

Pellicularia filamentosa (Pat.) Rogers に関する研究

第3報 土壤微生物相の変動と *P. filamentosa* の動向との関係

小 倉 寛 典

(農学部植物病理学研究室)

Studies on *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers.

III. The relation between the alteration of soil microflora and the behaviour of *P. filamentosa*.

by

Hirosuke OGURA

(Laboratory of Phytopathology, Faculty of Agriculture)

Summary

Although the microflora in soil has a variety in each season, annual change of flora is constant in dynamic phase. In this paper, the behaviour and activity of *Pellicularia filamentosa* inoculated in soil artificially and change of microflora in it were investigated.

Soil-microbes increased in warm season, and in mid-summer they decreased temporarily, but did not by planting cucumber. The microflora fell in confusion for a short time by addition of *P. filamentosa* cultured in rice straw, but kept balance about two months after inoculation. When cucumbers were planted continuously, disease rate increased in later planting. It is considered that the pathogen grows in high density for utilization of essential nutrients as plant debris etc. Many of pathogens were *Pellicularia* in early planting but were *Pythium* in later. In this succession it is considered to adapt to seasonal change or to soil environment etc. Rice straw buried in soil was decomposed by bacteria at first and then successively by fungi, and *P. filamentosa* grew in wider extent in soil added straw.

In these results, it is suggested that the activity of *P. filamentosa* in saprophytic phase relates with microflora in which this pathogen inhabits, but if the essential organic matters for available to pathogen are in this soil, the pathogens grow in high density and disease ratio increases severely.

Pellicularia filamentosa は土壤生息性の病原菌であるので、生活史の大部分は土壤環境に強く支配される。多くの土壤微生物はお互いに利害をわけながら腐生的あるいは寄生的生活を行ないつつ動的な平衡を保っている。畑作土壤において土壤環境を変える要因の1つは植生であって、その変化に応じて微生物相にも変動が生ずる。この変動が病原菌に有利に働くときに土壤病害が発生する。

本報告は土壤中に導入された *P. filamentosa* の動向をキュウリ幼苗を用いて検索したものである。

実験材料

供試圃場は、数年来未耕状態に放置してあった場所で、スギナ、ズズメノエンドウ、ヒメジオンなどの植生がみられる。土壌成分* は灼熱損量5.42%, 全窒素0.11%, 燐酸0.017%, 含水量26.1%, pH5.8である。また、土壌中の病原菌の検索用植物としてはキュウリ幼苗(四葉:九州農試保存品種)を用いた。供試した *P. filamentosa* はキュウリ幼苗から分離した RS501号菌である。

実験方法ならびに実験結果

1. 土壌微生物相の年間の変動 供試圃場の微生物相の安定を考慮して、実験は圃場整地後6ヶ月を経てから開始した。土壌微生物の分析には寒天稀釈法を用いた。すなわち、地下5~10cmの土壌を各実験区内の3ヶ所からそれぞれ約30gずつ採取し、十分混和したのち、その20gを殺菌水とともに1分間95回の割合で30分間振とうし、糸状菌および放線菌は10,000倍に、細菌は100,000倍に稀釈して、その1ml中の菌数を計数した。分離用培地は、糸状菌ならびに放線菌には信夫¹⁵⁾の放線菌分離用培地(potato 100g, peptone 2g, glycerine 5ml, MgSO₄ 0.5g, K₂HPO₄ 0.5g, NaCl 0.5g, FeSO₄ 0.01g, 寒天15g, 水1l)を用い、とくに糸状菌の分離には細菌の増殖を防ぐために rose bengal および streptomycine を併用添加した⁸⁾。細菌にはブイヨン培地(肉エキス10g, peptone 10g, NaCl 2g, 寒天25g, 水1l)を用いた。培養はいずれも26°Cで行ない、細菌は2日、糸状菌は4日、放線菌は8日間培養したのち、出現する菌数を計数した。土壌微生物相の年周期は約40日ごとに観察した。第1図はペトリ皿10枚に出現した菌数の和である。

