

Xanthomonas campestris pv. cerealis (Hagborg 1942) Dye 1978によるスムーズブROOMグラスの条斑細菌病

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	宮島,邦之 坪木,和男
発行元	日本植物病理學會
巻/号	46巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 615-622
発行年月	1980年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Xanthomonas campestris pv. *cerealis* (Hagborg 1942) Dye 1978 によるスムースブROOM グラスの条斑細菌病

宮島邦之*・坪木和男**

Kuniyuki MIYAJIMA* and Kazuo TSUBOKI**: Bacterial Streak
of Smooth Bromegrass Caused by *Xanthomonas campestris*
pv. *cerealis* (Hagborg 1942) Dye 1978

Abstract

In 1978, bacterial streak of smooth bromegrass caused by *Xanthomonas campestris* pv. *cerealis* (Hagborg 1942) Dye 1978 occurred in Hokkaido, Japan. The lesions on the leaves were at first water-soaked, dark-green spots limited by the veins and gradually became elongate in interveinal parenchyma to form streaks. Later the lesions became translucent black streaks. The surface of the streaks was often covered with milky droplets of bacterial exudate under humid conditions and with thin, transparent and dried films of exudates under dry conditions. Typical symptoms were produced on smooth bromegrass, mountain bromegrass, quack grass, barley, rye, wheat and oats, but not on orchardgrass, timothy or rice by artificial inoculation. The bacteriological characteristics of the pathogen were determined: Cells were non-spore-forming rods with a single flagellum, Gram-negative and aerobic. Yellow pigment and slime were produced on nutrient glucose agar. Catalase and lecithinase reactions were positive, but Kovacs' oxidase, urease and tyrosinase were negative. Glucose was oxidatively metabolized. H₂S and ammonia were produced, but not 2-keto-gluconate, indole or acetoin. Aesculin, Tween-80 and starch were hydrolysed, but not margarine or sodium hippurate. Gelatin was liquefied, and nitrate was not reduced. Growth on nutrient agar was inhibited by 0.1 % TTC. Asparagine was inadequate as a sole source of carbon and nitrogen. Acid was produced from arabinose, xylose, glucose, fructose, galactose, mannose, sucrose, glycerol, cellobiose and trehalose, but not from rhamnose, maltose, lactose, raffinose, inulin, salicin, mannitol, sorbitol, adonitol, dulcitol or inositol. Acetate, citrate, malate, succinate and lactate were utilized but not benzoate, oxalate or tartrate.

(Received July 5, 1980)

緒 言

1978年および1979年の両年、北海道常呂郡訓子府町、北見農試圃場のスムースブROOMグラスに、bacterial streak¹⁸⁾に酷似した黒褐色条斑を生ずる細菌病の発生を認めた。我が国における類似病害の発生記録は、カナディアンブROOMグラス(1957)、マウンテンブロー

ムグラス(1962)およびスムースブROOMグラス(1962)でみられ、いずれも北海道で認められたものである⁶⁾。マウンテンブROOMグラスでは病原細菌の諸性質について簡単な記載がみられるが⁶⁾、その他のものについては病原細菌の記載は全くみられない。筆者はスムースブROOMグラスの細菌病について病原細菌を同定したところ、*Xanthomonas campestris* pv. *cerealis*

* 北海道立北見農業試験場 Hokkaido Prefectural Kitami Agricultural Experiment Station, Kunneppu, Hokkaido 099-14, Japan

** 北海道立十勝農業試験場 Hokkaido Prefectural Tokachi Agricultural Experiment Station, Memuro, Hokkaido 082, Japan

(Hagborg 1942) Dye 1978 であることが明らかになったので、その結果を報告する。

本研究を行うにあたり多大の便宜をいただいた北見農試牧草科ならびに種子の分譲をいただいた農林水産省草地試験場但見明俊氏に厚く御礼申し上げる。また本稿の校閲を賜った成田武四博士ならびに北見農試場長馬場徹代博士に深謝の意を表する。

