

Pseudomonas viridiflavaによるハクサイ褐条細菌病

誌名	野菜試験場報告. B, 盛岡 = Bulletin of the Vegetable and Ornamental Crops Research Station. Ser. B
ISSN	0386250X
著者名	梅川,学 渡辺,康正 佐々木,次雄
発行元	農林省野菜試験場盛岡支場
巻/号	4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 61-68
発行年月	1982年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Pseudomonas viridiflava によるハクサイ褐条細菌病†

梅川 学・渡辺康正*・佐々木次雄

I 緒 言

1977年ころから野菜試験場盛岡支場の栽培試験は場の秋まきハクサイに、葉脈に褐変を生じる細菌病が発生し、試験に支障をきたすようになった。本病はハクサイの結球が始まる9月末ころから発生し始め、その後収穫期に至るまで病気の進展が続く。筆者らは1979年秋に東北各地のハクサイ産地を調査したところ、青森、秋田、岩手の各県の農家は場にも同様の病気が発生していることを確認した。

ハクサイに発生する細菌病としては、我が国ではこれまでに軟腐病、黒腐病、腐敗病及び黒斑細菌病の4種類の病気が報告されている。しかし、本病は病徴においてこれらの細菌病のいずれとも異なっていた。

そこで筆者らは各地の標本から病原細菌を分離し、その病原性及び細菌学的性質を調べたところ、本病は*Pseudomonas viridiflava* によって起こることが明らかになった。*P. viridiflava* によるハクサイの病害はこれまでに報告されていないので、ここに褐条細菌病 (Bacterial brown streak) と命名し報告することとした。

本研究の実施に際して、農業技術研究所病理昆虫部病理科細菌病第1研究室西山幸司技官には対照菌株を分譲して頂いた。また、被害標本の採集に当たっては山形県置賜病害虫防除所渡辺一吉氏、青森県畑作園芸試験場盛田昭治氏、杉山悟氏、岩手県北上農業改良普及所中野武夫氏及び野菜試験場盛岡支場栽培研究室遠藤敏夫技官に御協力を賜わった。ここに記して深謝の意を表する。

II 発生状況及び病徴

東北地方の秋まきハクサイは地域によって栽培時期が多少異なるが、盛岡市周辺では8月上旬に、は種して10月下旬に収穫するのが一般的な作型である。この様な作

型においては、本病は結球が始まる9月下旬から10月上旬にかけて発生し始め、その後収穫期に至るまで徐々に発病が増加する。

本病は主として外葉の葉脈に発生し、葉脈の褐変を生じる (Fig. 1, A)。葉脈から進展して中肋の褐変を生じることもしばしば見られるが (Fig. 1, B)、中肋のみが侵されたのもよく見られる。時には葉肉部が侵されて水浸状の斑点を生じたり (Fig. 1, C)、葉縁部に褐変を生じることがある (Fig. 1, D)。本病によって中肋が褐変した場合でも軟腐状にはならない。

これらの病徴は外葉に多く現れ、結球葉が侵されていない場合が多いが、比較的早期に感染した場合には結球葉が侵され、株全体が萎ちょうする。

III 材料及び方法

1 供試細菌

1977年から1980年にかけて、野菜試験場盛岡支場内は場及び青森、秋田、岩手各県の農家は場で採集した被害標本から分離した14菌株を供試した (Table 1)。対照細菌として *P. marginaris* pv. *marginaris* (N1-4) (大内ら, 1980)、*P. viridiflava* (76B-2) (西山ら, 1979)、及び *P. syringae* pv. *maculicola* (H7311) (西山, 1981) を用いた。

2 接種試験

供試細菌の寄生性は鉢植えした健全苗を用いて、無傷噴霧接種及び単針による針接種によって調べた。噴霧接種の場合には 10^8 - 10^9 cells/ml の濃度に調整した細菌懸濁液にツィーン20を1滴添加し、これをクロマトグラフ用噴霧器を用いて1鉢当たり約10mlずつ噴霧した。針接種の場合には細菌懸濁液の濃度を 10^9 - 10^{10} cells/ml に調整し、細菌懸濁液がよく付着するようにガーゼを巻いた針を用いて行った。接種した植物は25°Cの温室に2-3

