

アルファルファの根粒形成とFusarium oxysporumによる病害との関連

誌名	草地試験場研究報告 : s ō chi shikenj ō kenky ū h ō koku = Bulletin of the National Grassland Research Institute
ISSN	03850196
著者名	沢田, 泰男
発行元	農林省草地試験場
巻/号	22号
巻号補足	
掲載ページ	p. 19-26
発行年月	1982年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



アルファルファの根粒形成と *Fusarium oxysporum* による病害との関連

沢 田 泰 男

生態部 土壤微生物研究室

(昭和56年9月9日受理)

要 約

沢田泰男 (1982): アルファルファの根粒形成と *Fusarium oxysporum* による病害との関連, 草地試研報 22: 19-26.

病原性の *F. oxysporum* の出現率が高い牧草地土壌では, 生育初期のアルファルファの根に褐変を生じ根粒形成が不良であった。土壌の殺菌処理によって *Fusarium* の感染はなく根粒形成も良好となった。根粒菌と *F. oxysporum* の接種実験では, 根粒を形成したアルファルファは, 根粒の代りに無機窒素を加えたものより病害の発現が軽微であった。*Fusarium* 病抑止型土壌と促進型土壌との対比によれば, 抑止型土壌では初期生育が良好で着生根粒数も多く, 根面における *Fusarium* の出現率が低かった。一方, 根粒菌の接種によって, 他の根圏微生物とくに細菌数の増加がみられた。また, *R. meliloti* の増殖は, *in vitro* で *F. oxysporum* の発育を抑制した。

緒 言

マメ科植物と共生する根粒菌の有効性は, 根粒形成過程における宿主の生育と根圏における菌の活性, ならびに根粒形成後の窒素固定能力に左右される。窒素固定能力は多分に菌自体の固有の遺伝的性質に支配されるが, 根粒形成過程の宿主ならびに菌の生育は, 土壌の物理化学的条件のほか, 他の微生物群との相互作用を含めた根圏の微生物的条件に密接に関係する。

Holland & Parker⁶⁾ および Chatel *et al*⁵⁾ は, クローバ菌と腐生性糸状菌との拮抗関係について報じ, また Hattingh & Louw⁷⁾, および Patel¹²⁾ は, それぞれ根粒菌の生育を阻害する細菌と放線菌の存在を指摘している。これらの報告は, いずれも土壌中の根粒菌が他の多くの微生物と同様に微生物間相互作用の影響下にあることを示唆するとともに, 場合によってそれが根粒形成に重要な阻害因子となることを強調している。しかし, 一方こうした微生物間相互作用に対する検討は, これまで土壌の理化学的条件に対する検討ほど十分な蓄積がなく, 種々の土壌条件に対応して明らかにすべき問題が多い。単に微生物間関係にとどまらず, 宿主の生育を左右す

るような根系寄生菌の介入も想定される。

わが国の草地では, とくに関東以南において一般にマメ科牧草の定着や永続性が不良である。草地の大部分が生産力の低い火山灰土壌であり, また夏季に湿潤高温であるという気象的な制約もあるが, この原因には, いわゆる夏枯れと総称されるもののなかにかなり土壤病害の多発が関与しているように思われる⁹⁾。著者の経験でも, 草地試験場内に栽培した初年目のアルファルファが, 夏季の刈取り時期に萎凋症状を呈して多数の刈株が枯死し, 病原性の *Fusarium oxysporum* が分離された事実がある。

土壌中の植物遺体に依存する多くの土壤病原菌は, 特定の宿主が栽培される耕地化の過程でしだいに活性を高めるものとみられ, なかでもフザリウム属菌は畑地や人工草地にはきわめて普遍的に生息する。しかも, そのある種のはマメ科牧草の衰退に関与すると報じられていることから²⁾, この菌の発現と宿主牧草の生育, ならびに根粒菌との関係に注意を向けることは, マメ科牧草の定着と根粒菌の有効性をはかるためにも重要であると思われる。

本報は, 以上の観点に基づき, アルファルファを対象として根粒形成と *Fusarium oxysporum* による病害との相互関係に理解を深めようとしたものである。

本研究は, 農林水産省の大型別枠研究グリーンエナジープロジェクトのもとに実施された (GEP 56-II・2・4)。

本報の一部は, 1979年8月, 日本土壤肥料学会(札幌)において発表した。

供試材料および方法

土壌は以下のものを低温 (5°C) に保存して供試した。

西那須野放牧草地: 草地試験場内藤荷田地区の不耕起造成放牧草地表層土 (0—7 cm), オーチャードグラス・レッドトップ優占, 利用6年, 表層多腐植質黒ボク土, 土性 L, pH 4.8, T-C 7%, T-N 0.4%。

