

さび病菌の細胞学的研究 (9) : ナシ赤星病菌さび 柄子器の微細構造

著者	河野 満, 石崎 寛, 久能 均
雑誌名	三重大學農學部學術報告 = The bulletin of the Faculty of Agriculture, Mie University
巻	62
ページ	1-7
発行年	1981-03-01
その他のタイトル	Cytological Studies on Rust Fungi (9) : Ultrastructure of Pycnidia of Gymnosporangium asiaticum Miyabe ex Yamada
URL	http://hdl.handle.net/10076/2903

さび病菌の細胞学的研究 (9)

ナン赤星病菌さび柄子器の微細構造*

河野 満・石崎 寛・久能 均

Cytological Studies on Rust Fungi (9) Ultrastructure of Pycnidia of
Gymnosporangium asiaticum Miyabe ex Yamada

Mitsuru KOHNO, Hiroshi ISHIZAKI and Hitoshi KUNOH

緒 言

さび病菌には5胞子世代, すなわちさび柄子, さび胞子, 夏胞子, 冬胞子および小生子世代をもつものがある。特にさび柄子世代はさび病菌の有性世代であり, 受精や雌雄異体性に関する多くの形態学的研究が行われてきた。河村^{1),2)} はナン赤星病菌の雌雄異体性を実験的に証明し, 平塚³⁾ はその雌雄異体性を次のように説明した。(+)あるいは(-)の性を有した小生子がナン葉に侵入し, (+)あるいは(-)のさび柄子器を形成する。そして(+)と(-)のさび柄子器の間で受精が起こり, それぞれの単相核が寄主組織内で癒合してさび胞子始原体が形成され, やがて2核性のさび胞子が生じる。しかしながら, 本菌の場合, 受精時期, 受精部位などは未だ明らかにされていない。

筆者らは過去数年, 長世代種と短世代種のさび病菌の細胞学的な差異を検討してきたが^{4),5),6),7),8),9),10)}, その一環として, 今回は長世代種の一つであるナン赤星病菌のさび柄子世代を微細構造的に検討した。

材料および方法

当研究室ガラス室内の鉢植えのビャクシン葉上に形成された若いナン赤星病菌冬胞子堆をカミソリで切り取り, イオン交換水を噴霧してペトリ皿に入れ, 冬胞子を20℃で発芽させた。発芽6時間後, 冬胞子堆上に形成された小生子をイオン交換水に懸濁し, これを鉢植えのナン(品種:長十郎)の葉表面に噴霧接種した。接種直後にナン樹全体をビニール袋で覆い, 湿室条件にした。24時間後, ビニール袋を取り去り, ガラス室内に静置した。接種後10日に, さび柄子器が形成された病斑部をカミソリで切り取り, 前報¹⁰⁾と同じ方法で試料を固定し, 走査型

