

Rhizoctonia solani 菌糸融合群第4群の異常株の諸性質

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	百町,満朗 本間,善久 宇井,格生
発行元	日本植物病理學會
巻/号	50巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 281-285
発行年月	1984年4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



Rhizoctonia solani 菌糸融合群第4群の異常株の諸性質*

百町満朗**・本間善久***・宇井格生**

Mitsuro HYAKUMACHI**, Yoshihisa HOMMA*** and Tadao Ueki**: Properties of Diseased Isolates of *Rhizoctonia solani* AG-4*

Abstract

Damping-off disease of radish seedlings declined in the soil into which normal field isolate 1271 belonging to *Rhizoctonia solani* AG-4 was repeatedly (3 times or more) inoculated. Diseased isolates which show abnormally slow growth were isolated from this disease declined soil. By incubating normal and diseased isolates in pair, diseased agent(s) of diseased isolate could be transferred to isolate 1271 by hyphal anastomosis, but not to other isolates of AG-4 and AG-2-2. This shows transmission of diseased agent is isolate-specific. Diseased isolates produce acidific substances, particularly oxalic acid. In comparison with that of isolate 1271, pathogenicity of diseased isolates is extremely low, though it varies from high to low. Using as inocula mixtures of isolate 1271 and diseased isolates, damping-off disease of radish seedlings decreased when inoculum of isolate 1271 was low, and cross protection could be seen among isolates.

Key Words : diseased isolate, *Rhizoctonia solani* AG-4, cross protection.

Rhizoctonia solani の生育異常株は、同菌の菌糸融合群 第1群から第5群まですべての群から得られる¹⁾。各群の異常株は、その生育が遅く、菌核の形成が極めて劣り、菌そう先端部の菌糸密度が薄く、菌糸が歪み、原形質が消失するなどの性状が共通している。これらは、Castanho・Butler²⁾ が報告している *R. solani* 第1群の diseased isolate としたものの性状と類似しているが、著者らの得た生育異常株は異常因子が正常株に移行しない点で異なっている。一方、*R. solani* 第4群に属する菌株を土壌に繰り返し接種してダイコン苗立枯病が衰退した土壌³⁾ から分離した生育異常株の中には、菌糸融合により生育異常因子が正常株に移行する株があった。今回、これら第4群の異常株と先に得られた生育異常株¹⁾ との類似点、相異

点を異常形質、異常因子の移行、正常株の発病に対する干渉作用等とを比較検討した。

R. solani 第4群の異常株の由来

R. solani 第4群に属する菌株1271を土壌に繰り返し接種し、そのたびにダイコンを播種すると、3回目の接種時以降にはダイコン苗の立枯れはほとんど起こらず、立枯病は衰退する³⁾。今回用いた異常株は菌株1271を5回繰り返し接種した後、病気が衰退した土壌から接種菌を再分離した際に得られたものである (Fig. 1)。また、菌株1271を PDA平板に継代培養すると菌そうの一部に sector が現れることがあり、その部分からも上記の株と同様の異常株が分離されるので、異常株は菌株1271から変異したものと考えられる。なお、菌株1271は1978年にダイコン畑の亀裂褐

* 本報告の概要は、日本植物病理学会北海道部会 (1982年11月) と大会 (1983年3月) において発表した。

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

*** 四国農業試験場 Shikoku National Agricultural Experiment Station, Zentsuji, Kagawa 765, Japan.

1) 百町満朗・宇井格生 (1984), 日植病報 50 : 255-262. 2) Castanho, B. and Butler, E. E. (1978) Phytopathology 68 : 1505-1510. 3) 本間善久・山下洋子・久保千冬・石井正義 (1981). 日植病報 47 : 118. (講要)

