

組織内共生微生物を用いた生育及び病害の制御

木嶋利男・天谷正行・郷間秀夫*¹・米内貞夫*²・大橋一夫*³・生井 潔
須永哲央・小栗尚子・橋田弘一*⁴・熊田欽丈*⁵・小林光子*²

I 緒 言

病原菌に何らかの活性を示す微生物は拮抗微生物と呼ばれている。拮抗微生物は土壤中や植物体上から容易に分離することができ、これを用いた病害の生物的防除は世界各国で種々試みられている。これらの拮抗微生物を利用した生物防除は次の5つの作用機作に類別される。

①抗生：病原菌に対して何らかの抗生物質を産生する微生物を利用する方法であり、生物防除では、研究が最も盛んな分野である。抗生物質としては *Bacillus* の産生する *bacitracin*, *Trichoderma* の産生する *trichodermin* 及び *gliotoxin*⁸⁹⁾, *Streptomyces* の産生する *methyl vinyl ketone*, *Pseudomonas* の産生する *pyrrol nitrin*^{17, 23, 24)}, *Siderophore*^{9, 78)}, バクテリオシン^{77, 88)} などが知られている。防除ではバラ根頭がんしゅ病^{28, 57, 58, 63, 64, 65, 67)}, ワタ苗立枯病²⁴⁾, カーネーション萎ちょう細菌病⁹²⁾, キュウリ疫病²⁷⁾, サツマイモ立枯病^{83, 84)}, ダイコン苗立枯病^{19, 20)}, トマト青枯病²⁶⁾ などの報告がある。

②寄生：病原菌に寄生する微生物を利用する方法であり、*Gliocladium* や *Trichoderma* が知られている。防除ではワタ立枯病^{21, 22)}, トマト苗立枯病¹⁵⁾, レタス菌核病^{1, 2)} などの報告がある。

③競争：病原菌と鉄、炭素、窒素、酸素などの栄養源や生息場所を競合する微生物を利用する方法であり、Lookwoodによってその概念が論じられ⁵⁶⁾, *Pseudomonas* や *Erwinia* などの根圏微生物が知られている。防除ではてんさい根腐病⁸⁰⁾, ジャガイモそうか病⁸⁵⁾, インゲン根腐病²⁵⁾, 小麦立枯病^{61, 80, 90, 91)} などの報告がある。

④誘導抵抗性：植物に抵抗性を誘導する微生物を利用する方法であり、非病原性の *Fusarium* や *Rhizoctonia*, VA菌根菌^{72, 73, 76)}, エンドファイト^{49, 50)} などが知られている。防除ではアボガド疫病⁸⁾, ベントグラス・ブラウンパッチ⁵⁾, サツマイモつる割病^{70, 71)}, イチゴ萎黄病⁸⁶⁾, トマト半身萎ちょう病^{3, 4)}, ナス半身萎ちょう病⁸²⁾, 小麦雪

腐小菌核病⁶⁰⁾, タバコ立枯病¹⁶⁾, トマト青枯病^{52, 53, 54, 79)} などの報告がある。

⑤アレロパシー：アレロパシー⁷⁴⁾ とは1937年に Molisch⁶²⁾ によって作られた言葉であり、我が国では他感作用と訳されている⁶⁹⁾。植物の産生する物質を利用する方法であり、物質としてはテルペン類⁶⁶⁾, ユグロン⁵⁹⁾, クマール酸などが明らかにされている。植生の遷移や混植、間作、輪作などの伝承農法で知られている。防除ではコンニャク乾腐病⁶⁸⁾, ジャガイモそうか病¹⁸⁾ などの報告がある。

しかしながら、これらの働きのある拮抗微生物を大量に培養し、これを茎葉に直接散布あるいは土壤に投入した場合には、防除効果がほとんど発現しない。これは拮抗微生物が土壤中や植物体上に定着せず、微生物の力が発現されないためと云われている。そこで、これを解決する手段として、これまでは拮抗微生物を土壤中や植物体上に定着させるため、①キャリアーに固定化して土壤中に投入する方法³⁶⁾, ②植物に対する親和性を利用し、種子混和や接種植物を混植する方法^{29, 30, 31, 32, 33, 38, 39, 40)} などを試みてきた。しかし、これらの方法も定着性に環境要因の影響を受け易く、微生物の定着性に不安定さがみられる。このため、防除効果は化学農薬におよばず、安定しない現状にあった。

防除効果を安定させるためには、拮抗微生物を植物に接種し、その植物の組織内に定着させることが最良である。しかし、植物の組織内には病原菌とその仲間しか定着できないと云われており、これまで種々の方法が試みられてきたが、一部の共生菌（VA菌根菌、エンドファイトなど）を除いて、植物の組織内に定着させることができなかった。ところが、組織内に有菌である例外植物がある。この例外植物であるシクラメンが有菌状態になる現象と、伝承的にウリ類で行われていた、断根挿し木法を組み合わせることによって、これまで無菌であった健全な植物の組織内に、微生物を共生させることが可能となった。

微生物を組織内に共生させた植物は病害に対して抵抗性を示し、また、生育が促進された。この結果、病害に対しては抵抗性品種と同程度の抵抗性を示し、拮抗微生物

* 1：栃木県立小山園芸高校

* 2：栃木県立農業大学校

* 3：故人

* 4：栃木県病害虫防除所

* 5：栃木県農務部農蚕課

物による防除効果が飛躍的に安定した。また、生育に対しても促進とわい化の反応がみられ、これによって生育の制御が可能となった。このように、これまで無菌であった健全な植物組織内に微生物を共生させることで、化学物質を用いずとも、微生物の働きで、病害と生育の制御が可能となり、微生物利用の新たな道が開発された。

なお、本稿の一部は日本植物病理学会^{10, 11, 12, 13, 14, 41, 42, 43, 46, 47, 48)}、日本植物病理学会第15及び16回土壤伝染病談話会^{34, 35)}、関東東山病害虫研究会^{44, 45)}、第6回国際植物病理学会⁴⁷⁾で報告したものであり、それらを取りまとめ、総合的な考察を加えたものである。

II 材料及び方法

1 シクラメン及びサツマイモの共生微生物

シクラメン及びサツマイモは細菌や糸状菌の汚染によって、培養が困難な植物であると云われ、組織内に微生物が内在すると考えられていた。そこで、これらの植物の組織内から微生物の分離を試みた。

1) 組織内からの分離

シクラメンでは宇都宮市で採集した健全な株を塊茎、芽、葉柄、葉身、花梗、花卉及び葯に分割し、これを塩化第二水銀1,000倍液で表面消毒した後、1%ペプトン水中で磨砕し、PDA及びNA培地に画線培養し、生じたコロニーを分離した。また、宇都宮市、真岡市、芳賀町、市貝町、鹿沼市で採集した種子を同様の方法で分離した。

サツマイモでは藤岡町、岩舟町、宇都宮市、壬生町、郡山市、結城市で採集した健全な株の蔓の頂部、宇都宮市で採集した蔓を葉節位順に分割した葉柄、茎及び塊茎、6、7、8、9及び10月の各月に宇都宮市で採集した蔓の頂部を、シクラメンと同様の方法でPDA、NA及び駒田培地³⁵⁾で培養し、生じたコロニーを分離した。

その他の植物として、コンニャクでは栗野町から採集した材料を、中肋と葉柄に分け、シクラメンと同様の方法で微生物を分離した。分離菌はコンニャクに対する病原性の有無を、有傷接種によって調べた。また、アンズリウム及びディーフェンバキアでは場内の保存株からシクラメンと同様の方法で、組織内から微生物を分離した。

なお、シクラメンでは炭そ病及び葉腐細菌病で発病した株及びサツマイモではつる割病で発病した株を、対照としてシクラメンと同様の方法で、微生物を分離した。

分離菌は土屋の方法⁴⁷⁾で保存し、一部を実験に供試した。同定は細菌については細菌学的性質を調べ、糸状菌については光学顕微鏡で形態を観察し、Barnett⁶⁾で形態を比較して同定した。

2) 組織内から分離された微生物の病原性と感染時期及び部位

(1) 病原性

シクラメンの無病徴組織内から分離された細菌74菌株、糸状菌24菌株、病株から分離された細菌7菌株、糸状菌9菌株、及びサツマイモの無病徴組織内から分離された細菌65菌株、糸状菌41菌株、病株から分離された糸状菌9菌株を供試した。

1/3MS培地で培養したシクラメン及びサツマイモにそれぞれの菌株を接種し、病徴の有無を調べ、接種菌を再分離した。

(2) 感染時期及び部位

シクラメンの種子は無菌であるが、成株になると細菌及び糸状菌で有菌状態となる。そこで、細菌及び糸状菌が何時、如何なる時期及び部位から感染するかについて検討した。

無殺菌用土に、18℃暗黒条件下で播種したシクラメン種子を、1日毎に採取し、組織内から前述の方法でNA培地に細菌を分離した。

3) 細菌学的性質

シクラメンの組織内から分離された3011, 3012, 3016, 3017, 3043, 3044, 3048, 3049, 3053, 3054, 3055, 3056, 3057, 3098, 3099, 3102, 3103, 3131, 3147及び3148菌株、サツマイモの組織内から分離された3001, 3002, 3005, 3006, 3084, 3085, 3118, 3119, 3120, 3121, 3122, 3123, 3137, 3138, 3139, 3140, 3141, 3144, 3145及び3146菌株を供試した。

グラム反応はRyu⁴⁵⁾の方法、OF試験はHugh and Leifsonの培地(ペプトン:2g, NaCl:5g, K₂HPO₄:0.3g, BTB:0.03g, グルコース:10g, 寒天:3g)、利用能試験はAyers, Rapp and Johnsonの培地(NH₄H₂PO₄:1g, KCl:0.2g, MgSO₄:0.2g, BTB:0.03g, 寒天:15gに各基質を1%添加)、デカルボキシラーゼはMoellerの培地(ペプトン:5g, 肉エキス:5g, グルコース:0.5g, BCP:0.01g, クレゾール赤:0.005g, ピリドキサル:0.005g)、ウレアーゼはChristensenの培地(ペプトン1g, NaCl:15g, グルコース:1g, KH₂PO₄:2g, 寒天:15g)、レバンはNAに5%シュクロースを添加した培地、リパーゼはナイトブルーで染色した綿実油をNAに1%添加した培地、蛍光色素の産生はキングB培地(ペプトン:20g, グリセリン20ml, KH₂PO₄:1.5g, MgSO₄:1.5g, 寒天15g)、エスクリンの加水分解はDyeの培地(ペプトン:10g, イーストエキストラクト:3g, エスクリン:1g, クエン酸鉄:

0.5 g)を用い、その他の性状は Cowan⁴⁶⁾の方法を用いた。

4) 共生微生物を利用した病害の防除

シクラメンでは3012, 3044, 3054及び3055菌株を、無菌培養したシクラメンに接種後、炭そ病菌 (*Colletotrichum cyclamenae*) を接種し、防除効果を調べた。

サツマイモでは3001, 3141, 3144及び3145菌株を、無菌培養したサツマイモに接種後、つる割病菌 (*Fusarium oxysporum f.sp. batatas*) を接種し、防除効果を調べた。

5) 共生細菌の混合培養がプロトプラストの生育に及ぼす影響

植物の組織内共生細菌は共生植物の細胞と共存関係にある。そこで、共生菌と各種植物のプロトプラストとの関係を調べた。

プロトプラストは1/3MS培地で培養したシクラメン、サツマイモ、ナス、ウド、ニンジン及びシードポテトの葉をCR-10:0.5%, ドリセラーゼ:0.24%, MR:0.125%, マンニトール:0.5M, CaCl₂:10mMの酵素液で25℃, 16時間処理で作成した。

シクラメンでは3011, 3012, 3016, 3017, 3043, 3044, 3048, 3049, 3053, 3054, 3055, 3056, 3057, 3098, 3099, 3102, 3103, 3131, 3147及び3148菌株、サツマイモでは3001, 3002, 3005, 3006, 3084, 3085, 3118, 3119, 3120, 3121, 3122, 3123, 3137, 3138, 3139, 3140, 3141, 3144, 3145及び3146菌株を用いた。

サッカロース:1%, マンニトール:0.5M, BA:0.5ppm, NAA:1ppm, 2, 4-D:0.2ppmを含むMS培地で25℃暗黒下で、供試菌とプロトプラストを混合培養し、プロトプラストの生育状態を光学顕微鏡で観察した。

6) 共生菌の抗生物質に対する反応

植物の組織内から、接種菌を選択的に分離するため、共生菌の各種抗生物質に対する感受性を調べた。

シクラメンでは3011, 3012, 3016, 3017, 3043, 3044, 3048, 3049, 3053, 3054, 3055, 3056, 3057, 3098, 3099, 3102, 3103, 3131, 3147及び3148菌株、サツマイモでは3001, 3002, 3005, 3006, 3084, 3085, 3118, 3119, 3120, 3122, 3123, 3137, 3138, 3139, 3140, 3141, 3144, 3145及び3146菌株を供試した。

アンピシリン、クロラムフェニコール、ゲンタマイシン、カナマイシン、ポリミキシン、ストレプトマイシン、テラマイシン及びバンコマイシンを各々1ppm添加したNA培地に植菌し、25℃で120時間培養し、生育の有無を調べた。

7) 共生菌の抗菌活性

組織内に細菌が共生したシクラメン及びサツマイモは病害に抵抗性を示すが、これのメカニズムを解明するため、共生細菌の *Fusarium* 菌に対する抗菌活性を調べた。

共生菌は抗生物質の反応試験に用いた菌株と同一の菌株を供試した。

90mmシャーレーにPDA培地を分注し、これに供試菌株と *F.oxysporum f.sp. lycopersici* 及び *F.oxysporum f.sp. batatas* を対峙培養し、抗菌活性を調べた。

2 胚軸切断接種挿し木法

組織内共生微生物を用い、シクラメン炭そ病及びサツマイモつる割病が防除されることが明らかになった。そこで、他の双子葉植物に対し、病原性を持たない微生物の組織内定着法と、これを用いた病害及び生育の制御を試みた。

1) 胚軸切断接種

サツマイモの無病徴組織内から分離された3001, 3085, 3141, 3145及び3146菌株を供試した。

トマト (品種:桃太郎)を用い、発芽後本葉2枚時に胚軸を切断した穂木、予め育苗したトマトの頂部から3枚目の茎を切断した穂木及び腋芽から採取した穂木を細菌浮遊液 (10⁸CFU/ml) に浸漬接種後、挿し木して苗を育成した。また、自根苗と同じ細菌浮遊液に浸根接種及び胚軸部に注射器で注入し、苗を育成した。

次に、それぞれの方法で共生菌を接種し、育成した苗を *F.oxysporum f.sp. lycopersici* race-2で汚染された用土に植え付け、防除効果を調べた。また、接種菌を再分離し、定着性の有無を調べた。

2) 胚軸切断捕捉法による共生微生物の分離・選抜

胚軸を切断し、これを挿し木すると、病原性を持たない微生物が、組織内に取り込まれることが明らかになった (胚軸切断接種法)。そこで、本現象を微生物の選抜法に応用した。

(1) トマト

発芽し、本葉が2枚に展開したトマト (品種:桃太郎) を胚軸から切断し、これを *F.oxysporum f.sp. lycopersici* race-2で汚染された用土に挿し木した。こうすると、ほとんどの株は萎ちよう病に感染し、発病枯死する。ところが、一部の株は発病せず健全に生育する。これは、植物に抵抗性を誘導する微生物が組織内に取り込まれたため、生ずるものと考えられる (胚軸切断捕捉法)。

そこで、健全に生育した株の組織内から、組織内共生微生物をシクラメンと同様の方法でNA培地に分離した。

次に、上記の方法でトマトの組織内から分離した2850~2867, 2888~2909の40菌株及びサツマイモの組織内から分離した3001, 3141, 3145及び3146菌株を胚軸切断し

たトマト（品種：桃太郎）に接種し、挿し木して苗を育成した。

育成した苗は上胚軸と下胚軸に分け、組織内から接種細菌を再分離し、定着性を調べた。

(2) その他の双子葉植物

子葉展開～本葉3枚までに生育したウリ科(キュウリ、スイカ、マスクメロン、プリンスメロン、カボチャ、シロウリ、マクワウリ、ユウガオ、ニガウリ、ヘチマ)、ナス科(トマト、ナス、ピーマン、トウガラシ)、アブラナ科(キャベツ、ダイコン、カブ、ハクサイ、ブロッコリー、ストック)、マメ科(ダイズ、アズキ、インゲン)、セリ科(ニンジン)、アカザ科(ホウレンソウ)、バラ科(イチゴ)、キク科(レタス、ベニバナ)、キンポウゲ科(デルフィニウム)、アオイ科(オクラ)、タデ科(ソバ、アイ)の胚軸を切断し、これを腐植に富む用土に挿し木して苗を育成した。