および透過型電子顕微鏡で観察した。

結 果

1. 走査型電子顕微鏡観察

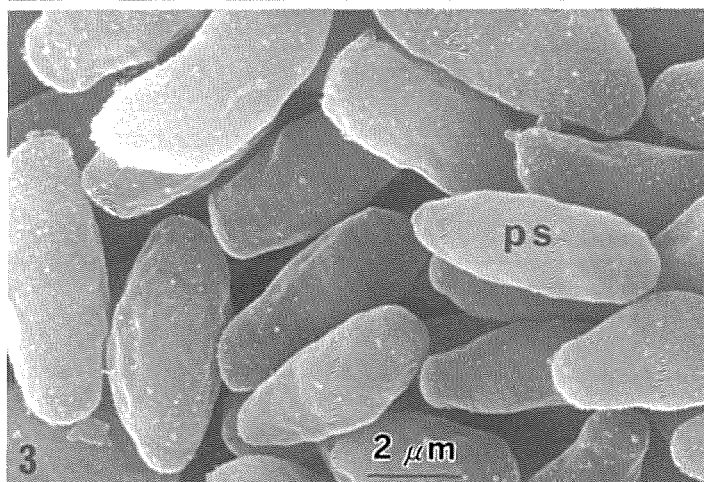
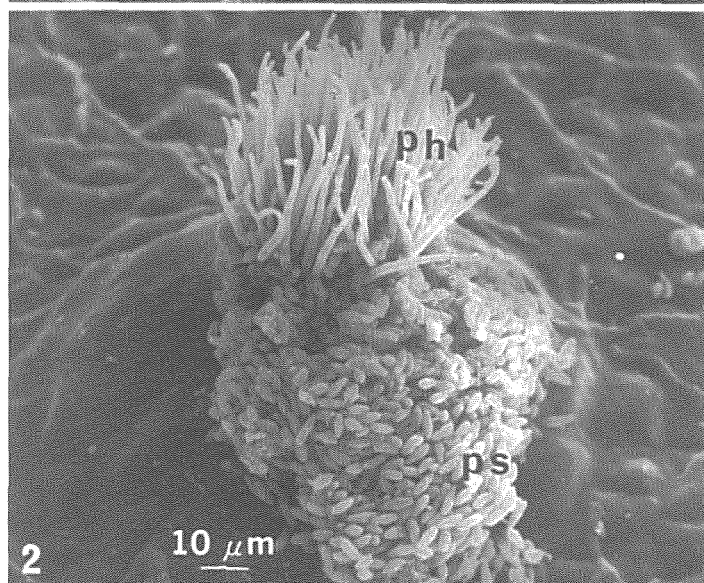
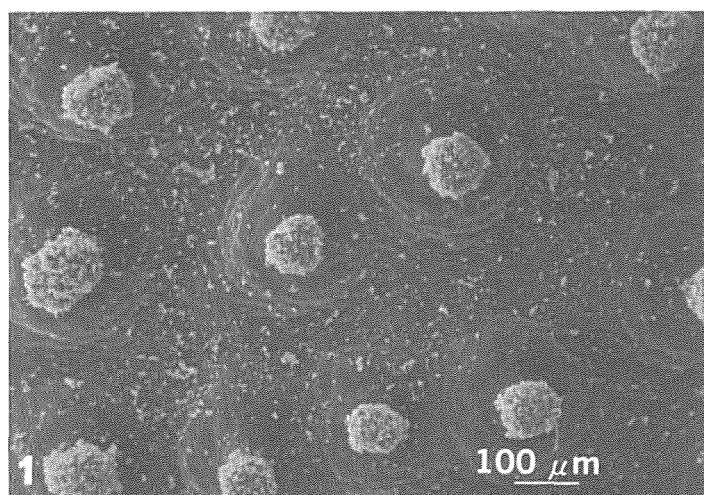
さび柄子器は群生しており, さび柄子器周囲のナン葉表皮表面はやや盛り上っていた(Fig.1)。各さび柄子器の口孔から多くの糸状体が突出し, 葉上にはさび柄子が溢出していた。口孔から外部へ突出した糸状体の長さは25-40μm, 口孔部での直径が約3.5μmで, 先端ほど細くなっていた。糸状体は表面が平滑でわずかに彎曲していたが, 分枝しているものは認められなかった(Fig.2)。さび柄子は短桿状で, 長さ約7.0μm, 中央部の直径が約3.0μmであり, その表面は平滑であった(Fig.3)。

2. 透過型電子顕微鏡観察

Fig.4 はナン葉表面から霧出したさび柄上部器上部を, Fig.5 はナン葉表皮下に埋没したさび柄子器下部をそれぞれ低倍率で示したものである。さび柄子器上部では口孔が形成され, 表皮が押し上げられてクチクラが破れていた。これはFig.2に示したさび柄子器周囲の表皮表面の盛り上に相当している。また口孔から外部に向かって糸状体が突出しており, 表皮上には溢出した多くのさび柄子が認められた(Fig.4)。さび柄子器下部では, フラスコ状にさび柄子器の外郭を構成する不整形の細胞層が認められた。さび柄子器底部には, 不整形の菌体細胞層から生じたさび柄子梗, 形成中のさび柄子および柄子器内に充満したさび柄子が観察された(Fig.5)。また不整形の菌体細胞層と寄主組織の間には間隙が生じ, この部分にある菌体は著しく液胞化していた(Fig.5, 最下部)。さび柄子梗の先端部ではくびれが生じ(Fig.5, 矢印), さび柄子が形成されていた。さび柄子梗のくびれの部分にさび柄子梗細胞壁の一部と思われる層状構造が認められた(Fig.6, 矢印)。また, くびれの部分には, さび

