

特集：青枯病

緒言：最近の青枯病研究の話題について

九州大学大学院農学研究院 土 屋 健 一

はじめに

筆者らは以前に、青枯病研究の国内外における動向について報告した（土屋ら，2000；土屋，2002）。また最新の国際動向については、第4回国際青枯病シンポジウム（IBWS，2006年7月開催）報告として概要が紹介されている（曳地，2007）。最近5年間ほどの我が国における本病の研究については、病原細菌系統の多様性、病原性発現や宿主抵抗性の遺伝子レベルでの機構解明、病気の診断・防除技術など、一つの学術誌に限っても多岐にわたって約90件の報告がある（表-1）。本稿では、これらを中心に研究トピックスを紹介する。なお、本特集号では、個別課題について各専門家による最新情報が著されており、詳細は各論述を参照されたい。

I 病気の発生生態と病原細菌系統

沖縄県本島での初報告後、各地で発生が確認されているニガウリ青枯病の病原菌は生理型（biovar）3と同定されたが、既存の国内系統とは遺伝的に異なることが示された（堀田ら，2003；篠原ら，2005）。我が国のジャガイモ青枯病菌（レース1，レース3）は細菌学および遺伝的特性の比較から、分離地域に関係なくすべてbiovar N2に属し、外国産株とは異なる我が国特有の系統であることが確認された（堀田ら，2003）。また以前は長崎県と静岡県でのみ存在が指摘されたレース3系統（土屋ら，2000）は、現在では沖縄県と北海道をはじめ各地に分布を拡げている。TAUATI et al. (2005) は我が国の青枯病菌は *gyrB* の塩基配列の違いに基づき二つに大別され、一つの遺伝クラスターはジャガイモ分離株から構成されることを示した。小室ら（2003）および VILLA et al. (2003) は、それぞれインドネシア産またはフィリピン産分離株の遺伝的多様性について網羅的に検討し、両国における系統の構成が明らかにされた。矢野ら（2002；2005）は高知県の施設栽培ミョウガで青枯病の発生を確認し、病原菌の生理型を biovar 4 と同定した。

本系統を含むショウガ科植物青枯病菌は、rep-PCR 解析による DNA パターンで識別可能な遺伝的に異なる二つの外来系統であること、また両者の宿主寄生性における違いが、同県内での伝播経路と密接に関連することが示された（矢野ら，2006；土屋，18 ページ参照）。

青枯病菌の土壌からの分離について、トマト複葉の葉柄を用いた増菌トラップ法が、低密度汚染圃場での検出に有効であることが示された（中曽根，26 ページ参照）。またタバコ立枯病菌の土壌中からの検出・定量において、約 10^3 cfu/g 乾土以上では選択培地の適用が可能であり、それ未満では *hrp* レギュロン遺伝子 (*hpx2*) の配列に基づく特異プライマーを用いた PCR との併用（BIO-PCR）で、 10^0 cfu/ml レベルでの検出が可能であった（中保ら，2003）。表-1にも示すように、青枯病菌のファージに関する研究が増え、菅沼・露無（2003）は、2種類の青枯病菌特異ファージ（PRS1，PRS2）を分離し、 10^4 個以上の標識 PRS1（約 40 kbp，ssDNA）遺伝子または粒子の吸着により細菌の検出が可能であった。広島大学の山田グループ（2005；2007）は、RSS1（6,662 bp），RSM1（9,004 bp）および RSA1（38,760 bp）の3種類の分離ファージの全塩基配列決定をはじめ、宿主認識機構とファージ進化、および広宿主範囲のファージ株（RSL1）による検出あるいは本病の生物防除用ツールとしての利用性などについて多方面から研究を展開している。一方、青枯病菌の VBNC（Viable-but-non-culturable）状態と可培養化への復帰（今崎，22 ページ参照）については、欧米におけるトマト青枯病やゼラニウムを介してアフリカや中米から侵入したジャガイモ青

表-1 最近6年間（2002～07）における我が国の青枯病研究の動向

研究内容	報告件数 ^{a)}
病原細菌系統および発生生態 （ファージ関係）	25 12)
病原性・宿主-細菌相互作用	33
抵抗性機作・抵抗性品種育成	10
病害防除・管理 （生物防除関係）	17 8)
その他（全般）	1

