

Pseudomonas syringae pv.coronafaciensによるライムギかさ枯病の発生

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	篠原,弘亮 月星,隆雄 門田,育生 西山,幸司 對馬,誠也
発行元	日本植物病理學會
巻/号	69巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 136-139
発行年月	2003年5月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Pseudomonas syringae pv. *coronafaciens* によるライムギかさ枯病の発生

篠原 弘亮^{1*}・月星 隆雄¹・門田 育生²・西山 幸司¹・對馬 誠也¹

ABSTRACT

SHINOHARA, H.^{1*}, TSUKIBOSHI, T.¹, KADOTA, I.², NISHIYAMA, K.¹ and TSUSHIMA, S.¹ (2003). Bacterial halo blight, a new disease of rye caused by *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*. Jpn. J. Phytopathol. 69: 136-139.

A new bacterial blight with halo was found on leaves of rye (*Secale cereale* L.) in Tsukuba, Japan in April 1998. The bacterium isolated from the lesions of the leaves was pathogenic to rye and oats, but not to rice. The causal bacterium was elucidated as a pathovar of *Pseudomonas syringae* on the basis of bacteriological properties. In addition, *tabA*-specific bands were detected from these isolates by PCR with *tabA*-specific primers. From these results, the causal bacterium was identified as *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*, and the name "bacterial halo blight" was proposed for the disease.

(Received September 11, 2002; Accepted November 28, 2002)

Key words: bacterial halo blight, *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*, rye, *Secale cereale*.

1998年4月、茨城県つくば市で栽培されていたライムギ (*Secale cereale* L., 品種: ペトクーザ)の葉に黄色のハローを伴う斑点を生ずる細菌病の発生が認められた (Fig. 1A). 発生状況は、前年11月中旬に播種されたライムギ栽培圃場で、葉にかさ枯症状が散見される程度であった。ライムギでは *Xanthomonas campestris* pv. *cerealis* (Hagborg 1942) Dye 1978 による条斑細菌病⁹⁾ の発生が知られているが、本病とは明らかに病徴が異なっている。そのため、本病の病原細菌を明らかにする目的で研究を行い、*Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* (Elliott 1920) Young et al. 1978 による新病害であることを明らかにしたので報告する。

病徴 葉に、はじめ小さな水浸状斑点として現れ、しだいに中心部が壊死し、その周囲が黄化して退緑するかさ枯症状を呈した。病斑の大きさは、ハローを含めて5~20 mmの円形から楕円形であった (Fig. 1B)。壊死部からは顕微鏡下で細菌が漏出した。

病原細菌の分離および簡易同定 病斑部を滅菌蒸留水中で磨砕し、磨砕液を普通寒天平板に画線培養し、2~3日目に優占的に出現した白色・円形・全縁・丘状のコロニーを釣菌した。分離細菌6菌株は簡易同定96¹²⁾ による検査

で、API プロフィールが0447451, MUC プロフィールが1340となった。LOPAT 試験⁸⁾ は + - - - + となり Ia 群に類別された。分離源植物と病徴および簡易同定96と LOPAT 試験の結果を総合すると、分離細菌は *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* (Elliott 1920) Young et al. 1978, *P. s.* pv. *atropurpurea* (Reddy & Godkin 1923) Young et al. 1978 あるいは *P. s.* pv. *oryzae* Kuwata 1985 の可能性が高いと推測された。

接種試験 分離細菌3菌株をライムギ (品種: ハルミドリ)、エンバク (*Avena sativa* L., 品種: 前進) およびイネ (*Oryza sativa* L., 品種: コシヒカリ) に接種した。対照には *P. s.* pv. *coronafaciens* (MAFF 301314, 分離源: エンバク) と *P. s.* pv. *oryzae* (MAFF 301529^{PT}, 分離源: イネ) を用いた。供試細菌は PPGA¹⁰⁾ で2日間培養後、滅菌蒸留水にけん濁して約 10⁸ cfu/ml に調整し、植物体が完全に細菌けん濁液で湿るまで噴霧した。接種植物は、25°Cの湿室に24時間おいた後、ガラス温室に移して7日間観察した。分離細菌3菌株は、ライムギに原病徴と同様の病徴を呈し、イネには病原性を示さなかった。このうち2菌株はエンバクにも小さな褐色の斑点を形成した。*P. s.*

¹ 農業環境技術研究所 (〒305-8604 つくば市観音台3-1-3) National Institute for Agro-Environmental Sciences, Tsukuba 305-8604, Japan

² 農業技術研究機構東北農業研究センター (〒960-2156 福島市荒井字原宿南50) National Agricultural Research Organization, National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Fukushima 960-2156, Japan

* Corresponding author (E-mail: hirosuke@affrc.go.jp)

