

Fusarium oxysporum (Schl.) Snyder et Hansen の 腐生生活に関する研究

第2報 *F. oxysporum* f. *tulipae* の土壤中での動向*

小倉 寛 典 ・ 森本 徳右衛門

(農学部植物病理学研究室)

Studies on saprophytic behaviour of *Fusarium oxysporum* (Schl.) Snyder et Hansen.

II. Behaviour of *F. oxysporum* f. *tulipae* in soil.

by

Hirōsuke OGURA and Tokuuemon MORIMOTO

(Laboratory of Phytopathology, Faculty of Agriculture)

土壤病害の発生は病原菌の寄主に対する病原性と同時に土壤中の病原菌の菌量に左右される場合が多い。しかも、作物、ことに一年生作物では一度病原菌に侵されると治癒は非常に困難である。このため土壤病害の防止には病原菌が寄主に到達する前にこれを土壤中で処理せねばならない。それ故、病原菌の土壤中での動向を知ることは土壤病害防除の基礎になると考えられる。

チューリップの球根を侵害する病原菌としては *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Corticium rolfsii*, *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp. などが知られているが、これらの菌はいずれも土壤中で寄主を侵害するため、その生活様式については不明の点が多い。

高知県においては切花用チューリップの促成栽培が行なわれるが、収穫前に枯死する個体がかかり見られる。これら枯死球根の大多数のものは *F. oxysporum* に侵害されている。また、本病害の発生は連作圃場に多いが、このことは本菌の土壤中での残存によると考えられる。前報¹⁾では寄主の存在しない場における本菌の増殖について検討したが、本報では寄主の存在する場での本菌の動向ならびに病害発生の様相について検討した。

実 験 材 料

供試チューリップ品種はレッドピットを用いた。土壤湿度実験に接種した菌は *F. oxysporum* F 2401号菌である。なお圃場実験は高知市汐江で行なった。

実 験 方 法 並 び に 実 験 結 果

1. 球根外皮に附着せる *F. oxysporum* の検出

任意に抽出した外見上健全球根20球の外皮をはぎとり、100 ml の殺菌水中で振とうしたのち、その10 ml 中の菌数を計数した。すなわち、PCNB 1g/l 添加 Czapek 寒天培地に外皮洗滌水を加え、ペトリ皿に分注後25°Cにて5日間培養して出現する *Fusarium* を確認した。また、ルベロン1,000倍液に1時間浸漬した球根の外皮についても同様の実験を行なった(第1表)。

* 本研究の1部は高知県および高知市より委託された「チューリップ球根フザリウム病の予防について」の試験成績の1部である。

第1表 チューリップ球根外皮に附着する *F. oxysporum*
Tab. 1 *F. oxysporum* on outer scale of tulip bulb

	non-sterilization	sterilization*
Exp. 1	35**	15
" 2	82	2
" 3	60	7
Average	59	8

* submerge bulbs in 1000 times' water of Ruberon (EMP 3.45%) for 1 hour

** Fusaria in 10 ml of washing water of outer scale (wash outer scale of 20 bulbs in 100 ml of sterilized water)

では約20%が生残る。しかし、薬液に直接接触しない外皮内面では500倍液でも80%以上が生存する。このことより、殺菌した球根外皮から検出される菌は外皮と球根表面との間に存在したものと推測される。本実験では出現した *F. oxysporum* の病原性を確認していないので出現した菌が必ずしも球根腐敗病菌であるとは断言しがたい。

つぎに外見上健全球根の罹病程度を観察した。すなわち、前記同様にルベロンにて殺菌あるいは無殺菌の球根各40球ずつを蒸気殺菌土壌を入れた尺鉢に植付けた。各鉢8球ずつ植付け、4月上旬開花時に掘取り、球根基部を切取って Czapek 培地上で培養し、本菌の有無を検討した(第2表)。

