

インゲンの連作障害とPythium spp.の関係

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 成田,保三郎
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. 320-326
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



インゲンの連作障害と *Pythium* spp. の関係

景山幸二*・宇井格生*・成田保三郎**

Koji KAGEYAMA*, Tadao UI* and
Yasusaburo NARITA**: Influence of
Pythium spp. on the Injury by Bean Monoculture

Abstract

The bean plants in monoculture plots in Hokkaido Prefectural Kitami Agricultural Experiment Station showed severe necrosis of roots and retarded the growth in the middle of July in 1979, while those in 6-year rotation plots seemed healthy. The height and yields of bean plants in monoculture were about 80 % and 70 % of those in rotation. These appearances are said to be caused by the long-term monoculture. *Pythium myriotylum* and an unidentified *Pythium* sp., highly pathogenic to bean plants, were isolated only from the necrotic root tissues in monoculture. *P. spinosum*, *P. paroecandrum* and *P. ultimum*, mildly or scarcely pathogenic to bean plants, were recovered from the roots in monoculture and also those in rotation. Populations of *P. myriotylum* and *Pythium* sp. in rhizosphere and non-rhizosphere soils of bean plants in monoculture were remarkably high. There was no difference in the populations of the other *Pythium* spp. in the soils of monoculture and rotation. When ridomil, *N*-(2, 6-dimethylphenyl)-*N*-(methoxyacetyl) alanine methyl ester, which is one of the selective fungicides against Oomycetes, was drenched to the soil collected from the monoculture plots, the roots of bean seedlings grown in the soil remained healthy as those in the untreated rotation soil. These results suggest that the symptoms of bean plants in monoculture are caused by the infections of *P. myriotylum* and an unidentified *Pythium* sp.

(Received January 8, 1981)

緒 言

北海道立北見農業試験場における連・輪作試験の中で、インゲンの収量は連作2年目から漸次低下し4、5年目以降には輪作区との差は著しくなる。収量の年次変動は大きい¹⁾が、輪作区に対する連作区の減収率は常に約40%であり、後者の根は褐変し生育の遅延も認められ、これらは連作障害とみなされている。その原因について土壌の理化学性あるいは物理性の面から検討されたが^{2,3)}、収量低下を十分に説明できるものはない。また、連作土壌をメチルブROMAIDで殺菌してインゲンを栽培すると輪作区とかわりない生育をすることから⁴⁾、生物的要因の関与の大きいことが示唆さ

れる。前報告⁵⁾で連作圃場には7種の *Pythium* が存在し、そのうち3種がインゲンに病原性をもつことを明らかにした。しかし、インゲンの生育低下および根のえ死が起こる時期、またこれらに対する *Pythium* 属菌の役割は明らかでない。そこで、これらの症状が起こる時期とインゲンの感染の時期、*Pythium* 属菌の土壌中の消長を連作区および6年輪作区のインゲン畑について比較し、連作障害に対する *Pythium* 属菌の役割を検討した。

本研究を行うにあたり、種々御教示御協力を賜わった前の北海道立北見農業試験場土壌肥料科大崎玄佐雄科長、ならびに同病虫予察科の各氏に感謝の意を表わす。

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

** 北海道立北見農業試験場 Hokkaido Prefectural Kitami Agricultural Experiment Station, Kunneppu, Hokkaido 099-14, Japan

材料および方法

材料の採取および生育調査 1979年、インゲン連作、輪作両区の2反復ある圃場から、播種前（5月4日）、発芽揃期（6月18日）、その後約3週間ごとに3回、また収穫期（9月4日）の計6回、インゲンの地下部、根圏土壌、非根圏土壌を採取し *Pythium* 属菌の分離同定、定量を行った。また、各材料採取時に各区インゲン20個体の草高を測り、同時に根部の状態も調査した。

