

ジャガイモ疫病菌の遊走子嚢とその発芽における核現象*

桂 琦 一

KIICHI KATSURA: Nuclear phenomena in zoosporangium and its germination of *Phytophthora infestans* f. sp. *infestans* Waterhouse

要旨: *Phytophthora infestans* f. sp. *infestans* Waterhouse 菌の遊走子嚢の発芽には、間接および直接の2つの発芽型があり、遊走子嚢を水に入れると、間接発芽は11°Cが最適で5時間後に68.8%の発芽率を示すのに対して、直接発芽は20°Cが最適で5時間後に7.7%の発芽率を示した。この2型の発芽現象を明らかにするために、筆者は塩酸ギムザ法による核染色を行ない、核現象の立場から遊走子嚢およびその2型の発芽過程を追究した。

遊走子嚢の核には2つの型があり、1つは大型で数の少ないものと、他は小型で数のやや多いものである。核の大きさを測定した結果、大型核は $3.8\sim 5.0\times 2.8\sim 4.0\mu$ 、小型核は $2.4\sim 3.0\times 1.5\sim 2.5\mu$ であり、遊走子嚢1個の中の大型核数は2~12個、小型核数は7~15個で、両発芽型の間に明らかな差異があった。それぞれの核型を有する遊走子嚢群は、その長さで核数とは正の相関が認められた。

1個の遊走子嚢から放出される遊走子の数は2~12個、平均 6.28 ± 1.80 個であったが、染色によって得られた大型で数の少ない遊走子嚢群の核数は2~12個、平均 6.02 ± 1.10 個であったし、両者は全く一致しているから、間接発芽をすべき運命を有する遊走子嚢の核は、大型で数の少ないものに該当するといえるであろう。

核が大型で数の少ない群の遊走子嚢の頻度は、平均97.1%であるのに対して、核が小型で数のやや多い群の遊走子嚢の頻度は、平均2.9%であった。この両平均値の間の比率は、遊走子嚢形成6時間後と30時間後において同じであったから、遊走子嚢発芽の2型はその形成初期において、本質的に決まっていると考えられる。したがって本病菌遊走子嚢の発芽の2型の比率は、ほぼ97:3ぐらいと見られるが、この比率は本病菌の種の1特性になるように思われる。

I 緒 言

筆者^{10, 11)}はさきに *Phytophthora capsici* の遊走子嚢の2つの発芽型における核現象について報告した。すなわち塩酸ギムザ法による核染色で、遊走子嚢の間接および直接の両発芽型における核現象を追究した結果、核の大きさで数からみて2群に分けられ、大型核の数は間接発芽による放出遊走子の数とほぼ一致し、小型核を有するものは直接発芽を行なうものに該当し、その2型の発芽型は遊走子嚢の形成初期においてすでに運命づけられて、両型の出現比率は84:16ぐらいであった。これらの核現象について、筆者ら¹¹⁾はさらに *P. capsici* の被嚢胞子とその発芽についても明らかにしたが、*Phytophthora* の細胞学的基礎資料をさらに多く得るために、この度は *Phytophthora infestans* f. sp. *infestans* の遊走子嚢の2型の発芽における核現象を追究した。 *P. infestans* f. sp.

infestans の遊走子嚢発芽には、*P. capsici* と同様に2型があり^{4, 6, 15)}、Graham⁶⁾ は Feulgen 反応の応用でもって核現象とくに遊走子が1核であることを報告し、Gallegly³⁾ は病原性の遺伝について紛説し、Sivara¹⁴⁾ は本病菌の吸胞内の核現象について報告するなど、最近遺伝学的細胞学的研究が多くなっている。しかし *P. infestans* f. sp. *infestans* の遊走子嚢の発芽の2型に関連する核学的研究については見ていないから、筆者は *P. capsici* について行なった実験と同様な方法を用いて、種々の実験を行なった結果をここに報告する。

