

# Erwinia (Pantoea 含む)

東北農業研究センター 篠原弘亮

## はじめに

近年、細菌の分類体系は大きく変化している。植物病原細菌の多くが属していた旧 *Pseudomonas* 属が *Burkholderia* 属などに分割されたり、一部の種が *Herbaspirillum* 属などに移されたりするなど、その変遷は複雑である。本稿で解説する広義の *Erwinia* 属も例外ではない。大きく一つに括られていた属が再編された要因としては、系統解析がより重視されるようになったこと、そのために必要な遺伝子解析手法が進歩したこと、さらに、それに伴った膨大な DNA 情報を蓄積したデータベースの充実によって多くの DNA 情報が解析可能になったことがある。

しかし、本講座で瀧川先生も記しているように、誰もが簡単に解析できるようになったことによる新たな問題も生じている。歴史のある従来の分類、同定法においてグレーゾーンであった部分をより明確にできた DNA 情報の功績は大きいですが、逆に分類体系が複雑になったという問題もある。

一方では、従来の生理、生化学的性状を調査する手法も進歩し、簡便かつ短期間に試験ができる手法やキットが普及している(篠原・對馬, 2005)。それらから得た結果を照合するデータベースも、DNA 情報ほどではないが充実してきている。これらにより、今まで行われてきた 100 項目以上にのぼる細菌の生理、生化学的性状の調査に比べて、菌株の同定に費やす時間と手間が飛躍的に軽減されている。そして、これらと分子系統解析を総合的に活用することが重要であると考えられる。

ここでは、広義の *Erwinia* 属について DNA 情報を基にした分子系統解析について述べたい。

## I *Erwinia* 属と近縁属の概要

本稿では広義の *Erwinia* 属を解説するが、前述したように分類体系が複雑化しているうえに、現在までに提案されている学名のすべてが研究者に受け入れられている

Phylogenetic Analysis of Genus *Erwinia*. By Hirosuke SHINOHARA

(キーワード：分子系統解析, *Brenneria* 属, *Dickeya* 属, *Erwinia* 属, *Pantoea* 属, *Pectobacterium* 属)

とは言えない。そのため、本稿では学名を *Erwinia* 属として示し、新たに別の学名が提案されている場合はその後括弧書きで学名を示す。

*Erwinia* 属とその近縁属は、*Proteobacteria* 門 *Gammaproteobacteria* 綱 *Enterobacteriales* 目 *Enterobacteriaceae* 科の中に位置づけられている、グラム陰性、桿菌、発酵性を有する通性嫌気性の細菌である。International Society for Plant Pathology の植物病原細菌名リスト (<http://www.isppweb.org/>) によると、*Enterobacteriaceae* 科に所属している植物病原細菌が含まれる属は、*Brenneria* 属, *Dickeya* 属, *Enterobacter* 属, *Erwinia* 属, *Pantoea* 属, *Pectobacterium* 属および *Serratia* 属である。本稿では、*Brenneria* 属, *Dickeya* 属, *Erwinia* 属, *Pantoea* 属および *Pectobacterium* 属の 5 属を広義の *Erwinia* 属として取り扱う。

広義の *Erwinia* 属から別属へと変更された例をごく簡単に示すと次の通りである。*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (JONES 1901) BERGEY et al. 1923 (アブラナ科類軟腐病菌など) = *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (JONES 1901) HAUBEN et al. 1999 や *Erwinia chrysanthemi* BURKHOLDER et al. 1953 (チコリ-萎凋細菌病菌など) = *Pectobacterium chrysanthemi* (BURKHOLDER et al. 1953) BRENNER et al. 1973 = *Dickeya chrysanthemi* (BURKHOLDER et al. 1953) SAMSON et al. 2005 である。さらに、*Erwinia ananas* SERRANO 1928 (イネ内穎褐変病菌) は、MERGAERT et al. (1993) によって *Pantoea* 属へ移された。その後、TRÜPER and DE'CLARI (1997) によって種名が訂正され現在の *Pantoea ananatis* (Serrano 1928) MERGAERT et al. 1993 となった。このように、本邦で重要病害を引き起こしている広義の *Erwinia* 属であった病原細菌の変遷も複雑である。

## II 16S rDNA を基にした分子系統樹

近年、細菌の 16S rRNA 遺伝子 (16S rDNA) は、その分類に有効とされ、系統解析に用いられている。16S rDNA 解析に基づく広義の *Erwinia* 属の位置づけは、ANZAI et al. (2000) などを参照していただきたい。16S rDNA を用いた広義の *Erwinia* 属についての解析は、KWON et al. (1997), HAUBEN et al. (1998), SPROER et al.

