コンニャク葉枯病の二次伝染

林 宣夫*

Nobuo HAYASHI*: Secondary Dissemination of Konnyaku Bacterial Leaf
Blight Caused by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci*

Abstract

Secondary dissemination of konnyaku bacterial leaf blight was studied. In inoculation tests, symptoms appeared only on the leaflet of konnyaku without regard to the spray or wound inoculation method used. From these results, it seemed that this disease occurred with stomatal and wound infections. The rain drops dripping from diseased leaflets contained the bacteria at so high concentration (10^5 – 10^6 cfu/ml). In dissemination tests under the rainfall condition, it was confirmed that the causal bacteria were spread and attacked the konnyaku leaflets at 2.5 m from the inoculum source in the maximum velocity of 7.2 m/sec and the precipitation of 88.7 mm/day. The dissemination of the disease was also certified by the contact with the diseased leaflet. From the results obtained, it was concluded that both the splash dispersal of causal bacteria by the wind and rain and the contact dissemination with the diseased leaflets would be possible ways of secondary dissemination of konnyaku bacterial leaf blight.

(Received September 10, 1990)

Key words: bacterial leaf blight, konnyaku plant, secondary dissemination.

緒 言

コンニャク葉枯病^{8,12)}は、*Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci* による細菌病で、古くからコンニャク栽培上重要な病害であった。現在でも本病を対象に年間 10 数回に及ぶボルドー液による防除が行われており、防除困難なコンニャク病害の一つである。イネ白葉枯病¹⁶⁾、インゲンかさ枯病¹⁵⁾にみられるように、一般に、植物病原細菌の移動・伝播には、気象条件、とくに風、雨が密接に関係することが知られている。カンキツかいよう病⁷⁾やタバコ野火病⁷⁾、キュウリ斑点細菌病¹¹⁾では、罹病葉表面の雨滴から多数の病原細菌が検出されており、これら細菌の飛散により二次伝染が行われることが明らかにされている。

コンニャク葉枯病については、若林¹³⁾、山本・川尻¹⁴⁾がコンニャク栽培圃場における観察から、風を伴った降雨条件下では本病の伝染速度がきわめて速いことを報告している。しかし、本病の二次伝染に関する実証的な研究報告は少なく、その伝染環にはなお不明

な点が多い。そこで、本研究ではコンニャク葉枯病の伝染環解明のため、本病の二次伝染の様式について検討したので、ここにその結果を報告する。

材料および方法

供試菌株および供試品種 供試菌株は、*P. pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci*³⁾ の K1 菌、7901 菌および 7901 菌のストレプトマイシン耐性変異株 (7901-400 菌) であり、K1 菌は静岡大学農学部後藤正夫博士より分譲された菌株で、その他は群馬県農業総合試験場の保存菌株である。これらの菌株を、PPGA⁵⁾ の斜面培地で 28°C、48 時間培養後、殺菌水で所定濃度の懸濁液に調製し、接種に用いた。供試コンニャク品種は、本病に罹病性の「はるなくろ」⁹⁾ (2 年生) である。

病原細菌数の測定 病原細菌の定量を必要とする実験にはストレプトマイシン耐性の 7901-400 菌を供試した。定量用の培地としては、ストレプトマイシン加用 (400 µg/ml) コンニャク葉枯病細菌の検出用選択培地⁴⁾ を用い、希釈平板法により細菌数を測定した。ま

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

た、培地上に生じたコロニーの病原性はその一部をコンニャクの小葉に接種して確かめた。

接種方法 実験は1981年8月に行った。7901菌を供試して、 10^7 cfu/mlの細菌液を調製して接種源とし、これをコンニャクの小葉、小葉柄および葉柄の各部位に噴霧および3本の針束による付傷接種を行った。接種後、植物はただちに28°Cの恒温・高湿下に置き、24時間後にサイドを開放し温度、湿度とも自然条件で管理しているファイロン室に移した。発病調査は接種2日目から随時行った。

圃場における伝染源からの発病範囲の拡大 実験は1983年に行った。周囲にまったくコンニャクが栽培されていない圃場(広さ3.6×14.4 m)に畦間60 cm、株間15 cmとしてコンニャクを植え付けた。小葉が完全に展開した7月25日に、あらかじめ供試細菌(K1菌)を接種して発病させたポット栽培のコンニャク1株(小葉の病斑面積率約30%)を圃場の中央に設置した。そして、この伝染源からの本病の発生拡大状況を調査した。なお、発病調査は上記圃場の全株について定期的に行い、発病程度は小葉の病斑面積率により区分けし 0:健全, 1:1~10%, 2:11~40%, 3:41%以上とした。

