

# *Fusarium oxysporum* (Schl.) Snyder et Hansen

## の腐生生活に関する研究

第1報 チューリップ球根腐敗病を起す *F. oxysporum* の2, 3の  
生育条件について

小倉 寛典・森本 徳右衛門\*

### Hirosuke OGURA and Tokuuemon MORIMOTO : Studies on saprophytic behaviour of *Fusarium oxysporum* (Schl.) Snyder et Hansen

#### I. Some growing factors on *F. oxysporum* caused tulip bulb rot

土壤伝染性病害は多くの場合、腐生相と寄生相の両相における病原菌の活性を考慮せねばならない。病原菌は腐生相においては土壤環境の諸条件に常に支配されている。それ故、土壤伝染性病害の研究については腐生相における病原菌の生活様式を考慮することが必要である。

*Fusarium oxysporum* は広い寄主範囲をもち、重要な土壤病原菌と目されているが、本菌には多くの生態型のあることが知られている。我が国において本菌によるチューリップ球根腐敗病は岩切・永田・水田<sup>4)</sup>、安部・野添<sup>5)</sup>、松尾<sup>6)</sup>らにより報告されている。近年、本病は各地に発生し、高知県下でも促成栽培地域において発病が著しい。

筆者らは本菌の生活様式を追求して一連の実験を行なっているが、本報では生育条件を知るために2, 3の実験を行なった。

#### I. 実 験 材 料

供試した菌株は1962年3月高知市潮江において、チューリップ球根より分離した *Fusarium oxysporum* 菌株番号F2401号菌である。

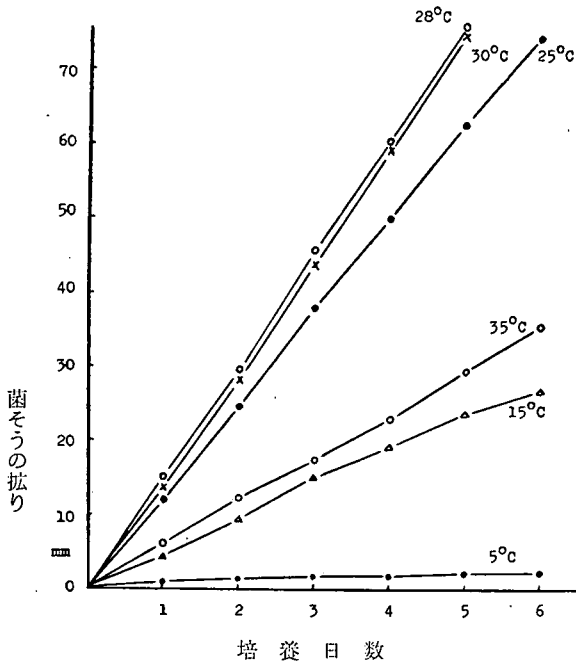
#### II. 実験方法ならびに実験結果

1. 菌糸の生育と温度 あらかじめ Czapek 培地に培養した供試菌株の菌そうを径3mmの円板に切り取り、Czapek 寒天培地 (sucrose 2%) 約15ml を分注した径85mmのペトリ皿の中央に接種し、28°Cに1日静置したのち、それぞれ5, 15, 25, 28, 30, 35°Cに移し、さらに1日静置したのち、各温度区の菌そうの拡りを測定した(第1図)。

本菌は5°Cにおいてはほとんど生育しないが他の温度区ではかなりの生育を示し、とくに30, 28, 25°Cではその生育は盛んである。各温度区における菌そうの密度には差を認め難い。また0.1%昇汞水に5分間浸漬後水洗したチューリップ球根(品種ウイリアム・ピット)に深さ1mmの傷痕をつけ、径5mmの本菌菌そうを接種したのち湿室に入れ、各温度に30日間静置すれば、15, 25, 28, 30, 35°Cの各区では球根表面は菌そうに掩われる。5°C区では菌そうはきわめて徐々に球根表面に伸展する。

2. 菌糸の生育と水素イオン濃度 Czapek 寒天培地を加圧殺菌後、HCl, NaOHにてpHを3.0, 5.0, 7.0, 9.0にそれぞれ調整し、上記実験同様に *F. oxysporum* を接種し、28°Cに静置し

