

## *Pseudomonas cichorii* によるエンダイブ腐敗病 (新称)

末永 寛子<sup>1\*</sup>・川口 章<sup>1</sup>・佐々木静江<sup>2</sup>・井上 幸次<sup>1</sup>・那須 英夫<sup>1</sup>

### ABSTRACT

SUENAGA, H.<sup>1\*</sup>, KAWAGUCHI, A.<sup>1</sup>, SASAKI, S.<sup>2</sup>, INOUE, K.<sup>1</sup> and NASU, H.<sup>1</sup> (2007). Bacterial rot of endive (*Cichorium endivia* L.) caused by *Pseudomonas cichorii*. Jpn. J. Phytopathol. 73: 172-174.

A new bacterial disease, causing water-soaked, blight and rot of leaves and stems, was observed on endive, *Cichorium endivia* L., in Okayama Prefecture in October 2002. The bacterium isolated at high frequency from affected petioles of endive was identified as *Pseudomonas cichorii* on the basis of bacteriological characteristics and the 16S rDNA sequence. Healthy seedlings were inoculated with the isolated bacterium, symptoms of the disease were reproduced, and the bacterium was reisolated from the lesions. The name "bacterial rot" was proposed for the disease.

(Received September 22, 2006; Accepted December 14, 2006)

**Key words:** Endive, Bacterial rot, *Pseudomonas cichorii*

エンダイブ (*Cichorium endivia* L.) は別名ニガチシャと呼ばれる生食野菜であり、岡山県赤磐市のハウスで周年栽培が行われている。2002年10月頃から、これらのハウス栽培エンダイブ (品種: エンダイブ) に腐敗症状の発生が認められた。そこで、腐敗組織から分離された細菌の病原性を確認して、種の同定を行った結果、新病害であることが明らかになったので報告する。なお、本報告の一部は平成17年度日本植物病理学会関西部会で発表した (末永ら, 2005)。

**病徴および発生状況** 最初、外葉の地際部が水浸状に褐変し、次第に茎や葉脈に沿って病徴が拡大し、外葉から萎れた (Fig. 1A, C)。症状の激しい株では、腐敗が中心部まで拡大し、ついには株全体が腐敗するものもみられた (Fig. 1B)。いずれの発病株も軟腐臭はせず、組織が軟化して形が崩れることはなかった。発生は主に春期と秋期に収穫する作型において収穫10日前頃から認められたが、発生株率は1%未満であった。被害株の病斑部分を光学顕微鏡で観察したところ、細菌の噴出が見られたが、糸状菌は確認されなかった。

**病原細菌の分離と接種による病徴の再現** 腐敗部の組織片をアンチホルミン (有効塩素2%) で表面殺菌した後、滅

菌水でよく洗浄し、滅菌蒸留水中で磨砕したものをPSA半合成培地 (協本処方) に画線した。30°Cで2日間培養すると、円形、光沢なし、半透明淡黄色コロニーを形成する細菌が優占的に出現した (Fig. 1D)。これらのコロニーを釣菌して得られた7菌株 (F2, G1, H3, I1, I2, J1, J2) を供試菌株とした。各菌株を $5 \times 10^8$  cfu/mlの菌液に調製し、12cmのポリポットに植えたエンダイブの葉柄の地際部に1ヶ所ずつ、3葉柄について滅菌爪楊枝で刺針接種した。その後、27°Cに設定したコイトロン内で湿室条件にした箱内に接種したエンダイブを置いて、2日後に発病の有無を確認した。その結果、7菌株とも接種2日後には水浸状の暗褐色病斑が生じて、原病徴が再現され (Fig. 1E)、接種部位からは接種菌が再分離された。さらに、摘採したレタス葉片、本葉6~7葉期のトマト苗 (品種: ポンデローザ) および本葉5~6葉期のナス苗 (品種: 千両) の茎についても刺針接種を行ったところ、いずれの植物でも接種部から褐変して病徴が拡大し、病原性が認められた。

**病原細菌の同定** 供試菌株 (7菌株) を簡易同定96-API (西山, 1996) を用いて21項目の細菌学的性質を調べたとこ

<sup>1</sup> 岡山県農業総合センター 農業試験場 (〒709-0801 赤磐市神田沖 1174-1) Agricultural Experiment Station, Okayama Prefectural General Agriculture Center, Kouda-oki, Akaiwa, Okayama 709-0801, Japan

