

特集：青枯病

外来性レース系統による ショウガ科植物青枯病の発生と伝播

九州大学大学院農学研究 院 ^{つち} ^や ^{けん} ^{いち}
土 屋 健 一

はじめに

ショウガ科 (Zingiberaceae) 植物の代表であるショウガおよびミョウガは、主に根茎を食用とするほか、香辛料や薬用材料としても古くから利用されている。高知県は我が国のショウガ生産高の半分を占める産地であり、2006年度におけるショウガ栽培面積は露地 402 ha、施設 25 ha と報告されている。また同科に属し、タイ国から導入された切り花用クルクマ属 (*Curcuma* spp.) の栽培も行われている。

1995年夏、クルクマ (*C. alismatifolia*) の施設栽培において *Ralstonia solanacearum* による青枯病の発生が確認された (森田ら, 1996)。その後、1997～99年には県内各地のショウガやミョウガの施設あるいは露地栽培で、青枯病の発生が相次いで確認された (土屋ら, 1999; 矢野ら, 2002; 2005)。当時、我が国において青枯病の発生が報告された宿主植物としては14科29種が認められていたが、ショウガ科植物では報告がなく、いずれも新病害として登録された。

そこで、これらショウガ科植物から分離された青枯病菌について、各種植物由来の在来系統との特性比較を行うとともに、当該系統が外来性である可能性を検証するために、外国産ショウガ青枯病菌などとの遺伝的類似関係を比較することにより、高知県への侵入と同県内での伝播について考察を試みた。

I ショウガ科植物青枯病の発生生態

ショウガ青枯病は、ハワイ、アフリカ、およびアジア諸国 (フィリピン、タイ、インドネシア、マレーシア、インド、スリランカ、中国) で発生しており、オーストラリアでも過去に被害の報告がある (HAYWARD, 1994)。

ショウガ科植物における病徴はいずれも類似し、クルクマでは最初に葉が外側に巻き、続いて、茎および葉の黄化、萎凋へと進展し、最終的に枯死する。ショウガお

よびミョウガも同様に、下位葉から中肋を境に葉裏面側に湾曲黄化、萎凋し、速やかに上位葉へと進展し、全身的な萎凋、枯死に至る。偽茎は水浸状となり、根茎基部から容易に離脱、倒伏する。偽茎と根茎を切断すると維管束部は暗褐色～黒色を呈し、乳白色の菌泥が漏出する。切除した偽茎を水にさすと白色の菌泥の噴出が観察され、病徴の類似する根茎腐敗病との区別が可能である。

高知県における本病の発生は、施設栽培においては、2003年以降ショウガ、ミョウガともに減少傾向にある。一方、露地栽培のショウガでは2000～03年が0.8～2 ha (栽培面積約450 ha) であったのに対して、04年以降は90 ha前後 (同約400 ha) と拡大傾向となっており、今後、雨水などによる伝搬の拡大が危惧される状況にある (矢野, 私信)。

II ショウガ科青枯病菌の系統

1 生理型 (biovar)

ショウガ、ミョウガ、およびクルクマの罹病植物からは、いずれも TTC 培地上で白色流動性、中心部紅色の集落を形成する細菌が均一的に分離される。これらの分離菌株は、いずれもグラム陰性、好気性で運動性を有し、硝酸塩還元、オキシダーゼ活性、スクロースからの酸の産生は陽性、蛍光色素産生、40℃での生育、アルギニンジヒドロラーゼ活性は陰性であり、その他の細菌学的性質も対照菌株とほぼ一致し、*R. solanacearum* と同定された。また6種類の炭素源からの酸の産生性に基づく生理型 (biovar) の鑑別結果から、分離菌株はすべて生理型4と判定された。各国産のショウガ青枯病菌は、それぞれ病原性や生理学および血清学的性質などにおいて変異に富み (HAYWARD et al., 1967; HAYWARD, 1994)、生理型については3と4が存在し、その分布は地域によって異なる。我々の試験においても、タイおよびインドネシア産菌株には生理型3と4の二つが存在したが、オーストラリアおよび中国産菌株は生理型4のみであった (表-1)。

2 レース (race)

ショウガ、ミョウガ、およびクルクマからの分離菌株を針接種または断根土壌灌注法によって接種試験を行っ

Occurrence and Spread of Bacterial Wilt Diseases of Zingiberaceae Plants Caused by Foreign Strains. By Kenichi TSUCHIYA

(キーワード: 青枯病, ショウガ科, レース4, 外来系統)

