

琉球大学学術リポジトリ

Rhizoctonia solani Kuhn (AG-1,IA) の菌核形成に及ぼす単色光の影響(農学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 諸見里, 善一, 中川, 智秀, 田盛, 正雄, Moromizato, Zenichi, Nakagawa, Toshihide, Tamori, Masao メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3871

Rhizoctonia solani Kühn (AG-1, IA) の菌核 形成に及ぼす単色光の影響

諸見里善一*, 中川智秀**, 田盛正雄*

Zenichi MOROMIZATO, Toshihide NAKAGAWA and Masao TAMORI : The effect of monochromatic light on sclerotial formation of *Rhizoctonia solani* Kühn (AG-1, IA)

Summary

Effects of four coloured and near-ultraviolet lights irradiation on sclerotial morphogenesis of two isolates of *Rhizoctonia solani* were examined. The hyphal linear growth of the isolates was not obviously affected by every light without in C-14 isolate by near-UV.

On the other hand, the number of sclerotia was slightly decreased in C-324 isolate by near-UV while increased by other light in C-14 in particular. The total weight formed in a Petri dish was increased in two isolates by near-UV, especially about 60% in C-14. The pigmentation of sclerotia during maturation was inhibited by every light, which well agreed with the decrease of tyrosinase activity catalyzes melanization.

緒 言

Rhizoctonia solani Kühnは多犯性の土壌伝染性植物病原菌で、多くの系統は菌核を形成する。菌核は菌糸が融解・融合し、織り込み合った構造で、全体にメラニンが沈着した直径2～5mmの球形～亜球形又は不整形の耐久器官である。

菌核は菌糸や胞子に比べて土壌中の種々の環境条件に対して耐久力が強く、多くの病害の第一次伝染源となっている。一般に、菌類の形態形成には栄養源や無機イオンなどの化学的要因の他、温度、湿度、光などの物理的要因が影響することが知られている。

大森^{25,26)}らは、イネいもち病菌やカンキツ黒点病菌の胞子形成が近紫外線光照射により促進される事を明らかにした。また、*Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Verticillium* および *Botrytis* 属菌などの菌核形成菌の生育、菌核形成及び胞子形成が光により影響されることが知られている^{1-6,10-15,17,18,29-32)}。

著者らは先に *R. solani* の菌核形成は白色蛍光灯の照射により誘発されることを報告した。しかし、その実験においては波長域の広い光源を単一の照度で照射したため、その中の何れの波長が菌核形成のどの段階に作用したか不明であり、また、それぞれの波長によって反応が変化する事も考えられる。このことを明らかにするために、本実験においては菌体に波長域を異にする5種類の光を照射して菌糸生育

*琉球大学農学部農学科

**農林水産省那覇植物防疫事務所

琉球大学農学部学術報告 36:11~18 (1989)

や菌核形成に及ぼす影響を検討した。

材料及び方法

1. 供試菌株：本実験に使用した菌株は *Rhizoctonia solani* のC-14及びC-324株を用いた。これらはそれぞれハマスゲ及びサトウキビから分離され、いずれも菌糸融合群AG-1群、培養型IA型に属し、農業技術研究所から分譲されたものである。

2. 光源：光照射区は(1)近紫外光区(松下電気株式会社：FL20.BLB),(2)青色光区：(FL20.SB),(3)緑色光区：(FL20.SG),(4)黄色光区：(FL20S.SY),(5)赤色光区：(FL20S.R)の5区を設定し、すべて20Wの色蛍光灯を使用した。各光源の分光分布はFig. 1に示した。

