

Phytophthora capsici LEONIAN 菌の寄主体侵入*

桂 琦 一**・宮 崎 静 七***

K. KATSURA and S. MIYAZAKI: Leaf penetration by
Phytophthora capsici LEONIAN

摘 要 *Phytophthora capsici* LEON. の游走子嚢は、間接および直接の二型の発芽をおこなうが、その発芽せる二型がそれぞれ寄主体侵入において如何なる態度を示すかということについて実験をおこなった。すなわちトウガラシの葉上に接種した本菌の游走子の運動、被嚢位置、附着器あるいは小游走子嚢による寄主体侵入などについて観察をおこなった。

トウガラシ葉上の水滴中における游走子は、一定方向の運動を示さなかつたが、被嚢する位置は多くのものが表皮細胞縫合線附近であり、次いで気孔上であつた。

被嚢胞子が寄主体に侵入する方法には三つの場合が観察せられた。すなわち被嚢胞子の発芽管で直接侵入するもの、附着器を生じその侵入糸によるもの、被嚢

胞子の発芽管の先端に生じた小游走子嚢の発芽管によるものである。寄主体侵入の殆んどは角皮侵入であるが、ときには気孔侵入が観察された。

間接発芽後30分ぐらいで被嚢胞子の発芽管があらわれ、1時間後に附着器の形成がみられる。

游走子を接種した後、1.5時間で寄主体侵入が開始されるが、4時間で侵入がほぼ完了する。トウガラシ葉上の病斑は、接種後10時間で僅かに現われるが、14時間で明瞭になる。

游走子嚢の直接発芽によつて生じた発芽管は、ただ一例のみが気孔侵入をしたのを認めた他は、すべて寄主体侵入に関与しないものようである。そしてその発芽管の先端には、しばしば第二次游走子嚢を形成するのが認められた。

I 緒 言

植物病原菌類の寄主体侵入の機構については既多くの研究があり、*Phytophthora* 属菌では主として馬鈴薯およびトマトを侵す *P. infestans* について観察された。CROSER¹⁾ や RÖDER¹¹⁾ は *P. infestans* の被嚢胞子の発芽管は直接に寄主の表皮細胞膜を貫通するとしたが、堀²⁾ は同じく *P. infestans* を用いて観察した結果、寄主体侵入は主として角皮侵入で、表皮細胞の縫合線附近から侵入するものが多いとし、また侵入に際しては被嚢胞子から生じた発芽管の先に膨みを生じ、その下に侵入糸を生じて侵入がおこるとした。最近 PRISTOU および GALLEGLY¹⁰⁾ は、同じく *P. infestans* を用いて寄主体侵入について観察し、馬鈴薯の感受性であるとないとを問わず、被嚢胞子の発芽管の先端に生じた附着器をもつて侵入がおこなわれることを述べ、又、游走子嚢の直接発芽による発芽管は侵入に関与していないとした。なお *P. infestans* の寄主体侵入における寄主の抵抗性の機作については、

MÜLLER⁹⁾, MÜLLER および BEHR⁹⁾, 富山¹³⁾, 山本¹⁴⁾ などの研究がある。

しかし *Phytophthora capsici* による寄主体侵入については、SIMOND および KREUTZER¹²⁾ がトマトについて観察したのがあり、被嚢胞子の発芽管の先端に附着器を形成し、それから侵入糸を出して2~3時間で、果実表皮を貫通したことを報告した。これに対し游走子嚢の直接発芽による場合の寄主体侵入については観察していない。

筆者等は *P. capsici* のトウガラシ葉（品種小獅子）に対する侵入について観察中、游走子嚢の間接発芽後の被嚢胞子による寄主体侵入の場合には三つの方法があることを知ることが出来たが、更に游走子嚢の直接発芽せるものの寄主体侵入についても実験をおこなったので、ここにそれらを纏めて報告することにした。

