

土壤微生物学的にみた稚苗立枯病の研究

赤 井 龍 男

目 次

まえがき	280
第1章 立枯病に影響する2, 3の育苗条件と土壤中の microflora の変化	283
§ 1 microflora の分析方法	283
§ 2 種子のまきつけ量の影響	286
§ 3 無機質肥料の施用による影響	297
§ 4 有機質肥料の施用による影響	303
第2章 立枯病発生苗畑における主な土壌菌類の病原性と稚苗に与える影響	308
§ 1 キュウリに対する病原性と伸長作用	309
§ 2 アカマツに対する病原性と伸長作用	312
§ 3 モリシマ・アカシアに対する病原性と伸長作用	314
第3章 土壌菌類の代謝生産物が稚苗の伸長に与える影響	316
§ 1 培養濾液の調整	317
§ 2 根から吸収させた濾液の植物伸長効果	318
§ 3 頂芽に処理した濾液の植物伸長効果	321
§ 4 種子浸漬による濾液の植物伸長効果	325
§ 5 針葉樹稚苗に対する濾液の伸長促進効果	326
§ 6 ペーパークロマトグラフィーを用いたアベナ伸長テスト	328
第4章 土壌菌類の代謝生産物による植物伸長促進効果が立枯病におよぼす影響	329
§ 1 濾液で処理した稚苗の <i>Rhizoctonia</i> に対する抵抗性の減少	329
§ 2 濾液で処理した稚苗の自然土壌の病害に対する抵抗性の減少	330
第5章 microflora の control による病害の発生と防除	332
§ 1 pot を用いた microflora の control	333
§ 2 苗畑における microflora の control	334
第6章 討 論	339
あとがき	343
摘 要	343
文 献	346
写真図版 3	

ま え が き

稚苗の立枯病 (damping-off, root-rot disease) とは、病原性のある数種の土壤菌類が稚苗を萎凋、枯死させる病害である。いずれの国においてもきわめて重要な苗畑の病害であるため、立枯病に関する研究は古くから行なわれ、その調査報告も数多いが、それにもかかわらず土壤中における微生物のありのままの姿をとらえることが技術的にはなほだ困難であるため、立枯病菌の生活状態などとともに立枯病発生の機構はほとんど明らかにされていない。また一方、土壤という環境中に発生する病害であるため、確実な立枯病防除の方策は未だに確立されていない現状である。

土壤中に生存しているあらゆる生物は、一般に、与えられた環境条件と平衡状態を保ち、腐生的な生活を行なう土壤微生物も、常に周囲に生存するものと互に共生的にあるいは抗生的に一つの complex を形成し、そしてそこに栄養を求めて生育する植物は、彼らと密接に相関連して正常な生活を行なっている。このような生物間の均衡が、環境の変化など何らかの原因によつて破られると、植物の生活もまた影響を受けるはずであり、特にそれが病原菌の異常増加に有利な作用をとると、植物は立枯病という恐ろしい病害をこうむることになる。

土壤中の微生物のうち立枯病菌ともつとも関係の深いものは、土壤菌類 (soil fungi) であろう。しかし立枯病の病原菌にきつ抗するような土壤菌類は多少知られているが、立枯病の発生を助長するような土壤菌類については、ほとんど何もわかつていない。すなわち病原菌に共生的に働いて、その活動を増加させるものもあるであろうし、直接植物組織を攻撃できなくとも、病原菌に対する植物の抵抗性を弱めるような物質を生産する微生物も存在するであろう。立枯病はこのような植物—病原菌—土壤菌類 (広い範囲には土壤微生物) という生物共同体に、大気、土壤などの無機的环境が互に関係し発生する病害であるように思われる。このように考えると、これまで行なわれてきた植物—病原菌の間の寄生的な関係と、病原菌—土壤微生物の抗生的な研究だけでなく、病原菌—土壤菌類の共生的な関係、さらにすすんで、土壤菌類—植物という生理生態学的新しい分野の研究が不可欠になるであろう。

植物—病原菌の寄生的な関係、すなわち、立枯病の病因については、19世紀の後半から今世紀始めの1920年頃まで、KOCH の原則に従つて多くの病原菌が究明された。林木の稚苗に関して1892年 R. HARTIG⁽²⁶⁾ の苗畑における観察以来、病徴や病原菌についての研究が数多く行なわれてきたが、1925年、ROTHBUN-GRAVATT⁽⁶²⁾ は病原性の強弱について詳しい接種試験を行なつて一つの時期を画した。この間の時期を GARRETT⁽²²⁾ は aetiological phase と呼んでいる。

かくして、病原学的な研究は確実な成果をあげてきたが、一方殺菌剤による立枯病の直接的な防除は困難であることが次第に明らかになつてきた。このため1920年代から、多くの研究者らは間接的な防除の可能性、すなわち栽培環境の巧妙な取扱いによる防除方法について考えはじめた。林木稚苗に関しては1930年から1940年代にわたつて、立枯病に影響する稚苗の年令、土壤の PH、肥料、温度、湿度、日射量^(87, 60, 97, 98) などの研究が報告された。このような時期、すなわち environmental phase⁽²²⁾ は、農業方面では比較的早く終り、やがて1930年代を迎えて新しい微生物生態学の研究時代に入ることになつたが、これは病原菌—土壤菌類という

知識の飛躍的な発展であつた。

1929年 FLEMING が *Penicillium notatum* の培養から抗生物質ペニシリンを発見した以前から、すでに微生物学者はペトリ皿中に2つあるいはそれ以上の微生物を培養してそこに同じようなきつ抗現象があることを知つていた。しかしながら人工的な扁平培養におけるこのような現象は、複雑な土壤環境の中の微生物の生活とは遠くかけ離れたものであると思われていた。1926年 SANFORD⁽⁶⁷⁾ が *Streptomyces scabies* に対する生物的防除を初めて提案した後、1931年 FAWCETT⁽¹⁸⁾ は、混合培養における新しい問題点を強調し、ひき続いて WEINDLING^(111,114) が *Rhizoctonia solani* に寄生する *Trichoderma lignorum*, *T. viride*⁽¹¹²⁾ についての研究とともに lethal principle の法則を発表して以来、抗生物質と抗生菌に関する研究はおびただしい数に達し、現在もおお多くの研究が行なわれている。

しかしながら、抗生菌を利用する生物的防除の実際上の大きな困難は土壤中に有益な抗生菌の繁殖を促進するという点である。一般に土壤微生物の多くのものは cosmopolitan であるので、現在、ある種の微生物が存在していないか、またはほとんどいないということは、土壤環境がそれに対して不適當であることを示しているといえよう。したがつて、接種した抗生菌がすでに存在している微生物との競争にうちかつて、その活動を高めようとするのは、生態学的にはなほだ困難なことである。このため、苗畑におけるこのような生物的防除は特殊の条件下⁽²²⁾でしか成功しなかつたものと思われる。

有益な微生物の活動を増す有望な一つの方法は、土壤条件を変えることによつて microflora⁽²²⁾ を変化させる生態学的方法であろう。それには、有機物の施用、肥料の選択、土壤PH^(22,101) の調節などの方法がある。しかし、これらの方法も、一般の立枯病に対する応用としては普遍性にとぼしかつた。すなわち、土壤環境に應ずる microflora の変化はさらに複雑で微妙なものであつた。このように病原菌—土壤菌類の抗生的な関係はさらに多くの問題を将来に残している。

土壤微生物の多くのものは、普通、複雑な養分を必要としているので、それら生物間で互に必要な養分を授受し合う場合が多いと思われる。1943年、LOCHHEAD & CHASE⁽⁴⁴⁾ はきわめて簡単な養分しか必要としない土壤細菌の培養濾液が、複雑な養分を必要とする他の土壤細菌の要求を満しうることを明らかにした。また微生物の相互作用として WAKSMAN^(107,108,109,110) は、2つあるいはそれ以上の微生物が共存する場合は単独の場合よりも有機物の分解量が多くなることを指摘した。このような土壤微生物間の共生的な関係は特殊の種類のものだけに限られているのではなく、ほとんどすべての微生物間にみられるものであろうし、また、病原菌—土壤菌類の間にも存在するはずである。1931年 FAWCETT⁽¹⁸⁾ は、ある種の病気の発現には他の生物の共生的な作用を必要とし、病原菌単独では感染し得ないのではないかとすることをすでに考えていた。しかし、その後このような研究は、はなやかな抗生現象の研究のかけにたくされて、ほとんど姿を見せなかつた。

植物—土壤菌類の関係は自然土壤における microflora の分類学的な調査から始まつた。すなわち、1910年代の中頃、稀釈扁平法の技術が確立されると、ぞくぞく各地の土壤微生物の分布が明らかにされ、土壤状態、ひいては肥沃度の問題にまで発展していつた。特に有名^(1,38,40,67,61,104,117) であるのは WAKSMAN の業績である。それと同時に根圏 (rhizosphere) 微生物の重要性も認識され、根の表面に附着している微生物がかなりの役割を果していることも同様に明らか^(108,109)

にされた。⁽⁸⁹⁾最近では AKHROMEIKO & SHOSTAKOVA^(4,5) が、P³² を用いて、植物の生長が根圏微生物の存在によつて促進されることを証明し、さらに、その役割は植物に対する養分の供給であつて、土壤の形成過程とも関連があることを報告した。

しかしながら、一般の土壤菌類が植物生長ホルモンを生成し、植物の生長に対して生理学的に影響しているという証明は、現在までのところまだ行なわれていないようである。ただ土壤中における微生物の代謝生産物が、植物のき形をおこさせることについて2、3の報告があるのみである。^(90,91)しかし、稲のバカ苗病をひきおこすかの伸長促進物質ジベレリンは、立枯病菌の一つである *Fusarium* と同属の *Gibberella fujikuroi*⁽⁹²⁾ の代謝生産物であり、その他 *Rhizopus* など2、3の糸状菌類も植物の生長促進物質を生産することが最近認められたことから、少くとも無数に存在する土壤菌類のいくらかには、植物に対する生長促進物質を生産する可能性があるものと推察されるであろう。このような可能性を証明することがこの研究の一つの大きな目的であつた。

1956年の春、京都大学農学部造林学研究室では、四手井教授の指導のもとに、立枯病におよぼす育苗条件の影響と、それにとまなう土壤中の microflora の変化を生態学的に究明する研究を行なうことになつた。その結果、microflora の異常と立枯病の発生との間に、密接な関係があることが明らかになつたが、異常増加する土壤菌類には病原性が認められないことがしばしばあつたので、植物—病原菌—土壤菌類という関係の間に一つの大きな疑問がもたれた。しかし、接種試験の途中で、植物の著しい伸長という現象の発見がこの問題の解決の糸口となつた。これは今まで全く考えられなかつた立枯病に対する植物と土壤菌類の間の新しい問題点であつた。人間の伝染病は、勿論病原菌の濃度にもよるがその人の健康度が抵抗性を左右する。植物の病気もまた、生育条件の不適が抵抗性に影響することが多い。それ故土壤菌類の刺げきによる植物の不健全な伸長は、立枯病に対する抵抗性を弱め、かえつて病害を促進する可能性のあることが想像される。このように考えると、立枯病に対する対策は病原菌だけではなく、それに影響する他の土壤菌類についても考慮を払つた新しい方策が必要となるであろう。

この研究は以上のように立枯病の発現に関与する複雑な土壤中の微生物因子を、生理生態学的に解明することを主な目的として行なつた。しかし、このような研究を行なうためには充分な基礎的研究が必要であるので、今後さらに究明すべき幾多の問題を残してはいるが、この研究が、土壤微生物学的な観点からの生理生態学的な立枯病の解析として、病害防除に対する新しい道をきり開くことになるならば、このうえない幸いである。

この論文は京都大学審査学位論文として、京都大学四手井教授の指導のもとに完成した。また、本文第1章は島根農科大学石井助手との共同研究の結果である。ここに厚くお礼を申しあげたい。さらに、京都大学理学部久世講師、農学部堤助教授の適切な指導と、信州大学農学部浅田教授、野笹多久男氏のとりまとめに与えられた好意と助力、ならびに京都大学農学部造林学研究室、農学部附属演習林の方々の密接な協力に加え、植物病理学研究室、応用植物学研究室の方々の尊い助言に対し深く謝意を表したい。

第1章 立枯病に影響する2, 3の育苗条件と 土壌中の MICROFLORA の変化

立枯病の発生は苗畑における育苗条件、特に土壌環境に強く影響されることは、早くから認められていた。すなわち、季節、場所によつて被害の程度や状態に著しい差を生ずるのは、苗畑土壌の温度、水分、 PH 、光線、土壌有機物、土壌の理化学性、化学性、特に肥料成分のほか、種子の産地、まきつけの時期稚苗の年齢が異なるためである。しかし、これらの条件の変化と土壌中の病原菌の動きとは室内実験の結果以外、實際上明らかでないことが多い。

一方苗畑における microflora については1910年代から1930年始めにかけて、各地の土壌が盛んに分析され、また、根圏微生物として植物との養分関係も研究されてきたが、立枯病との関連において、育苗条件にともなう microflora の変化を調査研究したものはみあたらないようである。

以下の実験は、これらのことから、育苗条件のうち特にまきつけ量、肥料の施用、有機物の加用が立枯病におよぼす影響と、それにとともなう microflora の変化を同時に調査することによつて、立枯病を生態学的に解析しようとしたものである。

§1. MICROFLORAの分析方法

1. 分析方法の批判

古くから用いられてきた土壌菌類の定量的な分析方法は、Direct 法、Dilution 法、Plate 法の3つに分けられる。⁽¹⁰⁷⁾ Direct 法は培養基を用いずに顕微鏡で直接概数を求める方法であるが、操作が面倒で、また、定性的な分析が行なえない欠点があるので、現在はほとんど用いられていない。Dilution 法は一定量の土壌を滅菌水で順次稀釈し、ただ1個となつた最後の稀釈液から菌数を算定するものであるが、正確度が Plate 法に劣るといわれている。Plate 法はペトリ皿を用いて分離培養する方法で、これはさらに Direct Inoculation 法、Dilution Plate 法、Soil Plate 法に分けられる。⁽¹⁰⁴⁾ WAKSMAN の工夫した Direct Inoculation 法は、ペトリ皿中の寒天培養基の上に少量の土壌をまきつけ、一定時間後のびた菌糸を分離、培養する方法であるが、分離される種類が少なく広くは用いられていない。⁽¹⁴⁾ WARCUP の Soil Plate 法は、一定量の土壌をペトリ皿に入れて寒天を流しこみ培養する方法であるが、孢子を形成する菌類が多く分離される欠点がある。Dilution Plate 法はもつとも多く行なわれている方法で、秤量した土壌を一定量の滅菌水で順次稀釈し、この液を寒天培養基とともにに入れて培養する方法である。Dilution Plate 法は土壌の稀釈液を分離培養するため、土壌粒子にまつわっている菌糸などは分離されにくく、孢子を形成する菌類のみが多く検出される傾向がある。^(14, 65, 109) 土壌菌類の活動は菌糸の状態でのみ影響すると考えられるので、この分析方法は土壌中での活動状態をそのまま示さない欠点がある。

この他、ROSSI および CHOLODNY の用いた ROSSI-CHOLODNY Slide 法は、スライドグラスを土壌中に埋めこみ、一定時間後染色識別する方法で THORNTON はこれを多少変更し、スライドグラス面の微生物を寒天上に分離、培養する方法を考えた。^(83, 99) CHESTERS の工夫した Immersion Tube 法は、下部に6つの穴のあいた特殊の試験管に寒天培養基を入れ土

壤中に埋めて発育する菌類を調べる方法である、

Screened Immersion Plate 法は、⁽⁸⁹⁾ THORNTON の考案した方法で、 10.5×4 cm のガラス皿に丁度入るようなガラス板をいれ、寒天をうすく流しこみ、寒天面にふれないよう10個の小穴 (0.5cm) のあいたカバーガラスをかぶせて、これを土壌中に埋めこみ穴からはいつて寒天上にのびた菌糸を鏡検する方法である。

THORNTON⁽¹⁴⁾ は以上の方法をいろいろな土壌で比較検討した結果、Screened Immersion Plate 法が、もつとも広範囲に多種類の土壌菌を検出することができることを明らかにした。これらの方法は、土壌中の菌糸の活動状態を直接とらえる方法として、すぐれた分析方法であるように思われる。しかしながら土壌中の microflora が相対的にしか定量できない大きな欠点がある。

以上のように、土壌中の microflora を分析する方法は多いが、それぞれの方法に一長一短があつて、現在統一された方法はない。しかし、今もつて最も多く採用されている分析方法は Dilution Plate 法である。多くの欠陥はあるが、分析方法が簡単で菌種の同定がきわめて容易であるからである。一方、立枯病に関連した microflora の研究は分類学的な見地からよりも生態学的究明に重点がおかれる必要があると思われるので、土壌中の microflora の全体的な傾向——微生物的平衡——を知れば、ほぼ満足すべきであろう。このような考えから、この研究においては Dilution Plate 法を採用することにした。

2. 土壌菌類の分離培養法

(1) 土壌の採取方法

まきつけ前の試料は、まきつけ床をよく整理したときに、全体から均等に採集したが、まきつけ後立枯病が発生してからは、各処理別に無被害箇所 (noninfected part) と被害箇所 (infected part) に分け、各 plot ごとに数箇所ずつ、表層より約 3 cm の深さまでの土壌を、合計約 50 g 採集した。この土壌をよく混合し、そのうち 10 g を分析用、残りを含水量の測定に供した。

(2) 希釈方法

供試土壌 10 g を滅菌した 500 cc 容三角フラスコにいれ、滅菌水 100 cc を加え (希釈 10 倍) 常法の通り 1 分間 120 回の速度で 10 分間振とうし、その 5 cc を 45 cc の滅菌水に希釈し (100 倍)、最後の濃度を 2000~4000 倍とした。実験の結果、この希釈度が苗畑土壌の菌類の分析に最適のように思われた。

希釈液はただち扁平培養した。

(3) 培養方法

培養基は土壌菌用の WAKSMAN 寒天培養基を使用した。

ブドウ糖	10.0 g
ペプトン	5.0 //
第一磷酸カリ (KH_2PO_4)	1.0 //
硫酸マグネシウム ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.5 //
寒 天	30.0 //
水	1000 cc

磷 酸 (H_2PO_4) で $\text{PH}3.8 \sim 4.0$ に調整

流しこみの方法はまず約45°Cに溶解保温した培養基を、滅菌したピペットで15ccずつ内径9cmのペトリ皿中に流しこみ、粘りよう性をおびてきた凝固寸前の寒天上に稀釈液を1ccずつ注加し、静かにペトリ皿を回してよく混合した。

1 試料につき、稀釈度2000と4000の2種で、それぞれペトリ皿3～4個、合計6～8個を使用した。培養温度は25°C～27°Cとした。

3. 同定および算出方法

培養後2～3日たつて、それぞれの colony が一応発達した後、5～10°Cの冷蔵庫に入れて孢子形成をうながし、検鏡した。しかし孢子の形成を行なわないものや、孢子ができても種の判定が困難であつたものは、主として CZAPEK 寒天培養基を用いた試験管斜面に接種培養し、同定を行なつた。

1956年4月から1958年6月までに、試験地より分離された菌類は30数属に達したが、種の分類は困難であり、その同定にはなお時日が必要であるため、ここでは一応属による分類を主とし、同属中重要と思われたもののみは sp. の後に番号を付して種の区別を行なつた。また同定のできなかつたもの、あるいは、寒天上で生長の早い菌類におおわれて検鏡のできなかつたものは、すべて Others に含めた。

なおこの論文では、出現頻度の大きい次の6属はそれぞれの頭文字だけの省略記号を用いることにした。

Mucor = M. *Trichoderma* = T. *Aspergillus* = A.
Penicillium = P. *Gliocladium* = G. *Fusarium* = F.

同属中番号によつて分類を行なつた種の培養基上の主な特徴は次のようであつた。

Mucor sp. 1..... colony 灰褐色
M. sp. 2 colony 黒褐色
Aspergillus sp. 1 colony 青緑色, 孢子の連さ長し
A. sp. 2 colony 黄緑色
A. sp. 3 colony 青色
A. sp. 4 *A. niger* 群
Fusarium sp. 1..... colony 白色, 大型分生孢子が大部分
F. sp. 2 colony 桃色, 裏面紫色, 厚膜孢子を多く形成
F. sp. 3 colony 桃色, 裏面紫色, 小型分生孢子が大部分
F. sp. 4 colony 白桃色, 厚膜孢子と小型分生孢子形成

なお同定のため主に GILMAN⁽²⁴⁾, BARNETT⁽⁷⁾, NIETHAMMER⁽⁴⁹⁾ の文献を参照した。

菌数の算出は次の式によつた。

$$n = \frac{a \cdot u \cdot 100}{100 - x}$$

n : 乾土1g中の菌数

u : 稀釈度

a : colony の平均数

x : 土壌の含水率 (%)

§2. 種子のまきつけ量の影響

1. アカマツによる試験

A 病害発生状況

1) 試験地および試料

試験地は京都大学農学部附属演習林本部苗畑に設けた。土壤の理化学的性質は次のようであつた。(主として柴田, 吉川⁽⁷⁴⁾による。)

(a) 理学的性質

容積重 104.9, 孔隙量 60.9%

ピペット法による組成

風乾度に対して 石礫 16.1%

風乾細土に対して 粗砂 43.5%, 微砂 24.7%, 粘土 13.3%

(b) 化学的性質

灼熱損量 6.35%, 置換酸度 0.6, PH 6.1~7.0

N 0.30%, P₂O₅ 0.18%, K₂O 0.22%

試験地には, コウヨウザン *Cunninghamia lanceolata* Hook が前作してあつたが, すべて無施肥で試験を行なつた。

試験に用いた種子は, 京都営林署管内のアカマツ *Pinus densiflora* S. et Z. で, まきつけ1カ月前の実験発芽率は64%であつた。

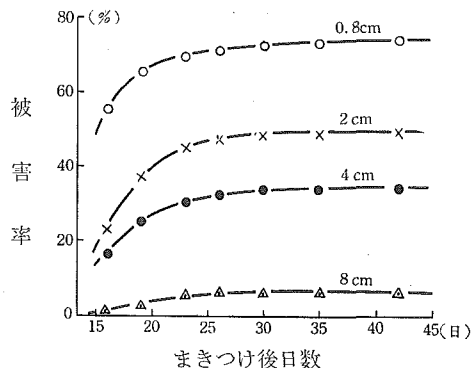
2) 試験方法

1 昼夜水浸して発芽促進した種子を, 1956年5月19日, 種子消毒は行なわずにまきつけた。まきつけ量は, 苗の間隔が1cm (I), 2cm (II), 4cm (III), 8cm (IV)になるよう正確に区切り, 1個所2粒ずつまきつけたが, I区のみは1cm間隙に正しくまきつけることが困難であつたので, 発芽率からあらかじめまきつけ量を計算し, m²当り261gずつばらまいた。そのため苗畑の得苗数に差ができて, 実際には平均0.8cm (m²当り約15,600本)の間隔となつた。各試験区は, 4回繰返しのラテン方格法によつて設定した。なお, アカマツは鳥の被害が大きいため, 各区ごとに金網をかぶせて鳥害を防止した。

調査の方法は, 1m²の各plotのほぼ中央に56cm平方, すなわち(8cm×7)²=3136cm²の測定区域を設け, また, 1区では特に格子状に8cm間隔の糸をはり, それぞれ立枯病による枯損苗と虫害苗ならびに残存本数をかぞえた。その結果から, 発芽総数に対する被害率を求め, さらに不発芽を含む被害率(枯損数+不発芽数/発芽期待数)も計算した。

3) 試験結果および考察

発芽した苗がほぼ出そろつたまきつけ後16日目(6月4日)から, 病害の進行がほとんどまつたと思われた。まきつけ後42日目(6月30日)までの調査結果を被害率の積算であらわすと第1図のようであつた。推計計算の結果畝間(東西畝)に5%の危険率で差



第1図 アカマツのまきつけ量を異にした被害率の変化

が認められたが被害率は各 plot の平均で示した。

発芽期待数から求めた苗畑発芽率は I 区 50.5%，II 区 66.7%，III 区 73.8%，IV 区 91.3% であつた。すなわち、まきつけ量の多いほど不発芽が多かつた。

まきつけ量別の被害率は、まきつけ後約 3 週間目までは各処理ともそれぞれ著しく増加するが、その後は急激に病害が減少し、IV 区では全く被害率の増加が認められなくなつた。このことは、稚苗の年令、すなわち寄主の組織の軟弱さと関係があるようで、TINT の報告とも一致している。また、まきつけ量が多いほど遅くまで被害が続くことも認められた。

第 1 図からも明らかなように、まきつけ量が多いほど立枯病による被害率は大きくなるが、被害率を対数であらわした片対数グラフ上にまきつけ間隔との関係を求めると、ほぼ直線的に変化することがわかる。(第 2 図)。これは次の式であらわすことができる。

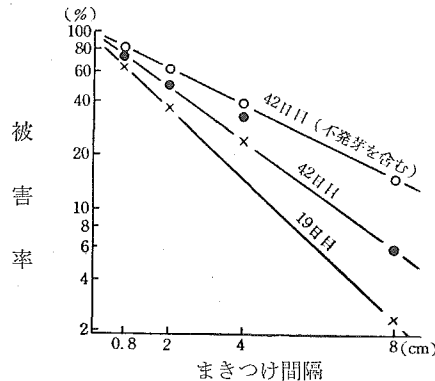
$$P = 100 e^{-ax}$$

P : 被害率 (%)

x : まきつけた種子の間隔

a : 常数

この傾向は、不発芽率についても同様である。すなわち、間隔が小さくなると被害率は指数函数的に増加するものと思われる。また、不発芽を含んだ 42 日目の被害率はよく直線上にのり、勾配がもつともゆるくあらわれた。



第 2 図 アカマツのまきつけ量と被害率の関係

高等植物の生長は、一般に養料の濃度と指数函数的な関係にあるといわれているが⁽⁶³⁾ LILLY & BARNETT⁽⁴²⁾ や赤井 (未発表) などの研究は、菌類の生長もそれによく似た生長経過をたどることを示している。しかしまきつけ量が多いことが、病原菌にとって養料が多く与えられていることを直接には意味しないにしても、土壤伝染性の病原菌にとって、寄主の間隔がせまければせまいほどそれだけ伝播しやすく、より大きいエネルギーが与えられていると考えられよう。石井は同じ試験において、個々の稚苗が枯損する状況を詳細に調査し、まきつけ量が多いほど集团的に被害を受けることを見出した。

種子の状態で地中腐敗した場合も同様である。このことはある一地点から病原菌の菌糸が伸長していくものとする、同心円的に病害がひろがつていくことを意味している。それ故まきつけ量が少なければ、寄主から寄主への伝播は困難となり、まきつけ量が多ければ次から次へと寄主を攻撃し、さらに大きいエネルギーを得て、急速に被害を助長するように考えられる。勿論、このような病原菌の活動には、後述するように他の微生物の共生的な作用が加わる場合が多いであろう。

しかし、以上のようなまきつけ量の差が立枯病の被害に対して直接の誘因となるほかに、この試験では測定していないが、間接的な誘因として、苗の密度による受光量の差が土壤の温度や湿度を変化させ、病原菌の繁殖に影響したことも考えられる。

B. microflora の変化

1) 病原菌の分離

立枯病菌の侵害を受けてかつ色に変化した hypocotyl を短かく切り、85%のアルコールと1000倍昇水で表面殺菌し、馬鈴しよ寒天斜面上において病原菌の分離を行なつた。その結果、すべての測定期間を通じ、*Rhizoctonia* spp. が60~80%を占めた。ついで *Fusarium* sp. 3が約10%、*F.* sp. 1, *Alternaria* sp., *Phoma* sp. などが2~3%ずつ分離された。

普通、立枯病菌としてあげられる *Pythium*^(8,33,69) は分離されなかつた。その他 *Botrytis*^(8,33,101), *Cylindrocladium*⁽⁹⁵⁾ などや root-rot の病原菌として知られてるものも全く認められなかつた。なお、接種試験のくわしい結果は第2章でとりあつかうが、*Rhizoctonia* の属にはすべて著しい病原性があり、*Fusarium* sp. 3 はやや強く、*Phoma* sp. にも明らかな病原性が認められた。しかし、*Alternaria* sp. の病原性は不明である。

2) 種子に附着する菌類

種子に附着する菌類は、土壤菌類の分析方法と全く同様に、適量の滅菌水中に適宜稀釈して分離培養した。

種子より分離した主な菌類は以下のようであつた。

Mucor sp. 1, *M.* sp. 2, *Trichoderma* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.,
Hyalopus sp., *Gonatobotrys* sp., *Alternaria* sp., *Mycelia Sterilia*^(69,70)

種子に附着する菌類とその病原性については、スギについて佐藤らの報告があるが、アカマツに附着していた上のような菌類中には病原性のあるものがみられなかつた。しかし胞子を作らない *Rhizoctonia* のような菌類は Dilution Plate 法では、ほとんど分離されないので、佐藤らの行なつたように直接寒天上に種子をおく方法を行なえば、病原性のある菌類が認められたかもしれない。

3) 土壤中の全菌類数

まきつけ前(4月6日)とまきつけ後26日目ならびに41日目の絶乾土壌1g中の全土壤菌数は第1表のとおりであつた。

第1表 試験区別全土壤菌数

区 分	まきつけ前	まきつけ後26日目				まきつけ後41日目			
		I (0.8cm)	II (2cm)	III (4cm)	IV (8cm)	I (0.8cm)	II (2cm)	III (4cm)	IV (8cm)
無被害個所	39.5	63.5	72.1	30.2	63.9	263.0	94.5	60.7	66.0
被害個所		258.4	92.6	20.1	111.5	204.9	78.1	57.9	51.9

第1表から明らかなように、まきつけ後の土壤菌類の数は、Ⅲ区を除いて全部まきつけ前よりも著しく増加している。このことは、稚苗がはえそろうと環境が変化し、土壤中の菌類の活動に有利な条件が与えられるものと思われる。

まきつけ後26日目の分析結果は、Ⅲ区を除いて被害個所の菌数が無被害個所よりも明らかに大きく、特にⅠ区でその差が著しいことを示している。しかし、まきつけ後41日目の結果では、これと全く反対に菌数はかえつて無被害個所に多い。しかも、無被害個所の菌数が時期をおつて増加していくのに反し、被害個所の糸状菌数は、2週間前のそれぞれの数量よりいずれも小さく、かえつて減少の傾向が明らかであつた。

以上の結果は例外的なⅢ区を除いて考えてみると、第1図からも明らかなように最初の分

析を行なつたまきつけ後26日目頃の被害の増加率は最高を過ぎてすでに少なくなつてはいるが、JENSEN⁽³⁸⁾、FEHÉR⁽¹⁹⁾およびLILLY & BARNETT⁽⁴²⁾らの報告のように、土壤微生物の分析にDilution Plate法を用いるときは、菌類の活動の最盛期より約2週間ずれて最大数量があらわれることから、まきつけ後26日目の被害個所に土壤菌類が多くなつたことは被害が激しかつた時の土壤菌類の活動を示すものとして理解できるであろう。

また、まきつけ後41日目の無被害個所の菌数が26日目より増加したのはVAARTAJA⁽¹⁰¹⁾の報告のように、稚苗の生長に従つて土壤環境が土壤菌類の活動に有利になつたものと推察されるが、被害個所の菌数が少なくなつた原因はすでに消失した裸地状態の場所からも試料を採取しているので、被害率が減少した時期では、時の経過と共に微生物の分布状態ももとの平衡状態に向つて個体数を減少していくものと考えられよう。

