

岩手農研セ研報 2 : 1 ~ 60(2001)
Res. Bull. Iwate Agric. Res. Ctr. 2 : 1 ~ 60(2001)

ホウレンソウ萎ちよう病に関する研究

勝部和則

Studies on Fusarium Wilt of Spinach,
Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*

Kazunori KATSUBE

目 次

第Ⅰ章 緒 言

第Ⅱ章 既往の研究

1. ホウレンソウに発生する土壤病害の種類
2. ホウレンソウ萎ちよう病の病徵
3. ホウレンソウ萎ちよう病菌の分類
4. ホウレンソウ萎ちよう病の発生生態
5. ホウレンソウ萎ちよう病の防除

第Ⅲ章 岩手県のホウレンソウ産地における土壤病害の発生実態

1. 発生実態調査
2. 考察

第Ⅳ章 ホウレンソウから分離した *Fusarium oxysporum* の病原性検定法

1. 接種菌量と発病
2. 生育段階と発病
3. 検定品種と発病
4. 病原性検定法の検証
5. 考察

第Ⅴ章 ホウレンソウ萎ちよう病菌の菌糸和合性群による類別とその分布

1. わが国における菌糸和合性群の地理的分布
2. 岩手県における菌糸和合性群の分布
3. 菌糸和合性群の圃場内分布の多様性
4. 菌糸和合性群の標準菌株の培養適温
5. 考察

第Ⅵ章 病原性検定法を利用したホウレンソウ萎ちよう病に対する品種抵抗性の検定

1. 病原性検定法の品種抵抗性検定への応用
2. 菌株による品種抵抗性の差異
3. 考察

第Ⅶ章 ホウレンソウ萎ちよう病の防除法

- 第1節 非病原性フザリウムを利用したホウレンソウ萎ちよう病の生物的防除
 1. 非病原性フザリウムの分離と発病抑制のための処理条件
 - 1) 非病原性フザリウムの分離および発病抑制効果
 - 2) 非病原性フザリウムの接種方法
 - 3) その他の土壤病害に対する発病抑制効果
 2. 非病原性フザリウムを用いた防除法
 - 1) 非病原性フザリウムの作物に対する病原性の検討
 - 2) 育苗時における非病原性フザリウム S3HO3 菌株の接種方法の検討

3) 圃場試験

3. 非病原性フザリウムによる発病抑制機作
 - 1) 病原菌の茎部針接種による発病抑制
 - 2) 非病原性フザリウム S3HO3 菌体の生死が発病抑制に与える影響
 - 3) 根圈土壤、根面および根内における非病原性フザリウム S3HO3 菌株および病原菌の消長

4. 考 察

第2節 太陽熱を利用した土壤消毒によるホウレンソウ萎ちよう病の物理的防除

1. 太陽熱利用による土壤消毒効果の検討
2. 考 察

第3節 キチン質資材を利用したホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減効果およびその持続性

1. キチン質資材による発病軽減効果の検討
 - 1) 資材の施用時期、土壤の汚染程度と発病の関係(ポット試験)
 - 2) 圃場試験

2. 考 察

第Ⅸ章 総 合 考 察

第Ⅹ章 摘 要

第Ⅺ章 引 用 文 獻

Summary

第Ⅰ章 緒 言

ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) は、アカザ科に属する1~2年生の長日性植物で、発芽および生育適温が15~20°Cにある冷涼な気候を好む作物である¹³⁸⁾。起源はアジア西方のペルシャとされ、日本には17世紀ごろに伝来したとみられている¹³⁸⁾。ホウレンソウはビタミン含量が特に多く、栄養的価値が高いことから、需要が増加し、作付面積は1960年に戦前の約2倍にあたる28,000haにまで拡大した¹³⁸⁾。

品種は大きく東洋種、西洋種、中間種に区分され、それぞれに草姿、葉の形・色、根色や種子の形、抽苔性、早晚性などの特性がある³⁹⁾。東洋種は東アジアの大陸性気候に適応し、一般に抽苔が早く、ほとんどが秋播き栽培に用いられてきた³⁹⁾。一方、西洋種はヨーロッパの夏季冷涼な気候に適応し、晩抽性で、春から夏にかけての栽培に用いられ、特に北欧の品種は長日適応性が促進され、北海道を除くわが国の夏播き栽培でほとんど抽苔しない極晩性の品種が成立している³⁹⁾。

わが国でホウレンソウの需要が伸びてきた1950年代、西洋種系統を母本とした品種の育種が行われるようになり、早生種、晩抽性、夏どり用品種などが育種目標に掲げられた^{39, 138)}。育種方法は系統分離による固定種が育成されてきたが、最近ではF₁またはF₂世代品種が多くなってきた。このことから、従来秋~冬作栽培であったわが国の作型に加えて次第に春~夏作栽培も盛んに行われるようになった^{39, 138)}。

さらに、1970年代にパイプハウスを利用した「雨よけ栽培」が各地で導入され、気象に左右されない良品質安定生産が可能となった。この雨よけ栽培のホウレンソウは市場評価も高く、換金性が非常に高いため、1棟あたり年間に3~5回連作される事例が多く、数年で連作障害が頻発した^{86, 87)}。中でも萎ちよう病など土壤伝染性病害の被害が大きく、連作障害の要因の大部分を占め⁸⁶⁾、各道府県で重要な生産阻害要因となっている³⁾。

ホウレンソウの生育適温は15~20°Cであるため^{39, 138)}、夏季は市場で品薄となることから、夏穫り作型は寒冷地ややませ地帯での安定収入源として期待される。岩手県では1985年の水稻の大冷害を契機に、夏に冷涼なやませ気候を利用して「雨よけ栽培」が盛んに行われるようになった。さらに、ホウレンソウ栽培は労働作業負担が少ないため、高齢者の多い中山間地域や、やませ地帯を中心に産地形成が進み、1997年には岩手県における作付面積は1,490haに達している¹⁰²⁾。

一方、岩手県における雨よけ栽培ホウレンソウは1棟あたり年間に3~5回連作されるのが普通で、他の道府県と同様に連作に伴う土壌病害が多発するようになった。特に夏どり作型で被害が著しく、主な土壌病害は萎ちよう病と根腐病であると考えられている。根腐病について赤司³⁾は、高水分条件で多発すること、土壌中の硝酸態窒素が多いと病原菌遊走子の運動性が低下し、発生が著しく減少することなどを詳細に報告した。一方、萎ちよう病については内記らによる病原菌の同定⁸⁹⁾、菌密度と発病の関係⁹²⁾、圃場内雑草への感染⁹³⁾などの報告がある。しかし、その後、本病に関する研究事例が少ない。

そこで、本研究では、先ず岩手県におけるホウレンソウ土壌病害の発生実態を調査し、県内の萎ちよう病の発生分布をはじめて明らかにした(第Ⅲ章)。また、調査の際に採集した萎ちよう病状株から分離した菌株のホウレンソウに対する病原性を簡便に検定する方法を確立し、産地別の病原菌の分離頻度から萎ちよう病の発生実態を考察した(第Ⅳ章)。さらに、この病原性検定法を用いて日本国内および岩手県のホウレンソウ産地で分離された *Fusarium oxysporum* の病原性を検定し、菌糸和合性群(Vegetative compatibility group, 以下 VCG)の類別に基づいて、わが国および岩手県における VCG の分布状況を調査するとともに、圃場内における個体群構造を明らかにした(第Ⅴ章)。次いで、第Ⅳ章で確立した病原性検定法を応用して本病に対する品種の抵抗性を評価し、分離菌株との組合せによって品種の圃場抵抗性に変動がみられるることを明らかにした(第Ⅵ章)。防除に当たっては、環境に配慮した省農薬防除法の開発および実用性評価を行った。すなわち、第一にホウレンソウにおいて知見の少ない生物的防除法である非病原性フザリウム菌の利用技術を開発し、その防除機作について明らかにした。第二に物理的防除法として太陽熱を利用した土壤消毒法の岩手県における適用性を検証した。そして第三にキチン質資材による発病軽減効果およびその持続性について明らかにした(第Ⅶ章)。

本論文は日本植物病理学会報^{45, 49)}、同大会および同東北部会^{41-44, 47, 48, 51, 52)}、第5回バイオコントロール研究会⁴⁰⁾、第7回国際植物病理学会議⁵³⁾、北日本病害虫研究会報^{46, 50)}等に発表した成績に、その後の研究成果を加えて総合的に取りまとめたものである。

本研究を取りまとめるに当たり、岩手大学農学部長高橋 壮博士(現岩手大学名誉教授)には岩手大学大学院連合農学研究科における主指導教官として、山形大学農学部教授富樫二郎博士並びに岩手大学農学部助教授吉川

信幸博士（現同教授）には同副指導教官として終始懇篤なる御指導と御校閲を賜った。弘前大学農学生命科学部教授原田幸雄博士、山形大学農学部教授生井恒雄博士、農林水産省九州農業試験場企画連絡室長小川 奎博士（現九州農業試験場長）並びに岩手県農業研究センター応用生物工学研究室長仲谷房治博士には研究遂行に当たり懇切丁寧なる御指導を賜り、原田教授、小川博士並びに仲谷博士には本論文の御校閲の労をおとりいただいた。

元岩手県園芸試験場環境部（現岩手県久慈地方振興局農政部）赤坂安盛氏には本病の防除法に関する共同研究者として、また、元農林水産省農業研究センター土壤病害研究室長（現野菜・茶葉試験場企画連絡室企画科長）萩原 廣氏、前東北農業試験場病害生態研究室（現農林水産省大臣官房企画室技術調整室）中島 隆博士並びに茨城県農業総合センター農業研究所渡辺 健博士には本研究の遂行に当たり有益な御助言と激励をいただいた。さらに全国の試験研究機関の関係諸氏には貴重な病原菌株の分譲並びに発病株の採集に際して御協力いただいた。

元岩手県立農業試験場長（元岩手県農業研究センター所長）田中義一氏、元岩手県立農業試験場環境部長（現岩手県農政部農業普及技術課長補佐）武田真一氏には岩手大学大学院連合農学研究科での学究の機会を与えていただき、岩手県農業研究センター所長菊池宏司氏（現財団法人岩手生物工学研究センター常務理事）、同生産環境部長小川勝美博士（現北興化学㈱技術顧問）並びに同首席専門研究員兼病害虫研究室長宍戸 貢氏には研究遂行上の配慮と御鞭撻をいただいた。また、岩手県農業研究センターライ生産環境部病害虫研究室非常勤職員伊藤広美女史並びに歴代スタッフには実験遂行に当たり、多大な御協力をいただいた。

ここに記して、以上の皆様に深甚なる感謝の意を表する。

最後に本研究の一部は岩手県企画振興部情報科学課の「大学院後期博士課程派遣」事業により、岩手大学大学院連合農学研究科（岩手大学）に在籍して実施したものであることを付記する。

第Ⅱ章 既往の研究

1. ホウレンソウに発生する土壤病害の種類

ホウレンソウに発生する土壤病害には① *Pythium* spp.による立枯病^{3, 25, 32, 58, 72-74, 85, 88, 90, 113, 121, 122, 127)}、② *Rhizoctonia solani* Kühnによる株腐病^{3, 58, 74, 86, 90, 91, 132)}、③ *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* (Sherb.) Snyd. et Hans.による萎ちよう病^{3, 16, 18, 29, 58, 85, 87, 89, 90, 113)}、④ *Aphanomyces*

cochlioides Drechslerによる根腐病^{3, 18, 58, 66, 75, 85, 86, 90, 127)}、および⑤ *Phytophthora* spp.による疫病^{18, 25, 75, 127)}が報告されている。これらの症状は出芽期以降2～4葉期までに現れる立枯れ症状と、5葉期以降収穫期にかけてみられる萎ちよう症状に大別され^{75, 90)}、各病原菌毎に根部から胚軸にかけての症状が異なっている^{86, 87)}。

