

# 一圃場に存在する *Rhizoctonia solani* Kuhn 菌糸融合群内クローンの多様性

|       |                                                              |
|-------|--------------------------------------------------------------|
| 誌名    | 日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan |
| ISSN  | 00319473                                                     |
| 著者名   | 生越,明<br>宇井,格生                                                |
| 発行元   | 日本植物病理學會                                                     |
| 巻/号   | 49巻2号                                                        |
| 巻号補足  |                                                              |
| 掲載ページ | p. 239-245                                                   |
| 発行年月  | 1983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



## 一圃場に存在する *Rhizoctonia solani* Kühn 菌糸融合群内クローンの多様性

生越 明\*・宇井格生\*

Akira OGOSHI\* and Tadao UI\*: Diversity of Clones within an  
Anastomosis Group of *Rhizoctonia solani* Kühn in a Field

### Abstract

The clones of the same anastomosis group of *Rhizoctonia solani* Kühn in the fields of white potatoes, sugar beets, and rice plants were investigated. *R. solani* was isolated from diseased potato tubers in 3 fields, from infested soils in 10 sugar beet fields, and from diseased culms of rice plants in a paddy field. The most isolates from potato tubers, sugar beet field soils, and rice culms were AG-3, AG-2-2, and AG-1, respectively. Reactions of anastomosed hyphae among the isolates of each group were observed on water agar. The isolates which fused perfectly without death of fused cells (S reaction) were determined to be the same clone, and the isolates which showed death of fused cells (K reaction) were determined to be distinct clones. In potatoes, the most AG-3 isolates from the same tuber showed S reaction. The most isolates from individual tubers in the same field and all isolates from separate fields showed K reaction. In sugar beets, the most AG-2-2 isolates from the same soil sample showed S reaction and the most isolates from separate soil samples in the same field showed K reaction. The all isolates from separate fields, even in the same district, showed K reaction. In rice plants, the most AG-1 isolates from several lesions on one culm showed S reaction. K reaction increased between the isolates from neighbour culms. The most isolates from distant culms showed K reaction. There were 41 clones in this paddy field of 11 ares. In the paddy field, although the distribution of one clone was usually limited, a few clones distributed widely in the field. These results indicate that one field is occupied by a specific anastomosis group pathogenic to the crop growing in the field, that there are many clones of pathogen in one field, and that the distribution of one clone is limited within only small area in the field.

(Received October 7, 1982)

**Key Words:** *Rhizoctonia solani*, anastomosis group, clone, distribution.

### 緒 言

リゾクトニア菌によるある作物の病気は特定の菌糸融合群(または菌群)<sup>10,11,12,14,17)</sup>によって起こるとされている<sup>1,4,6,8,13,17)</sup>。すなわち、イネ紋枯病は *Rhizoctonia solani* Kühn の AG-1 (第1群)、テンサイ根腐病は AG-2-2 (第2群第2型)、ジャガイモ黒あざ病は AG-3 (第3群) によって起こる。したがって、ある作物を圃場に栽培すると、その作物に病原性のある菌群が増加し、圃場のほとんどをその菌群が占めることにな

る<sup>6,16)</sup>。このような場合、その菌群の菌株の由来として、(1)すでにその圃場に存在していた菌株の増加、(2)まわりの圃場からの汚染、(3)種子、種苗等あるいは移植に伴う混入などが考えられる。

一方、一つの圃場に存在するある菌糸融合群内の多数の菌株が、同一の性質を持ったものか、種々異なるものかについては今日まで明らかにされていない。同一であるとすれば、その起源は一つであり、そこからその圃場全面に拡がったものと考えられる。もし同一でなく、性質の異なった多数のものが存在した場合、

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

その起源は多岐にわたるものと考えられる。

菌株の異同を論ずる場合、クローンの概念を利用することが有効と考えられる。クローンは1個体から栄養繁殖的に増殖した個体集団<sup>15)</sup>とみなすことができ、本稿では、材料および方法で記すように、菌糸融合において S reaction を示すか、K reaction を示すかでクローンの異同を判定した。