(1999), GARDAN et al. (2003) および SAMSON et al. (2005) によって報告されているので、詳細はこれらを参照していただきたい。これらの報告の中で、HAUBEN et al. (1998) は *Brenneria* 属を提案し、GARDAN et al. (2003) は、*Pectobacterium* 属の一部の亜種を種へ格上げする提

案をしている。最近では、SAMSON et al. (2005) は *Dickeya* 属を提案している。これらと病原細菌との関係としては、樹木へ病原性を示す *Erwinia* 属の一部菌群が *Brenneria* 属に含まれ、腐敗性を示す菌群が *Pectobacterium* 属に含まれた。さらに、*Dickeya* 属は、

表-1 分子系統樹作成に用いた細菌の16S rDNA情報の来歴

学名	病名	菌株名 <sup>a)</sup>	DDBJ/EMBL/GenBank accession number
<i>Enterobacter agglomerans</i> ( <i>Pantoea agglomerans</i> )	イネ黒しよく米	DSM 3493 <sup>T</sup>	AJ233423
<i>Erwinia amylovora</i>	リンゴ火傷病など	ATCC 15580 <sup>T</sup>	AF140341
<i>Erwinia ananatis</i> ( <i>Pantoea ananatis</i> )	イネ内穎褐変病など	MAFF 302184 <sup>T</sup>	未登録
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i> ( <i>Pectobacterium atrosepticum</i> )	ジャガイモ黒あし病	CECT 314 <sup>T</sup>	AJ555894
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> ( <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> )	アブラナ科類軟腐病など	ATCC 15713 <sup>T</sup>	U80197
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>wasabiae</i> ( <i>Pectobacterium wasabiae</i> )	ワサビ軟腐病	ATCC 43316 <sup>T</sup>	U80199
<i>Erwinia chrysanthemi</i> ( <i>Dickeya chrysanthemi</i> )	チコリー萎凋細菌病など	ATCC 11663 <sup>T</sup>	U80200
<i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>dianthicola</i> ( <i>Dickeya dianthicola</i> )	カーネーション立枯細菌病	CFBP 1200 <sup>T</sup>	AF520708
<i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>zeae</i> ( <i>Dickeya zeae</i> )	イネ株腐病など	CFBP 2052 <sup>T</sup>	AF520711
<i>Erwinia cyripedii</i> ( <i>Pectobacterium cyripedii</i> )	デンドロビウム腐敗細菌病など	DSM 3873 <sup>T</sup>	AJ233413
<i>Erwinia cyripedii</i> ( <i>Pectobacterium cyripedii</i> )	デンドロビウム腐敗細菌病など	LMG 2657 <sup>T</sup>	Z96094
<i>Erwinia cyripedii</i> ( <i>Pectobacterium cyripedii</i> )	デンドロビウム腐敗細菌病など	ATCC 29267 <sup>T</sup>	U80201
<i>Erwinia mallotivora</i>	アカメガシワ斑点細菌病	MAFF 302175 <sup>T</sup>	未登録
<i>Erwinia nigrifluens</i> ( <i>Brenneria nigrifluens</i> )	モモせん孔細菌病	ATCC 13028 <sup>T</sup>	U80203
<i>Erwinia nigrifluens</i> ( <i>Brenneria nigrifluens</i> )	モモせん孔細菌病	LMG 2694 <sup>T</sup>	Z96095
<i>Erwinia nigrifluens</i> ( <i>Brenneria nigrifluens</i> )	モモせん孔細菌病	DSM 30175 <sup>T</sup>	AJ233415
<i>Erwinia rhapontici</i>	タマネギ腐敗病	DSM 4484 <sup>T</sup>	AJ233417
<i>Erwinia rubrifaciens</i> ( <i>Brenneria rubrifaciens</i> )	Disease : Bacterial phloem canker. Host : <i>Juglans regia</i> L.	ATCC 29291 <sup>T</sup>	U80207
<i>Erwinia</i> sp.	パパイヤ黒腐病	未登録	未登録
<i>Erwinia salicis</i> ( <i>Brenneria salicis</i> )	ヤナギ類水紋病	LMG 2698 <sup>T</sup>	Z96097
<i>Erwinia stewartii</i> ( <i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i> )	トウモロコシ萎凋細菌病	ATCC 8199 <sup>T</sup>	U80208
<i>Buchnera aphidicola</i>	非植物病原		L18927
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	非植物病原	ATCC 14029 <sup>T</sup>	X74688

