病態植物の植物ホルモンに関する研究 (第3報)

Exobasidium, *Taphrina* 及び *Ustilago* 属菌の培養

基上における生長素の産生

平 田 正 一*

Shōichi HIRATA: Studies on the phytohormone in the malformed portion of the diseased plants.

3. Auxin formation on the culture grown *Exobasidium*, *Taphrina* and *Ustilago* spp.

著者は既報^{2,4)}において菌癭形成の病原菌類に侵された植物の肥大病患部中に多量の生長素の存在することを述べ、それら生長素の病患部中における動静等について報告した。しかしこれら菌類の生長素産生を確めることは *Albugo candida* を除いては不可能であつた。幸いにして東海近畿農業試験場茶業部の江塚昭典氏は *Exobasidium* 属菌の培養に次々と成功され、著者の本研究のために多数の菌株を御与え頂き、又長尾研究所及び北島博氏から *Taphrina* 及び *Ustilago* 属菌株の御分譲を仰ぎ、著者のえた菌株と合して29株を供試することができ、3属菌は培養基上において生長素を産生することが確められた。これらの研究結果の一部は既に本誌上^{4,5)}にその要旨を公表した。本報告には其の後の研究結果をも加えて詳述する。本稿を草するにあたり供試菌株の御分譲を頂いた江塚昭典、長尾研究所及び北島博氏ならびに、実験に格別の御尽力を頂いた石丸義則、川西幸敏及び岩橋哲彦3君に厚く感謝の意を表する次第である。

1. 供 試 菌 株

この研究のため供試した菌株は第1表に示す如きものであつた。

2. 蔗糖加用馬鈴薯培養基上における生長素産生

培養：一剝皮馬鈴薯塊茎を水中ですりおろし、上澄液をとり、これを煮沸して凝縮物を濾過して除去する。濾液をアスベストをしたガラスフィルターで濾過して透明の淡黄色液をとり、蔗糖を添加して高圧殺菌した。液体及び固体両培養基は試験管に10cc宛とり、接種後 23°C で所定期間培養した。

菌の発育度：一斜面培養においては多くの菌は菌叢が斜面全体に緊密に繁殖したが、E-1 及び E-11 は30日後においても菌叢は斜面全体に拡布せず散在のままであつた。液体培養においては第2表に示した如くであり、発育度標示卅は液面に緊密なマットを作つたもので、其他の菌は液中及び液面に散在浮游の菌叢を作つた。

測定：一固体培養基の管底に近く 10×6×8 mm のブロックを切りとり、これを常法の Went 氏アベナテストに準じて寒天片に拡散させた生長素を測定した。液体培養基は3枚の濾紙で濾過し、濾液を 40°C で 2 cc に濃縮して、この液に 1×2×2 mm の寒天片 10 個を2時間浸漬し、この間1回濾液を交換した。この寒天片をもつてアベナの屈曲度を求めた。

生長素の産生量：一第2表に示した如く、E-5, T-2 及び T-4 を除き3属の26系菌は生長素を産生することが確められた。15日以上培養の継続によつては一度産生の生長素量は著しい減退を示す結果となつた。

3. Czapek 氏液体培養基上における生長素産生

培養及び測定：一培養基は KNO₃ ~ 3g, KH₂PO₄ ~ 1g, KCl ~ 0.5g, MgSO₄ · 7H₂O ~ 0.5g, Sucrose ~ 20g, 及び水 ~ 1l からなる常法の Czapek 氏液と窒素源として KNO₃ の代りに L-tryptophane ~ 1g を入れた2種の培養液を準備し、殺菌は高圧で行つた。培養は 23°C で所定期間行い、馬鈴薯培養基の場合と同様に、濾液をとり濃縮して寒天片浸漬法によつてアベナテストを行つた。

