

土壤病原菌の土壤生態学的研究

第10報 C/N 比を異にする土壤中における
白絹病菌の生態について*

有村光生・権藤道夫

Soil-ecological Studies on the Soil-pathogens

10. Ecological Studies of *Corticium rolfii* (Sacc.) Curzi in Soils treated with Different C/N Ratios

Mitsuo ARIMURA & Michio GONDO

(Laboratory of Plant Pathology)

緒 言

土壤病原菌の土壤生態学的研究の一連の実験として、第4報¹⁾においては、殺菌土における白絹病菌に対する土壤諸要素の影響を論じ、第8報²⁾においては、自然土における白絹病菌に対する土壤諸環境要素の影響を論じた。第9報³⁾においては、白絹病菌に対する抵抗性、罹病性植物の搾汁液がいかに本菌の発育に影響を及ぼすかを論じた。本報においては、殺菌土・無殺菌土における本菌の生態を土壤 C/N 比を変化させることにより論じ、同時に土壤呼吸量及び本菌と他の土壤微生物の消長を検した。又第9報において論じた抵抗性、罹病性の関係を、土壤 C/N 比の関係から論じ、又土壤呼吸の関係より研究した。

本研究に当って協力した当教室専攻学生に対し深謝の意を表する。

実 験 材 料

供試菌は九州大学農学部植物病理学教室保有の *Corticium rolfii* (Sacc.) Curzi の菌株を譲り受け、当教室において、馬鈴薯蔗糖寒天培養基上で純粋培養したものをを用いた。

供試土壌は本学圃場より採取したシラスに由来する甲突川および新川沖積層の細砂壤土を風乾後、20 mesh 篩で篩別して用いた。

供試植物としては罹病性植物としてツルナシインゲン、抵抗性植物として、水稻（農林18号）を使用した。

根圏土壌として使用する時は、これらの植物を2週間ポットに生育せしめた後、20 mesh の篩にかけ篩別し実験に供した。

実 験 方 法

植生を異にしない自然土における白絹病菌の生態的研究においては、上記土壌 50 g を直径 7 cm のペトリ皿に入れ、本菌の生育最適湿度である土壤最大含水量の 40 % になるように調節して、1週間馬鈴薯蔗糖寒天培養基上で発育させた本菌の直径 7 mm の菌叢 disc をペトリ皿の中心におき、水分の減損を防ぐために、ポリエチレンの袋に入れて、27°C の定温器中に置いた。

* 本報告は昭和41年度日本植物病理学会で講演したものである。また本研究の1部は鹿児島大学援助会研究援助金によるものである。

C/N の調製に当っては、炭素源としては、2%蔗糖を用い、窒素源としては、 NH_4NO_3 を使用した。C/N 比は、炭素源は一定にし、窒素源として NH_4NO_3 を変化さすことによって、C/N 比を調製した。

菌の population を調べるに当っては、SCHENCK, N. C. & CURL, E. A⁴⁾ 等の迅速稀釈定量法により供試土壌中の非病原菌類および細菌のコロニー数の測定を行なった。すなわち供試土 50mg を 1 オンス瓶に 20 ml の殺菌水と共に入れ、20 秒間振盪した後、医用点滴瓶に移し、シャーレ中のローズベングル加用馬鈴薯寒天培養基にヒトマイシンを 2 滴宛、滴下したものを菌類の分離培養基とし、細菌の培養基としては THORNTON の Standardized Medium を使用し、細菌については 2 日後、菌類については、4 日後、コロニーの測定を行なった。

呼吸量の測定は同じ区の 5 個のペトリ皿より均等に土壌 5g を計りワールブルグ氏の検圧計で測定した。

実験結果及び考察

1. 殺菌土における C/N 比を異にする土壌中における白絹病菌の生態

1) C/N 比を異にする土壌中における菌糸の生育

土壌の C/N 比は種々の土壌微生物の生育、増殖にとって重要な要素となっているが、この場合は

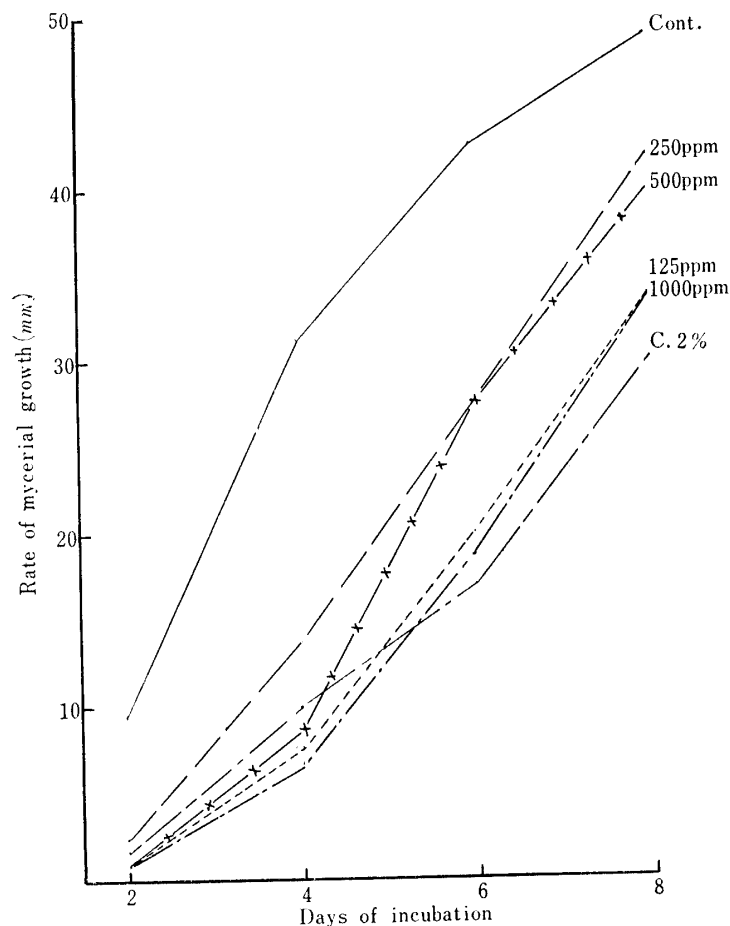


Fig. 1. Effect of different C/N ratios in sterilized soil on the mycelial growth.

