



Title	寄主と非寄主作物の根圏および地下部におけるインゲン根腐病菌行動の比較
Author(s)	伊藤, 征男; IT0, Ikuo; 宇井, 格生 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 9(2), 187-192
Issue Date	1975-02-15
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/11869">https://hdl.handle.net/2115/11869</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	9(2)_p187-192.pdf



# 寄主と非寄主作物の根圏および地下部における インゲン根腐病菌行動の比較

伊藤征男・宇井格生

(北海道大学農学部植物学教室)

(昭和49年8月31日受理)

## Behavior of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* in the rhizosphere and under ground tissues of susceptible and non-susceptible plants

Ikuo ITO and Tadao Ui

(Department of Botany, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

(Received August 31, 1974)

### はじめに

インゲン根腐病菌 (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*) は、土壌中では厚膜胞子として生存し、その生存期間はきわめて長い<sup>9,10</sup>。また、寄主以外の各種作物の栽培跡地土壌中の根腐病菌数は、インゲンの栽培跡地の土壌に比べて減少しない<sup>18</sup>。この菌数の減少しない原因は、本菌の厚膜胞子が単に土壌中で生存を続けるだけでなく寄主以外の根圏でも増殖する可能性を示している。

土壌中の根腐病菌の行動に及ぼす植物根の影響については、幼苗期のインゲンの根圏や根の分泌物を加えた土壌における厚膜胞子の発芽、および寄主体侵入など数多くの報告がある<sup>2,3,5,12,13,15</sup>。さらに前報において著者らは根腐病激発畑に栽培したインゲンの根腐病の発病経過を観察し、根圏土壌や病斑組織中の根腐病菌数はインゲンの生育に伴う病状の激化とともに増加することを明らかにした<sup>6</sup>。しかしながらこれらはいずれも根腐病菌の行動におよぼす寄主根の影響であり、寄主以外の根については明らかでない。

本実験は、根腐病菌の土壌中における生活を解明するための手掛りとして、寄主根と非寄主根の本菌の行動に及ぼす影響を比較した。

### 材料と方法

**供試植物：** 寄主であるインゲン (品種：大正金時) と寄主でないソラマメ (品種：早生蚕豆) を用いた。

**供試菌：** 用いた根腐病菌は信州大学繊維学部松尾卓

見教授より分譲された菌株であり、この菌は北海道において発生したインゲン根腐病の病斑組織から分離されたものである。

**土壌と接種法：** 厚膜胞子の発芽に用いた土壌は北海道大学農場の腐植に富む植壤土 (pH 5.0~5.2) である。これに予め2% 蔗糖加用馬鈴薯煎汁培地で25°C、約3週間培養した根腐病菌の菌体をワーレンブレンダーで磨砕したものを混和接種し、約1カ月間室温に放置し土壌中で厚膜胞子を形成させた。この接種に用いた土壌中の *Fusarium* 菌は、大部分が根腐病菌で他の *Fusarium* 菌は全体の13%以下であった。この他に北海道立十勝農業試験場のインゲンを2年間連作した畑土壌 (火山灰性壤土, pH 5.8) も用いた。この中の根腐病菌数は  $2.1 \times 10^3$ /g 乾土であった。

**根の分泌物：** 500 ml 容三角フラスコにパーライト約20gを入れ、蒸留水を加えて湿潤状態とし、線栓をして高圧蒸気殺菌した。これに70%アルコール、1,000倍昇こう水で約30秒間ずつ表面殺菌し、殺菌水でくり返し十分に水洗したインゲン、あるいはソラマメの種子を5粒ずつ入れ、25°Cに保ち無菌的に発芽させた。発芽後25°Cのファイトトロンに移して1週間培養した。次にこのインゲン、ソラマメを取り除き10個の三角フラスコにおのおの100 mlの蒸留水を加えて浸とう機で30分間浸とうし、パーライトを濾別した。この濾液を集め50°Cで減圧濃縮し50 mlとし、これを根の分泌物とした。

