

## 有機物施用がメロンつる割病菌に及ぼす影響

本多 範 行・三 谷 和 弘・伊 森 博 志

Noriyuki HONDA, Kazuhiro MITANI and Hiroshi IMORI :  
Influence of amendment with farmyard manure on the behavior  
of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in soil.

福井県坂井丘陵地では数年前からメロンつる割病が発生し、安定生産の阻害要因となっている。メロンつる割病は *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Snyder et Hans. によって引き起こされ、土壌あるいは種子によって伝染する難防除病害である。さらに、抵抗性品種や抵抗性台木を侵す新レースが国内でも出現<sup>7)</sup>していることから、その動向を注意することが必要になっている。

防除対策は土壌消毒によっているが、土壌くん蒸剤は毒性が強く、環境汚染への影響が指摘されている。このため、輪作、抵抗性品種の利用、有機物の施用などを組み合わせた防除体系の確立が求められている。また、近年、農地への有機物施用量の減少が、地力の低下とともに、本病を含めた連作障害の発生をもたらしているとされている。しかも、かつては完熟堆肥が主体であったが、現在は未分解有機物が多く、種類も多種多様である。

有機物施用は土壌の物理性、化学性に影響を与えるばかりか、土壌微生物に対しても栄養基質を供給することになり、その結果、土着の微生物の増加や活動を高め、土壌病害の発生に対しても影響を与えるものと考えられる。フザリウム病の発生を軽減するために、有機物を土壌に施用する試みは、古くから行われている<sup>8)</sup>が、メロンつる割病に対する試験例は少ない。

ここではメロンつる割病の生態的防除法の確立を目的に、有機物を施用した土壌における土壌微生物数とメロンつる割病菌の生育について調査したので報告する。

本研究を遂行するにあたり、福井県園芸試験場川久保幸雄氏に終始有益な御助言を頂いた。ここに厚く感謝の意を表する。

### 材料および方法

#### 1. 供試土壌

福井県試内の野菜連作(15年)圃場の土壌をガラス温室内の幅90cm、深さ20cmの隔離ベットに入れ、床土とした。有機物の施用量は有効化する窒素量と化学肥料区の窒素施用量が同量となるように算出し、第1表のとおり施用した。

供試した初穀牛糞堆肥(以下牛糞)は、肉用牛の糞尿と初穀をおおむね6:4に混和し、半年~約1年間堆積したもので、C/N比は15~20であった。発酵鶏糞(以下鶏糞)は市販のもので、C/N比は約7であった。化学肥料は磷硝安加里S604を9.4kg/a、過磷酸石灰5.0kg/a、硫酸加里0.4kg/aを全量元肥施用した。

供試したメロン品種はハーブレディで栽培期間は1作目1993年4月15日~7月20日、2作目1993年8月9日~10月28日、3作目1994年3月29日~7月6日であった。栽植密度は株間50cmの222株/aで各区32株とした。栽培期間中につる割病の発病は認められなかった。

1作、3作収穫直後の土壌理化学性は第2表に示した

第1表 有機物施用区の構成

資材の種類	有機物(生・kg/a)		化学肥料(N・kg/a)		
	1年目		1年目		2年目
	春作	秋作	春作	秋作	春作
牛糞	1000	900	0	-	-
鶏糞	150	150	157	-	-
牛糞 + 鶏糞	500	165	74	-	-
	75	45	63		
化学肥料	-	-	-	1.50	1.50

注) 有機物の施用量は含有窒素成分に基づいて算出した

第2表 メロン連作圃場における有機物連用が土壤化学性に及ぼす影響

処 理	pH		EC (ms/cm)		T-C (%)		T-N (%)		無機態N (mg/100g)		可給態N (mg/100g)	
	1作跡	3作跡	1作跡	3作跡	1作跡	3作跡	1作跡	3作跡	1作跡	3作跡	1作跡	3作跡
牛 糞	7.1	6.8	0.41	0.34	3.60	3.91	0.297	0.340	1.3	8.3	11.8	11.4
鶏 糞	7.2	7.0	0.37	0.58	2.57	3.11	0.240	0.292	1.9	11.0	11.1	8.3
牛糞+鶏糞	7.1	7.0	0.38	0.35	3.00	3.10	0.257	0.265	2.1	6.5	12.0	8.4
化学肥料	6.2	5.8	0.44	0.24	2.49	2.44	0.202	0.183	6.4	2.9	7.6	4.3