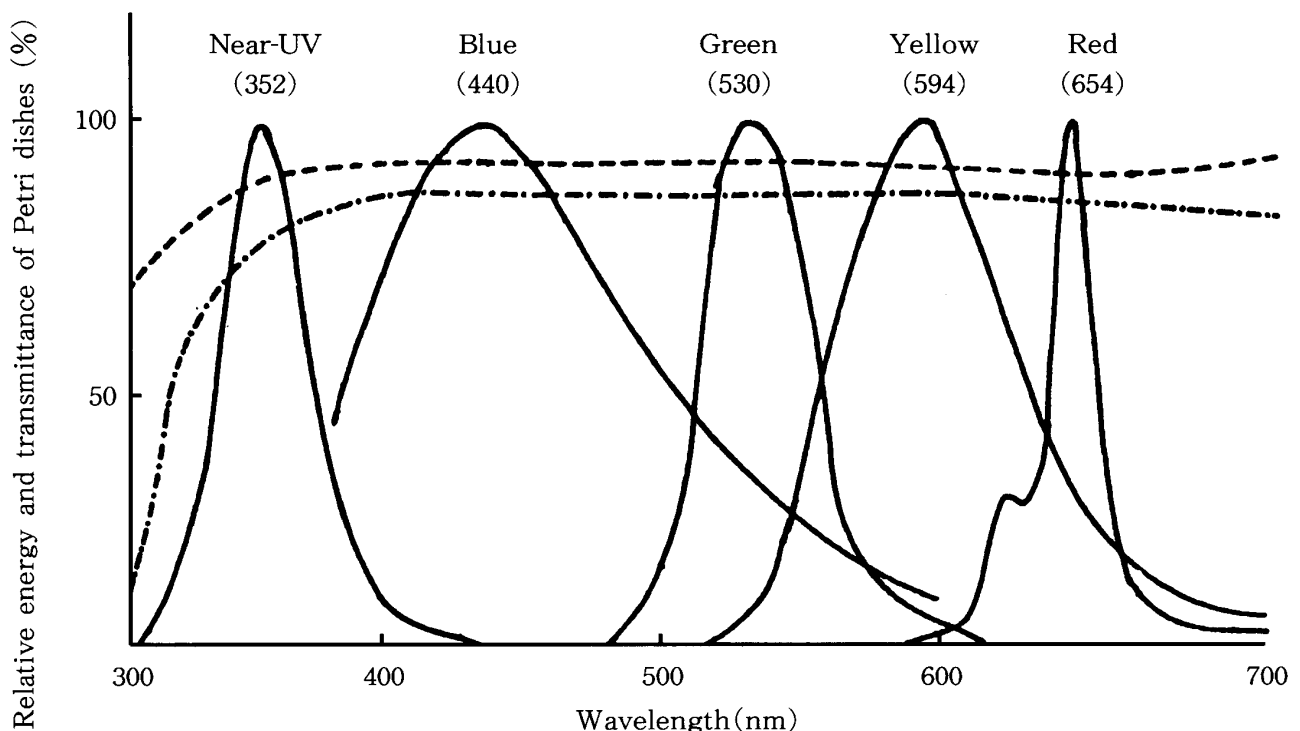


Fig. 1. Distributional curves of spectral energy and transmittance of Petri dishes.

— : Spectral energy — — — : Plastic Petri dish - · - : Grass Petri dish.

3. 培養及び測定 (1) 光質の影響：供試菌株をPDA (ジャガイモ200g, ブドウ糖20g, 寒天末20g, 蒸留水1,000ml) を15ml分注したシャーレ (9cm) で約36時間前培養し、その菌叢の先端部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜いたディスクをPDA上に移植し、青色光, 緑色光, 黄色光及び赤色光の4区は培地面の照度が1,000lx.になるように照射し、近紫外光区は培地面の近紫外線強度が $550 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ になるように照射して25Cの温度下で培養した。また、近紫外光はガラスシャーレに対する光線透過率が低下することから、本照射区のみプラスチックシャーレを使用した(Fig. 1)。

培養24時間後に菌叢直径を測定し、2週間後に形成された菌核数及び菌核乾燥重量を測定した。菌核数は、直径0.2mm以上のものを計数し、乾燥重量は、100Cで30分間乾燥して、さらにデシケーター内に3~5日間置いたのち秤量した。また、暗黒下25Cで培養したものを対照区とした。

