

# オリーブ炭疽病菌々絲の發育に及ぼす 2,4-D の抑制 効果と葡萄糖濃度並水素イオン濃度との關係に就て

内 藤 中 人・谷 利 一

On the relation of glucose concentration as well as hydrogen-  
ion concentration of the culture media to the retarding effect of  
2,4-D to the mycelial growth of *Gloeosporium Olivarum* ALM.

By Nakato NAITO and Toshikazu TANI

(Laboratory of Phytopathology)

(Received Sept. 28, 1953)

## I 緒 言

2,4-Dを含む種々の植物ホルモンの菌類生育に及ぼす影響に就いては、最近多数の報告が蓄積されて来た。然して之等植物ホルモンが菌絲の發育或は胞子の発芽に影響がないとする報告も若干見られるが<sup>(6,18)</sup>、或濃度以上では抑制効果を有すると言う点に於ては多くの報告が一致して居り<sup>(3,7,8,10,12,13,15,16,19,21,26,27,28,29,33,34,36,39,40,45)</sup>、更に濃度が稀薄になると促進効果が見られた報告も可成りある<sup>(2,5,9,25,27,28,29)</sup>。然し植物ホルモンの菌類發育に及ぼす抑制効果と糖類濃度或は水素イオン濃度との關係に就き論じたものはない様に思う。稍々之に關聯したものとしては、Hessayon<sup>(14)</sup>が glucose-ammonium の豊富な培養基では抑制効果が見られるが、之等の乏しい場合は見られないと言う事を報告しているのみである。筆者等<sup>(27)</sup>はさきにオリーブ炭疽病菌 (*Gloeosporium Olivarum* ALMEIDA) 菌絲の伸長に対する 2,4-D の抑制効果が糖類を全然添加しない培養基上では全く見られぬ事を報告した。筆者等は此の点に非常に興味を感じたのであるが、高等植物に於ては 2,4-D が糖類等と結合して移動すると言う Rohrbaugh等<sup>(37)</sup>の報告がある。従つて菌類に於ても菌絲の發育に対する抑制効果発現には一定量の糖類を必要とするのではないかと言う疑問を生じたので、本試験に着手したものである。尚同試験を施行中、糖類の濃度の問題は結局培養液の pH に帰着するのではないかと言う傾向が見られたのと、一方又高等植物に対する 2,4-D の効果は pH が低い方が著しく、その原因として pH が低いと不解離分子の濃度を増し、然して 2,4-D は分子状で植物体に吸収されるという Kelly 等<sup>(17)</sup>、Mitchell 等<sup>(25)</sup>、Stenlid<sup>(38)</sup>の説もあるので、2,4-D の菌絲發育に及ぼす抑制効果と pH との關係に就き明らかにしておく必要を感じ、之に關する実験も併せ施行した。その結果オリーブ炭疽病菌々絲に対する 2,4-D の抑制効果に於ても pH が著しく關係を有すると言う事を明らかにし得たので御報告する次第である。

尚本研究の一部は文部省科学研究助成補助金の一部を以て行つたものである事を附記し、その援助に対し感謝の意を表する。

## II 実験方法

供試 2,4-D は市販の日産化学製品 Na 塩 (1aq.) で、中西<sup>(30)</sup>の方法により本研究室で分析した結果によると、2,4-DNa 塩としての純度は 88.86% (水分 6.56%, 不純物 6.55%) であつたので、本報告に示す 2,4-D の濃度は此の分析結果を基準とした Na 塩の含量を以て表わした。培養基はペプトン加用合成培養液 (ペプトン 5g, 硫酸アムモニア 0.25g, 酸性磷酸加里 0.25g, 硫酸マグネシウム 0.1g, 塩化鉄 2% 溶液数滴, 葡萄糖 12.5g, 蒸溜水 500cc) を基準として種々調合した。殺菌はコソホ

で1時間宛2日間行い、3日目に2,4-Dを加えて更に1時間行つた。供試菌は昭和25年1月20日オリヴの被害果より分離したもので、接種に際しては該菌を予めペプトン加用合成寒天培養基上に1週間培養したもので分生孢子懸濁液を作り、顕微鏡の1視野(倍率150倍)約50ケの分生孢子となる様調製し、その1滴宛をピペットで注入し接種源とした。培養は200ccの3角フラスコに20cc宛の培養基を注入して行い、所定期日後菌糸を濾紙で濾過し、熱湯で数回洗滌後105°Cで1夜乾燥し、菌糸の重量を測定した。pHの測定は大部分東洋濾紙水素イオン濃度試験紙によつたもので、同試験紙の使用不可能の場合のみpHメーターを用いた。従つて本報告のpHは概畧の数値を示すものである。尚精しくは夫々の実験毎に述べる事とする。

### Ⅲ オリヴ炭疽病菌々絲の發育に及ぼす2,4-Dの抑制効果と葡萄糖濃度との關係

筆者等<sup>(27)</sup>はさきにオリヴ炭疽病菌を25°Cで7日間培養した処、標準区の菌叢直径平均50.8mmに對し、2,4-Dの0.08%添加ペプトン加用合成寒天培養基上では12.3mmに抑制せられた事を報告し、又同時に糖類を全然添加しない培養液では全く抑制効果が見られない事も述べた。従つて2,4-Dの抑制効果発現には一定量の糖類を培養液に加える事が必要なのではないかと言う疑問を生じたので、葡萄糖濃度を前報告<sup>(27)</sup>より更に細く區別した場合、抑制効果に如何なる影響を有するかにつき実験を行つた。

**第1回実験** 葡萄糖の濃度が夫々0, 0.003, 0.014, 0.072, 0.36, 0.72, 1.0, 1.8, 2.5, 5.0%となる様なペプトン加用合成培養液を作製し、各区共0.08%となる様2,4-Dを添加したものに本菌を接種し、6日間25°Cの恒温器に納めて培養し、その菌糸重量を測定した。1区に2ケ宛のフラスコを用い、実験は3回繰返したが、其の結果は第1表に示す如くで、3回共大体同様の傾向を示した。3回の平均結果に就いて見るに、0.36%でも對標準区指数73.0で若干抑制効果が見られているが、0.72%では43.3で標準区の半分以下に抑えられ、1.0%以上の濃度では極めて抑制効果が大きくなつてゐる。0.072%以下の濃度では全く抑制効果が見られない。

