Aphanomyces cochlioides による連作テンサイの生育阻害について

Ⅱ　テンサイの初期生育に及ぼす連・輪作土壌中の菌密度の影響

清水　基滋*

土壌中における *Aphanomyces cochlioides* の卵胞子密度と，テンサイの苗立枯率の間には正の相関が見られたことから，本報告では苗立枯率によって土壌中の菌密度を評価した。

テンサイ移植前の輪作および連作土壌中の卵胞子密度を比較すると，後者の方が明らかに高かった。接種によって土壌中の卵胞子密度を変えてテンサイを栽培すると，卵胞子密度が高い土壌の方が，より強くテンサイの生育を阻害した。また同一菌量であっても，テンサイの苗が若いほど生育の抑制程度は大きかった。圃場への移植直後のテンサイの根圏は，紙筒とともに育苗時の無病土に包まれているが，この紙筒内への *A. cochlioides* の侵入時期も，卵胞子密度の高い土壌に移植した方が早かった。紙筒内へ侵入後，紙筒内土壌中の本菌密度は，紙筒外の根圏土壌以上に高くなった。本菌はこの紙筒内で側根への感染を慢性的に繰り返し，テンサイの初期生育を阻害しているものと考えられる。*A. cochlioides* の側根への感染は輪作テンサイでも見られるが，卵胞子密度が低い輪作土壌では本菌の紙筒内への侵入および側根への感染時期が連作土壌に比べ遅いため，生育阻害の程度が軽微になり，両圃場における初期生育の差として現れるものと考えられる。

以上のことから，連作によるテンサイ移植前土壌中の *A. cochlioides* の卵胞子密度の増加とそれに伴う感染時期の早期化が，テンサイの初期生育をより強く阻害し，連作障害として発現するものと考えられる。

緒　言

前報においてテンサイを連作した場合の初期生育の遅延は *Aphanomyces cochlioides* の側根への感染，それに伴う褐変枯死がひとつの要因であることを明らかにした。しかし，*A. cochlioides* は北海道の畑作地帯に普遍的に存在しており[1,2,7]，輪作テンサイでも側根への感染はみられる[3,4]ことから，輪作および連作テンサイの初期生育の差は，本菌による側根への感染期間および感染程度に起因しているものと推察される。本試験では連・輪作土壌中における菌密度の差が，テンサイ側根への感染時期と感染程度に及ぼす影響を明らかにするために検討を行った。

試験方法

1．土壌中の卵胞子密度とテンサイの苗立枯率との関係

北海道立北見農業試験場病虫予察科連・輪作圃場[4]（以下病虫科連・輪作圃）の土壌をオートクレーブ殺菌（121℃，60分）したものに，*Aphanomyces cochlioides* の卵胞子懸濁液を加え，6段階の卵胞子密度の異なる土壌を作成した。*A. cochlioides* の卵胞子懸濁液は，以下の方法で調整した。トウモロコシ煎汁培地で3～4週間室温で培養したものを2重ガーゼで集菌後，殺菌水で洗浄した。この菌体をウルトラディスパーサーを用いて菌糸を破砕し，所定の濃度に調整したものを卵胞子懸濁液とした。これを殺菌土1g当たり卵胞子1，5，10，50，100，500個となるように接種した。これらの土壌をプラスチックコンテナ（35×44㎝）に詰め，テンサイを1コンテナあたり192粒ずつ播種し，ファイトトロンで約25℃に保った。出芽後10日目に苗立枯率を調べた。なお，以降各土壌における苗立枯率は，特に断らない限り同一のコンテナを用いて実験を行った。

