

連作および輪作圃場のインゲンと土壌から分離されたPythium spp.とその病原性

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	景山,幸二 宇井,格生
発行元	日本植物病理學會
巻/号	47巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 313-319
発行年月	1981年7月

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



連作および輪作圃場のインゲンと土壌から 分離された *Pythium* spp. とその病原性

景山幸二*・宇井格生*

Koji KAGEYAMA* and Tadao Ue*: *Pythium* Species Isolated
from Bean Plants and Soils in the Experimental
Plots of Monoculture and Rotation

Abstract

Seven *Pythium* species; ie. *P. acanthophoron*, *P. irregulare*, *P. myriotylum*, *P. spinosum*, *P. paroecandrum*, *P. ultimum*, and an unidentified *Pythium* sp., were isolated from the hypocotyls, roots, rhizosphere and/or non-rhizosphere soils of bean plants grown in the experimental plots of monoculture and rotation in Hokkaido Prefectural Kitami Agricultural Experiment Station. Among these, *Pythium myriotylum* was found only from the monoculture plots. The bean plants grown in the monoculture plots were colonized by above mentioned seven species of *Pythium*, while those in the rotation plots by *P. spinosum*, *P. paroecandrum*, and *P. ultimum*. In inoculation tests with five *Pythium* spp. except *P. acanthophoron* and *P. irregulare* which were rarely isolated, *P. myriotylum* and *Pythium* sp. were the most pathogenic to bean seedlings, followed by *P. spinosum*. Other two *Pythium* spp. have poor pathogenicity.

(Received January 8, 1981)

緒 言

北海道立北見農業試験場で1959年より始められた各種作物の連輪作試験の中で、インゲンの収量は連作4年目以降、輪作区の約40%に低下している¹²⁾。この連作区土壌中にはインゲンに対し病原性のある *Pythium* 属菌が多く存在することが明らかになった⁹⁾。

そこで、本実験は連作区および輪作区のインゲン地下部組織および土壌から *Pythium* 属菌を分離し、それらの同定を行い、さらにインゲンに対する病原性を検討した。

本研究を行うに当たり、材料を提供され、また多くの御援助を頂いた前の北海道立北見農業試験場土壌肥料科大垣昭一科長、同成田保三郎氏、ならびに実験遂行上示唆と協力を頂いた北海道大学大学院農学研究科古屋広光氏（現在、秋田県立農業短期大学）および菌株を分譲された農業技術研究所渡辺恒雄氏、北海道農業試験場山口武夫氏に深甚なる感謝の意を表わす。

実験材料および方法

材料 北海道立北見農業試験場の連作区、6年輪作区の土壌および両区に栽培したインゲンの地下部組織から1979年 *Pythium* spp. の分離を行った。供試圃場は、1区 32.5m² で各区2反復あり、1959年より始められた連輪作試験区の中のインゲン連作区および6年輪作区のうち実験を行った年はインゲンを栽培した区である。なお、輪作区はインゲン・秋播コムギ・クローバ・ジャガイモ・テンサイ・エンバクの順に6年輪作を行っている。インゲンの品種はすべて大正金時である。

分離 組織あるいは土壌からの *Pythium* 属菌の分離は前報⁹⁾ に記した選択分離培地によった。その組成は、Difco cornmeal agar 1 liter に pimarin 5 mg, agrimycin 100mg, PCNB (WP 75%) 130mg を加えたもので、抗菌物質はあらかじめ蒸留水に懸濁したものを高圧蒸気殺菌後の寒天培地に所定量となる

* 北海道大学農学部 Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan

よう添加した。

インゲン組織からの分離：インゲンの褐変した胚軸あるいは根、また褐変部が認められない場合は根の先端部を2～6 cmに切り繰返し十分に水洗し、ろ紙で表面の水を吸い取った後表面殺菌をせずに選択培地上に置き、25Cで1～4日間培養した。出現した *Pythium* 属菌の菌そう先端を切り取りトウモロコシ煎汁寒天斜面培地に移植し培養保存した。

土壌からの分離：土壌平板法を用いた。すなわち、径9 cmの殺菌ベトリ皿1枚につき風乾土壌10mg、出現するコロニー数の多い時は2～5 mgを殺菌ミクロスパチュラで取り、これに約40Cの固化していない選択培地を加え充分混合した。25Cで1～5日間培養後、出現した *Pythium* 属菌の菌そう先端をとり分離培養し保存した。

