ギ鱗茎腐敗の場合も酵素液に添加された蓚酸が酵素液を極端に酸性にし、酵素活性を非常に高めるとともに、蓚酸それ自身も組織軟化を引き起こし、両者が合まって組織崩壊が進むものと推測される。

摘 要

1. タマネギ鱗茎腐敗部より分離した *A. niger* は Czapek およびジャガイモ煮汁液体培地中に多量の蓚酸を産生した。
2. *A. niger* を移植したタマネギ鱗茎から抽出された粗酵素液にはタマネギ組織を崩壊する作用がみられた。
3. 蓚酸と粗酵素液を混合すると組織崩壊度は増大した。

引 用 文 献

- 1) 朝井勇宜・佐野実・井上五郎 (1949) 農化 23: 393-

404. 2) 石井茂孝・菊地忠昭・横塚保 (1969) 同上 43: 544-551.
- 3) 石井茂孝・菊地忠昭・横塚保 (1970) 同上 44: 306-311.
- 4) BROWN, W. (1915) Ann. Bot. 29: 313-348.
- 5) HANCOCK J. G., R. L. MILLAR & J. W. LORBEER (1963) Phytopathology 54: 928-935.
- 6) HIGGINS, B. B. (1927) Ibid. 17: 417-448.
- 7) KAJI, A. (1959) Bull. Agr. chem. Soc. Japan 23: 131-139.
- 8) 黒田佐俊 (1956) 農業技術 11: 255-258.
- 9) LUMSDEN, R. D. (1976) Can. J. Bot. 54: 2630-2641.
- 10) 永田幸雄・林金雄 (1961) 農化 35: 307-312.
- 11) 永田幸雄・林金雄 (1961) 同上 35: 395-399.
- 12) 永田幸雄・林金雄 (1961) 同上 35: 399-404.
- 13) 田中欽二・野中福次 (1974) 九病虫研会報 20: 88-90.
- 14) 田中欽二・野中福次 (1976) 同上 23: 37-38.
- 15) 田中欽二・野中福次 (1976) 日植病報 42: 346.
- 16) 谷利一 (1965) 香川大農紀要 18: 1-83.

Pisatin の病原菌に対する特異性と耐性について

野中福次・萩原 茂・原 学 (佐賀大学農学部)

Differential sensitivity and tolerance of several fungi to pisatin

Fukuji NONAKA, Shigeru HAGIWARA and Manabu HARA

(Faculty of Agriculture, Saga University, Saga City, Saga 840)

As a result of inhibition by pisatin to radial mycelial growth of each fungus cultured on medium the median effective dose (ED_{50}) values for fungi were as follows: 44ppm for *Cladosporium fulvum* non-pathogenic to *Pisum sativum*, 60 and 62 ppm for *Botrytis cinerea* and *Rhizoctonia solani* polyxenic to many plants, respectively, and more than 68 ppm for *Ascochyta pisi* and *Fusarium solani* f. *pisi* pathogenic to *P. sativum*. Acquired tolerance to pisatin was slightly obtained in *A. pisi*, *B. cinerea* and *C. fulvum* by successive cultures of these fungi for seven or ten generations at intervals of several days on media containing 100ppm of pisatin.

エンドウの phytoalexin である pisatin の抗菌性に特異性がみられることについてはすでに多くの研究¹⁾²⁾がなされているが、筆者らも pisatin を含め phytoalexin の特異性について報告^{3)~6)}してきた。本実験は各種病原菌に対する pisatin の阻害作用の比較を、培養による菌糸伸長に対する ED_{50} を求めることにより行い、つぎに、pisatin 添加培地に病原菌を継代培養することにより pisatin に対する耐性がみられるかどうかについて検討したものである。

実験 I Pisatin の各種病原菌に対する ED_{50} の検定

1. 材料と方法：エンドウの寄生菌 *Ascochyta pisi*,

Fusarium solani f. *pisi*, 多犯性菌 *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, 非寄生菌 *Cladosporium fulvum* を供試し、pisatin のこれら病原菌に対する ED_{50} を菌糸伸長阻害によって調べた。すなわち、0, 31, 47, 68 ppm の pisatin を含有する PSA 培地 (アルコールを2%含む) に、各種病原菌の新しい菌そうを接種し、適温下に24~96時間平面培養して菌そう直径を測定し、各菌の ED_{50} を求めた。

2. 結果および考察：測定結果は第1図に示す通りである。これから pisatin の菌糸伸長に対する ED_{50} を求めると、*C. fulvum* では44ppm, *B. cinerea* では60ppm, *R. solani* では62ppmであるのに対して、*A. pisi* および *F. solani* f. *pisi* では68ppmの濃度で10%内

第1図 Pisatin の各種病原菌に対する菌糸伸長阻害

外の阻害しかみられず、この程度の濃度では ED_{50} を求めることはできなかった。Van Etten⁷⁾ も同様な実験を行い、*A. pisi* は 100ppm で 3% の阻害しかみられず、*F. solani* f. *pisi* ではほとんど阻害が起きないのに対し、非寄生菌では 60~90% の阻害をうけることを報告しており、本実験の結果と大体一致した。