2．テンサイの連・輪作年限と土壌中の菌密度の関係

病虫科連・輪作圃の各処理区のテンサイ作付前および

1994年7月20日受理
* 北海道立北見農業試験場，099－14　常呂郡訓子府町

テンサイ収穫後土壌における苗立枯率を，約20℃の温室内で調べた。なお，テンサイ収穫後土壌については，卵胞子以外の影響を少なくするために，土壌を一度風乾した後実験に供試した。以下，各土壌における苗立枯率は同様の処理を供試土壌に施してから使用した。出芽後苗立枯病の発生を認めてから10日間，毎日発病個体を採集し，*Aphanomyces* に起因するものかどうかを以下の方法で判別した。判別方法は，テンサイ作付前土壌の場合は *A. cochlioides* の選択培地[6]を用い，テンサイ作付後土壌の場合は立枯個体を殺菌水に浮かべて25℃で培養し，検鏡によって *Aphanomyces* の遊走子塊を確認するC法[2]によって行った。なお，以降の実験では *Aphanomyces* の検出はすべてC法で行った。

3．*A. cochlioides* の卵胞子接種量とテンサイの生育

A. cochlioides の土壌中の卵胞子接種量とテンサイの苗立枯率との回帰式から連作3年目土壌とテンサイ末作付土壌中の卵胞子量を推定したところ，前者は土壌1g当たり75個，後者は1個と考えられた。そこで，これに相当する卵胞子密度になるように卵胞子懸濁液を殺菌土に混和接種した。これらの土壌をそれぞれ1／5000aワグネルポットに詰め，予め殺菌土を詰めた紙筒で約30日育苗したテンサイ苗を1本ずつ移植した。移植後62日目に抜取り，生育量の調査を行った。

4．苗令の異なるテンサイにおける生育阻害程度

コーンミール10%混和殺菌土で *A. cochlioides* を約30日培養した接種源2ℓを，蒸気殺菌土30ℓに混合し，1／5000aワグネルポットに詰め，予め殺菌土を詰めた紙筒で異なる期間育苗したテンサイ苗を1本ずつ移植した。テンサイの育苗期間は17日間・42日間および83日間の3種類とした。これらのテンサイについて移植日から約10日おきに草丈を計測した。

5．*A. cochlioides* の紙筒内への侵入時期

病虫科連・輪作圃の2年および4年連作区から生育中のテンサイを紙筒ごと抜き取り，紙筒内の土壌を採集した。土壌の採集は，5月26日（移植後15日目）・6月5日（移植後25日目）・6月12日（移植後32日目）の3回行った。この土壌を直径9㎝のシャーレに詰め，テンサイ種子をシャーレあたり10粒播種した。その後室温で発芽させ，苗立枯率を調べた。発病個体は毎日抜き取り，菌の検出を行った。また，土壌採集時にテンサイ側根も併せて採集し，これらから *A. cochlioides* の検出も行った。

6．紙筒内および紙筒外根圏土壌における *A. cochlioides* の菌密度

① 病虫科連・輪作圃の2年連作区からテンサイを抜き取り，紙筒内および紙筒外根圏とに分けて土壌を採集した。これらの土壌を目幅5㎜のふるいでよくふるい，側根を取り除いた後，それぞれの土壌における *A. cochlioides* による苗立枯率を調べた。土壌の採集は7月1日（移植後50日目）に行った。

② 6月29日（移植後49日目）に病虫科連作圃の3年連作区からテンサイを抜き取り，紙筒内と紙筒外とに分けて側根を採集し，*A. cochlioides* の検出率の比較を行った。なお，褐変した側根では他菌の生育が旺盛で *A. cochlioides* の確認が困難となるため，供試側根の採集部位は紙筒内からはテンサイの側溝から出たばかりの白く健全な部分を，紙筒外からは途中で切れていない白く健全な側根の先端部分をなるべく用いた。

7．テンサイ側根からの検出率の消長

北見農試作物科連・輪作圃場(以下作物科連・輪作圃)の2年輪作および4年輪作区のテンサイから側根を採集し，*A. cochlioides* の検出率を調べた。採集した側根は水道水でよく洗浄し，約5㎜の長さにきざんだものから無作為に1区あたり100本選び実験に供した。なお，検出は6月から10月まで毎月行った。

