



Title	土壌中における Rhizoctonia の腐生的着生
Author(s)	宇井, 格生; UI, Tadao; 生越, 明 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 7(4), 423-434
Issue Date	1970-12-28
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11804
Type	departmental bulletin paper
File Information	7(4)_p423-434.pdf



土壤中における *Rhizoctonia* の腐生的着生

宇井格生・生越 明

(北海道大学農学部植物学教室)

Saprophytic colonization of substrates by *Rhizoctonia* in soil

Tadao Ue and Akira OGOSHI

(Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Received November 18, 1969

はじめに

Rhizoctonia solani KÜHN の生活を、その利用する基質と生活の面から分けると、次の5つになる。1) 畑作物あるいは雑草を寄主とする生活、2) 寄主植物、非寄主植物根圏での生活¹³⁾、3) 寄主植物の死後罹病組織中における生育、4) 土壤中の生長、あるいはそのなかに存在する有機物の利用^{1,2,9)}、5) 土壌あるいは基質中の耐久生存である。そのうち2)以下は腐生生活で、その順に積極的から消極的に、さらに耐久生存へと移行する。これら腐生生活のうち、*R. solani* が他の多くの土壌伝染性植物病原菌と著しくことなる性質は、転流性の菌糸棲息菌として、菌糸が生存の場から土壌中を生長し、土壌中の有機物に着生 (colonize) する点である。このことは、土壌チューブによる菌糸の生長により証明され¹⁾、また土壌に施したセルローズ²⁾、植物粉末¹⁾などの利用により明らかであるとされる。この性質に基づき、死んだ植物組織を土壌に加え、これに菌糸を着生 (colonize) させ、土壌中の菌を捕捉、分離する bait 法、trap 法などが実際に用いられている^{8,14)}。植物遺体など基質に対する *R. solani* の腐生的着生 (saprophytic colonization) の程度は菌株によりことなり¹⁶⁾、土壌に菌を接種してから基質を土壌に入れるまでの日数によってもことなる¹⁷⁾。しかし、畑の土壌では基質に対する菌の着生率は一般に高く¹⁷⁾、このことは土壌中の *R. solani* の活動と、植物遺体への着生が常におこりうることを示している。すなわち、植物遺体に対するこの菌の腐生的着生は、土壌中における生活のうち主要な部分を占めるとみなされる。

この報告は、畑土壌からの菌の分離、あるいは菌株間の腐生能力 (competitive saprophytic ability) の比較研

究^{16,17)} に用いた乾燥した成熟アマ茎を材料とし、土壌中の基質に対する *Rhizoctonia* の腐生的着生を左右すると考えられる要因のいくつかについて検討し、今後菌の腐生生活の実態を明らかにするための手がかりをうることを目的とした。

材料と方法

供試 *Rhizoctonia* は、アマより分離しその病原性、腐生能力の明らかな F-16、F-20 の2菌株^{14,16)}を主とし、ときにてん菜根腐病病斑より分離した B-5 も用いた。F-16、B-5 はそれぞれ渡辺・松田¹⁹⁾ の *R. solani* I-B 型、II 型に属し、その完全時代は *Thanatephorus cucumeris* (FRANK) DONK である。F-20 は不完全時代は *R. solani* と区別し難いが、完全時代は見られず、菌糸細胞核が2核であるところから、完全時代は *T. cucumeris* 以外のものと考えられる¹⁸⁾。

用いた土壌は北大農場圃場より採取した植壤土で、これを殺菌することなく室内で温度 25~26°C、M.H.C. 40±5% とし使用した。この土壌には *Rhizotonia* が稀に生存するが、その分離される頻度は極めて低く、接種菌の分離率を著しく左右することはない。

Rhizoctonia 着生の基質として用いたアマ茎は、一般圃場で収穫したアマ茎 (品種ウィーラー) の、太さほぼ同じ部分を 2 cm の長さに切ったもので、これをプロピレンオキサイドで殺菌して用い、新鮮アマ茎と称した。

土壌中でアマ茎に着生した *Rhizoctonia* の分離は、アマ茎を取り出し流水で充分に水洗、過剰の水分を濾紙で吸い取り、pH 4~5 に調節した乳酸酸性脱塩水寒天平板 (以下 WA 平板とする) 上におき、1 昼夜後にそこからのび出した *Rhizoctonia* の菌糸を検鏡、あるいは PDA 斜

面に移植, 同定した。このアマ茎からの分離率をもってアマ茎への *Rhizoctonia* の着生率とし, その大小から着生の多小を判定した。

実験結果

I. 新鮮基質に対する腐生的着生

微生物の増殖していない新鮮なアマ茎を土壌に加え, これに対する *Rhizoctonia* の腐生的着生, および着生した菌の推移を検討した。

実験方法 F-16, F-20 の sand corn meal inoculum を無殺菌土壌に1%の割合で加え, 接種土壌をつくる。接種土壌を7コのコルベンに入れ, 直ちに殺菌したアマ茎を50本ずつ加え, 充分攪拌し, 所定の条件に保った。土壌に入れたのち1日から64日までの間, 7回にわたり毎回50本のアマ茎を取り出し, アマ茎から接種菌を分離し, 分離率を求めた。さらにアマ茎を取り出したあと, 直ちに新たに新鮮アマ茎を入れ, 2日おいてそれに着生した菌の分離を行ない, 接種菌の分離率を求めた。この値は, それぞれの時期における *Rhizoctonia* の活動の程度を示すものとし, 菌の活性と表現した。これらの結果

は第1図に示した。

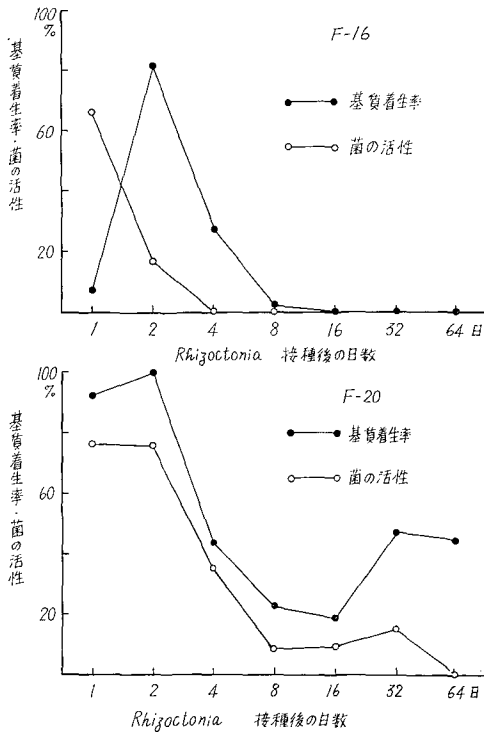
実験結果 接種土壌に入れたアマ茎からの菌の分離率はF-16, F-20の場合ともに2日目に最高となり, のち低下する。分離率はF-20の方が常に高く, 接種土壌に入れた翌日すでに90%以上に達し, 2日目には100%となる。F-16は, 1日目には数%にすぎないが2日目には80%に達する。その後両菌の分離率は低下し8日から16日の間に最低となり, F-16は16日以降アマ茎からは全く分離されなくなる。F-20の場合は分離率0とはならず, 32~64日後に再び分離率が増加し, この点がF-16と全くことなる。この傾向はくりかえし行なった実験で常に認められた。

