タマネギ灰色腐敗病の病態解剖学的観察

田端信一郎・田部 真

信州大学農学部 植物病理学研究室

緒 言

貯蔵タマネギは種々の細菌および糸状菌により腐敗し大きな問題である。貯蔵中に腐敗の 原因となる病原菌のなかで重要な菌は Botrytis 類で,逸見ら^{4,5})は病原菌の形態,発育なら びに病徴などから灰色腐敗病 (Botrytis allii Munn),菌糸性腐敗病 (Botrytis byssoidea Walker),小菌核性腐敗病 (Botrytis squamosa Walker) および菌核性腐敗病 (Botrytis sp.)をあげ,そのなかでも B. allii による灰色腐敗病が大部分を占めていることを報告し た。また Botrytis 類による腐敗以外に Colletotrichum circinans (Berkeley) Voglino, Fusarium oxysporum Schlechtendahl f. cepae (Hanzawa) Snyder et Hansen, Erwinia carotovora (Jones) Holland 等が 貯蔵中の タマネギを腐敗させる。Fusarium solani (Martius) Appel et Wollenweber, Fusarium oxysporum Schlechtendahl および Fusarium moniliforme Sheldon 等もタマネギに病原性を示し, F. solani は腐敗の原因になる²⁾が発 生は比較的少ない。

B. allii の病原性は比較的弱く,葉および新鮮りん片表面に分生胞子を噴霧接種してもほとんど発病は認められない^{4,5,13,21})。また,Botrytis 類による斑点性あるいは葉枯症状を呈する葉の病斑から菌の分離を行なつても,B. allii が分離されることはきわめて少ない^{6,12)}。 このように健全表皮からの侵入は困難であるが,傷口からは容易に侵入することが出来る4,5,13,18,21)。

しかし貯蔵中のタマネギは乾燥したりん片におおわれて、内部の新鮮りん片表皮は健全で あるにもかかわらず、貯蔵後期になると *B. allii* による腐敗が多く発生してくる。これは収 穫時または貯蔵中に菌が附着し、後に感染腐敗を生じたものと考えられる。

このように B. allii は寄主体に附着後ただちに侵入する力は弱いが,後に多くの被害を与えることから,この菌による侵入感染の経過,ならびに感染細胞の状態およびその変化を調べる目的で試験を行なつた。

実験材料および方法

実験材料は、1965年長野市芹田産の泉州中甲高に自然発病したもの、または新鮮りん片に 少量の菌糸を埋め込んで接種し、25°Cの湿室に保ち発病させたものを用いた。

侵入感染の経過を調べるため,罹病部分をホルマリン一酢酸一アルコール No.2 液で固定 し、nーブタノール法によりパラフィン切片を作つた。切片は Stoughton の方法¹⁰により 染色観察した。細胞膜の変化は、ペクチン質の検出にルテニウムレッド染色と鉄吸収反応を 行ない, セルローズの検出は IKI-H2SO4 反応により行なつた。10)

感染細胞の変化は、おもに罹病組織の表皮をうすくはぎ取り表皮細胞の変化について観察 した。生体染色は、あらかじめ使用色素の細胞に対する毒性を調べた後に、比較的毒性の弱 い酸性色素のエオシン、ライトグリーンおよび塩基性色素のゲンチァナバイオレット、ビス マルクブラウンの 0.05~0.001 %水溶液を用いた。細胞の pH 測定は指示薬法¹⁾によつた。 原形質分離は 1 M KNO₈ およびしよ糖溶液を用いた。

健全細胞が罹病組織の抽出液によつて受ける変化をみるため、組織 10g に蒸溜水 10ml を 加えて磨砕し、遠沈後上澄液を濾過し、濾液を 20ml とし、そのうち 10ml は直ちに pH 6.5 に、残りの 10ml は 100°C, 10分間加熱した後に pH 6.5 に調整した。これらの抽出液に りん片の小片を入れ、 25°C に24時間保つた後細胞に与える影響を観察した。

結 果

病 徴

腐敗の症状は感染の時期,発病部位,病斑の新旧などによりことなるが,大別すると,発 病部位により首腐れ,肌腐れ,心腐れ,および尻腐れに分けられた。

首腐れでは首の部分のしまりが悪く、収穫時には健全にみえても貯蔵中に腐敗する。首の 部分のりん片が軟腐状態となり、ときにはその表皮上に灰色の小菌糸塊、あるいは分生胞子 の形成がみられる。病状が進むにしたがい球全体が軟化し、球の表面に多量の分生胞子を形 成する。菌核は球の表面、または内部りん片の相互に接した面の間にも形成される(第1図 A; D)。

