

土壌病原性微生物と土壌非病原性微生物 の土壌中での生育場所について

国立大学法人 東京農工大学大学院 農学研究院

豊田 剛己

Koki Toyota

1. はじめに

土壌中には膨大な数の微生物が生育している。わずか1gの土壌に $10^{10} \sim 10^{11}$ 個、6,000～50,000種のバクテリア、200mにも及ぶ糸状菌の菌糸が存在する（van der Heijden, 2008）。土壌微生物には、この他にケイ藻、渦鞭毛藻といった微小藻類、鞭毛虫、繊毛虫、アメーバといった原生動物が含まれ、これらの真核生物は1g土壌当たり $10^3 \sim 10^5$ 程度の個体数を示す。この内、病原性微生物と非病原性微生物の内訳を知るのは容易ではないが、微小藻類と原生動物には植物を犯す病原性微生物は知られておらず、植物病原性微生物と言えは糸状菌とバクテリアである。糸状菌では既知種数100,000の内、約3割が主に植物を宿主とする寄生体とされ、植物病原性微生物の種類としては圧倒的に多い。バクテリアに関しては、数百種程度が植物病原細菌として知られるが、標準菌株が確認されている約1,900種と比べるとわずかであり、土壌中の微生物の大半は非病原性であると見なすことができる。線虫は線形動物門に属する動物であるが、微生物の定義「肉眼でその存在が判別できず、顕微鏡などによって観察

できる程度以下の大きさの生物を指す」に基づくと、線虫を肉眼で見るのは容易ではないため、微生物の仲間としてここでは取り上げる。線虫も一部に農作物に害を及ぼす植物寄生性線虫が居るが、大半の種は非寄生性の自由生活をする自活性線虫である。

2. 土壌の団粒構造

土壌微生物は土壌の中に生育しているが、具体的に土壌の何処に生育しているのか考えてみたい。まず土壌とは何かを考える。土壌学で言う土壌とは粒径が2mm以下の主に鉱物からなる粒子であり、粒径が2mm～20 μ mの粒子を砂、20～2 μ mの粒子をシルト、2 μ m以下の粒子を粘土という。これら砂、シルト、粘土がくっつき合って土壌が構成される。土の粒子がくっつき合った構造体を団粒と呼ぶが、団粒は大きさによりミクロ団粒（直径250 μ m以下）とマクロ団粒（直径250 μ m以上）にわけられる（図1）。土壌を2mmの篩にとおし篩上に残った粒子をピンセットで取り上げ水に浸けると、粒子内部から小さな気泡が出てきて壊れていく（図2）。つまり、見かけ上2mmを超えるマクロ団粒は、無数の粒子から構成されていて（図3）、粒子がくっ

