イネごま葉枯病菌分生胞子の静水圧下における発芽*

(植物疾病に対する物理的要因の影響 IV)

池 上 八 郎**・高 木 勇***

Hatiro Ikegami** and Isamu Takagi***: Germination of *Cochliobolus*

Conidia during Constant Hydrostatic Pressure*

(Effects of Physical Factors upon the Plant Diseases IV)

Abstract

When conidia of *Cochliobolus miyabeanus* were held for 5 hours at 28°C under increasing hydrostatic pressures (100-500 kg/cm²), the length of germ tubes decreased with increasing pressure, and their forms changed from filamentous to elliptical to spherical. In control germ tubes the nuclei were scattered in a cell, whereas at 200 kg/cm² the nuclei were clustered. No germination occurred at 600 kg/cm² and above.

When conidia which were obtained by compression at 100-700 kg/cm² as above were kept under suitable condition for germination on slide, ordinary germ tubes elongated vigorously from abnormal germ tubes and from ungerminated conidia. Percentage of abnormal branching in these germ tubes increased with increasing pressure.

(Received August 30, 1971)

緒 言

静水圧で短時間処理した 2, 3 の植物病原菌胞子の形態的変性および発芽についてはすでに報告したが^{2,3,4)}, これらは比較的低温条件下で短時間加圧後、常圧に戻した胞子について調べたものである。本実験は静水圧が病原菌胞子の発芽におよぼす影響をさらに詳細に知るために、比較的低い静水圧と発芽適温のもとで胞子を長時間連続加圧し、加圧中に胞子がどのようにに発芽するかを知るために行なった。

イネごま葉枯病菌分生胞子は上述の実験目的に合致する適当な材料であった。すなわち、本菌分生胞子は発芽に不適当と考えられる小さなゴム・ビニール袋の中の浮遊液として供試したにもかかわらず、発芽する

ことができた。

本実験では種々の静水圧下における分生胞子の発芽率、発芽管の形態と長さ、および加圧中に発芽した分生胞子と発芽しなかった分生胞子の常圧下での発芽の様相について調べたのでその結果を述べる。

この実験に対して有益な助言を賜った岐阜大学農学部 橋岡良夫教授ならびに同大学医学部 舟岡省五名誉教授に謝意を表する。

材料および方法

供試菌 イネごま葉枯病菌は京大 13 号菌で、28°C しょ糖加用ジャガイモ寒天上で 28°C に 2 週間培養した。この培養菌から 1 視野当り (×150) 3-5 胞子の浮遊液を作製した。

加圧法 上記の胞子浮遊液の 1-2 ml を 2 重の薄いゴム袋に入れて糸でしばり、さらに薄いビニールで包んで糸でしばった。この際気泡が入らないように留意した。このゴム・ビニール袋を既報²⁾の静水圧装置の低圧用 (100-1,000 kg/cm²) の円筒に入れ、これを 28°C の恒温水槽に沈めた。100-700 kg/cm² の範囲

* 岐阜大学農学部植物病理学研究室業績 57 号。

本報は 1968 年 6 月、日本植物病理学会大会において発表した。

** 岐阜大学農学部 Faculty of Agriculture, Gifu University, Kakamigahara, Gifu, Japan.

*** 名古屋保健衛生大学 Nagoya Hoken Eisei Daigaku, Toyoake, Aichi, Japan.

の種々の静水圧で5時間連続加圧した。なお無処理は上述のゴム・ビニール袋を28°Cの恒温水槽に沈めて5時間保温した。

発芽調査法 加圧後、孢子浮遊液を殺菌蒸留水で遠沈洗浄(1,500 rpm, 5分間)し、直ちに沈殿した孢子について、発芽管の形態とその長さを調べた。他方、この連続加圧した孢子の浮遊液をスライドガラス上に点滴して28°Cの湿室に20時間保ち、常圧下での発芽を調べた。なお調査の対象とした分生孢子は隔膜を数個有したものである。