西那須野野草地: 同藤荷田地区のススキ・トダンバ優占草地 (0—7 cm), 表層多腐植質黒ボク土, 土性 SL, pH 4.7, T-C 12%, T-N 0.6%。

北海道伊達土壌 (フザリウム病抑止型土壌): 北海道伊達町青山牧場アルファルファ5年草地, 有珠火山灰土, 風乾土 pH 4.8。

北海道早来土壌 (フザリウム病促進型土壌): 北海道早来町胆振馬鈴薯原々種農場アカクロバ2年草地 (衰退), 樽前粗粒質火山灰土, 風乾土 pH 4.3。

このうち, 伊達および早来土壌は北海道農業試験場牧草第3研究室から分譲を受けたが, 早来土壌がほとんど風乾状態であったため, 両者共一度風乾状態まで水分を下げたのち, 2 mm 以上の粒子を除き再び湿潤状態にして低温に保存した。同研究室の記載⁹⁾によれば, 伊達土壌は原土 pH 6.3, C/N 11.8, 早来土壌は原土 pH 5.5, C/N 13.9 で, 粒径組成では伊達土壌の方が粗砂少なく粘土が多い。

各土壌は, 使用に当たりそれぞれ適量の CaCO_3 を混和して pH 7 前後に補正した。また伊達および早来土壌については, 別に, 土壌の養分差を補正する目的から, 土壌1容に対しパーミキュライト (<2 mm) 4容を混合しこれに Jensen の無機培養液¹⁰⁾を添加した場合についても行った。このほか, Jensen の培養液を 1.5% 寒天で固化し試験管内に斜面としたものを適宜使用した。これは最確値法による根粒菌の計数にも用いた。

アルファルファは, 根粒菌無接種のデュービーを用い, 70% アルコールと 5% 過酸化水素水で表面殺菌し, あらかじめ滅菌水中で発芽処理したのち個体を選別した。種子皮は発芽後にすべて除去した。土壌での生育は 400 ml ビーカーを使用し通常6個体, 試験管では2個体を移植した。生育は, 26°C (15時間) および 19°C (9時

間) の明暗処理条件下のファイトトロン内で行い, 蒸発水分は毎日上部から補給した。

根粒菌 *R. meliloti* は, 農業技術研究所 103 菌株 (J-103/NIAS) をアルファルファに接種し, 着生根粒から再分離して供試した。接種は, YMA 培地に生育した菌体の滅菌水懸濁液 0.1 ml を種子根周辺に注加した。

Fusarium oxysporum は, 西那須野放牧草地土壌における罹病根から分離したものを, 病原性を確かめたうえ保存菌株として用いた。アカクロバおよびアルファルファに病原性を示し, *f. sp. medicaginis* とみなされた。接種は, PDA 培地の菌そうから小型分生胞子の滅菌水懸濁液を調製して根粒菌と同様に行った。

アルファルファ根圏の微生物フロラは, 根にゆるく付着した土壌を空中で払い落したのち直ちに秤量して, 常法により希釈平板法の菌数を計測した。また, ここで洗浄された根をさらに数回滅菌水を取り換えて洗浄し, 2—3 mm に切断してストレプトマイシン加用の Czapek-Dox 寒天培地上に移植し生育する糸状菌フロラを検討した。一方, 有機物破片の糸状菌フロラは, 0.5 mm のふるい上で流洗した土壌から水中分散によって有機物画分を分別し, 根の場合と同様に供試した。なお, 後半の伊達および早来土壌における根面フザリウム菌の調査は, 切断した根の細片をそのまま素寒天培地に分散させ, 室温に2—3日放置して生育する糸状菌を直接検鏡し, フザリウムを識別して出現頻度を調べた。

根粒菌とフザリウム菌との拮抗については, YM 培地のマニニットをグルコースで置き換えた YG 培地を 1/10 に希釈し, これに根粒菌の運動性を損ねない程度の薄い寒天 (0.35%) を加えて, シャーレ内に *R. meliloti* と *F. oxysporum* の小型分生胞子を接種し, 28°C における発育状況を位相差顕微鏡によって観察した。

結 果

1. *Fusarium oxysporum* の発現と根粒形成

一般に, フザリウム属菌は林地または野草地ではほとんど分離されないが, 施肥された人工草地の植物遺体や牧草根面からはしばしば高率で分離される。このことから, 人工の放牧草地と野草地土壌を対比して, アルファル

Table 1. Nodulation of alfalfa seedling in naturally-infested and non-infested soil

Soil	Fresh wt. shoot (mg per plant)	Fresh wt. root (mg per plant)	No. of nodules (per plant)	Discoloration of root	Root-infect. Fungi
Sown pasture	90	38	0.6	+	<i>F. oxysporum</i>
Native grassland	18	5.2	1.0	±	—

Soils were limed before conducting the experiment. Seedlings inoculated with 10^4 rhizobia per plant were grown at 26–19°C (15–9 hr/light-dark) for 3 weeks.

