

# 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壤伝染性

牛山欽司・北 宜裕\*・青野信男\*・小川潤子

Kinji USHIYAMA, Nobuhiro KITA,  
Nobuo AONO and Junko OGAWA

The Multiplication and Movement of Pathogenic  
Bacteria, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, in the  
Tissues of Kiwifruit and Their Soil Transmission  
Ability.

## I 緒 言

キウイフルーツが神奈川県に導入されたのは昭和46年である。導入当初は病害虫の問題は少ないものと言われていたが、昭和57年頃から新しい細菌病のかいよう病が発生するようになった(8)。

本病は、静岡県で数年前から発生が認められていた(3-7)がその生態等については不明の点が多かった。そこで、筆者らは静岡県柑橘試験場および千葉県暖地園芸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「キウイフルーツ細菌病の発生生態の解明と防除法の開発」の研究を行った。本共同研究の防除対策についての成果は既に報告(11)し、生態等についての成果も別報(13,14)にて報告した。本報告はかいよう病菌の枝組織、罹病葉や土壌中での動態についての知見をと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

\*神奈川県庁

本研究の一部は日本植物病理学会平成元年度秋季関東部会及び平成2年度夏季関東部会で発表した。

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、本稿のご校閲をもお願ひした。東京農業大学植物病理学教室陶山一雄先生にも種々ご教示いただいた。衷心よりお礼申し上げます。

## II 材料及び方法

### 1. 病原細菌の切口部での秋冬季自然感染

小田原市根府川の1984年から激発した6~7年生‘ヘイワード’種園において、下記の要領で調査を行った。

**供試苗木および設置方法** 試験1; 発病樹下に、1987年11月から1988年4月までの間、1ヵ月ごとに3ヵ所の小枝を切込んだ1~3年生キウイフルーツ‘ヘイワード’種の鉢植苗を3本ずつ設置した。

試験2; 1988年10月から1989年4月までの間、ほぼ1ヵ月毎に1年生キウイフルーツ実生苗5本、2~3年生キウイフルーツ‘ヘイワード’種苗2~5本、1年生サルナシ実生苗5本ずつ、それぞれ小枝をせん除して傷を付け、発病樹下に設置した。

**発病調査** 所定期間設置した苗木は、キウイフルーツとは関係のない場所に移し、発病状況を観察した。試験1は1988年5月9日、試験2は1989年6月3日に付傷部直下の芽から生育した新梢の葉の発病状況を調査した。また、枝の切口部や枯れ込み部を切り取って、かいよう病菌のモノクローナル抗体(2.9) 218-1(IgM)株を用い

て、蛍光抗体法でかいよう病菌の生存の有無を調査した。

## 2. 病原細菌のキウイフルーツ枝組織内での移行状況調査

**供試苗** 1年生‘ヘイワード’種挿し木苗の7号ポット植苗を供試した。

**接種方法** 1987年2月4日PPGA（ジャガイモポットングルコース寒天培地、西山処方）で培養したL1菌（元農林水産省果樹試験場高梨和雄博士より分譲、小田原市久野産） $10^8$  colony forming unit (cfu)/ml濃度菌液を5本針束で枝のほぼ中央部に付傷接種し、24時間ポリ袋で保湿した。

**発病調査および病原細菌の検出** 接種したポットは、ガラス張り網室内に置き、接種部からの上下方向の菌泥発生状況を3月に調査した。その後、そのまま網室内に置き、発病枯れ込み状況を観察し、11月11日～2月15日に発病部の壊死境界部からの距離別に5mm角に形成層部の組織を切り取り、PPGAで病原細菌を分離した。

## 3. 感染枝の組織部位における病原細菌の動態

**接種枝における発病調査** 4年生‘ヘイワード’種13本を供試し、1989年12月13日に各樹の1年生枝と2～3年生枝を各1本ずつの先端をせん除した。そのせん定切口にかいよう病菌L11菌（高梨和雄博士より分譲、小田原市久野産）の $10^8$  cfu/ml菌液を含ませた脱脂綿を貼り付けてポリ袋で24時間保湿して接種した。1990年1月24日、2月14日、2月23日および3月20日に切口部からの菌泥の発生の有無や枯れ込み状況と各枝の基部方向の節部を強く押しつけて菌泥の発生した位置までの接種切口部からの距離を測定した。

**枝組織内部からの病原細菌の検出** 発病を確認した枝を3月20日に切除し、発病節から無発病方向の距離別に枝組織の各部位別の切片を作った。その切片を殺菌水で磨砕し、かいよう病菌のモノクローナル抗体218-1 (IgM) 株を用い、蛍光抗体法でかいよう病菌の存否を検鏡調査した。なお、かいよう病菌L11菌液に根部を浸漬して接種し、萎ちょうを起こさせた1年生キウイフルーツ実生苗の茎部をFAで固定した。その茎部から凍結マイクロームで切片を作成した後、モノクローナル抗体を用いて組織内の病原細菌の存在位置を観察した。

