

キウイフルーツかいよう病菌の多様性

農業生物資源研究所 ^{さわ}澤 ^だ田 ^{ひろ}宏 ^{ゆき}之
 愛媛県農林水産部 ^{たか}孝 ^{のり}典
 愛媛県農林水産研究所 ^{しみず}清 ^{みず}水 ^{しん}伸 ^{いち}一
 農研機構 果樹研究所 ^{なかうね}中 ^{りょうじ}良二 ^{ふじかわ}藤川 ^{たかし}貴史

はじめに

キウイフルーツはマタタビ科マタタビ (*Actinidia*) 属に属しており、果肉特性の違いなどに基づいて、いわゆる「緑色果実品種」の *A. deliciosa* (代表的な品種として‘ヘイワード’などがある) と、「黄・赤色果実品種」の *A. chinensis* (‘Hort16A’や‘レインボーレッド’等) とに種レベルで分けて扱われることが多い。*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* は、このうちの *A. deliciosa* にかいよう病を引き起こす病原細菌として1980年代前半に TAKIKAWA et al. (1989) によって初めて見いだされ、新 pathovar として記載された。また筆者らは、我が国で従来までに分離されてきた菌株の多くが、病原因子であるファゼオロトキシンの産生遺伝子群を保持していることを見いだしてきた (SAWADA et al., 1997; 1999; 三好ら, 2012; 澤田ら, 2014)。

ところで、かいよう病は近年、世界各地で急速に分布を拡大しており、*A. chinensis* と *A. deliciosa* のいずれにおいても大きな問題となっている。特に2009～11年の3年間に新たに発生が確認された国は8か国にのぼるとされ、発生国は現時点(2014年8月)で少なくとも12か国に達している。このような急速な分布の拡大は、まさに「パンデミック」レベルであると考えられている (CHAPMAN et al., 2012; SCORTICHINI et al., 2012)。

このように広範囲に分布している病原菌を対象として網羅的に多様性解析が実施された結果、四つの系統 (Psa1～4) に類別できることが明らかになってきた (CHAPMAN et al., 2012; SCORTICHINI et al., 2012)。また、2013年には我が国において、これら既知の系統とは異なる新規の系統 (Psa5) が見いだされたところである (澤田ら, 2014)。さらに、2014年5月以降、日本各地で

Psa3 に起因するかいよう病の発生が認められるようになり、枝幹部からの樹液の漏出や新梢の枯れ込み等の激しい症状が報告されている (農林水産省 編, 2014)。

以上のような状況を踏まえたうえで、本稿では、最近著しく研究が進んでいる「かいよう病菌の多様性」に焦点を絞って解説を試みた。すなわち、多様性解析に基づく本菌の類別パターン (I章)、類別された各系統の特徴 (II章)、および本菌の起源 (III章) に関して、これまでに論文などで報告されてきた研究成果を紹介したい。今後、疫学研究や同定・検出技術の開発などを進めるうえでの参考となれば幸いである。なお、我が国における Psa1 の発生状況や、諸外国における最新の研究動向に関しては、既に本誌に総説が発表されている (篠崎・清水, 2014; 瀧川, 2014)。

I かいよう病菌の類別

1 ゲノムの可塑性

かいよう病菌のゲノムは可塑性に富んでおり、後述するようにファゼオロトキシンの産生遺伝子群を、外部からの水平移動を通じて獲得してきたことが明らかになっている (SAWADA et al., 1997; 1999; 2002; GENKA et al., 2006)。さらに最近になって、プラスミドやゲノミックアイランド (細菌の染色体上に存在する外来性の遺伝因子の1種) の保有パターンや、エフェクター (III型分泌装置によって分泌される病原因子) をコードしている遺伝子群の構成パターンを、水平移動やゲノム再編成を通じてダイナミックに変化させてきたことが、様々な視点に基づくゲノム比較によって明らかとなってきた (MARCELLETTI et al., 2011; CHAPMAN et al., 2012; BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013 等)。このようにゲノムの可塑性が高いことから、本菌は高い環境適応能力を発揮することができるものと考えられている (SCORTICHINI et al., 2012)。

2 MLSA による類別

上記のように変異に富んだ本菌を、遺伝的な類縁性に基づいて整理することを目指して、様々な手法に基づく多様性解析が試みられてきた。このうち、CHAPMAN et

Diversity of Pathogens Causing Kiwifruit Bacterial Canker. By Hiroyuki SAWADA, Takanori MIYOSHI, Shinichi SHIMIZU, Ryoji NAKAUNE and Takashi FUJIKAWA

(キーワード: キウイフルーツ, かいよう病, MLSA グループ, ゲノミックアイランド, ファゼオロトキシン, エフェクター, ICE)