実験結果

1. 静水圧下における分生孢子の発芽

種々の静水圧下で連続5時間処理した分生孢子の発芽を発芽管が孢子の長径より短いものと長いものに分けて調べた結果をFig. 1に示す。調査孢子数は各区200個で3回実験を繰り返し、その平均で示した。

長い発芽管を生じた分生孢子は無処理と100 kg/cm²はほとんど同率であったが、200 kg/cm²ではいちじるしく低率となり、300 kg/cm²になるとほとんどみられなかった。これに対して短い発芽管を生じた分生孢子は無処理と100 kg/cm²では低率、200 kg/cm²では74.3%と激増した。400と500 kg/cm²で発芽した分生孢子のすべてが短い発芽管を生じ、それぞれ62.6%, 26.6%であった。発芽しなかった分生孢子は無処理と100 kg/cm²において同率できわめて低く、200-500 kg/cm²まで加圧度が高くなるほど高率になり、600 kg/cm²以上ではすべて発芽しなかった。

つぎに上述の材料について、各区とも発芽した孢子について発芽管長を測定し、その平均長をFig. 2に示す。

無処理の発芽管長は87.6μで、分生孢子の長径(83.0μ)よりやや長かった。この発芽管は分岐しないで真直ぐに伸長していた(Plate I-1)。100 kg/cm²では発芽管の太さと伸長状態は無処理によく類似していたが、発芽管長はやや短かった。200 kg/cm²になると発芽管はいちじるしく短くなり(28.0μ)、棍棒状のものが多かった(Plate I-2)。300 kg/cm²では棍棒状のものは少なく、長楕円状が多かった(Plate I-3)。400 kg/cm²では球状のものが増加し、(Plate I-4)、500 kg/cm²になると球状と半球状の発芽管(Plate I-5, 6)、また分生孢子の1端からだけ発芽管をわずかに生じたものもみられた。この

ように同一の静水圧のもとにおいて発芽管の形状に相違のあったのは、圧力に対する分生孢子の反応に個体差のあることを示している。600 kg/cm²以上では発芽管はまったく伸長しなかった。

無処理と200 kg/cm²で発芽した分生孢子について、発芽管の細胞内の核をFeulgen染色法によって染色した。その結果、無処理の発芽管の一つの細胞に4個の核が分散していたが、200 kg/cm²で生じた棍棒上の発芽管の一つの細胞では4個の核が桑果状の塊になっていた。

2. 静水圧で連続加圧した分生孢子の常圧下における発芽

上述の種々の静水圧で5時間加圧した分生孢子の常圧下における発芽を調べた。すでに生じた発芽管からあるいは分生孢子からそれぞれ発芽管が正常に伸長し、分岐した正常発芽と、発芽管が1カ所で2-4本に分岐した異常発芽とに分けて調べた。その結果をTable 1に示す。調査は各区とも200個の発芽孢子について行ない、実験は3回繰り返し、その平均で示

Fig. 1. Elongation of germ tubes from conidia examined immediately after a 5-hour compression at different hydrostatic pressures at 28°C.

Fig. 2. Length of germ tubes from conidia immediately after a 5-hour compression at different hydrostatic pressures at 28°C.

した。

100 kg/cm² では異常発芽は無処理のおよそ2倍に増加し、さらに200から700 kg/cm² と加圧度が高くなるにつれて異常発芽胞子が漸増し、正常発芽胞子は漸減した。600 および 700 kg/cm² で5時間の加圧でまったく発芽しなかった分生胞子は、常圧下でそれぞれ83.7, 83.5%の正常発芽をした。これら両区の異常発芽と既報⁴⁾の2,000 kg/cm² で10分間処理後発芽させた場合の異常発芽とはよく類似していた(Plate II-4)。

