Fusarium 罹病ラッキョウおよびその培養ろ液に対する ネダニ類の選好性¹⁾

真梶徳純・岡部貴美子・天野 洋

千葉大学園芸学部

Reaction of Rhizoglyphine Mites (Acarina: Acaridae) to Rakkyo (*Allium chinense* G. DON) Plants Infected with *Fusarium* Fungi as Well as to the Culture Medium and Filtrate of the Fungi. Norizumi SHINKAJI, Kimiko OKABE and Hiroshi AMANO (Laboratory of Environmental Biology, Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo, Chiba 271, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **32**: 37-42 (1988)

Effect of *Fusarium* fungi (including *F. oxysporum* f. sp. *allii* and *F. solani* f. sp. *radicicola*) on the behavior of *Rhizoglyphus robini* CLAPARÈDE and *Caloglyphus* sp. was studied in the laboratory. Both mite species showed varying degrees of attraction to *Fusarium*-infected rakkyo plants. They were also attracted to a sample of PSA culture medium of both *Fusarium* species. Adult females of both mite species were strongly attracted to *F. o. a.*, but only *Caloglyphus* females showed a preference for *F. s. r.* Active nymphs of *R. robini* were attracted to both fungi, unlike hypopi. In *Caloglyphus* sp., the immature forms showed a preference only for *F. o. a.* Attraction to shake-culture filtrates was observed by using *R. robini*, and the mites showed a strong preference for the filtrates of both fungus species. They were also attracted to the steam distillates of culture filtrates, as well as to the ether layer of the distillates.

緒 言

ネギやラッキョウなどのユリ科作物ならびに球根類の腐敗病株には常にネダニの発生が見られることから、かつてはネダニが病因ではないかと考えられていた。しかし、岩切ら (1959) によって *Fusarium oxysporum* (SCHL.) SNYDER and HANSEN の一系統がチューリップの腐敗球から分離され、さらに遠山・松尾 (1977) によってラッキョウの鱗茎腐敗病から *F. oxysporum* と *F. solani* の2種の分離が報告されるに至り、これらの腐敗病は *Fusarium* 菌に起因することが確認された。

また、ネダニと *Fusarium* 菌との相互関係に関していくつもの報告があり (萩屋・幸内, 1960; 田中・井上, 1962; 米山, 1962; 山田, 1974), 柴田 (1960) と遠山 (1980) は無菌飼育するとネダニは発育しないのに対し、*Fusarium* 菌などの菌叢上では発育、増殖することを明らかにしている。

本研究では、*Fusarium* 罹病ラッキョウなどにおけるネダニ類 (*Rhizoglyphus robini* CLAPARÈDE および *Caloglyphus*

sp.) の選好性を観察することによって、ネダニ類-*Fusarium* 菌の関係を明らかにしようとした。

本論に入るに先だち、供試虫を同定して下さった黒佐和義氏 (東京都) およびラッキョウ乾腐病の菌株を提供して下さった遠山明氏 (鳥取県野菜試験場) ならびに *Fusarium* 菌培養ろ液の濃縮および抽出方法についてご教示いただいた桑原保正氏 (筑波大学) に厚くお礼を申し上げる。

材料および方法

実験 1: ラッキョウの *Fusarium* 罹病球根と健全球根に対するネダニ類の選好性を調べるために実験を行った。

供試虫のうち、ロビネダニ (*Rhizoglyphus robini* CLAPARÈDE) は福井県三国町産ラッキョウ、ゴミコナダニの一種 (*Caloglyphus* sp.) は高知県幡多郡大方町産ラッキョウから採集したものをラットの固形飼料を用いて室内 (約 25°C) で継代飼育しているもの (真梶ら, 1986) を用いた。ロビネダニのヒポプス (移動若虫) は高知県伊野町産のものを同上の要領で継代飼育しているものの

1) 本研究の一部は文部省科学研究費補助金 (No. 58360007) の援助を受けて行った。
1987 年 6 月 20 日受領 (Received June 20, 1987)

なかから試験時ヒポプスであったものを用いた。

供試したラッキョウは、健全球、罹病球とも高知県幡多郡産のものである。

試験方法は以下のとおりである。ラッキョウの健全球から1片、罹病球から2片を採集し、それぞれから1 cm²の切片を作り、それらを9 cm シャーレの周辺部にほぼ等間隔に置いた。シャーレの中央部に供試虫約40頭を細筆を用いて放飼し、ふたをしたのち、25°C、70% R.H.、全暗状態の恒温槽に保持し、16時間後各切片に着生している頭数を調べた。供試虫の发育ステージはヒポプス以外は特定せず成虫に近いものを用いた。実験はそれぞれ3回ずつ行った。