第2表 球根表面殺菌* と球根腐敗病発生との関係

Tab. 2 Relation between bulb rot and sterilization* on surface of bulb

treatment	disease	bulb infected	susceptible ratio**
sterilization	0	2	5 %
non	2	9	22.5

* tested bulbs 40

** diseased bulbs / all bulbs tested × 100

この結果、球根を表面殺菌した場合、ほとんどの球根は健全であるが、無殺菌の場合には地上部に病徴を示すものは5%程度であるが、地下部では約1/4のものが罹病した。この結果から、球根に附着した本菌は土壌中で球根を侵害するものと思われる。

2. 土壌湿度と発病との関係

土壌伝染性病原菌は増殖、寄主侵害に土壌湿度が大いに関係するので、本菌のチューリップ侵害と土壌湿度との関係について検討した。

10月下旬、尺鉢に表面殺菌した球根8球ずつを円型に定植し、1月下旬まで適宜に灌水した。1月下旬に Bateman¹⁾の方法にならってガラス室内に乾燥、中位、過湿の3区をつくった。すなわち、高さの異なる木枠に砂をつめ、その中に鉢を埋没し、枠の底部に水を流して鉢内の湿度を一定に保った。2月上旬にあらかじめ10日間25°Cでイネわらに培養した本菌を鉢の中央部に約10g接種したのち、4月上旬の開花期に球根の罹病程度を球根基部から本菌の再分離によって検討した。各区は3鉢とした(第3表)。

第3表の結果、乾燥区は他に比して罹病程度は低いが、草丈は小さく、かつ、花形も悪く十分開

無殺菌球根にはかなりの *F. oxysporum* が附着している。この胞子を検鏡すると大多数は小型分生胞子であり、大型分生胞子は約6%である。これは球根の乾燥時、あるいは輸送途中での汚染によるものと思われる。外皮を殺菌した場合にはこれらの菌は減少するが、完全に死滅させ得ない。今、本菌の胞子懸濁液を外皮の外側、内面に噴霧し、乾燥後にルベロン500、1,000、5,000倍液に浮遊させ、1時間後に Czapek 培地上で培養すると、薬液に接する面の胞子は500、1,000倍液では完全に死滅し、5,000倍液

第3表 球根腐敗病と土壤湿度との関係*
Tab. 3 Relation between bulb rot and soil humidity*

soil humidity**	disease	bulb infected	susceptible ratio***	height of tulip**** (max. ~mini.)
46 %	0	3	12.5 %	27.0cm (29~19cm)
66	4	6	25.0	44.5cm (46~43cm)
81	4	9	37.5	45.0cm (47~42cm)

* tested bulbs 24
 ** contained water / maximum contained water in tested soil × 100 (V/V)
 *** diseased bulbs / all bulbs tested × 100
 **** average of healthy tulip

花しない株が認められる。本菌は湿度が増すにつれて侵害がはげしくなるが、地上部の病徴発現は過湿区も中位区も大差がない。また、両区は草丈、花形も差は認められない。

3. 促成栽培圃場における *F. oxysporum* の拡り

供試圃場は数年来チューリップを連作し、かなりの被害を受けている畑を使用した。球根を表面殺菌後、75日間低温処理(15°Cに40日間、ついで5°Cで30日、さらに15°Cで5日間処理)し、10月中旬に球根距離3cm、列間距離10cmに定植した。11月下旬に側面をビニールで、上面を油紙障子で覆い、ハウス内の気温をなるべく5~20°Cになるように調整した。チューリップは12月下旬から2月上旬までに開花し、最盛期は1月中下旬であった。

(1) 土壤中の *F. oxysporum* の確認 九月中旬に有傷あるいは無傷の球根を1ヶ所10球の割合に5ヶ所に埋没し、15日後に掘上げ、球根より糸状菌を分離した(第4表)。