4) 土壤菌類の分布状態

第2表 アカマツのまきつけ量試験
を行なうまえの microflora(10⁹/g)

<i>Mucor</i> sp.1	1.2
<i>M.</i> spp.	0.3
<i>Phoma</i> sp.	0.6
<i>Trichoderma</i> sp.	2.8
<i>Aspergillus</i> sp.1	7.7
<i>A.</i> sp.2	1.5
<i>A.</i> sp.4	0.9
<i>A.</i> spp.	0.3
<i>Penicillium</i> spp.	4.9
<i>Scopulariopsis</i> sp.	1.8
<i>Botrytis</i> sp.	0.3
<i>Pullularia</i> sp.	0.6
<i>Fusarium</i> sp.1	0.6
<i>F.</i> sp.2	0.6
<i>F.</i> sp.3	0.3
<i>Mycelia Sterilia</i>	2.8
Others	12.3
合 計	37.5

まきつけ前の microflora は第2表に、被害が進んだまきつけ後26日目の結果は第4表、41日目の結果は第5表に示した。第3表はまきつけ後20日目の I (0.8cm) 区における被害状態を3種類の部分にわけ、無被害個所 (noninfected part) 被害個所 (infected part) および消失個所 (vanished part) (地中腐敗型によつて種子が発芽しなかつたか、倒伏苗がすでに消失してしまつた個所) の microflora を示したものである。

WAKSMAN⁽¹⁰⁷⁾やJENSEN⁽³⁸⁾が明らかにしたように、まきつけ前の苗畑の microflora は、*Aspergillus* 属や *Penicillium* 属のものが他に比較していくらか多い程度で、それぞれの菌類の種類数も、またその全個体数も少なく、全体的に安定した microflora の状態を示していたことが第2表から認められる。しかし種子のまきつけが行なわれて環境が変化すると、糸状菌は増加をはじめますが、ひとたび立

枯病が発生すると、microflora は急速に均衡を破り異常な活動をはじめようであつた。

このような傾向を第3表から調べると、まず全土壤菌数は無被害個所、被害個所、消失個所と順次多くなり、立枯病の発生と菌数の増加との間には密接な関係がある。また、数量の増加に従つて種数は減少していくようであつた。これは、きつ抗作用などによつて淘汰されたものであろう。

個々の土壤菌類の出現状況は、出現ひん度が4%以上のもののみについて比較すると、無被害個所では *G. fimbriatum*, *Torula* sp., *F.* sp.3, *Hormodendrum* sp., *T.* sp. の5種で計74%, 被害個所では *G. fimbriatum*, *F.* sp.2 の2種で計76%, 消失個所では *G. fimbriatum* 1種のみで83% (170,000) を占め、きわめて傾斜の大きい microflora の分布

第3表 アカマツのまきつけ量試験における被害状態別の microflora—I区 (10³/g)

Fungi	個 所	無被害個所	被害個所	消失個所
<i>Rhizopus</i> sp.		1.3	0.3	0.6
<i>Mucor</i> sp. 1		0.3	2.2	5.0
<i>M.</i> sp. 2		1.0	1.6	5.6
<i>M.</i> sp. 3		—	0.3	—
<i>M.</i> sp. ?		0.6	—	0.3
<i>Phoma</i> sp.		—	1.6	0.6
<i>Trichoderma</i> spp.		4.7	2.5	1.0
<i>Hyalopus</i> sp.		—	0.6	—
<i>Aspergillus</i> sp. 1		1.0	0.3	—
<i>A.</i> sp. 2		2.2	1.3	2.5
<i>A.</i> sp. 3		1.0	1.6	0.6
<i>A.</i> spp.		2.2	2.2	1.6
<i>Penicillium</i> spp.		3.1	3.5	4.4
<i>Gliocladium fimbriatum</i>		32.2	121.3	169.7
<i>G. penicilloides</i>		1.9	2.5	0.6
<i>Botrytis</i> sp.		—	0.3	—
<i>B.</i> sp. ?		1.3	5.3	3.1
<i>Papularia</i> sp.		—	0.3	—
<i>Pullularia</i> sp.		0.6	—	—
<i>Torula</i> sp.		12.2	2.2	—
<i>Hormodendrum</i> sp.		7.5	1.6	—
<i>Fusarium</i> sp. 1		0.6	2.5	—
<i>F.</i> sp. 2		—	1.0	3.5
<i>F.</i> sp. 3		11.3	7.5	1.0
<i>F.</i> sp. 4		1.6	0.6	—
Mycelia Sterilia		—	1.6	—
Others		5.6	4.1	5.3
合 計		92.2	168.8	205.4

状態を示した。このことは無被害個所では一般に均等な割合でそれぞれの菌類が調和を保っているのに対し、立枯病が発生した環境においては、微生物の平衡が破壊されて、microflora が片寄った異常な状態に進むものと思われる。

以上のような傾向は、処理区別に行なつたまきつけ後26日目の分析結果(第4表)からも明らかで、無被害個所はいずれも、それぞれの菌類がほぼ平均して分布しているのに反し、被害の大きい個所では *G. fimbriatum* が異常に増殖して、microflora の調和が大きく破られていることがわかる。すなわち、まきつけ前均衡を保っていた microflora は、病害の発生と共に被害個所では著しく変化し、特にまきつけ量が多くなるほど傾斜が大きくなつた。しかし第5表からも明らかなように、時日がたつに従つて、異常であつた microflora はもとの安定した状態にもどる傾向があつた。これは生物の生態的な現象として当然であろう。

しかし、1区は無被害個所は、*G. fimbriatum* が 150,000(57%) で、被害個所と数量においてはほとんどかわらず、異常な microflora の状態を示したが、これは被害個所で異常増加した *G. fimbriatum* が何らかの影響をおよぼしたものとも考えられる。すなわち、まきつ

第4表 アカマツのまきつけ量試験におけるまきつけ後26日目の microflora (10³/g)

Fungi	まきつけ間隔		0.8cm		2cm		4cm		8cm	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Mucor</i> sp. 1	—	0.6	—	0.6	—	—	—	—	—	—
<i>M.</i> sp. 2	0.9	1.1	0.7	0.9	0.6	—	—	—	—	—
<i>M.</i> spp.	—	—	2.4	2.4	—	—	—	—	2.9	1.2
<i>M.</i> spp. ?	0.6	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Monilia</i> sp.	—	—	—	—	0.9	—	—	—	0.4	—
<i>Phoma</i> sp.	3.7	0.6	8.7	9.5	3.4	3.6	9.4	4.5	—	—
<i>Trichoderma</i> spp.	0.6	3.2	1.7	2.4	2.6	2.6	1.2	1.2	—	—
<i>Aspergillus</i> sp. 1	4.0	—	4.5	2.7	2.6	1.3	6.9	5.3	—	—
<i>A.</i> sp. 2	1.1	1.7	—	2.7	0.6	1.0	2.9	—	—	—
<i>A.</i> sp. 3	1.4	1.7	—	—	—	0.3	2.9	3.2	—	—
<i>A.</i> sp. 4	—	1.7	—	0.6	—	—	2.0	0.8	—	—
<i>A.</i> spp.	—	0.6	3.5	0.6	0.3	0.7	0.4	0.8	—	—
<i>A.</i> sp. ?	3.4	1.1	1.7	1.8	4.6	2.0	3.7	2.9	—	—
<i>Penicillium</i> spp.	2.6	3.7	3.8	4.3	1.7	1.6	8.5	3.2	—	—
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	18.9	180.9	15.4	44.3	0.3	0.3	—	57.0	—	—
<i>G. Penicilloides</i>	6.6	12.6	2.8	5.8	0.6	—	2.4	2.0	—	—
<i>Botrytis</i> sp.	2.3	0.6	9.8	1.8	1.1	—	2.4	2.9	—	—
<i>Acrostalagmus</i> sp.	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Gonatobotrys</i> sp.	0.6	—	—	—	—	0.7	—	—	—	—
<i>Papularia</i> sp.	—	0.3	1.4	0.6	—	—	—	2.4	—	—
<i>Pullularia</i> sp.	—	0.6	1.4	0.3	0.3	0.7	1.6	4.9	—	—
<i>Torula lucifuga</i>	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Hormodendrum viride</i>	3.2	6.6	5.2	3.4	—	0.7	1.6	4.5	—	—
<i>Acrothecium</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	0.4	—	—
<i>Alternaria</i> sp.	—	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Tilachlidium</i> sp.	—	—	—	—	—	—	4.1	—	—	—
<i>Stysanus</i> sp.	—	0.9	1.4	—	1.7	0.7	0.4	2.9	—	—
<i>Fusarium</i> sp. 1	—	1.4	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>F.</i> sp. 2	—	4.0	—	1.8	—	—	—	2.4	—	—
<i>F.</i> sp. 3	9.5	30.7	0.7	—	0.6	—	0.4	3.7	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	0.9	0.6	3.5	3.7	5.7	2.6	2.9	2.4	—	—
Others	2.3	2.0	3.5	2.4	2.6	1.3	6.9	2.9	—	—
合 計	63.5	258.4	72.1	92.6	30.2	20.1	63.9	111.5	—	—

(註) n. p. : 無被害個所 (noninfected part)

i. p. : 被害個所 (infected part)

け後41日目となると、被害の大きなI区には、完全な無被害個所はほとんど見当らなくなるので、土壤採集の際被害個所の土壤がかなり多く混入したことに原因するものと思われる。

以上のように、いずれの分析結果も病害の発生と共に *G. fimbriatum* の数量が増加し、被害が大きくなればなるほど *G. fimbriatum* も異常増殖して、この間に相当強い相関関係があることがわかったが、接種試験(第2章)の結果、*G. fimbriatum* には病原性が認められなかった。

種子にも附着せず、まきつけ前にも認められなかった *G. fimbriatum* が著しく増殖し

第5表 アカマツのまきつけ量試験におけるまきつけ後41日目の microflora (10³/g)

Fungi	まきつけ間隔		0.8cm		2cm		4cm		8cm	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Rhizopus</i> sp.	—	—	—	—	—	0.7	—	—	—	—
<i>Mucor</i> sp. 1	1.3	3.2	—	0.6	0.4	—	—	—	—	—
<i>M.</i> sp. 2	1.3	1.3	0.4	1.6	1.8	0.4	—	—	0.6	—
<i>M.</i> spp.	1.0	1.6	—	0.3	—	—	—	—	—	—
<i>M.</i> spp. ?	0.6	0.6	—	—	0.7	—	—	0.3	—	—
<i>Mortierella</i> sp.	—	—	—	—	0.7	—	—	—	—	—
<i>Monilia</i> sp.	—	—	0.4	—	0.4	—	0.6	0.3	—	—
<i>Phoma</i> sp.	5.4	1.9	6.9	10.5	12.4	9.9	12.5	6.4	—	—
<i>Trichoderma</i> spp.	1.0	2.9	2.2	2.2	4.4	1.1	1.9	2.6	—	—
<i>Aspergillus</i> sp. 1	0.3	—	1.1	1.0	0.7	0.4	2.9	0.3	—	—
<i>A.</i> sp. 2	—	—	0.4	2.6	1.1	1.1	3.8	4.2	—	—
<i>A.</i> sp. 3	0.6	1.0	3.7	0.6	1.1	1.8	1.0	0.3	—	—
<i>A.</i> sp. 4	1.6	0.9	1.5	1.6	1.8	0.4	0.3	1.3	—	—
<i>A.</i> spp.	—	1.3	0.7	1.0	0.4	0.4	1.3	—	—	—
<i>A.</i> sp. ?	2.6	1.3	8.4	5.1	8.8	4.8	10.5	9.3	—	—
<i>Penicillium</i> spp.	6.4	5.1	3.7	7.3	5.1	2.9	2.2	6.1	—	—
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	149.7	143.6	17.9	12.1	—	6.9	—	2.9	—	—
<i>G. Penicilloides</i>	60.3	13.7	11.7	6.4	2.9	1.1	1.6	1.9	—	—
<i>Botrytis</i> sp.	3.5	0.3	4.0	2.6	5.5	6.2	3.8	2.2	—	—
<i>Gonatotryps</i> sp.	3.2	4.2	—	—	1.5	—	—	0.6	—	—
<i>Papularia</i> sp.	—	0.3	3.3	—	—	0.4	1.6	1.6	—	—
<i>Pullularia</i> sp.	1.6	0.6	0.7	0.6	—	—	1.0	1.0	—	—
<i>Hormodendrum viride</i>	5.1	7.0	8.4	3.5	1.8	3.7	2.9	3.5	—	—
<i>Tilachlidium</i> sp.	0.3	—	—	—	0.4	1.5	—	—	—	—
<i>Stysanus</i> sp.	—	—	0.7	—	1.1	0.4	—	—	—	—
<i>Fusarium</i> sp. 1	0.6	2.6	—	0.3	1.1	0.7	0.6	1.0	—	—
<i>F.</i> sp. 2	2.6	2.6	2.6	0.3	0.4	0.4	0.6	—	—	—
<i>F.</i> sp. 3	8.0	5.7	1.1	1.0	—	0.4	0.6	0.3	—	—
Mycelia Sterilia	2.2	0.6	9.9	6.7	4.4	7.3	6.7	2.6	—	—
Others	3.8	2.6	4.8	10.2	1.8	5.0	9.3	2.9	—	—
合計	263.0	204.9	94.5	78.1	60.7	57.9	66.0	51.9	—	—

たことは、土壤中に全くすんでいなかったことを意味するのではなく、Dilution Plate 法にかからないほど少数であつたと考えられる *G. fimbriatum* に、よほど最適の環境が与えられたためであろう。これがもしまきつけという環境条件の変化だけによつて増殖するものならば、すべての個所にその現象がみられるはずである。しかるに、まきつけ後26日目のⅣ区(第4表)、41日目のⅢ区とⅣ区(第5表)の無被害個所に全く認められていないことは、単なる環境条件の変化だけではなく、立枯病の発生と強く結びついた何らかの刺戟によつて異常に発生増加したものと考えられる。しかし、*G. fimbriatum* の異常増殖というものは、病原菌に直接作用してその活動を助長するものか、寄主に作用して病原菌の侵害に有利な状態を作りだすものなのか、あるいは立枯病そのものには何らの影響もおよぼさずに、ただ病害の特殊の刺戟だけによつてあらわれた特異現象であるのか、始めはまったくわからなかつ

た。ただ、まきつけ後約3週間目(第3表)の被害個所の microflora が *G. fimbriatum* で異常状態を示していることは、胞子の形成の最大期は菌糸の活動期より2週間ずれるという報告からしても、まきつけ直後から発芽を開始する1週間前後までの間に、すでに *G. fimbriatum* が活発に活動していたことを意味しているであろう。

被害苗から分離した病原性のある菌類の中で、土壌中から分離されたものは、*F. sp. 3* と、*phoma sp.* の2種であつた。このうち *F. sp. 3* は1区で *G. fimbriatum* について多く見出され、特にまきつけ後26日目の被害個所には30,000個体も分離された。II区では、これにかわつて、*phoma sp.* が多くなり、III区、IV区になると *G. fimbriatum* にかわつて *phoma sp.* が、きわめて優勢になつた。しかし microflora の平衡を破るほど大きな割合では現われなかつた。石井のいう孤立(単独)被害苗は、*phoma sp.* に原因したものが相当あつたようである。

立枯病に対して抗菌性が大きいといわれる *Trichoderma* 属については、明らかな傾向を求めることができなかつた。また、以上のほかの土壤菌類についても明らかでないことが多く、今後さらにくわしい検討が必要であろう。

2. ヒノキによる試験⁽⁸²⁾

A. 病害発生状況

試験地はアカマツと同一の場所、京都大学農学部附属演習林本部苗畑に設けた。施肥は行なわなかつた。試験に用いた種子は奈良営林署管内のヒノキ *Chamaecyparis obtusa* S. et Z. で、まきつけ当時の実験発芽率は26%であつた。

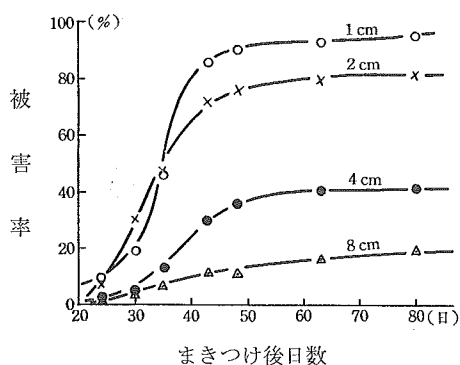
試験方法はアカマツの場合とほぼ同じであつた。1957年6月11日発芽促進を行なつた種子を、種子消毒は行なわずにまきつけた。まきつけ量は、苗の間隔が1cm(I), 2cm(II), 4cm(III), 8cm(IV)になるよう区分して、1カ所に5粒ずつまきつけたが、I区のみは発芽効率からまきつけ量を計算してばらまきました。その結果ヒノキはアカマツの場合と異なり m^2 当り約10,000本発芽し、期待した1cmの間隔がえられた。

調査方法は、 $1m^2$ の各 plot のほぼ中央に48cm平方、すなわち $(8cm \times 6)^2 = 2,304cm^2$ の測定区域を設け、それぞれの枯損苗ならびに残存本数を調査し、発芽総数に対する被害率および不発芽率を計算した。

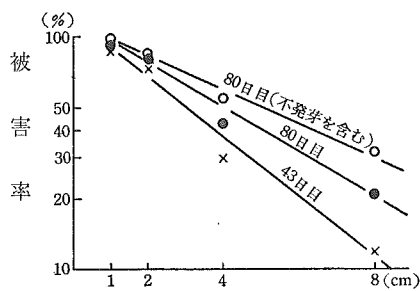
発芽した苗がほぼでそろつたまきつけ後24日目(7月5日)から、80日目(8月30日)までの被害率は第3図のようであつた。推計計算の結果、行列間に差が認められなかつたので、被害率は各 plot の平均で示した。

発芽期待数から求めた苗畑発芽率はI区35.6%、II区80.1%、III区82.0%、IV区85.4%であつた。

各処理別の被害は、アカマツの場合と同様、まきつけ量が多いほど大きくなる。被害の進行経過はアカマツの場合と異なり、まきつけ量が多いほど一定期間の被害が早く極大に達し、その後の被害は急激に少なくなるが、まきつけ量が少ないほどいつまでも被害が続くようであつた。このような傾向は TINT⁽⁹⁷⁾ の報告とも一致するようである。なお、ヒノキの立枯病はアカマツのような倒伏型ばかりでなく、被害進行の後期には、根腐型によるものもかなり認められた。



第3図 ヒノキのまきつけ量を異にした被害率の変化



第4図 ヒノキのまきつけ量と被害率の関係

まきつけ量と被害率との関係を、被害率を対数であらわした片対数グラフ上に求めると、アカマツの結果とよく一致し、ほぼ直線的に変化する(第4図)。

すなわち、まきつけ量が多くなると被害率は指数函数的に増加し、時期がおくれるほど勾配がゆるくなつた。一方、不発芽率はI区の64.4%をのぞいて、他はいずれも15~20%で大差はなかつたが、不発芽を含んだ被害率は、指数函数的な傾向が認められた。

このように、まきつけ量と被害率との間には指数函数的な関係が認められるので、アカマツの結果と同様、まきつけ量が多くなることは病原菌に対して栄養が増加したものと一応考えられるが、ヒノキの場合はアカマツと異なり、被害の個所が同心円状に拡大していくことが少なく、plotの全体にわたり平均して枯損苗があらわれたことからしても、他の環境因子、例えば土壌の温度ならびに湿度などがある程度影響した可能性もあるように思われる。

B. microflora の変化

まきつけ13日前(5月29日)とまきつけ後34日目(7月15日)ならびに94日目(9月13日)の全土壌菌数は第6表のとおりであつた。

第6表 試験区別土壌菌数 (10⁸/g)

区 分	まきつけ前	まきつけ後34日目				まきつけ後94日目			
		I (1cm)	II (2cm)	III (4cm)	IV (8cm)	I (1cm)	II (2cm)	III (4cm)	IV (8cm)
無被害個所	25.4	—	29.7	44.9	39.3	42.5	27.4	26.4	47.8
被害個所		—	45.2	43.9	19.2	39.8	44.1	29.1	59.6

まきつけ後34日目のI区は、被害、無被害の両個所とも *Trichoderma* sp. 3 (*Gliocladium* によりにて粘液に包まれた mass conidia を作る) がきわめて優勢で、すべてのペトリ皿上に旺盛に生長し、他の菌類を完全におおつてしまい分離同定することができなかつた。他の区においては第6表から明らかなように、まきつけ後の菌数はまきつけ前より大体増加の傾向がある。しかし、ヒノキの結果は、まきつけ後の日数経過による菌数の変化や、個所別の差は明らかでなかつた。

土壌菌類の分布状態はまきつけ前—第7表、まきつけ後34日目—第8表、94日目—第9表

のようであつた。ヒノキのまきつけ量試験における microflora の分析は、*Fusarium* を除いて全部属単位で分類を行なつた。

まきつけ前の microflora は *Aspergillus* が約 1/4 を占め、WAKSMAN⁽¹⁰⁷⁾ や JENSEN⁽⁸⁸⁾ の指

第7表 ヒノキのまきつけ量試験を行なうまへの microflora (10³/g)

<i>Phoma</i>	1.7
<i>Cephalosporium</i>	0.5
<i>Aspergillus</i>	6.8
<i>Penicillium</i>	2.0
<i>Gliocladium</i>	1.2
<i>Botrytis</i>	1.2
<i>Papularia</i>	1.2
<i>Pullularia</i>	0.5
<i>Hormodendrum</i>	0.5
<i>Fusarium</i> sp. 1	0.5
<i>Mycelia Sterilia</i>	5.6
Others	3.7
合 計	25.4

摘するように、畑地土壌として特徴のある安定した状態を示していた。まきつけ後、立枯病の被害の進むにつれて microflora も変化し、特に *Phoma* は 2~10 倍に増加した。*Aspergillus* は比較的出現割合が多いが、この分析でも 5, 6 種が分離されているので、属の変動だけでは一定の傾向を求めがたい。*Penicillium* もまた同様である。*Phoma* は 1 つの種のみが分離された。この菌はいずれの区からも比較的多数現われたが、これは 1 区を除いたアカマツの結果とよく似た傾向である。*Phoma* には次章で取扱うように病原性があるので、この菌の増殖は被害を増加させる可能性がある。しかし、ヒノキの被害苗

第8表 ヒノキのまきつけ量試験におけるまきつけ後34日目の microflora (10³/g)

Fungi	まきつけ間隔		2 cm		4 cm		8 cm	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Mucor</i>	0.4	—	0.4	0.6	—	—	—	—
<i>Phoma</i>	6.5	13.5	17.5	12.5	7.5	3.5	—	—
<i>Trichoderma</i>	1.6	—	0.6	0.3	2.1	2.1	—	—
<i>Aspergillus</i>	3.4	8.4	5.9	4.4	10.9	5.3	—	—
<i>Penicillium</i>	1.0	6.5	1.9	1.5	0.3	2.8	—	—
<i>Gliocladium</i>	4.1	3.4	—	1.3	1.9	0.6	—	—
<i>Botrytis</i>	—	—	—	0.3	—	—	—	—
<i>Pullularia</i>	1.5	2.8	1.5	4.1	0.6	—	—	—
<i>Hormodendrum</i>	—	0.3	—	—	—	—	—	—
<i>Acrothecium</i>	—	—	0.3	—	—	—	—	—
<i>Tetracosporium</i>	0.4	—	8.1	5.0	0.6	—	—	—
<i>Alternaria</i>	0.3	—	—	—	—	—	—	—
<i>Fusarium</i> . sp. 1	2.1	0.3	1.5	0.4	3.5	0.9	—	—
<i>F.</i> sp. 2	1.0	0.6	1.0	0.3	2.5	—	—	—
<i>Epicocum</i>	—	—	—	0.3	—	—	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	3.2	2.3	1.0	2.3	2.1	0.6	—	—
Others	3.8	6.8	5.2	10.6	7.3	3.4	—	—
合 計	29.7	45.2	44.9	43.9	39.3	19.2	—	—

からは病原菌の分離を行なわなかつたのでヒノキに対する *Phoma* 菌の病原性については現在のところ明らかでない。

アカマツの試験で異常増殖した *Gliocladium* は、ヒノキの場合も現われているが、問題

第9表 ヒノキのまきつけ量試験におけるまきつけ後94日目の microflora ($10^3/g$)

Fungi	まきつけ間隔		1 cm		2 cm		4 cm		8 cm	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Mucor</i>	—	0.7	—	—	—	—	—	—	0.7	—
<i>Cunninghamella</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5	—
<i>Phoma</i>	8.4	9.1	8.4	11.5	7.9	10.3	10.3	10.1		
<i>Pyrenochaeta</i>	—	—	—	—	0.7	0.5	0.5	0.7		
<i>Oospora</i>	0.7	—	1.7	0.7	3.1	—	0.5	—		
<i>Cephalosporium</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7	
<i>Cephalosporium?</i>	—	—	—	0.5	0.7	0.7	4.8	—		
<i>Trichoderma</i>	3.1	2.9	1.9	0.7	0.5	1.2	0.5	0.7		
<i>Hyalopus</i>	—	—	—	—	—	—	0.5	—		
<i>Aspergillus</i>	11.3	5.5	3.6	5.3	2.9	5.3	16.3	8.9		
<i>Penicillium</i>	2.9	4.8	2.4	1.9	1.7	0.5	0.5	25.2		
<i>Gliocladium</i>	4.8	1.2	0.5	1.9	0.5	1.7	1.7	0.5		
<i>Acrostalagmus</i>	—	—	—	—	—	—	—	0.7		
<i>Spicaria</i>	—	—	—	—	—	—	0.7	—		
<i>Papularia</i>	—	—	—	—	0.7	—	1.2	1.2		
<i>Pullularia</i>	—	—	—	3.1	0.7	1.2	—	0.5		
<i>Hormodendrum</i>	0.7	—	—	0.5	—	0.7	0.7	0.5		
<i>Stachybotrys</i>	—	—	—	—	—	—	0.7	—		
<i>Humicola</i>	—	—	—	0.5	—	0.5	0.5	0.5		
<i>Stisaous</i>	—	—	—	—	0.5	—	—	—		
<i>Fusarium</i> sp. 1	0.5	0.5	0.5	1.2	—	—	—	—		
<i>F.</i> sp. 2	1.7	0.5	0.7	1.9	0.5	0.5	1.7	0.7		
<i>Mycelia Sterilia</i>	2.9	4.3	3.6	8.4	4.1	3.1	2.4	3.1		
Others	5.5	10.3	4.1	6.0	1.9	2.9	3.1	4.1		
合 計	42.5	39.8	27.4	44.1	26.4	29.1	47.8	59.6		

になるほど多くはなかつた。*Fusarium* sp. 1, sp. 2ともかなり分離されたが、明らかな傾向が認められず、病原性の強い *F.* sp. 3は全然あらわれなかつた。

被害のほとんど終つたまきつけ後94日目の microflora は、まきつけ量が少なくなるほど菌類の種類(属)数が多くなつたが、菌数の変化は少なかつた。出現割合の比較的小さい他の多くの菌類については、アカマツの結果と同様、明らかな傾向を求めることが困難であつた。

以上のように、ヒノキのまきつけ量試験における microflora は、病害の発生と共に *Phoma* が凡そ 20~30% を占めていくらか異常状態を示し、まきつけ後 5~6 週間目の I 区を除いたアカマツの microflora とよく似た傾向が認められたが、アカマツの試験におけるような *G. fimbriatum* の異常増加による極端な不均衡はみられなかつた。これはヒノキの病害発生状態が、アカマツのように集団発生することがなく、被害個所と無被害個所別の試料採集が困難であつたことに原因するほか、試験の場所は同じでも時期や取扱いが異なるためとも考えられる。また、STARKEY, WAKSMAN^(87,88) および GARRETT⁽¹⁰⁹⁾ らが指摘したように、特定の稚苗の存在が土壤中の菌類特に根圏の菌類に強く影響した結果、microflora に差を生じたものとも考えられる。

§ 3. 無機質肥料の施用による影響

1. アカマツによる試験⁽⁷⁸⁾

A. 病害発生状況

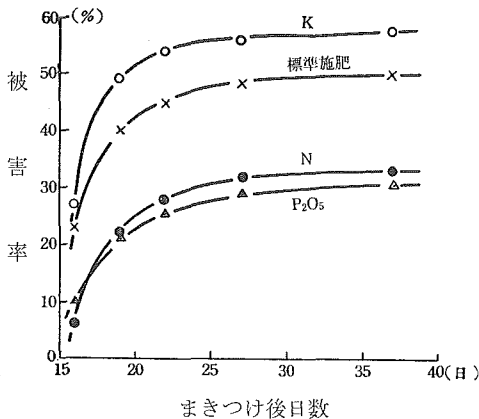
京都大学農学部附属演習林本部苗畑で行なつたアカマツまきつけ量試験区の横に、肥料試験区⁽⁷⁶⁾を設けた。試験地は古くから肥培されていたため、四手井らの報告を参考として、1要素過多による方法を取り、1956年8月13日、第10表の基準で所定量を水溶液として施肥した。

第10表 無機質肥料の施用量 (g/m²)

区名	硫 安 (N)	過 石 (P ₂ O ₅)	硫 加 (K)
窒素過多区 (N)	120 (25)	32 (5)	9 (5)
磷酸過多区 (P ₂ O ₅)	48 (10)	129 (20)	9 (5)
加里過多区 (K)	48 (10)	32 (5)	91 (40)
標準施肥区 (Control)	48 (10)	32 (5)	9 (5)

各試験区は4回繰返しのラテン方格法によつた。

試験に用いた種子はまきつけ量試験に用いた京都営林署管内のアカマツで、実験発芽率はまきつけ当時49%であつた。8月15日、1昼夜水浸して発芽促進した種子を、各plotのほぼ中央80cm平方(0.64m²)に30gずつばらまきした。



第5図 アカマツの肥料過多試験における被害率の変化

調査方法は各plotの中ほどに60×60cmの糸を張り、その中の倒伏苗と残存本数を数え、発芽本数に対する被害率を求めた。

発芽した苗がほぼでそろつたまきつけ後16日目(8月31日)から37日目(9月21日)までの調査結果は第5図のとおりであつた。行列間には有意差が認められなかつたので、各区の被害率は4plotの平均で示した。

まきつけ粒数に対する苗畑発芽率は、窒素過多区35.0%、磷酸過多区32.6%、加里過多区31.6%、標準施肥区33.7%であつた。推計計算の結果、各試験区の発芽率には差がなく、従つて地中腐敗型に

よる被害は一様であつたように思われた。

施肥別の被害率は、まきつけ量の試験結果と同様、まきつけ後3週間目まではそれぞれ著しく増加し、その後は急激に減少する傾向が認められた。そして磷酸過多区、窒素過多区、標準施肥区、加里過多区の順に被害率が大きくなる傾向があつたが、分散分析の結果、処理

間には有意の差が認められなかつた。

立枯病におよぼす施肥の影響については TINT⁽⁹⁷⁾ が *Fusarium* に原因する針葉樹の立枯病について詳しい研究を行ない、養分の欠乏は host の病原菌に対する抵抗性と、病原菌の病原性の強弱に同時に影響することを報告した。たとえば、窒素の欠乏は土壤中の病原菌の発育が悪いに反し、植物の根はかえつてよく発達し、また、健康に生長するため病害を受けることが少ない。反対に窒素が過剰に存在する場合は、植物の根の発達がいくらか悪く、病原菌はよく生長して活動力を増し、立枯病の被害は急速に大きくなるという。燐酸の場合はこれと反対で、燐酸が欠乏すると植物が軟弱になるため病害に対する抵抗性を弱め、過剰の場合は病原菌の生育が悪く、植物は強健になるため被害が少なくなるといわれる。また、加里は欠乏している方が被害が少ないと報告している。

