

北海道におけるイネ苗立枯細菌病の発生*¹

竹内 徹*² 田村 修*³

育苗中のイネの本葉第二葉が葉身基部から黄白化し、のちに苗全体が赤褐色を呈して針状に枯死する病害が1990年および1991年に北海道の道央部を中心に多発した。発病苗からは赤褐色色素を産生する細菌が分離された。これらは接種によりイネ苗の生育を著しく阻害し、同一の病徴を再現した。本細菌の細菌学的性状は、イネ苗立枯細菌病の病原細菌 *Pseudomonas plantarii* Azegami *et al.* 1987と一致した。以上のことから、イネ苗立枯細菌病の北海道における発生が初めて明らかとなった。また、カスガマイシン剤による本病の防除効果についても検討した。

緒 言

1990年5月、北海道空知支庁管内で育苗中のイネの本葉第二葉、ときには第一葉が葉身基部から黄白化し、のちに苗が赤褐色に枯死する病害が多発した。発病苗から病原菌の分離を試みたところ、多数の細菌が検出されたことから、本細菌の病原性および細菌学的性質を検討した。その結果、本病は *Pseudomonas plantarii* Azegami *et al.* 1987²⁾ によるイネ苗立枯細菌病であることが明らかとなった。本病は本州各府県で発生が確認されているが^{1, 9, 12, 13, 16, 21)}、北海道では初めての確認であるので、病原細菌の同定結果について報告する。また、本病に対するカスガマイシン剤の効果についても検討したので、併せて報告する。

試験方法

1. 病原細菌の分離

発病苗の葉鞘基部を約2 mm切取り、乳鉢で少量の殺菌水とともにすりつぶし、その1白金耳を

PPGA 培地¹⁴⁾ 平板に画線した。25℃ 2日間培養後、培地平板上に生じた単コロニーを釣菌し、以下の実験に供試した。なお、分離した菌株は10% スキムミルク水溶液に懸濁し、-30℃で凍結保存した。

2. 病原性

分離した菌株の病原性を確認するため、イネ種子「ゆきひかり」を用いて接種試験を行った。すなわち、PPGA 培地で25℃ 2日間培養後の分離細菌を殺菌水に懸濁し、これにイネ種子を25℃ 24時間浸漬して接種した。接種後、これらの種子を12℃ 5日間浸種し、32℃ 15時間催芽した。くみあい粒状培土を用いたシードリングケースにこれらの種子を播種した。播種後は人工気象室内で育苗し、発病の有無および病徴を14日間観察した。

3. 細菌学的性質

1990年5月に分離された20菌株を用い(表1)、分離細菌の細菌学的性質は後藤・瀧川⁷⁾、畔上ら²⁾の方法によって57項目について調査した。トロポロンの産生は畔上らの識別培地²⁾によって判定した。

4. カスガマイシン剤に対する感受性の検定

表1に示した20菌株を供試し、カスガマイシン剤に対する感受性を検定した。検定培地にはPPGA 培地を用い、カスガマイシン剤を6, 25, 12.5, 25, 50, 100, 200ppmの濃度となるように加えて供試した。PPGA 斜面で25℃ 2日間前

1992年8月3日受理

*¹ 本報の一部は、1990年度日本植物病理学会北海道部会で発表した。

*² 北海道立中央農業試験場稲作部、069-03 岩見沢市上幌向町

*³ 同上(現北海道立中央農業試験場、069-13 夕張郡長沼町)

表1 供試菌株

菌 株 名	分離源 (品種)	分離場所	分離年月
I W1-11, I W1-21, I W1-31	ゆきひかり	岩見沢市	1990年 5 月
I W3-11	きらら397	岩見沢市	1990年 5 月
I W5-11, I W5-31	ゆきひかり	岩見沢市	1990年 5 月
B B1-11, B B1-15	きらら397	美瑛市	1990年 5 月
B B3-12	ゆきひかり	美瑛市	1990年 5 月
S T1-11, S T1-21	きらら397	新十津川町	1990年 5 月
S T2-31	ゆきひかり	新十津川町	1990年 5 月
S T3-11, S T3-31	空育125号	新十津川町	1990年 5 月
T K1-11	ゆきひかり	滝川市	1990年 5 月
T K2-11	きらら397	滝川市	1990年 5 月
T K3-11	きらら397	滝川市	1990年 5 月
T B1-11, T B1-21, T B1-51	きらら397	当別町	1990年 5 月

