

宮崎県のシンビジウムから分離された細菌と糸状菌の病原性

黒木 一美・櫛間 義幸・三浦 猛夫 (宮崎県総合農業試験場)

Pathogenicity of bacteria and fungi isolated from cymbidium in Miyazaki prefecture. Hitomi KUROKI, Yoshiyuki KUSHIMA and Takeo MIURA (Miyazaki Agricultural Experiment Station, Sadowara 880-02)

宮崎県におけるシンビジウム栽培は児湯郡新富町において1978年から始まり、現在、栽培農家13戸で7.4haが栽培されている。しかし、近年、シンビジウムの葉に黒斑を生じるもの、葉身やバルブが褐変し軟腐状に腐敗するもの等の症状が多く発生するようになり、これらの原因究明と防除対策が要請された。そこで、現地での発生実態調査を行う一方、異なった症状の被害株から病原菌の分離とそれら分離菌の諸性質について試験を行い、若干の知見を得たので、その結果の概要を報告する。

材料および方法

1990年8月3日および10日に現地のシンビジウム栽培農家4ハウスについて調査を行った。

1. 細菌と糸状菌の分離

細菌：病葉の組織片を70%エタノールに30秒間、つぎに2%次亜塩素酸ナトリウム液に1分間浸漬し表面殺菌を行い、滅菌水で十分洗浄した後、組織片の一部を滅菌水中で磨砕した。磨砕液を希釈しPSA培地および変法ドリガルスキー培地に塗抹し、28℃で2～4日培養した後、1サンプルから1～3コロニーを採取し、PSA斜面培地に移植して保存した。

糸状菌：上記と同じ方法で表面殺菌した組織片の一部を素寒天上に置床し、25℃で2～3日培養した後、伸長した菌糸先端をPDA培地上に移し、25℃で1～2週間培養した後、検鏡した。

2. 分離菌の病原性

細菌：分離した細菌をPS液体培地を用いて30℃で2日間振とう培養し、接種源とした。シンビジウム(品種：メロディーフェアマリリンモンロー)の健全株からとった切葉に滅菌針1針で傷をつけ、この傷の上に前述の培養液を1滴落とし、28℃のシャーレ内に保持した。なおシャーレ内はろ紙を敷き、滅菌水5ml加え湿度を保った。接種3日後に、(-)：接種部の傷口およびその周辺いずれもが褐変していないもの、(±)：傷口のみわず

かに褐変しているもの、(+):傷口を中心に半径2mm以内が褐変しているもの、(++)：半径5mm以内が褐変しているもの、(+++)：半径5mm以上が褐変しているものの5段階に分けて調査を行い、後者3つを病原性があるとした。

糸状菌：分離された菌をPDA培地を用いて25℃で5日間平面培養し、その菌叢を直径8mmのコルクボーラで打ち抜き接種源とした。細菌の接種試験と同様にシンビジウムの切葉に滅菌針1針で傷を付け、この上に菌叢ディスクを置き、対照としてPDA培地のみの寒天ディスクも同様に置き、28℃のシャーレ内に保持した。なおシャーレ内はろ紙を敷き、滅菌水5ml加え湿度を保った。接種7日後に菌叢先端の褐変程度を細菌と同じように5段階に分けて調査を行った。

3. 分離した細菌の諸性質

前述の切葉接種において病原性の認められた細菌を用いて、西山の方法³⁾に従いグラム反応試験、発酵性試験、黄色色素の産生試験、非水溶性黄色色素の産生試験、硝酸塩還元試験を行った。

結 果

1. 発生病徴

主に発生している症状は次の3つに分類された。①シンビジウムの葉身が黄化し、バルブを中心に褐変し軟腐状に腐敗し、後に枯死しているもの(葉身、バルブの軟腐状腐敗)。②葉に黒色の斑点を生じているもの(葉の黒斑)。③葉先が褐色に腐敗しているもの(葉先の褐色腐敗)。調査した4ほ場では①の葉身、バルブの軟腐状腐敗がやや多い傾向であったが、②の葉の黒斑および、③の葉先の褐色腐敗についてもほぼ同等に散見され、ほ場間に発生する差はみられなかった。また、多様な品種が導入されており、品種間差は判然としなかった(第1表)。

