

## レタス腐敗病菌Pseudomonas cichoriiの伝染源

誌名	農業技術研究所報告. C, 病理・昆虫 = Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences. Ser. C, Plant pathology and entomology
ISSN	00774847
著者	大畑, 貫一 芹沢, 拙夫 白田, 昭
巻/号	36号
掲載ページ	p. 75-80
発行年月	1982年2月

## レタス腐敗病菌 *Pseudomonas cichorii* の伝染源

大畑貫一・芹沢拙夫\*・白田 昭

(1981年10月15日受理)

レタス腐敗病の主要病原細菌の一つである *Pseudomonas cichorii* の伝染源について検討した。本細菌の生存期間は室温に保存された人工接種種子では50日以内、ビニールハウスに置かれた乾燥レタス罹病葉では4か月であった。乾燥罹病葉を土壌に埋めた場合、6か月間の生存が確認された。一方、腐敗病発生圃場に自生しているノボロギク、ナズナに本細菌による自然発病がみられた。また、同圃場のレタス、ノボロギク、ナズナ、ヨモギの根面およびレタス、ノボロギク、ナズナの根圏土壌から本細菌を分離することができた。これらの結果から、土壌中に埋没されたレタスの被害残渣およびレタス畑に自生しているノボロギク、ヨモギ、ナズナなどの雑草が次期作レタスへの伝染源となることが示唆された。

### 結 言

*Pseudomonas cichorii* (Swingle 1925) Stapp 1928 はレタス腐敗病の主要病原細菌の一種で(土屋ら 1979)、本細菌による腐敗病はおもに北日本および高冷地の春、夏作型および関東以西の秋作型に発生し(大畑ら 1979)、降雨が続くと激しく発生して、しばしば大きな被害を与える。

細菌のレタスへの伝染経路について、Krüster (1965) は種子伝染、Grogan ら (1977) は土壌伝染を示唆したが、伝染経路の全貌については不明な点が多い。著者らは本細菌の伝染経路の解明に取組み、各種作物および雑草の伝染源としての役割について検討し報告した(土屋ら 1980, 1982)。引き続き、レタス種子、被害葉、レタスおよび雑草の根表面ならびに根圏土壌での本細菌の生存について調べ、結果の一部は予報した(大畑 1981)。ここでは、その後実施した試験結果をもまとめて報告する。

本研究は、別枠研究「地力維持、連作障害克服を基幹とする畑地新管理方式の開発に関する総合研究」の一環として実施したものである。研究遂行に当っては、東北農業試験場栽培第一部長(前当研究所病理科長)山口富夫博士からは終始御指導、御鞭撻を賜った。長野県農業総合試験場中信地方試験場長関口昭良博士からは標本採集に当り多大な便宜を受けた。また、熱帯農業研究センター(元農業技術研究所病理科)植松勉博士からは実験

遂行に当り多大の援助を受けた。以上の各位に心からお礼申し上げる。

### 病原細菌のレタス種子中での生存

#### 1. 市販種子からの病原細菌の分離

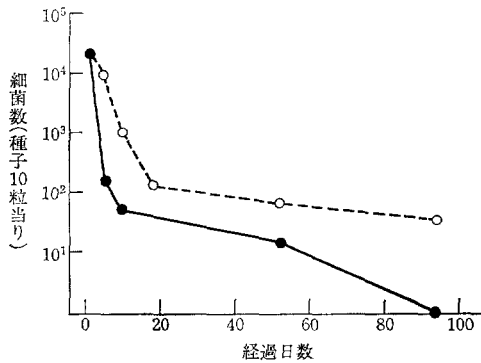
市販品種 グレート レークス OX, グレート レークス 54, グレート レークス 366, フロリダ, ハミルトン, キングクラウン, カルマー MR, ネルソン, ペンレック, タインクラウン, バンガード, ベビーヘッド, クライマックス, 日本, シンプソン, サマーグリーンおよびウインターグリーンの種子 100~200 粒を滅菌生理的食塩水少量とともに滅菌乳鉢で十分磨砕し、滅菌生理的食塩水で 10 倍液階希釈したのち半合成ジャガイモ寒天(脇本, 1955)を用いて常法により分離した。また、磨砕原液の一部をレタス(グレート レークス 54)の切葉の中肋に刺針接種し、温室にしたプラスチック箱に 26°C で 3 日間インキュベートして発病を調べた。