実験 2: 平面培養された *Fusarium* 菌に対するネダニ類の選好性を調べるために実験を行った。

供試菌株として、鳥取県野菜試験場の遠山明氏より分譲された既知分化型菌の *F. oxysporum* f. sp. *allii* (SUF1251) (以下 *F. o. a.* と略す)、*F. solani* f. sp. *radicicola* (SUF1246) (以下 *F. s. r.* と略す) を用いた。

上記の菌株は、PSA 平面培地を用い、25°C で5~7日間培養した。この培養後の培地の1 cm² 切片(厚さ約1 cm) 1個を乾熱滅菌済みのシャーレの周辺部にほぼ等間隔においた。供試虫は雌成虫と若虫を区別して用いた点および反復数が6または3である他は実験1と同様である。

実験 3: *Fusarium* 菌の培養ろ液のネダニ類に対する誘引性を調べるために実験を行った。

(a) 砂中の行動

供試虫ならびに供試菌株はこれまでの試験に用いたものと同じものである。

培養ろ液を得るためにPS液体培地で25°C、5日間振とう培養した。得られた培養液を三重ガーゼでこして菌体を除き、10,000×*g* で10分間遠心分離して培養ろ液とした。

試験方法は、直径3 cm、高さ1 cmの亚克力樹脂製のリング3個を用意し、最下段に置いたリングは下部をパラフィルムで覆い、それぞれに次の検体混和乾熱滅菌砂を詰めた。検体は砂重量の5%重量に相当する培養ろ液、30°Cのエバポレータで10倍に濃縮した培養ろ液、殺菌水のいずれかである。中段のリングには砂重量の5%に相当する殺菌水を混ぜた滅菌砂を詰めた。この上に、供試虫(成虫に近いもの)を30頭放し、さらにリングを重ねて乾熱滅菌砂を詰めた。リングの最上部はパラフィルムで覆った。この3段のリングをテープで固定し、25°C、70% R.H.の恒温槽内に保持し、72時間後

に最下段のリングに到達している頭数を調べた。

(b) シャーレ内の行動観察

供試虫は静岡県浜松市西島地区産のラッキョウに寄生していたロビンネダニをラットの固形飼料を餌として約25°Cの恒温室で継代飼育しているもので、供試する前に3~4時間絶食させた。

Fusarium 菌の培養ろ液を(a)の試験と同様にして作り、水蒸気蒸留して初留分を除いた後のろ液の約10%をとったものが蒸留液である。蒸留残渣は最初のろ液の約10%が残るまで水蒸気蒸留を続けて残ったものである。蒸留液はさらに塩析を行い、エーテルで3回抽出を行ってエーテル層と水層に分けた。

生物検定の方法は、直径5.5 cmのシャーレに抗生物質検定用ろ紙(Thin 8 m/m DIA)を十字におき、横方向の2枚に検体を、縦方向の2枚に殺菌水を浸し、中央にロビンネダニ成虫10頭を放飼し、これを85~95% R.H.に調節した無菌箱内に入れて、放飼後10、30、50、60分後に検定ろ紙に着生している頭数を調査した。1サンプルにつき10反復した。温度は約24°Cで照明は蛍光灯により上部からシャーレ全体が均一に照らされるようにした。

サンプルがエーテル抽出物の場合にはろ紙を殺菌水につけてから軽くエーテルに浸したものを対照とした。

結果と考察

実験 1: 調査結果を第1表に示した。この場合、供試した健全球と罹病球の切片数の割合が1対2であったため、健全切片と罹病切片に着生している合計値について χ^2 検定を行い、両切片に対して1:2の比率の適合度をみた。これから、ヒポプス以外のロビンネダニとゴミコナダニの一種は健全切片より罹病切片に対し選好性を示すことがわかった。しかし、ロビンネダニのヒポプスは罹病切片よりも健全切片に選好性を示した。調査時ラッキョウ切片に着生していなかった「その他」の項で示したのは、シャーレ中央部で多数の卵を産んだ後脚をばたつかせていたり、シャーレのあちこちで死亡していた個体である。別の調査でネダニの行動を連続観察した結果では、いったん切片に着生したネダニは試験時間内では切片から離れることはほとんどなかったのも、「その他」の項の個体はおそらく切片に到達したのちにそれから離れていったものではないと思われる。

実験 2: 平面培養された *Fusarium* 菌に対する雌成虫の選好性を調べた結果を第2表に示した。PSA培地から切り取ったいずれの切片にも16時間以内ではバクテリ

