桑芽枯病菌 *Fusarium lateritium* における核現象ならびに Saltants の病原性について

松 尾 卓 見*・桜 井 善 雄*

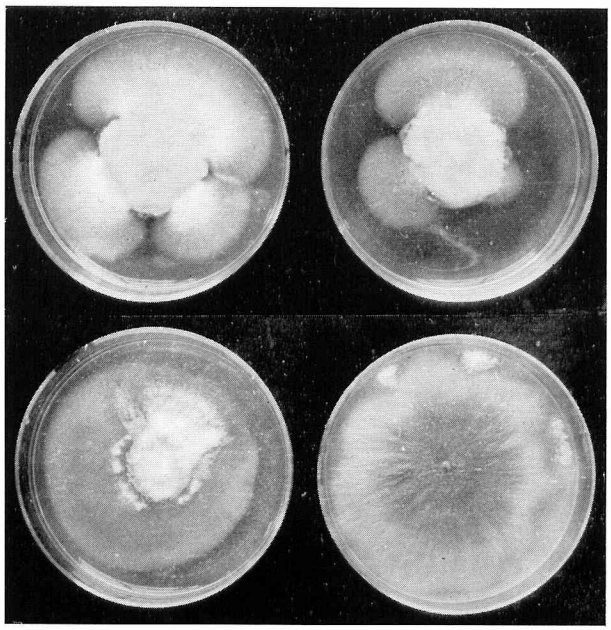
Takken MATUO and Yoshio SAKURAI : On the Nuclear Phenomena in *Fusarium lateritium* (NEES) SNYD. et HANS. and the Pathogenicity of the Saltants.

(1960年9月1日受理)

筆者らは Fusarium 菌の分類を基礎づける変異に関する研究の推進を意図しているが，ここには桑芽枯病菌 *Fusarium lateritium* (NEES) SNYD. et HANS. の核現象ならびに saltants の病原性についてしるところがあつたから報告する。本研究の一部は昭和30年度日本植物病理学会大会で講演発表した[8]。本論に入るにあたり，核染色について御教示いただいた農技研新関宏夫技官（現在関東東山農試），ならびに実験に助力された筒井忠夫，西村利三郎，近藤常政森田健治，細田明夫，下田幸男の6君に対し感謝の意を表する。

I 桑芽枯病菌 *F. lateritium* における核現象

1 桑芽枯病菌各種培養系統の硫酸銅添加培地上における変異体発生度



第1図 硫酸銅添加培地における18号菌の変異体の出現

桑芽枯病菌各種培養系統を硫酸銅添加馬鈴薯煎汁寒天培地上で生育せしめると，変異体を多く生ずる培養系統と，少ししか生じない培養系統とが在在することがわかつた。硫酸銅添加馬鈴薯煎汁寒天培地の組成及び作製法は安部[1]に従い，1％蔗糖を加えた馬鈴薯煎汁寒天に硫酸銅を 10^{-2}M, 5×10^{-3}M, 2.5×10^{-3}M, 1.25×10^{-3}M, 5×10^{-4}M, 2×10^{-4}M, 10^{-4}M 宛添加し，それぞれペトリ皿に約20cc宛分注し，その中央に各培養系統[7]を植付け変異体の発生を調査した。この供試ペトリ皿数は，各添加区につき1培養系統各回の植付に5枚づつとし3回反復した。培養系統別の変異体出現回

* 信州大学繊維学部植物病理学及び菌学研究室

第1表　硫酸銅添加培地上における *F. lateritium* 各種培養系統の変異体発生度

変異体出現回数	桑芽枯病菌培養系統番号
17	18
9	41
3	8, 10, 35
1	1, 17, 19, 21, 26, micro 28, micro 29, 40, 64
0	2, 7, 12, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 36, 62

数を合計して第1表に示したが，この変異体は広江[4]のいわゆる扇状準突然変異型又は島状準突然変異型をなして出現したのである。のちにこれらの変異体が vitamin deficient であるかどうかを検討したところ，64号菌からの1変異体(64—1)のみが thiamine deficient であつた。

