

# 細菌によるチャ過敏反応性症状の自然発生

鹿児島県曾於畑地かんがい農業推進センター <sup>とみ</sup> 富 <sup>はま</sup> 濱 <sup>つよし</sup> 毅 \*

## はじめに

鹿児島県の茶園、特に幼木園では以前から梅雨時期や台風襲来後にチャ斑点細菌病（病原細菌：*Acidovorax valerianellae*）もしくはチャ赤焼病（病原細菌：*Pseudomonas syringae* pv. *theae*）に類似した褐変症状の発生があり、農家が対応に苦慮していた。

このようなチャ葉の褐変症状が、2007年の台風4号襲来直後に、更新茶園や幼木茶園を中心に見られた（図-1）。褐変症状からは既知病原細菌は検出されなかったものの、少数であるが優的に分離される細菌が存在した。それらを高濃度でチャ葉の細胞間隙に注入接種すると、24～48時間以内に接種部位に過敏反応に類似した急激な褐変（過敏反応性症状）が見られた（MUR et al., 2008；富濱ら，2010）。

本稿では、チャ葉に発生した過敏反応性症状を引き起こす細菌について紹介し、同症状発生の要因、今後の展望について述べる。

## I 過敏反応性症状

本症状は、2007年7月14日の台風4号襲来直後に鹿児島県錦江町田代の更新茶園（品種‘あさつゆ’）で見つかり（図-1A, B）、チャ斑点細菌病（図-1C）に酷似した褐変症状であった。また、同台風襲来直後には、鹿児島県のその他地域の更新茶園や幼木園（品種‘やぶきた’他）でも、同様の褐変症状が見られた（図-1D）。褐変症状は、更新園では主に葉の葉脈と葉脈に囲まれた部位、幼木園では主に葉の葉柄基部に見られ（図-1E）、チャ赤焼病（図-1F）に類似した症状もあった。いずれの症状も圃場の風当たりの強い場所（畦の風上側や圃場周縁部）で見られた。本症状は発生確認後、葉の褐変が拡大することはなく、発症葉の落葉も少なかった。

## II 分離細菌による過敏反応性症状の再現

本症状はチャ斑点細菌病もしくはチャ赤焼病の病徴と

類似していたが、これらの病原細菌は検出されなかった。一方、褐変症状から少量だが優先的に分離される細菌が存在した。本分離細菌を培養し、通常の接種法として、約 $10^8$  cfu/mlの濃度でチャ葉（品種‘やぶきた’）に注射針を用いた付傷接種を実施したが、接種部位から病斑が拡大することはなかった。

一方、タバコ過敏反応の調査に倣い、本分離細菌を約 $10^6$  cfu/ml以上の濃度でチャ葉（品種‘やぶきた’）の細胞間隙に注入接種すると、24時間後に接種部位において過敏反応性症状が観察された（図-2A）。この過敏反応性症状は、その後接種部位から拡大することはなかった。また、注入接種部位においては接種4時間後から、過酸化水素の発生が認められた（図-2B）。このような過敏反応性症状の発生や過酸化水素の発生は、チャの病原細菌を注入接種した場合は見られなかった（図-2A, B）。

また、本分離細菌を約 $10^6$  cfu/mlの濃度で2007年の台風5号襲来直前の降雨中に無傷噴霧接種したところ、接種翌日には長径2～10 mmの褐変症状が多く観察され（図-2C）、症状からは接種した細菌が再分離された。一方、通常の降雨時に無傷噴霧接種した場合、接種10日後でも褐変症状は見られなかった。

## III 過敏反応性症状を引き起こす細菌の性質

チャ葉に過敏反応性症状を引き起こす細菌は、2007～08年の台風襲来・接近後に、鹿児島県の10圃場から合計27株分離された（表-1）。分離細菌は、過敏反応の速さやコロニーの形態により4種類（HRT1～4群菌）に分類でき、分離圃場数が多かったのはHRT1群菌（4圃場）およびHRT2群菌（4圃場）であった（表-1）。各種細菌学的性質と16S rRNA遺伝子の塩基配列から、HRT1群菌は*Herbaspirillum huttiense*に、HRT2群菌は*Acidovorax avenae*に、HRT3群菌は*Stenotrophomonas maltophilia*に、HRT4群菌は*Burkholderia plantarii*に近縁であった（富濱ら，2010）。優先種の性質については以下のとおりである。

