

## シクラメン葉腐細菌病対策技術の開発

雨宮 剛・松古浩樹・宮崎暁喜\*

Development of countermeasures technique of bacterial leaf rot of cyclamen

Tsuyoshi Amemiya, Hiroki Matsufuru and Akiyoshi Miyazaki\*

要約：近年、シクラメンの生産現場ではシクラメン葉腐細菌病が発生し、出荷ロスが問題となっているが、効果的な薬剤がなく、発病条件や感染経路など不明な点も多いため難防除病害として対応に苦慮している。本研究では、適確な診断技術を確立し、発病要因を明らかにするとともに、効果的な防除方法について検討した。葉腐細菌病と酷似した萎凋症状を引き起こす芽腐細菌病や軟腐病との判別を目的に開発したマルチプレックスPCR法により、迅速かつ的確な病害診断が可能となった。また、発病要因については、肥料の過不足など極端な肥培管理や生育中のストレスにより発病が助長されることが明らかとなり、生産現場での発生頻度も肥培管理と関係性が認められた。さらに感染経路の一つである種子については穀物酢を処理することによって保菌率を効果的に低減させることができ、栽培に用いる各種資材についても既存の塩素系殺菌剤の利用により圃場内の菌密度を低下させることが可能であると考えられた。これらの技術を取りまとめて予防を中心とした対策技術を確立し、生産現場で利用できる防除対策マニュアルを作成した。

キーワード：シクラメン葉腐細菌病, 種子消毒, 病害診断, マルチプレックスPCR法

## 緒言

冬期の鉢物を代表する品目であるシクラメン (*Cyclamen Persicum* Mill.) は、個人の観賞用のほかに贈答品としても利用され、花型や花色バリエーションが豊富で、人気の高い品目である。岐阜県は鉢物生産が盛んで、鉢花産出額で全国第4位に位置する主要な産地であり、その中でシクラメンについては、主に県内の中津川・恵那・岐阜地域で生産されている。平成24年度の県内生産額においてシクラメンは品目別で6番目に位置し、本県の花き生産を支える重要な品目の一つとなっている。

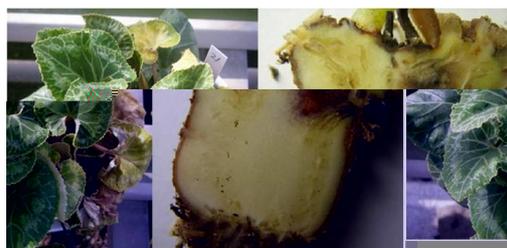
近年、県内のシクラメン生産圃場では葉腐細菌病 (*Pantoea agglomerans*) 等による萎凋症状が頻発

しており、その程度に差はあるものの、出荷ロスなどを生じさせるため大きな問題となっている。葉腐細菌病は、発病初期から中期にかけて葉が黄化、萎凋し、症状が進むと葉柄は水浸状になり、症状の進行と共に葉身基部が褐変し、塊茎内部にも赤みをおびた褐変が見られ、最終的に枯死する病害である<sup>1)2)</sup>。本病については、感染経路や発病条件などに不明な点が多いこと、薬剤による有効な防除ができないこと、さらに本病と類似の症状を示す、芽腐細菌病、萎凋病、軟腐病などその他の病害との識別が困難であることなど、防除に関する基礎的知見が少なく、近年難防除病害として全国的に深刻な問題となっている。そこで、本研究では、効率的な診断技術を開発し、葉腐細菌病の感染経路や生産現場での発病状況を把握した。また、この結果に基づき、発病条件の解明や発病回避のための感染経路の効果的な消毒法について検討した。

## 1. マルチプレックスPCRによる病害診断

[目的]

シクラメンに萎凋症状を引き起こす、葉腐細菌病、芽腐細菌病 (*Pseudomonas marginalis*) および軟腐病 (*Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora*)



第1図 シクラメン葉腐細菌病罹病株  
左：外観、右：塊茎内部

\*現在：岐阜県農政部農政課

<プライマー配列>

検出菌	プライマー配列	増幅サイズ(bp)
①葉腐細菌	Pa-F : TGACGGGTGAGACCGACATT	525
	Pa-R : TTAGGATCCGGCACTTTCAC	
②芽腐細菌	Pm-F : ATCTGACCGTTCGCCGCGAGT	688
	Pm-R : AGGAAGTCSGAGAAGTAYTT	
③軟腐病菌	Pc-F : ACCTGAACCGTAAACAAGACG	304
	Pc-R : ATCCGGCACATTTACGGAAAC	