試験結果

1．土壌中の卵胞子密度とテンサイの苗立枯率との関係

A. cochlioides の卵胞子量を変えて接種した土壌におけるテンサイの苗立枯病の発生は，卵胞子密度が高まるに従って増加した。テンサイの苗立枯率と土壌1gあたりの *A. cochlioides* の卵胞子量（対数処理）との間

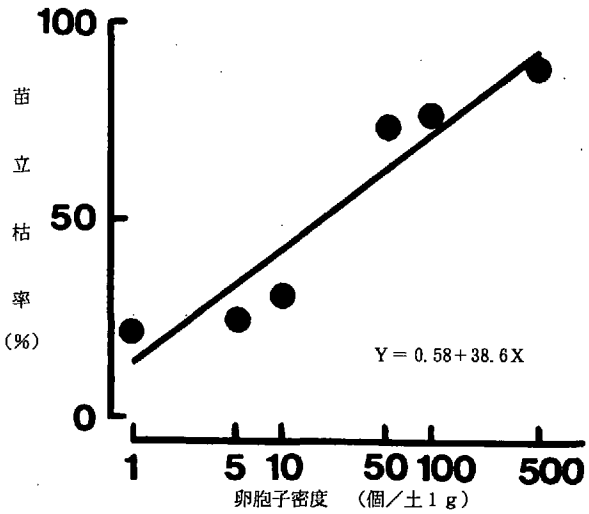

図1　土壌中の卵胞子密度とテンサイ苗立枯率との関係

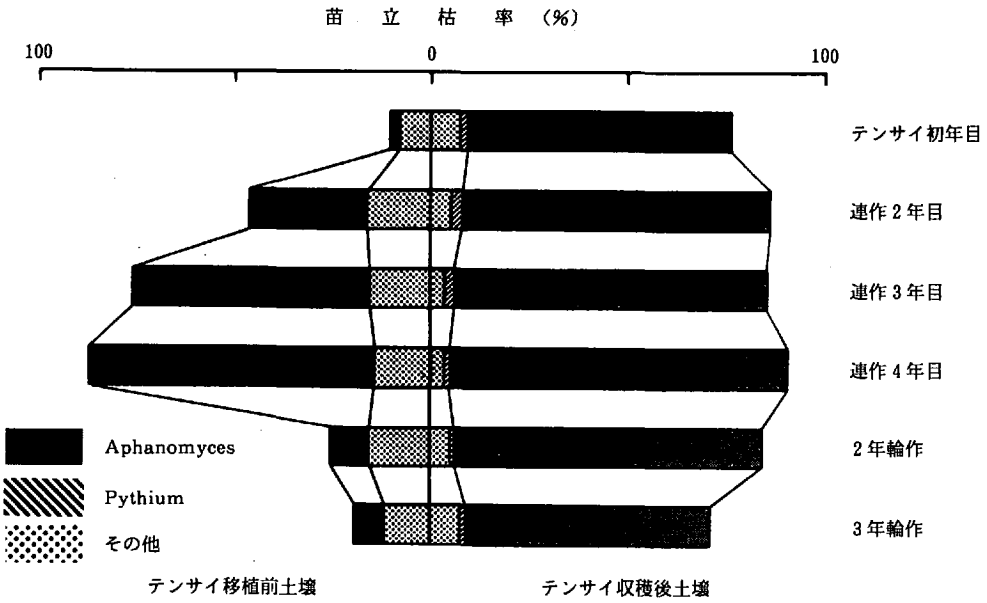

図２　テンサイ連・輪作土壌における苗立枯病の発生状況

表１　移植テンサイの生育に及ぼす *A. cochlioides* の接種量の影響

卵胞子接種量	草丈ａ* (cm)	草丈ｂ** (cm)	ｂ／ａ	茎葉重 (g／株)	根　重 (g／株)
１個／土1g	5.47	13.37	2.44 (87)	8.72 (74)	1.09 (80)
75個／土1g	6.01	13.27	2.21 (79)	7.78 (66)	0.90 (66)
殺菌土	5.57	16.00	2.81 (100)	11.73 (100)	1.37 (100)

