

第I章 緒 言

第I節 本研究の背景と目的

ハウレンソウは、アカザ科に属する1～2年生の長日性植物であり¹⁵⁾、ビタミン、ミネラル等の含有量が他の野菜に比べて多く、栄養面からみた価値は極めて高い。戦後、わが国では食生活の改善や食品栄養に関する知識の普及に伴い、ハウレンソウの栄養的価値が注目され、その需要は著しく増加した。1950年代に入り、日長感应性の低い西洋種を導入した晩抽性品種の開発と実用化が進み、長日条件下での抽台は回避されるに至った²⁰⁾。その結果、従来の秋～冬作栽培に加え、長日条件下の春～夏作栽培が可能となった。また、1970年代に入り、湿害回避と生育日数の短縮化を目的とした簡易な灌水装置を有するビニールハウス内における栽培（雨よけ栽培）の導入が図られ、良品質安定生産の道が開かれた。こうした社会情勢の変化と技術開発を背景に、わが国のハウレンソウの栽培面積は戦前の1941年には8,400 haであったが、1986年には約3倍の26,200 haにまで増加し、需要を満たすに至った⁸⁹⁾。

しかしながら、その基本的な作付体系は連作ないし他の軟弱野菜との交互輪作であることに加え、年間の作付回数が多いことにより、連作に伴うハウレンソウの生育障害が全国の産地で頻発するようになった。中でも、土壌伝染性病害（以後、土壌病害と略す）はハウレンソウの連作障害の原因の約80%を占め⁶³⁾、岐阜県をはじめ各府県の産地でハウレンソウの主な生育阻害要因として問題視されるに至った。現在、栽培地において発生の確認されているハウレンソウの土壌病害の種類は次に示すように多岐に及ぶ。

① *Pythium* spp.による立枯病^{5,14,29,46,47,55,57,60,61,65,77,85)}、*Rhizoctonia solani* Kühnによる株腐病^{5,55,57,58,60,85)}、立枯病^{5,46,55,57,58,60,85)}、③ *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *spinaciae* (Sherb.) Snyd. et Hans.による萎ちょう病^{6,46,56,57,59,60,85)}、④ *Aphanomyces*

cochlioides Drechslerによる根腐病^{38,83,85)}、⑤ *Phytophthora* sp.による根腐れ症状¹⁴⁾。

ハウレンソウの生育適温は15～20°Cであることから、府県では高温期の夏どり栽培は概ね高冷地に限られているのに対し、冷涼な気候条件下にある北海道では低地で行われている。その生育適温からみて北海道は冬期を除けば栽培好適地と言える。ハウレンソウの栽培は他の野菜に比べて比較的労力がかからないため、近年水田転作後の導入作物として脚光を浴び、北海道内のハウレンソウの栽培面積は1986年には10年前の約2倍の1,250 haにまで増加した⁶⁴⁾。とりわけ、札幌市をはじめ旭川、函館などの都市近郊において産地形成がなされており、ハウレンソウは地場消費および移出用軟弱野菜として確固たる地位を占めるに至っている。

病害の発生しにくい冷涼な気候条件下にある北海道といえども、年間の作付回数が2～4回と多いことから、他府県の産地と同様に連作に伴う土壌病害による品質、収量面での被害が最近問題となってきた。特に、市場価格の高い夏どりハウレンソウにおいてその被害は著しく、廃耕に追い込まれることも少なくない。1977年、成田⁵⁵⁾は北海道内におけるハウレンソウの土壌病害の発生事例として、*Pythium* sp.による立枯病および*Rhizoctonia solani*による株腐病を指摘している。さらに、成田⁵⁵⁾は、以前に宇井ら⁸⁸⁾によりテンサイの黒根病の病原菌として*A. cochlioides*の存在が確認されていたことや、本菌はハウレンソウに対しても強い病原性を有していることを論拠に、テンサイと同じアカザ科に属するハウレンソウでも同菌による根腐病が発生するおそれのあることを予測している。しかし、北海道では根腐病はもとより、ハウレンソウの各種土壌病害の圃場における発生実態については、なお不明な点が残されており、また有効な防除法も確立されていない状況にある。さらに、土壌病害の発生と土壌環境との

関係についてもほとんど解明されていない。

このような状況を踏まえ、本研究では北海道において今まで未着手であった根腐病を中心に、土壌肥料的ならびに植物病理学的な観点から次のような課題について検討した。

1. 北海道の主要ハウレンソウ産地における各種の土壌病害の発生実態を把握する。このことを通じ、根腐病の発生を確認するとともに、本病害と他の土壌病害との発生状況の相違点を明らかにする。
2. 根腐病の圃場における発生機構を土壌の理化学性の面から解明し、その結果に基づいた肥培管理法の改善による発生軽減対策を確立する。
3. 太陽熱利用による根腐病を主体とした土壌病害の発生軽減対策を開発する。さらに、太陽熱処理期間中の土壌の化学性の変化を把握し、その結果に基づいた処理後の肥培管理法を確立する。
4. 根腐病をはじめとするハウレンソウの土壌病害に対する耕種的な総合防除法を考案する。

次に示す背景から判るように農産物の食品としての安全性や生産者の健康が問題となっている昨今、ハウレンソウ根腐病に対する上記のような薬剤に依存しない生態的防除法を構築することは、意義あることと考える。①最近の消費者は農産物の安全性を重視している。すなわち、値段が少々高くても無農薬栽培の農産物を求めている。②無農薬栽培の農産物は安全であるという付加価値を有するので、市場で高く売買される。③若い農業後継者の減少により生産者が高齢化している現状では、ハウレンソウのような市場価格が高く、労力のかからない作物の栽培を継続せざるを得ない。そのため、土壌病害を主体とした連作障害が発生するが、その防除に当たっては生産者の健康にとって安全な対策が望ましい。④北海道におけるハウレンソウの栽培は札幌、函館および旭川などの都市近郊で行われている。したがって、都市の生活環境の保全を図るためにも安全な防除対策の導入が望ましい。

第2節 既往の研究

ハウレンソウ根腐病の病原菌である *Aphanomyces cochlioides* Drechsler は、真正菌門—鞭毛菌亜門—卵菌綱—ミズカビ（水生菌）目—ミズカビ科—*Aphanomyces* 属に分類上位置する糸状菌である⁶⁸⁾。本菌は1927年アメリカのミシガン州において、Drechslerによりテンサイの罹病幼苗から分離され、*Aphanomyces cochlioides* Drechsler と命名された⁶⁸⁾。その後、テンサイの土壌病害の病原として、アメリカはもとより、オーストリア、イングランド、スウェーデン、ハンガリーおよびデンマーク等でも確認された⁷⁰⁾。一方、本菌はわが国ではテンサイの黒根病を引き起こす病原として、宇井⁸⁷⁾によって北海道で最初に発見された。テンサイの立枯病菌の一つとして重視され、直ちに全道にわたり分布調査がなされた結果、テンサイの51%から本菌が検出され、ほぼ全道的に分布していることが明らかにされた²⁾。本菌の宿主範囲はほぼアカザ科植物に限られており、ハウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) に対して強い病原性を有していることが宇井ら⁸⁸⁾ およびSchneider⁷²⁾ により明らかにされた。

わが国では国永ら³⁸⁾により、栃木県の鶏頂山開拓圃場の罹病ハウレンソウから、*A. cochlioides* が分離され、同菌によるハウレンソウの病害は根腐病と命名された(1975年)。その後、岐阜県^{57,60,85)} や埼玉県⁷⁷⁾ でも根腐病の発生が相次いで確認された。現在、根腐病は全国の主要産地においてハウレンソウの主要な病害の一つと見なされている。報告のあったハウレンソウの根腐病罹病株の病徴は概ね次の通りである。①本病害はハウレンソウの生育初期から発生する^{38,83,85)}。②胚軸部から根部にかけて水浸状に褐変する。地上部は下葉から黄化する^{38,83,85)}。③症状の激しいものでは、しばしば主根が地際から折れ、切断される⁸³⁾。

ハウレンソウにおける根腐病の発生と土壌環境との関係については、過湿土壌で発生し易いという報告⁸³⁾があるのみである。一般に、*Aphanomyces* 病は、水中において遊走子のうから放出される鞭毛を有する2次遊走子が水中を泳いで宿主の

Table 1. Soil factors influencing incidence of soil-borne diseases caused by *Aphanomyces* spp.

Soil factor	Outbreak	Pathogen	Host	Reference ^{a)}	
<i>Soil moisture</i>					
High	Increase	<i>A. euteiches</i>	Peas	Jones (1925)	31
High	Increase	<i>A. cochlioides</i>	Sugarbeet	Chikuo (1986)	7
<i>Application of inorganic element</i>					
Nitrogen	Decrease	<i>A. euteiches</i>	Peas	Haenseler (1931)	19
Nitrogen	Decrease	<i>A. euteiches</i>	Grey peas	Geach (1936)	16
Nitrogen	Decrease	<i>A. euteiches</i>	Peas	Walker (1939)	90
Phosphorus	Decrease	<i>A. cochlioides</i>	Sugarbeet	Kotila (1940)	33
Osmotic pressure of inorganic salts	Decrease	<i>A. euteiches</i>	Peas	Smith (1941)	71
Nitrogen & Phosphorus	Decrease	<i>A. cochlioides</i>	Sugarbeet	Afanasiev (1942)	1
Potassium	Decrease	<i>A. euteiches</i>	Peas	Wade (1955)	91
Al, Ca, Cu, Zn	Decrease	<i>A. euteiches</i>	Peas	Lewis (1973)	50
<i>Soil type</i>					
Red clay soil & sandy soil	Increase	<i>A. euteiches</i>	Peas	Jones (1925)	32
High solid phase ratio	Decrease	<i>A. cochlioides</i>	Sugarbeet	Narita (1983)	62

a) The number represents a literature cited which is described at the end of this report.

胚軸あるいは根に集まり、集塊を形成した後、宿主細胞内に侵入する、いわゆる水媒伝染性病害でもある⁶⁸⁾。このことを考えると、過湿土壌条件下で *Aphanomyces* 病が多発生することは理解できる。一方、*A. cochlioides* によるテンサイの病害および *Aphanomyces euteiches* Drechsler によるエンドウの根腐病の発生に関与する土壌環境要因についての報告例は多く、概ね Table 1 のように分類される。

これらの知見から、*Aphanomyces* 病の発生と個々の土壌環境の間には次のような関係があることが判る。①土壌水分が多い条件下で多発生する^{7,31)}。②無機要素の施用に伴い発生が低下する^{1,16,19,33,50,71,90,91)}。③土壌の種類の違いにより発生程度が異なる^{32,62)}。しかしながら、これらの発生に関与する土壌環境要因を有機的に関連づけ体系的に解析した報告は現在のところ見当たらない。また、横沢らは *Aphanomyces* 属菌の遊走子の走性^{96,97)}、宿主の遊走子誘引物質の分離・同定^{99,101,102)} および卵胞子の発芽¹⁰⁰⁾ に関する一連の研究を行っている。

ホウレンソウの土壌病害の防除法として当然薬

剤の使用が考えられるが、わが国では現在のところ登録済みの薬剤は極めて少ない。マイナークロップにありがちな土壌病害や農薬に関する試験研究の立ち後れがその理由として考えられる。一方、薬剤に依存しない耕種的防除法も開発されているが、いずれも萎ちょう病に関するものであり、根腐病の防除を対象としたものではない。すなわち、滋賀県では萎ちょう病に対する太陽熱土壌消毒の効果が検討されており⁹³⁾、さらに北海道では雨よけ栽培のハウスの被覆に紫外線カットフィルムを用いると、萎ちょう病の発生が抑えられることが明らかにされている⁴⁹⁾。

謝 辞

本研究をとりまとめるにあたり、北海道大学農学部教授但野利秋博士には終始懇篤なるご指導を賜り、さらにご校閲の労をおとりいただいた。また、北海道大学農学部教授生越 明博士並びに北海道大学農学部教授佐久間敏雄博士には本論文のご校閲と適切なご教示を賜った。さらに、北海道大学農学部教授水谷純也博士にはご助言を賜った。

本研究の遂行にあたり、前北海道立中央農業試

験場長岩淵晴郎博士には本研究の端緒と遂行上のご配慮を賜った。また、元北海道立中央農業試験場農芸化学部長高尾欽弥氏、前同部長大崎玄佐雄氏(現道立天北農業試験場長)、現同部長相馬 暁博士、環境資源部長菊地晃二博士、生物工學部長関谷長昭氏、元北海道中央農業試験場病虫部長赤井 純博士、前同部長斎藤 泉博士(現道立道南農業試験場長)、農水省農業生物資源研究所部長鈴木孝仁博士、同北海道農業試験場土壤微生物研究室長上原洋一博士、東日本学園大学教養部教授横沢菱三博士、並びに農水省農業環境技術研究所微生物管理科の各位には研究の途上適切なお助言をいただいた。

元北海道立中央農業試験場土壤肥料科長関口久雄氏(現道立天北農業試験場主任研究員)、前同科長前田 要博士(現道立中央農業試験場主任研究員)、現同科長鎌田賢一博士並びに田丸浩幸研究員をはじめ同科の各位には絶大なるご協力と有益な

ご助言をいただいた。また、北海道立原子力監視センター農業研究科長成田保三郎博士、北海道立中央農業試験場発生予察科阿部秀夫博士、同試験場土壤改良科長高橋市十郎氏、同試験場元環境資源部科長黒川春一氏、同試験場病理科長児玉不二雄博士、同試験場生物工學部主任研究員玉田哲男博士、並びに北海道立上川農業試験場尾崎政春専門技術員には研究の実施にあたり、適切なお助言をいただいた。さらに、北海道立中央農業試験場農芸化学部、環境資源部、病虫部、生物工學部並びに北海道土壤生物研究会の各位には議論に加わっていただいた。

現地試験を実施するにあたり、北海道立中央農業試験場管理科、石狩中部農業改良普及所、札幌市役所並びに札幌市有明地区の農家の各位には絶大なるご協力をいただいた。

以上の各位に心からの感謝の意を表します。

第II章 北海道の主要産地におけるハウレンソウ土壌病害の発生実態

第1節 発生状況

ハウレンソウの主な土壌病害として次の4種類の病害の発生が府県において確認、報告されているので、北海道の主要ハウレンソウ産地を対象にこれらの土壌病害の発生の有無を主体に調査した。

① *Pythium* spp. による立枯病, ② *Rhizoctonia solani* による株腐病, 立枯病, ③ *Aphanomyces cochlioides* による根腐病, ④ *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* による萎ちょう病。

