学会賞受賞者講演

Pseudomonas solanacearum に関する研究*

岡 部 徳 夫

Norio OKABE: Studies on *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith.

この細菌は非常に多くの植物を侵すように記されている。世界の各地で発病する植物名を宿主として羅列するならば、確かにそういうことになる。しかし、この細菌がリストにある植物をすべて侵すかという、そうではなく、実際には寄生性で違った系統が世界の各地にあつて、それぞれの地域で生育するある範囲の植物を侵しているにすぎない。換言すれば、宿主範囲を異にした系統が多数あつて、それらの集合があたかも大きな宿主範囲をもつた種であるような錯覚を醸成しているにすぎない。したがつてこの細菌種にどんな系統があり、どんな植物を侵害しているかが、それぞれの地域で実際には必要な知識であり、病害防除の面からも大切な点である。この観点から日本という限られた地域内の系統にメスを加えたのが、この研究の主な内容である。

系統の研究には各地より集めた菌株について、接種法で直接比較するのが普通の方法である。しかし傷侵入を行なう青枯病菌では、必ずしもよい方法とはいえない。人工で発病する植物、必ずしも自然で発病するとは限らないからである。したがつてこの研究では、まず初めに多数の野生株を *in vitro* で比較し、その特徴によつてそれぞれのタイプに類別した。そしてこれらのタイプを人工接種法で病原性を検定する方法をとつた。

I. 集落型と病原性

青枯病菌は集落よりみると、流動性を特徴とした汚白色、不透明の集落を形成するものと、非流動性で乳白色、半透明の集落を形成するものがある。前者はその特徴から Fluidal type, 略して F 型、後者は Opalescent type 略して Op 型と呼んで区別した。これらは人工接種をすると、茎に傷を与える方法では発病する。しかし根部からの有傷接種では、F 型以外は

ほとんど発病しない。自然感染の植物には、F 型以外による単独感染の可能性を示す証拠は得られない。故に Op 型菌は仮りに土壤中に生存して傷から植物体内に侵入する機会があつたとしても、発病能力を有しないと判断される。

F 型菌は人工培養で短期間に病原性を減退消失する。この理由を知る目的で実験を行つてみると、病原性の減退は培地の天然、調合に関係なく、發育良好な培地において不良な培地以上に早く生ずる傾向がある。これは菌の増殖と関係があることを示唆する。また集落型からみると、病原性の減退と Op 型の出現とは平行的関係にあつて、Op 型のみの培養となつたものは、もはや全く病原性を失つたものである。F 型からは分裂増殖の間に、かなり高い頻度で突然変異 Op 型を生ずる。これが病原性を消失する大きな原因であることがわかつた。F 型菌は野外で実際に発病を起こす青枯病菌そのものである。系統の研究は当然これのみを対象とする必要がある。しかしながら、F 型菌のうちには集落の形状で違つたものもあり、F 型集落必ずしも野生型のシンボルではない。一般的には病患部内の野生菌は、ラセン状模様の比較的大型な集落を形成する。故にこの特徴の集落から選択的に継代することが、野生株保存の必須的培養法である。そして培地は發育不良な調合培地を使用し、低温に置くことが突然変異を少なくし、野生菌を安全に保存する方法である。以下の研究はすべてこの方法によつた。

II. 系統の研究

一般細菌学的方法によつて比較した結果、つぎの性質で違つた菌株が発見された。

1) 色素產生 寒天培地を褐変するものとしもないものがある。前者はチロシン培地で發育悪く、褐変性が強い。後者は發育よく褐変性は弱い。褐変の程度は被害植物間でも差があり、培地上での変色と相関する。褐変が強い菌株はタバコ、ゴマなどから決して分

* 昭和 40 年 4 月 1 日、本大会で行なわれた学会賞受賞者講演の要旨

離されない。

2) **糖分解** 硝安とリン酸カリを基質にした培地で、ほとんどの菌株はグルコースより酸とガスを生ずる。しかし、酸だけしか生じない菌株も存在する。ラクトース、マンニットに対しては、発育、酸、ガスで違った菌株が見出された。これらは7種の生化学型に類別される。このうち2種は色素産生で違ったものがあるので、生化学型は全体で9種あることになる。