岩手県における土壤病害の種類に関する記載は見当たらないが、本研究における調査の結果、症状の特徴および一部分離菌の性状から、立枯病、株腐病、萎ちよう病および根腐病の4種病害の発生が確認されている。株腐病を除く3病害は全県域で広く発生している。この中で、実害が大きいのは萎ちよう病と根腐病で、特に萎ちよう病は難防除病害として位置付けられている。

2. ホウレンソウ萎ちよう病の病徵

内記⁸⁷⁾によるとホウレンソウ萎ちよう病の病徵は次のようである。生育初期の萎ちよう症状は本葉展開期頃よりみられ、最初に子葉が萎ちようし、やがて枯死する。生育中・後期に発病すると最初古い下葉から黄化、萎ちようが起こり、次第に若葉に進展し、生育不良となる。発病株の主根導管部が褐変し、感染部位における菌糸の生育が旺盛な場合は土壤粒子が付着し、塊状となることがある。

3. ホウレンソウ萎ちよう病菌の分類

ホウレンソウ萎ちよう病の病原菌は Hungerford²⁹⁾によって *Fusarium spinaciae* として初めて記載され、その後、*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* に改められた¹²⁶⁾。本菌は世界中に広く分布しており²⁰⁾、わが国においては松尾⁸³⁾によって存在が指摘され、奥田・古田¹¹³⁾によって立枯れ症状の株の一部から *Fusarium* sp. が分離された。その後、Naiki and Kanoh⁸⁹⁾によって、わが国に発生するホウレンソウ萎ちよう病の病原菌も *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* であることが正式に同定された。

本菌には他の分化型にみられるようなレースは存在しない。ところが、Armstrong and Armstrong¹¹⁾はホウレンソウと同じアカザ科に属するテンサイの萎黄病菌である *F. oxysporum* f. sp. *betae* を本菌と同じ分化型とし、本菌のレースとすることを提案した。両菌の間ではエステラーゼ・アイソザイムパターンおよび mt DNA RFLP パターンが異なることなどが報告されている^{77, 78, 81)}。しかし、両者はそれぞれ独立した分化型として扱うのが慣例のようである（駒田私信）。

4. ホウレンソウ萎ちよう病の発生生態

本病は各地の主要産地で発生が確認されており、18道府県で本菌が分離されている^{3, 44, 45, 58, 89, 113, 118, 122)}。夏期から初秋にかけて高温下における露地栽培やハウス栽培で発生が多い^{3, 87, 90)}。岐阜県飛騨地域では畑地で発生が多く、連作によって多発することが確認されている^{87, 90)}。また、紫外線照射によって発病程度が高まることが明らかにされている^{95, 96)}。

本菌は種子伝染¹⁴⁾および土壤伝染⁹²⁾する。菌糸の生育は25～30°C, pH 6.0～7.0で良好で、ホウレンソウの生育至適pHに近い。本菌はホウレンソウ根圈に多く、発病最少菌量は乾土1g当たり10～10² cfu (colony forming units)と報告されている⁹²⁾。本菌はホウレンソウ以外にもアカザ科のテンサイ、フダンソウを宿主とする^{3, 11, 89)}ほか、シロザ (*Chenopodium album*)、オオイヌタデ (*Polygonum lapathifolium*)、コイヌガラシ (*Rorippa cantoniensis*)、キンエノコロ (*Setaria glauca*)、シソ (*Perilla frutescens*)に寄生することが確認されている⁹³⁾。

5. ホウレンソウ萎ちよう病の防除

(1) 耕種的防除法

本病に対する抵抗性品種の育成は、アメリカでCook et al.¹⁶⁾およびO'Brien and Winters^{103, 104)}が有望な育種素材となり得る系統を報告しているが、現在までのところ実用的抵抗性品種の育成はなされていない。日本においては内記・森田⁹⁴⁾がわが国の85栽培品種の抵抗性を検討し、東洋種あるいはその組み合わせ系統の中に比較的抵抗性を示す品種を見出しているが、土壤中の接種菌量の増加とともに発病株率が増し、萎ちよう病に対する抵抗性は量的であると推定している。荒井ら⁹⁵⁾はソイルブロック苗^{8, 112)}を利用した移植栽培法が本病の発病軽減に有効であることを報告している。また、赤司⁹⁶⁾はホウレンソウ土壤病害の耕種的防除法について、発生状況や土壤理化学性を考慮すべきことを述べている。

(2) 物理的防除法

ハウス密閉処理による太陽熱消毒法はわが国で開発された独自の方法で^{61, 99)}、多くのFusarium病^{61, 99, 118, 120)}やVerticillium病⁶⁰⁾に有効であることが報告されている。ハウス栽培ホウレンソウにおける本病に対する防除効果は土壤くん蒸剤による薬剤防除と同等で、実用性が高い^{3, 118, 119)}。热水を土壤に注入して土壤消毒する热水土壤消毒法も土壤くん蒸剤と同等の防除効果が認められている⁶⁹⁾。

(3) 化学的防除法

クロルピクリン、臭化メチル、ダゾメットなどの成分による土壤消毒（くん蒸）が本病に対して高い防除効果を示すことが報告されている^{26, 74, 141)}。

(4) 生物的防除法

本病の生物防除に関しては非病原性フザリウム¹¹⁾やエンドファイト¹³⁶⁾を用いた報告がある。

第Ⅲ章 岩手県のホウレンソウ産地における土壤病害の発生実態

岩手県においてパイプハウスを利用した雨よけ栽培ホウレンソウは換金性が高く、重要な農作物の一つである。主要産地は遠野市、西根町および山形村であるが、これら3市町村は気象、土壤条件等生産環境要因が大きく異なっている。このため、各産地における土壤病害の発生様相も異なると考えられるが、発生実態に関する調査記録がない。そこで、本章では主要なホウレンソウ産地における土壤病害の発生実態を明らかにしようとした。

1. 発生実態調査

調査方法

ホウレンソウ土壤病害の発生実態調査は、遠野市、西根町および山形村の3市町村（表1、図1）を定期的に巡回し、①作型別（収穫月にしたがい、6～9月穫り）、②生育段階別（子葉期、本葉2～4葉期、同5葉期以降、収穫期）に行い、土壤病害の種類を内記^{86, 87)}の示した症状の特徴（表2）によって発生病害の種類を診断した。

表1 土壤病害発生調査地域一覧

市町村名	地域名	調査対象		市町村名	地 域 名
		農家戸数	ハウス棟数		
<u>定期調査^{a)}</u>					
遠野市	綾織町	6	16	宮守村	鰐沢、塚本
	松崎町	1	6	胆沢町	小山
	青笹町	1	6	零石町	下川原、御明神
	遠野町	1	3	滝沢村	滝沢
	上郷町	1	5	西根町	寺田
西根町	平笠	1	11	松尾村	松尾、寄木
	田頭	1	3	岩手町	川原木、横田
	大更	1	6	葛巻町	田部
山形村	川井	2	5	山形村	戸呂、荷軽部
	霜畑	3	15	輕米町	山内
				久慈市	侍浜町
				大野村	阿古木
				九戸村	大平、山屋

a) 定期調査は1997年6～9月に実施した。また、調査市町村の地理上の位置を図1に示した。

b) 分布調査は1997年8～9月に実施した。また、調査市町村の地理上の位置を図3に示した。なお、1地域当たり1戸の農家を調査し、調査ハウス棟数は1戸当たり1～2棟であった。

表2 土壤病害発生実態調査における病害別調査指標^{a)}

病名・障害	主な病原菌・原因		症状の特徴
萎ちよう病	<i>Fusarium oxysporum</i>	地上部 地下部	萎ちよう症状、下葉の黄化。幼苗期は子葉が黄化。 導管部の褐変。根端の菌糸土塊。
根腐病	<i>Aphanomyces cochlioides</i>	地上部 地下部	子葉基部から糸状化。株は傾き、萎ちよう。 地際直下から糸状化。根は切れやすい。
立枯病	<i>Pythium spp.</i>	地上部 地下部	胚軸部は水浸状・アメ色に腐敗。発生は2~4葉期まで。 根面も水浸状に腐敗。
株腐病	<i>Rhizoctonia solani</i>	地上部 地下部	地際から株が崩壊。腐敗部に綿状菌糸。 根くびれ。
虫害	タネバエ等	地上部 地下部	子葉、本葉ともに萎ちようし、立枯れ症状になる。 食害痕。2~4葉期までの加害は根が切断。
高温障害	-	地上部 地下部	土壤表面の高温で水分が奪われ、地際部がくびれて萎ちよう。 -

a) 土壤病害の症状については内記^{86,87)}を一部改変した。

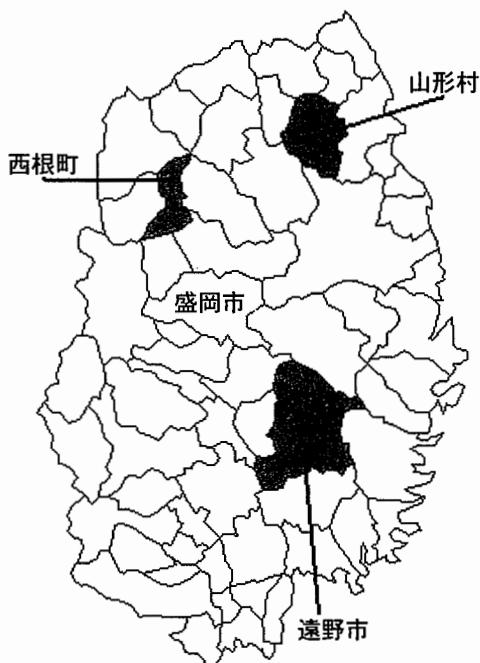


図1 土壤病害発生実態に関する定期調査を実施した市町村の地理的位置

一部の株については1.5%素寒天平板を用いて、病斑部から糸状菌の分離を試みた。各産地の土壤型^{36,37)}および気象特性¹²⁹⁾については表3に示した。また、上記3市町村の定期調査の他、11市町村（表1）において萎ちよう病の発生分布調査を実施した。なお、調査は土壤消毒後のハウスを対象外として、いずれも1997年に実施した。

調査結果

(1) 主要産地におけるホウレンソウ土壤病害の発生実態

遠野市：定期調査は、綾織町、松崎町、青笹町および遠野町・上郷町来内（以下、遠野・上郷町）で実施

し、土壤病害の発生様相に地域間差がみられた（表4）。萎ちよう病の発生が最も多かったのは綾織町で、7月穫りで15%、8月穫りで7%に達した。松崎町（9月穫り）、遠野・上郷町（6、9月穫り）でも5~7%の発生をみたが、7~8月穫りでの発生はやや少なかった。根腐病は綾織町、青笹町、遠野・上郷町（6~7月穫り）で最大4%程度発生したが、8~9月穫りでの発生は少なかつた。立枯病も綾織町（6月穫り）で7%に達した以外は発生が1%前後にとどまった。なお、株腐病の発生はほとんどなく、綾織町（2.3%）、遠野・上郷町（0.5%）の9月穫りで確認できた程度であった。生育段階別の発生推移を、遠野市全体の傾向としてみると、萎ちよう病は生育期全般を通じて発生したが、特に5葉期以降に発生が増加した。根腐病も生育期全般に発生したが、2~4葉期までの発生が多かつた。立枯病は2~4葉期までに発生し、以降の発生は認められなかった。

西根町：定期調査は平笠、田頭および大更地区で実施し、土壤病害の発生様相が概ね一致した（表4）。萎ちよう病は6月穫りで最大5.4%発生した（田頭）が、以降の発生は平均して1%程度であった。根腐病は平笠での発生が特に多く、20%を超えた（6、8月穫り）。田頭、大更でも比較的多く、西根町における土壤病害発生様相の特徴の一つといえる。立枯病は田頭で7%に達したが、全体的には萎ちよう病と同様に発生は多くなかつた。株腐病の発生は認められなかつた。生育段階別には萎ちよう病、立枯病の発生推移は遠野市に一致するが、根腐病は5葉期以降も発生が増加した。

