



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ランから分離されたリゾクトニア属菌2種の完全世代 (Thanatephorus orchidicola および Tulasnella deliquescens) の観察
Author(s)	植竹, ゆかり; UETAKE, Yukari; 生越, 明 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 22(2), 121-125
Issue Date	1999-03-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/12187">https://hdl.handle.net/2115/12187</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	22(2)_p121-125.pdf



## ランから分離されたりゾクトニア属菌 2 種の完全世代 (*Thanatephorus orchidicola* および *Tulasnella deliquescens*) の観察

植竹ゆかり<sup>1)</sup>・生越 明・早川 志帆<sup>2)</sup>

(北海道大学農学部植物寄生病学講座)

### Observation of teleomorphs of rhizoctonias (*Thanatephorus orchidicola* and *Tulasnella deliquescens*) isolated from orchids

Yukari UETAKE<sup>1)</sup>, Akira OGOSHI and Shiho HAYAKAWA<sup>2)</sup>

(Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Kita-ku, Sapporo 060-8589, Japan)

#### 摘 要

*Rhizoctonia* 属菌の完全世代, *Tulasnella deliquescens* (Juel) Juel (不完全世代名 *Rhizoctonia repens* (= *Epulorhiza repens*) Bernard, 菌糸融合群 R.r.1) および *Thanatephorus orchidicola* Warcup & Talbot (菌糸融合群 T.o.1) が, 日本において初めて観察された。これまでこれらの菌株は, 菌叢の形態や菌糸融合法によって同定されてきたが, 今回の観察により, 菌糸融合群 R.r.1 および T.o.1 に属する菌株の完全世代の推定が可能になった。観察された完全世代の諸形質を記載した。

#### 序 論

ランの菌根菌は内生菌根を形成する。その多くは担子菌であり, なかでも *Rhizoctonia* 属菌がよく知られている<sup>12)</sup>。*Rhizoctonia* 属菌の完全世代には, *Tulasnella* 属, *Ceratobasidium* 属, *Thanatephorus* 属の 3 属があることが知られており, 近年 Moore<sup>9)</sup> はそれぞれに対応する不完全世代として, *Epulorhiza* 属, *Ceratorhiza* 属, および *Moniliopsis* 属を提唱した。これらの 3 属はいずれもランから分離されている<sup>16, 17, 18)</sup>。しかし, 日本産のランから分離され, かつ完全世代が観察された菌は

*Ceratobasidium cornigerum* (Bourdot) Rogers<sup>10)</sup> のみである。これはノビネチドリ (*Gymnadenia camtschatica* (Cham.) Miyabe et Kudo f. *camtschatica*), ツレサギソウ (*Platanthera tipuloides* Lindl.), トキノウ (*Pogonia japonica* Rchb. f.) から分離された菌株で, 菌糸融合群は未報告であった。

*Rhizoctonia* 属菌の同定方法として, 菌糸融合による類別があり, 特に植物病原菌の *Rhizoctonia* 属菌についてよく研究され<sup>1)</sup>, 多くの菌糸融合群 (AG) が報告されている。菌糸融合群は種あるいは種内群の同定に使用されており, 遺伝学的に区別できることからその妥当性が確認されている<sup>7)</sup>。そのためわれわれは菌糸融合試験によって, もしある菌株が, 完全世代の明らかにされている菌糸融合群に属するならば, その菌株の完全世代を決定することができると考えた。

*Rhizoctonia repens* (= *Epulorhiza repens*) の菌糸融合群には少なくとも 2 つの群 (R.r.1 および R.r.2) が存在することが知られている<sup>14)</sup>。本研究ではこのうち R.r.1 群に属する菌株が完全世代を形成した。さらに *Thanatephorus orchidicola* の標準菌株である ATCC 24275 と菌糸融合した, *Rhizoctonia* 属菌の 1 菌株で完全世代を観察したのでここに記載する。