## 4. 罹病落葉における病原細菌の動態

小田原市根府川のかいよう病多発園で実施した。

1988年の調査；1988年7月に樹上の罹病葉を無作為に選んでマークしておき、8～10月には樹上で着生したままのマークした病葉を、12月および1989年1月にはそれらの落葉の病斑部について次の方法で病原細菌の検出を

行った。すなわち、検定罹病葉から50病斑を個々に切り取り、それぞれ200 $\mu$ lの殺菌水で磨砕した。この液を100 $\mu$ lとり、段階希釈して普通寒天培地で細菌を分離して1ml当たりの細菌数を計数した。残りの液は蛍光抗体用スライドグラスにとり、かいよう病菌のモノクローナル抗体の蛍光抗体法で反応の有無を調査し、陽性反応のあった病斑をかいよう病菌の生存病斑とした。

1989年の調査；1989年6月に樹上の罹病葉をマークし、前年同様の検出方法で11月に樹上着生葉を、12月には落葉について病斑部から病原細菌を検出した。

## 5. 土壌等からの病原細菌の検出

**病樹下の雑草および土壌からの病原細菌の検出** 5月8日に小田原市根府川激発園内の雑草および根辺土壌を採取し、5～10gを50mlの滅菌水で60分間振とう後滅菌濾紙で濾過し、後藤ら(1)の方法に準じて濾液を5,000rpmで20分間遠心分離した沈澱を1mlの生理食塩水で溶解し、5本針束で付傷したキウイフルーツ実生苗の葉にゴムプレスして接種した。接種後はポリ袋で48時間保湿し、11日後に病斑形成状況を調査した。

## 病原細菌かん注土壌および病枝埋設土壌からの検出

小田原市下曾我土壌（粘質土壌）および小田原市根府川土壌（火山灰土壌）を詰めて草生あるいは裸地にした10号鉢に、L1菌培養菌液を2月15日、3月13日、5月23日にかん注した。また、一部には5月23日、菌泥を発生している2年生枝の長さ7cmを各2本ずつ埋設した。5月23日および6月19日に土壌10gずつ採取し、前記と同様の方法でキウイフルーツの葉にゴムプレス接種し、病原性を検討した。

## 6. 発病汚染土壌における伝染の有無

**試験1**；サルナシ実生の本葉4～5枚展葉苗を供試し、1989年3月13日にかいよう病菌L11菌とS-21菌（サルナシ分離菌、東京農業大学陶山一雄先生より分譲）の $10^8$  cfu/ml菌液に浸根接種又はかん注接種した。供試土壌は、小田原市根府川の発病園から採取して高圧殺菌した土壌と無殺菌の土壌を用いた。ガラス温室内で育て、発病状況を観察した。サルナシ苗は5月16日に地際部から切除し、そのままの鉢上にキウイフルーツ実生本葉4～5枚の幼苗を植えた。雨除けビニルハウス内で生育させ、発病状況を観察した。さらに、この苗は1990年2月5日に25℃人工気象室に入れて加温して発芽させ、2月24日に発病の有無を再度観察した。

**試験2**；キウイフルーツ実生本葉4～5枚の幼苗を供試し、1989年5月12日に試験1と同様の方法で接種処理し、試験1と同様の方法で試験した。なお、発病苗につ

いてはモノクローナル抗体を用いてかいよう病菌保菌の有無を調査した。

試験3：高圧殺菌した土壌を野菜育苗箱に入れ、3～5cm間隔にサルナシおよびキウイフルーツ実生の稚苗を植えて育苗した。1989年4月27日かいよう病菌L11菌株の $10^8$ cfu/ml菌液に10分間根部を浸漬した本葉4～5枚展葉苗を育苗箱の中央に植え、雨除けハウス内で周辺の苗への発病状況を観察した。1990年2月5日に温室内に入れ、2月24日に発芽後の発病の有無を再度調査した。なお、接種苗に隣接する苗の根部について、モノクローナル抗体を用いてかいよう病菌保菌の有無を調査した。

### Ⅲ 成 績

#### 1. 病原細菌の切口部での秋冬季自然感染

試験1の実験結果を第1表に示した。11月～4月の間設置した苗で自然感染発病が見られたのは、11月24日～12月23日と3月19日～4月12日の間設置した苗の各1本ずつであった。12月23日から3月19日の間に設置したもので、切口部にわずかな枯れ込みが認められた。また、枯れ込んでいないものでも切口部が黒変しているものがあった。