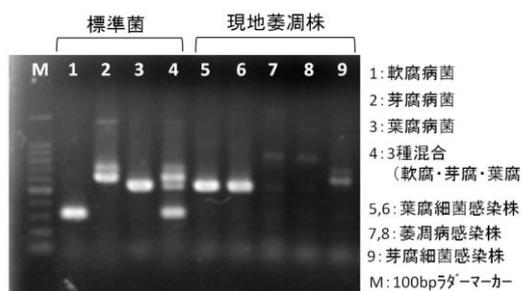
<反応条件>

94°C 5分  
↓  
94°C 30秒  
60°C 30秒 } × 40 サイクル  
↓  
72°C 1分  
↓  
72°C 5分

<PCR反応組成>

鋳型(菌液、振とう処理液) 1~2 µl、1.25U TaKaRa Ex Taq HS、  
1× Ampdirect、0.2 µM 各プライマー(反応液量50 µl)

第2図 3種細菌を検出するマルチプレックスPCRの反応条件など



第3図 マルチプレックスPCRの結果と現地萎凋株の診断結果を判別するマルチプレックス PCR 法を開発し、症状の酷似した萎凋株の原因を明確にする。また、開発した手法を用いて生産現場での萎凋症状における原因菌別発生割合を明らかにする。

[材料および方法]

1) マルチプレックス PCR による病害診断法の開発

シクラメンに萎凋症状を引き起こす葉腐細菌、芽腐細菌、軟腐病菌を明確に区別するため、DDBJ/EMBL/GeneBank データベースに登録されている *P. agglomerans* (accession no. EF988798, FJ617379, FJ617392, FJ617377), *P. marginalis* (accession no. AB039403, AB039441, AB039458, AB039470, AB039448), および *P. carotovorum subsp. carotovorum* (accession no. AJ300552, AB242916, FJ652727) の DNA 複製に関与するジャイレース B 領域の塩基配列をもとに独自にプライマー配列を設計し、非特異反応を起こさない PCR 条件を検討した。萎凋株の調査については、症状の現れた株の表面を 1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液で殺菌後、塊茎内の褐変部位を 1~2mm 角に刻み、500 µl の滅菌水中で攪拌した液を前述の PCR の鋳型として診断に用いた。

2) 現地萎凋株の診断

2010 年 10 月中旬頃に東濃地域シクラメン生産

第1表 生産者別の各病害発生割合

生産者	調査株数	葉腐細菌		芽腐細菌		軟腐		その他	
		株数	率(%)	株数	率(%)	株数	率(%)	株数	率(%)
A	5	3	60	0	0	0	0	0	0
B	5	1	20	2	40	3	60	0	0
C	3	2	67	1	33	0	0	0	0
D	5	5	100	1	20	1	20	0	0
E	5	1	20	0	0	0	0	0	0
F	9	1	11	1	11	0	0	9	100
G	6	3	50	0	0	0	0	0	0
合計	38	16	42.1	5	13.2	4	10.5	9	23.7

圃場で発生したシクラメン萎凋株 (3~9 個体/圃場) を、前述の手法を用いて PCR を行い、原因菌を特定した。

[結果および考察]

1) マルチプレックス PCR による病害診断法の開発

3 種細菌の PCR 増幅産物の大きさが異なるように設計した各プライマーを同一の反応液に加えたマルチプレックス PCR (第 2 図) を行ったところ、各細菌の個別検出に加えて、複数種の菌を一反応で同時に検出することができた (第 3 図)。さらに、現地で採取された萎凋症状を示す株に対して同様に PCR を行ったところ、葉腐細菌病または芽腐細菌病の感染が確認された (第 3 図)。明瞭なバンドの得られなかった株については、あらかじめ罹病組織片を PDA 培地で培養したところ、萎凋病菌 (*Fusarium*) が検出された (データ略) ことから、本法が現地萎凋株においても 3 種細菌病を明確に検出・特定できることが明らかとなった。なお、本法では、シクラメン軟腐病の類縁菌である *E. carotovora subsp. atroseptica*, シクラメン葉腐細菌病の類縁菌である *P. agglomerans* pv. *gypsophila*, *P. agglomerans* pv. *milletiae* にも反応するが、これらの菌がシクラメンから分離された報告例やシクラメンの病原報告例も無いことか

