

大分県におけるイネ苗立枯細菌病の初確認

挾間 渉・奥本 雄二¹⁾・加藤 徳弘・森田 鈴美

(大分県農業技術センター, ¹⁾大分県宇佐病害虫防除所)

Occurrence of bacterial seedling blight of rice caused by *Pseudomonas plan-tarii* in Oita Prefecture. Wataru HASAMA, Yuji OKUMOTO¹⁾, Tokuhiro KATO and

Suzumi MORITA (Oita Prefectural Agricultural Research Center, Usa, Oita 872-01.

¹⁾Usa Plant Protection Office, Usa, Oita 872)

1991年5月に大分県玖珠郡九重町飯田の普通期水稻育苗箱（品種：サカキモチ）に、これまで知られたものとやや異なる病徵を呈する苗立枯症状が発生した。同地域での本症の発生は1農家のみであったが、全育苗箱の約49%にあたる58箱が植え付け不能になるほど多発であった。被害株からは、細菌のみが分離された。本試験では、病原細菌の同定を行うとともに、病原細菌に対する大分県主要品種の抵抗性反応についても検討したので、その概要を報告する。

本試験を実施するにあたり農林水産省農業環境技術研究所微生物特性・分類研究室畔上耕児博士には病原細菌の同定に関し貴重なご助言と菌株の分譲を賜った。また、当農業技術センター化学部藤谷信二研究員には、紫外分光分析についてご指導賜った。記してお礼申し上げる。

実験材料および方法

1. 病原細菌の分離と病原性

立枯症状を呈する株の罹病組織片に滅菌水を加えて摩碎し、得られた細菌懸濁液をPPGA平板培地に画線し、27°C、48時間培養後単コロニー毎に釣菌して病原性試験に供した。すなわち、PPGA斜面培地で培養した各菌株の約 10^{10} cfu/mlの濃厚菌液を、イネの種子（品種：サカキモチ）にアスピレーターにより減圧接種し、合成培土に播種した。播種後は28°Cで3日間催芽を行ったのち、20~28°Cの変温条件下に設定した12時間日長の人工気象室内で管理し、立枯症状の発生を観察した。

2. 病原細菌の同定

細菌学的性質の調査 病原性が確認された細菌6菌株を西山（1978）⁶⁾、同（1986）⁷⁾の調査法に準拠して、鞭毛の着生状況の電顕観察をはじめ27項目について調査した。

トロポロン産生の確認 病原性が確認された6菌株の懸濁液を、硫酸第一鉄およびグルコースを加用した

AYERSらの培地³⁾に画線し、28°Cで5日間培養し、コロニー内のトロポロン第二鉄錯塩結晶形成の有無を顕微鏡下で観察した。さらにOp-9101とOp-9102の2菌株をPPGA斜面培地で培養し、培養菌体の酢酸エチル抽出液を島津分光光度計UV-240を用いて分光分析を行い、農業環境技術研究所から分譲を受けた*Pseudomonas plan-tarii* MAFF 03-01723培養菌体の酢酸エチル抽出液、トロポロン10ppm酢酸エチル溶液を比較対照として、紫外外部吸収曲線を調査した。

3. 大分県主要品種の抵抗性反応

大分県の主要8品種（サカキモチ、わせとらもち、ユメヒカリ、農林22号、コシヒカリ、ヒノヒカリ、クジュウ、黄金晴）に、約 10^7 、 10^6 、 10^5 cfu/mlの3段階の濃度に調整した病原細菌の懸濁液を、それぞれアスピレーターを用いて28°Cで3時間減圧接種し、半日風乾したのち、28°Cで1日、その後20°Cで3日間浸種を行い、1991年12月24日に合成培土に播種した。播種後は28°Cの暗所で3日間催芽を行ったのち、20~28°Cの変温、12時間日長、湿度80%の人工気象室で管理した。なお、接種源としては、大分県玖珠郡九重町飯田のサカキモチの苗立枯症状株から分離したOp-9101菌株をPPG液体培地で28°C、48時間振盪培養した培養菌体から、8,000rpm高速遠心により集菌したものを供試した。調査は播種13日後の1992年1月6日に発病個体率について行った。

結 果

1. 病徵および病原性の確認

罹病株は被害葉の第1~2葉の基部が白色に退色したり、次葉が葉鞘の途中から抽出する場合があり、軽い場合には葉鞘部に褐変が見られる場合があった。被害は坪状に発生し灌水不足の条件下でなくとも赤褐色、針状に枯れる症状が見られた。また、本症状では糸状菌の発生はまったく認められなかった。

