

クワ枝皮層組織における抗菌性物質の生成と誘導

鈴木 繁実・及川 英雄*

Production and Induction of Antifungal Substances
in Cortex Tissue of Mulberry Shoot.

Shigemi SUZUKI and Hideo OIKAWA*

* 現在 岩手県病害虫防除所

(Iwate-ken Plant Protection Service Station)

目 次

1. 緒 言	89
2. クワ枝皮層褐変組織抽出液の抗菌活性と品種	90
3. 胴枯病の病斑拡大に及ぼす温度の影響	93
4. 晩秋期に摘葉処理したクワ枝の抗菌活性	97
5. 薬剤によるファイトアレキシンの誘導	99
6. カスガマイシン剤によるクワ枝皮層組織の抗菌力増強効果	104
7. カスガマイシン剤によるクワ縮葉細菌病防除効果	107
摘 要	109
引 用 文 献	110

1 緒 言

クワ胴枯病は積雪地帯で特異的に多発する重要病害であり、桑葉の安定生産上大きな阻害要因となっている。

本病は積雪の多少のみではなくクワ品種、仕立法、収穫法、栽培管理、圃場衛生、立地条件さらには薬剤散布の有無等のさまざまな要因によって多種多様な被害様相を呈するが、とりわけ、積雪の多少、クワ品種、晩秋期の収穫程度によって被害に大きな差があらわれる。

クワ胴枯病は主因である弱寄生性の胴枯病菌 (*Diaporthe nomurai* HARA) の寄生と誘因である桑樹の長期間埋雪とが相互に組み合って発病する。その発病の経緯は次のとおりと考えられている。すなわち、梅雨期を中心とする5~9月に胴枯病罹病枝条や支幹で形成された柄胞子が、雨水により流下・飛散し、たまたま、クワ枝の皮目や傷口に到達したものが定着する^{11) 15) 35) 45)}。そこで発芽し、腐生的な生活を続け¹⁰⁾、コルク形成層まで菌糸を進展させ、1月上旬~2月上旬⁸⁾頃に皮層部生活組織へ侵入し、感染が成立し発病するものとされている。

本病の発生機構について青木¹⁾は、長期にわたって桑樹が雪に埋もれ、体内成分を消耗した場合に皮目に潜んでいた胴枯病菌が生活組織細胞に侵入することによって起こると考察し、さらに、抵抗性品種の埋雪中における貯蔵養分の消耗程度は罹病性品種よりも少ないものと推察した。このことについて小野沢¹⁹⁾は、単に貯蔵養分の量的な消長よりも、むしろ、貯蔵養分を活性化する生理機能に障害を来すことによって起こる現象と考察した。

しかしながら、両者とも、被害程度すなわち抵抗性の発現程度は宿主(クワ)——寄生者(胴枯病菌)相互作用の場を観察した結果によるものではないこと、胴枯病菌侵入の「カギ」とされているクワの体内成分・貯蔵養分とは具体的には何を指しているのか等々不明な点が多い。

一方、植物成分の中で抗菌性を有する物質は、2つに大別できる。その1つは植物が病原菌の感染を受ける前から含有している物質で先在抗菌性物質、他の1つは健全な植物中には検出されず、病原菌の感染によって誘導的に生産される物質でファイトアレキシン (Phytoalexin) と呼ばれている¹⁸⁾。

クワの生成する抗菌性物質については、白田らの「枝枯性糸状菌病に対するクワの抵抗性機構の解明」に関する一連の研究^{26) 28) 38) 39)}により明らかにされてきている。

そこで、クワ胴枯病発生にかかる樹体内成分の影響、特に、枝皮層組織の抗菌性物質の生成と誘導について検討し、胴枯病発生機構の一端を解明しようと試みた。

本研究は1979年から'83年まで総合助成試験「桑胴枯病の地帯別発生要因の解明による防除技術の確立」(中核研究)の中で実施したものである。

本研究を遂行するに当たり、蚕糸試験場栽培部 高橋幸吉博士、白田昭博士、東北農業試験場畑地利用部、三枝隆夫室長には御指導、御助言をいただいた。心から御礼申しあげる。

また、前岩手県蚕業試験場長田口恒雄氏、同都築誠氏、岩手県蚕業試験場一戸分場長菊池次男氏、岩手県農政部農蚕課技術主幹高木武人氏には御助言と激励を賜った。

本報告のとりまとめに際して、岩手県蚕業試験場長河端常信博士ならびに環境部長小澤龍生氏には有益な御助言をいただいた。上記の諸氏に厚く御礼申しあげる。

なお、この報告は、日本蚕糸学会東北支部研究発表会で講演したものと、関連試験成績を補足してとりまとめたものである^{29) 30) 31) 32) 33) 34) 35)}。

2 クワ枝皮層褐変組織抽出液の抗菌活性と品種

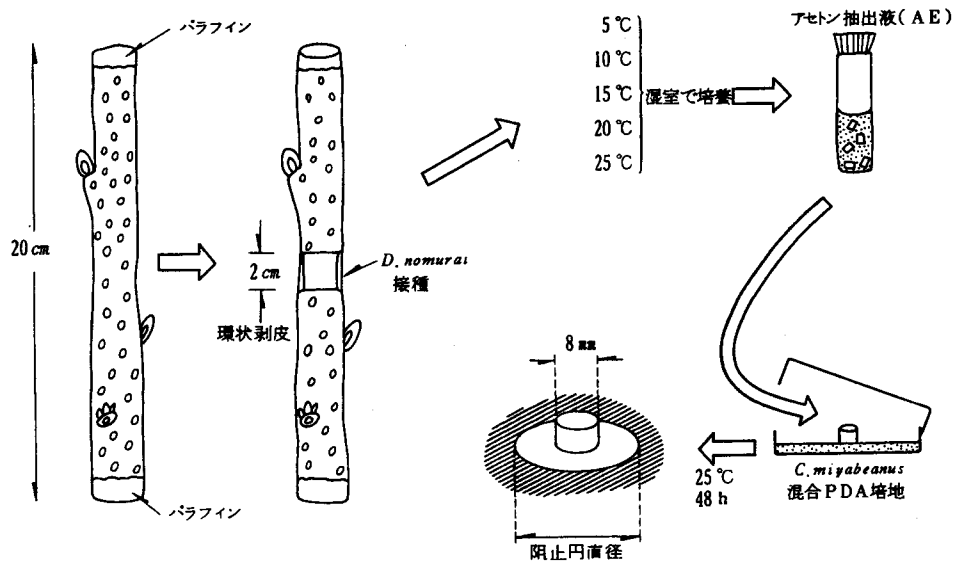
病原菌の感染を受けたクワ枝皮層組織は褐変し、そこに健全皮層組織には見られない抗菌性物質、すなわち、ファイトアレキシン (Phytoalexin、以下PAと略称) を生成蓄積する²⁵⁾。

PAが植物の病害抵抗性で重要な役割を果たしていることは既に数多くの研究により証明されている^{2) 41) 43)}。

そこで、クワ胴枯病抵抗性の品種間差異をPA生成量の多少で分類しようと試みた。すなわち、抵抗性品種ではPAの生成量が多く、そのため細胞内での菌糸の進展を速やかに阻止することが可能であり、罹病性品種ではPAの生成量が少なく、そのため細胞内での菌糸の進展を許すであろう、という仮説を立てて検討した。

1) 材料と方法

供試したクワ枝は、岩手県蚕業試験場六原圃場 (岩手県胆沢郡金ヶ崎町) に栽培されている高根刈仕立の品種、新桑2号、ゆきしらず、ゆきしのぎ、剣持および改良帛返 ('77年植) で、'80年春切り、晩秋期1m残し中間伐採した枝条の基部であり、1品種当たり30本の枝条を用いた。'80年12月下旬に枝条基部より伐採し、切り口をパラフィンで封じた後、ポリエチレンフィルムに包み、実験時まで5℃に保存した。クワ枝は基部から20cmまでの部位を切り枝とし、両端をパラフィンで封じた。



第1図 試験方法模式図

切り枝の中央部の表皮を環状 (幅約2cm) に剥離し、そこにクワ胴枯病菌の柄孢子懸濁液 ($1.6 \times 10^6 / ml$) を塗布接種し、20℃・湿室・暗条件下で培養した。培養20日後に、褐変した感染皮層組織の表層を安全カミソリで可能な限り薄く削りとり、非褐変組織を含まないように努めた。褐変皮層組織を細断し、その0.2gに対してアセトン1mlの割合で加え、室温下で1液抽出した。このアセトン抽出液の抗菌活性を、検定菌としてイネごま葉枯病菌 (*Cochliobolus miyabeanus*) を用いてカップ法により検定した。検定菌の分生孢子懸濁液 ($10^5 / ml$) 1mlを約50℃に保ったブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地 (PDA) 12mlと混合・攪拌し、ペトリ皿に流し込み、固化した後ペニシリンカッ

プ（外径8mm、内径6mm、高さ10mm）を静置した。カップ内に検定すべきアセトン抽出液を満たし、クリーンベンチ内で約3時間ペトリ皿の蓋をとって放置した。カップ内のアセトンを蒸発させた後、蓋をかぶせ、25℃で2～3日間培養した。出現した阻止円の直径をアセトン抽出液に含まれる抗菌性物質（PA）の活性値とした。

なお、阻止円を形成しなかった区については、カップ内での菌の生育が認められなかったことから、カップの外径8mmをもって表示した。

2) 試験結果

クワ枝褐変皮層組織のアセトン抽出液の抗菌活性について、品種別に検討した結果を第1表に示した。

第1表 クワ枝褐変皮層組織抽出液の抗菌活性

項目 品種	標本数 (n)	阻止円直径 (mm)		
		平均 (\bar{x})	標準偏差 (s)	信頼区間 (99%)
新桑2号	30	11.7	1.39	11.03 ~ 12.44
ゆきしらず	18	8.5	0.64	8.06 ~ 8.94
ゆきしのぎ	26	9.6	0.75	9.15 ~ 9.97
剣持	28	9.1	1.07	8.50 ~ 9.61
改良用返	18	18.6	1.48	17.63 ~ 19.65

