1983 年, チャに発生した細菌病の病原細菌の同定

瀧川 雄一*・安藤 康雄**・浜屋 悦次**,***

露無 慎二*・後藤 正夫*

Yuichi TAKIKAWA*, Yasuo ANDO**, Etuji HAMAYA**,***, Shinji TSUYUMU* and
Masao GOTO*: Identification of the Pathogens Responsible
for Bacteriosis of Tea Plant Occurred in 1983

Abstract

A bacterial disease of tea plant was observed in Shizuoka Prefecture in July, 1983. The symptoms were characterized by leaf spots with irregular shape and apparent necrosis of the spongy parenchyma tissue. Two distinct pseudomonads were isolated from these lesions. On the basis of bacteriological and pathological tests, they were identified as *Pseudomonas syringae* pv. *theae* and *P. avenae*, respectively. *P. syringae* pv. *theae* was isolated with high frequency, and produced the typical shoot blight symptoms or the characteristic leaf spot symptoms depending upon the temperature and humidity in inoculation tests and the variety of tea plants. *P. avenae* was isolated with lower frequency, and produced leaf spot symptoms different from those observed in the field in color and shape. From these results, the present disease was determined as one of the symptoms of bacterial shoot blight caused by *P. syringae* pv. *theae*. The role of *P. avenae* in this bacteriosis remained to be clarified.

Key words: tea plant, *Pseudomonas syringae* pv. *theae*, *Pseudomonas avenae*.

1983 年 7 月, 静岡県榛原郡金谷町の茶栽培地帯において, チャ (*Thea sinensis* L. 品種「やぶきた」) に細菌病が大発生し問題となった。チャにおける細菌病としては, *Pseudomonas syringae* pv. *theae* による赤焼病が知られているが¹⁻³⁾, 今回の病害の病徴や発生時期は従来の赤焼病の記載とはまったく異なっていた。そこで, その病原を解明する目的で病原細菌の分離と同定を試みた。なお, 本研究の概要はすでに発表した⁴⁾。

本病の病徴は, すでに報告⁵⁾ したように, 最初針頭大の水浸状斑を形成したのち漸次拡大し, 径 1~20 mm

の不規則な病斑が葉裏面に散在して生じた。病斑は淡褐色壊死状となり, 周縁は波状を呈し, やや隆起して水浸状帯を伴った。病斑部では, 海綿状組織の葉肉細胞のみがとくに壊死しており, 柵状組織の細胞は生き残っていることが多かった。このため, 葉表側より見ると淡緑色の斑紋状を呈していた。また, 枝部での病斑は認められなかった。

罹病植物から病原細菌の分離を試みたところ, 7 月末より 8 月にかけては分離が著しく困難で, 病斑から細菌がまったく分離できない場合もあり, また分離されても容易に死滅した。しかし, 9 月に入ると容易に

* 静岡大学農学部 Faculty of Agriculture, Shizuoka University, 836 Ohya, Shizuoka 422, Japan

** 農林水産省野菜・茶業試験場 National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea, Kanaya-machi, Shizuoka 428, Japan

*** 現在: 農林水産省農業環境技術研究所 Present address: National Institute of Agro-Environmental Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

1) 堀正太郎 (1914). 病虫害雑誌 1: 247-252. 2) 堀正太郎 (1915). 同上 2: 1-7. 3) 岡部徳夫・後藤正夫 (1955). 静大農研報 5: 96-99. 4) 瀧川雄一・安藤康雄・浜屋悦次・露無慎二・後藤正夫 (1984). 日植病報 50: 420 (講要). 5) 安藤康雄・浜屋悦次・瀧川雄一・後藤正夫 (1986). 同上 52: 478-483.