第4表 指標植物法による *F. oxysporum* の検出
Tab. 4 Search of *F. oxysporum* by test plant method

	isolated fungi			
	<i>F. oxysporum</i>	<i>Penicillium</i>	Others	
wounded bulb	1	8*	2	0
	2	6	0	2
	3	3	1	1
	4	3	3	0
	5	8	2	0
non wounded bulb	1	0	0	0
	2	2	2	1
	3	2	1	0
	4	1	1	0
	5	0	0	0

* diseased bulbs in 10 bulbs

供試圃場は全域にわたりかなりの *Fusarium* が生存するようであり、有傷球根の56%が罹病する。しかし、無傷のものは10%しか罹病しない。また、*Penicillium* が *Fusarium* に次いで分離されるが、いずれも *Fusarium* と同時に分離される。*Penicillium* は無傷球根に接種しても単独では球根内にはほとんど侵入しない。このことは本菌は第2次侵入菌となっても、チューリップ球根腐敗病の主因の1つであるとは考え難い。無傷球根は有傷球根に比してはるかに罹病程度が低いことは *Fusarium* の侵害は球根表面の傷が大いに影響するようである。

(2) *F. oxysporum* の球根侵入時期 低温処理球根を10月中旬、11月中旬、12月中旬に20球ず

つ圃場に植付け、20日後に抜取って病原菌を分離した(第5表)。10月、11月、12月各下旬の地下10 cmの平均温度はそれぞれ17.5°C, 11.3°C, 8.4°Cであり、平均気温はそれぞれ16.3°C, 9.6°C, 7.6°Cである(1962年高知大学農学部気象観測記録による)。

第5表 植付時期と罹病率との関係

Tab. 5 Relation between bulb rot ratio and season of planting

diseased part	susceptible ratio *		
	October	November	December
bulb	35 %	10	0
root	10	0	0

* diseased bulbs / all bulbs tested × 100

罹病率は11月には急に減少し、12月では罹病球根は検出されない。この結果、本菌は10°C前後になればほとんど寄主を侵害しないものと考えられる。また、根より検出される球根はすべて球根基部より本菌が検出されることから、本菌の侵入部位は球根基部が大部分であり、それらが球根内を伸展して根に到るものと思われる。

(3) 促成栽培における *F. oxysporum* の分布 1962年、1963年に促成栽培におけるチューリップ球根腐敗病の発生を調査した結果が第6表および第1, 2図である。1962年には1区10球6列2連制で、1963年は1区15球7列2連制で実験を行ない、開花時に全球根を掘取って病原菌を分離培養し、健全、保菌、発病の3段階に区分した。分離部位はいずれも球根基部である。

第6表 チューリップ促成栽培における球根腐敗病の発生*

Tab. 6 Susceptible ratio of bulb rot in forcing of tulip*

treatment	year	susceptible ratio	bulb infection ratio	ratio of healthy bulb	ratio of flowering**
non treatment	1962	67.8 %	16.5 %	15.7 %	53.9 %
	1963	58.1	16.2	25.7	47.1
soil sterilization***	1963	0	3.8	96.2	98.1

* average of 2 sections in each year

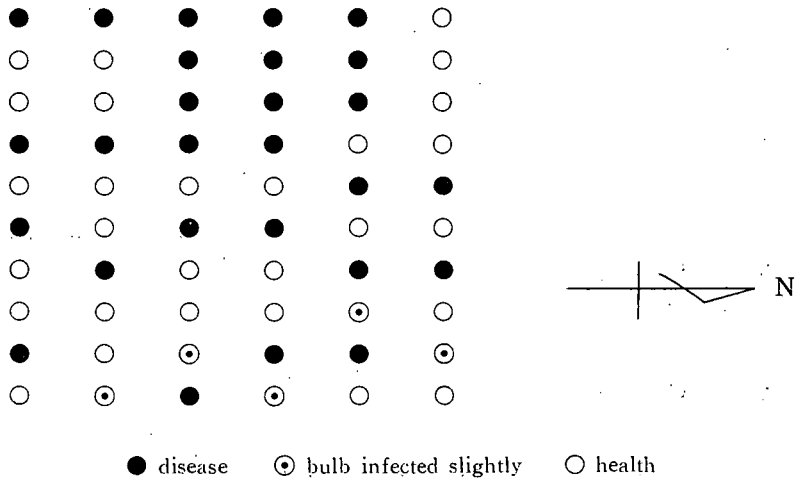
** contain flowers infected by pathogen slightly

