2,4-Dならびに類似フェノキシ化合物添加培地 における数種菌類菌叢の形態的特性

内藤 中人・小島 義之*

Nakato NAITO and Yoshiyuki KOJIMA: The morphological characteristics
of the colonies of several fungi on agar media containing 2,4-D
and related phenoxy compounds.

菌類の人工培地における生長型は、栄養源が豊富であれば、ほぼ一定の生長速度を示す“non-staling”型と、栄養源は豊富であるにもかかわらず、培養経過とともに生長速度がしだいに低下する“staling”型とに、ふつう大別されている。このように菌類の生長型は、主として、培養中における生長速度の動向にもとづいて類別されているのであるが、菌叢の外観からも両型を区別できることが、若干の菌について報告されている。例えば、Brown^{1,2)}は *Fusarium fructigenum* その他の *Fusarium* 属菌、また Hawker³⁾ は *Sordaria* sp. において、菌叢周縁部にあらわれる不規則な波状形態をも、“staling”型の1特性にとりあげている。このような生長相の類別は、主として常用の正常培地における実験結果に立脚するものであるが、筆者ら^{6,7,10,11)}は、菌類の発育を阻害するような薬剤を添加した培地でも、やはりこの両型に大別されることを報告した。一方また、2,4-Dあるいは類似フェノキシ化合物添加培地において菌叢周縁部が波状形態を呈する事実には、筆者らも従前から注目しており、既報⁹⁾でもふれておいたところである。そこで、Brown らが主張しているとおり、波状菌叢が果たして“staling”型の1特性であるかどうかを究明するため、本実験をおこなった。なお、本報の要旨は昭和32年度関西西部会で講演した。

実験材料ならびに方法

オリーブ炭疽病菌 (*Gloeosporium olivarum* Alm.), 柿炭疽病菌 (*Gloeosporium kaki* Hori), スエヒロタケ (*Schizophyllum commune* Fr.), および稲胡麻葉枯病菌 (*Cochliobolus miyabeanus* Drechsler) の4菌を供試した。供試薬剤は、sodium 2,4-dichlorophenoxyacetate (2,4-D), 2,4,5-trichloroph-

enoxyacetic acid (2,4,5-T), 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCP), 2-chlorophenoxyacetic acid (CPA), 2-methylphenoxyacetic acid (MPA), 2-methylphenol (MP), 2-chlorophenol (CP), 2,4-dichlorophenol (DCP), potassium α -naphthaleneacetate (NAK), および硫酸銅である (2,4-D のみは市販品)。オリーブ炭疽病菌においては、各種濃度の供試薬剤添加培地に 25°-28°C で 6-13 日間培養して、その菌叢形態を標準無添加培地のものと比較し、他の3菌では、2,4-D のみについて同様の実験をおこなった。第2, 第3表にかかげた以外の供試濃度はつぎのとおりである。MP 0.04, 0.03, 0.02, 0.01; CP 0.02, 0.01, 0.008, 0.005; DCP 0.008, 0.006, 0.003, 0.001; NAK 0.04, 0.03, 0.02, 0.01; 硫酸銅 0.3, 0.2, 0.1, 0.04 %。基本培地の処方、ペプトン 10 g, KH_2PO_4 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g, 蔗糖 50 g, 蒸留水 1 l である。

実験結果

1. 各種薬剤添加培地におけるオリーブ炭疽病菌菌叢周縁部の形態

各種濃度の供試薬剤添加培地におけるオリーブ炭疽病菌菌叢の形態について、観察結果を総括してみると、2,4-D, 2,4,5-T, MCP, CPA, あるいはMPAのフェノキシ化合物を添加した場合には、ほとんどの濃度において、菌叢周縁部に不規則な波状形態があらわれたのに対し、他の薬剤では、標準無添加区とおなじく、ほぼ円形であつた (第1, 第2図参照)。しかし、このような波状形態のなかには、saltation に類似した様相のものも若干みられたし、既報⁹⁾において、2,4-D は柿葉枯病菌 (*Pestalotia diospyri* Syd.) の saltation を誘致することがわかっているから、この点について多少危惧の念をいだいた。したがって、多