試験2の実験結果を第2表に示した。10月～4月の間の設置で、自然感染による枝の枯れ込み発病が認められたのは10月25日以降であった。発病枯死した供試苗は10月25日から4月7日の間に認められ、サルナシでは3月1日～4月27日設置で枯死する苗があった。

かいよう病菌のモノクローナル抗体を用いて切口部における病原細菌の存在の有無を調べた結果、試験1は12月23日～1月25日と2月23日～3月19日の設置苗の切口部で陽性反応が認められ、試験2では10月25日以降設置した苗で多く検出され、かいよう病菌の切口部での潜在感染を示した。

試験1の3月19日以前に設置した苗では、切口部直下の芽から発生した新梢の基部の葉の発病が多く（第3表）、設置期間中に発芽が認められた3月19日～4月12日の設置苗では切口部とは関係のないところの新梢での発病がみられた。試験2でも、切口部等傷部直下の芽から発生した新梢の基部の葉の発病が多く、新梢の先端の葉の発病は認められなかった。

#### 2. 病原細菌のキウイフルーツ枝組織内での移行調査

調査結果を第4表に示した。2月4日接種で20日後に一部の接種カ所に菌泥の発生が始まり、3月10日には接種カ所のほぼ全部に菌泥の発生が認められた。接種カ所

第1表 キウイフルーツかいよう病発病園内に時期別に設置した苗木の発病状況と枝切口部からの病原細菌の検出状況 (1988)

設 置 期 間 月 / 日	枝 の 発 病 苗 数 <sup>z)</sup> (本)	切 口 直 下 発 生 新 梢 発 病 状 況 <sup>y)</sup>			切 口 部 からの 病 原 細 菌 検 出 <sup>w)</sup>	期 間 中 の 降 水 量 (mm)
		発 病 新 梢 数 (本)	発 病 葉 率 (%)	発 病 度 <sup>x)</sup>		
11/24～12/23	1/3	2/3	10.5	1.5	—	95.0
12/23～ 1/25	(1)/3	3/5 (0/3) <sup>v)</sup>	36.7 (0)	9.5 (0)	+	33.5
1/25～ 2/23	(2)/3	5/6	50.0	23.9	—	44.5
2/23～ 3/19	(2)/3	6/9 (0/4)	41.8 (0)	16.4 (0)	+	146.0
3/19～ 4/12	1/3	6/8 (3/3)	41.9 (38.5)	10.6 (11.0)	—	193.5
4/12～ 4/25	0/3	4/6	31.7	4.1	ND	104.0

z)：発病苗数/調査本数、( )内は、枝の一部に枯れ込みのあった苗木数

y)：5月9日調査、x)：発病度 =  $[\sum (\text{発病度別指数} \times \text{葉数}) / 7 \times \text{調査総葉数}] \times 100$

w)：モノクローナル抗体による検出 +；陽性、—；陰性、ND；調査せず

v)：( )内は、同一苗の枝切口部とは関係のない離れた位置の新梢の発病状況

第2表 かいよう病発病園内に時期別に設置した苗木の発病状況 (1989)

設 置 期 間 月/日	キウイフルーツ実生苗				ハイワード種苗木				期 間 中 の	
	枝発病 苗 数	病原菌 <sup>z)</sup> 検出苗	発 病 葉 率	葉発病 度	枝発病 苗 数	病原菌 <sup>z)</sup> 検出苗	発 病 葉 率	葉発病 度	降水量	日 数
	(本)	(本)	(%)		(本)	(本)	(%)		mm	日
10/10~10/25	0/5	1/5	34.9	18.6	0/4	1/4	37.6	15.1	1.5	2
10/25~11/25	1/5* <sup>y)</sup>	2/5	84.6	66.1	1/4*	3/4	55.6	22.8	29.5	7
11/25~12/27	1/5*	3/5	89.6	58.0	0/3	1/3	70.0	30.7	35.0	2
12/27~ 2/ 9	1/5*	1/5	55.4	29.3	ND <sup>x)</sup>	ND	ND	ND	233.5	15
2/ 9~ 3/ 1	2/5*	3/5	66.7	45.8	1/3*	1/3	58.4	31.7	296.0	11
3/ 1~ 4/ 7	1/5	2/5	89.7	74.1	2/5*	4/5	59.0	42.6	159.5	15
サルナシ実生苗										
12/27~ 2/ 8	1/5	1/5	43.8	13.4						
3/ 1~ 4/27	2/5*	2/5	23.9	76.8						

z) : 枯死苗及び切口枯れ込み部からのモノクローナル抗体による病原細菌検出苗/調査苗数

y) : 発病枯死, x) : 調査せず

第3表 枝切口部からの新梢発生位置と葉の発病状況<sup>z)</sup>  
(1988)