糸状菌数は春から夏にかけて増加するが、盛夏には一時減少し、9月から10月に最大になり、11月以降急速に減少する。8月に菌数が減少するのは裸地による高温乾燥のためと思われる。また、1月の菌数が春期と大差ないことは、寒天稀釈法が土壌中の孢子を分離する傾向が大であり²⁰⁾、秋に形成された孢子を計数したものと考えられる。12月から2月における地下5~10cmの温度は10~-1°Cであり、大部分の菌は非活動的な孢子として存在するものと思われ、active mycelia 分離法では第1図に示した冬期の菌数はさらに低下するものと考えられる。Warcup²⁰⁾は糸状菌の孢子および菌糸の年間の変動は高温湿潤期に多く、低温乾燥期に少なくなると報告している。放線菌および細菌も糸状菌とほぼ同じ傾向を示すようであって、菌数の最大期は梅雨後期にあるようである。

2. *P. filamentosa* の接種およびキュウリ播種が土壌微生物相に及ぼす影響ならびに幼苗立枯病の発生 前記実験と同一場所にキュウリ播種区および *P. filamentosa* 接種後キュウリ播種区を設定し、前記実験を無処理区として約40日ごとに微生物相の変動を検討した(第1図)。すなわち、*P. filamentosa* を培養した稲わら(長さ2cm, 26°C10日間培養)を5月24日(1960)に500g/m²の割合に地下10cmに接種し、15日後に土壌中に埋没した稲わらを取除き、*P. filamentosa* が他の土壌菌に比して養分過剰になることを防いだ。接種40日後にあらかじめ表面殺菌後催芽させたキュウリ種子を播種した。キュウリは40日ごとに3回播種し、いずれも15日後に抜取った。土壌微生物相の分析は前項と同様の方法で行なった。

* 腐植および結合水は灼熱法で、全窒素はケルダール法、燐酸は比色法で測定した。

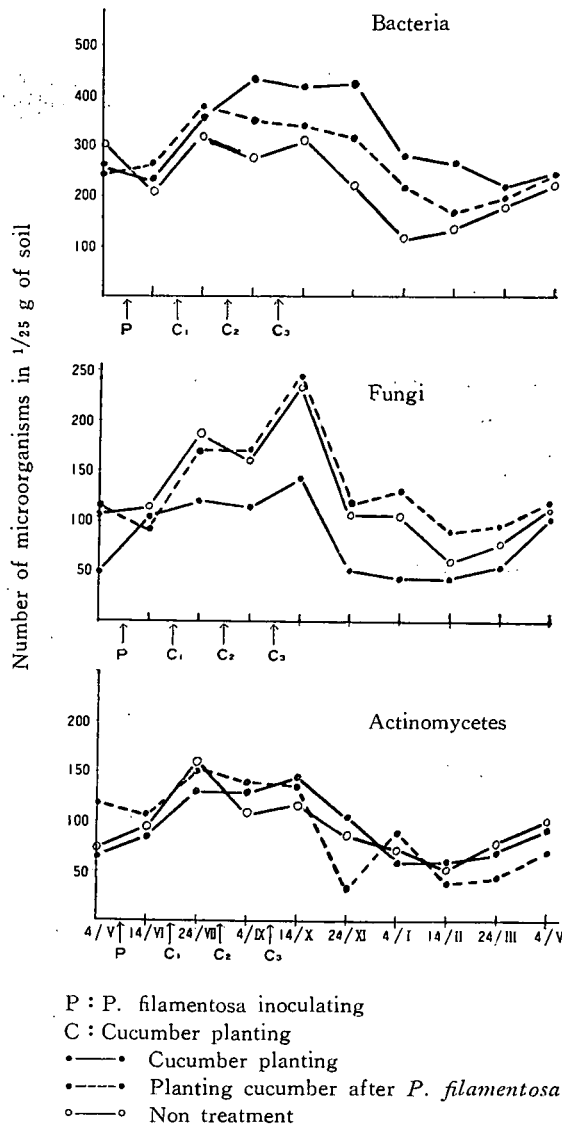


Fig. 1. Annual fluctuation in soil microflora

P. filamentosa 接種20日後の菌数は、無処理区と比較すると、糸状菌、放線菌では減少したが、細菌ではやゝ増加した。しかし、2ヶ月後には両区とも同じ傾向を示した。キュウリ連作の影響では細菌がやゝ増加するようである。また、細菌の増加の著しい区では、糸状菌は減少する。キュウリを播種すれば、3菌とも夏期の菌数の減少は無処理区ほど甚だしくない。これはキュウリによる表土被覆のため、温度、湿度の急変が妨げられるものと思われる。また、細菌数は作付終了後しばらくはあまり減少しないが、これは土壤中のキュウリ遺体の利用による増殖、あるいは、Thom & Mallow¹⁶⁾が述べているような sugar fungi に類似した発酵型細菌の胞子の残存などが考えられる。