*** soil sterilization by chrolpicrine in 1962, by ethylene-bromide in 1963

第6表の結果、球根腐敗病は年により多少の変動が認められるが、連作圃場では60%前後が発病する。しかも発病には至らないが球根が侵されるものが16%も存在する。このことは、2年連続殺菌区*の発病率が0%、保菌率が3.8%であるのに比して連作無処理区では *F. oxysporum* がかなり残存しているためと思われる。

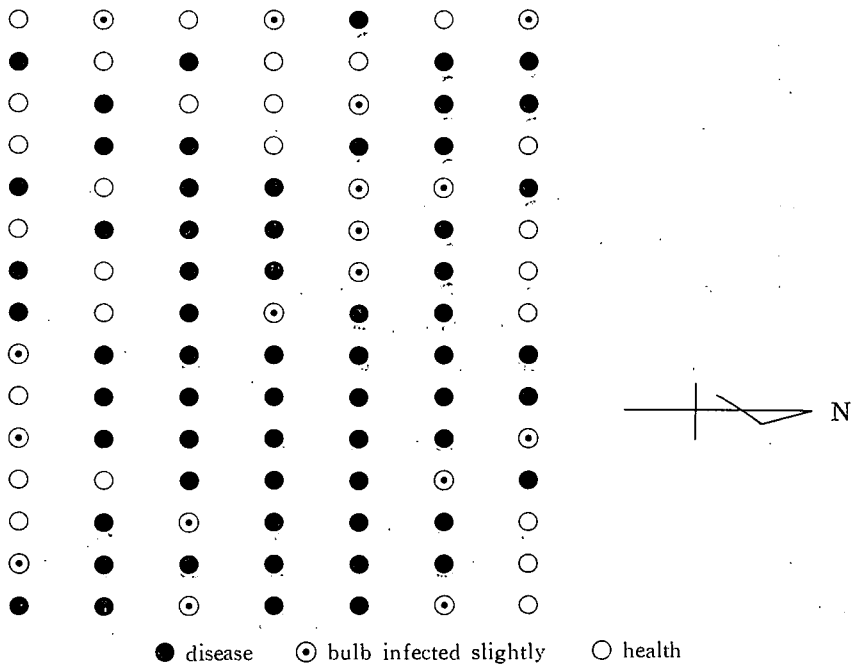
第1, 第2図は連作圃場における発病状況であるが、圃場全面に本病の発生が認められる。しかし、定植後から1週間間隔に3回にわたりオーソサイド水和剤500倍液を2.5 l/m²の割合に灌注して土壤中の本菌の菌数を減少させると発病状況は第3図のようになる。

* 1962年クロルピクリン 30 ml/m², 1963年臭化エチル 25 g/m²にて殺菌



第1図 連作圃場における球根腐敗病の分布 (1962年)

Fig. 1 Distribution of tulip bulb rot in continuous cropping field (1962)



