微生物に対する放射線の影響 (第3報)

稻胡麻葉枯病菌分生孢子発芽に及ぼす紫外線の影響 (その1)*

正 子 朔**

Hajime MASAGO : Studies on the effects of radiation on
microorganisms. (3) Influence of ultraviolet light on
conidial germination of *Cochliobolus miyabeanus* (Part 1).

1. 緒 言

紫外線照射による殺菌および微生物の生長抑制に就いては従来多くの報告があり、著者も 1, 2 検討を加えてきたが¹⁾、更に稻胡麻葉枯病菌分生孢子の発芽と紫外線量との関係を追求した。従来照射実験には人工太陽灯が用いられていたが、近年殺菌ランプとして低圧水銀灯が市販されるようになったのでそれらの殺菌エネルギーを定量的に比較して殺菌効果を検討することは、紫外線の殺菌機構解明にも重要なことである。一般に、糸状菌の発育は細菌に比べて緩慢であるから、生理作用に及ぼす紫外線の影響を調べるには胡麻葉枯病菌は好適な材料である。かつ同菌の分生孢子は隔膜をもっているが、これによつて隔てられた細胞間の関係の追求²⁾は単に殺菌現象の追求のみならず、孢子の発芽生理という点からも興味ある問題である。以下2, 3 得られた結果を纏めて報告する。

2. 実 験 結 果

A. 人工太陽灯と殺菌灯の殺菌力比較 供試した人工太陽灯は高圧水銀灯で点灯直後に殺菌線測定用の蛍光板に緑色蛍光を与えるが、この蛍光は寸時にして消滅してしまう。供試菌は予め麦芽煎汁寒天斜面に20日間培養したもので、人工太陽灯、殺菌灯何れの場合にも線源から 15 cm のところに供試菌の分生孢子懸濁液を置いて照射した後直ちに 28°C で発芽試験を行った結果は第 1 表の如くである。

これにより明らかなように、人工太陽灯の発芽抑制乃至殺菌力は殺菌灯のそれに比べて遙かに及ばない。これは恐らく含まれている水銀スペクトルの相違に基づくものであろう。

B. 孢子の乾湿環境条件の相違が紫外線感受性に及ぼす影響 通常固体培地上に生成された菌類孢子は大体乾燥状態にあるものと見做されている。したがつてそれをそのままスライドガラス上に散布して紫外線を照射した場合と、分生孢子を蒸留水に懸濁してスライドガラス上に点滴後紫外線を照射した場合との孢子の感受性を比較した。第 2 表は稻胡麻葉枯病菌第 13 号菌を麦芽寒天培地上に 28°C で 15 日間培養した後、1,020 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ の紫外線照射を行ったものの発芽状況 (10時間後) である (第 1 図参照)。

上表の結果から分生孢子を水に浸すと紫外線に対する感受性が高まることが明らかとなつたが、これは発芽作用に関与する細胞の活性度が向上したために起つたものであろう。

C. 紫外線による発芽抑制 紫外線照射を行う場合照射された菌の生死鑑別は通常発芽の有無によつて行っている。しかし照射後の時間経過によつて発芽率に可成りの変化が見られるので、これを確めるために次の実験を行った。麦芽寒天培地 (pH 5.8) 上に稻胡麻葉枯病菌第 58 および第 13 号菌を 5 日間 28°C で培養し、生じた分生孢子を Czapek 液で洗い落した。その懸濁液を直ちに 2,000 r. p. m., 5 分間の遠心分離によつて孢子を沈澱せしめ、その上澄みを捨ててこの操作を 3 回反復し、Czapek 液でよく孢子を洗滌した。洗滌後、この分生孢子を再び Czapek 液中に懸濁して、その液をスライド上に点滴して、紫外線照射を行った。この場合の照射エネルギーは 975 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ であつた。

照射処理後はスライドガラスを肉池でつくつた湿室に入れ、28°C の恒温器内に所定時間保つた。各時間における供試両系菌の発芽状況は第 3 表、第 4 表の通りで、何れも 3 回実験の総合結果である (第 2 図、第 3 図参照)。

紫外線に対する感受性の大小を調べるには照射後あ

* 京都大学農学部植物病理学研究室業績, 第115号

** 京都大学農学部植物病理学研究室

第1表 稻胡麻葉枯病菌第13号菌の分生孢子発芽におよぼす
人工太陽灯あるいは殺菌灯からの紫外線の影響

Table 1. Influence of ultraviolet light (sun lamp
and germicidal lamp) upon conidial germination
of *Cochliobolus miyabeanus*, isolate No. 13.