ポット試験，移植後62日目抜取り調査
＊：移植時の草丈　＊＊：移植後62日目の草丈

には正の直線的関係（Y＝0.58＋38.6X）がみられ，苗立枯率から土壌中の卵胞子密度の高低を推定できると考えられた（図１）。

２．テンサイの連・輪作年限と土壌中の菌密度の関係

テンサイの連・輪作年限が異なる土壌のテンサイ移植前およびテンサイ収穫後における苗立枯病の発生を見ると，前者ではテンサイの連作年限が長い土壌ほど *A. cochlioides* による苗立枯病は多発した。このことから，連作年限が長くなるほどテンサイ作付前土壌中の *A. cochlioides* の卵胞子密度は，高くなると考えられた。一方，*Aphanomyces* 以外の苗立枯病は連・輪作年限に関係なくほぼ一定で，発生も低率であった。テンサイ収穫直後の土壌では，いずれの区も苗立枯率が高く，テンサイの作付けによる *A. cochlioides* の卵胞子密度は高まったと考えられた（図２）。

３．*A. cochlioides* の卵胞子接種とテンサイの生育

テンサイ移植前の殺菌土壌に *A. cochlioides* の卵胞子を接種すると，無接種と比較してテンサイの生育は抑制され，さらに土壌中の卵胞子密度を高くした方が，より生育は抑制された。生育量の差は草丈ではわずかであったが，茎葉重および根重では顕著であった（表１）。

４．苗令の異なるテンサイにおける生育阻害程度

殺菌土での育苗期間を17日，42日および83日間としたテンサイを *A. cochlioides* 接種土と無接種土に移植すると，いずれの場合も *A. cochlioides* の接種土では無接種土に比べて生育が抑制されるが，生育の抑制される割合は育苗期間が短い幼若なテンサイほど大きかった（図３）。

５．*A. cochlioides* の紙筒内への侵入とテンサイ側根への着生時期

移植後15日目の紙筒内土壌ですでに *A. cochlioides* による苗立枯病が見られ，その個体数は連作２年目圃場のものより連作４年目圃場で多かった。この紙筒内土壌での *A. cochlioides* による苗立枯病個体数は，移植日からの経過日数が長くなるにしたがって増加し，かつ出芽後からの立枯れを生じるまでの日数も短くなったことから，紙筒内土壌の菌密度がしだいに高まっているものと考えられた（表２）。一方，紙筒内の側根からも，*A. cochlioides* がすでに移植後15日目には検出された（表３）。

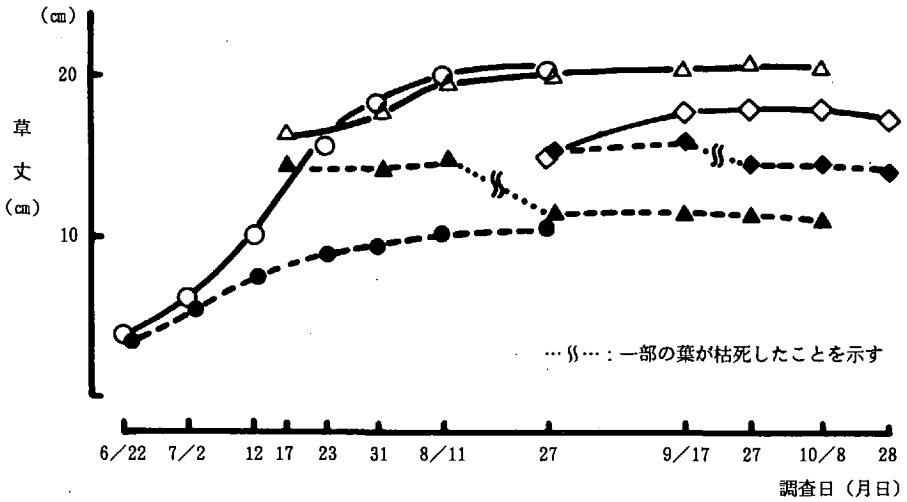

図3　育苗期間の異なるテンサイ苗の草丈に及ぼす *A. cochlioides* の接種の影響

●--●　17日間紙筒育苗　接種区
○—○　〃　無接種区
▲--▲　42日間紙筒育苗　接種区
△—△　〃　無接種区
◆--◆　83日間紙筒育苗　接種区
◇—◇　〃　無接種区

