

Pseudomonas viridiflava によるキク花腐細菌病（新称）の発生

尾松 直志*・鳥越 博明
(鹿児島県農業試験場大島支場)

Bacterial blossom blight of chrysanthemum caused by *Pseudomonas viridiflava*.
Naoshi Omatsu and Hiroaki Torigoe (Oshima Branch, Kagoshima Agricultural Experiment Station, Naze, Kagoshima 894-0068, Japan)

Key word : Bacterial blossom blight, chrysanthemum, *Pseudomonas viridiflava*

緒 言

鹿児島県の沖永良部島は花き栽培が盛んな地域で、中でもスプレーギク (*Dendranthema grandiflorum*) は県内で最も多く生産され、12月から4月にかけて出荷されている。2000年3月、大島郡和泊町の露地栽培スプレーギクで、発芽後花芯部分が褐変し、蕾が腐敗する病害が発生した。花が腐敗する病害には *Ascochyta chrysanthemi* Stevens による花腐病 (岸, 1998) が知られているが、症状が花首まで達すると花首が折れ曲がる点で異なった。現地発病株の病斑部から病原菌の分離を行ったところ細菌が分離された。分離細菌をスプレーギクに有傷接種すると自然発病と同じ花腐れの病徵を再現でき、さらに、細菌学的性質を調査した結果、本細菌は *Pseudomonas viridiflava* と同定され、我が国では未記載の病害であることが判明したのでその概要を報告する。

材 料 お よ び 方 法

1. 病徵および発生実態調査

2000年3月に、沖永良部島内各地のキク栽培場について、作型、品種等の聞き取りを行いながら発生の有無と病徵を調査した。

2. 病原菌の分離と供試菌株

大島郡和泊町の露地栽培スプレーギク、品種「舞風車」および「プリンス」の発病した蕾および花首から、希釈平板法によって病原細菌を分離した。1シャーレから2菌株ずつPPGA斜面培地に移し、分離した30菌株のうち12菌株を以下の試験に供試した。なお、対照として *Pseudomonas viridiflava* 2菌株 (キュウリ縁枯細菌

病由来菌 MAFF301157, レタス腐敗病由来菌 MAFF301347), *Pseudomonas cichorii* 1菌株 (レタス腐敗病由来菌 MAFF301368) および *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* 1菌株 (ネギ腐敗病由来菌 MAFF301498) を使用した。調査菌株はスキムミルク分散媒を用い冷凍保存し、必要に応じ解凍し以下の試験に供した。

3. 接種試験

供試菌株および対照菌株のキクへの接種試験は、ビニールハウス内で栽培した品種「舞風車」を用い、蕾に菌液を1滴滴下する無傷接種と5本束の針で蕾に傷を付け付傷部分に菌液を1滴滴下する有傷接種を行った。接種後は、保湿することなく管理し、1週間後まで調査した。接種菌液はNA斜面培地 (18mm × 180mm 試験管、培地量10ml) で25°C、2日間培養し、菌体を10mlの滅菌水で希釈したものを使用した。

その他の植物に対しての接種には分離菌株のうち5菌株と対照菌株を用い、トマト果実、インゲン果実、レタス葉、ブロッコリー花蕾およびキュウリ果実にキクへの接種と同様に接種した。接種後は深底シャーレ内で保湿し、25°Cで3日間経過後に発病状況を調査した。

4. 細菌学的性質

細菌学的性質はNA斜面培地に培養した菌株を用いて、西山の方法 (1978) に従って蛍光色素産生、アルギニンジヒドロラーゼ活性、オキシターゼ活性、スクロースの利用、L-酒石酸の利用など29項目について調査した。タバコ葉の過敏反応は *Nicotiana tabacum* cv. Bright yellow を用い、前述の接種試験と同様に調製した菌液を2.5mlのシリンジで表皮下に注入し反応を調査した。

結 果

1. 病徵および発生状況

本症状は3月の開花前のほ場に多発し、初期症状とし

*現在 鹿児島県農業試験場 鹿児島市上福元町5500

*Present address : Kagoshima Agricultural Experiment Station, Kagoshima 891-0116, Japan



第1図 スプレーギクに発生した花腐れ症状

てがく部分の褐変が多く認められる。腐敗が花芯部分に達すると花芯が褐色になり、腐敗部分が花首まで達すると花首が折れ曲がる。さらに進展すると、花首から茎へと腐敗する。また、開花前に発病した花は、開花しても花色が薄く花弁の長さが不揃いとなる。発生は3月に開花する作型（彼岸出し）のみで、前後の2月出荷や4月出荷の作型ではみられなかった。本症状は、「舞風車」、「リーゼ」、「プリンス」などのスプレーギクで発生し、「寒姫」、「みやび」などの小菊や「秀芳の力」などの輪菊にはみられなかった。