2　桑芽枯病菌 *F. lateritium* 各種培養系統の核数

核の染色には Feulgen 染色法と酢酸カーミン法[11]を試みたが，本菌では後者で良結果をえた。実施には多少変更して次の如く行つた。

供試菌の胞子又は菌糸を湿室に納めた時計皿中のミカン皮煎汁（＋グルコース1％）の中で，25°Cで18—24時間伸長せしめ，伸長した菌糸の少量をスライドグラス上にとり，acetic alcohol (gracial acetic acid 1＋ absolute alcohol 3) を用いて2—3分固定し，2—3回水洗する。これに5N-HClを加え，弱い炎の上で5秒くらいあたためて放冷し，2—3回水洗する。鉄明ばんを加えた acetocarmine で，加温しながら約5秒間染色し放冷する。45% acetic acid で1—2分間脱色し，1—2回水洗する。水で封じ，しばらくしてから検鏡する。

桑芽枯病菌各種培養系統及び18号菌の各変異体の1細胞中の核数を調査した結果を第2表A

第2表　A　*F. lateritium* 各種培養系統の1細胞中の核数

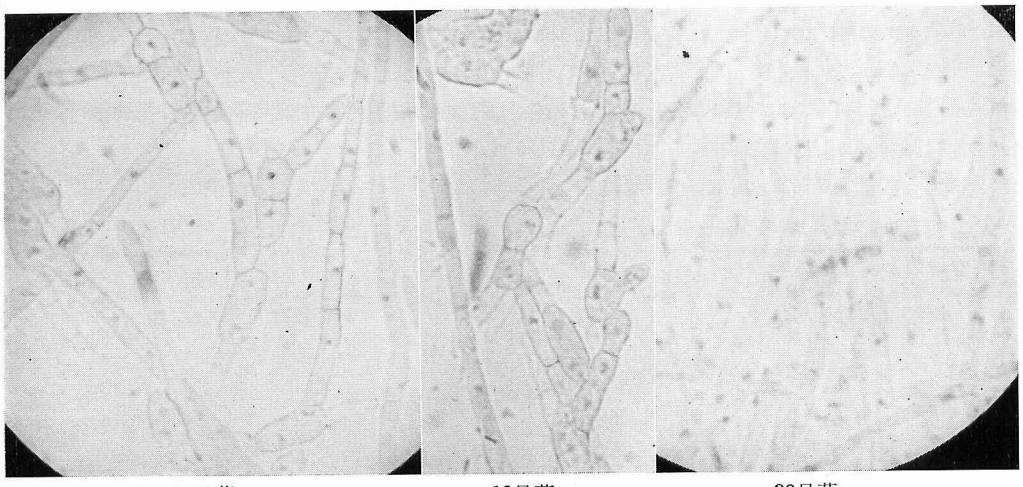
培養系統	観察部分	核数 1	2	3	4	5	6	7	8	計
1	C	493	7	0	0	0	0	0	0	500
	H	515	12	1	1	0	0	0	0	529
12	H	43	71	157	157	98	27	3	0	556
21	H	83	91	105	133	91	58	8	0	569
26	H	130	65	75	94	101	53	28	3	549
28	C	612	56	7	0	0	0	0	0	675
	H	373	131	31	0	0	0	0	0	535
29	C	600	2	0	0	0	0	0	0	602
	H	458	129	13	0	0	0	0	0	600
micro 29	C	327	341	14	0	0	0	0	0	682
	H	274	260	0	0	0	0	0	0	534
32	H	77	79	108	123	98	69	4	0	558
34	H	353	180	14	0	0	0	0	0	547
micro 34	C	367	211	0	0	0	0	0	0	578
	H	327	239	0	0	0	0	0	0	566
35	H	327	153	57	0	0	0	0	0	537
40	C	600	0	0	0	0	0	0	0	600
	H	465	45	18	0	0	0	0	0	528
41	H	600	8	1	0	0	0	0	0	609
62	H	169	171	158	3	0	0	0	0	501
64	H	256	234	51	0	0	0	0	0	541

