mmのこぶを採取して試料とした。なお、対照（無接種）区のメロンでは根の分岐部を採取した。

試験－II：がんしゅ病菌は、第4章第5節と同一の方法により調製した菌糸懸濁液（約 10^7 cfu／ml）を殺菌した市販の床土（商品名：宮崎焼土，pH 6.8）に0.0005%（V／V）量となるよう土壌混和接種した。接種土壌は殺菌した試験管（直径70×高さ180mm）に詰めてメロンを1粒播種後、試験－Iと同様に試験管の口を覆い陽光定温器内で栽培した。灌水は土壌表面が乾燥した時に滅菌水を注入した。

試料は播種30日後に前試験と同様に採取した。

2. 走査型電子顕微鏡による観察

採取した試料は0.1Mリン酸緩衝液（pH 7.2）で洗浄し、2%グルタールアルデヒド中で5℃、24時間以上、さらに、1%オスミウム酸中で5℃、2時間の二重固定を行った。常法¹⁴²⁾にしたがい上昇エタノール系列で脱水して臨界点乾燥後、金蒸着を行い走査型電子顕微鏡で観察した。また、組織の内部観察にはスチレン樹脂断面法¹⁴²⁾により断面を作製した。

結 果

試験－I：Plate VI，VIIに観察結果の写真を示した。

根部に形成されたこぶ（T）は主に根（R）の分岐部の組織が肥大したもので、分岐部には病原放線菌が多く存在していた（Plate VI-9，10）。すなわち、こぶ組織では表皮（EP）の表面、および、分枝根（BR）の発根により皮層（CO）が裂けた部分（破壊溝^{75,171)}：RU）の内皮（EN）表面に放線菌の増殖した菌糸が多く認められた（Plate VI-11,12）。しかし、

こぶの増大に伴いこぶ組織を覆っていた内皮（こぶの表皮）が張り裂けて、その内部より露出した肥大柔組織（HT）の細胞の表面には放線菌はほとんどみられなかった（Plate VI-13）。一方、こぶ組織から離れた根の表面を観察した結果、局部的に放線菌の菌糸や胞子は存在したが、その菌量はこぶ組織よりも著しく少なく、一面を菌糸が覆うことはなかった（Plate VI-14）。

こぶ組織の切断面の観察の結果、形成こぶの多くは組織内に分枝根または維管束構造物（VS）を含んでいた。こぶ組織では根の内皮、内鞘および皮層の内側部分に位置する柔組織細胞あるいは分枝根の維管束構造物の周囲の柔組織細胞が著しく増生する（増生細胞組織：HP）とともに、こぶの表層部分（皮層の外側部分の柔組織）の細胞は肥大していた（Plate VII-15, 16）。また、こぶ組織の増大にともない皮層組織に由来する肥大細胞はこぶの表層（根の表皮あるいは分枝根の前表皮や内皮）を破り、その結果、こぶの表面はイボ状の肥大細胞が露出した様相を呈した（Plate VII-17）。このようなこぶ組織では、こぶの表層の1～2層目における剥離前の表皮や皮層の表面とそれらの細胞間隙にのみ、放線菌の菌糸の存在が確認された（Plate VII-18）。

なお、無接種のメロンの根部には本病原放線菌の存在はみられなかった（Plate VII-19, 20）。

試験 - II：観察結果はPlate VIII, IXに示した。

罹病根の表面における病原放線菌の分布状況は、試験 - Iの結果とほぼ同様であった。すなわち、根部の表面では破壊溝を中心とした部位に放線菌が存在し、こぶ（T）組織の表皮（EP）上に増殖した菌糸が多くみられたが、観察される菌量は前試験より全体的に減少していた（Plate VIII-21, 22）。しかし、その表皮が裂けて露出しているこぶ表層の肥大した柔組織（肥大細胞組織：HT）細胞の表面には、放線菌はほとんど認められなかった（Plate VIII-23）。また、その分岐部より離れた根（R）の表面でも放線菌はほとんどみられなかった（Plate VIII-24）。

こぶの断面の観察の結果も前試験の結果と大差なく、こぶ組織は根の内皮、内鞘および皮層(CO)の内側部分に由来する細胞が増生した柔組織(増生細胞組織:HP)あるいはこぶ組織中に認められる維管束構造物(VS)周囲の増生した柔組織細胞、ならびに、こぶの表層部分の肥大細胞組織から構成されていた(Plate VIII-25)。また、それらの増生組織はこぶ組織の表層を破り、さらに、表面に露出した肥大細胞によりこぶの表面は細かいイボ状の粗糙な構造を呈していた(Plate VIII-26)。こぶ組織中では、病原放線菌はこの場合も表皮と皮層の表面、ならびに、それらの細胞間隙に菌糸の形態で存在していた(Plate IX-27~29)。

なお、無接種区においては、本病原菌と思われるものは確認されなかった(Plate IX-30~32)。

第3節 考 察

光顕および走査電顕による観察結果から、メロンがんしゅ病病原放線菌は罹病根のこぶ組織の表面部分、すなわち、根の表皮の表面および発根時に皮層が裂けた部分(破壊溝)^{75, 171)}の内皮と前皮層の表面に集中して存在しており、こぶ組織の内部へ深く侵入することなく、こぶ表面から1~3層の細胞間隙にのみ存在していることが明らかとなった。また、罹病した根部では主に菌糸の形態で存在しているように考えられた。一方、自然発生こぶの一部では、こぶ組織内の維管束構造物周辺細胞や分枝根の表面部分に当たる部位でも微生物の存在が示唆された。しかし、接種した罹病メロンにはそのような部位に微生物の存在はみられなかった。このような結果は、観察した試料の病勢の進展状況や発病環境によるものかも知れない。また、牧野ら⁸⁶⁾は健全メロンの茎組織内から多量の細菌(内在細菌)が検出され、それらは根部から移動することを示唆しており、自然発生こぶではこれらの内在細菌やこぶの外へ発根した分枝根の表面に沿って

