

Pseudomonas sp. による *Phytophthora capsici*

LEON. の遊走子のう形成刺戟*

正 子 朔・桂 琦 一

HAJIME MASAGO and KIICHI KATSURA: Stimulation of *Pseudomonas* sp.
on the zoosporangia formation of *Phytophthora capsici* LEON.

要旨: 京都府立大学付属農場土壤中より分離した細菌による *P. capsici* 菌の遊走子のう形成に対する刺戟について検討を加えた。*P. capsici* が細菌と接触してから遊走子のうの完成までの最短所要時間は 4~5 時間であり可視的な変化は 20~30 分で生じる。細菌はけん済液として *P. capsici* の培養の上に滴下するのが効果的であり、供養疫病菌の遊走子のう形成能力の程度によって反応の現われかたが異なる。また刺戟能力はすべての細菌に非特異的に保有されているものではなく、*Pseudomonas* spp. にその能力が平均して高いようであったが、刺戟の本体はなお不明である。供試細菌の令は培養 1 週間程度ではその刺戟能に有意差がない。しかし培地 pH が酸性側 (pH 4.0) ではこの刺戟の発現がなく、中性から弱アルカリ性に移行するにしたがって効果が増大する。これは細菌側の増殖に好適であることも考えに入れられるが、むしろ *P. capsici* の側に遊走子のう形成の準備が整ったと見るべきである。同様のこととは温度についてもいえることであって、この刺戟適温は菌が細菌以外の遊走子のう形成の場合の適温と一致する。培地も本来疫病菌の遊走子のうが形成され易いものにのみ刺戟効果が現われやすい。以上のことから、この刺戟はあくまでも遊走子のう形成経路への引き金の役目をなすだけのものであって、その経路を進むための物質的な素材を与えるものではないと考える。本細菌は遊走子のうの形成を促進するとともにその形も僅かに大型にする。また遊走子のうから遊出した遊走子を溶解する。刺戟効果をいちじるしく示す故に諸実験に用いた細菌は、*Pseudomonas riboflavina* にきわめて類似した性質をもっていた。

I 緒 言

疫病菌が植物を侵かすのは多くの場合、遊走子によるものと考えられている。桂ら^{4, 5)}が遊走子の走化性に注目し検討を加えているのも、この侵入前行動としての遊走子の動きを重視したに他ならない。しかしさらにさかのぼって考えるならば、土壤中において遊走子のうが容易に形成されるものか、形成されるならばどのような環境がその形成を左右するのかなどの点が明らかにされなければならない。疫病菌の遊走子のう形成については栄養¹⁰⁾、光¹⁰⁾などの要因について *in vitro* に研究をしたものばかり知られている。しかしこれらの結果を土壤中に生息している菌という実際の場に当てはめて簡単に割り切ってしまうことはできない。土壤の物理的・化学的環境はもちろんのこと数多く存在する微生物との相互作用は無視できない生物学的要因となっている。MAHRLICH⁹⁾ が土壤浸出液に

よる *Phytophthora* の遊走子のう形成を報じて以来、ZENTMYER¹⁴⁾ らが *Chromobacterium vioraceum* による *Phytophthora cinnamomi* の、CHEE¹⁾ らが *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas dacunhae* 類縁細菌による *P. cinnamomi* の遊走子のう形成の促進をみとめている。この形成刺戟について CHEE¹⁾ は一応は細菌ペニン毛にその因があるらしいと疑いをおいているものの確実な裏付けがない。また MARX⁷⁾ らは刺戟物質の存在を推定し、その分子量の程度を示している。しかしそのいずれもが刺戟物質をその後明らかにしていない。したがって筆者らは細菌による疫病菌の遊走子のう形成刺戟の本質を明らかにし、ひいては栄養生長と生殖生長の乗り替えの機構を究明するために遊走子のう形成刺戟をいちじるしくもつ *Pseudomonas* sp. を用いて、まずその刺戟に関与する環境の影響を調べてここに報告する。

* 京都府立大学農学部植物病理研究室（業績87号）

本研究の一部は昭和43年度日本植物病理学会関西部会において講演した。

昭和45年7月31日受理

Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan
(Contribution No. 87)

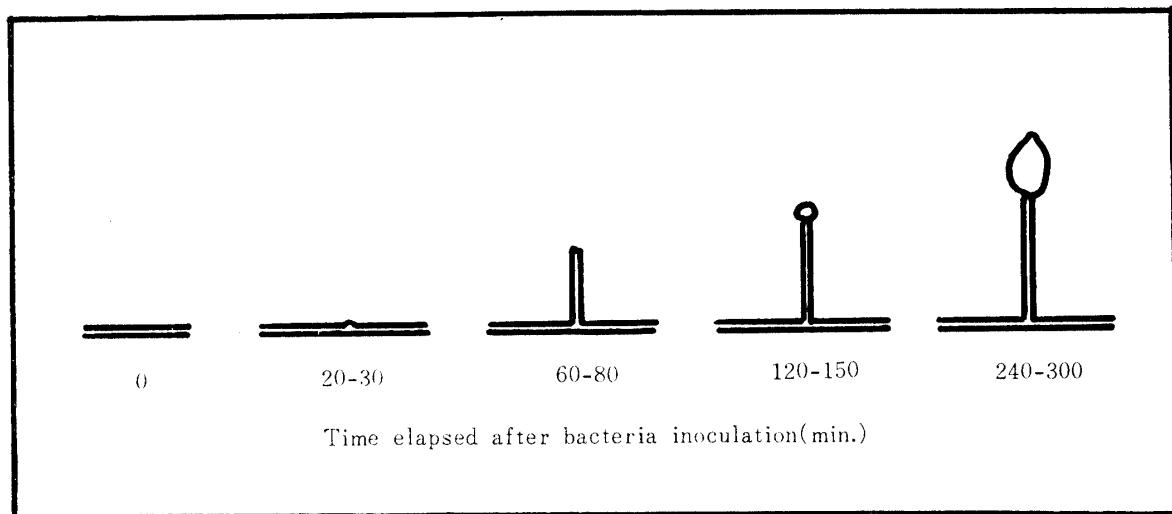


Fig. 1. Schematic illustration on a zoosporangium production of *P. capsici* by bacterial stimulation. The fungus was grown on oat meal agar medium for 4 days at 28°C. and SPB-3 was incubated in Bouillon media for 24 hrs at same temperature.