***Pythium* 属菌の分離** 選択培地を用いインゲン組織および土壌から *Pythium* 属菌の分離を行った。使用した選択培地は、前報⁶⁾と同じである。

(1) インゲンからの分離 前述の各時期に連作および輪作区から8株ずつインゲンを採取し、その胚軸および根から直接分離および間接分離により *Pythium* 属菌を分離した。(i) 直接分離：長さ2~6cmに切ったインゲン組織を前報⁶⁾と同様表面殺菌をすることなく十分に水洗し選択培地上に置き *Pythium* 属菌を分離保存し、同定を行った。培地に置いた全切片のうち各 *Pythium* 属菌の分離された割合を分離率とした。なお、播種前（5月4日）に連作区から前年のインゲン残渣、また輪作区のうち前年インゲン栽培した区から前年のインゲン残渣をそれぞれ採取し、これらから分離を行った。(ii) 間接分離：所定の時期に採取したインゲン地下部をポリエチレン袋に入れ4℃で1~2か月保存後、長さ2~3cmに切り、予め準備した11cm 素焼植木鉢中の殺菌土壌と十分混合した。これにインゲン（品種、大正金時）を1鉢あたり7粒ずつ播種し、25℃のグロースキャビネットで3~4週間栽培した。生育したインゲン苗の胚軸と根から上記と同じ方法で改めて直接分離を行い、同様にして分離率をもとめた。なお、対照としてインゲン組織を接種しない殺菌土壌を用いた。

(2) 土壌からの分離 各区インゲンの根圏および非根圏土壌を風乾し、菌量に応じ9cm ペトリ皿1枚当たり2~10mgを取り土壌平板法によって前報⁶⁾と同様 *Pythium* 属菌を分離保存し、さらに現われた菌そうに基き菌数の定量を行った。1回の実験には1区ペトリ皿10枚を用いた。

結 果

インゲンの生育および地下部の状態

発芽揃期後約3週間目の7月9日に測定したインゲンの草高は、輪作区に比べ連作区では明らかに低かつ

た。その後すべての調査時期で同様に明らかな差があり、何れも0.1%水準で有意差が認められた (Fig. 1)。

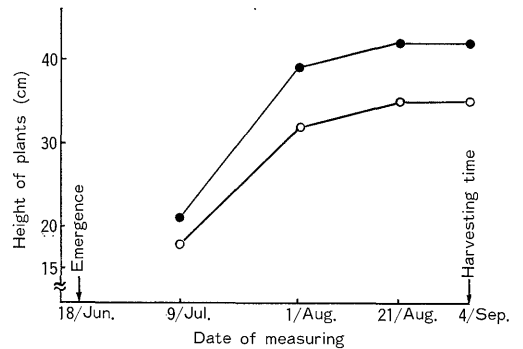


Fig. 1. Height of bean plants in monoculture (○) and rotation (●) plots. Height differed significantly ($P=0.01$) at all measuring time.

なお、各調査時における連作区と輪作区のインゲンの草高の比は常に1:1.2であった。収穫期におけるインゲンの状態は、輪作区ではすでに地上部が枯凋しているのに対し、連作区では枯凋せず葉はなお緑色を保っており、明らかに生育の遅延が認められた。以上のことから、連作区インゲンの生育低下はすでに発芽揃期から生育中期までに起こり、輪作区に比べて生育が遅延しそのまま収穫期まで続くと考えられる。収穫期における連作区インゲンの地上部生育と収量は輪作区より劣りいずれも70%にすぎなかった (Table 1)。

Table 1. Yields of bean plants in the experimental plots of monoculture and rotation

Plots	Fresh top weight (kg/10a)	Bean weight (kg/10a)
Monoclture	325	178
Rotation	465	252

連作、輪作区におけるインゲンの地下部は発芽揃期（6月18日）には何れも外観健全で、変色あるいは病斑は認められなかった。7月9日および8月1日には連作区では根の全体が褐色となり、え死を起こし、その量も少なかった。輪作区では根の褐変はほとんど認められなかった。8月21日および収穫期の9月4日には、連作区のインゲンは胚軸から不定根が多数派生し、あるものは地表に現われていた。これらの根は褐変していないため、掘取って地下部を見ると根は全体

として健全に見えるが、褐変した根はすでに枯死、脱落しており、そのため根の量は輪作区よりも明らかに少なかった。

インゲン地下部組織中の *Pythium* spp.

