

キウイフルーツかいよう病菌の生育および 発病に及ぼす温度の影響

牛山欽司・小川潤子・北 宜裕*・小田切克治
青野信男*・菱谷政富

Kinji USHIYAMA, Junko OGAWA, Nobuhiro KITA,
Katuharu ODAGIRI, Nobuo AONO and Masatomi HISHITANI

Effect of Temperature on the Growth of *Pseudomonas syringae*
pv. *actinidiae* and the Disease Incidence of Bacterial Canker of
Kiwifruit Vine.

I 緒 言

キウイフルーツかいよう病は、冬季から春先にかけて樹幹や枝に発病して、やがて枯死に至るキウイフルーツの新しい細菌病(4-6, 10)である。本病原細菌は瀧川ら(9)により *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* pv. nov. と提唱された。芹澤ら(4-6)は、本病発生の気象条件としては低温、強風、降雨が大きく関与し、これらの気象要因により発病が助長されるとしている。本病の発生生態等について未だ不明の点が多いことから、筆者らは千葉県暖地園芸試験場および静岡県柑橘試験場との共同研究として、昭和62年度から平成元年度までの3年間農林水産省の助成を得て地域重要新技術開発促進事業中核研究を行った。この共同研究で得られた防除対策の研究成果については既に報告(12)し、生態等についての成果も別報(14, 15)にて報告した。本報告は、病原細菌の生育および死滅温度並びに発病に係わる温度条件、被覆処理による樹体の温度変化と発病についての成果を取りまとめたものである。

共同研究を行うにあたり、ご指導いただいた農林水産

* 神奈川県庁

本研究の一部は日本植物病理学会平成2年度夏季関東部会で発表した。

省農林水産技術会議事務局振興課、農業研究センターおよび果樹試験場の関係各位に深く感謝を申し上げます。また、元農林水産省果樹試験場高梨和雄博士には本研究の当初から終始ご指導をいただき、本稿のご校閲ををお願いした。衷心よりお礼申し上げます。

II 材料及び方法

1. 病原細菌の増殖温度

かいよう病菌 L11 菌株(農林水産省果樹試験場分離、小田原市久野産)を供試し、100ml ペプトン水に 10^8 colony forming unit (cfu)/ml 菌液を 100 μ l 注加 (3.3×10^6 cfu/ml 濃度) し、温度勾配恒温器 ($\pm 1^\circ\text{C}$) で 5, 10, 15, 20, 25, 28, 30, 32, 35 $^\circ\text{C}$ で 24 時間培養した後、段階希釈法によって増殖量を計数した。

2. 病原細菌の死滅温度

かいよう病菌 L11, SK-1 (静岡県柑橘試験場より分譲) 菌株を供試し、100ml ペプトン水に 10^6 cfu/ml になるよう調整して温度勾配恒温器に入れ、25, 28, 30, 32, 35 $^\circ\text{C}$ で培養した。15, 24, 39, 48 時間後に培養菌液を普通寒天培地に画線し、生育状況を観察した。

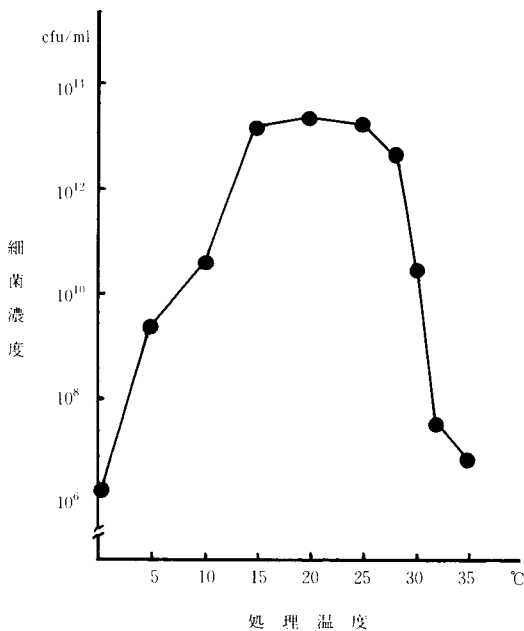
3. 葉の発病温度

かいよう病菌 L11 菌株を普通寒天培地上で 48 時間培養し、 10^8 cfu/ml の懸濁液として供試した。キウイフルーツ実生 2 年生苗の上部を剪除して新芽を発生させ、展開

