



放線菌のキチナーゼ, β -1,3-グルカナーゼ活性と キュウリつる割病初期感染防止効果(植物防疫学)

切貫, 武代司

尾藤, 博道

鈴木, 直治

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 12(1):41-48

(Issue Date)

1976

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00228511>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00228511>



放線菌のキチナーゼ, β -1, 3-グルカナーゼ 活性とキュウリつる割病初期感染防止効果

切 貫 武代司*・尾 藤 博 道**・鈴 木 直 治*

(昭和50年8月11日受理)

CHITIN-LYTIC AND β -1, 3-GLUCANASE ACTIVITY OF ACTINOMYCETES AND THEIR EFFECTS FOR PREVENTING *FUSARIUM*-WILT OF CUCUMBER.

Takeyoshi KIRINUKI, Hiromichi OFUJI and Naoji SUZUKI

Abstract

Actinomycetes were isolated from soils to which chitin, sea weed (*Laminaria sp.*), dried mycelium of *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum*, compost, rape cake, and peat had been added, and also from untreated soil. About 300 isolates were tested for their antifungal-, chitin-lytic-, hyphal wall-lytic-, and β -1,3-glucanase activities. These were classified into 6 groups according to the combination of antifungal-, chitin-lytic-, and β -1,3-glucanase activities. Several representatives from these groups were tested for their effects on preventing the initial infection of cucumber seedlings by *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum*. Only an isolate, N-62, which was isolated from untreated soil and possesses all of the three activities, was effective for preventing the wilt disease for 30 days after planting, whereas other isolates, even though isolated from chitin- or laminarin-enriched soils and possess one or two out of the three activities, were not effective at all or effective for not longer than 23 days. Results suggest that the reported effectiveness of the introduction of chitin and *Laminaria*-sea weeds into soil for preventing wilt diseases may be due not to a single antagonistic actinomycete species but to the combined activities of not a few microorganisms including bacteria and actinomycetes.

I 緒 言

土壌における微生物相やその推移は、生物学的化学的、物理的な環境条件によって、変動することが知られている^{3,12,13,22,32,34}。鈴木ら³¹、荒木²は落葉果樹白紋羽病について粗大有機物の施用は発生を促進し、その原因は病原菌の腐生的増殖を促することにあると報告している。

Fusarium oxysporum の寄主侵害力は、*Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* などに比べて、環境条件の影響を受けにくく、寄主植物への発病は土壌中の菌密度に左右される場合が多い^{23,33}。これら土壌伝染病害の生物学的防除の一方法として、土壌中に有機物質を混入することにより土壌微生物相に変化をおこさせ、そ

れによって防除効果をえようとする試みは SANFORD²⁷以来数多くなされた^{1,6,7,14,24,25,30,36}。

MITCHELL ら¹⁷⁻¹⁹はキチン、ラミナリン源を土壌に添加することによって *Fusarium oxysporum* f. *conglutnans*, *F. solani* f. *phaseoli* に対して、効果的に防除できることを述べ、SNEH ら²⁰は *Rhizoctonia solani* について報じている。国内ではダイコン萎黄病に対して駒田ら^{15,16}は、キチン源添加が防除効果を表わすことを報告した。

SKUJINS ら²⁸は *Fusarium solani* の細胞壁を2種類の酵素キチナーゼ、 β -1,3-グルカナーゼで7~24時間加水分解すると94%溶解し、壁重量の14%がグルコース47%が N-アセチルヘキソサミンを生じ、6%の不溶解物にはマンノース、ガラクトース、ウロン酸を含み、壁構成成分はキチンと β -1,3 結合をもつグルカンからなること

* 農薬学研究室

** KKミドリ十字京都支店

を指摘している。また β -1,3-グルカナーゼ、キチナーゼはそれぞれ単独では菌糸細胞壁の溶解作用に効果はなく、これらの共同の働きによって活性を示すことを報告している。これら糸状菌の溶菌現象について数多くの報告がある^{4, 10, 11, 20, 26, 35}。

著者らは土壌伝染性病害の生物的防除の一端として、土壌中にキチン；ラミナリン給源としてのコンブ；細胞壁物質給源としての *F. oxysporum* 菌体を埋没し、これらを添加した土壌および無添加土壌から 300 余りの放線菌を分離して、抗菌作用、キチン溶解性、菌糸壁溶解性および β -1,3-グルカナーゼ活性等を調べ、これらの活性の組み合わせによる幾つかのグループに分け、その内から 6 グループの代表的菌株をもちいて、キウリつる割病初期感染防止効果を検討したので、ここに報告する。