わが国では四手井、塩田が、火山灰のせき悪地における一年生カラマツの立枯病について一要素欠除による試験を行ない、窒素の施用は病害を多くし、特に他の要素が欠乏している場合は更に被害率を高めることを見出した。そして燐酸は土壤の改良や根の抵抗性増加に有効であるため、立枯病を減少させ効果があると推定している。⁽⁷⁶⁾ 肥料の種類によつてもまた異なり、⁽⁸⁵⁾ 硫酸の施用は、石灰窒素や硝安の場合より被害の程度を大きくするという。

以上は針葉樹稚苗についての代表的な結果であるが、穀類作物の *Ophiobolus graminis* による立枯病、および *Cercospora herpotrichoides* による斑点病の害は、上例とは反対に、窒素の施用によつて著しく被害を減少させることを GARETT⁽²²⁾ が報告している。これは植物の根が病原菌に対して抵抗性を増したものと解しているが、そのほかに侵害された根に代つて、新しい根や細根を形成する能力もまた増加するものと考えられる。また、CASTANO, KERNKAMP⁽¹⁰⁾ は養分の欠乏と *Rhizoctonia solani* による大豆の病害について研究し、窒素や燐酸のほか、マグネシウム、カルシウム、鉄、硫黄、などの欠乏が病害を助長することを見出した。これに反し、加里は標準区（完全施用区）とほとんど差異がなかつたことを報告している。

このように、燐酸の欠乏はいずれの場合も病害を助長するが、窒素や加里に関しては、病原菌、寄主、研究者などによつて、異なつた結論が導きだされている。この実験の結果は前述のように有意の差はなかつたのであるが、燐酸過多は標準施肥区よりも常に被害が少ない傾向にあつた。しかし、加里過多区は標準施肥区と差がなく、窒素過多区はかえつて被害率が少ない傾向がうかがわれたことは、今までの研究報告から考えて、有意差のなかつたことと共に大きな疑問がもたれる。これは土壤条件、施肥量、肥効の遅速、寄主ならびに病原菌の状態など、いろいろな因子が複雑に作用しているため、さらに検討を要する問題であらう。

B. Microflora の変化

まきつけ5日前（8月10日）とまきつけ後23日目（9月6日）の microflora の状態は第11表ならびに12表のようであつた。まきつけ後の分析は1回しか行なわなかつた。

全土壤菌数はいずれの区もまきつけ前より増加しているが、まきつけ後の各処理区、各被害の個所別には何らの傾向もみられなかつた。

まきつけ前の microflora は数種の *Aspergillus* が合せて 18,000 で約半分をしめ WAKSMAN⁽¹⁰⁷⁾ JENSEN⁽⁸⁸⁾ の調査と同様、まず安定した普通の畑地土壤の状態を示していた。まきつ

第11表 アカマツの肥料過多試験を行なうまえの microflora (10³/g)

<i>Mucor</i> spp.	0.6
<i>Monilia</i> sp.	0.8
<i>Phoma</i> sp.	1.9
<i>Trichoderma</i> sp.	0.8
<i>Aspergillus</i> spp.	17.9
<i>Penicillium</i> spp.	2.2
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	0.6
<i>G. Penicilloides</i>	0.6
<i>Monosporium</i> sp.	0.3
<i>Botrytis</i> sp.	0.3
<i>Pullularia</i> sp.	0.3
<i>Torula lucifuga</i>	0.6
<i>Hormodendrum viride</i>	0.3
<i>Alternaria</i> sp.	0.6
<i>F. sp. 2</i>	0.6
Mycelia Sterilia	0.8
Others	7.7
合 計	36.9

け後は、全般に *Aspergillus* がいくらか減少し、かわつて *Phoma* sp. が著しく増加し、そのほか *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium* なども多少増加の傾向がみられた。この分析結果では、アカマツのまきつけ量試験におけるような *G. fimbriatum* による microflora の極端な異常状態はみられなかつたがまきつけ量の少ない区でみられたような *Phoma* sp. の優勢な状態は認めることができた。また、この試験においては、集団状の被害がほとんどおこらず、被害個所、無被害個所別の土壤採集が困難であつたため、*Fusarium* が被害個所に比較的多い傾向が認められたほかは、個所別の差が明らかではなかつた。施肥別の関係も、加里過多区の被害個所に *Phoma* sp. がやや多く、*Fusarium* が

第12表 アカマツの肥料過多試験におけるまきつけ後23日目の microflora (10³/g)

Fungi	N		P ₂ O ₅		K		Cont.	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Mucor</i> sp.	5.8	3.8	1.5	2.7	1.2	3.2	1.2	0.7
<i>Mortierella</i> sp.	—	—	—	0.7	—	—	—	—
<i>Monilia</i> sp.	—	—	—	0.7	—	—	1.6	—
<i>Phoma</i> sp.	16.3	6.7	12.8	11.6	8.3	28.5	5.5	11.9
<i>Trichoderma</i> sp.	—	1.5	—	—	2.4	—	1.2	1.7
<i>Hyalopus</i> sp.	—	—	1.5	—	—	—	—	—
<i>Aspergillus</i> spp.	8.1	7.0	8.1	6.7	14.5	15.8	9.1	7.1
<i>A. sp. ?</i>	1.2	2.9	2.9	3.7	0.3	6.3	2.4	0.7
<i>Penicillium</i> spp.	8.1	1.2	8.7	—	2.7	6.3	1.6	3.7
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	1.2	0.6	2.0	0.3	1.5	1.6	0.8	1.0
<i>Botrytis</i> sp.	—	1.7	1.5	0.3	1.8	1.6	2.8	2.4
<i>Spicaria</i> sp.	—	—	—	—	0.6	—	—	—
<i>Gonatodotrys</i> sp.	—	—	—	0.7	—	—	—	0.7
<i>Papularia</i> sp.	3.5	1.2	1.2	1.0	1.2	—	0.4	0.7
<i>Pullularia</i> sp.	—	0.3	0.3	0.3	0.6	—	0.4	—
<i>Torula</i> sp.	—	—	—	2.0	—	—	—	1.4
<i>Hormodendrum viride</i>	—	0.6	0.3	—	0.9	—	—	—
<i>Tilachlidium</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	0.7
<i>Stysanus</i> sp.	—	—	—	—	—	1.6	—	—
<i>Fusarium</i> sp. 1	2.3	2.3	0.3	2.7	—	1.6	0.4	4.4
<i>F. sp. 2</i>	1.2	4.1	2.3	1.0	2.1	1.6	2.8	1.4
<i>F. sp. 3</i>	2.3	3.2	0.6	2.0	0.3	1.6	0.4	—
Mycelia Sterilia	10.5	6.1	5.5	9.3	4.7	12.6	9.5	5.1
Others	17.4	9.3	8.7	8.3	9.8	9.5	12.3	11.9
合 計	77.9	52.5	58.2	54.0	52.9	91.8	52.4	55.5

(註) n. p. : 無被害個所

i. p. : 被害個所

他の区よりも比較的少ない傾向があるほかは microflora にほとんど差が認められなかつた。これは肥料の過多試験において、処理別の被害率に有意の差がなかつたこととある程度関係があるように思われる。

2. クロマツによる試験

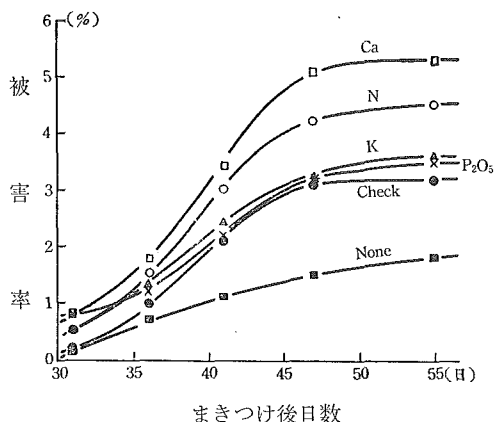
A. 病害発生状況

京都大学農学部附属演習林上賀茂試験地の苗畑を使用し、アカマツの場合と同様、無機質肥料の一要素過多試験を行なつた。アカマツの施肥試験では、施肥量と土壤条件の不適合から立枯病の被害率に明らかな傾向を求めることができなかつたので、松林を開墾してから間もない(約10年)土地を用い、施肥量は窒素と加里の標準量を多くし、さらに石灰区と無施肥区とを加え第13表の基準にしたがい、所定量を水溶液として施用した。施肥の設計は5回繰返しの乱塊法によつた。

1957年4月15日施肥後、ただちに発芽促進した京都営林署管内のクロマツ (*Pinus Thunbergii* PARL) の種子を、70×70cmに25gずつまきつけた。被害の測定は各区の中央部50×50cm内で行なつた。

第13表 無機質肥料の施用量 (g/m²)

区 分	肥 料	硫	安	過	石	硫	加	炭	カ	ル
窒素過多区 (N)		240		32		12		0		
磷酸過多区 (P ₂ O ₅)		48		129		12		0		
加里過多区 (K)		48		32		91		0		
石灰加用区 (Ca)		48		32		12		125		
標準施肥区 (Control)		48		32		12		0		
無施肥区 (None)		0		0		0		0		



第6図 クロマツの肥料過多試験における被害率の変化

発芽した苗がほぼでそろつたまきつけ後31日目(5月16日)から55日目(6月9日)までの調査結果は第6図のとおりであつた。クロマツによる肥料過多試験の被害率はアカマツの結果に比べて著しく小さく、もつとも大きいものでも6%以下であつた。これは、アカマツの試験を行なつた本部苗畑は肥沃な熟土であつたのに反し、上賀茂試験地苗畑は開墾後間もない未熟な土壤であつたため、立枯病の発生が少なかつたものであろう。また第6図の結果は、期待発芽数に対する被害率であつたので発芽本数に対する被害率を求めれば、もつと大きい数値になるものと思われる。また、この試験にお

ける被害苗は集団状に枯死するものがほとんどみられなかつた。

いずれの測定時期においても、各処理間の被害率には5%の危険率で有為の差が認められた。まきつけ後55日目の結果では、無施肥区に対して石灰加用区、窒素過多区、加里過多区の被害率は明らかに大きく無施肥区と標準施肥区との間には差がなかつた。しかし図からも察せられるように繰返しをもう少し多くすれば差が明らかになるものと思われた。また、石灰加用区は、窒素過多区を除いたすべての区よりも被害が多かつたが、その他の処理の間には危険率5%で差が認められなかつた。しかし20%の危険率では無施肥区→標準施肥区、磷酸過多区、加里過多区→窒素過多区→石灰加用区の順に被害が大きくなる傾向が認められた。

無施肥区の被害が少なかつたことは、やせ地に立枯病が発生しにくいことを見出した VAARTAJA⁽¹⁰¹⁾ の報告と一致している。これは土壤の養分が少ないと病原菌の発育が悪く、稚苗はかえつて強固に育つためであろう。上賀茂試験地は現在まだ非常なせき悪地であるので、肥料を多用しない限り立枯病は問題にならないように思われる。

石灰の加用が被害を増加したのは、PH をアルカリ性側に上げたためと思われ、 JACKSON⁽⁸⁷⁾、VAARTAJA⁽¹⁰¹⁾ および TINT⁽⁹⁷⁾ らの報告と同じ傾向が認められた。窒素過多にはあまり明らかな差異が認められなかつたが、危険率20%では、標準区より被害が大きかつた。磷酸、加里の過多は標準区と全く差がなかつたが、このことはアカマツの場合と同様、さらに検討を要する問題であると思われる。

B. micorflora の変化

まきつけ1日前(4月14日)と、まきつけ後2カ月目(6月14日)の microflora の状態は、第14表および第15表のようであつた。まきつけ後の分析は1回しか行なわなかつた。

第14表 クロマツの肥料過多試験を行なうまえの microflora (10⁸/g)

<i>Mucor</i>	1.8
<i>Phoma</i>	4.3
<i>Trichoderma</i>	1.8
<i>Aspergillus</i>	1.3
<i>Penicillium</i>	20.2
<i>Monosporium</i>	0.8
<i>Pulularia</i>	0.8
<i>Alternaria</i>	0.5
<i>Mycelia Sterillia</i>	3.8
Others	0.5
合 計	35.8

全土壤菌数はいずれの処理区もまきつけ前より増加し、特に石灰加用区に著しい。これは *Gliocladium* が異常増加したためである。次いで窒素過多区、標準施肥区が多く、無施肥区、加里過多区がこれにつづき、磷酸過多区は最も少ない。

石灰加用区や窒素過多区に菌数が多く磷酸過多区に少ないのは、石灰や窒素は菌類の活動を活発にし、磷酸は押えるという TINT⁽⁹⁷⁾ らの報告と一致している。これはまた立枯病の被害と一致した傾向にあるようであつた。

まきつけ前の microflora は、第14表のように *Penicillium* が1/2以上を占め京大演習林本部苗畑の microflora とは大分おもむきを異にしていた。このような状態は JENSEN⁽⁸⁸⁾、COBB⁽¹⁵⁾、大政⁽⁵⁶⁾、河田⁽⁴⁸⁾、河田 および中山らの調査報告からすると、一般の森林土壤として特徴ある microflora の状態を示していることになる。このことは、上賀茂試験地が約10年以前アカマツ林であつたことから、開墾後、まだ完全に熟土化していないことを意味するものであろう。

まきつけ後立枯病の被害が進んでいる間の microflora の分析は行なわなかつたので被害に

第15表 クロマツの肥料過多試験におけるまきつけ後60日目の microflora (10³/g)

処理区	N	P ₂ O ₅	K	Ca	標準施肥	無施肥
<i>Mucor</i>	3.8	1.6	3.3	1.8	2.2	1.1
<i>Phoma</i>	1.6	0.4	5.6	0.8	2.2	3.3
<i>Cephalosporium</i>	—	—	—	—	—	0.4
<i>Trichoderma</i>	0.4	—	0.7	—	—	—
<i>Hyalopus</i>	—	—	0.4	0.8	—	0.7
<i>Aspergillus</i>	0.7	0.7	0.4	—	—	1.1
<i>Penicillium</i>	66.9	4.9	11.2	13.7	4.5	6.2
<i>Gliocladium</i>	32.2	19.6	8.5	238.1	66.9	35.7
<i>Monosporium</i>	—	1.1	0.7	—	—	1.1
<i>Botrytis</i>	0.7	0.8	1.6	0.5	—	1.6
<i>Acrostalagmus</i>	—	0.4	—	—	—	—
<i>Spicaria</i>	—	0.7	—	—	—	0.7
<i>Gonatobotrys</i>	—	—	0.4	—	—	1.6
<i>Papularia</i>	—	0.4	—	0.8	—	—
<i>Pullularia</i>	1.8	1.1	—	4.4	2.9	0.4
<i>Torula</i>	—	—	—	—	—	0.4
<i>Hormodendrum</i>	—	0.7	—	0.8	2.2	0.4
<i>Humicola</i>	—	—	0.4	—	3.3	0.4
<i>Stemphylium</i>	—	—	1.1	—	—	—
<i>Alternaria</i>	—	—	0.4	—	—	—
<i>Stysanus</i>	—	—	0.4	—	1.1	—
<i>Fusarium</i>	1.8	2.2	7.8	10.8	6.7	7.8
Mycelia Sterilia	1.8	5.2	4.5	0.5	1.1	2.9
Others	13.6	8.1	21.6	18.8	18.5	6.5
合計	125.3	48.9	69.0	291.8	111.6	72.3

直接結びつけて考察することはいくらか困難であるが、まきつけ2カ月後においてもかなりまきつけ前よりは microflora に差がみられた。特に、まきつけ前に認められなかつた *Gliocladium* と *Fusarium* の増加が著しい。

石灰加用区は *Gliocladium* が約240,000で全体の82%をしめ、著しい異常状態を示した。また、この区は *Fusarium* の増殖も明らかであつた。この *Gliocladium* はほとんど *G. fimbriatum* であつたことから、このような状態はアカマツのまきつけ量試験におけるI区(0.8cm)と全く同様な傾向にあつた。そして石灰加用区の被害が他に比較してもつとも大きかつたことから、立枯病の被害と *G. fimbriatum* による microflora の異常状態とは、肥料の過多試験においても相当強い相関があるようであつた。

石灰加用区につづいて被害が大きかつた窒素過多区は、*Gliocladium* が32,000で全体の1/4を占めていたが、*Penicillium* もこの区のみがまきつけ前より増加していた。そして *Fusarium* の増加が少なかつたことも特徴づけられた。加里過多区においては、*Gliocladium* の増殖が他の区に比較してもつとも少なく、かえつて *Phoma* と *Fusarium* が多かつた。標準施肥区と無施肥区は *Gliocladium* が約67,000(60%)および36,000(50%)で microflora はかなり異常状態を示していた。また *Fusarium* も7,000~8,000で10%前後を占めていた。磷酸過多区は、以上のような傾向と異なり、*Gliocladium* の増殖は他の区に比較して

小さく、すべてに菌類の数が少ない傾向がみられた。これは⁽⁹⁷⁾ 麟酸が菌類の生育を押えることに原因があるかもしれない。すなわち、立枯病の被害に対する麟酸の効果は、病原菌の活動力を弱める作用もその一つであるようである。

以上のように、被害に明らかな差が認められたクロマツの肥料過多試験では microflora でも処理別にかなり著しい差異が認められ、特に被害の大きかつた処理区の *Gladiolium* と *Fusarium* の異常増殖はけん著であつた。

§ 4. 有機質肥料の施用による影響

1. 苗畑の病害発生状況

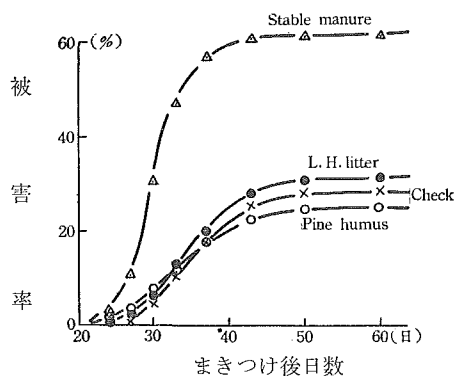
試験は京都大学農学部附属演習林本部苗畑で行なつた。有機質肥料の材料ならびに施用量は第16表のようであつた。

第16表 有機質肥料の種類および施用量

処 理 区	採 集 場 所 お よ び 状 態	kg/m ²	㎡ / 反
アカマツ腐植区 (Pine humus)	上賀茂試験地松林の humus	1.5	400
広葉樹落葉区 (L. H. litter)	京大理学部植物園落葉捨場 (litter の部分多し)	1.5	400
キユウ 肥区 (Stable manure)	京大馬術部のよく腐敗したキユウ肥	3.0	800
対 照 区 (Check)		—	—

まず、表層の土壤をとりぞき、所定量の材料を plot (約 1 m²) 全体に一様にゆきわたるようしきつめ、材料が見えない程度にうすく土をおおつた。有機質肥料を施用した翌日の1957年4月30日、あらかじめ発芽促進した市販のクロマツ種子(実験発芽率74%)を60×60 cm (0.36m²) に30 g ずつばらまきした。

調査の方法は、各区の中央50×50cm (0.25m²) 内の枯損苗と残存本数を測定し、発芽総数に対する被害率を求めた。



第7図 有機質肥料の施用による被害率の変化

まきつけ後約2週間で発芽を開始したが、出そろつたと思われたまきつけ後24日目(5月24日)から、60日目(6月29日)までの被害率は第7図のようであつた。畝間(東西畝)に5%の有意差が認められたが、被害の傾向に大きく影響を与えないので数値は4 plotの平均で示した。

苗畑発芽率はきわめて良く、アカマツ腐植区73%、広葉樹落葉区75%、キユウ肥区68%、対照区75%であつた。推計計算の結果、1%の危険率でキユウ肥区の発芽率のみに差があり他の区に比べて小さかつた

が、これはまきつけてから3週間位の間に地中で腐敗したものと思われる。

発芽してからの被害の進行はいずれの場合もまきつけ後4週間目から5週間目位までが激しく、以後は被害が少なくなるようであった。

有機質肥料を与えた場合の被害率は、推計計算の結果、まきつけ後26日目からキュウ肥区にのみ5%の有意差があり、アカマツの腐植、広葉樹の落葉を施用した場合は、無処理との間に差が認められなかった。

GARRETT⁽²²⁾ は土壤病害を生物学的に防除する方法について研究し、新鮮な有機物を施用することによつて *Ophiobolus graminis* に起因する麦類の立枯病 (take-all) が防除できることを報告した。これは可給態の窒素によつて、病害で失なわれた根の再生能力が増加することがあるからで、まきつけの前年に施用した場合はかえつて病害を大きくする傾向があるという。また、KING, HOPE & EATON⁽³⁹⁾ や MITCHELL, HOOTON & CLARK⁽⁴⁶⁾ は棉の植付け前にキュウ肥とか腐敗物質のような有機質肥料を充分施すことによつて、*Phimatotrichum omnivorum* に起因する綿の root-rot を防除できることを明らかにした。

このような方法は、主として新鮮で分解されやすい有機物を土壤と混合することによつて腐生菌の活動力のある一定の期間高めるという理論に立っているのであるが *Rosellinia* (白紋羽病菌) の南方種は、このような方法を行なうと、かえつて病害を進行させ、また *Verticillium albo-atrum* によつて引起されるトマト萎凋病 (vascular wilt) も同様病害が助長される。また、グラジオラス (*Fusarium oxysporum gladioli*) ならびに水仙 (*F. ox. narcissi*) 萎凋病は、窒素質肥料の施用によつて被害が進むが、無機態の窒素より有機態の窒素の方が、より病害を激化させることもあるといわれている。⁽²²⁾

以上のように、土壤病害に対する有機物の施用の影響は、病原菌によつて全く異なつた結果が報告されているが、クロマツの立枯病はキュウ肥の施用によつて著しく病害が助長された。これは無機態の窒素を多量に与えた場合と同様、キュウ肥中に含まれる窒素成分が、病原菌や寄主などの活動に強く影響したものと思われる。

キュウ肥区には、まきつけ後数週間たつてマグソタケ (*Panaeolus fimicola* (FR) QUÉL) が発生したが、その病原性についてはまだ明らかでない。

アカマツの腐植や広葉樹の落葉を土壤中に加えても、立枯病には何らの影響もなかつたことがこの試験の結果明らかになつた。しかし WILDE & WHITE⁽¹¹⁹⁾ は、pot 試験で Wisconsin の森林土壤に立枯病の発生が多いことを明らかにし VAARTAJA は肥沃な *Oxalis-Maianthemum* type の humus は立枯病による枯死率が最も高いことを、pot と苗畑の試験で認め、また広葉樹の低林の腐植より針葉樹の幼令林の腐植の方が病害が多い傾向にあることを明らかにしたことなどから、上の結果はさらに検討を要する問題であるように思われる。

2. 稚苗の伸長量におよぼす有機質肥料の影響

窒素成分の多いと思われるキュウ肥などの有機質肥料の施用は立枯病の被害を大きくするが、有機材料が直接病原菌に影響を与えるのか、あるいは稚苗の伸長に影響して病原菌に対する抵抗力を弱めるのか、その原因を明らかにする目的で各処理区の苗長測定を行なつた。

立枯病の被害がもつとも激しかつたまきつけ後1カ月目 (5月30日)、各 plot のほぼ中央の立枯病による消失箇所が比較的少ないところを選んで縦横に50cmの糸をはり、その糸にふれるすべての個体の苗高を2mm単位で測定した。

測定本数は 1 plot 平均80本で、各処理区の平均値を示すと第17表のようであつた。

第17表 有機質肥料の施用による伸長量

アカマツ腐植区	1.96 ± 0.051*
広葉樹落葉区	1.80 ± 0.065
キュウ肥区	2.20 ± 0.034
対 照 区	1.90 ± 0.023

* plot の標準偏差

分散分析の結果、キュウ肥を施用した区は他の3つの区よりも5%の危険率で稚苗の伸長量が大きかつたといえる。これはキュウ肥中の窒素成分が、直接稚苗の伸長に影響した結果と思われる。

このような稚苗の異常生長は、病原菌に対する抵抗性を弱めるため病害を助長することになるが、一方キュウ肥の施用が土壤中の菌類に影響して、病原菌の活動を高めていることも考えられる。実際はこの2つの作用が同時に起つているのかもしれない。

3. microflora の変化

まきつけ16日前(4月14日)の苗畑と、有機材料中の microflora (6月14日分析)は第18表に、まきつけ後29日目(5月29日)、ならびに80日目(8月18日)の microflora の状態は第19表、第20表に示した。

第18表 有機質材料中とまきつけまえにおける苗畑の microflora (10³/g)

Fungi	まきつけ前	アカマツ腐植	広葉樹落葉	キュウ肥
<i>Mucor</i> spp.	—	—	88.8	—
<i>Phoma</i> sp. 1	2.0	—	—	—
<i>P.</i> sp. 2	—	—	59.1	—
<i>Cephalosporium</i> sp.	—	—	29.7	—
<i>Trichodema lignorum</i>	1.6	48.6	59.1	—
<i>T. koningi</i>	0.4	32.4	—	—
<i>Hyalopus</i> sp.	—	—	29.7	—
<i>Aspergillus</i> sp. 1	3.5	—	236.7	—
<i>A.</i> sp. 2	3.1	—	59.1	—
<i>A.</i> sp. 3	0.8	—	—	—
<i>A. niger</i> group	0.4	—	—	—
<i>A.</i> spp.	—	—	858.6	—
<i>Penicillium</i> spp.	4.3	243.0	1509.6	—
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	2.8	—	—	—
<i>G. penicilloides</i>	0.8	—	—	—
<i>Monosporium</i> sp.	—	16.2	—	—
<i>Botrytis</i> sp.	0.4	10.7	—	—
<i>Gonatobotrys</i> sp.	—	—	88.8	—
<i>Papularia</i> sp.	0.8	21.7	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	0.4	21.7	414.3	—
Others	1.6	21.7	59.1	0.7
合 計	22.9	416.0	3492.6	0.7
Bacteria + Actinomyces	61.4	264.7	6452.7	4.5

全土壤菌数は、いずれの処理区も、まきつけ後増加しているが、被害個所別の差異は明らかでなかつた。また、分析の時期別の間にも目立つた差は認められなかつた。

同じ寒天上にあらわれた Bacteria および Actinomyces は PH4 に調整した WAKSMAN

第19表 有機質肥料によるまきつけ後29日目の microflora (10⁸/g)

Fungi	処 理 区		アカマツ腐植		広葉樹落葉		キ ュ ウ 肥		対 照	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Mucor</i> sp. 2	—	—	—	—	—	—	0.4	—	—	—
<i>Mucor</i> spp.	—	0.5	—	—	1.2	—	0.8	1.0	—	—
<i>Phoma</i> sp.	3.4	—	3.9	—	2.4	0.5	—	1.0	0.4	—
<i>Oospora</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	1.0	—	—
<i>Fusidium</i> sp. ?	—	—	—	—	—	1.0	—	—	—	—
<i>Monilia</i> sp.	—	—	—	—	0.6	—	—	—	—	—
<i>Trichoderma lignorum</i>	2.9	—	1.0	—	—	1.5	—	1.5	—	—
<i>T. koningi</i>	—	—	—	—	—	0.5	0.8	—	—	—
<i>Hyalopus</i> sp.	—	—	—	—	—	—	0.4	—	—	—
<i>Aspergillus</i> sp. 1	1.0	—	7.8	—	1.2	3.9	—	2.4	0.8	—
<i>A.</i> sp. 2	2.0	—	—	—	7.3	2.4	1.6	1.0	—	—
<i>A.</i> sp. 3	—	—	1.0	—	1.2	2.9	0.4	2.0	2.4	—
<i>A. niger</i> group	—	—	—	—	—	2.0	—	—	—	—
<i>A.</i> spp.	5.4	—	2.4	—	2.4	2.4	3.2	1.0	0.4	—
<i>Penicillium</i> spp.	2.9	2.4	6.8	—	4.3	2.4	10.2	3.4	3.2	—
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	2.0	66.9	2.0	—	0.6	3.9	11.4	—	0.4	—
<i>G. penicilloides</i>	1.0	—	1.5	—	—	1.0	—	2.0	—	—
<i>Sporotrichum</i> sp.	—	0.5	—	—	0.6	—	—	—	—	—
<i>Monosporium</i> sp.	3.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Botrytis</i> sp. 1	—	—	2.0	—	—	—	—	—	0.4	—
<i>B.</i> spp.	0.5	1.5	0.5	—	4.9	—	—	—	—	—
<i>Spicaria</i> sp.	—	—	—	—	0.6	—	—	—	0.4	—
<i>Papularia</i> sp.	—	—	0.5	—	—	0.5	—	—	0.4	—
<i>Pullularia</i> sp.	6.8	4.8	5.4	—	9.8	13.7	9.0	4.9	4.5	—
<i>Torula</i> sp.	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Hormodendrum</i> sp.	4.9	0.5	—	—	0.6	1.0	0.4	1.0	—	—
<i>Acrothecium</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	0.5	—	—
<i>Tilachlidium</i> sp.	—	—	2.0	—	—	—	—	—	—	—
<i>Stysanus</i> sp.	—	—	—	—	—	1.0	—	0.5	0.4	—
<i>Fusarium</i> sp. 1	—	—	—	—	4.9	—	—	—	—	—
<i>F.</i> sp. 2	1.0	—	—	—	0.6	2.9	3.7	1.0	—	—
<i>F.</i> sp. 3	0.5	—	—	—	—	—	0.8	—	1.2	—
<i>F.</i> sp. 4	—	—	—	—	1.2	—	—	—	—	—
<i>F.</i> sp. 5	—	—	—	—	—	—	—	—	8.1	—
<i>F.</i> sp. 6	—	—	—	—	—	—	1.2	—	—	—
Mycelia Sterilia	7.8	4.9	11.2	—	5.5	6.3	10.1	5.4	4.1	—
Othes	2.9	—	1.0	—	1.8	5.9	2.4	4.9	1.4	—
合 計	48.9	82.5	49.0	51.7	55.7	56.8	34.5	28.7		
Bacteria + Actinomyces	883.3	3557.5	1340.0	2695.4	701.7	4239.1	1622.1	1640.5		

(註) n. p. : 無被害個所

i. p. : 被害個所

寒天培養基(普通 Bacteria の生育を抑えるため酸性にする)を用いたにもかかわらず、まきつけ後約4週間目の結果では菌類に比較して著しく多かつた。そして対照区を除いては、無被害個所より被害個所に多く分離された。これらの Bacteria ならびに Actinomyces は比較的酸性に強い種類のものであつて、よりアルカリ性側にしか生育できない種類のもは、この培養上にはあらわれてこないで、土壌中の Bacteria + Actinomyces の全体としての

第20表 有機質肥料の施用によるまきつけ後80日目の microflora (10⁸/g)

