

西瓜の蔓割病(麥凋病)に関する病理學的研究. V. : FUSARIUM NIVEUVI の代謝生理, 特にその瓦斯発生に 就て

吉井, 甫
九州帝國大學農學部植物病理學教室

<https://doi.org/10.15017/20886>

出版情報 : 九州帝國大學農學部學藝雜誌. 6 (4), pp.312-330, 1935-12. 九州帝國大學農學部
バージョン :
権利関係 :

西瓜の蔓割病(萎凋病)に関する 病理學的研究. V.

FUSARIUM NIVEUM の代謝生理, 特にその瓦斯發生に就て

吉 井 甫

(昭和十年九月十七日受理)

本文は西瓜蔓割病の病原菌たる *Fusarium niveum* の代謝生理中特に本病の病理との関係の深いものの二三について行つた實驗の結果である。なほ本菌培養に際して生ずる代謝産物の植物に對する有害作用に關しては別に報告する筈である。

實驗を進めるに當り、時として *Piricularia oryzae* (稻熱病菌) 及び *F. niveum* に類縁の病原菌なる *Gibberella fujikuroi* (稻馬鹿苗病菌) を對照として使用した。

I 酸素の存在と菌の發育

BUCHNER 法により豫め培養試験管内の酸素を排除したる後、之に *Fus. niveum*, *Pir. oryzae*, *Gib. fujikuroi* を各數本づつ植えて(馬鈴薯寒天)元の装置に夫々納め、之を 29°C に保つた。かくて 5 日後に各菌の發育の如何を検した所、*Fus. niveum* は良好なる發育を示したのに對し、對照の二菌は全く發育を見なかつたのである。この實驗に於ては、試験開始時より 2 日以前に脱酸素装置を施し、菌を植付後は直ちに 29°C に保つたのである。次で更に脱酸素を完全ならしめんが爲に、前試験同様試験開始一兩日以前より培養基の脱酸素を行ひ、之に *Fus. niveum* を植え、直ちに夫々元の装置に返した後、此度は各装置を冷蔵庫内に保つこゝ一週間に及んだ。かくて菌の發育を阻止しつつ酸素を充分に排除し、然る後各装置を 25°C に移した。かくて更に一週間經過の後各々の發育の如何を検した。その結果によるに、試験管 6 本中 1 本に於て微かに菌絲の伸長を認めたが、他のものは全部發育を示さなかつた。なほ對照として、同時に同様の處置を行つたが脱酸素を行はなかつた處の 4 本に於ては、菌は何れも

良好なる發育を示した。又酸素の除去を行つた 6 本も其後空氣中に放置した處次第に菌絲の伸長を示すに至つたのである。

以上に據るに, *Pir. oryzae* 或は *Gib. Fujikuroi* は共に好氣性菌であつて充分に酸素が存在するに非ずんばよく發育し得ないに對し, *Fus. niveum* は酸素が全く缺除して居ない限り, 即ち植付時に於ける菌叢片内外等に於けるが如き極微量の酸素にても存在するが如き時はよく發育するものなることを知るのである。

II 硝 酸 鹽 の 利 用

Fus. niveum は窒素給源として硝酸鹽を利用し得るものなることは, 本菌を RICHARDS 液或は CZAPEK 液にてよく培養し得ることによつて推知し得る所であるが, 硝酸鹽を利用するに當つて菌體外に於て亞硝酸を形成するか, 即ち硝酸の菌體外に於ける還元作用の有無如何を試験したのである。この實驗に於ては *Fus. niveum* 及び *Gib. fujikuroi* を使用した。

即ち之等の菌を 5% 葡萄糖 RICHARDS 液及び 0.2% 澱粉 RICHARDS 液の各 10 坵づつに各々數十本植え夏季室温下に保つた。かくて一定日數培養後亞硝酸の檢出を行つたのである。亞硝酸の檢出法としては 5% 沃度加里, 0.1% 澱粉, 濃硫酸をその順に少量づつ加へ, 注加時に於ける沃度澱粉の着色度によつて亞硝酸の多少を比較することとした。その結果は第一表の

第 一 表 (Table I)
亞硝酸による沃度澱粉の着色度

	一週間後		二週間後	
	<i>F. niv.</i>	<i>G. fuj.</i>	<i>F. niv.</i>	<i>G. fuj.</i>
5% 葡萄糖	+	+	—	—
0.2% 澱粉	++	+++	—	+++

通りであつて, 5% 葡萄糖 RICHARDS 及び 0.2% 澱粉 RICHARDS に之等の菌を植える時は, 菌の發育に伴ひその何れの菌何れの培養液たるを問はず硝酸は還元せられて亞硝酸を生ずるものであつて, 5% 葡萄糖 RICHARDS 培養一週間目に於ては *Fus. niveum* 及び *Gib. fujikuroi* 共に中強度に亞硝酸の形成を見るのであるが, 0.2% 澱粉 RICHARDS に於ては *Fus. niveum* は強度に *Gib. fujikuroi* は一層強度にその出現を見る。然るに二週間目に於ては, 5% 葡萄糖 RICHARDS の方は *Fus. niveum* 及び *Gib. fujikuroi* 共に亞硝酸の存在を認めることなく, 之に對し 0.2% 澱粉 RICHARDS に於ては, *Fus. niveum* はここに於ても亞硝酸の存在を示さないに對し, *Gib. fujikuroi* は強々度之が存在を示してゐる。

以上の結果に據れば、*Fus. niveum* は硝酸鹽を還元して亞硝酸を形成するも、その集積度は *Gib. fujikuroi* の場合に劣る。又兩菌を通じて、5% 葡萄糖の存在下に於ては其の集積度は 0.2% の澱粉の存在の場合に劣る。而してかくて一度集積したる亞硝酸が後に至つて消失する所以は、その後の菌の發育に際して消費せられたる爲と解せられる。