なお本文を草するに当り種々御教示を戴いた本学友部卓爾教授および京大赤井重恭教授に対し、深甚の謝意を表す。

* 京都府立大学農学部植物病理学研究室業績第52号

** 京都府立大学農学部植物病理学研究室

*** 日本植物防疫協会農業研究所

II 間接発芽における場合の寄主体侵入

游走子嚢が間接発芽をおこなった後に、游走子が寄主体侵入に如何なる行動を示すかを追跡するために、次のような2, 3の実験をおこなった。

1. 葉上の水滴中における游走子の運動

トウガラシの葉面に蒸留水を点滴し、これにナス果実に本菌を接種し形成せしめた游走子嚢⁹⁾を掻取つて懸濁したが、葉は剥皮したものと剥皮しないものとの両者についておこない、間接発芽後の游走子の運動を観察した。

游走子はトウガラシ葉面上を活潑に運動したが、その運動に一定の方向が観察されなかつた。この点は、*P. infestans* で堀⁹⁾も観察しているが、岩田⁴⁾が *Pseudoperonospora cubensis* で観察した游走子は、表皮細胞縫合部をたどつて特殊な行動をするとしている。しかし筆者ら⁹⁾の菌の游走子はやがて運動が緩慢になると、次第に葉面に下降し、表皮面に接触して運動するようになり、間もなく微動状態になる。これまでの運動は、葉の表皮を剥皮したものと剥皮しないものとの何れにおいても同様であつて、差異が認められなかつた。

游走子が微動状態になり、やがて運動を中止して被嚢胞子となるが、この頃には多くのものが細胞縫合部附近に集るようである。

第1表 トウガラシの葉面における游走子の被嚢せる位置 (実験9回反復)

被嚢胞子調査数	細胞縫合部に被嚢せる胞子数の百分率範囲	気孔上に被嚢せる胞子数の百分率範囲	その他細胞上に被嚢せる胞子数の百分率範囲
平均	%	%	%
223	56.0~75.1	12.1~40.5	3.0~17.9

2. 游走子が静止しかつ被嚢する位置

予め 20°C, 1時間, 蒸留水中で游走子嚢を発芽せしめ、游走子をスポイトでとり、トウガラシの葉上に移して接種したのち、28~29°C の室温に移して4時間静置し、接種部の水滴を吸収紙で静かに吸取り、卵白グリセリンで展着し、ゲンチアン紫1%水溶液で1分間染色後、水道水で洗い、そのままあるいは表皮を剥ぎとつて鏡検した。

第1表に示した鏡検の結果によると、游走子が被嚢する位置は細胞縫合部における場合が最も多い。

3. 寄主体侵入における被嚢胞子の発芽管とその侵入態度

被嚢胞子の発芽管が、寄主体侵入に当つて示す態度を、トウガラシ葉上に接種した游走子について、6時間経過後固定してゲンチアン紫1%液で1分間染色、水道水で余分の染色液を静かに洗い去つた後、表皮を剥ぎとるかあるいはそのまま観察した(第1図)。