調査方法

1984年から1985年にかけて、北海道の主要ハウレンソウ産地である札幌市、渡島管内の七飯、大野両町および上川管内の鷹栖町において調査を実施した。調査時期、調査圃場数はTable 2に示した通りである。1圃場当たり約200 m²について、土壌病害および生理障害（マンガン欠乏症、酸性障害）の発生の有無を調査し、さらに連作年数、栽培品種等の聞き取りを行った。土壌病害の発生は、発病株率＝地上部病徴発現株/立毛数×100 (%)で表示した。

正常、罹病株をそれぞれ10地点から2個体ずつ、計40個体採取し、糸状菌分離用試料とした。試料の根部を水道水で約1時間水洗後、表面殺菌を行わず、殺菌水で十分に洗浄した。次に、根部を殺菌ろ紙上で乾燥させた後、3～5 mmの長さに切断した。得られた切片を糸状菌分離培地に置

床させ、25°Cで1～3日間培養後、出現した糸状菌の菌糸先端を分離した。*Aphanomyces* 属菌は、テンサイの苗立枯病菌の検出方法である殺菌水法¹⁰⁾ (C法)で1次遊走子塊の生成を確認した後、コーンミール煎汁寒天培地(以後、CMAと略す、ファンティガムセル使用)で、その他の糸状菌は素寒天およびジャガイモ煎汁ブドウ糖培地(以後、PDAと略す)でそれぞれ検出・分離した。これらの寒天培地は「土壤微生物実験法」¹²⁾に基づいて調製した。なお、これ以後の実験では記載の無い限り、上記の方法・培地により根部から糸状菌を検出・分離した。

結果

調査対象の4地域で発生が観察された土壌病害の病徴は概ね次の3つに分類された。①立枯れ症状：主に子葉期株に発生する。地上部は倒伏し、胚軸部が水浸状に褐変する(Plate I-1, 2)。症状が進むと、根部全体が干からびて黒変する。②根腐れ症状：主に生育中期以降に発生する。地上部は萎ちょう黄化し、根部は全体的に褐変して細くなり、しばしば地際から切れる(後記「鎌いらず」症, Plate I-3, 4)。③萎ちょう症状：主に生育中期以降に発生する。地上部の萎ちょう黄化に加え、主根、側根部の先端並びに導管部が褐変する。また、根の罹病部位に土壌粒子が付着した白い菌叢が観察される(Plate I-5, 6)。これらの症状は前述した根腐れ症状とは異なるので、肉眼で両症状を識別することは可能である。

Table 2. Numbers of fields investigated in main spinach-growing area in Hokkaido pref.

Area	Date (year)	No. of fields investigated		No. of fields in which fungi were detected from spinach
		Open field	Vinyl greenhouse	
Sapporo	Mid-June~Mid-Sept.(1984)	25	20	40
Ohno	4 July (1985)	0	13	5
Nanae	4 July (1985)	0	7	4
Takasu	30 July (1985)	2	9	11

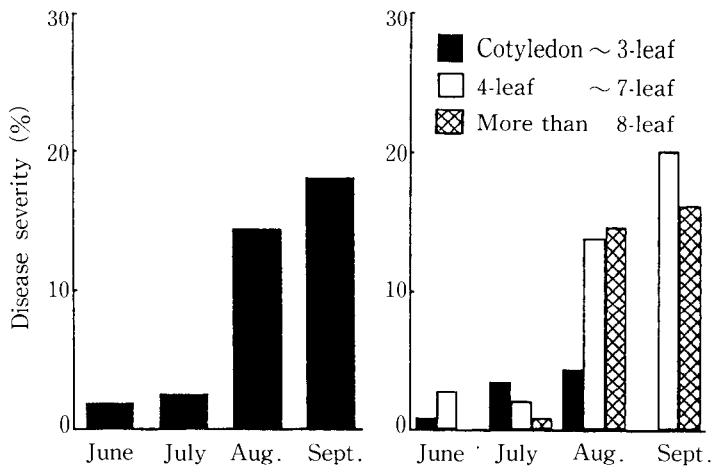


Fig. 1. Incidence of soil-borne diseases of spinach at 45 fields in Sapporo city (1984). Left : disease severity in each month, Right : disease severity at each growth stage. No. of fields investigated ; June : 8, July : 17, Aug. : 14, Sept. : 6

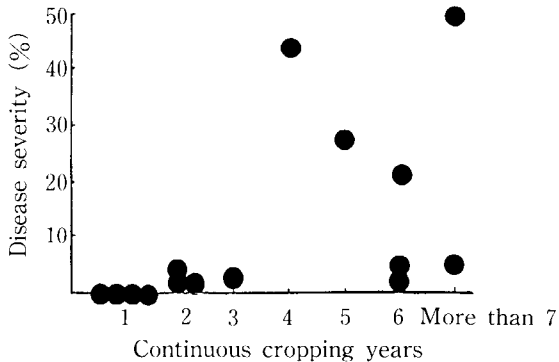


Fig.2. Relationship between disease severity and numbers of continuous cropping years at 15 open fields grown spinach in summer in Sapporo city (1984).

Correlation coefficient=0.651 ($p < 0.01$)

このように明らかに生理障害とは異なる症状を示す土壌病害の発生は、Fig. 1の札幌市の例からも判るように、調査時期、宿主（ホウレンソウ）の生育時期の違いにより異なった。全生育時期を通じての発病株率は低温期の6月では2%以下と極めて低かったのに対し、その後の気温の上昇に伴い増加し、8、9月の高温期には20%近くまで及んだ。さらに、生育時期別にみると、子葉期の立枯れ症状株の発生はいずれの月でも少なかつ

たが、8、9月の生育中期以降に萎ちょう症状株が多発生する傾向にあった。一方、根腐れ症状株は8月の高温期に札幌市の有明地区でその発生が認められた。また、露地の夏どり栽培圃場においては連作年数と発病株率との間に正の相関関係が認められ (Fig. 2)、特に連作4年目以降に土壌病害が多発生した。このことから、ホウレンソウの土壌病害は連作障害の一つの原因であることが示唆された。

次に、土壌病害の病原と想定される糸状菌の根部からの分離率を札幌市で月別に調査した (Table 3)。その結果、*Pythium*、*Fusarium*、*Rhizoctonia*、および *Aphanomyces* 属菌の4種類の存在が確認された。*Fusarium* 属菌はいずれの調査月においても他菌に比べて多く分離され、特に高温期の8、9月に多く分離された。一方、*Pythium* 属菌は低温期の6月に、また *Aphanomyces* 属菌は高温期の7、8月にそれぞれ多く分離された。なお、*Rhizoctonia* 属菌の分離率は極めて低かった

さらに宿主の生育時期別に糸状菌の分離率をみると (Table 4)、*Fusarium* 属菌は生育中期以降の萎ちょう症状株から、*Pythium* 属菌は子葉期の立枯れ症状株から、*Aphanomyces* 属菌は子葉期の

Table 3. Isolation of fungi from diseased spinach at 40 fields in Sapporo city (June-September, 1984)

Fungi	Isolation medium	% of isolation ^{a)}			
		June	July	Aug.	Sept.
<i>Pythium</i>	Water agar	23	6	5	7
<i>Fusarium</i>	Water agar	77	77	83	94
<i>Rhizoctonia</i>	Water agar	0	2	3	0
<i>Aphanomyces</i>	Sterilized water	0	6	10	0
No. of root segments tested	Water agar	45	334	520	160
	Sterilized water	47	334	520	160

$$a) \% \text{ of isolation} = \frac{\text{No. of fungi isolated}}{\text{No. of root segments tested}} \times 10^2$$

Table 4. Isolation of fungi from diseased spinach at various growth stages in Sapporo city (1984)

Fungi	% of Isolation ^{a)}								
	Sterilized water			Water agar			Potato dextrose agar		
	Cotyledon -3 leaf	4-7 leaf	More than 8 leaf	Cotyledon -3 leaf	4-7 leaf	More than 8 leaf	Cotyledon -3 leaf	4-7 leaf	More than 8 leaf
<i>Pythium</i>	18	4	5	12	2	5	11	1	5
<i>Fusarium</i>	—	—	—	75	85	92	68	82	90
<i>Rhizoctonia</i>	—	—	—	1	1	2	2	1	2
<i>Aphanomyces</i>	8	10	4	—	—	—	—	—	—
No. of root segments tested	315	297	449	310	297	452	291	300	454

a) No. of fields investigated ; cotyledon-3 leaf : 13, 4-7 leaf : 10, more than 8 leaf : 13.

Table 5. Occurrence of soil-borne diseases of spinach in main spinach-growing area in Hokkaido pref. (1984-1985)

Disease	Pathogen	Number of fields in which diseases outbreake			
		Sapporo (40) ^{a)}	Ohno (5)	Nanae (4)	Takasu (11)
Damping-off ^{b)}	<i>Pythium</i>	12	3	4	5
Damping-off & foot rot	<i>Rhizoctonia</i>	4	0	1	1
Root rot	<i>Aphanomyces</i>	7	0	1	1
Wilt	<i>Fusarium</i>	17	1	0	5

a) No. of fields in which fungi were detected from spinach.

b) The diseased plant was diagnosed as damping-off caused by *Pythium* sp., only if *Pythium* sp. was detected from the cotyledonary plants.

立枯れ症状株および生育中期の根腐れ症状株からそれぞれ多く分離された。

次に、土壤病害の発生時期、病徴および分離糸状菌種などを勘案して、各地域で発生が認められた土壤病害の種類およびのべ発生圃場数を検討した (Table 5)。その結果、道内主要産地において、*Pythium* 属菌による立枯病、*Aphanomyces* 属菌による根腐病および *Fusarium* 属菌による萎ちょう病の発生が認められた。さらに、少ないながらも *Rhizoctonia* 属菌による立枯病や株腐病の発生が推定された。

なお、各地域の調査日がそれぞれ異なっていたため、土壤病害の発生に関しての地域間差を正確に把握することはできなかった。ただし、比較的气温の低い時期である7月4日に調査した大野、七飯の両町では *Pythium* 属菌による立枯病の発生が多く、一方萎ちょう病の発生は少なかった。露地栽培と雨よけ栽培の違いに基づく発生の違いは判然としなかった。

考 察

ハウレンソウの土壤病害は、連作年数の多い圃場や高温期の栽培で多発生することが報告⁵⁷⁾されており、本調査でもほぼ同様の傾向が認められた (Fig. 1, 2)。冷涼な気象条件下にある北海道では、府県に比べて6、7月の気温が低いため、同時期の土壤病害の発生は少なかった (Fig. 1)。発生が認められた土壤病害の病徴は、子葉期株に発生する立枯れおよび生育中期以降に発生する根腐れ、萎ちょうの3症状に区分された。このうち、根腐れ症状株と萎ちょう症状株は高温期に多発生した。また、子葉期の立枯れ症状株から *Pythium* および *Aphanomyces* 属菌が、生育中期の根腐れ症状株から *Aphanomyces* 属菌が、生育中期以降の萎ちょう症状株から *Fusarium* 属菌がそれぞれ多数分離された (Table 4)。

既往の報告によれば、ハウレンソウの主な土壤病害の病徴は次の通りである。① *Pythium* spp. による立枯病^{5,29,46,47,57,60,61,65,85)}：胚軸部から根部にかけて水浸状に褐変し、地上部は倒伏する。② *A. cochlioides* による根腐病：第1章第2節で述べた。③ *F. oxysporum* f.sp. *spinaciae* による萎ち

う病^{5,56,57,59,60,85)}：古い葉から萎ちよう黄化し、主根の導管部が褐変する。さらに主根、側根の先端が褐変する。しばしば主根の罹病部位に土壤粒子の付着した白い菌叢が認められる。

本節の調査で認められた3種の症状はこれらの既知の土壤病害の症状と符合しており、さらに3種の症状株から分離された糸状菌を考慮すると、それぞれの症状は次の土壤病害によってもたらされたものと判断された。①立枯れ症状：*Pythium* 属菌による立枯病あるいは *Aphanomyces* 属菌による根腐病。②根腐れ症状：*Aphanomyces* 属菌による根腐病。③萎ちよう症状：*Fusarium* 属菌による萎ちよう病。なお、内記⁵⁷⁾は *R. solani* によって引き起こされるハウレンソウの土壤病害のうち、子葉期株に発生したものを立枯病、一方、生育中期以降に発生したものを株腐病の範ちゅうに入れて区別し、またそれぞれの病徴を明らかにしている。今回の調査でも、極めて少ないながらも罹病株から *Rhizoctonia* 属菌が分離されており、同菌による立枯病あるいは株腐病の発生が推定された。

以上のことから、道内主要ハウレンソウ産地において発生が認められた主な土壤病害は *Pythium* 属菌による立枯病、*Aphanomyces* 属菌による根腐病および *Fusarium* 属菌による萎ちよう病の3種類であることが示唆された。さらに、少ないながらも、*Rhizoctonia* 属菌による立枯病や株腐病の発生が推定された。

第2節 病原糸状菌の同定

札幌市の圃場で発生した罹病株から分離された糸状菌4種、すなわち *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Aphanomyces* および *Fusarium* 属菌の一部の菌株を供試して、病原性の検定並びに同定を試みた。調査方法

1) 病原性の検定

供試土壌として粗粒質の淡色黒ボク土を用いた。供試土壌を径12cmの素焼鉢に充填し、鉢ごと121°Cで2時間オートクレイブで殺菌した。殺菌後、ハウレンソウの催芽種子を鉢当り20粒播種

した。供試品種は「サンライト」であった。なお、以後の実験では記載の無い限り、土壌の殺菌は上記の方法で行い、また、供試ハウレンソウは全てサンライトを用いた。発芽後の子葉期に間引きを行い、子葉期に接種を行う処理区では鉢当たり10～15個体に、5葉期に接種を行う処理区では5個体にそれぞれ調整した(各3～4反復)。子葉期に接種がなされるハウレンソウは無肥料栽培をしたが、5葉期に接種がなされるハウレンソウは水耕栽培用の液肥を7日おきに施用しつつ栽培した。子葉期と5葉期に各種糸状菌を接種し、宿主の生育時期別に病原性の違いを調査した。接種に供試した菌株数は次の通りである。*Pythium* 属菌：4菌株、*Rhizoctonia* 属菌：7菌株、*Aphanomyces* 属菌：3菌株、*Fusarium* 属菌：7菌株(単孢子分離をしたもの)。

接種源の培養および接種法は次の通りであった。*Aphanomyces* 属菌を径9cmのペトリ皿内のCMA培地で、その他の供試菌株をPDA培地で25°Cで1週間培養後、約2mm平方に切断して得られた含菌寒天を1鉢の土壌表面に接種し、感染・発病の経過を25°Cの人工気象室内で2～4週間にわたり観察した。また、宿主特異性が同定の際の参考となる *Fusarium* および *Aphanomyces* 属菌については、各種作物に対する病原性も併せて検討した。

2) 病原糸状菌の同定

ハウレンソウに対して病原性が認められた菌株について、次の方法に従い同定を行った。① *Pythium* 属菌：Schmitthenner's 培地上での形態観察および温度別の菌糸伸長状況(Difco社製CMA)の観察、② *Rhizoctonia* 属菌：生越⁶⁷⁾の菌糸融合法による類別および菌叢の形状観察(Difco社製PDA)、③ *Aphanomyces* 属菌：形態観察(Difco社製CMA)および宿主特異性の検定、④ *Fusarium* 属菌：形態観察および宿主特異性の検定。なお、形態観察に用いた *Fusarium* 属菌の分生胞子と厚膜胞子は次の方法で生成させた。ジャガイモ煎汁液体培地内で25°Cで1週間静置培養した菌糸を蒸留水で数回洗浄後、蒸留水20mlの入った径9cmのペトリ皿内に入れ、28°Cで4～5日間貧栄養下で培養した。

結 果

1) 分離 *Pythium* 属菌の病原性と同定

主に立枯れ症状株から分離された *Pythium* 属菌の形態観察を行った結果、最終的に Py-1, 11, 12, 17 に代表される4種菌株に類別された。

Table 6に示したようにPy-1, 11, 17はハウレンソウの子葉期に対し、前述した立枯れ症状を引き起こし、病原性を有したが、5葉期株に対する病原性は判然としなかった。一方、Py-12は子葉期並びに5葉期株に対してともに強い病原性を示した。この菌株は8月下旬の高温期に雨よけ栽

Table 6. Pathogenicity of *Pythium* spp. isolated from spinach in Sapporo city for spinach at two growth stages in pot test

Isolate	Date of sampling (1984)	Growth stage of host when <i>Pythium</i> sp. was isolated	% of diseased plants (14 days after inoculation ^{a)})	
			Growth stages of host at inoculation	
			Cotyledon	5-leaf
Py-1	13 June	Cotyledon	16.7	0
-11	19 June	Cotyledon	19.4	0
-12	27 Aug.	Harvest time	72.2	86.7
-17	14 Sept.	Cotyledon	36.1	0

a) All values are averages of 3 replicates.