III 亞硝酸鹽の利用

前實驗の結果によれば、*Fus. niveum* は、*Gib. fujikuroi* も同様に、硝酸を還元して亞硝酸を生じ、而も遂にはかくて成生せられたる亞硝酸も利用せらるるが如き結果を來したが故に、改めて窒素源としては亞硝酸を使用し、下記處方の培養液を作り、これを 10 瓩宛各試験管に分ち、これらに *Fus. niveum*, *Gib. fujikuroi*, *Piricularia oryzae* を植えた。而して夏季室温下に保ち、12 日後に之等の發育の如何を検した。使用した培養液の組成は次の通りである。

KNO ₂	2.0 gr
KH ₂ PO ₄	1.0 gr
MgSO ₄	0.5 gr
glucose	20.0 gr
H ₂ O	1000 cc

かくの如く葡萄糖量を RICHARDS 液の場合より減じたる理由は、豫備實驗の結果 *Pir. oryzae* が濃厚なる糖液に於ては發育しないことが明かになつた故であり、又澱粉を使用しなかつたのも同菌がその消化力を缺く爲である。且つ又他の組成も液を濃厚ならしめない様に夫々稍減量を行つたのである。なほこれらの對照として亞硝酸加里の代りに硝酸加里を使用したもの及び窒素化合物を全く加へなかつたものを使用した。

第二表 (Table 2)

窒素給源の種類と菌の發育度

窒素源	<i>F. niv.</i>	<i>G. fuj.</i>	<i>P. oryz.</i>
NO ₃	+++	+++	+++
NO ₂	+++	+++	—
—	±	±	±

12 日後に檢したるに第二表の如き結果を得た。即ち *Fus. niveum* は窒素源として亞硝酸鹽を利用し得るものであり、その存在は硝酸鹽の存在と大差を認めない。なほ *Fus. niveum* に

近似の菌なる *Gib. fujikuroi* は *Fus. nivaeum* と同様の結果を示した。然るに *Pir. oryzae* は之に反し亞硝酸鹽の存在の下に於ては全く發育を示すこなく、むしろその存在は有害なるものと認められた。又 *Fus. nivaeum* 及 *Gib. fujikuroi* を培養せる亞硝酸區に於て、その亞硝酸の存在を沃度澱粉法によつて檢した處、12日後に於ては亞硝酸は著るしく減少し、40日後に於てはその存在を認めなかつたのである。以上を要するに、*Fus. nivaeum* は窒素給源として亞硝酸をよく利用し得るものなることを知るのである。

IV 炭 素 給 源

砂 糖 類

葡萄糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖等を夫々 2% の割合を以て加へた RICHARDS 液を作つた。なほ之等以外に 5% glycerin RICHARDS 液をも製し、之等を EINHORN 醗酵管に移して之に *Fus. nivaeum* を植え、25°C に保つた。而して2日後に開管部に發育せる菌叢を閉管部に挿入した。各培養液の最初の pH は 4.8 であつた。培養二週間目迄に於ける成績は第三表の通りである。

第 三 表 (Table 3)

各種砂糖類 RICHARDS 液其他に於ける菌の發育度と瓦斯の發生度

	菌の發育	瓦斯の發生	終局の pH
sucrose 2%	+++	+++	5.2
maltose 2%	+++	+++	—
lactose "	++	+	6.4
glucose "	+++	++	6.4
glycerin 5%	+	—	5.0

これに據るに *Fus. nivaeum* は之等の糖培養液に於て何れにもよく發育する。glycerin 中に於てはその發育は著るしく劣る。麥芽糖、蔗糖より瓦斯を發生するこ最も強く、葡萄糖よりはこれに次ぎ、乳糖よりは極めて少量の瓦斯を發生するに過ぎない。glycerin よりは瓦斯を發生するこがない。而して何れの場合に於ても培養液の酸度を減少するもの如くである。

澱 粉

Fus. nivaeum が澱粉を消化し得るものなるこは既に硝酸鹽利用の項に於て述べた處であるが、他の菌との比較をすれば次の通りである。0.2% の澱粉を加へた RICHARDS 液に *Fus. nivaeum*, *Gib. fujikuroi*, *Pir. oryzae* を植え 29°C に一週間保つた後その發育度を檢した。然るに *Fus. nivaeum* は *Gib. fujikuroi* と共にその發育は極めて佳良であつて、後に至つては

全く澱粉を消化せるを認めた。之に反し *Pir. oryzae* の發育は無糖分の場合と同様であり、後に至るも澱粉の減少を認めなかつたのである。更にこの澱粉の消化力を缺く處の *Pir. oryzae* の培養 10 珎に對し、上記 *Fus. niveum* の培養の陳久液を 60°C にて完全に殺菌したるものより 0.1 珎を採つて加へた處、*Pir. oryzae* は漸次良好なる發育を示し來り、二ヶ月後には液中に澱粉の存在を示さない様になつた。之等を以て見るに *Fus. niveum* は、*Gib. fujikuroi* と共に、澱粉をよく消化し得るものなることを知るのである。

cellulose

清淨なる濾紙より銅アムモニア法によつて泥狀 cellulose を得た。之を少量づつ次の養液に入れて 8 珎宛分つて殺菌し、之に *Fus. niveum* を植えた。使用した養液は、 KNO_3 2 gr, KH_2PO_4 1 gr, MgSO_4 0.5 gr, H_2O 1000 cc である。なほ對照としては cellulose を加へたる後の培養液の一部を濾過して cellulose を去り更に之を殺菌したものを使用したのである。その試験結果によれば、*Fus. niveum* は cellulose 培養液に於て稍佳良なる發育を示し、28°-30°C 30 日後には cellulose の沈澱を殆んど發見しなかつたのである。之に對し、對照區のものは無炭素源の場合と全く同様な發育を示したのに過ぎなかつた。なほ對照として *Gib. fujikuroi* 及び *Pir. oryzae* を同時に同様に培養したのであるが、前者はその發育 *Fus. niveum* に稍劣り、後者はそれに甚しく劣るも何れも cellulose を利用し得るものなることを認めた。