Table 2. Growth and nodulation of alfalfa seedling affected by different rhizosphere soils in an early stage of the growth*

Rhizosphere soil		Fresh wt. shoot (mg per plant)	No. of nodules (per plant)	Discoloration of root
Sown pasture	{Not-sterilized	32	1	+
	{Sterilized**	48	2.7	—
Native grassland	{Not-sterilized	56	2.5	±
	{Sterilized**	50	3.3	—
Water agar		61	6.8	—

* Seedlings were grown on the different soils or agar for 3 days before transplanting to seeding agar, 26-19°C (15-9 hr/light-dark) for 4 weeks, inoculated with 10^2 rhizobia per plant. Figures are means of 5 replications.

** By steam, 100°C, 1 hr.

Table 3. Percent frequency of major fungi from organic fragment in naturally-infested soil, and root surface of alfalfa inoculated with or without rhizobia

Fungi	Org. fragment (>0.5 mm)	Root surface of alfalfa*	
		Not-inoculated	Inoculated**
Mucorales	24	4	2
<i>Trichoderma</i>	5		
<i>Penicillium</i>	7		4
<i>Cylindrocarpum</i>		1	4
<i>F. oxysporum</i>	23	71	61
<i>Fusarium</i> spp.	11	7	4
Others	30	16	24
Total isolates	126	68	54

* Grown at 26-19°C (15-9 hr/light-dark) for 2 weeks.

** 10^4 rhizobia per plant.

ファの生育，とくに根系における病徴の発現と根粒形成状況を観察した。結果は Table 1 に示すとおりである。

放牧草地土壌では全般にアルファルファの初期生育は良好であったが，根系全体に褐色味を帯び根粒の着生はきわめて不良であった。これに対して，野草地土壌に生育した場合，初期生育が著しく不良であった反面根粒形成はむしろ牧草地土壌を上回る傾向にあった。野草地土壌においても根系には局所的な褐変が認められたが，その様相は牧草地土壌の場合とは異なり，根の生育自体が乏しく粗剛の感を呈するなど，別種の阻害要因に由来するとみられた。ここで，それぞれの根系から常法に従って寄生糸状菌の分離をはかったところ，牧草地土壌の場合に *Fusarium oxysporum* が優占的に出現した。アルファルファ稚苗に顕著な寄生性があり，本菌が根系の汚れに大きく関与していると判断された。なお，同時に土壌中の硝酸態窒素含量を調べたが，牧草地土壌は原土 100 g 当たり 5.7 mg とかなり多く，これが根粒形成に影響

Table 4. Microbial changes of rhizosphere of alfalfa by inoculating with rhizobia

Micro-organisms	Not-inoculated	Inoculated
Fungi (10^4)	15	18
Actinomycetes (10^6)	4	5
Bacteria (10^6)	86	126
Gram-negative b. (10^6)	24	33
Rhizobia (10^4)	—	5.4

The data correspond to Table 3 in the same experiment, per 1 g of fresh soil and root.

していることも考慮する必要があると思われる。

次に，これらの土壌の養分上の補正と殺菌処理の効果を確かめるため，あらかじめアルファルファをそれぞれの土壌に 25°C で 3 日間生育させたのち，根圏土壌を付着したまま Jensen の培養寒天に移して根粒菌を接種しその後の生育を検討した。その結果は Table 2 のとおりである。

それによれば，前記のような野草地土壌の生育不良は解消されたが，一方，牧草地土壌ではやはり根の褐変を生じ根粒の形成も不良であった。殺菌土壌の場合は根は健全で根粒数は明らかに増加した。素寒天のものは最も良好な根粒形成を示した。

牧草地土壌において *F. oxysporum* に起因するとみられる根の汚れが顕著であったことから，この土壌の糸状菌フロラについて，比較的未分解の有機物破片と根粒菌の接種に伴うアルファルファ根面のフロラの変化，ならびに根圏の微生物数の変動を調べた。得られた結果は，それぞれ Table 3 および 4 のとおりである。