炭素源は一定とし NH_4NO_3 を 1000, 500, 250, 125 ppm になるように土壤に添加した。その結果 Fig. 1 に見られるように、殺菌水だけ加えた対照区の発育が最も良く、各 C/N 比区間には大差は認められなかった。しかし菌糸の密度の点から考察すると、対照区が一番薄く、 NH_4NO_3 を添加した各区が大であり、菌糸の活性から見ると明らかに N 源添加区が大であった。

2) C/N 比が本菌の菌核形成に及ぼす影響

殺菌水だけを加えた対照区においては、接種後 10 日位から菌核形成を始め、徐々にその数を増加するが、各 C/N 比区においては、接種後 14 日より菌核形成を始める。接種後 14 日では、対照区が他の C/N 比区に較べその形成数が多いが、16 日以降となると、N 添加区の方が対照区より菌核形成数が急激に増加する (Fig. 2)。

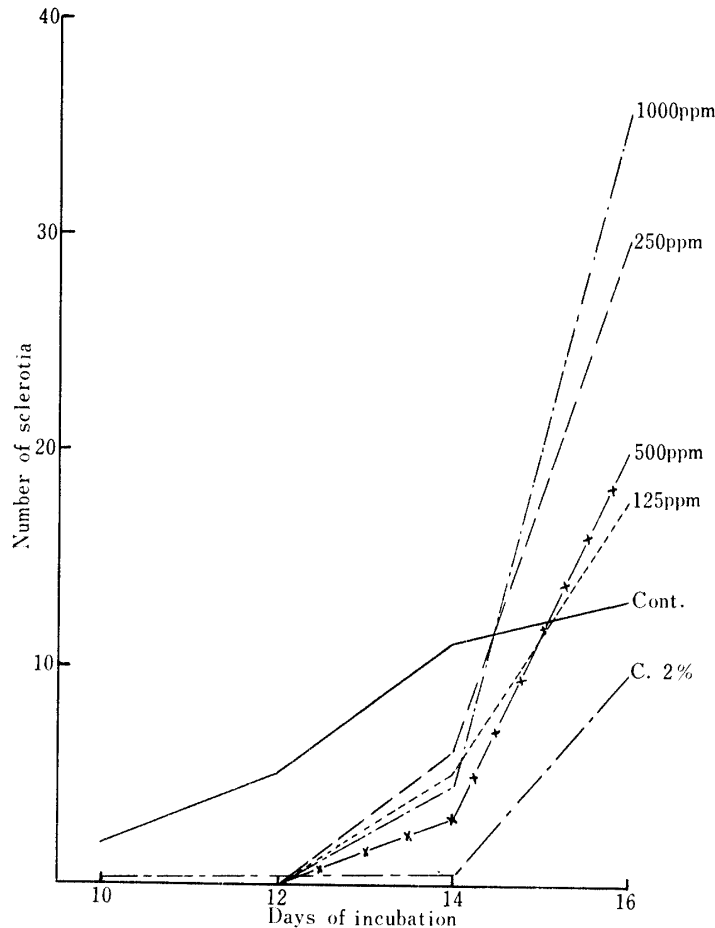


Fig. 2. Effect of different C/N ratios in sterilized soil on the sclerotia formation.

3) 本菌の各 C/N 比区間における土壤呼吸量の変化

接種後 30 分の土壤呼吸量は、初期においては各 C/N 区間では大差は認められないが、呼吸量の最大となる 8 日目には、対照区が最低となり、 $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 125 \text{ ppm}$ 区が最大となり、全区とも接種後 8 日以降となるとその量は減少する (Fig. 3)。これらのことは、養分として与えた窒素源及び炭素源の添加が、本菌の生育を旺盛ならしめ、それによって呼吸量も増大したことを意味する。8 日目をすぎると、栄養源の枯渇を意味し、あるいは菌糸の成熟に伴って呼吸量の減少を意味すると思われる。

