

イネ褐条病細菌による籾の病徴

門田 育生・大内 昭

Ikuro KADOTA and Akira OHUCHI: Symptom of rice glume inoculated with *Pseudomonas avenae*

イネ褐条病がイネの幼苗期に発生する病害であることはこれまで多くの報告で明らかにされている(4,5,9,10,11)。ところが、本田移植後の分けつ期から出穂開花期までの病徴については、イネが冠水した場合⁷⁾を除き全く明らかにされていない。

北陸地域の育苗箱では他地域に比べ褐条病がより多く発生し、その防除法の確立が急がれている現在、分けつ期以降の病徴を明らかにして本病の発生生態を解明することが重要と考えられる。そこで本実験においては、イネ褐条病細菌を出穂直後の穂に噴霧接種して、籾の病徴を詳細に観察するとともに、圃場における自然褐変籾の症状と対比した。また、登熟後の種子を用い病原の保菌程度を検討した。

材料および方法

1 供試細菌および接種試験

本試験に供試したイネ褐条病細菌 (*Pseudomonas avenae* H18201株) は、昭和57年新潟県板倉町の育苗箱に発生した被害苗から平板希釈法によって単集落分離したものである。本菌株を PPGA 培地上で24時間28°Cで培養した後、所定の濃度 ($10^2 \sim 10^9$ 個/ml) となるように菌体を滅菌水に懸濁した。これとは別に、1/5,000 a ワグナーポットに栽培したイネ (石狩白毛) を用意し、穂ばらみ期頃から3~4日おきに70%エタノールを噴霧して表面消毒を施した個体を出穂直後の穂に上記の菌体懸濁液を約20ml/ポットずつ噴霧して病原を接種した。接種個体を28°Cの湿室に12時間静置したのち、ガラス室に移して病徴の発現を詳細に観察すると同時に、病原接種籾から病原体を再分離した。

また、接種個体の登熟籾を室温で数ヶ月間保存したのち、育苗箱に播種して褐条病の発病状況を観察するとともに、病原体の再分離を試みた。

2 自然褐変籾からのイネ褐条病細菌の分離

病原接種籾の病徴に類似する乳熟期の自然褐変籾7点

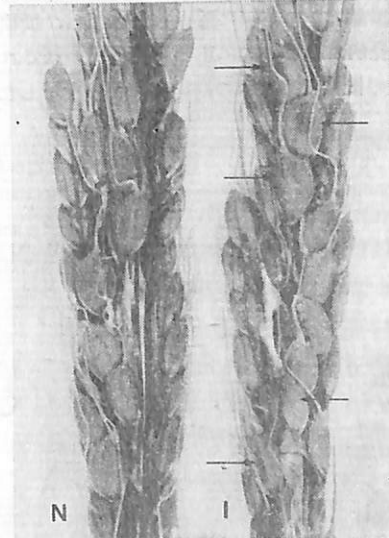
を上越地域の圃場から採集して、細菌の分離を試みた。分離細菌の細菌学的性質を Bergey's Manual 第8版²⁾の方法にもとづいて調べ、菌種を同定した。

さらに、上記の自然褐変籾を採集した同一圃場から登熟後の籾を再び採集し、1)と同様に播種して褐条病の発病率を調査し、被害苗から本病原の分離を試みた。

結 果

1 病原接種籾の病徴

$10^2 \sim 10^7$ 個/mlの菌体懸濁液を噴霧した籾では、滅菌水を噴霧した健全対照区と同様に明かな肉眼的変化を示さず、稔実程度においても明確な差異は見いだせなかった。一方、 10^8 個/ml以上の高濃度の菌体懸濁液を噴霧した籾では、接種4~5日後に内穎および外穎の一部に輪郭が不鮮明な淡黒褐色の水浸状病斑が現れ、10日後にその色調が最も濃くなった(第1図)。しかし、変色程度は



第1図 籾におけるイネ褐条病の病徴 N:無接種 I:接種
矢印は病斑を示す

あまり顕著でなく、登熟とともに随べいされ健全対照区の籾と識別するのが困難となった。これらの病原接種籾から細菌を分離したところ、いずれも白色の集落が優位を占め、黄色細菌が分離される頻度は著しく低いことが判明した。白色集落から単離した分離細菌20株は、いずれ

