

# クリ立枯症被害根から分離されたDidymosporium radicicolaとMacrophoma castaneicolaの菌そう生育に及ぼすタンニンおよび各種フェノール類の影響

誌名	福井県農業試験場報告
ISSN	03887790
著者名	高松,進
発行元	福井県農業試験場
巻/号	22号
掲載ページ	p. 21-36
発行年月	1985年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# クリ立枯症被害根から分離された *Didymosporium radiculicola* と *Macrophoma castaneicola* の菌そう生育に及ぼすタンニンおよび各種フェノール類の影響\*

高松 進\*\*

## Effects of Tannins and Some Phenolics on the Mycelial Growth of *Didymosporium radiculicola* and *Macrophoma castaneicola* Isolated from the Rotted Roots of Wilted Chestnut Trees

Susumu TAKAMATSU

クリ立枯症の原因と考えられる *Didymosporium radiculicola* と *Macrophoma castaneicola* の菌そう生育はクリ根からの温湯抽出液によって促進された。同様な生育促進作用がタンニン酸でも認められ、また、クリ樹から抽出した粗タンニンによっても両菌の生育が促進されたことなどから、温湯抽出液による生育促進の主要な原因はクリ樹中のタンニン物質（ポリフェノール性成分）にあると考えられた。タンニン酸の濃度が1%以内であれば両菌の生育は促進されるが、1%を越えると逆に抑制され、2%以上では生育できなかった。各種フェノール類のなかで、タンニン酸と同程度に生育を促進したのは没食子酸であった。フェノール類以外では、スルファニル酸とリンゴ酸が両菌の生育を促進した。タンニン酸または没食子酸をPDAに添加して、立枯症被害根から両菌を選択的に分離しようとしたが、両菌ともほとんど分離されなかった。(2月20日受理)

### I 緒 言

大石ら<sup>16~18)</sup>、小林・大石<sup>10)</sup>はクリ立枯症の発生原因について植物病理学的研究を行い、立枯症が *Didymosporium radiculicola* Kobayashi et Ohishi と *Macrophoma castaneicola* Kobayashi et Ohishi という2種類の糸状菌による土壌病害であると報告した。一方、杉本らは<sup>11, 21~24)</sup>、クリ立枯症の発生環境および生理的要因について詳細な研究を行った。高松・川久保は<sup>25)</sup>大石らの報告の追試験を行った結果、クリ立枯症の直接の原因は *D. radiculicola* と *M. castaneicola* の両菌である可能性が高いが、土壌湿度などの環境的あるいは生理的要因も無視できないことを報告した。

筆者はこれら両菌の培養的性質について若干の試験を行ってきたが、その中で、両菌の菌そう生育がクリ根からの温湯抽出液によって促進されることを見出した。その主な原因はクリ根中に含まれるタンニン物質によると考えられ、市販のタンニン酸によっても同様な生育促進効果が認められた。タンニン物質（ポリフェノール性成分）は多くの植物体中に存在し、微生物の生育を多少なりとも抑制する性質がある。<sup>20)</sup>したがって、両菌のようにタンニン物質によって生育が促進される例は比較的珍し

\* 福井県農業試験場病理昆虫課業績No.89(病) 本報告の一部は昭和56年度日本植物病理学会において講演発表した。

\*\* 福井県農業試験場病理昆虫課

いと考えられたので、両菌の生育とタンニン物質との関係について若干の検討を行った。

なお、クリ立枯症は日本有用植物病名目録<sup>13)</sup>においてすでに「黒根立枯病」という病名を与えられているが、福井農試ではこれまで一貫して「立枯症」という名称を使ってきた経緯もあるので、本報ではあえて「立枯症」を使用することにした。

本試験の遂行に当たり、当農試病理昆虫課川久保幸雄研究員には終始有益な助言とご協力を賜り、環境調査課山田正美技師にはタンニンの抽出法に助言をいただいた。また、福井県立短大教授奈須田和彦博士には本報のご校閲を賜った。記して深く感謝の意を表する。

## II 試験方法および結果

### 1. 各種培地上における生育

クリ立枯症被害根からの分離菌5種の各種培地上における生育を調べた。

#### 試験方法

*D. radicicola* 菌株D-1と *M. castaneicola* 菌株MP5 (いずれも福井県内の立枯症被害根から分離、同定したもの)、および立枯症被害根からしばしば分離される *Fusarium* sp. と所属不明菌I, Lを供試した。供試菌は、ジャガイモ煎汁寒天培地(PDA)で平板培養した菌そうを直径4mmのディスクに打ち抜き(以下同じ)、直径9cmシャーレ中の各種培地10ml上に移植した。これを25℃の定温器内におき、所定期間後に菌そう直径を測定した。菌そう直径は、測定した直径から菌体ディスクの直径4mmを引いた値を示した(以下同じ)。なお、本報で行った試験は、文中で特に断った以外すべて2回繰り返して行い、2回とも同様な傾向であることを確かめた。供試した培地の処方は以下の通りである。

各種培地の処方 (1ℓ分)

素寒天培地 寒天15g

ジャガイモ煎汁寒天培地(PDA) ジャガイモ250g, グルコース20g, 寒天15g

トウモロコシ煎汁寒天培地(CMA) スイートコーン粉末70gを60℃で1時間湯煎, これにグルコース20g, 寒天15gを添加。

ワックスマン寒天培地 グルコース10g, ペプトン5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g, 寒天20g (1N  $\text{H}_3\text{PO}_4$ でpH3.6~3.8に調節)。

ツアベック寒天培地  $\text{NaNO}_3$  2g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g, KCl 0.5g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01g, シュークローズ30g, 寒天15g

リチャーズ寒天培地  $\text{KNO}_3$  10g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.5g, シュークローズ50g,  $\text{FeCl}_2$  0.02g, 寒天20g

麦芽エキストラクト培地 麦芽エキストラクト20g, ペプトン1g, グルコース20g, 寒天20g

クリ根煎汁寒天培地 クリ根 150gを1時間湯煎, これにグルコース20g, 寒天20gを添加。

クリ葉煎汁寒天培地 クリ生葉 100gを1時間湯煎, これにグルコース20g, 寒天15gを添加。

#### 試験結果

結果を1処理5シャーレの平均値で第1表に示した。生育のよかった培地は、*D. radicicola*ではクリ根煎汁寒天培地, PDA, CMA, リチャーズ寒天培地, *M. castaneicola*ではCMA, リチャーズ寒天