(2) 可溶性タンパク質, 核酸及び酸化酵素類の活性の測定：透析膜を敷いたPDA培地に菌を移植し、約48時間培養した後、菌体を採取し、これに7倍量の0.05Mリン酸緩衝液 (pH6.5) を加え磨碎・

ホモジナイズし、3,500rpmで30分遠心した上清を0.02Mリン酸緩衝液 (pH6.5) に対し、12時間透析したのち、ミニコンB-15濃縮脱塩器 (Amicon Ltd) で25倍に濃縮したものを試料として用いた。可溶性タンパク質および核酸の相対濃度の測定は、0.05Mリン酸緩衝液 (pH6.5) 10ml に対し、試料50 μ l を加え、分光光度計 (島津製作所: UV-180) でそれぞれ280, 260nmの吸光度を測定した。また、Laccaseは0.48% *o*-Dianisidine を溶解した0.02M酢酸緩衝液 (pH4.0) 10ml, Peroxidaseは0.005% 3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride を溶解した0.01M酢酸緩衝液 (pH4.5) 9 mlに0.1%過酸化水素水 1 mlを加えた液 (10ml) またTyrosinaseは0.4% L-Dihydroxyphenylalanine を溶解した0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.5) 10mlにそれぞれ50 μ lの試料を加え、37Cで1時間インキュベートしたのち、それぞれの吸光度 (Laccase:420nm, Peroxidase:450nm, Tyrosinase:475nm) を測定した。

結 果

1. 各波長下における菌核の形成状態: C-14及びC-324株は、暗黒下ではシャーレの縁からやや内側に顕著なゾーンを作って菌核を形成し、着色は良好で暗褐色を呈していた。これに対し光照射区においては、近紫外光区で、菌核はシャーレの縁付近に互いに融合し合って盤状となり、半ば倍地中に埋まって形成され、色は淡褐色であった (Fig. 2)。

一方、青色光区では、近紫外光区に比べるとシャーレの縁周辺にやや分散して形成され、着色は暗黒区に比べるとかなり劣り、中には全く着色していないものも認められた。緑色光区では、シャーレの比較的 inner 側に分散して形成され、着色は劣った。この傾向は、黄色や赤色光区でも認められ、菌核は極めて微細なものが多く、着色も劣り、これらの区ではまた菌糸の褐色化も認められた。

2. 菌糸生育及び菌核形成に及ぼす光質の影響: 菌叢直径は、C-14株の近紫外光区で約16%減少したが、他区では差は認められなかった。菌核数は、C-14株では全照射区で約27~185%の著しい増加が認められ、特に近紫外光区においては多数形成されたのち互いに融合しあい測定できなかった。一方、C-324株の近紫外光区で僅かに減少したほかは、全照射区で約16~63%の増加が認められた。

Table 1. The effect of monochromatic light on mycelial growth and sclerotial formation of *Rhizoctonia solani* Kühn

Isolates	Continuous irradiation of monochromatic light					Control
	Near-UV	Blue	Green	Yellow	Red	Dark
C-14 Diameter of culture(mm)	33.20**	40.91	42.00	41.31	40.00	39.55
Number of sclerotia	—	381.86**	296.68**	170.96**	316.04**	133.91
Total dry weight of sclerotia(mg)	148.80**	102.93**	96.35	70.61**	100.09*	91.28
C-324 Diameter of culture(mm)	44.77	45.89	43.77	48.16	45.61	46.05
Number of sclerotia	62.23**	79.32**	111.72**	98.96**	105.00**	68.37
Total dry weight of sclerotia(mg)	132.29**	111.28	117.45	112.93	114.30	108.46

Note: Mycelial growth was measured at 24 hours after inoculation and total dry weight of sclerotia in a colony was at 14 days.

