

Pseudomonas syringaeの各種pathotype strainにおけるコロナチン生産能

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 森脇,丈治 門田,育生 西山,幸司
発行元	日本植物病理學會
巻/号	65巻6号
巻号補足	
掲載ページ	p. 629-634
発行年月	1999年12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 の各種 pathotype strain における コロナチン生産能*

篠原 弘亮**・森脇 丈治**・門田 育生**・西山 幸司**

Hirosuke SHINOHARA**, Jouji MORIWAKI**, Ikuo KADOTA** and Koushi NISHIYAMA** :
Ability of Pathotype Strains of *Pseudomonas syringae* to Produce Coronatine

Abstract

Production of the phytotoxin coronatine was investigated among *Pseudomonas syringae* pathovars using 55 bacterial strains including 46 pathotype strains. To detect production of coronatine, a bioassay was performed using potato tuber. The presence of the *cfl* gene, one of the coronatine-production genes, was also detected by PCR. As a result, we found new producers of coronatine in six pathotype strains of six pathovars of *P. syringae* pv. *aesculi*, pv. *berberidis*, pv. *cannabina*, pv. *coronafaciens*, pv. *ulmi* and pv. *zizaniae* in addition to five pathovars of pv. *atropurpurea*, pv. *glycinea*, pv. *maculicola*, pv. *morsprunorum* and pv. *tomato* which had been previously reported as producers. One of these bacteria, *P. syringae* pv. *coronafaciens* is known to be a tabtoxin producer. In the pathotype strain, however, the PCR product of a portion of *tabA*, which is one of the tabtoxin production genes, was not detected, in spite of the detection of that PCR product in seven other strains of the same pathovar. Furthermore, the pathotype strain did not form lesions on oats in a way similar to that mentioned in the original description, while the other seven strains did. Because the pathotype strain (MAFF 302257=ICMP 3113) does not exhibit generally recognized characteristics of the pathovar for pathogenicity and toxin production, strain MAFF 302257 (=ICMP 3113) is not suitable as the pathotype.

(Received August 2, 1999 ; Accepted September 24, 1999)

Key words : *Pseudomonas syringae* pathovars, coronatine, *cfl*, tabtoxin, *tabA*.

緒 言

植物病原細菌が代謝する種々の物質のうちのある種のは、病斑の形成に関与しているものと推察される。コロナチンは、細菌が生産する毒素で、ライグラス類かさ枯病を引き起こす *Pseudomonas syringae* pv. *atropurpurea* の培養濾液から最初に分離された¹²⁾。また、コロナチンの生産は *P. s.* pv. *maculicola*¹³⁾, pv. *morsprunorum*^{8,13)}, pv. *glycinea*¹⁰⁾, pv. *tomato*⁹⁾ からも見いだされている。コロナチンの稀薄溶液を処理したイタリアンライグラス葉はかさ枯病斑に類似した葉斑を生じること、*P. s.* pv. *atropurpurea* のコロナチン非生産菌株はイタリアンライグラスの組織内で増殖するが病斑を形成しないことから、イタリアンライグラスかさ枯病においては、コロナチンは病斑の形成に必須の毒素であるとされている¹²⁾。コロナチンには、宿主細胞に壊死を引き起こす作用のほかに、ジャガイモ塊茎細胞を肥大させる特異な生理活性¹²⁾がある。この生理活性を利用してコロナチン生産の有無が判定できるので、従来はジ

