

NEUROSPORAに関する研究(昭和20年九州戦災地に発生 せる) : 第1報 Sexuality に就て

中澤, 文三
九州大学農学部農芸化学科資源微生物学研究室

山崎, 何恵
九州大学農学部農芸化学科資源微生物学研究室

<https://doi.org/10.15017/21211>

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 13 (1/4), pp.143-148, 1951-11. 九州大学農学部
バージョン :
権利関係 :



NEUROSPORA に関する研究

(昭和20年九州戦災地に発生せる)

第1報 Sexuality に就て

中澤文三・山崎何恵

Studies on *Neurospora*, grown on trunks of trees which
were burned by air raid fire, 1945, in Kyushu

Bunzo Nakazawa and Izue Yamasaki

Neurospora 属は Shear 及 Dodge⁹⁾ により *Monilia sitophila* group の有性世代の確認によつて設定せられた。之より先に北島^{4, 5)} は此の有性世代を観察したが新属の設定には至らなかつた。本属菌は Ascus 内に 4 個又は 8 個の Ascospore を有し、前者は Homothallic、後者は Heterothallic の種である。Homothallic の種は Monosporous mycelium でよく有性生殖を行ひ、Perithecium の形成を避けるが、これに反し Heterothallic の種ではそのためには相対性二菌株の接合を必要とする。即ち Heterothallic の種の Ascospore には雌雄性に相当する 2 型があると考へられる。此の性的に相対的の 2 型 (A 及 B とす) は Ascus 内部に於て一定の排列を為してゐる。Wilcox¹¹⁾ は *N. sitophila* に於て Ascus 内 8 個の排列は A 及 B が 2 個宛交互になつてゐる状態を観察し、A 及 B 因子の分離が第 2 回目の核分裂の際に行はれたのであるとしてゐる。一方、Lindegren⁶⁾ は A 及 B 因子の分離が此の様に第 2 回目の核分裂に於て行はれるのは全体の約 15 % にすぎず、大多数の 85 % の場合は第 1 回目に於て起るので、A が 4 箇、B が 4 箇の如く排列してゐると云ふ。

本属菌は広範に分布してゐるが、火災後に他の糸状菌に優先して発生するので特異である。

江本及徳川^{9, 10)}、北島^{4, 5)} は 1923 年東京地震後の発生を記載した。1945 年米軍空軍の焼夷弾によつて火災を致した本邦諸都市に於ても焼木上に大発生したのが見られた。本属菌が斯の如き場所に特異的に発生する事実は後述する Ascospore の発芽の條件に関連して考へられる。即ち、自然界に散布せられてゐる Ascospore が常温にては発芽する事を得ず、火災時に於て受ける熱が発芽の條件に適合する時に直ちに発芽繁殖するのであらう。

著者等は戦災地に発生せる *Neurospora* 属菌株を得、これに就き Sexuality に関する二三の実験をした。その結果を形態的及び培養的性質に照し合はせて *Neurospora sitophila* に一致することを知つた。

1. 菌 株 1945 年 6 月～9 月の間に各戦災地より得た菌株中、熊本市より得たるもの (採取者藤井久雄氏に感謝す) に多数の Perithecium が形成され、それより多数

の Ascospore が射出されてゐる状態が見られた。Perithecium 内には多数の Ascus を蔵し各 Ascus は8個宛の Ascospore を有つ。Sexuality の検定には Ascospore の単個培養による菌株を必要とするので、下記の方法によりその分離培養を試み、4 個の Ascus より総計 32 株の単胞子菌株を得た。菌株には Ascus の別及 Ascus 内の列の順位を、頂端より番号を附した。Ascus の番号は、No. 5, No. 7, No. 10, No. 12, である。

2. 熱処理による Ascospore の発芽 Shear 及 Dodge³⁾ の方法では発芽率の詳細及 Conidia の耐熱性の低限界に就ては不明である。著者等は次記の方法によつて Table 1 の結果を得た。

熱処理の方法 小硝子試験管 (9×65 mm) に糖汁 (ca. 10%, Ballg.) 0.5 cc 宛分注、綿栓し常法により殺菌し置き單離せる Ascospore をこれに接種し各温度の温水中に 150 秒保持する。後直に冷水中にて冷却後、30°C 恒溫器中に置く。発芽せるものは 24 時間経過せば液中に菌糸を認め得る。Conidia は單離せず一白金耳接種した。

Table 1 の結果より、60°C 150 秒の加熱処理によれば、よく 100% に近い発芽率を確保し得られ、しかも Ascospore 單離の際混入の恐ある Conidia を死滅せしめて安全なる單離竝に発芽を期待し得る。

Table 1. Heat-treatment of Ascospore and Conidia.