II 実験材料および方法

遊走子のう形成刺戟の程度を知るために *Phytophthora capsici* (ナス65号菌) を用い、別記しない限りオートミール寒天上において4日間28°Cに保って培養した菌そを用いた。供試細菌は本学付属農場土壤中より得たものでここでは SPB-3 と仮称する。また比較に用いた疫病菌はいずれも研究室保存菌株であり、細菌類は財団法人醸酵研究所より分譲を受けたものである。いずれも別記しない限り、菌類はオートミール寒天培地、細菌類はブイヨン培地に培養したものである。細菌類は通常使用24時間前にブイヨン5mlに1日金耳接種し28°Cに保ったものを用いた。遊走子のう数はオリンパス顕微鏡(10×10)によって観察し、形成数の多い部分を1実験区について10視野以上を計数し平均を求めた。

III 実験結果

1. 細菌による遊走子のう形成時間

24時間培養した SPB-3 のけん濁液を滅菌した1ml ピペットによって *P. capsici* の菌そ上に2滴ずつ滴下して28°Cに保ったまま顕微鏡下で遊走子のう形成にいたる間の経緯を追ったところ Fig. 1. に模式的に示すような結果を得た。すなわち細菌との接触後20~30分で菌糸の中間部に膨らみを生じ、約1時間程度で遊走のう柄を伸長させ、2時間経過するとその先端に遊走子のうの小球が形成され、やがてこの小球が膨らんで細菌との接触後4~5時間で遊走子のうの形成が終る。これは形成刺戟が与えられてからもっとも早く反応したもののが平均である。遊走子のうは引き続

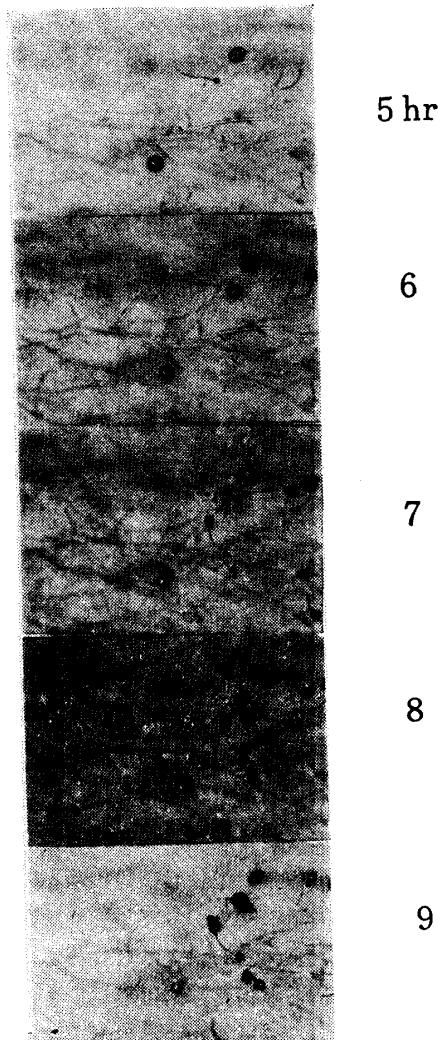


Fig. 2. Time-lapse sequences of the zoosporangia formation of *P. capsici* by *Pseudomonas* sp. at every 1 hr interval from 5 hr to 9 hr after the bacteria inoculated. The cultural conditions were same as shown in Fig. 1.

いてつぎつぎと形成されているが、1つの遊走子のう形成のための所要時間には変りがない。1例として細菌と接触後5時間から9時間目までの1時間ごとの同一視野をFig. 2に示したが、経時的变化がよくわかるとともに、この分化が局部的に始まって、その部分を中心として遊走子のうが増えて行く傾向も知られる。

2. 細菌の接種方法

SPB-3 を72時間培養し、5日前培養した*P. capsici* の菌そうの上に滴下する方法と、ブイヨン寒天上において同一条件の下で培養した細菌を白金耳にとって*P. capsici* 菌そう上になすりつける方法を比較した。接種後28°Cに保ち16, 40, 64時間後に遊走子のう数を測定したところ Fig. 3. に示す結果を得た。かな

