

ブドウつる割細菌病の生態と防除について

北海道立総合研究機構中央農業試験場 小松勉

はじめに

北海道は加工用専用ブドウ品種の栽培面積が全国1位となっている（農林水産統計「2012年産特産果樹生産動態等調査」より）。加工用の用途は、ほぼ醸造用であることから、北海道がワイン原料の主要産地であることを示している。また近年は、ワインラーを舞台にした映画が制作されるなど道内各地でワイン醸造に対する関心が高まっており、醸造用ブドウは行政施策の面からも振興が図られている作物である。

2009年秋、道内各地の醸造用ブドウ産地において、果実が黒変し、やがて腐敗する症状が発生し問題となった。また、本症状が発生したブドウでは葉にハローを伴う黄色の斑点症状を呈し、その後病斑が拡大、融合し枯れ上がる症状が見られた（図-1）。加えて、新梢には黒いかいよう症状を伴う亀裂が多数確認された。本症状が見られた果実や葉の組織を顕微鏡観察したところ、細菌の菌泥流出が観察され、本症状は細菌による病害と疑われた。しかし、2009年時点で国内ではブドウにおける細菌病は確認されていなかったため、本症状と観察された細菌との関係は不明であった。一方、本症が発生した産地の多くにおいて、本症は *Phomopsis viticola* によるつる割病と疑われ、ベノミル水和剤などつる割病に対する薬剤散布も行われたが、防除効果は見られなかった。



図-1 ブドウつる割細菌病 葉の斑点症状

その後、本症状は、*Xylophilus ampelinus* による我が国初の細菌性病害「つる割細菌病」であることが新村ら（2012）により明らかにされた。本病原菌は1属1種の細菌で、ヨーロッパブドウ (*Vitis vinifera*) およびその交雑種のみにも病原性をもつとされている（EPPO, 2009）。

I 既発地域および被害

X. ampelinus によるブドウつる割細菌病は、ギリシャ、イタリア、フランス、スペイン、北アフリカ沿岸諸国等、地中海沿岸諸国で古くから発生が報告されており、南アフリカ、南アメリカや東欧各国でも発生が確認されている。一方、同じヨーロッパにおいても、アメリン&ウィンクラーによるワイン産地区分（4月1日から10月31日までの気温が華氏50℃を上回った日のその温度差の合計による）において北海道と同じリージョンI（0～2,500 F日：ブドウ栽培地域としても最も冷涼）に区分されているドイツやオーストリアでは発生が報告されていない。

本病による被害報告として、1940年に南アフリカ共和国において、ブドウの収穫量が70%以上減少し、フランスでは1968年にシャラント県の‘ブーシェ’と‘ユニ・ブラン’、ランドック県の‘ゲルナッシュ’と‘マカブー’で深刻な被害が記録されている（EPPO, 2009）。

スペインでは1978年にはじめて本病が確認されているが、発生地域ではその数年前から症状は出ていたものの発病が穏やかであったため見逃されていたと推察している。同国では1975～80年にかけて、激しい降雨が続いたため本病の発生に好適な条件となり、本病が甚発生した。1981年の実態調査では、カリニエナ地方のブドウ園21,000 haのうち、9,000 haで発生が認められており、うち80%以上の樹が罹病し収穫のなかったブドウ園500 haで樹が抜き取られた。しかし、1981～85年にかけては降水量が少なくなり、本病の発生は見られなくなったことが報告されている（LÓPEZ et al., 1987）。

フランスでは1993と97年に本病が甚発生した。特にコニャック地方とアルマニャック地方では‘ウグニ・ブラン’、‘コロンバル’、‘マカブー’、ディー地方では‘クレレット’で収穫量の減少が著しいと報告されている（RIDÉ, 2000）。