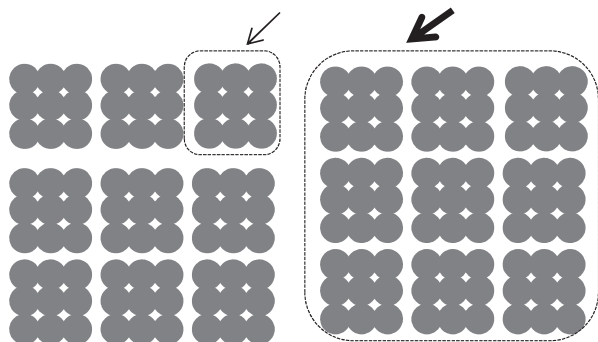


図1. ミクロ団粒（細い矢印）とマクロ団粒（太い矢印）の模式図

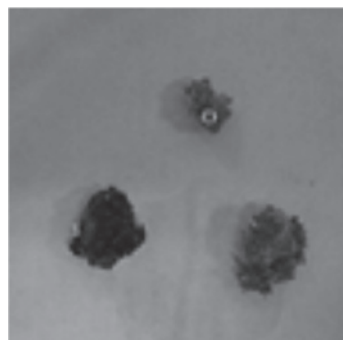


図2. 団粒を水に浸けると気泡が出てくる様子

つき合っている隙間に空気が保たれていることがわかる。また、粒子間にできた隙間に、そのときの土壌の水分状態に応じて、水が存在する。

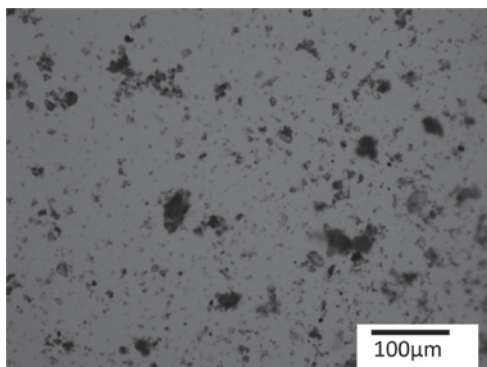


図3. 水に懸濁した土粒子。団粒は無数の粒子から構成される。

3. 原生動物の捕食作用と細菌の住み場所との関係

非常に興味深い実験がある (Wrightら、1993)。乾燥した土壌にpF2.7*になるようにバクテリア溶液を添加すると、水はより小さな隙間 (= 孔隙) から満たされていくので、バクテリアは直径 $6\ \mu\text{m}$ よりも小さな孔隙に入っていく (図4 A)。一方、pF2.7になるようにまず水だけを添加して直径 $6\ \mu\text{m}$ よりも小さな孔隙を水で満たしてから、pF2.0となるようにバクテリア溶液を添加すると、バクテリアを直径 $6\sim 30\ \mu\text{m}$ の孔隙に配置させることができる (図4 B)。それからpF1.7になるように鞭毛虫溶液を添加すると、鞭毛虫を直径 $30\sim 60\ \mu\text{m}$ の大きな孔隙に配置される。こうした操作でバクテリアの存在場所を $6\ \mu\text{m}$ 以下の小さな孔隙、あるいは $6\sim 30\ \mu\text{m}$ のやや大きな孔隙の2つに分けてから、

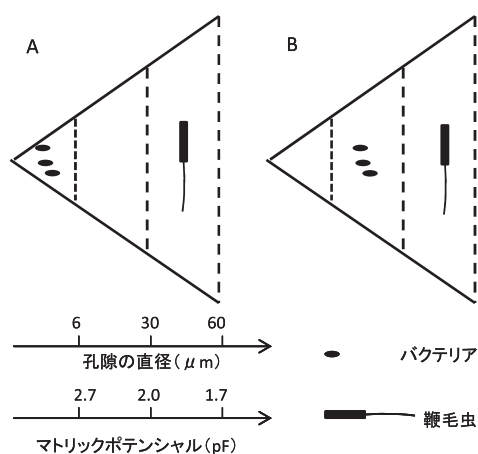


図4. マトリックスポテンシャルと水で満たされた孔隙の大きさとの関係。水、バクテリア溶液、鞭毛虫溶液の添加する順番を変えることで、これら生物が存在する孔隙サイズを変化させることができる (Wrightら、1993)。

鞭毛虫による捕食下でのバクテリアの生残程度を比較した。12日後の生残数は直径 $6\ \mu\text{m}$ 以下の孔隙に接種されたバクテリアの方が10倍ほど高く、これは鞭毛虫の捕食圧から逃れたためと結論された。バクテリアや糸状菌をエサとする土壌中の動物群 (鞭毛虫、繊毛虫、アメーバ、線虫など) はいずれもサイズが大きいため、小さな孔隙に生育している微生物群は理論上捕食されずに生残し続けられるのである。一方、小さな孔隙から大きな孔隙に出てきたバクテリアは捕食されて密度が減少することになる。ただし、実際の圃場条件下では、たとえ小さな孔隙に生育し原生動物や線虫による捕食から免れたとしても、競合や抗生など他の微生物との相互作用、長期にわたって栄養源が摂取できなくて起きる餓死、あるいは乾燥や凍結など環境条件の変化などさまざまな要因で微生物は死滅していく。

*pF: 水の質的側面を示す物理量で、水柱単位 (cm) で示すマトリックスポテンシャルの絶対値の常用対数。pF値からどの大きさの孔隙まで水が満たされているかがわかる (図5)。

