岐阜大学機関リポジトリ
Gifu University Institutional Repository

根こぶ病菌感染カルス組織の培地上における生育(アブラナ科植物の根こぶ病に関する研究(IX))

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2022-06-07
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 池上, 八郎, 向畠, 博行
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5729

岐阜大農研報（55）： 1 －14， 1990.

根こぶ病菌感染カルス組織の培地上における生育

（アブラナ科植物の根こぶ病に関する研究　IX）

池上八郎・向畠博行[1)]

植物生産遺伝学講座

（1990年 7 月31日受理）

Growth on Medium of *Plasmodiophora brassicae* Infected Callus Tissue

(Studies on the Clubroot of Cruciferous Plants IX)

Hatiro IKEGAMI and Hiroyuki MUKOBATA

Department of Plant Genetics and Production

(Received July 31, 1990)

SUMMARY

A Murashige and Skoog's basal culture medium with 0.5 mg/l of NAA (α-naphthalene acetic acid), 1.0 mg/l of Kinetin (6-furfuryl amino purine), 3% sucrose, 1% agar and 5.6-5.8 in pH was a suitable medium for the primary culture of explant tissue from clubs on turnip and Chinese cabbage infected with *Plasmodiophora brassicae* and noninfected explant tissue from swelled roots on healthy turnip and the subculture of infected and noninfected callus tissues. The culture of infected callus tissue from Chinese cabbage in the present study is an original work. Moreover, in a growth chamber, culture temperature was at 25℃ and the light condition of continuous fluorescent 300 lux illumination was better in callus growth than the dark condition. Fresh weight of callus tissue with infected and noninfected explant tissues increased gradually from 5 days on medium and then the former was more vigorous than the latter. In the infected explant tissue, the fresh weight during one week from 3 to 10 days on medium became 1.8 times in Chinese cabbage and 3 times in turnip, but 1.8 times in noninfected one from turnip. Grown of infeced callus tissue as the sorosis by small mass calluses and noninfected callus tissue as the swelling of whole tissue was observed on original explant tissues or callus transfers. Growth of infected callus tissue from turnip was more vigorous than noninfected one. That is, after 25 days on medium, infected callus tissue was 1.7 times in fresh weight and 1.4 times in dry weight to those of noninefected one. In Clone A and C of infected callus tissues from turnip cultivar, 「Taibyohikari-kabu」, the callus tissue growth from the 3rd to 32nd subculture every 20 days was generally vigorous. Degeneration of callus tissues was not observed in spite of a long-term culture as 640 days (about 21 months) of 32 successive transfers. Average fresh weight after 20 days on medium was 4-5 g in the 3rd to 8th subculture, 3-4 g in the 9th to 22nd subculture, and slightly increased from the 26th to 32nd subculture. White and yellowish white callus tissues showed rapid growth, but browning from 20 days on medium. In callus tissue for subculture, it was best to use the surface white

---

1）富山県農業技術センター

and yellowish white callus tissues at 20 days on medium. Although the growth of infected callus tissues was markedly vigorous until 20 days, the growth rate decreased gradually accompanied with brown. The maximum fresh weight was recognized about 50 days on medium and thereafter it showed a decreasing tendency.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (55) : 1—14, 1990.

要　　約

Murashige and Skoog 基本培地11にNAA（α-ナフタレン酢酸）0.5 mgとカイネチン（6-フルフリルアミノプリン）1.0 mg添加，そしてしょ糖3％，寒天1％，またpHを5.6-5.8とした培地はカブとハクサイの根こぶ病病根及びカブ健全根組織の移植体の初代培養，また感染と非感染の両カルス組織の継代培養のために適当であった。本研究におけるハクサイからの感染カルスの培養は最初の報告である。なお人工気象室において，培養温度は25℃，300ルクスの蛍光灯連続照明の明所はカルスの生育において暗所よりもよかった。病根及び健全根組織の移植体とそれから生じたカルス組織の生重は培養5日から徐々に増加し，前者は後者よりも生長がよかった。この病根組織の移植体において，培養3日から10日までの1週間の生重は，ハクサイでは1.8倍，そしてカブでは3倍となったが，この健全根組織からの移植体では1.8倍と低かった。感染カルスは小塊状のカルス組織による桑果状，これに対して非感染カルスは全体的に膨化する形状として移植体組織あるいはカルス移植体上で観察された。感染カルス組織の生育は非感染カルス組織より明らかに旺盛であった。すなわち培養25日後，感染カルス組織は非感染カルス組織に対して，生重で1.7倍，乾重で1.4倍と大であった。カブ品種「耐病ひかりかぶ」からの感染カルス組織のクローンAとCにおいて，継代3から32まで20日ごとに継代したカルス組織の生育は一般に旺盛であった。培養20日後の平均生重は継代3から8までは4～5g，継代9から22までは3～4g，継代26から32での生育はやや上廻った。カルス組織の退化現象は32回にわたり，640日（約21ケ月）という長期間の継代培養にもかかわらず観察されなかった。カルス組織は白色及び黄白色のうちは早い生育を示したが，培養20日を過ぎると褐変化が進んだ。継代培養のためのカルス組織は培養20日後の表層の白色及び黄白色カルス組織の使用が最もよかった。感染カルス組織の生長は培養20日までは著しく旺盛であったが，その後の褐変化とともにその生育度は徐々に低下し，培養50日ころに最大生重となり，以後は減少傾向であった。

緒　　言

アブラナ科野菜根こぶ病の病原は純寄生菌で，現在まだ人工培養をすることができない。根こぶ病菌の人工培養を成功させるための基礎的研究として，病根組織から生ずる感染カルス組織の間接的な培養実験が考えられる。この感染カルス組織内における本病菌の増殖に関する詳細が解明されることによって人工培養への道も遠くないと思われる。また本病菌の実験室内での間接的な培養は本病に関する今後の研究の発展に寄与するところが大きいと考えられる。

1966年，Strandbergら[1]はカンラン病根組織から生じたカルス組織内での根こぶ病菌の増殖を認め，これが本病菌の間接培養についての最初の報告である。これ以後およそ10年間に根こぶ病菌の感染カルス組織の培養に関連の研究論文が集中的に公表されているが[2-10]，その後はみられない。

筆者らは1973年から1989年にかけて，カブとハクサイ病根組織由来の感染カルス組織を供試して種々な角度から実験を行い，いくつかの新知見が得られ，これらの結果の一部は1975年から1982年までに6回にわたって学会で発表している。本報告はこの一連の研究の第1報ともいえるもので，まず培養の基本的な問題である培地と培養条件，初代と継代培養，そして感染と非感染の両カルス組織の培地上での生育量の比較，感染カルス組織の長期間の継代培養などについて述べ，考察を加えることにする。

