

Ralstonia solanacearum による トルコギキョウ青枯病 (新称)*

伊達 寛敬**・井上 幸次・那須 英夫

Bacterial Wilt of *Eustoma russellianum* Caused by *Ralstonia solanacearum*

Hiroataka Date**, Kouji Inoue and Hideo Nasu

緒 言

1993年9月、岡山県川上郡川上町の半促成2度切り栽培圃場で、トルコギキョウ (*Eustoma russellianum* G. Don) の葉が萎ちようして枯死する障害が発生した。萎ちようした株の維管束に多量の細菌が認められたので、本症状は細菌による病害であることが示唆された。

そこで、茎部の罹病部位から病原細菌を分離し、接種試験により病徴を再現するとともに、病原性及び細菌学的性質を検討し、病原細菌を *Ralstonia solanacearum* と同定したので、その概要を報告する。

病徴及び発生状況

1993年9月20日に川上郡川上町で栽培されているトルコギキョウ (品種:天竜乙女, キングオブブルーピコティー, 半促成2度切り栽培) の葉が萎ちようして枯死する株が認められた。発病株率は約20~30%で、発生面積は約3aであった。発病程度が軽微な株は下葉の萎ちようがみられる程度であった (図版I-1)。症状が進行した株では、葉が灰褐色あるいは褐色に枯死し (図版I-2)、茎や根部も葉と同様に褐変がみられ (図版I-3)、激しい場合には枯死していた。それらの株の維管束は褐変しており (図版I-4)、検鏡すると多数の細菌が認められた。10月29日の調査では病勢が拡大して収穫できなかつた株が放置されていた。なお、発生圃

場では、1990年までタバコが栽培されていた。

材料及び方法

供試細菌

1993年9月に岡山県川上町の発生圃場から罹病植物を採集し、ジャガイモ半合成寒天培地⁶⁾ (以下PSAと略記) 及び原・小野の *R. solanacearum* の選択培地⁶⁾ を用いて画線培養法によって11菌株 (天竜乙女から5菌株: T-1~5, キングオブブルーピコティーから6菌株: T-6~11) を分離し供試細菌とした。対照細菌には *R. solanacearum* 3菌株 (8107:中国農試保存のトマトからの分離菌株, OE1-1:岡山農試保存のナスからの分離菌株, PS65:日本たばこ産業葉たばこ研究所保存のタバコからの分離菌株) を用い、接種試験にはOE1-1とPS65を、細菌学的性質の調査には8107を供試した。

接種試験

PPG液体培地¹¹⁾ で培養したトルコギキョウからの分離細菌11菌株と対照のOE1-1, PS65を約 10^8 cfu/mlに調整し、素焼鉢 (直径15cm) に植えたトルコギキョウ、トマト及びタバコ苗の株元にポット当たり100ml灌注した。トルコギキョウは‘あずまの桜’, ‘グローリーピンク’, ‘グローリーパープル’の3~4葉苗, トマトは‘ボンデローザ’の2~3葉苗, タバコはBY-4の4

*本報告の一部は平成6年日本植物病理学会大会で報告した。

**岡山県農業総合センター総合調整部技術普及課

1999年1月28日受理

～5葉苗とし、各9個体を供試した。接種後14日間、植物は30（昼）～25（夜）℃の人工気象室で管理し、発病の有無を観察した。発病した植物についてはPSAを用いて供試細菌の再分離を行った。

細菌学的性質

細菌学的性質の調査法は後藤・瀧川²⁻³⁾が採用している方法に従った。供試細菌はPSA斜面培地に28℃、48時間培養後、殺菌水に懸濁し菌液濃度を10⁸cfu/mlに調整した。この菌液を検定用培地に1白金耳あるいは1白金線ずつ移植した。ゼラチンの液化試験の培養温度は25℃、その他の試験では28℃とした。

実験結果

分離菌の病原性

供試細菌11菌株をトルコギキョウに接種した結果は第1表に示したとおりである。トルコギキョウに接種すると、いずれの品種も7日後には本葉が萎ちようし、14日後には枯死する株が多くみられ、病徴が再現された。トマト及びタバコはいずれも発病した。

対照細菌OE1-1では、トマトはいずれも発病したが、トルコギキョウは品種により発病株率が低く、タバコは発病が認められなかった。また、対照細菌PS65では、トルコギキョウからの分離菌株と同様にいずれの植物も発病した。接種試験において、発病した供試植物からはいずれも供試細菌が再分離された。

細菌学的性質

分離細菌の11菌株はいずれも同様な性状であった。すなわち、短桿状で1～3本の極鞭毛を有し、大きさ0.54×1.78μmで、運動性があった。グラム反応は陰性で、ポリ-β-ヒドロキシ酪酸を細胞内に集積した。普通寒天培地上では全縁、丘状、平滑、乳白色、半透明の円形ないし不正円形の流動性のある集落を形成した。