注) クワ枝の褐変皮層組織を倍量のアセトンで抽出し、*C. miyabeanus* の孢子を混合した PDA 培地を作り、カップ（外径8mm）法で検定し、その阻止円直径を示した。

阻止円直径はその平均値でみると、罹病性品種の改良用返が最も大きく、次いで新桑2号、ゆきしのぎ、剣持、ゆきしらずの順であった。この結果について、統計手法を用いて分析したところ1%水準で有意であった。すなわち、クワ枝褐変皮層組織抽出液の抗菌活性には有意な品種間差異のあることが明らかになった（第2表）。そこで、さらにどの品種間で差異があるかを検定した。

第2表 分散分析表

変動因	自由度 (f)	平方和 (S)	分散 (V)	F ₀
全体 T	119	1480.55		
品種 A	4	1334.90	333.73	262.78 ***
誤差 e	115	145.65	1.27	

注) ***: 危険率 $\alpha = 0.01$ で有意

第3表 母平均（クワ品種）の差の検定

品種	新桑2号	ゆきしらず	ゆきしのぎ	剣持	改良用返
新桑2号					
ゆきしらず	***				
ゆきしのぎ	***	***			
剣持	***				
改良用返	***	***	***	***	

注) ***: 危険率 $\alpha = 0.01$ で有意

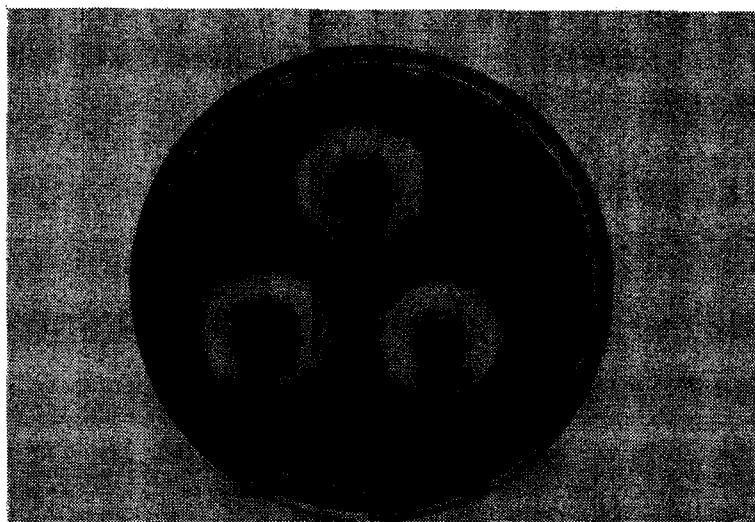


写真1. クワ枝褐変皮層組織のアセトン抽出液の抗菌活性—カップ法による阻止円形成状況(検定菌:イネごま葉枯病菌)—

剣持とゆきしらず、剣持とゆきしのぎを除く8つの組み合わせにおいて、危険率 $\alpha = 0.01$ で有意であり、品種間差異が認められた(第3表)。

これらのことから、クワ枝褐変皮層組織抽出液の抗菌活性には、品種間差異があり、①改良単返>新桑2号>ゆきしのぎ>ゆきしらず、②改良単返>新桑2号>剣持の2つの関係が認められた。言い換えると、ゆきしのぎと剣持、剣持とゆきしらずにおいては抗菌活性に差があるとは言えなかった。

3) 考 察

胴枯病に対して罹病性クワ品種である改良単返の抗菌活性が高く、抵抗性といわれるヤマグワ系の品種の抗菌活性が低い結果となった。枝皮層組織のPA生成量の多少によって、クワの胴枯病に対する品種間差異を分類しようとした仮説は証明できなかった。

PAが植物の病害抵抗性で重要な役割を果たしているということは、PAが褐変部の隣接健全組織で生成され、褐変部に転流してそこに集積し、細胞内での病原菌菌糸の進展を阻止するためであるとされている。しかし、クワの胴枯病に対する抵抗性についてみると、抵抗性品種では感染による褐変が皮層組織の表層にとどまり、全体としてPAの生成量は少ないのに対し、罹病性品種の改良単返では褐変が皮層組織の深層にまで達し、全体としてPAの生成量が多いことによるものと考えられる。

ところで、表皮を剥離した枝皮層組織に病原菌を接種し、その後の抵抗性について論ずることは、いわゆる「拡大抵抗」(侵入した病原菌が宿主の組織内でまん延するのを阻止しようとする性質)を意味し、皮目からの「侵入抵抗」(病原菌の侵入を阻止しようとする性質⁴⁰⁾)については考慮しないことになる。

罹病性品種の改良単返では拡大抵抗が強く、抵抗性といわれるヤマグワ系品種では拡大抵抗が弱いことを示唆しているとも思える。もしこの考えが正しいものとして、圃場における胴枯病の発生と関連づけてみると、改良単返の侵入抵抗は極めて弱く、ヤマグワ系の品種の侵入抵抗は極めて強く

なければならないことになる。

品 種	侵入抵抗 + 拡大抵抗 = 圃場抵抗性
改良戻返	極弱(?) + 強(?) = 弱
新桑2号	極強(?) + 弱(?) = 強

以上の推論から、胴枯病菌に対するクワ品種別の拡大抵抗について、次に述べるように温度条件を中心にして検討した。

3 胴枯病の病斑拡大に及ぼす温度の影響

圃場における胴枯病の発病様相を観察すると、新桑2号のような抵抗性品種では病斑数が極めて少なく、病斑が生じても小さな停止型病斑が多いのに対し、改良戻返のような罹病性品種では病斑の色相がうすく、健全部との境界が不明瞭な進展性病斑が多い。また、病斑は剣持では第5～6開葉時になると拡大を停止したのになら、改良戻返では4月中旬から急激に病斑の拡大、進展、融合が進み、6月中旬までみられた^{7) 18)}。

そこで、クワの発芽開葉に及ぼす気象要因として気温の影響が大きいことから^{5) 6) 20) 21) 22)}、胴枯病の病斑拡大に及ぼす温度の影響について、抵抗性を異にするクワ品種を用い、PA生成量とも関連づけながら検討した。

1) 材料と方法

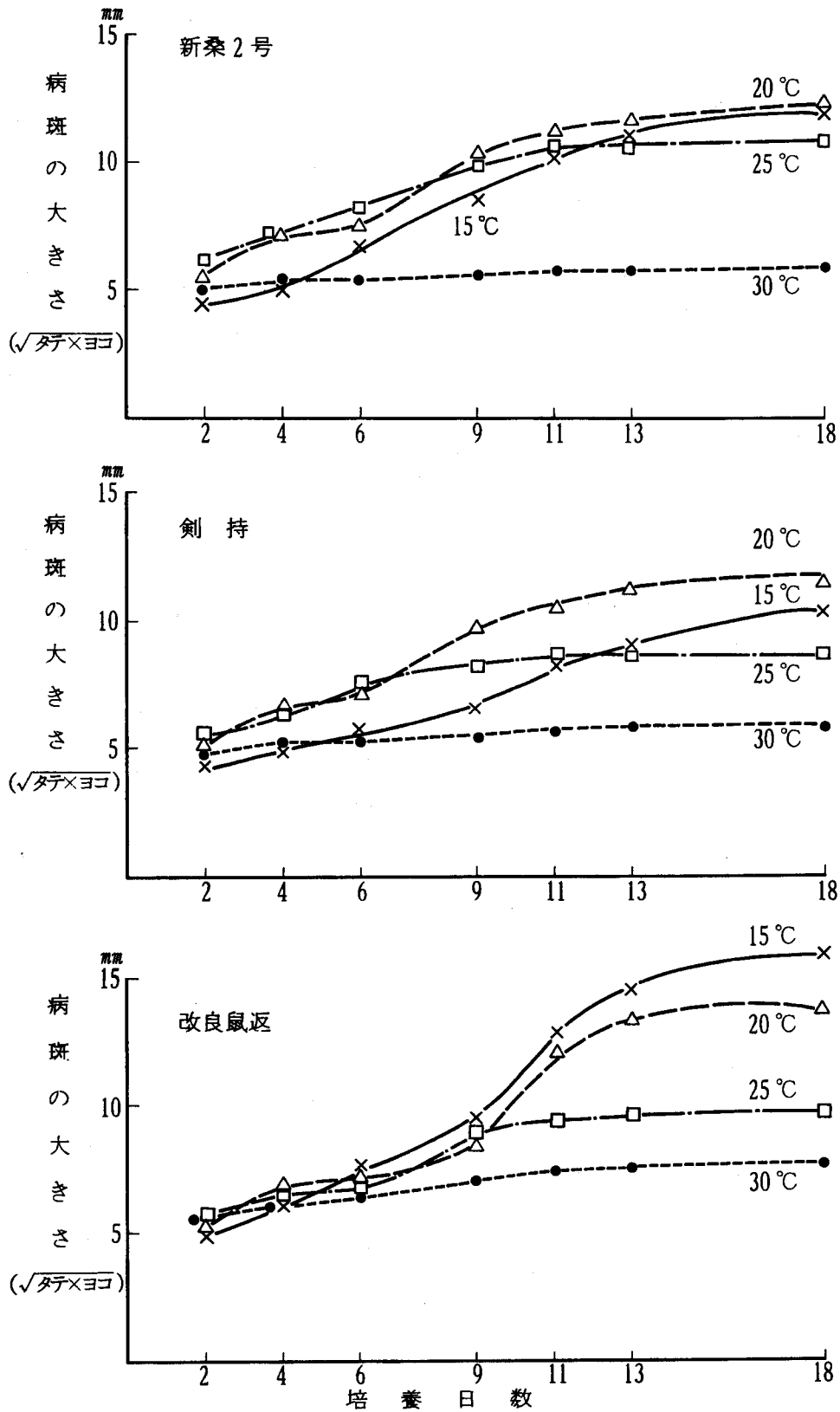
供試したクワ品種は岩手県蚕業試験場構内桑園に栽植されている新桑2号、ゆきしのぎ、剣持、改良戻返の4品種である。'82年に春切桑を晩秋期1m残し中間伐採した後、翌年の3月下旬に、ゆきしのぎを除く3品種を、4月上旬に、4品種の枝条を基部より伐採した。長さ20cmの切り枝をつくり両端をパラフィンで封じた。切り枝の2カ所に電気ハンダゴテで直径約4mmの焼傷を付け、Tween-40の0.05%添加胴枯病菌柄孢子懸濁液($2 \times 10^6/ml$)を1時間おきに3回焼傷部に滴下し接種した。これを、25℃・湿室で2日間培養した後、湿らせたのこくずの中に埋没させ、3月下旬採取枝では15℃、20℃、25℃および30℃の温度条件下で18日間、4月上旬採取枝では5℃、10℃、15℃、20℃および25℃の温度条件下で24日間培養した。クワ枝を経時的にとりだし病斑の大きさを測定した。また、4月上旬採取枝の場合、培養24日後に褐変した皮層組織のみを採集し、細断後アセトンで抽出した。このアセトン抽出液の抗菌活性をカップ法により2-(1)に準じて検定した。