2. 接種試験

分離した12菌株をスプレーギクの蕾に接種した結果、無傷接種ではすべて発病しなかったが、有傷接種では、2日後に接種部分の褐変が確認され、4日後には花芯部分が腐敗し、7日後には花首が腐敗し折れ曲がる症状がみられた。また、接種後開花した花は花色が薄く奇形花となり、これらはすべて自然発病と同様の症状を示した。対照に用いた3種の菌では *P. viridiflava* のみで分離菌株と同様の症状が認められた。

キク以外の植物に対して、供試した5菌株と *P. viridiflava* (MAFF301157, MAFF301347) は有傷接種でインゲン、レタス、ブロッコリーに腐敗斑を形成した。しかし、*P. cicorii* と *P. marginalis* はいずれの植物にも病

斑を形成しなかった。

3. 細菌学的性質

分離菌株の細菌学的性質を調査し、主要な項目について对照菌株のデータとともに第1表に示した。分離菌株は短桿状で極鞭毛を有し、NA培地上の集落は円形、全縁、半透明、平滑、湿光を帶び、汚白色～黄白色であった。グラム反応は陰性で、好気性であった。O-FテストはO型、蛍光色素を産生し、レパンの産生はみられず、硝酸塩を還元しなかった。また、コーン氏液では発育しなかったがウシシスキー氏液ではよく生育した。カタラーゼ活性を持ち、オキシターゼ、アルギニンジヒドロラーゼ、レシチナーゼ、チロシナーゼ活性は認められなかつた。可溶性デンプンは分解しなかつたが、エスクリン、ツイン80を分解し、ゼラチンを液化した。グリセロール、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、L-アラビノースからは酸を产生し、スクロース、マルトース、ラクトース、トレハロース、D-アラビノースからは酸を产生しなかつた。クエン酸、乳酸、マロン酸は利用するがL-酒石酸は利用しなかつた。また、タバコ葉に接種すると過敏反応を起こし、ジャガイモ塊茎に接種すると腐敗を引き起こした。

第1表 スプレーギク花腐れ症状からの分離菌株と *P. viridiflava*, *P. cichorii*, *P. marginalis* との細菌学的性質の比較

| 調査項目 | 調査菌株 n = 12 | 対照菌株 | | <i>P. viridiflava</i> | |
|------------|----------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|
| | | <i>P. c</i> ^{a)} | <i>P. m</i> ^{b)} | <i>A</i> ^{c)} | <i>B</i> ^{d)} |
| グラム反応 | - | - | - | - | - |
| 非水溶性黄色色素産生 | - | - | - | - | - |
| 黄緑色蛍光色素産生 | + | + | + | + | + |
| O-Fテスト | O | O | O | | |
| レバノン産生 | - | - | - | - | - |
| 硝酸塩還元 | - | - | - | - | - |
| コーン氏液 | - | - | - | - | - |
| ウシシスキー氏液 | + | + | + | + | + |
| オキシターゼ活性 | - | + | + | - | - |
| カタラーゼ活性 | + | + | + | + | + |
| エスククリン水解 | + | + | - | + | + |
| アルギニン水解 | - | - | + | - | - |
| レシチナーゼ活性 | - | - | + | - | - |
| ゼラチン液化 | + | - | + | + | + |
| ツイン80水解 | +(10/12) | + | + | + | + |
| 炭水化物の利用 | | | | | |
| スクロース | - | - | - | - | - |
| マルトース | - | - | - | - | - |
| ラクトース | - | - | - | - | - |
| トレハロース | - | - | + | - | - |
| グリセロール | + | + | + | + | + |
| マンニトール | + | + | + | + | + |
| ソルビトール | +(11/12) | - | + | + | + |
| イノシトール | + | + | + | + | + |
| L-アラビノース | + | + | + | + | + |
| D-アラビノース | - | - | - | - | - |
| 有機酸の利用 | | | | | |
| L-酒石酸の利用 | - | + | - | - | - |
| クエン酸 | + | + | + | + | + |
| 乳酸 | + | + | + | + | + |
| タバコの過敏感反応 | + | + | - | + | + |
| ジャガイモの腐敗 | + | - | + | + | + |

注) +は陽性, -は陰性, ()内の数値は陽性の菌株数

- a) レタス腐敗病由来の *P. cichorii* (MAFF301347)
 b) ネギ腐敗病由来の *P. marginalis* (MAFF301498)
 c) キュウリ縁枯細菌病由来の *P. viridiflava* (MAFF301157)
 d) レタス腐敗病由来の *P. viridiflava* (MAFF301347)

