

# Agrobacterium rhizogenes biovar 1 および 2 によるバラ毛根病について

|       |                                                              |
|-------|--------------------------------------------------------------|
| 誌名    | 日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan |
| ISSN  | 00319473                                                     |
| 著者名   | 太田,光輝                                                        |
| 発行元   | 日本植物病理學會                                                     |
| 巻/号   | 52巻3号                                                        |
| 巻号補足  |                                                              |
| 掲載ページ | p. 413-421                                                   |
| 発行年月  | 1986年7月                                                      |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## *Agrobacterium rhizogenes* biovar 1 および 2 によるバラ毛根病について\*

太田光輝\*\*

Kouki OHTA\*\* : Hairy Root of Roses Caused by  
*Agrobacterium rhizogenes* biovar 1 and 2\*

### Abstract

Occurrence of hairy root has been detected on roses in Shizuoka prefecture since 1979. The causal bacterium was isolated from the rootlets of Floribunda rose, Hybrid tea rose and Climbing rose, and was tested for its pathological and bacteriological characteristics. Eighteen isolates were identified as *Agrobacterium rhizogenes* based on their pathological traits as well as 82 cultural, physiological and biochemical properties. These isolates were differentiated into two biovars due to the differences in the following characteristics: 3-ketolactose production, Kovac's oxidase, H<sub>2</sub>S production, arginine dihydrolase, ferric ammonium citrate test, nitrate reduction, nitrate respiration, acid production from raffinose, ethanol and erythritol, utilization of L-tyrosine, malonate and tartrate, litmus milk reaction, growth factor requirement, growth at 35 C, growth in 2% NaCl pepton water, growth on Schroth *et al.* medium, New and Kerr medium, calcium glycerophosphate agar, sodium selenite agar, Starr's basal medium, congo red mannitol agar and aniline blue mannitol agar, and growth in a synthetic medium with asparagine and ammonium salts as a sole source of C and N. Seven isolates were classified as biovar 1, and other 11 isolates as biovar 2. The virulence of these isolates to rose and tomato were stronger than that to carrot. The GC contents determined by HPLC method were in the range of 58.7-60.7%.

(Received December 20, 1985)

**Key words:** hairy root, *Agrobacterium rhizogenes*, biovars, roses.

### 緒 言

わが国における切花用バラの作付面積は、1984年現在 333 ha に及び、静岡県はこのうち 33 ha と最も多く、生産額も16億円に達している。静岡県下で問題となっているバラの病害に根頭がんしゅ病があるが<sup>15)</sup>、1975年以降この病害の発生状況の調査中、根頭がんしゅ病とは全く異なり、根の地際部に多数の毛根を生じる一種の病害が1979年に発見された。この病害は現在までに県下5か所で散見され、発生程度は平均0.5%と低いが、新病害として注目されている。

本症状と似た病害は1930年にリングで最初に発見されており<sup>17)</sup>、リング毛根病（病原菌：*Agrobacterium rhizogenes*）の名前がつけられている<sup>16, 22)</sup>。その後、バラでも報告され<sup>7, 13)</sup>、わが国では立石（1939）<sup>21)</sup> がリングで報告している。

本研究は、毛根症状を示しているバラの毛根から病原細菌を分離し、その細菌学的性質を既知の *Agrobacterium* 属細菌と比較検討した結果、本症状が *Agrobacterium rhizogenes* biovar 1 および 2 によるバラ毛根病（Hairy root of roses）であることを明らかにしたものである。わが国におけるバラ毛根病の報告はないので、ここに病菌同定の結果を報告する。

\* 本報告の概要は昭和60年度日本植物病理学会大会において講演した。

\*\* 静岡県農業試験場 Shizuoka Agricultural Experiment Station, Tomioka, Toyoda, Iwata, Shizuoka 438, Japan