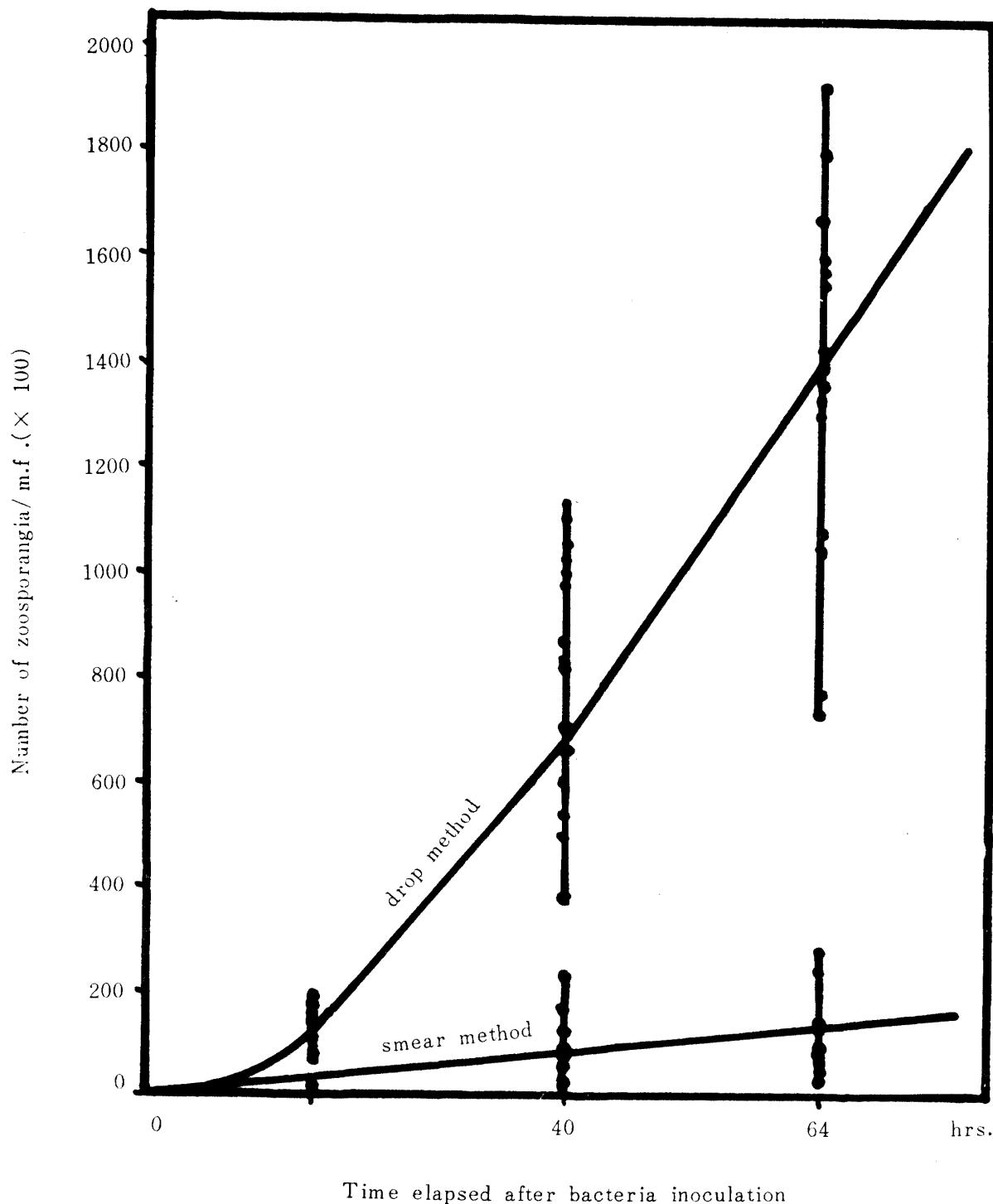


Fig. 3. Comparison of the stimulative effect of two cultural methods of the bacteria for zoosporangia formation of *Phytophthora capsici*. The fungus and the bacteria were cultured under the same condition as shown in Fig. 1.

りの散らばりを見せてはいるが、滴下法の方がよい結果を示している。64時間後になっても細菌無添加の区は1視野当たり平均5~6個の遊走子のうしか得られなかつた。64時間も経過すると中空の遊走子のうが目立つて多くなってきたが、そのまわりには遊走子は見られなかつた。

3. *Phytophthora* 属菌に対する刺戟効果

P. capsici (egg plant No. 6 and No. 65), *P. melonis* (cucumber No. 13 and No. 14), *P. citrophthora* (Nangô and Inazawa), *P. parasitica* (T 131) *P. castanea* (chestnut Ibaraki No. (2), *P. heveae* および *P. palmivora* (いずれも研究室保存菌) をオート

ミール 寒天培地上で 28°C, 4 日間 培養後 それぞれに SPB-3 培養液を滴下接種し、16, 64 時間後に形成された遊走子のう数を比較した。Fig. 4. に示すように *P. capsici* 65 がもっともよく反応し *P. melonis* 13 は全然刺戟されない。細菌の存在しないところは64時間後でも Fig. 5. に示すようにほとんど遊走子のうを形成していなかつた。*P. castanea* 2 および *P. heveae* の場合には遊走子のうがほとんど形成されないので卵胞子の数を表わしているが、細菌の添加の如何によらず変化がないので卵胞子形成には本細菌は何らの刺戟効果も有していないことを示している。ただこの際形成される遊走子のうは、Fig. 6. に示すように自然にあ