こぶ組織内へ侵入した他の微生物が染色されている可能性もある。これらのことから、この点については詳細な検討を要するものと考えられる。

Kamiunten and Suga⁴⁹⁾ は、コサックメロンの株元に灌注接種して形成されたこぶの超薄切片の透過型電子顕微鏡観察において、多数の放線菌細胞がこぶの表皮から2~3層の細胞内に観察され、それ以外の部位では認められなかったことを報告している。本試験において、放線菌がこぶの表層でのみ認められた点についてはこの観察結果と同様であったが、細胞内部での存在の有無において異なっていた。また、Kamiunten and Suga⁴⁹⁾ は、それらの菌体は大部分が単胞であったとしているが、本実験では主に菌糸体の形で存在していた。さらに、孫工・野村¹³²⁾ は、現地圃場で発生したキュウリのがんしゅ病形成こぶ内に中心組織として必ず維管束（道管環紋残痕）があることから、本病原菌の最初の増殖部位は維管束部（帥管または導管）にあるとし、こぶ組織の増生も維管束部から始まっていると推察している。本実験においてもこぶ組織には根の一部や維管束構造物が含まれており、その周辺細胞がとくに増生していたことは認められたが、それらの部位における本病原菌の存在の有無は明らかではなかった。しかし、こぶの形成部位と菌の存在部位の観察結果は、発根時の破壊溝がこぶ形成の最初の感染部位となっていることを明確に示すものと考えられる。

一方、こぶ組織は根の内鞘と内皮および皮層の柔組織に由来する増生細胞により形成されており、さらに、こぶの表層細胞は肥大していることが明らかとなった。また、先にも述べたように、こぶ組織の中には維管束構造物や分枝根の一部が常に認められることが特徴的であった。

以上のことから、本病における病原放線菌の感染とこぶ形成には、宿主であるメロンの発根機能が密接に関係しているように考えられる。一般に植物の根の分枝は、維管束の最外層にある内鞘の細胞分裂により分枝根の原基を生じ、その発育とともに維管束を取り囲む柔細胞の皮層をつき抜けて、発根により皮層の破壊溝が形成される^{59, 113)}。そこで、この破壊溝に集中した菌体はそこからある種の物質を産生し、その作用により発根の

ための細胞分裂を異常に活性化させ、細胞の増生と肥大を誘導して、その結果こぶを形造るものと推察できる。このようなこぶ組織では、正常に発根できなかつた分枝根は増生したこぶ組織中に封じ込められるために、こぶ内には不規則な配列となった維管束構造物が確認されるものと思われる。また、第2章第2節で述べたように、形成初期のこぶで表面が白く粗糙に見える部分は、こぶの増大により表皮が裂けて露出したイボ状を呈する肥大組織細胞であることが明白である。

ジャガイモそうか病菌 *Streptomyces scabies* は塊茎上の気孔の変化した若い皮目が主要な感染部位とされている⁷⁴⁾。また、西村・工藤¹⁰⁰⁾ はサツマイモ立枯病菌 *S. ipomoeae* の侵入が茎と葉柄では主に気孔からであることを明らかにし、Clark and Matthews¹⁰⁾ は *S. ipomoeae* によるサツマイモの根への感染は、菌糸がひげ根に直接貫入または表皮細胞の裂目より侵入すると報告している。本試験では、メロンがんしゅ病菌は根の表皮細胞を直接貫穿せず、破壊溝などの表皮細胞の裂け目（自然開口部）から表層組織の細胞間隙へのみ侵入し、侵入後の宿主組織内部への活発な進展はほとんど行われぬものと推定される。

こぶ組織を形成する根頭がんしゅ病菌の病原性発現機構については詳細な報告がある²³⁾。また、木本植物にもこぶを形成する細菌病があり、病原細菌の生成するオーキシンによって増生組織が誘導される^{23, 119)}。さらに、新属新種の細菌によるニンジンこぶ病でも、病原性にオーキシンが関係していることが示されている²⁴⁾。一方、植物放線菌病の病徴発現に関与している病原性物質についての研究は、主にジャガイモそうか病（菌）で推進されている^{55, 77, 115)}。また、酒井・美濃¹¹⁶⁾ はテンサイそうか病に関与する2~3の病原菌（*Streptomyces* spp.）が、テンサイ根およびジャガイモ塊茎の病斑部の褐変誘導と肥大誘導物質を生産することを明らかにしている。

したがって、このようなこぶ形成における本病原放線菌の行動の観察とこぶ形成誘導物質等の関係については、現在検討を続けている。

第10章 病原放線菌の病原性と宿主範囲

メロンがんしゅ病は圃場においてメロンの他、キュウリにも発生している。しかし、一般的に植物に病原性を示す放線菌はきわめて少なく、さらに、メロンがんしゅ病菌のような根の異常肥大をもたらす放線菌はこれまでに報告されていない。