ように有機物の施用によって、pH、T-C、T-Nおよび可給態窒素が高くなる傾向にあった。また、牛糞区では窒素の取り込みがあった。

## 2. 有機物の施用とメロンつる割病発病との関係

### 1) 供試菌

Puhallaの方法<sup>9)</sup>によりMMC培地に置床したメロンつる割病菌(芦2菌株)から、塩硫酸カリウム耐性で、硝酸塩利用能が欠損した*nit*変異菌株(芦2-*nit*菌株)を作出し供試菌とした。作出した*nit*変異菌株は野生菌株同様、感受性品種アムスに病原性を示した。

### 2) 接種と発病調査

有機物を施用し、メロンを1作栽培した床土を1/5,000aポットに詰め供試土壌とした。芦2-*nit*菌株をジャガイモ煎汁・ショ糖液体(PSB)培地で浸漬培養し、遠沈洗浄した芽胞状単胞の菌体懸濁液(2×10<sup>7</sup>個/ml)をポット当たり25ml灌注し、7日間ガラス温室で乾燥しないように管理し、汚染土壌とした。また、化学肥料区と糞牛糞・発酵鶏糞併用(以下牛糞+鶏糞)区の土壌は高圧滅菌(121°C, 60分)した後に、つる割病菌を灌注した区も設けた。対照にはつる割病菌無接種区を設けた。

供試品種はアムスで、1ポット当たり3粒播種し、ガラス温室で栽培した。経時的に発芽率、発病苗率を調査し、55日後に株を掘り上げ、以下の式から発病度を算出した。1区3ポット用いた。

$$\text{発病度} = (3a + 2b + c) \div 3 \times \text{調査苗数}$$

a: 枯死 b: 萎ちょう c: 道管褐変

### 3) 土壤微生物数の調査

播種時と播種55日後の非根圏土壌および播種55日後の根圏土壌を採取し、以下に示す培地を用いて希釈平板法により乾土1g当たりの分離菌量を調査した。

糸状菌はローズベンガル寒天培地、高栄養細菌はTryptic soy ager (TSA) 培地、低栄養細菌は100倍希釈肉エキス(DNB)培地、蛍光性*Pseudomonas*属細菌である*P. putida*はP-2培地<sup>9)</sup>、同*P. fluorescens*はP-3培地<sup>9)</sup>、放線菌は素寒天(WA)培地、つる割病菌は*nit*変異菌株の選択培地であるMMCPA培地<sup>11)</sup>

を用いた。なお、1希釈段階に付き各培地5シャーレを使用して算出した。

## 3. 有機物施用した土壌中のメロンつる割病菌の生育

メロンを3作栽培した後、2mmの篩に通し、約5カ月間冷蔵庫に保管後、20°Cで7日間前培養した土壌を用いた。滅菌シャーレにとった各土壌1gに滅菌水、または0.05% (w/v) グルコース溶液を0.5ml加えて、土壌懸濁液を作成し、実験に供した。

つる割病菌の生育調査は木村らの方法<sup>9)</sup>に準じて行った。すなわち、PSB培地で25°C5日間振とう培養し、遠沈洗浄して得られた菌体の約10<sup>4</sup>個を直径25mm、孔径0.8μmのNucleoporeフィルターに集菌し、土壌懸濁液に、もしくは対照の蒸留水に密着させた。この状態で25°C下一定期間培養後、Nucleoporeフィルターを取り出しローズベンガル色素で染色し、400倍視野でカバーガラス18mm間における菌体の発芽率、厚膜孢子形成率および菌糸長を計測した。なお、培養期間は滅菌水で懸濁した区は18時間、グルコース溶液で懸濁した区は24時間および72時間とした。実験は3連制で行った。