#### 材料および方法

供試菌株は, 日本でランから分離され, 北海道大学植物寄生病学講座に保存されていたものである。これらの菌株は, Harley らの方法<sup>5)</sup>を改変した方法で分離した。すなわち, 水道水でくりかえし振とう

現住所 <sup>1)</sup> 〒305-8604 茨城県つくば市観音台3-1-1  
農林水産省農業環境技術研究所環境生物部

<sup>2)</sup> 〒305-8566 茨城県つくば市東1-1 工業技術院生命工学工業技術研究所

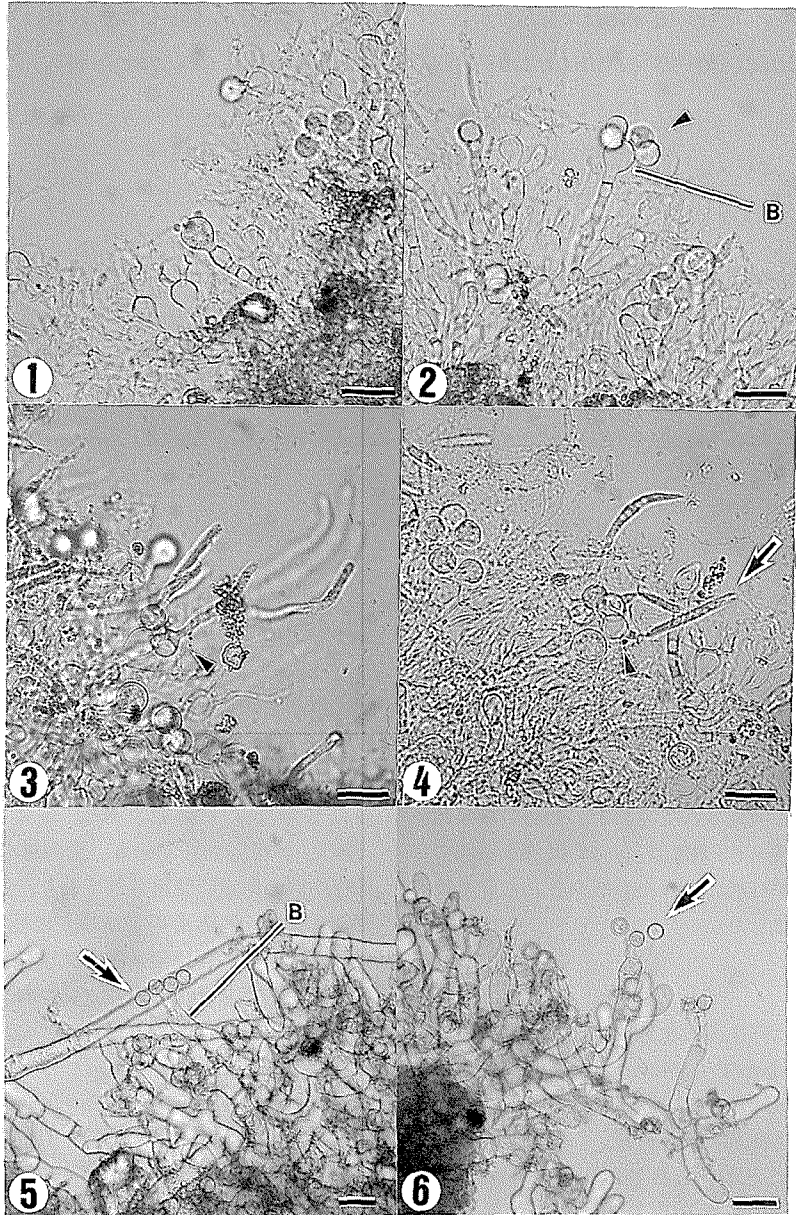


図1～4. *Tulasnella deliquescens*, 菌糸融合群 R.r.1の菌株 Pla-3が形成した子実体。未熟担子器(図1, 2)および成熟担子器(図3, 4)。B=担子器, Arrow heads=小柄。担子胞子(Arrows)は細長く, 波状である。Scale bar=20  $\mu$ m。

Fig. 1~4. *Tulasnella deliquescens*, Pla-3 (anastomosis group R.r.1). Young (Fig. 1 and 2) and mature (Fig 3 and 4) basidia (B). B=basidium, Arrow heads=sterigma. Basidiospores (arrows) were narrow and sinuous; Scale bar=20  $\mu$ m.