病 徴

葉身では、はじめに水浸状暗緑色の斑点が形成されるが、しだいに葉脈に沿って線状に伸長し、水浸状半透明の条斑となる。その後、個々の条斑はゆ合して幅広い半透明黒褐色条斑となる。しかし、病斑の周囲に退緑色の暈は形成されない。病勢の激しいときには、1葉あたり5～6本の幅広い条斑が葉身基部から先端部まで伸長し、縦に裂け易くなる(Plate I. A, B)。多湿時には病斑上に白濁した菌泥を生ずるが(Plate I. C)、これは乾燥時には薄い透明なフィルム状の菌塊となる。また葉鞘にも葉身と同様の条斑が形成される。葉鞘の病斑上に菌泥を生じたときには、若い展開葉身の伸長が妨げられ、湾曲する場合がある。病斑部の切片を検鏡すると菌泥の噴出が認められる(Plate I. D)。本病の発生は5月から10月にかけて認められるが、とくに春および秋に多い。

実験材料および方法

供試細菌 新鮮な病斑部から、0.5% グルコース加用 YS 培地²⁾を用い、画線培養法あるいは希釈平板法によって分離した。各分離菌株は純粋培養であることを確認したのち、接種試験および細菌学的諸性質の検査に供した。

供試細菌10株のうち、菌株番号 HK901～HK904 の4菌株は1979年9月11日、常呂郡訓子府町、北見農試圃場のスムースブローームグラスから、また HK905～HK910 の6菌株は同じく1979年9月18日に分離した。

接種試験 温室内で鉢植えした4～5葉期の供試植物に、25℃ 24時間 YS 培地培養菌の細菌浮遊液(10^{8-9} /ml)を葉鞘基部に注射接種し、48時間多湿条件下(25℃)に保ち、その後温室に移した。付傷接種部以外の接種茎葉に水浸状暗緑色条斑が現われ拡大伸展したもの⁵⁾を発病とみなした。

供試植物は、スムースブローームグラス「リオン、カールトン」、マウンテンブローームグラス「ティネ」、オーチャードグラス「キタミドリ」、トールフェスク「ケンタッキー31」、メドーフェスク「トレーダー」、イタ

リアンライグラス「マンモスB」、ペレニアルライグラス「普通種」、オオムギ「ホシマサリ、北育15、16号」、コムギ「イービス、ムカコムギ」、ライムギ「草地試栽培種」、エンバク「オホーツク」、リードカナリーグラス「普通種」、チモンシ「センボク」、イネ「イシカリ」、クオックグラス「野生種」およびトウモロコシ「ワセホマレ」の16種を用いた。なお宿主範囲を調査するための接種試験には6菌株(HK901, HK902, HK903, HK905, HK907, HK909)を供試した。

細菌学的性質 実験方法はおもに米国細菌学者協会の実験法¹⁰⁾およびDye²⁾の方法によった。培養温度はゼラチン液化試験(20℃)を除き25℃とした。実験には10菌株を供試したが、菌株間に性質の差異が認められた場合にはその菌株番号を示した。その他の方法はそのつどそれぞれの項目で記述した。

実験結果

宿主範囲

供試植物16種のうち、スムースブローームグラス、マウンテンブローームグラス、クオックグラス、オオムギ、コムギ、エンバクおよびライムギの7種の植物では、接種3～4日後に、水浸状暗緑色を呈する微細斑点が、新たに伸長展開する葉の葉脈間に出現した。その後、クオックグラス、スムースブローームグラスおよびマウンテンブローームグラスでは、病斑は葉脈に沿って伸長拡大し、周縁部の明瞭な半透明黒褐色条斑を生じた(Plate I. F, Plate II. A, B)が、オオムギ、コムギ、エンバクおよびライムギでは半透明淡黄褐色条斑を生じた(Plate II. C, D, E, F)。