ャガイモ塊茎に検定細菌を濃厚に接種し、接種部位が肥大するものはコロナチン生産菌株、肥大しないものはコロナチン非生産菌株としてきた。ところが、*P. s.* pv. *glycinea* におけるコロナチン生産能の調査の過程で、上述の検査においてコロナチン非生産菌株と判定されたものの中にも培地中でコロナチンを生産する菌株のあることが判明した¹¹⁾。一方 Bereswill *et al.*¹⁾ は、コロナチンの生合成に関連する遺伝子として *cfl* 領域を報告した。コロナチンはコロナファシン酸とコロナミン酸がアミノ結合したもので、*cfl* 領域はこの結合に関与しているとされている。*cfl* 領域の有無は、この領域の一部を特異的に増幅するように設計されたプライマーを用いて PCR によって検出できる¹⁾。そこで本報では、従来からのジャガイモ塊茎を利用した生物検定法^{11,12)} でコロナチン生産能を調査するとともに、PCR によって *cfl* 領域を検出し、主として pathotype strain を用いて *P. syringae* の種内におけるコロナチン生産能の分布を調査した。

* 本研究の概要は平成 9, 10 年度日本植物病理学会大会で発表した^{14,15)}。

** 農業環境技術研究所 National Institute of Agro-Environmental Sciences, Kannondai, Tsukuba 305-8604, Japan

Table 1. Bacterial strains

Pathovar	MAFF ^{a)}	Host plant	Locality	Origin ^{b)}
<i>Pseudomonas syringae</i>				
pv. <i>aceris</i>	302273 ^{PT}	<i>Acer</i> sp.	USA	ATCC 10853
pv. <i>aesculi</i>	302251 ^{PT}	<i>Aesculus indica</i> Colebr.	India	ICMP 8947
pv. <i>antirrhini</i>	302252 ^{PT}	<i>Antirrhinum majus</i> L.	UK	ICMP 4303
pv. <i>apii</i>	302274 ^{PT}	<i>Apium graveolens</i> L. var. <i>dulce</i> (Mill.) Pers.	USA	ATCC 9654
pv. <i>aptata</i>	302253 ^{PT}	<i>Beta vulgaris</i> L.	USA	ICMP 459
pv. <i>atrofaciens</i>	302254 ^{PT}	<i>Triticum aestivum</i> L.	New Zealand	ICMP 4394
pv. <i>atropurpurea</i>	301017 ^{PT}	<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	Yamaguchi, Japan	
pv. <i>berberidis</i>	302255 ^{PT}	<i>Berberis</i> sp.	New Zealand	ICMP 4116
pv. <i>cannabina</i>	302256 ^{PT}	<i>Cannabis sativa</i> L.	Hungary	ICMP 2823
pv. <i>castaneae</i>	302088 ^{PT}	<i>Castanea crenata</i> Sieb. et Zucc.	Shiga, Japan	
pv. <i>ciccaronei</i>	302275 ^{PT}	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Italy	ATCC 33115
pv. <i>coronafaciens</i>	302257 ^{PT}	<i>Avena sativa</i> L.	UK	ICMP 3113
	301016	<i>Avena sativa</i> L.	Yamaguchi, Japan	
	301061	<i>Avena sativa</i> L.	Okayama, Japan	
	301314	<i>Avena sativa</i> L.	Ibaraki, Japan	
	302787	<i>Avena sativa</i> L.	Chiba, Japan	
	302788	<i>Avena sativa</i> L.	Chiba, Japan	
	302789	<i>Avena sativa</i> L.	Chiba, Japan	
	302790	<i>Avena sativa</i> L.	Chiba, Japan	
pv. <i>delphinii</i>	302258 ^{PT}	<i>Delphinium</i> sp.	New Zealand	ICMP 529
pv. <i>dysoxyl</i>	302276 ^{PT}	<i>Dysoxylum spectabile</i> (Forst. f.) Hook. f.	New Zealand	ATCC 19863
pv. <i>eriobotryae</i>	302259 ^{PT}	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	USA	ICMP 4455
pv. <i>garcae</i>	302277 ^{PT}	<i>Coffea arabica</i> L.	Brazil	ATCC 19864
pv. <i>glycinea</i>	302260 ^{PT}	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	New Zealand	ICMP 2189
pv. <i>helianthi</i>	302261 ^{PT}	<i>Helianthus annuus</i> L.	Mexico	ICMP 4531