第1表 ペプトン加用合成培養液中に於けるオリヴ炭疽病菌々絲の發育に及ぼす0.08%2,4-Dの抑制効果と葡萄糖濃度との關係 (其一) (單位mg)

葡萄糖濃度(%)	第1回		第2回		第3回		平均		對標準区指数(D/C×100)
	C	D	C	D	C	D	C	D	
5.0	461.3	44.7	462.2	35.9	456.4	34.7	460.0	38.4	8.4
2.5	267.0	32.3	248.8	46.6	247.6	37.7	254.5	38.9	15.3
1.8	178.6	22.9	206.1	22.8	215.2	20.1	200.0	21.9	11.0
1.0	134.9	26.5	144.4	25.8	146.3	25.3	141.9	25.9	18.3
0.72	106.6	51.7	104.6	50.5	109.1	36.5	106.8	46.2	43.3
0.36	84.0	58.9	69.7	65.9	88.7	51.7	80.8	39.0	73.0
0.072	32.5	40.4	48.5	38.4	37.3	36.4	39.4	38.4	97.5
0.014	26.7	40.7	31.9	32.9	31.8	37.8	30.1	37.1	123.3
0.003	25.7	41.3	28.9	30.4	33.4	26.0	29.3	32.1	109.6
0	27.6	29.5	32.4	37.0	23.0	29.9	27.7	32.1	116.3

備考: Cは標準無添加区を, Dは2,4-D添加区を表わす。以下各表共同様である。

培養後の培養液中の残糖量をFehling-Lehman-School法<sup>(6)</sup>で測定した。尚本培養濾液中の糖測定に於ては本法が適當である事は予備実験に於て認知したものである。其の結果は第2表に示す如くである。菌蓋を肉眼的に觀察するに、標準の2,4-D無添加区に於ては空中菌絲は0.01%以上の葡萄糖濃度で良好な發育を示し、0.5~5.0%では黒褐色を呈した。15%では發育、空中菌絲の形成共に劣つて

#### 第2回実験

葡萄糖の濃度を0%より15%迄0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 5.0, 10.0, 15.0%の12の段階に分けて第1回実験と同様の方法で行つた。尚今回の実験では培養前後のpHを測定すると共に、培

第2表 ペプトン加用合成培養液中に於けるオリーフ炭疽病菌々糸の發育に及ぼす0.08% 2,4-Dの抑制効果と葡萄糖濃度との関係(其二)

葡萄糖濃度(%)	培養前pH		培養後pH		消費葡萄糖量(mg)		菌絲重(mg)		対標準区指数(D/C×100)
	C	D	C	D	C	D	C	D	
15.0	5.1	5.1	4.5	4.8	1340	860	293.7	84.9	28.9
10.0	5.1	5.1	5.9	4.8	840	240	358.4	59.1	16.5
5.0	5.1	5.1	6.3	4.9	1000※	180	393.6	39.1	9.9
2.5	5.1	5.1	—	4.9	500※	160	—	24.9	—
1.5	5.1	5.1	6.4	5.1	300※	160	199.2	30.9	15.5
1.0	5.1	5.1	8.1	5.1	200※	150	151.2	29.6	19.6
0.5	5.1	5.1	8.4	8.2	100※	100※	95.9	96.7	100.8
0.25	5.1	5.1	8.5	8.4	50※	50※	66.2	77.8	117.5
0.10	5.1	5.1	8.6	8.4	20※	20※	52.2	55.5	106.7
0.05	5.1	5.1	8.5	8.4	10※	10※	44.0	44.8	101.8
0.01	5.1	5.1	8.4	8.4	2※	2※	34.9	37.4	107.2
0	5.1	5.1	8.4	8.3	0	0	50.2	30.5	60.8

備考: ※を附したものは培養中葡萄糖を消費しつくした事を示す。一は雑菌混入のため測定不能であったもの。

全く形成されなかつた。両区の菌絲の發育と葡萄糖濃度との関係に就いて見るに、標準区に於ては第2表に示す如く葡萄糖の増加と共に菌絲重量も亦増加し、5~10%でその最大値を示し、それ以上の濃度では減少の傾向にある。全般的に見れば葡萄糖濃度と發育との関係は畧々平行的の関係にあるものと考えて大過ないものと思われる。之に反して2,4-D添加区に於ては、葡萄糖の低濃度では葡萄糖の濃度に比例して菌絲重量も増加するが、0.5%に於て最大値を示し、1.0%以上では減少をしている。10%, 15%の様な高濃度では再び増加しているが、此の様な高濃度は菌の培養には一般に不適当な濃度とされて居り、即極めて特異な場合である。従つて2,4-Dは葡萄糖濃度が大体1.0%以上の時始めて有害な物質として著しく作用するものであると考えられ、此の事は対標準区指数が1.0%以上の濃度で急激に減少し、0.5%以下では殆んど100前後の数値を示している事でも明らかに此の関係を物語るものである。

第1, 第2回実験の結果より、0.08% 2,4-Dの本菌々糸に対する抑制効果はペプトン加用合成培養液に於ては大体葡萄糖濃度0.7%以上より現われて来るが、1.0%以上の濃度に於て著しく現われるものとして大過ないものと考えられる。

次に2,4-Dの抑制効果に葡萄糖濃度が影響する原因は何であるかと言う問題であるが、高等植物に於て報告せられている様に<sup>(37)</sup>、2,4-Dが葡萄糖と結合して吸収されて行くのではないかも一応考えられるが、然しそれでは1.0%を境として抑制効果の有無が劃然と現われる事の説明に苦しむ。即標準区に於ては第2表に示す如く、葡萄糖の濃度の増加につれて菌絲重量も増加し、又葡萄糖の消費量も増加しているのであるから、若し2,4-Dが葡萄糖と結合されて吸収されるのであれば、葡萄糖の濃度の増加に従い2,4-Dの吸収量も増加し、それに比例して抑制効果が現われるのが妥当の様に考えられるからである。然して第2表で明らかな如く葡萄糖濃度5.0%以下の区では添加葡萄糖の凡てが消費されている。又第2表の結果よりすれば、本菌を25°Cで6日間培養する時は充分な葡萄糖が与えられて居れば標準区では大体1g/20ccの葡萄糖が消費されるものと考えられる。それより少量の0.5g/20ccで25°Cで10日間培養を行つてその培養濾液の定性試験をネスラー試薬で行つた処によればNH<sub>4</sub>-が多量に検出されpHは8.3であつた。然して葡萄糖の豊富な時或は葡萄糖の尚残存する場合は此の現象が見られなかつた。之等の結果を綜合して、葡萄糖不足の培養基ではペプトンをエネルギー源として代用し、異状代謝を行つているものと考えられる。2,4-D区で残糖が検出され