1999年4月、日本植物病理学会関東部会において口頭発表した。

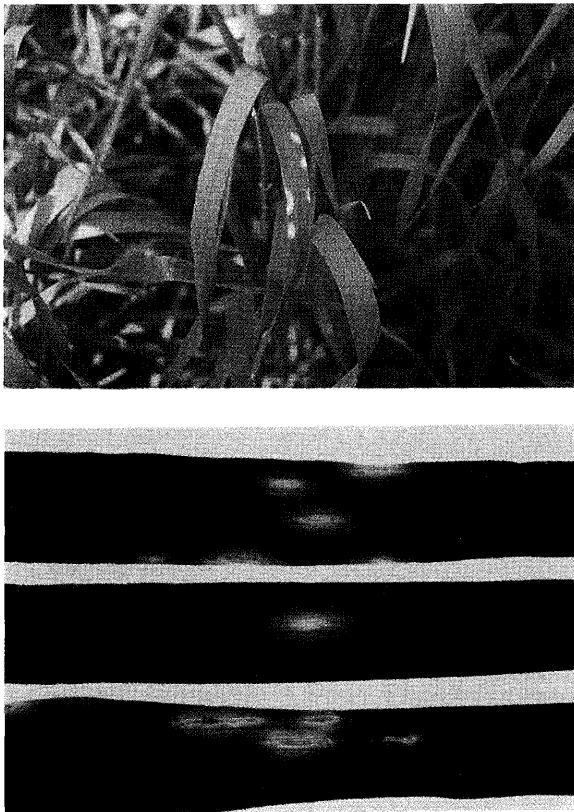


Fig. 1. Symptoms of bacterial halo blight on rye.

A. Lesions with haloes on leaves in field after natural infection.

B. Lesions with haloes on the leaves after artificial inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*.

pv. *coronafaciens* は、エンバクにハローを伴う病斑を多数形成し、ライムギにハローを伴う病斑を少数形成したが、イネには病原性を示さなかった。 *P. s. pv. oryzae* はイネ、ライムギおよびエンバクにハローを伴う病斑を形成した。

細菌学的性質 分離細菌のうちの4菌株に *P. s. pv. coronafaciens* (MAFF 301314), *P. s. pv. atropurpurea* (MAFF 301017^{PT}) および *P. s. pv. oryzae* (MAFF 301529^{PT}) の3菌株を加え、52項目の細菌学的性質を調査した^{4-7, 11)}。分離細菌は、グラム陰性で O-F 試験は O 型を示し、緑色蛍光色素を産生し、40°C 下での生育、アルギニンジヒドロラーゼ活性およびオキシダーゼ活性は陰性、スクロースを利用し、L-酒石酸を利用しなかった。その他の性質は、Table 1 に示すとおりであった。分離細菌と対照株の細菌学的性質はよく似ており、とくに、 *P. s. pv. coronafaciens* (MAFF 301314) と *P. s. pv. oryzae* (MAFF 301529^{PT}) では、すべての調査項目が一致した。

毒素産生関連遺伝子の検出 ライムギの病斑に大きなハローがあることから、毒素の生産が予測された。イネ科を

宿主とする細菌では *P. s. pv. coronafaciens* がタブトキシンを、 *P. s. pv. atropurpurea* などがコロナチンを生産することが知られている。タブトキシンの生産関連遺伝子として *tabA* 遺伝子³⁾ が、コロナチンの生合成に関わる遺伝子として *cfl* 領域¹⁾ が知られているので、それぞれを特異的に増幅する PCR プライマー¹³⁾ を用いて毒素遺伝子の検出を行った。その結果、分離細菌6菌株からは、 *tabA* に特異的な約 1,100 bp の断片が増幅され、 *cfl* の増幅は見られなかった。対照株の *P. s. pv. coronafaciens* (MAFF 301314) と *P. s. pv. oryzae* (MAFF 301529^{PT}) からは *tabA* のみが検出され、 *P. s. pv. atropurpurea* (MAFF 301017^{PT}) からは *cfl* のみが検出された。

病原細菌の同定 分離細菌は、ライムギに病原性を示し、原病徴と同様のハローを伴う病斑を形成し、一部の分離細菌はエンバクにも病原性を示した。簡易同定の結果、分離源植物および病徴から、分離細菌は *P. s. pv. coronafaciens*, *P. s. pv. oryzae* または *P. s. pv. atropurpurea* の可能性が高いと推定されたので、それらを対照に加えて52項目の細菌学的性質を調査したところ、前二者の対照菌株とよく一致した。つぎに、毒素生産関連遺伝子を調査した。タブトキシン生産関連遺伝子である *tabA* は分離細菌、 *P. s. pv. coronafaciens* および *P. s. pv. oryzae* から検出された。宿主植物を比較すると、分離細菌と *P. s. pv. coronafaciens* は、ライムギとエンバクであり、 *P. s. pv. oryzae* はイネ、ライムギおよびエンバクであった。これとは別に、1920年にエンバクかさ枯病を研究した際、Elliott²⁾ は、本病と同様の病徴を示すライムギからも細菌を分離し、 *Bacterium coronafaciens* (現在の *P. s. pv. coronafaciens*) と同定している。以上から、分離細菌を *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* (Elliott 1920) Young, Dye & Wilkie 1978 と同定した。