キュウリを連作した場合の幼苗立枯病発生率の変化は第1表に、各区の罹病苗から分離した病原菌の比率は第2表に示した通りである。

Table 1. The occurrence of damping-off of cucumber seedlings in continuous planting field of cucumber

| Treatment | Pre cent of diseased seedling | | |
|-----------------------------------|-------------------------------|-----|-----|
| | *1st | 2nd | 3rd |
| <i>P. filamentosa</i> inoculation | 96 | 100 | 97 |
| Non inoculation | 7 | 67 | 89 |

* Times of cucumber planting

P. filamentosa 接種区では作付第1回より幼苗立枯病が多発するが、発病状況を見ると、最初実験圃場の数カ所に病徴があらわれ、約半月の間に徐々に罹病面積が拡大し、ついにはほとんどの幼苗が罹病する。しかし、第2回作付以降では初期発病面積は第1回作付に比して広く、大部分の幼苗が倒伏するのに要する日数も短い。また、発芽前侵害による未発芽数も増加する。これらの現象は、第1回作付では土壤中の病原菌数が比較的少なく、菌の活性の高い場所で病害が発生し、次第に土壤中を伝播して行くものと思われる。これに反し、第2回作付以後は前回の作付により活性をもつ病原菌が土壤中に生残り、初期発病面積が広がるものと考えられる。この傾向は無接種区においても認められる。

Table 2. Rate of pathogens caused damping-off of cucumber seedlings in continuous planting field.

| Pathogen | <i>P. filamentosa</i> inoculation | | | Non inoculation | | |
|---------------------|-----------------------------------|-----|-----|-----------------|-----|-----|
| | *1st | 2nd | 3rd | 1st | 2nd | 3rd |
| <i>Pellicularia</i> | **32 | 39 | 25 | 0 | 9 | 7 |
| <i>Pythium</i> | 24 | 24 | 55 | 16 | 34 | 70 |
| <i>Fusarium</i> | 0 | 0 | 0 | 4 | 12 | 7 |
| Others | 44 | 37 | 20 | 80 | 45 | 16 |

* Times of cucumber planting

** Per cent of pathogen isolated from damped seedlings

P. filamentosa 接種区および無接種区の立枯幼苗から分離した菌は *Pellicularia*, *Pythium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Phycomycetes*, Bacteria などであった。接種区では第1回作付には *Pellicularia* による幼苗立枯病が多いが、第3回作付ではやゝ減少の傾向を示し、*Pythium* による被害が多くなる。Park¹³⁾ は土着菌と外来菌との間には常に競合が起り、外来菌は本来の土壤菌であっても移植された土壤中で dominant factor になるのは困難であると主張している。本実験における *Pellicularia* と *Pythium* の分離頻度の推移は、両菌の幼苗侵害の時期的差異^{7, 10)} とも考えられるが、さらに有機的環境に対する両菌の反応も考える必要がある。*Fusarium* はこの土壤では常に recessive factor として存在するようである。これら3菌以外の分離菌はいずれも単独ではキュウリ幼苗を侵し得なかったが、土壤中において有機物分解初期に出現する菌群である。Waid¹⁹⁾ は第1次侵害菌の侵入箇所から腐生菌が侵入し、寄主の組織内に拡がることを観察している。本実験では、第1回作付期には病原菌の菌数が少なく、寄主に侵入してもただちに病徴をあらわすに至らず、その間に第2次侵入菌として *Trichoderma*, *Penicillium*

などが侵入したものと考えられる。

3. 稲わら添加による土壤微生物相ならびに幼苗立枯病発生の変化 土壤中に有機物として稲わらを添加した場合の微生物相の変動と *P. filamentosa* の動向とを観察した。地下10cmのところに湿熱殺菌した稲わらを埋め、同時に径12mmの *P. filamentosa* の cellophane inoculum を10cm四方に1枚の割合で稲わら添加区および無添加区に接種した。土壤微生物相の分析は稲わら添加前15日、添加後15, 45, 75日に行なった。分析方法は前記諸実験と同様である(第2図)。

