

## 四国の数か所から採取した土壤中における トマト萎凋病菌の行動<sup>1)</sup>

本間善久・久保千冬・大畑貫一<sup>2)</sup>

(四国農業試験場)

### 緒 言

トマト萎凋病(高津ら, 1954), キュウリつる割病(河合ら, 1958), サツマイモつる割病(Smith and Snyder, 1971)など *Fusarium oxysporum* による野菜病害は, 砂質土壤で多発する傾向があるが, 逆に *F. oxysporum* の生存率は, 砂質土壤で低いとされている(駒田ら, 1970; 小倉ら, 1975)。ダイコン萎黄病は, 黒ボク地帯で少く, 赤土地帯で多発し(井上ら, 1960), その原因は, 菌数低下と根圏での厚膜孢子発芽率の低いことの2点で説明されている(井上ら, 1968)。

土壤の種類と病気の発生あるいは病原菌の生態との関係を知ることが, 土壤病害の発生機構の解明, ひいては, 生物防除の手掛りを得る上で極めて重要である。

そこで, 四国の代表的な土壤を6か所から集め, 土壤の種類による病原菌の行動の違いを調べた。本研究を始めるにあたり, 土壤の採取, 送付についてお世話を頂いた方々に深甚な謝意を表わす。

### 実験材料および方法

土壤は, 第1表に示した6か所から採取し, 風乾後2mmの篩を通したものをを用いた。土壤水分は, 使用時に最大含水量(MHC)の45~50%とした。

用いたトマト萎凋病菌は, *F. oxysporum* Schl. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hans. の race 1 (F-1菌株)である。土壤中における病原菌の行動は, 接種後の病原菌数の変化, 孢子発芽率, 発芽管の溶菌程度について調べた。

**接種後の病原菌数の変化:** ショ糖添加馬鈴薯寒天培地(PSA)に20日間培養した菌叢から分生孢子をかき取り, 遠沈法で1回水洗後, 土壤1g当たり $1.1 \sim 1.5 \times 10^6$ 個になるように土壤に接種した。土壤水分をMHC50%としたのち, 接種土壤100gを300ml容三角フラスコに入れ, 28℃におき, 10日毎に土壤水分を調整した。接種後5, 10, 20, 30日目に病原菌数を希釈平板法で調べた。培地は, 改良PCNB添加培地(駒田, 1972)である。

**孢子発芽率:** ペトリ皿当たり50gの風乾土壤を入れ, その上に松田ら(1968)に従ってスライド・

---

1) The behavior of tomato *Fusarium* wilt pathogen in different soils collected from the several locations in Sikoku. By Yosihisa HOMMA, Chifuyu KUBO and Kan-ichi OHATA.

2) 現在, 農業技術研究所

Proc. Assoc. Pl. Prot. Sikoku, 11:99-104(1976)

ガラスにはりつけた胞子を乗せ、軽く圧し、16～18時間後に取り出し水洗後、ホルマリン・エチルアルコール・酢酸液で固定し、ローズ・ベンガルで染色後検鏡した。胞子は、約2週間PSA培養菌叢よりかき取ったものを遠沈法により3回水洗し、0.05%蒸留水寒天液に懸濁し、スライド・ガラス上に3点滴下し、風乾後、直ちに土壤表面に圧した。

土壤静菌作用を緩和する目的で、土壤にブドウ糖の0.01, 0.1, 1%溶液を加え、同様に発芽率を調べた。

**発芽管の溶菌：**Czapek - Dox (0.1%酵母エキス添加)液中で16～18時間発芽させた胞子を遠沈法で3回水洗し、上と同様にスライド・ガラスにはりつけ、土壤に入れ、24, 48, 72時間後取り出し、ローズ・ベンガルで染色し、溶菌程度を調べた。溶菌は、発芽管の原形質異状、原形質空胞化、および細胞壁溶解を対象に観察した。

## 実 験 結 果

### 1. 供試土壤の2, 3の性質と微生物数

用いた6か所の土壤の粘土含量を触感法により測定すると、普通寺土壤は、壤土～埴壤土、大野原は埴壤土～軽埴土、今治は砂壤土～壤土、伊予三島および久万は埴壤土、土佐山田は軽埴土であった。PHは、土壤によって異なり、4.70～6.25で、今治が最も高く、伊予三島が最も低かった。容水量は、45.0～98.4%であり、久万が最も高く、普通寺が最も低かった(第1表)。

