

殺線虫力・溶線虫力および殺菌力を有する細菌群について

河村 貞之助・米 山 伸 吾

(植物病研究室)

Teinosuke KAWAMURA and Shingo YONEYAMA : Preliminary Report on Bacteria which Interfere with the Growth of Nematodes and Fungi, also Causes Liquefaction of Nematodes.

緒 言

植物寄生性線虫の生物的防除に関する研究は未だ極めて稀である。DUDDINGTON, C. L. (1956)²⁾は線虫に対する天敵としての菌類とその作用等について研究を行い、線虫を捕獲し死滅させる菌類について一書を公にした。JOHNSTON, T. (1957)³⁾は土壌を湛水状態にした場合、嫌気性の細菌が土壌中の線虫 (*Tylenchorhynchus martini*) の密度を低下させる一つの要素となり、*Clostridium* 属のある種のものが産生する毒素は線虫を殺すと報告し、BÖHN, L. K. & SUPPERER, R. (1958)¹⁾は細菌と豚、馬の蛔虫との相互関係について実験を行い、*Bact. mesentericus* (馬鈴薯菌) の産生する蛋白質分解酵素は *in vitro* で蛔虫を死滅せると報告した。

畑に有機質肥料特に堆厩肥等を多量に施した場合、線虫の被害が少なくなることが農家の1説とされているが、その原因については定説がない。有機物を土壌に施した場合、土壌中の microflora, microfauna が大きく変わることがここで考えられる。

われわれは、鶏糞を主成分とするある種の肥料を圃場に施した場合、線虫の被害が軽減する事実から、その原因の究明に歩をすすめ、ある種の細菌が殺線虫力を有することを見た。現在なお研究途上であるが、その基礎的な一端をここに報告する。

本実験のために材料を提供された富士微生物工業K. K., 細菌の分離同定に御助力を頂いた東大応微研、飯塚広、駒形和男両氏、実験について多くの示唆を与えられた農林省関東東山農試国井喜章氏、並びに本実験遂行のため援助を惜しまなかった当研究室の諸氏に深い謝意を表するものである。

I. 殺線虫力に関する研究

実験 1.

供試肥料を圃場に施すと線虫密度を低下させるので、その原因として有効な水溶性物質の存否を確認するため本実験を行った。

材料および方法：供試肥料は鶏糞・米糠・硫酸・未知の微生物を含むものである。井水に供試肥料 (No. 1, No. 2, No. 3) を1%, 0.1% の割合で混合し、三角フラスコに入れ、栓をして室内に放置した。1, 3, 7日後にそれぞれガーゼで濾して夾雑物を取り除き、小型シャーレーにその約10ccを取り、その中に供試線虫 (*Rhabditis terricola*, 培養20~45日) を浸漬し、室温 (23~31℃) 24時間後に Acridine orange の染色並びに剝離現象によってその死虫率を求めた。その結果は第1表である。

考察：最高死虫率は26.1%であり、一般に殺線虫力は微弱である。このことから井水による滲出液は殺線

第1表 鶏糞性肥料の井水滲出液による死虫率(%)

濃 度	肥料の種類 滲出日数	1 日	3 日	7 日
1 %	No. 1	1.6	12.6	17.2
	No. 2	6.9	18.1	26.1
	No. 3	2.1	9.2	19.6
0.1 %	No. 1	0.6	3.5	5.7
	No. 2	2.3	3.6	4.7
	No. 3	0.8	1.3	3.4
Cont. (Tap water)		0.0	0.0	0.0

(註) No.1.一鶏糞, 米糠, 硫酸, 未知の微生物を含む。
No.2.一鶏糞, 米糠, 硫酸の混合物
No.3.一No.2の醗酵過程のもの
死虫率は2回の平均

虫力を微弱ながらも保有していて, この肥料と共存する微生物の代謝生産物がその原因ではなかろうかと考えられた。

実験 2.

