

土 壤 病 原 菌 の 密 度

第 2 報 土 壤 中 における *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum* の 変 動

小倉寛典・高木 廣・菅野広士・山口英夫

(農学部植物病理学研究室)

Dynamic Density of Soil-borne Pathogenic Fungi.

II. Change of *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum* in soil.

by

Hirosuke OGURA, Hiroshi TAKAGI, Hiroshi SUGANO

and Hideo YAMAGUCHI

(Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture)

Abstract : Dynamic density of soil-borne pathogenic fungi. II. Change of *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum* in soil. Hirosuke OGURA, Hiroshi TAKAGI, Hiroshi SUGANO and Hideo YAMAGUCHI. Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture. The density of *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum* in soil is one of the causes on the occurrence of *Fusarium* wilt of cucumber plants. In this paper the factors about increase of this fungus were observed in natural or sterilized soil. *F. oxysporum* increased in sterilized soil inoculated with conidial suspension more than in it inoculated with chlamydospores. In natural soil inoculated with conidial suspension the pathogen decreased rapidly with the lapse of time and its survival is a little with no relation to inoculated density, but in it with chlamydospore inoculum the pathogen remained in portion of inoculum densities though it decreased to some extent. In sterilized soil a lot of hyphae and microconidia were observed for a long time, but in natural soil many of them were lysed and chlamydospores were formed. When cucumber were planted continuously the pathogen increased and diseased ratio of seedlings were in more severe step by step. In this case, the more the pathogen existed at the beginning of cultivation, the more they survived, but the increased ratio of their survival in each cultivation was less at high density than at low density. The pathogen increased in rhizosphere of non-host plants as well as in it of host plant. This effect was not stable, especially on cereals, in natural soil. From these results, it is considered that *F. oxysporum* in soil is supported its survival by living roots and the host plant is not always to make up the best condition for saprophytic existence of this pathogen. And it is suggested that there would be the maximum allowance with each soil for inhabitation of the pathogen in its soil though many factors would be concerned in this phenomenon.

土壤病害は土壤中に生息する病原菌の密度あるいは活性に左右される。病原型の *Fusarium oxysporum* の多くはその増殖を寄主植物に負うところが多いが、土壤中の有機質に依存する場合もある^{1,11,14,16)}。とくに他の微生物に汚染されない残渣上や生活根から生産される有機物は本菌の増殖を助長する。前報⁹⁾において、*F. oxysporum* は *Rhizoctonia* や *Pythium* に比して物理的要因に左右され難いこと、また、苗立枯病の症状は土壤中の菌数の連続的増大に比して非連続的にあられるが、根部の被害は菌数に比例して連続的に生じることが認められた。

本報告では、*F. oxysporum* f. *cucumerinum* の土壤中での残存について土壤中の菌量、植物根の影響について調査した。

実 験 材 料

供試した病原菌は農学部近辺の圃場より採集したキュウリつる割病菌3菌株。(F 501, F 504,

F 507) である。各菌株のキュウリに対する病原性は F 504 < F 501 < F 507 であり、分生胞子の形成能は F 501 = F 507 < F 504 であるが、厚膜胞子の形成能は分生胞子の形成と同じ傾向があるが、各菌株ともあまり差を認めない。各処理土壌における病原力の検定にはキュウリ幼苗(品種:四葉)を用いた。

実験方法ならびに結果

1. 寄主作物の存在しない土壌中での *F. oxysporum* f. *cucumerinum* の変動

数年間、未耕の状態に放置した圃場の表土下 5~10 cm の位置より土壌を採取し、径 2 mm に篩別して供試土壌とした。接種源は、*F. oxysporum* (F 504) を含水量 70% (v/v) に調整したコーン・バーミキュライト (1:10) に植えつけ、25°C で10日間静置したのち供試した。上記の