そこで、本章ではメロンがんしゅ病菌の病原性と宿主範囲を明らかにすることを目的とし、野菜を中心に各種畑作物に接種して発病状況を比較・検討した。

第1節 栽培植物に対する灌注・混合接種による病原性の検定

メロンがんしゅ病菌を生育中の植物の株元土壌に灌注・混合接種して、発病の有無とその程度を検討した。

材料および方法

メロンがんしゅ病菌はB-9-1, OTP-3-1およびCu-2-1の3菌株 (Table 9) を供試した。接種源の調製は第4章第5節と同様に行い、その濃度は約 10^7 cfu/mlとした。

栽培土壌は、市販の床土 (商品名: 宮崎焼土, pH 6.8) をオートクレーブで殺菌後、殺菌した直径10.5cmのポリポットに750 ml詰めたものを用い、植物の栽培管理はガラス温室内で実施した。

供試した栽培植物は、Table 52に示したウリ科: 7種, ナス科: 5種, アブラナ科: 5種, アガサ科: 2種, キク科: 4種, セリ科: 3種, ユリ科: 3種, アオイ科: 1種およびイネ科: 2種の合計9科32種で、種子は

Table 52. Plants used for inoculation of the pathogenic *Streptomyces* sp.

Family name	Plant (Number of tested cultivar)
Gourd	Melon(10), Cucumber(5), Pumpkin(6), Watermelon(3), Bottle gourd(2), Oriental pickling melon(2), Balsam pear(1)
Nightshade	Tomato(5), Eggplant(2), Sweet pepper;bell type(1), Sweet pepper;shishito type(1), Potato(2)
Mustard	Cabbage(1), Cauliflower(1), Chinese cabbage(2), Japanese radish(1), Turnip(1)
Goosefoot	Spinach(1), Chard(1)
Composite	Lettuce(2), Garland chrysanthemum(1), Edible burdock(1), Sunflower(1)
Parsley	Carrot(2), Parsley(1), Japanese hornwort(1)
Lily	Welsh onion(1), Onion(1), Chinese chive(1)
Mallow	Okra(1)
Grass	Rice(1), Corn(1)

すべて5%アンチホルミン液で表面殺菌した後、1ポット当たり1粒播種して栽培した。接種は、生育程度により播種後2～5週齢の本葉2枚展開時に実施し、1ポット当たり10mlの接種源を植物の株元に灌注し、その周辺土壌と混合して行った。接種40日後に植物の根を切断しないように水洗して、こぶ形成の有無と形成こぶ数を調査し、発病株率を求め、第8章第2節と同一の基準 (Fig. 15, Table 50) により発病度を算出した。また、その値により各植物に対する病原性の程度を-～+++の4段階に分けて表示した。

試験はI, IIの2回実施したが、試験-IIでは上記の植物のうち5科20種に対して接種した。各植物の接種株数は供試菌株、品種により若干異なるが、1菌株1品種当たり、試験-Iでは平均7株、試験-IIは5株を供試

し、さらに、それぞれ3株の対照（無接種）区を設けた。また、試験-Iの試験期間はB-9-1菌株については3月下旬～5月下旬、O T P-3-1菌株については9月中旬～12月上旬、C u-2-1菌株については10月中旬～12月下旬に実施した。試験-IIでは3菌株とも8月中旬～1月上旬に実施した。なお、試験期間中のガラス温室内の最低気温は20℃とした。

結 果

各植物に対する病原性の程度をTable 53-1～Table 53-4にまとめて示した。

試験-I：9科32種に対する接種試験

発病状況の詳細についてはAttached list 2-1～Attached list 4-4にそれぞれ示した。

B-9-1菌株の場合 ウリ科作物では接種した7種29品種のすべてが発病し、カボチャの‘べんけい’と‘はやと’を除いては発病株率100%、発病度25.0～89.2を示し、とくに、メロン、キュウリ、ユウガオに対して強い病原性を示した。また、発病植物の1株当りの形成こぶ数ではメロンが48.3個で最も多く、カボチャでは8.9個で最も少なかった。なお、本病の検定植物として用いているメロンの‘健脚’は発病株率100%、発病度75.0で、比較的激しく発病し、1株当たり平均70個のこぶの形成が認められた。

ナス科作物では5種に接種した結果、供試したトマトの全5品種にはいずれも100%の発病株率を認め、その発病度の平均は約30であった。また、その他ではナスの2品種、ピーマンの2品種において発病がみられたが、発病株率は25.0～42.9%で低く、発病度も10前後であり、形成こぶ数も3個程度とトマトに比べ著しく低かった。シシトウ、ジャガイモでは発病がみられなかった。

Table 53-1. Pathogenicity of three isolates of *Streptomyces* sp. causing root tumor of melon against gourd family plants by pouring and mixing inoculation

