



Title	土壌中における Rhizoctonia 属菌の菌糸の溶菌現象 (II)
Author(s)	内記, 隆; NAIKI, Takashi; 宇井, 格生 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 9(2), 133-140
Issue Date	1975-02-15
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/11862">https://hdl.handle.net/2115/11862</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	9(2)_p133-140.pdf



# 土壤中における *Rhizoctonia* 属菌の菌糸の溶菌現象 (II)

内記 隆・宇井格生

(昭和48年12月14日受理)

## Lytic phenomenon of the hyphae of *Rhizoctonia* in soil (II)

Takashi NAIKI and Tadao UI

(Department of Botany, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo 060, Japan)

(Received December 14, 1973)

### I. はじめに

土壤伝染性植物病原菌のうち、いわゆる菌糸棲息菌である *Rhizoctonia solani* は他の菌と比較して、土壤中の菌糸は溶菌に対し耐性が強いとされている<sup>1),6),13)</sup>。土壤中の菌糸は最終的に溶解、消失するが、溶菌の起りやすい菌株と起り難い菌株が存在する<sup>9),18)</sup>。また、菌糸が溶解、消失する過程に二つの型がある<sup>9)</sup>。その一つは最初菌糸細胞壁の一部から溶解の始まる部分的溶菌型であり、他の一つは、はじめ菌糸細胞の隔膜部分が切離し、のち細胞内容物の消失した細胞壁が溶解する隔膜切離型である。地上型とされる I 型<sup>18)</sup> に属する菌株は溶菌が起り易く、部分的溶菌型に属するものが多く、地表型とされる II 型<sup>18)</sup> の菌株は溶菌し難く隔膜切離型に属するものが多し。さらに *R. solani* の菌糸溶菌は土壤に有機物を施し、溶菌微生物を増殖させたり<sup>12)</sup>、*Bacillus subtilis* を接種したとき顕著になり<sup>11)</sup>、また土壤中の菌糸周辺や溶菌部位には微生物の増殖が観察されている<sup>9)</sup>。これらのことから本菌の菌糸溶菌には微生物が関与していることが示唆される。また、土壤中や植物残渣上にみられる濃褐色の菌糸は長期間土壤中に生存する<sup>2),8),17)</sup>とされていることから、菌糸の状態によっても溶菌に対する耐性が異なることがうかがわれる。

本実験は *R. solani* の菌糸溶菌の起り易い条件また菌糸の部位や状態による溶菌のちがいを、および溶菌による菌糸の生存と腐生活性の低下について検討したものである。

### II. 実験材料と方法

#### 1. 供試菌株 北海道大学農学部植物学教室保存菌株

のうち F-15, B-5, および F-20 の 3 菌株を用いた。F-20 は 2 核の *Rhizoctonia* であり完全時代はまだ認めていないが *Ceratobasidium sp.* と菌糸隔合し、病原性は比較的弱い、腐生能力は他に比べ強い。F-15, B-5 の分類学的位置および生態的諸性質は既報の通りである<sup>10)</sup>。

2. 土壤 前報で用いた北海道大学農学部農場の中に設けた休閑地の土壤 (植壤土 pH 5.2~5.4) を採取し、直ちに 2 mm の篩でふるい、最大含水量の 40~45% とし、これを畑地土壤として実験に用いた。ただし土壤による溶菌の比較には畑地土壤の他、牧草地土壤 (壤土, pH 5.0)、森林土壤 (腐植土, pH 5.0) の採取後 1 週間内外のものを用いた。

3. 菌糸細胞の生死判別法 WEINDLING<sup>19)</sup> 方法により、0.03% 中性赤水溶液で菌糸細胞を染色し、菌糸細胞の液胞が着色し、原形質の染らないものを先づ生細胞とし、液胞、原形質とも均一に染色されるものを死細胞とした。さらに生細胞を 1 モルシ ヌ糖溶液に入れ、凹型の原形質分離を起すものを最終的に生細胞とした。

4. 菌糸残存率, 菌糸細胞残存率, 菌糸細胞生存率 前法の方法<sup>9)</sup> に従い、殺菌スライドガラスの表面に 2% 脱塩水寒天培地 (WA とする) の薄層をつくり、その中央に菌を接種し、それを殺菌シャーレに入れ、25°C、3~5 日間保ち、菌糸を生育させた。このスライドガラス上に土壤を約 1 cm の厚さにおき、土壤と菌糸を接触させた。前と同じ条件で所定期間保ったのち、スライドガラスを取り出し、表面の土壤を静かに洗い落とし、乳酸々性アニリンブルー溶液で染色し、菌糸を観察した。顕微鏡視野 (10×20) 内に定めた任意の直径を横切る菌糸のうち、正常な形態を示すものの割合を求め、この値を菌糸残存率とした。そのほか菌糸の個々の細胞の残存率すな

