

Pseudomonas marginalis pv. *marginalis* (BROWN 1918)

STEVENS 1925 によるヒアシンス腐敗病（新称）*

高山 睦雄・小林 慶範

君島 悦夫**・吉田 英男

横浜植物防疫所

Bacterial Rot of Hyacinth Caused by *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* (BROWN 1918) STEVENS 1925. Mutsuo TAKAYAMA, Yoshinori KOBAYASHI, Etsuo KIMISHIMA and Hideo YOSHIDA. (Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 22: 49-53 (1986).

Abstract: In April 1983, a bacterial disease was found in Ibaraki prefecture during the postentry quarantine of hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.) imported from the Netherlands. The affected plants showed soft rot as the primary symptom on the top of leaves, flower stems and flowers, and then dieback occurred from the primary lesions. The causal bacterium was isolated from leaves and flower stems. Those were identified as *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* (BROWN 1918) STEVENS 1925 on the basis of the bacteriological characteristics and the pathogenicity.

This is the first record of the bacterial rot of hyacinth caused by this pathogen in Japan.

はじめに

1983年4月、茨城県下で輸入隔離検疫中のオランダ産ヒアシンスに、葉、花茎、花などが先端部から軟化・腐敗し乾燥枯死する病害が発生した。罹病部からは細菌が分離され、接種試験により病原性が確認された。また、細菌学的性質を調査したところ、分離細菌は *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* (BROWN 1918) STEVENS 1925 であることが判明した。

本病原細菌によるヒアシンスの病害は我が国では未記載であるので、その試験結果を報告する。

試験を行うにあたり、病害標本の採集に多大なご協力を頂いた当所日立出張所 寺口睦雄所長、終始有益なご助言、ご指導を賜った病菌課 長尾記明課長、川合 昭、西尾 健両技官、ならびに病原細菌の電子顕微鏡写真を撮影頂いた当所大和圃場の各位に厚くお礼申し上げます。

材料および方法

供試細菌

典型的な軟化・腐敗の症状を示す葉および花茎の比較的新鮮な病斑部から、ジャガイモ半合成寒天培地（PSA 培地）を用いた希釈平板法により細菌を分離し

た（Table 1）。ヒアシンスの葉接種試験には分離した13菌株のすべてを、その他の接種試験にはヒアシンスの各品種から分離した各1菌株（D-1, Ch-1, J-1, C-1 および M-1）を用いた。また、細菌学的性質の試験には対照細菌として、当所で保存のキュウリから分離された *Ps. marginalis* pv. *marginalis* 1菌株を用いた。

供試植物

ヒアシンスの葉（葉身基部から切り取ったもの；切葉）は、1983年および1984年の5月に当所の圃場栽培株から採取した。ヒアシンス苗は、鉢植えの球根をガラス室内で3ヶ月間栽培し、開花したものをを用いた。ヒアシンス以外の植物は、温室内（平均20℃）で25日間鉢に育苗したものを供試した。

接種試験

接種源の調整：供試菌株をPSA斜面培地で25℃、24時間培養したものに殺菌水を加えて懸濁し、約10⁸個/mlの菌濃度に調整した。

接種方法および接種部位：ヒアシンスの葉については、束ねた針により付傷接種し、ヒアシンス苗については、花茎への注射筒を用いた注入接種および株全体への噴霧接種を行った。キュウリ、エンドウ、カボチャ、スイカ、アズキおよびトマトについては茎の中央部へ束ねた針で付傷接種し、レタス、ハクサイおよびホワイトクローバーについては株全体への噴霧接種を行った。接種した植物は48時間ビニール袋でおおって多湿状態を保った。発病の観察は、ヒアシンスの葉接種試験では実験室内で7日間、その他の試験では温室内（平均20℃）で1ヶ月間行った。

* 本報告の概要は昭和60年度日本植物病理学会大会（昭和60年4月）において発表した。

** 現在、農林水産省農蚕園芸局植物防疫課

Table 1. List of bacterial isolates from the infected hyacinth plants

Isolate no.	Variety	Locality	Date of isolation
D-1, D-2	Delft Blue	Ibaraki-cho, Ibaraki	April 1983
Ch-1, Ch-2	City of Haarlem	Ibaraki-cho, Ibaraki	April 1983
J-1~J-5	Jan Bos	Naka-cho, Ibaraki	May 1984
C-1	Carnegie	Ibaraki-cho, Ibaraki	May 1984
M-1, M-2	Marie Select	Ibaraki-cho, Ibaraki	May 1984
Ja-1	Jan Bos	Ibaraki-cho, Ibaraki	May 1984

腐敗試験

市販のジャガイモ塊茎, ニンジン根, キュウリ果実, レタス葉などを輪切りまたは5 cm 角の切片にし, その中央に菌体を付着させた針で穿刺接種し, 多湿状態にしたペトリ皿に入れて25°Cで2日間保った。