ら、開発した診断法はシクラメンの萎凋症状原因菌を特定する手法として有効であると判断した<sup>3)</sup>。

2) 現地萎凋株の診断

開発した本法により生産現場の萎凋株の原因を特定したところ、生産者ごとに原因菌別の発生割合は異なっていたが、全体では葉腐細菌が42.1%、芽腐細菌は13.2%、軟腐病菌は10.5%であったほか、葉腐細菌と芽腐細菌の重複感染株も確認された(第1表)。本法を用いることで従来の細菌学的性質調査法よりも極めて迅速かつ正確に病原菌を同定することが可能となった。今まで葉腐細菌病と症状が酷似し発生の有無が不明瞭であった芽腐細菌も13%検出されたことから、今後、葉腐細菌病と同様の防除対策を検討する必要があると考えられた。

2. 肥培管理およびストレスが発病に与える影響

[目的]

シクラメン葉腐細菌病は発病要因が明らかではないため、栽培管理上の留意すべき点が不明確である。そこで、本病原菌の接種試験を行い、施肥量および生育上のストレスが発病に与える要因について明らかにするとともに、生産現場での栽培管理と発病との関連を明らかにする。

[材料および方法]

1) 肥培管理およびストレスが発病に与える影響調査

供試品種として現地で利用されている4品種を用い、無施肥区、緩効性肥料区(ロング180日タイプ(10-18-15)1g, 2g, 4g)、老化ストレス区(0.05%エスレルー晩処理)および生育促進ストレス区(50ppmジベレリン灌注処理)を設定した(計6区)。各品種の購入苗を2011年5月13日

に3号ポリポットへ鉢上げ後、8月17日に上述の施肥区の設定およびホルモン処理を行い、9月22日にこれらの株の葉3枚を葉柄ごと摘み取った有傷部位に10<sup>5</sup>cfu/mlとなるよう滅菌水で濃度調整した葉腐細菌病(SUPP1982・静岡大分離株)菌液を刺針接種した。接種後は自然温度条件下、遮光率約40%の雨よけパイプハウスで頭上灌水により管理、10月15日より20℃一定ガラス温室内に移動後、12月7日に発病調査を実施した。

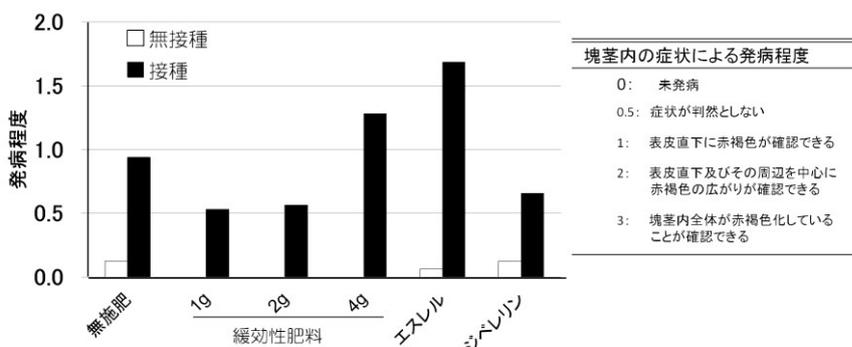
2) 現地における肥培管理と発病調査

恵那地域のシクラメン生産現場において、過去の発病状況より、シクラメン葉腐細菌病の多発生、中発生および小発生圃場を各1か所選定した。土壌溶液については2012年および2013年の4月～11月に選定した圃場の栽培株(各圃場2品種)から月1回溶液を採取し(各品種10個体)、pH、ECおよび硝酸態窒素について測定を行った。併せて7月～11月には各圃場にて採取した葉柄(各品種10個体)0.5gを10倍量の滅菌水中で破砕し、磨砕液の硝酸態窒素濃度を測定した(4月～11月)。さらに2013年については8月～11月までの廃棄株数および本病による発病株数を、聞き取り調査および前述した診断法により調査した。

[結果および考察]

1) 肥培管理およびストレスが発病に与える影響調査

菌液接種による発病程度については、エスレル処理(老化ストレス区)において最も高い発病程度を示し、次いでロング4g、無施肥、ジベレリン処理(生育促進区)の順に高い発病傾向がみられたため、肥料の過不足や老化ストレスが本病の発病助長要因であることが示された(第4図)。