有機物破片の糸状菌には Mucorales および *F. oxysporum* が多く，また，アルファルファ根面では *F. oxysporum* が高率で出現した。この際，根粒菌の接種によってフロラが多様化する傾向があり，*F. oxysporum* の出現頻度もやや低下した。

Table 5. Interaction between inoculating rhizobia and *Fusarium* on the growth of alfalfa*

Treatments	Fresh wt. shoot (mg per plant)	Fresh wt. root (mg per plant)	No. of nodules (per plant)	Disease index
-F, +R	36	19	5.8	-
+F, +R	31	18	4.5	+
-F, -R (KNO ₃)	88	31	-	-
+F, -R (KNO ₃)	76	23	-	++

* Grown on seedling agar inoculated with or without 10⁸ rhizobia (R) and 10⁸ conidia of *Fusarium* (F) per test tube, 26-19°C (15-9 hr/light-dark) for 4 weeks. Figures are means of 5 replications.

他方、根粒菌の接種によって、根圏では他の微生物数も増加することが認められ、とくに細菌数の変動が大きいうであった。なおこの実験において、根粒菌の接種・無接種間にアルファルファの生育差はほとんど観察されなかった。

アルファルファの根粒形成とフザリウムの感染との関係について、さらに Jensen の培養寒天上で両菌の接種の有無による影響を検討した。根粒菌無接種には硝酸塩 (KNO₃) を 0.05% 添加して宿主の窒素栄養を補った。この結果は Table 5 に示されるとおりである。

根粒数の上では *F. oxysporum* の影響はそれほど顕著ではなかったが、病斑を伴った根粒は生長も悪く小形のものが多いのが目立った。また、硝酸塩の場合には根の褐変が著しく、生育の減退も明らかであった。この場合、肉眼的にも寒天斜面や試験管壁に活発な菌糸の生育が認められた。

2. フザリウム病抑止型土壌の根粒形成

土壌病害には、土壌中に病原菌が生存しても発病し難い土壌のあることが知られており、抑止型土壌 (Suppressive soil) と呼ばれて近年多くの注目を集めている^{4,10)}。わが国でも、マメ科牧草のフザリウム病について荒木ら⁸⁾がとりあげた伊達土壌の例がある。このことから、本土壌を供試し、発病促進型土壌 (早来土壌)

との対比でアルファルファの根粒形成を検討した。

実験に先立ち両土壌の微生物組成を調べた結果では、伊達土壌は早来土壌に比べて圧倒的に細菌数が多く、逆に糸状菌数が少ないことを認め、いわゆる典型的な細菌型の土壌であることが確かめられた。また、土壌における *F. oxysporum* の菌糸の発育をコンタクトスライドによって観察したところでも、早来土壌では活発な菌糸の伸長がみられるのに対し、伊達土壌では著しく阻害されることを認めた (Fig. 1, 2)。

両土壌について、pH だけを補正した場合と、パーミキュライトを混合して Jensen の培養液を添加した場合を検討したが、それぞれアルファルファの生育と根粒形成、ならびに根圏の微生物組成を調べた結果は、Table 6 および 7 のとおりである。

まずアルファルファの生育をみると、石灰添加およびパーミキュライト混合の両者共、発病促進型の早来土壌では抑止型の伊達土壌におけるより全般に生育が劣り、根際部や根系に褐変を伴い根粒数も少ない傾向にあった (Fig. 3, 4)。パーミキュライト混合の場合この傾向はかなり緩和されていた。

両土壌の根系から糸状菌の分離をはかったところ、いずれも病原性の *F. oxysporum* が得られたが、早来土壌では分離頻度が高く、この菌が根系の褐変をもたらした

Table 6. Growth and nodulation of alfalfa seedling in disease-conductive and suppressive soils*

Soil	Limed soil				Soil mixed with vermiculite			
	Shoot (mg per plant)	Root (mg per plant)	Disease index	No. of nodules (per plant)	Shoot (mg per plant)	Root (mg per plant)	Disease index	No. of nodules (per plant)
Conductive soil								
Not-inoculated	31	33	+	-	76	80	±	-
Inoculated**	33	38	+	0	100	87	±	7.4
Suppressive soil								
Not-inoculated	53	38	-	-	94	100	-	-
Inoculated**	50	40	-	1.5	133	92	-	9.5

* Grown at 26-19°C (15-9 hr/light-dark) for 3 weeks.

