コンニャク葉枯病細菌の第一次伝染源から小葉への到達

林 宣夫*

Nobuo HAYASHI*: Dissemination of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci*, the Causal Agent of Bacterial Leaf Blight of Konnyaku (*Amorphophallus konjac*), from Primary Inoculum Source to Konnyaku Leaflet

Abstract

Bacterial leaf blight of konnyaku was artificially induced by soil or seed corm inoculation. The bacterial suspension was drenched into the soil planted with konnyaku, when leaflets were fully expanded. The disease symptom was appeared on the leaflets at 14 days after inoculation. Mulching test suggested that the pathogenic bacterium existing on the soil surface might be directly splashed to leaflets by rain drops. Pathogenic bacterium existing on the seed corm multiplied on the bract after planting, followed by the rapid multiplication on leaflet. This fact suggested that the bacterium multiplied on the bract could migrate to the leaflets which were sprouting from inside of bract.

Key words: *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci*, primary infection, ecology, bacterial leaf blight of konnyaku, selective medium.

筆者は先に本病細菌の各種条件下における生存期間について検討し、本病細菌は地表面に存在する罹病小葉残渣あるいはコンニャク球茎上で越冬し、それらが次作の伝染源になる可能性があることを明らかにした³⁾。本病の防除を効率的に行うためには、本病細菌が第一次伝染源から発病部位である小葉へ到達する経路を遮断することが重要である。そのような観点から、本研究においては、地表面あるいは種球上に存在する本病細菌が発病部位である小葉への到達を明らかにしたので、その結果を報告する。

供試菌株 コンニャク葉枯病細菌 *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci*¹⁾ の K1 菌株または 7901 菌株のストレプトマイシン耐性変異株 7901-400 菌株を用いた。供試細菌は PPGA²⁾ 斜面培地で 28°C、48 時間培養後、殺菌水で所定濃度の懸濁液に調製して実験に用いた。

葉枯病細菌の種球または土壌接種による発病 種球伝染および土壌伝染を確認するための実験を行った。実験は、殺菌土壌を入れた 1/5,000 a の 1 ポット当たり 1 個のコンニャク（品種・在来種）種球を植え付け、

1 処理当たり 5 ポットを用いた。試験区は、1) 種球主芽基部への 3 本の針束接種区、2) 種球側部への 3 本の針束接種区、3) 供試細菌液中への種球の 1 時間浸漬接種区、4) 土壌灌注接種区、5) 対照（無接種）区とした。なお、この実験には病原細菌 K1 菌株を供試し、試験区 1)、2) の針束接種区は 10^7 cfu/ml、3) の種球の浸漬接種区および 4) の土壌灌注接種区は 10^6 cfu/ml の菌液を接種源とした。また、試験区 4) では細菌液をポット当たり 100 ml ずつ灌注した。接種は 1983 年 5 月 29 日に行い、接種後ただちに種球を植え付けた。ポットはその後、屋外の自然条件下に置き、コンニャクの小葉が展開した 7 月 22 日に発病の有無を調査した。

その結果、対照（無接種）区と種球側部への針束接種区ではまったく発病が認められなかったが、種球主芽基部への針束接種区ではすべての個体が発病し、種球の浸漬接種区および土壌灌注接種区では 5 個体中それぞれ 3 個体、2 個体に発病が認められた (Table 1)。

コンニャク生育中の土壌への灌注接種による発病 土壌からの伝染における降雨とマルチの影響を調べるため、直径 60 cm の無底土管に 1 土管当たり 5 個のコ

* 群馬県庁 Gunma Prefectural Office, Maebashi, Gunma 371, Japan

Table 1. Comparison of disease occurrence on konnyaku leaflets by different inoculation methods to seed corms or soils using the pathogenic bacterium ^{a)}

Inoculation method	Concentration of inoculum (cfu/ml)	No. of plants tested	No. of plants diseased
Needle- prick inoculation			
on main bud of seed corm	10 ⁷	5	5
on lateral part of seed corm	10 ⁷	5	0
Soaking inoculation			
of seed corm ^{b)}	10 ⁶	5	3
Soil inoculation ^{c)}	10 ⁶	5	2
Noninoculation (control)	—	5	0

a) Seed corms were planted immediately after the inoculation on May 29, 1983. The disease occurrence on leaflets was observed on Jul. 22, 1983.

b) Seed corms were soaked in inoculum of bacterial suspension for 1 hr.

c) Healthy seed corms were planted immediately after drenching with 100 ml of bacterial suspension into soil of a pot (1/5,000 a).

Table 2. Results of drench inoculation with bacterial suspension into soil and effect of mulching on the disease occurrence

Inoculation	Mulching with	No. of plants tested	No. of plants diseased ^{c)}
Inoculated ^{a)}	(Without mulching)	15	13
Inoculated	Rice straws ^{b)}	15	2
Inoculated	Green oat straws ^{b)}	15	0
Noninoculation	(Without mulching)	15	0

a) Bacterial suspension (6.79×10^6 cfu/ml) was drenched into soil with 200 ml per 0.28 m² at the full expansion growth stage of leaflet on Jul. 3, 1987.

b) Soil surfaces were mulched with rice straws or green oat straws immediately after the drench inoculation.

c) The disease occurrence on leaflets was observed 14 days after inoculation.

