

Phytophthora porri FOISTER の厚膜孢子形成*

桂 琦 一・前田正太郎

KIICHI KATSURA and SHOTARO MAEDA: Chlamydospore formation of *Phytophthora porri* FOISTER.

要旨：本論文はユリ科植物の白色疫病を原因する *Phytophthora porri* FOISTER の厚膜孢子的形成について述べたものである。供試菌はチューリップ、ラッキョウ、タマネギの白色疫病罹病株からそれぞれ分離したものである。本病菌は各種培地上で菌糸に膨み (Swelling) を形成しやすいが、厚膜孢子的形成は非常に少なく、しかも形成にやや時日を要すること、膨みと厚膜孢子との区別がやや困難であるために観察しにくい。球形で菌糸に間生ししばしば連生するものがあり、また頂生する。好適な環境状態の下で任意の部位から発芽管を出す。大きさは平均 20.8μ ないし平均 30.0μ の直径を有し、環境要因による大きさの変異が大きい。PDA 培地の葉叢上に水を注ぎ、浸水状態にするとともに、培養温度を 20°C から以下の低い温度に変温すると、厚膜孢子的形成が良好である。液体培養した葉叢を水培養に移したものは、厚膜孢子的形成があまり良好でなく、形成にかなり時間がかかる。また厚膜孢子的形成は、液体培地よりも固体培地の方がよい。

Phytophthora porri は、1931年 Foister²⁾ が初めてスコットランド地方のリーキ (*Allium porrum* L.) に発生した先枯れ病の病菌を新種として、学名を付したものであるが、同報告中には厚膜孢子的形成について記していない。その後イングランド地方のタマネギを同病菌が侵すことを Hickman³⁾ が記しているが、厚膜孢子的形成については触れていない。本病菌がわが国で初めて確認されたのは桂・伊阪・宮越⁴⁾ によるラッキョウの白色疫病であるが、同報告中でも厚膜孢子的形成については触れていない。しかしそれより先に横山、吉田⁷⁾ が記載したタマネギの疫病は、横山・吉田・桂⁸⁾ によって *P. porri* とされたが、両報告の中には厚膜孢子的形成について指摘している。

本病菌は、菌糸に膨み (swelling) をよく形成し、通常の培地上での厚膜孢子的形成が少ないために、区別がしにくい場合も少なくないが、Blackwell¹⁾ の定義にしたがうと、明らかに厚膜孢子であることが確認されるので、ここにその形成について行なった2, 3の実験結果を述べて、*P. porri* に厚膜孢子が形成されることを報告したいと思う。

I. 実験材料

供試した *Phytophthora porri* は、当研究室で同定した次の3つの菌株である。

P-チ……京都府久美浜町のチューリップ白色疫病の罹病根から分離した菌株⁴⁾

P-ラ……福井農試が富山県産ラッキョウの罹病鱗茎から分離し、当研究室に譲渡された菌株⁵⁾

P-タ……本学付属農場のタマネギ葉の先枯れから分離した菌株

なお供試培地は、いずれも常法によって調製したが、その固体培地には1ℓ当たり寒天20gを用いた。

II. PDA培地上における厚膜孢子的形成

PDA を用い培地上における厚膜孢子的形態的性質、形成に及ぼす温度、変温と水浸処理などについて実験を行なった。

1. PDA培地上における厚膜孢子的形成

本病菌はPDA培地上 20°C 付近でよく発育するし、菌糸に膨みを形成して厚膜孢子との区別がやや困難である。しかし、Blackwell¹⁾ にしたがって精査するならば、供試3菌株とも7日後わずかに厚膜孢子が認められるが、20日後には菌糸に空胞が多くなるような菌糸に、隔膜をもって隔て原形質の満ちた厚膜孢子が、菌糸に間生または頂生して形成される。培地上の菌叢周縁の新らしい菌糸には認められない。

*京都府立大学農学部植物病理学研究室 (業績第91号)

Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan (Contribution No. 91).