(1) KNO₃-Czapek 液培養の結果 菌の発育は馬鈴薯培養基に比較して著しく劣つた。培養後30日経

* 宮崎大学農学部

過するも *Exobasidium* 及び *Taphrina* 属菌は液面にマットを形成せず, *Ustilago* 属菌のみ形成し培養液は菌の発育不良のため稍白濁或は透明であつた。

第1実験: 一培養基 10 cc 入り試験管内培養の予備試験で, 30日培養後 E—6=4.4°, E—15=7.5°, T—1=9.4°, U—1=12°, U—2=14.4° 及び U—6=15.4° の産生を示した。

第2実験: 一第1実験の結果, 生長素産生の事実を認めたので全供試菌について, 培養液 20cc 入りフラスコ内で15及び30日培養した。その結果は第3表に示した通りである。

第3実験: 一第1実験の方法によつて全供試菌について実験した結果は, 第2実験によつて得た結果と殆んど同一であつた。

以上の実験を通じて KNO_3 -Czapek 培養液中での各菌の生長素産生は馬鈴薯培養基に比較して低いことを知つた。しかし明らかに産生の事実は確められた。又15日以上培養継続は生長素量の減退を示した。

第4実験: 一実験に供した各菌の濃縮汁液に対する Gordon and Weber 氏 IAA 反応は, E—8, 13, 14, 15, 16, T—1, U—1, 5 及び 6 の各菌培養基において淡紅色を示した。

(2) **Tryptophane-Czapek 液培養の結果**
培養液の 30cc 入りフラスコで20日間行つたが, 菌の発育は前記2培養基の場合に比較して隔段に良好で, 各菌は発育度に比例して濃褐色から銑色の液色を呈し, 殆んど培養液は透明であつた。本培養基上では E—4, 6, 10, T—1 及び U—6 各菌は液面に菌叢塊を浮上散生したが, 其の他の菌はマットの形成なく, 液中に繁殖した。

生長素の産生度は第3表に示したが, 全供試菌が多量の産生を示した。

培養汁液の10分の1濃縮液に対する Gordon and Weber 氏 IAA 反応は表示の如く, 3菌のみ不明瞭であつて, 異常肥大を起す菌癭形成菌は著しい呈色を示した。

4. 考 察

本研究において Tryptophane-Czapek 液上での各菌の発育は頗る良好で, アベナテストの結果も多量の生長素を産生することを認めたが, これら培養汁液に認められる Gordon and Weber 氏 IAA 反応はアベナテストの結果とは必ずしも比例していない。固体培養基からのブロックを供試したアベナテストの結果は液浸法のそれに比較して多量の生長素量を示し

た。液浸法によつて求めたアベナ屈曲度は含有生長素量の或1部を示し, その全量を示すといえないが, 各菌産生量の比較値としては有効であろう。異常肥大を起因する菌の汁液が著しい IAA 反応を呈することはこの研究によつて確められた。アベナテストに表示の結果は, 試料中の生長物質と抑制物質との相互作用によつて示されると思われるから, IAA 反応とは必ずしも比例しないと窺れる。

既に Wolf⁶⁻⁸⁾ は *Exobasidium gracile*, *Ustilago zeae* 及び *Gymnosporangium juniperi-virginianae* が, 培養基上においてインドール酢酸を産生することを認めた。著者の研究においても *Exobasidium*, *Taphrina* 及び *Ustilago* 属の多数の菌が, Tryptophane を代謝してインドール酢酸を産生することが認められてきた。著者の研究^{4,5)} による多数の *Fusarium* も生長素を産生するが, これらも IAA 反応を示し, 同種物質の産生を予知せしめている。Wolf は *E. gracile* 及び *U. zeae* は窒素源として KNO_3 を使用の Czapek 液培養では2週間以内でインドール酢酸の産生を認めていないが, 窒素源として Tryptophane を含む場合初めて産生すると述べた。著者の試験では KNO_3 -Czapek 液でも15日培養で, 生長素産生が *Exobasidium* 菌でかなり認められ, *Taphrina deformans* 及び *Ustilago* 属菌では明瞭に認められた。しかし Tryptophane-Czapek 液培養に比較すれば IAA 反応は遙かに弱かつた。