わち菌糸細胞残存率は次の方法によった。前と同様土壌と接触させた菌叢のうち、接種源から5~10 mmの部分の菌糸につき300~350細胞を観察対照とした。細胞壁が部分的に溶解を示すもの、および隔膜部分が切離し、原形質が完全に消失している細胞を溶菌細胞とみなし、全観察細胞に対する百分率を菌糸細胞残存率とした。また同じ方法により菌糸細胞の生死判別の結果から、菌糸細胞生存率を求めた。

5. 腐生的活性の測定 径12 cmのシャーレにWA平板をつくり、菌を接種し、25°C、5日間培養する。菌核、厚膜胞子の形成されていないことの菌叢表面に土壌を置き1~3週間前と同じ条件におく。土壌と接触させる日数のちがいに、溶菌程度の異なる菌叢が得れる。所定期間毎に土壌を除き、流水で菌叢表面を洗ったのち、その表面に乾燥した成熟アマ茎片を置く。アマ茎は長さ1 cm、予めプロピレンオキサライドで殺菌しておく。25°C、3日間培養後、アマ茎を取り出し、酸性WA培地上に置き、それより供試菌株の分離される割合を用いたアマ茎の数に対する百分率で表わし、これを腐生的活性とした。

### III. 実験結果

1. 菌糸生育基質と溶菌 菌糸の生育した寒天培地薄層の種類および土壌表面生育菌糸と溶菌との関係を比較した。

1) 培地の種類と溶菌 スライドガラス表面につくったWA培地、0.1% イーストエクストラクト加用ツァペックドックス(Cz-Yとする)寒天培地、および0.5% ペプトン寒天培地の上に生育した菌叢を土壌と接触させ、菌糸の生育する培地の種類と溶菌を比較した。対照として湿室中の殺菌スライドガラス表面に生育させた菌糸を用いた。供試3菌株の菌糸を土壌と接触させ、21日後に菌糸残存率を調査した(第1表)。

第1表 菌糸生育培地の種類と菌糸残存率

培地の種類	供試菌株(%)			平均 <sup>a)</sup> (%)
	F-15	B-5	F-20	
Cz-Y寒天培地 <sup>c)</sup>	81.4	29.0	84.0	64.8
ペプトン寒天培地	69.5	20.8	73.0	54.4
脱塩水寒天培地	54.0	0	25.4	26.5**
スライドガラス	81.0	38.7	77.6	65.8
平均 <sup>b)</sup>	71.5	22.1**	65.0	

(2 反復, 80 視野の平均値)

a) LSD 1% = 25.9 b) LSD 1% = 22.4

c) 0.1% yeast extract 加用 CZAPEX-DOX 寒天培地

各菌株とも残存する菌糸はWA培地が最も低く、Cz-Y寒天培地、ペプトン寒天培地およびスライドガラスとの間に明らかに有意差が認められた。Cz-Y寒天培地、ペプトン寒天培地表面の菌糸は、淡褐色を呈するものが多く、これら菌糸では隔膜部分の切離が主にみられ、細胞壁の部分的溶菌はみられない。WA培地やスライドガラス上の菌糸は無色のものが多かった。とくにWA培地上の菌糸周辺に微生物が多く生育した。スライドガラス表面の菌糸にも溶菌はみられるが、WA培地上の菌糸と比較し、表面に生育する微生物数は少なく、残存菌糸が多かった。また、いずれの培地においても前報<sup>9)</sup>と同様B-5菌株の残存菌糸が最も少なく、他2菌株との間に有意差が認められた。

2) 培地の濃度と溶菌 培地の濃度と溶菌の関係をみるためCz-Y寒天培地を2, 5, 10倍に希釈したものについて、前と同様の方法で3菌株の菌糸の残存率を調査した。対照としてWA培地を用いた(第2表)。

第2表 菌糸生育培地の濃度と菌糸残存率

培地の濃度	供試菌株(%)			平均 <sup>a)</sup> (%)
	F-15	B-5	F-20	
Cz-Y寒天培地 <sup>c)</sup>	81.4	29.8	84.0	65.1
1倍希釈 Cz-Y寒天培地	79.0	28.7	81.7	63.1
5倍希釈 "	82.6	25.8	77.1	61.8
10倍希釈 "	66.3	5.4	35.7	35.8**
脱塩水寒天培地	54.0	0	25.4	26.5**
平均 <sup>b)</sup>	72.7	17.9**	60.8	

(2 反復, 80 視野の平均値)

a) LSD 1% = 24.6 b) LSD 1% = 19.0

c) 0.1% yeast extract 加用 CZAPEX-DOX 寒天培地

いずれの濃度においても、前と同様B-5菌株の残存菌糸が最も少く、他2菌株との間に有意差が認められた。また各菌株の菌糸残存率は10倍希釈Cz-Y寒天培地、WA培地で高く、他の培地との間に有意差がある。これら培地上の菌糸は無色のものが多く、かつ表面に生育する微生物が多い。これらの結果から、培地の濃度が低下すると、生育する菌糸は無色のものが多くなり、その表面に多くの微生物が増殖し、菌糸の多くは分解、消失する。すなわち、溶菌に対する耐性は菌糸の状態と表面に増殖する微生物が関係すると認められる。

