

人工条件下での氷核活性細菌による野菜の 凍害発生に及ぼす諸要因の影響¹⁾

後藤 孝雄・稲葉 忠興

(四国農業試験場)

後藤 正夫

(静岡大学農学部)

緒 言

作物が低温に遭遇すると凍霜害がおこり、大きな被害をもたらすことがある。凍霜害の発生に氷核活性細菌が関与している可能性は、MAKIら(1974)、ARNYら(1976)、LINDOWら(1978)によって報告されている。また、現在まで、氷核活性細菌として*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *P. syringae* pv. *coronafaciens*, *P. syringae* pv. *lachrymans*, *P. syringae* pv. *pisi*, *P. syringae* pv. *mori*, *P. fluorescens*, *P. viridiflava*, *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*, *X. campestris* subsp., *Erwinia herbicola*, *E. stewartii* (MAKIら, 1974; LINDOW, 1983b; 高橋ら, 1981; KIMら, 1987; 後藤ら, 1987; WEAVERら, 1978)が報告されている。

著者らは自然界から分離した氷核活性細菌*Xanthomonas campestris* subsp.を供試して、人工条件下での凍害発生に及ぼす諸要因、すなわち、培地の種類、培養日数、培養細菌の遠沈方法、細菌噴霧から低温処理までの期間、低温処理時の加湿の有無、菌濃度の影響について検討した。さらに、人工条件下で、氷核活性細菌*P. syringae* pv. *pisi*, *P. viridiflava*, *X. campestris* subsp.による各種野菜の凍害発生の実証試験を実施した。若干の結果を得たのでここに報告する。

実験材料および方法

1. 供試細菌

静岡大学で分離・同定し、小滴凍結法で氷核活性能力の高い、次の4菌株を供試した。*Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett 1916) Young, Dye & Wilkie 1978. [エンドウつる枯細菌病菌], *P. viridiflava* (Burkholder 1930) Dowson 1939. [ワサビの中心柱黒変根より分離], *Xanthomonas campestris* subsp. No. 1 菌株およびNo. 2 菌株 [茶新芽より分離。後藤ら, 1987]。

2. 供試植物

温室(23~25℃)内で、直径9cmのビニールポットで1株ずつ育成した次の野菜を試験に供試した。キャベツ(品種・翁、播種42~49日後、11~15葉期)、カブ(品種・金町小かぶ、播種31~35日後、6~9葉期)、ダイコン(品種・大蔵大根、播種28~36日後、7~12葉期)、ハクサイ(品種・あこがれ白菜、播種41~47日後、8~11葉期)、タカナ(品種・三池ちりめん高菜、播種91~99日

1) Factors affecting frost damage of vegetable crops by artificial spray of ice nucleation-active bacteria in a freezing chamber.

By Takao GOTO, Tadaoki INABA and Masao GOTO.

Proc. Assoc. Pl. Protec. Shikoku, No. 23: 47~55 (1988).

後, 6~9葉期), レタス (品種・シスコ, 播種51~60日後, 6~9葉期), タチチンジャ (品種・レッドファイヤー, 播種39~47日後, 8~10葉期), ホウレンソウ (品種・札幌大葉, 播種62~65日後, 11~17葉期)。

3. 細菌懸濁液の調整・噴霧法

供試細菌は肉エキス・ペプトン液体培地 (肉エキス10g, ペプトン10g, 塩化ナトリウム1.5g, 蒸留水1ℓ, pH 6.5~7.0) で室温下 (20~30℃) で2日間振とう培養した。培養液を1,100g, 15分間遠沈後, 沈澱を殺菌蒸留水に懸濁して細菌懸濁液を調整した〔菌濃度は, 分光光度計・UV-120-01 (島津製作所) で吸光度を0.3 (600nm) に調整して, 生菌数を $1\sim 6\times 10^8$ cfu/ml とした。〕。細菌懸濁液を小型加圧噴霧器で供試植物1株当たり10ml噴霧した。対照区は殺菌蒸留水を1株当たり10ml噴霧した。

4. 小滴凍結法による氷核活性能力の測定

低温恒温槽 (ユニエースU-10, 東京理化K・K) にメタノールを入れ, 液槽温度を -5°C または -10°C に設定した。メタノール溶媒上に市販のアルミホイル皿 (15cm×24cm) を浮かべ, その上に肉エキス・ペプトン液体培地で2日間静置培養 (時々攪拌) した細菌培養液を50μlずつ30滴置き, 30秒以内の凍結の有無を調査し, 凍結程度 (凍結した滴数×100/調査滴数) を算出した。