培養した細菌1白金耳を殺菌水10mlに懸濁し、上記検定培地に画線培養した。接種後、25℃2日間培養し、細菌の生育の有無を調査して最低生育阻止濃度を求めた。

5. カスガマイシン剤による防除試験

供試菌株としてIW1-11株を用い、カスガマイシン剤の防除効果について検討した。イネ種子への本細菌の接種方法および育苗の概要は前述と同様に行った。薬剤処理方法は、催芽時にカスガマイシン液剤を1000倍液になるように加えたものとカスガマイシン粒剤30gを育苗箱1箱あたりの土壌約5ℓと混和したものとした。試験は3反復で行った。調査は播種3週間後に各区200または300本の苗について発病苗率を求めた。

結 果

1. 発生状況および病徴

北海道において1991年までに本病の発生が認められたのは8支庁35市町村にのぼり、特に道央部で目立った(図1)。また、発生の推移をみると、1990年以降に増加が著しく(図2)、1991年には発生育苗箱数は11万箱をこえた。

本病ではおもにイネ苗の本葉第二葉、ときには第一葉が葉身基部から白化または黄白化し、抽出中の芯葉が萎凋する(図版1)。その後苗全体が水分不足で萎れたようになり、葉は赤褐色を呈して針状に突っ立ち、乾燥枯死する(図版2)。播種後早期に発病したものでは地上部および根の生



図1 イネ苗立枯細菌病の発生分布
●1990年までに発生の認められた市町村
○1991年に新たに発生の認められた市町村

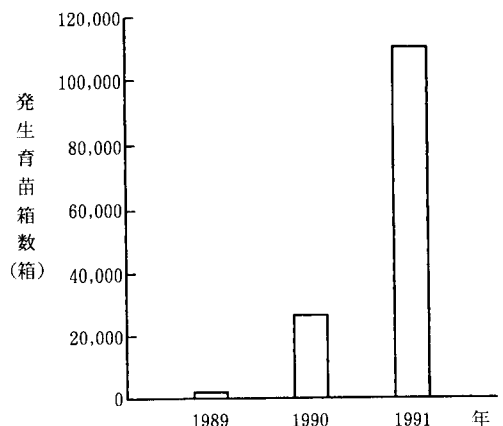
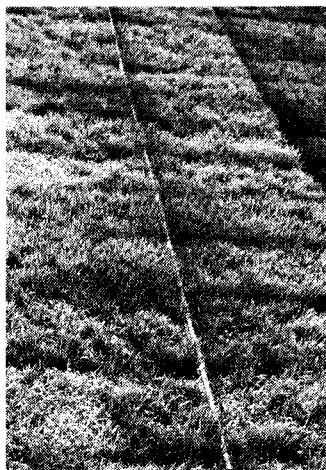


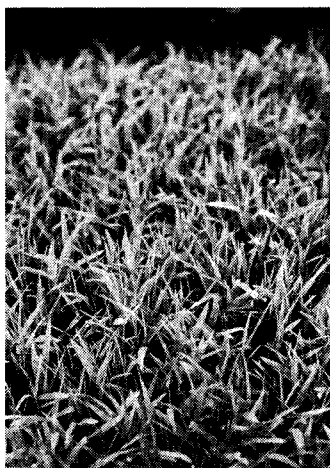
図2 北海道におけるイネ苗立枯細菌病の発生推移



図版 1 発病苗の初期病徴
(本葉第二葉の葉身基部からの白化がみられる)



図版 3 発病が蔓延したハウスの苗の被害状況
(育苗箱全体に発病が及んでいる。
ハウスごと苗は廃棄された)



図版 2 発病苗の立枯症状
(苗全体が赤褐色となって枯死する)