Ⅱ 材 料 と 方 法

放線菌の分離 実験圃場のコンポスト堆積周辺の地表下 0～10cm 層の土壌を篩に通したものを、予め圃場に埋めておいた ϕ 5,000 大の底なし塩化ビニール円筒管に満した。

1) 市販コンブを細切したもの。2) 試薬用キチン。
3) *F. oxysporum* f. *cucumerinum* を馬鈴薯煎汁培地に 12 日間静置培養後菌体を集め、洗浄して真空乾燥したもの。それぞれ 20×40mm のナイロン製網袋に 0.5g ずつ充し、銅線で袋の口をむすび 5～10cm 層に埋没して、キチン、ラミナリン溶解性放線菌の誘導を試みた。

埋没 80 日後各々の袋を採集し、袋の外周に付着している土壌を筆で丁寧に落して、A 培地をもちい、稀釈法によって 28°C 5 日間平板培養を行なった。細菌、放線菌の計数にはコロニー数 40～100 個のシャーレを選んだ。他方同じポットに堆肥、菜種粕、ピートを追加し、その処理土壌ならびに無添加土壌からも同方法で放線菌を分離した。

A 培地。 キチンゲル（試薬用キチンを濃塩酸に溶解、上澄液に水を加え白色のゲル状化して、中性になるまで洗浄したもの）30ml/l 添加土壌煎汁寒天、pH 7.0。

抗菌性の検定 分離放線菌株を B 培地の平板上に塗抹し 28°C、5 日間培養後 8mm のコルクボーラーで切り抜き agar disc を作り、*F. oxysporum* f. *cucumerinum* の胞子懸濁液を加えた馬鈴薯煎汁平板培地上に置き、27°C 2 日間培養してその阻止環を測定した。

B 培地。 脱脂大豆粉末煎汁液 5g/l、グリセリン、グルコース、澱粉、肉エキス、ペプトン、塩化ナトリウム、粉末酵母エキス各々 5g、寒天 15g、pH 7.0。

キチン溶解性の検定 Czapek-Dox のショ糖の代りにキチンゲル 30 ml/l の平板培地に、前記の agar disc を置き 28°C で 5 日間培養後、その溶解環を測定した。

菌細胞壁溶解性の検定 *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum* の菌糸を 1% NaCl 内で磨砕し、遠心分離し、沈澱を 1% NaCl でさらに 2 回洗い、さらにエタノール、エチルエーテルで洗い、真空乾燥して粗菌糸細胞壁物質とした。

Czapek-Dox 培地のショ糖を除き、その代りに C 源として粗菌糸細胞壁物質 0.1% 添加して平板とし、キチン溶解性と同方法で測定した。

β -1,3-グルカナーゼ活性の測定 アラメから水溶性のラミナリンを製成した^{5 9, 21}。

Waksman 培地組成 のグルコースを除き、グリセリン 1% 添加した液体培地に各放線菌株を接種して、28°C で 7 日間振とう培養し、ろ液を粗酵素液としてその 2 ml に 0.5% ラミナリン液 1 ml、0.01M リン酸緩衝液（pH 7.0）1 ml を加えよく混合して、38°C で 1 時間反応させた後 Somogyi 法で除蛋白し、Glucostat 法^{8, 26, 28} (glucostat: Warthington Biochem. Cop.) で生じた β -D-グルコースを定量した。

病土の作製 兵庫県神崎郡の畑地より採取した砂質壤土を 7mm の篩に通し、オートクレーブで殺菌した。

Fusarium oxysporum f. *cucumerinum* の培養を接種してキウリを播種した。発病をたしかめ、枯死を待ってさらに 2 回播種して発病、枯死ならびに病原菌の均等に分布することを確認した。

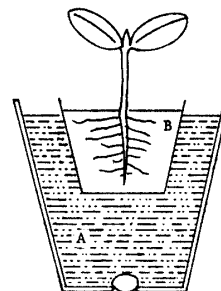


Fig. 1. Method for testing the effect of actinomycetes on preventing the *Fusarium*-wilt of cucumber.