来たが、滲透圧の関係であろうと想像される。2,4-D添加区では0.1~0.5%の濃度では空中菌絲の發生は標準区と大差なかつたが、1.0%以上の濃度では全く見られなかつた。又胞子は標準区では何れの濃度とも多少形成されたが、2,4-D区では0.5%以上の濃度では

たのは第2表に示す如く、1.0%以上の葡萄糖濃度の場合であつて、本実験の培養条件では少くとも0.15g以上を要する。此の様に培養中に葡萄糖の消費しつくされた区と未だ残っている区とでは代謝過程が異つていであろう事は当然考えられる事であつて、事実2,4-D添加区の培養後のpHを見れば明らかな如く、残糖量の検出される1.0%以上の区では酸性、それ以下の濃度の区ではアルカリ性となつて居り、明らかに両者間の菌の代謝過程の異なる事を示している。然して2,4-Dの抑制効果は残糖量が検出され、培養後のpHが酸性である処の1.0%以上の葡萄糖濃度の区のみ著しく現われている。

以上の実験結果より、葡萄糖濃度の抑制効果に及ぼした原因としては、葡萄糖濃度により菌の代謝過程に変化を来し、その結果として起つたpHの変化に基づくのではなからうかと云う推定がなされた。従つてpHと抑制効果との関係を明らかにする必要を感じ次の実験を行つた。

### Ⅲ オリーヴ炭疽病菌々絲の發育に及ぼす2,4-Dの抑制効果とpHとの關係

2,4-Dの本菌發育に対する抑制効果と水素イオン濃度との関係を明らかにする為、NaOH及HClで種々のpHに調節したペプトン加用合成培養液を使用し、夫々設計を異にする次の4回の実験を行つた。然して第2表に示す如く培養後の液がアルカリ性になつた区では抑制効果が見られなかつたので、2,4-Dを添加した培養液をNaOHで調節する場合殺菌中に2,4-DとNaOHとの化学反応が起つて抑制効果が消失するのではないかと言ふ事も考えられたので、之を確める為次の様な予備実験を行つた。即ち予めN/10NaOHと2.5%2,4-Dとを10cc宛加えて1時間煮沸し、後HClで中和してpH6.6とした液を計算量0.08%の濃度となる様に培養液に加えて、23°~27°Cの室温で6日間培養し、本菌の生育に及ぼす抑制効果を培養フラスコ4ケに就き調べて見た。其の結果は第3表の示す如くで、此の様に処理した2,4-Dも著しく抑制効果を示し、2,4-DがNaOHとの煮沸により抑制効果を消失するものでない事を確め得た。

第3表 2,4-DをNaOHで1時間煮沸した場合2,4-Dの抑制効果に及ぼす影響

フラスコ番号 区別	I	II	III	Ⅳ	平均
標準区	300.4	292.3	280.7	306.3	294.9
2,4-D添加区	21.4	18.3	25.7	16.3	20.4

備考:表中の数字は菌絲重を表わす(単位mg)。

0.08%となる様2,4-Dを添加し、23°~27°Cの室内で6日間培養した。1区に4ケのフラスコを使用した但其の結果は第4表に示す如くである。培養前のpH6.0以上のものは培養後7.8又は7.9になつており、pH3.8のもの3.2のものは伸長が悪かつた為かpHは殆んど変化していない。pHを5.1に予めしておいたものは標準区では6.6と稍上昇したが、2,4-D添加区のpHは全く変化していない。然し抑制効果の著しく現われたのは培養前のpHが5.1以下の場合であつて、此の事は第2表の抑制効果の現われた葡萄糖濃度1.0%以上の区が凡てpHが5.1以下であつた事実とよく合致するものである。然して此の關係がpHの菌絲發育に及ぼした直接の影響によるものでない事は第4表標準区に於てpH5.1~9.0に於ける菌絲重が殆んど差がない事でも容易に推定出来るが、更に詳細に本菌々絲の發育とpHとの關係に就き調査した結果(第8表)本菌は大体pH4.0~8.0で菌絲の發育に殆んど差がない事が明らかにされているので、本実験結果はpHが直接本菌々絲の發育に影響した為でない事は明らかである。

第2回実験 前回迄の実験に於て0.08%2,4-Dの菌絲伸長に及ぼす抑制効果を決定する限界pHは2.5%葡萄糖添加ペプトン加用合成培養液では5.0と6.0との中間にあるものと考えられ

第1回実験 第2表の結果より消費量以上の濃度である事が判明している2.5%葡萄糖を加えたペプトン加用培養液を殺菌後のpHが3.0, 3.8, 5.1, 6.0, 7.1, 8.0, 9.0となる様予め調節した後

第4表 2.5%葡萄糖を含むペプトン加用合成培養液中に於けるオリブ炭疽病菌々絲の發育に及ぼす0.08%2,4-Dの抑制効果とpHとの関係 (単位mg)

pH		I		II		III		IV		平均菌糸重		対標準区指数 D/C × 100	培養後pH	
殺菌前	殺菌後	C	D	C	D	C	D	C	D	C	D		C	D
9.4	9.0	260.6	254.0	257.3	234.3	244.9	260.4	236.3	233.4	249.8	245.5	98.3	8.0	7.8
8.3	8.0	273.7	256.0	268.1	245.9	259.0	261.2	240.0	263.6	260.2	256.7	98.7	7.9	7.9
7.4	7.1	273.7	256.8	262.2	250.4	249.3	233.9	252.6	249.8	262.0	247.7	94.5	7.8	7.9
6.3	6.0	260.4	245.3	264.1	249.0	275.5	248.5	260.0	250.8	265.0	248.4	93.7	7.8	7.9
5.1	5.1	280.6	12.5	260.8	61.2	268.1	13.0	285.0	8.7	273.6	23.9	8.7	6.6	5.1
3.9	3.8	89.0	0.7	2.5	2.0	112.6	24.6	—	—	41.3	9.1	22.0	3.7	3.9
3.2	3.0	0.0	0.0	2.8	0.0	0.0	0.0	—	—	0.9	0.0	0.0	3.2	3.2