第1表 クリ立枯症被害根からの分離菌数種の各種培地上における菌そう生育

培地	<i>Didymosporium</i>	<i>Macrophoma</i>	<i>Fusarium</i>	不明菌 I	不明菌 L
	<i>radicicola</i> (10日後) <sup>a)</sup>	<i>castaneicola</i> (10日後)	sp. (5日後)	(8日後)	(14日後)
	mm	mm	mm	mm	mm
素寒天培地	31 <sup>b)</sup>	0	53	48	52
ジャガイモ煎汁寒天培地	35	17	73	61	54
トウモロコシ煎汁寒天培地	34	64	67	63	41
ワックスマン寒天培地	8	38	25	48	28
ツアベック寒天培地	19	0	55	23	49
リチャーズ寒天培地	31	0	—	—	—
麦芽エキストラクト培地	14	27	62	61	29
クリ根煎汁寒天培地	39	63	31	69	25
クリ葉煎汁寒天培地	7	46	—	—	—

注 a) 培養日数

b) 1区5シャーレの平均値

培地、クリ葉煎汁寒天培地、ワックスマン寒天培地、*Fusarium* sp. ではPDA、CMA、麦芽エキストラクト培地、不明菌Iではクリ根煎汁寒天培地、CMA、PDA、麦芽エキストラクト培地、不明菌LではPDA、素寒天培地、ツアベック寒天培地などであった。*D. radicicola*、*M. castaneicola*および不明菌Iの生育は、クリ根煎汁寒天培地で他の培地よりも良好な傾向にあり、*Fusarium* sp. と不明菌Lは逆に生育が不良であった。クリ葉煎汁寒天培地では、クリ根煎汁寒天培地に比べ、*D. radicicola*、*M. castaneicola*とも生育が劣った。

## 2. クリ根抽出液を添加したPDA上における生育

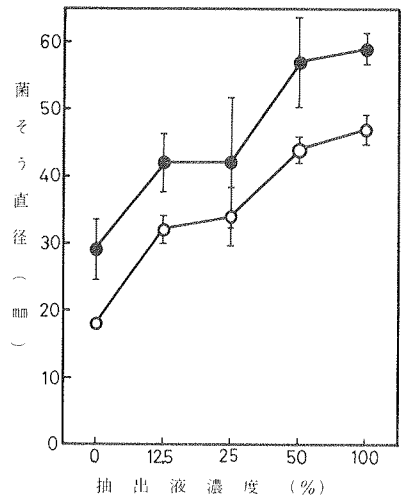
クリ根からの温湯抽出液をPDAに添加して*D. radicicola*と*M. castaneicola*の生育を調べた。

### 試験方法

クリ根皮部粉末2gを70℃のイオン交換水25mlで振とうしながら30分抽出し、上澄みをろ過した。この操作を4回繰り返して得た約100mlの抽出液を減圧下で20mlに濃縮した。この抽出液の原液および50%、25%、12.5%の濃度に希釈した液10mlを作り、オートクレーブで滅菌、これを分注直前のPDA(寒天2.5%、以下同じ)90ml中に添加し、直径9cmのシャーレに10mlずつ分注した。これに*D. radicicola*(D-1)と*M. castaneicola*(MP5)の菌体ディスクを移植し、25℃で6日間培養後に菌そう直径を測定した。結果は5シャーレ平均値で表した。

### 試験結果

第1図に示すように、クリ根抽出液をPDAに添加することによって*D. radicicola*、*M. castaneicola*とも生育が促進された。生育促進の程度は、抽出液の濃度が濃くなるに



第1図 クリ根からの温湯抽出液を添加したPDA上における*Didymosporium radicicola*と*Macrophoma castaneicola*の生育  
○—○: *D. radicicola*(D-1)  
●—●: *M. castaneicola*(MP5)

従って高まった。以上の結果から、クリ根中に含まれる何らかの水溶性物質が *D. radicola* と *M. castaneicola* の生育を促進すると考えられた。

### 3. 分離菌数種の菌そう生育に及ぼすタンニン酸の影響

クリの樹皮あるいは木質部にタンニン物質が多量に含まれていることは古くから知られている。<sup>27)</sup> このため、本菌の生育促進にタンニン物質が関与しているのではないかと考え、タンニン酸を PDA に添加して *D. radicola* と *M. castaneicola* の菌そう生育を調査した。

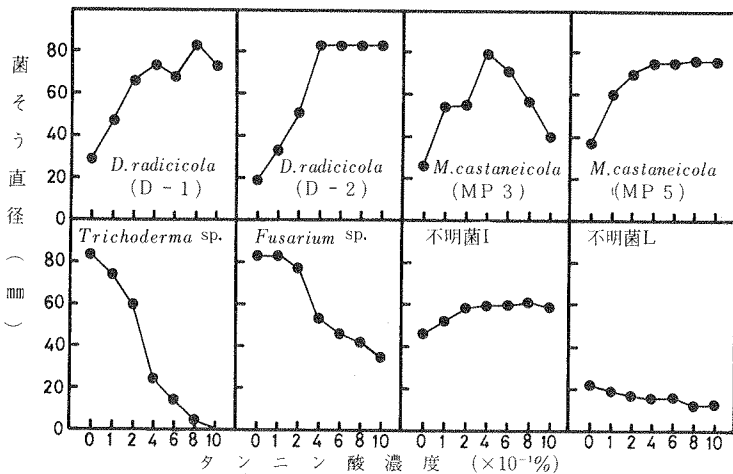
#### 試験方法

供試菌として、*D. radicola* 菌株 D-1, D-2, *M. castaneicola* 菌株 MP 3, MP 5 およびクリ立枯症被害根から分離された *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., 所属不明菌 I, L の 8 菌株を用いた。市販のタンニン酸粉末（半井化学薬品製）の水溶液を、オートクレープで滅菌したのち、所定濃度になるように分注直前の PDA に添加したものを直径 9 cm のシャーレに 10 ml ずつ分注し、供試菌の菌体ディスクを移植した。*Trichoderma* sp. は 4 日間、その他は 7 日間、25°C で培養した後、菌そう直径を測定した。結果は 5 シャーレ平均値で表した。

#### 試験結果

供試菌のうち、*D. radicola*, *M. castaneicola*, 不明菌 I はタンニン酸の添加によって生育が促進され、*Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., 不明菌 L は逆に生育が抑制された(第 2 図)。この結果は第 1 表で示したク

リ根煎汁寒天培地での生育の良否と同様の傾向であった。タンニン酸 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0% を含む PDA の pH は順に 5.7, 5.4, 5.2, 4.9, 4.7, 4.5, 4.4 となり、タンニン酸濃度が高くなるに従って pH が低下した。



第 2 図 タンニン酸添加 PDA 上におけるクリ立枯症被害根からの分離菌数種の生育

### 4. 培地の pH を一定にした場合のタンニン酸の影響

タンニン酸添加による培地の pH の低下が生育促進の原因であるかどうかを知るために、培地の pH を 6.0 に調節して *D. radicola* と *M. castaneicola* の生育を調べた。