もしも微生物の代謝産物が殺線虫力をもつとするならば, それら微生物の繁殖を促せば強化することができるはずである。そして微生物の中ではまず細菌が大きく関与するものと想定してこの実験を行った。

材料および方法: Bouillon 液体培地に供試肥料 (No.1, 2,3) を1%, 0.1% の割合で混合し, 滅菌した三角フラ

第2表 鶏糞性肥料の Bouillon 培養液による死虫率 (%)

濃 度	肥料の種類 培養日数	1 日	3 日	6 日
1 %	No. 1	84.6	98.4	100.0
	No. 2	85.1	100.0	100.0
	No. 3	70.4	100.0	100.0
0.1 %	No. 1	24.4	100.0	100.0
	No. 2	56.0	100.0	100.0
	No. 3	40.0	100.0	100.0
Cont. (Bouillon)		0.4	1.5	0.0
Cont. (Tap water)		1.8	3.9	3.2

(註) 死虫率は2回の平均
No.1, No.2, No.3. は第1表と同じ。

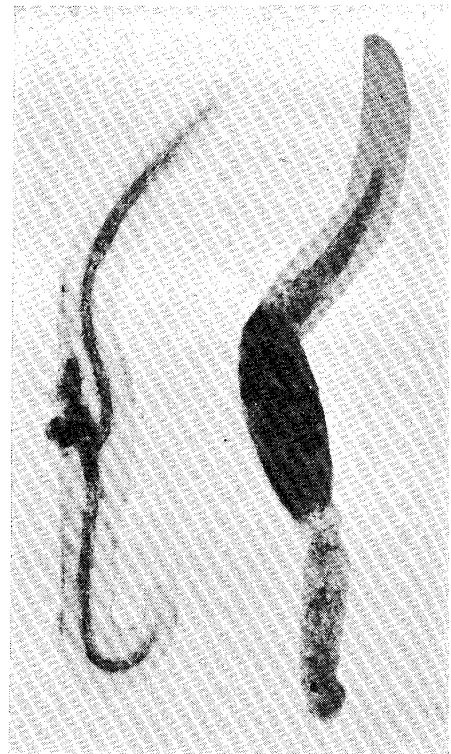


写真1. 線虫の溶解状態 (*Rhabditis terricola*)

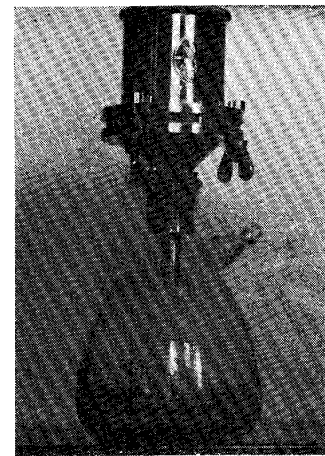


写真2. Seitz の細菌濾過装置

スコに入れ綿栓して恒温器 (25~28℃) 内に入れ, 1, 3, 6 日後に夾雑物を取り除いて, 線虫の浸漬試験を実験1と同様に行った。その結果は第2表の通りである。

考察: 培養3日後のものでは No. 1 を除き他は全部 100% の死虫率を示した。しかもこの場合、写真1のような溶解現象が見られた。Bouillon 培養液によりこの様に殺線虫力が強化されるところを見れば, われわれの想定通りその主役は細菌であると考えられる。そして細菌

の増殖は24時間で急速に行われ、3～6日で菌体数は最高に達する。第2表に見られる如く、例えば1%のものの死虫率は培養1日後には70.4～85.1%，3日後には98.4～100%，6日後には全部100%となっている。また虫体の溶解度も6日後が最も高かった。

実験 3.

さてこのような細菌は、供試肥料のどの成分に特に共存しているのであるか。これを明らかにするためこの実験を行った。

材料および方法：井水および Bouillon 液体培地に鶏糞、米糠、硫酸を別々に1%，0.1%の割合で混合し、滅菌した三角フラスコに入れ綿栓して恒温器（25～28℃）内に置いた。1,3,7日後にガーゼで夾雑物を取り除き、それによる線虫の浸漬試験を前同様に行った。結果は第3表である。

第3表 鶏糞、米糠、硫酸の井水滲出及び Bouillon 培養液による死虫率(%)

区 別	濃 度	供 試 物	滲出, 培養日数	1 日	3 日	7 日
Tap water	1 %	鶏 糞※1 米 糠		11.2 14.3	7.7 4.3	15.8 15.0
	0.1 %	鶏 糞※1 米 糠		4.4 8.7	4.3 4.1	7.2 7.0
Bouillon	1 %	糞 鶏※1		33.7	100.0	100.0
		〃 ※2		—	100.0	—
		〃 ※3		—	100.0	—
		米 糠 硫 酸		24.3 —	98.9 0.5	100.0 96.7※4
	0.1 %	鶏 糞※1 米 糠		25.6 18.2	99.8 99.3	100.0 100.0
Cont. (Bouillon)				2.52	3.8	2.3
Cont. (Tap water)				1.4	2.0	1.1