本研究は、ジャガイモ、テンサイ、水稻のリゾクトニアによる発病圃場から、そこに存在する *Rhizoctonia solani* の菌株を多数分離し、一圃場内の菌糸融合群内クローンの異同、および各クローンの圃場内における分布範囲を検討したものである。

本研究のための試料採取を行うに当たり、北海道大学名誉教授村山大記博士、北海道立中央農業試験場沢崎彬科長はじめ同研究室の方々、また北海道糖業株式会社および日本甜菜製糖株式会社の関係各位に種々御援助いただいた。深く感謝の意を表わす。

### 材料および方法

**調査圃場** ジャガイモ圃場は北海道十勝支庁新得町の2圃場(S1, S2)と同支庁浦幌町の一圃場(U1)、テンサイ圃場は同支庁帯広市清川町周辺の4圃場(K1~K4)と同支庁本別町周辺の6圃場(H1~H6)、水田は北海道中央農業試験場稲作部(岩見沢市)の圃場(I1)について調査した。

***Rhizoctonia solani* の分離** ジャガイモ圃場においては、採集した黒あざ病罹病塊茎から、常法により *R. solani* を分離した。テンサイ圃場においては、根腐病発病株周辺土壌100gを採土管で、一圃場につき約10か所から採取した。この土壌を実験室に持ち帰

り、アマ茎捕捉法<sup>9)</sup>により、菌を分離した。水田においては、42の小試験区(各区26m<sup>2</sup>, 第4図)から、両側の畦畔にそって紋枯病罹病株を探し、1株から1本ずつのイネ稈を採集した。採集本数は発病の多少により、各区0~10本となった。この病斑組織を切り取り、常法によって菌を分離した。

**菌糸融合群の決定** ジャガイモ塊茎からの分離株は黒あざ病菌 AG-3、テンサイ圃場土壌からの分離株は根腐病菌 AG-2-2、イネからの分離株は紋枯病菌 AG-1 とそれぞれ対峙培養して菌糸融合を観察し、融合群を決定した<sup>10)</sup>。AG-3、AG-2-2、AG-1 以外の分離株は本実験から除いた。

**クローンの判定** 同一菌糸融合群内のクローンの異同は分離したすべての菌株を互いに対峙培養して、融合部の細胞における致死反応の有無によって判定した。同じ菌株あるいは同じ遺伝子型をこもつ菌株間では、完全な細胞融合<sup>7)</sup>が起こり、融合した両菌株の細胞には致死反応はみられない(これを S reaction=S で表わす)<sup>9)</sup>。一方、異なる遺伝子型をもつ菌株を対峙した場合には、ほとんどが不完全融合<sup>7)</sup>を示し、融合細胞は致死反応を示す。たとえ完全融合であっても致死反応を示す(致死反応を示したものを K reaction=K で表わす)<sup>9)</sup>。以上から、融合した2菌株の細胞に致死反応の起こらないものは同じクローン、起こったものは異なるクローンと判定した。

### 実験結果

#### ジャガイモ圃場の *R. solani* AG-3

ジャガイモ塊茎からの *R. solani* AG-3 の分離結果を Table 1 に示した。分離された *R. solani* 124菌株

Table 1. Isolation of *Rhizoctonia solani* AG-3 from potato tubers and clones in the fields