材料及び方法

1．供試したカブ及びハクサイの根こぶ

供試したのはカブ（*Brassica campestris* L. subsp. *rapa* Hook. f. et Anders.）の主として1品種，「耐病ひかりかぶ」とハクサイ（*Brassica campestris* L. subsp. *pekinensis* Rupr.）の主として2品種，「春蒔極早生白菜」と「無双白菜」で，これらはタキイ種苗株式会社，長岡交配種である。

岐阜県各務原市各務でハクサイに発生し，ハクサイ収穫直前の腐敗していない老化根こぶを採取し，表面の土粒などをよく水で洗い落とし，この根こぶを－20℃で凍結保存した。1年以内，必要に応じてこの凍結根こぶをおろし金具でおろし，殺菌蒸溜水を加えてホモジナイザーの20,000 rpm で細かく砕き，8重のガーゼで沪過した。この液を3,000 rpm で遠心処理し，上液を捨て沈でんした休眠胞子に殺菌蒸溜水を加えて遠心処理し，この操作を5回行って休眠胞子の接種源を得た。休眠胞子が乾土1g当り10^6になるようにあらかじめ用意した殺菌土壌によく撹拌しながら噴霧接種し，接種土壌を作り，これを素焼鉢（7号と8号)に入れ，上述のカブとハクサイの種子を播種し，施肥はハイポネックスの1,000倍液とし，30～40日後に生じた若い根こぶを用いた。

2．供試培地，初代及び継代培養

培地の組成は Table 1のように Murashige and Skoog (MS) 基本培地[11)]の 1 l にNAA（α-ナフタレン酢酸）0.5 mg とカイネチン（6-フルフリルアミノプリン）1.0 mg を添加し，しょ糖 30 g と上質の粉末寒天 10 g を加え，pH 5.6-5.8になるように1N-KOH と1N-HClで調整した。なお再蒸溜水を使用した。この培地を100 ml 容三角フラスコには30 ml，200 ml 容三角フラスコでは60 ml ずつ分注して綿栓し，薬包紙2枚で包み，ゴム輪でとめ，120℃，2気圧，20分間，高圧蒸気殺菌を行った。

Table 1. A modified Murashige and Skoog's culture medium for the present study

Inorganic compounds		Organic compounds	
KNO_3	1,900.0 mg/l	Nicotinic acid	0.5 mg/l
NH_4NO_3	1,650.0	Pyridoxine HCl	0.5
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440.0	Thiamine HCl	0.1
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370.0	Glycin	2.0
KH_2PO_4	170.0	Myo-inositol	100.0
Na_2EDTA	37.3		
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8	NAA	0.5
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3	Kinetin	1.0
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6		
H_3BO_3	6.2	Sucrose	30.0 g/l
Kl	0.83	Agar	10.0
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25		
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025		
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025		

The pH was adjusted to 5.6-5.8 with IN-KOH and IN-HCl and the medium was sterilized by autoclaving at 120℃, 2 atm. for 20 min. A callus transfer or some explant tissues were placed in a 100 ml or a 200 ml Erlenmeyer flask with 30 ml or 60 ml of medium.

初代培養は上述の接種土壌に播種後30-40日のカブとハクサイ根部に生じた若い根こぶを用い，これは特に表面が白くて平滑，断面も白色のこぶのみを使用した。こぶの表面を水道水でよく洗い，適当な大きさに切って3-5％次亜塩素酸ナトリウム液に浸漬し，15-20分間表面消毒した。ついで殺菌蒸溜水で4回以上洗ってから直径5 mm のコルクボーラーで円筒状に抜き取り，両端の組織を切除し，厚さおよそ2 mm

のスライスに切って培地上に植え付けた。5日後には小形のカルスの形成がみられ，20日後のカルスの白色及び黄白色部組織を新培地に移植して継代1とした。感染カルスの継代培養は20日後の褐変していない白色か黄白色の表層カルス組織を新培地への移植により行った。培養は25℃の暗所と明所は人工気象室で蛍光灯連続照明（300クルス）で，いずれも静置培養とした。培養体の生育量は生重と80℃で乾燥し，恒量となった3日後に秤量し乾重とした。なお非感染カルス組織は無接種土壌に播種後30-40日のカブ肥大部のうち，下半分の根肥大部の組織を用い，上述の根こぶと同様の操作により得た。初代培養で生じた病根及び健全根からの両カルス組織は徒手切片を作り，50% 酢酸 0.005% コットンブルー液で染色し，前者では菌の存在を，後者では菌の存在しないことを確認してから，以後の実験に供試した。

結　　果

1．供試した培地と培養条件

MS基本培地に添加する植物生長調整物質としてまず NAA とカイネチンが挙げられるが，これに 2,4-D（2,4-ジクロロフェノキシ酢酸）とココナットミルク（Grand Island Biological Company）を加えて実験を行った。すなわち，MS 基本培地 1 lに，1）NAA 0.5 mg，2）NAA 0.5 mg＋カイネチン 1.0 mg，3）NAA 0.1 mg＋2,4-D 6.0 mg，4）NAA 0.1 mg＋2,4-D 6.0 mg＋ココナットミルク 150 ml，5）MS 基本培地の5区について，カブとハクサイ病根組織の移植体を培地上に植え付け，この初代培養の明所で40日後にカルス組織を生じた培養体の生重を調べた結果，生育量の大から小への順に示すと，NAA＋カイネチン＞NAA＞NAA＋ 2,4-D＋ココナットミルク＞MS基本培地＞NAA＋ 2,4-Dであった。ココナットミルク添加培地上のカルスは表面が平滑で鮮やかな黄金色を呈し，他区のカルスの色調と形状で明らかに異なっていたが，その生育量は培養15日以降増加しなかった。NAA＋カイネチン区の明所でのハクサイ病根組織からの培養体はPlale II-Bのように4,571 mg もあり，これに対して暗所のカブ病根組織からの培養体である Plate II-Aの右2個に比較して生育がよかった。

上述の実験から，培養温度は25℃，暗所と明所における病根と健全根組織からの培養体の生重を調べた結果，明所は暗所よりもカルス増殖が良好であった。したがって本実験では主として明所下で培養を行うことにした。

2．初代培養

ハクサイ2品種は病根組織から，カブ1品種は病根と健全根組織からそれぞれ移植体を NAA とカイネチン添加のMS 基本培地（Table 2）に植え付け，培養3，5，7及び10日後の培養体の生量は Table 2のようである。

Table 2. Growth of infected and noninfected callus tissues with explant tissue at the early culture days on MS basal medium with NAA and Kinetin under light condition

Day of culture	Average fresh weight mg of			
	infected callus tissue			noninfected callus tissue
	Harumakigokuwase-hakusai	Muso-hakusai	Taibyohikari-kabu	Taibyohikari-kabu
3	81.0	82.5	78.5	97.4
5	103.8	104.5	112.3	112.5
7	112.5	109.0	185.0	140.2
10	149.3	148.1	237.7	177.4

Chinese cabbage cultivars :「Harumakigokuwase-hakusai」and「Muso-hakusai」.
Turnip cultivar :「Taibyohikari-kabu」.
Average fresh weight of 5-10 callus tissues with an explant tissue of about 60 mg in each plot.