次に、育成したそれぞれの植物の組織内から、捕捉された微生物を、トマトと同様の方法でN A培地に分離した。その後分離された細菌を、分離植物に胚軸切断接種して定着性を調べた。

3) 細菌学的性質

胚軸切断捕捉法によって分離・選抜し、分離植物に定着性を示した以下の菌株、トマトから分離した2888、2889、2890、2891、2892、2893、2894、2895、2896及び2897菌株、ハクサイから分離した2911、2912、2913、2914及び2915菌株、キャベツから分離した4072、4073、4074、4075及び4076菌株、ブロッコリーから分離した4085、4086、4087、4088及び4089菌株、レタスから分離した4203、4204、4205、4215及び4216菌株を供試した。

細菌学的性質はシクラメン及びサツマイモの方法に準じた。

4) 胚軸切断接種法を用いた病害の防除

(1) トマト萎ちよう病の防除

胚軸切断捕捉法を用いて分離した2888、2889、2890、2891、2892、2893、2894、2895、2896及び2897菌株を供試した。本葉が2枚に生育したトマト（品種：桃太郎）の胚軸を切断し、これを細菌浮遊液（ $10^8\text{CFU}/\text{ml}$ ）に2時間浸漬後、挿し木して苗を育成した。育成された苗は *F.oxysporum f.sp.lycopersici* race-2で汚染された用土に植え付け、発病状況を調べた。

また、サツマイモの無病徴組織内から分離された3146菌株をトマト（品種：桃太郎）に上記の方法で胚軸切断接種して苗を育成した。育成された苗は小山市の一般栽培圃場に植え付け、発病状況を調べた。

(2) アブラナ科根こぶ病の防除

ハクサイでは3001、3084、3141、3145及び3146菌株、キャベツでは4067、4068、4069、4070、4071、4072、4073及び4074菌株、ブロッコリーでは4080、4081、4082、4083、4084、4085及び4086菌株を供試した。

本葉2枚に生育したハクサイ、キャベツ、ブロッコリーの胚軸を切断し（写真—1）これにトマトと同様の方法で供試菌を接種し、挿し木して苗を育成した。次に育成された苗を *Plasmidiophora brassicae*で汚染された用土に植え付け、発病状況を調べた。

(3) ウリ類つる割病の防除

ユウガオでは2842、2843、2844、2845、2846、2847、3001、3084、3141、3145及び3146菌株、黒ダネカボチャでは2961、2962、2963、2964、2965、2966、2967、2968、2969、2970、3001、3084、3141、3145及び3146菌株を供試した。

ユウガオ及び黒ダネカボチャとも、子葉が展開し、本葉が出始めた直後に、胚軸を切断し、トマトと同様の方法で供試菌を接種して苗を育成した。育成した苗は *F.oxysporum f.sp.lagenariae*で汚染した用土に植え付け、発病状況を調べた。

5) 胚軸切断接種されたトマトの生育反応

2850、2851、2852、2853、2854、2855、2856、2857、2858、2859、2860、2861、2862、2863、2864、2865、2867、2888、2889、2890、2891、2892及び2893菌株を供試した。

1/3MS培地に無菌播種し、本葉1.5葉に生育したトマトの胚軸を切断して切口に細菌浮遊液（ $10^8\text{CFU}/\text{ml}$ ）を接種した。次に1/3MS培地に挿し木し、25℃陽光定温器で60日間培養して生育状況を調べた。

III 実験結果

1 シクラメン及びサツマイモの共生微生物

1) 組織内からの分離

(1) シクラメン

健全なシクラメンの組織内からは、無菌培養で育成された株及び実生で育成された株のいずれからも、細菌（ $10^2\sim 10^4\text{CFU}/\text{g}$ ）及び糸状菌が分離された。

部位別では花卉及び葯を除く、塊茎、芽、葉柄、葉身、花梗から細菌及び糸状菌が分離された（第1、2表）。また、種子の内部からは細菌が2.6%、糸状菌が0.5%分離されたものの、ほとんどの種子は無菌であった（第3表）。

このように、健全なシクラメンでは、種子及び花器を除く部位が細菌及び糸状菌で、有菌状態にあることが明らかになった。

(2) サツマイモ

組織内共生微生物を用いた生育及び病害の制御

第1表 シクラメンの各部位から分離される細菌及び糸状菌（実生系）

分離部位	細菌 (CFU/g)	糸状菌	分離率 (%)
塊茎	1.1×10^2	1/14	7.1
芽	1.3×10^4	8/10	80.0
葉柄	4.6×10^4	1/15	6.7
葉身	2.1×10^2	4/15	26.7
花梗	3.0×10^2	1/13	7.7
花卉	0	0/11	0.0
約	0	0/11	0.0

第2表 シクラメンの各部位から分離される細菌及び糸状菌（培養系）

分離部位	細菌 (CFU/g)	糸状菌	分離率 (%)
塊茎	4.9×10^2	3/15	20.0
芽	2.8×10^4	5/10	50.0
葉柄	1.5×10^4	0/15	0.0
葉身	3.3×10^2	9/15	60.0
花梗	2.0×10^2	13/13	100.0
花卉	0	0/11	0.0
約	0	0/11	0.0

第3表 シクラメンの種子から分離される細菌及び糸状菌

細菌	分離率 (%)	糸状菌	分離率 (%)
29/1095	2.6	4/750	0.5

第4表 各地のサツマイモから分離される細菌及び糸状菌

分離場所	細菌 (CFU/g)	糸状菌	分離率 (%)
藤岡町	5.6×10^3	12/25	48.0
藤岡町	1.2×10^2	17/20	85.0
藤岡町	2.4×10^4	6/20	30.0
藤岡町	6.5×10^2	12/15	80.0
藤岡町	1.1×10^2	16/20	80.0
藤岡町	1.4×10^3	10/20	100.0
藤岡町	2.2×10^2	18/20	90.0
岩舟町	1.9×10^2	15/15	100.0
宇都宮市	1.8×10^4	18/20	90.0
壬生町	4.6×10^3	10/25	40.0
郡山市	8.8×10^3	3/3	100.0
結城市	3.2×10^4	5/5	100.0

第5表 サツマイモの各部位から分離される細菌及び糸状菌（宇都宮市）

分離部位	細菌 (CFU/g)	糸状菌	分離部位	細菌 (CFU/g)	糸状菌
芽	6.4×10^4	6/6	茎-6	2.8×10^3	0/3
茎-1	1.8×10^4	6/6	葉柄-6	3.5×10^2	0/3
葉柄-1	1.3×10^3	3/6	茎-7	2.0×10^4	1/3
茎-2	1.2×10^4	1/3	葉柄-7	1.4×10^2	0/3
葉柄-2	7.9×10^3	1/3	茎-8	2.1×10^3	0/3
茎-3	2.1×10^4	0/4	葉柄-8	4.0×10^2	0/3
葉柄-3	4.7×10^3	0/3	茎-9	8.1×10^2	1/3
茎-4	1.1×10^3	0/3	葉柄-9	5.0×10^2	1/3
葉柄-4	2.9×10^2	0/3	塊茎	2.6×10^2	0/3
茎-5	6.0×10^3	1/3			
葉柄-5	4.0×10^2	0/3			

分離部位は芽から順次数えた位置。頂芽、第1茎及び第1葉柄は6個体、他の部位はおのの3個体を分離した。

第6表 各時期にサツマイモから分離される細菌及び糸状菌（宇都宮市）

分離月	細菌 (CFU/g)	糸状菌
6	2.6×10^4	2/2
7	2.2×10^4	2/2
8	4.8×10^4	2/2
9	1.0×10^4	2/2
10	3.2×10^4	2/2

第7表 コンニャクの組織内からの細菌の分離及びこれの病原性

K-No	採集地	分離部位	生育速度	病原性	共生密度 中肋	25℃ 葉柄	K-No	採集地	分離部位	生育速度	病原性	共生密度 中肋	25℃ 葉柄
1	発光路 -1	中肋	F	-	$7.8 \cdot 10^4$	$1.6 \cdot 10^3$	41	百川 -2	中肋	F	-	$3.2 \cdot 10^3$	$3.2 \cdot 10^3$
2	" "	"	F	±	$5.0 \cdot 10^4$	0	42	" "	地際	F	-	$8.2 \cdot 10^3$	$1.6 \cdot 10^3$
3	" "	"	F	-	$3.7 \cdot 10^4$	$1.6 \cdot 10^3$	43	" "	"	F	-	$1.4 \cdot 10^3$	$5.6 \cdot 10^3$
4	" "	地際	L	±	$1.2 \cdot 10^5$	0	44	" "	中肋	L	-	$3.2 \cdot 10^3$	$8.0 \cdot 10^3$
5	" "	"	L	-	$1.1 \cdot 10^5$	$1.6 \cdot 10^3$	45	" "	"	L	-	$1.2 \cdot 10^4$	$1.2 \cdot 10^4$
6	発光路 -2	中肋	F	-	$5.9 \cdot 10^4$	$2.4 \cdot 10^3$	46	中永野	中肋	F	-	$1.0 \cdot 10^4$	0
7	" "	"	F	-	$2.1 \cdot 10^3$	$8.0 \cdot 10^3$	47	" "	"	F	-	$2.4 \cdot 10^3$	$4.8 \cdot 10^3$
8	" "	"	F	-	$8.0 \cdot 10^3$	$8.0 \cdot 10^3$	48	" "	"	F	-	$1.8 \cdot 10^3$	$9.8 \cdot 10^3$
9	" "	"	L	-	$2.4 \cdot 10^4$	$8.0 \cdot 10^3$	49	" "	"	L	-	$2.9 \cdot 10^3$	$4.0 \cdot 10^3$
10	" "	地際	F	-	$1.4 \cdot 10^5$	$8.0 \cdot 10^3$	50	" "	"	L	-	$1.6 \cdot 10^3$	$2.4 \cdot 10^3$
11	上粕尾 上	中肋	F	-	$9.1 \cdot 10^4$	$3.0 \cdot 10^3$	51	下永野	中肋	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$1.0 \cdot 10^3$
12	" "	"	F	-	$5.9 \cdot 10^3$	$2.4 \cdot 10^3$	52	" "	"	F	-	$1.4 \cdot 10^4$	0
13	" "	"	F	-	$1.5 \cdot 10^3$	$1.6 \cdot 10^3$	53	" "	"	F	-	$8.2 \cdot 10^4$	$1.6 \cdot 10^3$
14	" "	"	L	-	$6.6 \cdot 10^4$	0	54	" "	柄先	L	+	-	-
15	" "	"	L	-	$6.1 \cdot 10^4$	$8.0 \cdot 10^3$	55	" "	"	L	+	-	-
16	上粕尾下-1	地際	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	0	56	旧栗野	中肋	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$8.8 \cdot 10^4$
17	" "	"	F	-	$2.1 \cdot 10^5$	0	57	" "	"	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$>8.0 \cdot 10^3$
18	" "	"	F	-	$5.2 \cdot 10^4$	$1.6 \cdot 10^3$	58	" "	"	F	-	$9.5 \cdot 10^4$	0
19	" "	柄中	L	-	$1.6 \cdot 10^3$	$5.6 \cdot 10^3$	59	" "	"	L	-	$1.9 \cdot 10^3$	$3.1 \cdot 10^4$
20	" "	"先	L	-	$4.6 \cdot 10^4$	$4.0 \cdot 10^3$	60	" "	"	L	-	$4.3 \cdot 10^4$	0
21	上粕尾下-2	柄中	F	-	$4.3 \cdot 10^4$	$1.6 \cdot 10^3$	61	上粕尾下-1	中肋	L	-	0	0
22	" "	"先	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$2.1 \cdot 10^3$	62	下永野	中肋	L	-	0	0
23	" "	"	F	-	$1.1 \cdot 10^5$	$8.0 \cdot 10^3$	63	" "	"	L	-	$2.3 \cdot 10^3$	$8.0 \cdot 10^3$
24	" "	地際	L	-	$>8.0 \cdot 10^3$	0	64	" "	"	L	-	$>8.0 \cdot 10^3$	0
25	" "	柄先	L	-	$4.4 \cdot 10^4$	0	65	" "	塊茎	L	-	$4.9 \cdot 10^4$	0
26	中粕尾 -1	中肋	F	-	$1.2 \cdot 10^5$	$1.0 \cdot 10^3$	66	旧栗野	中肋	L	-	$>2.3 \cdot 10^3$	0
27	" "	"	F	-	$2.4 \cdot 10^5$	0	67	下永野	塊茎	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	0
28	" "	"	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$5.8 \cdot 10^3$	68	天子 三村	茎外	L	-	$3.3 \cdot 10^4$	$2.4 \cdot 10^3$
29	" "	"	L	-	$1.8 \cdot 10^5$	$7.3 \cdot 10^3$	69	" "	"	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$7.1 \cdot 10^4$
30	" "	柄先	L	-	$2.2 \cdot 10^4$	$1.8 \cdot 10^4$	70	" "	"	L	-	$7.2 \cdot 10^3$	$3.2 \cdot 10^3$
31	中粕尾 -2	中肋	F	-	$8.4 \cdot 10^4$	$2.2 \cdot 10^4$	71	" "	"	L	-	$1.7 \cdot 10^3$	$7.0 \cdot 10^3$
32	" "	"	F	-	$1.7 \cdot 10^5$	$4.0 \cdot 10^3$	72	" "	茎内	L	-	$9.8 \cdot 10^3$	$1.1 \cdot 10^3$
33	" "	"	F	-	$1.8 \cdot 10^5$	$5.8 \cdot 10^3$	73	天子 細谷-1	肋外	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$4.1 \cdot 10^4$
34	" "	"	L	+	$2.1 \cdot 10^3$	0	74	" "	肋内	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$8.4 \cdot 10^3$
35	" "	柄先	L	±	$2.0 \cdot 10^5$	$9.0 \cdot 10^3$	75	" "	"	F	-	$5.9 \cdot 10^4$	$3.4 \cdot 10^4$
36	百川 -1	中肋	F	-	$9.4 \cdot 10^3$	0	76	" "	茎外	L	-	$5.4 \cdot 10^4$	$2.0 \cdot 10^3$
37	" "	"	F	-	$4.7 \cdot 10^4$	$3.2 \cdot 10^3$	77	" "	茎内	F	-	$>8.0 \cdot 10^3$	$1.4 \cdot 10^3$
38	" "	"	F	-	$2.9 \cdot 10^4$	$8.0 \cdot 10^3$	78	天子 細谷-2	肋内	L	-	$6.0 \cdot 10^4$	0
39	" "	"	L	-	$2.4 \cdot 10^5$	$8.4 \cdot 10^3$	79	" "	"	L	-	$2.2 \cdot 10^3$	0
40	" "	"	L	-	$1.8 \cdot 10^4$	0	80	高岡 矢野	茎内	F	-	$1.8 \cdot 10^3$	$1.2 \cdot 10^3$

F: 生育が早い, L: 生育が遅い

組織内共生微生物を用いた生育及び病害の制御

第8表 シクラメンの組織内から分離された細菌の病原性

区 別	供 試 菌 株	病徴	再分離
無病徴株から 分離した細菌	3011, 3012, 3013, 3014, 3015, 3016, 3017, 3018 3019, 3020, 3043, 3044, 3045, 3046, 3047, 3048 3049, 3050, 3051, 3052, 3053, 3054, 3055, 3056 3057, 3058, 3059, 3060, 3061, 3062, 3098, 3099 3100, 3101, 3102, 3103, 3026, 3127, 3128, 3129 3130, 3131, 3132, 3133, 3134, 3147, 3148, 3149 3150, 3151, 3152, 3153, 3154, 3155, 3156, 3157 3158, 3159, 3160, 3161, 3162, 3163, 3164, 3165 3166, 3195, 3196, 3197, 3198, 3199, 3200, 3201 3203, 3204	—	+
病株から分離 した細菌	3021, 3022, 3023, 3024, 3025, 3026, 3027	+	+
無病徴株から 分離した糸状菌	C-01, C-02, C-03, C-04, C-05, C-06, C-07, C-08 C-09, C-10, C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16 C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-24	—	+
病株から分離 した糸状菌	PC-1, PC-2, PC-3, PC-4, PC-5, PC-6, PC-7, PC-8 PC-9	+	+