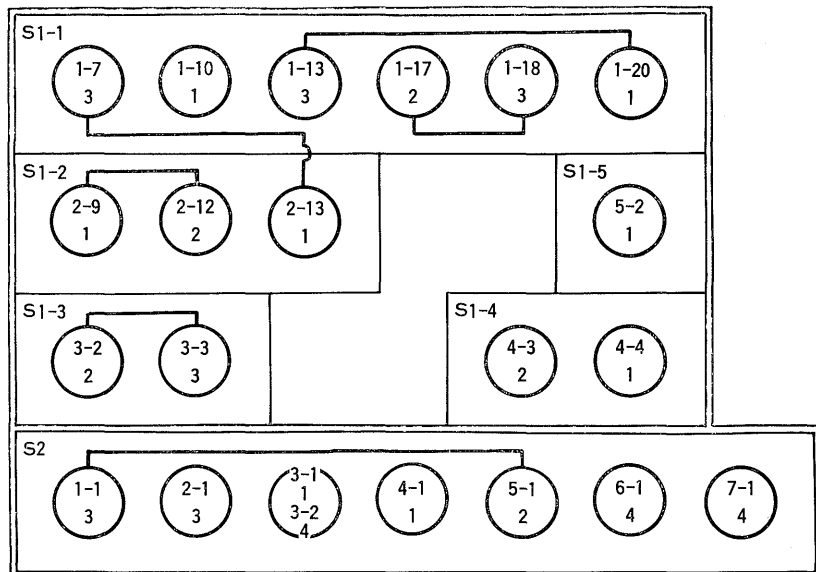
| Field              | Potato tubers examined | Tubers that <i>R. solani</i> were isolated | <i>R. solani</i> isolated | AG-3 | Clone |
|--------------------|------------------------|--------------------------------------------|---------------------------|------|-------|
| S1                 | 46                     | 23                                         | 66                        | 43   | 9     |
| S1-1 <sup>a)</sup> | 20                     | 12                                         | 37                        | 22   | 4     |
| S1-2               | 13                     | 6                                          | 17                        | 9    | 2     |
| S1-3               | 6                      | 2                                          | 6                         | 6    | 1     |
| S1-4               | 5                      | 2                                          | 5                         | 5    | 2     |
| S1-5               | 2                      | 1                                          | 1                         | 1    | 1     |
| S2                 | 9                      | 7                                          | 26                        | 22   | 6     |
| U1                 | 10                     | 8                                          | 32                        | 32   | 8     |
| Total              | 65                     | 38                                         | 124                       | 97   | 23    |

a) Field S1 was divided into 5 plots with the difference of cultural practice.

Table 2. Anastomoses among *Rhizoctonia solani* AG-3 isolates from potato field (S1-1)

| Isolate | S1-1-7          | S1-1-10 | S1-1-13 | S1-1-17 | S1-1-18 |
|---------|-----------------|---------|---------|---------|---------|
| S1-1-10 | K <sup>a)</sup> |         |         |         |         |
| S1-1-13 | K               | K       |         |         |         |
| S1-1-17 | K               | K       | K       |         |         |
| S1-1-18 | K               | K       | K       | S       |         |
| S1-1-20 | K               | K       | S       | K       | K       |

a) K: K reaction, S: S reaction.

Fig. 1. Clones of *Rhizoctonia solani* AG-3 isolated from potato fields (S1-S5 and S2) and their distribution in the fields.

Upper sign in circle shows isolate and under one shows the number of isolate. Connection by lines shows that these isolates are the same clone.

のうち97菌株 (78%) が AG-3 であった。

1) 同一塊茎上の菌株 S1 圃場で同一塊茎から分離された AG-3 菌株間の菌糸融合を観察したところ、そのすべてが S であり、同一塊茎上に存在する菌株は同一クローンであると判定された。S2 圃場で同一塊茎からの菌株間で K を示したものが 1 例あったが、他はすべて S であった。U1 圃場で同一塊茎上の菌株はすべて S で、同一クローンであった。

2) 異なる塊茎上の菌株 次に、異なる塊茎からの分離菌株間の菌糸融合を観察した。S1 圃場は管理の違いにより 5 区画に分けられているが、まず同一区画内の分離菌株について調べた。S1-1 (圃場番号-区

番号) の 6 塊茎からの分離菌株間の菌糸融合による反応をみると、S を示したのは 2 組合せのみであり、他はすべて K であった (Table 2, Fig. 1)。すなわち、S1-1 の 6 菌株は 4 クローンに分かれた。同様に、他の区のクローンも判定した (Table 1)。次いで、S1-1~S1-5 までの 5 区のクローンについて相互に菌糸を融合させた結果、一つの組合せのみが S で、他の組合せはすべて K であった (Fig. 1)。S2 圃場の菌株について同様の観察をした結果、S の組合せはただ 1 例であり、他はすべて K で、それぞれ異なるクローンであった (Fig. 1)。U1 ではすべて K で、それぞれ異なるクローンと判定された。