備考　表中の数字は各核数をもつた細胞数を示す。観察部分のCは分生胞子，Hは菌糸である。

第2表B　*F. lateritium* 18号菌及びその変異体の1細胞中の核数

培養系統	観察部分	核数 1	2	3	4	合計
18	C	645	20	0	0	665
	H	600	14	0	0	614
18(1)	C	600	0	0	0	600
	H	600	0	0	0	600
18(2)	C	532	6	0	0	538
	H	279	151	0	0	430
18—3	C	600	0	0	0	600
	H	600	22	6	0	628
18—8(1)	C	600	0	0	0	600
18—8(2)	C	600	0	0	0	600
	H	600	0	0	0	600
18—9(1)	C	600	0	0	0	600
	H	417	145	0	0	562
18—9(2)	C	600	0	0	0	600
	H	395	169	0	0	564
18—16(1)	H	600	0	0	0	600
18—16(2)	C	600	0	0	0	600
	H	600	0	0	0	600

備考　前表の備考参照。18—3, 18—8, 18—9, 18—16はそれぞれ18号菌の各変異体を示し，(1)(2)は寄主（桑条）を1回又は2回（各回約6ヶ月）通過したことを示す。



1号菌　　18号菌　　32号菌

第2図　*Fusarium lateritium* の菌糸中の核

及び第2表Bに示す。これらの表を通覧すると，多くの培養系統は1細胞中の核数のモードが1核にある。但し12, 21, 32, 62, micro 29など2核以上にモードが存在するばあいもみられる。なお変異体をひんぱんに生ずる18号菌の原菌及びその変異体（桑条通過したものを含む）はすべて核数のモードが1核にあることが明かである。

3　変異体出現の原因についての考察

変異体出現回数の極めて多い18号菌及びその変異体，41号菌などは核数のモードが1核であり，逆に核数のモードが2核以上である12, 21, 32, 62, micro 29などは変異体出現回数が極めて低い。これらの結果からすれば，このような変異体の出現は異質多核の分離に基くとは考え難い。しかしながら鈴木[12]，BUXTON[2]などによれば，ヘテロカリオシスは細胞中の核が1核

であるばあいにもおこりうるかのようである。しかし筆者らの18号菌のばあいは，単一胞子から出発していることや，生じた変異体から更に重複的にかなりひんぱんに変異体を生ずる事実をみて，これらの原因を1核のばあいのヘテロカリオシスという特殊の場合に帰すよりは，突然変異に帰す方がより妥当ではないかと思われる。

次に筆者ら[16]はさきに桑芽枯病菌の26，34，及び62号菌は寄主通過によつて明かに病原性を増大することを明かにした。第2表Aによれば，これらの培養系統のうち12及び62号菌は核数のモードが2以上にあり，また26号菌はモードは1核であるが，5核のところにも1つの山がみられるから，病原性変異の原因にヘテロカリオレスを推測することも出来るわけである。しかし，同じように病原性を増した34号菌にあつては核数のモードが1核であることや，これらすべての培養系統は室内培養中に次第に病原性の低下を示すことなどから，このばあいはむしろ適応の一種即ち栄養環境に対する反応と見做すべきではないかと思われる。

II　桑芽枯病菌 *F. lateritium* の Saltants の病原力

植物病原菌の病原性の遺伝その他の研究に biochemical mutant を用いた例は比較的少ないが KEITT と BOONE[5] は *Venturia inaequalis* について著しい業績を出している。

前節でのべたように硫酸銅添加馬鈴薯煎汁寒天上に生じた本菌の変異体は saltant と見做しうべく，また同様にして紫外線を照射することによつて多数の saltant をえたから，それぞれクワ枝条に対する病原力を検討した。ここには vitamin については sufficient であるが生長度を異にする saltant と vitamin deficient saltant の病原力についての実験結果を報告する。紫外線照射にはアクメ型太陽燈（島津製，定格電圧100V，1周波数60∽，電流0.25A，波長範囲 2600Å～6000Å）を用いた。本菌の1号菌又は18号菌の sporodochia 又は pionnotes をスライドグラス上におき（又は胞子の suspention を寒天の薄層上にひろげ），紫外線発光管の直下約30cmの距離におき1～5分間照射し，稀釈法（又は micromanipulator）によつて