** Significant at the 99 % level

* Significant at the 95 % level

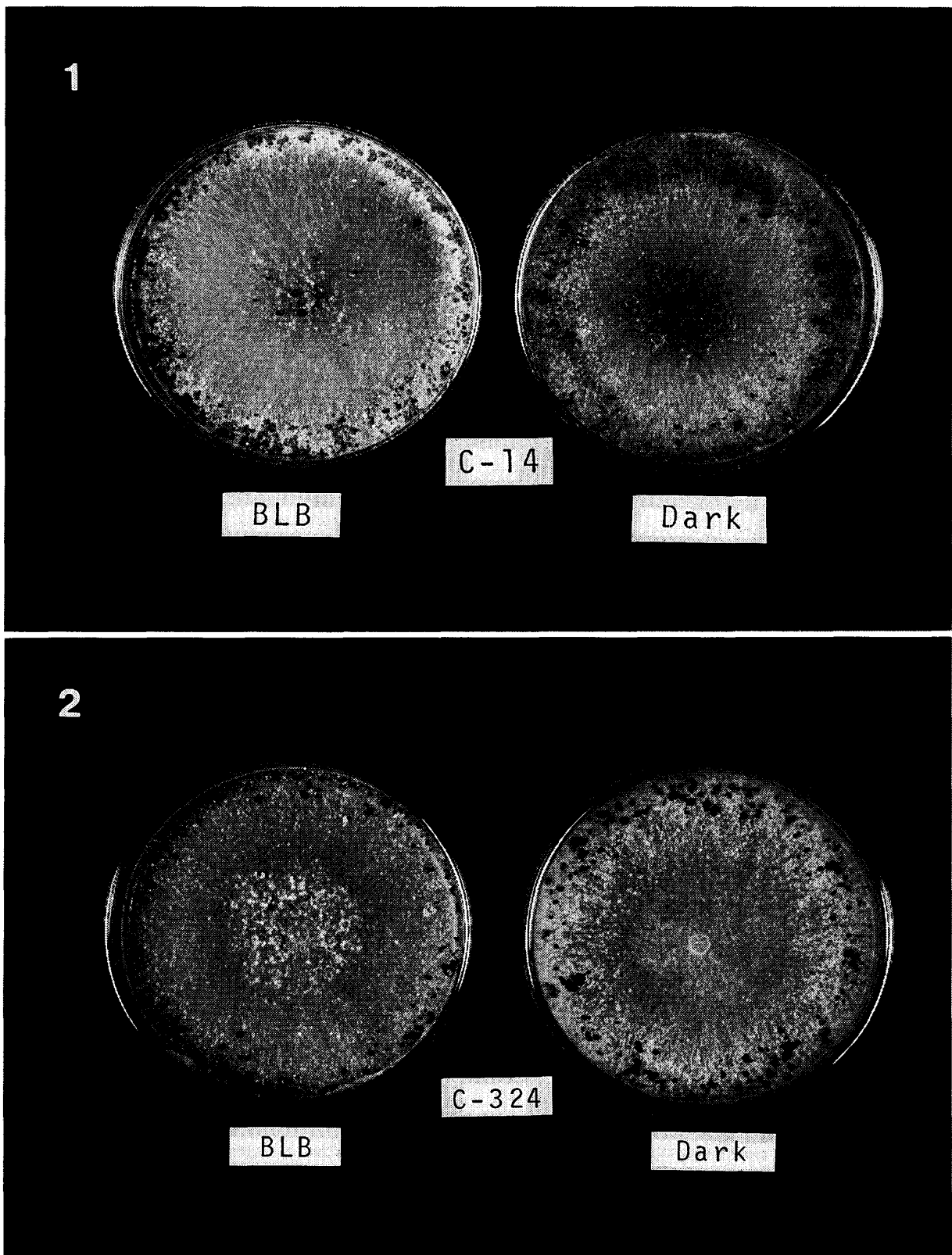


Fig. 2 . The comparison of the pigmentation and the manner of sclerotial formation of *R. solani* (1:C-14,2:C-324) cultured under near-ultraviolet light irradiation and dark condition.