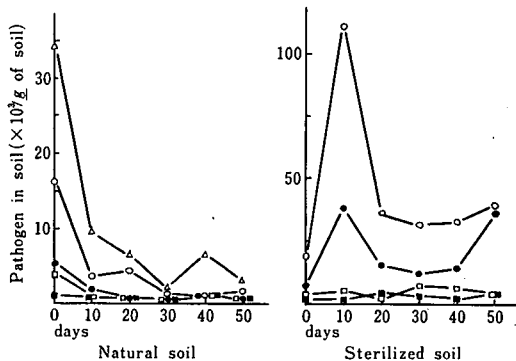


Fig. 1 Survival of *F. oxysporum* in soil with different inoculum densities. Δ : Rate of inoculum (corn-vermiculite inoculum) against soil (v/v) is 1:3, \circ : 1:10, \bullet : 1:30, \square : 1:100, \blacksquare : 1:300

殺菌土壌中での菌数は10日前後に増大するが、以後菌数は減少し、接種した菌量の大小に応じて残存菌量も相違が認められる。無殺菌土壌では菌数は減少をつづけ、土壌中に多量に接種した場合

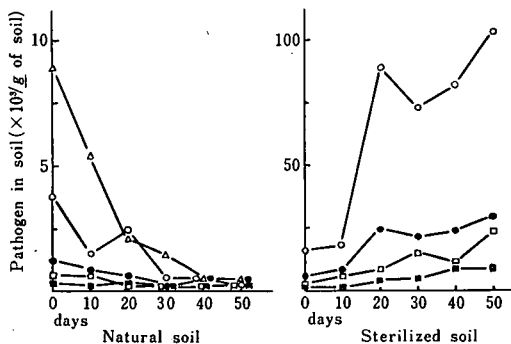


Fig. 2 Survival of *F. oxysporum* in soil with different inoculum densities by conidial suspension. Densities were adjusted by conidia as same number as in corn-vermiculite inoculum in Fig. 1. Δ , \circ , \bullet , \square , \blacksquare : see Fig. 1.

土壌は無殺菌のまま、あるいは風乾後 160°C で30分間乾熱滅菌したのち、接種源と 3:1, 10:1, 30:1, 100:1, 300:1 の割合の容量で混合し、さらに 3:1 の混合土壌以外は 10:1 の混合土壌に加えたのと同量のバーミキュライトを加え、均一になるように攪拌し、径 9 cm の腰高ベトリ皿に 200ml ずつ入れて殺菌水にて土壌湿度を 70% (v/v) に調整した。各ベトリ皿は 25°C に静置し、10日ごとに菌数の変動を調査した。各時期の菌数は駒田⁴⁾の *Fusarium* 撰択培地を用い、寒天稀釈法により計数した。(第1図)。

を除き1カ月後には初期の菌量の如何による残存の差異は認め難い。

つぎに、土壌に分生胞子を接種した場合の残存を調査した。土壌とバーミキュライトを 15:1 の割合で混合した。ジャガイモ煎汁寒天平板上に生育した菌そうから分生胞子懸濁液を採取した。土壌中の胞子濃度が前記のバーミキュライト接種源と同程度になるように胞子懸濁液を稀釈して土壌に加え、湿度を 70% に保った。土壌処理、菌数の調査は前記の実験と同様である(第2図)。

殺菌土壌では接種量に応じて残存菌量に差が認められ、初期の菌量の多い場合にはこの傾向はバーミキュライト接種源

を用いた場合よりも顕著である。無殺菌土壌では、初期の菌量の如何を問わず菌数は減少する。しかし、いずれの接種法でも無接種土壌中の *Fusarium* 数よりも多くの菌数が検出されることは、残存が長期に亘り認められると考えてよい。

