〔微探収報 14：27－37，2002〕

インドネシアにおける植物病原および共生シュードモナスの収集と特性評価

農業環境技術研究所　生物環境安全部
微生物機能ユニット

土屋健一

Collection and characterization of plant pathogenic and plant-associated pseudomonads in Indonesia

Kenichi TSUCHIYA

Microbial Genetics and Physiology Unit
National Institute for Agro-Environmental Sciences
Kannondai 3-1-3, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

1．目的

Ralstonia（＝*Pseudomonas*）*solanacearum*は，ナス科を中心とする経済的重要作物に青枯病（Bacterial wilt）を引き起こす世界的に重要な病原細菌であり，宿主範囲，地理的分布はもとより，病原性および生理・生化学的性質において多様性に富むことが知られている。宿主植物の違いにより5つのレース（race）に，また炭水化物からの酸の産生能の違いから6つの生理型（biovar）にそれぞれ類別される（Hayward, 1964；Heら, 1983）。

日本では，これまでに20科38種の植物において青枯病の発生が報告されており（土屋ら，2000），タバコ，ナス，トマトなどを主な宿主とし，全国的に被害をもたらすレース1［biovar 2（N2），3，4］とジャガイモ青枯病の主因であり，その発生が局在しているレース3［biovar 2（N2）］が存在する。また近年，レース4に類別されるショウガ科青枯病菌の存在も明らかになった（土屋ら，1999）。

インドネシアは，わが国の約5倍の面積を有する東南アジアの国で，豊かな植物資源と微生物資源に恵まれるが，植物病害についてもその多様性は富んでおり，当該菌種についても，これまでにレース1～4の存在など，バナナ，ショウガ科ほかキャッサバ等に感染する系統など多彩な系統が報告されている。

わが国および外国産の*R. solanacearum*の遺伝的多様性の研究から，日本産ジャガイモ系統（レース3）がその遺伝子特性から，ジャガイモ原産の南米系統とは異なり，インドネシア産系統に由来することが推察された（Horita & Tsuchiya, 2000）。わが国とインドネシアとの古来からの交易に

より，ジャガイモの導入に伴って同病原系統が侵入したことが推察された。したがって，わが国における本菌レース分化の解明ならびにジャガイモ系統のルーツを究明する上で，同国産ジャガイモ由来の菌株を収集し，その遺伝的特性を解明することが必要と考えられた。また，わが国で新たに発生したショウガ科青枯病菌等についても，同国産株との比較により，その多様性解明および病害診断や防除法に関する有効な知見が得られることが期待された。インドネシア・ジャワ島中西部地域は亜熱帯～熱帯に属するものの起伏に富むことから，中高地ではジャガイモの栽培も盛んであり，バンドン近郊のパンガレンガンには高品質種イモ増殖のプロジェクトも設置されている。ジャガイモ青枯病は各地で発生しており，海抜や品種の違いから遺伝的特性の異なる系統が収集できる可能性とともに，今回の主目的である日本産系統との遺伝的類縁性を示す菌株が収集できる期待が持たれた。

一方，農薬あるいは化学肥料の多用に対する懸念や反省から，その軽減を目指して近年志向されている環境調和型あるいは低投入持続的農業の中で，植物病害の生物防除用素材として，拮抗微生物（antagonistic microorganisms）や植物生育促進根圏細菌（plant growth-promoting rhizobacteria：PGPR）が注目されている。国内外において，その効果が指摘されている微生物群の中で，植物根圏や植物内に共生能を持つ蛍光性シュードモナスが特に注目されており，有効な抗菌物質等を産生する*P. fluorescens*や*P. putida*はその例として知られる。

インドネシアにおいても同様の研究が盛んで，有望菌株の発掘が求められている。薬用植物を含む多種多様な植物に共生する微生物を得ることにより，新たな微生物遺伝資源の探索源が開発されるものと考えられた。