国内では2009年に北海道ではじめて発生が確認され

(新村ら, 2012), 2012年には秋田県の生食用ブドウにおいても本病の発生が確認されている(須崎・佐藤, 2014a)。

II 海外における発生生態

X. ampelinus はブドウの木質部や樹液中に存在し、剪定器具により伝播するとされている(RIDÉ et al., 1977)。実際に、剪定鋏や収穫機の送風口から本病原菌が検出されている(MARCELIN, 1976)。また、剪定などにより生じる傷口から感染しやすく、これに風雨が伴うと伝染しやすい(EPPO, 2009)。発病程度には年次間差が大きく、これは主に環境要因による。発生に適さない条件下では病徴を示さないものの、潜在的にブドウの樹体内で数年間は生存している(RIDÉ and MARCELIN, 1983)。降雨が多く湿度が高い場合や、スプリンクラーによる灌水などが行われると発生しやすい。ブドウ園における作業体系が機械化により変化したことが本病の拡大した要因と考えられている(RIDÉ, 1996)。

X. ampelinus のブドウ樹体内での動態について、BRANAS (1961) は汚染枝を組織学的に観察し、本病原菌の塊により木質部導管の流れが阻害されていることを示した。また、BERNON (1963) は発病枝の病斑部付近の切片観察から、*X. ampelinus* により皮質細胞が破壊され、靱皮繊維は崩壊していたこと、病原菌のコロニーにより木質部導管の機能が阻害されていたことを報告している。GRALL and MANCEAU (2003) は、病原菌に蛍光発色遺伝子を導入した変異株を作成してブドウにおける *X. ampelinus* の動態を調査したところ、有傷で接種した場合、接種菌は木質部導管でバイオフィルムを形成しながら増殖し、これにより水分の移動が妨げられるとともに導管組織が破壊され、木質部細胞、放射組織細胞、髓部細胞の間で接種菌の増殖を観察している。しかし、接種菌は師部から木質部を分ける形成層を超えることはなかった。噴霧接種した場合、接種菌は葉や茎で生存しており、さらに接種後に伸長した新しい組織にも定着していることを示し、本病原菌は木質部導管において増殖、定着していると報告している。さらに、ブドウは休眠後、気温の上昇とともに萌芽するが、その前段階として前年剪定部分から樹液の漏出が起こる。GRALL et al. (2005) は、この漏出する樹液内の菌が当年の第1次伝染源であり、これにより感染した葉から風雨などによる空気中の分散により第2次伝染が起こると推察している。また、*X. ampelinus* は葉面では増殖できないと推察している。

III 検出

X. ampelinus は人工培地上での生育が非常に遅い細菌で、コロニーの確認までに10～14日の培養期間を要する。そのため、発病したブドウの組織から常法により分離を試みても、組織内外に含まれる雑菌類の生育によりコロニーが覆われ、分離が阻害されてしまう場合が多い(EPPO, 2009)。SERFONTEIN et al. (1997) は、感染したブドウ苗木を15℃の湿潤条件下で3日間保管することにより、組織内部での本病原菌密度が上昇し効率的な分離が可能となると報告している。また、須崎・佐藤(2014b) は *X. ampelinus* の強いウレアーゼ活性を利用した選択的分離培地を報告している。

分子生物学的検出方法として、BOTHÁ et al. (2001) は、16S-23S rDNA 遺伝子のスペーサー領域の塩基配列から種特異的プライマーを設計し、nested-PCRを行うことによる、ブドウ挿し穂からの高感度検出法を報告している。MANCEAU et al. (2005) は rDNA の ITS 領域の塩基配列から *X. ampelinus* の種特異的プライマーを設計し、PCRによるブドウ組織からの簡便な検出方法を報告するとともに、この特異的増幅産物に対する Dig 標識プローブを用いた PCR-ELISA 法による高感度検出法を報告している。DREO et al. (2007) は、種特異的なマイナーグループバインダープローブを用いたリアルタイム PCR により、nested-PCR の100倍の感度でのブドウ組織からの *X. ampelinus* 検出が可能であることを示し、サイクル数と培地上での細菌計測数との相関により定量的な検出にも利用できると報告している。

IV 北海道における発生生態

海外における既往の知見では、本病原菌はブドウの樹体内で生存し、樹液および樹液で汚染された道具により伝播されるとされている。そこで北海道内において、発病した樹体を剪定した鋏を用い、ポットで育てた健全な株に傷を付けて発病の有無を観察したが、発病は認められず、樹液による伝播は確認できなかった。そこで、樹液以外の組織で本病原菌が保菌されている部位について検討を行った。