備考:—は実施しなかったもの。

た。然して又2,4-Dの抑制効果に及ぼす葡萄糖濃度に関する試験に於て、抑制効果の著しく現われるには葡萄糖濃度1.0%以上を要し、その原因としては葡萄糖濃度が葡萄糖と結合した2,4-Dの菌体内への吸収に関係しているのではなく、1.0%以上の葡萄糖濃度では培養後のpHが5.1以下に保たれる事によるとした事は既述の如くである。若し此の様な考えが正しいとするならば抑制効果の全く現われなかつた様な稀薄な葡萄糖濃度でも、pHを5.0前後に保ち得れば抑制効果が出る筈である。此の事を確める為第1,第2表で明らかな如く抑制効果の全く現われず、然も菌が或程度生育する濃度として葡萄糖0.3%添加ペプトン加用合成培養液を選び、之をpH5.5, 5.8, 6.1, 6.5, 6.7に調節したものに培養して抑制効果を調べてみた。然して前回迄の試験に於ては培養中pHが相当変動した為、その変動を減少せしめる意味でbufferとしてKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>を加えた。培養は27°Cで6日間行い、1区にフラスコ4ヶを供試した。その実験結果は第5表の如くである。即此の場合に於ても全区のpHの変動を防止する事は出来ず、確実な断定は下し得ないが、培養前5.8以上のものは培養後何れもpH増大の傾向を示し、抑制効果も全く見られなかつたのに対し、pH5.5のものに於て抑制効果が見られ、特にbufferを加えた区に於てはpHの変動も少く、抑制効果が著しかった。然して本実験の場合も此の様な抑制効果の有無がpHの直接菌糸の發育に及ぼした影響によるものでない事は前に指摘した如くである。斯くの如く0.3%の葡萄糖濃度に於てもpHを5.5附近に維持し得れば著しく抑制効果が現われると云う事は葡萄糖が直接抑制効果の有無を左右するものでないと云う上述の考えを支持するものであり、且以上の諸実験より0.08%の濃度の2,4-Dが抑制効果を現わすに必要な有効pHは大体5.5附近にあるものと考えてよい様である。

第5表 0.3%葡萄糖を含むペプトン加用合成培養液中に於けるオリブ炭疽病菌々絲の發育に及ぼす0.08%2,4-Dの抑制効果とpHとの関係

事項	培養前pH		5.5		5.5		5.8		6.1		6.5		6.7	
	区別	C	D	C	D	C	D	C	D	C	D	C	D	
培養後pH		7.0	5.8	6.0	5.5	6.6	6.7	7.8	7.8	7.8	7.9	8.5	8.5	
菌糸重量(mg)		85.7	41.1	78.2	5.0	110.4	92.5	101.8	102.8	114.5	110.4	103.3	105.7	
Buffer { KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0.0	0.0	20.0	20.0	17.5	17.5	15.0	15.0	12.5	12.5	10.0	10.0	
添加量※ { Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	2.5	5.0	5.0	7.5	7.5	10.0	10.0	

備考:※は200cc当に加えたMol/2液をccで表わしたもの。

第3回実験 前回の試験で0.08%2,4-Dが抑制効果を示す為には5.5以下のpHに保たれる事が必要である事を明らかにした。そこで培養を始めてより何日間5.5以下にpHが保たれれば抑制効果が現われるものであるかと云う事を明らかにする為本実験を行った。即2.5%葡萄糖加用ペプトン培養液に0.08%となる様2,4-Dを添加したものに本菌を接種して23°Cに保ち、培養1日後、2日後、3日後、4日後にpHを7.4乃至8.0に改変し、培養6日後に於ける抑制効果を検した。1区に

就きプラスコ4ヶ宛を供試したが、その結果は第6表の示す如くである。第6表で明らかな如く、抑制効果の現われているものは培養4日後に pH を 7.4 に改変したものと全く pH を改変しなかつた区のみであつた。培養3日後に改変したものは4日間 pH 5.1 に保たれていたに係らず抑制効果の見られなかつた事実よりして、0.08% 2,4-D が抑制効果を示す為には培養開始より少くとも4日間以上 pH が 5.5 以下に保たれる事が必要なものと思われる。然して培養1日後に pH を改変した区や、3日後に改変した2,4-D 区等では改変した翌日では殆んど pH が変化して居らず、殊に4日後改変の標準区では最後に改変による pH の変化が見られなかつたがその理由は明らかでない。

第6表 オリーブ炭疽病菌培養中 pH を改変した場合の抑制効果と改変時期との関係

区 別	項 目	培養前 pH	培 養 中 の pH						6日後の 菌糸重量 (mg)	対標準区 指 数 (D/C×100)
			1日後	2日後	3日後	4日後	5日後	6日後		
培養1日後 pH を 8.0 に 改 変	C	5.1	5.1	5.1	6.0	6.2	6.6	6.4	305.4	100.0
	D	5.1	5.1	5.1	6.3	6.5	6.5	6.6	303.0	99.2
培養2日後 pH を 8.0 に 改 変	C	5.1	5.1	5.1	6.4	6.0	6.4	6.8	286.2	100.0
	D	5.1	5.1	5.1	6.4	6.3	6.4	6.8	308.6	107.8
培養3日後 pH を 8.0 に 改 変	C	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	6.6	8.0	302.9	100.0
	D	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	5.6	7.6	282.0	93.1
培養4日後 pH を 7.4 に 改 変	C	5.1	5.1	5.1	5.1	5.2	—	4.8	346.0	100.0
	D	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	—	6.6	26.5	7.7
PHの改変を行 わなかつたもの	C	5.1	—	—	5.1	5.2	—	6.4	339.5	100.0
	D	5.1	—	—	5.1	5.1	—	5.0	28.9	8.5