pectin 物質

苹果生果實より酒精法によつて粗 pectin 物質を得た。之を 0.1% の割合を以て前實驗の場合同様の合成養液に加へた。殺菌後の pH は 4.6 であつた。この培養液を各試験管に 8 珎づつ分つて之に *Fus. niveum* を培養したのである。かくて 28°-30°C に保ち 5 日、14 日、33 日後に残存 pectin 量の比較をした。pectin 量の比較に當つては、各培養液及び無菌對照區液をガーゼにて濾過後 3 倍の石灰水を加へて振盪し、略々同大の液量計に分つて靜置し、24 時間後に於ける pectin 酸石灰の沈澱の高さを以て比較した。その結果によるに、*Fus. niveum* は炭素源として pectin 物質をよく利用し得るものであり、之を加へたる養液中に於ては菌の發育は中等度に佳良である。而して液中の pectin 物質は次第に消化せらるるものと認められ、無菌對照區に於ける pectin 物質を pectin 酸石灰とせる場合のその沈澱の高さを 100 とする時は、培養 5 日後に於ては 81.0、14 日後に於ては 55.0 と減じ、33 日後には 38.1 と減少を示したのであつた。

V 糖添加培養に於ける瓦斯の發生

K_2HPO_4	1.0 gr	葡萄糖	30.0 gr
$MgSO_4$	0.5 gr	葱頭煎汁	100.0 cc
$CaCl_2$	0.1 gr	井 水	900.0 cc

上記處方の培養液を EINHORN 醗酵管に調製し, *Fus. niveum* を植え 29°C 乃至 31°C に 4 日保ち, 開管部に充分菌絲の伸長せる後, この菌叢を閉管部へ挿入し, 一部は 21°-24°C, 一部は夏季室温下 (26°-32°C), 一部は 29°-31°C に保ち, 發生した瓦斯の量を毎日記録した。その結果は第四表の通りである。これに據れば *Fus. niveum* は糖分の多量に存在せる場

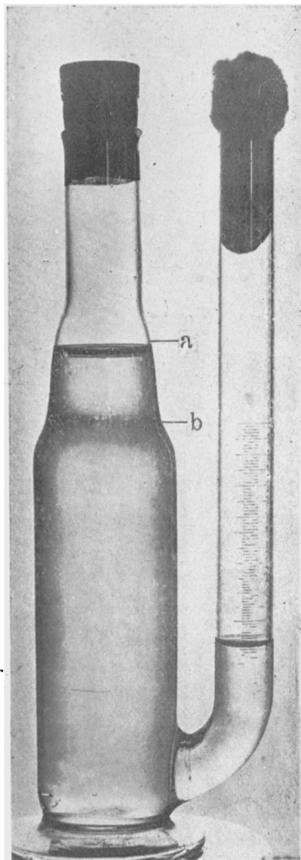
第四表 (Table 4)

異なる温度下に於ける瓦斯の發生

日次	21°-24°C			26°-32°C			29°-31°C		
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
1 日	2.1 cc	1.8	0.0	5.0	1.15	5.0	2.65	3.2	4.0
2	1.8	2.4	0.0	3.05	0.8	3.2	2.8	3.4	3.2
3	2.0	2.3	0.0	2.9	1.0	2.3	3.6	4.6	2.0
4	1.9	0.9	0.0	3.3	0.4	1.6	3.1	2.05	1.6
5	0.9	1.4	0.3	3.7	0.4	2.2	2.7	4.3	1.6
6	1.8	2.7	0.3	1.9	0.5	4.9	3.4	2.0	1.7
7	1.2	1.3	0.4	1.7	0.8	3.6	3.3	2.4	3.4
8	1.2	1.3	0.4	2.1	0.8	3.6	3.3	2.4	2.3
I-8	13.1	14.4	1.2	23.65	5.45	27.5	24.85	23.8	20.0

合には甚しく瓦斯を發生するものなることを知るのである。但し瓦斯發生量の多少については, 各區極めて不同であつて, これは閉管部に挿入した菌絲の發育程度の如何に左右せられたものと認められるのであり, この装置による時は, 時置して菌絲の生長度に大差を來すものなることを認めた。温度關係より見れば, 比較的低温の場合 (21°-24°C) よりも菌の發育の適温附近 (24°C-32°C) に於て一層多いと思はれる。而して瓦斯發生量の日變化は病原菌の菌叢の發育度に一應は伴つて増減すべき理であるが, 第四表に現はれた數字は, 液中にある菌絲の間に介在して殘存した瓦斯があつたが爲に, 極めて不整であつたのを遺憾とする。

ここに於て新たに第一圖の如き醗酵壺を考案した。この醗酵壺は容量凡そ 200 兪で下端の一側よりは側管を出し, これに 20 兪迄劃度してある。本管の a...b の内容が凡そ 20 兪にな



第一圖 (Fig. 1)

る様にしてある。この壺は本管側管共最初は綿栓をなして高壓殺菌後所定の培養液を無菌的に加へ、本管の管口の綿栓を殺菌ゴム栓に換へて試験するのである。このゴム栓には必要に應じて排氣孔を設ける。かくて被檢菌を植付後本管上方部の空気を適度に排除し、側管内の液面を適度に保つて試験を始めるのである。この側管内の液面の上下するこゝによつて装置内の瓦斯量の増減を知るのであるが故に液中の菌叢内に滯溜する瓦斯量も現はれて來る筈である。又著者の實驗に關する限りに於ては、一定環境下に於ける菌の發育度は略々整一であつた。

この醗酵壺を使用し、5% 葡萄糖 RICHARDS 液に本菌を植えて好氣的に試験を行つたのである。植付後2日を經過した後に始まる毎5日目に於ける瓦斯の増加量は第五表の如くである。この表に明かなるが如く本菌は葡萄糖の存在下に於てこれを利用して多量の瓦斯を發生するものなるこゝを知るのである。

