

# 琉球大学学術リポジトリ

Rhizoctonia solani Kuhn と Sclerotinia sclerotiorum (Libert.) de Bary の菌核生存に及ぼす 2,3 の物理的要因の影響(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 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/3935">http://hdl.handle.net/20.500.12000/3935</a>

*Rhizoctonia solani* Kühn と *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert.)  
de Bary の菌核生存に及ぼす 2、3 の物理的要因の影響

諸見里善一\*

Zenichi MOROMIZATO : Effects of two or three physical factors  
on sclerotial longevity of *Rhizoctonia solani* Kühn and *Sclero-*  
*tinia sclerotiorum* (Libert.) de Bary

Summary

Effects of temperature, ultraviolet irradiation and pH on the longevity of the various morphological stages from hyphae to matured sclerotia of two typical sclerotium-forming fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*, were examined.

The order of high-temperature tolerance of each morphological stage was hyphae < initials < white sclerotia < immatured sclerotia < matured sclerotia. Matured sclerotia, in particular, resisted to 3 – 7 °C higher temperature than other stages. *Rhizoctonia solani* was more tolerant than *Sclerotinia sclerotiorum* in every stages. As ultraviolet irradiation to each stage, hyphae became extinct for 15 – 30 min. irradiation, whereas initials for 3 – 5 days irradiation in *Rhizoctonia solani* and for 1 – 2 days in *Sclerotinia sclerotiorum*. On the other hand, all stages on and after white sclerotia survived even at the irradiation applied for 10 days. Initial which is formed by hyphal branching followed by aggregation and interweaving changed to more tolerant to UV than hyphae, suggesting that striking physiological turning could happen on the initials stage. Matured sclerotia of two fungi died at pH 4–5, but survived above pH 6.

緒 言

菌核の構造は *Sclerotium rolfii* のように皮層（クチクラ層）、皮質、外皮及び髄質の4層からなるかなり分化したのから、*Sclerotinia sclerotiorum* ように皮質と髄質の2層からなるもの、さらに *Rhizoctonia solani* のように皮層と内層が区別しにくい最も単純なものまで種によって異っている<sup>4,5)</sup>。しかし、いずれも皮層部または全体にメラニンが沈着し黒褐色を呈する。菌核はその独特な構造と着色のため、他の器官に比べ、種々の環境要因に対し強い抵抗性があり、土壤中で長期間寿命を保つことができる。Coley-Smith と Cooke<sup>1)</sup> は *Sclerotinia sclerotiorum* の菌核は野外で2年、また *Rhizoctonia solani* の菌核は乾燥条件下で6年生存することを報告した。

\* 琉球大学農学部農学科

菌核の寿命に影響を及ぼす要因としては温度、湿度、酸素、炭酸ガス、pHなどの物理的要因、土壌成分や農薬などの化学的要因及び拮抗微生物などの生物的要因があるが、自然状態ではこれらの要因が複雑に影響しあい、相殺、あるいは相乗的に作用することが考えられる<sup>1,2)</sup>。

本実験においては、最も基本的要因である温度、紫外線、pHなどの物理性が菌核の構造形態が異なる2種類の糸状菌、*Rhizoctonia solani* 及び *Sclerotinia sclerotiorum* の菌核の生存にどの様な影響を及ぼすかを検討した。

## 材料及び方法

供試菌株：本実験においては *Rhizoctonia solani* の C-324 株とインゲン及びリアトリスから分離した *Sclerotinia sclerotiorum* の2菌株を用いた。

1. 温度の影響：前培養した菌叢の先端部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜き、この菌叢ディスクをPDA上に置き25C、暗黒下で培養した。菌体がそれぞれ菌糸、菌核原基及び白色菌核を形成した時に培地ごと直径6mmのコルクボーラーで打ち抜き、また未熟菌核と成熟菌核はピンセットで取り出しそれぞれを滅菌水を侵した濾紙の上に置いた。乾燥条件下で40~60C間の各温度に調整したインキュベーターに65分間（5分は試料全体に目的の温度が達する時間を考慮した）置き、生死を判別するためPDA上に移植し25Cで培養した。1週間観察して菌糸が発芽したものを生、しなかったものを死と判定した。

2. 紫外線の影響：上記の温度の影響と同様に各段階の菌体を水を侵した濾紙を敷いたシャーレ（上ぶたなし）中に置き、15Wの紫外線ランプ（東芝GL-15）を用い、菌体面の紫外線強度が0.1mw/cm<sup>2</sup>になるように調整し、5分~10日間照射した。菌糸及び菌核原基は熱(30~35C)で濾紙の水分が消失するため数時間ごとに滅菌水を捕給した。生死の判定は前記と同様に行った。

3. pHの影響：PDA上で供試菌株を2週間培養し、形成された成熟菌核を緩衝液を20ml入れた試験管に各々10個ずつ入れて25Cで1, 2週間培養した。pH 4, 5は0.1M酢酸緩衝液により、pH 6, 7は0.1Mリン酸緩衝液によりpH 8, 9はトリス塩酸緩衝液により調整した。

