

根圏土壌中におけるイチゴ萎黄病菌の動静*

岡 本 康 博

Behavior of Fusarium Wilt Pathogen of Strawberry in Rhizosphere

Yasuhiro OKAMOTO

緒 言

筆者はさきに¹⁰⁾イチゴ萎黄病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*)の非根圏土壌中における行動を顕微鏡観察によって追求し、菌糸は土壌中では耐久生存形態とはなり得なく、溶菌の過程で形成された厚膜胞子が耐久生存形態になり得ることを明らかにした。また、分生胞子のうち小型分生胞子は岡山県赤磐郡熊山町可真上のブドウ園の表土(地表~10cm程度まで、砂壤土)中では、ある程度の期間は生存し続けることも明らかにした。

本報では厚膜胞子が土中でどのような行動をとるかにについて観察すると共に、小型分生胞子の行動も合わせて顕微鏡観察によって追求した。

寄主作物根圏における*Fusarium*菌の厚膜胞子の行動についてはSNYDER, W. C.を中心とするグループの一連の研究があるが、*F. oxysporum*については次のような諸報告がある。すなわち、KOMMEDAHL, T⁷⁾は*F. oxysporum* f. sp. *pisi*の厚膜胞子の発芽に、豆から切り離した根とか、豆からの分泌物が影響をもたらしたと報じ、JACKSON, R. H.⁸⁾は同菌の厚膜胞子の発芽がダイコン、トマト、レタスの根の影響によって促進されたと報じている。STOVER, R. H.¹⁴⁾は*F. oxysporum* f. sp. *cubense*の厚膜胞子が寄主植物根、あるいは非寄主植物根の分泌物によって発芽を促進されたと報じ、駒田⁵⁾は*F. oxysporum*のf. sp. *raphani*, f. sp. *cucumerinum*, f. sp. *lycopersici*の3分化型は、それぞれの菌が特異的に病原性を持つそれぞれの作物の根圏で、厚膜胞子が高率に発芽したと報じている。

*Fusarium*菌の分生胞子の行動については、NACH, S. M.ら⁴⁾は*F. solani* f. sp. *phaseoli*の大型分生胞子を土壌中に入れると厚膜胞子となり生存すると報じ、BUXTON, E. W.¹⁾はエンドウの根からの分泌物が*F. oxysporum* f. sp. *pisi*の分生胞子の発芽に影響したと報じている。

筆者は厚膜胞子の行動を追跡するため、厚膜胞子形成法を、菌糸の栄養の枯渇に由来するものと、溶菌の過程に由来するものの2つの種類の厚膜胞子を用いて追跡した。

本報告は農林水産省野菜試験場の竹内昭士郎氏(環境部病害第二研究室長)、駒田 旦博士(現農林水産省農事試験場環境部病害第二研究室長)のご指導並びにご助言を得て農林水産省(前農林省)野菜試験場で実施した

ものである。本研究遂行にあたり野菜試験場環境部病害第二研究室の萩原 広枝官および小泉信三技官(現農林水産省農事試験場)には実験の準備、調査についてご協力を得た。また、元病害第二研究室長西 泰道博士(前野菜試験場環境部長、現山口大学農学部)、岡山県立農業試験場病虫部長藤井新太郎博士には種々のご配慮とご激励とを賜わった。ここに記して各位に衷心から感謝の意を表する。

材料および方法

厚膜胞子付着スライドガラス作製については、岡崎¹¹⁾が*F. oxysporum* f. sp. *raphani*の厚膜胞子形成で好結果を得た方法に準じて次の2種類の方法をとった。