図5, 6. *Thanatephorus orchidicola*, 菌糸融合群 T.o.1の菌株 R-catが形成した子実体。B=担子器 (basidia), 矢印=担子胞子。担子胞子は淡黄褐色。Scale bar=20  $\mu$ m。

Fig. 5, 6. *Thanatephorus orchidicola*, R-cat (anastomosis group T.o.1). B=basidium; Arrow=Basidiospore; Basidiospores were fawn colored; Scale bar=20  $\mu$ m.

洗浄したランの根をさらに Tween 80 を加えた水道水中で再振とう洗浄し、その後水道水で数回振とうを繰り返した。洗浄した根は殺菌ろ紙の上において水を吸い取り、5-10mmに切断、さらに縦に切り切断面を下にして酸性素寒天培地上に置いた。25℃の暗所で培養し、伸長する菌糸を単菌糸分離した。このうち、菌株 Pla-3 (分離源ツレサギソウ) は菌糸融合反応により R.r.1<sup>14</sup> 群に同定され、菌株 R-cat (分離源 *Cattleya* sp.) は T.o.1<sup>6</sup> と同定された。なお菌糸融合の標準菌株には *R. repens* OR-810 (ATCC 76152) および *T. orchidicola* Warcup & Talbot (ATCC 24275) を用いた。完全世代の形成は生越の記載した土壤法<sup>11)</sup> (soil method) に従った。培地は、PYDA (potato extract-yeast extract-dextrose agar) あるいは PPDA (potato extract-peptone-dextrose agar) を用いた。

ジャガイモ200gに蒸留水1Lを加え、90℃で30分間抽出したろ液に水を加えて全量1Lとした。これにブドウ糖および寒天をそれぞれ2%、酵母エキス (Difco 社製) またはペプトンを0.5%量加え、120℃で20分間殺菌した。菌をペトリ皿の寒天培地上で室温または25℃で培養した (前培養とする)。菌叢が培地表面全体に広がった時点で、その上に厚さ約1cmの土壤 (赤玉土) をのせ、水を加えて飽和状態とし、室内の散光下に静置した (後培養とする)。培養期間中水を補給して常に飽和状態を保った。

