

南西諸島における植物病原細菌の探索収集

農業生物資源研究所 ジーンバンク
微生物資源研究チーム

堀田 光生

Survey and Collection of Plant Pathogenic Bacteria in Amami and Okinawa Islands

Mitsuo HORITA

Microorganism Genetic Resources Laboratory, Genebank,
National Institute of Agrobiological Sciences,
Kannondai 2-1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan

1. 目的

日本の南西に位置する諸島群（奄美諸島，沖縄諸島）は亜熱帯気候に属し，これらの地域では温暖な気候を利用した作物（サトウキビ，マンゴー，ラン，ニガウリ等）や本土の端境期をねらった作物（パレイショ，キク，カンキツ類，ユリ等）の栽培が行われている。

作物種や気候の違いにともない，同地域で特異的に発生する病害およびその病原菌がこれまで多数報告，分離されているが，それらは経済的に重要な作物に限られ，また糸状菌による病害が大半を占めている。そのため，それ以外にも経済的に重要で無い等の理由で未報告のものが多数存在すると考えられる。また，今後の地球温暖化に伴い，これら南西諸島でのみ発生する病害が本土にも広がる可能性が考えられる。

微生物ジーンバンクではこれまで国内の各地域で発生し分離された植物病原細菌を収集・保存してきたが，亜熱帯作物および南西諸島から分離された病原細菌の種類やその収集点数は限られている。今後の発生が懸念される病害および病原細菌について調査・収集することは病害の拡大を防止するためにも重要であると考えられ，今回，筆者らは奄美大島および沖縄本島において細菌病の病徴がみられる各種作物を探索・収集し，原因菌と考えられる細菌を分離・同定することを試みた。

2. 探索概要

2002年1月23日から30日の8日間にわたって，奄美大島および沖縄本島において探索・収集を行っ

表1 探索日程表

月 日	行 程	行動内容
1/23 (水)	つくば市→鹿児島県農業試験場（鹿児島市）	探索打ち合わせ
1/24 (木)	鹿児島市→奄美大島（笠利町，龍郷町，名瀬市）	探索収集
1/25 (金)	奄美大島（名瀬市，住用村，瀬戸内町）	探索収集
1/26 (土)	奄美大島→沖縄本島（名護市）	移動
1/27 (日)	名護市→那覇市	探索収集，移動
1/28 (月)	沖縄本島（読谷村，今帰仁村，宜野座村）	探索収集
1/29 (火)	沖縄本島（糸満市，南風原町，玉城村）	探索収集
1/30 (水)	那覇市→つくば市	



図1 探索収集地域（奄美大島，沖縄本島）

た（表1）。奄美大島（24～25日）では、トマト，チンゲンサイ，スターチス，ダイコン，キャベツ，パレイショ，カンキツ（タンカン），ソリダゴ，ニガウリ，キク，ニンジン，マンゴー，ソラマメ，パパイヤおよびハクサイの栽培圃場から，それぞれ病徴がみられた葉，地上部または植物全体を採取した。沖縄本島（27～29日）では，サツマイモ，ニガウリ，パレイショ，キク，マンゴー，カンキツ（ボンカン，タンカン）およびラン栽培圃場から同様に採取を行った（図1）。採取植物は番号を付けたビニール袋に入れ，鹿児島県農業試験場大島支場（名瀬市）および沖縄県農業試験場（那覇市）の冷蔵庫に一時的に保管後，冷蔵宅配便で農業生物資源研究所宛に送付し，菌が分離できるまで低温室で保管した。

3. 収集成果

1) 細菌の分離

採取した植物の罹病部位を70%エタノールおよび0.3%次亜塩素酸ナトリウムに浸漬して表面殺菌し，滅菌蒸留水で洗浄後，5 mm角程度に細断した切片を1～3 mlの滅菌水中に30分以上放置して

細菌の漏出を確認した。菌泥の漏出が見られた標本については、同懸濁液を普通寒天培地、キングB培地またはKelman培地にそれぞれ画線して25～28°Cで3日間程度培養し、優先的に出現したコロニーを選択して同定試験に用いた（田部井ら，1991）。

