

茶かいよう病(新病害)とその病原細菌

植原一雄・荒井 啓・野中寿之*・佐野岩男

(植物病理学研究室)

昭和54年8月11日 受理

Canker of Tea, A New Disease, and Its Causal Bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *theaecola* Uehara et Arai pv. nov.

Kazuo UEHARA, Kei ARAI, Toshiyuki NONAKA and Iwao SANO
(Laboratory of Plant Pathology)

緒 言

1970年頃、鹿児島県の大隅半島(田代町、垂水市)と薩摩半島(知覧町)で、葉や茎にかいよう状の病斑を生ずる茶の病害が発見された。その発生は、限られた地域での小規模なものではあったが、個々の茶樹についてみると、落葉や枝枯れなどかなり激しい症状を示し、これが拡大すれば、大きな被害が予想される状態であった。

その病徴から判断して、本病は新しい病害のように思われたので、若干の予備的な調査と実験を行なった結果、病原は細菌であろうと推定された¹²⁾。その後、罹病組織から分離された黄色コロニーの細菌が、病原菌であることが確かめられたので、その細菌学的諸性質を調べた。その結果、本病原細菌は *Xanthomonas* に属する新種であると考えられたので、ここにその結果を報告する。

病 徴

本病は5月から9月にかけて、若い葉や茎に典型的なかいよう病斑を生ずる。

初めに、若い葉の裏面あるいは若い茎の表面に水浸状の小さな斑点を生じ、これは次第に拡大・隆起して、褐変・硬化する。葉では、病斑中央部がやがて裂開、陥没し、このような病斑が、中肋部を中心に、数個ないし十数個散生し、時に数個が融合して細長い病斑となる(Fig. 1)。被害葉は落葉しやすく、特に冬季に激しい。また、茎では、病斑が拡大・融合し、褐変・硬

化した組織が茎の周囲をおおい、やがて縦にしわ状のき裂が生じ、黒変して、遂には枝枯れとなる(Fig. 2)。

本病の発生は、放任園や未整枝の幼木園に多く、また、一つの茶園では、周辺部の風当りの強い所に多発する傾向が見られる。



Fig. 1. Lesion on leaf.

病原細菌の分離と接種試験

知覧町で採集した茶罹病葉の初期病斑部から、ペプトン寒天培地またはバレイショ寒天培地を用いて、希釈平板法によって細菌の分離を行なったところ、淡黄

本研究の一部は、日本植物病理学会九州部会で発表した(1973年, 1976年)

* 鹿児島県茶業試験場, 鹿児島県川辺郡知覧町 Kagoshima Tea Experiment Station, Chiran-cho, Kagoshima



Fig. 2. Lesion on stem.

色、円形のコロニーを作る細菌が得られた。これらの分離菌を、健全茶樹の開葉後間もない若い葉に付傷接種したところ、10～15日後に、本病の病徴を現わした。そして、その病斑から細菌の再分離を行なったところ、同じコロニー性状の細菌が得られ、これもまた病原性を有することが認められた。したがって、本細菌が本病の病原菌であることは明らかである。

なお、本病はかんきつ類のかいよう病に似ているので、本細菌と *Xanthomonas citri* の病原性を比較した。その結果、本細菌はかんきつ類に病原性を示さず、また、*X. citri* は茶に病原性を示さなかった。

病原細菌の細菌学的性質

供試細菌は、Table 1 に示した 8 菌株である。なお、必要に応じ、*Xanthomonas citri* Dowson を対照菌として用いた。

培地は、特に指定のない限り、主として YPA 培地（酵母エキス 3 g, ペプトン 10 g, 塩化ナトリウム 5 g, 寒天 17 g, 蒸溜水 1 liter）を使用し、一部必要に応じて、PDA 培地（バレイショ 200 g, ブドウ糖 20 g, 寒天 17 g, 蒸溜水 1 liter）またはペプトン寒天培地（ペプトン 10 g, 塩化ナトリウム 5 g, 寒天 17 g, 蒸溜水 1 liter）を用いた。培養温度は原則として 28°C である。

実験法は、主として Society of American Biologists の Manual¹⁸⁾ と、医科学研究所学会の細菌学実習提要⁷⁾ に従い、必要に応じて他の成書あるいは論文を参照した。

1. 形 態

PDA 斜面培地の凝結水中で 24 時間培養した細菌を、そのまま顕微鏡で、または 2% PTA でネガティブ染色および Cr でシャドウイングして顕微鏡で観察した。各菌株とも、両端の円い短桿状で、大きさ $2.1 \times 0.45 \mu\text{m}$ 、単極に 1 本のべん毛を有し、活発な運動性を示す (Fig. 3)。グラム陰性。

