水田から分離したイネの灰色菌核病菌と 褐色菌核病菌菌株の類縁関係の調査

稲垣公治*・故内記 隆**

Kimiharu INAGAKI* and the late Takashi NAKI**: A Survey on Relatedness among Field Isolates of *Sclerotium fumigatum* Nakata and *S. oryzae-sativae* Sawada Causing Rice Sclerotial Diseases

Abstract

Many isolates of *Sclerotium fumigatum* Nakata and *S. oryzae-sativae* Sawada from sheath blight-like lesions of rice plants in the paddy field were used for grouping by the hyphal anastomosis. Isolates from different lesions of the same sclerotial disease on a single rice hill were quite similar in the cultural characteristics. Perfect fusion without death of the cell was commonly observed when the hyphae of these isolates came into contact with each other on the plain agar medium. Therefore, single perfect fusion group (p-group), in which the perfect fusion was observed in the pairing test between two isolates, appeared to be dominant in a hill. When the disease caused by *S. fumigatum* or *S. oryzae-sativae* occurred widely in the field, 22-71 isolates of the respective fungus obtained from diseased plants in 30-35 plots (4.5-5.0 m interval between plots) in the field were assigned to at least 9-34 p-groups. In many cases, single p-group tended to distribute in a limited part of the field.

(Received April 23, 1987)

Key words: *Sclerotium fumigatum*, *S. oryzae-sativae*, hyphal fusion, paddy fields.

緒 言

イネの菌核病は不完全菌の無孢子菌目 (Agonomycetes) に属する *Rhizoctonia* や *Sclerotium* 属菌による場合が多く、一般に出穂後の登熟期に自然発病することが多い⁸⁾。これらイネ菌核病の多くは発生時期、発生部位、病徴などがよく類似している^{8,9,12)}。ため個々の病気の診断は非常に困難である。

前報⁹⁾において灰色菌核病と褐色菌核病は水田内の広い範囲に発生する傾向があることを報告した。菌核病が水田内で広く発生している場合、水田内の異なる地点から菌核病病斑を採集して病原菌を分離すると、同一の菌核病菌に所属するものの、菌そうや菌核の色、菌核や気中菌糸の形成量などの培養的性質が著しく異なる菌株が多く得られる。このことは、これらイ

ネ菌核病の発生には、遺伝的に性質を異にする多くの菌株が関与していることを示唆する。しかし、これまで水田内での各種イネ菌核病の発生に関して、病原菌の種内変異を考慮した調査、研究はきわめて少なく、生越・字井¹¹⁾の紋枯病菌についての報告のみである。本報告では、イネの各種菌核病の病斑から得た多くの分離菌株を用いて菌株間の類縁関係を調べた結果、同一の菌核病が遺伝的性質の異なる菌株によって起こることが判明したのでここにその概要を報告する。

本報告をまとめるにあたり、有意義な御助言をいただいた佐賀大学農学部野中福次教授、および実験中御指導をいただいた名城大学農学部牧野精助教授に感謝する。

* 名城大学農学部

Faculty of Agriculture, Meijo University, Nagoya 468, Japan

** 岐阜大学農学部

Faculty of Agriculture, Gifu University, Gifu 501-1, Japan

材料および方法

調査水田と病斑の採集 愛知県内の1市、1郡内の5水田を調査水田とした。イネ灰色菌核病の発生調査と病原菌 (*Sclerotium fumigatum* Nakata) 分離のための病斑採集は東海市養父町 (以下ではKS水田とする)、愛知郡東郷町 (TK, TO) の3水田で行った。イネ褐色菌核病の発生調査と病原菌 (*S. oryzae-sativae* Sawada) の分離は前記のKS, TOの2水田の他に愛知郡長久手町 (GS) および日進町 (NE) の2水田の計4水田で行った。これらの水田の面積は、KS, GS, TK, TOの4水田が5~6a, NE水田が10aであり、NE水田についてはその面積の約1/2を菌核病の発生調査の対象とした。なお、これら調査水田における灰色菌核病と褐色菌核病の発生地点率 { (菌核病発生地点数/調査地点数) × 100 } は、それぞれ51~63%, 33~73%であった (Table 4)。水田からの菌核病の病斑採集は、2地点間の距離が4.5~5.0mになるように選んだ1水田あたり30~35地点から、9月下旬~10月上旬に行った。なお、1地点とはイネの株数にして約10~20株の占める小範囲とし、この小範囲内の1~数株から4~10個の病斑を採集した。

