

Phytophthora capsici の遊走子とその鞭毛

宮田善雄*・赤井重恭**・桂 琦一*・石田紀郎**

YOSHIO MIYATA, SHIGEYASU AKAI, KIICHI KTSURA, and
NORIO ISHIDA: Zoospores of *Phytophthora capsici*
and their flagella.

要旨: *Phytophthora capsici* の遊走子、鞭毛および被のう時にみられる鞭毛の変化について、電子顕微鏡による観察を行なった。遊走子は1層の原形質膜から成り、細胞壁は有しない。内部には1個の大きな核をもち、小胞体 (ER) やミトコンドリアがよく発達している。また、多数の脂質顆粒を有し、その付近ではとくにクリステのよく発達したミトコンドリアが多数存在し、それらをERが幾重にも取り囲んで、活発な代謝活動の行なわれている様相を示していた。このほか、未知の小胞や液胞状の構造も多数認められ、遊走子の微細構造はすこぶる複雑である。鞭毛はムチ型およびブラシ型の各1本を有し、典型的な9+2構造から成っているらしい。被のうが近づくと、鞭毛にみられるふくらみ (小球体) は特別の内部構造のない膜質で、その内部で鞭毛がコイル状に巻き上がっていることが多い。この鞭毛のふくらみは収縮泡の機能の低下にもとづく膨圧の高まりによって生じたものと推察される。

I 緒 言

Phytophthora capsici は主としてナス科およびウリ科植物を侵害する疫病菌の一種である。著者らは本菌の伝播蔓延に主体的働きをなしている遊走子とその行動に関心をもち、数年来、研究を進めている¹²⁾が、ここでは、遊走子とその鞭毛ならびに被のう時にみられる鞭毛の形態異常に関して、電子顕微鏡を用いて行なった観察結果を報告する。なお、本研究に際し、福富雅夫氏 (京都大学農学部助手)、久能均氏 (三重大学農学部助教授) から受けた種々の技術的援助に対し深謝の意を表す。

II 材料ならびに方法

供試菌は京都府立大学保存菌 *Phytophthora capsici* No. 65であり、遊走子を得るための方法などは従来通り^{12, 13)}であるので省略する。

細胞の微細構造の観察の際は、まず遠沈により集めた遊走子塊をレンズペーパーで包み、3%過マンガン酸カリ液 (M/15りん酸緩衝液, pH 7.2) に1時間浸漬して固定し、同じ緩衝液を用いて洗浄後、エタノール系脱水処理を行なってエポキシ樹脂に包埋し、日本電

子製 JUM-5A 型ウルトラマイクロームにより超薄切片となし、同社製 JEM-7 型電子顕微鏡により観察した。また、鞭毛形態の観察にあたっては、カーボン補強コロジオン膜上に遊走子けんたく液をのせ、1%オスミック酸により、あるいは35°C、5分間の熱処理によって固定したのち、白金パラジウムによるシャドウイングを行なって電子顕微鏡観察にうつした。

III 結 果

本菌遊走子の細胞は周囲を1層の原形質膜 (plasma membrane) によって包まれている。中央には1個の大きな核 (nucleus) があり、その周囲を小胞体 (endoplasmic reticulum) が取りまき、さらに、細胞質全域に広がっているが、とくに、脂質顆粒 (lipid body) と考えられる電子密度の高い顆粒の周囲ではよく発達し、また、その付近にはミトコンドリア (mitochondrion) が多数存在し、そのクリステ (crystae) の発達は顕著である。このことは、この付近において代謝活動が旺盛であることを示しており、遊走子が遊泳エネルギーを主として脂質から得ていること¹⁷⁾を傍証するものと思われる。そのほか、未知の小胞も多数存在し、液胞状の構造体も散見されるが、そ

*京都府立大学農学部植物病理学研究室

Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.

**京都大学農学部植物病理学研究室

Laboratory of Plant Pathology, College of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan.