本報告の概要は昭和59年度日本植物病理学会大会において発表した⁶⁾。
北陸農業試験場 Hokuriku National Agricultural Experiment Station, Joetsu, Niigata 943-01

第1表 接種母株 (H8201株) および再分離株の主な細菌学的性質

項目	再分離菌 (20株)	<i>P. avenae</i> (H8201株)	項目	再分離菌 (20株)	<i>P. avenae</i> (H8201株)
グラム反応	-	-	レバンの産生	-	-
O-F試験	O/-	O/-	41°Cでの生育	+	+
酸素との関係	好気性	好気性	単一炭素源	-	-
運動性	+	+	セロビオース	-	-
栄養要求性	-	-	トレハロース	-	-
緑色蛍光色素産生	-	-	マンニトール	+	+
コロニーの色	白	白	ソルビトール	+	+
D-1 瘰癧培地	-	-	L-ラムノース	-	-
上での生育	-	-	スクロース	-	-
オキシダーゼ活性	+	+	グルコース	+	+
アルギニン	-	-	β-アラニン	+	+
ジヒドロラーゼ活性	-	-	病原性	+	+
硝酸塩の還元	+	+			

第2表 接種濃度と発病苗率との関係

接種濃度 (1 ml当りの生菌数)	0	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁹
発病苗率	0	1.2	6.7	12.2	43.8	89.6

もグラム陰性の運動性を有する好気性桿菌で栄養要求性はなく、緑色蛍光色素は非産生であった。単一炭素源としてマンニトール、ソルビトール、グルコース、β-アラニンを利用し、そのおもな細菌学的性質は元の接種母株のそれと完全に一致した。また、これらの20株は接種試験によってイネ褐条病の病徴を再現した(第1表)。よって、これら20株はいずれもイネ褐条病細菌と判定された。

登熟後の接種穂を育苗箱に播種したところ、接種濃度と褐条病の発病苗率との間に正の相関が見いだされ、10⁹個/ml濃度の接種で89%台の高い発病苗率を示した(第

2表)。また、健全対照区では全く発病が認められなかったことから、開花期の頃に接種して苗を発病させるために必要な最小菌体濃度は10²個/ml前後と判断された。

以上のことから、イネ褐条病細菌はほとんど病徴を示すことなく、出穂直後の穂に侵入して越冬し、幼苗期発病のおもな第1次伝染源となると推定される。

2 自然褐変穂からのイネ褐条病細菌の分離

病原接種穂の病徴に類似した自然発病の褐変穂7点を7地点の圃場から採集し、平板希釈法によって41菌株の細菌を分離した。分離された細菌はすべて黄色細菌で、集落の色が白色を示すイネ褐条病細菌を分離することはできなかった。

これらの黄色細菌41株は、グラム陰性の運動性を有する発酵性桿菌で、栄養要求性はなく硫化水素、アセトイ

第3表 自然褐変穂から分離された黄色細菌41株の細菌学的性質

項目	分離細菌 (41株)	<i>E. herbicola</i> ¹⁾	<i>E. ananas</i> ¹⁾	項目	分離細菌 (41株)	<i>E. herbicola</i> ¹⁾	<i>E. ananas</i> ¹⁾
グラム反応	- ²⁾	-	-	インドールの産生	+/36, -/5	-	+
O-F試験	F	F	F	グルコースからのガス 産生	-	-	-
運動性	+	+	+	カゼインの加水分解	-	-	-
栄養要求性	-	-	-	青色色素	-	-	-
硫化水素産生	+	+	d	黄色色素	+	+	+
ウレアーゼ活性	-	-	-	BCPミルクの反応	Acid	Acid	Acid
36°Cでの生育	+	+	+	BCPミルクの凝固	+/38, -/3	d	+
グルコン酸の酸化	+/7, -/34	-	-	BCPミルクのペプトン 化	+/3, -/38	-	-
スクロースから還元物 質の生成	+	d	+	でんぶんの水解	-	-	-
桃色水溶性色素	-	-	-	酸の産生	-	-	-
アセトインの産生	+	+	+	D-ソルビトール	+/39, -/2	+	+
集落の粘稠性	+/3, -/38	d	+	可溶性でんぶん	-	+	+
硝酸塩の還元	+/2, -/39	+	-	イノシトール	+/20, -/21	-	+
DNase活性	+/8, -/33	-	-	α-メチル-D-グル コシド	-	-	-
ゼラチンの液化	+	+	+	グリセロール	+/38, -/3	-	+
フェニルアラニン	+/4, -/37	+	-	メリビオース	+	-	+
デアミナーゼ活性	-	-	-	ラクトース	+	d	+