#### 試験方法

前記の方法でタンニン酸添加 PDA を作り、0.1N NaOH で pH を 6.0 に調節した後、直径 9 cm のシャーレに分注した。*D. radicola* と *M. castaneicola* の菌体ディスクを移植し、25°C, 6 日間培養後の菌

そう直径を測定した。結果は5シャーレ平均値で表した。

### 試験結果

結果を第3図に示した。すなわち、培地のpHを一定にしても、タンニン酸の添加によって *D. radicicola* の生育は促進された。 *M. castaneicola* もタンニン酸添加によって生育が促進されたが、濃度が高まれば生育も促進されるという傾向はみられなかった。いずれにしても、この結果から、培地pHの低下が生育促進の原因ではない。

### 5. タンニン酸溶液をオートクレーブ滅菌しない場合の影響

オートクレーブ処理によりタンニン酸が変性することも考えられるので、熱の影響を排除した条件で同様の試験を行った。

#### 試験方法

タンニン酸溶液を  $0.3\mu\text{m}$  のミリポアフィルターで無菌ろ過し、PDAに添加後直ちに直径6cmのシャーレに5mlずつ分注した。 *D. radicicola* (D-1) は4日間、 *M. castaneicola* (MP5) は5日間、 *Trichoderma* sp. と *Fusarium* sp. は3日間、25°Cで培養した後、菌そう直径を測定した。結果は5シャーレ平均値で表した。

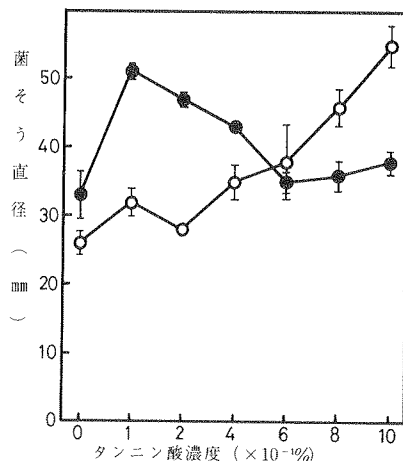
#### 試験結果

これまでの試験と同様に、 *D. radicicola* と *M. castaneicola* はタンニン酸の添加によって生育が促進され、 *Trichoderma* sp. と *Fusarium* sp. は生育が抑制された(第4図)。この結果から、これらの糸状菌の生育に対するタンニン酸の作用は、オートクレーブの熱処理によって変化しないと結論された。

### 6. 液体培養した場合の菌体重に及ぼすタンニン酸の影響

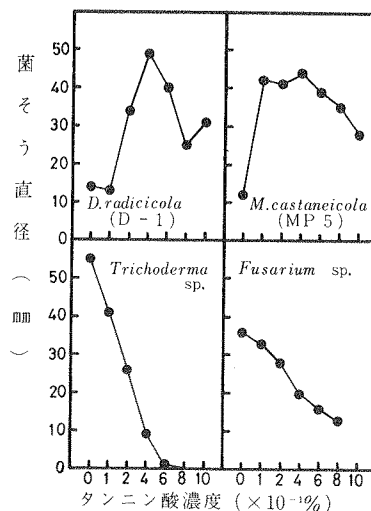
#### 試験方法

300ml容振とうフラスコに90mlの2%グルコース添加ジャガイモ煎汁液体培地を入れ、オートクレーブで滅菌した。これにオートクレーブ滅菌したタンニン酸溶液10mlを加えたのち、 *D. radicicola* (D-1) と *M. castaneicola* (MP5) の菌体ディスクを移植した。これを26°C、110回往復/分で10日間振とう培養後、プフナーロートでろ過し、残った菌体を90°Cで5~6時間通風乾燥後、菌体重を測定した。なお、培地中にタンニン酸を加えて振とうすると沈澱を生じるため、各タンニン酸濃度別に菌を接種しないフラスコを作り、同様に10日間振とう後、このろ過残渣重を測定し、これを先の培養菌体重から差し引いた値を真の菌体重とした。また、培養終了後に培養ろ液のタンニン酸量とpHを測定した。



第3図 pH6.0に調節したタンニン酸添加PDA上における *Didymosporium radicicola* と *Macrophoma castaneicola* の生育

○—○ : *D. radicicola* (D-1)  
●—● : *M. castaneicola* (MP5)



第4図 無菌ろ過したタンニン酸を添加したPDAにおけるクリ立枯症被害根からの分離菌数種の生育

タンニン酸量の測定は、片山<sup>7)</sup>、鳥潟・松井<sup>27)</sup>の文献を参考にしてホーリン・デニス法によって行った。すなわち、験液5mlに2%リンモリブデン酸溶液2.5mlと10%亜硫酸ナトリウム溶液2.5mlを15℃以下で加えよく攪拌し、15分後に波長700nmの吸光度を測定した。結果は1処理3フラスコの平均値で表した。

### 試験結果

*D. radicolica*の結果を第2表に、*M. castaneicola*の結果を第3表にそれぞれ示した。両菌とも、タンニン酸濃度1%以下ではタンニン酸の添加によって無添加より菌体重が増加した。濃度が1%を越えると逆に菌体重が減少傾向になり、2%ではほとんど生育しなかった。*D. radicolica*について、タンニン酸濃度を10%まで段階的に高めて同様の検討を行ったところ、2%以上の濃度ではほとんど生育しなかった。

培養ろ液中のタンニン酸濃度は、供試菌の生育がよかったタンニン酸濃度0.3~0.9(~1.2)%の範囲では著しく減少したが、菌の生育の少なかった2.0%では無接種と同様かあるいはわずかな減少にとどまった。無接種培養ろ液中のタンニン酸含量に対する菌接種によるタンニン酸減少量の割合をタンニン酸減少度とすると、タンニン酸減少度と菌体重との相関係数は、*D. radicolica*で $r=0.959$ (n

第2表 タンニン酸(TA)添加ジャガイモ煎汁液体培地中における*Didymosporium radicolica*の生育

タンニン酸含量 (%)	1 回 目		2 回 目		培養後のpH 接 種 (無接種)
	菌 体 重 (mg)	培養後のTA 含量(%) 接 種 (無接種)	菌 体 重 (mg)	培養後のTA 含量(%) 接 種 (無接種)	
0	462± 72 <sup>a)</sup>	0 (0 )	401± 41	0.01 (0.05)	7.1 (5.8)
0.3	688± 27	0.11 (0.48)	620± 57	0.04 (0.23)	5.9 (5.1)
0.6	710± 12	0.22 (0.57)	689± 53	0.12 (0.39)	3.9 (4.8)
0.9	589± 87	0.41 (0.89)	682±120	0.17 (0.71)	3.5 (4.6)
1.2	220±106	0.77 (1.13)	631± 38	0.30 (0.97)	3.5 (4.4)
1.6	16± 25	1.60 (1.51)	178± 96	0.83 (1.30)	3.8 (4.4)
2.0	-6± 6	2.01 (2.02)	-4± 35	1.67 (1.52)	4.1 (4.1)