多湿条件下ではこれら発病植物の病斑上に白濁した菌泥を生じ、乾燥状態では透明で薄いフィルム状の菌塊となった。

その他9種の植物では発病が認められなかった(Table 1)。

細菌学的性質

A. 形態および染色性

両端が鈍円の短桿状で、大きさ $0.6(0.4\sim0.8)\times1.5(1.0\sim2.1)\mu\text{m}$ 、運動性で1本の極毛を有し、孤立細胞である。グラム染色および抗酸性染色は陰性であり、包のうおよび芽胞は認められなかった。ただし、HK906菌株のみは菌体が $1.0\times1.6\mu\text{m}$ で幅が大きかった。またHK910菌株には長い糸状形が認められた(Plate I. E)。

B. 培養的性質

1) 黄色色素の産生およびスライム形成 GYCA 培

Table 1. Pathogenicity of smooth brome grass streak pathogen on cereal and grass plants inoculated by hypodermic injection

Plant tested	Isolate					
	HK901	HK902	HK903	HK905	HK907	HK909 ^{a)}
Smooth brome grass (<i>Bromus inermis</i>)	+	+	+	+	+	+
Mountain brome grass (<i>B. marginatus</i>)	+	+	+	+	+	+
Orchardgrass (<i>Dactylis glomerata</i>)	-	-	-	-	-	-
Tall fescue (<i>Festuca arundinacea</i>)	-	-	-	-	-	-
Meadow fescue (<i>F. elatior</i>)	-	-	-	-	-	-
Italian ryegrass (<i>Lolium multiflorum</i>)	-	-	-	-	-	-
Perennial ryegrass (<i>L. perenne</i>)	-	-	-	-	-	-
Quack grass (<i>Agropyron repens</i>)	+	+	+	+	+	+
Barley (<i>Hordeum vulgare</i>)	+	+	+	+	+	+
Rye (<i>Secale cereale</i>)	+	+	±	+	+	+
Wheat (<i>Triticum sativum</i>)	+	+	+	+	+	+
Oats (<i>Avena sativa</i>)	+	+	+	+	+	+
Reed canarygrass (<i>Phalaris arundinacea</i>)	-	-	-	-	-	-
Timothy (<i>Phleum pratense</i>)	-	-	-	-	-	-
Rice (<i>Oryza sativa</i>)	-	-	-	-	-	-
Maize (<i>Zea mays</i>)	-	-	-	-	-	-

a) Culture No. HK901~HK909 were isolated from smooth brome grass at Kunneppu, 1979.

+ Streaks were produced on leaves inoculated.

± Spot lesions without showing streak were produced.

- No symptom was produced.

地²⁾および0.5%グルコース加用 YS 培地²⁾で培養すると黄色色素およびスライムを形成した。

- 2) 普通寒天斜面培養 糸状で表面平滑, 牛酪質, 黄色の菌苔を生じた。HK906 菌株は 3 日後に粘稠な菌苔を生じた。
 - 3) ブイヨンおよびペプトン水培養 発育中庸で被膜は形成しなかった。
 - 4) リトマスミルク培養 徐々に上部から消化し, アルカリを産生した。
- C. 生理的性質
- 1) 螢光色素の産生 キング B 培地⁹⁾ 上で螢光色素を産生しなかった。
 - 2) 酸素との関係²⁾ 好気性であった。
 - 3) セラチンの液化²⁾ 徐々に液化し, 10 日目には層状を呈した。
 - 4) 硫化水素の産生²⁾ 5 日目には産生した。
 - 5) 硝酸塩の還元²⁾ 1, 2, 4 日後も陰性であった。
 - 6) アンモニアの産生²⁾ 産生した。
 - 7) インドールの産生²⁾ 3, 5 日後も陰性であった。
 - 8) メチル赤試験²⁾ 1, 3, 5 日後も陰性であった。
 - 9) Voges-Proskauer 試験²⁾ 3, 5 日後も陰性であ