接種した土壌中における *Rhizoctonia* の活性は, 図の通り, F-16は4日後新たなアマ茎への着生がおこらないところから, 休止状態になると認められる。F-20は活性の低下がゆるやかで, 休止状態となるのは接種後64日である。すなわち, 接種土壌に入れたアマ茎への *Rhizoctonia* の着生は, 接種2日目までにおこり, そのうち新たに着生がおこる可能性は極めて少ない。着生した菌が次第に分離されなくなることは, 基質上に増殖した微生物の作用により次第に死滅するため, あるいは, 基質上に増殖した微生物が, WA平板上に分離する際 *Rhizoctonia* と拮抗し, *Rhizoctonia* の分離率が低下するためとも考えられる。しかし, 後者についてはのちに記すアマ茎に着生した菌の消滅する状態から (p. 430), それだけ単独の影響は比較的少ないものと見なされる。

II. 分解基質に対する腐生的着生

前項の新鮮な基質に対する *Rhizoctonia* の着生と対比し, 予め土壌に加えておいた基質, すなわち微生物が増殖し, 組織の分解, 変性の次第に進んでいる基質に対する菌の着生を検討した。このような基質は precolonized substrate であり, 分解のおこっている基質であるので, 新鮮基質に対して分解基質と呼び, 土壌中に基質を入れておいた日数を分解期間とした。

実験方法 無殺菌土壌を多くのコルベンに入れ, これに前と同じプロピレンオキサイドで殺菌した新鮮アマ茎を入れた。1乃至96日間保ち, 分解期間のことなる分解アマ茎をつくった。所定期間毎に300本ずつ取り出し, 100本は90°Cで乾熱により, 100本はプロピレンオキサイドで殺菌した。残りの100本はそのままとし, これを無処理分解アマ茎と称した。次いでこれらを *Rhizoctonia* を接種した土壌に2日間入れ菌を着生させた。接種土壌はF-16あるいはF-20の vermiculite-corn meal 培養を加えてつくった。ただし, 予備験の結果から, 分解基質に



第1図 新鮮基質に対する *Rhizoctonia* の着生と菌の活性の変化

対する着生率を F-16 では高め、F-20 は低くし、同一レベルとするため、前者の接種源量を土壌に対し 10%、後者は 2% とした。接種土壌より取り出したアマ茎は常法により *Rhizoctonia* の分離を行ない、その割合をもって分解アマ茎に対する *Rhizoctonia* の着生率とした。

実験結果 第 2 図に示すように、無処理分解アマ茎に対する両菌の着生は、新鮮なアマ茎 (分解期間 0 日としたもの) に比べ著しく劣り、着生率は基質の分解が進むにつれて低下する。F-16、F-20 何れの場合も分解期間 8 乃至 16 日のアマ茎に対する着生率が最低となるが、全く着生出来なくなるのではない。その後、さらに分解が進んだアマ茎に対し着生率はやや増加するかの傾向も認められる。分解アマ茎を殺菌したとき、これに対する着生率は何れの菌も高く、分解期間が短いと新鮮基質と大差はないが、のち次第に低下する。F-20 は分解 8 日から 12 日以上になると低下は速かになり、56 乃至 64 日分解したものは、無処理分解基質と大差ない程度となる。F-16 の場合には、F-20 よりも着生率の低下は緩慢である。分解アマ茎の殺菌方法によってこれに対する *Rhizoctonia* の着生率はややことなり、ほとんどの場合プロピレンオキサイドで殺菌した方が着生率は高い。このことは、プ

ロピレンオキサイドで殺菌した新鮮なアマ茎に対する着生率 (分解 0 日としたもの) が乾熱殺菌したものよりも良好であることから、乾熱により基質そのものが何らかの影響をうけていることもうかがわれる。

以上の実験から、*Rhizoctonia* は新鮮な基質と同じように、微生物の着生している基質にも着生しうるが、その割合は劣る。また、基質が土壌中で分解するにつれ、それに対する着生は不良になると結論することが出来る。ただし、着生率の大小は基質からの分離率の増減から推定したもので、この分離率は分離に際し、*Rhizoctonia* と基質上の微生物との間に拮抗がおこるため実際の基質着生率よりもむしろ低い値となる可能性がある。しかし、一般に酸性 WA を用いるとき *Rhizoctonia* の分離は極めて良好で、分離率と着生率の間に極端な差が出るとは考え難いが、なお検討しなければならぬ。

また、実験の結果は、*Rhizoctonia* の基質着生に最も大きな影響を与えるのは、基質上の生きてい微生物群であることを示唆している。さらに、分解基質に対する菌の着生低下は、分解の間に微生物の直接、間接的作用による抗菌性物質の生産、または分解による菌の利用しうる物質の消失あるいは減少も関与することが示唆される。