昭和46年7月31日受理

これらの機能は未明である。第2図にみられるように原形質膜の一部にかなりの陥入部が認められるが、これは遊泳中の遊走子の底面に生ずる溝(groove)¹⁰⁾で、後述する2本の鞭毛はこの溝に沿って前後に伸びているものと思われる。

本菌遊走子もまた他の疫病菌^{1, 3, 6, 15, 26, 27)}と同様に、2本の鞭毛(flagellum)を有する(第3図)。一方はブラシ型鞭毛(tinsel type)と呼ばれ、周囲に垂直にのびる多数の細毛があり、他方は細毛がなく先端が細く尖ったムチ型(whiplash type)である。鞭毛の横断像は得られなかったが、しばしば鞭毛鞘が破れて鞭毛せんいが裸出したものが観察され(第4図)、いずれも2本の合着したせんいと9本の単一せんいから成っており、おそらく、鞭毛の基本構造である9+2構造(9+2 structure)⁵⁾を形づくっていることは疑いない。

被のうが近づくと、鞭毛に特有のふくらみ(spherical body, puddle-like structure)を生ずる。鞭毛は多くの場合そこから折れ曲ってループ状を呈し(第5図)、次第に巻き上げて(第6図)終には脱離するか、まれには細胞内に吸収されることがある。ふくらみの内部では鞭毛軸がコイル状に巻いていることが多い(第7図)。第8図は鞭毛のふくらみが破裂した状態で、特別の構造をもたない球状の膜質から成ることをよく示している。ただし、電子密度の高い多数の微小顆粒が認められるが、この顆粒がどのようにして生じたものかは現在のところ不明である。

IV 考 察

本菌遊走子も1層の原形質膜のみによって包まれていた。このことはほとんどすべての遊走子に共通のことといえよう^{4, 8, 10, 21, 22, 25)}。著者らは先に遊走子の細胞中に原生動物にみられる収縮胞(contractile vacuole)に酷似する胞のうの存在を報告¹⁹⁾したが、遊走子が淡水中において破裂を起こさずに遊泳を続け得る理由は、この胞のうの排水機能によって十分に説明されるであろう。残念ながら今までの観察ではこの収縮胞の微細構造に相当すると思われる像はまだ得ていない。Ho *et al.* (1968)¹⁰⁾の報告にみられる遊走子溝に密接した大きな胞のうがこの収縮胞であるかもしれない。

遊走子細胞の微細構造はかなり複雑な様相を呈している。とくに、脂質顆粒の周囲に、発達したクリステをもつミトコンドリアが集まり、ERがそれらを幾重にもとりまいて、代謝活動の盛んなことを示している。*Sclerophthora macrospora* においてもほぼ同様で、福富・赤井(1966)⁷⁾はこれらの脂質顆粒が被のうから

発芽の過程を経る間にほとんど消失することからエネルギー源として消化利用されるものと推察しており、また、著者ら(1968)¹⁷⁾は、遊走子とその遊泳エネルギーを脂質とくにりん脂質を分解して得ていることを推察させる幾つかの実験結果を報告したが、この微細構造の様相とよく一致する。

本菌もまたムチ型とブラシ型の2種の鞭毛を有していた。このことは疫病菌にかぎらず、*Plasmodiophorales*を除くほとんどすべての二鞭毛性遊走子に共通のことであるようだ¹⁾。ムチ型鞭毛は周囲に細毛を有しないことを特徴としているが、最近の報告では、ムチ型鞭毛にもさらに細く短い毛を有するものもあるらしい^{3, 26)}。本菌の鞭毛にはその短細毛は認められなかったが、Desjardins *et al.* (1969)などの方法に従って、再検討する必要がある。この2本の鞭毛は外観のみならず、遊泳機能においても大きな違いがあることは前報²⁾の通りであるが、基本構造では同じ9+2構造を有するものと思われる。最近、疫病菌を含む幾つかの遊走子において、鞭毛の横断像が報告されている：*Phytophthora parasitica*²²⁾、*Phytophthora infestans*¹³⁾、*Olpidium brassicae*²⁵⁾、*Blastocladiella emersinii*²¹⁾、*Naegleria gluberi*¹⁾。驚くことに、これらはいずれも典型的鞭毛基本構造である9+2構造を示しており、下等菌類の遊走子から高等植物精子、原生動物から高等動物の精子に至るまで、生物界のほとんどすべてのものの鞭毛(細菌は除く)が共通して9+2構造を有することはますます疑いないものとなってきた⁵⁾。このことは鞭毛が原始的細胞器官のひとつであることを示しており、したがって、その運動によって起こる遊走子の行動も汎生物的行動としての認識に立って解析を進めてゆかねばならぬであろう。