Species	Cultivar	Isolate					
		B-9-1		OTP-3-1		Cu-2-1	
		Test- I	Test- II	Test- I	Test- II	Test- I	Test- II
Melon	Kenkyaku (Stock)	+++ ^{a)}	++	++	++	+	++
	Kosack	+++	++	++	++	+	-
	Prince	+++	++	++	++	++	
	Kyoei (Stock)	+++	-	+	+	-	-
	Amusu	+++	+	++	+	++	-
	Homerunstar	++	+	+	+	-	-
	Nanshoarusu kashukei	++	-	+	-	+	-
	Andesu	++	-	++		+	-
	Michizure (Stock)	++	+	+		+	-
	Arusei nunatu I	+++	-	+	-	+	-
Cucumber	Asomidori	+++	+	++	++	+	+
	Hijiri	+++	++	++	+	+	+
	Suyo	++	+	++	++	+	+
	Honmyo	+++	+	++	+	+	+
	Kagaaonagafushinari	++	+	++	++	+	+
Pumpkin	Benkei (Stock)	+	+	-	+	-	
	Hayato	+	+	-	+	-	+
	Ebisu	++	-	+	+	-	+
	Tetsukabuto	++	+	+	-	-	-
	Kurodane (Stock)	++	-	+	-	-	-
	Shintosa No.1 (Stock)	++	-	+	-	-	-
Watermelon	Tenryu No.2	+++	-	-	-	-	-
	Fujihikari	++	-	-	-	-	-
	Shimaomacks KE	++	+	+	+	-	-
Bottle gourd	Sakigake (Stock)	++	+	++	+	+	-
	Kachidoki (Stock)	+++	+	++	+	+	+
Oriental pickling melon	Yokauri	+++	++	++	+	+	+
	Nagasakitsukeuri	++	+	++	+	++	+
Balsam pear	Satsumaonagareishi	++		+		+	

a) Symbol showed the grade of pathogenicity based on the disease severity;
 -:0 (not diseased), +:<25, ++:25-50, +++:>50 of disease severity.
 Blank space: not tested.

Table 53-2. Pathogenicity of three isolates of *Streptomyces* sp. causing root tumor of melon against nightshade family plants by pouring and mixing inoculation

Species	Cultivar	Isolate					
		B-9-1		OTP-3-1		Cu-2-1	
		Test- I	Test-II	Test- I	Test-II	Test- I	Test-II
Tomato	Yuyake A	++ ^{a)}	+	+	+	++	+
	BF Okitsu No.101	++	+	+	+	+	-
	Zuiken	++	+	++	+	+	-
	Oomiya	++	-	+	-	+	-
	Petitotomato	++	+	+	++	+	+
Eggplant	Kokuyo	+	-	+	-	+	-
	Kuronishiki No.2	+	+	-	+	+	+
Sweet pepper (Bell type)	Ace	+	-	+	-	+	+
	Mansaku	+	+	+	+	-	+
Sweet pepper (Shishito type)	Wakato	-	-	-	-	-	-
Potato	Dejima	-	-	-	-	-	-
	Mayqueen	-	-	-	-	-	-

a) See Table 53-1.

アブラナ科作物では、キャベツ、ハナヤサイ、ハクサイ、ダイコン、カブの5種のうち、ハナヤサイのみに発病が認められ、100%の発病株率と32.1の発病度を示し、こぶ数も18.5個でトマトと同程度の発病であった。また、ハナヤサイでは根部に形成されるこぶ以外に、地際部に白色の表面が滑らかな堅いこぶの形成も認められた。

その他の作物では、アカザ科のハウレンソウとフダンソウ、キク科のチシャ、ゴボウおよびヒマワリに発病を認めた。一方、キク科のシュンギク、セリ科のニンジン、パセリ、ミツバ、ユリ科のネギ、タマネギ、ニラ、アオイ科のオクラ、イネ科のイネ、トウモロコシは発病しなかった。また、発病した中で、フダンソウ、チシャ、ヒマワリは激しく、とくに、ヒマワ

Table 53-3. Pathogenicity of three isolates of *Streptomyces* sp. causing root tumor of melon against mustard family plants by pouring and mixing inoculation

Species	Cultivar	Isolate					
		B-9-1		OTP-3-1		Cu-2-1	
		Test- I	Test-II	Test- I	Test-II	Test- I	Test-II
Cabbage	Fujiwase	- ^{a)}	-	-	-	-	-
Cauliflower	Nozakiwase	++	-	+	-	-	-
Chinese cabbage	Muso	-	-	-	-	-	-
	Shin No.6	-	-	-	-	-	-
Japanese radish	Natuminowase No.3	-	-	-	-	-	-
Turnip	Taibyohikari	-	-	-	-	-	-

a) See Table 53-1.

りでは発病度58.3, 形成こぶ数43.2の高い値を示した。また、フダンソウでは主根の基部にいくらかのこぶが融合した大型のこぶを形成する場合も認められた。一方、ホウレンソウ, チシャ, ゴボウでは極めて発病が穏やかで、形成こぶ数も2.8~6個で少なかったが、チシャではそれ以外に主根の表面がそうか症状を呈する場合も認められた。

OTP-3-1菌株の場合 ウリ科作物では、メロンの‘健脚’で発病度39.3, 形成こぶ数22.3個を示したように、全体的に穏やかな発病状況であったが、7種すべてに発病はみられた。しかし、メロン, カボチャ, スイカでは品種間に発病の相違が認められ、中でもカボチャの‘べんけい’と‘はやと’、およびスイカの‘天竜二号’と‘富士光’ではまったく発病しなかった。一方、キュウリ, ユウガオ, シロウリの全品種、ならびに、メロンの‘健脚’, ‘コサック’, ‘プリンス’, ‘アンデス’では発病株率100%を示し、発病度も25.0~39.3の範囲にあった。

Table 53-4. Pathogenicity of three isolates of *Streptomyces* sp. causing root tumor of melon against other family plants by pouring and mixing inoculation