表2　本圃移植後の紙筒内土壌におけるテンサイ苗立枯病の発生程度

土壌採集日および採集圃場	出芽本数	苗立枯れ個体数*			*A. cochlioides* 以外による立枯れ個体数	健全
		7日**	14日	21日		
移植前	22	0	0	0	2	20
移植後15日目						
連作2年目	17	0	0	2	0	15
連作4年目	20	3	2	8	0	3
移植後25日目						
連作2年目	19	2	8	0	2	7
連作4年目	17	5	9	0	1	2
移植後32日目						
連作2年目	18	16	0	0	1	1
連作4年目	18	16	0	0	1	1

*：*A. cochlioides* による苗立枯れ個体数，　**：テンサイの出芽後日数

表3　移植後各時期におけるテンサイの紙筒内側根からの *A. cochlioides* の検出

採集圃場	移植後15日目		移植後25日目		移植後32日目	
	供試本数	検出数	供試本数	検出数	供試本数	検出数
連作2年目	45	1	96	3	96	1
連作4年目	89	3	96	0	96	2

表4　紙筒内および紙筒外根圏土壌におけるテンサイの苗立枯率

供試土壌	播種数	出芽率（%）	立枯率（%）	*A. cochlioides* 苗立枯率（%）
紙筒内	192	88.0	89.3	80.2
紙筒外	192	87.5	29.2	21.5

土壌採集日：移植後50日目

表5　紙筒内および紙筒外側根からの *A. cochlioides* の検出率

採集部位	供試側根数	検出数	検出率 (%)
紙筒内	200	13	6.5
紙筒外	89	2	2.2

側根採集日：移植後49日目

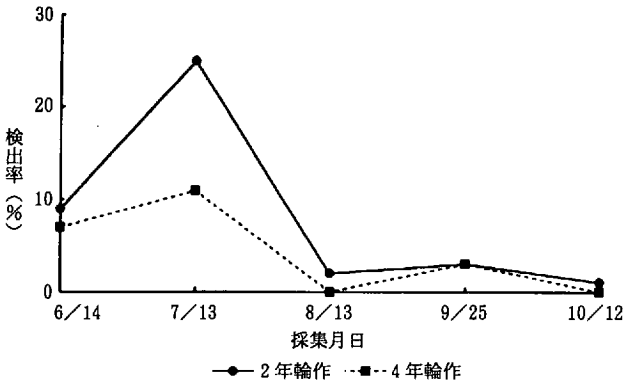

図4　テンサイ側根からの *A. cochlioides* 検出率の消長

6．紙筒内および紙筒外土壌における *A. cochlioides* の菌密度

連作圃場に移植したテンサイの移植後50日前後の紙筒内土壌と紙筒外の根圏土壌にテンサイを播種し，*A. cochlioides* による苗立枯病の発生を比較すると，前者の方が苗立枯率が高かった（表4）。またテンサイの側根からの *A. cochlioides* の検出率も，紙筒内の側根で多い傾向にあった（表5）。これらの結果から，紙筒内土壌では紙筒外の根圏土壌に比べて *A. cochlioides* の密度が高められていると考えられた。

7．テンサイ側根からの検出率の消長

作物科連・輪作圃場の2年および4年輪作区のテンサイ側根からの *A. cochlioides* の検出数は，いずれも6月中旬～7月中旬にかけて多かったが，その後8月からは検出率が低く推移した（図4）。また圃場区別では，2年輪作区で検出率が高かった。

論　議

A. cochlioides は土壌中で卵胞子の形で越冬し，感染源となると考えられている。しかし本菌の卵胞子は，人工的に発芽させにくいことや，選択性の高い培地がないことなどから[6]，土壌中の菌密度を直接調べることは困難である。そこで本菌の土壌中菌量の比較が可能であるかどうか実験を行った。卵胞子密度を変えた土壌におけるテンサイの苗立枯率は，卵胞子密度が高まるに従って増加した。本実験では殺菌土壌に卵胞子を混和した条件で行ったものである。一般土壌を用いた場合は実際の卵胞子密度を推定することはできないが，同一土壌であれば卵胞子密度の高低の比較は可能と考えられた。そこで以下の実験では苗立枯率の多少によって土壌中の菌密度を評価した。