た結果、いずれもショウガ、ミョウガに原病徴が再現された。またナス科植物などに対する病原性については、ジャガイモなど数種植物を、接種後3週間以内に激しく萎凋、枯死させた。トマトに対する病原性は、品種あるいは菌株間で反応が異なる場合があり、全身萎凋することは少なかった。またピーマンやナスにおいても萎凋は顕著ではなく、維管束の褐変や植物体の矮小化に止まった。タバコには病原性を示さず、葉組織への細菌液の注入により過敏反応(HR)が誘起された。一方、対照に用いたトマト、ナスおよびジャガイモなどに由来する在来系統菌株(レース1, レース3)は、いずれもショウガ科植物に対して病原性を示さず、両者の病原性に顕著な違いが示された(表-2)。これらの病原性試験の結果と海外における報告との比較検証に基づく結果から、今回のショウガ科植物青枯病菌はレース4(DENNY and HAYWARD, 2001)と判定され、我が国で初めての存在が確認された。

3 新規系統の遺伝的類縁関係

高知県で発生したショウガ科植物の青枯病菌系統について、在来系統(レース1, レース3)と外国産レース4ほかとの遺伝的類縁関係を明らかにするために、16S

rDNA, *hrpB*, および *endoglucanase* の各遺伝子の塩基配列、並びに *rep*-PCR (BOX, REP, ERIC プライマー) に基づく多型解析による遺伝系統の判別を行った(HORITA and TSUCHIYA, 2001; TSUCHIYA et al., 2005; VILLA et al., 2005)。その結果、今回のショウガ科植物青枯病菌は、いずれもアジア系統を主体とする Division 1 (TAGHAVI et al., 1996) または Phylotype I (FEGAN and PRIOR, 2005; VILLA et al., 2005) のグループに類別された。また上記3種の反復配列遺伝子用プライマーを用いた *rep*-PCR による DNA フィンガープリント解析では、ショウガ科由来菌株の DNA パターンは、在来のトマト・ナス由来系統(レース1) またはジャガイモ系統(レース3)の DNA パターンとはいずれも異なった(図-1)。さらに今回の新規系統には二つの DNA パターン(Box-I 型, Box-II 型)が認められ、I 型はタイ由来のショウガおよびクルクマ菌株と、また II 型は中国およびオーストラリア由来のショウガ菌株と、それぞれの DNA パターンが一致した(図-2)。*rep*-PCR 解析に基づいて作成されたデンドログラムから、各国産ショウガ科植物青枯病菌の遺伝的類縁関係が明らかになり、タイ産および日本産のショウガ科植物菌株からなる A グループ (BOX-

表-1 ショウガ科植物青枯病菌分離株の生理型

	日本 (34)	タイ (16)	インドネシア (26)	オーストラリア	中国
マルトース	-	6+/10-	22+/4-	-	-
ラクトース	-	6+/10-	22+/4-	-	-
セロピオース	-	6+/10-	22+/4-	-	-
マニトール	+	+	18+/8-	+	+
ソルビトール	+	+	18+/8-	+	+
ズルシトール	+	+	18+/8-	+	+
生理型 (biovar)	bv4	bv3/4	bv3/4	bv4	bv4

()内の数字は供試菌株数。+ : 酸を産生する, - : 酸を産生しない。

表-2 ショウガ科青枯病菌系統および在来系統の病原性

検定植物	病原力 (萎凋程度)		
	レース4 (ショウガ科由来)	レース1 (トマト, ナス由来)	レース3 (ジャガイモ由来)
トマト	0~中	中~強	0~弱
ナス	弱~中	中~強	0
ピーマン	弱~中	中~強	0
タバコ	HR	弱~中 (HR)	0
ジャガイモ	弱~強	弱~中	中~強
クルクマ	弱~強	0~弱	-
ショウガ	中~強	0	0
ミョウガ	中~強	0	0

HR : 過敏反応, - : 試験せず。

I型含む)と、中国産、オーストラリア産、インドネシア産、タイ産および日本産のショウガ由来菌株からなるBグループ (BOX-II型含む)の二つに大別された(図-2)。

以上の結果から、高知県で発生したショウガ科植物青枯病菌は、病原性に加えて遺伝的特性からも、これまで我が国で報告された各種青枯病菌系統とは異なること、およびそれらはタイおよび中国由来のショウガ科青枯病菌とそれぞれ密接に関連する外来性系統から構成される