3) 土壌表面生育菌糸の溶菌 直接土壌表面に生育している菌糸の形態を観察するため、径9 cmのシャーレに無殺菌畑土壌を5~7 mmの深さに入れ、表面を緻密

に固め、その中央の円型のカバーガラス (径 18 mm) 上に、ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地上に生育している菌叢の生育先端を径 15 mm のコルクボーラーで打ち抜き接種源として置いた。25°C、温室に保ち、10日と20日後に土壤表面菌糸をセロファンテープで回収し、乳酸性アニリンブルー溶液で染色し、検鏡した。用いた菌株は B-5 である。

土壤表面に生育した菌糸を 10 日後に検鏡すると、他の糸状菌が巻ついたり (図版 I, 2-3)、あるいは放線菌がその表面に生育するのがみられた (図版 I, 1)。その一部の細胞は内容物を消失したのもあった。20 日後には細胞内容物を消失し、収縮、変形した菌糸、あるいは細胞壁の一部が溶解したのもあらわれた。これらの観察からも土壤表面に生育した菌糸も、その表面に微生物が次第に増殖し、最終的に細胞壁が溶解し、菌糸が消滅すると認められる。

2. 土壤の種類と菌糸溶菌 殺菌土壤、無殺菌土壤および水分含量のちがいによる菌糸の溶菌を比較した。

1) 殺菌、無殺菌土壤中における溶菌 供試 3 菌株の溶菌を採取直後の畑地土壤とこれを 1.5 気圧、1 時間高圧滅菌したものについて、菌糸残存率を 14 日と 21 日後に比較した (第 3 表)。

無殺菌畑地土壤中の菌糸は表面に微生物が増殖し、溶菌がおこり、21 日間土壤と接した菌糸は溶菌をうけるものが増加した。菌糸残存率は前の結果と同様 F-15>F-20>B-5 の順であった。殺菌畑地土壤中の F-15, B-5 の

第 3 表 殺菌、無殺菌畑地土壤中の菌糸残存率

供試菌株	無殺菌畑地土壤中の菌糸		殺菌畑地土壤中の菌糸	
	14 日後 (%)	21 日後 (%)	14 日後 (%)	21 日後 (%)
F-15	68.8	63.7	100	100
B-5	15.4	1.3	100	100
F-20	52.7	33.9	100	98.8

(2 反復, 80 視野の平均値)

第 4 表 土壤の種類と菌糸残存率

畑地土壤 <sup>a)</sup> (%)	牧草地土壤 <sup>b)</sup> (%)	森林土壤 <sup>c)</sup> (%)
8.3	30.5	10.6

供試菌株; B-5 土壤と接触させ 21 日後に調査 (2 反復 80 視野の平均値)

a) 植壌土, pH 5.2    b) 壤土, pH 5.0    c) 腐植土, pH 5.0

菌糸は溶菌がおこらず、21 日後も全ての菌糸が正常な形を保っていた。F-20 菌糸では稀に隔膜部分の切離がみられた。これらの結果は菌糸細胞の溶解、消滅は他の微生物によることを示している。

つぎに畑地土壤の他、牧草地土壤と森林土壤の採取後 1 週間内外のものについて、B-5 菌株の 21 日後における菌糸残存率を比較した (第 4 表)。

畑地土壤ではこれまでの結果と同様、ほとんどの菌糸が溶解、消失し、残存するわずかの菌糸片も表面に微生物が増殖し、細胞壁が部分的に溶解していた。これに対し、牧草地、森林土壤何れにあっても、菌糸周辺に微生物の増殖がみられるにもかかわらず、畑地土壤のように菌糸が完全に溶解、消失するものはなく、大部分の菌糸は細胞壁の部分的溶解を示したにすぎない。残存する菌糸は森林、畑地両土壤で大差ないが、牧草地土壤ではやや多かった。すなわち本菌の溶菌程度は土壤の種類により多少はあるが、何れも溶菌がおこる。

2) 土壤水分含量と溶菌 無殺菌畑地土壤の水分含量を最大容水量 (MHC) の 30, 45, 55% にそれぞれ調整し、それらについて 14 日と 21 日後に B-5 菌株の菌糸の溶菌を比較した (第 5 表)。

第 5 表 土壤水分含量と菌糸残存率

最大容水量の 30%		最大容水量の 45%		最大容水量の 55%	
14 日後 (%)	21 日後 (%)	14 日後 (%)	21 日後 (%)	14 日後 (%)	21 日後 (%)
38.9	26.4	18.5	5.7	16.3	7.6