った。

- 10) 澱粉の分解作用 寒天を除いた 0.2 %可溶性澱粉加用 YNA 培地²⁾を用いた。10 日後に, HK906, HK907 および HK909 菌株は部分分解したが, 他の菌株は完全に分解した。
- 11) コバックスオキシダーゼ活性¹⁰⁾ 陰性であった。
- 12) グルコースの分解形式²⁾ 酸化的に分解した。
- 13) アスパラギンの利用²⁾ C 源および N 源として利用しなかった。
- 14) ツイーン 80 の加水分解¹²⁾ 陽性であった。
- 15) エスクリンの加水分解²⁾ 陽性であった。
- 16) マーガリンの加水分解¹¹⁾ 陰性であった。
- 17) 馬尿酸ナトリウムの加水分解²⁾ 陰性であった。
- 18) レンチナーゼ活性¹⁶⁾ 陽性であった。
- 19) カタラーゼ活性²⁾ 陽性であった。
- 20) ウレアーゼ活性²⁾ 陰性であった。
- 21) チロシナーゼ活性²⁾ 陰性であった。
- 22) アルギニンディヒドロラーゼ活性¹⁷⁾ 陰性であった。
- 23) グルコン酸の酸化¹²⁾ 陰性であった。
- 24) 炭水化物の分解作用²⁾ 4 日目にはアラビノース,

キシロース, グルコース, ガラクトースおよびサッカロースから, 7日目にはフラクトース, マンノース, トレハロースおよびグリセリンから, 14日目にはセロビオースから酸を産生したが, ラムノース, ラクトース, マルトース, メリビオース, ラフィノース, イヌリン, サリシン, デキストリン, スターチ, アドニット, マンニット, ソルビット, イノシットおよびズルシットからは35日後も酸を産生しなかった。いずれもガスは発生しなかった。

- 25) 有機酸の分解作用²⁾ 有機酸塩はいずれもナトリウム塩を用いた。酢酸, クエン酸, 乳酸, リンゴ酸, プロピオン酸, コハク酸およびマロン酸を利用したが, 安息香酸, 蔞酸, 酒石酸およびグルコン酸は利用しなかった。
- 26) TTC 加用普通寒天での生育³⁾ 0.02% では生育したが, 0.1% では生育しなかった。
- 27) 耐塩性²⁾ 2% では生育したが, 3% では生育しなかった。

考 察

供試細菌は, グラム陰性, 単極毛の短桿状で, 非水溶性黄色色素およびスライムを産生する植物病原細菌であり, *Xanthomonas* 属細菌に所属する。本属細菌でスムースブローームグラスを侵すものとしてこれまで *X. campestris* pv. *cerealis*^{1,3,5,18)} が報告されている。

同種には, 澱粉の加水分解, ラクトースおよびグリセリンからの酸産生などの諸性質で異なる系統の存在が知られている。澱粉の加水分解は, 一般に液体培地では寒天培地に比べて反応が敏感でいずれも陽性^{7,18)}を示しているが, 筆者の供試菌株も液体培養ではすべて陽性であった。ラクトースからの酸産生は, 基礎培地が無機塩, 有機塩にかかわらず, 陽性^{5,13,18)}の系統と陰性^{6,7)}の系統が知られているが, 筆者の菌株は後者に属した。グリセリンからの酸産生についても陽性⁷⁾および陰性⁵⁾系統の存在が報告されているが, 筆者の菌株はすべて陽性系統であった。その他に, Wallinの菌株¹⁸⁾はキシロース, アラビノース, フラクトースおよびセロビオースから酸を産生する点で, 舟山のマウンテンブローームグラス菌株⁶⁾はゼラチン液化, グルコース, サッカロース, ラフィノースおよびマンニットから酸を産生する点で, また Moffett のヒエ菌株¹³⁾はラフィノースおよびマンニットから酸を産生する点でその他の報告^{2,3,5,7)}と異なっている。筆者の供試菌株は, Wallin, 舟山および Moffett らの菌株の性質とは一致しなかったが, Goto⁷⁾の系統と性質がほとんど一致していた (Table 2)。