pv. <i>japonica</i>	301072 ^{PT}	<i>Hordeum vulgare</i> L.	Tochigi, Japan	
pv. <i>lachrymans</i>	302278 ^{PT}	<i>Cucumis sativus</i> L.	USA	ATCC 7386
pv. <i>lapsea</i>	302263 ^{PT}	<i>Zea</i> sp.		ICMP 3947
pv. <i>maculicola</i>	302264 ^{PT}	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>botrytis</i> L.	New Zealand	ICMP 3935
	302783	<i>Brassica campestris</i> L.	Ibaraki, Japan	
pv. <i>mellea</i>	302304 ^{PT}	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Aomori, Japan	
pv. <i>mori</i>	302279 ^{PT}	<i>Morus alba</i> L.	Hungary	ATCC 19873
pv. <i>morsprunorum</i>	302280 ^{PT}	<i>Prunus domestica</i> L.		ATCC 19322
	302609	<i>Prunus avium</i> L.	UK	NCPPB 330
pv. <i>myricae</i>	301464 ^{PT}	<i>Myrica rubra</i> Sieb. et Zucc.	Okinawa, Japan	ATCC 33544
pv. <i>oryzae</i>	301529 ^{PT}	<i>Oryza sativa</i> L.	Aomori, Japan	
pv. <i>panici</i>	302281 ^{PT}			ATCC 19875
pv. <i>papulans</i>	302265 ^{PT}	<i>Malus domestica</i> Borkh.	Canada	ICMP 4048
pv. <i>passiflorae</i>	302266 ^{PT}	<i>Passiflora edulis</i> Sims.	New Zealand	ICMP 129
pv. <i>persicae</i>	302267 ^{PT}	<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	France	ICMP 5846
pv. <i>phaseolicola</i>	302282 ^{PT}	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Canada	ATCC 19304
pv. <i>philadelphii</i>	302268 ^{PT}	<i>Philadelphus coronarius</i> L.	UK	ICMP 8903
pv. <i>pisi</i>	302269 ^{PT}	<i>Pisum sativum</i> L.	New Zealand	ICMP 2452
pv. <i>primulae</i>	302294 ^{PT}	<i>Primula</i> sp.	USA	ATCC 19306
pv. <i>ribicola</i>	302295 ^{PT}	<i>Ribes aureum</i> Pursh.		ATCC 13456
pv. <i>savastanoi</i>	302283 ^{PT}	<i>Olea europaea</i> L.	Yugoslavia	ATCC 13522
pv. <i>sesami</i>	302284 ^{PT}		Yugoslavia	ATCC 19879
pv. <i>striaefaciens</i>	302296 ^{PT}			ATCC 10730
pv. <i>syringae</i>	302155 ^T	<i>Syringa vulgaris</i> L.	UK	ATCC 19310
pv. <i>tabaci</i>	302270 ^{PT}	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Hungary	ICMP 2835
pv. <i>tagetis</i>	302271 ^{PT}	<i>Tagetes erecta</i> L.	Zimbabwe	ICMP 4091
pv. <i>tomato</i>	302272 ^{PT}	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	UK	ICMP 2844
pv. <i>ulmi</i>	302286 ^{PT}	<i>Ulmus</i> sp.	Yugoslavia	ATCC 19883
pv. <i>viburni</i>	302287 ^{PT}	<i>Viburnum</i> sp.	USA	ATCC 13458
pv. <i>zizaniae</i>	302588 ^{PT}	<i>Zizania aquatica</i> L.	USA	ATCC 35023

a) MAFF : Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan.

b) ATCC : American Type Culture Collection, ICMP : International Collection of Micro-organisms from Plants, NCPPB : National Collection of Plant Pathogenic Bacteria.

T : Type strain, PT : Pathotype strain.