Temp. of heating in °C.	Time of heating in second	No. of Ascospores treated	No. of Ascospores germinated	Conidia
80	150	5	0	-
70	do	15	7	-
60	do	23	22	-
50	do	9	9	-
40	do	5	5	+

The sign + indicates that conidia germinated, the sign - negative results.

3. Ascospore の單離 Micromanipulator を使用した。Sexuality の実験に於て最も注意すべきは本属菌株の粉狀にして空中に飛散し易き Conidia が操作中に混入する事で、不知の間に混入した Conidia が発芽繁殖する時は他属の雜菌混入の時とは異り認知する事は殆ど不可能である。

しかるに前項に述べた如く Ascospore 発芽のための加熱処理を行へば、混入のおそれある Conidia も完全に死滅せしめ得る。

單離及培養法。過熱に至らざる程度に成熟せる Perithecium を載物硝子上に採り、細針にてその外殻を破り去り Ascus の集團を取り出す。これにグリセリンを滴下し爾後の操作に便ならしめる。Ascus 集團中より適当な1個を選取し、これより Ascospore を順次分離する。引続いて熱処理を施されたものは数日後には液面上に菌体を密生するに至る。これを Corn meal agar (corn 50 g, agar 20 g, tap water 1000 cc) の斜面増地に移植し、これを供試菌株の原培養とした。

4. 菌株の Sexuality Ascospore 単個培養により得た 32 株は、何れも単独では Perithecium を形成せず、依つてこれ等分離菌株はすべて Heterothallic である事が予想せられる。同一 Ascus より得たる 8 菌株について、菌株相互の組合せの培養により Perithecium 形成の有無を検した結果は Table 2 の如くである。

Table 2. Results obtained by mating in all possible combinations of eight haplonts for each ascus. Spores are numbered in order of their position in the ascus.

Ascus; No. 5								Ascus; No. 7								Ascus; No. 10								Ascus; No. 12							
1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	-	-	-	+	+	+	1	-	-	-	-	+	+	+	1	-	-	-	-	+	+	+	1	-	-	-	-	+	+	+
2	-	-	-	-	+	+	+	2	-	-	-	-	+	+	+	2	-	-	-	-	+	+	+	2	-	-	-	-	+	+	+
3	-	-	-	-	+	+	+	3	-	-	-	-	+	+	+	3	-	-	-	-	+	+	+	3	-	-	-	-	+	+	+
4	-	-	-	-	+	+	+	4	-	-	-	-	+	+	+	4	-	-	-	-	+	+	+	4	-	-	-	-	+	+	+
5	+	+	+	+	-	-	-	5	+	+	+	+	-	-	-	5	+	+	+	+	-	-	-	5	+	+	+	+	-	-	-
6	+	+	+	+	-	-	-	6	+	+	+	+	-	-	-	6	+	+	+	+	-	-	-	6	+	+	+	+	-	-	-
7	+	+	+	+	-	-	-	7	+	+	+	+	-	-	-	7	+	+	+	+	-	-	-	7	+	+	+	+	-	-	-
8	+	+	+	+	-	-	-	8	+	+	+	+	-	-	-	8	+	+	+	+	-	-	-	8	+	+	+	+	-	-	-

The sign + indicates that perithecia were formed, the sign - negative.

以上の結果より各 Ascus 共に (1, 2, 3, 4) と (5, 6, 7, 8) とは相対性である事を知る。相対性の因子を A 及 B とすれば Ascus 内に於ける両因子の排列は AAAA BBBB 又は BBBB AAAA の何れかである。斯の如き A 及 B の排列により A 及 B の分離が第 1 回の核分裂の際に行はれたものと考へられる。

5. Ascus 内に於ける A 及 B の排列状態 前項の結果よりは 4 個の Ascus 内に於ける A 及 B の排列状態がすべて同一なるか否かは速かに判断出来ない。各 Ascus 内の A 及 B の排列状態を知るために次の如く異なる Ascus 相互間に組合せの培養を行ひその排列状態を知つた。

Table 3. Results obtained by mating in all combinations between two haplonts from different ascus in the single perithecium. Spores are numbered in order of their position in the ascus.