2. 培養の性質

平面培養：PDA 培地では、コロニーは黄色、小円形の低いドーム状で不透明、表面は平滑で光沢を有し、辺縁はスムーズ。水溶性の色素を生じない。ペプトン培地ではコロニーの黄色がやや濃い傾向を示す。

斜面培養：PDA、ペプトン両培地とも、生育は中程度。菌苔は淡黄色、隆起はうすく、表面は平滑、光沢を有し、粘稠性をおびる。

せん刺培養：PDA、ペプトン両培地とも、表面での

Table 1. Derivation and pathogenicity of the isolates of the pathogen

Isolated No.	Host	Locality	Date	Pathogenicity
TC-1	<i>Thea sinensis</i> L.	Chiran-cho	1974	+
" 2	"	"	"	+
" 3	"	"	"	+
" 4	"	"	"	+
" 5	"	"	"	+
" 6	"	"	"	+
CC-1	<i>Camellia sasanqua</i> Thunb.	"	1975	+
" 2	"	"	"	+

Pathogenicity was tested by wound-inoculation to tea plant.

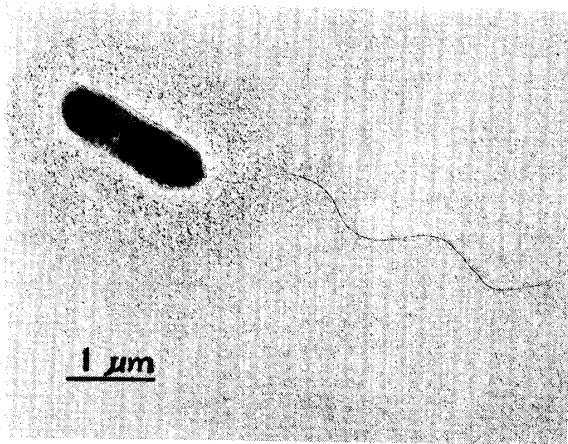


Fig. 3. Electronmicrograph of the causal bacterium.

生育は普通であるが、深部では生育せず、ガスの発生はみられない。

3. 生理的・生化学的性質

YPA 斜面 および ペプトン水中での生育適温は 28-30°C. 37°C ではよく生育するが、42°C では生育しない。ペプトン水の pH が 4.5-9.0 の範囲で生育可能、6.0-8.0 で最もよく生育する。ペプトン水の食塩濃度が 2% の場合は良好に、5% の場合は僅かに生育する。キング B 培地³⁾ で蛍光色素を生成しない。リトマスミルク培地でリトマスを還元¹³⁾ する。ゼラチンを僅かに液化¹³⁾ する。

Hugh and Leifson 培地でグルコースを好氣的に分解し、酸を生ずる^{3,6)} が、シュクロース、ラクトース、マンニトからは酸を生じない。Koser および Simmon の培地でクエン酸を利用³⁾ し、Holding の無機窒素培地中で生育³⁾ する。エタノール、フェノールを酸化¹⁰⁾ せず、Voges-Proskauer 試験⁷⁾ は陰性。メチレンブルーを還元⁷⁾ し、ペプトン水中で硝酸塩を還元⁷⁾ せず、でんぷんを加水分解^{8,13)} しない。オキシダーゼ³⁾、カタラーゼ³⁾、リパーゼ¹⁴⁾、β-グルコシダーゼ⁵⁾ を産生する。エスクリンを加水分解³⁾ する。卵黄培地¹⁴⁾ では生育しない。トリプトファンからインドールを生成¹³⁾ しない。ペプトン水で培養すると、硫化水素⁷⁾ を生成する。Thornley の培地で、好氣的にアルギニンからアンモニアを生成する⁶⁾。ペプトンからアンモニアを生ずる¹³⁾ が、尿素からは生じない。3-ケトラクトース¹⁾ および 2-ケトグルコン酸⁹⁾ を産生しない。レバンの生成³⁾ は認められる。バレイショを軟腐⁹⁾ させない。TTC (Triphenyl tetrazolium chloride) 0.1% 加用培地では生育¹¹⁾ しない。Starr ら¹⁵⁾ の言う carotinoid を産生する。

以上の諸性質は、8つの供試菌株すべてが同一の結果を示し、茶からの分離株とサザンカからの分離株との間に相違は見られなかった。

4. 血清学的試験

病原細菌株 TC-1, TC 3 および TC-5 の 3 株を用いて、常法により、3 種の家免抗血清を得た。力価は TC-1 の抗血清が 10,240 倍で、他の 2 種はともに 5,120 倍であった。