インゲン地下部から直接分離法により得られた *Pythium* 属菌は、連作区インゲンの方が多く、*P. acanthophoron*, *P. irregulare*, *P. myriotylum*, *P. spinosum*, *P. paroecandrum*, *P. ultimum* および未同定の *Pythium* sp. の7種で、輪作区インゲンからはそのうち *P. spinosum*, *P. paroecandrum*, *P. ultimum*

の3種が得られた。

播種前、土壌に残った前年のインゲン残渣から分離されたのは連作区では *P. myriotylum*, *P. ultimum*, 未同定 *Pythium* sp. で、輪作では *P. ultimum* のみであった。(Table 2)

前報⁹⁾でインゲンに対し病原性の認められた *P. myriotylum* は、8月と9月にわずかに1回ずつ連作インゲンから得られた。一方、同じく病原性をもつ *P. spinosum* および未同定 *Pythium* sp. の消長は、*Pythium* 属菌全体の消長とほぼ同じ傾向を示したが、

Table 2. Frequency of the direct isolation of *Pythium* spp. from hypocotyls and roots of bean plants in monoculture (M) and rotation (R) plots

<i>Pythium</i> species	% isolation at respective sampling times ^{a)}											
	May 2. ^{b)}		Jun. 18. ^{c)}		Jul. 9.		Aug. 1.		Aug. 21.		Sep. 4. ^{d)}	
	M	R ^{e)}	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R
<i>P. acanthophoron</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0
<i>P. irregulare</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<i>P. myriotylum</i>	10	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0
<i>P. spinosum</i>	0	0	0	0	9	13	3	9	0	3	3	3
<i>P. paroecandrum</i>	0	0	3	6	3	6	3	3	0	3	3	0
<i>P. ultimum</i>	10	10	0	13	38	25	42	22	16	6	18	49
<i>Pythium</i> sp.	10	0	3	0	31	0	15	0	9	0	6	0
Total	30	10	6	19	81	44	69	34	34	12	33	52

a) Isolation with selective medium after 1-4 days incubation at 25 C. Data are presented as the percentage of hypocotyls and roots from which *Pythium* spp. were recovered.

b) Before planting. *Pythium* spp. were isolated from bean residues.

c) Seedling emergence time.

d) Harvesting time.

e) Samples were collected from the rotation plots where bean plants were grown the year before.

Table 3. Frequency of isolation of *Pythium* spp. from hypocotyls and roots of bean seedlings inoculated with the diseased tissues of bean plants in monoculture (M) and rotation (R) plots^{a)}

<i>Pythium</i> species	% isolation at respective sampling times ^{b)}							
	Jul. 9. ^{c)}		Aug. 1.		Aug. 21.		Sep. 4. ^{d)}	
	M	R	M	R	M	R	M	R
<i>P. acanthophoron</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0
<i>P. myriotylum</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	96.7	26.7	96.7	39.1
<i>P. ultimum</i>	0.0	0.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Pythium</i> sp.	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Total	0.0	0.0	15.0	0.0	96.7	33.4	96.7	39.1

a) Indirect isolation of *Pythium* spp.

b) Isolation with selective medium after 1-4 days incubation at 25 C. Data are presented as the percentage of hypocotyls and roots from which *Pythium* spp. were recovered.

c) Seedling emergence time.

d) Harvesting time.