各種降雨条件下における伝播距離 K1菌を接種して発病させたポット栽培のコンニャクを伝染源とし、これを中央に置き、0.5 m間隔で東西方向に2.5 mまでポット栽培した健全コンニャクを配置した。その後、Table 2 に示した期間、降雨条件下に放置して、伝染源とした罹病植物体を除去した。実験は8月に異なる降雨条件下で3回実施し、いずれの実験においても伝染源除去6日目に伝染源からそれぞれの間隔で配置された健全コンニャク全株について発病状況を調査した。

罹病小葉から流下する雨水中の病原細菌数 1987年5月に7901-400菌の懸濁液に浸漬接種した種球を、25.9 m²の圃場に畦間60 cm、株間15 cmで植え

付け、小葉に発病が認められた8月4日に以下の実験を行った。すなわち、発病株の小葉の先端から雨水が流下する地表位置6カ所に、300 ml容の殺菌三角フラスコを置いて、降雨開始直後(10時30分)から2時間、流下する雨水を採取し、その中の本病細菌数を測定した。なお、当日の10時から13時までの降水量は13.5 mmであった。

罹病小葉病斑部との接触による伝染 実験は1983年8月に行った。K1菌を接種して発病させた小葉の病斑部に殺菌水を2~3滴滴下し、健全小葉に病斑部を5回軽く接触させた。また、健全小葉の1カ所に3本の針束で付傷した区と無傷区を設け、健全小葉の表面には罹病小葉の裏面を、健全小葉の裏面には罹病小葉の表面をそれぞれ接触させた。実験には1処理当たり10小葉を供試し、接種8日目に小葉の発病状況を調査した。

罹病小葉表面と裏面の病原細菌数の比較 実験は1987年7月に行った。発病程度の異なるコンニャク6株を供試し、殺菌水を小型噴霧器(ペーパークロマトグラフ用)で10 ml、罹病小葉の表面および裏面に噴霧し、葉縁から流下する液を採取したのち、この液1 ml当りの本病細菌数を測定した。

結 果

接種方法および接種部位の違いと発病

供試細菌をコンニャクの葉の各部位に接種し、発病の有無を調査した。結果はTable 1 に示した。発病は小葉に接種した場合にのみ認められ、小葉柄および葉柄では認められなかった。また、噴霧接種した場合は小葉に多数の病斑が形成され、付傷接種した場合は傷を中心に葉脈にしぎられた細長い角形の病斑が形成された。

圃場における伝染源からの発病範囲の拡大

1983年7月25日に圃場の中央に伝染源を設置し、その後の発病範囲の拡大状況を調査した。発病調査

Table 1. Relation between the inoculation method of *P. pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci* and the occurrence of disease on konnyaku leaf^{a)}

Inoculation method ^{b)}	Portion of leaf inoculated		
	Leaflet	Petiol of leaflet	Petiole
Wound	+	—	—
No-wound (Spray)	++	—	—

a) Three leaves were used in this experiment.

b) Concentration of inoculum was 10^7 cfu/ml.

c) +: Occurrence of the disease on the part of the wound made by needle pricking, ++: occurrence of the disease on the whole leaflets, —: non-occurrence of the disease.

結果は Fig. 1 に、試験期間中の降水量と風速は Fig. 2 に示した。発病は 8 月 1 日に伝染源に隣接した 8 株で確認された。その後、8 月 3 日から 11 日までではまったく降雨がなく、晴天が続いたため発病範囲はほとんど拡大せず、隣接株への伝染にとどまった。しかし、8 月 15 日から 17 日にかけて、台風の影響によ

り風(日平均風速 3.6~5.8 m/秒)と雨(16.5~89.0 mm/日)が激しくなり、その後、発病範囲が急速に拡大した。8 月 23 日(伝染源設置後 29 日)の調査では、 3.6×14.4 m の圃場全面で発病が確認されるようになった。

降雨条件と伝播距離

各種降雨・風速条件下における本病の伝播距離について調査した。結果を Table 2 に、また、伝染源設置期間中の気象条件は Table 3 に示した。1 回目の実験は、伝染源設置期間中の降水量が 9.0 mm、平均風速が 0.8 m/秒の気象条件で、伝染源の株から 0.5 m の近距離にある株にも発病は認められなかった。2 回目の実験は伝染源設置期間中の降水量が 52.8 mm、平均風速が 3.1 m/秒で、設置 6 日目には伝染源株から

000000000000 000000000000 000000000000 000000000000 N
000000000000 000000000000 010000000000 000000000000 ↑
000000000000 000000011111 111101000000 000000000000
000000000000 000000001111 110000000000 000000000000
000000000000 000000001100 110100000000 000000000000
000000000000 000000000000 000000000000 000000000000
17days after setting of inoculum source (Aug. 11, 1983).

