

Xanthomonas campestris pv. campestrisによるブロッコリー黒腐病(新称)

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	酒井,宏 池田,健太郎 漆原,寿彦 白石,俊昌
発行元	日本植物病理學會
巻/号	72巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 116-119
発行年月	2006年5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



Xanthomonas campestris pv. *campestris* によるブロッコリー黒腐病 (新称)

酒井 宏¹・池田健太郎^{2*}・漆原 寿彦³・白石 俊昌¹

ABSTRACT

SAKAI, H.¹, IKEDA, K.^{2*}, URUSHIBARA, T.³ and SHIRAISHI, T.¹ (2006). Black rot of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Jpn. J. Phytopathol. 72: 116-119.

A new bacterial disease was observed on leaves of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plen.) in a field in Gunma Prefecture, Japan in 2001. The causal agent was identified as *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel 1895) Dowson 1939. Healthy seedlings were inoculated with the isolated bacterium, symptoms of the disease were reproduced, and the bacterium was reisolated from the margin of lesions on the leaves. We propose the name black rot of broccoli for the disease.

(Received July 29, 2005; Accepted January 6, 2006)

Key words: broccoli, black rot, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

2001年9月から11月にかけて、群馬県内で播種2週間後の育苗中の苗や、定植後2週間から2ヶ月の圃場のブロッコリー (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plen., 品種 ‘緑嶺’, ‘しき緑96号’, ‘直緑93号’) に、アブラナ科野菜に発生する黒腐病に類似した病害が発生した (Fig. 1A, B). これらの被害葉の黒変化した葉脈や小斑点状の病斑部を顕微鏡観察すると、細菌の噴出が観察されたことから、病原は細菌と推定される。

ブロッコリーに発生する細菌病としては、腐敗病と軟腐病が報告されているが、これらの症状とは明らかに異なる。また、ブロッコリーの花梗や花蕾部に黒変症状を引き起こす原因として、*Xanthomonas campestris* (pathovar 未定) であることが報告されている (酒井, 1998) が、本細菌が黒腐病を引き起こすとの報告はない。したがって、本症状はこれまでに未記載の病害と考えられる。そこで、発病株から病原細菌を分離するとともに、その同定と接種試験を行ったので報告する。

本病の病徴は、まず葉に直径1 mm程度の黒色の小斑点が多数出現し、その後拡大して、中央部が灰白色、周辺部は黒から黒褐色の不定形の病斑となった (Fig. 1D)。また

それらの小斑点とは別に、葉縁部が水浸状に変色し、葉縁部からV字に、もしくは葉縁に沿って黄化した。最終的に葉縁部より灰白色のV字型病斑を形成し、その周辺の葉脈は黒変化した (Fig. 1C)。

病原細菌を分離するため、育苗箱もしくは病害発生圃場から罹病葉を採集した。黒変化した葉脈および病斑周辺の組織を切り取り、常法による表面殺菌の後、普通寒天 (NA) 培地を使用して細菌を分離し、27菌株を保存した。また、対照菌株として *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* MAFF302025 (以下 Xcc) および *X. campestris* pv. *raphani* MAFF311180 (以下 Xcr) を用いた。また、ブロッコリー花梗および花蕾部に黒変症状を示す菌株として、*X. campestris* 97Br-103, 97Br-134 (酒井, 1998) の2株を用いた (Table 1)。

これら供試31菌株のブロッコリーに対する病原性は、噴霧および剪葉接種によって調査した。30 cm×40 cm×6 cmのトレイに市販の園芸培土をつめ、100粒の種子 (品種 ‘しき緑96号’) を1トレイ中に等間隔になるように播種した。発芽後、本葉が2~3枚展開した苗をプラスチックポットに移植した。接種源となる細菌懸濁液は、NA培地で24時

¹ 群馬県庁 (〒371-8570 群馬県前橋市大手町1-1-1) Gunma Prefectural Office, 1-1-1 Ote-machi, Maebashi, Gunma, 371-8570, Japan

² Secretaria Executiva de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente—SECTAM (Trav. Lomas Valentinas, 2717, Belém, Pará, Brasil, CEP:66095-770)