菌株間の類縁関係 採集した菌核病病斑から常法によって病原菌を分離して、ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天斜面培地 (PSA) 上に生育させた。このPSA上に生育した分離菌株の菌そうの色、気中菌糸や菌核の形成量などに基づく培養的性質を調べて、菌株間で比較した。菌株間の培養的性質がきわめて類似する場合、これらの菌株を同一の培養型とした。

次に、これらの分離菌株を用いて同一菌種内の菌株間で対峙培養を行った。すなわち、9cmペトリ皿内

にスライドグラスを入れて素寒天培地の薄層を作り、この上に異なる2菌株のPSA菌そう片を4~7cm離して置いた。25~30℃で2~3日間培養した後、スライドグラスを取り出し、2菌株の菌糸先端部の接触部を150~600倍で顕微鏡観察した。そして、2菌株の菌糸融合の様式が細胞壁の溶解が完全な完全融合、細胞壁の溶解が不完全で致死反応が認められる不完全融合^{10,11)}のいずれであるか観察をした。2菌株の菌糸が完全融合を起こす場合には両菌株を同一の菌株群に入れ、また2菌株の菌糸が不完全融合を起こす場合には2菌株を別個の菌株群に分けた。このようにして、水田内の各種イネ菌核病病斑から得られた分離菌株のすべてを、菌種ごとにいくつかの菌株群に類別した。なお、同一の菌株群内のすべての菌株は相互に完全融合を起こすことから、以下ではこの菌株群を完全融合群とした。

結 果

同一イネ株内での完全融合群数

菌株間の培養的性質の比較

愛知県内の三河~三河山間部の水田で採集したイネ115株²⁾を供試した。これらのイネ株内の病斑から得られた灰色菌核病菌のイネ1株あたりの分離菌株数は平均11菌株で、このうち86%に相当する9菌株が同一の培養型に所属した (Table 1)。また、褐色菌核病菌のイネ1株あたりの分離菌株数は平均24菌株で、その97%に相当する23菌株が同一の培養型に所属した。なお、Fig. 1に灰色菌核病菌と褐色菌核病菌の各3菌株の菌そうを示したが、両菌とも1と2の2菌株は同一の培養型、3は別個の培養型に所属する。

Table 1. Similarity in cultural characteristics^{a)} of different isolates of *Sclerotium fumigatum* and *S. oryzae-sativae* derived from sheath blight-like lesions in a single rice hill

Fungus	The number of				Similarity (%:B/A)
	hills tested	total isolates	isolates per hill (A)	isolates showing same colony type ^{b)} (B)	
<i>S. fumigatum</i>	35	386	11.0	9.4	85.5
<i>S. oryzae-sativae</i>	54	1270	23.5	22.8	97.0

a, b) See Fig. 1.

Fig. 1. Different isolates of *Sclerotium fumigatum* and *S. oryzae-sativae* derived from sheath blight-like lesions in a single rice hill. Isolate 1 and 2 are similar in characteristics in mycelial color, production of aerial hyphae and sclerotial formation and distribution on PSA-plate. These two isolates were classified in the same colony type. Sf: *S. fumigatum*. So: *S. oryzae-sativae*.

Table 2. Numerical relationships between colony types^{a)} and perfect fusion groups (p-group)^{b)} of *Sclerotium fumigatum* derived from sheath blight-like lesions in a single rice hill

No. of hills tested	The number of			
	isolates collected	isolates used for pairing test	colony types ^{a)}	p-groups ^{b)}
76	40	20	1	1
98	28	13	1	1
104	10	10	2	2
105	33	18	3	3

a) See Fig. 1.

b) Isolates usually anastomosed perfectly with all others belonging to the same p-group, but anastomosed imperfectly with isolates belonging to the different groups.