供試菌中異常肥大を起因すると考えられない *Ustilago nuda*, *U. tritici* 及び *U. antherarum* が異常のアベナ屈曲と強い IAA 反応を与えることは, 寄生生理上興味ある事実と思う。

Taphrina cerasi についてのこの種研究では, 服部及び木下¹⁾ の培養菌体の抽出物について, アベナの根の伸長阻害と, アベナテストにおける屈曲を認めた報告がある。著者の実験では Tryptophane-Czapek 液上では発育不良であつたが, アベナ幼葉鞘に 25.3° の屈曲を与えているから, 生長素産生の著しい菌であろうと思われる。天狗巣病徴を起因する菌類の生長素については今後更に追究したい。

摘 要

この報告には寄主体植物に異常肥大を起因する病原菌属の生長素産生について述べた。その結果の要約は次の様である。

(1) *Exobasidium* 16系, *Taphrina* 5系及び *Ustilago* 8系の培養菌株を供試し, 培養基上における生長

素産生をアベナテストによつて測定した。

(2) 26供試菌は蔗糖加用馬鈴薯培養基上で生長素産生を認め、概して液体培養基上では固体培養基よりも産生量が高く、又15日培養は30日培養よりも高く示された。

(3) N源として L-tryptophane を含む Czapek 液培養では、各菌とも KNO_3 を含む同培養液及び馬鈴薯培養液の場合より著しく生長素産生が高かった。しかし KNO_3 -Czapek 液では15日間培養し、ある程度産生する事実を認めた。

(4) Tryptophane を含む Czapek 液培養の濃縮汁液のインドール酢酸呈色反応は、概括的に各菌の肥大病徴の形成程度に応じて示され、天狗巢病徴を与える

菌は示さなかつた。(1957 年 4 月24日受理)

参 考 文 献

- 1) 服部静夫・木下三郎：植雑誌，54：58～63. (1940).
- 2) 平田正一：日植病報，19：33～38. (1954).
- 3) ———：日植病報，21：129. (1956).
- 4) ———：日植病報，21：185～190. (1956).
- 5) ———：日植病報，22：26. (1957).
- 6) Wolf, F.T.: Proc. Nat. Acad. Sci., 38: 106～111. (1952).
- 7) ———：Phytopath. Z., 26: 219～223. (1956).
- 8) ——— & F. A. Wolf: Phytopath., 42: 147～149. (1952).