2．実施の概要

2000年11月19日より12月3日までインドネシアに出張し，表1および写真1に示したようにジャワ島西部（ジャカルタJakarta市，ボゴールBogor市，バンドンBandung市ほか）および中部地域（スマランSemarang市，ヨクジャカルタJogyakarta市ほか）において，主としてショウガ科およびジャガイモ栽培圃場を中心に各種罹病植物および根圏土壌を採取し，現地で一次分離した菌株試料を空路により農業生物資源研究所に持ち帰り，微生物の純粋分離および保存を行った後，接種試験あるいは植物病原菌に対する拮抗性等の特性調査を行った。

期間中の探索・収集の実施概要は以下のとおりである。

11月19日：成田発，ジャカルタ着。香辛料・薬用作物研究所（Research Institute of Spices and Medicinal Crops（RISMC），ボゴール市）のKarden Mulya博士の出迎えを受ける。

11月20日：ジャカルタ市の日本大使館およびJICA，FAOの各事務所を表敬訪問後，ボゴール市に移動。

11月21日～22日：上記RISMCをジャワ島西部地区探索の拠点とし，探索打ち合わせを行った。その後，ボゴール市近郊および同研究所のスカムルヤSukamulya実験圃場周辺の圃場を探索し，ショウガ，ウコン等から根圏土壌を採取した。

11月23日～24日：ボゴール～バンドン近郊～ボゴールを探索。途中，レンバンLembangにある野

表1　平成12年度　インドネシアにおける植物病原および共生シュードモナスの探索、収集日程

日数	年月日	曜日	行　　程	行　動　内　容	宿泊地
1	2000.11.19	日	成田空港→ジャカルタ	移　動	ジャカルタ
2	11.20	月	ジャカルタ→ボゴール	大使館，JICA，FAO表敬訪問，移動	ボゴール
3	11.21	火	香辛料・薬用作物研究所（RISMC）	探索打合せ情報収集，交換	ボゴール
4	11.22	水	スカムルヤ実験圃場　他	探索	ボゴール
5	11.23	木	ボゴール→バンドン，レンバン（BALITSA訪問）	移動，探索情報収集，交換	バンドン
6	11.24	金	パンガレンガン，バンドン近郊	探索，移動	ボゴール
7	11.25	土	ボゴール→ヨクジャカルタ	探索	ヨクジャカルタ
8	11.26	日	スマラン県近郊ジャガイモ畑	探索，収集	ヨクジャカルタ
9	11.27	月	ガジャマダ大学近郊圃場	情報収集，交換探索	ヨクジャカルタ
10	11.28	火	ヨクジャカルタ→ボゴール	微生物分離等	ボゴール
11	11.29	水	ボゴール（RISMC）	セミナー提供，試料整理，微生物分離	ボゴール
12	11.30	木	ボゴール→ジャカルタ	試料整理，移動	ジャカルタ
13	12. 1	金	ジャカルタ近郊	探索，情報収集	ジャカルタ
14	12. 2	土	ジャカルタ→成田	移動	機中泊
15	12. 3	日	成田空港→つくば	移動	

菜試験場(BALITSA)およびパンガレンガンPangalenganのジャガイモ試験場を訪問した。後者は，日本政府の援助で設立されたもので，JICA専門家を中心に日イ交流研究が継続されている。

11月25日～28日：ボゴール～ヨクジャカルタ～ボゴールと鉄路および車で中部ジャワ地帯の探索を実施。RISMCのKarden MulyaおよびMesak Tombe両博士が同行。スマラン市近郊サラティガSalatiga地区のジャガイモ栽培圃場で青枯病罹病植物を探索，収集した。

27日は，ガジャマダ大学農学部を訪問し，農学部長のSusamto博士ほか植物病理研究者（いずれも日本で学位取得）と懇談し，情報の収集，交換を図った。

11月29日：RISMCにおいて，セミナーを提供した。今回の探索，収集の趣旨である青枯病菌の多様性の問題とくに日本のジャガイモ系統株とインドネシア株との関係，および微生物を利用した植物病害の生物防除研究の動向について講演し，併せて収集の成果を報告した。(口絵写真)採集サンプルの整理および罹病植物，土壌からの一次分離を行った。

