

稻胡麻葉枯病菌培養濾液の植物に及ぼす作用 (第1報)*

後 藤 岩 三 郎

(山形大学農学部応用植物学研究室)

Iwasaburo GOTO: Effects of the culture-filtrate of *Ophiobolus Miyabeanus*
ITO et KURIB. upon the plants (1)**

稻胡麻葉枯病菌の培養濾液の毒性については佐藤³⁾、逸見³⁾の報告がある。著者はその毒性物質の作用について二三の実験を行った。種々御教示を戴いた佐藤教授に深く感謝する。

材料 KNO₃ 10gm., KH₂PO₄ 5gm., MgSO₄ 2.5gm., Pepton 10gm. Sucrose 25gm. を蒸溜水 1 立にとかし、500c.c. エーレンマイヤーフラスコに 200c.c. 宛入れ常法により蒸気殺菌を行った。菌は京大農学部植物病理学研究室より分与された京都13号菌を接種し、25°C に50日間保つた。濾紙でこし、5分位沸とうさせ、微生物の発生を全く見られない間だけ使用した。液の pH は接種前は 5.1, 培養濾液では 6.6 である。

方法及び結果 (1) 培養濾液がカタラーゼの作用を阻害することを実験した。柿内⁶⁾の方法により、反応室には 1/15M 磷酸 (pH=緩衝塩液6.8) 5c.c., 植物磨碎汁 (トーションバランスで秤量), 三共オキシフル液 10c.c. (100c.c. を 250c.c. メスフラスコで稀釈) を入れる。それに培養濾液又はその対照液を 1c.c. 宛加え、5分間に生ずる O₂ 量を測定し、磨碎汁の 1mgm. 当の体積を計算した。急激な温度変化をさける爲に反応室は水槽内に保つた。第1表の実験では南瓜の子葉を、第2表では白茶を使用し、数値は 3~5 回の平均である。添加後の時間、濾液の稀釈、加熱、溜出との関係等を実験した。

(2) 常法により抽出した大麦々芽アミラーゼ液 20c.c. に培養濾液 20c.c. を加

第1表 稻熱病菌培養濾液との比較

	A	B	C	阻害率 %	
	対 照	稻熱病菌	胡麻葉枯 菌	(A-B)/A	(A-C)/A
O ₂ 量10 ⁻² c.c./mgm.	7.7	6.9	3.2	1.0	58.8

第2-1表 添加後の時間との関係

	対 照	添加直後	3.5時間後
* O ₂ 量	18.9	9.0	9.0

* 単位は第1表に同じ。以下同様。

第2-2表 稀釈との関係

	原 液		10倍液		50倍液		阻 害 率		
	A	A'	B	B'	C	C'	A	B	C
O ₂ 量	18.9	9.0	27.2	20.8	28.6	25.8	52.4	23.5	9.8

註. A, B, C は対照。

* 植物病原菌の病原性に関する研究 (第1報), 第5回北日本病害虫研究会発表 (昭27.2)

** Contributions from the Laboratory of the Applied Botany, Faculty of Agriculture, Yamagata University No. 16 (Jan. 1952)

第2-3表 耐熱性

	対 照	無 加 熱	加 熱*
O ₂ 量	35.6	29.6	29.5

*5分間沸騰.

えた. その 10c.c. に 1%可溶性澱粉液 100c.c. 醋酸

緩衝液 (pH4.8) 10c.c. を添加する. 20°C に30分おき, ベルトラン法により還元糖量を測つた.

第3表 大麦麦芽アミラーゼに対する作用

	A 対 照	B 培 養	阻害率% (A-B)/A
糖量 mgm.	35.6	33.2	6.7

第4表 植物汁液添加と毒性との関係

	A	A'	B	B'	(A-A')/A	(B-B')/B
O ₂ 量	28.6	35.0	19.8	20.4	18.3	0.3

第5表 NH₄Cl 溶液との関係

	対照	10mg*	1mg	0.1mg	0.05mg	0.01mg
O ₂ 量	8.97	5.51	7.94	8.72	8.89	10.84

* 1c.c. 中の NH₃ 量を示す.

第6表 細胞浸透圧に及ぼす作用

	原形質分離程度 Mol.				原形質分離 復帰時間
	0.50	0.45	0.40	0.30	
対 照	+	+	±	-	9~10分
培 養	+	±	-	-	13~15分

H₂O₂, ベンゼジンを添加してペロオキシダーゼ反応を観察したが, 肉眼では, その差が認められなかつた. 水に浸したもものではその反応は大きい.

考察 (1) 稻熱病菌は発育が悪く, 空中菌糸は殆どなかつた. カタラーゼ活性に対する阻害作用の弱いのは質的な差ではなくて, 量的なものである. 胡麻葉枯病菌はよく発育し, 濾液の NH₃ も多かつた.

(2) カタラーゼ活性が抑制される場合, 誘導作用⁷⁾を見ることもあるが, 第2-1表によれば3.5時間の間には此の現象はない. 毒性的反応は濾液添加直後に終る. これは重金属による同様な実験と似ている.