培養3日後はハクサイ2品種の病根組織からの培養体の生重はほぼ同量，カブでは病根と健全根組織の培養体間にいくらか差があった。培養5日から10日までのハクサイ2品種の培養体の平均生重はほぼ同量であり，3日から10日までの1週間で1.8倍に増加した。カブでは培養5日後の生重で病根と健全根は同量であったが，7日と10日後で病根組織からの培養体は健全根からのそれより明らかに大であった。すなわち，培養3日から10までの1週間の病根組織からの培養体の生重は3倍となり，これに対して健全根組織からのそれは1.8倍であった。

つぎに Table 2 の結果の一部は Plate Ⅰ-Aに示されている。この写真からわかるように培養5日後で病根と健全根組織に生じたカルス組織は矢印で示したように，突出したり，小塊状となって形成されており，7日後になると病根組織に生じたカルス組織はさらに大きくなっていたが，健全根組織からのカルス組織はそれほど大きくならなかった。10日後の病根組織からのカルス組織は明らかにさらに大きくなり，小塊状カルスの増殖としてみられた。健全根組織からのカルス組織は培養体が全体的に膨化する形状としてみられた。上述のように両カルス組織間に形状的差異が認められた。

3．継代培養

カブからの感染及び非感染の両カルス組織の NAA とカイネチン添加 MS 基本培地（Table 1）上での5日ごとに25日までの生重と乾重を Table 3 に示す。

Table 3. Average fresh and dry weights at the different culture days of infected and noninfected callus tissues on MS basal medium with NAA and Kinetin under dark condition

Day of culture	Weight of infected callus mg		Weight of noninfected callus mg	
	Fresh	Dry	Fresh	Dry
0	40.0	4.4	36.0	2.0
5	186.8	16.6	111.8	7.6
10	677.5	47.3	211.9	15.1
15	1,632.1	105.9	687.8	53.9
20	2,855.3	176.2	1,557.7	109.0
25	4,083.3	228.3	2,384.5	161.2

Turnip cultivar：「Taibyohikari-kabu」. Average fresh and dry weights of 10 callus tissues in each plot.

培養開始時は感染及び非感染の両カルス組織の平均生重はそれぞれ40，36 mg であり，培養5日後では感染カルス組織 186.8 mg に対し非感染カルス組織 111.8 mg，15日後はそれぞれ1,632.1，687.8 mg，25日後ではそれぞれ4,083.3，2,384.5 mg となり，培養初期から両カルス組織の間に明らかな生育量の差がみられた。培養25日後において，感染カルス組織は非感染のそれに対して，生重で1.7倍，乾量で1.4となっていた。なお培養10日と25日後の感染及び非感染カルス組織の生育状況は Plate Ⅰ-B のようである。この写真からわかるように，感染カルス組織は小形のカルス組織塊がつぎつぎと生じて桑果状に増殖するのに対して，非感染カルス組織は全体的に膨化しながら増殖し，両カルス組織間に形状の差異があった。

感染カルス組織の継代培養，すなわち，植え継ぎ培養を20日ごとに重ねることによって，このカルス組織の生育がずっと維持されるかどうかを明らかにするために，「耐病ひかりかぶ」の病根組織由来の感染カルス組織，クローンAとCの継代3から32までについて，各継代ともに培養20日後に5個体の平均生重を調べ，その結果を Fig. 1 に示す。

培養20日後における感染カルス組織の1個当り平均生重は継代3から8までは4～5g，継代9から22までは3～4gとやや減少し，継代26から32では生育がやや良好になった。以上から継代間に生育量の振れはあったが，継代数が増すにつれて生育量が減少するというような傾向，すなわち退化現象はなかった。なお培養20日以降においても感染カルス組織は生育量を増し，培養50日後で Plate Ⅴ-Bで示したように生重 6,832 mg にとなったものもあった。

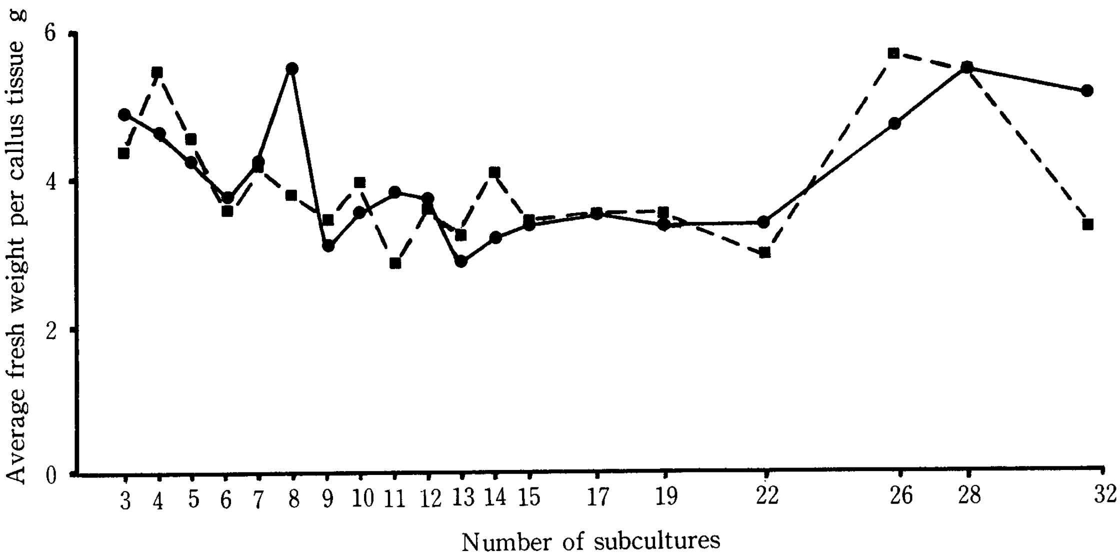

Fig. 1. Growth of infected callus tissue at 20-day-old culture of the different subcultures of 2 Clones on MS basal medium with NAA and Kinetin under light condition.
Turnip cultivar : 「Tabibyohikari-kabu」. Average fresh weight of 5 callus tissues in each plot.
●—● : Clone A ; ■---■ : Clone C.