山形村：定期調査は川井および霜畑地区で実施し、土壤病害の発生様相は両地区で概ね一致した（表4）。萎ちよう病の発生は最大で6%に達した（霜畑、6月穫り）

が、全体的に発生が少なく、平均1~3%程度であった。根腐病、立枯病の発生はほとんどなく、最大で3%程度であった。株腐病の発生はほとんど認められず、川井地区で1~2株認めた程度であった。萎ちよう病、根腐病、立枯病の生育段階別発生推移は西根町に一致した。

表3 土壤病害発生実態調査対象地域の土壤型および気象特性

調査地点		土壤型 ^{a)}	夏季の気象特性 ^{b)}	
遠野市	綾織町	表層多腐植質黒ボク土	高温	
	松崎町	中粗粒灰色低地土		
	青笹町	表層腐植質多湿黒ボク土		
	遠野町	中粗粒褐色低地土		
西根町	平笠	表層腐植質多湿黒ボク土	高温多照	
	田頭	厚層腐植質多湿黒ボク土		
	大更	表層腐植質多湿黒ボク土		
山形村	川井	表層腐植質多湿黒ボク土	比較的冷涼	
	霜畑	表層腐植質黒ボク土		

a) 岩手県耕地土壤図^{36,37)}による。

b) 武田¹²⁾の気候区分による。

(2)発生実態と土壤型との関係

遠野市遠野・上郷町(来内)、松崎町を除く、調査7地点(遠野市:綾織町、青笹町;西根町:平笠、田頭、大更;山形村:川井、霜畑)はいずれも腐植質黒ボク土壤で(表3)、上記3病害の発生様相(表4)に特徴的な傾向は認められなかった。一方、遠野市松崎町のハウスは萎ちよう病や根腐病の発生が少なかった。このハウス土壤は灰色低地土に区分されるが(表3)、圃場は川岸の砂地に立地していた。一方、遠野・上郷町でも比較的の発生は少なかつたが、これらのハウス土壤は褐色低地土に区分される(表3)。

(3)発生実態と連作年数の関係

連作年数と土壤病害の発生の関係について、萎ちよう病または根腐病の最大発病株率を以て比較すると、連作年数が5年以上で長くなるほど、両病害の発病株率が高くなる傾向にあった(図2)。しかし、各連作年数の圃場における発病株率は最小値から最大値まで連続的にプロットされており、連作年数が長くとも土壤病害の発生が少ない圃場もみられた。

表4 主要産地における作型・生育段階別土壤病害の発生実態

調査地域	病害種類	作型および生育段階別発病株率(%) ^{a)}															
		6月穫り				7月穫り				8月穫り				9月穫り			
遠野市	萎ちよう病	0.0	0.0	0.7	2.2	0.0	4.5	2.8	15.0	0.0	2.4	1.8	7.0	0.0	3.2	1.7	2.6
	根腐病	3.2	2.7	4.1	1.5	0.4	3.8	0.5	0.8	0.4	1.4	1.1	0.2	0.1	0.5	0.5	0.0
	立枯病	7.6	3.2	0.0	0.0	0.4	0.9	0.0	0.0	0.3	0.6	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0
松崎町	萎ちよう病	0.0	0.8	0.0	0.3	0.2	0.8	0.0		0.7	2.0	0.0	0.3	6.5	0.8		
	根腐病	0.0	0.1	0.9	0.7	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	立枯病	0.0	0.0	0.2	0.3	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
青笹町	萎ちよう病	0.0		0.1	0.0	0.5											
	根腐病	0.3				1.5	0.1										
	立枯病	0.0			1.1	0.0	0.0										
遠野+上郷町	萎ちよう病	0.4	6.8	0.0	0.8	0.4	4.0	0.0	0.0	3.4	0.8	0.0	0.0	5.2	2.3		
	根腐病	0.8	1.2	0.0	4.2	1.5	0.8	1.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0		
	立枯病	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
西根町 平笠	萎ちよう病	3.1	4.4	0.0	0.1	0.5	1.3	0.0		2.3	0.0		0.8	0.0			
	根腐病	25.7	7.9	7.9	3.7	9.1	2.5	4.3		20.0	0.0		4.4	0.0			
	立枯病	0.0	0.0	3.4	1.5	0.0	0.0	1.6		0.0	0.0		0.3	0.0			
田頭	萎ちよう病	0.2	5.4	0.0	0.0		0.0	0.0		0.0	0.0		0.0				
	根腐病	5.8	1.1	1.4	1.8		0.8	0.0	2.9	2.9	1.7	0.0					
	立枯病	0.0	0.0	2.8	7.3		0.0	0.0	0.7	0.0	0.0						
大更	萎ちよう病	0.5	0.3	0.0	0.2	3.1	2.7	0.0		0.0			0.0	0.0			
	根腐病	0.0	0.2	0.7	1.0	1.1	13.9	4.7		0.0			0.0	0.4			
	立枯病	0.0	0.0	0.9	1.0	0.0	0.0	0.0		0.0			1.0	0.0			
山形村 川井	萎ちよう病	0.0	0.9	0.0	0.0	3.6	0.1	0.0	0.0	2.2	0.7	0.0	0.0	1.0	4.1		
	根腐病	0.1	0.5	0.0	0.4	0.4	0.5	0.0	0.0	3.3	0.0	0.1	0.0	0.2	0.3		
	立枯病	0.0	0.0	0.1	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0		
霜畑	萎ちよう病	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	1.3	6.1	0.0	0.0	0.6	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	根腐病	1.4	2.5	0.2	0.0	0.1	0.2	0.3	0.0	0.0	0.4	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0
	立枯病	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

a) 生育段階： I, 子葉期； II, 本葉2~4葉期； III, 本葉5葉期~肥大期； IV, 収穫期。

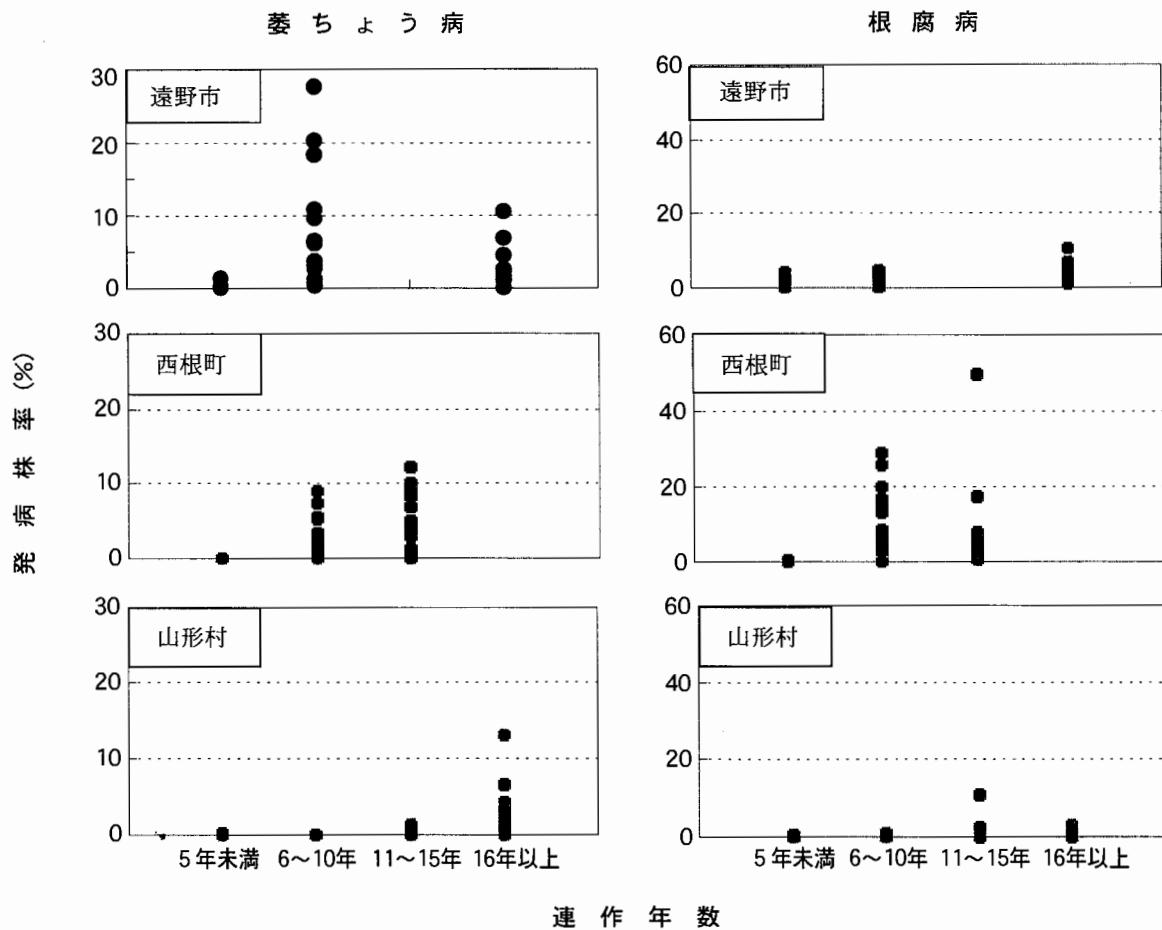


図2 土壤病害の発生と連作年数の関係

(4)岩手県におけるホウレンソウ萎ちよう病の発生分布

岩手県内で定期調査を実施した3市町村10地域に加えて、雨よけホウレンソウ栽培が盛んな13町村19地域で（表1、図3）、1地域あたり1～2戸の農家ハウスを無作為に選び調査した（1997年8月中旬～9月上旬）。その結果、調査全域で萎ちよう病の発生を確認し、先に述べた3町村10地域と合わせると、本県における萎ちよう病の発生は14市町村29地域に及ぶことが明らかになった（表5、図3）。

表5 岩手県においてホウレンソウ萎ちよう病の発生が確認された市町村・地域名一覧

市町村名	地域名
遠野市	綾織町、松崎町、青笹町、遠野町、上郷町
久慈市	侍浜町
零石町	下川原、御明神
葛巻町	田部
岩手町	川原木、横田
西根町	平笠、田頭、大更、寺田
滝沢村	滝沢
松尾村	松尾、寄木
胆沢町	小山
宮守村	鱒沢、塚本
軽米町	山内
山形村	川井、霜畑、戸呂、荷軽部
大野村	阿古木
九戸村	大平、山屋

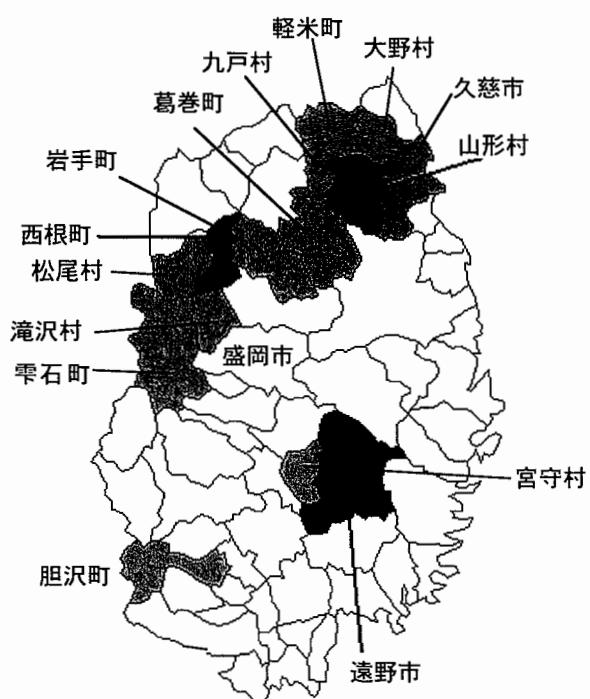


図3 岩手県におけるホウレンソウ萎ちよう病の発生分布

2. 考 察

わが国のホウレンソウ栽培で発生する土壤病害には萎ちよう病、根腐病、立枯病、株腐病および疫病がある⁹⁸⁾。今回の調査で、岩手県では疫病をのぞく4病害の発生を確認し、これらの発生様相は産地によって異なることが明らかになった。すなわち、遠野市では6月積りで根腐病と立枯病が発生し、以降は萎ちよう病の発生が主体であった。萎ちよう病は4作型で発生し、特に7～8月積りで発生が増加する傾向にあった。西根町では年間を通して、根腐病の発生が特に多く、これによる実害が大きいと考えられた。萎ちよう病も初夏（6～7月積り）に発生が増加し、立枯病の発生もみられた。山形村では3病害とも発生が少なかったが、7月積りで萎ちよう病の発生が増加した。株腐病は遠野市、山形村の一部でのみ発生し、実害はないと考えられた。

このような土壤病害の発生様相の違いについては、一般に土壤型あるいは連作年数という要因が影響を及ぼしていると考えられている。Naiki and Morita⁹⁹⁾は萎ちよう病の発生と土壤型について、ローム土壤に比べクレイローム層土壤およびライトクレイ層土壤は*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* 菌密度が高かったことを報告しているが、これらはいずれも火山灰起源の赤褐色土壤である。駒田⁶²⁾はダイコン萎黄病について同じ洪積土壤でも腐植が少なく、乾燥しやすい方が発病の激しいことを述べている。また、赤司³⁾は連作年数が長い土壤ほど根腐病の発病株率が高まる 것을 보고 있다.