^{a)} 日本植物病理学会報（第68～73巻）における報告。

Recent Topics on Bacterial Wilt Researches. By Kenichi Tsuchiya

（キーワード：青枯病，新病害，病原細菌系統，病原性遺伝子，抵抗性，総合防除）

枯病菌 (築尾, 42 ページ参照) などの冬期河川での発生生態とも関連しており, 国際的にもメカニズムの解明が注目されていることから今後の研究発展に期待したい。

青枯病菌の分類については, 従来のレースや biovar による判別体系から分子系統解析を基盤とした Phylotype や Sequevar が, 新たな分類体系として国際標準となりつつあり (堀田, 2006; 曳地, 2007), 我が国における対応を図るために, 曳地氏を中心に青枯病コンソシアムが設立され, 活動が開始されている。

II 病原性と関連遺伝子

青枯病菌では, 巨大プラスミド上に *hrp* 遺伝子群が植物シグナル伝達系の遺伝子とともにクラスターをなして存在し, タイプⅢタンパク質分泌系構成タンパク質やエフェクタータンパク質をコードしている。*hrp* 遺伝子群は少なくとも七つのオペロンからなる *hrp* レギュロンとして, 協調的に発現調節が行われており, HrpB は *hrp* レギュロンを支配する転写アクチベーターである。

田村ら (2002; 2005) は Tn を用いて青枯病菌のエフェクター遺伝子を転写レベルでトラップする ORF トラップ系を構築した。同法により, *hrpB* 依存性の推定エフェクター Hpx (HrpB-dependent expression) として, *Pseudomonas syringae* のタイプⅢエフェクターと相同性を有する Hpx23, Hpx24, Hpx25 が菌体外に分泌されることを明らかにした。また既知の酵素 glyoxalase I および Nudix hydrolase と相同性を有する Hpx19, Hpx26 を検出し, 前者は菌体内で, 後者は菌体外で機能するタンパク質であることが示された。一方, 村田ら (2002; 2003) は *hrpB* 制御下にある Leucine Rich Repeat (LRR) タンパク質をコードする五つの遺伝子を見出し, うち二つの遺伝子欠失株を作製してナスおよびタバコに対する接種試験を行い, 同タンパク質が植物内増殖に関与する病原因子であるとした。向原ら (2004) は 2 種の LRR タンパク質 (Lrp) の機能について, 宿主タンパク質と複合体を形成しユビキチン分解系に導く新しい型の病原因子 (Type I) と, Hrp 繊毛の凝集から菌体を解離させ植物体内を効率よく移行するのに必要とされる (Typ II) ことを示した。さらに LrpA および LrpB の二つのエフェクターの F-box 様モチーフが, それぞれ植物の ASK1, ASK2 と特異的に相互作用することが明らかにされた (向原, 2005)。向原ら (2006) は, *hrpB* 依存エフェクタータンパク質と *Bordetella pertussis* 由来 CyaA との融合タンパク質発現系を用いて, 青枯病菌から植物細胞内へ移行する 42 種類のエフェクターを同定している。一方, 吉用ら (2003; 2005; 2006)

はトランスポゾン変異株の作出により, EPS 生産を正に制御している遺伝子 *phcA* は *hrp* レギュロンの発現に関与する PrhIR, PrhJ, HrpG および HrpB などの遺伝子発現に負の調節因子として働いていること, および細菌濃度に依存した Quorum Sensing によって活性化された PhcA は *prhIR* の開始コドンから約 100 ~ 150 bp 上流の部位に特異的に結合し, *prhIR* の発現を抑制し, *hrp* レギュロンの発現抑制が生じることを示した。足立ら (2004) は *hrpB* 変異株において分泌されなかった 40 kDa および 66 kDa の二つのタンパク質がタイプⅡ分泌タンパク質であることから, *hrpB* 遺伝子はタイプⅢだけでなくタイプⅡ分泌系をも制御していることを示唆した。そして, OE-1-1 株のタイプⅡ分泌系 (T2SS) の構成タンパク質遺伝子 (*sdpK*) への Tn 挿入変異株 Shin は, タバコ葉細胞間隙で増殖するが, 細胞壁の崩壊と導管への侵入が認められず全身移行できないが, ポリガラクトシロナーゼ (Peh) 活性を相補する形質転換株 RSG 株ではトマトおよびタバコ葉での全身移行能とともに, 病原性が相補されることから, タイプⅡ分泌系が導管侵入に関与することが示された (辻本ら, 2005; 曳地ら, 2006)。これら青枯病菌の感染初期段階で作用する一群の *hrp* レギュロン関連遺伝子に関する高知大学グループの研究については, 大西ら (2005) がとりまとめている。