備考:—は測定を行わなかつたもの。

第4回実験 前述の如く本菌の発育に対する0.08% 2,4-Dの抑制効果は pH 5.5 以下に於て著しく、然して此の事は pH が直接菌糸の発育に及ぼした影響によるものでない事を明らかにした。では pH が何故抑制効果を左右するののかと言う問題が当然起つて来る。高等植物に於ても植物ホルモンの作用は酸性側で著しい事が以前より知られて居り<sup>(1,4,20)</sup>、然して2,4-Dの場合はその原因として pH が低いと2,4-Dの不解離分子の濃度を増し、且2,4-Dは分子状のみ植物体に吸収されるからであると言う説があるが<sup>(17,23,25)</sup>、若し菌類に於ても此の様に pH の2,4-D抑制効果に及ぼす原因が2,4-Dの解離に及ぼす影響にあるとするならば、pH によつて2,4-Dの不解離分子の量が異なる以上抑制効果を現わす濃度並抑制効果の程度が pH によつて変化して来るであろう事は当然予想されることである。筆者等は此の点を確認る為、2.0, 1.0, 0.5, 0.08, 0.02, 0.005%の2,4-D添加ペプトン培養液を pH 4.5, 6.5, 7.7(培養前)の3段階に分けて抑制効果との関係を調べて見た。その実験結果は第7表の如くであり、筆者等の予想と大体一致した結果になつている。即筆者等<sup>(27)</sup>はさきに本菌の0.32% 2,4-D 添加ペプトン加用合成寒天培養基上の25°C, 30°Cに於ける菌叢直径の標準無添加区に対する指数は pH 5.1に於て夫々12.8, 12.9であり、著しく抑制される事を示したが、第7表に見られる如く、pH 7.7に於ては0.5%の濃度でも極く僅か抑制せられているのみで、1.0%の濃度でも対標準区指数66.3で、2.0%の濃度に於て始めて著しく抑制効果が現われ指数14.9となる。又1.0%の濃度でも pH 7.7の時は指数66.3であるが、培養前 pH 6.5の時は著しく抑制されている。又0.005%では pH 5.1の時は25°, 30°Cに於ける対標準区指数は夫々76.0, 83.2である事を明らかにしたが<sup>(27)</sup>、第7表に見る如く pH 4.5では全く伸長していない。然して本菌は pH 4.0~8.0の間では殆んど菌糸の伸長に差がない事は第8表で判明しているから、之等の結果が pH が直接菌糸の伸長に及ぼした影響でない事は明らかである。本実験は27°Cで行われたものであり、前述の実験<sup>(27)</sup>は25°, 30°Cの実験であるから、此の両者を比較するのは不適當であると言うそりを免

れないが、前実験<sup>(27)</sup>に於て 25° と 30°C との指数が殆んど同値である事から 27°C に於ても之等と大差のない数字と考へて大過ないものと思われ、従つて此の場合は此の両者の成績を比較検討しても大過ないものと信ずる。

2,4-D が抑制効果を示す為には 2,4-D が菌体内に吸収される事が必要であり、且抑制効果は吸収される量に左右される事も容易に想像され得る。特に高等植物に於ては数時間にして 2,4-D が植物体内に吸収される事が判明している故<sup>(41,42)</sup>、菌類に於ても 2,4-D の抑制効果と菌体内への吸収とが密接な関聯を有しているものと考えられよう。然してその場合 pH が 2,4-D の解離に影響し、然も不解離分子のみが吸収せられると云う説<sup>(17,23,28)</sup>を正しいものとするならば、本実験の如く 2,4-D の抑制効果を示す 2,4-D の濃度並に抑制の程度が pH に左右される事もよく説明し得るものと思へる。

第7表 2.5% 葡萄糖添加ペプトン加用合成培養液中に於けるオリーブ炭疽病菌々絲の發育に対し抑制効果を示す 2,4-D 濃度と pH との関係

2,4-D 濃度 (%)	PH			Buffer 添加量 ※		菌 絲 重 量 (mg)	対 標 準 区 指 数	
	殺菌前	殺菌後	培養後	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>			
第 1 回	0.0	7.7	7.7	7.7	2.5	17.5	180.7	100.0
	0.5	7.7	7.7	7.7	2.5	17.5	160.4	88.8
	1.0	7.7	7.7	7.2	2.5	17.5	119.8	66.3
	2.0	7.7	7.7	7.2	2.5	17.5	26.9	14.9
第 2 回	0.0	6.5	6.5	6.5	10.0	10.0	219.2	100.0
	0.1	6.5	6.5	6.4	10.0	10.0	200.5	91.5
	0.5	6.5	6.5	6.4	10.0	10.0	199.5	91.0
	1.0	6.5	6.5	6.4	10.0	10.0	38.5	13.0
第 3 回	0.0	4.3	4.5	3.8	—	—	174.7	100.0
	0.005	4.3	4.5	4.5	—	—	0.0	0.0
	0.02	4.3	4.5	4.5	—	—	0.0	0.0
	0.08	4.3	4.5	4.5	—	—	0.0	0.0

備考: ※第5表と同じ、一は HCl を添加したもの。

第8表 ペプトン加用合成培養液中に於けるオリーブ炭疽病菌々絲の發育と pH との関係 (30°C, 培養7日間)

殺菌前 pH	第 1 回			第 2 回			第 3 回			第 4 回			平 均			備 考 (分生孢子形成量)
	殺菌後 pH	培養後 pH	菌 絲 重 量 (mg)	殺菌後 pH	培養後 pH	菌 絲 重 量 (mg)	殺菌後 pH	培養後 pH	菌 絲 重 量 (mg)	殺菌後 pH	培養後 pH	菌 絲 重 量 (mg)	殺菌後 pH	培養後 pH	菌 絲 重 量 (mg)	
2.2	2.4	2.4	27.2	2.4	2.4	17.0	2.4	2.4	8.6	2.4	2.4	8.2	2.4	2.4	15.3	—
3.0	3.2	3.2	40.4	3.2	3.2	44.3	3.4	3.2	8.2	3.4	3.2	67.7	3.3	3.2	40.2	—
4.0	4.2	3.6	162.8	4.2	3.8	249.1	4.2	5.0	275.1	4.2	5.0	272.1	4.2	4.4	239.8	+
4.8	5.0	5.6	263.1	5.0	5.6	267.4	5.0	5.6	280.0	5.0	5.6	274.9	5.0	5.6	271.4	+
5.8	5.4	6.3	262.9	5.4	6.8	274.7	5.3	6.8	266.6	5.3	6.8	268.0	5.4	6.8	268.1	+
6.8	6.6	7.4	255.0	6.6	7.4	237.8	6.6	7.4	260.7	6.6	7.4	237.0	6.6	7.4	247.6	+++
8.2	7.8	7.4	231.4	7.8	7.6	234.0	7.4	7.6	246.8	7.4	7.6	268.2	7.6	7.6	245.1	++
9.4	8.8	7.8	221.4	8.8	7.8	159.5	8.2	7.8	243.0	8.2	7.8	218.0	8.5	7.8	210.5	++