枝切口部か らの距離	新梢 長	同一新梢内の発病度別葉数				葉 の 発病度 <sup>x)</sup>
		無(0)	少(1)	中(3)	多(5) <sup>y)</sup>	
cm	cm					
0.5	5	1	4	0	0	11.4
2.0	5	2	2	1	0	14.3
3.0	4	2	1	1	0	14.3
12.0	7	3	1	1	0	11.4
- w)	4	5	0	0	0	0
-	2	3	0	0	0	0
-	6	6	0	0	0	0

z) : 2月23日~3月19日設置苗, 4月23日調査

y) : ( )内数字は発病程度指数

x) : 発病度 = [Σ(発病度別指数×葉数)/(7×調査総葉数)] × 100

w) : 枝切口とは関係のない位置の新梢

以外の菌泥の発生は, 3月10日には枝の下方方向の10cm離れた葉柄痕部にも認められ, 上方向より下方向のほうが発生カ所数が多かった. 3月14日には上方向でも菌泥の発生が多くなり, 15cm離れたところからの発生も認められた. 菌泥の発生部位は, 表皮の皮目部や傷部からもあったが, 葉柄痕部からが多く, 3月20日の調査では上方向よりも下方向での発生カ所数が多く, 枝組織内の病原細菌の移行・増殖が認められた.

上記の接種実験で菌泥の発生が認められた枝は, 6月になって枯れ込むものが多かった. 枯枝はそのまま着生させてガラス室内で越冬させ, 11月~2月に枯れ込んで壊死した病斑の境界部を削ってその境界部からの距離別に細菌を分離した結果, 11月~12月では分離される細菌は少なかったが, 1月以降になると境界部から分離されるようになり, 上方向では1cm, 下方向では5cm離れたところからも分離されて, 樹体内での病原細菌の再増殖, 移行が起こった(第5表).

### 3. 感染枝の組織部位における病原細菌の動態

切口接種部からの菌泥発生の時期別推移の調査結果を第6表に示した. 12月13日に接種した1年生枝の切口接種部には1月20日頃から菌泥の発生が見られるようにな

第4表 病原細菌枝接種部位からの距離別菌泥溢出状況

調査 月 日	接種部から の 方 向	枝 接 種 部 位 からの 距 離 (cm)							
		1~2	3~4	5~6	7~8	9~10	11~12	13~14	15~
3月10日	上 方 向		2		1				
	下 方 向	3	3	2		2			
3月14日	上 方 向		3	1	1				2
	下 方 向	3	1	2	1	1	3		
3月20日	上 方 向	1	4	1					3
	下 方 向	2	4	3	1	1	3		

1987年2月4日 L1菌株 $1.0^8$  cfu/ml菌液を21本に針接種，表中数字は菌泥溢出力所数

第5表 春季の枝発病組織における秋冬季の病原細菌の移行

分 離 月 日	壊死病斑境界部位からの方向別病原細菌検出距離 (cm)											
	上 方 向					下 方 向						
	(調査数) <sup>z)</sup>	0	1	3	5	7	(調査数)	0	1	3	5	7
11月11日	(4)	1 <sup>y)</sup>	0	0	0	0	(4)	2	0	0	0	0
12月17日	(3)	1	0	0	0	0	(5)	1	0	0	0	0
1月29日	(5)	3	2	0	0	0	(6)	6	4	2	2	0
2月15日	(3)	2	1	0	0	1	(6)	4	2	2	1	1
計	(15)	7	3	0	0	1	(21)	13	6	4	3	1
検出率	%	46.7	20.0	0	0	6.7	—	61.9	28.6	19.0	14.3	4.8

z) : 調査病斑部位数, y) : 表中数字は病原細菌検出組織片数

り，1月24日の調査では切口接種部から枝の基部方向の22cm離れた3節目の葉柄痕部からも菌泥が出るようになった。2月14日の調査では58cm離れた6節目から発生し，2月23日には71cm離れた位置の節からも発生するようになり，3月20日には1m離れた節からも発生するようになった。2~3年生枝では，途中の節等からの菌泥の発生はあまり認められなかったが，2月23日に80cm離れた枝の分岐部から透明な樹液の分泌が認められた。3月20日には90cm離れた枝の亀裂部から菌泥の発生が認め