## 結 果

菌核形成過程における耐温性の変化：*Rhizoctonia solani* の耐温度性は菌糸から菌核へ発達、成熟するにしたがって高くなった。菌糸は45Cでは完全に生存したが、46~47Cで死滅した。また、菌核原基及び白色菌核は48~49Cで死滅した。一方、成熟菌核は51Cでもわずかに生存が認められ、52Cに至

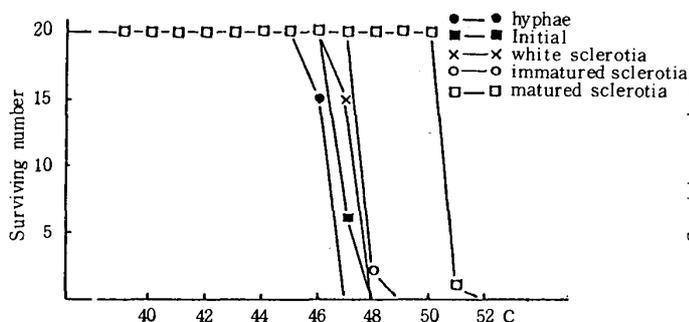


Fig. 1. The effect of temperature on survival of several sclerotial stages of *Rhizoctonia solani* (C-324)

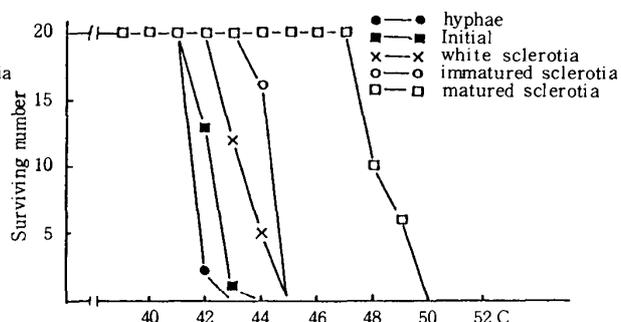


Fig. 2. The effect of temperature on survival of several sclerotial stages of *Sclerotinia sclerotiorum*

## 諸見里：菌核生存に及ぼす2, 3の物理的要因の影響

って完全に死滅した。*Sclerotinia sclerotiorum*も同様な傾向を示したが、*Rhizoctonia solani*に比べて耐温度性は全体的に低く、特に菌糸は42Cでほとんど死滅した(Fig. 1, 2)。また、菌株間での差異は全く認められなかった。

**菌核形成過程における紫外線耐性の変化：***Rhizoctonia solani*の菌糸は紫外線を15分～30分照射すると死滅したが、菌核原基では3日間照射しても生存が認められた。また、白色菌核、着色直後の未熟菌核及び成熟菌核は10日間にわたる長期の照射にも耐え、すべて生存した(Table 1)。

Table 1. The effect of ultraviolet irradiation on survival of several sclerotial stages of *Rhizoctonia solani* (C-324)

Time treated	Hyp. <sup>1)</sup>	Ini.	W. Scl.	Imm. Scl.	Mat. Scl.
5 min.	+ <sup>2)</sup>	+	+	+	+
15 min.	±	+	+	+	+
30 min.	-	+	+	+	+
1 hr.	-	+	+	+	+
6 hr.	-	+	+	+	+
24 hr.	-	+	+	+	+
2 days	-	+	+	+	+
3 days	-	±	+	+	+
5 days	-	-	+	+	+
10 days	-	-	+	+	+

1) Hyp: Hyphae, Ini: Initial, W. Scl.: White Sclerotia, Imm. Scl.: Immatured Sclerotia, Mat. Scl.: Matured Sclerotia

2) +: germinated, -: not germinated

3) Ultraviolet light was irradiated at 0.1mw/cm<sup>2</sup>.

*Sclerotinia sclerotiorum*も同様な傾向を示したが、菌核原基は*Rhizoctonia solani*に比べて比較的短期間の照射(24時間)で死滅した。しかし、白色菌核期以降は10日間の照射でも影響を受けなかった(Table 2)。また、菌株間での耐性の差異も認められなかった。

Table 2. The effect of ultraviolet irradiation on survival of several sclerotial stages of *Sclerotinia sclerotiorum*

Time treated	Hyp.	Ini.	W. Scl.	Imm. Scl.	Mat. Scl.
5 min.	+	+	+	+	+
15 min.	±	+	+	+	+
30 min.	+	+	+	+	+
1 hr.	-	+	+	+	+
6 hr.	-	±	+	+	+
24 hr.	-	±	+	+	+
2 days	-	-	+	+	+
3 days	-	-	+	+	+
5 days	-	-	+	+	+

菌核の生存に及ぼす pH の影響: *Rhizoctonia solani* 及び *Sclerotinia sclerotiorum* の両菌とも pH 4, 5 では死滅したが pH 6 以上では全て生存した (Table 3, 4)。また, pH 7 以上では菌核表面に付着したとみられる細菌のため発芽が抑制されたが, 菌核表面を殺菌すると全て発芽した。

Table 3. The effect of pH on sclerotial survival of *Rhizoctonia solani*

pH	1	2	3	4	5 days
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	80	100	-	-	-
7	20	100	-	-	-
8	20	60	60	100	-
9	30	100	-	-	-

1) Rate of germination (%)

2) Sclerotia were submerged for a week.