1) Dye(1969)のデータ³⁾

2) +: 陽性, -: 陰性, d: 菌株により反応が異なる

第4表 自然褐変切の播種によるイネ褐条病の発病程度

採集地	品種	調査苗数	発病苗数	発病苗率
新潟県糸魚川市	コシヒカリ	392	57	14.5
上越市	新潟早生	945	53	5.6
上越市	フクニシキ	982	69	7.0
上越市	コシヒカリ	1,088	87	8.0
板倉町	こがねもち	1,016	320	31.5
頸城村	コシヒカリ	1,042	195	18.7
三和村	コシヒカリ	939	57	6.1

ンを産生するのが特徴である。DNase 活性、フェニルアラニンデアミナーゼ活性は陰性のものが多く、ゼラチンを液化し、BCPミルクを酸性にした。メリビオース、ラクトースから酸を産生し、多くの菌株はD-ソルビトール、グリセロールから酸を産生した。また、すべての菌株は可溶性でんぷん、 α -メチル-D-グルコシドから酸を産生しなかった(第3表)。このように、黄色の分離細菌41株は*Erwinia herbicola*と*E. ananas*との中間的な性質を示し(第3表)*E. ananas*により近縁の細菌と推定される。しかし、*E. herbicola*と*E. ananas*とを別種として取り扱う識別点が未だ明記されないため、41株をどちらか一方の菌種として同定することは避け、両菌種を含めた*Erwinia herbicola*群に属すると判定するのが妥当と思われる。

いずれにしても、これら41株は催芽期～第1葉展開期のイネ苗に病原性を示さないため、幼苗期の宿主に非親和性と考えられ、出穂直後の内・外頰だけを侵す内頰褐変病細菌^{1,13)}と判断される。したがって、本実験で供試した自然褐変切の病徴には*E. herbicola*群の細菌が直接関与し、イネ褐条病細菌の関与は無視できると結論される。

一方、登熟後の自然褐変切7点を別個に育苗箱に播種すると、褐条病の発病苗率が数%から30%台の比較的高い値を示し(第4表)、いずれの被害苗からもイネ褐条病細菌が容易に分離された。

以上のことから、イネ褐条病細菌は自然褐変切に保菌されているものの、その程度は平板希釈法で直接分離できるほど高くなく、きわめて低濃度と考えられる。

考 察

イネ褐条病細菌による切の病徴は、高濃度の菌体懸濁液を噴霧接種した場合に限り、切の内・外頰に淡黒褐色の水浸状病斑が現れたが、 10^2 ～ 10^7 個/mlの接種濃度では何らの変化も観察されなかった。自然褐変切からイネ褐条病細菌を直接分離しようとした実験で明かなように、切における本菌の保菌程度はきわめて低濃度であつて、イネ内頰褐変病細菌が優位を占めることが判明した。これらの実験的事実から、圃場から採集した切7点の褐変

にはイネ褐条病細菌よりも、むしろ*Erwinia herbicola*群の細菌が関与すると判断され、内・外頰を肉眼的に観察することによってイネ褐条病細菌の感染の有無を判定することはきわめて困難と結論される。

