ホウレンソウの土壌病害とその発生に関する土壌肥料学的考察

2．札幌市近郊畑における立枯病について*

赤司　和隆**　前田　要**　阿部　秀夫**

札幌市近郊のホウレンソウ畑40圃場で発生の認められた根腐れ症状株から分離された糸状菌のうち，立枯れ症状株から特異的に多く分離された *Pythium* 属菌の同定を試みた。立枯病の原因となる *Pythium* 属菌として *Pythium* sp.，*P. ultimum* Trow，*P. aphanidermatum*（Edoson）Fitzpatrick，*P. spinosum* Sawada の4種が確認された。なかでも *Pythium* sp.，*P. ultimum* の分離される圃場数は多く，この2種の菌が札幌市における立枯病の主原因であることが判明した。さらに，分離率が極めて低い *Rhizoctonia* 属菌の中にも立枯病の原因となり得る *Rhizoctonia solani* Kühn AG－4，AG－5の2種類が確認された。立枯病は，子葉期，すなわち株数の多い間引時に発生するため，主に生育中期以降に発生する *Fusarium* による萎ちょう病，*Aphanomyces* による根腐病に比べ株数減少による収量低下は軽微であると思われた。

I　緒　　言

前報[1]では道内のホウレンソウ主要産地である札幌市における土壌病害の発生実態について紹介し，その中で子葉期の立枯れ症状株から病原性を有する *Pythium* 属菌と *Aphanomyces cochlioides* が特異的に多く分離される傾向にあることを明らかにした。

現在，立枯病の病原糸状菌として府県では *Pythium* spp.[2,4,7,9,11]，*Rhizoctonia* spp.[6,8,9,11]などが報告されており，立枯病はホウレンソウの生産阻害の一要因と見なされている。一方，道内ではこれらの病原糸状菌による立枯病についての詳細な調査は未着手の状況にある。そこで本報告では，札幌市近郊の農家圃場で発生の認められた土壌病害のうち，立枯病の病徴とその病原糸状菌の種類を明らかにし，さらにホウレンソウの各種土壌病害の中での立枯病の位置付けを試みた。

1986年1月28日受理
*本報告の一部は1985年度日本植物病理学会北海道部会で発表した。
**北海道立中央農業試験場，069－13　夕張郡長沼町

II　調査方法

1984年の6月から9月にかけて，札幌市の有明（27圃場），篠路（7），新琴似（2），里塚（2），羊ヶ丘（2）の5地域計40圃場から糸状菌を分離した。すなわち，1圃場当り罹病株を10地点から2株ずつ計20株採取した。罹病根を水道水で約1時間水洗後，表面殺菌を行わず，殺菌水で十分に洗滌した。次に殺菌ろ紙上で水滴を除去したのち，3～5mmの長さに切断し，得られた切片を素寒天（WA）およびジャガイモ煎汁寒天（PDA）培地に置床させ，25℃で1～3日間培養後，出現した *Pythium*，*Rhizoctonia* の菌糸先端を分離した。得られた糸状菌のうち *Pythium* はコーンミール煎汁寒天（CMA）斜面培地に，また *Rhizoctonia* はPDA斜面培地にそれぞれ培養保存し，同定に供した。菌株の一部については殺菌土壌を充填した径12cmの素焼き鉢内で発芽させた子葉期並びに5葉期のホウレンソウ（子葉期：12～16株/鉢，5葉期：5株/鉢，各3連制）に接種し，病原性を検定した。すなわち，各供試菌株を径9cmのシャーレ内のPDA上で25℃，1週間培養後，約2mm平方に切断して得られた含菌

寒天を土壌表面に接種し，感染・発病の経過を25℃の人工気象室内で2週間観察した。

病原性の認められた*Pythium*と*Rhizoctonia*のうち分離来歴，形態の異なる数種の菌株について同定を試みた。すなわち，*Pythium*はSchmittenner's培地上での形態観察および温度別菌糸伸長（Difco社製CMA）状況から，また*Rhizoctonia*は生越[10]の菌糸融合法による類別および菌叢の形状からそれぞれ検討した。