昭和46年7月31日受理

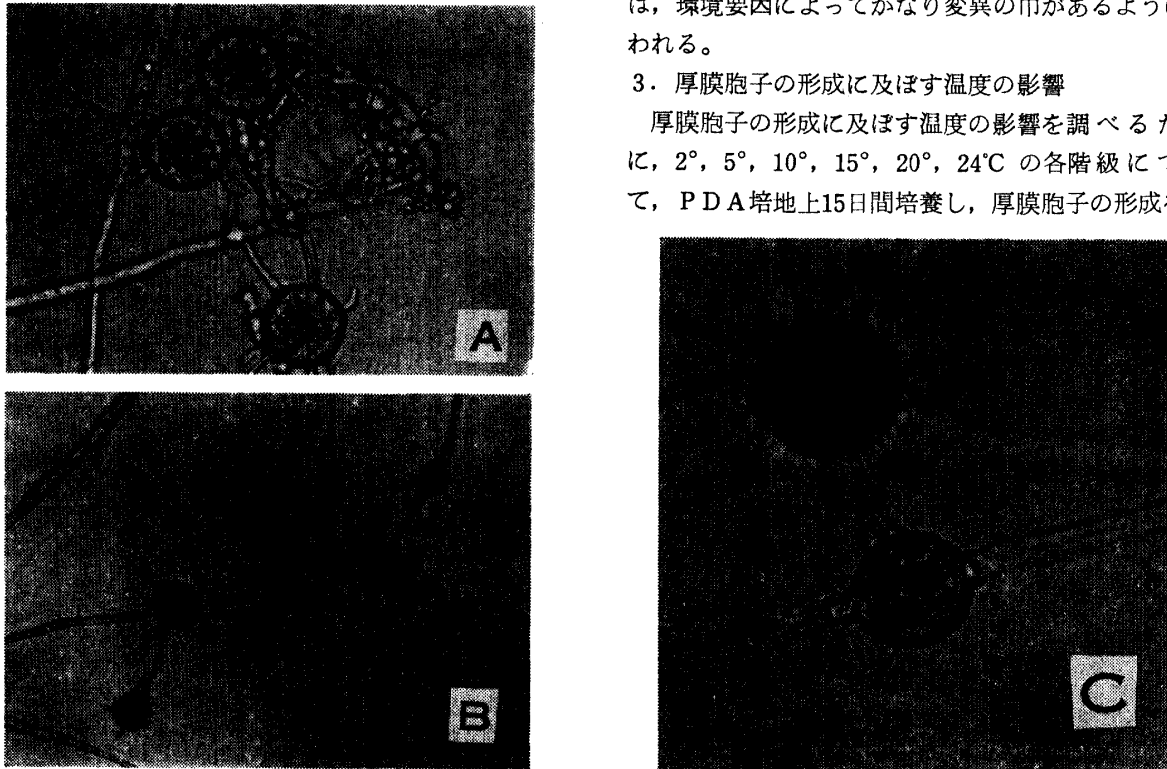
2. 厚膜胞子の形態 (第1, 2図)

膨みはいずれも菌糸と内容が連続し、隔膜がない。その膨みの部分が菌糸と同様に空胞になるのが普通であるが、膨みの部分のみに原形質を残し、しかし菌糸との間に隔膜がないものがあり、これは厚膜胞子とは認められない。厚膜胞子はほぼ球形で原形質を満し、無色、菌糸との間に隔膜を有する。培地上あるいは水

中で任意の部分から発芽管を生ずる。菌糸に連生することもある。大きさは直径平均Pーチが 20.8 μ , Pーラが 22.5 μ , Pータが 25.6 μ であったが、桂⁴⁾は変温水浸した場合平均30.0 μ とし、横山・吉田⁷⁾は培地で形成させて22.1 μ とした。また、本論文中変温水浸の実験を行なったものではPーチ平均30.0 μ (範囲24.3~35.3 μ)であった。したがって、厚膜胞子の大きさは、環境要因によってかなり変異の中があるように思われる。