2) 試験結果

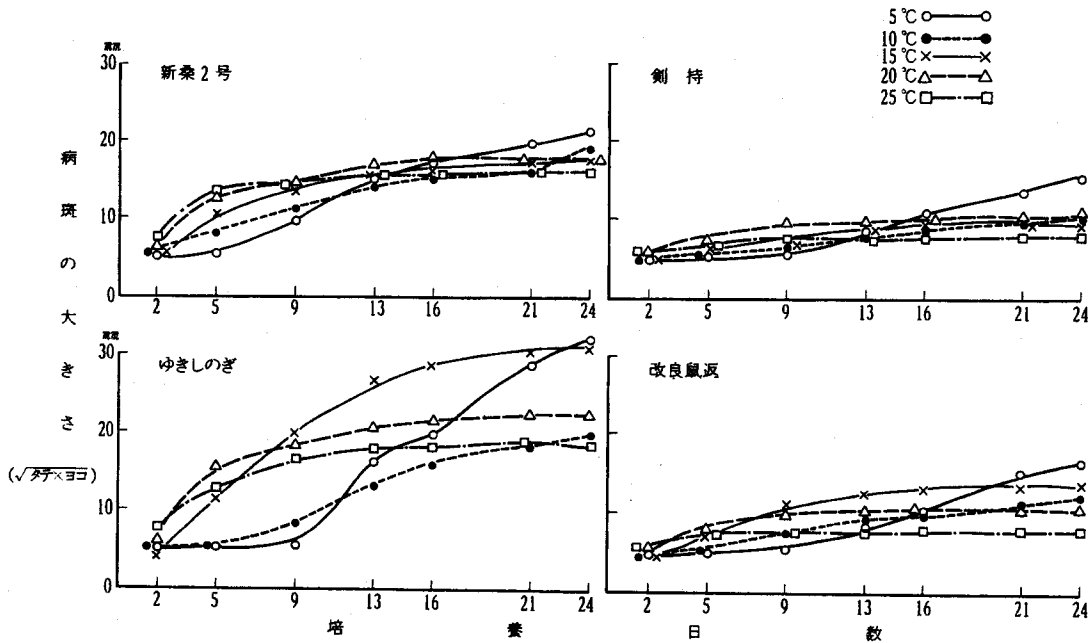
(1) 3月下旬採取枝の場合

培養温度30℃では供試した新桑2号、剣持および改良戻返の3品種ともに、病斑の拡大は殆どみられなかった。15℃、20℃および25℃の3区で比較すると、培養初期には25℃区の病斑が、15℃区および20℃区の病斑より大きかったが、次第に逆転し、15℃区および20℃区の病斑が25℃区を上回った。

また、25℃区では13日後で病斑は拡大をほぼ停止したのに対して、15℃区、20℃区では、18日間の培養期間中に病斑は拡大を停止しなかった。培養18日後における病斑の大きさを品種別にみると、いずれの温度でも明瞭な差異は認められなかった。



第2図 病斑拡大と温度 (3月採取枝)



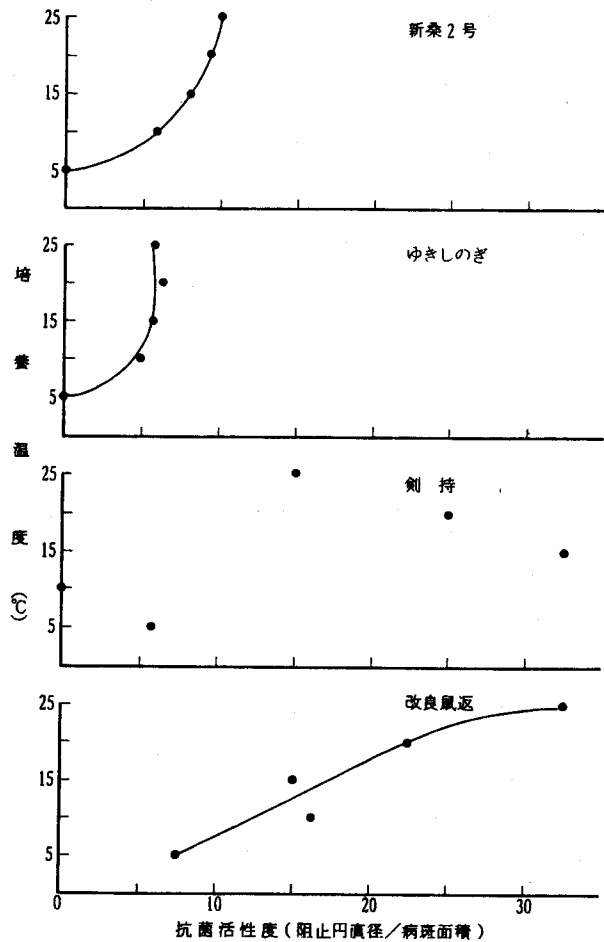
第3図 病斑拡大と温度（4月採取枝）

(2) 4月上旬採取枝の場合

焼傷接種による切り枝上の胴枯病斑は、培養初期では高温ほど大きく低温ほど小さかったが、次第に逆転し、低温ほど病斑が大きく高温では小さかった。25℃の高温培養では、約2週間で病斑の拡大は停止したが、15℃および20℃培養では病斑拡大の停止に約3週間を要した。ところが、5℃および10℃の低温培養では24日間の培養期間中に病斑拡大の停止は認められなかった。

培養24日後における病斑の大きさを品種別に比較すると、いずれの温度条件下でも、ゆきしのぎ>新桑2号>改良鼠返≧剣持の関係であった。

また、培養温度が高いほど病斑は小さく、その拡大停止の時期も早かった。このことは高温ほどクワ枝の代謝が活発となり、皮層組織の抗菌活性（PAの生成）が高いことからもうなずけられる（第4図）



第4図 培養温度と抗菌活性度との関係

3) 考 察

一般に、植物の病害抵抗性は発病過程から侵入抵抗と拡大抵抗に分けられ、前者は病原菌の侵入を阻止しようとする性質で、宿主表皮の物理・化学的性質に関係する場合が多く、後者は侵入した病原菌が宿主組織内で蔓延するのを阻止しようとする性質で、宿主の生理・生化学的性質、細胞原形質の防御反応などが関係すると考えられている⁴¹⁾。

クワの切り枝に胴枯病菌を焼傷接種し、その後の病斑の拡大が高温下で速やかに停止した現象は、クワの示す拡大抵抗にほかならない。拡大抵抗は抗菌性物質であるPAやポリフェノール化合物²³⁾等による菌糸の進展阻止反応の結果と考えられる。第3図に示したように、胴枯病菌に感染した後、クワの示す拡大抵抗に品種間差異があり、特に25℃の温度条件下で顕著に現れた。このことから、PA生成量の多少・早晩は品種および温度で異なることを示唆している。罹病性品種の改良戻返では、抵抗性品種の新桑2号やゆきしのぎよりPAの生成量が多く、また、同じ品種でも5~25℃の範囲では、25℃の高温ほど速やかに生成されるのに対し、5℃では遅く生成されるため、病斑の拡大停止が25℃では早く、5℃では遅くなるものと考えられる。

奥¹⁸⁾はオオムギうどんこ病でPA生成に2つの時期があることを見いだした。すなわち、第1相のPAは接種後8~20時間で、吸器と宿主の原形質がふれあう時期に当たり、その活性は抵抗性の強いほど高く、また、第2相はずっとおくれで感受性でも感染成立後に現れ、病斑の拡大抵抗に関与するとしている。

この説に従うと、ここで得られたクワと胴枯病菌の感染の場におけるPA生成は、第2相に当たり拡大抵抗に相当すると考えられる。逆の見方をすれば、第1相のPAが侵入抵抗に相当し、抵抗性品種ほど活性が高いことが推察される。当初の目的である胴枯病発生のクワ品種間差異をPA生成の多少で分類するためには、第1相のPAを検討しなければならないことになる。ところが、本研究で採用したPAの抽出方法およびカップ法による検定方法では、接種後1~2日間の培養期間中のPAの生成誘導が極めて少ないことから、判定は極めて困難といえよう。

そのために、第1相のPAの効率的な抽出方法や、検定方法を更に検討することが必要であり、山川⁴⁶⁾、松野⁹⁾の方法も一つの方向を示唆するものと考えられるが、先ず、なによりも胴枯病菌のクワ枝皮目侵入のメカニズムを解明することが必要である。すなわち、特定の皮目へ胴枯病菌柄胞子を無傷接種し、確実に感染発病させる実験系の確立が必要となってくる。

三枝¹⁰⁾は、「皮目に潜入した菌糸が腐生的に生活しながら次第に伸長し、約1カ月後には生活組織への侵入態勢を完了し、さらに組織への侵入には湿潤と枝条活性の低下が必要で、冬期間埋雪状態にある枝条は融雪期以降このような条件下におかれるため春季の発病に至るもの」と考察した。

