九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

菌核菌一名白絹病菌 Sclerotium Rolfsii SACC. に就いて

中田, 覺五郎
九州帝國大学農學部植物病理學教室

https://doi.org/10.15017/20784

出版情報：九州帝國大學農學部學藝雜誌. 3 (3), pp.292-299, 1929-06. 九州帝國大學農學部
バージョン：
権利関係：

菌核菌一名白絹病菌 *Sclerotium Rolfsii* SACC. に就いて

第　七　報

菌核の連續培養並に淘汰の結果

中　田　覺　五　郎

(昭和四年五月二十日受領)

1. 緒　　言

從來菌類の連續培養の結果につきては，幾多の學者によりて研究せられたるも，就中菌核の連續培養につきては，曩に著者 (8) は *Sclerotium Rolfsii* を用ひて實驗し，培養基の種類が菌核の形狀，大小に影響すべきことを證し，WILLAMAN (14) は *Sclerotinia cinerea* を用ひて實驗し，培養基の種類が菌核の形成に影響すべきことを證せしに過ぎず。尙淘汰の結果につきては，同じく幾多の學者によりて研究せられたるも，就中微生物につきては，JENNINGS (3) が *Paramecium* につきての實驗を初めとす。爾來幾多の研究ありて，淘汰の効果を肯定するもの（例へば MIDDLETON (7) STOCKING (13)）と，否定するもの（例へば HEGNER (5), ROOT (11)）とあり。殊に JENNINGS は，曩 (3) には *Paramecium* につきて淘汰の効果を否定せしも，後 (4) には *Difflugia* につきて肯定の結果を得たり。而して氏は後者につきては，East の *Coleus* につきての結果と匹敵すべきものなりと解釋せり。

要するに現今 (2) は，Pure line 又は Colone 內の淘汰は全く無効にして，若しも有効なる場合には，寧ろ夫々特種なる原因による場合と見做さる。

從來淘汰につきての研究を見るに，微生物を用ひてなされたるもの少なからず。然れども此等は主として Protozoa にして，菌類を用ひて實驗せしは，恐らく LA RUE (6) の *Pestalozzia Guipini* DESM. につきての實驗あるに過ぎず。之れがために，著者は菌核菌を用ひて研究せんことを企圖し，之れを所定の培養基に連續培養して其の成生したる菌核につき，plus, minus 及 mean selection を行ひ，以て其の結果を考察したり。

2. 材料及實驗方法

供試菌：菌核菌 (*Sclerotium Rolfsii* SACC.) の strain 31 にして、北米 G.P. Clinton より分

與せられたるものとす。本試驗に菌核菌を供試せし所以は,

本菌は天然に於て菌核の形成容易なること。

本菌は種々の培養基に容易に培養し得ること。

本菌の菌核の色は成熟の標徴たり得ること。

本菌は嫌觸現象の理によりて全く pure line たること。

等にあり。殊に strain 31 を供試せし所以は,

菌核が殆んど正球形なること。

菌核の形成は容易に且つ豐富なること。

等にあり。尙本菌は極めて稀なる場合の外は、胞子を形成することなく,主として無性生殖即ち榮養繁殖によりて繁殖す。而して其の繁殖の狀態及方法は,馬鈴薯の夫に類似するところあり。故に本菌につきての實驗の結果は,馬鈴薯の夫と對比し得るの利あり。

培養基: 麴寒天及 Czapek 寒天を用ひたり。何れも著者が曩 (8) に述べたる處方に準ぜり。

inoculum: 本菌を三代次間麴寒天に培養し,其の上に成生せし菌核を用ひたり。

但し玆に一代次とは, inoculum (此場合は菌核) を移植培養し,後に再び菌核を作るまでの間を云ふ。

方法: 以上の菌核を inoculum として Czapek 寒天に培養し,此處に出來たる菌核を調査し,其の最大なる菌核をとりて更に Czapek 寒天に培養す。之を plus selection 區と稱し,此の區にありては,絶えず出來たる菌核中の最大なる菌核をとりて inoculum となして連續培養す。尙出來たる菌核中最小なる菌核をとりて inoculum となし, Czapek 寒天に培養せしものを minus selection 區となし,此の區にありては常に最小なる菌核をとりて inoculum として連續培養す。同樣に出來たる菌核中平均の大さの菌核をとりて inoculum となし、之れを Czapek 寒天に培養し,爾後平均大の菌核をとりて inoculum となし,連續培養せしものを mean selection 區となす。