V 考 察

2,4-D の本菌々絲に対する抑制効果は葡萄糖濃度が大体 0.07% 以上で現われ、1.0% 以上の場合に於て著しい事を本報告で明らかにした。Hessayon<sup>(14)</sup>が *Fusarium oxysporum* var. *cubense* の生育に対する 3-indoleacetic acid と 3-indoleacetonitrile の抑制効果が glucose-ammonium の豊富な培養基では見られたが、之等の乏しい培養基では高濃度でも抑制効果が見られなかつた事を述べているのが稍々此の問題に関連した菌類に就いての唯一の報告であろう。高等植物に於ては Rohrbaugh 等

(67)が隠元豆の葉を糖類を含む 2,4-D 液に浸漬すると作用伝達の手速が早くなり、その原因として 2,4-D が糖類と結合して植物体に吸収されるとした。然し Weintraub 等<sup>(68)</sup>は此の説を否定し、2,4-D と糖類との間に特別の結合はないとしている。本報告の場合に於ても葡萄糖の濃度が 2,4-D の抑制効果に影響した原因として、2,4-D が葡萄糖と結合して菌体内に入つて行くのではないかと言う事も一応考えられたのであるが、次の3点より之を明らかに否定出来よう。即若しそうであれば第1、第2表に明らかな如く、本菌菌糸は葡萄糖の濃度に比例して菌糸重量並消費葡萄糖が増加しているから 2,4-D の抑制効果も葡萄糖の濃度に応じて大となる筈であるが、事實は1.0%を境として画然として抑制効果の有無が見られるのが第1の点である。次に第4、第5表で明らかな如く 0.08% 2,4-D の抑制効果の発現には pH が 5.5 以下である事が必要であるが、葡萄糖 1.0% 以上の区では培養後の pH が 5.5 以下であるのに対し、それ以下の濃度の区ではアルカリ性で、即葡萄糖濃度が菌の代謝作用に変化を及ぼして pH を変動せしめ、その pH の変動が間接的に抑制効果に影響を与えたものと考えられるのが第2の点である。第3に第1、第2表で全く抑制効果の現われなかつた 0.3% の葡萄糖濃度区でも、pH を 5.5 に保てば明らかに抑制効果が現われる事が第5表で明示せられている事である。即本報告は 2,4-D が糖類と結合して転流すると言ふ Rohrbaugh 等<sup>(69)</sup>の説とは相反し、之を否定した Weintraub 等<sup>(68)</sup>と見解を同じくするものである。Hessayon<sup>(14)</sup>が glucose-ammonium の豊富な培養基に於ては抑制効果が見られ、その乏しい場合は殆んど抑制効果が見られなかつたのも、栄養源が直接抑制効果に影響を及ぼしたのではなく、両者の場合の菌の代謝作用に変化が起り、培養中の pH が変つた事による間接的影響が主原因ではなからうかと想像される。

尚本報告に於ては更に 2,4-D の抑制効果と pH との間には密接な関係がある事を明らかにしたが、菌類の生育に対する抑制効果と pH との関係を論じたものは未だない様である。然し高等植物に於ては 2,4-D を含む植物ホルモンが pH により作用が異り、大体 pH が低い場合作用が著しい事が明らかにされている。例えば Marmor<sup>(20)</sup>は indoleacetic acid の小麦苗に対する作用は基質の pH が 4.6 の時は 7.5 の場合よりも遙かに著しい事を報じ、Bonner<sup>(4)</sup>は *Avena* の coleoptile を用いて、又 Albaum 等<sup>(1)</sup>は *Nitella* を用いて植物ホルモンの作用が基質の pH と直接密接な関係を有する事を指摘している。然して 2,4-D の場合はその原因として pH が低いと 2,4-D の不解離分子の濃度が増し、然も 2,4-D は分子状で植物体に吸収されるからであろうと報ぜられている<sup>(17,25,26)</sup>。葉に 2,4-D を撒布した場合はその吸収が非常に早く数時間で吸収される事が知られて居り<sup>(22,41)</sup>、Kell 等<sup>(42)</sup>は 2,4-D の殺草力が他の植物ホルモン剤よりも強い事の一原因として組織への透入力に特に強い点を挙げているのである。Rice<sup>(34)</sup>は隠元豆を用いて葉に残つた 2,4-D の残量を定量する事により、又 Weintraub 等<sup>(14)</sup>は直接吸収された植物中から 2,4-D を抽出する方法により植物体内に吸収せられた 2,4-D を定量的に証明しているが、2,4-D が植物体に吸収される量が微量な為之を量的に定量する事は従来非常に困難視されていた。然し最近 radioactive の元素を含んだ植物ホルモンを使用して吸収、移動が確証せられるに至り<sup>(41,43)</sup>特に Gallup 等<sup>(41)</sup>は之の方法で単子葉植物は双子葉植物よりも 2,4-D の吸収がおそい事を実証し、此の面より殺草作用の選択性を説明せんと試みている。若し 2,4-D の作用が此の様に植物体に吸収せられた量の問題であるとするならば pH により 2,4-D の解離に影響を及ぼし、不解離分子のみが植物体に吸収されるとした前述の諸報告<sup>(17,25,26)</sup>は一応納得が行く様に考えられる。Overbeek 等<sup>(32)</sup>も之の説を支持し、植物ホルモンの作用を比較する為には不解離分子を基礎とした濃度で比較すべきで、之を基礎として比較すれば 2,4-D は他の植物ホルモンより遙に作用が著しい事を述べている。Overbeek<sup>(31)</sup>は phototropism の機構の説明に、光があつた処の細胞膜内の酸度が増すのではないかと云う事を暗示しているが、若しこれが事實とすれば光の当つた場所の植物ホルモンの作用が高められる事も当然考えられ、phototropism の機構解明に極めて

興味ある一解釈を与えるものと言えよう。本報告に於ても本菌の菌糸発育に及ぼす抑制効果が酸性側に於て著しかつた事並に抑制効果を示す 2,4-D 濃度の範囲が pH により著しく変つて行く事を明らかにしたが、之等の結果は上述の pH が 2,4-D の解離に影響し不離分子のみが吸収されると言う説が菌類の場合にも適用し得るのではないかと言う事を証している様に考えられる。