III　調査結果

1.　立枯病の病徴と分離糸状菌

現地圃場における立枯れ症状株の主な病徴は概ね次のとおりであった。

①地上部は地際から倒伏し，葉柄部からネクロシスが進行し，やがて株全体は枯死に至る。②一方，胚軸および根部はFig.1（巻末plate参照）に示したように発病初期には水浸状を呈し，やがて褐変し，乾らびて細くなる。このような罹病個体からは*Pythium*，次いで*Aphanomyces cochlioides*が正常株に比べ特異的に多く分離された[1]。

なお，*Pythium*による立枯病と*Aphanomyces*による子葉期に発生する根腐病の病徴は酷似しているため，現地圃場で両者を判別することは難しい。

一方，*Rhizoctonia*は子葉期株からの分離率が極めて低いため，現地における*Rhizoctonia*による立枯病の発生実態並びに病徴については正確に把握し得なかった[1]。そこで，生育中期の罹病株から分離された*Rhizoctonia*（後記，菌株番号R－2）のホウレンソウ子葉期に対する接種試験を行い，同菌による立枯病を再現させ病徴を観察した。その結果，内記[8]の指摘しているように，地際部の胚軸が褐変し，また同部位にくびれの生じる*Rhizoctonia*による立枯病の典型的な病徴（Fig.2）が認められた。このことから，R－2の分離された圃場では子葉期に*Rhizoctonia*による立枯病の発生があったものと推察される。

2.　分離*Pythium*属菌の同定

罹病株から分離された*Pythium*のうち20菌株について病原性並びに形態を調査した結果，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 1に示したようにPy－1，11，17はホウレンソウの子葉期株に対し，前述した*Pythium*特有の病徴を引き起し，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葉期の株に対して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ハウス内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，主根あるいは側根の先端部が褐変する*Fusarium*萎ちょう病の罹病根の病徴とは異なっていた。5葉期株に対してもこの菌株は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とおりである。

Py－1：有性器官は認められず，球形まれに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（Fig.3）が観察される。

Py－11：遊走子のう（17.7μm（Fig.4））は通常頂生で球形ないしレモン形，水中で発芽管を出して直接発芽し，遊走子形成は認められない。蔵卵器（22.0μm）は表面平滑，球形で厚い膜を有し通常頂生，内部に蔵卵器内を満さない卵胞子（19.1 μm）を1個有する。蔵精器は通常1個蔵卵器直下

Table 1.　Pathogenicity of *Pythium* to spinach at various growing stage (pot test)

Isolate number	Sampling date	Growing stage of host	Damping-off (%)	
			Cotyledon*	5-leaf stage**
Py-1	6/13	Cotyledon	16.7	0
11	6/19	Cotyledon	19.4	0
12	8/27	Harvesting-time	72.2	86.7
17	9/14	Cotyledon	36.1	0

*No. of plant tested : 36　　**No. of plant tested : 15

の蔵卵器柄から発し，蔵卵器に付着（Fig.5）。

Py—12：遊走子のうは不整形の糸状体（Fig. 6），水中で遊走子を形成。蔵卵器（27.3μm）は表面平滑，球形で頂生，内部に球形の蔵卵器内を満さない卵胞子（21.8μm）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型（Fig.7）。

Py—17：遊走子のう（17.9μm，Fig.8）は頂生ないし間生で発芽管を出して直接発芽し，遊走子形成は認められない。蔵卵器は球形，表面に6～22本の先端鈍頭形の棘状突起（長さ：6.7μm）を有し，直径は突起を除いて平均17.7μm，内部に蔵卵器をほぼ満たす卵胞子（15.2μm）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（Fig.9）。