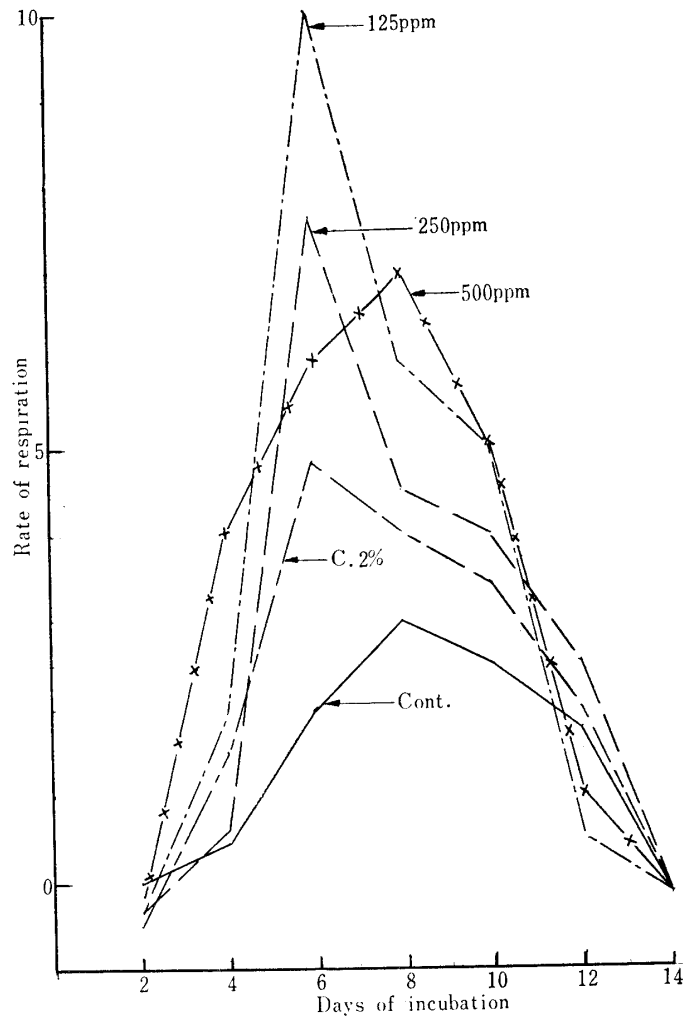


Fig. 3. Soil respiration in sterilized soil treated with different C/N ratios.

以上のことから、殺菌土壌における本菌は C/N 比が大なるにつれて菌糸の密度が大となりそれに伴う呼吸量も増加し、菌核形成数も多くなったと推察される。

2. 植生を異にする土壌中における白絹病菌の生態

1) 異った根圏土壌における本菌の生育及び菌核形成

罹病性植物（インゲン）、抵抗性植物（水稻）を生育させた根圏土壌における本菌の菌糸の生育は、水稻、インゲン両区間に差は認められないが、C源（2% 蔗糖）を添加した稲の根圏土壌においては、本菌の菌糸の生育が悪いことが見られた（Fig. 4）。菌核形成は、Fig. 5に見られるごとく殺菌土壌に殺菌水を加えた対照区に比較して、インゲン根圏土壌に炭素源 2% 添加区において菌核形成数が最も大で、イネ根圏土壌に炭素源 2% 添加した区が菌核形成数が小であった。

2) 植生を異にする土壌における本菌の呼吸量の変化

本菌の呼吸量は対照区に比較しては、多少大きい傾向はあるが（Fig. 6）、植生を異にする根圏土壌間においては、呼吸量の変化は認められなかった。

以上植生を異にする根圏土壌における本菌の生態について見ると、炭素源 2% を添加したイネ根圏土壌においては、本菌の菌糸の生育及び菌核形成に影響を及ぼしたことは、炭素源の添加により根圏

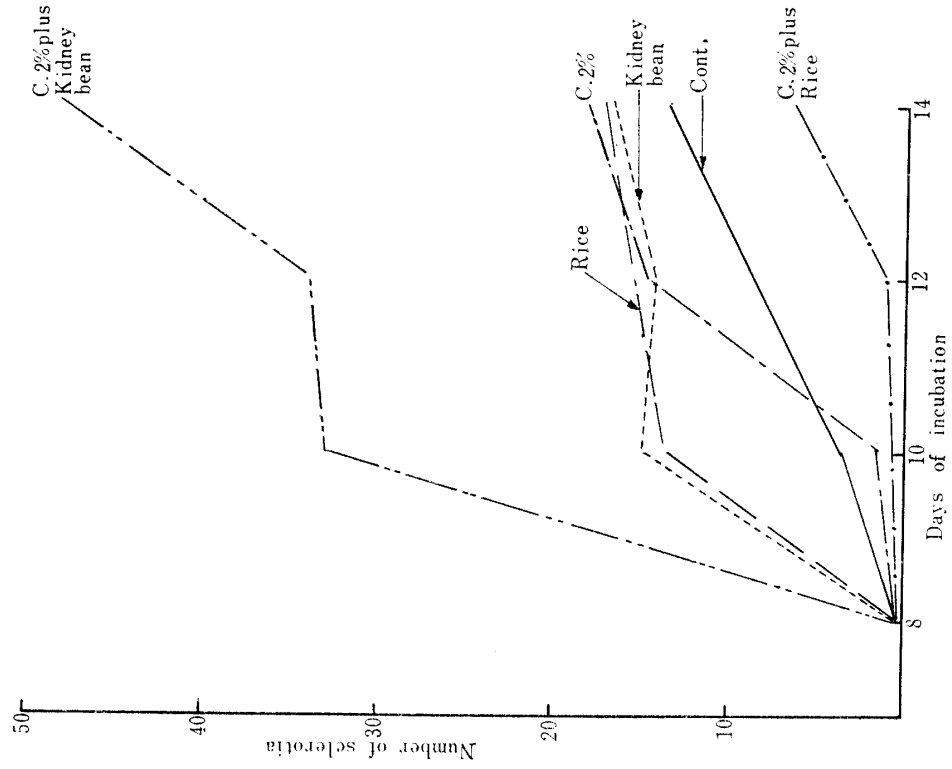


Fig. 5. Sclerotia formation in soil planted with different kinds of plant.