5. 低温処理による凍害発生程度の観察

細菌懸濁液または殺菌蒸留水 (対照区) を各種野菜の葉に噴霧し, 温室 (23~25℃) 内で16~24時間放置後, 各種野菜をポットごと凍害発生装置 (2.0m×3.0m, 高さ2.2m, 橋本製作所) に入れ, $-5\pm 1^{\circ}\text{C}$ で5~60分間低温処理した。本装置は超音波加湿器で低温処理時に加湿できるが, 一般の試験は無加湿で行った。低温処理した野菜は室温下で16~20時間放置後, 黒変萎凋した葉を凍害被害葉とし, 株ごとの凍害発生程度 (凍害発生葉率で表示した。凍害発生葉率=凍害発生葉数×100/全葉数) を算出した。

結 果

1. *Xanthomonas campestris* subsp. によるホウレンソウの凍害発生に及ぼす諸要因の影響

(1) 培地の種類

X. campestris subsp. No. 2 菌株を肉エキス・ペプトン液体培地, 諏訪液体培地 (グルタミン酸ソーダ2.0g, 第2リン酸カリ0.1g, 塩化マグネシウム1.0g, ショ糖5.0g, EDTA-Fe 1mg, 蒸留水1ℓ, pH 7.0) またはジャガイモ半合成液体培地 (ジャガイモ300g, 硝酸カルシウム0.5g, リン酸2ナトリウム2.0g, ペプトン5.0g, ショ糖20g, 蒸留水1ℓ, pH 6.8~7.0) で2日間振とう培養した。細菌懸濁液をホウレンソウ葉 (25~26株) に噴霧後, 60分間低温処理し, 凍害発生程度を調査した。また, 各培地での培養細菌の氷核活性能力を小滴凍結法 (-5°C または -10°C) で調べた。

結果は第1表に示した。凍害発生程度は肉エキス・ペプトン液体培地で最も高く, 次いで諏訪液体培地, ジャガイモ半合成液体培地の順であった。小滴凍結法による凍結程度は, -10°C ではないずれの培地でも高かったが, -5°C では肉エキス・ペプトン液体培地, 諏訪液体培地で高く, ジャガイモ半合成液体培地で低かった。以上の結果, 氷核活性細菌を肉エキス・ペプトン液体培地, 諏訪液体培地で培養すると, 凍害発生程度, 小滴凍結法による凍結程度が高いことが明らかとなった。

(2) 細菌の培養日数

X. campestris subsp. No. 2 菌株を2, 4, 8日間振とう培養後, 細菌懸濁液をホウレンソウ葉

第1表 培地の種類とハウレンソウの凍害発生程度
および小滴凍結法による凍結程度との関係^{a)}

| 液体培地の種類 | ハウレンソウの凍害 発生程度 (凍害発生葉率% ^{b)}) | 小滴凍結法による 凍結程度(%) | |
|-----------|---|---------------------|------|
| | | -5℃ | -10℃ |
| 肉エキス・ペプトン | 51.8 ± 29.4 | 72.0 | 100 |
| 諏訪 | 40.6 ± 33.7 | 70.0 | 100 |
| ジャガイモ半合成 | 28.1 ± 28.0 | 36.0 | 100 |
| 対照(殺菌水) | 1.0 ± 3.0 | 0. | 0 |

- a) 供試細菌は, *Xanthomonas campestris* subsp. No. 2 菌株。
b) 平均値±標準偏差。

第2表 細菌の培養日数とハウレンソウの凍害発生程度
および小滴凍結法による凍結程度との関係^{a)}

| 培養日数 | ハウレンソウの凍害 発生程度 (凍害発生葉率% ^{b)}) | 小滴凍結法による 凍結程度(%) | |
|------|---|---------------------|------|
| | | -5℃ | -10℃ |
| 2 | 73.8 ± 20.0 | 56.7 | 100 |
| 4 | 81.3 ± 15.6 | 86.7 | 100 |
| 8 | 48.8 ± 35.6 | 40.0 | 100 |