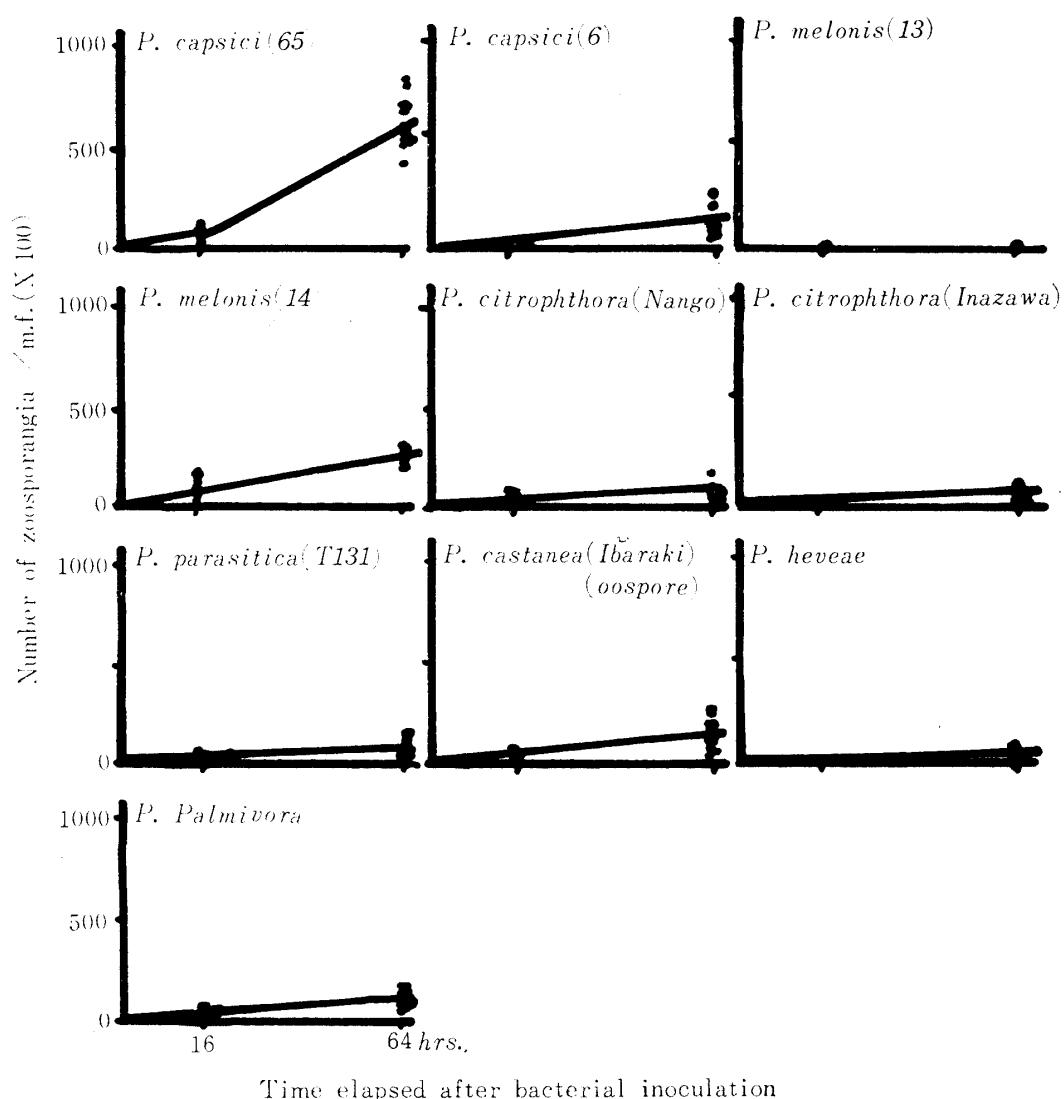


Fig. 4. Zoosporangia and oospores production response of several *Phytophthora* spp. against the stimulative *Pseudomonas* sp. Every fungi were incubated for 4 days at 28°C and the bacteria was cultured for 24 hrs at same temperature.

るいは光刺戟によって形成されるものに比べてやや大型 (*P. capsici* 65において長径 6μ , *P. melonis* 14において 15μ 程度長くなる) になる。これは刺戟を受けていないかに見える *P. castanea* 2 の卵胞子にも見られ直径において約 5μ 大きくなるようである。

4. 各種細菌の示す *P. capsici* 65遊走子のう形成刺戟

Bacillus megatherium, *Bacillus cereus*, *Baci-*

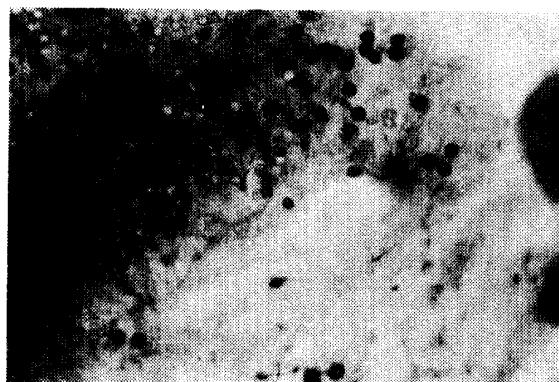
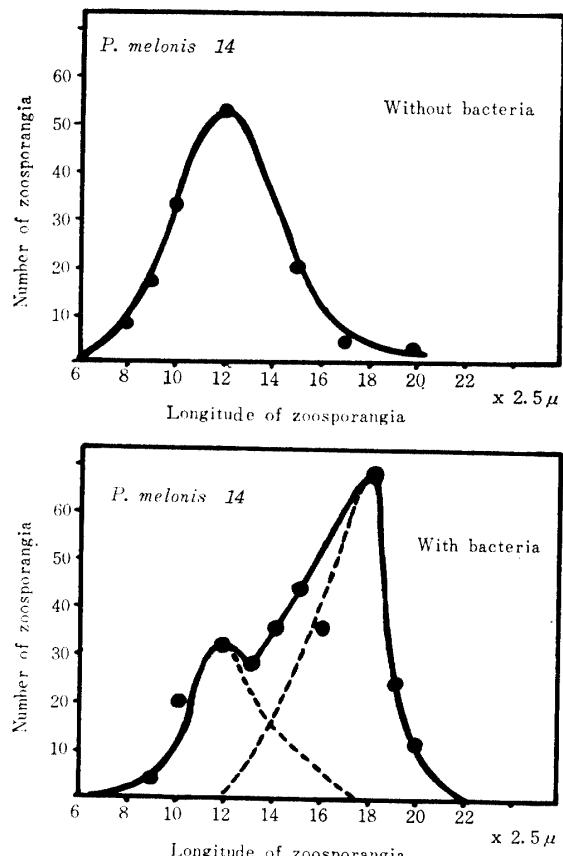


Fig. 5. Zoosporangia of *Phytophthora capsici* 65 formed within SPB-3 colony by the bacterial stimulation. Notice, zoosporangia are limited within the bacterial colony.

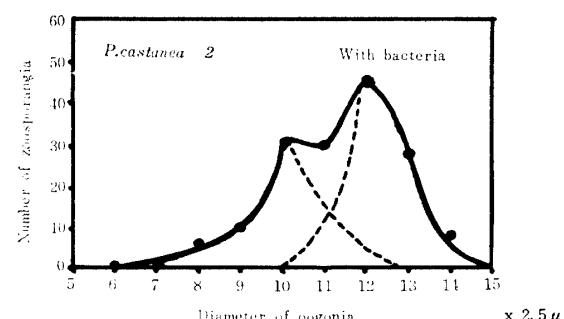
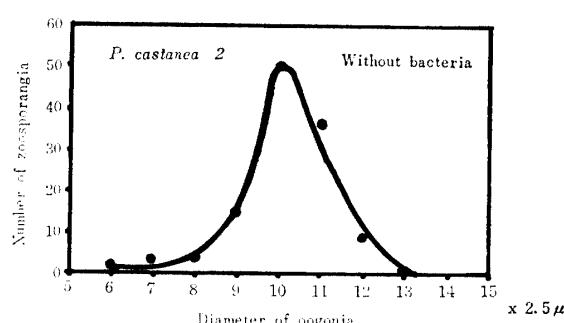