上記の實驗は皆一律に RICHARDS 變法液を使用したのであるが、これより低度の含糖量の下に於ては如何であるか。ここに於て著者は下記の培養液を作り、之に葡萄糖を1%、0.5%、

0.1%、0.05% の割合に加へたのである。

第五表 (Table 5)

5% 葡萄糖 RICHARDS 液に於ける瓦斯の増量 (好氣的)

日次	溫度	A	B	C	D	平均
1—5	25.5°—26°C	11.8 cc	15.1 cc	7.0 cc	9.1 cc	10.7 cc
6—10	25.5—25.7	45.7	50.2	37.0	37.8	42.7
11—15	25.5—25.7	44.5	38.2	34.3	37.1	38.5
16—20	25.5—25.7	44.0	37.6	31.4	32.9	36.4
21—25	25.5—27	39.5	37.4	33.8	35.8	36.6
26—30	25.5—27	35.6	37.0	35.0	34.7	35.6
31—35	25.5—27	25.9	29.2	26.5	29.9	29.9
36—40	25.5	18.8	23.6	19.6	25.6	23.4
1—40	25.5—27	265.8	268.3	224.6	242.9	250.4

KNO ₃	2.0 gr
KH ₂ PO ₄	1.0 gr
MgSO ₄	0.5 gr
H ₂ O	1000.0 cc

而して各々を上記醗酵壺各 2 本宛に入れ、これに *Fus. nivium* を植え、2 日間夏季室温下に保つた後 26°—27.5°C の温度に保つた。尙標準として醗酵壺に蒸留水を加へたるもの 2 本を作り、之に對比して各區の瓦斯量の増減を測つた。その結果を 5 日目毎に記録したものは第六表である。この表に現はれた處によれば、*Fus. nivium* は含糖量 1.0%、0.5% の葡萄糖下に於ては微かながら瓦斯の發生を認める。然るに、0.1%、0.05% に至つては總瓦斯量に於て却つて減少せるが如き結果を來した。

第六表 (Table 6)
低度葡萄糖含有量下に於ける瓦斯の増量
(26°—27.5°C) (好氣的)

日次	1 %	0.5 %	0.1 %	0.05 %
1—5 日	0.2 cc	0.3	0.0	—0.2
6—10	1.1	0.6	—1.3	—1.0
11—15	2.9	3.2	0.0	—1.6
1—15	4.2	4.1	—1.3	—2.8

斯くの如き 0.1% 以下に於ける總瓦斯量の減少は、恐らくは閉塞せられたる本管に於ける氣中酸素の本菌による過剰吸収によるものであらうと思はれるのであるが、更に之を確める爲に次の實驗を行つた。即ち豫め充分水洗後殺菌せる流動パラフィンの本管、側管の養液面に流し込んで實驗を行つたのである。その結果は第七表の如くである。この場合に於ける培養液は第六表に現はれたる試験の場合と全く同一であるが、供試菌は之と異り、豫め試験管内の CZAPEK 液中にて二週間培養したる *Fus. nivium* の表生菌叢を各區一個づつ使用したのである。第七表の記録は植付け後 3 日目よりのものである。實驗中の温度は 27.5°—29°C であつた。

第七表に現はれたる結果によれば、液と空氣との直接の接觸を流動パラフィンによつて遮断してもなほ 0.1% 以下に於ては少量ながら瓦斯總量の減少を示すのである。但しこの場合に於ては好氣的に發育せしめたる表生菌叢を移植元としたのであつて、この菌叢内外に於ける空氣の存在及び管壁に沿へる菌絲の發育は充分に考慮に入れる必要ありと認められる。

第七表 (Table 7)

低度葡萄糖含有量下に於ける瓦斯の増量
(27.5°—29°C) (半嫌氣的)

日次	1 %	0.5 %	0.1 %	0.05 %
1—5 日	2.0 cc	0.8	-0.1	-0.2
6—10	0.0	0.1	0.0	-0.3
11—15	3.0	-0.1	0.0	-0.3
16—20	2.7	0.3	-0.1	-0.2
21—25	0.6	0.4	-0.1	-0.2
26—30	0.4	0.2	0.0	-0.2
1—30	8.7	1.7	-0.3	-1.4

更に今一段の嫌氣状態に於ては如何であるかを見る爲に實驗を行つた。此度は RICHARDS 液を使用し、その糖を 5%, 2%, 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05% の葡萄糖として一區 2 本づつをなし、醗酵壺の本管内の空氣を全く排除して之に *Ins. niveum* を植付けた。移植元は古き馬鈴薯寒天培養の菌叢小片で、之を側管より植付け、本管内に流下せしめた。側管の液面は空氣を遮斷するこゝなくそのまま放置した。かくて之等を 29°—30°C に保ち、植付け 3 日後より記録を採つた。

第八表 (Table 8)

嫌氣的培養に於ける瓦斯の發生 (29°—30°C)

日次	5 %	2 %	1 %	0.5 %	0.1 %	0.05 %
1—5 日	0 cc	0	0	0	0	0
6—10	0	0	0	0	0	0
* 11—15	54.2	—	7.4	3.2	0	-0.5
16—20	46.3	—	6.7	1.7	-0.2	-0.4
21—23	27.2	—	3.9	1.0	-0.2	-0.2
11—23	127.7	—	18.0	5.9	-0.4	-1.1

* 10 日目に空氣を加ふ

然るに第八表に明かな通り試験開始後 10 日を経過するも閉管部に瓦斯の發生を全然認めなかつたのである。この結果は低度の含糖量の場合 (0.1% 以下) のみならず 5%, 2%, 1% のものに於ても然りであつた。當時液内に於ける菌の發育度は中等乃至稍不良であつて本管の下半部に綿舒状をなしてゐた。之に反し側管の液面に於ては各區共發育佳良であつて厚き

