

ノイロスポラ属無性胞子の電顕ミクログラフ

岡本 勇・薄衣俊郎・長浜自明

(山形大学農学部農産製造学研究室)

I. OKAMOTO, T. USUGINU and J. NAGAHAMA : Electronmicrograph
 of Conidia of Neurospora sp.
 (Faculty of Agr. Yamagata Univ.)

〔I〕 緒 言

本研究室に於いて全国有名菌株保存機関より Neurospora 属菌株の分譲を受けた機会を利用して、其の Conidio-spore (Arthropoda or Gemmen.) の電顕的観察を行い、之によつて分類学上の示唆を求めんとした。

形態の特徴ははつきりつかみ得たが、strain による差は決して甚だしからず、内1種、*N. tetra sperma* のみは一定の型をとる事が分つた。

又 conidia が珠数状の連鎖をなして居るが、其の発生途上を検鏡し得た。其の他胞子表面の性質、切断面等の所見をここに一括報告する。

〔II〕 試料に就いて

次の各 strain に就いて検鏡した。其の出所並に培養上の特徴を Table 1. にまとめた。

Table I. 研究 Strain 一覧

整理番号	Strain 名	備 考
No. 1	<i>Neurospora crassa</i> 2035	長尾研究所より分譲 Y. Cs. G. A.
2	〃 〃 2047	〃 S. Cs. G. A.
3	〃 〃 2048	〃 S. G. A.
4	〃 〃 2075	〃 S. G. A.
5	〃 〃 2075	〃 S. G. A.
6	〃 〃 2076	〃 S. G. A.
7	〃 〃 2077	〃 S. G. A.
8	〃 〃 2078	〃 S.
9	<i>Neu. sitophila</i> (岡崎八丁味噌麹より分離)	〃 Ys. G. B.
10	〃 (大連空气中より)	〃 S. Cs.
11	〃 (江本氏保存) 2021	〃 Ys.
12	〃 (蘇鉄麹より) 2024	〃 S. Cs.
13	〃 (武豊味噌麹より) 2025	〃 Ys.
14	〃 (天狗味噌麹より)	〃 S.
15	<i>Neu. niitaka</i>	〃 Ys.
16	<i>Neu. tetrasperma</i> 2046	〃 Ys. G. A.
17	<i>Neu. species</i> 2031	〃 S.
18	<i>Neu. sitophila</i> F-21	東大応用微研より分譲 S.
19	<i>Neu. crassa</i> F-25	〃 S. G. A.
20	<i>Neu. sitophila</i> F-26	〃 S. Cs.
21	<i>Neu. species</i> W-1	東北大農学部より分譲 S. Cs.
22	<i>Neu. sitophira</i> 56	東京農業大学より分譲 S. Cs.

(註) Cs.; 胞子着生良好なもの
 G. A.; 気生菌糸旺盛なもの
 G. B.; 匍匐するもの

胞子の色 S; 標準色
 Y; 黄色
 Ys. はやや黄色優る

〔Ⅱ〕 実験の部

イ. 培養

孢子着生の良いものと、悪いものとある。前者では Koji-Agar slant 上、10日 25°C 恒温培養のものをつて居る。

後者の例は No. 5, 9, 14, 15, 17, 18等である。

この培養には石井氏培地¹⁾を用いて良く孢子着生を見た。即ち No. 17, 14, では2週間で着生著しい。其の他のものでは25~29日間で孢子着生を見た。即ち No. 5 は27日, No. 9 は29日, No. 15 は25日, No. 18 は29日を要して居る。之の際光線に当てる事は孢子発色促進の効果著しい事を認めた。

ロ. 検鏡

Mesh 上コロヂウム膜表面に、白金耳にて孢子をとり軽くたたいて分散せしめ、又は孢子のとり難きものに就いては Mesh を slant 面に附着せしめてとる事とした。