第1表 供試土壤の採取地と2, 3の性質

土 壤	採 取 地	土 性 <sup>1)</sup>	pH <sup>2)</sup>	容 水 量
善 通 寺	香川県普通寺市	壤土～埴壤土	5.45	45.0
大 野 原	〃 三豊郡大野原町	埴壤土～軽埴土	6.10	45.2
今 治	愛媛県今治市	砂壤土～壤土	6.25	59.8
伊 予 三 島	〃 伊予三島市	埴 壤 土	4.70	53.8
久 万	〃 上浮穴郡久万町	埴 壤 土	6.05	98.4
土 佐 山 田	高知県香美郡土佐山田町	軽 埴 土	5.55	75.0

1) 粘土含量を触感法で測定

2) 土壤：水=1:25の懸濁液を測定

第2表 供試土壤中の微生物数

土 壤	病 原 菌	糸 状 菌	放 線 菌	細 菌
善 通 寺	0	$3.8 \times 10^4$	$310 \times 10^5$	$197 \times 10^6$
大 野 原	$1.3 \times 10^2$	$1.7 \times 10^4$	$35.7 \times 10^5$	$281 \times 10^6$
今 治	0	$4.6 \times 10^4$	$14.3 \times 10^5$	$14.7 \times 10^6$
伊 予 三 島	$2.33 \times 10^2$	$1.80 \times 10^4$	$3.7 \times 10^5$	$3.0 \times 10^6$
久 万	0	$2.6 \times 10^4$	$3.70 \times 10^5$	$1.50 \times 10^6$
土 佐 山 田	0	$3.7 \times 10^4$	$2.50 \times 10^5$	$1.31 \times 10^6$

用いた土壤の萎凋病菌の菌数および微生物数を希釈平板法で調べた(第2表)。病原菌、糸状菌、

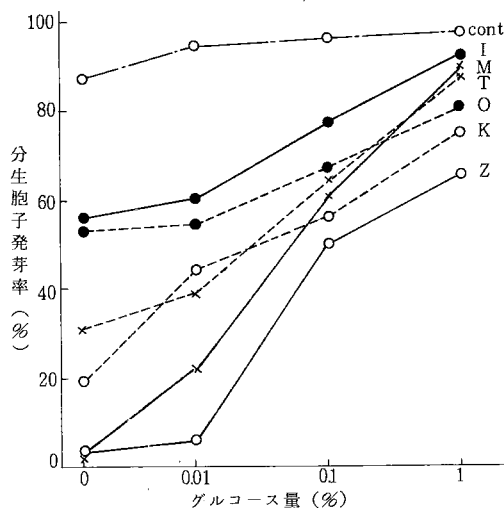
放線菌、細菌の分離には、それぞれ改良PCNB添加培地、Martin培地、Glycerol-A-sparagine培地、Thornton培地を用いた。病原菌は、大野原土壌 ( $1.3 \times 10^2 / g$ ) と伊予三島土壌 ( $2.33 \times 10^2 / g$ ) のみに検出され、他は  $10^2$  オーダーでも検出されなかった。微生物数は土壌によって異なった。伊予三島土壌は、糸状菌が多く、細菌、放線菌が少かった。逆に、大野原および久万土壌は、糸状菌が少く、細菌、放線菌数が多かった。また、細菌に対する放線菌の割合をみると、久万土壌が最も高く、今治土壌が最も低かった。

## 2. 土壌へ分生孢子接種後の菌数の変化

分生孢子を土壌 1g 当たり  $1.1 \sim 1.5 \times 10^6$  個の割合で接種したところ、5日目に菌数は急激に減少したが、10日から30日までは、菌数がほぼ一定になった(第1図)。土壌によって、一定になる菌数レベルが異なり、大野原、伊予三島、土佐山田土壌は、 $1.2 \sim 4.1 \times 10^5$  の高い菌数レベルで一定になり、今治、久万土壌は  $2.0 \sim 4.7 \times 10^4$  の低い菌数レベルで一定になった。普通寺土壌はそれらの中間であった。すなわち、病原菌は、大野原、伊予三島、土佐山田土壌に定着し易く、今治、久万土壌には定着しにくいことを示している。