上述の静水圧で5時間加圧した分生胞子について、常圧下での発芽管の伸長の程度を調べた。各区とも200 胞子について、未発芽胞子と発芽胞子を発芽管が

胞子の長径より短いものと長いものとに分けて調べた。3回実験を繰り返し、その平均を Table 2 に示す。

胞子の長径より長い発芽管が伸長した分生胞子は無処理区および 100-700 kg/cm² の加圧区ともにきわめて高率(95.9-96.5%)で、各区間に大差はなかった。また短い発芽管を伸長した分生胞子は各区とも2%前後であり、未発芽胞子は1.2-2.0%の範囲でいずれもきわめて低率であった。無処理と100 kg/cm² ですでに発芽した分生胞子では、これらの発芽管からさらに同じ太さの発芽管が伸長し、分岐した。200 kg/cm² 以上の加圧下で生じた棍棒状、橢円状および球状発芽管からは、無処理と同じ太さの発芽管がさらに伸長し、分岐した。またこれらの異常発芽管から2-3本の発芽管を生じたものもあった(Plate II-1, 2, 3)。

考 察

イネごま葉枯病菌の分生胞子浮遊液をスライド上に点滴し、28°C で5時間経過すれば発芽管は相当伸長し、分岐する⁴⁾。これに対して本実験でゴム・ビニール袋内に胞子浮遊液を入れて28°C、5時間保温したところ、発芽管は胞子の長径よりやや長い程度に伸長したが、分岐しなかった。これはおそらく発芽の際必要とする酸素の不足によると考えられる。イネいもち病菌の分生胞子浮遊液を上述と同様に保温したところ、分生胞子はまったく発芽しなかった。このために本菌はこの実験に供試できなかった。

100 kg/cm² で加圧した分生胞子の発芽状態は無処理とほぼ同様であった。200 から 500 kg/cm² へと加圧度が増すと、発芽管は棍棒状、橢円状、球状、半球状へと変形した。このような形態変化は外圧に抵抗する発芽管の反応によると考えられる。200 および 300 kg/cm² では種々の形態の発芽管がみられ、これらの静水圧下では胞子の圧力に対する個体差がもっとも多く現われていた。イネごま葉枯病菌分生胞子は500 kg/cm² において5%が発芽管を生じ、これは球状か半球状で外圧と均衡を保っていた。500 kg/cm² で発芽したことは、500 kg/cm² の外圧よりも高い分生胞子の内圧のあることを示し、600 kg/cm² でまったく発芽しなかったことから、本菌分生胞子の発芽の際の最大内圧は500 から 600 kg/cm² の間にあるといえる。分生胞子は無処理においても発芽管の伸長によくない条件下にあったが、もしも分生胞子の発芽に良好な条件下で加圧できれば、本実験の結果よりさらに高い静水圧のもとでの発芽が予想される。

イネごま葉枯病菌分生胞子はイネ葉上で発芽して発

Table 1. Normal and abnormal elongation of germ tubes from conidia, after 20 hours at 28°C on slide following a 5-hour compression at different hydrostatic pressures at 28°C

Hydrostatic pressure kg/cm ²	Conidia with normal germ tube %	Conidia with abnormal germ tube %
Control	95.1	4.9
100	90.3	9.7
200	88.7	11.3
300	86.8	13.2
400	86.7	13.3
500	85.5	14.5
600	83.7	16.3
700	83.5	16.5

Table 2. Germinability of conida after 20 hours at 28°C on slide following a 5-hour compression at different hydrostatic pressures at 28°C

Hydrostatic pressure kg/cm ²	Conidia with long germ tube %	Conidia with short germ tube %	Unger- minated conidia %
Control	96.1	2.7	1.2
100	96.4	1.8	1.8
200	96.5	2.0	1.5
300	95.9	2.1	2.0
400	96.0	2.4	1.6
500	96.3	2.5	1.2
600	96.4	2.0	1.6
700	96.1	2.0	1.9

芽管の先端に付着器を形成し、発芽管と付着器は粘質物で寄主に密着することが電顕で観察されている¹⁾。ついで付着器から貫入菌糸で角皮侵入する。この際、物理的かあるいは化学的に侵入するのか、また両者が相伴って侵入するかについてはまだほとんど明らかにされていない。物理的要因としては圧力があり、付着器から貫入菌糸に圧力が加わって角皮を突き破ることが推定される。本実験では付着器に代って分生孢子から発芽管の生ずる時の孢子の最大内圧を測ることができ、500 から 600 kg/cm² の間のかなり高い内圧を有することがわかった。この実験から植物病原菌が角皮侵入する場合の物理的な圧力要因を考えるための資料になるならば幸である。