### 1 *Herbaspirillum huttiense*

HRT1群菌が近縁である*H. huttiense*は、最初水から分離された細菌であり（DING and YOKOTA, 2004）、イネの葉鞘に常在する菌として報告もある（篠原，2003）。ま

Hypersensitive Response Symptom on Tea Caused by Avirulent Bacteria after Heavy Storm. By Tsuyoshi TOMIHAMA

（キーワード：*Herbaspirillum huttiense*, *Acidovorax avenae*, 過酸化水素）

\* 元 鹿児島県農業開発総合センター茶業部

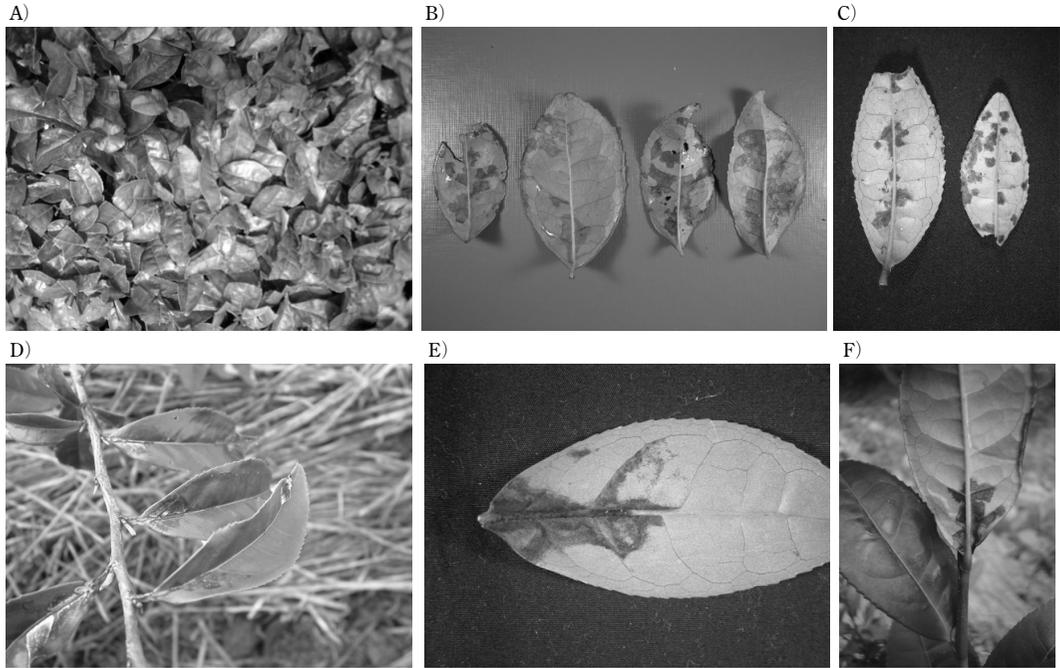


図-1 過敏反応性症状とチャ既知細菌病

鹿児島県錦江町田代の品種‘あさつゆ’に発生していた褐変症状 (A, B, これらの症状からは HRT1 群菌が分離された). C) チャ斑点細菌病の病徴, 鹿児島県南九州市知覧町の品種‘くりたわせ’に発生していた褐変症状 (D, E, これらの症状からは HRT2 群菌が分離された). F) チャ赤焼病の病徴.

た, *H. huttense* に極めて近縁な *Herbaspirillum* sp. によるイチゴ斑点細菌病 (楠元ら, 2001; 2005) やトマトの leaf spot (OBRADOVIC, et al., 2007) の報告がある。HRT1 群菌の細菌学的性質は, *H. huttense* 基準株のそれとほぼ一致した。しかし, タバコ過敏反応やチャ過敏反応 (図-3 A), イチゴ斑点細菌病菌 *hrp* 遺伝子特異的 PCR (図-3 B) 等, 植物への病原性に関係する性質は *H. huttense* や *H. putei* の基準株が陰性であるのに対して HRT1 群菌では陽性であった。このことから, HRT1 群菌は *H. huttense* の中でも植物に対する病原性に関連する一部の遺伝子を獲得した系統である可能性も考えられる。実際, イチゴ斑点細菌病菌もチャに過敏反応を引き起こす (図-3 A) ことから, HRT1 群菌は病原細菌であるイチゴ斑点細菌病菌 *Herbaspirillum* sp. に極めて近縁な種と考えられる。HRT1 群菌の分類学的位置については今後さらに詳細に検討する必要がある。なお, *Herbaspirillum huttense* については, 最近 subspecies の提案もなされている (DOBRTSA, et al., 2010)。