なお本研究は現帯広畜産大学の安味宏助教授の本学在学中の助力に負うところが大きいが、記して深謝の意を表する。

II 遊走子嚢の発芽2型の発現

P. infestans f. sp. *infestans* の菌糸発育の適温は、

*京都府立大学農学部植物病理学研究室(業績97号)

Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan. (Contribution No. 97)

昭和47年7月24日受理

比較的に低く20°C付近である。しかし遊走子嚢の間接発芽や直接発芽の適温については諸説があって、前者は12°~15°C、後者は20°~24°Cとするものが多い。筆者は本学農場のジャガイモ疫病罹病葉から分離して得た菌株について、水温と遊走子嚢発芽の2型発現について調査した。

供試した遊走子嚢は、ジャガイモ塊茎の2つ割りの面に培養菌株を接種し、のち一旦発病面を殺菌水で洗い、ふたたび19°~20°Cの湿室に2昼夜放置し、同調的な遊走子嚢を得られるように努めた。このようにして得た遊走子嚢を殺菌水中に懸濁し、ホールスライドグラスに分注して、第1表に示すように各階級の温度に保ち、発芽の2型を調査した。

第1表 遊走子嚢発芽の2型発現に及ぼす温度の影響

温度 (°C)	遊走子嚢 調査数	5時間後の発芽率(%)	
		間接発芽	直接発芽
0	668	6.1	0
5	638	18.0	0.2
8	787	52.9	0.8
11	901	68.8	3.9
14	887	55.3	3.7
17	909	20.5	7.0
20	662	12.1	7.7
22	562	4.8	3.8
24	634	4.1	3.1

(注) 実験は各5時間処理区のもの

第2表の結果によると、間接発芽は8°~14°Cの間で良好であり、11°C付近が最適であるのに対し、直接発芽は総体的に非常に少ないが17°~20°C付近が好適と思われる。それぞれの最高発芽率は、68.8%および7.7%であり、さきに報告した *P. capsici*¹⁰⁾ におけるそれぞれの最高発芽率83.4%および21.4%よりやや低い、さらに注目されることは、本病菌においては間接発芽率に比べて直接発芽率がいちじるしく低いことである。

間接および直接の両最高発芽率は、Calton ら¹¹⁾ は10°Cでそれぞれ89%および15%とし、Anderson ら¹²⁾ は間接発芽が97%として直接発芽が極端に少ないことを指摘している。また山本¹³⁾ も同様の見解を示した。もちろん桂¹⁰⁾ が指摘したように間接発芽を示すべき遊走子嚢は、環境要因の影響を受けやすく、当然間接発芽すべきものが不発芽となりやすいことに留意すべきであろう。したがって2型の本質的な比は、必ずしも発現される遊走子嚢発芽の2型で正しい事実を示すものにはならない。これを確かめる意味で、遊走子嚢とそ

の発芽過程における核現象を調べることにした。

III 遊走子嚢発芽の2型における核現象

遊走子嚢の間接および直接の両発芽型が、同時に好適である温度はない。したがって直ちに両発芽型を対比することはできない。これが対比できるのは核現象であるように思われるから、桂^{10, 12)} が *P. capsici* で行なった塩酸ギムザ法による核染色によって追究することにした。

細胞核の研究は Feulgen 反応の適用によって進められ、また塩酸ギムザ法は、Roane¹³⁾ が *Helminthosporium carbonum* で、Chattopadhyay ら¹⁴⁾ が *H. oryzae* で、Hrushovetz¹⁵⁾ が *H. sativum* で、それぞれアルビノ変異株についての核学的研究を行ない、桂^{10, 12)} もまた *Phytophthora capsici* の遊走子嚢の核染色に成功した。

