病原菌の代謝生理・毒素・酵素

玉 利 勤 治 郎*

Kinjiro TAMARI: Metabolism, Toxin Production and Enzyme Activity
in Several Plant Pathogenic Fungi

1. いもち病菌の代謝生理

Leaver, 田中らによりビオチンがいもち病菌 (*Piricularia oryzae* Cavara) の生長必須因子であり B_1 が補助因子として必要なこと, かつ葉酸, パントテン酸, パラアミノ安息香酸, イノシトール, ニコチン酸アミドなどは影響がないことが指摘されたが^{49,111}, ビオチンの作用機作について香月はいもち病菌をビオチン欠乏培地で培養する際ピルビン酸, α -ケトグルタル酸, リンゴ酸, クエン酸および乳酸が蓄積するがオキサザル酢酸によるビオチンの代行作用が考えられないことからいもち病菌では *Neurospora* などと同様ビオチンが Wood-Werkman 反応に關与して TCA 回路の有機酸代謝に直接關与するのではなく間接的にこれに關連していると考察した³⁵). なお, 大塚はいもち病菌の菌株により Wood-Werkman 反応に依存する度合の大なるものもあることを認めている^{76,77}). 香月はいもち病菌を嫌氣的条件下で培養した場合にも有機酸の蓄積が多くなるが, これらの大部分は乳酸と酢酸であり, ピルビン酸の酢酸への酸化と乳酸への還元が共役して起こるとし, またいもち病菌はピルビン酸を嫌氣的に脱炭酸してアセトインを形成するがビオチンまたは B_1 欠乏の場合にアセトインの蓄積が増加することを認め⁸⁶), さらにビオチン欠乏培地で培養する際ジメチルピルビン酸の蓄積することを認めた³⁷). Leaver, 田中, 富沢, 大谷らは同菌の生育にとくに好影響を与えるアミノ酸としてグルタミン酸, アスパラギン酸およびそのアミドを指摘し^{49,74,111,112,118}), かつ田中は日照不足や窒素過多の水稲あるいは罹病性品種におけるこれらのイネ体中での蓄積と罹病性との間に關係があると考察している^{111,112}). 加藤らはいもち病菌体中のグルタミン酸脱水素酵素には NAD 共役と NADP 共役の 2 種類があり, その

產生は培地組成で影響され, とくに窒素源にグルタミン酸を与えた場合產生が高まるが, それは主として NAD 共役のものであると報告している³⁸). また山田らはショ糖あるいはグリセリン培地で培養した菌体中にマンニトールの蓄積 (菌体中に約 10%) を認めてフルクトース-6-リン酸からマンニトールに至る系を明らかにした¹³⁵).

他方, 大塚らはいもち病菌の Race と病原性の問題に興味を持ち生理化学的な面から菌株間の差異について研究を行なつた^{75,76}). その結果菌株によるビオチン, B_1 , ニコチン酸の要求量の差異, 硝酸還元性の有無, 窒素源として亜硝酸ソーダ, トリプトファンの利用度の差異, また炭素源としてイヌリン, ソルボースの利用度の差異が分類の鍵となり得ることを認めて, 表 1 に示すように 13 の型に群別した. そのうち, 1, 2, 3, 9, 11 型には病原性の強い菌株が比較的多く, 12, 13 型には極めて微弱な株が, また 5, 7, 8, 型には微弱あるいは中程度の株が多く編入される. これによると, 報告された菌株の病原性とその型の間に比較的良好な關連性が認められる. たとえば硝酸還元性

第 1 表 いもち病菌菌株の生理化学的性質に基づく分類 (大塚ら⁷⁶)

* 新潟大学農学部

陰性の菌株には病原性強烈な傾向があり、同陽性菌株では亜硝酸を利用する型は病原性微弱または中等度、利用しない型は中等度または強烈である。イヌリン利用陽性株では病原性強烈な傾向があり、陰性株は微弱か中等度、ソルボース利用陽性株は微弱か中等度、陰性株では強烈の傾向がある。トリプトファンについて病原性の強烈な菌株は一般にこれの利用度が不良であるが、微弱な菌は一般に良好である。なお、13型のように極めて稀な例ではあるが、ピオチン欠培地で発育可能な菌株がある。これらの株はピオチンを自ら生成する能力も認められないのであつてその代謝機構がかなり特異的であることが窺える。また B₁ 欠培地で発育可能 (12 型, 13 型) および B₁ 欠、ニコチン酸添加培地で発育可能な菌株には B₁ を自ら生成する能力を認めず、それらは B₁ を必須とする菌株に比してグルタミン酸、アスパラギン酸の利用度が極めて良好である。かかる結果から、これらの菌株は B₁ をあまり必要としないグルタミン酸などを利用する代謝経路に依存する度合が大きいのであろうと考察している。

