



Title	Rhizoctonia solani の菌糸融合に関する研究 : III. 自己非菌糸融合株の菌糸融合
Author(s)	横山, 和成; YOKOYAMA, Kazunari; 百町, 満朗 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 14(4), 416-421
Issue Date	1985-12-28
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/12042">https://hdl.handle.net/2115/12042</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	14(4)_p416-421.pdf



# *Rhizoctonia solani* の菌糸融合に関する研究

## III. 自己非菌糸融合株の菌糸融合

横山 和成・百町 満朗・生越 明

(北海道大学農学部植物寄生病学・樹病学講座)

(昭和60年5月27日受理)

## Studies on Hyphal Anastomosis of *Rhizoctonia solani*

### III. Hyphal Anastomosis in Non-Self-Anastomosis Isolates

Kazunari YOKOYAMA, Mitsuro HYAKUMACHI  
and Akira OGOSHI

(Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

#### 緒 言

菌類の細胞融合は、有性生殖によるものと、それ以外の時に起こるものと大きく分けられる。前者は一般に接合または有性生殖のための融合と呼ばれ、種々の複雑な過程が関与して行なわれることが知られている<sup>2,8)</sup>。一方、後者の菌糸融合については現象自体の観察報告が主で、融合のメカニズムについては、いまだ未知の部分が多いとされている<sup>1,4)</sup>。

本菌 *Rhizoctonia solani* の菌糸融合は、自己の菌糸同士で起こる完全融合、他の菌株の菌糸との間に起こる不完全融合、また菌糸が接着したのみの接触融合の三種があり<sup>7)</sup>、不完全融合では、融合後に融合した菌糸細胞が死ぬ致死反応が起こることが知られている<sup>3)</sup>。また、本菌の分離菌株が、その菌株間の菌糸融合の有無によって菌糸融合群 (AG) に類別されていることは周知のことである<sup>9)</sup>。

筆者らは、本菌の菌糸融合のメカニズム解明のため、完全融合の際の菌糸の形態変化について観察を行なっている<sup>10,11)</sup>。一方、本菌の単担孢子分離株から、自己菌糸間で菌糸融合しない株が得られることが報告されており<sup>6)</sup>、この様な株は“Non-self-anastomosis isolates” (自己非菌糸融合株) と呼ばれている。また、本菌の自然分離株中にも同様の自己非菌糸融合株が存在することが報告されている<sup>5)</sup>。

本報では、完全融合能力を消失した菌株またはその能

力が著しく低下した菌株について菌糸融合反応を調べ、本菌の菌糸融合のメカニズム解明の一助とするため行なった実験結果を報告する。

#### 材料および方法

供試菌株：菌株は Table 1 に示した AG-2-2 (IV) に属する 15 菌株を供試した。それぞれの菌株はジャガ

Table 1. Host source, geographic origin, and date of isolation of *Rhizoctonia sloani* AG-2-2 IV isolates tested

Isolate	Source	Geographic origin	Date
H-115	Sugar beet	Hokkaido	Oct. 1977
H-103	Sugar beet	Hokkaido	Oct. 1976
R h-65	Sugar beet	Hokkaido	Oct. 1973
A55153	Sugar beet	Hokkaido	Oct. 1980
B V-24	Sugar beet	Aomori	Oct. 1959
B-9	Sugar beet	Hokkaido	May 1952
B-3	Sugar beet	Hokkaido	Jul. 1951
B-70	Sugar beet	Okayama	Sep. 1959
B-37	Sugar beet	Shizuoka	Aug. 1955
L B-4	Sugar beet	Ibaraki	unknown
H-16	Sugar beet	Hokkaido	Oct. 1972
B-10	Sugar beet	Hokkaido	Jul. 1952
B-68	Sugar beet	Okayama	May 1959
B-61c	Sugar beet	Aomori	Oct. 1959
A-10	Sugar beet	Hokkaido	Oct. 1974

イモ煎汁ブドウ糖寒天培地 (PDA) 上で培養保存した。

**菌糸融合の観察：** 菌糸融合の観察は生越の方法<sup>9)</sup> に従った。すなわち、PDA 平板上で培養した菌そうの生長先端を直径 4 mm のコルクボーラーで打ち抜いた含菌寒天を接種源とし、2% (W/V) 素寒天培地 (WA) 上に密着させた殺菌セロファン上で対峙培養した。25°C 暗所、3 日間培養後、菌そうの重なった部分での菌糸融合を観察した。