また、並木ら¹⁴⁾は消雪後の胴枯病斑の拡大について、「消雪が早い場合には比較的低温に長く接するため、病斑は拡大し被害率増大につながる可能性があり、消雪がおそい場合は高い温度に接する機会が多く、病斑拡大が抑えられ被害抑制に働くものと考えられる。このように病斑拡大については消雪時期の早晩というよりも、消雪後の気温の推移による影響が大きい」と考察した。

以上のことから、クワ枝の発育零点(発育下限温度;約6℃¹³⁾)以上の温度では、病斑の拡大は初め高温ほど大きい、停止する時期も早い。枝条の生理活性が高温ほど盛んとなり、抗菌性物質の生成やポリフェノールの産生が活発となり病斑拡大は停止する。一方、発育零点以下の温度では病斑の拡大は、初めはやや緩慢であるが、クワがいわゆる休止状態にあり、枝条の生理活性が停止しているため、

次第に病斑の拡大が著しくなり、また、病斑進展阻止反応も弱いことから、病斑部と健全部との境界が不明瞭な病斑となって現れる。

クワ品種による病斑拡大抵抗の差異は、発育零点（発育下限温度）のちがいが、すなわち、春先における低温感受性あるいは低温での枝条の生理活性の差も一つの要因と考えられる。

4 晩秋期に摘葉処理したクワ枝の抗菌活性

晩秋期におけるクワの収穫程度により翌春の胴枯病の発生は大きく左右される³⁾⁴⁾¹²⁾¹⁷⁾ことが知られている。

そこで、晩秋期の摘葉処理がクワ枝皮層組織のPA生成に及ぼす影響について検討した。

1) 材料と方法

当時六原圃場に栽植されているクワ品種ゆきしのぎ、剣持の春切桑を晩秋期に1m残し中間伐採取し、その直後に摘葉処理を行った。12月下旬および翌春に、それらの枝条を基部から伐採し、供試した。すなわち、'80年は9月17日の中間伐採直後に、枝条に着生している葉の総てを摘葉あるいは枝条の上部8葉を残して摘葉し、12月下旬および翌年3月下旬に、各々枝条基部より伐採した。'81年には、9月25日に全摘葉、上部2葉残し、中部2葉残しおよび下部2葉残しの摘葉処理を行い、12月24日および翌年4月28日に各々枝条基部より伐採した。

クワ枝を長さ20cmの切り枝とし、両端をパラフィンで封じた。PAの抽出、抗菌活性の検定は2-(1)に準じて行った。

2) 試験結果

(1) '80~'81年：摘葉処理枝条の抗菌活性は、根雪初期の12月下旬に採取したゆきしのぎ、剣持ともに残葉数が少ないほど低かった。特に全摘葉区は残葉区に比べ低く、有意差が認められた。融雪直後の3月下旬に採取したゆきしのぎでは、摘葉による抗菌活性に差が認められ、剣持では差がなかった。また、枝条の胴枯病被害率は摘葉による差が認められ、特に剣持では顕著であった。

第4表 摘葉処理枝条の抗菌活性と胴枯病被害率（1980~'81年）

品 種	摘 葉 処 理 区	枝皮層組織の抗菌活性（阻止円直径mm）						胴 枯 病 被 害 率
		12 月 採 取 枝			3 月 採 取 枝			
		平 均 (\bar{x})	標 準 偏 差 (s)	95 % 信 頼 区 間	平 均 (\bar{x})	標 準 偏 差 (s)	95 % 信 頼 区 間	
ゆきしのぎ	全 摘 葉	9.2	0.36	8.9 ~ 9.5	-	-	-	10.4 %
	上 部 8 葉 残 し	13.8	0.91	13.0 ~ 14.6	11.2	0.91	10.5 ~ 11.9	0.3
	無 摘 葉	13.8	1.07	12.9 ~ 14.7	13.0	1.35	12.0 ~ 14.0	0
剣 持	全 摘 葉	9.3	0.82	8.4 ~ 10.1	-	-	-	57.7
	上 部 8 葉 残 し	12.4	0.63	11.4 ~ 13.4	8.4	0.73	7.9 ~ 9.0	2.3
	無 摘 葉	14.6	0.55	13.9 ~ 15.3	-	-	-	2.1

注) 阻止円直径はペニシリンカップ（外径8mm）を含めた値であり、「-」は阻止円の形成が認められないことを示す。

第5表 母平均（摘葉処理）の差の検定（1980～'81年）

品 種	摘葉処理区	12月採取枝			3月採取枝		
		A	B	C	A	B	C
ゆきしのぎ	全摘葉 A						
	上部8葉残し B	※※			※※		
	無摘葉 C	※※	※※		※※	※※	
剣 持	全摘葉 A						
	上部8葉残し B	※※					
	無摘葉 C	※※	※※				

注) ※※：危険率 $\alpha = 0.01$ で有意

(2) '81～'82年：ゆきしのぎと剣持の12月下旬採取枝、剣持の4月下旬採取枝では、摘葉処理区の残葉数が多いほど、また、上位葉を残すほど抗菌活性は高かった。しかし、ゆきしのぎの4月下旬採取枝では残葉数が多いほど、上位葉を残すほど抗菌活性が低くなる逆転現象がみられた。

第6表 摘葉処理枝条の抗菌活性と胴枯病被害率（1981～'81年）

品 種	摘葉処理区	枝皮層組織の抗菌活性（阻止円直径 mm）						胴枯病被害率
		12月採取枝			4月採取枝			
		平均 (\bar{x})	標準偏差 (s)	95%信頼区間	平均 (\bar{x})	標準偏差 (s)	95%信頼区間	
ゆきしのぎ	全摘葉	11.6	0.82	11.1～12.1	15.9	1.71	15.0～16.7	6.5%
	上部2葉残し	12.3	0.84	11.8～12.8	13.9	1.04	13.3～14.5	1.9
	中部2葉残し	10.8	0.81	10.3～11.3	19.1	1.07	18.2～19.9	3.9
	下部2葉残し	11.1	1.03	10.5～11.8	20.7	1.17	19.4～21.9	5.6
	無摘葉	16.2	1.85	15.0～17.4	13.2	0.96	12.5～13.8	0.3
剣 持	全摘葉	13.8	1.01	13.2～14.5	-	-	-	16.9
	上部2葉残し	15.2	2.55	13.6～16.8	10.1	0.87	9.7～10.6	5.9
	中部2葉残し	13.2	1.37	12.3～14.1	-	-	-	4.5
	下部2葉残し	13.0	1.75	11.9～14.2	8.8	0.90	8.4～9.2	11.8
	無摘葉	14.8	1.56	13.8～15.7	16.9	0.68	16.4～17.5	0

注) 第4表に同じ。

第7表 母平均（摘葉処理）の差の検定（1981～'82年）

品 種	摘葉処理区	12月採取枝					4月採取枝				
		A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
ゆきしのぎ	全摘葉 A										
	上部2葉残し B	※					※※				
	中部2葉残し C	※	※※				※※	※※			
	下部2葉残し D		※※	※			※※	※※	※		
	無摘葉 E	※※	※※	※※	※※		※※		※※	※※	
剣 持	全摘葉 A										
	上部2葉残し B						※※				
	中部2葉残し C		※				※※	※※			
	下部2葉残し D		※				※※	※※	※※		
	無摘葉 E			※	※		※※	※※	※※	※※	

注) ※：危険率 $\alpha = 0.05$ で有意 ※※：危険率 $\alpha = 0.01$ で有意

枝条の胴枯病被害率は摘葉による差異が認められ、全摘葉区と下部2葉残し区で高い被害率を示した。

3) 考 察

佐藤²⁴⁾は晩秋期の9月中旬以降に、時期をかえてクワ枝を摘葉処理したところ、摘葉の時期が早いほど貯蔵物質の蓄積量が少なく、翌年春蚕期の新梢量も前年の摘葉時期が早いほど少なくなると、報告している。また、晩秋期にいわゆる枝条を深切りすると、翌年春蚕期の収穫量は減少することが知られており、この現象も深切りした結果、枝条に着生した葉の絶対数が少なくなり貯蔵物質の蓄積量が減少し、翌年春蚕期の収穫量に影響したものと考えられる。

八重樫⁴⁴⁾はクワ品種かんまさりの春切桑を9月中旬に80cm残しで中間伐採後、直ちに摘葉処理を行い、翌年2月下旬(埋雪中)および3月下旬(融雪後)に枝条の容積乾重、水分率を調査したところ、残葉数の少ない枝条は水分率が高く、容積乾重が軽く、胴枯病被害率も高いことを報告している。

このように、晩秋期の条桑収穫直後から早霜の降りるまでの約1カ月間は桑樹にとって大切な貯蔵養分蓄積の時期であり、この期間に光合成を行うために必要な桑葉の有無・多少は翌春の発芽・生長ならびに収穫量を支配するばかりでなく、胴枯病、芽枯病、枝軟腐病、寒枯れなどのクワ枝の病災害抵抗性に多大な影響を及ぼす。秋冷の早い少雪寒冷地に位置する岩手県においては特に重要な意味を持つ。

貯蔵養分の蓄積の多少はPA前駆物質の蓄積、さらには皮層組織の抗菌活性に大きな影響を及ぼすものと考えられる。

5 薬剤によるファイトアレキシンの誘導

ファイトアレキシン(PA)は病原菌による感染のみならず、重金属、種々の代謝阻害剤、微生物の代謝産物、農業用殺菌剤等によっても生成されることが知られている¹⁰⁾。

そこで、クワ枝のPAの生成を誘導する物質を探索し、それを抵抗性増強剤または抵抗性促進剤とし病害防除に利用することを目的として、浸透移行性の殺菌剤および除草剤を用いて、PA生成の誘導について検討した。

