

サツマイモ立枯症病原菌の選択分離培地

工藤和一・喜多孝一 (九州農業試験場)

Kazuichi KUDO and Koichi KITA : A Selective Medium for the Pathogenic *Streptomyces* sp. isolated from Stem Lesion or infested Soil of the Sweet Potato Soil Rot-like Disease

宮崎県下で発生するサツマイモ立枯症の病原菌が *Streptomyces* sp. であることは、すでに報告した。しかし本菌は生育が遅いため分離がきわめて困難であった。

本報では、茎の病斑部および発病土壌から比較的容易に病原菌を分離できる方法を検討したので報告する。

1. 分離培地の検索

1) 選択抑制薬剤 各供試薬剤を200, 400, 600, 800, 1000ppmの濃度となるように添加したジャガイモ煎汁シヨ糖寒天培地 (PSA) 上における研究室保存KW-35-1号菌の35℃ 1週間培養後の菌糸発育を調査した。本菌は、デヒドロ酢酸ナトリウムでは400ppm, プロピオン酸ナトリウムでは1000ppm, 安息香酸ナトリウムでは400ppm, ソルビン酸カリウムでは600ppmまでの濃度で発育が認められたが、オルトフェニールフェノール, パラオキシ安息香酸エチル, ニトロフラゾン, ジフェニール, サリチル酸ではすべて200ppmの添加で発育しなかった。次に、アルブミン寒天培地にデヒドロ酢酸ナトリウム250ppm, プロピオン酸ナトリウム800ppm, 安息香酸ナトリウム250ppm, ソルビン酸カリウム500ppmをそれぞれ添加した場合のサツマイモ苗病斑部からの放線菌の分離効果を比較した。分離は、発病苗の病斑部をアンチホルミン10倍希釈液で1分間表面殺菌後、殺菌水で洗浄し殺菌水中で破碎して培地に混合し、希釈平板とした。35℃で1週間培養後に出現した菌そうをPSA斜面に移植した。分離菌の病原力は、30℃で1週間培養したものをサツマイモの茎に無傷接種し、35℃温室に4日間保った後に調査した。結果は、デヒドロ酢酸ナトリウム添加区では糸状菌、細菌が強く抑制されて放線菌が効率よく分離されたが、分離された放線菌はいずれも病原力が認められなかった。他の3薬剤の添加区では細菌の汚染が激しく、放線菌は分離できなかった。

第1表 各種薬剤添加培地での病組織からの病原菌の分離数

種類	濃度 (ppm)	分離菌数		
		総数	放線菌数 (病原菌数)	
デヒドロ酢酸ナトリウム	250	200	108	(0)
プロピオン酸ナトリウム	800	200	0	(0)
安息香酸ナトリウム	250	200	0	(0)
ソルビン酸カリウム	500	200	0	(0)
無添加		144	0	(0)

注) 培地はアルブミン寒天培地, 35℃ 1週間培養。

2) 培地の種類 デヒドロ酢酸ナトリウム250ppm添加のアルブミン寒天培地およびマンニット硝酸塩寒天培地ならびに無添加の素寒天培地を用いて、前記の方法による発病苗からの分離を行い、3種培地間の病原放線菌

分離数を比較した。分離される放線菌数は、アルブミン寒天培地が最も多かったが、病原力を有する放線菌の分離にはマンニット硝酸塩寒天培地が最も効率がよく、分離した20菌株中19菌株に病原力が認められた。

第2表 培地の種類と病組織からの病原菌の分離数

種類	分離菌数		
	総数	放線菌数 (病原菌数)	
素寒天培地 (pH10.5)	85	7	(0)
デヒドロ酢酸ナトリウム250ppm添加アルブミン寒天培地 (pH10.5)	144	60	(1)
デヒドロ酢酸ナトリウム250ppm添加マンニット硝酸塩培地 (pH6.8)	110	20	(19)

注) 35℃, 1週間培養。

デヒドロ酢酸ナトリウム250ppm加用マンニット硝酸塩寒天培地 (DMNA) 上における35℃培養のKW-35-1号菌菌そうの形態は、初め淡黄褐色で表面なめらかであるが、1週間目には菌そう表面に白色羽毛状に盛り上がった気中菌糸を形成し、透明な液滴を生ずる。基中菌糸は淡黄褐色で色素は産生しなかった。

2. 発病土壌からの分離

激発圃場で採取し、さらに挿苗して発病を確認した土を風乾し、DMNAを用いて土壌希釈平板法 (蒸留水10⁻⁴希釈) で35℃ 1週間培養後に出現した菌そうを形態別に分離して、前記の方法によって病原力を検定した。結果は第3表に示すように、KW-35-1号菌と同様の形態を示す菌株はすべてに病原力が認められ、他の形態を示す菌株は病原力がなかった。

第3表 デヒドロ酢酸ナトリウム250ppm添加マンニット硝酸塩培地による病土からの放線菌の形態別の分離数と分離菌の病原性

菌そうの形態	分離数 (比率)	病原性
白色で羽毛状の気中菌糸を生じ菌そう表面に液滴を生じる。	28 (66.7)	有
白色で粉をふいた様な平面的な菌そうで放射状にひろがる	4 (9.5)	無
白色で粉をふいた様な平面的な菌そう	3 (7.1)	無
白色で粉をふいた様な中央部のみ盛り上がった菌そうで同心円状に広がる	7 (16.7)	無

注) 分離総数328菌株, 比率は白色菌そうを形成する菌株42菌株に対する百分比, 35℃, 1週間培養後の分離。

以上の結果から、本試験により開発されたDMNAは、サツマイモ立枯症病原放線菌の分離が容易で選択分離培地として有効であり、土壌中の本菌菌密度測定への応用も可能であると考えられた。今後さらに分離効率を高めるように検討を加えたい。