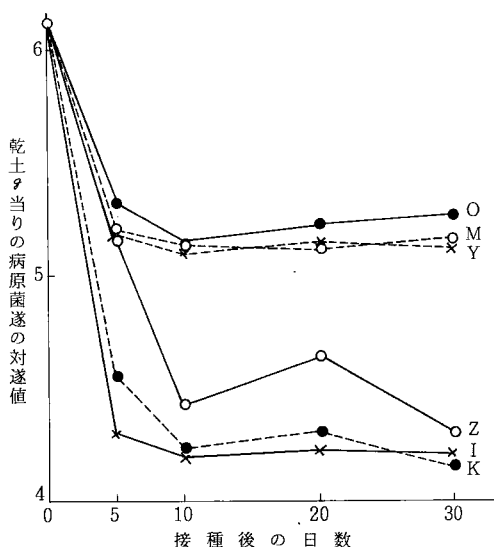
## 3. 土壌中における分生孢子発芽

土壌中における分生孢子的発芽率は、土壌の



Z: 普通寺, O: 大野原, I: 今治  
M: 伊予三島, K: 久万, Y: 土佐山田  
cont: 所定の水溶液

第2図 数種土壌における分生孢子発芽とグルコース添加の影響



Z: 普通寺, O: 大野原, I: 今治  
M: 伊予三島, K: 久万, Y: 土佐山田

第1図 数種土壌における分生孢子接種後の菌数の変化

種類によって異なり、今治、大野原土壌中では発芽率が高く、それぞれ55.0、52.7%であった。これに対し、伊予三島、普通寺土壌では、発芽率が低く、それぞれ1.6、2.6%であった。久万、土佐山田土壌ではこれらの中間であった(第2図)。

土壌静菌作用を緩和するためにブドウ糖を0.01、0.1、1%加えたところ、いずれの土壌においてもブドウ糖の量が多くなるにつれて発芽率が上昇した。伊予三島、土佐山田土壌のようにブドウ糖量による発芽率上昇程度が高いために、ブドウ糖の量によって、土壌中の分生孢子発芽率の順位が逆転したのもあった。

#### 4. 土壤中での発芽管溶菌

発芽した分生胞子を土壤に入れると、原形質がマダラ化するなど異状を起し、その後空胞化し、消滅する場合と、原形質が存在するまゝ細胞壁が分解される場合とが観察された。このような溶菌の起り方は、土壤によって異なった。伊予三島土壤は、24時間でほとんどの発芽管が原形質異状を起していたが、その後、空胞化することはなかった。今治、久万土壤では、細胞壁が分解するものが多く、その周りに細菌や放線菌のコロニーが見られるものが多かった。

原形質異状を呈したものを0.5，原形質空胞化および細胞壁溶解したものを1とし、全孢子数に対する割合で溶菌率を表わす（第3表）と、24時間で28～49.1%，伊予三島以外の土壤では48時間

第3表 土壤中における分生胞子発芽管の溶菌

土 壤	埋 土 後 の 期 間 ( 時 間 )		
	2 4	4 8	7 2
善 通 寺	3 2.4	9 2.0	9 6.6
大 野 原	2 8.0	9 0.8	9 7.8
今 治	4 2.9	9 9.7	9 9.9
伊 予 三 島	4 9.1	5 0.9	5 4.6
久 万	4 6.6	9 9.6	9 8.1
土 佐 山 田	4 3.7	8 3.7	9 6.6

$$1) \text{ 溶菌率} = \frac{\text{原形質異状孢子数} \times 0.5 + (\text{空胞化} + \text{溶解})}{\text{全 胞 子 数}} \times 100$$

で90.8～99.7%，72時間で96.6～99.9%になった。すなわち、72時間でほとんどの発芽管が空胞化または細胞壁が溶解していたことを示している。

48時間の溶菌率を比較すると、今治、久万土壤が最も高く、普通寺、大野原、土佐山田土壤がこれに次ぎ、伊予三島土壤は著しく低かった。

## 考 察

土壤によるトマト萎凋病菌の定着の違いを知るために、分生胞子を土壤に接種したところ、土壤の種類によってそれぞれ異なったレベルで病原菌数が一定になった。すなわち、軽埴土および埴壤土の大野原、伊予三島、土佐山田土壤には病原菌が定着し易く、今治（砂埴土）、久万（埴埴土；黒ボク）土壤には定着しにくかった。土壤の種類と *F. oxysporum* の定着との関係についてはいくつかの報告があり、砂質土壤（駒田ら、1970；小倉ら、1975）および黒ボク（井上ら、1968；駒田ら、1970）で菌数の減少が著しいとされている事は、上の結果と一致する。

黒ボク地帯ではダイコン萎黄病の発生が少く、これは菌の定着の低さと相関する（井上ら、1968）が、砂質土壤では、病原菌が定着しにくいのに反し、*F. oxysporum* による各種病害の発生（高津ら、1954；河合ら、1958；Smith and Snyder, 1971）が多い傾向がある。このように、土壤の種類と発病との関係は、単に病原菌の定着のみで説明できるものではないようである。

*F. oxysporum* は、腐生能力の強い菌とされている（Rao, 1959）が、分生胞子が土壤に入ると直ちに厚膜化し（French and Nielson, 1966）、土壤中では厚膜胞子で存在するとされている（Trujiro and Snyder, 1963）。小倉ら（1975）は、キュウリつる割病菌が埴土