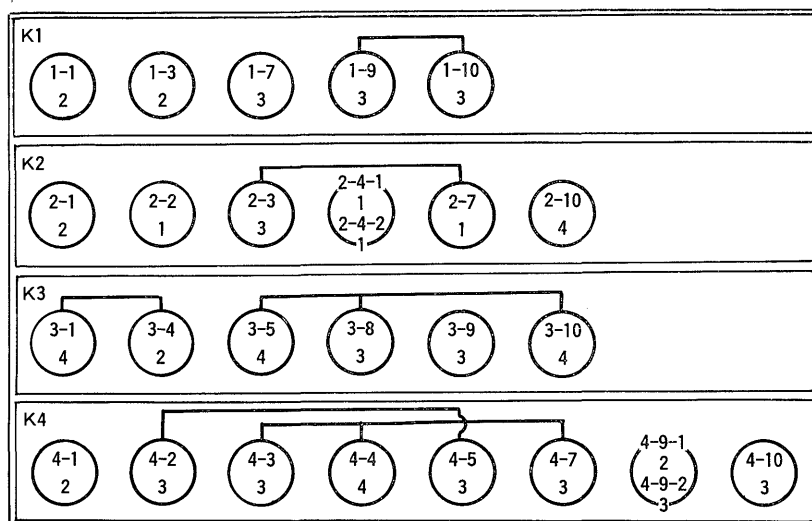


Fig. 2. Clones of *Rhizoctonia solani* AG-2-2 isolated from sugar beet fields (K1-K4) and their distribution in the fields.

See Fig. 1.

Table 3. Anastomoses among *Rhizoctonia solani* AG-2-2 isolates from sugar beet field (K4)

| Isolate | K 4-1           | K 4-2 | K 4-3 | K 4-4 | K 4-5 | K 4-7 | K 4-9-1 | K 4-9-3 |
|---------|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|
| K 4-2   | K <sup>a)</sup> |       |       |       |       |       |         |         |
| K 4-3   | K               | K     |       |       |       |       |         |         |
| K 4-4   | K               | K     | S     |       |       |       |         |         |
| K 4-5   | K               | S     | K     | K     |       |       |         |         |
| K 4-7   | K               | K     | S     | S     | K     |       |         |         |
| K 4-9-1 | K               | K     | K     | K     | K     | K     |         |         |
| K 4-9-3 | K               | K     | K     | K     | K     | K     | K       |         |
| K 4-10  | K               | K     | K     | K     | K     | K     | K       | K       |

a) K: K reaction, S: S reaction.

以上の結果、同一圃場であっても塊茎が異なれば、AG-3 のクローンも異なるのが普通であり、同一クローンが異なる塊茎にまで分布する例は稀であった。

3) 異なる圃場の菌株 S1, S2 および U1 圃場について、圃場間のクローンの異同を検討したが、すべての組合せでKを示し、同一クローンはなかった。

#### テンサイ圃場の *R. solani* AG-2-2

テンサイ圃場 (K1~K4, H1~H6) からアマ茎捕捉法による分離の結果、K圃場から72菌株、H圃場から123菌株の AG-2-2 が分離された。AG-2-2 以外の *R. solani* はKから3菌株、Hから6菌株分離されたのみであった。

1) 同一採取地点の菌株 同一採取地点、すなわち採土管1個、約100gの土壌から分離された菌株を相互に菌糸融合させた。K2, K4, H1圃場でKが1つずつあった以外は、すべてSであった。すなわち、100gの土壌中に存在した菌株は、ほとんどの場合同一クローンであった。

2) 同一圃場内の菌株 同一圃場内の異なる採取地点の土壌からの分離株間の菌糸融合の結果をFig.2, Fig.3に示す。K1圃場の5菌株の組合せのうち、Sは1つで4クローンとなった。同様に、K2圃場の6菌株は5クローンに、K3圃場の6菌株は3クローンに、K4圃場の9菌株は6クローンに分かれた