- a) 供試細菌は, *X. campestris* subsp. No. 2 菌株。
b) 平均値±標準偏差。

(各区48株)に噴霧し, 60分間低温処理して凍害発生程度を調査した。また, 培養細菌の氷核活性能力を小滴凍結法(-5℃または-10℃)で調べた。

結果は第2表に示した。凍害発生程度は4日間培養で最も高く, 次いで2日間培養であったが, 8日間培養では低かった。小滴凍結法による凍結程度は, -10℃ではいずれの培養日数でも高かったが, -5℃では4日間培養で最も高く, 次いで2日間培養であり, 8日間培養では低かった。以上の結果, 凍害発生程度, 小滴凍結法による凍結程度はいずれも4日間培養で高く, 次いで2日間培養であり, 8日間培養で低く, 両者の間に密接な相関があった。

(3) 細菌培養液の遠沈程度

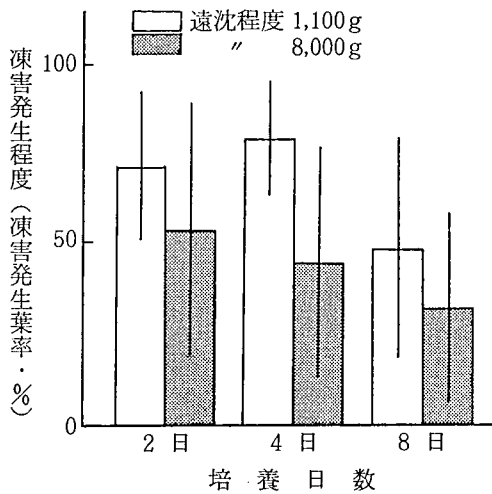
X. campestris subsp. No. 2 菌株を2, 4, 8日間培養後, 1,100 g 15分間または8,000 g 10分間遠沈した。それぞれの沈澱から細菌懸濁液を調整し, ハウレンソウ葉(各区48株)に噴霧後, 60分間低温処理し, 凍害発生程度を調査した。

第1図に示したように, 凍害発生程度はいずれの培養日数でも1,100 g 15分間遠沈で高かった。

(4) 細菌噴霧から低温処理までの日数

X. campestris subsp. No. 2 菌株の細菌懸濁液をハウレンソウ葉(各区48株)に噴霧し, 噴霧当日, 噴霧1, 3, 6日後に60分間低温処理した。第3表に示したように, 凍害発生程度は, 細菌噴霧当日に低温処理すると著しく低かったが, 噴霧1, 3, 6日後の低温処理ではいずれも高かった。

(5) 低温処理時の加湿の有無



第1図 細菌培養液の遠沈程度とホウレンソウの凍害発生程度との関係^{a)}

注) 図中の棒は平均値、縦線は標準偏差を示す。

a) 供試細菌は *X. campestris* subsp. No. 2 菌株。

第3表 細菌噴霧から低温処理までの日数とホウレンソウの凍害発生程度との関係^{a)}

| 細菌噴霧から低温処理までの日数 | ホウレンソウの凍害発生程度 (凍害発生葉率, % ^{b)}) |
|-----------------|--|
| 0 (噴霧当日) | 24.9 ± 32.2 |
| 1 | 68.6 ± 28.7 |
| 3 | 76.7 ± 58.6 |
| 6 | 64.3 ± 32.3 |

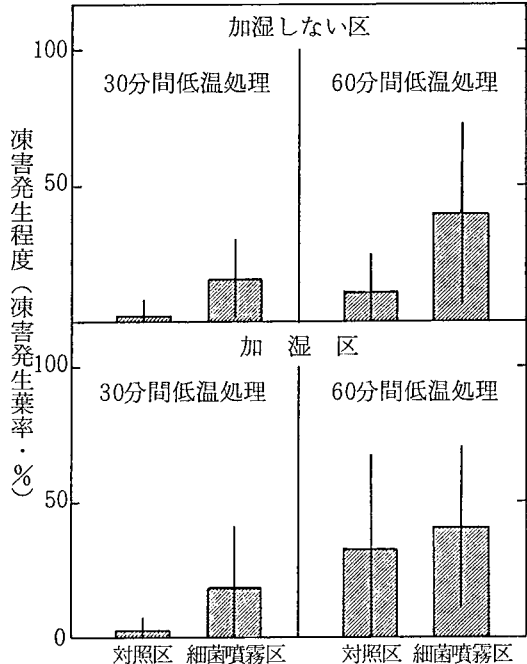
a) 供試細菌は *X. campestris* subsp. No. 2 菌株。