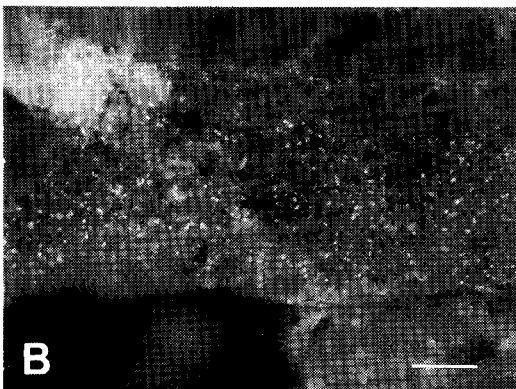
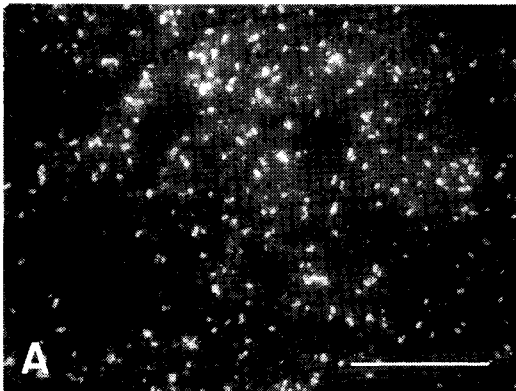
られた。切口部での菌泥の発生は，表皮下の形成層部からの場合が多かったが，木質材部からの分泌も認められた。

3月20日に採取した発病芽の皮層組織は褐変~水浸状になっていたが，それから先の皮層~木質部は健全な色であった。この発病芽から10cm離れた皮層部，木質部とも病原細菌が検出された。病原細菌の生息密度は皮層部に高い傾向が認められた(第7表，第1図)。中心髓部では1年枝で5cmのところでは病原細菌が検出されたが，

第6表 かいよう病菌接種枝における時期別の菌泥発生部位の推移

枝	調査切日 <sup>z)</sup>	接種部	接種部からの距離 (cm)									発病 枝数	
			3~10	11~20	21~30	31~40	41~50	51~60	61~70	71~80	91~100		
1 年 枝	1/24	6	5	1	1								7
	2/14	6	2	4	1	4	0	1					12
	2/23	6	2	2	2	1	2	3	1				13
	3/20	13	2	1	2	0	2	0	1	2	1		13
3 年 枝	1/24	5	1	1									5
	2/14	6	1		1								7
	2/23	10	1			1		1		1			10
	3/20	11	1		1		2	1		2	1		12

各13本供試、表中数字は発病枝数、z)：菌泥発生および枯れ込み枝数



第1図 罹病枝の皮層部から検出されたかいよう病菌  
A：蛍光発色の菌体，B：皮層上の菌体  
蛍光抗体法による検出，スケールは50 $\mu$ m

第7表 かいよう病発病芽からの距離と枝の部位別組織からの病原細菌の検出

組 部	織 位	1年生枝			3年生枝		
		1	5	10	1	5	10cm <sup>z)</sup>
皮層部	5 <sup>y)</sup>	5	3		3	2	2
木質材部		3	3	3	2	2	2
中心髓部		1	1	0	0	0	0
菌泥発生 芽部	(5)				(5)		

z)：菌泥発生芽部からの距離，y)：モノクローナル抗体  
蛍光抗体法による病原細菌の菌体密度，0；検出されず，  
1；僅かに検出，2；少し検出，3；中程度，4；多く検出，  
5；非常に多く検出。

10cm離れたところからは検出されず，3年枝では1cmの  
ところでも検出されなかった。ほかに浸根接種した実生  
苗の茎部組織の切片を作り細菌分布を観察した結果では、  
皮層の3~8層の細胞，形成層と木質材部との境界，導  
管壁，髓部細胞などに菌体が認められた。

#### 4. 罹病落葉における病原細菌の動態

調査結果を第8表に示した。1988年の調査では8~10  
月の樹上着生葉では1病斑当たり3~9 $\times 10^3$ cfu/mlの  
細菌濃度でモノクローナル抗体に反応する病原細菌が検  
出されたが，落葉した12月および翌年の1月の罹病葉か

第8表 かいよう罹病葉の落葉前後の病斑部からの病原細菌の検出

調査月	1988年		1989年	
	1病斑内 <sup>z)</sup> 生菌数	病原細菌 <sup>x)</sup> 反 応	1病斑内 生菌数	病原細菌 反 応
8月	4.5×10 <sup>3</sup>	++	ND <sup>w)</sup>	ND
9月	3.6×10 <sup>3</sup>	++	ND	ND
10月	9.4×10 <sup>3</sup>	++	ND	ND
11月	ND	ND	7.5×10 <sup>7</sup>	+
12月 <sup>*y)</sup>	0	-	1.6×10 <sup>2</sup>	-
1月	0	-	ND	ND

z)：希釈平板法(cfu/ml, 50病斑の平均値)  
y)：モノクローナル抗体陽性細菌++：多い, +：少,  
-：無, x)：落葉後, w)：調査せず

らは病原細菌は検出されなかった。1989年は、11月の着生葉から1病斑当たり7.5×10<sup>7</sup>cfu/mlの細菌濃度の白色集落に発育する細菌が検出されたが、モノクローナル抗体に反応する病原細菌は少なかった。落葉した12月の病葉からは1.6×10<sup>2</sup>cfu/ml濃度の白色集落に発育する細菌が分離されたが、モノクローナル抗体と反応する