実験II Pisatin 添加培地に病原菌を継代培養した場合の耐性獲得

1. 材料と方法：供試菌として *A. pisi* (寄生菌)、*B. cinerea* (多犯性菌) および *C. fulvum* (非寄生菌) を用い、合成培地 (Dextrose 15g, K_2HPO_4 0.87g, KH_2PO_4 6.12g, *l*-Asparagine 3.0g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.14g, Agar 15g, Fe 0.8ppm, Zn 0.6ppm, Thianine 2.0ppm, Biotin 0.04ppm, H_2O 1,000ml) に pisatin を 10, 100ppm になるように添加 (アルコール濃度は 2%) し、殺菌後直径 2.5cm の小型シャーレに 1ml ずつ分注して各種病原菌を培養した。対照区として pisatin 無添加培地を用いた。まず、対照培地に培養した菌そう先端部を径 2mm の円盤に切り取り、接種源とし、pisatin 添加培地に一定時間培養後菌そう直径を測定してこれを 1 代菌とした。2 代目以降も pisatin 無添加培地→添加培地と継代培養を行うとともに、菌そうの直径を測定し、継代培養することによって菌糸伸長に差異がみられるかどうかを比較した。*A. pisi* では 7 代、*B. cinerea* では 10 代、*C. fulvum* では 11 代まで培養した。一方、*B. cinerea* については 7 代目から pisatin 無添加培地に戻

し培養することなく、添加培地のみで 11 代まで連続培養を行う区を設けた。いずれの菌も 3 菌株を用い、菌糸伸長度はその平均値で表示した。

第2図 Pisatin 10 ppm 添加培地に継代培養した場合の菌糸伸長度

2. 結果と考察：10ppm培地で継代培養した場合の菌糸伸長度を示したものが第2図である。*A. pisi* では継代培養することによる菌糸伸長に大きな差は認められず、いずれも 0 ppm培地での菌糸伸長より生育はやや良好で、pisatin による阻害は全くみられなかった。*B. cinerea* と *C. fulvum* では各代で変動が大きく、一定の傾向は認められなかった。100ppm 培地で継代培養した場合の結果は第3図に示した。*A. pisi* では各代による変動はみられるが、継代することによって菌糸伸長は良好となる傾向がみられ、また、このことは *B. cinerea* および *C. fulvum* でも、変動はみられるものの、同様な傾向がみられた。一方、これら3つの菌に対する pisatin の阻害を比較すると、*A. pisi* では各代とも阻害はみられなかったが、*B. cinerea* と *C. fulvum* では 50% 以上の阻害がみられた。このことは寄生菌と非寄生菌に対する pisatin の阻害度に明らかな差があることを示しており、実験 I の ED_{50} の結果とも一致している。*B. cinerea* を 10, 100ppm培地に 11代培養した場合の菌糸伸長度を示したものが第4図である。10ppm培地では継代するこ

第3図 Pisatin 100ppm 添加培地に継代培養した場合の菌糸伸長度

とによって差は明確でなかったが、100ppm 培地では変動はみられるものの、全体として代を重ねることにより菌糸伸長は良好になる傾向を認めた。

これらの結果を総合すると、100ppm pisatin 添加培地に病原菌を7～10代培養すれば、添加培地上での菌糸伸長がいくらか良くなる傾向を示している。このことから、これらの菌は pisatin に反復接触することによりいくらか耐性を獲得したのではないかと考えられる。Higgins²⁾ および Van der Heuvel ら⁸⁾ は phytoalexin が病原菌によって分解される場合、induced conversion という現象を報告しているが、pisatin 添加培地に継代培養して得た本試験の結果もこのような機構が関連していることも予想される。しかし、これら処理間にみられる菌糸伸長度の差は顕著ではなく、有意差がない場合も多かったことから、さらに検討を要する。

摘 要

Pisatin の各種病原菌糸伸長に対する ED_{50} は *Cla-*

第4図 Pisatin 培地に *B. cinerea* を連続継代培養した場合の菌糸伸長度

dosporium fulvum では44ppm, *Botrytis cinerea* では60ppm, *Rhizoctonia solani* では62ppmであるのに対し、*Ascochyta pisi* および *Fusarium solani* f. *pisii* では68ppm以上で、測定できなかった。

Pisatin を100ppm 添加した培地に *A. pisi*, *B. cinerea*, *C. fulvum* を7～10代継代培養すると、これらの菌は pisatin に対しいくらか耐性を獲得する傾向がみられた。

引 用 文 献

- 1) CRUICKSHANK, I. A. M. (1962) Aust. J. Biol. Sci. 15: 147-159.
- 2) HIGGINS, V. J. (1975) Physiol. Pl. Path. 6: 5-18.
- 3) 野中福次・安井一臣(1966) 佐大農学彙報22: 39-49.
- 4) 野中福次・中路正紹(1971) 九病虫研会報 17: 16-19.
- 5) 野中福次・実松季明(1973) 同上 19: 5-8.
- 6) 野中福次・松崎正文(1975) 佐大農学彙報 39: 67-74.
- 7) VAN ETEN, H. D. (1973) Phytopathology 63: 1477-1482.
- 8) VAN der HEUVEL, J. & H. D. VAN ETEN (1973) Physiol. Pl. Path. 3: 327-339.