

カンキツ褐斑細菌病の感染および発病に関する2,3の条件

誌名	山口県農業試験場研究報告 = Bulletin of the Yamaguchi Agricultural Experiment Station
ISSN	03889327
著者名	重田,進
発行元	山口県農業試験場
巻/号	44号
掲載ページ	p. 36-40
発行年月	1992年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



カンキツ褐斑細菌病の感染 および発病に関与する2・3の条件*

重田 進

Some Factors Related to Infection and Development of Bacterial Brown Spot of Citrus Caused by *Pseudomonas syringae*

Susumu SHIGETA

Abstract. The minimum inoculum dose of causal bacteria, *Pseudomonas syringae* to develop symptoms of citrus leaves was 10^2 cfu/ml when inoculated through wounded tissues and 10^6 cfu/ml through stomata.

Susceptibility of leaves to the disease is greatly influenced by the leaf age. The stomatal infection was only noted while leaves were immature, that is, the most susceptible age corresponded to 60-70% leaf growth when leaf growth was shown as a ratio of leaf length at inoculation to that after full leaf expansion.

The successful infection through wounds occurred while leaf age attained to 70% or more leaf growth, even after full development.

The symptoms developed at 5 to 25°C by both infections through wounds and stomata. Lesions extended mostly at 15°C. These suggest that the optimal temperature is around 15°C and that the disease has a lower temperature habit.

The symptoms were also changed by temperatures, i. e., water-soaked spots without halo developed at below 15°C and brown spots with halo developed at above 15°C. Existence of water drops on a lesion enhanced rapid enlargement of the lesion because of water soaking into tissues.

From these facts it is clarified that the most important seasons for disease occurrence are from May to early June that leaves become most susceptible and the temperatures are around optimum for infection and disease development. This coincides with observations in fields.

緒 言

カンキツ褐斑細菌病は1987年山口県大島郡において発生が確認された*Pseudomonas syringae*の一系統による細菌病である¹⁾。著者は、これまでに発生地域とその圃場条件²⁾、カンキツ品種の抵抗性について報告し³⁾、

発生地域は大島郡とその周辺に限られること、本病に対する感受性では、イヨカン類4品種とサガマンガリンが他品種と比較して特に高いことを明らかにした。

しかし、本病の発生と気象条件や圃場環境など発病に関与する諸条件や発生生態は明らかにされていない。

*P. syringae*による病害はキウイかいよう病¹⁰⁾やクリかいよう病¹⁵⁾、また、海外のカンキツに発生が認められているCitrus blast⁷⁾、Black pit¹⁴⁾のように比較的低温条件で発病する病害が多い。本病は、その発病推移か

* 本報告の概要は平成元年度日本植物病理学会
関西部会で報告した。

ら考えて、これらの病害と類似点が多く、高温条件で発病する、カンキツかいよう病の発生病態や発病条件^{1) 4)}とは異なるように思われた。

本研究は、カンキツ褐斑細菌病の感染、発病に関与する基本的と考えられる条件について、接種試験によって明らかにしたものである。

なお、本報告をとりまとめるにあたり、本稿のご校閲を賜った農林水産省果樹試験場興津支場病害研究室長小泉銘冊博士に感謝の意を表す。

材料及び方法

供試菌株として、カンキツ褐斑細菌病罹病葉から分離したT-1 (大島郡東和町, 1988年) を用いた。接種源はPPGA斜面培地⁸⁾ で28°C, 1~2日間培養した細菌を滅菌水に懸濁して供試した。接種源の菌濃度は、菌濃度と発病に関する試験以外は、約 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mlとした。

被接種植物はカラタチ台に接ぎ木したイヨ (品種: 宮内伊予柑) の1~2年生ポット苗を用いた。

1. 接種源の濃度と発病との関係

付傷接種: 展葉がほぼ完了した未硬化のイヨ新葉に、菌濃度を $4.17 \times 10^1 \sim 10^6$ cfu/ml に調整した褐斑細菌病菌懸濁液をそれぞれ点滴し、この上から注射針で1葉につき5~6か所、合計約50か所に付傷接種した。被接種植物は20°Cの人工気象室におき、ポリエチレン袋で24時間被覆し、約2週間後に発病孔率を調査した。