注 a) 3反復の平均値±標準偏差値

第3表 タンニン酸(TA)添加ジャガイモ煎汁液体培地中における*Macrophoma castaneicola*の生育

タンニン酸含量 (%)	1 回 目			2 回 目		
	菌 体 重 (mg)	培養後のTA 含量(%) 接 種 (無接種)	培養後のpH 接 種 (無接種)	菌 体 重 (mg)	培養後のTA 含量(%) 接 種 (無接種)	培養後のpH 接 種 (無接種)
0	—	— (0.02)	— (5.4)	586±36	0 (0 )	5.9 (5.9)
0.3	808±205 <sup>a)</sup>	0.08 (0.21)	4.7 (5.2)	771±82	0.04 ( — )	4.1 ( — )
0.6	840± 38	0.24 (0.48)	4.1 (4.8)	718± 2	0.14 (0.47)	3.5 (4.7)
0.9	862±129	0.33 (0.66)	3.8 (4.9)	670±21	0.27 (0.63)	3.4 (4.6)
1.2	191± 42	0.78 (1.00)	4.3 (4.7)	687±57	0.35 (0.96)	3.7 (4.5)
1.6	208± 86	1.22 (1.32)	4.4 (4.7)	322±39	0.81 (1.37)	4.2 (4.3)
2.0	-125± 69	1.61 (1.52)	4.5 (4.5)	29±33	1.56 (1.68)	4.1 (4.2)

注 a) 3反復の平均値±標準偏差値

=12)\*\*\* *M. castaneicola*で $r=0.907$ ( $n=11$ )\*\*\* となり、菌体重が大きいかほどタンニン酸の減少が著しい傾向にあった。

培養ろ液のpHは、無接種ではタンニン酸添加量の多くなるにつれて5.9から4.1まで低下した。菌を接種したろ液では無接種のろ液よりさらにpHが低下したが、タンニン酸無添加の場合とタンニン酸濃度が2.0%で菌がほとんど生育しなかった場合は、pHの低下は認められなかった。無接種培養ろ液のpHに対する菌接種によるpH低下巾の割合をpH低下度とすると、pH低下度と菌体重との相関係数は *D. radicola*で $r=0.268$ ( $n=7$ )、*M. castaneicola*で $r=0.700$ ( $n=12$ )\* となり、わずかに正の相関が認められた。また、タンニン酸減少量とpH低下度との相関は、*D. radicola*で $r=0.709$ ( $n=6$ )、*M. castaneicola*で $r=0.437$ ( $n=11$ ) と、これもわずかに正の相関が認められた。タンニン酸を添加しない培地では、菌が生育してもpHの低下が全く認められないことから、培養菌が直接培地のpHを低下させているとは考えられない。おそらく、菌の生育に伴って生じるタンニン酸の分解産物が、培地のpHを低下させたと考えられる。

#### 7. クリ樹中のタンニンが*D. radicola*と*M. castaneicola*の菌そう生育に及ぼす影響

タンニン酸が両菌の生育を促進することが明らかになったので、次に、クリ樹中のタンニンが生育を促進するかどうか調べた。

##### 試験方法

##### 1) 粗タンニンの抽出

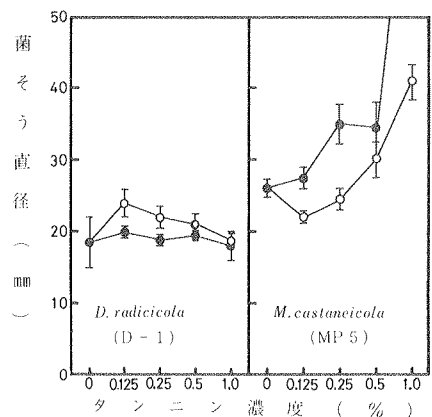
1981年春にクリの枝と細根を採集し、60メッシュに粉砕した。タンニンの抽出は、宮道<sup>12)</sup>、Feeny<sup>5)</sup>の文献を参考にして以下の方法で行った。クリ根粉末50gをアセトン70：水30の割合の液250ml中に入れ、微量のアスコルビン酸を加えて、暗黒下に静置した。48時間後にこれをろ過し、溶媒を留去、残渣を100mlの水溶液とし、50mlのエーテルに転溶、水層を分取した。これを2回繰り返す、得られた水層100ml中に酢酸エチル100mlを加えてよく振とうした。これを塩析して酢酸エチル層をとり、溶媒を留去、乾固したのち、少量の水で溶かし粗タンニンの原液とした。原液のタンニン濃度はホーリン・デニス法で測定した。クリ根粉末のタンニン含量は本法で13.0%（乾物比）であった。

##### 2) 菌の培養

上記の粗タンニン原液をオートクレーブで滅菌後、所定濃度になるようにPDAに加え、直ちに直径9cmのシャーレに10mlずつ分注した。これに*D. radicola* (D-1)と*M. castaneicola* (MP5)の菌体ディスクを移植し、25℃で7日間培養後菌そう直径を測定した。結果は1処理4シャーレの平均値で表した。反復はしなかった。

##### 試験結果

結果を第5図に示した。*D. radicola*は、クリ枝からの抽出タンニンの添加によって無添加よりも生育が



第5図 タンニン抽出液添加PDA上における *Didymosporium radicola*と *Macrophoma castaneicola*の生育  
○—○：枝からの抽出液  
●—●：根からの抽出液



促進され、特に濃度0.125, 0.25%では5%水準で無添加区との有意差が認められた。クリ根からの抽出タンニンでは、生育がやや促進される傾向はあるものの、統計的な有意差は認められなかった。*M. castaneicola*は、枝および根からの抽出タンニンによっていずれも生育が著しく促進され、タンニン酸濃度が高まるにつれて促進の程度も高くなった(1%有意)。

### 8. 立枯症被害根から分離された各種糸状菌の菌そう生育に及ぼすタンニン酸の影響

クリ立枯症被害根から分離された各種糸状菌の菌そう生育に対して、タンニン酸がどのような影響を及ぼすかを調べた。

#### 試験方法

オートクレープで滅菌したタンニン酸溶液を0.4%になるようにPDAに添加した。クリ立枯症被害根からの分離糸状菌30菌株の菌体ディスクを移植し、25°Cで6日間培養後、菌そう直径を測定した。