分離・継代培養できるようになった。分離細菌は集落形状からいくつかのグループに類別されたが、そのうちチャに病原性を示したものは白色細菌 2 種のみであった。このうち一方 (I 群菌) は分離頻度が高く、予備試験の結果 *P. syringae* に類似した性状を示した。そこで、本病から分離した I 群菌 19 菌株、静岡大学保存のチャ赤焼病菌 5 菌株、エンバクかさ枯病菌 4 菌株、クズかさ枯病菌 5 菌株、および II 群菌 3 菌株についてその性状を比較した (Table 1)。

チャに対する接種試験を行ったところ、I 群菌およびチャ赤焼病菌はいずれもチャに対して強い病原性を有していた。再現された病徴は、菌株間の差はほとんどなかったが、接種条件、とくに湿度、温度および品種により大きく異なり、比較的高温・多湿条件下では、品種「やぶきた」に前述の自然病徴をよく再現し、低温・低湿条件下では、品種「印雑」に従来記載された赤焼病の病徴をよく再現した⁶⁾。このほか、Tea-632 株を用いて寄生範囲を調べたが、チャ以外のトウモロコシ、オオムギ、インゲンマメ、ダイコンには寄生性が認められなかった。一方、II 群菌をチャに接種すると、やはり病斑を生じたが、病斑部がより赤褐色になることや、病斑周縁が隆起しないことなどの点で I 群菌による症状と区別された。また、II 群菌は、チャのほか、トウモロコシ、オオムギに対して病原性を有し、褐色条斑を生じたが、インゲンマメ、ダイコンには病原性が認められなかった。また、*P. syringae* pv. *coronafaciens* および pv. *phaseolicola* は、チャに対

してまったく病原性がなかった。

次に、供試細菌の細菌学的性状について調査した⁶⁾。供試細菌はいずれもグラム陰性の極毛桿菌で、酵母エキス-ベプトン寒天培地上で白色の円形集落を形成した。I 群菌およびチャ赤焼病菌の集落は、最初全縁、3~4 日後には周縁がやや鈍鋸歯状となり、径 2~3 mm、中高、半透明、平滑で湿光を帯び、斜光下で格子状模様を認めた。I 菌株 (02-4) は各種培地中に赤褐色水溶性色素を産生した。II 群菌の集落は、3~4 日後には全縁で径 1~2 mm、中高、半透明、平滑で湿光を帯び、日を経るに従い、集落の中央がやや褐色を帯びた。このほかの性状については、Table 2, 3 に記載した。

以上の結果から細菌の同定を行った。I 群菌およびチャ赤焼病菌はほとんどの性状において差異はなく、グラム陰性の極毛桿菌で白色集落を形成し、糖を好氣的にのみ分解することから *Pseudomonas* 属に属する。さらに、蛍光色素を産生し、LOPAT 試験⁷⁾ が + であり、40°C で生育せず、硝酸還元が陰性、トレハロース、バリン、β-アラニン、イソロイシンを利用しないことなどから *P. syringae* と考えられる。これらの性状は、比較供試した *P. syringae* pv. *coronafaciens* や pv. *phaseolicola* とよく一致した。I 群菌およびチャ赤焼病菌と、pv. *coronafaciens* および pv. *phaseolicola* とでは、エクスリンおよびカゼインの加水分解や数種有機化合物の利用能において差異があったが、これらの性状は *P. syringae* 群の中の病原型に

Table 1. Bacterial strains used in this study

Strains (number)	Host	Year	Origin	
Tea 511, 521, 621, 632, 711, 751, 752, 761, 811w, 811p, 821w, 841w, 841y, 851w, 851p, RQ-1, R1-2, R23-2, 02-4. (19)	Tea	1983	This study	Group I
<i>Pseudomonas syringae</i>				
pv. <i>theae</i>				
PT-3, -4, -5.	Tea	1979	M. Goto ^{a)}	
Tea-5, -7. (5)		1972		
pv. <i>coronafaciens</i>				
AVPCO 8101, 8102, 8103, 8104. (4)	Oat	1981	Y. Takikawa ^{a)}	
pv. <i>phaseolicola</i>				
Kuzu 2w, 3aw, 3bw, 4a2w, 4b3w. (5)	Kudzu vine	1981	Y. Takikawa ^{a)}	
Tea 512, 611, 831w. (3)	Tea	1983	This study	Group II

a) Culture Collection of Phytopathogenic Bacteria, at the Laboratory of Plant Pathology, Shizuoka University, Shizuoka, Japan.