噴霧接種: 未硬化の新葉が20~30葉着生したイヨ1年生ポット苗に菌濃度を $3.56 \times 10^1 \sim 10^8$ cfu/ml に調整した細菌懸濁液をガラススプレーで噴霧接種し、付傷接種と同様、20°Cの人工気象室内におき、約2週間後に1葉当りの病斑数を調査した。

2. 接種時の葉齢と発病との関係

1年生ポット苗の伸長開始直後の新梢、および展葉直後から硬化葉まで葉齢の異なる葉に、細菌懸濁液を付傷及び噴霧接種した。20°Cの湿潤条件下に24時間保ち、そ

の後、ガラス室内に保って発病状況を調査した。未硬化葉の葉齢は、接種時に葉身長を測定し、硬化後、再びその長さを測定し後者に対する前者の比 (葉身長率: 接種時の葉身長 ÷ 硬化した時の葉身長 × 100) として表わした。

3. 接種後の温度条件と発病との関係

付傷接種では、ほぼ展葉の完了した未硬化葉に細菌懸濁液を注射針によって付傷接種した。噴霧接種では、5~10葉程度着葉した伸長中の新梢にガラススプレーで接種した。接種後、ポリエチレン袋で被覆して、湿潤状態に保ち、5~30°Cの各温度条件下に置き、19日後まで発病状況を調査した。

4. 水分条件と病斑拡大との関係

1) 葉上散水と病斑拡大との関係

新葉に付傷接種し、24時間湿室に保った後ガラス室に移し、そのまま被覆を続けた区、被覆を取り除きガラス室内に放置した区、被覆を取り除き毎日約30分間、樹上から散水した区に分け、約30日後の病斑拡大状況を調査した。

2) 接種葉の水中浸漬処理

ガラス室内で付傷接種し、直径約2 mmの褐色病斑を形成した葉および処理直前に単針で付傷した新葉を15°Cの条件下で滅菌水中に48時間浸漬し、病斑拡大および病徴の変化を観察した。

結 果

1. 接種源の濃度と発病との関係

付傷接種では、 4.17×10^6 cfu/ml まで発病が認められ、 4.17×10^8 cfu/ml 以上では発病孔率が高かった (第1表)。

噴霧接種では 3.56×10^6 cfu/ml まで発病が確認され、 3.56×10^8 cfu/ml でもわずかに発病が認められた (第2表)。

第1表 付傷接種によるカンキツ褐色細菌病菌濃度と発病との関係

菌濃度 (cfu/ml)	4.17×10^6	$\times 10^5$	$\times 10^4$	$\times 10^3$	$\times 10^2$	$\times 10^1$
発病孔率 (%)	71.2	60.0	54.0	40.0	4.0	0

第2表 噴霧接種によるカンキツ褐斑細菌病菌の濃度と発病との関係

菌濃度 (cfu/ml)	3.56×10^9	$\times 10^8$	$\times 10^7$	$\times 10^6$	$\times 10^5$	$\times 10^4$	$\times 10^3$	$\times 10^2$	$\times 10^1$
1葉あたりの病斑数	4.8	0.8	16.4	0.6	0.2	0	0.1	0	0

2. 接種時の葉齢と発病との関係

葉齢と感染の関係についての試験結果は第3表に示した。付傷接種した場合、葉身長率60~70%以上で発病が認められ、このうち最も若い葉の葉身長率は69.5%であった。葉齢が進むほど発病孔率は高まり、硬化葉では発病孔率が100%になった。

噴霧接種では、葉身長が90%未満では発病葉率が100%となり、特に60~70%で1葉当りの病斑数が多かった。また葉身長率40%未満の葉では、接種葉の55%が落葉した。2cm以下の新梢では未展開葉および新梢に赤褐色病斑を多数形成し、新梢の基部に離層を形成して枯死・脱落するのが観察された。一方、葉身長率90%以上の葉では発病葉率は低下し、硬化葉では発病が認められなかった。

3. 接種後の温度条件と発病との関係

付傷接種の結果を第4表に示した。5~15℃の条件では接種1日後から、20℃では1~2日、25℃で2日後に発病が認められた。病徴は、5℃及び10℃では暗緑色水浸状病斑、15℃では暗褐色から黒褐色の病斑を形成し