第1表 サカキモチの苗立枯症状からの分離細菌の諸性質

細菌学的性質	分離菌株	比較対照菌	文献記載との比較		
	6菌株	MAFF0301723 ^{a)}	<i>P. plantarii</i> ¹⁾	<i>P. glumae</i> ⁹⁾	<i>P. avenae</i> ¹⁰⁾
鞭毛の着生状況	極毛	—	極毛	極毛	極毛
鞭毛の数	1~2	—	1~3	1~5	1
グラム反応	—	—	—	—	—
OF試験	O	O	O	O	O
発育因子の要求性	—	—	—	—	—
非水溶性黄色素の产生	—	—	—	+	—
蛍光色素の产生	—	—	—	—	—
発育温度	—	—	—	—	—
35°C	+	+	+	+	+
37°C	+	+	+	+	+
40°C	—	—	—	+	+
アルギニンジヒドロラーゼ活性	—	—	—	—	—
オキシダーゼ活性	+	+	+	—	+
硝酸塩の還元	+	+	+	+	+
酒石酸塩の利用	+	+	+	—	d
スクロースからの酸の产生	—	—	—	—	—
レパン产生	—	—	—	—	—
ジャガイモ塊茎の腐敗	—	—	—	—	—
タバコ過敏反応	—	—	—	—	—
運動性	+	+	+	+	+
カタラーゼ活性	+	+	+	+	+
食塩耐性 1%	+	+	+	+	+
2%	+	+	+	+	+
3%	—	—	—	+	—
マロン酸の利用	+	+	—	+	—
糖の利用	—	—	—	—	—
ブドウ糖	+	+	+	+	—
ラフィノース	—	—	—	—	d
マルトース	—	—	—	—	—
マンノース	+	+	—	+	+
キシロース	+	+	—	+	+
L-アラビノース	+	+	+	+	d
ガラクトース	+	+	—	+	+
セロビオース	+	+	—	+	—
ラクトース	—	—	—	—	d

a) 農業環境技術研究所保存のイネ苗立枯細菌病菌

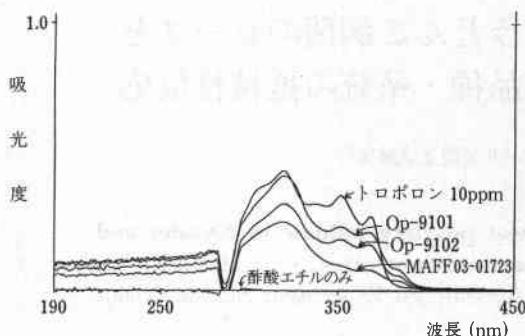
被害株からは細菌のみが分離され、このうち乳白色、中高、円形のコロニー形態である6菌株の接種により、現地の育苗箱における被害と同様の病徵が再現された。

2. 病原細菌の諸性質と所属

電顕観察の結果、病原細菌は1~2本の極鞭毛を有する短桿菌であった。細菌学的性質の調査の結果、病原細菌6菌株はいずれもグラム陰性、OF試験はO型であり、非水溶性黄色素を產生しないことなどから *Pseudomonas* 属細菌と考えられた。また、緑色蛍光色素を產生せず、40°Cでは発育が認められず、オキシダーゼ活性、硝酸塩の還元、酒石酸塩の利用、運動性、カタラーゼ活性、マロン酸、ブドウ糖、マンノース、キシロース、L-アラビノース、ガラクトース、セロビオースの利用等が陽性、アルギニンジヒドロラーゼ活性、スクロースからの酸の产生、レパン产生、ジャガイモ腐敗能、タバコ過敏

感反応、ラフィノース、マルトース、ラクトースの利用等が陰性であった。これらの諸性質をイネの苗に発生する主な細菌病の病原細菌3種の文献に記載された諸性質^{1,9,10)}と比較した結果、とくに40°C下の発育およびオキシダーゼ活性の2つの重要な点で *P. glumae*, *P. avenae* と区別され、調査したすべての性質において *P. plantarii* と一致した。さらに、比較対照として同時に試験に供した *P. plantarii* MAFF 03-01723ともすべての性質で一致した。これらのことから、本病原細菌は *P. plantarii* に近い菌と考えられた(第1表)。