間もない若葉に木綿針で数カ所付傷した後、直ちに菌液を噴霧接種し、ポリ袋で保湿し、所定の温度（温度勾配恒温器±1℃、12時間人工照明）に保ち、4日後に除袋した。その後も所定温度に保ち発病状況を観察した。

4. 被覆処理が樹体の発病に及ぼす影響

10号鉢植え「ハイワード」種1年生樹を供試した。被覆処理として稲わら巻付け（以下わら巻とする）、わら巻+ビニル被覆、無処理の3区を設け、各区4樹を設定した。被覆処理は1988年12月14日から1989年4月27日まで行った。処理設定時の1988年12月14日に各処理の2本の上部をせん除し、直ちにかいよう病菌L11菌株の 10^8 cfu/ml濃度菌液を1滴滴下して接種した。樹体温度の検出端は、シース測温抵抗体（外径1.0mm、記録計YOKOGAWA ER120）を使用し、地上30cm部分の枝の皮層部に差し込んで測定した。1989年4月27日に萌芽率、新梢長、枝の枯込み状況を調査し、枯込み部や樹液発生部位についてはかいよう病菌L11菌株のモノクローナル抗体(2.11)218-1(IgM)株を用い、蛍光抗体法で病原細菌の有無を検鏡した。



第1図 キウイフルーツかきよう病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* の温度別増殖菌数 (L11菌株 24時間後)

III 成 績

1. 病原細菌の増殖温度

実験結果を第1図に示した。24時間培養した後の増殖菌数は、それぞれ5℃で 10^9 、10℃で 10^{10} 、15~25℃では 10^{11} 、28℃では 10^{12} cfu/mlレベルの菌数に達した。30℃では 10^{10} レベルであったが、32℃では 10^7 、35℃では 10^6 レベルに減少し、接種初期の菌数レベルとほとんど変わらなかった。

2. 病原細菌の死滅温度

実験結果を第1表に示した。15時間温度処理したL11菌株では、25~30℃まで生育は良好であったが、32、35℃処理では画線部位に生育する菌数が少なく、コロニー状になった。SK-1菌株では32と35℃でのコロニー数がさらに少なくなった。24時間処理後には、両菌株とも32℃処理でのコロニー数がさらに少なくなり、35℃では全く生育を認めなかった。39~48時間後には25~30℃処理の両菌株とも良く生育したが、32~35℃処理では全く生育しなくなった。

3. 葉の発病温度

実験結果を第2表に示した。5℃の温度において接種12日後に葉にえ死病斑が現われ、15日後にはハローが形成され、キウイフルーツかきよう病の典型的な病斑になった。発病までの所要日数は、10℃においては10日、15~25℃では7日と短かったが、28℃では10日と再び長く、ハローの形成や病斑も不明瞭になった。病斑の拡大が最も大きかったのは15℃であった。

4. 被覆処理が樹体の発病に及ぼす影響

実験結果を第3表に示した。各処理区2本ずつ接種したうちわら巻処理区の1本と無処理区の2本が枯死した

第1表 キウイフルーツかきよう病菌の生育と死滅温度

処理時間	L11 菌株					SK-1 菌株				
	25	28	30	32	35	25	28	30	32	35℃
15	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
24	+	+	+	±	-	+	+	+	±	-
39	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
48	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-

z) 生育程度: +; 良好, +*; コロニーを多く形成, ±; コロニーを少し形成, -; 生育せず。

が、わら巻+ビニル被覆処理区では枯死樹は生じなかった。枝の接種部からの枯込みはいずれの処理区にも発生し、わら巻+ビニル被覆処理区では無接種樹でも発生した。これらの枝の枯込み部分からは、かいよう病菌のモノクローナル抗体に反応する病原細菌が検出された。わ