Fungi	処 理 区		アカマツ腐植		広葉樹落葉		キ ュ ウ 肥		対 照	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Mucor</i> sp. 1	0.4	—	—	—	—	—	0.4	—	—	1.2
<i>M.</i> sp. 2	—	—	—	—	0.6	—	0.4	—	—	—
<i>M.</i> spp	0.4	—	—	—	—	—	1.6	—	0.8	—
<i>Phoma</i> sp.	12.1	4.3	15.4	7.7	10.9	13.8	12.1	13.8	12.1	8.3
<i>Oospora</i> sp.	—	—	—	—	—	—	1.6	—	—	—
<i>Trichoderma lignorum</i>	0.8	—	—	—	3.6	—	—	—	1.6	—
<i>Hyalopus</i> sp.	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Aspergillus</i> sp. 1	—	—	1.4	—	—	—	0.8	—	—	—
<i>A.</i> sp. 2	1.6	—	0.5	5.9	—	—	—	—	1.9	—
<i>A. niger</i> group	—	10.9	0.5	—	—	—	0.4	—	1.6	—
<i>A.</i> spp.	0.4	—	—	—	—	—	0.8	—	0.8	—
<i>Penicillium</i> spp.	1.6	—	0.5	2.4	2.3	12.3	7.0	—	—	—
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	6.2	6.2	12.2	10.7	3.9	15.0	10.5	—	—	35.0
<i>G. penicilloides</i>	—	1.9	5.6	5.3	—	—	1.6	—	0.8	20.1
<i>Monosporium</i> s. p.	—	1.9	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Botrytis</i> sp.	3.5	0.5	3.3	3.6	2.7	4.0	—	—	—	1.2
<i>Papularia</i> sp.	2.3	—	0.9	—	—	—	0.4	—	1.9	0.6
<i>Pullularia</i> sp.	1.9	—	—	1.8	—	—	0.4	—	0.8	—
<i>Torula</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	0.8	—
<i>Hormodendrum</i> sp.	—	—	0.9	—	—	—	—	—	—	—
<i>Botryotrichum</i> sp.	0.4	—	0.9	—	0.4	—	—	—	0.4	1.2
<i>Dicoccum</i> sp. ?	—	—	—	2.4	—	—	—	—	—	—
<i>Acrothecium</i> sp.	—	—	1.9	—	—	—	—	—	—	—
<i>Stysanus</i> sp.	0.4	—	1.4	—	—	0.8	0.4	—	0.8	2.4
<i>Fusarium</i> sp. 1	0.8	—	—	—	—	0.8	0.8	—	—	3.0
<i>F.</i> sp. 2	2.3	0.5	0.9	5.9	2.3	2.0	2.3	—	2.3	3.6
<i>F.</i> sp. 3	—	2.8	—	1.2	—	—	0.4	—	—	5.3
Mycelia Sterilia	3.5	3.7	16.4	7.1	4.7	8.3	7.4	—	7.4	6.5
Others	2.7	3.3	1.9	3.6	1.6	3.2	5.9	—	5.9	3.6
合 計	42.1	46.9	64.6	61.8	35.2	63.8	57.4	—	57.4	92.0
Bacteria + Actinomyces	91.7	87.2	45.9	87.1	134.2	36.0	48.0	—	48.0	84.1

傾向は明らかでない。さらに、これらの微生物と立枯病との関係については、培養条件などをかえたくわしい研究が必要であろう。

まきつけ前の microflora は、^(98,107)*Aspergillus* 属に代表された普通の苗畑土壌として特徴づけられており、ほかに *Penicillium* spp. や *G. fimbriatum* も分離されているが、その数量は3,000~4,000で非常に少なく、比較的均衡の保たれた microflora の状態であるといえるであろう。有機質肥料として用いた材料中の微生物にはかなり著しい特徴がある。すなわち、よく腐敗した材料であつたにもかかわらずキュウ肥中には、菌類も Bacteria および Actinomyces もほとんど認められなかつた。このようなキュウ肥の分解は、⁽¹⁰⁷⁾分解熱が相当の温度(45°C前後と思われた)になるため、高温に耐えられる特殊な細菌が行なうものと思われる。また、マダソタケのような Basidiomycetes もある程度分解に関与していると思われる。これらの微生物はいずれも Dilution-Plate 法による寒天平面上にはあらわれにくく、また、特殊の培養基を必要とするものが多いようである。

アカマツ腐植中の microflora は, *Penicillium* が乾土1g中243,000で約60%をしめ, *T. lignorum*, *T. koningi* を合せた *Trichoderma* 属は81,000 (約20%) であつたが, *Aspergillus* 属は全く認められなかつた。このような傾向は JENSEN⁽³⁸⁾ がデンマークで, COBB⁽¹⁶⁾ が北米で, NIETHAMMER⁽⁴⁹⁾ が中部ヨーロッパで, 大政らが日本で行なつた森林土壌の微生物の分析結果と同様であつた。

広葉樹落葉は, 菌類の種類も菌数も, アカマツの腐植より, 明らかに多く, 特に *Penicillium* が乾土1g中1,510,000, *Aspergillus* が1,150,000にも達し, 両菌で76%をしめた。

このような microflora に特徴のある有機材料を施用した結果, まきつけ後29日目の microflora には, かなり明らかな差異が認められた。すなわち, いずれの処理区においても, 無被害個所には *Phoma* sp., *T. lignorum*, *A. sp.* 1 の3菌が常に被害個所より多くあらわれた。しかし, 全体からみると, まだ微生物の平衡が保たれている状態であつた。*Pullularia* はどの区にも, どの個所にも多く分離された。またアカマツ腐植区の被害個所は, *G. fimbriatum* が67,000で約82%をしめ, 異常な microflora となつている。広葉樹の被害個所は, *A. sp.* 2 と *Fusarium* がいくらか多い以外は, かなり安定した microflora の状態といえるであろう。被害のもつとも大きかつたキュウ肥区は *G. fimbriatum* が11,000で約20%をしめているだけで, それ程異常な microflora を示さなかつた。しかし *G. fimbriatum* の増殖は, アカマツ腐植の場合も同様, 立枯病とは相当大きい相関があるように思われた。

まきつけ後80日目の microflora は, 被害が発生してから相当長い時日がたつているので, microflora の異常状態はみられず, ほとんどが安定した状態を保つているように思われた。しかし, *Phoma* sp., *G. fimbriatum* は, 処理区別, 個所別, いずれにおいても多く認められた。*Phoma* sp. はどの分析結果においても, 調査の後期特に初夏以降に多くあらわれたことから, 季節に関係して増殖する菌類であるのかもしれない。また, マツ類やヒノキなどの病原性の可能性を持つた根圏微生物としても考えられよう。

以上のように, 種子のまきつけ量とか, 無機質ならびに有機質肥料の施用などの育苗条件は, 立枯病の発生に強く影響すると同時に, 土壌中の microflora にも著しい変化を与えた。そして, 被害の大きいところほどある種の菌類, 特に普通腐生菌として知られている *G. fimbriatum* が異常に増加して microflora は特異な状態を示すようになった。また, 病原性のある *Fusarium* も, 分生胞子の着生能力が小さい種類であるため数量は少ないが, かなり増殖する傾向が認められた。このように microflora の均衡が破られた異常状態は, 病害を助長する一つの原因になるものと考えられる。

第2章 立枯病発生苗畑における主な土壌菌類の病原性と稚苗に与える影響

育苗過程における苗畑の環境条件は, 稚苗や病原菌に直接作用して立枯病の発生に著しい影響を与えるが, 第1章のように, まきつけ量や施肥などの育苗条件は, 土壌中の microflora^(8, 22, 33, 60, 98, 101) をも著しく変えて病害をさらに助長させるように思われた。しかし, ある種の菌類の増

殖にともなう microflora の異常状態が、どのようにして立枯病の発生に関与するのか、その機構は明らかでなかつた。すなわち、育苗条件の影響によつて microflora が異常になつた箇所には、病原菌の活動をより高める何らかの作用が存在するのか、あるいは、microflora の異常変化というもの、病害発生後病原菌が侵害した植物の残渣とか病原菌の死んだ菌糸を養料とする種類の腐生菌類が異常に増殖したためなのか、究明すべき重要な問題であろう。後者の場合には病害の発生に直接何も関与しないことになる。また、もし異常増殖する土壤菌に病原性があるならば、それは立枯病の主因であり、一方、病原菌に共生するとか、病害に対する稚苗の抵抗性を弱める作用があるならば、それは誘因として影響していることになる。このような問題を解明するため植物稚苗に与える土壤菌類の生理的影響について第2章以下の実験を行なつた。

立枯病の病原菌として一般に知られているものは、*Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizina*, *Ophiobolus*, *Hypochnus*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Cylindrocladium*, *Rhizoctonia* の諸属であるが、^(2, 33, 69, 62, 71) そのほか VAARTAJA は普通腐生菌として知られているものでも、ある特別の条件では植物の寄生菌として働きうることを認めた。⁽⁴⁵⁾

また、MARTIN, KLOTZ, DEWOLF & ERVIN らは、古い柑橘園の土壤が柑橘類の生長を低下する現象について研究し、これらの土壤を酸化プロピレンで殺菌すると著しくよく生長することから、柑橘園から分離した多数の土壤菌類の接種試験を行ない大部分の土壤菌類は生長に影響しなかつたが、*Thielaviopsis basicola* は単独でも、また *Penicillium* や *Trichoderma* のような菌類を混合しても著しく生長を減退することを見出した。

このような病原菌は稚苗を枯死させるばかりでなく、生長を減退させることもありうるので、育苗条件の立枯病試験にともなつて行なつた microflora の分析を通じ、比較的多く分離された菌類について植物との関係を見るため、いろいろな方法の接種試験を試みると同時に植物の生長に与える菌類の影響についても調査した。

§1. キュウリに対する病原性と伸長作用

キュウリ (Cucumber) は立枯病の被害を受け易く、立枯病の接種試験の材料として農学方面では多く用いられている。さらに林木稚苗に比較して生長が早く、土壤菌類の病原性や植物に与える生理的な影響を調べるには、もつとも適当な植物であると思われたので、試験材料には主としてキュウリを用いることにした。

1. 種子消毒を行なわなかつた場合

供試菌は *Phoma* sp., *A.* sp. 1, *G. fimbriatum*, *G. penicilloides*, *F.* sp. 2, *F.* sp. 3 の6種であつた。

苗畑土壤を 50~60cc ずつ 100cc 容の管ピン (トールピーカー) に入れ、CZAPEK 培養液を土壤が全部湿める程度に加え、紙でおおつた後、125~130°C 30分間 autoclave で滅菌した。冷却後、あらかじめペトリ皿に扁平培養した供試菌の1片を接種し、殺菌した土壤を加えて、その上に未消毒のキュウリ種子 (早生京都節成) を3粒ずつまきつけ、さらに 0.5cm ほどうすく土をかぶせた。また、対照 (無接種) にも CZAPEK 液を加えた。まきつけは 1957 年 3 月 22 日に行なつたが、温度が低いと思われたので、3日間 25°C に保温し、その後温室中に移した。試験はそれぞれ 3 回繰返しを行なつた。

調査は完全に枯死したものと、根際部がクビれて変色した衰弱苗とにわけて測定し、枯死率によつて病原菌の強弱の判定を行ない、健全なものは苗長 (hmpocotyl 長) を測定した。また最後の調査の後で土壤の *PH* を測定した。

まきつけ後1週間目から2週間目までの伸長量、ならびに3週間目の枯死苗の調査結果は第21表のようであつた。数値は3 pot 9本の平均を示す。

第21表 キュウリに対する土壤菌類の病原性ならびに伸長量—種子未消毒

Fungi	まきつけ後 15日目 の <i>PH</i>	7 日目		10 日目		15 日目		枯死率 %	病原性
		苗長 <i>cm</i>	対照に対 する比 %	苗長 <i>cm</i>	対照に対 する比 %	苗長 <i>cm</i>	対照に対 する比 %		
<i>Phoma</i> sp.	6.1	0.7*	41	0.8*	30	×	—	100	強
<i>A. sp. 1</i>	5.9	1.5	88	1.8	67	2.5	83	50+(25)	中
<i>G. fimbriatum</i>	5.9	3.7*	218	4.8*	178	5.7*	190	22	弱
<i>G. Penicilloides</i>	6.0	1.8	106	2.2	81	3.0	100	78+(25)	中
<i>F. sp. 2</i>	5.5	5.5*	324	7.3*	270	9.2*	307	38+(25)	弱
<i>F. sp. 3</i>	5.8	7.5*	441	8.7*	322	9.5*	317	13+(25)	弱
対 照	5.8	1.7	100	2.7	100	3.0	100	0	—

(註) () : 根際部がクビれてかつ色となつたもの

× : 大部分枯死したもの

* : 対照に対して1%有意

種子の消毒を行なわなかつたので種子に附着していた菌類が、かなり土壤表面に繁殖したが内部の方は接種した菌類が繁殖していたようであつた。試験終了後の *PH* にはほとんど差が認められなかつた。

第21表からも明らかなように、*Phoma* sp. はまきつけ後2週間目でほとんど全部が枯死し、病原性が強いようであつたが、また、生長も著しく阻害された。*A. sp. 1* と *G. Penicilloides* にも病原性が認められたが、著しくなかつた。その他の菌類にもわずかながら枯死するものがあつたが、特別の条件下の試験であつたので植物自体の生理的な障害によつて枯死したものもあつたようである。

病原性の弱かつた *G. fimbriatum*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3* を接種したキュウリには著しい徒長現象が認められた。特に *Fusarium* の2種の場合は、対照の3倍以上も伸長した。これらの菌類には植物の生長を強く刺戟する何らかの作用があるように思われた。

2. 種子消毒を行なつた場合

種子の消毒を行なわなかつた最初の接種試験は、種子に附着していた菌類のため、接種菌以外の微生物が多数発生し、正確な結論をだすことができないように思われたので接種菌のみが繁殖するよう種子の消毒を行なつて試験した。

供試菌は、*Phoma* sp., *A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *G. penicilloides*, *Hormodendrum* sp., *F. sp. 1*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3* の9種であつた。試験の方法は前法と同様で1957年3月26日、3回繰返して処理を行なつたが、種子はまきつけ直前ウスプルン800倍液に2時間浸漬して消毒を行なつた。試験の結果は第22表に示した。数値は3 pot 9本の伸長量平均である。まきつけ後2週間以上経過すると、枯死するものが多くなつて平均値が上下するので、

伸長量は2週間目までの結果を示した。

第22表 キュウリに対する土壤菌類の病原性ならびに伸長量—種子消毒

Fungi	まきつけ後 30日目の PH	6 日目		10 日目		15 日目		30日目の 枯死率 %	病原性
		苗長 cm	対照に対 する比 %	苗長 cm	対照に対 する比 %	苗長 cm	対照に対 する比 %		
<i>Phoma</i> sp.	5.7	1.3*	59	1.7	61	×	—	100	強
<i>A.</i> sp. 1	5.7	2.4	109	3.1	111	4.1	105	14	弱
<i>A.</i> sp. 2	5.8	7.9*	359	9.3*	332	9.7	249	13	弱
<i>G. fimbriatum</i>	5.7	6.1*	277	7.3*	261	8.4	215	0	なし
<i>G. penicilloides</i>	5.7	2.6	118	2.9	104	2.8	72	88	中
<i>Hormodendrum</i> sp.	5.6	7.3*	332	8.0*	286	9.0	231	0	なし
<i>F.</i> sp. 1	5.7	8.9*	405	10.0*	357	10.0	256	100	中
<i>F.</i> sp. 2	5.9	10.5*	477	11.3*	404	12.1	310	11	弱
<i>F.</i> sp. 3	5.9	×	—	×	—	×	—	100	強
対 照	5.7	2.2	100	2.8	100	3.9	100	0	—

(註) × : 大部分枯死したもの

* : 対照に対して1%有意

種子を消毒した結果、接種菌以外の菌類が繁殖することはほとんどなかった。その結果 *F.* sp. 3 に著しい病原性のあることがわかった。*Phoma* sp. は種子消毒を行わなかった場合と同様、まきつけ後2週間目で全部枯死し、かなり病原性が強いことがわかった。その他の菌類では、*G. penicilloides* と *F.* sp. 1 に枯死本数が多く、時によつて病原性を高めることもありうるように思われた。*G. fimbriatum* と *Hormodendrum* sp. には全く病原性が認められなかった。

Phoma sp. はこの試験でも著しくキュウリ苗の生長を阻害した。これに反し、病原性がないかあるいは弱かつた *A.* sp. 2, *G. fimbriatum*, *Hormodendrum* sp., *F.* sp. 1, *F.* sp. 2 の場合には、いずれも著しい徒長現象が認められ、まきつけ後2週間で対照区の伸長量の2倍以上にも達した。これらの伸長生長は、対照に比較して初期に著しく徐々に少なくなつて行く傾向が認められた。

3. 検 討

土壤菌類の病原性は、接種の条件によつて多少変化するようであつた。これは ROTHBUN-GRAVATT⁽⁸²⁾, VAARTAJA⁽¹⁰¹⁾ および赤井⁽²⁾も認めているように、生物現象として当然のことである。試験した範囲内で病原性が強いと思われたものは、*Phoma* sp., *F.* sp. 3, *F. oxysporm* および *Rhizoctonia solani* (予備試験の結果)であつた。また、*G. penicilloides* にはやや強い病原性が認められたが、そのほかの菌類には明らかな病原性を認めることが困難であつた。

Phoma sp. はいずれの接種試験方法でも、キュウリ苗の生長を著しく阻害し、最後には枯死させてしまった。これは MARTIN⁽⁴⁵⁾らが明らかにした *Thielaviopsis basicola* による柑橘類の生長減退と同じ現象であるかもしれない。しかし彼らは生長減退を起させる生理的原因については明らかにしていない。*Phoma* sp. によるキュウリの生長阻害は、次章で取

扱う培養濾液の試験結果から明らかなように、菌糸の生長過程において生産される代謝生産物が稚苗の生長にきわめて有害であり、伸長を阻害するばかりか枯死させることもあるから、生きた植物の組織を直接侵害できなくても、このようなある種の toxin で稚苗を枯死させるか、あるいは抵抗性を弱めてから組織中に侵害するのではないかと考えられた。

病原性がないか、あるいは著しく弱かつた *A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *Hormodendrum sp.*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2* には、いずれも対照の伸長量⁽¹⁰⁹⁾に対して2~3倍の徒長現象が認められた。このような著しい伸長効果は WAKSMAN や AKHROMEIKO らが研究した根圏微生物による養分供給だけの作用では説明できないものと思われる。すなわち、これらの菌類はオーキシンやジベレリンあるいはカイネチンのような植物生長促進物質 (plant growth-promoting-substance) を生産して植物の生長を直接刺戟しているように思われた。

§2. アカマツに対する病原性と伸長作用

1. 土壌培養した試験

供試菌は *Phoma sp.*, *A. sp. 1*, *A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *G. penicilloides*, *Hormodendrum sp.*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3*, *F. oxysporum*, *Gibberella fujikuroi*, *Rhizoctonia sp.*, *T. viride* の13種であつた。

苗畑土壌を100cc容の管ビン(トルビーカー)に約1/3ほどいれ、CZAPEK 液を土壌が充分しめ程度(10~15cc)加え、管口を紙でおおつたまま125°Cで30分間滅菌し、冷却後対照以外は供試菌を接種した。ついで篩別した滅菌土壌をかぶせ、その上にあらかじめ芽をきらしておいたアカマツ(関東産)種子を3粒ずつまきつけふく土した。

まきつけは1957年5月11日に行ない、2日間25°Cの定温に保つた後、温室にいった。処理は3回繰返しを行なつた。設定後20日目と32日目に腐敗枯死した本数と残存苗の苗長

第23表 アカマツに対する土壌菌類の病原性ならびに伸長量—土壌培養

Fungi	まきつけ後		32 日 目		枯死率 %	病原性
	20 日 目	対照に対 する比	苗 長	対照に対 する比		
	cm	%	cm	%		
<i>Phoma sp.</i>	3.1	94	3.2	84	0	?
<i>T. viride</i>	3.6	109	3.9	103	13	?
<i>A. sp. 1</i>	3.8	115	4.4	116	33	弱
<i>A. sp. 2</i>	3.7	112	4.0	105	0	なし
<i>G. fimbriatum</i>	4.5*	136	4.6*	121	17	?
<i>G. penicilloides</i>	3.4	103	3.7	97	0	なし
<i>Hormodendrum sp.</i>	3.7	112	4.1	108	0	なし
<i>F. sp. 1</i>	3.5	106	3.5	92	29	弱
<i>F. sp. 2</i>	3.9	118	4.1	108	29	弱
<i>F. sp. 3</i>	3.3	100	3.4	89	0	なし
<i>F. oxysporum</i>	3.6	109	3.9	103	43	中
<i>Gibberella fujikuroi</i>	4.4*	133	4.5*	118	0	なし
<i>Rhizoctonia sp.</i>	×	—	×	—	100	強
対 照	3.3	100	3.8	100	0	—

(註) * : 対照に対して5%有意

(hypocotyl 長)を測定した。試験の結果は第23表に示した。数値は3 pot 9本の平均苗長である。

アカマツに対する土壤菌類の病原性は、苗畑の被害苗から分離した *Rhizoctonia* sp. のみが著しく強かつたほかは、明らかな結果が得られなかつた。これは、キュウリの接種試験の時のように接種した土壤菌がうまく土壤中で繁殖しなかつたことに原因があるように思われた。

G. fimbriatum とジベレリンの生産菌である *Gibberella fujikuroi* を接種した場合には、対照の苗長に対して、まきつけ後3週間目は約30%、1カ月後は20%前後の伸長増加が認められた。

2. 砂耕培養した試験

100cc 容の管ビンに粒径 2~3 mm の石英砂(白川砂と呼ばれているもので多少不純物を含む)を約70cc 入れ、標準濃度の CZAPEK 液を約20cc ずつ注加し、土壤培養の場合と同様、供試菌を接種して純粋培養した。

供試菌は *Phoma* sp., *T. sp.*, *T. viride*, *A. sp. 1*, *A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *G. penicilloides*, *Hormodendrum* sp., *pullularia* sp., *F. sp. 1*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3*, *Gibberella fujikuroi*, *Rhizoctonia* sp. の14種であつた。

第24表 アカマツに対する土壤菌類の病原性ならびに伸長量—砂耕培養

Fungi	まきつけ後		25日目	35日目	45日目		枯死率	病原性
	15日目	対照に対する比			苗長	対照に対する比		
	cm	%	cm	cm	cm	%	%	
<i>Phoma</i> sp.	3.3	122	3.8	(4.2)	×	—	67	中
<i>T. sp.</i>	4.1**	152	4.3**	4.4*	4.4*	133	0	なし
<i>T. viride</i>	2.5	93	3.1	3.2	3.4	103	29	弱
<i>A. sp. 1</i>	1.8	67	2.5	2.6	×	—	63	中
<i>A. sp. 2</i>	5.0**	185	5.3**	5.3**	5.3**	161	14	?
<i>G. fimbriatum</i>	3.5*	130	3.7	3.7	3.7	112	33	弱
<i>G. penicilloides</i>	3.4	126	3.7	3.8	3.8	115	13	?
<i>Hormodendrum</i> sp.	4.2**	156	4.4**	4.5**	4.6**	139	11	?
<i>Pullularia</i> sp.	3.1	115	3.3	3.4	3.4	103	22	弱
<i>F. sp. 1</i>	3.5*	130	3.5	3.5	×	—	67	中
<i>F. sp. 2</i>	4.2**	156	4.6**	4.6**	4.6**	139	0	なし
<i>F. sp. 3</i>	4.8**	178	5.1**	5.1**	5.2**	158	0	なし
<i>Gibberella fujikuroi</i>	4.3**	159	4.8**	4.8**	4.8**	145	29	弱
<i>Rhizoctonia</i> sp.	×	—	×	×	×	—	100	強
対 照	2.7	100	3.0	3.2	3.3	100	0	—

(註) ** : 対照に対して1%有意

* : 対照に対して5%有意

() : 枯死本数が多いため平均値が不正確になつたもの

菌糸が充分のびた接種後1カ月目の1957年9月6日、あらかじめ芽をきらしてあつたアカマツ種子(京都営林署所有)を3粒ずつまきつけ、うすく砂でおおい温室にいれた。まきつけ後15日目から10日毎に腐敗枯死した本数と苗長(hypocotyl 長)を測定した。試験の結果は第24表に示した。数値は3 pot 9本の平均苗長である。

石英砂に CZAPEK 液を加え、充分接種菌の菌糸を繁殖させてからまきつけた砂耕培養の結果は、土壤に接種した場合は多少異なつた結果がえられた。アカマツに対する病原性は、ここでも同じく *Rhizoctonia* sp. がもつとも激しかつた。ついで *Phoma* sp. 1, *A.* sp. 1, *F.* sp. 1 が枯死率60%以上で、かなり病原性があるように思われた。その他の菌類には明らかな傾向が認められなかつた。

病原性がないかあるいは弱いものうち、*T.* sp., *A.* sp. 2, *G. fimbriatum*, *Hormodendrum* sp., *F.* sp. 2, *F.* sp. 3, *Gibberella fujikuroi* を接種した場合には、対照より著しく伸長量が増加し、明らかな伸長作用が認められた。

3. 検 討

アカマツに対する土壤菌類の病原性はキュウリの場合と多少異なり、*F.* sp. 3 には病原性が認められず、*Phoma* sp. の病原性もキュウリのように強くなかつた。また、*A.* sp. 1 と *F.* sp. 1 にも病原性が多少認められたが、苗畑の被害苗から分離した *Rhizoctonia* sp. のように激しくはなく、実際の苗畑においてどれほどの被害をおよぼすか疑問である。しかし、これらの土壤菌の生育に有利なある特別の条件が与えられれば、病原菌としてアカマツを強く侵害するようになるかもしれない。

Phoma sp. は、わずかではあるが苗畑の被害苗からも分離されているので、接種試験の結果とあわせて明らかに病原性があるといえよう。また、育苗条件にともなつて行なつた microflora の分析において病害発生後しばらくすると、この *phoma* sp. がほとんどいずれの試験においても必ず増加してくるが、この土壤菌は立枯病の被害の増加に相当大きな影響をおよぼしているように思われる。*Phoma* sp. の病徴は子葉にかつ色ないしは黒かつ色の斑点ができ hypocotyl の上部を侵害することが多いようであつた。また、*Phoma* sp. はキュウリの伸長を著しく阻害したが、アカマツに対しては明らかな影響をおよぼさなかつた。

病原性がないか、あつても弱いものの中にはアカマツの生長を促進するものがあつたが、試験の方法によつてその作用には多少差が認められた。土壤あるいは砂耕のいずれの接種試験でも、伸長作用が認められたものは *G. fimbriatum* と *Gibberella fujikuroi* であつた。*Gibberella fujikuroi* は林業試験場から分譲してもらつたもので、ジベレリンの抽出に用いている菌株とは strain が異なるかもしれないが、ジベレリンが松属の伸長には影響しない報告が多いにもかかわらず、*Gibberella fujikuroi* の培養体そのものに生長促進作用が認められたことは興味がある。

そのほか、接種菌の菌糸を充分繁殖させた砂耕培養の試験では *T.* sp., *A.* sp. 2, *Hormodendrum* sp., *F.* sp. 2, *F.* sp. 3 にアカマツの伸長を促進させる作用があることが認められた。そして、対照より40~60%ほどよく伸長したが、キュウリの生長促進作用ほど著しくはなかつた。これは土壤菌類の植物の種類に対する反応の差というよりキュウリとアカマツの生長速度の違いによる現象と考えられた。

§3. モリシマ・アカシアに対する病原性と伸長作用

モリシマ・アカシア (*Acacia mollisimae*) に対する糸状菌の土壤接種試験は病原性の検定を目的としたものではなく、伸長促進効果をみるために行なつたものである。

砂耕培養によつて試験したアカマツの場合と同様、白川砂を入れた管ピンに CZAPEK 培

養液を加え、*T. sp.*, *A. sp. 1*, *A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *G. Penicilloides*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3*, *F. oxysporum*, *Gibberella fujikuroi* の10種の供試菌を純粋培養した。

接種後12日目の1957年9月19日、熱湯処理をして発芽促進し、あらかじめ芽をきらしておいたアカシアの種子を3粒ずつまきつけた。まきつけ後5日目から温室にいれ12日後から10日目毎に枯死数と苗長 (hypocotyl 長) を測定した。

試験の結果は第25表に示した。数値は4 pot 12本の平均苗長である。

第25表 モリシマ・アカシアに対する土壤菌類の病原性ならびに伸長量

Fungi	まきつけ後		22日目 苗長	32日目		枯死率	病原性
	苗長	対照に 対する比		苗長	対照に 対する比		
<i>T. sp.</i>	4.7 ^{cm}	84 [%]	5.0 ^{cm}	4.9* ^{cm}	82 [%]	18 [%]	弱
<i>A. sp. 1</i>	6.4	114	6.9	6.9	115	36	中
<i>A. sp. 2</i>	6.8*	121	6.8	6.9	115	0	なし
<i>G. fimbriatum</i>	6.3	113	6.6	6.8	113	0	なし
<i>G. penicilloides</i>	5.8	104	5.8	6.0	100	27	弱
<i>F. sp. 1</i>	5.7	102	6.1	6.4	107	20	弱
<i>F. sp. 2</i>	6.4	114	6.6	6.8	113	0	なし
<i>F. sp. 3</i>	6.7*	120	7.1*	7.2*	120	0	なし
<i>F. oxysporum</i>	6.5	116	6.7	6.9	115	0	なし
<i>Gibberella fujikuroi</i>	6.3	113	6.5	6.6	110	0	なし
対 照	5.6	100	5.9	6.0	100	0	—

(註) * : 対照に対して5%有意

モリシマ・アカシアに対する土壤菌類の病原性はほとんど認められず、*A. sp. 1*にわずかその可能性がみられた。まきつけ後1カ月目には、*T. sp.* が伸長の抑制を示すようになった。*F. sp. 3*を接種した場合には、明らかな伸長作用が認められた。すなわち対照より20%もよく伸長した。*A. sp. 2*はまきつけ後約2週間目ごろまでは5%で有意の差があつたが、その後は有意ではなくなつた。その他の土壤菌類については明らかな傾向を認めることができなかつた。

モリシマ・アカシアはキュウリやアカマツに比較して土壤菌類に対する反応が少ないようであつた。このことは植物におよぼす土壤菌類の影響が、おのおのその種類によつて互に異なつていゝることを意味しているように思われる。

以上のように、土壤菌類の中には植物に対して生長の阻害と促進の作用をもつものがあつたが、これは主として土壤菌類の代謝生産物によるものと推察された。そして伸長作用を示す *G. fimbriatum* などの異常増殖は、稚苗の徒長をひきおこし、病原菌に対する抵抗性を弱めるものと考えられた。

第3章 土壤菌類の代謝生産物が稚苗の伸長に与える影響

立枯病の発生過程において、土壤菌類の稚苗に与える影響は、複雑ではあるがきわめて重要であることがわかってきた。すなわち、第1章のように育苗条件にともなつて変化する microflora は、立枯病の発生と強い相関があるが、常に多く増殖する菌類の中には、接種試験の結果、今まで主要な立枯病菌として一般に認められていたもののほかに、いくらか病原性のあるものが2.3新たに見出された。一方、病原性はなくても稚苗の生長を阻害したり、あるいは反対に伸長を促進したりして、生理学的に影響するものもあることがわかった。このような土壤菌類の稚苗の生長に与える作用は、立枯病の発生と密接に関係しているように思われた。

これらのうち、*Phoma* sp. などは第2章において述べた接種試験の結果、ある種の植物の生長を著しく阻害したが、これは *Fusarium*, *Gibberella* ならびに *Nectoria* 属菌などが生産するフザリン酸の萎凋作用⁽²³⁾、あるいは *Fusarium* 菌の毒性作用⁽²⁸⁾などと類似の現象であるように思われた。

また、病原性には関係がないと思われた菌類のうち数種のものには、稚苗の生長を著しく促進する作用があることが認められた。このような生長促進作用は、菌類による易吸収性の養分、特にビタミンなどの植物に対する供給という原因も考えられたが、^(4, 5, 109)一部稚苗の著しい徒長現象から、ジベレリンのような生長促進物質の作用による可能性が大きいように推察されたので、まず、菌類の代謝生産物による一連の実験を試みることにした。