之の際消毒毛筆を用いて、白金耳に代える事は便利であるが、往々毛筆の糊上に生ずるペニシリウム、其の他の孢子の混入する危険ある事を体験した。

検鏡は1500~3000倍等比較的低培率の所を用いた。

ハ. 孢子切片の検鏡

No. 10 の孢子を用いて、其の断面を検鏡した。切片の造り方は東昇氏法²⁾を用いた。其の要点と経過並に批判を次の如くまとめる。

a) 孢子をパラフィン紙上にかき集める。之を径7mm長さ4cmの試験管に入れる。

b) PH7の磷酸バッファーで2回洗滌する。この際予め Vibrator (電気アンマ器を試験管保持用に改造したもの) にて管を支持、2分間発動せしめ、充分分散せしめる。次に遠沈後洗液を交換して再度同様処理する。

c) 0.5% Osmic 酸 (PH7 磷酸緩衝液にとかす) 液を加えて固定せしむ。20分放置を標準とするが動物組織の場合は之で良いが、細菌、酵母、孢子等に応用する際はそれぞれ1~2時間放置が適当と考えられる。

d) 水洗1回。

仕方は b) の通りである。

e) 脱水

25, 50, 70, 95, 100% Alkohol で順次 b) 方式で洗滌、脱水する。間かくは各々1時間とする。

f) 包埋準備

Monomer (N-Butyl-acrylate 8.5, Me acrylate 1.5 Benzol peroxide 0.2) の50% Alkohol sol. 中に上述孢子を分散し、室温1時間放置、遠沈して上澄を棄る。(之の操作を以下分離と云う。)

Monomer (100%) 中に分散せしめ、氷室中1時間放置、分離する。

再度 Monomer (100%) 処理を繰り返えし、この際は8時間氷室中に放置、分離する。

g) 包埋

f) の最後の沈澱を (100%) Monomer 中に分散せしめ、47°C 恒温器中34時間放置重合せしむ。

h) 切断

包埋ブロックの先端(此処に胞子集まる)を1mm²の細さにけずる。

スペンサー式 ultra microtome で0.05μ附近で切片を得る。やや厚い感あり今後の研究を要する。

i) 検鏡

コロチニウム膜はSilica補強せる、Mesh上に切片をとる。トレガーにはめ、真空蒸着器内で包埋剤を揮散せしめて、検鏡に供する。

之の際器内のheaterとMeshとの間に雲母板を置くと良いが、本検鏡では置かなかつた。この結果は印画面は一様にすすけて見える。

二. 検鏡結果の考察

本属の胞子は表面平滑である。表面の性質は麩菌属に比してやや親水性である。即ち試験管中にて胞子浮游水中に石油ベンゼンを加えて振り、静置する時は両液は上下に分離するが、本胞子は水層にも半量以上が分布する。