本研究の推進に当たり、東京大学応用微生物研究所駒形和男博士、玉岡 迅氏には GC 含量測定に関して、県下各農林事務所および各農協の花き担当の方々には現地調査に関して、それぞれ懇切なる御指導を賜わり深く感謝の意を表する。また、本報告をまとめるに当たって、静岡大学教授後藤正夫博士、同名誉教授岡部徳夫博士には懇切なる御校閲を頂いた。ここに厚く御礼申し上げる。

## 発生状況と病徴

バラの毛根症状は1979年2月、土肥町で育苗中のフロリバンダ系品種ファーバージェの苗木で最初に認められた。栽培中のハイブリッド・ティ系品種には発生が認められなかったことから、購入苗による病気の持ち込みが推定された。1980年から5年間にわたり、県内のバラ産地における本病の発生を調査した。その結果、1982年11月、清水市でガラス温室の品種メイロラデールに、1983年春、浜松市でガラス温室のアルファと公園花壇のツルバラに、1984年4月、磐田市で育苗中のソニアとファイアグローに、同年7月、河津町でミス丸山にそれぞれ数株ずつの発生が認められた。調査地では根頭ががんしゅ病の発生も一般にみられ、本病と同時に感染している株もみられた。発生地における発病株率は0.5%前後であった。

バラでは台木にノイバラを用いていることから、この台木に発病がみられた (Plate I)。本病は最初、地際部に淡褐色のカルス状の組織を作り、そこから白色の細根が発生する。同時に、株の周辺の土壌からも白色の細根が現われ、毛根状に地表を覆ってゆく。毛根はやがて褐色に変化し、地際に暗褐色の塊りを作ることがある。発病株を掘り上げると、根の基部から多数の細根が発生している。地上部にははっきりした病徴はみられない。

## 実験材料および方法

**病原細菌の分離** バラ (品種: ファーバージェ, メイロラデール, アルファ, ソニア, ファイアグロー, ミス丸山) およびツルバラ (アルバータイン, アメリカンビラー, ニュードーン, マーメード) の自然発病株から、常法<sup>4)</sup>に従い菌の分離を行った。地際部の新鮮な毛根を採取し、滅菌水で土壌を除いたのち、ペプトン水中で十分磨砕して懸濁液を作り、肉汁酵母エキス培地 (肉エキス 5g, 酵母エキス 5g, ペプトン

10g, 食塩 1g, 硫酸マグネシウム 1g, 蒸留水1,000 ml, 寒天 15g, pH 6.8), Schroth *et al.* 培地<sup>18)</sup>, New and Kerr 培地<sup>14)</sup> にそれぞれ画線培養した。均一に発育した白色集落をとり、再度同一培地で画線培養し単一集落を分離した。

**接種試験** 分離した菌株はバラ (ノイバラ), トマト (ファースト), カブ (金町小蕪) およびニンジン (黒田五寸) に接種して病原性を検定した。あらかじめポリ鉢で育成しておいた各検定植物幼苗の地際部と根に、メスで傷をつけ、約  $1 \times 10^8$  個/ml の菌液を株当たり 10 ml ずつ灌注接種した。対照区には滅菌水を用いた。接種後、植物は温室で多湿に保ちながら管理し、トマトは1か月間、カブとニンジンは2か月間、バラは5か月間にわたって、それぞれ発病を観察した。病原性の判定は付傷部における毛根の形成によって行った。また、カブとニンジンについては Ark and Thompson (1961)<sup>29)</sup> の Root disc 法によっても病原性を確かめた。