111111111111 1111121111 111110110001 000100010000
111111111111 1111221221 221111111110 010110011110
1111111122 11122033333 3121211111 1011111111
1111111112 232333133333 33333322111 2110111111
1111111111 333333122213 2322111112 1111111111
1111111111 122212123121 1111111111 1111111111
29days after setting of inoculum source (Aug. 23, 1983).

Fig. 1. Spread pattern of bacterial leaf blight of konnyaku from the inoculum source (I) placed at the center of experimental field. 0, 1, 2 and 3 in the figure show the disease index which means the percentage of lesion area per whole leaflet. Disease index is as follows. 0: 0%, 1: 1–10%, 2: 11–40%, 3: 41–100%. Climatic data during this experiment are shown in Fig. 2.

Fig. 2. Climatic data from Jul. 25 to Aug. 23, 1983 in Maebashi.

Table 2. Relation between the distance from inoculum source and the occurrence of disease under several conditions of rainfall and wind velocity

Experiment No.	Setting period of inoculum source a)	Arrangement of test plant to inoculum source	Distance from inoculum source (m)				
			0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
Exp. 1	From 9:30 Aug. 1 to 9:30 Aug. 2	West	— b)	—	—	—	—
		East	—	—	—	—	—
Exp. 2	From 8:00 Aug. 15 to 12:00 Aug. 16	West	+	+	—	—	—
		East	+	—	—	—	—
Exp. 3	From 12:00 Aug. 16 to 12:00 Aug. 17	West	+	+	+	+	+
		East	+	+	+	—	—

a) Climatic data during this test are shown in Table 3.

b) —: Non-occurrence of the disease, +: occurrence of the disease.

Table 3. Climatic data during the setting period of inoculum source

Experiment No.	Velocity of wind (m/sec)		Main direction of wind	Precipitation (mm)
	Average	Maximum		
Exp. 1	0.8	2.5	NNW	9.0
Exp. 2	3.1	5.0	SE	52.8
Exp. 3	4.0	7.2	ESE	88.7

風上側 0.5 m, 風下側 1.0 m の距離にある株まで発病が認められた。3 回目の実験は伝染源設置期間中の降水量が 88.7 mm, 平均風速が 4.0 m/秒で 1 時間当りの最大平均風速が 7.2 m/秒の条件下で行われ, 風上側 1.5 m, 風下側 2.5 m の距離にある株まで発病が認められた。

罹病小葉から流下する雨水中の病原細菌数

罹病小葉から流下する雨水を株下の地表 6 カ所で採取し, その中の病原細菌数を測定した。結果は Table 4 に示したが, いずれの採取位置からでも $10^5 \sim 10^6$ cfu/ml の病原細菌が検出された。

罹病小葉との接触による伝染

罹病小葉の病斑部を健全小葉に接触させ, 本病の接触伝染の有無について検討した。結果は Table 5 に示した。発病は健全小葉に付傷した区にのみ認められた。また, 付傷区でも接触させる両者の葉の面の違いで結果は異なった。すなわち, 罹病小葉の表面と健全小葉の裏面を接触させた場合は, 供試 10 小葉中 1 小葉に発病が認められただけであったが, 罹病小葉の裏面を健全小葉の表面に接触させた場合には, 10 小葉中 8 小葉で発病が認められた。

次に罹病小葉表面と裏面における病原細菌数を比較

Table 4. Number of *P. pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci* in raindrops dripping from the diseased leaflet

Sampling no.	No. of <i>P. pseudoalcaligenes</i> subsp. <i>konjaci</i> (cfu/ml)
	$\times 10^5$
1	17.7
2	38.0
3	47.0
4	6.3
5	4.4
6	4.6