Pythium spp. の形態 トウモロコシ煎汁寒天培地上に形成される各器官を観察した。ほとんどの菌株はこの培地上で卵胞子を形成したが、形成しなかった菌株は卵胞子の形成を促進するため Schmitthenner¹⁷⁾ 培地で培養した。

病原性 径9 cmのベトリ皿中のトウモロコシ煎汁寒天平板1枚に生育した4～6日目の菌そうを、培地も含め蒸留水約30mlに加えホモジナイザーで磨砕した。これを径11cmの素焼植木鉢1鉢分の殺菌土壌と混合し、ただちにインゲン種子（品種、大正金時）を1鉢当たり7粒播種した。*Pythium myriotylum* 接種区の植木鉢は温室で、その他の種の接種区のものとは25, 20Cおよび15Cのグロースキャビネットで約3週間栽培し、発芽数、発病数、発病程度について調査した。発病程度は、0（健全個体）から3（発芽後立枯れ個体と胚軸および根に著しく褐変を起こしている個体）に分け、次の式により発病指数を求めた。

$$\text{発病指数} = \frac{\sum (\text{発病程度} \times \text{その発病個体数})}{\text{全発芽個体数}}$$

実験は、供試菌1種につき3～5分離菌株を供試した。各区植木鉢2個を使用した。生育温度25Cの区はこれを2回反復した。

実験結果

分離菌の種類

Middleton¹¹⁾ および Waterhouse^{17, 18)}、一部の菌については渡辺の報告^{15, 16)}を参照し同定を行った。

土壌およびインゲン地下部組織から分離された菌は *P. acanthophoron*, *P. irregulare*, *P. myriotylum*, *P. spinosum*, *P. paroecandrum*, *P. ultimum* および

Table 1. *Pythium* spp. isolated from the soils and bean plants in the experimental plots of monoculture and rotation

<i>Pythium</i> species	Monoculture plots		Rotation plots	
	Soils ^{a)}	Tissues ^{b)}	Soils ^{a)}	Tissues ^{b)}
<i>P. acanthophoron</i>	+	+	+	—
<i>P. irregulare</i>	—	+	+	—
<i>P. myriotylum</i>	+	+	—	—
<i>P. spinosum</i>	+	+	+	+
<i>P. paroecandrum</i>	+	+	+	+
<i>P. ultimum</i>	+	+	+	+
<i>Pythium</i> sp.	+	+	+	—

a) Rhizosphere and non-rhizosphere soils of bean plants.

b) Hypocotyls and roots of bean plants.

未同定の *Pythium* sp. の7種である (Table 1)。そのうち、土壌から分離された *Pythium* 属菌は、連作区では *P. irregulare* を除く6種、輪作区では *P. myriotylum* を除く6種であった。連作区のインゲン組織からは上記7種すべてが分離され、土壌から分離されなかった *P. irregulare* も得られた。これに対して、輪作のインゲンからは *P. spinosum*, *P. paroecandrum* および *P. ultimum* の3種が分離され、*P. acanthophoron*, *P. irregulare* および未同定の *Pythium* sp. は土壌から分離されたが組織からは分離されなかった。*P. myriotylum* は、輪作区の土壌および組織からはまったく分離されなかった。

分離菌の形態は以下に示すとおりである。

P. acanthophoron (Plate I, 1-3)：蔵卵器 (18.0～21.6μm) は、長さ約2.4μm、巾約2.4μmの円錐形の突起をもち、間生または頂生。卵胞子 (16.8～19.2μm) は、球形、蔵卵器を満たさず、蔵卵器当たり1個含まれる。蔵精器は、ほとんどが同株性、巾4.8～8.2μm、長さ12.0～15.6μm、ソーセージ型で中央部がわずかにくびれ、蔵卵器当たり1個、ときに2個着生しその接触面は広い。トウモロコシ煎汁寒天培地上で気中菌糸はまったく発達せず、遊走子のうの形成は認められなかった。

