

稻紋枯病菌の栄養生理に関する研究

第1報 繊維素分解能について

吉 村 彰 治

九州農業試験場

YOSHIMURA, S. Nutritional and Physiological Studies on the Rice Sheath-Blight Fungus, (*Hypochnus sasakii* SHIRAI).

I. On the Cellulose Decomposition by the Rice Sheath-Blight Fungus.

稲に対する稻紋枯病菌 (*Hypochnus sasakii* SHIRAI) の侵入は、吉井・河村 (13) によつて、葉鞘は内側裏面表皮、葉片は機動細胞条上側及び気孔より行われる事が確認されたが、著者はかかる寄主との特異的相互関係につき、本菌の栄養生理学的見地より考察を加えんと試みた。本報は先づ細胞膜の基本構成物質たる繊維素の分解能につき実験を行つたので、第1報としてその概要を報告する。^{*}

本実験を行うに当り、種々御懇篤なる御指導を賜わつた前研究室長井上義孝技官**に対し深甚の謝意を表す次第である。

1. 実験材料及び方法

菌の繊維素分解については、培養濾液または菌液層碎浸出液中の Cellulase 活性を測定する方法 (1, 2, 5, 6, 12) と繊維素を合成培養基中に加え、これに供試菌を発育せしめて繊維素の利用程度を比較する方法 (10, 11) とがあり、後者はさらに定性的なもの (7) と定量的なものがある。本実験は著者の案出した後者の定量法によつたものである。即ち一定量の繊維素を加えた液体培養基中に菌を或期間培養し、菌の分解によつて減じた繊維素の量を秤量する方法をとつた。基本培養基はツアベック氏合成培養基 (硝酸ソーダ 2 gm, 第1または第2燐酸加里 1 gm, 塩化カルシウム 0.5 gm, 硫酸マグネシウム 0.5 gm, 硫酸第1鉄

0.001 gm, 蒸溜水 1 l) を用い、下記の如き方法にて調製したコロイド状繊維素を前記基本培養液 1 l 当りに乾物重にて 0.1~0.15 gm 含む如く加用した。次に比較として Sucrose (指葉特級・片山製) 1% 加用区及び無炭素源区を設けた。

以上3種の培養液を 100 cc フラスコに 50 cc 宛分注し、1気圧5分間高圧殺菌し、予め蔗糖加用ツアベック氏寒天培養基にて5日間扁平培養した菌叢 5 mm 平方角を移植、28°C 定温器内に保持培養した。なお繊維素加用区には無菌培養区を併置し、実験 I は塩基性燐酸加里を実験 II は酸性燐酸加里を用い、initial pH を前者は 7.0、後者は 5.0 とした。菌体重及び繊維素分解量の測定は移植後 4 日~89 日の間 4 回、菌叢と繊維素をガラスフィルターにて濾別し、乾燥恒量に達せしめたる後秤量した。調査は繊維素分解量、菌体重の他培養濾液の pH、菌核形成及びその他 2, 3 の事項につき行い、供試菌は当研究室保存 *Hypochnus sasakii* SHIRAI No. 1 を用いた。

〔コロイド状繊維素の調製法 (7)〕

定量用濾紙 No. 6 (東洋濾紙) を約 10 枚オロシ金でおろして粉末状にし、これを約 5 gm 秤量して 100 cc の 68% 硫酸にてねり糊状となし、これを蒸溜水 2 l に徐々に攪拌しつつ注入するとコロイド状繊維素を得る。この操作は可及的速かに行い繊維素の加水分解を防いだ。かくして得たコロイド状繊維素は硫酸を含み強酸性であるので暫時沈澱せしめたる後上澄液をサイフォンで流出せしめ、以後蒸溜水の pH (5.1) になるまで数回洗滌し酸を除去して供試した。

2. 結 果

上記の方法により実験調査した結果を表示すると第1表及び第2表の如くである。

* 本菌の繊維素分解に関する報告は、僅かに澤藤等 (4) の木材腐朽に関する報文があるだけである。氏等は本菌による各種木材の腐朽率について実験したが、白色朽 (リグニン分解)、褐色朽 (セルロース分解) 何れに属するかについては論及するところがなかつた。

** 東海近畿農業試験場栽培第1部

第1表 稻紋枯病菌の繊維素分解(実験I)