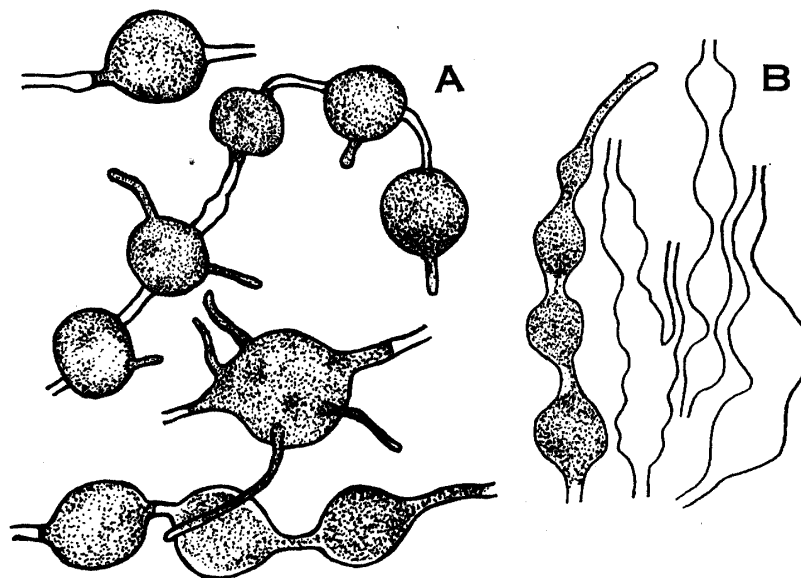
3. 厚膜胞子の形成に及ぼす温度の影響

厚膜胞子の形成に及ぼす温度の影響を調べるために、2°, 5°, 10°, 15°, 20°, 24°C の各階級について、PDA培地上15日間培養し、厚膜胞子の形成を調



第1図 *Phytophthora porri* の厚膜胞子とその発芽管

- A……菌糸に頂生したもの
- B……菌糸に間生かつ連生したもの
- C……菌糸に間生したもの



第2図 *Phytophthora porri* の厚膜胞子と菌糸の膨み (swelling)

- A……厚膜胞子
- B……菌糸の膨み

べた結果, 10°, 15°, 20°Cにおいてはほとんど形成に差がなく, 24°Cではやや劣り, 5°Cではわずかに形成し, 2°Cでは形成が全く認められなかった。したがって厚膜胞子の形成に対して, 温度はあまり有効な要因ではないようである。

4. 変温処理における厚膜胞子の形成

本病菌を初め20°Cにて10日間培養したのち, 前項同様の6つの温度階級に変温し, さらに5日間培養を続けて厚膜胞子の形成を調査した。その結果変温による効果はほとんど認められず, 20°Cのみの場合に比べて注目される差異はなかった。

5. 変温処理に関連して水浸処理をした場合の厚膜胞子の形成

前項実験と同様に20°Cで10日間培養し, 次いで各種温度階級に変温する際に, ペトリ皿の菌叢上に殺菌水を注ぎ水浸状態にして, さらに5日間培養した結果, 第1表に示すような結果を得た。

第1表 20°C10日間培養後各温度にて水浸した場合の厚膜胞子の形成 (変温5日後)

供試菌	標準 20°	水浸中の温度				
		5°	10°	15°	20°	24°
Pーラ	+	++	+++	++	+	±
Pーチ	+	+	++	+	±	±

注: +は形成の程度を示し, ±は形成が極めて少ないもの

第1表の結果を見ると, 20°Cに比べて変温による水浸区は厚膜胞子の形成が良好で, とくに10°Cにおいて供試2菌株ともに良好であった。変温しなかった20°Cに比べて良好であることは, 変温と水浸との両要因が厚膜胞子の形成を促進していることが推定される。なお本実験は培地上の菌叢に水を添加したから, 培地の成分がいくらか水中に溶出している状態にあることは明らかで, Tsao⁹⁾の*P. parasitica*における実験結果に類似するようである。なお本実験で形成された厚膜胞子は, 菌糸に間生しかつ連生するものが多いことが注目された。