\* 農学部植物病理学研究室

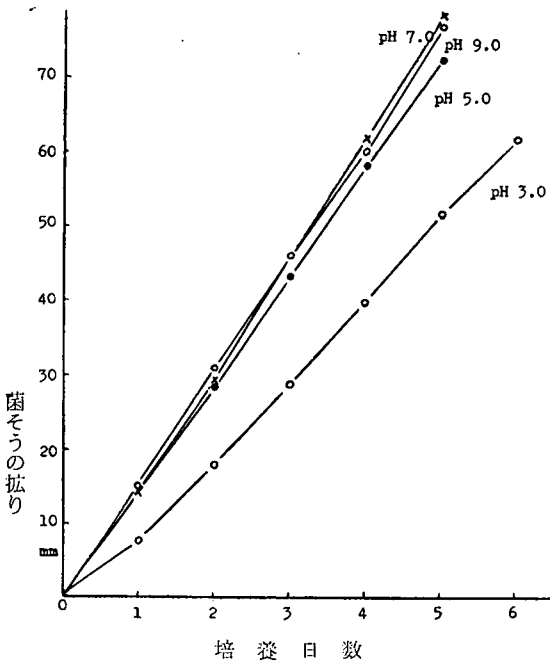


第1図 *F. oxysporum* の菌糸の伸長と温度との関係

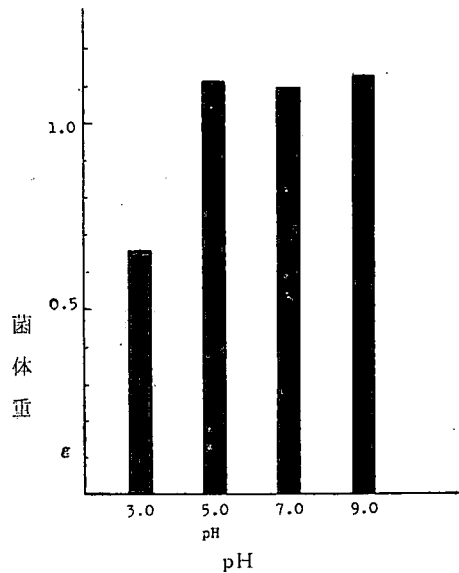
て1日後から菌そうの拡りを測定した(第2図)。

また、pH 3.0, 5.0, 7.0, 9.0に調整した Czapek 液を 50 ml ずつ 200 ml 容三角フラスコに分注し、径 2 mm の菌そうを接種し、28°C に 7 日間保ち、各区の乾燥菌体重を測定した。なお、培養液の水素イオン濃度は 2 日毎に HCl, NaOH を添加して所定の pH に調整した(第3図)。

寒天培地上での本菌の生育は pH 3.0 に於てやや劣るほかは、pH 5.0, 7.0, 9.0 の各区ではほとんど差が認められない。また培養液中の菌体重も同じ傾向が認められる。しかし pH 3.0 では菌そうは pellet 状になり正常とは認め難い。



第2図 *F. oxysporum* の菌糸の伸長と pH との関係



第3図 *F. oxysporum* の菌体重と pH との関係

3. 菌糸の生育と窒素源および炭素源の量 Czapek 寒天培地 (NaNO<sub>3</sub> : 2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 1 g, MgSO<sub>4</sub> : 0.5 g, KCl : 0.5 g, FeSO<sub>4</sub> : 0.01g, sucrose : 20 g, 寒天 : 20 g, 水 : 1ℓ) に含まれる窒素源あるいは炭素源の量を 1/10, 1/5, 2 倍にそれぞれ増減し、上記各実験同様に接種後、28°C に静

置し、1日後より菌そうの拡りを測定した(第1表)。

第1表 養分量を異にする培地上での *F. oxysporum* の菌糸の生長

養分量	日	1	2	3	4	5
標準*		8**	24.5	39	54	70
窒素源量	1/10	6	24	39.5	55	71.5
	1/5	6	22	38	52	68
	2	7	23	39	55	71
炭素源量	1/10	8	23	37	51	64.5
	1/5	8	23	37.5	52	66
	2	6	23	39	55	72

\* Czapek 培地 (sucrose 2%)