#### 試験結果

結果を1処理5シャーレの平均値をもとに第4表に示した。供試した30菌株のうち、タンニン酸によって生育の促進されたのは、*D. radiculicola* 2菌株と*M. castaneicola* 2菌株を除くと、3菌株だけであった。その3菌株も、*D. radiculicola*や*M. castaneicola*に比べて促進の程度が低かった。残り23菌株のうち、10菌株は生育が抑制され、13菌株はあまり影響を受けなかった。この結果から、クリ立枯症被害根の表面あるいは内部に存在している糸状菌の中で、タンニン酸によって生育の促進される種類は極めて限られていると考えられた。

供試した糸状菌の中でBavendamm氏反応<sup>6)</sup>による培地の褐変を生じるものと生じないものがあつたので、褐変の有無を第4表に記載した。*D. radiculicola*と*M. castaneicola*はいずれも培地を褐変させた。褐変の一を0、土を1、+を2として生育度との相関を求めると、 $r=0.497(n=30)^{**}$ となり、正の相関が認められた。すなわち、培地を褐変させる菌の方がタンニン酸添加PDAでの生育がよい傾向にあつた。

### 9. 各種フェノール類およびその関連物質の影響

第4表 0.4%タンニン酸添加PDA上におけるクリ立枯症被害根からの各種分離糸状菌の生育

供試菌株	生育度 <sup>a), b)</sup>	培地の褐変	
不明菌	1	2	—
〃	2	4	+
〃	3	3	+
〃	5	3	+
〃	6	2-3	+
〃	8	2	±
〃	9	3	+
〃	10	3	+
〃	11	1-2	—
〃	12	3	+
〃	13	3	—
〃	14	3	+
〃	15	3	+
〃	16	0-1	±
〃	17	3	±
〃	18	3	—
〃	19	3	—
〃	20	3-5	±
〃	21	2	±
〃	22	1-2	—
〃	24	3	+
〃	25	3	—
〃	I	3-4	+
〃	L	2	+
<i>Trichoderma</i> sp.	1-2	—	
<i>Fusarium</i> sp.	2	+	
<i>D. radiculicola</i> (D-1)	4-5	+	
〃 (D-2)	5	+	
<i>M. castaneicola</i> (MP4)	4-5	+	
〃 (MP5)	4	+	

注 a) タンニン酸無添加培地での菌そう直径に対する0.4%タンニン酸添加培地での菌そう直径の割合が0%の場合を0,  $0 < \leq 40\%$ を1,  $40 < \leq 80\%$ を2,  $80 < \leq 120\%$ を3,  $120 < \leq 160\%$ を4,  $160 < \%$ を5とした。

b) 2反復試験をこみにした値を示す。反復によって生育度が異なった場合は、その巾を示した。

タンニン酸以外のフェノール類あるいはその関連物質の中で、タンニン酸と同様にD. radicolaとM. castaneicolaの生育を促進するものがあるかどうか調べた。

### 試験方法

各種フェノール類およびその関連物質をイオン交換水に溶かし、オートクレーブで滅菌したのち、0.01Mになるように分注直前のPDAに添加した。これを直径9cmのシャーレに10mlずつ分注し、D. radicola(D-1)とM. castaneicola(MP5)の菌体ディスクを移植した。25°Cで5～6日間培養後、菌そう直径を測定した。

### 試験結果

結果を1処理4シャーレの平均値をもとに第5表に示した。供試した15種類のフェノール類の中で、両菌の生育を著しく促進したのはタンニン酸と没食子酸だけであった。フェノールは一価、二価、三価のフェノールとも両菌の生育を著しく阻害したが、三価フェノールのうちフロログルシンだけは生育を阻害しなかった。サリチル酸は、没食子酸、タンニン酸と同じフェノール・カルボン酸であるが、没食子酸とは異なり両菌の生育を著しく阻害した。ニトロフェノールに属する2, 4-ジニトロフェノールとピクリン酸は生育を著しく阻害した。硫酸P-メチルアミノフェノールはD. radicolaの生育を阻害しなかったが、M. castaneicolaの生育を著しく阻害した。ペンタクロルフェノールとP-ヒドロキシフェニルは生育を著しく阻害し、D-カテキンはやや促進した。フェノール類以外では、芳香族カルボン酸である安息香酸と桂皮酸は生育を著しく阻害したが、脂肪族オキシ酸であるリンゴ酸

第5表 各種フェノール類およびその関連物質0.01Mを含むPDA上におけるDidymosporium radicolaとMacrophoma castaneicolaの菌そう生育

物質名	化学式 <sup>a)</sup>	D. radicola	M. castaneicola
フェノール	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH	0 <sup>b), c)</sup>	0
ピロカテキン	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub>	0	0
レゾルシン	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub>	1	1
ハイドロキノン	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub>	0-2	1
ピロガロール	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> (OH) <sub>3</sub>	0	0
フロログルシン	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> (OH) <sub>3</sub> · 2H <sub>2</sub> O	3-4	3
サリチル酸	HO · C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> · COOH	0	0
没食子酸	C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> (OH) <sub>3</sub> COOH · H <sub>2</sub> O	4-5	5
タンニン酸	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>9</sub> · xH <sub>2</sub> O	5	4-5
2, 4-ジニトロフェノール	(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> OH	0	0
ピクリン酸	(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> OH	0-1	1
硫酸P-メチルアミノフェノール	(HO · C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> · NHCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3-4	1
ペンタクロルフェノール	C <sub>6</sub> Cl <sub>5</sub> ONa	0	0
P-ヒドロキシフェニル	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> OH	0	0-1
D-カテキン	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	4	3-4
安息香酸	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COOH	0	0
桂皮酸	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH : CHCOOH	0	0
リンゴ酸	HO <sub>2</sub> CCHOHCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	5	5
スルファニル酸	H <sub>2</sub> NC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>3</sub> H	5	5

注 a) タンニン酸の分子量はC<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O<sub>9</sub>=322.23として計算した。

b) 無添加培地での菌そう直径に対する各物質添加培地での菌そう直径の割合が0%の場合を0, 0 < ≤ 40%を1, 40 < ≤ 80%を2, 80 < ≤ 120%を3, 120 < ≤ 160%を4, 160 < %を5とした。

c) 2反復試験をこみにした値を示す。反復によって傾向が異なった場合はその中を示した。

は逆に生育を促進した。スルホン酸のスルファニル酸も生育を促進した。以上のように、今回供試したフェノール類のうち、タンニン酸と同程度に両菌の生育を促進したのは没食子酸だけであり、その他ではリンゴ酸とスルファニル酸も生育促進作用のあることがわかった。

#### 10. *D. radicolica*と*M. castaneicola*の選択的分離のための添加物の検討

素寒天培地にタンニン酸を添加することによって<sup>25)</sup>*M. castaneicola*の分離率が高まることを前報ですでに報告した。本試験では、更に選択的分離能を増すため、添加物質の検討を行った。

