ダイコン畑から分離した *Rhizoctonia solani* Kühn の 新しい菌糸融合群 (第7群)*

本間善久**・山下洋子**・石井正義***

Yoshihisa HOMMA**, Youko YAMASHITA** and Masayoshi ISHII***: A
New Anastomosis Group (AG-7) of *Rhizoctonia solani*
Kühn from Japanese Radish Fields*

Abstract

Seven anastomosis groups, AG-1~AG-6 and AG-BI of *Rhizoctonia solani* Kühn [*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk] are known in Japan. While grouping of *R. solani* mainly isolated from Japanese radish fields, it was found that 107 isolates composing a single anastomosis group did not anastomose with isolates of any known AG of *R. solani*. These isolates were obtained from the seedlings of Japanese radish, and the flax or buckwheat stems buried as a bait in the field soil. These isolates were obtained from Nara, Shiga, Tokushima and Kagawa Prefecture located in south-west part of Japan. The isolates were brown or dark brown colony with aerial hyphae and sclerotia, but without clear zonation. Optimum temperature for growth was 28-35 C and the linear growth was 25.5-27.0mm/24hr on PDA. The width of mature main hyphae was 7.80-8.27 μ m and the number of nuclei per cell was 3-11 (mean 5.6). The fungus was thiamine autotrophic. The pathogenicity to seedlings of Japanese radish, bean, cucumber, tomato, barley and rice was slight or negligible. Five, out of 20 tested isolates, formed the white and flake hymenia as solitary islands on the soil surface. Metabasidia were barrel-shaped, short clavate or cylindrical, 11.0-27.5 $\times$ 6.5-11.0 μ m. Sterigmata were horn-shaped, 5.0-18.0 μ m in length and (1-) 4 per metabasidium. Basidiospores were obovate to oblong-ellipsoid, hyaline, smooth, with an apiculus, 6.5-13.0 $\times$ 4.0-8.5 μ m. These morphological characters of the perfect stage show that the new AG is identified as *T. cucumeris* and we proposed to designate this group as AG-7 of *R. solani*.

(Received August 16, 1982)

Key Words: *Rhizoctonia solani*, *Thanatephorus cucumeris*, new anastomosis group.

緒 言

Rhizoctonia solani Kühn は多犯性とされているが、その中には培養型^{4,7,22)}や菌糸融合^{8,11,14,15)}によって区別できるいくつかの菌群が知られている。わが国において、渡辺ら²²⁾は培養型、病原性および生態的性質に基づいて7群に、生越⁹⁾は菌糸融合によって5群に類別した。その後、国永ら⁵⁾は、北海道の未耕地土壌か

ら第6群、および複数の菌群にまたがって菌糸融合をするBI群を発見した。

著者らは、ダイコン根腐病と *R. solani* 菌群との関係を知るため、菌を分離し類別している間に、既知の菌群と異なる菌株があることに気付いた。これらの菌株の完全時代および不完全時代の形態から同定を試み、生育温度、菌糸幅、細胞核数、チアミン要求性、病原性などの諸性質について既存の菌群に関する報告

* 本研究の概要は、日本植物病理学会関西部会（昭和55年10月）において発表した。

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

*** 野菜試験場 Vegetable and Ornamental Crops Research Station, Ano, Age, Mie 514-23, Japan.

と比較した。

本研究を行うに当たり、*R. solani* の菌株を御分譲下さり、併せて本論文の御校閲を賜った北海道大学農学部教授宇井格生博士および同助教授生越明博士に深甚なる謝意を表す。また、菌株を御分譲下さった東日本学園大学教養部国永史朗氏ならびに土壤試料の採集に御協力を頂いた各都道府県農業試験場の関係者各位に対し深謝する。

材料および方法

菌の分離 *Rhizoctonia* 菌は、香川県善通寺市の水田跡の秋ダイコンの罹病部、および畑土壌に挿入したソバ莖トラップから分離した。また、北海道から沖縄まで全国36都道府県より各々3～10点ずつ採集した耕作地の表層土壌からも分離を行った。土壌は4mm目の篩を通した後、約200gを腰高のペトリ皿(9.0×6.5 cm)に入れ、アマ莖トラップにより分離を試みた。培地は、蒸溜水寒天(硫酸ストレプトマイシン100ppm加用, pH 4.5)を用いた。培地上に伸展した菌そうの先端をPSA斜面上に取り、25℃で培養した。