Family	Specie	Cultivar	Isolate					
			B-9-1		OTP-3-1		Cu-2-1	
			Test- I	Test-II	Test- I	Test-II	Test- I	Test-II
Goosefoot	Spinach	Atorasu	+ ^{a)}	-	+	-	-	+
	Chard	Shiroguki	++	+	++	-	+	-
Composite	Lettuce	Greatrekusu No.54	++		(+)		(+)	
		Sakuramento	+					
	Garland chrysanthemum	Oobashingiku	-	-	-	-	-	-
	Edible burdock	Watanabewase	+	-	+	-	-	-
	Sunflower	Dairinhimawari	+++		+		-	
Parsley	Carrot	Shinkurodagosun	-		-		-	
		Oonaga	-					
	Parse	Maruta	-		-		-	
	Japanese hornwort	Shiroguki	-		-		-	
Lily	Welsh onion	Kintyonegi	-		-		-	
	Onion	Unzengokuwase						
		kitamanegi No.1	-		-		-	
	Chinese chive	Hirohaba	-					
Mallow	Okra	Betterfive	-		-		-	
Grass	Rice	Nihonbare	-	-				
	Corn	Honeybantam	-		-		-	

a) Symbol showed the grade of pathogenicity based on the disease severity;
 -:0 (not diseased), +:<25, ++:25-50, +++:>50 of disease severity,
 (+):recognized root scab but formed root tumor.
 Blank space:not tested.

ナス科作物では、トマト、ナス、ピーマンで発病がみられ、中でもトマトの発病は平均発病株率が88.0%、発病度が23.5を示し、ナス、ピーマンに比べ激しかった。しかし、形成こぶ数は非常に少なく、大部分が5個以下であった。なお、ナスの‘黒錦二号’では発病しなかった。

アブラナ科作物では、ハナヤサイのみに14.3%の発病株率を認めたが、発病度3.5、形成こぶ数1個を示す極めて軽微な発病状況であった。

その他の作物では、ハウレンソウ、フダンソウ、チシャ、ゴボウおよびヒマワリで発病が確認された。しかし、チシャの病徴は根部に典型的なこぶの形成はみられず、地際部の根の表面にそうか状の異常が認められる程度であった。

Cu-2-1菌株の場合　ウリ科作物では、メロンの‘健脚’に85.7%の発病株率と21.4の発病度、形成こぶ数1.2個を示し、全般的に緩慢な発病状況であった。また、接種した7種中カボチャとスイカの全品種で発病を認めず、メロンでも‘強栄’、‘ホームランスター’では発病しなかった。発病度は、メロンの‘プリンス’と‘アムス’、シロウリの‘長崎漬瓜’において25を示した以外は、発病がみられた場合でもそれ以下の比較的低い値であった。

ナス科作物では、他の2菌株と同様にトマト、ナス、ピーマンで発病したが、発病度25以下、形成こぶ数も3個以下を示す発病であった。なお、ピーマンの‘満作’では発病がみられなかった。

アブラナ科作物の5種では発病はみられなかった。

その他の作物では、フダンソウとチシャがいずれも71.4%の発病株率であったが、レタスでは典型的なこぶの形成は認められなかった。

以上のように、メロンがんしゅ病菌は9科32種の植物のうち、B-9-1およびOTP-3-1菌株では5科16種に対して、また、Cu-2-1菌株では5科9種の植物に対して病原性を示した。なお、ウリ科作物では根部に形成されるこぶのほかに、土中に埋まった下胚軸部においてもこぶの形成が認められた。

試験 - II : 5科20種に対する接種試験

発病状況を Attached list 5-1~Attached list 7-4に示した。

B-9-1菌株の場合 ウリ科作物では供試したすべての6種に発病がみられた。しかし、キュウリ、ユウガオ、シロウリでは供試した全品種に発病がみられたが、メロンの‘南勝アールス夏秋系’他3品種、カボチャの‘新土佐一号’他2品種、スイカの供試2品種では発病が認められなかった。また、全般的に病勢は穏やかであったが、メロンの‘健脚’では発病度31.3、形成こぶ数13.1個を示し、最も激しく発病した。

ナス科作物では5種に接種した結果、トマト、ナス、ピーマンで5~20の発病度がみられたのに対し、シシトウ、ジャガイモでは発病しなかった。また、トマトの‘おおみや’、ナスの‘黒陽’、ピーマンの‘エース’では発病がみられなかった。

アブラナ科作物では、試験した5種に対していずれも発病はみられなかった。

その他の作物では、アカザ科のフダンソウにのみ発病度10を示すこぶの形成が認められた。

O T P - 3 - 1菌株の場合 ウリ科作物では、B-9-1菌株と類似の結果が得られたが、発病しなかった品種が若干異なった。また、メロンの‘健脚’は発病度43.8、形成こぶ数22.9で、最も激しく発病した植物であった。

ナス科作物では、B-9-1菌株と同種、同品種において発病が認められた。

アブラナ科作物5種においては発病はみられなかった。

その他の作物では、ハウレンソウ、フダンソウ、シュンギク、ゴボウは発病しなかった。

C u - 2 - 1菌株の場合 ウリ科作物では、スイカの3品種はまったく発病しなかった。メロンでは供試9品種中‘健脚’が発病度25を示した以外発病しなかった。しかし、キュウリは発病株率20%、発病度5.0~10.0