このような残存の形態を知るために、殺菌した砂を入れた 腰高ペトリ皿に *F. oxysporum* (F 501) の分生胞子を接種し、殺菌水あるいは土壌懸濁液を加えて湿度を60% (v/v) に調整し、25°C に静置した。土壌懸濁液はペトリ皿内の砂と同量の土壌を10倍量の殺菌水にて希釈後振とうし、その上澄液を遠心分離して浮遊する微生物ならびに微小残渣を採取した。これを殺菌水で希釈して土壌に加え、湿度を60%に調整するとともに汚染の程度が土壌の約1/5になるようにした。各処理砂中の菌糸密度は埋没したスライドガラスに附着伸長する菌糸により表わした(第3図)。胞子は一定量の砂を殺菌水とともに振とうし、上澄液中の胞子を検鏡して、土壌1g中の数値に換算した(第4図)。

殺菌した土壌中の菌糸は30日以後急速に減少する。検鏡によれば20日以降スライドガラス面に附着する菌糸には原形質の凝集が認められ、60日以降の菌糸は自己溶菌現象が認められる。微生物汚染土壌では菌糸の減少は早期に起こり、20日以降の菌糸は溶菌し、スライドガラス上には菌糸の痕跡が認められた。殺菌土壌では小型分生胞子の増加は著るしく30日頃まで増加するが、厚膜胞子はほとんど形成されない。微生物汚染土壌では、一時的に増加した小型分生胞子は10日以降急速に減少し、30日で殆んど消滅する。この時点では胞子の大多数は厚膜胞子である。汚染土壌では殺菌土壌に比して小型分生胞子の形成は接種後5日までは同じ傾向をもつが、以後減少する。

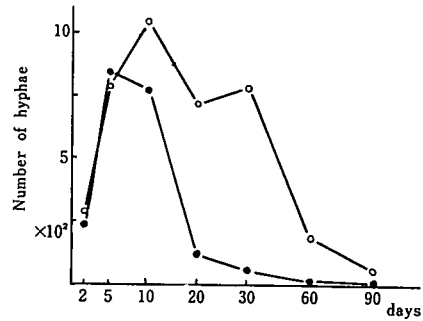


Fig. 3 Change of mycelia of *F. oxysporum* in soil. All of mycelia crossed the horizontal line on central part of slide glass (5 cm) buried in soil were counted. ○: sterilized sand, ●: sand contaminated with soil microorganisms

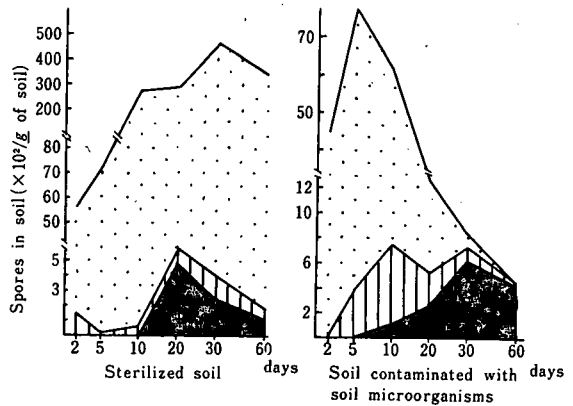


Fig. 4 Spore formation of *F. oxysporum* in soil. [dots]: microconidia, [vertical lines]: macroconidia, [stippled]: chlamydospore

2. 寄主植物を連作した土壌中での *F. oxysporum* f. *cucumerinum* の変動

径 30cm の鉢に 5mm に篩別した壤土を入れ、前記の実験と同様に *F. oxysporum* (F 504) を培養したコーン・パーミキュライト接種源を混合した。接種源と土壌との比率は 1:10, 1:30, 1:100とし、土壌中のパーミキュライトは接種源も含めて土壌全量の約1/10とした。各鉢はガラス室に置き、接種後の *Fusarium* の安定期として15日間放置したのち、キュウリを各鉢15粒ずつ播種した。播種30日後にキュウリを抜き取り、根部への侵害を調査し、10日後に再び播種した。キュウリは3回繰返して栽培したが、夏期には鉢内の土壌の温度の上昇を避けるため恒温水槽内に鉢を