第1表 主な症状と症状の見られた品種名

調査ほ場	採取株数	症 状	品 種
A	5	葉身・バルブの軟腐状腐敗	サニームーン, メロディフェアマリリンモンロー, 広島ゴールデンカップ, バレリーナ
B	6	葉身・バルブの軟腐状腐敗	あんみつ姫, ラピーヌキャロル, 988-1, バレーフラワーチェリーライプ
	5	葉の黒斑	アムール, グレートフラワーアミシュ, 988-1
C	6	葉身・バルブの軟腐状腐敗	あんみつ姫, グレートフラワーバレリーナ
	2	葉の黒斑	あんみつ姫, グレートフラワーバレリーナ
	3	葉先の褐色腐敗	ラッキーレインボー
D	6	葉身・バルブの軟腐状腐敗	広島メロディ, プラチナムバード, テトラホワイト
	4	葉の黒斑	プラチナムバード, テトラホワイト
	2	葉先の褐色腐敗	ピーナス

2. 分離菌の病原性

細菌：葉身、バルブの軟腐状腐敗株から分離された細菌41菌株のうち30菌株が、葉の黒斑から分離された細菌の16菌株のうち15菌株が、葉先の褐色腐敗から分離された細菌8菌株のうち6菌株が接種部を中心に褐色に腐敗し、病原性を示した(第2表)。

糸状菌：前述した3つの症状それぞれから *Fusarium* 属菌が分離され、葉身、バルブの軟腐状腐敗株からはそう菌類が分離された(第3表)。このそう菌類を素寒天の平板培地を用いて25℃5日間培養したシャーレに水道水を加え検鏡したところ、間接発芽が確認され *Phytophthora* 属菌であることが判明した。この *Phytophthora* 属菌については、シンビジウムの切葉を用いて病原性の検討を行った。その結果接種7日間後、切葉においた菌叢ディスクの先端から5mm以上が褐色に腐敗したことから病原性があることが明らかになった(第4表)。

3. 分離した細菌の諸性質

シンビジウムの切葉に接種部を中心に半径2mm以上を褐変させた細菌の諸性質を検討した。その結果、葉身、バルブが軟腐状に腐敗する12菌株のうち11菌株はグラム陰性で、発酵性試験で陽性を示し、黄色色素を産生せず、硝酸塩を還元することから *Erwinia carotovora* のグループに属することは明らかであり、この症状は報告のある *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* による軟腐病¹⁾と推察された。残り1菌株はグラム陰性で、発酵性試験で陰性を示し、非水溶性黄色色素を産生しないので *Pseudomonas*

属菌であることが判明した。

葉の黒斑から分離された10菌株のうち8菌株が、葉先が褐色に腐敗するものから分離された4菌株のうち3菌株がグラム陰性で、発酵性試験で陰性を示し、非水溶性黄色色素を産生しないことからいずれも *Pseudomonas* 属菌であることが判明した。病徴から判断すると葉先が褐

第2表 シンビジウムから分離された細菌の病原性

症 状	ほ場	菌株数	病 原 性				
			—	±	+	++	+++
葉身・バルブの軟腐状腐敗	A	3				2	1
	B	17	2	4	5	5	1
	C	11		4	5		2
	D	10		1	8		1
	計	41	2	9	18	7	5
葉の黒斑	B	5				3	1
	C	4		1			3
	D	7			2		5
	計	16		1	5	1	9
葉先の褐色腐敗	C	5		2	2	1	
	D	3					3
	計	8		2	2	1	3