Table 4. The effect of pH on sclerotial survival of *Sclerotinia sclerotiorum*

pH	1	2	3	4	5 days
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	30	100	-	-
7	0	50	75	100	-
8	0	20	90	100	-
9	0	40	90	100	-

## 考 察

*Rhizoctonia solani* の菌核は通常の菌糸と同じ厚さの細胞壁の菌糸が粗にからみあったもので明瞭な皮層はなく, 断面も均一で内部まで着色し分化の程度は低い。これに対し, *Sclerotinia sclerotiorum* の菌核は空胞化して黒褐色に着色した皮層が髄質を保護するような構造であり *Rhizoctonia solani* の菌核より分化の程度が高いと考えられる<sup>4)</sup>。また, 菌核のサイズも *Sclerotinia sclerotiorum* 方が大きい<sup>4)</sup>。2種の糸状菌の菌核の耐物理性を比較すると, 紫外線耐性と pH 耐性はよく似た傾向を示した。しかし, 温度耐性は各段階で *Rhizoctonia solani* の方が高かった。

羽柴ら<sup>3)</sup>は *Rhizoctonia solani* の自然菌核は高温高湿条件下で保存すると発芽率が低下するが, 培養菌核は低温及び高温下のどちらでも低下し, 特に高温下で著しいことを報告した。また, 紫外線耐性は両菌とも菌核の分化にと

### 諸見里：菌核生存に及ぼす 2, 3 の物理的要因の影響

もない増加した。これには 2 つの原因が考えられる。その第一は、菌核は顆粒化した構造であるため外面は殺菌されるが内部までは紫外線がとどかず生きのこったことであり、第二は、菌核を構成する菌糸自体が生理的に耐性になることである。さらに、菌核原基は分岐した菌糸がからみあい、綿毛状になったものであり、菌糸は外見上変化してない。したがって紫外線には十分に露光されているにもかかわらず、菌糸では両菌とも 15 分程度の照射で完全に死滅するのに対し、菌核原基は *Sclerotinia sclerotiorum* で 24 時間、*Rhizoctonia solani* では 3 日間の照射でもなお生存が認められた。このことは菌核原基を構成する菌糸細胞が若い菌糸とは異なる生理的性質を獲得したことを示唆する。また、耐温度性も菌核が発達、成熟するにしたがって高くなることから菌糸細胞自体に何らかの生理的变化が生じていることが考えられる。

一方、pH の影響は両菌とも酸性域で大きかった。これは pH の直接的影響の他に緩衝液の成分等の影響も考えられる。土壤微生物に及ぼす pH の影響は大きく、これによって微生物相は著しく異ってくる。このことから、自然界の土壤中では菌核の生存に及ぼす pH の影響は直接的なものよりむしろ pH が菌核拮抗菌相に影響した結果、間接的に菌核の生存が左右されるとも考えられる。

### 謝 辞

本研究を実施するにあたり御指導下さった九州大学農学部の松山宣明博士に感謝します。

### 摘 要

2 種類の代表的菌核形成菌、*Rhizoctonia solani* Kühn と *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert.) de Bary を用いて菌核形成過程における諸形態の温度、紫外線及び pH 耐性を調べた。

菌核形成時の各段階の耐温度性は両菌とも菌糸 < 菌核原基 < 白色菌核 < 着色直後の未熟菌核 < 成熟菌核の順であり、特に成熟菌核は他の段階に比べて 3 ~ 7°C 高かった。

紫外線耐性は菌糸と他の段階では大きな差があり、両菌とも菌糸は 15 ~ 30 分の照射で死滅したが、菌核原基では *R. solani* で 3 ~ 5 日、*S. sclerotiorum* では 1 ~ 2 日の照射で死滅した。さらに、白色菌核以降の段階では 10 日間照射してもすべて生存していた。菌核原基は菌糸が分岐化して織り込みあった構造であるが中心部を紫外線から物理的に保護する程は分化しておらず、したがって紫外線耐性になった原因は、菌糸自体の生理的变化によると考えられる。また、成熟菌核の pH 耐性は酸性域 (pH 4 ~ 5) で低く、pH 6 以上の中性及びアルカリ性域で高かった。

### 引用文献

1. Coley-Smith, J. R. and Cooke, R. C. 1971 Survival and germination of fungal sclerotia, Ann. Rev. Phytopath. 9 : 65 ~ 92
2. Girffin, D. M. 1969 Soil water in the ecology of fungi, Ann. Rev. Phytopath. 7 : 289 ~ 310
3. 羽柴輝良, 山口富夫 1971 稲紋枯病菌核の発芽に及ぼす温・湿度の影響, 北陸病虫研究会報 19 : 6 ~ 10
4. 諸見里善一 1985 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 琉大農学報 32 : 21 ~ 28
5. 柳田友道 1982 微生物科学 3 (形態形成) P. 241 ~ 252