た。

ハローは10℃以下では認められず、15℃では病斑周辺に不鮮明なハローが認められ、20℃以上で鮮明な黄色ハローを生じた。25℃では幅の狭い黄色ハローに囲まれた黒褐色病斑を形成したが、早期に拡大を停止した。30℃では接種部に病変は認められなかった。病斑拡大は15℃で最も良好であった。

噴霧接種の結果を第5表に示した。5℃では接種後13~15日後に水浸状小斑が認められ、10℃では6~7日、15℃で5日、20℃以上では4日目から赤褐色病斑が認められた。病徴は、5℃で暗緑色水浸状、10℃以上で赤褐色病斑を形成し、ハローは付傷接種と同様に20℃以上で鮮明となった。また、15℃以上でやや盛り上がった黒点状病斑が認められ、温度が高くなるにしたがって褐色病斑よりも多くなり、25℃では全ての病斑が黒点状になり、30℃では極微細な黒点状病斑が少数認められた。

4. 水分条件と病斑拡大との関係

1) 葉上散水と病斑拡大との関係

ガラス室内の温度がやや高温で推移したため、病斑

第3表 カンキツ褐斑細菌病の発病と葉齢との関係

葉の生育ステージ	未硬化葉(葉伸長率)							硬化葉
	<40	40~<50	50~<60	60~<70	70~<80	80~<90	90~100	
付傷接種 発病孔率(%)	0	0	0	9.5	22.2	-	95.5	100.0
発病葉率(%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	50.0	0
噴霧接種 (落葉率55.0%)								
1葉あたり発斑数	6.0	7.3	6.3	17.0	1.0	2.0	1.8	0

第4表 カンキツ褐斑細菌病の感染及び発病と温度との関係(付傷接種)

温度 ℃	潜伏期間 (日)	発病孔率 (%)	病斑直径 (mm)	病徴	ハロー
5	1	100.0	0.70	暗緑色水浸状斑	無し
10	1	100.0	0.87	赤みを帯びた暗緑色病斑	無し
15	1	100.0	2.00	暗褐色~黒褐色病斑	不鮮明
20	1~2	98.3	1.48	暗褐色病斑	鮮明
25	2	85.6	0.60	黒褐色小病斑	鮮明
30	-	0.0	0.0	発病なし	-

第5表 カンキツ褐斑細菌病の発病と温度の関係(噴霧接種)

温度 ℃	潜伏期間 (日)	1葉あたり 病斑数	病徴	ハロー
5	13~15	17.0	暗緑色水浸状小斑	無し
10	6~7	26.6	赤褐色小病斑	無し
15	5	11.0	赤褐色円形病斑と黒点状病斑	不鮮明
20	4	14.8	黒褐色病斑と黒点状病斑	鮮明
25	4	47.0	黒点状病斑	鮮明で狭い
30	-	-	極微細な黒点	-

第6表 カンキツ褐斑病の病斑拡大と水分条件との關係

処理区	乾燥区	被覆区	散水区
病斑直径 (mm)	1.28	1.86	2.86

拡大は抑制されたが、散水区の病斑拡大が最も良好であり、ついで被覆区となり、乾燥区は最も劣った(第6表)。

2) 接種葉の水中浸漬処理

接種葉の病斑を滅菌水中に浸漬した結果、24時間後には病斑部から葉肉内への水の浸潤が認められ、48時間後には葉脈で囲まれた不整形で9~15mmの水浸状病斑となった。これに対して、付傷だけ行い水中に浸漬した葉では組織内への水分の浸潤は認められなかった。

考 察

発病が認められるカンキツ褐斑細菌病菌の最小接種源濃度は、付傷接種では 10^2 cfu/ml、噴霧接種では 10^1 cfu/mlであった。本試験の噴霧接種において 10^2 cfu/mlでもわずかに発病がみられたが、これは接種操作時にできた傷からの感染の可能性がある。

葉齡との關係については、付傷接種では接種時の葉身長率が約70%以上伸長した葉で発病が認められ、葉齡が進むほど発病率は高まった。噴霧接種では未硬化葉で発病し、特に葉身長率が70%未満の葉では1葉当りの病斑数が多かった。