## 2 *Acidovorax avenae*

HRT2 群菌は, イネ科植物を宿主とする *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* に極めて近縁で, 1983 年にチャか

ら分離された *A. avenae* subsp. *avenae* Tea512 (瀧川ら, 1988) とほとんどの細菌学的性質が一致した。Tea512 は梅雨期にチャの褐変症状から分離され, チャに病原性があるが, 接種による病徴は原病徴とは異なりさらに検討を有すると報告されている (瀧川ら, 1988)。

HRT2 群菌は, 主に幼木園で分離された。後で述べるように, チャ幼木園では, 定植時に雑草対策や防風対策として, イネ藁でチャの地際部を被覆したり, 夏季には防風対策として畦間にイネ科植物を間作したりする。HRT2 群菌がこれらのイネ科植物を宿主とする可能性も考えられることから, HRT2 群菌のイネ科植物などに対する病原性試験に加え, チャ幼木園に関係するイネ科植物からの HRT2 群菌の分離についても今後検討する必要がある。

## IV 過敏反応性症状はなぜ発生したか?

台風による強風雨時や降雨が連続する梅雨期には, チャ葉の葉柄基部や中肋, 葉脈の間を中心に細胞間隙に水がしみた症状 (WC : water congestion) が観察される (図-4 A)。また, 晩秋期から春期にかけては氷結による WC (図-4 B) が見られる。

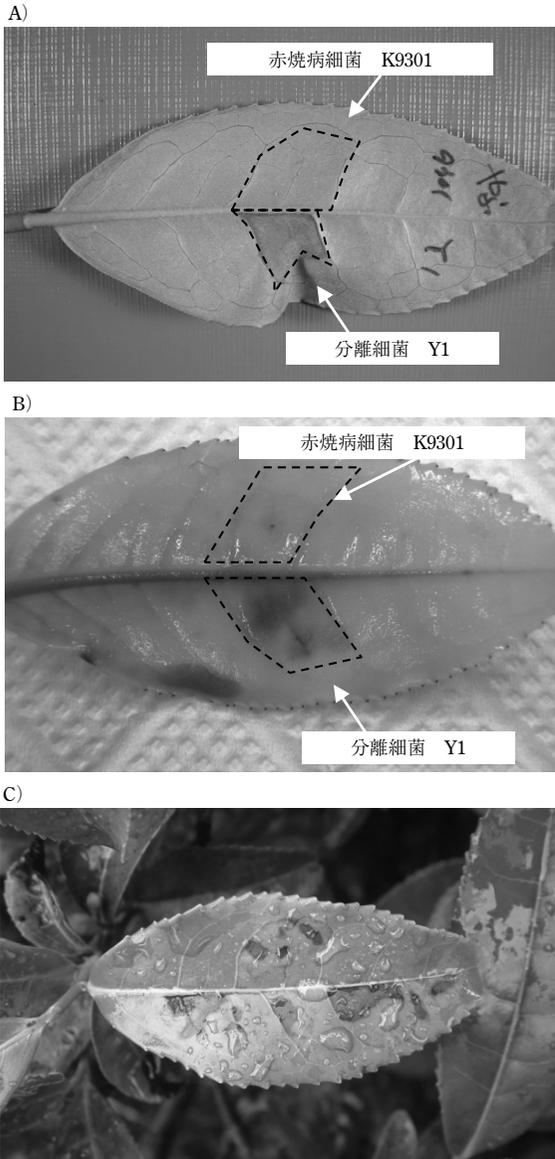


図-2 分離細菌の葉組織内への注入接種による過敏反応性症状の形成

A) 注入接種 24 時間後の褐変状況。分離細菌 (*Herbaspirillum huttiense* Y1 株) をチャ葉 (‘やぶきた’) 注入接種すると 24 時間後に接種部位が褐変した (下の点線囲み) が、赤焼病細菌 K9301 を注入接種した場合、褐変は見られない (上の点線囲み)。B) 注入接種 6 時間後における接種葉の DAB 染色による過酸化水素の発生の確認。分離細菌 Y1 液を注入接種すると接種部位で過酸化水素が見られる (下の点線囲み) が、赤焼病細菌 K9301 液を注入接種した場合は見られない (上の点線囲み)。C) 分離細菌 (*Herbaspirillum huttiense* Y1 株) の台風襲来時の野外無傷噴無接種による過敏反応性症状の再現。供試品種は ‘やぶきた’。