* 香川大学農学部植物病理学研究室

数の波状部から正常培地に移植してみたが、その菌叢外観、生長速度などは母菌とまったく同一であつたの

第1図 各種濃度フェノキシ化合物添加培地における4種供試菌の各種波状菌叢

第2図 薬剤を培地に添加しても波状形態のあらわれないオリーブ炭疽病菌菌叢

1. 0.04% MP 2. 0.03%MP 3. 0.02%MP
4. 0.04%NAK 5. 0.01%NAK 6. 標準無添加
(25°C で NAK は 8 日, MP は 11 日培養)

第1表 各種薬剤添加寒天培地におけるオリーブ炭疽病菌菌叢形態の比較

薬 剤	波状菌叢の有無 §	培養経過に伴う生長速度の低下	抗菌物質の生成
フェノキシ化合物	2,4-D	+	+
	2,4,5-T	+	+
	MCP	+	+
	CPA	+	+
	MPA	+	+
フェノール化合物	MP	—	—
	CP	—	—
	DCP	—	—
	NAK	—	—
	硫酸銅	—	—
標準無添加	—	—	—

§ +はほとんどの供試濃度にあらわれ、—はすべての濃度にあらわれないもの

で、本現象が saltation によるとは考えられない。なお、波状菌叢のあらわれた薬剤は、その添加培地における本菌生長速度が“staling”型のもののみで^{6,7,10}、且つ該培養液からは、“staling”の主因をなすと思われる抗菌物質が分離されている^{6,9,10}。一方、波状菌叢のみられなかつた薬剤は、いずれもその添加培地における生長速度が“non-staling”型で^{6,7,10}、該培養液における抗菌物質生成も否定されている^{6,10}。これらの関係を表示すると、第1表のとおりである。しかし波状形態のみられるものでも、波状の程度は、薬剤の種類、添加濃度、また菌の種類（後述）によつてかなり相違がある。第1図に示したものは、それらの代表的形態である。つぎに波状の程度と添加濃度との関係を、生長速度の動向に関する既報^{6,7,10}の結果と比較対照してみると、第2表のとおりである。ただし両者の供試濃度には、不同のものも若干あるから、これを厳密な比較の資とするには多少の疑義もあるが、それにもかかわらず、生長速度低下、波状形態のそれぞれの程度と添加濃度との関係がほぼ平行していることは、第2表から充分察知できると思考

第2表 オリーブ炭疽病菌菌叢の波状形態と薬剤添加濃度との関係

薬 剤	濃度 (%)	波 状 の 程 度	培養経過に伴う生長速度の低下
2,4-D	0.3	+	±
	0.06	+++	+++
	0.02	++	++
	0.015	+	+
2,4,5-T	0.02	+	++
	0.01	+	+++
	0.005	+	+++ (0.004)
	0.003	±	±
MCP	0.03	++	+++
	0.02	++	+++
	0.015	+	+
	0.01	±	± (0.008)
CPA	0.17	+	± (0.2)
	0.1	++	+++
	0.05	+	±
	0.03	±	—
MPA	0.15	+	++ (0.17)
	0.1	++	++ (0.12)
	0.05	±	±
	0.03	—	—

(註) 生長速度に関する既報^{6,7,10}濃度中、本実験と異なるものは()内にその濃度を示した。

する。そして多くの場合、発育しうる最高限度濃度と抑制のあらわれる最低限界濃度とのほぼ中間の濃度（7日後の菌叢直径が標準区の約 $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ 程度）のとき、波状の程度はいちじるしいが、MPAではこれが、最高限界濃度のほうに多少ずれていた。したがってこの種の実験には、菌の発育が各種段階となるよう濃度を調整する必要があるといえよう。本報でも、ほぼこの趣旨にそう濃度を予備実験により選定した。