1) 材料と方法

供試クワ枝は当场構内桑園に栽植されている改良岬返の春切桑で、晩秋期1m残し中間伐採収穫した後、翌年の1~2月に枝条基部より伐採・採取した。クワ枝の基部を用いて20cmの切り枝をつくり、その先端切り口をパラフィンで封じた。切り枝の基部を浸透移行性の殺菌剤・除草剤の希釈液に浸漬し、25℃の恒温器に納めた。1週間後にとりだし、切り枝を流水で洗浄し、風乾した。各区の切り枝を2分し、一方はPAの生成量の試験に、他方には胴枯病菌を接種し、病斑の拡大状況の調査に供した。

(1) 切り枝の中央部を幅約2cm環状剥皮し、25℃湿室条件下に約20日間保った後、環状剥皮部の皮層組織を採集しアセトンで抽出した。抗菌活性の測定は2-(1)に準じて行った。

(2) 切り枝の2カ所に電気ハンダゴテで直径約4mmの焼傷を付け、Tween-40の0.05%添加胴枯病菌柄孢子懸濁液($2.6 \times 10^8/ml$)を1時間毎に4回焼傷部に滴下し接種した。20℃の湿室に3日間保護した後、湿らせたのこくずの中に切り枝を埋没し、3~4℃の恒温器に納めて培養した。培養1週間から5週間後までの間に経時的にとりだし、病斑の大きさを測定した。

2) 試験結果

(1) 薬剤によるPAの誘導

浸透移行性の殺菌剤17点、除草剤4点を供試し、PA生成の誘導を試みた。

抗菌活性の強さは、カップ法により、検定菌として用いたイネごま葉枯病菌の生育阻止円の直径を測定し、判定した。

薬剤がクワ枝に浸透移行し、さらに皮膚組織のアセトン抽出液中にも移行し、そのため、検定菌の生育に影響を及ぼすことも考えられたので、予め、ペニシリンカップに薬液を満たし、検定菌の生育に及ぼす影響を検討した。

薬剤自体には抗菌力はないが、薬剤処理したクワ枝皮膚組織のアセトン抽出液に抗菌力の認められた区は、供試した17種の殺菌剤のうち、プロベナゾール剤(商品名オリゼメート)、IBP剤(キタジンP)、ピンクロゾリン剤(ロニラン)、プロシミドン剤(スミレックス)、オキシカルボキシ剤(プラントボックス)、フサライド剤(ラブサイド)、カスガマイシン剤(カスミン)およびトリホリン剤(サブロール)であった。また、4種類の除草剤のうちではCAT剤(シマジン)、トリフルラリン剤(トレファノサイド)であった。

いずれの薬剤もクワ枝に対して殆ど薬害をひき起こすことはなく、生成誘導されたPAの抗菌活性も低い傾向がみられた。

第8表 浸透移行性殺菌剤・除草剤に浸漬処理したクワ枝の抗菌活性

1981年				1982年			
供試薬剤 ¹⁾	抗菌活性 ²⁾			供試薬剤 ¹⁾	抗菌活性 ²⁾		
	a	b	c		a	c	
トリアジン剤(トリアジン)	卅 ³⁾	-	-	IBP剤(キタジンP)	- ³⁾	卅	
キャプタン剤(オーソサイド)	卅	-	-	ピンクロゾリン剤(ロニラン)	-	卅	
チウラム剤(ボマゾールエフ)	卅	-	-	プロシミドン剤(スミレックス)	-	卅	
ヒドロキシイソキサゾール剤(タチガレン)	-	-	-	トリシクラゾール剤(ビーム)	-	卅	
イソプロチオラン剤(フジワン)	-	-	-	オキシカルボキシ剤(プラントボックス)	-	卅	
プロベナゾール剤(オリゼメート)	-	-	卅	ジメチリモール剤(ミルカーブ)	-	+	
CAT剤(シマジン)	+	-	卅	プラストサイジンS剤(ブラエス)	卅	卅	
トリフルラリン剤(トレファノサイド)	-	-	卅	フサライド剤(ラブサイド)	-	卅	
IPC剤(クロロIPC)	-	-	-	カスガマイシン剤(カスミン)	+	卅	
バラコート剤(グラモキソン)	-	-	-	カプタホル剤(ダイホルタン)	卅	卅	
水	-	-	-	トリホリン剤(サブロール)	-	卅	
				水	-	-	

注) 1) 薬液濃度 250 ppm

2) 抗菌活性は阻止円直径で表示(カップ法)

a: 薬剤による阻止円

b: 環状剥皮しない皮膚組織の阻止円

c: 環状剥皮した皮膚組織の阻止円

3) -: 阻止円形成なし +: 阻止円直径 8.1 ~ 10.0 mm 卅: 10.1 ~ 15.0 mm

卅: 15.1 ~ 20.0 mm 卅卅: 20.1 mm 以上

切り枝を薬液に浸漬しただけではPAの誘導は認められなかったが、環状剥皮した部位の皮層組織にのみPAの誘導が認められた。抗菌活性は環状剥皮した皮層組織に胴枯病菌を接種すると、さらに高まった。

一方、除草剤のパラコート剤で処理した切り枝は、枯死するものが多くみられたものの、枝皮層組織の抗菌活性は高く、また、皮目が隆起する薬害をひき起こしたCAT剤処理切り枝では、低濃度ほど抗菌活性が高かった。

第9表 除草剤高濃度液浸漬切り枝の薬害と抗菌活性

除草剤名・濃度	薬害	抗菌活性
CAT 剤 (シマジン)	5,000 ppm	皮目隆起
	2,500	"
	1,250	"
	625	"
	313	"
パラコート剤 (グラモキソン)	2,500	枯死
水	無し	-

注) 1) 常用濃度: シマジン750 ppm、グラモキソン240 ppm

2) 抗菌活性: 阻止円の直径で表示 (カップ法)

-: 阻止円形成なし

#: 阻止円直径15.1~20.0 mm

+: 阻止円直径10.1~15.0 mm #: " 20.1 mm 以上

薬液に浸漬した切り枝を、60℃で10分間温湯処理したところ、PAの生成は全く認められなかった。

(2) 薬液浸漬切り枝における胴枯病病斑の拡大

250 ppmの薬液に浸漬処理した切り枝に胴枯病菌を焼傷接種し、経時的に病斑拡大の程度を比較した。

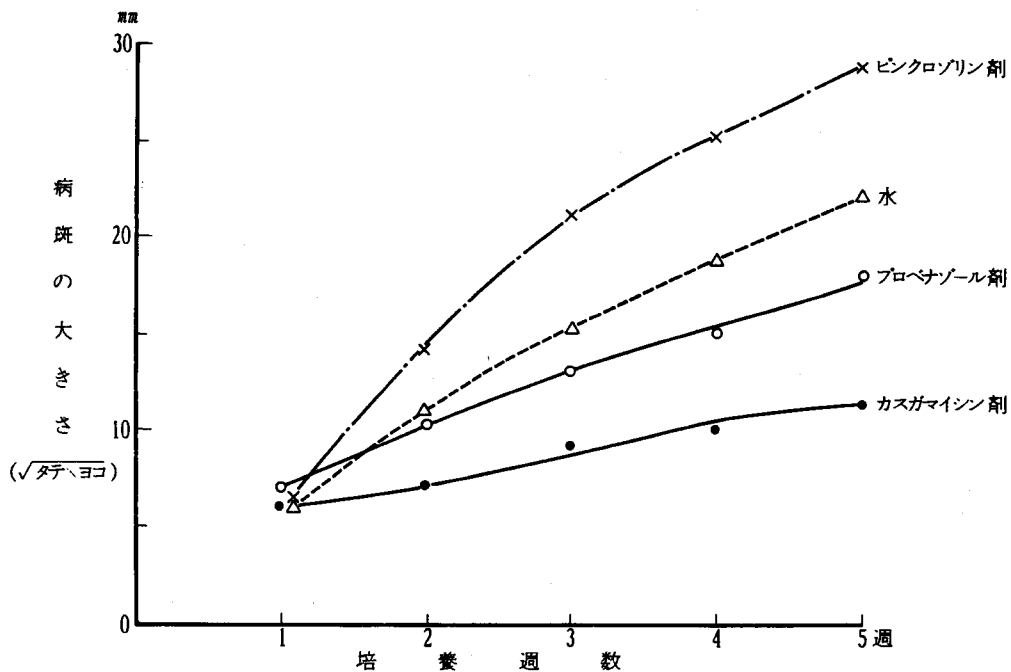
第10表 薬液浸漬切り枝に焼傷接種した胴枯病斑の拡大

供試薬剤 ¹⁾	項目 培養週数	2) 病斑の大きさ (√タテ×ヨコ) mm					3) 阻止円直径 mm	
		1	2	3	4	5	平均 (x̄)	標準偏差 (s)
カスガマイシン剤 (カスミン)		6.0	7.2	9.2	10.1	11.6	15.2	0.97
プロベナゾール剤 (オリゼマト)		6.9	10.2	13.1	15.1	18.1	14.6	0.66
プロシミドン剤 (スミレックス)		6.2	10.0	13.5	15.4	18.4	17.4	0.92
IBP 剤 (キタジンP)		6.3	13.6	20.7	24.7	28.7	9.5	1.70
ピンクロゾリン剤 (ロニラン)		6.5	14.3	21.4	25.6	29.2	-	-
オキシカルボキシン剤 (プラントボックス)		5.6	9.6	14.6	17.4	20.5	10.5	0.50
ジメチルモール剤 (ミルカーブ)		6.1	11.8	17.2	21.7	26.4	8.8	1.21
フサライド剤 (ラブサイド)		7.0	12.3	17.9	21.6	26.0	10.6	2.76
トリホリン (サブロール)		7.4	14.4	20.5	25.2	28.5	9.2	1.53
トリシクラゾール剤 (ビーム)		6.8	13.2	19.3	22.4	25.5	10.2	0.35
トリアジメホン剤 (バイレトン)		6.6	15.4	19.9	24.7	28.6	9.9	1.36
トリフルラリン (トレファノサイド)		6.8	12.0	15.4	18.6	22.7	8.8	0.75
水		6.2	11.1	15.3	19.0	22.7	13.7	2.18