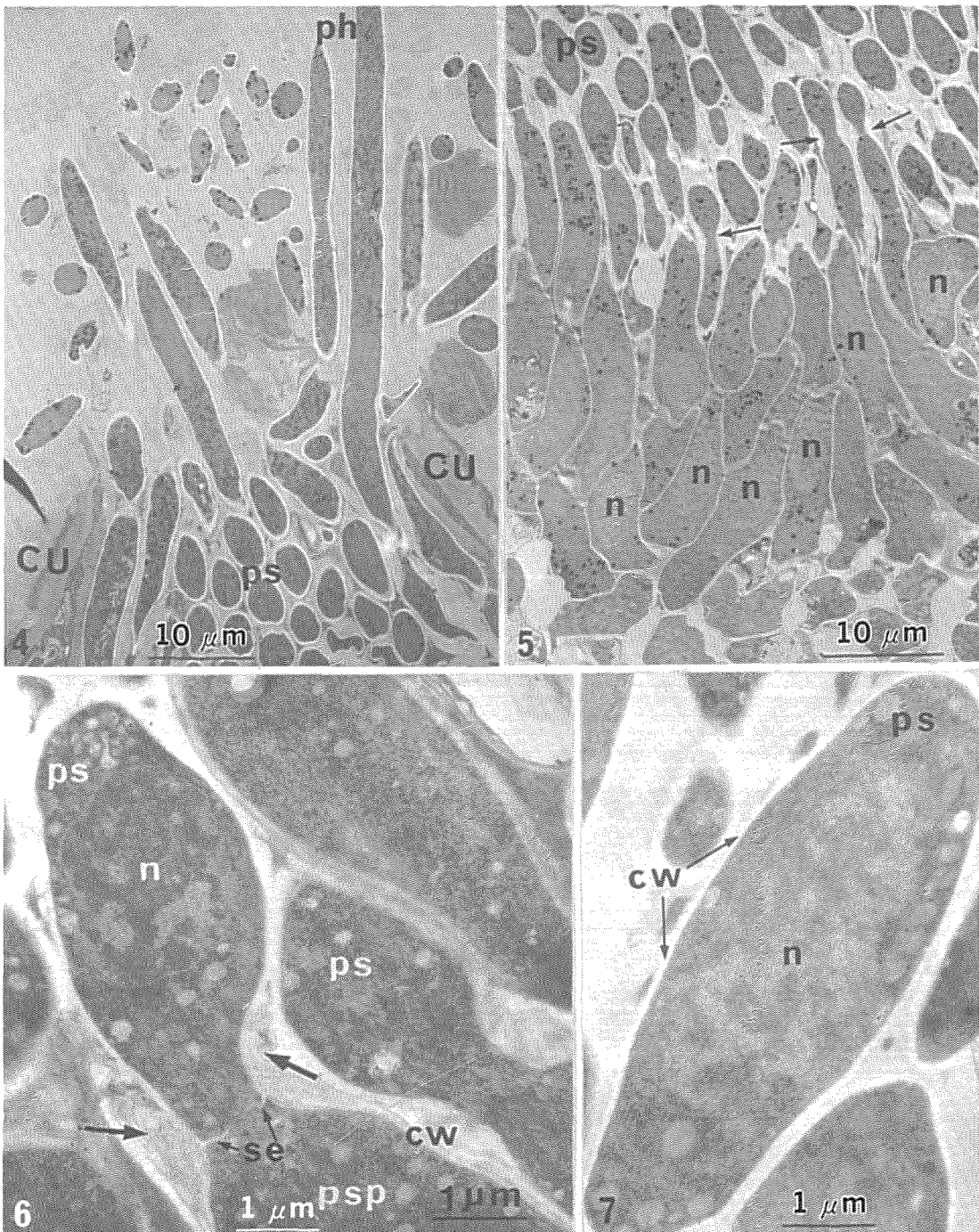
昭和55年10月31日受理

* 三重大学農学部植物病理学研究室業績 No.56.