**細菌学的性質** 供試細菌の細菌学的性質の検査は富永の採用した方法<sup>23)</sup> と Moore らの実験書<sup>12)</sup> を併用して行った。ただし、グリセロリン酸カルシウム寒天<sup>5)</sup>, Starr の基礎培地<sup>19)</sup>, セレン酸ナトリウム寒天<sup>6)</sup>, コンゴレッド寒天<sup>6)</sup> およびアニリンブルー寒天<sup>6)</sup> の各試験は原著の方法に従った。なお、対照菌株として発酵研究所より分譲の IFO 13257<sup>11)</sup> (*Agrobacterium rhizogenes* biovar 2), IFO 13532<sup>11)</sup> (*A. radiobacter* biovar 1), 当场保存の At R7<sup>15)</sup> (*A. tumefaciens* biovar 1), At R11<sup>15)</sup> (*A. tumefaciens* biovar 2) の4菌株を用いた。供試細菌は肉汁酵母エキス培地に28℃で24時間培養し、平面培地へは斜面培養菌を直接移植し、その他の培地へは菌液 (約  $10^{10}$  個/ml) 1白金耳量または1白金線浸漬量を移植した。移植後28℃の恒温器内で所定の期間培養した。

**GC 含量の測定** バラ菌株の中から4菌株を代表として選び、それらの GC 含量を測定した。対照菌株として前記 IFO 13257 と国立遺伝研より分譲の *Escherichia coli* B の2菌株を用いた。細菌 DNA の調製は広瀬の方法<sup>8)</sup> で行った。GC 含量の決定は Tamaoka and Komagata の採用した高速液体クロマトグラフ法 (HPLC)<sup>20)</sup> によった。サンプル DNA を 100℃ 10分間加熱後急冷し、スクレアーゼ P1 溶液を加えて50℃ 1時間、アルカリフォスファターゼを加えて37℃ 1時間反応させ、HPLC にかけた。GC 含量は次の式で算出した。

Table 1. Characteristics of the hairy root pathogen of roses and the 4 reference isolates

| Characteristics                                | Rose isolates   |                 | IFO 13532 <sup>a)</sup> | IFO 13257 <sup>a)</sup> |
|------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|
|                                                | Group 1         | Group 2         | At R7                   | At R11                  |
| Peritrichous flagella                          | 1-3             | 1-3             | 1-3                     | 1-3                     |
| Motility                                       | + <sup>b)</sup> | +               | +                       | +                       |
| Oxygen relation                                | aerobic         | aerobic         | aerobic                 | aerobic                 |
| O-F test                                       | 0               | 0               | 0                       | 0                       |
| Kovac's oxidase                                | +               | - <sup>c)</sup> | +                       | -                       |
| Catalase reaction                              | +               | +               | +                       | +                       |
| Urease activity                                | +               | +               | +                       | +                       |
| 3-ketolactose production                       | +               | -               | +                       | -                       |
| H <sub>2</sub> S production                    | +               | -               | +                       | -                       |
| Arginine dihydrolase                           | +               | -               | +                       | -                       |
| Levan formation                                | +               | +               | +                       | +                       |
| NH <sub>3</sub> production                     | +               | +               | +                       | +                       |
| Arbutin hydrolysis                             | +               | +               | +                       | +                       |
| Aesculin hydrolysis                            | +               | +               | +                       | +                       |
| Nitrate reduction                              | +(-)            | -               | -                       | -                       |
| Nitrate respiration                            | +               | -               | +                       | -                       |
| Growth at: 35 C                                | +               | -               | +                       | -                       |
| 28 C                                           | +               | +               | +                       | +                       |
| Growth in:                                     |                 |                 |                         |                         |
| Nutrient broth                                 | +               | +               | +                       | +                       |
| Pepton water                                   | +               | +               | +                       | +                       |
| Uschinsky's solution                           | +               | +               | +                       | +                       |
| Fermi's solution                               | +               | +               | +                       | +                       |
| Cohn's solution                                | +               | +               | +                       | +                       |
| 2% NaCl pepton water                           | +               | -               | +                       | -                       |
| Growth on:                                     |                 |                 |                         |                         |
| Selective medium of Schroth <i>et al.</i>      | +               | -               | +                       | -                       |
| Selective medium of New and Kerr               | -               | +               | -                       | +                       |
| Calcium glycerophosphate mannitol nitrate agar | +               | ± <sup>d)</sup> | +                       | ±                       |
| Sodium selenite yeast water glucose agar       | +               | ±               | +                       | ±                       |
| Starr's basal salts medium                     | +               | ±               | +                       | ±                       |
| Congo red mannitol agar                        | +               | ±               | +                       | ±                       |
| Aniline blue mannitol agar                     | +               | ±               | +                       | ±                       |
| Growth in a medium with:                       |                 |                 |                         |                         |
| Asparagine as a sole source of C and N         | +               | -               | +                       | -                       |
| Ammonium salts as a sole source of N           | +               | -               | +                       | -                       |
| Utilization of:                                |                 |                 |                         |                         |
| L-tyrosine                                     | -               | +               | -                       | +                       |
| Tartrate                                       | -               | +               | -                       | +                       |
| Malonate                                       | -               | +               | -                       | +                       |
| Citrate                                        | +               | +               | +                       | +                       |
| Growth factor requirement                      | -               | +               | -                       | +                       |

