

短 報

マリーゴールドの殺線虫成分  $\alpha$ -terthienyl が  
フザリウム菌の行動に及ぼす影響\*

大 林 延 夫・小 林 紀 彦\*\*・駒 田 旦\*\*

N. OHBAYASHI, N. KOBAYASHI, and  
H. KOMADA

Effect of  $\alpha$ -terthienyl, one of the nematicidal substances of marigold, on the behavior of three pathogenic Fusaria under UV-irradiated or dark condition.

I 緒 言

$\alpha$ -terthienyl は、種々の植物に存在するポリチエニール類の一つとして知られるが、Uhlenbroek ら (1958~1960)(5,6,7) は、マリーゴールドに含まれる殺線虫成分として、関連化合物と共に、この物質を報告した。その後、1973年に、Gommers(1)は、ネグサレセンチュウに対する作用性を検討し、本物質が、紫外線の存在下で著しい活性を示す事を報告した。一方、大林・近岡(1973)(2)は、マリーゴールドを利用した、キタネグサレセンチュウの防除技術を確立し、現在では各地で実用化されている。筆者らは、このマリーゴールドを利用したセンチュウ防除に、副次的な病害抑制効果を期待して、本物質がフザリウム菌の行動に及ぼす影響を調査し、若干の知見を得たので報告する。

本研究にあたり、 $\alpha$ -terthienyl および、2-acetyl-bithienyl の合成品を提供していただいた、保土谷化学工業株式会社中央研究所の黒須泰久氏に、感謝の意を表する。

II 材料および方法

1.  $\alpha$ -terthienyl 溶液中での胞子発芽

\* 本研究の要旨は、昭和56年度日本植物病理学会大会で発表した。

\*\* 農林水産省農業研究センター。

PDA 培地で培養したダイコン萎黄病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*)、キャベツ萎黄病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *conglutinans*) 及びキュウリつる割病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*) から得た小型分生胞子を、所定濃度の  $\alpha$ -terthienyl 水溶液 (アセトンで溶解し、twin-20 加用の滅菌水で希釈) に懸濁させた。この懸濁液をスライドガラス上に滴下し、透明なプラスチック容器に収納して、暗黒下および紫外線照射 (ナショナルブラックライトブルー、F 220 S・BL-B) 下におき、25°C定温設定下で19時間培養後、直ちにコットンブルーで固定、染色して発芽率を調査した。また、同様な手法で、キュウリつる割病菌の小型分生胞子を用い、 $\alpha$ -terthienyl と、2-acetyl-bithienyl の比較を行なった。

2.  $\alpha$ -terthienyl 加用土壌懸濁液上での胞子発芽

所定濃度の  $\alpha$ -terthienyl 水溶液 5 に対し、土壌 (三浦半島の黒色火山灰土) を 2 の割合で加え、20分間振とうした液をホールスライドガラスのくぼみに満した。これに、滅菌水に懸濁させた 3 種類のフザリウム菌小型分生胞子を、噴霧して付着させたセルロースフィルム (バイキング製) および、吸引ろ過して付着させたメンブランフィルター (ミリポア製、0.45 $\mu$ m, HAWPO 2500) を載せ、暗黒化および紫外線照射下に置いて、25°C定温設定下で12.5時間培養し、石炭酸ローズベンガル液で固定、染色して発芽率を調査した。

3.  $\alpha$ -terthienyl 加用 PSA 培地上での菌糸の生育

所定濃度の  $\alpha$ -terthienyl を加えた PSA 培地に、あらかじめ培養した 3 種類のフザリウム菌菌そう先端を、

コルクボーラーで打抜いて接種し、暗黒下および紫外線照射下に置いて、25°C 定温設定下で培養した。試験には、ペトリ皿を各4枚供試し、2日間培養後、2枚のペトリ皿は暗黒下と紫外線照射下を入れ替えて、それぞれさらに4日間培養した。調査は2日ごとに行ない、菌そのの半径を測定した。