菌糸融合 分離した菌株は、菌糸融合により類別を行った。既知の *R. solani* の菌糸融合群(AG-1～AG-6 および AG-BI)より、各々2～4菌株の代表株を選び、分離した菌株と菌糸融合の有無を調べた。その方法は、カバーガラス(24×32mm)上に2%蒸溜水寒天の薄層をつくり、その上で両菌を対峙させ、菌そうが交叉した後、アニリンブルーで染色し検鏡した。

培養形態と生育温度 培養形態は、PDA培地(Difco社製)に25℃、2週間培養後、菌そうの色、菌核、気中菌糸、輪帯形成等の記載を行った。また、菌糸の分岐点の狭窄、隔膜形成、着色および菌核を構成する細胞等について検鏡した。隔膜の形態は、油浸レンズ(×1000)を用いて調べた。菌糸の生育温度と速度は、0.1%酵母エキスを加えたPDA培地に菌糸を移植し、15～40℃、24～48時間培養後に測定した。

主軸菌糸の幅と細胞核数 菌糸幅は、25℃で2週間培養後の着色した主軸菌糸を、菌糸細胞の核数は、宇井・斉藤²¹⁾に準じて測定した。すなわち、スライドガラス上に2%蒸溜水寒天の薄層をつくり、その上に生育した菌そうを、鉄ミョウバン・ヘマトキシリン法で染色した。核数の測定は、主軸菌糸から分岐した菌糸の第1および第2細胞を対象とした。

チアミン要求性 Ogoshi ら⁹⁾の方法に準じ、基本培地とチアミン添加培地における菌の生育を比較し

た。基本培地の組成は、1 l 中にしょ糖30g、硝酸ナトリウム2g、硫酸マグネシウム0.5g、リン酸二カリ1g、塩化カリ0.5g、硫酸鉄0.2mg、硫酸亜鉛0.2mg、硫酸マンガン0.1mgであった。チアミン添加培地は、基本培地に 10^{-5} Mの塩酸チアミンを加えた。各培地を200 ml容三角フラスコに30 ml入れ、菌糸を移植し、28℃、14日間培養後菌体重を測定した。

病原性 ダイコン、キュウリ、トマト、インゲン、オオムギおよびイネの幼苗に対する病原性を調べた。Czapek-Dox液加用のふすま+パーミキュライト(1:1)培地に、25℃、2週間培養した菌糸を粉砕し接種源とした。オートクレーブ殺菌土壌または無殺菌土壌に、0.2、2%(v/v)の割合で接種源を混合し、素焼鉢(11.5×10.0 cm)に詰め播種した。1か月後に苗を抜き取り、立枯および根部の変色等を調べた。

完全時代形成 既知の菌糸融合群に属さない菌株より20菌株を選び、土壌法¹⁷⁾に準じて完全時代の形成を試みた。すなわち、0.5%酵母エキスと0.1%ペプトンを加えたPDA培地に、供試菌株を移植し、2、3日間培養したのち、菌そう上に土壌をのせ、過剰気味に灌水した。数日後に、実体顕微鏡下(×100)で土壌表面に形成された子実層をかき取り検鏡した。子実体の大きさは、担子柄、小柄、担子胞子をそれぞれ50～100個について測定した。

結 果

分離・類別

土壌へ挿入したソバ莖またはアマ莖トラップおよびダイコン罹病株から分離した *Rhizoctonia* 菌は、菌糸融合により類別を行った。著者ら³⁾は、さきにダイコン根腐病に関与する *R. solani* の菌糸融合群について報告したが、既知の菌糸融合群に属さない菌株は合計107菌株が得られた(Table 1)。これらの菌株は相互に菌糸融合を行い、1つの菌糸融合群と認められる。

本菌群の菌株は、香川県善通寺市の水田跡の秋播きダイコン畑に挿入したソバ莖から、9月～11月の間に91菌株が分離され、土壌に挿入したトラップの他、ダイコン幼苗の立枯株からも1菌株が得られた。しかし、ダイコン根腐病の罹病部からは全く分離されなかった。北海道から沖縄まで全国から採集した土壌のうち、奈良県、滋賀県および徳島県の土壌からそれぞれ5、2、8菌株分離された。