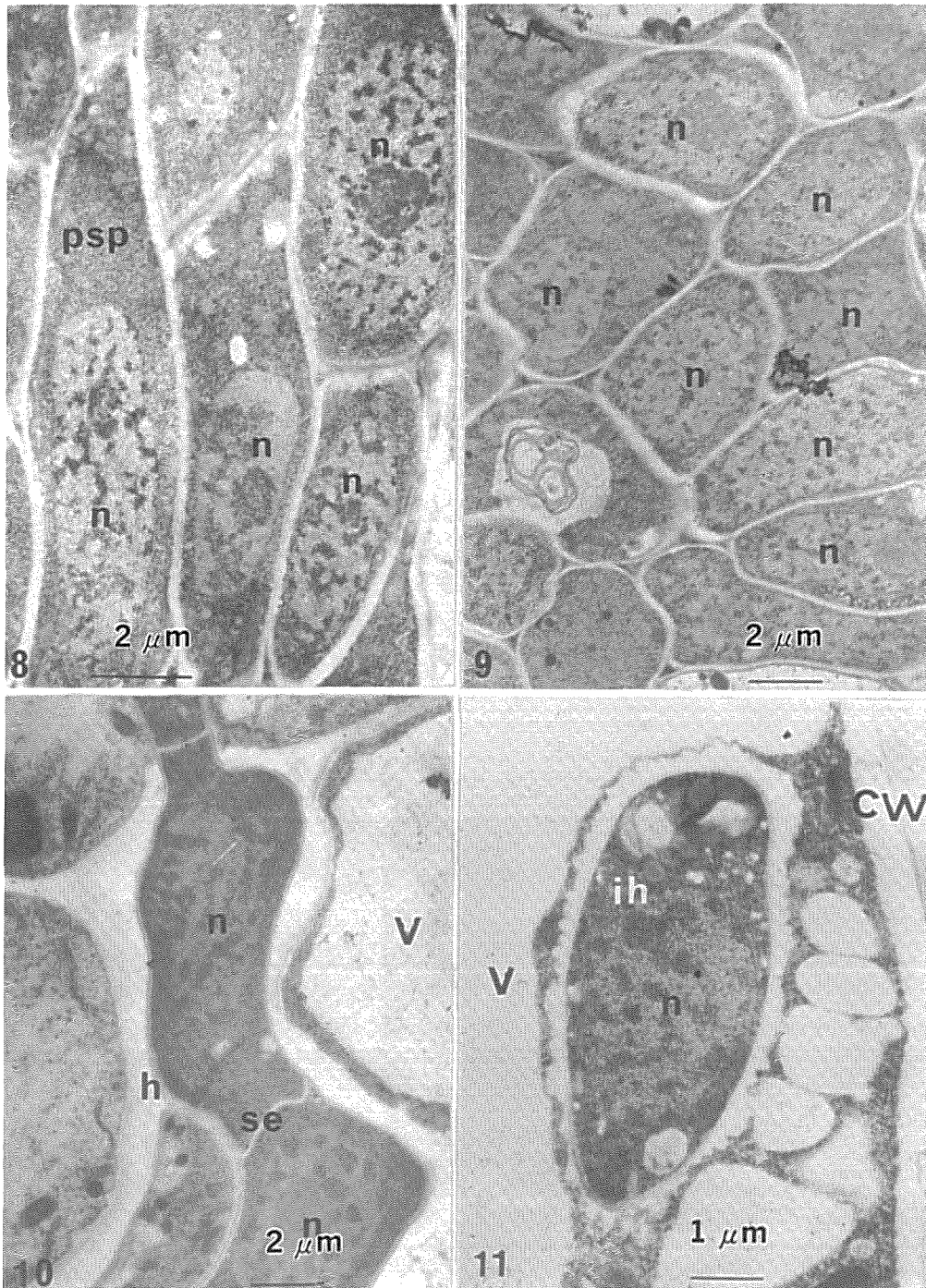


CU : cuticle
 CW : host cell wall
 CW : fungal cell wall
 h : intercellular hypha
 ih : intracellular hypha
 n : fungal nucleus
 ph : periphysis
 ps : pycniospore
 psp : pycniosporophore
 V : host vacuole

Figs. 1-3 Scanning electron micrographs of pycnidia and pycniospores which appeared on a pear leaf 10 days after inoculation. 1. Pycnidia covered with numerous pycniospores. Note that the cuticle of a host surface surrounding each pycnidium has swollen. 2. An enlarged micrograph of a pycnidium in Fig. 1. Numerous periphyses of which basal parts are covered with abundant pycniospores are emerging from the pycnidium. 3. Pycniospores with ellipsoidal shapes and smooth surfaces.



