

## 第23回奈良公園植栽計画検討委員会

### 茶山園地サクラ類根頭がんしゅ病に関する調査 病理検査の結果報告

#### 目 次

1. 調査の経緯 ……………2
2. 病理検査 ……………3
3. 今後の展開 ……………6

# 1. 調査の経緯

## R2年度

・初期診断にてサクラ類の多くに根頭がんしゅ病状のコブを発見



## R3年度

・「第20・21回奈良公園植栽計画検討委員会」において、以下の進め方が示された。

● 専門家や研究機関からの助言・協力を求めながら、計画対象地の根頭がんしゅ病の詳細な調査を行い、現況を正確に把握する。



## R4年度

・外観診断(園地内のすべてのサクラ類対象)及び病理検査を実施。



## R5年度

・前年度の調査結果に対する専門家の見解を踏まえ、病理検査を実施。



## R4年度外観診断・病理検査

### 外観診断

- ・ 根頭がんしゅ状のコブは、約2/3 (105本) にみられた。
- ・ がんしゅ(コブ)の形成が明らかなものの他に、コスカシバ害由来の変形等が混在している可能性も示された。

### 病理検査

- ・ 根頭がんしゅ病原菌は非検出であったが、専門家から以下の見解(可能性)が示された。

- ① 根頭がんしゅ病が検出されにくい時期、部位などであったため検出ができなかった。
- ② 根頭がんしゅ病ではない部分を採取した。
- ③ 培養した細菌が根頭がんしゅ病原菌ではないが、がんしゅ状のコブを作るものであった。
- ④ 茶山園地の根頭がんしゅ病の症状は他の原因(微生物、傷、ストレスなどの単体あるいは複合要因)であった。



非検出であったが、断定には検体の採取に適した時期・部位・数量による検査が必要

## 2. 病理検査

### ● 専門家の協力体制

昨年度に引き続き、下記3名の専門家のご協力を頂き、多分野の視点から適宜指導いただきながら調査を進めた。

植物病理学・植物医師

**東條 元昭 氏**

大阪公立大学大学院 農学研究科  
植物病理学研究G 教授

- ・日本植物病理学会 近畿地区 評議員
- ・土壌伝染性の菌類がご専門

植物病理学

**浅野 峻介 氏**

奈良県病害虫防除所 主任研究員

- ・バラがんしゅ病の診断や検出のご経験あり
- ・東條教授のご紹介

樹木医・植物医師

**笹部 雄作 氏**

- ・サクラ類の病害の診断や治療に多数のご経験あり
- ・植物病理学、植物生理学へも造詣が深い

### ● 検体採取・分析の概要

#### 採取日時・天候

- ・令和5年6月27日(火)
- (根頭がんしゅ病原菌の活性時期)

#### 検体採取方法

- ・専門家3名立合いのもと、発達途中のがんしゅ病由来のコブと疑われる部位(5箇所)から、50検体を採取。

#### 分析方法

- ・採取した50検体から分離した菌株の中から、顕微鏡観察によって根頭がんしゅ病原菌の可能性が疑われた株の遺伝子解析を実施。



検体採取状況



露出根に発生したがんしゅとみられる部位

## 2. 病理検査

病理検査の結果、茶山園地のサクラ類からは根頭がんしゅ病原菌は検出されなかった。

### ●検査結果

「奈良公園のサクラ類に発生する根こぶ症状の検査報告(2023.8.3)」

大阪公立大学大学院 農学研究科 東條元昭

#### <材料と方法>

こぶ症状が現れたサクラ類(No.1~5)の根からこぶ症状を呈した根組織50検体を採取し、YM寒天培地(奈良県農業研究開発センター・浅野峻介主任研究員より情報提供)で25°C暗黒下で1~3日間培養後に顕微鏡観察を行った。得られた菌株の代表株について、Hugerth et al. (2014)の方法で341Fと 805R のプライマーを用いて16S rRNAの配列を決定しBLAST解析を行った。加えてバラ類根頭がんしゅ病菌(*Rhizobium radiobacte*, *Rhizobium rhizogenes*)を検出するためのPCR条件とプライマーによる検出を試みた。

#### <結果と考察>

こぶ症状が現れたサクラ類の根試料合計50検体について細菌の顕微鏡観察と分離作業を行った。その結果、No.1~5の全ての試料から細菌が検出された(図1)。

顕微鏡観察の結果、検出された細菌の多くが長さ2~4  $\mu\text{m}$ の桿菌であり(図2)、それらの代表株1菌株(N1株、図1)について16S rRNA遺伝子を決定してBLAST解析を行ったところ*Pantoea cyripedii*と元も高い相同性を示した。バラ類根頭がんしゅ病菌を検出するためのPCR条件とプライマーに対しては反応しなかった。

これらの結果から、奈良公園のサクラ類の根には*Pantoea cyripedii*が感染している可能性が高いことがわかった。バラ類根頭がんしゅ病菌による症状ではない可能性が高いと考えられた。*Pantoea agglomerans* pv. *gypsophilae* による根頭がんしゅ病の発生が、カーネーションとシュツコンカスミソウで報告されている(農業生物資源ジーンバンク 2023)。*Pantoea cyripedii*はサトウキビの根に共生して窒素固定を行うことが知られているが(Singh et al. 2021)、植物病原菌としての報告は見られない。