P. irregulare (Plate I, 4-6)：蔵卵器 (14.9～25.7μm) は、鈍頭の円錐形、あるいはわん曲した突起を1～数本もち、頂生または間生、球形の卵胞子 (12.7～19.2μm) 1個を含む。卵胞子は蔵卵器を満たさない。蔵精器は、頂生、同株性または異株性、蔵卵器当たり1個まれに2個着生する。遊走子のう (6.4～26.4

μm) は、頂生または間生、頂生のときには球形、間生のときには球形あるいは紡錘形、発芽は発芽管により、遊走子発芽は認められなかった。

P. myriotylum (Plate I, 7-10) : 蔵卵器 (19.2~38.4 μm) は、表面平滑、頂生または間生、球形の卵胞子 (16.8~32.4 μm) 1 個を含む。卵胞子は蔵卵器を満たさない。ときに卵胞子を形成しない退化した蔵卵器が認められた。蔵精器は、頂生、異株性または同株性、ややふくらみ、曲り首かぼちゃ型をしており、先端と基部で蔵卵器に接触し、蔵卵器当たり 1~6 個付着する。遊走子のうは、不整形のふくれた糸状体で分枝が認められる。遊走子は、遊走子のうから伸長した逸出管の先端に形成された球のうから放出された。

P. spinosum (Plate II, 1-3) : 蔵卵器 (15.6~22.8 μm) は、先端が鈍頭で指状の長さ 6.0~8.4 μm の突起をもち、頂生または間生、球形の卵胞子 (12.0~22.8 μm) 1 個を含む。卵胞子は蔵卵器を満たす。蔵精器は、同株性まれに異株性、蔵卵器当たり 1 個まれに 2 個付着する。遊走子のう (6.0~25.2 μm) は、頂生または間生、頂生のときには球形、間生のときは球形または紡錘形、発芽は発芽管によるもののみであった。

P. paroecandrum (Plate II, 4-6) : 蔵卵器 (14.4~32.5 μm) は、形成されにくい菌株もあり、表面平滑、頂生または間生、球形の卵胞子 (12.0~21.6 μm) を 1 個含む。卵胞子は蔵卵器で満たされない。蔵精器は、多くは頂生、ときどき間生、同株性または異株性、蔵卵器当たり 1 から 2 個付着する。遊走子のう (14.4~28.8 μm) は、主に頂生、まれに間生、頂生のときは球形、間生のときは球形または紡錘形である。発芽は、遊走子を放出せずすべて発芽管によった。

P. ultimum (Plate II, 7-8) : 蔵卵器 (13.2~24.0 μm) は、表面平滑、頂生または間生、球形の卵胞子 (10.3~24.0 μm) 1 個を含む。卵胞子は蔵卵器を満たさない。蔵精器は、蔵卵器当たり 1 個、まれに 2 個付着し、蔵卵器直下の蔵卵器柄から発し、蔵精器柄の伸長がほとんど認められず、同株性、蔵卵器当たり 2 個付くときは一方が異株性であった。遊走子のう (4.8~26.4 μm) は、頂生または間生、頂生のときは球形、間生のときは

球形または紡錘形、すべて発芽管により発芽した。

Pythium sp. (Plate II, 9-10) : 卵胞子形成促進培地に培養し、また異った菌株と対峙培養しても卵胞子を形成しなかった。遊走子のうと見られる器官 (9.6~29.5 μm) は、球形、まれにレモン形あるいはセイヨウナシ形、多くは頂生ときに間生、発芽はすべて発芽管によった。

インゲンに対する病原性

分離された 7 種のうち、分離率が極めて低かった *P. acanthophoron* と *P. irregulare* を除く 5 種について、各々数菌株を用い病原性を比較した (Table 2)。

P. myriotylum : 連作区のインゲン組織から分離した 2 菌株と同区の非根圏土壌からの 3 菌株を供試したところ、いずれの菌株でもインゲンの発病率は高く、発病個体では、胚軸に縦方向に水浸状で褐色の長く伸びた病斑を生じた。根は著しく褐変え死を示し、その数も少なくなった。また、胚軸における病斑の伸展が激しいため発芽後に立枯れを起す個体が多く認められた。