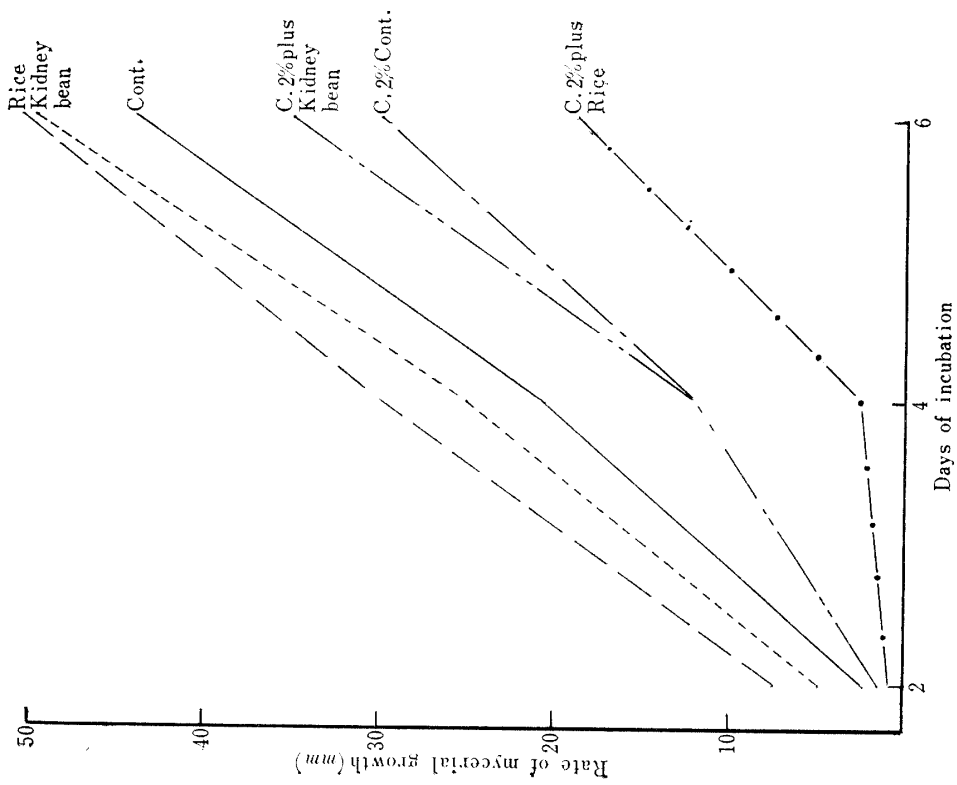


Fig. 4. Mycelial growth in sterilized soil planted with different kinds of plant.

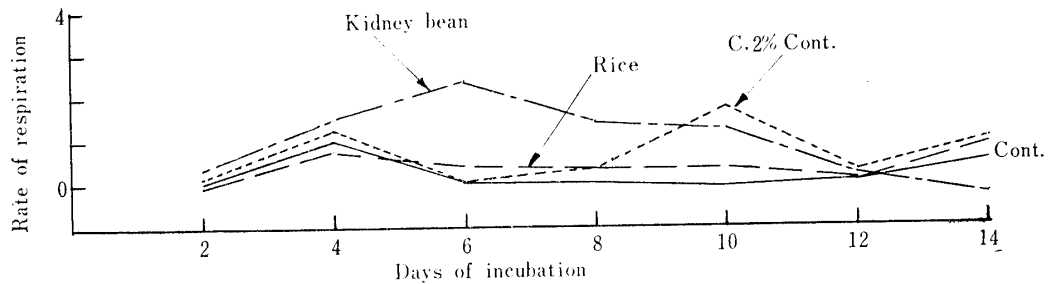


Fig. 6. Soil respiration in sterilized soil planted with different kinds of plant.

土壌の C/N 比が変化し、これが菌糸の伸長および菌核形成に影響を及ぼしたか、或はその他の菌核形成の機構に何等かの影響を与えたものと思われる。

3. 自然土における白絹病菌の生態について

1) 自然土における本菌糸の伸長

本菌の菌糸の伸長はきわめて悪く 1～2 本の菌糸束がのびるにすぎない。このことは土壌に存在する他の土壌微生物との競合の結果と見られる。

2) 自然土における本菌の呼吸

上記の如く本菌の菌糸の伸長は悪く、のち消滅する程で、実際の呼吸量は他の土壌微生物の呼吸量が示されたものと思われる。接種後 16 時間で呼吸量は最大となり、1000, 500, 250, 125 ppm, C 2% 添加区、対照区と濃度の順に呼吸量は低下した (Fig. 7)。土壌中における白絹病菌の生育は、土壌は極めて複雑な組成を有する空気相、液相、固体相の三相から出来ている不均一なものであるから、本菌の固体培地における種々の最適培養条件と異なることは当然である。⁵⁾ 又無殺菌土壌においては無

