

イネモンガレ病菌の栄養生理に関する研究

第2報 培養基の種類及び要素欠培養について

吉村彰治・田原敬治

(農林省北陸農業試験場)

緒言 イネモンガレ病菌 *Corticium sasakii* (Shirai) MATSUMOTO はどのような培養基に良好な生育を示すか、また、基本培養基の或る組成を欠除することにより、どのような成分が本菌の培養上必要であるかについて知ろうとして下記のような実験を行ったのでその概要を報告する。

培養基の種類との関係 多数の培養基中より一般に使用されている後記培養基を選び、煎汁と合成培地の2つに分けて実験を行った。

A 煎汁培養基

〔実験材料及び方法〕 煎汁培養基の種類及び材料は第1表に示す通りであるが、煎汁は沸騰後弱火で30~40分煎じ、その濾過液を供試した。また、麴汁は米麴1kgと水2.5lの混合液を62~63°Cに24時間保ち、それを煮沸後濾過(ガーゼ3枚)し、その液を用いた。

麴汁の濃度は屈折計により24% (原液) と14%の2種類作成した。

第1表 煎汁培養基の種類及び材料

培養基の種類	材 料 名 及 び 量	水
馬鈴薯煎汁	馬 鈴 薯 200gr	1l
稲ワラ煎汁	稲 ワ ラ 100gr	1l
醬油汁	葱 頭 煎 汁 100cc 醬 油 50cc	850cc
菜豆煎汁	菜 豆 60gr	1l
人蔘煎汁	人 蔘 460gr	1l
玄米煎汁	玄 米 60gr	1l
大豆粕煎汁	大 豆 粕 50gr	1l
麴汁(原液)	麴 1000gr	2.5l
麴汁(稀薄)	原液をうすめたもの	

上記の要領で作成した各種煎汁を1フラスコ60cc宛5本に分注し、常法により高压殺菌を行い、2%蔗糖加用馬鈴薯寒天に5日間培養して形成された1~2mm大の菌核を移植し、1本は標準として移植せず、28°C定温

器内にて30日間培養し、その生育状態(乾燥菌体重菌核数等)を測定調査した。

〔実験結果〕 上記の方法により実験調査した結果を表示すると第2表の通りである。

第2表 煎汁培養基と菌の生育との関係

項目 種類	殺菌後 pH	濾 液 pH		濾 液 色 彩		菌体重 mg	菌 核		屈折計 濃度%
		無 培 養	培 養	無 培 養	培 養		大 小	数	
馬鈴薯煎汁	7.6	6.8	8.6	淡 黄	淡黄褐	124	中	56	2
稲ワラ煎汁	7.1	7.0	7.5	茶 褐	赤 褐	101	中	43	2
醬油汁	5.5	4.5	8.3	赤 褐	赤々褐	201	小	112	3
菜豆煎汁	7.4	7.3	8.6	淡 黄	淡黄褐	146	中	51	2
人蔘煎汁	5.9	5.8	8.1	黄 褐	赤 褐	501	小	105	4
玄米煎汁	8.9	7.4	6.7	淡 黄	淡赤褐	119	大	11	2
大豆粕煎汁	7.2	7.0	8.2	淡黄褐	淡赤褐	180	小	72	3

麴汁(原)	5.3	4.6	4.8	赤 褐	暗赤褐	3937	※	24
〃(稀)	5.6	4.8	4.3	赤 褐	赤黄褐	2390	※	14

注 ※菌叢が岩盤状を呈し、菌核、菌糸の区別困難

〔考察〕 供試した培養基8種類の間では、麴汁が菌の生育極めて良好で、他の7種類と異つた菌叢を作り、菌核或は菌糸層ともつかない岩盤状のものが形成された。

麴汁を除いた煎汁培養基7種類の間では人参煎汁が最も良い生育を示し、次いで醤油汁、大豆粕汁であつたが、人参煎汁の半分以下の生育であつた。他は菜豆煎汁、馬鈴薯煎汁、玄米煎汁の順に稍生育よく、稲藁煎汁は供試培養基中で最も悪い生育結果を示した。