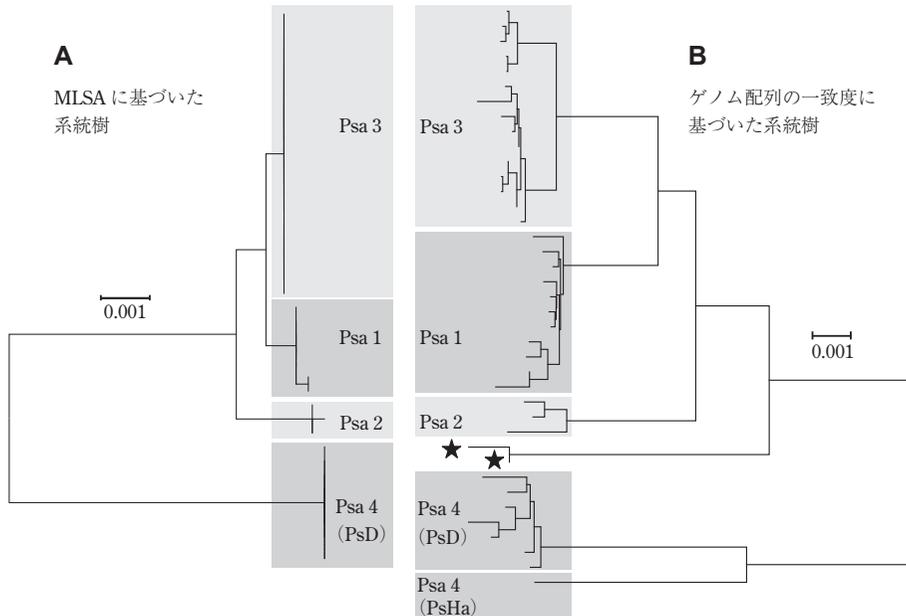


図-1 MLSA (A) およびゲノム配列の一致度 (B) に基づいて作成したキウイフルーツかいよう病菌の系統樹

A: 七つの必須遺伝子 (*acnB*, *cts*, *gapA*, *gyrB*, *hfk*, *hgi* および *rpoD*) の部分配列データをすべて連結したうえで、最尤法に基づいて系統樹を作成した。

B: 39 個のゲノム配列 (かいよう病菌: 37 個, *pv. theae*: 2 個) を対象として、ゲノム配列の組合せごとに共通領域における塩基の一致度を網羅的に算出し、得られた値の平均 (Average Nucleotide Identity; ANI) を求めたうえで、近隣結合系統樹を作成した。 *pv. theae* は★で示してある。

なお、A と B では供試菌株が一部異なることに注意が必要である。特に、Psa4 (PsHa) と *pv. theae* のデータは、MLSA 系統樹には入っていない。

(澤田, 未発表)

al. (2012) は、必須遺伝子やエフェクター遺伝子を指標として MLSA (MultiLocus Sequence Analysis) を行っている。その結果、本菌は四つの MLSA グループ (Psa1 ~ 4) へと類別できることが明らかとなった (図-1 A には、七つの必須遺伝子を用いた場合の MLSA の解析例 (澤田, 未発表) を示した)。

本菌が大きく四つのグループに類別できることは、MLSA だけでなく SNP 解析でも確認されている (McCANN et al., 2013)。また筆者は、現時点で公開されているかいよう病菌のゲノム配列 37 個と、近縁とされているチャヤ焼病菌 (*P. syringae* *pv. theae*) の 2 個のゲノム配列を用い、配列の一致度に基づいて系統樹の構築を試みた。その結果、得られたゲノム系統樹 (図-1 B) の類別パターンは、MLSA 系統樹 (図-1 A) と一致することが確認できた (澤田, 未発表)。したがって、図-1 の A や B に示した類別パターンは、かいよう病菌における多様性の実態を捉えていると考えてもよさそうである。

なお、このうちの Psa4 は、その系統樹上の位置づけ

が他の三つの MLSA グループ (Psa1 ~ 3) とはやや離れており、両者の間に *pv. theae* が割り込んでくることが報告されている (CHAPMAN et al., 2012; BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013)。同様な傾向は、ゲノム系統樹でも確認することができた (図-1 B では *pv. theae* を★で示してある)。これらの結果は、かいよう病菌と *pv. theae* が遺伝的に極めて近縁であることを示している。

ところで、かいよう病菌の多様性解析は上記以外にも様々な視点に基づいて試みられてきており、多くの場合、それぞれの類別パターンは互いに一致している。しかし、類別された系統に対する命名方法は統一されておらず、研究者ごとにバラバラな名称が用いられているのが実情である (表-1 にはそのうちの代表的なもののみを示した) (MARCELLETTI et al., 2011; CHAPMAN et al., 2012; BUTLER et al., 2013; VANNESTE et al., 2013 等)。そこで、本稿では混乱を避けるために、CHAPMAN et al. (2012) が示した命名規則に従い、各 MLSA グループを「Psa1, 2, 3, 4」と表記することにした (表-1; 図-1)。

II 類別された各系統の特徴

1 Psa1 (ファゼオロトキシン産生系統)

(1) Psa1 はファゼオロトキシンを産生する

これまで我が国で分離されてきたかいよう病菌は、非特異的毒素の1種である「ファゼオロトキシン」を産生することが認められてきた (SAWADA et al., 1997; TAMURA et al., 2002; 三好ら, 2012)。このような日本産のファ

ゼオロトキシン産生系統は, CHAPMAN et al. (2012) の類別において明瞭な単系統群を形成することから (図-1), 一つのグループとしてまとめられ, 「Psa1」と命名されている (表-1)。

ファゼオロトキシンはアルギニン生合成にかかわる酵素の働きを阻害するため, 宿主の感染部位ではアルギニンが欠乏することになる。その結果として, 葉の病斑の周囲に黄色いハローが形成される (病徴発現), 新梢や