(註) ※1 は鶏糞を乾燥後粉末にしたもの。※2 は乾燥したもの。※3 は生まのまゝのもの。

※4 は6日間滲出液による。

考察：井水滲出液ではいずれも殺線虫率は低いが、Bouillon 培養3日後のものは殆んどが100%の死虫率を示した。これは明らかに鶏糞、米糠共に有効菌が共存していると考えられる。なお、鶏糞の生まのものと乾燥したものとは、特に溶線虫力が強かった。

また、硫酸の Bouillon 3日滲出液では死虫率が0.5%であったのに、6日後には96.7%と急激に高くなった。このことから有効菌は鶏糞、米糠に常に共存するものばかりでなく気中菌的な割合普通のものもあると考えられる。

実験 4.

果して有効菌はどこにでもある菌であろうか。本実験に於てそれを検討した。

材料および方法：井水および Bouillon 液体培地に堆肥、川砂、火山灰土を1%の割合で混合し、恒温器（25～28℃）中で3日間共存菌を培養した。また、滅菌シャーレーに Bouillon 液体培地30ccをとり、室内でその蓋を開けて24時間放置して気中菌をとらえた後、恒温器（25～28℃）中で3日間培養した。それらについて線虫の浸漬試験を行った結果が第4表である。

考察：堆肥，川砂，火山灰土の培養液はいずれも可成り高い死虫率を示したが，気中菌の殺線虫力はやや低い。しかし殺線虫力の強弱は菌の種類よりも密度に大きな関係があるように思われる。

実験 5.

次に各成分から密度の大きい菌を分離し，個別に純粹培養して菌の種別の殺線虫力を比較した。

材料および方法：細菌量を一定にするために次の操作を行った。分離した細菌を Bouillon 寒天の斜面培地に 3 日培養後，その 1 白金耳をとって，Bouillon 液

体培地 10cc に入れた。その各々を 3 日間 (25~28℃) 培養した。菌類はイースト培地に培養した。それぞれの液体培地に供試線虫を浸漬し，24 時間 (25~28℃) 後にその死虫率を調べた結果が第 5，6 表である。

第 4 表 土壤等の井水滲出，Bouillon 培地に 3 日間滲出した液による死虫率 (%)

供試物	濃度	Bouillon	Tap water
川砂	1 %	99.6	3.2
火山灰土	//	100.0	1.5
堆肥	//	100.0	6.7
気中菌	—	58.1	—
Cont. (Bouillon)		8.1	—
Cont. (Tap water)		—	2.5

(註) 死虫率は 2 回の平均

第 5 表 細菌の Bouillon 培養液による死虫率 (%)

分離源		分離番号	実験回数			分離源		分離番号	実験回数		
			1	2	3				1	2	3
No. 1	1	1	90.9	64.1	—	米糠	3	5	41.7	—	—
		2	63.9	61.0	46.5			6	38.5	—	17.7
		3	50.5	—	51.6			7	38.7	—	28.3
		4	48.6	—	56.5			8	36.6	—	36.5
								9	68.2	23.8	25.5
鶏	鶏	2	35.8	—	31.2	気中菌	4	1	68.8	—	61.7
		2	48.5	—	56.6			2	73.0	44.1	58.3
		3	66.7	—	37.6			3	57.0	28.8	49.2
		4	40.3	—	40.2						
米	糠	3	70.2	—	—			Cont. (Bouillon)		3.2	0.8
		2	42.4	—	42.3	Cont. (Tap water)		34.6	—	30.7	
		3	38.8	—	57.4						
		4	73.2	—	—						

(註) 死虫率は 2 回の平均

第 6 表 菌類のイースト培地による死虫率 (%)

菌の種類	培養日数	2 日	12 日	22 日	28 日	35 日
77		0.8	0.0	10.8	—	—
89		0.9	5.1	8.1	—	—
174		2.2	68.2	24.4	10.6	6.9
Cont. (Yeast)		1.3	0.0	0.5	3.2	0.3
Cont. (Tap water)		1.7	1.9	7.4	5.3	1.4