培養した本病原菌を噴霧接種し、葉での発病が認められたポット生育株を低温下において完全落葉させ、残った新梢組織を、表皮、髓部、越冬芽に分け、核酸を抽出して MANCEAU et al. (2005) の種特異プライマーを用いた PCR により検定した。その結果、表皮、髓部からは本病原菌が検出されなかったが、越冬芽からは高頻度に検出された。また、2013～14年の2か年、現地発生園

表-1 越冬後のブドウ組織および樹液における *Xylophilus ampelinus* の保菌状況

採取年	場所・園地	品種名	検出率 (%)		
			越冬芽	髓部	樹液
2013	余市町 A	ケルナー	21.7	0	0
2013	富良野市 C	ツヴァイゲルトレーベ	40.0	0	0
2014	富良野市 C	ツヴァイゲルトレーベ	40.0	0	—
2014	富良野市 D	ニューヨークマスカット	63.3	0	0

—：樹液の採取ができなかった。

供試サンプル数は越冬芽が 60 個、髓部および樹液は 20 個。

表-2 多発樹剪定枝における越冬芽の部位別保菌

供試部位	検出率 (%)
主芽	23.3
苞葉および綿毛	96.7

検出は PCR による。

供試サンプルはいずれも 60 個。

から採取した発芽前の越冬芽、髓部、樹液それぞれについて同様の検定を行ったところ、髓部、樹液からは検出されず、越冬芽からのみ検出された (表-1)。これらの結果より、北海道において本病原菌は樹体組織内部や樹液での越冬は検出できない低いレベルであると考えられ、主な越冬部位は越冬芽であることが示された (KOMATSU and KONDO, 2015 a)。

さらに、2013 年に本病が多発した園地において、秋に剪定された新梢から越冬芽を切り出し、主芽部分と苞葉および綿毛部分とに分割して同様の検定を行ったところ、主芽分よりも苞葉および綿毛部分での検出割合が高

い傾向にあった (表-2)。このことから本病原菌が組織内部ではなく、組織間の空隙部分で越冬している可能性が示唆された (KOMATSU and KONDO, 2015 a)。また、同時に採取した多発樹の新梢を 5℃ の低温室内で保管し、定期的に越冬芽と髓部の保菌状況について検定したところ、越冬芽部分では保存 100 日後においても高い割合で本病原菌が検出された。一方、髓部では保存前は高い割合で検出されたものの、保存 50 日以降経過するとほとんど検出できなくなった (データ省略)。北海道ではブドウの樹は凍結防止のため積雪下になるように管理されており、積雪下の温度は 0～4℃ 程度とされている。そのため長期間この低温にさらされることが髓部での菌密度を低下させている可能性も考えられたが、積雪下の越冬組織について行った試験ではないため、道内において髓部や樹液での越冬菌量が低い原因は不明である。

本病が多発する気象要因は低温多雨条件とされている。そこで、2014 年に様々な園地に温湿度計を設置し、気温および湿度と発病率との関係について調査した。

表-3 発病率と各気象条件積算時間との関係

試験地	初発日	調査月日	調査葉数	発病率 (%)	各気象条件積算時間 (hr) ^{a)}							
					温度		相対湿度					
					15～20℃	25℃以上	95%以上	70%未満				
A	8月19日	9月18日	800	9.4	441	100	511	126				
B	8月19日	9月18日	950	21.9	425	139	513	124				
C	8月18日	9月22日	1,000	5.8	520	126	429	172				
D	8月18日	9月22日	1,000	18.3	545	110	667	120				
E	8月14日	9月16日	347	20.8	467	163	693	117				
F	8月20日	9月25日	457	2.2	423	203	445	237				
G	8月20日	9月25日	530	16.2	440	191	565	211				
(p =)					0.8923	ns	0.7389	ns	0.0467	*	0.1109	ns

