

ムギ類黒節病病原細菌ファージについて

菅 正道・松崎 正文

(佐賀県農業試験場)

KAN, M. and MATSUZAKI, M.

On the Bacteriophages of Bacterial black node of Barly and Wheat.

ムギ類黒節病は過去にも西日本を中心に昭和12年から24年ごろまで発生した記録がある。また本病に関して、向、横山らの報告がみられるが、本菌の生態については、ほとんどわかっていない。そこで著者らはムギ類黒節病の発生した現地ほ場の滞留水中から、本病菌に寄生するバクテリオファージを分離し2・3の試験を行なったので、その結果を報告する。なお本試験を実施するにあたり、佐賀大学農学部植物病理学教室には病原細菌ファージの電子顕微鏡写真撮影について、御指導と御助言をいただいた。また農林省農業技術研究所病理科からは菌株を分譲していただいたので厚く御礼申しあげる。

1. ムギ類黒節病病原細菌ファージ分離場所および分離方法

ムギ類黒節病病原細菌ファージの分離は1976年5月佐賀県小城郡三日月町の現地ほ場で黒節病に罹病したビール麦(成城17号)の節部から分離した病原細菌を指示菌として、同じほ場内の滞留水から本病原細菌ファージの分離を行なった。

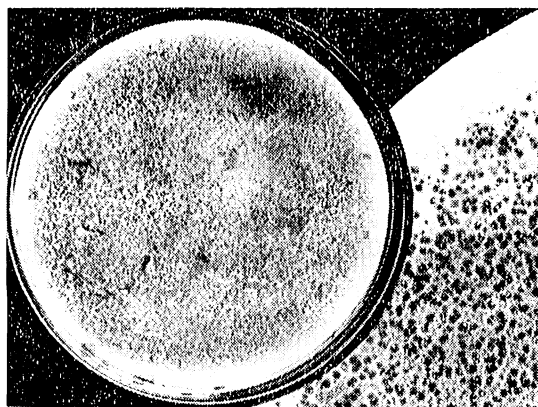
分離方法は、採取してきた滞留水を6,000 r. p. m. 10分間遠沈し上澄液をファージ検出液とした。一方脇本処方半合成培地上に2日間培養して得られた本病病原細菌の浮遊液1 ml (約 10^7 cells/ml) と、上記ファージ検出液と、脇本処方の半合成培地 (agar 1.5%, 50°Cで溶解) 10mlを混合して殺菌シャーレに流しこみ、28°Cで15時間培養し、培地上に形成した溶菌斑から病原菌ファージを

分離した。溶菌斑は第1図の写真のとおりである。なお溶菌斑の形成にはPDA培地、ブイオン寒天培地など数種の培地を用いて比較した。その結果脇本処方半合成培地上で明瞭な溶菌斑を形成したので以下の試験には、この培地を用いた。

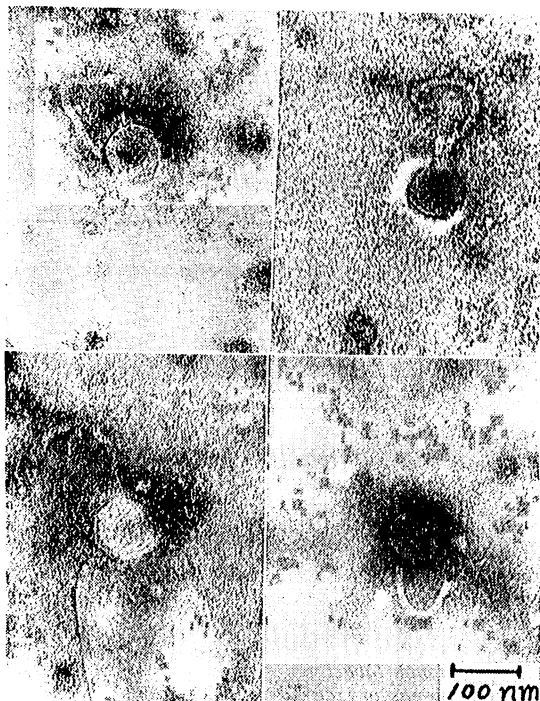
2. ムギ類黒節病病原細菌ファージの形態

実験方法および実験材料: 溶菌斑を形成した培地上に殺菌水を流しこみ、6,000 r. p. m. で10分間遠沈し、その上澄液中のファージをリンタンクステン酸によるネガティブ染色を行ない、電子顕微鏡(日立HS-8型)で形態観察をおこなった。

結果および考察: このファージの各部分の大きさを計測したのが第2図および第1表である。すなわちこの病原細菌ファージの形態は頭部多角体精虫型であった。大きさは頭部86個体、尾部44個体を測定した結果頭部直径 85 ± 1 nm, 尾部長 169 ± 3 nmであった。