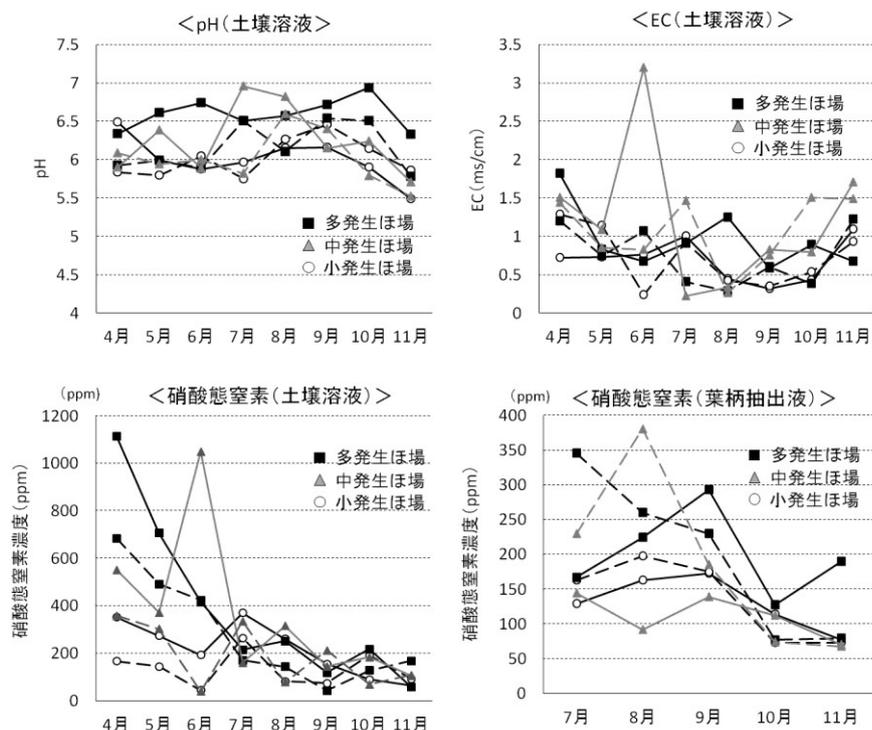


第4図 肥培管理およびストレス処理が発病程度に及ぼす影響

\* 結果は4品種の平均

第2表 生産ほ場(品種)別廃棄株数

	8月	9月	10月	11月	廃棄原因
多発ほ場: 品種A	1	37	37	27	葉腐:10、不明・その他:92
: 品種B	0	25	66	10	葉腐:11、不明・その他:80
中発ほ場: 品種C	0	6	4	0	葉腐:4、不明・その他:6
: 品種D	0	6	2	0	葉腐:3、不明・その他:5
小発ほ場: 品種E	0	0	2	0	葉腐:2
: 品種F	0	0	1	0	葉腐:1



第5図 生産ほ場別土壌溶液および葉柄抽出液成分の変動

— : 2013年 -----: 2012年

## 2) 現地における肥培管理と発病調査

8月以降の圃場(品種)別廃棄株数を調べたところ、2013年は葉腐細菌病の初期発生は少なめであったが、9月以降に増加する傾向となった。圃場別の廃棄株数の差についてはほぼ例年通りとなり、多発圃場では多くの罹病廃棄株が確認されたことから(第2表)、慣行の管理方法等に何らかの問題があると考えられた。

また、土壌溶液のpH、ECおよび硝酸態窒素濃度を測定したところ、2年間とも同様な傾向がみられた。すなわち、小発圃場においてはpH6前後、EC0.5~1.0ms/cm程度、硝酸態窒素200ppm前後で変動の少ない管理がなされていた。一方、多発圃場および中発圃場においてはいずれの項目もやや高めの推移もしくは比較的大きな変動が見られた(第5図)。このことから、少発圃場の土壌溶液

中のpH、ECおよび硝酸態窒素の値は肥培管理の目安として利用可能であると考えられた。また、葉柄内の硝酸態窒素においても、土壌溶液の結果と同様に、多発圃場採取サンプルで高い値を示したことから、高濃度の窒素施用が発病を助長していることが考えられた。

## 3. 種子および資材消毒法の開発

## [目的]

シクラメン葉腐病の感染経路の一つとされている種子伝染による被害拡大を防ぐため、発芽率に影響を及ぼさない種子消毒の方法を開発する。また、栽培資材を介した感染拡大のリスクを低減させるため、効果的な資材消毒の方法も併せて開発する。

## [材料および方法]

1) 種子における保菌部位の調査

シクラメン葉腐細菌病発生圃場から採取した種子について、前述した診断法によって種子の保菌部位を調べた。反応の鋳型として表面液（種子6粒を100μlの滅菌水中で15分間懸濁した液）または内部液（種子6粒の表面を70%エタノール5分、1%次亜塩素酸水溶液15分にて殺菌後、滅菌水で3回洗浄した種子を金槌で破碎し、破砕片20mgを200μlの滅菌水中で懸濁した液）それぞれ1μl用いた。