注) 1) 薬液濃度250 ppm、6日間浸漬

2) 胴枯病菌を焼傷接種し、20℃で3日間培養後、湿ったのこずに埋没し、3~4℃に保った。

3) 培養5週間後に、胴枯病病斑の褐変皮層組織をアセトンで抽出し、カップ法で検定。



第5図 薬液浸漬切り枝に焼傷接種した胴枯病病斑の拡大の推移
注) は、第10表と同じ。

供試した12種類の薬剤のうち、カスガマイシン剤、プロベナゾール剤およびプロシミドン剤の各処理区では、病斑が小さく、特にカスガマイシン剤処理区では顕著であった。

また、培養終了後に、褐変した病斑皮層組織に生成されたPAの抗菌活性は、カマガマイシン剤、プロベナゾール剤およびプロシミドン剤の各処理区で高く現れた。

そこで、カスガマイシン剤によるPAの誘導の機作を知る手がかりを得るために、カスガマイシン剤の供試濃度を増やして検討し、その結果を第11表に示した。

第11表 カスガマイシン希釈液に浸漬¹⁾したクワ切り枝の抗菌活性 (PAの誘導)

濃 度	抗 菌 活 性 ²⁾ (阻 止 円 直 径、mm)			
	標 本 数 (n)	平 均 (\bar{x})	標 準 偏 差 (s)	95% 信 頼 区 間
1,000 ppm	12	11.8	0.62	11.4 ~ 12.2
500	10	13.4	0.74	12.9 ~ 13.9
250	14	12.1	1.24	11.4 ~ 12.8
125	15	11.4	1.81	10.4 ~ 12.4
62.5	13	12.3	1.59	11.4 ~ 13.3
31.25	16	13.9	0.65	13.5 ~ 14.2
15.63	14	12.5	1.18	11.8 ~ 13.2
水	16	14.7	1.36	13.9 ~ 15.4

注) 1) 20℃で7日間カスガマイシンの各希釈後に浸漬

2) クワ切り枝の環状剥皮部に、胴枯病菌柄孢子懸濁液を塗布接種し、ガーゼで被覆し、25℃で14日間培養。褐変皮層部をアセトンで抽出。このアセトン抽出液を *C. miyabeanus* を検定菌としてカップ法で検定。

カスガマイシン剤を処理した切り枝の環状剥皮部に胴枯病菌柄孢子懸濁液を塗布し、25℃で22日間培養したところ、その抗菌活性は水道水を処理した対照区より低い傾向がみられた。

3) 考 察

浸透移行性殺菌剤・除草剤の250ppm希釈液に、クワ切り枝の基部を浸漬し、そのクワ枝皮層組織に生成・誘導されたPAの抗菌活性から、供試薬剤は3つのタイプに分類できた。すなわち、検定菌に対して薬剤自体に抗菌力はないが、クワ枝にPA生成を誘導するaタイプ、薬剤自体に抗菌力があり、しかもクワ枝にPA生成を誘導するbタイプ、薬剤自体には抗菌力はあるもののクワ枝にPA生成を誘導しないcタイプである。

実用的にはクワ枝に薬害をひきおこさず、PA生成を誘導し、病気に対する抵抗性を賦与するaタイプの薬剤が望まれる。ところが、aタイプに属する薬剤で処理したクワ枝に生成・誘導されるPAの抗菌活性には次のような特徴が認められた。

- ① クワ枝を枯死させるような薬剤では誘導されるPAの抗菌活性が高いのに比較し、薬害をおこさない薬剤では誘導されるPAの抗菌活性は低い傾向がみられた。
- ② PAの生成を誘導する薬剤で処理したクワ枝を60℃の温湯に10分間浸漬処理すると、PAの生成は認められず、クワ枝が生きていることが必要である。
- ③ クワ枝を薬液に浸漬しただけでは枝皮層組織に抗菌活性が認められず、環状剥皮した皮層組織にのみ抗菌活性が認められた。

このように、aタイプの薬剤によって生成・誘導されるPAは、健全組織には集積せず、環状剥皮部などの付傷部や感染部に集積するものの、微量であり、感染阻止あるいは病斑拡大阻止に十分な量および濃度には至らないものと考えられる。このことに関連して富山⁴²⁾は次のように述べている。

「……………、感染がおこって褐変組織(死組織)ができると、そこに、そしてその周辺の細胞表面または細胞間隙に集積して抗菌力のある濃度に達する。この現象は低い濃度あるいは毒性のない農薬によるPAの誘導に非常に都合がよい。何故ならば、PAは動物毒性が強い。したがって健全植物に散布することは好ましくない。しかし生合成がすでに出来ていて、感染によってその局所にだけPAの集積がおこり健全部には集積しないとすれば、それは都合のよいことである。」

一方、薬液に浸漬したクワの切り枝に胴枯病菌を焼傷接種したところ、各々の薬剤によって病斑の大きさに差が認められ、特に、カスガマイシン剤、プロベナゾール剤およびプロシミドン剤の各処理区では病斑が小さく、また、病斑部の褐変皮層組織に生成されたPAの抗菌活性も高かった。

この現象は薬剤処理したクワ枝に生成・誘導されたPAによる病斑拡大阻止反応に基づくものか否かを、カスガマイシン剤を供試して検討した。すなわち、カスガマイシン剤に浸漬処理したクワ枝を2分し、一方には、環状剥皮した後胴枯病菌を塗布接種したところ、PAの生成は対照区(水浸漬処理区)より低かったのに対し、他方、胴枯病菌を焼傷接種すると対照区より病斑が小さく、PAの生成も高い、という相反する結果が得られた。

1986年12月11日付けの朝日新聞は次のように報道した。「植物が病原菌に感染すると、防衛のために植物特有の病害抵抗物質を生産するが、その引き金物質が過酸化水素であることがわかった。…………… どんな病原菌が侵入しても、硫酸銅を塗ったり、傷つけるなどの刺激を与えても、植物はこれらの決まった抵抗物質(ファイトアレキシン)を作る。このため、外からの刺激を受けると、植物内で何らかの引き金物質ができ、抵抗物質を生産する化学反応が始まると考えられていたが、引き金物質が何であるか全くわからなかった。」

カスガマイシン剤を処理したクワ枝における胴枯病病斑の拡大阻止反応は、当該薬剤によって枝皮層組織に誘導されたPAが重要な役割を果たした結果とは考え難く、PAとは異なる抵抗性因子の存在が示唆される。その抵抗性因子がカスガマイシン剤の処理によって増強され、病斑拡大阻止反応として発現したものと考えるのが妥当であろう。

6 カスガマイシン剤によるクワ枝皮層組織の抗菌力増強効果

白田²⁷⁾はクワ枝皮層組織切片を、イネごま葉枯病菌の孢子とPDA培地を混合した平板培地に置くと、切片の周囲に菌の生育しない阻止円が形成されることを報告した。

そこで、5-③で述べたPAとは異なる抵抗性因子として、クワ枝皮層組織切片の「直接法で示される組織の抗菌作用」に着目し、その抗菌力がカスガマイシン剤によって増強されるものか否か等について検討した。

1) 材料と方法

①材料：供試したクワ枝は品種「改良単返」の春切桑で、晩秋期1m残し中間伐採した枝条を12月に基部から採取し、その枝の中央部を用いた。長さ20cmの切り枝を作り、その先端切り口をパラフィンで封じた。切り枝の基部を11種類の浸透移行性殺菌剤の250 μ 水溶液に浸漬し、抗菌作用の検定に供試した。検定菌としてはイネごま葉枯病菌を用い、培養には総てPDA培地を用いた。

②抗菌作用の検定：切り枝の表面を70%エタノールで消毒後、皮層部(表皮や皮層部を含み、木部から剥離できる部分)をとりだし、長さ約7mm、幅約4mmの方形切片を作った。これを滅菌水で洗浄した後、濾紙で水分をとり除いた。

溶解後、約50℃に保ったPDA20mlに検定菌の孢子懸濁液(10⁵/ml)を2ml加え、十分に混合攪拌し、ペトリ皿に流し込み平板培地とした。切片を平板培地に置床し、25℃で48時間培養した。切片の周囲に出現した阻止円の短径を測り、これから切片の短辺の長さを減じた値を抗菌力とした。

2) 試験結果

11種類の浸透移行性殺菌剤250 μ 水溶液に4日間浸漬処理した切り枝から作成した皮層組織切片の抗菌力は、カスガマイシン剤処理区が最も強く、トリホリン剤区、ジメチリモール剤区がこれに次ぎ、他の処理区は対照区(水処理)と同程度か、もしくは弱かった。

薬液に浸漬した切り枝から作った皮層部切片を、60℃・10分間の温湯処理したところ、抗菌力は認められなかった。また、薬液に浸漬したペーパーディスク(東洋濾紙、径8mm、Thin)は、検定菌の生育を阻害しなかった。

このように、カスガマイシン剤自体には検定菌に対する抗菌作用が認められないことから、本剤による枝皮層組織切片の抗菌力の増強効果は、薬剤による直接的な殺菌力によるものではないことが明らかである。

次に、カスガマイシン剤の濃度別抗菌力を調べた。1,000、500、250、125および62.5 μ の各濃度液に切り枝を3日間および7日間浸漬し、切片を作成した。切片を1時間あるいは48時間湿室に保った後、*C. miyabeanus* 孢子混合PDA培地に置床し抗菌力を検定した。

第12表 殺菌剤によるクワ枝皮層部切片の抗菌力増強効果

供試殺菌剤 ¹⁾	抗 菌 力 ²⁾		ペーパーディスク による阻止円
	温度無処理	60℃・10分処理	
カスガマイシン剤	14.0 <small>mm</small>	0 <small>mm</small>	0 <small>mm</small>
トリホリン剤	7.5	0	0
ジメチリモール剤	7.2	0	0
フサライド剤	5.8	0	0
トリシクラゾール剤	5.5	0	0
プロシミドン剤	3.7	0	0
I B P 剤	3.7	0	0
プロベナゾール剤	3.7	0	0
ピンクロゾリン剤	2.7	0	0
オキシカルボキシ剤	2.7	0	0
トリアジメホン剤	1.0	0	0
水	5.5	0	0

