

Fusarium solani f. sp. phaseoli大型分生胞子の諸形質に及ぼす炭素源,窒素源濃度およびC/N比の影響

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	佐野,慎亮 宇井,格生
発行元	日本植物病理學會
巻/号	47巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 547-554
発行年月	1981年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Fusarium solani f. sp. *phaseoli* 大型分生胞子の 諸形質に及ぼす炭素源、窒素源濃度 および C/N 比の影響

佐野慎亮*・宇井格生*

Shinsuke SANO* and Tadao UI*: Effect of the Carbon/Nitrogen Relationship
on the Macroconidial Characteristics of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*

Abstract

The effects of carbon and nitrogen concentrations or C/N ratio on the macroconidial characteristics of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* were studied. The macroconidia were produced on the modified Czapek agar medium containing various concentrations of glucose (C) and NaNO_3 (N). Eleven among the 14 conidial characteristics were affected by C and C/N ratio; high C and high C/N ratio decreased the pathogenicity, conidial length, microbody area, total nitrogen content, alkaline phosphatase and catalase activities. Conversely, they increased the GT_{50} , conidial width, lipid body area, β -1,3-glucan and total carbon contents. Lipid content was affected only by C/N ratio; high C/N ratio increased the content. Vacuole area and acid phosphatase activity were affected by N; high N decreased the area and the activity. It was revealed that the conidial characteristics are highly correlated with the C^m/N^n ratio, where C and N represent content of carbon and nitrogen, respectively. The exponents, m and n, are appropriately given depending upon the conidial characteristics. It was also established the regression line of the conidial characteristics on the C^m/N^n ratio. Analysis of variance showed that the degree of conidial characteristics at the various C^m/N^n ratios were significantly different ($P=0.05$). It is suggested that the conidial characteristics are significantly influenced by the C^m/N^n ratio in the medium.

(Received April 13, 1981)

緒 言

一般に菌類の形態的、生理的性質は、培地の炭素源や窒素源の濃度により変化する。このことは、病原力^{6,14,19}、発芽^{2,7,17}、形態^{5,8,17}、胞子形成^{5,20}、脂質含量^{1,17}、リグニン分解¹⁶、セルロース分解¹¹、自己溶菌^{10,15}などについて知られている。炭素源と窒素源の濃度の影響を同時に解析するときは C/N 比を問題にすることが多い。たとえば *Aspergillus niger* の自己溶菌¹⁰や *Phanerochaete chrysosporium* のリグニン分解力¹⁶は、いずれも C/N 比との間に有意な相関があり、両者の絶対量とは相関しないことが示されている。

本研究は、栄養条件により病原力^{7,14,18}や発芽^{7,17,18}

が影響を受けるとされるインゲン根腐病菌を用い、炭素源、窒素源濃度の異なる培地上に形成された大型分生胞子の形態、微細構造および生理的諸性質を比較した。これらから、各形質に及ぼす炭素源、窒素源濃度および C/N 比の影響を解析し、各形質を推定するための有効な単一指標となり得る変数について考察した。

実験に際し、電子顕微鏡の御指導を頂いた北海道大学農学部四方英四郎教授、菌株を分譲して頂いた信州大学繊維学部松尾卓見教授、ならびに統計処理について御助言を頂いた北海道大学理学部山元周行助教授、北海道大学農学部中田徹助手に対し厚くお礼申し上げる。

* 北海道大学農学部 Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan

実験材料および方法

供試菌株 インゲン根腐病菌 *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* は信州大学繊維学部保存株で、ジャガイモショ糖寒天培地に継代保存した。

供試培地 ツァベック寒天培地を基本とし、以下のように炭素源(グルコース)、窒素源(硝酸ナトリウム)濃度を変えた寒天培地を調製した。すなわち、グルコースを5, あるいは20g/lとしたとき、C/N比が80, 40, 20, 10, 5となるように、硝酸ナトリウムを、前者には0.15, 0.3, 0.6, 1.2, 2.4を、後者には0.6, 1.2, 2.4, 4.8, 9.6g/lをそれぞれ加えた。