III 抵抗性機構および抵抗性品種

中保 (2003) は, 遺伝資源を異にする青枯病抵抗性トマト (11 品種) について, 病原菌の木部組織での移行と増殖の抑制は品種に共通する機構であり, 抵抗性の評価指標となることを示した。また抵抗性台木 'LS-89' では感染特異的 PR-N (グルカナーゼ) の発現が菌の移行抑制に関与すること, 感受性トマト品種においてもエチレン前駆体 ACC の処理により同様の抵抗性の誘導が示唆されたが, 後者については確認に至らなかった (中保ら, 2005; 中保ら, 2006)。また植物レクチンによる青枯病菌凝集性が, 品種抵抗性の判別指標として利用できる可能性が示された (西井ら, 2005)。ナス属野生種の *Solanum toxicarium* などの青枯病抵抗性要因として, 茎内での青枯病菌の移動抑制および非流動性変異株の出現が関係するとされた (森ら, 2005; 松添ら, 2005)。一方, 篠原ら (2005; 2006) は 'LS-89' の根圏では青枯病菌に拮抗する *Ralstonia* sp. が優占種として存在し, その後, 植物体に内生する特性をもつことを報告しており, 検証が待たれる。

青枯病菌に対する抵抗性遺伝子を栽培品種に導入する

ことは、最も効果的な方法であるが、ナス属では不和合性により交配育種では困難性が指摘されている。田村ら（10 ページ参照）は、本病抵抗性形質をもつナスの近縁野生種（南米産 *S. violaceum*）と既存のナス台木品種ヒラナスのプロトプラストを細胞融合処理し、形態的、細胞学的に両親植物と同等で、種子繁殖も可能な体細胞雑種系統（系統 27-14）を作出した。同系統は青枯病抵抗性についても一定の耐性が示され、台木用育種素材としての有望性が見込まれたが、品種登録までは至っていない。一方、岡田ら（2002）は既存の戻し交配育種における問題点の解決に当たって、薬培養を使った戻し交配育種により、ナス台木品種‘台太郎’の薬培養系統とヒラナスとの交雑による同‘台二郎’を育成し、現在高知県内の約 10 ha の促成栽培で普及している（岡田，14 ページ参照）。

強い他花不和合性などの問題を抱えるナス属への本病抵抗性のような量的形質の導入による抵抗性品種の育成において、現在までの系統では抵抗性発現に不安定性があることは否めないものの、より抵抗性の高い台木や穂木の育成のためには、細胞融合法や薬培養法はともに有効なツールとして既存の育種手法への導入が期待される。

IV 病害の防除・管理

本病は土壤伝染性であり、防除法としては抵抗性台木品種の利用や土壤消毒などの総合防除がなされている。中曽根（2004）は、土壤深度別の病原菌分離率を指標として土壤消毒効果について検討し、太陽熱消毒とグゾメット剤の併用の有効性を示すとともに、施設栽培においてはハウス周辺の土壤消毒の重要性を指摘した。福岡ら（2004）は養液栽培におけるヨウ素のトマト青枯病に対する防除効果を検討し、ヨウ素処理直後にはほとんど菌数が検出されなくなり、その効果持続期間は病原菌接種後の処理時間が早いほど長かった。ピリジニウム型高分子（PBVP-co-ST）をコーティングしたおがくずを青枯病汚染土壤に混合することで病害の発生率が 89% 抑制されたが、その機構としてコーティングしたおがくず表面に細菌が凝集して堆積するためと推察された（川端・田邊，2005）。一方、酵母抽出液や *Pythium oligandrum* の細胞壁タンパク質の処理による高い発病抑制効果が認められ、これらはプラントアクティベーター（抵抗性誘導剤）としての役割が示唆された（中保ら，2007；竹中・高橋，2007）。