Table 1. Fungous cultures used for the present studies

Culture	Host plant	Typical symptom	Source of the culture
E-1 <i>Exobasidium vexans</i>	<i>Thea sinensis</i> (Cha)	Blister	TKA-T
E-2 <i>E. reticulatum</i>	<i>T. sinensis</i> (Cha)	Net-blister	TKA-T
E-3 <i>E. gracile</i>	<i>Camellia sasanqua</i> (Sazanka)	Gall	TKA-T
E-4 <i>E. gracile</i>	<i>C. sasanqua</i> (Sazanka)	Gall	MIZ
E-5 <i>E. sp.</i>	<i>C. sasanqua</i> (Sazanka)	Blister	TKA-T
E-6 <i>E. camelliae</i>	<i>C. japonica</i> var. <i>hortensis</i> (Tsubaki)	Gall	TKA-T
E-7 <i>E. nudum</i>	<i>C. japonica</i> var. <i>hortensis</i> (Tsubaki)	Blister	TKA-T
E-8 <i>E. japonicum</i>	<i>Rhododendron kaempferi</i> (Yamatsutsuji)	Gall	TKA-T
E-9 <i>E. pentasporium</i>	<i>R. kaempferi</i> (Yamatsutsuji)	Witches' broom	TKA-T
E-10 <i>E. sp.</i>	<i>R. macrosepalum</i> (Mochitsutsuji)	Gall	TKA-T
E-11 <i>E. sp.</i>	<i>R. macrosepalum</i> (Mochitsutsuji)	Blister	TKA-T
E-12 <i>E. sp.</i>	<i>R. kiyosumense</i> (Kiyosumi-mitsubatsutsuji)	Spot or blister	TKA-T
E-13 <i>E. pieridis</i>	<i>Lyonia ovalifolia</i> var. <i>elliptica</i> (Nejiki)	Gall	TKA-T
E-14 <i>E. sp.</i>	<i>L. ovalifolia</i> var. <i>elliptica</i> (Nejiki)	Spot or blister	TKA-T
E-15 <i>E. symploci-japonicae</i>	<i>Symplocos lucida</i> (Kuroki)	Gall	TKA-T
E-16 <i>E. sp.</i>	<i>Vaccinium bracteatum</i> (Shashanbo)	Blister	TKA-T
T-1 <i>Taphrina deformans</i>	<i>Prunus persica</i> (Momo)	Leaf-curl	TKA-H
T-2 <i>T. pruni</i>	<i>P. salicina</i> (Sumomo)	Bladder	NI
T-3 <i>T. osumundae</i>	<i>Osumunda japonica</i> (Zenmai)	Blister	TKA-T
T-4 <i>T. betulae</i>	<i>Betula platyphylla</i> var. <i>japonica</i> (Shirakanba)	Blister	NI
T-5 <i>T. cerasi</i>	<i>Prunus yedoensis</i> (Someiyoshino)	Witches' broom	NI
U-1 <i>Ustilago nuda</i>	<i>Hordeum sativum</i> (Omugi)	Smut	NI
U-2 <i>U. tritici</i>	<i>Triticum vulgare</i> (Komugi)	Smut	NI
U-3 <i>U. hordei</i>	<i>Hordeum sativum</i> (Omugi)	Smut	NI
U-4 <i>U. hordei</i>	<i>H. sativum</i> (Omugi)	Smut	NI
U-5 <i>U. shiraiana</i>	<i>Sasa</i> sp.	Smut	NI
U-6 <i>U. zeae</i>	<i>Zea mays</i> (Tōmorokoshi)	Smut gall	MIZ

U-7 <i>U. antherarum</i>	<i>Moehringia lateriflora</i> (<i>Oyamafusuma</i>)	Smut	NI
U-8 <i>U. onumae</i>	<i>Cinnamomum japonicum</i> (<i>Yabunikkei</i>)	Smut gall	MIZ

Remarks: MIZ: Phytopath. Lab., Fac. Agr., Miyazaki Univ., NI: Nagao Inst.,
TKA-H: Tōkai-Kinki Nat. Agr. Exp. St., Div. Hort., TKA-T: Tōkai-Kinki
Nat. Agr. Exp. St., Tea Div. Pests & Blights.

Table 2. Auxin formation of fungi on sucrose-potato medium

Material	Culture on liquid medium		Culture on solid medium**	
	15 days after		30 days after	
	Growth* rate estimated	Curvature of <i>Avena</i> coleoptile	Curvature of <i>Avena</i> coleoptile	Curvature of <i>Avena</i> coleoptile
E-1	+	11.2°	+ 6.6°	8.0°
E-2	##	17.2	2.5	1.6
E-3	++	18.3	+ 5.8	1.6
E-4	++	8.2	4.3	
E-5	++	0.5	3.6	4.2
E-6	++	3.7	2.8	4.2
E-7	##	27.1	+ 1.3	2.6
E-8	##	11.7	7.7	2.3
E-9	++	11.0	2.1	7.0
E-10	++	5.3	+ 0.5	28.9
E-11	+	2.8	13.2	
E-12	+	3.0	4.0	3.0
E-13	±	2.5	6.6	
E-14	+	2.4	+ 1.8	1.8
E-15	++	3.6	1.1	3.0
E-16	##	8.6	0.3	2.7
T-1	##	15.8	1.7	19.0
T-2	+	+ 2.0	+ 2.3	
T-3	±	9.0	+ 2.3	
T-4	+	1.3	+ 3.3	
T-5	±	0.4	+ 2.5	
U-1	##	8.1	+ 2.3	17.8
U-2	++	4.6	+ 2.2	0.2
U-3	+	13.1	+ 2.8	0.6
U-4	+	13.5	+ 2.1	
U-5	##	22.0	4.2	
U-6	##	14.5	24.0	15.1
U-7	##	13.1	31.1	
U-8	++	15.8	9.8	