*Pantoea cyripedii*がサクラ類のこぶ症状に関与しているかどうかを確かめるには、接種実験や同定試験を含むより詳細な実験を行う必要がある。



図1 YM寒天培地で検出した菌株

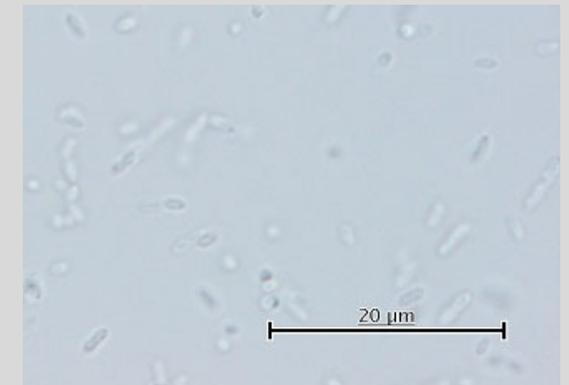


図2 分離菌株の顕微鏡写真

## 2. 病理検査

### 【参考情報】 調査報告書に記載のあったパントエア菌の症例ならびに効果

#### ●症例

出典	農業生物資源ジーンバンク 日本植物病名データベース (2023.10.11アクセス)
宿主	カーネーション, ナデシコ類, カーネーション, セキチク, ナデシコ, カワラナデシコ  <i>Dianthus</i> spp.
病名	<u>++根部がんしゅ病</u>
病名読み	kombu-ganshu-byo
病名英名	Root gall
病原	<u><i>Pantoea agglomerans</i> pv. <i>gypsophilae</i></u> (Brown 1934) Bull, De Boer, Denny, Firrao, Fischer-Le Saux, Saddler, Scortichini, Stead & Takikawa 2010
病原異名	<i>Bacterium gypsophilae</i> Brown 1934  <i>Erwinia herbicola</i> pv. <i>gypsophilae</i> (Brown 1934) Miller, Quinn & Graham 1981
文献	石山信一・向 秀夫:植物病原細菌誌:554, 1941(昭16)
備考	国内発生未詳

#### ●効果

##### Root-derived endophytic diazotrophic bacteria *Pantoea cyripedii* AF1 and *Kosakonia arachidis* EF1 promote nitrogen assimilation and growth in sugarcane.

Singh, R. K., Singh, P., Guo, D. J., Sharma, A., Li, D. P., Li, X., Verma, K., K., Malviya, M. K., Song X-P, Lakshmanan, P. & Li, Y. R. (2021)

出典: Front. Microbiol., 15 December 2021  
Sec. Microbial Symbioses Volume 12 - 2021

- ・5種のサトウキビの根組織から内部寄生細菌株を分離および同定した。
- ・その中でも、2つの分離株 *Pantoea cyripedii* AF1 および *Kosakonia arachidis* EF1 は、主要な中国のサトウキビ品種 GT42 に容易に定着し、窒素同化酵素の活性と植物ホルモンの含有量を大幅に増加させただけでなく、窒素同化遺伝子の活性の増加を示し、植物の窒素含有量を大幅に増加させた。
- ・これらの発見は、*P. cyripedii*と*K. arachidis*が植物の窒素栄養とサトウキビの成長を改善するためのバイオ肥料として使用できる有益な内部寄生細菌であることを示唆している。
- ・これらの株は、サトウキビのバイオ肥料として窒素肥料の使用を減らし、病気の改善利用できる可能性がある。

※当該調査で検出されたパントエア菌は、*Pantoea cyripedii*である。

# 3. 今後の展開

## ●今後の方向性

茶山園地のサクラ類から根頭がんしゅ病原菌は検出されなかったことから、茶山園地以外にも影響する可能性のあった根頭がんしゅ病の蔓延の可能性は否定された。しかし、原因不明のがんしゅ状の変形が根元に多く見られ、今回の検体採取においても発達途中とみられる部位が見つまっていることから、専門家の見解を踏まえ、今後茶山園地のサクラ類を対象にこれらの影響についてモニタリングを実施する。

## ●モニタリング内容（案）

	調査項目	R 4 年度	R 5 年度	R 6 年度	R 7 年度以降
モニタリング項目	①サクラ類外観調査 ・樹勢、がんしゅ様症状、その他病虫害（コスカシバ害含む）、シカ害、枯れ・枯れ枝、前回調査との比較	(●)		●	①についてはR4年度とR6年度、 ②についてはR5年度とR6年度の 経年変化を比較検証し、対応を 検討する。
	②発達途中のがんしゅ状部位の経年変化と生育状況（重点観察） ・対象：5本 ・調査内容は①と、がんしゅ状部位の詳細観察		(●)	●	

## ●今後の進め方に対する専門家の見解

### 東條教授

- ・数年に1回程度のモニタリングを行うと  
の方向に賛成。
- ・パントエア菌がサクラ類に与える影響についての知見は、世界的に見られない。
- ・本菌はおそらく傷口感染するため、今後のモニタリングでは、コスカシバやシカによる傷との関係に注視すると効率的。

### 浅野主任研究員

- ・がんしゅ症状により明らかな生育不良が生じていないことと、がんしゅから病原菌は検出されなかったことが重要。
- ・現状がんしゅによる生育への影響が小さいと考えられることから、発生要因の追及は不要と考えられる。
- ・原因が不明なため、数年に1回程度のモニタリングは良いと思うが、他の調査のついでに確認するなど、継続性という意味でも労力の配分に気をつけたい。

### 笹部樹木医

- ・こぶ状になった部分から先が枯れているものがあることや、枝先や中～太枝の枯れが多く見られることから、何らかのストレスにさらされた状態にある。
- ・今回の調査では、コスカシバもシカも影響しない土中でこぶ状(がんしゅ状)の肥大が生じている個体が特定できたので、モニタリングによって、以下の視点でこれら個体を確認することが良い。  
①コスカシバの根元への加害による枯れ枝や根の枯れの発生であるのか  
②肥大部位の経年変化