##### 試験方法

供試菌として*D. radicolica*(D-1), *M. castaneicola*(MP5), *Fusarium* sp. および*Trichoderma* sp.を使用した。前試験で*D. radicolica*と*M. castaneicola*の生育を促進することが明らかになったタンニン酸、没食子酸、スルファニル酸およびリンゴ酸の水溶液をオートクレーブで滅菌後、所定濃度になるようにPDAに添加した。これを直ちに直径9 cmのシャーレに10mlずつ分注した。これに各供試菌の菌体ディスクを1シャーレ当たり3個移植、25°Cで培養し、2日後と5日後に菌そう直径を測定した。

##### 試験結果

結果を1処理2シャーレの平均値で第6表に示した。*D. radicolica*, *M. castaneicola*は、タンニン酸、没食子酸、スルファニル酸およびリンゴ酸の添加によっていずれも生育が促進された。特にタン

第6表 数種化合物添加PDA上における各菌の菌そう生育<sup>a)</sup>

物質名	濃度	<i>D. radicolica</i>		<i>M. castaneicola</i>		<i>Fusarium</i> sp.		<i>Trichoderma</i> sp.	
		2日目	5日目	2日目	5日目	2日目	5日目	2日目	5日目
	%	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
タンニン酸	0.2	13	>62	6	40	16	46	14	41
	0.4	12	>62	8	47	11	34	10	22
	0.6	4	>62	3	38	10	31	5	13
	0.8	9	>62	0	33	9	29	7	16
	1.0	0	>62	0	27	6	23	0	5
没食子酸	0.2	16	>62	0	55	15	47	26	>62
	0.4	13	>62	3	34	11	34	25	>62
	0.6	8	60	0	24	8	26	21	>62
	0.8	4	40	1	21	6	24	14	61
	1.0	2	26	0	13	9	17	5	33
スルファニル酸	0.2	14	58	2	58	13	38	25	>62
	0.4	16	60	0	43	17	46	20	>62
	0.6	15	61	0	37	18	47	36	>62
	0.8	14	60	0	43	15	46	33	>62
	1.0	13	62	0	42	15	41	22	>62
リンゴ酸	0.2	11	61	2	46	15	42	28	>62
	0.4	6	60	4	40	6	28	26	>62
	0.6	7	60	2	30	4	21	25	>62
	0.8	3	51	1	27	6	20	31	>62
	1.0	3	45	1	24	3	14	28	>62
無添加		10	24	5	29	22	53	12	23

注 a) 6反復平均菌そう直径

ニン酸は *D. radiculicola* の生育を著しく促進した。供試したすべての添加物が *Fusarium* sp. の生育を抑制したが、中ではスルファニル酸の抑制効果が劣った。*Trichoderma* sp. は無添加培地での生育が悪かったために、各添加物によって生育が促進されたかのように思われた。しかし、タンニン酸は濃度が高くなるにつれて *Trichoderma* sp. の生育を著しく抑制し、没食子酸も高濃度では抑制する傾向にあった。スルファニル酸とリンゴ酸は *Trichoderma* sp. の生育を抑制しなかった。以上の結果から、選択的分離培地に添加する物質としてはタンニン酸あるいは没食子酸が好適と考えられた。

### 11. タンニン酸または没食子酸を添加したPDAによる糸状菌の分離

タンニン酸と没食子酸を添加したPDAを用いて、クリ立枯症被害根から菌分離を行った。

#### 試験方法

タンニン酸または没食子酸を前述の方法によって添加したPDAを直径9cmのシャーレに10mlずつ分注した。福井農試内のクリ園から採集した立枯症被害細根を細切して流水で洗った。これを80%エタノールに2～3秒浸漬後、0.5%アンチホルミンで3分間表面殺菌、滅菌水で3回洗ったのち、滅菌ろ紙で水分を除去し、1シャーレ当たり6個を分離に供した。なお、細菌の繁殖を抑えるためにローズベンガルを1/30,000添加したものと、無添加のものを作った。1処理5シャーレを供試し、反復はしなかった。

#### 試験結果

結果を第7表に示した。クリ根からは *Trichoderma* 属菌と *Penicillium* 属菌が最も多く分離された。*Trichoderma* 属菌はタンニン酸および没食子酸の添加によって分離率が低下したので、添加物の効果が現われたと考えられたが、*Penicillium* 属菌は逆に増加した。今後、*Penicillium* 属菌の抑制も考える必要がある。目的とした菌のうち、*D. radiculicola* は全く分離されず、*M. castaneicola* はローズベンガル無添加ータンニン酸 1.0 %区で1菌株分離されただけであった。

第7表 タンニン酸または没食子酸を添加したPDAによるクリ立枯症被害根からの糸状菌分離結果

	タンニン酸濃度 (%)					没食子酸濃度 (%)	
	0	0.4	0.6	0.8	1.0	0.8	1.0
(ローズベンガル無添加)							
供試切片数	30	30	30	30	30	30	30
糸状菌分離切片数	30	30	28	29	29	27	29
[内訳]							
<i>Trichoderma</i>	21	15	13	5	11	5	10
<i>Penicillium</i>	1	8	8	17	13	12	8
<i>Macrophoma</i>	0	0	0	0	1	0	0
その他の	8	10	13	10	8	12	13
(ローズベンガル添加)							
供試切片数	30	30	30	30	30	30	30
糸状菌分離切片数	28	30	30	30	29	26	30
[内訳]							
<i>Trichoderma</i>	17	11	12	7	11	4	8
<i>Penicillium</i>	6	15	12	15	13	14	11
<i>Fusarium</i>	1	0	0	0	0	0	0
<i>Pestalotia</i>	0	0	0	1	0	0	0
<i>Mucor</i>	0	0	0	0	0	0	1
<i>Rizopus</i>	0	0	0	0	0	0	1
その他の	7	6	8	9	12	14	12

## III 考 察

クリ根からの煎汁液や温湯抽出液を用いた試験から、クリ根中には *D. radiculicola* と *M. castaneicola*

の生育を促進する水溶性物質が存在すると考えられた。

クリの樹皮あるいは木質部にはタンニン物質が多量に含まれており<sup>27)</sup>、タンニン物質はクリ根からの温湯抽出液に含まれる主要な成分の一つと考えられる。クリ胴枯病菌は、培地中に微量のタンニン酸を添加すると生育が促進されるという報告がある<sup>1,9,28)</sup>。本菌の場合もタンニン物質が関与しているのではないかと考え、タンニン酸をPDAに添加して数種糸状菌の生育を調査した。その結果、クリ根煎汁寒天培地で生育のよかった *D. radicola*, *M. castaneicola*, 不明菌 I の3菌はタンニン酸の添加によって生育が促進され、逆に生育の悪かった *Fusarium* sp., 不明菌 L は生育が抑制された。さらに、クリの枝および根から抽出したタンニンをPDAに添加したところ、*D. radicola* は、根からのタンニンでは生育促進効果が明らかでなかったが、枝からのタンニンで生育が促進され、*M. castaneicola* は枝、根両方のタンニンとも明らかに生育が促進された。以上の試験結果から、クリ根の温湯抽出液によるこれら両菌の生育促進の主要な原因は、クリ樹に含まれるタンニン物質（ポリフェノール性成分）にあると考えられる。