表-1 MLSA グループ間の表現型・遺伝型の違い^{a)}

MLSA グループ ^{b)}	各グループ の別名 ^{c)}	分布が確認されている 国 ^{d)}	表現型		遺伝型		
			蛍光色素 の産生	アピ 20NE ^{e)}	ファゼオロ トキシン 産生遺伝子群 ^{f)}	コロナチン 産生遺伝子群 ^{g)}	当該グループにのみ特異的 に存在していると考えられ るエフェクター遺伝子 ^{h)}
Psa1	Psa-J, biovar 1	日本, (イタリア) ⁱ⁾	-	0047451	+	-	<i>hopH3</i>
Psa2	Psa-K, biovar 2	韓国	-	0047441, 0047451	-	+	-
Psa3 ^{j)}	Psa-V, biovar 3	イタリア, フランス, ニュージーランド, チ リ, 中国, ポルトガル, スペイン, オーストラ リア, スイス, 韓国, 日本	-	0047451	-	-	<i>hopH1, hopZ5, hopAM1-2, hopAA1-2</i>
Psa4 ^{k, l)}	Psa-LV, biovar 4	ニュージーランド, オ ーストラリア, フラン ス	+~W	0447451	-	-	<i>hopO1, hopT1, hopS1, hopAB3, hopF1, hopE1, hopAF1-2</i>
Psa5	-	日本 (佐賀県)	+	0443451	-	-	NT

^{a)} MLSA グループ間で異なることとされている表現型・遺伝型のうち, 代表的なものを示した (TAKIKAWA et al., 1989; 三好ら, 2012; VANNESTE et al., 2013; McCANN et al., 2013; 澤田ら, 2014; FERRANTE and SCORTICINI, 2014; CUNTY et al., 2014 等)。+ : 陽性; - : 陰性; W : 弱陽性, NT : 未検査。

^{b)} CHAPMAN et al. (2012) の命名規則に基づいて各 MLSA グループを表記した。

^{c)} 各 MLSA グループには様々な別名がある (MARCELLETTI et al., 2011; CHAPMAN et al., 2012; BUTLER et al., 2013; VANNESTE et al., 2013 等)。本欄にはそのうちの代表的なもののみを示した。

^{d)} トルコでもかいよう病の発生が確認されているが (BASTAS and KARAKAYA, 2012), 病原菌がどの MLSA グループに属するのかが明らかにされていないので, 本欄には示していない。トルコを加えると, 本病の発生国は現時点 (2014年8月) で少なくとも12か国に達している。

^{e)} アピ20NE (シスメックス・ピオメリュー) を用いて27℃のもとで検査を行い, 培養3日目の判定結果をもとにプロファイル番号を算出した (澤田ら, 2014; 未発表)。なお, Psa2, 4については供試菌株数が少ないので, さらなる検証が必要である。

^{f)} 図-2 B に示した四つの遺伝子 (*amtA, desI, argD, argK*) のいずれかを標的としてPCRを行えば, ファゼオロトキシン産生遺伝子群 (*argK-tox* クラスター) の存否を確認することができる。プライマーの情報は既報 (三好ら, 2012; 澤田ら, 2014) に示した。

^{g)} CFLF/CFLR プライマーセットを用いて, コロナチン産生遺伝子群の存否を確認することができる (三好ら, 2012; 澤田ら, 2014)。

^{h)} McCANN et al. (2013) の報告に基づく。なお, エフェクター遺伝子の名称は研究者によって表記が異なる場合があるので, 注意が必要である。

ⁱ⁾ イタリアでは現在, Psa1 は検出されなくなったと考えられている (SCORTICINI et al., 2012; CAMERON and SAROJINI, 2014)。

^{j)} 保持している ICE の種類に基づいて, Psa3 はさらに細分されている (表-2)。なお, この表ではそれら派生系統の性状をまとめて示してある。

^{k)} BUTLER et al. (2013) や CUNTY et al. (2014) の MLSA 解析によって, Psa4 に相当する菌群がさらに四つの系統に分かれることが明らかとなった (図-1 B のゲノム系統樹にはそのうちの二つを示した)。なお, この表ではそれらの系統の性状をまとめて示してある。

^{l)} CUNTY et al. (2014) によって, Psa4 を *pv. actinidifoliorum* として独立させることが提案された。

結果母枝における萎凋・枯死の程度が激化する（枝に対する病原力の増強）といった影響が出るとされている。そのため、ファゼオロトキシンは、病原因子の一つとして病気の成立に寄与していると考えられている（TAMURA et al., 2002；三好ら, 2012）。

（2）水平移動によるファゼオロトキシン産生遺伝子群の拡散と Psa1 の誕生

Psa1 の染色体上には、ファゼオロトキシン産生にかかわる多数の遺伝子群が集積した領域（*argK-tox* クラスター）が存在している（図-2 B においてグレーで示した部分）。筆者らは、この *argK-tox* クラスターが「ゲノミックアイランド」の一部であり、水平移動によって他の細菌から Psa1 へと侵入してきたことを示唆する証拠を得てきた（SAWADA et al., 1997；1999；2002；GENKA et al., 2006）。このことを踏まえて、このゲノミックアイランドを「*tox island*」と命名したところである（GENKA et al., 2006）。*tox island* が水平移動によって *P. syringae* 群細菌へと分布を拡大し、Psa1 が誕生するまでの流れを、現在までにわかってきたことをもとに整理すると以下の