照射時間 Irradiation time min.	人 工 太 陽 灯 Sun lamp			殺 菌 灯 Germicidal lamp		
	供試孢子数 Spores examined	発芽孢子数 Spores germinated	発芽率* Percentage of germination%	供試孢子数 Spores examined	発芽孢子数 Spores germinated	発芽率* Percentage of germination%
0	1,020	1,020	100	1,024	1,024	100
2.5	936	936	100	1,088	608	56
5.0	960	960	100	876	156	18
7.5	972	972	100	848	32	4
10.0	828	816	98	1,008	36	3.5
12.5	816	720	88	1,056	16	1.5
15.0	1,032	912	88	1,080	0	0

* Percentage of germination after 10 hrs.' incubation under 28°C.

第2表 稻胡麻葉枯病菌第13号菌の分生孢子発芽におよぼす
紫外線の影響(照射時における分生孢子の状態と発芽の比較)

Table 2. Influence of ultraviolet light upon the conidial germination
of *C. miyabeanus*, isolate No. 13 (Comparison of moisture condition
under which conidia were irradiated.).

照射時間 Irradiation time min.	照射量 Dose $\mu\text{W} \cdot \text{min}/\text{cm}^2$	乾 燥 Dry condition			水 浸 Wet condition		
		供試孢子数 Spores examined	発芽孢子数 Spores germinated	発芽率* Percentage of germination %	供試孢子数 Spores examined	発芽孢子数 Spores germinated	発芽率* Percentage of germination %
0	0	823	806	98	794	765	96
2.5	2,550	878	773	88	732	677	92
5.0	5,000	734	606	82	848	326	39
7.5	7,650	666	363	54	940	130	14
10.0	10,200	1,056	91	28	1,172	56	5
12.5	12,750	1,284	84	6.6	1,172	26	2.3

* Percentage of germination after 10 hrs.' incubation under 28°C.

る程度以上の時間の経過を必要とする。すなわち照射は発芽遅滞を起すが、死に至らしめない場合が多いからである。第13号菌と第58号菌とを比較した場合に、前者が紫外線に強いようである。

4. 論 議

著者は殺菌線照度計を自作して照射エネルギーを測定したが、人工太陽灯は点灯直後に 2537 Å の紫外線によつて励起された螢光を発するのみで、瞬時に

消滅してしまう。これはおそらく多量に存在する水銀原子のため、殺菌に有効な 2537 Å 線が吸収されてしまう結果であろうと考えられる。一方低圧水銀灯は強い緑色螢光を持続的に発している。従つてある時間内における総殺菌エネルギーは前者において後者よりもはるかに少ない筈である。一定時間の照射では第1表のように、人工太陽灯は殆んど効果を表わさないが低圧水銀灯は明らかな発芽抑制効果を示している。このことは、照度計の示度によつても明らかなように、

第1図 紫外線照射を受けた分生胞子の発芽に対する水分条件の影響

Fig. 1. Influence of moisture condition upon the germination of conidia irradiated with ultraviolet light.

殺菌に有効なスペクトル域の欠除ということに原因する。一般に分生胞子の発芽は胞子が水あるいは培養液中に入れられてから開始するものと考えられるが、分生胞子を水に浸けた場合と乾燥のままでは、前者の方が紫外線に感じ易かった。このことは著者の興味を著しく惹いたが、水は紫外線を吸収するのでその中に懸濁された微生物は紫外線を直接に受ける場合よりも保護されている筈である。しかし結果は全く反対であった。このことは、分生胞子を水浸することによつて胞子が紫外線に弱い状態に変つたものとしか考えられない。すなわち発芽現象が始まると休眠状態の胞子よりも紫外線に弱くなるということである。しかし、胞子の発芽が進んで菌糸になると分生胞子よりもかえつて紫外線に対して強くなるから胞子発芽の過程のどの段階かに紫外線に極めて鋭敏な時期があるものと考えられる。もつともX線のような電離放射線照射の場合には、媒体である水が電離を起してその結果生ずる Free Radical が間接的に働いてその代謝を阻害する

第3表 稻胡麻葉枯病菌第58号菌の分生胞子発芽におよぼす紫外線の影響
Table 3. Influence of ultraviolet light upon the conidial germination of *C. miyabeanus*, isolate No. 58.