材料および方法

供試菌株 農林水産省微生物ジーンバンクに保存されている *P. syringae* に属する 46 pathovar 55 菌株を用いた。このうち 46 菌株は pathotype strain である (Table 1)。

コロナチン生産能の検定 ジャガイモ塊茎を用いる生物検定法は、前報¹¹⁾と同様に西山の方法¹²⁾に準じ、生菌体を直接塗布する方法と細菌培養液から得た抽出物を処理する方法とで行った。

1) 生菌体を直接塗布する方法 剥皮したジャガイモ塊茎を厚さ 7 mm 程度に輪切りにし、流水で 30 分間洗浄したものに、新鮮な培養細菌を塗布したのち針で数か所刺し、それを湿らせた濾紙を敷いたシャーレに入れて 25°C で 7 日間観察した。塊茎細胞が膨潤肥大し組織が隆起したものを陽性とした。

2) 細菌培養液からの抽出物を処理する方法 Woolley らの液体培地²⁰⁾ 150 ml に細菌を移植して 23°C で 5 日間振とう培養し、遠心分離 (12,000 rpm, 5 分間) によって得た上清を 1N 塩酸で pH3 に調整して酢酸エチルで 3 回抽出し、酢酸エチル層を減圧下で濃縮乾固し、アセトン 1.5 ml に溶解して 100 倍濃縮液とした。この濃縮液 20 μ l を直径 5 mm のペーパーディスクに吸収させ風乾したのち、剥皮したジャガイモ塊茎を厚さ 7 mm 程度に輪切りにした切片上に置き、その上に滅菌水 20 μ l を滴下し、それを湿らせた濾紙を敷いたシャーレに入れて 25°C で 7 日間観察した。塊茎細胞が膨潤肥大し組織が隆起したものを陽性とした。

PCR を用いたコロナチン生産関連遺伝子 (*cfl*) の検出 コロナチン生産関連遺伝子である *cfl* 領域¹⁾の有無を調査するために、この領域内の 650 bp 部位を特異的に増幅するプライマー対¹⁾ (5'-GGCGTCCCTCGCACTT-3', 5'-GGT-ATTGGCGGGGGTGC-3') を用いて PCR で検出した。PPGA 斜面に一晩培養した細菌の 1 白金耳を 1 ml の滅菌水に懸濁し、95°C で 5 分間加熱したものをテンプレートとした。反応には PCR Thermal Cycler MP (宝酒造) を使用し、DNA 変性 94°C 1 分、アニーリング 55°C 2 分、DNA 伸長 72°C 3 分を 1 サイクルとして 30 サイクル行った。PCR 反応後の溶液を 1% アガロースゲルで電気泳動し、増幅された断片を臭化エチジウムで染色し、紫外線照射下で検出した。

PCR を用いたタブトキシン生産関連遺伝子 (*tabA*) の検出 タブトキシン生産関連遺伝子は *P. s. pv. coronafaciens* ほか 12 pathovar の 19 菌株 (Table 2) について調査した。*P. s. pv. tabaci* の *tabA* の塩基配列⁶⁾から、この領域の一部 1157 bp を増幅するプライマー対 (5'-GTGCCA-ATATCCGAAAGCTTCG-3', 5'-GGATTTCACGAC-ATCGCCA-3') を設計して用いた。テンプレートの作製は *cfl* 領域を検出する場合と同様とし、反応は DNA 変性

94°C 30 秒、アニーリング 67°C 30 秒、DNA 伸長 72°C 1 分を 1 サイクルとして 30 サイクル行った。PCR 反応後の溶液を 1% アガロースゲルで電気泳動し、増幅された断片を臭化エチジウムで染色し、紫外線照射下で検出した。

接種試験 Table 2 に示す *P. s. pv. coronafaciens* 8 菌株と *P. s. pv. atropurpurea* 1 菌株を、播種 3 週間後のイタリアンライグラスとエンバクに噴霧接種した。細菌懸濁液は 10⁸ cfu/ml に調製し、展着剤として Tween 20 を 0.01% になるように加えた。接種後の植物は 18°C の湿室に 1 日間置いたのち 25°C に調節したガラス温室に移して、7 日間観察した。