* 現農業技術研究所病理昆虫部

† 本報告の一部は昭和55年度日本植物病理学会大会において講演した。

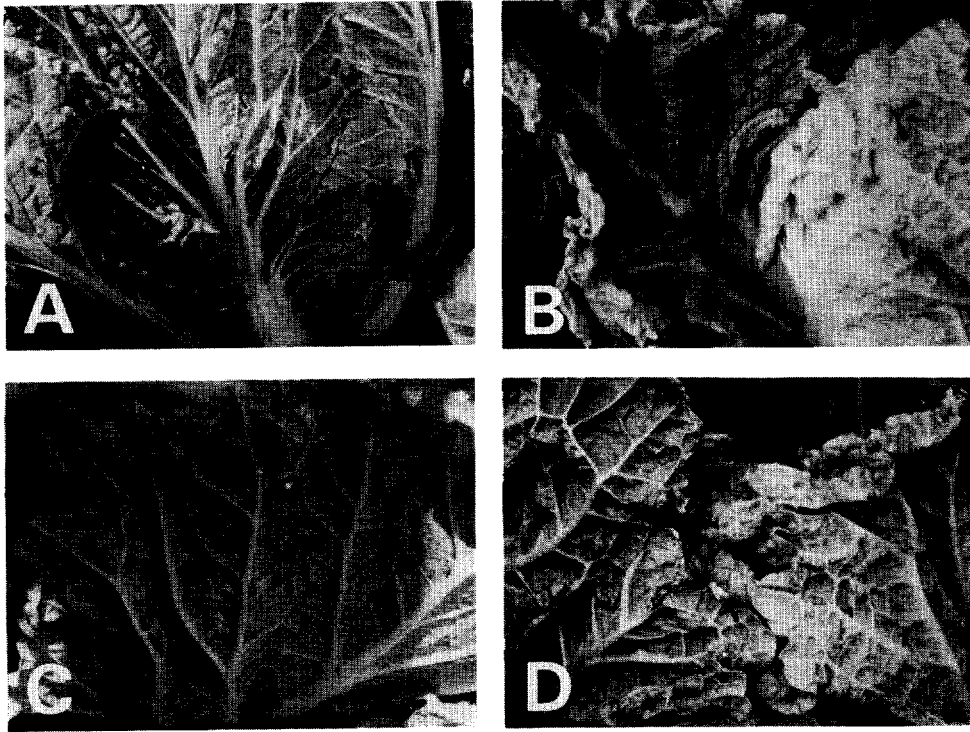


Fig. 1. Symptoms of bacterial brown streak of Chinese cabbage. A: brown streak on vein. B: brown streak on midrib. C: water-soaked spots on leaf. D: marginal brown symptom.

Table 1. Origin of isolates tested.

Isolate	Collected place	Date
YM 7715	Shimokuriyagawa, Morioka, Iwate	October 20, 1977
YM 7805	ditto	October 23, 1978
YM 7917	ditto	October 5, 1979
YM 7918	ditto	ditto
YM 7919	ditto	October 11, 1979
YM 7920	Momoishi, Kamikita-gun, Aomori	October 18, 1979
YM 7923	Nishisenboku, Senboku-gun, Akita	October 29, 1979
YM 7925	ditto	ditto
YM 7926	Shimokuriyagawa, Morioka, Iwate	October 12, 1979
YM 7928	Inase, Kitakami, Iwate	November 1, 1979
YM 8006	Shimokuriyagawa, Morioka, Iwate	October 28, 1980
YM 8007	ditto	ditto
YM 8009	ditto	ditto
YM 8010	ditto	November 6, 1980

日間保った後ガラス室に移し、約1週間後に発病の有無を調査した。

供試植物とその品種は次のとおりである。ハクサイ‘オレンジ’、‘春秋’、キャベツ‘金盃’、‘南部’、レタス‘グ

レイトレイクス366’、トマト‘大型福寿’、ナス‘黒陽’、シントウ‘翠光’、キュウリ‘四葉’、‘ときわ北星’、インゲン‘大手亡’、ニンジン‘チャンテネーインブルーボド’、ネギ‘金長’。

ハクサイに対する病原性は全供試菌株について調べたが、その他の植物に対しては、YM7715, YM7805, YM7917及びYM7923の4菌株のうちの2-3菌株を用いた。

3 細菌学的性質

供試細菌の細菌学的性質は、PPGA 斜面培地(西山ら, 1977)で培養した細菌を用いて、主として富永(1971)の方法に従って調べた。ただしリパーゼ活性の基質にはマーガリンの代わりに棉実油を用いた。