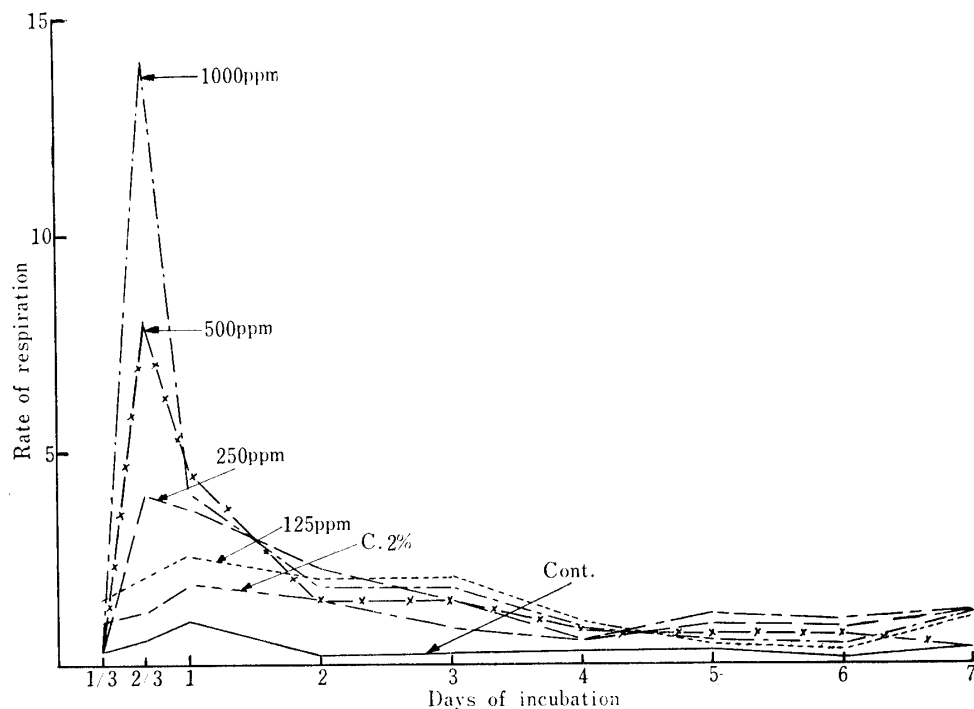


Fig. 7. Soil respiration in natural soil treated with different C/N ratios.

論上述の物理的要素の他に極めて多種多様な微生物が土壤中に存在しているから、当然これらの土壤微生物の影響をうけることは間違いないことであり、微生物の栄養分でもっとも必要とするものは炭素化合物であるが、これらの炭素化合物の大半は植物遺体として土壤に供給される。これらの遺体は、かなり急速に CO_2 の放出を伴ないながら分解され、最後には比較的分解を受けにくい腐植となる。又微生物として重要な窒素化合物は主に植物遺体として土壤に供給される。N は C と違って、植物分解の過程でも殆んど損失することはない。⁶⁾ したがって植物遺体の C/N 比が木質組織で 200/1、マメ科で 30/1 分解が進むにつれて 12/1 に近づく。12/1 という比は細菌細胞のそれと同等である。⁷⁾ 以上のことから考えると、この実験に供した土壤は相当程度分解の進んだ土壤であり、実験の際、添

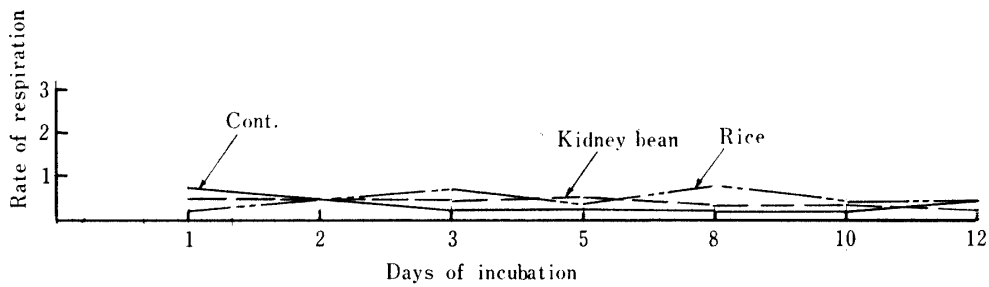


Fig. 8. Soil respiration in natural soil planted with different kinds of plant.

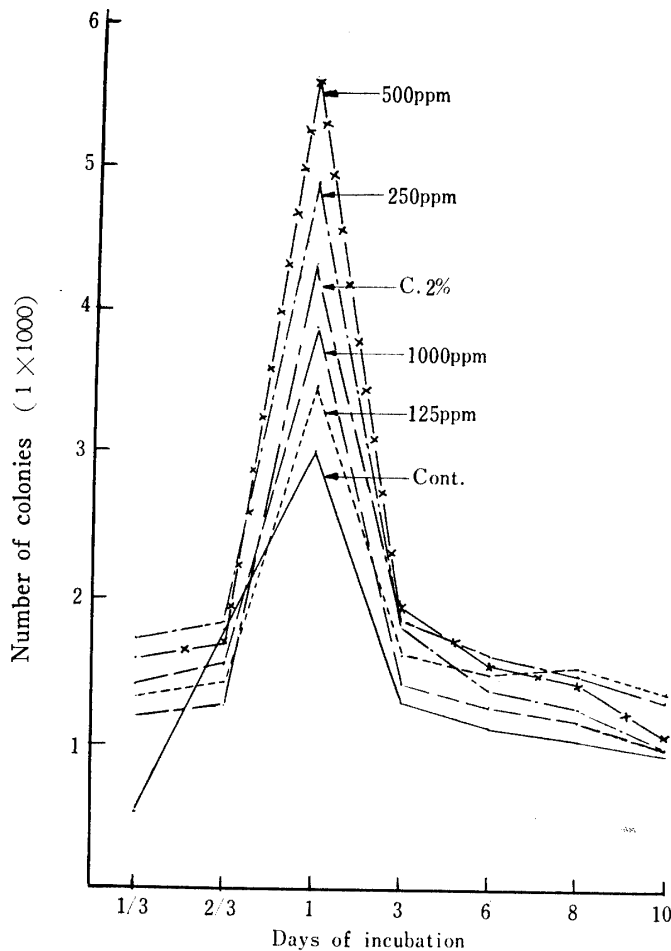


Fig. 9. Effect of different C/N ratios in natural soil on bacterial population.