本病原細菌は *X. campestris* pv. *cerealis* の記載^{1,5,18)}に細菌学的性質がきわめて類似している。両者は若干の性質で異なるが, これは供試菌株の系統や実験法の違いによるものと考えられる。

同種は, 自然条件でスムースブローームグラス^{1,5,18)},

Table 2. Comparison of bacteriological characteristics of the present isolates with descriptions of *Xanthomonas campestris* pv. *cerealis*

Character	Present isolates	<i>X. campestris</i> pv. <i>cerealis</i>				
		1	2	3	4	5 ^{a)}
Gelatin hydrolysis	+	+	+	—	+	+
Starch hydrolysis	+	+	—	ND	+	+
Acid from						
arabinose	+	—	ND	ND	ND	+
xylose	+	—	+	+	+	+
glucose	+	+	+	—	+	+
fructose	+	—	ND	+	+	+
lactose	—	+	+	—	—	+
sucrose	+	+	+	—	+	+
cellobiose	+	—	ND	ND	ND	+
raffinose	—	—	ND	+	ND	+
glycerin	+	ND	—	ND	+	ND
mannitol	—	—	—	+	—	+

a) Cited from 1) Wallin¹⁸⁾, 2) Fang *et al.*⁵⁾, 3) Funayama⁶⁾, 4) Goto⁷⁾ and 5) Moffett¹³⁾, respectively. Symbols: +; positive, —; negative, ND; no data available.

Table 3. Comparison of host range of the present isolates with that of *Xanthomonas campestris* pv. *cerealis*

Plant tested	Isolate				
	Present isolates	1	2	3	4 ^{a)}
Smooth bromegrass	+	+	+	+	+
Mountain brome grass	+	+	ND	ND	+
Quack grass	+	+	+	—	ND
Barley	+	+	+	+	+
Rye	+	+	+	+	ND
Wheat	+	+	+	+	+
Oats	+	+	—	+	+
Timothy	—	—	—	ND	ND
Italian ryegrass	—	ND	ND	ND	+

a) Cited from 1) Wallin¹⁸⁾, 2) Fang *et al.*⁵⁾, 3) Boosalis¹⁾ and 4) Funayama⁶⁾, respectively. Reactions: +; positive, —; negative, ND; no data available.

マウンテンブロームグラス⁶⁾, クオックグラス^{1,5)}およびヒエ¹³⁾を侵し、人為接種ではオオムギ、コムギ、エンバク、ライムギおよびイタリアンライグラスを侵すことが知られている^{1,5,6,18)} (Table 3)。しかし、菌株間には病原性を異にするものがあり、エンバク^{1,18)}およびイタリアンライグラス⁶⁾に対して病原性と非病原性の系統が知られている。エンバクに対する病原性は、Wallin¹⁸⁾によれば品種間には抵抗性の差異があり、Fang ら⁵⁾の供試品種はすべて抵抗性品種であるために病原性が認められなかったものと推察される。とくに「Mindo」および「Bondo」は Boosalis¹⁾の結果と同様に全く発病していない。その他の報告ではいずれ

も病原性が認められており^{6,7)}、筆者の菌株もエンバク病原性系統と考えられる。

イタリアンライグラスに対する病原性について、舟山⁶⁾は有傷接種で明らかな発病を認めている。筆者は、有傷接種によって、接種2～3日後に黄白色の条斑を認めたが、水浸状半透明条斑および菌泥は認めなかった。対照の殺菌水接種でも黄白色条斑が生じ、Fang ら⁵⁾の chlorotic type に該当するものと考えられ、非病原性と判定した。

このように筆者の供試菌株はブロームグラス類、クオックグラスおよびムギ類に対する寄生性からみても *X. campestris* pv. *cerealis* によく一致する。