と低いが、供試5品種のすべてに発病がみられた。また、シロウリでも供試した2品種で発病を認め、カボチャでは5品種中2品種で発病した。

ナス科作物では、先の2菌株で発病したのと同様の種において発病がみられたが、トマトの5品種中3品種、ナスの‘黒陽’では発病しなかった。また、それらの発病度は5~20と低く、形成こぶ数も2.5個以下で著しく少なかった。

アブラナ科作物では発病はみられなかった。

その他の作物では、アカザ科のハウレンソウにおいて発病度5、形成こぶ数1個を示す軽微な発病が認められたのみであった。

以上、供試した作物5科20種のうちB-9-1菌株では3科10種、O T P-3-1菌株とC u-2-1菌株ではいずれも3科9種の植物に対して病原性を示した。

第2節 栽培植物に対する混和接種汚染土壌による病原性の検定

接種汚染土壌に播種した植物の発病について検討した。

材料および方法

供試菌株、接種源の培養・調製、供試土壌および発病状況の調査方法は前節と同様である。

接種に供試した植物は、前節の試験において発病を認めた作物を中心に6科24種とした。

接種は、栽培土壌に対し0.05% (V/V) 量の接種源を十分に混和してガラス温室に1日間静置したものを接種汚染土壌とし、これにそれぞれの植物の種子を播種して行った。播種50日後に発病状況を調査した。

各植物は1鉢(直径10.5cm)1粒播種し、1菌株について1品種当り平

均5鉢を供試し、また、それぞれについて3鉢の対照（無接種）区を設けた。

試験は、B-9-1菌株とCu-2-1菌株については4月中旬～8月下旬に、OTP-3-1菌株については4月下旬～8月下旬に実施した。なお、試験期間中のガラス温室内の最低気温は25℃に維持した。

結 果

各種植物に対する病原性はTable 54-1～Table 54-4に、それらの発病状況をAttached list 8-1～Attached list 10-4に、それぞれ示した。

第1節と同様に供試した3菌株それぞれについて、接種した植物の発病状況をまとめて述べると次のようになる。

B-9-1菌株の場合 ウリ科作物では、前節の試験-Iで供試した7種に対して接種した結果、ツルレイシを除く6種において発病がみられた。メロンに対しては、10品種中‘アールスメイトI’は発病しなかったが、他の品種では発病株率100%，発病度25～60を示し、中でも‘健脚’が最も激しく、1株当たり平均63.2個の形成こぶ数を示した。また、キュウリ、スイカ、ユウガオ、シロウリは全供試品種において発病し、とくに、キュウリとシロウリではすべての品種で100%の発病株率を認め、形成こぶ数はそれぞれ平均11.8個と13.5個で、これはメロンの平均19.7個に次いで激しい発病であった。一方、カボチャでは6品種中2品種が発病しなかった。

ナス科作物では、5種のうちトマトは全品種で発病がみられ、その平均発病株率は53%，発病度13.3，形成こぶ数4.9を示した。その他では、ピーマンの‘エース’が発病度5，こぶ数1個で極めて軽微な発病であったが、ナス、シシトウ、ジャガイモは発病しなかった。

アブラナ科作物では供試5種のいずれも発病はみられなかった。

その他の作物では、3科8種のうちキク科のヒマワリにのみ100%の発病株率がみられ、発病度40，こぶ数25.8個であった。

Table 54-1. Pathogenicity of three isolates of *Streptomyces* sp. causing root tumor of melon against gourd family plants by soil incorporating inoculation

Species	Cultivar	Isolate		
		B-9-1	OTP-3-1	Cu-2-1
Melon	Kenkyaku(Stock)	+++ ^{a)}	+++	+++
	Kosack	++	++	+++
	Prince	++	+	+++
	Kyoei(Stock)	++	++	+++
	Amusu	++	++	+++
	Homerunstar	++	+++	+++
	Nanshoarusu kashukei	++	+	++
	Andesu	++	+	+++
	Michizure(Stock)	++	+++	++
	Arususeinunatu I	-	-	++
Cucumber	Asomidori	++	+++	++
	Hijiri	++	++	++
	Suyo	++	+++	+++
	Honmyo	++	+++	+++
	Kagaaonagafushinari	++	++	++
Pumpkin	Benkei(Stock)	-	+	+
	Hayato	-	-	+
	Ebisu	+	+	++
	Tetsukabuto	+	+	++
	Kurodane(Stock)	++	++	++
	Shintosa No.1(Stock)	+	-	+++
Watermelon	Tenryu No.2	+	-	+
	Fujihikari	+	-	+
	Shimaomacks KE	++	+	++
Bottle gourd	Sakigake(Stock)	++	+++	+++
	Kachidoki(Stock)	+	++	+++
Oriental pickling melon	Yokauri	++	++	+++
	Nagasakitsukeuri	++	++	+++
Balsam pear	Satsumaonagareishi	-	+	+

a) See Table 53-1.

Table 54-2. Pathogenicity of three isolates of *Streptomyces* sp. causing root tumor of melon against nightshade family plants by soil incorporating inoculation

Species	Cultivar	Isolate		
		B-9-1	OTP-3-1	Cu-2-1
Tomato	Yuyake A	+ ^{a)}	+	++
	BF Okitsu No.101	+	+	+
	Zuiken	+	+	+
	Oomiya	+	+	+
	Petittomato	+	+	++
Eggplant	Kokuyo	-	-	-
	Kuronishiki No.2	-	-	-
Sweet pepper (Bell type)	Ace	+	-	-
	Mansaku	-	-	-
Sweet pepper (Shishito type)	Wakato	-	-	-
Potato	Dejima	-	-	-
	Mayqueen	-	-	-

a) See Table 53-1.