上述の Fig. 1 で示した継代培養中のいくつかの継代における感染カルス組織の色調と増殖状況を Plate III, IV, V及びVIに示す。

Plate IIIは Fig. 1, クローンCの継代 3 において，培養 5，10，20及び35日後の感染カルス組織で，前 3 者の色調は白色から黄白色であったが，35日になると褐変が進行して，淡褐色から褐色のカルス組織となり，この褐色カルス組織を培地上に移植した場合，これからの新カルス組織の生育はほとんどおこらず，継代用には使用できなかった。

Plate IVは Fig. 1，クローンAの継代 4 において，培養 20日後の白色から黄白色の感染カルス組織を100 ml 容三角フラスコに 1 個ずつ移植し，培養 5 及び20日後の新カルス組織の増殖状況を示したもので，20日後に一部淡褐色となったものもあり，さらに培養日数が経過すると移植源として不適当になった。

Plate V はFig. 1 の継代25において，培養50日後の感染カルス組織で，Aはクローン A で左から生重 3,350，4,331，4,632 mg，Bはクローン C で左から4,520，4,954，6,832 mg で，後者は前者よりも良好な生育を示した。

Plate VI は Fig. 1 におけるクローンCの 3 つの継代において，A，B，Cはそれぞれ培養50，70，80日後の感染カルス組織で，淡褐色から濃褐色までの種々な程度の褐変化を示していた。80日後の感染カルス組織の 1 個当り平均生重は3,610 mg で，培養日数が多いにもかかわらず比較的大きな値であった。

感染カルス組織を新培地に移植後，カルスが白色から黄白色のうちは早い生長が認められたが，20日ころから，一部のカルス組織が褐変し始めてから生長度は漸次低下したが，その後もカルス組織は増殖しつづけ，およそ50日後で最大生重となり，それ以後は漸減傾向となった。

考　　察

根こぶ病菌病根由来の感染カルス組織を得るために供試された寄主として，カンラン (Strandbergら[1])，湯川[2]，Williamsら[3]，Ingram[5])，カブ (Ingram[6]，Tommerupら[8]，Dekhuijzen[10]) 及びスエーデンカブ (Tommerupら[8])が用いられているが，本実験ではカブから感染と非感染の両カルス組織，そしてハクサ

イ病根から感染カルス組織が得られ，これらの継代培養も行った。現在までにハクサイからの感染カルス組織についての報告は他にない。

初代及び継代培養において，Murashige and Skoog 基本培地に添加する NAAとカイネチン量については，前者は0.5 mg/1，後者は1.0 mg/1が適当であるとの報告[2,7,8]があり，本実験でも同様のことが再確認された。筆者らは他に2,4-DとココナットミルクをMS 基本培地に添加して実験を行ったが，上述の培地と比べて劣っていた。Ingram[6]は筆者らの用いた基本培地と異なるが，ココナットミルク添加培地上のカルス組織の増殖はカイネチン，ビタミン，微量要素及びアミノ酸添加培地よりも良好であったと報じているが，筆者らの NAA，2,4-D及びココナットミルク添加 MS 基本培地でのカルス組織の増殖は15日後からみられず，植物生長調節物質としてココナットミルクは不適当と考えられる。本実験の結果とこれに関連の報告をまとめると，MS 基本培地 1 l に NAA 0.5 mg，カイネチン1.0 mg の添加が最も適当といえるが，これら両者の添加量のいくつかの組み合わせによる培地上のカルスの生育量，褐変化，菌の増殖などについて今後さらに実験を行う必要があろう。

初代培養について，用いる根こぶは表面が平滑で白色，また断面が白色のものを選んで行わないと，成功率がかなり低くなった。このためには汚染土壌に発生した根こぶは不適当で，必ず殺菌土壌に休眠胞子を接種し，ここへ播種して30～40日後の若い根こぶのなかから選び出すことが大切である。病根組織の移植体が培地上におかれて3日後には極めて小形のカルス組織を生ずるが，やはり5日になって明瞭となる。このカルス組織は突出した形状のもの，小さな塊状としてみられるものがあり，病根において7日から10日で速かなカルス組織の生育がみられるのに対して，健全根においては全体が膨化した状態でみられ，比較すると病根からの培養体はより活発な生育を示した。同様な傾向は感染及び非感染の両カルス組織の培養5～25日までの生重と乾重の結果からもみられた。病根組織の移植体と感染カルス組織の移植体を培養した場合，両者ともにこれらから増殖するカルス組織は小さな塊状がつぎつぎに形成され桑果状となったが，非感染カルス組織では全体的に膨化した形状であった。Reddyら[7]によると，感染カルス組織は乾重で3日ごとに倍量となったのに対して，非感染カルス組織では5日ごとに倍量となり，感染カルス組織がより生育の旺盛なことは本実験の結果と同様であった。このことは感染カルス組織内に本病菌が存在することにより，カルス組織の生育を促進あるいは刺激するようなある物質が働きかけるのでないかと推定される。

継代培養について，本研究に用いたカブ病根由来の感染カルス組織，クローンAとCはともに32回，640日（約21ケ月）という長期間の継代を20日ごとに重ねても生育は減退の傾向がみられず，いわゆる感染カルス組織の退化現象は全く認められなかった。この継代培養は蛍光灯連続照明，25℃で行われたが，重要なことの一つは新鮮な白色または黄白色の褐変していない感染カルス組織を移植源にすることである。Williamsら[3]はカンラン病根由来の感染カルス組織を7－12日ごとに新培地に移植し，40回以上の継代を行ったと報じている。この7－12日ごとの継代はかなり頻繁であり，これに対して筆者らは20日ごとに上述の白色または黄白色カルス組織のみを用い，上述の長期間の継代培養に成功することができた。

感染カルス組織を新培地に移植してから長期間培養しつづけた場合，培養20日ころまで白色または黄白色のカルス組織はかなりの速さで増殖したが，この時期以降になるとカルス組織塊の一部に淡褐色とか褐色部が生じてきた。培養がおよそ50日までカルス組織は徐々に増殖しつづけて最大生重となったが，この場合6gを越えた事例もあった、ついでカルス組織に濃褐変部がみられるようになり，乾燥した寒天培地に大きな亀裂が生じ，カルス組織の水分は減少して海綿状となり，その生重は漸減の傾向となった。Ingram[5]によると，感染カルス組織の生育は培養7日から27日の間は旺盛で，本病菌の変形体の旺んな増殖期であるが，28日から42日までは変形体の分割，そして休眠胞子の形成初期であると報じている。本実験で白色から黄白色の感染カルス組織の早い生育期は変形体の活発な増殖期であり，その後カルス組織の褐変の進行につれて変形体から休眠胞子形成へと移行するものと推定される。

謝　　辞

本研究の推進にあたって協力頂いた藤川桂子，山本淳史並びに伊藤敏明の諸氏に謝意を表する。また本研究は昭和53年度文部省科学研究費補助金，一般研究C，研究課題番号 356034 により行ったものである。

文　　献

1) Strandberg, J. O., Williams, P. H. & Yukawa, Y. : Monoxenic culture of *Plasmodiophora brassicae* with cabbage tissue. (Abst.) Phytopathology **56** : 903, 1966.

2) 湯川敬夫：根こぶ病組織の組織培養. 山口大農学部学術報告 (19) : 1197-1202, 1968.

3) Williams, P. H., Reddy, M. N. & Strandberg, J. O. : Growth of noninfected and *Plasmodiophora brassicae* infected cabbage callus in culture. Can. J. Bot. **47** : 1217-1221, 1969.