表生菌叢を生じてゐた。

かくの如く空氣を全く排除して實驗を行ふ時は各含糖量のもの何れも 10 日目(培養後 13 日目)に至るも全く瓦斯の發生を見なかつたが故に、試験後 10 日目に至り本管内に少量の空氣を入れると共に、側管部の表生菌叢を本管内に挿入した。その結果は第八表の第11日目以降の通りである。これは第六表、第七表に於けるものご略々同様の傾向であつて、高度の葡萄糖下に於ては瓦斯の増量を認むるも低度の葡萄糖の場合に於ては却つて總瓦斯量の減退を示したのである。

以上第五六七八の各表に現はれたる處を總合するに、*Fus. nivium* を葡萄糖 RICHARDS 液又はその變法液を以て培養する場合、糖分含有量 0.5 % 以上の濃厚液(例へば 5 % の場合の如き)に於ては、好氣的若くは半嫌氣的に之を置く時には多量の瓦斯を發生するこゝを認むるも、嫌氣的に保つ時は瓦斯を發生するこゝがない。更に本菌を 0.1 % 以下こゝに 0.05 % の葡萄糖下に培養する場合、これを嫌氣的に保つ時は瓦斯の發生を認めないこゝ濃厚糖分の時も同様であるが、これを好氣的若くは半嫌氣的に保つ時は閉塞部に於ける總瓦斯量の顯著なる減少を示すのである。

この實驗に於ては、この總瓦斯量の増減度が必要なのであつて、菌の呼吸生理は自ら異なるものがあるが故に著者は別段瓦斯分析を行はなかつたのであるが、この總瓦斯量の減少は恐らくは閉管部に於ける酸素の過剰吸収によるものご解せられる。

以上は葡萄糖の場合であるが蔗糖の時は如何であるか。これに就て上記同様の實驗を葡萄糖の代りに蔗糖を使用して行つた。但しこの場合濃厚なる液の場合は不必要ご認め、その含糖量は可成り低度であつた。それらの結果は第九表及び第一〇表に掲げた。

第九表 (Table 9)

蔗糖含有液に於ける瓦斯の發生(好氣的—半嫌氣的) (29°—30°C)

	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	C ₁	C ₂	D ₁	D ₂
日次	0.1 %	0.1 %	0.05 %	0.05 %	0.02 %	0.02 %	0.01 %	0.01 %
1 日	-0.3 cc	-0.3	-0.3	-0.3	-0.4	-0.4	-0.4	-0.5
2	-0.4	-0.3	-0.3	-0.5	-0.3	-0.4	-0.5	-0.5
3	-0.1	-0.1	-0.3	-0.3	-0.2	-0.2	-0.3	-0.3
4	-0.6	-0.3	-0.3	-0.2	-0.5	-0.4	-0.3	-0.2
* 5	0.0	0.0	-0.1	-0.2	0.0	0.0	-0.1	-0.1
6	+0.3	+0.2	+0.1	+0.1	-0.1	0.0	-0.3	-0.3

* 7	0.0	+0.1	+0.1	0.0	-0.1	-0.1	-0.6	-0.7
8	-0.2	+0.1	+0.4	+0.2	0.0	-0.1	-0.3	-0.5
9	+0.1	+0.1	-0.3	-0.6	-0.5	-0.7	-0.1	-0.1
10	0.0	-0.1	-0.5	-0.1	-0.7	-0.1	0.0	-0.1

* の部に於て振盪して液面の菌叢を液面下に沈める。且つ空氣を加ふ。本實驗は好氣的なるも空氣は少量にして本管部に 10 珎内外。移植元は馬鈴薯寒天培養の古きものよりの小菌叢片。培養後 1 日を置いて試験開始。

第一〇表 (Table 10)

蔗糖含有液に於ける瓦斯の發生 (好氣的-半嫌氣的) (30°-31°C)

菌叢の位置	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	C ₁	C ₂	D ₁	D ₂	E ₁	E ₂
	0.1%	0.1%	0.05%	0.05%	0.02%	0.02%	0.01%	0.01%	0.005%	0.005%
	液面	液面	下底	液面	下底	下底	下底	下底	液面	下底
1 日	-0.3	-0.1	+0.4	-0.3	0.0	-0.1	-0.1	0.0	-0.5	-0.1
2	-0.7	-0.3	+2.1	-0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.4	-0.1
3	-1.3	-1.0	+1.5	-0.7	-0.3	-0.4	-0.7	-0.7	-0.5	-0.5
* 4	-0.6	-0.9	-0.5	-1.3	-1.2	-1.0	-0.9	-0.9	-0.5	-0.7
5	+1.5	+0.6	-0.5	0.0	-0.9	-1.0	-0.4	-0.6	-0.4	-0.5
6	+1.1	+0.3	-0.5	-1.0	-0.4	-0.6	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3
7	+1.4	+0.5	-0.1	-0.1	-0.6	-0.7	-0.3	-0.4	-0.2	-0.3
8	+0.5	+0.5	-0.2	-0.1	-0.5	-0.4	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2
9	-0.1	+0.6	+0.2	-0.2	-0.6	-0.1	-0.3	-0.3	-0.3	-0.2
10	-0.7	+0.3	+0.1	-0.2	-0.5	-0.3	-0.4	-0.3	-0.2	-0.3

* 4日目に全部一度振盪、その結果 A₁ A₂ B₂ は液面の菌叢が液面下となる。移植元は馬鈴薯煎汁 10 日培養の表生菌叢を水洗後使用。培養後 1 日を置いて試験開始。

以上第九表及び第一〇表に明かな通り、好氣的培養の場合は、蔗糖 0.1% に於て瓦斯の過剩吸収が行はれ、半嫌氣の場合には 0.02% 以下に於てこの現象が認められた。なほ嫌氣の場合には、表には現はしてゐないが葡萄糖の場合も全く同様で、培養後 10 日を経るも瓦斯の發生を示すに至らなかつたのである。

VI 葡萄糖添加培養に於ける糖の消費度

500 珎入りの三角壺 6 個に各々 200 珎宛下記の培養液を入れて殺菌し、之に *Fus. nivum* を植付けて 29°-30°C に保つた。かくて後 3 日目毎に各培養壺より夫々 1 珎づつを採取し