ことが明らかになった。

これら rep-PCR 解析において異なる二つの系統 (I型, II型)の寄生性は若干異なり, I型がショウガ, ミョウガ, およびクルクマに同等の病原力を示すのに対し, II型では特にショウガに対する病原力が強かった。このことは、後述するように現在までの同県における各系統の伝播と各植物での病害発生との密接な関係を説明するものと推察された。

III 新規系統の侵入と伝播

前章までに述べたように、1995年以來、高知県で発生したショウガ科植物青枯病の原因は、細菌学的性質、病原性および遺伝的類縁関係の解析結果から、2種類の外来性レース系統によることが明らかになった。そこで、病害の発生状況に基づき、当該系統の由来と高知県への侵入および伝播経路について分子生態学的見地から考察を加えた(図-3)。

すなわち、BOX-PCR I型系統 (A群に含まれる)は、1995年以前にクルクマを通じてタイより侵入し、その後、ショウガ、ミョウガおよびクルクマを相互に宿主としながら定着、伝播し、その後の被害拡大に関わったものと推定された。一方、BOX-PCR II型系統 (B群に含まれる)は、1997年前後に中国経由でショウガを通じて侵入し、これまでショウガのみを宿主としながら、I型系統とは異なる経路で伝播、定着を果したものと推定された。

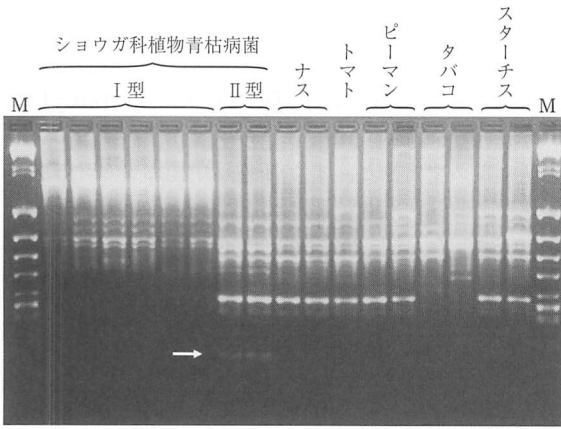


図-1 ショウガ科植物青枯病菌と高知県産各種青枯病菌の rep-PCR による DNA パターンの比較 (プライマー: BOX)
M (マーカー): λ /HindIII + ϕ X174/HincII.