結 果

コロナチン生産能の検定

生菌体を直接塗布する方法では *P. s. pv. atropurpurea*, *pv. cannabina*, *pv. glycinea*, *pv. tomato*, *pv. ulmi*, *pv. zizaniae* の各 pathotype strain および *P. s. pv. maculicola* (MAFF 302783), *pv. morsprunorum* (MAFF 302609) の計 8 菌株でジャガイモ塊茎組織の隆起が 3 日目から観察された。細菌培養液からの抽出物を処理する方法では合計 11 菌株で塊茎組織の隆起が観察された。それらは、生菌体を直接塗布する方法で組織の隆起が観察された 8 菌株に加えて、*P. s. pv. aesculi*, *pv. berberidis*, *pv. coronafaciens* の各 pathotype strain である (Table 2)。

PCR による *cfl* 領域の検出

cfl 領域は *P. s. pv. aesculi*, *pv. atropurpurea*, *pv. berberidis*, *pv. cannabina*, *pv. coronafaciens*, *pv. glycinea*, *pv. tomato*, *pv. ulmi*, *pv. zizaniae* の各 pathotype strain および *P. s. pv. maculicola* (MAFF 302783), *pv. morsprunorum* (MAFF 302609) の計 11 菌株から検出された (Table 2)。検出された PCR 産物はいずれも約 650 bp であった (Fig. 1)。

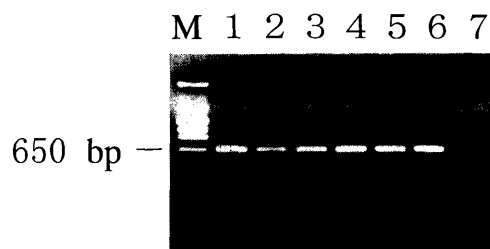


Fig. 1. PCR products (*cfl*) amplified from *Pseudomonas syringae* pathovars. Lane 1: *pv. atropurpurea* MAFF 301017^{PT}, Lane 2: *pv. aesculi* MAFF 302251^{PT}, Lane 3: *pv. berberidis* MAFF 302255^{PT}, Lane 4: *pv. cannabina* MAFF 302256^{PT}, Lane 5: *pv. ulmi* MAFF 302286^{PT}, Lane 6: *pv. zizaniae* MAFF 302588^{PT}, Lane 7: *pv. syringae* MAFF 802155^T, Lane M: DNA marker (pHY marker).

PCR による *tabA* 遺伝子の検出

tabA は *P. s. pv. tabaci* の pathotype strain と *P. s. pv. coronafaciens* の pathotype strain を除く 7 菌株の計 8 菌株

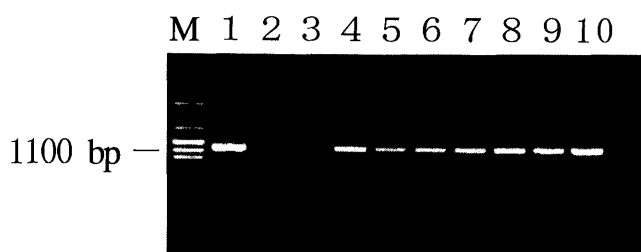


Fig. 2. PCR products (*tabA*) amplified from *Pseudomonas syringae* pathovars. Lane 1: *P. s. pv. tabaci* MAFF 302270^{PT}, Lane 2: *P. s. pv. atropurpurea* MAFF 301017^{PT}, Lane 3-10: *P. s. pv. coronafaciens*, Lane 3: MAFF 302257^{PT}, Lane 4: MAFF 301016, Lane 5: MAFF 301061, Lane 6: MAFF 301314, Lane 7: MAFF 302787, Lane 8: MAFF 302788, Lane 9: MAFF 302789, Lane 10: MAFF 302790, Lane M: DNA marker (pHY marker).