OTP-3-1 菌株の場合 ウリ科作物では、B-9-1 菌株で発病しなかったツルレイシを含む7種に発病がみられた。しかし、メロン、カボチャ、スイカでは発病しない品種も認められ、メロンの‘アールスセイヌ夏I’、カボチャの‘はやと’と‘新土佐一号’、スイカの‘天竜二号’と‘富士光’は発病しなかった。一方、キュウリ、ユウガオ、シロウリではB-9-1 菌株と同様に供試全品種に発病がみられた。

ナス科作物では、トマトは全品種で発病株率20~60%の割合で発病したが、B-9-1 菌株で発病したピーマンでは発病は認められなかった。

アブラナ科作物では、同様に供試した5種のいずれも発病しなかった。

Table 54-3. Pathogenicity of three isolates of *Streptomyces* sp. causing root tumor of melon against mustard family plants by soil incorporating inoculation

Species	Cultivar	Isolate		
		B-9-1	OTP-3-1	Cu-2-1
Cabbage	Fujiwase	- ^{a)}	-	-
Cauliflower	Nozakiwase	-	-	-
Chinese cabbage	Muso	-	-	-
	Shin No.6	-	-	-
Japanese radish	Natuminowase No.3	-	-	-
Turnip	Taibyohikari	-	-	-

a) See Table 53-1.

その他の作物では、B-9-1菌株と同様にヒマワリで発病株率100%、発病度35.0、こぶ数18.2個の比較的激しい発病がみられたが、他の3科7種では発病しなかった。

Cu-2-1菌株の場合 ウリ科作物では供試した7種29品種のすべてに発病が認められ、メロンの‘健脚’は発病度100、形成こぶ数190.4で全般的に激しい発病状況であった。その中でもメロンの‘南勝アールス夏秋系’と‘アールスセイヌ夏I’、キュウリの‘加賀青長節成’では発病株率は100%であったが、発病度は25を示す軽い発病であった。また、カボチャの‘べんけい’、スイカの‘天竜二号’と‘富士光’、およびツルレイシでは発病株率も低い値であった。

ナス科作物では、OTP-3-1菌株と同じくトマトにおいてのみ全品種に発病がみられたが、発病度は15~30と比較的低い値を示した。他のナス科植物では発病はみられなかった。

アブラナ科作物では、先の2菌株と同様に供試した5種すべてに発病はみられなかった。

その他の作物でも、3科8種の植物うちヒマワリにのみ発病度80、形成こぶ数91.8個で、激しい発病が認められた。

Table 54-4. Pathogenicity of three isolates of *Streptomyces* sp. causing root tumor of melon against other family plants by soil incorporating inoculation

Family	Species	Cultivar	Isolate		
			B-9-1	OTP-3-1	Cu-2-1
Goosefoot	Spinach	Atorasu	-	-	-
	Chard	Shiroguki	-	-	-
Composite	Lettuce	Greatrekusu No.54	-	-	-
	Garland chrysanthemum	Oobashingiku	-	-	-
	Edible burdock	Watanabewase	-	-	-
	Sunflower	Dairinhimawari	++	++	+++
Grass	Rice	Nihonbare	-	-	-
	Corn	Honeybantam	-	-	-

a) See Table 53-1.

以上のように、混和接種した汚染土壌で栽培した場合の発病試験の結果、供試3菌株のいずれも3科9種に対して病原性を示したが、B-9-1菌株はツルレイシでは発病せず、ピーマンにこぶの形成がみられ、他の2菌株はピーマンでは発病せず、ツルレイシに発病がみられた点で菌株間に差があった。なお、無接種区ではすべて発病は認められなかった。

第3節 考 察

分離したメロンがんしゅ病菌から3菌株を選び、各菌株について各種作物に対する接種試験を行った結果、菌株、試験時期、接種方法により発病にかなりの相違が認められた。しかし、いずれの菌株も宿主範囲には差異がなく、ウリ科のメロン、キュウリ、カボチャ、スイカ、ユウガオ、シロウリ、ツルレイシの7種、ナス科のトマト、ナス、ピーマンの3種、アブラナ科ではハナヤサイの1種、アカザ科のハウレンソウ、フダンソウの2種、キク科のチシャ、ゴボウ、ヒマワリの3種の合計5科16種の栽培植物に対して病原性のあることが明らかとなった。

ウリ科作物に対して3菌株は広範囲に病原性を示し、中でもキュウリとシロウリでは、3菌株の3回の試験で接種したすべての品種が発病し、メロン、カボチャ、スイカでは試験によっては品種と菌株間に発病しない場合も観察された。これらの相違は、試験期間を秋期の抑制メロンの栽培時期と合わせて実施した第1節の試験-IでのO T P - 3 - 1菌株とC u - 2 - 1菌株の結果、ならびに、試験-IIにおける全菌株の結果において著しかった。これらは接種後の栽培期間が秋期の低温期におよんでいたため、本菌の生育適温が27~33℃と比較的高いことから、本試験を実施した秋期では菌の活動が低下したものと考えられる。このことは、本病の発生がとくに温度条件に左右されやすいことを示唆している。また、このことに関連して孫工・野村^{13,2)}は、キュウリがんしゅ病が15℃以下の地温では発生しなかったことを報告している。一方、試験条件によってある植物に対する病原性に差異がみられるのは、病原菌株間の病原性の強弱に起因していることも考えられる。

