

琉球大学学術リポジトリ

菌核形成様式を異にする 2 種類の糸状菌,
Rhizoctonia solani Kuhn 及び Sclerotinia
sclerotiorum (Libert.) de Bary(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, Moromizato, Zenichi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3934

菌核形成様式を異にする2種類の糸状菌,
Rhizoctonia solani Kühn 及び *Sclerotinia*
sclerotiorum (Libert.) de Bary

諸見里 善 一*

Zenichi MOROMIZATO : Two fungi, *Rhizoctonia solani* Kühn and *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert.) de Bary, having different manner of the sclerotial formation

Summary

The process of the sclerotial development of two different fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*, was compared with scanning electron microscope.

Matured sclerotia of *R. solani* were 2 – 3 mm in diameter and outer and inner layers were colored in dark brown, whereas those of *S. sclerotiorum* were 4 – 6 mm and outer layer (rind) consisted of vacuous cells and inner layer (medula) of white watery cells. In case of *R. solani*, initials were formed by intertwining of several hyphae followed by branching of normal hyphae. Sclerotial surfaces from white to matured sclerotial stages were covered with dense hyphae. Inner and outer parts of the sclerotia showed honeycomb structure as sectional observation. On the other hand, in *S. sclerotiorum*, initials were developed by intertwining of elongated hyphae curved. No differentiation of inner and outer layers was observed at white sclerotial stage. However, as the pigmentation proceeds, two or several layers vacuolated as rind and inner parts consisted of hyphal fusion and anastomosis, which have few intercellular spaces, as medula. The change of hyphae covered sclerotial surface was recognized during the maturation.

結 言

土壌伝染性の糸状菌の多くは多細胞の休眠耐久体である菌核を形成し土壌中で長期間生存する。これらの菌核は、その形、大きさ及び着色等が属間又は種間によって異なっている。Townsend と Willetts⁴⁾ は6種類の糸状菌の菌核形成様式を詳細に観察し、これらを 1. 粗型 (Loose type), 2. 索型 (Lateral type) 及び 3. 末端型 (Terminal type) の3つの型に分類した。以後、多くの研究者により菌核形成菌がこれらのいずれかの型に属することが報告されている⁶⁾。 *Rhizoctonia solani*

* 琉球大学農学部農学科

琉球大学農学部学術報告 32 : 21~28 (1985)

の菌核は粗型に属する。粗型の菌核は不規則な分岐と隔壁形成によって原基が形成され、成熟菌核の組織は粗く、断面は均一である。一方、*Sclerotinia sclerotiorum* は末端型に属する。末端型は1本～数本の菌糸の先端が分岐し、隔壁が形成され、ゆ合し1つの菌糸の塊りができ、これらが互いにゆ着することにより形成される。本実験では、これらの形成様式を異にする2種類の代表的な糸状菌の人工培地上における菌核形成過程を比較し、さらに走査型電子顕微鏡を用いて観察した。

材料及び方法

供試菌株：*Rhizoctonia solani* は農業技術研究所より分譲されたC-324株を用いた。本分離株はサトウキビから分離され、培養型はIA型また菌糸融合群はAG-1型に属する。一方、*Sclerotinia sclerotiorum* はリアトリス及びインゲンから分離した2菌株を使用した。

菌核形成過程の観察：2種類の菌の菌糸、菌核原基、白色菌核、未熟菌核（着色直後の菌核）及び成熟菌核（移植後2週間経過したもの）を走査型電子顕微鏡（JEM-25S）で観察した。ジャガイモ寒天培地（PDA：ジャガイモ200g、ブドウ糖20g、寒天末20g、蒸留水1,000ml）上で前培養した供試菌株の先端部分をコルクボーラーで打ち抜き、透析膜または濾紙を敷いたPDA上に移植し、25℃で培養した。菌体が各段階に達した時、透析膜または濾紙ごと5×5mmに切り取った。これらの小片を1%グルタルアルデヒドとオスミック酸で2重固定した後、50～100%のアルコール系列で脱水し酢酸イソアミルで置換した。これを液化炭酸で臨界点乾燥し、100Å程度の厚さに白金バナジウムを真空蒸着し観察試料に用いた。