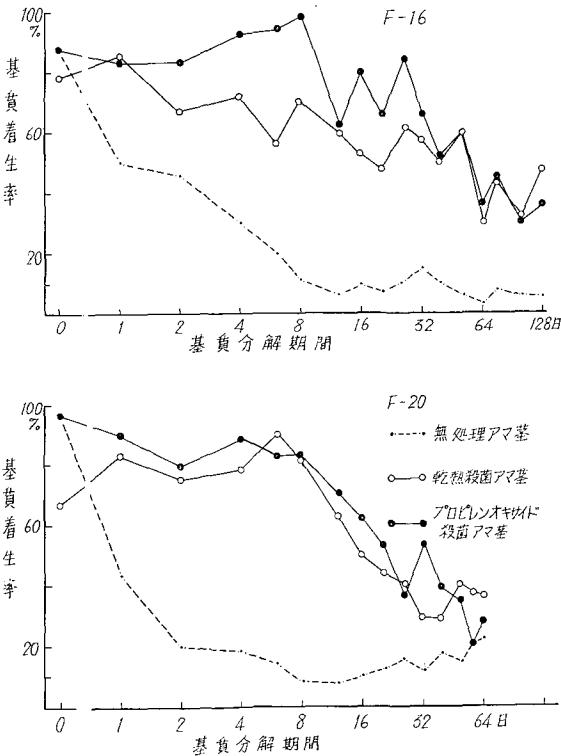
III. 基質分解に伴う微生物相の変化

基質の分解に伴い *Rhizoctonia* の着生が低下する現象に対応し、基質上の微生物相は量的、質的にどのような変化を示すかを検討した。

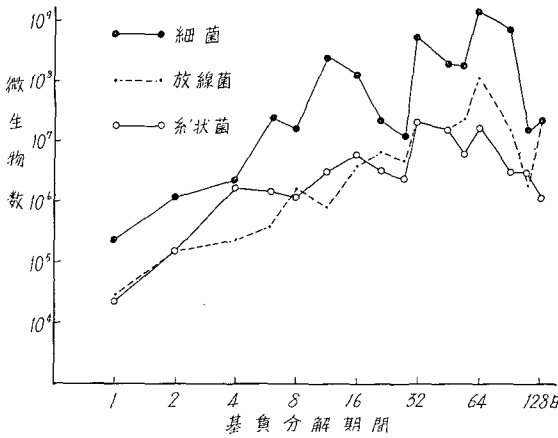
1) 細菌、放線菌、糸状菌数の変化

実験方法 無殺菌土壌にアマ茎を 1 乃至 128 日間入れ分解程度のことなる基質をつくる。これらを取り出し、その 1g に一定量の殺菌水を加えホモジナイザーで 1 分間磨砕する。これを材料として稀釈平板法により、分解アマ茎生重 1g 当りの微生物数を定量した。平板培地は、細菌に対しては soil extract agar、放線菌は水道水寒天、糸状菌は Martin's rose bengal agar である。

実験結果 土壌中でアマ茎が分解する間における各微生物の数を第 3 図に示した。アマ茎を土壌に加えると、そこで細菌は急速に増加を始め、64 日まで全体として直線的に増加し、その後減少する。その間、12 乃至 32 日の間にやや減少する時がある。糸状菌と放線菌の数は細菌より少なく、1/100 乃至 1/1,000 程度で、両者とも 64 日まで増加し、のち減少することは細菌と同じである。これら微生物数が減少に転ずる分解 64 日は、あとに記すようにアマ茎の乾重が分解によりほぼ半分となる時期に相当する。このように分解に伴う微生物数の増加は、



第 2 図 分解基質に対する *Rhizoctonia* の着生



第3図 基質分解に伴う微生物数の変化

分解基質に対する *Rhizoctonia* 着生の低下と全く反対の傾向にある。

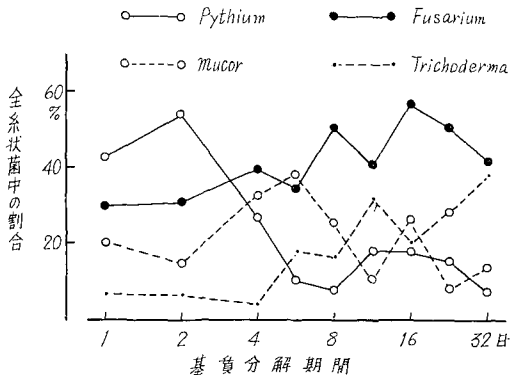
2) 糸状菌の質的变化

基質分解に伴い増加する糸状菌のうち、どのような種類の菌が増加、あるいは減少するかについて検討した。

実験方法 無殺菌土壌に入れた分解アマ茎を取り出し流水で充分洗浄、常法により WA 平板上におき、それより伸び出した菌糸先端を PDA に移植、保存し、同定に供した。

実験結果 分離した糸状菌の大部分は *Pythium* (ほか類似菌も含め *Pythium* とする), *Mucoraceae* に属するもの (*Mucor* とする), *Fusarium* および *Trichoderma* であった。これら4糸状菌について、基質の分解1日から32日までの間、分離した時期毎に得られた全糸状菌のうちに占めるそれぞれの割合を図示した (第4図)。

アマ茎の分解の間に現われる糸状菌は大別して2つになる。すなわち、ごく初期に分離率が最大になる *Pythi-*



第4図 基質分解に伴い発現する糸状菌とその割合

um, *Mucor* と、そのあと分離頻度が高くなる *Fusarium*, *Trichoderma* である。 *Pythium* は1から4日までの間に多く、2日目には全糸状菌の半分を占める。 *Mucor* は2日目から6日まで増加し、のち減少する。 *Fusarium* は1日目からすでに高い割合で存在したが、のち増加し、4日から32日までの間に最も優勢になる。 *Trichoderma* は4日以後から増加し、32日には *Fusarium* と同じ程度になる。これら2群の糸状菌が交代するのは基質の分解8日前後にあると見なすことが出来る。

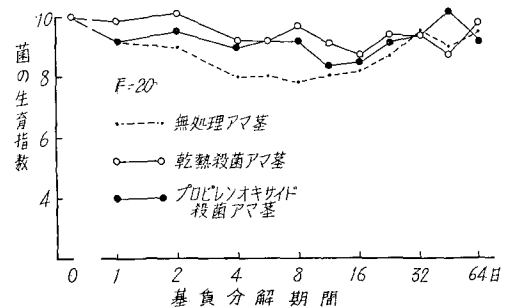
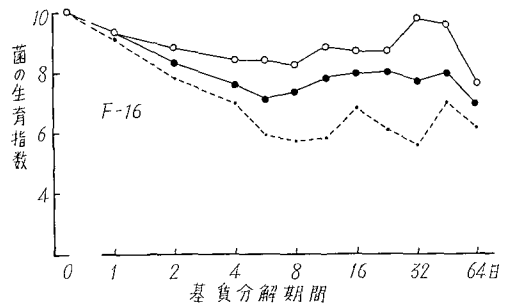
IV. 分解基質の抗菌作用

土壌に入れた基質が、微生物の活動より分解し、それに伴って *Rhizoctonia* の基質着生が低下する原因について、基質に *Rhizoctonia* 菌糸の生育を抑制する抗菌作用が現われる可能性、さらにそのような抗菌作用はどのような微生物の働きによるものかを知るため次の実験を行った。

1) 分解基質の菌糸生育抑制

土壌に入れ、微生物が増殖した分解基質に *Rhizoctonia* の菌糸生育を抑制する作用が現われるか否かについて、 *Rhizoctonia* を分解アマ茎と対峙培養することによって検討した。

実験方法 II節と同様、アマ茎を1乃至64日間無殺菌土壌に入れ、分解期間のことなる基質をつくる。これを取り出し WA 平板上におき、これに対峙して *Rhizocto-*



第5図 分解基質の抗菌作用

nia F-16 あるいは F-20 の菌そう小円板を接種し、26°C、2 日後 *Rhizoctonia* 菌糸の生育距離を測った。対照として、土壌に入れない新鮮アマ茎について同じような対峙培養をした。対照区の菌糸生育距離を 10 とし、分解基質と対峙したときの菌糸生育の値を求めた。この値を *Rhizoctonia* の生育指数とした。すなわち、指数が 10 より小さくなるほど分解基質、あるいはそこに生育する微生物の作用によって菌糸の生育が抑制されたことになる。