テンサイ移植前土壌中の *A. cochlioides* の卵胞子密度は，テンサイの連・輪作の年限によって異なり，テンサイ初年目土壌で最も少なく，連作年限が長くなるに従い増加した。また輪作土壌も少なかったが，テンサイ初年目土壌に比べるとやや高く，3年輪作に比べると2年輪作の方が高い傾向にあった。このことからテンサイ移植前の土壌中における卵胞子密度はテンサイの栽培年限が多い圃場ほど高くなるものと考えられた。一方，テンサイ収穫後の土壌を見るといずれの区も菌密度は高くなっており，連・輪作による差は少なくなった。阿部[1]は北見農試土壌肥料科連・輪作圃場における *A. cochlioides* の消長を調べ，テンサイ播種前の6年輪作圃場では菌密度は低いが作付け後7月以降に連作土壌と同様に高まること，またテンサイ跡地ではテンサイ以外の作物の作付けで急速に低下するとしており，本試験においてもこの報告と符号する結果となった。

このテンサイ移植前土壌中の卵胞子密度の差と生育阻害程度の関係を見ると，*A. cochlioides* の卵胞子接種量が多いほど生育は強く抑制された。さらに同一菌量であっても，若い時期に感染した苗ほど生育の抑制程度は大きかった。宇井・中村[8]は，*A. cochlioides* による苗立枯病が，若い苗ほど激しく発病するとし，築尾ら[5]は育苗期間の短い苗の方が黒根病の発生が激しかったとしている。本実験における側根への感染に伴う生育阻害も同様の傾向を示した。また，テンサイの移植直後の根圏は，育苗段階の無病土に包まれており，紙筒内への *A. cochlioides* の侵入およびテンサイ側根への感染時期は，移植前土壌中の卵胞子密度によって影響されるものと予想される。そこで本試験では2年連作区と，これと比較してテンサイ移植前土壌中の卵胞子密度が高いと判断された4年連作区における *A. cochlioides* の紙筒内への侵入時期を比較した。その結果，4年連作区の方が早期に紙筒内土壌中の菌密度が高まり，2年連作区では菌密度の増加は4年連作区に比べ遅延していた。このことから移植後のテンサイ紙筒内における *A. cochlioides* が菌密度の増加は，テンサイ移植前土壌中の卵胞子密度が高いほど早まり，その結果感染時期も早まるものと考えられる。

移植後，テンサイの側根の一部は紙筒を突き抜けるが，主根の肥大により紙筒が破れるまで，その大部分は紙筒

内にとどまる。紙筒が破れ始める時期はテンサイの生育によって異なるが，本試験における輪作テンサイでは6月中旬以降であった。この時期直前の紙筒内および外側の根圏土壌中における *A. cochlioides* の菌量を比較すると紙筒内の方が明らかに高いと考えられた。また同様に側根からの本菌の検出率も紙筒内側根で高い傾向にあった。実験に供試した紙筒内の側根は，発根して間もない，白く健全に見えるものであったことを考えると，紙筒内の側根の一部は十分伸長する前に本菌に侵され，褐変枯死しているものと思われ，事実この時期のテンサイ根の側溝には褐～黒変した短い側根が多く観察される。その後のテンサイ側根からの *A. cochlioides* 検出率は7月をピークに低下するが，この検出率の低下はテンサイの生育に伴い側根の全体量が急激に増えるためと考えられる。

テンサイは輪作栽培においても *A. cochlioides* の側根への感染によってわずかながらも障害を受けていると思われる。しかし連作によって土壌中の *A. cochlioides* の卵胞子密度が高まると，本菌の紙筒内への侵入および菌密度の上昇が早まるため，生育阻害を受けやすい若苗で感染が始まる。その後紙筒内土壌は紙筒外根圏土壌に比べて菌密度が高まり，慢性的な側根への感染が繰り返されるものと考えられる。一方，輪作ではテンサイ移植前土壌中の卵胞子密度が低いため，紙筒内への侵入および側根への感染が連作に比べ遅く，初期生育の阻害を受ける時期が短い。このことが初期生育の差として現れ，連作テンサイにおける減収の主要因となっていると考えられる。