また玉利らはいもち病菌のチトクロムオキシダーゼ (cyt. oxi.) 活性と、ポリフェノールオキシダーゼ (po. oxi.) 活性の経時的变化を追求した結果、発育のごく初期には po. oxi. の活性はほとんど見られず cyt. oxi. の活性が高いが、培養日数が経過して発育が定常期に近づくにつれて cyt. oxi. の活性が低下して、po. oxi. の活性が急速に高まる。しかも病原性微弱とされている SO-homo 菌などは病原性が強いとされている 11F8-hetero 菌などに比してこの傾向が顕著である⁹⁰⁾。いもち病菌ではチトクロム系呼吸経路の存在が明らかにされているが¹⁵⁾、菌系間の差異と関連して菌の生育に伴う呼吸系の変換の問題も考慮する必要があるようである。小笠原らはいもち病菌胞子中の糖、アミノ酸、有機酸について調べた⁶⁸⁾。これらの中で量的に主体をなすものは乳酸であつて、胞子乾物量の 1.34% を占めており他のものはグルコース (乾物量の 0.2%) を除けば極めて微量である (なお、多量のピコリン酸が含まれているが、これについては後述する)。さらに胞子発芽率の極めて悪い変異株についてその胞子中の乳酸含量が極めて乏しいこと、かつこれに乳酸を与える時は正常菌のそれと同様な発芽率を示すことを見出した。なお、老齢の胞子についても同様な結果が得られる。これによつていもち病菌胞子中では乳酸が発芽基質として重要な役割を果たしていることが窺える。

河村・小野はいもち病菌胞子の発芽および付着器の

形成がイネ葉の表皮を透過してくるある揮発性物質に大きく影響されること、および罹病性品種にはとくに促進効果を有する揮発性物質の多く存在することを報告している³⁹⁾。玉利らはいもち病菌胞子の発芽促進作用を有するイネの揮発性成分を追究し、これを結晶状に分離してオリザロールと命名しかつその構造を明らかにした⁹⁷⁾。

2. 病原菌の産生する毒素

A. イネ馬鹿苗病菌の産生する毒素 Fusaric acid [F. A.] および Gibberellin [G.]

イネ馬鹿苗病菌 (*Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Wr.) の培養液を使つて、イネに罹病イネと同様の病状を起させて、馬鹿苗現象は菌の代謝生産物に基づくものであることを初めて明らかにしたのは黒沢である⁴³⁾。ついで高橋、伊藤、島田、黒沢らによつてこの物質が炭末に吸着され^{28, 29, 94)} また適当な溶剤で溶出が可能であり⁸⁸⁾、透析性があり、不揮発性でかつ安定であること⁴⁵⁾などが明らかにされた。また吉井はイネ苗とコムギ苗について試験して該菌系統の病原性の強弱と培養液の徒長性で示される毒性との間に平行関係を認めている¹³⁸⁾。イネ馬鹿苗病罹病イネには俗称「雄苗」「雌苗」があつて前者は徒長を起した、また後者は生育抑制現象の現れたイネ苗であるが本菌の培養液中には徒長物質のほか生育抑制物質も産生され培養条件によつて両物質の産生が左右される^{45, 87)}。藪田らは本菌の代謝生産物を化学的に追究し、まず生育抑制物質を結晶に分離して Fusaric acid [F. A.] と命名し、かつそれが 5-n-butylpyridine-2-carboxylic acid であることを明らかにした¹²⁶⁾。玉利は β -butylpyridine を合成してこれが F. A. を脱炭酸して得られる Fusarinin に一致することを明らかにした¹⁰⁶⁾。F. A. はその後 Gäumann らによつてトマト萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* var. *lycopersici*)¹⁵⁾、Kalyanasundaram らによつてワタ萎凋病菌 (*Fusarium vasinfectum*)³²⁾、西村によつてスイカ蔓割病菌 (*Fusarium oxysporum* f. *niveum*)⁶³⁾ からそれぞれ代謝産物として分離確認された。なお F. A. は罹病植物からも分離され vivotoxin であることが証明された^{45, 63)}。Gäumann の研究では F. A. に対してワタは最も感受性が強く、イネ、トマトがこれに次ぎ、ハダカムギ、トウモロコシ、エンドウは弱いという¹⁵⁾。また西村は *Fusarium* 属菌 8 種 79 菌株およびその他の関連属菌 15 菌株について F. A. 産生の有無を調べた結果 *F. oxysporum* と *F. moniliforme* に属する菌株だけが例外なく F. A.

を産生することを認めて、F. A. の産生を *Fusarium* 属菌の種別決定の一規準にすることができると報告している⁶⁴⁾。

Kluepfel は ^{14}C でラベルした F. A. をトマト苗の基部切口から吸収させて 48 時間後に 80 % エタノールで抽出を行ない、その塩基性区分に F. A. の代謝産物として植物に無毒の N-methyl-fusaric acid amide を確認した⁴⁰⁾。そして抵抗性品種の Red Currant は罹病性品種の Bonny Best や Tuckswood に比して無毒化能力が強いという。なおピリジン化合物は動物体内においても N のメチル化反応によつて無毒化されることが知られている¹²⁴⁾。

F. A. の阻害機構については玉利、加治^{98,99)}および Gäumann¹⁶⁾によつて報告されている。玉利らは F. A. の阻害下に稲稈を発芽させた場合、煮沸して酸素を追い出した水中あるいは窒素気中で発芽せしめた場合と同様の現象が見られることから F. A. は組織呼吸の阻害剤であると推定し、また実験結果もこれを証明した。ピリジンおよびそのアルキル誘導体が千分の 1 の濃度で稲の発芽生育に全く害作用を示さないことから、F. A. の害作用にはカルボキシル基の存在に意味があることになる。植物体内で呼吸に関与する鉄酵素、銅酵素の作用または形成は F. A. によつて阻害される。また F. A. の鉄酵素阻害作用は Fe^{+++} イオンによつて拮抗的に抑えられる。他方 F. A. とピコリン酸の阻害形式は全く同じであるが阻害の強さは F. A. が強く、鉄、銅とのキレート力も F. A. が強い。F. A. の側鎖の n-butyl 基は直接毒性に関与するのではなくキレート力を増強する役割をなすと考えられる。玉利らは構造的に関連のある一連の化学物質について検討して F. A. の毒性の本質はそのキレート機構によるものと考察した^{99,107)}。