肌腐れでは球の赤道面の外側りん片が初めは僅かに水浸状を呈し、その部分にきわめて小 さな菌糸塊が見出されることが多い。この水浸状病斑が拡大し、さらに内部りん片にもおよ び軟腐する。後に病斑部分に多量の分生胞子および菌核を形成する(第1図A; D)。

心腐れでは生育中に心葉が感染枯死すると、それに接続している内部りん片が腐敗軟化し、 収穫時にはやや首あるいは球全体のしまりの悪さがみられる。貯蔵中に球全体が腐敗し表面 に多量の分生胞子、菌核を形成する(第1図B; D)。

尻腐れは貯蔵後期に多くみられる。腐敗は底盤部とりん片の接する部分から始まり、それ









- A 首腐れ,肌腐れ,尻腐れ C 罹病部乾燥による病斑進展停止
- し
 惟柄
 部
 取
 深
 に
 よ
 る
 柄
 斑
 進
 肤
 停
 止

B 心腐れ

第1図

D 乾燥りん片下側に形成された分生胞子と菌核

236

は内部に進むか,あるいは外側のりん片を上部へと進む。一般に,貯蔵後期になると,底盤 部とりん片の接する境界部分に新根がりん片を破つて発生してくるが,多くの場合,この部 分に灰色の菌糸の繁殖および分生胞子の形成がみられ,組織は水浸状に軟化して腐敗が始ま り拡大しゆく(第1図A)。

本病は病斑上に多量の分生胞子を形成し,またその部分に比較的大きな菌核を形成するの が特徴である。

発病した球を乾燥条件に保つと,罹病組織は乾燥し,薄くなつて堅い褐色の皮状となる。 そのため健全部との境は急に落ち込み,褐変し,その周辺の健全組織は淡黄色を呈する。肌 腐れの場合,乾燥した部分は凹形となる(第1図C)。このような状態になつた病斑は,そ の後の進展がきわめておそくなるか,または停止する。すなわち,組織の腐敗に対する抵抗 現象が認められる。この現象は乾燥条件を直接にうける外側のりん片にのみみられ,その内 側のりん片では腐敗はそのまま進行する。

菌の侵入方法と組織内まん延状態

胞子は病斑上,あるいは培地上で盛んに形成される。この胞子の発芽は蒸溜水中,あるい は健全りん片表皮上では20%前後で不良であるが,胞子けん濁液中に糖類を添加した場合, あるいはりん片の傷口上では100%近い発芽を示し,菌の発育も良好である^{14,15)}。

胞子を葉およびりん片の健全表皮上に接種し,湿室中に24時間,25°C に保つた後表皮を 薄くはぎとり,コットンブルーまたは酸性フクシンの0.05%ラクトフェノール溶液で染色し, 発芽管の行動を調べた。その結果,発芽管は任意の方向に伸長し,気孔に向つて伸長すると か,表皮細胞縫合部に沿つて進むことはなく,また表皮を直接貫通して侵入することもなか つた。しかし,このような状態の菌に適当な栄養条件¹⁶⁾を与えれば――例えばりん片の熱水 抽出液を滴下し,25°C の湿室中に3~5日間保つなど――菌糸は表皮上でかなり密に繁殖 する(第2図)。しかしこの時,表皮を直接貫通して侵入することはなく,やがて灰色の小 菌糸塊を形成し,その直下から菌糸の集団でクチクラを貫通し,表皮細胞内に侵入する(第 3図,図版1,5)。

侵入した菌糸は侵入部分を中心に表皮細胞および柔細胞組織を縦横に走りながら同 心円状に伸長するが,表皮から下部に向う よりも水平方向へ盛んに伸長する。そのため菌の密度は表皮細胞と,その直下数層の 柔組織で高い。



第2図 表皮上での菌糸増殖



第3図 菌糸塊からの侵入



第4図 りん片組織内の菌糸まん延状態

第5図 外側から内側りん片への菌の侵入

菌糸は細胞間げき,あるいは細胞膜を貫通して縦横に走るが(第4図,図版4),菌糸の 多量に走つている部分の細胞膜は,健全細胞および侵入直後の細胞に比較してきわめて薄く なつている。しかし,これらの細胞膜は,かなりの菌糸が組織内で繁殖しても,完全に消失 することはなく,かすかに残存している。

罹病りん片に接する内側りん片表皮への侵入は,罹病りん片の裏側表皮を菌糸が貫通し, 内側のりん片表皮上に小菌糸塊を形成してから侵入する場合と,裏側表皮を菌糸束で破り, そのまま続いて内側のりん片表皮を貫通して侵入する場合とがある(第5図)。菌糸はりん 片が互に接する部位でも盛んに伸長し,新しく小菌糸塊を形成してはさらに内側りん片へと 侵入してゆく。