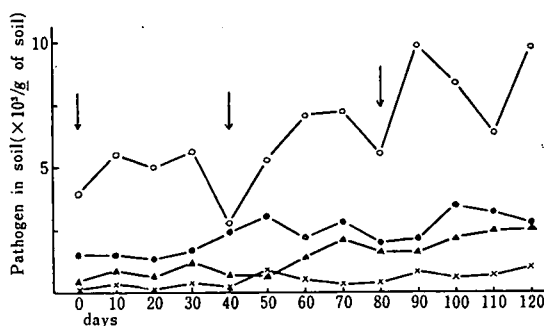


Fig. 5 Change of *F. oxysporum* in soil planted cucumber seedlings continuously. ↓: cucumber planting, ○: heavy infestation with pathogen, ●: moderate, ▲: slightly, ×: non

キュウリの罹病程度は土壤中の菌量が多い場合には大きく表われ、連作により被害はさらに増大する。土壤中の菌量の少ない場合には第1作の被害は少ないが、連作することにより被害は次第に増加する(第2表)。

Table 1. Increased ratio of *F. oxysporum* in soil with different inoculum densities in continuous cropping of cucumber plants.

Inoculum density*	Pathogen in dried soil ($\times 10^9/g$)				Increased ratio		
	Before cropping (A)	Maximum in each cultivation 1st. (B)	2nd. (C)	3rd. (D)	B/A	C/A	D/A
1 : 10	3.9	5.5	7.1	9.8	1.41	1.82	2.51
1 : 30	1.5	1.7	3.0	4.5	1.13	2.0	3.0
1 : 100	0.5	1.2	2.3	2.8	2.40	4.60	5.60
Not added	0.18	0.4	0.5	1.2	2.22	2.77	6.67

* Rate of inoculum (corn-vermiculite inoculum) against soil (v/v).

Table 2. Ratio of susceptibility of cucumber seedlings by *F. oxysporum* in soil with different inoculum densities in continuous cropping of cucumber plants.

Inoculum density*	Susceptible ratio**		
	1st cultivation	2nd	3rd
1 : 10	264	325	602
1 : 30	108	250	502
1 : 100	168	225	314

* Rate of inoculum (corn-vermiculite inoculum) against soil (v/v)

** Susceptible ratio of each plot/Susceptible ratio of seedling in soil added non inoculum $\times 100$

3. 寄主および非寄主植物根圏での *F. oxysporum* f. *cucumerinum* の変動

F. oxysporum (F 501) の分生孢子懸濁液を殺菌した砂に加えたのち、10倍に稀釈した Czapek 液を用いて湿度を60% (v/v) に保ち、25°C で10日間静置して接種源とした。前記のキュウリを

懸架した。また、各作付期間中の *F. oxysporum* の変化を前述の寒天稀釈法により10日ごとに調査した。

キュウリを栽培することにより土壤中の菌量は維持され、連作することにより菌量は次第に増大する(第5図)。菌数の増加は土壤中に存在する菌数の多いほど連作により増加は大であるが、増加の割合は初期の菌量の大きい土壤ほど低くなる傾向が認められる(第1表)。しかし、菌数の増加はキュウリ栽培期間に大になるが、キュウリの除去とともに減少する傾向を示す。

