

メロン毛根病菌の感染経路

静岡県農業試験場植物バイオプロジェクトスタッフ 伊代住 ひろゆき 伊代住 浩 幸

はじめに

メロン毛根病は、*Agrobacterium rhizogenes* biovar 1 の感染に起因する病害であり、千葉県および静岡県下の温室メロンで発生が確認されている（塩見ら，1987；牧野・大沢，1987）。株元の地表面に大量の不定根が露出するのが特徴的で、生育中期以前の早い段階で発症すると、糖度の低下、ネット不良、果実の小型化などを引き起こし果実品質の低下を招く（図-1）。本病原菌は非常に広い範囲の植物に病原性を有するが（牧野，1993）、実際に問題となっているのは隔離床で栽培される静岡・千葉両県の温室メロンのみで、類似の品種を栽培する地床メロンでの被害報告はない。年間を通じて高温多湿、富栄養条件が維持される温室メロン特有の病害といえる。

温室メロンに発生する土壌病害の防除は隔離床の蒸気消毒により行われており、ほぼ完璧な防除効果が得られているが、毛根病に関しては再発を許す場合が多く、本病害の防除は非常に困難なものとなっている。明らかに蒸気消毒の不備が原因と思われるケース以外でも再発することが多く、蒸気消毒後の土壌の再汚染が慢性化の一因として考えられている。



地表面に露出した不定根

ネット形成不良

図-1 メロン毛根病の病徴

The Search for Infection Routes of Melon Hairy Root Pathogen in Greenhouse. By Hiroyuki IYOZUMI

(キーワード: *Agrobacterium rhizogenes* biovar 1, 温室メロン, 蒸気消毒, PCR)

本稿では、主に毛根病の常発温室における毛根病菌の感染経路について、これまで得られている知見を紹介し、参考に供したい。

I 蒸気消毒後の土壌の再汚染時期

これまでの現地調査において、土壌温度 90°C 以上で 2 時間以上の蒸気消毒が実施された場合、蒸気消毒直後に採取した土壌における毛根病菌の増殖は確認されていない。再汚染時期の調査の前には必ず 90°C 以上、2 時間の蒸気消毒を行った。

1998 年から 99 年にかけて、現地の常発温室において蒸気消毒前から栽培作業ごとに土壌を採取し、M1A 選択培地 (BRISBANE and KERR, 1983) を使用して *Agrobacterium* 属 biovar 1 型菌の消長を追った (表-1)。その結果、蒸気消毒直後の土壌からはすべての調査で目的菌は検出されなかったが、その後、ベッド作り (肥料を混和し、床土をかまぼこ型に整形する作業)、定植、支柱立て (メロン植物体を直立させるための支柱を株の近くに立てる作業) のいずれかの作業時に目的菌が

表-1 サンプル採集時期

	蒸気消毒前 ^a	蒸気消毒直後 ^b	ベッド作り後 ^c	定植後 ^d	支柱立て後 ^e
第1回試験	10/8	10/9	—	—	—
第2回試験	11/24	11/26	11/28	12/4	—
第3回試験	1/25	1/26	1/28	1/28	2/8
第4回試験	4/16	4/17	4/20	4/22	4/27

a: 残渣除去後, b: 被覆除去前, c: 耕耘, 整形後, d: 定植直後~2日後, e: 支柱立て直後~5日後。

表-2 床土からの *Agrobacterium* 属 biovar 1 菌の検出

試験回数	サンプル採集のタイミング				
	蒸気消毒前	蒸気消毒直後	ベッド作り後	定植後	支柱立て後
第1回試験	+	-	NT*	NT	NT
第2回試験	+	-	+	+	NT
第3回試験	+	-	+	+	+
第4回試験	+	-	-	-	+

判定の内容 +: いずれかの採取場所から菌が検出された, -: いずれの採取場所からも菌が検出されなかった, NT: サンプルを採集しなかった。

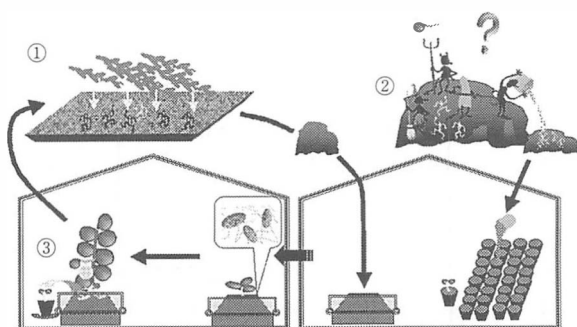
検出されており、栽培作業に伴い土壌が汚染されている可能性が示唆された(表-2)。