Figs. 4-7. Transmission electron micrographs of pycnidia and pycniospores. 4. An opening part of ostiole of a pycnidium with periphyses and pycniospores. 5. A basal part of a pycnidium. Pycniosporophores have arisen from the fungal-cell mass at the basal part. Arrows indicate a neck point where a septum has formed to separate a pycniospore from pycniosporophore. 6. An enlarged neck point to separate a pycniospore from pycniosporophore. Arrows indicate degenerating cell walls of the pycniosporophore. 7. A uninucleate pycniospore.



Figs. 8-11. 8. Basal parts of pycniosporophores consisting of uninucleate cells. 9. Uninucleate cells observed at the basal part of pycnidium adjacent to host mesophyll cells. These cells develop to pycniosporophores. 10. A uninucleate intercellular hypha in a mesophyll space. 11. A uninucleate intracellular hypha surrounded by an electron-lucent, encapsulation-like structure.

柄子とさび柄子梗を分離するために、中央に何かって電子密度の低い隔壁が形成されていた。さび柄子梗から離脱する前のさび柄子内には単核が認められた(Fig.6)。さび柄子梗から離脱した成熟さび柄子は短桿状で、単核が細胞質の大部分を占めていた(Fig.7)。さび柄子器の外郭を構成する不整形の菌体細胞層(Fig.9)、およびこの細胞層から生じた細長いさび柄子梗 (Fig.8) は全て単核であった。またさび柄子器周囲の寄主組織に細胞間隙菌糸や吸器様の細胞内菌糸が認められたが、これらの菌体もすべて単核であった (Figs.10,11)。

考 察

さび柄子器は寄主植物の表皮下あるいは角皮下に形成され、その形態は分類上の特徴となっている。Hiratsuka and Cummins¹¹⁾ は形態的特徴や寄主植物内での形成部位によってさび柄子器を11のタイプに分類した。Hiratsuka and Cummins¹¹⁾ の分類に従うと、本菌さび柄子器はタイプ4に所属する。すなわち本菌さび柄子器は定形的さび柄子器で、表皮下に形成され、フラスコ状の外形を呈し、よく発達した糸状体を有する。さび柄子器は通常数個〜数十個が群生して、ほぼ円形のさび柄子器堆を形成することが知られている。本菌でもさび柄子器堆が認められたが、さび柄子器数はさび柄子器堆の大きさや葉上での形成位置によって大きく異っていた。

Littlefield¹²⁾ の総説によると、口孔から突出しているさび柄子器の構造には2つのタイプがある。その1つはほぼ直線状をした糸状体で、periphysis, ostiolar trichome, paraphysis などと呼ばれている。この構造の機能は口孔から突出して表皮を押し破り、さび柄子や flexuous hypha を外部に露出させることである。もう1つのタイプは波状、彎曲状をした flexuous hypha と呼ばれているものである。糸状体に比較してこれは数も少なく、著しく伸長したものや分枝したものもしばしば認められる。flexuous hypha は female structure としての機能をもっており、これにさび柄子が付着して、その核が flexuous hypha に移行するといわれている。本菌のさび柄子器口孔から突出した構造は典型的な糸状体であったので、periphysis に相当すると思われる。

さび柄子の形成方法に関しては二、三の論議がある。Rijkenberg and Truter¹³⁾ は *Puccinia sorghi* のさび柄子が annellidic に形成されることを報告した。また Harder and Chong¹⁴⁾ はさび柄子が annellidic に形成さ

れるのを電顕観察し、それを模式図で表わした。一方、Hughes¹⁵⁾ は *Gymnosporangium* ではさび柄子は phyalidic に形成されると述べ、Mims¹⁶⁾ も電顕観察によってそれを支持している。本菌さび柄子形成部にはさび柄子梗細胞壁の一部と思われる層状構造が認められた。この構造は Harder and Chong¹⁴⁾ の観察したものに類似し、本菌さび柄子が annellidic に形成されることを示唆している。しかしながら、本菌さび柄子形成方法についての結論を得るには形成初期から連続的に観察する必要がある。