菌株間の菌糸融合の観察

同一イネ株から得られた菌核病菌の菌株の培養型の数と完全融合群数との関係を灰色菌核病菌について調べ、その結果を Table 2 に示した。イネ 4 株からの灰色菌核病菌の分離菌株の培養型は 1～3 種であり、また完全融合群数は 1～3 個で培養型の数とよく一致した。イネ 4 株のうち No. 104 株から得られた灰色菌核病菌 10 菌株は 2 種の培養型に分けられ、No. 1～8 の 8 菌株、No. 9 および No. 10 の 2 菌株がそれぞれ同一の培養型であった。同一の培養型に属する菌株間では菌糸が完全融合し、異なる培養型に属する菌株

間では不完全融合であった (Table 3)。

水田内での完全融合群数とその分布

完全融合群数

灰色菌核病菌と褐色菌核病菌は 1 水田あたり、それぞれ 36～70、22～71 菌株が得られ、1 水田内の完全融合群数はそれぞれ 22～34 個、9～24 個であった (Table 4)。完全融合群数は菌核病の発生地点数と関連し、灰色菌核病の発生が比較的少ない TK 水田、褐色菌核病の少ない NE 水田や KS 水田では、いずれも完全融合群数が少なかった。なお、水田における灰色菌核病の発生地点数と完全融合群数との間の相関係数は

Table 3. Hyphal anastomosis between isolates of *Sclerotium fumigatum* derived from sheath blight-like lesions in a single rice hill

Isolates ^{a)} (No.)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	P ^{b)}	P	P	P	P	P	P	P	I	I
2		P	P	P	P	P	P	P	I	I
3			P	P	P	P	P	P	I	I
4				P	P	P	P	P	I	I
5					P	P	P	P	I	I
6						P	P	P	I	I
7							P	P	I	I
8								P	I	I
9									P	P
10										P

a) Isolates No. 1-8 and No. 9-10 belonged to the same colony types, respectively.

b) P: perfect fusion, I: imperfect fusion.

Table 4. The number of perfect fusion groups (p-group)^{a)} of *Sclerotium fumigatum* and *S. oryzae-sativae* in the different paddy fields

Fungus	Paddy field	The number of				Ratio (B/A)
		plots surveyed (T)	plots diseased ^{b)} (A)	isolates in total	p-groups ^{a)} (B)	
<i>S. fumigatum</i>	KS	35	22 (62.9) ^{c)}	47	27	1.2
	TK	35	18 (51.4)	36	22	1.2
	TO	35	22 (62.9)	70	34	1.5
	Total	105	62 (59.0) ^{d)}	153	83	1.3 ^{d)}
<i>S. oryzae-sativae</i>	KS	35	15 (42.9)	35	13	0.9
	GS	30	22 (73.3)	71	24	1.1
	TO	30	16 (53.3)	62	17	1.1
	NE	30	10 (33.3)	22	9	0.9
	Total	125	63 (50.4) ^{d)}	190	63	1.0 ^{d)}

a) See Table 2.

b) Plots where rice sclerotial disease was occurred.

c) Percentage: (A/T)×100.

d) Average.

0.814, また褐色菌核病については0.981であった。

1 地点あたりの完全融合群数

水田内の1地点にみられる完全融合群数は灰色菌核病菌では1～5個, 褐色菌核病菌では1～4個であった (Table 5)。しかし, 両菌ともすべての菌核病発生地点数のうちの56～57%の地点では1個の完全融合群のみしか認められず, 3～4個の完全融合群が認められる地点はきわめて少なかった。1地点に認められる完全融合群の平均値 (Table 4 の B/A 値) は, 灰色

菌核病菌では1.2～1.5個, 褐色菌核病菌では灰色菌核病菌に比べて少なく0.9～1.1個であった。したがって, 水田内の一定範囲の菌核病の発生には, 灰色菌核病がより多くの完全融合群を必要とすることが明らかとなった。

完全融合群の分布

灰色菌核病菌と褐色菌核病菌の完全融合群の水田における分布を Fig. 2 と Fig. 3 に示した。水田にみられたすべての完全融合群を数字で示し, また複数の

Table 5. The number of perfect fusion groups (p-group)^{a)} of *Sclerotium fumigatum* and *S. oryzae-sativae* per plot in the different paddy fields