水分張力	1	10	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷ cm
pF	0	1	2	3	4	5	6	7
孔隙の大きさ*	3mm	300 μm	30 μm	3 μm	300nm	30nm		
土壌水分恒数	最大 容 水 量	圃 場 容 水 量	初 期 久 し お れ れ 点	永 期 久 し お れ れ 点	風 乾 土 水 分	乾 土		
土壌水の分類	重力水	有効水	吸湿水 (植物が利用できない水分)					

*当該のpF値ではこのサイズより小さな孔隙が水で満たされている。

図5. 土壌水分張力と水分恒数 (久馬 (1984) より)

4. 土壌中の微視的住み場所

水分は小さな孔隙から入っていく一方、気体は大きな孔隙から浸透していく (図6)。燻蒸剤を用い

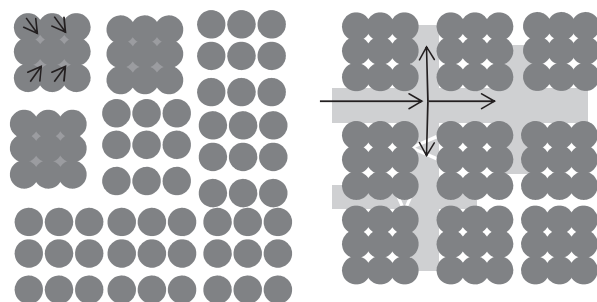


図6. 水とガスの団粒内への浸透の様子。水 (左) は団粒内のより小さな孔隙から、燻蒸剤 (右) はより大きな孔隙から浸透していく。

た土壤消毒では、有効成分が土壤孔隙の隅々まで浸透するよう土壤表面をフィルムで覆い10日間～3週間程度の時間をかける。また土壤微生物学実験では、微生物バイオマスの定量のためのクロロホルム燻蒸法が広く用いられるが、この方法では供試土壤を入れたデシケータ内をクロロホルム蒸気で充満させ、24時間静置して土壤中の微生物を死滅させる。殺菌効果を最大限にするためこれらの条件が設定されているのだが、これを逆手に取り、短時間だけ燻蒸剤処理して土壤中の微生物の生育場所を推定するという研究例がある。前述の異なる孔隙サイズに微生物を接種するという実験では、30～60 μm の比較的大きな孔隙に接種したバクテリアは30分間のクロロホルム燻蒸で全滅したものの、6 μm 以下の小さな孔隙に接種すると同様の燻蒸処理では死滅せずに一部が生き残り、小さな孔隙をより多く有する土壤でより生存率が高まった（Whiteら、1994）。したがって、粘土やシルトから構成される6 μm 以下の細孔隙は捕食作用や土壤消毒作用に対してバクテリアのシェルターとして機能すると言える。

バクテリアより体のサイズが大きな糸状菌ではどうであろうか。1時間の燻蒸処理でバクテリアは約10%が生残したのに対し、糸状菌は99%以上死滅した（図7）（Toyota et al, 1996a）。サイズが1 μm 程度のバクテリアに比べると、糸状菌は最低でも菌糸の幅が2～3 μm 程度はあるので、より大きな孔隙を生息場所とし、そのために、燻蒸処理で死滅しやすいと言える。

土壤生物はそれぞれ固有の大きさを有し、バクテリアは小さな孔隙に、糸状菌は土壤粒子を絡めるよ

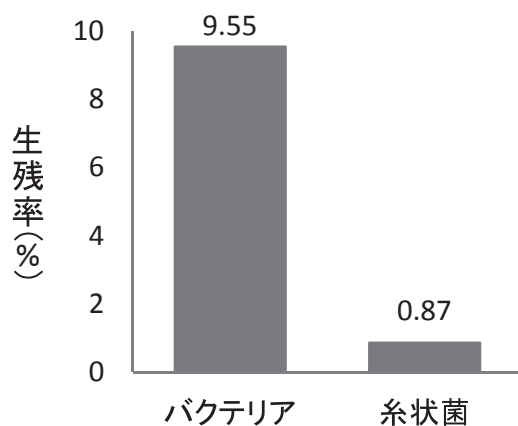


図7.1 時間のクロロホルム燻蒸後に生き残った微生物の割合（%）。処理前の菌数（バクテリア： $7.6 \times 10^7 \text{cfu/g}$ 土壤、糸状菌： $1.4 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土壤）に対する相対値（Toyota et al, 1996a）