細菌学的性質

細菌学的性質の試験は, 主として後藤・龍川(1984)の採用した方法によって行ったが, 一部, 富永(1971)および西山(1978)の方法も併用した。

結 果

発生状況および病徴

本病害の発生は, 1983年茨城県東茨城郡茨城町および那珂郡那珂町の輸入隔離検疫中のヒアシンズ栽培圃場で確認された。

被害状況は圃場での発病率が低く, また, 散在して発生していることもあり, 現在のところ甚大な被害を与えるまでには至っていない。これまでに発生が確認された品種は, デルフト・ブルー, シティ・オブ・ハーレム, ジャン・ボス, カーネギーおよびマリー・セレクトの5品種である。これらの品種間に病徴の差異, 被害程度の顕著な差はみられない。

発生時期は主としてヒアシンズが地上に葉を出す3月から開花期の4月にかけてである。発病は葉, 花茎および花で見られ, 葉では初め先端部分が暗緑色水浸状となり, 次第に軟化・腐敗し, 最後には葉先から順次乾燥枯死する (Fig. 1)。病徴の進展は比較的ゆるやかであり, 葉身基部にまで病斑が達することはほとんどない。また, 罹病部と健全部との境界は明瞭である。花茎および花の病徴は葉のそれに類似し, 最後には乾燥枯死するが, 花は花茎から脱落することなく付着したままである。球根での発病は見られない。

分離細菌の病原性

ヒアシンズ葉に付傷接種すると, 48時間後に接種部位を中心に暗緑色水浸状で紡錘形の病斑を形成し, 次

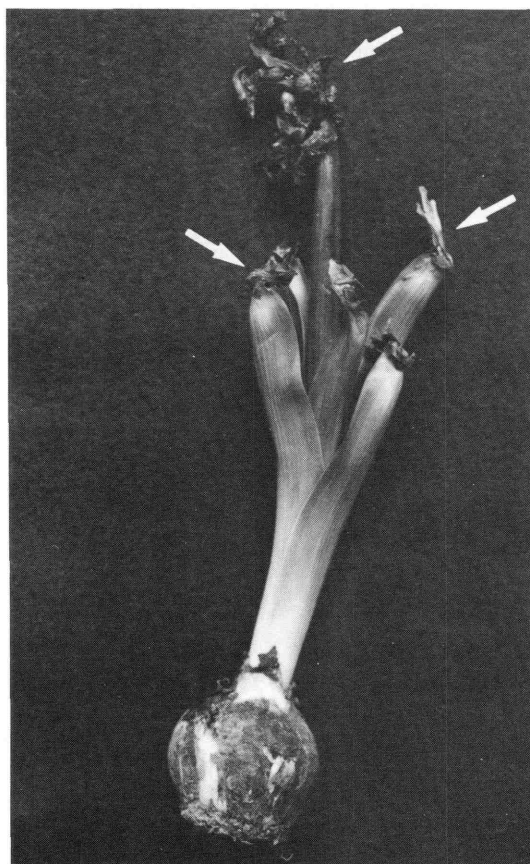


Fig. 1. Symptom of bacterial rot of hyacinth caused by *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*.

第に拡大して組織の軟化・腐敗を生じた。ヒアシンズの花茎に注入接種すると, 48時間後に花茎全体が水浸状になって倒伏し次第に乾燥枯死したが, 花は花茎から脱落することなく調査最終日まで付着したままであった。噴霧接種では, 葉先から水浸状の腐敗を生じて乾燥枯死し, 自然条件下と同様の病徴を呈した。こ

これらの病斑部からは病原菌を再分離することができた。

ヒアシンス以外の植物では、茎に付傷接種後2日目にキュウリ、エンドウ、カボチャおよびスイカに暗緑色水浸状で窪んだ病斑を形成し、次第に拡大して、褐色、紡錘形の凹陷した病斑となった。アズキおよびトマトでは発病しなかった。噴霧接種では接種後2日目にレタスに灰白色円形病斑を、ハクサイに暗緑色円形病斑を形成し、後いずれの病斑も拡大して灰褐色円形病斑となった。ホワイトクローバーは発病しなかった。

ベトリ皿内での腐敗試験では、ジャガイモ塊茎、ニンジン根、キュウリ果実、レタス葉、タマネギ鱗片、ダイコン根およびハクサイ葉を48時間以内に著しく軟化・腐敗させたが、ヒアシンス鱗片は侵されなかった。

分離細菌の細菌学的性質

普通寒天斜面培地に25℃、24時間培養した菌株は、短桿状で大きさ $0.5\sim0.8\times1.2\sim2.5\mu\text{m}$ (平均 $0.6\times1.6\mu\text{m}$)、1~3本の単極毛を有し (Fig. 2)、運動性、芽胞を形成せず、フクシン、サフラニンおよびメチレンブルーによく染まり、グラム陰性であった。