(註) 死虫率は 2 回の平均

考察：細菌については 35.8~90.9% の範囲の死虫率を示し，このうち 1—1，1—3，1—4，2—3，3—1，3—4，4—1，4—2 はとくに強力であった。1—1，3—1，3—4 は *Pseudomonas* sp.，1—3，1—4 は *Pseudomonas desmolytica*，2—3 は *Pseudomonas* 或いは *Achromobacter* sp.，4—1 は *Achromobacter* sp.，4—2 は *Pseudomonas fragi* であった。

菌類のうち 174 が殺線虫力を示した。しかし培養日数が経過するに従って死虫率が低下している。これは長期間同一培地中にあったため菌そのものの活力が衰退したためか、或いは代謝産物そのものの活力が日時の経過によって衰えたものと考えられる。この 174 は *Candida pelliculosa* であった。

本実験の結果、*Pseudomonas* spp., *Achromobacter* spp. の純粋液体培養液がとくに殺線虫力が高いことが明らかとなった。

実験 6.

以上の線虫浸漬試験は菌自体を含んだ培養液を用いたものであったが、この実験では菌体を除いた培養液を用い、かつ供試線虫として植物寄生性線虫をも加えて検討した。

材料および方法：鶏糞、米糠、川砂、火山灰土、堆肥の Bouillon 3 日間培養液を実験 3, 4 の方法に準じて作った。細菌群は斜面培地より 1 白金耳をとって、200cc 容量の三角フラスコ内の Bouillon 液体培地 10cc に加えて、3, 7 日間培養した。以上のようにして得た培養液を Seitz (filter No. 85) の細菌濾過器(写真 2)で濾過した。

供試線虫 (*Rhabditis terricola*, *Panagrellus* sp., *Meloidogyne incognita* var. *acrita*) の浸漬は前実験と同じ操作により、第 7, 8 表を得た。

線虫の生死鑑別は、*Rhabditis* は染色と剝離現象、*Panagrellus* はその活動性、*Meloidogyne* は眼科用メスによる虫体の切断法によった。

考案：菌体を含む培養液の死虫率は *Rhabditis*, *Meloidogyne* 共に高く、*Rhabditis* 属線虫の虫体の溶解度が激しかった(写真 1)。*Meloidogyne* では *Rhabditis* のように明らかな溶虫現象は見られなかった。濾液による死虫率も米糠の場合を除いて、濾過しない培養液と大差はない。虫体の溶解は濾過しない培養液ほど強くなかったが、溶解物質が濾液中にも存在することが考えられる。しかしその物質はかなり不安定なものと思われる。尚この溶虫現象を起すものが蛋白或はアミノ酸分解酵素のような物質か或いは phage かは、ここでは分らない。

純粋培養した細菌群の培養液とその濾液とでは死虫率にかなりの差がみられるが(第 7 表)、これは浸漬時間が 24 時間であって、培養液ではその間に細菌が増殖することも考えられる。

第 7 表 鶏糞等の培養液及び濾液による死虫率(%)

供試物	線虫 培地の種類 調査項目	<i>Rhabditis terricola</i>				<i>M. incognita acrita</i>	
		培 養 液		濾 液		培 養 液	濾 液
		死 虫 率	溶 解 度	死 虫 率	溶 解 度	死 虫 率	死 虫 率
鶏 糞		99.9	+	97.1	±	100.0	100.0
米 糠		91.6	±	25.2	—	90.0	33.3
川 砂		61.7	—	49.9	—	85.7	62.5
火 山 灰 土		98.0	+	93.1	±	100.0	80.0
堆 肥		93.3	+	85.7	±	90.0	83.3
Cont. (Bouillon)		7.5	—			0.0	0.0
Cont. (Tap water)		4.8	—			0.0	0.0

(註) 死虫率は 2 回の平均

+: 線虫の溶解現象が見られた。

±: 線虫の溶解現象がわずかに見られた。

—: 全く溶解現象が見られなかった。

第8表 細菌の純粋培養液、汙液による死虫率(%)