うどちらかということマイクロ団粒やマクロ団粒の外側に、線虫や原生動物はサイズが大きいので小さな孔隙には入ることができないため、必然的に大きな孔隙に生息している。上述の短時間での燻蒸だけでなく、土壤を風乾あるいは凍結しても大部分のバクテリアが生残するという事実は、土壤中の多くのバクテリアは小さな孔隙内の比較的環境が安定した場所に生育していることを支持する。土壤伝染性病原菌の多くは糸状菌のため、糸状菌による病害は土壤消毒により比較的制御しやすく、一方、バクテリアは難しいことになる。

しかし、一方で、土壤中に普遍的に生育する線虫や原生動物の多くがバクテリアを餌としている事実を考えると、捕食リスクの高い比較的大きな孔隙にもバクテリアが生育していることを示唆する。バクテリアはなぜ大きな孔隙に出てくるのかの意義を暗示するデータがある。捕食圧が大きい方が1細胞当たりの活性が高くなるという（Wrightら、1995）。一部の細胞が捕食されることで放出された細胞成分が、捕食されずに生残した細胞の活性を高めるという解釈である。死んだ微生物細胞に含まれる細胞成分、特に窒素は、植物が吸収する土壤中の可給態窒素となり、この大小は肥沃度の指標となる。一般に、土壤動物が多いほど可給態窒素は高くなることから、土壤動物によるバクテリアや糸状菌の捕食活動が微生物の活性ならびに作物生産能を高めていると言える。

バクテリアの中でも菌株により土壤中における住み場所が異なることが示唆されている（Toyota & Kimura, 1996）。*Pseudomonas fluorescens*と*Pseudomonas stutzeri*は25分間のクロロホルム燻蒸後も約4～6割が生残したことより、これらの細菌株は燻蒸により死ににくい、つまり、より小さな孔隙あるいは連続した孔隙の奥深くを主な生育場所としており、一方、*Agrobacterium radiobacter*、*Pimelobacter sp.*はわずか10分の燻蒸処理でも99%以上が死滅したことから、クロロホルム蒸気が届きやすい場所、つまり、比較的大きな孔隙を住み場所としていると推察される（図8）。トマト青枯病菌は両グループの中間的な性質を示し、どちらかということ、燻蒸で死滅しやすい＝比較的大きな孔隙を住み場所としていると考えられた。青枯病菌は日本だけでなく世界でも重要な病原細菌であるが、比

較的土壤消毒により死滅させやすいと言える。主要な土壌生息性の病原細菌として、軟腐病菌(*Erwinia carotovora*)、根頭がんしゅ病菌(*Agrobacterium tumefaciens*)、ジャガイモそうか病菌(*Streptomyces scabies*)、サツマイモ立枯病菌(*Streptomyces ipomoeae*)などが知られる。*Streptomyces*属は糸状性のバクテリアなので、団粒間の比較的土壤消毒により死滅しやすい孔隙に生息しているのではないかと予想されるが、これらが土壌中の孔隙のどこに好んで生息しているのか興味を持たれる。

植物寄生性線虫の大きさは種により様々であるが、おおむね体幅が20 μ m以上ある。そのため、線虫は団粒間の大きな孔隙を主な生息場所とする。土壤消毒によって制御しやすいと言えるが、注意が必要なのはシストセンチュウである。環境耐性能の高いシストという殻の中に卵が守られているため、土壤消毒によりネグサレセンチュウやネコブセンチュウの密度が大きく減少した条件下でも、シストセンチュウの密度低減効果は限定的な例が知られる。シストセンチュウ防除では、宿主不在で孵化を促進させて餓死させる、あるいは孵化促進させてから土壤消毒を行うことなどが有効な手段となる。

5. 作物残渣

土壌の中で作物残渣は病原菌にとって重要な生育場所であり生残場所である。病原菌が作物に感染し増殖した場合、収穫後に大量の病原菌を含む作物残渣が土壌にすき込まれることになる。作物残渣