大型分生胞子 本菌を25℃の散光下(約1,000 lux)で10日間培養し、大型分生胞子を形成させた。胞子は殺菌水に懸濁し、低速遠心で3回洗浄を繰り返し、胞子濃度を血球計数盤で測定したのち所定濃度とし、供試した。

病原力 インゲン(品種、大正金時)の切離胚軸上の病斑により判定した。すなわち、殺菌パーミキュライトに表面殺菌したインゲン種子を播き、25℃の暗黒下で2週間生育させ、長さ約7cmの胚軸を切り取った。その表面にアスパラギン1mg/mlを含む大型分生胞子濃度 10^4 /mlの胞子懸濁液10 μ lを滴下し、25℃の湿室に1週間保ち病斑指数を求めた。指数は滴下場所の病斑により、0(無病徴)から5(全面の褐変)までと定め、50か所の平均値をもって病原力とした。

発芽 5×10^3 /mlの大型分生胞子懸濁液10 μ lをカバーガラスに懸滴し、ファンティガムセルにかぶせ、25℃に保ち発芽を経時的に観察した。発芽管が胞子の幅以上に伸長した時を発芽と見なし、50%の胞子が発芽に要する時間を50%発芽時間(GT₅₀)とした。

形態 胞子をコットンブルーで染色し、長さと幅を測定した。また、電顕観察と比較するためスタンブラックBで脂質染色を行った。

微細構造 胞子の長軸に平行な断面の超薄切片像を得るため、4%ゼラチンを塗付したスライドガラスに胞子懸濁液を滴下、風乾した。これを2%グルタルアルデヒドと4%パラホルムアルデヒドの混合固定液で前固定し、2%四酸化オスミウムで固定、エタノール系列で脱水後、*n*-ブチルグリシジルエーテルに置換し、串田法⁹⁾による低粘性エポキシ樹脂に包埋、重合した。エポキシ樹脂とスライドガラスの剥離は熱膨張の差を利用して行い、LKB Ultratome III 超ミクロトームを用いガラスナイフで薄切し、酢酸ウラニルおよび酢酸鉛染色液で二重染色後、日立HS-8型電子

顕微鏡で観察した。

化学組成 凍結乾燥した大型分生胞子をクロロホルム:メタノール(1:1 v/v)の混液中で40℃, 12時間脂質を抽出し、常法により溶媒を40℃減圧蒸発させた残渣の乾重を総脂質とした。

つぎに、脂質を除去した胞子を水洗後、2N水酸化ナトリウムで2日間室温で抽出し、さらに繰り返し抽出したアルカリ可溶分画に3倍容のエタノールを加え、生ずる沈殿を冷蒸留水で透析し、 β -1,3-グルカンとした。これを8N硫酸で加水分解し、アンスロン硫酸法³⁾により全糖を定量した。

胞子の全炭素含量と全窒素含量は柳本炭素窒素同時測定装置で測定した。

酵素活性 -40℃の乳鉢に 10^8 /ml胞子懸濁液1mlを入れ、凍結しながら磨砕した。これを蒸留水に懸濁し、さらに超音波菌体破壊装置(海上電機T-A4280)で10分間処理した液を粗酵素液として供試した。酸性ホスファターゼとアルカリ性ホスファターゼの活性¹²⁾は

-

p-ニトロフェニルリン酸を、カタラーゼ活性¹³⁾は過酸化水素を基質として、それぞれ遊離した

-

p-ニトロフェノールと分解した過酸化水素の量を124型日立分光光度計を用い、それぞれ400nmと240nmで測定した。

実験結果

病原力

Fig. 1-aに、病原力に対するC/N比とグルコース濃度(C)、硝酸ナトリウム濃度(N)の関係を示す。Cが一定の場合、C/N比の増加、すなわちNの減少に従い病原力は低下した。しかし、C/N比が一定の場合、CとNの絶対量が減少すると病原力は増加した。このような病原力の変化の有意差を分散分析で検定すると、CとC/N比には高い有意差($P < 0.01$)のあることを認めたが、Nとの間には有意差を認めなかった($P > 0.1$)。