謝　辞：本報は，元北海道立北見農業試験場斉藤泉主任研究員（現，北海三共）のご助言・指導の下に実施された。帯広畜産大学環境植物学研究室学部生佐藤清美さんには実験の一部を担当していただき，また圃場管理・収穫に際しては北海道立北見農業試験場管理科の多大なご協力を得た。北海道立中央農業試験場土屋貞夫病虫部長，同北見農業試験場児玉不二雄研究部長，阿部秀夫病虫科長には本報の校閲をお願いし，貴重な意見をいただいた。以上の方々に対し心から感謝の意を表する。

引用文献

1）阿部秀夫．“テンサイの直播栽培における苗立枯病（特に *Aphanomyces cochlioides*）の発生消長と防除”．てん研会報．**17**, 63－69(1976).

2）北海道大学ほか．“北海道におけるテンサイ立枯性病害の分布”．北日本病虫研報．**13**, 3－4(1962).

3）松崎康範，吉田俊幸，三分一敬．“連輪作跡地土壌の評価とテンサイの連作障害に関する一考察”．てん研会報．**24**, 115－123(1982).

4）清水基滋．“*Aphanomyces cochlioides* による連作テンサイの生育阻害について　I　側根への感染がテンサイの生育に及ぼす影響”．北海道立農試集報．**67**, 57－65(1994).

5）築尾嘉章，内藤繁男，杉本利哉．“テンサイ黒根病の本圃感染”．てん研会報．**24**, 157－162(1982).

6）築尾嘉章，杉本利哉．“テンサイ苗立枯病罹病組織からの *Aphanomyces cochlioides* の選択分離培地”．日植病報．**51**, 16－21(1985).

7）宇井格生．“サトウダイコンの黒根病とその病原菌の北海道における分布”．北海道大学農学部邦文紀要．**4**, 60－66(1962).

8）宇井格生，中村重治．“てん菜の黒根病，特にその病原菌 *Aphanomyces cochlioides* Drechsler の病原性と寄主範囲について”．甜研会報．**3**, 78－95(1963).

Study on Reduction of Sugar Beet Caused by *Aphanomyces cochlioides* under Continuous Cropping

II Relationship between oospore density in soil and growth at early stage of sugar beet

Motoshige SHIMIZU*

Summary

Artificial infestation of sterile soil with *Aphanomyces cochlioides* revealed that the density of oospores is positively correlated with the damping-off incidence. From this result, it was estimated for the density of oospores in several soils by the damping-off incidence.

Testing of soil samples showed that the density of oospores of *A.cochlioides* was high (75 oospores/g soil) in a field with continuous cropping of sugar beet for three years but was low (1 oospore/g soil) in sugar beet fields with azuki bean as proceeding crop for three years. Sugar beet seedlings grown in paper-pots for about 40 days were transplanted into sterile soil that was artificial infected with *A.cochlioides* and plants were examined for growth retardation. Results showed that growth retardation of sugar beet seedling in the soil with high density of oospores (75 oospores/g soil) of *A.cochlioides* was more severe than that was the soil with low density of oospores (1 oospore/g soil).

Same planted seedlings were transplanted into the fields and plants were sampled and examined for *A.cochlioides* lateral root rot after transplanting. Results showed that invasion of *A.cochlioides* into paper-pots in the field with continuous cropping of sugar beet was earlier than that was the field with sugar beet in rotation with adzuki bean. And then incidence of *A. cochlioides* damping-off in the inner soil of paper-pots was 58.7% higher than that was the rhizosphere soil outside of paper-pots at 50 days after transplanting.

High density of oospores of *A.cochlioides* in the soil caused an early invasion of lateral roots, resulting in severe growth retardation of sugar beet at early stage.

*Hokkaido Prefectural Kitami Agricultural Experiment Station, Kunneppu Hokkaido, 099－14 Japan