結 果

1. 培地上における菌核の形成様式

暗黒下のPDA上で培養した*Rhizoctonia solani*の菌核は直径が2～3mmでシャーレ周辺部にゾーンをつくって1シャーレ当り80～100個形成された。各段階までに達する時間は菌核原基54時間、白色菌核63時間、未熟菌核73時間であった。一方、*Sclerotinia sclerotiorum*の菌核は2菌株とも直径4～6mmでシャーレ中央部付近に10個程度形成された。各段階までの時間は菌核原基81時間、白色菌核99時間、未熟菌核107時間で、*Rhizoctonia solani*に比べて総体的に遅かった。菌核の断面を比較すると、*Sclerotinia sclerotiorum*の白色菌核は内部に水分を多く含み、この段階では外層と内層の差異は認められなかった（Fig. 1）。しかし成熟菌核を比べてみると、*Rhizoctonia solani*の菌核は全体が黒褐色化しているのに対し*Sclerotinia sclerotiorum*の菌核は黒褐色の明瞭な皮層部が形成され、白色の内層部と区別された（Fig. 2）。

2. 走査型電子顕微鏡による観察

a. 菌糸：移植後48時間（菌糸がシャーレの縁まで達してない時期）はまだ菌核原基が形成されず菌糸のみが伸長する。この段階の*Rhizoctonia solani*の菌糸は直線的に伸び、直角かつ等間隔に分岐する（Fig. 3）。これに対し*Sclerotinia sclerotiorum*の菌糸は曲線状に伸長した（Fig. 4）。

b. 菌核原基：菌叢移植約50時間後から*Rhizoctonia solani*の菌糸は著しく分岐し、分岐した数本の菌糸は互いに織り込み、菌糸密度の高い原基部分が形成された（Fig. 5）。*Sclerotinia sclerotiorum*の場合、菌糸の分岐は活発ではないが、数本の菌糸が束状にからみあい菌糸密度の高い原基を形成した（Fig. 6）。

c. 白色菌核：白色菌核は菌核原基が発達、肥大、顆粒化した塊りである。*Rhizoctonia solani*の白色菌核は一般に垂球型で表面は密な菌糸で覆われ、断面は内、外部とも蜂の巣状を呈した（Fig. 7）。しかし、*Sclerotinia sclerotiorum*の白色菌核を覆う菌糸にはところどころ密度の違いがあり、この時

諸見里：菌核形成様式を異にする2種類の糸状菌

期ではまだ明瞭な外層部の形成は認められなかった (Fig. 8, 9, 10)。

d. 未熟菌核 (着色直後の菌核) : *Rhizoctonia solani* の菌核の表面には正常な菌糸がみられ、白色菌核と比べても着色以外の形態的違いは認められなかった (Fig. 11, 13)。しかし、*Sclerotinia sclerotiorum* の菌核では外層部は2～数層の空胞化した細胞からなり、また、内層部は菌糸細胞が融解、融合して間隙の少ない構造であった (Fig. 12, 14)。

e. 成熟菌核 : *Rhizoctonia solani* の菌核は着色化が進み黒褐色になったが (Fig. 15)、表面にはまだ正常な菌糸が認められ、断面の構造にも変化はなかった (Fig. 16)。しかし、*Sclerotinia sclerotiorum* の菌核表面には正常な菌糸は認められず、融解した菌糸が集塊をなし、よろい状を呈した (Fig. 17)。断面は内層が扁平状で菌糸の原形は認められず、また外層部は一様な空胞細胞よりなっていた (Fig. 18)。