培養形態・生育温度

本菌群の菌株の培養形態は、各地の土壌から分離さ

Table 1. Source of AG-7 isolates of *Rhizoctonia solani*

Locality	Sampling Date	No. of isolate	Source
Oosa, Zentsuji, Kagawa	Sept. 5 '79-Oct. 23 '79	86	Soil ^{a)}
Zentsuji, Zentsuji, Kagawa	Oct. 15, '80	1	Soil
" " "	Nov. 30, '80	1	Radish
" " "	July 21, '81	4	Soil
Shijo, Kashiwara, Nara	May 25, '81	5	Soil
Azuchi, Gamoh, Shiga	June 3, '81	2	Soil
Ishii, Myozai, Tokushima	June 22, '81	2	Soil
" " "	"	6	Soil

a) Isolation from buckwheat or flax stem inserted into soils for 5-7 days.

れた菌株の間で差が認められず、培養形態によっても1つの菌群に類別できた。PDA上に生育した菌糸は、はじめ無色で、のちに茶褐色～褐色に変った。主軸菌糸の隔膜のそばで分岐し、分岐点は多少狭くなった。分岐菌糸は分岐点の近くで隔膜を形成した。隔膜はドリポア型であった。綿毛状の気中菌糸を生じ、菌そうをおおった。径1mm以下の綿毛状の菌糸塊を生じ、およそ2週間で固い菌核を形成し、これは、着色したタル型の細胞から成っていた。輪帯形成は不明瞭であった。

本菌群の菌株は、0.1%酵母エキス加用のPDA培地上で、15～40℃で生育し、最適温度は28～35℃であり、生育速度は24時間当たり25.5～27.0mmであった (Fig. 1)。

主軸菌糸幅

本菌群の6菌株について、着色した主軸菌糸の幅を測定したところ (Table 2)、菌株間に大差は見られず、最小6.4μm、最大9.8μm、平均値は7.80～8.27μmであった。

菌糸細胞の核数

本菌群の4菌株について、菌糸細胞の核数を測定し

Table 2. Measurements of width of mature main hyphae of AG-7 isolates of *Rhizoctonia solani*

Isolates	Average	Range
1529	8.03±0.31μm ^{a)}	6.4-9.5μm
1535	8.03±0.34	6.4-9.8
1538	7.90±0.33	6.4-9.8
1541	8.07±0.25	7.2-9.0
1556	7.80±0.28	6.4-9.0
1586	8.27±0.28	7.2-9.8

a) 95% confidence limits.

Table 3. Number of nuclei in the hyphal cell of AG-7 isolates of *Rhizoctonia solani*

Isolates	No. of nuclei per cell										Av.
	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
1534	3 ^{a)}	16	33	20	10	11	5	2	0		5.8
1541	1	24	31	15	15	7	5	2	0		5.7
1556	1	11	34	20	14	16	3	0	1		6.0
1586	2	25	33	22	10	5	3	0	0		5.4

a) No. of cells containing respective number of nuclei.

Table 4. Thiamine requirement of AG-7 isolates of *Rhizoctonia solani*

Isolates	Mycelial dry weight (mg)		
	Basal medium (A)	Basal medium+Thiamine-HCl (B)	B/A
1534	460 ^{a)}	393	0.85
1541	370	433	1.17
1556	407	400	0.98
1586	543	520	0.96
1601	403	460	1.14

a) Average of three replicates.