<sup>a)</sup> 微生物保存機関の菌株番号；T：標準菌株，ATCC：American Type Culture Collection，DSM：German Collection of Microorganisms and Cell Cultures，MAFF：農業生物資源研究所農業生物資源ジーンバンク事業，CECT：Spanish Type Culture Collection，CFBP：Collection Francaise des Bacteries Phytopathogenes，LMG：Belgian Co-ordinated Collections of Micro-organisms.

*Pectobacterium* 属に含まれていた元の *E. chrysanthemi* のグループが独立したものである。

そこで、本稿では、国内で発生報告がある広義の *Erwinia* 属の植物病原細菌（パパイア黒腐病以外に病原が *Erwinia* sp. で報告されているものを除く）を中心に 16S rDNA を用いて分子系統樹を作成した。解析に用いた DNA 情報は、KWON et al. (1997), HAUBEN et al. (1998), SPROER et al. (1999) および SAMSON et al. (2005) を基に、インターネット上で公開されている DDBJ/EMBL/GenBank (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>) の DNA

データベースを用いて収集した。また、文献から DNA 情報を得る以外に、DNA データベースで DNA 情報を学名から検索した場合は、一つの細菌種においても菌株が異なる場合などにより複数の同一遺伝子の DNA 情報が検索されることがある。このような場合には、その細菌種の標準菌株で、かつ、長い配列情報または最新の DNA 情報を使用した。

このほかに、ある細菌種の中で特定の菌株（標準菌株など）の DNA 情報は、理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室 (JCM) や American Type