細菌学的性質は第2、3表に示した通りで、主な生理・生化学的性質は次のとおりであった。本細菌はグルコースを酸化的に分解し、硝酸塩を還元し、アンモニア

を産生したが、緑色蛍光色素、レバンを産生しなかった。ツイン80を加水分解したが、デンプン及び綿実油は加水分解しなかった。オキシダーゼ活性、カタラーゼ活性を有していたが、アルギニンジヒドロラーゼ活性、レシチナーゼ活性は認められなかった。クエン酸を利用したが、マロン酸は利用しなかった。40℃下における生育は陰性であった。単一炭素源からの酸の産生については、グルコース、スクロース、マンニトールなどが陽性で、D-キシロース、D-アラビノース、L-アルギニンなどは陰性であった。

分離細菌は対照の *R. solanacearum* の8107と比較すると、46項目のうち43項目が一致したが、単一炭素源からの酸の産生試験で3項目異なった。これらの項目の有無はHayward⁷⁾によるbiovarあるいは岡部・後藤¹³⁾、岡部¹⁴⁾による生化学型の類別基準とされている項目の一つである。そこで、Haywardの方式に従って供試細菌をbiovarに類別すると、糖類や糖アルコールから酸を産生するbiovar IIIと一致した（第4表）。

考 察

R. solanacearum は世界の熱帯、亜熱帯及び温帯の広い地域で、多くの作物に病害を引き起こすことが知られている⁹⁾。その宿主範囲は44科数百種の植物とされ、その中でもナス科が最も多く、キク科、マメ科の順となっている⁸⁾。本実験結果から、トルコギキョウの立ち枯れ症状株から分離された細菌はトルコギキョウの他にトマト、タバコを侵すことが明らかで、対照細菌とした *R. solanacearum* の記載と比較すると、第2、3表に示したとおり、Bergery's Manual 第8版、Hayward⁷⁾、Nishiyamaら¹²⁾、Palleroni¹⁵⁾の記載とも多くの項目で一致していた。

以上の細菌学的性質及び病原性から、本病細菌を *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta, and Nishiuchi 1996 と同定した。 *R. solanacearum* によるトルコギキョウの病害は本邦未記載¹⁰⁾であり、本病をトルコギキョウ青枯病とすることを提案する。

病原の由来については、本病が発生した圃場では1990

第1表 分離細菌のトルコギキョウに対する病原性

供試菌株	トルコギキョウ			トマト	タバコ
	グローリーピンク	グローリーパープル	あずまの桜	ポンテローザ	(BY-4)
T-1～11	9/9 ^{a)}	9/9	9/9	9/9	9/9
OE1-1	3/9	6/9	2/9	9/9	0/9
PS65	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9

a) 発病株数/供試株数。

年までタバコが栽培されており、またタバコ立枯病菌 PS 65 がトルコギキョウを侵すことから、タバコ立枯病菌が考えられる。このことはタバコ圃場への転作作物としてタバコ立枯病菌による病害発生を考慮する必要があるこ

第2表 供試細菌及び対照細菌の細菌学的性質(1)^{a)}

性 質	供 試 細 菌 11 菌 株	対 照 細 菌 8107	Hayward (1964)	Nishiyama ら (1980)	Palleroni (1984)
グラム反応	—	—	—	—	—
酸素との関係	好気性	好気性		好気性	好気性
運動性	+	+	+	+	+
ポリ-β-HBA	+	+	+	+	+
O-F 試験	O/-	O/-	O	O/-	
硝酸塩還元	+	+	+	+	+
硝酸呼吸	+	+	+	+	
蛍光色素産生	—	—	—	—	—
硫化水素産生	—	—		—	
レバン産生	—	—			—
ゼラチン溶解	—	—	+ ^w		—
デンプンの加水分解	—	—			—
綿実油の加水分解	—	—			—
エスクリンの加水分解	—	—	—	—	
ツイーン80の分解	+	+	+		V
カタラーゼ活性	+	+	+	+	
アルギニンジヒドロラーゼ活性	—	—	—	—	—
チロシナーゼ活性	+	+	V	+	
レシチナーゼ活性	—	—		—	—
オキシダーゼ活性	+	+	+	+	+
クエン酸の利用	+	+	+		
マロン酸の利用	—	—	—		
酒石酸の利用	+	+			
40℃における生育	—	—	—	—	—
ジャガイモ腐敗	—	—			

a) +：陽性，—：陰性，V：菌株によって反応にばらつきがある，+^w：陽性であるが反応が弱い。

第3表 供試細菌及び対照細菌の細菌学的性質(2)