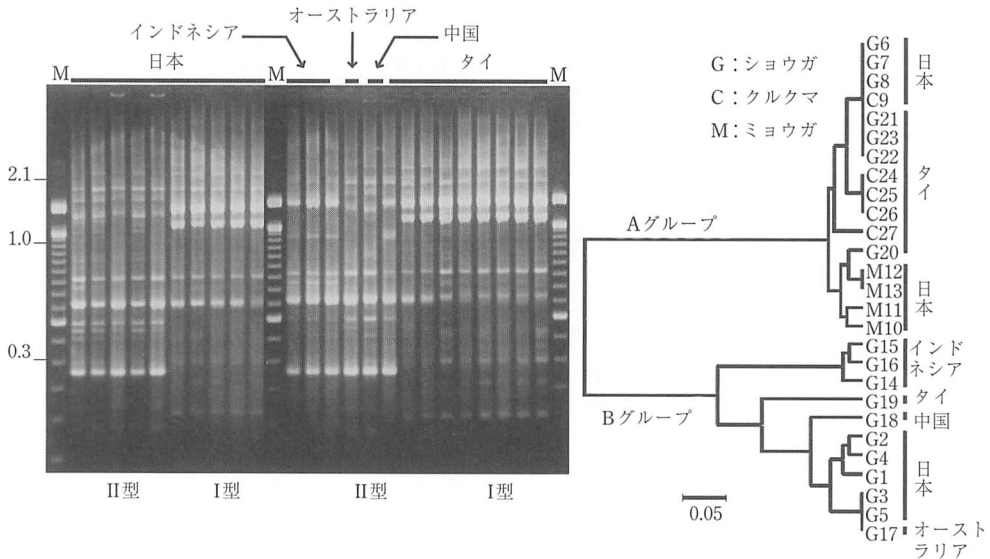


図-2 rep-PCR (BOX プライマー) 解析による各国産ショウガ科植物青枯病菌の DNA パターンと遺伝的類縁関係を示す dendrogram

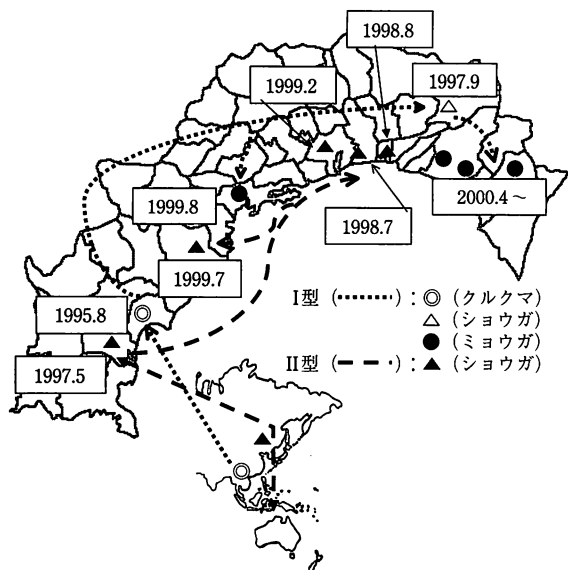


図-3 高知県におけるショウガ科植物青枯病の発生と推定される外来系統の侵入・伝播の経路

ところで、II 型系統群の対照菌株の一つであるオーストラリア産菌株は、1957 年ごろに中国から侵入した系統であり (HAYWARD, 私信), 今回、我々の試験においても両者の類縁関係が確認できた。オーストラリアでは、その後 10 年余りの根絶対策により、1970 年代以降本病の発生は皆無とのことである。過日、HAYWARD 博士と会談した際に、同系統が数十年を経て日本で見出されたことに感慨を表されたことであった。

おわりに

我が国では、これまで 40 種を超える植物において青枯病の報告があるが、単子葉植物での発生例は少なく (土屋ら, 2000), 新たに 3 種のショウガ科植物において主産地である高知県で発生し、少なからぬ被害をもたらしたことは重要である。また同系統が、在来のレース 1 およびレース 3 系統とは寄生性と異なり、我が国初確認となるレース 4 であることが判明した。さらに国内外菌

株との各種遺伝子の塩基配列に基づく遺伝的類縁関係や rep-PCR 法による多様性解析の結果から、それぞれタイおよび中国に由来する二つの遺伝的背景をもつ外来性系統であると結論づけられた (土屋ら, 2005)。これら新規の病原系統は、今日の農業生産体系におけるグローバル化、すなわち海外での種苗生産、および逆輸入などが増加する状況下、潜在感染した根茎などが導入された結果として、不測の病原菌の侵入、そしてその後独立した経路により最適の宿主を通じて定着・伝播を続けながら現在に至ったものと推察される。

これまでに、上記二つの系統を含むショウガ科青枯病菌 (レース 4) を特異的に検出できる PCR 用 DNA プライマー (HORITA et al., 2004) および特異抗体 (土屋ら, 1999) が作製されている。今後、これらを活用した配布用種子根茎をはじめ、周辺雑草や灌漑水などを含む保菌源についてモニタリング調査を行うことにより、高知県内の青枯病未発生地域、さらには隣県ほかへの分布拡大を監視することが必要と思われる。

引用文献

- 1) DENNY, T. P. and A. C. HAYWARD (2001): Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd ed. (SCHAAD, N. W. et al., eds.), APS Press, p. 151 ~ 174.
- 2) FEGAN, M. and P. PRIOR (2005): Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex (ALLEN, C. et al., eds.), APS Press, p. 449 ~ 461.
- 3) HAYWARD, A. C. (1994): Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum* (HAYWARD, A. C. and G. L. HARTMAN, eds.), CAB International, p. 9 ~ 24.
- 4) ——— et al. (1967): J. Agric. Anim. Sci. 24: 1 ~ 5.
- 5) HORITA, M. and K. TSUCHIYA (2001): Phytopathology 91: 399 ~ 407.
- 6) ——— et al. (2004): J. Gen. Plant Pathol. 70: 278 ~ 283.
- 7) 森田泰彰ら (1996): 四国植防 31: 1 ~ 6.
- 8) TAGHAVI, M. et al. (1996): Int. J. Syst. Bacteriol. 46: 10 ~ 15.
- 9) 土屋健一ら (1999): 日植病報 65: 363.
- 10) ———ら (2000): 植物防疫 54: 87 ~ 92.
- 11) TSUCHIYA, K. et al. (2005): Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex (ALLEN, C. et al., eds.), APS Press, p. 463 ~ 469.
- 12) 土屋健一ら (2005): 日植病報 71: 292.
- 13) VILLA, J. E. et al. (2005): J. Gen. Plant Pathology 71: 39 ~ 46.
- 14) 矢野和孝ら (2002): 日植病報 68: 94.
- 15) ———ら (2005): 同上 71: 179 ~ 182.