11月30日～12月1日：ボゴール～ジャカルタ周辺の探索。試料の整理。バナナの Blood Disease Bacteria病の探索を行った。

12月2日～3日：ジャカルタ～成田～つくば着。

3．探索の成果

(1) 青枯病菌の収集と保存

ジャガイモ圃場において，青枯病罹病植物（写真２）から採取した噴出菌泥および土壌試料から，希釈平板法により，現地においてTZC寒天培地に画線培養し，生じた同種細菌のコロニーと目されるものを分離し，滅菌蒸留水に懸濁した状態で持ち帰り，単コロニー分離を繰り返した後，純化した。分離株は，TZC培地上で本種菌に典型的な白色，流動性集落を形成したが，培養に伴い，赤色で小型の非病原力変異株が認められた(写真３)。今回の探索では，ジャワ島各地の各種ショウガ科植物およびジャガイモに由来する青枯病菌（RISMC保存株）48菌株（表２－１）と新たなジャガイモ由来の32菌株（表２－２），合計80菌株を収集することができた。

収集菌株は，いずれも１％グルタミン酸ナトリウム加用10％スキムミルクに懸濁して−30℃で保存するとともに滅菌蒸留水に懸濁したものを20℃で保存した。各種の特性調査に際しては，そのたびに，上記培地で野生型集落を選抜したものを供試した。

(2) 青枯病菌の特性調査

ジャガイモ由来株およびRISMC保存株より分譲を受けた青枯病菌株について，Hayward(1964)およびHeら（1983）の方法に準じ，６種類の炭水化物からの酸の産生性に基づき生理型（biovar）の判定を行った。その結果，今回収集した80菌株は，22菌株がbiovar 2，44菌株がbiovar 3に，14菌株がbiovar 4にそれぞれ類別された（表２－１，表２－２)。ジャガイモ由来の菌株は，biovar 2およびbiovar 3の２種が認められた。

分離株について，常法によりポット栽培した各種植物苗を用いて接種試験を行い，病原性の有無および病原力の程度を比較した。検定植物には，トマト，ナス，ピーマン，タバコおよびジャガイモを用い，付傷接種法により行った。その結果は，表２－２，表３－１および表３－２に示した。トマトなど少なくとも１種以上の植物に対して病原性を示したものがほとんどであったが，ショウガ科由来の株には，非または弱病原性のものが含まれた。同植物青枯病菌は通常，タバコに非病原性で，過敏感反応を誘導するが，今回の収集株には，トマト，タバコに強病原性のものが含まれ，原宿主への接種試験を含め，今後，検討する必要がある(表３－１)。同様に，罹病ジャガイモ株はいずれもbiovar 2であり，典型的なレース３系統と推察されたが，圃場由来の菌株の多くはbiovar ３であり，またトマト，ナス等にも強い病原性を示したことからレース１系統が混在することが示唆された（表２－２)。

(3) 共生シュードモナス属細菌の分離と保存

根圏土壌および植物体試料について，それぞれ滅菌蒸留水懸濁液を調製した。蛍光性*Pseudomonas*属細菌の分離には抗生物質加用キングB培地（KBA）を用いて，常法に従い希釈平板法により行った。培養寒天平板を28℃で３～４日間培養した後，紫外線ランプ(波長375nm)下で蛍光を発する細菌コロニーを分離し(写真４-a)，さらに同培地で純化した後，代表コロニーを選抜した。これまでに20菌株を分離し，前記同様，凍結法で保存した。

(4) 収集した蛍光性シュードモナス属細菌分離株の特性調査

得られた蛍光性*Pseudomonas*属細菌の特性のうち，各種植物病原菌に対する抗菌活性を調査中で

表２－１　インドネシア産各種罹病植物に由来する青枯病菌株[1)]