タバコ葉における過敏反応は KLEMENT ら(1964)の方法により約 10^9 cells/ml の細菌濃度で調べ、細菌の形状、大きさ及びべん毛は電子顕微鏡(日立H-300形)によって観察し測定した。

IV 実験結果

1 接種試験

供試細菌及び対照細菌の噴霧接種試験の結果を Table 2 に示した。供試細菌は無傷噴霧接種でハクサイ以外にキャベツ、インゲン、レタス、ニンジン、ネギ及びトマトに病原性を示した。針接種では上記の植物に加えて、ナス及びキュウリにも病原性を示した。

ハクサイの幼苗に噴霧接種すると、葉肉部に水浸状の斑点を生じ、のち褐変した。対照細菌 *P. viridiflava* 76B-2を接種した場合にも同様の病徴を生じた。

2 細菌学的性質

供試細菌の主要な細菌学的性質を、対照細菌のそれと

対比し Table 3 に示した。

供試細菌はグラム陰性で、好気性及び運動性であった。形態は Fig. 2 に示したとおり、数本の極毛を有する短桿状で、菌体の大きさは、 $0.6-0.9 \times 1.4-3.0 \mu$ (平均 $0.7 \times 2.0 \mu$) であった。普通寒天培地上の表生集落は円形、全縁、中高、平滑、湿光を帯び、乳白色、半透明、無臭で、 25°C で2日間培養後の大きさは直径2.0-2.5 mmで、7日後では直径3-4 mmであった。ブイヨン、ペプトン水、ウシンスキー氏液及びフェルミ氏液で発育し、フェルミ氏液で黄緑色の螢光色素を産生した。一方、コーン氏液では発育しなかった。ミルクを消化し、リトマスミルクを青変した。

ヒュー・レイフソン培地ではグルコースを酸化的に分解し、カタラーゼ、 β -グリコシダーゼ、チロシナーゼ及びウレアーゼの活性を有し、オキシダーゼ、アルギニンジヒドロラーゼ、リパーゼ及びレンチナーゼの活性を示

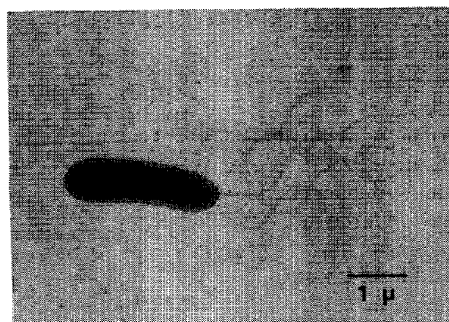


Fig. 2. Electron micrograph of bacterial brown streak pathogen.

Table 2. Pathogenicity of brown streak pathogen of Chinese cabbage and control isolates by spraying inoculation.

Plant	Brown streak pathogen of Chinese cabbage	<i>P. syringae</i> pv. <i>maculicola</i> H7311	<i>P. viridiflava</i> 76B-2	<i>P. marginaris</i> pv. <i>marginaris</i> N1-4
Chinese cabbage	+	+	+	+
Cabbage	+	+	+	+
Bean	+	-	+	-
Lettuce	+	-	+	NT ^a
Carrot	+	-	+	-
Welsh onion	+	-	+	-
Eggplant	-	-	-	-
Tomato	+	-	+	-
Cucumber	-	-	-	-

^a Not tested.

Table 3. Bacteriological characteristics of brown streak pathogen of Chinese cabbage and those of control isolates.

Character	Brown streak pathogen of Chinese cabbage (14 isolates)	<i>P. syringae</i>	<i>P. viridiflava</i>	<i>P. marginaris</i>
		pv. <i>maculicola</i> H7311	76B-2	pv. <i>marginaris</i> N1-4
Gram stain	—	—	—	—
O-F test	O	O	O	O
Fluorescence	+	+	+	+
Kovacs' oxidase	—	—	—	+
Arginine dihydrolase	—	—	—	+
Levan production	—	+	—	+
Potato soft rot	+	—	+	+
Hypersensitivity in tobacco	+	+	+	—
2-keto gluconate production	—	—	—	—
Lipase	—	—	—	+
Nitrate reduction	—	—	—	+
Starch hydrolysis	+	+	+	+
Esculin hydrolysis	+	—	+	+
Gelatin liquefaction	+	—	+	+
Voges-Proskauer test	—	—	—	—
Methyl red test	—	—	—	—
Urease	+	—	+	+
Milk digestion	+	—	+	+
Ammonia production	+	+	+	+
H ₂ S production	—	—	—	—
Indole production	—	—	—	—
Casein hydrolysis	+	—	+	+
Tyrosinase	+	—	+	—
Lecithinase	—	—	—	+
Growth in				
Ushinsky's solution	+	+	+	+
Cohn's solution	—	—	—	—
Fermi's solution	+	+	+	+
Utilization of				
Tartrate	—	—	—	—
Malonate	+	—	+	+
Citrate	+	+	+	+
Acid production from				
Arabinose	+	+	+	+
Xylose	+	—	+	+
Glucose	+	+	+	+
Fructose	+	—	+	+
Sucrose	—	+	—	+
Maltose	—	—	—	—
Lactose	—	—	—	—
Cellobiose	+	+	+	+
Glycerol	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+
Erythritol	+	—	+	+
Salicin	—	—	—	—