b) 平均値±標準偏差。

2. 菌濃度と野菜の凍害発生程度との関係

X. campestris subsp. No. 2 菌株を2日間振とう培養後、菌濃度が 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 cfu/mlの細菌懸濁液を調整した。ダイコン、キャベツ、タカナ、カブ(各区36~48株)の葉に細菌懸濁液($10^5 \sim 10^8$ cfu/ml)を噴霧後、60分間低温処理し、凍害発生程度を調査した。また、これらの細菌懸濁液の小滴凍結法による凍結程度を調査した。第3図に示したように、凍害発生程度はいずれの野菜でも菌濃度が $10^7 \sim 10^8$ cfu/mlで高く、 $10^5 \sim 10^6$ cfu/mlで低かった。一方、小滴凍結法による凍結程度は第4表に示したように、 $10^5 \sim 10^8$ cfu/mlで高く、 $10^3 \sim 10^4$ cfu/mlで低かった。

これらの結果から、菌濃度が 10^8 , 10^7 cfu/mlでは凍害発生程度、小滴凍結法による凍結程度はともに高いが、 10^6 , 10^5 cfu/mlでは小滴凍結法による凍結程度は高いが、凍害発生程度は低いこと

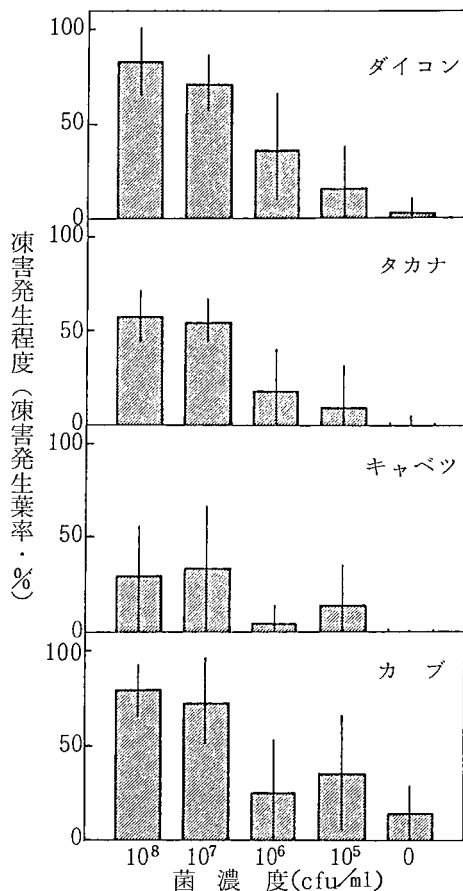


第2図 低温処理時の加湿の有無とホウレンソウの凍害発生程度との関係^{a)}

注) 対照区は殺菌蒸留水を噴霧した。図中の棒は平均値、縦線は標準偏差を示す。

a) 供試細菌は *X. campestris* subsp. No. 2 菌株。

X. campestris subsp. No. 2 菌株の細菌懸濁液をホウレンソウ葉(各区48株)に噴霧後、凍害発生装置の室内を加湿または加湿しない条件に設定して、30分間または60分間低温処理した。第2図に示したように、凍害発生程度はいずれの低温処理時間でも、加湿の有無による差がなかった。



第3図 菌濃度と各種野菜の凍害発生程度との関係^{a)}

注) 菌濃度0区は殺菌蒸留水を噴霧した。図中の棒は平均値、縦線は標準偏差を示す。

a) 供試細菌は *X. campestris* subsp. No. 2 菌株。

差はなく、いずれも高い凍害発生程度を示した。

考 察

氷核活性細菌 *Xanthomonas campestris* subsp. による人工条件下での凍害発生に及ぼす、培地の種類、培養日数、培養細菌の遠沈方法、細菌噴霧から低温処理までの期間、低温処理時の加湿の有無、菌濃度の影響について検討した。

本細菌を異なる3種類の培地で培養したところ、肉エキス・ペプトン液体培地、諏訪液体培地で凍害発生程度および小滴凍結法による凍結程度が高かった。LINDOWら(1978)は、氷核活性細菌 *Erwinia herbicola* を普通寒天培地または炭素源(2.5%グリセロール)を加えた普通寒天培地で培

