

[成果情報名] スターチス萎凋細菌病菌選択培地の改良と土壌中における病原菌の分布

[要約] 改良選択培地と特異抗血清の併用により、スターチス萎凋細菌病菌 (*Burkholderia caryophylli*) を菌密度 10^2 cfu/g乾土レベルまで検出できる。すき床が認められない圃場の罹病株直下の土壌中には、地下80cmにおいても病原菌が存在する。

[キーワード] スターチス萎凋細菌病菌、選択培地、特異抗血清、土壌、菌密度

[担当機関名] 農業試験場 環境部

[連絡先] 0736-64-2300

[部会名] 野菜・花き (野菜作物)

[分類] 研究

[背景・ねらい]

スターチス萎凋細菌病は難防除の土壌病害であり、防除には病原菌の分布や動態の把握が必要である。従来の選択培地 (青野ら、1979、以下、青野培地という) は、検出限界が 10^3 cfu/g乾土レベルであり、100倍希釈程度の低希釈土壌の検定では雑細菌の繁殖により本菌の判別が困難である。そこで、検出感度向上のため、雑細菌を抑制する抗生物質の追加処方を検討するとともに、培地上に出現する疑似コロニーを識別するための特異抗血清を作成する。また、これらの方法を用いて土壌中の病原菌分布状況を調査する。

[成果の内容・特徴]

1. スターチス萎凋細菌病の発病土壌10倍希釈液の検定において、青野培地では雑細菌が繁殖し、*B. caryophylli*に特徴的な橙黄色のコロニーの判別が困難であるが、硫酸ポリミキシンBを500U/ml添加した青野培地では橙黄色コロニーが明確に現れる (表1)。
2. ウサギを用いて作成した抗 *B. caryophylli* 特異血清は原抗原に対し2,048倍希釈まで反応する。50倍抗血清を用いたスライド凝集反応において、その他の*Burkholderia*属菌を含む15種の病原細菌に対して全く反応せず、*B. caryophylli*のみを特異的に凝集し (表2)、選択培地上のコロニーを直接簡易同定することが可能である。
3. 本法により、土壌からの本菌の検出が菌密度 10^2 cfu/g乾土レベルまで可能である。
4. 栽培期間中の本病罹病株直下の作土中には、本菌が $10^3 \sim 10^6$ cfu/g乾土の密度で分布している (図1)。
5. 客土によりすき床が認められない圃場の栽培終了時の罹病株直下土壌中における本菌の菌密度は、作土を含む上部50cmの客土層で $10^3 \sim 10^5$ cfu/g乾土、それ以下の地下80cmでは $10^2 \sim 10^4$ cfu/g乾土であり、透水層全域に本菌が分布している (図2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 本方法により、土壌中の菌移動の調査が可能である。
2. 本病は 10^2 cfu/g乾土以上で発病し、 10^3 cfu/g乾土で多発する。

[具体的データ]

表1. 青野培地への硫酸ポリミキシンBの添加がスターチス萎凋細菌病菌 (*B.caryophylli*)のコロニー検出に及ぼす影響

硫酸ポリミキシンB添加濃度 (U/ml)	コロニー検出数 ¹⁾	
	発病土壌 ²⁾	萎凋細菌病菌添加 無発病土壌 ³⁾
500	18	129
250	10	85
100	10	94
0	1	11

- 1) 土壌希釈液を100 μ l塗布し、28 $^{\circ}$ C、11日間培養後に現れた橙黄色のコロニー数
 2) 前年スターチス萎凋細菌病菌発病土壌の10倍希釈液
 3) 前年エンドウ栽培土壌10倍希釈液に *B.caryophylli*を添加(最終濃度 2×10^2 cfu/ml)

表2. 抗スターチス萎凋細菌病菌特異血清の各種細菌とのスライド凝集反応

病原菌名	菌株番号	凝集反応
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	MAFF301044	—
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	MAFF301431	—
<i>Erwinia nigrifluens</i>	MAFF301435	—
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>morsprunorum</i>	MAFF301445	—
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vitians</i>	MAFF301775	—
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>	MAFF311003	—
<i>Acidovorax avenae</i>	R9L1-2	—
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> bv. 1	MAFF301001	—
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> bv. 2	MAFF302306	—
<i>Pseudomonas marginalis</i> pv. <i>marginialis</i>	MAFF301173	—
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	MAFF301393	—
<i>Burkholderia gladioli</i>	MAFF30-2537	—
<i>Burkholderia plantarii</i>	島根3	—
<i>Burkholderia glumae</i>	PGC-2	—
<i>Burkholderia cepacia</i>	No.82	—
<i>Burkholderia caryophylli</i> (免疫原株)	H5PC01	+

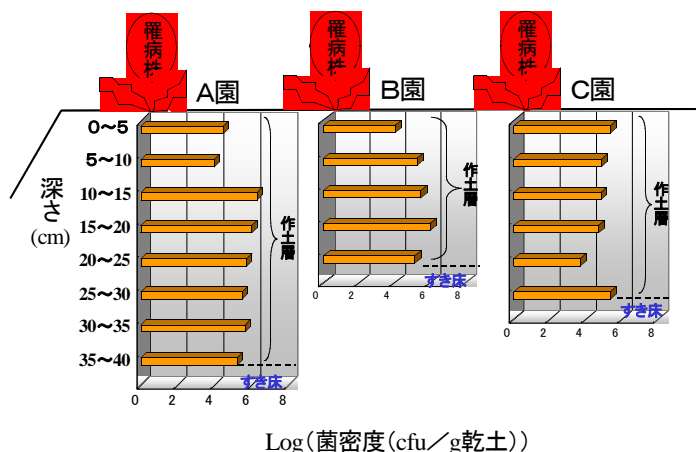


図1. スターチス萎凋細菌病罹病株直下の作土中における菌密度

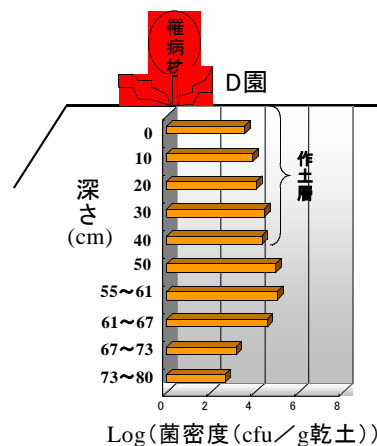


図2. 客土によりすき床が認められない圃場のスターチス萎凋細菌病罹病株直下における菌密度

[その他]

研究課題名：太陽熱利用土壌消毒のパワーアップ技術

予算区分：県単（戦略プラン）

研究期間：平成17～19年

研究担当者：白井雄祐、増田吉彦、大谷洋子

発表論文等：関西病害虫研究会報 第49号 講演要旨掲載予定