菌類によつて生産される植物の生長促進物質についての研究は、ほとんどジベレリンだけに向けられ、この方面の研究はまだ緒についたばかりである。しかし、すでに1937年、⁽¹¹⁶⁾WENT & THIMANN は、*Rhizopus suinus* がある条件のもとでホルモンをよく生産することを認め、また病原微生物によつて形成されるホルモンは、植物の病害に対して重要な意義をもつことを指摘した。

最近では、⁽²⁰⁾FERGUS & WHARTON が *Ceratocystis fagacearum* に植物の生長促進物質を生産する能力のあることを、*Glaciei pea* の屈曲テストによつて確認しているし、また浦山⁽¹⁰⁰⁾はハラタケの生長ホルモンについて研究をおこない、アベナテストには反応するがインドール醋酸のようなオーキシン類とは違つたある種の生長物質が存在することを報告している。

このような微生物の生産する生長物質は、生理学的にあるいは病理学的にきわめて興味のある問題であるが、特に土壤菌類のそれは、⁽⁶⁸⁾RUSSELL らのいう根圏微生物との関連における植物の生育の面から、重要な課題になるものと思われる。

以下の実験は、植物稚苗の生長に対する土壤菌類の促進作用と阻害作用とを、代謝生産物を含んだ培養濾液によつて試験したものであるが、確実な効果を見るためには、比較に用いたジベレリンのように、これらの物質を純粋結晶状物質として取出し検定することが必要であろう。また、培養濾液の処理方法も、現在統一された標準方法がないので、いろいろ培地をかえて根から吸収させたり、頂芽に処理したり、あるいは種子に処理したりして、植物稚苗に与える培養濾液の作用を確めた。

§ 1. 培養濾液の調整

生長物質 (growth substance) として用いられているものは、普通結晶状の物質として取出されているが、土壤菌類による生長促進作用が果してこのような生長物質によるものかどうか、まだ明らかにされていないので、まず初歩的な段階としてジベレリンなどの例のように、微生物の培養濾液そのものを用いることにした。

1) 培養基

生長物質を生産するに最も適した培養基を調整するためには、多くの実験を重ねなければならないうえに、このような微生物の生産する生長物質としてはジベレリンが発見されていただけで培養基を決定することははなはだ困難であった。そのため菌類の代謝生産物の検定に、これまで多く用いられてきたペニシリン生産用の CZAPEK-Dox 培養基を採用することにした。その配合は次のようである。

CZAPEK-Dox 培養基

ブドウ糖	40.0 g
硝酸ソーダ (NaNO ₃)	3.0 //
第一磷酸カリ (KH ₂ PO ₄)	1.0 //
塩化カリ (KCl)	0.5 //
硫酸マグネシウム (MgSO ₄ 7H ₂ O)	0.5 //
硫酸鉄 (FeSO ₄ 7H ₂ O)	0.01 //
水	1000cc

使用にあたり PH 5.5 の原液そのままと磷酸 (H₂PO₄) で PH 3.5 に調整したものと 2 種を用いた。しかし、PH 3.5 の条件で培養したもの以外は、本論文ではあらためて培養条件を明記しなかつた。なお、試験に用いた培養濾液の PH は第 26 表のようであつた。

第 26 表 検定に用いた土壤菌の種類と濾液の PH—2~3 週間培養のもの

Fungi	培養基の PH		Fungi	培養基の PH	
	PH 5.5	PH 3.5		PH 5.5	PH 3.5
<i>Phoma</i> sp.	7.4	—	<i>F. sp. 1</i>	5.6	4.8
<i>A. sp. 1</i>	7.0	—	<i>F. sp. 2</i>	7.4	7.8
<i>A. sp. 2</i>	—	6.8	<i>F. sp. 3</i>	6.0	7.6
<i>G. fimbriatum</i>	7.4	6.4	<i>Rhizoctonia</i> sp.	8.0	—
<i>G. penicilloides</i>	8.6	—	<i>Gibberella fujikuroi</i>	4.0	7.0
<i>Hormodendrum</i> sp.	7.8	—	<i>T. sp. 3</i>	7.8	—

2) 培養および濾過方法

200cc 容の三角フラスコに CZAPEK-Dox 液を 50cc 入れ、綿栓後、120°C 15 分間 autoclave で滅菌した供試菌を接種した。25°C の定温でそれぞれの試験目的に応じた一定期間培養した後、ZEITZ filter で無菌濾過 (東洋濾紙製 filter No 78—細菌用を使用) して試験液とした。

§2. 根から吸収させた濾液の植物伸長効果

1. 固体培地を用いた試験

土壤菌類の生産する生長物質の伸長作用をもつとも簡単に試験するために、植物が生育する固体培地たとえば土壌とか砂礫などに培養濾液を直接加えて植物に与える影響を調べた。

1) ペトリ皿による砂耕培養試験

5%の塩酸でよく洗った細粒(径2mm)の白砂を内径9cmのシャーレに4/5ほどいれ、120°C、20分間 autoclave で滅菌し、それぞれの濃度の試験液を25ccずつ加えた。対照区には春日井氏畑作物水耕培養液(§2,2参照)の10倍稀釈液を同量加えた。試験液は Czapek-Dox 液に12日間培養した *A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3*, *Gibberella fujikuroi* の培養濾液を2倍と20倍に稀釈したものを用いた。

1958年4月28日、ウスプルン800倍液で90分間表面殺菌したキュウリ(四葉)の種子を、1シャーレ10粒ずつ白砂上にならべ、25°Cの温度に48時間保つて後、無菌箱にいれ、毎日適量の水分を補給した。処理は2回繰返しを行なった。伸長に明らかな差が認められた処理後9日目から苗長(hypocotyl長)を測定し、24日目には重量の測定も行なった。試験の結果は第27表の通りであった。表中の数値はそれぞれ20本の平均値を示す。

第27表 砂耕培地に加えた濾液の伸長効果

培養濾液	稀釈濃度	処理後の苗長			根の長さ	乾重			T/R率
		9日目	14日目	24日目		莖葉	根		
<i>A. sp. 2</i>	2	41 (241)	70 (241)	75 (234)	61 (149)	25 (156)	16 (200)	1.56	
	20	22 (129)	40 (138)	46 (144)	75 (183)	20 (125)	21 (263)	0.95	
<i>G. fimbriatum</i>	2	(+)	46 (156)	57 (178)	74 (180)	21 (131)	9 (113)	2.33	
	20	35 (206)	51 (176)	55 (112)	80 (195)	24 (150)	15 (188)	1.60	
<i>F. sp. 1</i>	2	43 (253)	71 (245)	79 (247)	75 (183)	26 (163)	21 (263)	1.24	
	20	33 (194)	47 (162)	50 (156)	69 (168)	24 (150)	20 (250)	1.20	
<i>F. sp. 2</i>	2	24 (141)	65 (224)	70 (219)	66 (161)	22 (138)	11 (138)	2.00	
	20	30 (176)	42 (145)	49 (153)	65 (159)	24 (150)	17 (213)	1.41	
<i>F. sp. 3</i>	2	×	×	×	×	—	—	—	
	20	(-)	×	×	×	—	—	—	
<i>Gibberella fujikuroi</i>	2	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	—	
	20	27 (159)	44 (152)	48 (150)	59 (144)	21 (131)	18 (225)	1.17	
対 照	0	17 (100)	29 (100)	32 (100)	41 (100)	16 (100)	8 (100)	2.00	

(註) (+): 1cm以下の伸長 (-): わずかに伸長 (×): 枯死 (): 対照に対する比率(100分率)

第27表から明らかなように試験の結果は培養濾液中に含まれる残存養料の効果がかなり大きく影響したようであつたが、*F. sp. 3* の培養濾液をのぞいてすべてに伸長作用が認められた。根の長さにも増加がみられ、それらの乾重も対照より著しく大きかつた。培養濾液の稀釈度によつても多少異なり、*A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2* の濾液は原液の20倍稀釈液より2倍稀釈液の方がよく伸長したが、*Gibberella fujikuroi* は高濃度の方に生長の抑制がみられた。また、*F. sp. 3* の濾液には著しい阻害作用がみられた。

2) 管ピンによる土壤培養試験

内径4cmの管ピンに2/3ほど苗畑の土壤をいれ、120°Cで20分間 autoclave で滅菌し、1958年4月27日、800倍ウスプルン液で消毒したキュウリ（早生京都節成）の種子を4粒ずつまきつけ空中の雑菌が混入しないよう双葉のできるまで紙で被覆し、ガラス室（日中温度25°~32°C）においた。

5日後、子葉が展開を始めたので14日間培養した *A. sp. 1*, *G. fimbriatum*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3*, *Gibberella fujikuroi* の培養濾液をそのままと20倍稀釈液との2種として、1管ピン当り3ccずつ注加した。対照には、CZAPEK液を同量加えた。その後、6日目（5月8日）に2回目の処理を行なつた。

測定の結果は第28表に示した。表中の数値は3 pot 9本の平均である。

第28表 土壤培地に加えた濾液の伸長効果

培 養 濾 液	稀釈濃度	処理後6日目		13日目		24日目	
		苗長	対照に対する比	苗長	対照に対する比	苗長	対照に対する比
	倍	mm	%	mm	%	mm	%
<i>A. sp. 2</i>	1	52**	127	61**	124	64**	119
	20	49**	120	59**	120	66**	122
<i>G. fimbriatum</i>	1	57**	139	65**	133	69**	128
	20	49**	120	60**	122	64**	119
<i>F. sp. 1</i>	1	55**	134	66**	135	70**	130
	20	44	107	54*	110	60*	111
<i>F. sp. 2</i>	1	53**	129	65**	133	69**	128
	20	42	102	52	106	55	102
<i>F. sp. 3</i>	1	47*	115	×	—	×	—
	20	47*	115	56*	114	60*	111
<i>Gibberella fujikuroi</i>	1	47*	115	55*	112	57	106
	20	40	98	49	100	55	102
対 照	0	41	100	49	100	53	100

(註) ×：大部分枯死したもの

**：対照に対して1%有意

*：対照に対して5%有意

A. sp. 1, *G. fimbriatum*, *F. sp. 1* の培養濾液はいずれの濃度においても明らかな伸長促進作用を示した。また、*F. sp. 2* は濾液そのままを処理した場合のみ差が認められたが一般に濾液の伸長促進作用は、濃度の高い方が大きい傾向があつた。そのため、*Gibberella*

fujikuroi には、ほとんど効果が認められないようであつたが、処理量を増せば伸長作用をあらわすようになるかもしれない。

F. sp. 3 は稀釈しない濾液を処理すると毒性があらわれたが、20倍稀釈液ではかえつていくらか伸長効果があるようであつた。

3) 検 討

砂耕培養ならびに土壌培養の固体培地を用いたキュウリの伸長試験の結果は、土壌菌類の培養濾液に明らかな伸長作用があることを示した。このことは接種試験において見られた稚苗の伸長促進現象が、植物に対する土壌菌類の単なる養分供給だけによつておこつたのではなく、菌類の代謝生産物中に含まれる植物の生長促進物質が強く作用したことを意味しているといえよう。

対照（無処理）に対する伸長促進効果の比率は培地の種類によつて差があるが、濃度が高いほど伸長作用が大きいようで、*A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2* はこれらの傾向が明らかであつた。⁽²³⁾しかし、*F. sp. 3* のように、逆に生長を阻害する場合も認められた。これは GAUMANN や星野のいう *Fusarium* などの毒性作用であるように思われた。⁽²⁸⁾

固体培地に濾液を加えて菌類の生長物質を検定する方法は、濾液中に残存している培養基養料に差異があると思われるので確実な検定方法とはいえないかもしれない。しかし、土壌培養の場合は濾液の処理量が少なく、また、土壌の緩衝能のためこの欠点は防げるようであつたが、実際の伸長促進効果は少なかつた。

2. 水耕培養法による試験

黒紙をはつた100cc容の管ビン（トールビーカー）に3週間培養した *Phoma sp.*, *A. sp. 1*, *G. penicilloides*, *Hormodendrum sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *T. sp. 3* の培養濾液を、それぞれ4ccと1ccずつ入れ、春日井氏液を満した。ジベレリン処理は春日井氏液中の濃度が40ppmと10ppmになるようあらかじめ調整し、CZAPEK-DOX 加用処理は基準液を濾液と同様1管ビン当り4ccと1ccずつ加えた。対照は無処理で春日井氏液のみとした。⁽⁶⁴⁾

春日井氏畑作物水耕培養液

A液	NH ₄ NO ₃	57.5mg
	KH ₂ PO ₄	38.3 "
	KCl	43.0 "
	MgSO ₄ 7H ₂ O	245.0 "
B液	Ca (NO ₃) ₂	117.0 "
	Fe ₂ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ 6H ₂ O	12.0 "

AB は使用直前に混合し水を加えて1 l とする。

HCl にて PH 5 ~ 7 に調整する。

1958年6月4日、あらかじめ準備しておいた3~4cmの長さのキュウリ（四葉）の苗（まきつけ後5日）を1管ビン2本ずつ黒紙のふたの小孔に挿入し、綿で支持し、それを管ビンの中に入れて水耕培養した。1処理3回繰返しを行なつた。不足する培養液は毎日補足し、試験液と培養液は1日おきに新しいものと取りえた。測定は毎日行なつたが、第29表は1日おきの調査結果を示した。数値は3 pot 6本の平均値である。

第29表 水耕培地に加えた濾液の植物伸長効果

培養濾液	稀釈濃度	処理後2日目		4日目	6日目	8日目	10日目	
		伸長量	対照に対する比				伸長量	対照に対する比
<i>Phoma</i> sp.	1	cm 0.53*	% 64	cm 1.99**	cm 2.57**	cm 2.80**	cm 3.55**	% 65
	4	0.60*	72	2.54*	3.18*	3.80*	4.73*	86
<i>A.</i> sp. 1	1	0.30**	36	1.12**	1.54**	2.03**	2.66**	47
	4	0.87	105	3.27	3.86	4.53	5.30	97
<i>G. penicilloides</i>	1	0.92	111	2.59*	3.08*	3.81*	4.55**	83
	4	0.95	114	3.17	3.78	5.53	5.59	102
<i>Hormodendrum</i> sp.	1	0.88	106	2.93	3.56	4.38	5.26	96
	4	0.88	106	3.20	3.71	4.66	5.58	102
<i>Rhizoctonia</i> sp.	1	0.77	93	2.89	3.56	4.56	5.47	100
	4	0.87	105	2.77	3.46	4.46	5.47	100
<i>T.</i> sp. 3	1	0.55*	66	2.37*	2.74**	3.31**	3.86**	71
	4	0.72	87	3.25	3.87	4.72	5.57	102
Gibberellin	1	1.32**	159	4.50**	5.99**	7.42**	9.27**	169
	4	1.17**	141	4.60**	6.12**	7.49**	9.33**	171
CZAPEK-DOX液	1	0.72	87	3.16	3.77	4.75	5.48	100
	4	0.82	99	3.16	3.71	4.54	5.28	97
対 照	0	0.83	100	3.13	3.75	4.60	5.47	100

(註) **: 対照に対して1%有意

*: 対照に対して5%有意

試験に用いた濾液は6種類の菌類の培養濾液であつたが、菌類の培養と濾液調整の都合から *A.* sp. 2, *G. fimbriatum*, *Fusarium* など今までの実験で伸長作用が明らかであつたものを除いたため、ここでは比較に用いたジベレリン以外明らかな伸長促進作用をもつものが認められなかつた。これに反し、*Phoma* sp., *A.* sp. 1, *G. penicilloides*, *T.* sp. 3 の高濃度には伸長抑制作用が認められたが、接種試験の結果と同様 *Phoma* sp. の生長阻害は特に明らかであるように思われた。すなわち、*Phoma* sp. の病原性は *Fusarium* の濾液に毒性があるように植物組織へ菌糸が侵入する前、このような代謝生産物で植物を衰弱枯死させるのではないかと考えられるが、さらにくわしい検討が必要であらう。

§3. 頂芽に処理した濾液の植物伸長効果

植物の培養液に濾液を加えて生長物質の検定を行なう方法は、培養中菌類に利用されなかつた濾液中の残存養料が、植物の養分として直接伸長に影響することがありうるものと察せられる上に、また植物の培養条件の統制がきわめて困難であるため、生長物質に対する植物の反応は著しく変化することが多いものと考えられる。このような理由から生長物質を地上部に直接処理する方法がより適切であるように思われたので、綿付法による伸長促進作用の検定を行なつた。これは、滴下法によると濾液の流下によつて、地下部に濾液が導びかれるおそれがあるので、濾液を脱脂綿の小片にふくませ、双葉の展開した直後から、キュウリ苗

の頂芽にのせて伸長促進作用を調べようとしたものである。

この方法で処理した濾液の植物伸長効果が、もつとも信頼できる結果をあらわしたものと
思われた。

1. 管ビンによる試験

100cc容 (内径 4 cm) の管ビンに均一な苗畑土壌を 8 割ほど入れ滅菌し、1958年 5 月 9 日、
キュウリ (四葉) 種子を 4 粒ずつまきつけ、発芽後 1 pot 3 本ずつになるよう間引いた。
まきつけ後10日目に、全部双葉が展開したので、濾液をふくませた脱脂綿の小片 (画鋏大)
を頂芽にのせ、毎日綿をかえて 7 日間処理をくりかえしたが、4 日目には濾液を新しいもの
ととりかえた。対照は滅菌水を同様に処理した。1 処理 3 回の繰返しを行なった。試験に用
いた濾液は、PH 3.5 に調整した CZAPEK-DOX 培養基に 21 日間培養したもので、濾液そ
のままと 10 倍稀釈液 (ジベレリンのみは 100 ppm と 10 ppm) の 2 種類の濃度で処理を行な
った。

処理後、1 週間目に第 1 回、それから 4 日目毎に 2 回苗長 (hypocotyl 長) を測定した。
試験の結果は第 30 表のとおりであつた。数値は 3 pot 9 本の平均を示す。

第 30 表 綿付法によつて頂芽に処理した濾液の伸長効果—管ビンを使用

培 養 濾 液	稀釈濃度	処理後 7 日目		11 日 目		15 日 目	
		苗 長	対照に対 する比	苗 長	対照に対 する比	苗 長	対照に対 する比
A. sp. 2	1 倍	4.5*	113	(4.7)	109	(4.8)	100
	10	4.3	108	5.0*	116	5.1	106
<i>G. fimbriatum</i>	1	4.7**	118	(4.9)*	114	(4.9)	102
	10	4.8**	120	5.3**	123	5.8**	121
<i>F. sp. 1</i>	1	4.8**	120	(4.9)*	114	(5.1)	106
	10	4.5*	113	5.1*	119	5.5*	115
<i>F. sp. 2</i>	1	5.2**	130	(5.2)**	121	(5.3)	110
	10	4.8**	120	5.2**	121	5.5*	115
<i>F. sp. 3</i>	1	5.2**	130	×	—	×	—
	10	4.8**	120	4.4	102	×	—
<i>Gibberella fujikuroi</i>	1	4.8**	120	(4.9)*	114	(5.0)	104
	10	5.0**	125	5.1*	119	5.4*	112
Gibberellin	100ppm	6.6**	165	7.6**	177	8.1**	169
	10ppm	5.0**	125	5.4**	126	5.6**	112
対 照	0	4.0	100	4.3	100	4.8	100

(註) (): 芽に害を受けたもの

** : 対照に対して 1% 有意

* : 対照に対して 5% 有意

綿付法による処理を開始してから 7 日目の苗長には A. sp. 2 をのぞいてすべて大きい確率
で明らかな伸長効果が認められた。これらの伸長効果は、処理開始後の伸長量 (増加量) で
比較するならばさらに著しい効果をあらわすであろう。

しかし、綿付処理が終つた処理後 8 日目から 11 日目にかけて、ジベレリン処理をのぞき、

高濃度（原液）処理を行つた方の生長点附近に著しい necrosis（壊死）があらわれ、伸長が阻害された。そして、処理後15日目にはいずれも対照の伸長量と差がなくなつた。特に *F. sp. 3* の necrosis は著しく、その濾液には相当強い毒性があるように思われた。

2. 素焼鉢による試験

1958年6月14日、白川砂を入れた内径9cm（3寸）の素焼鉢に、あらかじめ芽をきらしてあつたキュウリ（早生京都節成）種子を3粒ずつまきつけてガラス室においた。子葉の展開が終つた6月18日（まきつけ後4日）、前法と同様、試験液を含ませた脱脂綿の小片を、毎日1回ずつ5日間頂芽ののせて処理を行なつた。そして1処理3回の繰返しを行なつた。試験液は、接種後30日間培養した *A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3*, *F. oxysporum*, *T. lignorum* の濾液の2倍と10倍稀釈液ならびにジベレリンの50 ppmと10 ppmの稀釈液を用いた。処理と同時に毎日苗長を測定し伸長量を算出した。

処理後1日目から5日目までの伸長量は第31表のようであつた。数値は3 pot 9本の平均値で示した。

第31表 綿付法によつて頂芽に処理した濾液の伸長効果—素焼鉢を使用

培養濾液	稀釈 濃度	処理後 1 日目		2 日目		3 日目		4 日目		5 日目	
		伸長量 mm	対照に 対する % 比	伸長量 mm	対照に 対する % 比	伸長量 mm	対照に 対する % 比	伸長量 mm	対照に 対する % 比	伸長量 mm	対照に 対する % 比
<i>A. sp. 2</i>	2	2.6	90	4.3	96	8.4	111	12.3	106	14.7	97
	10	4.5**	155	6.4*	142	11.4**	150	17.3**	149	22.2**	146
<i>G. fimbriatum</i>	2	4.0*	138	6.3*	140	11.8**	155	16.3*	141	19.8*	130
	10	5.2**	179	7.8**	173	12.6**	166	18.3**	158	23.0**	151
<i>F. sp. 1</i>	2	3.6	124	5.3	118	8.9	117	13.1	113	15.1	99
	10	4.0*	138	6.7*	149	10.8*	142	15.1*	130	18.1	119
<i>F. sp. 2</i>	2	3.2	110	5.2	116	8.4	111	11.9	103	13.8	91
	10	4.0*	138	6.0*	133	10.3*	136	14.1	122	17.6	116
<i>F. sp. 3</i>	20	3.8*	131	6.7*	149	10.5*	138	13.9	120	15.9	105
	100	3.2	110	5.3	118	9.4	124	13.6	117	17.0	112
<i>F. oxysporum</i>	2	3.4	117	5.7	127	8.9	117	12.2	105	14.1	93
	10	3.0	103	5.9	131	8.8	116	12.7	109	15.6	103
<i>T. lignorum</i>	2	4.1*	141	7.8**	173	12.3**	162	16.7*	144	18.8	124
	10	3.9*	135	7.1*	158	11.0*	145	15.3*	132	19.0	125
Gibberellin	50ppm	6.1**	210	13.5**	300	25.9**	341	36.7**	316	53.8**	354
	10ppm	4.3**	148	10.1**	224	19.3**	254	27.5**	237	37.3**	245
対 照	0	2.9	100	4.5	100	7.6	100	11.6	100	15.2	100

(註) **: 対照に対して1%有意

* : 対照に対して5%有意

綿付法の処理を開始してから3日目までは、*F. oxysporum* をのぞいてすべての試験濾液に明らかな伸長促進作用が認められた。しかし、5日目には *A. sp. 2*, *G. fimbriatum* の濾液とジベレリンをのぞいてはほとんど効果がなくなつた。このことはジベレリンが後ほ

ど伸長作用が著しくなることと合せてさらに検討を要する問題であろう。比較のために用いたジベレリンの伸長促進作用は著しいが *G. fimbriatum* の濾液も対照に比較して50%以上の伸長効果を示した。

A. sp. 2, *G. fimbriatum*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2* の濾液は、高い濃度（2倍稀釈）の方に伸長効果がないかまたは少なく、処理後5日目には、*F. oxysporum* の濾液も含めて、キュウリの生長点附近に黄褐色に変色した部分が認められるようになった。これは、第1回目の実験（第30表）でみられたような necrosis の前徴であるように思われる。すなわち、濾液の濃度を2倍に稀釈しても、まだ濃度が高く、植物の組織を破壊し、生長を阻害するのであろう。しかし、*T. lignorum* の濾液は necrosis を起さなかつた。また、生長の阻害作用が著しく、ある種の toxin を含むように考えられていた *F. sp. 3* の濾液は、この試験では稀釈度を原液の20倍と100倍にしたため、異常が認められなかつたばかりか、初めの頃は伸長促進作用さえみられた。

3. 検 討

土壌菌類の培養濾液をキュウリ苗の頂芽に処理した場合、試験方法のいかんにかかわらず、明らかな伸長促進作用を示したものは、*G. fimbriatum* の濾液だけであつた。しかし A. sp. 2, *F. sp. 1*, *F. sp. 2* などの濾液は、処理の条件によつて多少異なるが、ある程度伸長促進作用があるように思われた。また、1回しか試験を行なわなかつたが、*T. lignorum*, *F. sp. 3* や *Gibberella fujikuroi* の濾液にも伸長作用があるようであつた。しかし、立枯病病原菌として知られている *F. oxysporum* には全く効果が認められなかつた。

処理の条件や測定の方法などによつて、対照に対する伸長量の比に著しい差異ができるが、また、キュウリの hypocotyl の伸長量は分散が大きく、対照よりかなり大きい伸長量を示さなければ差が認められないようであつた。また、処理による伸長効果は、ジベレリン処理の場合とは反対に時日の経過とともに低下して行くようであつたが、このことについてはさらに検討を必要とするであろう。

培養濾液を頂芽に処理すると、濃度の低い方が伸長作用が大きく、高い方は生長を抑制するばかりか、生長点附近に necrosis をおこす傾向が認められた。特に *F. sp. 3* の濾液は生長の阻害作用が著しく、それにはフザリン酸のように相当強い毒性があるように思われた。フザリン酸 ($C_{10}H_{13}O_2N$) は *F. lycopersici*, *F. vasinfectum*, *Gibberella fujikuroi*, *Nectria cinnabarina* などの代謝生産物であるが GAUMANN⁽²³⁾ はフザリン酸が萎凋毒素としてトマトなどの萎凋病の発現に関与することを見出し、生体内のフザリン酸⁽²³⁾の量が少ない場合は茎に、高い場合は葉にも病徴があらわれることを認めた。また、星野は、*Fusarium* 菌の培養濾液に毒性のあることを報告しているが、*Fusarium* のある種⁽²³⁾のものは、菌糸によつて直接植物体を攻撃できなくとも、このような toxin によつて被害を与えることが可能であろう。しかし、毒性のある濾液でもその濃度を稀釈するとかえつて生長を促進することもあるように思われた。

以上のように、培養濾液の植物伸長効果は綿付法によつてかなり明らかな結果を得たが、さらに、綿密な結論をえるためには菌類の培養条件、濾液の稀釈濃度、処理植物など幼植物による適当な生物的検定の方法を確立する必要がある。いずれにしても、接種試験においてみられた稚苗の生長阻害や異常伸長は、菌類の代謝生産物によつても同じ現象をあらわすこ

とができるようであるが、この結果、土壤中におけるこれらの菌類の活動は、立枯病の発生と密度に結びついているものと考えられる。

§ 4. 種子浸漬による濾液の植物伸長効果

G. fimbriatum などの培養濾液がもっている植物伸長効果の持続性についてはまだ明らかでないことが多いが、多くの他の生長物質の例からみて多少効果が持続するように思われたので、種子を濾液中に一定時間浸漬し伸長作用のあらわれ方を調べてみた。

A. sp. 2, *G. fimbriatum*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2*, *F. sp. 3*, *Gibberella fujikuroi* の21日間培養濾液 (CZARPEK-Dox 液 PH 3.5) そのままと、10倍稀釈液ならびにジベレリンの100 ppm, 10 ppm の試験液に、キュウリ (四葉) の種子を2時間浸漬し、ペトリ皿に入れた石英砂上に7粒ずつ (このうち6個を測定) まきつけた。ペトリ皿は内径9cmのものを1処理2個ずつ使用し、石英砂はよく洗じようしたものを約半量入れ、春日井氏畑作物水耕培養液を適量 (上までわずかにしめる程度) 加え養料とした。

1958年5月19日処理を行ない、25°Cの定温に保つて2日後ガラス箱に入れ、11日と16日目の2回苗長を測定した。試験の結果は第32表に示した。数値は12本の平均苗長である。

第32表 種子浸漬による濾液の伸長効果

培 養 濾 液	稀釈濃度	処理後11日目		処理後16日目	
		苗 長	対照に対 する比	苗 長	対照に対 する比
<i>A. sp. 2</i>	1 倍	5.4** cm	135 %	6.3** cm	131 %
	10	5.3**	133	5.7*	119
<i>G. fimbriatum</i>	1	5.3**	133	6.0**	185
	10	4.9**	123	5.6*	117
<i>F. sp. 1</i>	1	4.1	103	4.6	96
	10	4.9**	123	5.8**	121
<i>F. sp. 2</i>	1	5.7**	143	6.5**	135
	10	4.1	103	5.0	104
<i>F. sp. 3</i>	1	×	—	×	—
	10	3.4	85	4.1	85
<i>Gibberella fujikuroi</i>	1	4.8**	120	5.9**	123
	10	6.2**	155	7.3**	152
Gibberellin	100ppm	4.6*	115	5.2	108
	10ppm	4.8**	120	5.9**	123
対 照	0	4.0	100	4.8	100

(註) × : 被害のため伸長せず
 ** : 対照に対して1%有意
 * : 対照に対して5%有意

分散分析の結果、*F. sp. 3* をのぞいてすべてに伸長作用が認められたが、特に *G. fimbriatum* の濾液そのままの伸長促進効果は著しかった。しかし、その効果は稀釈の濃度によ

つて多少異なるようであつた。また *F. sp. 3* の濾液にはこの試験でも明らかに 毒性が認められた。

以上のように、培養濾液の効果は種子浸漬を行なつた場合も明らかであつたが、石英砂上においた種子にかなり多くの濾液が附着していたので、発芽後、その影響が多少あつたようにも思われた。しかし、キュウリ種子の芽生えに際して、菌類の培養濾液が特に著しく影響することは、立枯病の発生との関連において重要な意味をもつように考えられる。すなわち発芽直後から子葉が展開するまでの間が、菌類の代謝生産物による生理的な影響を特に受けやすいとするならば、この間の病原菌に対する抵抗性はますます弱くなり、病害を助長するようになるであろう。

§ 5. 針葉樹稚苗に対する濾液の伸長促進効果

土壤菌類の生産する生長物質の検定に、これまで生長の早いキュウリの稚苗を用いてきたが、苗畑の立枯病として被害の大きいアカマツ、スギ、ヒノキの稚苗についても培養濾液の影響を試験した。

1. アカマツ稚苗に対する効果

白川砂を入れた内径9cm(3寸)の素焼鉢に、1958年5月7日にまきつけた大阪産のアカマツ苗を、7月26日3本ずつ移植し、8月2日濾液の処理を行なつた。処理は、*G. fimbriatum*, *F. sp. 2* の3週間培養の濾液を2倍と20倍に、ジベレリンは100ppmと10ppmに稀釈して、1本あたり2ccずつ苗の上から滴下した。対照は同量の滅菌水を用いた。処理は1回行なつただけである。

処理効果の検定は、濾液処理当日と、その後10日目毎に主軸長(hypocotylはのぞく)を測定し、伸長量を求めた。試験の結果は第33表のとおりであつた。数値は3pot9本の平均伸長量を示す。

