土壌における *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* の 生存と作付体系

馬 俊 栄・小 倉 寛 典*

愛媛大学農学部・高知大学農学部*

Persistence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* in Soil and Cropping System

Junrong MA and Hirosuke OGURA*

College of Agriculture, Ehime University, Matsuyama 790, Japan

*Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku 783, Japan

Continuous cropping fields as an environmental factor on cucumber wilt pathogen were discussed. In cucumber or soybean field infested with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* where crops were double cropping annually, chlamydospores of the pathogen changed to active form after cultivation of crops. In sorghum field the number of active forms was less than in cucumber field. In non-cropping field activities of the pathogen were not ensured. Although the pathogen grew and formed conidia in each crop rhizosphere, they turned more quickly to dormant stage in natural soil of non-host plant fields than the soil of host plant field. When cucumber was cultivated in each continuous cropping field, *Fusarium* wilt occurred only in cucumber field, but root damage more or less appeared in all fields. The damage, however, were slight in sorghum field, moderate in soybean field and severe in cucumber field.

The virulent pathogen was found more on the roots of cucumber than those of soybean and sorghum. However virulence of the pathogen in a field was subjected to the kind of cropping field. The cucumber field would offer favorable environments for the pathogen, especially for virulent isolates. On the other hand, the sorghum field would offer bad conditions. Accordingly, it is suggested that there were two types of pathogenic isolates, sensitive type and non-sensitive one as a suppressive factor, and this suppressive factor was obliged to ineffective when the population of an isolate in the field increased.

(Received February 27, 1992)

1992年2月27日受付

緒 言

近年の野菜生産では周年栽培あるいは地力維持農業を基盤とする高度単品目生産を意図して主幹作物の産地化が行われてきたが、同時に効率的な作物生産に必要な農業技術は農業に新たな矛盾を導入した¹⁾。そのひとつに連作障害がある。従来、障害の一因にすぎないとされていた土壌病害は現今では連作障害の主因のひとつとみなされている²⁾。土壌病害では病原菌の急激な分散蔓延は起こらないが、ある地域、圃場に定着すると長期にわた

って被害が生じる。その行動は病原菌本来の性質に土壌の環境特性が加わって複雑な様相を示す。

筆者らはキュウリつる割病を対象に作物の連作における生態系のなかでの本病原菌の行動について検討した。本研究では宿主あるいは非宿主作物の連作圃場での *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* の生息と各土壌が本菌に及ぼす影響について調べた。

実験材料および方法

1. 土壌中の *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* の経時的変動

1982年, *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (F501 菌株: 高知大学農学部植物病理学研究室保存菌株) で汚染した高知大学農学部の圃場 (30 m×20 m) にキュウリ (四葉), ダイズ (三保白鳥) およびソルガム (スタックス) を連作した。上記3圃場および1年間休耕し, 除草のみを実施したキュウリ圃場の一部の計4カ所の株間土壌を1988年4月から1989年8月まで約1カ月ごとに採取した。40°C で10日間恒温器に置いた試料を土壌希釈平板法によってそのなかに生息する *F. oxysporum* の厚膜胞子を計数した³⁾。出現する *F. oxysporum* の菌そうのうち, 実験開始時に接種し, それ以後定住した F501 菌株と同じ形質の菌株群のみを対象とした。圃場には F501 と同型の在来菌株も生息するが, 菌数が少なく区別も困難であるので本実験では不問に付した。

2. *F. oxysporum* の土壌中での胞子形成

つる割病菌非汚染土壌を2 mm に篩別し, 無殺菌あるいは蒸気加圧殺菌後, それとトウモロコシ粉末・砂 (1:9) で培養した F501 菌株の接種源とを9:1に混合し, 3号鉢に入れて20°C に置いた。10日後にキュウリ, ダイズ, ソルガムを播種し, 7, 14日に根近辺の土を集めた。採土直後あるいは40°C で10日間放置した試料を上記と同じ方法で *F. oxysporum* を調査したが, 後者の試料のものを厚膜胞子由来とし, 前者の菌数から後者を差引いたものを分生胞子由来の菌数とした。