第4表 菌濃度と小滴凍結法による凍結程度との関係^{a)}

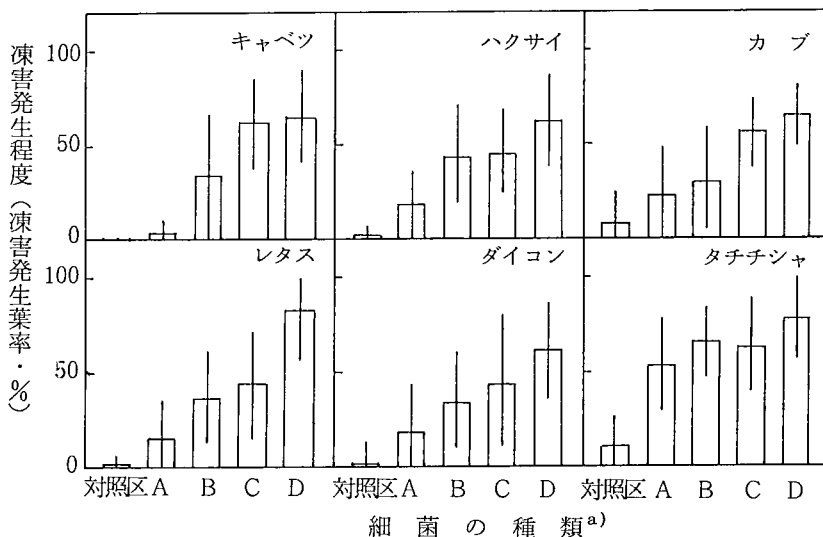
| 菌濃度 (cfu/ml) | 小滴凍結法による凍結程度(%) | |
|-----------------|-----------------|--|
| | -5℃ | |
| 10 ⁸ | 100 | |
| 10 ⁷ | 86.7 | |
| 10 ⁶ | 100 | |
| 10 ⁵ | 93.3 | |
| 10 ⁴ | 50.0 | |
| 10 ³ | 13.3 | |

a) 供試細菌は *X. campestris* subsp. No. 2 菌株。

が判明した。

3. 3種の氷核活性細菌による各種野菜の凍害発生実証試験

3種の氷核活性細菌 *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *P. viridiflava*, *Xanthomonas campestris* subsp. No. 1 菌株およびNo. 2 菌株の合計4菌株の細菌懸濁液をキャベツ、カブ、ダイコン、ハクサイ、レタス、タチチシャの葉(各区48~50株)にそれぞれ噴霧した。低温処理時間は、キャベツ30分間、カブ20分間、ダイコン10分間、ハクサイ15分間、レタス15~20分間、タチチシャ5~20分間とした。結果は第4図に示した。氷核活性細菌を噴霧すると、いずれの供試野菜でも凍害が発生した。キャベツ、カブ、ダイコン、ハクサイ、レタスの凍害発生程度は菌株間で差があり、*X. campestris* subsp. No. 1 菌株とNo. 2 菌株で高く、次いで *P. viridiflava* であり、*P. syringae* pv. *pisi* では低かった。しかし、タチチシャでは菌株間に



第4図 3種の氷核活性細菌による各種野菜の凍害発生程度

- a) 対照区は殺菌水を噴霧した。細菌の種類は、A : *Pseudomonas syringae* pv. *lisi.*, B : *P. viridiflava*, C : *Xanthomonas campestris* subsp. No.1菌株, D : *X. campestris* subsp. No.2菌株。図中の棒は平均値, 縦線は標準偏差を示す。

養すると、小滴凍結法による凍結程度は炭素源を加えた培地で高いことを報告した。また、牧野(1983)は茶から分離した氷核活性細菌(未同定の1菌株)を酵母エキス・ペプトン(YP)寒天および麦芽エキス・酵母エキス・ペプトン(MY)寒天で培養し、凍結温度を比較した。この場合、凍結温度は菌濃度によって異なり、菌濃度が高いと(10⁶/ml)両培地とも-2~-4℃であったが、濃度が低いと(10⁵/ml以下)MY寒天で-4℃、YP寒天で-8℃であった。このように、培地に含まれる栄養源の違いによって氷核活性能力が異なるようである。本実験に供試した肉エキス・ペプトン液体培地や諏訪液体培地では肉エキスやグルタミン酸ソーダなどの窒素源が多く含まれている。今後、栄養源の違いと氷核活性能力発現機構との関連についてさらに検討する必要がある。