2) 種子消毒方法の検討

(1) 熱処理による種子消毒効果

試験には葉腐細菌（SUPP1982(静岡大分離株)・TG2-1(岐阜分離株)）を接種した人工汚染種子を用いた。供試種子を70%エタノール1分、1%次亜塩素酸ナトリウム溶液5分処理により表面殺菌後、LB培地で培養した接種菌液（10<sup>8</sup>cfu/ml）に4℃で一晩浸漬処理し、処理後ろ紙上で余剰菌液を除去し作成した。温湯処理および乾熱処理はそれぞれ設定温度に温めた5mlのねじロバイアル瓶内の滅菌水または乾熱インキュベーター内に種子を一定時間静置し、処理後に4℃、30分で急冷処理した。温湯、乾熱いずれも処理温度は50～65℃、処理時間は0～60分とした。さらに温湯（50℃・40分、55℃・20分）および乾熱（65℃・40分）処理後の種子を調整ピートモス培土に播種し、20℃暗黒条件下で管理した後、49日後の発芽率を調査した。また、熱処理後の種子は別に摩砕し、NA平板培地での画線培養（25℃、2日間）後に保菌率を確認した。

(2) 酸による種子消毒効果

i) 酸による菌への直接的殺菌効果

LB培地にて25℃、2日間振とう培養した葉腐細菌（SUPP1982(静岡大分離株)・TG2-1(岐阜分離株)）を集菌し、各種酸（0.1%次亜塩素酸ナトリウ

ム、100倍台所用漂白剤、0.1M乳酸、0.1M DL-リンゴ酸、0.1Mクエン酸および20%穀物酢）を10～40分処理した後、NA平板培地にて画線培養（25℃・5日間）し、コロニー形成の有無により殺菌効果を確認した。

ii) 穀物酢による種子消毒効果

試験には既述の葉腐細菌の人工汚染種子を用いた。人工汚染種子を10～30%に希釈した穀物酢に10～60分浸漬後、0～60分流水洗浄した。処理後の種子5粒を15分間懸濁した100μlの滅菌水の一部をLB培地で一晩（25℃）培養した液1μlを鋳型にPCRを行い、増幅バンドの有無により消毒効果を確認した。併せて穀物酢処理後の種子を(1)と同様に播種し、50日目までの発芽率を調査した。

2) 資材消毒方法の検討

対象資材としてセルトレイ（96穴）、育苗ポット（2.5号）、ハスロおよびC鋼を用い、流水洗浄、ブラシ洗浄、乾燥（7日間）および（農業用）次亜塩素酸Ca剤（浸漬：1,000倍希釈・散布：500倍希釈）を消毒法とした。なお、ハスロおよびC鋼の塩素系資材消毒剤施用は浸漬のみとした。次亜塩素酸Ca剤によって事前に一度殺菌処理を行った各資材を対象資材として利用した。LB培地にて25℃、2日間振とう培養した葉腐細菌（TG2-1(岐阜分離株)）の培養液を滅菌水で置換した液に各資材を一晩浸漬し、2日間風乾させた資

第3表 種子への熱処理が保菌率と発芽率に与える影響

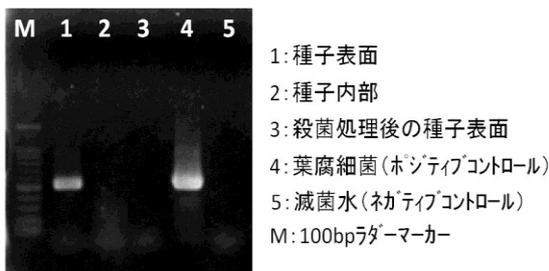
処理	保菌率(%)	発芽率(%)	無処理相対比*1)
温湯50℃・40分	0	68.0	89.5
温湯55℃・20分	0	62.0	81.6
乾熱65℃・40分	0	60.0	78.9
無処理	(100)	76.0	100.0