以上4種菌株のうち，有性器官の形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Middleton[3]および山口[14]の報告を参照し同定を試みた。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は糸状体の遊走子のう並びに特徴ある蔵精器を有する点，Py—17は蔵卵器の棘状突起の数および長さ，球形の遊走子のうを形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 *P. ultimum*，*P. aphanidermatum*，*P. spinosum* と予想した。次に分離 *Pythium* 菌の各形態を標準菌株と比較検討した結果，Table 2 に示したように3菌株の各形態は予想される標準菌株（文献値）とほぼ一致した。さらに温度別菌糸伸長を標準菌株と対比した（Table 3）。その結果，Py—12の最適温度は標準の *P. aphanidermatum* と同様，35～37℃の高温域にあり，両菌株の菌糸伸長傾向はよく一致した。またPy—17と標準菌株の *P. spinosum* の間にも同様な菌糸伸長傾向が認められた。Py—11は標準菌株の *P. ultimum* とほぼ同様の伸長傾向を示したが，前述した2菌の場合ほど一致しなかった。これは前者2菌の場合，標準菌株の菌糸伸長状況は実測値であり，一方，*P.*

Table 2. Morphological observations of *Pythium* (μm)

Isolate number	Oogonia	Conical spines	Oospores	Zoosporangia
Py-1	—	—	—	8.8-30.5
11	17.0-27.0	—	16.3-23.0	7.8-28.5
12	17.8-31.3	—	14.3-25.8	—
17	12.5-21.8	3.5-11.3	10.0-19.3	9.5-30.0
*P. ultimum** (Py71-2)	17.4-25.6	—	14.2-20.8	12.0-27.0
*P. aphanidermatum** (Py72-20)	20.3-30.7	—	16.0-25.7	—
*P. spinosum** (Py72-17)	12.1-26.7	4.5-10.5	10.8-24.4	9.1-26.5

*Yamaguchi (1977)[14]

Table 3. Mycelial growth of *Pythium* at various temperatures

Isolate number	Diameter of mycelial growth (mm)								
	10	15	20	25	30	32	35	37	40(℃)
Py-1	3	12	19	26	26	24	3	—	—
11	5	12	19	26	26	24	3	—	—
12	±	4	13	26	31	32	35	38	18
17	4	13	20	27	26	26	2	—	—
*P. ultimum**	10	18	24	28	28	21	—	—	—
P. aphanidermatum	±	6	14	28	33	35	39	39	22
P. spinosum	5	13	17	25	24	25	2	—	—

*Yamaguchi (1977)[14]

ultimum は文献値であることからPy—11と標準の *P. ultimum* の菌糸伸長傾向にややズレが生じたものと推察される。以上の形態観察並びに菌糸伸長状況の結果から，Py—11，12，17をそれぞれ *P. ultimum* Trow，*P. aphanidermatum*（Edoson）Fitzpatrick，*P. spinosum* Sawada と同定した。

3. 分離 *Rhizoctonia* 属菌の同定

ホウレンソウの生育時期を問わず，罹病株から分離される *Rhizoctonia* は極めて少なく，このため罹病株の病徴が *Rhizoctcnia* によって引き起こされたものなのか判然としなかった。しかしながら，*Rhizoctonia* の分離された圃場では同菌による立枯病の発生も想定されたので，分離来歴の異なる7菌株について病原性の検定を行い，その結果をTable 4に示した。R—3，R—5を除く5菌株は明らかにホウレンソウ子葉期株に対して前述した *Rhizoctonia* 特有の病徴を引き起こし，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。病原性を有する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。このことから，これら4菌株は *R. solani* であることが予想されたので，標準の *R. solani* 6種と菌糸融合法による類別を試みた。Table 5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することが認められた。

以上の病原性検定，菌叢比較並びに菌糸融合の結果から，ホウレンソウに対して病原性を有し，立枯病の原因と推察される *Rhizoctonia* として *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融合しないこと並びに *R. solani* に比べ菌糸幅が狭いことなどの理由から，2核の *Rhizoctonia* と推察された。