種子から分離の結果、*Ps. cichorii* は全く検出されなかった。種子磨砕液のレタス切葉への刺針接種では、1 品種の磨砕汁液で病原性が確認されたが、病徴および血清反応から *Ps. cichorii* とは明らかに異なった。

#### 2. 人工接種種子での病原細菌の生存

*Ps. cichorii* NL7630 のストレプトマイシン 1000 ppm 耐性菌株を半合成ジャガイモ寒天で 2 日間培養したのち滅菌水で希釈して  $2.2 \times 10^9$  個/ml の懸濁液とした。レタス品種ネルソンの種子をこの懸濁液に 2 時間浸漬したのちろ紙で水を吸い取り、風乾した。この種子を 5°C

\* 静岡県柑橘試験場



第1図 人工接種レタス種子の保存温度期間と *Pseudomonas cichorii* の生存

○……○ 5°C 保存 ●——● 20°C 保存

および 23°C に保ち経時的に病原細菌の分離を試みた。すなわち、種子 10~50 粒を滅菌水 3 ml とともに滅菌乳鉢中で磨砕し、10 倍段階希釈液とし、ストレプトマイシン 500 ppm 加用半合成ジャガイモ寒天を用い常法により希釈分離した。28°C に 2 日間インキュベートしたのち集落数をかぞえ、種子 10 粒当り生菌数を求めた。

分離結果は第1図に示した。*Ps. cichorii* は 23°C では接種後 11 日目には約 1000 分の 1、50 日目には 10000 分の 1 に減少し、93 日目には生存菌は全く検出されなかった。5°C 保存では接種後 20 日目には 100 分の 1 に減少し、以後漸減したが 93 日目でも種子 10 粒あたり 10<sup>2</sup> 程度の生存菌が検出された。

### レタス罹病葉での病原細菌の生存

*Ps. cichorii* NL7630 菌株の懸濁液 (10<sup>8</sup> 個/ml) をガラス室で栽培した結球開始期のレタス (グレートレックス 54) に噴霧接種し (1978 年 12 月 14 日)、26°C の温室に 2 日間インキュベートした。その後ガラス室に置いたところ激発したので、5 日後に罹病葉を採取、室内で風乾した。罹病葉は紙袋に入れて 1979 年 1 月 8 日、

窓を開放したビニールハウス内に吊して置き、経時的に病斑部を切り取り、滅菌水で 3 回洗滌したのち、半合成ジャガイモ寒天を用いて、常法により希釈分離した。

分離結果は第1表に示した。すなわち、4 月 5 日 (接種後約 4 か月) までは、病原細菌が分離されたが、生存菌数は 2 月 13 日以降急減し、5 月 1 日には全く分離されなかった。分離された細菌のうち代表的な菌株をレタス (グレートレックス 54) の切葉に刺針接種したところ *Ps. cichorii* と同じ病徴を示した。

### 土壌中での病原細菌の生存

#### 1. 土壌灌注された病原細菌

供試菌は *Ps. cichorii* NL 7630 のストレプトマイシン耐性菌株で、半合成ジャガイモ寒天で 2 日間培養後滅菌水で 10<sup>8</sup> 個/ml の懸濁液とし、その 100 ml を 1.5 kg の土壌と混合し、滅菌素焼鉢につめ、窓を開放したビニールハウス内に置き (1977 年 7 月 27 日)、ときどき灌水した。供試土壌は西ヶ原表土と荒木田土壌を 1:1 に混合し、高圧滅菌したものと非滅菌のものを用いた。対照としては、病原細菌を混合しない高圧滅菌土壌と非滅菌土壌を用いた。各区 3 反復とした。