図版 4 発病苗を移植した本田の状況
(移植約 3 週間後の状況：手前側に
発病苗の移植による欠株が目立つ)

育が著しく劣る。箱マットでの発生は坪状あるいは育苗箱全体に及ぶことが多い(図版 3)。これらの発病苗を本田に移植すると、まもなく枯死し、欠株の原因となる。欠株にならない場合でも著しく分けつが悪くなる(図版 4)。

病徴は播種 1～2 週間後の 5 月上旬になって認められ、早期に発病したもののほど被害が大きかった。育苗箱内での病原細菌の二次伝染は大きいとみられ、発病が箱全体に及ぶこともあり、廃棄処分を余儀なくされることも少なくなかった。さら

にハウスごと苗を放棄した事例も散見された。

2. 分離細菌の病原性

発病苗からは PPGA 培地上で淡黄色を帯びた乳白色集落を形成し、培地中に赤褐色色素を産生する細菌が分離された。これらの細菌はイネに対して病原性を示した。すなわち、本細菌の接種により、イネ苗の生育は著しく阻害され、苗全体が赤褐色となって枯死した。葉身基部の白化も認められ、根の生育は著しく悪かった(図版 5)。

3. 細菌学的性質

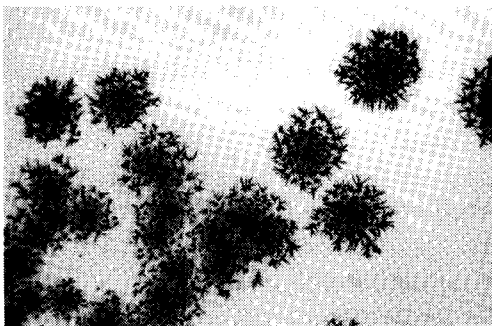
供試細菌 20 菌株はいずれもグラム陰性、好気性で、極鞭毛を有し、グルコースを好氣的に分解した。黄色非水溶性色素および水溶性蛍光色素を産



図版5 分離細菌のイネ苗に対する病原性
(左は無接種)

生せず、水溶性赤褐色色素を産生した。オキシダーゼ、カタラーゼ、レシチナーゼ、チロシナーゼ活性、硝酸塩還元、硝酸呼吸、ゼラチンの液化、ツイン80加水分解は陽性、40℃での生育、アルギニンジヒドロラーゼ、スターチ加水分解、硫化水素の産生、ジャガイモ塊茎腐敗、タバコ過敏反応は陰性であった。

グルコース、ガラクトース、フルクトース、D-アラビノース、マンニトール、ソルビトール、キシロース、イノシトール、セロビオース、マンノース、メリビオース、L-ラムノース、グリセロール、トレハロース、n-プロパノールから酸を産生し、アドニトール、ラフィノース、ラクトース、スクロース、マルトース、スターチ、イヌリン、エタノールから酸を産生しなかった。マロン酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、シトラコン酸塩、L-酒石酸塩、D-酒石酸塩、ニコチン酸塩、メサコン酸塩、L-アルギニン、アスパラギンを利用



図版6 分離細菌によって析出されたトロポロン第二鉄錯塩の赤褐色結晶

し、安息香酸塩、レブリン酸塩、 β -アラニンを利用しなかった。また、畔上らの識別培地²⁾でトロポロン第二鉄錯塩の赤褐色結晶を析出した(図版6)。

4. 病原細菌のカスガマイシン感受性

薬剤の濃度を6.25, 12.5, 25, 50, 100および200 ppmの6段階として、病原細菌のカスガマイシンに対する最低生育阻止濃度を調査した。その結果、供試20菌株の最低生育阻止濃度は、25 ppmの菌株が13菌株、50 ppmのものが7菌株であった。

5. カスガマイシン剤による防除試験

試験は1990年9～10月および1991年6月に行なった。結果は図3に示したように、カスガマイシン液剤を催芽時に1000倍液となるように加えたときの防除効果は低かった。しかし、カスガマイ

