

## 植物に病害を起こすPseudomonas syringaeの2つの病原型に関する研究

|       |                                                                                                       |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: ja<br>出版者: 静岡大学<br>公開日: 2017-06-07<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 達, 瑞枝<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="https://doi.org/10.14945/00024343">https://doi.org/10.14945/00024343</a>                     |

(課程博士・様式7) (Doctoral qualification by coursework, Form 7)

# 学 位 論 文 要 旨

Abstract of Doctoral Thesis

専攻：バイオサイエンス専攻

氏名：達 瑞枝

論文題目：植物に病害を起こす *Pseudomonas syringae* の2つの病原型に関する研究

論文要旨：

*Pseudomonas syringae* は、世界各地で農作物に損害を与える重要な植物病原細菌のひとつである。その宿主植物や病原性は病原型と呼ばれる分類単位によってさまざま異なり、的確な防除のためには病原型の正確な同定および分類が不可欠である。*P. syringae* の病原型は現在 50 種類以上存在するが、未分類の病原型も数多く存在する。本研究では、*P. syringae* 病原型のうち、病原型未決定であったネギ・タマネギ斑点細菌病菌の同定および分類と、世界的に認知される重要病害だが日本の発生は未報告であった *P. savastanoi* pv. *savastanoi* の同定を行った。

まず、ネギ・タマネギ斑点細菌病については、2012 年静岡県、続いて 2014 年兵庫県のタマネギ圃場にて、本病と思われる葉枯れ症状が発生しタマネギ生産に甚大な被害をもたらした。本病は 1972 年 Goto により初めて記載され、病原は *P. syringae* の一系統であると同定されたが、その分類学的位置付けは未決定である。本研究では、病原性、細菌学的性状、毒素、遺伝子に基づき、2012 年および 2014 年分離菌株が、当研究室保存の過去に分離されたネギ・タマネギ斑点細菌病菌株と同一であるかを確認し、類似する病害であるリーキ斑点細菌病の病原細菌 *P. s.* pv. *porri* や、その他主に単子葉類を宿主とする *P. syringae* hrp-IV 群菌との比較を通して分類を行った。ネギ・タマネギ斑点細菌病菌と pv. *porri* は、ネギ、リーキ他への病原性、6 項目の細菌学的性状で明らかに識別された。ハウスキープング遺伝子 (*gyrB*, *rpoD*, *gltA*, *gapI*) および III 型分泌機構をコードする *hrpS*, *A*, *Z*, *B* 遺伝子塩基配列を用いた MLSA (Multi Locus Sequence Analysis) に基づく系統解析、rep-PCR によるフィンガープリンティングにおいても、2012 年および 2014 年分離菌株は、過去の分離菌株同様ネギ・タマネギ斑点細菌病菌であり、またそれらは pv. *porri* とは遺伝的な系統が異なることが示された。毒素検定では、ネギ・タマネギ斑点細菌病菌、pv. *porri*, pv. *striafaciens* は、一連のコロナチン生産関連遺伝子を保有していたが、従来の生物検定方法でコロナチン活性を確認することができなかった。しかし、ネギ葉や誘導培地を介すると、これらの菌株にコロナチン様の活性が観察されることが本研究で明らかになった。以上より、ネギ・タマネギ斑点細菌病菌と pv. *porri* は明確に区別され、hrp-IV 群菌中の独立した分類群であるため、新病原型として提案した。

さらに、*P. syringae* hrp-IV 群菌内でのネギ・タマネギ斑点細菌病菌の位置を明確にするため、新たに hrp-IV 群菌 18 菌株を追加して詳細な系統関係を追求した。ハウスキープング遺伝子および hrp 遺伝子塩基配列に基づく系統解析では、hrp-IV 群菌は概ね分離源植物によって分かれるクラスターを形成した。この結果は rep-PCR によって支持され、これまで病原性と毒素生産により分類されてきた hrp-IV 群菌が遺伝子的にも区別されることが確認された。また、これまで pv. *atropurpurea* と pv. *striafaciens* であると考えられていたクリーピングベントグラスかさ枯病菌は、遺伝的に独立し

た一系統である可能性が示された。毒素検定においては、*hrp-IV* 群菌では、常にコロナチン活性を示す菌株は主要なコロナチン生産関連遺伝子をプラスミド上に、誘導を必要とする菌株ではクロモソーム上に持つ可能性が示された。病原性試験では、接種方法の改良により分離源植物への病原性による識別が可能になった。細菌学的性状のみですべての菌株を識別することはできなかったが、毒素生産能を加味すると、分離源に基づくグループ間には識別を可能にする一定の傾向があり、これまで困難とされていた細菌学的性状による分類の可能性が示唆された。

2014 年静岡県においてオリーブ (*Olea europaea*) にがんしゅ病と思われる病徴が発生し、予備試験から *P. syringae* 群と考えられる細菌を分離した。続いて 2015 年愛知県および神奈川県において同様の病徴が観察され、分離菌株を入手した。オリーブがんしゅ病は世界のオリーブ生産地域で広く認知される重要病害であるが、日本国内での発生は未だ報告されていないため、*hrp-IV* 群菌の研究と平行して至急、病原性、細菌学的性状、遺伝子に関する調査を通し、分離菌株の同定と系統解析を行った。病原性調査では、分離菌株はオリーブとハゴロモジャスミンに特徴的ながんしゅを形成した。細菌学的性状では、分離菌株はいずれも既知の *pv. savastanoi* 菌株と一致する性状を示した。16S rDNA およびハウスキーピング遺伝子塩基配列に基づく系統解析では、分離菌株は基準菌株と共にクラスターを形成した。rep-PCR では、分離菌株は基本的には基準菌株と同様のバンドパターンを示したが、わずかな違いが観察され、国内分離菌株間の遺伝的多様性が示された。*iaaM*, *iaaH*, *iaaL*, *ina* 遺伝子 PCR による検出では、分離菌株はすべて陽性を示した。以上より、分離菌株は *P. savastanoi pv. savastanoi* と考えられ、本邦における同菌の分離はこれが初めての報告となった。病名は「オリーブがんしゅ病」を使用することを提案した。

本研究を通して、*P. syringae* 病原型の分類および同定には MLSA および rep-PCR が有効だった。また、詳細な病原性試験によって、宿主植物への病原性で *P. syringae* の新たな一系統（クリーピングベントグラス分離菌株）の存在が明らかになり、*pv. savastanoi* の新たな宿主植物（ハゴロモジャスミン）が判明した。よって、遺伝子解析だけでなく病原性や細菌学的性状を含めた多面的な解析が、*P. syringae* 病原型の分類および同定には不可欠であることが示された。