2. 2,4-D 添加培地における3菌菌叢周縁部の形態

柿炭疽病菌、スエヒロタケ、および稲胡麻葉枯病菌を2,4-D 添加培養した結果によると¹¹⁾、前2菌の生長速度は“staling”型で、且つ、該培養液液における抗菌物質生成が確認されているに対し、稲胡麻葉枯病菌のみは“non-staling”型の生長速度を示し、抗菌物質も生成しないことが判明している。そこで、これらの菌叢形態にも前実験と同様の相関がみられるかどうかを究明するため、同様の実験をおこなった（第3表）。それによると、前2菌はオリブ炭疽病菌とおなじく、2,4-D 添加培地において菌叢周縁部が波状を

第3表 2,4-D 添加寒天培地における3菌菌叢の波状形態と添加濃度との関係

供試菌	濃度 (%)	波状菌叢の有無	培養経過に伴う生長速度の低下	抗菌物質の生成
柿炭疽病菌	0.2	+	++	
	0.08	++	++	
	0.04	+	++	+
	0.02	+	+	
	0.0	—	—	
スエヒロタケ	0.5	+		
	0.4	++	++	
	0.3	++	+++	+
	0.2	+++	+++	
	0.1	++	+++	
	0.0	—	—	
稲胡麻葉枯病菌	0.8	—	—	
	0.6	—	—	
	0.4	—	—	
	0.2	—	±	
	0.1	—	—	
	0.0	—	—

第3図 2,4-D 添加培地におけるスエヒロタケの波状菌叢

1. 0.5% 2. 0.4% 3. 0.3% 4. 0.2% 5. 0.1% 6. 標準無添加
 (27-30°C で標準区は5日、他は10日間培養)

呈したに対し（第1, 第3図参照）、稲胡麻葉枯病菌では、標準無添加区と同様ほぼ円形で、生長速度ならびに抗菌物質生成に関する既往の結果とよく一致した。そしてこの場合も、波状の程度は添加濃度、あるいは菌の種類により異なり、且つ、波状、生長速度低下のそれぞれの程度と濃度との間には、前実験と同様の相関が認められた。

考 察

薬剤を添加した培地上で菌類が種の畸形を呈することは、従来から知られているところで、例えば高濃度の inositol を添加した場合には *Ophiostoma (Cerastomella) multiannullatum* はほとんど分生胞子の形態で発育するし¹⁴⁾、pentachlorophenol 添加培地の稲胡麻葉枯病菌菌糸は、ジュズダマ状の小細胞の連鎖となつたり、分枝が多くなるという¹²⁾。本実験結果は、2,4-D ならびに類似フェノキシ化合物添加培地におけるオリブ炭疽病菌、柿炭疽病菌、およびスエヒロタケの菌叢周縁部が波状形態となることを明示する

とともに、このような波状形態は“staling”型生長相の1特性であるという Brown らの見解が、筆者らの一連の研究に関するかぎり容認できることをものがたっている。もつとも同氏らの見解は、正常培地における実験結果に立脚しているのであるが、菌類の発育を阻害するような薬剤を添加した培地でも同様であることが、はつきりしたわけである。Richards¹⁵⁾も 2,4-D および 2,4,5-T 添加寒天培地においてスエヒ

ロタケの波状菌叢を観察しているが、“staling”型生長相の一環として本現象があらわれたのかどうかについては、論じていない。なお Brown^{1,2)} は、菌叢の厚みからも生長型を判別できるとのべているので(第4図参照)、本実験中この点にも留意して観察をつづけた。しかし“staling”型菌叢周縁部が厚くなる傾向は認められたものの、菌叢中心部は却つてもりあがり、菌叢全体としては中高の形態を呈するものもあり、菌叢側面図のなかよりあつたから、菌叢の厚みに関する上述の見解には、全面的な賛意を表しかねる。