第1表 ラッキョウの健全球切片と罹病球切片へのネダニ類の着生数

	ロビンネダニ				ロビンネダニのヒポプス				ゴミコナダニの一種			
	1	2	3	合計	1	2	3	合計	1	2	3	合計
健全切片	4	6	5	15	20	5	7	32	3	7	6	16
罹病切片 (2区の合計)	29	35	34	98	7	10	16	33	36	36	10	82
その他 ^{a)}	14	10	11	35	7	4	9	20	5	7	13	25
χ^2 値 ^{b)}	20.46**				7.39**				12.76**			

a) いずれの切片にも着生していなかったもの。

b) 健全切片と罹病切片(2区の合計)の合計値に対し χ^2 検定を行い、1:2の比率への適合度を判定した。*は5%、**は1%の危険率で有意差のあることを示す。第2表 *Fusarium* 菌平面培養培地と PSA 培地へのネダニ類雌成虫の着生数

	ロビンネダニ							ゴミコナダニの一種						
	1	2	3	4	5	6	合計	1	2	3	4	5	6	合計
PSA 培地切片	1	0	0	0	2	1	4	0	0	0	0	4	7	11
<i>F.o.a.</i> 培養培地切片 (2区の合計)	22	21	24	24	19	17	127	25	25	25	15	11	25	126
その他 ^{a)}	7	9	6	6	9	12	49	5	5	5	15	15	0	45
χ^2 値 ^{b)}	54.05**							39.47**						
PSA 培地切片	1	0	0	26	15	2	44	2	0	4	2	3	1	12
<i>F.s.r.</i> 培養培地切片 (2区の合計)	16	7	12	2	0	15	52	24	22	17	22	8	24	117
その他 ^{a)}	13	23	18	2	15	13	84	4	8	9	6	19	5	51
χ^2 値 ^{b)}	6.75**							33.52**						

a), b) いずれも第1表に同じ。

第3表 平面培養した *Fusarium* 菌に対するネダニ類若虫の着生数

	ロビンネダニ (第1・3若虫)				ロビンネダニ (ヒポプス)				ゴミコナダニの一種 (若虫)			
	1	2	3	合計	1	2	3	合計	1	2	3	合計
PSA 培地切片	2	4	6	12	4	3	5	12	6	11	4	21
<i>F.o.a.</i> 培養培地切片 (2区の合計)	20	27	25	72	2	3	1	6	36	32	38	106
その他 ^{a)}	18	9	11	38	24	21	24	69	18	17	18	53
χ^2 値 ^{b)}	13.71**				9.00**				16.13**			
PSA 培地切片	5	1	2	8	8	5	4	17	8	28	21	57
<i>F.s.r.</i> 培養培地切片 (2区の合計)	20	11	10	41	4	2	5	11	45	30	38	113
その他 ^{a)}	15	18	18	51	18	23	21	62	7	2	1	10
χ^2 値 ^{b)}	6.38*				9.45**				0.0029			

a), b) いずれも第1表に同じ。

アの繁殖は外見上認められず、培地の乾燥程度も低かった。第2表の結果が示すように *F.o.a.* 培養培地に対しては両種の雌成虫は明らかな選好性を示した(同表上段)。*F.s.r.* 培養培地に対してはゴミコナダニの一種では明らかに PSA 培地より選好性を示したが、ロビンネダニでは *F.s.r.* 培養培地より PSA 培地に対する選好性が認められた(同表下段)。

放飼虫が若虫である場合は第3表に示すようにロビン

ネダニは *F.s.r.* 培養培地にもある程度の選好性を示した。しかし、ヒポプスは統計的には *F.o.a.*、*F.s.r.* 培養培地よりも PSA 培地に選好性を示す結果が得られたが、「その他」の項の個体数が検定切片への着生数よりもかなり多いことから培養培地に対する選好性は低いものと考えられる。ゴミコナダニの一種では、*F.o.a.* 培養培地に対しては選好性を示したが、*F.s.r.* の培養培地に対しては選好性は認められなかった。

第4表 砂層を通過して最下層のリングに移動したロビンネダニ個体数 (供試数 30)

	殺菌水	<i>F.o.a.</i> の培養 ろ 液	<i>F.o.a.</i> の 10 倍 濃縮ろ液	<i>F.s.r.</i> の培養 ろ 液	<i>F.s.r.</i> の 10 倍 濃縮ろ液
1	0	4	27	2	30
2	0	—	23	2	27
3	1	—	21	1	25
平均	0.3	4 ^{a)}	24	2	27

a) 反復数 1.

