

日本産ジャガイモ青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* の ジャガイモ品種・系統に対する病原力と 各種植物に対する病原性の差異

長崎県病害虫防除所 ^{すが}菅 ^{やす}康 ^{ひろ}弘
 独立行政法人 農業環境技術研究所 ^{ほり}堀 ^た田 ^{みつ}光 ^お生
 九州大学大学院 農学研究院 ^{ふる}古屋 ^{なる}成人 ^{つち}土屋 ^{けん}健一

はじめに

青枯病 (Bacterial wilt) は国内においてナス科をはじめ種々の有用植物に萎凋や枯死などの甚大な被害を引き起こし、また世界的にも重要な難防除病害の一つである。病原細菌 *Ralstonia solanacearum* の系統は、これまで分離宿主および宿主範囲の違いによる病原型 (race) や炭素源の資化性による生理型 (biovar) に分類されてきたが、近年では遺伝子情報に基づいた四つの *phylo-type* による類別が重要視されるようになってきている (FEGAN and PRIOR, 2005)。

我が国では、これまでにナス科をはじめとして計 25 科 47 種の植物から青枯病菌が分離されているが、多くは *phylo-type* I 系統で race 1 に属しており、このうちには biovar N2, biovar 3 および biovar 4 に類別される菌株が含まれている (堀田・土屋, 2009; 安達・塚本, 2010; 松崎ら, 2010; 篠原ら, 2010; 安達ら, 2012; 吉澤ら, 2012)。また、シヨウガ科から分離される race 4 (biovar 3, 4) の菌株も *phylo-type* I 系統に類別される (WAKI et al., 2013) が、ジャガイモから分離される菌株の一部には *phylo-type* IV (race 3, biovar N2) 系統に類別されるものが含まれる。これらを併せると、国内の種々の植物から分離された青枯病菌は race 1 で biovar N2, 3 および 4, race 3 で biovar N2, および race 4 で biovar 3, 4 の 6 種類に類別され、さらに、これらは *phylo-type* I 系統または *phylo-type* IV 系統の 2 者に大別することができる (表-1)。これまでに我が国のジャガイモから分離された青枯病菌は、*phylo-type* I (race 1, biovar 3), *phylo-type* I (race 1, biovar 4) および *phylo-*

type IV (race 3, biovar N2) の 3 系統であるが、ジャガイモから *phylo-type* IV 系統の青枯病菌が分離されることはアジアの一部の地域を除いてほとんど例がなく、諸外国とは異なる我が国に特異的な現象でもある (HORITA et al., 2010)。

西南暖地のジャガイモ青枯病発生圃場では、*phylo-type* I (biovar 4) 系統と *phylo-type* IV (biovar N2) 系統の菌株が混在する例が知られ、両系統の温度特性の違いが本病発生期間の長期化や、ジャガイモ品種の青枯病抵抗性を不安定にしている要因と考えられている (片山・木村, 1986)。しかし、これら青枯病菌系統間の各ジャガイモ品種に対する病原力の差異については、これまで詳細な検討は行われていなかった。また、ジャガイモ分離株のジャガイモ以外の植物に対する病原性については、尾崎・木村 (1992 b) が biovar 4 (*phylo-type* I 系統) に属する分離株の各種ナス木植物に対する病原性を報告した以外に詳細な調査は行われていない。

筆者らは、日本産ジャガイモ分離株の病原学的な特性を明らかにするため、多数のジャガイモ分離株を供試して、西南暖地での主要なジャガイモ品種およびジャガイモ以外で宿主になる可能性の高い各種作物に対する病原性を調べた (SUGA et al., 2013)。ここでは、青枯病抵抗性を簡易に検定することを目的に考案した抉芽 (けつが) 浸漬接種法 (菅・宮崎, 2001) について概説したうえで、

表-1 日本国内から分離される青枯病菌の *phylo-type*, race および biovar の関係

<i>phylo-type</i>	race	biovar	国内の分離植物
I	1	N2	ナス科, イチゴ, ゴマ, ニガウリ, 草花類, 雑草類他
		3	
	4	4	タバコ以外のナス科, ウリ科, ラッカセイ他
		3	
IV	3	4	シヨウガ, ミヨウガ, クルクマ
		N2	ジャガイモ

Difference in Virulence and Pathogenicity of Japanese Potato Strains of *Ralstonia solanacearum* to Potato Varieties and other Host Plants. By Yasuhiro SUGA, Mitsuo HORITA, Naruto FURUYA and Kenichi TSUCHIYA