Ⅲ. PDL 培地中における厚膜胞子の形成

ジャガイモ煎汁培地中における厚膜胞子の形成について2, 3の実験を行なった。

1. 20°Cにおける培養液中の厚膜胞子の形成

PDL中でPーチ, Pーラ, Pータの3菌株を供試し, 1カ月間培養を続けて厚膜胞子の形成を観察した

が, 形成が全く認められず, わずかに膨みを生じたばかりであった。

2. 変温処理に関連して水浸処理をした場合の厚膜胞子の形成

本実験ではPーチ菌のみで行なった。すなわち20°Cで10日間培養後, 各温度に変温するが, 1つは菌叢を引揚げて水培養とし, 1つは調査の5日毎にその水を新に入換えし, 比較にPDL培養継続区を設けた。実験結果は第2表に示した。

第2表 Pーチ菌を20°C10日間培養後各温度にて水浸した場合の厚膜胞子の形成

変温後 の日数	変温処理温度(°C)と処置別				
	0°	5°	10°	20°	24°
	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C
5日	---	---	---	---	---
10	---	---	---	--+	--+
15	---	---	---	--+	+++
20	--+	-+**	--+	--+	+++
25	--+	--+	--+	+++	+++

注: A……煎汁培地(標準)
B……変温中水浸継続
C……5日毎に水を入れ換えたもの
*……わずか1個のみ形成

第2表の実験結果を見ると, 変温しただけのPDL中では全く厚膜胞子を形成せず, 変温後水培養したものは形成が悪く, わずかに20°C区で25日後に, 24°C区で15日後に形成したにすぎない。しかし5日毎に新しい水と入換えしたものは0°C, 10°C区で20日後に, 20°C, 24°C区で10日後に形成し, 水を入換えることによって厚膜胞子の形成が少し促進されている。

Ⅳ. 各種培地上における厚膜胞子の形成

1. 各種固体培地上における形成

それぞれの供試培地であらかじめ培養しておいた本病菌の菌叢の周辺部を切り抜き, 第3表に示す各種固体培地に移植し, 20°Cで20日間培養後に厚膜胞子の形成について調べた。

第3表 各種固体培地上における厚膜胞子の形成

供試菌	PDA	CMA	OMA	タマネギ	V-8
Pーラ	+	+	+	+	++
Pーチ	+	+	+	+	+
Pータ	+	+	+	+	++

注: +……顕微鏡100倍/視野5個以下
++……15個以下

第3表によると、CMA (Corn meal), OMA (oat meal), タマネギ煎汁の各寒天培地における形成は標準としたPDA上の形成とほぼ同様であったが、V-8 ジュース寒天培地上の形成は良好であった。なおCMA, OMA, タマネギ, V-8 ジュースの各寒天培地上では、遊走子囊の形成が多く、厚膜胞子の調査にとって困難を加えたが、PDAでは遊走子囊の形成は全く認められなかった。

2. 各種液体培地中における形成

あらかじめPDAで培養した菌叢の1片を切り取り、各種液体培地で1カ月間20°Cで培養し、厚膜胞子の形成について比較観察した。その結果は第4表に示した

第4表 各種液体培地上における厚膜胞子の形成

供試菌	PDL	CML	OML	タマネギ	V-8
P-ラ	-	-	-	+	+
P-チ	-	+	+	+	-
P-タ	-	+	±	±	+

注：+は第3表に準じ、-は形成せず、±は1個

が、PDLでは全く形成しなかったのに対し、他の液体培地ではわずかであるが形成が認められた。しかし菌株により形成が認められないものもあった。

V. 論 議

Blackwell¹⁾ は厚膜胞子の形態について、1) 菌糸の中間および先端に形成され、2) 球形ないし不正形、3) 内部へ厚くなった細胞壁を形成し、4) 菌糸との間に隔膜があるということを述べ、形成条件としては、5) 環境要因の不適当による形成促進と、6) 他の器官形成に比較して形成が遅いことを挙げている。さらに機能的には、7) 種々の不適当な環境に耐える耐久性器官であり、8) 好適な環境下で発芽管を出し、ある場合にはその発芽管の先端に遊走子囊を形成することなどを指摘している。