P. spinosum は連作区より輪作区インゲンから多く分離された。また、未同定 *Pythium* sp. は連作インゲンのみから分離された。(Table 2)

圃場のインゲンから *Pythium* を間接分離法により分離するとき、連作インゲン地下部を接種したインゲン苗の根と胚軸は激しく褐変し、そこから *P. myriotylum*, *P. ultimum*, 未同定 *Pythium* sp. が分離され、とくに *P. myriotylum* の頻度が高かった (Table 3)。これに対し輪作インゲン地下部を接種した時、苗の発病はほとんど認められず、*P. acanthophoron* および *P. myriotylum* が間接的に分離されたが、その頻度は低かった。

8月1日に採取した連作インゲン組織には多数の卵胞子が存在したが、組織から間接分離法により *P. ultimum* がわずかに分離されただけで、*P. myriotylum* は得られなかった。しかし、このとき用いた土壤に再び栽培したインゲンは激しく発病し、それから分離されたのは、ほとんど *P. myriotylum* であった。すなわち、直接分離でも明らかのように8月1日には、連作区のインゲンはすでに *P. myriotylum* により感染を受けていると認められた。

以上の結果から、インゲンの生育初期から根の褐変の激しくなった8月初めにかけて、連作区インゲンは輪作区のものに較べて、*P. myriotylum* および未同定

Table 4. Population of *Pythium* spp. in rhizosphere soils of bean plants in monoculture (M) and rotation (R) plots

<i>Pythium</i> species	Propagules/g air-dry soil at respective sampling times ^{a)}									
	Jun. 18. ^{b)}		Jul. 9.		Aug. 1.		Aug. 21.		Sep. 4. ^{c)}	
	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R
<i>P. acanthophoron</i>	30	30	0	0	0	0	0	0	0	10
<i>P. spinosum</i>	30	20	0	40	67	60	10	70	230	390
<i>P. paroecandrum</i>	0	20	0	40	0	10	0	10	0	0
<i>P. ultimum</i>	40	10	213	150	80	150	40	150	110	290
<i>Pythium</i> sp.	0	0	77	0	93	30	60	0	90	0
Total	100	80	290	250	240	250	110	230	430	690

a) Isolated by soil plate method using selective medium after 1-4 days incubation at 25 C.

b) Seedling emergence time.

c) Harvesting time.

Table 5. Population of *Pythium* spp. in non-rhizosphere soils of bean plants in monoculture (M) and rotation (R) plots

<i>Pythium</i> species	Propagules/g air-dry soil at respective sampling times ^{a)}											
	May 2. ^{b)}		Jun. 18. ^{c)}		Jul. 9.		Aug. 1.		Aug. 21.		Sep. 4. ^{d)}	
	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R
<i>P. acanthophoron</i>	60	10	0	20	0	0	0	0	0	0	0	20
<i>P. irregulare</i>	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. myriotylum</i>	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. spinosum</i>	0	10	20	50	20	50	30	40	10	80	120	110
<i>P. paroecandrum</i>	0	0	30	30	20	90	10	10	20	10	0	40
<i>P. ultimum</i>	0	40	170	130	70	490	160	200	260	360	80	250
<i>Pythium</i> sp.	0	0	80	0	800	0	297	10	280	100	500	10
Total	100	70	300	230	910	630	497	260	570	550	700	430

a) Isolated by soil plate method using selective medium after 1-4 days incubation at 25 C.

b) Before planting.

c) Seedling emergence time.

d) Harvesting time.

Pythium sp. の感染をより多く受けていると認められる。

土壌中の *Pythium* spp.

