黒蝕米 (しりぐろ米) より分離される細菌*

谷井昭夫**・馬場徹代**・春木 保**

Akio TANII**, Tetushiro BABA** and Tamotu HARUKI**: Bacteria
Isolated from Black Rot of Rice Grains*

Abstract

In black rot of rice grains a black spot develops on a part of the rice grain, which is formed at the middle or apical part of the grains and rarely at the basal part. Recently, its occurrence has gradually increased in Hokkaido and has been causing serious damage.

From both the affected and healthy rice grains, many bacteria and some fungi were isolated. Among them, yellow bacteria were most frequently isolated.

Sixty five isolates of bacteria, obtained from both kinds of grains collected from various paddy areas in Hokkaido, were classified into four groups according to some major characteristics. Moreover, group I was divided into three strains on the bases of some minor characteristics. Group II consisting of fluorescent, achromogenic and chromogenic groups named by Iizuka *et al.*

The bacterial isolates of each group were identified as follows;

- I. A; *Enterobacter cloacae*, B and C; *Erwinia herbicola*.
- II. Fluorescent group; *Pseudomonas schalkkilliensis* and allied species.
Achromogenic group; *p. sp.* (non-fluorescent).
Chromogenic group; *p. cerealis*, *p. melanogenum* and *p. lacunogenes*.
- III. *Brevibacterium* spp.
- IV. uncertain.

Rice grains did not show any symptom on the surface of them when they were inoculated with *E. herbicola* through the seed-coat by the injection method before their milky ripe stage. The black rot occurred on the wounded part of grains, whenever they were inoculated with *E. herbicola* or not, by the needle inoculation method in the milky ripe stage and *E. herbicola* were re-isolated from both the blackening part of the inoculated and non-inoculated grains. The causal agent of the black rot of rice grains was recognized as due to the sucking of rice grains by the pentatomid bugs and allied species. Moreover, it was proved that *Xanthomonas itoana* was synonymous with *E. herbicola*.

(Received October 9, 1973)

緒 言

黒蝕米は米粒の一部に黒褐～黒紫色の斑点を形成し、米質を著しく低下せしめる。北海道で本病は古く

から発生していたが、特に大きな問題とならず、昭和初期以降研究も全くなされないまま今日に至っている。しかし、近年、米の生産量の過剰に伴ない米質が重要視されてきたのに加えて、本病の発生が次第に多

* 本報告の概要は1966年および1972年度、日本植物病理学会北海道部会で発表した。

** 北海道立中央農業試験場

Hokkaido Central Agricultural Experiment Station, Naganuma, Hokkaido, Japan.

くなってきて注目されている。

本病はいもち病のような直接的な減収ではなく、米質の低下に伴う検査等級の下落および政府買上げ対象の除外にあり、米質の向上が栽培技術上の重要課題である今日、その意味では農業経済上の重要な問題である。

筆者ら⁴³⁻⁴⁵⁾は1965年より本病の研究を進めてきたが、本病がカメムシ類の吸汁によりひきおこされるもので、被害部位に優勢に存在する黄色細菌は腐生性の *Erwinia herbicola* (Löhnis) Dye^{1,9,12,16,33)} で、さらに本病の病原細菌とされてきた *Xanthomonas itoana* (Tochinai) Dowson^{48,51)} は *E. herbicola* の異名であるとの結論に達したので、ここにその結果を報告する。

研 究 史

本病は北海道で古くからその発生が認められていたようであるが、岩垂²⁶⁾によれば一般の注意を引くようになったのは大正6年に「玄米検査」が施行されてからであると言われている。

本病の病原については、大正7年に北海道農業試験場で着手され、分離試験で数種の糸状菌 (*Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium* 属菌) が検出されたが⁵⁰⁾、接種試験は行なわれていない。その後、昭和4年に至り、変質米を研究した伊藤ら²⁴⁾は黒蝕米から細菌を高率に分離し、本病が細菌によって発現することを推論している。さらに同年、岩垂²⁵⁾は同細菌を乳熟期の稲穂に有傷接種することによって良好に黒蝕米が生成されるとし、1932年に柄内⁴⁸⁾は岩垂より前記細菌の分離を受け、その細菌学的研究の結果、その細菌を新種と認め、*Pseudomonas Itoana* Tochinai と命名した。その後、本細菌は Dowson⁷⁾ による *Xanthomonas* 属の新設によって、*X. itoana* (Tochinai) Dowson と改属され、Bergey の同定書6版²⁾ には *X. oryzae* の異名として取り扱われていたが、同書7版³⁾ には抹殺されていて、その記載がない。しかし、本邦ではしりぐろ米、*X. itoana* (Tochinai) Dowson が採用されている⁵¹⁾。その後、本病の病原細菌の細菌学的研究は全くなされていない。

症 状

本被害粒の一般的症状は玄米の頂部、側部に黒褐～黒紫色の明瞭な被害斑を形成するのを特徴としている。また、粒には明らかな病変を認めることができない。

1. 玄米頂部の症状 玄米の頂部に被害斑の中心を有し、円形に下方に拡大し、光沢ある黒褐～黒紫色を呈し、被害部位と健全部とは明瞭な界をなしているが、界部が淡褐色を呈し不明瞭である。また、玄米全体が乳白色を呈し、被害斑の周囲に向かって黒褐色を呈するものもある。被害斑の拡大程度は頂部のみのものから、粒の1/2以上に及ぶものまで種々であるが、亀裂を有するものはなく、その頂部はやや凹陷しているか、しゅう縮状を呈し、昆虫による吸汁跡の感がある。

