

## 新潟県で発生した*Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* によるダイコンの根部黒変障害

棚橋 恵・堀 武志\*・山口 吉博・横山 泰裕\*\*

Megumu TANAHASHI, Takeshi HORI\*, Yoshihiro YAMAGUCHI and Yasuhiro YOKOYAMA\*\* :  
Occurrence of internal blacking of roots of Japanese radish caused by  
*Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* in Niigata Prefecture.

### Summary

Occurrence of internal blacking of roots of Japanese radish (*Raphanus sativus* var. *hortensis* cultivar Akiiti) was recognized in Niigata Prefecture in September 1996. The symptom was restricted to root of Japanese radish. *Pseudomonas* like bacteria were pathogenic to Japanese radish plants and were reisolated from the inoculated Japanese radish roots. Based on their bacteriological characteristics, the pathogen is identified as *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* which causes bacterial leaf spot of Japanese radish.

1996年9月、新潟県新潟市の砂丘地帯を中心とするダイコン栽培産地において、ダイコンの根内部が淡褐色～黒変する症状（以下、根部黒変障害）が発生した。9月下旬に出荷されたダイコンの一部で発見され、当初は生理障害の黒芯症（通称）と考えられたため問題視されなかったが、10月出荷分以降に被害が増大し問題となったことから、その原因を究明した。

なお本研究を行うにあたり、病原細菌の同定と有益なご助言を頂いた農林水産省農業環境技術研究所西山幸司博士、現地での発病調査にご協力いただいた新潟県農林水産部経営普及課石田仙一氏、新潟農業改良普及センターの石川 寛氏、新潟病害虫防除所の山代千加子氏、古俣彦衛氏、工藤聡子氏、本論文の校閲をいただいた新潟大学農学部小島誠博士に記して感謝の意を表する。

### 材料および方法

#### 1. 発生状況および病徴

1996年9月～10月、新潟市内のダイコン栽培農家圃場において罹病株の観察調査と聞き取り調査を実施し、根部黒変障害の発生状況を調査した。

翌1997年10月7日、前年に黒変障害が多発生した3圃場および少発生した3圃場、合計6圃場で発生状況を調査した。調査方法は、1圃場あたり5～12株のダイコンを無作為に抽出し、外観の観察調査を行うとともに、根部を切断し根内部の黒変の有無を調査した。また、前年と同様に栽培農家への聞き取り調査を実施し、発生状況を調査した。

#### 2. 病原菌の分離

1996年10月30日に新潟市内野上新町で採取されたダイコン根部黒変障害株（品種「秋いち」、8月27日播種）の根内部の黒変部を切り取り、常法に従いガラス製ホモジナイザー中で滅菌水とともに磨砕し、分離原液を得た。これを普通寒天培地（以下NA培地）に画線接種し25℃で培養後、出現した単コロニーを釣菌した。

#### 3. 接種試験

##### 1) 幼苗接種試験（ポット試験）

供試菌株は、ダイコン根内部の黒変部から分離した5菌株（D5, D6, D7, D8, D9）を用いた。対照として *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*（ダイコン黒斑細菌病菌）MAFF301409菌株、*Xanthomonas*

新潟県農業総合研究所園芸研究センター Niigata Agricultural Research Institute Horticultural Research Center, Mano, Seiro, Niigata 957-0111

\* 現在 同作物研究センター Niigata Agricultural Research Institute Crop Research Center, Nagakura cho, Nagaoka, Niigata 940-0826

\*\* 現在 新潟病害虫防除所 Niigata Plant Protection Office, Kawagishi cho, Niigata, Niigata 951-8133

*campestris* pv. *campestris* (キャベツ黒腐病菌) MAFF301152 菌株を用いた。それら菌株を PPGA 培地で、25℃で2日間培養した後、菌体を滅菌水に懸濁し、約10<sup>8</sup>cfu/mlの菌液を得た。接種にはポット栽培したダイコン品種「耐病総太り」を用い、播種23日後(本葉2~3葉期)の1997年1月16日に、上記細菌懸濁液を一個体当たり10ml噴霧接種した。接種後直ちにポリエチレン袋で被覆し、48時間保湿した。発病調査は接種後経時的に実施し、外観を観察するとともに、ダイコン根を分解して内部を観察した。