分解アマ茎をそのまま対峙するのは別に、これをプロピレンオキサイド、あるいは 90°C の乾熱で 6 時間処理し、基質上の微生物を殺菌し、それぞれプロピレンオキサイド殺菌アマ茎、乾熱殺菌アマ茎と呼び、これら殺菌アマ茎についても前と同様に対峙培養を行ない、生きている微生物を殺菌したときの基質の抗菌作用を調べた。対照は、それぞれの方法で殺菌した新鮮アマ茎である。(第 5 図)。

実験結果 無殺菌分解アマ茎は、WA 平板上で *Rhizoctonia* の菌糸生育を抑制する。抑制をうける程度は F-16 の方が大きい。基質の分解時期により抑制の程度はことなり、1 日から 8 日まで次第に強くなり、両菌とも分解 8 日のアマ茎により最も強く抑制された。これら無殺菌分解アマ茎をおいた WA 平板上に、微生物がわずかながらも増殖するので、この基質の菌糸生育抑制は新たに増殖した微生物の働きも加わっていると見なされる。

殺菌分解アマ茎の示す菌糸生育作用は、無殺菌のものよりも弱いのが明らかに認められる。その抑制程度は、無殺菌分解アマ茎の場合とほぼ同様な傾向で増加し、のち減少する。また、F-16 に対する抑制程度は F-20 に対するよりも強いことは、無処理の場合と同様である。殺菌の方法により抑制の程度はことなり、プロピレンオキサイド殺菌アマ茎の方が、乾熱したものよりも強い抑制を示す。

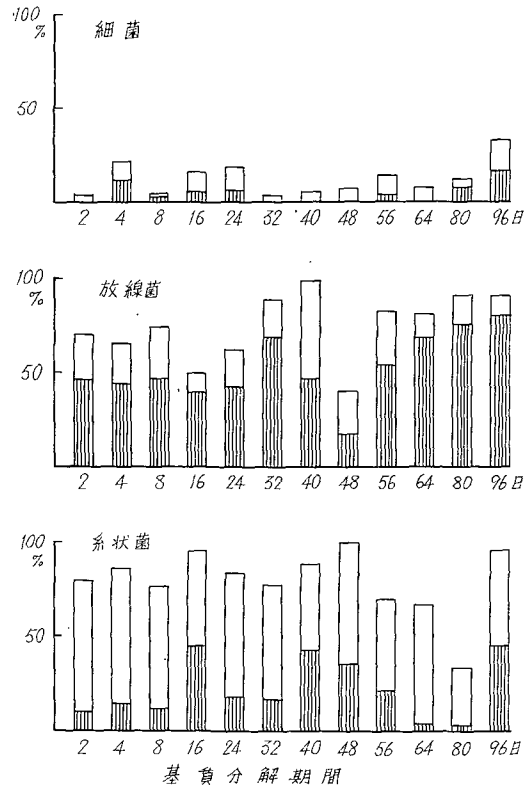
以上の結果から、次のようなことが示唆される。すなわち、アマ茎を土壌に埋めると微生物がそこに増殖し、アマ茎に *Rhizoctonia* の菌糸生育を抑制する効果があらわれる。それは、寒天平板に拡散する性質をもっている。その作用は、アマ茎を土壌に入れたのち、ある時期まで徐々に強くなるが、その後は弱くなる。この抗菌作用は生きている微生物の直接的な作用も含まれるが、分解アマ茎を殺菌したのちにも認められるところから、抗菌的な物質の生産されている可能性も大きい。その作用の一部は熱によって低下するか、あるいは破壊するもの

である。

2) 分解基質上微生物群の抗菌作用

前項で明らかになった分解基質にあらわれる抗菌作用は、分解過程にあらわれる微生物のうち、どのようなものが関係するかを検討するため、アマ茎の分解する間に分離した個々の微生物について、*Rhizoctonia* の菌糸抑制作用を検討した。

実験方法 III. 1) の実験で、基質分解の過程に現われる細菌、放線菌、糸状菌を定量した際、それぞれの任意 100 株を、定量した時期毎に分離しこれを用いた。これら微生物を WA 上に劃線培養し、これより 3 cm はなれたところに *Rhizoctonia* F-20 の菌そう小円板を対峙して植えた。26°C、2 日後、次のような規準により供試微生物の *Rhizoctonia* に対する抗菌力を判定した。抗菌力ナシ (-): *Rhizoctonia* に対し全く抗菌力をもたないもの、すなわち相互の菌叢は互に入り組み、*Rhizoctonia* の生育の速さは対照と全くかわらない。抗菌力弱 (±): 菌叢



縦線を付した部分： 抗菌力 + の菌株の割合
無地の部分： 抗菌力 ± の菌株の割合

第 6 図 分解に伴い発現する細菌、放線菌、糸状菌の抗菌作用 (抗菌力 +, ± のものの割合)

が接触するまでの *Rhizoctonia* 生育の速さは対照に比べおそく、菌叢は接種後わずかに入り組み、(-)のように自由に生育しないもの。抗菌力強 (+): 菌糸の生育は抑制され、相互の菌叢先端は接触するのみで、入り組むことがないか、あるいは間に阻止帯の生ずるもの。

このような抗菌力の検定を、分解2日から96日までのアマ茎から分離した各菌について行ない、その結果を、分解時期ごとに細菌、放線菌および糸状菌別に、抗菌力をもつ菌株の割合をグラフに示した(第6図)。

実験結果 この実験全体で用いた細菌、放線菌、糸状菌の各1,200株のうち、抗菌力±、+を含め抗菌力をもつものは、それぞれ12.8%、72.4%、90.4%である。細菌のなかで抗菌力の強いものは少なく、全細菌の5.2%にすぎない。放線菌のなかには抗菌力の強いものが多く、全体の55.3%で、抗菌力をもつ株の3/4以上は抗菌力+を示し、かつそれらの60%は *Rhizoctonia* 菌叢との間に1mm以上の阻止帯を生じた。抗菌力の強い細菌の培養性質はほとんどが同一であり、同じものと認められるのに対し、放線菌は培養性質や形態がさまざま、多くのことになったものが含まれる。抗菌力の強い糸状菌は *Trichoderma* が最も多く、次いで *Fusarium*、*Penicillium* であった。

基質分解に伴って現われる細菌、放線菌、糸状菌の抗菌力は、第6図に示すように、分解時期によりことなり、ある時期には比較的抗菌力の強いものが多く見られる。しかし、抗菌力の強い微生物が多く現われる時期と、基質に対する *Rhizoctonia* 着生の低下する時期との間に一定の関係は認め難い。

3) 腐生的着生に対する放線菌の作用

基質分解の過程に現われる微生物のうち、抗菌力の点で最も作用するところの大きいと見られる放線菌について、再度分解アマ茎より分離したものをい用い *Rhizoctonia* 菌糸に対する抗菌作用、これら放線菌を接種したアマ茎に対する *Rhizoctonia* の腐生的着生、そのようなアマ茎にあらわれる菌糸生育抑制作用について検討した。