病名 ライムギかさ枯病 (英名: Bacterial halo blight) を提案する。

引用文献

1. Bereswill, S., Bugert, P., Volksch, B., Ullrich, M., Bender, C.L. and Geider, K. (1994). Identification and relatedness of coronatine producing *Pseudomonas syringae* pathovars by PCR analysis and sequence determination of the amplification products. Appl. Environ. Microbiol. 60: 2924-2930.
2. Elliott, C. (1920). Halo-blight of oats. J. Agric. Res. 19: 139-172.
3. Engst, K. and Shaw, P.D. (1992). Identification of a *lysA*-like gene required for tabtoxin biosynthesis and pathogenicity in *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* strain PTBR2.024.

- Mol. Plant-Microbe Interact. 5: 322-329.
4. 後藤正夫・瀧川雄一 (1984). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (1). 植物防疫 38: 339-344.
 5. 後藤正夫・瀧川雄一 (1984). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (2). 植物防疫 38: 385-389.
 6. 後藤正夫・瀧川雄一 (1984). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (3). 植物防疫 38: 432-478.
 7. 後藤正夫・瀧川雄一 (1984). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (4). 植物防疫 38: 479-484.
 8. Lelliott, R.A., Billing, E. and Hayward, A.C. (1966). A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. Appl. Bact. 29: 470-489.
 9. 日本植物病理学会 (2000). 日本植物病名目録. p. 19, 日本植物防疫協会, 東京.
 10. 西山幸司 (1978). 植物病原細菌簡易同定法の試案. 植物防疫 32: 283-288.
 11. 西山幸司 (1981). ライグラス類かさ枯病細菌における病原性関連物質に関する研究. 農技研報 C35: 1-55.
 12. 西山幸司 (1996). パソコンを用いた植物病原細菌同定システム「簡易同定96」の使い方. 農環研資 19: 1-24.
 13. 篠原弘亮・森脇丈治・門田育生・西山幸司 (1999). *Pseudomonas syringae* の各種 pathotype strain におけるコロナチン生産能. 日植病報 65: 629-634.

Table 1. Bacteriological characteristics of the strains used in this study

Characteristic	Present isolates <i>n</i> = 4	<i>P.s. pv. coronafaciens</i> MAFF 301314	<i>P.s. pv. oryzae</i> MAFF 301529 ^{PT}	<i>P.s. pv. atropurpurea</i> MAFF 301017 ^{PT}
Gram reaction	—	—	—	—
Catalase	+	+	+	+
Oxidase	—	—	—	—
Yellow colonies	—	—	—	—
Motility	+	+	+	+
O-F test	O	O	O	O
Fluorescent pigment	+	+	+	—
Hydrolysis of:				
Esculin	+	+	+	—
Tween 80	+	+	+	+
Margarine	—	—	—	—
Levan production	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	—	—	—	—
Nitrate reduction	—	—	—	—
Tyrosinase activity	+	+	+	+
Lecithinase activity	—	—	—	—
Growth at 40°C	—	—	—	—
Liquefaction of gelatin	+	+	+	+
Soft rot activity on potato	—	—	—	—
Voges-Proskauer reaction	—	—	—	—
Methyl red test	—	—	—	—
Production of :				
Indole	—	—	—	—
Hydrogen sulfide	—	—	—	—
2-keto gluconate	—	—	—	—
3-keto lactose	—	—	—	—
Utilization of asparagine as a sole source of carbon and nitrogen	+	+	+	+
Tobacco hypersensitivity reaction	+	+	+	+
Acid production from:				
Glucose	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	+
D-Arabinose	—	—	—	—
Galactose	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+
Rhamnose	—	—	—	—
Ribose	+	+	+	—
Melibiose	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Maltose	—	—	—	—
Lactose	—	—	—	—
Trehalose	—	—	—	—
Cellobiose	—	—	—	—
Melezitose	—	—	—	—
Raffinose	—	—	—	—
Glycerol	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+
Dextrin	—	—	—	—
Starch	—	—	—	—
Utilization of :				
L-Tartrate	—	—	—	—
D-Tartrate	—	—	—	—
Citrate	+	+	+	+
Malonate	+	+	+	+

PT, pathotype strain; +, positive; —, negative