4) Keen, N. T., Reddy M. N. & Williams, P. H. : Isolation and properties of *Plasmodiophora brassicae* plasmodia from infected crucifer tissues and from tissue culture callus. Phytopathlogy **59** : 637—644, 1969.

5) Ingram, D. S. : Growth of *Plasmodiophora brassicae* in host callus. J. gen. Microbiol. **55** : 9—18, 1969[a].

6) Ingram, D. S. : Abnormal growth of tissues infected with *Plasmodiophora brassicae*. J. gen. Microbiol. **56** : 55—67, 1969[b].

7) Reddy, M. N. & Williams, P. H. : Cytokinin activity in *Plasmodiophora brassicae* —infected cabbage tissue cultures. Phytopathology **60** : 1463-1465, 1970.

8) Tommerup, I. C, & Ingram, D. S. : The life-cycle of *Plasmodiophora brassicae* Woron. in *Brassica* tissue cultures and in intact roots. New Phytol. **70** : 327-332, 1971.

9) Ingram, D. S. & Tommerup, I. C. : The life history of *Plasmodiophora brassicae* Woron. Proc. R. Soc. Lond. B. **180** : 103-112, 1972.

10) Dekhuijzen. H. M. : The enzymatic isolation of secondary vegetative plasmodia of *Plasmodiophora brassicae* from callus tissue of *Brassica campestris*. Physiological Plant Pathology **6** : 187-192, 1975.

11) Murashige, T. & Skoog, F. : A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. **15** : 473-496, 1962.

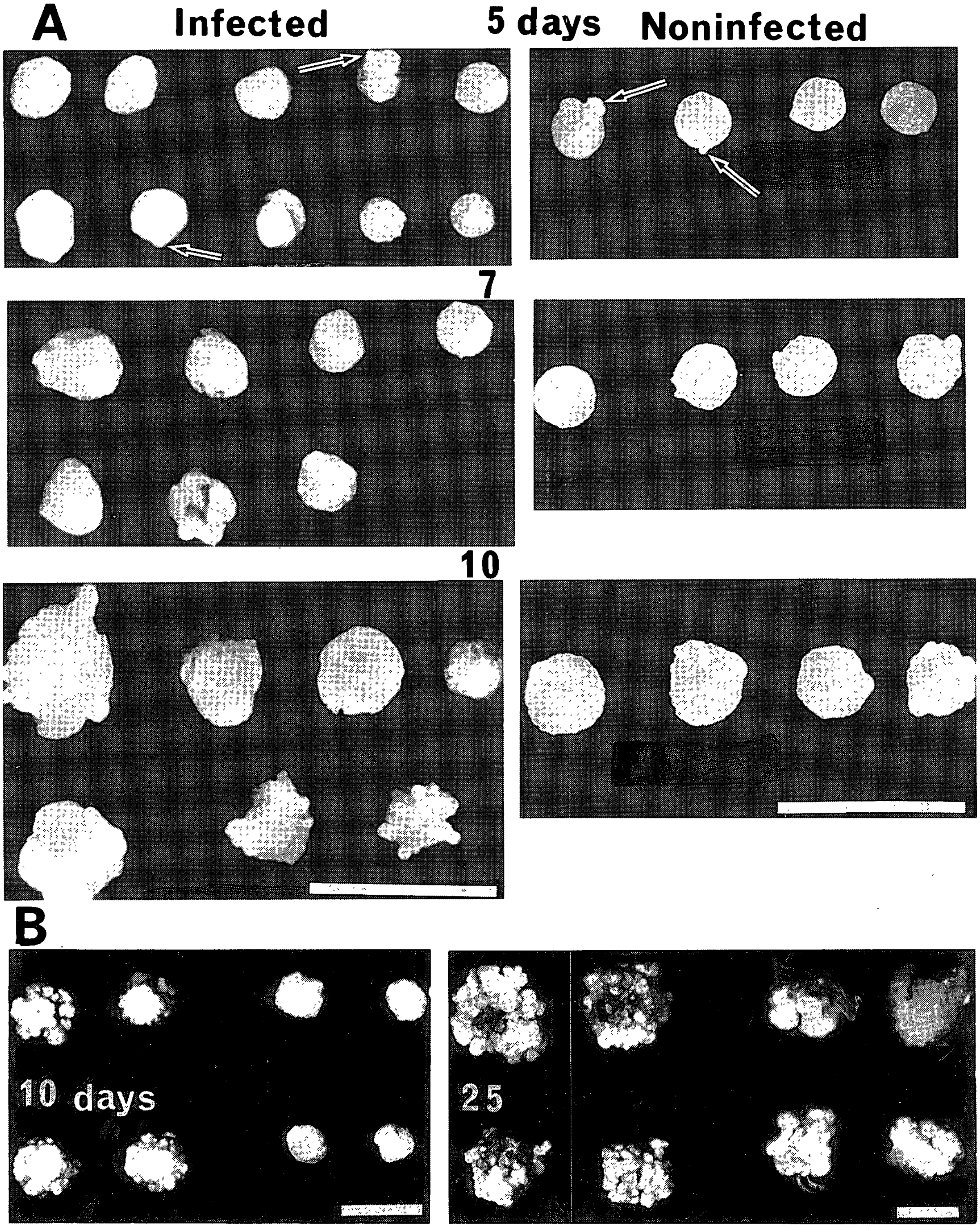

Plate I. Explant tissues forming callus tissues and growth of callus tissues at the different days on medium. Solid line : 2 cm.
A : Appearance and growth of callus tissues on infected and noninfected explant tissues from turnip cultivar, 「Taibyohikari-kabu」 at 5, 7 and 10 days on medium under light condition in Table 2. Arrows : callus initials. B : Growth of infected and noninfected callus tissues from turnip cultivar, 「Taibyohikari-kabu」 at 10 and 25 days on medium under dark condition in Table 3. In each day, infected : 4 of left, noninfected : 4 of right.