1. 発芽前後の過程における遊走子嚢の核染色

発芽前の遊走子嚢の核は濃赤紫色に、細胞質は淡紫色に染色され、両者は明らかに識別される。発芽過程においては、間接発芽直前の遊走子の分化過程が核染色でよく観察されるが、しかし核染色はあまりよくない。遊走子となるべき各細胞中にそれぞれ明らかに核1個を有する(図版 Fig. 1)。

一方直接発芽を行なうものは、発芽過程においても核は常に明瞭に染色され、核は小さくかつ間接発芽のものに比べて多く含まれている。また発芽管内へその中の数個が移行しているのが認められる。

以上の結果から、遊走子嚢の核には2型があり、間接発芽を行なうと思われるものの核は大きく数が少ない傾向を有し、直接発芽のそれは核は小さく数が多いように思われる。

2. 遊走子嚢中の核の2型の大きさ

前項に述べた核の2型、すなわち大型核で数が少ないものと、小型核で数の多いものとの、2つの遊走子嚢核の大きさをそれぞれ測定した結果は第2表に示すとおりである。

第2表 遊走子嚢の核の2型の大きさ測定値

核型	長径 (μ)	短径 (μ)
大型核	4.22±0.58 (4.80)	3.60±0.55 (3.21)
小型核	2.69±0.36 (2.64)	2.35±0.26 (2.16)

(注) 括弧内の数字は最多員価

核は球形ないし不整形であるが、核の大きさに少し変異があることが判る。そして核の大きさからみて明

らかに2群に分けることができる。なお核の大きさの範囲は、大型核で $3.8\sim 5.0\times 2.8\sim 4.0\mu$ 、小型核で $2.4\sim 3.0\times 1.5\sim 4.0\mu$ である。

3. 遊走子囊中の核数とその2型群の分布

遊走子囊中の核数に変異がみられるから、その核数の分布を調査した結果、第3表に示すとおりである。

第3表 遊走子囊中の核数とその2型群の分布

核数の階級	遊走子囊の数	
	大型核のもの	小型核のもの
2~3	103	0
4~5	338	0
6~7	243	1
8~9	54	2
10~11	10	5
12~13	1	9
14~15	0	2
合計	749	19
平均	6.02 ± 1.10	11.96 ± 1.62

遊走子囊中に大型核を有するものは、範囲が2~12個で、平均 6.02 ± 1.10 個であり、4~5個のものが最も多かった。また1個の核を有するものは認められなかった。これに対して小型核を有するものは、範囲が7~15個で、平均 11.96 ± 1.62 個、12~13個のものが最も多かった。以上のように遊走子囊中の核数とその分布からみても遊走子囊は2群に分けられるようである。

第4表 大型核を有する遊走子囊の長さとの相関

遊走子囊の長さ(μ)	核数の階級					合計
	2~3	4~5	6~7	8~9	10~11	
17.5	3	1				4
21.0	4	10	1			15
24.5	4	37	6			47
28.0	3	63	22	2		90
31.5		31	51	4		86
35.0		5	36	8	1	50
38.5		1	13	11	1	26
42.0		2	5	7	6	20
45.5				2	1	3
合計	14	150	134	34	9	341
要因	平均値	相関係数	有意性			
核数	6.20 ± 1.64	$+0.697$	$P<0.001$			
遊走子囊の長さ	30.80 ± 5.42					

4. 遊走子囊の大きさと核数との相関

遊走子囊中の核の大きさと核数の分布は、遊走子囊に2群があることを明らかにしているが、次に遊走子囊の大きさと核数との間に相関があるもののように思われるので測定した(第4, 5表)。

第5表 小型核を有する遊走子囊の長さとの相関

遊走子囊の長さ(μ)	核数の階級					合計
	6~7	8~9	10~11	12~13	14~15	
21.0	1					1
24.5		1				1
28.0		0				0
31.5		1	2	3		6
35.0			1	4		5
38.5			1	0	1	2
42.0			0	1		1
45.5			1	1	1	3
合計	1	2	5	9	2	19