2. 玄米側部の症状

側部被害斑の多くは、内外穎の縫合線に接する部分(玄米の縦溝上)に中心を有し、円形、楕円形あるいは不整形(通常2～3mm)で、小型のものは点状で、次のような症状からなっている。すなわち、被害斑全体が黒褐～黒紫色を呈し、周囲が全縁、または波状を呈し明瞭なもの、被害斑の中心部が乳白～褐色を呈し、周囲に向かって黒色か、あるいはわずかに着色し健全部と区別されるもの、被害斑が点状集合体のもの、被害斑が黒色～褐色点状のもの、胚部のみ褐色～黒褐色を呈するものがあり、中心部は浸蝕状を呈しているものも多く、稀に周囲が白色不透明の環をなしているものもみられる。

しかし、頂部と側部の被害斑部位は一定したのではなく、その中間にあるものも存在し、さらに側部のものも形状、色調など、それぞれに中間的なものが存在し、一線を引き難い。

細菌・糸状菌の分離

1. 材料および方法 典型的な黒蝕米症状の玄米と対照として健全米を用い、糸状菌の分離にはグルコース加用ジャガイモ煎汁寒天培地を供試し、静置法によった。一方、細菌の分離には変法土壌煎汁寒天培地または普通寒天培地を用い、希釈平板法あるいは画線培養法によった。それぞれの培養温度は25℃で行ない、集落が充分発育した後、計数した。

2. 結果 糸状菌の分離を目的とした静置法による分離試験の結果を Fig. 1 に示した。

この結果によれば、細菌(黄色集落)の分離頻度が高く、糸状菌の場合、*Epicoccum* 属菌がやや多く分離される以外は他の糸状菌の分離頻度は極めて低い。また、健全米の場合も各菌種の分離頻度は相対的に低いが、黒蝕米の菌種構成と変わりがないと言える。

次に、細菌の分離を目的とした希釈平板法による分離試験の結果、被害粒と健全粒の細菌数は前者が多く、両者共に黄色細菌が多数出現する。また、初期の

Fig. 1. Frequency of isolation of microorganisms from black rotted^{a)} and healthy^{b)} rice grains (1966).

- a) 260 rice grains collected from 11 localities in 1965.
 b) 319 rice grains collected from 11 localities in 1965.
 c) B; *Bacteria*, E; *Epicoccum* spp., C; *Cladosporium* sp., A; *Alternaria* sp., N; *Nigrospora* sp., Cr; *Curvularia* sp., F; *Fusarium* sp.

新鮮な被害玄米からは黄色細菌のみが分離された。さらに被害粒の被害部位と健全部位とでは前者に圧倒的に細菌数が多いことが知られた。

分離細菌の細菌学的性質

前項の分離試験によって得た細菌のうち、65 菌株を選び、4～5 回純粋培養を繰り返した後、その細菌学的性質を検した。

分離細菌の細菌学的性質の検査には、特に記する以外は米国細菌学者協会の実験法⁵²⁾、伝染病研究会の細菌学実習提要⁴⁹⁾および A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria⁴¹⁾の諸方法によった。

分離細菌の 65 菌株は 4 群に大別されるが、I 群は黄色非水溶性色素産生、周毛、グラム陰性桿菌、II 群は白色、蛍光色素産生か非産生、あるいは黄色非水溶性色素産生、極毛、グラム陰性桿菌、III 群は黄色非水溶性色素産生、周毛か極毛、細胞は均一かやや多形性、非抗酸性、グラム陽性桿菌、IV 群はやや桃色を帯びた白色、非抗酸性、無孢子、グラム陽性球菌である。

これらの菌群のうち、I 群の分離頻度が圧倒的に高く、初期の新鮮な被害玄米からは I 群のみが分離され

るので、以下 I 群について詳述することにする。

I 群はさらに 3 系統に類別されるが、供試した 46 菌株の菌株名と来歴は Table 1 に示すとおりである。

1. 形態と染色性 普通寒天培地に 25 C, 48 時間培養した A, B, C の 3 系統細菌の菌体は両端が鈍円で短桿か、しばしば桿状で孤立するか、対をなす。A, C 系統の両者は 2～5 本の周性鞭毛を有するが、B 系統の場合、鞭毛の数は少なく、通常 1～2 本で、同一菌株で極毛と側毛の両者が混在するものが多い。3 者とも運動性で、包のう、芽胞は認められず、グラム染色は陰性である。

2. 培養的性質 以下の実験には、あらかじめ普通寒天培地に 25 C, 48 時間培養したものを用い、培養温度はゼラチンの液化、温度試験を除いて 25 C で実施した。なお、3 系統間や系統内で差異が認められた場合にのみ、その菌株名をあげて記述する。