Fungus	Paddy field	The number of plots					
		The number of p-groups ^{a)} per plot					
		1	2	3	4	5	Total
<i>S. fumigatum</i>	KS	12	6	4	0	0	22
	TK	12	6	0	0	0	18
	TO	11	5	4	1	1	22
	Total (%)	35 (56.5)	17 (27.4)	8 (12.9)	1 (1.6)	1 (1.6)	62 (100.0)
<i>S. oryzae-sativae</i>	KS	9	6	0	0	0	15
	GS	13	7	0	2	0	22
	TO	5	8	3	0	0	16
	NE	8	2	0	0	0	10
	Total (%)	35 (55.5)	23 (36.5)	3 (4.8)	2 (3.2)	0 (0.0)	63 (100.0)

a) See Table 2.

Fig. 2. Distribution of perfect fusion groups (p-group) of *Sclerotium fumigatum* in the different paddy fields. Each number corresponds to p-group and one in circle indicates the presence in the another plot of the paddy field. The same number printed in the different fields, for instance 1 in KS field and 1 in TK field, were quite different p-groups. The length of each side of a division is 4.5–5.0 m, therefore, the area of a division is 20–25m².

Fig. 3. Distribution of perfect fusion groups (p-group) of *Sclerotium oryzae-sativae* in the different paddy fields. See Fig. 2.

地点で認められた完全融合群は○で囲った。なお、異なる水田間で同じ数字がみられるが、これらの数字は別個の完全融合群であり、また 1 区画の面積は 20～25 m² である。前記のように完全融合群の多くは水田内の 1 地点にのみ認められたが、灰色菌核病菌の完全融合群のうちの 9～22%，褐色菌核病菌では 22～47% の完全融合群が複数の地点に認められた。これら複数の地点に認められる完全融合群は、水田内の比較的近隣の地点に認められることが多かった。このような完全融合群は灰色菌核病菌では TO 水田の No. 1, 3, 4, 5, 褐色菌核病菌では GS 水田の No. 1, 2, 3, 6, 8 である。しかし、灰色菌核病菌では、KS 水田の No. 6 のように、水田内の 20～25 m 離れた地点に同一の完全融合群が認められる場合もあった。

考 察

Rhizoctonia solani Kühn およびその近縁菌の菌種間あるいは系統間の類縁関係を知るための方法として、これまで多くの研究者によって菌糸融合が利用されてきた^{4-6,10}。この菌糸融合には完全融合、不完全融合および接触融合があり^{5,10}、菌糸が相互に完全融合するいくつかの菌株は菌そう形態がよく類似し^{5,15}形態的および生理的諸性質においてきわめて類縁関係が高いとされている。また、近年生越・宇井¹¹ および西村・杉本⁷ は *R. solani* の同一菌糸融合群内の菌株の異同を知るのに S, K 反応¹² のような菌糸融合の様式の調査が有効であることを指摘している。

灰色菌核病菌および褐色菌核病菌の2菌種においても *R. solani* の場合と同様、菌糸融合に基づいて菌株間の類縁関係を判別することができた。調査水田内における完全融合群の数は菌核病の発生病点が多い場合に多い傾向にあり、灰色菌核病菌で22~34個、褐色菌核病菌で9~24個の範囲にあった。水田内でのこのような完全融合群の多様性は、灰色菌核病菌および褐色菌核病菌が担孢子を形成すること¹³⁾、および両菌が菌核を形成するために隣接水田から遺伝的性質の異なる菌核が容易に混入することと関係するものと考えられる。また、*R. solani* の変異¹⁶⁾ の要因として重要なヘテロカリオシスも *Sclerotium* 属菌の変異の1要因となっていることも推察される。