<sup>2</sup> 岡山県津山農業普及指導センター (〒708-8506 津山市山下 53) Okayama Prefectural Tsuyama Agricultural Extension Center, Sange, Tsuyama, Okayama 708-8506, Japan

\* Corresponding author (E-mail: hiroko\_suenaga@pref.okayama.lg.jp)

本研究で明らかにした塩基配列は、GenBank/EMBL/DDBJ DNA データベースに Accession No. AB271010 として登録した。

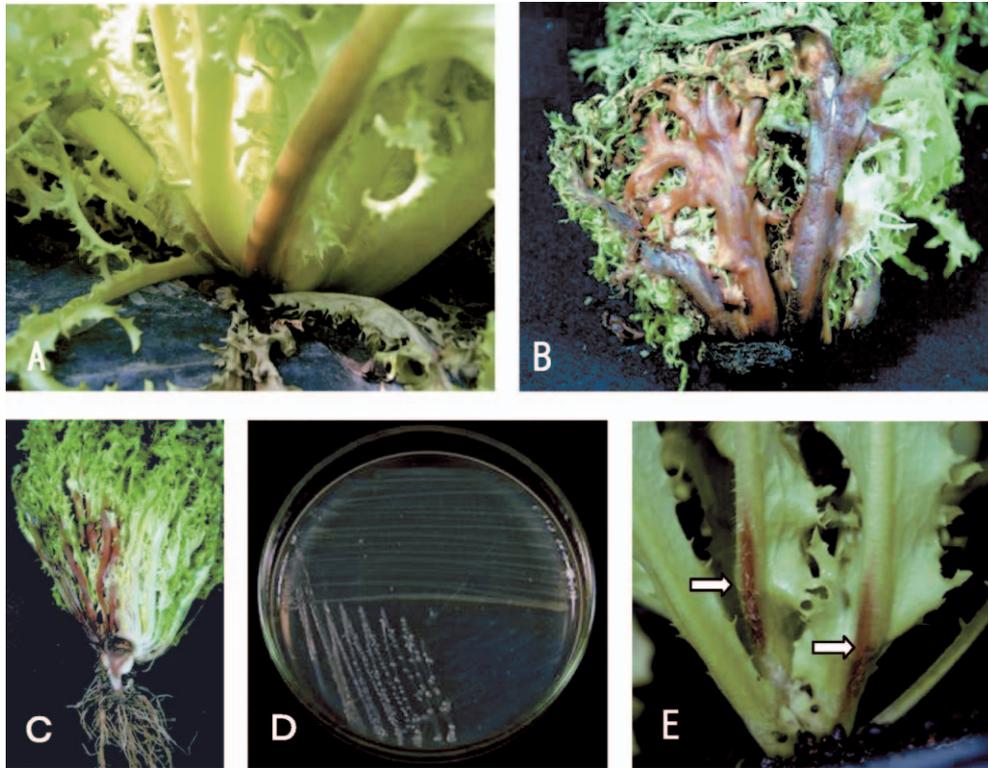


Fig. 1. A. Initial symptom: water-soaked lesions on midrib of endive plant naturally infected by *Pseudomonas cichorii* in a field. B. Severe symptom: blight and rot of endive plant after natural infection. C. Rot of endive plant after natural infection (a longitudinal section). D. Colonies of *P. cichorii* on potato semisynthetic agar medium plate at 27°C after 2 days. E. Water-soaked lesions (arrows) on petioles of the plant appeared after inoculation with isolate H3.

Table 1. Bacteriological characteristics of strains used in this study

Characteristics	Present isolates (N=7)	<i>Pseudomonas cichorii</i>		<i>P. viridiflava</i> SUPP113 <sup>(b),c)</sup>	<i>P. marginalis</i> SUPP96 <sup>(b),e)</sup>
		SUPP398 <sup>(b),c)</sup>	SUPP178 <sup>(b),d)</sup>		
Gram reaction	- <sup>a)</sup>	-	-	-	-
Fluorescent pigment	+	+	+	+	+
Levan production	-	-	-	-	-
Oxidase	+	+	+	-	+
Soft rot activity on potato	±	+	-	+	+
Arginine dihydrolase	-	-	-	-	+
Tobacco hypersensitive reaction	+	+	+	-	-
Lipase	-	-	-	-	+
Growth at 41°C	-	-	-	-	+
Acid production from:					
Glucose	+	+	+	+	+
Sucrose	-	-	-	-	+
Trehalose	-	-	-	-	+
Sorbitol	-	-	-	+	+
Utilization of:					
Tartrate	+	+	+	-	-
Citrate	+	+	+	+	+

a) +: positive, -: negative, ±: weak positive

b) These strains were obtained from Shizuoka University.

c) Isolated from Chinese cabbage.

d) Isolated from tomato.

e) Isolated from garland chrysanthemum.