(1) 普通寒天平面培養 全菌株の発育は中庸で、培養 48 時間後の表生コロニーは平滑、全円、中高、湿光を帯びた黄色で半透明、牛酪質～やや粘稠である。基中コロニーは黄色、レンズ状で培地の変色はないが、やや臭気を認める。また、B 系統では白色コロニーが出現しやすい。

(2) 普通寒天斜面培養 全菌株の発育は中庸で、菌苔は平滑、糸状、丘状、湿光を帯びた黄色で半透明、牛酪質～やや粘稠である。培地の変色はないが、臭気を認める。また、B 系統では継代培養によって集落が黄色から白色に変化するものが多い。

(3) 普通寒天せん刺培養 全菌株はせん刺溝に沿って糸状に発育するが、せん刺溝の上部は下部に比して発育が良好である。

(4) ブイヨン培養 全菌株の発育は中庸で、混濁は一樣か、上部の発育が良いもの、被膜やリングを形成するものがあり、同一系統内でも一定の傾向は認められない。

(5) ペプトン水培養 ブイヨン培養場合と変わりがない。

(6) リトマス牛乳培養 A, B 系統の両者はリトマスを赤変し、のち退色する。また、両者は牛乳を凝固するが、A 系統では凝固が遅く、不完全で、且つガスの産生が認められる。C 系統では、最初酸を生じリトマスを赤変するが、のちにアルカリとなり、リトマスを徐々に退色するが、牛乳を変化させない。

(7) ウシンスキー氏液培養 全菌株の発育は中庸で、沈澱は少量でやや粘稠である。液の変色は認められない。

Table 1. Source of isolates I A, B and C

Strain	Isolate No.	Affected part	Rice variety	Locality Date	Date
A	1-1, 17, 18	Middle	Ishikari	Tōma	Nov. 1970
	9-9	Healthy	G 294	Biei	do
	11-5	Apical	Himehonami	Tukigata	do
	0-2	do	Kūiku strain	Ebeotu	do
B	1-6, 10	Middle	Ishikari	Tōma	Nov. 1970
	2-4, 10, 12	do	G 294	Biei	do
	6-13	Apical	Kūiku strain	Ebeotu	do
	7-1	do	Himehonami	Tukigata	do
	9-4, 6, 11	Healthy	G 294	Biei	do
	11-3	Apical	Himehonami	Tukigata	do
	12-4, 5	Healthy	do	do	do
	13-2	Apical	—	Tōma	do
	14-3, 6, 7	Healthy	—	do	do
	15-2	do	Shiokari	Nagayoma	do
	16-3, 5	Middle	do	do	do
	17-6, 8, 13	Apical	do	do	do
	0-3	do	Kūiku strain	Ebeotu	do
	BS-1	Middle	Ishikari	Nagayama	Aug. 1972
	BT-1	Apical	do	do	do
C	1-12, 14, 15	Middle	Ishikari	Tōma	Nov. 1970
	13-4, 5	Apical	—	do	do
	14-10	Healthy	—	do	do
	16-8, 16	Middle	Shiokari	Nagayama	do
	0-4	Apical	Kūiku strain	Ebeotu	do
	BS-2, 5	Middle	Ishikari	Nagayama	Aug. 1970
	BT-5, 6, 7	do	do	do	do

(8) フェルミ氏液培養 ウシンスキー氏液培養の場合と変わりがない。

(9) コーン氏液培養 A 系統の全菌株は発育しない。また、B 系統は1菌株(16-5)、C 系統は2菌株(1-12, 1-14)を除いて発育しない。

3. 生理的性質

(1) 螢光色素の産生 全菌株はキング A, B 培地²⁹⁾に螢光色素を産生しない。

(2) 酸素との関係 通性好気性である。

(3) ゼラチンの液化 3 系統の全菌株はゼラチンを液化するが、その液化力に強弱がみられる。

(4) 硝酸塩の還元 0.1% KNO₃ を含む肉汁で1, 2 および3日間培養したが、A, C 系統は硝酸塩を還元

し、B 系統は還元しない。また、いずれの系統もガスを産生する菌株はない。

(5) インドールの産生 ペプトン水の1, 2日間培養で、A, C 系統の全菌株はインドールを産生しないが、B 系統では1菌株(1-10)を除いて産生する。

(6) 硫化水素の産生 鉛糖紙法によった。A, C 系統は菌株により強弱がみられるが、全菌株は硫化水素を産生し、B 系統では産生、非産生(1-10, 11-3, 12-4, 15-2, 16-3, 17-6, 0-3)の両者が存在する。

(7) アンモニアの産生 全菌株はペプトン水の1, 2 および3日間培養でアンモニアを産生しない。

(8) メチレン青の還元 全菌株はメチレン青を還元する。

(9) メチール赤反応 A, B 系統の全菌株は陰性で、C 系統も 2 菌株 (1-15, 16-16) を除いて陰性である。

(10) Voges-Proskauer 試験 3 系統の全菌株は陽性である。

(11) 含水炭素の分解作用 0.4% の BTB を加用した Ayers らの合成培地とダーハム管を用い、14~21 日間培養観察した。

その結果、A 系統の全菌株はサッカロース、マルトース、サリシン、キシロース、グルコース、澱粉、マンニトールより酸とガスを産生し、グリセロールからは酸を産生するがガスを生じない。ラクトースからは 1 菌株 (11-5) を除いて酸を産生し、2 菌株 (0-2, 11-5) を除いてガスを産生する。