灰色菌核病菌と褐色菌核病菌のイネ1株内の完全融合群数は1個の完全融合群が優占している場合が多く、また同一水田内の近隣の地点間には同一の完全融合群が存在することが多かった。一方、*R. solani* の汚染圃場¹¹⁾ では、ジャガイモの同一塊茎上から分離される AG-3 の菌株がすべて同一クローンであり、AG-1 に属する同一クローンは水田の 26 m² の区画内から認められることが知られている。また、テンサイ圃場⁷⁾ においては、AG-2-2 の1菌株の占める範囲は狭く、場所が異なると異なる融合親和性グループ (a~c グループ) が存在するとされている。菌株間の菌糸融合の様式によって多くの菌株を類別し、その結果得られた菌株群は、*R. solani* の場合にはクローン¹¹⁾、a~c グループ⁷⁾、白絹病菌では interaction group (嫌触帯の有無が第1義的に考慮されている)¹⁴⁾ と呼ばれ、本実験では完全融合群としたが、これらはいずれもきわめて類似した、または同義の用語と考えられる。したがって、*Sclerotium* 属菌の完全融合群の分布範囲も *R. solani* の場合と同様に水田内の一部に

限定されていると推察される。このような完全融合群の水田内での分布範囲は前述の菌核の浮遊・移動距離に相当するものか、あるいは担孢子の飛散距離に相当するものかは興味深い点である。

以上のように水田における同一イネ株での菌核病の発生には主に1個の完全融合群が、また水田での広範囲な菌核病の発生には遺伝的性質の異なる多くの完全融合群が関与していることが明らかとなった。水田に分布している多くの完全融合群のうち、翌年あるいはそれ以後にまで水田に残存して同じ菌核病をひき起こす完全融合群の数や生理・生態的性質を知ることが、菌核病の発生生態を知る上できわめて重要であり、今後の課題である。

摘 要

イネの菌核病病斑から得られた灰色菌核病菌および褐色菌核病菌の菌株を菌糸融合により類別し、その結果得られた菌株群と水田内における菌核病の発生との関係について調べた。イネ1株内の同一菌核病による病斑から得られた多くの菌株は、PSA 上での菌そう形態がよく類似しており、これらの菌株間の菌糸融合は通常致死反応を伴わない完全融合であった。したがって、イネの1株内には1個の完全融合群(菌株間の菌糸融合の様式が完全融合である菌株群)が優占して菌核病をひき起こしている場合の多いことが分かった。灰色菌核病や褐色菌核病が水田内で広範囲に発生している場合、水田内の30~35地点(地点間の間隔は4.5~5.0 m)から得られた菌核病菌の22~71菌株は、少なくとも9~34個の完全融合群に類別できた。多くの場合、1個の完全融合群は水田内のごく限られた範囲内に分布する傾向があった。

引 用 文 献

1. Flentje, N. T. and Stretton, H. M. (1964). Aust. J. Biol. Sci. 17: 686-704.
2. 稲垣公治 (1983). 日植病報 49: 736-738.
3. 稲垣公治・伊藤勝広 (1985). 関西病虫研報 27: 15-19.
4. 伊藤一雄・紺谷修治 (1952). 林試研報 54: 45-78.
5. Matsumoto, T., Yamamoto, W. and Hirane, S. (1932). J. Soc. Tropical Agr. 4: 370-388.
6. 中田覚五郎・河村栄吉 (1939). 農林省農事改良資料 139: 1-176.
7. 西村範夫・杉本利哉 (1985). 北海道農試研報 142: 1-7.
8. 野中福次 (1977). 九病虫研会報 23: 15-17.
9. 野中福次・田中欽二・坂田 晃 (1979). 同上 25: 3-5.
10. 生越 明 (1976). 農技研報 C 30: 1-63.
11. 生越 明・宇井格生 (1983). 日植病報 49: 239-245.
12. 鬼木正臣 (1979). 植物防疫 33: 373-379.
13. 鬼木正臣・生越 明・荒木隆男 (1986). 日菌報 27: 147-158.
14. Punja, Z. K. and Grogan, R. G. (1983). Phytopathology 73: 1279-1284.
15. Tu, C. C., Roberts, D. A. and Kimbrough, J. W. (1969). Mycologia 61: 775-783.
16. Whitney, H. S. and Parmeter, J. R. Jr. (1963). Can. J. Bot. 41: 879-886.