モモでは、降雨や露等の多湿条件下での葉の WC の形成は、モモせん孔細菌病の発生と密接に関係している (ZEHR et al., 1996)。また、降雨時の *Pseudomonas syringae* のインゲンでの急激な増殖には、降雨のみではなく雨滴の運動量 (Raindrop momentum) が必要で、強い雨により細菌が気孔から侵入しやすくなり、葉組織内での増殖が引き起こされる可能性が指摘されている (HIRANO et al., 1996)。さらに、モモやチャ葉の水結による WC が、病原細菌の感染を助長することも報告されている。さらに (VIGOUROUX, 1989; TOMIHAMA et al., 2009)。これらのことは、台風時の強風雨や梅雨期の長雨によって形成される WC によって、細菌の感染が促進される可能性を示唆する。

今回分離した細菌は、高濃度 ( $10^6$  cfu/ml 以上) で注入接種もしくは台風襲来時に無傷噴霧接種した場合にチャ葉に過敏反応を引き起こした。過敏反応を引き起こす非親和性の細菌は、植物の組織内である濃度 (約  $10^4$  cfu) までは増殖できるが、その後植物の防御反応により密度が低下する (KLEMENT, 1982)。台風襲来後に発生した過敏反応性症状は、細菌がチャ葉組織内である濃度以上に増殖したために引き起こされたと考えられる。台風襲来条件下で過敏反応を引き起こすだけの高濃度になる機構や、過敏反応性症状内での細菌の生存等については、今後解明の必要がある。

## V 過敏反応性症状を引き起こす細菌はどこから来たのか?

チャに過敏反応性症状を引き起こす細菌は、チャにもともと寄生していたのだろうか? それとも、その他の宿主から伝播してきたのだろうか?

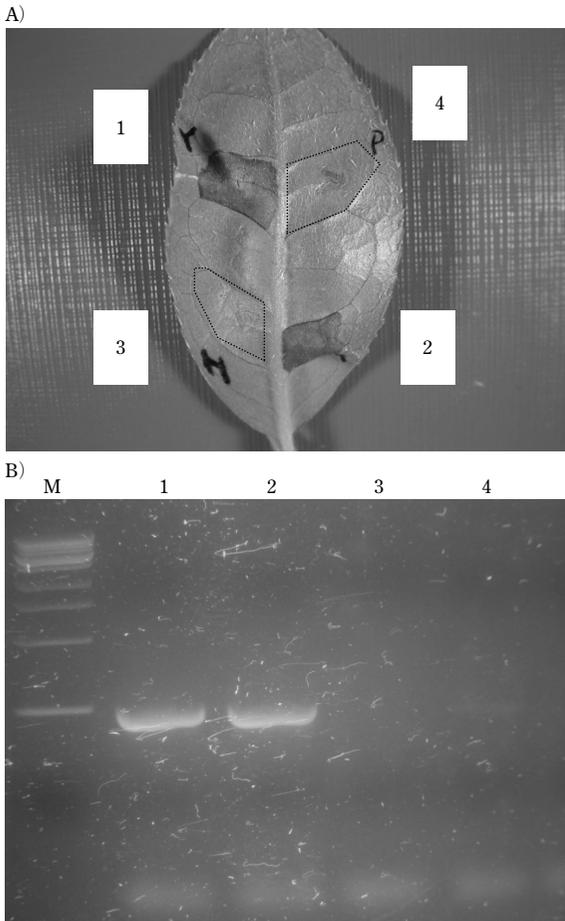
我々は、健全なチャ葉に存在する細菌を 1 年間にわたり分離し、過敏反応性症状を引き起こす細菌の検出を試みたが、全く検出できなかった (データ未発表)。

一方、先に述べたように、チャ幼木園では、定植時に雑草対策としてイネ藁でチャの地際部を被覆する。また、夏季には防風対策として畦間にソルガムなどのイネ科植物を間作する (岡本ら, 2007)。*Herbaspirillum huttiense* や *Acidovorax avenae* がこれらのイネ科植物を宿主とする可能性も考えられる。