栽培した土壌を 5 mm に篩別し、蒸気殺菌あるいは無殺菌のまま上記の接種源と 10 : 1 に混合し、径 20cm の鉢に入れた。各鉢をガラス室に 10 日間置いたのち、キュウリ、トマト、クローバー、ダイズ、エンバク、トウモロコシをそれぞれ 1 鉢あたり 20, 40, 100, 50, 10 粒ずつ播種した。各植物につき 3 鉢ずつ供試し、土壌の乾燥に応じて適宜灌水した。10 日ごとに各鉢から苗の 1 部を注意深く抜き取り、附着する土壌をふるい落して同一植物ごとに混ぜ合わせ根圏土壌と見做した。30 日以降は鉢の中の土はすべて根圏土壌と見做して任意に土壌を採取した。菌数の調査は前記の実験で行ったと同様に寒天稀釈法によった。なお、上記の菌量では、キュウリの被害が 20 日頃に大きくなり、それ以後の菌数の変動が不明確なので、病原力の小さい F 507 号菌を用いて同じ実験を行った。植物を栽培しない土壌中の *F. oxysporum* の菌数を 100 として表わした場合の菌数の変動を第 6 図に示した。

殺菌土壌では時間の経過とともに土壌は微生物に汚染されるが、それでも植物根の存在はいずれも菌数を増加させる。

マメ科植物はいずれも他に比べて菌数の

増加が顕著である。寄主植物であるキュウリは病原力の強い菌株に侵され、20 日前後で枯死あるいは罹病し、その後の菌数の増加は小さいが、弱病原菌株では多少の病害が発生するが、菌数は日時の経過とともに増加する。しかし、その程度はトウモロコシよりやや優る程度であり、マメ科のそれには及ばない。この実験では各植物の根の活性や表面積などを調査せず、従って物質の生産量も不明であり、これらの原因による *F. oxysporum* の残存への影響は考慮していない。無殺菌土壌では殺菌土壌に比べて菌数の増加はきわめて低く、また、減少の時期も早い。この土壌でもマメ科植物の存在は生存を有利にするが、キュウリはこれに次ぐ。しかし、殺菌土壌で増殖を助長した禾本科植物は初期の増殖時期を過ぎれば却って菌数は無栽培土壌以下に減少する。

各植物の種子を表面殺菌後催芽させ、25°C で 7 日間栽培したのち、幼根を傷つけないように抜き取り、水洗後 30~40 時間日光の下で 180 ml の殺菌水に根部を浸した。植物体を除去した根浸出液に 2% の寒天を加えて 1 気圧で蒸気殺菌し、ペトリ皿に注入して寒天平板とした。これに *F. oxysporum* を植えつけ、25°C に静置した。4 日後に菌そうの先端部の菌糸を検鏡し、視野を横切る菌糸数により各植物の生産する物質の菌糸の伸長への影響を調査した。対照として水寒天培地および 10 倍稀釈の Czapek 寒天培地を用いた (第 7 図)。

菌糸数は 10 倍稀釈 Czapek 培地およびクローバーが多く、キュウリおよびトマ

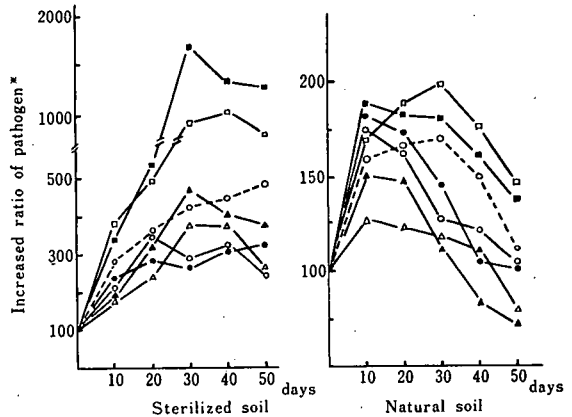


Fig. 6 Change of *F. oxysporum* in rhizosphere of host or non host plant. □ : soy bean, ■ : clover, ○ : cucumber, ● : tomato, △ : oat, ▲ : corn, --- : weak pathogen * : Increased ratio (Number in rhizosphere / Number in non rhizosphere × 100)

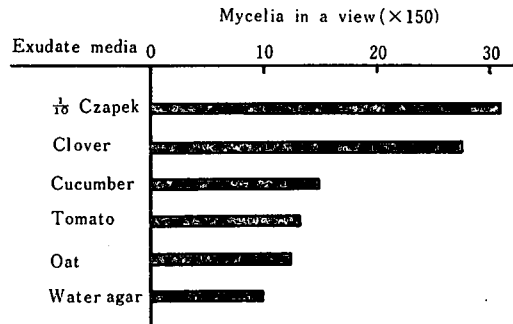


Fig. 7 Mycelial density on agar plate contained root exudate.