罹病組織の表皮細胞付近の菌糸はやがて表皮細胞の下側の細胞膜に達し,表皮細胞膜の間 を走つたり,あるいは直接細胞膜を貫通してクチクラ層に至る(第6図,図版3)。

表皮の細胞膜はクチクラ層とセルローズ 層との間をペクチン質が接着しているが³⁾, 菌糸はこのクチクラ層の直下に達し,その ままの状態,あるいはやや増殖して存在す



第6図 表皮細胞膜間を伸長する菌糸

第7図 分生子梗の形成



第8図 葉組織内の菌糸まん延状態



第9図 乾燥による病斑進展停止部分の断面

る。そのためクチクラ層がもち上げられる か,またはセルローズ層が押し下げられた 状態になる。菌糸はここでクチクラ層を破

り、分生子梗を表皮上に形成し、多量の分生胞子を形成する(第7図)。

心腐れの場合には葉の罹病が直接関係するため、葉の罹病組織について観察した。

葉への侵入はりん片の場合と同様で,自然条件下では胞子の発芽管による侵入,および菌 糸塊を形成することは困難である。そのため,葉の感染は機械的,または虫害などによる傷 ロ,あるいはその他の原因による枯死部分への二次的な感染から始まる。

葉組織内の菌糸は細胞膜を貫通して進むこともあるが、細胞間げきや細胞膜間を走るもの が多い(第8図、図版6、7)。菌糸は内部柔組織での繁殖が良好で、柔組織からさく状組 織を通つて表皮に達するが、直ちにクチクラ層を貫通することは困難なようで、クチクラ層 の下で菌糸がかなり増殖した後に、はじめてクチクラ層を破つて表皮上に分生子梗を形成す る。

菌糸は罹病組織が乾燥して皮状となり、病斑進展が停止して抵抗現象を示しているりん片 の健全組織部分には存在せず、この部分よりかなり後方の乾燥したりん片組織中に埋め込ま れている。乾燥した部分の細胞膜は褐変しており、また境界部分の健全細胞膜もやや厚くな って褐変している。この部分の柔細胞は、1 M KNO⁸ による原形質分離の結果、ほとんど死 んでおり、表皮細胞のみが黄色を呈して生きている(第9図)。

罹病組織細胞膜の変化

菌糸が密に走つている組織の細胞膜は、菌糸が侵入を始めたばかりの細胞膜に比べると、 厚さが非常に薄くなつている。このことに関して、どのような物質が変質、消失し、または 残存しているかを調べるため、細胞膜の主な構成成分であるペクチン質とセルローズ³⁾の分 解消失の程度をみた。

ペクチン質:菌が増殖し、小菌糸塊の形成をうけた表皮細胞膜は、菌の侵入を受けていな いにもかかわらず、ルテニウムレッド、鉄吸収反応に対して反応が弱いか、全く呈色しな い。このことはペクチン質が分解され、一部分消失したことを示している。菌の侵入した表 皮細胞膜は、同様に、ルテニウムレッドにより非常に弱い橙色を呈するか、あるいは全く呈 色しない。また柔組織でも、菌糸が貫通した部分、あるいは菌糸が密に走つている組織で貫 通を受けていない部分のペクチン質の反応は、きわめて弱いか、反応が認められなかつた。



第10回 菌糸塊直下細胞膜の ペクチン質の消失



第11図 菌糸まん延部分の薄 い細胞膜とその部分のペ クチン質の分解消失



第12図 クチクラ層下セルロ ーズ層中の菌糸

ルテニウムレッド処理では、健全細胞膜は赤紫色を呈し、罹病組織の細胞膜は橙色を呈す るか、染色されない。しかし鉄吸収反応では、健全および罹病細胞膜ともにルテニウムレッ ド処理によるほどの差は現われなかつたが、ルテニウムレッドに陰性の部分は鉄吸収反応に も陰性で、ペクチン質の消失を示していた。このことは、ペクチン質の消失した部分は両反 応に陰性であり、ルテニウムレッドで橙色を呈し、鉄吸収反応に陽性の部分はペクチン質の 部分的分解を示している(第10,11図、図版 8)。

セルローズ:前述のごとく菌の密度の高い罹病組織の細胞膜は非常に薄くなつている。この残存している膜を IKI-H₂SO₄ 反応で処理すると青色を呈し、セルローズの存在を示している。その程度は、健全細胞膜の反応と同程度であつた。