II 想定される伝染源

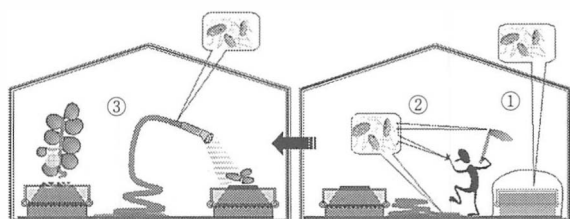
土壌に毛根病菌が持ち込まれる場面として、大きく分けて二つが想定される。一つ目はベッドに使用される土や、定植される苗から持ち込まれるパターンである(図-2 a)。温室メロンの床土は数年ごとに新しい土に順次交換されるが、その土は水田から採取されたものが使用される場合が多く、また、育苗用土に市販の培土とともに水田土が使用される場合もある。静岡県では稲作を行っている温室メロン農家が多く、メロンの残渣は水田の土手に捨てられる。毛根病が発生している農家でこれが行われた場合、発病株から水田土壌にメロン毛根病菌が混入する可能性が高い。本病原菌は灌漑用水中에서도旺盛な増殖を示すことが知られており(塩見・竹内, 1989)、水田でも旺盛な増殖が予想される。水田土の消毒は専用の消毒槽に入れて、あるいは野積された状態で蒸気パイプを挿入し、消毒されることが多く、ベッドにおける蒸気消毒に比べて消毒の強度は低い。そうした土がベッド用土や育苗土に使用される場合、毛根病の伝染源となる可能性が高い。近年、省力化の観点から市販の育苗培土を使用する農家が増えている。これまでのところ、市販の培土から毛根病菌が検出された例はないが、育苗土として購入した土に水田土が使用されていた例もあり、素性のはっきりした培土を使用する必要がある。

一方で、メロン農家の多くは専用の育苗温室を持たず、育苗を栽培温室のベッド脇で行っている。発病温室でこれが行われれば、灌水の飛沫によって苗が汚染される可能性は非常に高くなる。また、専用の育苗温室を持っていても、発病温室との行き来に気を使っていない農家では、汚染土などが持ち込まれ、苗が汚染される可能性は高くなる。

二つ目は、管理作業に伴ってベッドが汚染されるパターンである(図-2 b)。先に述べたような、蒸気消毒の不備や定植にいたるまでの作業のほかにも、日常的な作業によって毛根病菌がベッドに持ち込まれる可能性がある。例えば、発病温室では、灌水や、収穫後の残渣の片付けなどの作業によってこぼれる土によって通路が汚染される。多くの農家では灌水用のホースを通路にじかに置いてあり、そのホースの先にジョロ口をかぶせて灌水を行っている。ジョロ口は各温室で使いまわされるため、高濃度の毛根病菌がホースに付着した場合、重要な伝染源となり得る。また、手袋など、共通して各温室で使用される可能性の高いものに汚染土が付着した場合も



- a ① 発病株が水田に捨てられ、そこで採取された汚染土が、消毒不十分なまま新土として使用される。
 ② 育苗に使用する培土が汚染されている。
 ③ 発病株の近くで育苗して、灌水などの際に汚染される。



- b ① 発病土の蒸気消毒が不十分で、病原菌が生き残る。
 ② 発病温室で使用された器具(土練機、鍬、手袋、支柱他)が、消毒不十分なまま使用される。
 ③ 汚染された通路の土で灌水ホースの口が汚染され、水に汚染土が混入する。

図-2

温室間でごく高率に伝染が起こる可能性がある。

III 器具、資材からの PCR による毛根病菌の検出

従来の毛根病菌の検出では、選択培地を用いたコロニーの分離と各種生化学的試験、並びに植物体への接種による病原性の確認が行われており、1か月以上かかるうえ、あまり多くの検体を一度に扱えなかった。そこで、汚染が予想される器具や資材からの毛根病菌の検出に PCR 法の利用を試みた。*Agrobacterium* 属菌の PCR による検出の例では病原性関連遺伝子である Ti あるいは Ri プラスミドの *vir* 領域を対象にしたもの(PICARD et al., 1992; EASTWELL et al., 1995; HAAS et al., 1995; SAWADA et al., 1995)や T-DNA 上の領域を対象にしたもの(DONG et al., 1992; PIONNAT et al., 1995)があり、特に *vir* 領域を標的としたものは *Agrobacterium* 属全般を検出するユニバーサルプライマーとして報告されている。そこで筆者らは、これらとは別に *A. rhizogenes* を特異的に検出するプライマーセットとして T-DNA