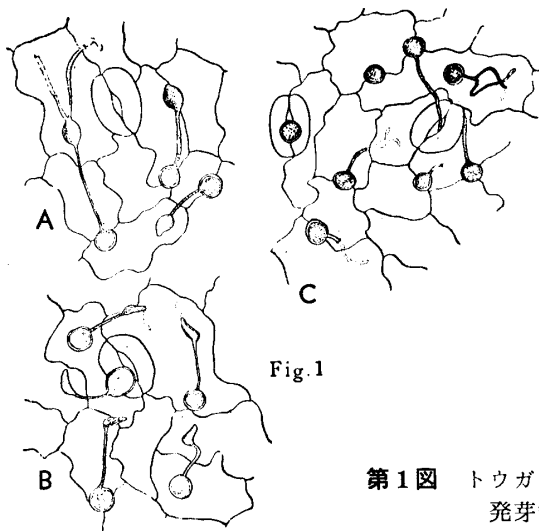


Fig. 1

第1図 トウガラシの葉に対する被嚢胞子の発芽管とその侵入態度

Fig. 1 接種2時間後における侵入状態

- A……小游走子嚢を形成しその発芽管で侵入
- B……附着器を形成し侵入
- C……被嚢胞子の発芽管による直接侵入

Fig. 2 表皮細胞に侵入する状態

- A・B……接種2時間後
- C・D・E……接種6時間後
- A・C・D……直接侵入
- B・E……附着器による侵入

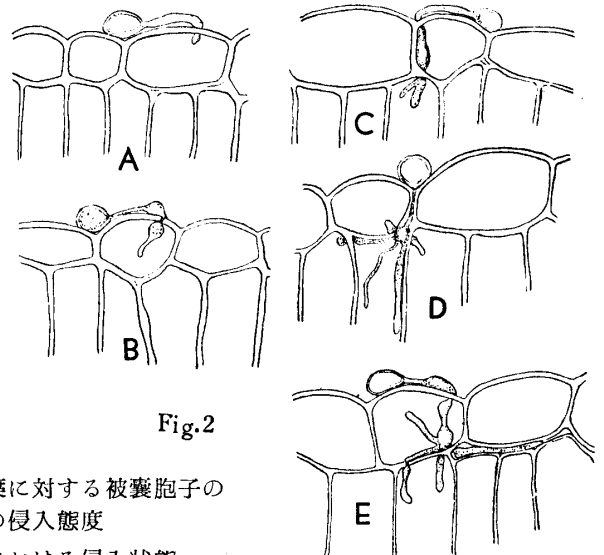


Fig. 2

この観察の結果によると、被囊胞子の発芽管が寄主体に侵入する態度に三つの方法がある。

- (i) 被囊胞子の発芽管の先端に形成される小游走子嚢から生じた発芽管によつて侵入する(第1図・Fig. 1, A).
- (ii) 被囊胞子の発芽管によつて直接侵入するもの(第1図・Fig. 1, C).
- (iii) 被囊胞子の発芽管の先端に形成する附着器から生じた侵入糸によつて侵入するもの(第1図・Fig. 1, B).

(i) の場合の小游走子嚢の大きさは平均 $8.2\sim 6.7\mu$ であつて、その発芽には直接と間接の両者がある⁹⁾。しかし多くの場合 Diplanetism を示し、いわゆる再出游走子を生ずるが、しばしば直接発芽して発芽管を生じ、その発芽管で侵入するものがある。ただしこの発芽管の一部のものは、本実験の範囲では表皮上を伸長して寄主体に侵入するに至らないものがある。(i) の場合は非常に少かつた。

(ii) の場合はやや多い。被囊胞子の発芽管は発芽間もなく寄主体に侵入するから、この発芽管の長さは比較的短い。なお発芽管が表皮細胞膜を貫通する場合には、貫通部の前後において少しく膨らみを生じ、また貫通部では著しくくびれを生ずる。

(iii) の場合の附着器の大きさは平均 $5.2\times 2.4\mu$ でほぼ梨形を呈するが、その先端部附近から侵入糸を生じて表皮を貫通する。

以上の三つの侵入方法のうちで、附着器を形成する(iii) の場合と発芽管で直接侵入する(ii) の場合が、最も普通に見られる。

4. 寄主体侵入の部位

次に上記被囊胞子の発芽管三型が寄主体に侵入する部位について実験し観察をおこなつた。実験方法は前述した場合と同様である。

第2表に示した結果によると、寄主体侵入の部位としては、細胞縫合部が最も多く38.8%、一般角皮侵入がそれに次ぎ17.3%、気孔侵入が14.5%となつている。要するに間接発芽後の寄主体侵入は、細胞縫合部において最も多いものと見てよい。

第2表 寄主体侵入の部位に関する調査結果百分率
(3回実験平均)