麩菌属では胞子はベンゼン層に集中する。

之の性質は、本属の深部培養の際、胞子懸濁液及び培養液への分散は容易であつて、1つの利点である。

形は円形、円柱、随円、腸詰、セメント樽形等種々あるが、一般に馬鈴薯形と謂い得る。

1. Strainで種々な形を兼ね備えるのでstrain間の分類の手掛りとはならないが、No.13, No.3, 特にNo.16に於てはセメント樽形の頻度多く、表面は

Fig. 1. Conidia の形

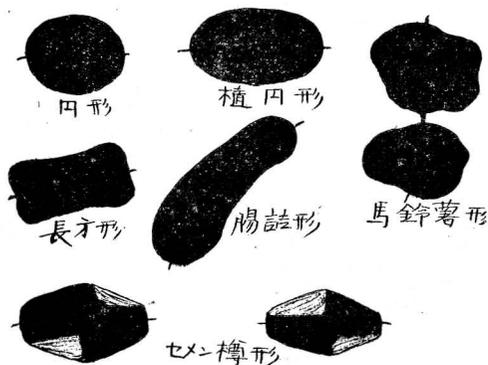


Table. II

整理番号	径 (μ)	長さ (μ)	形 態
No. 1	8 ~ 11	14 ~ 16	楕円, その他
2	4 ~ 9	6 ~ 11.5	楕円, 多面, 円柱, その他
3	2 ~ 5	3 ~ 6.5	楕円, 多面, その他
4	3.5 ~ 5.5	4 ~ 8.5	球, 円柱, 楕円, その他
5	7 ~ 9.5	11 ~ 16	楕円, その他
6	3 ~ 4.2	3.5 ~ 6.5	楕円, 多面, その他
7	2.8 ~ 4.8	5.5 ~ 7.5	楕円, その他
8	3.5 ~ 6	4 ~ 6	楕円, 球, その他
9	9.5 ~ 11.5	11 ~ 16	楕円, 球, その他
10	5 ~ 9.5	5 ~ 10	楕円, 球, その他
11	2.5 ~ 6	5.5 ~ 9	腸詰, 楕円, その他
12	3 ~ 9.5	4.3 ~ 12	円柱, 馬鈴薯状, その他
13	5 ~ 9	5 ~ 16	多面, 楕円, その他
14	9 ~ 13	17 ~ 20	楕円, 球, その他
15	4.5 ~ 10.5	5.5 ~ 17	球, 楕円, 円柱, その他
16	3 ~ 4.5	4.5 ~ 6.5	多面, 球, その他
17	5 ~ 16	7.5 ~ 19	球, 楕円, 腸詰, その他
18	4.8 ~ 12	8 ~ 13.5	腸詰, 球, 楕円, その他
19	3.8 ~ 5.9	5 ~ 10	楕円, その他
20	2.8 ~ 7.5	3 ~ 8.5	円柱, 多面, 楕円, その他
21	5 ~ 7	5 ~ 10.5	球, 楕円, その他
22	2 ~ 6	3 ~ 7	多面, 円柱, 楕円, その他