要因	平均値	相関係数	有意性
核数	11.96 ± 1.62	$+0.642$	$P<0.01$
遊走子囊の長さ	35.00 ± 6.51		

第4, 5表ともに、遊走子囊は2群のそれぞれにおいて、遊走子囊の長さとの間に正の相関が認められる。大型核を有する遊走子囊の長さとの相関係数 $r=+0.697$ で相関があり、 $P<0.001$ で有意性がある。一方小型核を有するそれは、 $r=+0.642$ で相関があり、 $P<0.01$ で有意性がある。すなわち遊走子囊の大きいものは核数も多く、小さいものは核数も少ない。また遊走子囊の長さは、大型核を有するものの平均が $30.81\pm 5.42\mu$ 、小型核のそれは $35.00\pm 6.51\mu$ で、両群の間に差が認められる。要するに大型核を有する遊走子囊は、概して小型核を有するものよりも長さが小さい傾向がある。

5. 1個の遊走子囊から放出される遊走子の数

間接発芽を行なうと思われる遊走子囊は、核が大きく核数が少ないことが認められるが、これが遊走子に該当するならば、1個の遊走子囊が放出する遊走子の数と、遊走子囊の大型核数と同じでなければならない。筆者は遊走子の数を測定するために、その自由運動を抑制するように工夫した0.4%水寒天溶液中で遊走子囊の間接発芽を行なわせて、遊走子の数を測定した(第6表)。実験は顕微鏡を7℃下において行なった。

第6表によれば、1個の遊走子囊から放出される遊

第6表 1個の遊走子囊から生ずる遊走子の数

遊走子 囊の数	放出遊走子の数の分布						合 計
	2~3	4~5	6~7	8~9	10~11	12~13	
	16	138	107	36	11	1	309
放出遊走子数の平均値		6.28±1.80個					

遊走子の範囲は2~13個で、その平均は6.28±1.80個であり、また最も頻度の多いのは4~5個の場合である。これは第3、4表に示す大型核を有するものとよく一致する。しかし小型核を有するものの核数とは明らかに一致しない。この結果から、大型核を有しかつ核数の比較的少ない群の遊走子囊は、間接発芽を行なう運命を有するものとするができるようであり、桂^{10, 12)}がさきに結論した *P. capsici* の遊走子囊の場合と同様である。

6. 大型核と小型核を有する遊走子囊群の比率

以上の各実験結果から、遊走子囊の核の2型群は、ほぼ間接発芽すべきものと直接発芽すべきものとの2群に相当すると思われる。その2型の核を有する遊走子囊それぞれの群の比率を測定し、また遊走子囊の発芽の2型との関連を調べるために、遊走子囊形成開始後の経時的な変化を測定した(第7表)。

第7表 大型核と小型核を有する遊走子囊群の比率

遊走子囊形成 開始後の時間	測定 総数	大型核および小型核遊 走子囊群の比率(%)
6	980	97.0 : 3.0
10	728	96.8 : 3.2
20	1368	97.3 : 2.7
30	1414	97.2 : 2.8
合計	4490	97.1 : 2.9

第7表によると、供試した病菌遊走子囊の大型核および小型核を有するものの2群の比率は、平均97.1 : 2.9である。また遊走子囊形成開始後、6時間を経たものと30時間を経たものとの各時間区において、2群の比率はほぼ同じであった。このことから、大型核および小型核を有する遊走子囊は、それぞれ形成当初からいずれかに運命づけられていることが判り、すなわち間接発芽と直接発芽とを行なうべき遊走子囊は、形成の当初において本質的に運命づけられているものであって、形成後の環境要因によって変化することはないようである。