トではエンバクをやや上廻る程度である。しかし、培地上の菌糸の太さや伸長の様相から類推して *F. oxysporum* の生育に影響を与える順序は、Czapek>クローバー>キュウリ>トマト≒エンバクであろうと思われる。

考 察

F. oxysporum の生育は土壤中に添加される有機物や生活根から生産される物質によって賦活され、増殖がはじまる。その後、物質の費消とともに溶菌、原膜胞子の形成による耐久生存へと移行する^{3,14,16,17)}。この間、*F. oxysporum* によるキュウリの侵害は土壤中の菌密度により異なり、低密度では環境要因に左右されやすく、高密度でははげしいことが報告されている^{6,9,10,13)}。

土壤中の菌密度は接種後20日頃までに安定した状態に移行するが、厚膜胞子を接種した場合に比して、分生胞子を接種した場合の生存率は低い。殺菌土壌では分生胞子の接種は厚膜胞子の接種に比べて残存率は増大する。このことは厚膜胞子は分生胞子よりも発芽刺激に感受性が低いと思われる。分生胞子から発芽した菌糸は伸長し、さらに分生胞子を形成し、60日後でも多くの活性のある分生胞子が検出される。しかし、他の微生物に汚染された土壌では菌糸の溶菌が10日以降急速に促進され、分生胞子の形成も抑制されるかあるいは胞子も溶菌され、その結果30日以降厚膜胞子が残存する。残存の量は初期の菌量あるいは胞子の形態により差が認められ、コーン・パーミキュライト接種源のように厚膜胞子の多いほどそれ以後の残存も多い(第1, 2, 3, 4図)。土壌中での *F. oxysporum* の形態の変化は駒田⁵⁾、竹内⁸⁾、Park¹²⁾ も時間的な差異はあるが同じ傾向を示すことを報告している。小川・浜屋・竹内⁸⁾ は *F. oxysporum* の土壌中での残存は 1 g 当り 10^3 になると減少は緩慢になることを示し、Lockwood⁷⁾ は土壌中の多量の菌量は微生物要因により減少させられると述べている。

土壌にキュウリを連作すると *F. oxysporum* は増加する。増加の絶対数は初期の菌数の多少が影響し、初期の菌数の多いほど連作後期の菌量も多くなり、かつ、被害も増大する。しかし、連作による菌数の増加率は初期の菌量の少ない場合に大になる傾向を示す(第5図、第1, 2表)。一方、土壌中の *F. oxysporum* は非寄主植物根により活性を賦与される(第6, 7図)。本菌にとって、根圏での増殖は必ずしも寄主植物が有利であるとは限らない。マメ科植物は *F. oxysporum* の増殖に養分的に有利な植物であり、禾本科植物でも本菌の生存を支持するに十分な生産物を供給する。すなわち、殺菌による微生物相の崩壊は生活根の生産物の利用を *F. oxysporum* に有利に導くと考えられる。しかし、自然土壌中では禾本科植物は裸地よりも菌の減少が大きい。また、マメ科植物は菌数を増加させる。この現象は各作物根圏土壌での微生物相の差異による本菌の生存の難易が一因であると考えられる。小倉・山田¹¹⁾ は作物による活性の増高は微生物の存在により消去されると報告し、Cook & Snyder²⁾ は植物による胞子発芽促進成分を環境要因について検討した。Smith & Snyder¹⁵⁾、Buxton¹⁾ も植物の品種あるいは非寄主植物の根の浸出物による胞子の発芽について報告している。駒田⁵⁾ は根圏における胞子の発芽に関しては寄主特異性はないと言及している。