培 養 基	日 日	菌体重	菌核数	菌核の 大いさ	ガラス 壁菌糸	菌叢の色	濾液色	濾液の pH		分解繊 維素量
								PR	BTB	
無炭素源	9	mg 0	—	mm —	—	—	無色	7.0	6.9	mg —
	14	0	—	—	—	—	〃	7.2	7.1	—
	29	0	—	—	—	—	〃	7.2	7.1	—
	89	0	—	—	—	—	〃	7.2	7.1	—
Sucrose 加用	9	2.61	1.3	0.5~2.0	—	白色・淡色	〃	7.3	7.2	—
	14	2.83	2.0	0.5~3.0	十	白色(一部褐色)	淡色	6.7	6.6	—
	29	5.47	3.5	2.0~5.0	十	淡褐色	褐色	7.5	7.3	—
	89	19.66	39.0	3.0~5.0	卅	濃褐色	〃	—	7.8~8.0	—
繊維素加用	9	0.68	3.5	2.0~3.0	卅	白	無色	7.2	7.1	0.110
	14	2.23	6.5	3.0~5.0	卅	〃	〃	7.4	7.3	0.175
	29	2.91	14.0	3.0~4.0	卅	淡褐色	〃	7.4	7.3	0.398
	89	5.09	15.5	0.5~3.0	卅	淡褐色	〃	—	6.4	0.463
同上菌無培養	9~89	—	—	—	—	—	—	6.9 → 5.0	—	(B.C.G)

註. 各区各回共3フラスコ平均値, 繊維素は 50 cc 中 0.543 mg (5回平均) 含有.

第2表 稻紋枯病菌の繊維素分解(実験II)

培 養 基	日 日	菌体重	菌核数	菌核の 大いさ	ガラス 壁菌糸	菌叢の色	濾液色	濾液の pH		分解繊 維素量
								BCG	BTB	
無炭素源	4	mg 0	—	mm —	—	—	無色	5.0	—	mg —
	11	0	—	—	—	—	〃	5.0	—	—
	20	0	—	—	—	—	〃	5.1	—	—
	82	0	—	—	—	—	〃	5.1	—	—
Sucrose 加用	4	0.82	—	—	—	白色	〃	5.1	—	—
	11	7.97	24	—	卅	淡褐色	淡褐色	—	6.7	—
	20	16.11	33	2~5	卅	〃	褐色	—	7.0	—
	82	20.99	49	1~6	卅	濃褐色	濃褐色	—	8.1	—
繊維素加用	4	1.06	6	2~3	—	白色	無色	5.2	—	0.129
	11	3.22	15	1~5	十	〃	〃	5.6	—	0.554
	20	5.39	18	1~5	十	〃	〃	—	6.4	0.729
	82	7.61	—	—	卅	〃	〃	—	6.6	0.760
同上菌無培養	4~82	—	—	—	—	—	—	4.9 → 4.7	—	—

註. 各区各回共3フラスコ平均値, 繊維素は 50 cc 中 0.801 mg (5回平均) 含有.

3. 考 察

菌の発育と繊維素分解: 表示した如く, 本菌は無炭素源では発育し得ないが, 繊維素及び Sucrose を加用した炭素源含有のものには発育がみられ, 繊維素の場合分解減量している事が明かとなった. この分解程度は initial pH 5.0 で始めた実験IIに著しく, 移植後 11 日目には既に約 0.5/0.8 mg の繊維素が分解消化されており, その時期における実験Iとの比較では約 3 倍量を分解している. この事は本菌が相当強力な繊維素分解菌であり, 発育初期には炭素源を必要とし, 炭水化物代謝を行わなければ発育し得ない事及び繊維

素を炭素源とする場合, 培養基の pH をやや酸性にすれば繊維素分解が良好である事を立証するものである.

菌体重: 実験I 繊維素加用区と Sucrose 加用区との比較では菌移植9日後より既に顕著な差がみられ最終調査 89 日目では Sucrose 加用区は繊維素加用区より約 3.5 倍の菌体重を示した. 実験II 実験Iと同様に菌移植後 11 日目より既に顕著な菌体重の差がみられ, 最終調査の 82 日目では Sucrose 加用区は繊維素加用区の約 2.5 倍量の菌体重を示した. 即ち Sucrose は本菌の発育栄養上, 繊維素より良好な炭素源の種である. Sucrose 加用区の菌体重は実験I・II を通じ大

差ないが、繊維素加用区では実験Ⅱにおいてやや優り前述した繊維素分解量に比例した。

菌核形成：実験Ⅰ 初め約1月間は繊維素加用区に形成多いが、以後は Sucrose 加用区に形成が多い。両実験の比較では実験Ⅱ (initial pH 5.0) に多く、河村(8)が菌核形成最適 pH を 3.1 と報じた結果と同傾向を示した。