コンニャク種球を植え付け、小葉が完全に展開した7月3日に 6.79×10^6 cfu/ml の病原細菌 7901-400 菌株を1土管当たり 200 ml ずつ土壤に灌注接種した。なお、1処理は3土管とし、合計15個体のコンニャクを供試した。灌注接種直後にイネわらを 500 kg/10 a、または青刈りエンバクを 3,900 kg/10 a 相当にマルチした区、および対照として無接種区を設けた。接種14日目に発病の有無を調査し、また、接種直後から試験圃場における降水量を測定した。

試験圃場では接種当日 11 mm、2日目 20 mm、3日目 3 mm、5日目 2 mm、6日目 2 mm および 11日目 34 mm の降雨があった。細菌を灌注接種後マルチをしなかった試験区は、供試15株中13株に発病が認められた。それに対して、イネわらあるいは青刈りエンバクで地表面をマルチした試験区は、発病株数がそれぞれ2株、0株と著しく少なくなった。また、対照の無灌注接種・無マルチ区では発病をまったく認めなかった (Table 2)。なお、発病した小葉の病斑部からは、供試したストレプトマイシン耐性菌が再分離された。

種球上に存在する病原細菌の小葉への移行 病原細菌 7901-400 菌株の約 10^6 cfu/ml の懸濁液に 2~3 秒間浸漬後風乾した約 50 g の種球 (品種・はるなくろ、2年生) を殺菌土壤に植え付け、コンニャクの各生育時期ごとに各1株採取し、苞、葉柄および小葉の器官別に切断した。そして、おのおのの表面積を測定後、各器官ごとの表面積 1 cm² 当りの本病細菌数を調査した。すなわち、採取した各器官全体を細断して 300 ml 容の三角フラスコに入れ、50 ml の殺菌水とともに 120 rpm の振とう機で 10 分間振とうし、5 分間静置した後、上澄液を希釈原液とした。これらの試料について、ストレプトマイシン 400 μg/ml 加用葉枯病細菌検出用選択培地²⁾を用いて、前報³⁾に述べた方法で、本病細菌数を定量した。

種球主芽の苞の部分には、表面積 1 cm² 当り 1.12×10^6 cfu の本病細菌が存在していた。この種球を 5 月 23 日に殺菌土壤に植え付けた結果、6 月 16 日の出葉期には苞の表面積 1 cm² 当り 1.49×10^6 cfu の本病細菌が検出され、また、苞に包まれて伸長してきた葉柄、

Table 3. Population changes of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci* on bract, petiole and leaflet of konnyaku plant at various growth stage during from the planting of seed corm to the disease appearance on leaflets

Growth stage of konnyaku	Date of measurement	Plant organ		
		Bract	Petiole	Leaflet
Seed corm	May 23 ^{a)}	1.12×10^6 ^{b)}	—	—
Beginning stage of leaflets elongation	Jun. 16	1.49×10^6	2.40×10^2	6.00×10^0
Y-shape stage of leaflets ^{c)}	Jun. 24	1.23×10^5	9.74×10^3	2.13×10^3
T-shape stage of leaflets ^{d)}	Jul. 3	3.27×10^4	3.18×10^4	4.83×10^4
T-shape stage of leaflets	Jul. 17 ^{e)}	ND ^{f)}	4.05×10^4	1.53×10^5

a) Date of planting.

b) Number of pathogenic bacterium isolated from 1 cm² of surface area.

c) Leaflets are expanding like a letter of Y.

d) Leaflets are expanding like a letter of T.

e) When the blight lesions were first observed on the leaflets.

f) Not detected.

小葉でも若干の本病細菌が検出されたが、苞に比べ細菌密度はきわめて低かった。

植え付け後約 1 カ月経過した 6 月 24 日の Y 展開期 (小葉が Y 字状に展開した時期)¹⁰⁾、7 月 3 日の T 展開期 (小葉が T 字状に展開した時期)¹⁰⁾では、苞上の本病細菌密度は出葉期に比べて著しく低下していったが、それと反比例して葉柄および小葉上の細菌密度は急激に高くなっていった。そして、7 月 17 日の初発病期には苞は完全に枯死し、本病細菌は検出されなくなったが、初発病斑を含む小葉では表面積 1 cm² 当り 1.53×10^5 cfu の高濃度の細菌密度に達した (Table 3)。

以上述べたとおり、本病細菌を種球の主芽に付傷接種したり、種球全体を本病細菌懸濁液に浸漬接種した場合に発病が認められたことから、本病は種球伝染することが確認された。また、土壌に灌注接種した場合にも発病が認められたことから、土壌中に存在する本病細菌がなんらかの経路を通じて小葉に到達するものと思われる。