菌糸塊直下のクチクラ層は、IKI-H₂SO₄反応により褐色~橙色を呈し、スダンⅢ染色で調べても、菌の侵入前後における変化は観察されなかつた。

菌糸はクチクラ層直下のセルローズ層を縦断,または横断して伸長しているのが明らかに 認められ,セルローズの分解消失は認められなかつた(第12図)。

感染に伴う細胞の変化

りん片の健全,罹病境界部分を徒手切片 にして観察すると,1) 菌糸が死組織内を 縦横に走つている部分,2) その菌糸の前 部にあって,いまだ菌糸が伸長してきてい



第13図 罹病組織の断面



第14回 罹病組織の表皮細胞の変性

ないが,細胞の死んでいる中毒死の部分,3) 更にその前部にあつて,細胞の変性が始まつている中毒部分の3部分に分けられる(第13,14図)。

死細胞では、原形質が細胞膜に接してやや収縮し、一様に、あるいは網目状に分布し凝固 している。核は不整球形となり、核質が凝固し、2~3個の仁が明らかにみられる。菌糸の

侵入した死細胞では,凝固した 原形質の形がくずれ,消失して いる。しかし核は菌糸の間にあ って,形はかなりくずれている がなお存在しており,仁も認め られる。

健全組織から死組織へかけて の中毒部分では、細胞変性が始 まつている(第14,15図)。

健全細胞では液胞が細胞内容 の大部分を占めており,多数の 原形質糸が核から細胞膜に向か い,あるいは細胞内を縦横に走 り,ゆつくりと原形質流動をし ている。変性の初期では,細胞 内を走る原形質糸の形態がやや くずれてゆるんだようになり, 核の周辺や細胞膜に接した部分



で原形質の集合がみられる。また原形質流動もきわめてゆつくりと行なわれ,液胞はやや収縮している。変性が進むと,液胞収縮は更に進み,原形質糸はほとんど認められず,原形質 流動も停止する。続いて液胞分裂が起こり,液胞収縮が進む。この状態の細胞は原形質の容 積が増加し,顆粒が激しくブラウン運動をしていることから,原形質の粘性は低いようであ る。このような細胞を 1M KNO₈ 処理をすると,帽状原形質分離の形態の分離を起こし, 滴状に分裂しているそれぞれの液胞もそのままの状態で原形質分離をする。この細胞を水に もどすと,滴状に分裂していた液胞は一部分互に合体し,原形質分離以前のものよりも大き な液胞を形成して回復してゆく。

液胞は収縮,および分裂が進み,漸次容積が変化し,ついには細胞内から消失する。この ような細胞では原形質が細胞内に一様に分散し,顆粒のブラウン運動がみられることから, 原形質はいまだ凝固していない。この細胞を1M KNO₃ で処理すると,原形質分離は凹形, あるいは角形の状態から漸次凸形の状態になるが,健全細胞の凸形に比べ不規則な形をして いる。このように液胞が消失し,原形質構造が破壊されて細胞の機能が停止しても,原形質 分離をすることから,いまだ原形質膜の機能,すなわち半透膜としての機能は残つているも のと思われる。このような細胞は,やがて原形質が細胞の形のままで収縮し,角形原形質分 離の状態で凝固する。

このような経過は貯蔵後期の抵抗力の弱まつたりん片に多くみられ、貯蔵初期、あるいは

内部の新鮮な抵抗性のあるりん片¹³⁾では、原形質糸のみだれ、原形質の一部集合、および液 胞収縮の状態から細胞内に原形質が一様に分散した状態となり、角形原形質分離の状態で凝 固する。

感染細胞の生体染色

健全細胞の死に至る過程での染色性の変化をみた結果は、第1表のようである。死細胞は 塩基性色素のビスマルクブラウン、およびゲンチェナバィオレット、酸性色素のライトグリ ーン、およびエオシンの0.001 %水溶液によりすみやかに染色される。健全細胞は塩基性色 素によりよく染色されるが、中毒細胞は、いまだ 1 M KNO[®] で原形質分離を生じ、原形質 膜の機能を保持しているにもかかわらず、塩基性、酸性両色素に非常に染色されにくい。こ れは、細胞の原形質流動が停止しているため、色素が細胞から細胞へ運搬されがたいためか、 あるいは原形質膜が変性し、色素を透過しにくくなつているためと思われる。

種類	致死細胞		中毒細胞		健全細胞	
個 所 一	C*	N**	С	N	С	N
ビスマルクブラウン	++	++	±		+	-
ゲンチァナバイオレット	++-	++	\pm		-+-	_
ライトグリーン	++-	<u>+</u>	<u>+-</u>	+		+
エオシン	++	+	<u>-+-</u>	+	-	+

第1表 感染細胞の生体染色

* 細胞質 ** 核

塩基性色素は核の核質を染色するといわれるが¹⁹,明りように染色を認めることは出来な かつた。一方酸性色素のライトグリーン,およびエオシンは核液をよく染色し¹⁹,核の状態 が明らかにみられた。健全細胞の核は球形で,2~3個の仁を有し,粒状構造を示し,好酸 性である。液胞収縮,分裂を生じた中毒細胞では,核の外観は健全細胞の核と同様であつた が,収縮した液胞のトノプラストと核との接する相互の面には狭い透明な間げきが認められ た。原形質分離を起こさなくなつた細胞の核は,健全細胞の核が好酸性であるのに反し好塩 基性を示し,核の変性が明らかである。