普通寒天斜面培養での分離細菌は、25℃、培養3日目に直径1~3mm、乳白色、円形、平滑、中高、全縁、内容均一、湿色を帯びた無臭の集落を形成した。斜面培養では糸状に発育し、高層せん刺培養ではせん刺溝上部と表面に発育した。ブイヨン水およびペプトン水培養での発育は中庸で一様に懸濁した。ウシンスキー氏液およびフェルミ氏液培養では発育する株としない株が存在し、コーン氏液培養では発育しなかった。

分離細菌はグルコースを酸化的に分解し、キングB培地で緑色蛍光色素を産生した。レバン産生、サッカ

ロースからの還元物質の生成、グルコン酸の酸化、アルギニンジヒドロラーゼ活性、ゼラチンの液化、カゼインの消化、アンモニアの生成、オキシダーゼ活性、リトマスミルクの還元性、牛乳の凝固、マーガリンの加水分解および塩化ナトリウム耐性5%はいずれも陽性、3-ケトーラクトースの生成、VP反応、MR試験、脱窒反応、硫化水素の産生、フェニールアラニンデアミナーゼ活性、インドールの生成、タバコ過敏反応、発育因子の要求性、37℃での発育、中性赤の還元およびデンプンの加水分解はいずれも陰性であった。エスクリンの加水分解 (陽性9株)、硝酸塩の還元 (陽性9株)、尿素の加水分解 (陽性9株)、チロシナーゼ活性 (陽性8株) およびツィーン80の加水分解 (陽性8株) は菌株により反応結果が異なった。また、分離細菌は炭素源として、アラビノース、フルクトース、ガラクトース、グルコース、マンノース、キシロース、スクロース、メロピオース、イノシトール、マンニトール、ソルビトールおよびグリセリンを利用して酸を産生したが、ラクトース、マルトース、ラフィノース、セロピオース、デキストリン、イヌリン、グリコーゲン、デンプン、ズルシトール、エリスリトール、メチル α -グルコシドおよびサリシンからは産生しなかった。ラムノース (陽性9株)、トレハロース (陽性9株) およびアドニトール (陽性6株) では、菌株により酸を産生する株としない株が存在した。また、分離細菌はマロン酸、クエン酸およびコハク酸を利用してアルカリを産生したが、酒石酸、馬尿酸および安息香酸からは産生しなかった。ギ酸では菌株によりアルカリを産生する株 (4株) としない株が存在した。

対照細菌とは、塩化ナトリウム耐性および分離菌株間で異なる反応を示したことを除いて、ほとんどの性質で結果が一致した。

考 察

分離細菌はグラム陰性で桿状、極べん毛を有し、運動性、普通寒天培地上で白色円形集落を形成し、グルコースを酸化的に分解し、キングB培地で緑色蛍光色素を産生、植物に病原性を有することなどから *Pseudomonas* 属細菌と考えられる。

蛍光色素を産生する *Pseudomonas* 属細菌の類別法がいくつか提案されている。これらの類別法の基準となる主な細菌学的性質を分離細菌のそれと比較検討してみると、分離細菌は Lelliott ら (1966) の IVa 群に、Misaghi and Grogan (1969) の IIB 群にあてはまり、いずれも *Ps. marginalis* (BROWN 1918) STEVENS

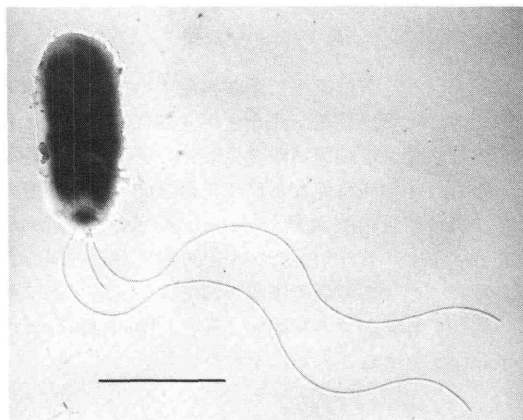


Fig. 2. Electron micrograph of *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* D-1.
Bar represents $1\mu\text{m}$.