第9表 サツマイモの組織内から分離された細菌の病原性

区 別	供 試 菌 株	病徴	再分離
無病徴株から 分離した細菌	3001, 3002, 3003, 3004, 3005, 3006, 3007, 3008 3009, 3010, 3084, 3085, 3086, 3087, 3088, 3089 3090, 3091, 3092, 3093, 3094, 3095, 3096, 3097 3108, 3109, 3110, 3111, 3112, 3113, 3114, 3115 3116, 3117, 3118, 3119, 3120, 3121, 3122, 3123 3124, 3125, 3135, 3136, 3137, 3138, 3139, 3140 3141, 3142, 3143, 3144, 3145, 3146, 3184, 3185 3186, 3187, 3188, 3189, 3190, 3191, 3192, 3193 3194	—	+
無病徴株から 分離した糸状菌	U-01, U-02, U-03, U-04, U-05, U-06, U-07, U-08 U-09, F-01, F-03, F-04, F-06, F-07, F-08, F-10 F-11, F-12, F-13, F-14, F-15, H-01, H-03, H-04 H-05, H-06, H-07, H-08, H-10, H-11, H-12, H-13 H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21 H-22, H-23, H-24 F-02, F-05, F-09, H-02, H-09	— +	+
病株から分離 した糸状菌	P-01, P-02, P-03, P-04, P-05, P-06, P-07, P-08 P-09	+	+

健全なサツマイモの組織内からは、藤岡町、岩舟町、宇都宮市、壬生町、郡山市及び結城市のいずれの材料からも細菌 ($10^2 \sim 10^4$ CFU/g) 及び糸状菌が分離された (第4表、写真—3)。

また、組織内からの細菌及び糸状菌の分離率には、節位及び葉位と6～10月の採集時期は関係が認められなかった (第5、6表)。

このように、採集場所、部位及び時期に関係なく、健全なサツマイモの組織内には細菌及び糸状菌が共存することが明かとなった。

(3) その他

コンニャクでは20圃場80点のすべてのサンプルから、細菌 ($10^2 \sim 10^5$ CFU/g) が分離された。また、下永野の病葉と思われるサンプルを除き、分離細菌はコンニャクに対する病原性は認められなかった (第7表)。

また、健全なアンズリウム及びディーフェンバキアの組織内からは、細菌が分離された。

このように、サトイモ科のコンニャク、アンズリウム及びディーフェンバキアは、シクラメン及びサツマイモと同様に、健全な株の組織内に微生物が共存する、例外的な植物であることが明らかになった。

2) 組織内から分離された微生物の病原性と感染時期及び部位

(1) 病原性

シクラメンでは葉腐細菌病及び炭そ病から分離された細菌 (3021～3027) 7菌株及び糸状菌 (PC-1～PC-9) 9菌株はシクラメンに病原性が認められたが、無病徴組織内から分離された細菌74菌株及び糸状菌24菌株はシクラメンに病原性が認められなかった。また、接種菌はいずれも組織内から再分離され、組織内の定着性が認められた (第8表)。

サツマイモではつる割病から分離された糸状菌 (P-1～P-9) 9菌株はサツマイモに病原性が認められたが、無病徴組織内から分離された細菌65菌株及び糸状菌41菌株はサツマイモに病原性が認められなかった。また、接種菌はいずれも組織内から再分離され、組織内の定着性が認められた (第9表)。

このように、健全なシクラメン及びサツマイモの組織内に存在する細菌及び糸状菌は、病原性を持たず再分離されることから、組織内共生菌であることが明かとなった。

(2) 感染時期及び部位

シクラメンの組織内からは、播種約30日後、種子からの養分転流が終了し、子葉が展開した時期から細菌が分離された。また、最初に分離される部位は子葉葉柄 (胚

軸) であった。

3) 細菌学的性質

シクラメンから分離された細菌は、形態、グラム反応、OF試験など、同定上の重要な項目及び利用能試験において、共通する細菌学的性質は認められなかった。

3001, 3012, 3016, 3017, 3043, 3044, 3049 及び 3131 菌株は桿状であり、グラム陽性、好気性、周毛を有し、芽胞を形成するなどの性状から *Bacillus*, 3053 及び 3056 菌株は桿状であり、グラム陰性、通性嫌気性、周毛を有するなどの性状から *Erwinia*, 3054, 3098, 3099, 3103, 3147 及び 3148 菌株は桿状であり、グラム陰性、好気性、極鞭毛を有するなどの性状から *Pseudomonas* と同定された。しかし、3048, 3055, 3056 及び 3102 は同定できなかった (第10表)。また、糸状菌は *Cladosporium* 及び *Colletotrichum* と同定された (第11表)。

サツマイモから分離された3001, 3002及び3145菌株は桿状であり、グラム陽性、好気性、周毛を有し、芽胞を形成するなどの性状から *Bacillus*, 3144 及び 3146 菌株は桿状であり、グラム陰性、好気性、非水溶性黄色素を産生し、極鞭毛を有するなどの性状から *Xanthomonas*, 3084 及び 3085 菌株はグラム反応及びオキシダーゼの活性は陰性、好気性、極鞭毛を有するなどの性状から *Pseudomonas* と同定された。しかし、3005, 3006, 3118, 3119, 3120, 3121, 3122, 3123, 3137, 3138, 3139, 3140 及び 3141 菌株は同定できなかった (第12表)。また、糸状菌は *Fusarium*, *Rhizoctonia* 及び *Alternaria* と同定された (第13表)。

4) 共生微生物を利用した病害の防除

シクラメンでは無接種区がすべて炭そ病で発病枯死したが、3012, 3044, 3054 及び 3055 菌株接種区は発病が見られず、組織内共生細菌による防除効果が認められた (第14表、写真—4)。

サツマイモでもシクラメンと同様に無接種区がすべて発病枯死したが、3001, 3141, 3144 及び 3145 菌株接種区は発病が見られず、組織内共生細菌による防除効果が認められた (第15表、写真—5)。

5) 共生細菌の混合培養がプロトプラストの生育に及ぼす影響

シクラメンでは3011, 3012, 3016, 3017, 3054, 3055 及び 3056 菌株と混合培養したシクラメンのプロトプラストは、無処理と同等か良好な反応を示した (写真—6)。しかし、3044, 3048, 3049, 3053, 3057, 3098, 3099, 3102, 3131 及び 3193 菌株と混合培養したシクラメンプロトプラストは、枯死または生育不良となった。また、サツマイモ、ナス、ウド、ニンジン、ジャガイモのプロトプラストと混合培養した3012, 3044, 3054, 3055 及び 3131

第10表 シクラメンから分離された細菌の細菌学的性質

性 質	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
形態	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	多	多	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿
グラム反応	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F試験	周	周	周	周	周	周	周	周	F	O	+	+	F	O	O	O	O	+	O	O
鞭毛	一	一	一	+	一	一	一	一	一	極	一	一	一	極	極	極	極	一	極	一
硝酸呼吸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
硝酸塩の還元	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
芽生菌の活性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
芽生の液化	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
加水分解試験																				
IAIシン	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
7Aシン	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
7Mシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ Sの産生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
加水分解試験																				
スターチ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
グリーゼ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
綿実油	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
花白	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
レシチナーゼ	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
トリプシン	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ペクチン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
グルタミン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
インドールの産生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
蛍光色素	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
レバンの産生	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
41℃での生育	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
PCBに対する反応	KP	AC	KP	NN	AP	AP	AC	AC	AC	KP	NN	NN	AC	KP	KP	KP	KP	NN	NN	NN
加圧力	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
利用能試験																				
7Dトール	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
D-7Dトール	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
L-7Dトール	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
イソ辛	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
イソノール	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アクトース	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
スターチ	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
キシロース	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
グルキシロース	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ガラクトース	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
キシリトール	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
イソブチル	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
グルブチル	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
D-ヒドロキシ	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
7Aヒド	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

第10表の続き シクラメンから分離された細菌の細菌学的性質

性 質	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
トレハロース	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
グルコース	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
7αヒンギヨール	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
マンニトール	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
マンノース	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
アビオース	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ルクトース	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
α-メチルDグルコシド	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ソライノース	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ラムノース	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
キシース	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
アビシン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
安息香酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
アントラニル酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
イタコン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
アクリル酸	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
カプロン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
ギ酸	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
くえん酸	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
グルクン酸	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
コハク酸	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
イソカプロン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
D-酒石酸	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-酒石酸	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M-酒石酸	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
しょう酸	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
スルホン酸	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
スリン酸	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
セシン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
チン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
乳酸	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
馬尿酸	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
パルミン酸	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
m-h-安息香酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
ピリジン酸	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
ピリニル酸	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アール酸	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アトリスン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
アゾール	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アビオ外酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
アブチン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
アクリル酸	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
アロニン酸	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アリン酸	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アミチン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アトロニン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アノ酸	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

第10表の続き シクラメンから分離された細菌の細菌学的性質

性 質	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
芽胞の形成	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
運動性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
NaClでの生育																				
1%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
3%	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4%	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
5%	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
ウレアーゼ	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
カタラーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7H ₂ O ₂ の産生	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
利用能試験																				
7アミノ酸	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7アミノ酸	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-アミノ	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
L-アミノ	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7アミノ酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P-アミノ酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
L-イソイソ	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
L-グルタミン酸	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
グルタミン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-シスチン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-シスチン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
トリプトファン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
トリプトファン	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+
ニコチン酸	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-バリン	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-バリン	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
L-プロリン	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
バリン	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラクトース	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
メチル酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1:3011、2:3012、3:3016、4:3017、5:3043、6:3044、7:3048、8:3049、9:3053、10:3054、11:3055、12:3056、13:3057、14:3098、15:3099、16:3102、17:3103、18:3131、19:3147、20:3148のシクラメンから分離された栃木農試保存菌株。桿:桿状細菌。多:多形状細菌。O:酸化的にグルコースを分解する。F:発酵的にグルコースを分解する。周:周鞭毛。極:極鞭毛。+:陽性。 -:陰性。K:アルカリを生ずる。A:酸を生ずる。P:消化する。C:凝固する。N:変化を認めない。

利用試験において有機酸類は培地に添加後水酸化ナトリウムでPh6.8~7.2に調整して実験に供試した。

第11表 シクラメンから分離された細菌及び糸状菌の種類

分離部位	細菌	糸状菌
種子	Erwinia、未同定菌	未同定菌
塊茎	Erwinia、Pseudomonas Bacillus、未同定菌	Cladosporium Colletotrichum
芽	Erwinia、Pseudomonas Bacillus、未同定菌	Cladosporium Colletotrichum
葉柄	Erwinia、Bacillus 未同定菌	Cladosporium
葉身	Erwinia、Pseudomonas Bacillus、未同定菌	Cladosporium Colletotrichum
花梗	Erwinia、Pseudomonas Bacillus、未同定菌	Cladosporium
花卉	分離されない	分離されない
葯	分離されない	分離されない

第13表 サツマイモから分離された細菌及び糸状菌の種類

採集場所	細菌	糸状菌
藤岡町	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium Rhizoctonia
藤岡町	Pseudomonas、 Bacillus、未同定菌	Fusarium Rhizoctonia
藤岡町	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium Alternaria
藤岡町	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium Rhizoctonia
藤岡町	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium
藤岡町	Pseudomonas、 Bacillus、未同定菌	Fusarium
藤岡町	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium Rhizoctonia
岩舟町	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium 未同定菌
宇都宮市	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium
壬生町	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium
郡山市	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium
結城市	Pseudomonas、Xanthomonas Bacillus、未同定菌	Fusarium

組織内共生微生物を用いた生育及び病害の制御

第12表 サツマイモから分離された細菌の細菌学的性質

性 質	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
形態	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿	桿
グラム反応	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
OF試験	-	-	-	-	O	O	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	O	O	O
鞭毛	周	周	-	-	極	-	-	-	-	-	-	-	-	極	-	極	極	極	周	極
硝酸呼吸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
硝酸塩の還元	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼの活性	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
ゼインの液化	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
加水分解試験																				
L-アラニン	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
L-バリン	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
L-ロイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ Sの産生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
加水分解試験																				
スターチ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ゲートン80	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
綿実油	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ゼイン	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
レシチナーゼ	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
チロシナーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
アミノ酸																				
L-アラニン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-バリン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-ロイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
グルタミン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
インドールの産生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
蛍光色素	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
レバンの産生	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
41℃での生育	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
PCBの反応	KP	KP	KP	KP	KN	KN	KP	KP	KP	KP	KN	KP	KP	AP	KP	KP	KP	KN	AP	KN
グルコサミン	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
利用能試験																				
アミノ酸	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
D-アラビノース	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
L-アラビノース	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
イノシトール	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
イノシトール	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
ガラクトース	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
スターチ	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
キシロース	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
グリセリン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
グリセロール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サリシン	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
サッカロース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
グルシトール	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
D-セロビオース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
ソルビトール	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-

第12表の続き サツマイモから分離された細菌の細菌学的性質

性 質	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
トリファース	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	+	+	+
グルコース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	+	+	+
ガリツグリン	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	+	+	+
マンニトール	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+
マンノース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—
メビオース	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	+	+	+
メルトリース	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	+	—
α-メチルグルコシド	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—
アミノース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+	—	+	+	+
ラムノース	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—
リボース	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—
デライン酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
安息香酸	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
アトラン酸	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
イソクワ酸	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
グクワ酸	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—
カクワ酸	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ギ酸	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
くえん酸	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—
グルタル酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—
コハク酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—
チカリン酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+
D-酒石酸	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	+	+	—	+	—
L-酒石酸	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—
M-酒石酸	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—	—	—	+	—
しょう酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
スルフィニル酸	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	+	—
スバリン酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
セリン酸	+	—	—	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
チロニン酸	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
乳酸	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—
馬尿酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—
パルミン酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—
DL-安息香酸	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+
ピリジン酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—
ピリジン酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—
アマル酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—
アトラン酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
タジール	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	—
ガリツグリン酸	—	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	+	—	—	—
グタリン酸	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
イソクワ酸	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
アリン酸	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—
アリン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—
ミリスリン酸	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—
アトラン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アリン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	+

第12表の続き サツマイモから分離された細菌の細菌学的性質

性 質	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
芽胞の形成	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-
運動性	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
NaClでの生育																				
1%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
2%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
3%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
4%	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5%	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ウレアーゼ	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
カタラーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アモニの産生	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
利用能試験																				
アスパギン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
アミノ酸	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-
β-アラニン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
L-アミノ酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
アミノ酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
p-アミノ酸	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
L-イソチオシアン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-
L-グルタミン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
グルコン酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-
L-シスチン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-シロリン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
トリプトファン	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-
トリメチル	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
ニコチン酸	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+
L-バリン	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-
D-バリン	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
L-プロリン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
ペプチン	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-
ラクトース	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+
メチル酸				+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+

21: 3001、22: 3002、23: 3005、24: 3006、25: 3084、26: 3085、27: 3118、28: 3119、29: 3120、30: 3121、31: 3122、32: 3123、33: 3137、34: 3138、35: 3139、36: 3140、37: 3141、38: 3144、39: 3145、40: 3146のサツマイモから分離された栃木農試保存菌株。桿: 桿状細菌。多: 多形状細菌。O: 酸化的にグルコースを分解する。F: 発酵的にグルコースを分解する。周: 周鞭毛。極: 極鞭毛。+: 陽性。 -: 陰性。K: アルカリを生ずる。A: 酸を生ずる。P: 消化する。C: 凝固する。N: 変化を認めない。利用能試験において有機酸類は培地に添加後水酸化ナトリウムでpH 6.8~7.2に調整して実験に供した。

第14表 共生細菌を用いたシクラメン炭そ病の防除

区 別	発病株／供試株
3012菌株接種	0／3
3044菌株接種	0／3
3054菌株接種	0／3
3055菌株接種	0／3
無 接 種	3／3

第15表 共生細菌を用いたサツマイモつる割病の防除

区 別	発病株／供試株
3001菌株接種	0／3
3141菌株接種	0／3
3144菌株接種	0／3
3145菌株接種	0／3
無 接 種	3／3

第16表 シクラメンの無病微組織内から分離された細菌との混合培養がシクラメンのプロトプラストに及ぼす影響

細菌の生存の有無	供 試 菌 株	プロトプラストの反応
有	3053、3057、3098 3099、3102、3193 3147、3148	× 不良
	3044、3048、3049	△ やや不良
	3011、3054、3056	○ 無処理と同等
	3012、3055	◎ 良好
無	3131	△ やや不良
	3016、3017	○ 無処理と同等

無処理に較べてプロトプラストの生育が不良：×、無処理に較べてプロトプラストの生育がやや不良：△、無処理に較べてプロトプラストの生育が同等：○、無処理に較べてプロトプラストの生育が良好：◎。

第17表 シクラメンの無病微組織内から分離された細菌との混合培養が各種のプロトプラストに及ぼす影響

供試菌株	シクラメン	ナス	ウド	ニンジン	ジャガイモ
3012	◎	◎	△	×	△
3044	△	△	△	△	◎
3054	○	×	△	×	◎
3055	◎	×	△	○	◎
3131	△	◎	△	○	◎

無処理に較べてプロトプラストの生育が不良：×、無処理に較べてプロトプラストの生育がやや不良：△、無処理に較べてプロトプラストの生育が同等：○、無処理に較べてプロトプラストの生育が良好：◎。