Fig. 1. Hyphal growth of AG-7 isolates of *Rhizoctonia solani*

Table 5. Measurements of fructifications of AG-7 isolates of *Rhizoctonia solani*

Isolates	Metabasidia		Sterigmata		Basidiospores	
	Length ^{a)}	Width	No. per basidium	Length	Length	Width
1529	12.5–23.5	7.0–10.0	(1–)4	5.5–14.0	7.5–12.5	5.0–6.5
	18.25±1.31 ^{b)}	8.18±0.25		8.77±0.89	9.90±0.71	5.83±0.25
1535	11.0–23.0	6.5–10.0	(1–)4	5.0–14.0	6.5–12.5	4.0–7.0
	18.90±0.42	8.46±0.28		8.89±0.63	8.83±0.99	5.42±0.45
1538	12.0–24.5	6.5–11.0	(2–)4	5.5–16.5	8.0–13.0	4.5–7.0
	19.35±1.34	8.54±0.36		10.42±0.74	10.35±0.99	6.19±0.48
1541	14.0–27.5	7.5–9.5	(1–)4	5.0–18.0	8.0–12.5	4.5–8.5
	21.02±1.57	8.38±0.26		9.17±0.65	9.77±0.41	6.05±0.32
1556	14.0–27.0	6.5–9.0	(1–)4	5.0–16.0	7.5–12.0	5.0–7.0
	19.61±1.15	8.06±0.26		8.01±0.65	9.48±0.38	6.15±0.21

a) μm , b) 95% confidence limits.

たところ (Table 3), 最少3, 最多11, 平均5.4~6.0で, 菌株間に差はなく, いずれも多核であった。

チアミン要求性

本菌群の菌株は, 基本培地およびチアミン添加培地いずれにおいても良く生育した (Table 4)。28C 2週間培養後の菌体重は, 基本培地で323~543mg, チアミン添加培地で393~520mgであり, その比は0.85~1.17で, おおむね1であった。すなわち, 本菌群の菌株はチアミン要求性をもたないと判断された。

病原性

ダイコン, キュウリ, トマト, インゲン, オオムギおよびイネに対し, 立枯症状が全く見られず, まれに根がわずかな黄褐色に変色をする以外はほとんど病原性を示さなかった。接種源量は0.2, 2%としたが, 比較のために用いた AG-4 と AG-2-2 の菌株では, 同一接種量でダイコン幼苗に100%立枯を起こした。

完全時代の形態

PDA 培地に生育した菌そうの上に土壌をのせ, 灌水して室温においたところ, 4, 5日で土壌粒子の表面に白色粉状の子実層を形成した (Plate I-1)。子実層は土壌表面に散在し, 匍匐する菌糸から短い分岐菌糸を多数生じ, 土壌粒子をおおうように形成した (Plate I-2)。

子実層から細いガラス針で子実体をかき取って検鏡したところ, 短棍棒形~円筒形の担子柄から角状の小柄を出し, 小柄の先端に倒卵形~楕円形の担子胞子を形成しているのが見られた (Plate I-3~5)。担子柄,

小柄および担子胞子はいずれも着色せず, また表面構造は認められなかった。担子胞子は小嘴があり (Plate I-6), 発芽してしばしば二次胞子を形成した (Plate I-7)。

完全時代形成を試みた菌株のうち, 5菌株の子実体の大きさを測定した (Table 5)。測定値は, 菌株間で大差は認められなかった。担子柄の大きさは, $11.0 \sim 27.5 \times 6.5 \sim 11.0 \mu\text{m}$ であった。担子柄の幅は, 支持菌糸の幅とほぼ同じかわずかに太かった。小柄の数は担子柄当たり (1~) 4本で, 長さは $5.0 \sim 18.0 \mu\text{m}$ であった。担子胞子の大きさは, $6.5 \sim 13.0 \times 4.0 \sim 8.5 \mu\text{m}$ であった。

考 察

本菌群の菌株は, *R. solani* の既知の菌糸融合群^{5,6)}の各菌株と融合せず, 本菌群の菌株間では菌糸融合をすることから, 1つの菌糸融合群を構成することは明らかである。これらの菌株は, Parmeter ら¹²⁾が挙げた *R. solani* の不完全時代の形質すべてを備えていた。

本菌群の子実層, 担子柄, 担子胞子などの形質を, Talbot^{18,20)}が挙げているツノタンシキン科 (Ceratobasidiaceae) の属の検索表と照合したところ, 本菌群は *Thanatephorus* 属に入ることが明らかとなった。すなわち, *Ceratobasidium* 属は担子柄が倒卵形でその幅が支持菌糸の2倍以上になることから *Thanatephorus* 属と区別出来る¹⁸⁾。*Uthatabasidium* 属の担子胞子は成熟すると淡黄色になり, 多くは小嘴が2個あること