菌核の形成は概して菌糸の生育量多いものに形成数多く大きさは逆に小さいのに対し、生育量の悪いものは、形成数が少く大きさは大きい傾向があつた。

培養基のpHは殺菌後と培養後を測定したのみで、培養中の変化はわからないが、菌移植前と培養濾液のpH

との間には、差のあるものがあり、麴汁においては殆んど差が認められないが、人参煎汁、醤油汁においては、酸性からアルカリに転化しており、その変化が大であつた。大豆粕汁、菜豆汁、馬鈴薯汁も概ね中性からアルカリに変化しているが、その変化の巾は前者程ではない。

携帯屈折糖度計による濃度との関係を見ると(この濃度は汁液中に溶解している固形物の含量を、その示す屈折率によつて、推定するものである)この濃度と菌叢の生育の間には、濃度の高い培養基程生育量が大きくなる傾向があるようである。

B 合成培養基

〔実験材料及び方法〕 合成培養基の種類及び組成分は第3表に示す通りである。

第3表 種類及び組成分

種類	成分												
	葡萄糖	NaNO ₃	K ₂ HPO ₄	MgSO ₄	KCl	KNO ₃	KH ₂ PO ₄	FeCl	FeSO ₄	NH ₄ NO ₃	酒石酸アンモニ	CaCl ₂	ペプトン
ツアベック	20	2	1	0.5	0.5				0.01				
リチャズ	20			2.5		10	5	数滴					
ペッフア	20			2.5			5			10			
コーン b					0.5		5				10		
ネーゲリイ			1	0.1							10	0.2	
ワクスマン	20			0.5			1						5
栃内・中野	20		0.5	0.5		2	0.5					0.1	
ツアベックードックス	20	3		0.5	1		0.5	痕跡					
見 里	澱粉	酵 エ キ ス	母 ス	単位 gr/l									
	10		2										

第4表 合成培養基と菌の生育との関係

種類	項目	殺菌後 pH	濾液 pH		濾液 色 彩		菌体重 mg	菌 核	
			無 培 養	培 養	無 培 養	培 養		大い さ mm	数
ツアベック		6.8	6.60	7.62		淡黄褐	193	3~4	29
リチャズ		4.4	4.42	6.55		淡 黄	469	4~5	84
ペッフア		4.3	4.38	5.24		淡 黄	513	4	17
コーン b		5.7	5.31	5.31			59	—	—
ネーゲリイ		7.0	6.79	6.73			45	—	—
ワクスマン		5.4	5.01	5.36	黄	明黄褐	824	5~6	41
栃内・中野		6.2	6.24	7.76		褐	368	2~3	30
ツアベックードックス		4.6	4.49	7.01		淡 黄	199	2~3	34
見 里		6.3	5.61	6.00		褐	295	1~2	54

上記の組成分の各種培養基を煎汁培養基と同様に処理し1~2mm大の菌核を植付け、25°C定温器内で30日間培養後、生育状態を測定調査した。

【実験結果】上記の方法により実験調査した結果を表示すると第4表の通りである。

【考察】合成培養基として供試した9種の培地を生育の良好であった順に並べると、ワクスマン、ペッフア、リチャズ、柄内・中野、見里、ツァベックードックス、ツァベックの順で、コーンb、ネーゲリイは最も生育が悪かった。

菌核形成は煎汁培養基におけるように一定の傾向は認められない。培養基のpHは培養前と培養濾液においては差が認められ、菌の発育と共に培地のpH値が高められるようである。しかし、煎汁培養基のような顕著な傾向は見られなかった。

菌叢の生育量と組成分の関係を見ると、最も良好であったワクスマンの組成は単純で、他と比較して、ペプトンが含まれており、これが影響したものと思われた。ペッフアとリチャズの組成は窒素源が異なるのみで、前者はNH₄NO₃、後者はKNO₃を同量使用しており、窒素の差異によって生育量に差が生じたものと思われた。ツァベックードックスとツァベックの組成分には大差なく、前者はKH₂PO₄0.5gr、後者はK₂HPO₄1grを用いて培養開始時のpH値に差異があり、前者は低く(酸性)後者は高い(中性)関係にあつたが、菌叢の生育量には殆んど差異が見られず、これら両者がペッフアまたはリチャズにおける生育量におよばないのは窒素源の量