菌株番号	宿主植物種/採集場所/採集年月日	biovar
T447	*Curcuma mangga*, Bogor (250m.W.Java), 3–3–1988	3
T447–1	*Curcuma mangga*, Bogor (250m.W.Java), 3–3–1988	4
T447–2	*Curcuma mangga*, Bogor (250m.W.Java), 3–3–1988	4
T454–A	*Curcuma domestica*, Bogor (250m.W.Java), 3–3–1988	4
T454–B	*Curcuma domestica*, Bogor (250m.W.Java), 3–3–1988	4
T585–98	Ginger, Bogor (250m.W.Java), 25–2–1992	3
T625–98	Ginger, Balik Bukit (Lampung), 24–6–1992	4
T625	Ginger, Balik Bukit (Lampung), 24–6–1992	4
T697–1	Potato, Majalengka (W.Java), 15–10–1992	2
T697–2	Potato, Majalengka (W.Java), 15–10–1992	2
T736	Ginger, Bengkulu, 12–2–1993	3
T740	Ginger, Cianjur (500m.W.Java), 27–2–1993	3
T741	Ginger, Cianjur (500m.W.Java), 27–2–1993	3
T748	Ginger, 1993	4
T749	Ginger, Bogor (250m.W.Java), 1–1993	4
T870	*Zingiber arobaticum*, Cikampek (50m.W.Java), 8–2–1996	3
T871	*Zingiber arobaticum*, Cikampek (50m.W.Java), 8–2–1996	3
T874	*Zingiber cassumunar*, Bogor (250m.W.Java), 4–3–1996	4
T874–98	*Zingiber cassumunar*, Bogor (250m.W.Java), 4–3–1996	4
T917	Ginger, Sukamulya (550m.W.Java), 1–7–1996	4
T924–2	Ginger, Bengkulu, 27–10–1996	4
T925–2	Ginger, Bengkulu, 28–11–1998	4
T948	Ginger (cv Rubra), Bogor (250m.W.Java), 17–7–1998	4
T952–B	Ginger (inoculated with T872), Bogor (250m.W.Java), 15–1–1999	3
T963	Ginger, Sukamulya (550m.W.Java), 15–2–2000	3
T967	*Curcuma xanthorrhiza*, Pakuwon (550m.W.Java), 19–5–2000	3
T968	*Curcuma aeruginosa*, Pakuwon (550m.W.Java), 27–1–2000	3
T970	Potato, Cipanas (1200m.W.Java), 27–5–2000	3
T974	Potato, Pangalengan (1450m.W.Java), 30–10–2000	3
T975	Potato, Cikalong (1200m.W.Java), 30–10–2000	2
T976	Potato, Pangalengan (1450m.W.Java), 3–11–2000	2
T977	Potato, Pangalengan (1450m.W.Java), 3–11–2000	2
T978	Potato, Pangalengan (1450m.W.Java), 3–11–2000	2
T979	Potato, Pangalengan (1450m.W.Java), 3–11–2000	2
T980	Potato, Batu (1200m.E.Java), 3–11–2000	2
T981	Potato, Batu (1200m.E.Java), 3–11–2000	2
T983	Potato, Batu (1200m.E.Java), 3–11–2000	2
T984	Potato, Batu (1200m.E.Java), 3–11–2000	2
T985	Potato, Batu (1200m.E.Java), 3–11–2000	2
T987	Potato, Pangalengan (1450m.W.Java), 3–11–2000	2
T988	Potato, Manoko (1200m.E.Java), 3–11–2000	2
T989	*Curcuma domestica*, Pakuwon (550m.W.Java), 27–11–2000	3
T992	*Curcuma mangga*, Sukamulya (550m.W.Java), 27–11–2000	3
T993	*Curcuma mangga*, Sukamulya (550m.W.Java), 27–11–2000	3
T998	*Curcuma domestica*, Sukamulya (550m.W.Java), 27–11–2000	3
T999	*Curcuma domestica*, Sukamulya (550m.W.Java), 27–11–2000	3
T1000	Potato No. 4., Lembang (1100m.W.Java) 30–11–2000	2
T1001	Potato cv. Granola, Lembang (1100m.W.Java) 30–11–2000	2