ようになる。

① *tox island* はもともと、*Pseudomonas* 以外の細菌の染色体上に存在していたと思われる。

② その後、「Psa1 の祖先」の菌体内へと水平移動によって侵入し、その染色体へと挿入された（図-2 A 下側の Psa1 の染色体において、黒塗りの四角で示した部分）。

③ *tox island* の侵入を受けた Psa1 は、*argK-tox* クラスター（図-2 B のグレーで示した部分）の働きによってファゼオロトキシンを産生する能力を獲得した。

④ その結果として Psa1 は、キウイフルーツに顕著な病徴を誘導する病原細菌として認識され、記載されるに至ったと考えられる。

なお、*tox island* の左側境界付近には、チロシンリコンビナーゼ（部位特異的組換え酵素の 1 種。ゲノミックアイランドやファージの切り出し・挿入に関与する。）をコードする遺伝子が三つタンデムに存在していることが確認できた（図-2 B の黒で示した部分）。したがって、これらの組換え酵素が、Psa1 の染色体へ *tox island* が挿

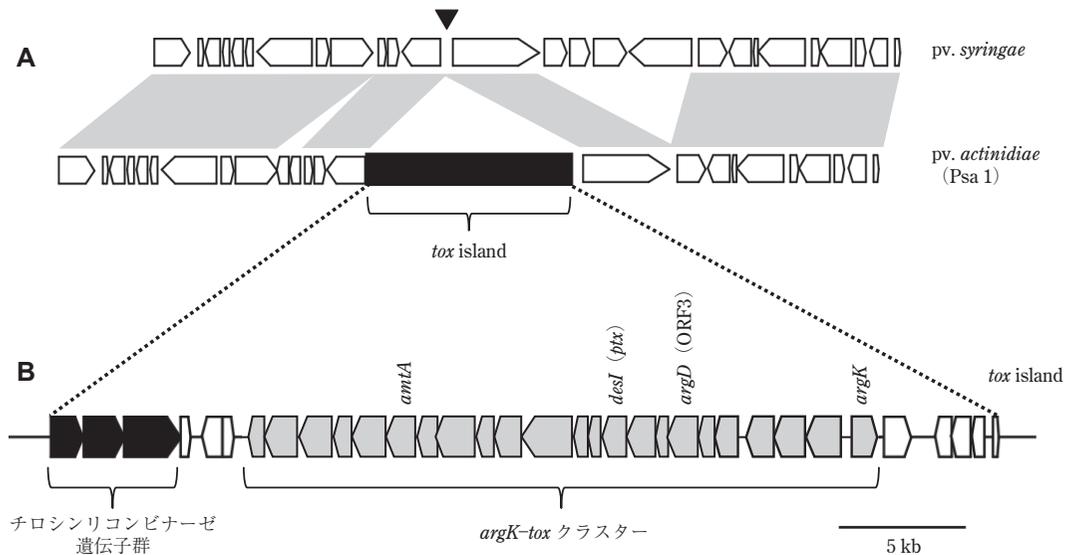


図-2 Psa1 の染色体における *tox island* の挿入部位付近の構造

A: Psa1（下側），および、近縁の *pv. syringae*（上側）における、当該領域の遺伝子構成を模式的に示した。ホモログの関係にある遺伝子同士は、グレーボックスで結んである。Psa1 における黒塗りの四角で示した部分が、染色体に挿入された *tox island*（約 38 kb）である。一方、*pv. syringae* における相同な部位（黒塗りの矢尻で示した）には、*tox island* のようなゲノミックアイランドは挿入されていない。

B: *tox island* の構造を詳細に示した。グレーで示した部分が *argK-tox* クラスター（約 23 kb）に相当する。*tox island* の左側境界付近には、3 個のチロシンリコンビナーゼ遺伝子がタンデムに並んでいる（黒で示した部分）。なお、*tox island* の両端には 4 塩基（*cgta*）の重複が存在している（図には示していない）。また、*argK-tox* クラスターの PCR 検出（表-1）（三好ら, 2012；澤田ら, 2014）において、標的として利用されることの多い四つの遺伝子の名称を示したが、このうちの *ptx* と ORF3 は、最近ではそれぞれ *desI* と *argD* と表記されることが多い。

（GENKA et al., 2006 を改変）

入される過程に関与したのであろうと思われる (GENKA et al., 2006)。

一方、近縁の *pv. syringae* では、染色体の相同な位置 (図-2 A 上側の黒塗りの矢尻で示した部位) に、*tox island* のようなゲノミックアイランドは挿入されていないことが認められた。また、図-2 A には示していないが、同じく近縁の *pv. tomato* では、*tox island* とは全く異なる別のゲノミックアイランドが、*tox island* と相同な位置に挿入されていることが確認できた (GENKA et al., 2006)。したがって、この黒塗りの矢尻で示した部位は、ゲノミックアイランドのような可動性遺伝因子が染色体に挿入される際のホットスポットとして機能している可能性がある。