大さの測定には低度の顯微鏡を用ひ,豫め菌核をワゼリンにて slide glass に刮付し置き,之れを sliding micro-vernier によりて測定せり。

以上の實驗に供せし strain 31 菌の菌核の大さは次の如し。但し此の大さは,初め三代次間は麴寒天に培養し,後 Czapek 寒天に培養して出來たる菌核につきて測定せしものなり。

Size of sclerotia of strain 31 taken as material.

$M = 0.9707 \pm 0.016$ mm

$\sigma = 0.1637$

$R = 0.7 - 1.5$ mm

3. 實驗結果

已述の方法によりて淘汰をなせし結果は次の如し

Size of sclerotia selected in successive cultures

(1) plus (max.) selection.

generation	inoculum (mm)	M (mm)	σ	R (mm)	no.
(1)	1.65	0.927±0.010	0.108	0.7-1.3	108
(2)	1.30	0.928±0.011	0·107	0.7-1.3	98
(3)	1.35	0.893±0.009	0.087	0.7-1.1	100
(4)	1.10	0.862±0.014	0.140	0.6-1,1	94
(5)	1.35	0.866±0.006	0.063	0.6-1.1	100

(2) mean (med.) selection

(1)	1.20	0.966±0.011	0.109	0.7-1.2	92
(2)	1.00	0.933±0.011	0.107	0.7-1.2	98
(3)	1.00	0.888±0.014	0.144	0.6-1.2	99
(4)	1.00	0.827±0.009	0.095	0.6-1.0	99
(5)	0.90	0.837±0.008	0.079	0.6-1.0	92

(3) minus (min.) selection

(1)	0.70	0.954±0.010	0.097	0.7-1.3	100
(2)	0.70	0.916±0.010	0.103	0.7-1.3	100
(3)	0.70	0.849±0.012	0.114	0.6-1.1	92
(4)	0.60	0.836±0.012	0.113	0.6-1.2	92
(5)	0 60	0.888±0.011	0.111	0.6-1.3	101
(6)	0.60	0.845±0.005	0.089	0.6-1.2	300
(7)	0.60	0.798±0.049	0.121	0.6-1.0	6
(8)	0.60	0.749±0.009	0.165	0.6-1.1	322

(A) 連續培養による菌核の大小

今連續培養による菌核の大さを各代次につきて比較するに次の如し。

Difference of the same selected lines.

(1) plus (max.) selection.

generation dif.	M. dif.	E. dif.
(1)~(2)	0.001±0.015	0.010
(1)~(3)	0.034±0.013	0.009
(1)~(4)	0.065±0.017	0.011
(1)~(5)	0.061±0.012	0.008

(2) mean (med.) selection.

(1)~(2)	0.033±0.015	0.010
(1)~(3)	0.078±0.018	0.012
(1)~(4)	0.139±0.014	0.009
(1)~(5)	0.127±0.013	0.009

(3) minus (min.) selection.

(1)～(2)	0.038±0.014	0.009
(1)～(3)	0.105±0.016	0.010
(1)～(4)	0.114±0.016	0.010
(1)～(5)	0.066±0.015	0.010
(1)～(6)	0.109±0.011	0.007
(1)～(7)	0.156±0.050	0.034
(1)～(8)	0.205±0.013	0.009

著者は曩 (8) に菌核の大小は，培養基の同一なる場合には，inocolum の大小には關係なきことを證せり。然るに今以上の結果を見るに，連續培養は，初めは菌核の大小には全く影響せざるが如きも，代次を重ぬるに從ふて影響せられ，菌核は次第に小形となるを知れり。尙連續培養による影響は，inoculum として最大なる菌核を用ひたるとき，即ち plus selection のときには比較的少きも，最小なる菌核を用ひたるとき，即ち minus selection のときには比較的大なるを知れり。玆に inoculum の大小による結果は，著者の曩 (8) に得たる結果と相一致せざるが如き點あるも，之れにつきては後に詳述するところあらんとす。