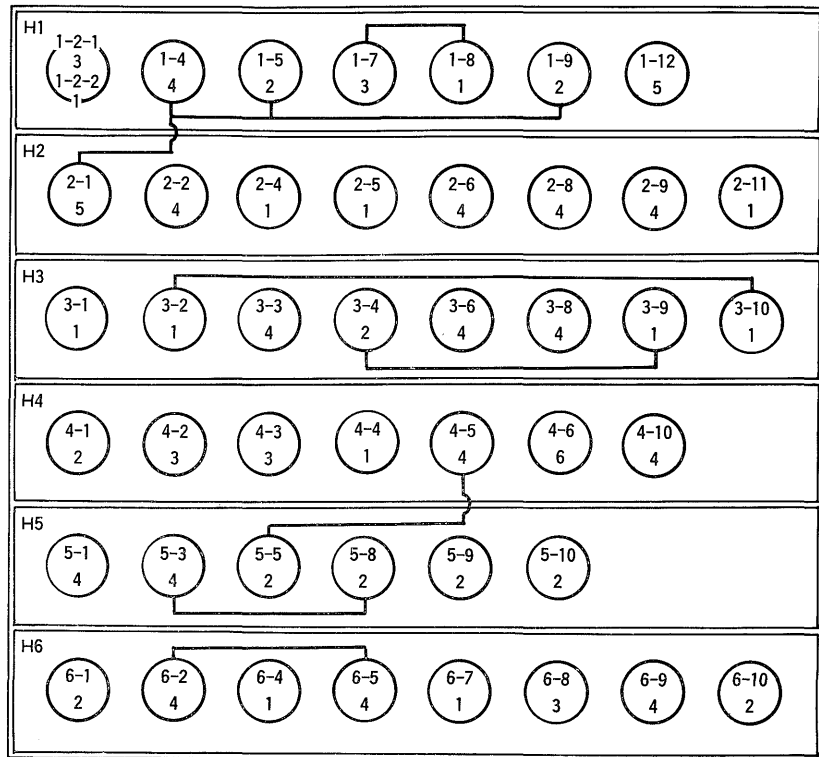


Fig. 3. Clones of *Rhizoctonia solani* AG-2-2 isolated from sugar beet fields (H1-H6) and their distribution in the fields.

See Fig. 1.

(Fig. 2, Table 3). H1 圃場の8菌株は5クローンに、H3 圃場の8菌株は6クローンに、H5 圃場の6菌株は5クローンに、H6 圃場の8菌株は7クローンとなった。なお H2 圃場の8菌株、H4 圃場の7菌株はそれぞれすべてが異なるクローンで、同一のものはなかった (Fig. 3)。

3) 清川町圃場の菌株 清川町の4圃場 (K1~K4) から分離された菌株を相互に菌糸融合させた結果、Sの組合せは全くなく、すべてKで、それぞれが異なるクローンであった (Fig. 2)。

4) 本別町圃場の菌株 本別町の6圃場 H1~H6 から分離された菌株を相互に菌糸融合させた結果、Sの組合せが2例あり、その他はすべてKであった (Fig. 3)。

5) 清川町圃場と本別町圃場の菌株 清川町圃場の12菌株と本別町圃場の15菌株の間で菌糸融合させた結果、すべてKで、共通するクローンは全くなかった。

た。

#### 水田の *R. solani* AG-1

イネ紋枯病桿から AG-1 を98菌株分離した。AG-1 以外の *R. solani* は2菌株のみであった。供試水田は42区に仕切られているが、まず各区内の分離株を相互に菌糸融合させて、区内のクローンを判定し、次いで区間の融合を観察した。その結果、98菌株は41クローンに分かれた。すなわち、11アールの本水田には41クローンが存在することになる。1区内が単一のクローンで占められているものは18区、2クローンで占められているものは19区、3クローンで占められているものは5区であった。同一クローンの分布は、ほぼその区内に限られるが、なかには隣接区のみならず、数区離れた区にまで分布するものがあった (Fig. 4)。