(キーワード: ジャガイモ青枯病, *Ralstonia solanacearum*, 病原性, biovar, *phylo-type*, race)

ジャガイモ青枯病菌の病原学的な特性を調べるために、多数の菌株を用いた接種試験で得られた知見を紹介する。

I 抉芽浸漬接種法

種々の病原体について病原力や病原性を比較する場合には、均一な状態の接种植物を大量に準備する必要があるため、種子繁殖の植物では実生苗を利用することが多い。しかし、ジャガイモは栄養繁殖体であり、初期の生育量は種いもの栄養状態に依存して大きく変動することから、均質な検体を得るためには種いもの大きさと芽の数を一定にする必要がある。また、ジャガイモは一期作向けの品種と二期作向けの品種では内生休眠の期間が大きく異なるため、通常の貯蔵条件ではジャガイモは斉一に萌芽しない。したがって、多数の品種を用いて比較する場合には、内生休眠が既に打破されているが、気温などの外的条件が不適であるために萌芽に至らない状態（外生休眠）の塊茎を用いる必要がある。これらのことから、筆者らは、約3～6か月間冷蔵した各ジャガイモ品種の塊茎から目の部分を一定の大きさにくりぬいて得た抉芽を青枯病菌の菌液に10秒間浸漬接種し、風乾した後にセル成型トレイに植え付け、人工気象室で温度条件を制御して定植後の病勢進展を観察する方法（抉芽浸漬接種法）について検討した（図-1）。

本法によってジャガイモ品種の青枯病抵抗性を評価するために適切な条件を調べたところ、23℃に調整した人工気象室内の条件で接種菌（MAFF 327001；phyloptype I, biovar 4）の接種濃度約 10^6 または 10^7 cfu/mlの各区で、ジャガイモ2品種（‘デジマ’および‘アイノアカ’）間で抵抗性の違いが明瞭に観察された（図-2）。このことから、上記条件に準じて多数のジャガイモ品種・系統を供試して青枯病抵抗性の評価を試みた結果、一部の品種で発芽前に抉芽の腐敗が認められたが、接種20日後には一部品種で地上部の萎凋が認められるようになり、30日後に発病率率を比較すると、供試品種・系統間では‘メイホウ’を含む抵抗性が強いものと‘デジマ’を含む抵抗性が弱いものに大別できた。また、この結果は一部の品種を除いて品種育成時（圃場試験による）の特性検定値とおおむね一致したことから、本法は青枯病抵抗性検定に利用可能と考えられた（表-2）。