したがって、このような環境条件の差による発病の相違を病原性の強弱として考えるならば、本菌のウリ科作物に対する病原性はキュウリとシロウリに対して比較的強く、次いでユウガオがあげられる。一方、多くの栽培品種が分化しているメロンでは品種により寄生性の程度が異なり、カボ

チャとスイカに対しては他のウリ科作物より病原性は弱いように思われる。

中山⁹⁶⁾は、現地発生汚染土壌で各種作物の発病の有無を試験した結果、メロン、キュウリ、ユウガオでは発病したが、カボチャでは発病しなかったとしている。しかし、旧熊本県農業試験場⁶⁶⁾におけるその後の試験では、供試したカボチャ8品種のうち‘くろだね’，‘新土佐一号’，‘近成芳香’の3品種において発病を認めており、本試験においても前2品種に対する病原性は確認されている。さらに、孫工・野村¹³²⁾はカボチャ台キュウリで発病した現地汚染土壌での同様の試験で、供試した全品種のカボチャがとくに激しく発病したことから、本病の発病における宿主に対する特異性の存在を示唆している。しかし、分離病原菌株を接種した本試験においては、メロンから分離したB-9-1菌株およびO T P-3-1菌株とキュウリから分離したC u-2-1菌株間で病原性に特異的な相違は認められず、その存在は明白ではなかった。

一方、メロンでは同様に現地発生汚染土壌によって、旧熊本県農業試験場⁶⁶⁾で18品種について、また、宮崎県総合農業試験場⁹³⁾では23品種について発病試験がなされているが、その結果でも品種によって発病の有無が認められている。本試験においても試験条件によっては発病しなくなる品種もみられ、とくに、‘アールスメイトⅠ’は本病に比較的抵抗性であるように思われた。一方、‘健脚’に対しては本病原放線菌は全試験を通じてすべてに強い病原性を示した。本研究ではこれまで‘健脚’を本病の発病試験のための検定植物として用いてきたが、これらの結果よりこの品種の採用は適切であったことが確認された。

さらに、キュウリの供試全品種で発病したこと、スイカでは品種間に発病が異なる点などにおいて、本試験の結果は現地発生汚染土壌による旧熊本県農業試験場⁶⁶⁾での試験結果と一致している点も多い。

ナス科作物に対する寄生性の結果は孫工・野村¹³²⁾の報告と一致したが、旧熊本県農業試験場⁶⁵⁾の結果ではトマト、ナスは発病していない。本試験ではトマトに対しては3菌株とも比較的強い病原性を示したが、メロン

やキュウリに比べるとかなり弱いように思われる。また、トマトに形成されたこぶはウリ科植物のそれと比べた場合、根自身が膨大したようになり、その一部がくびれたような症状を示すものも多く認められるのが特徴である。さらに、発病したナスとピーマンでは、形成こぶも小型でわずかであったこと、および、灌注・混合接種した試験 - I, II において発生が多いにもかかわらず、混和接種土壌での試験ではほとんどが発病していないことから、これらの植物に対する本病原菌の病原性はさらに弱いものと考えられる。一方、接種した菌量や接種方法の違いが発病の有無に関与しているようにも思われる。すなわち、灌注・混合接種では、接種菌量が混和接種土壌の約27倍量となっており、さらには、株元の土壌と混和する際に一部の根を傷つけることも考えられるため、これらのことが発病を促す一誘因となっていることも推測される。また、ハナヤサイ、ホウレンソウ、フダンソウ、チシャ、ゴボウの発病においても同様の傾向が伺われた。

このように、灌注・混合接種と混和土壌接種間に発病の違いが認めらる宿主植物も存在したことから、接種菌量ならびに植物における傷の有無と発病との関係についてもさらに検討を加える必要がある。

したがって、これらのことを考慮すると、本病原放線菌の宿主植物として確認された5科16種の植物の中でも、7種のウリ科植物とトマトならびにヒマワリの3科9種に対してはとくに強い病原性を有するが、その他の2科7種に対しては病原性は弱いものと考えられる。

孫工・野村¹³²⁾は本病発生汚染土壌において、ウリ科の4種、ナス科の3種、マメ科の3種、キク科の5種、イネ科の1種、アブラナ科の4種、ユリ科の1種の作物に発病を認めているが、本試験ではそれらの中のキャベツ、ハクサイ、ダイコン、カブ、シュンギク、ネギ、トウモロコシにおいては発病を認めなかった。また、マメ科作物に対しては根粒細菌との重複寄生の可能性の点から、本試験では対象植物から除外したが、これらを含めた上記の作物に対する検討も必要である。

従来までの試験では病原菌の分離が不成功に終わっていたため、すべて

現地発生の汚染土壌を用いての発病試験であった。したがって、本試験のような分離病原菌株の接種による試験結果とは多少異なっているものと考えられる。

これまでに現地圃場で発病が確認されている作物は、メロンとキュウリならびにカボチャ台キュウリではあるが、本試験で発病が認められたこれ以外の作物においても栽培様式の変化によっては発病する可能性があり、今後も検討を要するものと思われる。