その結果、奄美大島の27地点で採取した標本中19サンプル（チンゲンサイ、ダイコン、バレイショ、カンキツ、ソリダゴ、ニンジン、ハクサイ、パパイヤ）で、また沖縄本島の17地点で採取した標本中16サンプル（サツマイモ、ニガウリ、バレイショ、キク、マンゴー、カンキツ）で病原細菌と見られるコロニーが多数検出、分離された。

2) 分離細菌の同定

単コロニー分離した細菌について、それぞれ滅菌分散媒（10%スキムミルク，1.5%グルタミン酸ナトリウム）中に懸濁して-30°Cで凍結保存後、西山の方法（1978，1986）およびLelliottらの方法（1966）を用いて同定試験を行った。青枯病菌と同定された菌株については、Haywardの方法（1994）により生理型（biovar）についても調査した。その結果、これまでにチンゲンサイ黒腐病菌（*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*），ダイコン軟腐病菌（*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*），バレイショ黒あし病菌（*E. carotovora* subsp. *carotovora*），カンキツかいよう病菌（*X. axonopodis* pv. *citri*），ニガウリ青枯病菌（*Ralstonia solanacearum* biovar 3），バレイショ青枯病菌（*R. solanacearum* biovar N2, biovar 3），およびキク斑点細菌病菌（*Pseudomonas cichorii*）が同定され、これらのうち計48菌株をMAFF微生物ジーンバンクに登録した（表2）。現在、ソリダゴ、サツマイモ、パパイヤおよびマンゴー分離菌株について引き続き同定試験を行っている。

4. 所感

今回の探索では、これまで南西地域で未報告またはジーンバンクに登録されていない菌株を多数分離することが出来た。特にチンゲンサイ黒腐病菌、キク斑点細菌病菌、ニガウリ青枯病菌など国内でも報告例が希少な菌株を分離・登録することが出来た。

また、沖縄本島で分離したニガウリおよびバレイショ青枯病菌について病原性試験およびDNA解析を行った結果、これまで本州、九州地域で分離されている菌と遺伝的に異なっていることを明らかにすることができた（Horita and Ooshiro, 2002）。

これら以外にも奄美大島ではソリダゴ、パパイヤに斑点、縁枯症状や根頭がんしゅ病を起こすものなど未報告の細菌性病害、沖縄本島ではカンキツグリーンング病など同地域でのみ発生し、難培養性細菌が原因となる病害がみられ、これらの分離、同定、保存について今後更に検討を進める予定である。

5. 謝辞

今回の探索・収集を行うにあたり、鹿児島県農業試験場本場 野島秀伸主任研究員、大島支場 尾松直志主任研究員、鳥越博明室長、瀬戸口 脩支場長、沖縄県農業試験場 大城 篤研究員、高江洲和子室長、沖縄県南部農業改良普及センター 屋宜美智子氏他多くの方々にご協力頂いた。この場を借りて御礼申し上げる。