今回の調査では、主要産地間のみならず、遠野市内においても地域によって発生様相が異なった。例えば、萎ちよう病は地域間差が少なかったが、根腐病、立枯病は遠野市松崎町で少なく、他の地域では発生が比較的多かった。この松崎町の調査ハウスは灰色低地土の砂質土壤に立地しており、他の地域と土壤型が異なった。連作年数についてはいずれの産地でも10年以上経過したハウスが含まれていることから、この発生差異は連作年数によるものではなく、土壤型の違いによるものと考えた。しかし、前述したように山形村では土壤型が腐植質黒ボク土に分類され、根腐病と立枯病の発生が多かった遠野市綾織町など他の地域と一致することから、同じ腐植質黒ボク土壤でも土壤病害の発生様相に違いがみられた。岩手県内のホウレンソウハウスはいずれも長期間連作され、毎年堆肥も投入されることから、土壤としての腐植含量は黒ボク土壤並であると推定される。本調査では土壤消毒後のハウスを除いて調査しており、土壤消毒の実施による発生実態への影響は少ないと考える。このことから、岩手県におけるホウレンソウ土壤病害の発生地

域間差を土壤型あるいは連作年数だけで説明することはできない。

岩手県内で発生を確認した萎ちよう病、根腐病および立枯病の3種の土壤病害はいずれの産地でも重要な生産阻害要因である。しかし、防除の難易を考慮した場合、根腐病や立枯病は播種直後にスルフェン酸系・ベンシクロン水和剤（商品名：レンパレン水和剤）の灌注によって防除できるのに対して^{132, 133)}、萎ちよう病は土壤消毒以外に現在のところ防除対策がない³⁴⁾。このため、岩手県における萎ちよう病の発生実態を明らかにすることは今後の産地における防除計画に寄与できると考え、14市町村29地域で本病の発生を調査したところ、全域で萎ちよう病の発生を確認した。このことは、今後、各産地で本病が重大な被害をもたらす危険性のあることを示すとともに、本病の防除対策の確立が急務であることを示唆している。

第Ⅳ章 ホウレンソウから分離した *Fusarium oxysporum* の病原性検定法

サツマイモやラッキョウなどの植物体内には多種の*Fusarium* 属菌が内在している^{27, 105, 109)}。ホウレンソウにおいても根面あるいは根内から*F. oxysporum* が分離されている^{1, 49, 50)}。これは萎ちよう症状を呈するホウレンソウから*F. oxysporum* を分離しても、その分離菌が必ずしも萎ちよう病菌*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* であるとは断定できないことを示している。そこで、萎ちよう症状株等から分離した*F. oxysporum* 菌株の病原性を調べる簡便な検定法として灌注接種法を試みた。

1. 接種菌量と発病

既往の研究によると、本病の接種試験において使用された接種源は主にジャガイモ・ブドウ糖寒天（PDA）平板で培養した小型分生子である^{20, 92, 94)}。ここでは培養等の操作をより簡便にするために、液体培地で振とう培養した菌体（bud cell）の接種源としての利用を検討し、汚染土壤での結果と比較した。その上で最適な接種菌量を明らかにしようとした。

材料および方法

本研究で供試した日本産*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* 全菌株の来歴を表6に示す。

(1) 振とう培養による芽胞状菌体の接種菌量と発病

F. oxysporum f. sp. *spinaciae* S1H14菌株（表6）を供試し、ショ糖加用ジャガイモ煎汁（PS）で振とう培

養(25°C × 7日間)した芽胞状菌体を2重ガーゼでろ過し、接種源とした。土壤には園芸培土(商品名:くみあい園芸粒状培土)を用い、接種後の菌量で10²~10⁴cfu/乾土gとなるように菌体懸濁液を土壤に混和接種した。これを直径12cmのポリポットに充填し、ホウレンソウ(品種「おかめ」、タキイ種苗株)を20粒播種した。発病は本病の特徴である本葉の萎ちようを調査し、発病株率を求めた。

(2)病原菌汚染土壤の混入量と発病

上記病原菌株の芽胞状菌体を腐植質火山灰土壤(黒ボク)の未耕土(A)に混和接種後、ホウレンソウを栽培して、萎ちよう病汚染土壤(B)を作製した。この汚染土壤を用い、上記土壤に1/1000~1/10の容積比で適宜混和し、供試土壤(C)とした。1/5000aワグネルポットに充填した後、品種「おかめ」を30粒播種した。収穫期に地上部発病および根部導管褐変の有無を調査した。

表6 本研究に供試した日本産 *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* の来歴^{a)}

菌株名	分離年	分離地	来歴	分離者	備考
S1HI4	1989	岩手県松尾村	岩手農研保存	赤坂安盛	
MG1072	1992	宮城県	宮城園試分譲	佐藤 郁	
MG15	1997	宮城県大和町	岩手農研	菅野博英	
AK13	1997	秋田県大曲市	岩手農研	佐山 玲	
AK29	1997	秋田県大曲市	岩手農研	佐山 玲	
F1-2		埼玉県	静岡農試分譲	嶋崎 豊	
Spin 3	1988	茨城県	農水省農研セ分譲	国安克人	MAFF103061 ^{b)}
Spin 4	1988	茨城県	農水省農研セ分譲	国安克人	MAFF103062
CB1	1997	千葉県	千葉農試	香川晴彦	
CB8	1997	千葉県	千葉農試	香川晴彦	
CB10	1997	千葉県	千葉農試	香川晴彦	
Spin 2	1988	岐阜県	農水省農研セ分譲	国安克人	MAFF103060
GIFU		岐阜県	山梨総農試分譲	内記 隆	
G3F9	1997	岐阜県飛騨	岐阜農総研	加藤昌亮	
G10H1	1997	岐阜県岐阜市	岐阜農総研	加藤昌亮	液栽培
FS-1	1997	福井県東安居	福井農試	本多範行	
FS-2	1997	福井県東安居	福井農試	本多範行	
FS-3	1997	福井県東安居	福井農試	本多範行	
Spin 1	1981	三重県	農水省農研セ分譲	国安克人	MAFF103059
9606170	1996	三重県鈴鹿市	三重農技セ分譲	黒田克利	
YMGC4		大阪府	大阪農技セ分譲	草刈眞一	
OSK-1		大阪府	大阪農技セ分譲	草刈眞一	
木F	1994	京都府瑞穂町	京都農総研分譲	福西 務	
Ky-1	1997	京都府京都市	京都生資研分譲	小坂能尚	
Ky-2	1997	京都府瑞穂町	京都生資研分譲	小坂能尚	
Ky-3	1997	京都府夜久野町	京都生資研分譲	小坂能尚	
Tf306		滋賀県	タキイ種苗分譲	塩見 寛	
B4-6	1986	鳥取県日南町	鳥取園試分譲	佐古 勇	佐古ら ^{11b)}
B4-9	1986	鳥取県日南町	鳥取園試分譲	佐古 勇	佐古ら ^{11b)}
KG1	1997	香川県仲南町	香川農試分譲	森 充隆	
KG6	1997	香川県仲南町	香川農試分譲	森 充隆	
Spi:1-0	1983	福岡県北野町	野菜茶試久留米分譲	未詳	
Spi:2-0	1992	福岡県久留米市	野菜茶試久留米分譲	未詳	
小国1	1995	熊本県小国町	エーザイ生科研分譲	松本卓生	
宇都宮	1995	熊本県小国町	エーザイ生科研分譲	松本卓生	
SP1					
SP2					
SP3					
SP4					
SP5					
SP6					
		未詳		未詳	Fiely et al. ²⁰⁾

a) いずれの菌株も使用までショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天(PSA)斜面で低温保存した。

b) 農林水産省農業生物資源研究所にて保存している菌株。

また、本試験では土壤希釈平板法⁵⁹⁾により調査し、播種直前における供試土壌(C)中の*Fusarium*属菌数および*F. oxysporum*菌数を求めた。

なお、試験に用いた上述未耕土(A)の微生物相は*Fusarium*菌数 $10^2\text{cfu}/\text{乾土g}$ 未満、糸状菌数 $7.3 \times 10^4\text{cfu}/\text{乾土g}$ 、細菌数 $5.5 \times 10^6\text{cfu}/\text{乾土g}$ 、放線菌数 $10^5\text{cfu}/\text{乾土g}$ 未満であった。

また、汚染土壌(B)の土壤微生物相は*Fusarium*菌数 $3.6 \times 10^3\text{cfu}/\text{乾土g}$ 、*F. oxysporum*菌数 $2.8 \times 10^3\text{cfu}/\text{乾土g}$ 、糸状菌数 $6.1 \times 10^6\text{cfu}/\text{乾土g}$ 、細菌数 $1.6 \times 10^7\text{cfu}/\text{乾土g}$ 、放線菌数 $10^5\text{cfu}/\text{乾土g}$ 未満であった。

実験結果

(1) 振とう培養による芽胞状菌体の接種菌量と発病

播種21日目(本葉5葉期以降)にはすでに接種菌量に依存して発病株率に差がみられた(表7)。すなわち、接種菌量が $10^2\text{cfu}/\text{乾土g}$ とした場合には発病を認めなかつたが、 $10^3\text{cfu}/\text{乾土g}$ では33.3%、 $10^4\text{cfu}/\text{乾土g}$ では86.7%の発病株率であった。収穫期に当たる播種後27日における発病株率は、 10^2 、 10^3 、 $10^4\text{cfu}/\text{乾土g}$ 接種の順に26.7%、86.7%、100%、さらに播種後30日では33.3%、100%、100%と、接種菌量が多いほど発病は増加した(表7)。

表7 ホウレンソウ萎ちよう病菌の接種菌量が発病に及ぼす影響

接種菌量 a)	発病株率 (%)		
	21日 b)	27日	30日
$10^2\text{cfu}/\text{乾土g}$	0.0	26.7	33.3
10^3cfu	33.3	86.7	100
10^4cfu	86.7	100	100

a) ショ糖加用ジャガイモ煎汁による振とう培養菌体(芽胞状菌体)を接種源とした。

b) 1993年8月7日に播種した。播種後日数を示す。

(2) 病原菌汚染土壌の混入量と発病

地上部の発病は土壤中の*Fusarium*菌数、*F. oxysporum*菌数が $10^3\text{cfu}/\text{乾土g}$ を超えた場合に起こり、菌密度がこのレベルにあっても数値が大きいほど、発病株率は急激に増加した(図4)。地下部の発病(根部導管褐変率)においても同様であった(図4)。これら発病と、*F. oxysporum*菌数との間には次に示す回帰式が得られた。

$$y_1 = 53.21x - 125.17 \quad (r = 0.82)$$

$$y_2 = 67.87x - 153.74 \quad (r = 0.86)$$

ただし、 y_1 : 地上部発病株率、 y_2 : 根部導管褐変率、 x : 土壤中の*F. oxysporum*菌数。

供試した未耕土(A)では*Fusarium*属菌が検出限界以下であったことから、供試した病原菌汚染土壌中の*F. oxysporum*菌数はそのほとんどが*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*である。この回帰式によると発病に至る*F. oxysporum*の最少菌量は、地上部の萎ちよう、根部の導管褐変とも $10^2\text{cfu}/\text{乾土g}$ 以上、また、100%の株が発病するためには $10^4\text{cfu}/\text{乾土g}$ 以上と計算された。