第1図 ロビンネダニ5個体の検体への歩行跡。A: 放飼後0～10分, B: 同10～20分, C: 同20～30分。S: 蒸留液, C: 殺菌水。

Fusarium 菌のそれぞれの培養培地に定着した個体の行動を観察すると、ロビンネダニの雌成虫は *F.o.a.* の菌糸下では多数の卵を菌糸上に産下し、比較的じっとしていたが、*F.s.r.* 培養培地切片では菌糸の中に潜りこむような行動は少なく、むしろ切片の横断面や切片とシャーレとのすき間にじっとしている個体が多かった。一方、ゴミコナダニの一種では菌糸に産みつけられた卵数も多いが、両 *Fusarium* 菌の培養培地上を常時動き回り、培地を摂食してその食痕が培地上に残っていることが多かった。

実験 3:

(a) 砂中における行動

第4表に示すように、培養ろ液そのものを用いた場合には、両菌とも最下層のリングまで到達した個体はほとんどなかったが、10倍に濃縮したろ液を用いた場合、供試虫の70～100%の個体が1cmの砂層を通過して、

第2図 ロビンネダニ成虫の検体への着生数の時間的推移。●は平均値、縦棒は標準偏差を示す。

第5表 各検体へのロビンネダニ成虫の放飼60分後の着生状況 (10反復の合計値)

	検 体	対 照 (殺菌水)	その他 ^{a)}	χ^2 値 ^{b)}
培養ろ液	42	6	52	27.00**
蒸留液	59	6	35	43.22**
残 渣	23	16	61	1.256
テーテル層	44	6	50	28.88**
水 層	21	19	60	0.100

a) 第1表に同じ。
b) 検体と対照間における1:1の比率への適合度を χ^2 検定で判定した。**は1%の危険率で有意差のあることを示す。

検体を入れた最下層のリングにまで到達していた。この場合、移動した個体には発育ステージによる差は認められなかった。この実験ではヒポプスは供試していない。

(b) シャーレ内の行動観察

供試虫5個体の10分間の歩行跡を示したのが第1図である。また、1テスト当たり10成虫放飼した場合の検体への着生状態の時間的推移を示したものが第2図である。これらから、放飼後30分くらい経過するとろ紙への着生数は安定してくることがわかったので、調査結果は放飼60分後における着生個体数で表わすことにした。

それぞれの検体のロビンネダニ成虫誘引力を示せば第5表のようになる。この場合、各検体に浸したろ紙へのネダニ着生数と対照(殺菌水)ろ紙への着生数について χ^2 検定を行った。表には、方法で述べたように1回に10

頭放飼し、10 反復した場合の実数で示してある。これから、培養ろ液中の (誘引) 活性物質は蒸留液およびエーテル層にあることがわかった。

ネダニ類は腐敗病を起こした球根によく寄生しており健全球根への寄生は少ないとされている (望月ら, 1959; FORSBERG, 1959; 山田, 1974; 遠山, 1980) が、以上のラッキョウ切片を用いて行った結果からもこのことは立証された。

貯蔵穀物につくダニ十数種については、それぞれが何種かの糸状菌に対して選好性を示すことが報告されている (SOLOMON, 1946; SINHA, 1964, 1966; THOMAS and DICKE, 1971)。これらのダニ類は糸状菌の寄主である穀物やチーズ上だけでなく、人工培地上で发育したものであっても十分に誘引された。とくに、ロビンネダニについては *F. oxysporum* への誘引が報告されている (POE et al., 1979)。本実験においては、ロビンネダニとともにゴミコナダニの一種も *Fusarium* 菌に誘引されることがわかった。また、*Fusarium* 菌の種類やネダニ類の发育ステージによって選好性の程度が異なることも確認された。

線虫に関しては、糸状菌との複合病 (disease complex) についての研究がよくなされており、KATZNELSON and HENDERSON (1962) や平野・河村 (1965) によって、培養ろ液に対する線虫の選好性が示唆されている。本実験の結果、ロビンネダニの雌成虫がとくに *Fusarium* 菌の培地に選好性を示し、さらに培養ろ液に対しても選好性を示し、ろ液の 10 倍濃縮液に対しては 1 cm の砂層を通して誘引されることがわかった。さらに、培養ろ液を蒸留し、エーテルで抽出した液体に対して強い選好性が認められた。また、その誘引源への選好行動は第 1 図に示すように蛇行しながらかなり直線的なものであることから、培養ろ液中の化学物質がこの行動に強く関与していることがうかがわれる。

摘 要

ネダニ類 (ロビンネダニ (*Rhizoglyphus robini* CLAPARÈDE) と *Caloglyphus* sp.) の *Fusarium* 菌に対する選好性を調べ、つぎのことが明らかとなった。

1) 2 種のネダニとも、程度はちがうもののラッキョウ腐敗病罹病切片に対して選好性を示した。

2) ネダニ類は *Fusarium oxysporum allii* (F.o.a. と略す) と *Fusarium solani radicola* (F.s.r. と略す) を PSA 培地で培養した切片に対して選好性を示した。2 種の雌成虫とも F.o.a. に対する選好性の程度は強かったが、F.s.r.