感染細胞の限界原形質分離濃度

中毒細胞では,原形質流動が停止し,液胞が分裂しても顆粒が激しくブラウン運動をして いることから,健全細胞よりも原形質濃度がやや低下していると思われる。これを確かめる ため,各種感染程度の細胞について,限界原形質分離濃度を調べた(第2表)。

健全細胞の限界原形質分離濃度は0.38Mであるが、この濃度では、感染細胞は容易に凸形 原形質分離を生ずる。原形質分離の程度は、死細胞に接した細胞で最も強く生じ、健全細胞 に近い細胞ではその程度が弱く、感染細胞の原形質濃度が低下していることを示している。 死に至る各過程の細胞では、0.37Mが原形質分離限界濃度であり、更に0.36Mでは全く原 形質分離は起こらなくなる。すなわち感染細胞では健全細胞に比べて、0.01M程度の濃度低 下が生じている。また、感染の程度により原形質分離の程度は異なり、それぞれわずかなが

242

濃 度 (M)	液胞収縮期	流動停止期	液胞分裂期	健 全 細 胞
0.35			_	
0.36				
0.37	<u>+</u>	土	土	
0.38	+	+	+	<u>-</u> <u>+</u> -
0.39	+	+	+	+
0.40	+	+	+	+

第2表 感染細胞の限界原形質分離濃度*

* しよ糖溶液を用いた

	健全組織		市 翡 組 織		致死組織	
PH 範囲 色素	呈色	pH	呈色	pH	呈色	pH
コンゴーレッド	橙	>5.6	橙紫	4.6~4.8	橙紫	3.8~4.0
メチルレッド	黄赤	≦6.6	淡赤	4.8~5.0	赤	$3.6 \sim 4.2$
ブロムチモールブルー	黄緑	$6.4 \sim 6.6$	黄	≦5.2	黄	<5.2
フェノールレッド	黄	6.0~6.2	黄	< 6.0	黄	<6.0
中 性 赤	赤	≧6.6	赤	< 6.6	赤	<6.0
	pH 6.4~6.6		pH 4.8		pH 4.0	

第3表 感染組織のpHの変化

ら、原形質の濃度が変化していることを示している。

感染組織の pH の変化

感染組織の pH は組織内の菌の生育,生理,とくに菌の生産する酵素,および毒素の作用 に影響を与えるものと思われる。そこで感染致死に至る過程での pH 変化を指示薬法¹⁾ によ り調べた。

個々の細胞の pH 測定を目的として種々試みたが,明らかな差が認められ難く,測定部分を健全部,中毒部,致死部に分けて測定した。結果は第3表のようである。

健全部は pH 6.4~6.6 で微酸性であるが,中毒部は約 4.8でかなり酸性を示し,致死部で はpH 4.0 付近と更に低下する。健全細胞の磨砕抽出液は pH 5.8 で,生細胞の pH よ りも やや低く, 磨砕により生成されたピルビン酸^{9,11)}が pH 低下のおもな原因と考えられるが, 感染致死部では更に pH が低いことから,これは明らかに菌の影響によるものと思われる。

感染組織抽出液の健全細胞に与える影響

中毒,あるいは致死組織に菌糸が存在しないことは,菌の強い殺生菌的性質を現わしてい る。したがつて,感染致死組織中には,健全細胞になんらかの影響を与える物質が存在し, その物質が健全組織へ移行し,中毒から死に至らしめているものと考えられる。そこで,完 全に罹病軟化した組織から磨砕抽出した液に健全りん片の小片を浮かべ,25°C に24時間保 つた後,その影響を調べた。また,同時に罹病部抽出液を100°C で10分間加熱した液,健 全組織の抽出液,およびその加熱処理した液について調べた(第4表)。

罹病組織の抽出液の pH は 4.0 で, 健全部の抽出液は pH 5.8 であつたが, pH による影響

処理液	処理 濃度	組織の堅さ	原形質分離	原形質流動	液胞収縮	原形質凝固
D	1	+	土	—	+	±
	0.5	++	+-	-+-	+	
D—H	1	++	+	+	+	—
	0.5	-+++		+	+	—
Н	1	-+++	+	+	_	—
	0.5	-+++	+	+	-	—
Н—Н	1	-+++-	+	÷	—	-
	0.5	-+++	+	+	—	—
C			+	+	_	_

第4表 罹病組織抽出液の健全細胞に与える影響

D:罹病組織抽出液, D—H:Dを100°C, 10分間加熱した液, H:健全組織抽出液 H—H:Hを100°C, 10分間加熱した液, 処理液濃度:1 抽出原液, 0.5 $\frac{1}{2}$ に希釈 原形質分離:1M KNO₈ 液を用いた