** Inoculated with 10⁴ rhizobia per plant.

Table 7. Microbial changes of rhizosphere of alfalfa grown in disease-conducive and suppressive soils by inoculating with rhizobia*

Soil	pH	Bacteria (10 ⁶)	Gram-nega. b. (10 ⁶)	Rhizobia (10 ⁴)	Fungi (10 ⁴)	<i>Fusarium</i> (%)**
Limed						
Conducive soil						
Not-inoculated	7.4	230	83	—	16	31
Inoculated	7.4	272	106	16	13	38
Suppressive soil						
Not-inoculated	7.5	201	31	—	8	22
Inoculated	7.5	215	30	9	13	6
Mixed with vermiculite						
Conducive soil						
Not-inoculated	7.0	265	83	—	6	71
Inoculated	7.0	300	103	54	10	60
Suppressive soil						
Not-inoculated	7.1	273	81	—	5	29
Inoculated	7.0	330	97	54	4	9

* The date correspond to Table 6, per 1g of fresh soil and root.

** Percent frequency of occurrence on root segments.

ている可能性が大きいと判断された。

次いで根圏の微生物組成によれば、早来土壌でも pH を補正したことによって伊達土壌に匹敵する細菌数となったが、根面のフザリウム菌は明らかに伊達土壌より高い出現率を示した。伊達土壌の場合、根面の観察では細菌の生育が多いことが目だった (Fig. 5, 6)。また、両土壌とも前述の西那須野牧草地の場合 (Table 4) のように、根粒菌の接種によって細菌数の増加が認められ、伊達土壌においては、根面フザリウム菌の出現率がさらに低下する傾向があった。

3. フザリウム菌の生育に対する根粒菌の影響

R. meliloti の共存下における *F. oxysporum* の生育状況を *in vitro* で検討した。

希釈した YGA 培地に両菌を同時に接種した場合、および根粒菌が増殖したのちにフザリウム菌を接種した場合の両者について観察したが、結果は Fig. 7, 8 にみられるようにいずれも *F. oxysporum* の菌糸に異常を生じ、とくに後者の場合に著しく発育が阻害された。主として菌糸先端部が膨状化ないしは厚膜化して分岐が多く、部分的に内容物が消失するなどの現象がみられ、生育の抑制に伴って分生胞子の形成も少なかった。しかし、菌糸周辺に根粒菌が集積するというようなことは認められなかった。

考 察

フザリウム属菌が、畑地をはじめ多くの人工草地土壌

で普遍的な微生物フロラの構成員になっていることはしばしば指摘される。Thornton¹⁸⁾ は、ニュージーランドのライグラスとシロクロバを主体とする草地について牧草根に着生する糸状菌を調べ、*F. oxysporum* は湿潤温暖な酸性土壌で主要なものであり、汚染されたクロバ根粒の大半に *Fusaria* が主体を占めていたと報じている。また、荒木ら²⁾ は、一般に火山灰地帯のマメ科牧草が3年前後で衰退する現象を解析し、*F. oxysporum* による萎凋病と *F. solani* による根腐病が主因であるとされている。本報で供試した牧草地土壌でも *F. oxysporum* は高率で分離され、その病原性からマメ科牧草に阻害的な影響を及ぼす可能性が大きい。これらの知見に従えば、一般にわが国の人工草地でマメ科牧草の定着と永続性が不良であるという事実に対しても、フザリウム属菌の動態により多くの関心を払う必要があると思われる。

根粒形成過程における根粒菌と宿主植物の特異な相互関係からすれば、フザリウム属菌に限らず、根系寄生菌の感染が少なくとも宿主側の生理的な状態を変化させ、根粒形成に阻害的な影響を与えることは十分に予測される。しかし、宿主の初期生育の段階で根粒菌と根系寄生菌の感染がほとんど同時に進行する場合には、宿主の生理的な変化がどの時点で起こるかが重要であろう。一般に、*F. oxysporum* による病害は感染当初から根部に激しい病徴を呈することはなく、他の寄生菌に比べればきわめて漸進的である。したがって、根粒菌の侵入や根粒の形成それ自体にはそれほど顕著な障害は起こらないと

みることできる。本報の結果にみられるように、病原性の *F. oxysporum* が高率で分離された西那須野牧草地や早来土壌、あるいは培養寒天上での接種実験においても、フザリウムの感染によって確かに着生根粒数は減少する傾向にあったものの、必ずしも顕著な相違を示さなかったということは、そうした病原性の性格に由来するところが大きいであろう。

