

白絹病菌の菌核形成に及ぼす諸要素の影響

権藤 道夫・有村 光生・木原 大*

Effects of Various Factors on Sclerotial Formation of *Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi

Michio GONDO, Mitsuo ARIMURA and Hiroshi KIHARA
(Laboratory of Plant Pathology)

緒 言

本論文では白絹病菌の菌糸生育、ならびに菌核形成に大きな影響を及ぼすとされている、糖と thiamine の両物質をとりあげて、合成培養基中における両物質の濃度を個々単独に変化させ、あるいは両物質の培養基中における濃度比をさまざまに変化させて本菌を培養し、菌糸生育ならびに菌核形成の様相を観察した。

また培養基上において白絹病菌の菌糸に機械的損傷を加えると、その位置に菌核が形成されるという現象が報告されているが、本論文においてはその機械的損傷を加えた位置と菌核形成との関係を検討してみた。

最後に本菌自身が菌核形成に影響を及ぼすような物質を含んでいないかと、菌核抽出液中でその検索を試みたところ、菌核形成を促進する物質の存在が確認されたので報告する。なお、本研究は昭和42年度文部省総合研究費による「白絹病菌の土壤中における生態」の一部として行われたものである。

実験材料及び実験方法

本論文中の各実験に用いた菌株は九州大学農学部植物病理学教室保有の白絹病菌 (*Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi) を、当実験室で馬鈴薯蔗糖寒天培養基で純粋培養したものである。

また本論中の各実験で使用した培養基は次の二種類である。

1. 馬鈴薯蔗糖寒天培養基 (以後 PDA と略す。)
2. CZAPEK 液体 (あるいは寒天) 培養基 培養にあたっては上記の培養基を 1 kg/cm^2 20 分間加圧滅菌後、直径 90 mm のペトリ皿 (液体培養基の時は 100 ml 三角フラスコ) に 1 枚あたり 20 ml ずつ無菌的に分注し平板に固化後、培養基中央に供試菌を接種した。接種源には PDA で 28°C の定温器中で 4 日間培養した

* 鹿児島大学医学部付属熱帯医学研究施設古仁屋研究室

白絹病菌から、直径 9 mm のコルクボーラーで同一円周上より打ち抜いた菌叢 disc を用い、 28°C の定温器中で培養した。

測定は 24 時間間隔で菌糸がペトリ皿壁に到達するまで菌叢半径を測定し、それ以後は白い菌糸塊が淡黄色に帯色した時を 1 個の菌核として認め、その数を測定した。培養期間は特に記さない限り接種後 20 日間である。

1. 培養基中の sucrose 及びチアミン濃度と菌糸生育ならびに菌核形成との関係

培養基中の sucrose 濃度あるいはチアミン濃度を変化させた時の菌糸生育速度、菌体重、菌核形成の開始時期、菌核形成数、菌核 1 個あたりの乾燥重量などを測定し両物質の白絹病菌に及ぼす影響を検討した。

I—1. 培養基中の sucrose 濃度と白絹病菌との関係

前記 CZAPEK 培養基を基本培養基として thiamine 濃度は 0.5 mg/l とし、sucrose 濃度のみを変化させ白絹病菌の菌糸生育速度、菌体重、菌核形成数その他について検討した。

実験方法

(1) 菌体重との関係

CZAPEK 液体培養基の sucrose 添加量を培養基 1000 ml あたり 0, 10, 20, 30, 40, 50g の 6 段階に調整し、これらの培養基を 100 ml 三角フラスコに 50 ml ずつ分注し、常法どおり滅菌後供試した。接種源には、sucrose の影響をできるだけ少なくするため、また常法の飢餓操作では不都合を認めたので、 $1/2$ 濃度の PDA で 5 日間培養したもののより、直径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜いた菌叢 disc を用いた。接種後は 28°C の定温器中で 10 日間静置培養後、培養基面を覆った菌糸体を集め、各三角フラスコ毎に 100°C で 8 時間通風乾燥後その重量を測定した。

(2) 菌糸生育速度ならびに菌核形成との関係

CZAPEK 寒天培養基の sucrose 添加量を実験 (1) と同じように、培養基 1000 ml あたり 0, 10, 20, 30, 40, 50 g の 6 段階に調整して常法どおり滅菌後、直径 90 mm のペトリ皿 1 枚あたり 20 ml ずつ分注し水平に静置して固化後、平板培養基中央に 1/2 濃度の PDA で 28°C の定温器中で 5 日間培養したものより、直径 5 mm のコルクボーラーで同一円周より打ち抜いた菌叢 disc を接種した。接種後は 28°C の定温器中で培養し、菌糸がペトリ皿壁に達するまでは菌叢半径を測定し、それ以後は接種後 20 日目までは 24 時間間隔で菌核数を測定した。最終測定日(接種後 20 日目)に形成された全ての菌核を各濃度別に集め、100°C 8 時間通風乾燥させてその重量を測定した。

なお (1), (2) の実験をおこなうにあたっては 1 試験区にペトリ皿は 5 枚、三角フラスコは 3 本を使用し、2~3 回反復した。

実験結果

Table 1. は **CZAPEK** 液体培養基の sucrose 添加量を培養基 1000 ml あたり 0, 10, 20, 30, 40, 50 g の 6 段階に調整した培養基で 10 日間培養後の菌糸の乾燥重量である。sucrose 0 g/l 区では生育が非常に悪く、その乾燥重量を測定することができなかった。本実験の範囲では最高濃度区である 50 g/l 区が乾燥重量は最大で、三角フラスコ 1 本あたり 680 mg を示し、10 g/l 区では 250 mg を示し、その間の濃度区では sucrose 添加量が多い区のものほど菌体重は大であった。つまり sucrose 濃度が高い程、培養基上の菌体重は増加する結果を得た。

Table 1. Effect of sucrose on mycelial weight

| Sucrose (g/l) | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
|--------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| Weight of mycelium | — | 250 | 410 | 510 | 600 | 680 |

つきに実験 (2) の結果のうち sucrose 濃度と菌糸生育との関係を Fig. 1. に示し、Table 2. に sucrose 濃度と菌核形成の始まる時期との関係を示した。Fig. 1. の菌糸生育速度をみると 0 g/l 区を後述の理由により除外すると、10, 20 g/l 区の菌糸生育速度が最も大で、濃度が高まるほどその速度は小となり、本実験の範囲では最高濃度区である 50 g/l 区で発育が最も遅かった。しかし各区間の差はあまり大きいものではなく、接種後 1, 2 日目での菌糸の伸びの差は 2 mm で

Table 2. Effect of sucrose on the opening period of sclerotial formation

| Days of incubation | | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--------------------|----|---|---|---|----|----|----|----|
| Sucrose (g/l) | 10 | | | ● | ○ | | | |
| | 20 | | | | ● | ○ | | |
| | 30 | | | | △ | ○ | | |
| | 40 | | | | | ● | ○ | |
| | 50 | | | | | | △ | ○ |

- △ : Sclerotia found in a dish among 5 dishes
 ● : Sclerotia found in more than 3 dishes among 5 dishes
 ○ : Sclerotia found in all 5 dishes.

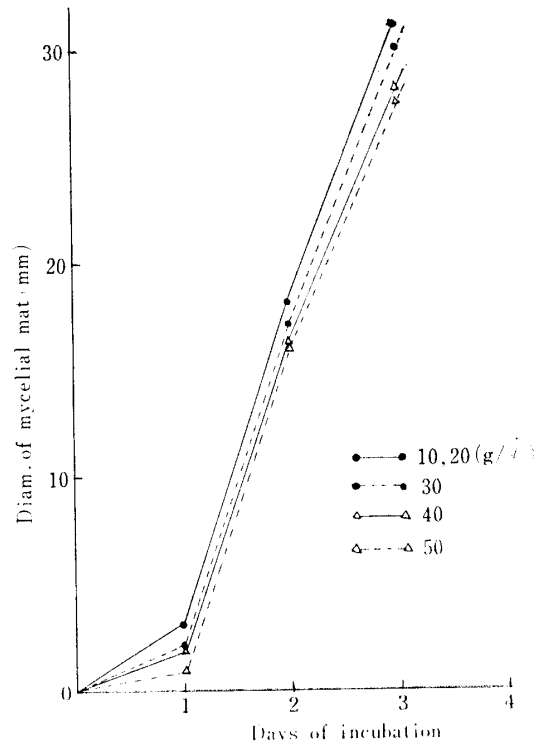


Fig. 1. Relation between concentration of sucrose and mycelial growth

あり、3 日目では 4 mm、4 日目には 10~50 g/l の全区とも菌糸はペトリ皿壁に達した。ここで 0 g/l 区についてみると菌糸は培養基面に一様な生育をしないで、接種源よりやや太い菌糸束になり、一部の菌糸束が、sucrose 添加区より 1 日遅れて接種後 5 日目にペトリ皿壁に達したが、ペトリ皿壁に達することのできない菌糸束もあり菌糸全体の伸びを測定することは不可能であった。したがって Fig. 1. には 0 g/l 区の菌糸の伸びは記していない (Plate 1. 参照)。