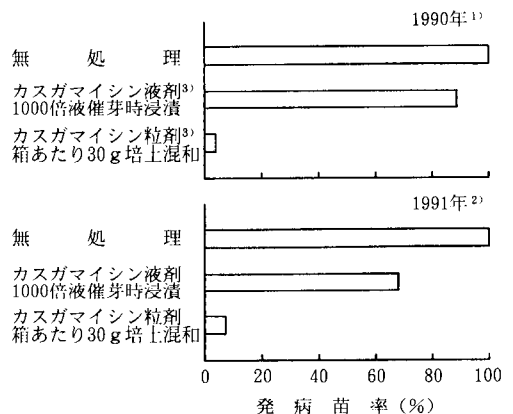


図3 イネ苗立枯細菌病に対するカスガマイシン剤の効果

- 1) 播種: 9月26日, 調査: 10月17日
- 2) 播種: 6月7日, 調査: 6月18日
- 3) 有効成分はカスガマイシン 2.0%

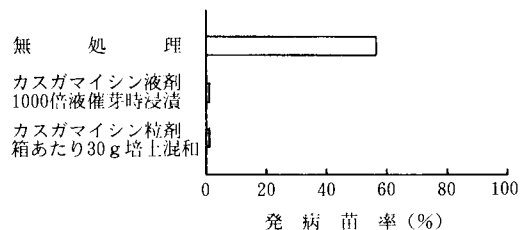


図4 イネ褐条病に対するカスガマイシン剤の効果¹⁾

- 1) 播種: 1990年7月17日, 調査: 8月1日

シン粒剤を育苗箱あたり30 g 培土と混和した場合の防除効果は極めて高かった。

考 察

葉身基部の黄白化をとまうイネ苗の立枯性病害から分離された細菌は、いずれもグラム陰性、極鞭毛を有し、グルコースを好氣的条件下でのみ分解し、黄色非水溶性色素を産生しないで、

Pseudomonas 属細菌である⁴⁾。さらに、同菌株は蛍光色素を産生しないので、*Pseudomonas* 属細菌の蛍光色素非産生群に属する^{5・10・15)}。

そこで、同群でイネに病原性をもつ *Pseudomonas plantarii*²⁾ (イネ苗立枯細菌病菌)、*P. glumae*^{2・19・20)} (イネもみ枯細菌病菌)、*P. avenae*^{2・8・17)} (イネ褐条病菌) およびそれらの近縁種である *P. gladioli*²⁾、*P. cepacia*²⁾ と細

表2 分離細菌とイネに病原性をもつ非蛍光性 *Pseudomonas* 属細菌およびそれら近縁種との細菌学的性状の比較

細菌学的性状	分離細菌 (n=20)	<i>P. plantarii</i> (a)	<i>P. glumae</i> (a, b, c)	<i>P. gladioli</i> (a)	<i>P. cepacia</i> (a)	<i>P. avenae</i> (a, d, e)
蛍光色素産生	—	—	—	—	—	—
40℃での生育	—	—	+	+	+	d
オキシダーゼ	+	+	—	d	w	+
アルギニンヒドロラーゼ	—	—	—	—	—	—
硝酸塩還元	+	+	+	—	—	+
硝酸呼吸	+	+	+	d	—	+
ゼラチン液化	+	+	+	+	+	—
レシチナーゼ	+	+	+	+	+	—
ツイーン80加水分解	+	+	d	+	+	+
スターチ加水分解	—	—	—	—	—	+
硫化水素産生	—	—	—	—	—	+
ジャガイモ塊茎腐敗	—	—	+	d	—	—
タバコ過敏反応	—	—	—	d	—	+
炭素源利用：						
イノシトール	+	+	+	+	+	—
セロビオース	+	+	+	+	+	—
n-プロパノール	+	+	+	+	+	d
D-アラビノース	+	+	+	+	+	—
メリビオース	+	+	—	+	—	—
L-ラムノース	+	+	—	—	—	—
トレハロース	+	—	+	+	+	—
アドニトール	—	—	+	+	+	—
ラフィノース	—	—	+	—	+	—
ラクトース	—	—	+	+	+	—
スクロース	—	—	—	—	+	—
シトラコン酸塩	+	+	—	d	+	+
L-酒石酸塩	+	+	—	+	+	—
D-酒石酸塩	+	+	+	+	+	+
ニコチン酸塩	+	+	—	+	—	+
メサコン酸塩	+	+	—	+	—	—
安息香酸塩	—	—	—	+	+	—
レブリン酸塩	—	—	—	+	+	—
L-アルギニン	+	+	+	+	+	—
β-アラニン	—	—	+	+	+	+