一方、根系寄生菌の影響が根粒形成後も漸進的に進むことを想定すると、宿主の根の発達阻害や地上部同化器官の衰退は当然感染後の根粒の生長と有効性に反映する。したがって、単に初期の根粒形成が問題になるばかりでなく、むしろその後の宿主の生育と根粒の着生により強い影響が現われる可能性が大きい。本報でも、*F. oxysporum* に感染した根粒が壊死症状を伴って生長が悪かったことはしばしば観察されたところである。このことは、さらに根粒の崩壊過程や土壌中における根粒菌の生存にも影響するとみななければならない。また、*F. oxysporum* の場合は細胞毒素フザリン酸の生成も考慮され⁶⁾、宿主と根粒菌の両者に悪影響をもたらす可能性もあろう。

マメ科植物における根粒菌と土壌病害との関係については、最近 Tu の報告¹⁴⁻¹⁶⁾ がある。それによれば、テトラサイクリンによってダイズの根粒形成を妨害した場合に *F. oxysporum* による病害が顕著に現われ、逆に、根粒形成は病害発現に抑制的な効果がある。同様の関係は *Phytophthora megasperma* によるダイズの根腐れにも認められ、根粒菌が培地上で *Phytophthora* の菌糸先端部を被覆し菌糸の内部に入り込む場合もみられるなどから、宿主への感染を緩和するのではないかと推定している。この現象は、*Pythium*, *Ascochyta*, および *Fusarium* でも認められるが、菌糸に隔膜を有する後2者ではこの作用はやや弱いという。

根粒菌が直接フザリウム菌に拮抗作用を示すかどうかは興味ある問題である。Antoun *et al*¹⁾ によれば、根粒菌の抗カビ物質の生産に対する検討では、拮抗作用を示唆する結論は必ずしも得られていない。この点 Tu の見解は別の観点からかなり積極的であるが、本報の実験で、*R. meliloti* の増殖下で *F. oxysporum* の菌糸に生育抑制がみられたことからすれば、両者になんらかの拮抗関係が存在するかもしれない。しかし、特異な拮抗作用があるかどうかはさらに検討の余地があり。むしろ、宿主の根圏で根粒菌がいかに増殖するかが重要であるといえよう。

根粒菌とフザリウム菌との拮抗は別としても、少なくとも現象的に根粒形成と病害とが密接に関係しているこ

とは疑いないと思われる。本報のフザリウム病抑止型土壌と促進型土壌の対比はこのことを示唆している。さらに、パーミキュライトを混合して培養液を添加した場合に、発病促進型土壌でも根の汚れが緩和され根粒形成が良好になったという事実は、宿主の生育と根粒形成が良好な条件では病害は軽微であることを裏づけている。従来とも、発病抑止型土壌には病原菌の活性増大を抑制する微生物面での作用機構が存在するとみられているが、一方では、そうした微生物性をもたらす土壌の物理化学的要素、たとえば適正な pH や養分的な肥沃性といった要素も関係しているとみることができる。

発病抑止型土壌においても宿主の根面からは病原性の *F. oxysporum* が分離されている。その出現率は促進型土壌より確かに低い、根粒菌の接種によって出現率がさらに低下したことは興味深い。根面の観察によれば、抑止型土壌では細菌の生育が明らかに多い。このことと根粒菌との関係は明らかではなかったが、根粒菌を含めた根圏の細菌群の動態となんらかの関係があるように思われる。

根圏に新たな微生物種を導入することによって、他の微生物を含めたフロラの変化が起こることは予測し得ないことではない。*Azotobacter chroococcum* についての論議¹¹⁾はその代表的な例であろう。辻村・渡辺¹⁷⁾によれば、根粒菌の接種によって明らかに根粒菌以外の細菌も根圏で増殖する。まず、根粒形成に伴う宿主の生育促進に由来することが考えられるが、ごく初期段階においても、根粒菌に対する拮抗や相助作用、あるいは宿主の微視的な形態変化や生理活性物質の影響なども考慮される。いずれにしても、根粒菌の接種によってかなり早くから他の根圏微生物、とくに細菌数が増加する傾向がみられたことは、いわゆる根圏の bacterization (細菌化) の観点¹⁸⁾からも注目されるところと思われる。

本報に供試したフザリウム病抑止型土壌 (伊達土壌)、および促進型土壌 (早来土壌) は、北海道農業試験場牧草第3研究室佐藤倫造技官の御好意によって分譲を受けた。厚く謝意を表する。