や、菌核を形成しないことなどから *Thanatephorus* 属と区別出来る¹⁸⁾。本菌群の菌株の担子柄は短棍棒形～円筒形で、その幅は支持菌糸とほぼ同じであること、担子胞子は着色することなく、小嘴は1個であり、また菌核を形成することなどから *Thanatephorus* 属に入ると認められた。完全時代の測定値は、*T. cucumeris* についての既報のもの^{1,2,6,8,10,19)}と大差なく、Talbot^{18,19)}が報告している測定値の範囲内に含まれた。また、形態的特徴も既報の記載^{6,8,18,19)}と類似しており、本菌群は完全時代の形質から *T. cucumeris* (Frank) Donk と同定された。

本菌群の完全時代および不完全時代の諸性質を、既知の菌糸融合群の性質^{6,8,11,16)}と比較すると次のとおりである。

完全時代の形態を既報の測定値と比較してみると、担子柄が長いのが目立ち、幅のおよそ2倍であり、AG-2-1の値⁹⁾にやや近かった。Flentje⁹⁾は、現在AG-4と考えられている *Pellicularia praticola* の菌株は担子柄が細くて長い特徴をもち、長さは幅の2倍を越える値を示している。しかし、生越⁹⁾のAG-4の測定値にはそのような特徴がないことから、これらの性質は菌株により、あるいは条件により変ると考えられる。

R. solani の菌糸細胞の核数は多核とされ、完全時代が *Ceratobasidium* である2核の *Rhizoctonia* 菌と区別出来る¹³⁾。本菌群の菌株の菌糸細胞の核数は3～11個で多核であり、細胞核数の比較的少ないAG-4⁹⁾や核数の多いAG-BI⁶⁾以外の他の菌群^{6,8)}と差がなかった。*R. solani* の菌糸幅は6～10 μ mで、菌株による差が大きく、菌群類別に余り重要でない^{12,16)}とされながらも、菌群によりある程度の傾向が見られる^{6,9)}。本菌群の主軸菌糸幅は7.80～8.27 μ mで、他の菌群と比較して狭い方であり、AG-4の値^{8,16)}に近い。

生育適温の幅は比較的広いが、最適温度は28～35℃にあり、AG-1、AG-4⁹⁾やAG-6⁶⁾よりもさらに好高温性の菌群といえる。また、本菌群の菌株の生育速度はAG-1やAG-4と同様に速く^{8,16)}、25.5～27.0mm/24hr 伸長した。*R. solani* は、菌群によってチアミン要求性が異なるとされている^{8,16)}。本菌群の菌株は、AG-1、AG-2-1、AG-3、AG-4⁹⁾およびAG-6⁶⁾と同様に生育にチアミンを要求しない菌群である。

本菌群の分布についてはさらに検討しなければならぬが、北海道から沖縄まで全国36都道府県より集めた

土壌のうち、奈良県、滋賀県、徳島県、香川県の土壌から分離された。これらはいずれもわが国の西南暖地に位置し、この菌群の好高温性と関係があるかも知れない。本菌群の菌株はAG-6、AG-BI⁶⁾と同様に、各種作物に対し全く、あるいはほとんど病原性を示さなかった。

以上のように、本菌群は、完全時代および不完全時代の諸形質から *T. cucumeris* (Frank) Donk (= *R. solani* Kühn) と同定され、新しい菌糸融合群第7群 (AG-7) とすることを提案する。

摘 要

ダイコン根腐病に関与する *R. solani* を分離し類別する間に、既知の菌群と異なる菌群が発見された。完全時代の形態から本菌群の同定を試み、生育温度、菌糸幅、細胞核数、チアミン要求性、病原性などの諸性質を調べた。

1. 本菌群の菌株は、香川県善通寺市の秋ダイコン畑土壌およびダイコン立枯苗から分離された他、奈良県、滋賀県、徳島県の土壌からも得られた。

2. 菌そうは、茶褐色～褐色を呈し、綿毛状の気中菌糸が多く、径1mm位の菌糸塊を生じた。菌糸塊は後に黒褐色の固い菌核になった。PDA上、15～40℃で生育し、生育適温は28～35℃、生育速度は25.5～27.0mm/24hrであった。チアミン要求性はなかった。