II ジャガイモ品種に対する病原力とジャガイモの青枯病抵抗性の変動

抉芽浸漬接種法はジャガイモ品種の青枯病抵抗性の評価だけでなく、接種する青枯病菌の菌株の各品種に対する病原力を比較することにも利用できる。ここでは、接

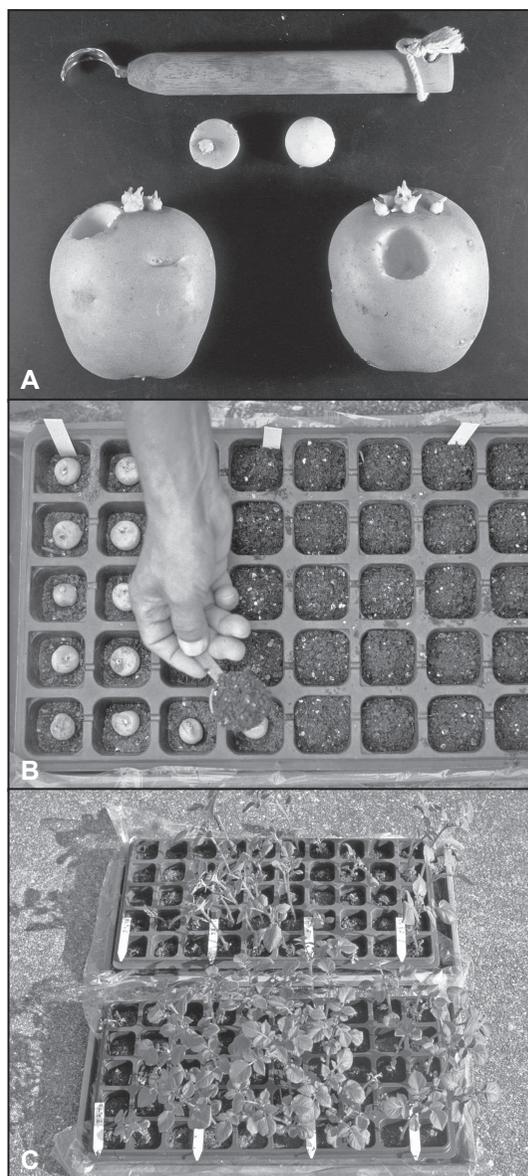


図-1 抉芽浸漬接種法によるジャガイモの青枯病抵抗性検定
A: 抉芽刀と削り貫いたジャガイモの芽。
B: セルトレイに植えつけた抉芽。
C: 接種約30日後の青枯病発病状況。

種菌株に phyloptype IV 系統で biovar N2 に類別される 3 菌株、 phyloptype I 系統で biovar 3 に類別される 2 菌株および phyloptype I 系統で biovar 4 に類別される 2 菌株の合計7菌株を用い、暖地向けジャガイモ7品種（‘デジマ’、‘春あかり’、‘アイユタカ’、‘ニシユタカ’、‘さんじゅう丸’、‘アイノアカ’および‘農林1号’）と現在育成中の2系統

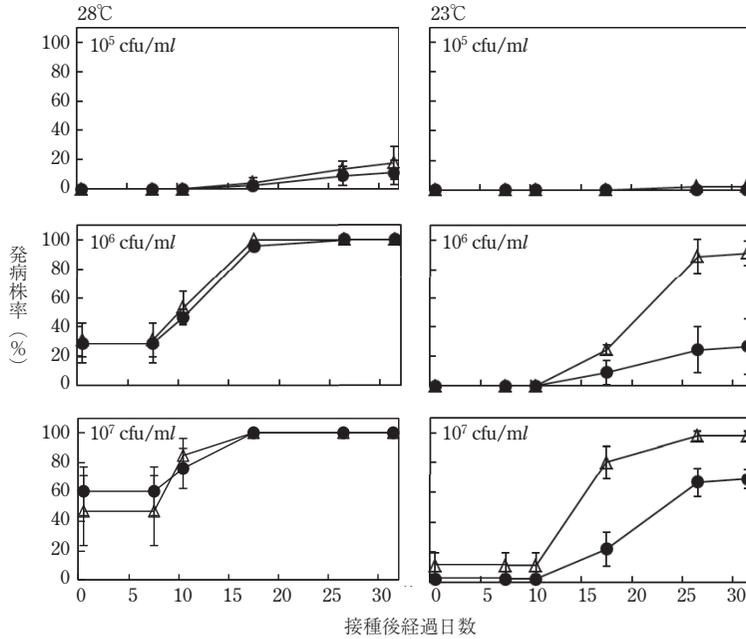


図-2 抉芽浸漬法における温度と接種菌濃度がジャガイモ青枯病の発病に及ぼす影響

—△—デジマ, —●—アイノアカ.

接種菌株: MAFF 327001 (phylotype I, biovar 4).

エラーバーは標準偏差.

表-2 抉芽浸漬法によるジャガイモ各品種・系統の青枯病抵抗性^{a)}

品種・系統名	不出芽株率 (%)	発病株率 (%) ^{b)}			特性検定値 ^{c)}
		接種 10 日後	同 20 日後	同 30 日後	
メイホウ	6.7	6.7	6.7	6.7 a	強
アイノアカ	0.0	0	0	6.7 a	やや強
愛系 88 号	11.1	11.1	11.1	11.1 a	やや強
西海 28 号	6.7	6.7	6.7	11.1 a	やや弱
ニシユタカ	2.2	2.2	11.1	20 a	やや強
農林 1 号	2.2	2.2	2.2	8.9 a	強
北海 86 号	13.3	13.3	13.3	20 a	弱
とうや	2.2	2.2	2.2	22.2 ab	強
西海 29 号	6.7	6.7	6.7	46.7 abc	弱
長系 113 号	22.2	22.2	24.4	51.1 c	強
デジマ	4.4	4.4	28.9	48.9 c	中
愛系 80 号	11.1	11.1	15.6	48.9 c	やや弱
男爵薯	4.4	4.4	13.3	62.2 c	弱
長系 110 号	13.3	13.3	28.9	68.9 c	弱

^{a)} 菅・宮崎 (2001) を改変.