①:イチゴ萎黄病菌(岡山農試 保存No. 8菌)の厚膜胞子を形成させ、殺菌スライドガラスに吹付け、水平に静置して1夜室内で乾燥させた。400メッシュの篩が入手できなかったので200メッシュの篩で代用して篩別したため多量の菌糸が混入した。この菌糸が厚膜胞子の行動の観察に支障をきたすのを避けるため、菌付着スライドガラスを60℃の温湯に10分間浸漬加熱して菌糸のみを死滅させ、厚膜胞子付着スライドガラスを作製した。これは菌糸の栄養の枯渇によって形成した厚膜胞子付着スライドガラスといえる。

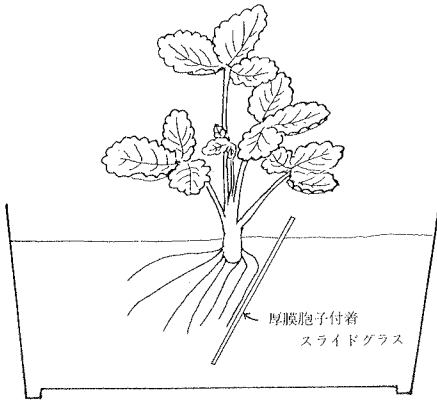
②:前報¹⁰⁾で菌付着スライドガラスを一定期間自然土中へ埋没することによって菌糸を溶解し、その途中において厚膜胞子を形成することが判明したので利用した。すなわち60℃の温湯に浸漬加熱する前の菌付着スライドガラスを温室内で、熊山町産砂壤土中に地表面と菌付着面が約60度に傾斜するようにして16日間埋没した。上面は濡れた新聞紙で覆い乾燥を防いだ。これは菌糸の栄養の枯渇により形成した厚膜胞子と、菌糸の溶解により形成した厚膜胞子の両厚膜胞子付着スライドガラスといえる。

小型分生胞子の行動の観察に当っては前報¹⁰⁾で作製した菌付着スライドガラスを上記②と同様に16日間砂壤土中に埋没し、小型分生胞子を厚膜胞子化させて用いた。

根と接触させる方法としては、第1図のようにスライドガラスの厚膜胞子付着面を水平から約60度傾斜させ、上面となるように設置し、殺菌パーライト中で育成したイチゴ苗(品種:宝交早生)の根がスライドガラスと密に接するようにして、再び熊山町産砂壤土を詰めたブラ

* 本報告の要約は昭和54年度日植病関西西部会で講演発表した。

1981年2月27日受理



第1図 厚膜胞子付着スライドガラスとイチゴの根の接触法

スチック容器中へ移植した。ガラス室内に20時間静置後スライドガラスの厚膜胞子付着面を傷つけないよう丁寧に掘り上げ、根の接触部の位置が明らかになるように裏面にラベルした。接触に用いた根は全面が白色をして発育中と思われた。掘り上げてからはスライドガラスを風乾し、火焰固定後、石炭酸・ローズベンガル液（石沢ら⁴⁾：ローズベンガル 1.0g, 0.5%石炭酸 100ml, CaCl₂ 100mg 混合液）に10分間浸漬し染色した。染色後水洗し、室内で自然乾燥させ顕微鏡下で厚膜胞子の発芽状態などを観察した。

厚膜胞子付着スライドガラスと根の接した部分は付着部がはく離しており、明らかに識別することができた。このはく離部に沿って、①のスライドガラスについては0～2mmの範囲と5～7mmの範囲、②のスライドガラスについては0～2mmの範囲と10～12mmの範囲に存在した厚膜胞子について観察し、発芽および不発芽に分けて調査した。

結 果

厚膜胞子の発芽結果は第1表に示した。すなわち、接触20時間後の調査で、厚膜胞子の発芽は根に近いほどよく、根の表面から10～12mmの距離の範囲に存在していた厚膜胞子は全く発芽していなかった。根の表面から0

第1表 イチゴ根圏および非根圏土壤中におけるイチゴ萎黄病菌厚膜胞子の発芽

厚膜胞子の作製法	根の表面からの距離	発芽率
岡崎氏法・60℃10分処理	0～2 mm	45.7 %
①	5～7	24.3
岡崎氏法・土中埋没	0～2	29.5
②	10～12	0