菌核乾燥重量は、C-14株では、青色光以上の長波長域で約10~20%内外の増減が認められたが、その差は比較的小さかった。しかし、近紫外光区では約63%の著しい増加が認められた。同様に、C-324株では、青色光以上の長波長域では暗黒と差が認められなかったが、近紫外光区では約20%増加した (Table 1)。

3. 可溶性タンパク質、核酸及び酸化酵素類の活性の変化：可溶性タンパク質及び核酸の相対濃度、さらに Laccase及び Peroxidaseの活性に差異は認められなかった。しかし、Tyrosinaseの活性は、全照射区で著しい低下が認められた (Table 2, 3)。

Table 2. The effect of monochromatic light on soluble protein and nucleic acid of *R. solani*

Isolates	Constituents	Continuous irradiation of monochromatic light					Control
		Near-UV	Blue	Green	Yellow	Red	Dark
C-14	Soluble protein	0.183	0.165	0.192	0.254	0.150	0.167
	Nucleic acid	0.309	0.284	0.307	0.449	0.256	0.279
C-324	Soluble protein	0.157	0.213	0.264	0.246	0.137	0.192
	Nucleic acid	0.266	0.373	0.471	0.437	0.233	0.327

Note: Each value represents relative optical density.

Table 3. The effect of monochromatic light on three enzymes' activities of *R. solani*

Isolates	Enzymes	Continuous irradiation of monochromatic light					Control
		Near-UV	Blue	Green	Yellow	Red	Dark
C-14	Laccase	0.310	0.345	0.264	0.329	0.311	0.293
	Peroxidase	0.339	0.287	0.307	0.413	0.271	0.282
	Tyrosinase	0.053**	0.038**	0.055**	0.084**	0.035**	0.159
C-324	Laccase	0.276	0.332	0.267	0.292	0.297	0.311
	Peroxidase	0.263	0.376	0.381	0.302	0.205	0.318
	Tyrosinase	0.079**	0.133**	0.113**	0.097**	0.067**	0.479

Note: Each value represents relative optical density.

** Significant at the 99 % level

考 察

Rhizoctonia 属菌の菌糸生育や菌核形成に及ぼす光の影響に関する報告は少ない。Durbin⁷⁾は、*R. solani* の菌糸伸長は白色光照射によって影響されないが、菌糸乾燥重量は減少することを報告して

いる。また、工藤と坂元¹⁶⁾は*Rhizoctonia*属菌の菌糸伸長は、近紫外光以上の長波長の光には影響されないが、紫外線により著しく阻害され、菌核形成量は光照射により減少し、その作用は短波長ほど強い事を報告している。

本実験においても、これらの報告と類似した結果が得られた。*R. solani*のC-14及びC-324株に青色光以上の可視光を照射しても菌糸伸長及び菌核重量にはほとんど影響がなかったが、菌核の数は増加し、着色化は低下した。しかし近紫外光照射では、その反応は他の照射区と異なり、C-14株では菌糸伸長が抑制され、菌核は互いに融合して盤状となり、着色も阻害された。またC-324株では菌糸伸長には差が認められなかったが、菌核数は減少し、同様に着色も低下した。一方、両菌株で菌核の重量が増加し、その傾向はC-14株で顕著であった。さらに、この株では光質により菌核形成位置の変動が激しく、菌株間の光に対する感受性はC-14株の方が高いと考えられる。Brand¹⁴⁾らは白色光や近紫外光照射が*Verticillium*属菌の小菌核の形成やメラニン化を遅延、抑制又は阻害することを報告している。MillerとLiberta¹⁸⁾は、*Sclerotium rolfsii*のTyrosinaseの活性は菌核形成中に高まり、この活性レベルは、青色光や白色光照射により低下することを報告している。本実験においても光照射により、Tyrosinaseの活性は著しく低下した。また、これは菌核の着色低下とよく一致したが、その原因はメラニン化を触媒するTyrosinaseの活性が抑制されたためと考えられる。

一方、菌核重量は近紫外光区で著しく増加した。Humpherson-JonesとCooke¹¹⁾は*Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*及び*S. delphinii*の菌核形成は、青色光照射により促進されるが、菌核重量には変化はないことを報告している。しかし同時に、*S. sclerotiorum*及び*S. delphinii*に近紫外光を照射すると、菌核重量が増加することも報告している。著者らは先に*R. solani*の菌核形成に及ぼす各種栄養源や光の影響を検討した。

