

山形県におけるAcidovorax valerianellaeによるアケビ斑点細菌病(新称)の発生と数種植物に対する病原性

誌名	北日本病害虫研究会報
ISSN	0368623X
著者名	後藤,新一 本田,浩央 阿部,篤智 畔上,耕児 井上,康宏 平澤,秀弥
発行元	北日本病害虫研究会
巻/号	64号
巻号補足	
掲載ページ	p. 93-98
発行年月	2013年12月

山形県における *Acidovorax valerianellae* による アケビ斑点細菌病 (新称) の発生と数種植物に対する病原性

後藤 新一*・本田 浩央**・阿部 篤智**・畔上 耕児***・
井上 康宏****・平澤 秀弥*

Occurrence of Bacterial Spot of *Akebia* spp. in Yamagata Prefecture, and Pathogenicity
of the Causal Bacteria, *Acidovorax valerianellae* to Several Crops

Shinichi GOTO*, Hiroo HONDA**, Atsutoshi ABE**, Koji AZEGAMI***,
Yasuhiro INOUE**** and Hideya HIRASAWA*

2010 年 7 月に山形県内のアケビ園地において、葉に黒色角斑状の斑点が発生し、症状が激しい場合は、葉が黄変し早期落葉した。病斑部からは均質な細菌が分離され、それらをアケビ葉に接種したところ原病徴が再現され、さらにそこから接種細菌が再分離されたことから、本症状は分離細菌によるものと考えられた。アケビでの細菌病の報告はなく、分離細菌を同定したところ、*Acidovorax valerianellae* であることが明らかとなった。アケビから分離した菌株を数種植物に接種したところ、アケビのみに対し病原性を示し、その他の供試植物には病原性は示さなかった。

Key words: *Acidovorax valerianellae*, *Akebia* spp, bacterial spot, pathogenicity

アケビ (*Akebia* spp.) は山形県の特産果樹のひとつで、2010 年の山形県内の栽培面積は 12.4ha と全国の栽培面積の 80.5% を占めている (9)。2010 年 7 月に山形県内のアケビ園地において、葉に黒色角斑状の斑点が発生し、症状が激しい場合は、葉が黄変し早期落葉した。病斑部からは均質な細菌が分離され、分離細菌をアケビ葉に接種したところ原病徴が再現され、さらにそこから接種細菌が再分離されたことから、本症状は分離細菌によるものと考えられた (1)。アケビでの細菌病の報告はなく、新病害であると考えられたため、分離細菌を同定したところ、*Acidovorax valerianellae* であることが明らかとなり、アケビ斑点細菌病 (新称) として病名提案を行っている (2)。そこで、アケビの黒斑症状、黄変落葉の原因となっている病原細菌の細菌学的性質および遺伝子学的性質について報告するとともに、アケビ分離株を数種植物に接種し、病原性に関する知見が得られたので報告する。

なお、本報の一部は、第 64 回および第 65 回北日本病害虫研究発表会において報告した。

また、本研究の実施にあたり、対照菌株の分譲や御助言をいただいた静岡大学瀧川雄一氏、鹿児島県大隅地域振興局富濱毅氏に厚く御礼申し上げる

材料および方法

1. 病原細菌の分離

山形県内のアケビ園 3 園地 (山形市、朝日町、白鷹町) から罹病葉を採取し、病斑部から常法によりキング B 培地および NA 平板培地を用いて病原細菌を分離した。

2. 病原細菌の同定

分離細菌の同定には、3 園地から分離したアケビ分離株 14 菌株を供試した。対照菌株として、*A. valerianellae* のアジサイ分離株、メロン分離株、タケニグサ分離株およびイネ褐条病菌 *A. avenae* subsp. *avenae*、コンニャク葉枯病菌 *A. konjacii* を供試した。分離細菌の細菌学的性

*山形県農業総合研究センター園芸試験場

Yamagata Integrated Agricultural Research Center Horticultural Experiment Station, 423 Shima Shima-minami, Sagae, Yamagata 991-0043, Japan

**山形県病害虫防除所

***農業・食品産業技術総合研究機構野菜茶業研究所つくば野菜研究拠点

****農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター

質の調査は、細菌同定検査用キットアピ 20NE（日本ビオメリユー社）を用いた簡易同定（8）および後藤・瀧川の方法（4）に準じ行った。

16S rDNA 遺伝子の PCR は、Marachesi ら（7）によって設計されたプライマー

63f (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') と

1387r (5'-GGGCGGWGTGTACAAGGC-3') を用いて行い、ダイレクトシーケンスにより 786bp の塩基配列を決定した。得られた塩基配列データを基に DDBJ のホモロジー検索プログラムを用いてホモロジー検索を行った。