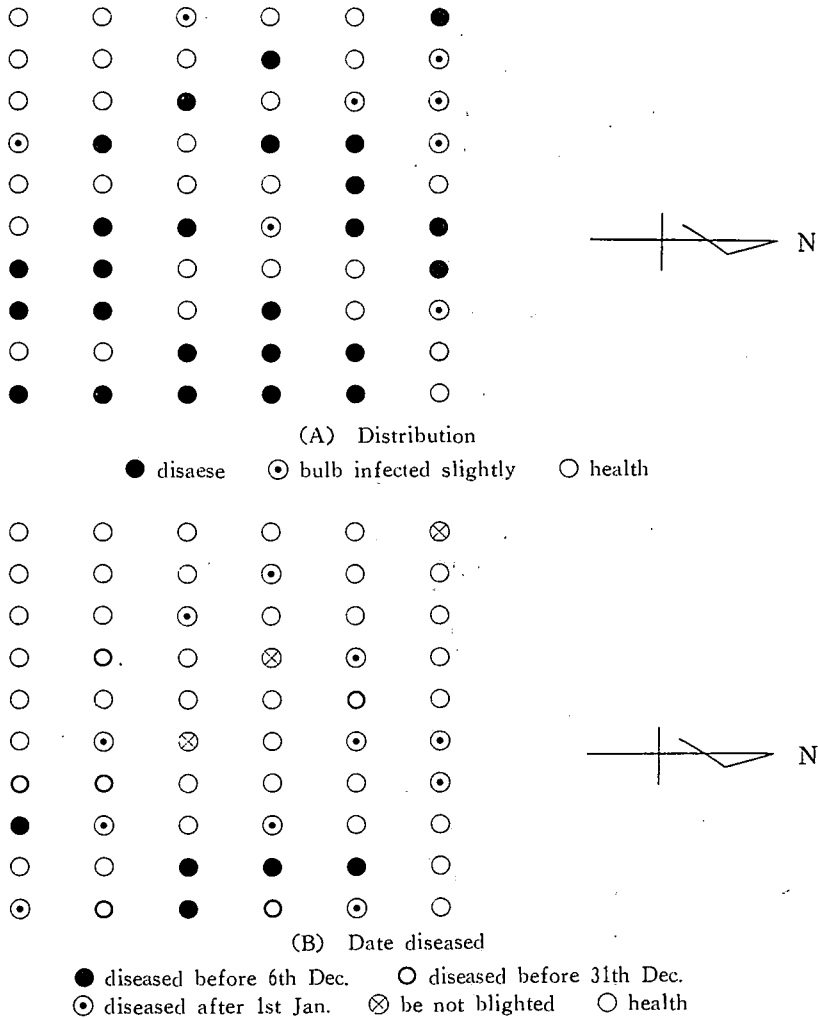
第2図 連作圃場における球根腐敗病の分布 (1963年)

Fig. 2 Distribution of tulip bulb rot in continuous cropping field (1963)

発病はかなり部分的に起り、しかも病原菌の伝播速度は小さく、1群の菌による罹病範囲は隣接する3~4個体にすぎないようである。

4. *F. oxysporum* の土壌中での生存

チューリップ栽培圃場の土壌中での *F. oxysporum* の年間の変動について検討した。すなわち、

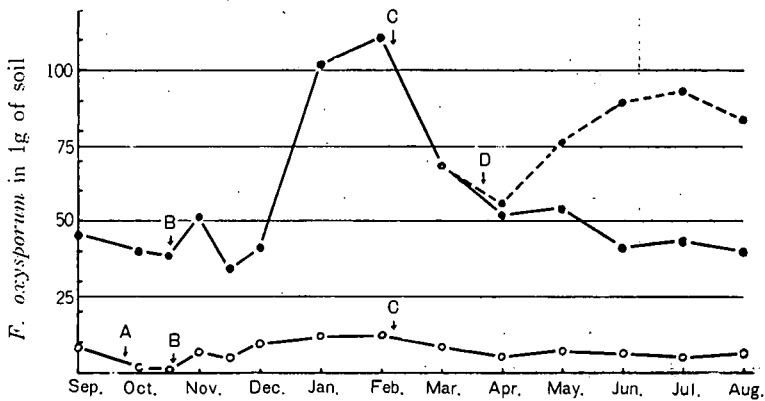


第3図 オースサイド灌注区における球根腐敗病の分布
 Fig. 3 Distribution of tulip bulb rot in field treated soil by Orthocide (Captan 50%)