(i) 菌糸生育抑制作用

前節IIと同じ方法で、新鮮アマ茎を9週間無殺菌土壌に入れ分解基質をつくり、その間1週間目から2週おきにアマ茎より放線菌を分離した。毎回分離したもののなかから任意に25株を選び実験に供した。放線菌をWA平板上でF-16、F-20、B-5の三菌株と対峙培養し、各放線菌の *Rhizoctonia* 菌糸生育の抑制の程度から抗菌力を比較した。その方法は、前項に用いたと同じである。

この実験では、分離された放線菌に強い抗菌力をもつ

ものが少なく、分解1乃至5週間のアマ茎から抗菌力の強い+程度を示す放線菌は3%にすぎなかった。分解7週目のアマ茎には強いものが著しく多く、80%は抗菌力+を示した。この結果も、前項と同じく、分解のある時期に抗菌力の強い放線菌が現われることは明らかであるが、その発現と、*Rhizoctonia* の分解基質への着生低下との間に因果関係は認め難い。*Rhizoctonia* 3菌株に対する放線菌の抗菌作用を比較すると、放線菌の抗菌作用に最も敏感なものはF-16で、F-20は最も耐性が強い。

(ii) 基質着生阻害作用

抗菌力のことなる放線菌の純粋培養株をアマ茎に生育させ、これに対する *Rhizoctonia* の着生程度を比較することにより、基質着生に対する放線菌の阻害作用を検討した。

実験方法 前項の実験で、分解アマ茎より、毎回分離した放線菌のうちから2株ずつを選び、実験に供した。ただし、2株のうち1つはWA上で *Rhizoctonia* に抗菌力を全く示さないもの、他の1つは抗菌力が強く、+と判定される株である。これら各菌株を三角フラスコに入れた Bennett 培養液で26°C、10日間静置培養した。この培養にプロピレンオキシドで殺菌した新鮮アマ茎を加え、充分振盪し、再び培養を続け、アマ茎上に放線菌を生育接種した。このアマ茎を4日および10日後に取り出し、その半数はそのまま、残りはプロピレンオキシドにより殺菌し、*Rhizoctonia* を接種したパーミキュライト土壌の中に入れた。6日間室温におき、*Rhizoctonia* を着生させたのち、再びアマ茎を取り出し、WA上で *Rhizoctonia* の分離を行ない、その分離率をもって放線菌の生育したアマ茎に対する *Rhizoctonia* の着生率とした。供試した菌はF-16、F-20である。対照としてプロピレンオキシドで殺菌した新鮮アマ茎を用いた。

実験結果 放線菌をアマ茎に接種、生育させたとき、その菌株によって *Rhizoctonia* の着生は著しくことなり、着生率は0から100まで、すなわち *Rhizoctonia* の着生を完全に阻止するものから、着生に全く影響を及ぼさないものまでである。培地上で抗菌力の強い放線菌が必ずしも *Rhizoctonia* の着生を阻止する作用が強いとはいえず、抗菌力のないものでも着生を阻止する力の強いものもある。また、分解の進んだアマ茎から分離された放線菌が *Rhizoctonia* の基質着生をとくに抑制する傾向も認められない。ただ、用いた12株を抗菌力+と-の菌株とに分けたとき、両者の平均値のあいだには差が認められるにすぎない(第1表)。4日間放線菌を生育させたアマ茎に対する *Rhizoctonia* の着生率は、抗菌力-の

第1表 放線菌を生育させた基質に対する *Rhizoctonia* の着生率

供試放線菌 の抗菌力	放線菌を生育させた アマ茎の処理	F-16 着生率		F-20 着生率	
		着生率の範囲と平均 放線菌を生育させた日数		着生率の範囲と平均 放線菌を生育させた日数	
		4日	10日	4日	10日
-	無処理	10~90* (35.0)	0~60 (27.0)	35~90 (61.0)	35~95 (65.0)
	プロピレンオキサイド殺菌	50~85 (68.0)	40~80 (58.0)	55~100 (85.0)	50~100 (75.0)
+	無処理	5~80 (41.7)	0~50 (25.0)	25~100 (74.2)	5~85 (50.8)
	プロピレンオキサイド殺菌	55~90 (78.8)	40~80 (60.0)	85~100 (94.2)	85~100 (94.2)

* 着生率%，無処理新鮮アマ茎に対する着生率は100%。括弧内は平均。

放線菌を用いた方が+よりもむしろ低く、10日間生育させた場合は+の方が高くなる。抗菌力+、-何れの菌株も、アマ茎に長く生育させた方が *Rhizoctonia* の着生を抑制する。放線菌を生育させたアマ茎を殺菌すると、*Rhizoctonia* の着生はすべて良好となるが、その着生率は新鮮なアマ茎に対するよりも劣る。すなわち、アマ茎に生育する放線菌は *Rhizoctonia* の着生をある程度低下させていることは、この実験からうかがえるが、放線菌のWA上の抗菌力と基質着生を抑制する作用との間には明らかな関係は認めがたい。

なお、F-16、F-20の着生を比較すると、後者の着生率ははるかに高く、F-20は放線菌との拮抗に強いものであることがわかる。

4) 放線菌の生育した基質の抗菌作用

前項の実験に対比し、放線菌を生育させたアマ茎を用い、これに *Rhizoctonia* の生育を抑制する抗菌的要素が現われるか否かを検討した。

実験方法 前項と同じ方法で12株の放線菌をアマ茎に4日および10日間生育させた。これをWA平板上で *Rhizoctonia* (F-20) と対峙し、26°C、2日後の *Rhizoctonia* 菌糸の生育を測り、対照の菌糸生育と比較し、放線菌の生育したアマ茎の菌糸生育抑制からその抗菌作用の程度を判定した。対照は無処理新鮮アマ茎との対峙培養で、このときの生育を10とした。なお、放線菌を10日生育させたアマ茎の半数はプロピレンオキサイドで殺菌し、同様の対峙培養を行なった。また、放線菌を10日間生育させたのちアマ茎をとり出した残りの培養濾液を抗生物質検定用の濾紙円板に取り、これに対する *Rhizoctonia* の菌糸生育も比較した。

実験結果 アマ茎に放線菌を生育させたとき、アマ茎の示す *Rhizoctonia* 菌糸の生育抑制程度は放線菌菌株によりさまざま、対照の半分程度とするものから、逆に促進するものまでである。WA平板上で抗菌力の強い菌株を生育させたアマ茎に強い菌糸生育抑制があらわれるとは限らない。また、分解の進んだアマ茎から分離される放線菌を、アマ茎に生育させたとき、そのアマ茎が強い抗菌作用を示すという傾向も認められない。抗菌力+、-の両菌株群に分け、それぞれの平均値を見ると、抗菌力+、-何れも、4日間生育させたアマ茎の方が10日間生育させたよりも菌糸生育抑制は若干強い(第2表)。10日生育させたものでは+、-の菌株間に差はなく、それらを殺菌しても差は見られない。放線菌を10日生育させたアマ茎そのものよりも、そのあとの培養濾液の方がやや強い菌糸生育抑制を示す。これらから、アマ茎に放線菌を生育させたとき、生育の初期には、アマ茎に *Rhizoctonia* の生育抑制作用があらわれるとしても、