(供試菌株 B-5, 2 反復 80 視野の平均値)

MHC の 30% の土壤の菌糸残存率は 14 日、21 日後とも、45%, 55% の土壤に比べて高い。菌糸の溶菌状態をみると、MHC の 45%, 55% の土壤では、30% の土壤に比べ、菌糸周辺における微生物の増殖が多く、細胞内容物を消失した菌糸と細胞壁が部分的に溶解した菌糸が観察された。一方 MHC の 30% の土壤では細胞壁が部分的に溶解した菌糸は少なく、細胞内容物を消失したものと隔膜部分から切離した菌糸が多かった。菌糸周辺における微生物の増殖は他の土壤より少ない。これらのことから本菌の菌糸溶菌は土壤水分の高い方が速かにおこると考えられる。

3. 菌糸の状態と溶菌 菌糸を人為的に殺し、細胞内酵素を不活化させた死菌の溶菌は外因的溶菌 (heterolysis) によるとされる<sup>7)</sup>。そこで生菌糸と人為的に殺した死菌糸を用いて土壤中の溶菌を比較し、*R. solani* の

溶菌が内的自己溶菌, (autolysis), 外因的溶菌の何れによるかを検討した。また菌糸の部位や無色, 褐色菌糸の溶菌について比較した。

1) **生菌糸, 死菌糸の溶菌** 供試3菌株のスライドガラス上の寒天薄層に生育させた菌糸を生菌糸とし, これを密閉したデシケーター中に入れ, プロピレンオキシドで24時間処理したものを死菌糸とした。これら菌糸を土壌と接触させたのち, 14日, 21日後に菌糸残存率を比較した(第6表)。

第6表 土壌中における生菌糸, 死菌糸の残存率

供試菌株	生菌糸		死菌糸	
	14日後 (%)	21日後 (%)	14日後 (%)	21日後 (%)
F-15	68.8	63.7	89.5	87.3
B-5	15.4	1.3	14.0	7.3
F-20	52.7	33.9	62.0	54.1

(2反復80視野の平均値)

供試3菌株の菌糸は生死にかかわらず, 土壌中で溶菌がみられるが, 菌糸残存率はいずれの菌株でも生菌糸の方が低い。また14日より21日後の方が残存率は低くなる。3菌株の菌糸残存率は菌糸の生死と関係なくF-15>F-20>B-5の順である。これとは別の実験で75%アルコールに20分間浸漬し殺した菌糸も同様に溶菌が観察された。死菌糸も生菌糸同様に溶菌がおこり, その程度は生菌糸より少ないが, 本菌の菌糸溶菌は主に土壌中の微生物が関与する外因的溶菌 (heterolysis) によるものと認められる。なお死菌糸の溶菌状態についてみると, 3菌株とも生菌糸と同じ型を示した。

2) **主軸菌糸, 分岐菌糸の溶菌** 接種源からまっすぐ生育する主軸菌糸とそれから鋭角あるいは直角に分岐する分岐菌糸について, 土壌中における溶菌の形態, 菌糸細胞残存率をF-15, B-5, F-20の3菌株について比較した(第7表)。

F-15, B-5菌株の主軸菌糸, 分岐菌糸の細胞残存率から, 主軸菌糸は土壌中で残存するものが多く, 分岐菌糸は少ない。F-20では両菌糸細胞間に残存率の差は認め難い。F-15, F-20の主軸, 分岐菌糸とも隔膜部分から切離するものが多く, F-15の分岐菌糸は21日後先端細胞の細胞壁に部分的溶解がみられた。B-5は3菌株中残存菌糸細胞が最も少なく, 主軸, 分岐菌糸とも細胞壁が部分的に溶解され, F-15のように菌糸細胞の部位による溶菌状態に差はみられなかった。これらの結果から, 主

第7表 土壌中の主軸菌糸, 分岐菌糸細胞の溶菌

供試菌株	菌糸部位	菌糸細胞残存率 <sup>a)</sup>	
		10日後 <sup>b)</sup> (%)	21日後 <sup>b)</sup> (%)
F-15	主軸菌糸	85.6	78.6
	分岐菌糸	46.0	42.6
B-5	主軸菌糸	30.7	19.8
	分岐菌糸	16.0	4.4
F-20	主軸菌糸	58.0	54.0
	分岐菌糸	60.0	55.5

a) 300~350細胞を観察

b) 土壌と接触させた日数

軸菌糸は分岐菌糸より残存菌糸細胞が多く, 溶菌に対し耐性をもつとみなされる。

3) **無色菌糸と褐色菌糸の溶菌** 生育初期の無色菌糸と日数がたち褐色になった菌糸の土壌中における溶菌に対する耐性について比較した。二重シャーレ法<sup>14)</sup>により, 内側のシャーレにCz-Y寒天培地, 外側に2%WA栽地を入れ, 内側の培地に供試菌B-5を接種し, 25°Cで培養した。無色菌糸は接種4日後に外側のWA培地上に生育したものであり, 褐色菌糸は14日後の褐色を呈した菌叢である。これら菌糸の上に無殺菌土壌をおき, さらに25°Cで14日および21日間保った。その後土壌を取り除き, 小シャーレの外側から15mm離れた部分から, 径5mmのコルクボーラーで寒天円盤を1シャーレにつき5ヶ打ち抜き, その表面の菌糸について菌糸細胞残存率を求めた。また, 菌糸を土壌で覆うときと同じく小シャーレをそのまま残したものと, これを取り去ったものについて栄養を含む接種源のある場合とない場合の菌糸細胞残存率を比較し第8表に示した。