Ascus, No. 5 × No. 7								Ascus, No. 5 × No. 10							
No. 5								No. 5							
1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
1	+	+	+	+	-	-	-	1	-	-	-	+	+	+	+
2	+	+	+	+	-	-	-	2	-	-	-	+	+	+	+
3	+	+	+	+	-	-	-	3	-	-	-	+	+	+	+
4	+	+	+	+	-	-	-	4	-	-	-	+	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+	+	5	+	+	+	+	-	-	-
6	-	-	-	+	+	+	+	6	+	+	+	+	-	-	-
7	-	-	-	+	+	+	+	7	+	+	+	+	-	-	-
8	-	-	-	+	+	+	+	8	+	+	+	+	-	-	-

Ascus, No. 5 × No. 12		Ascus, No. 7 × No. 10	
No. 5		No. 7	
No. 12	1 2 3 4 5 6 7 8	No. 10	1 2 3 4 5 6 7 8
	1 ---+ + + +		1 + + + + - - - -
	2 ---+ + + +		2 + + + + - - - -
	3 ---+ + + +		3 + + + + - - - -
	4 ---+ + + +		4 + + + + - - - -
	5 + + + + - - - -		5 - - - - + + + +
	6 + + + + - - - -		6 - - - - + + + +
	7 + + + + - - - -		7 - - - - + + + +
	8 + + + + - - - -		8 - - - - + + + +

The sign + indicates that perithecia were formed, the sign - negative results.

以上の結果より Ascus, No. 5, No. 10, No. 12 は何れも A 及 B の排列状態は同一であるが, No. 7 は前3者の場合と顛倒して居る事が知れた。即ち No. 5, No. 10, No. 12 が AAAABBBB ならば, No. 7 は BBBBAAAA である (Fig. 1)。

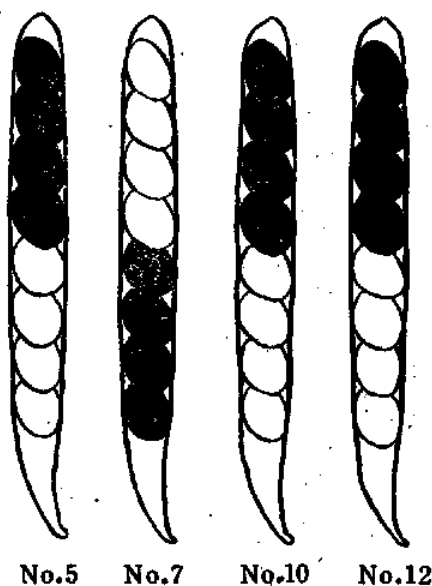


Fig. 1. Arrangement of opposite sex factor of ascospore in 4 asci.
Suppose black spore indicates A-sex, then white spore B-sex.

6. Perithecium 形成に關する Hormone に就て Moreau 及 Moruzi¹⁷⁾ は標記の Hormone が存在すと報じ, Dodge³⁾, Aronescu^{1, 2)} は此の追試をなして否定した。著者等は精確に菌糸の行動を追及し得る透明な液体培養基による方法で追試した。即ち炭素源として濾紙片を用ひる次の如き培養基によつて U 字管培養及相対菌株相互に異性菌株の培養濾液 (Berkefeld filter による) を添加して培養する方法によつた。U 字管培養は Fig. 2 の如き方法である。

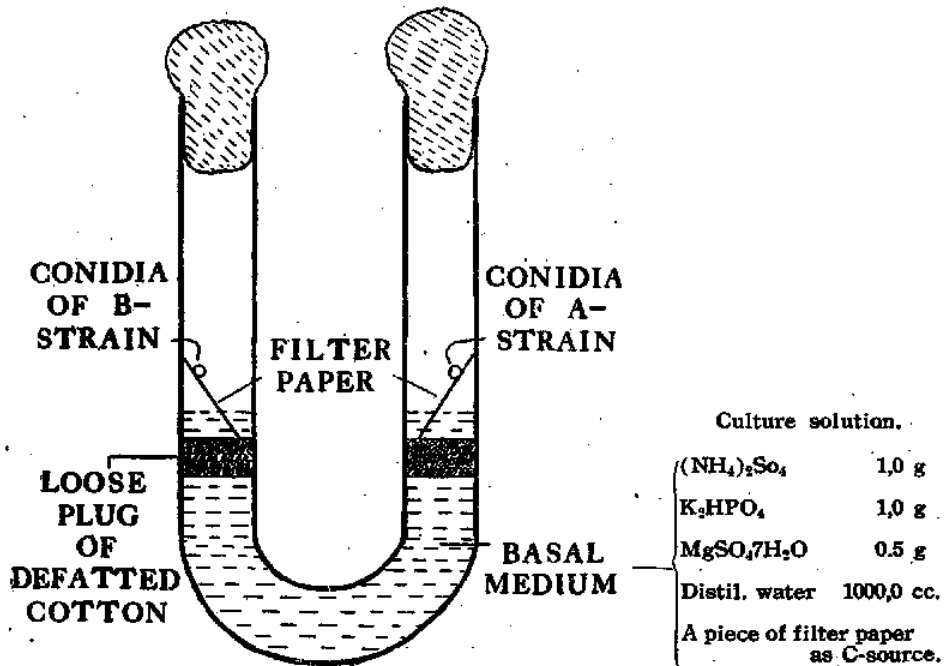


Fig. 2.