7. 遊走子の核数

P. infestans の遊走子囊が放出する遊走子の核数は、従来1個とするものと2個を有するものがあると

する2つの説がある。Graham⁹⁾ はすべて遊走子の核は1個であるとし、Castro³⁾ は0.34%が2核を有するとした。桂¹⁰⁾、桂・奥野¹¹⁾ は *P. capsici* の遊走子の核は常に1個であることを報告した。しかしここで遊走子と称する器官の限界について明らかにしておかなければならないと思うが、遊走子は遊走子囊の乳頭突起部から放出(1, 2が囊内に残ることがある)されてから、しばらく自由運動を行ない、その後べん毛を失って運動を停止するまでの間をいうことに限定すると、Castro³⁾ はおそらく運動停止後の被囊胞子の混入を誤ったのではないかと推定される。桂・奥野¹¹⁾ によると *P. capsici* の遊走子は常に1核であるが、被囊後は経時的に核数を増加してゆき、発芽への移行を示しはじめて2核になることからみれば、本病菌の遊走子も同様に1核とするのが正しいであろう。

IV 考 察

Phytophthora infestans f. sp. *infestans* は Waterhouse¹⁶⁾ によって主張せられた学名で、従来使用せられていた *P. infestans* を改めたものである。本病菌の遊走子囊は他の *Phytophthora* と同様に発芽に2型があって、1つは遊走子による間接発芽であり、他の1つは発芽管による直接発芽である。この2型の発芽について実験した結果、間接発芽は11°Cで最高発芽率68.8%を示し、直接発芽は20°Cで最高発芽率7.7%を示した。両発芽型はそれぞれ適温をやや異にしているため、同じ温度下で比較することができないが、しかし両型の最高発芽率は、それぞれの発芽能の本質をすべて示してはいない。そこには常に不発芽のものが存在するからである。この不発芽のものは、おそらく環境要因に影響されやすい間接発芽能のものが大部分を占めていると考えられる。したがって両発芽型の比率を正しく知るためには、遊走子囊とその発芽過程における核現象から追究するのがよいであろう。

しかし筆者^{9, 10)} および筆者ら^{11, 12)} が *P. capsici* の遊走子囊について観察した結果によると、間接発芽すべき本質を有するものと直接発芽すべき本質を有するものとの比は、ほぼ84 : 16であろうと報告したが、これに比べると *P. infestans* f. sp. *infestans* の遊走子囊は第1表に示すように最高発芽率は68.8%と7.7%とやや対比が異なっているように思われる。Calton²⁾ が報告した両発芽型の最高は、それぞれ80%および15%であり、Andersonら¹⁾ は間接発芽の最高を97%としていることから、本病菌は直接発芽すべき本質の遊走子囊が極めて少ないもののように思われる。筆者が得た核染色による間接および直接の両発芽勢群の比率は、平均97.1 : 2.9であり非常に片寄った比率を示し、

Andersonら¹⁾の結果に近似している。この比率は、あるいは各種の *Phytophthora* において特徴となるものかも知れないから、今後多くの種について比較研究する必要があるが、興味あることと考える。

本病菌は間接発芽によって、放出する遊走子数が概して少ないようである。この事実のために核染色による大型核の観察が非常に容易であった。しかも大型核と小型核は大きさの測定値に示されたように、大きさが異なるから識別が容易であるといえよう。そして遊走子囊の長さは、核の数と正の相関があるから、形態的に大きな遊走子囊は直接発芽の運命を持ったものが多いことになる。また大型核を有する遊走子囊の核数の平均値が 6.20 ± 1.64 であるのに対し、遊走子囊から放出される遊走子の数の平均値が 6.28 ± 1.80 であることは、ほとんど一致すると見て差支えないから、大型核を有するものはすなわち間接発芽すべきものであると確信されるが、この結論は *P. capsici* の場合とよく一致する。

なお多くの *Phytophthora* の種について検討する必要があるが、遊走子囊の間接発芽と直接発芽との比率を知るには、水中における発芽2型の発現を測定して得るよりも、核染色によって核の2型を識別し、その2型の比率を測定して示すことが正しいといえよう。

引用文献

1) Anderson, C. G. and H. L. Barnell (1957) :

Phytopath., **47** : 2.