14日, 21日後とも褐色菌糸は無色菌糸より残存菌糸

第8表 無色菌糸と褐色菌糸の溶菌

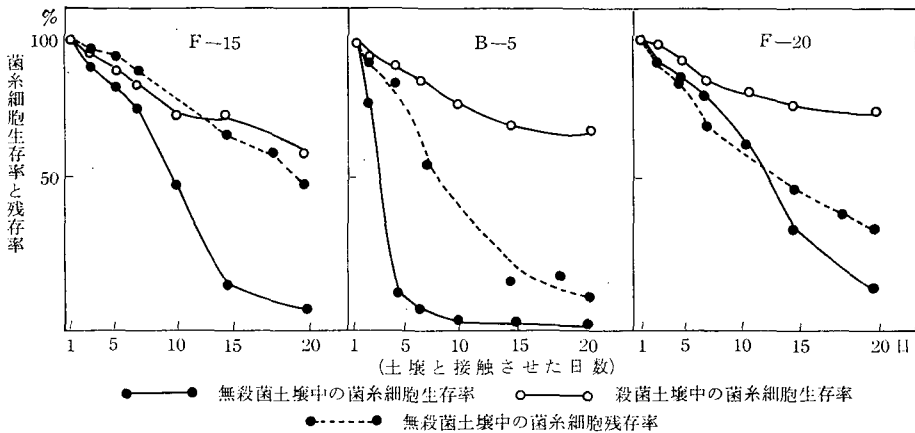
菌糸の状態	接種源の有無	菌糸細胞残存率 <sup>a)</sup>	
		14日後 (%)	21日後 (%)
無色菌糸	+	21.5	17.6
	-	15.8	2.2
褐色菌糸	+	51.7	41.4
	-	34.7	20.6

a) 300~350細胞を観察

細胞が多く、溶菌が起り難い。また、無色菌糸、褐色菌糸とも接種源を残したまま土壌と接触させたとき残存する菌糸細胞が多い。無色菌糸の上には微生物が生育し、細胞壁の部分的溶解がおこるのに対し、褐色菌糸は隔膜部分の切離が多く、微生物の生育も無色菌糸より少なかった。また、無色、褐色菌糸とも接種源を除去することにより、細胞内容を消失した菌糸が比較的多く観察された。これらの結果から、*R. solani* の褐色菌糸は無色菌糸と比較し、溶菌に対し耐性を示すが、接種源の栄養が存在し、それより物質の転流がおこるときは内容物の消失は遅く、溶菌は栄養の転流をたった場合よりおそくなる。

**4. 菌糸の生存と溶菌** 菌糸の溶菌に伴う生存細胞数の減少、死滅するまでの期間が菌株により異なるかどうか、また菌糸を土壌と接触させ、死滅や溶菌の進行と腐生の活性との関係を比較した。

1) **生存細胞と溶菌細胞** これまでの方法により、溶菌に対し耐性の異なる3菌株の菌糸を土壌と接触させたのち、残存菌糸細胞数と生存細胞数を比較し、これに基づいて菌糸細胞の土壌中における生存期間を検討した。対照として殺菌土壌中の菌糸細胞生存率を測定した。供試3菌株の菌糸を各土壌と接触させ1日後から21日後までの菌糸細胞残存率と菌糸細胞生存率は第1図の通りである。