～2mmの範囲に存在していた厚膜胞子の発芽率は①のスライドガラスが②のスライドガラスより高かった。

厚膜胞子から発芽、伸長した菌糸は根の表面からやや離れた場所に存在していたものでは、イチゴの根の方へ向って伸長しており（写真1）、表面近くに存在していたものはイチゴの根に沿って伸長しているのが認められた（写真2）。根に接した場所での菌糸の伸長はよく（写真3）、7～8mm離れた場所にあった厚膜胞子からの菌糸の伸長は不良であり、10～12mmの距離の範囲に存在していた厚膜胞子は全く発芽しなかった（写真4）。

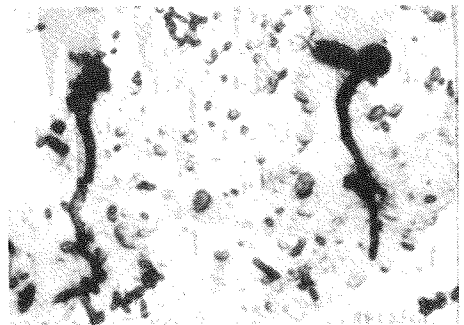


写真1 イチゴの根の表面近くに存在していた厚膜胞子の発芽の状況

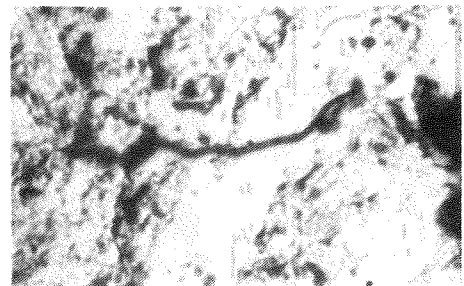


写真2 イチゴの根の表面近くに存在していた厚膜胞子の発芽と菌糸の伸長の状況

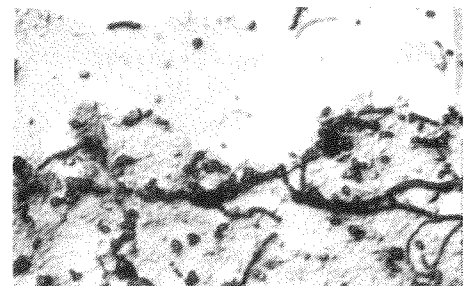


写真3 イチゴの根の表面近くでの菌糸の伸長状況

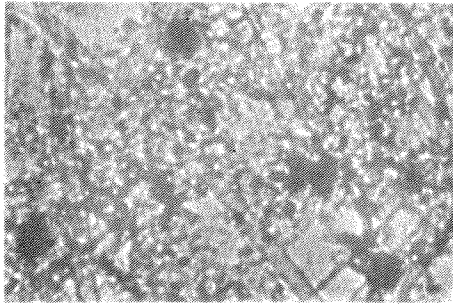


写真4 イチゴの根からはなれた場所に存在していた厚膜胞子の不発芽の状況

以上から、イチゴ萎黄病菌厚膜胞子の発芽はイチゴの発育中の根から分泌される物質によって促進され、発芽管から伸長する菌糸はその物質に誘引されることがわかった。

小型分生胞子の存在場所と発芽との関係についての調査に当っては、小型分生胞子が多数存在し、しかも重なり合った状態で存在していたので発芽率の調査は不能であった。しかし、観察では発芽は根に接した場所で行われ、根に近い方が発芽管も長かった。