上の *rolC* 領域を増幅するものを設計し、あわせて使用した (伊代住・市川, 1999)。また、自然環境中、特に土壌サンプルから直接 DNA を抽出して PCR による検出を行う場合、腐植の存在 (TSAI・OLSON, 1992) や他の生物由来 DNA の存在 (PICARD et al., 1992) により PCR 反応阻害が起こることが報告されており、カラムによる腐植の除去や Booster PCR による特異性の向上などが行われている。筆者らは、多数の試料を扱う際の煩雑さを避けるため、選択培地 (液体) にサンプルを投入して振とう培養を3日間程度行い、*Agrobacterium* 属 biovar 1 菌の密度を高めてから市販のキットにより DNA を抽出した。器具などの汚染状況を調べる場合には、湿らせた滅菌脱脂綿で表面を拭い、同様に培養した。腐植成分が多い場合には、菌が増殖したところで菌懸濁液を採取し、新しい培地に加え、再度培養し、同様に抽出した。この方法により5日前後で結果が出るため、従来法に比べて大幅な期間短縮が実現した (伊代住・市川, 1999)。

1999年の4月16日から27日と、8月17日から27日の2回、現地の毛根病常発温室において、蒸気消毒前か

ら支柱立てまでの栽培管理に使用される資材、器具、施設から各作業時期ごとにサンプルを採取し、毛根病菌の検出を行ったところ、蒸気消毒直後の床土からは毛根病菌は検出されず、蒸気消毒は十分に機能したと思われたが、温室の通路や、ベッド作りに関係する器具のうち、灌水用のジョロ口を除いた全てのサンプルで汚染が確認された。特に、ゴム手袋、ジョレン、通路に置かれた灌水用のホースの先端部は2回の試験ともに汚染が確認された。ゴム手袋やジョレンなどの器具は塩化ベンザルコニウム溶液により消毒されていたが、土壌の洗浄が十分でなく、効果が半減して病原菌が生き残ったと思われる。一方で温室間・農家間の伝染に関与すると思われた蒸気消毒機のホース、運搬車のタイヤからは2回とも病原菌は検出されず、蒸気消毒用被覆ビニルの、汚染されている通路に接した部分からも病原菌は検出されなかった。耕運前に施用される堆肥・微生物資材、耕耘機の汚染も確認されなかった。今回調査した農家では以前発病していた温室の一つを空けて育苗専用に使っていたが、第1回調査でホース口の汚染が確認されただけで、今回、苗の汚染は確認されなかった (表-3)。

表-3 常発温室における作業ごとの毛根病菌検出結果

作業内容	採集した土壌、資材等・拭った器具等	病原菌の検出			
		第1回調査		第2回調査	
蒸気消毒準備 (ビニル被覆後)	蒸気消毒機のホース 消毒機運搬車のタイヤ 被覆ビニルの裾	4/16	- - 実施せず	8/17	- - -
蒸気直後	通路の土壌 被覆ビニルの裾 床土	4/17	+ - -	8/21	- - -
床土耕耘	堆肥・微生物資材等 耕耘機 床土	4/20	- - -	8/24	- - -
ベッド作り	ジョロ口 ホース口 (通路に置かれていた) 水 (ホースを通して採取) 手袋 ジョレン 床土	4/22	- + + + -	8/24	- + - + + 実施せず
定植	定植穴あけ器 支柱 残り苗の根圏 苗室ジョロ口 苗室ホース口 (通路に置かれていた) 苗室水 (ホースを通して採取) 苗室ベンチ 床土	4/22	- - - + - - -	8/25	実施せず - - - - - 実施せず -
支柱立て	床土	4/27	+	8/27	-

表-4 使用した温室における毛根病の発病程度

	第1回試験	第2回試験
試験前の作付け	1ベッドあたり5~6本	1ベッドあたり5~6本
試験時の作付け	1ベッドあたり10本前後	1ベッドあたり7~8本

1ベッドあたり60~70本定植, 6ベッド/温室。

床土の再汚染は第1回調査で支柱立て後に確認され、第2回調査では調査期間中には確認されなかった。最終的に第1回調査では1ベッド10株前後、第2回試験では7~8株の発病が認められた(表-4)。