加した C/N 比は 160/1, 80/1, 40/1, 20/1 である故に上述の急激な CO_2 の放出をともない最終的には安定した呼吸量即ち分解された土壌になったと思われる。

3) 植生を異にする場合の土壌呼吸作用

罹病性であるインゲン根圏土壌, 抵抗性であるイネ根圏土壌を用いたが, 両区間とも対照区と大差は認められなかった (Fig. 8).

4. 土壌呼吸作用と他の土壌微生物の population

1) C/N 比を異にする土壌における呼吸作用

Fig. 9 に見られるように, Bacteria の場合においては 500 ppm 区が最大で, 対照区が最小となり, population の場合各 C/N 比区とも接種後 1 日が最大となり呼吸量で見られるのと, 同様な curve となった。

Fungi の場合は, 1000 ppm 区が最も多いが他の C/N 比区及び対照区の間には大差は認められなかった (Fig. 10). しかし Fungi の population の peak は接種後 4~6 日に存在する. このことは菌の繁殖が細菌に比べて遅く, 又孢子形成がこの時期にあると推察される. それ以降比較的菌数が安定することは, 種々の土壌拮抗菌との競合のためと思われる。

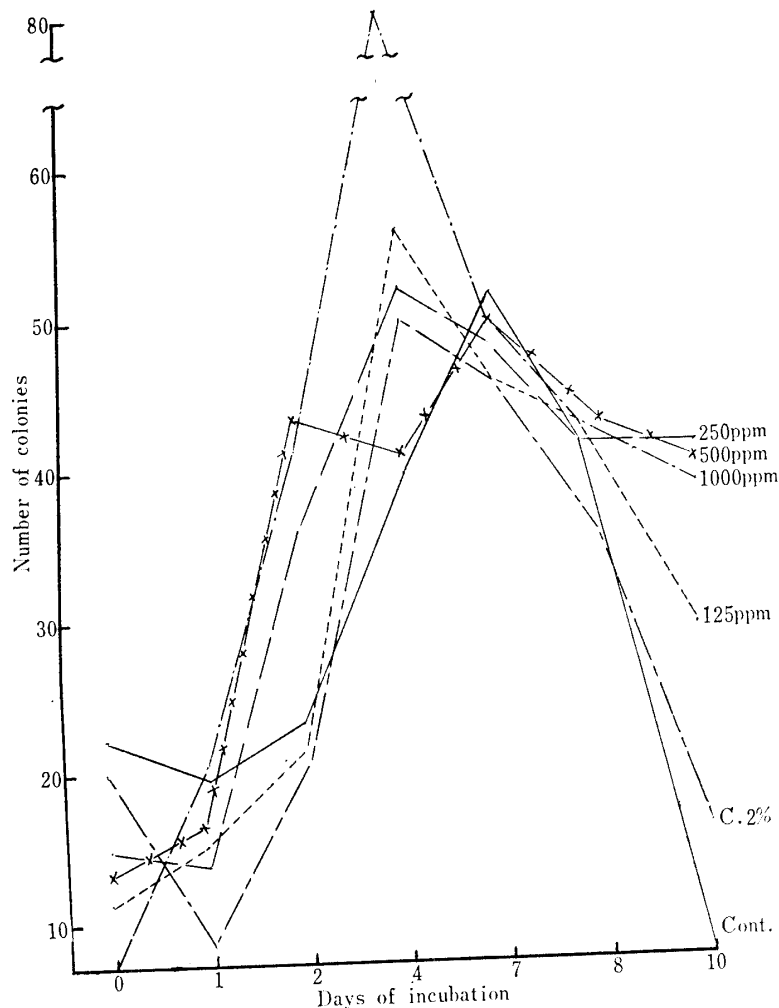


Fig. 10. Effect of different C/N ratios in natural soil on fungal population.

2) 植生を異にする土壤における菌の population

植生を異にする土壤における菌の population は、大差なく (Fig. 11), 植生の相違が菌の population に影響を与えているようには思われない (これは量的に見た場合であって、質的には例えば拮抗菌の存在, 助長菌の存在は考慮して論ずる必要性は生ずるが)。