Inoculations were made to cotyledons of 12 plants and to 5-leaf stage hosts of 5 plants per pot. Inoculum per pot was mycelia grown on potato dextrose agar in a 9 cm Petri plate.

培の収穫期の萎ちょう黄化した罹病株から分離され、子葉期株から分離された他菌株とは異なる分離来歴であった。また、この菌株が分離された罹病根は全体的に褐変して細くなっており、*Fusarium* 属菌による萎ちょう病の根部病徴とは異なっていた。Py-12 は5葉期株に対しても強い病原性を有することを考えると、この罹病根の病徴は主にPy-12によって引き起こされたものと推察された。

各菌株の特徴的な形態は以下に示す通りである。Py-1：有性器官は認められないが、球形ないしレモン型の通常頂生の遊走子のう（直径：平均24.2 μm ）と思われる器官が観察される（Plate II-1）。Py-11：遊走子のうは通常頂生で球形ないしレモン型、水中で発芽管を出して直接発芽し、遊走子生成は認められない（Plate II-2）。蔵卵器（22.0 μm ）は表面が平滑な球形で厚い膜を有し通常頂生であり、内部に蔵卵器内を満たさない卵胞子（19.1 μm ）を1個有する。蔵精器は通常1個蔵卵器直下の蔵卵器柄から発し、蔵卵器に付着している（Plate II-3）。Py-12：遊走子のうは不整形で膨状であり（Plate II-4）、水中で遊走子を生成する（Plate II-5）。蔵卵器（27.3 μm ）は表面が平滑な球形で頂生であり、内部に球形の蔵卵器を

満たさない卵胞子（21.8 μm ）を1個有する。蔵精器は頂生ないし間生で1蔵卵器に1個まれに2個付着し特徴ある樽形ないし釣鐘形を呈する（Plate II-6）。Py-17：遊走子のう（17.9 μm ）は頂生ないし間生で発芽管を出して直接発芽し、遊走子の生成は認められない。蔵卵器は球形で表面に6~22本の先端が鈍頭形の指形の突起（長さ：6.7 μm ）を有し、直径は突起を除いて平均17.7 μm であり、内部に蔵卵器をほぼ満たす卵胞子（15.2 μm ）を1個有する。蔵精器は長い柄を有し、1蔵卵器に通常1個付着している（Plate II-7）。

これらの4種菌株のうち、有性器官の生成が認められず形態による同定不能なPy-1を除く他3菌株について、Middleton⁵¹⁾および山口¹⁰³⁾の報告を参照して同定を試みた。Py-11は蔵精器が蔵卵器柄の直下から発し、さらに蔵精器柄が未発達である点、Py-12は膨状の遊走子のう並びに特徴のある蔵精器を有する点、Py-17は蔵卵器の形状と、球形の遊走子のうを生成し、かつ発芽管を出して直接発芽する点に着目し、それぞれを*P. ultimum*、*P. aphanidermatum*、および*P. spinosum*と推定した。次に、これらの3菌株の諸形態を標準菌株のそれと比較した結果（Table 7）、3菌株の諸形態は標準菌株の文献値とほぼ一

Table 7. Morphological observation of pathogenic *Pythium* spp. isolated from spinach

Isolate	Size of organs grown on Schmitthenner's medium ^{a)} (μm)			
	Oogonia (diameter)	Conical spines (length)	Oospores (diameter)	Zoosporangia (diameter)
Py-1	—	—	—	8.8—(24.2)—30.5
-11	17.0—(22.0)—27.0	—	16.3—(19.1)—23.0	7.8—(17.7)—28.5
-12	17.8—(27.3)—31.3	—	14.3—(21.8)—25.8	Lobate
-17	12.5—(17.7)—21.8	3.5—(6.7)—11.3	10.0—(15.2)—19.3	9.5—(17.9)—30.0
<i>P. ultimum</i> ^{b)} (Py71-2)	17.4—(21.2)—25.6	—	14.2—(17.9)—20.8	12.0—(17.6)—27.0
<i>P. aphanidermatum</i> ^{b)} (Py72-20)	20.3—(25.0)—30.5	—	16.0—(20.0)—25.7	Lobate
<i>P. spinosum</i> ^{b)} (Py72-17)	12.1—(18.0)—26.7	4.5—(6.4)—10.5	10.8—(16.5)—24.4	9.1—(17.3)—26.5

a) Minimum—(Average)—Maximum.

b) Values cited from Literature¹⁰³⁾: Yamaguchi (1977).

Table 8. Effect of temperature on mycelial growth of *Pythium* spp. isolated from spinach

Isolate	Mycelial growth in millimeters over 24-hour period at ^{a)} :								
	10	15	20	25	30	32	35	37	40 (°C)
Py-1	3	12	19	26	26	24	3	0	0
-11	5	12	19	26	26	24	3	0	0
-12	±	4	13	26	31	32	35	38	18
-17	4	13	20	27	26	26	2	0	0
<i>P. ultimum</i> ^{b)}	10	18	24	28	28	21	0	0	0
<i>P. aphanidermatum</i> ^{c)}	±	6	14	28	33	35	39	39	22
<i>P. spinosum</i> ^{c)}	5	13	17	25	24	25	2	0	0

a) Isolates were grown on corn meal agar (Difco).

b) Values cited from Literature¹⁰³⁾: Yamaguchi (1977).

c) Experimental results from authentic species.

Table 9. Pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from spinach in Sapporo city for spinach at two growth stages in pot test

Isolate	Date of sampling (1984)	Growth stage of host when <i>Rhizoctonia</i> sp. was isolated	% of diseased plants (14 days after inoculation ^{a)})	
			Growth stages of host at inoculation	
			Cotyledon	5-leaf
R-1	2 Aug.	Harvest time	25.0	0
-2	2 Aug.	8-leaf	16.7	0
-3	2 Aug.	Harvest time	0	0
-4	2 Aug.	Cotyledon	18.8	0
-5	2 Aug.	Cotyledon	4.2	0
-6	23 July	5-leaf	29.2	0
-7	23 July	5-leaf	39.6	0

a) All values are averages of 4 replicates.

Inoculations were made to cotyledons of 12 plants and to 5-leaf stage hosts of 5 plants per pot. Inoculum per pot was mycelia grown on potato dextrose agar in a 9 cm Petri plate.

致した。さらに、菌糸の伸長に対する温度の影響をみると (Table 8), Py-12 の菌糸伸長は標準の *P. aphanidermatum* と同様に 35~37°C の高温域で旺盛であり、両菌の菌糸伸長傾向はよく一致した。また、Py-11 および Py-17 は予想される標準菌株とほぼ同様の菌糸伸長傾向を示した。

以上の形態観察並びに菌糸の伸長に対する温度の影響についての実験結果から、Py-11, 12, 17 をそれぞれ *Pythium ultimum* Trow, *Pythium*

aphanidermatum (Edoson) Fitzpatrick, *Pythium spinosum* Sawada と同定した。

2) 分離 *Rhizoctonia* 属菌の病原性と同定

ホウレンソウの生育時期を問わず、罹病株から分離された *Rhizoctonia* 属菌は極めて少なかった。そのため、圃場において同菌によって引き起こされる立枯病や株腐病の典型的な病徴を把握できなかった。そこで、分離来歴の異なる 7 菌株について病原性の検定を行い、病徴を調査した。そ

Table 10. Anastomosis grouping of *Rhizoctonia* spp. isolated from spinach

Isolate	Anastomosis groups of authentic <i>Rhizoctonia solani</i> ^{a)}					
	AG-1	AG-2-1	AG-2-2	AG-3	AG-4	AG-5
R-1	- ^{b)}	-	-	-	+ ^{c)}	-
-2	-	-	-	-	+	-
-3	-	-	-	-	-	-
-4	-	-	-	-	-	-
-5	-	-	-	-	-	-
-6	-	-	-	-	-	+
-7	-	-	-	-	+	-

a) Anastomosis grouping was made according to Ogoshi's method⁶⁷⁾.

b) - : Imperfect fusion between authentic species and an isolate was not observed.

c) + : Imperfect fusion was observed.

の結果、R-3、R-5を除く5菌株は明らかにハウレンソウの子葉期株に対して、内記⁶⁰⁾が指摘したような *Rhizoctonia* 属菌による立枯病の典型的な病徴を引き起こした (Table 9, Plate III-1)。すなわち、胚軸部の褐変およびくびれが観察された。一方5葉期株に対する病原性はいずれの菌株とも判然としなかった。

病原性を有する菌株のうち、R-1、2、7の3菌株は、*Rhizoctonia solani* AG-4 (第4群)と、またR-6は同AG-5 (第5群)とそれぞれ菌叢の形状が酷似していた (Plate III-2)。このことから、これらの4菌株は *R. solani* であることが推定されたので、標準の *R. solani* 6菌株と菌糸融合法による類別を試みた。Table 10に示したように、R-1、2、7は *R. solani* AG-4と、またR-6は同AG-5とそれぞれ不完全融合 (Plate III-3) することが認められた。以上の病原性検定、菌叢比較および菌糸融合の結果から、ハウレンソウに対して病原性を有し、立枯病あるいは株腐病の原因となる *Rhizoctonia solani* Kühn の AG-4 (R-1、2、7) 並びに同AG-5 (R-6) の存在が確認された。なお、病原性を有するR-4はいずれの標準菌株とも不完全融合をしないこと並びに *R. solani* に比べ菌糸幅が狭いなどの理由から、2核の *Rhizoctonia* 属菌と推察された。

3) 分離 *Fusarium* 属菌の病原性と同定

萎ちょう症状株から分離された *Fusarium* 属菌

のうち、単胞子分離後に得られた7菌株について病原性の検定を行った結果 (Table 11)、いずれの菌株ともハウレンソウに対して強い病原性を有していた。

病徴の発現は接種後間もない子葉期には認められなかったが、接種後3~4週間経過した5~6葉期になって、地上部の萎ちょう黄化 (Plate III-4) 並びに現地と同様の根部病徴が観察された。さらに、F-98の1菌株について5葉期株に対して接種試験を行ったところ、病原性を有することが認められた。次に、分離来歴の異なるF-5、6、98の3菌株について各種作物に対する病原性を検定した (Table 12)。3菌株ともテンサイに対して、またF-5はフダンソウに対してもわずかながら病原性を有していたが、いずれの菌株ともアカザ科以外の植物では病原性が認められなかった。

これらの3菌株はいずれもPDA培地上に小型分生胞子を多数生成したが、大型分生胞子は極めて少なかった。3菌株の諸形態は酷似しており、その特徴は次の通りである。小型分生胞子 (Plate III-5)：楕円形ないし卵形で無色であり、担子梗上に擬頭状に形成される。小型分生胞子の長径に比べて担子梗の長さは短い。担子梗は無隔膜である。大型分生胞子：新月形で無色であり、隔膜数は1~4で通常3個の場合が多い (Plate III-6)。厚膜胞子：頂生ないし間生である (Plate III-7)。

次に、これらの形態を内記⁵⁹⁾および

Table 11. Pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from spinach in Sapporo city for spinach at two growing stages in pot test

Isolate	Date of sampling (1984)	Growth stage of host when <i>Fusarium</i> sp. was isolated	% of diseased plants (28 days after inoculation ^{a)})	
			Growth stages of host at inoculation	
			Cotyledon	5-leaf
F-1	7 Sept.	Harvest time	40.0	-- ^{b)}
-2	7 Sept.	do.	46.7	-
-3	10 Sept.	do.	60.0	-
-4	10 Sept.	do.	53.3	-
-5	7 Sept.	do.	83.3	-
-6	10 Sept.	do.	100.0	-
-98	14 Sept.	do.	90.0	100.0

a) All values are averages of 4 replicates.

Inoculations were made to cotyledons of 15 plants and to 5-leaf stage hosts of 5 plants per pot. Inoculum per pot was mycelia grown on potato dextrose agar in a 9 cm Petri plate.

b) - : not done.

Table 12. Pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from spinach for various plants in pot test

Plant	Cultivar	No. of seedlings tested	% of diseased plants (28 day after inoculation ^{a)})			
			Isolate			
			F-5	F-6	F-98	Control
Spinach	Sun light	60	83.3	100.0	90.0	0
Sugarbeet	Monohill	60	1.7	1.7	5.0	0
Chard	Seiyou shirokuki	60	1.7	0	0	0
Goosefoot		60	0	0	0	0
Soybean	Tamasudare	45	0	0	0	0
Peas	30day kinuzaya	45	0	0	0	0
Kidney bean	Top crop	45	0	0	0	0
Melon	Idol	45	0	0	0	0
Watermelon	Kaou mild	45	0	0	0	0
Eggplant	Kokuryu naganasu	45	0	0	0	0
Tomato	Kyoryoku kairyou shuukou	45	0	0	0	0
Cucumber	Hikari-3, P-type	45	0	0	0	0
Onion	Furanui	45	0	0	0	0
Raddish	Taiyo soubutori	45	0	0	0	0
Cabbage	City kanran	45	0	0	0	0

a) Values are averages of 3 or 4 replicate plots.