3. キュウリつる割病の調査

3-1. 圃場におけるキュウリの罹病

1989年5月上記の各作物連作圃場の中央部にキュウリを定植し, 2カ月後に本病害による枯死率および各株の全主根, 50本の細根の褐変被害率を調査した。

3-2. 連作圃場から採取した菌株のキュウリに対する病原性

1988年6月に各連作圃場の作物根より採取した95菌株の *F. oxysporum* から任意にキュウリ菌株15, ダイズ菌株20, ソルガム菌株10を選出した。上記の土壌接種と同じ方法によって各菌株をトウモロコシ・砂培養接種源として, それをキュウリあるいはダイズ連作土壌と混合し, 5号鉢に入れてガラス室に静置した。15日後にキュウリを播種し, さらに15日後に3段階の罹病指標, すなわち, 2: 萎凋あるいは枯死, 1: 根部に褐変あり, 0: 健全, によって罹病指数を求めた。

3-3. 圃場によるつる割病発生の差異

キュウリ根面から得た CR3, CR6 の2菌株を供試した。土壌は高知県物部川流域の園芸地帯5地区を選び, 各地区の2圃場で以下の条件, すなわち, (1) 壤土あるいは砂壤土, (2) 3年以上同じ作物を栽培した, (3) 少なくとも2年間は土壌殺菌処理を行っていない, (4) 二つの圃場が近接して存在し, いっぽうはキュウリ, 他方はマメ科あるいはナス科植物を栽培した。の4条件を満たす圃場を選定し採取した。場所は南国市立田, 同小籠, 同左右山, 野市町養父寺, 同東野の5カ所で, いずれもビニールハウス栽培圃場であった。各地の栽培終期である4月に土壌を採取し, ただちに2 mm に篩別し, 上記同様に両菌株の接種源と混合して径9 cm, 高さ15 cm の腰高シャーレに450 ml ずつ分注し, 20°C の恒温室に1カ月静置したのち, キュウリを播種し, 15日後に罹病指数を調査した。

3-4. 土壌中の菌量と発病

各作物根由来の菌株でキュウリに強い病原性を示した CR1, BR4, SR2 および弱い病原性を示した CR10, BR16, SR5 の6菌株を用い, 上記の方法で接種源を作成した。ただし, 接種源土壌として砂の代わりに2 mm に篩別したキュウリ, ダイズ, ソルガム栽培土壌を用いた。15日後に厚膜胞子の形成を確認してそれぞれの土壌接種源をキュウリ, ダイズ, ソルガム連作土壌と混合した。その混合比率は20:80, 50:50, 70:30 および90:10である。各土壌を5号鉢に入れ, ガラス室内で10日後にキュウリを播種し, さらに15日後に罹病指数を調査した。

実験結果

1. *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* の年間の変動

Fig. 1 は1988年から1989年にわたってキュウリ, ダイズおよびソルガムの連作圃場ならびに休閑圃場におけるキュウリつる割病菌厚膜胞子数の消長である。

1988年に, キュウリの定植を5月26日, ダイズおよびソルガムの播種を5月12日と5月26日に行ったが, いずれもそれ以後休眠態の厚膜胞子数は減少し, 作物の生育期に本菌は活性を持続し, 8月にふたたび厚膜胞子数は増大し始めた。減少の程度はキュウリとダイズ栽培地で大きく, ソルガム栽培地では小さかった。この傾向は1989年においても認められた。9月以後の第2期作付では厚膜胞子数は多少減少したが, 第1作ほど明らかでなかった。ソルガムは年1作であったが, 夏以後の菌数は不安定な増減を示した。休閑圃場においても増減の傾向

は同様であったが、その程度は小さく、6月以後11月までの増減率は小さかった。

つぎに、各作物の根の周辺における孢子形成量を調査

Fig. 1 Annual change of chlamydospores in continuous cropping field.

○—○, 1988; ●—●, 1989; ▲—▲, Non cropping (1988).

した (Table 1). いずれの根圏においても分生孢子と厚膜孢子の形成を認めた. 分生孢子数は殺菌土壌では7日から14日にかけてキュウリとソルガム圃場では増加の傾向にあり, ダイズでは7日ですでに多量の形成が認められた. 自然土壌では殺菌土壌にくらべて形成量が少なく, 14日にはすでに減少の傾向が認められた. いっぽう, 厚膜孢子の形成数は分生孢子数と類似して殺菌土壌のほうが自然土壌よりも多かったが, 形成率は分生孢子とは逆に自然土壌で大きく, いずれの土壌においても本菌は7日から14日にかけて不活性化の傾向を示した.