(A) Zoosporangia elongation by SPB-3

llus subtilis, *Xanthomonas citri*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Serratia marcescens*, *Sarcina lutea*, *Corynebacterium sepedonicum*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas riboflavina*, *Pseudomonas dacunhae*, *Pseudomonas marginalis*, *Pseudomonas* sp. (SPB-3), *Chromobacterium violaceum* *Eremothecium ashbyii*, および *Cucumber B₁* (*P. capsici* を接種したキュウリ果実より分離した細菌) の刺戟効果を比較するためにそれぞれをブイヨン 5ml 中に 28°C , 24時間培養したのち, *P. capsici* 菌そくに滴下し24時間後に遊走子のう形成数を計数した。Fig. 7. に示すように SPB-3 を含めて *Pseudomonas* spp. の効果がいちじるしかった。細菌の分類上の所属あるいは特定の性質とこの刺戟との関連性はなお不明である。

5. 接種細菌の令による刺戟効果の変動

SPB-3 をブイヨンに移植後 2, 4, 6, 8 日を経た培養液を *P. capsici* の菌そくに滴下し, 16時間後に遊走子のう数を測定したところ Tab. 1. に示すようにほとんど有意差をみとめなかった。したがって1週間前後の液体培養によっては遊走子のう形成のための刺戟活性が低下しないと考えられる。



(B) Oogonia elongation by SPB-3

Fig. 6. Two instances of the zoosporangia (A) and oogonia (B) elongation effects by SPB-3 which stimulate the zoosporangia formation of *Phytophthora capsici* 65.

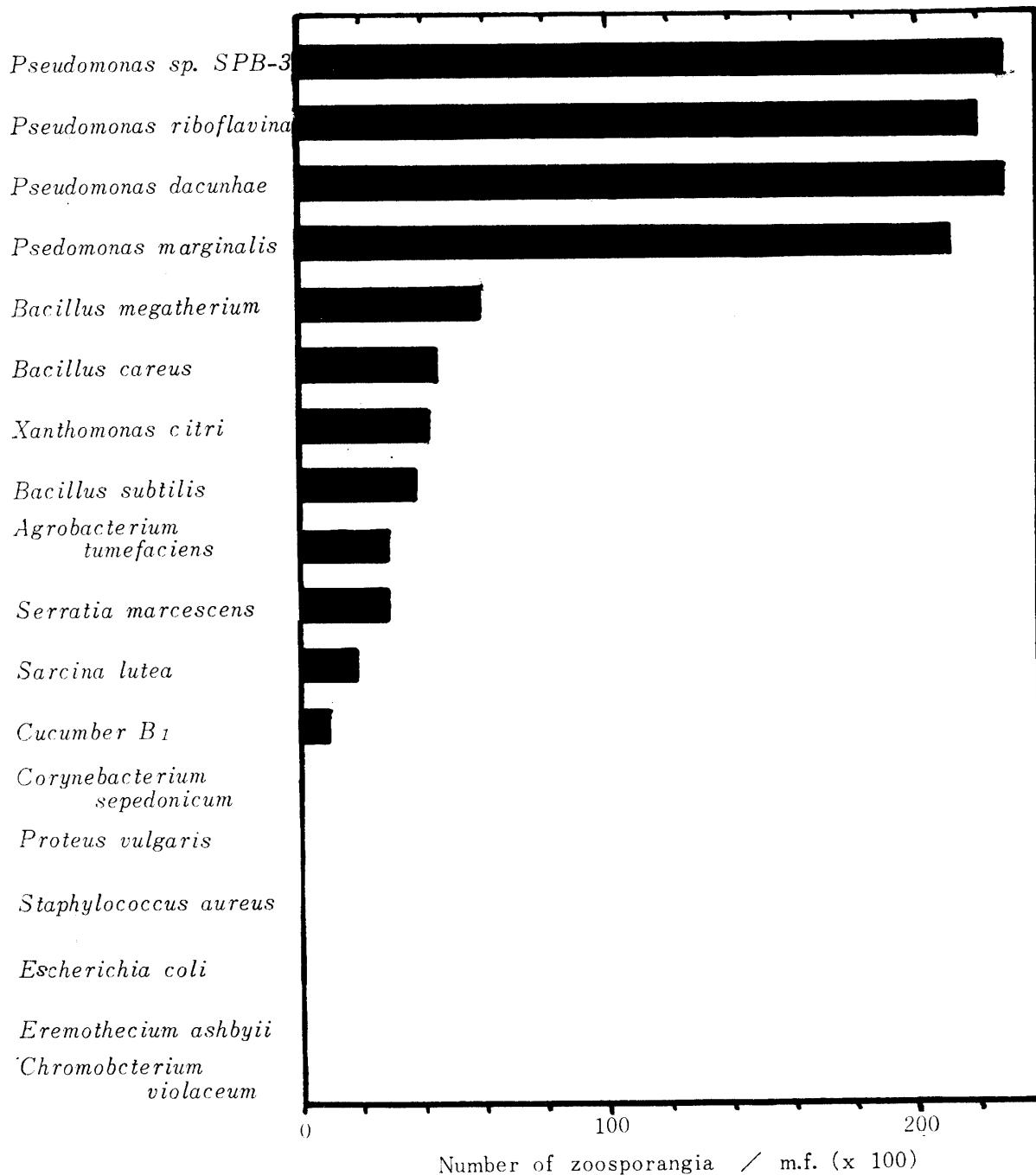


Fig. 7. Stimulation activities of some bacteria to produce zoosporangia of *P. capsici*. Bacteria were inoculated to oat meal agar on which *Phytophthora capsici* grown for 4 days at 28°C. Observation were carried out at 24 hr. after the bacteria inoculation.

Tab. 1. Effect of preincubation periods of SPB-3 on the stimulation to zoosporangia formation of *Phytophthora capsici* 65

Subject	Incubation periods of SPB-3 prior to contact with <i>P. capsici</i> (day)			
	2	4	6	8
Number of zoosporangia produced after bacterial inoculation*	38.6	37.9	34.1	39.5

*Number of zoosporangia were observed 16 hrs after bacterial inoculation.