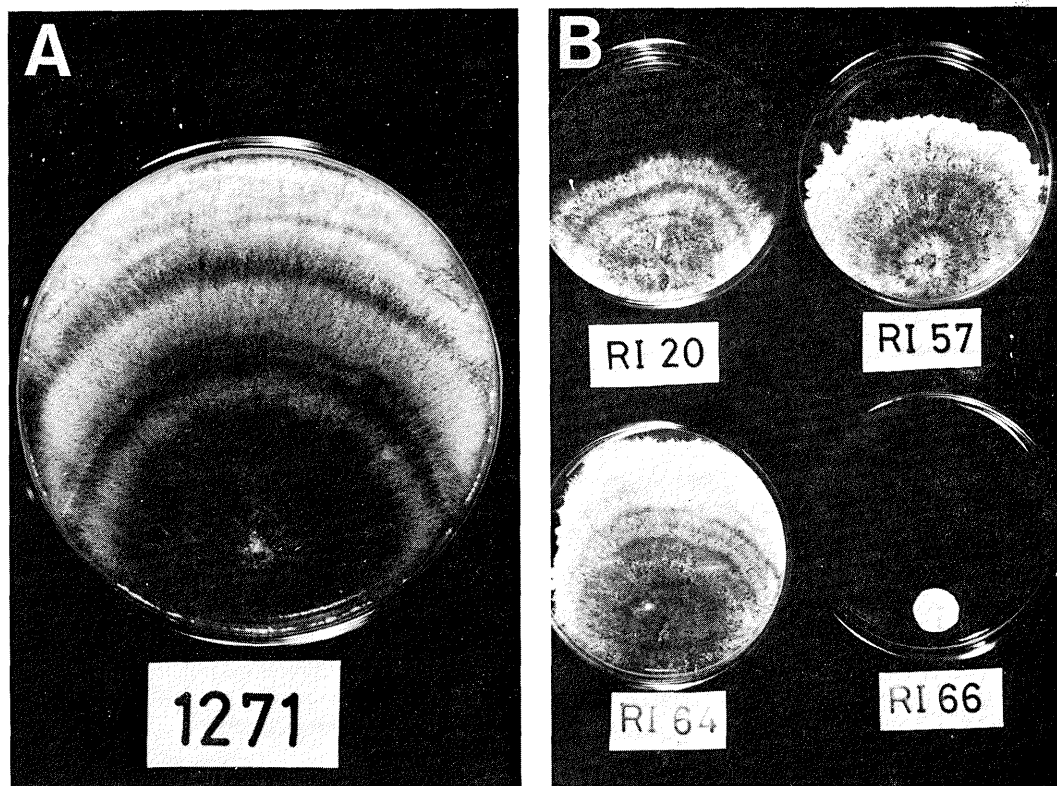


Fig. 1. Morphology of healthy and diseased isolates of *Rhizoctonia solani* AG-4 grown on potato dextrose agar for 10 days. A: Healthy isolate, B: Diseased isolate

変症罹病根から分離されたものである。

異常株の菌糸および菌そうの形態

異常株の菌糸は健全株に比べ不規則に分枝し、菌そう先端部付近の菌糸は原形質を消失した細胞が多く、菌糸の歪みが著しい (Plate I-1,2,3)。歪んだ菌糸はときに密に絡まって、あたかも菌核の原基のようにみえることもある (Plate I-4)。

この異常株を継代培養するうちに、生育速度、菌そうの形態などはさまざまに変異し培養性質は一定しないが元株とは明らかに異っている。グルコース加用ジャガイモ煎汁培地 (PDA) 上の異常株の菌そうは、元株である菌株1271に比べ表面全体が白色を呈した。異常株の菌糸生長速度は一定でないが、元株と比べると著しく遅い。これまでに得た *R. solani* 第1群～第5群の生育異常株が、一様に菌そう周縁部の菌糸密度が薄い¹⁾のに対し、この異常株は菌糸密度が極めて濃く、ペトリ皿の裏面から見ると明瞭な輪帯 (zonation) が多数認められる場合がある (Plate I-5)。また、菌