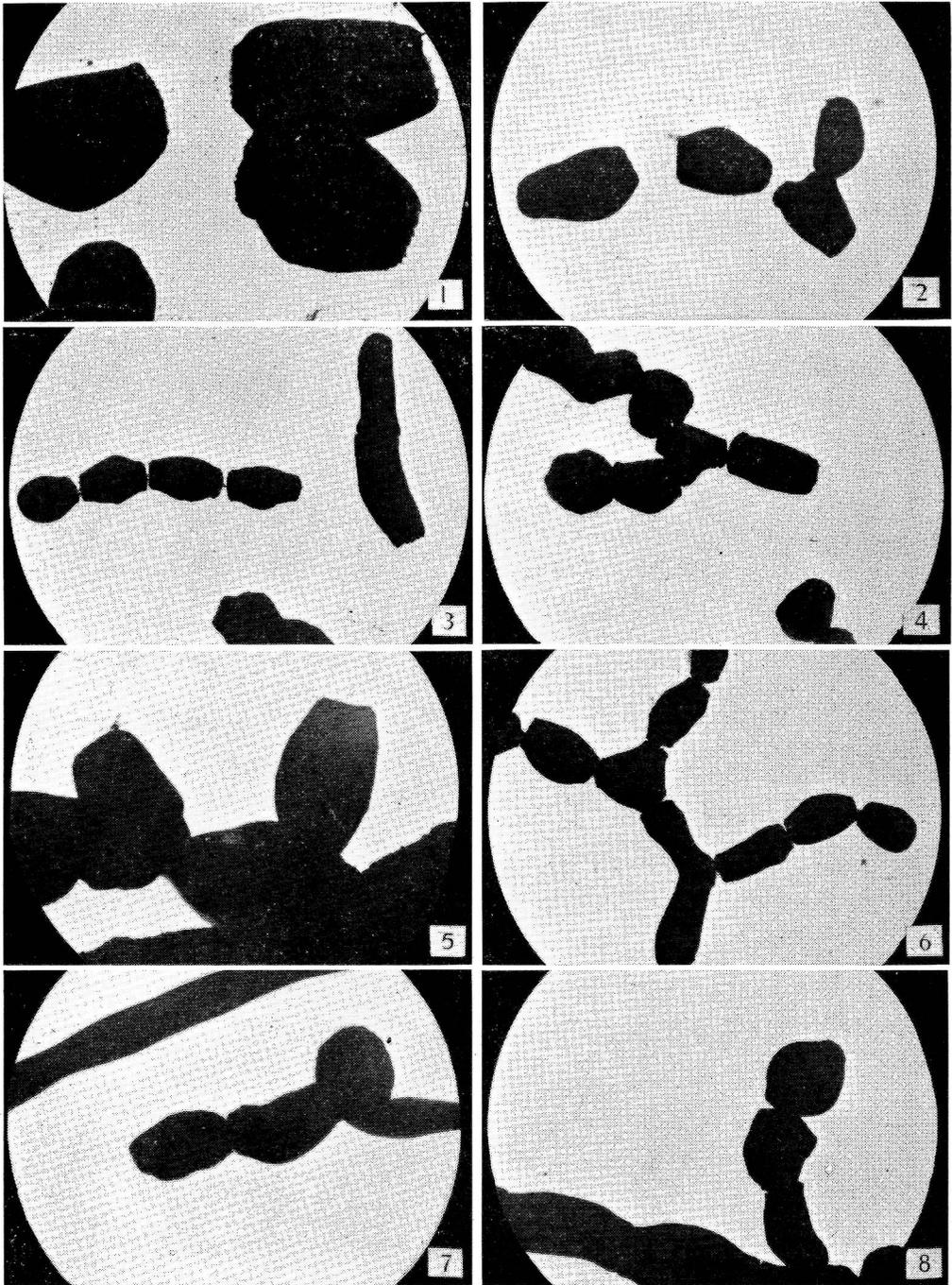


Fig. 2-1

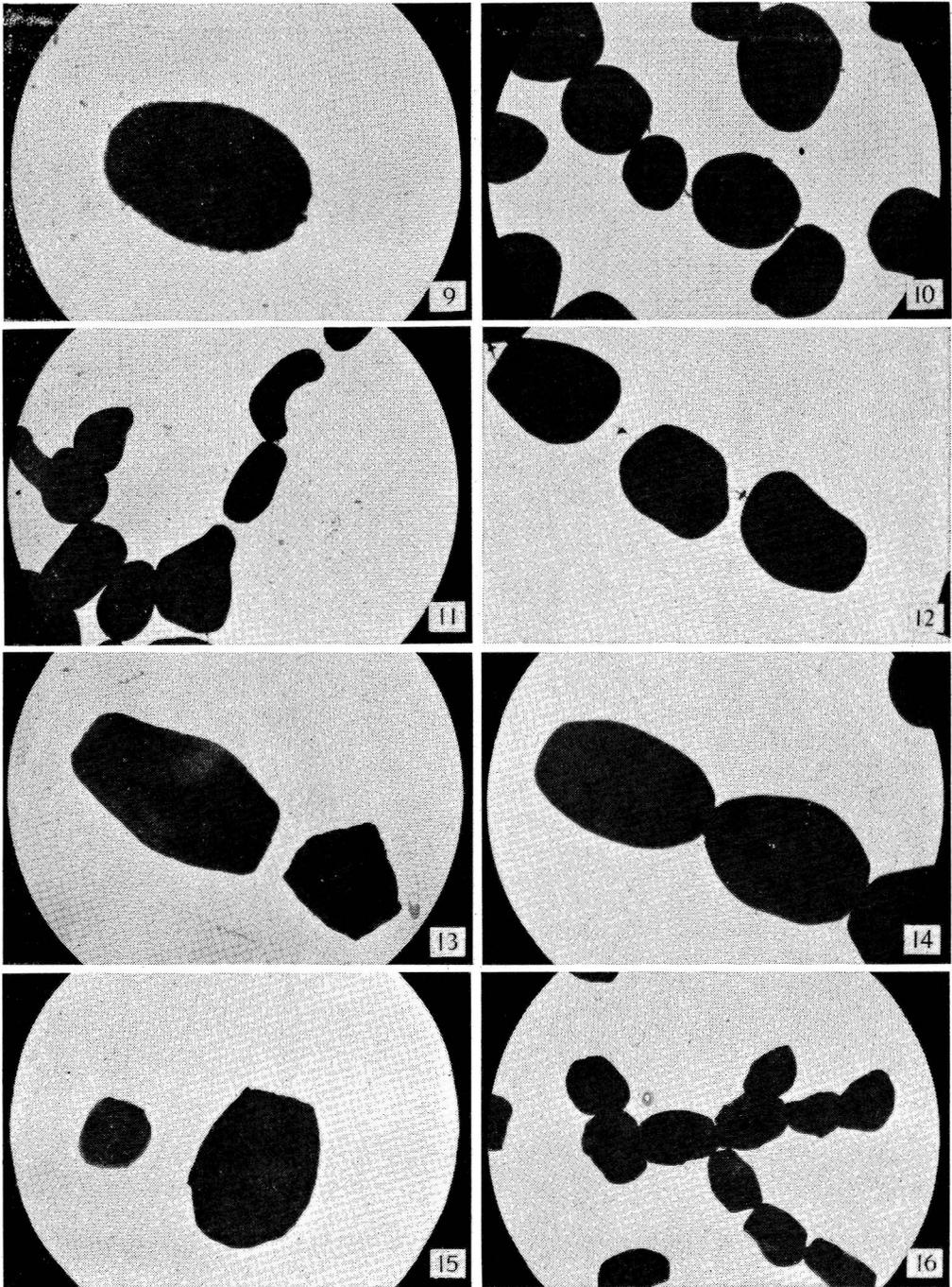


Fig. 2—2

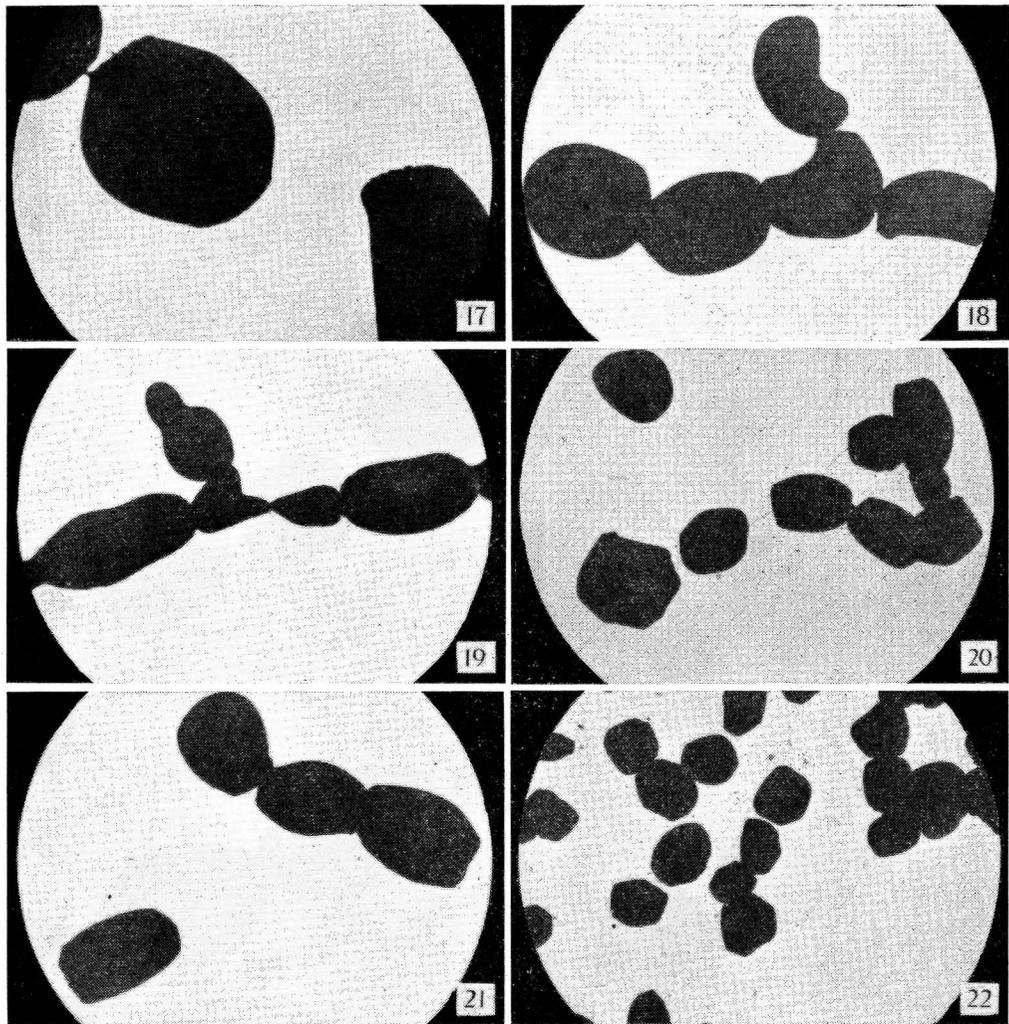


Fig. 2-3

一寸変つて居て、Angular となつて居る。之の際は薄い部分は内容が透過されて見える。即ち基本形の馬鈴薯形では内容が豊満なるに比し、セメント樽形では厚味に部分的に厚薄の差が表われる次第である。Fig. 1. 参照 (diagramatic に記す), Fig. 2. 参照 (之は電検所見である)。

大きさは長径 $4\sim 20\mu$, 短径 $2\sim 11\mu$ である, 各 strain に就いては Table II 及び Fig. 2 を参照され度い。