Table 1. (Continued)

| Characteristics                                           | Rose isolates |         | IFO 13532 | IFO 13257 |
|-----------------------------------------------------------|---------------|---------|-----------|-----------|
|                                                           | Group 1       | Group 2 | At R7     | At R11    |
| Formation of pellicle in ferric ammonium citrate solution | +             | —       | +         | —         |
| Litmus milk reaction                                      | alkali        | acid    | alkali    | acid      |
| Gram stain                                                | —             | —       | —         | —         |
| Fluorescent pigment                                       | —             | —       | —         | —         |
| Pyocyanin                                                 | —             | —       | —         | —         |
| Voges-Proskauer test                                      | —             | —       | —         | —         |
| Methyl red test                                           | —             | —       | —         | —         |
| 2-ketogluconate production                                | —             | —       | —         | —         |
| Lecithinase production                                    | —             | —       | —         | —         |
| Tyrosinase production                                     | —             | —       | —         | —         |
| Indol production                                          | —             | —       | —         | —         |
| Starch hydrolysis                                         | —             | —       | —         | —         |
| Casein hydrolysis                                         | —             | —       | —         | —         |
| Cotton seed oil reaction                                  | —             | —       | —         | —         |
| Tween 80 hydrolysis                                       | —             | —       | —         | —         |
| Gelatin liquefaction                                      | —             | —       | —         | —         |
| Hypersensitivity reaction                                 | —             | —       | —         | —         |
| Potato rot                                                | —             | —       | —         | —         |
| Acid production from:                                     |               |         |           |           |
| Arabinose                                                 | +             | +       | +         | +         |
| Xylose                                                    | +             | +       | +         | +         |
| Rhamnose                                                  | +             | +       | +         | +         |
| Glucose                                                   | +             | +       | +         | +         |
| Fructose                                                  | +             | +       | +         | +         |
| Galactose                                                 | +             | +       | +         | +         |
| Mannose                                                   | +             | +       | +         | +         |
| Sucrose                                                   | +             | +       | +         | +         |
| Maltose                                                   | +             | +       | +         | +         |
| Lactose                                                   | +             | +       | +         | +         |
| Raffinose                                                 | +             | —       | +         | —         |
| Cellobiose                                                | +             | +       | +         | +         |
| Glycerol                                                  | +             | +       | +         | +         |
| Mannitol                                                  | +             | +       | +         | +         |
| Sorbitol                                                  | +             | +       | +         | +         |
| Inositol                                                  | +             | +       | +         | +         |
| Dulcitol                                                  | +             | +       | +         | +         |
| Salicin                                                   | +             | +       | +         | +         |
| Erythritol                                                | —             | +       | —         | +         |
| Dextrin                                                   | —             | —       | —         | —         |
| Starch                                                    | —             | —       | —         | —         |
| Inulin                                                    | —             | —       | —         | —         |
| Ethanol                                                   | +             | —       | +         | —         |

a) Reference strains: IFO 13532: *Agrobacterium radiobacter* biovar 1, At R7: *A. tumefaciens* biovar 1, IFO 13257: *A. rhizogenes* biovar 2, At R11: *A. tumefaciens* biovar 2