^{b)} 数値は 3 反復平均値, 同一英文字間は Fisher の PLSD 法 ($P = 0.05$) で有意差を認めない.

^{c)} 長崎県農林技術開発センター馬鈴薯研究室 (旧 愛野馬鈴薯支場育種栽培科) による特性検定結果を引用, 強~弱まで 5 段階に分類.

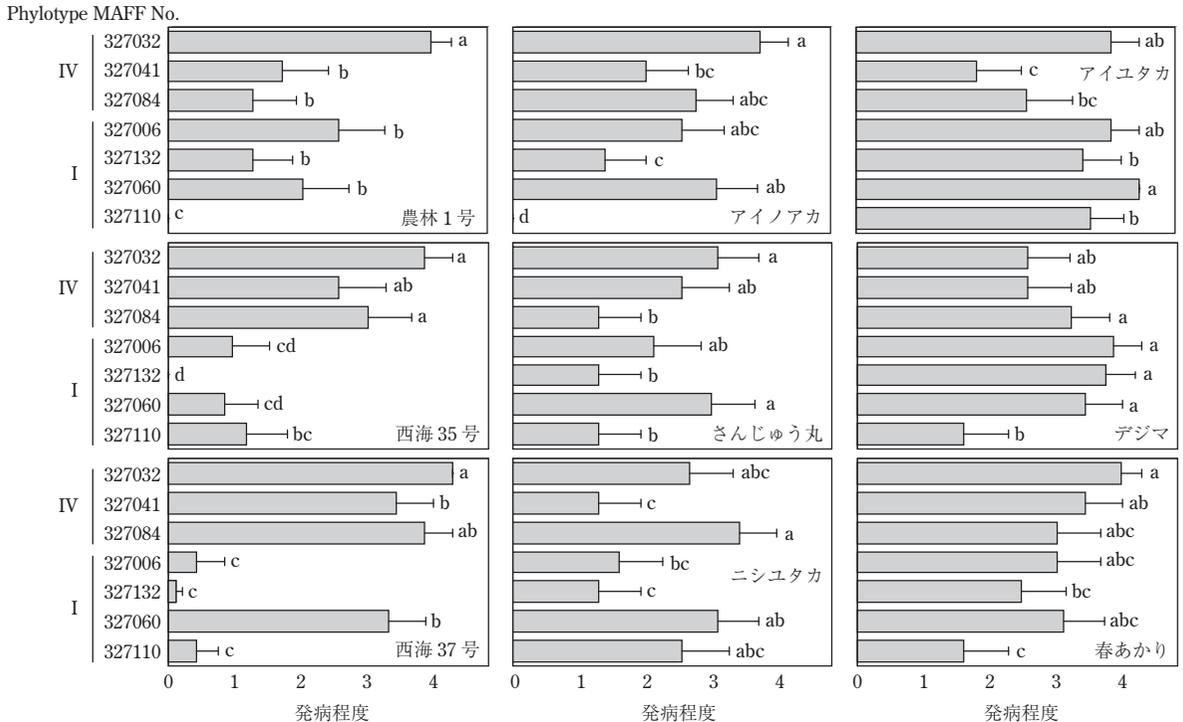


図-3 ジャガイモ品種・育成系統に対する青枯病菌の病原性と phylogroup との関係

接種試験には供試菌株当たり 10 植物体を供試した。横軸は発病程度の平均値 ($n = 10$) を示し、エラーバーは標準誤差を示した。

図中の同一英小文字間には有意差を認めない ($P = 0.05$)。

発病指数 0: 発病なし, 1: 全葉の 1 ~ 25% が萎凋する, 2: 全葉の 26 ~ 50% が萎凋する, 3: 全葉の 51 ~ 75% が萎凋する, 4: 全葉の 76 ~ 100% が萎凋または枯死する。接種による抉芽の出芽前枯死は発病指数 4 とした。