## 結果および考察

### 1. 有機物の施用とつる割病発病との関係

有機物を施用した土壌における発病の状況を第3表に示した。

牛糞区は初発期が早く播種21日後に50%が発病し、発病度が高くなった。鶏糞区、牛糞+鶏糞区は化学肥料区に比べて発病が遅く、特に、牛糞+鶏糞区は発病度が0.44と処理区の中で最も低く、発病抑制効果が見られた。しかし、牛糞+鶏糞区の土壌を滅菌し、つる割病菌を接種すると滅菌しない土壌に比べて初発期が早く、発病度が高くなり、かえって発病が助長される傾向にあった。このことから牛糞+鶏糞区で認められた発病抑制効果は有機物施用による土壌中の生物的要因によるものと考えられた。

化学肥料区と牛糞+鶏糞区における非根圏土壌と根圏土壌の微生物数の変化を第4表に示した。

接種したつる割病菌の*nit*変異菌株の密度は、非根圏

土壌では滅菌したものより滅菌しないもので減少し、根圏土壌では滅菌の有無を問わず化学肥料区に比べて牛糞+鶏糞区は少なかった。この菌密度の推移はポット試験での最終発病調査結果（第3表）とほぼ同様の傾向を示した。しかし、発病の減少程度に比べて病原菌量の減少

程度は低かったことから、滅菌土における発病助長や有機物施用による発病抑制効果は、病原菌密度の減少の他に、病原菌の活動抑制、あるいは病原力の低下などの要因があると推察される。

滅菌土では、播種時に糸状菌量、高栄養細菌量は非滅

第3表 有機物施用がメロンつる割病発病に及ぼす影響（ポット試験）

有機物の種類	滅菌の有無	発芽率 (%)		つる割病発病率 (%)				発病度 <sup>b)</sup>
		10日 <sup>a)</sup>	14日	21日	32日	45日	55日	
牛糞	無	56	56	50	67	67a	83	0.83
鶏糞	無	56	56	0	0	0b	67	0.78
牛糞+鶏糞	無	67	67	0	0	11b	44	0.44
化学肥料	無	56	56	0	33	50ab	67	0.66
牛糞+鶏糞	有	89	89	0	17	89a	89	0.89
化学肥料	有	78	89	22	33	78a	89	0.89
無接種 <sup>c)</sup>	有	89	89	0	0	0b	0	0
			N.S.	N.S.	N.S.		N.S.	N.S.

注) 同一英文字を付した平均値間には Duncan の多重検定による有意差 (5%) がないことを示す  
 a) 播種後の日数, b) 発病度 = (3a + 2b + c) ÷ 3 × 苗数 (a: 枯死, b: 萎ちょう, c: 道管褐変)  
 c) 化学肥料区をオートグレーブで滅菌し、つる割病菌を接種しなかった

第4表 有機物を施用した土壌における微生物密度（ポット試験）

処理	滅菌の有無	CFU/g 乾土								
		糸状菌			つる割病菌			高栄養細菌		
		非根圏	根圏		非根圏	根圏		非根圏	根圏	
		播種時	55日後		播種時	55日後		播種時	55日後	
牛糞+鶏糞	無	0.2×10 <sup>4</sup>	0.1×10 <sup>4</sup>	<0.6×10 <sup>4</sup>	4.6×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	1.7×10 <sup>4</sup>	6.3×10 <sup>8</sup>	1.8×10 <sup>8</sup>	37.8×10 <sup>8</sup>
化学肥料	無	0.9	0.5	2.2	3.6	1.2	4.5	3.4	0.9	10.2
牛糞+鶏糞	有	19.9	0.9	3.1	1.5	2.4	3.3	34.7	3.6	8.3
化学肥料	有	11.4	1.8	3.8	3.0	2.8	4.6	24.9	2.9	3.6

処理	滅菌の有無	CFU/g 乾土								
		低栄養細菌			<i>P. putida</i>			<i>P. fluorescens</i>		
		非根圏	根圏		非根圏	根圏		非根圏	根圏	
		播種時	55日後		播種時	55日後		播種時	55日後	
牛糞+鶏糞	無	13.0×10 <sup>4</sup>	3.1×10 <sup>4</sup>	39.8×10 <sup>4</sup>	<0.2×10 <sup>4</sup>	0.8×10 <sup>4</sup>	4.0×10 <sup>3</sup>	<0.2×10 <sup>4</sup>	<0.02×10 <sup>4</sup>	<0.6×10 <sup>4</sup>
化学肥料	無	9.3	1.2	12.1	<0.2	0.7	<0.1	0.2	<0.03	<0.1
牛糞+鶏糞	有	4.6	0.9	1.9	7.5	4.8	8.9	0.6	0.7	1.7
化学肥料	有	16.9	0.9	7.7	2.0	1.8	15.9	<0.2	0.1	3.6