\*\* 菌そうの拡り: mm

第2表 養分量を異にする培養液中での *F. oxysporum* の生育\*

養分量	菌体重 mg	
標準**	1219.6	
窒素源量	1/10	824.3
	1/5	824.3
	2	1699.6
	5	960.0
	10	844.1
炭素源量	1/10	247.0
	1/5	644.4
	2	1326.2
	5	1501.5
	10	734.1

\* 7日間培養

\*\* Czapek 液 (sucrose 2%)

えてペトリ皿内の土壌湿度を20, 40, 60, 80% (容水量)とした。一方、あらかじめ Czapek 寒天培地で培養した菌そうを径1mmに切り取りスライドガラスの一端に置き、上記ペトリ皿内にスライドガラスを垂直に埋没した(埋没スライド法)。これらのペトリ皿を28°Cに7日間静置したのち、スライドガラスを取り出して各湿度における菌糸の伸長を測定した。また、接種源と菌糸先端部とのほぼ中間部のガラス上を伸展する菌糸を300倍に拡大し、その1視野に存在する菌糸数をしらべた。また、腰高ペトリ皿の一端に径5mmの菌そうを埋没し、上記同様に土壌湿度を20, 40, 60, 80%に調整した。これらのペトリ皿を28°Cに7日間静置したのち contact slide 法により接種源から3および5cmの距離における菌糸の伸長の有無を観察した(第3表)。

第3表の結果、埋没スライド法では湿度が大になれば菌糸はよく伸長する。contact slide 法でも同じ傾向が認められる。また、菌糸の数も湿度の増減と同一傾向を示す。contact slide 法では湿度60%区で菌糸の伸長が7日間に50mmに到らない場合がかなり見られ、20%区では30mmに達しない場合も見られた。このことは菌糸が砂中を伸長する場合はガラス壁を伸長する場合よりもおくれるようである。

*F. oxysporum* の菌糸の伸長に関しては窒素源の増減はあまり影響は認められない。しかし、炭素源の量的減少につれて菌糸の伸長は低下し、量的増加とともに菌糸の伸長は増加する。

また200ml容三角フラスコに窒素源あるいは炭素源をそれぞれ Czapek 培地の1/10, 1/5, 1, 2, 5, 10倍に調整した培養液50mlを入れ、殺菌後、径2mmの菌そうを接種し、28°Cで7日間培養したのち、各々の乾燥菌体重を測定した(第2表)。

この結果、窒素源1/10, 1/5倍区はいずれも標準区より菌体重が少ないが、2倍区になると急に菌体重は増加する。しかし、5, 10倍区では再び低下するようである。

炭素源については、1/10倍区では菌体重は非常に少なく、炭素源量の増加とともに菌体重も増加し、5倍区では最高になり、10倍区では再び減少する。すなわち、本菌の生育は Czapek 原液に対し、窒素源を1~2倍、炭素源を1~5倍量添加するとき最も良好になるものと推察される。

4. 菌糸の生育と土壌湿度 径8.5cm、高さ5cmの腰高ペトリ皿に2mmに篩別し、殺菌した砂200mlを入れ、養分を一定にするため15mlづつ Czapek 液を加え、さらに殺菌水15, 30, 45mlを加

第3表 土壌湿度と *F. oxysporum* 菌糸の生育

土 壤 湿 度* %	埋 没 ス ラ イ ド 法		contact slide 法	
	菌糸の伸長 mm	菌 糸 数	3 cm**	5 cm
80	62 ~ 58	22 ~ 18	+***	+ ~ ±
60	56 ~ 47	20 ~ 16	+	+ ~ -
40	49 ~ 38	21 ~ 12	+ ~ ±	± ~ -
20	42 ~ 30	16 ~ 12	+ ~ -	-

\* 容水量  
 \*\* 接種源からの距離  
 \*\*\* + : 菌糸検出, ± : 菌糸少数検出, - : 菌糸なし。

5. 分生胞子の形成と発芽 *F. oxysporum* は大型分生胞子, 小型分生胞子, 厚膜胞子を形成するが, 本菌株は液体, 固体培地のいづれでも培養10日程度では大多数の胞子は小型分生胞子である。本実験では小型分生胞子を対象として, その形成と発芽について検討した。