我が国のカンキツ類に発生するもう一つの細菌病であるかいよう病の感染および発病条件については、既に多くの報告がある。すなわち、発病が認められる最小接種源濃度は、付傷接種では 10^2 ~ 10^3 cfu/ml、噴霧接種では 10^1 cfu/ml付近であること¹⁾。気孔感染は、葉身長率が50~80%の時期に最も起り易くなり、これ以上伸長するとだいに感受性が低下する。傷感染は、生育初期の葉ではほとんど起らず、葉身長率が80~90%の時期に感染率が最も高い²⁾。この原因は気孔感染の場合、葉の成熟にともないクチクラ突起が発達し、気孔外腔を覆って病原菌の侵入ができなくなるためと考えられ³⁾、傷感染ではゆ傷組織形成と關係があると考えられている⁴⁾。

このように病原菌の接種源濃度と発病との關係、付傷接種および噴霧接種における葉齡と発病との關係は、かいよう病の条件とほぼ一致することから、気孔感染、傷感染における本病原菌の行動は、かいよう病菌と一致すると考えられる。

温度条件と発病の關係を検討した結果、付傷接種、噴霧接種とも5~25℃の範囲で発病が認められ、15℃前後が発病適温と考えられた。一方、かいよう病の発病温度

は13~38℃で適温は30℃前後と高温条件で発病し^{1) 4)}、本病の発病条件とは明らかに異なっていた。

噴霧接種での潜伏期間は温度が高いほど短くなったが、15~25℃の間に大きな差は認められず、付傷接種の潜伏期間は温度による差はほとんどなかった。しかし、病斑拡大は15℃が良好で、20℃で拡大速度は緩慢となり、25℃では早期に停止して、温度が高くなるに従って病斑の拡大が抑制された。病斑の色およびハローも温度の影響を受け、15℃付近を境に低温では水浸状でハローのない病斑を形成し、15℃以上になるとハローを伴った褐色病斑を形成した。

カンキツ葉のコルク層形成やリグニンの細胞壁への集積などのゆ傷組織は、25℃以上では2~3日で形成されるのに対し、15℃で10日、10℃では23日を要する³⁾。このように温度の差はカンキツに対してゆ傷組織の形成など抵抗力発現に大きな影響を与えており、ここで見られたような温度差による病斑拡大や病徴の変化は宿主側の抵抗反応の活性の差によると考えられる。

本病の病斑部切片を顕微鏡観察した結果、病斑部とその周辺部にリグニン様物質の存在が認められることから(未発表)、本病の抵抗力反応にはこうした物質が関与していると考えられる。また、抵抗力の高い品種に接種した場合も高温条件下における病斑拡大抑制と同様な現象が認められており¹⁰⁾、このような温度、品種の差によって抵抗力に差が現れる原因については、今後検討する必要がある。

水分も本病の病斑進展に大きく影響していることが明らかとなった。特に葉面に水滴を保持するような条件下で植物組織内に水が浸潤し、水浸状病斑が急速に拡大した。このような水浸潤現象は、病原菌の莢膜や粘層など細胞外層に存在する多糖質成分によって引き起こされることが知られており²⁾、本病原菌は莢膜を持つ¹¹⁾ことからこうした病徴と一致する。

接種試験によって得られた結果から、圃場における発病状況について説明を試みると以下ようになる。すなわち、5月中旬から下旬のイヨの新梢は、自己摘心直後で、新葉は伸長中で感受性が最も高い。平均気温は20℃以下、適度な降雨もあり、宿主の感受性と環境条件の両者ともに発病に最適である。この期間には、発生が初確認され、発病のほとんどがこの時期に集中する。また病斑は水浸状不整形で、降雨後は急速に拡大して落葉することがわかる。

6月上旬には平均気温が20℃越えるようになり、新葉はほぼ成葉の大きさに達しているが未硬化の状態にある。この時期になると気孔感染が起りにくく、気温上昇による発病抑制効果が現れてくるため、新たな発病はほ

とんど認められなくなり、病斑は褐色でハローが鮮明になるが、拡大速度は遅くなるものと思われる。

梅雨明け後、平均気温が25℃を越えるようになるとハローは徐々に消滅し、発病は終息することがわかる。

また本試験の結果から圃場では認められていないが、冬期間の傷感染による発病の可能性も示唆された。

現在、山口県で栽培されている主要品種でイヨ以外に発病の恐れのある品種は少ないが¹³⁾、イヨは山口県において主要な晩柑類で栽培面積も多く、防除対策の確立が急がれる。