ろ、API プロフィールはすべて 0447455 となり、*Pseudomonas cichorii* のプロフィールと一致した。さらに、後藤ら (1984) の方法に準じて15項目の細菌学的性質についても調査し、土屋ら (1979) がレタス腐敗病菌として報告している *Pseudomonas cichorii* (SUPP398, SUPP178), *P. viridiflava* (SUPP113) および *P. marginalis* (SUPP96) (いずれも静岡大学農学部植物病理学研究室から分譲) と比較した。供試菌株は、グラム反応が陰性、緑色蛍光性色素を産生し、41°C 下での生育、リパーゼ活性、レバン産生およびアルギニン加水分解は陰性で、オキシダーゼ活性およびタバコ過敏感反応は陽性、ジャガイモ塊茎をわずかに腐敗させた。糖と有機酸の利用 (西山ら, 2001) では、グルコース、酒石酸、クエン酸を利用したが、スクロース、トレハロース、ソルビットを利用しなかった。これらの性質は *P. cichorii* と比較してほぼ一致していたが、*P. viridiflava* と比較すると、オキシダーゼ活性、タバコ過敏感反応、ソルビットおよび酒石酸の利用で異なり、*P. marginalis* と比較すると、アルギニン加水分解、タバコ過敏感反応、リパーゼ活性、41°C 下での生育、スクロース、トレハロース、ソルビットおよび酒石酸の利用で異なっていた (Table 1)。

また、7 菌株の分離細菌のうち G1 菌株について、16S rDNA の部分塩基配列 (約 1100 bp) を PCR で増幅させた後、塩基配列を決定した。なお、PCR プライマーには、343f (5'-tacgggagcgagcag-3') と 1492r (5'-ggctacctgttagcactt-3') (Lane, 1991) を用いた。データベース検索の結果、得られた塩基配列は、*P. cichorii* の既報配列 (Accession No. AJ308302) と 99.7% の相同性を示した。分離菌株 G1 の 16S rDNA 部分塩基配列は Accession No. AB271010 で DDBJ に登録済みである。

以上の結果から、エンダイブに腐敗症状を引き起こした病原細菌を、*P. cichorii* (Swingle 1925) Stapp 1928 と同定した。

海外では Kotte (1930) と Stapp (1935) が、*P. cichorii* によるエンダイブの病害を報告しているが国内では未報告であることから、病名をエンダイブ腐敗病 (英名: Bacterial rot) とすることを提案する。

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、貴重なご助言をいただいた元農業環境技術研究所 西山幸司博士、菌株を分譲いただいた静岡大学農学部植物病理学研究室 瀧川雄一教授に厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

- 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 (3), (4). 植物防疫 38: 432-437, 479-484.
- Kotte, W. (1930). Eine bakterielle Blattfaul der Winter-Endive (*Cichorium endivia* L.). Phytopath. Z. 1: 605-613.
- Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. (Stackebrandt, E. and Goodfellow, M., eds.). pp. 115-175, John Wiley & Sons, Chichester.
- 西山幸司 (1996). パソコンを用いた植物病原細菌同定システム「簡易同定 96」の使い方. 農環研資 19: 1-24.
- 西山幸司・篠原弘亮・門田育生 (2001). 植物病原細菌の炭素源利用試験に用いる共通基礎培地の検討. 日植病報 67: 97-106.
- Stapp, C. (1935). Eine bakterielle Fäule an *Lactuca sativa* var. *capitata* L. und *Cichorium endivia* L. Zentral Blatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Abteilung 2. 91: 232-243.
- 末永寛子・川口 章・佐々木静江・井上幸次・那須英夫 (2005). エンダイブ腐敗病 (新称) の発生. 日植病報 72: 77 (講要).
- 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 C 33: 77-99.