2) Calton, F., C. F. Taylor, J. J. Smoot, D. O. Quinn, R. A. Rohde, and S. E. Edward (1955) : *Ibid.*, **45**, 673—675.

3) Castro, J. (1963) : *Ibid.*, **53** : 24.

4) Chattopadhyay, S. B. and J. D. Dickson (1960) : *Ibid.*, **50** : 439—442.

5) Gallegly M. E. (1968) : *Ann. Rev. Phytopath.*, **6** : 375—396.

6) Graham, K. M. (1954) : *Phytopath.*, **44** : 490.

7) Harvey, H. T. (1954) : *Ibid.*, **44** : 492.

8) Hrushovetz, S. B. (1956) : *Canad. Jour. Bot.*, **34** : 321—327.

9) Katsura, K. (1971) : *Rev. Pl. Prot. Res.*, **4** : 58—70.

10) 桂 琦一 (1961) : 京府大植病特報, **1** : 1—70.

¹⁾1) ————・奥野健治 (1957) : 京府大学報・農, **19** : 17—22.

12) ————・土倉亮一 (1951) : 日植病報, **26** : 193—198.

13) Roane, C. W. (1952) : *Phytopath.*, **42** : 480.

14) Siva, B. and M. Shaw (1969) : *Canad. Jour. Bot.*, **47** : 1585—1587.

15) 山本昌木(1961) : 島根農大植病特報, **1** : 1—151.

16) Waterhouse, G. M. (1963) : *Comm. Myc. Inst. Myc. Papers*, **92** : 1—22.

Summary

Sporangia of the fungus, *Phytophthora infestans* f. sp. *infestans* Waterhouse, germinate in two ways: indirectly by forming zoospores and directly by producing germ-tubes. In the experiments on the sporangial germination, the resulting percentages of indirect and direct germination were 68.8% at the optimum temperature of 11°C and 7.7% at that of 20°C respectively.

Distinct differences with regard to the appearance of nuclei (DNA) in the germinating stage were observed.

Nuclear phenomenon of the fungus has been examined at the sporangial stage in two ways of germination. Nuclei in sporangia, in zoospores, and in germ-tubes stained well with a modified HCl-Giemsa technique. There are two groups of sporangia which differ in form and number of the nuclei. In one group, the nuclei are large of $3.8—5.0 \times 2.8—4.0 \mu$ in size, varying between 2 and 12 in number,

In the other group, the nuclei are small of $2.4—3.0 \times 1.5—2.5 \mu$ in size, varying between 7 and 15 in number. In the two groups of the nuclei, there is a high correlation between the number of nuclei and the length of sporangia.

Number of zoospores in an original sporangium ranges from 2 to 12, averaging 6.28 ± 1.80 , and number of nuclei in large-sized group ranges similarly from 2 to 12, averaging 6.02 ± 1.10 . Sporangia in large-sized nuclear group may be in accord with sporangia of indirect germination. The occurrence of sporangia of these large and small nuclear types is in a proportion of about 97:3. These proportions of the two nuclear types are not changed throughout the results of experiments on time between 6 and 30 hours. The writer suggest that the proportions of the two nuclear types of sporangia will be a character of the species of *Phytophthora*.