No. of cotyledons per pot was 15. Inoculum per pot was mycelia grown on potato dextrose agar in a 9 cm Petri plate.

Hungerford¹⁸⁾の報告した *Fusarium oxysporum* f.sp. *spinaciae* と比較した結果、3菌株の測定値は文献値とほぼ一致した (Table 13)。病徴および病原菌の形態が既往の報告と一致し、さらにハウレンソウに対して最も強い病原性を有することなどから、F-5, 6, 98の3菌株を *Fusarium oxysporum* f.sp. *spinaciae* と同定した。

4) 分離 *Aphanomyces* 属菌の病原性と同定

① *Aphanomyces* 属菌による根腐病と立枯れ症状との関係

1986年の7月から8月にかけての高温期に、札幌市有明地区の3農家圃場の雨よけハウスで胚軸部が水浸状に褐変する一見 *Pythium* 属菌による立枯病に酷似した立枯れ症状が子葉期株に発生した。症状から *Pythium* 属菌による立枯病と推察されたが、そのうちのA圃場では *Pythium* 属菌と *Rhizoctonia* 属菌が全く検出されず、罹病株から *Aphanomyces* 属菌の1次遊走子塊 (Plate IV-1) と *Fusarium* 属菌が多く検出された (Table 14)。

A圃場では正常株と罹病株からほぼ同数の *Fusarium* 属菌が検出されたのに対し、*Aphanomyces* 属菌は罹病株からのみ検出された。

そこで、*Aphanomyces* 属菌を立枯れ症状の病原と考え、単菌糸分離後、ハウレンソウに対する本菌の病原性を検定した (Table 15のA-K-1菌株)。接種後5日目あたりから現地と同様の立枯れ症状が観察され、A-K-1菌株はハウレンソウに対して強い病原性を有することが認められた。

これらのことから、札幌市有明地区で発生した *Pythium* 属菌による立枯病に酷似した病害は、子葉期に発生した *Aphanomyces* 属菌による根腐病であることが示唆された。

② *Aphanomyces* 属菌による根腐病と「鎌いらず」症との関係

また、同時期、同地域の4農家圃場 (Table 14のB, C, D, E圃場)の生育中期以降の株に、古い葉から萎ちよう黄化する一見 *Fusarium* 属菌による萎ちよう病に酷似した症状の障害が発生した。ところが、根部病徴は明らかに萎ちよう病とは異なっていた。すなわち、全体的に根腐れ症状を呈して細くなっており、しばしば地際から主根が切れる現象が認められた。現地有明地区の農家は、鎌が無くても地際から主根が切れることから、この障害を「鎌いらず」と称しており、以前から

Table 13. Morphological observation of pathogenic *Fusarium* spp. isolated from spinach

Isolate	Size of spores (μm)			
	Conidia ^{a)}			
	Non-septum	1-septum	3-septa	Chlamydo-spores ^{b)}
F-5	3.8-18.5 \times 2.0-5.0 (9.4 \times 3.0)	11.5-25.0 \times 2.5-5.0 (18.4 \times 3.4)	25.5-50.0 \times 3.3-5.5 (39.4 \times 4.6)	5.3-14.5 (9.4)
F-6	4.3-16.0 \times 2.3-5.0 (9.1 \times 3.1)	12.5-23.5 \times 2.8-4.3 (18.0 \times 3.4)	25.0-49.3 \times 2.8-5.0 (39.4 \times 4.1)	5.0-14.5 (9.6)
F-98	4.3-13.5 \times 2.3-5.0 (7.9 \times 2.9)	12.5-24.5 \times 2.5-5.0 (17.6 \times 3.5)	25.8-52.5 \times 3.3-5.3 (37.1 \times 4.2)	7.0-15.0 (10.3)
F-67 ^{c)}	5.0-12.5 \times 2.5-5.0 (8.9 \times 3.4)	10.0-20.0 \times 2.5-5.0 (13.8 \times 3.8)	23.8-42.5 \times 3.8-5.0 (31.0 \times 4.2)	5.0-12.5 (9.0)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>spinaciae</i> ^{d)}	6.0-11.0 \times 3.0-4.8 (8.0 \times 3.2)	14.0-24.0 \times 4.4-5.0 (20.0 \times 4.8)	27.0-43.0 \times 4.8-6.3 (35.0 \times 5.25)	6.0-18.0 (11.0)

a) Minimum-maximum (of long diameter) \times minimum-maximum (of short diameter).

Values in parentheses indicate averages of long diameter and short diameter, respectively.

b) Minimum-maximum. Value in parentheses indicates average.

c) Values cited from Literature⁵⁹⁾: Naiki (1979).

d) Values cited from Literature¹⁸⁾: Hungerford (1923).

Table 14. Detection of fungi from spinach showing symptom of root rot

Field in Sapporo	Date of sampling	Growth stage of host when fungi were detected	Symptom of root	No. of fungi detected from 40 root segments ^{a)}			
				<i>Pythium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Aphanomyces</i>
A (house) ^{b)}	2 Aug.	Cotyledon	Damping-off	0	28	0	17
			Healthy	0	25	0	0
B (open field)	27 July	8- 9 leaf	Root rot	1	39	0	11
			Healthy	1	39	0	0
C (open field)	2 Aug.	6- 7 leaf	Root rot	1	34	0	11
			Healthy	0	35	0	1
D (house)	2 Aug.	6- 7 leaf	Root rot	0	32	0	18
			Healthy	0	28	0	1
E (house)	2 Aug.	11-12 leaf	Root rot	0	40	4	2
			Healthy	0	24	0	0

a) *Aphanomyces* sp. was detected in sterilized water, others on potato dextrose agar. Twenty of root rot and healthy plants were tested respectively.

b) Vinyl greenhouse.

Table 15. Pathogenicity of *Aphanomyces* spp. isolated from spinach in Sapporo city for spinach at two growing stages in pot test

Isolate	Date of sampling (1984)	Growth stage of host when <i>Aphanomyces</i> sp. was isolated	% of diseased plants (14 days after inoculation ^{a)})	
			Growth stages of host at inoculation	
			Cotyledon	5-leaf
A-K-1	2 Aug.	Cotyledon	80	100
A-K-6	2 Aug.	6-7 leaf	100	100
A-Ka-2	27 Aug.	2-3 leaf	100	100

a) All values are averages of 3 replicates.

Inoculations were made to cotyledons of 10 plants and to 5-leaf stage hosts of 5 plants per pot. Inoculum per pot was mycelia grown on corn meal agar in a 9 cm Petri plate.

原因不明の障害として問題となっていた。障害株の根部の糸状菌を検出した結果、*Aphanomyces* 属菌のものと思われる 1 次遊走子塊、菌糸および卵胞子 (Plate IV-2) などが特異的に多く観察された (Table 14)。

このような根腐れ症状は生育中期頃に感染した場合に発現するものと推察されたので、分離に成功した *Aphanomyces* 属菌 3 菌株を供試して 5 葉期のホウレンソウに接種した。その結果、Table

15 に示したように 3 菌株とも子葉期株に対してはもとより、5 葉期株に対しても病原性を有することが認められた (Plate IV-3)。5 葉期に接種が行なわれた個体では現地とほぼ同様の根腐れ症状が再現された。これらのことから、札幌市有明地区で発生した原因不明の「鎌いらず」症は生育中期以降に発生した *Aphanomyces* 属菌による根腐病であることが示唆された。

Table 16. Morphological observation of pathogenic *Aphanomyces* spp. isolated from spinach

Isolate	Host	Size of organs ^{a)} (μm)			
		Oogonia		Oospores (diameter)	Mycelia (diameter)
		Diameter	Thickness of wall		
A-K-1	Spinach	20-(24)-28	1.5-(1.8)-2.5	17-(20)-22	3-10
A-K-6	Spinach	20-(24)-28	1.0-(1.8)-2.5	17-(21)-24	4-10
A-Ka-2	Spinach	22-(24)-29	1.0-(1.9)-3.0	18-(21)-25	4-10
<i>A. cochlioides</i> ^{b)}	Sugarbeet	20.2-28.6	1.1-2.4	15.8-23.6	3-9
<i>A. cochlioides</i> ^{c)}	Sugarbeet	22.2-25.5	1.6-2.6	15.5-22.2	4.4-11.2
<i>A. cladogamus</i> ^{b)}	Tomato	18.8-33.0	0.8-1.9	15.3-25.6	3.5-10
<i>A. euteiches</i> ^{d)}	Peas	24.8-39.5	0.8-3.8	17.0-26.3	5.0-13.5

- a) Isolates were grown on corn meal agar (Difco).
Minimum - (Average) - Maximum.
b) Values cited from Literature⁹⁾: Drechsler (1929).
c) Values cited from Literature⁸⁸⁾: Ui (1963).
d) Values cited from Literature⁹⁸⁾: Yokosawa (1974).

Table 17. Pathogenicity of *Aphanomyces* spp. isolated from spinach for various plants in pot test

Plant	Cultivar	No. of seedlings tested	% of diseased plants (14 days after inoculation ^{a)})			
			Isolate			
			A-K-1	A-K-6	A-Ka-2	Control
Spinach	Sun light	30	80	100	100	0
Sugarbeet	Monohikari	30	57	67	67	0
Goosefoot		40	65	90	75	0
Oat	Okhotsk	30	0	0	0	0
Peas	30day kinuzaya	30	0	0	0	0
Tomato	Kyoryoku shuukou	30	0	0	0	0
Chinese cabbage	Musou	30	0	0	0	0
Cabbage	Kinkei 201	30	0	0	0	0
Turnip	Taibyoh hikari kabu	30	0	0	0	0
Raddish	Taibyoh soubutori	30	0	0	0	0
Lettuce	Great lake 366	30	0	0	0	0

- a) Values are averages of 2 or 3 replicates.
No. of cotyledons per pot was 10. Inoculum per pot was mycelia grown on corn meal agar in a 9 cm Petri plate.

③同定

病原性の検定に供試した *Aphanomyces* 属菌 3 菌株について同定を試みた。3 菌株の形態はともに *A. cochlioides* に極めて似ており、各器官の大きさは次の範囲内にあった (Table 16)。蔵卵器の

直径: 20~29 μm , 蔵卵器膜の厚さ: 1.0~3.0 μm , 卵胞子の直径: 17~25 μm (Plate IV-4)。このことから、3 菌株はいずれも *A. cochlioides* に該当するものと思われたが、*A. cladogamus* の可能性も否定できないので、11 種の作物に対する病

原性を検定した (Table 17)。その結果、いずれの菌株とも *A. cochlioides* と同様、ハウレンソウ、テンサイ、シロザのアカザ科植物に対してのみ強い病原性を有していた (Plate IV-5, 6)。

形態観察および宿主特異性の検定の結果から、これらの3菌株を *Aphanomyces cochlioides* Drechsler と同定した。

考 察

札幌市のハウレンソウから分離された糸状菌の病原性の検定と同定を行った。その結果、ハウレンソウの病原糸状菌として、*Pythium* 属菌4種、*Rhizoctonia* 属菌2種、*Aphanomyces cochlioides* および *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* の計8種が確認された。さらに、同定に供試しなかった糸状菌については、形態並びにその菌が引き起こしたと思われる現地における病徴などを参考におおよその同定を試みた。これらの病原糸状菌の病原性並びに北海道の主要ハウレンソウ産地における検出状況を取りまとめて Table 18 に示した。

ハウレンソウの立枯病は *Pythium* spp. あるいは *Rhizoctonia solani* による子葉期を中心とし

た生育時期に発生する土壤病害である。府県ではこれまでに本病害の病原糸状菌についての多くの報告がなされており、奈良県⁴⁶⁾では *P. aphanidermatum*、徳島県²⁹⁾では *P. ultimum*、大阪府⁴⁷⁾では *P. butleri*、さらに岐阜県⁶⁰⁾では *P. aphanidermatum*、*P. paroecandrum*、*R. solani* AG-2-2、同AG-4、同AG-5などが立枯病の病原として確認されている。

このように立枯病の病原糸状菌の種類は多岐にわたっており、本節の北海道内における調査でも立枯病の病原として、*Pythium* sp.、*P. ultimum*、*P. aphanidermatum*、*P. spinosum*、*R. solani* AG-4 および同AG-5の6種が確認された。中でも、*Pythium* sp. および *P. ultimum* の分離された圃場数は各調査地域とも多いことから、これら2菌が各地域のハウレンソウ圃場で発生した立枯病の主原因と結論される。しかし、これら2菌の病原性は *A. cochlioides* に比べて弱く、また、これらによる被害は間引き前の株数の多い子葉期にほぼ限られているため、株数減少に伴う収量低下は比較的軽微であった。

一方、*P. aphanidermatum* は強い病原性を有す

Table 18. Detection of pathogenic fungi from spinach grown at main cropping areas in Hokkaido pref. (1984-1985)

Disease	Pathogen	Pathogenicity at various growth stages ^{a)}		Number of fields in which fungi were detected			
		Cotyledon	5-leaf	Sapporo (40) ^{b)}	Ohno (5)	Nanae (4)	Takasu (11)
Damping-off	<i>Pythium</i> sp.	+	-	16	3	4	4
	<i>P. ultimum</i>	+	-	9	4	3	2
	<i>P. spinosum</i>	+	-	1	0	0	1
	<i>P. aphanidermatum</i>	+++	+++	1	0	0	0
Damping-off & foot rot	<i>R. solani</i> AG-4	+	-	3	0	1	1
	<i>R. solani</i> AG-5	+	-	1	0	0	0
Root rot	<i>A. cochlioides</i>	+++	+++	7	0	1	1
Wilt	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>spinaciae</i>	+++	+++	17	1	0	5

a) Pathogenicity ; +++ : strong, + : weak, - : unclear.

b) Number in parentheses indicates no. of fields in which fungi were detected from spinach.