(a)Azegami ら (1987)²⁾, (b)植松 ら (1976)¹⁹⁾, (c)植松 (1985)²⁰⁾, (d)富永 (1983)¹⁷⁾, (e)門田 ら (1983)⁸⁾ による報告からの抜粋

+: 陽性, —: 陰性, d: 菌株によって反応が異なる, w: 弱陽性

菌学的性質²⁾を比較した(表2)。*P. glumae*とは40℃での生育およびオキシダーゼ活性などの主要な性質で異なるほか、L-ラムノース、アドニトール、ラフィノース、ラクトース、シトラコン酸塩、L-酒石酸塩、ニコチン酸塩、メサコン酸塩およびβ-アラニンの利用能でも異なるので、本細菌は同種とは明らかに異なる。また、*P. gladioli*とは40℃での生育および硝酸塩還元で異なり、さらにL-ラムノース、アドニトール、ラクトース、安息香酸塩、レブリン酸塩およびβ-アラニンの利用能でも異なることから、本細菌は同種とも異なる。*P. cepacia*とは40℃での生育、硝酸塩還元および硝酸呼吸で異なるほか、メリディオース、L-ラムノース、アドニトール、ラフィノース、ラクトース、スクロース、ニコチン酸塩、メサコン酸塩、安息香酸塩、レブリン酸塩およびβ-アラニンなど多くの炭素源の利用能でも異なるので、本細菌は同種にも該当しない。また、*P. avenae*とはゼラチン液化、レシチナーゼ、ツイン80加水分解および硫化水素産生などの多くの主要な性質で異なるほか、イノシトール、セロビオース、D-アラビノース、L-ラムノース、L-酒石酸塩、メサコン酸塩、L-アルギニンおよびβ-アラニンの利用能でも異なるので、本細菌は同種とも明らかに異なる。しかし、本細菌は*P. plantarii*とは今回調査した57項目のうち、トレハロースの利用能を除くすべての細菌学的諸性質が一致した。また、*P. plantarii*は特異的な毒素トロポロンを産生するが²⁾、本細菌も畔上らの本菌識別培地²⁾中にトロポロン第二鉄錯塩の赤褐色結晶を析出した。さらに、本細菌によるイネ苗の病徴は、畔上らが記載している*P. plantarii*によるもの^{1)・2)}と酷似している。

以上の結果から、本分離細菌は*Pseudomonas plantarii* Azegami, Nishiyama, Watanabe, Kadota, Ohuchi et Fukuzawa 1987と同定された。

育苗期のイネに発生する細菌病として、*P. avenae*による褐条病^{6・8・11・17・22)}、*P. glumae*によるもみ枯細菌病菌による苗腐敗症^{18・19・20)}、*P. plantarii*による苗立枯細菌病²⁾がある。このうち、これまで北海道では褐条病が確認されているのみ¹¹⁾、苗立枯細菌病の発生は報告されていなかった。したがって、今回北海道におけるイネ苗立枯細菌病の発生を初めて確認した。