病原細菌の生存はつぎのような方法で確かめられた。各鉢から土壌 10 g をとり、滅菌水 30 ml を加えて 1 時間振とうしたのち 1500 rpm で 5 分間遠沈し、その上清をとり 12000 rpm で 15 分遠沈した。その上清を捨て、沈澱に滅菌水 1 ml を加えてよく混ぜ、これを接種源とした。結球初期のレタス (グレートレックス 54) 外葉を切り取り、その中肋に上記接種源を針束 (5 針) で刺針接種し、プラスチックケースに入れて温室とし、26°C に 3 日間保ったのち発病を調べた。1 区 3 葉を用いた。調査は 8 月 2 日、20 日、9 月 24 日、11 月 5 日に行なった。

8 月 20 日、すなわち病原細菌灌注約 1 か月後では、滅菌土壌に灌注した場合にも、非滅菌土壌に灌注した場合にも、土壌振出液はレタス中肋に典型的な褐色の光沢

第1表 腐敗病罹病レタス乾燥葉からの *Pseudomonas cichorii* の経時的分離<sup>1)</sup>

項 目	1 月 24 日	2 月 13 日	3 月 15 日	4 月 5 日	5 月 1 日	6 月 15 日
供 試 切 片 数	10	10	8	8	8	10
P. c. <sup>2)</sup> 検出切片数	8	4	8	6	0	0
P. c. <sup>2)</sup> 集 落 数	卅	卅	+	+	-	-

1) 1978 年 12 月 14 日 *Ps. cichorii* を接種、同 19 日罹病葉を採取、風乾して紙袋に入れビニールハウス内に吊しておき、経時的に分離。

2) P. c. : *Pseudomonas cichorii*.

のある大型病斑を形成したが、9月24日以降全く病斑を形成しなかった。なお、対照区の土壌振出液は、いつの時期にも全く病斑を形成しなかった。以上から、土壌に灌注された病原細菌は夏期には急速に減少し、1か月目には生存が認められるものの、2か月以降は完全に死滅するか、生存していても密度はきわめて低いものと考えられる。

2. 土壌中に埋没した罹病葉の病原細菌

前記の *Ps. cichorii* NL 7630 を接種した (1978 年 12 月 14 日) レタスの風乾罹病葉 1.5 g と滅菌土壌 (西ヶ原表土) を一緒にナイロン布に包み、滅菌土壌をつめた径 20 cm の素焼鉢に 8 個あて埋めた (1978 年 12 月 27 日)。対照としては風乾レタス健全葉を同様に包んで別の素焼鉢に埋めた。各区 4 鉢を準備し、2 鉢は窓を開放したビニールハウス内に置き、他の 2 鉢は戸外の畑に埋めた。ハウス内に置いた鉢には半月 1 回ぐらいに灌水した。

処理後経時的にナイロンに包みを取り出し、その内容物 (罹病葉と土壌) に滅菌水 20 ml を加え、乳鉢中で十分磨砕した。磨砕液は滅菌水で 10 倍段階希釈し、病原細菌の分離に供した。埋没後約 1 か月目 (1979 年 1 月 25 日) には半合成ジャガイモ寒天を用い常法により希釈分離した。埋没後約 2 か月目 (2 月 27 日) 以降は、植松ら (1979) 開発の *Ps. cichorii* 選択培地 (PCSM) を用いて分離した。すなわち、予め選択培地を流込んで平板とし、それに上記希釈液 0.1 ml をコンラージ棒を用いてターテーブル上で全面に塗布した。培地上に出現した集落のうち代表的なものについては、血清反応およびレタス切葉中肋への刺針接種による病原性によって *Ps. cichorii* かどうか確かめた。

分離結果は第 2 表に示した。分離培地が試験途中で変わったため、生存菌数の経時変化を追跡することができなかったが、ビニールハウス内に置いた場合も、戸外に置いた場合にも、埋没後ほぼ 6 か月に当たる 1979 年 5

月 10 日まで *Ps. cichorii* を検出することができた。6 月 26 日以降は全く検出されなかった。対照区でも 3 月 30 日、5 月 10 日には選択培地上に *Ps. cichorii* 類似の集落が少数形成されたが、血清反応およびレタス切葉への病原性から *Ps. cichorii* とは異なった。ちなみに罹病葉埋没区から得られた集落の大部分は *Ps. cichorii* の抗血清と強い凝集反応を示し、レタス切葉にも典型的な病斑を形成した。