2. 圃場におけるキュウリつる割病の発生

各作物の連作圃場にキュウリを栽培し, 罹病の程度によって各圃場の病原菌の活性を推測した. Table 2に示すように, 本病による枯死はキュウリ連作圃場およびソルガムから転作2年目のキュウリ圃場のみに認められた. キュウリ圃場における土壌中の太根の被害は大きかったが, ダイズ圃場にも常時本菌の存在することが認められた. 細根の罹病は, 本菌の最近の活性を示す指標であるが, それはキュウリ圃場で大きく, 転作2年目のソルガム圃場でもかなり本菌の活性は増高していることを示した.

3. 圃場に生息する *F. oxysporum* のキュウリに対する病原力

各連作圃場に分布する *F. oxysporum* のうち, キュウリ連作圃場でキュウリ根から採取した菌株群には他にくらべて強病原性菌の多いことがすでに報告されている⁴⁾. その原因のひとつは各菌株が生息する土壌環境によると考えられるので, 各作物の根面生息菌株をキュウリおよびダイズ土壌に接種して病原力を調べた.

地上部における立枯症状の発生率は3系統ともそれぞれの土壌で60~80%を示し, 大差は認められなかった.

Table 1 Spore formation in rhizosphere of crops.

Crop	Steriln. soil ^{a)}	Conidia			Chlamydospores		
		7 days ^{b)}	14	Increased ratio	7	14	Increased ratio
Cucumber	Steriln.	62 ^{c)}	138	2.22	14	14	1.00
	Non	45	11	0.24	29	43	1.48
Soybean	Steriln.	545	372	0.68	3631	4905	1.35
	Non	137	9	0.06	22	348	15.81
Sorghum	Steriln.	13	634	48.78	2234	2859	1.28
	Non	13	14	1.08	101	230	2.28

^{a)} Soil sterilized under steam pressure (2 atm.). ^{b)} Cultivation period (day). ^{c)} Number of spores in 1 g soil.

Table 2 Wilt disease of cucumber planted in different cropping fields.

Disease symptom	Continuous cropping fields			
	Cucumber	Soybean	Sorghum I ^{a)}	Sorghum II ^{a)}
Wilt	24.1 ^{b)}	0	0	2.5
Tap root browning	72.3	31.4	8.9	34.8
Lateral root browning	31.8	8.3	4.0	11.2

^{a)} Sorghum I and II: I was rotational field from sorghum to cucumber first year and II was rotated second year. ^{b)} Disease ratio (%).

Table 3 Pathogenicity of *F. oxysporum* colonized on roots in field soil.

Disease index	Cucumber strain		Soybean strain		Sorghum strain	
	C-soil ^{a)}	B-soil	C-soil	B-soil	C-soil	B-soil
Virulent ^{b)}	26.7	13.3	15.0	0	20.0	0
Moderate	60.0	33.3	50.0	40.0	10.0	20.0
Slight	13.3	53.3	35.0	60.0	70.0	80.0
Damped ratio ^{c)}	80.0	60.0	75.0	65.0	60.0	60.0

^{a)} C-soil, Cucumber field soil; B-soil, Soybean field soil. ^{b)} Virulent, More than 60% disease index; Moderate, Less than 60% and more than 30%; Slight, Less than 30%. ^{c)} Damped ratio, The ratio (%) of damped or wilt cucumber seedlings.

Table 4 Different pathogenicity of *F. oxysporum* strains in the field soil of some agroecotypes.