病原細菌は検出されなかった。

### 5. 土壌等からの病原細菌の検出

現地発病樹下の雑草及び土壌を洗い出した濾液を遠沈濃縮した液で、キウイフルーツ葉に付傷接種して検定した結果、付傷接種で発病は認められず、葉を発病させるほどの病原細菌量は存在しなかった(第9表)。病原細菌を土壌にかん注した場合、3月13日かん注した区の5月23日調査ではキウイフルーツの葉に発病をさせるにたる病原細菌量が得られたが、6月19日の調査では発病させるほどの病原細菌量は得られなかった。5月23日に病枝を供試土壌に埋設した場合、埋設直後ではかなり強く発病させ得る病原細菌の菌量が検出されたが、6月19日では発病は全く認められなくなった(第10表)。なお、同一設計の菌液かん注や病枝埋設処理では、草生土壌から洗い出しの遠沈処理液のほうが裸地土壌の遠沈処理液よりも発病が強く現れる場合が多かった。

### 6. 発病汚染土壌における伝染の有無

試験1のサルナシの浸根接種では、無殺菌土壌のL11菌で3本、S-21菌で2本、殺菌土壌でL11菌1本、S-21菌で1本、対照の水浸漬でも2本に葉に壊死斑点等を生じてやがてしおれ、枯れるものがあった。殺菌土壌では葉に小さい壊死斑点を生じて落葉するものが多かったが、枯死までにはいたらなかった。サルナシ苗へのかん注接種では、枯死した苗はなかったが、殺菌土壌で浸

第9表 発病樹下の土壌および雑草等からの病原細菌の検出

調査位置・検定部位	接種キウイフルーツ葉別の発病状況 <sup>z)</sup>							
	1	2	3	4	5	6	7	8 <sup>y)</sup>
病樹下樹液滴下部雑草 <sup>x)</sup>								
〃 〃 根辺土壌	10g <sup>w)</sup>	-	-	-	-	-	-	-
病樹銹色枝発生樹下雑草 <sup>x)</sup>	5g	-	-	-	-	-	-	-
〃 〃 根辺土壌	10g	-	-	-	-	-	-	-
かいよう病菌10 <sup>8</sup> cfu/ml 濃度菌液遠沈濾液	++	++	+	+++	+++	+++	+++	+++
〃 〃 遠沈なし	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
対 照 (生理食塩水)	-	-	-	-	-	-	-	-

5月8日実施  
z)：遠沈検定液を5本針束付傷ゴムプレス接種葉の発病程度 -：無, +：少, ++：中, +++：多  
y)：1：下位葉, 8：上位葉  
x)：ウシハコベとメヒシバ, v)：ヒメジョオンとスギナ  
w)：滅菌水50mlで60分間振とう後5,000rpm 20分間遠沈の沈澱物を生理食塩水1mlに溶解

第10表 病原細菌かん注土壌および発病枝埋設土壌からの検出

処 理 <sup>z)</sup>	接種キウイフルーツ葉別の発病状況 <sup>y)</sup>											
	5月23日接種						6月19日接種					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
下宮我土壌 草生のみ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
〃 〃 2/15菌液かん注	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
根府川土壌 2/15, 3/13菌液かん注	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
〃 草生 〃 〃 〃	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
〃 〃 3/13かん注, 5/23病枝埋設	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
〃 裸地 3/13, 5/23かん注, 5/23病枝	++	+	++	±	-	-	-	-	-	-	-	-
対 照 (生理食塩水のみ)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
〃 (L11菌液 $10^8$ cfu/ml)	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++

z) : 10号素焼鉢天井ガラス張り網室内設置, 土壌各時期10gを滅菌水50mlで6分間振とう後 5,000rpm 20分間遠沈の沈澱物を生理食塩水1mlに溶解

y) : 5本針束付傷ゴムプレス接種での反復発病程度 - ; 無, ± ; 不明瞭, + ; 少, ++ ; 中, +++ ; 多

根接種の場合と同じように落葉するものが多かった。葉の壊死斑点部からは、モノクローナル抗体によってかいよう病菌が検出された(第11表)。試験1のサルナシを改植したキウイフルーツ苗は、無殺菌土壌で枯死するものが発生したが、モノクローナル抗体でかいよう病菌は検出されなかった。他の試験区では、全く異常は認められず、いずれも翌年の発芽は正常であった。