分生胞子形成と水素イオン濃度との関係を知るために, 200 ml 容三角フラスコに Czapek 液 50ml を入れ, 菌糸の場合の実験と同様に pH 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 に調整し径 3 mm の菌そうを接種したのち 28°C に 7 日間培養した。この間, 2 日ごとに HCl, NaOH で所定の pH に調整した。接種 7 日後に菌体を培養液とともに振とうコルベンに移し, カーボラダム約 5cc を加え毎分 220 回の割合で 30 分振とうした。この胞子懸濁液を 0.05 ml づつスライドグラス上に置き, 軽くカバーグラスをかけて 600 倍に拡大して小型分生胞子を計数した (第四表)。

第4表 水素イオン濃度と *F. oxysporum* の小型分生胞子の形成

区	pH	3.0	5.0	7.0	9.0
		1	34*	93	75
2		38	65	65	61
3		27	88	77	60
平 均		33	82	72	55

\* 胞子数 (10視野平均)

胞子数は pH 5.0 の場合にもっとも多く, 次いで pH 7.0, 9.0, 3.0 の順に低下する。

つぎに分生胞子形成におよぼす養分の量的関係を知るために Czapek 液を標準として, 窒素および炭素源の量をそれぞれ 1/2, 1/3, 2 倍とした液体培地 50 ml に菌そうを接種した。28°C で 7 日間培養後, 上記実験と同様に 30 分振とうし, その 0.05ml 中の胞子を検鏡した (第 5 表)。

第5表 養分量の異なる培養液中での *F. oxysporum* の小型分生胞子の形成

区	養 分 標 準*	窒 素 源 量			炭 素 源 量		
		1/2	1/3	2	1/2	1/3	2
1	63**	47	44	70	8	33	70
2	65	41	40	60	12	31	71
3	73	53	38	68	13	26	60
平 均	67	47	41	66	11	30	67

\* Czapek 液 (sucrose 2%)

\*\* 胞子数 (10視野平均)

分生孢子数は Czapek 標準区に比して減量区はいずれも少ないが、とくに炭素源減量区では減少の割合が大である。各区とも小型分生孢子に混じて大型分生孢子も散見されるが、これらの2種の孢子の比率は各区とも大差がないようである。

また、分生孢子の土壤中での発芽に關与する湿度を知るために、腰高ペトリ皿に砂を入れ、水を加えて湿度がそれぞれ20, 40, 60, 80% (容水量%) になるように調整し、分生孢子を散布したスライドグラスを挿入した。孢子はあらかじめ28°Cで10日間 Czapek 寒天培地で培養した菌そう上に形成されたものを用いた。すなわち、菌そうに水を加え、表面を軽くこすり、孢子懸濁液とし、スライドグラス上に一様に噴霧したのち風乾した。スライドグラスを挿入した腰高ペトリ皿は28°Cに20時間放置したのち、スライドグラスを取り出して発芽孢子数を検鏡した(第6表)。

第6表 土壤湿度と小型分生孢子の発芽との関係

湿度* %	20	40	60	80
全孢子数	876	679	919	770
発芽孢子数	113	181	284	412
発芽率 %	12.9	26.7	30.9	53.5

\* 容水量 %

小型分生孢子の発芽は土壤湿度とかなり密接に關係し、80%区では全孢子の半数以上が発芽するのに対し、60%以下では発芽率は急に減少するようであり、とくに20%区では発芽率は小さい。各区の発芽管長は80%区が他区に比してやや長いほかは、他の3区ともあまり差はないようである。20, 40%区では発芽管長2  $\mu$  以下の孢子が若干認められる。この現象は60, 80%区では認め難いが、これらの孢子は低湿度による発芽の遅滞かあるいは発芽が停止したものは不明である。

### III. 考 察

本邦におけるチューリップの球根腐敗病が *F. oxysporum* に起因することは、すでに報告されている<sup>4,9)</sup>。一般に土壤病害の発現は土壤中の菌密度に關係があると考えられており、菌密度に關係の深い環境要因として Garrett<sup>2)</sup> は温度、土壤湿度、土壤酸度、土壤有機物などをあげている。腐生相での *F. oxysporum* の生活を知るために、まず本菌の生育、増殖を助長する要因の解明が必要である。