第2表 放線菌を生育させた基質の抗菌力 (*Rhizoctonia* 菌糸生育に対する作用)

供試放線菌 の抗菌力	<i>Rhizoctonia</i> の生育指数の範囲と平均			
	アマ茎に放線菌を生育させた期間とそのアマ茎の処理			培養濾液
	4日無処理	10日無処理	10日プロピレンオキサイド殺菌	
-	6.5~10.3* (7.8)	9.4~9.8 (9.5)	9.2~9.8 (9.5)	8.4~9.3 (8.5)
+	4.9~10.3 (8.1)	8.5~10.1 (9.5)	9.2~9.7 (9.5)	7.7~9.9 (8.9)

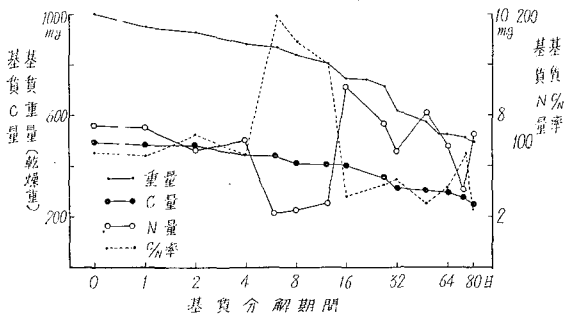
* 無処理新鮮アマ茎と対峙したときの *Rhizoctonia* (F-20) の生育を10とする。括弧内は平均。

長くなるとその作用は弱くなり、放線菌が生存しても、それを殺しても作用に大差がなくなると考えられる。

V. 土壌における基質の分解

分解アマ茎に対する *Rhizoctonia* 着生の低下を基質の側より対比して考えるため、分解に伴う重量、C、N含有量の変化を検討した。

実験方法 アマ茎を無殺菌土壌に1乃至80日間入れ、分解期間のことなるものをつくつた。これらについて、乾燥重量、全C、Nの含有量を測定した。Nの定量はマイクロケルダール法、Cはチューリン法によって行ない、これらから基質のC/N率を計算した(第7図)。



第7図 分解に伴う基質の変化

実験結果 土壌にアマ茎を入れるとその重量は徐々に減少し、16日をすぎるとやや速さが変わり、64日目には未分解のもの約半分となる。アマ茎の全C量もほぼ乾重と同じ傾向で減少する。これに対し、全N量の変化は全くことなり、分解4日目までは徐々に、6日目からは急激に減少するが、12日から16日にかけて逆に増加する。その後は増減をくりかえすが80日目までは概して高いNレベルにある。N量の変化に対応し、基質のC/N率は激しい変動を示す。すなわち、未分解アマ茎のC/N率は90であるが、6乃至12日の間に著しく高くなり、160~200を示し、その後は60~70となる。

このような結果から、基質の乾燥重量、C含量の減少に変化の見られる分解12日目以後、またC/N率の著しく変化する6乃至12日目は、基質の状態が変化する時期と見なすことができる。

VI. 基質分解の間における *Rhizoctonia* の状態

基質に着生した *Rhizoctonia* は、基質が土壌中で次第に分解する間にもどのような形態的变化を示し、衰退して行くかを知るため、菌を十分に生育付着させたアマ茎を材料として、その表面、および内部の菌の形態を観察した。

実験方法 F-16、F-20 および B-5 各菌株を PDA 平板に培養し、この菌叢上にプロピレンオキシドで殺菌したアマ茎をおいた。菌糸がアマ茎表面に充分生育したのち、これを無殺菌土壌に入れ、一定期間ごとに取り出し、その表面、あるいは内部の菌糸の状態を鏡した。

実験結果 菌叢上においたアマ茎の表面には、多数の菌糸が認められ、とくに F-20、B-5 の菌糸は表面全体に拡がり、一部は密な層状を呈している(図版 1)。これに比べ F-16 の菌糸は生育が貧弱で、その密度も小さい(図版 2)。何れの菌株も菌糸はアマ茎内部に入り生育している。それらは表面の菌糸に比べ薄い細胞壁をもち、主にアマ茎の長軸方向に伸びる。細胞の長さは短く、かつ不規則な分岐をするものが多く、表面の菌糸と明らかに区別することが出来る(図版 3)。

菌がこのような状態で存在している基質を土壌に入れると、時間の経過ともなって菌糸は次第に変化し、消滅して行く。その過程は、表面の菌糸では先ず細胞壁が肥厚し、褐色となる。次いで膨圧を失ったかの状態となり、細胞壁が波状となるものが現われ、細胞が隔膜部から切離される(図版 4)。これに前後して細胞内容の消失、細胞壁の部分的溶解、消失がおり、遂には細胞壁の小片が残るのみとなる(図版 5)。これに対し、内部の菌糸は、アマ茎を土壌に入れてからのちもしばらく増殖を続けるが、次第に細胞壁、とくに隔膜部が厚くなり、その部分のくびれが目立つようになる。細胞壁全体も褐色となるが、表面の菌糸に比べその色調は薄い。次いで隔膜部からの切離がおり、細胞は、はなればなれとなる。細胞は次第に膨圧を失ったかの外観を呈し、細胞壁の部分的な溶解消失がおり、一部の細胞壁のみ残存する。このような変化は表面の菌糸と同じであるが、その進み方は表面のものよりもおそい。

3菌株の変化を比べると、F-16のアマ茎表面の菌糸の分解、消失は最も速やか、かつ、顕著である。アマ茎を土に入れて8日目にはすでに菌糸細胞の内容が消失するものが多く、16日には細胞の多くは消滅し、細胞壁の細片となったものが見られるに過ぎない。B-5、F-20の変化はこれよりおそく、隔膜部の切離、細胞膨圧のそう失、細胞壁の部分的消失は16乃至22日目頃に見られる。

組織内の菌糸は、何れの菌株とも土に入れ2乃至4日後までは、それまでと同じ状態で、菌糸細胞の伸長、分岐が続く。F-16は8日前後から隔膜部の切離、次いで膨圧低下がおり、細胞は萎縮し、64日後にはほとんどの細胞が溶解し、一部の細胞が残存する。B-5、F-20は16日目までに隔膜部、細胞壁の肥厚がおこる。この状態