胞子生成過程の知見

conidia は一連の珠数形 (Rosary) であつて, 細紐 (string) によつて結合されて居る。

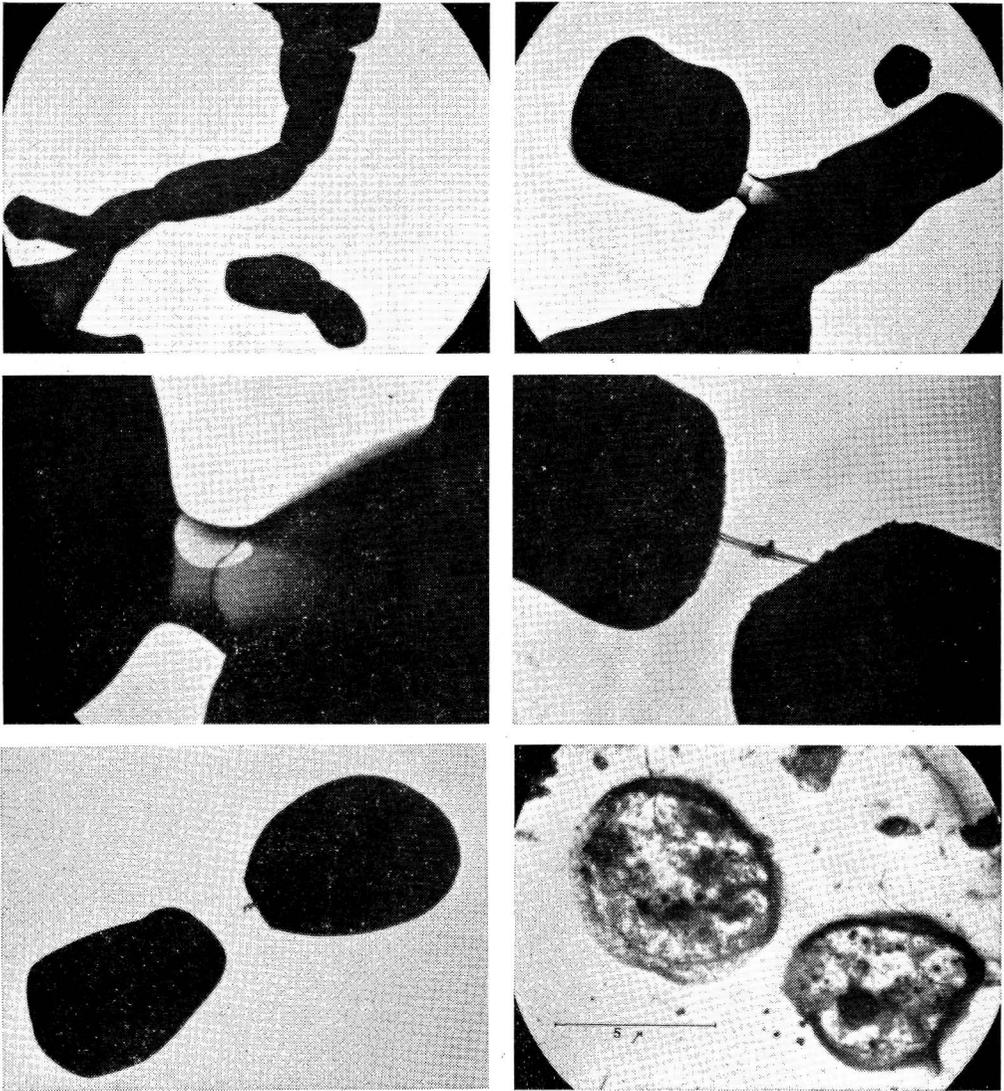


Fig. 4

右下 Fig. 5

所謂裸生と称せられて居るが、之の状態の生成過程は糸状菌中、裸生孢子形成菌に就いて研究せられた所と全く同一なる事が、各生成 stage の電顕的所見から明らかとなつた。即ち最初 spores の数個が同一の莢内に来れる（豌豆状）、そして時間と共に莢部は乾燥して、成熟せる孢子のみ盛り上り、他は細まる遂に string となつて居る。

Fig. 3 は其の各段階を schematic に示し、Fig. 4 は検鏡の結果得たものである。

No. 10 の切片を検鏡し、Fig. 5 を得た。

既述の如く、固定時間がやや不足なる事及び、真空蒸着装置内操作が悪く、画面はよじれて居る。

然し一応内容が伺われる。粒状物中最大なる部分が核と推定せられる。

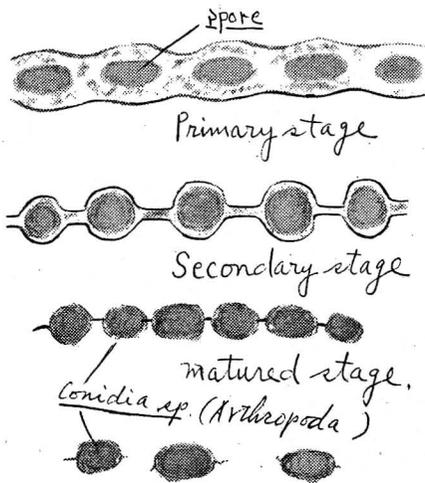


Fig. 3 Conidia 生成順序

定せられる。

胞子切片を検鏡し、内部に粒状物の分布を確認し、最大粒子は1個であつて核と想像せられるが、未だ決定的ではない。(Fig. 5)

本研究に当り東大応微研飯塚広氏の助言は深く感謝する所である。

引用文献

- 1) 石井隆一郎 醗酵工学雑誌 32. 297-300 (1954)
- 2) 東昇 科学(岩波) 21. -599 (1951), 22. -480 (1952)
- 3) 斎藤賢道 醸学誌 16. 15. (1938)
- 4) 飯塚 広 日農化誌 27. 801. (1953)

Resume

We have taken the electron-micrographs of conidia of 22 strains, *Neurospora* sp. and thereby made some observations of their morphology.

They have generally a round potato-shape ($4-20\mu \times 2-11\mu$) and some modified. (c. f. Fig. 1.)

On further observation in details, some looked like a cement-cask shape with angular surface (Fig. 2.) and the others showed some modified forms of ground potato-shape respectively. (c. f. Fig 2-2, 2-3.)

The surface is somewhat more smooth and hydrophilic, compared with those of *Aspergillus* and *Penicillium* sp.

Conidia are joined together with the fine string like rosary, and the mechanism of their formation is shown by scheme Fig. 3, and some available photographs Fig. 4.

The section of the conidia are also shown in Fig. 5, in which some particles of various size are distributed. Their nature is not yet ascertained, but the largest may be the nucleus.

[IV] 要 約

Neurospora 属 22 strain に就いて、其の conidia を電顕を用いて検鏡した。

胞子は全般的に見て、馬鈴薯形又は其の変形 (Modifications) であつて、その表面は Smooth であり、*Asp.* 及び *Pen.* に比しやや親水性である。

大きさは長径 $4-20\mu$ 、短径 $2-11\mu$ であつた。(Fig. 1 及び 2)

3. strain では特徴あるセメント樽形で、表面は平滑、且つ多角である。

全体としては珠数形 (Rosary) を成す、之を連結せる string の生成過程は各 stage のものを検鏡し得た (Fig. 4, 5) が、他の裸生胞子形成菌と類似した方式なる事が推