これら 3 種の抗血清を用いて、8 株の病原細菌と *X. citri* に対する凝集反応を調べた。その結果は Table 2 に示す通りで、すべての病原細菌株はいずれの抗血清によっても、顕著な凝集反応を示したが、*X. citri* はどの抗血清にも反応しなかった。

Table 2. Agglutination tests of pathogenic isolates and *Xanthomonas citri* with antisera made by pathogens

Bacterium	TC-1-serum	TC-3-serum	TC-5-serum
TC-1, 2, 3, 4, 5, 6	+	+	+
CC-1, 2	+	+	+
<i>Xanthomonas citri</i>	-	-	-

+ = positive reaction, - = negative reaction

考 察

本病罹病組織から、黄色コロニーの細菌が分離され、この細菌を健全茶葉に接種すると、本病特有の病斑が形成された。そして、この病斑からは同じ細菌が再分離された。これらのことから、本細菌が本病の病原菌であることは間違いないと思われる。

本細菌の同定を行なうために、常法に従って、細菌学的な諸性質を調べた (Table 3)。これらの結果をもとに、Bergey's Manual (8th Ed.)²⁾ に従って検討を加えたところ、極めて順調に *Xanthomonas* 属に到達した。また、Table 3 に示された諸性質は、*Xanthomonas* 属の一般的な性質として多くの研究者が認めている性質⁴⁾ とよく一致し、特に Starr ら¹⁵⁾ が *Xanthomonas* 属菌に特有の色素であるとしているある種の carotinoid の存在が確認された。これらのことから、本細菌は *Xanthomonas* に属すべきものと思われる。

しかし、茶の病害で *Xanthomonas* 属菌によるものは知られていない。また、他の植物の病原細菌の中でも、本細菌に類似した *Xanthomonas* 属菌は見当らない。ただ、*X. citri* だけはコロニー性状や病斑の形態

Table 3. Bacteriological characteristics of the pathogen

Characteristics	Results
Color of colony	Yellow
Gram stain	—
Flagellation	Mono-polar
Spore	None
Motility	+
Optimum temperature	28–30°C
Growth at { 5°C	+
{ 42°C	—
pH { Optimum	6.0–8.0
{ Growth range	4.5–9.0
Tolerance of NaCl { 2%	+
{ 5%	+ or ±
Growth in TTC (0.1%)	— or ±
Diffusible pigments	—
Fluorescent pigments	—
Carotenoid pigments	+
Utilization of:	
Citrate	+
Inorganic nitrogen	+
Acid production from:	
Glucose	+
Sucrose	—
Lactose	—
Mannitol	—
Oxidation of:	
Ethanol	—
Phenol	—
Gelatin liquefaction	+
Egg-York test	—
Voges-Proskauer test	—
Hydrolysis of:	
Starch	—
Aesculin	+
Reduction of:	
Methylene blue	+
Litmus	+
Nitrate	—
Production of:	
Oxidase	+
Catalase	+
Lipase	+
β-Glucosidase	+
Indole	—
H ₂ S from peptone	+
NH ₃ from peptone	+
NH ₃ from urea	—
NH ₃ from arginine	+
3-Ketolactose	—
2-Ketogluconate	—
Levan	+
Soft rot of potato	—

が似た点があるので、若干の検討を加えた。まず、病原性について見ると、本細菌はカンキツ類に、*X. citri*

は茶に、それぞれ病原性を示さず、両者の病原性は明らかに異なるものであると思われる。また、血清学的な試験でも、*X. citri* は本細菌の抗血清によって凝集反応を示さなかった。これらのことから、本細菌は *X. citri* とは別種のもと考えられる。

以上のことから、本病原細菌は、*Xanthomonas* に属する新しい細菌と判断し、1980年1月1日から用いられることになっている、新しい国際細菌命名規約に従って、*Xanthomonas campestris* pv. *theaeicola* Uehara et Arai pv. nov. と命名する。そして分離株番号 TC-1 細菌を本細菌の type strain と定め、ニュージーランドの PDDCC (The Plant Diseases Division Culture Collection) に菌株を送付した。

また、本病はその病徴から、「茶かいよう病」と呼ぶことにした。

摘 要

本病は、茶の葉や茎にかいよう状の病斑を生ずる。罹病組織から、黄色コロニーの細菌が分離され、これを健全茶葉に接種すると、本病特有の病斑が形成された。したがって、本細菌を、本病の病原菌と断定した。