とともに土壌中に添加された*Fusarium oxysporum*や*Rhizoctonia solani*は、長期にわたって生存することが古くから知られる(小倉、1966)。そのため、罹病作物残渣は出来る限り圃場から外に持ち出すことが奨励される。残渣内の病原菌には土壤消毒が効きにくいとされるため、尚更である。そのため、作物残渣中の病原菌を効果的に防除できる、薬剤を用いた古株枯死処理に注目が集まっている。さらには、こうした厄介者の作物残渣を利用した新しいタイプの土壤還元消毒法が研究開発されつつあるので、今後を期待したい。

6. おわりに

持続的な作物生産には病原菌の制御が不可欠である。ひとたび増えた病原菌密度を低下させるには、抵抗性品種や対抗植物との輪作といった耕種の防除、生物防除や物理防除など様々な方法が知られるが、もっとも効果的なのは農薬を用いた化学防除である。こうした防除はいわば治療となるが、平行して重要なのは予防である。トマト青枯病菌の土壌中における増殖に及ぼす他微生物の影響を見たところ、殺菌土壌に糸状菌、他属のバクテリア、同一種でもバイオバーが異なる菌株を接種し、増殖させた土壌では、後から接種した青枯病菌は非常によく増殖し、殺菌土壌と同程度の増殖能を示す場合もあったが、同種同一バイオバーの菌株をあらかじめ定着させた土壌では青枯病菌はほとんど増殖できなかった(図9)(Toyota & Kimura, 2000a)。つまり、

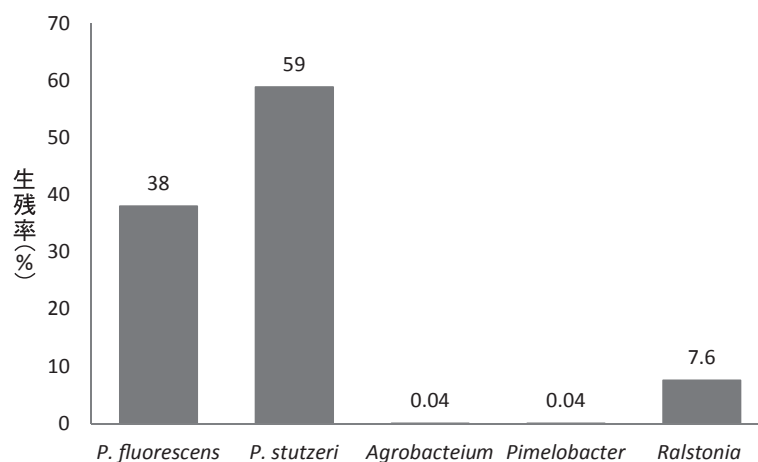


図8. 殺菌土壌に異なる5菌株を接種し増殖させた後、25分間のクロロホルム燻蒸で生き残った細菌数の割合(%)。P.: *Pseudomonas*。Ralstonia: トマト青枯病菌。燻蒸前の細菌数は $10^7 \sim 10^9$ cfu/g土壌であったが、燻蒸後生残する菌株と全滅する菌株に分かれた(Toyota & Kimura, 1996)。

土壌中において青枯病菌は遺伝的に非常に近い菌株とは同じ住み場所を要求するため、それらがすでに先住している土壌では増殖できないことを意味する。また、他属の微生物とは異なる住み場所を持つため両者はお互いに住み分けしていることになる。こうした傾向は、土壌だけでなくトマトの根でも観察された (Toyota et al, 2000b)。ダイコン萎黄病でも同様の結果が見られている (Toyota et al, 1996b)。これらの結果は、非病原性の青枯病菌が高密度で生息している土壌や根面では、病原菌が増殖できないことを意味する。どうしたら非病原性の青枯病菌を選択的に増やすことができるのかは現状では不明だが、有機物施用によって多様な微生物を増やす土作りが病原菌の予防につながると考えられる。

引用文献

小倉寛典(1966)日植病報 32, 236-243.

Toyota, K. and Kimura, M. (1996) Soil Biol. Biochem. 28, 1489-1494.