## Ⅵ 摘 要

(1) オリーブ炭疽病菌 (*Gloeosporium Olivarum* ALMEIDA) 菌糸の発育に及ぼす 2,4-D の抑制効果と葡萄糖濃度並 pH との関係に就き実験した。

(2) 2,4-D の 0.08% 添加ペプトン加用合成培養液に於ける本菌々糸の生育は大体葡萄糖が 0.7% 以上含まれている場合のみ抑制効果が現われ、1.0% 以上の濃度に於て著しい。然して 1.0% 以上の葡萄糖濃度では培養後の培養液が酸性となるに対し、それ以下の葡萄糖濃度ではアルカリ性にして、此の pH の相異が抑制効果に影響したのであつて、葡萄糖濃度が直接抑制効果を左右したものではない。

(3) 2,4-D の 0.08% 添加ペプトン加用合成培養液に於ける抑制効果と pH とは密接な関係にあり、pH 約 5.5 以下に於て抑制効果が現われる。然して此の場合抑制効果発現には培養開始より 4 日間以上 pH が 5.5 以下に保たれる事が必要である。

(4) 2,4-D が抑制効果を示す濃度の範囲並抑制効果の程度は pH が低い程大である。

(5) 2,4-D の抑制効果に pH が大いに関係するのは pH が低い程 2,4-D の不離分子が増し、然して不離分子のみが菌体内へ吸収される為であろう。

## 引用文献

- ALBAUM, H. G., S. KAISER, and H. A. NESTLER : The relation of hydrogen-ion concentration to the penetration of 3-indoleacetic acid into *Nitella* cells. Amer. Jour. Bot. vol. 24, p. 513-518, 1937.
- BERDUCOU, J. : Différence de sensibilité de *Nectria galligena* et de *Nectria cinnabarina* à l'action de l'acide indol- $\beta$ -acétique. C. R. Acad. Sci., Paris, 231, 5, p. 367-369, 1950 [in Rev. Appl. Myc., vol. 30, no. 3, p. 166, 1951]
- BEVER, W. M., and F. W. SLIFE : Effect of 2,4-D in culture medium on the growth of three pathogenic fungi. Phytopath. vol. 38, no. 12, p. 1037-1038, 1948.
- BONNER, J. : The relation of hydrogen ions to the growth rate of *Avena* coleoptiles. Protoplasma 21, p. 406-423, 1934.
- CHOWDHARRY, H. P. and M. KAMAL : Effect of  $\beta$ -indol-3-acetic acid, phenoxyacetic acid and  $\beta$ -naphthoxyacetic acid on growth of *Alternaria tenuis*. Current Sci. vol. 19, no. 8, p. 247-248, 1950.
- CROWDY, S. H. : A progress report on the effect of certain organic acids on the growth of *Nectria galligena*. Ann. Rep. Agr. Hort. Res. Sta. Bristol, p. 158-163, 1947.
- CROWDY, S. H. and R. L. Wain : Aryloxyaliphatic acids as systemic fungicides. Nature, 165, 937, 1950. [in Biol. Abst. vol. 26, no. 2, 24757, 1952]
- CROWDY, S. H. and R. L. Wain : Studies on systemic fungicides. 1. Fungicidal properties of the aryloxyalkylcarboxylic acids. Ann. App. Biol. vol. 38, no. 2, p. 318-333, 1951.
- DEFAGO, G. : Effects de L'aneurine, de ses composants et de l'hétéro-auxine sur la croissance de trois Parasites du blé. Phytopath. Zeitschr. vol. 13, no. 3, p. 293-315, 1941. [in Biol. Abst. vol. 23, no. 7, 22320, 1949.]
- 遠藤茂, 森本泰二 : 2,4-D の稲熱病並に稲胡麻葉枯病菌の孢子発芽に及ぼす影響 (予報) (講演要旨), 植. 病. 報 15 卷, 2 号, 100 頁, 1951.
- GALLUP, A. H. and GUSTAFSON F. G. : Absorption and translocation of radioactive 2,4-dichloro-5-iodo-13I