発芽

発芽の同調性や発芽管の現われる場所はC/N比によって変化した。すなわち、低いC/N比で形成した胞子は、両端の細胞からまず同調的に発芽し、その後は中間の細胞から発芽するものが認められた。さらに胞子濃度を 10^6 /mlとし、振盪培養すると、中間の細胞からのみ発芽する胞子が高頻度で観察された。一方高いC/N比で形成した胞子は、両端の細胞からのみ非同調的に発芽し、振盪培養においても中間の細胞から発芽するものはなかった。

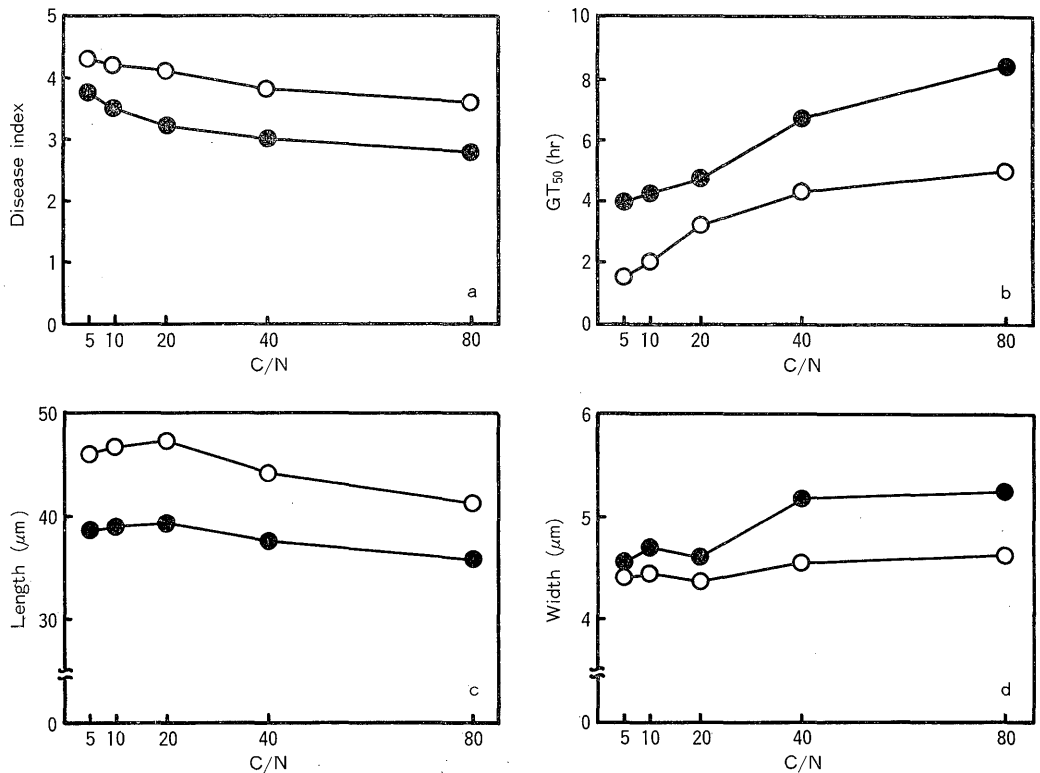


Fig. 1. Effect of C/N ratio and glucose concentration on the pathogenicity (a), GT₅₀ (b), length (c) and width (d) of macroconidia of *F. solani* f. sp. *phaseoli*. The macroconidia were produced on the media containing 5 (○) and 20 (●) g/l glucose and NaNO₃ concentration for C/N ratios between 5 and 80. Disease index was determined by symptoms of hypocotyls, rated on 0 (no symptoms) to 5 (severe symptoms). GT₅₀ was expressed as hours required for 50% germination. Each point is the mean of three replicates using 20 hypocotyls (a) or 50 macroconidia (b-d).