A: The soil infested with *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum*.

B: Peat-pot containing sterilized soil to which 8-day culture of an actinomycete was added.

The roots penetrate the peat-pot after about 7 days and come in direct contact with the wilt fungus. First symptom appears after 10 to 11 days.

発病抑制効果の検定 抗菌性, キチン溶解性, β -1, 3-グルカナーゼ活性の組み合わせにより, 分離株を6分し, それぞれから代表的な放線菌17株を選び, 図1に示される様に Waksman の液体培地で振とう培養したもの5 mlを, 4 cmのピートポット土壌に混和した。あらかじめ発芽させたキュウリ(品種地這)を2粒ずつ植え込み, 12cm素焼鉢の中央に埋めた。

対照区は放線菌無添加であり, この外に殺菌土壌区をも設けた。

実験は室内で行ない室温 25°C で人工照明によった。水分は殺菌水をもって, 毎日1回ずつ補充し, 平行して殺菌土壌区で病原菌の混入による発病のないことを確めた。

Ⅲ 結 果

コンブ, キチン, 乾燥 *Fusarium* 菌体を埋没した分解物から分離された放線菌は表1に示さる。

処理期間が夏季で土壌が乾燥がちのため, 80日後においてもキチンは完全に分解しておらず, 放線菌数は 50×10^4 稀釈で1種類しか分離されなかった。本菌株はキチン溶解性, β -1, 3-グルカナーゼ活性を有していた。

コンブ, *Fusarium* 菌体は完全に分解され残渣は僅か

に存在している程度であった。*Fusarium* 菌体添加区からの放線菌数は 300×10^4 稀釈で, 6菌株内1菌株が抗菌性を有し, 5菌株がキチン溶解菌, 3菌株が β -1, 3-グルカナーゼ活性菌であった。

コンブ添加区は 600×10^4 稀釈で11種類, そのうち抗菌性株3, β -1, 3-グルカナーゼ活性菌株7で, すべての菌株はキチン溶解性を有していた。

分離放線菌について抗菌性は, 壁物質分解能と関係が殆んどないから抗菌性物質の産生によるものであろう。菌糸壁の溶解とキチン溶解, β -1, 3-グルカナーゼ活性との関係はキチン溶解能に関係が深く, β -1, 3-グルカナーゼ活性のみ有する菌株は, 菌糸壁物質添加寒天培地での溶解環の透明度が低い(表2)。

分離放線菌株のうち, 抗菌性, キチン溶解性, β -1, 3-グルカナーゼ活性の組み合わせから, 大略次の6グループに分類される。すなわち: 1)強い抗菌性を有しキチン溶解性のないもの。2)強い抗菌性を有しキチン溶解性, β -1, 3-グルカナーゼ活性を有するもの。3)抗菌性を有し強いキチン溶解性, β -1, 3-グルカナーゼ活性を有するもの。4)抗菌性が無く強いキチン溶解性を有し, β -1, 3-グルカナーゼ活性のあるもの。5)弱い抗菌性, β -1, 3-グルカナーゼ活性を有し, 強いキチン溶解性を有するもの。

Table 1. Antifungal-, chitin-lytic-, hyphal wall-lytic-, and β -1,3-glucanase activities of 14 actinomycetes isolated from soils added with chitin, *Laminaria japonica*, and dried mycelium of *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum*.

Isolate	Inhibition zone against <i>F. oxysporum</i> (mm)	Lytic zone against		B-1,3-glucanase
		Chitin (mm)	Hyphal wall (mm)	
LFC-1	—	++11	++14	+
L-2	24	+14	++20	+
L-3	17	++16	+13	+
LF-4	—	++18	++18	++
L-5	12.5	++16	++17	+
L-6	—	+18	++19	—
LF-7	±	++12	++18.5	+
L-8	±	++11	+12.5	—
F-9	14	+11.5	—	—
F-10	—	—	++12.5	—
L-11	±	++15	++12	+
L-12	—	++13	+18	—
F-13	—	++17	+13	—
L-14	—	++15.5	+18	—

L, F, C : Actinomycetes isolated from soil added with *Laminaria*(L), dried *Fusarium* mycelium(F), and chitin(C).

+: clear zone slightly turbid.

++: clear zone almost transparent.