第33表 濾液処理によるアカマツ稚苗の主軸伸長量

培 養 濾 液	稀釈濃度	処理後10日目		処理後20日目		処理後30日目	
		伸長量 mm	対照に對する比 %	伸長量 mm	対照に對する比 %	伸長量 mm	対照に對する比 %
<i>G. fimbriatum</i>	2倍	4.8**	369	6.3**	263	7.7*	164
	20	3.1*	238	4.5*	188	6.4	136
<i>F. sp. 2</i>	2	1.6	123	3.1	129	5.7	121
	20	1.9	146	3.6	150	5.6	119
Gibberellin	100ppm	1.8	138	3.1	129	5.2	111
	10ppm	3.2**	246	5.2**	217	7.1*	151
対 照	0	1.3	100	2.4	100	4.7	100

(註) **: 対照に対して1%有意

* : 対照に対して5%有意

処理後10日目の結果では、*G. fimbriatum* の濾液とジベレリン10ppm稀釈液とに著しい伸長促進作用が認められた。その後20日目、30日目と対照に対する主軸伸長量の比率は小さくなり、効果が減少して行く傾向が認められた。

2. スギ稚苗に対する効果

使用した苗は、1958年4月24日にまきつけた新宮産のスギで、7月10日鉢に移植した。試験の方法などはアカマツの場合と全く同様である。試験の結果は第34表のとおりであつた。数値は3 pot 9本の平均伸長量を示す。

第34表 濾液処理によるスギ稚苗の主軸伸長量

培 養 濾 液	稀釈濃度	処理後10日目		処理後20日目		処理後30日目	
		伸長量 mm	対照に 対する比 %	伸長量 mm	対照に 対する比 %	伸長量 mm	対照に 対する比 %
<i>G. fimbriatum</i>	2倍	1.4	117	5.9	137	9.0	118
	20	1.2	100	3.6	84	5.7	75
<i>F. sp. 2</i>	2	2.2	183	5.1	118	8.5	112
	20	1.9	158	4.9	114	9.5	125
Gibberellin	100ppm	2.0	167	7.6*	177	13.6**	179
	10ppm	1.6	133	5.7	133	10.2*	134
対 照	0	1.2	100	4.3	100	7.6	100

(註) **: 対照に対して1%有意

* : 対照に対して5%有意

スギ稚苗に対してはジベレリンのほか全く伸長効果が認められなかつた。

3. ヒノキ稚苗に対する効果

使用した苗は1958年4月24日にまきつまた新宮産のヒノキで、7月11日鉢に移植した。試験の方法などは、アカマツの場合と全く同様である。試験の結果は第35表のとおりであつた。数値は3 pot 9本の平均伸長量を示す。

第35表 濾液処理によるヒノキ稚苗の主軸伸長量

培 養 濾 液	稀釈濃度	処理後10日目		処理後20日目		処理後30日目	
		伸長量 mm	対照に 対する比 %	伸長量 mm	対照に 対する比 %	伸長量 mm	対照に 対する比 %
<i>G. fimbriatum</i>	2倍	3.2*	229	6.6**	157	9.3**	155
	20	2.2	157	5.5	131	7.9	132
<i>F. sp. 2</i>	2	2.1	150	5.1	121	7.2	120
	20	2.6*	186	4.3	102	8.8*	147
Gibberellin	100ppm	1.7	121	3.4	81	5.3	88
	10ppm	1.8	129	4.5	107	5.9	98
対 照	0	1.4	100	4.2	100	6.0	100

(註) **: 対照に対して1%有意

* : 対照に対して5%有意

スギの場合と反対に、ジベレリンは効果がなく、*G. fimbriatum* と *F. sp. 2* の濾液に伸長効果がみられたが、明らかな効果が認められたのは *G. fimbriatum* だけであつた。

4. 検 討

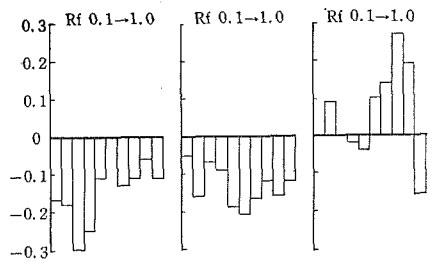
アカマツ、スギ、ヒノキの稚苗に対する培養濾液の影響は、樹種によつて異なつた反応を示した。すなわち、*G. fimbriatum* の濾液はアカマツとヒノキに明らかな伸長促進効果を示したが、*F. sp. 2* の濾液はヒノキに効果がみられたのみであつた。比較に用いたジベレリンはアカマツとスギに効果が認められたが、低い濃度の方がアカマツの伸長に効果があつたことは検討する必要がある。

アカマツやヒノキには、*G. fimbriatum* の濾液の伸長効果があり、スギには効果がないという現象は、立枯病の被害が、スギよりアカマツやヒノキの方が大きいといわれることと何らかの関連があるように思われるが、実験の繰返しが少ないので、さらに検討すべき問題であろう。また、針葉樹の稚苗におよぼす培養濾液の伸長効果は主軸の伸長量に差を生じたものであるが、立枯病害の発生にもつとも関係がある hypocotyl の伸長に対しても、接種試験の結果から、また、同じように反応するものと推察される。しかし、hypocotyl の長さは分散が大きいので、伸長効果についてはさらに調べてみる必要がある。

以上のように、針葉樹の稚苗はキュウリなどとは違つて生長速度が遅いため、濾液の伸長効果のあらわれかたは遅いが、キュウリの場合と同じように、菌類の代謝生産物によつて稚苗が異常生長し、病害に対する抵抗性が弱められることがあるように思われる。

§6. ペーパークロマトグラフィーを用いたアベナ伸長テスト

CZAPEK-DOX 培養液に10日間培養した *G. fimbriatum* と *F. sp. 2* の濾液を、0.5cc ミクロピペットでペーパークロマトグラフィーに送風乾燥させながら点としてつけ、70% エチルアルコールで展開した。これを1cm間隔に10等分し (Rf 0.1~1.0)、各切片を1ccの蒸溜水に浸漬(24時間)して物質を溶出させた。対照は展開の際溶媒中に入つていたペーパー部分の浸漬液を用いた。この抽出液に、2.5mmに切断したアベナの切片を浮かべ、24時間後、印画紙上に写してミクロルーペにより伸長量を測定した。



第8図 ペーパークロマトグラフィーによるアベナ伸長テスト

対照の伸長量を基準とした Rf 値に應ずる伸長ならびに抑制量は、第8図のようであつた。

図から明らかなように、*G. fimbriatum* と *F. sp. 2* の濾液には、 Rf 値のすべてに伸長抑制作用がみられた。特に、*G. fimbriatum* の濾液は Rf 0.3および0.4に *F. sp. 2* は Rf 0.5, 0.6, 0.7附近に著しい抑制作用があるようであつた。

しかし、このような抑制作用は、アベナに対する *G. fimbriatum* ならびに *F. sp. 2* の本当の反応であるかもしれないが、一般の抗生物質と同じように、土壤菌の生長

物質が酸化によつてすぐ不活性になる物質であるならば、ペーパークロマトグラフィーに濾液を点滴した際、送風乾燥させたことによつて著しく酸化を促進したものであると思われるので、濾液の不活性化についてはなお検討を要するに思われる。

ジベレリンはアベナ屈曲テストには反応を示さないといわれるが、伸長テストでは、この実験で *Rf* 0.8 および 0.9 に伸長効果があられた。それゆえ、これまでのデータからすると、*G. fimbriatum* や *F. sp. 2* の生産する生長物質は、ジベレリンとは異なつた物質であると考えられる。

以上のように、植物に与える菌類の代謝生産物の作用は、地下部、地上部、種子などに対する濾液の処理方法によつていくらか異なつてはいるが、濾液中に含まれる生長物質の検定は綿付法によつて頂芽に処理するのがもつとも適当であるように思われた。また、濾液の性質、濃度、処理植物の種類などによつて処理の効果は異なつたが、全般的に *G. fimbriatum* の濾液には著しく、*A. sp. 2*, *F. sp. 1*, *F. sp. 2* などにはやや明らかに植物の伸長促進効果が認められた。これに反し *Phoma. sp.* や *F. sp. 3* の濾液には明らかな生長阻害がみられた。このような菌類の代謝生産物が土壌中で生産されて、立枯病に影響しているということは充分想像されることであらう。

第4章 土壤菌類の代謝生産物による植物伸長 促進効果が立枯病におよぼす影響

前章のように、立枯病の発生とともに優勢になる土壤菌類の中には、植物の伸長促進作用をもつものがあることがわかつたが、育苗過程の初期において、抗生物質^(120,121)の生産と同様、菌類が植物伸長促進物質を土壌中で生産するならば、当然稚苗の徒長をひきおこし、立枯病菌に対する抵抗性を弱めることがあるものと考えられる。このことは、病原性や抗菌性に関係がなく、しかも植物に対しては伸長作用をもつている *G. fimbriatum* のような菌類を、土壌中に大量接種して microflora を control すると、立枯病害を助長する(第5章参照)ことから推察されるが、種子浸漬法によつて、濾液の効果が持続することが認められたので、伸長促進物質を含む濾液を直接種子に処理し、その伸長効果が病害の抵抗性に対してどのように影響するかを試験してみた。

§1. 濾液で処理した稚苗の *PHIZOCTONIA* に対する抵抗性の減少

接種菌は立枯病菌中もつとも病原性の強い *Rhizoctonia solani* (林業試験場より分譲)を用いた。接種方法は、まず篩別した苗畑土壌をペトリ皿(内径9cm)に適量入れ、土壌が充分しめる程度に水を加え、autoclave で滅菌(120°C 30分間)し、冷却後中央部に *Rhizoctonia* の菌糸を接種した(1958年7月1日)。

処理液は *A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *Hormodendrum sp.* の2週間培養の濾液ならびにジベレリンを用いた。

培養濾液は濾液そのままと10倍稀釈液、ジベレリンは100 ppm と10 ppm の稀釈液として、キュウリ種子(四葉)をそれぞれの液に2時間浸漬し、*Rhizoctonia* を接種した直後の土壌表面に1シャーレ6粒ずつ(3回繰返し)ならべ、25°C の定温に24時間保ち、後温室に入れた。

試験の結果は第36表に示した。表中の数値は枯死苗の合計数である。

第36表 濾液で処理したキュウリの *Rhizoctonia* による枯死本数(枯死苗の合計数)

濾液	稀釈濃度	まきつけ後		
		2日目	3日目	4日目
<i>A. sp. 2</i>	1倍	5	14	17
	10	8	16	18
<i>G. fimbriatum</i>	1	9	17	18
	10	7	16	18
<i>Hormodendrum sp.</i>	1	13**	18	—
	10	7	18	—
Gibberellin	100ppm	10	17	18
	10ppm	11*	18	—
対照	0	6	18	—

(註) **: 対照に対して5%有意

* : 対照に対して10%有意

充分湿めらせた土壌中における *Rhizoctonia* の病原性は特に著しく⁽²⁾ 第36表のように、試験設定後4日目まではほとんどすべて腐敗枯死した。濾液処理による抵抗性の減少は、まきつけ後2日目に *Hormodendrum sp.* の濾液の原液とジベレリン10 ppm の処理に認められただけであつた。*Hormodendrum sp.* は接種試験において伸長作用があつたが、濾液の効果は水耕法や種子浸漬法の場合明らかでなかつた。そのため、原液の処理で被害が大きくなつたのは、伸長効果によるものか、他に原因があるのか、この結果からはわからなかつた。

§2. 濾液で処理した稚苗の自然土壌の病害に対する抵抗性の減少

1. 実験 I

立枯病の発生した苗畑の土壌を殺菌したペトリ皿に半量ほど入れ、水道水を加えて全面にわたり充分しめらせた。1958年7月2日、*A. sp. 2*, *G. fimbriatum*, *F. sp. 2* の20日間培養濾液そのままと10倍稀釈液、ならびにジベレリンの100 ppm と10 ppm の試験液にキュウリ(四葉)の種子を3時間浸漬し、1処理3ペトリ皿として、1皿10粒ずつまきつけた。

試験の結果は第37表のようであつた。表中の数値はペトリ皿3個の平均枯死率を示す。

2. 実験 II

1958年8月5日、*G. fimbriatum*, *F. sp. 2*, *Hormodendrum sp.* の24日間培養濾液そのままとジベレリンの100 ppm 稀釈液にキュウリ(四葉)の種子を2時間浸漬し、実験1と同様にまきつけた。試験は5回繰返しのラテン方格法によつて行なつた。

試験の結果は第38表のようであつた。表中の数値はペトリ皿5個の平均枯死率を示す。

3. 検討

ほぼ同じような方法で、2回実験を行なつたが、初めの実験はまきつけ後5日目ではほとん

第37表 濾液で処理したキュウリの立枯病による枯死率 (%)

培 養 濾 液	稀 釈 濃 度	ま き つ け 後		
		2 日 目	3 日 目	4 日 目
<i>A. sp. 2</i>	1 倍	20	37	77
	10	11	49	96
<i>G. fimbriatum</i>	1	40*	77	93
	10	45*	63	100
<i>F. sp. 2</i>	1	47*	83	100
	10	43	63	93
Gibberellin	100ppm	57*	72	89
	10ppm	32	68	96
対 照	0	20	60	100

(註) * : 対照に対して10%有意

第38表 濾液で処理したキュウリの立枯病による枯死率 (%)

培養濾液	まきつけ後				
	4 日 目	5 日 目	6 日 目	7 日 目	8 日 目
<i>G. fimbriatum</i>	29**	64*	80	91	93
<i>F. sp. 2</i>	15*	59*	70	81	87
<i>Hormodendrum sp.</i>	7	37	75	82	87
Gibberellin	4	25	41	64	81
対 照	5	43	65	85	85

(註) **: 対照に対して5%有意

* : 対照に対して10%有意

ど枯死したのに反し、2回目の試験ではまきつけ後11日目でも、それぞれ10%前後は健全であった。これは、土壌中の含水量の差による原因がもつとも大きいものと思われるが、試験の時期が1カ月違うことも原因の1つであろう。

このような病害発生の程度は、処理苗の抵抗性の減少にも影響し、最初の実験Iではあまり明らかな傾向が認められなかった。すなわち、繰返しの少なかつたことにもよるが、*G. fimbriatum*、*F. sp. 2*およびジベレリンの処理に10%有意でそれも2日目だけに差があつたのみである。これに反し、5回の繰返しを行なつた実験IIでは設定後5日目まで*G. fimbriatum*の濾液処理に5%の有意差があり10%の危険率では、*F. sp. 2*にも差が認められた。

以上のように、*G. fimbriatum*や*F. sp. 2*など植物の伸長促進効果をもつものは、その濾液を種子に処理すると、生長物質の影響で徒長をひきおこす結果、病原菌に対する抵抗性が弱まつて病害を助長する場合があることがわかつた。菌類が植物に対する伸長促進物質

を土壤中で生産するという直接的な証明は勿論まだ行なわれていないが、^(120,121) WRIGHT は多くの抗生物質が土壤中で生成されることを認め、また gliotoxin などの抗生物質がまきつけられた土壤中の種子の表皮に附着していることを証明した。そのため発芽した苗の子葉にある種の病徴があらわれることがあり、これは抗生物質を含んだ液中でその苗を育てても同様に発生すると報告している。このような事実から、菌類の生産する植物伸長促進物質が、抗生物質の生産と同じように、土壤中で植物の種子や稚苗の根に直接影響を与え、植物の伸長や病害の発生に関与している可能性は大きいものと思われる。

第5章 MICROFLORA の CONTROL による 病害の発生と防除

第1章から第4章までの試験の結果次のようなことが明らかになった。すなわち、土壤中における微生物相互の平衡が育苗条件などの影響で破られ、異常な microflora の状態を示すようになると、環境条件の影響とともに、立枯病の被害がますます助長されるようになることがわかってきた。しかし、優勢になる菌類の中には病原性の認められたものもあるが、病害の激しいところには *G. fimbriatum* のように病原性のないものが異常に増殖する傾向が著しかった。これらの菌類は、植物に対して生長を促進する作用があり、伸長促進物質を生産することが明らかとなった。さらに、このような伸長作用は、稚苗の徒長をひきおこす結果、病原菌に対する稚苗の抵抗性を弱め、病害を助長する場合のあることが室内実験で証明された。

一方、⁽²²⁾ GARETT は土壤病原菌の接種を行なった場合、滅菌土壤より無殺菌土壤の方が被害のあらわれかたが大きいことを明らかにした。このことは、病原菌が単独で存在するよりも、他の土壤菌と共存する方が病害の発生が容易であることを意味している。この原因として病原菌に共生する微生物の存在とか、植物の抵抗性を弱めるように作用する微生物の影響⁽¹⁰⁹⁾などが考えられる。これらの菌類はもともと腐生菌であつて、⁽²²⁾ WAKSMAN や GARETT のいう土壤定住者であろう。立枯病の発生した苗畑で異常増殖する *G. fimbriatum* などは、明らかに定住菌であり、稚苗の徒長をひきおこす作用があるため病原菌の活動に有利に影響する一つの原因となることがわかってきた。

このような植物に対する土壤菌類の伸長効果が、立枯病害を助長するか、しないかを第4章にひきつづきさらに試験するため、伸長効果の明らかであつた *G. fimbriatum* と、接種試験の結果、多少病原性があるが伸長効果をもたなかつた *A. sp. 1* を、それぞれ自然土壤に多量接種して microflora を変化させ、病害の発生状態を調べてみた。それと同時に、病原菌にきつ抗性のある *T. lignorum* を接種して、microflora の control による病害防除の可能性をも検討した。

抗生菌を利用して土壤病害を防除しようとする試みは ⁽¹⁸⁾ FAWCETT ならびに ⁽¹¹¹⁾ WEINDLING 以来数多く行なわれてきた。最初は抗生物質^(113,115)の直接的な利用が考えられたが、抗生物質の不安定な性質からほとんど応用されなかつた。⁽²⁵⁾ また、自然土壤に抗生菌を直接接種して防除を行なう試みも、現在はまだ基礎的な段階にあつて実用化には至つていないもの^(22,52,53)と思われる。

抗生菌を接種して土壤中の microflora を control しようとした目的は、育苗過程において

病害の発生を助長するような microflora の状態に変化することを妨げるためであつた。焼土とか殺菌剤を用いる土壤の滅菌は実際上きわめて困難であり、また、すべての微生物を除くことは、硝酸還元菌や窒素固定菌など植物の生育にとつて重要なものをも失なうこととなり、あるいは有機物の分解を遅らせることなどマイナスの効果もあらわれるであろう。

VAARTAJA は森林土壤は“biologically well buffered”であり、一方、苗畑土壤は微生物の均衡が種々の条件で破壊されるため、病害の発生に有利であると述べているが、この意味は重要であるように思われる。すなわち、病害の発生を防ぐためには、microflora の平衡を破らないよう自然のままの状態を保たせるのが最もよいのであるが、育苗を行なうためには、耕耘、施肥、まきつけなど一部の環境条件は必然的に変えなければならないので、microflora も当然変化することになり、これにともなつて立枯病が発生する場合が多いであろう。しかし、microflora を人工的に control することができれば、病原菌の発育、生長に不利な状態に導くことも可能であろう。すなわち、microflora を control することは、病原菌にきつ抗性のある腐生菌を主体とした microflora を作ることを目的であつた。

しかも、microflora の半ば永久的な control が必要なのではなく、育苗の初期において立枯病害のもつとも激しい僅かの期間だけ、病原菌の活動をおさえるような microflora の状態に導くことが可能となれば、充分であるように思われる。

§1. POT を用いた MICROFLORA の CONTROL

1. 病害発生状況

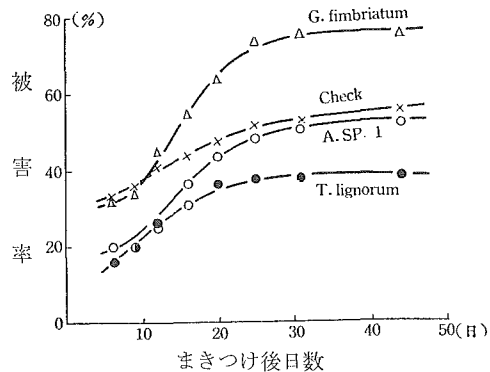
5 万分の 1 の WAGNER-pot に苗畑の土壤を入れ、CZAPEK 液を加えた切藁(約 2 cm)に培養した供試菌をうすくばらまき、対照には滅菌した切藁を加え、土壤とよく混合した後、3 週間をへた1957年10月5日、あらかじめ芽をきらしたアカマツ種子(京都営林署管内産)を、1 pot あたり 40 粒ずつまきつけ、うすく土をおおい温室に入れた。

供試菌は、立枯病の発生個所に多くあらわれた *A. sp 1*, *G. fimbriatum* のほかに、苗畑から分離した *T. lignorum* を用いた。試験は 4 回繰返しを行なつた。

まきつけ後 6 日目から 44 日目までの 4 pot 平均被害率は第 9 図のようであつた。

2. 残存苗の伸長量

まきつけ後約 10 日目、比較的残存苗の多かつたそれぞれ 2 つの pot のうちで、苗長の長いものから 10 本ずつ計 20 本を掘取つて、主軸長ならびに乾重量を測定した。調査の結果は第 39 表のようであつた。表中の数値は 20 本の平均を示す。



第 9 図 pot を用いた microflora の control による被害率の変化

第39表 pot を用いた microflora の control による稚苗の伸長

接 種 菌	主 軸 長		乾 重 量	
	cm	対照に対す る比 %	g	対照に対す る比 %
<i>A. sp. 1</i>	10.17±1.58	119	0.194	127
<i>T. lignorum</i>	9.15±1.24	107	0.138	90
<i>G. fimbriatum</i>	11.42*±1.54	134	0.214	140
対 照	8.53±1.17	100	0.153	100

(註) * : 対照に対して1%有意

3. 検 討

第9図から明らかなように、*A. sp. 1* 接種区と *T. lignorum* 接種区との不発芽率（6日目の結果）は、対照区に比較して小さく、発芽に差のあることが認められた。これに反し、*G. fimbriatum* 接種区は対照区と差がなかった。まきつけ後10日目から20日目にかけて病害が急激に増加し、*A. sp. 1* 接種区は対照区との差がなくなり、不発芽率で差がなかった。*G. fimbriatum* 接種区は、反対に、対照区より20%も被害率が大きくなった。

これは、アカマツ稚苗に対する *G. fimbriatum* の伸長促進作用の影響によつて、病原菌に対する抵抗性が減少したものと思われたので、第39表のように主軸伸長量の測定を行なつてみた。その結果、*G. fimbriatum* 接種区の平均主軸長は対照区より30%も大きく、伸長効果が明らかであつた。

接種試験の結果、*G. fimbriatum* はアカマツに対して病原性がなかったが、*A. sp. 1* には僅かにあるようであつた。しかし、*A. sp. 1* を microflora の control のために接種した結果では、対照区の被害率と全く差がなかった。

以上のことから、自然土壤においては多少病原性のある *A. sp. 1* のような菌類より、病原性はなくても、植物に対して伸長効果がある *G. fimbriatum* のような菌類の活動する方が、病害を助長する傾向があるといえるであろう。育苗条件の変化にともなつておこる *G. fimbriatum* の異常増殖は、このような機構によつて病害を助長していたものと思われる。

一方、*T. lignorum* の接種区は被害率⁽¹¹⁾がもつとも小さく、病害の発生を押える作用が明らかであつた。これは WEINDLING⁽¹¹⁾, ALLEN & HAENSELER⁽⁶⁾, 西門ら⁽⁶⁾の報告と同様の傾向であつた。すなわち、抗生菌を用いて microflora を control することにより病害を防除することは可能であるように思われる。

§2. 苗畑における MICROFLORA の CONTROL

1. 病害の発生状況

京大演習林本部苗畑の立枯病試験地から分離した *A. sp. 1* と *T. lignorum* の2種を接種菌として用いた。CZAPEK 液を充分しめる程度に加えた切藁（約2cm）に、約4週間培養した供試菌をm² 当り乾燥藁にして80g ずつ施し、うすく土をおおつた。対照には滅菌した切藁を同量用いた。接種した翌日の1957年6月20日、発芽促進したクロマツ種子（京都産）を60×60cm（0.36m²）内に25g ずつまきつけた。処理は4回繰返しの乱塊法によつた。被害苗の調査は各区の中央50×50cm内で行なつた。

まきつけ後15日目から48日目までの4 plot の平均被害率は第10図のとおりであつた。

発芽率は *A. sp. 1* 接種区 (A区) 84%, *T. lignorum* 接種区 (T区) 90%, 対照区 (Check) 80% であり差が認められなかつたが、対照区には団状の不発芽個所が多くみられた。なお、この試験地は虫害が多く、平均9%の被害率に達した。

A. sp. 1 の接種による microflora の control は、pot の場合と同様対照と有意の差がなく、病害の発生にほとんど影響しないようであつた。

T区の被害率は対照区より著しく小さく、*T. lignorum* による病害防除の効果が明らかになつた。しかし、なお20%前後の被害がみられたことは、実験の方法と *T. lignorum* の効果が完全でないことを示すものであろう。

Trichoderma の抗菌性については、1930年代に行われた WEINDLING の一連の研究が有名である。^(111, 113, 113, 114) また、遠藤の白絹病菌、ALLEN & HAENSELER のキュウリ、エンドウの立枯病菌 (*Pythium*, *Rhizoctonia*) に対する *Trichoderma* のきつ抗性に関する報告のほか、最近では西門らが行なつた *Trichoderma* 菌の利用による白絹病菌や紋枯病菌に対する研究などがある。^(52, 53, 54) そのほか多くの研究が行なわれてきたが、苗畑において病害を完全に防除しえた報告はないようである。^(61, 109)

また、*Trichoderma* の生産する gliotoxin (WEINDLING の lethal principle はこの抗生物質であるが gliotoxin を生産する *T. viride* が *Gliocladium* に似ていたための混同から名付けられた。⁽²²⁾) などの抗生物質の土壤中での生成については、GREGORY, ALLEN, RIKER & PETERSON や WRIGHT の一連の研究がある。^(120, 121, 122) *Trichoderma* はこのような抗生物質によつて病原菌を攻撃するとともに、またその菌糸によつて直接病原菌の菌体を侵害することも多いように思われる。

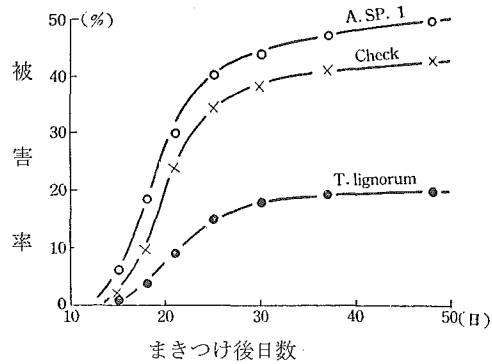
microflora の control 試験に用いた *T. lignorum* と一緒に苗畑から分離された10種類の *Trichoderma* のうち、*Rhizoctonia solani* との混合培養において抗菌性の明らかであつたのは、*T. lignorum*; *T. viride* のほか2種であつた。特に抗菌性の著しかつたのはヒノキのまきつけ量試験において1cm区に多くあらわれた *T. sp. 3* であつた。しかし、*T. sp. 3* の苗畑での効果は現在のところ明らかでない。

このように抗菌性に関する研究は、まだ多くの問題を将来残しているが、抗生物質を利用した立枯病の生物的防除は可能性が大きいものと考えられる。

2. microflora の変化

苗畑への接種6日前の microflora は第40表に、接種後21日目は第41表、38日目は第42表、6カ月目は第43表に示した。

まきつけ前の microflora は、*Phoma sp.* が全体の50%を占めいくらか微生物的な均衡が



第10図 苗畑における microflora の control による被害率の変化

第40表 microflora の control を行なう前の microflora—まきつけ6日前 (10³/g)

<i>Mucor</i> spp.	2.9	<i>Monosporium</i> sp.	1.0
<i>Phoma</i> spp.	55.2	<i>Botrytis</i> spp.	10.2
<i>Trichoderma lignorum</i>	1.0	<i>Botryotrichum</i> sp.	1.0
<i>T. koningi</i>	0.5	<i>Pullularia</i> sp.	3.9
<i>Aspergillus</i> sp. 1	0.5	Mycelia Sterilia	10.6
A. sp. 2	7.3	Others	6.8
<i>Penicillium</i> spp.	5.8	合 計	110.6
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	3.4	Bacteria + Actinomycetes	171.8
<i>G. penicilloides</i>	0.5		

第41表 接種後21日目の microflora (10³/g)

Fungi	Aspergillus		Trichoderma		Check	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Mucor</i> sp. 1	—	0.9	—	—	0.5	0.3
M. sp. 2	1.3	—	1.9	0.9	1.3	1.0
M. spp.	—	0.9	—	—	0.3	0.3
<i>Mortierella</i> sp.	—	—	1.9	—	—	4.4
<i>Cunninghamella</i> sp.	—	—	0.6	—	0.3	—
<i>Phoma</i> spp.	5.4	23.0	2.2	—	1.5	—
<i>Pyrenochaeta</i> sp.	—	—	—	—	—	0.3
<i>Oospora</i> sp.	—	—	—	—	—	0.3
<i>Cephalosporium</i> sp.	—	0.9	0.6	—	0.5	—
<i>Trichoderma lignorum</i>	1.0	—	6.4	14.5	3.6	—
T. spp.	0.6	—	—	—	—	—
<i>Hyalopus</i> sp.	—	—	0.6	0.9	0.8	0.5
<i>Aspergillus</i> sp. 1	1.9	639.1	0.6	—	0.8	0.3
A. sp. 2	1.0	2.6	—	1.7	—	—
A. sp. 3	0.6	—	—	—	—	—
A. niger group	—	—	—	—	1.0	—
A. spp.	0.6	—	0.3	0.9	0.5	—
<i>Penicillium</i> spp.	8.3	6.8	3.2	0.9	5.1	4.4
<i>Scopulariopsis</i> sp.	—	—	—	0.9	—	—
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	7.7	8.5	9.9	5.1	2.8	3.1
<i>G. penicilloides</i>	0.3	—	—	—	0.3	—
<i>Monosporium</i> sp.	—	—	—	—	—	1.3
<i>Verticillium</i> sp.	—	—	—	—	1.5	—
<i>Botrytis</i> spp.	1.6	1.7	—	0.9	3.1	3.8
<i>Spicaria</i> sp.	—	—	0.3	—	—	—
<i>Gonatobotrys</i> sp.	—	—	1.9	—	1.0	1.5
<i>Papularia</i> sp.	0.6	—	0.6	—	0.3	1.8
<i>Pullularia</i> sp.	9.3	7.7	0.6	3.4	6.4	13.8
<i>Torula</i> sp. ?	1.0	—	—	—	3.8	—
<i>Humicola</i> sp.	—	—	—	—	3.1	—
<i>Hormodendrum</i> sp.	9.0	9.4	3.2	0.9	5.9	8.2
<i>Acrothecium</i> sp.	1.3	—	—	—	—	0.5
<i>Stemphylium</i> sp.	2.9	—	—	—	—	0.3
<i>Alternaria</i> sp.	1.3	—	—	—	1.0	0.5

<i>Stysanus</i> sp.	0.3	—	—	0.9	—	0.5
<i>Fusarium</i> sp.1	1.0	—	0.6	—	—	1.0
<i>F.</i> sp.2	3.0	—	3.5	2.6	3.1	4.9
<i>F.</i> sp.3	—	—	—	2.6	—	1.3
<i>F.</i> spp.	2.6	—	0.3	—	1.8	4.4
Mycelia Sterilia	7.0	11.9	9.3	3.4	8.7	5.1
Others	3.8	2.6	6.1	3.4	4.4	2.3
合 計	73.6	716.0	56.8	43.9	63.4	66.1
Bacteria + Actinomyces	643.2	46.9	80.0	810.7	279.0	1058.8

(註) n. p. : 無被害個所 i. p. : 被害個所

第42表 接種後38日目の microflora (10³/g)