したがって、上記の細菌学的性質および寄生性からスムースブロームグラスの病原細菌を *X. campestris* pv. *cerealis* (Hagborg 1942) Dye 1978^{3,4)} と同定する。病名は、従来、褐条病^{6,14)}とされているが、この病名は *Pseudomonas avenae* Manns 1909¹⁵⁾ による病害に現在広く用いられているので、混乱を避けるため、条斑細菌病 (bacterial streak) とすることを提案する。なお、本細菌によるマウンテンブロームグラスの病名も褐条病から条斑細菌病に改めたい。

摘 要

1978年および1979年、北海道常呂郡訓子府町、北見農試圃場でスムースブロームグラスの葉身に半透明黒褐色条斑を作る病害が発生した。病原細菌を分離し、病原性および細菌学的性質を調べた結果、*Xanthomonas campestris* pv. *cerealis* (Hagborg 1942) Dye 1978 と同定された。本細菌による病害の病名を褐条病 (bacterial streak, blight) から条斑細菌病 (bacterial streak) に改めることを提案した。

引用文献

1. Boosalis, M. G. (1952). *Phytopathology* 42: 387-395.
2. Dye, D. W. (1962). *N. Z. J. Sci.* 5: 393-416.
3. Dye, D. W. and Lelliott, R. A. (1974). Genus *Xanthomonas* in *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th edition (Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. eds.). The Williams & Wilkins Co., Baltimore, p. 243-249.
4. Dye, D. W., Bradbury, J. F., Goto, M., Hayward, A. C., Lelliott, R. A. and Schroth, M. N. (1980). *Rev. Plant Pathol.* 59: 153-168.
5. Fang, C. T., Allen, O. N., Ricker, A. J. and Dickson, J. G. (1950). *Phytopathology* 40: 44-64.
6. 舟山広治・成田武四・平野トシエ (1962). 北日本病虫研報 13: 74-75.
7. Goto, M. (1964). *Rep. Fac. Agr. Shizuoka Univ.* 14: 3-10.
8. Hugh, R. and Leifson, E. (1953). *J. Bact.* 66: 24-26.
9. King, E. O., Ward, M. K. and Raney, D. E. (1954). *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301-307.
10. Kovacs, N. (1956). *Nature* 178: 703.

11. Lelliott, R. A., Billing, E. and Hayward, A. C. (1966). *J. Appl. Bact.* 29: 470-489.
12. Misaghi, I. and Grogan, R. G. (1969). *Phytopathology* 59: 1436-1450.
13. Moffett, M. L. and McCarthy, G. J. P. (1973). *Australian J. Exp. Agr. Ani. Husb.* 13: 452-454.
14. 日本植物病理学会 (1965). 日本有用植物病名目録, 第2巻. 東京. 329pp.
15. Schaad, N. W., Kado, C. I. and Sumner, D. R. (1975). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25: 133-137.
16. Society of American Bacteriologists (1957). *Manual of Microbiological Methods*. McGraw-Hill Book Co., New York, 315pp.
17. Thornley, M. J. (1960). *J. Appl. Bact.* 23: 37-52.
18. Wallin, J. R. (1946). *Iowa St. Coll. J. Sci.* 20: 171-193.

Explanation of Plates

Plate I.

- A, B. Symptoms of bacterial streak of smooth bromegrass in the field.
- C. Milky droplets of bacterial exudate.
- D. Bacteria streaming from the edge of lesions.
- E. Filament of bacterial cells in the isolate HK910.
- F. Lesions on quack grass leaves produced by artificial inoculation due to hypodermic injection.

Plate II.

- Lesions on cereal and grass plants produced by artificial inoculation due to hypodermic injection.
- A, B, C, D, E and F indicate the lesions on smooth bromegrass, mountain bromegrass, barley, wheat, oats and rye, respectively.