(B) 汰淘による菌核の大小

今各種の淘汰による菌核の大さを各代次につきて比較するに次の如し。

Difference between plus-selected line and minus-selected line

plus-selected～minus-selected	M.dif.	E.dif.
plus (1)～minus (1)	0.011±0.014	0.009
plus (2)～minus (2)	0.012±0.015	0.010
plus (3)～minus (3)	0.044±0.015	0.010
plus (4)～minus (4)	0.026±0.018	0.012
plus (5)～minus (5)	0.022～0.013	0.009
plus (1)～minus (2)	0.011±0.014	0.010
plus (1)～minus (3)	0.078±0.016	0.011
plus (1)～minus (4)	0.091±0.016	0.011
plus (1)～minus (5)	0.039±0.015	0.010
plus (1)～minus (6)	0.082±0.011	0.007
plus (1)～minus (7)	0.129±0.050	0.034
plus (1)～minus (8)	0.178±0.013	0.009

之れによるに，minus selection にありては，初代次間は殆んど淘汰の效果なきも，代次を重ぬるに從ふて次第に現はるゝが如く，菌核は漸次小形となる。之れに反し，plus selection にありては，絕えず最大の菌核を inoculum となすに拘らず，成生せし菌核は次第に小形となれり。尙 mean selection にありても，同樣に淘汰によりて菌核は却て小形となれり。

4. 結論並に考察

以上示せし連續培養及淘汰の結果を見るに，Czapek 寒天に培養するときには，回次を重ぬるに從へ，即ち代次を經るに從へ，三種何れの淘汰にありても，菌核は次第に小形となるを知れり。尙此の傾向は，minus selection の場合には大に，plus selection の場合には小なることを知れり。此の結果は，minus selection にありては，或は淘汰の效果と認め得べき觀あるも，plus selection 及 mean selection にありては，全く反對なる事實を示せり。故に此の結果は，淘汰による効果と見る能はずして，其の原因を他に求めざるべからず。

曩に著者 (8) は本菌を麹寒天に培養せしに，培養基が麹寒天なるときには，例令連續培養するも，成生せる菌核の大さは，inoculum の大小に關係なく，常に一定なることを證せり。

之れによれば，菌核の小形となる所以は，連續培養の結果と見るべからずして，培養基に起因すると考へざるべからず。今麹寒天培養基と Czapek 寒天培養基とを比較するに，前者にありては，specific substance を有するに反し，後者にありては之れを缺くの差あり。玆に此の specific substance は，WILLAMAN (14) の實驗に於ける Vitamine に比すべきものにして，氏に從ひば，此の物質の多少は，直接に菌絲の發育又は胞子の成生に關係するものなりとなし，又 REIDEMEISTER (10) に從ひば，菌絲の發育は，直接に菌核の成生及大小に關係するものとなせり。故に畢竟するに，培養基中の specific substance の有無或は其の多少は，菌核の成否或は大小に關するものと考ふるを得べし。

かく考ふるときには，菌核が小形となりし所以は，Czapek 寒天培養基中に，かゝる specific substance を缺くがためなりと解釋するを得べし。尙菌核が次第に小形となりし所以は，(1) かく培養基中には，specific substance を缺くがために，菌核成生に要する此の物質は，之れを全く inoculum たる菌核に仰ぎしこと，(2) 然るに菌核中に含む specific substance は，連續培養を重ぬるに從へ，成生すべき菌核に分給せらるゝがため，其の量は次第に減少することゝ等により菌核の大きさは，代次を經るに從ふて次第に小形となれりと解釋するを得べし。