**根圏土壌中の厚膜胞子の発芽：** 湿らした濾紙をしいたシャーレ (径9 cm) の半分に接種土壌をつめた。土壌

表面にあらかじめ無菌的に発芽させておいた発芽3日目のインゲンあるいはソラマメの幼苗をおいた。その上にさらに湿った濾紙をかぶせ、ふたをしてセロテープで固定した。根部が下になるようにシャーレを立てかけ、25°Cに24時間おいたのち、胚軸、主根、および側根から2~3mmの土壌を集めてこれを根圏土壌とした。この土壌を界面活性剤(ツイン80)を加えたアニリンブルー液に懸濁し、その一滴をスライドガラスになすりつけて検鏡した。50個の厚膜胞子を検鏡して、その発芽率を求め、発芽したもののすべてについて発芽管長を測定した。実験は3反復し、その平均値を求めた。対照として植物根を埋めない土壌について同様の方法で行なった。

**根の分泌物による厚膜胞子の発芽:** 根の分泌物をしみこませたグラスウール製の濾紙を、接種土壌に埋めた。25°Cに24時間おいたのち口紙より2~3mmの部分の土壌をとり、その中の厚膜胞子の発芽率、発芽管長を調査した。対照は蒸留水をしみこませたグラスウール製濾紙周辺の土壌である。

**根圏土壌および根の表面の根腐病菌の状態:** インゲン、ソラマメの主根部(インゲンでは根腐病の病斑部)を根に附着している土壌とともに界面活性剤を加えたアニリンブルー液に入れ、浸とう機で浸とうして土壌懸濁液を作った。この懸濁液をスライドガラスにぬりつけて検鏡した。また主根の表皮をはぎとり、アニリンブルー液で染色して表面の状態を観察した。

**根圏土壌、地下の部の組織中の根腐病菌数:** 十勝農業試験場の畑土壌を木箱につめ、燐酸エチル水銀で表面消毒したインゲン、ソラマメを播種し温室で栽培した。発芽後3, 6, 10, 20, 30, 40および50日目に5個体ずつ抜きとり、根圏土壌あるいは地下部の組織(インゲンでは根腐病の病斑を含む)より根腐病菌を分離し、組織の単位重量当りの菌数を求めた。方法は、前報<sup>6)</sup>によった。

## 実験結果

### 1. 厚膜胞子の発芽におよぼす根の影響

根腐病菌を接種した土壌中の厚膜胞子の発芽に対するインゲン、ソラマメの根、および分泌物の影響を比較した。

1) 根圏における発芽: 根腐病菌を接種した土壌にインゲン、およびソラマメ根を入れたとき、根と接する土壌中の厚膜胞子は発芽し、24時間後に発芽率はインゲン根圏で14.4%、ソラマメ根圏で16.0%であり、発芽率に有意差は認められなかった。発芽した厚膜胞子の発芽管長はそれぞれ20.0 $\mu$ 、18.3 $\mu$ であり、両者の間に有意

**第1表** インゲン、ソラマメの根圏土壌中における根腐病菌の厚膜胞子の発芽

	発芽率 (%)	発芽管長 ( $\mu$ )
インゲンの根圏	14.4	20.0
ソラマメの根圏	16.0	18.3
L.S.D 1%	6.54 (N.S)	10.61 (N.S)
L.S.D 5%	2.58 (N.S)	4.60 (N.S)

**第2表** 土壌に加えた根の分泌物による根腐病菌の厚膜胞子の発芽

	発芽率 (%)	発芽管長 ( $\mu$ )
インゲン根からの分泌物	27.1	57.3
ソラマメ根からの分泌物	22.9	55.2
L.S.D 1%	11.60 (N.S)	16.86 (N.S)
L.S.D 5%	5.03 (N.S)	7.31 (N.S)