るため、その被害は十分に懸念されるが、次の理由により北海道内において被害が広がる可能性は低いと考えられた。①高温性の菌であることから (Table 8), 冷涼な北海道における本菌の分離例は、以前に十勝管内音更町で軽微な発生をみたキュウリ綿腐病で認められたのみで極めて少ない⁸⁵⁾。②今回の調査でも本菌が分離された圃場数が1圃場と少ない。

また、*P. spinosum*, *R. solani* AG-4 および *R. solani* AG-5 はともに分離圃場数が少なく、加えてハウレンソウに対する病原性も極めて強いとはいえ、現地圃場におけるこれらの病原糸状菌による被害は軽微であったものと推察された。これらのことから、*Pythium* spp. や *R. solani* によって引き起こされる立枯病の被害は集中的な発生をみない限り、北海道内において現在のところ大きな問題とはなっていないと結論される。なお、岐阜県の夏どりハウレンソウの立枯病に対しても、これとほぼ同様の見解が示されている⁸⁴⁾。

これに対し、根腐病と萎ちょう病のそれぞれの病原糸状菌である *A. cochlioides*, *F. oxysporum* f.sp. *spinaciae* は、生育中期のハウレンソウに対しても強い病原性を有するため、両土壤病害による生育阻害は生育中期以降に顕著に現れた。すなわち、地上部の萎ちょう黄化に伴う外観品質の低

下はもとより、株数減少と生育不良に基づく収量低下も著しく、多発生圃場では廃耕に追い込まれることも少なくなかった。以前から札幌市の有明地区で問題となっていた「鎌いらず」症は次の理由から *A. cochlioides* による根腐病によって引き起こされることが判明した。①罹病根から *Aphanomyces* 属菌が多く検出された。②同菌は生育中期 (5葉期) のハウレンソウに対して病原性を有し、現地とほぼ同様の病徴を引き起こした。③同菌は *A. cochlioides* と同定された。また、子葉期株に発生する根腐病の病徴は *Pythium* spp. による立枯病に酷似することが判明した。

以上の実態調査の結果、次のことが結論として得られた。①北海道のハウレンソウ産地でその被害が問題となる主な土壤病害は、*Pythium* spp. による立枯病、*A. cochlioides* による根腐病および *F. oxysporum* f.sp. *spinaciae* による萎ちょう病の3種類である。②中でも、病原性の強い糸状菌によって引き起こされる根腐病および萎ちょう病の被害は甚大であることから、これらの防除対策の確立が急務である。そこで、次章以降では、本道のほぼ全域に生息分布²⁾している *A. cochlioides* によって引き起こされる根腐病を中心に、発生機構の解明とその生態的防除法についての検討を行った。

第三章 根腐病の発生に及ぼす土壌環境要因の影響とその機構

第1節 根腐病の発生に及ぼす 土壌化学性の影響

土壌は根腐病発生場である。すなわち、土壌中に生息している病原糸状菌である *A. cochlidioides* がホウレンソウの根部に感染・侵入することにより、根腐病が発生する。したがって、土壌中に存在する施肥や土壌母材由来の無機成分は、根腐病の発生に対してなんらかの影響を与えているものと推察される。そこで、現地実態調査およびモデル実験を通じ、*A. cochlidioides* による根腐病の発生に関与する土壌環境要因を土壌の化学性の面から検討した。

1. 現地実態調査

調査方法

1984年から1985年にかけて、札幌市有明地区の30圃場を対象に調査を実施した。30圃場における栽培方法別の内訳は露地栽培：9圃場，ハウス栽培：21圃場であった。各圃場のそれぞれ20地点から罹病株2個体とその周りの地中深10cmまでの土壌を採取して、根部から *Aphanomyces* 属菌を検出し、さらに次に示す方法により土壌の化学性を分析した^{11,22)}。なお、りん酸および交換性塩基は酸化物に換算して表示した。

pH(H₂O)：土液比1：5，ガラス電極法。電気伝導率：土液比1：5，ECメーターで測定。硝酸態窒素：フェノール硫酸法，有効態りん酸(Truog-P₂O₅)：硫酸モリブデン法。交換性塩基：1N酢酸アンモニウム溶液(pH：7.0)で抽出

後、カリウムは炎光法で、カルシウムとマグネシウムは原子吸光法でそれぞれ分析。塩基交換容量：ショウレンベルガー法でアンモニアを抽出後、ホルモール法によりアンモニアを定量。なお、これ以後の実験では、記載の無い限り上記の方法に従い土壌の化学性を分析した。

結果

調査圃場の土壌化学性と根部からの *A. cochlidioides* の検出率との相関関係を Table 19 に示した。検出率と有意な相関関係が認められたのは土壌 pH のみであった。すなわち、Fig. 3 に示したように検出率は、中性域(6.5~7.5)で高く、酸性域で低い傾向を示した。次に、土壌 pH の高低に関与する要因について検討した結果、土壌 pH と交換性 CaO 含量、Ca 飽和度間には相関関係が認められなかったが、pH と硝酸態窒素(以後、NO₃

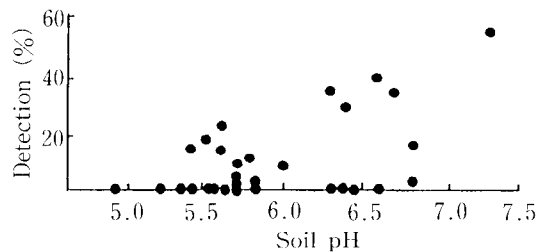


Fig. 3. Relationship between soil pH and detection frequency of *A. cochlidioides* from spinach seedlings at 30 fields in Sapporo city (1984-1985). Detection (%) = no. of *A. cochlidioides*/no. of root segments tested. Correlation coefficient = 0.409 ($p < 0.05$).

Table 19. Coefficients^{a)} of correlations between chemical properties of soil and percentage of detection of *A. cochlidioides* at 30 fields in Sapporo city^{b)} (1984-1985)

pH	Electric conductivity	NO ₃ N	Truog P ₂ O ₅	Exchangeable base			Cation exchange capacity
				K ₂ O	CaO	MgO	
0.41*	-0.29	-0.30	0.08	-0.03	0.18	-0.05	-0.01

a) * : significant at $p=0.05$.

b) Ariake area.

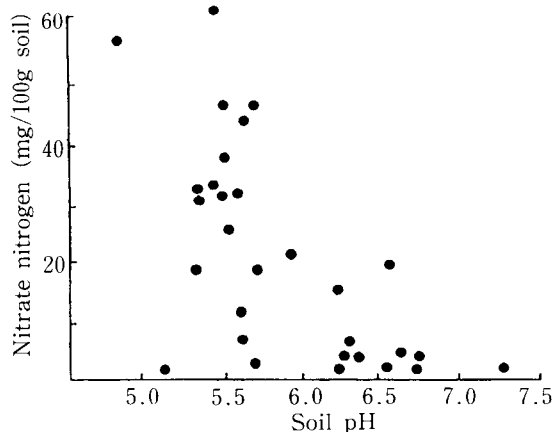


Fig. 4. Relationship between soil pH and content of nitrate nitrogen in soil at 30 fields in Sapporo city (1984-1985). Correlation coefficient=0.582 ($p < 0.01$).

-N と略す) との間には有意な負の相関関係 ($r = -0.582$, $P < 0.01$) が認められた (Fig. 4)。そこで、土壤の $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量と *A. cochlioides* 検出率との関係 (Fig. 5) をみると、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量 5 mg/100 g 以下では検出率が高い傾向にあった。

これらのことから、*A. cochlioides* が根部から多く検出される根腐病の多発生圃場では、土壤 pH が中性域でかつ $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量が 5 mg/100 g 以下の欠乏域にある場合が多いと考えられた。

2. 根腐病の発生に及ぼす土壤の pH および $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量の影響

実験方法

実態調査の結果、根腐病の発生に土壤 pH および $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量の影響が考えられたので、ポット実験によりこれらの土壤要因が根腐病の発生に及ぼす影響の解析を試みた。

1) 根腐病多発生土壤を用いた実験

A. cochlioides の検出率が 51.3% と最も高かった札幌市有明地区の村重ハウス圃場の土壤を供試して、根腐病の発生に対する土壤酸性化処理および $\text{NO}_3\text{-N}$ 施用の影響を検討した。供試土壤は pH が 7.3 と高く、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量は 1.9 mg/100 g と少なかった。その他の土壤の化学性は、 $\text{Truog-P}_2\text{O}_5$: 72 mg/100 g, 交換性 (以後、ex と略す)

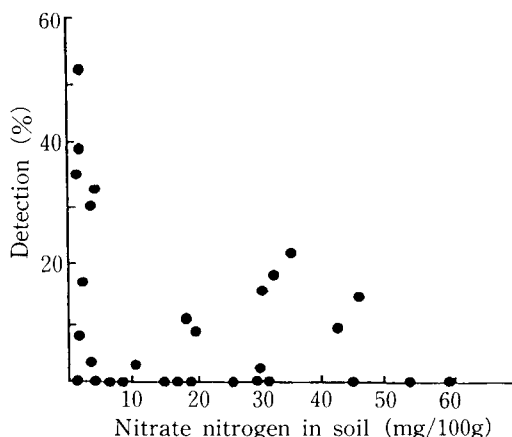


Fig. 5. Relationship between nitrate nitrogen in soil and detection frequency of *A. cochlioides* from spinach seedlings at 30 fields in Sapporo (1984-1985). Correlation coefficient=0.302.

K_2O : 79 mg/100 g, ex-CaO: 317 mg/100 g, ex-MgO: 46 mg/100 g, 塩基交換容量: 16.5 me/100 g であった。処理区として次の 5 処理を 3 反復で設定した。①対照区: 無処理病土。② $\text{NO}_3\text{-N}$ 15 mg/100 g 施用区: 硝酸カルシウム「 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 」を使用。③ $\text{NO}_3\text{-N}$ 30 mg/100 g 施用区: 硝酸カルシウムを使用。④土壤酸性化処理区 (pH 6.0): 0.4 N 硫酸で pH 調整。⑤土壤酸性化処理区 (pH 5.5): 0.3 N 硫酸で pH 調整。

無殺菌の生土 500 g に対して、これらの処理を行った後、病土を素焼鉢に詰め、鉢当たり 10 粒の催芽ホウレンソウ種子を播種した。実験は 25°C の温室内で行った。

2) 接種実験

殺菌土に対して *A. cochlioides* を接種して、発病に対する土壤の pH および $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量の影響を検討した。処理区として次の 2 系列を設定した。①pH 系列: 土壤 pH 5 段階 (5.5, 6.2, 6.5, 7.0, 7.5) × 接種 4 方法 (無接種, 遊走子: 10, 10^3 個/g 土壤, 菌糸) × 4 反復。本実験は窒素, リン酸, カリ無施用条件下で実施した。② $\text{NO}_3\text{-N}$ 施用系列 (硝酸カルシウム): $\text{NO}_3\text{-N}$ 施用量 4 段階 (0, 20, 40, 80 mg/100 g) × 接種 6 方法 (無接種, 遊走子: 10, 10^3 個/g 土壤, 卵孢子: 20, 200 個/g 土

壤, 菌糸) × 4 反復。本実験はりん酸, カリ無施用条件下で実施した。

供試土壌として, 中粒質の褐色低地土である北海道立中央農試圃場の土壌を用いた。NO₃-N 施用系列に供試した土壌の化学性は, pH: 6.2, NO₃-N: 1.6 mg/100 g, ex-K₂O: 34 mg/100 g, ex-CaO: 260 mg/100 g, ex-MgO: 108 mg/100 g であった。また, pH 系列の pH 6.2 処理区ではこの供試土壌を用い, これより pH の高い処理区は pH を炭酸カルシウムで調整した。pH 5.5 の処理区には炭酸カルシウム無施用でハクサイを 4 年間栽培した圃場の pH 5.5 の土壌を用いた。土壌 pH の調整はハウレンソウの播種前に行ったが, NO₃-N 施用系列における NO₃-N の施用は発芽後の子葉期 (接種前) に液肥の形態で行った。

乾土 500 g を充填したポットに催芽ハウレンソウ種子を 20 粒播種した。発芽後間引きを行い, ポット当たり 15 個体に調整し子葉期に接種を行った。A. *cochlioides* の接種菌株として A-K-1 株を用いた。なお, 以後の実験では記載の無い限り, 供試した A. *cochlioides* の菌株は A-K-1 であった。

次の方法により接種源を調製した。遊走子: Herr²¹⁾ の方法に準拠して生成させた。菌糸: 径 9 cm のペトリ皿内の CMA (Difco 社製) 上で 25°C

で 7 日間培養した含菌寒天に殺菌水を加えてミキサーでホモジネートし, 懸だく液を得た。ポット当たり, 1 ペトリ皿の含菌寒天から得られた懸だく液 50 ml を接種した。卵孢子: CMA 培地 (Difco 社製) 上で 3 週間供試菌株を培養し, 卵孢子の生成を確認した後, 培地上の卵孢子を含む菌叢をかきとり, 乳鉢に入れた。得られた菌叢をクリーンベンチ内で 10 時間乾燥させ, 菌糸の死滅を図った。次に乳鉢に殺菌水を加え, 卵孢子の懸だく液を得た。

NO₃-N 施用系列については接種前の間引き調整時に, ハウレンソウ無作付のポットにも NO₃-N を施用し, 100 ml の採土管で NO₃-N 系列の各処理区の土壌を採取した。飽水後, 遠心分離器で pF 3.8 までの土壌溶液を採取し, 溶液中の NO₃-N 含量をフローインジェクション法により定量した。なお, 実験は 25°C の温室で行った。

結 果

根腐病多発生土壌の化学性改善処理が発芽後 10 日目のハウレンソウにおける根腐病の発生に及ぼす効果を Table 20 に示した。土壌酸性化処理に比べて NO₃-N 施用処理の発生抑制効果が大きかった。とりわけ, 30 mgN/100 g 施用区で顕著に発生は抑えられ, 対照区の立枯れ株率は 84.2% と高かったのに対し, 30 mgN/100 g 施用区では

Table 20. Effect of nitrate application and soil acidification on severity of *Aphanomyces* root rot of spinach in infested soil^{a)}

Soil amendment	Soil pH (water)	NO ₃ -N (mg/100 g soil)	Root rot plants ^{b)} (%)
Infested soil (control)	7.3	1.9	84.2
Nitrate application (N: 15 mg/100 g) ^{c)}	7.1	16.9 ^{d)}	38.3
Nitrate application (N: 30 mg/100 g) ^{c)}	7.2	31.9 ^{d)}	12.5
Decrease in pH (6.0) ^{e)}	5.8	1.9	73.0
Decrease in pH (5.5) ^{e)}	5.5	1.9	55.1

- a) Infested soil used for tests was collected from a field where *Aphanomyces* root rot was most severe in Ariake area of Sapporo city in 1985 (% of detection of *A. cochlioides* from spinach was 51.3).
 b) All values are averages of 3 replicates. Ten seeds of spinach were sown per pot. Observed at 10 days after germination.
 c) Nitrogen as calcium nitrate was applied.
 d) Calculated value; the applied nitrogen + the amount of nitrogen of control plot.
 e) Adjusted with sulfuric acid (0.3 N and 0.4 N).