は後者でとくに明らかに認められる。22 日前後に膨脹そう失、細胞壁消失が進行する。

これら分解アマ茎組織の表面や内部に 16 日頃から糸状菌の菌糸、胞子、さらには線虫などが増加する (図版 6)。とくに、F-16 は先に記したように、表面の菌糸の生育が旺盛とはいえず、菌糸の被覆しなかった部分には他の微生物の増殖が著しく見られ、表皮、皮層組織の分解は、他の菌株よりも速かた、土壌に入れてから短期間の間に、表層は内皮とはなれやすくなる。

これらの観察から、F-16 は基質上の生育が他の菌株よりおそく、着生する密度が低いうえ、菌糸細胞の分解、消失が速かな傾向が認められる。また、最初の実験で、接種土壌に入れたアマ茎からの F-16 の分離は、2 日目まで極めて高いが、のち速かに低下することは、表面の菌糸と、組織内に存在する菌糸の消滅過程が速かであることに起因すると考えられる。組織内の菌糸は表面よりも長い期間形態的に生存が認められるが、この時期には菌は分離されなくなる。これは基質に増殖した微生物の作用が関係し、とくに F-16 の腐生能力 (competitive saprophytic ability) が弱いことに起因するものと認められる。F-20 は長期間にわたり分離されるが、これは菌糸の分解消失がおそいことと、この菌の腐生能力の強いことが関連している。

考 察

Rhizoctonia の存在する土壌に、各種の新鮮な植物遺体を入れると、菌は速かに着生する現象は多くの実験で明らかにされている^{7,8,15,16})。この基質を、そのまま土壌のなかにおくと、基質からの菌の分離率は急速に低下するが、のち一定の低いレベルで分離される⁷)。本実験に用いた F-16、F-20 の菌株は、この結果とややことなり、前者では接種土壌にアマ茎を入れてから 8 乃至 16 日の後にはアマ茎から分離出来なくなり、後者では同じ頃に分離率は最低となるが、のち再び高くなる。F-16 を生育させたアマ茎を土壌に入れると、菌糸が完全に消失するのは 16 日目であり、内部ではさらに長い期間生存している。それ以前に菌が基質から分離出来なくなることは、菌が基質上で次第に衰退、消滅して行くと同時に、ある程度以上活性がおとろえたのちは、次第に増加する基質上の微生物との分離平板に対する拮抗にやぶれ、そのため分離率が速かに 0 となることを示唆する。ただしこの事実は、土壌から *Rhizoctonia* が速に消失することを示すのではなく、基質以外の処で耐久体をつくり休止状態で生存しうるものである⁶)。一方、F-20 は基質上か

らの菌糸の消失がはるかにおそく、この菌のもつ強い腐生能力¹⁶)により、ある程度以上分解の進んだ基質で活性が増大するか、その時期の微生物群は初期のものより F-20 に対する拮抗力が弱くなっている、平板上への分離が増加したと見られる。

Rhizoctonia が土壌中の基質に腐生的に着生し、増殖することは Blair¹⁾ 以後多くの研究者により指摘されており^{5,7})、土壌のなかである程度分解したイナワラにも着生する⁷)。両供試菌株とも、予め土壌に入れ微生物が増殖し、分解の進んでいるアマ茎にも着生しうることとは明らかである。着生した基質からの分離率は、F-16 の場合 F-20 の 10 倍量の接種源を加えたときに両者同一となるにすぎないことは、F-16 の腐生能力は F-20 よりはるかに弱いことを示す。しかし、土壌に入れ分解 8 乃至 16 日の基質に対する着生が最低となり、のちやや増加する傾向は両菌とも似ている。分解基質を殺菌したときこれに対する着生が、殺菌しないものよりはるかに良好であることは、基質上の生きている微生物が大きな関係をもつことを示す。しかし、32 日以上分解した基質の場合、F-20 の分離率が基質を殺菌してもしなくても同じ程度になることは、分解の進んだ基質と、分解初期のものに対する *Rhizoctonia* の着生に対し、微生物の関係する程度がことなる可能性を示唆する。すなわち、分解初期のアマ茎に対する *Rhizoctonia* の着生と、それからの分離率が低いことと、分解が進んだものにあっても低いこととは同じ要因によるものではないと考えられる。

このような要因のうつりかわる時期は、分解基質に対する *Rhizoctonia* の着生が最低となる分解 8~16 日目、殺菌したアマ茎に対する菌の着生が急に低くなる分解 8 日目、すなわち、分解 1 乃至 2 週間にあると見なされる。この時期における基質の状態を見ると、次のようなことがわかる。分解基質を *Rhizoctonia* と対峙すると、菌糸の生育を最も強く抑制するのは分解 8 日前後の基質である。分解基質上の微生物は 64 日まで増加するが、その間 12~32 日の間に一時増加が停滞し、やや減少する。基質の N は分解 6~12 日に急減し、そののち前よりも増加する。また、基質の重量、C 量は 12 日目を以降、その減少の速さがやや変化する。基質上で増加する細菌、放線菌、糸状菌のなかで、培地上で見た抗菌力の強いものの増減と、分解基質に対する *Rhizoctonia* 着生の変動との関係は見られないが、糸状菌は分解初期に現われるものが衰退し、その後優勢となる *Fusarium*, *Trichoderma* に場をゆずるのは分解 8 日前後である。これらのことは基質の状態が分解 1 乃至 2 週間で著しく変ることを示し

ている。

分解1~2週間の間に、基質中の糖などの消失するものはあるとしても、セルロースは残存している。このことから分解初期の基質に対する着生が新鮮なものに比べはるかに低いのは、栄養レベルの低下でのみでは説明し難い。分解初期に旺盛に増加を始める微生物との間の場の取り合い³⁾、分解基質上に生ずる有害物質^{10,11)}を含め微生物の直接間接の拮抗などがその主な要因と推測される。分解初期の基質に *Rhizoctonia* の菌糸生育を抑制する作用の現われるところから、基質に抗菌的な効果が現われる可能性は認められる。しかし、抗菌力の強いものが最も多い放線菌を対象として、これをアマ茎に生育させたとき、それに対する *Rhizoctonia* の着生は低下するが、分解アマ茎の場合のように低くはない。また、放線菌の *in vitro* における抗菌力の強弱と、着生阻害の大小との間には何ら関係が認められない。このことは、放線菌以外の微生物のも含めた総合作用、さらに実験方法も検討する必要があることを示す。

摘 要

1. 土壌中に入れた基質(植物遺体)に対する *Rhizoctonia* の腐生的着生と、それを左右する要因、とくに分解基質に現われる微生物との関係を検討した。

2. 用いた菌は *Rhizoctonia* に属す2株で、1つはF-16(完全時代 *Thanatephorus cucumeris*)、他はF-20(細胞核2核、完全時代不明)である。