さなかった。黄緑色螢光色素及びアンモニアを産生し、ピオシアニン、レバン、2-ケトグルコン酸、3-ケトラクトース、硫化水素及びインドールを産生しなかった。硝酸塩を還元せず、硝酸呼吸をしなかった。デンプンを糖化し、ツィーン80及びカゼインを分解し、ジャガイモ塊茎を腐敗させた。ゼラチンを液化し、マロン酸及びクエン酸を利用したが、酒石酸を利用しなかった。タバコの過敏反応は陽性で、VP 反応及びMR 試験は陰性であ

った。

アラビノース、キシロース、グルコース、フルクトース、マンノース、ガラクトース、セロビオース、グリセリン、マンニトール、ソルビトール、イノシトール及びエリトリトールから酸を産生したが、ガスを産生しなかった。ラムノース、スクロース、マルトース、ラクトース、ラフィノース、デキストリン、デンプン、イヌリン、ガラクトチトール及びサリシンからは酸もガスも産生しな

Table 4. Comparison of bacteriological characteristics of brown streak pathogen of Chinese cabbage with those of *P. viridiflava* previously reported.

Character	<i>P. viridiflava</i>					
	Brown streak pathogen of Chinese cabbage	Burkholder (1930)	Clara (1934)	Misaghi et al. (1969)	Billing (1970)	Ohuchi et al. (1980)
Fluorescence	+	+	+	+	+	+
Oxidase	-			-	-	-
Arginine dihydrolase	-			-	-	-
Levan production	-			- ^a	-	-
Potato soft rot	+			+	+	+
Tobacco hypersensitivity	+			+		+
2-keto gluconate	-			-	-	-
Lipase	-			-	-	-
Nitrate reduction	-	-	-	-	-	-
Esculin hydrolysis	+				+	+
Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	+
Milk digestion	+	+	-			+
H ₂ S production	-	+ ^b	-			-
Indole production	-	-	-			-
Ushinsky's solution	+	+	+			+
Cohn's solution	-	-				-
Fermi's solution	+	+				+
Tartrate utilization	-		-	-	-	-
Malonate utilization	+			+		+
Citrate utilization	+		+	+	+	
Acid production from						
Arabinose	+		+	+	+	
Xylose	+		+	+	+	+
Glucose	+	+	+		+	+
Sucrose	-	-	± ^c	-	-	-
Maltose	-	-	-			-
Lactose	-	-	-			-
Glycerol	+		+	+	+	+
Mannitol	+		+	+	+	+
Salicin	-		+			-

^a One isolate out of four was positive.

^b Production was slight.

^c Negative and positive results were obtained.

かった。

最適発育温度は28-30°C, 最高発育温度は35°C, 死滅温度は48-49°Cであった。5%NaCl加用ペプトン水ではわずかに発育したが, 6%NaCl加用ペプトン水では発育しなかった。

V 考 察

供試細菌はグラム陰性, 好気性で極毛を有する桿菌で, グルコースを酸化的に分解し, 黄緑色蛍光色素を産生する植物病原細菌であるので *Pseudomonas* 属細菌と考えられる。

ハクサイに自然発生している *Pseudomonas* 属細菌としては, 我が国ではこれまでに黒斑細菌病菌 *P. syringae* pv. *maculicola* (岡部ら, 1956) 及び腐敗病菌 *P. marginaris* pv. *marginaris* (岡部ら, 1955) が報告されている。