**菌糸融合頻度 (FF) および平均誘引距離 (AAD)：** FF および AAD は前報<sup>10)</sup> の方法で測定、計算した。

**分枝頻度 (BF)：** BF は菌糸長 1 mm あたりの分枝数を示し、菌糸の分枝能を表わす尺度として用いた。BF は次の式によって求めた。

$$BF = 1 \text{ 視野 (2.7 mm}^2\text{) あたりの総分枝数 / 同視野内の総菌糸長 (mm)}$$

### 実験結果

#### 1. 培養形態

供試菌株は、菌核形成、気中菌糸、菌そうと培地の着色の 3 点から以下の 4 タイプに類別した。類別の基準を Table 2 に、それぞれの典型的な菌そうを Fig. 1 に示した。各タイプの培養形態の特徴は以下のとおりである。

**Table 2.** Characteristics of four culture types

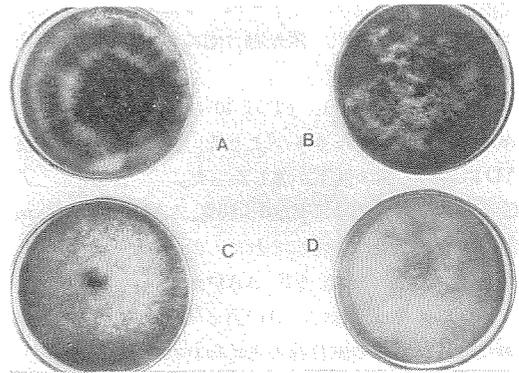
Type	Sclerotia	Aerial Mycelia	Color of Colony
A	≡	± or +	dark brown
B	≡	+ or ≡	brown
C	+	≡ or ≡	light brown
D	± or -	≡	milky white

≡ : abundant  
 ≡ : intermediate between ≡ and +  
 + : medil  
 ± : slight  
 - : not detect

**A タイプ (菌核型)：** 菌核形成が盛んで、形成された菌核は団塊状を呈する。気中菌糸が少なく、菌そうと培地は黒褐色に著しく着色する。

**B タイプ (少菌核型)：** 菌核形成量が A タイプより劣るが他の性質は A タイプと等しい。

**C タイプ (菌糸塊型)：** 菌核形成量は B タイプより著しく劣り、形成された菌核は団塊状を呈さず、小菌糸塊が菌そう上に散在する。気中菌糸が旺盛に生育し、菌そ



**Fig. 1.** Colonies of four culture types on PDA.

うと培地の着色は少ない。

**D タイプ (気中菌糸型)：** 菌核、菌糸塊をほとんど形成しない。気中菌糸が著しく発達し、培地、菌そうの着色が見られないため、菌そうは乳白色から淡褐色のマット状を呈する。

#### 2. 菌糸融合の観察

##### 完全融合の観察

供試菌株の FF と AAD を Table 3 に示した。

A タイプの菌株では、FF は 60~75%、AAD は 11~

**Table 3.** Fusion frequency and average of attracting distances of isolates

Type	Isolate	Fusion frequency (%)	Average of attracting distances (μm)
A	H-115	72.3	14.5
	H-103	66.9	18.3
	Rh-65	65.3	11.8
B	A55153	64.1	14.3
	BV-24	60.0	7.3
	B-9	50.0	4.8
	B-3	41.9	3.7
C	B-70	9.6	0.5
	B-37	1.7	0.0
	LB-4	1.8	0.0
	H-16	0.0	0.0
D	B-10	0.0	0.0
	B-68	0.0	0.0
	B-61c	0.0	0.0
	A-10	0.0	0.0

18  $\mu\text{m}$  であって、AG 1 (IB) に属する正常な菌株の FF, AAD と同様であり<sup>10)</sup>、菌糸融合能においても正常であると考えられた。

B タイプの菌株では、FF は 40~60%, AAD は 3~7  $\mu\text{m}$  と、それぞれ A タイプより低い値を示した。また AAD において値の低下が著しかった。