(3) Psa1 の分布

1980年ころに静岡県で *A. deliciosa* に症状が認められたのが、キウイフルーツかいよう病の最初の発生事例と考えられている (芹澤, 1986)。その後、1984年に同県で多発したことを契機に TAKIKAWA et al. (1989) によって病原学的研究が開始され、Psa1 の特性が詳しく明らかにされた。なお、Psa1 はこれまで *A. deliciosa* と *A. arguta* (サルナシ) から検出されていたが (牛山, 1993)、近年、*A. chinensis* からも見いだされている (篠崎・清水, 2014)。

我が国以外では、イタリアでも1992年に *A. deliciosa* でかいよう病が発生し、その原因菌として Psa1 が検出されている。ただし、いったんは検出された Psa1 がイタリアに定着することはなく、その後、後述する Psa3 に置き換わってしまったとされているようである (SCORTICHINI et al., 2012; CAMERON and SAROJINI, 2014)。したがって、現時点で Psa1 による被害が問題となっているのは、我が国のみであると考えられている (McCANN et al., 2013; BALESTRA et al., 2013)。日本とイタリアの間で発生経過に大きな差異が生じたのは、気候や栽培条件の違いが影響している可能性が指摘されている (SCORTICHINI et al., 2012; CAMERON and SAROJINI, 2014)。

2 Psa2 (コロナチン産生系統)

韓国では1988年に *A. deliciosa* においてかいよう病の発生が初めて認められた (KOH et al., 1994)。その原因菌は病原因子として「コロナチン」を産生するという特徴があり (HAN et al., 2003)、系統的にも特異な位置を占めることから (図-1)、CHAPMAN et al. (2012) によって独立したグループ (Psa2) としてまとめられた (表-1)。コロナチン産生に関連する遺伝子群は、プラスミド上に存在していることが認められている (HAN et al., 2003)。なお、Psa2 は今のところ韓国でのみ検出されており、*A.*

deliciosa と *A. chinensis* のいずれにも大きな被害を与えている。

3 Psa3 (パンデミックの原因菌)

(1) Psa3 の特徴と世界における分布

Psa3 については、ファゼオロトキシンやコロナチンの産生にかかわる遺伝子群を持っていないこと、エフェクター遺伝子のレパートリーに特徴のあること (表-1)、系統的な位置づけも特異的であること (図-1) が明らかにされてきている (MARCELLETTI et al., 2011; CHAPMAN et al., 2012; McCANN et al., 2013)。

Psa3 は近年における「かいよう病のパンデミック」の中で、主役として猛威をふるってきたとされている (MARCELLETTI et al., 2011; CHAPMAN et al., 2012; SCORTICHINI et al., 2012)。すなわち、Psa3 は2008年にイタリア中部で初めて見いだされたが、その後、数年のうちにイタリア全土へと分布を広げている。さらにその後、イタリア以外の各国でも分布が確認されるようになり、現在では我が国も含めて少なくとも11か国で存在が認められるに至っている (表-1) (KOH et al., 2012; CHAPMAN et al., 2012; SCORTICHINI et al., 2012; BALESTRA et al., 2013; CAMERON and SAROJINI, 2014)。これらの国々で分離された Psa3 は遺伝的な均一性が高いことも、Psa3 が短期間のうちに急速に分布を広げたことを示していると考えられている (CHAPMAN et al., 2012)。

さらに、その後に行われた比較ゲノム解析の結果をもとに、Psa3 の誕生は「過去10～数十年以内に起こったイベント」である可能性が指摘されている (MAZZAGLIA et al., 2012; BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013)。また、Psa3 の集団内では、誕生後の短い期間内にさらに分化が起こっており、複数の派生系統が生まれて各地へと伝搬していったことが明らかになりつつある。すなわち、これらの派生系統は、それぞれ異なる integrative conjugative element (ICE: 宿主の染色体から切り出された後、接合によって他の細菌へと水平伝達されるタイプのゲノミックアイランド) を、各自の染色体上に保持していることが認められている (表-2) (BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013)。なお、これらの ICE や、それを保持している病原菌に対して、研究者によって様々な呼称がなされているので注意が必要である (表-2)。本稿では以後、BUTLER et al. (2013) に基づいて ICE の表記を行っている。

これまでに Psa3 からは6種類の ICE (Pac_ICE1, 2, 3, 5, 6, 7) が見いだされている (POULTER et al., 2013)。このうち、特に解析が進んでいる3種類の ICE (Pac_ICE1, 2, 3) (表-2) は、いずれもサイズが100 kb ほど

表-2 Pac_ICE1, 2, 3の比較^{a)}

	各ICEや、それを保持している病原菌に対して用いられている呼称 ^{b)}			分布が確認されている国 ^{c)}	染色体における挿入部位 ^{d)}
	BUTLER et al. (2013) による ICE の呼称	McCANN et al. (2013) による ICE の呼称	BALESTRA et al. (2013) による病原菌の呼称		
1	Pac_ICE1	Pacific Island	Chinese group	中国, ニュージーランド	<i>att-1</i>
2	Pac_ICE2	Mediterranean Island	European group	イタリアをはじめとするヨーロッパ諸国, 中国	<i>att-2</i>
3	Pac_ICE3	Andean Island	ND	チリ	<i>att-2</i>

^{a)} Psa3 からはこれまでに6種類のICE (Pac_ICE1, 2, 3, 5, 6, 7) が見いだされている (POULTER et al., 2013). ここには、そのうちの特に解析が進んでいる3種類のICEを示した.