—：褐変していない ±：傷口だけわずかに褐変
+：傷口より半径2mm以内で褐変 ++：半径5mm以内で褐変
+++：半径5mm以上で褐変

第3表 シンビジウムから分離された糸状菌

症 状	ほ場	菌株数	<i>Fusarium</i> 属	<i>Phytophthora</i> 属	未同定
葉身・バルブの軟腐状腐敗	A	2			2
	B	8	6	2	
	C	9	3	4	2
	D	2	1		1
	計	21	10	6	5
葉の黒斑	B	9	9		
	C	2	1		1
	計	11	10		1
葉先の褐色腐敗	C	5	2		3
	D	3	2		1
	計	8	4		4

第4表 シンビジウムから分離された *Phytophthora* 属菌の病原性

症 状	ほ場	菌株数	病 原 性				
			—	±	+	++	+++
葉身・バルブの軟腐状腐敗	B	1					1

—：褐変していない ±：菌叢ディスクの周りがわずかに褐変
+：菌叢ディスク先端より半径2mm以内で褐変
++：半径5mm以内で褐変 +++：半径5mm以上で褐変

第5表 シンビジウムから分離され病原性のあった細菌の諸性質

病 徴	菌 株	病 原 性	グラム反応	発酵性試験	黄色色素の 産生	非水溶性黄色 色素の産生	硝酸塩の 還元	細菌の種類
葉身・バルブの 軟腐状腐敗	A-1	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	2	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	3	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	B-1	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	2	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	3	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	5	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	10	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	17	++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
	C-8	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	9	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	D-9	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	葉 の 黒 斑	B-21	++	—	+	—	—	+
22		++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
C-12		++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
13		++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
14		++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
D-11		++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
12		++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
14		++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
15		++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
16	++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌	
葉の褐色腐敗	C-20	++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
	D-18	++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌
	19	++	—	+	—	—	+	<i>Erwinia</i> 属菌
	20	++	—	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i> 属菌

色に腐敗する症状は *Pseudomonas gladioli* pv. *gladioli* による褐色腐敗病であると推察され、葉に黒斑を生じる症状は *Pseudomonas marginalis* による黒色腐敗病によるもの、もしくは褐色腐敗病の進展が停止し、黒色の病斑となったものであると推察された^{1),2)}。残りの菌株は葉の黒斑から分離された10菌株のうち2菌株と、葉先が褐色に腐敗するものから分離された4菌株のうち1菌株はグラム陰性で、発酵性試験で陽性を示し、黄色色素を産生せず、硝酸菌株塩を還元することからいずれも *Erwinia* 属菌であることが判明した(第5表)。

考 察

新富町のシンビジウムの腐敗性症状の発生には糸状菌と細菌が関与していることが明らかになった。糸状菌としては *Fusarium* 属菌、*Phytophthora* 属菌等が分離された。*Phytophthora* 属菌については接種試験を行い病原性が確認されたが、本属菌による病害については報告がないので更に種の同定を行いたい。また、*Fusarium* 属菌については病原性の確認を行う必要がある。

細菌によるものは *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* による軟腐病、*Pseudomonas marginalis* による黒色腐敗病、*Pseudomonas gladioli* pv. *gladioli* による褐色腐敗病の3種があると推察された。しかし、本試験では葉身、バルブが軟腐状に腐敗するものから、*Fusarium* 属菌、*Phytophthora* 属菌、*Erwinia* 属菌、*Pseudomonas* 属菌が分離され、葉に黒斑を生じるもの、葉先から褐色に腐敗するものからは *Fusarium* 属菌、*Pseudomonas* 属菌、*Erwinia* 属菌が分離された。このように同一症状から3種以上の病原菌が分離され、*Fusarium* 属菌をのぞきいずれも切葉で病原性を示したので、今後接種試験等を重ね整理検討していく必要がある。

また、防除対策についても早急に検討していきたい。

引 用 文 献

- 1) 岸國平編 (1988) 作物病害辞典: 618-620.
- 2) 木嶋利男 (1987) 栃木県農業試験場研究報告第34号: 50-74.
- 3) 西山幸司 (1978) 植物防疫 32: 283-288.

(1991年6月10日 受領)