考 察

SMITH, S. H. and W. C. SNYDER¹³⁾は *F. oxysporum* の *f. sp. batatas*, *f. sp. cubense*, *f. sp. lycopersici* を用いて、萎ちょう発現に好適、不適の両土壌中での厚膜胞子の発芽試験において、グルコースとアスパラギンを添加した結果、萎ちょう発現に不適な土壌より好適な土壌での発芽がよかったと報じ、また発芽管が長かったことを報告している。すなわち、土壌中で休眠している厚膜胞子は土壌中に適当な栄養源が与えられれば発芽し、土中でよく繁殖することを示唆した。また、TOUSSOW, T. A. and W. C. SNYDER¹⁵⁾は *F. solani* *f. sp. phaseoli* の厚膜胞子は根とか茎に直接接した時のみ発芽すると報告している。SCHROTH, M. N. and W. C. SNYDER²¹⁾は *F. solani* *f. sp. phaseoli* の厚膜胞子とインゲンの根を接触させて16~24時間後の観察結果で、根からの分泌物が根端部分から1 mmの範囲内では厚膜胞子の発芽を促進したと報告している。駒田⁶⁾も *F. oxysporum* の *f. sp. raphani*, *f. sp. cucumerinum*, *f. sp. lycopersici* の厚膜胞子が、それぞれに寄生性を有する作物の根圏で高率に発芽したと報告している。このように厚膜胞子は根に接するか、根に近接して存在している場合には根からの分泌物の影響を受け、発芽が促進されるものと思われる。本試験で得られた結果も同様であり、寄主根からの分泌

物によって明らかに厚膜胞子の発芽が促進されたものと考えられる。

すでに報告したように、イチゴ萎黄病菌 (*F. oxysporum* *f. sp. fragariae*) の小型分生胞子は土壌中に埋没されると菌糸の溶菌過程で明らかに厚膜胞子になった。この胞子も菌糸の栄養の枯渇とか菌糸の溶菌過程で形成された厚膜胞子と同様に、根に接触するか、根からの分泌物の影響を受けて発芽が促進されたものと思われ、自然土壌中において次の第一次伝染源になり得るものと考えられる。

根の表面から10~12 mmの範囲に存在した厚膜胞子が発芽しなかったのは、供試した土壌が本病原菌の厚膜胞子発芽を促進するほどの栄養分に富んでいなかったことを示すと考えられ、またこの位置までは根の分泌物が到達せず、発芽に影響を受けなかったものと考えられる。このことは松田ら⁸⁾の報告において "*F. oxysporum* *f. sp. lycopersici* および *F. oxysporum* *f. sp. cucumerinum* の厚膜胞子が裸地状態下の土中で発芽しなかった" こととよく一致する。

岡崎¹¹⁾は *F. oxysporum* *f. sp. raphani* を材料とした試験で、培地あるいは菌糸内の炭素が枯渇すると、既存の菌糸から厚膜胞子が一定の割合で形成されると推論している。また、Hsu, S. C. and J. L. LOCKWOOD³⁾は *F. solani*, *F. roseum* と同様に *F. oxysporum* *f. sp. lycopersici*, *F. oxysporum* *f. sp. melonis* の厚膜胞子形成は適当な塩類の存在のもとで、エネルギー源の欠乏によって形成されると述べている。一方、FORD, E. J. ら²⁾は *F. solani* *f. sp. phaseoli* の厚膜胞子形成には土壌中の微生物に由来する誘因物質が栄養と共に重要であると述べている。これらの諸報告のように厚膜胞子形成条件が各種考えられていることから、厚膜胞子形成の条件が異なれば厚膜胞子の発芽に差を生ずることも推察される。

また、駒田⁶⁾は厚膜胞子に対しローズベンガルとカストレプトマイシンを添加すると発芽率が上昇したことを報告し、これは厚膜胞子に付着した細菌、放線菌に起因する厚膜胞子発芽抑制を消去したためであろうと推察している。このことは土壌の静菌作用によって、厚膜胞子の発芽抑制がもたらされることに、土中の放線菌、細菌が関与することを示していると考えられる。