連作、輪作いずれの区のインゲン根圏土壌からも、*P. acanthophoron*, *P. spinosum*, *P. paroecandrum*, *P. ultimum*, 未同定 *Pythium* sp. の5種が得られたが、輪作区においては連作区のインゲンから分離された *P. irregulare* および *P. myriotylum* は得られなかった。根圏土壌中の *Pythium* 全体の菌量は、インゲンの生育時期により変動し連作、輪作区で異なっていた (Table 4)。すなわち、インゲンに病原性のある *P. spinosum* と未同定 *Pythium* sp. の根圏土壌中の菌量を見ると前者は連、輪作区とも収穫期に著しく増加し、後者は連作区で著しく多いが菌量の季節的変動は顕著でなく、輪作区では菌量少なくわずかに8月1日に1回得られたにすぎなかった。

非根圏土壌には、組織から分離された7種の *Pythium* spp. が存在し、それらの菌量の変動を Table 5 に示した。すなわち、インゲンに病原性のある *P. myriotylum*, *P. spinosum*, 未同定 *Pythium* sp. のうち、*P. myriotylum* は播種前の連作区土壌のみから分離された。これに対し、*P. spinosum* は連作、輪作両区から常に分離され、輪作区の方が若干多い傾向はあるがその変動は少なかった。未同定 *Pythium* sp. は、連作区で

は播種前を除き常に分離されその菌量は多く、根の褐変が激しくなった7月9日にとくに著しく増加しその後やや減少した。本菌は、輪作区土壌からは8月1日以降になり始めて分離されただけで、その菌量も少なかった。

以上の結果から、*P. myriotylum* および未同定 *Pythium* sp. はとくに連作区で多く存在し、未同定 *Pythium* sp. の菌量はインゲンの褐変が起り始めた7月に著しく増加すると認められた。

連作土壌における ridomil の効果

連作圃場におけるインゲンの生育低下に *Pythium* 属菌による感染が関係することを明らかにするため、卵菌類に対し選択的抑制効果をもつ ridomil (CG 117 水和剤25, 日本チバガイギー株式会社) を用いて実験を行った。

予備実験で上部直径8.5cm, 容積約450cm³の紙コップに *P. myriotylum* を接種した土壌を入れ100ppmのridomilをコップ当たり16mlを灌注すると、インゲンの生育は無処理区より良好となり、根の褐変はほとんど認められなかった。

そこで、連作、輪作区の土壌に対し同様に ridomil を灌注した。25°C, 3週間インゲンを栽培し、生育と地下部の調査を行った結果 (Fig. 2), 連作土壌に ridomil を灌注すると、灌注しない対照区に比較し

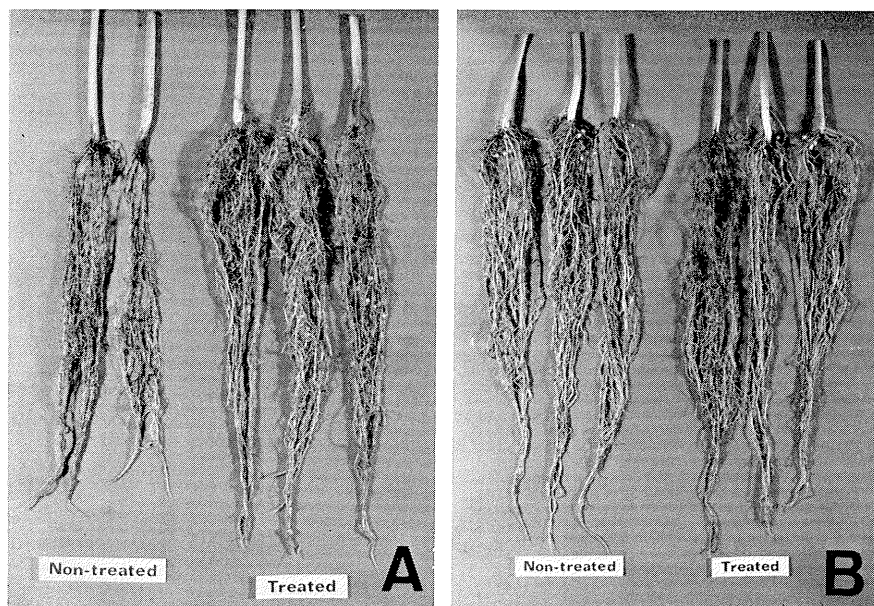


Fig. 2. Effect of ridomil (CG 117) on bean seedlings grown in the soil collected from monoculture (A) and rotation (R) plots.