F. A. の分離・構造決定に続いて藪田・林は徒長成分を Gibberellin (G.) と命名し、その分離精製を試みて純度の高い G. 粉末を得る^{127,128,129,130)}とともに種々の試験を行なつて G. がイネ苗のみならず、オオムギ、ソバ、ナタネ、マメ類、ウリ類、その他に興味ある作用を示すことを報告した¹³¹⁾。1938 年に至り

藪田、住木は GA および GB を結晶に分離することに成功した^{132,133)}。GB は GA よりも徒長力は弱く、かつ GA を希鉱酸中で 50~70°C で加温処理すると GB となる¹³⁴⁾。戦後に至つて G. は欧米の学者の興味を惹くところとなり、U. S. Dept. of Agriculture (U. S. D. A.) の Stodola 一派および英国の Imperial Chemical Industries (I. C. I.) の研究陣がほぼ同時に大規模な研究を展開した。そしてタンク培養で得られる G. が日本で表面培養により得られた GA と若干異なっていることを認めて、I. C. I. 研究陣はこれを Gibberellic acid と呼び¹⁴⁾、また U. S. D. A. 研究陣は Gibberellin X と呼んだ⁹¹⁾。一方わが国では住木一門によつて GA が GA_1 , GA_2 , GA_3 の混合物であること、そして GA_3 が Gibberellic acid (G. X) に一致することが確認され⁹⁵⁾、その後さらに GA_4 が分離された。Gibberellic acid の構造に関しては I. C. I. 研究陣によつて研究が推し進められ Cross et al.¹⁰⁾ は暫定的に Gibberellic acid の構造式を提出した (図 1)。一方、わが国でも住木一門によつて $\text{GA}_1 \sim \text{GA}_4$ の構造について研究成果が挙げられ GA_1 は GA_3 の A 環が飽和したもの、すなわち Dihydro A_3 であり、 A_2 , A_4 は A_1 と D 環における側鎖の構造が異なるだけであることが明らかにされ³⁹⁾、さらに G. 関連物質の合成を目指して研究が進められている⁵⁷⁾。また最近 Cross et al. によつて GA_7 および GA_9 がイネ馬鹿苗病菌の培養液から分離されてそれぞれ構造も明らかとなり^{13,53)}生物活性の比較検討もなされた^{19,67)}。また薄層クロマトグラフィーによつて $\text{GA}_1 \sim \text{GA}_9$ を分離確認する方法が報告されている^{31,54,86)}。さらに Schmidt ら^{4,85)}は酸素量の少ない条件下で培養した培養液から既知の G. とは異なり、Lepidium 種子発芽促進効果のとくに優れた G. を分離して GD と命名している。G. の生合成はテルペン形成経路によるもので酢酸やメバロン酸が前駆物質となり、また、その経路も報告されている^{3,139)}。G. は各種栽培植物に対する生育促進効果、開花促進、休眠覚醒、発芽促進、長日要求に対する代行作用、種子無し果実の形成など農業面における効果が高く評価されつつある。このよう

第 1 図 はじめ Cross ら¹⁰⁾が暫定的に提出した Gibberellic Acid (GibA_3) の構造式

Cross ら^{11,12)}が後に改正した Gibberellic Acid の構造式

にイネ馬鹿苗病菌の代謝生産物として見出された G. が高等植物でホルモンとしてその正常な生長に重要な役割を果していることはまことに興味ある事実である。たとえば矮性トウモロコシまたは矮性エンドウに G. を与えて普通型の草たけに達することが認められた^{5,80}。しかし G. と既知のオーキシン類との作用機構の間には本質的な違いのあることが指摘されている^{6,21,34,59,92}。なお注目すべきは G. の作用発現にはオーキシンの存在を必要とすることである^{7,46}。また林らは G. の作用に反応するのは伸長できる若い組織に限われていることを指摘している²⁰。

B. スイカ蔓割病菌の産生する毒素

スイカ蔓割病菌 (*Fusarium oxysporum* f. *niveum*) の毒素として西村⁶³がフザリン酸を分離したことは前に述べたが、その他に広江・西村は本菌の産生する萎凋性毒素として Phytonivein を結晶に分離している(無色長柱状, 融点 $138\sim 9^{\circ}\text{C}$, $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_2$)²⁴。本毒素は菌体から多く得られるがまた罹病植物体からも分離されており、各種のステロール反応が陽性で、スイカに対する萎凋限界濃度は 10^{-8}M 前後でしかも永久萎凋を示すという。またスイカの本毒素に対する感受性と品種間抵抗差異との間に平行関係を認めている。