第2表 Lelliott ら (1966) による蛍光色素生産性 *Pseudomonas* 属植物病原細菌の類別に従った分離菌株の分類

| 類別群 | (L) レバノン 産 性 | (O) オキシターゼ 活 性 | (P) ジャガイモ 塊茎腐敗 | (A) アルギニン 加水分解 | (T) タバコ 過敏感反応 |
|------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| I a | + | - | - | - | + |
| I b | - | - | - | - | + |
| II | - | - | + | - | + |
| III | - | + | - | - | + |
| IV a | + | + | + | + | - |
| IV b | - | + | + | + | - |
| V | + | + | - | + | - |
| 分離菌株 | - | - | + | - | + |

考 察

分離菌株はグラム陰性、好気性の極毛を有する桿菌で、グルコースを酸化的に分解し黄緑色蛍光色素を産生した。これらの特徴から分離菌株は *Pseudomonas* 属細菌と考えられた。キクに発生する *Pseudomonas* 属細菌による病害には、これまで *P. cicerii* による斑点細菌病（川久保ら、1988）と *P. solanacearum* (*Ralstonia solanacearum*) による青枯病（石井・向、1941）が報告されている。*P. solanacearum* は黄緑色蛍光色素を産生しないとされ、分離菌株と異なる。分離菌株を LOPAT 法 (Lelliott ら、1966) による蛍光色素生産性 *Pseudomonas* 属植物細菌の類別に則って類別すると第2表に示したようにグループ II と一致し、*P. viridiflava* であると考えられた。

本試験に供試した対照菌と細菌学的性質を比較すると、

グループ III に属する *P. cichorii* (MAFF301368) とはオキシターゼ活性、ゼラチンの液化、ソルビトールからの酸の産生、L-酒石酸の利用、ジャガイモの腐敗能の5項目で異なった。また、グループ IVa に属する *P. marginalis* (MAFF301498) と比較すると、オキシターゼ活性、エスクリン水解、アルギニン活性、レシチナーゼ活性、チロシナーゼ活性、トレハロースからの酸の产生、タバコの過敏反応の6項目で異なった。一方、グループ II に属する *P. viridiflava* (MAFF301157, MAFF301347) と比較すると、ツイン80水解およびソルビトールからの酸の産生が菌株によってばらついたもののすべての項目で一致した。

そこで、供試菌株の細菌学的性質を、*P. viridiflava* の既報の記載と比較した結果を第3表に示した。梅川ら (1982) が報告したハクサイ褐条細菌病菌、西山ら

第3表 スプレーギク花腐れ症状からの分離菌株の細菌学的性質と既報の *P. viridiflava* の比較

| 調査項目 | 調査菌株 n = 12 | <i>P. viridiflava</i> | | |
|-----------|----------------|-----------------------|---|---|
| | | A | B | C |
| グラム反応 | - | - | - | - |
| 非水溶性黄色素産生 | - | - | - | - |
| 黄緑色蛍光色素産生 | + | + | + | + |
| O-F テスト | O | O | O | O |
| レパン産生 | - | - | - | - |
| 硝酸塩還元 | - | - | - | - |
| コーン氏液 | - | - | - | - |
| ウシングキー氏液 | + | + | + | - |
| オキシターゼ活性 | - | - | - | - |
| カタラーゼ活性 | + | + | + | + |
| エスクリン水解 | + | + | + | + |
| アルギニン水解 | - | - | - | - |
| レシチナーゼ活性 | - | - | - | - |
| ゼラチン液化 | + | + | + | + |
| チロシナーゼ活性 | - | + | + | + |
| ツイン80水解 | + (10/12) | + | - | - |
| デンプンの分解 | - | + | + | + |
| 炭水化物の利用 | | | | |
| スクロース | - | - | - | - |
| マルトース | - | - | - | - |
| ラクトース | - | - | - | - |
| グリセロール | + | + | + | - |
| マンニトール | + | + | + | - |
| ソルビトール | + (11/12) | + | + | - |
| イノシトール | + | + | + | - |
| L-アラビノース | + | + | + | + |
| 有機酸の利用 | | | | |
| L-酒石酸の利用 | - | - | - | - |
| クエン酸 | + | + | + | + |
| タバコの過敏反応 | + | + | + | + |
| ジャガイモの腐敗 | + | + | + | + |

注) + は陽性、- は陰性、() 内の数値は陽性の菌株数

A : ハクサイ褐条細菌病 (梅川ら、1982) B : トマト黒斑細菌病 (西山ら、1979)