b) +: Positive reaction c) —: Negative reaction d) ±: Scanty growth

$$G+C \text{ mol } \% = \frac{Gr+Cr}{Ar+Gr+Cr+Tr}$$

## 実験結果

### 病原細菌の分離と接種試験

バラおよびツルバラのり病株21株の毛根より、64菌株の白色細菌を分離し、バラその他の植物へ接種した結果、23菌株が病原性を示した。23菌株の病原性をみると、ノイバラには18菌株、トマトには23菌株、カブには13菌株が病原性を示したが、ニンジンには弱く6菌株のみであった (Plate I)。カブとニンジンについて行った Root disc 法は幼苗接種法とはほぼ同じ結果であった。対照の滅菌水区はいずれも毛根の発生はなかった。細菌学的検査にはノイバラに病原性を示した18菌株を供した。

### 細菌学的性質

バラ分離菌株と対照菌株の細菌学的性質を Table 1 に示した。バラ菌株はいずれも、グラム陰性で好気性、形態は桿状で大きさが 0.8~1.5 μm、運動性があり、1~3本の周毛を備える。普通寒天平面培地上での集落は白色、円形、全縁、中高、半透明、平滑、湿光を帯び粘性があった。ブイヨン、ペプトン水、ウシンスキー氏液、コーン氏液およびフェルミ氏液で中層の発育を示したが、菌株により発育の早いものと遅いものがみられた。

生理的性質において、バラ菌株は反応の違いにより2グループに分れた。グループ1には7菌株 (Ar R119, Ar R120, Ar R121, Ar R122, Ar R123, Ar R124, Ar R125)、グループ2には11菌株 (Ar R227, Ar R232, Ar R233, Ar R234, Ar R235, Ar R236, Ar R244, Ar R246, Ar R247, Ar R248, Ar R249) が含まれた。

グループ1と2は下記の26の性質で反応が異なっていた。すなわち、オキシダーゼ活性、3-ケトラクトースおよび硫化水素の産生、アルギニンの加水分解性、硝酸還元、硝酸塩存在下での嫌氣的発育、35℃での発育、2%食塩加用ペプトン水、Schroth *et al.* 培地、New and Kerr 培地、グリセロリン酸カルシウム培地、セレン酸ナトリウム寒天、Starr の基礎培地、コンゴレッドおよびアニリンブルー培地での発育、L-チロシン、酒石酸およびマロン酸の利用性、アスパラギンおよびアンモニウム塩の唯一炭素窒素源利用性、発育因子の要求性、クエン酸鉄アンモニウムでの薄膜の生成、リトマス牛乳、ラフィノース、エリスリトールおよびエタノールからの酸産生の諸性質に明瞭な差異が認められた。グループ1の中には硝酸還元反応で陽性を示す菌株と陰性を示す菌株が存在した。

一方、対照菌4菌株は、バラ菌株とはほぼ同様、25の生理的性質で反応が異なっており、IFO 13532 は At R7 と、IFO 13257 は At R11 と性質が一致していた。すなわち、バラ菌株のグループ1は IFO 13532 および At R7 と、グループ2は IFO 13257 および At R11 と細菌学的性質が一致した。

### GC 含量

バラ菌株の中から4菌株 (Ar R120, Ar R121, Ar R234, Ar R246) を選び DNA を調製した結果、それぞれ 500 ml の液体培養菌体から平均 700 μg の DNA が抽出され、紫外吸収比で1.82~1.86と純度の高い DNA が得られた。これらの GC 含量の測定を行った結果、Table 2 に示すような GC 含量が得られた。対照に用いた IFO 13257 および *E. coli* の GC 含量はそれぞれ59.6%、51.1%であった。バラ菌株の GC 含量は58.7%~60.7%で、グループ1に属する2菌株の間には差がみられたが、グループ2の2菌株には差がなく、IFO 13257 と同じ値であった。