C. イネごま葉枯病菌の産生する毒素

古く逸見らはイネごま葉枯病菌 (*Helminthosporium oryzae*) の培養液中に毒性物質の存在を指摘した²³が Orsenigo は本菌の培養液から毒素 Cochliobolin を結晶(融点 $180\sim 182^{\circ}\text{C}$)に分離した⁷⁸。また中村・石橋も本菌の培養液から類似の毒性物質(融点 $181\sim 2^{\circ}\text{C}$, $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_4$, $[\alpha]_D^{22}=30.5^{\circ}$)を分離して Ophiobolin と命名したが、融点、紫外吸収などが一致することから Cochliobolin と同一物質ではないかと推測している⁶¹。石橋はさらにトウモロコシ煤紋病菌 (*Helminthosporium turcicum*) の培養液からも本物質を分離した²⁷。Ophiobolin は 10 万倍でイネ籾の発芽、発根を阻害し、またイネ葉を刺傷してこれを与えるとごま葉枯病に似た病斑を形成するという。なお、本物質はカキ、モモ両炭そ病菌、サツマイモ黒星病菌、ナス立枯病菌などに対して強い抗菌作用を有している⁶¹。また石橋はエンバク葉枯病菌の産生する抗かび性物質(無色針状結晶, 融点 $174\sim 5^{\circ}\text{C}$, $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$, $[\alpha]_D^{22}=-50.27$)を分離して Pyrenophorin と命名した²⁶。なお *Helminthosporium* 属菌の産生する毒素として海外ではエンバク立枯病菌 (*Helminthosporium victoriae*) の産生する毒素 Victorin が Wheeler らその他によつてよく研究されている^{17,50,51,122,123}。Vict-

orin は未だ結晶状には得られていないが罹病植物からも得られており、罹病性エンバクに与えると病徴をよく再現させることができ、またエンバクの立枯病に対する罹病性と本毒素に対する感受性との間および菌の病原性と毒素産生能との間に平行関係が認められている。

D. イネ紋枯病菌の毒素

Chen はイネ紋枯病菌 (*Pellicularia sasakii* (Shirai) Ito) の培養液および罹病イネからパラヒドロキシフェニル酢酸を分離確認した⁹。これは 4 万倍までイネ籾の発芽生育を阻害するという。

E. ラジノクローバー葉腐れ病菌の毒素

西村らは多犯性病原菌であるラジノクローバーの葉腐れ病菌 (*Pellicularia filamentosa* Rogers) の産生する毒性物質が酸性物質であることを確かめて、その培養液の酸性区分について検討した結果、フェニル酢酸、パラヒドロキシフェニル酢酸、メタヒドロキシフェニル酢酸および未確認酸 1 個がラジノクローバーに毒性を示すことを認めた⁶⁶。

F. 日本ナシ黒斑病菌の毒素

島瀧は日本ナシ黒斑病菌 (*Alternaria kikuchiana* Tanaka) の培養液から融点 $92\sim 3^{\circ}\text{C}$ 、塩化鉄反応陽性で罹病性ナシ品種の葉のみに壊死斑を生ぜしめる毒性物質を分離して黒斑病菌の斑点性毒物質と呼んでいる¹¹⁹。この物質は Brian ら⁸がトマト輪紋病菌 (*Alternaria solani*) の培養液ならびに罹病トマトの果実から分離した毒素 Alternaric acid (融点 134°C , $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_6$) とは異なりトマトには作用がないという。

G. いもち病菌の産生する毒素

いもち病の病徴には菌が強力な毒素を産生すると考えることによつて説明できる現象が多い。たとえば葉いもちに罹つたイネの根が生育を著しく阻害されること、また病斑のできた葉を切り取つても残つた部分に生育阻害が現われることなどである。玉利・加治はいもち病菌の産生する毒素として菌の培養液ならびに罹病イネから 2 つの毒素を分離した¹⁰¹。ひとつは Picolinic acid (PA) と同定され、他のひとつは Piricularin (Pir.) と命名された。Pir. (無色柱状結晶, 融点 73.5°C , $[\alpha]_D^{28}=-16^{\circ}$, 暫定的分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$) の植物に対する作用は PA のそれより激しく、原形質に変性を起させる性質がある^{70,102}。Pir. の害作用を受けたイネの体内では著しいクマリンの集積が起るが¹⁰³, PA の害作用によつてはこの現象は起らない。すなわち Pir. によるイネの代謝阻害によつて第 3 の毒素クマリンが多量にイネ体内に形成されることにな

る。いもち罹病イネからクマリンが分離されたが¹⁰⁴⁾、このクマリンの異常集積は、罹病イネの「ずりこみ」現象と深い関係があるのではないかと考えられる。クマリン誘導体の集積は種々の罹病植物で認められている。瓜谷らは黒斑病罹病サツマイモにスコポレチンやウンベリフェロンの集積を認めた¹²⁰⁾。田杉らはパンチ法によつて PA をイネ葉に作用させいもち病斑に酷似する病斑を形成せしめ¹¹⁵⁾、また小野らは Pir. でいもち病斑類似の病斑を形成せしめたと報告している⁷³⁾。イネの品種により、また生育条件により病斑形成にかなりの差異があるようである。

PA の阻害機序は F. A. のそれと同じである。玉利らはイネ体内での PA の無毒化機構を調べるためトリチウム (³H) でラベルした PA をイネ苗の根から吸収させその代謝産物を追究した結果、ふたつの主要代謝産物が分離された¹⁰⁵⁾。ひとつはシラップ状物質 (融点 14°C) で PA の methylester であることが確認された。他のひとつは無色針状結晶 (分解点 170°C) で、N-methyl picolinic acid と認められた。これらは両者ともイネに対して毒性がない。イネの品種によつて様様ではないが 3 日間で、与えた PA の約 50% が代謝され、抵抗性品種でやや高率の傾向がみられ、産物としては上記結晶性物質が約 70% を占める。