GT₅₀ の C, N, C/N 比に対する影響の有無について分散分析を行ったところ, C と C/N 比に有意差 ($P < 0.01$) を認めたが, N では認められなかった。病原力と同様, C と C/N 比は GT₅₀ に影響を及ぼすが, その作用は反対である。すなわち, C と C/N 比の増加に従い病原力は低下し (負の相関), 逆に GT₅₀ は増加した (Fig. 1-b) (正の相関)。以下の実験では, ある形質が上述の病原力のような負の相関を示す時には P 型とし, また, GT₅₀ のような正の相関を示す時には G 型とし, 以下の形質を検討した。

形 態

胞子の形態は Fig. 1-c, d から明らかなように, 長さ P 型, 幅 G 型を示した。

胞子細胞内の脂質の分布は, 発芽と同様, C, N には関係せず, 低い C/N 比で形成した胞子の脂質は胞

子の中間細胞の細胞壁に沿って局在し, 先端細胞には認められなかった (Plate I-1)。これに対し高い C/N 比で形成した胞子は脂質が先端細胞にも存在し, 胞子全体に充満していた (Plate I-3)。

微 細 構 造

培地は, C を 0.5, 2.0% とし, それぞれの C/N 比が 10, 40 となる計 4 種類を用いた。以下の化学組成, 酵素活性の実験においても同様である。

胞子の長軸に平行な超薄切片像から, 両端の細胞内に占める脂質顆粒, マイクロボディ, 液胞の面積の割合を比較した。なお, 脂質顆粒は直径 $0.3 \sim 0.5 \mu\text{m}$ の低電子密度の顆粒として観察され, 脂質染色した光顕像と比較してその分布がよく一致した (Plate I-2, 4)。マイクロボディは直径 $0.2 \sim 0.5 \mu\text{m}$ の高電子密度の顆粒, 液胞は直径 $0.5 \sim 2.0 \mu\text{m}$ の単膜に囲まれ内部に高電

子密度の物質が散在する顆粒として観察された (Plate I-5, 6)。

脂質顆粒はCより C/N 比に強く影響される G 型 (Fig. 2-a), マイクロボディはP型であった (Fig. 2-b)。しかし、液胞はCや C/N 比にほとんど関係なく、Nの増加に従いその割合が減少する傾向を示した (Fig. 2-c)。このような相関を示す形質をV型とした。

化学組成

大型分生胞子の全炭素含量はG型 (Fig. 3-a), 全窒素含量はP型 (Fig. 3-b), 細胞壁の主成分のひとつである β -1,3-グルカンの含量はG型 (Fig. 3-c) であった。脂質含量は C/N 比の増加に従い増加し、CやNによる影響は認められなかった (Fig. 3-d)。このよう

な相関を示す形質をL型とする。前述の先端細胞に存在する脂質顆粒の割合はL型に近いG型といえる。

酵素活性

C 5g/l, N 1.2g/l の培地に形成した大型分生胞子の酵素活性を1.00として、それぞれの酵素活性を Fig. 4 に示す。酸性ホスファターゼ活性は液胞と同じくV型であった。ライソゾームの指標酵素である酸性ホスファターゼと、二次ライソゾームと考えられる液胞²¹⁾が同じV型であることは興味深い。アルカリ性ホスファターゼとカタラーゼの活性はどちらもP型を示し、マイクロボディとその指標酵素であるカタラーゼに及ぼすCと C/N 比の影響の一致を認めた。