Strain	Field ^{a)} soil	Area collected field soil ^{b)}					
		I	II	III	IV	V	FA
CR3	C-soil	53.3 ^{c)}	70.0	33.3	36.7	40.0	66.7
	B-soil	56.7	66.6	36.7	26.7	26.7	53.3
CR6	C-soil	56.7	53.3	30.0	16.7	26.7	53.3
	B-soil	33.3	23.3	6.7	20.0	23.3	26.7

^{a)} C-soil, Cucumber field; B-soil, I, II and V showed bean fields, III and IV showed sweet pepper fields, and FA showed soybean field. ^{b)} I, Tateda, Nankoku-shi; II, Kogome, Nankoku-shi; III, Souyama, Nankoku-shi; IV, Fuyaji, Noichi-cho; V, Higashino, Noichi-cho; and FA, Fac. Agr. Kochi Univ. ^{c)} Disease index.

しかし、罹病指数を見ると、キュウリ由来の菌株はキュウリ土壌で病原力が強く、ダイズ土壌では病原力は弱くなった。ダイズ由来の菌株も同様の傾向を示したが病原力はキュウリ由来の菌株群にくらべて低かった。ソルガム由来の菌株はほとんど弱病原性であり、ダイズ土壌でさらに低く、80%のものが30%以下の罹病指数を示した (Table 3)。

地域を異にする連作土壌における発病差の有無を調査した。その結果、供試した5カ所の地域土壌では明らかに発病程度に差異が認められ、発病しやすい土壌では、

CR3 は前作の種類に関係なくキュウリを侵すが、CR6 は前作によってキュウリへの病原力が異なった (I, II, FA)。発病の少ない土壌では作物のいかなを問わず上記菌株の特性は現れなかった (III, IV, V) (Table 4)。

4. 連作土壌における菌量と発病

病害の発生要因のひとつは土壌中の病原菌量である。上記連作土壌における発病抑制と併せて検討した (Fig. 2)。すなわち、病原性の強い菌株はキュウリ土壌においていずれも活性が高く、菌密度が小さくても発病度は高かった。ダイズ土壌においても同様の現象が認められた

Fig. 2 Fusarium wilt of cucumber seedlings in continuous cropping field soils infested with different densities of inocula isolated from different plant roots.

○, Cucumber field; ●, Soybean field; △, Sorghum field.

が、同一菌株の病原力はがいしてキュウリ土壌で大であった。これに反し、ソルガム土壌では病原力はさらに低下した。弱病原性の菌株でも土壌によって差が認められた。また、菌密度と発病の関係では、正の相関を示す菌株と高菌量に達して罹病指数の急激に増高する菌株があり、この場合も連作土壌による差異が認められた。

考 察

病原型の *F. oxysporum* は根系生息型の糸状菌である。しかし、宿主植物の存在しない場では他の植物の生活根を腐生的に利用し、長期にわたって土壌中で生き残る⁸⁻⁷⁾。非宿主作物の連作は土壌病原菌を消滅に導くとされるが、*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* は、本実験の結果によれば、6年を経てもダイズ連作圃場では宿主連作圃場と同程度の菌数を維持していた。いっぽう、ソルガム連作圃場では本菌は年ごとに菌数の低下が認められたが、宿主栽培に転換して2年後に病害の発生が認められた。休耕も減衰の要因であり、厚膜胞子の形成量が低下する。

生活根は、本菌の近距離への移行と短期的増殖に必要な分生胞子の生産に寄与し、その量的生産はダイズ、ソルガム、キュウリの順になる。しかし、自然土壌中では前2者の根圏では本菌は急速に活性態から休眠態へ移行するのに対し、キュウリ根圏では活性を維持する。土壌中における病原菌の安定と定常化は土壌病害発生の必須条件であり、それぞれの生息域としての土壌のもつ諸要因がそれぞれ補佐または抑止する^{4,8-10)}。これらの諸要因下での病原菌の生存については、Elmer and Lacy¹¹⁾ が指摘する腐生生存をさらに検討する必要がある。ま

た、土壌の病原菌許容限度と発病要因についても考慮する必要がある¹²⁾。類似の菌量をもつダイズ土壌とキュウリ土壌における発病差は両者に異なる生物的環境があることを示唆した。明らかにダイズ土壌は複数のフザリウム菌生存型土壌で、病原菌はそのフザリウム相の一員であり、キュウリ土壌は病原菌優勢型の土壌であろう⁴⁾。また、ソルガム土壌における本菌の容易な復元は、本菌の生活に直接に競合関係を示さない *F. roseum* などから形成される異質のフザリウム相によるものであろう⁴⁾。