菌糸が培養基面を伸長して、ペトリ皿壁に達すると数日後、培養基面に白い菌糸塊を生じ、やがて淡黄色から茶褐色に帯色して菌核が形成されるが、その形成の始まる時期は Table 2. に示すように培養基中に sucrose の濃度によって差異がある。0 g/l 区でも菌核形成が認められたがその形成数、および 1 個あたりの乾燥重量に後述のような著しい差が認められ、他の添加区のものと同視できないので Table 2. から除外した。sucrose 添加区では 10 g/l 区が接種後 9 日目で同区 5 枚のペトリ皿のうち 3 枚以上に菌核形成が起り形成時期は最も早く、次いで 20, 30 g/l の両区が接種後 10 日目、40, 50 g/l 区が 11 日目であり、菌核形成が同じ日に始まったものでも sucrose 濃度が低い区の方が同濃度区の 5 枚のペトリ皿のうち、多くのペトリ皿で菌核形成が認められた。つまり sucrose 濃度が高まるとともに菌核形成の始まる時期は遅れる。

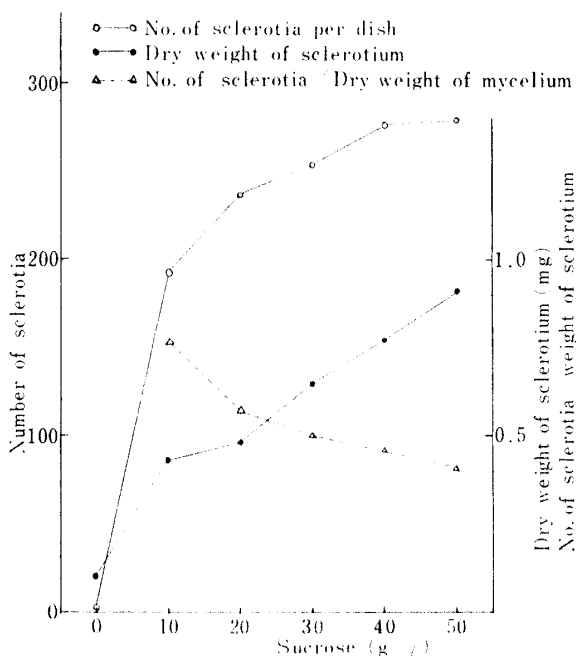


Fig. 2. Relation between concentration of sucrose and sclerotial formation

Fig. 2. に培養基中の sucrose 濃度と菌核形成数ならびに菌核 1 個あたりの乾燥重量との関係を示し、同時に各区の最終菌核数 (接種後 20 日目) の各濃度区の菌糸乾燥重量に対する比を併記した。

菌核数は sucrose 添加区の中では濃度が高まるとともに増加するが、40 g/l と 50 g/l 区では差が認められなかった。0 g/l 区では極端に菌核数は少なく、ペトリ皿あたり 1 個である。そしてその形も非常に小さかった。

各区の (菌核乾燥重量/菌核数) は濃度が高まると共に大となり、10 g/l 区では 0.42 mg であり、本実験では最高濃度区である 50 g/l 区では 0.91 mg である。40 g/l と 50 g/l 区では形成数には差がなかったが、その菌核 1 個の乾燥重量は 40 g/l 区では 0.76 mg で 50 g/l 区の 0.91 mg より軽い。

Fig. 2. には上記の結果の他に (菌核数/同濃度区の菌糸乾燥重量) を示した。それによると 10 g/l 区が約 0.75 で最も値が高く、20, 30, 40, 50 g/l の各区はそれぞれ約 0.6, 0.5, 0.45, 0.4 と濃度が高まるとともに減少している。0 g/l 区は菌糸生育不良で菌糸の乾燥重量が得られないので、除外した。

考 察

培養基中の sucrose 濃度と菌体重との関係については NAGATA²⁾ らは濃度が高まると増加し、50~100 g/l で菌体重は最大になると報告しており、HENISS³⁾ は sucrose の代わりに glucose を用いて実験し同様の結果を報告している。

本実験では sucrose 濃度を 0~50 g/l の間で変化させてその結果をみたが、上記の NAGATA らの結果とよく一致した。各区の菌体重の増加量を求めると、0 g/l 区の菌体重を 0 とすると、0~10 g/l, 10~20, 20~30, 30~40, 40~50 g/l の各区分はそれぞれ 250, 160, 100, 90, 80 mg ずつ増加しており、菌体重は濃度が高まるとともに増加するが、その増加割合は徐々に減少している。

一方、Fig. 1. の菌糸生育速度 (菌糸の伸び) は濃度が高まると遅れてくるが、これは sucrose 濃度が高まると菌体重も増加することからして、sucrose は白絹病菌の菌糸生育に対して伸長生長よりも肥大生長あるいは菌糸密度の増加を促進するような影響を及ぼすものと思われる。

Table 2. の菌核形成の始まる時期との関係は 0 g/l 区を除くと低濃度区の方が高濃度区より開始時期が早くなっているが、これは Fig. 1. に示した菌糸生育速度との関係と一致する。MEKHAIMER¹⁰⁾ は培養基面が菌糸によって完全に覆われて、菌糸の生育が物理的に制限されるまでは菌核形成は起こらないと報告しているが、本実験でも菌糸が培養基面を伸長してペトリ皿壁に達し、そこで菌糸の生育が物理的に制限を受けるのであろう。そしてこの物理的制限を受ける時期が、低濃度区の菌糸では生育が早いので早くなり菌核形成の開始時期も高濃度区においてより早くなるのであろう。ただし Fig. 1. に示したように、菌糸がペトリ皿

壁に達する時期は各区間で 24 時間以上の差は認められず同日内に到達しているのに対し、菌核形成開始時期では各区間で 1~3 日間の差を生じた。なお 0 g/l 区では菌糸が培養基面を覆ってしまうことはなく、またペトリ皿壁に到達するのは極く一部の菌糸であって、全体の菌糸が物理的に生育を制限されるということはない。ただし炭素源の不足により生育が制限を受けるが、菌核形成は少数であるが認められた。

糖濃度と菌核形成数に関して CURZI⁶⁾ は sucrose の代わりに glucose を用いた実験で、chinese aster より分離した菌株では glucose 30~40 g/l で形成数が最も多く、馬鈴薯から分離した菌株では 100 g/l で形成数が最も多かったと報告している。本実験では培養基中の sucrose 濃度が高まるとともに形成数は増加し、最高濃度区である 40, 50 g/l 区が最も多く、1 枚のペトリ皿あたりの菌核数で 10 g/l 区より約 100 個多かった。

このように菌核数は高濃度になると増加してくるが、単位菌体重あたりの菌核数は濃度が高まると Fig. 2. に示したように減少してくる。つまり濃度が高まると菌核数も、菌体重も増加し、(菌核数/菌体重) は本実験の最低濃度区である 10 g/l 区(ただし 0 g/l 区は除外する。)が 0.75 で最も大で、最高濃度区 50 g/l 区では 0.4 と 10 g/l 区の約 1/2 に低下する。これは sucrose が白絹病菌の菌体重を増加させるように影響するが、菌糸から菌核への分化に関してはあまり促進的な影響を及ぼしていないと思われる。

(菌核重量/同区の菌核数) は濃度が高まるととも大となり、形成数では差がなかった 40, 50 g/l 区でも、その値は 50 g/l 区の方が 40 g/l 区より大となる。これも sucrose が菌体重に対して促進的に作用したのと同様に、菌核重に対しても促進的な影響を及ぼすものと考えられる。また sucrose 無添加の 0 g/l 区(菌核重量/同区の菌核数) は 50 g/l 区の 1/10 程度であり、10 g/l 区の 1/4 以下と非常に小さくなる。しかし 0 g/l 区の菌核も 10~50 g/l 区の菌核と同じように、形成後 1 ヶ月目の PDA 上での発芽試験では 100% の発芽率を示した。

I-2. 培養基中の thiamine 濃度と白絹病菌との関係

CZAPEK 培養基を基本培養基として sucrose 濃度は 30 g/l とし、thiamine 濃度だけを 0~50 mg/l の間で変化させて、白絹病菌の菌糸生育速度、菌体重、菌

核形成数その他について検討した。

実験方法

(1) 菌体重との関係

CZAPEK 液体培養基の thiamine 添加量を培養基 1000 ml あたり 0, 0.005, 0.05, 0.5, 5, 50 mg の 6 段階に調整し、実験 (1) と全く同様の方法で実験、測定を試みた。

(2) 菌糸生育速度ならびに菌核形成との関係

CZAPEK 寒天培養基の thiamine 添加量を培養基 1000 ml あたり 0, 0.005, 0.05, 0.5, 5, 50 mg の 6 段階に調整し、実験 (2) と全く同様の方法で実験ならびに測定を試みた。

