

桑の芽葉に生息する氷核活性細菌と凍霜害発生との関係

小澤 龍生・鈴木 繁実

農作物の凍霜害は従来、天災的現象と考えられていたが、高橋ら³⁾は桑の芽葉表面に生息する氷核活性細菌（主として氷核能力の高い *Pseudomonas syringae* pv. *mori*）が関与し、低温遭遇の際に桑の凍霜害を助長するという生物的災害の面からの報告をしている。そこで氷核活性細菌と桑の凍霜害発生との関係を明らかにするため、県内の数か所の桑園で芽葉に生息する細菌の氷核活性を時期別に調査するとともに分離した氷核活性細菌による霜害発生について2、3の実験を行い検討した。

本文に先だち、本試験の遂行に懇篤なるご指導とご便宜を賜わった農林水産省蚕糸試験場桑病害研究室長・高橋幸吉博士に対し厚くお礼を申し上げます。

1. 試験方法

1) 桑の芽葉細菌の時期別分離

水沢市（蚕試桑園）および現地の霜害常発地（大野村、軽米町、遠野市）の各桑園から時期別に桑の芽又は葉を採取した。これを滅菌水中でよく振とうし、この洗浄液を希釈しキングB培地平板に塗抹し、20℃ 3～4日培養し検出された細菌から任意に純粋分離培養した菌株の氷核活性を検定した。

キングB培地の組成：ペプトン20g、 K_2HPO_4 1.5g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5g、グリセリン10ml、寒天15g、蒸留水1ℓ、pH 7.2。

2) 細菌の氷核活性検定方法

アルミ箔製フロートによる小滴凍結法を用いた。すなわち、20℃ 2日間培養の検定菌を滅菌蒸留水で約 $10^8/ml$ の濃度に懸濁し、その10 μ ℓをパラフィン処理したアルミ箔上に各10点ずつ滴下し、予め-5℃に設定した低温恒温水槽に浮かべ、この小滴の凍結の有無を観察記録した。ここでは2～3分以内に凍結をおこした菌株を氷核活性細菌とした。

3) 氷核活性細菌による桑の再発芽枝条の霜害発生

1987年9月に中間伐採し、その後6～8枚に開葉した再発芽枝条を採取し、25～30cmの長さに切って蒸留水の入った三角フラスコに生けた。キングB培地で20℃ 2日間培養後、所定濃度に調整した氷核活性細菌懸濁液を葉面に噴霧接種した。その後、1～2日間室温（20～24℃）・湿室条件に保った。このように処理した再発芽枝条を-5℃又は-3℃に設定した低温庫に入れ、低温処理時間、接種濃度および接種菌株別のそれぞれについて霜害発生葉率を調査した。なお、いずれの試験においても対照区（無接種）は滅菌蒸留水を噴霧した。低温庫からとり出した後は1日間室温下に放置してから霜害発生葉率を調査した。

2. 試験結果および考察

1) 桑の芽葉表面における氷核活性細菌の時期別分離

桑の芽・葉から分離される細菌は、キングB培地平板上でややクリーム色を帯びた白色集落を形

成する細菌と黄色集落を形成する細菌であるが、いずれの試料からも恒常的に分離され、各時期とも優勢な集団をなすものは白色集落を形成する細菌であり、氷核活性を示す細菌はこの集団に属していた。黄色細菌で氷核活性を示す菌株は調査範囲内では検出されなかった。

表1に氷核活性細菌の時期別分離状況を示した。

表1. 桑園における芽・葉表面の氷核活性細菌の時期別分離状況

検出部位	試料採取月日	大野村 川津内	軽米町 小軽米	遠野市 小友・	水沢市 蚕試
	月 日	% 菌株	% 菌株	% 菌株	% 菌株
芽(冬芽)	3. 24	0 (0/18)	0 (0/10)	—	—
芽(開葉)	5. 7	—	—	—	46.2 (6/13)
"(脱苞直前)	5. 8	—	—	37.5 (6/16)	—
"(")	5. 9	32.0 (8/25)	—	—	—
葉(展開葉)	6. 2	—	—	9.5 (2/21)	—
"(")	6. 10	—	—	—	38.9 (14/36)
"(")	6. 19	24.0 (6/25)	25.8 (8/31)	—	—
葉(展開葉)	7. 8	—	—	—	21.4 (6/28)
葉(罹病葉)	8. 11	—	0 (0/30)	—	0 (0/45)
"(")	8. 11	—	—	—	—
葉(展開葉)	8. 13	0 (0/25)	0 (0/25)	—	—
"(")	8. 18	—	—	6.7 (1/15)	—
葉(展開葉)	9. 5	0 (0/25)	0 (0/25)	—	—
"(")	9. 9	—	—	—	0 (0/25)
葉(展開葉)	10. 9	58.3 (14/24)	83.3 (20/24)	—	—
"(")	10. 19	—	—	—	37.5 (9/24)
芽(再発芽)	10. 19	—	—	—	66.7 (8/12)