した結果を Table 6 に示した。病原細菌は供試 5 罹病小葉の裏面からすべて検出されたのに対して, 小葉表面では 3 小葉で検出されたにすぎなかった。また, 細菌数もすべての試料で表面に比べて裏面のほうが多かった。

考 察

本研究では, コンニャク葉枯病の二次伝染の実態を明らかにするために, 本病細菌のコンニャク小葉への侵入部位・経路および降雨条件下における細菌の伝播様式について検討した。

コンニャク小葉への接種試験の結果, 本病の発病部位は小葉に限られ, 小葉柄および葉柄では発病しなかった。したがって, 本病細菌は小葉のみを侵すことが明らかとなった。

また, 接種方法と発病との関係を検討した結果, 小葉では噴霧接種, 付傷接種のいずれの方法でも発病した。コンニャク小葉裏面には気孔が散在し, 先端部には水孔が存在する¹⁴⁾が, 本病は通常, 小葉の葉脈間に最初数 mm の油浸状小斑点を形成することから, 本病細菌はおもに, 気孔侵入を行うものと推定された。また, 付傷接種でも発病することから, 傷口侵入も行うものと思われた。

圃場の中央部に設置した伝染源から本病の発病範囲の拡大状況を調査した結果, 発病範囲の拡大は降雨あるいは風の影響を強く受け, 強風を伴わない 10 mm/日以下の少雨条件下では隣接株への伝染にとどまった。一方, 強風を伴った降雨条件下では発病範囲は急速に拡大し, 3 日間にわたる強風, 多雨の後, 7 日目には 3.6×14.4 m の圃場全面に発生が拡大した。

そこで, 各種降雨条件下における二次伝染の様式について検討した。キュウリ斑点細菌病¹¹⁾, タバコ野火病⁷⁾, カンキツかいよう病¹²⁾などでは, 罹病葉表面の雨水から多数の病原細菌が検出されている。また,

Table 5. Contact transmission of *P. pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci* on konnyaku leaflet^{a)}

Healthy leaflet		Diseased leaflet	
Existence of wound ^{b)}	Inoculated surface	Surface used as inoculum	No. of diseased leaflets ^{c)}
Yes	Upper	Under	8
Yes	Under	Upper	1
No	Upper	Under	0
No	Under	Upper	0

a) Healthy leaflet was contacted with the lesions of diseased leaflet.

b) Wound was made with the needle.

c) Out of 10 inoculated leaflets. Checked 8 days after inoculation.

Table 6. Comparison of the number of *P. pseudoalcaligenes* subsp. *konjaci* between the upper and the under surface of diseased konnyaku leaflet ^{a)}

Exp. no.	No. of pathogenic bacteria from the diseased leaflet (cfu/ml)	
	Upper surface	Under surface
1	N.D. ^{b)}	3.70×10^3
2	N.D.	8.00×10
3	1.42×10^6	4.02×10^6
4	4.72×10^5	7.49×10^6
5	3.47×10^5	7.30×10^6

a) The number of the bacteria in the collected liquid was quantified after 10 ml spraying of sterilized water on the diseased leaflets.

b) Not detected.

キュウリ斑点細菌病¹¹⁾ではこれらの細菌の飛散による伝染が確認されている。本実験においても罹病小葉から流下する雨水中に $10^5 \sim 10^6$ cfu/ml の病原細菌が検出された。これらの細菌は周辺株に飛散して気孔あるいは傷口から侵入し、感染・発病をもたらすものと考えられた。

圃場における降雨条件下での伝播実験の結果、平均風速 0.8 m/秒、24 時間当りの降水量が 9.0 mm の条件下では、伝染源から 0.5 m の距離にある株でも発病しなかった。しかし、伝染源設置期間中の降水量が 88.7 mm、最大風速が 7.2 m/秒の条件下では、伝染源設置位置から風下側 2.5 m の株まで発病した。したがって本病の場合もインゲンかき枯病¹⁵⁾と同様、降雨時の風により病原細菌が雨滴とともに飛沫伝播するものと思われた。

カンキツかいよう病⁸⁾やイネ白葉枯病¹⁷⁾の伝播実験では、病原細菌の飛散距離に比較し、実際の感染・発病に関与する有効飛散距離は比較的短いとされている。本病の場合も風を伴った降雨による本病細菌の飛散が確認されたが、台風のような条件下でも発病が認められた距離は伝染源から約 2 m であり、感染・発病をもたらした距離は比較的短かった。後藤²⁾は強風雨によって飛散した少量の病原細菌も宿主上で増殖し、新たな感染、発病をひきおこすとしており、本病