P. spinosum : 連作区の土壌から分離した 2 菌株と輪作区の土壌からの 1 菌株を供試したところ、いずれの菌株でも 25 C でインゲンの発病率は高く、発病個体の胚軸には斑点状の病斑が多数認められ、根は褐変した。インゲンの発芽率は、対照区と差は認められなかった。20 C でもインゲンの発病状態は同じであった。

P. paroecandrum および *P. ultimum* : 前者の場合、連作区インゲン組織から分離した 2 菌株と輪作区組織からの 1 菌株を、後者の場合、連作区組織からの 2 菌株、同区土壌からの 1 菌株および輪作区土壌からの 1 菌株を供試した。いずれの種および菌株でも、

Table 2. Pathogenicity of *Pythium* spp. to bean seedlings (cv. Taishōkintoki) grown for 3 weeks at 25 C in artificially inoculated soils

<i>Pythium</i> species	Emerg %	Diseas %	Disease severity rating ^{a)}	
			Hypocotyl	Root
<i>P. myriotylum</i> ^{b)}	92.9	100	2.6	2.8
<i>P. spinosum</i>	81.0	88.1	1.3	0.7
<i>P. paroecandrum</i>	86.9	25.2	0.3	0.1
<i>P. ultimum</i>	85.7	23.1	0.2	0.1
<i>Pythium</i> sp.	35.8	100	0.7	1.6
Control ^{c)}	82.2	0.0	0.0	0.0

a) Disease severity rating was based on a scale of 0 to 3 with 0 = no symptoms and 3 = most severe symptoms.

b) Bean seedlings were grown in greenhouse.

c) Non-inoculated soils.

25, 20および15°Cのすべての温度でインゲンに対する病原性は弱く、発病個体の胚軸に小さい斑点状の病斑をつくり、根は、一部が褐変する程度で発病は極めて軽微であった。接種土壌におけるインゲンの発芽率は、対照と差はなかった。

Pythium sp. : 連作区インゲン組織から分離した3菌株と同区土壌からの2菌株を供試したところ、いずれの菌株でもインゲンの胚軸に斑点状の病斑を形成し、発病の著しい個体では水浸状の病斑が胚軸の縦方向に伸展した。また、根は全体に黒褐変し特に根の先端は著しいえ死を示し、根数は少なかった。接種土壌におけるインゲンの発芽率は、著しく低かった。

考 察

Pythium による根腐れ症状には多種の *Pythium* が関係する場合が多く⁷⁾、病原性をもいくつかの種が複合して病気を起こすとされる¹⁶⁾。北見農業試験場のインゲン連作圃場および輪作圃場のインゲン栽培区のインゲンおよび土壌から7種の *Pythium* が分離された。そのうちインゲンの根あるいは胚軸に感染していると認められたものは、連作区で7種、輪作区で3種であった。

インゲンに対し病原性をもつ *Pythium* は、これまでに約13種が報告されている。本実験では、*P. myriotylum*, *P. spinosum* および未同定の *Pythium* sp. が強い病原性を示し、そのうち *P. myriotylum* は地下部に激しいえ死を起こし、*Pythium* sp. は胚軸に軽いえ死また発芽前立枯れ症状を起こした。*P. paroecandrum* と *P. ultimum* の病原性は極めて弱かった。

P. myriotylum は、最初のインゲンの莢の病原菌として報告されたが⁸⁾、その後立枯れ¹⁰⁾あるいは茎腐れ症状^{4,5)}を起こすことが明らかにされている。本菌の宿主範囲は広いが、我が国ではイチゴの罹病根から分離されている¹⁵⁾。*P. spinosum* は多犯性であるが、これまでインゲンに対し病原性があるという報告は見当らない。

P. paroecandrum は、インゲンの莢に対し病原性

があるとされており¹⁾、*P. ultimum* はインゲンの種子腐敗³⁾、発芽前立枯れ³⁾、あるいは根腐れ症状^{13,14)}などを起こすと報告されているが、本実験では両者ともインゲンに対しわずかに病原性を示すにすぎなかった。しかし、*Pythium* 属菌の中には病徴を示すことなく潜伏感染している例も知られているので²⁾、インゲン組織から分離されたが接種試験で病原性を示さなかった種がインゲン組織に侵入していたことも考えられる。

インゲン地下部組織あるいはその周辺土壌から分離した同一種に属す菌株間に病原性の差は認められなかったことから供試圃場に存在する同一種の病原性は同じであると考えられる。