*S. maltophilia* および *B. plantarii* に近縁であった HRT3 および HRT4 群菌については分離株数が少なかったことから、詳細な細菌学的性質や病原性の調査は実施しなかった。*S. maltophilia* はヒトや土壌から分離される日和見病原細菌で、植物病原細菌の *Xanthomonas* 属に近縁である (CROSSMAN et al., 2008)。また、*B. plantarii*

表-1 分離細菌のコロニー形態とチャ葉の過敏反応性症状の形成

	分離株数	分離圃場数	コロニーの形態	アピプロファイル	過敏反応性症状の形成
HRT1 群菌	13	4	白色円形	0067577	早い (24 時間以内)
HRT2 群菌	10	4	白色星状	1205474	やや遅い (24 ~ 48 時間)
HRT3 群菌	3	1	黄色円形	1472341	やや遅い (24 ~ 48 時間)
HRT4 群菌	1	1	白色円形	0067571	やや遅い (24 ~ 48 時間)

図-3 各種 *Herbaspirillum* 属菌による過敏反応性症状

A) 分離細菌 *Herbaspirillum huttiense* Y1 株 (1), イチゴ斑点細菌病菌 14 株 (2), *Herbaspirillum huttiense* ATCC14670<sup>T</sup> (3), *Herbaspirillum putei* 7-2<sup>T</sup> (4) をチャ葉 (‘ゆたかみどり’) に注入接種した場合の過敏反応性症状の発生。B) イチゴ斑点細菌病菌 *hrp* 遺伝子特異的 PCR. 分離細菌 Y1 株とイチゴ斑点細菌病菌 14 株でのみバンドが確認される。レーン番号は A) の接種菌に対応している。

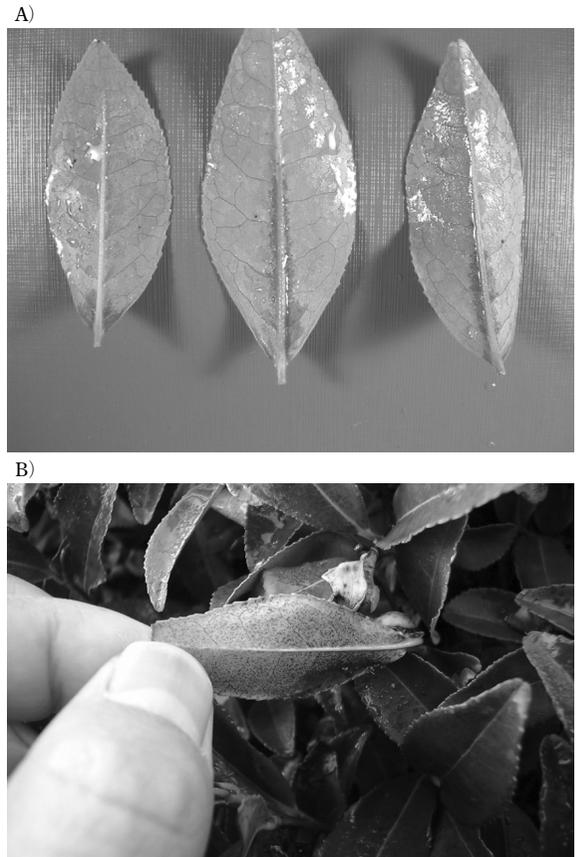


図-4 台風襲来時 (A) や凍結時 (B) に見られる、チャ葉の葉柄基部や中肋に水がしみたような症状 (WC: water congestion)

はイネの主要細菌病害であるイネ苗立枯細菌病の病原細菌として知られている (COENYE and VANDAMME, 2003)。

これらの細菌が、もともとチャに生息していたものか、それとも他の宿主や環境から伝播してきたものか、今後詳細な研究が必要と考えられる。

## VI 今後の展開

チャ葉に過敏反応性症状を引き起こす *Herbaspirillum*

*huttiense* については、いくつかの活用の可能性が考えられたことから、これまで実施した試験事例を紹介する。

### 1 過敏反応性症状の品種間差異

*Herbaspirillum huttiense* Y1 株は、供試したすべてのチャ品種に対して過敏反応を誘導した。その際、対照として用いたチャ赤焼病細菌 K9301 株でも過敏反応が引き起こされる品種が存在した (図-5 A)。これらの品種は、実際の圃場でもチャ赤焼病の発生が少ない。供試する葉位や時期によって再現性に若干問題があるものの、過敏反応を指標として、チャに生存する各種細菌に対する品種間差異をまとめてみると、病害抵抗性の機