組織の堅さ:艹健全組織の堅さ、艹やや軟化、+ かなり軟化、- 解離

を少なくするために、各抽出液の pH を 6.5 に調整した。

りん片の小片を単に蒸溜水中に浮かべた場合には、原形質分離の形は、最初は軽い凹形から正常な凸形になるが、その他の、組織の堅さ、原形質の状態などは処理前の状態と差はなかつた。健全組織抽出液で処理したりん片では、蒸溜水処理区とほとんど差がなく、組織の堅さのみがいくらか軟化の傾向にあつた。処理液を¹/2に希釈しても、これは同様であつた。また加熱処理をした抽出液では、蒸溜水処理区と結果は全く同様であつた。

罹病組織からの抽出液処理では、液胞が消失し、原形質流動は停止し、原形質の凝固が始まつているのが認められた。1 M KNOs で処理すると、原形質分離は凹形から角形の状態になるが、原形質分離を起こさなくなつた細胞も認められた。組織はかなり軟化していた。また、濃度を¹/2 に希釈して処理すると、原形質分離は凹形を生じ、液胞収縮と非常にゆつくりとした原形質流動がみられた。組織はやや軟化している程度であつた。

罹病部抽出液を加熱処理した液で処理すると、液胞収縮が認められる以外は、蒸溜水処理 区と大差はなかつた。すなわち、抽出液を加熱処理すると、その作用が消失することから、 罹病組織中に存在する主要な毒性物質は、熱に対して比較的不安定な物質である。

考 察

腐敗の病徴は発病部位,時期,球の生理状態などによりことなるが,いずれの場合でも, 小さな水浸状病斑から始まり,組織の軟化腐敗に至る。外側りん片に腐敗がはじまつた球を 通風良好な環境に保つと,罹病軟化した部分は固い皮状となり,病斑の進展が停止すること から,貯蔵条件の1つとして,乾燥状態に保つことが最も重要な点と考えられる。しかし, 腐敗がすでに内部りん片まで達しているか,内部りん片から始まつてくる場合には,乾燥条 件に保つても効果がなく,腐敗して第二次伝染原となるため,貯蔵時,または貯蔵中に除去 する必要がある。 菌の侵入および組織内まん延についての経過を 図示すると第16図に示すようになる。菌の侵入は 胞子の発芽管で行なわれることはきわめて困難な ようで、侵入力は弱い。すなわち、自然環境では 健全表皮上で菌糸が長期間にわたり存在し、緩慢 な生育を続け、小菌糸塊を形成し、そこから菌糸 の集団で表皮を貫通して侵入するものであり、り ん片表皮のクチクラ層を貫通する力は弱いと思わ れる。低湿度に保つと菌の生育が抑制され、菌糸 塊の形成も不良で菌の侵入は困難となる。

れる。低温度に保つと困の至育か抑制され、困衆 塊の形成も不良で菌の侵入は困難となる。 利線 内側のりん片へ外側の罹病りん片から侵入する 場合は、外側の罹病りん片で増殖した菌糸から充



第16図

分な養分の供給を受けて、菌の生育が良好になると、容易に侵入出来るようである。 表皮上で菌糸がかなり増殖すると、菌の侵入をうけていないにもかかわらず、その直下の 細胞の死が認められる¹⁰)。菌体直下の細胞が死ぬことは、菌体からなんらかの毒素が生産さ れ、その作用によるものと思われる。このように、菌の侵入にはある程度の表皮上での菌の 増殖、および表皮細胞の死を必要とするが、種々の物質を菌の栄養源として与えた場合、菌 生育の良否にかかわらず、侵入の様相がどのように変化するかということは興味ある点であ る。

侵入した菌糸が 組織内を 伸長してゆくためには, まず菌糸周辺の 細胞を殺さねばならな い。そのためには, 侵入時と同様な毒性物質の働きが存在しているようで, その物質は侵入 時に働いた物質と同じものであろうと思われる。

侵入した場合に,侵入菌糸に表皮上から栄養供給が行なわれると,発病がすみやかになり, 栄養供給がなければ,侵入部で菌自身が殺した細胞からのみ栄養を取るため,菌の生育がお そく,発病までに時間がかかる。このことは人工的に傷を与え,菌を接種した時,たとえば, 少量の菌糸をりん片組織に埋め込み接種すると,明らかな発病までに,約2日間を要するこ とからも考えられる。傷口で菌糸が傷を受けた細胞から養分を取り,毒性物質を生産して周 囲の細胞を殺すような状態になるまでに,時間を要するものと思われる。傷口を乾燥させる と,菌の生育が不良で侵入発病は抑制される。