なお実験 (3), (4) を行うにあたっては 1 試験区にペトリ皿 5 枚、三角フラスコは 3 本使用し、2~4 回反復した。

実験結果

Table 3. は CZAPEK 液体培養基の thiamine 添加量を 0~50 mg/l の間で変化させた培養基で、28°C, 10 日間培養後の菌糸乾燥重量(以後菌体重と記す。)である。本実験の範囲では 0.05 mg/l 区の菌体重が最大で 1 本の三角フラスコあたり 520 mg を示し、以下 0.5, 5, 50, 0.005, 0 mg/l 区の順である。各区間の菌体重の差は 0~0.005, 0.005~0.05, 0.05~5, 0.5~5, 5~50 mg/l 区間ではそれぞれ、+190, +110, -20, -30, -10 mg である。

Table 3. Effect of thiamine on mycelial weight.

| Thiamine (mg/l) | 0 | 0.005 | 0.05 | 0.5 | 5 | 50 |
|-----------------------------|-----|-------|------|-----|-----|-----|
| Dry weight of mycelium (mg) | 220 | 410 | 520 | 500 | 470 | 460 |

つぎに実験 (4) のうち thiamine 濃度と菌糸生育速度との関係を Fig. 3. に示し、Table 4. に菌核形成の始まる時期との関係を示した。

Fig. 3. の菌糸生育速度との関係を見ると 0.5 mg/l 区での生育が最も大で、以下 5, 50, 0.05, 0.005, 0 mg/l 区の順である。しかし菌糸生育速度の各区間の差は 0 mg/l 区を除くと小で、接種後 1 日目で最大の区と小さな区との差は 2 mm, 2 日目で 4 mm, 3 日目で 2.5 mm であり、4 日目では 0 mg/l 区以外は全区ともペトリ皿壁に達した。0 mg/l 区では菌糸は接種源より 10 mm 位までは一様な密度で生育するが、

Table 4. Effect of thiamine on the opening period of sclerotial formation.

| Days of incubation | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--------------------|---|---|---|----|----|----|----|
| Thiamine (mg/l) | | | | | | | |
| 0.005 | | | | | | ● | ○ |
| 0.05 | | | | | ● | ○ | |
| 0.5 | | | | ○ | ● | | |
| 5 | | | | △ | ○ | | |
| 50 | | | | ● | ○ | | |

△ : Sclerotia found in a dish among 5 dishes
 ● : Sclerotia found in more than 3 dishes among 5 dishes
 ○ : Sclerotia found in all 5 dishes

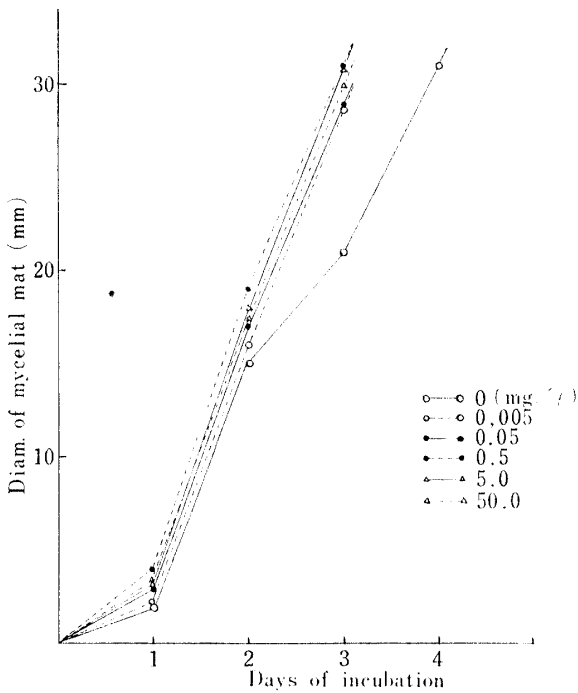


Fig. 3. Relation between concentration of thiamine and mycelial growth

それより外方へ向っては太い菌糸束になって生育し、他の区より1日遅れて接種後5日目にペトリ皿壁に達した。Fig. 3. に示したのはこの菌糸束の伸びであって菌糸全体のものではない。

菌糸がペトリ皿壁に達して数日すると、実験 I—1 で述べたように菌核形成が始まる。Table 4. に濃度と菌核形成開始時期との関係を示した。0 mg/l 区では20日間の培養期間中、菌核は1個も形成されなかった。他の各区では本実験の最低濃度区である 0.005 mg/l 区が最も遅く接種後12~13日目であり、次の

で 0.05 mg/l 区が遅く接種後 11~12 日目である。0.5, 5, 50 mg/l 区では菌核形成開始時期は接種後 10~11 日目で、ほとんど差はない。

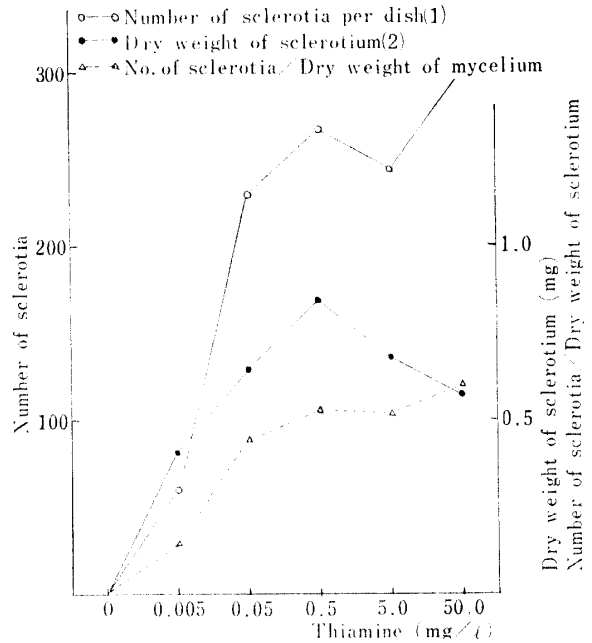


Fig. 4. Relation between concentration of thiamine and sclerotial formation

Fig. 4. に濃度と菌核形成数と(菌核乾燥重量/同区の菌体重)との関係を示し、同時に(最終菌核数/同区の菌体重)を示した。

菌核形成は 0 mg/l 区では起こらないことは前述した。0.005~50 mg/l 間では濃度が高まるとともに形成数は増加し、50 mg/l 区が1枚のペトリ皿あたり280個で最も多く、0.005 mg/l 区では60個で最も少なかった。

(最終菌核数/同区の菌体重)は濃度が高まると大きくなり、本実験の最高濃度区である 50 mg/l 区が 0.6 で最大であり、0.005 mg/l 区は 0.15 で 0 mg/l 区では 0 と最小になる。またその間の各区でも濃度の高い区ほど、その値は大きかった。

(菌核乾燥重量/同区の菌核数)は本実験の範囲では 0.5 mg/l 区が 0.85 mg で最大で、以下 5, 0.05, 50 mg/l がそれぞれ 0.68, 0.64, 0.59 mg であり、0.005 mg/l 区が 0.41 mg で最も小であった。つまり 0.5 mg/l 以上の濃度になると菌核形成数は増加するが、その1個あたりの重さはしだいに減少する。

考 察

thiamine 濃度と菌体重との関係について、PERLMAN⁴⁾ は *Sclerotium delphinii* で thiamine が 0.7

mg/l で最大となり、0.5 mg/l では菌体重はおよその1/2になると報告しており、NAGATA¹⁰⁾らは thiamine 濃度が高まるとともに菌体重が増加すると述べている。

本実験では 0.05, 0.5 mg/l で菌体重は最大になり、それ以下の濃度では菌体重は減少し、また 0.5 mg/l 以上の濃度ではその量は僅かではあるがやはり減少し、0 mg/l で最大菌体重の1/2になる。前述したが各区間 0~0.005, 0.00~0.05, 0.05~0.5, 0.5~5, 5~50 mg/l 区間の菌体重の差をみると、それぞれ +190, +110, -20, -30, -10 mg で 0~0.05 mg/l 区間で 300 mg 増加し、0.05~50 mg/l 区間で 60 mg 減少しておりその減少量が小であることが理解できる。

Fig. 3. に示した菌糸生育速度は 0 mg/l 区を除いた各区間ではあまり差がないが 0.5 mg/l 区が最も大で、以下 5, 50, 0.05, 0.005 mg/l 区の順であり、0 mg/l 区では本実験の結果で述べたように正常な生育様相を示さなかった。濃度と生育速度との関係は概して、濃度の高い区の方が低い区より生育は早くなるといえる。

また菌核形成の始まる時期についてみると 0.5, 5, 50 mg/l の各区間では差がなく、他の 0.5 mg/l 区以下の各区より早い。これは菌糸生育速度の大きな区(0.5, 5, 50 mg/l 区)では菌核形成の始まるのが早く、生育速度の小さな区(0.05, 0.005 mg/l 区)では菌核形成の始まるのが遅いといえる。このことについて MEKHAIMER¹⁰⁾は菌糸がペトリ皿壁に達して、物理的に生育が制限を受けるようになると菌核形成が始まると述べているが、本実験の結果では菌糸がペトリ皿壁に達する時と菌核形成の始まる時期との関係が一致すると考えられる。