ら巻区と無処理区の接種樹からは菌泥の噴出が認められたが、わら巻+ビニル被覆区の接種樹や各処理区は無接種樹からは菌泥の発生は認められなかった。

モノクローナル抗体で病原細菌が検出されなかったわら巻区や無処理区の樹の萌芽率は100%であったが、わら巻+ビニル被覆区の無接種区で枝の枯込みを生じてモノクローナル抗体で病原細菌が検出された樹の萌芽率は60.0~87.5%と低かった。

第2表 キウイフルーツかいよう病菌による葉の発病温度

温度	処理病徴 ¹⁾	病徴発現までの日数	ハロー ²⁾ 形成程度	細菌の ³⁾ 再分離
℃		日		
5	+	12	+	+
10	+	10	+	+
15	++	7	+	+
20	+	7	+	+
25	+	7	+	+
28	±	10	±	+
30	-	-	-	±

多針付傷後L11菌株の10⁸cfu/ml菌液噴霧接種、4日間保湿、

z): ++; 多, +; 中, ±; 軽, -; 無病徴
 y): +; 明瞭, ±; 不明瞭, -; ハロー形成なし
 x): +; 白色細菌多数, ±; 少し

被覆処理して病原細菌を接種した1月下旬(1月12日から19日の間)における樹体温度の測定結果を第4表に示した。被覆無処理の樹体の最高温度は、外気温とほぼ同等かやや高めに、最低温度はやや低めに経過した。また、わら巻のみの処理区の最高温度は外気温よりも1℃程度低く、最低温度はやや高めに経過した。これに対し、わら巻の上にビニル被覆処理をした区では、最高温度が10℃以上も高く、最低温度は逆に1℃以上低く経過するなど、他の処理区に比べ一日の温度較差が大きかった。わら巻+ビニル処理区の日最高温度の極値は、無接種が28.9℃であったのに対して接種樹では35.4℃で、平均値でも31.7℃の高温を示した。期間中の30℃以上の温度の累積時間は11時間45分、32℃以上の累積時間は6時間30分にも達した。わら巻処理区においても、接種樹の最高樹体温度が無接種樹よりも1℃高い傾向が認められたが、無処理区では接種樹と無接種樹での温度差は認められな

第3表 被覆処理がかいよう病発病およびキウイフルーツ樹体に及ぼす影響

処理区	樹No.	かいよう病菌接種の有無	萌芽数 個	萌芽率 %	平均新梢長 cm	枝の枯込み部		菌泥の発生有無 ³⁾
						枯込み長 cm	抗体反応 ²⁾	
わら巻のみ	1	有	0	枯死	-	123.0	+	+
	2	有	4	66.7	1.4	14.5	+	+
	3	無	4	100	20.5	0	-	-
	4	無	2	100	3.0	0	-	-
わら巻+ビニル被覆	1	有	7	87.5	23.9	1.0	+	-
	2	有	4	66.7	23.3	15.0	+	-
	3	無	9	75.0	15.8	43.0	+	-
	4	無	3	60.0	41.0	7.0	+	-
無処理	1	有	0	枯死	-	110.0	+	+
	2	有	0	枯死	-	105.0	+	+
	3	無	8	100	22.9	0	-	-
	4	無	9	100	12.7	0	-	-

z): かいよう病菌L11菌株のモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法
 +; 菌体検出, -; 菌体検出せず

y): 菌泥の発生あり, -; なし

第4表 被覆処理およびかいよう病菌を接種した樹体の温度状況^{z)} (1月中旬の例)