供試細菌の種類	培地の種類 培養日数 線虫の種類		培養液				汙液	
			3 日		7 日		7 日	
			<i>Rhabditis</i>	<i>Panagrellus</i>	<i>Rhabditis</i>	<i>M. incognita acrita</i>	<i>Rhabditis</i>	<i>M. incognita acrita</i>
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
1 <i>Ps. fulva</i>			17.0	31.4	96.5	33.1	72.3	22.2
2 <i>Ps. schuykilliensis</i>			42.6	21.1	100.0	27.1	44.0	66.7
3 <i>Ps. desmolytica</i>			35.2	47.0	99.9	38.4	25.6	18.8
4 <i>Ps. alcaligenes</i>			79.2	98.9	100.0	42.5	14.7	57.1
5 <i>Ps. ovalis</i>			43.8	99.6	97.5	13.9	26.2	35.7
1-3-2}			73.0	—	98.8	66.7	23.4	52.9
1-4-1}	<i>Ps. desmolytica</i>		58.9	—	84.2	61.5	42.5	40.0
1-4-2}			70.2	—	93.1	30.8	29.1	60.0
2-2 }	<i>Pseudomonas</i> sp.		29.6	—	—	—	—	—
2-3-1 }	or		54.3	—	63.1	25.0	59.9	33.3
2-3-2 }	<i>Achromobacter</i>		21.2	—	—	—	—	—
3-1 }	sp.		62.0	—	95.3	42.9	47.9	13.3
3-3 }			55.9	—	—	—	—	—
3-4 }	<i>Pseudomonas</i> sp.		81.8	—	—	—	—	—
1-1 }			79.8	—	—	—	—	—
4-3 }			38.8	—	—	—	—	—
4-2 <i>Ps. fragi</i>			49.4	—	98.6	58.3	19.8	68.8
1-3-1 }			40.8	—	—	—	—	—
3-9 }	<i>Achromobacter</i>		75.5	—	—	—	—	—
4-1 }	sp.		26.4	—	—	—	—	—
121-2-1			26.2	—	—	—	—	—
121-2-2			50.0	—	—	—	—	—
Cont. (Bouillon)			1.5	6.1	1.5	0.0	0.7	0.0
Cont. (Tap water)			0.8	7.6	0.7	0.0	0.2	0.0

(註) 死虫率は2回の平均

実験 7.

各種の実験から *Pseudomonas* 属の細菌が増殖する時に強い殺線虫力をもつことが明らかとなったので、実用試験の第1段階として次の試験を行った。

まず *Pseudomonas* を Bouillon 液体培地で24時間振盪培養し、これを殺菌米糠に吸着させたものを、Fish meal (タラより製造したペルー産のもの) および殺菌鶏糞に1:1で混合し、それに硫安0.1を混合させたもの(菌体数 10^{11} /gr.)を用いて殺線虫試験を行った。

材料および方法: 上記材料(No. 1, 3) 1 gr. を Bouillon 液体培地 100cc に入れ、恒温器(25~28℃)中で3日間培養した。供試線虫(*Rhabditis terricola*, *Panagrellus* sp., *M. incognita acrita* およびそのegg-mass)を前同様操作で漬漬した。egg-mass は浸漬24時間後に洗滌して、時計皿の清水中で3週間孵化させ、Control を100%としてその孵化率を求めた。第9表がその結果である。

考察: *Rhabditis*, *Panagrellus* はいずれも高い死虫率を示した。*Meloidogyne* は死虫率ではやや低い、孵化率は殆んど0%で孵化は全く抑制された。化学薬剤を用いた場合、一般に殺卵力は殺線虫力よりも劣るが、第9表の如き孵化抑制力は注目に値する。

第9表 細菌数の増加をはかつたものの培養液、汙液による死虫率、孵化率(%)

供試物	線虫の種類	培養液				汙液
		死虫率(%)			孵化率(%)	死虫率(%)
		<i>Rhabditis</i>	<i>Panagrellus</i>	<i>M. incognita acrita</i>	<i>M. incognita acrita</i>	<i>Rhabditis</i>
No. 1		99.1	98.6	66.7	0.0	99.3
No. 3		96.8	100.0	72.7	0.04	99.9
Cont. (Bouillon)		6.7	6.1	0.0	100.0	6.7
Cont. (Tap water)		6.1	22.1	0.0	83.9	6.1

(註) No. 1.—Fish meal を混合したもの。

No. 3.—殺菌鶏糞を混合したもの。

死虫率、孵化率は2回の平均

II. 殺菌力に関する研究

実験 1.