濃度と菌核形成数との関係は Fig. 4. に示したように濃度が高まるとともに形成菌核数は増加し、無添加区では形成されない。菌糸が培養基面を覆うと、普通は白色菌糸塊を生じ、やがて淡黄色から茶褐色に帯色して菌核が形成されるが、この場合 0.005 mg/l 区では白い菌糸塊は帯色することなくその菌糸塊より更に新しく菌糸が伸長を始め、菌糸塊はほぐれてしまう(Plate I. 4~6 参照)この現象を以後説明の便宜上、「脱菌核現象」と仮称する。このような現象を起こすと第1回目に菌糸塊が形成された場所と別の場所(多くはペトリ皿壁の部分になる。)に再び菌糸塊を生じ、やがて帯色して菌核になる。そのため実際の菌核形成開始時期は基本培養基で培養した場合より、本実験で

は2~3日から、激しい場合には1週間位遅れる。菌核形成数も本現象を起した場合は減少し、本実験では基本培養基での形成数の1/5~1/100位にまで減少した。この現象は sucrose 30 g/l では thiamine が 0.005 mg/l 区以外では起こらないことからして、sucrose と thiamine の濃度的不均衡が原因であると思われる。

(菌核数/同区の菌体重)は濃度が高まるとともに増加する。脱菌核現象を起こすと菌核数が減少するので、この値も減少する。本実験では 50 mg/l 区では 0.6 で最大になり、0.005 mg/l 区では 0.15, 0 mg/l 区では 0 になる。

一方菌核重=(菌核乾燥重量/菌核数)は 0.5 mg/l 区が 0.85 mg で最大であり、50 mg/l 区は 0.6 mg であり、0.005 mg/l 区では 0.4 mg である。

以上の結果からして thiamine は白絹病菌に対して菌糸の伸長生長を促進し、菌糸から菌核への分化を促進する。しかし菌体重あるいは菌核重に関しては、ほとんど関係していないのか、あるいは高濃度ではむしろ抑制的な影響を及ぼしているものと思われる。ただしこの抑制作用は、thiamine が高濃度で菌核形成を促進した結果、培養基中の sucrose 量では不足な状態になった結果とも考えられる。また菌糸から菌核への分化には thiamine が必要であり、無添加では菌核形成は起こらない。そして培養基中の thiamine 濃度は sucrose 濃度と均衡が保たれる必要があり、もしそれが破れると脱菌核現象を起こし、菌核形成開始時期ならびに菌核形成数に強い影響を及ぼす。

I-3. 培養基中の sucrose と thiamine の濃度組合せと白絹病菌との関係

I-1. で sucrose の、I-2. で thiamine のそれぞれの白絹病菌に及ぼす影響を検討したが、本実験では培養基中の sucrose 濃度と thiamine 濃度を同時に変化させて、異った濃度組合せの培養基をつくり、白絹病菌の菌糸生育ならびに菌核形成に及ぼす影響について検討してみた。

実験方法

CZAPEK 寒天培養基の sucrose 添加量を培養基 100 ml あたり 0, 10, 30, 50 mg の4段階に、thiamine 添加量を同様に 0, 0.005, 0.5, 50 mg の4段階に変化させることにより、sucrose と thiamine の濃度の16種の組合せの培養基を作り、実験(2),(4)と全く同様の方法で実験を試みた。

実験結果

菌糸生育の様相は各区でそれぞれの特徴があるが、グラフ化あるいは図表化できないものもあるので以下 thiamine 濃度を中心にして sucrose の各濃度区別に菌糸生育の様相を述べる。

thiamine 無添加系列

sucrose 濃度 0 g/l: 菌糸は接種源より数本の菌糸束になって樹枝状に培養基面に、まばらに生育して、わずかの菌糸がペトリ皿壁に到達するだけである。ペトリ皿中央に非常に小さい菌核を数個形成した (Plate I. 1 参照)。

sucrose 濃度 10 g/l: 菌糸は接種源より 10 mm 位は様な密度で生育し、そこから外方はやや太い菌糸束になって生育しペトリ皿壁に達する。菌核形成は起こらなかった。

sucrose 濃度 30 g/l: 10 g/l 区と同様であるが、菌糸束の数が同区より多い。菌核形成は起こらない。

sucrose 濃度 50 g/l: 10 g/l 区と同様であるが、菌糸束の数が 30 g/l 区より多い。菌核形成は起こらない (Plate I. 2 参照)。

thiamine 0.005 mg/l 区系列

sucrose 濃度 0 g/l: thiamine 0 mg/l・sucrose 0 g/l 区より菌糸束が明確になり、一部の菌糸束がペトリ皿壁に到達する。ペトリ皿中央部に非常に小さい菌核が数個形成された。

sucrose 濃度 10 g/l: 菌糸は培養基面を様な密度で生育して、接種源より 25 mm 位の位置で接種後 9 日目頃比較的弱い脱菌核現象を起こした。菌核はペトリ皿壁でのみ形成され、培養基面には形成されない。

sucrose 濃度 30 g/l: 菌糸は培養基面を高い密度で生育し、接種源より 20 mm 位の位置で接種後 10 日目頃強い脱菌核現象を起こし、菌核形成は時期が遅れてペトリ皿壁でのみ極めて少数形成された (Plate I. 4 参照)。

sucrose 濃度 50 g/l: 菌糸は培養基面を高い密度で生育し、30 g/l 区より接種源に近い位置で接種後 10 日目頃強い脱菌核現象を起こし、菌核はペトリ皿壁でのみ時期が遅れて極めて少数形成された (Plate I. 5 参照)。

thiamine 0.5 mg/l 系列

sucrose 濃度 0 g/l: thiamine 0.005 mg/l・sucrose 0 g/l 区とはほとんど同じであるが、同区よりやや生育が良い。

sucrose 濃度 10 g/l: 菌糸は様な密度で培養基

面を生育しペトリ皿の蓋の部分にまで登り、菌核も培養基面から蓋の部分にも形成された。以後このような生育様相を示すものを「正常」とのみ記す (Plate I. 3 参照)。

sucrose 濃度 30 g/l: 正常

sucrose 濃度 50 g/l: 正常であるがやや菌糸密度が高い。

thiamine 50 mg/l 区系列

sucrose 濃度 0 g/l: 菌糸束が明確で各菌糸束はほとんど様な密度で生育してペトリ皿壁に到達する。培養基中央部に非常に小さい菌核が数個形成された。

sucrose 濃度 10 g/l: 正常

sucrose 濃度 30 g/l: 正常

sucrose 濃度 50 g/l: 菌糸は非常に高い密度でマット状になって培養基面を覆い、接種源の周囲で接種後 7 日目頃比較的弱い脱菌核現象を起したが、菌核形成の開始時期、形成数ともに正常なものと差は認められない (Plate I. 6 参照)。

Table 5. Effects of sucrose and thiamine on the opening period of sclerotial formation.

| Thiamine (mg/l) \ Sucrose (g/l) | 0 | 0.005 | 0.5 | 50 |
|---------------------------------|---|-------|------|------|
| 0 (g/l) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| 10 | — | 12—13 | 9 | 9—10 |
| 30 | — | 17—19 | 10 | 9—10 |
| 50 | — | 14—15 | 9—11 | 9—10 |

以上菌糸生育の様相を各区分に記述したが Table 5. に各区の菌核形成開始時期を接種後の日数で示した。thiamine 0 mg/l 区では菌核形成が起こらないので除外する。thiamine 0.005 mg/l 系列の各区は sucrose 0 g/l 区を除いた全ての区で脱菌核現象を起こしたため、他の thiamine 系列の区とくらべて 1～9 日間開始時期が遅れた。ただし thiamine 50 mg・sucrose 50 g/l 区でも脱菌核現象が起きたが、開始時期には影響がなく接種後 9～10 日目に始まっている。

Table 6. は各区の菌核形成数ならびに菌核 1 個あたりの乾燥重量である。菌核形成は thiamine 0 mg/l では起こらず、sucrose 0 g/l 区では各区とも 1 枚のペトリ皿あたり 3～4 個の微小菌核が形成された。

thiamine 0.005 mg/l 系列では培養基に sucrose を添加すると、脱菌核現象を起こし、基本培養基では約 150 個の菌核を形成したのに対して、sucrose 30 g/l 区は 2 個、50 g/l 区は 16 個、10 g/l 区は 71 個と減少している。thiamine 0.005 mg/l 系列以外各区

Table 6. Effects of sucrose and thiamine on the sclerotial formation.

| Sucrose \ Thiamine | (g/l) 0 | 10 | 30 | 50 |
|--------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| 0 (mg/l) | 4 * 0.10** | 0 0 | 0 0 | 0 0 |
| 0.005 | 3 0.11 | 71 0.457 | 2 — | 16 — |
| 0.5 | 4 0.09 | 98 0.575 | 170 0.882 | 220 0.894 |
| 50 | 4 0.13 | 146 0.475 | 213 0.662 | 223 0.932 |