ンゲンの根の量は多く、褐変程度は明らかに軽微で輪作区と同様であった。これに対し、輪作土壌におけるインゲンの生育や根の状態は *ridomil* 処理によっても何ら違いは認められなかった。したがって、*ridomil* は連作土壌に栽培したインゲンに対して根の感染を防ぎその生育を輪作土壌に栽培したものと同程度にする効果が認められる。

考 察

本実験から、いわゆる連作障害を起こしたインゲンにみられる草高の低下は、発芽揃期以降生育中期までに起こり、根の褐変がこれに関係すると認められた。

前報告⁹⁾ でインゲンに病原性が認められた未同定 *Pythium* sp., *P. myriotylum*, のうち *Pythium* sp. は、輪作圃場にほとんど存在せず、連作区のインゲンに多く感染し、土壌にも多く存在することが明らかになった。さらに組織からの分離率および土壌中の菌量の変動をみると、連作インゲンの根が褐変を起こす時期にはすでに本菌が感染し、またその時期に土壌中の菌量も著しく増加することが明らかであった。また、*P. myriotylum* は連作区のインゲン組織および土壌からのみ分離され、各生育期のインゲン組織を用いた間接分離法によると、本菌は連作インゲンの生育中期にはすでに感染を起こしていると認められる。*P. myriotylum* の直接分離法による出現頻度が不安定で低いのは、卵胞子の発芽率が著しく低く¹⁾、またその分離が困難^{7, 10)}であるためと考えられる。

前報⁹⁾ で病原性が低いと認められた *P. spinosum* による感染は連作区より輪作区の方がむしろ多い傾向があり、さらに間接分離法による結果からも本菌がインゲンに感染しその生育に大きな障害を与えているとは認められない。

P. ultimum は、病原性がほとんどないと認められたにもかかわらず組織から直接高頻度で分離されたが、間接分離法では8月に1回連作インゲンより得られたのみであった。このことから本菌は圃場のインゲン地下部の病変には大きな役割を果たしていないと考えられる。

以上の結果から、連作区のインゲンは生育初期以降に *P. myriotylum* および未同定 *Pythium* sp. により激しい感染を受け、生育中期までには根の多くはえ死を起こし、その結果地上部の生育が抑制され、連作障害とされる症状が起これと考えられる。これらの *Pythium* 属菌が連作障害に関係している可能性は卵菌類に選択的抑制効果をもつ殺菌剤 *ridomil* を連作土

壌に処理するとそこに栽培したインゲンには根の褐変枯死が認められなかったことから裏付けられた。

連作圃場において、これらの病原菌によりインゲンが激しく発病し倒伏立枯症状などを起こすことなく生育を続けるのは不定根の派生が関係すると思われる。すなわち、インゲンは一般に生育初期から中期の初めにかけて直根が障害を受けたときは、再生現象により不定根が著しく増加する。これらの事実は試験圃場の連作区インゲンで明らかに認められ、不定根は生育後期に地表にとくに多く認められる。すなわち、生育初期から中期にかけて直根が *Pythium* 属菌によって侵されると不定根の発達著しく促進され、それらは比較的乾燥した夏期に土壌表層に分布することから、たとえ *Pythium* 属菌に抵抗性の弱い新根でもこれらの菌による感染を受けにくく、十分に生育すると認められる。また、新生した不定根により地上部は生育を続け、そのため輪作区インゲンが枯凋期に達したときにも連作区はなお茎葉が繁茂を続けると考えられる。