の。6)すべてに弱い活性しかもたないもの。

これらから選んだ菌株は表2に示す通りである。キウリつる割病感染阻止効果を3回反復して調べた結果は表3, 図版BとCに示す様に3)グループの菌株が効果を示し, 特にすべてに強い活性を有する N-62 菌株が最も有効であった。しかし 300 余りの放線菌株のうち防除効果の高いのは本菌株だけであった。

播種後20日までは4), 5)グループが効果を示しているが, 30日においては各グループともに差はなかった。1)グループの強い抗菌性のみを有する R-53 は全く感染を抑制しておらず, 11日目において対照区と同様一部感染し枯死した。

N-62 菌株の生理的性質は次の通りである。形態的性質は図版D, Eに示した。本株は *Streptomyces* 属 violet series に属し, 炭素源の利用からみて *S. violans* Pridham にもっとも近い。

Morphological and physiological characteristics of the isolate N-62.

Vegetative mycelium: branched irregularly.

Aerial mycelium: violet-purple in color, long and flexuous.

Soluble pigment on organic media: dark reddish violet.

Chromogenic action: strong, forming dark-brown to black pigment on potato plugs.

Growth on nutrient agar: initially smooth, grey-brown (199, C-D in R.H.S Color Chart), raised, round and echinuate colony.

Growth on potato plug: initially white to purplish-white aerial mycelium, later turning black; deep brown to black color formation in substrate.

Growth on potato decoction agar: white to purplish white aerial mycelium; raised and echinuate colony;

Table 2. Relationship between the antifungal activities of 17 actinomycete isolates and their lytic activities against hyphal cell-wall components.

Isolate*	Growth-inhibiting activity	Lytic activity against		B-1,3-glucanase activity	Groups
		Chitin	Hyphal cell-wall		
R-53	++	—	±	—	1
NP-16	++	—	±	++	
CN-21	++	±	+	+	2
NL-24	++	+	++	+	
N-62	++	++	++	++	3
NR-4	+	++	++	++	
NL-76	—	++	++	++	4
N-75	—	++	++	+	
P-22	—	++	++	+	
LR-4	—	++	++	+	
RL-77	+	++	++	+	5
N-8	+	++	++	±	
N-51	+	++	+	+	
C-72	+	+	++	±	6
PC-46	+	+	++	±	
C-18	+	+	+	+	
R-17	—	+	++	++	

*Actinomycetes were isolated from soils to which the following materials were added :

R : rape cake, P : peat, N : no addition, C : compost,

L : *Laminaria* F : dried mycelium of *F. oxysporum* f. *cucumerinum*

violet pigment formation in substrate.
 Gelatin liquefaction: strong; stratiform, dark reddish brown pigment.
 Growth in glucose nutrient broth: ring and sedimentation; no color change.
 Growth in litmus milk: ring slightly, no sedimentation, no color change.
 Starch hydrolysis: strong
 Cellulose digestion: no
 KNO₃ reduction: yes.

Growth on P. and G. basal agar containing different carbon sources:

Carbon source	Control	D-Glucose	D-Xylose	L-Arabinose	L-Rhamnose	D-Fructose	D-Galactose	Raffinose	D-Mannitol	i-Inositol	Salicine	Sucrose
Growth	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+

Table 3. Effects of 13 actinomycete isolates on the prevention of *Fusarium*-wilt of cucumber seedlings.

Isolate	Days after planting			Isolate	Days after planting		
	20	23	30		20	23	30
R-53	+++	+++	++++	P L-77	+	+	++++
NP-16	+	++	+++	C-72	+	++	++++
C N-21	++	+++	+++	P C-46	++	+++	++++
NL-24	+	++	+++	C-18	++	++	++++
N-62	—	—	+	R-17	++	+++	++++
NR-4	—	+	++	Control	++	++++	
P-22	+	+	+++	Steriliz- ed soil	—	—	—
R-4	+	+	++++				

— no symptom appears
 +, ++, +++ light, medium and heavy symptoms
 ++++ complete death of plants
 First symptom appeared 9 days after planting.

Table 4. Seasonal change of microbial population in residues of chitin, *Laminaria*, and killed mycelial mass of *Fusarium* buried in soil.