差は認められなかった(第1表)。また根から離れた土壌中の厚膜胞子は発芽していなかった。

2) 根の分泌物による発芽: インゲン、ソラマメの根の分泌物をグラスウール製の濾紙にしみこませて根腐病菌を接種した土壌に埋めるとその周辺の土壌中の厚膜胞子は発芽し、24時間後に、それぞれ27.1%、22.9%であり、その発芽管長はそれぞれ57.3 $\mu$ 、55.2 $\mu$ であった。両区の発芽率、発芽管長には有意差が認められなかった(第2表)。また、蒸留水では厚膜胞子の発芽はおこらなかった。

すなわち、根腐病菌の厚膜胞子は、根圏以外の土壌、あるいは蒸留水を加えた土壌では発芽しないが寄主であるインゲン、寄主でないソラマメ何れの根圏土壌中で同じように発芽する。また両者の根の分泌物も土壌中の厚膜胞子の発芽を同じように促進する。

### 2. インゲン、ソラマメの生育と根の状態

インゲン、ソラマメの生育の全期間を通じて根腐病の発病経過と根の表面、根圏土壌中における根腐菌の状態を観察した。

インゲンの根は、発芽3日目には主根の一部が褐変し、その後日数の経過とともに胚軸、側根にも褐変が現われた。温室内においたインゲンが開花した発芽20~30日目には、褐変が胚軸、根系全体に拡がり、表皮の腐朽、崩壊

が認められ、病斑部は暗褐色あるいは黒褐色となった。これに対してソラマメでは温室内で池上部が枯凋する50日目以降根は黒褐色となったがそれまではほとんど変色することはなかった。

インゲン、ソラマメの主根部（インゲンでは根腐病の病斑部）の根面および根圏土壌中には *Fusarium* 菌の厚膜胞子が認められ、その大部分は発芽していた。

インゲンの開花期、すなわち温室内で発芽30日目頃、褐色となった胚軸、主根の表面にスポロドキアが現われ、そこに多量の大型分生胞子が形成されていた（第1図）。これらを分離するとそのほとんどが根腐病菌であった。病斑上に形成されたスポロドキアと大型分生胞子は、その後、消失し、インゲン地上部の枯凋期には根面や根の周辺の土壌中にはほとんど認められなくなり、内容の消失した大型分生胞子の残骸やその一部の厚膜化したものもあったがその大部分は厚膜胞子となっていた。

これに対してソラマメの生育期間中、根圏土壌や根面には大型分生胞子はみられず厚膜胞子やその発芽したものしか認められなかった。地上部が枯死する発芽60日目以降、黒褐色となった根の表面にスポロドキアが認められ、大型分生胞子を多量に生じていた。これらの大型分生胞子は大部分が根腐病菌であった。また枯凋期の黒褐色に変色した根の組織を磨砕し、これをスライドグラスになすにつけて検鏡したところ *Fusarium* 菌の厚膜胞子が観察され、分離するとその多くが根腐病菌で

あった。

根腐病菌のインゲン、ソラマメの根部における行動のちがいを要約すると次のようになる。

インゲン根圏で発芽した厚膜胞子の発芽管は胚軸に侵入して根腐病の病斑を生ずる。侵入した菌糸は組織中をまん延し厚膜胞子を形成する。またこれら病斑上にはのちにスポロドキアが形成され、そこに大型分生胞子を多数生ずる。この大型分生胞子はのちにその一部が厚膜胞子となる。これに対してソラマメ根圏で発芽した厚膜胞子の発芽管はソラマメが活発に生育している時期には侵入出来ないが、地上部が完全に枯死すると根面の菌は組織内に侵入する。組織内には厚膜胞子が形成され、黒褐色に変色した根の表面にスポロドキアと大型分生胞子を生ずる。

### 3. 根圏土壌中の根腐病菌数

インゲン、ソラマメの発芽3日目から地上部の枯凋する50日目まで根圏土壌中の根腐病菌数を定量した（第3表）。

栽培前の土壌中の根腐病菌数は  $2.1 \times 10^3/g$  乾土であった。

インゲンの根圏土壌中の根腐病菌数は、土壌よりも多く発芽20日目病斑の表面にスポロドキアが形成されると大型分生胞子により菌数は著しく増加し、生育期間中の最大の値を示した。その後、結実、枯凋期には減少し、収穫時には栽培前の菌数とほとんど差がなくなった。