B 系統ではサッカロース、マルトース、ラクトース、キシロース、グルコース、グリセロールから全菌株は酸を産生し、マンニトールからは 1 菌株 (2-10) を除いて酸を産生し、澱粉からは 1 菌株 (17-8) を除いて酸を産生しない。サリシンでは酸の産生、非産生 (1-10, 2-12, 9-4, 12-4, 12-5, 14-7, 17-8) の両者が存在した。また、いずれの菌株もガスを産生するものはない。

C 系統ではキシロース、グルコース、グリセロールから全菌株は酸を産生し、サッカロースからは 2 菌株 (1-15, 16-6)、マルトースでは 1 菌株 (0-4)、澱粉は 1 菌株 (16-8) を除いて酸を産生するが、ラクトースからは全菌株、サリシンでは 3 菌株 (1-12, 1-14, 13-5) を除いて酸を産生しない。また、いずれの菌株もガスを産生しない。

(12) マロン酸の利用 Leifson 変法培地によったが、3 系統の全菌株は菌株により遅速があるが、マロン酸を利用する。

(13) 澱粉の分解作用 B 系統の 1 菌株 (7-1) を除いて、全菌株は糖化作用を認めない。

(14) 耐塩性 全菌株は 5% 食塩加用ペプトン水に中庸の発育を示す。

(15) 37 および 42 C での発育 37 C では全菌株は中庸の発育を示し、42 C では A 系統は発育するが、B, C 系統は発育しない。

(16) グルコースの分解形式 全菌株は Hugh らの培地¹⁸⁾でグリコースを好気、嫌気の両条件下で分解し、酸を産生する。

(17) レバンの産生³⁵⁾ 5% 蔗糖加用普通寒天培地で培養したが、全菌株はレバンを産生しない。

(18) 硝酸塩存在下での嫌氣的発育 駒形ら³²⁾の方法で、A 系統は硝酸呼吸能を有する (ガスは産生しな

い) が、B, C 系統の両者は陰性である。

(19) カタラーゼ活性 3 系統の全菌株は陽性であるが、A, C 系統は B 系統に比して活性が弱い。

(20) オキシダーゼ反応 3 系統の全菌株は分離当初は極めて弱い反応を呈するのみであるが、継代培養に従って陽性反応を呈するようになる。

(21) チトクローム酸化試験 3 系統の全菌株は分離当初は陰性であるが、継代培養に従い弱い反応を呈するようになる。

(22) ウレアーゼ活性 全菌株は陰性である。

(23) アルギニン・デヒドロラーゼ活性 Thornley⁴⁷⁾の方法によったが、全菌株は陰性である。

(24) フェニールアラニンデアミナーゼ活性 A, C 系統の全菌株、B 系統の 3 菌株 (1-6, 12-5, 14-3) を除いて陽性である。

(25) ペクチナーゼ活性 Wieringa's pectate gel 培地 (Dowson 変法) によったが、全菌株は陰性である。

(26) グリコン酸の酸化 Graham ら¹⁵⁾の方法 (ナトリウム塩を代用) によったが、A 系統の全菌株は陽性であるが、B, C 系統では菌株によって異なる。

(27) チロシナーゼ活性 Lelliott ら³⁵⁾の方法によったが、全菌株は陰性である。

(28) カゼインの加水分解 Crosse ら⁶⁾の方法によったが、全菌株は陰性である。

(29) ツーイン 80 の加水分解³⁹⁾ 全菌は陰性である。

(30) マーガリンの加水分解 Lelliott ら³⁵⁾の方法によったが、全菌株は陰性である。

(31) レンチナーゼ活性³⁵⁾ 卵黄寒天培地で培養したが、全菌株は陰性である。

(32) 蔗糖からの還元物質の産生 Graham¹⁴⁾の方法に従って、4% 蔗糖加用ペプトン水で培養後、Benedict 試薬によって検したが、A 系統は全菌株陰性で、B 系統は 2 菌株 (1-10, 13-2)、C 系統は 3 菌株 (1-12, 13-5, BT-6) を除いて陰性である。

(33) オルニチン、アルギニン、リジン、グルタミン酸・デカルボキシラーゼ活性 Møeller の方法によったが、A, B, C 系統の全菌株は陰性である。

分離細菌の分類学的考察

分離細菌 I 群はコロニーが黄色、周毛を有するグラム陰性の芽胞非形成桿菌で、グリコースを好気、嫌気の両条件下で分解し、酸を産生するなどの性質を有するので、腸内細菌科の細菌である。

分離細菌 I 群に似たものに、自然界に広く分布している黄色腐生性 *Erwinia* 属細菌, *Erwinia herbicola* (Löhms) Dye^{1,9,12,16,33)} がある。これと筆者らの分離細菌 I 群の 3 系統とを比較すると、いくつかの細菌学的性質を除いてほとんど一致している。すなわち、I 群の 3 系統のうち、C 系統はリトマス牛乳培養を除いて *E. herbicola* に一致しており、A 系統は硝酸呼吸、リトマス牛乳培養、各種糖類からのガスの産生および発育最高温度で、B 系統は硝酸塩の還元、インドールの産生の点で *E. herbicola* と異なっている。