IV 考　　察

ホウレンソウの立枯病は *Pythium* spp. あるい

Table 4. Pathogenicity of *Rhizoctonia* to spinach at various growing stage (pot test)

Isolate number	Sampling date	Growing stage of host	Damping-off (%)	
			Cotyledon*	5-leaf stage**
R—1	8/2	Harvesting-time	25.0	0
2	8/2	8-leaf stage	16.7	0
3	8/2	Harvesting-time	0	0
4	8/2	Cotyledon	18.8	0
5	8/2	Cotyledon	4.2	0
6	7/23	5-leaf stage	29.2	0
7	7/23	5-leaf stage	39.6	0

*No. of plant tested : 48　　**No. of plant tested : 15

Table 5. Anastomosis grouping of *Rhizoctonia*

Isolate number	AG-1* (Rh121)	AG-2-1* (Pf66)	AG-2-2* (Pf28)	AG-3* (St11-6)	AG-4* (Rh131)	AG-5* (Rh184)
R—1	—	—	—	—	+**	—
2	—	—	—	—	+	—
3	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	+
7	—	—	—	—	+	—

**Rhizoctonia solani*　　**+：Imperfect fusion

は *Rhizoctonia* spp. による子葉期を中心とした生育時期に発生する土壌病害である。府県ではホウレンソウ立枯病の主な病原糸状菌について種々の報告がなされている。因みに奈良県では *P. aphanidermatum*[11]，徳島県では *P. ultimum*[2]，大阪府では *P. butleri*[4]，さらに岐阜県では *P. aphanidermatum*[7]，*P. paroecandrum*[7]，*Rhizoctonia solani* のＡＧ－２ *type*－２[12]，同ＡＧ－４[12]，同ＡＧ－５[12]などが確認されている。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，今回の札幌市近郊畑における調査でも主な立枯病の病原糸状菌として Table 6 に示したように *Pythium* sp.，*P. aphanidermatum*，*P. spinosum*，*Rhizoctonia solani* ＡＧ－４，ＡＧ－５の６種が確認された。なかでも *Pythium* sp.，*P. ultimum* の分離された圃場数は多いことからこれら２菌が同市のホウレンソウ畑で発生した立枯病の主原因と結論される。しかしながら，①これら２菌の病原性は *Aphanomyces cochlioides* に比べ弱いこと，②２菌による被害は主に子葉期，すなわち株数の多い間引時に限られているため，主に生育中期以降に発生する *Fusarium* による萎ちょう病，*Aphanomyces* による根腐病に比べ，株数減に伴う収量低下は軽微であることなどの理由から，これら両菌による立枯病の被害は現地ではさほど問題となっていない。

一方，*P. aphanidermatum* は病原性が極めて強いためその被害は十分に懸念されるが，高温性の菌であることから，冷涼な北海道における分離例は以前に十勝管内音更町で軽微な発生を見たキュウリ綿腐病でその存在が確認された[5]のみで少ないこと，また今回の調査でも分離圃場数が１圃場であったことなどを考え併せると，道内ホウレンソウ畑においてその被害が広がる可能性な低いと思われる。

ただし，地温上昇の著しい雨よけ栽培下の夏作では同菌による立枯病の発生は想定され得る。なお，*P. spinosum*，*Rhizoctonia solani* のＡＧ－４，同ＡＧ－５はともに分離圃場は少なく，またホウレンソウに対する病原性も極めて強いとは言えず，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る。以上のような理由から，*Pythium* spp.，*Rhizoctonia 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，札幌市では現在のところ大きな問題になっていないと結論される。これと同様なことは岐阜県の夏ホウレンソウでも指摘されている[13]。したがって，今後，立枯病とは異なり被害の大きい *Fusarium* による萎ちょう病，*Aphanomyces* による根腐病に対する耕種的防除法の確立を図ることが急務であると思われる。