試験2のキウイフルーツ実生苗での試験は、どの処理区においても全く異常は認められず、翌年の発芽は正常であった。

試験3のサルナシ及びキウイフルーツ幼苗の根部を浸漬接種して植えた苗は、約1カ月後の5月にしおれて枯れたが、その周囲の苗は異常なかった。翌年の発芽時に接種部隣接の苗の根部を磨砕してモノクローナル抗体で検定したが、かいよう病菌は検出されず、周囲への伝染は認められなかった。

#### IV 考 察

キウイフルーツのかいよう病発病園内に病原菌捕捉用に設置したキウイフルーツ苗の枝の発病は、1987年度の発病樹下への最初の設置期間の11月24日~12月23日に1

本に発生し、1988年度の試験では10月25日~11月25日に設置した苗に発病が認められて、いずれも晩秋からの自然感染であった。2カ年とも4月上旬までの設置期間の苗で枝の発病を認めたことから、冬季間でも枝の切口からの自然感染があったことが示された。これらは芹澤(3)の結果とはほぼ一致している。両試験年とも3月までの設置苗の発病は、切口直下の芽から生育した新梢葉に多く、切口部からは常に病原細菌が検出されたので、病原細菌は供試園の発病樹から設置苗の切口等傷部にまず付着感染して潜在発病し、新梢葉への伝染源となったものと考えられる。1987年度の3月19日~4月12日と1988年度の3月1日~4月7日設置苗で、枝の切口とは関係のないところの葉の発病が多かったが、これは設置期間が既に新梢萌芽期であったために、設置期間中に設置苗の新梢部が病樹から直接感染したためと思われる。

2月4日に枝の中央部に付傷接種した場合、3月に接種部から離れた上下の皮目、傷部や葉柄痕部から菌泥を溢出させて発病した。菌泥を発生して発病して枯れ込んだ病斑部は、越夏後の11~12月では壊死部と健全組織との境界部から、1月になると境界部から離れた健全組織から病原細菌が分離されるようになった。これらのことから、1月頃から境界部に生き残った病原細菌が再増殖



第11表 かいよう病菌接種による実生苗での土壌伝染試験結果

接種 の 方法	土壌 殺菌 有無	接種 菌 株	試 験						
			試験 1			試験 2			
			接種サルナシ <sup>z)</sup>			改植キウイフルーツ <sup>y)</sup>		接種キウイフルーツ <sup>x)</sup>	
			枯死苗	落葉苗	健全苗	枯死苗	健全苗	枯死苗	健全苗
浸 根	無	L 11	3	0	3	0*	4	0	5
		S 21	2	0	4	0*	3	0	5
		水	0	0	6	0*	5	0	5
接 種	有	L 11	1	4	1	0	6	0	5
		S 21	1	2	3	0	6	0	5
		水	1	1	4	0	6	0	5
か ん 注 接 種	無	L 11	0	0	6	0	6	0	5
		S 21	0	0	6	0	6	0	5
		水	0	0	6	0	6	0	5
	有	L 11	0	5	1	0	6	0	5
		S 21	0	5	1	0	6	0	5
		水	0	3	2	0	6	0	5

植え付けから調査までの期間：z)：1989年3月13日～5月16日，y)：1989年5月16日～1990年2月24日  
 x)：1989年5月12日～1990年2月24日  
 w)：他の病原菌による立枯れあり

し、移行するようになるものと思われる。12月13日接種の枝で、1月に10～30cm離れたところから菌泥が発生するようになり、3月には90cm以上離れたところから菌泥が発生していた。芹澤(4)の調査では2mも離れたところから発病したことが報告されており、本病原細菌の枝組織内の移行は他の病害ではみられない特異的な例かと思われる。病原細菌の組織内の存在部位については、浸根接種実生苗の茎部組織の切片観察で皮層の3～8層の細胞、形成層と木質材部で多く観察され、中心髄部での菌の密度が少ないか、検出されなかったことなどから、皮層部での増殖・移行が先行するようと思われる。

罹病落葉の病斑内の病原細菌が伝染源になりうるかどうかについて2か年にわたり検討した結果、10～11月の樹上の着生罹病葉の病斑部では病原細菌が容易に検出されるが、12月の落葉した後の病斑部からは検出されなかった。このことから、枯れた組織内では病原細菌は短