いもち病菌胞子はよく知られているようにその発芽には水滴を絶対に必要とする。小笠原らはその発芽機序として同胞子は多量の PA (胞子乾物量の約 0.1%) を含有しており、発芽に際しては完全にこれを水滴中に放出することを証明した⁶⁹⁾。イネ葉上での胞子群から水滴中に放出された PA はイネの表皮組織細胞に浸透して呼吸を抑え、抵抗の機能を弱めて菌糸の侵入を容易ならしめるものと考えられるのであつて、事実イネに PA を吸収させて葉鞘検定を試みると、対照に比して菌糸の伸展度は非常に顕著である。したがつてイネの PA 無毒化機序は抵抗性に極めて重要な意義を持つていと解される。

Pir. はまたカタラーゼ、ペルオキシダーゼ、チトクロームオキシダーゼ、アスコルビン酸オキシダーゼなどの酵素活性を強く阻害する^{100,107)}。Pir. の害作用を受けたイネでは菌の侵害に対する抵抗反応が見られなくなる¹¹⁶⁾。しかしその濃度を極めて希薄にする時は刺激効果が見られ、イネ苗では酸素吸収の増大、リン酸吸収の促進、ATP その他の有機リンの増加を伴うが、とくに RNA-リン、蛋白リンの増加が顕著であつた¹⁰²⁾。なお富樫らがイネ苗に希薄な Pir. を与え、その葉鞘に接種を行なつた結果では、いもち病菌

の侵入に対するカロンティ形成反応が活発となつて侵入率が低下し、また組織細胞では過敏性反応を起す性質が強まつて菌糸の進展阻止がみられた¹¹⁸⁾。

イネのいもち病抵抗性品種と罹病性品種との間には Pir. に対する反応にある程度の差異が認められるようである。抵抗性品種群では呼吸に及ぼす Pir. の害作用に対して鈍感である反面、刺激作用に対しては敏感な傾向がみられ、イネ体中にポリフェノール成分の増加がより顕著である^{108,109)}。またイネのポリフェノール成分を構成するクロロゲン酸やフェルラ酸は Pir. と結合してこれをイネに対して無毒化する作用がある¹⁰⁹⁾。これからみれば抵抗性品種では病原の刺激作用に対する原形質の反応性が強く、かかるポリフェノール成分を速やかに形成する能力が大きいことが抵抗機序の 1 要因をなしているとも考えられる。他面 Pir. は原形質蛋白と結合する性質がある。抵抗性品種 (テップなど) と罹病性品種 (蒙古稻、農林 21 号など) の原形質蛋白と Pir. との結合能を透析平衡法によつて測定した結果では、両品種群の間に著しい差異がみられて罹病性品種の原形質蛋白が結合する Pir. 量は抵抗性品種のそれより大きい値が得られた¹¹⁷⁾。

玉利らはイネの切断根部から 1/5000 フェルラ酸液を吸収させた後、いもち病菌の葉鞘接種を行ない、菌の侵入率、伸展度の抑制を認めた¹¹⁰⁾。またフェルラ酸およびフェルラ酸の酸化生成体はいもち病菌の発芽、生育を抑制する作用は持たないことを確かめ、フェルラ酸を吸収せしめたイネの生理を検した結果、フェルラ酸を吸収させた際のイネの組織抵抗の高まりはフェルラ酸の Pir. 無毒化能力によると推論し、いもち病菌の侵入時に Pir. が一役をになつているものと考察している。Pir. はかび、酵母、グラム陽性菌に広く抗菌作用を示すが、とくにいもち病菌自身これに感受性が高い⁷¹⁾。すなわち Pir. の 0.25 ppm で同菌胞子の発芽率は 80% 阻害されかつ原形質は変性される⁷⁰⁾。このことは奇異な現象に見えるが、しかし同菌は特殊な水溶性蛋白と結合して菌には無毒 (ただしイネには有毒) の形で Pir. を産生することが明らかとなつた⁷²⁾。クロロゲン酸と結合した Pir. がイネには無害で、菌に有害であるのと対照的である⁷³⁾。

精製された結合蛋白は Tiselius 電気泳動図および超遠心像によつて全く単一であることが示されたが、次のような性質がわかつた¹⁰²⁾。i) 本結合蛋白は銅 2 原子を含む分子量 69,000 の青色蛋白で 280 mμ および 605 mμ に極大吸収をもつ。605 mμ の吸収は銅に基づくもので Na-ジチオナイトによる還元で消失する。ii)

蛋白中の銅は既知の銅酵素と異なり青酸加里透析で離れない。活性は Na-アザイド, CO, Na-ジエチルジチオカーバメート, 8-ヒドロキシキノリン, Pir. によつて阻害されるが, PA では 200 $\mu\text{g/ml}$ でも阻害されない。iii) 一種の酸化酵素で種々のフェノール物質を広く酸化するほかメタジフェノールをもよく酸化する。またフェニレンジアミン, インドール酢酸アスコルビン酸などをもよく酸化する。心筋から分離された結晶チトクローム C を速やかに酸化する。iv) Pir. の濃度が 10^{-4}M 以上の場合には結合に基づく沈殿を生ずる。

3. 病原菌の産生する酵素

病原菌の産生酵素として植物病害に直接関係の深いものではペクチン分解酵素 (P. E.), セルラーゼ, キシラナーゼなどがある。P. E. を産生する菌は多くは同時にシュウ酸やイタコン酸を産生することが知られており, これらの酸は P. E. に至適の pH を与え, あるいは P. E. とともに組織細胞の殺生機作に関与するなどの役割を果しているようである。