第3表 インゲン、ソラマメの生育と根圏土壌中の根腐病菌数 ( $\times 10^3/g$  乾土)

根圏土壌	生 育 日 数						
	3	6	10	20	30	40	50
インゲン	12.6	6.6	80.0	140.0	15.0	7.0	2.9
ソラマメ	—*	2.6	7.0	—	5.3	—	5.0

\* 稀釈平板法による稀釈濃度  $10^{-3}$  で検出されない

これに対してソラマメの根圏土壌では生育が進んでも根腐病菌数はほぼ  $10^3/g$  乾土で、その生育期間中、根圏土壌の菌数は栽培前の土壌の菌数と差はほとんど認められなかった。ソラマメの根の表面にスポロドキアと大型分生胞子が形成されるのは、地上部の枯死する発芽60日目以降であり、それ以前には大型分生胞子形成による菌数の増加はおこらなかった。

### 4. インゲン、ソラマメの地下部の組織中の根腐病菌数

インゲン地下部の組織中の根腐病菌は、発芽3日目、



第1図 インゲンの根腐病の病斑上に形成されたスポロドキアと大型分生胞子

第4表 インゲン、ソラマメの生育と地下部組織中の根腐病菌数 ( $\times 10^3/g$  組織乾重)

地下部組織	生産日数						
	3	6	10	20	30	40	50
インゲン	—*	2.5	7.0	1.7	27.0	12.7	46.0
ソラマメ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0

\* 稀釈平板法で稀釈濃度  $10^{-3}$  では検出されない

稀釈平板法で稀釈濃度  $10^{-3}$  では検出されなかったが、発芽6日目に組織中の菌数は  $2.5 \times 10^3/g$  組織乾重となり、その後、インゲンの生育が進み、病状が激化するとともに増加し、枯凋期の発芽50日目には  $46.0 \times 10^3/g$  組織乾重となった(第4表)。

これに対してソラマメの地下部組織からは、地上部が枯凋して主根が黒褐色に変色した発芽50日目になってはじめて組織から根腐病菌が分離され、その菌数は  $5 \times 10^3/g$  組織乾重であった(第4表)。

#### 5. 衰弱したソラマメの地下部組織中の根腐病菌数

高圧蒸気殺菌した土壌(北大農場土)に根腐病菌の大型分生胞子を接種し、これにソラマメを播種した。発芽14日目に地上部を切除して人為的に地下部を衰弱させ、その後に地下部に根腐病菌が侵入し、組織内で増殖する程度を組織中の菌数の増加により調べた。なお地上部を切除したソラマメは切除した地際部から新しい葉を生じ、地下部は枯死していない。地上部を切除しないソラマメを対照とした(第5表)。

無処理のソラマメ組織から実験期間中、根腐病菌は全く分離されなかった。

一方、地上部を切除したものでは14日目に地下部から分離され、組織中の菌数は  $5.0 \times 10^3/g$  組織乾重であった。

すなわち、ソラマメが活発に生育している期間中その地下部組織に根腐病菌は侵入出来ないが、地上部を切除して衰弱すると侵入する。

第5表 地上部を切除したソラマメの地下部組織中の根腐病菌数 ( $\times 10^3/g$  組織乾重)