6. 培地 pH の刺戟効果におよぼす影響

a. 菌発育の pH 特性

オートミール寒天培地の pH を 0.1N HCl, 0.1N NaOH を用いて調節し、高圧殺菌前の pH が 5.0, 5.5, 5.7, 6.1, 7.1 および 7.5 となった各区に *P. capsici* を移植して、28°C に 4 日間保ったところ Fig. 8. に示す結果を得た。すなわちこの pH 域内では pH の高いほど菌の伸長速度が速くなるようである。

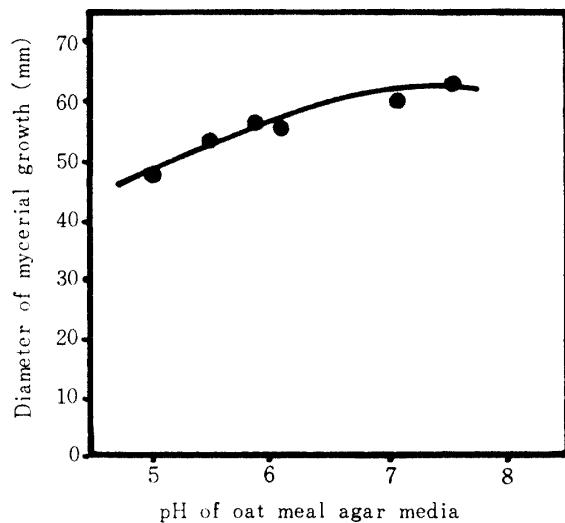


Fig. 8. pH characteristics on the radial growth of *Phytophthora capsici* 65. The fungus incubated for 4 days at 28°C.

b. 細菌発育の pH 特性

各 pH に調節したブイヨン中に SPB-3 を 1 白金耳宛接種し、24時間後にその培養液の透過度を島津ボックスロム光電比色計（スペクトロニック 20）の波長 530mμ を用いて測定した。結果は Fig. 9. に示した

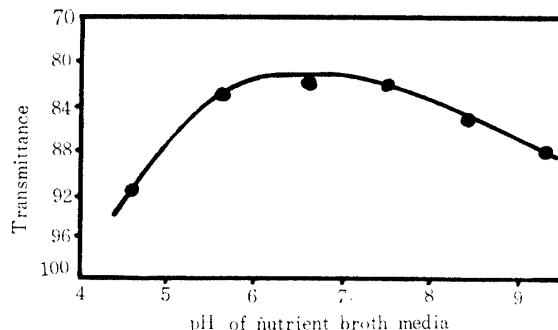


Fig. 9. SPB-3 growth in Bouillon medium at various pH. The bacterium incubated for 24 hrs at 28°C, and the transmittance of culture liquid by 'Spectronic 20' photometer.

が、pH 5.5~7.5 が発育好適域である。

c. 異なった pH 域で生育した細菌の刺戟効果

前 b 項の状態で育った細菌をオートミール寒天培地

(pH 5.5) に生育した *P. capsici* 菌そく上に滴下した場合、Fig. 10. の結果を得た。pH が酸性側よりも

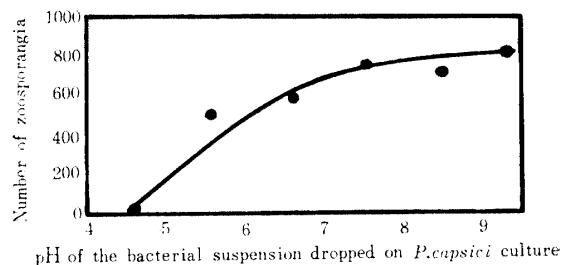


Fig. 10. Stimulation effect on the zoosporangia formation of *Phytophthora capsici* 65 by SPB-3 grown in Bouillon media adjusted in various pH. The fungus and the bacteria were incubated with same condition as shown in Fig. 1.

アルカリ側において刺戟効果が高まる。

d. 異なった pH 域で生育した菌に対する効果

刺戟効果を受けとる側の生理状態も無視することはできない。したがって各 pH に生育した *P. capsici* 上に SPB-3 を滴下した場合の 64 時間後の遊走子のう数を示すと Fig. 11. のようである。この場合も酸性側

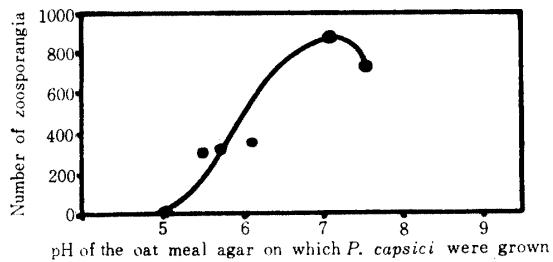


Fig. 11. Stimulation effect of SPB-3 on the zoosporangia formation of *Phytophthora capsici* 65 grown on oat meal agar media adjusted in various pH. The fungus and the bacteria were incubated with same condition as shown in Fig. 1. Number of zoosporangia were observed 64hrs after bacterial inoculation.

で刺戟効果は非常に低くなっている。

7. 細菌と接触中の温度の影響

オートミール寒天培地上に移植した上、4 日間 20, 24, 28, 32, 34 および 36°C に培養した *P. capsici* 上に SPB-3 を滴下し 48 時間それぞれの温度で培養を継続した。36°C では菌の発育なく 34°C では移植した菌のまわりにのみ遊走子のうが形成され細菌との接触なく、24, 28, 32°C では多数形成され、なかでも 24°C では中空になっている遊走子のうが非常に多く、20°C では菌糸は細菌コロニー中をほとんど速度を変えずに伸

Tab. 2. Effects of the culture filtrate of SPB-3 on the stimulation to zoosporangia formation of *Phytophthora capsici* 65.