1）香辛料・薬用作物研究所(RISMC)保存菌株からの受入

表２－２　中部ジャワのジャガイモ圃場から分離された青枯病菌株のbiovarと病原性[1)]

菌株No.	接種試験による発病度[1)]						
	biovar	トマト	ナス(千両)	ナス(豊黒)	ピーマン	タバコ	ジャガイモ
2-a	3	3	3	2	2	3	4
2-a2-1	3	3	3	2	2	4	N.T.
2-a2-2	3	3	3	1	3	3	N.T.
2-a2-3	3	3	3	3	3	4	N.T.
2-b	3	3	3	3	2	3	3
2-b2-1	3	3	3	2	1	2	N.T.
2-b2-2	3	3	3	3	1	3	N.T.
2-c	3	3	2	2	2	2	0
2-c2-1	3	3	2	2	3	3	N.T.
2-c2-2	3	3	3	3	3	3	N.T.
2-d1	3	3	3	3	3	2	3
2-d2	3	3	3	2	2	3	N.T.
2-e1	3	3	3	2	3	3	4
2-e2	3	3	3	3	3	3	N.T.
2-e3	3	3	3	2	1	2	N.T.
2-f1	3	3	3	2	2	2	3
2-f2	3	3	2	2	2	3	N.T.
2-f3	3	3	3	3	2	3	N.T.
2-g	3	4	3	3	2	1	3
2-g2-1	3	3	3	3	2	1	N.T.
2-g2-2	3	3	3	2	2	3	N.T.
2-g2-3	3	3	3	3	2	3	N.T.
2-h	3	3	3	2	3	2	3
2-h2-2	3	3	3	2	2	2	N.T.
2-i1	3	3	3	2	2	3	3
2-i2	3	4	3	3	3	3	N.T.
4-a1	2	2	1	1	2	0	4
4-a2	2	3	2	2	2	0	4
4-c	2	3	2	1	2	0	4
6-d1	2	2	1	1	1	0	4
6-d2	2	2	1	1	0	0	3
6-d3	2	2	1	1	0	1	4

1）0：無病徴。1：萎凋，道管褐変，発根等の異常が認められるが，枯死には至らず。2：14日以内にすべての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。3：7日以内に全ての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。4：14日以内に全ての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。数値は3回反復の平均値を示す。N.T.：試験せず。

表３－１　ショウガ科植物由来株の病原性

〈クルクマ〉

菌株番号	接種試験による発病度[1)]				
	トマト	ナス(千両)	ナス(豊黒)	ピーマン	タバコ
T447	4	0	0	1	3
T967	4	0	0	2	4
T968	3	0	0	2	3
T989	3	0	0	2	3
T992	0	0	0	0	1
T993	3	0	0	1	3
T998	4	0	0	1	3
T999	0	0	1	0	3
T447-1	0	0	0	0	0
T447-2	1	0	0	0	0
T454-A	1	0	0	0	0
T454-B	0	0	0	0	0

〈ショウガ〉

T585-98	3	2	0	2	3
T736	0	0	0	0	0
T740	0	0	0	0	0
T952-B	2	1	1	1	1
T963	3	0	0	1	3
T741	3	3	1	0	1
T625-98	0	0	0	0	1
T625	0	0	0	0	1
T748	1	0	0	0	0
T749	0	0	0	0	0
T917	1	0	0	0	0
T924-2	1	0	0	0	0
T925-2	1	0	0	0	1
T948	0	0	0	1	0

〈ショウガ科〉

T870	3	0	0	0	2
T871	1	0	0	0	1
T874	1	0	0	0	1
T874-98	1	0	0	0	1

1）0：無病徴。1：萎凋，道管褐変，発根等の異常が認められるが，枯死には至らず。2：14日以内にすべての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。3：7日以内に全ての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。4：3日以内にすべての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。数値は3回反復の平均値を示す。