P. E. を産生する病原菌に侵害された植物組織では中葉が同酵素によつて分解されて細胞解離軟化をきたすことはよく知られている。このようにして相互の連絡を絶たれた細胞はそのことによつてもやがて死を招く結果になるが, 同時に分泌されるシュウ酸などによつて著しく害されやすくなることも指摘されている。病原菌の産生する P. E. をめぐつての諸問題については詳しくは Wood の総説¹²⁵⁾に譲り, ここではわが国での主な業績を簡単に紹介するにとどめたいと思う。

白絹病菌 *Corticium rolfsii* Curzi は P. E. とシュウ酸を産生するが, その殺生機作その他については黒田ら, 永田らの報告がある^{42, 60)}。

サツマイモ紫紋羽病菌 *Helicobasidium mompa* の P. E. 産生については, 山崎の報告がある¹³⁶⁾。プロトペクチナーゼの活性が極めて強くその至適 pH は 3.0 附近である。また本菌は多量のイタコン酸を産生するが, その他にもシュウ酸をも産生するようである^{1, 30)}。安盛はウリ類炭そ病菌の P. E. について報告している¹³⁷⁾。スイカ蔓割病菌の毒素については前述したが, 西村は罹病スイカで萎凋とともに見られる茎組織の軟弱化, 崩壊に同菌の産生する P. E. とシュウ酸が関与していると考えしている⁶⁵⁾。

谷はカキ炭そ病菌はキシラナーゼおよび液化型ペクチナーゼを分泌することを認めたが, 炭そ病罹病のカキ果実の組織軟化はカキ自体が生産する macerating

enzyme によるものと考えている^{113, 114)}。

須水らはいもち病菌の産生する 2 種類のキシラナーゼについて報告している⁹³⁾。一つは至適 pH が 6.4 で他は 8.1 であり, 最適温はともに 64°C である。前者はキシランをキシロースに分解し, 後者はキシランをキシロビオース, キシロトリオースなどの寡糖類に分解する。これらの酵素は Ca^{++} で活性化されるが Zn^{++} , Fe^{+++} , Co^{++} は阻害的であるという。いもち病菌はセルラーゼも産生するがキシラナーゼがこれとともに菌の侵害時役割を果しているといふことは考察している。井上, 逸見, 大塚はいもち病菌のセルロース分解力と病原性の間に平行関係を認めている^{22, 25, 76, 77)}。

なお前述したいもち病菌の産生する銅酵素 (Pir.-結合蛋白) も病害の面でなんらかの重要な役割を果しているのではないかと考えられるのである。

引用文献

1. 荒木隆男・山崎 保子・鈴木 直治 (1957). 農技研報告 C 8 : 53-59.
2. 浅田泰次 (1962). 愛媛大学紀要 (農学) 8 (1) : 3-103.
3. Birch, A. J. et al. (1959). Tetrahedron 7 : 241.
4. Borris, H. and Schmidt, S. (1961). Naturwissenschaften 48 : 483-484.
5. Brian, P. W. and Hemming, H. G. (1955). Physiol. Plantarum 8 : 669.
6. Brian, P. W. and Hemming, H. G. (1955). ibid. 8 : 899.
7. Brian, P. W. and Hemming, H. G. (1958). Ann. Bot. 22 : 1.
8. Brian, P. W. et al. (1952). Ann. appl. Biol. 39 : 308-321.
9. Chen, Yu-Shih (1958). Bull. Agr. Chem. Soc. Japan 22 : 136-142.
10. Cross, B. E. et al. (1956). Chem. and Ind. 954-955, (1958). Proc. Chem. Soc. : 221.
11. Cross, B. E. et al. (1959). Proc. Chem. Soc. : 302-303.
12. Cross, B. E. et al. (1959). Chem. and Ind. 1345.
13. Cross, B. E. et al. (1962). Tetrahedron 18 : 451.
14. Curtis, P. J. and Cross, B. E. (1954). Chem. and Ind. 1066.