調査せる被囊胞子数(平均)	気孔部侵入	角皮侵入			不発芽及び侵入不能
		細胞縫合部	一般角皮部	その他侵入	
671	14.5%	38.8%	17.3%	7.6%	21.8%

(註) 表中のその他侵入とあるは、細胞縫合部か一般角皮部が明確でないもの。

5. 寄主体侵入の経時的推移

游走子嚢を発芽せしめて得た游走子の懸濁液をトウガラシの葉に接種した後、寄主体侵入の経時的推移を観察した。接種後、2, 4, 6, 8時間後にそれぞれ固定し、接種部位を切取つて、常法によつてパラフィン連続切片を作つた。染色法は鑄方⁹⁾にしたがつてエオシンおよびゲンチアン紫の二重染色をおこなつた。なお一部は徒手切片法にもよつて観察した(第1図, Fig. 2)。すなわち2時間後では、わずかに表皮細胞を貫通し、発芽管直接侵入のものも、附着器から侵入糸を生ずるものも、共に表皮細胞膜を貫通してわずかに細胞内に侵入している程度であつた。発芽管によつて細胞膜を貫通する場合の菌糸は顕著なくびれを生じていた。その後、時間の経過とともに菌糸は伸長したが、6時間後においては菌糸は細胞原形質内あるいは細胞間隙を伸長して、第1図 Fig. 2, C・D・E にみるように膨みを生じ、その膨みから放射状に菌糸を生じている。この菌糸は表皮下や柵状組織へ自由に伸長しているが、細胞間隙を進むものが非常に多い。

寄主体侵入後、6~8時間を経た被囊胞子は、原形質内容が寄主体内に侵入した菌糸内へ移動し去るため殆んど空虚になつていた。また徒手切片としたものをゲンチアン紫で染色した場合、貫通点附近の細胞膜はよく染色せられた。

6. 游走子嚢間接発芽後の各現象の開始とその時間

トウガラシ葉上の水滴中で游走子嚢が間接発芽した後、被囊胞子の発芽、附着器の形成、寄主体侵入、肉眼的病徴の発現などの各現象が、どのくらいの時間を経過したときに観察されるか、その現象開始までの時間について調査した。

第3表に示した調査結果によると、接種後被囊胞子の発芽は約30分で始り、その発芽管の先端に附着器を形成するのは約1時間後である。しかして発芽管によ

第3表 游走子嚢間接発芽後の各現象の開始とその時間

調査事項経過時間(時)	被囊胞子発芽	附着器形成	寄主体侵入	病徴発現
0.5	±	—	—	—
1.0	+	+	—	—
1.5	+	+	±	—
2.0	+	+	+	—
4.0	+	+	+	—
8.0	+	+	+	—
10.0	+	+	+	±
14.0	+	+	+	+

(註) 実験中の気温は $27.5^{\circ}\sim 28.5^{\circ}\text{C}$ 。

つて直接寄主体侵入する場合はやや早い、附着器からの侵入糸の侵入と共にほぼ1時間30分後に始まるようである。しかし確実に侵入が認められるのは2時間後である。さらに病徴が肉眼的に認められるのは、接種後10時間以上であり、14時間後にはトウガラシの葉に水浸状暗緑色の病変が明瞭にあらわれた。

以上の観察で明らかなように、本菌の寄主体侵入は間接発芽による游走子で短時間内におこなわれることが判る。このことは本病の防除上非常に重要な点であり、降雨が始つてから数時間後には、既に寄主体侵入が完了するものとみなしてよく、薬剤散布は降雨前におこなわれなければ効果がない。

7. 游走子懸濁液の葉上存在時間と発病との関係

活潑に運動している游走子の懸濁液をトウガラシ葉上に点滴接種し、湿室に2, 4, 6時間を保つた後取出し、すみやかに水滴を乾かして、その後室温(26~29°C)に放置し、接種後それぞれ12時間後に病徴を調査した。