照射時間 Irradiation time min.	照射量 Dose $\mu\text{w-min/cm}^2$	3 時 間* 3 hrs.			24 時 間* 24 hrs.			48 時 間* 48 hrs.		
		供試胞子数 Spores examined	発芽胞子数 Spores germinated	発芽率 Percentage of germination %	供試胞子数 Spores examined	発芽胞子数 Spores germinated	発芽率 Percentage of germination %	供試胞子数 Spores examined	発芽胞子数 Spores germinated	発芽率 Percentage of germination %
0	0	910	896	98	954	936	98	960	954	99
2.5	2,437.5	976	302	31	820	792	97	900	894	99
5.0	4,875.0	930	94	10	984	639	65	840	816	97
7.5	7,312.5	1,282	100	8	1,064	396	39	696	492	71
10.0	9,750.0	928	36	4	1,176	144	12	696	456	62
12.5	12,187.5	1,030	0	0	814	92	11	888	360	40
15.0	14,625.0	1,108	0	0	1,094	48	4	1,000	100	10

* Time passed after irradiation.

第4表 稻胡麻葉枯病菌第13号菌の分生胞子発芽におよぼす紫外線の影響
Table 4. Influence of ultraviolet light upon the conidial germination of *C. miyabeanus*, isolate No. 13.

照射時間 Irradiation time min.	照射量 Dose $\mu\text{w-min/cm}^2$	3 時 間* 3 hrs.			24 時 間* 24 hrs.		
		供試胞子数 Spores examined	発芽胞子数 Spores germinated	発芽率 Percentage of germination %	供試胞子数 Spores examined	発芽胞子数 Spores germinated	発芽率 Percentage of germination %
0	0	1,179	1,062	90	1,150	1,130	98
2.5	2,437.5	1,158	68	6	1,455	1,400	96
5.0	4,875.0	1,176	26	2	1,275	1,090	85
7.5	7,312.5	1,052	6	0.6	1,104	756	68
10.0	9,750.0	1,000	0	0	1,040	596	57
12.5	12,187.5	1,024	0	0	1,216	560	34
15.0	14,625.0	1,152	0	0	1,392	432	31

* Time passed after irradiation.

第2図 稲胡麻葉枯病菌第58号菌の紫外線による発芽阻害の時間的恢復

Fig. 2. Influence of time elapsed after irradiation upon recovery from ultraviolet injury of *C. miyabeanus*, isolate No. 58.

ことが知られている。³ しかし紫外線の場合にこれをそのまま適用することはできない。しかして紫外線のこの殺菌作用は明瞭なものではなく、むしろ菌の発育を抑制する作用と考える方が妥当のようである。すなわち第3表および第4表に見られる如く、紫外線量の少ない時の分生孢子発芽は若干の遅滞を見つつも殆んど正常に近い値にまで回復している。従つて観察時間が短いときには、発芽遅滞を起している菌と完全に死滅した菌との間の区別が困難であつてすべてを“死”と算定する誤りを侵し勝ちである。この場合 $10,000 \mu\text{w} \cdot \text{min}/\text{cm}^2$ 位の照射量では発芽遅滞の占める割合が多く、 $15,000 \mu\text{w} \cdot \text{min}/\text{cm}^2$ 以上では殺されるものの割合が著しく増加してくる。

供試菌の系統による紫外線感受性の相違は可成り判然とあらわれるようで第13号菌は第58号菌よりも紫外線に強いが、この原因は未だ不明である。

5. 摘 要

人工太陽灯の殺菌効果は殺菌灯に遙かに及ばない。

Summary

In the present paper, the writer reported the result of investigations on the influence of light upon the conidial germination of *Cochliobolus miyabeanus*.

The lethal effect of a sun lamp was far inferior to that of a germicidal lamp, because the

第3図 稲胡麻葉枯病菌第13号菌の紫外線による発芽阻害の時間的恢復

Fig. 3. Influence of time elapsed after irradiation upon recovery from ultraviolet injury of *C. miyabeanus*, isolate No. 13.

これは殺菌に有効な $2537\text{\AA}$ 線が殆んど含まれていないことによるのである。分生孢子は水浸によつて急激に紫外線に鋭敏になるがその原因は未だ不明である。しかして紫外線による殺菌効果の有無を分生孢子の発芽によつて検定する場合には、発芽の遅滞があるので少なくとも24時間以上経過後発芽率の検定を行わないと誤りが多い。稲胡麻葉枯病菌の菌系間には紫外線に対する感受性の異なるものがあり、第58号菌は第13号菌よりも鋭敏なようである。

本実験実施に当つて御懇篤なる御指導を賜わり、かつ論文の御校閲を賜つた恩師赤井重恭教授に深甚なる謝意を表します。(1959年4月13日受理)

引用文献

- 1) 正子 朔 (1959), 日植病報, 24(2):97~103.
- 2) 八木広男, 平田幸治 (1957), 日植病報, 22:4
- 3) Whitcher, S.L., et al. (1953), Nucleonics, 11(8):30.

former scarcely includes the effective wave length for sterilization, 2537 Å.