\*1) 無処理相対比 = (各処理区発芽率/無処理発芽率) × 100

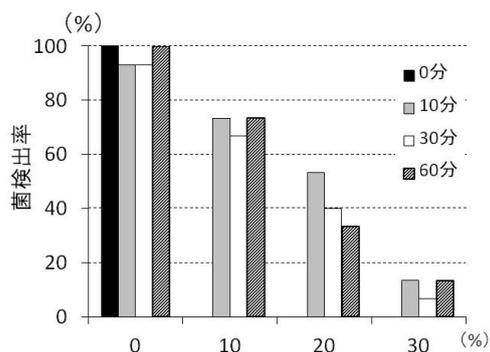
第4表 各種酸による葉腐細菌への直接殺菌効果

供試薬剤	処理時間(分)			
	10	20	30	40
0.1%次亜塩素酸ナトリウム	-	-	-	-
100倍台所用漂白剤	-	-	-	-
0.1M乳酸	-	-	-	-
0.1M DL-リンゴ酸	-	-	-	-
0.1Mクエン酸	-	-	-	-
20%穀物酢	-	-	-	-
滅菌水	+	+	+	+

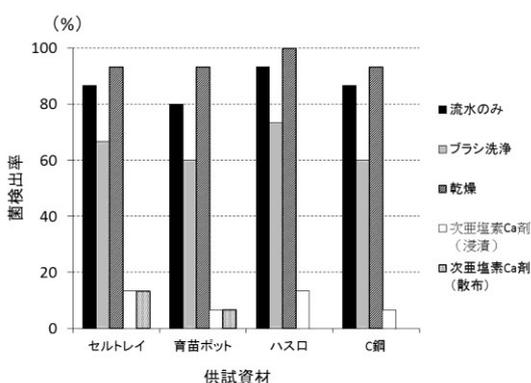
-: 菌未検出、+: 菌検出



第6図 葉腐細菌病多発生圃場採取種子における部位別保菌状況



第7図 穀物酢による種子消毒効果



第9図 各資材消毒の効果

材を汚染資材とした。汚染資材に対して各消毒を行った後、滅菌水で湿らせた綿棒で資材表面をふき取り、滅菌水中で懸濁した。前項と同様、懸濁した滅菌水の一部を LB 液体培地で一晚培養した液を鋳型に PCR を行い、消毒効果を確認した。  
[結果および考察]

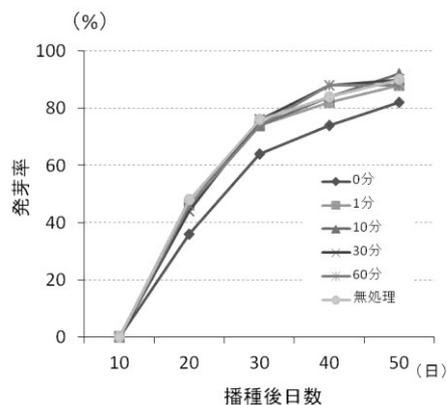
#### 1) 種子における保菌部位の調査

PCR の結果、種子表面のみでバンドが検出されたことから、葉腐細菌病菌は種子の内部には存在せず、種子の表面にのみ付着していることが明らかとなった (第 6 図)。また、殺菌処理後の種子表面からは本菌は検出されなかったことから、種子表面の殺菌が本病の予防対策として有効であることが確認できた (第 6 図)。

#### 2) 種子消毒方法の検討

##### (1) 熱処理による種子消毒効果

熱による殺菌効果において低温かつ短時間で効果の得られる処理区を検討したところ、温湯 (50℃・40 分, 55℃・20 分) および乾熱 (65℃・40 分) 処理が有効な殺菌効果を示したため (データ略) 改めてその効果を検討したところ、温湯 (50℃・40 分, 55℃・20 分) および乾熱 (65℃・40



第 8 図 穀物酢処理後の流水洗浄が発芽率に与える影響 (分) 処理では種子消毒の効果はみられたが、10～20%程度の発芽率の低下がみられた (第 3 表)。これらの結果から、熱処理については発芽率への影響から生産現場での利用は困難であると考えられた。

#### (2) 酸による種子消毒効果

##### i) 酸による菌への直接的殺菌効果

シクラメン葉腐細菌病菌への直接的な殺菌効果を調査した結果、供試したいずれの酸でも殺菌効果がみられた (第 4 表)。このうち、入手のし易さや人体への安全性の面などから、特定防除資材としても認められている食酢 (穀物酢) の利用が有効であると考えられた。

##### ii) 穀物酢による種子消毒効果

シクラメン葉腐細菌病菌に対して穀物酢による種子消毒効果が認められ、30%穀物酢を 10 分以上処理することで菌の検出率は 20%以下に抑えられた (第 7 図)。また、葉腐細菌病菌に有効な消毒効果が認められた「30%穀物酢 10 分処理」を行った種子について流水洗浄の有無による発芽率の影響を調べたところ、洗浄なしでは 1 割程度発芽率の低下がみられたが、1 分以上の流水洗浄を行うことで、穀物酢無処理の種子と同等の発芽率が確認された (第 8 図)。このことから、穀物酢を利用した種子消毒法は効果的かつ簡易な方法として生産現場で利用が可能であると考えられた。