C タイプの菌株では、FF は 0~10%, AAD は 0~0.5  $\mu\text{m}$  であり、完全融合は非常にまれにしか起こらなかった。

D タイプの菌株では、FF, AAD ともに 0 であり、このタイプに属する菌株は、自己菌糸間での完全融合能が欠如した自己非菌糸融合株と考えられた。

#### 完全融合頻度と分枝頻度との相関

供試菌株の完全融合における FF と各株の BF との相関を調べ、Fig. 2 に示した。その結果、FF と BF との間には 1% 水準で正の相関が見られた。

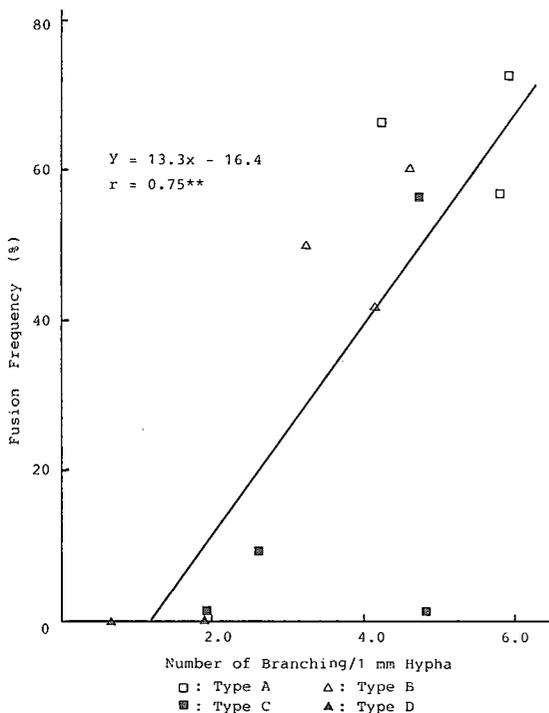


Fig. 2. Relationship between branching and fusion in *Rhizoctonia solani* hyphae.

以上の結果から、培養形態が A タイプ (菌核型) から D タイプ (気中菌糸型) になるにしたがって、菌糸融合能が低下し、分枝能も低下することが考えられた。

#### 不完全融合の観察

A タイプに属する正常株と、A から D に類別された

Table 4. Fusion frequency and average of attracting distances in combination of type A and other types

Combination	Fusion frequency (%)	Average of attracting distances. ( $\mu\text{m}$ )
Type A $\times$ Type A	59.5	13.3
A $\times$ B	44.0	4.6
A $\times$ C	29.3	2.0
A $\times$ D	26.8	2.2

菌株との菌糸融合を観察し、それぞれの FF および AAD を Table 4 に示した。

A タイプ同士では FF は約 60%, AAD は約 13  $\mu\text{m}$  と A タイプに属する菌株の完全融合の FF, AAD とほぼ同様の値を示した。A タイプと B タイプの組み合わせでは、FF は 44%, AAD は 4.6  $\mu\text{m}$  であり、これは B タイプに属する菌株の FF, AAD と同様の値であった。

A タイプと C タイプ、A タイプと D タイプの組み合わせでは、FF は約 25~30%, AAD は約 2  $\mu\text{m}$  といずれも C タイプ、D タイプの菌株の FF, AAD より高い値を示した。しかし、これらの組み合わせでは菌糸融合後に致死反応が起こる例が非常に少なく、主に Fig. 3 に示した様な、一方の菌糸から形成された分枝様突起 (図中矢印) が、相手菌糸内に入り込んだ形態をとるものが多く観察された。

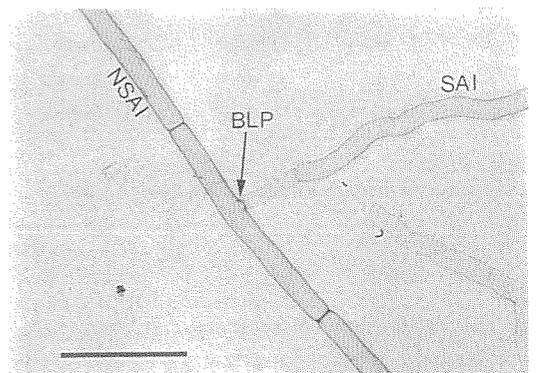


Fig. 3. Contact fusion between non-self-anastomosis isolate and self-anastomosis isolate.

BLP: Branch-like projection  
NSAI: Non-self-anastomosis isolate  
SAI: Self-anastomosis isolate  
scale: 50  $\mu\text{m}$

**Table 5.** Frequency of killing reaction in combination of type A and other types

Combination	Frequency of killing reaction (%)	KF*/FF**
Type A×Type A	49.9	0.84
A×B	24.2	0.55
A×C	4.9	0.17
A×D	3.9	0.15

\* KF: Frequency of killing reaction.

\*\* FF: Fusion frequency.