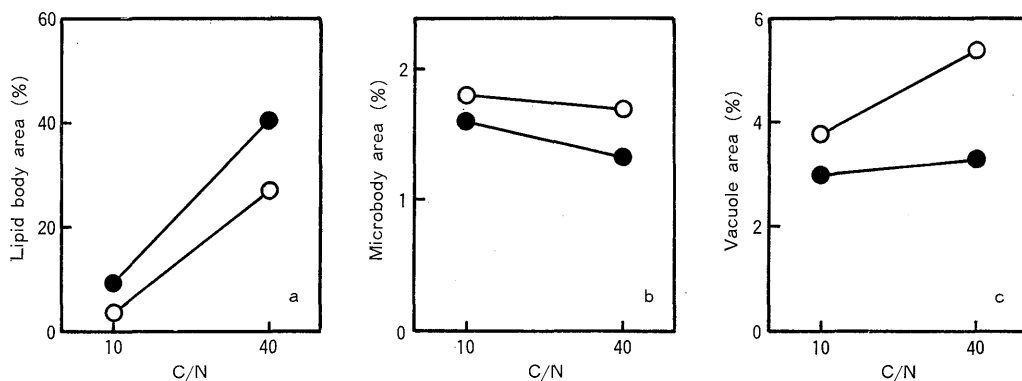


Fig. 2. Effect of C/N ratio and glucose concentration on the lipid body (a), microbody (b) and vacuole (c) areas of macroconidia of *F. solani* f. sp. *phaseoli*. Each area is expressed as the percentage of terminal cell area occupied by the subcellular structures. Each point is the mean of two replicates employing 20 electron micrographs of macroconidia.

○: glucose 5 g/l ●: glucose 20 g/l

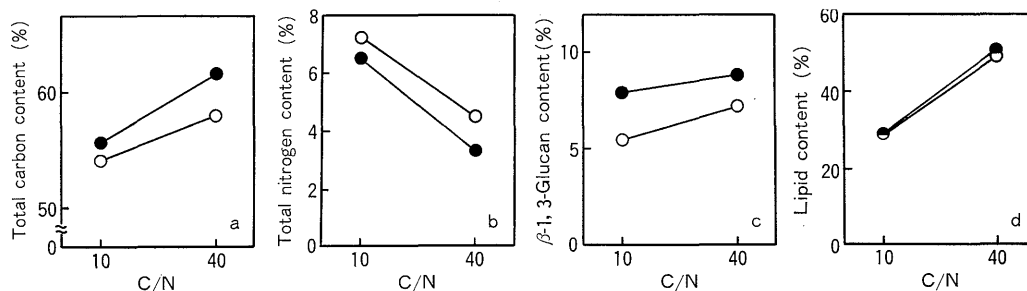


Fig. 3. Effect of C/N ratio and glucose concentration on the total carbon (a), total nitrogen (b), β -1,3-glucan (c) and lipid (d) contents of macroconidia of *F. solani* f. sp. *phaseoli*. The contents are expressed as percentage of dry wt. Each point is mean of three replicates.

○: glucose 5 g/l ●: glucose 20 g/l

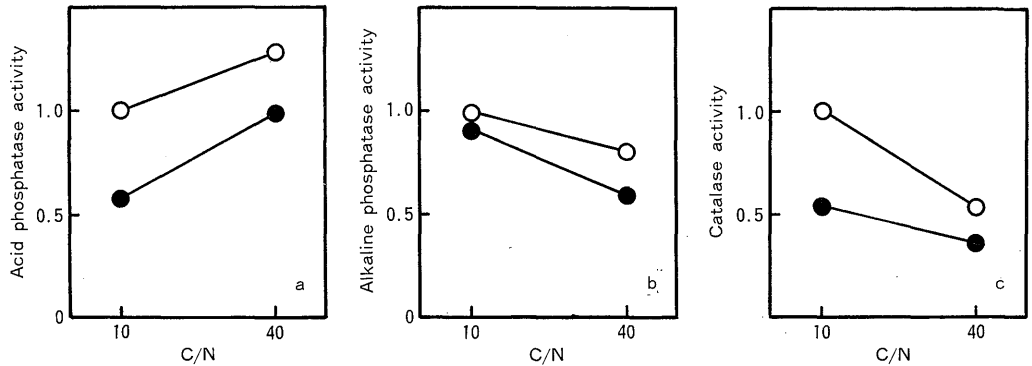


Fig. 4. Effect of C/N ratio and glucose concentration on the acid phosphatase (a), alkaline phosphatase (b) and catalase (c) activities of macroconidia of *F. solani* f. sp. *phaseoli*. The enzyme activities of macroconidia produced on the medium of 5 g/l glucose and C/N 10 were expressed as 1.00. Each point is the mean of three replicates.
○: 5 g/l glucose ●: 20 g/l glucose