そう周辺の培地中には、微細な粒状物が暈状に形成されるのがしばしば認められる (Plate I-6)。暈は菌糸の生長速度が遅い株ほど顕著に現われる。

異常株の蔭酸産生

異常株の菌そう周辺には微細粒状物が形成されるが、これは長期間培養を続ける間に発達した結晶が肉眼でも認められるようになる (Plate I-7)。この結晶を多量に生産した異常株は元株と対峙培養すると、その生育を阻止する (Plate I-8)。その作用は、*R. solani* の各菌糸融合群の他、*Fusarium solani*, *Cochliobolus miyabeanus* に対してもみられた。異常株をブロム・フェノール・ブルーを含む PDA 平板培地に培養すると、暈の部分は黄変し、培地はときに pH 2 まで低下する。異常株の培養液および液の酢酸エチル抽出物を高速液体クロマトグラフィーとガスクロマトグラフィーで分析すると、酸性物質はほとんどが蔭酸で、その他酢酸も若干存在することが明らかになった。蔭酸を多量に産生する株は、培地に添加したグルコース

の約50%近くを蔭酸に変換した。*R. solani* が蔭酸を産生することはすでに西村・佐々木⁴⁾が報告しているが、その産生量は異常株のように大量ではなく極めて微量である。

一般に *R. solani* は培地が pH 2.0~pH 3.0 のとき菌そうは密で、菌糸生長は極めて遅くなる。異常株の菌糸生長が正常株に比べ著しく遅く、また菌そうが密であるのは、その蔭酸産生に伴う培地 pH の低下によるものと考えられる。さらに、対峙した *R. solani* や他の菌類に対する生育阻害も、異常株の蔭酸産生による培地 pH の著しい低下と関係している。

異常因子の正常株への移行

元株である菌株1271を繰り返し接種した土壌から分離した異常株 (RI-66) を PDA 上に2日間培養し、これと元株 (菌株1271) を対峙培養すると2~3日後に両者の菌そうは交錯する。所定期間後、菌株1271の菌そうのうち菌株 RI-66 の菌糸と交錯していない部分から径 3mm のコルクボーラーで菌そうを含む寒天円盤を取り、これを PDA 上に移植し、生じる菌そうの性質から菌株1271の性質と明らかに異なる菌を異常株とし、その出現割合を求めた。その結果 (Table 1), 異常株の性質を示す株の出現割合は、対峙培養後3日, 5日, 10日 および15日目にそれぞれ2%, 15%, 70%および66%であった。なお、実験は5回行ない、1回につき10個の含菌円盤を移植した。異常株と対峙した元株1271の菌そうから異常株が出現する場合、それより得た株がすべて異常株の性質を示すことが多かったが、正常株が同時に出現することもある。

Table 1. Appearance of diseased isolates from the colony of the healthy isolate (1271) which was incubated in pair with the diseased isolate (RI66)

Test No.	Days after incubation			
	3	5	10	15
1	0/10 ^{a)}	0/10	6/10	5/10
2	0/10	0/10	4/10	4/10
3	1/10	4/10	10/10	10/10
4	0/10	0/10	5/10	4/10
5	0/10	3/10	10/10	10/10
Total	1/50	7/50	35/50	33/50

a) No. of diseased isolates / No. of isolates tested

た。この点は、Castanho・Butler²⁾が異常株と対峙した正常株の菌そうから分離した株はすべて異常か正常かの何れかであり、両者が出現することはないとしたのと異なっている。

さらに、移植後一見正常な伸びを示した株も継代培養すると、菌そう周辺の培地が茶色となる株が多数出現したが、これらの株は菌糸生長が停止し、その後死滅する場合が多かった。

これらの結果は、異常株の中に正常株を異常にする、あるいは死滅させる因子 (異常因子) が存在することを示している。

異常株の元株以外の菌株への異常因子の移行

異常株を第4群の正常5菌株、および第2群第2型の2菌株と対峙培養したが、何れもこれら異常因子の移行は認められなかったことから、異常因子の移行は菌株特異性 (isolate-specificity)²⁾を有すると考えられる。