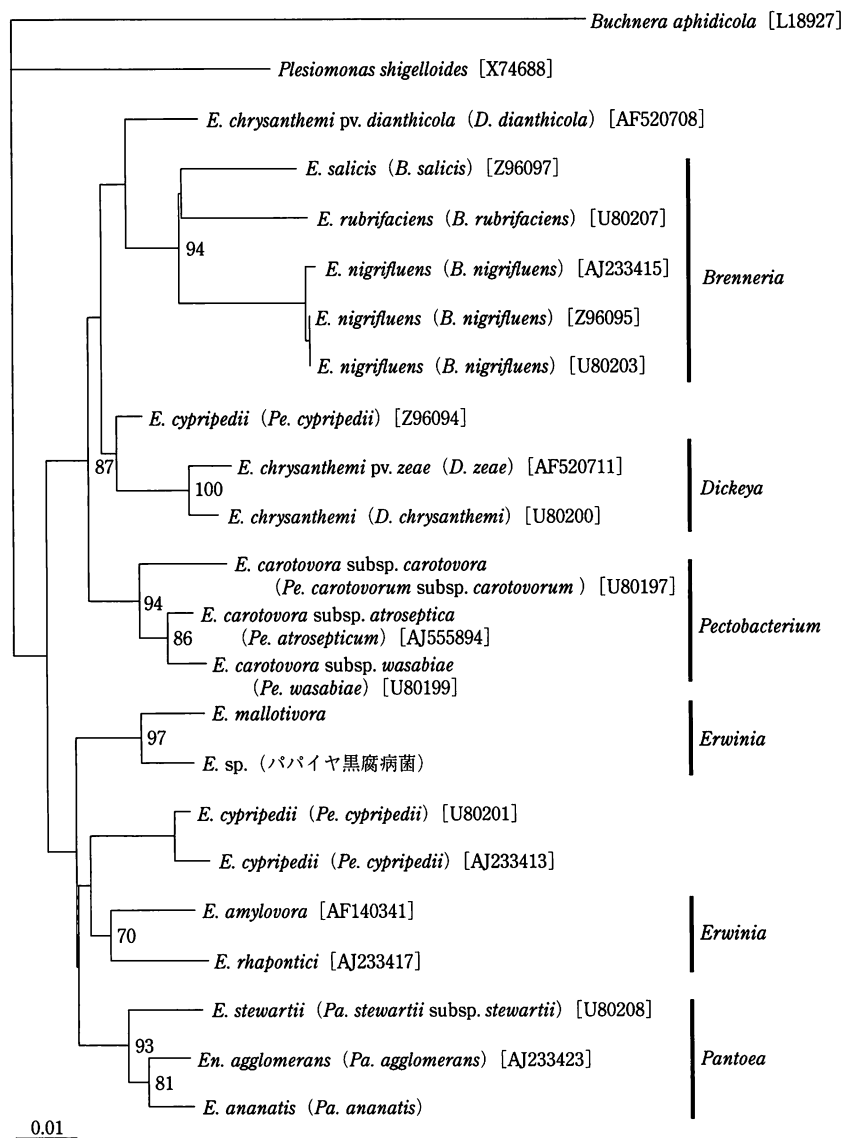


図-1 主に国内で発生報告のある広義の *Erwinia* 属細菌の 16S rDNA 配列を用いて近隣結合 (NJ) 法によって作成した分子系統樹  
分岐点の数値：ブートストラップ確率 70% 以上の場合にのみ、その数値を示した。

Culture Collection (ATCC) などの微生物株保存機関のホームページから菌株情報として、直接 DNA データベースとリンクしているものなどもある。菌株の DNA 情報以外に分離年月、分離源、採取地およびバイオセーフティーレベルなどの情報も得られるので便利である。

分子系統樹作成には、これらの方法によって取得した 16 種の 16S rDNA 情報と筆者が新たに解析した 3 種 *E. ananatis* (*Pantoea ananatis*), *E. mallotivora* および *E. sp.* (パパイヤ黒腐病菌) の 16S rDNA 情報を合わせた 19 種 23 菌株の 16S rDNA 情報を用いた (表-1)。作成は、公開ソフトウェアである Clustal W を用いてアライメントを行い、近隣結合法 (NJ 法) で分子系統樹を作成した。系統樹の描画は、公開ソフトウェアの Tree View を用いた。各 DNA 情報のうち解析には約 1,000 bp を用いた。Outgroup は、HAUBEN et al. (1998) を参考に *Buchnera aphidicola* とした。

その結果、前述した報告を反映した分子系統樹が得られた (図-1)。大きく二つのクラスターが形成され、一方のクラスターには *Erwinia* 属と *Pantoea* 属のクラスターが形成された。もう一方には、*Brenneria* 属、*Dickeya* 属および *Pectobacterium* 属のクラスターが形成された。このように、形成された五つのクラスターは、広義の *Erwinia* 属から分割された五つの属にはほぼ対応した。

パパイヤ黒腐病 (篠原ら, 2004) の病原は、*Erwinia* sp. と同定され種名は決定されていない。今回の 16S rDNA 解析による系統樹からは、*E. mallotivora* である可能性もあるが、細菌検査キット (API20NE, 日本ビオメリュー) を用いた生理、生化学的性状の試験において両者は異なっていた。海外では、*Erwinia* 属細菌によって引き起こされるパパイヤの病害が報告 (TRUJILLO and SCHROTH, 1982; WEBB, 1985) され、GARDAN et al. (2004) は、この病原細菌を *Erwinia papayae* と命名した。パパイヤ黒腐病菌と *E. papayae* は、ともに *E. mallotivora* に近縁であるが、病徴と生理、生化学的性状が若干異なることから、種名の決定には DNA-DNA 相同性試験などの詳細な検討が必要である。