そこで次に、一視野内で致死反応の起きた頻度 (KF) を FF と同様の手法で計算し、また、FF との比 (KF/FF) を Table 5 に示した。A タイプ同士では、致死反応は菌糸融合の約 80% と高頻度に起きたが、A タイプと B タイプとの組み合わせでは約 50% と、A タイプ同士の組み合わせよりも著しく低い値であった。A タイプと C タイプ、A タイプと D タイプの組み合わせでは、KF/FF は約 0.15 と菌糸融合の約 15% が致死反応を起こしたのみであり、残りの 85% は、Fig. 3 の様な分枝様突起による接触融合であった。

次に、自己非菌糸融合株 (D タイプ) と A から D タイプとの菌糸融合を観察し、FF, AAD を Table 6 に示した。D タイプと A タイプ、D タイプと B タイプの組み合わせでは FF は約 30%, AAD は 1~10% であった。D タイプと C タイプとの組み合わせでは FF は 2.5%, ADD は 0 μm と非常にまれにしか融合が見られなかった。D タイプ同士では FF, AAD とともに 0 で、これらは、完全融合の際の C タイプ、D タイプの FF, AAD と同様の値であった。

**Table 6.** Fusion frequency and average of attracting distances in combination of type D and other types

Combination	Fusion frequency (%)	Average of attracting distances (μm)
Type D×Type A	30.8	10.1
D×B	28.8	1.5
D×C	2.5	0.0
D×D	0.0	0.0

考 察

自己非菌糸融合株、あるいは自己菌糸間での完全融合能が著しく低下した菌株の菌糸融合を観察した結果、不完全融合の場合、一方の菌糸の融合能が正常であれば、相手菌糸の融合能にかかわらず総接触数の約 30% の頻度で融合が可能と考えられた。しかし一方、致死反応が起こる頻度は相手菌の融合能に大きく左右されることが示された。また、自己非菌糸融合株 (D タイプ) は、完全融合だけでなく、菌糸融合能の低い菌株とは不完全融合もしなかった。D タイプに属する菌株は、完全融合能がなく、不完全融合の際も誘引能が著しく低い。また誘引においても相手菌糸に誘引される例は観察されなかった。その他、菌核形成能、菌そうの着色能、菌糸の分枝能が著しく低かった。

本菌の長期間継代保存株のなかに、菌そうが乳白色マット状を呈する菌株が比較的多数見られるが、これらは自己非菌糸融合株であることが判明した。またこの他に、菌核形成の少ない株、菌糸塊のみを形成する株などがあり、それぞれの菌糸融合能を調べた結果、菌核形成能が高い程、菌糸融合能も高いことが判明した。同時に、気中菌糸が発達している株程、菌糸融合能が低いことが分かった。これらから、保存株中に見られる自己非菌糸融合株は、分離直後は菌核型であったものが継代保存中に変化し、菌核形成能や分枝能、菌糸融合能が低下して自己非菌糸融合株となったと考えられた。

前報<sup>10)</sup>により、正常な菌株の完全融合は、菌糸の生長一菌糸先端や側壁からの誘引物質の分泌—それによる菌糸の誘引—接触—分枝様突起の形成—両細胞壁の溶解—原形質の連絡の過程を経ると考えられるが、自己非菌糸融合株の場合、誘引過程に先ず異常が見られ、その後分枝様突起形成は見られるが細胞壁の溶解以上に反応が進まないと考えられた。また、完全融合の微細構造観察<sup>11)</sup>では、接触した両菌糸の接触部細胞壁は接触後 10~15 分後と、非常に速やかに溶解しはじめていることから、自己非菌糸融合株では、誘引能力の低下と被誘引能力の欠如、自己細胞壁および相手菌糸の細胞壁溶解能が欠如しているものと考えられた。

これら性質変化を起こす原因、また菌核形成能、分枝能、菌そうの着色能と菌糸融合能との関係については不明であるが、自己非菌糸融合株の融合反応についてさらに詳細に検討するところによって、菌糸融合のメカニズム解明のための興味深い結果が得られるものと考えられる。

## 摘 要

1. *Rhizoctonia solani* AG-2-2 (IV) に属する菌株の PDA 上長期継代保存株には、菌核形成が少なく、気中菌糸が発達し、培地や菌そうが着色しない菌株が多く見られる。
2. 保存菌株を菌核形成、気中菌糸発達、培地および菌そうの着色の3点から、Aタイプ(菌核型)、Bタイプ(少菌核型)、Cタイプ(菌糸塊型)、Dタイプ(気中菌糸型)の4タイプに類別し、それぞれの菌糸融合能を調べた結果、AからDにゆく程菌糸融合能が低下し、Dタイプは自己非菌糸融合株であった。
3. 菌糸融合頻度と分枝頻度の間に正の相関が見られた。すなわち、一般に頻繁に分枝する菌株程、菌糸融合能が高いと考えられた。
4. 自己非菌糸融合株は、相手菌糸の融合能が正常な場合、約20~30%の頻度で融合が観察されたが、致死反応は3~5%と非常に低頻度であり、それ以外は、分枝突起を形成したのみの接触融合であった。
5. 自己非菌糸融合株は、菌核形成能、菌糸の分枝能、菌そうの着色能が低い。菌糸融合反応においては、誘引能が低く相手菌糸に誘引される被誘引能と接触後の細胞壁溶解能が欠如していると考えられた。