Subject	Number of zoosporangia produced after incubation the fungal culture with (A) or (B)
Bacterial suspension (A)	250
Filtrate of the bacterial liquid culture (B)	0

長しているにもかかわらず遊走子のうは形成されない。

8. *P. capsici* 培養培地の影響

オートミール、アツキ、ジャガイモ各煎汁寒天培地およびブイヨン、CZAPEK 寒天培地上に *P. capsici* を培養後 SPB-3 を接種して遊走子のう形成の状態を観察したがアツキ培地上がもっとも速やかであり、オートミールがこれにつぎジャガイモ煎汁寒天培地では接種5～6日後になってやっと形成が始まるほど遅くなる。またブイヨン、CZAPEK 両寒天培地ともに遊走子のうはつくらなかった。

9. 細菌の培養液による刺戟

SPB-3 をブイヨンに24時間培養後、よく振とうし軽く遠心分離(2,000 rpm)を5分した上清液を2ml容の注射器にとり Millipore filter (HA, 0.45μ) を通してペトリ皿上の *P. capsici* の菌そうに加えて24時間後形成された遊走子のう数を計測したところ Tab. 2. に示す結果を得た。すなわち 0.45μ の孔径を有する filter を通過するものには刺戟効果がないと考えられる。

10. 遊走子に対する SPB-3 の作用

この細菌による刺戟によってつくられた遊走子のうは細菌を水洗その他で除きさえすれば、直接間接いずれの発芽も可能である。しかし細菌が遊走子のうのまわりに生育している場合は、原形質が吐出すること多く、また間接発芽をなし得た場合でも遊走子は泳ぎ出たのち速やかに運動機能を失い溶解する。細菌を培養していないブイヨン液を対照のため滴下した場合遊走子の溶解が起こらないので滲透などの変化などによるものではなく細菌による影響として溶解が起るものと考える。

11. SPB-3 の分類学的位置

本細菌は Tab. 3. に示す諸性質をもっており、*Pseudomonas riboflava* に類似しているが完全には一致しない。

IV 考 察

細菌が糸状菌の器官形成刺戟を与える例は *Phytophthora* の他に *Rhizoctonia solani*³⁾, *Fusarium*

Tab. 3. Characteristics of the bacteria (SPB-3) which stimulate the zoosporangia formation of *Phytophthora capsici*.

Size:	0.53–0.79×4.21–7.89μ
Gram stain:	negative
Motility:	present
Spore:	absent
Flagellation:	polar
Max. temp:	37°C
Culture in nutrient broth:	+ with pellicle and sedimentation
Growth on oat meal agar:	slow, raised with concave beveled edge
Acid production:	
Glucose	acid and gas
Galactose	acid and gas
Fructose	acid and gas
Xylose	acid and gas
Mannose	acid and gas
Maltose	acid and gas
Lactose	acid
Sucrose	acid and gas
Mannitol	acid and gas
Glycerol	acid and gas
Production of:	
Indole	+
Acetoin	+
Nitrite from nitrate	+
Ammonia from peptone	+
H ₂ S from peptone	+
Action in litmas milk:	alkaline
Hydrolysis of:	
Gelatin	—
Starch	—
M.R. test:	—

*solani*¹¹⁾ などについて報告がある。

疫病菌の場合はその遊走子のう形成に土壤浸出液が効果的であることが MEHRLICH⁹⁾ によってまとめられて以来^{1, 6, 12, 13, 14)} その原因を土壤中の微生物に帰した研究が多い。遊走子のうの形成には栄養、水分、pH、温度などのいろいろの要因が関与しているのでこの浸出液のみの結果をもって直ちに土壤中における遊走子のう形成に結びつけることは早計であると思う。しかし土壤微生物との相互関係はこの形成刺戟という点のみからではなく疫病菌の伝播、生存の全般にわたって

重要な役割をもっていることは否めない。したがって筆者らも分離した細菌について、その疫病菌に対する機能を究明し、土壤中で生じるであろう事態を単純化した基礎実験を行なった。接種した細菌が培養24時間というかなり個体数が増えた状態ではあったが、*P. capsici* がその細菌に触れて僅か4～5時間で1個の遊走子のうの形成を完了するようである。しかもその遊走子のうが発芽能力を備えていることは土壤中でこのような細菌との接触によって同様なことが惹起されることの重要性が考えられる。細菌との接触後わずかに20～30分で遊走子のう柄の分化が始まることから考えると、疫病菌の生殖生長への代謝乗り換えが細菌との接触直後から起こっているものと予想される。その代謝経路の分岐する部位、また分岐経路への乗り換えの引き金に相当するもの、生殖生長へ動き出した代謝が栄養生長へ戻れなくなるまでの時間 (The point of no return)、引き金などについては今後明らかにすべきであると考える。

筆者⁸⁾らは光の刺戟がたとえごく短時間与えられても *P. capsici* の遊走子のうの形成に対して有効であることを観察しているが、通常は暗黒下では遊走子のうの形成は遅れるものである。しかしこの細菌による刺戟は暗黒下でも非常に顕著に起るものであるから土壤中における遊走子のう形成の一要因として大きく期待のもてるものとなり得る。光による遊走子のう形成促進の場合も、細菌による場合も、疫病菌の遊走子のうは菌そうの局部に形成し始めるがやがてそのまわりにその形成域が拡がって行く。最初に形成される部位については菌糸内の原形質流動、核の行動が関係していると思われるが今のところ予測できない。固体培養では刺戟活性が低下しているようであるが、これはむしろ接種する細菌のまわりに水分が少ないと、塗布と滴下という接種方法のちがいとかによるものと考えられる。液体培養をした細菌のもつ高い刺戟効果については弁毛がその原因をなすのではないかと考えている研究者もあるが、筆者らは不動性の *Sarcina lutea* でも若干の刺戟能をもっているのでこの弁毛との関係は本質的なものとは考え難い。しかしながら MARX⁷⁾ らのいうように、培養液中に刺戟物質を生じたとも考え難い。筆者らの用いた Millipore filter は孔径 0.45μ で供試細菌体は通さなかったが刺戟効果も消失したということから、培養液中に刺戟物質が含まれないか、よほど高分子の粘性の高いものと考えられる。また Fig. 5. に見られるように形成された遊走子のうはすべて細菌コロニーの中に局限されているので、この刺戟要因となるものは寒天中を非常に拡

