

18.	<i>Rhizoctonia</i> 属菌の大麦粒による簡易長期保存法						
<p>要約 <i>Rhizoctonia</i>属菌を大麦粒培地で25℃，10日間培養したものを，33℃で24時間通風乾燥し，これを試験管に入れて綿栓をし，家庭用冷凍庫等の低温下（-20℃）に保管することにより多数の菌株で変異もなく，10年以上長期保存できる。</p>							
東北農業試験場 地域基盤研究部 病害生態研究室						連絡先	0196-43-3465
部会名	農業生態	専門	作物病害	対象		分類	研究

#### 〔背景・ねらい〕

現在，多犯性の*Rhizoctonia solani*には，11種類の菌系融合群がある。本菌は保存中に病原性や生理的性質などが変異し，研究推進上の障害となることが少なくない。簡便かつ多くの研究機関で利用できる本菌の長期保存技術の開発が早急に望まれる。*R. solani*各種菌系及び2核の*Rhizoctonia*菌を大麦培地で培養し乾燥したものを10年以上長期保存してきた。今回，それら菌株の生存率，培養形態，病原性を検討した結果，本手法は長期保存法として実用性があると認められたので，培養・保存条件及び本手法利用上の特徴を以下にとりまとめた。

#### 〔成果の内容・特徴〕

- ① 培養と保存法：大麦粒培地（大麦：水＝6：5，少量時は同重量比，120℃で1.2気圧30分殺菌）で菌を25℃で10日間培養する。培養容器は綿栓とし，菌移植3日後より毎日1回振って大麦を攪拌する。培養後の大麦は33℃一昼夜，通風乾燥する（水分含量を8～10％）。これを試験管に入れ綿栓したのち，ビニル袋に纏めて入れ-20℃の家庭用冷凍庫あるいは冷蔵庫冷凍室に保管する。保存菌株が必要なときは，直接室温下に取り出し，素寒天（pH5前後）上に保存粒（5粒前後）を置き，2，3日後に菌の分離を行う。
- ② 特徴として，ア)多数の菌系が10年以上保存できる（表1），イ)保存中に培養性質や病原性などの変異がほとんどない（表2），ウ)停電，菌株の出し入れなど数日以内であれば，低温維持対策を特に必要としない，エ)大量保存により，保存粒を接種試験に直接利用可能である（表2），オ)菌株の移動，輸送が容易である，などの利点がある。

#### 〔成果の活用綿・留意点〕

- ① 菌株の使用に当たり保存粒からの菌の分離操作が必要であり，通常用いられている方法で行う。
- ② 非病原性のAG-6およびAG-BIでは，菌株によっては生存率が劣る例がある。

[具体的データ]

表1. 家庭用冷凍庫の低温下(-20℃)で10年間保存した*Rhizoctonia*属菌菌株の生存割合<sup>a)</sup>

菌系融合群・培養型	保存菌株数	生存菌株数	菌培養大麦粒数	再分離率(%) <sup>b)</sup>
<i>Rhizoctonia solani</i>				
AG1-1A	3	3	30	80.0
1B	8	8	80	91.3
AG2-1	2	2	20	100.0
AG2-2-IV	9	9	90	92.2
AG3	3	3	30	100.0
AG4	8	8	80	98.8
AG5	6	6	60	81.7
AG6	5	3	50	24.0
AGBI	2	1	20	50.0
2核の <i>Rhizoctonia</i> 属菌 <sup>c)</sup>	6	6	60	78.3

- a) 保存年月: 1982年4月.  
調査時の菌培養乾燥大麦の水分: 8.1-12.8 (平均9.4%)
- b) 長期保存した菌培養保存粒(10粒/シャーレ)を素寒天平板におき、25℃で3日間培養した後、大麦粒からの菌系生育を調査
- c) 2核の*Rhizoctonia*属菌: AG-Ba、AG-C、AG-D、AG-E、AG-Kの菌系を含む

表2. *Rhizoctonia*属菌菌株の長期保存菌株の病原性

菌系融合群・菌株	1974年			1993年		
	播種数	出芽前立枯率	出芽後立枯率	播種数	出芽前立枯率	出芽後立枯率
AG1-1B						
Rh121	100	1.3	60.0	10	40.0	30.0
Rh277	200	7.6	66.8	10	10.0	70.0
AG2-1						
Rh246	200	17.4	65.6	10	10.0	40.0
AG2-2、IV						
Rh19	100	29.2	69.7	10	50.0	50.0
Rh509S-1	-	-	-	10	50.0	50.0
AG-4						
Rh154	200	83.0	77.0	10	100.0	-
Rh165	200	88.4	100.0	10	100.0	-
AG-5						
Rh164	200	2.4	58.2	10	10.0	60.0
Rh184	200	8.4	33.7	10	30.0	60.0
無接種	200	0.0	9.2	10	0.0	0.0

- a) 供試作物: テンサイ 品種: 1974年はモノホープ、1993年はモノエースを用いた.  
1974年の試験: ガラス室内鉢試験(内藤ら、1974)、接種量: 培養大麦粒2g/鉢  
1993年の試験: 〃 で土を詰めたシャーレで試験、接種量: 培養大麦粒10粒/シャーレ

[その他]

研究課題名: ダイズ葉腐病菌菌系の特性解明

予算区分: 経常

研究期間: 平成5年度

研究担当者: 内藤繁男, 本間善久(北農試)

発表論文等: 1) *Rhizoctonia*属菌の培養大麦粒による簡易長期保存法について, 北日本病虫研報 44, 20-23 (1993)