* Number of sclerotia per dish

** Dry weight per sclerotium

では sucrose 濃度が高まるにつれ、また thiamine 濃度が高まるとともに、菌核形成数は増加している。なお sucrose 50 g/l・thiamine 50 mg/l 区でも脱菌核現象を起こしたが、菌核数は 223 個で全区中で最も多かった。

一方菌核 1 個あたりの乾燥重量は sucrose 0 g/l 区では各区とも 0.09~0.13 mg で最も小で、thiamine の同濃度系列内では sucrose 濃度が高まるとともに菌核重は大となり、sucrose の同濃度系列内では前述の 0 g/l 区を除けば、thiamine 0.5 mg/l 区が最も大きくなる。しかし sucrose 50 g/l 系列では thiamine 0.5 mg/l 区の菌核重は 0.894 mg で、50 mg/l 区の 0.932 mg より小である。この 50 mg/l 区の菌核は全試験区中で最も大きかった。

考 察

菌糸の生育様相をみると thiamine 0 mg/l 系列では接種源より 10 mm 位までは一様な密度で生育し、それより外方は菌糸束になって生育するので二重のリングができる (Plate I. 2 参照) のに対し、sucrose 0 g/l 系列では接種源よりすぐに菌糸束になるので (Plate I. 1 参照) リングは現われない。これは接種源中の残存 thiamine が利用されて、培養基中の sucrose を吸収し 10 mm 位は生育できるのに対して、sucrose 無添加では接種源中の残存 sucrose では菌糸の生長には絶対的な不足のため、全く生育できないものと思われる。すなわち菌糸の生育にとって、thiamine より sucrose の方がより大きな影響力をもつものと思われる。

thiamine 0.005 mg/l 系列では sucrose 無添加区を除いた全ての区で脱菌核現象を起した。この時

sucrose 10 g/l 区の脱菌核現象が、30, 50 g/l の両区より軽かった。これは脱菌核現象が thiamine 濃度と sucrose 濃度との不均衡によって起り、その現象の強弱までが両物質の濃度間の不均衡の程度の強弱によって支配されていると考えられる。菌核形成の開始時期はこの脱菌核現象の程度によって大きい影響を受け、現象の程度の軽い区では正常な区より 2~3 日遅れるだけで菌核数も正常な区の 1/2 位形成される。それに対して強い脱菌核現象を起こした時は、形成開始時期は 4~9 日程度遅れ、菌核数も正常な区の 1/100 位にまで減少する。thiamine 0.5 mg/l 系列では脱菌核現象は起らない。thiamine 50 mg/l 系列では sucrose 50 g/l 区で脱菌核現象を起こしたが、その起こる時期が早くまたその程度も軽かったため、菌核形成開始時期、形成数ともその影響はほとんど認められず、形成数は全試験区の中で最も多かった。

以上のような事実からして、培養基中において sucrose 濃度と thiamine 濃度に大きな差がある時 (ただし、どちらかの物質が 0 である場合は別として) は、菌核形成への分化は正常に起きて、その後いったん菌糸塊になったものがまた伸長を始めて菌核に成熟できないことになる。したがって白絹病菌が正常な生活史を完うするには、sucrose, thiamine の両物質は欠くことはできないが、ただその量が充分にありさえすれば良いというのではなく、両物質間には均衡が保たれる必要があるものと思われる。

脱菌核現象を起こさなかった区についてみると、各区は sucrose 濃度が高くなる場合、thiamine 濃度が高くなると菌核数は増加している。一方菌核 1 個あたりの乾燥重量は sucrose 0 g/l 系列では各区とも 0.09~0.13 mg で他の区の菌核に比し、非常に小さい。thiamine 同濃度系列内 (例 thiamine 0.5 mg/l 系列、その他) では、sucrose 濃度が高まるとともに菌核重は大となる。そして sucrose 同濃度系列内 (例 sucrose 30 g/l 区、その他) では、thiamine 0.5 mg/l 区の菌核重が大である。

以上の菌核数 および菌核重に対する両物質の影響は、実験 I—1, I—2 で検討した sucrose と thiamine のどちらか一方の濃度を变化させた場合の影響と全く同じである。

II. 菌糸の機械的損傷と菌核形成との関係

培養基上で白絹病菌の菌糸を切断すると、その位置に菌核が形成される⁸⁾ がその詳細は現在のところはほ

とんど不明である。本論文では菌糸を切断（以後 cutting と記す）することによって機械的損傷を加え、cutting の培養基上の位置と菌核形成との関係を検討してみた。

実験方法

(1) cutting 後の残存菌糸量と残存培養基の面積との関係

前記 PDA を常法どおり滅菌後、無菌的に直径 90 mm の普通ペトリ皿 1 枚あたり 20 ml ずつ分注し平板に固化後、培養基中央に前記と全く同じ方法で得た菌叢 disc を接種した。28°C の定温器で 5 日間培養後、下図 (A~C) のように菌糸ならびに培養基を切断除去した。その後残存する培養基と菌糸をペトリ皿ごと 120°C で 10 分間オートクレーブして培養基を溶解させ、続いて沸騰している湯の中で菌糸体を数回洗滌して残っていた培養基を除去した。最後に培養基を除去した菌糸体のみを各ペトリ皿別に 100°C で 8 時間通風乾燥し、その重量を測定した。また cutting 後の残存培養基の面積は接種源より cutting 位置までの距離 (cm) を 2 乗して表示した。

なお本実験で cutting 処理を行う際は半径 10, 20, 30 mm の金属製リングを用いて行い、1 区に 5 枚のペトリ皿を使用し反復していない。

(2) cutting と菌核形成との関係

実験 (1) と全く同様の方法で PDA で白絹病菌を

培養し、接種後 5 日目に実験 (1) と同じく 3 種類の大きさの金属製リングを用いて下図 (A~C) のように cutting を加えた。cutting 処理後さらに 15 日間 28°C の定温器中で培養を続け、cutting 面に形成された菌核数を測定した。本実験には 1 区 5 枚のペトリ皿を用い 4 回反復した。

A型 cutting

斜線部分が cutting 処理後の残存菌糸と培養基をあらわし、cutting は接種源より 10, 20, 30 mm の各位置で処理した。

B型 cutting

斜線部分が cutting 処理後の残存菌糸と培養基をあらわし、cutting の位置は A 型 cutting に同じ。

C型 cutting

斜線部分が cutting 処理後の残存菌糸と培養基をあらわし、cutting は接種源より 10 mm と 20 mm, 10 mm と 30 mm, 20 mm と 30 mm の各位置で 1 区で 2 カ所処理した。

実験結果

Table 7. は A, B, C 各型の cutting 処理を接種源より 10, 20, 30 mm の各位置で行った後、残存する菌糸の量と培養基の面積比との関係である。A 型 cutting を 10 mm の位置で行った区の菌糸乾燥重量を 1 として各区の菌糸乾燥重量との比を求めると、A 型 cutting を 10 mm の位置で行った区の残存培養基の面積を 1 とした時の各区の培養基の面積比とよく一致する結果を得た。したがって本論文では cutting と菌核形成との関係をみるために、各区で形成された菌核数を処理する際に菌糸量を必要とする場合はこの培養基の面積比を用いた。

Table 7. Relation between area of medium and weight of remaining mycelium after cutting.

| Cutting type | Dry weight of mycelium (mg) | Ratio of mycelial weight | Ratio of area of medium |
|--------------|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|
| A-10 | 35 | 1.0 | 1 |
| A-20 | 130 | 3.7 | 4 |
| A-30 | 285 | 8.1 | 9 |
| B-10 | 520 | 14.9 | 15 |
| B-20 | 425 | 12.1 | 12 |
| B-30 | 238 | 6.8 | 7 |
| C. 10-20 | 82 | 2.3 | 3 |
| C. 10-30 | 228 | 6.5 | 8 |
| C. 20-30 | 145 | 4.1 | 5 |

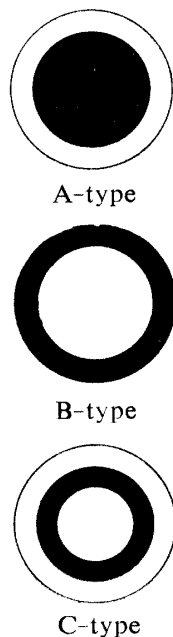


Fig. 5. Types of cutting
Black area: remaining part after cutting.