U-tube culture containing synthetic culture solution with filter paper as C-source. Growth of A and B strains were normal on each side but perithecium (with asci) formation was negative on both side.

結果、何れも菌糸の生育及 Conidia の着生状態は濾紙培養法としては正常であつたが、Perithecium の形成は認められなかつた。即ち A と B との相対性菌株間にて菌糸の融合が無くては Perithecium の生成（胞子を持つた）は見られない。

尙この濾紙片を炭素源とした合成液体培養基では、A と B との相対性菌株が揃つた場合には常用の玉蜀黍粉寒天上に於けるよりも著しく多量に、かつ、速かに Perithecium (with asci) の生成を見られる利点があるから所謂 胞子形成用の培地として使用が可能である。

摘 要

- (1) 戦災地に発生した *Neurospora* 属菌株の4個の Ascus より Ascospore を排列順位を確認しつつ単離し純粋に培養して総計 32 菌株を得た。
- (2) Ascospore の発芽に要する熱処理は 60°C 150 秒を最適と認めた。
- (3) 32 株はすべて Heterothallic の種で、各株の相対性とその排列状態を知つた。
- (4) Moreau 等が提唱した Perithecium 形成に關与する Hormone の存在は認められなかつた。

文 献

- 1) Aronescu, A. Mycologia, 25, 43, 1933.
- 2) Arorescu, A. Mycologia, 26, 244, 1934.
- 3) Dodge, B. O. Bull. Torrey Bot. Club, 58, 517, 1931.
- 4) Kitasima, K. Ztschr. Fortwiss. Gesell. Japan, 21, 285, 1924.
- 5) Kitasima, K. Ann. Phytopath. Soc. Japan, 1 (6) 15, 1925.
- 6) Lindegren, C.C. Bull. Torrey Bot. Club, 59, 35, 1932.
- 7) Moreau, F. & Moruzi, L. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 192, 1475, 1931.
- 8) Shear, C. L. & Dodge, B. O. J. Agr. Res., 34, 1091, 1927.
- 9) Tokugawa, Y. & Emoto, Y. Bot. Mag., Tokyo, 37, 185, 1923.
- 10) Tokugawa, Y. & Emoto, Y. Jap. Journ. Bot., 2, 175, 1924.
- 11) Wilcox, M. S. Mycologia, 20, 3, 1928.

(この論文内容の大体については昭和二十二年六月、日本農芸化学会関西支部例会にて講演した。)

(九州大学農学部農芸化学科資源微生物学研究室)

Summary

1. Luxuriant growth of *Neurospora* was observed on burned tree trunks after the air raid fire, 1945, in Kyushu.
2. Optimum condition for germination of ascospore of the *Neurospora* was to heat spore at 60°C for 150 seconds and this heat treatment proved to be certain to kill an occasionally contaminatable conidia of this mold.
3. According to morphological and cultural observations and besides Dodge's mating experiments, on which it is described in this report, the isolated sample was identified as *Neurospora sitophila*.
4. As to the arrangement of opposite mating factor, A and B, of ascospores in 4 asci of one perithecium, the perithecium formation experiment was made by mutual mating in all possible combinations of 32 monosporous and heterothallic strains, grown from each isolated spore numbering in order of position in ascus, and from the results it was determined as AAAA-BBBB and BBBBAAAA.
5. Existence of hormone which induces the perithecium (with asci) formation between opposite mating myceliums in distance, proposed by Moreau and Moruzi 1931, was not recognised by our experiments also. U-tube culture, containing simple synthetic liquid medium with filter paper as sole C-source, was used in order to follow exactly the growing mycelium through the transparent liquid medium.
6. This filter paper medium proved to be used as a sporulation medium of *Neurospora*, because when it is transferred from corn meal agar culture onto filter paper in the medium, the perithecium formation will occur there more abundantly and speedily than usual.

(Laboratory of Zymology and Industrial Fermentation, Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kyushu University)