## 引 用 文 献

1. AYLMOORE, R. C. and TODD, N. K.: The ecology and physiology of the fungal mycelium, p. 103-125. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1984
2. BULLER, A. H. R.: Researches on fungi, Vol. V, p. 1-74. Hofner Publishing Co., New York, 1933
3. FLENTJE, N. T. and STRETTON, H. M.: Mechanism of variation in *Thanatephorus cucumeris* and *T. praticolus*, *Aust. J. Biol. Sci.*, **17**: 686-704. 1964
4. GALUN, M., MALKI, D. and GALUN, E.: Visualization of chitin-wall formation in hyphal tips and anastomoses of *Diplodia natalensis* by fluorescein-conjugated wheat germ agglutinin and [<sup>3</sup>H] N-acetyl-D-glucosamine, *Arch. Microbiol.*, **130**: 105-110. 1981
5. 百町満朗・宇井格生: *Rhizoctonia solani* の自己菌糸融合しない株について, 日植病報, **50**: 99. 1984 (講要)
6. KUNINAGA, S.: Hyphal anastomosis behav-

our of single basidiospore isolates in *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk, *Higashi Nippon Gakuen Journal of Liberal Arts and Science*, **6**: 95-106. 1980

7. MATSUMOTO, T., YAMAMOTO, W. and HIRANE, S.: Physiology and parasitology of the fungi generally referred to as *Hypochnus sasakii* Shirai. I. Differentiation of the strains by means of hyphal fusion and culture in differential media, *J. Soc. Tropical Agr.*, **4**: 370-388. 1932
8. NGUYEN, T. T. and NIEDERPRUEM, D. J.: The ecology and physiology of the fungal mycelium, p. 73-102. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1984
9. 生越 明: *Rhizoctonia solani* Kühn の菌糸融合による類別と各群の完全時代に関する研究, 農技研報告, **C. 30**: 1-63. 1976
10. 横山和成・生越 明・宇井格生: *Rhizoctonia solani* の菌糸融合に関する研究 I. 完全融合の光顕的観察, 日菌報, **24**: 329-340. 1983
11. YOKOYAMA, K., OGOSHI, A. and UI, T.: Studies on hyphal anastomosis of *Rhizoctonia solani* II. The ultrastructural changes of hyphal cells during perfect fusion, *Trans. Mycol. Soc. Japan*, **26**: 199-207. 1985

## Summary

The phenomenon of hyphal anastomosis of non-self-anastomosis isolates in *Rhizoctonia solani* was studied. The isolates which had less abilities of production of sclerotia and browning of colony, and excess developed aerial mycelia were detected among the isolates which were stored during long term on potato dextrose agar medium. The isolates were classified in four culture types with the characteristics of production of sclerotia, development of aerial mycelia and browning of colony: type A (sclerotia production type), type B (a few sclerotia production type), type C (hyphal mass production type), and type D (aerial mycelia type). The isolates which were classified in type A had normal character of *R. solani*.

The fusion frequency of type A, B, C, and D were 60-75%, 40-60%, 0-10%, and 0%, respectively. The isolates which were classified in type D were non-self-anastomosis isolates.

There was a positive correlation between the fusion frequency and a branching frequency of

each isolate. It was considered that the isolates which branched with high frequency had a high fusing ability.

The frequency of fusion between the non-self-anastomosis isolates and the normal isolates was about 20-30%, but the frequency of killing reaction was 3-5%. The most of fusions in this combination were contact fusions with branch-like projection at the fusing point.

The characteristics of non-self-anastomosis isola-

tes were as follows: 1) few sclerotia were produced, 2) frequency of hyphal branching was low, 3) colonies were not browned, 4) reaction to attraction by other hyphae was not observed, 5) ability to attract other hyphae was low, 6) ability to degrade the cell walls at contact point was low. It was considered that these isolates lack in ability of the attraction and the degradation of the cell walls in the normal processes of hyphal anastomosis of this fungus.