なお、以上とは別に、1本の罹病桿上に形成されている数個の病斑からそれぞれ菌を分離し、相互に菌糸融合させたところ、ほとんどの桿では1クローンのみ

|            |             |              |                     |              |                  |
|------------|-------------|--------------|---------------------|--------------|------------------|
| 1-1        | 8-1<br>8-2  | 15-1         |                     | 29-1         | 9-2              |
| 2-1        | 9-1<br>9-2  | 13-1<br>16-2 |                     |              | 37-1             |
| 3-1 3-2    | 10-1<br>8-2 | 13-1         | 24-1                | 3-1          | 38-1             |
| 3-1<br>4-1 |             |              | 19-1<br>25-2        | 32-1<br>32-2 | 35-2             |
| 5-1        | 12-1        | 19-1 19-2    | 26-1                | 27-1<br>32-2 | 40-1<br>26-1     |
| 6-1 3-1    | 13-1        | 20-1         | 27-1<br>27-2<br>5-1 | 34-2<br>34-1 | 41-1             |
| 7-1 4-1    | 13-1        | 21-2<br>21-1 | 28-1<br>28-2<br>3-1 | 35-2<br>3-1  | 42-1 42-2<br>3-1 |

Fig. 4. Clones of *Rhizoctonia solani* AG-1 isolated from paddy field (I) and their distribution in the field. Sign shows isolate number. The isolates with circle distribute extending over other plots.

であったが、なかには複数のクローンが混在している場合もあった。

## 論 議

*Rhizoctonia solani* の分布に関する以上の調査結果から、一つの圃場はそこに生育する作物に関連する特定の菌糸融合群によって占められること、一つの圃場内の菌糸融合群には多数のクローンが存在すること、またあるクローンがその圃場内に占める分布範囲は非常に限られていることなどが明らかにされた。この場合、クローンは菌糸融合において、完全融合し、かつ融合細胞に致死反応がみられない個体群という意味である。すなわち、Flentje and Stretton<sup>2)</sup>による“S reaction”を示すものの集合である。

ジャガイモの場合には1塊茎（あるいはそのジャガイモ1株）に、テンサイ圃場の場合には1採取土壌内に、また水稻の場合にはその1株あるいは26m<sup>2</sup>の区画内に、1クローンの分布が限られていることが多かつ

た。このことは、まず第一にその病原菌が多くの経路により、多くの機会にその圃場に導入された可能性を示唆している。ジャガイモは塊茎の植付けによって、栽培が開始される。塊茎には *R. solani* の菌株が多数付着していることはよく知られており、これが本菌による黒あざ病の主要な第一次感染源であり<sup>3)</sup>、菌の圃場への導入機会が多い。テンサイと水稻では移植が主体である。罹病植物ばかりでなく、汚染土壌など移植に伴う *R. solani* の本圃への持ち込みの機会が多いと考えられ、菌の起源が多数であるのも当然と考えられる。この点に関しては、圃場に種子を直播する作物についても検討する必要がある。

多クローンの存在について、第二に考えられるのは、*R. solani* の分化が意外に速く起こっているのではないかと、ということである。圃場で担子胞子が形成されれば Flentje and Stretton<sup>2)</sup>、本間・宇井<sup>3)</sup>が観察したように、異なったクローンが容易に生ずる可能性がある。この両報告において、ある菌株から単胞子

分離によって得た子孫株も、多くは親株との間であるいは子孫株間で“K reaction”をひきおこした。圃場に存在する *R. solani* は一般に heterokaryon であるとしており<sup>2)</sup>、有性生殖によって種々の遺伝的性質を異にする担子孢子が形成される。テンサイ圃場あるいはジャガイモ圃場では、比較的容易に担子孢子の形成がみられる。したがって、クローンの起源が単一か多岐にわたっているかを判定するためには、親株、子孫株を含有するような基準と、その判定方法を考える必要がある。一般に、一圃場から分離される菌株の培養性質は非常に類似している。このことから、菌株の起源が多岐であるとするよりも、その分化が比較的速く起きている可能性が考えられる。