考 察

植物病原菌の病原力は栄養源の濃度あるいは C/N 比によって影響されることが知られている。*F. solani* f. sp. *phaseoli*¹⁴⁾ や *Verticillium* sp.⁶⁾ などは窒素源濃度の増加により病原力が高まり、*Rhizoctonia solani*¹⁹⁾ は炭素源濃度だけでなく、炭素源濃度の増加によっても病原力が高まる。一方、伊藤⁷⁾ は、*F. solani* f. sp. *phaseoli* の大形分生胞子の病原力は低い C/N 比の培地に形成した時に高く、炭素源や窒素源の濃度には影響されないことを示した。

他の形質として、*Bipolaris* sp.⁵⁾ や *Helminthosporium* sp.⁸⁾ の胞子の形態は炭素源濃度に、*Phialophora radicola*⁴⁾ の生存は窒素源濃度に、*Fusarium oxysporum*¹⁾ の脂質含量は C/N 比に影響される。その他、菌類の諸形質に及ぼす栄養源濃度や C/N 比の影響に関する研究は多い。

しかし、病原力を含めて栄養源の濃度や C/N の影響を総合的に解析した例は少ない。また、上記の報告の中で、炭素源濃度に影響を受けるとされたものは、窒素源濃度や C/N 比について論議しておらず、窒素源濃度の場合も同様である。とくに、C/N 比の場合は、自己溶菌¹⁰⁾ やリグニン分解力¹⁶⁾ に関する報告を除き、栄養源の濃度の影響を十分に解析しているとは言えない。

こうした原因として、研究目的の違いにもよるが、炭素源や窒素源の濃度あるいは C/N 比のみに影響を受ける形質の少ないことが考えられる。本研究からも明らかなように、大多数の形質は C/N 比と炭素源濃

度に影響され、C/N 比のみに影響されたのは脂質含量だけであった。

炭素源と窒素源の絶対濃度および両者の比である C/N 比のいずれにも影響を受ける形質について、C/N 比のみを指標として統計的に解析することは適当でない。そこで、このような形質に対し、次の 3 条件を満足する変数を求めた。1) 形質との高い相関関係 2) 炭素量と窒素量の関数 3) 炭素源や窒素源の濃度のみあるいは C/N 比のみに影響される形質にも適用可能。

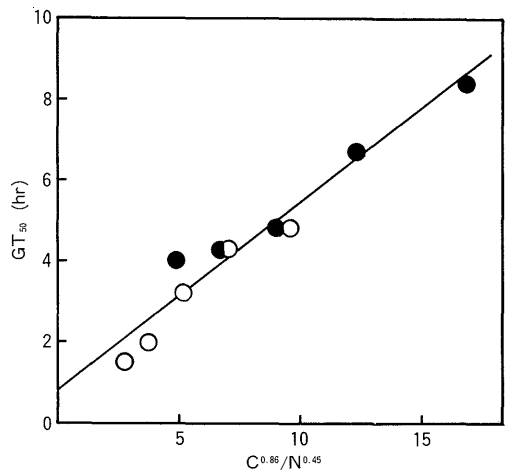


Fig. 5. Relationship between hours required for 50% germination (GT₅₀) of macroconidia of *F. solani* f. sp. *phaseoli* and $C^{0.86}/N^{0.45}$ in the medium. Each point is the mean of three replicates using 50 macroconidia.