引用文献

1. Antoun, H. L., Bordeleau, L. M. & Gagnon, C. (1978): Antagonisme entre *Rhizobium meliloti* et *Fusarium oxysporum* en relation avec l'efficacité symbiotique. Can. J. Plant Sci. 58: 75-78.
2. 荒木隆男・佐藤倫造・島貫忠幸 (1970): マメ科牧草の永続性に関与する土壌病原菌について(要旨), 日植病報 36: 362.
3. 荒木隆男 (1978): 発病抑制型土壌に関する 2, 3 の知

- 見, 第9回土壌伝染病談話会資料 35-41.
4. Baker, K. F. & Cook, R. J. (1974): Biological control of plant pathogens. p. 61-79, 234. Freeman & Co. San Francisco.
5. Chatel, D. L., Greenwood, R. M. & Parker, C. A. (1968): Saprophytic competence as an important character in the selection of *Rhizobium* for inoculation. Trans. 9th. Intern. Congr. Soil Sci. 2: 65-73.
6. Davis, D. (1969): Fusaric acid in selective pathogenicity of *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 59: 1391-1395.
7. Hattings, M. J. & Louw, H. A. (1969): Clover rhizoplane bacteria antagonistic to *Rhizobium trifolii*. Can. J. Microbiol. 15: 361-364.
8. Holland, A. A. & Parker, C. A. (1966): Studies on microbial antagonism in the establishment of clover pasture. 2. The effect of saprophytic soil fungi upon *Rhizobium trifolii* and the growth of subterranean clover. Plant Soil 25: 329-340.
9. 川崎 祐夫・吉原 潔・岡田 忠篤・上野 昌彦・日高 雅子 (1973): 牧草の夏枯れ防止に関する研究——灌がい, 病虫害防除剤施用の効果について. 草地試研報 4: 30-50.
10. 駒田 旦 (1978): *Fusarium*-suppressive soil の抑制機構に関する研究について. 第9回土壌伝染病談話会資料.
11. Patel, J. J. (1969): Micro-organisms in the rhizosphere of plants inoculated with *Azotobacter chroococcum*. Plant Soil 31: 209-223.
12. Patel, J. J. (1974): Antagonism of actinomycetes against rhizobia. Plant Soil 41: 395-402.
13. Thornton, R. H. (1965): Studies of fungi in pasture soils. 1. Fungi associated with live roots. N. Z. J. Agr. Res. 8: 417-449.
14. Tu, J. C. (1978): Prevention of soybean nodulation by tetracycline and its effect on soybean root rot caused by an alfalfa strain of *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 68: 1303-1306.
15. Tu, J. C. (1978): Protection of soybean from severe *Phytophthora* root rot by *Rhizobium*. Physiol. Plant Path. 12: 233-240.
16. Tu, J. C. (1979): Evidence of differential tolerance among root rot fungi to rhizobial parasitism *in vitro*. Physiol. Plant Path. 14: 171-177.
17. 辻村克良・渡辺 巖 (1960): 根圏細菌としての根粒菌, 土肥誌 31: 481-484.
18. 宇井格生 (1980): 植物病理学と土壤微生物学の接点. 土と微生物 22: 31-37.
19. Vincent, J. M. (1970): A manual for the practical study of root-nodule bacteria. IBP Handbook 15. p. 75. Blackwell, Oxford & Edinburgh.

SUMMARY

Interaction of Rhizobial Nodulation of Alfalfa and Root Rot by *Fusarium oxysporum*

Yasuo SAWADA

*Ecology Division, National Grassland Research Institute,
Nishinasuno, Tochigi, 329-27 Japan*

Received September 9, 1981

Root discoloration and poor rhizobial nodulation of alfalfa seeding were simultaneously found with pasture soil that was naturally infested with *Fusarium oxysporum*. Pasteurization of the soil exhibited no root discoloration and an increase in nodule formation.