チューリップ連作圃場および2年連続殺菌した圃場* から毎月1回約200gの土壌を採取し、よく混和したのち10gを供試した。土壌採取深度は表土下5cmである。10gの土壌を100倍の殺菌水で稀釈し、その1mlをペトリ皿に分注したのち、PCNB 1g/lおよびstreptomycin 30ppm添加ジャガイモ煎汁寒天培地約10mlを注入し、*Fusarium* 検出用とした。ペトリ皿は各区20枚とし、7日間25°Cで培養し、それぞれの出現菌数を計数した。*Fusarium* は各菌株についてチューリップ球根に対する病原性を検定した。球根表面に各菌株の菌そうをのせ、これを25°Cに静置した湿度飽和の腰高ペトリ皿に入れ、1週間後にそれぞれの菌株の球根侵害度を検討した(第4図)。

チューリップ連作無殺菌土壌では、*F. oxysporum* は気温の低下とともに減少するが、ビニール被覆とともに再び増加し、1月、2月には菌数は最高になる。この時期に菌数が増大する原因としては保温により罹病球根内で増殖した本菌が土壌中へ拡るためと考えられる。しかし、球根を除去する2月以降は本菌は次第に減少し、4月以降は本菌の変動は安定するようである。しかし、チュ

* 1962年 クロールピクリン 30cc/m², 1963年 臭化エチル 25g/m² で殺菌



—●— non sterilization ○—○ soil sterilization ···· cropped gladiolus
 A : soil sterilization B : planted tulip C : dug up tulip D : planted gladiolus

第4図 土壤中の *F. oxysporum* の年間の変動
 Fig. 4 Annual alteration of *F. oxysporum* in soil

ーリップ作付後にグラジオラスを栽培すると(3月下旬植付, 7月上旬除去: 品種:ヘクター), 本菌の菌数は再び増加する。また, 土壤殺菌区でも同じ傾向を示すが, 実験開始時と終了時では菌数はやゝ増加するようである。

考 察

我が国におけるチューリップ球根腐敗病が *F. oxysporum* による場合が大へん多いことはすでに報告されている^{3,4,5)}。土壤病害の発生は土壤中における病原菌の活性と菌密度に關与している。病原菌の活性や菌密度の維持は土壤条件によって左右される。

チューリップが *F. oxysporum* に接触する機会は貯蔵中あるいは生育中など種々の場合が想定される。岩切・永田・水田³⁾は球根生産地における貯蔵庫で空中を飛散する胞子をとらえ, 7月下旬から10月上旬まで飛散が継続することを報告している。本実験に使用した球根は新潟県から輸送されたものであるが, 球根外皮からはかなりの胞子が検出される。しかし, これらの胞子を顕微鏡で観察すると, 多くは小型分生胞子であり, 大型分生胞子は全体の約6%, 厚膜胞子は皆無であった(罹病球根からは厚膜胞子を検出)。Hine²⁾は小型分生胞子の生存期間は短いことを報告している。それ故, 外皮を汚染した小型分生胞子は輸送中に飛散したものと思われる。また, 外皮を汚染された球根の発病率が低いのは侵入に到る前に死滅するものと思われる(第1, 2表)。しかし, 球根表面に傷のある時は容易に侵害しうる(第4表)。この際, 随伴菌として *Penicillium* その他の菌も球根内に侵入するが, 本実験で得られたこれらの菌は寄主に対して病原性を示さず腐生的存在であると考えられる。球根を有機水銀剤で表面殺菌しても多少の菌は生残る。これらの菌は外皮内面に存在するものと考えられる。

本病害の発生は土壤湿度とかなり密接な関係をもつようである。すなわち, 乾燥土壤では罹病率は低く, 湿度が増すにつれて被害は増大する。小倉・森本⁵⁾は本菌は低湿度では菌糸数は少なく伸長も小さい。また胞子の発芽はほとんど認められないと報告し, 湿度が増すにつれて菌糸の生育が良好になるとともに胞子の発芽による菌糸量の増加を考慮すべきであると述べている。チューリップの生育は土壤湿度41%区では他区の60%の草丈しかない。湿度66%, 81%区では寄主の生育は良好であるが, いずれも25, 37%が罹病する。畑地土壤の湿度は普通65%前後であり, 80%では過湿状態である。それ故, 本菌が土壤湿度66%でかなりの発病を示すことは, 圃場における栽培では水