### 結果および考察

菌株 Pla-3 が土壤表面に形成した子実体の形態は以下のとおりである (後培養12日目, 図1~4)。担子器は球状、有柄であった。担子器は直径10.1-

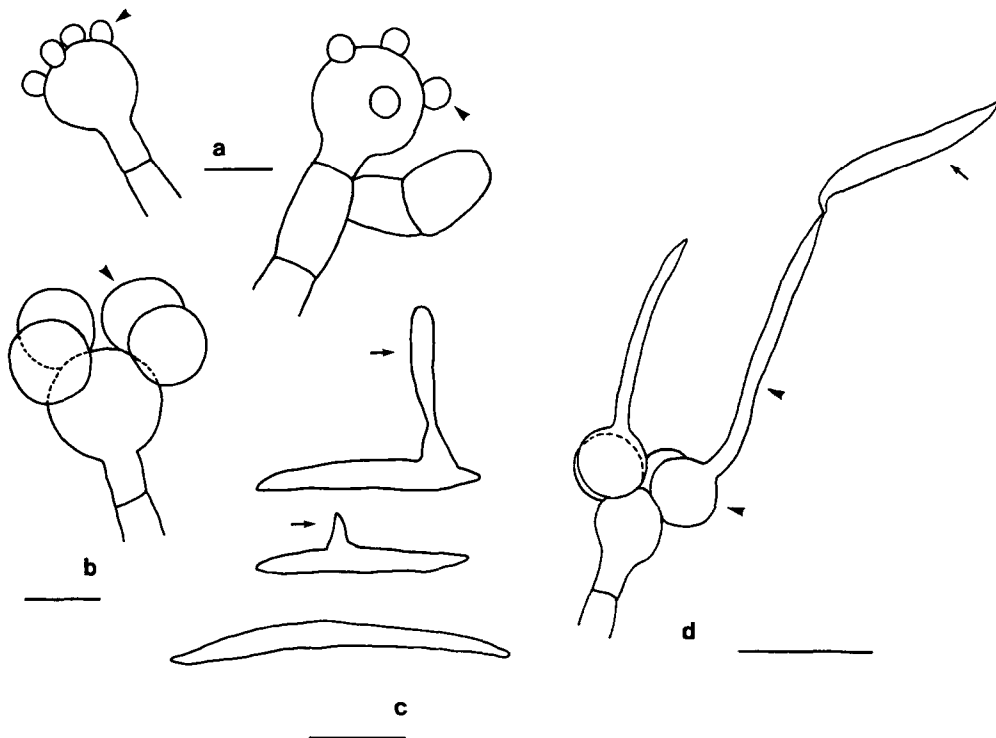


図 7. *Tulasnella deliquescens*.

7a, b. 未熟担子器, Arrow heads=小柄。Scale bar=10 μm。

7c. 担子胞子, 矢印=反復発芽。Scale bar=10 μm。

7d. 成熟担子器, Arrow heads=小柄, 矢印=担子胞子。Scale bar=20 μm。

Fig. 7. *Tulasnella deliquescens*.

7a, b. Young basidium, Arrow heads= Sterigma; Scale bar=10 μm.

7c. Basidiospores, Arrow= Repetitive spore; Scale bar=10 μm.

7d. Mature basidium, Arrow heads= Sterigma, Arrow= Basidiospore; Scale bar=20 μm.

13.9  $\mu\text{m}$ , 平均11.7  $\mu\text{m}$ , 柄部の長さは (0-)3.7-7.6(-11.3)  $\mu\text{m}$ であった。小柄ははじめ球状で、直径8.8-11.3(-12.6)  $\mu\text{m}$ , のち先端が伸長し、長さは6.3-29(-44.1)  $\mu\text{m}$ , 基部直径は2.5-5.0(-6.3)  $\mu\text{m}$ , それぞれの平均値は10.0, 18.3および4.0  $\mu\text{m}$ であった。担子胞子は細長く、直線的なものからややカーブしたもの, あるいは波状であった(図3, 4, 7c)。大きさは(16.4-)20.2-37.8(-44.1)  $\times$  2.5-5.0  $\mu\text{m}$ , 平均値29.0  $\times$  3.7  $\mu\text{m}$ であった。担子胞子の反復発芽(repetition)も観察された。菌糸幅は2.5-3.8  $\mu\text{m}$ , 平均は3.0  $\mu\text{m}$ であった。これらの形態的特徴から, 本菌は *Tulasnella deliquescens* (Juel) Juel と同定した。*E. repens* の完全世代は *Tulasnella calospora* (Bordier) Juel とされて

いたが<sup>16)</sup>, Roberts<sup>13)</sup>により, *Tulasnella deliquescens* の記載違いであることが指摘されている(*Tulasnella calospora* auct. Non (Boudier) Juel)。