無処理の発芽孢子の発芽管内の核は分散していたが、200 kg/cm² の棍棒状の発芽管では核は桑果状の塊となっていた。これは加圧が発芽管の形態だけでなく、細胞内にもかなりの影響を与えていることを示している。この影響は加圧中に生じた棍棒状、球状の発芽管あるいは発芽しなかった孢子から常圧下でさらに異常分岐の発芽管が生じたことにも関連していると思われる。異常発芽は既報²⁾ のイネごま葉枯病菌およびイネいもち病菌の分生孢子において、前者は 2,000 kg/cm² で 10 分間、後者は 1,000 kg/cm² で 10 分間それぞれ加圧後発芽させた場合に観察することができ、これらと上述の異常発芽とはよく類似していた。

無処理と 100 kg/cm² の加圧下で発芽した分生孢子を常圧下で発芽適温にした場合、すでに生じた発芽管と同じ太さの発芽管がさらに伸長し、分岐した。これは 100 kg/cm² の 5 時間の加圧では分生孢子の発芽にほとんど影響のないことを示している。600 および

700 kg/cm² の 5 時間加圧で分生孢子はまったく発芽しなかったが、これらを常圧下で発芽させると、無処理に比べて発芽管の異常分岐したものが増加した。しかし孢子発芽率および発芽管の伸長は無処理と同程度に旺盛であった。このことから、これらの加圧度では孢子におよぼす影響は少ないといえよう。

摘 要

イネごま葉枯病菌分生孢子は 100-500 kg/cm² の静水圧下で 28°C、5 時間連続加圧されたとき、発芽管長は加圧度の増すにつれて短くなった。その発芽管の形状は糸状、長楕円状、そして球状へと変った。発芽管における核は無処理では細胞内に分散していたが、200 kg/cm² では桑果状であった。600 kg/cm² およびそれ以上の静水圧では分生孢子の発芽はみられなかった。

上述のように 100-700 kg/cm² で加圧して得た分生孢子をスライド上で発芽に好適な条件下においたところ、すでに生じていた異常な発芽管および発芽しなかった分生孢子から普通の発芽管が旺盛に伸長した。しかしこれらの発芽管は静水圧が高くなるにつれて異状分岐の割合を増した。

引 用 文 献

1. 堀野 修・赤井重恭(1968). 日植病報 34: 51-55.
2. 池上八郎・高木 勇・古山嘉美 (1965). 岐阜大農研報 21: 43-52.
3. 池上八郎・高木 勇 (1966). 同上 22: 50-59.
4. 池上八郎・高木 勇 (1967). 日植病報 33: 144-149.

Explanation of plates

Plate I. Elongation of germ tubes from conidia during a 5-hour compression at 28°C at different hydrostatic pressures.

1. A normal germ tube born from a non-compressed conidium.
2. A clubbed germ tube born from a conidium at 200 kg/cm².
3. Long elliptical germ tubes born from a conidium at 300 kg/cm².
4. Elliptical germ tubes born from a conidium at 400 kg/cm².
- 5-6. Formation of spherical (5) and hemispherical (6) germ tubes from two conidia at 500 kg/cm².

Plate II. Elongation of germ tubes from conidia with abnormal germ tubes, after 20 hours at 28°C on slide following a 5-hour compression at different hydrostatic pressures.

1. Branched germ tubes elongating from a clubbed germ tube born at 200 kg/cm².
2. Branched germ tubes elongating from a elliptical germ tube born at 300 kg/cm².
3. Abnormal (upper) and normal (lower) germ tubes elongating from two spherical germ tubes born at 500 kg/cm².
4. Abnormal branching of germ tubes born from a ungerminated conidium at 700 kg/cm².

Note: Bar represents 10 μ .

Plate II