第18表 サツマイモの無病微組織内から分離された細菌との混合培養が
サツマイモのプロトプラストに及ぼす影響

細菌の生存の有無	供 試 菌 株	プロトプラストの反応
有	3120、3121	× 不良
	3005、3006、3119	△ やや不良
	3084、3122、3123 3137、3139、3140 3141、3144、3145	○ 無処理と同等
	3085、3118、3146	◎ 良好
無	3001	△ やや不良
	3002、3138	○ 無処理と同等

無処理に較べてプロトプラストの生育が不良：×、無処理に較べてプロトプラストの生育がやや不良：△、無処理に較べてプロトプラストの生育が同等：○、無処理に較べてプロトプラストの生育が良好：◎。

第19表 サツマイモの無病微組織内から分離された細菌との混合培養が各種の
プロトプラストに及ぼす影響

供試菌株	サツマイモ	シクラメン	ナス	ウド	ニンジン	ジャガイモ
3001	△	○	×	△	◎	◎
3141	○	○	○	◎	◎	◎
3144	○	◎	△	○	◎	◎
3145	○	○	△	◎	○	○

無処理に較べてプロトプラストの生育が不良：×、無処理に較べてプロトプラストの生育がやや不良：△、無処理に較べてプロトプラストの生育が同等：○、無処理に較べてプロトプラストの生育が良好：◎。

菌株は、植物の種類によって異なった反応を示した(第16, 17表)。

サツマイモでは3002, 3084, 3085, 3118, 3122, 3123, 3137, 3138, 3139, 3140, 3141, 3144, 3145及び3146菌株と混合培養したサツマイモのプロトプラストは無処理と同等か良好な反応を示した。しかし, 3001, 3005, 3006, 3119, 3120及び3121菌株と混合培養したサツマイモプロトプラストは枯死または生育不良となった。また, シクラメン, ナス, ウド, ニンジン, ジャガイモのプロトプラストと混合培養した3001, 3141, 3144及び3145菌株はシクラメン共生菌と同様, 植物の種類によって異なった反応を示した(第18, 19表)。

6) 共生菌の抗生物質に対する反応

シクラメン及びサツマイモから分離された細菌の抗生物質に対する反応は, 菌株によって異なる反応を示したが, テトラサイクリンには耐性を示す菌株が多く, 逆にクロラムフェニコールには感受性を示す菌株が多い傾向が認められた(第20表)。

7) 共生菌の抗菌活性

シクラメンから分離された3011, 3012, 3043, 3044, 3049, 3053, 3057, 3098, 3099, 3102, 3103及び3147菌株は *Fusarium* 菌に抗菌活性が認められた。しかし, 3016, 3017, 3048, 3054, 3055, 3056及び3131菌株では抗菌活性は認められなかった。

第20表 サツマイモ及びシクラメンの無病微組織内から分離された細菌の抗性物質に
 体する感受性試験結果

供試菌株	NA	Am	Ch	Ge	Ka	Po	St	Te	Va
3011	+	-	-	-	-	+	-	-	-
3012	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3016	+	-	-	-	-	-	-	+	-
3017	+	-	-	-	-	-	-	+	-
3043	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3044	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3048	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3049	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3053	+	+	-	-	-	-	+	+	+
3054	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3055	+	-	-	+	+	+	+	+	-
3056	+	+	-	-	-	-	+	+	-
3057	+	+	-	-	-	-	+	+	+
3098	+	+	+	-	-	+	+	+	+
3099	+	+	+	-	-	+	+	+	+
3102	+	+	+	-	-	+	-	+	+
3103	+	+	+	-	-	+	-	+	+
3131	+	-	+	-	-	+	-	+	+
3147	+	+	+	-	-	+	-	+	+
3148	+	+	+	-	-	+	-	+	+
3001	+	-	-	-	-	-	-	+	-
3002	+	-	-	-	-	+	-	+	-
3005	+	-	-	+	+	+	-	+	-
3006	+	-	-	+	+	+	-	+	-
3084	+	+	-	-	-	-	+	+	+
3085	+	+	-	-	-	-	-	+	+
3118	+	-	-	+	+	+	-	+	-
3119	+	-	-	+	+	+	+	+	-
3120	+	-	-	+	+	+	+	+	-
3121	+	+	-	+	+	+	-	+	-
3122	+	+	-	-	-	+	-	+	-
3123	+	-	+	+	+	+	+	+	-
3137	+	+	-	+	+	-	-	+	+
3138	+	-	-	-	-	-	-	+	-
3139	+	+	-	+	+	-	-	+	+
3140	+	+	-	-	-	-	-	+	+
3141	+	+	-	+	+	-	-	+	+
3144	+	+	-	+	-	+	+	+	+
3145	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3146	+	+	-	+	-	+	+	+	+

NA: ニュートリエントアガー(無処理)、Am: アンピシリン、Ch: クロラムフェニール、Ge
 ゲンタマイシン、Ka: カナマイシン、Po: ポリミキシン、St: ストレプトマイシン、Te: テラ
 マイシン、Va: バンコマイシン。

各抗性物質を1ppm添加したNA培地でそれぞれの細菌を植菌後25℃で120時間培養して生育
 の有無を調べた。

組織内共生微生物を用いた生育及び病害の制御

第21表 サツマイモ及びシクラメンの無病微組織内から分離された細菌と病原菌の対じ
培養試験 (PDA培地)

共試菌株	<i>F.oxysporum f.sp.lycopersici</i>	<i>F.oxysporum f.sp.batatas</i>
3011	+	+
3012	+	+
3016	-	-
3017	-	-
3043	+	+
3044	+	+
3048	-	-
3049	+	+
3053	+++	+++
3054	-	-
3055	-	-
3056	-	-
3057	-	+++
3098	+	+++
3099	+++	+++
3102	+++	+++
3103	+++	+++
3131	-	-
3147	+++	+++
3148	-	+++
3001	-	-
3002	-	-
3005	-	+
3006	-	+
3084	-	-
3085	-	+
3118	+	+
3119	-	+
3120	-	+
3121	-	+
3122	-	-
3123	+	+
3137	-	-
3138	-	-
3139	+	-
3140	-	-
3141	-	-
3144	-	-
3145	+++	+
3146	+	-

第22表 胚軸切断接種法による微生物の組織内定着とトマト萎ちょう病の防除

供試菌株	接種部位	組織内からの再分離	発病株数/供試株数
3001	胚軸切断	1×10^4 CFU/g	0/3
	切断した茎	0	3/3
	腋芽	0	3/3
	根部	0	3/3
	胚軸に注入	0	3/3
3085	胚軸切断	1×10^4 CFU/g	0/3
	切断した茎	0	3/3
	腋芽	0	3/3
	根部	0	3/3
	胚軸に注入	0	3/3
3141	胚軸切断	1×10^4 CFU/g	0/3
	切断した茎	0	3/3
	腋芽	0	3/3
	根部	0	3/3
	胚軸に注入	0	3/3
3145	胚軸切断	1×10^4 CFU/g	0/3
	切断した茎	0	3/3
	腋芽	0	3/3
	根部	0	3/3
	胚軸に注入	0	3/3
3146	胚軸切断	1×10^4 CFU/g	0/3
	切断した茎	0	3/3
	腋芽	0	3/3
	根部	0	3/3
	胚軸に注入	0	3/3

第23表 トマトにおける胚軸切断挿し木法により組織内にトラップされた細菌の組織内定着

供試菌株	下胚軸からの再分離	上胚軸からの再分離
2850	7. 9×10^3 CFU/g	3. 9×10^3 CFU/g
2851	5. 1×10^3 CFU/g	5. 0×10^3 CFU/g
2852	2. 5×10^3 CFU/g	1. 4×10^3 CFU/g
2853	600 $\times 10^3$ CFU/g	0. 9×10^3 CFU/g
2854	2. 3×10^3 CFU/g	1. 7×10^3 CFU/g
2855	600 $\times 10^3$ CFU/g	3. 4×10^3 CFU/g
2856	300 $\times 10^3$ CFU/g	2. 0×10^3 CFU/g
2857	600 $\times 10^3$ CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2858	27. 7×10^3 CFU/g	8. 5×10^3 CFU/g
2859	83. 1×10^3 CFU/g	1. 1×10^3 CFU/g
2860	41. 9×10^3 CFU/g	3. 7×10^3 CFU/g
2861	300 $\times 10^3$ CFU/g	8. 5×10^3 CFU/g
2862	9. 6×10^3 CFU/g	8. 9×10^3 CFU/g
2863	600 $\times 10^3$ CFU/g	1. 5×10^3 CFU/g
2864	600 $\times 10^3$ CFU/g	20. 2×10^3 CFU/g
2865	7. 5×10^3 CFU/g	3. 8×10^3 CFU/g
2866	600 $\times 10^3$ CFU/g	1. 0×10^3 CFU/g
2867	9. 6×10^3 CFU/g	11. 6×10^3 CFU/g
2888	8. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2889	300 $\times 10^3$ CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2890	3. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2891	3. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2892	5. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2893	0. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2894	40. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2895	2. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2896	300 $\times 10^3$ CFU/g	300 $\times 10^3$ CFU/g
2897	300 $\times 10^3$ CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2898	300 $\times 10^3$ CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2899	300 $\times 10^3$ CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2900	300 $\times 10^3$ CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2901	30 $\times 10^3$ CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2902	2. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2903	20. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2904	0. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2905	20. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2906	30. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2907	5. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2908	50. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
2909	2. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
3001	600 $\times 10^3$ CFU/g	60 $\times 10^3$ CFU/g
3085	2. 0×10^3 CFU/g	0. 0×10^3 CFU/g
3141	20 $\times 10^3$ CFU/g	20 $\times 10^3$ CFU/g
3145	20 $\times 10^3$ CFU/g	20 $\times 10^3$ CFU/g
3146	30 $\times 10^3$ CFU/g	3 $\times 10^3$ CFU/g

子葉展開～本葉3枚の生育ステージになったトマトの胚軸を切断して、これを無殺菌土壌に挿し木して苗を育成し、常法により、組織内から微生物を分離した。次に、分離された微生物は胚軸切断接種法によりトマトに接種して下胚軸及び上胚軸から常法により再分離した。

サツマイモから分離された 3005, 3085, 3118, 3119, 3120, 3121, 3123, 3139, 3145 及び 3146 菌株は *Fusarium* 菌に抗菌活性が認められた。しかし, 3001, 3002, 3085, 3122, 3137, 3138, 3140 及び 3141 菌株では抗菌活性は認められなかった (第 21 表)。

2 胚軸切断接種挿し木法

1) 胚軸切断接種

胚軸切断接種区は 3001, 3085, 3141, 3145 及び 3146 菌株のいずれの細菌を接種した場合も, 細菌が組織内に定着し, 萎ちょう病の防除効果が認められた。しかし, 茎を切断した穂木, 腋芽, 自根及び胚軸部注入接種区はいずれの細菌も組織内に定着せず, また防除効果も認められなかった (第 22 表)。

このように, 胚軸を切断した場合にのみ, 病原性を持たない微生物が組織内に定着する。また, 組織内に微生物が定着したトマトは萎ちょう病に抵抗性を示すことが明らかになった。

胚軸切断によって, 組織内に微生物が取り込まれるのは, 子葉展開～本葉 3 枚までの期間であり, 子葉未展開及び本葉 3 枚以上の生育ステージであると, 組織内に取り込まれなかった。また, 組織内に取り込まれた細菌は, 細胞間隙及び維管束に観察されたが, 細胞内と果実では認められなかった。

2) 胚軸切断捕捉法による共生微生物の分離・選抜

(1) トマト

病土に挿し木され, 健全に生育したトマトの組織内からは 2850～2867, 2888～2909 の 40 菌株が分離された。

分離された 40 菌株の内 38 菌株は, 胚軸切断接種法で組織内に定着し, 接種菌株は下胚軸から $10^3 \sim 10^5$ CFU/g の密度で再分離された。しかし, 2893 及び 2940 菌株は組織内に定着せず, 再分離されなかった。また, 下胚軸と上胚軸への定着性には菌株によって差が見られ, 下胚軸に定着する菌株が, かならずしも上胚軸まで定着するとは限らなかった。

また, サツマイモの組織内から分離された 3001, 3085, 3141, 3145 及び 3146 菌株は, いずれも胚軸切断接種法でトマトの組織内に定着し, 再分離された (第 23 表)。

(2) その他双子葉植物

胚軸切断捕捉法によってユウガオからは 2842～2847 の 6 菌株, キュウリからは 2878～2887 の 10 菌株, 黒ダネカボチャからは 2961～2970 の 10 菌株, メロンからは 2983～2993 の 11 菌株, スイカからは 2995～3000 及び 4051～4056 の 12 菌株, ヘチマからは 4104～4113 の 10 菌株, ニガウリからは 4114～4123 の 8 菌株, マクワウリからは 4124～4128 の 5 菌株, シロウリからは 4129～4133 の 5 菌株,

ダイズからは 2923～2934 の 12 菌株, ダイコンからは 4057～4066 の 10 菌株, キャベツからは 4067～4079 の 13 菌株, ブロッコリーからは 4080～4090 の 9 菌株, インゲンからは 4091～4101 の 11 菌株, イチゴからは 4144～4153 及び 4182～4191 の 20 菌株, ピーマンからは 4160～4169 の 10 菌株, デルフィニウムからは 4170～4181 の 10 菌株, ストックからは 4197～4202 の 6 菌株, レタスからは 4203～4217 及び 4293～4302 の 25 菌株, ソバからは 4221～4232 の 12 菌株, オクラからは 4233～4242 の 10 菌株, アズキからは 4243～4252 の 10 菌株, アイからは 4254～4266 の 13 菌株, ペニバナからは 4267～4282 の 16 菌株, ニンジンからは 4283～4287 の 5 菌株及びカブからは 4288～4292 の 5 菌株が分離された。

また, いずれの分離菌株も胚軸切断接種法で, 分離植物の組織内に定着し, 再分離された (第 24 表)。

3) 細菌学的性質

トマトの組織内から分離された 2888, 2889, 2890, 2891, 2892, 2893, 2894, 2895, 2896 及び 2897 菌株はいずれも桿状であり, 極鞭毛を有し, グラム陰性, オキシダーゼの活性は陽性, 好気性, 硝酸塩を還元し, 蛍光色素を産生しないことなどから *Pseudomonas* と同定される (第 25 表)。

ハクサイの組織内から分離された 2911 及び 2912 菌株は桿状であり, 極鞭毛を有し, グラム陰性, オキシダーゼの活性は陽性, 好気性, 硝酸塩を還元し, 蛍光色素を産生することなどから蛍光性の *Pseudomonas*, 2913, 2914 及び 2915 菌株は桿状であり, 極鞭毛を有し, グラム陰性, 好気性, 硝酸塩の還元及び蛍光色素の産生は陰性などから非蛍光性の *Pseudomonas* と同定される (第 26 表)。

キャベツの組織内から分離された 4072, 4073, 4074, 4075 及び 4076 菌株及びブロッコリーの組織内から分離された 4085, 4086, 4087, 4088 及び 4089 菌株は桿状であり, 極鞭毛を有し, グラム陰性, 好気性, 硝酸塩の還元, オキシダーゼの活性及び蛍光色素の産生は陽性, ピルビン酸, ラムノース及びフラクトースは利用するが, 他の有機酸類及び糖類はほとんど利用できないことなどから, これまでに知られていない新種の *Pseudomonas* と同定される (第 27, 28 表)。

レタスの組織内から分離された 4203, 4204, 4205, 4215 及び 4216 菌株はいずれも桿状であり, 極鞭毛を有し, グラム陰性, 好気性, 蛍光色素を産生しないことなどから *Pseudomonas* と同定される (第 29 表)。