処 理 区	菌接種 の有無	最 高 温 度		累 積 時 間		最 低 温 度		累積時間 0℃以下 時間	日温度較差 平均値 ℃
		極 値 ℃	平均値 ℃	30℃以上 時間	32℃以下 時間	極 値 ℃	平均値 ℃		
わら巻のみ	有	18.5	15.9	0	0	-4.9	0.2	23:30	15.4
	無	17.7	14.8	0	0	-5.6	-0.2	28:00	14.7
わら巻+ビニル	有	35.4	31.7	11:45	6:30	-7.6	-1.3	27:30	33.2
	無	28.9	25.4	0	0	-6.5	-1.2	36:30	26.4
無 処 理	有	19.8	17.3	0	0	-6.2	-0.5	27:15	17.7
	無	20.7	17.6	0	0	-6.7	-0.9	39:30	18.1
気 温	-	19.5	16.6	0	0	-5.5	0	23:30	16.2

z) 1月12~19日の間の測定値

かった。

Ⅳ 考 察

キウイフルーツかいよう病は、秋冬季から春先にかけて樹幹や枝に感染・発病することを別報(14,15)にて報告した。本病の病原細菌の増殖・生育温度について調べた結果、本細菌は5~30℃の温度で生育し、15~25℃での増殖が最も良好であった。これらはウメかいよう病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*)(7)と同様に低温でも生育する細菌であることが明らかになった。葉の発病をみても5℃でも発病が起り、15℃で病斑が最も大きく、28℃では病斑が不明瞭になって30℃では発病しなくなった。また、32℃になると培養液中でも39時間後には死滅するなど、本病原細菌は高温に弱いことが明らかになった。この結果は、本病の発生が夏季に終息する理由と考えられる。

樹体を被覆することは、外気温の急激な変化に対して樹体の急激な温度変化を抑える効果が期待される(1)。被覆処理した苗木にかいよう病菌を接種した結果、無処理区が接種樹2本とも発病枯死したのに対してわら巻処理区では2本のうち1本が枯死したのみで、わら巻+ビニル被覆処理区では接種部の枝の枯れ込みはあったものの枯死樹は発生しなかった。これらの処理の樹体の温度

変化について調査した結果は、わら巻処理によって最低温度の極値が1℃程度高く経過したことから温度低下を抑える効果が若干なりともあったものと思われる。わら巻+ビニル処理区では最低温度が無処理樹よりも低く経過したにもかかわらず、枯死樹が発生せずに発病も軽かったのは、最高温度が平均温度31.7℃、最高温度の極値で35.4℃と高く、死滅温度の実験値(14)に近い温度に達していたことから、樹体の皮層部組織内の病原細菌がかなり死滅したために発病が軽くなったものと考えられる。接種樹の最低温度が無接種樹よりも低い温度で経過しているが、これは、かいよう病菌が氷核活性を有しない(8)ことから組織の凍結に起因する温度低下とは考えにくい。わら巻+ビニル処理区の接種樹の最高温度も著しく高まっていることなどから、これらの温度変化は病原細菌の感染による組織病変に伴う何らかの生理的異常による可能性があり、芹澤ら(4-6)の低温が本病を助長するとの報告と関係するものと思われる。鴨田ら(3)は、わが国におけるキウイフルーツの凍害は-13℃付近から発生することを報告しているが、本病原菌の感染がある場合にはこれよりも高い温度条件でも発病が助長されると考えられる。したがって、わら巻だけよりもさらにビニルで被覆するような処理により、本病の発病を軽減する効果が期待できるものと思われる。

V 摘 要

キウイフルーツかいよう病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*) の増殖、発病の温度および樹体の被覆処理が発病に及ぼす影響について検討した。

1. 病原細菌は 5～30℃で生育した。15～25℃での増殖が最も良好で、30℃以上では増殖量が少なくなり、32℃の高温では39時間後に死滅した。

2. 葉の発病は、5℃で接種12日後、10℃で10日後、15～25℃で7日後、28℃では10日後に認められた。5～25℃ではハロー形成が認められたが、28℃では不明瞭になった。15℃での病斑が最も大きかった。