Table 8. は A 型 cutting を接種源より 10, 20, 30 mm の各位置で行った際、各区の cutting 面に形

Table 8. Effect of A-type cutting on sclerotial formation

| Position of cutting (mm) | 10 | 20 | 30 |
|---|----|-----|-----|
| Number of sclerotia formed | 3 | 15 | 33 |
| Length of cutting surface | 1 | 2 | 3 |
| Number of sclerotia/length of cutting surface | 3 | 7.5 | 11 |
| Dry weight of mycelium | 1 | 4 | 9 |
| Number of sclerotia/mycelial weight | 3 | 3.8 | 3.7 |
| Value of sclerotium formation* | 3 | 1.9 | 1.2 |

* $\frac{\text{Number of sclerotia}}{\text{Length of cutting surface} \times \text{dry weight of mycelium}}$

Table 9. Effect of B-type cutting on sclerotial formation

| Position of cutting (mm) | 10 | 20 | 30 |
|---|-----|-----|------|
| Number of sclerotia formed | 11 | 26 | 38 |
| Length of cutting surface | 1 | 2 | 3 |
| Number of sclerotia/Length of cutting surface | 11 | 13 | 12.7 |
| Dry weight of mycelium | 15 | 12 | 7 |
| Number of sclerotia/mycelial weight | 0.7 | 2.2 | 5.4 |
| Value of sclerotium formation | 0.7 | 1.1 | 1.8 |

Table 10. Effect of C-type cutting on sclerotial formation

| Position of cutting (mm) | 10 | 20 | 10 | 30 | 20 | 30 |
|---|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Number of sclerotia formed | 3 | 10 | 4 | 23 | 6 | 16 |
| Length of cutting surface | 1 | 2 | 1 | 3 | 2 | 3 |
| Number of sclerotia/length of cutting surface | 3 | 5 | 4 | 7.7 | 3 | 5.3 |
| Dry weight of mycelium | 3 | 3 | 8 | 8 | 5 | 5 |
| Number of sclerotia/mycelial weight | 1 | 3.3 | 0.5 | 2.9 | 1.2 | 3.2 |
| Value of sclerotium formation | 1 | 1.7 | 0.5 | 1.0 | 0.6 | 1.1 |

成された菌核数、各区の cutting 面の長さとして同区の菌核数を割った値、各区の菌糸量として同区の菌核数を割った値、そして (cutting 面の菌核数/cutting 面の長さ×菌糸量) (以後菌核形成価と記す) を示し、Table 9, 10. も同様の方法でそれぞれ B 型, C 型 cutting を行った時の各位置の cutting 面での値である。

A 型 cutting では 10 mm の位置で cutting すると菌核が 3 個形成され、20, 30 mm ではそれぞれ 15 個, 33 個形成された。同様に B 型では 10 mm では 11 個, 20, 30 mm ではそれぞれ 26, 28 個の菌核が cutting 面に形成された。一方 C 型 cutting は A 型, B 型と違って 1 区に 2 つの位置 (10 mm と 20 mm, 10 mm と 30 mm, 20 mm と 30 mm) で cutting を行ったが、全区とも外方の cutting 面の方が内側の cutting 面より菌核形成数が多かった。

次に (菌核数/cutting 面の長さ) は A 型では cutting を行った位置が 30 mm の区がその値が最も大で、20 mm 区, 10 mm 区と cutting の位置が内方に向うとともに低下した。それに対して B 型では各区间に大きい差はなくほとんど同じ値を示した。C 型では

外方の cutting 面の方が内方の cutting 面での値より大きく、10—30 mm で cutting を行った区で両 cutting 面での値の差が最も大きく 3.7 であり、10—20 mm, 20—30 mm で cutting を行った区でその差はそれぞれ 2 と 2.3 でほぼ同じ値であった。

また (菌核数/菌糸量) は A 型では 10, 20, 30 mm の各位置で cutting を行った各区でそれぞれ 3, 3.8, 3.7 になり、B 型ではそれぞれ 0.7, 2.2, 5.4 になった。C 型では A, B 型と違って同一区で 2 つの位置で cutting 処理を行ってあるので、A, B 型と同様の比較は不可能であり、各位置での値の関係は各位置の菌核形成数の関係と同じである。

最後に菌核形成価をみると、A 型では cutting の位置が外方に向うとともにその値は小さくなり、10, 20, 30 mm での値はそれぞれ 3, 1.9, 1.2 であり、B 型では A 型とは逆に外方に向うとともに大きくなり、10, 20, 30 mm での値はそれぞれ 0.7, 1.1, 1.8 である。一方 C 型では各区とも外方の cutting 面の方が内方の cutting 面での値より大きく、各区ともほぼ内側の値の 2 倍になっている。

考 察

A, B, Cの各 cutting 型の cutting 面における菌核形成価(菌核数/cutting 面の長さ×菌体重)をみると, A型 cutting では cutting 位置が接種源から遠ざかると低下している. 換言すれば, cutting 処理後の残存菌糸の長さが長い区ほど菌核形成価が低下するということである.

またB型 cutting では cutting 位置が, ペトリ皿壁から遠ざかるにつれて菌核形成価が低下している. 換言すればA型 cutting の場合と同様に, cutting 処理後の残存菌糸の長さが長い区ほど菌核形成価が低下するということである. その関係をグラフで示すと Fig. 6. のようになる.

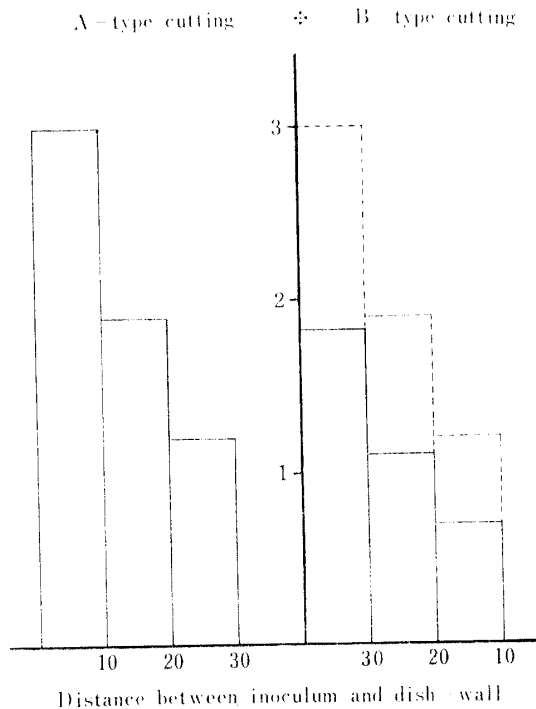


Fig. 6. Value of sclerotium formation
 * $\frac{\text{Number of sclerotia on cutting surface}}{\text{Length of cutting surface} \times \text{Quantity of mycelium}}$

今, 培養基上で cutting を加えない場合の菌核形成の様相を観察してみると, 一般に菌核はペトリ皿の周辺部ではほとんど形成され, 中央部ではあまり菌核形成は起こらない. このとき, 菌糸はどの位置でも同じ量の菌核形成能力を有していると考え, 菌糸はその先端部から接種源の方向に, ある菌核形成抑制作用を受けていることになる.

A型 cutting を 10 mm 位置で加えた時(以後A-10と書き, 他の区も同様に記す.)と B-30区は, と

もに cutting 処理後 10 mm の菌糸を残しており, 抑制力の強さは同じになるはずである. したがって両区の菌核形成価は同じ値を示すべきであるが, 実験の結果では A-10区は 3であり, B-30区は 1.8である. ここで両区をそろえるためにB型 cutting の各区の菌核形成価を, それぞれ 3/1.8倍すると B-10区は 1.17, B-20区は 1.83, B-30区は 3になり, それと対応するA型 cutting の各区のそれぞれの菌核形成価 1.2, 1.9, 3と非常によく一致する. このことから菌糸に作用していると考えられる菌核抑制力は, 菌糸先端部の方が接種源の方より強いものと思われる.

cutting 処理を加えるということは, 菌糸に作用していると思われるこの菌核形成を抑制するような力を減少させることになり, その結果, 本来ならば菌核形成のほとんど起こらないような位置でも処理すれば菌核が形成されるのではなかろうか.

またC型 cutting についてみると C-10-20, C-20-30, C-10-30 区のそれぞれの cutting 面における菌核形成価は 1-1.7, 0.5-1.0になる. つまり 10-20 mm, 20-30 mm の各位置で cutting を加えたということは, 菌糸をそれぞれ 10 mm 残していることであり, 10-30 mm での cutting は 20 mm 残すということである. そしてこの時の各区の外側 cutting 面での菌核形成価は 10-20, 20-30, 10-30 区ではそれぞれ内側 cutting 面での 1.7倍, 1.82倍 2.0倍であり, 菌糸を長く残した区の方が大きい倍率を示す. これは内側 cutting 面の方が外側 cutting 面より強い菌核形成抑制作用を受けていて, しかもその作用は菌糸が長い程強くなるためと思われる.

以上のことより HENIS⁹⁾ 等の報告した cutting 現象とは, 本実験では, cutting 処理を加えることにより菌糸先端部より接種源の方向へ作用していると考えられる菌核形成抑制作用を減少させることになり, その結果として cutting 面で菌核形成が起きたと考えられる.