第3表　生長度を異にするが vitamin を要求しない Saltant の病原力

変異体記号	馬鈴薯煎汁寒天上伸長度	伸長度増減	病斑大さい比数	病原力増減
18(原菌)	45.4		107	
18—1	67.6	+**	111	
18—8	62.2	+**	178	+*
18—9	63.6	+**	158	+*
18—12	64.3	+**	91	
18—16	76.7	+**	81	
18—17	66.0	+**	137	
1(原菌)	55.7		113	
1—4	25.4	−**	94	

備考　*と**はそれぞれ5%又は1%の危険率で原菌と有意差が認められることを示す。

第4表　vitamin deficient saltant の病原力

変異体記号	Deficiency の種類	病斑大いさ比数	病原力増減
1(原菌)	—	113	
1—354	Biotin	62	−**
1—389	Biotin	59	−**
1—412	Biotin	51	−**
1—620	Biotin	53	−**
1—417	Biotin (partial)	110	
1—723	Biotin と Thiamine	51	−**
1—59	Thiamine	69	−**
1—743	Thiamine	115	
18(原菌)	—	93	
18—311	Thiamine	135	+*
18—933	Thiamine	98	
64(原菌)	—	56	
64—1	Thiamine	32	−*

第3表の備考参照。

単一胞子分離培養をして種々の性質を調査した。saltant の出現は，18号菌の場合は形態，色素又は生長度に関するものが多く，1号菌の場合はこれらは少なく vitamin deficient saltant が多かつた。それら saltant の出現率は約1.5—2.5%であつた。なお原菌はいずれも vitamin sufficient である[9]。

1　生長度を異にするが vitamin の補給を要しない saltant の病原力

硫酸銅添加馬鈴薯煎汁寒天培地上で18号菌を培養すれば，第1図の如く多くの生長度を異にする saltant を生ずる。同様にして1号菌の場合にも比較的少ないが生長度を異にするものを生じた。これらの saltant のうち1%蔗糖加馬鈴薯煎汁寒天上で原菌と明かに生長度を異にするものを選び桑条に対する病原性について検討した。接種方法は筆者らの実験室で常用のラテン方格式桑条接種法[10]によつて3培養系統宛1組として5回宛反復接種し，各組間の数値は比例によつて修正した。それらの結果を第3表に示す。表によつて明かな如く，これらの saltant は馬鈴薯煎汁寒天上では原菌と明かに生長度を異にしているが，病原力の増減が必ずしもこれに伴わない。わずかに18—8と18—9に病原力増加の有意差がみられたに過ぎなかつた。

2　vitamin deficient saltant の病原力

saltant の中で vitamin deficient のものについて前項同様ラテン方格式桑条接種法[10]によつて5回宛反復接種したものの総括を第4表に示す。表を通覧すると，biotin deficient の saltant は1号菌にのみ出現したが partial deficient の1—417を除いて全部の培養系統が病原力を明かに減少していた。biotin と thiamine について重複 deficient を示す saltant の場合も同様であつた。一方 thiamine deficient saltant は1号菌のほか18号菌及び64号菌の場合にもみられたが，病原力が必ずしも減少しているとは限らず，18号菌の saltant に逆に増加している例もみられた。

3　考　　察

第1項にのべたところは，馬鈴薯煎汁寒天培地上での生長度が著しく異つても vitamin について self-sufficient の saltant は，病原力が生長度の変化に伴わないことが多いということであつた。これらの saltant は vitamin については sufficient であることが確認されたが，ほかの代謝生理の変化の有無については明かでない。いずれにせよ，培地上の生長度を著しく異にする saltant も病原力がそれに伴わない場合が多いことは一応興味あることといわねばならない。