Lockwood¹³⁾ は土壌中で病原菌が受ける諸要因について報告し、Chuang and Ko⁹⁾ は菌体と菌密度にも言及した。本病原菌は土壌中で菌量が多いときは病原の性格をそのままに反応するが、菌量が少ないかまたは休眠態が賦活しにくい場合には微生物相の一員として行動すると考えられる。しかし、土壌中の菌量と生活根への着生あるいは侵害が必ずしも一致するとは限らない^{6,14)}。

摘 要

キュウリつる割病菌の生息環境要因のひとつとして連作について検討した。年2作栽培のキュウリおよびダイズ連作圃場の第1作では本菌の活性は高く、第2作では前作の休眠態の増加のため活性は明確でなかった。ソルガム圃場と休耕地では本菌の菌量は減少した。各作物の根圏で本菌は増殖するが、自然土壌では非宿主根圏での活性菌の厚膜化が早かった。キュウリ連作圃場ではつる割病の発生が激しかった。ダイズ連作圃場で栽培したキュウリは外見上健全でも根部に被害が多発し、ソルガム連作圃場でも根部に軽い被害が現れた。キュウリの根から得た菌株は他の作物のそれよりキュウリに対して強い

病原性を示した。また、連作土壌は病原菌の発現をある程度左右し、キュウリ連作土壌は病原菌とくに病原力の強い菌株群の増殖に有利である。これに対しソルガム土壌は不利な環境を与える。いずれの土壌でも土壌中の菌量が増加するところの抑制は消去され、各菌株本来の病原力を示した。

本稿を草するにあたり、いろいろの助言をいただいた愛媛大学農学部教授大口富三博士、同教授吉永長則博士に謝意を表します。

文 献

- 1) 木村伸男. 1982. 「農業経営の発展と土地利用」 1-307, 日本経済評論社, 東京.
- 2) 西尾道徳. 1983. 連作障害の発生について. 土肥誌 **54**: 64-73.
- 3) 小倉寛典・梅澤武司・馬 俊栄. 1990. 土壌中の *Fusarium oxysporum* の活性の評価. I. 土壌中の *F. oxysporum* の厚膜孢子型生存. 高知大学研報 **39** (農学): 9-15.
- 4) 小倉寛典・馬 俊栄. 1992. 連作圃場における *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* の生存. 日植病報 (投稿中).
- 5) KATAN, [J. 1971. Symptomless carriers of tomato *Fusarium* wilt pathogen. *Phytopathology* **61**: 1213-1217.
- 6) GOLDON, T. R., D. OKAMOTO and D. J. JACOBSON. 1989. Colonization of muskmelon and nonsusceptible crops by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and other species of *Fusarium*. *Phytopathology* **79**: 1095-1100.
- 7) 小倉寛典・馬 俊栄・梅澤武司・山田伸二. 1990. 土壌中の *Fusarium oxysporum* の活性の評価. II. 土壌中の *F. oxysporum* の植物根面への移行. 高知大学研報 **39** (農学): 17-22.
- 8) BAKER, R. 1978. Inoculum potential. In "Plant Disease II" (Ed. by Horsfall, J. G. and E. C. Cowling) 137-157, Academic Press, New York.
- 9) CHUANG, T. Y. and W. H. KO. 1981. Propagule size: its relation to population density of microorganisms in soil. *Soil Biol. Biochem.* **13**: 185-190.
- 10) 小倉寛典. 1989. 土壌糸状菌相における養分競合. 土と微生物 **34**: 9-17.
- 11) ELMER, W. H. and M. L. LACY. 1987. Effects of crop residue and colonization of plant tissue on propagule survival and soil population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* race 2. *Phytopathology* **77**: 381-387.
- 12) 小倉寛典. 1991. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* の土壌伝搬. 高知大学研報 **40** (農学): 1-7.
- 13) LOCKWOOD, J. L. 1986. Soilborne plant pathogens: concepts and connections. *Phytopathology* **76**: 20-27.
- 14) MARTYN, R. D. and R. J. MCLANGHLIN. 1983. Effects of inoculum concentration on the apparent resistance of watermelons to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant Dis.* **67**: 493-495.