Table 21. Effect of soil pH on severity of *Aphanomyces* root rot of spinach in soil infested with *A. cochlioides*

Soil pH	% of diseased plants (10 days after inoculation ^{a)})			
	Zoospores ^{b)} (no./g soil)		Mycelia ^{c)}	Control
	10	10 ³		
5.5	16.7 ^a	73.3 ^a	8.3 ^a	0
6.2	45.0 ^{bc}	85.0 ^a	26.7 ^b	0
6.5	46.7 ^{bc}	83.3 ^a	33.7 ^{bc}	0
7.0	60.0 ^b	83.3 ^a	45.0 ^c	0
7.5	36.7 ^c	76.7 ^a	38.3 ^{bc}	0

a) All values are averages of 4 replicates.

Inoculations were made to cotyledons of 15 plants per pot.

Sterilized soil was used.

In each row, means followed by the same letter are not significantly different by the Duncan's new multiple range test ($p < 0.01$).

b) The zoospores were produced from mycelia grown in a 0.3% peptone solution according to Herr's method²¹⁾.

c) Inoculum per pot was a suspension (50ml) of mycelia grown at 25°C for 7 days on corn meal agar (Difco) in a 9 cm Petri plate.

Table 22. Effect of nitrate nitrogen level on severity of *Aphanomyces* root rot of spinach in soil infested with *A. cochlioides*

Nitrate nitrogen applied (mg/100g soil)	Conc. of nitrate nitrogen in soil solution ^{d)} (ppm)	% of diseased plants at various inoculums ^{a)}						Plant height of Control (cm)
		10 days after inoculation			30 days after inoculation			
		Zoospores ^{b)}	(no./g soil)	Mycelia ^{c)}	Oospores ^{c)}	(no./g soil)	Control	
		10	10 ³		20	200		
0	14	36.7 ^a	86.7 ^a	31.7 ^a	73.3 ^a	98.3 ^a	0	4.4 ^a
20	178	5.0 ^b	48.3 ^b	5.0 ^b	0 ^b	5.0 ^b	0	8.2 ^b
40	236	tr. ^b	20.0 ^c	tr. ^b	0 ^b	0 ^b	0	7.1 ^c
80	650	tr. ^b	5.0 ^d	tr. ^b	0 ^b	0 ^b	0	5.9 ^d

a) See legend a) of Table 21.

b) See legend b) of Table 21.

c) The oospores were obtained from colonies containing oospores grown for 3 weeks on Difco's CMA by drying mycelia at room temperature for 10 hours on a clean bench. The colonies were obtained by scraping up from the surface of the culture.

d) The concentration of NO₃-N in soil solution from pF 1.5 to pF 3.8 was analyzed.

e) See legend c) of Table 21.

12.5%と低かった。

これと同様の結果は殺菌土を用いた接種実験でも観察された。すなわち、高い感染ポテンシャル下にあった遊走子 10³/g 接種区では土壌 pH の影響は判然としなかったのに対し (Table 21, Plate V-1), NO₃-N 施用量の増加に伴いいずれの接

種方法においても発病株率は著しく低下した (Table 22)。特に、この現象は土壌溶液中の NO₃-N 含量 200 ppm 以上で顕著であった (Plate V-2)。なお、無接種系列の窒素無施用区および NO₃-N を過剰施用した 80 mgN/100 g 区ではそれぞれ、窒素欠乏と窒素過剰により生育が抑制さ

Table 23. Inorganic salts and ions tested in experiment for clarifying effect of inorganic salt application on severity of *Aphanomyces* root rot of spinach

Inorganic salt tested	ion	Rate of inorganic ion and elements application				
		Ion applied (mmol/kg soil)		Inorganic element (mg/100g soil)		
				Element	7.2mmol	14.4mmol
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	NO ₃ ⁻	7.2	14.4	N	10	20
(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ ⁺	7.2	14.4	N	10	20
NH ₄ Cl	NH ₄ ⁺	7.2	14.4	N	10	20
KCl	K ⁺	7.2	14.4	K	28	56
CaCl ₂ · 2H ₂ O	Ca ²⁺	7.2	14.4	Ca	29	58
MgSO ₄	Mg ²⁺	7.2	14.4	Mg	18	36

れた。

前節の現地実態調査において、根腐病の発生には土壤 pH と NO₃-N の両者が関与していると考えられたが、これらのポット実験の結果から、根腐病の発生には土壤 pH に比べて NO₃-N 含量がより密接に関与しており、根腐病は NO₃-N 欠乏域で多発生することが示された。

3. 根腐病の発生に及ぼす各種無機塩の影響 実験方法

北海道立中央農試圃場の土壤を供試した。供試土壤の化学性は、pH：6.5, NH₄-N：0.4 mg/100 g, NO₃-N：0.3 mg/100 g, Truog-P₂O₅：39 mg/100 g, ex-K₂O：30 mg/100 g, ex-CaO：215 mg/100 g, ex-MgO：129 mg/100 g, 塩基交換容量：15 me/100 g であった。

ノイバイエルポットに殺菌した乾土 400 g を充填し、催芽ホウレンソウ種子を 20 粒播種した。発芽後、ポットの内壁に装着した径 8 mm のガラス管の給水パイプから、Table 23 に示した所定のイオン濃度、すなわち 7.2, 14.4 mmol/kg 土壤の割合で各無機塩の水溶液 80 ml を注入した。間引き後、ポット当り 12 個体の子葉期株に対して *A. cochlioides* の遊走子を 10³/g 土壤の割合で接種した。遊走子は横沢⁹⁶⁾の方法により生成させた。なお、これ以後の実験では記載の無い限り、遊走子の生成は横沢の方法によった。実験は 4 反復で行い、25°C の温室内で発病の経過を観察した。

結 果

低濃度水準 (7.2 mmol/kg) では硝酸カルシウ

ムおよび塩化カリウム施用区で根腐病の発生が抑えられたが、高濃度水準 (14.4 mmol/kg) ではないずれの無機塩施用区においても根腐病の発生は低下した (Table 24, Plate V-3)。中でも、各濃度水準を通じ、硝酸カルシウム施用区で発生が最も少なく、とりわけ高濃度水準でこの現象は顕著であった。すなわち、高濃度水準における硝酸カルシウム施用区の根腐病発生は 18.8% であったのに対し、他の無機塩区では 45~70% 台であった。

考 察

窒素^{1,16,19,90)}、燐酸^{1,33)}、カリ⁹¹⁾等の無機塩を施用することにより *Aphanomyces* 病の発生が抑制されることは既に 1920 年代の後半以降、多く報告されている。中でも、窒素施用により発生が抑制された事例は多い。Afanasiev ら¹⁾は *A. cochlioides* によるテンサイの黒根病の発生の抑制に対してアンモニア態窒素に比べて硝酸態窒素の効果が大きいことを観察した。また、Walker ら⁹⁰⁾は *A. euteiches* によるエンドウの根腐病の発生の抑制に対してりん酸やカリに比べて窒素の施用効果が大きいことを示唆した。

ホウレンソウの根腐病でも次に示すように、ほぼ同様の現象が認められた。①根腐病は土壤 pH が 6.5~7.5 の中性域で、かつ土壤 NO₃-N 含量が 5 mg/100 g 以下の圃場で多発生する傾向にあった (Fig. 3, 5)。②根腐病多発生土壤を用いた実験および殺菌土壤に対する接種実験の結果、根腐病の発生に対する土壤の NO₃-N 含量の影響は土壤 pH に比べて大きく (Table 20, 21)、土壤溶液

Table 24. Effect of inorganic salts on severity of spinach root rot in soil infested with *A. cochlioides*

Inorganic salt tested (ion)	Diseased plants ^{a)} (%)	Rate of ion application ^{b)} (mmol/kg soil)	
		7.2	14.4
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O (NO ₃ ⁻)	50.0 ^a	18.8 ^a	
(NH ₄) ₂ SO ₄ (NH ₄ ⁺)	83.3 ^{bc}	60.4 ^b	
NH ₄ Cl (NH ₄ ⁺)	87.5 ^{bc}	56.3 ^{bc}	
KCl (K ⁺)	75.0 ^b	66.7 ^{bc}	
CaCl ₂ · 2H ₂ O (Ca ²⁺)	85.4 ^{bc}	43.8 ^c	
MgSO ₄ (Mg ²⁺)	91.7 ^c	71.2 ^e	
Control	100.0 ^c	100.0 ^f	

- a) Observed on the 10th day after inoculation. All values are averages of 4 replicates. In each row, means followed by the same letter are not significantly different by the Duncan's new multiple range test ($p < 0.01$). Inoculations were made to cotyledons of 12 plants per pot. No. of *A. cochlioides* zoospores inoculated was 10³/g in soil (sterilized). Zoospores were produced according to Yokosawa's method⁹⁶⁾.
- b) The rate of cations and nitrate ion application.

中の NO₃-N 濃度が約 200 ppm 以上になると根腐病の発生は顕著に低下した (Table 22)。③各種無機塩を供試した接種実験の結果、高濃度水準 (14.4 mmol/kg) では、いずれの無機塩も根腐病の発生に対して抑制効果を示したが、中でも硝酸カルシウムの抑制効果は最も高かった (Table 24)。

硝酸カルシウム「Ca (NO₃)₂ · 4 H₂O」の構成無機イオンは Ca²⁺ と NO₃⁻ であることから、根腐病の発生に対する硝酸カルシウムの抑制効果は、これら両イオンのいずれかあるいはその両者によると考えられるが、次の理由から、NO₃⁻ の効果は Ca²⁺ に比べて大きいと判断される。すなわち、硝酸カルシウム施用区に添加された NO₃⁻ と塩化カルシウム施用区の Ca²⁺ は等 mmol であり、かつ塩化カルシウム区の Ca²⁺ は硝酸カルシウム区の Ca²⁺ より高濃度であったにもかかわらず

ず、塩化カルシウム区に比べて硝酸カルシウム施用区において根腐病の発生が顕著に抑えられたことは、NO₃⁻ イオンが Ca²⁺ イオンに比べて高い発生抑制効果を有することを示している。これらのことから、供試した無機塩はいずれも発生抑制効果を有しており、中でも、硝酸カルシウムの効果は高く、硝酸塩の NO₃⁻ イオンがその効果の主体であると考えられることができる。

NO₃-N 施用に伴い、ハウレンソウの根腐病の発生が抑制される一つの原因として、宿主の旺盛な生育に基づく病害抵抗力の増大が考えられる。しかし、殺菌土を用いて拮抗菌の影響を消去した実験系における 80 mgN/100 g 施用区では、窒素過剰による宿主の生育抑制が認められたにもかかわらず、根腐病の発生が顕著に低下した (Table 22)。このことから、病原菌の感染ポテンシャルの低下に対して NO₃-N が影響を及ぼす可能性が想定された。

第2節 *Aphanomyces cochlioides* Drechsler の遊走子感染に及ぼす硝酸態窒素の影響とその機構

前節において、土壤溶液中の NO₃-N 濃度が 200 ppm 以上になると根腐病の発生が著しく低下すること、また硝酸塩は他の無機塩に比べて根腐病の発生に対する抑制効果の高いことが示唆された。この現象を解明するために、本節では直接の感染源である *A. cochlioides* の遊走子に対する宿主の感受性および遊走子の感染ポテンシャルに及ぼす NO₃-N の影響を *in vitro* で検討した。

1. *A. cochlioides* の菌糸起源の遊走子生成に及ぼす硝酸塩水溶液濃度の影響

実験方法

0.3% のペプトン水溶液 100 ml を加えた 200 ml 容の三角フラスコ内で、*A. cochlioides* を 25°C で 5 日間培養した。得られた菌糸を殺菌した濾紙上で 100 ml の殺菌水で数回洗浄した。次に 1 フラスコ分の菌糸を下記の NO₃-N 水溶液 25 ml の入った 50 ml 容の三角フラスコ内で 25°C で 20 時間培養した。培養後、生成した 1 次、2 次遊走子

の合計数をトーマの血球計算盤で数えた。処理区として、硝酸態窒素の塩の種類2（硝酸カルシウム、硝酸カリウム）×NO₃-N濃度6段階（0, 25, 50, 100, 200, 400 ppm）の計12処理を3反復で設定した。

結果

A. *cochlioides* の菌糸起源の2次遊走子の生成

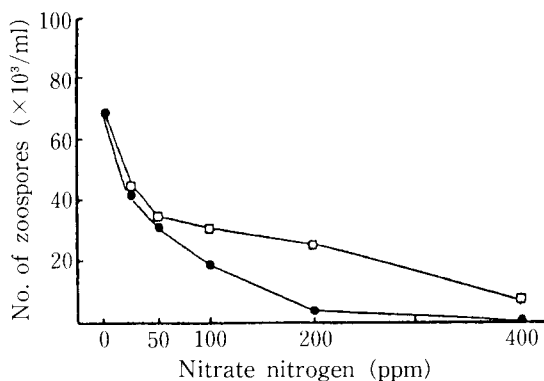


Fig. 6. Effect of nitrate nitrogen level on zoospore production from mycelia of *A. cochlioides*. Mycelia used for tests were grown in erlenmeyer flasks containing 100 ml of 0.3% peptone solution at 25°C for 5 days. After rinsing with distilled water several times, the mycelial mat was put into erlenmeyer flask containing 25 ml of each nitrate solution and incubated 25°C for 20 hours. □: Calcium nitrate, ●: Potassium nitrate.

は硝酸塩の種類を問わず、NO₃-N濃度が高まるに伴い漸次阻害された (Fig. 6)。

2. *A. cochlioides* の遊走子感染に及ぼす宿主の感受性と硝酸塩水溶液濃度の影響

実験方法

遊走子の感染時における宿主の感受性に及ぼすNO₃-Nの影響を明らかにするために次の実験を行った。殺菌土を使用してNO₃-N: 0, 20, 40, 80 mgN/100 gの4段階の施用量でポット栽培したホウレンソウの子葉期の株各5個体を径9 cmのペトリ皿に移した後、*A. cochlioides*の2次遊走子(30×10³個/ml)懸だく液15 mlを加え、遊走子の宿主への集積・感染を経時的に観察した。

さらに、遊走子の感染に対する土壌溶液中のNO₃-Nの影響を明らかにするためにモデル実験を行った。NO₃-N: 20 mgN/100 gの施用量で栽培したホウレンソウの子葉期の株の根元に近い胚軸部を0.5 cmの長さで切り取った。次にNO₃-N: 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 ppmの5倍液3 mlを加えたペトリ皿内に切り取った胚軸を各5本ずつ置床させ、その後速やかに12 mlの遊走子の懸だく液(30×10³個/ml)を加えて攪はんした。24時間後に胚軸表面に形成された遊走子の集積箇所数を光学顕微鏡で測定した。

Table 25. Accumulation of secondary zoospores of *A. cochlioides* and infection on spinach seedlings cultivated at various levels of nitrate nitrogen^{a)}

N level applied (mg/100g)	No. of masses consisting of secondary zoospores ^{b)}				Infection on surface of hypocotyl			
	After 1 hour			24 hours Hypocotyl (B) ^{d)}	4 days after inoculation			
	Hypocotyl (A) ^{c)}	(B) ^{d)}	Root		Total	Hypocotyl discoloration	Formation of : Zoosporangia Oospores	
0	1.3	2.1	0.5	3.9	5.6	+ ^{e)}	+	+
20	1.5	2.2	0.1	3.8	6.5	+	+	+
40	2.3	2.2	0.2	4.7	7.0	+	+	+
80	1.3	1.9	0.2	3.4	6.2	+	+	+

a) Seedlings grown in soil at 4 levels of nitrogen as calcium nitrate were put into Petri plate containing a suspension (15ml) of secondary zoospores (30.0×10³/ml, motile: 11.0×10³/ml, encysted: 19.0×10³/ml).

b) The mass formation of secondary zoospores was observed on the surface of the hypocotyl and root.

c) Adjacent to leaf (length: 0.5cm)

d) Adjacent to root (length: 0.5cm)

e) Organs or discoloration were observed on the tissues of hypocotyl (B).