腐敗病発生レタス畑土壌からの病原細菌の分離

1979 年 10 月 5 日長野県御代田町の *Ps. cichorii* に起因する腐敗病激発圃場 (高原の夏作型で収穫は終わっていたが切株は 100% 発病していた) を調査したところ、そこに自生しているナズナ、ノボロギク、ヨモギにも葉身に腐敗症状がみられた。そこで、レタスおよびこれらの雑草とその根圏土壌を採取して病原細菌の分離を試みた。

レタスおよび雑草の葉からの病原細菌の分離は半合成ジャガイモ寒天を用い、希釈分離法によった。根面からの病原細菌の分離では、根を水道水で簡単に洗って土壌を落したのち 1 cm ぐらいに切り、滅菌蒸留水 20 ml のはいつた 100 ml 容三角フラスコに入れ、1.5 時間振とうしたのち、10 倍希釈し、予め平板とした選択培地 (PCSM) の表面にコンラージ棒で塗布した。根圏土壌からの分離は次のように実施した。すなわち、根圏土壌 5 g に滅菌蒸留水 20 ml を加え 15 時間振とうし、その振出液を 10 倍段階希釈したのち、前記に準じて PCSM 板に塗布した。病原細菌の確認は集落の形状、血清反応およびレタス切葉に対する病原性によった。

分離結果は第 3 表に示した。レタスはもとより、レタス畑に自生していたナズナおよびノボロギクの腐敗症状葉から *Ps. cichorii* を分離することができ、これら雑草の自然発病を確認した。しかし、ヨモギの腐敗症状葉か

第 2 表 土壌中に埋没された腐敗病罹病レタス乾燥葉からの *Pseudomonas cichorii* の経時的分離

保 存 所	土 壌 埋 没 葉	1月25日	2月27日	3月30日	5月10日	6月26日	9月8日
戸 外	罹 病 葉	+	+	+	+	-	-
	健 全 葉	-	-	-	-	-	-
ビニール ハ ウ ス	罹 病 葉	+	+	+	+	-	-
	健 全 葉	-	-	-	-	-	-

*Ps. cichorii* を 1978 年 12 月 14 日接種、同 19 日罹病葉をとり風乾後 12 月 27 日ナイロン布に包んで土壌中に埋め経時的に病原細菌を分離。

第 3 表 腐敗病発生圃場<sup>1)</sup>のレタス、雑草およびそれらの根圏土壌からの *Pseudomonas cichorii* の分離

植 物	葉 身	根表面	根圏土壌
レ タ ス	+	+	+
ノ ボ ロ ギ ク	+	+	+
ヨ モ ギ	-	+	-
ナ ズ ナ	+	+	+

1) 長野県御代田町 1979 年 10 月 5 日採取。

らは *Ps. cichorii* を分離することができなかった。

一方、レタス、ナズナ、ノボロギクおよびヨモギの根面からは *Ps. cichorii* を分離することができた。また、レタス、ナズナおよびノボロギクの根圏土壌からは *Ps. cichorii* を分離することができた。

## 考 察

*Ps. cichorii* のレタスへの伝染経路について、Krüster (1965) は種子伝染を報告している。最近 Grogan ら (1977) は、本病の発病歴のあるレタス連作圃場のレタスおよび雑草の根面および雑草の根圏土壌から低率ながら *Ps. cichorii* を分離し、本菌の土壌伝染を示唆した。土屋ら (1980, 1982) は本細菌が接種により広範な作物および雑草に病原性を示すことから、これらがレタスへの伝染源となる可能性があることを指摘した。しかし、本細菌の土壌中の生存期間、本細菌による雑草の自然発病等不明な点も多い。