米や穀類から分離される黄色腐生性の *Pseudomonas* 属細菌として、飯塚ら^{20,21)} は *P. lacunogenes*, *P. ochracea*, *P. melanogenum*, *P. cerealis*, *P. trifolii* および *P. perlurida* をクロモゲニク・グループとし、*P. straminea*, *P. fulva* をフルオレッセント・グループとしてあげており、分離細菌 I 群の C 系統は *P. trifolii*, B 系統は *P. perlurida* に鞭毛を除いて一致しており、さらに A 系統は飯塚ら²²⁾ の黄色の *Aerobacter cloacae* にほとんど一致している。

Billing ら¹⁾ は黄色の *Erwinia* 類似細菌について検討し、*E. lathyri*, *B. herbicola* および *P. (Xanthomonas) trifolii* との関係について論及し、Dye⁹⁾ は腐生性の黄色細菌について検討を加え、*X. trifolii* (*P. trifolii*) が極毛菌ではなく周毛菌であることを認め、*E. herbicola* (Düggeli) Dye としている。また、松野³⁷⁾ は米粒着生菌の研究で *E. herbicola* 同定した菌株が、飯塚ら^{20,21)} によって報告された *P. trifolii* に鞭毛などを除いて、その細菌学的性質がほとんど一致しているので、両者は同一細菌ではないかとした。その後、駒形ら³³⁾ は前述のクロモゲニク・グループの菌種のうち、*P. trifolii*, *P. perlurida* と黄色の *A. cloacae* の 3 者について再検討を加え、前 2 者が極毛菌でなく、周毛菌であることを認め、3 者を *E. herbicola* の異名とした。

以上のことから I 群の 3 系統は松野³⁷⁾、駒形ら³³⁾ に従えば *E. herbicola* と同定されることになる。しかし、A, B, C 系統の 3 者は前述のように一定条件下で行なったいくつかの細菌学的性質で異なり、さらにそれらの性質は系統内でかなりよくまとまっているので、3 者を全て *E. herbicola* の異名とする駒形ら³³⁾ の見解には疑問が残る。

筆者の一人⁴²⁾ は、インゲンからかさ枯病菌 (*P. phaseolicola*) に随伴する黄色細菌を分離し、*E. herbicola* と同定したが、この菌は C 系統と全く一致した細菌学的性質を示した。さらに、*E. herbicola* には

牛乳培養でアルカリを産生するもの^{19,27,33)} 報告されているので、C 系統は明らかに *E. herbicola* と同定される。

次に A と B 系統について考察すると次のようである。*E. herbicola* には糖類よりガスを産生する菌株も報告されているが³⁶⁾、他の多くの報告^{1,8,9,12,16,19,27,40)} ではガスを産生するものはなく、松野³⁷⁾ の同定した *E. herbicola* とは硝酸呼吸能を除けば、また、飯塚ら²²⁾ により *A. cloacae* と同定され、その後駒形ら³³⁾ により *E. herbicola* の異名とされたものとは硝酸呼吸能、アミノ酸デカルボキシラーゼ活性などを除けば筆者らの A 系統にほとんど一致している。また、A 系統は黄色色素産生、フェニールアラニンデアミナーゼおよびアミノ酸デカルボキシラーゼ活性を除けば、*Enterobacter (Aerobact.) cloacae*^{3,41)} によく似ている。一方、駒形ら³³⁾ によれば *E. herbicola* は硝酸呼吸能が陰性であることが重要な性質であるとしているので、同性質を有する A 系統を *E. herbicola* の系統菌とすることもできない。Thomas ら⁴⁶⁾ は *Aerobacter* の黄色色素の産生は分類上重要でないとしており、上述した重要な性質で異なるにもかかわらず、他の多くの性質は *Enterobact. (A.) cloacae* に一致しているので、A 系統を *Enterobacter (Aerobacter) cloacae* の一系統菌と同定する。

また、*E. herbicola* (C 系統) と B 系統の相異点は硝酸塩の還元、インドールの産生、リトマス牛乳培養、ラクトース、澱粉からの酸の産生の有無であるが、*E. herbicola* は硝酸塩を還元するが^{1,8,9,12,16,19,27,36,40)}、還元しない菌株も存在し^{16,33)}、牛乳培養では前述のように酸を産生するものとアルカリを産生するもの、およびインドール産生^{8,19,33)}、非産生^{1,9,12,16,27,40)} の両者が存在し、また、ラクトース、澱粉からの酸の産生についても *E. herbicola* には産生、非産生の両者が存在し^{1,8,9,12,16,19,27,33,40)}、B 系統に類似する菌株も報告されている。さらに駒形ら³³⁾ は *E. herbicola* の硝酸塩の還元について、肉汁で陰性でもコハク酸-硝酸塩培地で陽性である菌株の存在を報告している。

しかし、これらの異なる性質は両系統内でよくまとまっているし、*E. herbicola* に関する多くの報告^{1,9,12,16,40)} では肉汁培地で硝酸塩を還元し、インドールを産生せず、さらに、*E. herbicola* は 37°C で白色変異株を生ずることが報告⁴⁾ されているが、25°C での培養で高率に白色変異株を生ずる B 系統とは異なると考えられる。