以上のように、常発農家では蒸気消毒が十分に機能していても、汚染された通路や、作業で使用する器具等が伝染源となって、ベッドが再汚染されている可能性が示唆された。

おわりに

メロン毛根病菌は植物体が存在しない土壤中で長期間生存が可能であり、自然発病土が存在すれば常に重要な感染源となり得る(塩見・竹内, 1989)。また、近縁の *Agrobacterium tumefaciens* と *Rhizobium leguminosarum* では、飢餓状態と過剰な銅の存在で VBNC (生存しているが増殖しない) 状態に誘導され、*A. tumefaciens* では Ti プラスミドは維持されたままであるという報告があり (MANAHAN S. H. and T. R. Steck, 1997; ALEXANDER E. et al., 1999)、メロン毛根病菌の感染経路も今回明らかにしたもの以外にも様々なものが存

在すると思われる。一方で、蒸気消毒の効果は明らかであり、伝染源の調査とそれに基づく圃場衛生管理により栽培初期のベッドの汚染や未発病温室への病原菌の移動を阻止し、堆肥や微生物資材の投入により根圏微生物フロラの多様化を図ることにより、現状でも大きな被害を防ぐことは可能だと思われる。今後、生物防除法など栽培期間中の有効な防除方法が確立されれば、より確実な防除が可能になるとと思われる。

引用文献

- 1) 塩見敏樹ら (1987 a): 日植病報 53: 454~459.
- 2) 牧野孝宏・大沢高志 (1987): 静岡農試研究報告 32: 23~30.
- 3) BRISBANE P. G. and A. KERR (1983): J. Appl. Bacteriol. 54: 425~431.
- 4) 牧野孝宏 (1993): 静岡農試特別報告 17: 29~38.
- 5) 塩見敏樹・竹内昭士郎 (1989): 野菜・茶業試験場研究報告 A. 3: 45~53.
- 6) PICARD C. et al. (1992): Appl. Environ. Microbiol. 58: 2717~2722.
- 7) EASTWELL K. C. et al. (1995): Plant Disease 79: 822~827.
- 8) HAAS JERRY H. et al. (1995): Appl. Environ. Microbiol. 61: 2879~2884.
- 9) SAWADA H. et al. (1995): Appl. Environ. Microbiol. 61: 828~831.
- 10) DONG L. C. et al. (1992): Phytopathology 82: 434~439.
- 11) PIONNAT S. et al. (1995): Acta Horticulturae 424: 227~232.
- 12) 伊代住浩幸・市川 健 (1999): 日植病報 65: 68 (講要)
- 13) TSAI Y. L. and B. H. OLSON (1992): Appl. Environ. Microbiol. 58: 2292~2295.
- 14) MANAHAN S. H. and T. R. STEAK (1997): FEMS Microbiol. Ecol. 22: 29~37.
- 15) ALEXANDER E. et al. (1999): Appl. Environ. Microbiol. 65: 3754~3756.

書評

『果物の真実』

—健康へのパスポート—

間苧谷 徹 編著

A 5判, 286 ページ, 本体 2,000 円
化学工業日報社, 2000 年 6 月発行

若者たちの果物離れ、価格低迷、後継者不足など暗い話題が多い最近の果樹産業であるが、その関係者に希望を抱かせてくれる著書である。

我が国ではこれまで、果物がお菓子代わりのデザート程度にしか認識されていなかった。しかし、最近の研究で果物には健康維持に必要な、多種多様な機能性成分が多く含まれていることが次々と明らかになっている。実は、果物は毎日摂取すべき、人間にとって重要な食材なのである。このことを本書は最新の豊富なデータを示しながら熱っぽく説いていく。例えば、アメリカやイギリスでは果物と野菜の摂取運動を行った結果、国民の摂取量増加につれてガン死亡率が低下したなど、研究結果を裏付ける客観的な証拠を提示しながら読者を納得させ

る。I章からIII章までは果物の機能性成分とその効能を主体に述べている。IV章からは、果物の選び方、知って得する果物の秘密、果物にまつわる小話など、肩のこらない楽しい話題が続く。宴会などでのスピーチにも引用できそうなエピソードもある。

前半は専門的な話題であるが、専門外の読者にも解るように平易な表現で記載し、用語解説を巻末に付けるなど、細かな配慮もなされている。一方、専門家にも利用できるように、各章ごとに引用文献が記載されている。一つの話題が数ページの読み切りとなっているのも本書の特徴で、読者は興味ある話題を拾い読みすることができる。読み終わったところには果物信者になっていそうである。執筆者は果樹研究の最先端を行く農林水産省果樹試験場研究員と、前果樹試験場長の間苧谷 徹氏で、編者でもある間苧谷氏は30数年にわたり果樹研究にかかわり、果樹産業の発展に寄与された方である。果物を愛し、国民の健康を願う執筆者の気持ちがひしひしと伝わってくる。果樹関係者はもちろん、消費者の方々にもぜひ読んでいただきたいものである。

(青森県りんご試験場 藤田 孝二)