考 察

1954年に Townsend と Willetts⁴⁾ が6種類の菌核形成菌を原基の形成様式により3つのグループに分類して以来、他の形成菌もこれらのグループのいずれかに属することが報告された⁶⁾。*Rhizoctonia solani* は初め粗型に属する唯一の菌とされたが、後に Blakeman と Hornby¹⁾ が *Mycosphaerella ligulicola* が新たにこのグループに属することを明かかにした。深野²⁾ によるとイネ紋枯病から分離した *Rhizoctonia solani* の菌核は内層と外層の区別がなく、単に密な菌糸の集塊からなるとされている。一方、これと異なる報告も多い。例えば、羽柴ら³⁾ は *Rhizoctonia solani* の自然菌核 (植物体上に形成された菌核) は外層と内層に区別される、すなわち内層部は生細胞よりなり、外層部は空胞化した細胞からなることを報告している。また、この特徴は人工培地上に形成された菌核には認められず、さらに、この特徴的構造が菌核の浮上機構と関係があることを示唆した。ところが筆者 (未発表) は *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* 及び *Sclerotium rolfsii* の自然菌核と培養菌核の内層と外層を0.1～0.2mmの小片に分解し、培地上に置いたところ、すべての小片から菌糸が伸長することを確認した。このことは、基本的には菌核は全体が生細胞であることを示している。しかし、自然界、例えば土壌中に菌核が存在する場合は拮抗微生物や他の要因により外部と直接に接触する外層部から死滅することは考えられる。

一方、*Sclerotinia* 属は同じ属内でも型が異なる。例えば、*Sclerotinia fructicola* (Willetts, 1968)⁵⁾、*Sclerotinia sclerotiorum* (Townsend and Willetts, 1954)⁴⁾ 及び *Sclerotinia trifoliorum* (Willetts and Wong, 1971)⁷⁾ は末端型、また *Sclerotinia gladioli* (Townsend and Wong, 1954)⁴⁾ と *Sclerotinia minor* (Willetts and Wong, 1971)⁷⁾ は索型に属する。*Rhizoctonia solani* と *Sclerotinia sclerotiorum* の菌核の大きさ、形態及び着色を比較すると *Rhizoctonia solani* の菌核は小型で菌糸が分岐し、からみあい、空胞化した細胞で内外層が形成され全体が黒褐色になっている。これに対し *Sclerotinia sclerotiorum* の菌核は着色にともない形態にも変化が認められ、成熟菌核は黒褐色の空胞細胞からなる外層部と菌糸が融解、融合した内層部 (髄組織) に分化する。このことから、*Sclerotinia sclerotiorum* の菌核は *Rhizoctonia solani* の菌核より分化の程度が高いと考えられる。

摘 要

菌核形成様式の異なる2種類の糸状菌、*Rhizoctonia solani* (Loose type:粗型) と *Sclerotinia sclerotiorum* (Terminal type:末端型)、の菌核形成過程の比較を行った。

培地上に形成された成熟菌核を比較すると、*R. solani* の菌核は直径2～3mmで内部まで黒褐色に

着色しているのに対し、*S. sclerotiorum* の菌核は外層部は黒褐色であるが内層部は水分を多く含んだ白色の組織である。

走査電顕で菌核形成過程を観察すると、*R. solani* では直線的に伸長する菌糸が分岐化し、数本の菌糸が互いに織り込みあい菌核原基が形成され、白色菌核～成熟菌核の表面は密な菌糸に覆われて、内、外部とも蜂の巣状を呈していた。これに対し、*S. sclerotiorum* では曲線状に伸長する菌糸が束状にからみあい菌核原基が形成された。白色菌核の段階ではまだ明瞭な内、外層の分化は認められないが、着色成熟にともなって2～数層の空胞化した外層部と菌糸が融解、融合し間隙の少ない内層部に分化した。また、菌核表面を覆う菌糸にも変化が認められた。