^{b)} それぞれのICE, および、それを保持している病原菌に対して、研究者によって異なる呼称がなされている. ここにはそのうちの主なものを示した. なお、本文中ではBUTLER et al. (2013) の表記を用いている. ND, 未定義.

^{c)} BUTLER et al. (2013), McCANN et al. (2013), BALESTRA et al. (2013) に基づく.

^{d)} ICE が染色体に挿入される際、挿入の標的としてリジン tRNA 遺伝子が利用されている. Psa3 にはリジン tRNA 遺伝子が2コピー存在しており、各コピーにおけるICEの挿入部位は、それぞれ「*att-1*」、「*att-2*」と呼称されている (BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013).

あり、リジン tRNA 遺伝子を標的として染色体に挿入されていることが明らかとなっている (BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013). なお、Psa3 の染色体上にはリジン tRNA 遺伝子が2コピーあり、それぞれ *clpB* 近傍と *exsB* 近傍に存在している. 前者におけるICEの挿入部位は「*att-1*」、後者では「*att-2*」と呼称されている. そして、Pac_ICE2 と Pac_ICE3 は *att-2* に挿入されているが、Pac_ICE1 はもう一方の *att-1* に挿入されていることが認められている (表-2) (BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013).

Psa3 で見いだされたこれらのICEは、Psa3 の染色体から自らを切り出し、環状化する能力を今も維持していることが確認されている (BUTLER et al., 2013). したがって、これらのICEは、他の細菌へと水平移動する能力を現在もなお保持し続けているのではないかと、という疑問がわいてくる. 前述のように多数の分化型が存在しているICEが、もし今後もさらに水平移動するようなことがあると、本菌の多様化により一層拍車がかかることもあり得るかもしれない.

なお、ICEの内部からは、Psa3 の代謝に影響を与える可能性のある遺伝子群が見いだされている (BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013). また、最近になって、キウイフルーツの葉に毒性を示す代謝産物がPsa3 の培養濾液から検出されている (ANDOLFI et al., 2014). さらに、Psa3 には、エフェクター遺伝子群の構成が他系統とはかなり異なっているという特徴もある. しかも、これらエフェクター遺伝子群の中には、トランスポゾン、プラスミド、ゲノミックアイランド等の可動性遺伝因子の内部や近傍に存在しており、水平移動や様々なタイプのゲ

ノム再編成を通じて獲得、改変、あるいは破壊されてきた可能性が指摘されているものもある (McCANN et al., 2013). Psa3 で認められつつあるこれらの特徴の中から、Psa3 の誕生やその後のパンデミックをもたらした要因を探し出すための研究が、今後、精力的に進められていくものと思われる.

(2) 日本での発生

2014年5月以降、日本各地の *A. chinensis* と *A. deliciosa* において、Psa3 に起因するかいよう病が見いだされつつある. 今のところ愛媛、福岡、佐賀、岡山、和歌山、静岡、茨城の7県で発生が確認されている (農林水産省編, 2014). Psa1 の場合に比べて被害程度がより大きいとの指摘もあり、地域によっては深刻な問題となっている. 現在、国内における発生状況の詳細な調査や、防除技術の開発等が精力的に進められている.

4 Psa4 (弱病原性系統)

Psa4 は今のところニュージーランド、オーストラリア、フランスで分布が確認されている (表-1). 弱病原性であり、葉に斑点は形成するものの、枝幹に顕著な被害をもたらすことはないとされている (VANNESTE et al., 2013; CUNTY et al., 2014; FERRANTE and SCORTICINI, 2014).

Psa4 はファゼオロトキシンやコロナチン産生にかかわる遺伝子を持っておらず、エフェクター遺伝子群の構成も他のMLSAグループとはかなり異なっている (表-1) (CHAPMAN et al., 2012; McCANN et al., 2013; FERRANTE and SCORTICINI, 2014). また、様々な表現型や系統的な位置づけに関しても、他グループとの間に相違が認められている (表-1; 図-1) (VANNESTE et al., 2013; FERRANTE and SCORTICINI, 2014). さらに、宿主範囲に関しても違いが

見いだされることから、Psa4は新規の pathovar として独立させ、*pv. actinidiae*とは別扱いしたほうが適当ではないかと考えられるようになり (FERRANTE and SCORTICINI, 2014), *pv. actinidifoliorum*として提案された (CUNTY et al., 2014)。

なお、BUTLER et al. (2013)は、多数の Psa4 菌株を供試した上で、CHAPMAN et al. (2012)とは異なる配列データを用いて MLSA を行ったところ、Psa4 がさらに二つ (PsD と PsHa) に細分されることを明らかにしている。ゲノム系統樹 (図-1 B) でも同様な傾向、すなわち、Psa4 が PsD と PsHa とに分離することがはっきりと確認できる。また、最近になりフランス産の菌株も加えて、さらに大規模な解析が行われた結果、二つの新規系統が見いだされ、Psa4 が合計四つ (L1 ~ 4) に類別できることが報告された (CUNTY et al., 2014)。このうち L1 が PsD, L3 が PsHa に相当するとされている。