培養日数によって、凍害発生程度、小滴凍結法による凍結程度が異なり、4日間培養で最も高く、次いで2日間培養、8日間培養の順であった。YANKOVSKYら(1981)は*P. syringae*と*E. herbicola*の小滴凍結法による凍結程度を対数増殖期(菌濃度2×10⁸ cfu/ml)と定常期(菌濃度1~4×10⁹ cfu/ml)で比較した。凍結程度は*P. syringae*では対数増殖期で、*E. herbicola*では定常期で高く、菌株によって異なることを報告した。本実験に供試した*X. campestris* subsp. は生育が遅いが、4日間培養では定常期と考えられ、本菌の場合、凍害発生程度および小滴凍結法による凍結程度はともに定常期で最も高く、次いで対数増殖期であると思われる。8日間培養では凍害発生程度および凍結程度がともに低かったが、菌の増殖下降が関与していると推定される。

凍害発生程度は、培養液の遠沈程度によって異なり、8,000 g 10分間遠沈より1,100 g 15分間遠沈で高かった。本実験では、遠沈後、菌濃度を10⁸cfu/mlに調整した。従って、凍害発生程度に差が生じた原因は、遠沈程度によって沈殿した細菌の性質が異なるためか、または8,000 g 10分間遠沈の沈殿に凍害発生を抑制する物質が含まれている可能性があり、今後、解明する必要がある。

LINDOWら(1978)ら *E. herbicola* をトウモロコシに噴霧し、低温処理時期と凍害発生程度および細菌の増殖量を調べた。低温処理時期が噴霧0～6時間後では凍害は起らないが、噴霧12時間後から増加し、36時間後ではすべての個体で凍害が発生した。また、細菌数は噴霧12時間後から増加することを明らかにした。本実験でも、凍害発生程度は細菌噴霧当日に低温処理すると著しく低く、噴霧1, 3, 6日後の低温処理で高かったが、これは細菌の増殖に伴って、凍害発生程度が高くなったためであろう。

低温処理時の加湿の有無と凍害発生程度との関連は *E. herbicola* で調べられている(LINDOWら, 1978)。この場合、菌濃度が 10^7 cells/ml以上では無加湿下で、 10^7 cells/ml以下では加湿下で高かった。本実験では、菌濃度が 10^8 cfu/mlと高かったが、加湿の有無によって凍害発生程度に差がなかった。このように、加湿の有無と凍害発生程度との関連は菌の種類によって異なるようである。

菌濃度と凍害発生程度、小滴凍結法による凍結程度との関係は *E. herbicola* で調べられた(LINDOWら, 1978)。トウモロコシの凍害発生程度は 2×10^8 cells/mlで高く、 2×10^5 cell/mlで低くかったが、凍結程度は $10^7 \sim 10^9$ cell/mlで高く、 $10^5 \sim 10^6$ cell/mlで低かった。また、ANDERSONら(1982)は *P. syringae* による凍害発生程度は 2×10^5 cells/ml以上で高く、 2×10^4 cells/ml以下で低く、小滴凍結法による凍結程度は $10^7 \sim 10^8$ cells/mlで高く、 $10^4 \sim 10^5$ cells/mlで低いことを報告した。本実験では、*X. campestris* subsp.によるダイコン、キャベツ、タカナ、カブの凍害発生程度は $10^7 \sim 10^8$ cfu/mlで高く、 $10^5 \sim 10^6$ cfu/mlで低かったが、小滴凍結法による凍結程度は $10^5 \sim 10^8$ cfu/mlで高かった。このように、小滴凍結法による凍結程度が高くても、凍害発生程度が低い場合もあり、両者の間に一定の相関関係が認められず、一般化することはできなかった。