筆者らは、本病菌の形態について観察した結果によると、上記 Blackwell¹⁾ の指摘によく合致する。菌糸の中間に形成される場合も、先端に頂生する場合も、隔膜を生ずる位置は菌糸と厚膜胞子の接点部分に生ずるものと、少しく菌糸の方へ隔った部分に生ずるものがある。また中間生のものには、単生のもので連生のものがあるが、連生ものは先端へ近いものほど、少しく容積が小さくなるものと大きさが同様なものがある。大きさとしては前述のように変異があり、一般に水浸したものは大きいように思われる。なお形は多くが球形であるが、まれにレモン形、楕円形、また

は菌糸状のものもある。厚膜胞子の膜壁は、実験日数の範囲内では、菌糸や遊走子囊の膜壁と異なるものが認められない。

一般に膨み (swelling) の中の原形質は、原形質流動によって新生菌糸先端部へ移動するから、空胞になるものが多い。しかし、同様の形態の膨みの部分に原形質が残り、しかも隔膜を生じていないものがある。これは定義上厚膜胞子と認めにくい、疫病菌の菌糸は老生する場合に隔膜を生ずるから、その後の運命については判らないけれども、将来厚膜胞子になるものであるかも判らない。

形成に対する環境要因としては、栄養的に豊富であるときは形成が非常に少ない。培地上で形成される場所は、菌叢の内部であって、その位置ではおそらく培地の栄養が少なくとも減少しているものと推定される。それに対して、培地上に水を注ぎ水浸状態とすることは、結果として培地栄養の溶出および希釈ということになり、栄養的に劣る培養状態になるであろうが、そのような状態において厚膜胞子の形成はかなり豊富になる。しかし液体培養をした菌叢を水に移すと、厚膜胞子の形成が非常に悪くなり、ある程度の栄養を必要とするもののように思われ、Tsao⁶⁾ の実験と同様な結果が考えられる。

これを要するに、一般の培地上で厚膜胞子の形成は不良であり、また膨み (swelling) を形成しやすいから、本病菌の厚膜胞子の形成が認めにくかったものと考えられる。筆者らはここに横山・吉田⁷⁾ の厚膜胞子の観察を肯定するとともに、本病菌厚膜胞子の形態と形成要因について初めて述べたものである。

引 用 文 献

- 1) Blackwell, E. (1949): *Commonw. myc. Inst., Myc. Papers*, **30**: 1-23.
- 2) Foister, C. E. (1931): *Trans. Proc. Bot. Soc. Edinburgh*, **30**: 257-281.
- 3) Hickman, C. J. (1944): *Rep. Agr. Hort. Res. Sta., Bristol*: 100-102.
- 4) 桂 琦一 (1970): *京府大学報・農*, **22**: 9-16.
- 5) 桂 琦一・伊阪実人・宮越盈 (1969): *日植病報*, **35** (1): 55-61.
- 6) Tsao, P. H. (1969): *Proc. First Intern. Citrus Sym.*, **3**: 1221-1230.
- 7) 横山佐太正・吉田桂輔 (1967): *九州病虫研報*, **13**: 35-36.
- 8) 横山佐太正・吉田桂輔・桂 琦一 (1968): *日植病報*, **34**: 167.

Summary

General pattern of chlamydospore formation in *Phytophthora porri* Foister was elucidated with three isolates of the fungus, isolated respectively from tulip, scallion, and onion.

The fungus, irrespective of isolates used, forms many swelling of mycelium but quite restricted number of chlamydospores when cultured on various kinds of culture media. The chlamydopores are formed after a prolonged incubation and they are spherical or ovoid in shape, formed single or crowded, terminal or intercalary, and are capable of germinating with a germ tube under the favor-

able environmental condition. The average size of chlamydospores was in the range of 20.8μ to 30.0μ in diameter depending on the isolate and environmental conditions employed.

The chlamydospores are formed many when the colony on PDA plate was submerged in a small volume of water and incubated at the temperature below 20°C , while the same treatment of mycelial mat cultured in a liquid medium did not efficiently induce the chlamydospore formation. The use of agar medium is consequently recommended for the study of chlamydospore formation.