構解明に役立つかもしれない。

### 2 新芽生育や他病害発生への影響

*Herbaspirillum* 属菌には、窒素固定能を持つ菌種が含まれる (BALDANI and BALDANI, 2005)。チャから分離された *Herbaspirillum huttiense* Y1 株は窒素固定にかかわる *nifH* 遺伝子特異的 PCR によりバンドの検出はされたものの、窒素固定能を持つかどうかは不明である。一番茶萌芽期にチャ新芽に Y1 株の菌液を散布したが、生育への影響はなかった (データ未発表)。

一方、Y1 株とチャ赤焼病細菌とを混合して、チャ葉に注入接種すると、やはり過敏反応を誘導する (図-5 B)。このことから、Y1 株の過敏反応誘導能を抵抗性誘導として利用できる可能性が考えられた。これまでのところ、チャの重要病害であるチャ炭疽病に対して散布試験を行ったが、Y1 株による炭疽病発生抑制は見られなかった (データ未発表)。現在、その他病害に対する Y1 株散布の影響について検証中である。

### おわりに

特殊な自然条件下で、ある宿主に対して非病原性の細菌によって過敏反応性症状が形成され、それが既知の細菌病の病斑に類似するという現象は、病診断や対処法、病気の概念について、以下のような留意すべき点を提案する。

まず、分離した病原菌の病原性を確認するための接種方法について、注意が必要と考えられる。特に、病原性の弱い病原菌については、過敏反応を引き起こす菌種との区別がつきにくい場面が考えられる。また、害虫の加害などで過敏反応が引き起こされる事例もある (KLINGLER et al., 2009)。接種濃度や接種方法、病斑の進展や品種間差、過酸化水素の発生等、多角的なアプローチにより、病原性を決定すべきと考える。

また、このような過敏反応性症状の発生に対してどのような対策を実施したらよいのだろうか？植物側の反応により発生している病斑を、なくそうとする努力が必要だろうか？今回圃場で発生した症状は、特別な防除対策がとられることなく、その後病勢は進展せず、チャの生育や荒茶品質への影響もなかった。過敏反応性症状の発生への対応については、今後検討が必要と考えられる。

HORSFALL and DIAMOND (1959) による植物の病気の概念は「連続的な刺激により植物の生理機能が乱されている状態」である。今回紹介した症状が、病原が継続的に作用して起こる異常という病気の概念に当てはまるか慎重に検討したうえで、適切な病名の提案が今後必要と考えられる。