培地中に添加された微量のタンニン酸によって菌そう生育の促進される例は、クリ胴枯病菌<sup>1,9,28)</sup>、白紋羽病菌<sup>8)</sup>および一部の木材腐朽菌<sup>6)</sup>などで認められるが、多くの場合、タンニン酸およびフェノール類は糸状菌の生育を抑制する傾向にある<sup>4,13,19,20,26)</sup>。クリ立枯症被害根から分離された多くの糸状菌でも、タンニン酸によって生育を促進されるものはごくまれであり、大部分の糸状菌は生育を抑制されるかあるいは影響をうけなかった。タンニン酸によって顕著に生育を促進されたのは *D. radicola* と *M. castaneicola* の2種類だけであった。このように、タンニン酸によって生育が促進される糸状菌は比較的珍しいと考えられる。クリ立枯症の原因と考えられるこの2種類の糸状菌が、属まで異なるにもかかわらず、この珍しい性質を同様に備えていることは興味深い。

Bazzigher<sup>2,3)</sup> は、クリ胴枯病菌がタンニンを分解する酵素を有することを報告した。タンニン酸を添加した液体培地で *D. radicola* と *M. castaneicola* を培養すると、無添加培地に比べて菌体重が増加し、菌の生育に伴って培地中のタンニン酸が著しく減少した。さらに、Bavendamm 氏反応が陽性であることなどから、この両菌が何らかのタンニン分解酵素を有することが示唆される。

鳥潟・松井<sup>27)</sup> によれば、クリの樹皮に含まれるポリフェノール物質は20種以上存在し、主要なものとして没食子酸、ロイコシアニジン、フラボノール、ガロカテキン、エラグ酸などがある。また、タンニン酸は加水分解により没食子酸とグルコースを生じる。今回の試験結果では、供試した15種類のフェノール類のうち、タンニン酸ほど顕著に *D. radicola* と *M. castaneicola* の生育を促進したものは没食子酸だけであった。このことから、クリ根抽出液およびタンニン酸による両菌の生育促進作用に没食子酸が関与している可能性がある。

植物体中に存在するフェノール性成分と植物の病害抵抗性との関係については多くの研究例がある<sup>4,20,26)</sup>。クリについてみると、樹皮に含まれるタンニン物質は、クリ胴枯病菌に対する抵抗性因子の一つと考えられている<sup>1,14)</sup>。また、クリのカテコールタンニン含量とクリタマバチ抵抗性との間に高い相関があるという報告もある<sup>27)</sup>。*D. radicola* と *M. castaneicola* の場合、培地中のタンニン酸濃度が1%以内ならば生育が促進されるが、1%を越えると逆に抑制されるようになり、2%以上ではほとんど生育できなくなった。このように、タンニン酸の両菌への作用には、低濃度での生育促進と高濃度での生育抑

製の二面性があると理解される。クリ樹中のタンニン含量は、乾物比にして、鳥潟・松井の報告では8.6~13.2%、Nienstaedt<sup>14)</sup>によると10.9~20.1%、筆者の1回だけの調査ではあるが13.0%であった。これらのすべてが菌の生育に影響を及ぼす形で存在しているとは限らないので、*D. radicola*と*M. castaneicola*の生育に対してクリ根中のタンニン成分が促進的に働くか抑制的に働くかは明らかでない。しかし、*D. radicola*と*M. castaneicola*がクリ根に侵入する場合に、クリ根中のタンニン物質は、少なくとも他の菌との競合という意味あいからは、これら両菌に有利に働くのではないかと考えられる。

菅・奈須田<sup>8)</sup>は、白紋羽病菌のBavendamm氏反応が陽性でタンニン酸添加培地を褐変させること、白紋羽病菌の生育が微量のタンニン酸によって促進され*Trichoderma*属菌が逆に生育を抑制されることなどから、白紋羽病菌の選択分離培地の添加物としてタンニン酸を利用した。*D. radicola*と*M. castaneicola*は、培地上での生育が比較的遅いため、立枯症被害根から分離されにくい場合があり、<sup>16, 17, 25)</sup>クリ立枯症研究のネックの一つになっている。そこで、タンニン酸などの物質を使って両菌を選択的に分離できないかと考え、若干の検討を行った。供試した4種類の物質のうち、目的とする菌の生育促進と雑菌の生育抑制の作用を兼ね備える物質としてタンニン酸と没食子酸を選んだ。これらをそれぞれPDAに添加して、クリ立枯症被害根からの菌分離を試みたが、*D. radicola*、*M. castaneicola*ともほとんど分離されなかった。<sup>25)</sup>前報における試験では、タンニン酸の添加によって*M. castaneicola*の分離率が高まる結果を得ているので、この問題については今後更に検討する余地があると考えられる。

#### IV 摘 要

本研究は、クリ立枯症の原因と考えられる*D. radicola*と*M. castaneicola*の菌そう生育に及ぼす、タンニン、および、タンニン酸を含む各種フェノール類の影響を検討したものである。

1. *D. radicola*と*M. castaneicola*の菌そう生育は、クリ根からの温湯抽出液によって促進された。
2. 同様な生育促進作用がタンニン酸でも認められ、また、クリ枝およびクリ根から抽出した粗タンニンによっても両者の生育が促進されることなどから、このような温湯抽出液による生育促進の主要な原因はクリ樹中に存在するタンニン物質(ポリフェノール性成分)にあると考えられた。
3. タンニン酸による生育促進作用は、培地のpHを一定にしても、また、オートクレーブ処理の有無によっても消失しなかった。
4. タンニン酸の濃度が1%以内であれば両菌の生育は促進されるが、1%を越えると逆に抑制されるようになり、2%以上ではほとんど生育できなかった。
5. 両菌の生育に伴って培地中のタンニン酸が減少し、培地のpHが低下した。
6. クリ立枯症被害根から分離された各種の糸状菌の中で、タンニン酸によって生育の促進されるものはまれで、ほとんどのものが生育を抑制されるかまたは影響をうけなかった。*D. radicola*や*M. castaneicola*ほど顕著に生育を促進される菌は認められなかった。
7. 供試した15種類のフェノール類のうち、タンニン酸と同様に両菌の生育を著しく促進したのは没食子酸だけで、大部分のフェノール類は生育を阻害した。