## 2) 根部接種試験(圃場試験)

供試菌株には、ダイコン根内部の黒変部から分離した2菌株(D5, D6)および*P. syringae* pv. *maculicola* (ダイコン黒斑細菌病菌) S1菌株(当センター保存菌株)を用いた。これら菌株をPPGA培地で、25℃で2日間培養した後、菌体を滅菌水に懸濁し、約10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup>cfu/mlの菌液を得た。1997年8月25日播種のダイコン品種「耐病総太り」の葉柄基部3カ所および肥大根部の首もと1カ所に上記細菌懸濁液を0.1ml注入接種した。接種は、播種42日後の10月7日に実施し、各菌株ともダイコン5個体に処理した。また対照として滅菌水を同様に10個体に処理した。調査は収穫時の11月25日に実施し、外観を観察調査するとともに、ダイコン根を切断分解調査した。さらに、発病が接種菌株によることを確認するため、発病株から病原菌の再分離を行った。

## 4. 細菌の同定

病原性の確認された分離菌5株(D5, D6, D7, D8, D9)および再分離菌2株(RD1, RD2)を、西山<sup>5)</sup>の方法に従い同定した。対照菌株として*P. syringae* pv. *maculicola* (ダイコン黒斑細菌病菌) MAFF301409菌株と*X. campestris* pv. *campestris* (キャベツ黒腐病菌) MAFF301152菌株を用いた。

## 結 果

### 1. 発生状況および病徴

発生状況調査から根部黒変障害は、JA新潟西内野支所管内の秋冬ダイコン栽培面積約150haのうち、15~20haに発生したと推定された。発生程度には、発病株率90%の甚発生圃場から極少発生圃場までの圃場間差が認められた。他のダイコン栽培産地である新潟市赤塚、四ツ郷屋地区およびJA巻管内でも発生の報告があったがいずれも少発生であった。発生の多かった品種は、生食用の「秋いち」で、次いで「YRてんぐ」および「T414」でも発生が確認された。一部の加工用品種でも発生が報告されたが、詳細は未確認である。本障害は、新潟市における秋ダイコンの播種時期である8月上旬~下旬のいずれの時期に播種された圃場でも認められた。また、

収穫時期も9月上旬~10月下旬の全般で認められることから、播種時期や収穫時期の違いによる発生程度の差はないと考えられた。

本障害株の根部表面は、わずかに根冠部の褐変が認められるのみで、その他は健全株との外見上の差異はなかった(第1図, 第2図, 第3図)。しかし、根部縦断面を観察すると導管部およびその周辺が淡褐色~黒色に変色していた。さらに発病程度の激しいものは中心部が腐敗し空洞となるものがあったが、組織全体が軟化腐敗したり異臭を放つことはなかった(第4図)。根部黒変障害株の一部で、葉にダイコン黒斑細菌病様の黒色小斑点が散見されたが、その発生はわずかであった。

翌1997年に、新潟市内の農家圃場を再度調査した結果、前年の多発生圃場に発病程度の軽い根部黒変障害株が1株のみ認められた(第1表)。また、農家への聞き取り調査の結果でも根部黒変障害株の発生の報告はなかったことから、1997年における本障害株の発生は少なかつたものと考えられた。

## 2. 病原菌の分離

病斑部からは、NA培地上において白色、平滑、円形のコロニーを呈する細菌が高頻度に分離され、うち5菌株(D5, D6, D7, D8, D9)を選び供試菌株とした。