菌の侵入部位、および菌糸存在組織の細胞膜のペクチン質は分解消失しており、まだ菌糸 が伸長して来ていない致死組織の細胞膜でも、ペクチン質がいくらか分解されていることか ら、B. allii はペクチン分解酵素を生産するものと思われる。B. allii のペクチン分解酵素 生産については J. G. Hancock ら⁷⁾の報告があり、著者の実験でも³⁷⁾, in vitro で pectin methylesterase, endo-polymethylgalacturonase, endo-polygalacturonase の生産が認められ た。組織中で、菌の生産したペクチン分解酵素は、細胞膜のペクチン質を分解し、組織軟化 の一原因となると考えられる。中毒、あるいは死組織は軟化するのみで、解離することはな い。これはこの酵素作用があまり強くなく、組織の解離は菌糸が相当にまん延した後か、あ るいは他の菌の二次的寄生により生じるものと思われる。

セルローズを IKI-H2SO4 反応で検出すると、罹病組織は健全組織と同様な反応を示し、

ほとんど変性を受けていない。そして菌糸はセルローズ層を貫通,またはその内部を走り, 菌による分解作用は認められない。細胞膜の変性は菌糸の伸長している先端部分よりかなり 前方におよび,細胞を死に至らせる一原因となつているようである。

B. allii による細胞の死については、Khazaradze, E. P.⁸⁾ は核に最初の変化があらわれる と報告しているが、本実験では、細胞の変性はまず原形質糸のみだれに始まり、次いで液胞 収縮、液胞分裂、液胞消失ならびに原形質凝固の順に生じるのが観察された。液胞消失まで の状態の細胞は、1 M KNO⁸ で凸形原形質分離を容易に生じるが、液胞消失をした細胞では、 角形原形質分離をゆつくりと生じることから、液胞消失後も原形質膜の半透膜としての機能 は残つているようである。そして原形質の粘性は、凸形よりも角形原形質分離をする細胞で 高いことから、原形質の凝固が始まりつつあるものと思われる。

核の変性は,核の好酸性から好塩基性への変化^{19,20}で観察した。この変化は液胞消失から 原形質凝固の時期にかけて生じ,核はかなり細胞の変性後期まで健全か,または一部分その 機能を保持しているものと思われる。

このような細胞の変性は、菌糸の存在している部分の周辺細胞に生じており、前述のよう に毒性物質の存在を示すが、罹病軟化組織からの抽出液で健全りん片を処理すると、明らか に健全細胞を致死させる作用がある。

この抽出液を加熱処理すると、この毒性は失われるが、細胞に影響を与える作用は残る。 このことは、熱に対して安定な毒素によるものか、加熱により変化した物質が作用している のかは明らかでない。

以上の論議から生じてきた多くの問題点については,現在種々検討を加え実験中である。 本実験を行なうに当たり,長野県長水農業改良普及所,荒川袈裟利氏に材料の提供,助言 等多くの御援助を頂いた。ここに謝意を表する次第である。

摘 要

1. *B. allii* によるタマネギりん茎の腐敗の症状は首腐れ,肌腐れ,尻腐れ,心腐れに分けられる。

2. 菌の侵入は傷口からは容易であるが、健全表皮からは、小菌糸塊を形成し、菌糸の集団で侵入する。侵入した菌糸は細胞膜間、細胞間げき、および細胞膜を貫通して、組織内を 縦横に走る。内側のりん片に侵入する場合は、外側のりん片から続いて菌糸束で侵入するか、 一度菌糸塊を形成してから侵入してゆく。

3. 菌が侵入した部分の細胞膜のペクチン質は分解消失しているが、セルローズはほとん ど影響を受けていない。菌糸の周辺の死細胞膜でも、ペクチン質の分解が認められる。

4. 菌糸の存在する周辺部の組織は致死部,中毒部および健全部に分けられる。致死部の 後方には菌が存在している。致死部の先の中毒部には,細胞の死に至る種々の過程の細胞が 存在する。

5. 細胞の変性は原形質糸のみだれから始まる。原形質が細胞膜に接して、または核の周 囲に一部分集合を始める。そして液胞の収縮、分裂があらわれ、原形質流動は停止する。や がて液胞が消失し、原形質が凝固し死に至る。貯蔵初期、あるいは内部の新鮮なりん片では、

246

原形質糸のみだれと液胞収縮から,原形質が細胞内に一様に分散し凝固して死に至ることが 多く,菌による細胞変性に抵抗的である。

6. 生細胞は塩基性色素で染色され,原形質凝固を始めた細胞は塩基性,酸性両色素に染 色された。原形質凝固以前の中毒細胞の核は好酸性を示し,凝固すると好塩基性を示し核の 変性が明らかである。