引用文献

1. Blakeman, J. P. and Hornby, D. 1966 The persistence of *Colletotrichum coccodes* and *Mycosphaerella ligulicola* in soil, with special reference to sclerotia and conidia, Trans. Br. mycol. Soc. 49: 227-240
2. 深野弘 1932 稲紋枯病菌の細胞学的研究, 九州帝国大学農学部学芸雑誌 5 (2): 117-136
3. 羽柴輝良 1977 イネ紋枯病菌菌核の生理・生態と2・3の問題点, 植物防疫 31 (11): 452-456
4. Townsend, B. B. and Willetts, H. J. 1954 The development of sclerotia of certain fungi, Trans. Br. mycol. Soc. 37: 213-221
5. Willetts, H. J. 1968 The development of stromata of *Sclerotinia fructicola* and related species, Trans. Br. mycol. Soc. 51(5): 625-632
6. Willetts, H. J. 1972 The morphogenesis and possible evolutionary origins of fungal sclerotia, Biol. Rev. 47: 515-536
7. Willetts, H. J. and Wong, A.L. 1971 Ontogenetic diversity of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* and related species, Trans. Br. mycol. Soc. 57: 515-524

諸見里：菌核形成様式を異にする2種類の糸状菌

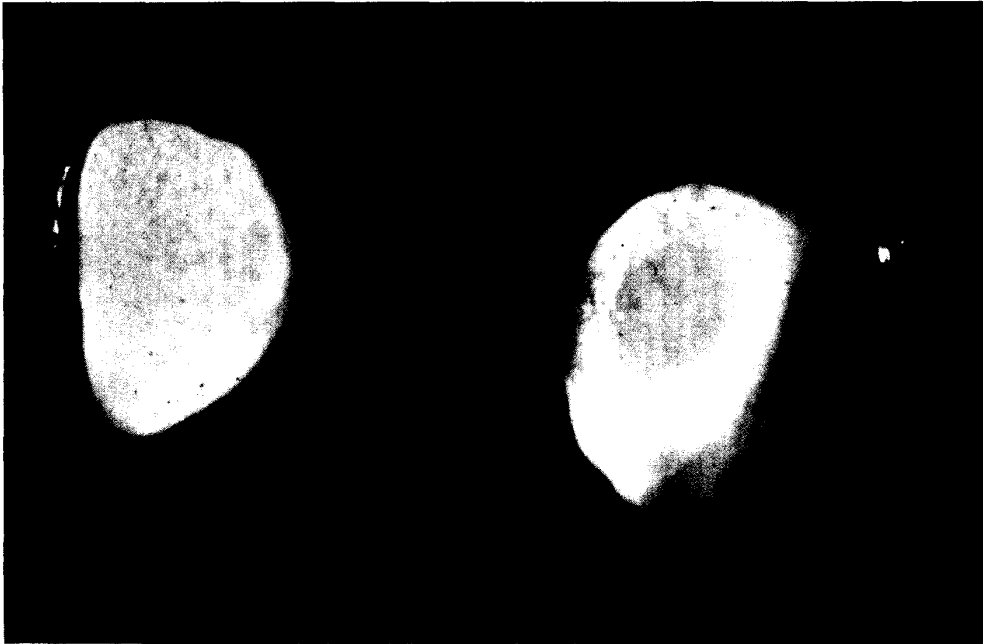


Fig.1 The section of white sclerotium of *S. sclerotiorum*



Fig.2 A comparison of matured sclerotium of *R. solani* and *S. sclerotiorum*

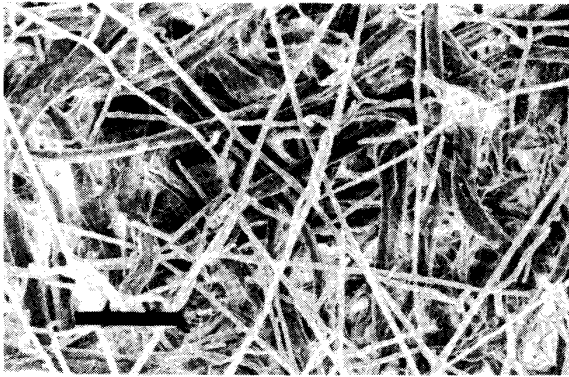


Fig. 3 Hyphae of *R. solani* on the
filter paper (bar=100 μ m)