よりも砂質土壌で生存率が低いのは、厚膜胞子の形成量によるとしている。一方、本実験で、土壌に埋めて48時間の発芽管の溶菌率は、菌の定着しにくい今治と久万土壌で最も高く、しかも両土壌で微生物による細胞壁の分解されるものが多かった。

これらのことから、本実験の土壌の種類による病原菌の菌数レベルの差は、土壌中における溶菌および厚膜胞子の形成割合の差と考えられる。

土壌中で胞子発芽が抑えられる現象は土壌静菌作用と云われ、この作用は、根の分泌物や糖、アミノ酸などを加えると緩和するとされている（宇井，1967）。本実験で、分生胞子の発芽率は、土壌の種類によって著しく異なり、ブドウ糖を0.01，0.1，1%加えると濃度が高くなるにつれて増加した。伊予三島，土佐山田土壌においては、ブドウ糖濃度による発芽率の増加程度が他よりも高かった。この事は、無栽植土壌では胞子発芽が抑えられ、休止状態で存在するが、寄主植物の根圏では発芽し易いことを示している。

土壌の種類による胞子発芽率と、菌の定着との間に一定の関係は見られなかった。

本研究は、寄主植物の存在しない土壌における病原菌の行動を調べたものであるが、土壌の種類と萎凋病発生程度との関係、種々の土壌に植えたトマト根圏での菌の行動の違い等については、今後の問題である。

## 摘 要

1. 四国の代表的な土壌を用い、土壌の種類によるトマト萎凋病菌の行動の違いを調べた。
2. 土壌に分生胞子を接種すると、大野原（軽埴土）、伊予三島（埴埴土）、土佐山田（軽埴土）は菌が定着し易く、今治（砂埴土）、久万（埴埴土；黒ボク）は著しく菌の定着が悪かった。善通寺（埴埴土）はそれらの中間であった。
3. 土壌中の分生胞子の発芽は、今治 > 大野原 > 土佐山田 > 久万 > 伊予三島 > 善通寺の順であり、ブドウ糖を加えると、濃度により発芽率が上昇したが、伊予三島，土佐山田は他に比べ上昇割合が高かった。
4. 土壌中での発芽管溶菌は、原形質空胞化型と細胞壁分解型があるが、伊予三島土壌では空胞化に至らず、原形質がマダラ化したままであった。今治，久万土壌は、細胞壁分解型が多く、48時間で溶菌率が最も高かった。

## 引 用 文 献

- French, E. R. and L. W. Nielson (1966): Production of macroconidia of *Fusarium oxysporum* f. *batatas* and their conversion to chlamydoconidia. *Phytopath.* **56**: 1322 ~ 1323。
- 井上義孝・竹内昭士郎・駒田旦 (1960): ダイコン萎黄病の生態学的研究—土壌の種類と発病, 日植病報, **25**: 22。
- 井上義孝・駒田旦・竹内昭士郎 (1968): ダイコン萎黄病の生態学的研究, 二種土壌間の発病差の機作を中心として, 坂本還歴記念論集, 327 ~ 331。
- 河合一郎・鈴木春夫・川井慶二 (1958): 胡瓜蔓割病の発生と土質との関係, 日植病報, **23**: 19。
- 駒田旦・江塚昭典 (1970): そさい *Fusarium* 病の生態学的研究, I. 土壌の種類と病原菌の生存, 東海近畿農試速報, **6**: 1 ~ 6。
- 駒田旦 (1972): *Fusarium oxysporum* の選択分離法の研究, 東海近畿農試研報, **23**: 144 ~ 178。

- 松田明・尾崎克己・下長根鴻・渡辺文吉郎 (1968) : キュウリつる割病菌の分生孢子および厚膜孢子の発芽および土壌 PH の影響について, 坂本還歴記念論集, 299 ~ 306。
- 小倉寛典・高木広・菅野広士 (1975) : キュウリつる割病菌の土壌中での消長, 日植病報, 41 : 270。
- Rao, A. S. (1959) : A comparative study of competitive saprophytic ability in twelve root infecting fungi by an agar plate method. Trans. Brit. mycol. Soc., 42 : 97~111。
- Smith, S. N. and W. C. Snyder (1971) : Relationship of inoculum density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato. Phytopath. 61 : 1049~1052。
- 高津覚・江戸恒雄・西村十郎 (1954) : トマト萎凋病に関する研究, I. その病原菌と発病環境, 兵庫農試研報, 1 : 55 ~ 62。
- Trujiro, E. E. and W. C. Snyder (1963) : Uneven distribution of *Fusarium oxysporum* f. *cvbense* in Honduras soils. Phytopath, 53 : 167 ~ 170。
- 宇井格生 (1967) : 土壌の拮菌作用と測定法, 土壌病害の手引, 22 ~ 33。(日本植物防疫協会)

(1976年4月8日受領)