の場合も圃場においてはこのような伝播と増殖が行われているものと思われる。

また、罹病株と隣接する株への本病の伝染方法の一つと考えられる接触伝染について検討した結果、付傷した健全小葉に罹病小葉病斑部の裏面を接触させた場合、付傷小葉は高率に発病し、逆に罹病小葉病斑部の表面を付傷健全小葉の裏面に接触させた場合は、伝染率は低かった。このことから、10 mm/日以下の少雨条件や朝露等で葉面が濡れた条件では、罹病小葉との接触によっても健全小葉への二次伝染が行われるものと考えられた。

タバコ空洞病¹⁰⁾やキュウリ斑点細菌病⁶⁾では、葉の表面より裏面のほうが病原細菌数が多いことが報告されている。本病の場合も、罹病小葉表面に比べ裏面のほうが病原細菌数が多かった。これは、コンニャク小葉では気孔は裏面に多く存在し¹⁴⁾、気孔から本病細菌が溢出するためと思われる。したがって、罹病小葉の表面に比べ、裏面を接触させた場合に伝染率が高かった上記の結果は、罹病小葉の表面と裏面の病原細菌数の相違によるものと思われた。

摘 要

コンニャク葉枯病の二次伝染の様式について検討した。接種試験の結果、本病細菌はコンニャクの葉のみを侵すことが確認され、また有傷、無傷いずれの方法でも感染することから、気孔および傷口侵入を行うものと推定された。圃場における本病の伝染源からの発病範囲の拡大は、10 mm/日以下の少雨下では隣接株への伝染にとどまったが、強風を伴った降雨下では発病範囲が急激に拡がり、ついには圃場全面に拡大した。罹病小葉表面から流下する雨水からは $10^5 \sim 10^6$ cfu/ml の本病細菌が検出された。降雨条件下での本病の伝播実験の結果、伝染源設置期間中の降水量が 88.7 mm、最大風速 7.2 m/秒の条件下で伝染源株から 2.5 m の距離にある株まで発病が認められた。また、本病は罹病小葉との接触によっても伝染した。以上の結果から、本病の二次伝染は風を伴った降雨による病原細菌の雨滴飛沫伝播と、罹病小葉との接触による隣接株への伝播により行われるものと推定された。

引 用 文 献

1. 後藤正夫 (1962). カンキツ潰瘍病に関する研究 I. 静岡大農研報 12: 3-72.
2. 後藤正夫 (1981). 新植物細菌病学. ソフトサイエンス社, 東京. pp. 196-245.
3. 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.

4. 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.
5. 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.
6. 小川 奎・駒田 且・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.
7. 小野邦明 (1976). タバコ野火病の発生生態に関する研究. 盛岡たばこ試報 11 : 1-52.
8. 芹沢拙夫・井上一男・後藤正夫 (1969). カンキツかいよう病に関する研究 (第 1 報) *Xanthomonas citri* (Hase) Dowson の伝染距離. 静岡柑橘試研報 8 : 81-85.
9. 太刀川洋一・三輪計一・林 宣夫 (1985). コンニャク葉枯病の品種間差異. 関東病虫研報 32 : 78.
10. 津山博之 (1971). タバコ空洞病の生態に関する研究. 盛岡たばこ試報 6 : 65-84.
11. 梅川 学・渡辺康正・猪股義輔 (1981). キュウリ斑点細菌病の発生および病原細菌の伝搬に及ぼす降雨の影響. 日植病報 47 : 346-351.
12. 上田栄二郎 (1910). 蒟蒻葉枯病細菌及「マナーン」を溶解する細菌類. 植物学雑誌 24(281) : 177-182.
13. 若林重道 (1957). 最新コンニャク栽培と加工. 産業図書, 東京. pp. 128-130.
14. 若林重道 (1963). コンニャク葉形成に関する作物学的研究. 広島農試報 15 : 1-85.
15. Walker, J.C. and Patel, P.N. (1964). Splash dispersal and wind as factors in epidemiology of halo blight of bean. *Phytopathology* 54: 140-141.
16. 山本 勉・川尻啓介 (1967). コンニャク葉枯病の防除について. 四国植防研究 2 : 61-72.
17. 吉村彰治 (1963). 稲白葉枯病の発生生態に関する診断学的研究. 北陸農試研報 5 : 27-182.