菌株 R-cat の子実体は, 後培養29日後に観察された(図5, 6)。子実体の形態は以下のとおりである。担子柄は, 短棍棒状または倒卵型であった。その大きさは13.0-23.4(-27.3)  $\times$  (7.8-)9.1-11.7(-13.0)  $\mu\text{m}$ であり, 平均値は19.0  $\times$  10.1  $\mu\text{m}$ であった。小柄の長さは6.5-10.4-13.0  $\mu\text{m}$ であった。担子胞子の大きさは(5.2-)6.5-10.4  $\mu\text{m}$ で, 平均値8.3  $\mu\text{m}$ であった。菌糸幅は7.8-11.7  $\mu\text{m}$ で, 平均値は9.6  $\mu\text{m}$ であった。菌糸および子実体は着色し, 淡黄褐色であった。これら形態的特徴から, 本菌は *T. orchidicola* Warcup & Talbot<sup>15)</sup> と同定した。

本実験において, 菌糸融合群が明らかな *E. repens* の完全世代が観察された。本菌は形態的な特徴から同定されることが多かったが<sup>2,3,4,8,19)</sup>, 菌糸融合群と完全世代の関係が確認されたことにより, 今後は菌糸融合群 R.r.1 の菌株と菌糸融合すればその完全世代は *T. deliquescens* であると見なすことができる。本研究では未実験ではあるが *E. repens* のもう一つの菌糸融合群である R.r.2 の菌株による子実体形成を観察することも必要と考えられた。

*T. orchidicola* の菌糸融合群 T.o.1 の菌株も子実体が観察された。

*Rhizoctonia* 属菌とランの共生関係および菌種の地理的な分布を併せて明らかにしていくためには, 完全世代の観察と菌糸融合法を組み合わせた同定方法が重要であると考えられた。そのためには, 完全世代と菌糸融合群の対応を明らかにしていく必要があり, ランから分離された *Rhizoctonia* 属菌の完全世代の観察をより多くの菌株を用いて行なう必要がある。

## 引用文献

1. Carling, E. E. : Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. In : (Sneh, B. et al. eds.) *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. pp. 37-47, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London, 1996
2. Curtis, J. T. : The relation of specificity of orchid mycorrhizal fungi to the problem of symbiosis. *Am. J. Bot.*, 26 : 390-398, 1939
3. Fillipero Marchisio, V., Berta, G., Fontana, A. and Mar-

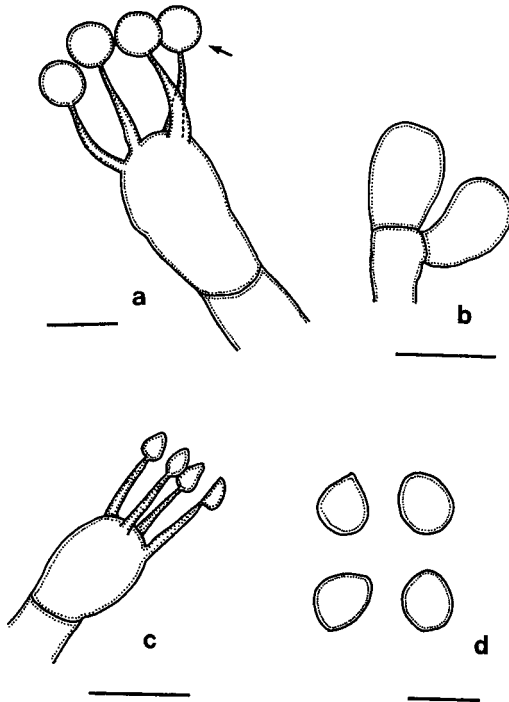


図8 *Thanatephorus orchidicola*

- 8a. 成熟担子器, 矢印=担子胞子。Scale bar=10  $\mu\text{m}$ 。
- 8b. 未熟担子器。Scale bar=20  $\mu\text{m}$ 。
- 8c. 成熟担子器。Scale bar=20  $\mu\text{m}$ 。
- 8d. 担子胞子。Scale bar=10  $\mu\text{m}$ 。

Fig. 8. *Thanatephorus orchidicola*

- 8a. Mature basidium, Arrow=Basidiospore; Scale bar=10  $\mu\text{m}$ .
- 8b. Young basidium; Scale bar=20  $\mu\text{m}$ .
- 8c. Mature basidium; Scale bar=20  $\mu\text{m}$ .
- 8d. Basidiospores. Scale bar=10  $\mu\text{m}$ .