I に於ける各種の実験は鶏糞等の Bouillon 培養液が強い殺線虫力を示すことを証明したが、植物病原菌に対して同じ培養液が如何なる作用を示すかは、われわれの興味のあるところである。

材料および方法：I の実験 6 と同様にして鶏糞、米糠、川砂、火山灰土、堆肥および細菌を Bouillon 液体培地に添加し共存菌の培養液を作り、汙液は前同様の Seitz の汙過器によって得た。

菌核 (*Corticium rolfii*) は馬鈴薯寒天培地上に菌核形成後 30~45 日のものを供試した。培養液および汙液に菌核を浸漬し 1, 3 時間後に取り出し、滅菌蒸溜水で洗滌した。菌核は丸のままおよびそれを切半して馬鈴薯寒天培地にのせ、恒温器 (25~28℃) 内に置き、菌糸の伸長如何により生死を判定し、第 10, 11 表を得た。

考察：第 10 表の結果によれば大体殺線虫力の強いものがやはり殺菌核力も強い傾向を示した。

細菌群の純粋培養では大部分が殺菌核力を有しなかった (第 11 表) が、その中で *Ps. ovalis*, 1—4—1 両菌では汙液に浸漬したものについて殺菌核力が見られた。尚, *Ps. alcaligenes*, *Ps. ovalis*, 1—3—2, 1—4—1,

第10表 鶏糞等の培養液、汙液の殺菌核力

供試物	丸、切半の別	培地の種類 浸漬時間	培養液		汙液	
			1 時 間	3 時 間	1 時 間	3 時 間
鶏	糞	丸 半	—	—	—	—
米	糠	丸 半	—	—	±	+
川	砂	丸 半	++	++	++	±
火 山 灰 土		丸 半	—	—	—	—
堆 肥		丸 半	—	—	—	—
Cont. (Bouillon)		丸 半	++	++	++	++
Cont. (Dist. water)		丸 半	++	++	++	++

(註) 調査結果は7日後のもの。

第 11 表 細菌の培養液及び汙液の殺菌核力

供試菌	培地の種類 丸, 切半の別		浸漬時間		培養液		汙液	
			1 時 間	3 時 間	1 時 間	3 時 間	1 時 間	3 時 間
1. <i>Ps. fulva</i>	切	丸 半	± +	+	+	+	+	+
2. <i>Ps. schylikilliensis</i>	切	丸 半	+	± +	+	+	+	+
3. <i>Ps. desmolytica</i>	切	丸 半	± +	+	+	+	+	+
4. <i>Ps. alcaligenes</i>	切	丸 半	+	+	+	+	+	+
5. <i>Ps. ovaeis</i>	切	丸 半	+	+	—	+	—	+
1—3—2 <i>Ps. desmolytica</i>	切	丸 半	+	+	± +	+	± +	+
1—4—1 //	切	丸 半	+	+	—	+	—	+
1—4—2 //	切	丸 半	+	+	+	+	+	+
2—3—1 <i>Ps. sp</i> or <i>Achr. sp.</i>	切	丸 半	+	+	+	+	+	+
3—1 <i>Ps. sp.</i>	切	丸 半	+	± +	+	+	+	+
4—2 <i>Ps. fragi</i>	切	丸 半	+	+	+	± ±	+	± ±
Cont. (Bouillon)	切	丸 半	+	+	+	+	+	+
Cont. (Dist. water)	切	丸 半	+	+	+	+	+	+

(註) 調査結果は5日後のもの。

1—4—2, 2—3—1, 3—1, 4—2 の汙液に3時間浸漬したものでは菌核を殺すことはできないが、次代の菌核形成を全く抑制した。また、*Ps. ovalis*, 1—4—1, 4—2 では菌核より発芽した菌糸の伸長を甚だしく阻害した。

実験 2.

材料および方法：Ⅰの実験7と全く同一の培養液を原液とし、滅菌蒸溜水によって2倍稀釈液をつくった。

第 12 表 細菌数の増強をはかつたものの Bouillon 培養液と稀釈液との殺菌核力

供試物	濃 度 丸, 切半の別		浸漬時間		原 液		2 倍 液	
			1 時 間	3 時 間	1 時 間	3 時 間	1 時 間	3 時 間
No. 1	切	丸 半	+	—	+	—	+	—
No. 3	切	丸 半	—	—	+	±	+	—
Cont. (Buillon)	切	丸 半	+	+	+	+	+	+
Cont. (Dist. water)	切	丸 半	+	+	+	+	+	+

(註) 調査結果は7日後のもの。

No.1, No.3. は第9表と同じ。

白絹病菌 (*Corticium rolfsii*) の菌核をそれぞれの液に, 1, 3 時間浸漬した. その後の操作は前実験に準じ, 第 12 表がその結果である.