15. Gäumann, E., Roth, S.N. and Kobel, H. (1952). *Phytopath. Z.* 20 : 1.
16. Gäumann, E. (1958). *Phytopathology* 48 : 670-686.
17. Grim, R.B. and Wheeler, H. (1963). *Phytopathology* 53 : 436-440.
18. 原田雄二郎ら (1959). *日植病報* 24 : 255-264.
19. Hashimoto, I. and Yamaki, T. (1960). *Bot. Mag. Tokyo* 73 : 64
20. 林 武・村上 浩 (1953). *農化誌* 27 : 797-801.
21. 林 武・村上 浩 (1954). 同上 28 : 543-545.
22. 逸見武雄・安部卓爾・井上義孝 (1941). *農林省農事改良資料* 157 : 1.
23. Hemmi, T. and Matsuura, I. (1928). *Proc. Imp. Acad. (Japan)* 4 : 185.
24. 広江 勇・西村正暘 (1956). *日植病報* 20 : 161-164. *農化誌* 30 : 528-531.
25. 井上義孝 (1939). *日植病報* 9 : 33.
26. 石橋慶次郎 (1961). *農化誌* 35 : 257-262.
27. 石橋慶次郎 (1961). 同上 35 : 323-326.
28. 伊藤誠哉ら (1931). *札幌農林学会報* 103 : 80-81.
29. Ito, S. and Shimada, S. (1931). *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 2 : 322-338.
30. Ito, K. (1949). *Bull. Gov. For. Exp. Sta.* 43 : 126.
31. Kagawa, T., Fukinbara, T. and Sumiki, Y. (1963). *Agr. Bio. Chem. (Japan)* 27 : 598-596.
32. Kalyanasundaram, R. and Saraswathi-Devi, L. (1955). *Nature* 175 : 945.
33. Kato, K. et al. (1962). *Arch. Biochem. Biophys.* 98 : 346-347.
34. Kato, J. (1958). *Physiol. Plantarum* 11 : 10.
35. 香月裕彦 (1955). *日化誌* 76 : 941-944.
36. 香月裕彦 (1956). 同上 77 : 482-485.
37. Katsuki, H. (1955). *J. Am. Chem. Soc.* 77 : 4686-4687.
38. 河村栄吉・小野小三郎 (1943). *農及園* 18 : 929-930, (1946). 同 21 : 101, (1948). *農試彙報* 4 : 1.
39. Kitamura, H. et al. (1959). *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan* 23 : 408-411.
40. Kluepfel, D. (1957). *Phytopath. Z.* 29 : 349-379.
41. 近藤金助・森田雄平 (1952). *京大食研報告* 10 : 33-45.
42. 黒田 佐俊・樋浦 誠 (1950). *岐阜農専学術報告* 68 : 14-16.
43. 黒沢英一 (1926). *台湾博物学会会報* 16 (87) : 213-227.
44. Kurosawa, E. (1930). *Trans. Nat. Hist. Soc. Formosa* 21 (109) : 218-239.
45. 黒沢英一 (1932). *台湾博物学会会報* 21 (114) : 159-182. 22 (120) : 198-201.
46. Kuse, G. (1958). *Bot. Mag. (Tokyo)* 71 : 151.
47. 銀塚昭三・大島康義 (1961). *農化誌* 35 : 67-71.
48. Lakshminaryanan, K. and Subramanian, D. (1955). *Nature* 176 : 697-698.
49. Leaver, F.W., Leal, J. and Brewer, C.R. (1947). *J. Bact.* 54 : 401-408.
50. Litzenberger, S.C. (1949). *Phytopathology* 39 : 300-318.
51. Luke, H.H. and Wheeler, H.E. (1955). *Phytopathology* 45 : 453-458.
52. MacMillan, J., Seaton, J.C. and Suter, P.J. (1959). *Proc. Chem. Soc.* 325.
53. MacMillan, J., Seaton, J.C., and Suter P.J. (1962). *Tetrahedron* 18 : 349-535.
54. MacMillan, J. and Suter, P.J. (1963). *Nature* 197 : 790.
55. Mitchell, J.W., Skaggo, D.P. and Anderson, W.P. (1951). *Science* 114 : 159-161.
56. Mori, K., Matsui, M. and Sumiki, Y. (1960). *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan* 24 : 631-632.
57. Mori, K. et al. (1961). *ibid.* 25 : 205-222, 902-906, 907-914, (1962). *ibid.* 26 : 783-784, (1963). *ibid.* 27 : 530-536, 537-542, (1964). *ibid.* 28 : 239-242, 243-247.
58. Mulholland, T.P.C. and Ward, G. (1954). *J. Chem. Soc.* 4676-4681.
59. Murakami, Y. and Hayashi, T. (1963). *Agr. Bio. Chem. (Japan)* 27 : 35-39.
60. 永田幸雄・林 金雄 (1956, 1961). *農化誌* 30 : 86-89, 248-252, 35 : 301-307.
61. 中村路一・石橋慶次郎 (1958). *農化誌* 32 : 739-744.
62. Nisikado, Y., Matsumoto, H. and Yamauchi, K. (1934). *Ber. Ohara Inst. Landwir. For-*