III 成績

1.  $\alpha$ -terthienyl 溶液中での胞子発芽

結果は第1図に示したとおりで、ダイコン萎黄病菌、キャベツ萎黄病菌、キュウリつる割病菌ともに、暗黒条件下では、 $\alpha$ -terthienyl の濃度0~25ppm の間で、ほぼ同様な発芽率を示した。これに対し、紫外線照射下では、0ppm のみが発芽し、3ppm 以上の各濃度では、いずれも完全に発芽が抑制された。

$\alpha$ -terthienyl と 2-acetyl-bithienyl の比較は、第1表に示したとおりで、キュウリつる割病菌

2.  $\alpha$ -terthienyl 加用土壌懸濁液上での胞子発芽

セルロースフィルムを用いた結果を第2図に、メンブランフィルターを用いた結果を第3図に示した。透明なセルロースフィルム上の胞子は、紫外線照射下では、各菌とも5~15ppm で明らかに発芽が抑制され、25~50ppm では、ほぼ発芽率が0となる。しかし、暗黒下では、やや発芽率に振れがあるものの、50ppm でも良く発芽する。一方、光を通過させないメンブランフィルター上の胞子は、暗黒下および紫外線照射下ともに、良く発芽した。

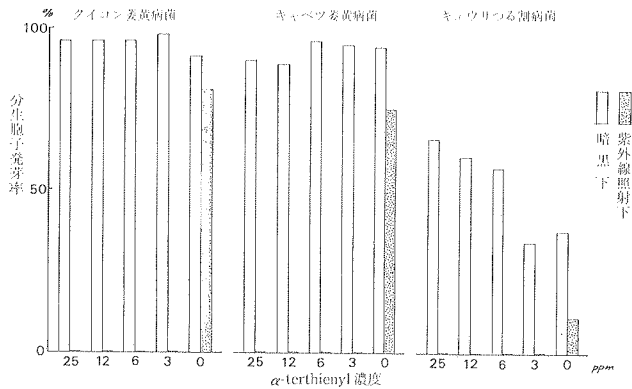
3.  $\alpha$ -terthienyl 加用 PSA 培地上での菌糸の生育

培地中の  $\alpha$ -terthienyl 濃度を、0, 6.25, 25.0 および 50.0ppm の五段階に変えて試験を行なったが、この内、0ppm と 50.0ppm の結果を第4図に示した。0ppm では、暗黒下および紫外線照射下でいずれも同様な生育を示したのに対し、 $\alpha$ -terthienyl 加用区では、紫外線照射下で明らかに菌糸の生育が阻害され、その程度は、濃度が高いほど高かった。

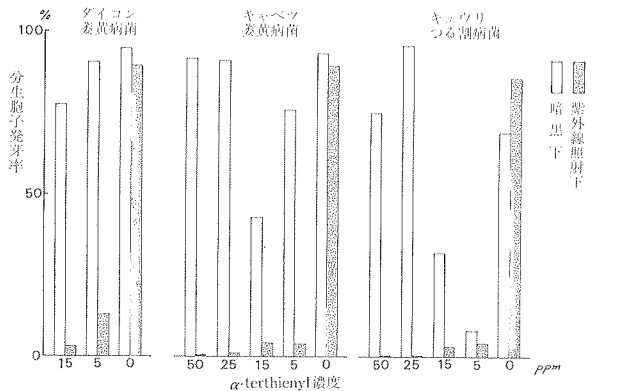
第1表  $\alpha$ -terthienyl と 2-acetyl-bithienyl 溶液中でのキュウリつる割病菌の胞子発芽

物質名 濃度	$\alpha$ -terthienyl		2-acetyl-bithienyl	
	暗黒下	紫外線照射下	暗黒下	紫外線照射下
0 ppm	31.8 %	11.9 %	31.8 %	11.9 %
50	24.9	0	44.9	0
100	31.1	0	30.4	0
200	37.0	0	38.6	0