Table 2. Comparison of DNA base composition of the hairy root pathogen of roses with those of *Agrobacterium rhizogenes* (IFO 13257) and *Escherichia coli* (B)

| Test                                                    | Rose isolates<br>Group 1 |         | Rose isolates<br>Group 2 |         | IFO<br>13257 | <i>E. coli</i><br>B |
|---------------------------------------------------------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|--------------|---------------------|
|                                                         | Ar R120                  | Ar R121 | Ar R234                  | Ar R246 |              |                     |
| DNA base composition <sup>a)</sup><br>(Mol% G+C of DNA) | 58.7                     | 60.7    | 59.6                     | 59.6    | 59.6         | 51.1                |

a) DNA base composition was determined by reversed-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) method.

## 考 察

バラおよびツルバラの毛根から分離された供試細菌はグラム陰性、白色集落、蛍光色素を産生せず、糖を酸化的に分解し、好気性、稗状で1～3本の周毛を有し、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, 1974)<sup>11)</sup> では、*Agrobacterium* 属細菌は主に3ケトラクトース産生、利用できるN源の種類、病原性(病徴)などによって4つの種に分類されている。すなわち、植物にがんしゅを作るものを *A. tumefaciens*, 非病原性のものを *A. radiobacter*, 植物に毛根を作るものを *A. rhizogenes*, *Rubus* 属にがんしゅを作るものを *A. rubi* としている。

しかし、最近改訂された Bergey's Manual of systematic Bacteriology (第1版, 1984)<sup>12)</sup> では、種名の下に新たに biovar (生理型) の名称が導入され、*A. tumefaciens* に biovar 1, 2, 3 が、*A. radiobacter*

に biovar 1, 2 が、*A. rhizogenes* に biovar 1, 2 が加えられた。このことは、*Agrobacterium* 菌の分類に関して、菌の biovar が重要なことを示している。

本研究で用いたバラ菌株は細菌学的性質の違いにより2つのグループに分けられ、グループ1は対照に用いた *A. radiobacter* biovar 1 (IFO 13532) および *A. tumefaciens* biovar 1 (At R7) と、グループ2は *A. rhizogenes* biovar 2 (IFO 13257) および *A. tumefaciens* biovar 2 (At R11) と細菌学的性質が一致した。すなわち、グループ1は biovar 1 に、グループ2は biovar 2 に属することが明らかとなった。これらバラ菌株の生理型を既報の生理型と比較対照するため、Table 3 を掲げた。バラ菌株の biovar 1 と2は、Bergey's Manual (1984) に記載の biovar 1 と2によく一致した。ただ、バラ菌株の biovar 1 はクエン酸利用性で異っていた。このことは逆に、細菌学的性質ではバラ菌株の biovar 1 は *A. tumefaciens* の biovar 1 や *A. radiobacter* の biovar 1 と区別できず、バラ菌株の biovar 2 は *A. rhizogenes*, *A. tumefa-*

Table 3. Diagnostic characteristics of biovars of the present isolates compared with those of the genus *Agrobacterium*<sup>a)</sup>