以上のとおり，札幌市近郊畑における立枯病の病原糸状菌について検討した結果，①立枯病の病原糸状菌として *Pythium* sp.，*P. ultimum* Trow，*P. aphanidermatum* (Edoson) Fitzpatrick，*P. spinosum* Sawada，*Rhizoctonia solani* Kühn ＡＧ－４，同ＡＧ－５の６種類が確認されたこと，②なかでも *Pythium* sp.，*P. ultimum* の分離され

Table 6. Soil-borne diseases of spinach (in Sapporo City 1984)

Disease	Pathogen	Pathogenicity		No. of fields*
		Cotyledon	5-leaf stage	
Damping-off	*Pythium* sp.	＋	－	16
	P. ultimum	＋	－	9
	P. spinosum	＋	－	1
	P. aphanidermatum	＋＋	＋＋	1
	Rhizoctonia solani			
	AG-4	＋	－	3
	AG-5	＋	－	1
Root-rot	*Aphanomyces cochlioides*	＋＋	＋＋	7
Wilt	*Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*	＋＋	＋＋	17

*No. of fields from which fungi were isolated

＋：Pathogenicity weak

＋＋：Pathogenicity strong

る圃場数は多く，立枯病の主原因であることを明らかにした。

謝 辞 本調査の遂行にあたり，有益な御助言をいただいた北海道立中央農業試験場技術連絡室長岩渕晴郎博士，同稲作部関口久雄科長，同成田保三郎博士並びに同病虫部の各研究員，さらに標準菌株の提供および御指導をたまわった北海道大学農学部教授生越 明博士，百町満朗博士，また，本稿の御校閲をいただいた北海道立中央農業試験場大垣昭一化学部長，同富岡 暢病虫部長に心から厚く謝意を表する。

引 用 文 献

1) 赤司和隆，阿部秀夫．"ホウレンソウの土壌病害とその発生に関する土壌肥料学的考察 1．札幌市における土壌病害の発生実態と俗称「鎌いらず」症の原因について"．北海道立農試集報．**53**，9—19（1985）．
2) 一谷多喜郎，福西 務．"ホウレンソウの立枯病をおこす *Pythium ultimum* Trow"．関西病虫研報．**21**，44（1979）．
3) John, T. Middleton. "The taxonomy, host range and geographic distribution of the genus *Pythium*". Memoirs of Torrey Botanical Club. 1—171（1943）．
4) 草刈真一，辻 博美，山田貴義，田中 寛．"*Pythium* sp. によるホウレンソウの立枯病"．日植病報．**45**，268—271（1979）．
5) 成田武四．"北海道における農作物病害"．帯広畜産大学．（1977）p.161
6) 内記 隆，加納正和．"ハウス栽培ホウレンソウの土壌病害の発生とその病原菌"．日植病報．**44**，543—553（1978）．
7) 内記 隆．"ホウレンソウ根部病害とその病原菌の生態"．土と微生物．**25**，9—16（1983）
8) 内記 隆．"ホウレンソウの土壌病害とその対策（2）"．植物防疫．**38**，557—562（1984）．
9) 奥田純一郎，吉田 力．"ホウレンソウ立枯病の病徴と病原菌について"．日植病報．**29**，89(1964)．
10) 生越 明．"*Rhizoctonia solani* Kühn の菌糸融合による類別と各群の完全時代に関する研究"．農業技術研究所報告．C30，1—63（1976）．
11) 小畠博文，荒井 滋，岡山健夫．"奈良県における夏ホウレンソウの生産障害について"．関西病虫研報．**21**，46（1979）．
12) Takashi Naiki ; Masakazu Kanoh. "Grouping of *Rhizoctonia solani* Kühn causing root diseases of spinach in plastic house cropping". Ann. Phytopath. Soc. Jpn. **44**，554—560(1978)．
13) 戸崎正弘．"都道府県別野菜栽培と病害虫（岐阜県）"．今月の農薬(野菜の最新栽培技術 下)．**29**，（4）233—238（1985）．
14) 山口武夫．"てん菜の苗立枯病に関する研究—特に *Pythium* 属菌について—"．北海道農業試験場研報．**118**，9—61（1977）．