また最近、Dye^{10~13)} は *Erwinia* 属細菌を *amylo-*

vora, *carotovora*, *herbicola* および atypical *erwinias* グループに4大別し, *E. herbicola* の学名を *Erwinia herbicola* var. *herbicola* (Löhnis) Dye と改訂しており, そのような見解に従えば, B 系統は *E. herbicola* の variety とすることもできるが, しかし, B, C 系統間でみられるような細菌学的性質の相異が多く, 分離源からの多くの菌株で明らかにされるまでは, 今仮に *P. plerurida* を *E. herbicola* の異名とする駒形ら³³⁾の見解に従っておくことにする。

本菌の学名について駒形ら³³⁾は *Erwinia herbicola* (Geilinger) Dye を採用しているが, その後, Dye¹²⁾は *E. herbicola* (Löhnis) Dye を正当名としているので, 筆者らも学名については後者をとることにする。

また, 分離細菌 II 群の白色および黄色極毛細菌は飯塚ら^{20,21)}の Fluorescent, Achromogenic および Chromogenic グループに属し, その細菌学的性質から, それぞれ螢光色素産生菌 *Pseudomonas schulkliensis* とその近縁細菌, 螢光色素非産生 *Pseudomonas* 属細菌で, 黄色非水溶性色素産生菌は *P. cerealis*, *P. melanogenum* および *P. lacunogenes* と同定され, III 群は *Brevibacterium* (*Corynebacterium*)

属細菌と考えられ^{3,31,41)}, IV 群はその所属が不明である。

分離細菌 I 群の寄生性および *X. itoana* と *E. herbicola* との異同

分離試験で得た初期の被害玄米よりの菌株 *E. herbicola* (BS-2, 5, BT-5, 6, 7: 旧 *P. trifolii*, BS-1, BT-1: 旧 *P. perlurida*) を用いた。

接種方法は無傷の場合, まだ胚乳の発達していない時期の粃に細菌液 (約 10⁸/ml) を縫合部より注射接種し, 有傷接種の場合, 乳熟期の粃にアルコール殺菌針で小孔をあけ, 細菌液に浸漬した。接種後, 25 C 温室に2日間置き, のち温室内で管理した。

その結果, 無傷では供試細菌は玄米に対してなんら病変を起こさなかった。一方, 有傷接種では明らかに黒蝕米の生成がみられたが, 有傷無接種の玄米でも黒蝕米となり, 両者の黒変部から *E. herbicola* が再分離された。このことは *E. herbicola* が稲体などに常在し, 粃の種子としての活性の高い時期にすでに多数存在している³⁸⁾という事実から理解でき, この細菌が黒蝕米の発生にとって第一義的な原因ではなく, 玄米

Table 2. Comparison of the bacterial characteristics^{a)} of *X. itoana* and isolates I B, C.

Bacteria Characters	<i>X. itoana</i>	Isolates I	
		B	C
Gram stain	Negative	Negative	Negative
Flagellation	Polar	Polar, lateral	Peritrichous
Pigmentation	Yellow	Yellow	Yellow
Uschinsky's solution	+	+	+
Cohn's solution	±	—	—
Action on litmus milk	Acid, coagulated	Acid, coagulated, reduced	Acid, alkaline, unchanged, reduced
Nitrate reduction	+	—	+
Liquefaction of gelatin	—	+	+
Indole production	+	+	—
Ammonia production	—	—	—
Hydrolysis of starch	±	—	—
Acid from	glucose	+	+
	saccharose	+	+
	lactose	+	—
	maltose	+	+

a) +: All or most strains positive reaction
±: weekly positive reaction

—: All or most strains negative reaction

の傷が重要であることを示している。

当初、いね白葉枯病の病原細菌とされ、後に否定された *Bacillus oryzae*²³⁾ や木谷³⁰⁾ によって報告されたいもち病菌に随伴する黄色細菌も *E. herbicola* と考えられ、それらは硝酸塩を還元せず、インドールを産生するなどの細菌学的性質から、筆者らのI群のB系統(旧 *P. perlurida*)と同一細菌であると考えられる。また最近、Crosse⁵⁾ によって種々の植物病原細菌と *E. herbicola* との相互関係が総説されており、本細菌の稲体における病理学的意義についての検討が望まれる。

本病の病原細菌として *X. itoana* が長い間用いられてきたが、筆者らは北海道各地から採集した被害玄米より病原細菌の分離を試みてきた結果、*X. itoana* は検出されず、さらに初期の被害玄米ですら *Xanthomonas* 属細菌は検出されず、*E. herbicola* が圧倒的に多く分離されることを知った。このことは *X. itoana* と *E. herbicola* が同一細菌である可能性を示唆している。

X. itoana と筆者らのI群のB、C系統とを比較すると Table 2 に示すとおりである。

それによると、*X. itoana* は他の著者^{19, 27, 36)} によって報告された *P. (X.) trifolii* とゼラチンの液化、糖類の分解作用を除いてほとんど一致しており、筆者らの菌株とはインドールの産生、硝酸塩の還元点でB、C系統の両者を合わせた性質を有している。