異常株の病原性、および正常株の発病に対する干渉作用

元株 (菌株1271) と異常株7株 (RI-15, RI-20, RI-22, RI-52, RI-57, RI-64, RI-66) をそれぞれバーミキュライトとフスマの混合培地に2週間培養後、体積比で0.1, 0.5, 1.0%の割合に土壌に接種し、これにダイコンを播種し2週間後に立枯病の発病を比較した。ダイコンの立枯程度は立枯指数で表わし次式から求めた。

$$\text{立枯指数} = \frac{\sum (0.5a + b + 2c)}{2 \times \text{全個体数}} \times 100$$

ここで、a は立枯に到らない罹病苗数、b は出芽後の立枯苗数、C は出芽前の立枯苗数を示す。

その結果 (Table 2), 異常株の中には多量に接種したとき高い発病を示すものがあったが、多くの異常株は正常株である元株に比べ発病は著しく少なく、病原性が弱い。

次に、異常株 (RI-20) と正常株である元株をそれぞれ体積比が0, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0%の割合に接種量を変えて土壌に混合接種し、ダイコンを播種し、上述の方法に従い立枯病の発病を比較したところ (Table 3), 異常株のみを接種したときの発病は極めて少なく、これと元株を混合接種したときの発病は両者の割合で異なり、元株の接種量が0.1%のとき、異常株の接種量が0.1~1.0%では立枯指数は低く、明らかに正常株に対する異常株の干渉作用 (cross protection)

Table 2. Pathogenicity of healthy and diseased isolates on radish seedlings

Isolate		Inoculum density (%) (v/v)		
		0.1	0.5	1.0
Healthy isolate	1271	90.5 ^{x) y)} e	100.0 d	100.0 e
	RI15	26.5 c	85.5 c	89.0 e
	RI20	15.5 ab	27.0 b	60.0 d
Diseased isolate	RI22	11.5 a	13.0 a	17.0 a
	RI52	50.5 d	89.5 c	100.0 e
	RI57	26.0 c	24.0 b	56.5 cd
	RI64	21.5 bc	24.0 b	40.5 bc
	RI66	15.5 ab	26.5 b	32.0 b

x) Disease rating; 0=no disease, 100=most severe disease

y) Values followed by the same letter do not differ significantly (P=0.05) according to Duncan's multiple range test

Table 3. Degree of disease incidence of radish seedlings by the mixed inoculation of healthy (1271) and diseased (RI20) isolates

Inoculum density of isolate RI20 (%) (v/v)	Inoculum density of isolate 1271 (%) (v/v)				
	0.0	0.1	0.3	0.5	1.0
0.0	0.0 ^{x) y)} a	86.5 d	100.0 b	100.0 b	100.0 b
0.1	13.0 b	76.0 c	90.0 ab	97.0 b	96.5 ab
0.3	19.0 b	55.5 ab	85.0 a	84.0 a	88.0 a
0.5	18.0 b	49.5 a	88.0 a	89.5 ab	94.5 ab
1.0	34.0 c	67.0 bc	90.5 ab	89.0 ab	92.0 ab

x) Disease rating; 0=no disease, 100=most severe disease

y) Values followed by the same letter do not differ significantly (P=0.05) according to Duncan's multiple range test

が認められた。一方、元株の接種量が多いとき(0.3, 0.5, 1.0%)には、異常株の接種量の多少にかかわらず顕著な干涉作用はみられなかった。他の異常株(RI-57)を用いたときも、ほぼ同様の結果が得られた。

Castanho・Butler⁵⁾ は第1群の異常株と元株とを同時に接種すると、テンサイ 苗の立枯病は著しく減少

し、ほとんど病気は生じないと報告しているが、第4群の異常株においてはそれ程顕著でない。この違いの一つは、接種源調整法の違いによる可能性が考えられる。また、異常株の因子の移行の違いとも考えられるが、明らかでない。

(昭和58年11月5日受理)

Explanation of plate

Plate I

1. Morphology of hypha of healthy isolate.
- 2-4. Morphology of hyphae of diseased isolate. Lysis of protoplasm (LP) (Fig. 2), hyphal distortion (Fig. 3) and compact masses of hyphae (Fig. 4).
5. Many zonations in the colony of diseased isolate on the medium.
6. Halo formation of diseased isolate on the medium.
7. Crystals of oxalic acid produced around the colony of diseased isolate.
8. Healthy isolate seeded with or without diseased isolate in the same plate. Growth of healthy isolate was inhibited by diseased isolate.

Plate I