第4図 Brownによる“staling”型(下)および“non-staling”型(上)の菌叢側面図

“staling”型生長相は、培地 pH の変動、培養経過にともなう栄養源の減少によるものも報告されているが、主として抗菌性を有する“staling substance”の蓄積に帰している。また、*Phytiacystis citrophthora*, *Phytophthora terrestris*, *Phomopsis citri*, *Diplodia natalensis* を最適以上の温度で培養するときは、培養経過につれて、生長速度がしだいに低下するという³⁾。その原因については不明であるが、このような培養中における不適当な環境の累積が直接影響して、生長速度を低下せしめる場合も、予想されよう。しかるに本実験において波状形態のみられたのは、いずれも抗菌物質生成の確認されているもののみであるから、抗菌物質生成以外の、上述のような原因にもとづく“staling”型にも、波状形態があらわれるかどうかは、こんご検討を要する1課題であろう。しかし少くとも、波状菌叢のみられぬ場合には、抗菌物質を生成しないか生成しても微量であろうことは、本実験結果から明らかである。筆者らはこれまで、抗菌物質生成を誘致するこの種薬剤のスクリーニングにさ

いて、1予備的手段として、主として薬剤添加培地における生長速度の動向をもとめてきたのであるが、上述の理由から、こんごは同時に、波状菌叢の有無をも併せ参照できるものと考ええる。

摘 要

(1) 2,4-D, 2,4,5-T, MCP, CPA, および MPA のフェノキシ化合物添加寒天培地におけるオリーブ炭疽病菌菌叢は、ほとんどの供試濃度において、その周縁部が不規則な波状形態を呈した。これに反し他の薬剤では、標準無添加区と同様ほぼ円形であつた。

(2) 2,4-D 添加培地における柿炭疽病菌、およびスエヒロタケの菌叢も、同様の波状形態を示すが、稲胡麻葉枯病菌には、これがみられない。

(3) 上述の事実、ならびに筆者ら既報の諸結果は、菌叢周縁部にみられる波状形態が“staling”型生長相の1特性であるという Brown らの見解とよく一致する。(1957年12月17日受理)

引用文献

- 1) Brown, W. : Ann. Bot., 37: 105~129. (1923).
- 2) ——— : Ibid., 39: 373~408. (1925).
- 3) Fawcett, H. S. : Univ. Calif. (Berkeley) Pubs. Agr. Sci., 4: 183~232. (1921).
- 4) Fries, N. : Ark. Bot., 1: 271~287. (1949).
- 5) Hawker, L. E. : Physiology of Fungi. (1950). p. 29.
- 6) 内藤中人・小島義之 : 香川大学農学部学術報告; 9 (1) : 18~25. (1957).
- 7) ———・国方弘 : 植物病害研究, 5(3) : 113~118. (1955).
- 8) ———・谷利一 : 香川農大術報告, 4(2) : 104~110. (1952).
- 9) ———・—— : 日植病報, 19(3,4) : 129~132. (1955).
- 10) ———・—— : Ibid., 21 (2,3) : 74~78. (1956).
- 11) ———・——・岸常宣 : 香川大学農学部学術報告, 9 (2) : 66~72. (1957).
- 12) 奥八郎 : 植物病害研究, 5(2) : 77~82. (1955);
- 13) Richards, R. R. : Botan. Gaz., 110(4) : 523~550. (1949).

Résumé

1. The colonies of *Gloeosporium olivarum* on peptone-salts agar plate containing different concentrations of sodium 2,4-dichlorophenoxy acetate (2,4-D), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid, 2-chlorophenoxyacetic acid, and 2-methylphenoxyacetic acid lose in general their circular outline as growth continues, and their margin becomes wavy and irregular. On the other hand, the colonies on the same medium containing 2-methylphenol, 2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol, potassium α -naphthaleneacetate, and CuSO_4 resembled the controls in the regularity

of their periphery.

2. Morphological responses of *Gloeosporium kaki*, and *Schizophyllum commune* to 2,4-D were similar to those of *G. olivarum* in showing irregularity of periphery, while those of *Cochliobolus miyabeanus* to the chemical were indistinguishable from the controls except for smaller size.

3. These results support the view of Brown and others who stated that such an irregularity of colonies is a characteristic of the “staling-type” growth.

(Faculty of Agriculture, Kagawa University)