Remarks: * ##; Fungous colony, forming a mat 2~3mm. thick, covered the surface of the medium ++ and +; No fungous mat was formed, and dangling in the medium.

** Most of the other fungi except E-1, E-11 and U-8 compactly spread on the whole surface of the solid medium in 30 days after the inoculation.

Table 3. Auxin formation of fungi on Czapek's medium

Material	Culture on Czapek's medium containing KNO ₃			Culture on Czapek's medium containing L-tryptophane		
	15 days after		30 days after	20 days after		
	Growth rate estimated	Curvature of <i>Avena</i> coleoptile	Curvature of <i>Avena</i> coleoptile	Growth rate estimated	Curvature of <i>Avena</i> coleoptile	Color reaction of IAA
E-1	±	+ 0.8°	+ 0.4°	±	6.1°	1
E-2	+	2.8	1.7	5	12.6	2
E-3	+	0.2	+ 1.6	30	7.7	4
E-4	+	5.8	+ 1.5	40	10.9	7
E-5	++	0.5	1.9	5	14.2	1
E-6	+	2.6	+ 3.6	30	15.4	4
E-7	+	1.1	0.3	10	13.8	2
E-8	##	17.5	10.5	50	5.6	4
E-9	±	0.0	2.6	±	14.8	±
E-10	+	+ 1.3	1.3	50	7.0	5
E-11	±	1.1	0.2	±	11.3	1
E-12	+	0.2	+ 4.1	+	13.0	1
E-13	±	1.0	1.4	±	22.1	1
E-14	+	3.6	0.0	20	5.8	4
E-15	±	+ 5.3	+ 1.6	50	11.5	5
E-16	±	0.0	+ 2.1	10	7.5	4
T-1	++	+ 1.5	9.3	50	6.1	7
T-2	+	2.1	4.1	±	9.8	4
T-3	—	0.1	0.2	±	13.1	1
T-4	+	3.2	3.3	±	18.1	±
T-5	—	0.9	2.1	±	25.3	±
U-1	##	19.0	1.4	50	10.0	4
U-2	##	20.3	12.2	50	5.6	4
U-3	±	3.4	0.2	+	9.4	1
U-4	+	4.6	2.8	10	25.8	1
U-5	##	23.3	23.2	50	7.7	4
U-6	##	11.3	11.2	50	9.9	5
U-7	##	18.8	12.8	20	6.7	4
U-8	++	+ 1.1	2.7	5	14.3	1

Remarks: Gordon & Weber's IAA reaction was tested by mixing the filtrate concentrated to one tenths with the reagent equally, and heating for some time.

1: Pale pink color, 4: Rose red, 5: Spectrum red and 7: Rhodamine purple (according to Ridgway's "Color standards and color nomenclature").

Summary

In the previous reports the present writer stated that the free-auxin in the tissues of abnormal galls, tumors and blisters caused by *Protomyces*, *Albugo*, *Exobasidium*, rust and smut fungi was contained in much quantity compared with that of the healthy tissues, and reported on the condition of free-auxin in the tissue and also on the auxin formation in the tissue of *Brassica napus* infested with

Albugo candida. The present article deals with experimental studies on the auxin formation by using the cultures of 15 species of *Exobasidium*, 5 species of *Taphrina* and 8 species of *Ustilago* as indicated in Table 1. The results obtained are summarized as follows.