Days after burying the material in soil	Population × 10 ⁴ /residue debris								
	<i>Laminaria</i>			Mycelium of <i>Fusarium</i>			Chitin		
	Fungi	Bact- eria	Actino- mycete	Fungi	Bact- eria	Actino- mycete	Fungi	Bact- eria	Actino- mycete
22	244	24120	920	29	12000	60	110	235	3
35	460	9480	200	152	6300	200	4	218	3
55	9	2670	30	5	6720	30	16	514	23
80	36*	2300*	600*	7*	1600*	300*	763*	700*	50*

Each material was placed in a bag made of nylon gauze and buried in soil. The bags were taken from the soil at intervals, treated with 0.5% sodium hypochlorite solution for 5 min., washed in sterilized water and then the residues remaining in the bags were subjected to microbial counting.

* Countings were made without treating samples with sodium hypochlorite solution.

Ⅳ 考 察

キチン、コンブ(ラミナリン給源としての)、乾燥菌体 (*Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum*) など菌糸細胞壁構成物質を添加した土壌から放線菌を分離するとキチン、 β -1,3-グルカンの分解能をもつ放線菌の分離頻度が高まることは事実である。菌糸壁分解能は表2に示すように、キチン溶解性と関連が高く、 β -1,3-グルカナーゼ活性との相関は低い。キチン溶解力なく、 β -1,3-グルカナーゼ活性をもつ株でも菌糸壁溶解能を示す場合があるが、この場合の壁物質溶解環の透明度は低い。

F. oxysporum f. *cucumerinum* に対する阻止環でみた抗菌力は表1に示すようにキチン溶解力、 β -1,3-グルカナーゼ活性とは関連せず、むしろ抗生物質の産生に基因するものである。

菌株の培養をピートポット内の土壌に加え、キュウリを播種し、このピートポットを病土内に埋めこんで発病状況を追跡した結果は、N-62だけが30日間にわたり病徴の発現を抑えた。この株はキチン溶解力、 β -1,3-グルカナーゼ活性のほか抗菌性物質を産生する。以上3活性のうち、1~2活性をもつものは、たとえそのうちの一つの活性が高くても発病抑制効果は全くないか、あるいは持続しない。

この結果は前述のキチン溶解力と菌糸壁物質溶解性との相関が高いことと矛盾するようであるが、菌体より分離し、粉末とした壁物質は生きた菌糸の壁と構造、あるいは露出部分が全くちがうためと思われる。

発病阻害効果はN-62の場合でも30日以上は持続しない。キュウリ根がピートポットから出て病土に接触するのは7日目頃であり、11日目には対照区で病徴が観察される。したがって根が病土に触れた後でも20日間位は発病を抑制したことになるが、根の表面での病原菌の伸長速度と放線菌のそれとのちがいが顕著になったとき、感染阻止効果は失われるのではなかろうか。

なお、本試験においてもっとも効果の高かったN-62株は有機物を全く添加しない土壌から分離したものである。基質添加した場合には、それを分解する菌の数は増加するであろうが、それらは単独で効果を示すよりは、細菌をも含めて、複数の種が菌の溶解をもたらすものと思われる。壁構成物質添加後土壌中で先ず細菌の増加する状況は表4に示した。

図版Aでは土壌稀釈平板法でえられた菌のうち、細菌でキチン分解能を示すものが極めて多いことを示している。細菌の出現はむしろ基質添加後比較的早い時期に、放線菌の出現はこれよりやや遅れるようにみえる。

Ⅴ 摘 要

キチン、コンブ、乾燥 *F. oxysporum* 菌体を土壌に埋没した分解物質、その他堆肥、菜種粕、ピートなどを添加した土壌および無添加土壌から放線菌を分離し、抗菌性、キチン溶解性ならびに β -1,3-グルカナーゼ活性を検定し、それらの活性の組み合わせで6グループに分類した。それらの群の代表的放線菌17株について、病土をもちいキュウリつる割病初期感染防止効果を検討した。

抗菌性を有し強いキチン溶解性、 β -1,3-グルカナーゼ活性を有するグループのみが、感染抑制に有効で、特にすべてに高い活性をもつN-62株が効果を示した。

播種30日後では他の5グループともに差がなかった。

抽出、粉末とした菌糸壁の溶解とキチン溶解、 β -1,3-グルカナーゼ活性との関係は、キチン溶解能に関係が深い、上記の結果は生菌に対しては両者が関係していることを示唆する。