第1図 培地上における黒節病病原細菌ファージの溶菌斑



第2図 黒節病病原細菌ファージの電子顕微鏡写真

第 1 表 ムギ類黒節病原細菌ファージの形態

各部分の範囲	
頭部の直径 ¹⁾	85±1mm
尾部の長さ ²⁾	169±3mm

注) 1) 調査個体数 86個 2) 調査個体数 44個

3. ムギ類黒節病原細菌ファージの各種細菌に対する寄生性

Pseudomonas 属12菌株, *Xanthomonas* 属2菌株を供試し本病原細菌ファージの本病原細菌以外への菌への寄生性について調査した。

実験方法および実験材料: ムギ類黒節病原細菌と黒節病原細菌ファージによって溶菌斑を形成した培地に殺菌水を流しこみ, 6,000r. p. m. で10分間遠沈した上澄を細菌ろ過器(東洋ろ紙メンブランフィルターTM-4)でろ過したファージ浮遊液を, 溶菌斑を形成できる程度に稀釈し, これを検定ファージ液とした。各供試細菌は28℃で2日間培養したものをもちいた。これらの細菌の浮遊液1ml(約10⁷cells/ml)と検定ファージ液1mlと脇本処方半合成培地10mlを殺菌したシャーレに流しこみ, 28℃で15時間培養した後, 現われる溶菌斑の有無で寄生性の検定を行なった。

結果および考察: 第2表のように, 本ファージは佐賀県三日月町の黒節病罹病茎から分離された細菌の他に佐賀県山内町(品種: 成城17号), 熊本県内(品種: 農林61号)の黒節病罹病茎から分離された細菌, それに *P. coronafaciens*, *P. coronafaciens* var. *atropurpurea*, *P. lachrymans*, *P. mori*, *P. phaseolicola* に寄生性が認められ, 多犯性のファージと思われる。

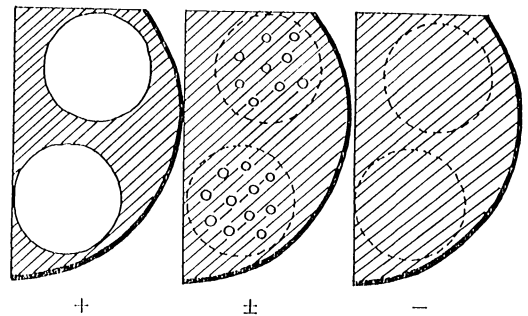
第 2 表 ムギ類黒節病原細菌ファージの各種細菌に対する寄生性

供 試 細 菌 名	ファージ反 応
ムギ類黒節病菌 (三日月)	+
" " (山内)	+
" " (熊本)	+
<i>Pseudomonas striafaciens</i> (農技研 P1-19-1)	-
<i>Pseudomonas striafaciens</i> var. <i>japonica</i> (農技研 P1-20-1)	-
<i>Pseudomonas aptata</i> (農技研 P1-3-1)	-
<i>Pseudomonas caryophylli</i> (農技研 P1-4-1)	-
<i>Pseudomonas coronafaciens</i> (農技研 P1-5-1)	+
<i>Pseudomonas coronafaciens</i> var. <i>atropurpurea</i> (農技研 P1-6-2)	+
<i>Pseudomonas lachrymans</i> (農技研 P L-5801)	+
<i>Pseudomonas glumae</i> (農技研 N-7401)	-
<i>Pseudomonas mori</i> (農技研 P1-11-1)	+
<i>Pseudomonas phaseolicola</i> (農技研 P1-14-1)	+
<i>Pseudomonas solanacearum</i> (農技研 P1-18-2)	-
<i>Pseudomonas tabaci</i> (農技研 P1-21-1)	-
<i>Xanthomonas oryzae</i> (農技研 X1-5-5)	-
<i>Xanthomonas phaseoli</i> f. sp. <i>sojensis</i> (農技研 X1-7-1)	-

4. ムギ類黒節病原細菌ファージの耐熱性

ムギ類黒節病原細菌ファージの耐熱性について試験した。

実験方法および実験材料: 直径18mmの試験管に黒節病原細菌ファージ浮遊液(約10⁵個/ml)を10mlずつ分注し, 50, 55, 60, 65℃で5, 10, 15, 20分間の温度処理を行なった後, このファージ液を固化させた黒節病原細菌加用の半合成培地上に滴下した。それを28℃で15時間培養した後第3図に示すような溶菌斑の形成程度で+, 土, -に分類し耐熱性を調査した。



第 3 図 ファージの不活化温度試験における溶菌斑形成程度

結果および考察: 結果は第3表に示すように, 50℃の5分, 10分, 15分, 20分でファージは不活化せず55℃, 60℃の5分, 10分, 15分, 20分, 65℃の5分, 10分の範囲で大部分のファージが不活化し, 65℃15分では完全に不活化した。

第 3 表 ムギ類黒節病原細菌ファージの不活化温度

温 度	時 間			
	5分	10分	15分	20分
50℃	+	+	+	+
55℃	土	土	土	土
60℃	土	土	土	土
65℃	土	土	-	-

5. ま と め

ムギ類黒節病が発生した佐賀県三日月町の現地ほ場の滞留水中から分離された本病原細菌ファージは頭部直径85±1mm, 尾部長169±3mmの頭部多面体精虫型であり耐熱性は65℃15分であった。また本ファージの黒節病原細菌以外の細菌に対する寄生性は多犯性であり, *P. coronafaciens*, *P. coronafaciens* var. *atropurpurea*, *P. lachrymans*, *P. mori*, *P. phaseolicola* にも寄生性が認められる反面, 農技研から分譲をうけた *P. striafaciens* var. *japonica* に寄生性が認められなかった。この原因についてはさらに検討を要しよう。