## 3. 接種試験

### 1) 幼苗接種試験(ポット試験)

供試した5菌株すべてに病原性が認められた。幼苗接種株の観察をおこなうと、接種7日後から本葉に径1mm程度の褐色小斑点が出現した(第5図)。この葉の病徴は、対照に用いたダイコン黒斑細菌病菌によって形成された病斑と類似し、黒斑細菌病の記載<sup>6)</sup>とも一致した。一方、キャベツ黒腐病菌の接種苗では、葉縁部から大型の黄色病斑が半円形に拡大し、黒変障害分離菌の接種病徴とは明らかに異なっていた(第6図)。また、キャベツ黒腐病菌接種株にのみ胚軸および根部中心柱の黒変が観察された(第2表)。

第1表 ダイコン根部黒変障害の現地調査結果(1997年)

調査圃場	品種	前年度の発生程度 <sup>1)</sup>	調査株数	根内部	
				地上部病徴 黒斑細菌病株	黒変障害株
A	TE-7	多	5	5	1
B	夏天下	多	12	0	0
C	味天下	多	7	5	0
D	快調総太り	少	6	0	0
E	秋いち	少	7	2	0
F	快調総太り	少	6	2	0

1) 根部黒変障害の発生程度

## 2) 根部接種試験 (圃場試験)

D5およびD6菌株を接種することにより、根部の黒変障害が再現された(第7図, 第8図)。D5菌株では接種菌濃度が $10^3$ cfu/ml, D6菌株では $10^6$ cfu/ml以上で発病した(第3表)。また、対照として用いたダイコン黒斑細菌病菌でも $10^6$ cfu/ml以上の濃度ですべての個体が発病した。さらに、病斑部からは、接種菌株と類似のコロニーを呈する細菌が高頻度に再分離され、そのうちの2菌株をRD1, RD2とした。

## 4. 細菌の同定

根部黒変障害株からの分離菌および接種部位からの再分離菌の主な細菌学的性状を調査した(第4表)。分離菌はいずれもNA培地上で白色・平滑・円形のコロニーを形成し、グラム反応は陰性で、PPGA培地上で黄緑蛍光色素を産生した。オキシダーゼ活性およびアルギニンジヒドロラーゼは陰性であり、スクロースは利用したが、L-酒石酸および乳酸は利用しなかった。以上の結果は、対照とした*P. syringae* pv. *maculicola* MAFF301409菌株と完全に一致した。さらに、ダイコンの葉に病原性を有することから、本菌を*P. syringae* pv. *maculicola* (ダイコン黒斑細菌病菌)と同定した。

## 考 察

ダイコンの根部に病徴を示す細菌性病害として、ダイコン軟腐病、ダイコン黒腐病、ダイコン青枯病およびダイコン黒点輪腐病が知られている<sup>3)</sup>。本障害は、葉に萎凋や黄化等の病徴を示さないことから、ダイコン軟腐病やダイコン青枯病とは異なると考えられた。さらに、ダイコン黒点輪腐病では、根内部の形成層内側に沿った導管が黒色輪状に見える<sup>3)</sup>とされ、本症状とは明らかに異

なった。一方、ダイコン黒腐病では、根部の外観的な異常は認められずに、切断すると導管部が黒変しており、病勢が進むと内部が次第に腐敗してついには空洞になるものの軟腐病のように軟化して悪臭を発することはな

第2表 根部黒変障害株分離菌のダイコン幼苗への病原性

接種菌株	葉の病徴	胚軸, 根部等の病徴
D5	褐色水浸状斑点	変化なし
D6	"	"
D7	"	"
D8	"	"
D9	"	"
Psm <sup>1)</sup>	"	"
Xcc <sup>2)</sup>	葉緑部からの黄化	中心柱黒変
無接種	変化なし	変化なし

1) *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* MAFF3014092) *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* MAFF301152

第3表 根部黒変障害株分離菌のダイコン根部への病原性

供試菌株	接種菌濃度		
	$10^6$ cfu/ml	$10^3$ cfu/ml	滅菌水
D5	0/4 <sup>2)</sup>	2/5	-
D6	5/5	5/5	-
Psm <sup>1)</sup> S1	5/5	5/5	-
滅菌水	-	-	0/10