Explanation of plate

Fig.1 Symptom of damping-off of spinach caused by *Pythium* (field). (Left : water-soaked and browned seedlings, Right : healthy seedlings)
Fig.2 Symptom of damping-off of spinach caused by *Rhizoctonia* (pot test). (Hypocotyls were browned and constricted)
Fig.3 Unidentified *Pythium* sp. (Py-1) : Spherical zoosporangia.
Fig.4 *P. ultimum* (Py-11) : Spherical zoosporangium.
Fig.5 *P. ultimum* (Py-11) : Oogonium with monoclinous antheridium.
Fig.6 *P. aphanidermatum* (Py-12) : Inflated filamentous zoosporangia.
Fig.7 *P. aphanidermatum* (Py-12) : Oogonium with intercalary antheridium.
Fig.8 *P. spinosum* (Py-17) : Spherical zoosporangium (germinating).
Fig.9 *P. spinosum* (Py-17) : Oogonium with monoclinous antheridium.

Plate

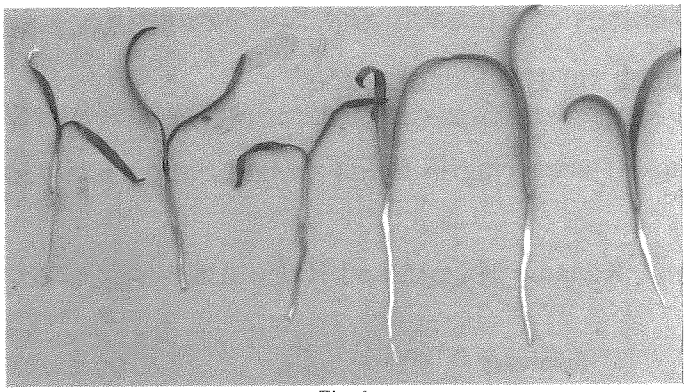

Fig.1

Fig.2

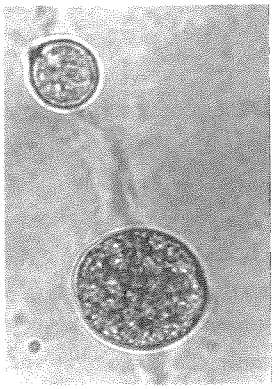

Fig.3

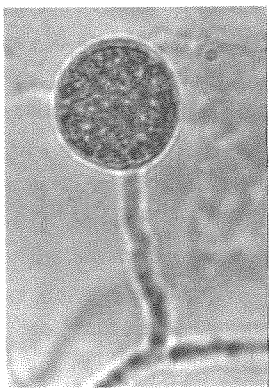

Fig.4

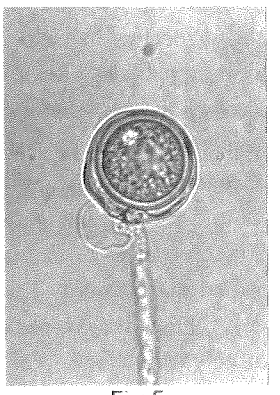

Fig.5

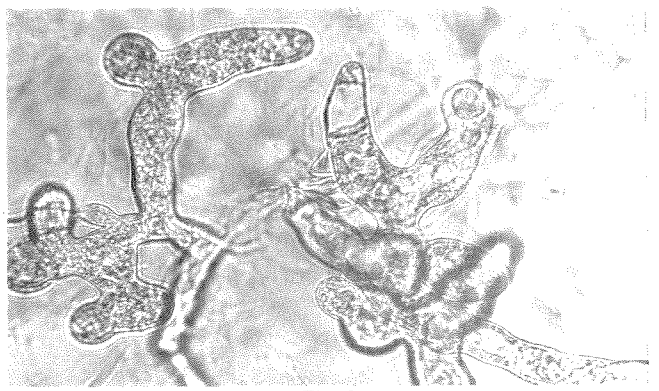

Fig.6

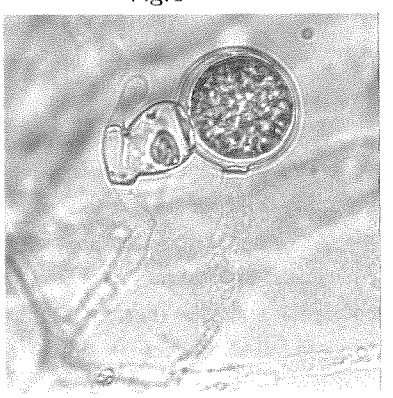

Fig.7

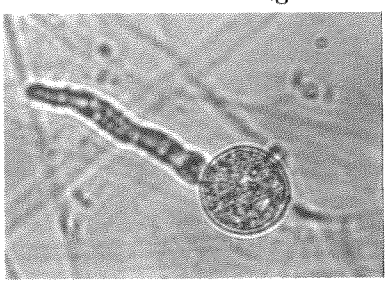

Fig.8

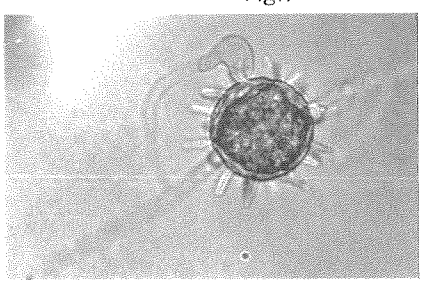

Fig.9

Studies on Root Diseases of Spinach and Soil Scientific Research on the Occurrence

II. Pathogens of damping-off occurring in fields around Sapporo city

Kazutaka AKASHI*, Kaname MAEDA* and Hideo ABE*

Summary

Damping-off caused by *Pythium* spp. and *Rhizoctonia* spp. is known to be one of the factors responsible for decline in yield. However, no reports of research on this soil-borne disease have apparently been published as of yet for Hokkaido prefecture.