以上によるときには、本菌を連續培養するに從へ菌核が次第に小形となりし所以は，培養毎に inoculum たる菌核中の specific substance は，次第に成生すべき菌核に分給せらるゝがために，菌核中に含む specific substance は，培養の回次を重ぬるに從ふて漸減するためと解釋するを得べく，又 minus selection のときには，mean selection 殊には plus selection のときに比して菌核が著しく早く小形となる所以は，inoculum たる菌核中に含む specific substance の量は，小なる菌核を inoculum とせし minus selection には少くして，大なる菌核

を inoculum とせし mean selection 或は plus selection には多量なるためと解釋するを得べし。

從來 pure line 內の淘汰によりて肯定の結果を得たるにつきては，其の由來するところ種々あるべしと雖，榮養が其の原因をなせし場合も亦少なからざるべし。一般に榮養として無機物質を用ふるときに，若し其の物質が無菌に保つにあらざれば，細菌又は菌類の侵入を受け，之れによりて有機物質が形成せられ，更に specific substance が合成せらるゝに至ることありて，最初の無機物質は，全く其の質を變ずるに至る。殊に Protozoa は，細菌を直接の餌食とし，加之培養上細菌は，Protozoa より分離せらるること極めて困難なり。故に供用の物質が無菌的なるや否は，榮養に關すること大にして，就中 Protozoa の場合にありては特に然りとす。1921 年 PETERS (9) は，*Colpidium* を有機物質に培養して代次を重ねしに，何等形狀には異狀なきに反し，之を無機物質に培養せしに，次第に小形となりしを觀察せり。故に生物の大さを試驗するには，須らく榮養物質を考慮するは勿論，殊に其の榮養物質が，無菌なるや否を注意するを要す。從來 Protozoa を用ひてなせし淘汰の結果につきて考ふるに，此の種の注意を缺くがために，兩者相反するが如き結果に到達せしと見らるゝ場合なきにあらず。

近來馬鈴薯に 'spindling tuber' (running-long 或は running-out) なる病害あり。之れは最近 (12) Virus による傳染的病害とせられたるも，APPLEMAN (1) は其の原因を塊莖中に含む growth-promoting substance, 即ち玆に所謂 specific substance の缺乏に歸せり。氏によるに，馬鈴薯の塊莖は，播種に當り切截せられて種子に供せらるゝために，塊莖に含む growth-promoting substance は分割せられ，尙細かく切截せらるゝ場合には，終には其の物質の缺乏を招くに至る。かゝる結果，馬鈴薯の發芽及生長は不能となり，又發芽するも spindling tuber を呈するに至るとせり。

之れ土壤は種々なる物質よりなり，又種々なる物質を含むがために，勿論 growth-promoting substance をも含有すると見るを得べく，ために塊莖が發根し土壤より榮養を攝取するに於ては，直に growth-promoting substance を補給し得べし。故にかゝる場合尙 spindling tuber の現生は稍信じ難きも，發根せざる當初に於ける spindling tuber の現生は，其の原因を塊莖中の growth-promoting substance の缺乏に歸するを得べし。かく考ふれば，馬鈴薯の spindling tuber は，恰も本菌の連續培養の結果と對比するを得べし。

5. 摘　　要

1) 著者は純系と認められたる *Sclerotium Rolfsii* 菌を用ひ，之れを Czapek 寒天に連續培養

して，出來たる菌核につき，plus, minus 及 mean selection をなせり。

2) 此の結果によれば，本菌の菌核は淘汰を重ぬるに從ふて次第に小形となる。此の傾向は，minus selection の場合には大に，plus selection の場合には小なり。

3) 此の事實は淘汰の結果と見るべからずして，培養基の榮養によるものと考へらる。而して著者は，之れを培養基中に含有する specific substance の存否及多少に歸せり。

4) 此の specific substance は，菌絲の發育を促し，次で菌核の形成を助くるものにして，WILLAMAN の Vitamine に比するものと考ふることを得。尙此の物質は，麴寒天には存在すれども，Czapek 寒天には含まざるものと見らる。