LELLIOTT ら(1966)は蛍光色素を産生する *Pseudomonads* の類別法について報告しているが, この類別法に従えば本菌はグループⅡに属する。一方, *P. syringae* pv. *maculicola* 及び *P. marginaris* pv. *marginaris* はLELLIOTTらの類別法では, それぞれグループⅠa及びグループⅡaに属する。Table 3でも明らかのように, 供試細菌の細菌学的性質は *P. syringae* pv. *maculicola* 及び *P. marginaris* pv. *marginaris* とは種々の項目で異なり, グループⅡに属する *P. viridiflava* とよく一致した。同様の結果はSANDS ら(1980)の方法及び西山(1978)の簡易同定法からも導かれた。

そこで, 供試細菌の細菌学的性質を *P. viridiflava* の既往の記載と比較すると Table 4のとおりとなり, 硫化水素の産生で BURKHOLDER (1930)の結果と, またミルクの消化及びサリシンからの酸の産生で CLARA(1934)の結果と異なっているが, それ以外には供試細菌の細菌学的性質は既知の *P. viridiflava* のそれとよく一致している。

接種試験においても, 供試細菌は噴霧接種でハクサイ以外にキャベツ, インゲン, レタス, ニンジン, ネギ及びトマトなどに対して病原性を示し, 対照細菌として用いた *P. viridiflava* 76B-2の結果と一致した。

以上述べたように, 供試細菌は細菌学的性質及び寄生性において *P. viridiflava* の性質と一致したので, これを *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939と同定した。

P. viridiflava によるハクサイの病気はこれまでに

未報告であるので, 病名をハクサイ褐条細菌病 (Bacterial brown streak) とすることを提案する。

P. viridiflava は BURKHOLDER (1930) によって, インゲンに病気を起こす細菌として初めて報告され, その後 CLARA (1934) によって数種のマメ科植物に病原性を示すことが明らかにされた。その後 BILLING (1970) や WILKIE ら(1973)は, *P. viridiflava* はマメ科植物以外にも広範囲の植物に寄生していることを明らかにし, 本菌は各種の植物体上に病原性を示さないで一般的な随伴菌として生息している細菌であり, 適当な条件が与えられたときに病徴を作るのではないかと推察している。

我が国においても最近になって, レタス(土屋ら, 1979), トマト(西山ら, 1979), キュウリ(大内ら, 1980), インゲン(土屋ら, 1980a), キャベツ(陶山ら, 1982)などで *P. viridiflava* による病気が発見された。

また, 土屋ら(1980b, 1982)は接種試験によって, *P. viridiflava* が多くの作物や雑草に対して病原性を示すことを明らかにしている。

以上述べたような点から, *P. viridiflava* は自然界では雑草を含む各種植物体上に生息していて, ハクサイなどの各種作物への第一伝染源となり, これらの作物が環境条件の変化によって抵抗力が低下したときに発病するのではないかと推察される。

VI 摘 要

1977年ころから場内の栽培試験用ほ場の秋まきハクサイに, 葉脈に褐変を生じる細菌病が発生した。その後, 青森, 秋田及び岩手の各県の農家は場にも同様の病気が確認された。そこで本病の病原を明らかにする目的で試験を行った。

1. 本病はハクサイの結球が始まる9月下旬から10月上旬にかけて発生し始め, 葉脈及び中肋の褐変, 葉肉部の水浸状の斑点, 葉縁の褐変などの病徴を示した。

2. り病ハクサイから分離した病原細菌は, 無傷噴霧採種によってハクサイ以外に, キャベツ, インゲン, レタス, ニンジン, ネギ及びトマトなどに病原性を示した。これらの植物における病徴は, 対照細菌として供試した *P. viridiflava* を接種した場合の病徴と同様であった。

3. 供試14菌株の細菌学的性質は斉一で, 対照細菌として供試した *P. viridiflava* 及び既報の *P. viridiflava* の性質とよく一致した。