3. 発病樹体をわら巻、わら巻+ビニル被覆処理することにより発病は軽減され、わら巻+ビニル被覆処理では樹体温度が著しく高まるとともに発病が抑制された。

4. 病原細菌の感染により樹体の最低温度が低くなり、最高温度が高まった。

引用文献

- 千葉和彦. 1985. 気象災害と発生機構 凍害. 農業技術体系 果樹編 8 (共通技術): 101-106.
- 古屋由美子・牛山欽司・大津みゆき・吉田芳哉. 1988. キウイかいよう病菌に対するモノクローナル抗体. 日植病報 54: 380 (講要).
- 鴨田福也・本條 均・金 夢變. 1989. わが国におけるキウイフルーツ栽培の気象的適地条件. 果樹試報 A 16: 99-114.
- 芹澤拙夫・市川 健・瀧川雄一・後藤正夫. 1985. Kiwifruit の新しい細菌病. 日植病報 51: 53 (講要).
- 芹澤拙夫. 1986. キウイかいよう病の発生生態と防除の問題点. 植物防疫 40: 390-394.
- SERIZAWA, S., ICHIKAWA, K., TAKIKAWA, Y., TUYUMU, S. and GOTO, M. 1989. Occurrence of bacterial canker of kiwifruit in Japan: Description of symptoms, isolation of the pathogen and screening of bactericides. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 55: 427-436.
- 高梨和雄. 1971. ウメかいよう病の生態と防除. 植物防疫 25: 275-278.
- 高梨和雄・高橋幸吉. 1988. 果樹に表生または寄生する *Pseudomonas* 属細菌の氷核活性. 日植病報 54: 119 (講要).
- TAKIKAWA, Y., SERIZAWA, S., ICHIKAWA, T., TUYUMU, S. and GOTO, M. 1989. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* pv. nov.: The causal bacterium of canker of kiwifruit in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 55: 437-444.
- 牛山欽司・高梨和雄・青野信男. 1986. 神奈川県におけるキウイかいよう病の発生. 関東病虫研報 33: 152-153.
- 牛山欽司・古屋由美子・北 宜裕・大津みゆき・吉田芳哉. 1989. モノクローナル抗体を用いたキウイかいよう病菌の検出. 日植病報 55: 510-511 (講要).
- 牛山欽司・北 宜裕・青野信男・小川潤子・重田利夫. 1990. キウイフルーツかいよう病の総合的防除対策. 神奈川県試研報 40: 19-34.
- 牛山欽司・小川潤子・北 宜裕. 1991. キウイフルーツかいよう病菌の増殖・死滅温度と感染枝における動態. 日植病報 57: 71 (講要).
- 牛山欽司・北 宜裕・青野信男・小川潤子. 1991. キウイフルーツかいよう病菌の枝組織での感染・増殖および罹病落葉内での動態と土壌伝染. 神奈川県試研報 41:
- 牛山欽司・藤原俊六郎・北 宜裕・青野信男・小川潤子・郷間光安. 1991. キウイフルーツかいよう病の発病に及ぼす窒素施用量、樹体成分、地形と標高および防風垣の影響. 神奈川県試研報 41: 53-61.

Summary

The optimum temperature for propagation of the pathogenic bacteria, *Pseudomonas syringae* pv. *actinodiae*, and the effect of cold protection for the disease incidence of bacterial canker of kiwifruit vines were investigated.

The pathogenic bacteria grew at temperature range of 15 to 30°C and grew extremely well at 15~25°C. At range above 30°C, however, propagations decreased. Moreover, the bacteria died after 39 hours at a temperature of 32°C. On the other hand, the bacteria were able to induce symptomatic lesions on leaves at

temperature as low as 5°C, 12 days after inoculation; 10 days at 10°C; 7 days at 15-25°C, but was delayed 10 days at 28°C. Halo were distinctly formed at 5 to 25°C but were indistinct at 28°C. Diseased lesions were largest at 15°C. Diseases of vines were decreased by protective treatment using rice straw and by vinyl film wrapping, which induced high temperature, thus controlling disease symptoms. Vines already infected with bacteria showed greater susceptibility at both lower and higher temperature ranges than did healthy vines.