（‘西海 35 号’ および ‘西海 37 号’）の計 9 品種・系統を供試して、本法によりジャガイモ各品種・系統に対する病原性を評価した。その結果、phylogroup IV 系統の 3 菌株は、すべての供試ジャガイモ品種・系統に対して高い病原性を示したが、phylogroup I 系統の 4 菌株は、供試品種・系統に対して病原性が異なっていた（図-3）。Phylogroup I 系統に属する 4 菌株は、‘西海 35 号’に激しい病徴を示すことはなく、病原性は弱かった。また、このうち 1 菌株（MAFF 327060）を除いた 3 菌株は、同様に‘西海 37 号’に対しても病原性が弱かった。一方、phylogroup IV 系統の 3 菌株は‘西海 35 号’および‘西海 37 号’に対して強い病原性を示した。育成系統の‘西海 35 号’と‘西海 37 号’は、ジャガイモの近縁野生種である *Solanum phureja* に由来する青枯病抵抗性を有している（MORI et al., 2012）ことから、*S. phureja* 由来の抵抗性は phylogroup IV 系統には効果が低い可能性が示唆された。これまで西南暖地では、ジャガイモ青枯病の自然発生圃場を使用して秋作露地栽培条件下で抵抗性を評価してきたが、今後は、病

原菌の系統や病原性による影響を考慮し、接種試験も組合せて抵抗性を評価する必要があると考えられた。また、phylogroup IV 系統に対する抵抗性育種を目指して、新たな抵抗性育種素材の探索と導入についても検討が必要である。

III ジャガイモ以外の植物に対する病原性の差異

日本産ジャガイモ青枯病菌の各種植物に対する病原性と、phylogroup や biovar との関係性を明らかにするため、以下の接種試験を行った。Phylogroup I (biovar 3 および biovar 4) 系統 61 菌株と phylogroup IV (biovar N2) 系統 41 菌株の計 102 菌株を供試して、ジャガイモ（‘デジマ’）、トマト（‘大型福寿’および‘ボンデローサ’）、ナス（‘筑陽’）、ヒラナス（ナス台木植物 *S. integrifolium*、‘アカナス’）、タバコ（‘ブライトイエロー 4 号’）、ラッカセイ（‘千葉半立’）およびカボチャ（‘えびす’）の 3 科 7 種（8 品種）に接種した。試験は平均気温 20℃ 以上を維持したガラス温室内で実施し、直径 9 cm のビニルポットで育成し

表-3 日本産ジャガイモ青枯病菌の各種植物に対する病原性に基づく類別

Pathogenic type	病原性 ^{a)}								菌株数			計
	ナス科				ママ科	ウリ科	系統					
	ジャガイモ イモ デジマ	トマト 大型福寿 ボンデローサ		ナス 筑陽	<i>S. integrifolium</i> アカナス (ヒラナス)	タバコ ブライト イエロー 4号	ラッカ セイ 千葉半立	カボチャ えびす	phyloptype I biovar 3 biovar 4		phyloptype IV biovar N2	
A	+	+	+	+	+	+	+	-	5	3		8
B	+	+	+	+	+	+	-	-	2	1		3
C	+	+	+	+	+	-	+	-	3	17		20
D	+	+	+	+	+	-	-	-	4	4		8
E	+	+	+	+	-	+	+	-	1	3		4
F	+	+	+	+	-	+	-	-		1		1
G	+	+	+	+	-	-	+	-	1	5		6
H	+	+	+	+	-	-	-	-	1	4		5
I	+	+	-	+	-	-	-	-		1		1
J	+	+	+	-	+	+	-	-			6	6
K	+	+	+	-	+	-	+	-			1	1
L	+	+	+	-	+	-	-	-			23	23
M	+	+	-	-	+	+	-	-			4	4
N	+	+	+	-	-	+	-	-			3	3
O	+	+	-	-	+	-	-	-		1	1	2
P	+	+	+	-	-	-	-	-	1	1	3	5
Q	+	+	-	-	-	-	-	-		2		2

^{a)} 各植物は3～5個体を供試。

+ : 病原性あり (供試個体のうち1個体以上に萎凋・枯死が認められる), - : 病原性なし (すべての供試個体に発病を認めない)。

た供試植物を1菌株当たり各3～5鉢ずつ用いて断根灌注接種(尾崎・木村, 1989)を行い, 約3週間後に発病度を調査した。試験結果について各供試植物のうち1個体以上で病徴を確認した場合に病原性あり(+), すべての植物に病徴が認められなかった場合を病原性なし(-)として取りまとめたものが, 表-3である。

その結果, 供試した102菌株はすべて, ジャガイモおよびトマト品種‘大型福寿’に対して病原性を示し, カボチャには非病原性であった。また, タバコおよびラッカセイに対する病原性は菌株間で異なった。供試菌株は各種植物に対する病原性の違いから17の pathogenic type (A～Q) に類別された。

Phylotype I 系統の菌株は, 大半の菌株がナスに対して病原性を示したのに対し, すべての phylotype IV 系統の菌株がナスに対して非病原性であった。このことは,