本菌は5°Cではほとんど生育を停止するが、15°Cから35°Cまでの間ではかなりの生育を示し、とくに28~30°Cにおいてはその生育は良好である(第1図)。本菌の生育適温は28°C前後<sup>1,4,7)</sup>であり、生育限界温度は最高35°C最低7~8°C<sup>7)</sup>、最高32~36°C<sup>1)</sup>などの報告がある。第1図によれば、低温限界は5°C前後である。また35°Cではかなりの生育を示しているが、岩切・永田・水田<sup>4)</sup>も類似の結果を得ている。また、球根上の菌そうは5°Cにおいてもわずかながら生育を示す。このことは菌の存在する場における利用物質の質的差異によって本菌の生育温度の巾は多少の増減があると考えられる。

菌糸の生育と水素イオン濃度との關係について、山本・達山・吉野・三沢<sup>9)</sup>は土壤酸度の修正により発病の抑制を報告している。第2, 3図第4表より本菌の生育はpH 3.0においてかなり抑制されることを知りうるが、各pHにおける単位面積当りの菌体重の比率、単位菌体重当りの小型分生孢子の形成の比率は第7表のとおりである。

単位面積当りの菌体重の増大は菌糸数の増加あるいは菌糸の充実を示す。また、単位菌体重当りの孢子数の増加は第2次伝染源の増大を示すと考えられる。pH 3.0の液体培地では本菌はpellet状を示すが、pH 5.0以上では固体、液体培地とも正常の生育をする。第7表からpH 5.0は菌糸の生育、孢子の形成ともに良好であり、菌糸の生育はpH 9.0が、孢子形成はpH 7.0がこれに次ぎ、pH 3.0は本菌の環境要因としては不適當であると推測される。

第7表 各水素イオン濃度における *F. oxysporum* の生育比\* および小型分生胞子形成比\*\* (7日間液体培養)

pH	3	5	7	9
生育比	82.1	99.9	90.0	94.6
胞子形成比	50.1	74.0	65.9	48.5

\* 菌体重/菌そう面積

\*\* 胞子数/菌体重

第1, 2, 5表から, 養分量と菌糸の生育および小型分生胞子の形成との関係は第8表のとおりである。すなわち, 窒素源では Czapek 処方<sup>2)</sup>の2倍量は菌糸の生育は最も良好であるが, 胞子形成は少ない。減量区では生育は低下するが単位体重当りの胞子数は標準区と大差が認められない。第1表より菌糸の生長速度は窒素源量による差が認められないことは, 窒素過多の状態では菌糸による菌密

第8表 養分の量的差異における *F. oxysporum* の生育比\* および小型分生胞子形成比\*\* (7日間液体培養)

養分量	標準***	窒素源量			炭素源量		
		%	1/5	2	%	1/5	2
生育比	31.7	20.2	22.7	42.1	7.6	18.8	32.3
胞子形成比	55.0	57.0	50.0	38.8	44.5	45.1	50.5

\* 菌体重/菌そう面積

\*\* 胞子数/菌体重

\*\*\* Czapek 液 (sucrose 2%)

度の増大を, 窒素過少状態では胞子による第2次的増大を考慮すべきであろう。炭素源ではある程度以上の量(本実験では sucrose 2%以上)では菌糸の生育は良好であるが, 過少状態では菌密度は急激に低下し, 菌糸生長速度, 胞子形成能も次第に低下するようである(第1, 2, 8表)。

土壌湿度と菌の行動については第3表より本菌は低湿になるにつれて菌糸の伸長は低下し, 菌糸数も減少する傾向が認められる。胞子の発芽について, 岩切・永田・水田<sup>1)</sup>は, 小型分生胞子は90%以上の空気湿度で発芽可能であると報告しているが, 第6表によれば20%の土壌湿度でわずかながら発芽する。しかし, 80%では発芽率は急に増大する。畑地土壌の水分量は普通60~70%であり, 80%は過湿, 40%は乾燥状態である<sup>5)</sup>。それ故, 畑地の過湿あるいは普通状態で本菌の菌糸の伸長は良好であり, 菌糸数も多い。さらに過湿状態では胞子の発芽による菌糸数の増大も考慮すべきであると思われる。