Plate I

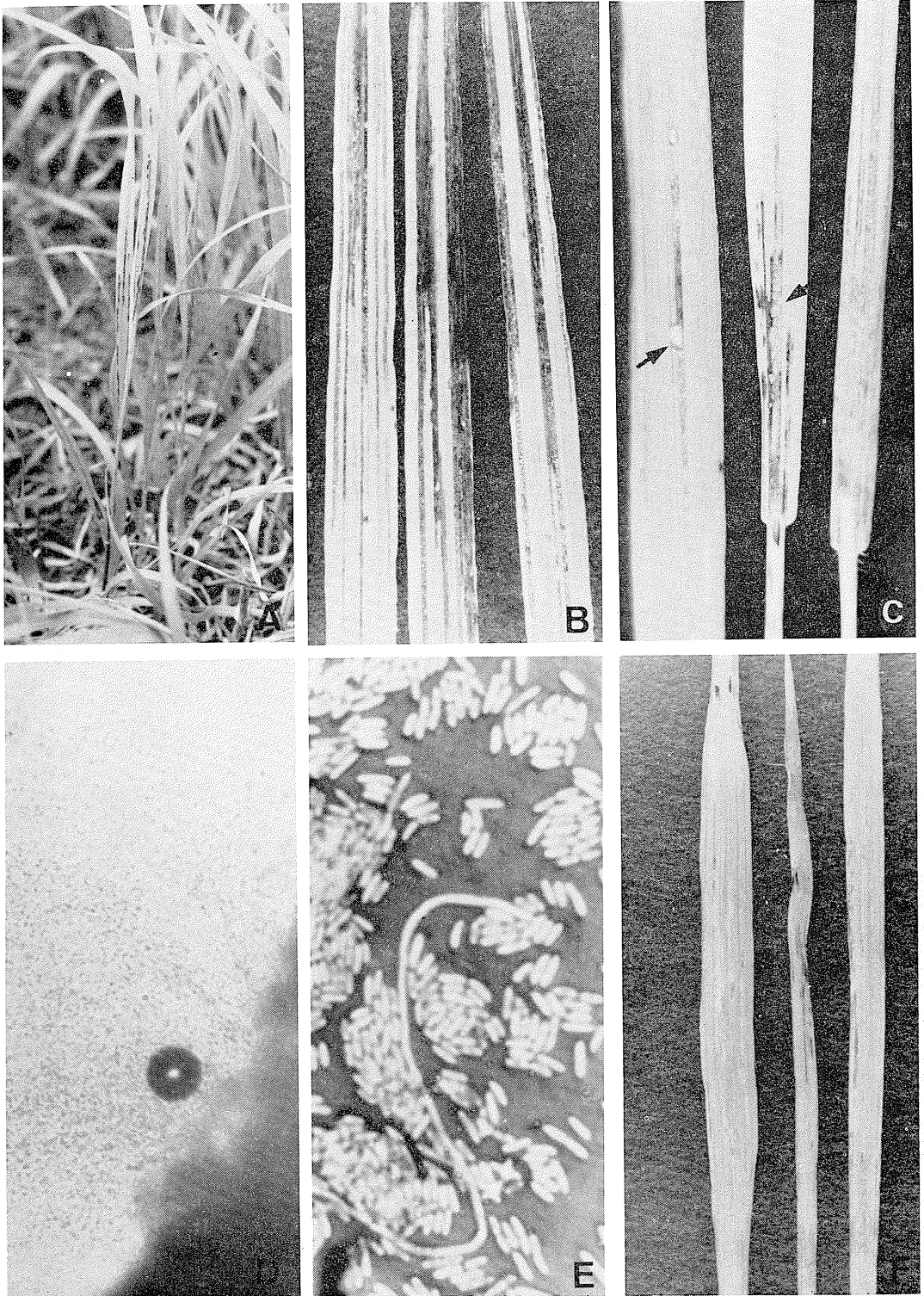


Plate II