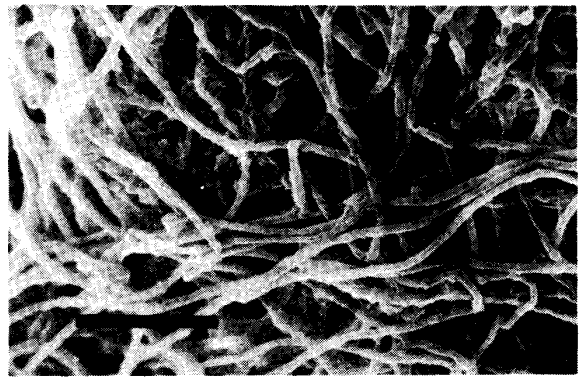


Fig. 4 Hyphae of *S. sclerotiorum* on
the filter paper (bar=33 μ m)

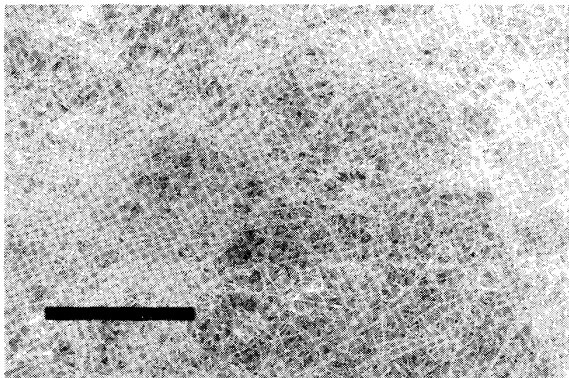


Fig. 5 Initials of *R. solani*
(bar = 0.5mm)

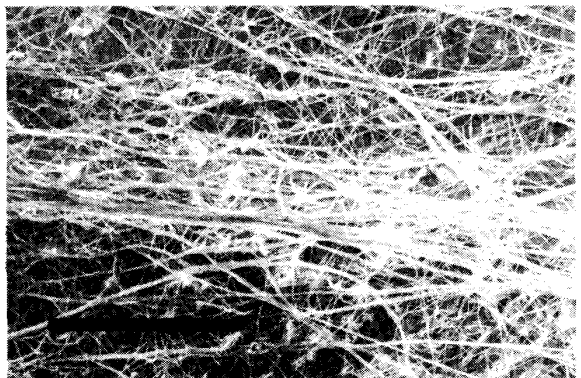


Fig. 6 Initials of *S. sclerotiorum*
(bar = 0.5mm)

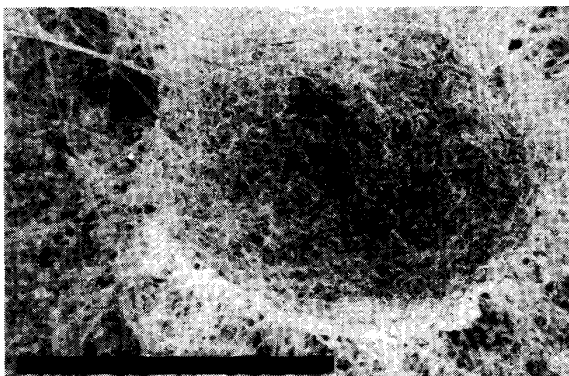


Fig. 7 A white sclerotium of *R. solani*
(bar=1 mm)

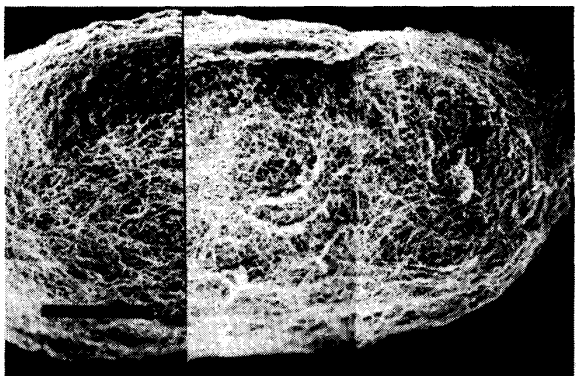


Fig. 8 A white sclerotium of *S. sclerotio-
rum* (bar = 0.5mm)