表３－２　罹病ジャガイモ由来株の病原性

菌株番号	接種試験による発病度[1)]					
	トマト	ナス(千両)	ナス(豊黒)	ピーマン	タバコ	ジャガイモ
T697-1	2	0	1	0	1	3
T697-2	0	0	0	0	0	0
T970	3	0	1	2	3	4
T974	3	1	1	1	1	3
T975	2	1	0	0	2	3
T976	3	2	1	2	1	3
T977	3	1	1	1	1	3
T978	2	2	1	1	2	3
T979	2	0	0	0	1	3
T980	3	0	1	1	3	3
T981	2	1	1	0	2	4
T983	3	1	1	0	3	3
T984	3	1	1	0	3	4
T985	2	1	1	1	3	3
T987	3	1	1	1	3	3
T988	3	1	0	1	1	3
T1000	3	1	0	0	1	4
T1001	3	1	0	2	1	3

1）0：無病徴。1：萎凋，道管褐変，発根等の異常が認められるが，枯死には至らず。2：14日以内にすべての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。3：21日以内に枯死に至る。3：21日以内に全ての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。4：14日以内に全ての葉が萎凋し，その後，枯死に至る。数値は3回反復の平均値を示す。

ある。対象病原菌としては，糸状菌として*Pythium irregulare*（根腐病菌），*Rhizoctonia solani*（立枯病菌），*Gaeummanomyces graminis* var. *tritici*（コムギ立枯病菌），*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*（トマト萎ちょう病菌），*R. solanacearum*（トマト青枯病菌），および*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*（トマトかいよう病菌）等を供試した。培地上の抗菌活性は，細菌については，KBA培地を用いたプレートクロロホルム法（Wakimotoら，1986）で，また糸状菌については，1/5PDA培地を用いた対峙培養法により行った。抗菌活性は，検定菌と指示病原菌との間に形成された生育阻止帯の有無により判定した。

分離・保存された蛍光性シュードモナス属細菌は，複数の植物病原菌に対して抗菌活性を示し，生育阻止帯を形成するものがあり(写真4-b)，抗菌物質を生産している可能性が示唆されたが，抗菌活性の違いから，既知抗菌物質を産生する対照菌株とは異なる物質が検出される可能性が期待された（表4）。

今回収集された各種植物青枯病菌および蛍光性シュードモナス分離株については，今後，細菌学的諸性質等を検討することによって，分類学的所属等をより明らかにするとともに産生物質の同定，発病抑制効果等の特性評価を行い，微生物遺伝資源としてMAFFジーンバンクに登録保存し，病原細菌の診断，検出あるいは生物農薬開発研究等の研究素材として提供を図る予定である。

表4　分離された蛍光性シュードモナス菌の抗菌作用

供試菌株	*Pyth. irre.*	*Rhiz.sol.*	*Gaeu.gra.*	*Fus.oxy.*
BA83-1	8[a)]	11	9	7
BA85-1	7	12	9	9
BA90-1	7	15	10	9
BA95-1	7	11	8	6
LRB3W1[b)]	14	7	25	16
Q2-87[b)]	15	8	29	15

a)　1/5PDA培地上での阻止帯幅（mm）
b)　2，4-ジアセチルフロログルシノール産生菌

4．所感

作物の栽培体系の変化や，食料輸入および種苗生産がグローバル化するに伴い，従来我が国に存在しなかった病原細菌の新規系統の侵入などが危惧される。したがって，微生物の多様性研究においては，国内菌のみならず，国外に存在する系統についての情報収集と解析が重要となっている。現在，多くの国が生物多様性条約を批准している状況下で，海外における微生物探索，収集は必ずしも容易ではなく，それらを両国共通の遺伝資源として相互認識し，関連研究および保存を行うためには，当該国政府はもとより関連研究機関との相互理解，密接な協力関係が欠かせない。