または種類に関係するものではないかと察せられる。

最も生育量の少なくなかつたコーンb、ネーゲリイの両者は無窒素培養基と称されるもので、炭素源及び窒素源を欠しており、その為、他の供試培養基より、菌生育量において、不良な結果を得たものと思われた。

【要素欠培養基との関係】イネモンガレ病菌の生育に対し、培養基中のどのような成分が最も影響を与えるかを知らうとして次の実験を行った。

【実験材料及び方法】基本培養基をツァベックードックス氏液の2種(中性と酸性)とし、第5表に示す基本量により1~2要素を欠除した培養基を作成した。

第5表 基本培養基の組織

中性培養基		酸性培養基	
葡萄糖	20gr	葡萄糖	20gr
NaNO ₃	2	NaNO ₃	3
K ₂ HPO ₄	1	KH ₂ PO ₄	0.5
KCl	0.5	KCl	1
MgSO ₄	0.5	MgSO ₄	0.5
FeSO ₄	0.01	FeSO ₄	0.01
H ₂ O	1l	H ₂ O	1l

上記の基本量により作成した要素欠培養基は1フラスコ(200cc)中性40cc、酸性60cc宛とし、その他処理及び方法は前記実験(II)と同様に行つた。

【実験結果】上記の方法により実験調査した結果を表示すると第6、7表の通りである。

第6表 中性培養基の要素欠と菌の生育との関係

項目	殺菌後 pH	濾液 pH		濾液 色彩		菌体重 mg	菌核	
		無培養	培養	無培養	培養		大きさ mm	数
標準	6.65	7.48	6.29	無	淡黄褐	203	2	38.3
葡萄糖 欠	7.21	7.03	7.15	〃	淡黄	71	1	0.3
NaNO ₃ 欠	6.80	6.72	6.50	〃	淡褐	101	1	0.3
K ₂ HPO ₄ 欠	4.68	4.87	5.00	〃	無	100	1	2.7
KCl 欠	6.74	7.13	6.39	〃	淡黄褐	165	2	15.7
MgSO ₄ 欠	6.42	6.29	5.60	淡黄褐	〃	114	2	2.0
FeSO ₄ 欠	6.62	7.19	6.40	無	〃	168	2~1	16.3

第7表 酸性培養基の要素欠と菌の生育との関係

項目	殺菌後 pH	濾液 pH		濾液 色彩		菌体重 mg	菌核	
		無培養	培養	無培養	培養		大きさ mm	数
標準	4.6	4.7	7.2	無	淡糖	215	3~4	49.3
葡萄糖 欠	4.9	4.7	5.0	〃	無	62	1	1.3

NaNO ₃	欠	4.2	3.5	4.1	"	"	84	1	0.7
KH ₂ PO ₄	欠	4.2	3.5	4.1	淡 褐	淡 褐	105	2	2.3
KCl	欠	4.7	4.9	5.6	"	"	194	4	15.0
葡萄糖, NaNO ₃ 欠		4.4	3.7	4.0	無	無	86	—	—
葡萄糖のみ		4.6	4.7	3.6	"	"	84	—	—

〔考察〕 培養基中の一要素を欠除すると、第6, 7表に示した様に菌の発育は一般に悪くなる。即ち、菌の発育に対し最も影響が大きいのは炭素源としての glucose 欠除区で標準基本培養の約²/₃の生育量であつた。他の要素欠除は基本培養基の pH によつて、その影響の受け方は異なるが、NaNO₃ または 磷酸カリ 欠除区が次いで大きく影響を受ける。

酸性培養基において glucose と NaNO₃ を同時に欠除したものと NaNO₃ のみ欠除したものと殆んど同様な生育量を示し、glucose 欠除区よりやや優つた生育量を示したことは単に一要素のみの欠乏により菌の生育が支配されるものではないようである。

菌核形成は、両実験とも同一傾向を示し、いずれの要素欠除区においても形成数が少い、本実験の範囲内で最も影響の少くなかつた KCl 欠除区においても標準の半数以下で、他の要素欠除区では殆んど形成が認められなかつた。