8. リンゴ酸とスルファニル酸は両菌の生育を促進した。

9. タンニン酸または没食子酸をPDAに添加して、クリ立枯症被害根から両菌を選別的に分離しようとしたが、両菌ともほとんど分離されなかった。

#### 引用文献

- 1) 青柳寅雄 (1939). 栗胴枯病菌の発育並びに感染性に及ぼすタンニン酸の影響. 病害虫雑誌 26: 180-185.
- 2) Bazzigher, G. (1955). Ueber Tannin-unt Phenolspaltende Fermente von *Endothia parasitica*. Phytopath. Z. 24: 265-282.
- 3) ————— (1957). Tannin-unt Phenolspaltende Fermente dreier parasitischer Pilze. Phytopath. Z. 29: 299-304.
- 4) Farkas, G. L. and Király, Z. (1962). Role of phenolic compounds in the physiology of plant diseases and disease resistance. Phytopath. Z. 32: 105-150.
- 5) Feeny, P. P. (1968). Effect of oak leaf tannins on larval growth of the winter moth *Operophtera brumata*. J. Insect Physiol. 14: 805-817.
- 6) 逸見武雄・赤井重恭 (1947). 木材腐朽菌学. 朝倉書店, 東京, pp. 496.
- 7) 片山 脩 (1976). 栽培植物分析測定法 (作物分析法委員会編). P. 419-423. 養賢堂, 東京, pp. 545.
- 8) 菅 正道・奈須田和彦 (1975). 植物残渣ろ過法による白紋羽病菌の土壌検診法. 福井農試報 12: 61-91.
- 9) 北島君三 (1927). くり胴枯病菌並類似菌に関する研究. 林試報告 27: 29-81.
- 10) 小林享夫・大石親男 (1979). クリ樹の寄生菌4種. 日菌報 20: 429-445.
- 11) 宮松一夫・杉本明夫・赤沢 徹 (1976). クリ立枯症に関する研究 (第2報) クリ園土壌の実態と立枯症樹における無機成分含有率の変動. 福井農試報 13: 81-91.
- 12) 宮道悦男 (1970). 植物成分研究法. p. 301-310. 広川書店, 東京, pp. 499.
- 13) Mukherjee, N. and Kundu, B. (1973). Antifungal activities of some phenolics and related compounds to three fungal plant pathogens. Phytopath. Z. 78: 89-92.
- 14) Nienstaedt, H. (1953). Tannins as a factor in the resistance of chestnut, *Castanea* spp. to the chestnut blight fungus, *Endothia parasitica*. Phytopathology 43: 32-43.
- 15) 日本植物病理学会編 (1984). 日本有用植物病名目録 (第3巻) 果樹. 日本植物防疫協会, 東京, pp. 190.
- 16) 大石親男・八木敏江 (1973). クリ立枯症の研究 (第1報) 本学押水農場における昭和46, 47年度クリ立枯症の発生実態調査とその原因についての一考察. 石川農業の研究 3: 1-20.
- 17) —————・—————・山田玲子 (1975). クリ立枯症の研究 (第2報) 立枯症の病原としての *Macrophoma* 菌. 石川農業の研究 4: 1-27.
- 18) —————・吉本玲子・小林享夫 (1978). クリ立枯症に関する研究 (第3報) 立枯症に関与する新しい病原菌 *Didymosporium* sp. 日植病報 44: 375.
- 19) 奥 八郎 (1958). 稲ごま葉枯病菌の生化学的研究 (第3報) 病原菌および寄主の2, 3の酸化酵素ならびにその病斑形成への寄与. 日植病報 23: 169-175.
- 20) ————— (1978). 先在抗菌性植物成分ならびにファイトアレキシン. 植物病理化学最近の進歩 115-126.
- 21) 杉本明夫・赤沢 徹 (1975). クリ立枯症に関する研究 (第1報) 立枯症と発生環境との関係. 福井農試報 12: 23-53.
- 22) —————・————— (1976). クリ立枯症に関する研究 (第3報) 地上部症状発生までの生育過程における二, 三の特異性. 福井農試報 13: 93-102.
- 23) ————— (1982). クリ立枯症に関する研究 (第4報) 実生樹とクリ立枯症の発生. 福井農試報 19: 17-21.
- 24) —————・赤沢 徹 (1983). クリ立枯症に関する研究 (第5報) 土壌の種類と立枯症発生との関係. 福井農試報 20: 29-37.
- 25) 高松 進・川久保幸雄 (1984). クリ立枯症の発生原因と防除に関する二, 三の実験. 福井農試報 21: 35-57.

- 26) 玉利勤治郎 (1973). 感染の生化学—植物— (平井篤造・鈴木直治編). p. 191—230. 農業技術協会, 東京, pp. 473.
- 27) 鳥潟博高・松井鏑一郎 (1966). クリの種および品種におけるポリフェノール性物質ならびにその含量とクリタマバチ抵抗性との関係. 園学雑 35: 89—97.
- 28) 内田和馬 (1977). クリ胴枯病に関する研究. 茨城園試研報 (特別報告). 4: 1—65.



Effects of Tannins and Some Phenolics on the Mycelial Growth of *Didymosporium radicum* and *Macrophoma castaneicola* Isolated from Rotted Roots of the Wilted Chestnut Trees.

by

Susumu TAKAMATSU

Summary

Effects of tannins and some phenolic compounds such as tannic acid, on the mycelial growth of both *Didymosporium radicum* and *Macrophoma castaneicola*, which were thought to be the causal organisms of the wilting of chestnut trees, were examined. The results obtained are summarized as follows.

1) Hot-water extract of roots of healthy chestnut trees enhanced the mycelial growth of both *D. radicum* and *M. castaneicola*. This effect seemed to be ascribed to tannins (polyphenolic substances) in chestnut trees, because tannins extracted from chestnut twigs or roots and tannic acid showed a similar effect on the mycelial growth of both fungi.

2) Such an effect of tannic acid was not affected by pH or autoclaving of the medium.

3) The mycelial growth of both fungi was enhanced at concentrations less than 1% of tannic acid, suppressed remarkably at more than 1% and perfectly inhibited at 2% or more.

4) While both fungi grew on medium including 0.3–0.6 % tannic acid, the content of tannic acid in the medium and its pH value declined with their mycelial growth.

5) Tannic acid suppressed or unaffected the mycelial growth of almost all out of 30 fungi except the above two fungi, isolated from rotted roots of the wilted chestnut trees.

6) Among 15 phenolic compounds examined, almost all of them except gallic acid, which enhanced the mycelial growth of the above two fungi as remarkably as tannic acid, inhibited their mycelial growth.

7) Malic acid and sulfanic acid enhanced the mycelial growth of the two fungi.