Toyota, K. and Kimura, M. (2000a) Soil Sci. Plant Nutr. 46, 449-459.

Toyota, K., Kimura, M. and Kinoshita, T. (2000b) Soil Sci. Plant Nutr. 46, 643-653.

Toyota, K., Ritz, K. and Young, I. M. (1996a) Soil Biol. Biochem. 28, 1545-1547.

Toyota, K., Ritz, K. and Young, I. M. (1996b) Soil Biol. Biochem. 28, 1513-1521.

van der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D. and van Straalen, N. M. (2008) Ecol. Lett. 11, 296-310.

White, D., Wright, D. A., Glover, L. A., Prosser, J. I., Atkinson, D. and Killham, K. (1994) Biol. Fertil. Soils 17, 191-195.

Wright, D. A., Killham, K., Glover, L. A. and Prosser, J. I. (1993) Geoderma 56, 633-640.

Wright, D. A., Killham, K., Glover, L. A. and Prosser, J. I. (1995) Appl. Environ. Microbiol. 61, 3537-3543.

久馬一剛 (1984) 新土壌学。朝倉書店

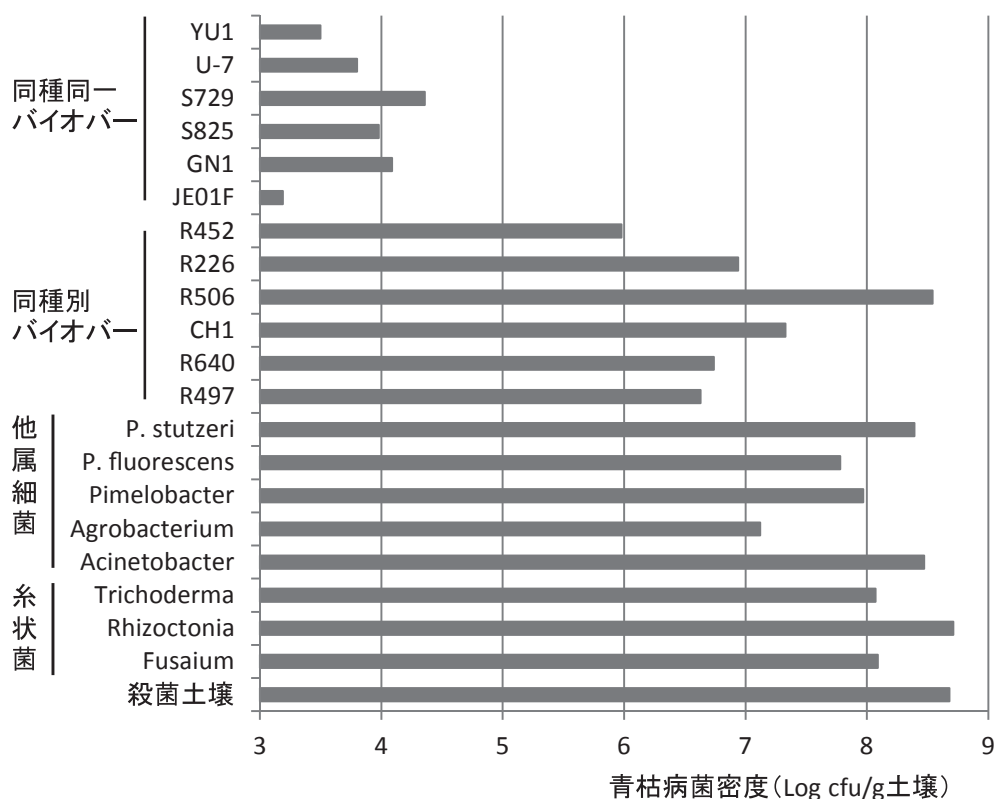


図9. 土壌中のトマト青枯病菌の増殖に及ぼす他微生物の先住効果。殺菌土壌に各種の菌株を接種、培養し十分に増殖させてから、青枯病菌を接種して10日後の青枯病菌密度を測定。殺菌土壌と同程度に青枯病菌が増殖できる場合と、まったく増殖できない場合に分かれた (Toyota & Kimura, 2000a)。