^{a)} 8月1日～9月21日までの毎時データの総和。

* : 5%で有意, ns : 有意差なし。

計測した園地における初発期は、いずれも8月中旬ごろに認められ、その後9月にかけて病勢の進展が見られたことから8月1日～9月21日までのデータを積算し、解析に用いた。得られた気象データについて、海外での知見および道内で多発した2009年の気象概況から本病の発生に好適な環境要因を相対湿度95%以上の高湿度、15～20℃の冷涼な気温と想定した。一方、不適な条件を気温25℃以上の高温、相対湿度70%以下の低湿度と想定した。その結果、発病株率と正の相関が認められたのは相対湿度95%以上の積算時間のみであった(表-3)。その他の想定条件についてはいずれも相関は認められず、本病は高湿度条件により助長されることが示された(小松, 2015)。

V 薬剤散布による防除

2011年、薬剤防除に関する予備的な試験として、前年発生園地においてべと病や灰色かび病を対象に行われる慣行の殺菌剤散布に塩基性硫酸銅水和剤800倍を加用し、6月5日～8月1日まで約10日間隔で7回散布したところ、本病の発病葉率が銅剤無添加区に比較し顕著に少なくなった。このことから銅水和剤の散布による防除効果が期待された。一方、展葉後から7回の散布を行うことは作業負担が大きいと、2012～14年に本病の被害を回避するための散布適期、必要な散布回数について検討した。

試験は余市郡余市町のA, B園地(品種‘ケルナー’)と富良野市のC園地(品種‘ツヴァイゲルトレーベ’)に

表-4 メタアナリシスによる薬剤散布処理の統合リスク比

処理	リスク比
初発期を含む7回散布	0.12
初発期を含む4回散布	0.38
初発期を含まない3回散布	0.69

統合値のリスク比 $P < 0.0001$.

において1区10樹の2反復で行った。供試薬剤は塩基性硫酸銅水和剤(銅として32%)とし、この800倍希釈液に炭酸水素カルシウム水和剤を100倍希釈となるように加用、散布水量は1樹当たり0.6～1.5l(120～300l/10a)とし約10日間隔で散布した。本病による果実被害を軽減することを目標に、開花期前後における3回程度の散布、また9月以降に発病が進展した事例が見られていたことから、開花期よりも遅い時期に3回程度散布する防除効果について検討した。いずれの年も各園地における初発期を調査するとともに、最終散布10ないし20日後に発病調査を行い、効果を判定した。しかし、試験期間中における本病の発生程度は少～中発生にとどまり、無処理区においても果実被害は発生しなかった。そのため発病葉率により比較したところ、効果の違いは薬剤散布時のブドウの生育ステージではなく、散布した時期に初発期が含まれているか否かが最も影響している可能性が考えられた。防除効果を比較するグループとして、「散布期間中に初発期が含まれる7回散布」、「散布期間中に初発期が含まれる3～4回散布」、「散布期間中に初発期が含まれない3回散布」に分け、それぞれに

表-5 前年の銅剤散布が翌年春の越冬芽の保菌に与える影響

年次	処理区	園地					
		A		B		C	
		発病葉率(%)	検出率(%)	発病葉率(%)	検出率(%)	発病葉率(%)	検出率(%)
2012	7回散布	0.25	0.0	0.08	0.0	0.60	0.0
	初発期を含まない3回散布	0.54	15.0	1.73	0.0	nt	nt
	無処理	1.28	21.7	0.77	8.3	3.70	40.0
2013	7回散布	1.20	0.0	1.11	0.0	nt	nt
	初発期を含む4回散布	5.30	0.0	3.89	0.0	6.44	0.0
	初発期を含まない3回散布	7.30	0.0	8.75	0.0	nt	nt
	無処理	12.10	3.3	10.12	41.7	21.20	45.0
2014	初発期を含む3回散布	nt	nt	4.86	3.3	1.73	0.0
	初発期を含まない3回散布	5.89	40.0	10.88	70.0	3.98	0.0
	無処理	9.13	45.0	8.27	80.0	5.80	35.0

nt: not tested.

発病葉率は各年次秋の調査結果、検出率は翌年初の越冬芽におけるPCRによる検出割合。