処理	滅菌の有無	CFU/g 乾土		
		放線菌		
		非根圏	根圏	
		播種時	55日後	
牛糞+鶏糞	無	3.3×10 <sup>7</sup>	2.6×10 <sup>7</sup>	7.1×10 <sup>7</sup>
化学肥料	無	10.8	2.5	6.1
牛糞+鶏糞	有	22.0	7.8	25.1
化学肥料	有	27.8	5.4	12.8

菌土に比べて多かったが、55日後には非滅菌土と差が見られなかった。化学肥料区と牛糞+鶏糞区に関しても明瞭な差異は見られなかった。しかし、牛糞+鶏糞区の根圏土壌は、化学肥料区、殺菌土に比べて糸状菌量は少なく、高栄養細菌量、低栄養細菌量は多くなる傾向にあることから、有機物施用は細菌に対する根圏効果を明らかに高めていた。しかし、*P. putida*, *P. fluorescens* および放線菌量については差が見られなかった。

播種55日後のB/P値とB/F値を第5表に示した。つる割病菌量に対する高栄養細菌量の割合、つまりB/P値は非根圏土壌では有機物の施用、滅菌の有無による差は見られなかったが、根圏土壌では牛糞+鶏糞区は化学肥料区や滅菌土に比べ約10倍高くなった。また、糸状菌量に対する高栄養細菌の割合、つまりB/F値は非根圏土壌、根圏土壌ともに牛糞+鶏糞区は化学肥料区、滅菌土に比べて約10倍以上高く、細菌型フロラであった。これに対して、発病の多かった化学肥料区、殺菌土ではB/F値は低く糸状菌型フロラを示した。これは同じウリ類のキュウリつる割病の発病抑制効果の高い乾燥豚糞を施用した場合<sup>9)</sup>と同様の傾向であった。また、有機物を施用し安定的に高収量を確保する圃場は連作傷害の発生しているトマト圃場に比べて、根圏微生物は細菌型フロラであると報告されており<sup>10)</sup>、本実験の結果と類似していた。糸状菌の多いことは作物の生育にとってあまり好ましい条件ではなく、細菌の種類も当然考慮しな

ければならないと考えられるが、細菌型フロラの土壌に変えることは、作物の生育に好ましい状態がもたらされると推察された。

## 2. Nucleopore フィルター上におけるつる割病菌の生育

実験に用いた土壌の微生物数は第6表に示したように、非根圏土壌では糸状菌量、細菌量に大きな差は見られなかった。しかし、根圏土壌では牛糞、鶏糞および牛糞+鶏糞区では細菌量が高い土壌であった。

有機物を施用した土壌における培養18時間後のつる割病菌菌体の発芽率、総菌糸長は化学肥料区と明らかな差異は見られなかった。しかし、有機物施用区の厚膜孢子形成率は化学肥料区に比べ、やや高くなった。蒸留水中で菌体はよく発芽し、総菌糸長は長くなったが、厚膜孢子は形成されなかった(第7表)。

土壌には一般に静菌作用があり、孢子発芽や菌糸生育が抑えられている<sup>11)</sup>。静菌作用は土壌を滅菌すると消失し、土壌微生物懸濁液を加えると回復する。また、糖などの養分を加えても緩和される<sup>12)</sup>ことが知られている。本試験においても、化学肥料区では土壌にグルコースを添加すると、24時間培養後にほとんどの菌体は発芽し、生育した。これに比べて、有機物施用区では発芽、菌糸生育は抑制された。72時間後には化学肥料区では溶菌により総菌糸長は速やかに減少し、厚膜孢子が形成された。同様に、鶏糞区や牛糞+鶏糞区でも72時間後には