#### 2) 資材消毒方法の検討

次亜塩素酸 Ca 剤を用いた処理において最も高い消毒効果が確認された (第 9 図)。生産現場で実施されている C 鋼のブラシ洗浄については、菌数を減らせるものの一定以上の菌が検出された。流水もしくは乾燥のみの処理では明確な消毒効果は確認されなかった。これにより、葉腐細菌の対

策として次亜塩素酸 Ca 剤を利用した資材消毒によって圃場内の菌密度を低下させることが可能であると考えられた。

総合考察

花きの生産において肥培管理と病虫害の防除は、冷暖房や施設に係る経費面の課題と並んで重要な課題であるが、本研究で検討したシクラメン葉腐細菌病については発病や感染に関する報告がいくつか見られるものの、具体的な対処法については知見が少なく、生産現場では経験と勘に頼った対応に終始しているのが現状である。また、防除に有効な薬剤が極めて少ないことから、本病においてはあくまでも予防に努めることが重要であり①予防のための種子および資材消毒、②適切な肥培管理による発病助長要因の除去、③診断法の利用による罹病株の明確化と早期対応、を併用することが本病の対策としては有効であると考えられる。

まず、本病の原因となる細菌は種子伝染することが報告されており<sup>4)</sup>、本研究においても種子表面に細菌が存在していることが明らかとなった。実際に症状が現れるのが花芽を形成する夏頃からである一方で、感染種子を圃場内に持ちこむことは、栽培管理の初期段階から発病のリスクを高める原因となるため、本病の予防にはまず感染した種子を圃場内に持ち込まない、もしくは、種子消毒により菌密度を低減させる必要がある。本研究において利用を検討した食酢の主成分である酢酸は一般細菌だけでなく、カビ類や酵母などにも抑制効果を示し、各種有機酸の中でも高い抗菌性作用を持つことで知られている<sup>5)</sup>。また、食酢は特

定防除資材としても認められていること、入手のし易さや安全性などを考慮して他の作物種子においても殺菌効果を期待して利用されている資材である<sup>6)</sup>。本研究で用いた穀物酢は食酢の一種であり、適切な濃度および処理時間での施用によって、発芽率にも影響を与えず、菌密度を低減させる効果が認められたため、栽培管理の初期段階での菌密度低減に効果があると考えられる。種子伝染と並んで感染経路として報告されている各種資材については、罹病株に触れた手やピンセットで作業を行うことにより、伝染が拡大するのはもちろんのこと、発病株を管理していた鉢に無病株と殺菌培養土を用いて管理しても感染することが確認されていることから<sup>7),8)</sup>、菌が一定数残っているだけで感染・発病のリスクが高まる。また、一年を通して管理を行うシクラメンは、年間数回の鉢替えだけでなく、品目の特徴である葉組み作業も行われるため、株に傷がつき、そこから被害をさらに拡大させるリスクが大きい。本研究成果で得られた、資材消毒を徹底し、病原菌の持ち込みを出来るだけ低くすることが発病や感染拡大のリスクを低減させる効果があると考えられる。これと併せて慣行の防除を行い、傷口や自然開口部からの細菌の侵入を防ぎ、植物体を健全な状態に保つことが被害の改善につながると考えられる。

肥培管理においてはこれまでも生産現場では多肥を避けるよう普及指導機関による指導がなされているが、実際には気温の影響や作業の遅れから多肥管理を行うケースも多くみられる。また、過去複数年にわたって同様な土壌溶液の調査を行った際にも本研究結果と同様な傾向がみられることから生産者ごとに肥培管理に対する意識が異なっていることが考えられる。しかしながら本結果で得られたように、多肥管理や肥料成分の急激な変動をはじめとする株へのストレスは発病を助長するだけでなく、花数の減少といった品質面での低下ももたらすことになる<sup>9)</sup>。そのため、病害対策としてだけでなく、生産物の高品質化という面においても適正な肥培管理は重要である。播種から出荷・販売までに1年以上を要するシクラメンの生育や品質に最も大きい影響をもたらす要因が窒素であり、植物の栄養状態を把握した適切な窒素施肥量が求められる<sup>9)</sup>が、生産現場での肥培管理の成否は経験と勘に頼っているのが現状であ