青枯病に対する生物防除については、様々なアプローチがなされているが、その多くは非病原性変異株あるいは拮抗細菌、特に内生菌を素材とした研究が多い。雨宮

ら（2002）は非病原性株（PC 株）をトマト土耕栽培において高密度で土壤に混在させると発病を定植 1～2 週間に限り顕著に抑制するが、水耕栽培では 1 株ずつ隔離栽培すると抑制効果は高いが 1 列 40 株のロックウール栽培では菌添加 1 週間を超えると効果が減退するとし、その原因は PC 株の土壤中での生存能力やトマトでの定着能力が野生株に比べて劣るためと推論した。一方、雨宮ら（2005）は GFP で標識した PC 株の植物体内における挙動の観察結果から、PC 株の抑制機構として根組織への結合による抵抗性誘導あるいは野生株の侵入、移行の物理的阻止と考えた。相野ら（2003）は *P. fluorescens* FPH9601 および FPT9601 株を含有したシュードモナス製剤のトマト半促成栽培で抑制効果を調査し、茎部の褐変程度も低く、連続的防除効果が認められた。LONG et al.（2004）は、ベトナム産ナス科植物より分離されたエンドファイトによるタバコ立枯病に対する抑制効果は死菌によっても認められ、その機構として植物体への抵抗性誘導を示唆した。一方、*P. oligandrum* によるトマトへの誘導抵抗性発現に、エチレンレセプター（ETR）遺伝子メンバー（ETR1～5）のうち ETR4 を介したシグナル伝達系並びにジャスモン酸シグナル伝達系が関与すること（長谷ら，2006）、およびエリシタータンパク質 POD-1 を欠失した同変異株ではトマト根部への定着性は維持されるものの青枯病抑制効果が低い原因として抵抗性誘導能の低下に起因する可能性がそれぞれ示唆された（竹中ら，2006）。

抗菌植物を利用した青枯病菌の防除の試みとして、ANDRIANISOAR et al.（2003）はアブラナ科植物残渣の青枯病汚染土壤への混用の効果について、*Brassica oxyrrhina*, *B. campestris* subsp. *rapa* ‘Ayumi’, *Brassicoraphanus* sp. が最も青枯病菌数を抑制したが、グルコシノレート含有量と抑制効果との相関は明らかではなかった。大城ら（2005）はジャガイモ青枯病の防除のためのアメリカウロ乾燥物の土壤への混和処理のより効果的な施用方法として、混和処理後の太陽熱処理、被覆処理、散水処理との併用を検討した結果、混和処理後、太陽熱処理のみを行うことが最も施用効果が高いことを示した。また堀田ら（2007）はマリーゴールドの根部および茎葉部の抽出物に抗菌活性があることを見出し、茎葉部粉末を病原菌汚染土に 6% 以上混和したポット試験で、トマトでの初期発病が有意に抑制された。

愛媛県におけるシソ（赤シソ）栽培においては、土壤伝染による青枯病の発病はわずかであるが、一度でも青枯病発病株を刈り取ると刈取機の刈刃が青枯病菌に汚染され、隣接株に次々と二次感染して 3～5 回の刈取りで

圃場全体に広がる。発病株の除去や刈りへの70%エタノール噴霧も根本的な解決とはならず、刈取り中に常時継続して二次伝染を抑制することが最も重要である。そこで、刈刃加熱装置を装着した刈取機の開発と改良が重ねられた結果、非常に高い被害軽減効果が示され、今後の実用化が期待される(篠崎・崎山, 2005)。また、ロックウール循環式養液栽培におけるトマト青枯病に対するまん延防止効果を限外ろ過(UF)膜、簡易サンドフィルターおよび紫外線殺菌装置により比較検討した結果、限外ろ過(UF)膜区では発病がなく高い防除効果が認められた(植松ら, 2006)。