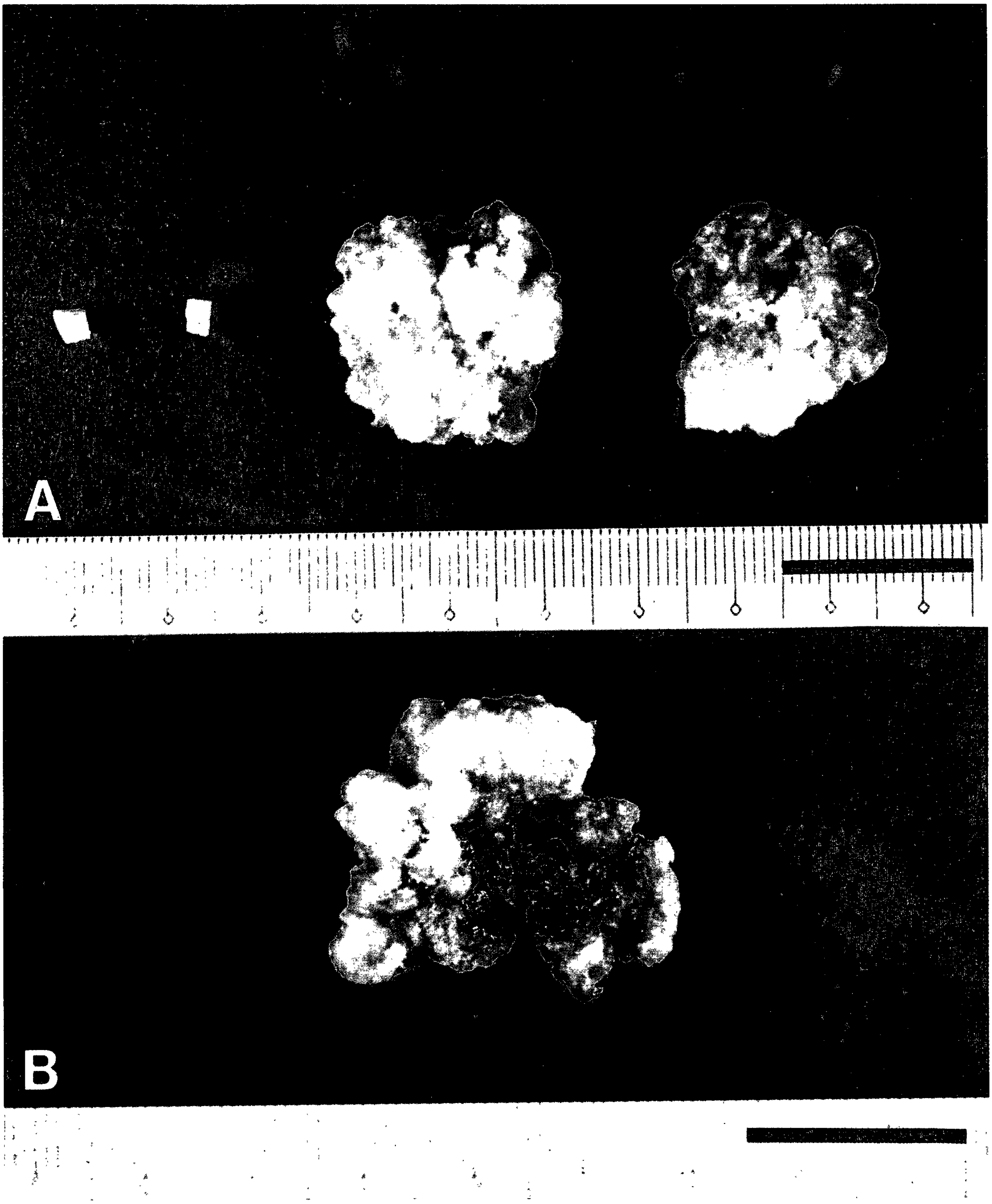

Plate II. Callus tissues with explant tissues from clubs on turnip and Chinese cabbage at 40 days on medium. Solid line : 2 cm.

A : Two explant tissues of left and two callus tissues with explant tissues from turnip cultivars under dark condition. Left : a callus tissue (2,632 mg in fresh weight) from 「Tokinashi-ko-kabu」, right : a callus tissue (2,335 mg) from 「Someyakanemachi-kabu」. B : A callus tissue (4,571 mg) with explant tissue from Chinese cabbage cultivar, 「Kinsho-hakusai」 under light condition.

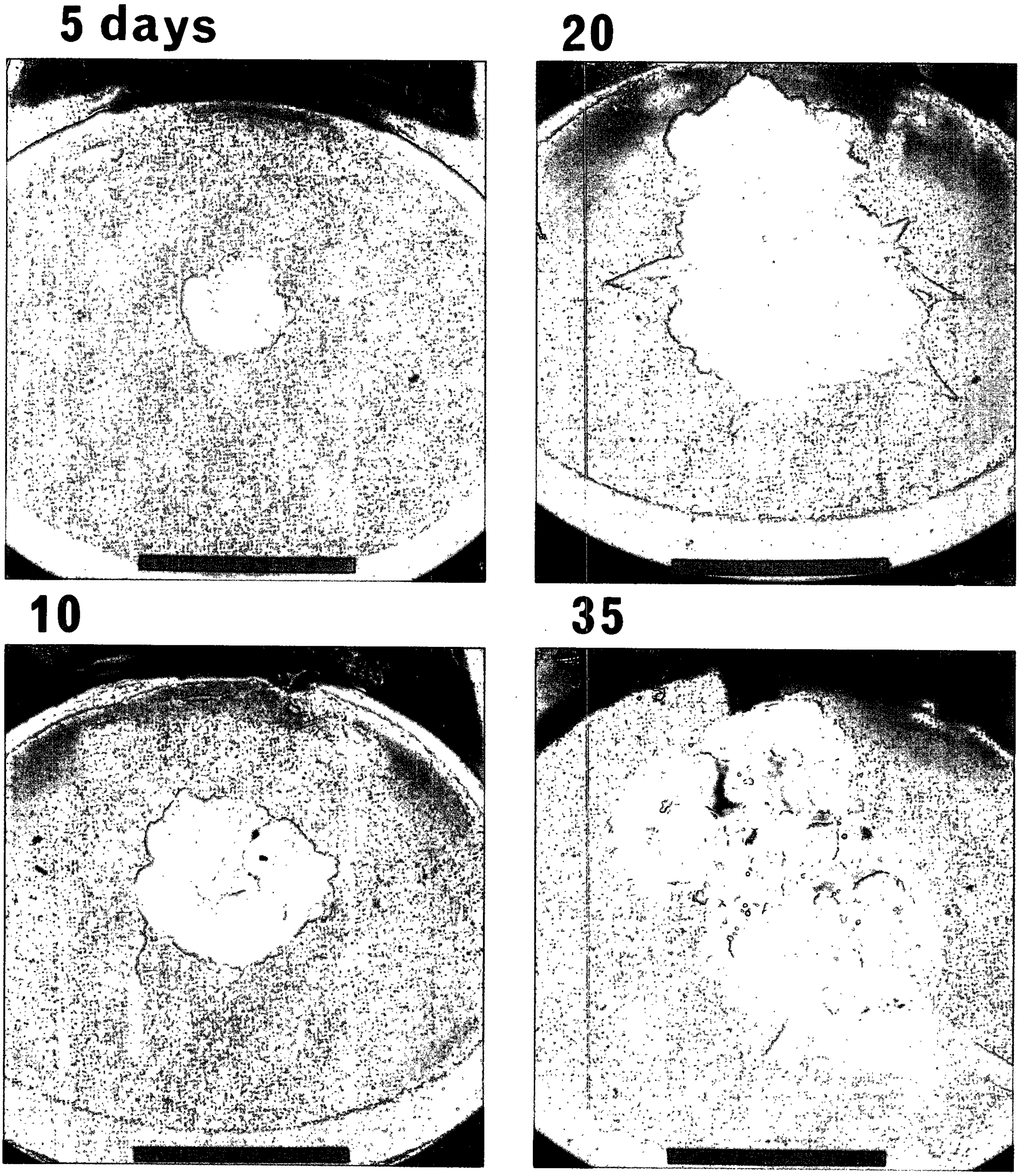

Plate III. Growth of infected callus tissues in 100 ml Erlenmeyer flasks containing 30 ml medium at 5, 10, 20 and 35 days on medium in the 3rd subculture under light condition in Clone C of Fig. 1. Callus tissues showing white to yellowish white at 5, 10 and 20 days and brown at 35 days. Solid line : 2 cm.