出穂直後の穂にイネ褐条病細菌を噴霧接種して得た種切を播種すると、褐条病が高頻度に発生することが本実験で明かとなった。このことは、本病原細菌が種子内に潜伏し、翌年発生のおもな第一次伝染源となることを示している。病害防除に当り、第1次伝染源の遮断が最も重要と考えられるが、褐条病細菌を保菌した切は肉眼的に識別できる病変をとまわず、稔実程度も健全切と差異がないので、無意識のうちに種切として供試される場合が多いように思われる。今後、播種適期前の適当な時期にあらかじめ小量の種子を発芽させ、保菌の有無を判定することが肝要である。種子が保菌している場合には、カスガマイシン剤処理によってほぼ完全に制御できることが報告されている^{8,12)}。

摘 要

イネ褐条病細菌による切の病徴を詳細に検討し、次のことを明らかにした。

- 1 イネ褐条病細菌の高濃度懸濁液(10^8 , 10^9 個/ml)を出穂直後の穂に噴霧接種したときに限り、切の内、外頰に輪郭の不鮮明な淡黒褐色の水浸状病斑が現れ、 10^7 個/ml以下の低濃度では病徴が現れなかった。
- 2 病原接種切から元の接種母株と同一の細菌学的性質を示す病原細菌が容易に分離された。
- 3 登熟後の病原接種切を播種したところ高頻度で褐条病が発生し、接種濃度が高くなると発病苗率も高まった。
- 4 病原接種切に類似した病徴を示す自然褐変切からイネ褐条病細菌を直接分離することは不可能で、*E. herbicola*群に属する黄色細菌が多数分離された。
- 5 この黄色細菌は生育初期のイネ苗に病原性を示さず、出穂直後の内・外頰を侵すことから内頰褐変病細菌と判定され、切の褐変に直接関与すると結論した。
- 6 登熟後の自然褐変切を播種するとイネ褐条病が発生し、被害苗から容易に病原細菌が分離されることから、本病原は自然褐変切に低率ながら潜伏し、翌年のおもな第1次伝染源になると推考した。
- 7 イネ褐条病細菌を保菌した種子は病徴を示さず、稔実程度にも差異がないので、発芽育苗試験による種切検定が防除にとってきわめて有効であることを指摘した。

引用文献

- 1) 畦上耕児・尾崎克己・松田明・大畑貫一(1983)

- Erwinia herbicola* によるイネ内頰褐変病 (新称). 農技研報 C37: 1~12. 2) Doudoroff, M. and Pal-leroni, N. J. (1974) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th. ed.). Williams & Wilkins Co., Baltimore. 3) Dye, D. W. (1969) A Taxonomic Study of the Genus *Erwinia* III. The "Herbicola" Group. N. Z. J. Sci. 12: 223~236. 4) Goto, K. and Ohata, K. (1961) Bacterial Stripe of Rice. Spec. Public. Coll. Agr. Taiwan Univ. 10: 49~57.
- 5) 門田育生・大内 昭(1983) 幼苗期におけるイネ褐条病の病徴. 日植病報 49: 561~564. 6) 門田育生・大内 昭(1984) 籾におけるイネ褐条病の病徴と保菌程度. 日植病報 50: 415 (講要). 7) 門田育生・大内 昭 (1986) イネ株腐病類似症から分離された病原細菌. 日植病報 52: 501~502 (講要). 8) 門田育生 (1986) イネ褐条病の発生生態と防除. 日植病学会昭和61年度植物感染生理談話会講演要旨集: 77~83. 9) 宮島邦之 (1974) イネ褐条病の発生について. 日植病報 40: 119(講要). 10) 佐藤善司・川久保幸雄・白田 昭・松田 泉・土屋行夫・伊達寛敬(1983) イネ褐条病菌による育苗箱における幼苗腰曲り症. 農技研報 C38: 149~159. 11) 富永時任・木村佳世・郷 直俊(1983) 育苗箱におけるイネ褐条病の発生について. 日植病報 49: 463~466. 12) 矢尾板恒雄・藤巻雄一・阿部徳太郎・辻本一幸 (1984) ハトムネ自動催芽機へのカスガマイシン剤加用によるイネ褐条病の防除. 北陸病虫研報 32: 86~90. 13) 吉田浩之・尾崎克己・畦上耕児 (1982) イネの内えい褐変症. 植物防疫 36: 24~28.

(1987年10月26日受領)