6) 後藤正夫・瀧川雄一 (1984). 植物防疫 38: 339-344, 385-389, 432-437, 479-484. 7) Lelliott, R.A., Billing, E. and Hayward, A.C. (1966). J. appl. Bact. 29: 470-489.

Table 2. Bacteriological properties of tea isolates and related pseudomonad strains

Characters	Tea isolates (Group I)	<i>Pseudomonas syringae</i> pv.			Tea isolates (Group II)
		<i>theae</i>	<i>coronafaciens</i>	<i>phaseolicola</i>	
Gram reaction	—	—	—	—	—
Oxidase	—	—	—	—	+
Catalase	+	+	+	+	+
Fluorescent pigment	+	+	+	+	—
Poly- β -hydroxybutylate accumulation	—	ND ^{a)}	ND	ND	+
Flagellation	polar 1-3	ND	ND	ND	polar 1
OF test	O	O	O	O	O/—
Arginine dihydrolase	—	—	—	—	—
Nitrate reduction	—	—	—	—	+
Nitrate respiration	—	—	—	—	—
Production of					
H ₂ S	—	—	—	—	+
Indole	—	—	—	—	—
Ammonia	+	+	+	+	+
Sucrose reducing substance	+	+	+	+	—
Gluconate oxidation	—	—	—	—	—
BCP milk reaction	KD ^{b)}	KD-K ^{c)}	KD	K	KDw ^{d)}
Hydrolysis of					
Gelatin	+	+	+	+	—
Esculin	—	—	+	—	—
Starch	—	—	—	—	—
Casein	+	+	+	—	+w
Tween 80	+	V ^{e)}	+	V ^{e)}	+
Cotton seed oil	—	—	—	—	+
V.P.	—	—	—	—	—
M.R.	—	—	—	—	—
Phenylalanine deaminase	—	—	—	—	—
Lecithinase	—	—	—	—	—
Urease	—	—	—	—	+
Tyrosinase	V ^{f)}	—	+	—	+
Levan production	+	+	+	+	—
Growth at 40 C	—	—	—	—	+
Growth in 5% NaCl	—	—	—	—	—
Potato soft rot	—	—	—	—	—
Tobacco hypersensitive reaction	+	+	+	+	+

a) ND: not determined. b) K: alkali production, D: digestion. c) strain Tea-5 showed no digestion.

d) w: weak reaction. e) strains PT-3, PT-5, Kuzu2w, Kuzu3aw negative. f) strain 02-4 positive.

よって異なることがすでに知られている⁸⁻¹⁰⁾。さらに、I 群菌はチャのみに病原性を有しており、チャ赤焼病菌と寄生性においても一致した。よって I 群菌は *P. syringae* pv. *theae* (Hori 1915) Young, Dye

and Wilkie 1978 と同定された。

一方、II 群菌は、同様に *Pseudomonas* 属であるが、蛍光色素を産生せず、ポリ- β -ヒドロキシ酪酸の蓄積、40 C での生育、硝酸還元が陽性、スクロースを利用

8) Misaghi, I. and Grogan, R.G. (1969). *Phytopathology* 59: 1436-1450. 9) Sands, D.C., Schroth, M.N. and Hildebrand, D.C. (1970). *J. Bacteriol.* 101: 9-23. 10) Sands, D.C., Schroth, M.N. and Hildebrand, D.C. (1980). *In Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria* (Schaad, N.W. ed.). The American Phytopathological Society, St. Paul. pp. 36-44.

Table 3. Utilization of organic compounds as a carbon and energy source^{a)}

Substrates	Tea isolates (Group I)	<i>Pseudomonas syringae</i> pv.			Tea isolates (Group II)
		<i>theae</i>	<i>coronafaciens</i>	<i>phaseolicola</i>	
D-Xylose	+	+	+	(+) ^{b)}	—
Raffinose	—	—	+	+	—
D-Sorbitol	+	+	+	—	+
Sucrose	+	+	+	+	—
Inositol	+	+	+	—	—
Erythritol	—	Ve ^{c)}	+	—	—
Lactate	—	—	—	—	+
n-Caprate	+	+	+	+	—
Levulinate	—	—	—	—	(+)
Glutarate	+	+	+	—	+
Glycerate	+	+	+	—	—
D-Quinate	+	+	+	+	—
Betaine	+	+	+	+	—
Trigonelline	+	+	—	+	—
L-Leucine	V ^{d)}	+	—	—	+
L-Histidine	—	—	—	—	+
L-Isoleucine	—	—	—	—	+
L-Arginine	+	+	+	+	—
β-Alanine	—	—	—	—	+
L-Tyrosine	—	—	—	—	+