○: 5 g/l glucose ●: 20 g/l glucose

Table 1. Relationships between the macroconidial characteristics of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* and the C^m/N^n ratio^{a)} in the medium

Characteristics (y)	C^m/N^n (x)		Formulae of regression line	P<
	m	n		
Pathogenicity ^{b)}	0.25	0.10	$y = 6.95 - 1.98x$	0.01
GT ₅₀ ^{c)}	0.86	0.45	$y = 0.82 + 0.46x$	0.01
Length	0.18	0.05	$y = 78.64 - 26.24x$	0.01
Width	0.39	0.13	$y = 3.48 + 0.55x$	0.05
Lipid body area ^{d)}	1.68	1.41	$y = -13.49 + 8.31x$	0.05
Microbody area ^{d)}	0.11	0.05	$y = 1.84 - 0.36x$	0.05
Vacuole area ^{d)}	-0.03	0.25	$y = -0.07 + 0.40x$	0.05
Total carbon content ^{e)}	0.08	0.04	$y = -12.19 + 58.23x$	0.1
Total nitrogen content ^{e)}	0.63	0.45	$y = 9.97 - 0.89x$	0.05
β -1,3-glc an content ^{e)}	0.38	0.16	$y = 0.11 + 0.29x$	0.05
Lipid content ^{e)}	0.41	0.39	$y = -0.90 + 11.86x$	0.05
Acid phosphatase ^{f)}	0.01	0.14	$y = -0.71 + 1.32x$	0.05
Alkaline phosphatase ^{f)}	0.35	0.25	$y = 1.60 - 0.31x$	0.05
Catalase ^{f)}	0.67	0.35	$y = 1.29 - 0.21x$	0.1

a) C and N represent content (g/l) of carbon and nitrogen, respectively. The exponents, m and n, are appropriately given depending upon the macroconidial characteristics.

b), c), d), e) and f) Refer to explanations of Fig. 1-a, 1-b, 2, 3 and 4, respectively.

これらの条件を満足する変数は形質を推定するための有効な単一指標となり得るであろう。

この指標は C^m/N^n 比の型であり, C, Nはそれぞれ培地中の炭素, 窒素量 (g/l), m, n は形質ごとに選定した指数である。m, n の選定は以下のようにして行った。ある形質において, 3種類の培地の C^m/N^n 比と形質の各測定値の間で比例関係が成り立つようにする。たとえば, Fig. 1-b より 5g/l グルコース, C/N比10; 5g/l グルコース, C/N比40; 20g/l グルコース, C/N比40の各培地に形成した胞子の50%発芽時間 (GT₅₀) は, それぞれ2.0, 4.3, 6.7であるから次式が成り立つ。

$$\frac{2^m}{0.2^n} : \frac{2^m}{0.05^n} : \frac{8^m}{0.2^n} = 2.0 : 4.3 : 6.7$$

これを解くと, $m=0.87$, $n=0.55$ が得られる。さらに, 他の培地の組み合わせによるm, n値を求め, それらの平均値 $m=0.86$, $n=0.45$ を GT₅₀ のm, nとした。

上記のようにm, nを選定した時, GT₅₀ では回帰直線

$GT_{50}=0.82+0.46C^{0.86}/N^{0.45}$ ($r=0.972$, $P<0.01$) が得られる (Fig. 5)。同様に, 他の形質においても有

意な回帰直線 ($P<0.05$) が得られた (Table 1)。Fig. 1~4 と Table 1 を比較して, m, nの値の意味は次のように考察される。すなわち, m, nの値はそれぞれ炭素源濃度と窒素源濃度の形質に及ぼす影響の強さを示している。 $m>n$ の時は炭素源濃度の影響が窒素源濃度より強いことを示し, $m=n$ の時は影響が等しく, $m<n$ の時は影響が逆であることを示す。さらに, m, nの絶対値が小さいほど栄養源の濃度の影響が弱いことを意味している。

以上のことから, C^m/N^n 比は炭素源と窒素源の絶対量と相対量 (C/N比) を表わすことのできる指標として有用であろう。また, 本菌の大型分生胞子の形質は培地の C^m/N^n 比に強く影響されることが考えられる。