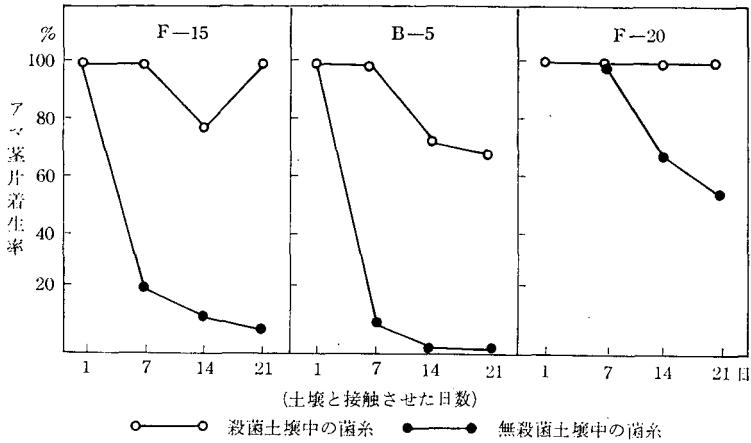
第1図 無殺菌、殺菌土壌中の菌糸の溶菌と生存細胞

3菌株の菌糸とも無殺菌土壌と接触後2日目に分岐菌糸の先端部の細胞が先づ死ぬことが認められた。その後いずれの菌株も日数がたつにつれて生存細胞が減少する。とくにB-5の生存菌糸細胞は著しく減少し、4日後に生存率20%を示し、14日後に生存細胞は認められなくなった。F-15、F-20の菌糸は14日目、生存率はそれぞれ16%と3%となり、その後さらに減少するが一部の細胞は生存していた。いずれの菌株にあってもし殺菌土壌中の菌糸に死細胞は認められるが、無殺菌土壌に比べるとわずかで、菌株間に大差はない。各菌株の外観が正常である残存菌糸細胞と生存細胞についてみると、F-15、B-5は残存率より生存率の低下がすみやかで、菌糸細胞壁が溶解しないうちに細胞の死がおこることを示している。無殺菌土壌と接つたF-15の菌糸細胞の死は、すでに2日後にみられ、分岐菌糸の先端細胞は膨圧を失い、収縮変形していた。4日目以後隔膜部分に切離が起りはじめるが、完全に離れず一部つながっている細胞

は生きている。10~14日後になると隔膜部分の切れた細胞は内容を消失し、膨圧を失っていた。B-5は2日後菌糸周辺に微生物の生育がみられ、隔膜部分の切離した細胞がみられる。細胞壁の部分的溶解は4日後にみられた。2菌株に対しF-20は10日後まで菌糸細胞残存率と生存率に大差は認められないが、その後細胞の死が急速に進み、生存細胞数が減少する。隔膜部分の切離は2日目からみられるが、主に主軸菌糸細胞の中で分岐菌糸のある細胞におこる。隔膜部分が完全に切離すると両側の細胞は死ぬが、完全に離れず一部つながっている細胞は生きている。(図版I, 4) F-20は土壌をかぶせた寒天薄層表面に厚膜細胞 (monilioid cell) を形成し、これは21日後にも発芽力をもっている (図版I, 5-6)。

これらの結果から、本菌の無殺菌土壌中の菌糸細胞の溶菌は、何らかの原因により菌糸細胞が死んだのちおこると考えられる。

2) **菌糸溶菌と腐生の活性の低下** 菌糸細胞壁の溶解



第2図 土壌中の菌糸の腐生的性の低下

や隔膜部分の切離により、菌糸の活性がどの程度左右されるかを知るため、腐生的活性を指標として検討した。菌糸を土壌と接触させたのち、溶菌程度の異なる菌叢について、始め記した方法によりアマ茎に対する腐生的着生率を比較し、それにより腐生的活性の低下を検討した。なお、対照として殺菌土壌と接触させた菌叢について同様の実験を行った。殺菌土壌と接触させたのち WA 平板上に形成された菌核、厚膜胞子は殺菌した解剖針で取り除いた。

3 菌株の菌糸を土壌と接触させたのち、1, 7, 14, 21 日目の腐生的基質着生率を第 2 図に示した。

いずれの菌株も土壌と接触後 1 日目の着生率は全て 100% であり高い腐生的活性を示した。その後各菌株とも無殺菌土壌との接触日数が長くなるにつれて、着生率は次第に低下し、その傾向は菌株により著しく異なる。着生率が最もすみやかに低下するのは、菌糸細胞の死滅と溶菌がすみやかにおこる B-5 であり、7 日後に着生率は 10% となり、その後アマ茎に対する着生率は全く認められなくなる。これについて低下のすみやかなものは溶菌に対し耐性を示すが菌糸細胞の死滅が B-5 について多い F-15 である。これに対し、隔膜部分の切離はおこるが、生存細胞数が最も多い F-20 は着生率の低下が最も緩慢で、21 日後でもなお 54% を示した。対照とした殺菌土壌と接触させた菌糸は、無殺菌土壌の場合のように、著しい基質着生率の低下はみられなかった。F-15, B-5 菌株で 14 日目と 21 日目に基質着生率に低下が認められたが、これは土壌を取り除いたあとの菌叢表面に *Penicillium sp.* が増殖しており、それらによる菌糸のアマ茎への着生の阻止、あるいはアマ茎より供試菌を

分離するとき、培地上で競合がおこったためと考えられる。これらの結果から、土壌中で菌糸細胞の死滅がすみやかにおこる菌株ほど、菌糸の腐生的活性の低下がおこりやすいと考えられる。