インゲン連作区から多く分離され、またインゲンに強い病原性を示した *P. myriotylum* および未同定 *Pythium* sp. とインゲン連作障害との関係は、さらに検討を要する。

摘 要

北海道立北見農業試験場のインゲン連作区、輪作区圃場の土壌およびインゲン地下部組織より *Pythium* 属菌の分離を行った。分離された *Pythium* 属菌は、*P. acanthoporon*, *P. irregulare*, *P. myriotylum*, *P. spinosum*, *P. paroecandrum*, *P. ultimum* および *Pythium* sp. の7種である。*P. myriotylum* 以外の6種は連作および輪作区の土壌あるいはインゲンから分離され、*P. myriotylum* は連作区の土壌とインゲンのみから分離された。連作区のインゲンは、上記7種すべてによって感染を受けていたのに対し、輪作区のインゲンは、*P. spinosum*, *P. paroecandrum* および *P. ultimum* の3種に感染していた。分離頻度の低かった *P. acanthoporon* と *P. irregulare* を除く5種の中で、*P. myriotylum* と *Pythium* sp. はインゲンに強い病原性を示し、インゲンの根や胚軸に褐変を起こしたが、*P. spinosum* の病原性はこれより弱く、他の2種は極めて弱かった。

引用文献

1. Balakrishnan, M. S. (1948). Proc. Indian Acad. Scien., Sect. B. 28: 27-34.
2. Endo, R. M. and Colt, W. M. (1974). Proc. Am. Phytopathol. Soc. 1: 215-223.
3. Dickson, M. H. and Abawi, G. S. (1974). Plant Dis. Repr. 58: 774-776.
4. Drechsler, C. (1952). Ibid. 36: 13.
5. Gay, J. D. and McCarter, S. M. (1968). Ibid. 52: 416.
6. Harter, L. L. and Whitney, W. A. (1927). J. Agr. Res. 34: 443-447.

7. Hendrix, F. F. and Campbell, W. A. (1973). Ann. Rev. Phytopathol. 11: 77-98.
8. 景山幸二・古屋広光・成田保三郎・宇井格生 (1979). 日植病報 45: 529 (講要).
9. 景山幸二・宇井格生 (1980). 同上 46: 544-546.
10. McCarter, S. M. and Littrell, R. H. (1968). Plant Dis. Repr. 52: 179-183.
11. Middleton, J. T. (1943). Mem. Torrey Bot. Club 20: 1-171.
12. 成田保三郎 (1976). 北海道土壤肥料研究通信 第23回シンポジウム特集号. 北海道土壤肥料懇話会, pp. 1-12.
13. Pieczarka, D. J. and Abawi, G. S. (1978). Phytopathology 68: 403-408.
14. Pieczarka, D. J. and Abawi, G. S. (1978). Ibid. 68: 409-416.
15. Watanabe, T. (1977). Ann. Phytopath. Soc. Japan 43: 363-374.
16. Watanabe, T., Hashimoto, K. and Sato, M. (1977). Phytopathology 67: 1324-1332.
17. Waterhouse, G. M. (1967). Commonw. Mycol. Isnt. Mycol. Pap. 109.
18. Waterhouse, G. M. (1968). Ibid. 110.

Explanation of Plates

Plate I.

- 1-3. *Pythium acanthophoron*
 1. Oogonium with monoclinal antheridium.
 2. Oogonium with aplerotic oospore.
 3. Aborted oogonium.
- 4-6. *P. irregulare*
 4. Spherical and lemon-shaped zoosporangia.
 5. Oogonium with monoclinal antheridium.
 6. Oogonium with aplerotic oospore.
- 7-10. *P. myriotylum*
 7. Lobulate zoosporangium.
 8. Oogonium with crook-necked antheridium.
 9. Aborted oogonium
 10. Oogonium with aplerotic oospore.

Plate II.

- 1-3. *P. spinosum*
 1. Spherical zoosporangium.
 2. Oogonium with monoclinal antheridium.
 3. Oogonium with plerotic oospore.
- 4-6. *P. paroecandrum*
 4. Spherical zoosporangium.
 5. Oogonium with intercalary-formed antheridia.
 6. Oogonium with aplerotic oospore.
- 7-8. *P. ultimum*
 7. Spherical zoosporangia.
 8. Oogonia with monoclinal antheridia and aplerotic oospore.
- 9-10. Unidentified *Pythium* sp.
 - Spherical or lemon-shaped zoosporangia.