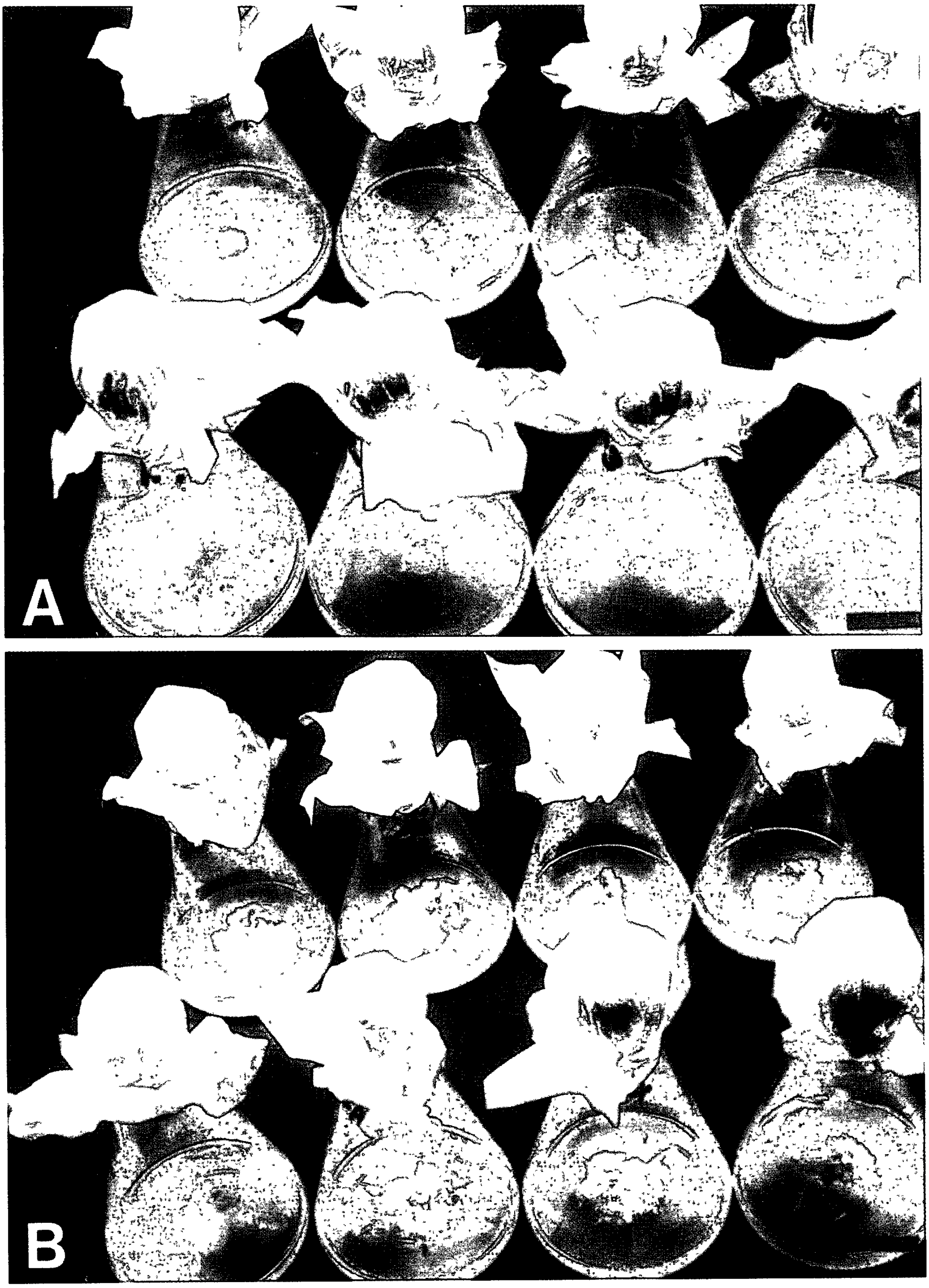

Plate IV. Culture of infected callus tissues in 100 ml Erlenmeyer flasks under light condition. Solid line : 2 cm.

A : Five days on medium in the 4th subculture of Clone A in Fig. 1. B : Twenty days on medium in the 5th subculture of Clone A in Fig. 1. Callus tissues showing white to yellowish white at 5 days and partially white, yellowish white and light brown at 20 days.