幸い今回の探索では，関係者の多大なご尽力を頂き，農業生物資源研究所と先方のカウンターパート機関であるインドネシア国香辛料・薬用作物研究所（RISMC）との間で，研究試料交換合意書Material Transfer Agreement（MTA）が取り交わされ，それに基づき，様々な収集試料を持ち帰ることが可能となり，当初の目的を十分に果たすことができた。探索前から豊富な微生物フロラの存在を予想していたが，主たる収集対象であった青枯病菌（*R. solanacearum*）に限っても，その多様性を改めて実感した。とくにジャガイモ青枯病菌については，我が国の同系統のルーツを究明する上で，貴重な比較研究の素材となると思われた。また近年，発生が問題となっている各種ショウガ科植物青枯病菌についても格好の比較材料となる。さらに，今回の収集菌株は，宿主植物の違いに加え，平地から海抜50～1200mと段階的に異なる環境条件の場所から採集されており，環境要因と多様性の発現との間に新たな関係を見出せる可能性があり，興味が持たれる。

一方，蛍光性シュードモナス細菌については，対象とする病原菌を変えることにより，新たな拮抗関係を探る必要があり，併せて抗菌物質の検索など抑制機構の解明が求められる。

今後，先方機関研究者と連携しながら研究を推進し，相互の情報交換に努めたい。

最後に今回の探索に当っては，数多くの方々にお世話になった。MTA作成に当たっては，農業生物資源研究所　宮崎尚時遺伝資源調整官（現在 同所ジーンバンク長）ならびに国際農林水産業研究センター　浅沼修一国際研究情報官（現在 同研究企画科長）にはご指導，ご尽力頂いた。インドネシア国香辛料・薬用作物研究所（RISMC）のAzmi Dahlimi所長には探索および収集サンプルの持ち帰りについて，様々な便宜をお図り頂いた。また，同研究所Karden Mulya，Mesak TombeおよびRetono Jawanti各博士には探索収集の全行程において同行頂くとともに菌株の分離において多

大のご協力を頂いた。ここに記して，各位に深く感謝申し上げる。また，岐阜大学農学部小室幸子嬢には分離株の特性試験にご協力頂いた。併せて感謝の意を表する。

5．参考文献

1）Hayward, A. C. (1964) J. App ; .Bact. 27 : 265–277.

2）He, L. Y. et al. (1983) Plant Dis. 67 : 1357–1361.

3）堀田光生（2001）ナス科青枯病菌の系統解析および遺伝子診断への利用. 植物防疫55巻 第11号, p9–12.

4）Simon, A. and E. H. Ridge (1974) The use of ampicillin in a simplified selective medium for the isolation of fluorescent pseudomonads. J.Appl.Bact. 37 : 459–460.

5）土屋健一（1997）南西諸島における拮抗性シュードモナス属細菌の探索と収集. 微探収報9 : 7–16.

6）土屋健一, 堀田光生, 曳地康史(2000)最近の青枯病の話題と問題点. 植物防疫54巻第 3 号, p1–6.

7）Wakimoto, S., K.Hirayae,K.Tsuchiya,Y.Kushima,N.Furuya and N.Matsuyama (1986) Production of antibiotics by plant pathogenic pseudomonads. Ann.Phytopath. Soc.Japan 52 : 835–842.

Summary

Exploration and collection of *Ralstonia solanacearum*, a causal bacterium of bacterial wilt disease of various plants, including potato, ginger, *Curcuma* spp., *Zingiber* spp., as well as fluorescent pseudomonads antagonistic to plant pathogens were conducted in Western and Central districts of Jawa island in Indonesia.

In this survey, we have collected and preserved 80 *R. solanacearum* isolates, in which 50 from potato (*Solanum tuberosum*), 12 from *Curcuma* spp., 14 from ginger (*Zingiber officinale*), and 4 from *Zingiber* spp., respectively.

Eighty isolates were characterized by acid productivity from 6 carbohydrates, and revealed that 22 was grouped into biovar 2, 44 to biovar 3, and 14 to biovar 4, respectively.