性 質	供 試 細 菌 11 菌 株	対 照 細 菌 8107	Hayward (1964)	Nishiyama ら (1980)	Palleroni (1984)
単一炭素源としての利用					
D-アラビノース	—	—			—
D-キシロース	—	—			—
グルコース	+	+	+	+	+
フルクトース	+	+	+		
ラムノース	—	—			—
ガラクトース	+	+	+	+	V
スクロース	+	+	+	+	+
マルトース	+	—	V	V	—
ラクトース	+	—	V	V	—
セロビオース	+	—	V		—
ラフィノース	—	—	—		—
デンプン	—	—			—
イヌリン	—	—	—		—
マンニトール	+	+	V	+	V
ソルビトール	+	+	V	+	V
ダルシトール	+	+	V		V
サリシン	—	—	—		—
トレハロース	+	+			+
D-リボース	—	—			V
L-アルギニン	—	—			—
L-アスパラギン	+	+		+	+

第4表 供試細菌の細菌学的性質と Biovar

単一炭素元 としての利用	供試細菌 11菌株	対照細菌 8107	Biovar ^{a)}				
			I	II	III	IV	V ^{b)}
スクロース	+	+	+	+	+	+	+
フルクトース	+	+	+	+	+	+	+
マルトース	+	+	-	+	+	-	+
ラクトース	+	+	-	+	+	-	+
セロビオース	+	+	-	+	+	-	+
マンニトール	+	+	-	-	+	+	+
ソルビトール	+	+	-	-	+	+	-
ダルシトール	+	+	-	-	+	+	-

a) I~IVは Hayward (1964) による類別.

b) He (1983) による類別.

c) +: 陽性, -: 陰性.

とを示唆している.

摘 要

1993年9月, 岡山県川上郡川上町の半促成2度切り栽培圃場で, トルコギキョウに本邦未記載の細菌病が発生した. 本病ははじめ下葉の萎ちようがみられ, 症状が進行すると葉が灰褐色あるいは褐色に枯死し, 茎部も葉と同様に褐変がみられ, 激しい場合には枯死した. また, それらの株の維管束は褐変しており, 多数の細菌が認められた.

分離細菌は, 細菌学的性質から *R. solanacearum* と一致したこと, トルコギキョウ, トマト及びタバコに強い病原性を示したことから, *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta and Nishiuchi 1996 と同定し, 病名はトルコギキョウ青枯病とすることを提案する.

引用文献

- Doudoroff, M. and N. J. Palleroni (1974) In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. eds.) 8th ed. The Williams Wilkins Co., Baltimore, pp. 217-243.
- 後藤正夫・瀧川雄一 (1984) 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方(1). 植物防疫, 38: 339-344.
- (1984) 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方(2). 植物防疫, 38: 385-389.
- (1984) 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方(3). 植物防疫, 38: 432-437.
- (1984) 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方(4). 植物防疫, 38: 479-484.
- 原 秀紀・小野邦明 (1983) タバコ立枯病の発生生態に関する研究 第1報 病原細菌の検出・定量用培地. 岡山たばこ試報, 42: 127-138.
- Hayward, A. C. (1964) Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. J. Appl. Bact., 27: 265-277.
- Hayward, A. C. and G. L. Hartman (1994) Bacterial Wilt. CABI, England, 259p.
- Kelman, A. (1953). The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 99: 1-194.
- 日本植物病理学会編 (1993) 日本有用植物病名目録. 第2巻, 第3版. 日本植物防疫協会, 東京. 176 p.
- 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.
- Nishiyama, k., N. H. Achmad, S. Wirtono and T. Yamaguchi (1980) Causal agents of cassava bacterial wilt in Indonesia. Contr. Centr. Res. Inst. Agric. Bogor, 59: 1-19.
- 岡部徳夫・後藤正夫 (1952) Bact. *solanacearum* の研究特に Strains の病原性について. 静大農学部研究報告, 2: 94-114.
- 岡部徳夫 (1965) ナス科植物青枯病菌の系統. 日植病報, 31: 152-158.
- Palleroni, N. J. (1984) In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Krieg, N. R. ed.) Vol. 1. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, pp. 141-198.
- 脇本 哲 (1965) OP 1 phage (*Xanthomonas oryzae* bacteriophage) の増殖に関する研究 第1報 種々の条件下の一段増殖実験. 九大農芸誌, 15: 151-160.

Summary

A bacterial wilt of russell prairie gentian (*Eustoma russellianum* G. Don) was observed under vinyl-house condition in Okayama, Japan, on September in 1993. In the wilted plants, the leaves, the stems and the vascular bundles became browning. The bacterial isolates obtained from the affected stems were quite uniform in their bacteriological characteristics. They showed distinct pathogenicity to russell prairie gentian, tobacco and tomato. The bacteriological characteristics of the bacterium coincided with those of the isolates of *Ralstonia solanacearum*. On the basis of bacteriological characteristics and pathogenicity, the bacterium was identified as *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta and Nishiuchi 1996. Bacterial wilt of russell prairie gentian was proposed for the name of the disease.

図版説明

図版 I

1. トルコギキョウ青枯病の初期病徴（萎ちょう症状）
2. トルコギキョウ青枯病の後期病徴（枯死株）
3. トルコギキョウ青枯病罹病株の根部症状
4. トルコギキョウ青枯病罹病株の維管束褐変

図版 I