結果

NO₃-Nの施肥量を変えて栽培したホウレンソウの子葉期の株に対する *A. cochlioides* の2次遊走子の集積・感染の様子を蒸留水中で観察した結果、いずれの処理区においても2次遊走子は根に近い胚軸部に特異的に多く誘引され、集積した (Plate V-4) が、集積・感染に対する処理の差は判然としなかった (Table 25)。

これに対し、NO₃-N濃度を異にする水溶液中では、NO₃-N:200 ppm以下において2次遊走子の宿主胚軸部への集積・感染が観察されたが、300 ppm以上ではほとんど認められなかった (Fig. 7)。このことから、NO₃-Nは遊走子感染に対する宿主の感受性よりは遊走子の感染ポテンシャルに対して影響を及ぼすと考えることができる。

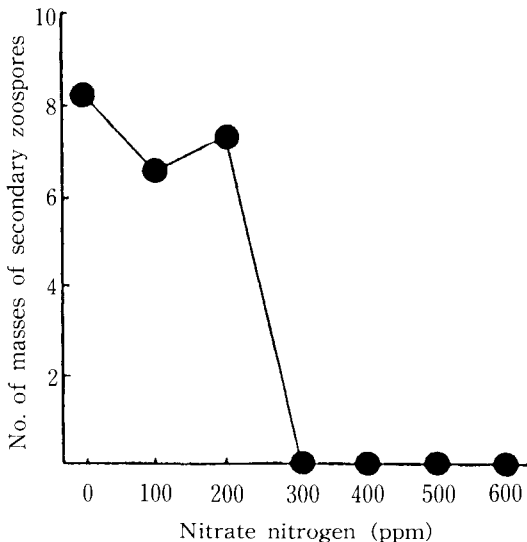


Fig. 7. Effect of nitrate nitrogen level on accumulation of *A. cochlioides* zoospores on the surface of the hypocotyl of spinach. Three ml of a five times concentration of each nitrate solution (as calcium nitrate) was added to 12 ml of a suspension containing secondary zoospores ($30.0 \times 10^3/\text{ml}$, motile: 11.0, encysted: 19.0). Then, 5 segments (length: 0.5 cm) of hypocotyl adjacent to root of cotyledonary plants grown at a nitrogen level of 200 ppm in soil were immediately put into each nitrate solution. After 24 hours, number of the localized masses made of secondary zoospores on the surface of hypocotyl were counted under a microscope.

3. *A. cochlioides* の2次遊走子の運動性に及ぼす硝酸塩水溶液濃度および浸透圧の影響

実験方法

1) NO₃-Nの影響

A. cochlioides はA-K-1とテンサイから分離されたA-2の2菌株を、*A. euteiches* はエンドウから分離されたものを、*P. aphanidermatum* はPy-12菌株をそれぞれ供試した。A-2株は北海道大学の生越教授より、*A. euteiches* は東日本学園大学の横沢教授よりそれぞれ分譲いただいた。これらの4菌株の遊走子生成は全て横沢⁹⁾の方法によった。なお、*P. aphanidermatum* はSchmitthener's培地で、*Aphanomyces*属菌はCMA (Difco社製)培地で前培養後、遊走子生成に供した。

処理区として、0, 50, 100, 200, 300, 400, 600 ppmのNO₃-N濃度7段階(硝酸カルシウム)を設定して下記の実験を3反復で行った。各濃度の5倍液0.2 mlを予め試験管内に入れ、その後2次遊走子と蒸留水との懸濁液を0.8 ml加え、速やかに攪はんした。1時間後に遊走子の形態変化を顕微鏡下で観察した。死滅した遊走子数は次式により算出した。

死滅遊走子数 = 実験開始時の対照区(NO₃-N: 0 ppm)の全遊走子数 - (実験終了時における各処理区の運動性を有する2次遊走子数 + 被のう遊走子数)。実験開始時の各対照区の遊走子数は次の通りであった。*A. cochlioides* (A-K-1): $40 \times 10^3/\text{ml}$ (運動性有り 34, 被のう 6), 同(A-2): $45 \times 10^3/\text{ml}$ (35, 10), *A. euteiches*: $53 \times 10^3/\text{ml}$ (33, 20), *P. aphanidermatum*: $52 \times 10^3/\text{ml}$ (37, 15)。

2) 浸透圧の影響

A. cochlioides (A-K-1)を供試し、次の処理区を設定した。供試試薬3種類(硝酸カルシウム, グルコース, ラクトース)×浸透圧7段階(0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.50, 2.0 bar)×3反復。糖および硝酸塩の浸透圧はファントホッフの式³⁴⁾を用いて計算した。実験の手順は上記の1)と同じであった。実験開始時の各対照区の全遊走子数は、 $40 \times 10^3/\text{ml}$ (運動性有り 26, 被のう 14)であった。

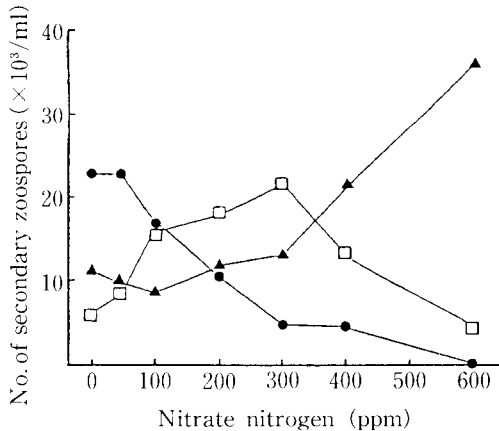


Fig. 8. Effect of nitrate nitrogen level on motility of *A. cochlioides* secondary zoospores. Two tenths ml of a five times concentration of each nitrate solution (as calcium nitrate) was added to 0.8 ml of distilled water containing zoospores. After 1 hour, the observation was made. No. of secondary zoospores at the start of test was $40.0 \times 10^3/\text{ml}$ (motile: 34.0, encysted: 6.0). No. of dead zoospores = $40.0 - (\text{motile} + \text{encysted})$.

●: Motile, □: Encysted, ▲: Dead.

結 果

前項では水溶液中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が 300 ppm 以上になると、*A. cochlioides* の 2 次遊走子によるハウレンソウの胚軸部への集積・感染が観察されなかったことを述べたが、これは感染源である *A. cochlioides* の 2 次遊走子の被のう化（鞭毛が消失し運動性を失う）および死滅に伴う感染ポテンシャルの低下に起因するものであった (Fig. 8)。すなわち、 $\text{NO}_3\text{-N}$: 300 ppm では、被のう化が顕著に起こり、さらにこれ以上の濃度では 2 次遊走子は死滅した。

さらに、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 高濃度域におけるこのような 2 次遊走子の運動性の低下は、テンサイから分離された *A. cochlioides* および遊走子感染する *A. euteiches*, *P. aphanidermatum* などの zoosporic fungi でも認められた (Table 26)。

次に *A. cochlioides* の 2 次遊走子の運動性に及ぼす硝酸塩水溶液の浸透圧の影響をみると (Fig. 9), 対照の糖溶液では 1.5 bar でほとんどの 2 次

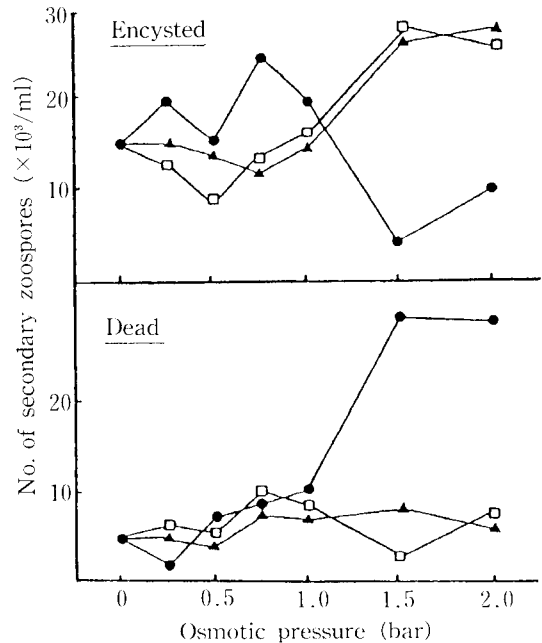


Fig. 9. Effect of osmotic pressure on motility of *A. cochlioides* secondary zoospores. Two tenths ml of a five times concentration of each solution was added to 0.8 ml of distilled water containing zoospores. After 1 hour, the observation was made. No. of secondary zoospores at the start of test was $40.0 \times 10^3/\text{ml}$ (motile: 25.7, encysted: 14.3). Osmotic pressures were prepared according to Van't Hoff's formula. Four hundred ppm (as nitrogen) of nitrate solution corresponded with approximately 1.0 bar.

●: Calcium nitrate, □: Lactose, ▲: Glucose.

遊走子は被のう化した。死滅は認められなかったのに対し、硝酸塩水溶液では 0.75 bar ($\text{NO}_3\text{-N}$: 約 300 ppm) でほとんど被のう化し、さらに 1.5 bar では死滅が著しく増加した。このことから運動性の低下は浸透圧の上昇にも一部起因するが、主に $\text{NO}_3\text{-N}$ の持つ毒性によると考えられた。

考 察

一般に、宿主に対する *Aphanomyces* 属菌の感染は、菌糸状の遊走子のうから放出される運動性を有する 2 次遊走子によって行われる⁹⁸⁾。本節の実験において、*A. cochlioides* の 2 次遊走子は *A. raphani*⁹⁶⁾ と同様の走性を有することが観察され

Table 26. Effect of nitrate nitrogen level in water on motility of secondary zoospores of zoosporic fungi

Conc. of nitrate nitrogen in water ^{b)} (ppm)	No. of secondary zoospores ^{a)} ($\times 10^3$ /ml)								
	<i>A. cochlioides</i> ^{c)}			<i>A. euteiches</i> ^{d)}			<i>P. aphanidermatum</i> ^{e)}		
	Motile	Encysted	Dead ^{f)}	Motile	Encysted	Dead ^{f)}	Motile	Encysted	Dead ^{f)}
0	28	8	9	20	26	7	29	29	4
50	23	13	9	18	27	8	29	13	10
100	27	17	1	20	18	15	24	21	7
200	23	17	5	10	33	10	7	29	16
300	12	22	11	0	36	17	0	21	31
400	8	32	5	0	33	20	0	19	33
600	3	27	15	0	26	27	0	8	44

- a) Two tenths ml of a five times concentration of nitrate solution was added to 0.8ml of distilled water containing zoospores. After 1 hour, the observation was made.
- b) Nitrate nitrogen as calcium nitrate was used.
- c) The isolate (A-2) from sugarbeet was tested. Total number of zoospores at the start was 45 ($\times 10^3$ /ml).
- d) The isolate from pea was tested. Total number of zoospores at the start was 53 ($\times 10^3$ /ml).
- e) The isolate (Py-12) from spinach was tested. Total number of zoospores at the start was 52 ($\times 10^3$ /ml).
- f) Calculated values: No. of dead zoospores = Total number of zoospores at the start - (No. of motile secondary zoospores after 1 hour + No. of encysted zoospores).

た。すなわち、*A. cochlioides* の2次遊走子は水中を泳いでハウレンソウの根に近い胚軸部に多く集まり、集塊を形成したのち宿主に侵入した (Table 25)。この感染過程において、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は宿主の感受性よりも次に示すように2次遊走子の感染ポテンシャルに作用することが認められた。①硝酸塩水溶液中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が高まるに伴い、菌糸起源の遊走子生成は漸次阻害された (Fig. 6)。②硝酸塩水溶液中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が 300 ppm 以上になると、2次遊走子の被のおよび死滅に伴う感染ポテンシャルの低下が観察された (Fig. 8)。③この感染ポテンシャルの低下は、主に $\text{NO}_3\text{-N}$ の持つ毒性によるものであり、浸透圧の影響は小さかった (Fig. 9)。

これらの結果から、土壤溶液中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が約 200 ppm 以上で根腐病の発生が顕著に低下した原因は、主に $\text{NO}_3\text{-N}$ による遊走子の生成阻害や2次遊走子の感染ポテンシャルの低下に在ることが示唆された。さらに、*A. euteiches*, *P. aphanidermatum* 等の zoosporic fungi でも $\text{NO}_3\text{-N}$ による同様の感染ポテンシャルの低下が認められた (Table 26)。したがって、

Aphanomyces 属菌や遊走子感染をする一部の *Pythium* 属菌を病原とする土壤病害の発生は、 $\text{NO}_3\text{-N}$ の作用に基づくこのような感染ポテンシャルの低下により抑制されることが想定された。

本節の実験の結果や以下に示す報告例から判るように現在では、*Aphanomyces* 病の発生抑制に対する無機成分の効果は浸透圧のみでは説明できないとされている。Wade⁹¹⁾ はカリ欠乏土壤に対して少量の塩化カリウムを施用することにより、*A. euteiches* によるエンドウの根腐病の発生が抑制されることを観察し、浸透圧が唯一の発生抑制の説明にならないことを示唆した。また Papavizas⁷⁰⁾ は、総説の中でこの Wade の報告と次に示す Afanasiev¹⁾ の報告を引用し、浸透圧に対して Wade と同様の見解を示した。すなわち、Afanasiev¹⁾ は、*A. cochlioides* によるテンサイ黒根病の発生抑制効果が施用窒素の形態やリン酸と窒素の施用比率によってそれぞれ異なることを示し、個々の無機成分のうち、硝酸塩の効果が大であることを報告している。