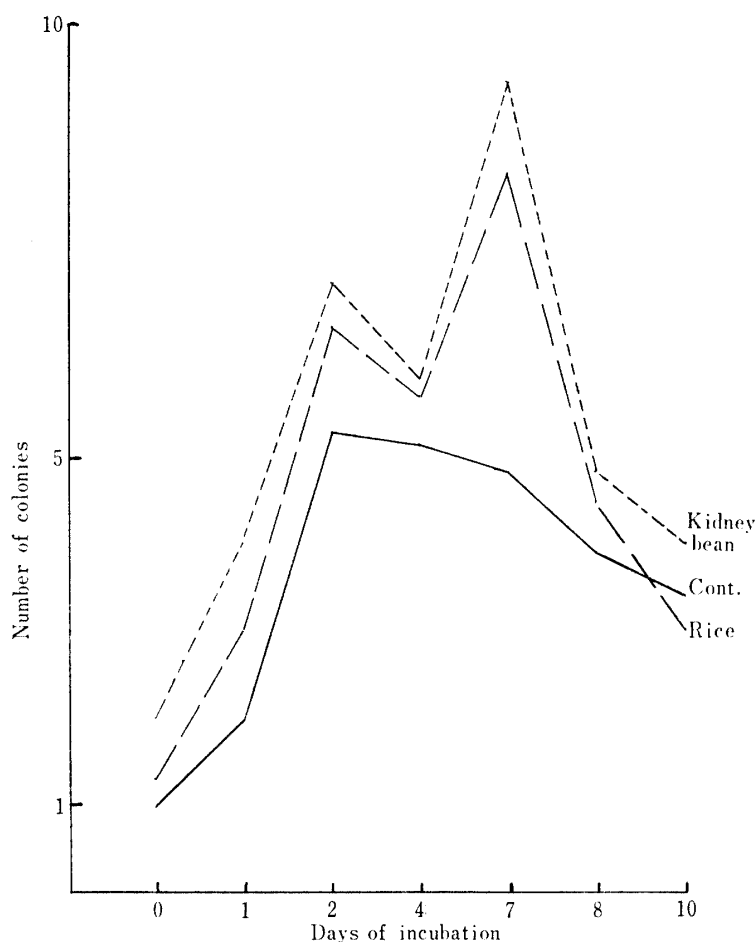


Fig. 11. Effect of natural soil planted with different kinds of plant on bacterial population. unit : (1×100)

5. 白絹病菌に対する C/N 比変化に伴う他の微生物との関係

白絹病菌に対する拮抗菌, 助長菌の数の変化を各 C/N 比区ごとにみたが, C/N 比の変化に伴うこれらの菌の population の変化は余り認められなかったので, 全処理区間を通じての本菌に対する拮抗菌の変化を接種後 1 日と 14 日との分離菌について関係を検した. 尚この際の実験地は糸状菌は, WAKSMAN and FRED の Systemic acid agar 培地,⁹⁾ 細菌用としては THORNTON 培地,⁹⁾ 放線菌用としては, CORN の Glycerol asparaginate agar¹⁰⁾ を使用した.

又拮抗菌, 助長菌等の反応型の分類は NEWHOOK¹¹⁾ の反応型を修正した下記の基準によって分類した.

- A) 2つの菌が相互に入り混り何の変化も見られないもの
- B) 本菌が分離菌の colony を通過した時本菌の発育が少し抑制される場合
- C) 両菌間の間隙は小さいが明瞭なる場合

- D) 両菌間の間隙が大である場合
 E) 本菌の発育が抑制され分離菌の発育が旺盛なる場合
 F) 本菌の菌糸が分離菌によって溶解される場合
 G) 本菌の菌糸が分離菌の colony を通過することによって本菌の発育が助長される場合

Table. 1. Relation between *Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi and other soil micro-organisms

Reaction type of antagonisms		Total	A	B	C	D	E	F	G
Fungi		48	3	3	4	2	1	0	0
Bacteria	1 day	208	137	29	5		32	5	
	14 days	420	327	35	9		47	1	1
Actino-mycetes	1 day	239	198	28	2		9		1
	14 days	78	56	9	1		9	3	

Table. 1 からいえることは、本菌に対する拮抗菌は時間の経過によっては大差なく、全処理区を通じていえることは、抑制菌として放線菌が 35.47%，細菌が 19.08%，拮抗菌として放線菌が 3.5%，細菌が 0.85% 得られた。これらのことは MORTON¹²⁾ 等が報告しているように、本菌に対する拮抗性を有するものは放線菌 1.7%，細菌 0.2% と類似した値を示した。また ROSEN¹³⁾ 等は無殺菌土壌中には本菌の生育を刺激する或る種の非病原性微生物の存在を認めているが、この実験においても助長菌として 1 株の放線菌、1 株の細菌が見られた。

MORTON¹²⁾ 等は土壌中の非病原性微生物中 81% の細菌、68% の菌類、66% の放線菌が本菌の菌糸の生育を刺激すると報告しているが、本実験の結果では、分離菌数が少なかったためか、MORTON 等の結果とは異なった結果が得られた。

以上総括するに土壌中では菌は同一培養条件でも、その菌齢や化学的活性等のような条件がつねに充たされているとは限らないし、まして多種多様な微生物によって同じ化学的活性が営まれているので厳密な意味で微生物の菌数と化学的活性（ここでは CO₂ の発生）の強さとが比例することを期待することはできない。¹⁴⁾ しかし同一土壌における化学的活性を見るならば GRAY et al.¹⁵⁾ の結果等が示すように細菌数と CO₂ の放出速度との間には相当の相関がみられる。故に殺菌土壌における本菌の生態をみる場合は、本菌と化学的活性には比例関係が見られるが、自然土壌においては、本菌の化学的活性は他の土壌微生物の化学的活性のために打ち消され、他の土壌微生物の化学的活性のみの結果となったと思われるが、各 C/N 比区では、他の土壌微生物の化学的活性においても或る程度の比例関係が認められた。

摘 要

本研究においては、C/N 比を異にする土壌中における白絹病菌 *Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi の菌糸の生育、菌核形成、土壌呼吸量および他の土壌微生物との population を研究した。その結果を要約すれば次の通りである。

- 1) C/N 比の変化に伴う本菌の生育度合は、対照区が最も早く、各 C/N 比区には大差は認められなかった。しかし菌糸の密度では対照区が最も薄く、窒素添加区が大となった。
- 2) C/N 比が本菌の菌核形成に及ぼす影響を見ると、菌核形成は接種後 14 日では対照区が他の C/N 比区に比べ多いが、16日以降となると窒素を含む土壌の方が菌核形成は多くなる。