The material fungi were all cultured for 15–30 days at 23° C. The filtrates of liquid media in which the fungi were grown were

concentrated to one tenths at 40° C., and 10 agar pieces of 1×2×2 mm. in size were immersed into the filtrates. On the other hand an agar block of 10×6×8 mm. in size was cut off from the bottom of the solid culture medium in the test tube, and the contained auxin was made to diffuse on an agar plate (1×6×8 mm.) by putting the block upright on it. The quantity of the auxin contained in these materials was measured by applying the Went's *Avena-coleoptile* method.

The experimental results on the auxin formation of the organisms on sucrose-potato medium are given in Table 2. When they were cultured for 15 days on liquid media, they produced larger quantity of auxin than those cultured for 30 days, and the latter frequently showed plus-curvature in the case of *Avena-coleoptile* test.

When the culture was done for 15 days on Czapek's medium containing KNO₃ as nitrogen source for the nutriment, several fungi slightly produced auxin as shown in Table 3, and the filtrates of these cultures sometimes slightly showed Gordon and Weber's IAA color reaction, but the growth rate and the auxin formation of the fungi were much less than those in the case of the potato media.

The growth rate of the fungi on Czapek's media containing L-tryptophane in substitution for KNO₃ was much better than those in the cases of the media described above, and showed deep brown color. In this case every fungi produced auxin in much quantity as shown in Table 3, and the concentrated filtrates positively showed Gordon and Weber's IAA reaction, especially in the cases of the media on which gall- or tumor-fungi were cultured. This fact seems to the writer that these fungi have the ability of producing indol' acetic acid.

Wolf already demonstrated that *Exobasidium gracile* and *Ustilago zae* produced indol acetic acid on L-tryptophane media. The similar results were also obtained by the writer. On the Czapek's medium containing KNO₃, however, several fungi produced auxin in some quantity, and this data was shown to be contrary to the result obtained by Wolf.

In the present experiments of the writer it was shown that *Ustilago nuda* and *U. tritici* produced auxin in large quantity, and this fact may give some hint on the physiology of parasitism of these fungi.

(Faculty of Agriculture, Miyazaki University)

文 献 紹 介

Bisdithiocarbamate の殺菌機構 (1)

Ludwig, R. A., G. D. Thorn and D. M. Miller
Studies on the mechanism of fungicidal action of disodium ethylenebisdithiocarbamate. (nabam).

Canad. J. Bot., 32 (1): 48~54. (1954).

nabam の稀薄水溶液を通気して生じた沈澱物を分別して得た ethylenethiuram mono sulfide の monomer (ETM) と polymer (Poly ETM) は *Monilinia fructicola* に対して強い胞子発芽阻止力を示した。そこで nabam の粗通気沈澱物と ETM を夫々粉衣したエンドウの種子を *Pythium* に汚染された土壤に播いたところ thiram や chloranil よりも優れた結果をもたらした。また nabam の粗通気沈澱物の懸濁液 (500 ~ 625 ppm) に桜桃の

成熟果実を浸漬した結果、*M. fructicola* による腐敗をよく防ぎ、桃、杏での試験でも同様な成績を得た。また温室で6週間を経たトマトに 2000ppm の nabam 水溶液をまいて4時間後及び24時間後に散布葉を蒸留水で洗い。その水の紫外線吸収を測定したところ、ETM に特性的な 280 mμ の山を示し、葉に残った黄色の結晶を鏡検すると poly ETM に酷似していた。更に nabam 水溶液の通気産物を詳しく分析して ETM, poly ETM, ethylene thiourea, 元素硫黄、二硫化炭素及び硫化水素を得たが、これらの炭素と硫黄の balance はほぼ計算値と一致した。それ故高度に水溶性で不安定な nabam の保護殺菌剤としての機能は必要な安定性と水に対する不溶性とを具え、強い殺菌作用をもつ ETM 或は poly ETM がその分解産物として生ずることによつてよく説明できる。(中村広明)