第5表 有機物を施用した土壌<sup>a)</sup>におけるB/P値<sup>b)</sup>、B/F値<sup>c)</sup> (ポット試験)

処 理	殺菌の 有 無	B/P値		B/F値	
		非根圏	根 圏	非根圏	根 圏
牛糞+鶏糞	無	1.2×10 <sup>4</sup>	22.2×10 <sup>4</sup>	18.0×10 <sup>2</sup>	66.3×10 <sup>2</sup>
化学肥料	無	0.8	2.3	1.8	4.6
牛糞+鶏糞	有	1.5	2.5	4.0	2.7
化学肥料	有	1.0	0.8	1.6	1.0

注 a) 播種55日後

b) 高栄養細菌÷つる割病菌

c) 高栄養細菌÷糸状菌

第6表 つる割病菌の発芽・生育試験に用いた土壌と根圏土壌の微生物密度

処 理	CFU/g乾土							
	糸 状 菌		高栄養細菌		低栄養細菌		B/F値 <sup>a)</sup>	
	非根圏	根 圏	非根圏	根 圏	非根圏	根 圏	非根圏	根 圏
牛 糞	0.2×10 <sup>6</sup>	0.4×10 <sup>6</sup>	0.4×10 <sup>8</sup>	9.7×10 <sup>8</sup>	2.5×10 <sup>8</sup>	11.8×10 <sup>8</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>	24.3×10 <sup>2</sup>
鶏 糞	0.2	0.6	1.2	63.7	6.2	26.3	6.0	106.2
牛糞+鶏糞	0.2	0.8	0.5	30.4	2.2	7.8	2.5	38.0
化学肥料	0.3	2.8	0.6	8.6	2.3	7.2	2.0	3.1

注 a) 高栄養細菌÷糸状菌

溶菌し、厚膜胞子を形成したが、形成率は化学肥料区に比べて明らかに低かった。また、牛糞区では72時間後の総菌糸長が長く、溶菌はされにくく、厚膜胞子形成は不良となっており、鶏糞区や牛糞+鶏糞区とは異なった(第8表)。

土壤中に生息している微生物は相互に作用しながら生存し、土壌静菌作用は、土壤中の胞子や菌糸の周りに微生物が生育し、病原菌が栄養飢餓をおこすためとされており、土壌微生物数と正の相関にある<sup>3)</sup>。このような現象はトマト萎ちょう病において見られており<sup>2)</sup>、本試験においても牛糞や鶏糞の施用によって、メロン根圏でも静菌作用が高まり、病原菌の活動が抑えられていると推察された。ただし、ポット試験での発病調査やNucleoporeフィルター上でのつる割病菌の生育を調査した結果から、鶏糞と牛糞では、病原菌への作用が異なると推察された。

土壤中では病原菌は耐久体である厚膜胞子で生存している。厚膜胞子は土壤中で発芽、細菌による溶菌、厚膜胞子の再形成を繰り返している。フザリウム病発病抑制土壌では、厚膜胞子の発芽抑制よりも厚膜胞子の再形成での溶菌やその他の阻害が認められている<sup>3)</sup>。今後は鶏

糞、または牛糞を施用した土壌における厚膜胞子の動態について検討する必要があると考えられた。

以上の結果から、有機物施用によるつる割病発病抑制効果には土壌静菌作用が大きく関与していると考えられた。根圏土壌の微生物フロラがどのような状態の時の静菌作用の増強にとって好ましいのか、これには土壌微生物の種類、多様性など複雑な要因が関与すると考えられた。また、有機物施用が寄主植物に作用する場合も考えられ、この点についても今後検討する必要があると考えられた。

## 摘 要

1. 有機物として初殻牛糞、発酵鶏糞を施用し、メロンを栽培した土壌におけるメロンつる割病菌の生育および発病に及ぼすこれら有機物の影響について検討した。
2. 発酵鶏糞や初殻牛糞と発酵鶏糞を併用した土壌を詰めたポットでメロンを栽培すると、化学肥料を施用した土壌や殺菌した土壌に比べて、発病が抑制された。
3. 発病が少なかった初殻牛糞と発酵鶏糞併用区のメロン根圏土壌では、B/P値、B/F値は化学肥料区に比べて高かった。