摘 要

Fusarium solani f. sp. *phaseoli* 大型分生胞子の病原力, 発芽, 形態,

微細構造, 化学組成および酵素活性に及ぼす培地の炭素源, 窒素源濃度あるいは C/N 比の影響を解析した。

調査した14形質のうち, 11形質は炭素源濃度とC/N比の影響を受けた。すなわち, 病原力, 胞子長, マイクロボディの割合, 全窒素含量, アルカリ性ホスファターゼ活性, カタラーゼ活性は, 炭素源濃度とC/N比の増加に伴い減少する負の相関を示し, 50%発芽時間, 胞子幅, 脂質顆粒の割合, β -1,3-グルカン含量, 全炭素含量は炭素源濃度とC/N比の間に正の相関を示した。残りの3形質のうち, 脂質含量はC/N比のみに影響され, 正の相関を示し, 液胞の割合と酸性ホスファターゼ活性は窒素源濃度に影響され, 負の相関を示した。

このような影響を受ける大型分生胞子の各形質は, 炭素, 窒素量の関数である C^m/N^n 比と高い相関関係にあることが認められた。この指数m, nは各形質ごとに選定した値である。各形質と, それに対応する C^m/N^n 比の間で求めた回帰直線は, ほとんどが有意 ($P<0.05$)であった。以上の結果から, 本菌の大型分生胞子の形質は, 培地の C^m/N^n 比に強く影響されることが考えられる。

引用文献

1. Bhatia, I. S. and Arneja, J. S. (1978). J. Sci. Fd. Agric. 29: 611-618.
2. Cochrane, J. C., Cochrane, V. W., Simon, F. G. and Spaeth, J. (1963). Phytopathology 53: 1155-1160.
3. 福井作蔵 (1969). 還元糖の定量法. 東京大学出版会, 東京. pp. 47-50.
4. Garrett, S. D. (1971). Trans. Br. mycol. Soc. 57: 121-128.
5. Harding, H. (1975). Can. J. Bot. 53: 1457-1464.
6. Isaac, I. (1957). Ann. appl. Biol. 45: 512-515.
7. 伊藤征男 (1973). インゲン根腐病に関する研究. 北海道大学農学部博士論文.
8. Kafi, A. and Tarr, S. A. J. (1966). Trans. Br. mycol. Soc. 49: 327-337.
9. 串田 弘 (1979). 細胞 11: 475-477.
10. Lahoz, R., Reyes, F. and Gomes, P. (1978). Can. J. Bot. 56: 1806-1808.
11. Levi, M. P. and Cowling, E. B. (1969). Phytopathology 59: 460-467.
12. Linhardt, K. (1963). In Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U. ed.) Verlag Chemie and Academic Press, Berlin, New York and London. pp. 779-785.
13. Lück, H. (1963). Ibid. pp. 885-888.
14. Maier, C. R. (1968). Phytopathology 58: 620-625.
15. Papavizas, G. C., Lewis, J. A. and Adams, P. B. (1968). Ibid. 58: 365-372.
16. Reid, I. D. (1979). Can. J. Bot. 57: 2050-2058.
17. 佐野慎亮・宇井格生 (1978). 日植病報 44: 73 (講要).
18. 佐野慎亮・宇井格生 (1981). 同上 47: 98 (講要).
19. Weinhold, A. R., Bowman, T. and Dodman, R. L. (1969). Phytopathology 59: 1601-1605.
20. Wilson, E. M. (1960). Ibid. 50: 607-612.
21. Wilson, C. L. (1973). Ann. Rev. Phytopathol. 11: 247-272.

Explanation of Plate

Plate I.

- 1, 2 and 5. Macroconidia of *F. solani* f. sp. *phaseoli* produced on the modified Czapek agar medium of 5 g/l glucose and C/N 10.
- 3, 4 and 6. Macroconidia of *F. solani* f. sp. *phaseoli* produced on the modified Czapek agar medium of 20 g/l glucose and C/N 40.
- 1, 3. Lipid of macroconidia stained by Sudan Black B.
- 2, 4. Electron micrographs of longitudinal section of macroconidium. Bars: 10 μ m.
- 5, 6. Electron micrographs of terminal cell of macroconidium. Bars: 1 μ m

Abbreviation

L, lipid body; Mb, microbody; N, nucleus; V, vacuole.

Plate I