謝辞：N-62菌株の生理的、形態的性質の記載は山下良君の研究に負うところが大きいので、記して厚くお礼申上げる。

Ⅵ 引 用 文 献

- 1) ADAMS, P.B., J.A. LEWIS and G.C. PAPAIVAS: *Phytopath.*, **58**, 1603-1607, 1968.
- 2) 荒木隆男：農技研報告, C. **21**, 1~110, 1967.
- 3) 関 道生・石沢修一：農技研報告, B. **23**, 147, 1972.
- 4) BARTNICKI-GARCIA, S. and W.T. NICKERSON: *Biochem. Biophys. Acta*, **58**, 102-119, 1962.
- 5) BLACK, W.A.P.: *Methods in carbohydrate chemistry*, **V**, 159-161, 1965.
- 6) DAVEY, C.B. and G.C. PAPAIVAS: *Phytopath.*, **50**, 522-525, 1960.
- 7) 土壌微生物研究会編：土と微生物, 190-208, 1966.
- 8) 福井作蔵：生物化学実験法, A-1, 還元糖の定量法 140-143, 1969.
- 9) HANDA, N. and K. NISHIZAWA: *Nature*, **192**, 1078-1080, 1961.
- 10) HORIKOSHI, K., H. KOFFLE and H.R. GARNER: *Bact. Proc.*, **95**, 1961.
- 11) 堀越弘毅：農化, **41**, R21-26, 1967.
- 12) ISHIZAWA, S., M. ARARAGI and T. SUZUKI: *Soil Sci. Plant Nitri.*, **15**, 56, 104, 214, 1969.
- 13) ISHIZAWA, S. and M. ARARAGI: *Soil Sci. Plant*