諸見里：菌核形成様式を異にする2種類の糸状菌

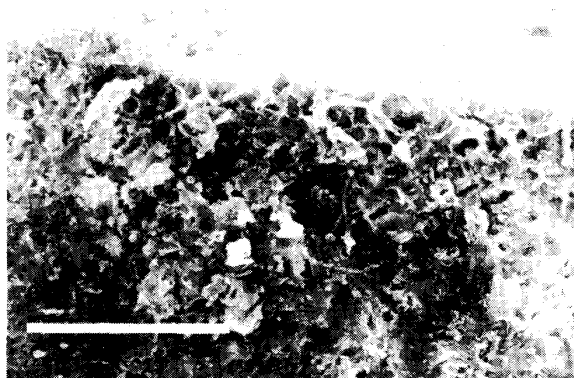


Fig. 9 The outer part of white sclerotium of *S. sclerotiorum*
(bar = 50 μm)

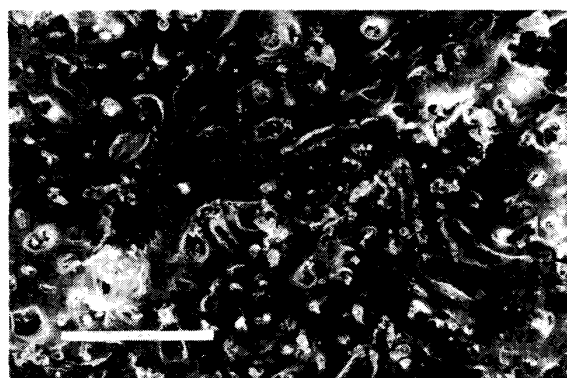


Fig. 10 The inner part of white sclerotium of *S. sclerotiorum*
(bar = 20 μm)

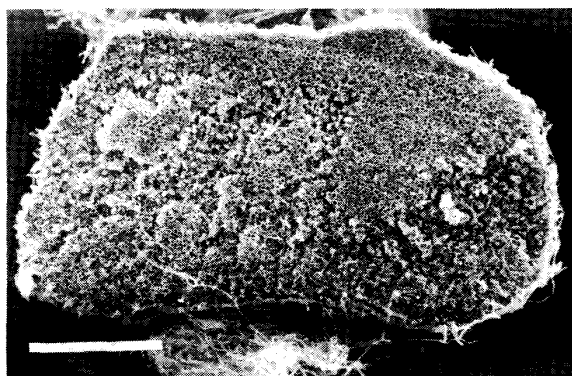


Fig. 11 The sectional structure of immature sclerotium of *R. solani* (bar = 0.5mm)

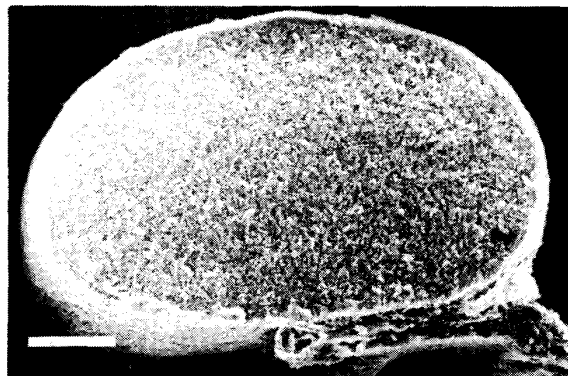


Fig. 12 The sectional structure of immature sclerotium of *S. sclerotiorum* (bar = 0.5mm)