3. 主軸菌糸幅は、最小6.4 μ m、最大9.8 μ mで6菌株の平均値は7.80～8.27 μ mであった。菌糸細胞の核数は、最少3、最多11、4菌株の平均値は5.4～6.0個であった。

4. ダイコン、キュウリ、インゲン、トマト、オオムギおよびイネに対する病原性はほとんど認められなかった。

5. 完全時代は、土壌表面に容易に形成した。担子柄は短棍棒形～円筒形で、11.0～27.5 $\times$ 6.5～11.0 μ mであった。小柄は角状で、担子柄当たり(1～)4本生じ、5.0～18.0 μ mであった。小柄の先端に倒卵形～橢円形の担子胞子を形成した。担子胞子は6.5～13.0 $\times$ 4.0～8.5 μ mであり、小嘴を有し、発芽して二次胞子を作ることがあった。

6. 本菌群は、完全時代の形態から *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk と同定し、*R. solani* の新しい菌糸融合群第7群 (AG-7) とすることを提案する。

引用文献

1. Exner, B. (1953). Mycologia 45: 698-716.
2. Flentje, N. T. (1956). Trans. Brit. mycol. Soc. 39: 343-356.
3. 本間善久・山下洋子・久保千冬・石井正義 (1980). 日植病報 46: 86.
4. Houston, B. R. (1945). Phytopathology 35: 371-393.
5. 国永史朗・横沢菱三・生越 明 (1978). 日植病報 44: 591-598.
6. 国永史朗・横沢菱三・生越 明 (1979). 同上 45: 207-214.
7. LeClerc, E. L. (1939). Phytopathology 29: 267-274.
8. 生越 明 (1976). 農技研報告 C・30: 1-63.
9. Ogoshi, A. and Ui, T. (1979). Ann. Phytopath. Soc. Japan 45: 47-53.
10. 鬼木正臣・生越 明・荒木隆男 (1980). 日植病報 49: 391.
11. Parmeter, J. R. Jr., Sherwood, R. T. and Platt, W. D. (1969). Phytopathology 59: 1270-1278.
12. Parmeter, J. R. Jr. and Whitney, H. S. (1970). In *Rhizoctonia solani*, Biology and Pathology (Parmeter, J. R. Jr. ed.). Univ. Calif. Press. pp. 7-19.
13. Parmeter, J. R. Jr., Whitney, H. S. and Platt, W. D. (1967). Phytopathology 57: 218-223.
14. Richter, H. and Schneider, R. (1953). Phytopath. Z. 20: 165-226.
15. Schultz, H. (1936). Arb. Biol. Reichsanst. für Land- und Forstwirtschaft. (Berlin) 22: 1-41.
16. Sherwood, R. T. (1969). Phytopathology 59: 1924-1929.
17. Stretton, H. M., McKenzie, A. R., Baker, K. F. and Flentje, N. T. (1964). *Ibid.* 54: 1093-1095.
18. Talbot, P. H. B. (1965). Persoonia 3: 371-406.
19. Talbot, P. H. B. (1970). In *Rhizoctonia solani*, Biology and Pathology. (Parmeter, J. R. Jr. ed.). Univ. Calif. Press. pp. 20-31.
20. Talbot, P. H. B. (1973). In *The Fungi*, vol. IV B. (Ainsworth, G. C. et al. eds.). Academic Press, New York. pp. 322-325.
21. 宇井格生・斎藤 泉 (1967). 北大農邦文紀要 6: 359-363.
22. 渡辺文吉郎・松田 明 (1966). 指定試 (病虫害) 3: 1-131.

Explanation of plate

Plate I.

The perfect state of new anastomosis group (AG-7) of *Rhizoctonia solani* Kühn [*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk].

1. Fructifications of isolate 1541 on soil.
2. Hymenia of isolate 1541 formed on soil particles.
- 3-5. Fruit bodies of isolate 1541 (Fig. 3), 1538 (Fig. 4) and 1556 (Fig. 5), showing metabasidia, basidiospores and sterigmata.
6. Basidiospores of isolate 1529.
7. Repetition of basidiospores of isolate 1529.

Plate I