C : ノースポール枝枯細菌病 (鍵渡ら、1985)

(1979) が報告したトマト黒斑細菌病菌および鍵渡ら(1985) が報告したノースポール枝枯細菌病菌では、チロシナーゼ活性が陽性でデンプンを少し分解すると報告されており、これらの項目では供試菌株と異なる結果になったが、その他の項目ではすべて一致した。異なる結果を得た2性質については、土屋ら(1979) が報告したレタス腐敗病ではデンプンの分解を陰性と報告し、木嶋(1987) が報告したディーフェンバキア葉腐細菌病ではチロシナーゼ活性を陰性と報告しており、これらの細菌学的性質は菌株によって反応が異なるものと考えられた。以上のように、LOPAT法による簡易同定、対照菌との細菌学的性質の比較、*P. viridiflava* の既往の記載との比較から、分離した細菌を *Pseudomonas viridiflava* (BURKHOLDER 1930) DOWSON 1939と同定した。*P. viridiflava* によるキクの病害は、これまで報告されておらず、病名をキク花腐細菌病 (Bacterial blossom blight) とすることを提案する。

P. viridiflava を病原とする病害はトマト、キュウリ、レタス、ハクサイなど十数種の作物 (西山, 1997) で報告されている。本病は3月に開花する作型 (彼岸出し) のみに発生した。この時期の発生地域では季節風が強く、日照時間が短く雨の多い時期にあたることから、感染に適した環境条件下で作物の抵抗力が低下したときに発病するのではないかと推察される。なお、現地における発病はスプレーキクのみで、小菊や輪キクでは確認できず、本病の品種間での発病程度の差については、今後接種試験等によって解析していく予定である。

摘要

2000年3月、鹿児島県大島郡和泊町において、収穫間近のスプレーキクで、発芽後花芯部分が褐変し、蕾が腐り、症状が進むと花首が折れ曲がる病害が発生した。発病部分からは細菌が分離され、キクに接種すると同様の症状が再現された。分離菌株はグラム陰性、好気性の桿毛を有する桿菌で、グルコースを酸化的に分解し黄緑色蛍光色素を産生することから、*Pseudomonas* 属細菌と考えられた。また Lelliott らの LOPAT 法による蛍光色素生産性 *Pseudomonas* 属植物細菌の類別に則って類別するとグループIIに属し、*P. viridiflava* であると考えら

れた。そこで、分離菌株の細菌学的性質を *P. viridiflava*, *P. cicorii* および *P. marginalis* と比較すると、分離菌株は調査した29項目すべてにおいて *P. viridiflava* と一致した。以上の結果から分離細菌を *Pseudomonas viridiflava* (BURKHOLDER 1930) DOWSON 1939と同定した。*P. viridiflava* によるキクの病害はこれまでに報告されておらず、病名をキク花腐細菌病 (Bacterial blossom blight) とすることを提案する。

参考文献

- 石井信一・向秀夫 (1914) 植物病原細菌誌, 明文堂 (東京) : 410.
- 鍵渡徳次・高橋朋子 (1985) *Pseudomonas viridiflava* によるノースポール枝枯細菌病. 関東東山研会報32 : 149-155.
- 川久保幸雄・本田範行・後藤正夫 (1988) *Pseudomonas cichorii* によるキクの斑点細菌病 (新称). 福井農試報告25 : 21-28.
- 岸 國平 (1998) 日本植物病害大事典, 全国農村教育協会 (東京) : 570.
- 木嶋利男 (1987) 鉢物類の細菌病に関する研究. 栃木県農業試験場研究報告34 : 1-168.
- Lelliott, R. A., E. Billing and A. C. Hayward (1966) A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. Appl. Bact. 29 : 470-489.
- 西山幸司 (1978) 植物病原細菌簡易同定法の試案. 植物防疫32 : 283-288.
- 西山幸司 (1997) 日本産植物細菌病の病名と病原細菌の学名, 日本植物防疫協会 (東京) : 111.
- 西山幸司・山本 勉・梅川 学・江塚昭典 (1979) *Pseudomonas viridiflava* によるトマト黒斑細菌病 (新称). 日植病報45 : 221-227.
- 土屋行夫・大畑貫一・家村浩海・実松孝明・白田昭・藤井溥 (1979) レタスの腐敗をおこす病原細菌の同定. 農業技術研究所報告33 : 77-92.
- 梅川 学・渡辺康正・佐々木次雄 (1982) *Pseudomonas viridiflava* によるハクサイ褐条細菌病. 野試報告 B 4 : 61-68.

(2003年4月30日受領；8月6日受理)