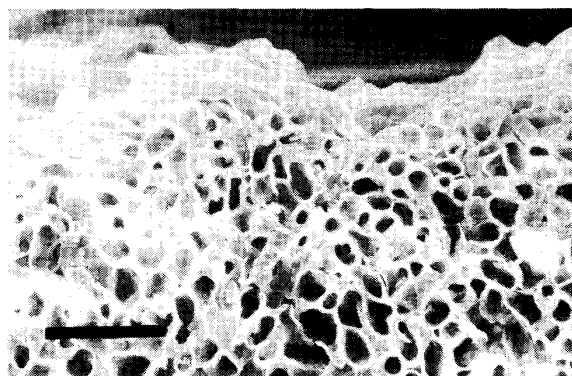


Fig. 13 The sectional structure of outer part of immature sclerotium of *R. solani* (bar = 50 μm)



Fig. 14 The sectional structure of outer part of immature sclerotium of *S. sclerotiorum* (bar = 33 μm)

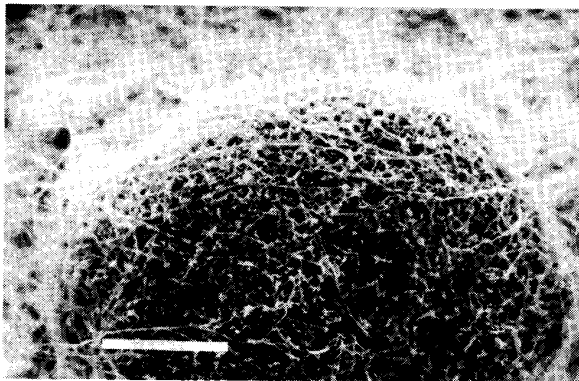


Fig. 15 The surface of matured sclerotium of *R. solani* (bar = 0.5mm)

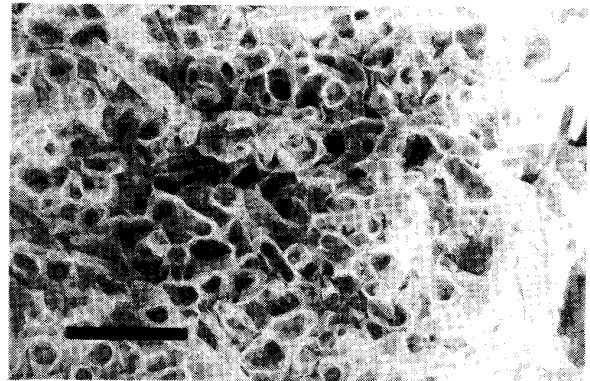


Fig. 16 The sectional structure of matured sclerotium of *R. solani* (bar = 50 μ m)

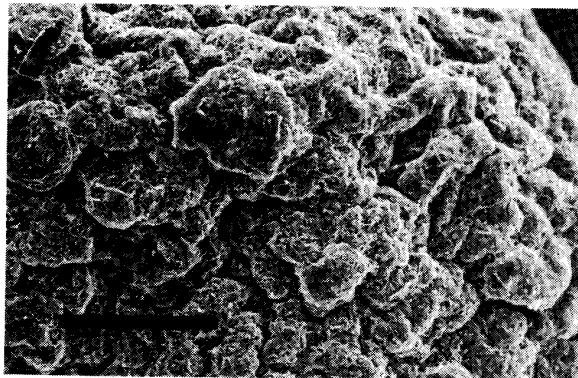


Fig. 17 The surface of matured sclerotium of *S. sclerotiorum* (bar = 0.5mm)

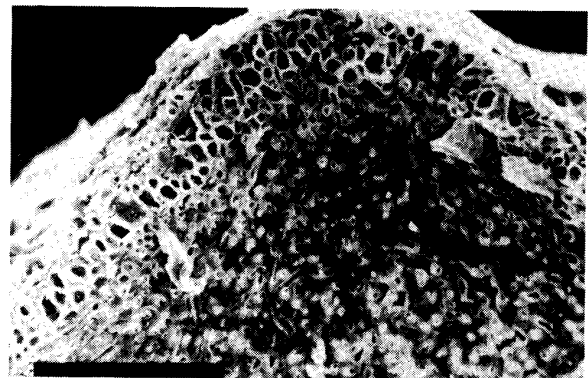


Fig. 18 The sectional structure of matured sclerotium of *S. sclerotiorum* (bar = 100 μ m)