国内のナス分離菌株がすべて phylotype I であることと一致し, phylotype I 系統がナスやジャガイモを含む多くの植物から広く分離されている実態を裏付けるものであった(堀田・土屋, 2009)。また, 国内では phylotype IV 系統はこれまでにジャガイモ以外からは分離されていないが, ナスの台木植物であるヒラナスをはじめタバコやラッカセイに病原性を示す菌株の存在が明らかになったことから, 今後, ジャガイモ以外の栽培植物にも phylotype IV 系統の青枯病菌が感染し, 加害する可能性が示唆された。

日本産青枯病菌は, 栽培ナスおよびナス台木植物に対する病原性の違いに基づき五つの菌群 (I～V) に類別され(尾崎・木村, 1992 a), ジャガイモ分離菌株では biovar4 (phylotype I) 系統が栽培ナスにのみ病原性を示す I 群菌に類別されることが報告されている(尾崎・木

村, 1992 b)。しかし, 筆者らの実験結果を見ると, pathogenic type A, B, C および D の菌株 (すべて phylo-type I) は栽培ナスに加え, 台木植物ヒラナスに対しても病原性を示したことから, これらは I 群菌ではなく, III ~ V 群菌のいずれかに類別されると考えられた。また, pathogenic type J ~ Q の菌株は栽培ナスに病原性を示さないにもかかわらず, ヒラナスに病原性を示すなど既存の菌群には類別されない菌株もあることから, ジャガイモ分離株の病原性は多様であることが明らかになった。

おわりに

筆者らは, ジャガイモ品種の青枯病抵抗性検定法を新たに開発するとともに, ジャガイモ近縁野生種 *S. phureja* に由来する青枯病抵抗性が phylotype IV 系統の青枯病菌に必ずしも有効ではないこと, および栽培ナスやナス台木植物等へのジャガイモ青枯病菌の病原性が, phylotype I と phylotype IV の系統間で, また同一系統内の菌株間でも異なることを明らかにした。Phylotype IV 系統は rep-PCR 法などを用いた DNA 解析では比較的変異の少ないグループを形成し (HORITA et al., 2010), 病原性においても菌株間で大きな違いが見られなかったことは, 同系統が近年になって海外から伝播した可能性を示して

おり興味深い知見である。

今後は, これまでの解析により得られた国内産ジャガイモ青枯病菌株の遺伝的, 病原学的性質の知見に基づき, ジャガイモ青枯病の総合的な防除対策について検討を進める予定である。また, 現在, 長崎県では phylo-type IV 系統が国内に広く分布する実態に即した抵抗性育種を進めるため, ジャガイモの組織培養系を利用した青枯病抵抗性の評価法についても検討中である。

引用文献

- 1) 安達直人・塚本昇市 (2010): 北陸病虫研報 59: 1 ~ 3.
- 2) 安達理恵ら (2012): 日植病報 78: 56 (講要).
- 3) FEGAN, M. and P. PRIOR (2005): How Complex is the *Ralstonia solanacearum* Species Complex, Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex, APS Press, St. Paul, p. 449 ~ 461.
- 4) 堀田光生・土屋健一 (2009): 日植病報 75: 297 ~ 306.
- 5) HORITA, M. et al. (2010): J. Gen. Plant Pathol. 76: 196 ~ 207.
- 6) 片山克己・木村貞夫 (1986): 長崎総農林試研報 14: 1 ~ 30.
- 7) 松崎聖史ら (2010): 日植病報 76: 211 (講要).
- 8) MORI, K. et al. (2012): Am. J. Pot. Res. 89: 63 ~ 72.
- 9) 尾崎克己・木村俊彦 (1989): 中国農研報 4: 103 ~ 117.
- 10) ———— (1992 a): 同上 10: 49 ~ 58.
- 11) ———— (1992 b): 近畿中国農研報 83: 11 ~ 16.
- 12) 篠原弘亮ら (2010): 日植病報 76: 211 (講要).
- 13) 菅 康弘・宮崎 孝 (2001): 九病虫研会報 47: 6 ~ 8.
- 14) SUGA, Y. et al. (2013): J. Gen. Plant Pathol. 79: 110 ~ 114.
- 15) WAKI, T. et al. (2013): JARQ 47: 283 ~ 294.
- 16) 吉澤祐太郎ら (2012): 日植病報 78: 276 (講要).