2. 生育段階と発病

Reyes¹¹⁷⁾によれば、播種時よりも幼苗期に本菌を接種する方が発病程度は高まる。本試験では液体培地(PS)で振とう培養した菌体(bud cell)を用い、ホウレンソウの生育段階別の感受性を調査し、より適切な接種時期を明らかにしようとした。

材料および方法

(1) 実験1(1994年6月実施)

病原菌に*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* S1H14菌株(表6)を用い、PSで振とう培養した芽胞状菌体懸濁液(10^5 bud cell/ml)50mlを①播種時(播種当日)、②出芽～子葉期(播種後5日)、③本葉2～4葉期(同13日)および④5葉期以降(同15日)の各生育段階に供試植物個体の上から灌注接種した。

(2) 実験2(1996年9月実施)

実験1に準じ、接種時期は①播種時(播種当日)、②出芽～子葉期(播種後5日)、③本葉2～4葉期(同13日)および④5葉期以降(同16日)とした。

なお、発病調査は地上部の萎ちようの程度別に行い、次式により発病度を算出した。

$$\text{発病度} = (3A + 2B + C) \times 100 \div (3 \times \text{調査数})$$

ただし、A: 枯死株数、B: 典型的な萎ちよう症状を示す株数、C: 発病初期にみられる萎ちよう程度の軽い株数。

実験結果

実験1では出芽～子葉期接種による発病が播種後16日の時点でもみられたのに対して、播種時接種および本葉2～4葉期以降の接種では発病がみられなかった(図5)。また、播種後23～24日でも出芽～子葉期接種の発病度が播種時、本葉2～4葉期または5葉期以降の接種よりも高かった。

実験2では播種後16日の時点で播種時または出芽～

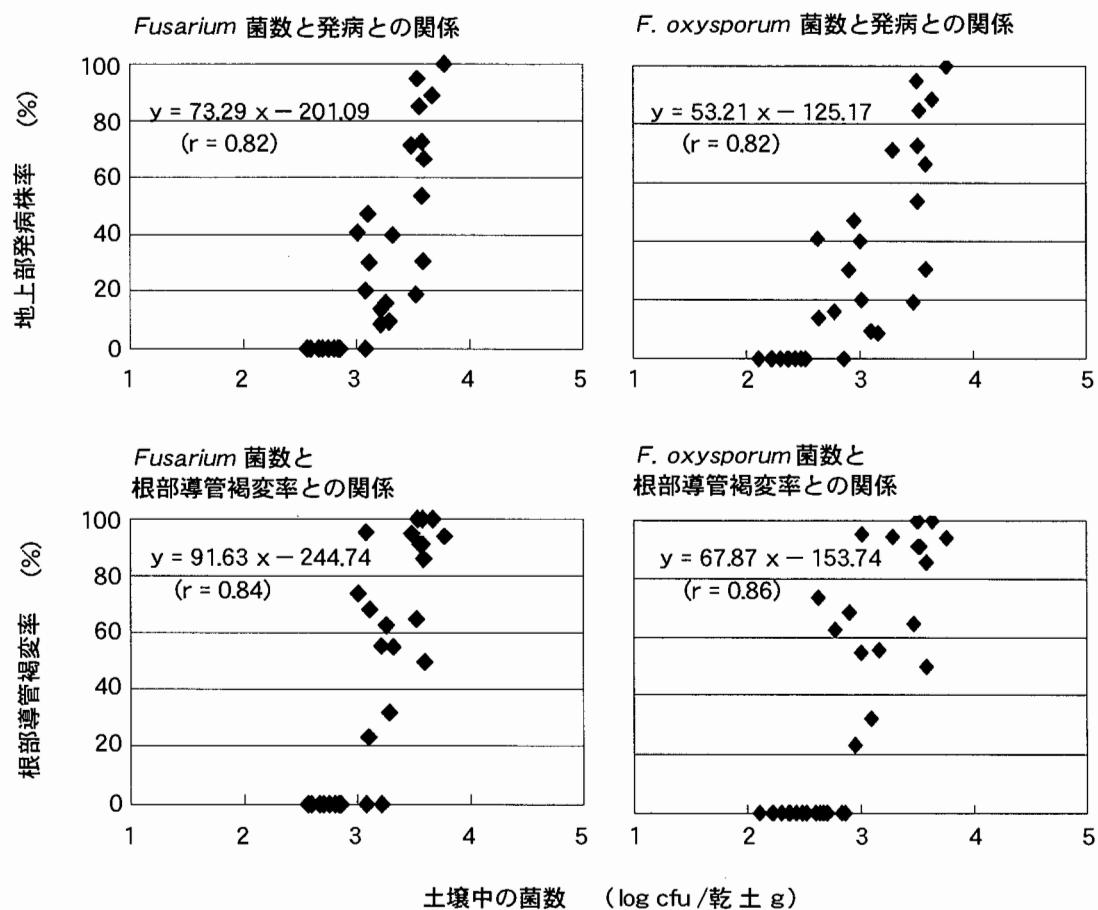


図4 土壤中の*Fusarium*菌数, *F. oxysporum*菌数とホウレンソウ萎ちよう病による地上部の発病株率および根部導管褐変率との関係

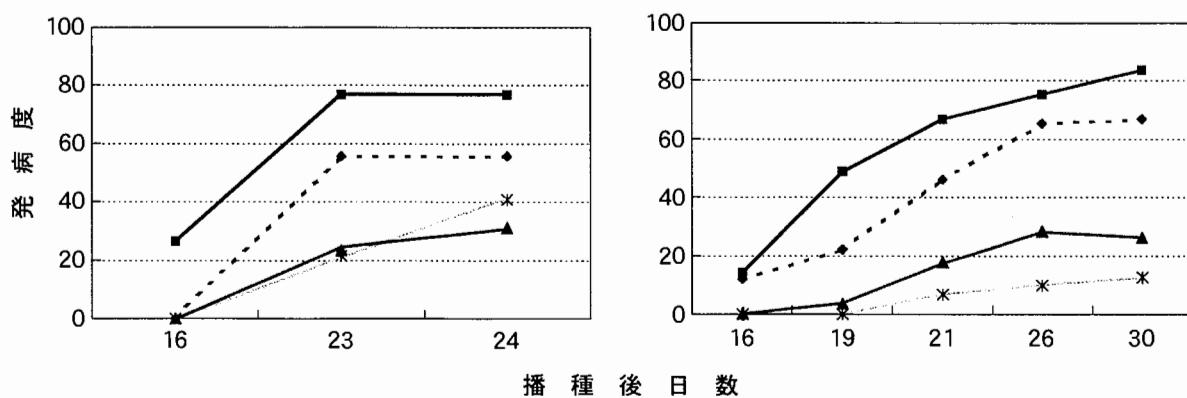


図5 ホウレンソウ生育段階別の病原菌接種と萎ちよう病発病の関係

生育段階別に、病原菌の芽胞状菌体(10^5 個/ml)をそれぞれ灌注接種し、その後の発病経過をプロットした。実験1(上図)は1994年6月、実験2(下図)は1996年9月にそれぞれ実施した。

- 播種時接種
- 出芽～子葉期接種
- ▲ 本葉2～4葉期接種
- * 本葉5葉期以降接種

子葉期の接種区で発病がみられたが、本葉2～4葉期以降の接種では発病しなかった(図5)。播種後19日以後の病勢進展でも、出芽～子葉期接種の発病度が他の生育

時期における接種の場合を上回った。

このように出芽～子葉展開期に病原菌を接種すると発病度が最も高くなつた。

3. 検定品種と発病

O'Brien and Winters¹⁰³⁾ および内記・森田⁹⁴⁾が報告しているように、ホウレンソウの品種あるいは系統によって萎ちよう病抵抗性が異なる。ホウレンソウの本病に対する抵抗性は量的抵抗性であると推定されているが⁹⁴⁾、ここでは菌株の病原性を確実に判定できるような感受性品種を明らかにしようとした。

材料および方法

(1) 実験1 (1997年9月実施)

品種に「アクティブ」、「オーライ」、「オラクル」、「ソロモン」、「リード」(以上、(株)サカタのタネ)、「おかめ」(タキイ種苗(株))を供試した。病原菌には *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* Spin1, Spin3, Spin4 の3菌株(表6)を用いた。128セルのプラグトレイに各品種を播種後、本葉2~4葉期に、1セルあたり $2 \sim 3 \times 10^5$ bud cells / ml のPS培養菌液5mlを株元に連続分注器で注入接種した。発病は播種40日後に地上部の萎ちよう症状の有無で調査した。

(2) 実験2 (1998年3月実施)

品種に「アクティブ」、「オーライ」、「オラクル」、「ソロモン」、「リード」、「マジック」((株)サカタのタネ)を供試した。病原菌には *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* Spin1, Spin2, Spin3, Spin4, S1HI4 の5菌株(表6)を用いた。128セルのプラグトレイに各品種を播種後、出芽~子葉期に、1セルあたり $5 \sim 7 \times 10^6$ bud cells / ml の菌液1.5mlを株元に連続分注器で注入接種した。発病は播種32日後における地上部の萎ちようの有無を調査した。

実験結果

実験1では少~中発生条件での試験となった(図6)。供試した3菌株に対して「オラクル」と「おかめ」の発病株率が比較的高かった(図6)。これに対して「ソロモン」と「リード」では発病株率が低かった。また、「アクティブ」と「オーライ」は菌株によって反応が異なった。

実験2においては甚発生条件での試験であった(図7)。「マジック」は全ての菌株に対して90%以上の発病株率を示した(図7)。一方、他の5品種は菌株との組合せによって発病株率の順位に逆転がみられた。

4. 病原性検定法の検証

これまでの試験から、供試菌株の病原性検定の条件として、ホウレンソウ品種「おかめ」、「オラクル」、「マジック」を用い、出芽~子葉期(播種7日後頃)に、PSで振とう培養した芽胞状菌体($10^5 \sim 10^6$ bud cells /

ml) 1.5~5mlを株元に注入接種することが効果的であると考えられた。本試験では *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* と同定済みの菌株を用いて接種方法および調査方法を検討して簡易検定法を確立し、さらに岩手県内から得られた多数の菌株の病原性を簡易に検定できることを検証した。

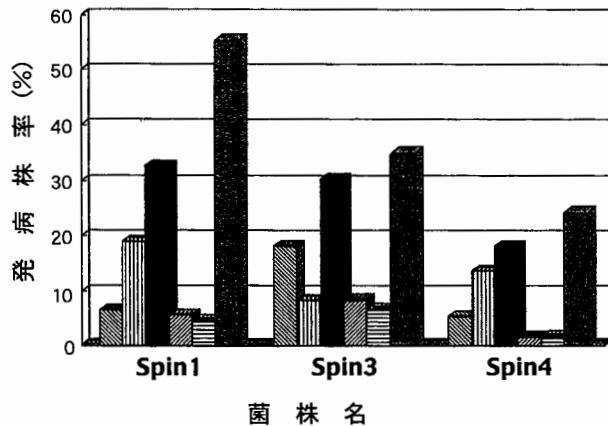


図6 ホウレンソウ品種の萎ちよう病菌株に対する感受性の比較(実験1)

6品種を播種後、本葉2~4葉期に病原菌芽胞状菌体懸濁液($2 \sim 3 \times 10^5$ 個/ml) 5ml/セルを連続分注器で灌注接種した。発病株率は播種40日後に調査した。