- phenoxyacetic acid by green plants. *Plant Physiol.* vol. 27, p. 603—612, 1952.
12. GARBER, R. H., L. A. SCHAAL, and J. L. FULTS : The selective action of pentachlorophenoxyacetic acid against *Streptomyces scabies* (THAXT.) WAKSMAN & HENRICI in culture media. *Phytopath.* vol. 41, no. 11, p. 991, 1951.
13. GUISCAFRE-ARRILLAGA, J. : Inhibitory action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on *Penicillium digitatum* and *Phomopsis citri*. (Abstr.) *Phytopath.* vol. 39, p. 8—9, 1949.
14. HESSAYON, D. G. : Effect of auxins on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum* var. *cubense*. *Nature*, Lond., 169, 4306, p. 803—804, 1952. [in *Rev. Appl. Myc.*, vol. 31, no. 8, p. 396, 1952.]
15. HSIA, Y. T. & CHRISTENSEN J. J. : Effect of 2,4-D on seedling blight of wheat caused by *Helminthosporium sativum*. *Phytopath.* vol. 41, no. 11, p. 1011, 1951.
16. IBRAHIM, I. A. : Effect of 2,4-D on stem rust development in oats. *Phytopath.* vol. 41, no. 11, p. 951, 1951.
17. KELLY, S. and G. S. AVERY, JR. : The age of pea tissue and other factors influencing the respiratory response to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and dinitro compounds. *Amer. Jour. Bot.*, vol. 38, no. 1, p. 1—5, 1951.
18. LEWIS, R. W., and C. L. HAMMER : The effect of 2,4-D on some micro-organisms. *Agr. Bul. Mitch. State Col.* 29, p. 112—114, 1946.
19. MANIL, P. and Z. STRASZEWSKA : Action de l'acide dichlorophénoxyacétique (2,4-D) sur les moisissures. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 144(3/4), 313-315, 1950 [in *Biol. Abst.* vol. 25, 10, 32090, 1951.]
20. MARMER, D. R. : Growth of wheat seedlings in solutions containing chemical growth substances. *Amer. Jour. Bot.* 24, p. 139-145, 1937.
21. MICHAELSON, M. E., L. A. SCHAAL and J. F. FULTS : Some effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, its salts and esters on several physiologic strains of the potato scab organism *Actinomyces scabies* (THAXI.) GUSS. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 13, 267—270, 1948. [in *Biol. Abst.* vol. 24, no. 6, 16793, 1950.]
22. MITCHELL, J. W. and BROWN, J. W. : Movement of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid stimulus and its relation to the translocation of organic food materials in plants. *Bot. Gaz.*, vol. 107, p. 393—407, 1946.
23. MITCHELL, J. E., BURRIS, R. H., and Riker, A. J. : Inhibition of respiration in plant tissues by callus stimulating substances and related chemicals. *Amer. Jour. Bot.*, vol. 36, p. 368—378, 1949.
24. MITCHELL, J. W. and LINDER, P. J. : Absorption and translocation of radioactive 2,4-DI by bean plants as affected by cosolvents and surface agents. *Science* vol. 112, p. 54—55, 1950.
25. 内藤中人, 谷利一 : 植物ホルモンがオリーブ炭疽病菌分生胞子の発芽に及ぼす影響について, 香川農科大学々術報告第2巻, 第1号, 27—30頁, 昭和25年.
26. 内藤中人, 谷利一 : 銹病菌夏胞子の発芽に及ぼす植物ホルモンの影響について, 香川農科大学々術報告第2巻, 第3号167—177頁, 昭和26年.
27. 内藤中人, 谷利一 : オリーブ炭疽病菌々絲の伸長に及ぼす2,4-Dの影響について, 香川農科大学々術報告, 第3巻, 第2号, 80—90頁, 昭和26年.
28. 内藤中人, 谷利一 : 諸種植物病原菌々絲の伸長並分生胞子及菌核形成に及ぼす2,4-D濃度の影響(其一), 香川農科大学々術報告, 第3巻, 第3号, 119—125頁, 昭和27年.
29. 内藤中人, 谷利一 : 諸種植物病原菌々絲の伸長並分生胞子及菌核形成に及ぼす2,4-D濃度の影響(其二), 香川農科大学々術報告, 第4巻, 第1号, 50—55頁, 昭和27年.
30. 中西佐七郎 : 2,4-Dの工業的製造法, 化学工業, 第1巻, 第6号, 昭和25年.
31. OVERBEEK, J. V. : Phototropism. *Bot. Rev.*, vol. 5, p. 655—681, 1939.
32. OVERBEEK, J. V., R. BLONDEAU and HORNE, V. : Difference in activity between 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and other auxins, and its significance in herbicidal action. *Plant Physiol.*, vol. 26, no. 4, p. 687—696, 1951.

33. PETURSON, B. : Effect of growth-promoting substances on the germination of urediospores of crown rust. *Phytopath.* vol. 41, no. 11, p. 1039, 1951.
34. RICE, E. L. : Absorption and translocation of ammonium 2,4-dichlorophenoxyacetate by bean plants. *Bot. Gaz.*, vol. 109, p. 301-314, 1948.
35. RENE, J. D. : *Proc., Soc. Exptl. Biol. Med.* 63, p. 317-319, 1946 [in *Chem. Abstr.*, vol. 41, no. 5, p. 1275, 1947.]
36. RICHARDS, R. : Responses of representative fungi to certain growth-regulating substances. *Bot. Gaz.*, vol. 110, no. 4 p. 523-550, 1949.
37. RÖHRBAUGH, L. M. and E. L. RICE : Effect of application of sugar on the translocation of sodium 2,4-dichlorophenoxyacetate by bean plants in the dark. *Bot. Gaz.* : vol. 111, p. 85-89, 1949.
38. STENLID, G. : The effect of 2,4-dinitrophenol upon oxygen consumption and glucose uptake in young wheat roots. *Physiologia Plantarum* 2, p. 350-371, 1949.
39. STEVENSON, E. C., and J. W. MITCHELL : Bacteriostatic and bactericidal properties of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Science*, vol. 101, p. 642-664, 1945.
40. 照井陸奥生 : 2,4-Dの稲苗腐敗病に対する発育阻止に就いて (昭和26年度日本植物病理学会講演要旨). *植病報* 16巻, 2号, 85頁, 1952.
41. WEAVER, R. J. and DE ROSE, H. R. : Absorption and translocation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Bot. Gaz.* vol. 107, p. 509-521, 1946.
42. WEAVER, R. J. : Some uses of activated carbon in contratoxification of plant growth-regulators. *Bot. Gaz.*, vol. 110, p. 300-312, 1948.
43. WEINTRAUB, R. L. and BROWN, J. W. : Translocation of exogenous growth-regulators in the bean seedling. *Plant Physiology*, vol. 25, p. 140-149, 1950.
44. WEINTRAUB, R. L., BROWN, J. W., and YEATMAN, J. N. : Recovery of growth regulator from plants treated with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Science*, vol. 111, p. 493-494, 1950.
45. WORTH, W. A., JR., and ANNE M. MC CABE : Different effects of 2,4-D on aerobic, anaerobic, and facultative anaerobic microorganisms. *Science*, vol. 108, p. 16-18, 1948.
46. 化学実験学 (天然物取扱法) III : 175頁河出書房.

## R é s u m é

1. This paper deals with the writers' investigations on the relation of glucose concentration as well as pH value of the culture media to the retarding effect of 2,4-D to the mycelial growth of *Gloeosporium Olivarum* ALM. causing the olive anthracnose.

2. The relation of glucose concentration to the retarding effect of 0.08% 2,4-D was studied by growing the mycelium for 6 days at 25°C in the peptone synthetic liquid media containing various concentrations from 0 to 15%. The retarding effect occurred in the concentrations above about 0.7% of glucose, resulting in a marked effect above 1%. The media containing the above 1% glucose concentration became acidic after culture, on the contrary below this concentration alkaline. This difference in acidity during culture is the primary factor of the influence of glucose upon the retarding effect of 2,4-D.

3. The relation of pH value to the retarding effect of 2,4-D was studied by growing the mycelium in the peptone synthetic liquid media of different hydrogen-ion concentrations which were prepared using caustic soda and hydrochloric acid. The retarding effect was observed below the pH 5.5; moreover the lower the pH value, the greater the retarding effect as well as the pH range, in which the retarding effect occurred.

4. The effect of hydrogen-ion concentration on the retarding effect of 2,4-D is not through the direct influence of hydrogen-ion concentration on the growth of the mycelium because it was almost the same between pH 4.0-8.0. It is probably due to the effect of pH on the dissociation of 2,4-D.