A sudden increase of the sensitivity of conidia to ultraviolet light was observed, when the conidia were suspended in water. The reason is not yet clear.

In the present experiment, the writer estimated the germicidal effect of ultraviolet light by determining the percentage of conidial germination. In view of occurrence of delayed germination, the germination percentage was determined at least 24 hours after the irradiation.

Difference in the sensitivity of conidia to ultraviolet light was found among the isolates of *C. miyabeanus*, the isolate No. 58 being more sensitive than the isolate No. 13.

(Laboratory of Plant Pathology, College of Agriculture, Kyoto University, Kyoto)

文 献 紹 介

キュウリモザイクウイルスの純化と抗血清の作製

Tomlison, J. A., R. J. Shepherd, and J. C. Walker: Purification, properties, and serology of cucumber mosaic virus. *Phytopath.*, 49 (5): 293~299. (1955).

今迄にも CMV の純化や形態、抗血清等に関する研究は行われているが、その方法はまだ確立されていない。著者等は CMV に罹病したタバコを用い、ブタノール (8.5%) と低速遠沈 (5000 r.p.m., 10 min.) による夾雑物の除去、及び酢酸添加 (pH 5.0) と超遠心分離によるウイルスの沈澱とを組合せて純化に成功し、径 40 m μ の球状粒子を観察した。汁液の酸化防止には thioglycolic acid を加えた。抗血清は CMV 罹病タバコ汁を部分的に純化し、それを兎に 4~5 日間隔で 6 回注射して得られた。力価は 1:1024 であるが健全タバコ汁とも弱い反応を示した。その他接種葉 (タバコ) のウイルス増殖曲線、緩衝液濃度と接種ササゲ葉上の local lesion 数との関係、純化ウイルスの紫外線吸収曲線等の結果が記されている。この実験で抗血清の吸収試験や、タバコ以外の CMV 寄主植物との抗血清反応試験が行われていないのは残念である。

(梶原比呂志)

土に施した殺虫剤、除草剤のトマト夏疫病と萎凋病の発生に及ぼす影響

Richardson, L. T.: Effect of insecticides and herbicides applied to soil on the development of plant diseases.

II. Early blight and Fusarium wilt of tomato *Canad. Journ. Plant Sci.*, 39 (1): 30~38.

(1959).

殺虫剤や除草剤を土に施すと、病害がいかに消長するかをトマトの夏疫病 (病原菌, *Alternaria solani*) と萎凋病 (病原菌, *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*) で研究した。大部分の薬剤はトマトに被害があり, lindane, manuron, schradan, demeton, などがひどいが, aldrin, DDT, endrin, delapon などとはかえって生育を促進した。

夏疫病では薬剤を 10 日間連日土壌に施した後、分生子を幼苗の葉に接種した。lindane, 2,4-D, isodrin では発病がふえ, endrin, MH, NPA, dieldrin, IPC, delapon, demeton, aldrin などでは発病が減った。

萎凋病では薬剤の施用時期と発病との関係を見たが (接種は根を孢子浮遊液に浸漬した), 施用時期と無関係に lindane, isodrin, delapon などでは発病がふえ, TCA, DDT, dinoseb, endrin, aldrin (後 2 者は薬剤施用後接種) などでは発病が減った。2,4-D と MH は施用時期により発病が増減したが、免疫性品種を発病させることはできなかった。

dinoseb, aldrin demeton はすでに 2,3 の病害の発生を少なくすることが報告されているが、本研究でも抑制効果のあつたのは面白い。これらの薬剤が発病に影響する機構は、(1) 葉が直接菌に作用して感染が減る。(2) 宿主に作用して抵抗性を増減させる。ことなどが考えられる。前者には dinoseb があてはまり、試験管内でも菌に有毒であるが、空気伝染性の夏疫病には菌と直接接しないので、きかなかつた。後者については、ホルモン型の除草剤ではすでに論議されているが、それ以外の薬剤の作用機構は不明である。

(富永時佐)