7. 中毒細胞の限界原形質分離濃度は0.37M, 健全細胞は0.38Mで, 中毒細胞はやや原形 質濃度が低下している。

8. 健全組織の pH は 6.4~6.6 の微酸性であるが, 中毒部は pH 4.8, 致死部は pH 4.0 とかなり酸性である。

9. 罹病軟化した組織からの抽出液には毒性物質が存在し、それは熱に対して不安定である。

引用文献

- 1. 相見霊三(1953). 細胞生理学実験法. 東京. 養賢堂.
- 2. El-Helaly, A.F., H. Elarosi, M.W. Assah, and A. Kilani (1962). Phytopath. Medt. 21: 37-45.
- 3. Scott, F. M., K. C. Hammer, E. Baker and E. Bowler (1958). Amer. Jour. Bot. 45: 449-461.
- 4. 逸見武雄·丹羽静子 (1938). 日植病報. 8:309-327.
- 5. 逸見武雄(1948). 植物病学の諸問題. 東京. 養賢堂.
- 6. Hancok, J.G. and J.W. Lorbeer (1963). Phytopath. 53: 669-673.
- 7. Hancock, J.G., R.L. Miller and J.W. Lorbeer (1964). Phytopath. 54: 928-931.
- Kazaradze, E. P. (1960). Trud. Inst. Zashch. Rast. Akad. sel-khoz. Nauk Gruz. S. S. R. 1960, 13: 196-207.
- 9. Kupiecki, F. P. and Virtanen, A. I. (1960). Acta. Chem. Scand, 14: 1913-1918.
- 10. 西山市三(1961).新編細胞遺伝学研究法.東京.養賢堂.
- 11. Schwimmer, S., Carson, J.F., Mazelis, M. and Wong, F.F. (1960). Experientia, 16:449-450.
- 12. Segall, R. H. and A. G. Newhall (1960). Phytopath. 50: 76-82.
- 13. 田端信一郎·田部真 (1966). 北陸病虫研報. 14:81-83.
- 14. 田端信一郎·田部真 (1966). 日植病報. 32(5):299.
- 15. 田端信一郎·田部真 (1967). 日植病報. 33(2):88.
- 16. 田端信一郎:(未発表)
- 17. 田端信一郎:(未発表)
- Van Doorn, A. M., J. L. Koert, and J. Kreyger (1964). Meded. Inst. Plziektk-Onderz., Waningen, 299, (vi) 83: pp5.
- 19. 山羽儀兵(1956). 一般細胞学. 東京. 裳華房
- 20. 湯浅 明 (1959). 細胞学. 東京. 紀元社出版
- 21. Walker, J. G. (1926), Jour. Agr. Research. 33 (10): 893-928.

Anatomical Observations of Gray-mold Neck Rot of Onion Caused by *Botrytis allii* Munn

By Shin-ichiro TABATA and Makoto TANABE Laboratory of Phytopathology, Fac. Agr., Shinshu Univ.

Summary

1. The storage desease of the onion bulbs infected with *Botrytis allii* shows symptoms of neck rot, onter scale rot, basal rot, and internal scale rot.

2. This fungi gains an entrance through mechanical and insect injuries of the epidermis and the healthy epidermis by the formation of small masses of hyphae. The penetration to the inner scales from the outer scales takes place by hyphal strands, or by the formation of masses of hyphae on the inner scales. The hyphae in tissues exists in the cells, cell walls and intercellular spaces.

3. The detection of cell wall materials shows a degradation and a disappearance of pectic substances in the infected tissues.

4. The infected tissues are divided into the dead tissue invaded with hyphae, the dead tissue and the affected tissue surrounding the dead cells. In an early stage of the death of the affected cells, a disorganization of the protoplasmic strands followed by an aggregation of the protoplast near the cell wall or surrounding the nucleus is observed.

5. Parallel with these changes the vacuole contracts, splits, and vanishes out of sight. The cessation of the protoplasmic streaming occurs and the protoplast gelatinizes with cell death.

6. The concentration of the incipient plasmolysis with sugar solution is 0.38M in healthy cells and 0.37M in affected cells. The concentration of the protoplast slightly lowers in the affected cells.

7. The normal healthy tissue has a mildly acid reaction, pH 6.4, while there is a strongly acid reaction for the affected tissue, pH 4.8 and the dead tissue, pH 4.0.

8. The extract from the infected tissues contains toxic substances which are labile to heat.



1 菌糸塊からの菌侵入(りん片)



2 菌の組織内まん延(りん片)



クチクラ層下セルローズ層中の菌糸(りん片) 3



4 柔細胞中の菌の存在状態(りん片)



5 菌糸塊とそれから侵入する菌糸(りん片)



6 葉での菌糸まん延状態



7 葉の柔組織内を走る菌糸



8 菌糸塊直下の鉄吸収反応 反応弱く他の 部分よりも薄くみえる(りん片)