- sch. 6 (1): 113-136, 131-147.
63. 西村正暘 (1957). 日植病報 22: 215-219.
64. 西村正暘 (1958). 日植病報 23: 210-214.
65. 西村正暘 (1956). 鳥取農学会報 11: 42-46.
66. 西村正暘・佐々木睦男 (1963). 日植病報 28: 228-234.
67. Nitsch, J.P. and Nitsch, C. (1962). Ann. Physiol. Vegeta. 4 (1): 85.
68. 小笠原長宏ら (1961). 農化誌 35: 1416-1424.
69. 小笠原長宏ら (1961). 同上 35: 1412-1416.
70. 小笠原長宏・玉利勤治郎 (1961). 同上 35: 1315-1323.
71. 小笠原長宏・玉利勤治郎 (1957). 同上 31: 390-392.
72. 小笠原長宏・玉利勤治郎・加治 順 (1957). 同上 31: 464-468, 535-538.
73. 小野小三郎ら (1955). 北陸農試昭和 30 年度作物病害に関する試験成績 (夏作).
74. 大谷吉雄 (1952). 日植病報 17: 9-15.
75. 大塚 一止・玉利勤治郎・小笠原 長宏 (1957). 農化誌 31: 791-794, 794-798, 886-890, 890-893, 同 32: 890-893, 893-897.
76. 大塚 一止 (1959). 新潟大教育学部 紀要 1 (2): 29-34.
77. 大塚 一止 (1961). 同上 3 (2): 1-101.
78. Orsenigo, M. (1957). Phytopath. Z. 29: 189-196.
79. Phinney, B.O. et al. (1957). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 43: 398.
80. Phinney, B.O. (1958). ibid. 44 (42): 185.
81. Radley, M. (1956). Nature 178: 1070.
82. Radley, M. (1958). Ann. Botany (London) 22: 297.
83. 沢田兼吉 (1917). 台湾博物学会会報 31-32: 131-133.
84. 沢田兼吉・黒沢英一 (1924). 台湾総督府中央研究所農業部彙報 2: 1-19, (1927). 同 50: 1-40.
85. Schmidt, S. (1961). Naturwissenschaften 48: 484-485.
86. Sembdner, G. et al. (1962). Experientia 18: 584.
87. Seto, F. (1932). Mem. Coll. Agr. Kyoto Imp. Univ. 18: 1-23.
88. 島田昌一 (1932). Ann. Phytopath. Soc. Japan 2 (5): 442-452.
89. 島田昌一 (1932). J. Sapporo Soc. Agr. For. 24 (109): 170-178.
90. 島田昌一 (1934). 農及園 9 (10): 2146-2152.
91. Stodola, F.H. et al. (1955). Arch. Biochem. Biophys. 54: 240-245.
92. 住木諭介 (1952). 農化誌 26: 392-397.
93. Sumizu, K., Yoshihawa, M. and Tanaka, S. (1961). J. Biochem. (Tokyo) 50: 538-543.
94. 高橋隆道 (1931). 三重高農校友会學術彙報 3: 12-32.
95. Takahashi, N. et al. (1955). Bull. Agr. Chem. Soc. Japan 19: 267-277.
96. 玉利勤治郎ら (1961). 新潟農林研究 13: 66-75.
97. 玉利勤治郎ら (1958, 1960). 農化誌 32: 643-646, 同 34: 945-949, 949-953.
98. 玉利勤治郎・加治 順 (1952, 1953). 農化誌 26: 223-227, 295-298, 298-303, 345-349, 349-353, 同 27: 144-147, 147-150, 159-161, 245-249, 249-252, 302-306.
99. Tamari, K. and Kaji, J. (1954). J. Biochem (Tokyo) 41: 143-165.
100. 玉利勤治郎・加治順 (1957). 農化誌 31: 383-387.
101. 玉利勤治郎・加治 順 (1954). 同上 28: 254-258, 同 31: 387-390.
102. 玉利勤治郎 (1960). 蛋白質・核酸・酵素 5: 664-676.
103. 玉利勤治郎・加治 順 (1959). 農化誌 33: 181-183.
104. 玉利勤治郎・加治 順 (1959). 同上 33: 178-180.
105. 玉利勤治郎・加治順 (1964). 日植病報 29: 88.
106. 玉利勤治郎 (1951). 新潟農林専門学校學術報告 1: 82-96.
107. 玉利勤治郎 (1959). 新潟大学農学部學術報告 11: 121-140.
108. 玉利勤治郎・加治 順 (1957). 農化誌 31: 538-544.
109. 玉利勤治郎・加治 順 (1955). 同上 29: 185-190.
110. 玉利勤治郎ら (1962). 日植病報 27: 72-73.
111. 田中正三・香月裕彦 (1951). 日化誌 72: 231-233, 285-287, (1952). 同 73: 303-306, 868-870, (1953). 同 74: 85-88.
112. 田中正三・森脇垂果 (1955). 日植病報 20: 54-58.

113. 谷 利一 (1959). 香川大農学報 10 : 29-35.
114. 谷 利一 (1963). 日植病報 28 : 114-120, 187-194.
115. 田杉平司・三沢正生・田部 真 (1955). 昭和 30 年度農業改良助長法による研究報告.
116. 富樫邦彦・小笠原長宏・玉利勤治郎 (1960). 日植病報 25 : 142-148.
117. 小笠原長宏・玉利勤治郎・加治順 (1963). 日植病報 28 : 79-80.
118. 富沢長次郎 (1953). 日植病報 17 : 113-118.
119. 鳥潟博高 (1957). 昭和 32 年名大農園芸教室印刷「日本梨黒斑病の罹病機作に関する研究」.
120. 瓜谷郁三・星谷磐夫 (1953). 農化誌 27 : 161-164.
121. West, C. A. and Phinney, B. O. (1956). Plant Physiol. 31 Suppl. 20.
122. Wheeler, H. E. and Black, H. S. (1962). Science 137 : 983-984.
123. Wheeler, H. E. (1963). Am. J. Bot. 50 : 686-693.
124. Williams, R. T. (1949). Detoxication mechanisms. 288 pp. N. Y.
125. Wood, R. K. S. (1955). Mechanisms of microbial pathogenicity. The fifth Symposium of the Society of General Microbiology. Cambridge Univ. Press.
126. 藪田貞治郎ら (1934). 農化誌 10 : 1059-1068.
127. 藪田貞治郎 (1935). 農及園 10 : 17-22.
128. 藪田貞治郎 (1936). 日本學術協報告 11 : 478-480.
129. 藪田貞治郎・林 武 (1936). 農及園 11 : 27. 同12 : 1073.
130. 藪田貞治郎・林 武 (1939). 農化誌 15 : 257-266.
131. 藪田貞治郎・林 武 (1939). 同上 15 : 403-413, (1940). 農試彙報 3 : 365.
132. 藪田貞治郎・住木諭介 (1938). 農化誌 14 : 1526.
133. 藪田貞治郎ら (1941). 同上 17 : 721-730.
134. 藪田貞治郎ら (1941). 同上 17 : 894-900.
135. Yamada, H. et al. (1961). J. Biochem. (Tokyo) 49 : 404-410.
136. 山崎保子 (1957). 農技研報告 C8 : 37-51.
137. 安盛 博 (1963). 島根農科大研究報告 11A : 23-26.
138. 吉井 啓 (1943). 日植病報 12 : 85-96.
139. Zweig, G., Devay, J. E. and Cosens, G. R. (1958). Plant Physiol. 33 suppl. : 38.