分調節によって本病害を回避することは難しいものと思われる。また、本菌は土壌温度 15°C 前後でもかなりの侵襲力をもつようである (第 5 表)。本菌は 5°C でも球根上を徐々に伸長する⁵⁾ が、8°C 前後では土壌中を伸長して寄主を侵害することは困難のように思われる。

チューリップを促成栽培する場合、連作圃場では球根腐敗病が激しく発生する (第 1, 2 図, 第 6 表)。岩切・永田・水田⁹⁾ は水田裏作の場合は本菌の越冬が困難であり、発病の主因は罹病球根の植込みによると指摘しているが、本実験では球根表面殺菌を行なったにも拘らず病害が圃場全面に発生すること、毎年同程度の発生があることなどから畑地ではかなりの菌が土壌中に存在するものと考えられる。この点について、西村・遠山・竹内・角⁴⁾ は砂丘地では本病の土壌伝染の重要性を指摘している。オーソサイドを灌注して土壌中の本菌をある程度減少させると、病害の発生は部分的となる。これら罹病個体のうち、12月6日以前に病徴の現れるものは保温処理以前にすでに罹病したものと思われ、感染時期は地温、土壌中の病原菌の増加、球根被傷の機会などから植付け直後から約半月前後と想像される (第 3, 4 図, 第 4, 5 表)。これら罹病球根内の菌糸は保温による地温上昇につれて活性化し、地上部に病徴を示すとともに第 2 次感染源となり 1 月以降引続いて隣接球根を侵す。しかし、本菌の土壌中の移行距離はあまり大きくなく、発病に影響する菌密度を維持出来るのは 10 cm 前後のようである。

本菌の年間の消長を見ると、チューリップ植付け後 15 日頃に菌数は急に増加する。Reyes & Mitchell⁶⁾ は *F. solani*, *F. oxysporum* の生育は非寄主植物よりも寄主植物の根圏で大であると報告している。Toussoun & Snyder⁹⁾ は *F. solani* の厚膜胞子は寄主植物片を添加することにより発芽生育することを報告し、Schroth・Toussoun & Snyder⁸⁾ は、この現象は寄主の生産するアミノ酸と糖類によると述べている。土壌中の菌数は地温の低下により減少するが、保温により再び増加し、1, 2 月には最高となり、球根除去後は減少する。この現象は球根罹病による小型分生胞子の増大であり、この胞子は球根の除去により急速に消滅したと考えられる。3 月以降は地温の上昇にも拘らず、寄主が存在しないため菌数は増加しないが、引続きグラジオラスを栽培すると菌数は再び増加する。Schroth & Hendrix⁷⁾ は *F. solani* は非寄主植物や植物残渣を利用して生育し、厚膜胞子を形成すると述べている。チューリップ罹病球根を除去する場合、根の大部分は土壌中に残り、本菌はこれを利用して生活することが考えられる。Toussoun & Snyder⁹⁾ は *F. solani* による寄主の侵害は主に病原菌が寄主に出会う機会によって起ると述べている。本実験における殺菌土壌と無殺菌土壌の病害発生との差は土壌中の菌密度の相違によると思われる。しかし、発病率は土壌中の菌量には比例しない (第 6 表, 第 4 図)。本菌はある程度以上の菌量がなければほとんど発病に到らないと考えられる。また、無殺菌土壌では休眠期の菌数が大体一定であるが、このことは特定の条件を与えなければ供試圃場での本菌の棲み付きには限界があるものと想像される。殺菌土壌では調査終了時の菌数は球根植付時に比してわずかながら増加している。この現象はチューリップを連作することにより土壌が次第に病原菌によって汚染され、土壌中の菌量がある程度以上になれば病害が急激に発生する原因になるものと推察される。