Table 2. Comparison of bacteriological characteristics of the isolates with those of *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*

Character	Isolates	<i>Ps. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>				
		A ^{a)}	Lelliott ^{b)}	Misaghi ^{c)}	Ohuchi ^{d)}	Tsuchiya ^{e)}
Levan formation	+ ^{f)}	+	+	+ or -	-	+
Oxidase	+	+	+	+	+	+
Potato rot	+	+	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	+	+	+	+	+	+
Tobacco hypersensitive reaction	-	-	-	-	-	-
2-keto-gluconate production	+	+	+	+		+
Lipase	+	+	+	+		+
Nitrate reduction	d	+	+	+	+	+
Indole production	-	-				-
H ₂ S production	-	-				-
Acid from						
L-Arabinose	+	+		+	+	
L-Rhamnose	d	-			-	+
Sucrose	+	+	+	-	-	+
Maltose	-	-				-
Lactose	-	-				+
Mannitol	+	+		+	+	

a) One isolate from cucumber was tested in this experiment.

b,c,d,e) Cited respectively from Lelliott *et al.* (1966), Misaghi and Grogan (1969), Ohuchi *et al.* (1983), and Tsuchiya *et al.* (1984).

f) The symbols stand for as follows: +, positive; -, negative; d, reactions different with strains.

1925に該当する。また、我が国で *Ps. marginalis* pv. *marginalis* と同定されたタマネギ（大内ら, 1983）、ランキュラス（土屋ら, 1984）の病原細菌の特徴ともよく一致し、さらに、本試験で用いた対照細菌ともほとんどの性質で一致した（Table 2）。

Ps. marginalis は宿主範囲の広い細菌であることが報告されており（太田ら, 1976）、本試験でも分離細菌はヒアシンズ以外にもキュウリ、エンドウ、スイカなどに病原性を有していた。また、*Ps. marginalis* は腐生性の細菌であることが報告されており（Lelliott, 1966）、分離細菌もジャガイモ、ニンジン、タマネギなどに腐敗を生じた。

以上の細菌学的性質および病原性の点から、分離細菌は *Ps. marginalis* pv. *marginalis* (BROWN 1918) STEVENS 1925 と同定された。

最近、我が国において、本細菌によって引き起こされる花の病害がいくつか報告されている（陶山ら, 1979；長田ら, 1984；河原林ら, 1985）が、ヒアシンズでは未記載であるので、病名をヒアシンズ腐敗病（英名：Bacterial rot of Hyacinth）とすることを提案する。

なお、本病害は輸入検疫中に発見されたものであり、球根生産国のオランダでも本細菌による被害が報告されている（MOORE, 1979）ことから、今後、伝染経路の解明や防除方法を確立するうえでの本病害の発生態について、さらに詳細な調査を行う必要がある。

摘 要

1983年4月、茨城県下で隔離検疫中のオランダ産ヒアシンズに、葉、花茎、花などが先端部から軟化・腐敗し乾燥枯死する細菌病が発生した。罹病部から細菌を分離し、その病原性ならびに細菌学的性質を調査したところ、病原細菌は *Ps. marginalis* pv. *marginalis* (BROWN 1918) STEVENS 1925 と同定された。本細菌によるヒアシンズの病害は我が国では未記載であるので、病名をヒアシンズ腐敗病（英名：Bacterial rot of hyacinth）とすることを提案した。

引 用 文 献

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かた (1)~(4). 植物防疫 **38**: 339-344, 385-389, 432-437, 479-484.
- 河原林主一・天野貞治・陶山一雄・藤井 溥 (1985) *Pseudomonas marginalis* によるプリムラ腐敗病 (新称). 日植病報 **51**: 343 (講要).
- LELLIOTT, R.A., E. BILLING and A.C. HAYWARD (1966) A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. appl. Bacteriol. **29**: 470-489.
- MISAGHI, I. and R.G. GROGAN (1969) Nutritional and biochemical comparisons of plant-pathogenic and saprophytic fluorescent pseudomonads. Phytopathology **59**: 1436-1450.
- MOORE, W.C. (1979) Diseases of Bulbs Second Ed. Bull. Minist. Agric. Fish. Fd., London pp. 2-3.
- 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.
- 太田光輝・森田 偉・森 喜作・後藤正夫 (1976) *Pseudomonas marginalis* (BROWN) STEVENS の一系統によるキュウリ縁枯細菌病 (新称) について. 日植病報 **42**: 197-203.
- 長田 茂・三浦喜夫 (1984) *Pseudomonas marginalis* によるシクラメン芽腐細菌病. 日植病報 **50**: 421 (講要).
- 大内 昭・大沢高志・西村十郎 (1983) タマネギ腐敗病を起こす2種の細菌病菌, *Erwinia rhapsontici* (MILLARD 1924) BURKHOLDER 1948 および *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* (BROWN 1918) STEVENS 1925. 日植病報 **49**: 619-626.
- 陶山一雄・井埜浩志・小川憲康・小玉孝司・藤井 溥 (1979) *Pseudomonas* sp. によるダッチアイリス葉枯症状について. 日植病報 **45**: 559-560 (講要).
- 富永時任 (1971) 日本における牧草および飼料作物の病害に関する研究. 農技研報 **C25**: 206-306.
- 土屋行夫・伊達寛敬・小野木静夫 (1984) ラナンキュラス腐敗病 (新称). 日植病報 **50**: 83 (講要).