	処理後の日数*	
	7	14
地上部切除	0.0	5.0
無処理	0.0	0.0

\* 発芽14日目に地上部を切除

## 論 議

根腐病菌は、土壌中で厚膜胞子を形成し、発芽することなく生存し、寄主あるいは、非寄主の根圏で発芽する<sup>1,5,7,9,13,15</sup>。

本菌を接種した土壌にインゲン、ソラマメ幼苗の地下部を埋めると根の近辺の厚膜胞子は発芽する。また両者の根の分泌物を加えると発芽する。しかしながら根の存在しない土壌、あるいは蒸留水を加えた土壌では発芽しない。厚膜胞子の発芽率、発芽管長には、インゲン、ソラマメの間で有意差は認められず、いずれの根圏、および根の分泌物を加えた土壌でも同じように厚膜胞子の発芽が促進される。この事は、本菌の厚膜胞子が根の分泌物中の糖アミノ酸のいずれか1種によっても発芽が促される<sup>4,5,12,14</sup> ことから当然であり、寄主の根に特異性は認められない。

インゲンの根圏で発芽した厚膜胞子の発芽管は侵入し、すみやかに病斑が形成される。根圏土壌中の菌数は、インゲンの生育により周辺土壌より増加し、開花期頃に最高に達する。その後、結実、枯凋期には菌数が減少し、枯凋期には栽培前の菌数とほとんど差がなくなる。

これに対してソラマメの根圏では地上部の生育期間中、菌数はほとんど変動がなく土壌中と同一である。

両植物の根圏で厚膜胞子のほとんどが発芽していた。

インゲンでは病斑が形成され、拡大して胚軸、根系全体に褐変が拡がると地際部の病斑上にスポロドキアが現われ、大型分生胞子が多数形成される。この時期は開花期で根圏土壌中の菌数をもっとも多い時期である。大型分生胞子の一部は結実、枯凋期までに厚膜化しており、一部は消滅して根圏土壌には厚膜胞子だけが存在する。

ソラマメの生育期間中、根圏には厚膜胞子しかみられないが地上部が枯死すると根の黒褐色に変色した部位にスポロドキアと大型分生胞子が形成される。大型分生胞子は後に一部が厚膜胞子となる。

地下部組織中の菌数はインゲンでは病状の激化とともに増加するが、ソラマメでは地上部が枯死し、根が黒褐色に変色して始めて根腐病菌は組織中に侵入し、厚膜胞子を形成する。

また本菌は、ソラマメの地上部を切除して人為的に衰弱させた根の組織に侵入する。すなわち、本菌は寄主以外の植物に対してもその衰弱した組織には侵入することが出来内部で厚膜胞子を形成し、組織中の菌数の増加が見られる。また本菌は他の病原菌が形成した病斑にも侵入出来るとされ<sup>11)</sup>、本菌の増殖の場は寄主のみならず

他の植物の衰弱あるいは枯死した組織にもあると認められる。

### 摘 要

1. 根腐病菌のインゲン、ソラマメの根圏土壤中、および地下部組織中における行動を比較した。
2. 根腐病菌の厚膜胞子は、インゲン、ソラマメの根圏土壤あるいは両者の根の分泌物を加えた土壤中で著しく発芽し、その発芽率、発芽管長には有意差はない。根の存在しない土壤に蒸留水を加えたのみでは発芽しない。
3. インゲンの根圏土壤中の根腐病菌数は、インゲンの生育が始まると増加し、開花期頃に最高に達する。その後、結実、枯凋期には減少し、栽培前の土壤の菌数とほとんどがいがなくなった。これに対してソラマメの根圏土壤中の菌数は、生育期間中ほとんど変化がなかった。
4. インゲン、ソラマメの根圏土壤中の厚膜胞子は、そのほとんどが発芽していた。インゲンでは病斑が胚軸、根系全体に拡がるとスポロドキアが生じ、そこに大型分生胞子が多数形成される。ソラマメでは地上部が枯死して根が黒褐色に変色してからスポロドキアと大型分生胞子が形成される。これら大型分生胞子は後にその一部が厚膜胞子となる。
5. インゲンの病斑組織内の根腐病菌数はその生育、病状の激化とともに増加する。ソラマメでは、地上部が枯凋して根が黒褐色に変色してからはじめて分離される。
6. ソラマメの地上部を切除して人為的に地下部を衰弱させると、地下部組織から根腐病菌が分離される。以上のことから寄主とはなり得ないソラマメであっても、衰弱枯死したとき根圏に生存する根腐病菌の侵入増殖の場となりうると認められる。