その結果、菌核形成量は培地の炭素源の濃度に依存し、さらに白色蛍光灯を照射すると菌核数が増加するが、総重量は変化しないことを明らかにした。しかし、その実験で使用した光源は、波長域が400nm以上の可視光域の蛍光灯で、近紫外光のような400nm以下の短波長域の光はほとんど含んでいない。このことから、近紫外光照射により菌核重量が増加したことは特異的な反応と考えられる。本実験においては菌核の形成量は光質や菌株により異なり、その反応に一定の関係を見出す事はできなかった。

一般に、真菌類は転流菌と非転流菌に分けられる。*R. solani*のような菌核形成菌は前者に属する。菌核形成は多くは栄養源の乏しい部分で起こり、そのため以後の成熟に必要な養分は、栄養の豊富な部分から菌糸内を転流して運ばれる³³⁾。本実験において、特に近紫外光区のような短波長域区では菌核の形成位置や形成数・量が変化したことは光照射により転流等が変化したためと考えられる。しかし本菌の菌核形成にエイジングや転流がどのようなメカニズムで作用しているか不明な点が多く今後の研究が必要である。

摘 要

Rhizoctonia solani Kühnの菌核形成に及ぼす4種類の単色光及び近紫外光の影響を検討した。菌糸の伸長はC-14株の近紫外光区以外の区ではほとんど影響は見られなかった。一方、菌核数はC-324株の近紫外光区で僅かに減少したが他の区では増加し、特にC-324株でその傾向は著しかった。1シャーレ当たり形成された菌核の総重量は両菌株とも近紫外線照射により増加し、特にC-14株では60%増加した。菌核の成熟に伴う着色化はすべての照射区で抑制されたがこれはメラニン化を触媒するTyrosinaseの活性の低下と一致した。

引用文献

1. Brand, W.H. 1963 Effects of near-ultraviolet radiation on growth of *Verticillium* in liquid

- culture, Amer. Jour. Bot. 50:625(abstr.)
2. ————— 1964 Morphogenesis in *Verticillium*: Effects of light and ultraviolet radiation on microsclerotia and melanin, Can. J. Bot. 42:1017-1023
 3. ————— and Reese, J. E. 1963 A morphogenetic factor produced by *Verticillium*, Amer. Jour. Bot. 50:613(abstr.)
 4. ————— and ————— 1964 Morphogenesis in *Verticillium*: A self-produced, diffusible morphogenetic factor, Amer. Jour. Bot. 51(9):922-927
 5. Carlile, M. J. 1975 The photobiology of fungi, Ann. Rev. Plant Physiol. 16:175-202
 6. Chet, L. and Henis, Y. 1975 Sclerotial morphogenesis in fungi, Ann. Rev. Phytopath. 13:169-192
 7. Durbin, R. D. 1959 Some effects of light on the growth and morphology of *Rhizoctonia solani*, Phytopathology 49:59-60
 8. 本田雄一 1979 糸状菌の胞子形成と光条件, 植物防疫33(10):430-438
 9. ————— 1982 紫外線除去フィルム及び青色光の夜間照射による病害防除, 植物防疫36(10):457-465
 10. Honda, Y. and Yunoki, T. 1975 On spectral dependence for maturation of apothecia in *Sclerotinia trifoliorum* Erik, Ann. Phytopath. Soc. Japan 41(4):383-389
 11. Humpherson-Jones, F. M. and Cooke, R. C. 1977 Morphogenesis in sclerotium forming fungi: Effects of light on *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium delphinii* and *S. rolfsii*, New Phytol. 78:171-180
 12. ————— and ————— 1977 Morphogenesis of sclerotium forming fungi: Rhythmic production of sclerotia by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.), New Phytol. 78:181-187
 13. Kaiser, W. J. 1962 Influences of light on the production of microsclerotia by *Verticillium albo-atrum*, Phytopathology 52:362(abstr.)
 14. ————— 1964 Effects of light on growth and sporulation of the *Verticillium* wilt fungus, Phytopathology 54:765-770
 15. Kilpatrick, J. A. and Chilvers, G. A. 1981 Effects of light on sporulation in isolates of *Epicoccum purpurascens*, Trans. Br. mycol. Soc. 77(3):605-613
 16. 工藤和一, 坂元正幸 1970 リゾクトニア病菌の菌糸の伸長, 菌核形成に及ぼす光線の影響, 日植病報 36(3):153(摘要)
 17. Marukawa, S., Funakawa, S. and Satomura, Y. 1975 Some physical and chemical factors on formation of sclerotia in *Sclerotinia libertiana* Fuckel, Agr. Biol. Chem. 39(2):463-468
 18. Miller, R. M. and Liberta, A. E. 1977 The effects of light and tyrosinase during sclerotium development in *Sclerotium rolfsii* Sacc., Can. J. Microbiol. 23:278-287
 19. Monson, A. M. and Sudia, T. W. 1963 Translocation in *Rhizoctonia solani*, Bot. Gaz. 124:440-443
 20. Moore-Landecker, E. and Shropshire, Jr. W. 1982 Effects of aeration and light on apothecia, sclerotia and mycelial growth in the Discomycete, *Pyronema domesticum*, Mycologia 74(6):1000-1013
 21. Moromizato, Z. 1979 The effects of nutrients on sclerotium formation of *Rhizoctonia solani* Kühn, Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus 26:39-47
 22. —————, Amano, T. and Tamori, M. 1983 The effects of light on sclerotial formation of *Rhizoctonia solani* Kühn (AG-1,IA). Ann. Phytopath. Soc. Japan 49(4):495-500
 23. —————, Matsuyama, N. and Wakimoto, S. 1980 The effects of amino acids on sclerotium