■ アクティブ ■ オーライ ■ オラクル
■ ソロモン ■ リード ■ おかめ

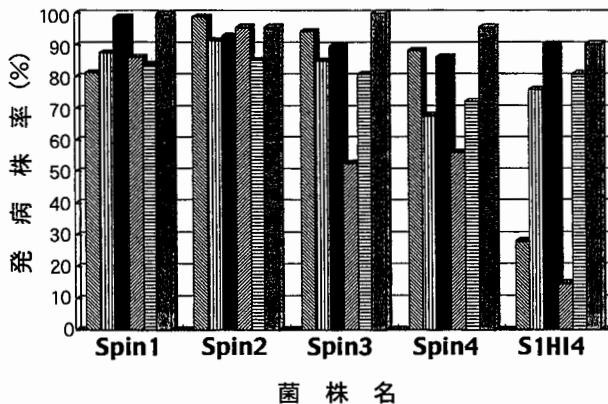


図7 ホウレンソウ品種の萎ちよう病菌株に対する感受性の比較(実験2)

6品種を播種後、出芽~子葉期に病原菌芽胞状菌体懸濁液($5 \sim 7 \times 10^6$ 個/ml) 1.5ml/セルを連続分注器で灌注接種した。発病株率は播種32日後に調査した。

■ アクティブ ■ オーライ ■ オラクル
■ ソロモン ■ リード ■ マジック

材料および方法

(1) 簡易病原性検定法の検討

実験1(1997年9月実施)表6に示した *F. oxysporum*

f.sp. spinaciae 菌株のうち、13 菌株(図 8)を用い、連続注射器を用いた株元注入による接種法によって各供試菌株の病原性を明らかにしようとした。検定品種には「おかめ」を用い、128 セルのプラグトレイにて本葉 2 ~ 4 葉期まで生育させ、PS で振とう培養した供試菌株の菌体懸濁液 (2×10^5 ~ 6×10^6 bud cells / ml) を、プラグトレイの 1 穴当たり 5ml を連続注射器で接種した。試験は 1 区 32 株、2 反復とした。土壌には市販のセル成型用培土を用いた。播種 23 日後における地上部の萎ちよう症状の有無を個体別に調査し、菌株ごとの発病株率を求めた。

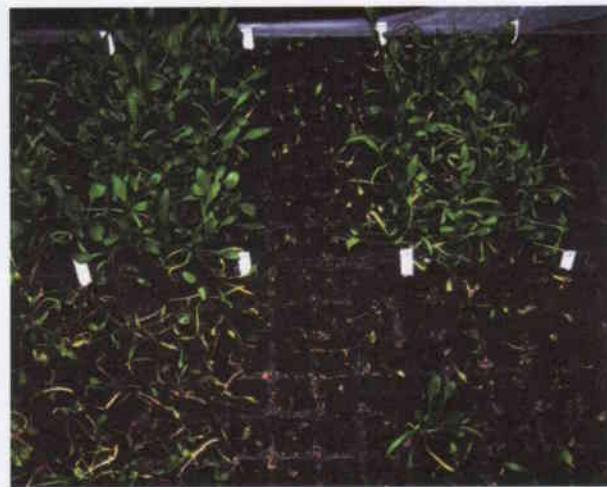


図 8 連続注射器を用いた接種法によるホウレンソウ萎ちよう病菌株の病原性(実験 1)

出芽～子葉期のホウレンソウ幼苗の株元に 1 セル当たり 5 ml の芽胞状菌体懸濁液を連続分注器で灌注接種した。発病株率は播種後 23 日に調査した。

実験 2 (1998 年 12 月～1999 年 1 月実施) 本実験では多数の菌株を検定するための接種および調査方法の簡便化を試みた。供試菌株には実験 1 の 13 菌株を含む 41 菌株(表 6)を用いた。これらは、16 府県から分離したものである。PS 培養した菌体懸濁液(10^7 ~ 10^8 bud cells / ml) 30ml を三角フラスコ(100ml)に分注し、約 50ml の蒸留水を加えた後、出芽～子葉期の幼苗(品種「おかめ」)の上から試験区全体に均一に注いで接種した。供試植物は 128 穴プラグトレイに 1 穴当たり 2 粒播きとし、1 試験区当たり 1 / 4 トレイを使用し(概ね 50 ~ 60 株)、反復無しとした。発病調査は概ね播種 14 ~ 21 日後に行い、試験区全体の発病指数として次のような基準で判定した「個体別調査に基づく発病度算出法」(個体別調査法)および「全体の観察に基づく一括調査法」(一括調査法)の 2 通りの基準で行った。個体別調査法では萎ちようの程度別に次の指標を与え、試験区全体の発病度を発病指標の平均値として求めた。発病指標 3 : 枯死、

指標 2 : 典型的な萎ちよう症状、指標 1 : 発病初期にみられる軽微な萎ちよう症状、および指標 0 : 健全。また、一括調査法では数十菌株の調査を一度に行うことを想定して、試験区全体の発病を次のような基準で判定した(図 9)。発病度 2 : 全株が萎ちよう枯死した状況、1.5 : ほとんどの株が萎ちようしているが健全株が散見される状況、1 : 半数以上の株が萎ちようしている状況、0.5 : 一部の株が萎ちようしている状況、0 : 発病株なし。なお、病原性的判定は発病度 1 以上を強、0.5 を弱、0 を病原性なしとした。



発病度 0 (発病なし)	発病度 2 (ほぼ全株 萎ちよう枯死)	発病度 0.5 (程度 0 と 1 の中間)
発病度 1 (半数以上の 株が萎ちよう～ 立枯れ症状)	発病度 2	発病度 1.5 (程度 1 と 2 の中間)

図 9 全体観察に基づく発病度の判定基準

(2) 萎ちよう症状株から得られた菌株の病原性検定

1997 年岩手県内のホウレンソウ産地における萎ちよう症状株から分離した *F. oxysporum* 793 菌株および宮城県で採集した萎ちよう症状株から分離した *F. oxysporum* 27 菌株の、合わせて 820 菌株を供試した。方法は前述の実験 2 に準じた。

実験結果

(1) 簡易病原性検定法の検討

実験 1 で供試 13 菌株の病原性を検定したところ、ほとんどの菌株の発病株率は 60% を超えた(図 8)。sp1:1-0

菌株は発病株率が46.9%と他の菌株よりやや低かったが、いずれも病原性を有していた。なお、この菌株は培養中の増殖速度も遅かった。

実験2では41菌株の病原性を検定した。ここで、実験1と重複する13菌株の一括調査法における発病程度は、実験1で発病株率が他の菌株より低かったspi:1-0菌株は発病程度1であったが、これ以外の菌株は発病程度1.5を超えた(図10)。いずれも発病程度1以上で、病原性は強いと判定された。両実験で得られた13菌株のそれぞれの発病値での病原性の強弱は傾向がほぼ一致した。

また、供試41菌株の個体別調査法による発病指數の平均値と、一括調査法による発病程度を比較したところ、1菌株を除く40菌株の発病傾向は、病原性の強弱および非病原性の判定結果がほぼ一致した(図11)。

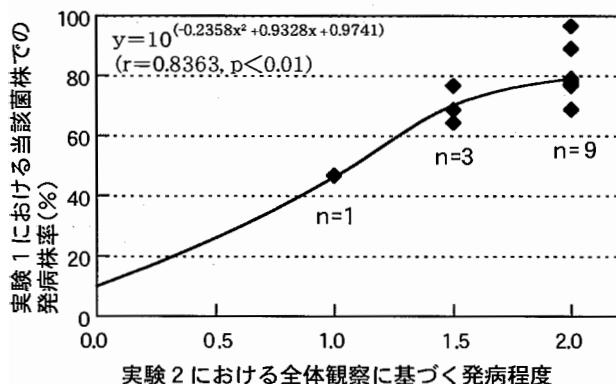


図10 病原性検定法の簡便化とその適合性
(実験1と2の比較)

実験1では連続注射器を用いて1穴ごとに供試菌株を接種し、発病株率を求めた(図8)。実験2では試験区全体へ灌注接種し、菌株ごとの簡易発病指數を求めた。簡易発病指數については図9参照。

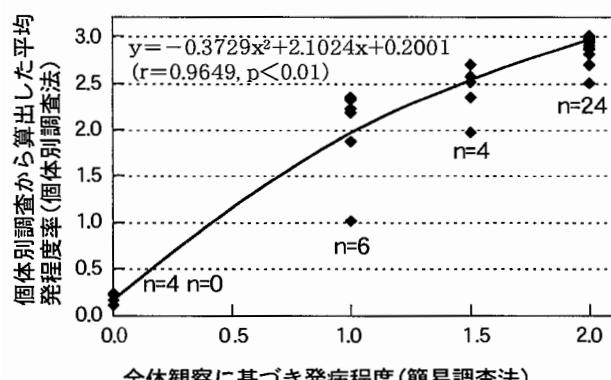


図11 全体観察に基づき発病程度(簡易調査法)と個体別に調査に基づき平均発病程度(個体別調査法)の比較(実験2)

(2)萎ちよう症状株から得られた菌株の病原性検定

遠野市、西根町、山形村およびその他の地域から得られた*F. oxysporum* 菌株数はそれぞれ434, 161, 116, 82、合計793菌株であった(表8)。これらの病原性を簡易検定法により判定したところ、分離菌株中の病原菌の割合は、遠野市で91.7%, 西根町45.4%, 山形村69.0%, その他の地域では79.3%で、西根町において病原菌比率が低く、非病原性菌比率が高いという特徴がみられた。さらに、それぞれの地域における強病原性菌(発病指數1以上)と弱病原性菌(発病指數0.5)の割合をみると、遠野市、山形村およびその他の地域で90%を超えたのに對して、西根町では68.5%と低かった。

宮城県産27菌株では、1圃場のみからの分離であるが、病原菌の割合は88.9%であった(表8)。

本実験で非病原性と判定された180菌株(表8)のうち、任意の50菌株について新たに培養し、再度病原性を調査したが、いずれも病原性が認められなかった(データ省略)。なお、本検定において一試験区内の発病は均一で、ばらつきはみられなかった(図12)。

本試験における病原性検定法は30菌株当たり(128セルのプラグトレイ9枚)、播種作業および培養操作に2時間、調査に10分/回で、試験期間は3~4週間で完了した。

表8 萎ちよう症状を呈するホウレンソウから新たに分離した*Fusarium oxysporum* 菌株^aの病原性検定

分離地	菌株数 (%)	病原性別菌株数(分離率%) ^b		
		強病原性	弱病原性	非病原性
岩手県 遠野市	434 (87.3)	379 (87.3)	19 (4.4)	36 (8.3)
西根町	161 (31.1)	50 (31.1)	23 (14.3)	88 (54.7)
山形村	116 (68.1)	89 (68.1)	1 (0.9)	36 (31.0)
その他	82 (74.4)	61 (74.4)	4 (4.9)	17 (20.7)
小計	793 (71.8)	569 (71.8)	47 (5.9)	177 (22.3)
宮城県 大和町	27 (77.8)	21 (77.8)	3 (11.1)	3 (11.1)
合計	820 (72.0)	590 (72.0)	50 (6.1)	180 (22.0)

- a) 萎ちよう症状株の根部導管組織から常法により単胞子分離した。
b) 病原性は播種2~3週間後に調査し、発病指數1以上の菌株を「強病原性」、発病指數0.5を「弱病原性」、発病指數0を「非病原性」と判定した(図9)。



図12 病原性検定法における均一な発病

ラベル毎に1試験区で、写真から各区とも全体が均一に発病をしていることがわかる。

4. 考 察

Fusarium 属菌の種レベルの同定には形態⁸⁴⁾ や、選択培地上でのコロニーの特徴が用いられる^{62, 65)}。しかし、*Fusarium* 属菌は、形態が類似した病原菌と非病原菌とが雑居する場合が多い⁸⁴⁾。特に *F. oxysporum* では植物病原菌として 83 以上の分化型 (formae speciales) が知られており¹⁵⁾、さらに、*Fusarium* 病の生物防除に関する報告^{27, 105, 109, 134)} でも明らかなように、植物体内には非病原性フザリウムが多数存在する。したがって、罹病植物から分離した糸状菌の病原性を知ることは植物病原糸状菌の生態研究において最も重要である。この病原性を決定する一つの手段として接種試験がある¹⁰⁾。