て混合し、これを一度濾過したる後、糖残量の定量を行つたのである。糖定量の方法は HAGEDRON-JENSEN 法を多少變改して採用した。使用した培養液は KNO_3 2.0 gr, KH_2PO_4 1.0 gr, MgSO_4 0.5 gr, glucose 20.0 gr, 及び水 1000.0 cc であつた。なほ實驗を進めるに當り、 NO_3 の分解によつて生ずる NO_2 が定量操作に支障を來すこゝなきやを慮り、定量の都度採取原液についてその反應の程度を検した處、時に沃度澱粉反應陽性のこゝもあつたが、その量は極めて微量であつて、糖微量定量の操作には何等支障を及ぼすものでないこゝを確めた。その結果は第一一表の通りである。

第一一表 (Table 11)

培養液中の糖の残量 (29°—30°C)

培養日數	—	3日目	6	9	12	15	18	21	24	27	30
葡萄糖(%)	2.01	1.90	1.76	1.57	1.36	1.15	1.03	0.93	0.80	0.56	0.40

なほ更に、 NO_2 の全く生ずるこゝのない培養液として Boas 液 (5% 葡萄糖添加) を使用して同様の實驗を行つた。その結果は第一二表の通りである。

第一二表 (Table 12)

Boas 液に於ける培養中の糖残量 (29°—30°C)

培養日數	—	3日目	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33
葡萄糖(%)	4.93	4.65	4.26	4.05	3.67	3.30	2.80	2.37	2.10	1.87	1.52	1.33

以上第一一表及び第一二表を以て見るに、*Fus. nivium* を之等の多量の糖を有する液を以て培養する際、葡萄糖の消耗度は、培養後最初の一ヶ月の間は、稍直線に近く而して又急激に進行するこゝを知るのである。但しこの實驗結果は葡萄糖残量のみならず、培養中に生ずべき糖分解成生物中同じく還元力を有する物質がありますれば、それらをも包含して糖として表はしたこゝに成る筈である。

VII 西瓜導管内に於ける瓦斯形成の不能

前記數回に亘つた實驗の結果、糖分の多量に加はつた培養液に於ては、甚しき嫌氣状態ではない限り、*Fus. nivium* はその菌絲の成長と共に多量の瓦斯を發生するものであり、その發育の最適温附近に於て大量の瓦斯を生ずるこゝを認めたのである。然しながらこの結果より直ちにこれと同一の事實が *Fus. nivium* の寄生を受けた西瓜の通導組織内に於て行はれるもの

であることは遽かに断定出来ないのである。如何になれば瓦斯の發生は汁液中の糖量に關係する處多大であり、糖が微量ならば反對に瓦斯量の減退をすら來すからである。

著者は旺盛に生育してゐる西瓜の莖を根元より 30 糎の所にて切斷し、外菌の侵入を排除しつつ多量の上昇液を採取した。之を 8 本の EINHORN 醱酵管に分ち、又その一部を數個の三角壺に分つて、之等を加熱殺菌し、これに *Fus. nivium* を植えた。而して EINHORN 醱酵管の方に於ては數日後に開管部の菌絲を閉管部の方へ挿入し、之等全装置を夏季室温下に置いたのであつた。この實驗は夏季二ヶ月に亘つて繼續したのであつたが、病原菌の繁殖は極めて不良で試驗開始後間もなくその増殖を停止したものの如くであつた。試驗終了後檢した處、液中には多少の macroconidia 及び microconidia を認めたが瓦斯の成生は遂に認めることが出来なかつたのである。この實驗に於ては供試西瓜汁の含糖量を定量しなかつたのであるが、其後別に西瓜上臍液の糖の定量を行つた結果より見るに上記の供試液に於ける糖量は殆んど云ふに足りないものであることを推知し得るのである。

即ち成西瓜大和種の莖を地上 25 糎に於て切斷し、葉を去りて莖の切斷端を容器に挿入し、上昇液を一定時間毎に捕集し、その葡萄糖量を HAGEDRON-JENSEN 法によつて定量した。その結果は第一三表に掲げた。

第一三表 (Table 13)

西瓜上昇液中に於ける葡萄糖量

莖切斷後經過時間	0—2.5 時間	2.5—4.0	4.0—8.0	8.0—22.0
採取量(概量)	20 cc	5	10	100
葡萄糖 (%)	0.010	0.002	0.001	0.000

本表に明かなるが如く上昇液は莖の切斷直後に於ては多少の糖量を示すも時間の經過と共に次第にその量を減じ、翌日に至つては極めて微量なる。莖を切斷してかくて得たる根壓液は、切斷後の時間の經過に伴ひ正常生西瓜の莖中を上昇してゐる上臍液とは次第に異なる組成を有するに至るべきは當然であつて、上臍液としては切斷直後の根壓液の方がこれに近いものと思はれる。但しこれも眞の上臍液は云ひ難く、切斷面に於ける傷害部の導管以外の部より紛入する糖を除外しなかつたのであるが故にその數値は常に甚しく過剰に現はれた筈である。

更に一株の西瓜の各枝に於ける上昇液中の糖量を檢した處、可成りに差のあることを認めた。即ち正午頃一株の三枝を切斷し採液 2 時間の後各々を集めてその糖量を檢し、又その後 16 時間

に於ける採液を検した。その結果は第一四表に明かな通り、多量の上昇液を得た部分に於ては糖量少く、上昇液の少量なる時はその糖量が大である。

第一四表 (Table 14)

一株中各枝による葡萄糖量の異同

莖切斷後經過時間	(A)		(B)		(C)	
	0—2 時間	2—18 時間	0—2 時間	2—18 時間	0—2 時間	2—18 時間
採取量(概量)	8 cc	> 30	4	> 30	1.5	8
葡萄糖(%)	0.008	0.0008	0.019	0.0012	0.029	0.003