- formation of *Rhizoctonia solani* Kühn (AG-1,IA): Inhibition of sclerotial formation by various amino acids, Ann. Phytopath. Soc. Japan **46**(1):15-20
24. ———, ——— and ——— 1980 The effect of amino acids on sclerotium formation of *Rhizoctonia solani* Kühn (AG-1,IA): Developmental process of sclerotium and its inhibition with several amino acids, Ann. Phytopath. Soc. Japan **46**(1):21-25
 25. 大森薫 1973 カンキツ黒点病の柄胞子形成に及ぼす光の影響, 日植病報 **39**(2):127-129
 26. ———, 中島光夫 1970 イネいもち病菌の胞子形成に及ぼす光の影響, 日植病報 **36**(5):319-324
 27. Plourde, D. F. and Green, Jr. R. J. 1982 Effect of monochromatic light on germination of oospores and formation of sporangia of *Phytophthora citricola*, Phytopathology **72**(1):58-61
 28. Stevens, F. L., 1928 Effects of ultra-violet radiation on various fungi, Bot. Gaz. **86**:210-225
 29. Suzuki, Y., Kumagai, T. and Oda, Y. 1977 Locus of blue and near ultra-violet reversible photoreaction in the stages of conidial development in *Botrytis cinerea*, J. gen. Microbiol. **98**:199-204
 30. ——— and Oda, Y. 1979 Inhibitory loci of both blue and near ultraviolet lights on lateral-type sclerotial development in *Botrytis cinerea*. Ann. Phytopath. Soc. Japan **45**(1):54-61
 31. Tan, K. K. and Epton, H. A. S. 1973 Effect of light on the growth and sporulation of *Botrytis cinerea*, Trans. Br. mycol. Soc. **61**(3):147-153
 32. Trevethick, J. and Cooke, R. C. 1973 Non-nutritional factors influencing sclerotium formation in some *Sclerotinia* and *Sclerotium* species, Trans. Br. mycol. Soc. **60**(3):559-566
 33. 宇井格生 1966 *Rhizoctonia solani* Kühn の菌核形成ならびに菌糸束の形成について, 日植病報 **32**(4):203-209