Garrett<sup>2)</sup>は inoculum potential の増大を infecting unit の数的量的増加および質的増大により説明している。小倉・赤井<sup>3)</sup>は *Pellicularia filamentosa* の inoculum level を菌糸の土壌中での動向で示し, Gooding & Lucas<sup>3)</sup>は *Phytophthora parasitica* の inoculum level を胞子数で示している。この観点から, 高温, 高湿中性あるいはアルカリ性土壌, 含窒素有機物の増加などの条件は *F. oxysporum* の inoculum potential 増高の一因となると推察される。

稿を終えるにあたり, 供試菌の同定を御願いした信州大学繊維学部松尾卓見教授, 実験に御協力頂いた当研究室有沢律氏に深謝の意を表します。

#### IV. 要 約

チューリップ球根腐敗病を起す *Fusarium oxysporum* の環境条件に対する反応を知るために, 温度, 湿度, pH, 養分量について菌糸の生育と分生胞子の形成, 発芽を固体, 液体培地および土壌を用いて検討した。

*F. oxysporum* の生育適温は28~30°Cであり、5°Cでは生育はほとんど停止する。pH 5.0~9.0ではよく生育するが、とくに pH 5.0では菌糸の生育、分生胞子の形成ともに良好である。湿度60%以上で菌糸はよく土壤中を伸展するが、80%では胞子の発芽も良好である。窒素源は Czapek 処方の方の2倍量で生育はよく、炭素源は2%以上で良好である。しかし、窒素源量の減少はさほど菌体重に影響しないが、炭素源の減少は菌体重の急激な低下をきたす。また菌そうも粗になる。単位菌体重当りの胞子数は窒素源よりも炭素源の量的差異に関係するようである。

これらの結果から、*F. oxysporum* の inoculum potential は低温、低湿、窒素源炭素源ともに少ない酸性土壌では infecting unit の減少が起ると推測される。

## 文 献

1. 安部卓爾・野添早苗 (1960). 関西病虫研報., 3; 6~14
2. Garrett, S. D. (1956). Biology of root infecting fungi. London
3. Gooding, G. V. & Lucas, G. B. (1959). Phytopath. 49: 274~276.
4. 岩切 嶙・永田利美・水田隼人 (1961). 植防調査研報. 1: 3~14
5. 川口桂三郎・小島 昭 (1957). 農芸化学実験書 (京大農学部農芸化学教室編) 東京. p. 269
6. 松尾卓見 (1961). 日植病報. 26: 43~47
7. 新潟県球根腐敗病対策協議会 (1961). 球根腐敗病に関する研究結果 p. 16
8. 小倉寛典・赤井重恭 (1962). 日植病報. 27: 67
9. 山本昌木・達山和紀・吉野蕃人・三沢健一 (1959). 島根農大研報. 7: 79~83

(昭和37年9月28日受理)

## Summary

The influences of some environmental factors to mycelial growth, spore formation, and spore germination of *Fusarium oxysporum* caused tulip bulb rot were studied.

The mycelia grew over a optimum temperature at about 28°C and minimum at 5°C on Czapek agar media. The pathogen grew over a pH range from about 5.0 to about 9.0, especially at pH 5.0 was in the best condition for growth and spore formation, and was in abnormal in liquid medium at pH 3.0.

In the soil humidity of 60% and above mycelia grew well in sand and at 80% microspore germinated well. At the quantitative tests utilized nitrogen or carbon sources, mycelia grew very well in Czapek solution containing nitrogen of 2 times of Czapek's prescription, but not so decreased in it of one tenths, however spore formation was the least in it of 2 times. At carbon source tests mycelia grew well in Czapek solution added sucrose of 2% and above, but mycelial weight decreased with decrease of sucrose. It was seemed that, the increase of a number of microspores by unit of mycelial weight related with the increase of the quantity of carbone source but not nitrogen source.

From these results it is supposed that, the inoculum potential of *F. oxysporum* caused tulip bulb rot should be able to decrease the pathogen's infecting unit in soil, if the low temperature, low humidity and acidity soil containing low contents of nitrogen and carbone souces were given.

(Laboratory of Phytopathology, College of Agriculture, Kochi University)