注) 氷核活性菌株数/検査菌株数

芽 20~30個 } の表生細菌より任意に分離した菌株
葉 20~30枚

氷核活性細菌の分離状況をみると、5月の桑脱苞期前後は32.0~46.2%と高く、その後6月に9.5~38.9%とやや低下し、8~9月上旬では殆ど検出されないか、ごく僅かにすぎなかった。そして10月に37.5~83.3%と再び高率に分離され、季節的に変動した。高橋²⁾は桑の凍霜害の起こる秋と春季に氷核活性細菌が広く分布していて凍霜害増幅の素因となるとし、牧野¹⁾は茶樹において氷核活性細菌の菌数の多い時期は初霜期と晩霜期であり、結露量の多い時期に増加するとしているが、岩手県においてもこの時期に氷核活性細菌が比較的高率に分離されることから、凍霜害を増幅していることが十分に予想される。

夏季に氷核活性細菌が殆ど検出されなかった理由は、高温期に氷核能力が消失するのか、菌株の交替によるのか明らかでなく、今後の検討が必要である。

2) 氷核活性細菌による再発芽枝条の霜害発生試験

(1) 低温処理時間と霜害発生：霜害発生のための低温処理時間を検討するため、-5℃に設定した低温庫内に試験方法の項で示した操作を行い、再発芽枝条を、3、5、10、15分間配置した。その結果は図1にみられるように氷核活性細菌接種区の霜害発生率は低温処理時間が3分間では10.9%と低いのに対し、5分間以上の処理では54.5%以上と高くなった。これに対して無接

種区では10分間の処理でも17.5%にとどまり、明らかに氷核活性細菌の接種による霜害発生率の増大が認められた。

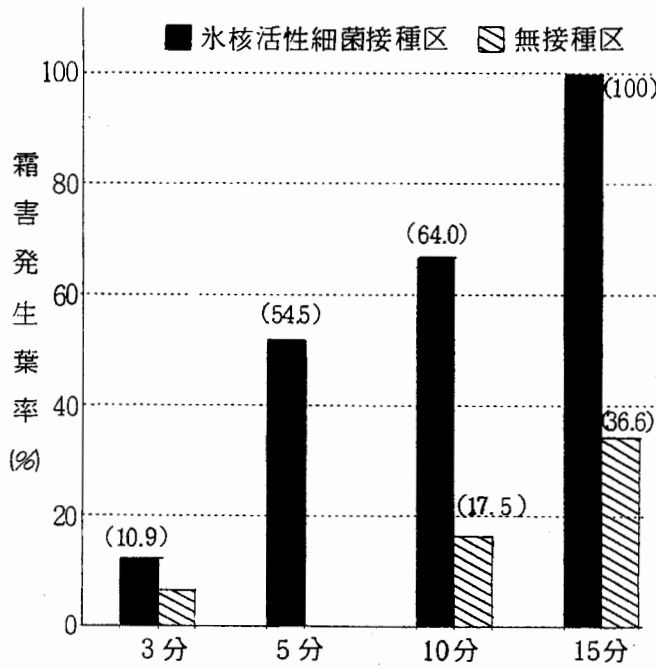


図1. 低温処理時間と霜害発生

(供試菌 S 8110-1
接種濃度 約 $10^8/ml$ 、処理温度 $-5^{\circ}C$)

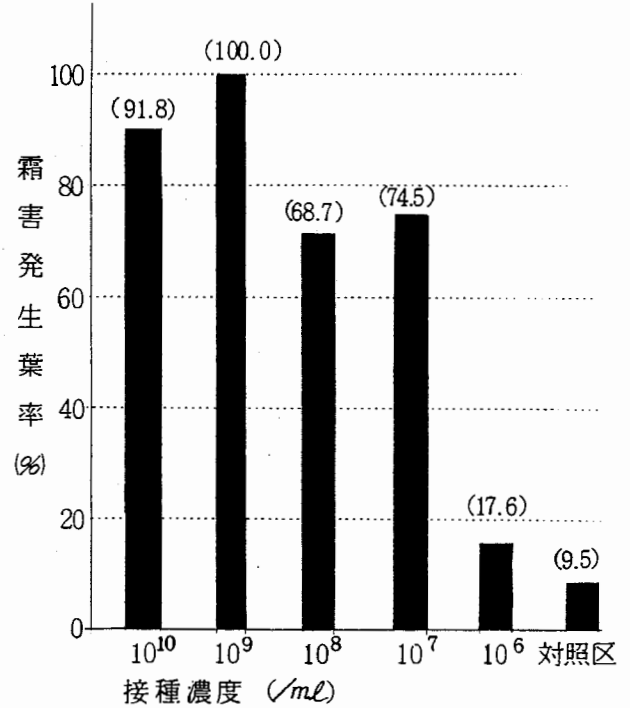


図2. 氷核活性細菌接種濃度と霜害発生

(供試菌 I 87-14、対照区 蒸留水噴霧)
処理温度、時間 $-3^{\circ}C$ 、15分10秒

(2) 接種濃度と霜害発生：現地の桑芽（遠野市・5月8日脱苞直前採取）から分離した氷核活性細菌（I 87-14）を供試して接種濃度と霜害発生率との関係を、 $-3^{\circ}C$ 下で15分10秒間処理した場合についての成績を図2に示した。