注) 1) 殺菌剤の濃度：250 ppm

2) 抗菌力 = (阻止円短径) - (皮層部切片の短辺)

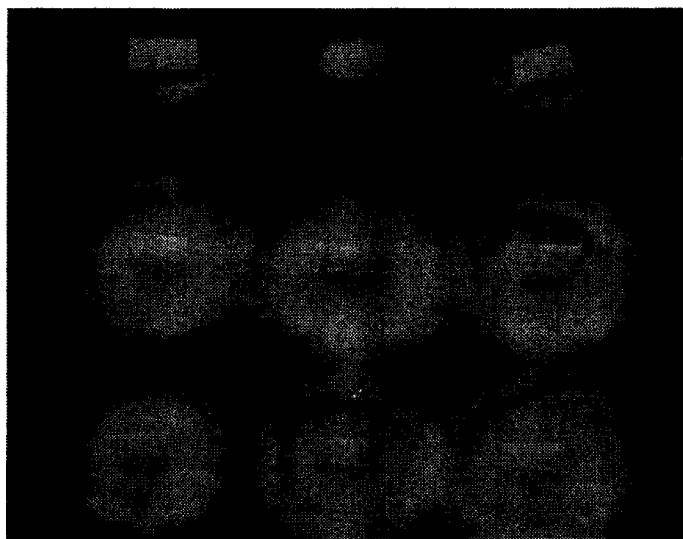


写真2. イネごま葉枯病菌孢子混合培地上に薬剤処理したクワ枝の皮層部切片を置いて、2日間培養した後の阻止円形成状況

(上段：プロシミドン剤(スマレックス)処理
中段と下段：カスガマイシン剤(カスミン)処理)

その結果、抗菌力は切り枝の浸漬時間、切片の湿室保持時間および薬液の濃度により差異が認められ、切り枝の浸漬時間では7日間浸漬>3日間浸漬であり、切片の湿室保持時間では48時間>1時間であった。カスガマイシン剤の濃度別の抗菌力は、3日間浸漬では1.000mm区が、7日間浸漬では125~500mm区が高い値を示した。

第13表 カスガマイシン剤によるクワ枝皮層部切片の抗菌力増強効果

濃度	項目 処理 ²⁾	抗 菌 力 ¹⁾ (mm)			
		3 日間 浸漬		7 日間 浸漬	
		湿室 1 時間	湿室 48 時間	湿室 1 時間	湿室 48 時間
1,000 μ m		9.1	15.7	12.9	12.8
500		6.0	12.5	18.0	18.8
250		6.3	10.7	17.7	19.5
125		5.5	8.8	16.2	18.0
62.5		6.2	8.8	12.7	17.1
水		5.4	5.2	8.8	7.3

注) 1) 抗菌力 = (阻止円短径) - (皮層部切片の短辺)

2) 皮層部切片を湿室に所定時間保存してから、抗菌力の検定に供した。

カスガマイシン剤による抗菌力増強効果は、いずれも、切り枝を薬液に浸漬することにより発現したが、次に、薬液を切り枝に散布した場合の効果について検討した。

カスガマイシン剤250 μ m液を切り枝に散布し、乾燥後、25℃で7日間水挿しを行い、水洗・エタノール消毒して皮層組織切片を作成した。

その結果を第14表に示した。切り枝にカスガマイシン剤を散布しても、皮層組織切片の抗菌力を増強させる効果は認められなかった。

また、枝皮層組織切片をカスガマイシン希釈液に4時間浸漬し、抗菌力に及ぼす影響について検討したところ、増強効果は認められなかった。

第14表 カスガマイシン剤を散布したクワ枝の皮層部切片の抗菌力

区	抗 菌 力 ¹⁾ (mm)					
	湿室 6 時間			湿室 24 時間		
	切片数	平均(x)	95%信頼区間	切片数	平均(x)	95%信頼区間
カスガマイシン剤	21	2.6	2.3 ~ 3.0	21	2.4	2.2 ~ 2.7
水	18	3.2	2.7 ~ 3.6	18	2.7	2.2 ~ 3.2

注) 1) 抗菌力 = (阻止円短径) - (皮層部切片の短辺)

第15表 カスガマイシン希釈液に浸漬した皮層部切片の抗菌力

カスガマイシン剤の濃度	抗 菌 力 ¹⁾ (mm)	
	湿室 3 時間	湿室 18 時間
1,000 μ m	2.3	2.5
500	2.8	2.5
250	2.7	3.0
125	2.7	2.3
62.5	2.3	2.3
31.3	1.8	2.0
15.6	2.8	2.5
水	2.8	3.5

注) 1) 抗菌力 = (阻止円短径) - (皮層部切片の短辺)

次に、枝皮層組織切片の抗菌力について、クワの品種間差異を検討したところ、3回の試験結果から抗菌力に品種間差異が認められた。平均値で比較すると、市平>一ノ瀬>ゆきしのぎ≒橘桑≒しんいちのせ≒剣持≒ゆきしらず≒改良単返≒わせみどり≒五郎治早生>かんまさりの傾向にあり、特に市平の抗菌力が強く、かんまさりが弱かった。

3) 考 察

カスガマイシン剤に浸漬処理したクワ枝(古条)における胴枯病病斑の拡大阻止反応は、「直接法で示される組織の抗菌作用」が、当該薬剤により増強または活性化された結果によるものと考えられる。

「直接法で示される抗菌作用」について、白田は²⁷⁾、PAとは幾つかの点で相異現象が認められることから、両者の主たる抗菌物質は異なるものと推察し、また、本作用がPAの産生・蓄積能のない若い組織における抵抗性因子として、同時に、非寄生性病原菌に対する防衛力として働いているものと考察した。

「直接法で示される抗菌作用」がカスガマイシンにより誘導・増強される機作についてはさらに検討し、解明しなければならないが、病害防除への応用面を考慮にいと、クワ枝(古条)に本剤を散布しただけでは抗菌力の増強効果が認められないことから、本剤を生育中の桑樹にとり込ませる方法を検討する必要がある。

7 カスガマイシン剤によるクワ縮葉細菌病防除効果

冬枝(古条)よりも夏枝(新梢)において、病害抵抗性で重要な役割を果たしていると考えられる「直接法で示される抗菌作用」は、カスガマイシン剤で増強されることから、それを利用し、病害防除の可能性を明らかにするため、カスガマイシン剤を用いて、新梢に黒枯れ症状をひきおこすクワ縮葉細菌病を対象に選び、その防除効果を検討した。

1) 試験方法

供試圃場は、岩手県蚕業試験場の附野桑園(胆沢町小山)で、慣行の肥培管理を実施している、樹齢16年、高根刈仕立の改良単返(畦間2.5m×株間0.8m)の春切桑を供試した。1区1.5aを供用し、縮葉細菌病の発病初期に2回、カスガマイシン剤(カスミン液剤、カスミンボルドー水和剤)、銅・ストレプトマイシン剤(ストマイド水和剤)およびストレプトマイシン・オキシテトラサイクリン剤(アグリマイシン100)の各500倍液と2-2式石灰ボルドー液を120ℓ/10aあて散布した。

なお、散布時にすでに縮葉細菌病の発病が見られていたので、新梢上部の未発病葉位がわかるようにマークをつけてから薬剤を散布し、そのマークより上位の新梢部を調査対象とした。

2) 試験結果

カスガマイシン剤(カスミン液剤、カスミンボルドー水和剤)の縮葉細菌病に対する防除効果を圃場試験により検討した(第16表)。

散布14日後では、無散布区の葉と新梢の発病度はそれぞれ9.0%と11.6%に対して、カスミン散布区は2.4%と4.0%、カスミンボルドー散布区は1.1%と4.8%であり、対照のアグリマイシン100散布区とはほぼ同等の効果を示した。

第16表 カスガマイシン剤によるクワ縮葉細菌病防除試験 (1985年)

供試薬剤	希釈倍数	散布14日後(7/22)					散布30日後(8/7)	
		葉			新梢		新梢	
		調査数	病葉率	発病度	調査数	発病度	調査数	発病度
カスミン	500倍	905枚	16.8%	2.4%	50本	4.0%	124本	12.6%
カスミンボルドー	500倍	656	6.4	1.1	50	4.8	115	8.5
石灰ボルドー	2-2式	897	14.3	2.8	50	1.6	144	12.2
ストマイドー	500倍	991	10.7	1.9	50	2.8	129	8.1
アグリマイシン100	500倍	995	17.1	2.9	50	2.4	120	5.6
無散布		972	47.9	9.0	50	11.6	250	36.7

注) 散布回数および散布月日: 2回、1985年6月27日、7月8日

梅雨入り: 6月8日、梅雨明け: 7月19日

改良用返、高根刈仕立、樹齢16年

散布30日後では、無散布区の新梢の発病度36.7%に対して、カスミン散布区は12.6%、カスミンボルドー散布区は8.5%であり、対照のアグリマイシン100散布区よりやや劣るものの防除効果が認められた。

3) 考察

植物の細菌病防除の上で共通した問題は、有効な防除薬剤が極めて少ないことであり、さらには薬剤耐性菌の出現による効力低下である³⁷⁾。

クワ縮葉細菌病の防除の場合にも常に薬剤耐性菌の発生に注意を払う必要がある。

そこで、県内各地のクワの縮葉細菌病病斑から分離した23菌株の病原細菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *mori*) について、ストレプトマイシンおよびカスガマイシン添加培地における生育状況を調べ、第17表に示した。

ストレプトマイシン、カスガマイシン両薬剤の散布経験のない県内各地の桑園から分離した *P. syringae* pv. *mori* の中には、ストレプトマイシンに対する耐性菌の存在が認められ、1,000ppmで生育可能な菌株もみられたが、カスガマイシンに対する耐性菌の発達は未だ進んでいないものと考えられる。