第10図 作成した防除対策マニュアル

左:表紙 右:チェック表

る。しかしながら、定期的に樹液の成分測定を行うことで、秀品率が向上した報告もあることから<sup>10)</sup>、病害対策としてだけでなく、高品質生産のメリットも加味して生産者自身でも定期的な土壌溶液および樹液の診断を行う必要がある。

実際の栽培管理では本研究で検討した消毒処理や肥培管理を行っていても、外部から侵入する病原菌を完全に防ぐことはできないため、少なからず発病のリスクを背負うことになるが、PCRを利用した診断法により、迅速に病気の有無を判断し、廃棄を含めた対応を迅速に行うことができる。また、萎凋症状が多発しているにも関わらず病原菌が検出されないケースでは、肥培管理や温度管理といったその他の要因が影響している可能性があるため、病害以外の環境的要因を見直すきっかけとしても本診断法は利用できる。

本研究で開発された種子・資材消毒や肥培管理の技術は、単独でも葉腐細菌病の発生リスクを低下させることができると推測されるが、出来る限り複数組み合わせることで本病の発生リスクを大幅に低減できると考えられる。そのため、生産現場での利用がしやすいよう、本研究の成果は防除対策マニュアルとして、全8ページに取りまとめた(第10図)。すでに県内生産者および関係機関をはじめ、県外の希望者にも配布を行っており、本マニュアルを活用し、生産者自身が行うべきことを端的にまとめたチェックリストを実践することによって、本病の被害低減に寄与することが出来ると考える。

#### 謝辞

本研究を進めるにあたり、病原菌株の提供や研究へのご指導を賜りました、静岡大学植物病理学研究室・瀧川雄一教授に厚く御礼申し上げます。

#### 引用文献

- 1) 木嶋利男. 1987. 鉢物類に関する研究. 栃木農試研報. 34 : 1-175.
- 2) 木嶋利男・峯岸長利. 1982. シクラメン葉腐細菌病の発生実態と発生生態. 栃木農試研報. 28 : 121-132.
- 3) 宮崎暁喜・松古浩樹・瀧川雄一. 2012. シクラメンに感染する3種細菌のマルチプレックスPCR法を用いた簡易同時検出. 関西病虫研報.

54 : 133-140.

- 4) 長尾英幸・金子黎次. 1991. 千葉県におけるシクラメン葉腐れ細菌病に関する調査. 千葉大園学報. 44 : 269-277.
- 5) 指原信廣. 2009. 酸性条件下で受けるストレス・損傷に対する細菌の挙動とその制御. 日食微会誌. 26 : 81-85.
- 6) 関原順子. 2009. 温湯浸漬と催芽時食酢処理を組み合わせたイネ種子伝染性病害防除-特定防除資材・食酢の効果-. 農業および園芸. 84 : 534-539.
- 7) 木嶋利男・峯岸長利. 1982. シクラメン葉腐細菌病の2次伝染および寄主範囲. 栃木農試研報. 28 : 133-140.
- 8) 木嶋利男・峯岸長利. 1983. シクラメン葉腐細菌病の第2次伝染. 日植病会報. 49 : 80.
- 9) 吉岡孝行・椿眞由巳. シクラメン2品種の‘シュールベルト’と‘ビクトリア’の窒素施用比較栽培による生育の特性と葉柄抽出液中硝酸イオンの簡易測定. 2009. 東京農総研研報. 4 : 1-9.
- 10) 古屋修. シクラメン栄養診断技術を活用した高品質生産. 2014. 技術と普及. 51 : 38-40.

#### Abstract

Recently bacterial leaf rot of cyclamen occurs in production field of Cyclamen, and it have caused a lot of shipment loss. Because there is not effective agrochemical, and there are many questions such as attack condition or infection pathway, prevention is difficult. By this research, we established a accurately diagnostic technology, along with the reveal the onset factors, we examined the effective control method. The multiplex PCR method was developed for the purpose of discriminating the three diseases that cause symptoms very similar to bacterial leaf rot of cyclamen, has enabled rapid disease diagnosis. In fertilization control, it became clear that extreme fertilization and stress growing let you promote a disease, and occurrence frequency in production field was correlative with cultivation with fertilization control. Furthermore, I could let you reduce ratio of germ carriers of seed by cereal grain vinegar treatment

effectively, and various materials were able to decrease fungus density in use of existing chloride system bactericide. On the basis of these finding, I was able to establish countermeasure technique mainly on prophylaxis by making the anti-removement measure manual which I could use in production field.

**Key words**

bacterial leaf rot of cyclamen, Seed sterilization, plant disease diagnosis method, Multiplex PCR method