論議 煎汁培養基と合成培養基とは実験を夫々別個に行い、培養条件(組成分及び量)が異なるので、両実験を通してどの培養基がイネモンガレ病菌の生育に好適であるかを比較するには少々難点があるが、供試培養基中では米麴汁培養基における生育が最も良く菌体重も圧倒的に多い。これは屈折糖度計の測定値からもわかるように麴汁は他の煎汁に比し、澱粉、デキストリン・アミロペクチン、マルトース等培養基中に溶解する固形物濃度が極めて高かつたこと及び含有されると予想されるアミロース、マルトース、アミロペクチンが生育に好影響をもたらしたものであらうと思われるが、これらの点については、今後さらに略々同様な糖度条件下における比較培養を行い検討する必要がある。麴汁に次いで生育の良かつたのはワクスマン合成培養基であるが、これは別途試験を実施した結果、含有ペプトンの影響が強くあらわれたものと考えられた。

次に、人蔘煎汁培養基も良好な生育を示したが、人蔘には内野・豊田⁽¹⁾が本菌の生育促進物質として報告したペクチン、澱粉、デキストリンの他ビタミン(カロチン、VB₁等)を豊富に含んでいるので、このような結果が得られたものであらう。醤油培養基は少々菌の生育は劣るが、供試培養基中では菌核(但し小形)を最も多数形成した。この点については逸見・横木⁽²⁾も同様な観察をし

ており、氏等は本菌が濃厚醤油培養基には生育せず、稀薄醤油培養基では菌糸の発育並びに菌核形成が多いことを報じている。また、本実験では稲藁煎汁及び玄米煎汁培養基が供試培養基中最も生育不良であつたが、これらの傾向も氏等の結果と同一傾向である。合成培養基中では前記ワクスマンを除きペッフア、リチャーズ、橋内・中野、見里、ツァベック培養基等は概して生育良好であつたが、窒素源の種類及び量によつて多少生育量に差を生じており、窒素源としては NO₃ 態窒素系のものが良好のようである。コーン b 及びネーグレイ培養基は生育最も悪く菌体重も最少値を示した。これは、本菌の生育栄養上不可欠の要素である炭素源及び窒素源を欠いたためによるものと思われる。

菌核の形成数については pH との関係は余りみとめられず菌糸の生育量と併行的な関係にあるように思われる。しかし、多少菌糸の生育が劣つても菌核形成数が多かつた醤油、ペッフア培養基の例外もあるので、培養基の成分及び培養中における pH の変化と菌核形成との関係については別に追試する必要がある。なお、菌核の大小と培養基の種類との関係は、煎汁培養基では麴汁を除き形成した菌核数の多いもの程小さい傾向があり、合成培養基ではその関係は明瞭でない。なお、ここで特に言及したいことは麴汁培養液表面上に大量形成されたカサブタ状の不規則扁平菌塊(岩磐状)である。この菌塊は普通に形成される菌核のように構造が緻密でなく甚だ粗でもろいが、おそらく菌核の一変形体であると思われる。一見して他の *Rhizoctonia* 菌のような感じの形状を示し、菌糸叢の生育量は菌塊のそれに比し極めて少い。即ち、培養中における生育経過をみると、フラスコ内で盛んに生育伸長した菌糸は培養液表面に充満し、空气中に押し上げられて直ちに褐色盤状の菌塊に変化する。これは供試麴汁が菌糸の生育特に菌核形成に極めて好都合な条件を与えたためではなからうかと推察された。この点については追つて検討する予定である。

菌の生育の培養液の pH の変化とは密接な関係にあることは幾多の研究報告によつても明かにされているところである。

本実験の範囲では、概して培養後の濾液の pH は培養前より高くなる傾向があるように思われたが、全く逆の傾向を示すものもあり一定でない。これは供試培養基の

組成が夫々異なること及びその成分に対する菌の代謝と酵素活性の至適 pH との関係から異つた傾向が示されたものであろう。

中性及び酸性のツァベック合成培養基を用い、組成の各種要素を欠除させて比較培養を行つた試験では、いづれも基本組成培養基に比し菌の生育は劣つたが KCl 及び FeSO₄ 欠除した要素の内では、炭素源としての glucose で菌の生育に対し最も大きな影響を与えた。この点は第1報⁽³⁾で報告した結果と全く同様である。但し、glucose のみでは菌の生育は不良であつた。次いで影響のあつたものは窒素源としての NaNO₃ 欠除区で磷酸欠除区も可なり生育は不良となる。本菌は第1報においても考察したように、先づ炭水化物代謝を急速に行い、ついで窒素代謝を行いつつ、磷酸代謝に移行するものと考えられるが、上記の結果はこれらの推定を裏書きするように思われる。しかし、本菌の培養基中における代謝回路並びに菌核形成機作と組成成分の変化及び pH 値の移動との関係についてはさらに追究すべき段階にあり、また、興味ある問題が多々あるが、追つて実験を行う予定である。