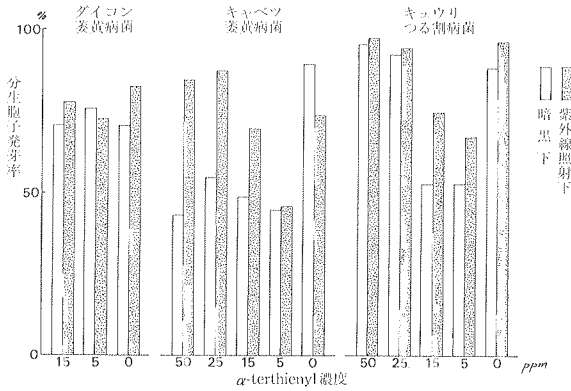
培養2日後に、暗黒下と紫外線照射下の培養を入れ替えると、暗黒下で生育していた菌糸は、紫外線照射下で生育が止まり、紫外線照射下で生育が抑えられていた菌糸は、暗黒下に移すと直ちに生育を開始した。しかし、紫外線照射下での生育抑制程度は、培養日数の経過と共に低下し、その傾向は、ダイコン萎黄病菌と、キュウリつる割病菌で顕著であった。



第1図  $\alpha$ -terthienyl 溶液中での胞子発芽



第2図  $\alpha$ -terthienyl 加用土壌懸濁液に浮かべたセルロースフィルム上での胞子発芽



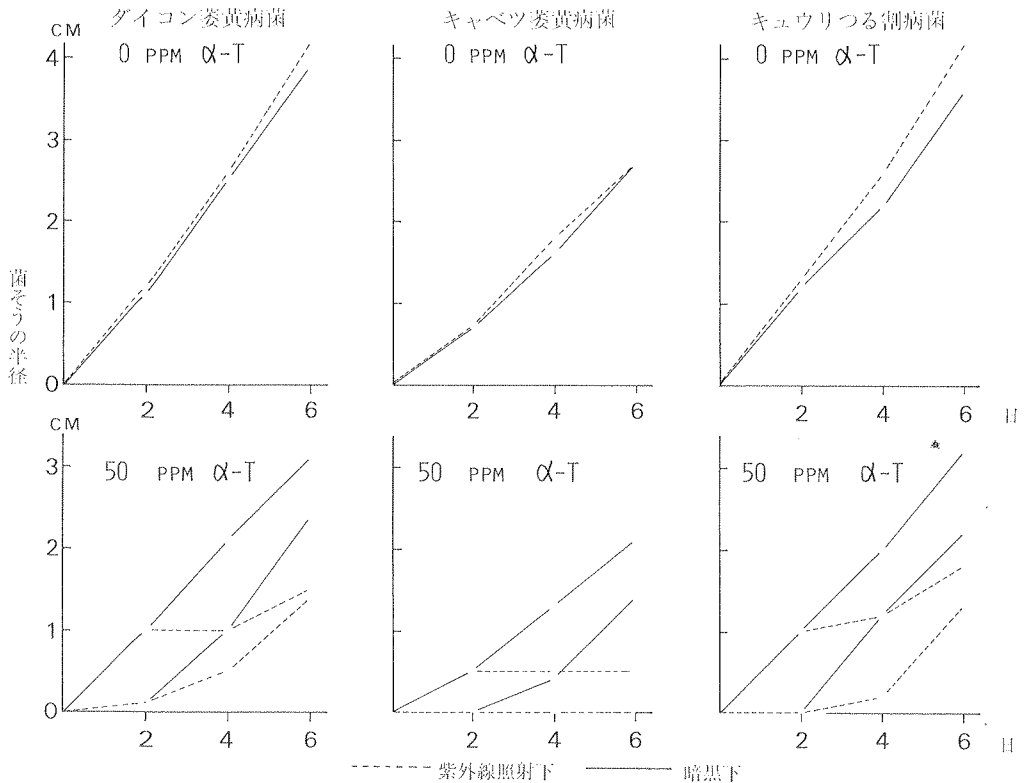
第3図  $\alpha$ -terthienyl 加用土壌懸濁液に浮べたミリボアフィルター上での胞子発芽

#### IV 考 察

本試験の結果、 $\alpha$ -terthienyl は、ダイコン萎黄病菌、キャベツ萎黄病菌およびキュウリつる割病菌の小型分生胞子の発芽、または菌糸の生育に対し、紫外線照射下で