P. syringae をトマト、キュウリ、カボチャ、マリゴールド、大麦に噴霧して、 $-2 \sim -10^\circ\text{C}$ で低温処理したところ、凍害発生程度は $-2 \sim -3^\circ\text{C}$ では全ての作物で低く、 $-4 \sim -6^\circ\text{C}$ では作物間で異なり、大麦で最も高く、カボチャ、マリゴールド、キュウリ、トマトの順に低くなり、 $-7 \sim -8^\circ\text{C}$ では全ての作物で高かった(LINDOWら, 1982)。本実験では、*P. syringae* pv. *pisi*, *P. viridiflora*, *X. campestris* subsp. No. 1およびNo. 2菌株の合計4菌株をキャベツ、カブ、ダイコン、ハクサイ、レタス、タチチシャの葉に噴霧し、 -5°C で低温処理した。細菌と作物のいずれの組み合わせでも凍害が生じたが、凍害発生程度はタチチシャ以外では菌株によって異なった。すなわち、キャベツ、カブ、ダイコン、ハクサイ、レタスでは *X. campestris* subsp. No. 1菌株、No. 2菌株で最も高く、次いで *P. viridiflora* であり、*P. syringae* pv. *pisi* で低かった。タチチシャでは4菌株間に大きな差はなかった。このように、菌の種類によって凍害発生程度が異なったが、今後、自然界における氷核活性細菌の種類、分布、菌密度について研究を進める必要がある。

摘 要

1. 氷核活性細菌 *Xanthomonas campestris* subsp. No. 2 菌株による、人工条件下でのハウレンソウの凍害発生に及ぼす諸要因の影響について検討した。

(1) 肉エキス・ペプトン液体培地、諏訪液体培地およびジャガイモ半合成液体培地で培養したところ、凍害発生程度は肉エキス・ペプトン液体培地で最も高く、次いで諏訪液体培地、ジャガイモ

半合成液体培地の順であった。小滴凍結法による凍結程度は、 -10°C ではいずれの培地でも高かったが、 -5°C では肉エキス・ペプトン液体培地、諏訪液体培地で高く、ジャガイモ半合成液体培地で低かった。

(2) 2, 4, 8日間培養したところ、凍害発生程度は4日間培養で最も高く、次いで2日間培養で、8日間培養では低かった。小滴凍結法による凍結程度は、 -10°C ではいずれの培養日数でも高かったが、 -5°C では4日間培養で最も高く、次いで2日間培養で、8日間培養では低かった。

(3) 2, 4, 8日培養後、1,100 g 15分間または8,000 g 10分間遠沈したところ、凍害発生程度は、いずれの培養日数でも、1,100 g 15分間遠沈で高く、8,000 g 10分間で低かった。

(4) 細菌懸濁液噴霧当日、噴霧1, 3, 6日後に低温処理したところ、凍害発生程度は噴霧当日では著しく低かったが、噴霧1, 3, 6日後では高かった。

(5) 低温処理時の加湿の有無を検討したところ、凍害発生程度には差がなかった。

2. *X.campestris* subsp. の菌濃度とダイコン、キャベツ、タカナ、カブの凍害発生程度および小滴凍結法による凍結程度との関係を調べた。凍害発生程度はいずれの野菜でも、菌濃度が $10^7\sim 10^8$ cfu/mlで高く、 $10^5\sim 10^6$ cfu/mlで低かった。小滴凍結法による凍結程度は $10^5\sim 10^8$ cfu/mlで高かったが、 $10^3\sim 10^4$ cfu/mlで低かった。

3. 3種の氷核活性細菌*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *P. viridiflava*, *X. campestris* subsp. No. 1 菌株およびNo. 2 菌株の合計4菌株とキャベツ、カブ、ダイコン、ハクサイ、レタス、タチチンヤの凍害発生程度との関係を調べた。いずれの供試野菜でも凍害が発生した。キャベツ、カブ、ダイコン、ハクサイ、レタスの凍害発生程度は菌株間で差があり、*X. campestris* subsp. No. 1 菌株およびNo. 2 菌株で高く、次いで*P. viridiflava*であり、*P. syringae* pv. *pisi* では低かった。しかし、タチチンヤでは菌株間に差がなく、いずれも高い凍害発生程度を示した。