P. (X.) trifolii の鞭毛については、はじめ極毛菌とされてきたが、その後、周毛であることが明らかにされ、*E. herbicola* とされたことは前述のとおりである。筆者らのI群のC系統は明らかな周毛であるが、B系統は極毛と側毛の両者が同一株で混在しており、観察によっては極毛と見誤る可能性がある。さらに *X. itoana* のゼラチンの液化試験については原記載⁴⁸⁾ では15℃の低温下で実施されているので、そのような温度の下では *E. herbicola* はゼラチンを液化しない。また、糖類の分解作用も筆者らは合成培地を用いたが、原記載では肉汁を用いており、観察期間も記録されていない。糖類の分解作用は合成培地に比較すると肉汁などの有機培地では極めて不安定な結果となることが知られている。

以上のように、両者で異なる性質は観察や実験手法などで異なるので、*X. itoana* は *E. herbicola* の異名と考えられる。

本病の発生原因と病名

本病の被害部位より分離される黄色細菌が病原性のない腐生性の *E. herbicola* で、玄米の傷の有無が本病の発生に重要であることは前述した。

このような傷の原因として吸汁性昆虫が考えられ、筆者らは1965年以来探索してきた結果、セジロウンカ、オオヨコバイ、ホシアワフキ、キビクビレアブラムシでは玄米に何らの病変を起因せしめないが、カメムシ類によって黒蝕米が生成されることを知った。

本病の原因となるカメムシ類として実験的にも黒蝕米を生成し、実際は場にも発生しているエゾアオカメムシ、ブチヒゲカメムシ、オオドゲシラホシカメムシ、ムラサキカメムシなどのカメムシ科^{17, 34)} の他に、ナカグロメクラガメ、マキバメクラガメのメクラカメムシ科のものが実験的に黒蝕米を生成することがわかった。また、その他数種のカメムシ類が水田内で採集されており、今後さらに追加される可能性がある。

最近に至って、河辺²⁸⁾ はアカヒゲホソミドリメクラガメが黒蝕米(斑点米)を生成せしめるとし、奥山(未発表)は本虫が実験的にも黒蝕米を発現せしめ、実際は場にも本虫の発生が多いことを明らかにしており、筆者らも追試し、それを認めている。

以上のように本病は従来信じられてきた細菌病ではなく、カメムシ類の吸汁が原因であることがわかった。

また、病名については「しりぐろ米」が採用されているが、玄米の底部に黒蝕部を有するものは極めて稀であるし、黒蝕米の呼名が一般化している現状から、岩垂²⁶⁾ の意見のように黒蝕米(しりぐろ米)とし、煤米と区別するのが良いと考えられる。

また、カメムシ類による被害米は、府県では斑点米、黒変米などと呼ばれているが、黒蝕米が細菌病ではなく、カメムシ類によってひきおこされることが明らかになったので、カメムシ類による被害米の呼名を古くからある黒蝕米の名称に統一することを提案する。

摘 要

1) 黒蝕米は米粒の一部に黒褐～黒紫色の斑点を形成し、その被害は直接的な減収ではなく、検査等級の下落および政府買上げ対象の除外にあり、近年、北海道でその発生が多くなり問題となっている。

2) 本被害粒の静置法による分離試験の結果、細菌(黄色集落)の分離頻度が高く、糸状菌では *Epicoccum* 属菌がやや多く分離される以外は他の糸状菌の分離頻度は極めて低く、さらに健全米でも相対的に分離頻度

が低い、黒蝕米における菌種構成と変わりがなかった。希釈平板法では被害玄米は健全米に比較すると、前者に出現細菌数が多かった。

3) 北海道各地より採集した黒蝕米より得た 65 菌株の細菌は 4 群に大別され、そのうち I 群の分離頻度が高く、I 群の 46 菌株はさらに A, B, C の 3 系統に類別された。また、新鮮な被害玄米からは I 群の B, C 系統のみが分離された。

4) I 群の 3 系統は、それぞれ飯塚らの旧分類による A: *Aerobacter cloacae*, B: *Pseudomonas per-luria*, C: *P. trifolii* にほとんど一致しており、それらについて考察を加え A: *Enterobacter* (*Aerobact.*) *cloacae*, B, C: *Erwinia herbicola* と同定し、II 群は *Fluorescent* グループ: *Pseudomonas schulkiliensis* とその近縁細菌, *Achromogenic* グループ, 螢光色素非産生 *Pseudomonas* 属菌, *Chromogenic* グループ: *P. cerealis*, *P. melanogenum* および *P. lacunogenes* と同定され、III 群は *Brevibacterium* (*Corynebacterium*) 属菌, IV 群はその所属が不明であった。

5) 新鮮な被害玄米より得た *E. herbicola* (B, C 系統) は無傷では玄米に病変を示めさず、有傷接種では黒蝕症状を発現したが、有傷無接種でも黒蝕米が生成され、両者の黒変部より *E. herbicola* が再分離された。

6) 以上から、本症状の発見には玄米の傷が重要で、その発生原因が細菌でなく、カメムシ類の稲刈吸汁であることを示し、*E. herbicola* と本病の病原細菌とされていた *X. itoana* とを比較論議し、*X. itoana* が *E. herbicola* の異名であることを明らかにした。