強い抑制作用を示すことが明らかとなった。この作用は Gommers (1973)<sup>(1)</sup> が、キタネグサレセンチュウに対する  $\alpha$ -terthienyl の殺線虫作用について検討し、紫外線の存在下では、1ppm でも強い殺線虫力を示すが、暗黒下では、活性が著しく低いとした結果と、良く一致した。さらに、この作用が、フザリウム菌の菌糸の生育で観察されたように、暗黒下と紫外線照射下の入れ替えによって、活性が現われたり失活したりする点から、可逆的なものと考えられ、紫外線の照射による物質構造の変化などによるものではないと推察された。 $\alpha$ -terthienyl は、波長350 $\mu$ m付近の紫外線を強く吸収することが知られ<sup>(5)</sup>、紫外線照射下での活性化は、この光エネルギーの吸収による、物質の励起現象<sup>(4)</sup>の一つと考えられる。

マリーゴールドを栽培すると、土壤中のキタネグサレセンチュウ密度が低下する現象は、当初、 $\alpha$ -terthienyl



第4図  $\alpha$ -terthienyl 加用培地上での菌糸の生育

が、土壤中に放出される結果と考えられて来たが、Gommers(1)も指摘しているように、多くの矛盾があり、別のメカニズムによる現象と考えるのが妥当であろう。フザリウム菌に対しても、紫外線による活性化を、暗黒の土壤中で期待するのは難しいと考えられる。

紫外線域の波長を特異的に吸収する物質の中には、紫外線の存在によって、昆虫類に対する毒性が増加するものがあり、これらを利用した殺虫剤の開発が検討されている(3)。 $\alpha$ -terthienylについても、土壤中ではなく、地上部の病害虫を対象に、その特異な作用性を活かした利用法の検討が考えられる。

## V 摘 要

1. マリーゴールドの殺線虫成分として知られている  $\alpha$ -terthienyl が、ダイコン萎黄病菌、キャベツ萎黄病菌およびキュウリつる割病菌の行動に及ぼす影響を検討した。

2.  $\alpha$ -terthienyl は、紫外線の存在下で、これら3種類のフザリウム菌の胞子発芽を抑制し、また、培地上での菌糸の生育を阻害したが、暗黒下では、ほとんど活性を示さなかった。

3. 培地上の菌糸の生育に対する、 $\alpha$ -terthienyl の活性は、暗黒下から紫外線照射下に移すと発現し、逆に紫

外線下で活性を示しても、暗黒下に移すと失活した。

4. 類縁化合物の2-acetyl-bithienyl は、キュウリつる割病菌の胞子発芽に対し、 $\alpha$ -terthienyl と同様な活性を示した。

## 引用文献

1. GOMMERS, F. J. (1973). Nematicidal principles in compositae. Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen, 73-17 : 71pp

2. 大林延夫・近岡一郎 (1973). マリーゴールド利用によるダイコンのキタネグサレセンチュウ防除法に関する研究, 神奈川園試研報, 21 : 91~102.

3. 杉本良雄 (1983). 紫外線化合物, 害虫防除に有効, 農薬ビジネス, 574 : 4718~4719.

4. 坪井正道 (1982). 電子励起状態の幾何学, 化学の領域, 37 (7) : 466~472.

5. UHLENBROEK, J. H. & J. D. BIJLOO (1958). Investigations on nematocides. I. Recueil trav. chim., 77 : 1004~109.

6. ———— (1959). Investigations on Nematocides. II. ditto 78 : 382~390.

7. ———— (1960). Investigations on Nematocides III. ditto 79 : 1181~1196.

## Summary

1. The activities of  $\alpha$ -terthienyl, known as one of the nematocidal substances in marigold, against three pathogenic formae specialis of *Fusarium oxysporum* was investigated.

2.  $\alpha$ -Terthienyl inhibited the conidial germination and hyphal growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*, *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* under ultra-violet light irradiation *in vitro*, but did not show such activity under dark condition.

3. Reversible change in inhibition of hyphal growth of these three *Fusaria* by  $\alpha$ -terthienyl was observed; that is, the activity was nullified when the cultures were replaced from UV-irradiated to dark and it was recovered when the cultures were replaced from dark to UV-irradiated.

4. 2-Acetyl-bithienyl which is a related compound of  $\alpha$ -terthienyl showed the same activities as obtained by  $\alpha$ -terthienyl.