更に莖切斷直後の液中の糖を検する爲に、正午頃 8 本の西瓜の根元 20 種より切斷し 20 分間に流出する液を捕集して檢した處その糖量は 0.034 % であつた。又夜間に於ける値を知る爲に午後 9 時 30 分より 10 時 30 分に亘つて數本の切斷莖より液を捕集したがその採量極めて少く一時間にして漸く數耗を得たに過ぎなかつた。而してその糖量は 0.077 %, 0.066 %, 0.052 % であつて晝間より稍高き値を得た。

之等の實驗に於ては莖中の上昇液中の直接還元糖のみを定量したのであるが、其他の水溶性の糖量をも檢する必要があるのであり、之が爲に間接に西瓜莖の全組織中の鹽酸加水分解還元糖量を求め、之により水溶性非還元糖量を見出し、これより上騰液中に現はれ得る非還元糖を推知し、以て上騰液中の糖量の補正をなさんとした。材料としての西瓜は大和種であり、旺盛なる生育をなしつつあるものを七月下旬より八月初旬に亘つて數回各々正午に採取し、生體量を秤量後 60°C にて乾燥し、之を粉末として乾燥器に保存したものである。その結果は第一五表に掲げた。これによるに、西瓜莖組織中の全水溶性糖は還元糖としてその水分量の 1.603 % にあたり、その内直接還元糖は 1.418 % に當る。故にこの組織中の水溶液の糖全量

第一五表 (Table 15)

西瓜莖組織中に於ける水溶性糖量

莖生體量	乾量	全還元糖 *	直接還元糖	鹽酸還元糖 **	全糖量 對 直接還元糖量
50.0 gr	5.94	1.603 %	1.418 %	0.185 %	1.13

* 對水分量 %

** 還元糖の態のまま算出。

は直接還元糖量の 1.13 倍にあたる。導管液中にも非還元糖がこの割合にて現はるるものごすれば、その直接還元糖量の最大値は前實驗の結果 0.034 % 乃至 0.077 % であるが故に、西瓜上騰液中の全糖量の最大値は葡萄糖として 0.038 % 乃至 0.087 % なる筈である。而も

之等の數値は前述の通り切斷面に於ける導管以外の部分に由來した糖をも含有してゐる筈であるから、上騰流自體としてはその最大値はこれより著るしく小なる數値を示すべき筈である。

然るに前記第六表乃至第八表に於て明かな通り、*Fus. niveum* は嫌氣的の場合は糖を利用して瓦斯を發生するところは全くなく、好氣的若くは半嫌氣的の場合には 0.1 % 以下の葡萄糖下に於ては瓦斯を過剰吸收する傾向が大である。

之等を總合するに、西瓜の導管内に於て *Fus. niveum* が旺盛なる繁殖をなすに當り、その部に於ける寄生の状態が上記の如き嫌氣的なる場合には導管内に於ける瓦斯の増減は皆無であり、好氣的若くは半嫌氣的なる場合には却つて總瓦斯量の減退を來すものと云ふを得べく、結局、本菌が導管内に繁殖するも、ここに氣體としての瓦斯の増加を來すことはないと思はれる。

VIII 論 議

Fus. niveum の榮養生理に關し實驗したる結果、本菌は酸素の稍缺乏せる處に於てもなほよく生育し得るものであり、硝酸鹽を還元してよく亞硝酸を生じ、併もこの生じたる亞硝酸をよく利用し得ることを明かにした。而して各種砂糖類をよく消化し、殊に葡萄糖、蔗糖、麥芽糖よりは多量の瓦斯を發生し、澱粉をよく消化し、cellulose, pectin 物質を徐々に分解利用するものなることを明かにした。之等の諸性質は本菌が土壤棲息菌であることの一端を示すものであり、又寄主を侵しては、その水分通導組織によく繁殖し得るものなることを示し、且つ柔組織を侵して之を崩壞に導き、併もその貯藏養分を急激に消化するものなることを示すものと云ふべきである。

Fus. niveum を糖添加培養液にて培養する場合、強度の嫌氣状態に於ては瓦斯を發生することはない。好氣的若くは半嫌氣的状態にては、葡萄糖含有量の高き場合、例へば 5 % , 2 % に於てはよく瓦斯を發生するも、その含量の低度の場合、例へば 0.1 % , 0.05 % に於てはむしろ總瓦斯量の減退を示した。

繼つて西瓜上騰流液に於ける糖含量を検した處、その葡萄糖量は最大 0.034 % - 0.077 % 程度のものであり、これは切斷部に於ける導管以外の部分よりの粉人の糖をも包含せるものなるが故に、之を考慮に入れる時はその實際の數値はこれより遙かに低度にあるものと云ふを得る筈である。而して非還元糖は葡萄糖量の 1/8 内外であると思はれた。之等によつて

見るに導管内に存すべき水溶性の全糖量はその最大値を採るもなほ 0.1% に及ばないのである。然るに *Fus. nivium* は 0.1% 以下の葡萄糖下に於ては瓦斯の増加を示すことがないのである。

植物萎凋病の病原たる *Fusarium* 菌が寄主の水分通導組織内に於て發育する結果として瓦斯を成生し、その瓦斯が多量なるが爲に遂に寄主の水絲が切斷せられる、その結果として萎凋現象が發現するに云ふ理論—瓦斯填充説²⁾—は萎凋病に於ける萎凋現象を説く一方の理論であるが、本實驗の結果より見るに西瓜の體内に於ては斯の如き現象は行はるる所はならないものと推論し得るのである。

IX 摘 要

(1) *Fus. nivium* は全然酸素を排除したる場合には發育不能であるが、極微量にても酸素の存在する時にはよく發育する。

(2) 本菌は硝酸鹽を還元して亞硝酸を生ずる力が強大である。

(3) 本菌は窒素源として亞硝酸鹽をよく利用し得るものである。

(4) 炭素源としては葡萄糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖等をよく利用しここに前三者の加はつた培養液に於ては發育最も佳良であり、糖を消化してよく瓦斯を發生する。glycerin に於ては發育不良である。又澱粉をよく消化し、cellulose 及び pectin 物質をも炭素源として利用し得るものである。