遊走子が被のうに近づくと鞭毛に部分的ふくらみが生ずる。これは暗視野照明や位相差装置を用いれば、光学顕微鏡下でも容易に認められ、かなり古くから記載が残されているようである²³⁾が、これを電子顕微鏡下で観察したのは Ferris (1954)⁶⁾が最初であろう。彼はこれを puddle-like structure と呼び、鞭毛が巻き上がることによって生じたふくらみと解釈した。著者らのひとり、桂(1956)¹¹⁾は共同研究者と共にこれを位相差顕微鏡下に観察し、小球体(earpick-like structure)と呼んだ。そのほか、この鞭毛のふくらみに関する記載は多く、puddle-like structure^{15, 20)}、bead^{2, 9, 16)}、flagellar vesicle¹⁴⁾、knob-like structure²⁵⁾、swelling²³⁾など呼称も様々である。その成因についてはあまり論及されたものがないが、だいたい Ferris の巻き上り(coiling)説と、Santilli (1958)²⁴⁾の分解物質蓄積(accumulation of disintegrated materials)説に分け

られる。Kole *et al.* (1959)¹⁵⁾ は前者よりむしろ後者の説を支持しているが、著者らの観察でも、まず鞭毛のふくらみが生じ、その内部で鞭毛軸がコイル状に巻き上るものと解釈したい。しかしながら分解物質の蓄積と云っても十分な説明であるとは考え難い。ここで特記したいのは、この鞭毛のふくらみは、高張液中ではまったくみられなくなることで、著者らは前述した収縮胞の機能障害もしくはそれにとまなう細胞内膨圧の上昇を主な原因であると考えているが、それについては次報に詳しく述べるつもりである。