に対してはロビンネダニは選好性を示さなかった。若虫では、ロビンネダニは両菌培地に対して選好性を示したが、ゴミコナダニの一種では F.o.a. に対して選好性を示したが、F.s.r. に対しては選好性を示さなかった。またロビンネダニのヒポプスはいずれの培地に対しても選好性を示さなかった。

3) ロビンネダニは両菌の培養ろ液に対して明らかな選好性を示した。また、培養ろ液を水蒸気蒸留して得た蒸留液、蒸留液をエーテルで抽出したエーテル層にも選好性を示した。

引用文献

- FORSBERG, J.L. (1959) Relationship of the bulb mite *Rhizoglyphus echinopus* to bacterial scab of gladiolus. *Phytopathology* 49: 538.
- 萩屋 薫・幸内 隆 (1960) チューリップのフザリウム腐敗病の伝染経路に関する研究. 農業および園芸 35: 1019—1020.
- 平野和弥・河村貞之助 (1965) 線虫と他の微生物とによる Disease Complex. 第 1 報. 土壌中におけるネグサレセンチュウ (*Pratylenchus* spp.) の *Fusarium* spp. に対する行動. 日植病報 30: 24—30.
- 岩切 麟・永田利美・水田隼人 (1959) チューリップの球根腐敗病について. 日植病報 24: 25 [講要].
- KATZNELSON, H. and V.E. HENDERSON (1962) Studies on the relationships between nematodes and other soil microorganisms. I. The influence of actinomycetes and fungi on *Rhabditis* (*Cephaloboides*) *oxyerca* DE MAN. *Can. J. Microbiol.* 8: 875—882.
- 望月正己・沢崎 彬・守田美典 (1959) Tulip 球根の腐敗防止に関する研究. 1. 有機水銀剤による tulip の *Fusarium* 菌殺菌試験. 北陸病虫研報 7: 105—107.
- POE, S.L., W.E. NOBLE and R.E. STALL (1979) Acquisition and retention of *Pseudomonas marginata* by *Anoetus feroniarum* and *Rhizoglyphus robini*. *Rec. Adv. Acarol.* 1: 119—124.
- 柴田喜久雄 (1960) ネダニの無菌飼育とその发育過程. 北陸病虫研報 8: 106—108.
- 真梶徳純・岡部貴美子・天野 洋 (1986) ラッキョウとニラに寄生するネダニ類の種類と薬剤感受性. 応動昆 30: 285—289.
- SINHA, R.N. (1964) Ecological relationships of stored-products mites and seed-borne fungi. *Acarologia* 6 (fasc. h. s.): 373—378.
- SINHA, R.N. (1966) Feeding and reproduction of some stored-product mites on seed-borne fungi. *J. Econ. Entomol.* 59: 1227—1232.
- SOLOMON, M.E. (1946) Tyroglyphid mites in stored products. Nature and amount of damage to wheat. *Ann. Appl.*

Biol. 33: 280—289.

田中 学・井上晃一 (1962) 球根ネダニの生態と防除法について. 応動昆 6: 39—45.

THOMAS, C.M. and R.J. DICKE (1971) Response of the grain mite, *Acarus siro* (Acarina: Acaridae), to fungi associated with stored-food commodities. Ann. Entomol. Soc. Amer. 64: 63—68.

遠山 明 (1980) ラッキョウ乾腐病に関する研究—とくに病原菌の同定と発生生態について—. 鳥取野菜試特別研報 1:

1—56 + pls 2.

遠山 明・松尾卓見 (1977) ラッキョウ乾腐病病原 *Fusarium* 菌とその発病様相. 日植病報 43: 340—341 [講要].

山田員人 (1974) チューリップ球根腐敗病の発生に対するネダニの役割について. 近畿中国農業研究 48: 77—81.

米山伸吾 (1962) チューリップ腐敗病における *Fusarium* 菌と細菌, ネダニとの相互関係について. 日植病報 27: 246 [講要].