それまで栽培されたことのない作物が、ある圃場にはじめて栽培され、リゾクトニア菌による病害が発生したとき、やはり多数のクローンが存在していたためであろうか。あるいは単一ないし少数のクローンのみが存在したためであろうか。リゾクトニア菌による病害の発生生態を考える上で興味ある点である。

### 摘 要

一圃場内に存在する *Rhizoctonia solani* Kühn 菌糸融合群のクローンをジャガイモ、テンサイ、水稻の各圃場について調べた。ジャガイモでは3圃場で採取した塊茎から、テンサイでは10圃場の採集土壌から、水稻では1圃場の罹病桿から *R. solani* を分離した。分離された *R. solani* は、ジャガイモでは AG-3、テン

サイでは AG-2-2、水稻では AG-1 がほとんどであった。分離菌株を相互に培地上で菌糸融合させ、S reaction を示すものは同じクローン、K reaction を示すものは異なるクローンと判定した。ジャガイモの1塊茎からの AG-3分離株相互の菌糸融合は、ほとんどが S reaction であり、1クローンによって占められていた。同一圃場の異なる塊茎からの分離株間ではほとんどが、異なる圃場の分離株間ではすべてが K reaction を示し、それぞれ異なるクローンであった。テンサイでは、1地点からの AG-2-2分離株相互の菌糸融合は、ほとんどが S reaction であったが、1圃場内でも異なった地点からの分離株間では、ほとんどが K reaction を示した。同一地域内でも圃場が異なれば、すべて K reaction であった。水稻では、同一桿上の多数病斑からえた AG-1分離株間では、ほとんどが S reaction を示したが、近隣の稲株からの分離菌株間では K reaction が多くなり、離れた稲株の菌株はほとんどが K reaction を示した。11アールの本水田には41クローンが存在した。水稻では同一クローンの分布は限られている場合が多かったが、なかには非常に離れた所にまで分布しているものもあった。以上の結果から、一つの圃場はそこに生育する作物に病原性を有する特定の菌糸融合群によって占められること、一つの圃場内の菌糸融合群には多数のクローンが存在すること、また1クローンの圃場内の分布範囲は非常に限られていることが判明した。

### 引 用 文 献

1. 阿部秀夫・坪木和男 (1978). 道立農試集報 40 : 61-70.
2. Flentje, N. T. and Stretton, H. M. (1964). Aust. J. Biol. Sci. 17 : 686-704.
3. 橋本 保 (1959). 植物防疫 13 : 449-450.
4. Herr, L. J. (1982). Plant Dis. 66 : 246-249.
5. 本間善久・宇井格生 (1975). 北大農邦文紀要 9 : 177-186.
6. 河本征臣・神沢克一・宇井格生 (1970). てん菜研究会報 補巻 11 : 57-62.
7. Matsumoto, T., Yamamoto, W. and Hirane, S. (1932). J. Soc. Tropical Agr. 4 : 370-388.
8. 内藤繁男・山口武夫・杉本利哉 (1974). 北農試研報 108 : 45-53.
9. 生越 明 (1970). 植物防疫 24 : 313-316.
10. 生越 明 (1976). 農技研報 C 30 : 1-63.
11. Parmeter, J. R. Jr., Sherwood, R. T. and Platt, W. D. (1969). Phytopathology 59 : 1270-1278.
12. Richter, H. and Schneider, R. (1953). Phytopath. Z. 20 : 165-226.
13. Ruppel, E. G. (1972). Phytopathology 62 : 202-205.
14. Schultz, H. (1936). Arb. Biol. Reichsanst. für Land- und Forstwirtschaft. (Berlin) 22 : 1-41.
15. 田中信徳 (監修) (1977). 遺伝学辞典. 共同出版, 東京.
16. 宇井格生・小林喜六・内記 隆・百町満朗 (1978). てん菜研究会報 19 : 37-48.
17. 渡辺文吉郎・松田 明 (1966). 指定試 (病害虫) 3 : 1-131.