

氏 名	岩 佐 昂 いわ さ たかし
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 769 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	抗イネ紋枯病抗生物質バリダマイシンの作用特性とその生物定量法

(主 査)
論文調査委員 教 授 山 本 昌 木 教 授 中 島 稔 教 授 上 山 昭 則

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、イネ紋枯病に対する新抗生物質バリダマイシンの作用特性とその生物定量法に関する研究結果をまとめたものである。その内容の主要なものはつぎのとおりである。

多数の土壌試料から39,193株の放線菌を分離し、イネ紋枯病菌の点状接種法（第1次スクリーニング）・交叉培養法（第2次スクリーニング）・高坂氏法（第3次スクリーニング）により、有望菌株21株を得、その中で T-7545 株は、培養ろ液が *in vitro* で抗菌性を示さないにもかかわらず、安定した顕著な防除効果を示した。

本菌株の各種培地上での形態的・培養的・生理的性質などをしらべた。本菌は、比較的高温で良好な生育をし、鮮黄色～帯緑黄色の基生菌糸上に灰色～黄色斑の混じった灰色の気菌糸を形成し、その先端は螺旋状である。蛋白含有培地上で淡黄褐色の可溶性色素を生ずるのみなので、ノンクロモゲニクタイプの放線菌と考えられる。これらの諸性質に基づいて、既知菌種との比較を行った結果、本菌を *Streptomyces hygrosopicus* の新変種と同定し、基生菌糸が示す鮮やかな黄色にちなんで、*S. hygrosopicus* var. *limoneus* Iwasa, Yamamoto et Shibata nov. var. と命名した。

本菌のバリダマイシン高力価生産培地として、グルコース 2.0%，コーンスターチ 4.0%，コーン・グルテン・ミール 4.0%，NH₄Cl 0.5%，NaCl 1.57%，CaCO₃ 1.5%の組成を決定した。本培地で T-7545 株を培養したろ液からイオン交換樹脂により有効成分の分離・精製を行い、2種類の弱塩基性・水溶性物質が単離された。これらは、新抗生物質であることが確認され、バリダマイシン A および B と命名された。

寒天希釈法による抗菌試験では、イネ紋枯病菌など一般真菌類や細菌に対してバリダマイシンはまったく抗菌性を示さないし、ソラマメ茎葉生汁存在下でもイネ紋枯病菌に対する抗菌性は誘起されなかったが、二重シャーレ法を用いた実験結果から、バリダマイシンと接触したイネ紋枯病菌はきわめて栄養分の希薄な培地上で菌糸先端部に分枝異常を起こし、菌糸の伸長が強く抑制された。異常分枝の起こるのは、ある程度菌糸が生長した後である。また、異常分枝に露滴様分泌物が観察された。バリダマイシンにより起こる分枝異常は、イネ紋枯病菌のほか、*Pellicularia praticola*, *Rhizoctoniasolani*, *Corticium rolfii* など

にもみられたが、これらが分類学上限られた近縁のものであることから、本作用に種特異性のあることが認められた。また、本抗生物質が示す顕著なイネ紋枯病防除効果は該菌菌糸の分枝異常に基づくことが示唆された。バリダマイシンによる防除効果は、低濃度 (30 ppm) で現われ、ほ乳動物に対する急性毒性・魚毒性・作物に対する薬害などの副作用がまったく認められず、農業用抗生物質として理想的な性質を有することが明らかとなった。

バリダマイシンの生物定量法を検討し、異常生育検定法 (dendroid test method) と逆層法 (reversed layer method) を考案した。前者は、素寒天培地とイネ紋枯病菌を用い、菌糸先端部の分枝異常現象を指標とするもので、バリダマイシン A の $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度まで検出できる。後者は、拡散法の 1 種で、あらかじめ培養したイネ紋枯病菌含菌平板上に別の培地を重層し、その表面に試料を含む紙円板を置き、さらに一定時間培養を続け、培地上に形成される阻止円を測定する新しい方法である。この方法では、 $62.5 \sim 1000 \mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲でバリダマイシンを定量することができた。

論文審査の結果の要旨

イネ紋枯病防除薬剤として、有機ヒ素剤にまさるものを検索した結果、通常の寒天培地上では抗菌力を示さないにもかかわらず、イネ体上で顕著な防除効果を示す抗生物質が、*Streptomyces* 属菌の一種より生産されることが判明した。

本論文は、この抗生物質のスクリーニング法・生物学的性質および生物定量法について検討した結果をまとめたものである。

In vivo の効果と相関度の高い *in vitro* のスクリーニング法を検討した結果、従来の培養ろ液を用いる抗菌試験法よりも寒天培地上における放線菌とイネ紋枯病菌との抗菌作用をみる点状接種法がすぐれていることがわかり、これを第 1 次検定法として最終的に新抗生物質バリダマイシン生産菌が得られた。

バリダマイシンは、イネ体上で 30 ppm の低濃度で顕著な紋枯病防除効果を示すにもかかわらず、通常の *in vitro* 抗菌試験では真菌類・細菌類に対しまったく抗菌力を示さない。しかし、二重シャーレ法で、炭素源・窒素源を含む通常の培地で生育したイネ紋枯病菌菌糸が、バリダマイシンを含むぎわめて貧栄養の培地 (素寒天) 上を伸びる際に菌糸先端に分枝異常が起こり、その後の伸長が強く抑制される。この作用は殺菌的でなく静菌的と考えられる。作用を受ける菌種が分類学的に限定されることと栄養源を欠如した培地でのみ作用が起こることは特異的である。

バリダマイシンの生物定量法として、異常生育検定法と逆層法を考案した。前者は異常分枝を指標とする寒天希釈法の 1 種であり、後者は充分生育した試験菌の寒天平板上に別の培地を重層し、その上に薬液を含んだろ紙円板を置き、さらに一定時間培養を続けてろ紙円板のまわりに生じた阻止円を測定する新しい拡散法の 1 種である。前者は感度が良い ($0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ まで検出可能) が、変動が大きく、後者は感度がそれ程よくない ($62.5 \sim 1000 \mu\text{g}/\text{ml}$ で定量可能) が、定量値の変動が比較的に少ないという特徴を持つので、両者を適当に併用してバリダマイシンの実用化に大きく貢献した。

以上のように、本論文は、新抗生物質バリダマイシンが、従来のイネ紋枯病防除薬剤と異なり、静菌作用とくに菌糸分枝異常を起こすことを明らかにし、さらに本物質の生物定量法を考案したもので、植物病

理学ならびに農薬学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。