第4表に示した調査結果によると、トウガラシ葉上に2時間水滴が乾かないである場合には、全実験例中わずかに1例だけが軽微な発病を示したのに対し、4時間水滴が乾かない場合には、3回の実験において50~66.7%の発病率を示し、6時間水滴が乾かない場合には83.3~100%の発病率を示し、病状の進行も著しかった。

要するに、間接発芽によるトウガラシの游走子感染は、水滴が4時間乾かない場合には、かなり著しく発病する。この実験結果と第3表のそれとを併せて考察すると、2時間後には漸く表皮細胞を貫通する程度であるから、この程度に侵入した際乾かすことは、菌にとつてなお致命的であるものようである。

直接発芽における場合の寄主体侵入

游走子囊の直接発芽によつて生じた発芽管が、寄主

第4表 游走子懸濁液の葉上存在時間と発病との関係

実験別	水滴存在時間	接種葉数	発病葉数	発病率(%)	発病程度
I	2	6	1	16.7	±
	4	"	4	66.7	±~+
	6	"	6	100.0	+++
II	2	"	0	0	-
	4	"	4	66.7	±~+
	6	"	5	83.3	++
III	2	"	0	0	-
	4	"	3	50.0	+
	6	"	5	83.3	+++

(註) 発病は接種14時間後に調査。

体侵入をするかどうかを観察するため、トウガラシ葉上に游走子囊の懸濁液を点滴接種して、擦合せ肉池の湿室内に保ち、出来るだけ直接発芽せしめるように30°Cの定温器に納めた。その後一定時間毎に取出して、最長14時間後まで観察した。なお鏡検に当つては、表面観察あるいは徒手切片にして、ゲンチアン紫あるいはエオシンで染色して観察した。

観察の結果、直接発芽による発芽管は殆んどすべて寄主体に侵入することなく、葉面上を伸長彷徨し、あるものは第二次游走子囊を形成した。したがつて直接発芽したものは、間接発芽と異り、寄主体に直接侵入することは出来ないものようである。数回の実験のうちただ一例のみ気孔から内部に侵入したものを認めた。

PRISTOU および GALLEGLY¹⁰⁾によれば、*Phytophthora infestans* は直接発芽によつて寄主体侵入をおこなわないが、筆者らの供試菌 *P. capsici* もまた直接発芽による直接の寄主体侵入はおこなわれぬものと思う。しかしただ一例気孔侵入を認めたから、極めて稀に気孔侵入がおこるものと思われる。

IV 考 察

上述のごとく *Phytophthora capsici* の寄主体侵入には、間接発芽による游走子が感染に関与するが、直接発芽による発芽管は直接感染には殆んど関与しない。

游走子囊が間接発芽して、游走子を生じ、被囊後寄主体侵入する態度に三つの場合がある。堀²⁾は、PRISTOU および GALLEGLY¹⁰⁾と同様に、*P. infestans* の寄主体侵入の場合、附着器をつくつて侵入することを挙げているが、被囊胞子の発芽管による直接侵入と、この発芽管に生ずる小游走子囊の発芽管による侵入については、観察していないようである。しかし、被囊胞子の発芽管による直接侵入と、その発芽管の先端に生ずる附着器による侵入とは共に、*P. capsici* では最も普通にみられる侵入法である。

P. capsici における游走子の被囊位置は、細胞縫合線附近が最も多い。このことは細胞縫合線の部分が少し低くなつていから、游走子が最後に微動状態になり、ついに運動を停止する場合に、その部分に集りやすい。いわゆる物理的な理由が観察されるが、被囊胞子の発芽後の侵入部位もまた、細胞縫合線上に最も多いことは、必ずしも物理的な理由だけでは説明出来ないことを示している。