3. 無殺菌土壌に *Rhizoctonia* を接種し、直ちに殺菌したアマ茎を加えると、1日後から菌はアマ茎に着生し、2日目には最大分離率を示すが、のち分離率は速やかに低下し、F-16は8日目以降アマ茎から分離されなくなる。F-20は長い間分離され、のち分離率が増加する。

4. アマ茎を無殺菌土壌に入れると、細菌、放線菌、糸状菌が増加し、次第に分解し、64日後には最初の重量の半分となる。このような分解アマ茎に対しても *Rhizoctonia* は着生することが出来る。着生は新鮮なアマ茎に対するよりはるかに劣るが、着生率はF-20の方がはるかに高い。F-20は分解が進むと再び着生率の高くなる傾向がある。

5. 基質分解の初期には基質に *Rhizoctonia* の菌糸生育を抑制する作用があらわれるが、のち低下する。このような作用に最も関係するのは生きている微生物であるが、基質を殺菌しても抗菌力は残り、それは基質分解が進むと低下する。

6. 基質分解に伴って現われる微生物を分解時期ごと

に分離し、*Rhizoctonia* と対峙して、その抗菌力を検討した。放線菌には強い抗菌力をもつものが多く、糸状菌は抗菌力をもつもの数は多いが、そのうち抗菌力の強いものは放線菌よりも少ない。これら抗菌力の強い菌株が基質から分離される時期と、*Rhizoctonia* の着生が低下する時期との間には関連を見出し得なかった。

7. アマ茎に抗菌力の強い放線菌を生育させたとき、それに対する *Rhizoctonia* の着生は、弱い菌株を生育させた場合よりも劣るという傾向は認められない。また、放線菌接種アマ茎にとくに強い抗菌力があらわれるとも認められない。

8. 基質の分解ともなって、基質上の細菌、放線菌、糸状菌は分解64日まで増加するが、その間16~20日に減少する時期がある。糸状菌のうち、分解初期に現われる藻菌類は8乃至12日目に *Trichoderma*, *Fusarium* と交代する。分解基質のC/N率は6乃至12日の間に著しく高くなる。また、基質の抗菌力は6乃至12の間に最も強くあらわれる。一方、これらの時期は、分解基質に対する *Rhizoctonia* の着生が最低に達するときにほぼ匹敵する。また、新鮮基質に着生した菌の分離が出来なくなり、あるいは最低となる時期もほぼこの時である。

9. 基質に着生した菌は、基質の分解に伴って、菌糸細胞の肥厚がおこり、やがて菌糸隔膜の切離、細胞壁の消失がおこり、基質から消失する。F-16はこの過程が速やかで、F-20は長い。F-16菌糸が基質表面から消失するのは基質を土壌に入れてから8乃至16日までである。

10. *Rhizoctonia* の基質着生、とくに分解基質に対する着生が、基質分解が進むにつれ不良になるのは、基質の微生物が直接、間接に関係することは確かである。しかし、ここに行なった実験からは、それらがどのような機構によって着生を阻害しているのかは明らかとされない。

引用文献

- 1) BLAIR, I. D. 1943. Ann. Appl. Biol., 30: 118-127.
- 2) BOOSALIS, M. G. and A. L. SCHAREN 1959. Phytopath., 49: 192-198.
- 3) CLARK, F. E. 1965. In Ecology of soil-borne plant pathogen. Edited by BAKER and SNYDER Berkeley. pp. 339-345.
- 4) DAVEY, C. V., and G. C. PAPAIVIZAS 1962. Canad. J. Microbiol., 8: 847-853.
- 5) GARRETT, S. D. 1962. Trans. Brit. mycol. Soc., 45: 115-120.

- 6) 内記 隆・宇井格生 1969. 北大農学部邦文紀要, 6: 430-436.
- 7) 小倉寛典 1966. 日植病報, 32: 236-243.
- 8) PAPAIVIZAS, G. C., and C. B. DAVEY 1959. Pl. Dis. Repr., 43: 404-410.
- 9) PAPAIVIZAS, G. C., and C. B. DAVEY 1961. Phytopath., 51: 693-699.
- 10) PATRICK, Z. A., and T. A. TOUSSOUN 1965. In Ecology of soilborne plant pathogens (Edited by Baker and Snyder). Berkeley. pp. 440-457.
- 11) PATRICK, Z. A., T. A., TOUSSOUN and L. W. KOCH 1964. Ann. Rev. Phytopath., 2: 267-292.
- 12) 鈴木孝仁・宇井格生 1964. 土と微生物, 6: 1-8.
- 13) THORNTON, R. H. 1956. Nature, Lond., 177: 230-231.
- 14) 宇井格生・三井 康・原田幸雄 1963. 日植病報, 28: 270-279.
- 15) 宇井格生・内記 隆 1968. 北大農学部邦文紀要, 6: 351-358.
- 16) 宇井格生・生越 明 1960. 日植病報, 25: 236-237.
- 17) 宇井格生・生越 明 1964. 北大農学部邦文紀要, 5: 5-16.
- 18) 宇井格生・生越 明・斎藤 泉 1968. 北大農学部邦文紀要, 6: 359-363.
- 19) 渡辺文吉郎・松田 明 1966. 指定試 (病害虫), 3, 茨城農試.

Résumé

Rhizoctonia (isolate F-16: *Thanatephorus cucumeris* and F-20: binucleate *Rhizoctonia*) colonized the mature flax stem pieces which had been incubated in unsterilized soil. The saprophytic colonization of the substrates was influenced by the length of incubation: it decreased and reached a minimum on the 12th day of incubation. The colonization of F-20, then increased gradually. The sterilization of the incubated substrates with propylene oxide induced the vigorous colonization of the fungus, though the effect of sterilization gradually disappeared in the substrates incubated more than 8-12 days. The incubated substrates inhibit the growth of *Rhizoctonia* on water agar plate. The inhibiting action which was preserved after the sterilization of the substrates, increased until about the 8th day of incubation and then decreased gradually. These results suggest the appearance of inhibiting substances on the substrates which had been incubated in unsterilized soil and precolonized by soil microorganisms. The colonization of *Rhizoctonia* could be influenced by the microorganisms on incubated substrates, though the results of the experiments with those isolated from the substrates of various incubation period, were not clarified the inhibiting action of those respective isolates.

図版説明

1. アマ茎表面の *Rhizoctonia* 菌糸, アマ茎を土壌に入れる直前の状態 (F-20)
2. 同 上 (F-16)
3. アマ茎内部の菌糸, アマ茎を土壌に入れ2日目 (F-16)
4. アマ茎分解に伴う菌糸細胞の切離, アマ茎を土壌に入れ12日後 (F-20)
5. アマ茎表面の菌糸の消失, 土壌に入れ8日目 (F-16) 矢印の所に菌糸隔膜部の切離した残片のみが見られる
6. 同 上 16日後 (F-16) 菌糸は全く見られず他の糸状菌がさかんに生育し, その厚膜胞子が見られる