引用文献

- 1) Billing, E. and Baker, L. A. E. (1963). J. appl. Bact. 26: 58-65.
- 2) Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Hitchens, A. P. (1948). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6th ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- 3) Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R. (1957). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed, Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- 4) Chatterjee, A. K. and Gibbins, L. N. (1971). J. Bact. 105: 107-112.
- 5) Crosse, J. E. (1971). In Ecology of Leaf Surface Micro-organisms (Preece, T. F. et al. eds.), Academic Press, New York. pp. 283-290.
- 6) Crosse, J. E. and Garrett, C. M. E. (1963). J. appl. Bact. 26: 159-177.
- 7) Dowson, W. J. (1943). Trans. Brit. Mycol. Soci. 26: 4-14.
- 8) Duggeli, M. (1904). Zentr. Bakt. Abt. II, 13: 56-63.
- 9) Dye, D. W. (1964). N. Z. J. Sci. 7: 261-269.
- 10) Dye, D. W. (1968). Ibid 11: 590-607.
- 11) Dye, D. W. (1969). Ibid 12: 81-97.
- 12) Dye, D. W. (1969). Ibid 12: 223-236.
- 13) Dye, D. W. (1969). Ibid 12: 833-879.
- 14) Graham, D. C. (1972). Proc. Third Int. Conf. Pl. Path. Bact. Wageningen April 1971: 273-279.
- 15) Graham, D. C. and Dowson, W. J. (1960). Ann. appl. Biol. 26: 58-64.
- 16) Graham, D. C. and Hodgkiss, W. (1967). J. appl. Bact. 30: 175-189.
- 17) 春木 保 (1971). 札幌農学会昭和 46 年度大会講要: 4.
- 18) Hugh, R. and Leifson, E. (1953). J. Bact. 66: 24-26.
- 19) Huss, H. (1907). Zentr. Bakt. Abt. II, 19: 50-70.
- 20) 飯塚 広・駒形和男 (1962). 農化 36: 663-668.
- 21) 飯塚 広・駒形和男 (1963). 農化 37: 71-76, 77-80, 137-141.
- 22) 飯塚 広・駒形和男・内野忠治 (1963). 農化 37: 701-705.
- 23) 石山信一 (1922). 農試報告 45: 233-261.
- 24) 伊藤誠哉・石山哲爾 (1926). 札幌農林報 96: 218-235.
- 25) 岩垂 悟 (1931). 札幌農林報 107: 458-459 (講要).
- 26) 岩垂 悟 (1936). 北農試報告 36: 1-52.
- 27) James, N. (1955). Canad. J. Microbiol. 1: 479-485.
- 28) 河辺信雄 (1972). 北日本病虫研報 23: 134.
- 29) King, E. O., Ward, M. K. and Raney, D. E. J. lab. Clin. Med. 44: 301-307.
- 30) 木谷清美 (1941). 日植病報 11: 136-146.
- 31) 駒形和男・飯塚 広 (1964). 農化 38: 496-502.
- 32) Komagata, K., Iizuka, H. and Takahashi, M. (1965). J. Gen. Appl. Microbiol. 11: 191-201.
- 33) Komagata, K., Tamagawa, Y. and Iizuka, H. (1968). Ibid 14: 19-37.
- 34) 黒沢 強・春木 保 (1972). 日本半翅類学会会誌 22: 115-117.
- 35) Lelliott, R. A., Billing, E. and Hayward, A.

- C. (1966). *J. appl. Bact.* 29: 470-489.
- 36) Mack, E. (1936). *Zentr. Bakt. Abt. II*, 75: 218-261.
- 37) 松野守男 (1967). *日植病報* 33: 223-229.
- 38) 松野守男・上村光男 (1966). *食糧研* 21: 10-12.
- 39) Misaghi, I. and Grogan, R. G. (1969). *Phytopathology* 59: 1436-1450.
- 40) Muraschi, T. F., Friend, M. and Bolles, D. (1965). *Appl. Microbiol.* 13: 128-131.
- 41) Skerman, V. B. D. (1967). *A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria*, 2nd ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- 42) 谷井昭夫 (1970). 第6回植物細菌病談話会講要: 9-11.
- 43) 谷井昭夫・馬場徹代 (1966). *日植病報* 32: 309 (講要).
- 44) 谷井昭夫・馬場徹代 (1969). *北日本病虫害研報* 20: 32.
- 45) 谷井昭夫・春木 保・馬場徹代 (1973). *日植病報* 39: 151 (講要).
- 46) Thomas, S. B. and Elson, K. (1957). *J. appl. Bact.* 20: 50-61.
- 47) Thornley, M. J. (1960). *Ibid* 23: 37-52.
- 48) Tochinai, Y. (1932). *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 2: 453-457.
- 49) 伝染病研究所学友会 (1958). *細菌学実習提要*, 2版, 丸善, 東京.
- 50) 北海道農試 (1921). *大正7年業務概要*: 56-62, 92, 182.
- 51) 日本植物病理学会 (1960). *日本有用植物病名目録 I*, 日本植物病理学会, 東京, p. 2.
- 52) Society of American Bacteriologists (1957). *Manual of Microbiological Methods*, McGraw-Hill Book Co., New York.