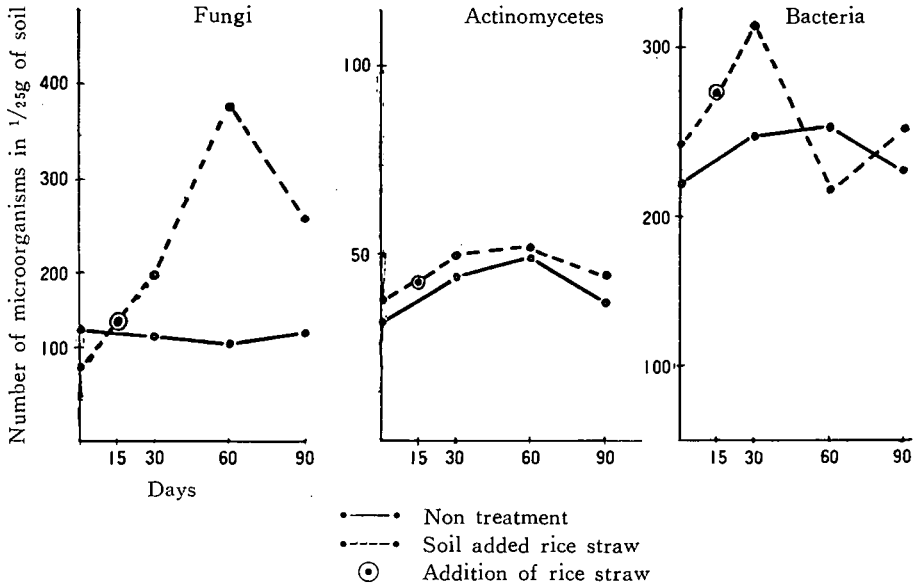


Fig. 2. Increase of microorganisms in soil added rice straw

稲わらを添加すると、土壤中の糸状菌と細菌の数は増加するが、放線菌には変化が認められない。細菌はわら添加後15日頃にすでに菌数は急に増加し、45日頃には無添加区より一時減少するが、その後は次第に増加して安定するようである。糸状菌は添加15日頃より菌数は増加しはじめ、45日後には最大になり、やがて減少して安定するようである。このようにわらの分解には細菌が糸状菌に先行する。Guillemat & Montegut⁵⁾ は小麦わらの埋没により細菌が糸状菌に先行して増大し、糸状菌はその後かなり長期間菌数の増加を示すと報告している。Mitsell・Adams & Thom⁹⁾ も土壤条件を変化させれば細菌が急激に増加することを述べている。

つぎに *P. filamentosa* の土壤中の垂直分布を知るために、稲わら添加2ヶ月後に稲わら添加区および無添加区の土壤を地下5, 10, 20, 30cmの地点より採取し、各深度別に10倍量の殺菌土壤と混和して5寸鉢に入れ、5日間放置後、催芽させたキュウリを各鉢20粒ずつ播種し、15日後に幼苗立枯歩合を測定した(第3表)。また、立枯幼苗から病原菌を分離して同定した(第4表)。

Table 3. Occurrence of damped cucumber seedlings in soil dug out from different depth.

| Treatment* | Per cent of diseased seedlings | | | |
|------------------|--------------------------------|-----|----|----|
| | Soil depth (cm) | | | |
| | 5 | 10 | 20 | 30 |
| Non treatment | 47 | 63 | 1 | 0 |
| Added rice straw | 67 | 100 | 11 | 0 |

* *P. filamentosa* was inoculated in 10 cm of soil depth by cellophane inoculum technique, and then rice straw was buried in the same depth or was not.