(5) 本菌を、多量に葡萄糖を加へたる液體に培養する時は瓦斯を多量に發生する。而してその發生量は菌の發育適温附近に於て多量である。然しながらその發生量は又、養液の糖量に關係する處多大であり、又培養の嫌氣度にも關係する。即ち糖量の異なる時(例へば 5%, 2%)に於て、而も好氣的或は半嫌氣的狀態に於ては瓦斯の發生は夥多であるが、甚しき嫌氣的狀態の元には於ては瓦斯を發生しないのである。而して糖量の微量なる場合(例へば 0.1%, 0.05%)には、嫌氣的狀態にては上記同様に瓦斯の發生を見ないが、好氣的若くは半嫌氣的狀態に於ては總瓦斯量の減退を示すのである。これは閉管部に於ける酸素の過剰吸収によるものと思はれる。蔗糖の場合に於ては 0.02% 以下に於て瓦斯量の減少を認めた。

(6) 葡萄糖添加培養に於ける糖の減少度を求めた處、培養後一ヶ月の間は略々直線的に且つ急激に減少するところを認めた。

(7) 西瓜導管内に *Fus. nivium* が繁殖した場合、その部に於て瓦斯發生が行はれ得るや否

やを検する爲に、西瓜の水分通導組織内の上騰液の糖の最大値を求めた。その結果によれば、糖量は一日の内に於ても差異があり、夜間は大で晝間は稍小であつた。又一本の植物についても各枝によつて多少の異りを示した。而して求め得た最大値は非還元糖を考慮に入れて0.038%—0.087%であつた。これは莖切斷直後の短時間に於ける採液に就てであり、切斷面に於ける導管以外の部よりの糖量をも包含したものであるが故に實際の数値はこれより遙かに小である筈である。而もこの最大値の含糖量を以てしても、前實驗の結果より見るに、本菌は瓦斯量の増加を示し得ない筈である。

即ち西瓜の導管内に於て *Fus. nivaeum* が旺盛なる繁殖をなすに當り、その部に於ける寄生状態が嫌氣的の場合は勿論、好氣的若くは半嫌氣的の状態なりとするも、ここに氣體としての瓦斯の増加を來すことはないとする所以である。

引用文獻

- 1) PORTER, D. R.: Iowa Agr. Exp. St. Res. Bull., 112, 1928.
- 2) TOCHINAI, Y.: Journal of Plant Protection (病蟲) 8, 71-78, 1921.
- 3) " : Journal Col. Agr. Hokkaido Imp. Univ. 14, 171-236, 1926.

PATHOLOGICAL STUDIES ON WATERMELON WILT.
V. ON THE METABOLISM OF *FUSARIUM NIVEUM*; WITH
SPECIAL REFERENCE TO ITS GAS EVOLUTION

(Résumé)

Hazime YOSHI

1. *Fusarium niveum* does not grow under strictly anaerobic condition, though it grows vigorously in the presence of small quantity of oxygen within the tube in BUCHNER's apparatus.

2. *Fus. niveum* reduces nitrate well in 5 per cent glucose RICHARDS solution or in 0.2 per cent starch RICHARDS solution (Table 1).

3. The fungus grows vigorously in the nitrite media and consumes nitrite as well as nitrate (Table 2).

4. Various sugars such as glucose, maltose, sucrose, lactose, and glycerin were used for the carbon sources of culture media. In each medium containing 2 per cent of one of these sugars, except glycerin, the growth of the organism is conspicuous, especially in the former three, and abundant gas evolution is observed (Table 3).

5. *Fus. niveum* strongly digests starch as well as sugars, and also digests cellulose and pectic matter though slowly. It may be recognized from these characters that the fungus is one of the soil inhabiting pathogenes, and that when it attacks the host plant it grows well in the water conductive tissue, and also invades the parenchymatous elements easily, destructing these tissues and consuming directly the reserved materials.

6. *Fus. niveum* ferments glucose with abundant evolution of gas when cultured in the media containing 2 to 5 per cent of glucose. The fermenting action is much strong at the optimum temperature for growth of the fungus (Table 5).

7. It is found that the amount of gas evolved depends on the sugar content of the culture media, and also on aerobic condition of culture. In higher contents of sugar—e. g. 2 to 5 per cent of glucose—the evolution of gas is abundant under aerobic or semi-anaerobic condition, while no gas is evolved under highly anaerobic condition. In lower contents of sugar—e. g. 0.1 per cent of glucose—the total amount of gas in the closed tube rather decreases under aerobic or semi-anaerobic condition (Table 6, 7, 8). When sucrose is applied, this decrease is observed in the case less than 0.02 per cent of sugar (Table 9, 10).

8. The quantity of sugar decreased in the glucose media, when cultured at 29°C to 30°C, is very conspicuous, and after thirty days it decreased to 0.4 per cent when 2 per cent glucose medium was used, and to 1.33 per cent when 5 per cent glucose BOAS medium was used (Table 11, 12).

9. The sugar content of the ascending sap of watermelon was tested to see whether or not the amount of sugar is enough for the fungus to evolve gas. It was found that the content of sugar of the sap is much higher by night than by day time (Table 13, 14), and is variable by the exudation quantity of sap per unit time, and by the lapse of time after cutting the stems. The maximum values thus obtained were 0.038 per cent and 0.087 per cent—total water soluble sugars presented as glucose—(Table 15). These values were of the sap obtained soon after cutting the stems, so that the exact values of the sugar contents of the true ascending saps will be smaller than these, because the saps tested are the mixtures of the true conductive waters and the exudation juices from the wounded surfaces other than vessels.

From the preceding experiment (6) it is clear that *Fus. niveum* is unable to produce gas from sugar of ascending sap, though the maximum content which may be higher than real value is considered, in such a semi-anaerobic condition as in the water conductive tissues.

Laboratory of Plant Pathology,
Dept. of Agr., Kyushu Imperial University.