III. 菌核抽出物と菌核形成との関係

白絹病菌は菌糸が培養基全面をおおい, ペトリ皿の器壁に到達し数日を終ると菌核形成を始めるが, この時菌核形成のための何かある物質が菌体内で合成されるのではないか. さらにこの合成された物質は菌核内に貯えられているのではないか. という想定のもとに菌核抽出物を白絹病菌に作用させてみたところ, 菌核形成を促進する物質の存在が確認された. しかしその物質は菌核形成の際に新しく合成されたものか, あ

るいは菌糸がもともと体内にもっていたものか、またその物質はいったいかなる物質であるかなど多くの疑問が残されている。

実験方法

(1) 菌核の抽出

PDA 上に形成された白絹病菌菌核を鮮重で 25 g 採集し、適量の硬質ガラス粉（直径 0.5 mm 以下）とともに乳鉢中で完全に磨砕後、10 倍量（250 ml）の蒸留水を加えよく攪拌した。その懸濁液（250 ml）を 200 ml 三角フラスコに 50 ml ずつ分注し、35°C で 1 分間 50 往復の速度で 24 時間振とうした。その後各液を集め 3000 r.p.m で 20 分間菌核磨砕物を遠心沈澱させ、その上澄液を集めた。更にその上澄液を 3 倍量に蒸留水で稀釈して 0.45 m² の滅菌用ミリポアフィルターで吸引濾過して抽出液より除菌した。この除菌抽出液を供試した。

(2) 抽出液の培養基への混入

後記の高濃度 PDA を調整して、1 kg/cm² 20 分間高圧滅菌後、直径 50 mm の小型ペトリ皿 1 枚あたり、高濃度 PDA と抽出液とを 6 : 2 の割合でよく攪拌したものを 8 ml ずつ分注し、平板に固化させた。また対照として抽出液の代わりに殺菌蒸留水を同様の割合で高濃度 PDA に混入したものをを用いた。接種源は通常どおり、普通濃度の PDA で 28°C 4 日間培養したものから直径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜いた菌叢 disc を用い、接種後 20 日間 28°C の定温器中で培養し、24 時間々隔で菌叢半径ならびに菌核形成数を測定した。また本実験では菌核抽出液には 50°C 以上の熱は加えないよう注意した。

(3) 濾紙による実験

直径 50 mm の小型ペトリ皿 1 枚あたりに滅菌した普通濃度 PDA を 8 ml ずつ分注し平板に固化させた。次に東洋濾紙の No. 2 を直径 50 mm の円形に切り抜き 140°C で 40 分間乾熱滅菌し、滅菌した直径 90 mm のペトリ皿に濾紙が充分沈むだけの菌核抽出液あるいは殺菌蒸留水を入れ、その中に上記の濾紙を没して抽出液あるいは殺菌蒸留水を充分吸収させて培養基表面に敷いた。その濾紙を敷いた培養基中央に実験 (2) と同じ接種源を接種した。その後 20 日間 28°C の定温器中で培養し、24 時間々隔で菌叢半径ならびに菌核数を測定した。

(4) 熱処理による菌核抽出物への影響

実験 (1) で述べた菌核抽出液を普通試験管に 5 ml 入れ 95°C 以上で 15 分間加熱した。その後実験 (2)

と全く同様の方法で実験を試み、対照としては熱処理を加えない菌核抽出液と殺菌蒸留水の二つを用いた。

(5) 高濃度 PDA

高濃度 PDA は抽出液あるいは殺菌蒸留水を培養基と 2 : 6 に混合した時、普通濃度の PDA になるように調整してある。その組成は下記の通りである。

| | |
|-------------------|----------|
| Mush potato (市販品) | … 11 g |
| Sucrose | … 15 g |
| Agar powder | … 5.5 g |
| D. W (Total vol.) | … 450 ml |

実験結果

Fig. 5. は菌核抽出物および熱処理を加えた菌核抽出液と殺菌蒸留水を培養基へ混入した時の菌糸の生育の状態である。全区とも接種後 3 日目で直径 50 mm の小型ペトリ皿壁に到達し、接種後 2 日目では殺菌蒸留水を混入した区が 20.8 mm の伸びを示し最も生育速度が大で、次が熱処理を加えた菌核抽出液混入区で 20.4 mm、最後が熱処理を加えない菌核抽出液混入区で 20 mm であった。

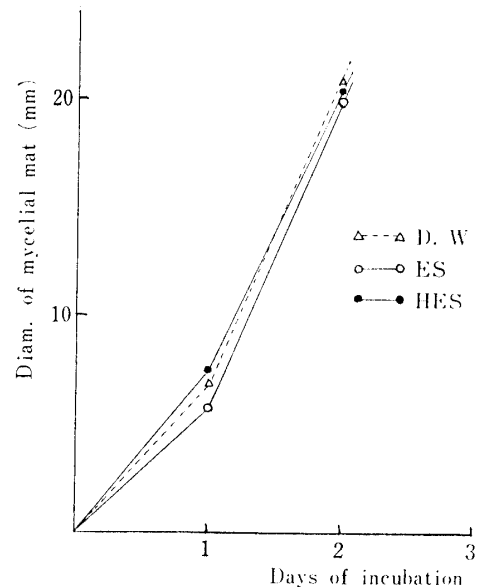


Fig. 7. Relation between extract of sclerotium and mycelial growth

DW: Medium+dist. water

ES: Medium+extract of sclerotia

HES: Medium+heated extract of sclerotia

Table 11. は菌核抽出液あるいは殺菌蒸留水を培養基に混入した時（培地混入法）と、濾紙に吸着させて培養した時（濾紙吸着法）の接種後 10, 15, 20 日目の菌核形成数である。培地混入法では接種後 10 日目に抽出液を加えた区は 1 枚のペトリ皿に 13 個菌核が

Table 11. Effect of sclerotium extract on sclerotial formation

| Days of incubation | Mixed in medium | | Adsorbed by filter paper | |
|--------------------|-----------------|---------|--------------------------|---------|
| | Extract | Control | Extract | Control |
| 10 | 13 | 0 | 6 | 4 |
| 15 | 37 | 8 | 21 | 16 |
| 20 | 48 | 12 | 30 | 21 |

形成されているが殺菌蒸溜水混入区ではまだ1個も形成されていない。接種後20日目の菌核数をみると、抽出液混入区は48個で殺菌蒸溜水混入区の12個の4倍の菌核を形成した。また濾紙に吸収させた実験では培養基混入の時より、両区の差は小さいが各測定日とも菌核抽出液を吸収させた区の方が殺菌蒸溜水の区より菌核形成数が多い。

Table 12. Effect of sclerotium extract and heated extract

| Days of incubation | Method | Extract | Heated extract | Control |
|--------------------|--------|---------|--------------------|---------|
| 10 | | 4 | 7 | 2 |
| 15 | | 18 | 21 | 8 |
| 20 | | 30 | 27 ⁽⁺³⁾ | 18 |

Table 12. は菌核抽出液と熱処理を加えた菌核抽出液ならびに殺菌蒸溜水を培養基に混入した時の、接種後10, 15, 20日目の1枚のペトリ皿あたりの菌核形成数である。抽出液混入区と加熱抽出液混入の両区は各測定日で殺菌蒸溜水混入区より菌核形成数が多い。菌核抽出液混入区と加熱抽出液混入区の両区をみると接種後10日目で、それぞれ4個と7個で加熱抽出液区の方が多く、接種後15日目でそれぞれ18個と21個で加熱抽出液区の方が多い。しかし接種後20日目では加熱していない抽出液区が30個であるのに対し、加熱抽出液区は27個で僅かに加熱抽出液区が少ない。しかし加熱抽出液区は接種後20日目の培養基上にこれから帯色して菌核に成熟する白い菌糸塊が3個認められた。

考 察

菌核抽出液は Fig. 5. に示したように菌糸生育に対してはあまり顕著な作用を示さないようである。実験結果ではペトリ皿壁に菌糸が到達する日は同じである。しかしその1日前では抽出液を培養基に混入すると、いくぶん生育が遅れるようである。PERLMAN⁴⁾ は *Sclerotium delphinii* の菌核中に thiamine 無添加の合成培養基上でも正常な生育を可能にする位の

thiamine 量を貯えていると報告しているが、本実験では培養基を6:2の割合で水を加えた時、正常な濃度の PDA になるように調整してあるので本菌の抽出液中に thiamine が含まれていると仮定すると抽出液混入区では正常濃度の PDA より thiamine 量が多いことになる。先述の I-2 の「thiamine と菌糸生育との関係」の結果より thiamine が高濃度になると菌糸の生育速度は遅れるということがわかっている。本実験において抽出液混入区が殺菌蒸溜水混入区より菌糸生育が遅れたのは、白絹病菌の菌核中に thiamine が貯えられていて、その影響が現われたのではなかろうかと思われる。また加熱抽出液を混入した区もやはり殺菌蒸溜水混入区より菌糸生育が遅れているが、thiamine は本実験で加えた 95°C の熱では分解されることがないので、やはり thiamine 高濃度のため遅れたものと思われる。次に菌核形成への影響をみると、明らかに菌核抽出液は菌核形成を促進している。またこの菌核形成促進作用は 95°C の熱では阻害されない。この菌核形成促進作用の正体を白絹病菌中に thiamine が貯えられているという仮定のもとで thiamine であるとするならば、実験 I-2 の thiamine と白絹病菌との関係から、菌核形成が増加する点は認められる。また thiamine の理化学的性質より 95°C の加熱で抽出液の菌核形成時期は正常濃度の場合と差は認められなかったが、本実験では Table 11, 12. に示したように抽出液を加えた区の方が対照区よりも早くなっている。しかし菌核1個あたりの乾燥重あるいは抽出液と菌体重との関係などについては実験していないので、この菌核形成促進作用の原因を明らかにすることができなかった。