Plate I

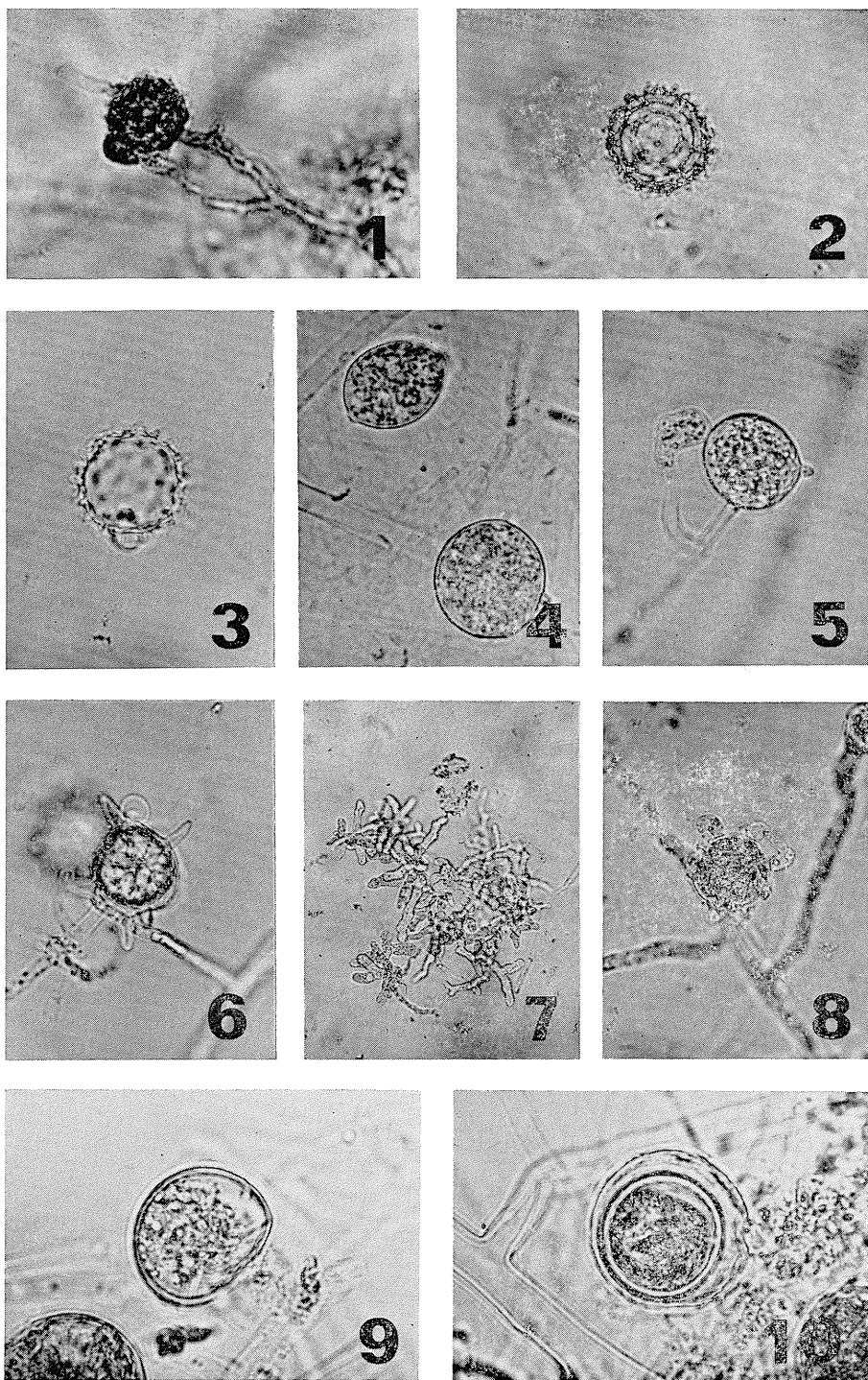


Plate II