これは、クワ縮葉細菌病菌がストレプトマイシンに接触する以前から既に耐性菌が存在していたものとするのが妥当であろう。

一方、第16表に示したように、カスガマイシン剤は縮葉細菌病に対して、適用登録のあるアグリマイシン100よりやや劣るものの防除効果が認められたが、これは病原細菌に対する直接的な殺菌効果とともに、新梢の皮層組織の抗菌力が、カスガマイシン剤によって増強されたことによるものと考えられた。

今後、マイナー作物の病害防除薬剤の新たな開発はあまり期待できないことから、既知の薬剤あるいはメジャー作物用の新薬剤の中から、病原菌に対する直接的な殺菌作用のみにとらわれず、植物のもつ病害抵抗性を誘導あるいは増強させる薬剤を検索し、それによって病害防除の可能性を検討することが重要であると考えられる。

第17表 薬剤添加培地におけるクワ縮葉細菌病菌の生育状況

菌株	採集地	ストレプトマイシン			カスガマイシン			無添加
		10	100	1,000	10	100	1,000	
S-1	遠野市	-	-	-	+	-	-	+
S-2	前沢町	+	+	-	+	-	-	+
S-3	住田町	-	-	-	+	-	-	+
S-4	胆沢町	+	-	-	+	-	-	+
S-5	花泉町	-	-	-	+	-	-	+
S-6	花泉町	+	+	-	+	-	-	+
S-7	水沢市	-	-	-	+	-	-	+
S-8	胆沢町	-	-	-	-	-	-	+
S-9	花泉町	+	-	-	+	-	-	+
S-10	滝沢村	-	-	-	+	-	-	+
S-11	一戸町	-	-	-	+	-	-	+
S-12	一戸町	+	+	+	+	-	-	+
S-13	一戸町	-	-	-	+	-	-	+
S-14	一戸町	-	-	-	+	-	-	+
S-15	田野畑村	+	+	-	-	-	-	+
S-16	田野畑村	-	-	-	-	-	-	+
S-17	久慈市	-	-	-	+	-	-	+
S-19	遠野市	+	+	-	+	-	-	+
S-20	軽米町	+	-	-	+	-	-	+
S-21	軽米町	+	+	-	+	-	-	+
S-22	花泉町	-	-	-	+	-	-	+
S-23	水沢市	+	+	-	+	-	-	+
S-24	水沢市	+	-	-	+	-	-	+

注) - : 生育せず、+ : 生育

摘 要

積雪地帯で特異的に多発するクワ胴枯病の発生機構を解明することを目的として、主にクワ枝に含まれる抗菌性物質の生成・誘導と発病との関係について検討した。

概要は次のとおりである。

1. クワ胴枯病抵抗性の品種間差異を枝皮層組織のファイトアレキシン(PA)生成量の多少で分類しようと試みた。すなわち、抵抗性品種では、PAの生成量が多く、そのため細胞内での胴枯病菌菌糸の進展を速やかに阻止し、罹病性品種ではPAの生成量が少なく、そのため細胞内での菌糸の進展を許すであろうという仮説を立てた。その結果、罹病性品種である改良単返の抗菌活性が高く、抵抗性のヤマグワ系品種の抗菌活性が低く現れ、仮説は証明できなかった。

2. 抵抗性を異にするクワ品種を用いて、胴枯病の病斑拡大に及ぼす温度の影響について検討した。その結果、焼傷接種によるクワ切り枝上の胴枯病斑は、培養初期では高温ほど大きく、低温ほど小さかったが、次第に逆転し、低温ほど病斑が大きく、高温では小さかった。また、培養24日後における

病斑の大きさを品種別に比較すると、いずれの温度条件下でも、ゆきしのぎ>新桑2号>改良単返 \geq 剣持であった。

3. クワ胴枯病の病斑拡大と温度およびPA生成との関係について考察した。

4. 晩秋期に摘葉処理したクワ枝の抗菌活性は、残葉数が少ないほど低い傾向がみられ、特に、全摘葉区では残葉区に比べ低く、有意差が認められた。

5. クワ枝を浸透移行性の殺菌剤・除草剤に浸漬しただけでは枝皮層組織にPAは誘導されなかったが、環状剥皮するとその皮層組織にのみPA誘導が認められた。

クワ枝を枯死させるような薬剤では、誘導されるPAの抗菌活性は高いのに対し、薬害をおこさない薬剤では、誘導されるPAの抗菌活性は低い傾向が認められた。

6. カスガマイシン水溶液に浸漬したクワの切り枝に、胴枯病菌を焼傷接種したところ、病斑の拡大が抑制された。カスガマイシンによって誘導されたPAの抗菌活性は低いことから、PAとは異なる抵抗性因子の存在が示唆された。

7. カスガマイシン水溶液に浸漬処理したクワ枝の皮層切片の抗菌作用を、「直接法」により調べたところ、高い抗菌活性が認められた。このことから、胴枯病病斑の拡大阻止反応は、いわゆる「直接法で示される抗菌作用」が当該薬剤により増強または活性化された結果と推察した。

8. クワ枝皮層組織の「直接法で示される抗菌作用」を増強させるカスガマイシン剤を供試し、クワ縮葉細菌病に対する防除効果を圃場試験により検討したところ、対照薬剤のストレプトマイシン・オキシテトラサイクリン剤散布区とほぼ同等の効果が認められた。

引用文献

- 1) 青木清(1945): 蚕糸試験場報告、12(3)、245-306.
- 2) 道家紀志(1984): 植物のミクロな闘い、96pp.海鳴社、東京.
- 3) 井上勝保・諸我敏夫・酒井英卿(1981): 新潟蚕試要報、20、1-6.
- 4) 井上勝保・酒井英卿(1983): 新潟蚕試要報、22、1-4.
- 5) 石々川英樹(1985): 愛媛蚕試要報、7、5-6.
- 6) 金谷正(1971): 山形蚕試要報、7、13-17.
- 7) 松野瑞彦・土井則夫・仁科祥次郎(1984): 福島蚕試研究報告、20、1-77.
- 8) 松野瑞彦・仁科祥次郎(1984): 日蚕雑53(2)、175-176.
- 9) 松野瑞彦(1988): 福島蚕試研究報告、23、1-107.
- 10) 三枝隆夫(1984): リンゴ腐らん病を中心とする胴枯性病害の発生生態の解明と防除技術の確立(研究成果162)、pp.52-54、農林水産技術会議事務局、東京.
- 11) 宮山健也(1980): 蚕糸研究、114、76-83.
- 12) 仲野英秋・山川隆平・金谷正・鈴木真雄・中島恵・池田登(1980): 東北蚕糸研究報告、5、44.
- 13) 並木茂吉(1981): 日蚕中部講要、37、69.
- 14) 並木茂吉・小池尚彦・酒井英卿(1983): 新潟蚕試要報、22、11-17.
- 15) 仁科祥次郎・松野瑞彦(1981): 日蚕雑50(5)、428-434.
- 16) 野中福次(1984): 農林水産研究ジャーナル、7(9)、18-21.
- 17) 及川英雄・鈴木繁実(1978): 東北蚕糸研究報告、3、63.

- 18) 奥八郎(1978): 植物病理化学最近の進歩、pp.115—126、植物病理化学最近の進歩刊行会、名古屋.
- 19) 小野沢芳郎(1958): 育種学雑誌、7(3)、58—62.
- 20) 太田安澄(1970): 片倉八王子研臨時報告、1、1—9.
- 21) 境田謙一郎・高木武人・菊池宏司(1981): 岩手蚕試要報、6、1—5.
- 22) 境田謙一郎・高木武人・寿正夫(1982): 岩手蚕試要報、7、6—9.
- 23) 佐久間勉(1975): 北海道農試研究報告、111、143—213.
- 24) 佐藤光政(1981): 蚕糸試験場報告、28(3)、399—498.
- 25) 白田昭(1978): 日植病報、44(4)、485—492.
- 26) 白田昭(1981): 植物防疫、35(11)、505—510.
- 27) 白田昭(1982): 日植病報、48(2)、141—146.
- 28) 白田昭(1984): 蚕糸技術、124、41—47.
- 29) 鈴木繁実・八重樫誠次・及川英雄(1978): 東北蚕糸研究報告、3、57.
- 30) 鈴木繁実・及川英雄(1980): 東北蚕糸研究報告、5、47.
- 31) 鈴木繁実・及川英雄(1981): 東北蚕糸研究報告、6、56.
- 32) 鈴木繁実・及川英雄(1982): 東北蚕糸研究報告、7、54.
- 33) 鈴木繁実・及川英雄(1983): 東北蚕糸研究報告、8、21.
- 34) 鈴木繁実・及川英雄(1984): 東北蚕糸研究報告、9、30.
- 35) 鈴木繁実・及川英雄(1985): 岩手蚕試要報、8、62—69.
- 36) 鈴木繁実(1985): 東北蚕糸研究報告、10、25.
- 37) 高橋幸吉(1975): 植物防疫、29(5)、199—205.
- 38) 高橋幸吉(1981): 蚕糸科学と技術、20(2)、62—66.
- 39) 高杉光雄(1981): 化学と生物、19(3)、161—163.
- 40) 田中寛康(1974): 植物病学実験ノート(赤井重恭・桂琦一編)、pp.129—132、養賢堂、東京.
- 41) 富山宏平(1977): 化学の領域、31(7)、658—668.
- 42) 富山宏平(1978): 植物病理化学最近の進歩、pp.221—226、植物病理化学最近の進歩刊行会、名古屋.
- 43) 富山宏平(1979): 植物の感染生理、149pp. 東大出版会、東京.
- 44) 八重樫誠次・鈴木繁実・及川英雄(1980): 東北蚕糸研究報告、5、65.
- 45) 山川隆平・仲野英秋(1976): 東北蚕糸研究報告、1、51.
- 46) 山川隆平(1985): 東北蚕糸研究報告、10、27.