3) **発育温度** 最高発育温度で違ったものがあつた。これを生化学型についてみると、38°Cで発育するものとしめないものがあつた。

4) **毒性ファージ** 6種の毒性ファージを得たので、これらの寄主特異性を利用して、9種の生化学型に入る菌株多数について感染抵抗を調べた。この場合ファージはすべて一定の寄主細菌で増殖し、希釈したものを使用し、検定すべき菌株もリン酸蔗糖液培養であることを前提条件としている。その結果によると、生化学型が同じ菌株、必ずしも溶菌型が同じであるとは限らない。ファージの利用は生化学型の中にさらに違った細菌ウイルス学的系統の存在を明らかにした。

5) **溶原ファージ** 野生株のうちには遺伝的にファージを生産するものがあつた。これは培養中に放出されるファージを、他の適当な感受菌株と培地にまくことによつて、溶原斑を指標に検出することができる。4種の単一溶原株と1種の二重溶原株とが見出された。これらから生ずるファージは、39種の溶菌型のうちにさらに1種の異型があることを明らかにした。

6) **バクテリオシン** 野生株のうちには他の菌株の死を起こす蛋白生産菌がある。これをバクテリオシン生産菌と呼んでいる。バクテリオシンの存在は感受菌の存在で阻止円を指標に検出される。この性質は遺伝的で、致死蛋白に対する感染抵抗もまた同様である。故にこれらの性質は系統検定に取り入れ、溶菌型のあるものが示す特徴であることを知つた。

III. 病原性検定

in vitro で明らかにし得た40種の溶菌型には、生化学型、温度型、致死蛋白型などがすべて含まれている。これらが病原性でどんな特徴をもつたものであるか、人工接種、栽培試験、現地調査などを併用して研究した。

1) **人工接種** タバコ、ゴマ、トマト、ナスについて検定した。検定植物および環境はなるべく同じ条件で、接種源は病原性および寄主への適応を考慮した。接種法は根部付傷法、評価は指数法によつた。この結

果によると、ラクトース分解を特徴とした菌株は、例外はあるが、タバコに寄生性をもち、非分解菌株はタバコ、ゴマに全く非寄生性である。また前者には上記の植物に対する病原性で質的にも強さでも特徴のあるものがあつた。しかしながら、すべての生化学型、溶菌型が病原性で特徴のあるものではなかつた。これは検定法または供試植物に問題があるためであろう。今後の課題である。

2) **栽培試験** 同一圃場に各種の生化学型、溶菌型などを加え汚染せしめ、寄主となりうる植物を栽培し、発病株の病菌のタイプを検定した。病菌の地中分布と密度は必ずしも均一でないので、タバコ、トマト、ナスの3者を東植してどの植物をどのタイプが最もよく侵すかを調べた。この結果は特定の植物を非常によく侵すものと、そうでないものがあり、菌型間に病原性で差があることを知つた。

3) **現地調査** 国内の各地から被害株を得て病菌を検定した。同一圃場の全株についても行なつた。この結果は栽培地における病菌のタイプと被害植物の種類および罹病度を明らかにした。また、病菌の圃場分布は菌型によつて広いものと狭いものがあり、多くの圃場は数種の菌型で混合汚染されていることがわかつた。

4) **混合接種** 同じ土地に異種菌型が混在する場合、病菌性に差がなく、菌数も同様であれば、両者は混合感染するか、同じ確率で感染するかのいずれかであろう。もし病原性に差があるならば、いずれか一方がより多くの感染株を生ずるはずである。この見地から2種または3種の菌型を混合接種し、再分離によつて比較を行なつた。この結果によると混合感染の事例はきわめて少なく、再分離される菌型の確率は混合の組合せで変化することがわかつた。病原性が強いものと弱いものとの組合せ、必ずしも強いものをより多く再分離されるとは限らない、これは単独接種で評価された病原性が、必ずしも圃場でそのまま当てはまらないことを示唆している。

IV. 病原型

これは病原性のみから類別された系統をさす。タバコ、ゴマ、トマト、ナス、ラッカセイに対する病原性を総合した結果によると、青枯病菌には13種の病原型がある。さらに他の植物に対する病原性を比較するならば増加の可能性はあろう。これを生化学型からみるならば、3種は生化学型そのものの特徴である。これは生化学型（グルコースよりガス非産生；ラクトー