しかし、本病の発生生態は依然不明な点が多く残されている。発病の終息後から翌春までの病原菌の生存および増殖場所など、病原菌の生活環や生態は不明であり、伝染源や発病を助長する気象や圃場条件なども明らかにされていない。

今後、病原菌の生活環など本病の発生生態について解明していく必要がある。

摘 要

カンキツ褐斑細菌病の感染および発病条件を接種試験によって検討した。

1. 発病が認められる最小の接種源濃度は付傷接種では $4.17 \times 10^5 \text{cfu/ml}$ 、噴霧接種では $3.56 \times 10^5 \text{cfu/ml}$ であった。
2. 気孔感染は未成熟な新葉で認められ、接種時の葉身長率が60~70%の葉で最も多かったが、硬化葉では発病が認められなかった。付傷接種では葉身長率が約70%以上の葉で発病が認められた。
3. 付傷接種、噴霧接種とも5~25℃で発病が認められ、15℃前後が発病適温と考えられた。15℃以下で水浸状病斑を形成し、15℃以上では、ハローに囲まれた褐色病斑となった。25℃以上で発病は認められず、低温性の病害であることがわかった。
4. 病斑部に水滴が存在すると水浸潤現象が認められ、病斑拡大に水滴が重要な役割を果たしていることがわかった。
5. 自然発病の状況と本試験の結果は良く一致し、これらから本病の最も重要な発病時期は、気温と宿主の感受性の高い時期が一致する5月~6月上旬であり、その他の時期での発病の可能性は低いことが判明した。

引用文献

- 1) 後藤正夫：カンキツ潰瘍病に関する研究 I，静岡大農研報 12, 3~72, 1962.
- 2) 後藤正夫：新植物細菌病学, P149~156, ソフトサイエンス社, 東京, 1981.
- 3) 小泉銘冊：カンキツ葉におけるゆ傷組織の形成とかいよう病菌の侵入との関係，日植病報 39(3) (講要), 234, 1973.
- 4) 小泉銘冊：カンキツかきよう病の潜伏期間と温度の関係，果樹試験場報告 B3, 33~46, 1976.
- 5) 小泉銘冊：カンキツかきよう病菌の感染ならびに発病過程における行動，第1報 穿刺接種後の増殖と組織の変化，日植病報 42(4), 407~416, 1976.
- 6) 小泉銘冊：カンキツかきよう病の品種抵抗性，植物防疫 32, 207~211, 1978.
- 7) Lee, H. A. : A new bacterial disease of Citrus. Jour. Agr. Res. 9, 1~8, 1917.
- 8) 西山幸司：植物病原細菌簡易同定法の試案，植物防疫 32(7), 283~288, 1978.
- 9) 太田孝彦：カンキツかきよう病の感染に関する研究，葉齢と感染について (春葉)，日植病報 33(5) (講要), 322~323, 1967.
- 10) Serizawa S., T. Ichikawa, Y. Takikawa, S. Tsuyumu, M. Goto: Occurrence of Bacterial Canker of Kiwifruit in Japan : Description of Symptoms, Isolation of Pathogen and Screening of Bactericides. Ann. Phytopath. Soc. Japan 55(4), 427~436, 1989.
- 11) 重田 進・中田榮一郎：カンキツ褐斑細菌病 (新称) について，日植病報55(1) (講要), 103, 1989.
- 12) 重田 進：山口県におけるカンキツ褐斑細菌病の発生実態，近畿中国農業研究 81, 39~42, 1991.
- 13) 重田 進：カンキツ褐斑細菌病に対するカンキツ品種の抵抗性，山口農試研報 43, 62~67, 1991.
- 14) SMITH, C. O. : Black pit of Lemon. Phytopathology 3. 277~281, 1913.
- 15) 清水寛二・沖嶋秀史・薬師川政二郎・高梨和雄：ク리카いよう病に関する研究 1, 発生生態ならびに薬剤防除，滋賀県農試研報 27, 57~67, 1987.