インゲンの連作障害は、Burke および Kreft²⁾ によるとワシントン州では *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* によるといわれ、カリフォルニア州サリナス地方においても連作圃場で *F. solani* f. sp. *phaseoli* による根腐病が激発するとされている⁹⁾。また、宇井ら¹¹⁾ は北海道立十勝農業試験場内の圃場では、連作により *F. solani* f. sp. *phaseoli* によるインゲン根腐病が激発し収量は著しく低下すると報告している。古屋ら³⁾ によると十勝農業試験場の土壌はインゲン根腐病発病促進型土壌であるのに対し、本実験圃場の土壌は発病抑止型土壌であるとし、*F. solani* f. sp. *phaseoli* はこの土壌に住みつけないとしている。本実験においてインゲンの生育期間を通して胚軸と根には本菌による病斑は認められず、また褐変の激しいインゲン地下部からの間接分離法によっても本菌は分離されなかった。したがって、本圃場における連作障害に *F. solani* f. sp. *phaseoli* は関係しないと考えられる。また、供試圃場はかつて直播テンサイの連作障害の原因として *Aphanomyces cochlioides* によると報告されたところである⁵⁾ ことから、卵菌類による病害発生が多い土壌でもあると云うことができる。

摘 要

北見農業試験場における連・輪作試験地で連作によりインゲンの収量、草高が低下するいわゆる連作障害とみなされる現象が認められるが、この現象に植物病

原菌が関与しているか否かについて検討した。

インゲン地下部あるいは土壌から分離し、インゲンに病原性が認められた *P. myriotylum*, *P. spinosum*, 未同定 *Pythium* sp. のうち *P. myriotylum* は連作区のみに見られ、連作区ではインゲンの生育中期にすでに感染していると認められた。

未同定 *Pythium* sp. は輪作圃場からほとんど分離されず、連作区のインゲン地下部組織および非根圏土壌から高頻度で分離された。組織からの分離率および土壌中の菌量は根の褐変が激しくなった生育初期から中期にかけて増加した。

以上の結果から、*P. myriotylum* および未同定 *Pythium* sp. は連作区でインゲンの地下部に感染し、その生育中期までに根のえ死を起こし、その発育と地上部生育の低下をもたらす、連作障害とされる症状が現われると認められる。

卵菌類に選択的抑制効果をもつ殺菌剤 *ridomil* を処理した連作土壌に栽培したインゲン苗の根は健全で、その生育も輪作土壌と同様になった。このことから、少なくとも *Pythium* は連作障害の発生に関係していると考えられる。

引用文献

1. Ayers, W. A. and Lumsden, R. D. (1975). *Phytopathology* 65: 1094-1100.
2. Burke D. W. and Kreft, J. M. (1974). *Ibid.* 64: 546-549.
3. 古屋広光・大和田正幸・宇井格生 (1979). 日植病報 45: 608-617.
4. 北海道立北見農業試験場土壌肥料科 (1972). 昭和46年度北海道農業試験会議提出資料.
5. 石塚喜明・横田勝徳 (1967). 土肥誌 38: 345-350.
6. 景山幸二・宇井格生 (1981). 日植病報 47: 313-319.
7. Lumsden, R. D., Ayers, W. A., Adams, P. B., Dow, R. L., Lewis, J. A., Papavizas, G. C. and Kantzes, J. G. (1976). *Phytopathology* 66: 1203-1209.
8. 成田保三郎 (1976). 北海道土壌肥料研究通信 第23回シンポジウム特集号, 北海道土壌肥料懇話会. pp. 1-12.
9. Snyder, W. C., Schroth, M. N. and Christou, T. (1959). *Phytopathology* 49: 755-756.
10. Southern, J. W., Schenck, N. C. and Mitchell, D. J. (1976). *Ibid.* 66: 1380-1385.
11. 宇井格生・赤井 純・内記 隆・伊藤征男 (1972). 北大農学部邦文紀要 8: 386-390.