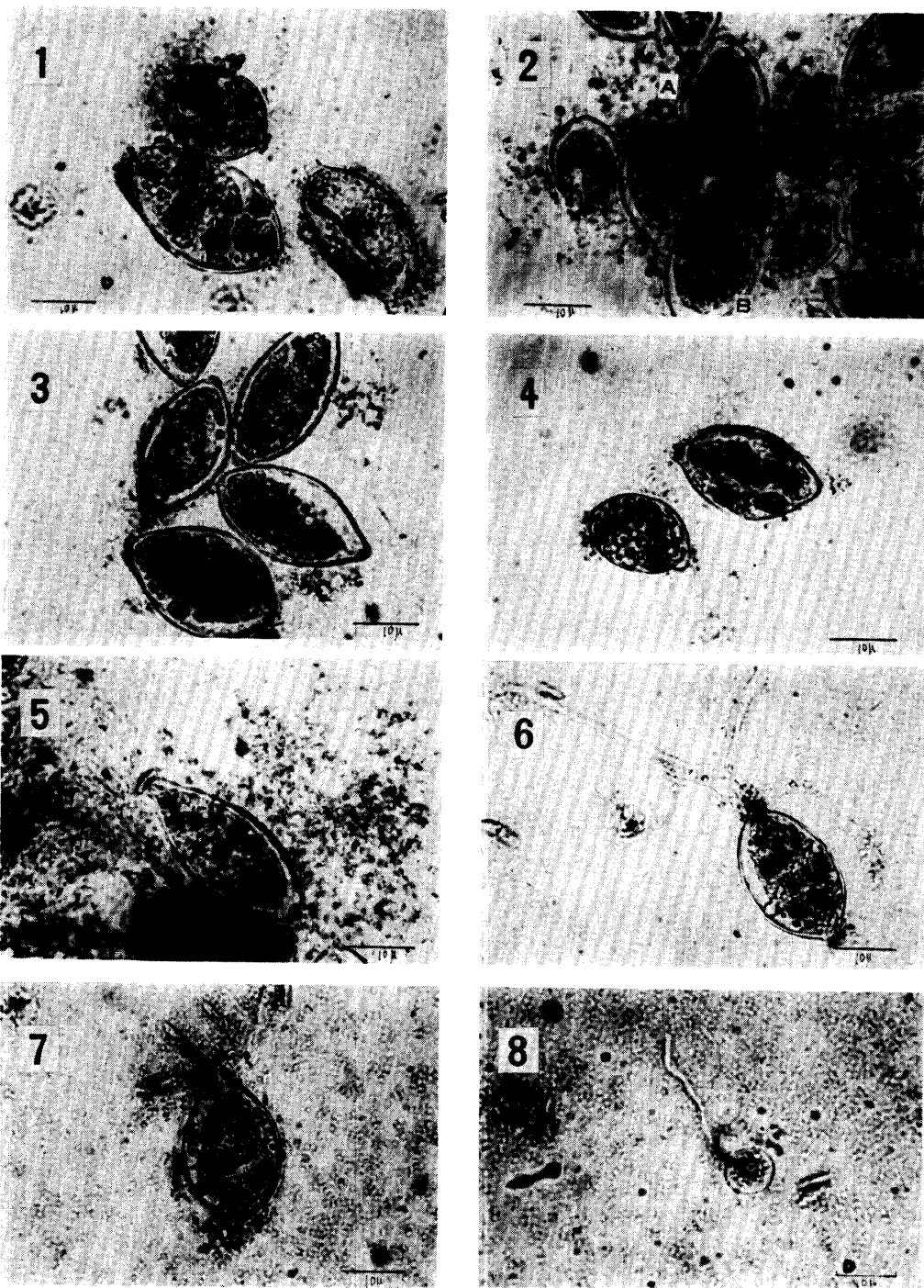


図 版 説 明

1. 遊走子嚢内の核を中心とした遊走子の分化
2. 遊走子嚢の核の2型
 - A. 大型核のもので核数が少ない
 - B. 小型核のもので核数が多い
3. 大型核を有する遊走子嚢
4. 間接発芽直前の核は遊走子の中に1個ずつ位置している
5. 小型核を有する遊走子嚢
6. 直接発芽した遊走子嚢の核は小型で数が多い。一部の核が発芽管へ移行しつつある
7. 直接発芽した発芽管へ小型核がかなり移行している
8. 被嚢胞子の発芽管へ核が移行しつつある

(Photo. by H. Yasumi)