5) 本菌を Czapek 寒天に培養するときには，菌核の形成に要する specific substance は，inoculum として用ひたる菌核に仰ぐものとす。菌核に含む specific substance の量は，菌核の大小によりて差あれども，淘汰を重ぬるに從ふて次第に減ず。之れが連續培養せしときに，菌核の漸次小形となる所以にして，又 minus selection のときは plus selection の時に比して，比較的速に小形となる所以なりと解釋せらる。

引 用 文 献

1. APPLEMAN, C. O.: Spindling tuber disease of potato. Agric. Exp. Sta. Md. Bull., no 212. 1918.
2. BABCOCK, E. B, and CLAUSEN, R. E.: Genetics in relation to Agriculture. p. 372, 1927.
3. JENNINGS, H. S.: Heredity, variation and evolution in Protozoa. Proc. Amer. Philos. Soc., vol. 47, p. 393, 1908.
4. JENNINGS, H. S.: Heredity, variation and the results of selection in the uniparental reproduction of *Difflugia corona*. Genetics, vol. 1, p. 407, 1916.
5. HEGNER, H. S.: Heredity, variation and the appearance of diversities during the vegetative reproduction of *Arcella dentata*. Genetics, vol. 4, p. 95, 1919.
6. LA LUE, C.D.: The results of selection within pure lines of *Pestalozzia Guipini* DESM. Genetics, vol. 7, p. 142, 1922.
2. MIDDLETON, A, R.: Heritable variations and the results of selection in the fission rate of *Stylonychia pustulata*. Jour. Exper. Zool., vol. 19, p. 451, 1915.
8. NAKATA, K.: Studies on *Sclerotium Rolfsii* SACC., part 4, The size and shape of the sclerotia and their relation to the kinds of the fungus. Bul. Sci. Fakul. Terk. Kyushu Imp. Univ., vol. 2, p. 169, 1927.
9. PETERS, R. A.: The substrnces needed for the growth of a pure culture of *Colpidium colpoda*. Jour. Physiol., vol. 55, p. 1, 1921.
10. REIDEMEISTER, W.: Die Bedingungen der Sklerotien-und Skelerotienringbildung von *Botry-*

tis cinerea auf künstlichen Nährboden. Ann. My., Bd. 7, s. 19, 1909.

11. Root, F.,M.: Inheritance in the asexual reproduction of *Centropyxis aculeata*. Genetics, vol. 3, p. 173, 1918.
12. Schultz, E. S. and Folson, D.: A spindling-tuber diesease of irish-potatoes. Sci. n. ser., vol. 57, p. 149, 1923.
13. Stocking, R. J.: Variation and inheritance of abnormalities occurring after conjugation in *Paramecium candatum*. Jour. Exper. Zool., vol. 19, p. 387, 1915.
14. Willaman, J. J.: The function of vitamines in the metabolism of *Sclerotinia cinerea* Jour. Amer. Chem. Soc., vol. 42, p. 549, 1920.

STUDIES ON *SCLEROTIUM ROLFSII* SACC., PART 7.

THE RESULTS OF SUCCESSIVE CULTURES AND SELECTIONS WITHIN PURE LINE OF THE FUNGUS.

(Résumé)

Kakugoro NAKATA.

1. Plus,minus and mean selections were made for diameter of sclerotia formed in Czapek's agar according to progeny within pure strain of *Sclerotium Rolfsii*.
2. In successive selections, size of sclerotia gradually decreased with generations; its tendency being more appreciable in minus selection than in plus.
3. These facts are convinced to be due, not to selection, but to nutrient of media, which the writer attributes to specific substance contained in natural media but not in synthetic media.
4. This substance stimulates the growth of mycelia and participates in the formation of sclerotia. It is contained in Koji agar but not in Czapek's agar. From its nature it seems to correspond to the vitamine worked by WILLAMAN with *Sclerotinia cinerea*.
5. When cultured in Czapek's agar, the specific substance, essential for the formation of sclerotia, seems to be supplied from sclerotia used as an inoculum. The amount of the substance contained in sclerotia gradually decreases during selection, though little different among three selections. Under this circumstance, the size of seleroaia gradually decreases in successive Czapek's agar culture, specially in plus selection.