菌類に雌雄異性性が存在することは広く知られているが、さび病菌で最初に雌雄異性性を証明したのは Craigie^{17),18)} である。彼は *Puccinia helianthi* と *P. graminis* が雌雄異性であることを実験的に証明した。その後多くのさび病菌で雌雄異性性が報告され、同時に受精機構についても論議がなされた。Allen¹⁹⁾, Craigie²⁰⁾, Pierson²¹⁾ は flexuous hypha とさび柄子とが接合している状態を観察した。また Buller¹²⁾ は多くのさび病菌を観察し、flexuous hypha とさび柄子の接合が fusion tube を介して起こることを見出した。さらに Gold and Littlefield¹²⁾ は *Melampsora lini* の fusion tube を走査型電子顕微鏡で確認している。また Allen²²⁾ や Hanna²³⁾ はさび柄子が発芽して寄主組織内へ入り、そこで異性の単相菌糸と接合する方法があることを報告しているが、この例はその後報告されていない。Littlefield¹²⁾ の総説の中で、さび病菌の2核化(接合)に関する Bullerの説が次のように要約されている。

- i) (+)あるいは(-)の性を有したさび柄子同志の接合
- ii) (+)あるいは(-)のさび柄子と(-)あるいは(+)の flexuous hypha との接合
- iii) さび胞子あるいは夏胞子から生じた2核性菌糸 (N+N) と小生子から生じた単相菌糸との接合 (同種寄生性のさび病菌の場合)
- iv) 小生子から生じた単相菌糸同志の接合 (短世代種のさび病菌の場合)
- v) i), ii), iii) の変形による接合

本菌のさび柄子器では顕著な flexuous hypha が見られず、flexuous hypha とさび柄子との接合を観察することはできなかった。

今回の試験結果から、本菌の受精機構を明らかにすることはできなかった。これは、今回の試験では、受精時期をとらえることができなかったことによるのか、ある

いは本菌が全く独自の接合方法をとっていることによるのかは明らかでなく、今後さらに検討する必要がある。

摘 要

長世代種と短世代種のさび病菌の細胞学的な差異を検討するために、ナン赤星病菌さび柄子器の微細構造を観察した。走査型電子顕微鏡でさび柄子器を外側から観察すると、口孔から多くの糸状体が突出しており、ナン葉上にさび柄子が溢出していた。透過型電子顕微鏡でナン葉表皮下のさび柄子器を観察すると、柄子器上部は口孔が表皮を押し上げ、クチクラを破って外部に露出していた。さび柄子器の外郭はフラスコ状で、不整形の菌体細胞層から成っていた。さび柄子器内部では、さび柄子器底部の菌体細胞層から生じたさび柄子梗の先端でさび柄子が形成されていた。すなわち、さび柄子形成部にくびれが生じ、その部分にさび柄子梗の細胞壁の一部と思われる層状構造がみられた。またさび柄子器周囲の寄主組織には、細胞間隙菌糸や吸器様の細胞内菌糸が認められた。菌体細胞層、さび柄子梗、さび柄子、細胞間隙および細胞内菌糸はすべて単核であった。