株から検出された (Table 2)。PCR 産物は予想された約 1100 bp であった。*P. s. pv. coronafaciens* の pathotype strain からは PCR 産物はまったく検出されなかった (Fig. 2)。

接種試験

P. s. pv. coronafaciens の 8 菌株はイタリアンライグラスに病原性を示さなかった。エンバクに対しては, pathotype strain は水浸状からやや赤味がかかったごく小さな褐点だけを生じ, pathotype strain を除く 7 菌株はすべて接種 5 日後までに中心が褐色の斑点でその周囲に大きなハローを伴う病斑を形成した。このハローを伴う病斑は, エンバクかさ枯病の原記載⁵⁾に示されている病徴に一致するものであった。*P. s. pv. atropurpurea* はイタリアンライグラスとエンバクに病原性を示した。イタリアンライグラスでは, 葉にはじめ大きさが 1~3 mm の水浸状の斑点が現れ, 接種 5 日後までに楕円形または不正形でチョコレート色の病斑を形成した。エンバクでは, 葉に赤味がかかった楕円形の病斑を 5 日までに形成した (Table 2)。

Table 2. Summarized results of bioassay for coronatine production, detection of portions of the genes related to coronatine production (*cfl*) and tabtoxin production (*tabA*) by PCR and pathogenicity test.

Strain		Bioassay for coronatine production ^{a)}		<i>cfl</i> ^{b)}	<i>tabA</i> ^{c)}	Pathogenicity ^{d)}	
		Treatment with living cells	Treatment with extracts from culture fluid			Oats	Italian ryegrass
<i>Pseudomonas syringae</i>							
pv. <i>aesculi</i>	MAFF 302251 ^{PT}	—	+	+	—	nt	nt
pv. <i>atropurpurea</i>	MAFF 301017 ^{PT}	+	+	+	—	+	+
pv. <i>berberidis</i>	MAFF 302255 ^{PT}	—	+	+	—	nt	nt
pv. <i>cannabina</i>	MAFF 302256 ^{PT}	+	+	+	—	nt	nt
pv. <i>coronafaciens</i>	MAFF 302257 ^{PT}	—	+	+	—	+	—
	MAFF 301016	—	—	—	+	+H	—
	MAFF 301061	—	—	—	+	+H	—
	MAFF 301314	—	—	—	+	+H	—
	MAFF 302787	—	—	—	+	+H	—
	MAFF 302788	—	—	—	+	+H	—
	MAFF 302789	—	—	—	+	+H	—
	MAFF 302790	—	—	—	+	+H	—
pv. <i>glycinea</i>	MAFF 302260 ^{PT}	+	+	+	—	nt	nt
pv. <i>maculicola</i>	MAFF 302264 ^{PT}	—	—	—	—	nt	nt
	MAFF 302783	+	+	+	nt	nt	nt
pv. <i>morsprunorum</i>	MAFF 302280 ^{PT}	—	—	—	—	nt	nt
	MAFF 302609	+	+	+	nt	nt	nt
pv. <i>tabaci</i>	MAFF 302270 ^{PT}	—	—	—	+	nt	nt
pv. <i>tomato</i>	MAFF 302272 ^{PT}	+	+	+	—	nt	nt
pv. <i>ulmi</i>	MAFF 302286 ^{PT}	+	+	+	—	nt	nt
pv. <i>zizaniae</i>	MAFF 302588 ^{PT}	+	+	+	—	nt	nt

a) + : Protrusions were observed on potato tuber segment and — : Not observed.

b) + : PCR product (650 bp) was detected and — : Not detected.

c) + : PCR product (1100 bp) was detected and — : Not detected.

d) + : Necrotic lesion was formed. +H : Necrotic lesion with halo was formed. — : No lesion formed.

nt : Not tested, PT : Pathotype strain.