表2 登録菌株のMAFF番号, 種名, 分離地域および分離源

MAFF番号	種名	菌株名	分離地域	分離源
211374	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	3-1	鹿児島県笠利町宇宿	チンゲンサイ
211375	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	3-2	鹿児島県笠利町宇宿	チンゲンサイ
211376	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	6-11	鹿児島県笠利町節田	ダイコン
211377	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	6-12	鹿児島県笠利町節田	ダイコン
211378	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	6-21	鹿児島県笠利町節田	ダイコン
211379	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	11-2	鹿児島県龍郷町赤尾木	バレイシヨ
211380	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	11-3	鹿児島県龍郷町赤尾木	バレイシヨ
211381	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	19-2	鹿児島県住用村山間	バレイシヨ
211382	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	22-21	鹿児島県瀬戸内町嘉鉄	バレイシヨ
211383	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	22-31	鹿児島県瀬戸内町嘉鉄	バレイシヨ
211384	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	22-41	鹿児島県瀬戸内町嘉鉄	バレイシヨ
211385	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	22-51	鹿児島県瀬戸内町嘉鉄	バレイシヨ
211386	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	26-11	鹿児島県瀬戸内町阿木名	バレイシヨ
211387	<i>Pseudomonas cichorii</i>	1311	沖縄県糸満市名城	キク
211388	<i>Pseudomonas cichorii</i>	1312	沖縄県糸満市名城	キク
211389	<i>Pseudomonas cichorii</i>	1321	沖縄県糸満市名城	キク
211390	<i>Pseudomonas cichorii</i>	1351	沖縄県糸満市名城	キク
211391	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	17-12	沖縄県那覇市	ポンカン
211392	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	17-31	沖縄県那覇市	ポンカン
211393	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	27-2	鹿児島県瀬戸内町阿木名	タンカン
211394	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	27-3	鹿児島県瀬戸内町阿木名	タンカン
211395	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	27-11	鹿児島県瀬戸内町阿木名	タンカン
211396	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	311	沖縄県今帰仁村	ニガウリ
211397	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	312	沖縄県今帰仁村	ニガウリ
211398	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	313	沖縄県今帰仁村	ニガウリ
211399	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	321	沖縄県今帰仁村	ニガウリ
211400	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	322	沖縄県今帰仁村	ニガウリ
211401	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	323	沖縄県今帰仁村	ニガウリ
211402	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	51	沖縄県名護市	バレイシヨ
211403	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	52	沖縄県名護市	バレイシヨ
211404	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	53	沖縄県名護市	バレイシヨ
211405	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	621	沖縄県名護市	バレイシヨ
211406	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	622	沖縄県名護市	バレイシヨ
211407	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	71	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211408	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	81	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211409	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	82	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211410	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	91	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211411	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	92	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211412	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	93	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211413	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	101	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211414	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	102	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211415	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	103	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211416	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	104	沖縄県宜野座村宜野座	バレイシヨ
211417	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	111	沖縄県宜野座村城原	バレイシヨ
211418	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	112	沖縄県宜野座村城原	バレイシヨ
211419	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	113	沖縄県宜野座村城原	バレイシヨ
211420	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	122	沖縄県宜野座村漢那	バレイシヨ
211421	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar N2)	123	沖縄県宜野座村漢那	バレイシヨ

6. 参考文献

- 1) Hayward, A.C. (1994). Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. Bacterial Wilt, CAB International. pp. 123-135.
- 2) Horita, M. and Ooshiro, A. (2002). Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains isolated from potato and balsam pear in Okinawa Island. Bacterial Wilt Newsletter 17: 23.
- 3) Lelliott et al. (1966). A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. Appl. Bact. 29: 470-489.
- 4) 日本植物病理学会（編）（2000）. 日本植物病名目録. 日本植物防疫協会. 857pp.
- 5) 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.
- 6) 西山幸司（1986）. 簡易同定法による本邦産 *Pseudomonas* 属細菌の類別. 植物防疫 40 : 296-298.
- 7) 田部井ら（編）（1991）. 作物の細菌病. 日本植物防疫協会. 308pp.

Summary

Various horticultural and ornamental plants showing disease symptoms caused by plant pathogenic bacteria were collected in Amami and Okinawa Islands in January 23-30, 2002 and their pathogens were isolated and identified. Forty eight strains isolated from six kinds of plants (Japanese radish, potato, balsam pear, chrysanthemum, citrus and *Brassica campestris* chinesis group) were identified as *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *X. axonopodis* pv. *citri*, *Ralstonia solanacearum* or *Pseudomonas cichorii* so far and these were deposited in MAFF Genebank.

微生物の探索収集プロフィール



宜野湾市におけるタイモ腐敗塊茎の調査・収集
(佐藤)



石垣市で観察したチカラシバ属植物の病徴
(月星)



沖縄本島読谷村での探索収集
(篠原)



サトウキビ疑似赤すじ病
(篠原)



笠利町（奄美大島）で観察したチンゲンサイの病徴
(堀田)



沖縄本島における植物病原細菌の探索・収集
(堀田)