Fusarium 属菌の接種源には菌糸、分生胞子、厚膜胞子を用い、主に土壤フスマ培養や寒天培地を用いた平板培養、液体培地による振とう培養により調製する¹⁰⁾。接種方法としては土壤混和、溝かん注、浸根接種などがある⁵⁹⁾。この場合の接種源濃度は $10^4 \sim 10^6$ cfu / 乾土 g が適当とされている¹⁰⁾。

このような接種法は、作物の抵抗性検定法として、キュウリつる割病⁶²⁾、キャベツ萎黄病¹⁰⁰⁾、サツマイモつる割病¹⁰⁵⁾、ダイコン萎黄病¹³⁾ などで一般化されている^{67, 68)}。ところがホウレンソウ萎ちよう病では接種試験法が確立されていない。

ホウレンソウ萎ちよう病菌の接種法は、土壤接種法⁹⁴⁾、浸根接種法¹⁰³⁾ および株元注入法^{20, 117)} が報告されており、また、出芽期に接種すると播種時よりも重症となる¹¹⁷⁾。接種菌量は土壤接種で $10^3 \sim 10^5$ cfu / 乾土 g、浸根接種および株元注入法では 10^6 胞子 / ml 菌液を用いている。供試土壤は滅菌処理しており、他のフザリウム病の例をみてもこれが一般的なようである。

本研究では、数百に上る单胞子分離菌株の病原性を検討する必要から、より簡便な病原性検定法を確立するために接種菌量、接種時期、検定品種について検討した。

なお、本論文ではこのように分離菌の病原性を確認するための接種試験法を病原性検定法と称することとする。

本試験において、接種源に芽胞状菌体を用いた場合の接種菌量別の発病傾向と病原菌による汚染土壤を混和接種した場合の土壤中の *F. oxysporum* 菌数別での発病傾向が一致したことから、接種源に液体培養による芽胞状菌体を用いることができると考えられた。また、接種菌量は最少 10^2 cfu / 乾土 g 以上で発病し、 10^4 cfu / 乾土 g 以上で菌濃度が高いほど早期に病原性を判定できるものと考えられた。Naiki and Morita⁹²⁾によれば、本菌の発病最少菌量は $10 \sim 10^2$ cfu / 乾土 g と推定され、接種菌量が 10^4 cfu / 乾土 g 以上ではほぼ 100% が発病している。このことは、本実験の結果とよく一致している。なお、供試土壤に園芸培土または黒ボク土壤を使用したが、結果がよく一致したことから、検定土壤の種類は影響しないと推定された。

病原菌の接種時期については出芽～子葉期に接種した場合の発病度が、播種時の接種よりも高く、本葉 2 ～ 4 葉期以降、接種時期が遅いほど発病度は低下した。この結果は幼苗期に接種すると播種時接種よりも発病程度が高まるとした Reyes¹¹⁷⁾ の報告とよく一致しており、出芽～子葉期のホウレンソウは本菌に対する感受性が最も高いと考えられた。したがって、分離菌の接種は出芽～子葉期にあたる播種 5 ～ 7 日の間に行うのが適当と考えられた。

検定には感受性の高い品種を用いることは重要である。一般に感受性品種は西洋種に多く、東洋種は感受性が低い^{94, 103)}。Fiely et al.²⁰⁾ は病原性検定に「Grandstand」を用いている。この品種は日本では入手できないため、本試験では入手の容易な国産品種を用いた。また、多数の菌株を扱うことになるため、複数の菌株に対して発生量の多少によらず安定して発病するような品種を選抜しようとした。その結果、品種「おかめ」、「マジック」、

「オラクル」がどの菌株に対しても安定して発病することがわかり、これらを病原性検定用品種に用いるべきであると考えた。この他の品種は菌株との組み合わせによって抵抗性の順位に違いが生じた。このことについては第VII章で考察する。

以上の結果を基に、まず、この株元への注入接種法によって、*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* 13 菌株の病原性を評価した（実験1）。しかし、この接種方法は菌株ごとに高压滅菌した連続注射器を用意する必要があり、また、接種は株毎に規定量を注入するため、多数の菌株を扱うには作業が繁雑である。そこで、培養菌液を試験区全体に灌注接種し、全体の発病状況から簡易に病原性を一括評価する方法（一括調査法）を萎ちよう病菌41菌株を用いて検討した（実験2）。その結果、実験1に共通の13菌株の簡易検定法による病原性は株元注入法と発病傾向が一致し、また、一括調査法による41菌株の病原性は個体別調査法によるそれと傾向が一致した。このことから、簡易検定法は萎ちよう病菌の病原性の判定に使用できると考えられた。

次に、簡易検定法を、新たにホウレンソウから分離した病原性未知の*F. oxysporum* 820菌株に適用し、病原性を検定した。その結果、地域によって、病原菌あるいは非病原性菌分離率、病原菌に占める強病原性菌と弱病原性菌の割合が異なることが明らかとなった。遠野市は夏季高温で、萎ちよう病の発生が多く、萎ちよう症状株からの強病原性菌の分離頻度が高い。西根町は夏季が高温多照にも関わらず、萎ちよう病の発生が少なく、非病原性菌の分離頻度が高いこと、加えて弱病原性菌が比較的多い、という傾向になった。

この検定は1997年晚夏から翌年の初夏にかけて行い、冬期間は温室内の温度を最低10°C以上に保った。その結果、いずれの季節においても安定して結果を得ることができたことから、本検定法は簡便かつ実用的であることが確認された。

本簡易病原性検定法をまとめて述べれば次のとおりである（図13）。

- ①検定菌株の接種源調製：分離菌株をショ糖加用ジャガイモ煎汁液体培地（PS）で振とう培養する（25°C、5～7日間）。培養後、2重ガーゼでろ過後、菌体濃度がおよそ 10^7 ～ 10^8 bud cells/mlの範囲になるようにする。
- ②検定植物：セル成型苗用培土を詰めた128穴プラグトレイに、催芽済みホウレンソウ種子（品種：おかめ）を1穴当たり2粒ずつ播種する。
- ③接種：出芽～子葉期（播種7日程度）の幼苗に対し

て、1菌株当たり接種源30mlをプラグトレイ1/4の試験区全体に均一に灌注接種する。この場合、50ml程度の蒸留水を加えると均一に灌注しやすい。

④発病調査：試験区全体の発病程度を次の指数を与えて調査する。発病指数2：全株が萎ちよう枯死した状況、指数1.5：ほとんどの株が萎ちようしているが健全株が散見される状況、指数1：半数以上の株が萎ちようしている状況、指数0.5：一部の株が萎ちようしている状況、同指数0：発病株なし。病原性は指数1以上を強、0.5を弱、0を病原性なしと判定する。

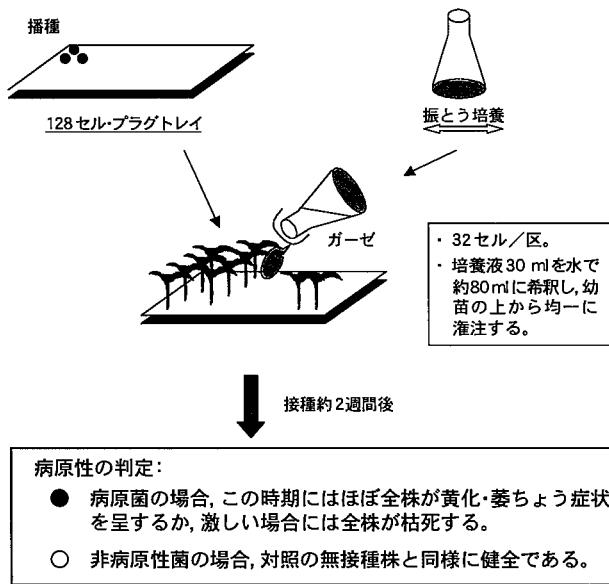


図13 ホウレンソウ萎ちよう病菌の病原性検定法の手順

第V章 ホウレンソウ萎ちよう病菌の菌系和合性群による類別とその分布

植物病原性 *Fusarium oxysporum* には83以上の分化型（formae speciales）がある¹⁵⁾。この分化型あるいは遺伝的進化の背景を説明できる一つの手段⁵⁶⁾として菌系和合性群（Vegetative compatibility group, 以下VCG）がPuhalla¹¹⁶⁾によって報告されて以来、これまでに32の分化型で125以上のVCGの存在が明らかにされている⁵⁶⁾。

F. oxysporum f. sp. *spinaciae* は3種類のVCGに類別されており、いずれのVCGも世界中に広く分布し、日本にも3つのVCGにそれぞれ所属する菌株の存在が明らかにされている²⁰⁾。しかし、わが国におけるVCGの地理的な分布は明らかでなく、不明な点も多い。そこで、VCGの類別に着目して、日本における地理的な分

布、岩手県における分布、さらに圃場内における分布について検討した。

1. わが国における菌糸和合性群の地理的分布

ホウレンソウ生産の盛んな府県で分離された *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* 菌株の VCG の類別を調査し、わが国における VCG の地理的分布を明らかにするための実験を行った。

材料および方法

(1) 菌株の収集

わが国においてホウレンソウ生産量の多い 16 府県、すなわち、岩手県、岐阜県をはじめ、宮城県、秋田県、茨城県、埼玉県、千葉県、福井県、三重県、大阪府、京都府、滋賀県、鳥取県、香川県、福岡県および熊本県を調査対象に選んだ。供試したホウレンソウ萎ちよう病菌 *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* 100 菌株のうち、28 菌株は各府県の国公立ならびに民間の研究機関から保存菌株を分譲していただいた。また、72 菌株については各県の産地で採集された発病株から *F. oxysporum* 菌株を常法により単胞子分離したものである。いずれの菌株も試験に使用するまでショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天 (PSA) 斜面にて低温保存した。

(2)マイクロプレートを用いた VCG の決定方法

硝酸塩利用能欠損 (*nit*) 変異株は 1.5 ~ 2% 塩素酸カリウム加用最少培地 (MMC) で作出した¹¹⁶⁾。*nit* 変異株の表現型は窒素源の異なる培地を用いて決定した¹¹⁷⁾。菌糸和合性は 24 ウェルプレートを用いて行った。すなわち、各ウェルに 1.5 ~ 2.0 ml の最少培地 (MM) を分注し、1.5% 塩素酸カリウム加用最少液体培地を入れたバイアル管であらかじめ培養した供試菌株と、後述する標準菌株のそれぞれの *nit* 1 (または *nit* 3) に対して Nit M を、各ウェルに滴下し、25°C 下で 10 日以上対峙培養する方法によって検定した (図 14)。対峙培養でヘテロカリオンを形成し、菌叢が濃く、旺盛に生育した菌株同志は、菌糸和合性を有する菌株として同じ VCG に分類した。なお、Fiely et al.²⁰⁾が日本産菌株として使用した SP1 ~ 6 菌株を VCG0330, 0331 および 0332⁵⁶⁾の標準菌株として供し、さらに、ホウレンソウから分離した非病原性 *F. oxysporum* S3HO3 菌株および S1HI1-w 菌株^{49, 50)}を非病原性菌株の対照においた。

(3)病原性検定

第Ⅳ章で述べた病原性検定法に関する結果に基づいて、次の方法で実施した。耕種概要については、病原菌 *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* に対して感受性の高い品

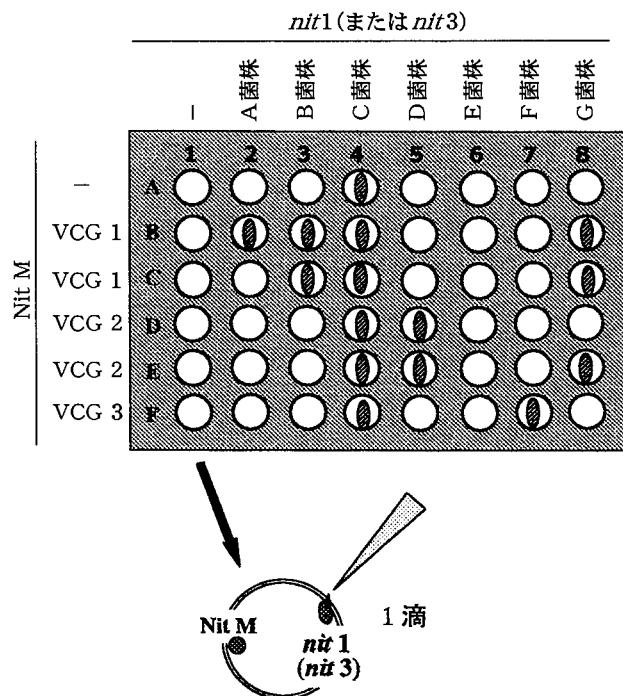


図 14 ウェル・プレートを用いたVCG決定法(模式図)