第3表における幼苗立枯病発生率から土壤中の病原菌の分布を推測すると、わら添加区では、キュウリ幼苗の罹病率は高く、罹病範囲も広い。したがって添加区では無添加区に比べて病原菌の密度が高く、かつ、生存域も広くなるものと思われる。

Table 4. Rate of pathogens caused damping-off of cucumber seedlings in soil dug from different soil depth.

| Pathogen | Added rice straw | | | | Added nothing | | | |
|---------------------|------------------|----|----|----|---------------|----|-----|----|
| | * 5cm | 10 | 20 | 30 | 5 | 10 | 20 | 30 |
| <i>Pellicularia</i> | **69 | 91 | 18 | 0 | 70 | 79 | 0 | 0 |
| <i>Pythium</i> | 9 | 8 | 0 | 0 | 15 | 16 | 0 | 0 |
| <i>Fusarium</i> | 13 | 0 | 63 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| Others | 9 | 1 | 19 | 0 | 15 | 5 | 0 | 0 |

* Soil depth : cm

** Per cent of pathogen isolated from diseased seedling

各土壌深度における病原菌の種類を見ると(第4表), *P. filamentosa* には地下5~10cmが最適生存域のようであるが, わらを添加すると生存域は拡がり, 地下20cmにまで及ぶ。Durbin³⁾ は幼苗立枯病菌は炭酸ガス耐性が弱く, 地表層に生存すると述べており, 宇井¹⁷⁾ は, *P. filamentosa* は food base によりかなりの面積に拡がりうると報告している。しかし, 第3, 4表の結果から, 本菌の生存域はわらの添加によって垂直方向にも拡がることと考えられる。しかし, *Pythium* はわらの添加によっても地下20cmには達し得ないようである。また, *Fusarium* は地下20cmでも生存可能であるが, 供試土壌中に存在する *Fusarium* は病原性が弱い, あるいは菌量が少ないため分離頻度が小さく, 最適生存域は不明である。

考 察

P. filamentosa が1つの土壌系に安定するには動的な序列をもつ生態系の中で他の微生物との競合に打勝つことが必要である。そしてこの競合の争点は利害を同じくする生活空間の確保と養分の獲得にあると考えられる。本報告では人為的に微生物相を変動させた場合における *P. filamentosa* の動向について検討した。

土壌微生物相の分析にはいろいろの方法が考案されているが, 土壌微生物相の推移を知るには寒天稀釈法でも一応の目的は達し得られるものと思われる。すなわち, Jensen⁹⁾ は, 本方法での結果は菌類の活動期より約2週間おくれることを指摘し, Mitchell・Adams & Thom⁹⁾ は, 糸状菌の胞子は生存期間が長いから, 本法では非活動性の糸状菌をとらえる危険性があると報告している。また, Warcup²⁰⁾ は土壌粒子に固着する菌は分離され難く, 胞子を分離する傾向が強いことを報告している。これらの点に留意し, 冬期における菌糸の活性低下などを考慮すれば, 寒天稀釈法では1つの場における微生物相の確認は出来ないが, 微生物相の周期的な変動は察知しうるものと考えられる。

土壌微生物相の年間の変動は, 温度, 湿度の影響により, 6, 7月と9, 10月に最高の菌数に達する。この傾向は糸状菌, 細菌, 放線菌ともに認められるが, 放線菌は前2者に比べて環境の変化に鋭敏には反応しないようである。この自然土壌に *P. filamentosa* を接種すれば, 相に一時的な混乱が起るが, 約2ヶ月でこの影響はなくなり, ふたたび相は安定するようである(第1, 2図)。Park¹²⁾ によれば, 外来菌をある土壌に入れると, 土着菌との競合の結果, 定着は困難であると述

べているが、*P. filamentosa* を接種後、栄養源である稲わらを除いても接種場所において本菌の存在を確認しうるのは、たとえ外来菌であっても菌の種類によって、あるいは土壌生態系によって定着に難易があるものと考えられる(第2表)。盛夏においては糸状菌、放線菌、細菌はいずれも菌数を減少するが(第1図)、キュウリを連作すると菌数の減少の割合は小さくなる。しかも、キュウリ連作第2回作付では、*Pellicularia* による被害が大きくなる(第2表)。Leach⁷⁾ は *R. solani* の最適温度は *Pythium* よりも高いことを報告し、Bateman¹⁾ は *R. solani* は *P. ultimum* よりも低い湿度で発病が著しいと報告している。これらの点から、盛夏期のキュウリの作付では、地表部の被覆による温度や湿度の急変の防止によって、また、第1回作付による地中の植物残渣の利用によって、特定の菌が増高したものと考えられる。