Fungi	Aspergillus		Trichoderma		Check	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Mucor</i> sp.1	—	—	—	—	—	2.4
<i>M.</i> spp.	—	—	—	—	1.2	1.2
<i>Phoma</i> sp.1	—	—	—	—	5.5	10.2
<i>P.</i> sp.2	—	—	—	—	—	1.2
<i>Trichoderma lignorum</i>	1.2	—	55.5	51.4	1.2	0.4
<i>T. koningi</i>	—	0.5	—	—	0.8	1.2
<i>T.</i> sp.	—	3.3	1.6	—	—	—
<i>Aspergillus</i> sp.1	232.9	1428.3	—	—	7.4	3.5
<i>A.</i> sp.3	0.4	3.3	—	1.9	0.4	1.6
<i>A.</i> spp.	0.8	—	—	1.9	3.5	0.8
<i>Penicillium</i> spp.	4.3	2.4	2.8	2.8	0.4	3.9
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	—	6.1	—	2.4	—	6.3
<i>Gonatobotrys</i> sp.	—	—	—	—	—	0.4
<i>Acrothecium</i> sp.	0.4	0.9	—	—	1.2	—
<i>Fusarium</i> sp.1	—	0.9	—	2.8	—	1.6
<i>F.</i> sp.2	—	—	—	—	1.2	—
<i>F.</i> sp.3	—	—	—	—	—	1.6
<i>F.</i> sp.8	0.8	1.4	—	1.4	—	—
Mycelia Sterilia	1.2	—	—	—	2.8	1.6
Others	—	0.9	6.3	10.9	—	—
合 計	242.0	1448.0	66.2	75.5	25.6	37.9
Bacteria + Actinomyces	83.4	17.5	76.7	238.8	107.4	93.7

破られた状態を示していた。普通、苗畑で多く分離される *Aspergillus* はここでは少なかった。

接種後3週間目の microflora (第41表) は、A区の被害個所をのぞいて著しい変化がなく、*penicillium*, *Gliocladium*, *Pullularia*, *Hormodendrum* などがいずれの個所にもほぼ均等にあらわれて菌類の分布状態に異常が認められなかった。これに反し、A区の被害個所は接種菌である *A.* sp. 1 が約64万 (90%) に増殖し、microflora は異常状態を示した。また、T区の被害個所における *T. lignorum* もいくらか増殖する傾向がうかがわれた。

接種後約5週間目になると第42表からも明らかなように、分離される菌類の種類がいずれも著しく少なくなった。特にこの傾向はA区、T区に著しい。そして対照区にはいろいろな

第43表 接種後6カ月目の microflora (10³/g)

Fungi	Aspergillus		Trichoderma		Check	
	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.	n. p.	i. p.
<i>Absidia</i> sp.	—	—	—	—	—	0.8
<i>Mucor</i> sp. 1	—	—	1.0	0.8	—	—
<i>M.</i> sp. 2	0.8	0.4	—	—	—	—
<i>M.</i> spp.	—	—	—	—	1.3	—
<i>Cunninghamella</i> sp.	—	—	—	0.4	—	—
<i>Phoma</i> spp.	14.3	5.5	—	—	6.8	11.0
<i>Monilia</i> sp.	1.3	—	—	—	—	—
<i>Cephalosporium</i> sp.	0.8	—	—	—	—	—
<i>Trichoderma lignorum</i>	0.4	3.0	60.7	53.1	1.3	1.7
<i>T. koningi</i>	—	1.3	0.5	—	0.8	1.7
<i>T.</i> spp.	—	—	—	3.8	0.4	0.8
<i>Hyalopus</i> sp.	—	—	—	—	0.4	—
<i>Aspergillus</i> sp. 1	345.3	479.0	—	—	3.4	2.1
<i>A.</i> sp. 3	0.8	—	—	—	—	—
<i>A.</i> spp.	0.4	—	0.5	0.4	—	0.4
<i>Penicillium</i> spp.	19.8	9.7	2.5	—	5.5	7.2
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	0.8	2.1	5.1	—	1.3	4.2
<i>G. Penicilloides</i>	0.8	2.1	—	—	—	2.1
<i>Monosporium</i> sp.	0.4	—	—	—	—	—
<i>Botrytis</i> spp.	1.7	0.4	—	—	0.8	2.1
<i>Acrostalagmus</i> sp.	0.8	—	—	—	0.4	—
<i>Spicaria</i> sp.	—	1.7	—	—	—	—
<i>Papularia</i> sp.	1.7	—	—	—	3.4	1.3
<i>Pullularia</i> sp.	—	—	—	—	—	0.4
<i>Hormodendrum</i> spp.	—	—	—	—	0.8	0.8
<i>Fusarium</i> sp. 1	—	1.7	—	3.0	0.4	1.3
<i>F.</i> sp. 2	0.4	6.8	—	—	1.7	3.0
<i>F.</i> sp. 3	—	0.8	—	—	0.4	—
Mycelia Sterilia	3.8	2.1	1.0	—	3.4	4.6
Others	1.7	1.3	9.1	3.4	0.8	3.8
合計	396.0	517.9	80.4	64.9	33.3	49.3
Bacteria + Actinomyces	13.9	15.6	8.6	7.2	78.9	58.6

種類の菌類が、ほぼ均等に平衡を保つてあらわれるに反し、A区の無被害個所には23万(96%)、被害個所には実に143万とA. sp. 1だけで全体の99%を占め、一方T区も無被害個所6万(84%)、被害個所5万(69%)とそれぞれの接種菌がきわめて優勢となつた。

立枯病の被害は、第10図のように、接種後2週間目から4週間目にかけて著しく増大しているが、JENSEN⁽³⁸⁾、LILLY & BARNETT⁽⁴²⁾、FEHÉR⁽¹⁹⁾などが認めたように、Dilution Plate法によつてあらわれる数量の最大期はその菌類の活動期より約2週間ずれてあらわれるということから、A. sp. 1やT. lignorumは接種後2週間目から3週間目の間に盛んに活動し、T. lignorumはその間に病原菌の活動を押えたため病害を減少したものと察せられる。

接種後6カ月を経過すると、第43表のように接種菌以外の菌類がいくらか増加する傾向を示しながらも、接種後5週間目のmicrofloraの状態をほぼそのまま持続することがわかつた。

なお、同じ寒天平面上にあらわれた Bacteria と Actinomyces の動きについては今までのところよくわかっていない。⁽⁶⁸⁾

RUSSELL & RUSSELL は、抗生菌による病害防除の実用上の大きな困難は土壤中における抗生菌の増殖を促進することであると、接種した抗生菌がすでに存在している微生物との競争にうちかちて養分をとることは不可能であろうと述べている。また GARETT⁽²²⁾ も土壤菌類は一般に cosmopolitan であるが、菌類がある分布状態を示す土壤にある特殊の抗生菌を導入することは、生態学的原理に対する著しい反則であるとしてそのような生物的防除に疑いを抱いていた。しかし、以上の実験では切藁に培養した菌類を大量接種することによって、かなりながく microflora を control しえたのであった。

生態学的な常識からこれまで、菌類の土壤接種によって microflora を control できるのは、うまく行つて 2~3 カ月の間だけであろうと思われていた。土壤接種して後の microflora の移り変わりについては MARTIN, KLOTZ, DEWOLF & ERVIN⁽⁴⁵⁾ が pot 試験によって調査を行なっているが、これは土壤を一度滅菌して後菌類を接種したものである。苗畑で、しかも自然状態の microflora を菌類の接種によって control し、その後の microflora の変化を長期にわたつて調査したものは今までのところ目についていない。それ故、比較するに何の資料もないが、接種菌の優勢をほぼそのままの状態で持続した以上の結果は、microflora の control による立枯病の防除が、その効果のいかんにかかわらずさらに明かるい希望をもっているといえるであろう。

第 6 章 討 論

稚苗の立枯病は土壤伝染性の病原菌によつて侵される病害であるため、土壤環境に影響されることが特に著しい。それ故、人為的に容易に管理できる育苗条件については適切な手段を考えることが必要である。しかし環境条件の違いによる病害発生はきわめて複雑で、一般に共通する原則を導きだすのは困難であることが多いように思われる。これは環境条件の複雑さにもよるが、多くは植物と病原菌との間に存在する微妙な生物的因子に原因するものであろう。

立枯病の病原菌は土壤菌類に属するものであるため、他の土壤菌類とは無関係ではありえず、土壤中ともに微生物的な一つの complex を形成しているはずである。さらに栄養源を土壤中にもとめる植物と土壤微生物とは、一つの有機的な生物社会として密接なつながりをもっているであろう。このような生物共同体は、RUSSELL⁽⁶³⁾ らや WAKSMAN⁽¹⁰⁹⁾ らのいうように、そこに生存する生物相互の間でたがいに共生的なあるいは抗生的な一連の関係を作りあげながら、与えられた土壤環境にもとづいた一つの平衡状態に達しているものと思われる。このような生物的均衡が、何らかの原因によつて破られた時の生物間に行なわれる干渉についてこの研究は新しい事実を一部明らかにした。

すなわち、立枯病は病原菌の侵害によつて発生することは勿論であるが、土壤中にはその侵害を助けるように作用する微生物が同時に存在しているであろう。その一つは代謝生産物中に含まれる植物生長物質によつて植物の徒長をひきおこし、病原菌に対する抵抗性を弱めるよう作用する菌類である。

病害の発生とともに Dilution Plate 法によつて苗畑から比較的多く分離された主な土壤菌類の中、接種試験の結果、病原性にほとんど関係がなかつた *Aspergillus* sp.2, *Gliocladium fimbriatum*, *Hormodendrum* sp., *Fusarium* sp.1, *F.* sp.2 などには稚苗の伸長を促進する作用がみられた。その伸長効果は試験の方法によつていくらか異なつたが、キュウリでは2~3週間のうちに200~300% (第21, 22表), アカマツでは40~60% (第23, 24表)の伸長増加を示した。このような異常生長は菌類による養分供給の関係だけではすべてを説明できないと考えられたので植物に対する伸長促進物質の生産の可能性が想像された。そのためこれらの土壤菌類の培養濾液を、主としてキュウリの幼植物に根から吸収させた結果、試験の方法などによつて多少差異はあつたが、*A.* sp.2, *G. fimbriatum*, *F.* sp.1, *F.* sp.2 の濾液には明らかに伸長促進効果が認められた (第27, 28表)。また、濾液を頂芽に処理した試験でも、これらの菌類には処理の条件によつて伸長効果がみられたが、*G. fimbriatum* はいずれの場合もその効果が明らかであつた (第30, 31表)。すなわち、これらの土壤菌類の代謝生産物中には、植物の稚苗の伸長を促進させるある種の生長物質が含まれていることがわかつた。そして、特に *G. fimbriatum* などの生長物質は、ジベレリンのようなものとは異質のものであることがわかつてきた (第33, 34, 35表, 第8図)。

このような土壤菌類の植物伸長効果は稚苗の徒長をひきおこす結果、病害の発生を助長することが想像されたが、キュウリ種子に *G. fimbriatum* の濾液を処理して自然土壤にまきつけたところ、立枯病による被害を高め、病原菌に対する抵抗性を弱めることが明らかになつた (第37, 38表)。一方 microflora の control を目的として pot に入れた自然土壤に *G. fimbriatum* の切藁培養を大量接種した結果、アカマツ稚苗の立枯病害を著しく助長したが (第9図)、前述のように接種した菌に病原性が認められないのでこの原因は *G. fimbriatum* の植物伸長促進作用のために病害に対する稚苗の抵抗性が減少したためと考えられよう。

以上のような土壤菌類による病害助長現象は、苗畑の病害発生と microflora の異常状態との関係を合理的にうまく説明することができた。すなわち、一般に苗畑の土壤は数種の *Aspergillus* に代表される microflora の状態を示すことが多いが、^(88, 107, 108) 京都大学農学部附属演習林本部苗畑に設けた試験地のまきつけ前の microflora はこのような傾向が明らかであつた (第2, 7, 11, 18表)。しかしアカマツ林を開墾して間もない上賀茂試験地の苗畑土壤は、第14表のように *Penicillium* に属するものが多く、むしろ森林土壤としての特徴を示していた。しかし、いずれも単独の種のみで異常状態を示すことはなく、一応微生物間に安定が保たれていたといえよう。しかるにひとたび、種子のまきつけがおこなわれると microflora はすべて著しく変化し、病原性のあるものや植物に対して伸長作用のある菌類が増加してくるが、特に立枯病の発生が著しい個所ほど *G. fimbriatum* の異常増殖による microflora の不均衡状態が著しくなつた。これはまきつけという人為的な作用が、土壤環境をかく乱した結果と考えられた。そしてこのような環境のかく乱は、土壤微生物の面からしても病害を助長する一つの原因になるであろう。

苗畑における環境条件特に土壤環境は、立枯病の発生に大きい影響を与えることは早くから調べられていた。^(3, 22, 30, 97) この研究においてもまきつけ量が多くなるほど立枯病の被害が大きくなる (第2, 4図) ことや、土壤条件によつて差異はあるが、石灰や窒素質肥料を施用するこ

とによつて、被害を高める（第6図）こと、あるいはキュウ肥のような有機質材料も被害を大きくする（第7図）ことなど2.3の重要な育苗手段の立枯病に与える影響を検討した。また、同時に土壤中の microflora の状態の変化も明らかにすることができた。

すなわち、まきつけ量が多いところほど *G. fimbriatum* が異常に増加し、片寄つた microflora の状態を示した（第4表）が、また被害の激しい個所ほど、さらにこの傾向が強かつた（第3表）。また、無機質あるいは有機質肥料の施用によつて被害が大きくなつた個所は、やはり *G. fimbriatum* などによつて microflora に異常状態がみられた（第15, 18表）。勿論植物の種類や土壤条件などによつてこれらの異状状態のあらわれかたは多少相違があつたが、土壤環境の変化にともなつて安定していた microflora の状態が急激に破られていく傾向は明らかであつた。さらに、植物の伸長作用をもつ *G. fimbriatum* などの活動期が被害のもつとも激しい時期と一致していることなどの関係は、病原菌以外の土壤菌類も病害を助長する一つの原因になることを証明したといえよう。これらのことは、環境条件が稚苗や病原菌に直接影響して被害を高めるとされていた今までの考え方を一歩進めて、立枯病の研究には土壤中に生存するすべての生物について考慮を払つた解析が必要であることを教えた。

病原菌の侵害を助けるように作用する他の菌類は、植物の生長を阻害あるいは枯死させるある種の toxin を生産するものである。すなわち、接種試験の結果、ある種の *Phoma* や *F. sp. 3* は主としてキュウリの稚苗にかなり強い病原性を示した（第21, 22表）が、またこれらの菌類の培養濾液にはともに著しい毒性がみられた（第27, 28, 29表）。特に *F. sp. 3* は濾液の処理のみによつて植物を枯死させることができ、また頂芽に処理した場合においても、毒性が著しかつた（第30表）。このような菌類は、菌糸自身に直接生きた植物組織を侵害する能力がなくても、代謝生産物中に含まれるフザリン酸のような萎凋毒素⁽²⁹⁾によつて、植物の生長を阻害し、抵抗性を弱めるか、場合によつては枯死させて後植物組織を攻撃するのではないかと思われた。

一方苗畑における microflora の分析の結果、*Phoma* sp. は環境条件によつて差はあるが、いずれの場合も被害の進行の終りに比較的多く分離され（第5, 8, 9, 12, 20表）、また *F. sp. 3* も概して被害個所に多くあらわれる傾向があつた（第4表）。また、これらの菌類はアカマツなどの枯死苗からわずかではあるが分離されているので、*Phoma* sp. や *F. sp. 3* のようにある種の toxin を出す菌類は、それによつて直接病害の助長に関係しているものと考えられた。

このような菌類のほかに、接種試験の結果、苗畑から分離された土壤菌類の中で病原性の認められたものは、*A. sp. 1*, *G. Penicilloides*, *F. sp. 1* などであつたが、その病原性はあまり強くなく、また接種の条件や試験植物の種類によつて著しく異なつた（第21, 22, 24表）。特に *A. sp. 1* の切藁培養を苗畑土壤に接種した結果では、*A. sp. 1* に全く病原性が認められなかつた（第9, 10図）。

苗畑のアカマツやクロマツの被害苗から分離した病原菌は大部分 *Rhizoctonia* であつたが、接種試験の結果この菌には激しい病原性が認められた（第23, 24表）。しかし Dilution Plate 法を用いた microflora の分析では、胞子を作らない *Rhizoctonia* は土壤中から全く分離できなかつた。このような菌類の分離は培養体を直接土壤中に埋めるなどの方法をとるべきであろうが、いずれにしてもこれまで行なわれた試験の範囲内では立枯病害の主因の多く

は、*Rhizoctonia* であると想像された。また、他の条件では *Pythium* sp. や *F. oxysporum* ^(8, 33, 59, 97) などの病原菌が原因となることもあるであろう。

しかし若い植物組織を激しくおかす *Rhizoctonia* や *F. oxysporum* の培養濾液には、*G. fimbriatum* や *F. sp. 2* のような植物の伸長促進作用もなく、*Phoma* sp. や *F. sp. 3* のような毒性作用もみられなかつた (第29表)。その結果、*Rhizoctonia* などの菌糸の植物組織への侵入は、他の菌類による稚苗の生長の促進、あるいは阻害などの生理的作用があればきわめて容易になるであろう。

GARRETT ⁽²²⁾ は、病原菌の接種を行なつた場合、滅菌土壌でより無殺菌土壌の方が被害が大きくなることを認めた。このことは病原菌単独よりも他の土壌菌類の存在する方が稚苗に対する侵害が容易であることを意味しているが、この原因は主として植物の抵抗性を弱めるように作用する微生物の影響と考えられよう。

すなわち、*Rhizoctonia* などのような病原菌は土壌中に普遍的に存在しているが、また植物の生長に影響を与える菌類も広く分布しているはずである。このため環境の変化によるわずかな刺戟が稚苗の伸長促進作用をもつ菌類や、生長の阻害作用をもつ菌類の増殖をうながしたならば、病原菌の侵害を著しく容易にすることになるが、このような病原菌も含めた土壌菌類の総合的な作用が病害を助長する一つの大きな原因となることがわかつた。それゆえ立枯病の対策には、ただ病原菌のみを対象とせず、病害を助長するような菌類についても考慮をはらつた新しい手段を確立することが必要であろう。

以上のように、苗畑の土壌中には病害の発生助長に関与するといろいろな菌類が生存しているが、また病害の発生を押えるよう作用する菌類も同時に存在している。それはある種の *Trichoderma* のような立枯病菌にきつ抗性のある抗菌菌である。これらは、microflora の分析の結果、各個所に比較的多くみられたが、病害の発生を抑制できるほど優勢に繁殖することはなかつた。このような抗菌菌による病害の防除は FAWCETT ⁽¹⁸⁾ や WEINDLING ⁽¹¹⁾ 以来、多くの研究が重ねられてきたが、RUSSELL ⁽⁶⁸⁾ らや WAKSMAN ⁽¹⁰⁸⁾ らが指摘したように、ただ単に抗菌菌を土壌に植えつけただけではこれまでその目的を達することができなかつたようであつた。

しかし、混合培養の結果、*Rhizoctonia solani* に対して抗菌性の強かつた *T. lignorum* の切藁培養体を、土壌に大量接種して microflora の control を行なつたこの研究では、pot 試験の場合も苗畑における試験でも著しく立枯病の被害を減少させることができた (第9, 10図)。また接種後の苗畑における microflora の状態は3~5週間で明らかに変化し、接種した *T. lignorum* が著しく多くなつた (第40, 41, 42表)。この状態は接種後半年間も持続するようであつた (第43表)。しかし菌類の活動力はその菌糸の増殖時に最大であつて、胞子の形成の最大時期はそれから約2週間ずれること ^(19, 38, 42) から、*T. lignorum* の抗菌力は丁度被害の進行がもつとも激しくなつた時期に強くあらわれたものと考えられた。これらの結果は抗菌菌による立枯病の防除が、まだ完全ではないがかなり有効であることを示したといえよう。

自然の土壌中における微生物の活動は、以上のように全く複雑微妙である。病害の発生に有利なように作用する菌類が存在する反面、病原菌の活動を抑制するような菌類も介在し、多くはこれらが互に相関連して一つの生物的均衡を保っているが、環境の変化によるわずか

な刺戟によつてひとたびこの調和が破られると、時として立枯病の大発生をみることになる。このような微生物の変動を病原菌に不利な状態へ導くことはきわめて重要な問題である。そのため土壤中の microflora を control することが立枯病防除の手段として将来有力となるであろう。

あ と が き

立枯病発生の機構は複雑である。この研究は不充分ではあるが、その一端を明らかにしたにすぎない。しかし、植物と病原菌類と土壤菌類との間の関係を究明することは、困難ではあるが病理学的には重要な問題である。特に植物と土壤菌類との関係は、植物の生長に直接むすびつくものとして今後植物生理学的に研究する必要があるように思われる。

摘 要

複雑な土壤環境に影響される立枯病の発生機構は、病原菌の活動の実態をつかむことが困難であることとあいまって明らかでないことが多い。この研究は、病害の発生に關与する土壤微生物の作用の解明を主な目的として、育苗条件に影響される立枯病の被害と microflora の変化を分析し、さらに、植物と病原菌と土壤菌類との間の生物学的な関係を明らかにしようとしたものである。

1) 一般に Dilution Plate 法で分析したまきつけ前の土壤中の microflora の状態は、全体の菌数が少なく、*Aspergillus* に特徴づけられた普通の苗畑土壤として、あるいはアカマツ林の開墾地苗畑では *Penicillium* に代表された、むしろ森林土壤として、いずれも微生物的な平衡を保っていた。しかしまきつけ後の microflora は著しく変化し、立枯病の激しい個所ほど菌数が増加するとともに、均衡の破れた異常な microflora の状態を示すようになった。

2) 種子のまきつけ量が多くなると立枯病の被害が増加するが、その関係は、まきつけ間隔が小さくなるほど被害率は指数函数的に大きくなるようであつた。そしてまきつけ量が多いところほど、*Gliocladium fimbriatum* の増殖による microflora の異常状態が著しかつた。*G. fimbriatum* は無被害個所には少ないか全くあらわれない場合もあり、またその活動期が被害の激しい時期と一致していることなどから、病害の発生と強い相関があるように思われた。被害の発生が少なくなると microflora はもとの安定した状態にもどる傾向がみられた。そして *Phoma* sp. がやや多くあらわれるようになった。

3) 立枯病におよぼす無機質肥料の影響は、苗畑の土壤条件によつてかなり異なつてあらわれた。すなわち肥沃な苗畑では施肥による影響があらわれにくく、また microflora の状態にも差が認められなかつたが、開墾後間もない苗畑では被害と microflora の変化に比較的明らかな傾向がみられた。石灰の施用は著しく被害を高めた一方、microflora においても *G. fimbriatum* の異常増殖が認められた。窒素も被害を助長し、*Gliocladium* と *Penicillium* の増加をみた。被害のもつとも少なかつたのは無施肥区であつたが、microflora も一

応安定した状態が保たれていた。磷酸は菌類の繁殖をおさえる傾向が認められた。

4) 有機質肥料の影響はキュウ肥の施用のみが被害を高めた。アカマツ林の腐植や広葉樹の落葉は被害に何らの影響もおよぼさなかつた。キュウ肥は稚苗の伸長を促進し、病害に対する抵抗性を少なくするようであつた。有機材料中の菌類が苗畑の microflora の変化に直接影響した傾向はみられなかつたが、*G. fimbriatum* による microflora の異常状態は、被害個所においてかなり明らかつた。

5) これらの被害苗から分離した病原菌は大部分 *Rhizoctonia* sp. で他に *Fusarium* spp., *Phoma* sp., *Alternaria* がわずかに認められた。Dilution Plate 法による microflora の分析では孢子を作らない *Rhizoctonia* は土壤中から全く分離できなかつた。

6) 病害の発生とともに苗畑から比較的多く分離された主な土壌菌類の病原性は、接種条件や試験植物の種類によつて著しく異なつた。*Phoma* sp. はアカマツでは著しくなかつたが、キュウリに対しては生長の阻害作用とともに強い病原性を示した。*A.* sp. 1 はキュウリ、アカマツ、アカシアのすべてに、*G. penicilloides* はキュウリに、*F.* sp. 1 はアカマツにそれぞれ弱い病原性があるが、*F.* sp. 3 はキュウリの病原菌として非常に強いようであつた。

7) 一方、病原性にほとんど関係がなかつた *A.* sp. 2, *G. fimbriatum*, *Hormodendrum* sp., *F.* sp. 2 などの土壌菌類には、稚苗の伸長を促進する作用がみられた。伸長効果は試験の方法や植物の種類によつて異なつたが、キュウリでは2~3週間の間に200~300%, アカマツでは40~60%の伸長増加を示した。このような異常生長は菌類による養分供給の関係だけでは説明できないので、植物に対する伸長促進物質の生産の可能性が想像された。

8) 土壌菌類の代謝生産物が植物の伸長に与える影響をみるため、主としてキュウリの幼植物に培養濾液の処理を行なつたところ、培養条件による濾液の性質、稀釈濃度、使用植物の種類、処理方法などによつて多少差異があつたが、生長の促進や阻害などいろいろな反応を示した。培養濾液を根から吸収させた結果では *A.* sp. 2, *G. fimbriatum*, *F.* sp. 1, *F.* sp. 2 の濾液に明らかな伸長効果が認められ、*Phoma* sp. と *F.* sp. 3 には生長の阻害が著しかつた。*Rhizoctonia* sp. など他の菌類の濾液には明らかな効果が認められなかつた。

9) また培養濾液を頂芽に処理した綿付法では *G. fimbriatum* の濾液にのみ伸長効果が明らかつた。*A.* sp. 2, *F.* sp. 1 などの濾液は、処理の条件によつて効果がみられた。そのほか、処理の初めだけに効果がみられたものもあつたが、病原菌である *F. oxysporum* の濾液には全く効果が認められなかつた。*F.* sp. 3 の濾液は頂芽に処理した場合においても毒性が著しかつたが、この菌は *Phoma* sp. とともに、ある種の toxin を生産して植物に被害を与えているようであつた。

種子を濾液に浸漬して処理した結果でも *G. fimbriatum* の伸長効果は持続するよう思われた。

10) さらに *G. fimbriatum* の培養濾液は、立枯病害にかかりやすいアカマツとヒノキに伸長促進効果を示したが、スギには効果がなかつた。これに反し、ジベレリンはスギにのみ伸長効果があつた。また、ペーパークロマトグラフィーを用いたアベナ伸長テストにおいても、ジベレリンが伸長効果を示したに反し、*G. fimbriatum* と *F.* sp. 2 の濾液は試験方法にいくらか問題はあつたが、著しい抑制作用を示した。これらのことは *G. fimbriatum*

などの生長物質がジベレリンとは異質のものであることを示しているように思われた。

11) 土壤菌類の植物稚苗に対する伸長促進作用が病害の発生にどのように影響するかをみるため、濾液をキュウリ種子に処理し、自然土壤にまきつけて被害の状態を調べてみたが、*G. fimbriatum* の濾液処理は被害を大きくすることがわかった。これは、*G. fimbriatum* などの生長物質が植物の徒長をひきおこす結果、病原菌に対する抵抗性を弱めるものと思われた。

12) 一方、microflora の control を目的として、pot に入れた自然土壤に切藁培養の土壤菌を大量接種した結果、*G. fimbriatum* の接種は著しく病害を助長し、*T. lignorum* は明らかに病害をおさえたが、*A. sp. 1* には差が認められなかった。また *G. fimbriatum* はアカマツ苗の主軸の伸長をうながした。これらのことから自然土壤においては、多少病原性のある *A. sp. 1* のような菌類より病害性はなくとも、植物に対して伸長作用のある *G. fimbriatum* のような菌類の活動するほうが病害を激しくすることがわかった。

13) また、*A. sp. 1* と *T. lignorum* の切藁培養を大量接種した苗畑の microflora の control 試験では、混合培養の結果 *Rhizoctonia solani* に対して抗菌性の強かつた *T. lignorum* が、pot 試験の場合と同様被害を著しく軽減した。このような抗生菌による立枯病の防除はまだ完全ではないが、かなり有効であるように思われる。

14) 接種後の microflora は数週間で著しく変化した。すなわち対照区にはいろいろな種類の菌類がほぼ均等にあらわれるに反し、*A. sp. 1* や *T. lignorum* を接種した個所には、それぞれの接種菌がきわめて多くあらわれたが、この傾向は接種後5週間目の microflora に著しかった。接種後6カ月を経過しても、このような microflora の状態はほぼ持続するようであった。しかし、Dilution Plate 法によつて分離される菌類の数量は直接その活動力をあらわすものでないことがいわれているが、ただ microflora の数量的な変動はこれを動的なものとして時期的にとらえることが、立枯病発生の機構を解明する足がかりとして重要であるように考えられた。

以上のように、自然界では土壤中において植物の生長を促進しあるいは阻害して、立枯病の発生を助長するような菌類が存在するとともに病原菌の活動を抑制するような菌類も介在し、これらが互に相関連して一つの生物的均衡を保っていることが多いと思われた。そのため病害の防除には土壤中の microflora を control する適当な手段をみつけることが有効かつ必要であると推論された。

文 献

- 1) ABBOTT, E.V. (1923) The occurrence and action of fungi in soil. *Soil Sci.* **16**, 207—216
- 2) 赤井重恭, 竹内高明 (1954) 2,3 の土壤菌にもとづく針葉樹子苗の立枯病 日植病会報 **18**, 122—124
- 3) 赤井竜男 (1957) 稚苗立枯病の立地学的考察 (2) 播種密度及び施肥を異にした苗畑土壌中の糸状菌分布 日林大講集 **67**, 265—266
- 4) AKHROMEIKO, A.I., SHESTAKOVA, V.A. (1955) Rol mikroorganizmov v pitanii drevesnykh rastenii. *AN SSSR Institut mikrobiologii, Izotopy v mikrobiologii*, 156—176 [日林誌, **40**.42抄録]
- 5) AKHROMEIKO, A.I., SHESTAKOVA, V.A. (1958) Izuchenie roli mikroorganizmov v pitanii drevesnykh rastenii. *Mikrobiologia, AN SSSR*, **1**, 67—74 [日林誌, **40**.373抄録]
- 6) ALLEN, M.C. & HAENSELER, C.M. (1935) Antagonistic action of *Trichoderma* on *Rhizoctonia* and other soil fungi. *Phytopath.* **25**, 244—252
- 7) BARNETT, H.L. (1955) Illustrated Genera of Imperfect Fungi.
- 8) BAXTER, D.V. (1943) Pathology in Forest Practice.
- 9) BUTLER, E.E. (1957) *Rhizoctonia solani* as a parasite of fungi. *Mycologia* **49**, 354—373
- 10) CASTANO, J.J. & KERNKAMP, M.F. (1956) The influence of certain plant nutrients on infection of soybeans by *Rhizoctonia solani*. *Phytopath.* **46**, 326—328
- 11) CARTER, H.P. & LOCKWOOD, J.L. (1957) Methods for estimating numbers of soil microorganisms lytic to fungi. *Phytopath.* **47**, 151—154
- 12) CHESTERS, C.G.C. (1940) A method of isolating soil fungi. *Trans. Brit. mycol. Soc.* **29**, 354—355
- 13) CHESTERS, C.G.C. (1948) A contribution to the study of fungi in soil. *Trans. Brit. mycol. Soc.* **30**, 100—117
- 14) CHESTERS, C.G.C. & THORNTON, R.H. (1956) A comparison of techniques for isolating soil fungi. *Trans. Brit. mycol. Soc.* **30**, (3), 301—313
- 15) COBB, M.J. (1932) A quantitative study of the microorganic population of a Hemlock and a deciduous forest soil. *Soil Sci.* **33**, 325—345
- 16) CONN, H.J. (1922) A microscopic method for demonstrating fungi and *Actinomycetes* in soil. *Soil Sci.* **14**, 149—151
- 17) 遠藤 茂 (1931) Studies on the antagonism of microorganisms, I Growth of *Hypochmus centrifugus* (LÉV) TUL. as influenced by the antagonistic action of the microorganisms. 宮崎高農学術報告 **3**, 95—119
- 18) FAWCETT, H.S. (1931) The importance of investigations on the effect of known mixtures of organisms. *Phytopath.* **21**, 545—550
- 19) FEHÉR, D. (1933) Untersuchungen über die Mikrobiologie des Waldboden.
- 20) FERGUS, C.L. & WHARTON, D.C. (1957) Production of pectinase and growth-promoting substance by *Ceratocystis fagacearum*. *Phytopath.* **47**, 625—636
- 21) 藤本正義, 沢田耕治, 広田ツル (1956) カラマツ肥料試験 (第八報) 木醋液の幼苗育成に及ぼ