摘要 本報はイネモンガレ病菌の栄養生理につき、培養基の種類及び要素欠培養による必要成分の検索について実験を行つた成績の概要である。

- 1 供試培養基中では麴汁培養基が菌の生育に対し最もよい結果が得られた。
- 2 各種煎汁中では人蔘煎汁に良く生育し、醤油汁、大豆粕、菜豆煎汁、馬鈴薯煎汁、玄米煎汁は稍劣り、稲葉煎汁は最も生育不良であつた。
- 3 合成培養基ではワクスマンが最も生育良好で、ベッファ、リチャーズ、枋内・中野、見里の順に生育よく、ツァベックドックス、ツァベックは稍生育が劣つた。
- 4 無窒素合成培地コーン b 及びネーゲリイは本菌の生育最も不良である。
- 5 基本培養基の組成中、そのいづれか一つを欠除しても菌の生育は劣り、菌核形成数も減少するが、最も影響の大なるものは炭素源であり、次いで窒素源及び磷酸源であつた。

参 考 文 献

- 1) 内野一成・豊田榮 稲紋枯病菌の成長促進物質及び炭素源と生育との関係 日植病 23 (1), 1958
- 2) 逸見武雄・横木国臣 稲の菌核病に関する研究 (第1報) 農園 2 (9), (10), 1927
- 3) 吉村彰治 稲紋枯病菌の栄養生理に関する研究 (第1報) 九農研 15, 1955

研 究 紹 介

イモチ菌の毒素より見たイモチ病

(玉利勤治郎：稲熱病の生化学，新潟大報告 XI，昭34.より)

イモチ病に関する文献は限りもなく多いが、これは玉利氏が発見し、研究を続けているイモチ菌の毒素、ピリクラリンの面から見たイモチ病の姿である。今までとは異つた見るべき味のある文献である。

イモチ菌はピリクラリンとアルファーピコリン酸と云う2つの毒素を出す。その内特異なもので、力も強いものはピリクラリンである。ピリクラリンは菌の培養濾液に出る他、ズリコミを起した稲の中にもかなり多量に見出される。ピリクラリンを稲に作用させると、稲の呼吸作用が害され、根の障害が著しい。おそらく、これの作用機構は機能蛋白に結合作用するものであろうと見られている。ピリクラリンに対する稲の反応は品種によつてもかなり異り、一般に組織抵抗の強い品種では反応が速かに起るようである。イモチ菌に対する稲の抵抗性は菌侵入後の反応の速かなことによつて現わされる面が多いのであるが、生化学的にこれを見ると、菌の出すピリクラリンに対し、稲の方ではクロロゲン酸を出してこれに抵抗するもので、このクロロゲン酸の作用の速かなものに抵抗性の現われることは、解剖学的な所見と一致して

いる。

ピリクラリンはイモチ菌の産生した物質であるが、この物質に会うと、イモチ菌の胞子は著しく発芽が害される。よく調べて見ると培養液の中では、このピリクラリンと特殊な水溶性蛋白質とが結合しており、菌には無毒な形になっていることがわかつた。この菌には無毒の状態にある他の蛋白と結合体のピリクラリンは稲にはピリクラリンそのものと変りない毒性をもっている。

ピリクラリンとは多少異なるが、稲葉上の水滴がイモチ菌の発芽を促進することは前から知られているが、これを生化学的に研究を行つた。イモチ病にある程度弱い品種を用い、これを磨砕し、溜出液を求め、これに各種の処理をすると2つの物質がとれる。この内の1つは稲ワラによく似た強い香りをもっている。この物質にオリザコールと命名したが、これが、イモチ菌の発芽を促進する物質のように考えられる。

ピリクラリンもオリザコールも今後のイモチ病研究に役立つ面が少なくないであろう。(紹介者 小野)