4) 胚軸切断接種法を用いた病害の防除

(1) トマト萎ちょう病の防除

胚軸切断捕捉法によって分離された細菌は菌株によっ

第24表 各種双葉子葉植物から胚軸切断捕捉法によって分離した細菌と分離植物の組織内への定着性

分離植物名	番号	再分離菌密度	分離植物名	番号	再分離菌密度	分離植物名	番号	再分離菌密度	分離植物名	番号	再分離菌密度
ユウガオ	2842	$110 \times 10^3 \text{CFU/g}$	スイカ	4053	○	ダイコン	4057	○	イチゴ	4147	○
	2843	$12 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4054	○		4058	○		4148	○
	2822	$1 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4055	○		4059	○		4149	○
	2845	$15 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4056	○		4060	○		4150	○
	2846	$1 \times 10^3 \text{CFU/g}$	ヘチマ	4104	○		4061	○		4151	○
	2847	$124 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4105	○		4062	○		4152	○
キュウリ	2878	$10 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4106	○		4063	○		4153	○
	2879	$18 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4107	○		4064	○		4182	○
	2880	$174 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4108	○		4065	○		4183	○
	2881	$19 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4109	○		4066	○		4184	○
	2882	$5 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4110	○	キャベツ	4067	○		4185	○
	2883	$18 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4111	○		4068	○		4186	○
	2884	$11 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4112	○		4069	○		4187	○
	2885	$30 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4113	○		4070	○		4188	○
	2886	$5 \times 10^3 \text{CFU/g}$	ニガウリ	4114	○		4071	○		4189	○
	2887	$5 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4115	○		4072	$252 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4190	○
黒ダネカボ	2961	○		4116	○		4073	$128 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4191	○
チャ	2962	○		4117	○		4074	$155 \times 10^3 \text{CFU/g}$	ピーマン	4160	○
	2963	○		4118	○		4075	$123 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4161	○
	2964	○		4119	○		4076	$304 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4162	○
	2965	○		4120	○		4077	$130 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4163	○
	2966	○		4123	○		4078	○		4164	○
	2967	○	マクワウリ	4124	○		4079	○		4165	○
	2968	○		4125	○	ブロッコリー	4080	○		4166	○
	2969	○		4126	○		4081	○		4167	○
	2970	○		4127	○		4082	○		4168	○
メロン	2983	○		4128	○		4083	○		4169	○
	2984	○	シロウリ	4129	○		4084	○	デルフィニ	4170	○
	2985	○		4130	○		4085	$349 \times 10^3 \text{CFU/g}$	ウム	4171	○
	2986	○		4131	○		4086	$510 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4172	○
	2987	○		4132	○		4089	$259 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4173	○
	2988	○		4133	○		4090	$992 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4174	○
	2989	○	ダイズ	2923	$2 \times 10^3 \text{CFU/g}$	インゲン	4091	$580 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4175	○
	2990	○		2924	$0.2 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4092	○		4176	○
	2991	○		2925	$2 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4093	○		4177	○
	2992	○		2926	$3 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4094	○		4178	○
	2993	○		2927	$3 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4095	○		4179	○
スイカ	2995	○		2928	$3 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4096	○		4180	○
	2996	○		2929	$2 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4097	○		4181	○
	2997	○		2930	$1 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4098	○	ストック	4197	○
	2998	○		2931	$0.5 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4099	○		4198	○
	2999	○		2932	$3 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4100	○		4199	○
	3000	○		2933	$3 \times 10^3 \text{CFU/g}$		4101	○		4200	○
	4051	○		2934	$0.5 \times 10^3 \text{CFU/g}$	イチゴ	4144	○		4201	○
	4052	○					4145	○		4202	○
							4146	○			

○：組織内から接種細菌が再分離される

○：組織内から接種細菌が再分離される

第 24 表の続き

分離植物名	番号	再分離菌密度	分離植物名	番号	再分離菌密度
ダイコン	4057	○	イチゴ	4147	○
	4058	○		4148	○
	4059	○		4149	○
	4060	○		4150	○
	4061	○		4151	○
	4062	○		4152	○
	4063	○		4153	○
	4064	○		4182	○
	4065	○		4183	○
	4066	○		4184	○
キャベツ	4067	○	ピーマン	4185	○
	4068	○		4186	○
	4069	○		4187	○
	4070	○		4188	○
	4071	○		4189	○
	4072	252 × 10 ³ CFU/g		4190	○
	4073	128 × 10 ³ CFU/g		4191	○
	4074	155 × 10 ³ CFU/g		4160	○
	4075	123 × 10 ³ CFU/g		4161	○
	4076	304 × 10 ³ CFU/g		4162	○
ブロッコリー	4077	130 × 10 ³ CFU/g	デルフィニウム	4163	○
	4078	○		4164	○
	4079	○		4165	○
	4080	○		4166	○
	4081	○		4167	○
	4082	○		4168	○
	4083	○		4169	○
	4084	○		4170	○
	4085	349 × 10 ³ CFU/g		4171	○
	4086	510 × 10 ³ CFU/g		4172	○
インゲン	4089	259 × 10 ³ CFU/g	ウム	4173	○
	4090	992 × 10 ³ CFU/g		4174	○
	4091	580 × 10 ³ CFU/g		4175	○
	4092	○		4176	○
	4093	○		4177	○
	4094	○		4178	○
	4095	○		4179	○
	4096	○		4180	○
	4097	○		4181	○
	4098	○	ストック	4197	○
イチゴ	4099	○		4198	○
	4100	○		4199	○
	4101	○		4200	○
	4144	○		4201	○
	4145	○		4202	○
	4146	○			

○：組織内から接種細菌が再分離される

てトマト萎ちょう病の防除効果に差が見られた。2895 菌株は高い防除効果が認められ、次いで、2891 及び 2892 菌株が防除効果が認められた。しかし、2889、2890、2893、2894、2896 及び 2897 菌株は無接種及び自根より発病が多く、発病促進に働いた（第 30 表）。

小山市の一般圃場における現地試験では、サツマイモの組織内から分離された 3146 菌株を胚軸切断接種した区は、抵抗性台木に接木した区よりは防除効果は劣ったが、自根に較べて高い防除効果が認められ、胚軸切断接種法による土壌病害の防除法が、一般圃場で実証された（第 31 表）。

(2) アブラナ科根こぶ病の防除

アブラナ科根こぶ病の防除ではハクサイ、キャベツ、ブロッコリーとも、接種菌株によって防除効果に差が認められた。

ハクサイでは 3145 及び 3146 菌株接種区は無接種及び自根区に較べ高い防除効果が認められ、生育促進効果が認められた。しかし、3001、3084 及び 3141 菌株接種区は防除効果は認められなかった（第 32 表）。

キャベツでは 4071 菌株接種区は完全に根こぶ病を抑え、生育促進効果が認められた。4068、4072、4073、4074、4075 及び 4078 菌株接種区は無接種及び自根区に較べ高い防除効果が認められ、生育促進効果が認められた。しかし、4067、4069、4070、4076、4077 及び 4079 菌株接種区は防除効果は認められなかった（第 33 表）。

ブロッコリーでは 4080、4081 及び 4084 菌株接種区は無接種及び自根区に較べ高い防除効果が認められ、生育促進効果が認められた。しかし、4082、4083、4085、4086、4087、4088、4089、4090 及び 4091 菌株接種区は防除効果は認められなかった（第 34 表）。

このように、胚軸切断接種法は菌株によって差は認められるものの、アブラナ科根こぶ病に対する防除法として、利用できる技術であることが明らかになった。また、生育促進技術としても、その利用が期待できることが明らかになった。

(3) ウリ類つる割病の防除

ユウガオでは、ユウガオの組織内から分離した 2842、2843、2844、2845、2846 及び 2847 菌株区はいずれも高い防除効果が認められた。しかし、サツマイモの組織内から分離した菌株を用いた場合には、防除効果に差が認められ、3141、3145 及び 3146 菌株区は高い防除効果が認められたが、3001 及び 3084 菌株区では防除効果は認められなかった（第 35、36 表）。

黒ダネカボチャでは、黒ダネカボチャから分離した 2961、2962、2963、2964、2965、2966、2967、2968 及び

第25表 トマトの組織内に共生する細菌の細菌学的性質

[illegible]

+: 陽性, -: 陰性

組織内共生微生物を用いた生育及び病害の制御

第26表 ハクサイの組織内に共生する細菌の細菌学的性質

性 質	2911	2912	2913	2914	2915
グラム反応	—	—	—	—	—
O/F試験	O	O	O	O	O
硝酸塩の還元	+	+	—	—	—
硝酸呼吸	+	+	—	—	+
41℃の生育	—	—	—	—	—
スターチの加水分解	—	—	—	+	+
カゼインの加水分解	—	+	—	+	—
エスクリンの加水分解	—	—	+	+	+
リパーゼ	—	+	+	—	—
ウレアーゼ	W	—	—	—	—
蛍光色素の産生	+	+	—	—	—
レバンの産生	—	—	—	—	—
デカルボキシル化	—	—	—	—	—
カタラーゼの活性	+	+	+	+	+
インドールの産生	—	W	W	—	—
硫化水素の産生	—	—	—	—	W
カタラーゼ	+	+	+	+	+
利用能試験					
ピルビン酸	+	+	+	—	—
馬尿酸	—	+	W	W	—
リンゴ酸	+	+	+	—	—
コハク酸	+	+	+	—	—
フマル酸	+	+	+	—	—
乳酸	+	+	—	—	—
サッカリン酸	+	+	+	—	—
セバシン酸	+	—	—	—	—
ヘプタニン酸	+	+	+	—	—
トリブタン酸	—	—	—	—	—
メサコニン酸	+	—	—	—	—
イタコン酸	+	+	—	—	—
安息香酸	+	+	—	—	—
ギ酸	+	—	—	—	+
マロン酸	+	+	+	—	—
プロピオン酸	—	—	—	—	—
ピメリン酸	—	—	—	—	—
トレハロース	—	—	+	—	—
メリビオース	+	+	+	—	—
ズルシトール	—	—	+	—	—
ソルビトール	—	—	+	—	—
サリシン	—	—	+	—	—
イヌリシン	—	—	+	—	—
ラムノース	—	—	+	—	—
セロビオース	—	—	+	—	—
イノシトール	—	—	+	—	—
メレジトール	—	—	+	—	—
クエン酸	+	+	+	—	—
ベタイン	+	+	+	—	—
マレイニン酸	+	+	+	—	—
乳酸	+	+	—	—	—
バリン	+	+	—	—	—
ブトレシン	+	+	—	—	—
スベリニン	—	—	—	—	—
ホモセリン	+	—	—	—	—
アラニン	+	+	+	—	—
アドニール	—	—	+	—	—
フラクトース	+	+	+	—	—
α-グルコサイド	—	—	+	—	—
エリスリトール	—	—	—	—	—

+ : 陽性, — : 陰性, W : 擬陽性

第27表 キャベツの組織内に共生する細菌の細菌学的性質

性 質	4072	4073	4074	4075	4076
グラム反応	—	—	—	—	—
O F 試験	O	O	O	O	O
硝酸塩の還元	+	+	+	+	+
硝酸呼吸	+	+	+	+	+
41℃の生育	—	—	—	—	—
スターチの加水分解	—	—	—	—	—
セルロースの加水分解	—	—	—	—	—
エスクリンの加水分解	—	—	—	—	—
リパーゼ	—	—	—	—	—
ウレアーゼ	+	+	+	+	+
蛍光色素の産生	—	—	—	—	—
レバンの産生	+	+	+	+	+
デカルボキシ化	—	—	—	—	—
カタラーゼの活性	+	+	+	+	+
インドールの産生	+	—	—	W	W
硫化水素の産生	+	+	+	+	+
カタラーゼ	+	+	+	+	+
利用能試験					
ピルビン酸	+	+	+	+	+
馬尿酸	—	—	—	—	—
リンゴ酸	—	—	—	—	—
コハク酸	—	—	—	—	—
フマル酸	—	—	—	—	—
乳酸	—	—	—	—	—
酒石酸	—	—	—	—	—
サッカリン酸	—	—	—	—	—
セバシン酸	—	—	—	—	—
ヘプタシン酸	—	—	—	—	—
トリブタミン酸	—	—	—	—	—
メサコン酸	—	—	—	—	—
イタコン酸	—	—	—	—	—
安息香酸	—	—	—	—	—
ギ酸	—	—	—	—	—
マロン酸	—	—	—	—	—
ピロピオン酸	—	—	—	—	—
ピメリン酸	—	—	—	—	—
トリフェノール	—	—	—	—	—
メリビオール	—	—	—	—	—
ズルシトール	—	—	—	—	—
ソルビトール	—	—	—	—	—
サリシン	—	—	—	—	—
イヌリン	—	—	—	—	—
ラムノース	+	+	+	+	+
セロビオース	—	—	—	—	—
イノシトール	—	—	—	—	—
メレジトール	—	—	—	—	—
クエニン酸	—	—	—	—	—
ベタイン	—	—	—	—	—
マレイニン酸	—	—	—	—	—
乳酸	—	—	—	—	—
バトリン	—	—	—	—	—
ブトレシン	—	—	—	—	—
スベリニン酸	—	—	—	—	—
ホモセリン	—	—	—	—	—
アラニン	—	—	—	—	—
アドニール	—	—	—	—	—
フラクトース	+	+	+	+	+
αメチルグルコサイド	—	—	—	—	—
エリスリトール	—	—	—	—	—

+ : 陽性, — 陰性, W : 擬陽性

組織内共生微生物を用いた生育及び病害の制御

第28表 ブロッコリーの組織内に共生する細菌の細菌学的性質

性 質	4085	4086	4087	4088	4089
グラム反応	—	—	—	—	—
O/F試験	O	O	O	O	O
硝酸塩の還元	+	+	+	+	+
硝酸呼吸	+	+	+	+	+
41℃の生育	—	—	—	—	—
スターチの加水分解	—	—	—	—	—
セルロースの加水分解	—	—	—	—	—
エスクリンの加水分解	—	—	—	—	—
リパーゼ	—	—	—	—	—
ウレアーゼ	+	+	+	+	+
蛍光色素の産生	—	—	—	—	—
レバンの産生	+	+	+	+	+
デカルボキシル化	—	—	—	—	—
キシゲナーゼの活性	+	+	+	+	+
インドールの産生	—	W	W	W	W
硫化水素の産生	—	—	—	—	—
カタラーゼ	+	+	+	+	+
利用能試験					
ピルビン酸	+	+	+	+	+
馬尿酸	—	—	—	—	—
リンゴ酸	—	—	—	—	—
コハク酸	—	—	—	—	—
フマル酸	W	W	W	W	—
酒石酸	—	—	—	—	—
リン酸	W	—	—	—	—
セバシン酸	—	—	—	—	—
ブタン酸	—	W	W	—	—
トリブタン酸	—	—	—	—	—
メサコン酸	—	—	—	—	—
イタコン酸	—	—	—	—	—
安息香酸	—	—	—	—	—
ギ酸	—	—	—	—	—
マロン酸	—	—	—	—	—
プロピオン酸	—	—	—	—	—
ピメリン酸	—	—	—	—	—
トリメリン酸	—	—	—	—	—
トリブチレート	—	—	—	—	—
トリシトレート	—	—	—	—	—
トリソリシン	—	—	—	—	—
トリヌリン	—	—	—	—	—
ラムノース	+	+	+	+	+
セロビオース	—	—	—	+	—
イノシトール	—	—	—	—	—
メレジトール	—	—	—	—	—
クエン酸	W	W	+	+	+
ベタイン	—	—	—	—	—
マレイ酸	—	—	—	—	—
乳酸	—	—	—	—	—
バトリン	—	—	—	—	—
プロレシン	—	—	—	—	—
スベリン	—	—	—	—	—
ホモセリン	—	—	—	—	—
アラニン	—	—	—	—	—
アドニール	—	—	—	—	—
フラクトース	+	+	+	+	+
α-グルコサイド	—	—	—	—	—
エリスリトール	—	—	—	—	—

+: 陽性, —: 陰性, W: 擬陽性

第29表 レタスの組織内に共生する細菌の細菌学的性質

性 質	4203	4204	4205	4215	4216
グラム反応	—	—	—	—	—
O F 試験	O	O	O	O	O
硝酸塩の還元	+	+	—	—	—
硝酸呼吸	W	W	W	W	W
41℃の生育	—	—	—	—	—
スターチの加水分解	+	—	—	—	—
セルロースの加水分解	+	+	—	+	+
エクリン菌の加水分解	+	—	—	—	—
リパーゼ	—	+	+	—	—
ウレアーゼ	+	W	—	—	—
蛍光色素の産生	—	—	—	—	+
レバンの産生	—	—	—	—	—
デカルボキシ化	—	—	—	—	—
カタラーゼの活性	+	+	+	+	+
インドールの産生	—	—	—	—	—
硫化水素の産生	—	—	—	—	—
カタラーゼ	+	+	+	+	+
利用能試験					
ピルビン酸	+	+	+	+	+
馬尿酸	+	—	—	—	—
リンゴ酸	+	+	+	+	+
コハク酸	+	+	+	+	+
フマル酸	+	+	+	+	+
乳酸	+	—	—	—	—
酒石酸	+	+	—	+	+
サッカリン酸	+	+	—	+	+
セバシン酸	—	+	—	+	+
ヘリブタン酸	+	+	+	+	+
トリブタン酸	+	+	—	+	+
メサコン酸	—	—	—	—	+
イタコン酸	—	+	—	+	+
安息香酸	—	—	—	—	—
ギ酸	—	—	+	—	+
マロン酸	+	+	+	+	+
プロピオン酸	—	—	—	—	—
ピロリン酸	+	—	—	—	—
トリフェノール	+	+	—	+	+
トリビオール	+	+	+	+	+
ズルシトール	+	—	—	—	—
ソルビトール	+	+	—	+	+
サリチン	+	—	—	—	—
イヌリン	+	—	—	—	—
ラムノース	+	+	—	+	+
セロビオース	+	+	—	—	—
イノシトール	+	+	—	+	+
メレジトール	—	—	—	—	—
クエン酸	—	+	+	+	+
ペタイン	+	+	+	+	+
マレイン酸	—	+	+	+	+
乳酸	—	+	+	+	+
バリン	—	+	+	+	+
ブトレシン	—	+	+	+	+
スベリシン	—	—	—	—	—
ホモセリン	—	—	—	—	—
アラニン	—	+	+	+	—
アロニール	—	+	—	+	+
フラクトース	—	+	+	+	+
α-グルコース	—	—	—	—	—
エリスリトール	—	+	—	+	+