引用文献

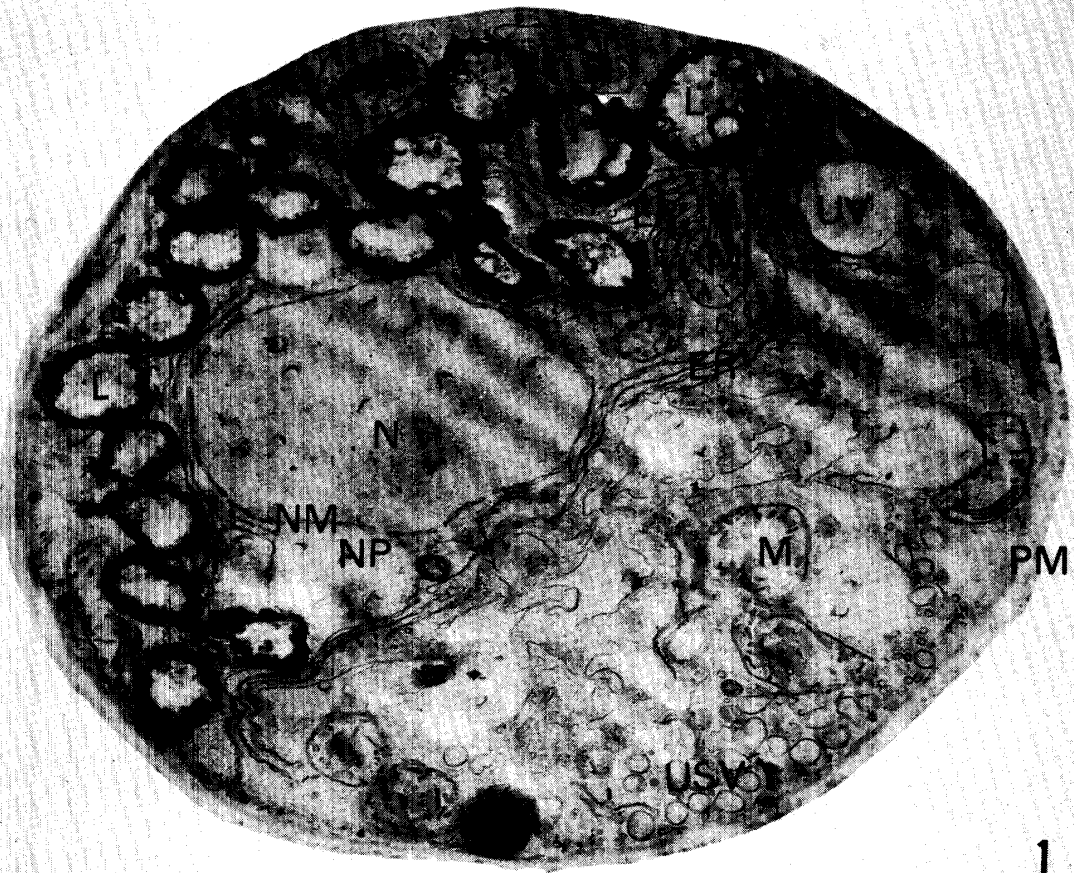
- 1) Colhoun, J. (1966). The fungus spore, ed. by Madelin, M., Butterworth, London : 85-94.
- 2) Crump, E. and D. Branton (1966). Can. J. Bot. **44** : 1397-1400.
- 3) Desjardins, P. R., G. A. Zentmyer and D. A. Reynolds (1969). Can. J. Bot. **47** : 1077-1079.
- 4) Dingle, A. D. and C. Fulton (1966). J. Cell Biol. **31** : 43-54.
- 5) Fawcett, D. W. (1961). The cell II, ed. by Brachet, J. and A. E. Mirsky, Academic Press : 217-297.
- 6) Ferris, V. R. (1954). Science **120** : 71-72.
- 7) 福富雅夫・赤井重恭 (1966). 日菌報, **7** : 199-202.
- 8) Fuller, M. S. (1966). The fungus spore, ed. by Madelin, M. F., Butterworth, London : 67-84.
- 9) Ho, H. H. and C. J. Hickman (1967). Can. J. Bot. **45** : 1963-1981.
- 10) Ho, H. H., K. Zacharah and C. J. Hickman (1968). Can. J. Bot. **46** : 37-41.
- 11) 桂 琦一・原田賢之・村上道夫(1956). 日植病報, **21** : 71-73.
- 12) Katsura, K. and Y. Miyata (1971). Morphological and biochemical events in plant-parasite interaction. ed. by Akai, S. and S. Ouchi, The phytopathological society of Japan, Tokyo : 107-128.
- 13) King, J. E. and R. D. Butler (1968). Trans. Br. mycol. Soc. **51** : 689-697.
- 14) Koch, W. J. (1956). Am. J. Bot. **43** : 811-819.
- 15) Kole, A. P. and K. Horstra (1959). Koninkl. Nederl. Akademie van Wetenschappen, Proc. Ser. C. **62** : 404-408.
- 16) McKeen, W. E. (1962). Can. J. Microbiol. **8** : 897-904.
- 17) 宮田善雄・桂琦一(1968). 日植病報, **34** : 166-167.
- 18) 宮田善雄・桂琦一・室川嗣夫 (1970). 京府大学報・農, **22** : 27-30.
- 19) 宮田善雄・桂琦一(1971). 日植病大会講要集 : 51.
- 20) Nagai, M. and T. Takahashi (1962). Trans. Myc. Soc. Japan **3** : 19-23.
- 21) Reichle, R. E. and M. S. Fuller (1967). Am. J. Bot. **54** : 81-92.
- 22) Reichle, R. E. (1969). Mycologia **61** : 30-51.
- 23) Reichle, R. E. (1969). Arch. Mikrobiol. **66** : 340-347.
- 24) Santilli, V. (1958). Nature **181** : 924-925.
- 25) Temmink, J. H. M. and R. N. Campbell(1969). Can. J. Bot. **47** : 227-231.
- 26) Vujicic, R., J. Colhoun and J. A. Chapman (1968). Trans. Br. mycol. Soc. **51** : 125-127.
- 27) Waterhouse, G. M.(1962). Trans. Br. mycol. Soc. **45** : 1-20.

Summary

The fine structure of the zoospores of *Phytophthora capsici* and their flagella was reported.