- zetti Mannina, F. : Endophytes of wild orchids native to Italy: their morphology, caryology, ultrastructure and cytochemical characterization. *New Phytol.*, 100 : 623-641, 1985
4. Hadley, G. : Non-specificity of symbiotic infection in orchid mycorrhiza. *New Phytol.*, 69 : 1015-1023, 1970
5. Harley, J. L. and Waid, J., : A method of studying active mycelia on living roots and other surfaces in the soil. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 38 : 104-118, 1955
6. Hayakawa, S., Uetake, Y. and Ogoshi, A. : Identification of symbiotic rhizoctonias from naturally occurring protocorms and roots of *Dactylorhiza aristata* (Orchidaceae). *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.* (投稿中) .
7. Kuninaga, S. : DNA base sequence complementary analyses. In : (Sneh, B. *et al.* eds.) *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. pp.73-86, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London, 1996
8. Masuhara, G., Kimura, S. and Katsuya, K. : Seasonal changes in the mycorrhizae of *Bletilla striata* (Orchidaceae). *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 29 : 25-31, 1988
9. Moore, R. T. : The genera of *Rhizoctonia*-like fungi : *Ascorhizoctonia*, *Ceratorhiza*, gen. nov., *Epulorhiza* gen. nov., *Moniliopsis* and *Rhizoctonia*. *Mycotaxon*, 29 : 91-99, 1987
10. 西川恒彦・宇井格生 : 北海道産野生ラン科植物から分離される *Rhizoctonia* 属菌類, *日菌報*, 17 : 77-84, 1976
11. Ogoshi, A. : Grouping of *Rhizoctonia solani* Kuhn and their perfect stages. *Rev. Plant Protec. Res.*, 8 : 93-103, 1975
12. Rasmussen, H. N. : *Terrestrial orchids; from seed to mycotrophic plant*, Cambridge University Press, Cambridge, 1995
13. Roberts, P. : Long-spored *Tulasnella* species from Devon, with additional notes on allantoid-spored species. *Mycol. Res.*, 98 : 1235-1244, 1994
14. Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, A. : Identification of *Rhizoctonia* Species, APS Press, St. Paul, 1991
15. Warcup, J. H. and Talbot, P. H. B. : Perfect states of some rhizoctonias. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 49 : 427-435, 1966
16. Warcup, J. H. and Talbot, P. H. B. : Perfect states of rhizoctonias associated with orchids. *New Phytol.* 66 : 631-641, 1967
17. Warcup, J. H. and Talbot, P. H. B. : Perfect states of rhizoctonias associated with orchids. II. *New Phytol.*, 70 : 35-40, 1971
18. Warcup, J. H. and Talbot, P. H. B. : Perfect states of rhizoctonias associated with orchids. III. *New Phytol.*, 86 : 267-272, 1980
19. Williamson, B. and Hadley, G. : Penetration and infection of orchid protocorms by *Thanatephorus cucumeris* and other *Rhizoctonia* isolates. *Phytopathology*, 60 : 1092-1096, 1970

### Summary

Perfect states of genus *Rhizoctonia*, *Tulasnella deliquescens* (Juel) Juel (anamorphic name *Rhizoctonia repens* (= *Epulorhiza repens*) Bernard, anastomosis group R.r.1) and *Thanatephorus orchidicola* Warcup & Talbot (anastomosis group T.o.1) were observed in Japan for the first time. So far these species have been identified using morphological characteristics and anastomosis technique. The present study makes it possible to presume names for the perfect states of both anastomosis group R.r.1 and T.o.1. The characteristics of these perfect states are described.