3. 接種試験

本病原細菌による他作物への被害拡大を防止する観点から、既報の *A. valerianellae* および *Acidovorax* 属菌の宿主植物に対するアケビ分離株の病原性を検討した。供試植物は第 1 表に示した。

供試菌株はアケビ分離株 3 菌株に加え、対照菌株として *A. valerianellae* のアジサイ分離株、チャ分離株、メロン分離株、タケニグサ分離株を供試した。あわせてイネ褐条病菌、コンニャク葉枯病菌も供試した。

各菌株を NA 培地で 28℃ 48 時間培養した後、滅菌水

に懸濁し、約 10^6 cfu/ml ($OD_{620nm} = 0.05$) に調製した菌液を接種に用いた。アケビは、新梢中位の 2 複葉（6 小葉）に 1 小葉あたり 2 箇所ずつ多針付傷した後、菌液を噴霧接種した。アジサイ、メロン、キュウリへの接種は、各ポット苗の本葉 2 枚に 4 箇所ずつ多針付傷した後、菌液を噴霧接種した。コーンサラダは前述の方法に加え、リーフディスク接種を行った。リーフディスク接種は富濱ら（11）の方法に準じ、1 菌株あたり 8 枚のリーフディスクを菌液に浸漬接種した。イネは、幼苗の葉鞘に菌液を浸した針を単針接種した。いずれも接種後の接種葉は 1 昼夜ビニール袋で被覆し湿度を保持した。接種後、イネは 30℃、16 時間日長の恒温器内で管理し、その他の植物はハウス内（平成 24 年 9 月 6 日～18 日）で管理した。

結 果

1. 発生推移および病徴

2011 年に現地発生園地 2 園地（朝日町、山形市）において園内の発病状況を調査したところ、6 月中旬頃から発病葉が確認されたが、その後しばらくは発病葉率の増加はほとんど見られず、7 月下旬から 8 月上旬にかけて急増した（5）。

症状は、初め葉の葉脈間に水浸状の黒色小斑点が発生し、後に葉脈間に沿って病斑は拡大し、角斑状の病斑を形成した（第 1 図 a）。また、病斑は中肋に沿って不整形の大型病斑となる場合もあった。発病程度が高い葉では、病斑部から菌泥の噴出が見られる場合もあり、しだいに黄変し早期落葉した（第 1 図 b）。なお、果実やその他部位での発病は確認できなかった。

2. 分離細菌の同定

アケビから分離した 14 菌株について、細菌学的性質

第 1 表 接種試験に供試した植物

供試植物	品種
アケビ	紫あけび
コーンサラダ	不明
アジサイ	エンドレスサマー
メロン	アールスナイト春秋系
キュウリ	四葉
イネ	つや姫



第 1 図 アケビ斑点細菌病(新称)の病徴

a : 葉の黒色角斑症状
b : 黄変した発病葉

第2表 供試細菌の細菌学的性質

調査項目	アケビ分離菌株 (n=14)	<i>Acidovorax valerianellae</i>			<i>A. avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	<i>A. konjaci</i>
		アジサイ分離株 (SUPP2522)	メロン分離株 (SUPP950)	タケニグサ分離株 (SUPP1855)	イネ分離株 (8221) (9633)	コンニャク分離株 (2006 142)
グラム反応	— a)	—	—	—	—	—
鞭毛	極毛 1	極毛 1	極毛 1	極毛 1	極毛 1	極毛 1
蛍光色素	—	—	—	—	—	—
OF 試験	O	O	O	O	O	O
40℃生育	—	—	—	—	+	—
37℃生育	—	—	—	—	+	—
オキシダーゼ活性	+	+	+	+	+	+
硝酸塩還元	—	—	—	—	+	+
硝酸呼吸	—	—	—	—	—	—
インドール産生	—	—	—	—	—	—
アルギニンジヒドロラーゼ活性	—	—	—	—	—	—
カタラーゼ活性	+	+	+	+	+	+
ウレアーゼ活性	+	+	+	+	+	+
β -グルコシダーゼ活性	—	—	—	—	—	—
β -ガラクトシダーゼ活性	—	—	—	—	—	—
ゼラチンの加水分解	—	—	—	—	—	—
Tween80 の加水分解	+	+	+	+	+	+
タバコ過敏反応	—	+	—	+	+	+

a) +: 陽性, -: 陰性.