接種濃度 $10^6/ml$ では霜害発生率17.6%と低いが、 $10^7/ml$ では74.5%と高くなり高濃度になるにつれ霜害発生率が増加した。実際に野外条件下では、曇雨天、晴天、風等により桑の芽葉表面の氷核活性細菌濃度は変動しやすいと思われるが、菌数の増加する時期には局部的にかなり高濃度に分布し、桑葉の凍霜害発生と密接に関係するものと推察された。

(3) 菌株別による霜害発生：菌株別による霜害発生について、接種濃度 $10^8/ml$ 個で $-3^{\circ}C$ 、15分10秒間処理した結果は表2のとおりである。

表2. 菌株別による霜害発生

菌 株 No.	(採取場所)	霜害発生率	備 考
氷核活性細菌 I 87-13	(水沢市・蚕試)	79.1% (53/67 枚)	低温処理条件 $-3^{\circ}C$ 15分10秒 接種濃度 $10^8/ml$
I 87-14	(遠野市)	85.5 (47/55)	
S 8110-1	(農林蚕系試)	89.9 (62/69)	
非氷核活性細菌 I 87-10	(水沢市・蚕試)	14.8 (9/16)	
対 照 区	(D - H ₂ O)	9.5 (6/63)	

氷核活性細菌の I87-13 および I87-14 の両菌株ならびに S8110-1 (*Pseudomonas syringae* pv. *mori*・農林蚕糸試分譲菌) 菌株は霜害発生葉率 79.1% 以上となり、非氷核活性細菌の I87-10 菌株の 14.8% に比較し、霜害発生葉率に明らかな差が認められた。

摘 要

氷核活性細菌と桑の凍霜害発生との関係を明らかにするため、岩手県内桑園の芽葉に生息する細菌の氷核活性を調べるとともに、氷核活性細菌による霜害発生について 2、3 の実験を試みた。

1. 桑の芽・葉表面における氷核活性細菌の時期別分離状況：キングB培地上に検出される細菌は各時期とも白色集落を形成する集団が優勢であり、氷核活性細菌はこの集団に属していた。氷核活性細菌の分離率は季節的に変動し、春の5～6月は高く、8～9月は殆ど検出されず、10月に再び高くなった。
2. 氷核活性細菌による再発芽枝条の霜害発生：霜害発生のための温度を -5°C に設定して経過時間をみた場合、5分以上の処理で霜害発生葉率が高くなり、接種濃度では $10^7/\text{ml}$ 個以上で高くなった。菌株別では氷核活性の高い菌株は霜害発生葉率が高く、非氷核活性細菌に比較し、霜害発生に明らかな差異が認められた。
3. 以上のことから桑の芽葉に生息する氷核活性細菌は現地の桑園で低温遭遇時に凍霜害を増大させていることが示唆された。

文 献

- 1) 牧野孝宏 (1985) : 植物防疫、39(1)、14～17
- 2) 高橋幸吉 (1985) : 植物防疫、39(1)、8～13
- 3) 高橋幸吉・片桐幸逸・佐藤 守 (1982) : 日植病報、48(1)、77(講要)

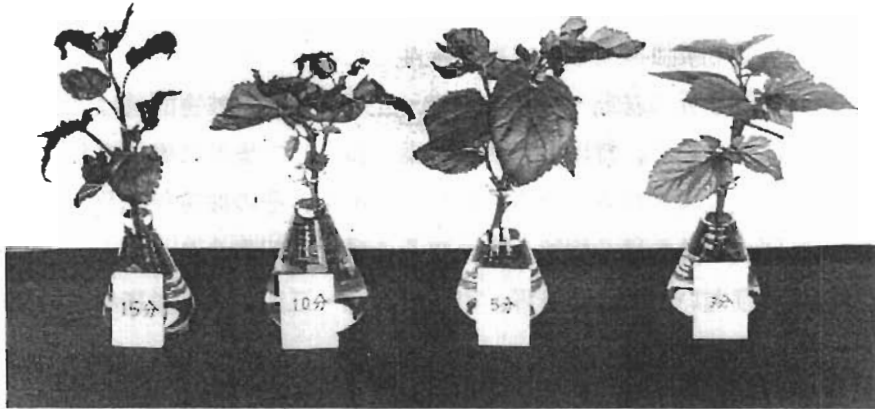


写真1 低温処理時間と霜害発生
 (接種濃度・約 $10^8/ml$ 、設定温度 $-5^{\circ}C$)



写真2 接種濃度と霜害発生
 (接種菌：187-14. $-3^{\circ}C$ 、15分10秒処理 $10^7/ml$ 以上で霜害多)