このようなことから、菌糸の栄養の枯渇によって形成させた厚膜胞子を土中に埋没したものの発芽率と、菌糸の栄養の枯渇と菌糸の溶解により、土中で形成させた厚膜胞子を土中に埋没したものの発芽率との間に差が生じたことは、接触させた根の活性の強弱が原因であったと考えられなくもないが、むしろ、土中で形成させた厚膜胞子形成段階で土壌中で発芽抑制に働く何らかの影響を受けたと推察される。

摘 要

イチゴ萎黄病菌の根圏自然土壌中における行動を顕微鏡観察によって追求した。

1. イチゴ萎黄病菌の厚膜胞子は寄主根の表面に近い位置に存在した場合発芽した。

2. 土中で形成された厚膜胞子は形成過程で土壌の影響を受けて、発芽が抑制されると推察される。

3. さきに報告¹⁰⁾したように、小型分生胞子は土壌中にはいると一部は厚膜胞子に変わり、ある程度の期間生存した。この厚膜胞子は寄主根の存在によって発芽し、根に向って菌糸を伸長したことは、次の第一次伝染源になり得るものと推察される。

引 用 文 献

1. BUXTON, E. W. (1957) Trans. Brit. Mycol. Soc., **40**: 145—154 (土壌病害の手引, IV: 赤井 (1967) 45—50から引用)
2. FORS, E. J., A. H. GOLE and W. C. SNYDER (1970) Interaction of Carbon Nutrition and Soil Substance in Chlamydospore Formation by *Fusarium*. Phytopathology, **60**: 1732—1737
3. HSU, S. C. and J. L. LOCHWOOD (1973) Chlamydospore Formation in *Fusarium* in Sterile Salt Solution. Phytopathology, **63**: 597—602
4. 石沢修一・鈴木達彦・甲田知則・佐藤 修 (1958) 土壌の微生物とその作用に関する研究. 農技研報B, **8**: 1—212
5. JACHSON, R. M. (1960) The Ecology of Soil Fungi. Liverpool Univ. Press., 168 pp
6. 駒田 旦 (1976) 野菜のフザリウム病菌, *Fusarium oxysporum*, の土壌中における活性評価技術に関する研究. 東近研報, **29**: 132—269
7. KOMMEDAHL, T. (1966) Relation of Exudates of Pea Roots to Germination of Spores in Races of *Fusarium oxysporum* f. *pisi* Phytopathology, **56**: 721—722
8. 松田 明・尾崎克己・下長根 鴻・渡辺文吉郎 (1967) 土壌中におけるフザリウム菌の発芽について. 土と微生物, **9**: 30—40
9. NASH, S. M., T. CHRISTOU, and W. C. SNYDER (1961) Existence of *Fusarium solani* f. *phaseoli* as Chlamydospore in Soil. Phytopathology, **62**: 1184—1185
10. 岡本康博 (1977) 非根圏土壌中におけるイチゴ萎黄病菌の行動. 岡山農試研報, **2**: 83—88
11. 岡崎 博 (1971) *Fusarium* 菌の厚膜胞子形成条件について. 日植病報, **37**: 326—332
12. SCHROTH, M. N. and W. C. SNYDER (1961) Effect of Exudates on Chlamydospore Germination of the Bean Root Rot Fungus, *Fusarium solani* f. *phaseoli*. Phytopathology, **51**: 389—393
13. SMITH, S. N. and W. C. SNYDER (1972) Germination of *Fusarium oxysporum* Chlamydospore in Soils Favorable and Unfavorable to Wilt Establishment. Phytopathology, **62**: 273—277
14. STOVER, R. H. (1970) In "Root Diseases and Soil-Borne Pathogeno" (Toussoun, A. T., R. V. Bega and P. E. Nelson) Univ. Calif. Press, 197—200
15. TOUSSOUN, T. A. and W. C. SNYDER (1961) Germination of Chlamydospores of *Fusarium solani* f. *phaseoli* in Unsterilized Soils. Phytopathology, **51**: 620—623