稿を終えるにあたり実験に御助力頂いた当研究室永野律氏ならびに圃場管理を御願いした福永正雄氏に深謝の意を表します。

要 約

チューリップ球根腐敗病を起す *Fusarium oxysporum* f. *tulipae* の土壌中での動向を観察した。*F. oxysporum* が球根に接触するには貯蔵中、生育中など種々の条件が考えられる。球根の外皮には胞子がかかり附着しているが、大多数は小型分生胞子である。これら胞子はほとんど外皮表面に附着しているが、内面にも若干附着する。この附着胞子は土壌中で球根を侵害する。土壌を乾燥

させると病害はほとんど発生しないが、チューリップの生育は不良になる。畑地状態の湿度では本病は回避出来ない。ことに有傷球根は侵害されやすい。また、土壤温度が15°C以上では病害は増加する。チューリップを連作すると発病が激しくなる。オーソサイドを灌注して土壤中の病原菌を減少させると病害の発生は部分的となり、土壤感染による第1次感染、罹病球による第2次感染が区別される。しかし、本菌の土壤中への拡りの速度はおそく、栽培期間中を通じて10 cm内外と思われる。促成栽培圃場における本菌の年間の変動は球根植付けと同時に菌数は急速に増加するが、栽培終了後1ヶ月で菌数は元に復す。しかし、殺菌処理による菌数の少ない圃場では栽培前に比して栽培後の菌数は増加する。そして連作を続けることにより土壤中の菌数は徐々に増加し、保菌土壤が形成されるものと思われる。

文 献

1. Bateman, D. F. (1961) *Phytopath.*, 51: 445—451
2. Hine, R. B. (1962) *Ibid.*, 52: 840—843
3. 岩切 麟・永田利美・水田隼人 (1961) 植防調査研報, 1: 3—14
4. 西村正暘・遠山正瑛・竹内芳親・角 悟 (1963) 植物防疫, 17: 181—184
5. 小倉寛典・森本徳右衛門 (1962) 高知大学研報, 自然科学 II, 11: 49—55
6. Reyes, A. A. & Mitchell, J. E. (1962) *Phytopath.*, 52: 1196—1200
7. Schroth, M. N. & Hendrix, F. F. (1962) *Ibid.*, 52: 906—909
8. Schroth, M. N., Toussoun, T. A. & Snyder, W. C. (1963) *Ibid.*, 53: 809—812
9. Toussoun, T. A. & Snyder, W. C. (1962) *Ibid.*, 52: 620—623

(昭和39年9月30日受理)

Summary

In the present paper, the behaviour of *Fusarium oxysporum* f. *tulipae* caused tulip bulb rot in soil planted tulip bulbs were observed.

Many spores adhered on outer scale of preserved bulb and many of these were microconidia except some of macroconidia. These conidia attacked the bulb in soil. This fungus infected easily in bulb from wound. In lower soil humidity, bulb rot were not appeared but tulip were worse developed, and in normal humidity in field soil, it was difficult to escape this disease. The disease was appeared in more than 15°C of soil temperature. In continuous cropping field, it was severe, and in the case that a little of fungi were in soil, its appearance was partly in field, and infection type was discriminated between the spread from the fungi in soil and it from them on contiguous rotted bulbs.

In forcing of tulip (October-February), the fungal spread in soil was about 10 cm through cropping period. The fungal density of pathogen in soil increased in a half month after planting and in maximum in January or in February, and then decreased immediately in 1 month after digging up the bulbs. In continuous planting field, the number of pathogen were in settled before and behind forcing, but in field habitated little pathogen, they increased behind more than before it.

These results are suggested that *F. oxysporum* in soil or on rotted bulbs infects a healthy bulb and they attacked host survive by utilizing plant debris as root tips without host and increase little by little in soil by continuous planting. So, the field becomes to contain heavy pathogen.