³ 群馬県農業技術センター (〒379-2224 群馬県伊勢崎市西小保方町493) Gunma Agricultural Technology Center, 493 Nishiobokata-cho, Isesaki, Gunma 379-2224, Japan

* Corresponding author (E-mail: healthymouse@hotmail.com)

Table 1. Bacterial strains used in this study

Strains	Host plants	Isolation site	Location	Year
Present isolates				
BrV-1~16	Broccoli	Leaf with black rot in vein	Gunma	2001
BrS-1~11	Broccoli	Leaf with small black spot	Gunma	2001
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> MAFF302025 ^{a)}	Cabbage	—	Hiroshima	1981
<i>X. campestris</i> pv. <i>raphani</i> MAFF311180 ^{a)}	Cabbage	—	Hyogo	1998
<i>X. campestris</i> (pathovar unknown) 97Br-103 ^{b)}	Broccoli	Flower stalk	Saitama	1997
97Br-134 ^{b)}	Broccoli	Bud	Saitama	1997

a) MAFF: Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries of Japan

b) Origin of the isolates was Sakai K, 1998

間培養したものを滅菌水で約 10^7 cfu/ml となるよう調整した。噴霧接種は、本葉 2 枚を針傷し菌液を針傷部に噴霧した。剪葉接種は大畑ら (1982) の方法に従って行った。接種後、植物体をビニル袋で覆って湿室に 24 時間置き、その後ビニル袋を除去し、25°C のガラス温室で管理した。接種 14 日後に発病調査を行ったところ、噴霧接種ではブロッコリー葉から分離した 27 菌株中 23 菌株が、剪葉接種では 27 菌株中 26 菌株が V 字型の黄化および葉脈の黒変等の特徴を再現し、ブロッコリーに病原性を示した。また比較対照として用いた Xcc, 97Br-103 および 97Br-134 も同様の病徴を示した。一方、Xcr は、これらの分離株とは異なり、本葉を中心に多数の斑点状の病斑を形成し、剪葉接種による V 字型の黄化や葉脈の黒変化は見られなかった。

次にブロッコリーに病原性を示した 12 菌株 (BrV-1, BrV-3, BrV-6, BrV-11, BrV-12, BrV-14, BrS-2, BrS-4, BrS-6, BrS-8, BrS-9, BrS-10) を用いて、各種植物に対する宿主範囲の検討を行った。接種は針傷部に噴霧することによって行った。供試植物の育苗および接種後の管理は上記と同様の方法で行った。その結果、分離菌株はキャベツ (*B. oleracea* L. var. *capitata* L.), ハクサイ (*B. campestris* L.), ダイコン (*Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Baker), チンゲンサイ (*B. campestris* L.), ハツカダイコン (*R. sativus* var. *radicula* DC), カリフラワー (*B. oleracea* L. var. *botrytis* L.) のアブラナ科野菜に対して、典型的な黒腐症状を示した。一方、トマト (*Lycopersicon esculentum* Mill.), ナス (*Solanum melongena* L.), キュウリ (*Cucumis sativus* L.), ニホンカボチャ (*Cucurbita moschata* Duchesne), レタス (*Lactuca sativa* L.), シュンギク (*Chrysanthemum coronarium* L. var. *spatiosum* L. H. Bailey), ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.), ニンジン (*Daucus carota* L. var. *sativus* Hoffm.), ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.), エンバ

ク (*Avena sativa* L.), トウモロコシ (*Zea mays* L.), アルファルファ (*Medicago sativa* L.) には病原性を示さなかった。比較対照として用いた菌株では Xcc, 97Br-103 および 97Br-134 が分離菌株と同様の宿主範囲を示した。