次に第2項でのべた vitamin deficient saltant の病原力についてであるが，biotin deficient については partial deficient のものを除いて全部病原力を減少していた。biotin, thiamine の重複 deficient の場合も同様であつた。しかるに thiamine deficient saltant は病原力の変化は必ずしも減少するとは限らずまちまちであつた。KEITT と BOONE[6]による *Venturia inaequalis* の biochemical saltant の病原性をみても，同様な deficient saltantであつても病原性の変化がまちまちである例がみられるから，これは特別の例とはいえない。このような現象は，病原性の変化がその vitamin の形成に直接関連していない代謝系の変化に因つていることを示しているものと思われる。KEITT, BOONE 及び SHAY[6] によれば，*Venturia inaequalis* の場合，vitamin deficient よりはむしろ amino acids deficient や nitrogen bases を要求する変異体においてより病原性に変化がみられたようである。いずれにせよ今後実験を拡大する必要が感ぜられる。

なお18号菌の１つの thiamine deficient saltant が逆に病原力を増加していることは興味多い。BUXTON [8] は，これまで子嚢時代の発見されていない *Fusarium oxysporum* f. *pisi* の methionine, arginine, cystine, vitamin B_1などの重複 deficient saltant に子嚢時代が形成されたことを報告しているが，deficient の性質がある種の機能については促進的にも作用する例として興味多いと思われる。

摘　　要

本論文には桑芽枯病菌 *Fusarium lateritium* (NEES) SNYD. et HANS. における核現象ならびに同菌 saltants の病原性について記載した。

1) *Fusarium lateritium* (NEES) SNYD. et HANS. の16培養系統の胞子又は菌糸を酢酸カーミン法で染色し核を観察した。１細胞中の核数のモードが１の培養系統が多かつたが，モードが２，３，４にある培養系統もみられた。硫酸銅添加馬鈴薯煎汁寒天培地上で多く変異体を生じた培養系統の核数のモードは１であり，多核の場合はむしろ変異体を生じ難かつた。

2) 伸長度を異にする vitamin sufficient の saltant は，病原力の増減が伸長度に伴わない場合が多かつた。biotin deficient saltant, 及び biotin と thiamine についての重複 deficient saltant は原菌に比し病原力が劣つていたが，thiamine deficient の saltant は必ずしも傾向が一致せず，反つて病原力が高まつているばあいもみられた。

引　用　文　献

(1) 安部卓爾：日植病報 2 (3), 1—26 (1930)
(2) BUXTON, E. W. : Plant-path. prob. prog. 1908—1958, 183—191 (1959)
(3) ——: Nature (Lond.) 184, 1258 (1959)
(4) 広江　勇：鳥取高農学報５，1—272 (1937)
(5) KEITT, G. W. and D. M. BOONE : Plytopath. 44, 362—370 (1954)
(6) ——, —— and J. R. SHAY : Plant-path. prob. prog. 1908—1958, 157—167 (1959)
(7) MATUO T. : Jour. Fac. Text. Seric. Shinshu Univ. 1 (Ser. A) 45—81 (1951)
(8) 松尾卓見・桜井善雄：日植病報 20, 45 (講要) (1955)
(9) ——・——：信大繊研報５，8—12 (1955)
(10) ——・清水昶博・高木武人・窪田衛二：日植病報 23, 245—250 (1958)
(11) 新関宏夫：農園　34, 837—838 (1959)
(12) 鈴木橋雄：稲熱病の系統分類に関する研究（昭27報）1—39 (1952)

Summary

In this paper the nuclear phenomena in *Fusarium lateritium* (NEES) SNYD. et HANS. and the pathogenicity of the saltants were dealt with.

1. The nuclear number in each cell was investigated of several strains staining the conidia or hyphae by acetocarmine method. The mode of the nuclear number was 1 in most strains and 2, 3 or 4 in other few strains. The strains which produced usually many variants on $CuSO_4$—potatodecoction agar were uninucleate. On the other hand the multinucleate strains produced few saltants.

2. The saltants, which were different from the original strains in growth rate and were vitamin sufficient, were not always accompanied by the virulence change. The virulence of biotin deficient or biotin and thiamine deficient saltants was inferior to that of the original strain. However, the thiamine deficient saltants not always decreased in virulence, and one of them was more virulent than the original strain.

(*Laboratory of Phytopathology & Mycology, Faculty of Textile & Sericulture, Shinshu University, Ueda*)