5 Psa5 (日本で発見された新系統)

佐賀県北部地域では 2010 年ころから、かいよう病と思われる症状が *A. chinensis* に発生していた。筆者らが 2012 ~ 13 年にかけてこれらの症状を病原学的に調査したところ、既知のかいよう病菌とは異なる病原細菌が見いだされた。すなわち、この分離菌はファゼオロトシキンやコロナチンの産生遺伝子群を保持しておらず、しかも、それ以外の病原因子の保有パターンや各種の表現型 (表-1)、系統樹上の位置づけ (図-3) に関しても、既知の MLSA グループ (Psa1 ~ 4) のいずれとも異なることが判明した。そのため、この分離菌を「Psa5」と命名し、新規の MLSA グループとして取り扱うことを提案したところである (澤田ら, 2014)。

なお、Psa5 は当初 *A. chinensis* から見いだされたが、その後、周辺に植栽されている *A. deliciosa* にもかいよう病が発生しており、そこからも Psa5 が原因菌として検出されることが判明した (澤田ら, 未発表)。ただし、*A. chinensis* と *A. deliciosa* の被害程度を達観評価で比較すると、*A. deliciosa* のほうが軽微のようである。

また、同様に達観評価ではあるが、Psa5 に起因するかいよう病の発生園を、Psa1 や Psa3 の発生園と比較してみると、Psa5 による被害程度のほうが軽いようである。なお、今のところ佐賀県北部地域以外では Psa5 は見いだされていない。

III かいよう病菌の起源

かいよう病菌はどこで生まれ、どこでこのように多様化してきたのであろうか? 本章では、この問題に関連して今までに推測されてきたことを簡単に紹介してみたい。

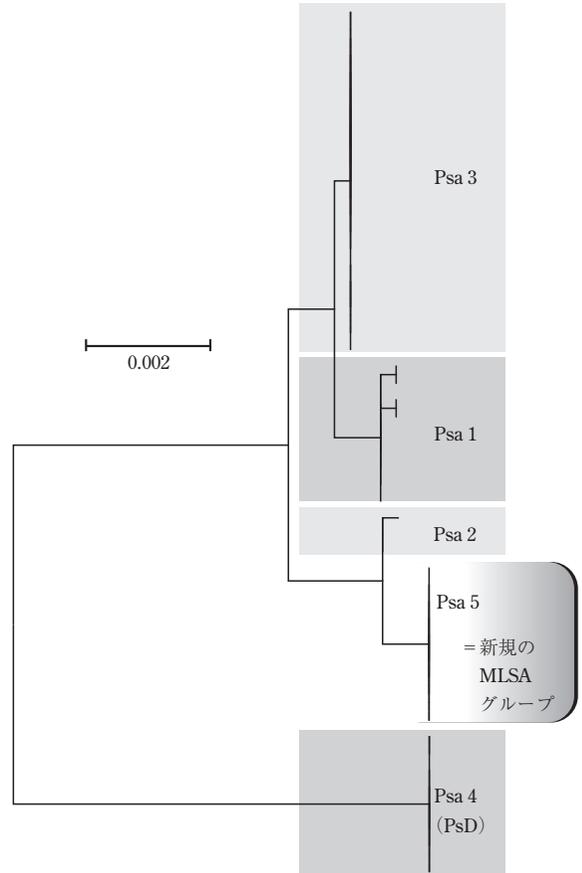


図-3 MLSA 系統樹における Psa5 の位置づけ

Psa5 と既知の MLSA グループ (Psa1 ~ 4) との関係 を明らかにするために、図-1 A で用いた七つの必須 遺伝子の連結データに Psa5 のデータを加えたうえで、最尤系統樹を構築した。

(澤田ら, 2014 を改変)

まず、本菌はマタタビ (*Actinidia*) 属植物の表面上に表生菌として定着する能力を有していると考えられている。また、各 MLSA グループ内部では遺伝的な均一性が高いのに対し、グループ間では差が比較的大きく、系統樹上で各グループがはっきりと独立すること (図-1)、グループごとにエフェクター遺伝子群をはじめとする病原性関連遺伝子の構成が大きく異なること (表-1) が明らかにされている。その一方で、異なる MLSA グループの間で、過去に遺伝子交換が行われていたことを示唆する証拠が得られている。これらの情報と、病気の伝搬の歴史とを考慮することによって、病原菌の起源に関して以下のような仮説が提唱されている (MAZZAGLIA et al., 2012; SCORTICINI et al., 2012; BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013; POULTER et al., 2013)。

すなわち、東アジア一帯に広く自生している *Actinidia* 属植物の植物体上には、多様性に富んだ *P. syringae* 群細菌の集団が定着しており、このような表生菌の集団がかいよう病菌を生み出した「source population」として機能してきた可能性が指摘されている。また、前述したように本菌はゲノムの可塑性が高いため、環境適応能力に富んでいるものと考えられている。したがって、東アジアに分布している巨大かつ多様性・可塑性の高い source population の中から、各 MLSA グループの起源となるクローンがそれぞれ独立に誕生し、グループとして成立するとともに分布を拡大していったのではないかと、この推測がなされている。チャの病原菌である *pv. theae* と本菌が極めて近縁であること (図-1 B)、チャと *Actinidia* 属植物がいずれもアジアに由来するとされていることも、この仮説を支持する傍証として考えられているようである (McCANN et al., 2013)。なお、特に *Psa3* については、ICE に関する解析結果も加味することによって、中国が起源ではないかとの推測がなされている (BUTLER et al., 2013; POULTER et al., 2013)。