1) *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* S1

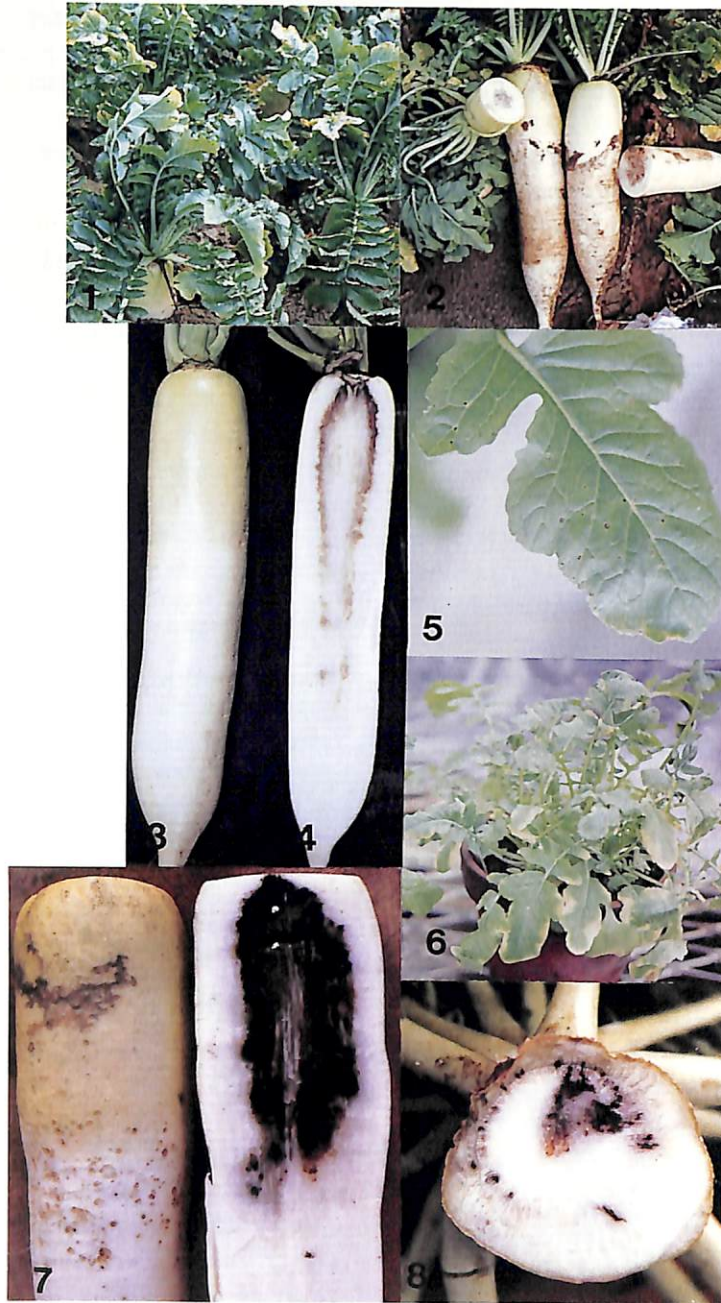
2) 発症株数/接種株数

第4表 ダイコン根部黒変障害株分離菌の細菌学的性状

細菌学的性質	分離菌 (5菌株)	再分離菌 (5菌株)	対照細菌 <sup>1)</sup>		
			Psm	Pmm <sup>2)</sup>	Xcc
グラム反応	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
黄緑蛍光色素産生	+	+	+	++	+
41°Cでの生育	-	-	-	-	-
オキシダーゼ活性	-	-	-	+	+
アルギニンジヒドロラーゼ活性	-	-	-	(+)	-
利用性					
スクロース	+	+	+		+
L-酒石酸	-	-	-	+	-
乳酸	-	-	-		-

1) *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* MAFF301409, *P. marginalis* pv. *marginalis*  
*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* MAFF301152

2) 竹内ら(1977)