著者らは、まず本細菌の種子伝染について検討した。供試した市販の 17 品種の種子からは全く病原細菌を分離することはできなかった。また、人工接種を 5°C 下で保存した場合には約 3 か月間は本細菌の生存を確かめられたが、室温保存では約 3 か月後には全く検出することができなかった。供試市販種子は採種後 1 年以上経過していたものもあり、また、採種圃で本細菌に汚染されていたか否かも不明であるので、断言はできないが、室温では人工接種種子の本細菌は急速に減少し、3 か月後には全く検出されなかったことから、種子伝染はあったとしても、それほど重要な役割を演じているとは考えにくい。

罹病葉での本細菌の生存期間は第 1 表に示したように低温乾燥期には約 4 か月とみられる。しかし、春から夏にかけて罹病葉中の本細菌は急速に減少したが、これには高温と多湿が関係していると思われる。以上の結果から地上に残された乾燥罹病葉が翌年の伝染源となるとは考えにくい。しかし、レタス栽培が集約化され、1年に

数回作付が行われている地帯では、前作の罹病葉が次作の伝染源になる可能性はある。

本細菌は罹病葉が土壌中に埋められた場合冬から春にかけて 6 か月間は生存できた(第 2 表)。一方、北日本や高原地帯の栽培では、レタスの刈株は 10 月下旬から 11 月上旬までは畑に残され、その後鋤き込まれるが、翌年 2~4 月には播種、5 月上旬からは定植が始まる。したがって、前年夏作型レタスの罹病葉が土壌中に鋤き込まれた場合、翌年の春作型→夏作型レタスへの伝染源となる可能性は十分考えられる。

Grogan ら (1977) は、本細菌が草種は不明であるが数種の雑草の根面および根圏土壌中で生存していることを確かめている。著者らの試験でもレタス畑に自生しているノボロギク、ナズナに自然発病があり、それらの根面および根圏土壌、ヨモギの根面で本細菌が生存していることを確かめた。これらの根面あるいは根圏土壌中の病原細菌の生存期間は不明であるが、タバコ黄がさ細菌 (Valleau ら 1944)、イネ白葉枯病菌 (水上 1961)、カンキツ濃濁病菌 (後藤ら、1975) などが、宿主あるいは非宿主植物の根面あるいは根圏土壌中では長期間生存することが確かめられており、*Ps. cichorii* でもこれら雑草の根面および根圏土壌中での長期間生存の可能性が推察される。前述のように、本細菌は多く種類の作物および雑草に病原性を示すことが明らかにされており、土壌中に鋤き込まれたこれらの罹病葉、あるいはこれら植物の根面および根圏土壌中の病原細菌もレタスへの伝染源となり得ることが考えられる。

## 摘 要

レタス腐敗病の主要病原細菌の一つである *Pseudomonas cichorii* (Swingle 1925) Stapp 1928 の伝染源について検討した。

市販のレタス種子からは *Ps. cichorii* を分離することはできなかった。*Ps. cichorii* を人工接種したレタス種子を 23°C および 5°C に保存した場合、接種後それぞれ 50 日および 93 日までは接種種子から *Ps. cichorii* を分離することができた。

冬期間ビニールハウス内に置かれたレタスの乾燥罹病葉から接種後 4 か月目までは *Ps. cichorii* を分離できたが、それ以降は分離できなかった。

夏期 *Ps. cichorii* の懸濁液を灌注した土壌の振出液は、灌注後 1 か月目まではレタス切葉に病原性を示したが、その後は病原性を示さなかった。

土壌中に埋没されたレタスの乾燥罹病葉から、埋没後

約6か月目まで選択培地によって *Ps. cichorii* を分離することができたが、その後は全く分離できなかった。

*Ps. cichorii* による腐敗病の発生しているレタス圃場に自生しているノボロギクおよびナズナの病葉から *Ps. cichorii* を分離することができた。また、この圃場のレタス、ノボロギク、ヨモギ、ナズナの根面およびレタス、ノボロギク、ナズナの根圏土壌から *Ps. cichorii* を分離することができた。

以上の結果から、土壌中に埋められたレタスの被害残渣およびレタス畑に自生するノボロギク、ヨモギ、ナズナなどの雑草が次期作レタスへの *Ps. cichorii* の重要な伝染源となることが示唆された。