考 察

コロナチン生産細菌として *P. s. pv. atropurpurea*¹²⁾, *pv. maculicola*¹³⁾, *pv. morsprunorum*¹³⁾, *pv. glycinea*¹⁰⁾ および *pv. tomato*⁹⁾ がすでに知られている。本研究においても、それらの pathovar に属する菌株からコロナチンの生産が確認された。これらに加えて、新たに *P. s. pv. aesculi*, *pv. berberidis*, *pv. cannabina*, *pv. coronafaciens*, *pv. ulmi* および *pv. zizaniae* の 6 pathovar の pathotype strain が *cfl* 領域を有し、かつ培地中でコロナチンを生産した。すなわち、コロナチン生産能は *P. syringae* に属する合計 11 pathovar に分布することが明らかになった。コロナチン生産能が新たに検出された pathovar によって生じる病斑の形状を調査すると、小褐点の周りに黄色帯（ハロー）を伴うもの（*P. s. pv. berberidis*^{3,18)}, *pv. coronafaciens*^{3,5)}）、水浸状斑を生じのちに褐色斑点となるもの（*P. s. pv. aesculi*^{3,4)}, *pv. cannabina*^{3,16)}, *pv. ulmi*³⁾）、褐色の条斑ができるもの（*P. s. pv. zizaniae*^{2,3)}）などさまざまであり、コロナチン生産能と生じる病斑との間に明瞭な関係は見られなかった。

P. s. pv. coronafaciens についてはタブトキシンを生産することが知られており⁷⁾、本実験において pathotype strain からコロナチンが検出されたことに疑問が生じる。そこで、その他の菌株についても調査したところ、*P. s. pv. coronafaciens* の pathotype strain を除く 7 菌株はいずれもジャガイモを用いる生物検定法でコロナチンを生産せず、*cfl* 領域も検出されなかった。そして、これらの 7 菌株からは、対照に用いた *P. s. pv. tabaci* の pathotype strain と同様にタブトキシシン生合成関連遺伝子 (*tabA*) の断片が検出された。接種試験の結果では、*P. s. pv. coronafaciens* はいずれもエンバクの上に病原性を示したが、pathotype strain と他の 7 菌株との間には病徴に違いが見られた。すなわち *P. s. pv. coronafaciens* の pathotype strain を除く 7 菌株によって生じる病斑が、*P. s. pv. coronafaciens* の原記載⁵⁾ およびその他のエンバクかき枯病の病徴記載^{17,19)} のそれに一致した。また、*P. s. pv. atropurpurea* はイタリアンライグラスとエンバクに病原性を示し、エンバク上の病徴は *P. s. pv. coronafaciens* の pathotype strain による病徴に似るところが多かった。以上述べたとおり、エンバクの病原細菌 *P. s. pv. coronafaciens* には、タブトキシンを生産してハローを伴う病斑を形成する系統と、コロナチンを生産してハローを伴わない病斑を形成する系統とがあるものと考えられる。pathotype strain MAFF 302257 (= ICMP 3113) はコロナチンを生産し、ハローを伴わない病斑を形成する系統に属すると判断できる。しかしながら、本 pathovar は、タブトキシンを生産すると認知されており、原記載⁵⁾ によればハローを伴う病斑を形成するので、