散していくものであろう。したがって菌と細菌の密着が必要であって、細菌が菌に対して直接に刺戟が与えられるものと考えると、非常に寿命の短かい中間物質に対する競合によって制御されているものと思われる。しかしこのような場合でも刺戟を受ける疫病菌側にこれを受け容れる態勢がなくてはならない。まず、遺伝的に遊走子のうを形成する因子を保持している必要がある。これは Ford²⁾ も *Fusarium solani* f. *phaseoli* の細菌による菌核形成に細菌と菌の両方のクローンが無視できないことを報じている。本来遊走子のう形成能力をもたないもの、能力の低いものは細菌を接触せしめても形成しないことを本実験が示している。しかし形成する素質をもっていても菌体内に遊走子のう形成のための素材の準備がなければならない。これには培地の組成なり、培養温度、培地 pH、菌の令などが関与する。この際細菌から与えられるものは、あくまでも遊走子のう形成への刺戟、いかえれば形成の経路への転換をさせる引き金が引かれることであって、形成に必要な素材が欠乏していたり、以後の代謝経路を進むためには不適当な環境では到底遊走子のうの完成あるいはもっと初期の可視的な変化の開始すら困難になることと思われる。

一例を pH との関係にとるならば、SPB-3 発育は大体において *P. capsici* に似ており酸性側では低下しアルカリ側でも低下する中高の曲線を示す。(Fig. 8, Fig. 9. 参照) この場合細菌刺戟効果は酸性側において漸次低下し pH 5 付近になると zoosporangia を形成しなくなる。この pH 特性は光刺戟を与えた場合、あるいは暗黒で徐々に zoosporangia をつくらせた場合などと同じ傾向を示している。すなわち pH が 5 以下になると zoosporangia 形成への代謝経路が働くなくなるものと考える。この pH 域における SPB-3 の分裂増殖力の程下程度はアルカリ側のそれと同じくらいであるのに後者域ではかなり多くの zoosporangia を形成する。これはこれらの環境が *P. capsici* の側において zoosporangia 形成に適していることが必要であることを裏付けるものであろう。また、この刺戟細菌 SPB-3 は、発育最適 pH、最適温度などにおいて *P. capsici* のそれと比較的近いことは、この両者の土壤中の生態にとって興味ある点である。

最後にこの細菌の *Phytophthora* の諸器官の膜形成に対する作用に言及するが、これらは形態形成刺戟の本質を明らかにするための示唆を与え得るかも知れない。

その 1 つは遊走子の溶解であり、これはこの刺戟によってつくられた遊走子が不完全であることを意味す

のではない。遊走子のうが刺戟によって形成された時点では細菌を除くことによって遊走子が被のうし発芽し得るからである。細菌の遊走子膜溶解あるいは被のう阻害作用によるものと考える。その2に、遊走子のうあるいは藏卵器の大型化である。これは、細菌がこれらの器官の膜の形成に際してその粘性を長く保持させて内容の流入を増大せしめ大型にするか、膜の固化は通常速度であるが細胞内容の合成流入が速やかであるかによると考える。

このような現象を追求することによって、この刺戟細菌のもつ普遍的性質を調べることが刺戟伝達の機構解明の鍵を与えると考えるが、ここに *Pseudomonas* 属の細菌にとくにその刺戟活性がいちじるしいという点は興味のあることである。本 SPB-3 は *Pseudomonas riboflavina* にほとんどの点でよく適合するが糖の分解においてのみ異なる。

引 用 文 献

- 1) Chee, K.H. and F.J. Newhook (1966) : N.Z. Jr. Agric. Res., 9 (1) : 32-43.
- 2) Ford, E.J. and E. Truijiro (1960) : Phytopathol., 57 : 811.

- 3) Henis, Y. and M. Inbar (1968) : Phytopathol., 58 : 933-938.
- 4) 桂 琦一・正子 朔・宮田善雄 (1966) : 日植病報, 32 : 215-220.
- 5) 桂 琦一・宮田善雄 (1966) : 京府大学報, 農18 : 51-56.
- 6) Manning, W. J. and D. F. Crossan (1966) : Phytopathol., 56 : 235-237.
- 7) Marx, D. H. and F. A. Haasis (1965) : Nature, 206 : 673-674.
- 8) 正子 朔・近藤晴彦・桂 琦一 : 未発表.
- 9) Mehlich, F. P. (1935) : Phytopathol., 25 : 432-435.
- 10) Tuite, J. (1969) : Plant pathological methods, Burgess Publishing Company, Minneapolis.
- 11) Venkat-Ram, C. S. (1952) : Nature, 170, 889.
- 12) Wills, W. H. (1966) : Phytopathol., 56 : 587.
- 13) Zentmyer, G. A. and Lee Ann Marshall (1959) : Phytopathol., 49 : 556. (Absry.)
- 14) Zentmyer, G. A. (1965) : Science, 150, 1178-1179.

Summary

The stimulative effect by soil bacteria on zoosporangium formation of *Phytophthora capsici* (stock No. 65 isolated originally from egg plant) was studied under various experimental conditions.

This stimulative effect appeared within 20-30 min. after the bacteria were in contact with *Phytophthora*, and the zoosporangia were accomplished following 4-5 hrs. Such bacterial stimulation did not spread over the bacterial colony. The culture filtrate of the bacteria passed through millipore filter did not show the stimulative effect. These results indicate that the stimulative substance might be short life metabolic product or products, so contact with living bacteria is necessary for zoosporangium production of *Phytophthora*. Bacteria transferred from broth cultures show larger stimulative effect than transferred from agar slant media made from the same nutrients.

Among 15 *Phytophthora* cultures over 8 species, 3 species were stimulated by the bacteria but other did not show such a striking response. These unsusceptible *Phytophthora* produced no or few

zoosporangia even under natural condition, originally.

Among 12 species of bacteria tested, *Pseudomonas* revealed the most active stimulation. There was no appreciable difference in stimulative activity through growth stage or age of the bacteria in broth culture until 7 days. At weak alkali pH range of culture media both the bacterial growth and the stimulatory effect were increased, more than acidic condition. *Phytophthora* mycelium grown on oatmeal agar media was more rapidly react with the bacteria than PDA, and the mycelium grown on broth agar media could not produce zoosporangia in spite of the presence of the bacteria. The bacteria destroyed the zoospore of *Phytophthora* but not zoosporangial membrane. From the results of the test on the physiological characteristics of the bacteria, it is considered that the bacteria is *Pseudomonas riboflavina* regardless of the fact that the result did not show quite agreement with Bergey's description.