The zoospore is enveloped with a plasma membrane. In the cytoplasm, one nucleus, many endoplasmic reticula, mitochondria, unknown small vesicles, and the large electron-dense vesicles which are probably lipid bodies are observed. Especially around the lipid bodies, endoplasmic reticula and mitochondria with many regularly arranged cristae are well developed. The phenomenon is supposed

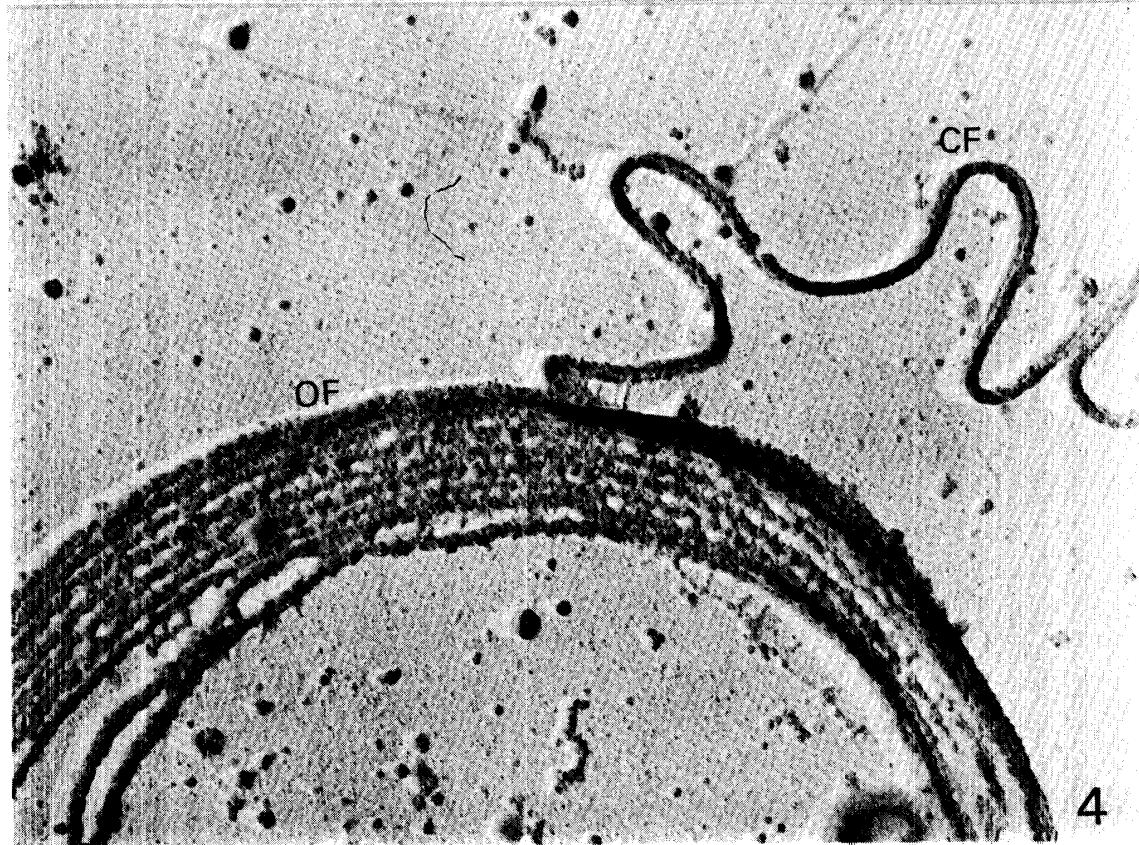
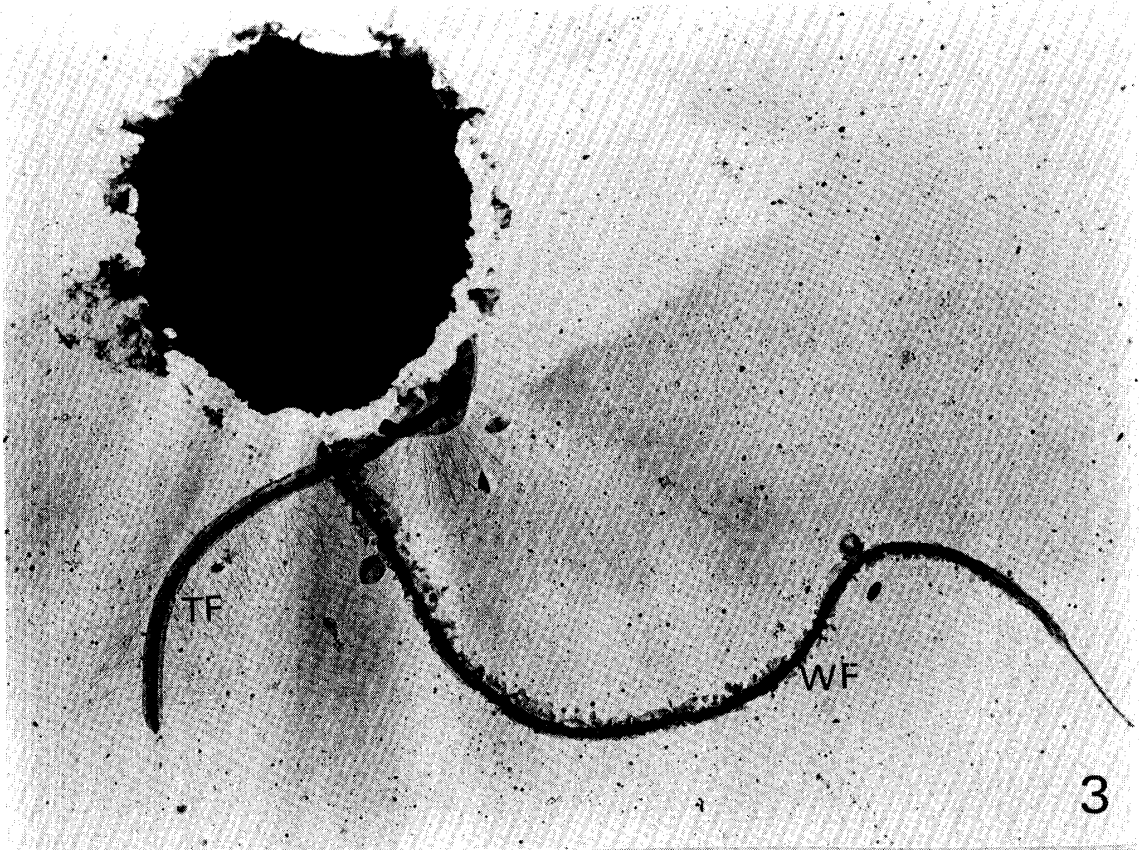
to show that the energy-generating system for swimming is activated in the area. The zoospore have two flagella of two types, tinsel and whiplash; the former is characterized by lateral hairs around the flagellum, and the latter by the thin tip of the flagellum without hair. Electron micrographs demonstrate that the flagellum of the zoospore is evidently composed of eleven filaments as has been recognized to be "9+2 structure", the basic structure of flagellum throughout the living organisms.