考察: 原液に 3 時間浸漬したものでは, いずれも菌核からの菌糸の伸長はみられず, 2 倍液でも 3 時間浸漬したもので No. 3 の丸のままのものを除いて発芽を抑制した. このように細菌密度の高い培養液は殺菌核力を有する.

実験 3.

材料および方法: 実験 1 と同じ培養液および汙液をスライド上に 1 滴落とし, それにキウリ蔓割病菌 (*Fusarium oxysporum* f. *niveum* SNYDER et HANSEN), 梨黒斑病菌 (*Alternaria kikuchiana* TANAKA) の分生胞子を懸濁させ湿度を保って恒温器 (25~28℃) 内に置き, 24, 48 時間後にその発芽数を調査した. *Fusarium* 菌については大型分生胞子の発芽をみた. 結果は第 13, 14 表の通りである.

第 13 表 鶏糞等の培養液, 汙液による胞子発芽抑制力 (分生胞子発芽率%)

供試物	培地の種類 菌の種類 時間	培 養 液				汙 液			
		<i>Fusarium</i>		<i>Alternaria</i>		<i>Fusarium</i>		<i>Alternaria</i>	
		24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間
鶏 糞		5.01	21.37	0.41	0.86	0.00	15.77	3.31	10.30
米 糠		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.95	18.36	19.67
川 砂		4.10	6.25	2.63	7.46	3.51	7.63	34.94	38.71
火 山 灰 土		1.37	8.20	0.00	2.17	3.45	12.76	17.86	19.17
堆 肥		0.00	0.82	0.00	3.94	0.00	0.42	18.88	37.22
Cont. (Bouillon)		26.59	34.22	39.38	58.54	—	—	—	—
Cont. (Dist. water)		39.70	66.64	30.03	56.47	—	—	—	—

(註) 発芽率は 3 回の平均

第 14 表 細菌の純粋培養液, 汙液による胞子発芽抑制力 (分生胞子発芽率%)

供試物	培地の種類 菌の種類 時間	培 養 液				汙 液			
		<i>Fusarium</i>		<i>Alternaria</i>		<i>Fusarium</i>		<i>Alternaria</i>	
		24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間
<i>Ps. fulva</i>		5.37	7.44	1.19	1.34	27.26	34.74	22.41	28.24
<i>Ps. schuyllkilliensis</i>		17.22	19.76	4.54	5.19	5.45	16.78	5.17	27.60
<i>Ps. desmolytica</i>		3.14	9.94	0.41	4.83	1.24	11.19	14.77	18.41
<i>Ps. alcaligenes</i>		6.24	19.89	1.08	1.54	17.91	23.31	15.09	19.04
<i>Ps. ovalis</i>		0.90	1.48	0.00	4.35	1.83	14.69	1.36	1.81
1—3—2 <i>Ps. desmolytica</i>		2.46	14.38	0.00	1.59	12.32	27.20	4.23	11.50
1—4—1 //		4.39	8.75	0.00	0.00	4.63	4.72	6.08	7.59
1—4—2 //		0.64	3.21	0.00	0.00	11.32	21.93	2.27	4.99
2—3—1 <i>Ps. sp.</i> or <i>Achr. sp.</i>		6.96	12.46	0.25	0.65	4.39	11.90	2.65	3.62
3—1 <i>Ps. sp.</i>		1.33	2.36	0.00	2.66	1.89	7.89	2.42	6.03
4—2 <i>Ps. fragi</i>		6.89	13.85	0.67	1.05	7.48	12.71	2.38	6.53
Cont. (Bouillon)		26.56	34.22	39.38	58.54	—	—	—	—
Cont. (Dist. water)		39.70	66.64	30.03	56.47	—	—	—	—

(註) 発芽率は 3 回の平均

考察：培養液と汙液とを比較すると、大部分のものでは培養液の方が発芽抑制力は強かった。これは殺線虫試験の場合（実験6, 第7表）と同様、発芽調査までの間（24, 48時間）に於ける細菌増殖と関係があると思われる。*Alternaria* 胞子は *Fusarium* 胞子よりも大体に於て、強く発芽抑制をうけた。これらの発芽抑制試験では、線虫に見られたような溶菌現象はみられなかった。

Ⅲ. 総 合 考 察

Pseudomonas 属, *Achromobacter* 属のある種のものの Bouillon 培養液およびその汙液が殺線虫力、殺菌力を有し、またそれら細菌を更に増強した Bouillon 培養液が殺卵力を有することが明らかとなった。