ブロッコリーに対する病原性および宿主範囲が確認された 12 菌株を用いて細菌学的性質の調査および単一炭素源としての炭水化物の利用試験を行った。これらの調査方法は後藤・瀧川 (1984) の方法に準じて行った。また、一部の特性はアビ 20NE キット (BIO MERIEUX S. A. Company) を用いて調査した。その結果、分離菌株はグラム陰性の好気性桿菌で、1 本の極鞭毛を有し、運動性を有していた。糖を含む培地上で特有の黄色色素と粘濁な集落を形成した。デンプン加水分解、カタラーゼ活性、ジャガイモ塊茎の腐敗、硫化水素発生、アンモニア産生が陽性であった。一方、オキシダーゼ活性、タバコ過敏反応、硝酸塩の還元は陰性であった。また、グルコース、フルクトース、キシロース、ガラクトース、スクロース、マルトース、ラクトース、トレハロース、セロビオース、ラフィノースからそれぞれ酸を産生した。

以上の結果から、本分離菌株を *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel 1895) Dowson 1939 と同定した。また本分離菌株をブロッコリーに接種した結果、原病徴が再現された。よって本病をブロッコリー黒腐病 (Black rot of broccoli) とすることを提案する。

ところで、酒井 (1998) はブロッコリーの花蕾および花梗に黒変症状を引き起こす細菌を分離し、*X. campestris* (pathovar 未決定) と同定した。本研究において酒井の分離株 (*X. campestris* 97Br-103 および 97Br-134) も同様にブロッコリーに黒腐症状を引き起こすことや、宿主範囲の検討結果から、これらの菌株も *X. campestris* pv. *campestris* と同定される。またデータは示していないが本研究で分