本細菌の細菌学的な性質を調べたところ、Table 3 に示すような結果が得られた。これをもとに、Bergey's Manual (8th Ed.) に従って分離を行なったところ、本細菌は *Xanthomonas* に属するものであるとの結論に達した。しかし、茶の病害で *Xanthomonas* 属菌によるものではなく、*Xanthomonas* 属全体を見渡しても、本細菌に該当すると思われるものは見当たらない。ただ、*X. citri* が本細菌にやや似ているが、病原性や血清反応が本細菌とは異なる結果を示した。したがって、本細菌は *Xanthomonas* 属の新しい細菌と判断し、新しい国際細菌命名規約に従って、*Xanthomonas campestris* pv. *theaeicola* Uehara et Arai pv. nov. と命名した。また、本病は「茶かいよう病」と呼ぶことにした。

文 献

- 1) Bernaerts, M. J. and DeLey, J.: A biochemical test for crown gall bacteria. *Nature*, **197**, 406–407 (1963)
- 2) Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E.: *Bergey's manual of determinative bacteriology* (8th Ed.). William and Wilkins Co., Baltimore (1974)
- 3) Harrigan, W. F. and McCane, M. E.: *Laboratory methods in microbiology*. Acad. Press, London & New York (1966)
- 4) Hayward, A. C.: *Methods of identification in the genus Xanthomonas. Identification methods for microbiologists*.

- Part A. (Ed. Gibbs, B. M. and Skinner, F. A.) p. 9-14, Acad. Press, London & New York (1966)
- 5) Hildebrand, D. C. and Schroth, M. N.: β -Glucosidase activity in phytopathogenic bacteria. *Appl. Microbiol.*, **12**, 487-491 (1964)
 - 6) Hugh, R. and Leifson, E.: The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *J. Bact.*, **66**, 24-26 (1953)
 - 7) 医科学研究所学友会: 細菌学実習提要. 丸善, 東京 (1970)
 - 8) Király, Z., Klement, Z., Solymosy, F. and Vörös, J.: *Methods in plant pathology*. Akademiai Kiado, Budapest (1970)
 - 9) Lelliott, R. A., Billing, E. and Hayward, A. C.: A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. *J. appl. Bacteriol.*, **29**, 470-489 (1966)
 - 10) Lysenko, O.: *Pseudomonas* — An attempt at a general classification. *J. gen. Microbiol.*, **25**, 379-408 (1961)
 - 11) Neal, C. E. and Calbert, H. E.: The use of 2, 3, 5-triphenyltetrazoliumchloride as a test for antibiotic substances in milk. *J. Dairy Science*, **38**, 629-633 (1955)
 - 12) 野中寿之・植原一雄: 潰瘍症状を呈するチャの新病害について. 九州農業研究, **35**, 87-88 (1973)
 - 13) Society of American Bacteriologists: *Manual of microbiological methods*. McGraw-Hill Book Co., New York (1957)
 - 14) Stanier, R. Y., Palleroni, N. J. and Doudoroff, M.: The aerobic pseudomonads: A taxonomic study. *J. gen. Microbiol.*, **43**, 159-271 (1966)
 - 15) Starr, M. P. and Stephens, W. L.: Pigmentation and taxonomy of the genus *Xanthomonas*. *J. Bact.*, **87**, 293-302 (1964)

Summary

A new cankerous disease was found on the leaves and stems of tea-plants in Kagoshima Prefecture in 1970. Small, water-soaked spots appeared at the beginning, and these expanded and rose to have turned into brown hard spots with cracks at the top, typical canker lesions on the latter. From the symptoms, it is proposed that the disease is to be named "canker of tea".

A bacterium with a yellow colony was isolated from the lesion, and by inoculation tests it was ascertained that the bacterium possessed a severe pathogenicity to tea-plants.

The bacteriological characteristics of the pathogen were examined, using 8 isolates. The results obtained are shown in Table 3. Basing on the results, classification of the bacterium was estimated by means of Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th Ed.) and others, with the conclusion that the bacterium should belong to the genus *Xanthomonas*.

Any disease occurred by xanthomonads on tea-plants has never been reported. And, in the xanthomonad noted as pathogens in other plants, except *Xanthomonas citri* Dowson there was no bacterium bearing a resemblance to the present pathogen, however, *X. citri* differed from the present one on the points of pathogenicity and of serological reactions.

From the results, therefore, it was identified that the present bacterium was a new species in genus *Xanthomonas*, and we propose to name it *Xanthomonas campestris* pv. *theaeicola* Uehara et Arai pv. nov., according to the New International Code of Nomenclature of Bacteria. And the isolate No. TC-1 was decided on the type strain and has been sent to the Plant Diseases Division Culture Collection in New Zealand.