引用文献

- ANDERSON, J. A., D. W. BUCHANAN, R. E. STALL and C. B. HALL (1982) : Frost injury of tender plants increased by *Pseudomonas syringae* van Hall. J. Amer. Soc. Hortic. Sci. 107 : 123 - 125.
- ARNY, D. C., S. E. LINDOW and C. D. UPPER (1976) : Frost sensitivity of *Zea mays* increased by application of *Pseudomonas syringae*. Nature 262 : 282 - 284.
- 後藤正夫, 稲葉忠興, 後藤孝雄 (1987) : 氷核活性を有する新しい*Xanthomonas*属細菌について, 日植病報 (講要) 53 : 408 - 409.
- 後藤孝雄, 稲葉忠興, 小谷晃, 後藤正夫, 東尾久雄 (1987) : 人工条件下での氷核活性細菌による各種野菜の凍害, 日植病報 (講要) 53 : 408.
- KIM, H. K., C. ORSER, S. E. LINDOW and D. C. SANDS (1987) : *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* strain active in ice nucleation. Plant Dis. 71 : 994 - 997.
- LINDOW, S. E., D. C. ARNY and C. D. UPPER (1978) : *Erwinia herbicola* : A bacterial ice nucleus active in increasing frost injury to corn. Phytopathology. 68 : 523 - 527.
- LINDOW, S. E., D. C. ARNY and C. D. UPPER (1982) : Bacterial ice nucleation : A factor in frost injury to plants. Plant Physiol. 70 : 1084 - 1089.
- LINDOW, S. E. (1983a) : Methods of preventing frost injury caused by epiphytic ice nucleation active bacteria. Plant Dis. 67 : 327 - 333.
- LINDOW, S. E. (1983b) : The role of bacterial ice-nucleation in frost injury to plants. Ann.

- Rev. Phytopathol. 21 : 363 - 384.
- MAKI, L. R., E. L. GALYON, M. CHANG-CHIEN and D. R. CALDWELL (1974) : Ice nucleation induced by *Pseudomonas syringae*. Appl. Microbiol. 28 : 456 - 460.
- 牧野孝宏 (1982) : 毛細管による細菌の氷核活性測定法とその応用。日植病報 48 : 452 - 457.
- 牧野孝宏 (1983) : チャ樹の芽圏細菌の氷核活性, 日植病報 49 : 32 - 37.
- Schnell, R. C., and G. Vali (1973) : World-wide source of leave-derived freezing nuclei. Nature. 246 : 212 - 213.
- 諏訪隆之 (1961) : イネ白葉枯病細菌の培地に関する研究。日植病報 (講要) 26 : 238.
- 高橋幸吉, 片桐幸逸, 佐藤守 (1982) : クワの凍霜害と細菌の氷核活性能力に関する研究(1) 1981年に多発した不発芽枝条について。日植病報 (講要) 48 : 77.
- WEAVER, D. J. (1978) : Interaction of *Pseudomonas syringae* and freezing in bacterial cancer on excised peach twigs. Phytopathology 68 : 1460 - 1463.
- YANKOVSKY, S. E., Z. LEVIN, T. BERTOLD and N. SANDLERMAN (1981) : Some basic characteristics of bacterial freezing nuclei. J. Appl. Meteorol. 20 : 1013 - 1019.

Summary

Ice nucleation-active bacteria, *Pseudomonas syringae* pv. *lisi*, *P. viridiflava*, *Xanthomonas campestris*, increased frost damage of cabbage (*Brassica oleracea* L.), turnip (*B. campestris* L.), Chinese cabbage (*B. campestris* L.), Japanese radish (*Rhaphanus sativus* L.), head lettuce (*Lactuca sativa* L.) and coss lettuce (*L. sativa* L.) when the leaves were sprayed with bacterial suspensions prior to low temperature (-5°C) treatment. Four plants, cabbage, turnip, Japanese radish and leaf mustard (*B. juncea* Czern et Coss.) which were sprayed with suspensions of *X. campestris* at a concentration of 10^7 to 10^8 cfu/ml showed a high level of frost damage, however those sprayed with a concentration of 10^5 to 10^6 cfu/ml showed a low level of damage. Factors affecting frost damage of spinach (*Spinacia oleracea* L.) when sprayed with a suspension ($1-6 \times 10^8$ cfu/ml) of *X. campestris* were tested. Among three media, the nutrient broth (NB), Suwa's medium (SM) and the potato-semi-synthetic medium (PSM), bacterial suspensions from NB and SM showed a high level of frost damage, whereas bacterial suspension from PSM showed a low level. The suspensions of 2- and 4-day-old culture showed greater frost damage than that of 8-day-old culture. Frost damage of the plants sprayed with bacterial suspension prepared from precipitate of 1,100g for 15 minutes was severe than that of 8,000g for 10 minutes. Frost damage of the plants kept in a freezing chamber for 1, 3 and 6 days after spraying with bacterial suspension was severe than immediately after spraying. There was no difference in the frost damage between the plants kept in a mist chamber during low temperature treatment and the plants kept in an ambient humidity chamber.