稀釈によつて阻害作用は弱まる. 菌糸の発育, 胞芽は稀釈によつて却つて促進される事が知られている⁸⁾が, 筆者の実験範囲では, カタラーゼ活性に及ぼすそのような作用は認められなかつた. 完全な

第2-4表 溜出との関係

	対 照		培養濾液		阻 害 率	
	溜出	残溜	溜出	残溜	溜出	残溜
O ₂ 量	28.9	17.7	29.9	11.2	-0.3	35.7

註 供試液 50c.c. に蒸溜水 50c.c. を加え溜出, 残溜液を略等量とする.

(3) 白菜汁液 5c.c. (遠心分離機3000回転10分間, その上澄使用) を培養濾液 5c.c. に加え, 沸とうして更に遠心分離機にかけその上澄液を使用した. これをB区とし, 対照液はA区に示してある. A', B' 区は白菜汁液の代わりに醋酸緩衝液を使用した値である.

(4) 以上に使用した培養濾液は 1c.c. 中に 0.05~0.03mgm. の NH₃ を認めた (ウケナ比色管法). NH₄Cl 溶液にてそのカタラーゼ作用に対する影響を実験した.

(5) タマネギの鱗葉裏面の表皮を 2mm² 位に切り, それを供試液に30分間浸し, 後各濃度の蔗糖液に入れ20分後の原形質分離をみた. 又同様にして 1M. 蔗糖液に10分間浸し, 後 0.25M. 液に入れ原形質分離復帰時間を測つた. この場合原形質分離の程度は対照区が著しい.

タマネギの同じ材料を前記の如き操作をし

生活体と酵素単独との場合は作用が異なるものと考えられる。

培養濾液の毒性物質が耐熱性を持つ⁹⁾ことは多くのもので知られている。又揮発性物質でない⁹⁾場合も報告されている。カタラーゼ活性に毒性を示す此の実験の物質も、耐熱性が強く、不揮発性のものである。

(3) アミラーゼ活性に及ぼす阻害作用は、カタラーゼ活性に対するそれよりもはるかに弱い。これは石崎^{4), 5)}の報告するように呼吸酵素をより強く不活性化する作用を持つものと考えられる。これは他の抗生物質が呼吸を阻止する事と符合する¹⁰⁾。

(4) 毒性物質が、植物汁液に作用、結合しその爲にその毒性を減少するという事は筆者の実験からはうかがわれない。対照液では明かにその毒性が減少しているが、その質的、量的比較は今後の検討を必要とする。又 NH_3 の存在による害は種々論ぜられているが、カタラーゼ活性に対する阻害作用はなく、むしろ僅かながら促進作用を示す。

(5) タマネギの細胞に対して、その滲透圧、透過性に対しては明かに変化を起させている。しかしペロオキシングーゼ反応では明瞭な差異は認められない。これはその試薬の敏感度にもよるが1つは完全な細胞の示す抵抗性も関係しているものと考える。種々の抗生物質がそのままの形で植物体内に吸収されること^{1), 2)}が報告されているから、本実験の場合にも細胞の中にこの毒性物質が容易に滲透することは明かである。これについては猶実験を進めているので後報にゆずる。

摘 要

1) 稻胡麻葉枯病菌の培養濾液の中には、耐熱性、無揮発性の毒性物質がある。植物汁液のカタラーゼ活性に対して短時間内に阻害作用を及ぼす。その作用は稀釈により弱まる。

2) アミラーゼ活性に対する阻害作用はカタラーゼ活性に及ぼすそれよりも著しく弱い。呼吸系酵素に対してよりはげしく作用するものと推察される。

3) 植液汁液がその毒性を緩和する作用は認められない。濾液 (中の主として NH_3) は滲透圧、透過性には影響を与えているが、ペロオキシングーゼ反応に対しては明瞭な作用の差は現わさない。

文 献

- | | |
|----------------------------------------------------|------------------------------------|
| 1) Blankerd, F. D. (1951): Amer. Jour. Bot. 38, -2 | 6) 柿内三郎 (1933): 酵素化学実験法 |
| 2) Brian, P. W. et al. (1951): Nature 167 347p | 7) 小野豊樹 (1950): 酵素化学 |
| 3) 逸見武雄 (1928): Proc. Imp. Acad. 4 | 8) 佐藤静一 (1931): 植物病害研究 1 |
| 4) 石崎 寛 (1950): 医学と生物学 16 4 | 9) 高橋 実 (1951): 同上 4 |
| 5) 同 (1950): 植物病害研究 4 | 10) 梅沢純夫, 西川 (1948): ペニシリン 1 640p. |

Summary

This paper deals with the toxicity of the culture-filtrate of *Ophiobolus Miyabemus* ITO et KURIB. By the onion-cells immersed in this solution, the osmotic value becomes low, and the plasmatic permeability seems to decrease, while the peroxidase-reaction is same as in control. The toxic substances contained in the filtrate are very heat-resisting (not destroyed by 5 minutes boiling), and don't volatilize.