Research on the occurrence of this disease and its pathogens was therefore carried out in 40 fields around Sapporo city. The results obtained were as follows:

1. *Pythium* spp. were isolated especially from diseased spinach at cotyledon stage whose hypocotyls and roots were water-soaked and browned. These *Pythium* were classified into four types. The three types of *Pythium*, except for *Pythium* sp. in which sex organs were not observed, were identified as *P. ultimum* TROW, *P. aphanidermatum* (EDOSON) FITZPATRICK and *P. spinosum* SAWADA, respectively. These three types of *Pythium*, except for *P. aphanidermatum*, had pathogenicity only to spinach at cotyledon stage. On the other hand, *P. aphanidermatum* had pathogenicity not only to spinach at cotyledon stage but to plants at the 5-leaf stage.

It seemed that the principal pathogens of damping-off were *Pythium* sp. and *P. ultimum*, because the number of fields from which these *Pythium* were isolated was greater than that for the other *Pythium*.

2. *Rhizoctonia* spp. were isolated less frequently from diseased spinach. Two types of *Rhizoctonia*, *Rhizoctonia solani* Kühn AG－4 and AG－5, were detected by Ogoshi's anastomosis grouping method.

3. It seems that damping-off is becoming less of a serious problem now in comparison with root-rot caused by *Aphanomyces* and wilt caused by *Fusarium*, because damping-off occurs only at the cotyledon stage, so that, at thinnig time, when there are so many seedlings in the fields, the decline of yield based on decrease in the number of seedlings is not so serious.

*Hokkaido Central Agricultural Experiment Station, Naganuma, Hokkaido, 069—13, Japan.