1



2



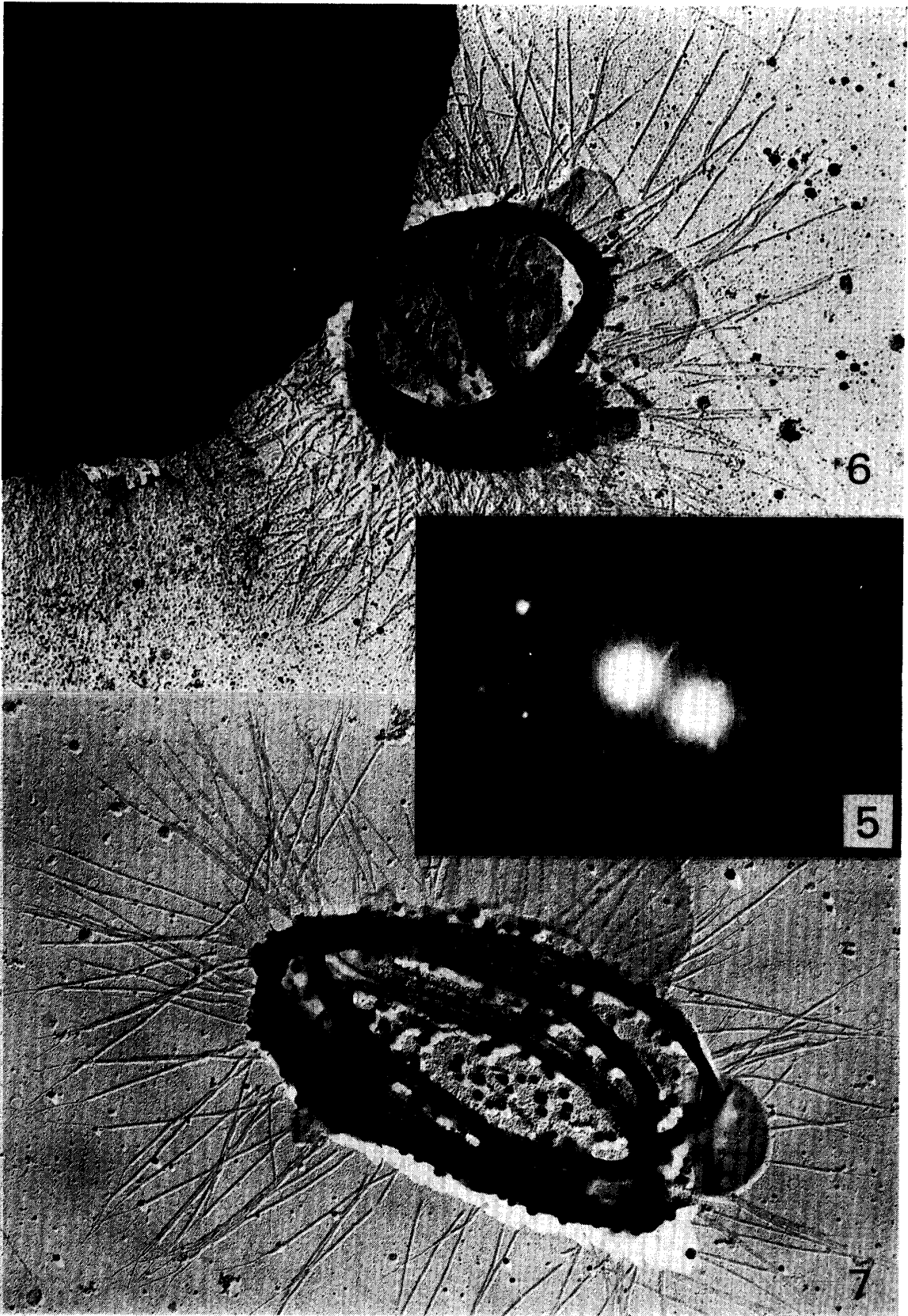


Plate IV



Just before encystment as the zoospore round itself up, the puddle-like structure (swelling) of the flagellum is often recognized. In most case, the coiling of flagellar axis is observed inside of the puddle-like structure. The membrane of the structure is presumably driven from the flagellar sheath.

The formation of the puddle-like structure may be caused by the excess of the turgor pressure of the degenerate cell in which the osmoregulatory mechanism has been impaired. The fact that the puddle-like structure is never observed in the hypertonic sugar solutions is considered to be one proof.

Explanation of Plates

Plate I

1, 2 : Fine structure of the zoospore of

Phytophthora capsici. × 15000.

PM : plasma membrane

N : nucleus

NP : Nuclear pore

NM : nuclear membrane

L : lipid body

M : mitochondrion

ER : endoplasmic reticulum

USV : unknown small vesicle

UV : unknown vacuole

G : groove

Plate II

3 : Zoospore with two types of flagella, tinsel (TF) and whiplash type (WF). The former is characterized by lateral hairs around the

flagellum, and the latter by the thin tip of the flagellum without hair. × 6400.

4 : Whiplash type flagellum showing fibrillar disintegration. × 50000. Note the displaced central pair of fiber (CF) and the nine outer fibers (OF).

5 : Retraction of flagella observed in the dark-field illuminated microscope.

Plate III

6 : Coiling of a flagellum up to the zoospore body.

7 : Coil of flagellar axis in the puddle-like structure.

Plate IV

8 : Repture of the puddle-like structure. The membrane of the structure is supposedly driven from the flagellar sheath.