+ : 陽性, — : 陰性, W : 擬陽性

第30表 胚軸切断接種法によるトマト萎ちょう病の防除

供試菌株	30日後の発病	60日後の発病	90日後の発病	評 価
2888	0/5	2/5	2/5	△
2889	0/5	2/5	3/5	×
2890	2/5	4/5	4/5	×××
2891	0/5	1/5	1/5	○
2892	0/5	1/5	1/5	○
2893	1/5	4/5	4/5	×××
2894	0/5	3/5	3/5	×
2895	0/5	0/5	0/5	○
2896	0/5	3/5	3/5	×
2897	0/5	2/5	2/5	×
無接種	0/5	2/5	2/5	
自 根	0/5	2/5	2/5	

それぞれの供試細菌を胚軸切断接種法で接種し、これを *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* race-2 で汚染した用土に植え付けた。

発病株数/供試株数、供試品種：桃太郎

第31表 胚軸切断接種法によるトマト萎ちょう病の防除

処理方法	4月30日の発病株率	収穫終了後の導管褐変率
胚軸切断接種	2.9%	32.7%
接 木	0.0	0.0
自 根	17.6	51.9

播種：9/20、挿し木：10/10、定植：12/9、調査：4/30及び7/22、品種：桃太郎

第32表 胚軸切断接種法によるハクサイ根こぶ病の防除

区 別	発病程度	重 量
3001胚軸切断接種	1.7	217
3084胚軸切断接種	2.3	175
3141胚軸切断接種	1.3	233
3145胚軸切断接種	0.6	203
3146胚軸切断接種	0.3	227
胚軸切断無接種	3.3	136
自 根	2.6	237

発病程度 0：発病無し。1：わずかに発病認められる。
2：1/3以下の根に発病する。3：1/3～2/3の根に発病する。4：枝根の大部分に発病する。
5：主根に発病して萎ちょうする。

第33表 胚軸切断接種法によるキャベツ根こぶ病の防除

接種菌株番号	発病程度	接種菌株番号	発病程度
4067	3.3	4075	0.9
4068	1.1	4076	2.3
4069	4.5	4077	2.5
4070	2.2	4078	0.7
4071	0.0	4079	5.0
4072	1.1	無 接 種	3.9
4073	0.7	自 根	3.6
4074	1.3		

発病程度 0：発病無し。1：わずかに発病認められる。
2：1/3以下の根に発病する。3：1/3～2/3の根に発病する。4：枝根の大部分に発病する。
5：主根に発病して萎ちょうする。

第34表 胚軸切断接種法によるブロッコリー根こぶ病の防除

接種菌株番号	発病程度	接種菌株番号	発病程度
4080	1.1	4087	5.0
4081	1.5	4088	2.6
4082	3.4	4089	3.6
4083	2.5	4090	3.8
4084	1.4	4091	2.2
4085	3.2	無 接 種	3.6
4086	3.2	自 根	3.2

発病程度 0：発病無し。1：わずかに発病認められる。
2：1/3以下の根に発病する。3：1/3～2/3の根に発病する。4：枝根の大部分に発病する。
5：主根に発病して萎ちょうする。

第35表 ユウガオの組織内から分離された細菌を用いた胚軸切断挿し木法によるユウガオつる割病の防除

供試菌番号	31日後の発病	40日後の発病	90日後の発病
2842	0/6	0/6	0/6
2843	0/6	0/6	0/6
2844	0/6	0/6	0/6
2845	0/6	0/6	0/6
2846	0/6	0/6	0/6
2847	0/6	0/6	0/6
自 根	6/6	6/6	6/6

第36表 サツマイモの組織内から分離された細菌を用いた胚軸切断挿し木法によるユウガオつる割病の防除

供試菌番号	31日後の発病	40日後の発病	90日後の発病
3001	2/6	6/6	6/6
3084	1/6	6/6	6/6
3141	0/6	0/6	0/6
3145	0/6	0/6	0/6
3146	0/6	0/6	0/6
自 根	6/6	6/6	6/6

第38表 サツマイモの組織内から分離された細菌を用いた胚軸切断挿し木法による黒ダネカボチャつる割病の防除

供試菌番号	31日後の発病	40日後の発病	90日後の発病
3001	0/3	0/3	0/3
3084	3/3	3/3	3/3
3141	0/3	0/3	0/3
3145	3/3	3/3	3/3
3146	3/3	3/3	3/3
自 根	3/3	3/3	3/3

第37表 黒ダネカボチャの組織内から分離された細菌を用いた胚軸切断挿し木法による黒ダネカボチャつる割病の防除

供試菌番号	31日後の発病	40日後の発病	90日後の発病
2961	0/3	0/3	0/3
2962	0/3	0/3	0/3
2963	0/3	0/3	0/3
2964	0/3	0/3	0/3
2965	0/3	0/3	0/3
2966	0/3	0/3	0/3
2967	0/3	0/3	0/3
2968	0/3	0/3	0/3
2969	0/3	0/3	0/3
2970	0/3	0/3	0/3
自 根	3/3	3/3	3/3

第39表 トマトの胚軸切断接種法で細菌が共生した苗の生育

供試菌株	桃 太 郎			カ ッ プ ル 0		
	重 量	草 丈	評 価	重 量	草 丈	評 価
2850	3.39 g	94mm	○	2.14 g	55mm	○
2851	2.67	96	○	2.69	85	○
2852	2.05	95	○	1.74	84	○
2853	4.04	95	○	2.51	97	○
2854	3.57	85	○	3.11	83	○
2855	2.87	93	○	2.13	76	○
2856	2.75	66	○	2.16	62	○
2857	3.24	70	○	2.51	74	○
2858	2.82	95	○	2.95	85	○
2859	1.84	75	○	2.54	74	○
2860	1.92	90	○	3.74	72	○
2861	2.41	92	○	2.81	66	○
2862	0.29	21	×	0.45	31	×
2863	0.17	14	×	0.43	32	×
2864	0.13	24	×	0.24	26	×
2865	0.47	22	×	0.38	27	×
2866	0.51	35	×	0.48	33	×
2867	2.45	77	○	2.61	64	○
2888	2.59	92	○	1.66	79	○
2889	2.19	87	○	3.36	84	○
2890	1.67	93	○	2.99	96	○
2891	2.11	91	○	2.12	86	○
2892	2.75	97	○	2.91	67	○
2893	1.92	81	○	2.74	57	○
無接種	2.79	105		3.62	115	

1/3MS培地で培養して調べた。

2969 菌株区はいずれも高い防除効果が認められた。しかし、サツマイモの組織内から分離した菌株を用いた場合には、防除効果に差が認められ、3001 及び 3141 菌株区は高い防除効果が認められたが、3084、3145 及び 3146 菌株区は防除効果は認められなかった（第 37、38 表）。

5) 胚軸切断接種されたトマトの生育反応

トマトの組織内から分離した 2850、2851、2852、2853、2854、2855、2856、2857、2858、2859、2860、2861、2867、2888、2889、2890、2891、2892 及び 2893 菌株を接種した桃太郎及びカップル O の 2 品種は無接種と同等の生育であった。また、2862、2863、2864、2865 及び 2866 菌株を接種した桃太郎及びカップル O は無接種に較べて生育が抑制された（第 39 表）。

IV 考 察

健全な植物組織内は一般的に無菌状態にあると云われ、これを利用し、バイオテクノロジーの普及とともに多くの植物が無菌組織培養されるようになってきた。しかし、細菌や糸状菌の汚染によって培養困難な植物もある。

そこで、無菌組織培養が困難な植物を調べたところ、健全な植物組織内に、細菌や糸状菌が常に生息する例外的な植物が存在することが明らかになった。この例外植物としてシクラメン、サツマイモ、サトイモ科のコンニャク、アンズリュウム、デューフェンバキアなどがあることが明らかになった。これらの植物のうちシクラメン及びサツマイモは採集された時期、場所、部位に関係なく、健全な組織内からは常に細菌や糸状菌が分離される。

シクラメンには糸状菌として *Cladosporium*, *Colletotrichum*, 細菌として *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, サツマイモには糸状菌として *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, 細菌として *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* などが組織内に共生する。

ところが、有菌植物であるシクラメンも種子はほとんど無菌状態にある。しかし、無菌である種子から発生したシクラメンが生育すると、組織内はすべて有菌状態となった。そこで、シクラメンが何時、何処から微生物を取り込んで有菌状態になるかを調べた。その結果、発芽し、種子からの養分転流が終了し、子葉が展開すると、胚軸から微生物を取り込んで、組織内が有菌状態となることが明らかになった。

シクラメンの組織内がいずれ有菌状態になるのであれば、拮抗微生物で有菌状態にすることを考えた。すなわち、無菌培養されたシクラメン及びサツマイモに拮抗微生物を接種し、これによって病害を防除しようと考えた。

まず初めに、シクラメン及びサツマイモの組織内から病原菌に活性を示す微生物の分離を試み、数種の細菌系統を得た。これを種子から無菌培養されたシクラメン及びサツマイモに接種し、拮抗微生物で有菌化された苗を育成した。次に、シクラメンでは萎ちょう病菌、サツマイモではつる割病菌を接種したところ、組織内に細菌を共生させた苗ではこれらの病害に抵抗性を示し、共生微生物による病害防除が可能となった。

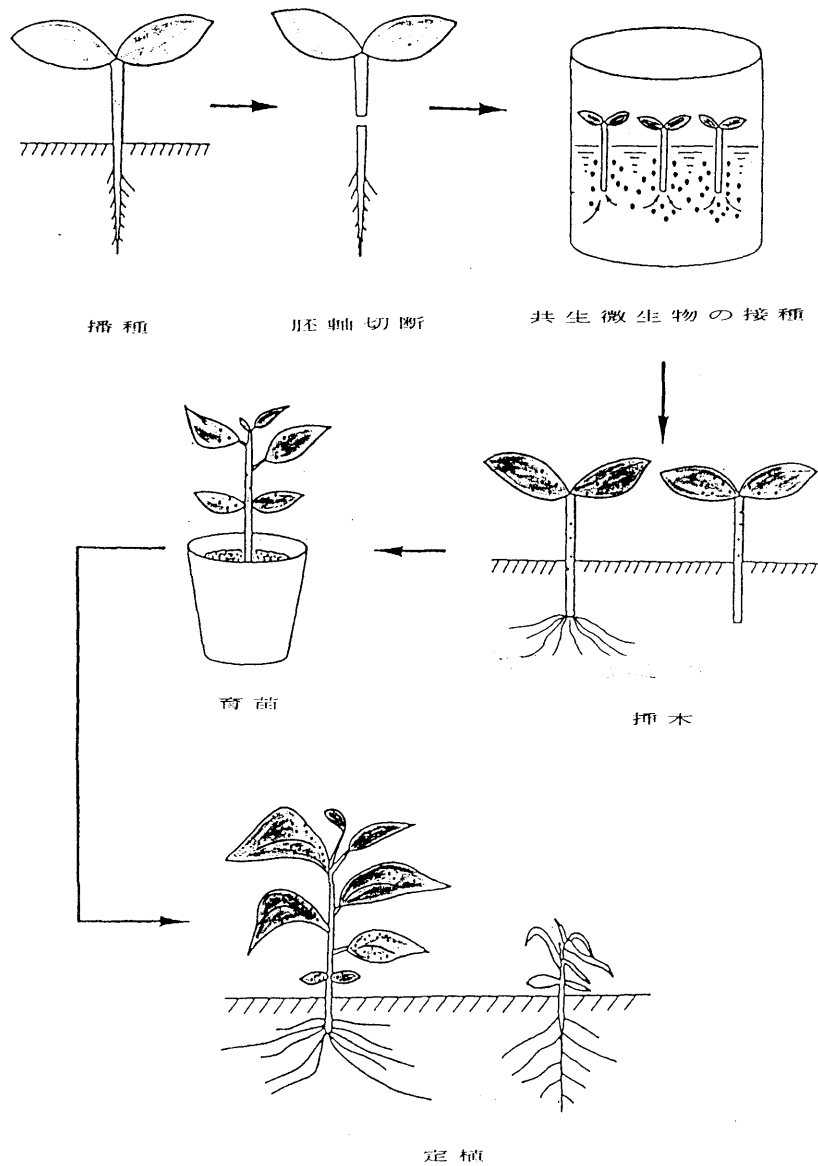
次に、シクラメン及びサツマイモの組織内共生微生物による防除を、トマトでの応用を試みた。しかし、腋芽に接種後挿し木、根部に接種、組織内に注入などの方法をとったが、いずれの場合にも拮抗微生物は組織内に定着せず、防除効果は認められなかった。

一方、ウリ類では土壌病害対策のため、抵抗性台木に接木する技術があるが、一部の地域で、接木後に胚軸から切断し、挿し木する育苗方法（断根挿し木法）が行われていた。

そこで、微生物を組織内に共生させる方法として、シクラメンが胚軸から微生物を取り込んで有菌状態になる現象と断根挿し木法を組み合わせることを考えた。すなわち、発芽し、子葉が展開した胚軸を切断し、これを拮抗微生物の浮遊液に浸漬接種後、挿し木して苗を育成する方法を試みた。その結果、これまで病原菌しか定着することができなかった植物の組織内に、病原性を持たない拮抗微生物を定着させることが可能となった（第 1 図）。なお、本方法はこれまでにない、まったく新しい手法であるため、胚軸切断接種法と命名した。

胚軸切断接種法による微生物の組織内共生には、苗の生育ステージと切断部位に明確な関係がみられる。子葉展開以前と本葉 4 枚以上であると微生物は定着せず、発根も悪くなる。また、切断部位が上胚軸、茎、根などでは微生物は定着せず、下胚軸を切断した場合にのみ組織内に定着することが明らかになった。そこで、胚軸切断接種法は子葉展開～本葉 3 枚の時期に、下胚軸から行うことになる。すなわち、①子葉展開～本葉 3 枚に生育した苗の下胚軸を切断する。②次に下胚軸から切断された苗を拮抗微生物の浮遊液に 2～12 時間浸漬接種する。③最後に挿し木して苗を育成する。

子葉展開～本葉 3 枚の時期は、種子からの従属栄養から自己同化の独立栄養への移行期であり、外界に対する抵抗性が最も弱くなる時期にあたる。このため、日和見菌など弱病原性菌による苗立枯病などがこの時期に発生する。すなわち、微生物に対する抵抗性が弱まる本時期に若干の親和性を有する微生物を胚軸切断によって接種すると、植物の抵抗反応に遭遇せず組織内に取り込まれ、



第1図 胚軸切断接種法

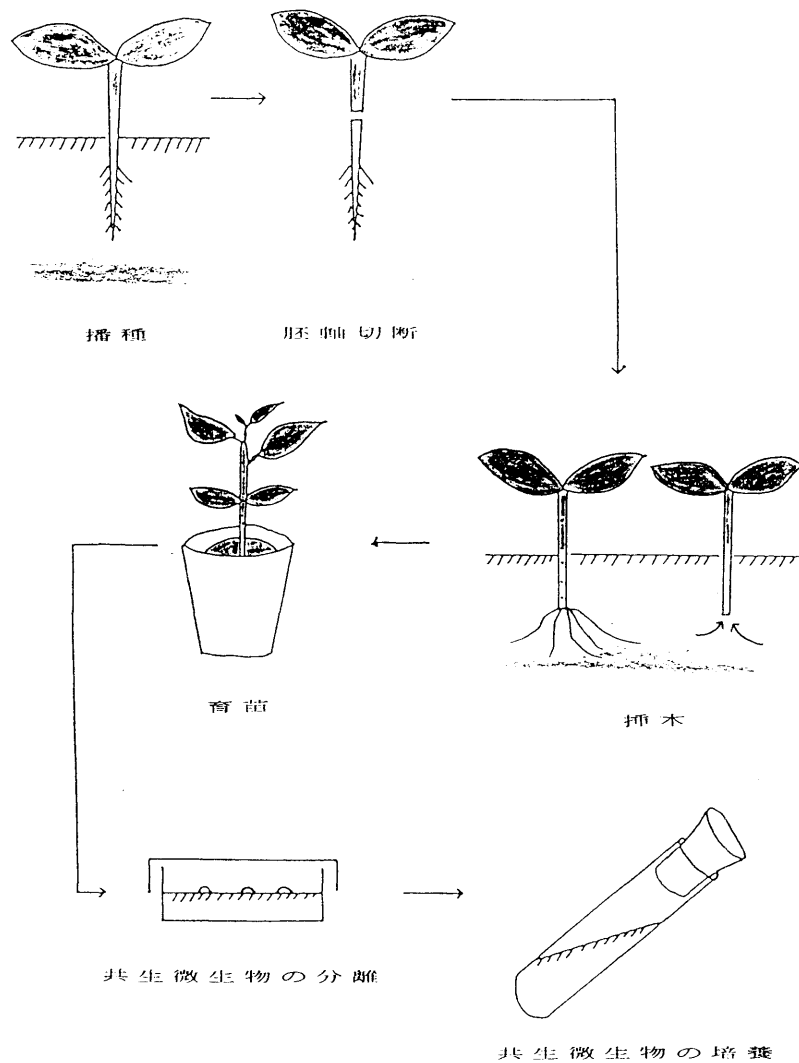
一旦組織内に取り込まれた菌は、植物と相互に影響しあいながら、その後組織内に共生するものと考えられる。また、本葉4枚以上に生育すると、自立栄養が行えるようになり、種としての特異性が現れる。このため、病原性を持たない微生物は侵入できなくなるものと思われる。