| Diagnostic test                                     | Present isolates        |                    | <i>A. rhizogenes</i> | <i>A. tumefaciens</i> |          | <i>A. radiobacter</i> |          |
|-----------------------------------------------------|-------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|
|                                                     | Biovar 1                | Biovar 2           | Biovar 2             | Biovar 1              | Biovar 2 | Biovar 1              | Biovar 2 |
| 3-ketolactose production                            | +                       | —                  | —                    | +                     | —        | +                     | —        |
| Kovac's oxidase                                     | +                       | —                  | —                    | +                     | —        | +                     | —        |
| H <sub>2</sub> S production                         | +                       | —                  | —                    | +                     | —        | +                     | —        |
| Ferric ammonium citrate                             | +                       | —                  | —                    | +                     | —        | +                     | —        |
| Growth at 35 C                                      | +                       | —                  | —                    | +                     | —        | +                     | —        |
| Growth in 2% NaCl pepton water                      | +                       | —                  | —                    | +                     | —        | +                     | —        |
| Growth on selective medium of Schroth <i>et al.</i> | +                       | —                  | —                    | +                     | —        | +                     | —        |
| Acid from ethanol                                   | +                       | —                  | —                    | +                     | —        | +                     | —        |
| Nitrate reduction                                   | d                       | —                  | —                    | d                     | —        | d                     | —        |
| Litmus milk reaction                                | alkali                  | acid               | acid                 | alkali                | acid     | alkali                | acid     |
| Growth on selective medium of New and Kerr          | —                       | +                  | +                    | —                     | +        | —                     | +        |
| Acid from erythritol                                | —                       | +                  | +                    | —                     | +        | —                     | +        |
| Growth factor requirement                           | —                       | +                  | +                    | —                     | +        | —                     | +        |
| Utilization of malonate                             | —                       | +                  | +                    | —                     | +        | —                     | +        |
| Utilization of tartrate                             | —                       | +                  | —                    | d                     | +        | —                     | +        |
| Utilization of citrate                              | +                       | +                  | +                    | —                     | +        | —                     | +        |
| Mol% G+C of DNA (Tm)                                | 58.7–60.7 <sup>b)</sup> | 59.6 <sup>b)</sup> | 59–63                | 57–63                 | 57–63    | 58–62.5               | 58–61    |

a) Data from Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1 (1984)

b) Determined by HPLC method

*ciens*, *A. radiobacter* の biovar 2 とは区別できないことを示している。Bergey の新版でも種の判別には病原性試験を使っている。バラ菌株の GC 含量は, biovar 1 の 2 菌株が 58.7% および 60.7%, biovar 2 の 2 菌株が共に 59.6% であったが, これらはいずれも既報の値の範囲内に入っていた (Table 3)。

以上, 本研究で用いたバラ菌株は, バラその他の植物に確かな発根性を有すること, 一連の細菌学的性質や GC 含量が *A. rhizogenes* のそれに近いことなどから判断して, Bergey's Manual (1984) に記載の *A. rhizogenes* biovar 1 および 2 と同定する。病名はバラ毛根病 (Hairy root of Roses) としたい。Bergey's Manual (1984) では, *A. rhizogenes* の biovar 1 に関する詳しい記載はないが, Keane ら<sup>10)</sup> や Holmes and Roberts ら<sup>9)</sup> はキュウリなどから分離された菌株で *A. rhizogenes* biovar 1 の存在を認めており, Constantino ら<sup>3)</sup> はそれらの菌株から病原性に係わる Ri プラスミドを検出している。本研究でも biovar 1 が分離されたことから, *A. rhizogenes* についても, biovar 1 は存在するものと考え。供試したバラ分離株 18 菌株のうち, 7 菌株は biovar 1 に属し, 他の 11 菌株は biovar 2 に所属したが, biovar 3 に所属する菌株はみられなかった。biovar 1 と 2 はバラ, ツルバラ双方から分離され, 病原性にも大きな差異は認めら

れなかった。ただし, バラ菌株はバラとトマトには病原性が強かったが, ニンジンには弱かった (Plate I)。この結果は, *A. rhizogenes* はニンジン disc からの発根を促すという報告<sup>2,11,12)</sup> と異なっていた。発生調査の中で, 根頭がんしゅ病が同時感染していた株がみられたが (Plate I), それらの病株からは本菌と根頭がんしゅ病菌が同時に分離された (未発表)。バラ根圏におけるこれら *agrobacteria* の生態を探ることは, 本病の発生機構の解明につながると考えられる。