コンニャクが生育中の地表面に病原細菌を灌注接種し、小葉の発病の有無を調査したところ、接種後にマルチをしなかった場合は接種 14 日目で高率に発病が認められたのに対し、イネわらや青刈りエンバクで地表面をマルチした場合は著しく発病が抑制された。*P. syringae* pv. *lachrymans*⁸⁾ では、罹病残渣を地表面に散布した場合に、水滴の落下地点を中心にキュウリの下葉に発病が認められている。本試験を行った圃場では、接種時から発病調査時まで 6 回の降雨があった。本病の場合も、降雨にともなって地表面に存在する本病細菌が土砂とともにね上がって小葉へ到達し、感染・発病をもたらしたものと思われる。

コンニャク種球の主芽は 5~7 枚の苞があり、小葉の生長とともに外側から次々と枯死して最後の苞に保護されながら小葉が出葉してくる。小葉が展開すると最後の苞は腐朽し消滅する。小葉は最初 Y 字状に開き、後に T 字状に展開する¹⁰⁾。このようなコンニャクの生育上の特徴をふまえて、本病細菌液に浸漬接種した種球を植え付け、各生育時期ごとに、また、各器官ごとに本病細菌数の変動を調査した。その結果、出葉期において、苞の表面積 1 cm² 当り 1.49×10^6 cfu の高濃度の本病細菌が検出された。出葉期における苞の表面積は植え付け時に比べて約 22 倍に拡張していることを考慮すると、苞全体で本病細菌の絶対数が増加していることは明らかである。このことから、本病細菌はコンニャクの主芽の伸長とともに、苞の表面で増殖しているものと思われる。

葉柄および小葉上の本病細菌は出葉期にはきわめて低密度であったが、コンニャクの生育が進展するにつれて高まり、発病直前の T 展開期には小葉の表面積 1 cm² 当り 4.83×10^5 cfu に達した。本実験は各調査時期の測定個体が異なるため、各時期ごとの直接的な細菌数の比較はできないが、苞上の本病細菌は苞に包まれて出葉してくる小葉に移行し、さらに小葉上で増殖して発病をもたらすものと考えられた。

P. syringae pv. *lachrymans* では、罹病残渣を地表面に置いた場合は地表下に置いた場合に比べて高率に発病し¹¹⁾、汚染土壌で種子が発芽して幼苗が感染した場合は、病原細菌が新葉に移行することが確認されている⁴⁾。*P. syringae* pv. *glycinea*⁵⁾ は、感受性ダイズ品種の発芽中の種子表面で増殖することが明らかにされており、*P. glumae*⁶⁾ では、感染種子由来の病原細菌

がイネ体上で潜伏・生存し、幼穂形成期から出穂期になると穂に感染し発病する。植松⁹⁾はこのような植物細菌病の種子-苗伝染の様相として、病原細菌は発芽時に種皮や子葉などの組織でいったん増殖して定着した後、さらに引き続いて展開してくる上葉やその他の器官に感染して発病するとしている。

コンニャクは種球による栄養繁殖を行うため、苞が種子繁殖性植物における種子の外皮や子葉の役割を果たしており、苞上で増殖した本病細菌が苞の中から出

葉してくる小葉に移行して発病をもたらすといった他の種子伝染性細菌病と同様な様相をもつものと思われた。

以上を要するに、本病細菌の第一次伝染源から小葉への到達には、地表面に存在する本病細菌が雨滴による土砂のはね上がりとともに飛散して直接到達する場合と、苞上で増殖後に出葉してくる小葉に到達する場合の二つがあるものと考えられる。

引用文献

1. Goto, M. (1983). *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci* subsp. nov., the causal agent of bacterial leaf blight of konjac (*Amorphophallus konjac* Koch.). Int. J. Syst. Bacteriol. 33: 539-545.
2. 林 宣夫 (1987). コンニャク葉枯病細菌の検出用選択培地. 日植病報 53: 489-494.
3. 林 宣夫 (1989). コンニャク葉枯病細菌の罹病小葉残渣, 球茎および土壌における生存. 日植病報 55: 609-614.
4. 国安克人・小泉信三・竹内昭士郎 (1982). キュウリ斑点細菌病菌の土壌中における生存期間. 野菜試報 A 10: 117-129.
5. Laurence, J.A. and Kennedy, B.W. (1974). Population changes of *Pseudomonas glycinea* on germinating soybean seeds. Phytopathology 64: 1470-1471.
6. 茂木静夫 (1984). イネもみ枯細菌病の発生生態と防除 (1). 農及園 59: 679-682.
7. 西山幸司・江塚昭典 (1977). ラフ型集落を生じるライグラス類かさ枯病細菌の分離例. 日植病報 43: 426-431.
8. 小川 奎・駒田 旦・竹内昭士郎 (1981). キュウリ斑点細菌病の伝染経路. 農事試研報 35: 155-177.
9. 植松 勉 (1985). 細菌病の種子伝染とその機構. 植物防疫 39: 170-178.
10. 若林重道 (1963). コンニャクの葉形成に関する作物学的研究. 広島農試報 15: 1-85.
11. 吉野正義・橋本光司・嶋崎 豊 (1976). キュウリ斑点細菌病の伝染経路. 関東病虫研報 23: 37-38.

(平成 2 年 6 月 25 日受理)