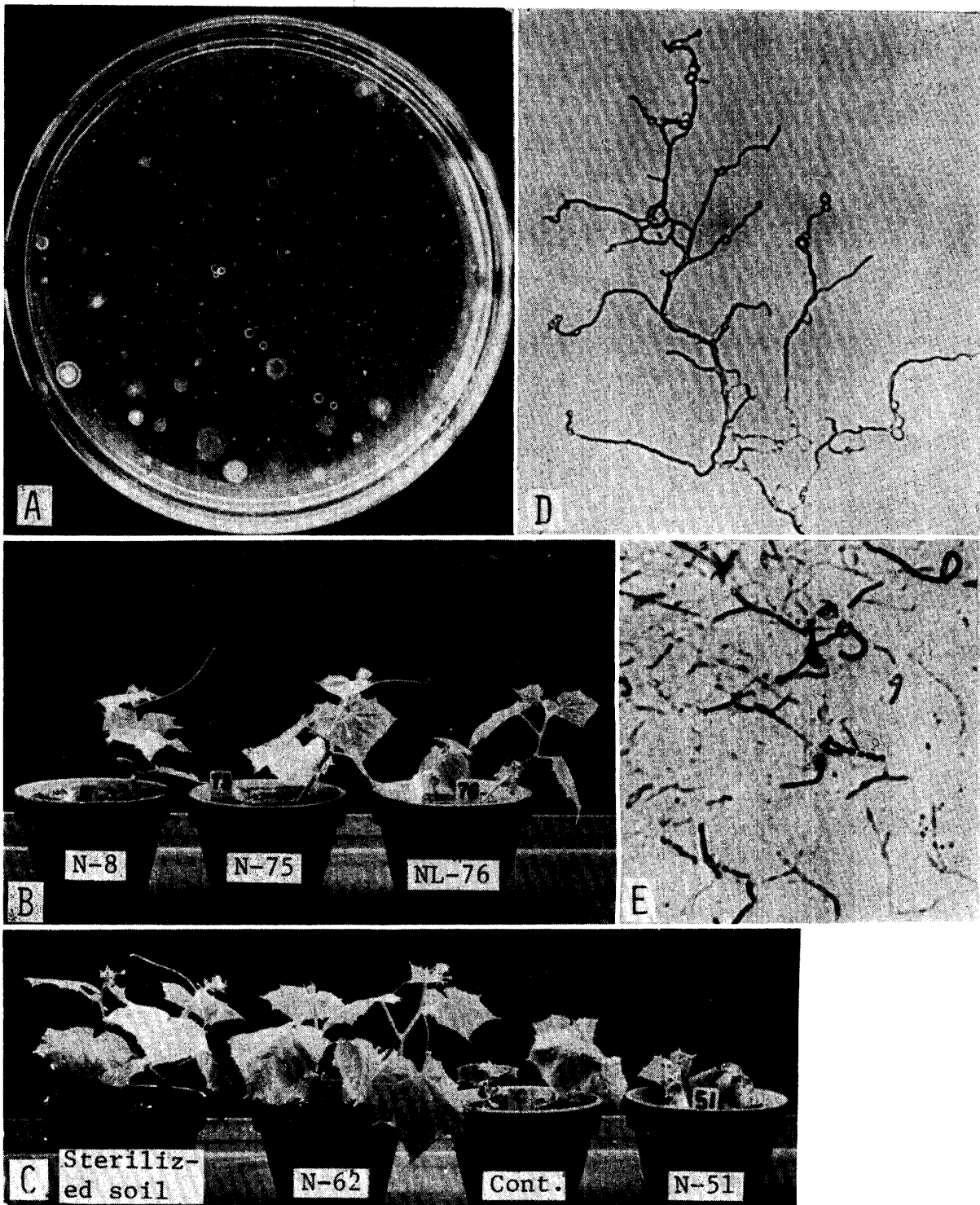


Plate I. A: Actinomycetes and bacteria on a soil-dilution plate. The agar medium contains chitin gel, 30ml/l in soil decoction. Clear zone around each colony indicates the secretion of chitin-lytic enzyme.

B and C: Symptoms 35 days after planting. Eight-day culture of each actinomycete was added to the soil contained in a peat-pot in which two seeds of cucumber was sown. The peat-pot was buried in the center of a 12-cm pot which contains *Fusarium*-infested soil.

D and E: Morphological characteristics of an isolate, N-62.

- Nitri.*, **16**, 102, 110, 1970.
- 14) JOHNSON, L.F. and E.A. CURL: *Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens*, 31, 176, 1972.
 - 15) 駒田 旦・竹内昭士郎・井上義考: 土と微生物, **7**, 41-48, 1965.
 - 16) 駒田 旦: 農業及園芸, **46**, 1137-1142, 1971.
 - 17) MITCHELL, R. and M. ALEXANDER: *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **26**, 556-558, 1962.
 - 18) —, —: *Can. J. Microbiol.*, **9**, 169-177, 1963.
 - 19) MITCHELL, R.: *Phytopath.*, **53**, 1068-1071, 1963.
 - 20) MITCHELL, J.E.: *Soil Biol. Biochem.*, **5**, 721-728, 1973.
 - 21) 西沢一俊: 農化, **60**, 1020-1024, 1939.
 - 22) 小倉寛典: 高知大研報, **17**, 農学2, 13-24, 1968.
 - 23) —・森本徳右衛門・池田 弘: 高知大研報, **18**, 農学7, 68-75, 1969.
 - 24) PAPAIVIZAS, G.C.: *Soil Biol. Biochem.*, **5**, 709-720, 1973.
 - 25) PAPAIVIZAS, G.C. and C.B. DAVEY: *Phytopath.*, **50**, 516-522, 1960.
 - 26) POTGIETER, H.J. and M. ALEXANDER: *J. Bact.*, **91**, 1526-1532, 1966.
 - 27) SANFORD, G.B.: *Phytopath.*, **16**, 525-547, 1926.
 - 28) SKUJINS, J.J., H.J. POTGIETER and M. ALEXANDER: *Arch. Biochem. Biophys.*, **111**, 358-364, 1965.
 - 29) SNEH, B., J. KATAN and Y. HENIS: *Phytopath.*, **61**, 1113-1117, 1971.
 - 30) SNYDER, W.C., M.N. SCHROTH and T. CHRISTON: *ibid*, **49**, 755-756, 1959.
 - 31) 鈴木直治・荒木隆男・原田竹治・足立嗣雄: 農林水産技術会議事務局研究成果, **27**, 5-37, 1966.
 - 32) —: 化学と生物, **4**, 180-184, 1966.
 - 33) 宇井格生: 坂本教授還暦記念論文集, 259-267, 1968.
 - 34) —: 真菌誌, **13**, 159-164, 1972.
 - 35) 内記 隆・宇井格生: 日菌報, **13**, 140-148, 1972.
 - 36) ZENTMYER, G. A.: *Phytopath.*, **53**, 1383-1387, 1963.