また、比較のために *E. nigrifluens* (*Brenneria nigrifluens*) と *E. cyripedii* (*Pectobacterium cyripedii*) について、菌株保存機関が各々保存している標準菌株で、それぞれ DNA データベースでの accession number が異なる DNA 情報を解析に用いた。その結果、*E. nigrifluens* (*B. nigrifluens*) は、*Brenneria* 属のクラスター内の同一位置を示した。一方、*E. cyripedii* (*Pe. cyripedii*) は一つが *Dickeya* 属のクラスターに入り、残り二つは *Erwinia* 属のクラスター内の同一位置を示した。*Dickeya*

属近くに位置したものは HAUBEN et al. (1998) の報告に近く、*Erwinia* 属近くに位置したものは KWON et al. (1997) と SPROER et al. (1999) の報告に近い結果であった。*E. cyripedii* (*Pe. cyripedii*) が、*Pectobacterium* 属のクラスターに含まれず単独のクラスターを形成し、かつ *Dickeya* 属に近いことを示したことから、これらの DNA 情報などに疑問が生じたが、この点は SAMSON et al. (2005) と一致した。

### III その他の遺伝子を用いた分子系統解析

*Erwinia* 属の分子系統解析も他の属と同様に、16S rDNA 以外を用いた研究が行われている。MIZUNO et al. (2000) は、生理、生化学的性状および DNA-DNA 相同性試験の結果から、*E. amylovora* に種以下のレベルとして bv. 1~4 を提案し、その中でナシ枝枯細菌病菌は bv. 4 に分類され、リング火傷病菌 (*E. amylovora* bv. 1~3) とは異なることを報告した。その後、松浦ら (2005) が *gyrB*, *rpoD* および 16S rDNA の部分塩基配列を用いた分子系統解析を行い、*E. amylovora* bv. 1~3 と bv. 4 とは別のクラスターを形成することから、両者は異なることを報告している。その他に、*Erwinia* 属、*Brenneria* 属および *Pectobacterium* 属について、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*gapDH*) 遺伝子を用いて、系統発生との関係を解析している研究 (BROWN et al., 2000) などがある。

### おわりに

1993年に MERGAERT et al. が *E. ananas* を *Pantoea* 属に移した研究では、Protein profile, DNA-DNA 相同性試験と生理、生化学的性状の試験結果などによるものであった。それから、わずかに数年後には 16S rDNA の解析は必須となり、分類体系も大きく変わった。しかし、現在でも 16S rDNA 解析だけでは解決できない問題もあり、その他の試験結果を含めた総合的な解析と判断が重要であることは言うまでもない。今後も、*gyrB* などより情報量の多い遺伝子の解析がほとんどの細菌種で進み、その情報が簡単に入手できるようになるまでさほど時間はかからないと予想できる。それによって、分類体系もさらに複雑化する可能性がある。病害防除研究の基礎として、それら分類体系に従い、かつ、簡単に迅速な同定手法が今後も必要である。今回は、広義の *Erwinia* 属の分類に関する現状を紹介することが目的であり、提案者には申し訳ないが、混乱を避けるためにも新しい学名の推奨を目的にしたものではない。現段階では、既に受け入れられたと考えられる *Pantoea* 属を除く菌群について

は、しばらく *Erwinia* 属として扱われることが望ましいと考える。

本稿の執筆に当たっては、静岡大学農学部教授瀧川雄一博士に貴重なご助言をいただいた。記してお礼申し上げます。

### 参考文献

- 1) ANZAI, Y. et al. (2000): Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 1563 ~ 1589.
- 2) BROWN, E. W. et al. (2000): ibid. 50: 2057 ~ 2068.
- 3) GARDAN, L. et al. (2003): ibid. 53: 381 ~ 391.
- 4) ——— (2004): ibid. 54: 107 ~ 113.
- 5) HAUBEN, L. et al. (1998): System. Appl. Microbiol. 21: 384 ~ 397.