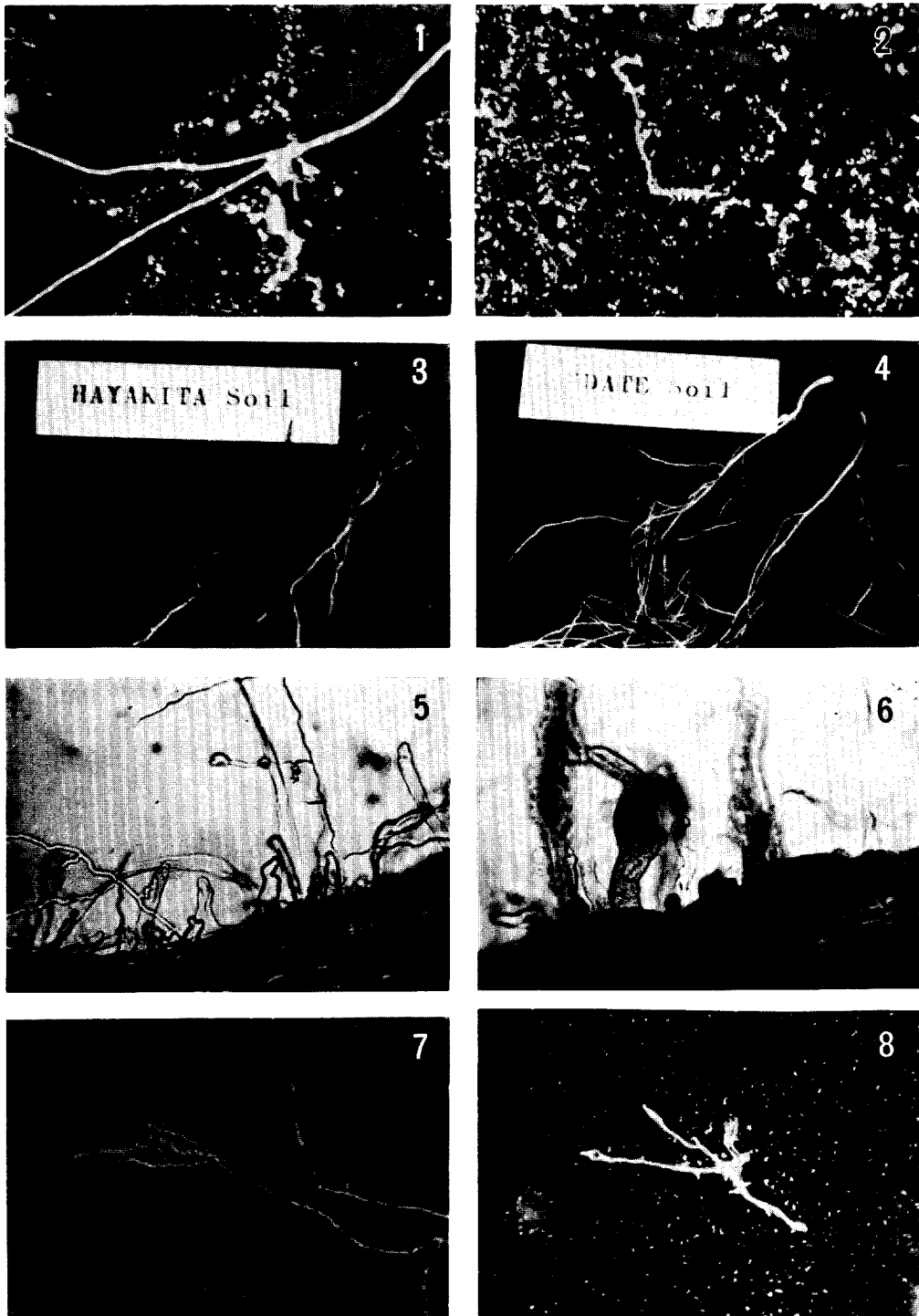
In an artificial inoculation test with *R. meliloti* and pathogenic *F. oxysporum*, severity of the root rot was less in nodulated seedling than in non-nodulated one applied with nitrate nitrogen.

Nodulation examination using *Fusarium*-suppressive soil revealed that healthy growth and good nodulation were demonstrated and occurrence of *Fusarium* on the root surface was apparently low in comparison to that with conducive soil.

Rhizobial inoculation, on the other hand, brought about microbial changes in the rhizosphere of host plant, particularly a significant increase in bacterial population.

In vitro, hyphal growth of *F. oxysporum* was suppressed by multiplying of *R. meliloti* in a mixed culture.

Bull. Natl. Grassl. Res. Inst. 22: 19-26 (1982)



Explanation of Figs. 1-8: Hyphal growth of *F. oxysporum* in disease-conductive soil (1), compared with that in suppressive soil (2). Naturally infected root rot of alfalfa seedling in disease-conductive soil (3), and non-infected in suppressive soil (4). Occurrence of *Fusarium* (5), and bacteria (6), on the root segments of alfalfa in disease-conductive, and suppressive soil, respectively. Restricted growth of *F. oxysporum* in the mixed culture with *R. meliloti* inoculated immediately (7), and after multiplying of the bacteria (8).