現在の pathotype strain (MAFF 302257=ICMP 3113) は pathotype としては不適当である。

摘 要

Pseudomonas syringae の種内におけるコロナチン生産能の分布について pathotype strain 46 菌株とその他の 9 菌株を用いて調査した。コロナチン生産能は、ジャガイモ塊茎を利用した生物検定法と PCR でコロナチン生産関連遺伝子 (*cfl* 領域) を検出する方法で調査した。その結果、コロナチン生産能を有することが既に知られていた *P. s. pv. atropurpurea*, *pv. glycinea*, *pv. maculicola*, *pv. morsprunorum*, *pv. tomato* の 5 pathovar に加えて、新たに *pv. aesculi*, *pv. berberidis*, *pv. cannabina*, *pv. coronafaciens*, *pv. ulmi*, *pv. zizaniae* の各 pathotype strain でコロナチン生産能を有することが判明した。これらの中で *P. s. pv. coronafaciens* はタブトキシンを生産することが知られるので、pathotype strain を含む 8 菌株を対象にして、*tabA* (タブトキシシン生産関連遺伝子) を PCR で検出したところ、pathotype strain からは *tabA* は検出されず、残りの 7 菌株からは *tabA* が検出された。また、pathotype strain はエンバク上で原記載に一致する病斑を作らなかったため、pathotype strain として不適当な菌株である。

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. Bowden, R.L. and Percich, J.A. (1983). Etiology of bacterial leaf streak of wild rice. Phytopathology 73: 640-645.
3. Bradbury, J.F. (1986). Guide to Plant Pathogenic Bacteria: CAB International Mycological Institute, Ferry Lane, Kew, Surrey, England.
4. Durgapal, J.C. and Singh, B. (1980). Taxonomy of *Pseudomonas* pathogenic to horse-chestnut, wild fig and wild cherry in India. Indian Phytopathol. 33: 533-535.
5. Elliott, C. (1920). Halo-blight of oats. J. Agric. Res. 19: 139-172.
6. 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.
7. Gross, D.C. (1991). Molecular and genetic analysis of toxin production by pathovars of *Pseudomonas syringae*. Annu. Rev. Phytopathol. 29: 247-278.
8. Mitchell, R.E. (1982). Coronatine production by some phytopathogenic pseudomonads. Physiol. Plant Pathol. 20: 83-89.
9. Mitchell, R.E., Hale, C.N. and Shanks, J.C. (1983). Production of different pathogenic symptoms and different toxins by strains of *Pseudomonas syringae* pv.

- tomato* not distinguishable by gel-immunodiffusion assay. *Physiol. Plant Pathol.* 23: 315-322.
10. Mitchell, R.E. and Young, H. (1978). Identification of a chlorosis-inducing toxin of *Pseudomonas glycinea* as coronatine. *Phytochemistry* 17: 2028-2029.
 11. 森脇丈治・水野明文・佐藤 守・門田育生・西山幸司 (1996). ダイズ斑点細菌病菌における培地中とジャガイモ塊茎上でのコロナチン産生の違い. *日植病報* 62: 544-547.
 12. 西山幸司 (1981). ライグラス類かき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.
 13. 西山幸司・江塚昭典 (1978). 新しい生理活性物質コロナチンを生産する細菌の種類. *日植病報* 44: 179-183.
 14. 篠原弘亮・森脇丈治・門田育生・西山幸司 (1997). *Pseudomonas syringae* 群細菌におけるコロナチン生産能の分布. *日植病報* 63: 263 (講要).
 15. 篠原弘亮・森脇丈治・門田育生・西山幸司 (1998). *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* と近縁 pathovar における生産毒素とエンバク葉上の病斑の特徴. *日植病報* 64: 377 (講要).
 16. Sutic, D. and Dowson, W.J. (1978). An investigation of a serious disease of hemp (*Cannabis sativa* L.) in Yugoslavia. *Phytopathol. Z.* 43: 307-314.
 17. 田部井英夫 (1964). カラスムギかき枯病. *日植病報* 29: 20-24.
 18. Thornberry, H.H. and Anderson, H.W. (1931). A bacterial disease of barberry caused by *Phytomonas berberidis*, n. sp. *J. Agric. Res.* 43: 29-36.
 19. 富永時任 (1963). エンバクのかき(暈)枯病. *植物防疫* 17: 361-365.
 20. Woolley, D.W., Pringle, R.B. and Braun, A.C. (1952). Isolation of the phytopathogenic toxin of *Pseudomonas tabaci*, an antagonist of methionine. *J. Biol. Chem.* 197: 409-417.