病原性が認められた6菌株は、鉄とグルコースを加用したAYERSらの培地上のコロニー中とその周囲の培地中に、赤褐色シダの葉状結晶物の集積が認められた。この結晶物は、その特徴的な形態からトロボロン第二鉄錯塩の結晶³⁾と考えられた。これらの菌株のうち紫外分光



第1図 サカキモチ苗立枯症分離細菌培養菌体の酢酸エチル抽出液の紫外吸収曲線

分析に供試した Op-9101, Op-9102の2菌株は、酢酸エチル抽出液が、320, 350, 370nm付近に吸収ピークを持つトロポロン特有の吸収曲線^{2,4)}を示した(第1図)。

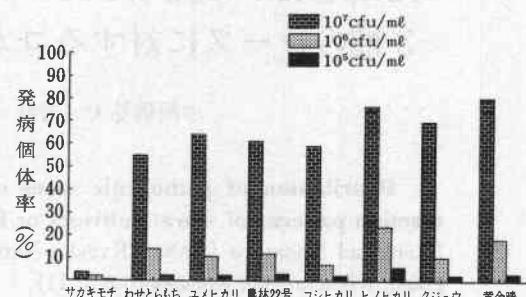
3. 大分県主要品種の抵抗性反応

接種菌濃度を変えて抵抗性品種間差異を検討した結果は第2図に示したとおりで、 10^6 および 10^5 cfu/mlの菌濃度では全般的に発病程度は低かったが、 10^7 cfu/mlの菌濃度では発病程度が高かった。いずれの濃度の場合でも若干の品種間差異が認められ、サカキモチがもっとも強く、他の品種は全般的に発病が多かった。

考 察

イネの育苗箱から分離される細菌の中で、トロポロンを产生するのは *P. plantarri* だけであり、本物質の検出は、*P. plantarri* を迅速かつ確実に同定し得る貴重な識別性状とされている^{2,3,4)}。大分県玖珠郡九重町飯田の苗立枯症状からの分離細菌は、鉄加用培地のコロニー中における特徴的な結晶物の形成や紫外分光分析の結果から、トロポロンを产生することは明らかであり、病徵および細菌学的性質から、AZEGAMI et al. (1987)⁵⁾が新種として報告した *Pseudomonas plantarri* と同定された。よって本症をイネ苗立枯細菌病と診断した。本病の発生確認は大分県のみならず九州地域においても初めてである。

大分県の主要品種の抵抗性反応についての検討結果か



第2図 イネ苗立枯細菌病に対する大分県主要品種の抵抗性反応

ら本県の場合、初発したサカキモチよりもむしろ他の品種で今後問題化するおそれがあり、注意が必要と考えられた。一方、その後の普通期水稻の育苗期を中心とした全県的な実態調査では新たな発生は確認できず、大分県における発生確認は1農家のみで、ただちに広域的な問題になる可能性は少ないと考えられた。しかし、1990年に初発が確認された北海道では被害を受けた育苗箱数は数万箱に及んだことが報じられている⁶⁾。水稻作期の前進化傾向の中で、今後寒冷期に育苗が始まる早期栽培や高標高地域の早植栽培地帯での発生動向に一層の注意が必要と考えられる。

引 用 文 献

- 畔上耕児・西山幸司・渡辺康正 (1983) 日植病報 49: 411.
- 畔上耕児・西山幸司・渡辺康正 (1985) 日植病報 51: 96-97.
- 畔上耕児 (1986) 日植病報 52: 382.
- AZEGAMI, K., NISHIYAMA, K., WATANABE, Y., SUZUKI, T., YOSHIDA, M., NOSE, K. and TODA, S. (1985) Ann. Phytopath. Soc. Japan 51: 315-317.
- AZEGAMI, K., NISHIYAMA, K., WATANABE, Y., KADOTA, I., OHUCHI, A. and FUKAZAWA, C. (1987) Int. J. Syst. Bacteriol. 37: 144-152.
- 西山幸司 (1978) 植物防疫 32: 283-288.
- 西山幸司 (1986) 植物防疫 40: 296-298.
- 竹内徹・田村修 (1991) 日植病報 57: 118 (講要).
- 富永時任 (1971) 農技研報 C 25: 205-306.
- 富永時任・木村佳世・郷直俊 (1983) 日植病報 49: 463-466.

(1992年5月8日 受領)