ス不利用；ラクトースより酸非産生）が病原型の指標となり得ることを示す。10種の病原型はすべてラクトース分解菌である。したがってこれらをいかに *in vitro* で識別するかがつぎの課題である。溶菌型、溶原型、抗生型などはこれを解決する有用な指標であった。マンニット分離能は病原型を探る手段となりうるが、病原型そのものとは直接関係がない。強い色素産生はタバコ、ゴマを侵さない病原型の表示であった。

V. む す び

日本産青枯病菌には乳糖分解と非分解の2群があった。前者はほとんどタバコを侵し、病原性で違つたものを多く含むが、後者はすべてタバコを侵さず、*in*

vitro で違つたものだけを含んでいる。これらが自然界で系統としてどんな役割を演じているか、特にさび菌のような寄生性分化があるか否かは注目される。青枯病菌は傷侵入性であるので、特定の植物を選択的に侵害する可能性はあまり期待されない。しかし単なる機械的感染を通じて発病するのではないような事実も最近になって見出されている。系統によつて宿主範囲および毒性に差があることは事実である。日本産菌株はすべてトマトを侵すが、外国にはそうでないものがある。中米のパナマを侵す系統、ハワイのショウガを侵す系統などは特に違つた病原性の所有者である。ジャガイモを侵す菌のなかにも特異な系統の存在が知られている。

文 献 紹 介

Rhizoctonia solani の菌糸隔膜の微細構造とその発達

Bracker, C. E. Jr. and E. E. Butler: The ultra-structure and development of septa in hyphae of *Rhizoctonia solani*. Mycologia 55 (1): 35—58, 1963.

有隔膜菌類における菌糸隔膜の構造はそれらの生理現象の完全な解明、核移動の機構、原形質や栄養物質の流転などを考察するために明らかにされなければならないものとして、著者は本論文において *R. solani* の菌糸隔膜の構造を位相差顕微鏡および電子顕微鏡を用いて観察した。観察にはベトリ皿中の potato-dextrose 寒天上に cellophane disc をおいて、その上に生育した本菌菌糸を用い、電顕観察は KMnO_4 1% 水溶液で固定 (20~30 分), araldite epoxy 樹脂 6005 (CIBA) 中に包埋し、超薄切片として行なっている。

本菌菌糸の隔膜 (抄者註一著者は septum とは単なる cross wall でなく、隔膜孔の装置 (septal pore apparatus) (隔膜肥厚、隔膜孔帽および隔膜孔帽間質からなる) とその他の部分 (cross wall) とを含めたものとして定義している) は複雑な構造を示している。横隔膜 (cross wall) は 2 枚の隔膜板 (septal plate) からなり、その各々がラメラ構造をしている。菌糸の成熟とともに横隔膜は厚さおよびラメラの数を増すが、原形質連絡系 (plasmodesma)

は横隔膜発達とのどの時期にも観察されなかつた。そして、細胞間の連絡は隔膜孔 (septal pore) を通してのみ行なわれ、この点 カワラタケ (*Polystictus versicolor* L.) についての Girbardt (1958) の観察と一致していた。隔膜の中心近くにある隔膜孔の周囲には横隔膜とは構造的にも異なる環状の隔膜肥厚 (septal swelling) がある。菌糸が発育するとき隔膜肥厚は大きくなり、 2μ 以上の直径に達する。この隔膜肥厚は菌糸隔膜の中心軸から遠ざかるように生長し、隔膜孔を塞がない。菌糸体が生長して古くなると、菌糸の隔膜孔は電子密度の高い物質ならびに原形質で閉塞される。外細胞質体 (ectoplast) は横隔膜に平行しており、約 $7\text{m}\mu$ の薄い電子密度の高い膜として横隔膜から区別される。この薄膜は横隔膜の両側および側壁膜 (lateral wall) に添ってあらわれる。また、活発に生長している若い培養においては、この薄膜は細胞から細胞へと連結している。内細胞質網状構造 (endoplasmic reticulum) は横隔膜に平行して存在するとともに、細胞質のいたるところに伸びている。隔膜の中心部には、隔膜肥厚および隔膜孔をおおう多孔質で、厚い、電子密度の高い隔膜孔帽 (septal pore cap) を形成し、その中には隔膜孔帽間質 (subcap matrix) がある。隔膜孔の構造は複雑であるが、細胞から細胞への原形質の流れを妨げているようには思われない。

(福富 雅夫)