#### IV. 論 議

土壌中の糸状菌の溶菌は土壌微生物の分泌する細胞壁構成物質を分解する細胞外酵素の作用による外因的溶菌 (heterolysis) と土壌微生物の分泌する抗生物質や菌糸細胞の飢餓と老化による衰弱あるいはその共同作用による自己溶菌 (autolysis) によるとされている<sup>4),5)</sup>。

本実験で用いた *R. solani* (F-15, B-5 菌株) と 2 核の *Rhizoctonia* (F-20) とも菌糸の生育基質のちがいあるいは土壌の種類や水分含量のちがいにより溶菌程度が異なる。WA 培地や希釈した栄養の少ない培地に生育する菌糸は溶菌が起り易く、菌糸表面やまた細胞壁の部分的に消失した所に微生物が増殖している。しかし、栄養の全く存在しないスライドガラス上に生育している菌糸は溶菌が起り難い。スライドガラスに生育した菌糸表面には寒天培地上より細菌、放線菌等の溶菌微生物が少ない。菌糸の溶菌は無殺菌土壌中では程度の差はあれ普遍的にみられ、殺菌土壌中では認められない。また、人為的に殺した菌糸の細胞壁も生菌糸と同じ溶菌がみられることから本菌の菌糸溶菌は主として微生物による heterolysis と結論し得る。しかし、死菌糸より生菌糸の方が溶菌がやや起り易いことは一部自己溶菌による可能性も残る。F-20 の菌糸にみられる隔膜部分の切離は純粋培養中や殺菌土壌中の菌糸でもわずかにみられる。これは単に機械的原因によるものか、あるいは他の要因による

ものか明らかではない。

さらに本菌の菌糸溶菌はその部位や状態によっても異なる。分岐菌糸より主軸菌糸、無色菌糸より褐色菌糸は溶菌が起り難い。褐色菌糸が土壤中で長期間生存できる<sup>2), 8) 18)</sup>ことは、溶菌に対し耐性が強いことも一因と考えられる。各種糸状菌の着色した孢子や菌糸の細胞壁は肥厚し、土壤中の溶菌、その他各種環境に耐性が強いとされ、その微細構造は電子密度の高い層にメラニンあるいはメラニン様物質が含まれるためと考えられている<sup>3)</sup>。また、*R. solani* は細胞壁構成物質の中に存在するメラニンあるいはその関連物質により菌糸溶菌に比較的耐性であるとされている<sup>11), 13)</sup>。菌株間、菌糸の部位や着色程度により溶菌が異なるのは、それら物質の存否によるかは明らかでない。無色菌糸より褐色菌糸の方が、またB-5よりF-15の菌糸の方が細胞壁の肥厚が著しい<sup>10)</sup>ことから、溶菌の難易は菌糸細胞壁の肥厚が一つの原因とも考えられる。

*R. solani* の土壤中の活動は溶菌により左右されるともいわれている<sup>11), 12)</sup>。本実験で用いた3菌株の菌糸の溶菌は何んらかの原因により菌糸が死んだのちにおこる。従って菌糸の溶菌は菌糸消滅の最終段階としておこるものであり、菌糸の生存を直接左右する要因とは考え難い。土壤中の腐生的活性との関係についてみると、供試3菌株の土壤中の腐生的活動の維持期間はF-20>B-5≥F-15の順である<sup>15), 16)</sup>。腐生能力が強く、土壤に接種後も長期間にわたり分離されるF-20の菌糸は、土壤と接したのちの生存細胞数が多い。これに対し、B-5菌糸は土壤と接したのち、菌糸は最もすみやかに死滅し、溶菌も起りやすく、また腐生的活性の低下もすみやかにおこる。ついで腐生能力の弱いF-15の菌糸も土壤と接触後死滅しやすい。従って3菌株につき、菌糸だけを見ると、土壤中ですみやかに死滅しやすい菌株ほど腐生的基質着生能力の低下がすみやかにおこるものと考えられる。しかし、菌糸の消失により、土壤中の菌が完全に消滅するのではなく、F-15、B-5はすみやかに菌核を形成し<sup>8)</sup>、F-20は厚膜細胞(moniloid cell)をつくり生存するものである。

以上のことから、寄主植物の存在しない土壤中で長期間生存し得るのは褐色菌糸があり、他はすみやかに死滅、溶解し、生存できず、菌核ほど耐久生存に重要な役割を果たすとは認め難い。

## V. 摘 要

1. *R. solani* (F-15, B-5 菌株) と2核の *Rhizoctonia*

(F-20 菌株) について、土壤中における菌糸溶菌におよぼす要因とそれが菌糸の生存、腐生的活性におよぼす影響について検討した。

2. 菌糸溶菌は菌糸の生育する基質や土壤により異なる。脱塩水寒天培地や栄養の乏しい培地に生育した菌糸はとくに顕著であり、無殺菌土壤中では普遍的に認められ、とくに湿潤土壤中で著しい。しかし、殺菌土壤中ではおこらない。