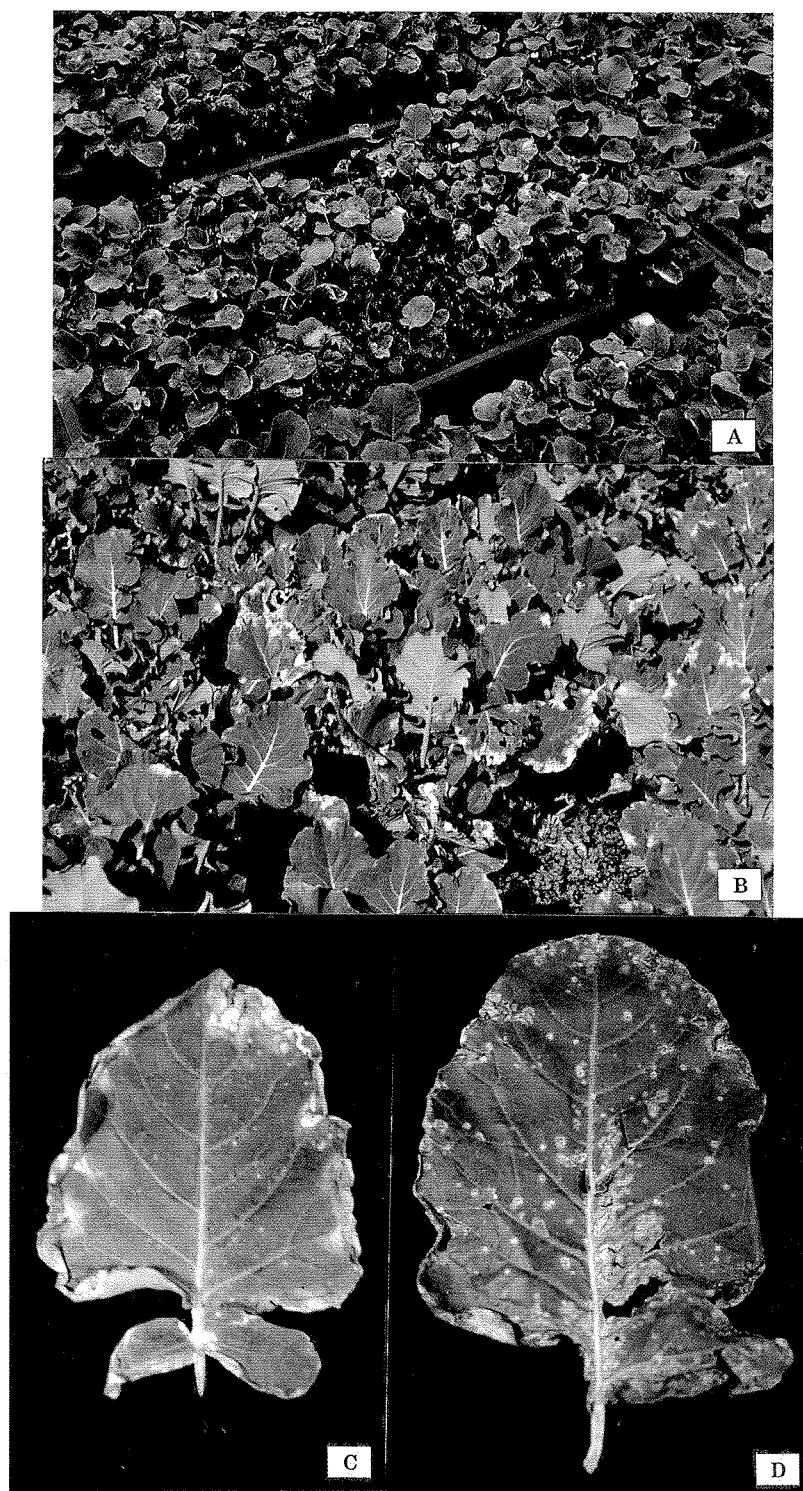


Fig. 1. A. Necrotic spots on leaves of broccoli seedlings with black rot caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Plants were grown in plastic flats in greenhouse.
B. V-shaped lesion of leaves of broccoli in a field.
C. Yellow V-shaped lesion on margin of leaf from broccoli in a field.
D. Necrotic spots with grey center and irregular margin on leaf from broccoli in a field.

Table 2. Bacteriological characteristics of the strains used in this study

Characteristics	Present isolates	<i>X. campestris</i>		
		pv. <i>campestris</i> MAFF302025	pv. <i>rahpani</i> MAFF311180	broccoli isolates ^{c)}
Gram reaction	—	—	—	—
Rod-shaped	+	+	+	+
Mobility	+	+	+	+
O-F test	O ^{a)}	O	O	O
Mucoid growth on nutrient agar +5% sucrose	+	+	+	+
Yellow colonies	+	+	+	+
Hydrolysis of starch	+	+	+	+
Oxidase	—	—	—	—
Catalase	+	+	+	+
Tobacco hypersensitivity reaction	—	—	—	—
H ₂ S from peptone	+	+	+	+
Urease ^{b)}	—	—	—	—
Arginine dihydrolase ^{b)}	—	—	—	—
Nitrate reduction ^{b)}	—	—	—	—
Growth in NaCl				
2%	+	+	+	+
5%	—	—	—	—
Utilization of				
Glucose	+	+	+	+
Fructose	V	+	+	+
Xylose	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Maltose	V	+	+	+
Lactose	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+
Sorbitol	—	—	—	—
Inositol	—	—	—	—
Dulcitol	—	—	—	—
Glycerol	—	—	—	—
Ethanol	—	—	—	—
Alanine	—	—	—	—
Arginine	—	—	—	—

+: positive reaction, -: negative reaction, V: variable.

a) O: oxidative reaction

b): by API20NE

c): 97Br-103, 97Br-134 (Sakai K., 1998)

離された菌株も花蕾および花梗に対して 97Br-103 および 97Br-134 と同様の黒変症状を示した。したがって *X. campestris* pv. *campestris* によるブロッコリー黒腐病は葉だけでなく花蕾や花梗にも発生することが明らかとなった。

本研究を行うにあたり、菌株を譲渡していただいた埼玉県農林総合研究センターの酒井和彦氏に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 後藤正夫・瀧川雄一 (1984). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (1)~(4). 植物防疫 38: 339-344, 385-389, 432-437, 479-484.
- 大畑貫一・畔上耕児・土屋行夫 (1982). キャベツ品種の黒腐病抵抗性の簡易検定法としての剪葉接種法. 農技研報 C36: 89-96.
- 酒井和彦 (1998). *Xanthomonas campestris* によるブロッコリー花蕾の黒変症状の発生. 関東東山病虫研報 45: 51-55.