#### 引用文献

- 後藤正夫、太田光輝、岡部徳夫(1975)：カンキツかいよう病菌 *Xanthomonas citri* (Hase) Dowson の腐生的生存に関する研究(第Ⅲ報) 雑草、ワラおよび土壌中における腐生的生存期間および生存密度について、日植病報 **41**：141—147。
- Grogan, R. G., Misaghi, I. J., Kimble, K. A. Greathead, A. S., Pirie, D. and Bardin, R. (1977) : Varnish spot, destructive disease of lettuce in California caused by *Pseudomonas cichorii*. *Phytopathology* **67** : 957—960.
- Krūstev, K. (1965) : Bacteuno griene po Marulyata (Bacterial rot on lettuce). *Nauchni Trud. vissh. selskostop. Inst. Vasil Kolariv* **14** (2) : 215—224.
- 水上武幸(1961)：稲白葉枯病菌に関する生態学的研究 佐賀大農集報 **13** : 1—85。
- 大畑貫一、土屋行夫、白田 昭(1979)：レタスに腐敗を起こす病原細菌の種類と作型との関係。日植病報 **45** : 333—338。
- 大畑貫一(1981)：*Pseudomonas cichorii* の土壌中での生存。日植病報 **47** : 398。
- 土屋行夫、大畑貫一、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。農技研報告 **C33** : 77—99。
- 土屋行夫、大畑貫一、白田 昭(1980)：レタス腐敗病原細菌 *Pseudomonas cichorii*, *P. marginalis*, *P. viridiflava* の各種作物に対する病原性。農技研報告 **C34** : 51—73。
- 土屋行夫、大畑貫一、畔上耕児(1982)：レタス腐敗病原細菌 *Pseudomonas cichorii*, *Ps. marginalis* pv. *marginalis* *Ps. viridiflava* の各種雑草に対する病原性。同上 **C36** : 41—59。
- 植松 勉, Takatsu, A. 大畑貫一(1979)：*Pseudomonas cichorii* の分離用培地について、日植病報 **45** : 562。
- Valleau, W. D., Johnson, E. M. and Diachun, D. (1944) : Root infection of crop plants and weeds by tobacco leaf-spot bacteria. *Phytopathology* **34** : 163—174。
- 脇本 哲(1955)：OP<sub>1</sub> phage (*Xanthomonas oryzae* bacteriophage) の増殖に関する研究 I. 種々な条件下の一段増殖実験。九大農芸芸雑 **15** : 151—160。

## Infection Source of the Bacterial Rot of Lettuce Caused by *Pseudomonas cichorii*

Kan-ichi OHATA, Setsuo SERIZAWA and Akira SHIRATA

### Summary

Present study was conducted to make clear the infection source of the bacterial rot of lettuce caused by *Pseudomonas cichorii* (Swingle 1925) Stapp 1928.

From the lettuce seeds artificially inoculated with *Ps. cichorii* by soaking seeds in the bacterial suspension and preserved at 23°C and 5°C, the pathogenic bacterium could be isolated until 50 and 93 days after inoculation, respectively.

The pathogenic bacterium could be isolated from the diseased lettuce leaves dried and kept in a vinyl house in winter until 4 months after inoculation, but not later than that.

From the soil drenched with the bacterial suspension in summer, the pathogenic bacterium could be isolated until one month after drenching, but not later than that.

The pathogenic bacterium could be isolated from the diseased leaf tissues buried in soil by using newly developed selective medium for isolation of *Ps. cichorii* until 6 months after burying, but since that it couldn't be isolated.

*Ps. cichorii* was isolated from the rotted leaves of common groundsel, shepherd's purse grown in the lettuce field where lettuce was seriously suffered from bacterial rot caused by *Ps. cichorii*. The pathogenic bacterium was also isolated from the root surfaces of lettuce, common groundsel, worm-wood and shepherd's purse and rhizosphere soils of lettuce, common groundsel and shepherd's purse.

From these facts, it was suggested that diseased lettuce residues in soil and the weeds such as common groundsel, worm-wood and shepherd's purse grown in lettuce fields probably become the infection source of the following lettuce culture.