第3節 根腐病の発生に及ぼす土壌水分および土壌の種類の影響

本章の第1節、2節を通じ、根腐病の発生抑制に対して土壌の無機成分、とりわけ $\text{NO}_3\text{-N}$ が密接に関与していることが明らかとなった。土壌水分は土壌溶液中の無機成分濃度^{4,52,54,74,75,95} や水生菌目に属する *A. cochlioides* の活動に対して影響を及ぼす。また、土壌水分の挙動は土壌の種類によって異なるため、降雨や灌水によって同じ量の水分が供給されても土壌の違いにより、根腐病の発生状況が異なることも考えられる。そこで、本節では土壌水分の挙動に着目して、圃場における水を媒体とした根腐病の発生機構の解明を試みた。

1. 根腐病の発生に及ぼす土壌水分の影響

実験方法

1) 現地雨よけハウスにおける調査

1985年8月21日に札幌市有明地区の農家ハウス1棟に対して雨水の浸入し易いハウスの端に最も近い畦から順次中央に向い、計2畦(5m/畦)について次の調査を実施した。すなわち、子葉期のホウレンソウの立枯れ株率、無作意に畦当たり20個体採取したホウレンソウの根部からの糸状菌分離状況、土壌の含水比および $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量を調査した。

2) 露地における接種実験

1987年7月29日にホウレンソウを北海道立中央農試の圃場に播種した。供試面積は18m²(畦間

30cm、畦長6m)であり、無肥料栽培を行った。1ペトリ皿(径9cm)分の *A. cochlioides* の含菌寒天と蒸留水との懸濁液約1リットルを1畦当りに接種した。すなわち、播種直後に畦に沿って頭上から懸濁液を如露で均一に散布した。なお、接種にはCMA培地(Difco社製)上で25°Cで26日間培養した *A. cochlioides* を用いた。

降雨前の8月5日と降雨後の8月10日の2回にわたり、子葉期のホウレンソウの立枯れ株率、根部からの糸状菌分離状況およびテンションメーターによる土壌水分の変動を調査した。

3) 灌水に伴う土壌の養水分の変化

1986年7月22日に札幌市有明地区のホウレンソウ収穫直後の雨よけハウス1棟に対して灌水チューブによる灌水を90分間行った。灌水後、水は地中深約20cmまで浸透していた。灌水前と後に地表面から地中深15cmまでの土壌を5cm刻みで3層に分けて採取し、養水分の分析に供した。

結 果

雨よけハウスにおける畦別の根腐病の発生状況をTable 27に示した。雨水の浸入し易いハウスの端に最も近い畦(畦番号1)では次の畦(畦番号2)に比べて *Aphanomyces* 属菌が35.0%と多く検出され、根腐病が多発生していた(Plate V-5)。また、畦番号1では土壌の含水比が33.0%と高く、畦番号2に比べてやや多湿条件下にあった。さらに、畦番号1の土壌の $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量は6.5mg/100gと少なく、雨水の浸入による $\text{NO}_3\text{-N}$ の溶脱の影響がうかがわれた。露地における接種実験でも根腐病は、降雨後の多湿条件下(pF 1.8)

Table 27. Incidence of root rot of spinach at each row in vinyl greenhouse (Sapporo, 1985)

Number of row ^{a)}	% of damping off ^{b)} plants	% of detection of fungi ^{c)}			At a soil layer of 0-5cm	
		<i>Aphanomyces</i>	<i>Pythium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	Soil mois. weight (%)	$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/100g)
1	35.4	35.0	5.0	0	33.0	6.5
2	13.1	2.5	5.0	0	28.4	16.7

a) The number 1 was the nearest row to the edge of a vinyl greenhouse.

The number 2 was the second row from the edge of a vinyl greenhouse.

b) Cotyledonary plants in 5 m per row were investigated.

c) Twenty plants were collected at random. No. of root segments tested was 40.

Table 28. Effect of rainfall on outbreaks of spinach root rot in open field infested with *A. cochlioides*

Date of survey ^{a)} (month/day)	Soil water tension (pF)	% of damping-off ^{b)} plants	% of plants with browned root ^{c)}	% of detection of fungi from plants ^{d)}		
				<i>A. cochlioides</i>	<i>Pythium</i>	<i>Rhizoctonia</i>
Before rainfall(8/ 5)	2.9	0.3	10.0	16.7	0	0
After rainfall (8/10)	1.8	15.3	66.7	66.7	4.2	0

- a) Field experiment at Hokkaido Central Agricultural Experiment Station in 1987. Cotyledonary plants were investigated. The precipitation between 5 Aug. and 10 Aug. was 33.5mm.
 b) No. of plants investigated before and after rainfall were 347 and 287, respectively.
 c) No. of plants collected at random before and after rainfall were 30, 24, respectively.
 d) The fungi were detected after investigation of plants with browned root.
 No. of root segments tested was equal to no. of plants collected (see legend c)).

Table 29. Change in content of minerals and water at various soil layers by irrigation at vinyl greenhouse^{a)}

Sampling date of soil	Soil layer (cm)	Soil mois. weight (%)	Soil pH	EC (mS/cm)	Content of minerals (mg/100g soil)					
					Inorganic nitrogen		Truog-P ₂ O ₅	Exchangeable base		
					NO ₃ -N	NH ₄ -N		K ₂ O	MgO	CaO
Before irrigation	0- 5	12.8	6.4	0.88	32.6	1.4	120	76	55	425
	5-10	22.6	6.6	0.26	1.8	0.3	116	59	35	338
	10-15	26.4	6.8	0.10	1.0	0.3	126	68	36	320
After irrigation	0- 5	53.9	6.9	0.14	1.4	0.8	126	63	43	415
	5-10	54.2	6.6	0.41	11.2	0.6	111	69	51	437
	10-15	52.0	6.5	0.56	27.2	0.6	113	74	60	446

- a) Experiment at a field with soil texture of sandy loam in Ariake area (Sapporo, 1986).
 Ninety minutes was spent for irrigation.

で多発することが認められた (Table 28)。すなわち、降雨前の *A. cochlioides* の検出率は 16.7% であったのに対し、降雨後には 66.7% にまで上昇した。

次に、灌水に伴う土壌の養水分の変化 (Table 29) をみると、灌水後、Truog-P₂O₅ を除く土壌の無機養分は溶脱により下層へ移行したため、表層 (0~5 cm) におけるこれらの無機養分含量は減少した。中でも表層における NO₃-N の減少は著しく、灌水前には 32.6 mg/100 g であったものが灌水後には 1.4 mg/100 g まで減少した。

2. 根腐病の発生に及ぼす土壌の種類の影響 実験方法

1) 現地実態調査

土壌の種類および土性の異なる、札幌市有明、

同市新琴似・篠路および上川管内鷹栖町の 3 地域における根腐病の発生状況を比較した。地力保全基本調査の結果²³⁾ によれば、3 地域の土壌の種類は次の通りである。札幌市有明：褐色低地土 粗～中粒質 (土性：SL)，同市新琴似・篠路：褐色低地土 中粒質 (CL)，鷹栖：灰色低地土 中～細粒質 (C~CL) および泥炭土。なお、根腐病の発生状況は前章の結果を引用した。すなわち、有明は第三章第 1 節の現地実態調査の結果、他の調査地域は第二章第 1 節の結果よりそれぞれ引用した。

2) モデル実験

北海道空知管内の三川町で採取した砂土 (淡色黒ボク土、粗粒質、樽前-a, b, c 層の混ざったもの) を供試した。供試土壌の化学性は、pH : 5.9, NH₄-N : 0.4 mg/100 g, NO₃-N : 0.4 mg/100 g,

Truog-P₂O₅ : 0.8 mg/100 g, ex-K₂O : 8 mg/100 g, ex-CaO : 83 mg/100 g, ex-MgO : 11 mg/100 gであった。

上記の殺菌風乾土 170 g にカリ (硫加) およびりん酸 (過石) を酸化物に換算してそれぞれ 10 mg/100 g 添加した後、内径 5.0 cm、高さ 10.5 cm のプルトップ罐に充填した。次に罐当り 10 粒の催芽ハウレンソウ種子を播種した。播種後 7 日目に間引きを行い、子葉期の株を罐当り 6 個体に調整した後、液肥の形態で NO₃-N (硝酸カルシウム) を 30 mgN/100 g 土壌の割合で施用した。

次に、砂質、壤質および重粘質土壌それぞれに特有の降雨時の養水分の挙動を想定して、溶脱、適灌水および湛水処理を 5 反復で加えた。①溶脱処理 (砂質土壌を想定) : 罐底部のプルトップの蓋を外し無底の状態にして、灌水によって土壌の無機成分が溶脱し易い状態にした後、毎日約 15 ml の蒸留水をピペットで土壌表面に散水した。なお、この実験系の飽和透水係数を変水位法により測定¹³⁾した結果、 4.1×10^{-2} cm/s と高く、概ね砂質土壌に特有の飽和透水係数であった。飽和透水係数の実際の測定は、供試した罐と同じ形状となるように 100 ml の採土管 2 本をビニールテープで連結したものに高さ 9.0 cm まで供試土壌を充填した試料で行った。②適灌水処理 (壤質土壌を想定) : 有底の状態のまま、地表面が乾かない程度に蒸留水を適宜頭上から灌水した。③湛水処理 (重

粘質土壌を想定) : 有底の状態のまま給水を行い、地表面に水が約 2 mm の深さで絶えず滞水している状態にした。

このような水管理を 2 日間行った後、*A. cochliformis* の遊走子を 10³/g 土壌の割合で接種した。その後 7 日間にわたり上記の水管理下で栽培を行い、根腐病の発生および跡土の土壌溶液中の NO₃-N 濃度を調査した。溶脱および適灌水処理区では飽水後、pF 1.5~3.8 までの土壌溶液を、湛水処理区では地表面に溜っていた水を NO₃-N の分析に供した。なお、実験は 25°C の温室内で行った。

結 果

現地実態調査の結果を Table 30 に示した。埴壌土の札幌市新琴似・篠路地区では根腐病の発生が認められなかったが、砂壤土を主体とした同市有明地区では調査 30 圃場のうち 56.7% の圃場で根腐病が発生した。また、埴土と埴壤土を主体とした鷹栖町でも 9.1% の圃場で発生が認められた。砂壤土の有明地区において発生割合が他 2 地区に比べて高いことから、砂質土壌で根腐病は発生し易いことが推察された。

そこで、これらの現象を確認するため、土壌の種類と発生の関係を各種土壌に特有の養水分の挙動および状態を設定したモデル実験により検討した。なお、各種土壌の持つ化学性の影響を消去するため同一土壌を供試した。その結果、根腐病の

Table 30. Occurrence of *Aphanomyces* root rot of spinach in growing areas with various soil types

District surveyed during the period 1984-1985	Soil type	Soil texture	Cation exchange capacity ^{a)} (meq/100 g)	No. of fields investigated	Incidence of root rot	
					No. of field	Frequency (%)
Sapporo (Ariake)	Brown lowland soil (coarse-medium textured)	SL	10 - (15) - 26	30	17	56.7
Sapporo (Shinkotoni, Shinoro)	Brown lowland soil (medium textured)	CL	19 - (22) - 30	12	0	0
Takasu	Peat soil or Gray lowland soil (medium - fine textured)	C-CL	23 - (30) - 46	11	1	9.1

a) Minimum - (Average) - Maximum.

Table 31. Effect of leaching and submergence treatments of soil infested with *A. cochlioides* on severity of spinach root rot

Water treatment ^{a)}	% of diseased plants ^{c)}	7 days after inoculation ^{b)}	
		Conc. of NO ₃ -N in soil solution of soil layers ^{d)} (ppm)	
		0-4.5 (cm)	4.5-9.0 (cm)
Leaching ^{e)}	90.0	39	219
Control ^{f)}	30.0	265	367
Submergence ^{g)}	100.0	151	

- a) Soil used was Light-colored Andosol of sandy texture. Sterilized soil was used.
 b) Zoospores were inoculated to soil in pot at the rate of 10⁸ zoospore per g soil, after arranging to 6 cotyledonary plants per pot by thinning (5 replicates).
 c) Thirty plants per treatment were investigated.
 d) Nitrate nitrogen as calcium nitrate applied before sowing was 30mg/100g soil.
 e) Nitrate nitrogen was leached by irrigation (Pot without bottom was employed)
 f) Water content was optimum (Pot with bottom was employed).
 g) Soil was submerged at a depth of 2 mm (Pot with bottom was employed).

発生抑制効果の高い NO₃-N が溶脱し易い砂質土壤や滞水により NO₃-N が希釈される重粘質土壤において根腐病は多発生することが示唆された (Table 31)。すなわち、砂質土壤を想定した溶脱処理区では地中深 4.5 cm までの土壤溶液中の NO₃-N 濃度は 39 ppm にまで低下しており、発生株率は 90% と壤土を想定した適灌水処理区 (30%) に比べて高かった。また、重粘質土壤を想定した湛水処理区でも滞水に伴う希釈によって NO₃-N 濃度の低下が起り、全ての株に根腐病が発生した (Plate V-6)。

考 察

一般に *Aphanomyces* 病は、水中で生成、伝播する遊走子によって引き起こされる水媒伝染性病害であるため、高水分土壤条件下で多発生する^{7,31)}。本節の結果でも、雨水の浸入し易いハウスの端に最も近い畦において、一方露地では降雨後に根腐病が多発生した (Table 27, 28)。また、土壤水分は土壤の無機成分の挙動に影響を及ぼすことが認められた。すなわち、灌水後、地中深 0 ~ 5 cm までの表層の無機成分とりわけ NO₃-N は溶脱により顕著に減少した (Table 29)。

次の理由から判るように、地中深 0 ~ 5 cm の土層域におけるこうした NO₃-N の減少は、*A.*

cochlioides の感染に対して好条件をもたらすものと考えられる。①この土層域では遊走子の生成阻害や被のう化および死滅に伴う運動性の消失による感染ポテンシャルの低下が起らなくなり、遊走子の感染ポテンシャルは高く維持される。②この土層域には子葉期ホウレンソウの被感染部位である胚軸、根の大部分が分布する。

さらに、土壤の無機成分含量は水を介して土壤の物理性の影響を受ける。すなわち、土壤の無機成分とりわけ NO₃-N は、砂質土壤では溶脱により減少⁷⁴⁾し、排水不良な重粘質土壤では滞水などにより希釈され易い。したがって、このような砂質土壤の圃場や滞水し易い重粘質土壤の圃場あるいは透水性の悪い下層土を有する圃場では根腐病の多発生が予想される。この予想は現地実態調査 (Table 30) およびモデル実験 (Table 31) により確認された。このように見て来ると、根腐病発生の引き金は、降雨や灌水によってもたらされる水にあると結論される。