以上のことより白絹病菌の菌核抽出液の中には 95°C, 15分間の熱処理では影響を受けなく、白絹病菌の菌核形成の開始時期をはやめ、そして菌核形成を促進する物質を含んでいることが確認された。

摘 要

白絹病菌についていくつかの実験を試み、下記の結果を得た。

(I) sucrose と thiamine の影響

1) sucrose 濃度が高くなると、菌糸生育は遅れるが菌体重は増加する。

2) sucrose 濃度が高くなると、菌核形成開始時期は遅れ、菌核数と菌核重は増加するが、菌核数/菌体重は減少する。

3) thiamine 濃度 0.5 mg/l で菌糸生育は最も早

く、一般に高濃度の方が低濃度でよりも早い。

4) thiamine 濃度 0.05, 0.5 mg/l で菌体重は最大になるが 0.005~50 mg/l 間であまり大きい差はない。

5) thiamine 濃度が高くなると、菌核形成開始時期は早くなり、菌核数が増加し、菌核数/菌体重も増加する。菌核重は 0.5 mg/l で最大になる。

6) sucrose と thiamine の濃度は均衡が保たれる必要があり、それが破れると脱菌核現象を起こし菌核形成が阻害される。

(II) 機械的損傷の影響

1) 菌糸に機械的損傷を加えると、その位置に菌核が形成される。

2) 機械的損傷を加えたのち残存する菌糸帯の幅が長くなると、菌核形成価(菌核数/損傷面の長さ×菌体重)は低下する。

(III) 菌核抽出液の影響

1) 菌核抽出液は菌核形成時期を早め、菌核形成数を増加させる。

2) 菌核抽出液の菌核形成促進作用は熱処理(95°C

15分間)の影響を受けない。

文 献

- 1) R. AYCOCK : *Tech. Bull.* (North Carolina Agr. Exp. sta.) No. 174 (1966)
- 2) Y. NAGATA, K. HAYASHI : 白絹病菌の生化学的研究, 第1報~第9報, 日本農芸化学学会誌
- 3) A. WOOD : *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 40, 221~231 (1957)
- 4) D. PERLMAN : *Amer. J. Bot.* 35, 360~363, (1948)
- 5) S. P. JOHNSON, H. E. JOHAM : *Plant. Dis. Repr.* 38, 602~606. (1954)
- 6) M. CURZI : *Boll. R. staz. Pat.* 11, 306~373 (1932)
- 7) H. E. JOHAM : *Tech. Bull.* (North Carolina Agr. Exp. sta.) No. 174 (1966)
- 8) J. A. LYLE : *Tech. Bull.* (North Carolina Agr. Exp. sta.) No. 174 P. 43 (1966)
- 9) Y. HENIS, I. CHET, Z. A. HERSHENZON : *Phytopath.* 55, 87~91 (1965)
- 10) Z. G. MEKHAIMER : *Welch. Proc. Ezypt. Sci.* 6, 37~44 (1950)

Summary

This paper reports some experiments on the mycelial growth and sclerotial formation of *Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi.

The results were as follows:

(I) Effects of sucrose and thiamine on the mycelial growth and sclerotial formation.

1. With the increase of sucrose concentration in media, the commencement of mycelial growth and the opening of sclerotial formation were delayed, while mycelial weight, number and weight of sclerotia increased.

2. The high concentration of thiamine gave good effects on the mycelial growth and weight, making the opening of sclerotial formation faster, and increased the number of sclerotia and number of sclerotia/mycelial weight.

3. The balance between the concentration of sucrose and that of thiamine must be supported, if not so, sclerotial formation is to be disturbed.

(II) Effects of mechanical damage.

1. The cutting of the mycelium resulted in the formation of sclerotia along the cutting line.

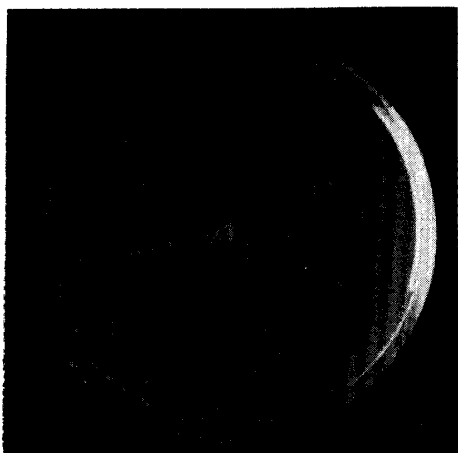
2. With the increase of the mycelial zone left untouched after cutting, the value of sclerotial formation power (number of sclerotia/mycelial weight) was reduced.

(III) Effects of the homogenized extract of sclerotium.

1. The homogenized extract of sclerotium made the opening of sclerotial formation faster and increased the number of sclerotia.

2. This accelerative action for sclerotial formation was not influenced by heat treatment (95°C. 15 min).

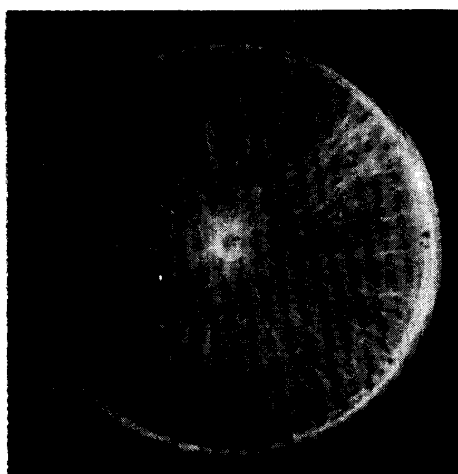
Plate I.



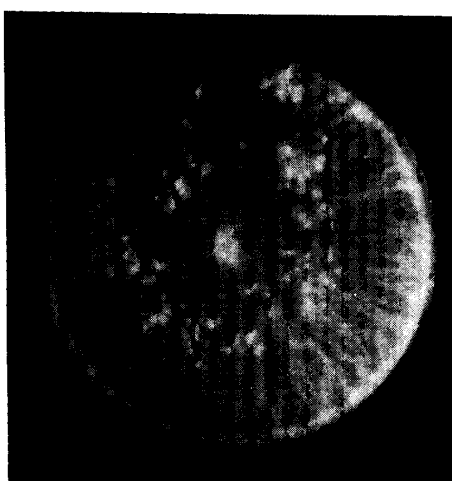
1



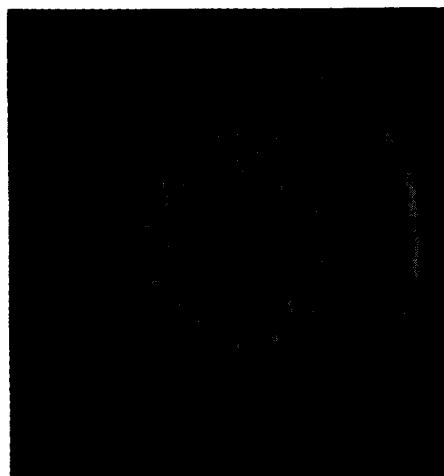
2



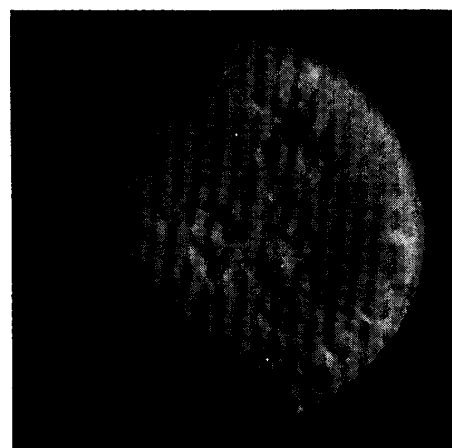
3



4



5



6

Explanation of Plates

1. Mycelial growth of *C. rolsii* on the medium without sucrose and thiamine.
2. Mycelial growth on the medium with sucrose (50g/l) and thiamine (0 mg/l).
3. Normal mycelial growth and sclerotium formation.
4. Mycelial growth on the medium with sucrose (30 g/l) and thiamine (0,005 mg/l).
5. Mycelial growth on the medium with sucrose (50 g/l) and thiamine (0,005 mg/l).
6. Mycelial growth on the medium with sucrose (50 mg/l) and thiamine (50 mg/l).