All strains utilize: D-Mannose, D-Mannitol, Glycerol, D-Galactose, D-Ribose, Fructose, D-Glucose, L-Arabinose, Gluconate, L-Malate, Saccharate, Malonate, Succinate, Citrate, Acetate, L-Serine, L-Asparagine, γ-Amino-butylate.

No strains utilize: Salicin, D-Cellobiose^{e)}, D-Melezitose, Maltose, Lactose, α-Methyl-D-glucoside, L-Rhamnose^{e)}, D-Arabinose, D-Melibiose, Dulcitol, Adonitol, Trehalose, Starch, Triacetin, DL-Tartrate, Mesaconate, Propionate, n-Butylate, Formate^{f)}, Sebacate, Ascorbate, L-Valine.

a) on the medium of Ayers *et al.*¹³⁾ Results were scored positive only when visible growth of bacteria was observed.

b) (): delayed reaction after 14 to 21 days.

c) strains PT-3, PT-5 positive.

d) strain Tea 711 negative.

e) No growth was observed but acid was produced by many strains.

f) No growth was observed but alkali was produced by all strains.

しないなどの性状を有していた。これらの性状は、既往の *P. avenae* の記載^{11,12)}や、筆者らが過去に同定した *P. avenae* の性状とよく一致していた。さらに、静岡大学保存の *P. avenae* のシコクビエ分離株やファレノプシス分離株をチャに接種したところ、II群菌とまったく同一の病斑を形成した。これらの性状や病原性により、II群菌は *P. avenae* Manns 1909 と同定された。*P. avenae* がチャから分離されたのはこれが初めての報告である。

今回分離されたI群菌、II群菌ともにチャに病原性を有していたが、I群菌は分離頻度が高く、接種によってよく原病徴を再現したのに対し、II群菌の頻度は低く、接種病徴も原病徴と異なっていた。よって、1983年7月に発生した病害の主因はI群菌、すなわち *P. syringae* pv. *theae* であり、同症状は赤焼病の特異な病徴型であることが明らかになった。なお、II群菌すなわち *P. avenae* が分離された圃場での病斑は、とくにI群菌のそれとは区別がつかなかったが、今

11) 西山幸司・西原夏樹・江塚昭典 (1979). 日植病報 45: 25-31. 12) Schaad, N.W., Kado, C.I. and Sumner, D.R. (1975). Int. J. Syst. Bacteriol. 25: 133-137. 13) Ayers, S.H., Rupp, P. and Johnson, W.T. (1919). U.S. Dep. Agric. Bull. 782: 1-39.

後, *P. avenae* が圃場で単独に病気を起こしているのか, また, 赤焼病の発生にどのような影響があるのかについては, さらに検討する必要がある。

チャ赤焼病の病原細菌は, 1915年に堀によって初めて記載され²⁾, *Bacillus theae* と命名された。その後, 岡部と後藤は病原細菌の性状をあらためて調査し, 同菌を *Pseudomonas* 属に移し *P. theae* とした³⁾。しかし, それ以降, その細菌学的性状を詳細に調査した報告はなく, 現在の細菌分類において重要とされる性

状のいくつかについては不明なものがあった。しかし, 本研究により, チャ赤焼病菌の詳細な性状が明らかとなり, 本菌がたしかに *P. syringae* 群に属し, また, 病原性やいくつかの細菌学的性状においても他の病原型と区別されることが明確になった。

本研究を行うにあたり, ご協力いただいた静岡県茶業試験場の堀川知廣氏に厚く御礼申し上げます。

(昭和62年10月30日受理)