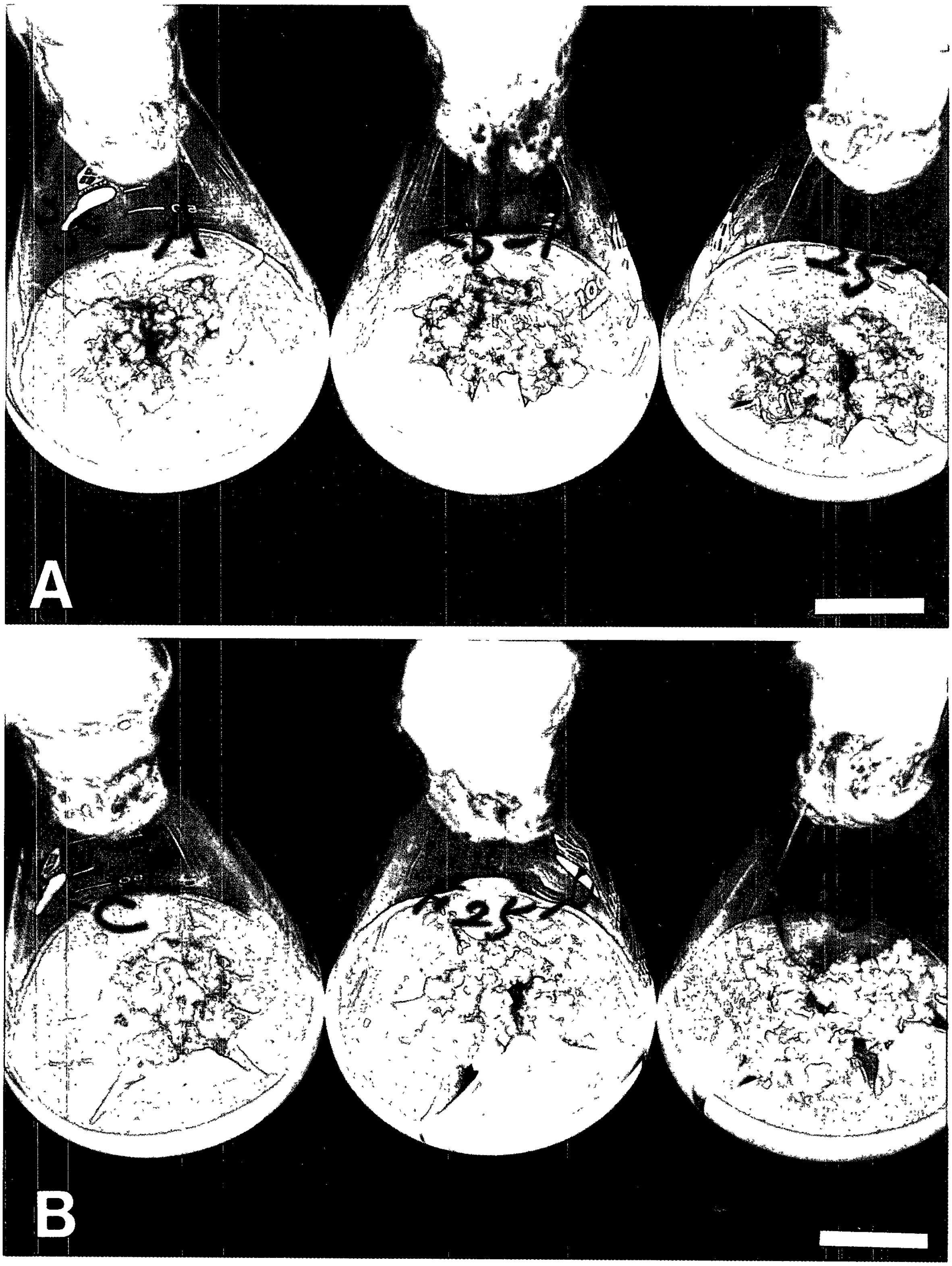

Plate V. Callus tissues in 100 Erlenmeyer flasks at 50 days on medium of the 25th subculture of 2 Clones in Fig. 1. Solid line : 2 cm.
A : Clone A ; callus tissues of 3,350, 4,331 and 4,632 mg in fresh weight from left. B : Clone C ; callus tissues of 4,520, 4,954 and 6,832 mg in fresh weight from left. Callus tissues showing partially light brown, brown and dark brown.

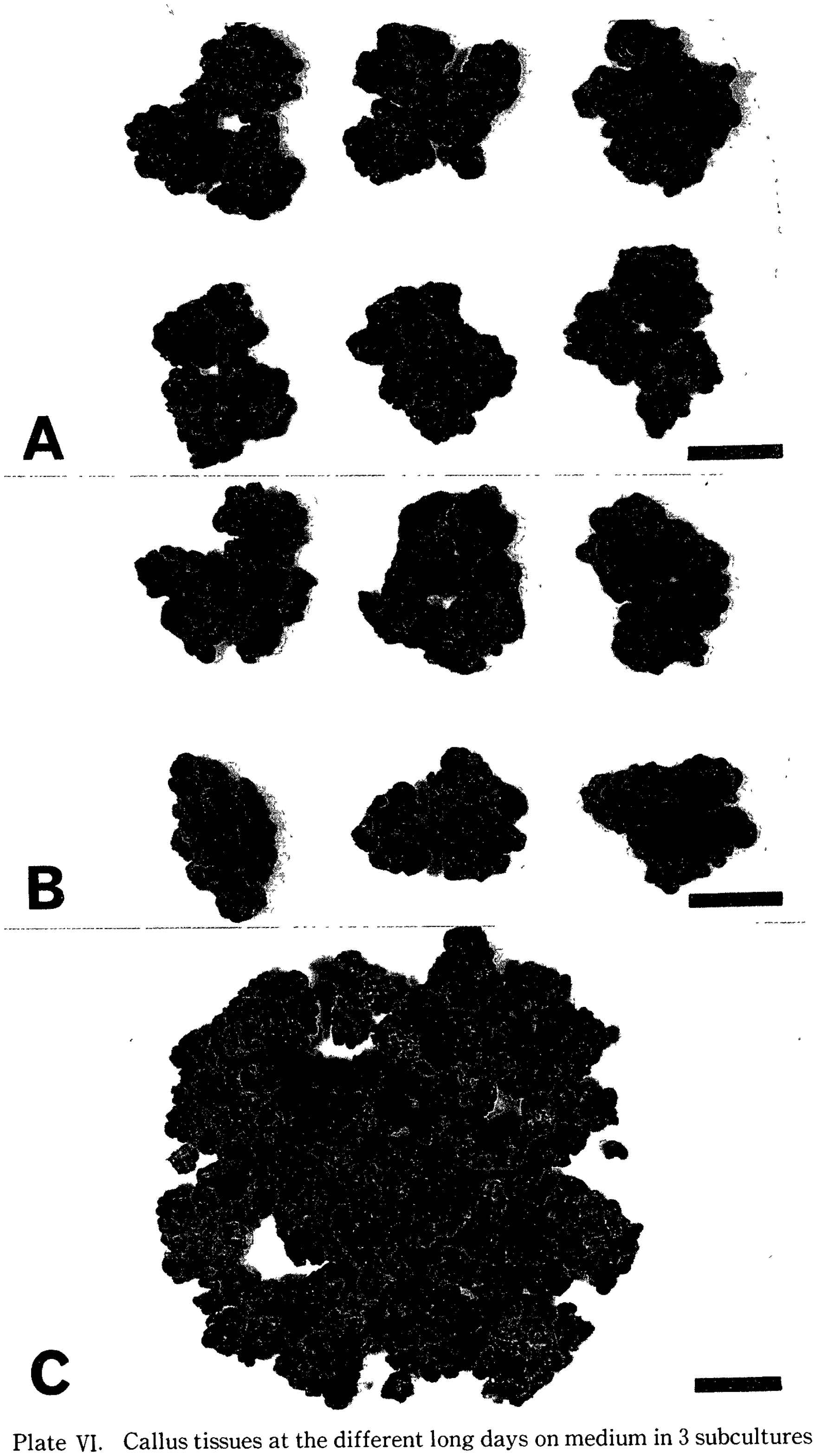

Plate VI. Callus tissues at the different long days on medium in 3 subcultures of Clone C in Fig. 1. Solid line : 2 cm.
A : Six callus tissues at 50 days of the 27th subculture. B : Six callus tissues at 70 days of the 26th subculture. C : Sixteen callus tissues at 80 days of the 16th subculture in (57.76 g in total fresh weight, 3,610 mg in average fresh weight). As culture days increase, callus tissues changing from light brown to dark brown in colour.