## 摘 要

1979年から1984年にかけて, 静岡県下で発生したバラ毛根症の発生状況を調べ, 分離された病原細菌の細菌学的性質を検討した。供試した18菌株は病原性および82項目の細菌学的性質の試験結果から, *Agrobacterium rhizogenes* biovar 1 および 2 と同定された。病名をバラ毛根病 (Hairy root of Roses) とした。biovar 1 には 7 菌株, biovar 2 には 11 菌株が含まれた。biovar 1 と 2 の間には 26 項目の生理的性質で差がみられた。各 biovar 2 菌株ずつ, 計 4 菌株を供試して測定した菌の GC 含量は 58.7~60.7% の間にあった。

## 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 eds.), N. E., The Williams & Wilkins Co., Baltimore. pp. 264-267.
2. Ark, P. A. and Thompson, J. P. (1961). Phytopathology 51 : 69-71.
3. Constantino, P., Mauro, M. L., Micheli, G., Risuleo, G., Hooykaas, P. J. J. and Schilperoort, R. (1981). Plasmid 5 : 170-182.
4. 後藤正夫 (1981). 新植物細菌病学. ソフトサイエンス社, 東京. pp. 5-25.
5. Graham, P. H. and Parker, C. A. (1964). Plant and Soil XX, No. 3 : 383-396.
6. Hendrickson, A. A., Baldwin, I. L. and Ricker, A. J. (1934). J. Bact. 28 : 597-618.
7. Hildebrand, E. M. (1937). Plant disease Rep. 21 : 86-87.
8. 広瀬 進 (1973). 核酸実験法 下 (蛋白質核酸酵素別冊) pp. 4-8.
9. Holmes, B. and Roberts, P. (1981). J. Appl. Bact. 50 : 443-467.
10. Keane, P. J., Kerr, A. and New, P. B. (1970). Aust. J. Biol. Sci. 23 : 585-595.
11. 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. 224-254.
12. Moore, L. W., Anderson, A. and Kado, C. I. (1980). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (Schaad, N. W. ed.), American Phytopathological Society, Minnesota pp. 17-25.
13. Munneke, D. E., Chandler, P. A. and Starr, M. P. (1963). Phytopathology 53 : 788-799.
14. New, P. B. and Kerr, A. (1971). J. Appl. Bact. 34 : 233-236.
15. 太田光輝・西山幸司 (1984). 日植病報 50 : 197-204.
16. 岡部徳夫 (1945). 植物細菌病学. 朝倉書店, 東京. pp. 233-235.
17. Ricker, A. J., Banfield, W. M., Wright, W. H., Keitt, G. W. and Sagen, H. E. (1930). J. Agr. Research 41 : 507-540.

18. Schroth, M. N., Thompson, J. P. and Hildebrand, D. C. (1965). *Phytopathology* 55 : 645-647.
19. Starr, M. P. (1946). *J. Bact.* 52 : 187-194.
20. Tamaoka, J. and Komagata, K. (1984). *FEMS Microbiology Letters* 25 : 125-128.
21. 立石 晁 (1939). *日植病報* 9 : 180-183.
22. 富樫浩吾 (1950). *果樹病学*. 朝倉書店, 東京. pp. 31-33.
23. 富永時任 (1971). *農技研報* C25 : 205-306.

#### Explanation of plate

##### Plate I

1. Symptom of hairy root on the seedling of Floribunda rose induced by natural infection.
2. Symptom of hairy root on the seedling of Hybrid tea rose induced by natural infection.
3. Symptom of hairy root on the Hybrid tea rose induced by natural infection under greenhouse conditions.
4. Symptoms of hairy root mixed with crown gall on the Climbing rose induced by natural infection in the field. (center : crown gall)
5. Symptoms on the Multiflora rose induced by artificial wound inoculation with two biovars of the hairy root pathogen of roses. (left : biovar 1, center and right : biovar 2)
6. Symptoms on tomato induced by artificial wound inoculation with two biovars of the hairy root pathogen of roses. (left : biovar 1, right : biovar 2)
7. Discs of turnip inoculated with two biovars of the hairy root pathogen of roses. (left : biovar 1, right : biovar 2)
8. A disc of carrot inoculated with biovar 2 of the hairy root pathogen of roses.

Plate I