3. 菌糸の部位や状態により、溶菌の頻度は異なる。主軸菌糸より分岐菌糸、褐色菌糸より無色菌糸に溶菌がおこり易い。とくに主軸の褐色菌糸は溶菌に耐性が強い。

4. 無殺菌土壤中でのみ溶菌がおこり、溶菌部位に微生物が増殖している。死菌糸でも生菌糸同様溶菌がおこる。また溶菌は菌糸細胞の死後おこる。これらのことから本菌の菌糸溶菌は自己溶菌 (autolysis) ではなく、他の微生物が関与する外因的溶菌 (heterolysis) である。

5. 供試菌株中、菌糸細胞の死滅、溶菌のおこり難い菌株では、菌糸が土壤中に長く生存し、高い腐生的基質着生能力を維持する。そのうち長期間土壤中に生存し得るものは褐色菌糸のみであり、他は長期間生存出来ず、それらは菌株ほど耐久生存に重要な役割は果していないと認められる。

## 引用文献

- 1) BLOOMFIELD, B. J. and M. ALEXANDER (1967): *J. Bacteriol.*, **93**: 1276-1280.
- 2) BOOSALIS, M. G. and A. L. SCHAREN (1959): *Phytopathology* **49**: 192-198.
- 3) DURELL, L. W (1964): *Mycopath. mycol. appl.*, **23**: 339-343.
- 4) GARRETT, S. D. (1965): *Tward biological control of soil-borne plant pathogens*. p. 4-13. In Baker, K. F. and W. C. Snyder (edi.), *Ecology of soil-borne plant pathogens*, Univ. California Press, Barkely, Los Angeles.
- 5) KO, W. H. and J. L. LOCKWOOD (1970): *Phytopathology* **60**: 148-158.
- 6) LLOYD, A. B. (1966): *ibid.* **56**: 595-602.
- 7) LOCKWOOD, J. L. (1960) *ibid.* **50**: 787-789.
- 8) 内記 隆・宇井格生 (1969): 北大農邦文紀要 **6** (4): 435-436.
- 9) ——— (1972): 日菌報 **13**: 140-148.
- 10) ——— (1974): 日菌報 **15**: 113-120.
- 11) OLSEN, C. M. and K. F. BAKER (1968): *Phytopathology* **53**: 79-87.
- 12) PAPAIVIZAS, G. C. (1963): *ibid.* **53**: 1430-1435.



- 13) POTGIETER, H. J. and M. ALEXANDER (1966): J. Bacteriol., **91**: 1526-1532.
- 14) 宇井格生 (1966): 日植病報 **32**: 203-209.
- 15) ———・内記 隆 (1968): 北大農邦文紀要 **6**: 351-358.
- 16) ———・生越 明 (1966): 日植病報 **32**: 145-150.
- 17) WARCUP, J. H. (1957): Trans. Bri. mycol. Soci. **40**: 237-259.
- 18) 渡辺文吉郎・松田 明 (1966): 茨城県農試指定試験 (病害虫) 第7号, 1-131, 農林水産技術会議.
- 19) WEINDLING, R. (1934): Phytopathology **24**: 1153-1179.

### Résumé

The hyphal lysis in soil and its effects on the saprophytic colonization of dried flax stem pieces were studied with 2 different isolates of *Rhizoctonia solani* Kühn and a binucleate *Rhizoctonia*.

Hyphae growing on agar media were lysed more readily by unsterilised soil as compared with those on the surface of the soil. The average remaining hyphae grown on nutritionally deficient water agar was significantly lower than those on nutrient rich media such as Czapek's-Dox and pepton agar. The rate of hyphal lysis and development of other

microorganisms, such as actinomycete and bacteria on the surface of hyphal cells were observed in all unsterilized soils, but not in sterilized soil. The hyphal lysis of the fungus was more rapid in wet than in dry soil and the lytic property in unsterilized soil was widespread.

Propylen oxide-killed hyphae were also lysed by unsterilized soil. There was no considerable difference in lysis patterns between the living and killed hyphae. These results suggest that the hyphal lysis of *Rhizoctonia* is a heterolytic phenomenon associated with the presence of other soil microorganisms. The hyphal cell death were determined with vital staining in neutral red solution and plasmolysis in sucrose solution. The hyphal lysis and the cell death were observed more frequently in the hyalin, side branching hyphae which were most susceptible to soil mycolysis. Conversely, the brown coloured main running hyphae were much more resistant and many of them remained viable.

Considerable reduction of the saprophytic activity determined by colonization of flax stem pieces was observed with the isolate in which hyphal-cell death and lysis occurred more rapidly.

### 図版説明

- 図版 I 1. 土壤表面生育菌糸上に生育した放線菌  
2, 3. 土壤表面生育菌糸に巻ついた糸状菌  
4. 生体染色による生細胞と死細胞 (F-20)  
5, 6. 溶菌をうけず残在した厚膜細胞 (moniloid cell) の発芽 (F-20)