青枯病の防除法として最も導入しやすく効果が高い方法は抵抗性台木の導入であり、前述したように抵抗性の安定性や強度に優れた台木の開発が進められており、抵抗性台木に接ぎ木されたセル苗が供給される体制となっている。しかしながら、青枯病抵抗性は真性抵抗性ではないため、汚染の激しい圃場や地下水位が高い圃場などでは、実用的な防除ができない場合があり、台木のみには依存しない防除法が検討されている。岡山ら(2003)は、抵抗性台木(‘カレヘン’、‘トルバム・ビガー’等)の利用と湛水化による水稲との輪作を組み合わせたブロックローテーションが、ナス青枯病の発病抑制の耕種的対策として効果が高いことを示した。門馬ら(2004)は小麦フスマを用いた土壤還元消毒によりトマト青枯病菌に対する顕著な抑制効果が示され、この機構について特定の細菌群の関与を示唆した。北海道では、トマト青枯病に対して抵抗性台木と深耕還元消毒との併用により、菌密度の減少を含め高い防除効果が認められ、低温期における還元消毒の改良を図ることで、より有効な防除法として期待された(小松, 2006)。

おわりに

我が国における青枯病菌の研究動向は、以前にまとめたと大きく変わっていない。このことはとりもなおさず、本病原細菌の多様性と病害防除の困難性に起因するところであり、多方面からの継続的な研究の取り組みの必要性が反映されている。しかし、本稿で取り上げたように、この間におけるそれぞれの研究グループによる基礎的研究や、実用化が期待される様々な防除技術で得られた成果は着実に進歩している。

今回、関係研究者により立ち上がった青枯病コンソシアムはまさに時宜を得たものであり、これまで以上に世界に伍する本病原細菌の基礎研究の深化、ならびに地域および宿主作物に対応した実用化に応えうる防除技術の開発に向けて、互いに密接な連携を図り、また情報を広く共有することによってさらなるステップをクリアしつつ、本病防除を達成する目標に向けて本コンソシアムの活動が具現化することを切望するものである。

引用文献

誌面の都合上、日本植物病理学会報の関係文献は割愛させていただく。

- 1) 曳地康史(2007): 植物防疫 61: 229 ~ 231.
- 2) 堀田光生(2006): 同上 60: 237 ~ 239.
- 3) 小松 勉(2005): 平成17年度日本植物病理学会北海道部会年報 32: 12 ~ 16.
- 4) 中曽根渡(2004): 農業および園芸 79: 285 ~ 286.
- 5) 大西浩平ら(2005): 植物細菌病談話会論文集 23: 20 ~ 27.
- 6) 岡田昌久ら(2002): 高知農技七報 11: 53 ~ 61.
- 7) 岡山健夫ら(2003): 奈良県農技研報 34: 43 ~ 50.
- 8) 篠崎 毅・崎山進二(2005): 植物細菌病談話会論文集 23: 2 ~ 10.
- 9) 土屋健一ら(2000): 植物防疫 54: 87 ~ 92.
- 10) ———(2002): 同上 56: 368 ~ 371.
- 11) Van Gijsegem, F. et al. (1995): Mol. Microbiol. 15: 1095 ~ 1114.

新しく登録された農薬 (19.12.1 ~ 12.31)

掲載は、種類名、登録番号：商品名(製造者又は輸入者)登録年月日、有効成分：含有量、対象作物：対象病害虫：使用時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、適用作物、適用雑草等を記載。(登録番号：22069 ~ 22094) 下線付きは新規成分。

「殺虫剤」

●エチプロール粒剤

22079: キラップ粒剤(バイエルクロップサイエンス)
07/12/26

エチプロール: 2.0%

稲: ウンカ類, カメムシ類: 収穫14日前まで

●ピリプロキシフェンマイクロカプセル剤

22092: プルートMC(住友化学) 07/12/28

ピリプロキシフェン: 9.0%

茶: クワシロカイガラムシ: 成虫越冬休眠期(一番茶摘採45日前まで) 但し萌芽前まで

●スピロメシフェン水和剤

22093: クリアザールフロアブル(バイエルクロップサイエンス) 07/12/28

スピロメシフェン: 22.9%

トマト: コナジラミ類: 収穫前日まで

22094: ダニゲッターフロアブル(バイエルクロップサイエンス) 07/12/28

スピロメシフェン: 30.0%

りんご: リンゴハダニ, ナミハダニ: 収穫前日まで

(13ページに続く)