- 6) KWON, S.-W. et al. (1997): Int. J. Syst. Bacteriol. 47: 1061 ~ 1067.
- 7) 松浦貴之ら (2005): 日植病報 71: 292.
- 8) MERGAERT, J. et al. (1993): Int. J. Syst. Bacteriol. 43: 162 ~ 173.
- 9) MIZUNO, A. et al. (2000): J. Gen. Plant. Pathol. 66: 48 ~ 58.
- 10) SAMSON, R. et al. (2005): Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 55: 1415 ~ 1427.
- 11) 篠原弘亮ら (2004): 日植病報 70: 282.
- 12) ———・対馬誠也 (2005): 植物防疫 59: 400 ~ 402.
- 13) SPROER, C. et al. (1999): Int. J. Syst. Bacteriol. 49: 1433 ~ 1438.
- 14) TRUJILLO, E. E. and M. N. SCHROTH (1982): Plant. Dis. 66: 116 ~ 120.
- 15) TRÜPER, H. G. and L. DE'CLARI (1997): Int. J. Syst. Bacteriol. 47: 908 ~ 909.
- 16) WEBB, R. R. (1985): Plant. Dis. 69: 305 ~ 309.

## 登録が失効した農薬 (18.6.1 ~ 6.30)

掲載は、種類名、登録番号：商品名（製造業者又は輸入業者）登録失効年月日

### 「殺虫剤」

- D-D 剤  
8289: まるしょう D-D (エス・ディー・エス バイオテック) 2006/6/1
- ジメトエート粒剤  
6281: 日産ジメトエート粒剤 (日産化学工業) 2006/6/3
- ピリダフェンチオン水和剤  
14090: オフナック水和剤 (三井化学) 2006/6/6  
14091: トモノオフナック水和剤 (シンジェンタ ジャパン) 2006/6/6
- チリカブリダニ剤  
18928: スパイデックス (アリストライフサイエンス) 2006/6/7
- ククメリスカブリダニ剤  
19932: ククメリス (日本化薬) 2006/6/13
- BRP 乳剤  
4802: 日農ジプロム乳剤 (日本農薬) 2006/6/14
- EPN 乳剤  
2331: トモノ EPN 乳剤 (シンジェンタ ジャパン) 2006/6/18
- デリス粉剤  
18742: アグロス散粉デリス (住友化学) 2006/6/22
- 除虫菊乳剤  
18746: パラギクパニック (日本農薬) 2006/6/22
- ダイアジノン・DDVP・MEP 乳剤  
17883: ダイボスチオン乳剤 (日本農薬) 2006/6/26
- ピリダフェンチオン水和剤  
17888: オフナックフロアブル (三井化学) 2006/6/26  
17889: ヤシマオフナックフロアブル (協友アグリ) 2006/6/26
- ビフェントリンくん煙剤  
18753: 日産テルスターくん煙剤 (日産化学工業) 2006/6/28

18754: 兼商テルスターくん煙剤 (アグロ カネシヨウ) 2006/6/28

### 「殺菌剤」

- TPN くん煙剤  
10990: 三光ダコニールくん煙剤 (三光化学工業) 2006/6/5
- フラメトピル・メトミノストロピン粒剤  
21021: ホクコーイモチエースリンパー粒剤 (北興化学工業) 2006/6/14
- トリアジンくん煙剤  
17872: トリアジンジェット (新富士化成薬) 2006/6/20  
17873: 日曹トリアジンジェット (日本曹達) 2006/6/20
- イプロジオン・有機銅水和剤  
15113: トモノロブドー水和剤 (日本農薬) 2006/6/24

### 「殺虫殺菌剤」

- エトフェンプロックス・フサライド・EDDP 粉剤  
17881: 三共ヒノラプトレボン粉剤 35DL (北海三共) 2006/6/26

### 「除草剤」

- イマザピル・グリホサートイソプロピルアミン塩液剤  
21256: リプロ液剤 (BASF アグロ) 2006/6/8
- シンメチリン乳剤  
20392: アゴールド乳剤 (BASF アグロ) 2006/6/13
- グリホサートトリメシウム塩液剤  
20395: クサころりん (シンジェンタ ジャパン) 2006/6/29
- ジチオピル水和剤  
20397: [DIC] バイザー水和剤 (日本曹達) 2006/6/29