4. 以上の結果から, 本病の病原細菌を *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939と同

定した。同菌によるハクサイの病気はこれまで未報告であるので、病名を褐条細菌病(Bacterial brown streak)とすることを提案した。

引用文献

- 1) BILLING, E. (1970): *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder, 1930; Clara 1934). *J. appl. Bact.* 33, 492-500.
- 2) BURKHOLDER, W. H. (1930): The bacterial diseases of the bean. A comparative study. *Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Memoir* 127, 1-88.
- 3) CLARA, F. M. (1934): A comparative study of the green-fluorescent bacterial plant pathogens. *Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Memoir* 159, 1-36.
- 4) KLEMENT, Z., G. L. FARKAS & L. LOVREKOVICH (1964): Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathol.* 54, 474-477.
- 5) LELLIOTT, R. A., E. BILLING & A. C. HAYWARD (1966): A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic *Pseudomonads*. *J. appl. Bact.* 29, 470-489.
- 6) MISAGHI, I. & R. G. GROGAN (1969): Nutritional and biochemical comparisons of plant-pathogenic and saprophytic fluorescent *Pseudomonads*. *Phytopathol.* 59, 1436-1450.
- 7) 西山幸司(1978): 植物病原細菌同定法の試案. 植物防疫. 32, 283-288.
- 8) ———(1981): ライグラス類かさ枯病細菌における病原性関連物質に関する研究. 農技研報. C35, 1-55.
- 9) ———・江塚昭典(1977): ラフ型集落を生じるライグラス類かさ枯病細菌の分離例. 日植病報. 43, 426-431.
- 10) ———・山本 勉・梅川 学・江塚昭典(1979): *Pseudomonas viridiflava* によるトマト黒斑細菌病. 日植病報. 45, 221-227.
- 11) 岡部徳夫・後藤正夫(1955): 日本に於ける植物細菌病 Ⅲ. *Pseudomonas* 属細菌による腐敗病について. 静岡大農研報. 5, 87-95.
- 12) ———・—————(1956): 日本に於ける植物細菌病 Ⅳ. 菜類の黒斑性細菌病について. 静岡大農研報. 6, 5-8.
- 13) 大内 昭・江塚昭典(1980): キュウリ縁枯細菌病をおこす *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939. 農技研報. C34, 15-27.
- 14) SANDS, D. C., M. N. SCHROTH & D. C. HILDEBRAND (1980): Genus *Pseudomonas*. In *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, ed. by Schaad, N. W. p.36-44. The American Phytopathological Society. 72pp.
- 15) 陶山一雄・大林延夫・竹内妙子・藤井 溥(1982): 早春キャベツに発生した腐敗病について. 日植病報. 48, 76 (講演要旨).
- 16) 富永時任(1971): 日本における牧草および飼料作物の病害に関する研究 Ⅱ. 日本における牧草および飼料作物細菌病の病原学的研究. 農技研報. C25, 205-315.
- 17) 土屋行夫・大畑賢一(1980a): インゲンに褐斑をおこす細菌病. 日植病報. 46, 401-402 (講演要旨).
- 18) ———・—————・畔上耕児(1982): レタス腐敗病病原細菌 *Pseudomonas cichorii*, *Ps. marginaris* pv. *marginaris*, *Ps. viridiflava* の各種雑草に対する病原性. 農技研報. C36, 41-59.
- 19) ———・—————・家村浩海・実松孝明・白田 昭・藤井 溥(1979): レタスの腐敗をおこす病原細菌の同定. 農技研報. C33, 77-99.
- 20) ———・—————・白田 昭(1980b): レタス腐敗病病原細菌 *Pseudomonas cichorii*, *P. marginaris*, *P. viridiflava* の各種作物に対する病原性. 農技研報. C34, 51-73.
- 21) WILKIE, J. P., D. W. DYE & D. R. W. WATSON (1973): Further host of *Pseudomonas viridiflava*. *N. Z. J. Agric. Res.* 16, 315-323.

Bacterial Brown Streak of Chinese Cabbage Caused by *Pseudomonas viridiflava*

Manabu UMEKAWA, Yasumasa WATANABE
and Tsugio SASAKI

Summary

A new bacterial disease of Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* Rupr.) was found in the field of the Morioka branch in the autumn of 1977. A similar disease was also found in some farmer's fields of the Tohoku district. The disease usually occurred on the outer leaves. Necrotic lesions appeared on the veins and after-

wards on the midribs. Sometimes water-soaked spots appeared on the leaves. From these symptoms, "bacterial brown streak of Chinese cabbage" was proposed as the disease name.

Fourteen isolates obtained from the diseased plants were uniform in their bacteriological characteristics when tested. Causal bacterium attacked Chinese cabbage, cabbage, bean, lettuce, carrot, welsh onion and tomato as a result of artificial spraying inoculation. The cultural and biochemical characteristics of the causal bacterium were identical to those of the control isolate, *P. viridiflava* used in our tests, and agreed with the descriptions of *P. viridiflava* which have been already reported by other workers. From the above results, the causal bacterium was identified as *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939.