- 3) 本菌の呼吸量についてみると、接種後8日には、control区が最低となり窒素 125 ppm 区が最大となった。全処理区とも8日をすぎると徐々に減少する。
- 4) 植生を異にする根圏土壌中における本菌の菌糸の生育は、インゲン両区に差は認められないが、炭素源(2%蔗糖)を添加した稲根圏土壌においては菌糸の生育が悪く、又菌核形成も悪かった。
- 5) 土壌における呼吸量は本菌の発育が非常に悪く、実際には他の土壌微生物の呼吸量が出たものと思われる。
- 接種後16時間で呼吸量は最大となり 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 炭素源 2%, control 区の順となった。
- 6) 植生を異にする場合の両区間の呼吸量は control 区と大差はなかった。
- 7) 呼吸量と菌の population の関係は細菌の場合は N. 500 ppm が呼吸量最大で control 区が最少であった。population の場合は各 C/N 比区とも接種後1日が最大で呼吸量の場合と大体同じような curve となった。
- 8) Fungi の場合は 1000 ppm 区が最大となるが、他の C/N 比区, control 区との間には大差は認められなかった。Fungi の population の peak は接種後4~6日に存在する。
- 9) 植生を異にする土壌における菌の population は大差なく、植生の相違が菌の population に影響を与えているとは思われない。
- 10) 本菌に対する拮抗菌の数は時間の経過に伴っては、大差なく、全体を通じていえることは抑制菌として放線菌が 34.47%, 細菌が 19.08%, 拮抗菌として放線菌が 3.5%, 細菌が 0.85% 得られた。

文 献

- 1) 権藤道夫：鹿大農学部学術報告, **10**, 23~27 (1961)
- 2) 権藤道夫：鹿大農学部学術報告, **14**, 61~67 (1964)
- 3) 権藤道夫・有村光生：鹿大農学部学術報告, **15**, 100~111 (1966)
- 4) SCHENCK, N. C. & CURL, E. A.: *Phytopatho.* **52**, 926 (1962)
- 5) 土壌微生物研究会編：土と微生物, 18~21 (1966)
- 6) 土壌微生物研究会編：土と微生物, p. 21 (1966)
- 7) バージェス：土壌微生物学, 126 (1958)
- 8) LEANDER F. JOHNSON et al.: *Method for studying Soil microflora plant Disease relationships* 146 (1960)
- 9) LEANDER F. JOHNSON et al.: *Method for studying Soil microflora plant Disease relationships* 147 (1960)
- 10) LEANDER F. JOHNSON et al.: *Method for studying Soil microflora plant Disease relationships* 143 (1960)
- 11) LEANDER F. JOHNSON et al.: *Method for studying Soil microflora plant Disease relationships* 57 (1960)
- 12) MORTON, D. J. & W. H. STROUBE: *Phytopatho.* **45**, 417~420 (1955)
- 13) ROSEN, H. R. & L. SHOW: *J. Agr. Reseach* **39**, 41~61 (1929)
- 14) 土壌微生物研究会編：土と微生物, p. 29 (1966)
- 15) 土壌微生物研究会編：土と微生物, p. 29 (1966)

Résumé

In the present paper, the development of *Corticium rolfii* (Sacc.) Curzi, and its sclerotium formation in the soils having different C/N ratios were researched.

The results obtained indicate the following:

- 1) The growth-rate of this fungus occurring with the change of C/N ratio was rapidest in the control soil. No significant difference was noted in the soils treated with C/N different in ratios.

Nevertheless, the density of mycelia was thinner in the control, and thick in the N-added soil.

2) As to the effects of C/N ratio on the sclerotia formation of this fungus, in 14 days after infestation the number of sclerotia formed in the control soil was larger than that in other C/N ratio soils, but 16 days after infestation it was larger in the N-added soil than in others.

3) Eight days after infestation, all plots showed maximum respiration rate. Among these, the lowest respiration rate was observed in the control, and the highest, in the plot added N (125 ppm).

After eight days every plot began to show a slow decrease.

4) As to the mycelial growth of this fungus in the rhizosphere soil, no difference was indicated between the two sorts of soil, planted with rice plant and with Kindney bean (*Phaseolus vulgaris* L.).

In the C-source added (2% sucrose) rhizosphere soil of rice plant, both the mycelial growth and the sclerotia formation were precarious.

5) The respiration rate observable in the natural soil was supposed to be due to other soil micro-organisms than this, considering that the development of this fungus was quite poor. Its respiration rate reached the highest after 16 hours, and it turned out to be in the following order; 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, C source 2% and the control plot.

6) The respiration rate of the two soils, planted with different kinds of crop did not show any difference from that of the control soil.

7) As to the relationship between respiration rate and the population of micro-organisms, the respiration rate of bacteria was highest at N, 500 ppm plot and lowest at the control, and, in every plot of C/N ratio, their population was largest 1 day after the infestation; its curve being almost equal to that seen in their respiration.

8) Respiration rate of fungi was highest at 1000 ppm plot, but the difference between the plots of C/N ratios other than this and the control plot was not perceived.

The peak of the fungi population appeared in 4-6 days after infestation.

9) No special difference could be seen in the populations of fungi in the soil planted with different kinds of plant, which seemed to have no effects on the fluctuation of the fungal population.

10) No change was brought forth by the lapse of time, on to the microorganism antagonistic to this fungus.

And, in short, it may be epitomized that, among the inhibiting microorganisms were detected actinomycetes (35.47%) and bacteria (19.08%); while among the antagonistic ones, actinomycetes (3.5%) and bacteria (0.85%).