JOHNSTON, T. (1957)³⁾ は *Clostridium* 属のある種のものの産生する毒素が線虫を15秒から2分で死に至らしめると報告したが、その産生毒素の本体は明らかにされていない。本実験に於ても汙液が殺線虫力、殺菌核力を有することから、細菌が毒素を産生することが考えられる。しかし毒素の本質については本実験の範囲内では不明であるが、蛋白質の分解過程に於て生産されるプトマイン（柳沢・新井1959）⁵⁾ とそれに伴って生産される各種の有害物質が想像される。

虫体溶解については蛋白分解酵素等の酵素類および phage の存在が考えられる。また本実験に於ては主に *Pseudomonas* 属細菌を扱ったが、蛋白質分解作用の強い *Bacillus* 属及び *Clostridium* 属の細菌類について、種々の実験を行うべきであろう。

細菌純粋培養液は孢子発芽抑制力を有するが、溶菌現象はみられなかった。従って本実験に於て供試した *Pseudomonas* 属の細菌の産生する物質は NIKITINA, E. T. (1958)⁴⁾ が用いた *Pseudomonas* sp. の産生する毒素とは異質のものであり、またその作用に於ても異なるものであろう。

殺線虫の有効菌類としては *Candida pellicurosa* が認められたが、日時の経過によってその効力が低下した。その原因については今後の研究が必要であろう。

Ⅳ. 摘 要

鶏糞、堆厩肥等の有機質肥料を土壤に施すと線虫の密度が減少すると一般に云われている。本研究ではその原因を追究するために *in vitro* の実験を行った。

1. 鶏糞、米糠、川砂、火山灰土、堆肥などの共存菌の Bouillon 3日間培養液およびその汙液は殺線虫力が強く、菌類の分生孢子 (*Fusarium oxysporum* f. *niveum*, *Alternaria kikuchiana*)、菌核 (*Corticium rolfsii*) の発芽を抑制した。また *Rhabditis* 属線虫の虫体を溶解した。
2. *Pseudomonas* 属, *Achromobacter* 属の数種のものの純粋培養液では殺線虫力、殺菌力を有した。
3. *Pseudomonas* 属細菌の増強を計って米糠に吸着させたものの Bouillon 3日間培養液は、殺線虫力が強く、線虫卵の孵化を抑制し、殺菌核力をも有した。
4. *Candida pellicurosa* 純粋培養液は殺線虫力を有したが、22日目からその力が低下した。

引 用 文 献

- 1) BÖHN, L. K., & SUPPERER, R. (1958): Beiträge zur Kenntniss tierischer Parasiten III. Zentralbl. f. Bak, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten and Hygiene. Abt. 1. 172 (3/4). 298~309.
- 2) DUDDINGTON, C. L. (1956): The Friendly fungi pp. 188 London.
- 3) JOHNSTON, T. (1957): Further studies on microbiological reduction of nematode population in

water-saturated soils. *Phytopath.* 47 (9). 525~526

- 4) NIKITINA, E. T. (1958) : 溶菌性バクテリアとそのジャガイモフザリウム萎凋病防除への利用 (大久保抄訳) 農業及園芸 35 (9). 1529~1530
- 5) 柳沢文雄・新井正 (1959) : 微生物学要説. PP.199 東京, 第一出版 K.K.

Summary

The effectiveness of a manure consisting of domestic fowl droppings, rice bran and some unknown fungi and other microorganisms in controlling nematodes has been known in practice.

It was found that bouillon extract of this manure shows nematocidal and ovicidal actions against *Rhabditis*, *Meloidogyne*, *in vitro*.

We have isolated several bacteria and fungi from this bouillon extract. Most of this bacteria belonged Genus *Pseudomonas*, while one of the fungi was found to be *Candida pelliculosa*. Pure bouillon cultures of these bacteria killed, in immersion tests, *Rhabditis*, *Panagrellus*, *Meloidogyne*. Some of these bacteria also showed liquefying actions on *Rhabditis*.

The bouillon cultures were filtered through a Seitz's filter. It was found that these filtrates also have nematocidal as well as nema-liquefying actions, also fungicidal action against *Corticium rolfii* (sclerotium), and *Fusarium oxysporum* f. *niveum* and *Alternaria kikuchiana* (conidia).

The cause of this nematocidal and fungicidal actions which may be an antibiotic substance, a proteolytic enzyme, or a phage, must be left to further investigations.