おわりに

ここまで紹介してきたように、かいよう病菌はゲノムの可塑性が高く、多様性に富んだ菌群であることが明らかとなってきた。しかも、東アジア一帯の *Actinidia* 属植物に分布していると考えられている「source population」の中には、未知の系統がさらに潜んでいる可能性も否定できないとされている (McCANN et al., 2013)。

一方で、本菌が潜在感染・混入した苗、穂木、花粉等が流通することによって、国をまたいでかいよう病が伝搬されてきたことが疑われている (SCORTICINI et al., 2012; CAMERON and SAROJINI, 2014)。そして、未発生地域へと本菌が伝搬された後、好適な栽培条件や気象条件と出会うことによって、かいよう病が各地で爆発的に発生するに至ったのではないかと推測がなされている (SCORTICINI et al., 2012; FERRANTE and SCORTICINI, 2014)。また、本菌はゲノムの可塑性が高いことから、伝搬先においてさらに適応的な変異が起り、それが被害をより深刻なものにしている可能性も指摘されている (BUTLER et al., 2013; McCANN et al., 2013)。

このような病害に対処するには、薬剤防除、耕種の防除や耐病性育種にかかわる研究開発とともに、病原菌の判別・検出技術を確立することが重要ではないだろうか。すなわち、pathovar・系統レベルの所属が簡便に判別できれば、本病を対象とした大規模な疫学調査を行う

ことが可能となり、当該地域にどのような系統が分布しているのかを把握したうえで、その系統に適した防除対策が迅速に実施できるであろう。また、苗・穂木・花粉等から、本菌のあらゆる系統をもれなく検出することができれば、汚染した資材が本病の未発生地域へと持ち込まれるのを防ぐことが可能となり、本菌の分布拡大が阻止できるようになるかもしれない。

ただし、信頼性の高い手法を確立するためには、本稿で述べてきたような病原菌の多様性の実態をさらに詳細に解析し、各系統の表現型・遺伝型を様々な面から明らかにする必要がある。そして、系統間で共通して認められる保存性の高い特性、あるいは、特定の系統でのみ特異的に見いだされる特性を選び出し、それらを判別・検出指標として活用できるようにすることが今後の課題であろう。

謝辞 数々のご助言を賜った瀧川雄一教授(静岡大学)に対し、深く感謝いたします。

引用文献

- ANDOLFI, A. et al. (2014): J. Plant Pathol. 96: 169 ~ 176.
- BALESTRA, G. M. et al. (2013): Plant Dis. 97: 472 ~ 478.
- BASTAS, K. K. and A. KARAKAYA (2012): ibid. 96: 452.
- BUTLER, M. I. et al. (2013): PLoS ONE 8: e57464.
- CAMERON, A. and V. SAROJINI (2014): Plant Pathol. 63: 1 ~ 11.
- CHAPMAN, J. R. et al. (2012): Phytopathology 102: 1034 ~ 1044.
- CUNTY, A. et al. (2014): Plant Pathol. (Doi: 10.1111/ppa.12297)
- FERRANTE, P. and M. SCORTICINI (2014): ibid. (Doi: 10.1111/ppa.12236)
- GENKA, H. et al. (2006): J. Mol. Evol. 63: 401 ~ 414.
- HAN, H. S. et al. (2003): Journal of Microbiology and Biotechnology 13: 110 ~ 118.
- KOH, Y. J. et al. (1994): Korean Journal of Plant Pathology 10: 68 ~ 72.
- et al. (2012): Plant Pathology J. 28: 423 ~ 427.
- MARCELLETTI, S. et al. (2011): PLoS ONE 6: e27297.
- MAZZAGLIA, A. et al. (2012): ibid. 7: e36518.
- McCANN, H. C. et al. (2013): PLoS Pathog 9: e1003503.
- 三好孝典ら (2012): 日植病報 78: 92 ~ 103.
- 農林水産省編 (2014): キウイフルーツかいよう病の新系統 (Psa3系統) (<http://www.maff.go.jp/j/syoutan/syokubo/gaicyu/siryout2/index.html>), 農林水産省, 東京 (参照 2014 年 8 月 7 日)。
- POULTER, R. et al. (2013): PSA 2013 Abstract and Programme Book, PSA 2013, New Zealand, p. 26.
- SAWADA, H. et al. (1997): Appl. Environ. Microbiol. 63: 282 ~ 288.
- et al. (1999): J. Mol. Evol. 49: 627 ~ 644.
- et al. (2002): ibid. 54: 437 ~ 457.
- 澤田宏之ら (2014): 日植病報 80: 171 ~ 184.
- SCORTICINI, M. et al. (2012): Mol. Plant Pathol. 13: 631 ~ 640.
- 芹澤拙夫 (1986): 植物防疫 40: 390 ~ 394.
- 篠崎 毅・清水伸一 (2014): 同上 68: 255 ~ 258.
- TAKIKAWA, Y. et al. (1989): Ann. Phytopath. Soc. Japan 55: 437 ~ 444.
- 瀧川雄一 (2014): 植物防疫 68: 567 ~ 572.
- TAMURA, K. et al. (2002): Physiol. Mol. Plant Pathol. 60: 207 ~ 214.
- 牛山欽司 (1993): 神奈川園試研報 43: 1 ~ 76.
- VANNESTE, J. L. et al. (2013): Plant Dis. 97: 708 ~ 719.