- す影響について 林試北支業務報告 特5, 6—11
- 22) GARRETT, S. D. (1956) Biology of Root-Infecting Fungi.
 - 23) GÄUMANN, E. (1957) Fusaric acid as a wilt toxin. *Phytopath.* **47**, 342—357
 - 24) GILMAN, J. C. (1957) A Manual of Soil Fungi.
 - 25) GREGORY, K. F., ALLEN, O. N., RIKER, A. J. & PETERSON, W. H. (1952) Antibiotics as agents for the control of certain damping off fungi. *Amer. J. Bot.* **39**, 405—415
 - 26) HARTIG, R. (1892) Ein neuer Keimlingspilz. *Forstl. Naturw. Zeitschr.* **1**, 432—436
 - 27) HARTLEY, C. (1918) Seedling disease of conifers. *Jour. Agr. Res.* **15**, 521—558
 - 28) 星野好博 (1952) *Fusarium* 菌の培養濾液の毒性に就いて 日植病会講要 **16**, 26
 - 29) HESSAYON, D. G. (1953) Fungitoxin in the soil: I Historical. *Soil Sci.* **75**, 395—404
 - 30) HESSAYON, D. G. (1953) Fungitoxin in the soil: II Trichothecin, its production and inactivation in unsterilized soils. *Soil Sci.* **75**, 395—404
 - 31) 石井 弘 (1957) 針葉樹稚苗立枯病の立地学的考察 京大卒論 林学 548
 - 32) 板野新夫 (1948) 土壤微生物学
 - 33) 伊藤一雄 (1949) 苗畑に於ける針葉樹稚苗の立枯病 林業技術シリーズ No.1
 - 34) 伊藤一雄 (1955) 図説樹病講義
 - 35) 伊藤一雄, 紺谷修治 (1951) 樹木稚苗の立枯病について 1. 立枯病の発生と殺菌濃度との関係 林試集報 **60**, 65—74
 - 36) 伊藤一雄, 紺谷修治 (1951) 樹木稚苗の立枯病について II. *Rhizoctonia solani* 各菌糸について 林試業報 **60**, 79—91
 - 37) JACKSON, L. W. R. (1940) Effects of H-ion and Al-ion concentrations on damping-off of conifers and certain causative fungi. *Phytopath.* **30**, 563—579
 - 38) JENSEN, H. L. (1931) The fungus flora of the soil. *Soil Sci.* **31**, 123—158
 - 39) KING, C. J., HOPE, C & EATON, E. D. (1934) Some microbiological activities affected in manurial control of cotton root rot. *Jour. Agr. Res.* **49**, 1093—1107
 - 40) LECLERG, E. L. & SMITH, F. B. (1928) Fungi in some Colorado soils. *Soil Sci.* **25**, 433—441
 - 41) LECLERG, E. L. (1931) Distribution of certain fungi in Colorado soils. *Phytopath.* **21**, 1073—1081
 - 42) LILY, V. C. & BARNETT, H. L. (1951) Physiology of the Fungi.
 - 43) LOCHHEAD, A. G. (1957) Qualitative studies of soil microorganisms 15. Capability of the predominant Bacterial flora for synthesis of various growth factors. *Soil Sci.* **84**, 395—403
 - 44) LOCHHEAD, A. G. & CHASE, F. E. (1943) Qualitative studies of soil micro-organisms. V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. *Soil Sci.* **55**, 185—190
 - 45) MARTIN, J. P., KLOTZ, L. J., DEWOLFE, T. A. & ERVIN, J. O. (1956) Influence of some common soil fungi on growth of citrus seedlings. *Soil Sci.* **81**, 259—267
 - 46) MITCHELL, R. B., HOOTON, D. R. & CLARK, F. E. (1941) Soil bacteriological studies on the control of *Phytophthora* root rot of cotton. *Jour. Agr. Res.* **63**, 535—547
 - 47) 森 秀策, 高田昌治 (1951) 菌類に対する放射状菌の拮抗作用に及ぼす栄養条件の影響 京大食研報 No.4 57—66
 - 48) 中山治朗 (1956) 林木落葉の分解に関与する土壤糸状菌について 京大農演報 No.25 1—34

- 49) NIETHAMMER, A. (1937) Die Mikroskopischen Boden-Pilze.
- 50) 西門義一, 大島俊市, 森田日出男 (1951) 拮抗微生物利用による作物病害防除の研究 第4報 拮抗放射状菌の堆肥培養について 農学研究 39. 121—125
- 51) 西門義一, 大島俊一, 野田二郎 (1952) 拮抗微生物利用による作物病害防除の研究 第7報 *Trichoderma* 菌の拮抗作用に関する研究史 農学研究 41. 1—8
- 52) 西門義一, 渡辺清志 (1955) 拮抗微生物利用による作物病害防除の研究 第8報 *Trichoderma* 属菌の利用による植物病害防除 (その1) *Trichoderma* 菌の各種菌核に対する抗菌作用 農学研究 43. 103—112
- 53) 西門義一, 渡辺清志 (1955) 拮抗微生物利用による作物病害防除の研究 第9報 *Trichoderma* 属菌の利用による植物病害防除 (その2) 土壌中での *Trichoderma* 属菌の増殖及びその大量培養と酸性物質との関係 農学研究 43. 126—133
- 54) 西門義一, 渡辺清志 (1955) 拮抗微生物利用による作物病害防除の研究 第10報 *Trichoderma* 属菌の利用による植物病害防除 (その3) ポット及びほ場試験 農学研究 43. 134—143
- 55) 野原勇太, 陳野好之 (1957) 針葉樹稚苗の立枯病防除に関する研究 (第1報) 特に木醋酸の効力について 林試研報 96. 105—128
- 56) 大政正隆, 河田 弘, 河田明子 (1957) 森林土壌微生物に関する研究 土壌型と微生物群落との関係 林試報告 95. 1—70
- 57) PAIN, F. S. (1927) Studies of the fungous flora of virgin soils. *Mycologia*. 19. 248—267
- 58) REYNOLDS, H. W. & HANSON, R. G. (1957) *Rhizoctonia* disease of cotton in presence or absence of the cotton root-rot nematode in Arizona. *Phytopath.* 47. 256—261
- 59) ROTH, L. F. & RIKER, A. J. (1943) Life history and distribution *Pythium* and *Rhizoctonia* in relation to damping-off of red pine seedlings. *Jour. Agr. Res.* 67. 129—148
- 60) ROTH, L. F. & RIKER, A. J. (1943) Influence of temperature, moisture, and soil reaction on the damping-off of red pine seedlings by *Pythium* and *Rhizoctonia*. *Jour. Agr. Res.* 67. 273—293
- 61) ROTHBUN, A. E. (1918) The fungous flora of pine seed beds. *Phytopath.* 8. 469—483
- 62) ROTHBUN-GRAVATT, A. (1925) Direct inoculation of coniferous stems with damping-off fungi. *Jour. Agr. Res.* 30. 327—339
- 63) RUSSELL, E. J. & RUSSELL, E. W. (1950) Soil Conditions and Plant Growth.
- 64) 齋藤 清 (1949) 作物水耕の理論と実際
- 65) 齋藤 紀 (1955) The significance of plate counts of soil fungi and the detection of their mycelia. 生態学研究 14. 69—74
- 66) 齋藤 紀 (1955) The germination of fungus spores in relation to external conditions. 生態学研究 14. 75—80
- 67) SANFORD, G. B. (1926) Some factors affecting the pathogenicity of *Actinomyces scabies*. *Phytopath.* 16. 525—547
- 68) SANFORD, G. B. (1956) Factors influencing formation of sclerotia by *Rhizoctonia solani*. *Phytopath.* 47. 281—285
- 69) 佐藤邦彦 (1955) 地中のスギ種子を侵害する菌類と種子消毒の効果 林試研報 81. 63—72
- 70) 佐藤邦彦, 太田 昇 (1953) スギ種子に附着または潜在する病原菌 (第1報) 日林東北支部会誌 3. 39—42
- 71) 佐藤邦彦, 庄司次男 (1955) 苗畑における雑草と針葉樹稚苗の立枯病との関係 林試研報 77.

1—14

- 72) 佐藤邦彦, 庄司次男 (1957) 苗畑のイネ科雑草から分離した *Rhizoctonia solani* KÜHN の病原性 林試研報 16. 89—104
- 73) 佐藤邦彦, 太田 昇, 庄司次男 (1956) マツ類稚苗の立枯病の発生と床土の固さの関係 日林大講集 65. 237—238
- 74) 芝田信男, 吉川勝好 (1956) ユーカリ類の造林に関する 2—3 の考察 (1) ユーカリの成長と土壌型及び施肥との関係 京大農演報 26. 1—9
- 75) 四手井綱英, 塩田 勇 (1950) カラマツ苗の立枯病罹病度に及ぼす施肥量の影響 (予報) 日林誌 32. 195—197
- 76) 四手井綱英, 塩田 勇, 児玉武雄 (1954) 苗畑における施肥がスギ赤枯病におよぼす影響 日林誌 36. 214—216
- 77) 四手井綱英, 赤井竜男 (1956) 苗畑土壌のマイクロフロラと立枯病との関係について 日林関支講集 6
- 78) 四手井綱英, 赤井竜男, 石井 弘 (1957) 稚苗立枯病の立地学的考察 (1) 播種密度及び施肥と被害の関係 日林大講集 67. 263—265
- 79) 四手井綱英, 赤井竜男, 石井 弘 (1957) 稚苗立枯病の立地学的考察 (3) 無機質肥料の施用による影響 日林関支講集 7. 47
- 80) 四手井綱英, 赤井竜男 (1957) 稚苗立枯病の立地学的考察 (4) 有機質肥料の施用による影響 日林関支講集 7. 47—48
- 81) 四手井綱英, 赤井竜男 (1957) 稚苗立枯病の立地学的考察 (5) microflora の control について 日林関支講集 7. 48—49
- 82) 四手井綱英, 赤井竜男, 石井 弘 (1958) 稚苗立枯病の立地学的考察 (6) まきつけ密度と被害の関係 日林大講集 68. 238—239
- 83) 四手井綱英, 赤井竜男 (1958) 針葉樹稚苗の立枯病に対するマイクロフロラのコントロールについて 日林大講集 68. 239—241
- 84) 四手井綱英, 赤井竜男 (1958) 立枯病に及ぼす土壌微生物の影響 日林関支講集 8. 104—105
- 85) 塩田 勇, 佐藤 勲, 佐藤久男 (1952) カラマツ苗の生育と肥料成分との関係 (第2報) 林試秋田支研究時報 No. 4
- 86) SPAULDING, P. (1914) The damping-off of coniferous seedlings. *Phytopath.* 4. 73—88
- 87) STARKEY, R. L. (1929) Some influence of the development of higher plants upon the micro-organisms in the soil. I. Historical and introductory. *Soil Sci.* 27. 319—334
- 88) STARKEY, R. L. (1929) Some influences of the development of higher plants upon the micro-organisms in the soil. II. Influence of the stage of plant growth upon some activities of the organisms. *Soil Sci.* 27. 355—378
- 89) STARKEY, R. L. (1931) Some influences of the development of higher plants upon the micro-organisms in the soil. IV. Influence of proximity to roots on abundance and activity of micro-organisms. *Soil Sci.* 32. 367—393
- 90) STEINBERG, R. A. (1947) Growth responses to organic compounds by Tobacco seedlings in aseptic culture. *Jour. Agr. Res.* 75. 81—91
- 91) STEINBERG, R. A. (1947) Growth responses of Tobacco seedlings in aseptic culture to diffusates of some common soil bacteria. *Jour. Agr. Res.* 75. 199—206
- 92) STOWE, B. B. & YAMAKI, T. (1957) The history and physiological action of the GBs.

- Ann. Rev. plant phy.* **8**, 181—216
- 93) SWIFT, M. E. (1929) Contributions to a mycological flora of local soils. *Mycologia* **21**, 204—221
- 94) 寺下隆喜代 (1956) 土壤中のマイクロフロラに及ぼす木醋液の影響(予報)日林大講集 **66**, 70—72
- 95) 寺下隆喜代, 伊藤一雄 (1956) *Cylindrocladium scoparium* 菌に関する二, 三の研究
林試研報 **87**, 33—47
- 96) 寺下隆喜代, 陳野好之 (1957) 植物病原菌におよぼす木醋液の影響 林試研報 **96**, 129—144
- 97) TINT, H. (1945) Studies in the *Fusarium* damping-off of conifers. I. Relation of age of host, PH, and some nutritional factors to the pathogenicity of *Fusarium*. *Phytopath.* **35**, 440—457
- 98) TINT, H. (1945) Studies in the *Fusarium* damping-off of conifers. III. Relation of temperature and sunlight to the pathogenicity of *Fusarium*. *Phytopath.* **35**, 498—510
- 99) THORNTON, R. H. (1952) The screened immersion plate: A method of isolating soil micro-organisms. *Research* **5**, 190—191
- 100) 浦山隆司 (1956) ハラタケ子実体の生長ホルモン(予報) 植物学雑誌 **69**, 298—299
- 101) VAARTAJA, O. (1952) Forest humus quality and light conditions as factors influencing damping-off. *Phytopath.* **42**, 501—506
- 102) VAARTAJA, O. (1956) Screening fungicides for controlling damping-off tree seedlings. *Phytopath.* **46**, 387—390
- 103) VAARTAJA, O. & WILNER, J. (1956) Field tests with fungicides to control damping-off of Scots pine. *Can. Jour. Agr. Sci.* **36**, 14—18 [日林誌 **39**, 44抄録]
- 104) WAKSMAN, S. A. (1917) Is there any fungus flora of the soil? *Soil Sci.* **3**, 565—589
- 105) WAKSMAN, S. A. (1922) The growth of fungi in the soil. *Soil Sci.* **14**, 153—157
- 106) WAKSMAN, S. A. (1922) Microbiological analysis of soil as an index of soil fertility: Methods of the study of numbers of micro-organisms in the soil. *Soil Sci.* **14**, 283—298
- 107) WAKSMAN, S. A. (1927) Principles of Soil Microbiology.
- 108) WAKSMAN, S. A. (1944) Three decades with soil fungi. *Soil Sci.* **58**, 89—115
- 109) WAKSMAN, S. A. (1952) Soil Microbiology.
- 110) WAKSMAN, S. A. & HUTCHINGS, I. J. (1936) Associative and antagonistic effects of microorganisms. III. Associative and antagonistic relationships in the decomposition of plant residues. *Soil Sci.* **43**, 77—92
- 111) WEINDLING, R. (1932) *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopath.* **22**, 837—845
- 112) WEINDLING, R. (1934) Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopath.* **24**, 1153—1179
- 113) WEINDLING, R. & EMERSON, O. H. (1936) The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopath.* **26**, 1068—1070
- 114) WEINDLING, R. (1937) Isolation of toxic substances from the culture filtrates of *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Phytopath.* **27**, 1175—1177
- 115) WEINDLING, R. 1941 Experimental consideration of the mold toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopath.* **31**, 991—1003

- 116) WENT, F. W. & THIMANN, K. V. (1937) Phytohormones
- 117) WERKENTHIN, F. C. (1916) Fungous flora of texas soils. *Phytopath.* **6**. 241—253
- 118) WESTING, A. H. (1959) Effect of gibberellin on conifers : Generally negative. *Jour. Forestry* **57**. (2) 120—122
- 119) WILDE, S. A. & WHITE, D. P. (1939) Damping-off as a factor in the natural distribution of pine species. *Phytopath.* **29**. 367—369
- 120) WRIGHT, J. M. (1954) The Production of antibiotics in soil. I. Production of gliotoxin by *Trichoderma viride*. *Ann. Appl. Biol.* **41**. 280—289 [日林誌 **39**. 412抄録]
- 121) WRIGHT, J. M. (1956) The production of antibiotics in soil. III. Production of gliotoxin in wheatstraw buried in soil. *Ann. Appl. Biol.* **44**. 461—466 [日林誌 **39**. 411抄録]
- 122) WRIGHT, J. M. (1956) The production of antibiotics in soil. IV. Production of antibiotics in coat of seeds sown in soil. *Ann. Appl. Biol.* **44**. 561—566 [日林誌 **39**. 412抄録]
- 123) 吉川勝好, 赤井竜男 (1957) 稚苗立枯病に対するリオゲンダストの効果について 日林関支講集 **7**. 46

Summary

STUDIES ON DAMPING-OFF OF SEEDLINGS FROM SOIL MICROBIOLOGICAL POINT OF VIEW

Tatsuo AKAI

Little has been found out about the mechanism of damping-off affected complex soil environments, since it was difficult to know the actual phase on the activity of pathogenic fungi. The subject of the studies is to investigate on the breeding condition of damping-off which is influenced by the condition of a nursery-bed and on the change of microflora in soil, and to make evident the biological correlation among plants and pathogenic fungi and other soil fungi.

Including *Aspergillus* which represented the ordinary soil of nursery and *Penicillium* which characterized the soil of nursery soon after cultivated the forest of a Japanese red pine, the microflora which analyzed by the Dilution-Plate method before sowing showed, as a rule, that the number of fungi was a few and a biological harmony had been correlatively maintained among the each species. The microflora after sowing, however, showed remarkable change, that is, on the part where damping-off broke out the number of fungi remarkably increased, and those microflora revealed abnormal phase of broken harmony.

Namely, the more seeds sowed the more injury of damping-off increased, and microflora came to reveal prejudiced phase, Especially *Gliocladium fimbriatum* and *Fusarium* spp. remarkably increased so on the part where injury was notable. When the injury had trifled, however, the microflora had tendency to come back to original stable phase.

The influence of inorganic fertilizer on damping-off largely varied according to the soil condition of a nursery. On the meager nursery soon after cultivating the pine forest the fertilization of lime and nitrogen increased injury and it caused abnormal increment of *G. fimbriatum* and *P. spp.*. As for organic fertilizer, the fertilization of stable manure increased injury and the abnormal phase of the microflora caused by the increment of *G. fimbriatum* was considerably recognized on the infected part. Besides such fungi as above which abnormally increases, *Phoma* or *Aspergillus* etc. were also recognized in soil, many or few according to the places or times of infection.

The Pathogenicity of main soil fungi which were separated from a nursery after out break of a injury differed by the conditions of inoculation and by the kinds of tested plants. For example, *Phoma* sp. showed negligible pathogenicity on a Japanese red pine, but it showed remarkable pathogenicity and inhibiting action of growth on a cucumber. And *G. penicilloides*, *F. sp.1* and *A. sp.1* respectively showed less remarkable pathogenicity on a cucumber, a Japanese red pine and both of them. On the other hand *F. sp.3* seemed to show very remarkable pathogenicity on a cucumber.

In the result that we treated the culture filtrate of those fungi with several methods on the bud or the root of a young cucumber, marked toxicity was recognized in the culture filtrate of *Phoma* sp. and *F. sp.3*. The fungi such as above may not have ability to attack directly on the living tissue of a plant, but they at least can inhibit the growth of a plant with wilt toxin such as fusaric acid contained in metabolic product of some fungi, therefore, it is presumed that the fungi may easily attack a plant tissue, having decreased beforehand resistance of a plant for pathogenic fungi or having withered it.

Most of pathogenic fungi which were separated from the infected seedlings in nursery were *Rhizoctonia spp.*. No toxicity was seen in the culture filtrate of *Rhizoctonia spp.* and *F. oxysporum* having vehement pathogenicity, and its filtrate hardly showed influence on the growth of a plant.

On the other hand, inoculated *A. sp.2*, *G. fimbriatum*, *Hormodendrum* sp. and *F. sp.2* which pathogenicity was not or a little, in soils, it was showed to elongate respectively 200-300% on a cucumber and 40-60% on a Japanese red pine as compared with these check plants, during the inoculating interval of 2-3 weeks. Similarly the plant-growth-promoting effect could also be seen when the culture filtrate of fungi was treated on the seedlings of a cucumber with several methods, above all the elongating effect of culture filtrate of *G. fimbriatum* was remarkably noticed. As the result of avena straight-growth test using a paper chromatography, however, the metabolic product in its filtrate proved to be a different quality from Gibberellin.

Then, the seeds of cucumber which had been immersed in culture filtrate of *G. fimbriatum* being sowed in natural soil, it was proved that resistance of plant for pathogenic fungi decreased and injury of damping-off considerably increased. Thus it

was supposed that the plant-growth-promoting effect of soil fungi promoted the spread of disease, for it caused a marked elongation of shoots.

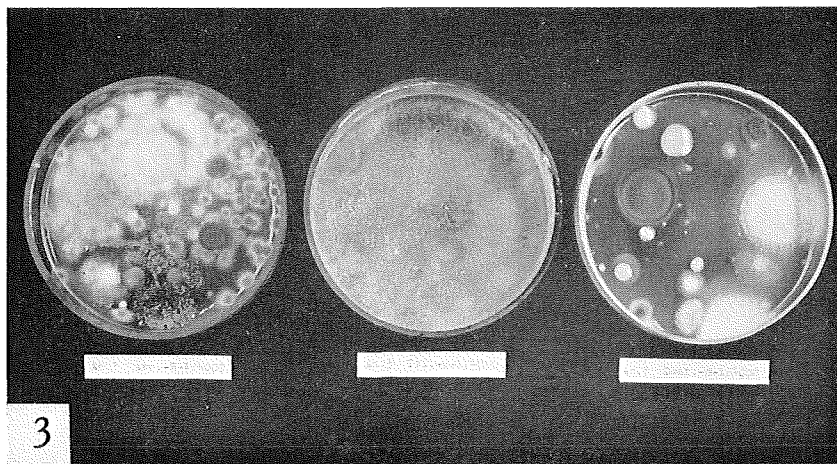
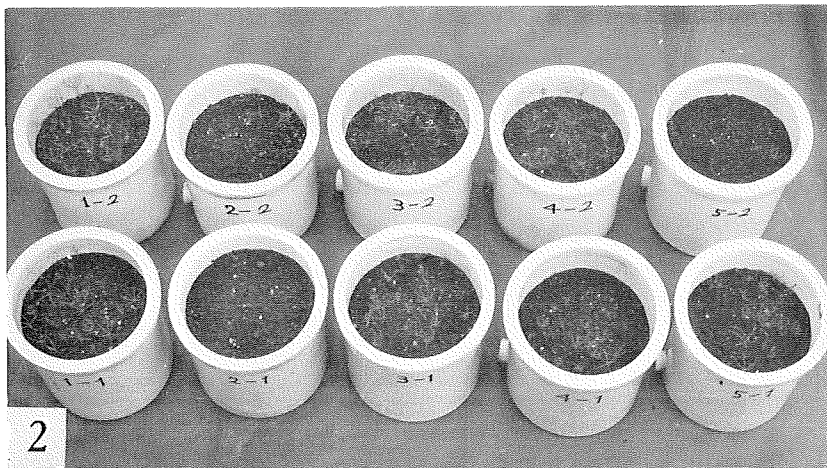
As the result that we inoculated a large quantity of soil fungi which had been cultured on cutting straws, in natural soil put into a pot, inoculation of *G. fimbriatum* remarkably increased injury of damping-off, while *A. sp.1* showed no influence. Judging from the above, it was recognized that the activity of fungi as *G. fimbriatum* which had plant-growth-promoting effect and no pathogenicity was liable to cause more injury than the fungi as *A. sp.1* which showed more or less pathogenicity in natural soils.

Besides there live various fungi which associate the spread of damping-off and increase its injury in natural soil, also must exist other kinds of fungi which inhibit the outbreak of disease. As a result of the experiment that we inoculated the mycelium of *T. lignorum* which had been cultured on cutting straws in natural soil, for controlling microflora with antibiotic fungi, it was proved that the injury of damping-off remarkably decreased in the experiments both a nursery and a pot. And it was recognized that microflora after inoculation of fungi has continued the dominant phase of *T. lignorum* for a considerably long time. Therefore the prevention of damping-off to use antibiotic fungi may be still more hopeful, not perfect though.

Evidently from the above, in natural soils it must be not a few to keep some biological harmony correlatively well balanced with the various kinds of fungi, which promote the outbreak of damping-off, with abnormally elongating the growth of a plant or inhibiting it, or which disturb the activity of pathogenic fungi. As for prevention of the disease, therefore, it was presumed that we first of all had to find out the most effective method which was able to control microflora in soils.

写真説明

1. まきつけ量試験におけるアカマツ稚苗の立枯病被害（1cm間隔区）。白線は糸による測定区域を示す。
2. pot を用いた microflora の control 試験（左から *Trichoderma lignorum*, *T. viride*, *A. sp.1*, *Gliocladium fimbriatum*, 対照）
3. microflora の control 試験における土壌菌類の分析——接種後3週間目に分離，1/4,000稀釈，被害個所。（左から *Aspergillus* 区，*Trichoderma* 区，対照区）

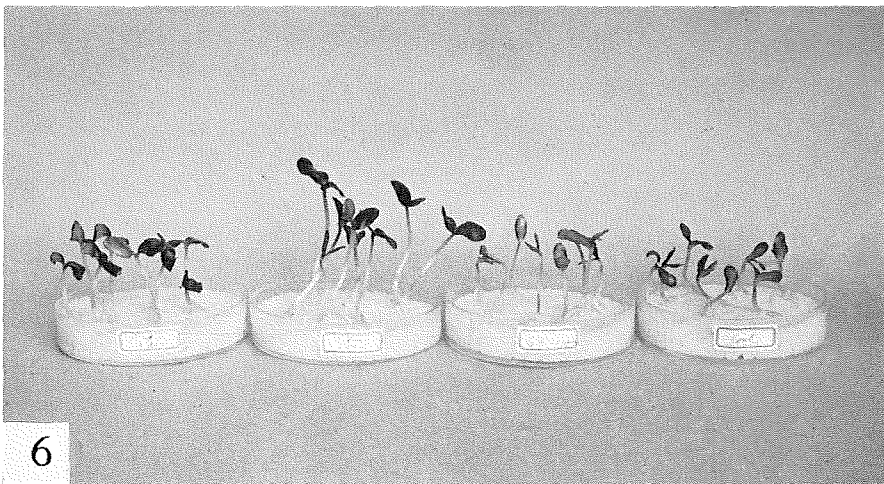
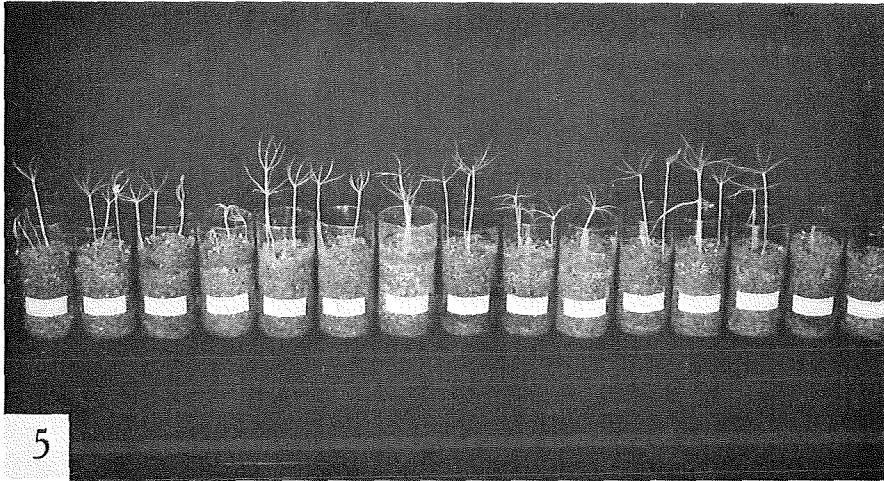
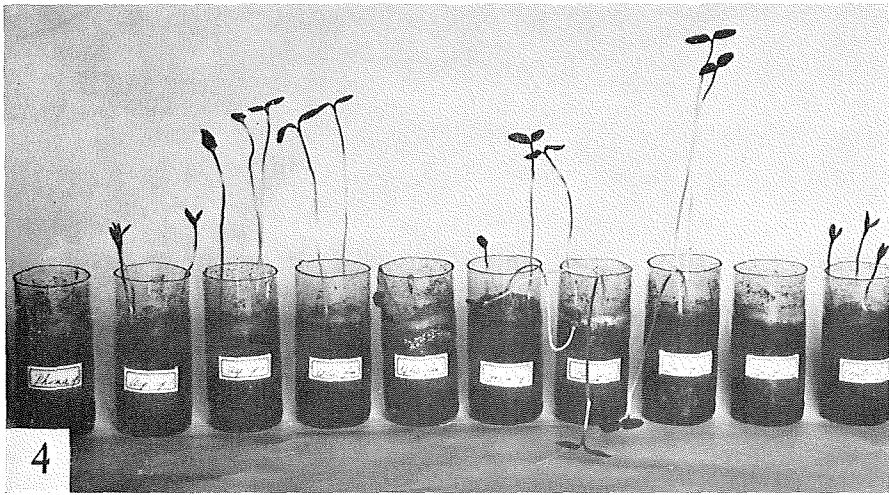


写 真 説 明

4. キュウリ稚苗に対する土壌菌類の接種試験（左から, *Phoma* sp., *Aspergillus* sp.1, *A.* sp.2, *Gliocladium fimbriatum*, *G. penicilloides*, *Hormodendrum* sp., *Fusarium* sp.1, *F.* sp.2, *F.* sp.3, 対照)

5. アカマツ稚苗に対する土壌菌類の接種試験（左から *Phoma*. sp., *Trichoderma* sp., *T. viride*, *Aspergillus* sp.1, *A.* sp.2, *Gliocladium fimbriatum*, *G. penicilloides*, *Hormodendrum* sp., *Pullularia* sp., *Fusarium* sp.1, *F.* sp.2, *F.* sp.3, *Gibberella fujikuroi*, *Rhizoctonia* sp., 対照)

6. 石英砂に加えた培養濾液（×20）のキュウリに対する伸長効果（左から *Aspergillus* sp.2, *Gliocladium fimbriatum*, Gibberellin 10ppm, 対照)



写 真 説 明

7. 土壌に加えた培養濾液（原液）のキュウリに対する伸長効果（左から *Aspergillus* sp.2, *Gliocladium fimbriatum*, *Fusarium* sp.1, *F.* sp.2, *F.* sp.3, *Gibberella fujikuroi*, 対照）
8. 頂芽に処理した培養濾液（×10）のキュウリに対する伸長効果（左から *Aspergillus* sp.2, *Gliocladium fimbriatum*, *Fusarium* sp.1, *F.* sp.2, 対照）
9. 同,（左から *F.* sp.3（×100）, *F. oxysporum*, *Trichoderma lignorum*, Gibberellin 10ppm, 対照）