培養濾液 pH の変化：実験Ⅰ 繊維素加用区は初め約1月間は僅かに上昇する (pH 7.3) が、後反落して最終回では pH 6.4 を示した。然し乍ら Sucrose 加用区は初め9日間は僅かに上昇 (7.2) するが、14日後は一時下降して pH 6.6 前後となり、後再び上昇して最終回では pH 8.0 の高さを示し、両者の pH の変化に異なるもののある事を示した。実験Ⅱ 繊維素、Sucrose 加用区いずれも次第に上昇し、最終回では前者は pH 6.6、後者は pH 8.1 を示した。initial pH の異なる両実験を通じて、繊維素、Sucrose 加用区の夫々の最終 pH が近似値を示した事は注目に値する、また本実験における Sucrose 加用区最終 pH が 8.1 を示した事は、河村(8)が蔗糖加用ツアベック寒天を用いて菌叢の発育最適 pH を 8.1 と決定している事と対比して興味深い。* 就中 Sucrose 加用区において濾液の pH が次第にアルカリ側に移行した事については、Sucrose 活性の最適 pH が低い 5.0 附近にあるとされている(9)のに対して一見不可解の様であるが、前述の如く濾液の pH が一度 6.6 に下降した事(実験Ⅰ)及び final pH が極めて高く Phosphatase 活性の最適 pH に近い事などから、Sucrose 分解酵素である α -Glukosidase、 β -*h*-Fructosidase の内、活性 pH 域の高い α -Glukosidase が先づ作用して急速に炭水化物代謝を行い、還元物質を生産しつつさらに進んで磷酸代謝に移行した結果によるものではないかと考えられる。また繊維素加用区における最終 pH が 6.4~6.6 を示した事についても、本菌の Cellulase 活性の pH 域がその附近にある為ではないかと考えられるが、もとより本実験結果のみでは俄かに判断し難い。一般に Cellulase 活性の最適 pH は 5.3 附近にあるとされ(9)、赤井(1)は稻胡麻葉枯病

菌の Cellulase 活性に対する最適 pH を 6.0 か或はそれより僅かに酸性の側にあるとし、藤村(5)は *Hypochytrium centrifugus* を用いて、その Cellulase 活性の最適 pH を 5.28 と決定している事などから考えて、本結果は少しく pH 値が高い事になるが、これは菌の種類、培養基、温度条件が異なる他、本実験では他要素代謝の影響が関与するので、単一の酵素活性に関する pH のみに解釈を求める事が出来ない点にあると思う。

なお Control としておいた無炭素源区 pH は殆んど変化ないが、菌無培養の繊維素加用区では時日の経過と共に酸化の傾向がみられた。これら不明の問題については後日改めて実験を行う予定である。

4 摘 要

本報は稻紋枯病菌の繊維素分解能につき考究した。要約するに本菌は炭素源を発育栄養上不可欠の要素とするものの様で、繊維素を炭素源として与えた場合、Sucrose に比しやや緩慢ではあるが、これを分解消化する繊維素分解菌である事が判明した。

参 考 文 献

- 1) 赤井 重蒸：植物病害研究 4 (1951)64~70.
- 2) Bahgot, M: Hilgardia 3 (1928)153~181.
- 3) 遠藤 茂：宮崎高農学術報告 8 (1935) 1~11.
- 4) 遠藤 茂・吉井 邦正・児玉 栢：日植病 23(1498)38~39.
- 5) 藤村吉之助：京大化研講演集 5 (1935)31~40.
- 6) Garren, K. H: Phytopath 28(1938)839~845.
- 7) 井上 義孝：日植病 9 (1939)33~40.
- 8) 中田覚五郎・河村 栄吉：農事改良資料 139 (1939)15~16.
- 9) 大谷 武夫：実験酵素学 (1939) 南山堂.
- 10) Satoh, S: 植物病害研究 1 (1931)13~20.
- 11) 瀬戸房太郎：日植病 5 (1936)308~317.
- 12) Spitzer, G and Diem, M. M: Jour. Agr. Res. 43 (1931) 223~229.
- 13) 吉井 甫・河村栄吉：解剖植物病理学 (1947) 朝倉書店.

* 遠藤(3)によれば、本菌の発育最適 pH は 6.667~7.437 であると報じている。これは用いた培養基及び炭素源が異なる為であらう。