第7表 有機物を施用した土壌のつる割病菌の生育<sup>a)</sup>

処 理	発芽率 <sup>b)</sup> (%)	総菌糸長 <sup>c)</sup> ( $\mu\text{m}$ )	厚膜胞子形成率 <sup>b)</sup> (%)
牛 糞	23 b	532 b	6.1 b
鶏 糞	26 b	701 b	4.5 b
牛糞+鶏糞	23 b	575 b	6.8 b
化学肥料	20 b	411 b	0.7 a
蒸留水	90 a	3,643 a	0 a

注) 同一英文字間にはダンカン多重検定で有意な差(5%)がないことを示す  
 a) 培養時間: 18時間  
 b) 400倍視野で18mm間における菌体当たり形成率  
 c) 100胞子当りの菌糸長

第8表 有機物を施用した土壌へのグルコース添加がつる割病菌の生育に及ぼす影響

処 理	発芽率 <sup>a)</sup> (%)		総菌糸長 <sup>b)</sup> ( $\mu\text{m}$ )		厚膜胞子形成率 <sup>a)</sup> (%)	
	24時間後	72時間後	24時間後	72時間後	24時間後	72時間後
牛 糞	66 b	70 b	3,374 b	1,649 a	3.9	24.3 b
鶏 糞	70 b	72 b	3,743 b	641 b	3.4	21.1 b
牛糞+鶏糞	72 b	99 a	3,939 b	359 b	5.7	36.1 b
化学肥料	99 a		11,051 a	369 b	3.1	64.1 a

N.S.

注) 同一英文字間にはダンカン多重検定で有意な差(5%)がないことを示す  
 a) 400倍視野で18mm間における菌体当たり形成率  
 b) 100胞子当りの菌糸長

4. Nucleopore フィルターに接種したメロンつる割病菌は有機物を施用した土壌の表面では、化学肥料区に比べて菌糸の伸長が抑制された。また、厚膜胞子形成も抑制された。

### 引用文献

- 1) 荒木隆男 (1982) 2. 有機物, 石灰などの施用, III. 生態的防除. 土壌病害の手引き. 193~196, 日本植物防疫協会, 東京.
- 2) 本間善久・久保千冬・石井正義・大畑貫一 (1979) 鶏糞の土壌施用によるトマト萎凋病の発病軽減の機構. 四国農試報 34 : 103~121.
- 3) 百町満朗 (1993) 土壌静菌作用 : 糸状菌の生活に及ぼす生態的意義. 土と微生物 42 : 13~20.
- 4) 石上 清・堀 兼明・堀田 柏・河森 武 (1976) 園芸作物培地の生産力と土壌微生物に関する研究 (第1報) トマト連作ほ場における微生物フロラと理化学性の実態. 静岡農試研報 21 : 36~43.
- 5) Katoh, K. and Itoh, K (1983) New selective media for *Pseudomonas* strains producing fluorescent pigment. *Soil Sci. Plant Nutr.* 29 : 525~532.
- 6) 木村真人・豊田剛己・鍛塚昭三 (1990) 化学肥料およびきゅう肥連用土壌における *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* の生育. 日本土肥誌 61 : 586~591.
- 7) 並木史郎・清水寛二・佐藤京子・平林哲夫・西 和文・栢村鶴雄・拓殖尚志 (1995) 滋賀県で発生したメロンつる割病菌の新系統. 日植病報 61 : 227.
- 8) 小倉寛典 (1982) III 土壌中におけるフザリウム菌の生態. 作物のフザリウム病, 103~132, 全国農村教育協会, 東京.
- 9) Puhalla, J. E. (1985) Classification of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.* 63 : 179~183.
- 10) 下長根鴻 (1992) 土壌中におけるフザリウム菌の生態ならびに輪作と有機物施用によるキュウリつる割病の防除. 茨城農試特別研報 : 57~87.
- 11) 竹原利明・國安克人 (1994) *nit* 変異菌株を用いたフザリウム病の発生生態の解明. II. *Fusarium oxysporum* の *nit* 変異菌株の選択培地を用いた分離. 日植病報 60 : 705~710.

(1995年7月7日受領)