土壌中の有機物は微生物群の栄養源として利用されるが、稲わらを土壌中に埋没すると、まず細菌により分解が始まり、ついで糸状菌が分解に参加する(第2図)。この場合、*P. filamentosa* も他菌と競合しながら自己の生存域を拡大するようである(第4表)。しかし、Blair²⁾ は *R. solani* は他の土壌菌との競合に弱く、土壌中に糞分を添加するとその生育は阻止されると述べ、Rao¹⁴⁾ も競合のはげしい場では本菌の腐生能力は弱いと報告している。一方、Garrett⁴⁾、Papavizas & Davey¹¹⁾ は本菌の腐生能力は強いことを報告し、宇井^{17, 18)} は、本菌の腐生の活性が菌株によって異なると述べている。渡辺²¹⁾ は土壌中へ添加される有機質について検討し、未熟な有機質は本菌の生育を阻害すると述べている。この問題についてはさらに細かい検討が必要であるが、腐生競争力は絶対的なものではなく、土壌生態系の中における相対的なものであり、有機的環境によって異なるものと推測される。しかし、多くの糞分を獲得して自己に有利に利用しうるのは、一時的にせよ、その場において他菌より優位に立つと考えられる。

要 約

土壌微生物相は季節によって変動するが、年間の変動は大略同一の傾向を示すようである。本研究ではこの微生物相を人為的に変動させ、*Pellicularia filamentosa* を土壌に導入した場合の本菌の動向ならびに微生物相の変動を観察した。

土壌微生物は冬に少なく夏に多いが、盛夏期には一時減少する。しかし、キュウリを栽培すると盛夏での減少の程度は少なくなる。これは、表土の被覆による温度、湿度の急変が妨げられるためと思われる。*P. filamentosa* を接種すると、一時的に微生物相は変動するが、2ヶ月もたてば安定する。キュウリを連作すると、作付後期ほど幼苗立枯病の発生率が高くなる。これは特定糞分の利用による病原菌密度の増高のためと考えられる。病原菌では最初は *Pellicularia* が多いが、作付後期には *Pythium* が増加する。この現象は、両菌の生育についての季節的な推移とともに、土壌環境によって各病原菌の生存に適不適があるようである。稲わらを土壌中に添加すると、最初細菌による分解がおこり、ついで糸状菌が分解に関与する。*Pellicularia* は地下5~10cmに最適生存域をもっているが、稲わらを添加するとその生存域は地下20cmあたりまで拡大する。

以上のように、*P. filamentosa* の腐生相での活性は、その場における微生物相と相対的な関係にあるが、土壌中に有機質が存在する場合にはこれを利用して菌密度を増大し、維持してゆくものと考えられる。

引用文献

1. Bateman, D. F. (1961) *Phytopath.* 51: 445-451
2. Blair, L. D. (1943) *Ann. appl. Biol.* 30: 118-127
3. Durbin, R. D. (1959) *Amer. J. Bot.* 46: 22-25

4. Garrett, S. D. (1953) *Ann. Bot.* 17: 63—79
5. Guillemat, J. & Montegut, J. (1956) *Ann. des Epiphyties* 3: 471
6. Jensen, H. L. (1931) *Soil Sci.* 31: 123—158
7. Leach, L. D. (1947) *Jour. Agr.* 75: 161—179
8. Martin, J. P. (1950) *Soil Sci.* 69: 107—122
9. Mithell, R. B., Adams, J. E. & Thom, C. (1941) *Jour. Agr. Res.* 63: 527
10. 新留伊俊・柳田良雄 (1960) *日植病報.* 25: 224
11. Papavizas, G. C. & Davey, C. B. (1959) *Plant Dis. Repr.* 43: 401—410
12. Park, D. (1955) *Trans. Brit. mycol. Soc.* 38: 130—142
13. Park, D. (1957) *Ibid.* 40: 358—364
14. Rao, A. S. (1959) *Ibid.* 42: 97—111
15. 信夫隆治 (1958) *Memo. Osaka Univ. Lib. Art & Edu. B.* 7: 1—76
16. Thom, C. & Morrow, M. B. (1937) *Jour. Bact.* 33: 77
17. 宇井格生 (1960) *日植病報.* 25: 109—110
18. 宇井格生 (1960) *甜菜研報.* 2: 26—90
19. Waid, J. S. (1957) *Trans. Brit. mycol. Soc.* 40: 391—406
20. Warcup, J. H. (1957) *Ibid.* 40: 237—262
21. 渡辺文吉郎 (1960) *日植病報.* 25: 111—112

(昭和42年9月28日受理)