を調査した結果、いずれも1本の極鞭毛を有するグラム陰性の好気性桿菌で、OF試験はO型、キングB培地上では蛍光色素を産生しなかった。また、オキシダーゼ活性、ウレアーゼ活性およびTween80の加水分解は陽性であったが、37℃の条件下では生育できず、硝酸塩の還元、硝酸呼吸、アルギニンジヒドロラーゼ活性は陰性であった(第2表)。糖や有機酸の利用能を調査したところ、グリセリン、グルコース、D-フルクトース、 β -アラニン、L-トリプトファン、グルコン酸、アジピン酸、リンゴ酸、D-酒石酸を利用した(第3表)。

次にアケビ分離株14菌株を供試して、PCRにより16S rDNA遺伝子を増幅し786bpの塩基配列を決定した。その結果、14菌株の塩基配列は全て同じであることが明らかとなり、またホモロジー検索を行ったところ、*Acidovorax*属細菌との相同性が高かった(97~100%)。特に*A. valerianellae*とは100%の相同性を示した。

以上の結果から、アケビから分離した菌株は*A. valerianellae*と同定した。

3. 接種試験

アケビポット苗に各菌株から調製した菌液を付傷噴霧接種し、接種15日後に発病状況を調査したところ、アケビ分離株3菌株のみで接種葉に黒色角斑症状が認めら

れたが、その他の菌株では病原性は認められなかった(第4表)。また、その他植物に対するアケビ分離株の病原性を調査したところ、アジサイ、メロン、キュウリ、コンニャク、イネのいずれに対しても病原性を示さなかった。

なお、*A. valerianellae*のアジサイ分離株、メロン分離株、タケニグサ分離株ならびに*A. avenae subsp. avenae*、*A. konjaci*はアケビに病原性を示さなかった。

考 察

アケビ葉の黒色角斑部から分離された細菌株をアケビ葉へ接種すると原病徴が再現された。それらは、細菌学的性質と16S rDNA遺伝子の塩基配列の解析の結果から*Acidovorax valerianellae*であることが明らかとなった。そこで本病を*A. valerianellae*によるアケビ斑点細菌病(新称)としたい。

*A. valerianellae*による病害は、2003年にフランスのコンニャクで初めて報告されている(3)。国内では、2006年にチャで報告があり、その後、アジサイ、メロン、タケニグサでの発生が確認されている(6,10,11)。アケビでは、これまでに細菌による病害報告がなく、本報が初めてである。

第3表 供試細菌の糖・有機酸等の利用能

調査項目	アケビ分離菌株 (n=14)	<i>Acidovorax valerianellae</i>			<i>A. avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	<i>A. konjaci</i>
		アジサイ分離株 (SUPP2522)	メロン分離株 (SUPP950)	タケニグサ分離株 (SUPP1855)	イネ分離株 (8221) (9633)	コンニャク分離株 (2006 142)
グリセリン	+ a)	+	+	-	+	+
グルコース	+	+	+	+	+	-
D (+) フルクトース	+	+	+	+	+	+
D-マンニトール	-	-	-	-	+	+
D (+) アラビトール	-	-	-	-	+	+
L (+) アラビノース	-	-	-	-	+	-
D (+) ガラクトース	-	-	-	-	+	-
D-ソルビトール	-	-	-	-	+	-
スクロース	-	-	-	-	-	-
メリピオース	-	-	-	-	-	-
トレハロース	-	-	-	-	-	-
アドニトール	-	-	-	-	-	-
α -L-ラムノース	-	-	-	-	-	-
ラフィノース	-	-	-	-	-	-
D-マンノース	-	-	-	-	-	-
マルトース	-	-	-	-	-	-
meso-エリトリトール	-	-	-	-	-	-
D (+) ラクトース	-	-	-	-	-	-
D (+) キシロース	-	-	-	-	-	-
ズルシトール	-	-	-	-	-	-
イノシトール	-	-	-	-	-	-
グルコン酸カリウム	+	+	+	+	+	+
アジピン酸	+	+	+	+	+	+
dl-リンゴ酸	+	+	+	+	+	+
L-乳酸	+	+	+	+	+	+
D (-) 酒石酸	+	+	+	+	+	+
マレイン酸	-	-	-	-	v (+1/-1)	-
アゼライン酸	-	-	-	-	-	-
クエン酸ナトリウム	-	-	-	-	-	-
酢酸フェニル	-	-	-	-	-	-
L-トリプトファン	+	+	+	+	+	+
L (+) アルギニン	DWP ^{b)}	DWP	DWP	DWP	DWP	DWP
L (+) イソロイシン	v (+9/-5)	DWP	DWP	DWP	+	DWP
β -アラニン	+	+	+	+	+	+
エタノールアミン	-	-	-	-	+	-
N-アセチル-D-グルコサミン	-	-	-	-	-	-

a) +: 陽性, -: 陰性, v: 菌株によって異なる.

b) DWP: 2週間目以降に遅れて弱い陽性.