時間で死滅する可能性が示唆されるもので、罹病落葉が伝染源になることはないと考えられる。

発病園では、罹病樹から溢出した病原細菌の菌泥がしたり落ちて濃厚な病原細菌で土壌が汚染されているし、罹病樹体内に増殖した病原細菌があり、もし根部組織内にも存在すれば伐採しても土中に生存する可能性が高く、改植した場合の再発病の原因となることが心配される。土壌に病原細菌をかん注し、発病枝を埋設して病原細菌の検出を行った結果、約1か月後にはキウイフルーツの葉に病斑を形成し得るほどの菌量は検出できなかった。また、キウイフルーツやサルナシ実生苗を用いた浸根接種やかん注接種で発病させた後に、その土壌に植えた実生苗で発病が認められなかったことなどは、本病原細菌の土壌伝染の可能性は低いものと考察される。なお、浸根接種試験で無殺菌土壌が殺菌土壌よりも感染苗が少ない傾向が認められたことなどは、かいよう病菌は土壌中

での微生物等との競合に弱いのではないとも思われる。

## V 摘 要

キウイフルーツかいよう病菌の秋冬季の枝への自然感染、感染枝組織内での増殖・移行動態、罹病落葉での病斑内での生存および土壌伝染性について検討した。

1. 発病園内で病原細菌は10月～3月に枝の切口等傷部に感染して、発病する。発病しなくても傷部に潜在感染していて、4月以降の葉への伝染源になる。

2. 2月初旬に接種したキウイフルーツの枝は、3月には接種部の上下方向に組織内を移行して菌泥を噴出して発病した。発病して枯れた病斑部の境界の健全組織内に残った病原細菌は、翌年の1月から増殖し、組織内を移行して発病した。12月中旬に接種した枝では、1月下旬に菌泥を噴出して発病し始め、3月下旬には90～100cm離れた所からも菌泥を噴出して発病した。発病枝の組織では、皮層部、木質材部、中心柱髓部のいずれからも病原細菌が検出され、皮層部での増殖、移行が先行した。

3. 12月に落葉した罹病葉の病斑部からは、病原細菌は検出されなくなり、落葉の病斑は伝染源にはなり得ない。

4. 現地汚染土壌やかん注接種による汚染土壌からは、約1カ月後には付傷接種で葉を発病させるほどの菌量は回収できなくなった。浸根接種やかん注接種によって発病した後に植えた苗は、1年経過しても発病せず、病原細菌も検出されなかった。本病原細菌による土壌伝染の可能性は無いものと思われた。

## 引用文献

1. 後藤正夫・太田光輝・岡部徳夫. 1975. カンキツかいよう病菌 *Xanthomonas citri* (Hasse) Dowson の腐生的生存に関する研究 第1報 シバからのかいよう病菌の検出. 日植病報 41: 9-14.

2. 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).

3. 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).

4. 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.

5. 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.

6. 瀧川雄一・芹澤拙夫・市川 健・後藤正夫. 1985. Kiwifruit 細菌病の病原細菌について. 日植病報 51: 53 (講要).

7. 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.

8. 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.

9. 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).

10. 牛山欽司・北 宜裕・小川潤子. 1990. キウイフルーツかいよう病菌の秋冬季自然感染と切口部における潜在感染. 日植病報 56: 152 (講要).

11. 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.

12. 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).

13. 牛山欽司・小川潤子・北 宜裕・小田切克治・青野信男・菱谷政富. 1991. 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. 神奈川県試研報 41: 35-40.

14. 牛山欽司・藤原俊一郎・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 infection, multiplication and movement of the pathogenic bacteria, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, in the tissues of kiwifruit and its soil transmission ability were investigated.

In diseased orchards the pathogenic bacteria infected cuttings on shoots and induced diseases during the period from December to March. Even when symptoms were not apparent on shoots, latent infection remained, and a outbreak dispersed to newly sprouting leaves in April.

Shoots inoculated in early February saw the movement of the disease from the area of inoculation both upwards and downwards in tissues of the shoot in March. The remaining bacteria found in the boundary tissues of shoots that were killed started to multiply again from January of the following year and once more induced disease. Shoots inoculated in mid-December were diseased by late January, and by late March, the

infection had spread to locations as far as 90 to 100cm distance. In the diseased tissue, the bacteria were detected in all segments of the shoot: the cortical layer, xylem and pith. However, the multiplication and movement of bacteria was more prevalent in the cortical layer than in other segments.

In December, bacteria from diseased defoliated leaves were not detected, and therefore, these defoliated leaves did not serve as sources of infection.

Even after once month, no bacteria were detected in invested soils or in pathogenic bacteria treated soils in quantities sufficient to cause infection. Young seedling which were planted in the same soil after removal of diseased plants showed no evidence of symptoms of disease even one year after replanting. Therefore, it could be concluded that these pathogenic bacteria were not able to transmit through the soil.