引 用 文 献

- 1) 河村栄吉：梨赤星病菌の精子の機能に就いて。農業および園芸 9 : 1299 - 1300. 1934.
- 2) ————— : *Gymnosporangium haraeaeum* Syd. に関する研究, 第1報 本菌のヘテロタリズム。日植病報 10 : 84 - 91. 1940.
- 3) 平塚直秀：植物锈菌学研究。東京、笠井出版。pp 17 - 22. 1955.
- 4) 河野満他：さび病菌の細胞学的研究(1) キク白さび病菌の冬胞子の発芽と核の行動について。三重大農学報 47 : 1 - 9. 1974.
- 5) Kohn, M. *et al.* : Cytological studies on rust fungi (2) Ultrastructure of sporidia of *Puccinia horiana* P. Hennings. Bull. Fac. Agr. Mie Univ. 48 : 9 - 15. 1975.
- 6) ————— : Cytological studies on rust fungi (3) Nuclear behaviors during the process from teliospore stage through sporidial stage in two short-cycled rusts, *Kuehneola japonica* and *Puccinia horiana*. *ibid.* 49 : 21 - 29. 1975.
- 7) ————— : Ultrastructural changes of cell wall in germinating teliospore of *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow. Trans. Mycol. Soc. Japan 16 : 106 - 112. 1975.
- 8) ————— : Cytological studies on rust fungi (5) Intracellular hyphae of *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow in cells of Japanese pear leaves. Ann. Phytopath. Soc. Japan 42 : 417 - 423. 1976.
- 9) ————— : Cytological studies on rust fungi (6) Fine structure of infection process of *Kuehneola japonica* (Diet.) Dietel. Mycopathologia 61 : 35 - 41. 1977.
- 10) ————— : Cytological studies on rust fungi (7) The nuclear behavior of *Gymnosporangium asiaticum* Miyabe ex Yamada during the stages from teliospore germination through sporidium germination. Trans. Mycol. Soc. Japan 18 : 211 - 219. 1977.
- 11) Hiratsuka, Y. and G. B. Cummins : Morphology of the spermogonia of the rust fungi. Mycologia 55 : 487 - 507. 1963.
- 12) Littlefield, L. J. and M. C. Heath : Ultrastructure of rust fungi. New York, London. Academic Press. pp 1 - 20. 1979.
- 13) Rijkenberg, F. H. J. and S. J. Truter : The ultrastructure of sporogenesis in the pycnial stage of *Puccinia sorghi*. Mycologia 66 : 319 - 326. 1974.
- 14) Harder, D. E. and J. Chong : Ultrastructure of spermatium ontogeny in *Puccinia coronata avena*. Can. J. Bot. 56 : 395 - 403. 1977.
- 15) Hughes, S. J. : Ontogeny of spore forms in Uredinales. *ibid.* 48 : 2147 - 2157. 1970.
- 16) Mims, C. W. *et al.* : An ultrastructural study of spermatium formation in the rust fungus *Gymnosporangium juniperi-virginianae*. Amer. J. Bot. 63 : 997 - 1002. 1976.
- 17) Craigie, J. H. : Experiments in sex in rust fungi. Nature 120 : 116 - 117. 1927.
- 18) ————— : Discovery of the function of the pycnia of the rust fungi. *ibid.* 120 : 765 - 767. 1927.

-
- 19) Allen, R. F. : The spermatia of corn rust, *Puccinia sorghi*. *Phytopathology* 23 : 923 - 925, 1933.
- 20) Craigie, J. H. : Union of pycniospores and the haploid hyphae in *Puccinia helianthi* Schw. *Nature* 131 : 25. 1933.
- 21) Pierson, R. K. : Fusion of pycniospres with flexuous hyphae in the pycnium of the white pine blister rust. *ibid.* 131 : 738 - 729. 1933.
- 22) Allen, R. F. : A cytological study of heterotallism in *Puccinia sorghi*. *J. Agr. Res.* 49 : 1047 - 1068. 1933.
- 23) Hanna, W. F. : Nuclear association in theaecium of *Puccinia graminis*. *Nature* 124 : 267. 1929.

Summary

As a part of our extended series of cytological studies on rust fungi, fine structures of pycnidia of *Gymnosporangium asiaticum* Miyabe ex Yamada on pear leaves were studied by scanning and transmission electron microscopy. Many pycnidia were observed on upper surfaces of pear leaves 10 days after inoculation. Numerous periphyses with smooth surfaces arose from the pycnidia and their basal parts were covered with abundant pycniospores. Pyniospores of ellipsoidal shapes had smooth surfaces. Transmission electron microscopy reveald that many periphyses had emerged outwards from the opening of pycnidial ostiole. Since no septa were seen in periphyses, they seemed to be unicellular. Pycniosporophores had arisen from the cell-mass at the basal part of pycnidium. Pycniospores were separated by septa from the pycniosporophores. At the neck-point where a septum had formed to separate a pycniospore from a pycniosporophore, cell walls of pycniosporophores appeared degenerating to from a layered mass outside the neck-point. Intercellular hyphae were seen in mesophyll spaces and intracellular hyphae which were surrounded by an electron-lucent, encapsulation-like structure were observed in some mesophyll cells. All the fungal structures obseved in this study were uninucleate.