### 引用文献

- 1) BROWN R. (1946): Biological stimulation in germination. *Nature (London)*, **157**: 64-69.
- 2) CHATTERJEE P. (1958): The bean root rot complex in Idaho. *Phytopathology*, **48**: 197-200.
- 3) CHRISTOU T. and W. C. SNYDER (1962): Penetration and host-parasite relationships of *Fusarium solani* f. *phaseoli* in the bean plant. *Phytopathology*, **52**: 219-226.
- 4) COOK R. J. and H. N. SHROTH (1965): Carbon and Nitrogen compound and germination of chlamydo spores *Fusarium solani* f. *phaseoli*. *Phytopathology*, **55**: 254-256.
- 5) COOK, R. J. and W. C. SNYDER (1965): Influence of host exudates on growth and survival of germings *Fusarium solani* f. *phaseoli* in soil. *Phytopathology* **55**: 1021-1025.
- 6) 伊藤征男・宇井格生 (1973): インゲン根腐病の発病経過と根圏および病斑内の病原菌数. 北大農, 邦文紀要, 第8巻, 第5号, 391-395.
- 7) JAKSON R. M. (1957): Fugistasis as factor in the rhizosphere phenomenon. *Nature (London)*, **180**: 96-97.
- 8) MALOY O. C. and W. H. BURKHOLDER (1959): Some effects of crop rotation on the *Fusarium* root rot of bean. *Phytopathology*, **49**: 583-589.
- 9) NASH S. M. T. CHRISTOU and W. C. SNYDER (1961): Existence of *Fusarium solani* f. *phaseoli* as chlamydo spores in soil. *Phytopathology*, **51**: 308-312.
- 10) ——— and J. V. ALEXANDER (1965): Comparative survival of *Fusarium solani* f. *cucurbitae* and *F. solani* f. *phaseoli* in soil. *Phytopathology*, **55**: 963-969.
- 11) ——— and W. C. SNYDER (1967): Comparative ability of pathogenic and saprophytic *Fusaria* to colonize primary lesion. *Phytopathology*, **57**: 293-296.
- 12) SCHROTH M. N. and ——— (1961): Effect of host exudates on chlamydo spore germination of bean root rot fungus *Fusarium solani* f. *phaseoli*. *Phytopathology*, **51**: 389-393.
- 13) ——— and F. F. HENDRIX JR. (1962): Influence of non-susceptible plant on the survival of *Fusarium solani* f. *phaseoli* in soil. *Phytopathology*, **52**: 906-909.
- 14) ——— T. A. TOUSSOUN and W. C. SNYDER (1963): Effect of certain constituent of bean exudate on germination of chlamydo spores of *Fusarium solani* f. *phaseoli* in soil. *Phytopathology*, **53**: 809-812.
- 15) TOUSSOUN T. A. and W. C. SNYDER (1961): Germination of chlamydo spores of *Fusarium solani* f. *phaseoli* in unsterilized soil. *Phytopathology*, **51**: 620-623.

### Summary

Chlamydo spores of bean root rot fungus, *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* germinated not only in the rhizosphere of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) but non-susceptible broad bean (*Vicia faba* L.). The root exudate of both beans added in unsterilized

soil induced the germination of chlamydo-spores in soil. The propagules of the fungus increased in bean rhizosphere, but did not in broad bean. The sporodochia were produced in flowering beans and caused ephemeral increase of propagules in the soil around them. The sporodochia in broad bean produced in hypocotyl after the death of plant. Dilution plate count with blended hypocotyls was adopted to isolate and count the pathogen invaded both bean plants grown in infested field

soil. The number of propagules per gram of hypocotyl increased with the age of bean; ie. with the increase of disease severity; while those in broad bean was detected after the plants became moribund. The propagules in the root of young broad beans were isolated after the removal of their shoot. The data suggest that the fungus in rhizosphere attacks non-susceptible plants when they became moribund.