本病による被害は甚大であり、現場からこの対策について強く要望されたことから、薬剤による防除方法を検討した。まず、イネ褐条病の防除に実用化されているカスガマイシン剤²²⁾に対する本病原細菌の感受性を培地上で検定したところ、最低生育阻止濃度が25~50ppmと低く、褐条病菌の最低生育阻止濃度にほぼ匹敵する²²⁾ので、本剤による防除の可能性が示唆された。そこで、本病は種子伝染するとされているので³⁾、イネ褐条病の防除で行われている本液剤の催芽時浸漬および粒剤の培土混和の効果について検討した。その結果、催芽時浸漬処理では効果が低く、培土混和処理では高い効果が認められた(図3)。参考に両処理のイネ褐条病に対する防除試験の例を図4に示したが、両病原細菌のカスガマイシンに対する感受性が同程度でありながら、イネ苗立枯細菌病では、催芽時浸漬の効果より粒剤の培土混和の効果が高かった。このことは、本病の場合には播種後の育苗箱内における二次伝染の影響が著しく大きいことを示唆している。現地での発生状況も、イネ褐条病の発病は育苗箱の中で散在するのに対し、本病は育苗箱全体に発病が及ぶことが多いのもこの傍証であろう。したがって、本病による被害を回避するには、一次伝染源を絶つことと同時にこの二次伝染の軽減策も重要であると考えられる。

イネ苗立枯細菌病は1987年に畔上らが初めて報告した比較的新しい苗病害であり、発生生態および防除対策も不明な点が多い。また、その被害も大きいことからその対策を早急に確立する必要がある。

謝 辞 本試験を行なうにあたり、調査等に多大な協力をいただいた中西俊雄総括専門技術員、坂本宣崇主任専門技術員、ならびに岩崎忠男専門技術員、現地における貴重な情報と試料を提供いただいた農業改良普及所、さらには指導助言と本報告の校閲をいただいた北海道立中央農業試験場土屋貞夫病虫部長、指導助言をいただいた北海道立中央農業試験場古山芳廣稲作部長(現農産化学部長)、本報告の校閲をいただいた北海道立中央農業試験場竹川昌和稲作部長に衷心より感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 畔上耕児, 西山幸司, 渡辺康正. “イネ苗立枯症を起こす *Pseudomonas* 属菌”. 日植病報 (講要). **49**, 411 (1983).
- 2) Azegami, K.; Nishiyama, K.; Watanabe, Y.; Kadota, I.; Ohuchi, A.; Fukazawa, C. “*Pseudomonas plantarii* sp. nov., the Causal Agent of Rice Seedling Blight”. Int. J. Syst. Bacteriol. **37**, 144 - 152 (1987).
- 3) Azegami, K.; Tabei, H.; Fukuda, T. “Entrance into rice grains of *Pseudomonas plantarii*, the causal agent of seedling blight of rice”. Ann. Phytopath. Soc. Japan. **54**, 633 - 636 (1988).
- 4) Doudoroff, M.; Palleroni, N. J. “Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894”. Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed. (Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. ed.) The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974, p. 217 - 243.
- 5) Fahy, P. C.; Forsyth, W. G. C.; Roberts, J. B. “Plant Bacterial Diseases. A Diagnostic Guide”. Academic Press, 1983, p. 107 - 188.
- 6) 後藤和夫, 大畑貫一. “稲の新しい細菌病 (褐条病およびもみ枯性細菌病)”. 日植病報 (講要). **21**, 46 - 47 (1956).
- 7) 後藤正夫, 瀧川雄一. “植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べかた”. 植物防疫. **38**, 339 - 344, 385 - 389, 432 - 437, 479 - 484 (1984).
- 8) 門田育生, 大内 昭. “幼苗期におけるイネ褐条病の病徴”. 日植病報. **49**, 561 - 564 (1983).
- 9) 門田育生, 大内 昭. “イネ立枯苗から分離された *Pseudomonas glumae* 類縁細菌”. 日植病報 (講要). **52**, 92 (1986).
- 10) Lelliott, R. A.; Billing, E.; Hayward, A. C. “A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads”. J. Appl. Bact. **29**, 470 - 489 (1966).
- 11) 宮島邦之. “イネ褐条病の発生について”. 日植病報 (講要). **40**, 119 (1974).
- 12) 宮川久義, 尾崎克己, 木村俊彦, 松本邦彦, 杉山正樹, 福西 務. “近畿・中国地域の一部に発生したイネ苗立枯細菌病について”. 日植病報 (講要). **53**, 111 - 112 (1987).
- 13) 中南 博, 武田真一, 松田 泉. “岩手県における箱育苗イネ苗に発生する細菌病の発生実態”. 北日本病虫研報. **40**, 33 - 36 (1989).
- 14) 西山幸司. “植物病原細菌簡易同定方法の試案”. 植物防疫. **32**, 283 - 288 (1978).
- 15) Palleroni, N. J. “Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894”. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. I. (Krieg, N. R. and Holt, J. G. ed.) The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1984, p. 141 - 199.
- 16) 白田 昭, 畔上耕児, 本蔵良三, 松田 泉, 佐藤善司. “*Pseudomonas glumae* および類縁菌の毒性物質の生成”. 日植病報 (講要). **52**, 92 - 93 (1986).
- 17) 富永時任, 木村佳世, 郷 直俊. “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 (1983).
- 18) 植松 勉, 吉村大三四郎, 西山幸司, 茨木忠雄, 藤井 博. “イネもみ枯細菌病菌による育苗箱の幼苗腐敗症の発生”. 日植病報. **42**, 310 - 312 (1976).
- 19) 植松 勉, 吉村大三四郎, 西山幸司, 茨木忠雄, 藤井 博. “育苗箱のイネ幼苗に腐敗症をおこす病原細菌について”. 日植病報. **42**, 464 - 471 (1976).
- 20) 植松 勉. “イネもみ枯細菌病の病原細菌”. 植物防疫. **39**, 403 - 409 (1985).
- 21) 卯月恒安, 松田 泉, 加藤智宏, 藤田靖久. “山形県におけるイネ苗立枯細菌病の発生”. 日植病報 (講要). **55**, 87 - 88 (1989).
- 22) 矢尾板恒雄. “箱育苗におけるイネ褐条病とその防除対策”. 植物防疫. **39**, 239 - 243 (1985).