寄主体侵入は接種後約1時間半で始まるが、多くのものは約2時間後に認められる。したがつて葉面上の水滴を接種2時間後に乾かした場合には発病が認められ

ないから、この場合侵入が完了しなかつたことを証明するものである。しかして葉面上の水滴が接種後4時間乾かなかつた場合には、過半数が侵入を完了して病徴があらわれた。多くの疫病菌と同様に、*P. capsici* もまた寄主体侵入はかなり早い。

直接発芽の発芽管による寄主体侵入は、僅かに一例の気孔侵入を認めたのみであつて、多くの場合他の侵入が認められない。したがつて *P. capsici* では直接発芽の発芽管による寄主体侵入は通常おこなわれぬが、稀に気孔侵入をするものがあると見做すのがよいようである。しかし、直接発芽の発芽管の先端に第二次游走子嚢を生じて、それが再び二型の発芽方法を取り、その間接発芽によつて生じた游走子が寄主体侵入することは、第一次のそれと同様である。PRISTOU および GALLEGLY¹⁰⁾ は、*P. infestans* においても直接発芽による寄主体侵入がおこなわれぬとしている。おそらく *Phytophthora* 菌においては游走子嚢の直接発芽による発芽管は、通常寄主体侵入に直接関与しないものと思われ、第二次以下の游走子嚢を形成して、その間接発芽によつて生じた游走子が寄主体侵入をおこなうものとみられる。

Summary

This is a report on the investigation on the penetration of pepper leaf by *Phytophthora capsici* LEON. The investigation showed that before penetration takes place, the zoospores encyst, germinate and produce appressoria or miniature sporangia.

There was no definite movement of motile zoospores in a drop of water present on the surface of the pepper leaflet. A large number of zoospores encysted on the line connecting the epidermal cells and on the stomata.

Penetration of epidermal cell wall by zoospores (cystospores) was observed to be effected by the following three methods: 1. directly with the germ tube, 2. with a minute infection peg of the underside of appressorium, and 3. with the germ tube of the miniature sporangia.

- ### 引用文献
- 1) CROSIER, W. (1934): Cornell Agr. Exp. Sta. Memoir, 155.
 - 2) 堀 正侃 (1935): 日植病報, 5, 10~21.
 - 3) 鑄方末彦 (1932): 病虫雑, 19, 809~814.
 - 4) 岩田吉人 (1943): 日植病報, 13, 27~30.
 - 5) 桂 琦一 (1959): 関西病虫害研報, 2, 30~34.
 - 6) 桂 琦一・土倉亮一 (1955): 朽内・福士両教授還暦論集, 167~172.
 - 7) 桂 琦一・原田賢之・村上道夫 (1956): 日植病報, 21, 71~73.
 - 8) MÜLLER, K. O. (1953): Nature, 166, 392--395.
 - 9) MÜLLER, K. O. und L. BEHR (1949): Nature, 163, 498~499.
 - 10) PRISTOU, R. and M. E. GALLEGLY (1954): Phytopath. 44, 81~86.
 - 11) RÖDER, K. (1935): Phytopath. Zeitsch. 8, 589~614.
 - 12) SIMOND, A. O. and W. A. KREUTZER (1944): Phytopath. 34, 813~817.
 - 13) 富山宏平 (1954): 日植病報, 19, 149~154.
 - 14) 山本昌木 (1957): 鳥根農大研報, 5, 24~29.

In majority of cases penetration occurred through the epidermal cell, but occasionally it took place through stomata.

Following the indirect germination of zoosporangium, germ tube of cystospore appeared in about 30 minutes and the appressorium in about 1 hours.

After inoculating with the motile zoospores on the pepper leaflet, the penetration began in about 2 hours and completed in 4 hours.

Typical lesion on the pepper leaflet developed after 14 hours from inoculation.

Though the long germ tubes were abundant on the leaf surface, there was no penetration by direct germination. There was however, in one instance, a stomatal penetration was observed. Some of the long germ tubes formed secondary sporangia.