挿し木後の発根は植物の種類や挿し木の時期によって多少異なるが、5日前後で発根する。また、挿し木効率も植物の種類によって、若干差が認められるが、低温期を除き容易であり、生育ステージと管理方法が適切であれば、ほぼ100%活着する。ただし、低温期におけるスイカ、マスクメロン、プリンスメロン、ニガウリ、ヘチマの場合は発根率が悪くなる傾向がある。しかし、この原因はエチレンによるものと考えられ、挿し木用土にエチレンを吸着する資材（大谷石の粉など）を混和することによってこれは軽減される。

これまでに胚軸切断接種法によって、組織内に微生物を共生させることが可能となった植物はウリ科（キュウリ、スイカ、マスクメロン、プリンスメロン、カボチャ、シロウリ、マクワウリ、ユウガオ、ニガウリ、ヘチマ）、ナス科（トマト、ナス、ピーマン、トウガラシ）、アブラナ科（キャベツ、ダイコン、カブ、ハクサイ、ブロッコリー、ストック）、マメ科（ダイズ、アズキ、インゲン）、セリ科（ニンジン）、アカザ科（ホウレンソウ）、バラ科（イチゴ）、キク科（レタス、ベニバナ）、キンボウゲ科（デルフィニウム）、アオイ科（オクラ）、タデ科（ソバ、アイ）の11科32植物である。

胚軸切断接種法によって微生物が共生した苗は、接種された菌の種類（系統）によって異なった反応を示す。すなわち、生育に関しては根量、草丈、葉長などが増加あるいは大きくなる「促進」、逆にこれらが抑えられる「わ

組織内共生微生物を用いた生育及び病害の制御



第2図 胚軸切断捕捉法

い化」，菌の接種によって影響されない「中立」の反応が認められた。この反応は閉鎖系で低温，低栄養条件下で行った場合に特に顕著であり，キャベツ及びトマトでは，共生菌の無接種に比べ，生育量が2倍あるいは半量に変化した。また，マメ科のダイズ，アズキでは細菌の系統に関係なく生育が促進され，蔓化する傾向が見られた。

病害に対しては発病を抑え抵抗性を示す「抑制」，逆に接種によって発病が多くなるか，または抵抗性品種が感受性を示すようになる「促進」，菌の接種によって影響されない「中立」の反応が認められた。このように微生物が共生した苗は生育と病害に対して異なった反応を示すため，これを利用し，生育と病害の制御が可能と考えられた。

胚軸から接種された共生微生物は植物の細胞間隙や維管束部でコロニーとして観察され，細胞内及び果実には

観察されなかった。観察される接種菌の密度は 10^3 CFU/g前後であるが，頂部及び下胚軸でやや高い傾向が認められた。また，微生物の共生場所は菌の種類によって差が認められ，植物の組織全体に共生，下胚軸にのみに共生などが見られた。ただし，組織全体に共生する微生物系統であっても，果実への定着は認められなかった。さらに，胚軸切断接種によって共生させた微生物は，作物が生育あるいは生存する全期間を通じて組織内に共生した。

微生物を組織内に共生させた作物はやがて収穫され，食卓に上がることになる。熟によって調理される野菜の場合は，殺菌されるため問題はないと思われる。しかし，生で食べられる野菜類については安全性の観点から微生物の共生部位が問題となると考えられる。すなわち，キュウリ，トマトなどのように果実を収穫し，これを生で食べる果菜類では，果実を除く，組織全体に共生する

系統（植物の組織全体に共生する微生物であっても果実には存在しない）を用い、キャベツ、レタスなどのように葉を収穫し、これを生で食べる野菜類には、下胚軸にのみ共生する系統を選抜することが望ましいと考えられた。

これまでに、胚軸切断接種法を用いて防除された病害はハクサイ根こぶ病、キャベツ根こぶ病、ブロッコリー根こぶ病、ユウガオつる割病、キュウリつる割病、黒ダネカボチャつる割病、メロンつる割病、トマト萎ちょう病、トマト根腐萎ちょう病などである。

トマト萎ちょう病の防除を例にあげると、播種15日目のトマト苗（本葉が1.5～2枚）の胚軸を切断し、これを共生細菌浮遊液（ 10^8 CFU/ml）に2時間浸漬後挿し木する。挿し木用土は水はけが良く、しかも水持ちの良い腐植に富むものが好ましく、メトロミックス、プラグミックスなどのように殺菌され、病原菌で汚染されていない人工培土を用いることが望ましい。また、挿し木箱は連結ポット（セルトレイ）がその後の管理に向いている。挿し木後は寒冷しゃなどで遮光するが、多湿になると発根までに日数がかかるため、湿度の管理に注意する必要がある。発根は時期や管理方法によって多少異なるが、5日前後であり、挿し木後10日前後で鉢上げする。その後の管理は一般栽培方法と同様でよいが、本方法で育成された苗は、一般的に草勢が強くなる傾向があるため、多肥や多灌水に注意する必要がある。

胚軸を切断し、これを挿し木すると微生物が組織内に取り込まれ、植物と微生物が共生状態となることをこれまでに述べてきた。微生物が組織内に取り込まれる本現象は、よく考えてみると、微生物の選抜に応用される技術でもあることが理解される。そこで、次に胚軸切断挿し木法を用いた共生微生物の選抜を試みた。

すなわち、胚軸を切断したトマト、キュウリ、キャベツなど双子葉植物を病原菌で汚染された用土に挿し木する。こうすると、ほとんどの株は最初に胚軸から病原菌を取り込むため、発病して枯死する。しかし、時として正常に生育する株が得られる。これらは病原菌に活性を示す微生物を植物組織内に取り込んだため、正常に生育したものと思われる。そこで、正常に生育した株を採取し、この組織内から微生物を分離すると、病害抑制力の強い共生菌が得られる。本方法によって、11科32種の植物で組織内に共生する有効な微生物系統が得られた（第2図）。本方法についても、これまでに例がないため、胚軸切断捕捉法と命名した。

また、微生物を組織内に取り込む現象は育苗技術にも応用できる。すなわち、胚軸を切断した苗を微生物に富

む用土に挿し木すると、拮抗微生物などを植物組織内に取り込んで有菌状態となる。この結果、耐病性の苗が育成できる。しかし、胚軸切断挿し木法では、病害を抑制する微生物ばかりでなく、場合によっては病害に促進に働く微生物を取り込む場合や病原菌を取り込む場合もあるため、応用にあたっては用土の選定に充分注意する必要がある。

以上のように、胚軸切断接種法を用いると、本来無菌である健全な植物組織内に微生物を共生させることが可能となった。微生物が組織内に取り込まれる子葉展開～本葉3枚までの期間は、種子からの従属栄養から自己同化の独立栄養への過度期でもあり、生命反応として興味深い現象である。また、微生物が組織内に共生した植物は病害に抵抗性や感受性を示す。これは微生物が産生する抗菌物質や免疫抑制物質、植物の誘導抵抗性、病原菌との栄養や生息場所の競合などが考えられる。また、微生物が共生した植物は生育が促進あるいはわい化する。これは微生物が産生する植物ホルモン、植物の生態反応の活性及び抑制などが考えられる。しかし、本現象のメカニズムについてはまだ推定の域をでない。今後、微生物が植物組織内に取り込まれ、共生する現象を含め、そのメカニズムが解明されれば、胚軸切断接種法は植物の生理反応の解明や病原性の解明に活用されるなど、その利用範囲はさらに拡大されるものと思われる。

V 摘 要

- ①シクラメン及びサツマイモは健全な組織内に、病原性を持たない細菌や糸状菌が共生する例外植物であることが明らかになった。
- ②サトイモ科のコンニャク、アンズリウム、ディーフェンバキアも健全な組織内に病原性を持たない細菌や糸状菌が、組織内に共存する例外植物であった。
- ③シクラメンの組織内からは *Bacillus*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Cladosporium* 及び *Colletotrichum* が分離された。これらの微生物はシクラメンに病原性を持たず、組織内に定着した。
- ④サツマイモの組織内からは *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* 及び *Alternaria* が分離された。これらの微生物はサツマイモに病原性を持たず、組織内に定着した。
- ⑤シクラメンの種子は無菌であり、成株は有菌であるが、シクラメンは播種約30日後に、胚軸から微生物を取り込んで有菌状態になった。
- ⑥拮抗細菌を共生させたシクラメンは炭そ病に抵抗性を示し、組織内共生微生物による防除法を開発した。
- ⑦拮抗細菌を共生させたサツマイモはつる割病に抵抗性

を示し、組織内共生微生物による防除法を開発した。

⑧シクラメン及びサツマイモの組織内から分離された細菌の一部はシクラメン、サツマイモ、ナス、ウド、ニンジン及びジャガイモのプロトプラストと共存した。

⑨シクラメン及びサツマイモの組織内から分離された細菌の一部は *Fusarium* 菌に抗菌活性が見られた。

⑩シクラメン及びサツマイモの組織内から分離された細菌の抗生物質に対する感受性は系統によって異なった。

⑪子葉展開～本葉3枚までに生育したトマトの胚軸を切断し、これを細菌浮遊液に浸漬すると、病原性を持たない細菌が組織内に取り込まれることが明かとなり、胚軸切断接種法と命名した。

⑫組織内に細菌が定着したトマトは萎ちょう病に抵抗性を示した。

⑬胚軸切断接種法によって、組織内に微生物を共生させることが可能となった双子葉植物はウリ科（キュウリ、スイカ、マスクメロン、プリンスメロン、カボチャ、シロウリ、マクワウリ、ユウガオ、ニガウリ、ヘチマ）、ナス科（トマト、ナス、ピーマン、トウガラシ）、アブラナ科（キャベツ、ダイコン、カブ、ハクサイ、ブロッコリー、ストック）、マメ科（ダイズ、アズキ、インゲン）、セリ科（ニンジン）、アカザ科（ホウレンソウ）、バラ科（イチゴ）、キク科（レタス、ベニバナ）、キンボウゲ科（デルフィニウム）、アオイ科（オクラ）、タデ科（ソバ、アイ）の11科32植物である。

⑭胚軸切断接種法を用いて防除された病害はハクサイ根こぶ病、キャベツ根こぶ病、ブロッコリー根こぶ病、ユウガオつる割病、キュウリつる割病、黒ダネカボチャつる割病、メロンつる割病、トマト萎ちょう病、トマト根腐萎ちょう病などである。

⑮胚軸を切断し、これを挿し木すると微生物が組織内に取り込まれる現象を応用し、組織内共生菌の分離選抜法を開発し、胚軸切断捕捉法と命名した。

⑯胚軸切断捕捉法によって、11科32種の双子葉植物から共生細菌を分離選抜した。

⑰トマト、ハクサイ、キャベツ、ブロッコリー及びレタスから胚軸切断捕捉法によって分離された細菌の一部は *Pseudomonas* と同定された。

⑱微生物が組織内に定着した植物は病害に対して、微生物の系統によって促進、中立、抑制の異なった反応が認められた。

⑲微生物が組織内に定着した植物は生育に対して、微生物の系統によって促進、中立、抑制の異なった反応が認められた。

⑳組織内に共生した細菌は細胞内には存在せず、細胞間

隙に観察された。

VI 引用文献

1. Adams, P.B. and Ayers, W.A. (1980) Factors Affecting Parasitic Activity of *Sporidesmium sclerotivorum* on Sclerotia of *Sclerotinia minor* in Soil. *Pytopathology*, 70 : 366-368.
2. Adams, P.B. and Ayers, W.A. (1982) Biological Control of *Sclerotinia* Lettuce Drop in the Field by *Sporidesmium sclerotivorum*. *Pytopathology*, 72 : 458-488.
3. 雨宮良幹・小池正徳・平野和弥 (1989) 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるトマト半身萎ちょう病の発病抑制. *土と微生物*, 33 : 27-34.
4. 雨宮良幹・笹部 繁・平野和弥 (1989) 非病原性 *Fusarium oxysporum* (F0-304) 前接種苗のトマト半身萎ちょう病菌に対する反応. *日植病大会講演要旨*, 146.
5. Barak, R., Elad, Y., Mirelman, D. and Chet, I. (1985) Lectins : A Possible Basis for Specific Recognition in the Interaction of *Trichoderma* and *Sclerotium rolfsii*. *Pytopathology*, 75 : 458-462.
6. Barnett, L.H. and Hunter B.B (1989) *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* 4th.ed. Macmillant Publishing Co., pp218.
7. Cowan, T.S. (1974) *Identification of medical bacteria* 2nd Ed. Cambridge Uni. Press, pp238 .
8. Dehne, H.W. (1982) *Phytopathology*, 72 : 1115-1119.
9. Elad, Y. and Baker, R. (1985) The Role of Competition for Iron and Carbon in Suppression of Chlamydospore Germination of *Fusarium spp.* and *Pseudomonas spp.* *Phytopathology*, 75 : 1053-1059.
10. 郷間秀夫・木嶋利男 (1991) サツマイモの組織内より分離された細菌がサツマイモつる割病菌の病原性に及ぼす影響. *日植病報*, 57 : 133.
11. 郷間秀夫・木嶋利男 (1992) サツマイモ組織より分離された細菌のウリ科植物に対する定着性. *日植病報*, 58 : 105.
12. 郷間秀夫・木嶋利男 (1992) 胚軸切断による細菌のアブラナ科植物への定着. *日植病報*, 58 : 157.
13. 郷間秀夫・木嶋利男 (1993) 胚軸切断接種法によって細菌を定着させたキュウリの生育・収量の増加. *日植病報*, 59 : 723.
14. 郷間秀夫・木嶋利男 (1994) 胚軸切断接種法によって細菌を定着させたトマトの生育・収量の変化. *日*