F. oxysporum の土壌中での増殖は寄主をはじめ非寄主植物もその一端を担っている。しかし、植物は病原菌の生存を助長する反面、他の微生物群を刺激して病原菌の活性を抑制しようとする二面性をもつ。さらに土壌中では本菌の生息密度は高くなるにつれて抑制される傾向が認められる。これらの結果は *F. oxysporum* による病害の発生は、本菌の腐生相の場である土壌の病原菌許容度に及ばず諸要因を解明する必要があると考えられる。

要 約

Fusarium oxysporum f. *cucumerinum* によるキュウリの病害は土壤中の菌量により発生が左右される。

土壤中の *F. oxysporum* の変動は殺菌した土壌では分生胞子を混入した場合は厚膜胞子の場合よりも増加が著しい。しかし、自然土壌では分生胞子の接種はその量が多くても時間の経過とともに急激に減少し、接種時の菌量は残存と関連性がない。厚膜胞子の混入では菌数は経時的に減少するが、残存は多く、接種時の菌量と残存数とは多少の関連が認められる。土壌中の菌糸や小型分生胞子は溶菌され、厚膜胞子が存続する。

キュウリを連作すると菌数と罹病率は作付ごとに増大するが、土壌中の菌量の多い場合は少ない場合よりも被害ははげしく、残存菌数も多い。しかし、作付ごとの菌数の増加率は菌量の少ない場合の方が大きい。

F. oxysporum はキュウリ以外の非寄主植物の根圏でも増殖する。とくにマメ科植物ではその効果がキュウリよりも大である。しかし、禾本科植物では他の微生物の存在により却って菌数は減少する。また、植物の除去により菌数は減少する。

以上の結果、*F. oxysporum* の土壌中の菌数は植物根の存在により維持されるが、植物の種類により差異が認められ、寄主植物は必ずしも最良の生存環境をつくらない。また、土壌には病原菌の生存許容度というものを考える必要があることが示唆される。

文 献

1. Buxton, E. W. 1965 Trans. Brit. mycol. Soc. 40: 145-154
2. Cook, R. J. & Snyder, W. C. 1965 Phytopathology 55: 1021-1025
3. Ford, E. J., Gold, A. H. & Snyder, W. C. 1970 Ibid 60: 1732-1737
4. 駒田 旦 1972 東近農試研報 23: 114-178
5. 駒田 旦 1976 同上 29: 132-269
6. Kraft, J. M. & Erwin, D. C. 1968 Phytopathology 58: 1427-1428
7. Lockwood, J. L. 1964 Ann. Rev. Phytopath. 2: 341-362
8. 小川 奎・浜屋悦次・竹内昭士郎 1975 農事試研報 23: 115-146
9. 小倉寛典・森本徳右衛門・池田 弘 1969 高知大学研報 18 (農学): 67-75
10. 小倉寛典・森本徳右衛門・坪井福俊 1968 同上 17: 77-83
11. 小倉寛典・山田 巧 1975 同上 24: 115-121
12. Park, D. 1959 Trans. Brit. mycol. Soc. 44: 119-122
13. Rao, M. V. & Rao, A. S. 1966 Ibid. 49: 403-409
14. Schroth, M. N. & Cook, R. J. 1964 Phytopathology 54: 670-673
15. Smith, S. N. & Snyder, W. C. 1972 Ibid. 62: 273-277
16. Smith, S. N. & Snyder, W. C. 1975 Ibid. 65: 190-196
17. Steiner, G. W. & Lockwood, J. L. 1969 Ibid. 59: 1084-1092
18. 竹内昭士郎 1976 日植病報 42: 49-52

(昭和52年9月30日受理)

(昭和53年2月28日分冊発行)