- 第1図 ダイコン黒変障害株発生圃場（新潟市内野上新町）  
 第2図 ダイコン根部黒変障害株  
 第3図 ダイコン根部黒変障害株の根部外部形態  
 第4図 ダイコン根部黒変障害株の根部縦断面  
 第5図 *P. syringae* pv. *maculicola* D5 菌株の接種病徴  
 第6図 *X. campestris* pv. *campestris* MAFF301152菌株の葉部接種病徴  
 第7図 *P. syringae* pv. *maculicola* D5 菌株の根部接種病徴  
 第8図 根部接種病徴の根頭部横断面

い<sup>1)</sup>とされており、本症状と一致したことから、黒変障害の原因をダイコン黒腐病と推定していた。しかし、本研究により根部黒変障害分離菌株は、ダイコンの葉および根内部に病原性を示し、細菌学的性質から *P. syringae* pv. *maculicola* と同定されたことから、根部黒変障害はダイコン黒斑細菌病の根部病徴であることが明らかになった。

ダイコン黒斑細菌病は、主に葉や根頭部を侵し、果梗やさやに発生することもあるとされている<sup>2)</sup>。しかし、竹内<sup>3)</sup>はダイコン黒斑細菌病菌によりダイコンの根部表面および内部が褐変する症状を報告し、その原因を降雹により形成された根頭部の傷口から病原細菌が侵入感染したためと考察している。この報告では、地表に露出した根部表面に黒褐色しみ状の大型病斑を生じ、後にひび割れたと記載されているが、本件では根冠部がわずかに褐変した株が希に確認されるのみで、病徴が大きく異なった。黒斑細菌病菌は風雨によって飛散し、気孔および水孔、風雨による傷口、害虫の食痕などから植物体に侵入することが知られている<sup>4)</sup>。このことは、わずかな傷でもダイコン根内部に病原菌が感染し発病する可能性を示唆している。多発生した1996年の聞き取り調査の結果、生育期間後半にダイコンを食害するキスジノミハムシおよびコナガの多発生が明らかになった。これら害虫の食害により植物体の付傷部位が増加し、病原細菌が侵入しやすい状況にあったことも、本障害が多発生した要因と推察された。しかし、1996年の多発生要因については未解明な部分が多く、さらに根内部への病原細菌の感染経路を詳細に調査検討する必要があると考えられた。

### 摘 要

1 1996年9月、新潟県新潟市で栽培されるダイコン(品種：秋いち)で根内部が褐変～黒変する症状(根部

黒変障害)が発生した。一部には中心部が腐敗空洞化するものが認められた。

2 根部障害部から細菌の漏出が確認され、常法に従い細菌の分離を実施したところ、*Pseudomonas* 属菌が高頻度に分離された。

3 分離菌を健全ダイコンに接種したところ、同障害を再現し、病斑部から接種菌が再分離された。

4 分離菌は、細菌学的性質および病原性から *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (ダイコン黒斑細菌病菌) と同定された。

5 分離菌を用いたダイコン根部への接種試験結果から、根部黒変障害はダイコン黒斑細菌病の根部病徴であることが明らかになった。

### 引用文献

- 1) 萩原 廣 (1998) 日本植物病害大辞典 (岸 國平編) 全農協. 東京. pp354.
- 2) 飯嶋 勉 (1982) 新版野菜の病虫害 (岸 國平編). 全農協. 東京. pp274.
- 3) 水沢芳名 (1977) 三浦大根の黒点輪腐病 (仮称). 今月の農薬. 21(8): 24-28.
- 4) 中野昭信 (1982) 新版野菜の病虫害 (岸 國平編). 全農協. 東京. pp241-244.
- 5) 西山幸司 (1982) 植物病原細菌簡易同定法の試案. 植物防疫. 32: 283-288.
- 6) 西山幸司 (1986) 簡易同定法による本邦産 *Pseudomonas* 属菌の類別. 植物防疫. 40: 296-298.
- 7) 竹内妙子・土屋健一・香川晴彦・加瀬正敏 (1989) ダイコン黒斑細菌病による根部褐変症状の発生について. 関東東山病虫害研報. 36: 60-62.

(2000年12月15日受領)