Inoculation tests of the isolates to various plants (tomato, eggplant, sweet pepper, tobacco, potato) were conducted to check their pathogenicity. Most strains were pathogenic to at least one plant, although the virulence of them varied.

The fluorescent *Pseudomonas* bacteria were efficiently isolated from rhizosphere soil by using the modified KBA medium supplemented with antibiotics. The selected isolates were antagonistic in terms of antibiosis on the medium to both fungal and bacterial plant pathogens, such as *Rhizoctonia solani*, *Gaeummanomyces graminis* var *tritici*, and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and so on.

写真１　探索・収集を行った主な地域（●印）

写真２　ジャガイモ栽培圃場での
青枯病菌のサンプリング
（中部ジャワ Pangalengan近郊，Mulya博士
とMesak博士）

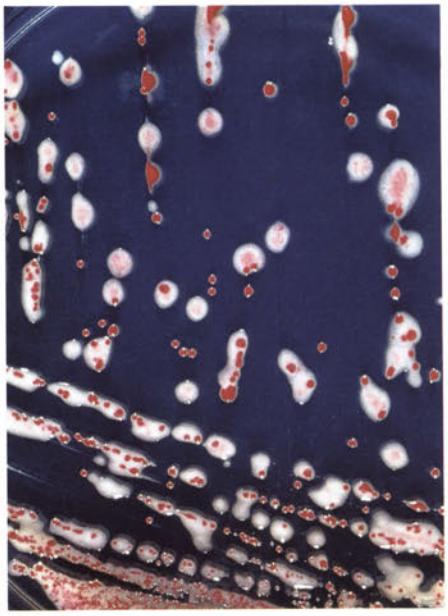

写真３　ジャガイモ青枯病菌のコロニー
（白色流動性集落が野生型，赤色小型
集落が非病原力の変異株）

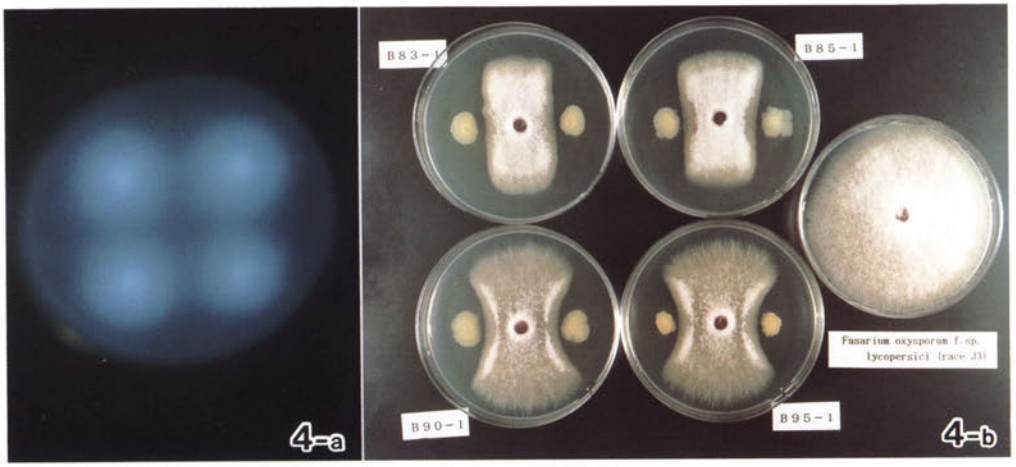

写真４－a　キングB培地上で蛍光を発する分離菌
写真４－b　フザリウム属菌に対する抗生作用

微生物の探索収集プロフィール

石垣島における穂いもち発生圃場
（宮坂・園田）

西長島におけるいもち病菌の探索・収集
（宮坂・園田）

白神山地（青森県）の風景
（馬場崎ら）

ブナ倒木に発生するナメコ
（馬場崎ら）

中部ジャワ・スマラン市近郊のジャガイモ栽培圃場
（土屋）

RISMCでのセミナーにおける情報交換と収集の成果報告
（土屋）