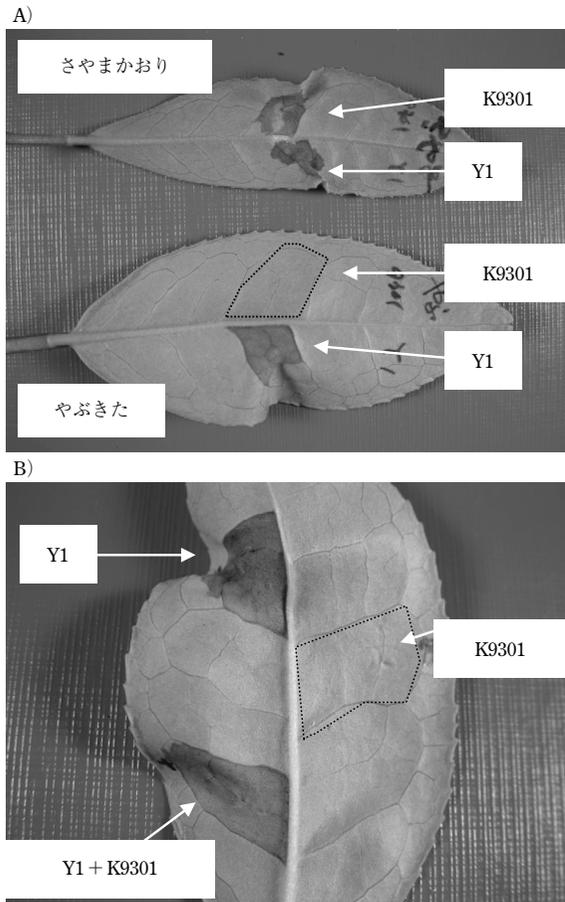


図-5 過敏反応性症状を誘導する細菌の活用

A) 品種による過敏反応性症状の発生。Y1 による過敏反応性症状は調査したすべての品種で見られたが、「さやまかおり」ではチャ赤焼病細菌でも過敏反応性症状が見られる場合がある。B) *Herbaspirillum huttiense* Y1 株とチャ赤焼病細菌 K9301 株の単独・混合接種による過敏反応性症状の発生。両菌を混合しても過敏反応性症状が見られる。

## 引用文献

- 1) BALDANI, J. L. and V. L. BALDANI (2005): An. Acad. Bras. Cienc. **77**: 549 ~ 579.
- 2) COENYE, T. and P. Vandamme (2003): Environ. Microbiol. **5**: 719 ~ 729.
- 3) CROSSMAN, L. C. et al. (2008): Genome Biol. **9**: R74.
- 4) DING, L. and A. YOKOTA (2004): Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **54**: 2223 ~ 2230.
- 5) DOBRITSA, A. P. et al. (2010): ibid. **60**: 1418 ~ 1426.
- 6) HIRANO, S. S. et al. (1996): Appl. Environ. Microbiol. **62**: 2560 ~ 2566.
- 7) HORSFALL J. G. and A. E. DIAMOND (1959): Plant Pathology, Academic Press, New York, p. 1 ~ 17.
- 8) KLEMENT, Z. (1982): Phytopathogenic Prokaryotes, Academic Press, New York, p. 149 ~ 177.
- 9) KLINGLER, J. P. et al. (2009): J. Exp. Bot. **60**: 4115 ~ 4127.
- 10) 楠元智子ら (2001): 日植病報 **67** (講要): 179.
- 11) ———ら (2005): 同上 **71** (講要): 290 ~ 291.
- 12) MUR, L. A. J. et al. (2008): J. Exp. Bot. **59**: 501 ~ 520.
- 13) OBRADOVIC, A. et al. (2007): Plant Dis. **91**: 886 ~ 890.
- 14) 岡本 毅ら (2007): 茶業研究報告 **104**: 51 ~ 65.
- 15) 篠原弘亮ら (2003): 日植病報 (講要) **69**: 279 ~ 280.
- 16) 瀧川雄一ら (1988): 日植病報 **54**: 224 ~ 228.
- 17) 富濱 毅ら (2010): 同上 **76**: 259 ~ 268.
- 18) TOMIHAMA, T. et al. (2009): Phytopathology **99**: 209 ~ 216.
- 19) VIGOUROUX, A. (1989): Plant Dis. **73**: 854 ~ 855.
- 20) ZEHR, E. I. et al. (1996): ibid. **80**: 339 ~ 341.

植物防疫特別増刊号 No.13

## フェロモンによる発生予察法

新刊

B5判 168ページ  
 定価 3,150円 (税込)  
 (送料80円: メール便)

◆フェロモン等誘引物質を用いた発生予察法について  
 34害虫を網羅し、各研究者が詳しく解説しています。

## [ 掲載内容 ]

ニカメイガ, コブノメイガ, アワノメイガ, アカヒゲホソミドリカシメ, フタオビコヤガ, ハスモンヨトウ, シロイチモジヨトウ, ヨトウガ, オオタバコガ, タバコガ, ネキリムシ類 (カブラヤガ, タマナヤガ), タマナギンウワバ, コナガ, ネギコガ, アリモドキゾウムシ, マメコガネ, ヒメコガネ, チャドクガ, リンゴコカクモンハマキ, リンゴモンハマキ, モモシンクイガ, ナシヒメシンクイ, モモノゴマダラノメイガ, コスカシバ, モモハモグリガ, キンモンホソガ, チャバネアオカメムシ, スモヒメシンクイ, クビアカスカシバ, ナシマルカイガラムシ, アカマルカイガラムシ, チャノコカクモンハマキ, チャハマキ, チャノホソガ

お問合せは下記へ。

〒114-0015 東京都北区中里 2-28-10  
 TEL 03-5980-2183 FAX 03-5980-6753  
<http://www.jpapa.or.jp/> [order@jpapa.or.jp](mailto:order@jpapa.or.jp)