第4表 アケビ分離株および各 *Acidovorax* 属菌株の各種植物への病原性

菌株名	菌株由来	接種植物					
		アケビ	コーンサラダ	アジサイ	メロン	キュウリ	イネ
Acidovorax valerianellae							
AKA01	アケビ	+ a)	- / -	-	-	-	-
AKY01	アケビ	+	- / -	-	-	-	-
AKS01	アケビ	+	- / -	-	-	-	-
SUPP2522 b)	アジサイ	-	- / -	+	-	-	-
SUPP2539 b)	チャ	-	- / -	-	-	+	-
SUPP950 b)	メロン	-	- / -	-	+	+	-
SUPP1855 b)	タケニグサ	-	- / -	-	-	-	-
A. avenae subsp. avenae							
9633 c)	イネ	-	- / -	-	-	-	+
A. konjaci							
2006 142 c)	コンニャク	-	- / -	-	-	-	-
対照 (滅菌水)		-	- / -	-	-	-	-

a) + : 病原性あり - : 病原性なし.

b) 静岡大分譲菌株.

c) 野菜・茶業研究所分譲菌株.

d) リーフディスク浸漬接種/多針噴霧接種.

アケビ園地における本病の発生時期と推移は年次ごとに異なっていた. 2011 年は発病初確認が6月中旬であったが, その後は発病葉率の増加は見られず, 7月下旬から8月上旬にかけて急激な増加が見られた (5). 一方で2012年は, 発病初確認時期は2011年よりやや遅く, 発病の急増期も見られなかった (データ省略). 2012年は梅雨期間中の降雨日数 (降水量) が少なかったが, それが少発生に留まった原因である可能性が考えられた.

アケビから分離された本病原細菌の他作物への影響を調査するため, *A. valerianellae* の既報の宿主植物へ接種試験を試みた. その結果, 供試したアケビ分離株3菌株はアケビのみに病原性を示し, コーンサラダ, アジサイ, メロン, キュウリ, イネには病原性を示さなかった. 同様に, アジサイ分離株はアジサイのみに, メロン分離株はメロン, キュウリにのみ病原性を示し, 既報のように *A. valerianellae* は分離された宿主植物以外の植物に対する病原性は限られていることが示唆された (6,10,11). なお, チャ分離株はキュウリに対し病原性が認められ, 富濱ら (11) の報告と異なったが, これは供試したキュウリ品種が異なっていること等が影響している可能性が考えられた.

本研究により, アケビ分離株による他作物への感染・発病の可能性は低いものと考えられた. しかし, アケビへの感染経路や感染時期など, 不明な点も多く残されており, 今後防除対策を確立するうえでも, 本病原細菌の発生生態の解明を行っていく必要があると考えられる. また, 本病原細菌の各種植物に対する病原性は既報の

A. valerianellae とは異なっているため, 種内の寄生性の分化に関してはさらに詳細な検討をする必要があると考えられる.

引用文献

- 1) 阿部篤智・本田浩央・後藤新一 (2011) 山形県のアケビに発生した新規細菌性病害 (新称) の発生. 北日本病虫研報 62 : 211 (講要).
- 2) 阿部篤智・本田浩央・後藤新一・井上康宏・畔上耕児 (2012) *Acidovorax valerianellae* によるアケビ斑点細菌病 (新称) の発生. 北日本病虫研報 63 : 252 (講要).
- 3) Gardan, L., Stead, D.E., Dauga, C. and Gillis, M. (2003) *Acidovorax valerianellae* sp. nov., a novel pathogen of lamb's lettuce [*valerianella locusta* (L.) Laterr.]. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53 : 795-800.
- 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 (2). 植物防疫 38 : 385-389.
- 5) 後藤新一・本田浩央・阿部篤智・平澤秀弥 (2012) アケビに発生した新規細菌性病害の発生推移と分離細菌の病原性. 北日本病虫研報 63 : 253 (講要).
- 6) 池田健太郎・桑原克也・古屋 修・瀧川雄一 (2009) 群馬県におけるアジサイ斑点細菌病の発生と *Acidovorax valerianellae* の病原性. 関東東山病虫研報 56 : 79-83.
- 7) Marchesi, J. R., T. Sato, A. J. Weightman, T. A. Martin,

- J. C. Fry, S. J. Hiom, W. G. Wade (1998) Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. Appl. Environ. Microbiol. 64 : 795-799.
- 8) 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.
- 9) 農林水産省生産局農産部園芸作物課 (2012) 平成 22 年産特産果樹生産動態等調査.
- 10) 瀧川雄一・辻本明佳・楠元智子・川田宏史・山本圭祐・小林真樹・牧野孝宏・中田孝之 (2008) 各種植物から分離された *Acidovorax valerianellae* の研究. 日植病報 74 : 255 (講要).
- 11) 富濱 毅・野中壽之・中村正幸・岩井 久・荒井啓 (2006) *Acidovorax valerianellae* によるチャ斑点細菌病 (新称) の発生. 日植病報 72 : 185-190.