- 植病 報、60:742-743.
15. Hadar, Y., I. Chet and Henis (1979) Biological Control of *Rhizoctonia solani* Damping-Off with Wheat Bran Culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 69:64-68.
 16. 原 秀紀・小野邦明 (1989) タバコ立枯病菌の弱病原性バクテリオシン産生株のタバコ苗への処理条件および処理方法と立枯病の発病抑制効果. 日植病大会講演要旨、172.
 17. 長谷川伸作・近藤則夫・児玉不二夫 (1989) 作物根圏における *Pseudomonas* 属菌の分布とその産生する抗菌物質. 日植病大会講演要旨、149.
 18. 早川嘉彦・菅原和夫・藤井義晴 (1989) 土壌病原菌に対し抗菌性を示す植物種の検索. 日植病大会講演要旨、157.
 19. 本間善久 (1989) 土壌病害の生物防除における抗生物質生産の意義. 植物防疫、43:134-138.
 20. Homma, Y., Sato, Z., Shirahama, H. and Suzui T. (1988) Antibiotics of *Pseudomonas cepacia* and their possible role in suppression of Radish Damping-off by seed bacterization. 5th ICPP Abs, 196.
 21. Howell, C.R. (1982) Effect of *Gliocladium virens* on *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, and damping-off of cotton seedlings. *Phytopathology*, 72:496-498.
 22. Howell, C.R. (1987) Relevance of Mycoparasitism in the Biological Control of *Rhizoctonia solani* by *Gliocladium virens*. *Phytopathology*, 72:992-994.
 23. Howell, C.R. and R.D. Stipanovic (1979) Control of *Rhizoctonia solani* on Cotton Seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and With Antibiotic Produced by the Bacterium. *Phytopathology*, 69:480-482.
 24. Howell, C.R. and R.D. Stipanovic (1980) Suppression of *Pythium ultimum*-Induced Damping-off Cotton Seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its Antibiotic, Pyoluteorin. *Phytopathology*, 70:712-715.
 25. 堀田治邦・谷井昭夫 (1989) インゲン根腐病 (症) の生物的防除. 日植病第1回バイオコントロール研究会講演要旨、40-48.
 26. 古屋成人 (1989) イネもみ枯細菌病のトマト青枯病に対する発病抑制効果とその機作. 日植病第1回バイオコントロール研究会講演要旨、31-39.
 27. 伊坂実人・岡本 博 (1988) 野菜の疫病に対する拮抗細菌. 植物防疫、42:241-245.
 28. Kerr, A. and Pnagopulos, C.G. (1977) Biological control of crown gall through bacteriocin production. *Phytopathology* Z., 90:172-179.
 29. 木嶋利男 (1987) 拮抗微生物を接種したネギ属植物の混植による土壌病害の防除. 日植病第14回細菌病談話会講演要旨、32-39.
 30. 木嶋利男 (1987) 異種作物の混植を用いた微生物の土壌中での安定. 先端技術に関するシンポジウム記録集、宇都宮大学、110-117.
 31. 木嶋利男 (1988) 拮抗微生物による病害防除. ハイテク農業情報、化学工業日報、218-219.
 32. 木嶋利男 (1988) 混植による土壌病害の防除. 化学と生物、26:284-286.
 33. 木嶋利男 (1990) 拮抗微生物とこれを接種した作物の混植による土壌病害の生物防除. 防菌防黴、18:21-30.
 34. 木嶋利男 (1990) 鉢花類の病害と防除. 日植病第15回土壌伝染病談話会、73-78
 35. 木嶋利男 (1992) 胚軸切断接種によって組織内に共生させた細菌による土壌病害の生物防除. 日植病第16回土壌伝染病談話会、81-88
 36. 木嶋利男 (1990) 拮抗細菌を用いた土壌病害の防除. 関東病虫研報、39:1-5
 37. Kijima, T., Gouma, H. and Amagai, M. (1993) Biological control of soil-borne diseases and plant growth promoting by bacteria association into interior tissues by means hypocotyl cutting inoculation. 6th. International Congress of Plant Pathology, 268.
 38. Kijima, T. (1994) Biological control of soil-borne diseases by mixed-cropping crops inoculated with antifungal microorganisms. 7th International Congress of Society for the Advancement of Breeding Researches in Asia and Oceania, 825-828.
 39. 木嶋利男・有江 力 (1987) 拮抗微生物を用いた土壌病害の生物学的防除. 植物防疫、41:129-133.
 40. 木嶋利男・有江 力・木村 栄・峯岸長利・手塚紳浩・橋田弘一・福田 充 (1988) 拮抗微生物の利用に関する研究. 栃木農試研報、35:95-128.
 41. 木嶋利男・郷間秀夫・米内貞夫 (1991) サツマイモから分離された細菌を用いたユウガオつる割病およびキュウリつる割病の防除. 日植病報、57:426.
 42. 木嶋利男・郷間秀夫 (1992) 細菌の胚軸切断接種によるブロッコリーおよびキャベツ根こぶ病の防除. 日植病報、58:158.
 43. 木嶋利男・熊田欽丈 (1990) サツマイモの組織内に内在する細菌の諸性状. 日植病報、57:72.

44. 木嶋利男・熊田欽丈 (1991) サツマイモの無病徴組織内から分離された細菌又は糸状菌を用いたサツマイモつる割病の防除. 関東病虫研, 38:33-34.
45. 木嶋利男・熊田欽丈 (1991) シクラメンの無病徴組織内から分離された細菌又は糸状菌を用いたシクラメン炭そ病及び萎ちょう病の防除. 関東病虫研, 38:123-124.
46. 木嶋利男・熊田欽丈 (1992) 細菌の胚軸切断さし木接種によるハクサイ根こぶ病の防除. 日植病報, 58:104.
47. 木嶋利男・大橋一夫 (1991) シクラメンの組織内から分離された細菌のプロトプラストに対する影響. 日植病報, 57:133.
48. 木嶋利男・米内貞夫・大橋一夫・天谷正行 (1990) シクラメンおよびサツマイモの無病徴組織内から分離した細菌および糸状菌とこれを用いた炭そ病とつる割病の防除. 日植病報, 56:404.
49. 古賀博則・平井剛夫・神田健一・月星隆雄・植松勉 (1994) *Acremonium* エンドファイトの人工接種によるシバットガ耐虫性ペレニアルライグラス及びトールフェンクスの作出. 日植病報, 60:334.
50. 古賀博則・平井剛夫・神田健一・月星隆雄・植松勉 (1994) 植物内生菌 (エンドファイト) の人為的感染による耐虫性作物の育種. 化学と生物, 32:629-631.
51. Kloepper, J. W., M. N. Schroth and T. D. Miller (1980) Effects of Rhizosphere Colonization by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Potato Development and Yield. *Phytopathology*, 70:1078-1082.
52. 小林紀彦 (1988) *Gigaspora margarita* 胞子の発芽に影響をおよぼす要因について. 土と微生物, 31:13-28.
53. 小林紀彦 (1988) V A 菌根菌と病害防除への利用. 植物防疫, 42:259-265.
54. 小林紀彦 (1989) V A 菌根菌の土壌病害防除への利用. 日植病第14回土壌伝染病談話会講演要旨, 49-58.
55. 駒田 旦 (1989) 植物病害の生物的防除、現状と将来展望. 植物防疫, 43:11-15.
56. Lockwood, L. J. (1986) Soilborne Plant Pathogens: Concepts and Connections. *Phytopathology*, 76:20-27.
57. 牧野考宏・森田 壽 (1985) 静岡県内バラ園から分離された根頭がんしゅ病菌の生理型と Agrocin 84 感受性. 静岡農試研報, 30:45-52.
58. 牧野考宏・森田 壽 (1985) *Agrobacterium radiobacter* strain 84 によるバラ根頭がんしゅ病の生物防除. 静岡農試研報, 30:53-59.
59. Massey, A. B. (1925) *Phytopathology*, 15:773-784.
60. 松本直幸 (1988) 雪腐小粒菌核病の生物防除. 植物防疫, 42:231-234.
61. 宮島邦之 (1988) *Pseudomonas* 属細菌によるコムギ立枯病の防除. 植物防疫, 42:227-230.
62. Molosch, H. (1937) Der Einfuß einer Pflanze auf die andere Allelopathie Fischer Jena.
63. Moore, Larry W. (1977) Prevention of Crown Gall on Prunus Roots by Bacterial Antagonists. *Phytopathology*, 67:139-144.
64. Moore, Larry W. (1979) Soil-borne Plant Pathogen, Academic Press, p553-568.
65. Moore, Larry W. (1981) Biological control in crop production, Academic Press, 375-390.
66. Muller, C. H. (1965) *Bull. Torrey Bot. Club*, 92:38-45.
67. New, P. B. and Kerr, A. (1972) Biological control of crown gall: Field observation and glasshouse experiments. *J. Appl. Bact.* 35:279-287.
68. 濱田裕行 (1987) コンニャク乾腐病の発生生態と防除に関する研究. 群馬総合研究A総合, 2:89-146.
69. 沼田 真 (1977) 化学と生物, 15:412-418.
70. 小川 圭・駒田 旦 (1984) 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病の生物的防除. 日植病報, 50:1-9.
71. 小川 圭・駒田 旦 (1984) 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病に対する全身的な抵抗性の誘導. 日植病報, 50:15-21.
72. 小川 真 (1987) 土と微生物, 30:9-17.
73. Powell, C. L. and D. J. Bagyaraj (1984) VA mycorrhiza CRC Press, Boca Roton, Florida, pp 234.
74. Rice, E. L. (1974) Allelopathy, Academic Press.
75. Ryu, E. (1940) A simple method of differentiation between gram-positive and gram-negative organisms without staining. *Kitasato Arch. Exp. Med.* 17:58-63.
76. Schenck, N. C. (1988) Innovative Approaches to Plant Disease Control, p179-191, Wiley Interscience Public, New York.
77. 白田 昭 (1986) バクテリオシンとその病害防除への利用. 植物防疫, 40:379-382.
78. Sneh, B., Dupler, M., Elad, Y. and Baker, R. (1984) Chlamydospore Germination of *Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum* as Affected by Fluorescent and

- Lytic Bacteria from a Fusarium-Suppressive Soil. *Phytopathology*, 74 : 1115-1124.
79. 孫工弥寿雄・野村良邦(1988) キャベツの萎黄病に対する拮抗性放線菌の利用. 植物防疫、42:246-240.
80. Suslow, T. V. and Schroth, M. N. (1982) Rhizobacteria of Sugar Beets: Effects of Seed Application and Root Colonization on Yield. *Phytopathology*, 72 : 199-206.
81. 諏訪裕一・服部 勉(1987) 東北大学農研報、38 : 15-32.
82. 諏訪澄長・林 宣夫(1987) 非病原性フザリウムによるバーティシリウム病の防除. 日植病大会講演要旨、147.
83. 鈴井孝仁(1988) 微生物による病害防除の現状と問題点. 植物防疫、42 : 223-226.
84. 鈴井孝仁(1989) 日植病大会講演要旨、144.
85. 谷井昭夫・堀田治邦・竹内 徹(1988) 塊茎バクテリアゼーションによるジャガイモそうか病・黒あざ病の生物的防除. 植物防疫、42 : 235-240.
86. 手塚信夫・牧野考宏(1988) イチゴ萎黄病に対する非病原性フザリウム菌の利用. 植物防疫、42:251-254.
87. 土屋行夫(1977) 植物病原菌の凍結乾燥保存と病原性. 農技研報C、31 : 1-27.
88. 脇本 哲(1989) 植物病害における生物的防除戦略. 日植病第1回バイオコントロール研究会講演要旨、1-11.
89. Weinling, R. and O. H. Emerson (1936) The isolation of a toxic substance from the culture of a *Trichoderma*. *Phytopathology*, 26 : 1068-1070.
90. Weller, D. M. (1983) Colonization of Wheat Roots by a Fluorescent *Pseudomonad* Suppressive to Take-All. *Phytopathology*, 73 : 1548-1553.
91. Weller, D. M. and Cook, R. J. (1983) Suppression of Take-All of Wheat by Seed Treatments with Fluorescent *Pseudomonads*. *Phytopathology*, 73 : 463-469.
92. Yuen, G. Y. and Schroth, M. N. (1986) Inhibition of *Fusarium oxysporum f.sp. dianthi* by Iron Competition. *Phytopathology*, 76 : 171-176.

Biological control of soil-borne diseases and plants growth promotion by bacteria association into interior tissues by means of hypocotyl cutting inoculation.

Toshio KIJIMA, Masayuki AMAGAI, Hideo GOUMA, Sadao YONAI, Kazuo OHASHI, Kiyoshi NAMAI, Tetso SUNAGA
Naoko OGURI, Kouiti HASHIDA, Yoshitake KUMADA and Mitsuko KOBAYASHI

Summary

Fungi and bacteria do not exist in interior tissues of healthy plants, except for Sweet potato and Cyclamen. Fungi and Bacteria are frequently isolated from interior tissue of non-symptomatic plants of the latter. These isolates easily associate with interior tissues of Sweet potato and Cyclamen, provoke the latter to be resistant to soil-borne diseases and further, promote the growth of the latter. To confirm if this phenomenon also occurs in other dicotyledon, the seedlings of these plants were cut off at middle of the hypocotyl in two to three leaves stage and cut and of the plants were soaked into the bacteria suspension of the isolates. After inoculation the cuttings were planted in propagation beds (= hypocotyl cutting inoculation). Isolates colonized in vessel and inter cellular space of 32 species dicotyledon belonging to 11 families. The inoculated plants showed different reactions according to the species of inoculum, such as sensitivity and resistance to diseases and promotion and depression of plant growth. *Fusarium* wilt of Tomato caused by *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* race-2, *Fusarium* wilt of Bottle gourd caused by *F. oxysporum f. sp. lagenariae* and Clubroot of Cabbage, Chinese cabbage and Broccoli caused by *Plasmodiophora brassicae* were suppressed by this treatments. Explants of inoculated individuals produced the antifungal substance and showed different isozyme patterns.

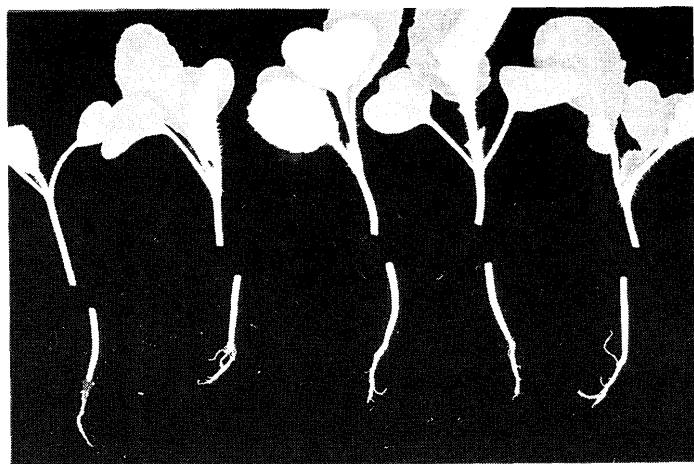


写真 1



写真 2

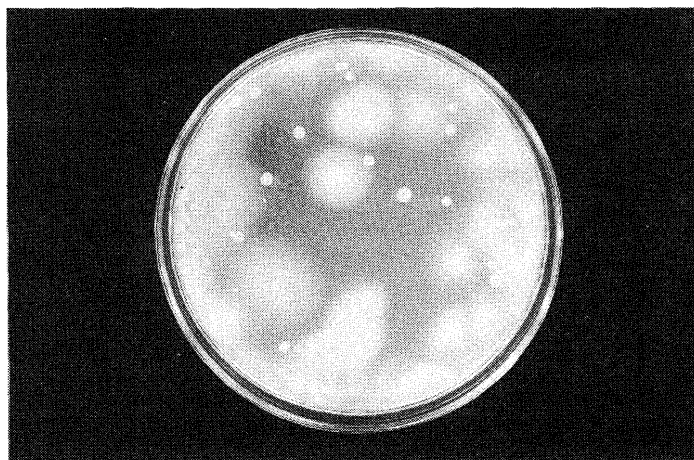


写真 3



写真 4

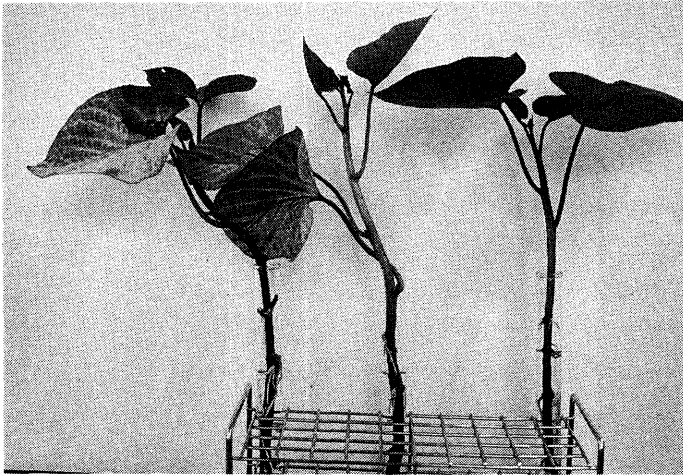


写真5

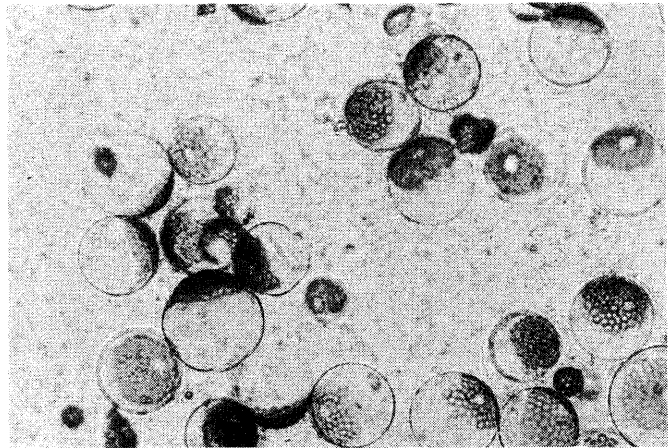


写真6

写 真 の 説 明

- 1 ハクサイの胚軸切断
本葉1～3枚期に胚軸部から切断する。
- 2 トマトの胚軸切断と接種
本葉1～3枚期に胚軸部から切断する。
- 3 サツマイモ組織内からの細菌及び糸状菌の分離
小さな丸い点が細菌、不整形の大きい部分が糸状菌
- 4 共生細菌によるシクラメン炭そ病の防除
左及び右から2番目：共生細菌接種、右及び左から
2番目：共生細菌無接種
- 5 共生細菌によるサツマイモつる割病の防除
左：共生細菌無接種、右2つ：共生細菌接種
- 6 プロトプラストと共生細菌の混合培養
大きい丸型がプロトプラスト、周囲の小さな点が共
生細菌