Occurrence of Bacterial Seedling Blight of Rice Caused by *Pseudomonas plantarii* Azegami *et al.* 1987 in Hokkaido, Japan

Toru TAKEUCHI and Osamu TAMURA

Summary

In 1990 and 1991, the disease of seedling blight of rice frequently occurred in Hokkaido, Japan. Chlorosis appeared on the basal parts of the second or third leaves of the seedlings, and then the whole plants became reddish brown and withered. The root growth of severely infected seedlings was seriously impaired.

From these diseased seedlings, bacterial isolates, which were pathogenic to rice seedlings by seed-soaking inoculation, were obtained. The bacteriological characteristics of the pathogen were determined: Cells were gram-negative and motile. Aerobic. Glucose was oxidatively metabolized. A water-soluble reddish-brown pigment was produced, but not fluorescent pigment. Kovac's oxidase, catalase, lecithinase and tyrosinase were positive. No growth at 40°C. Gelatin liquefaction, nitrate reduction and denitrification were positive. Arginine dihydrolase and H₂S production were negative. Tween-80 was hydrolysed, but not starch. Potato soft rot and tobacco hypersensitivity reaction were negative. Tropolone was produced. Acid was produced from L-rhamnose, D-arabinose and trehalose, but not from raffinose, lactose, sucrose or adonitol. Citraconate, L-tartrate, nicotinate and mesaconate were utilized, but not benzoate, levulinate or β -alanine.

The bacteriological characteristics and pathogenicity of this bacterium were identical to those of *Pseudomonas plantarii* Azegami *et al.* 1987, which causes bacterial seedling blight of rice. It is the first record that the disease was found in Hokkaido.

The bacterial isolates were tested for sensitivity to kasugamycin, which has been applied to control bacterial brown stripe caused by *Pseudomonas avenae*. Minimum inhibitory concentration (MIC) of the isolates was 25~50ppm, which is nearly equal to that of *P. avenae*. The effect of seed-soaking treatment of kasugamycin for the control of bacterial seedling blight was not sufficient, but soil application of kasugamycin was greatly effective to control the disease. It was suggested that the secondary infection in soil of *P. plantarii* is more severe than that of *P. avenae*, although both of the pathogens are seed-borne.