は対峙によって菌糸和合して、補完反応によつて菌叢が旺盛に生育した例を示す。第1列には標準菌株 Nit M のみ、第A行には供試菌株の *nit* 1 (*nit* 3) のみを滴下する。第2列の A 菌株および第3列 B 菌株は VCG 1、第5列 D 菌株は VCG 2 にそれぞれ所属。第4 列は C 菌株の *nit* 変異株が野生に戻った例、第6列は 1 滴中に E 菌株の分生子が入っていないため第8列は VCG 1, 2 の標準菌株と和合したため、それぞれ再試験が必要と判定する。各ウェルには約 1.5 ml 最少培地が入っている。

種「おかめ」の催芽済み種子を 128 セルのプラグトレイ (3 × 3 × 4.5 cm / セル、ヤンマー農機株およびタキイ種苗株) に 1 セル当たり 2 粒ずつ播種した。培土にはピートモスを主体とする市販セル育苗培土を用いた。接種源の調製および接種については PS で振とう培養し (室温、5 ~ 7 日間)、ガーゼでろ過して菌糸片を取り除いた芽胞状单胞の菌体懸濁液 (約 10⁷ bud cells / ml) を接種源に用いた。接種は、病原菌に対するホウレンソウの感受性が最も高い子葉期^{42, 117)}の幼植物に対し、トレイ 1 穴当たり 5 ml を連続分注器で注入接種した。実験は 1 菌株につき 10 ~ 20 個体を供し、4 反復とした。接種 2 ~ 3 週間後に発病程度別に調査し、健全株に発病指数 0 を、発病初期にみられる軽い萎ちよう症状株に指数 1、典型的な萎ちよう症状株に指数 2、新葉が枯れた株を含む枯死株に指数 3 を与え、発病指数の平均値により比較した。なお、発病指数が 0.5 以上の場合に病原性ありとし、これに満たない場合は病原性なしと判断した²⁰⁾。

実験結果

(1)わが国におけるVCGの分布

VCG標準菌株 (VCG0330 = SP1, SP6; VCG0331 = SP3, SP5; VCG 0332 = SP2, SP4)との菌糸和合性から、供試 *F. oxysporum* 100 菌株のうち、92 菌株がいずれかのVCGに分類された(表9)。すなわち、VCG0330には46菌株(46.0%)、VCG0331には39菌株(39.0%)、VCG0332には7菌株(7.0%)がそれぞれ所属した。残る8菌株(8.0%)はいずれにも該当しなかった。なお、非病原性 *F. oxysporum* 2菌株はいずれの菌株とも和合しなかった。各VCGの分布県数は、VCG0330が16府県中9府県、VCG0331は13府県、VCG0332は1県であった。分離地別にみると、3つのVCGが分布したのは岩手県のみで、VCG0330および0331が分布したのは宮城、岐阜、三重、大阪および京都の5府県、VCG0330のみが埼玉、滋賀、福岡の3県、VCG0331のみが分布したのは残る秋田、茨城、千葉、福井、鳥取、香川、熊本の計10県であった。(表9、図15)。

岩手県で分離した菌株についてみた場合、*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* 保存菌株 (S1HI4) および新たに分離した *F. oxysporum* 66菌株、計67菌株のVCG構成比はVCG0330が55.2%を占め、VCG0331は22.4%、VCG 0332は10.5%であった。また、既知の3VCGには属さない病原性を有する3菌株(後述)が新たに確認されたが、いずれも不和合性であり、病原性を有しなかつた5菌株とあわせ、不和合性群は11.9%を占めた(表9)。

(2)病原性検定

VCG標準6菌株を含む供試 *F. oxysporum* 全106菌株のホウレンソウ幼苗に対する病原性を調べたところ、ほとんどの菌株は強い病原性を示したが、VCG0331に分類された2菌株は病原性を示さなかった。不和合性菌株のうち、3菌株はホウレンソウに対して病原性を示し、残る不和合性5菌株は病原性がなかった(表9)。

(3) *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* VCG 0330, 0331, 0332に類別される菌株の病原力の比較

感受性品種「おかめ」に対するVCG別の病原力は、

表9 日本産ホウレンソウ萎ちよう病菌VCGの類別と病原性

分離地 ^{a)}	供試 菌株数	各VCGに類別された菌株数と病原性 ^{b)}											
		VCG0330			VCG0331			VCG0332			NC ^{c)}		
		++	+	-	++	+	-	++	+	-	++	+	-
岩手県	67	35	2	0	12	1	2	7	0	0	0	3	5
宮城県	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
秋田県	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
埼玉県	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
茨城県	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
千葉県	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
岐阜県	4	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
福井県	3	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
三重県	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
大阪府	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
京都府	3	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
滋賀県	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
鳥取県	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
香川県	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
福岡県	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
熊本県	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
計	100	42	4	0	32	5	2	7	0	0	0	3	5
VCG標準菌株	6	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0

a) 分離地毎の主要菌株(府県名=菌株名(VCG)): 岩手県=S1HI4(1), 970326*(2), 970341*(3); 宮城県=MG1072(1), MG15*(2); 秋田県=AK29*(2); 埼玉県=F1-2(1); 茨城県=Spin3(2); 千葉県=CB10*(2); 岐阜県=GIFU(1), Spin2(2); 福井県=FS-1(2); 三重県=Spin1(1), 9606170(2); 大阪府=YMGC4(1), OSK-1(2); 京都府=Ky-2(1), 木F(2); 滋賀県=Tf306(1); 鳥取県=B4-6(2); 香川県=KG1(2); 福岡県=spi1-0(1); 熊本県=小国1(2). *印は新規分離菌株。(VCG 1=0330, 2=0331, 3=0332).

b) 病原性検定は感受性品種「おかめ」を用い、4回反復を行った。発病指数: 0=無病徵、1=軽微な萎凋症状、2=重度の典型的な萎凋症状、3=枯死。表中に示した菌株の病原性は、発病指数2.5以上を強病原性(++)、同0.5以上2.5未満を病原性あり(+)とし、これ未満は病原性なしとした²⁰⁾.

c) NC=VCG標準菌株および他の菌株に和合性が低い菌株。

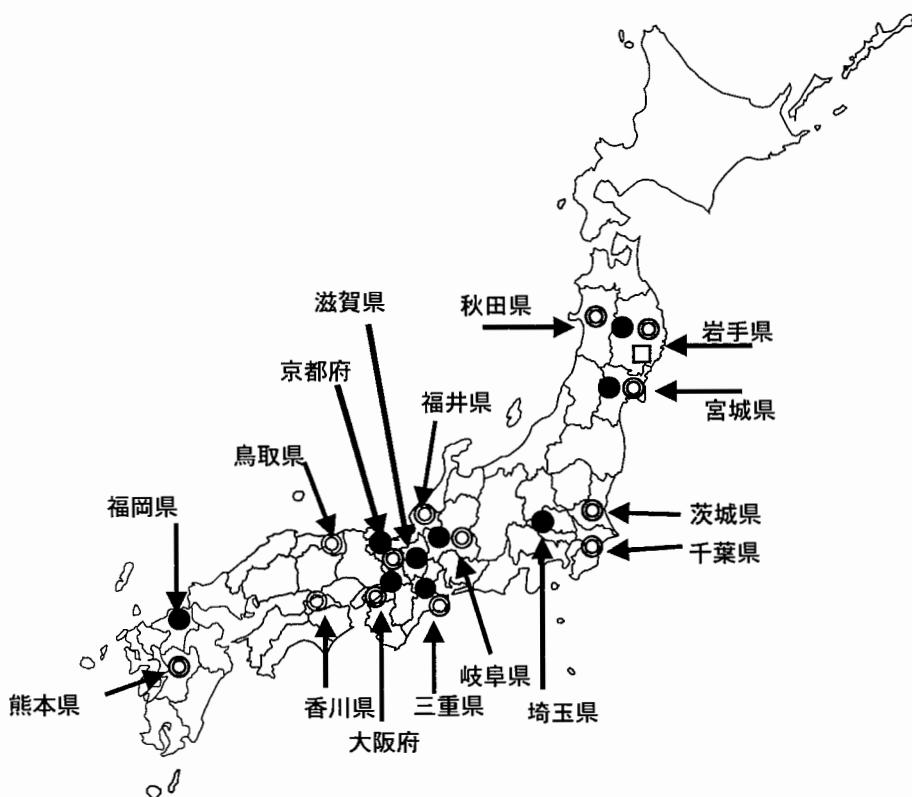


図15 わが国におけるホウレンソウ萎ちよう病菌VCGの地理的分布

● VCG0330, ◎VCG0331, □VCG0332

VCG 標準菌株では VCG0330 と 0332 が VCG0331 に優った（表 10）。本研究で供した VCG0330 に所属する 45 菌株, VCG0331 の 39 菌株および VCG0332 の 7 菌株の病原力を比較すると発病指數の平均値では VCG0330 と VCG0332 の値が大きく、VCG0331 はこれらより低かった。しかし、VCG0331 に所属する菌株群の病原力の変動係数が大きかった。

表10 日本産ホウレンソウ萎ちよう病菌のVCG別病原力の比較

VCG	菌株数	発病評価区分 ^{a)}	
		平均値 ± 標準偏差	変動係数
供試菌株：			
0330	45	2.88 ± 0.383	0.133
0331	39	2.38 ± 1.020	0.428
0332	7	3.00 ± 0	0
VCG 標準菌株：			
0330(SP1, 6)	2	3.00 ± 0	0
0331(SP3, 5)	2	2.23 ± 0.007	0.003
0332(SP2, 4)	2	2.98 ± 0.028	0.009

a) 発病評価区分：発病指數 0 = 無病徵，発病指數 1 = 発病初期にみられる軽微な萎ちよう症状，発病指數 2 = 典型的な萎ちよう症状，発病指數 3 = 枯死。

2. 岩手県における菌糸和合性群の分布

岩手県のハウス栽培ホウレンソウの作付面積は遠野市、西根町、山形村を中心に 300ha を超える。本項では、主要産地に分布する *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* の VCG を明らかにするとともに、作型別に分離した本菌の VCG の季節変動について検討した。

材料および方法

(1) 菌株の採集

遠野市、西根町、山形村において、1997 年 6 月から 9 月に亘って定期的に巡回し、作型毎に萎ちよう症状株を採集した。また、その他の産地については晩夏に巡回し、同様に萎ちよう症状株を採集した。常法により、根部導管組織から 0.2% 素寒天 (WA) 平板で *Fusarium* 属菌を分離し、フィアライドにおける分生子形成の様子から簡易識別して *F. oxysporum* を単胞子分離した。分離した *F. oxysporum* 菌株数は 793 である。なお、本実験で供した菌株には前節で述べたわが国における分布解明のために分離した岩手県産の 67 菌株は含まれていない。

(2) VCG の決定

前節 1-1)-(2) マイクロプレートを用いた VCG の決

定方法に準ずるが、ここでは VCG 標準菌株の Nit M に対して、供試菌株の nit 1 または 3 を対照した。

(3) 病原性検定

第Ⅳ章 4-1)-(2)「萎ちよう症状株から得られた菌株の病原性検定」の方法に準じた。

実験結果

(1) 岩手県における 3 VCG の分布

供試した *F. oxysporum* 793 菌株のうち、ホウレンソウに対して病原性を有する f. sp. *spinaciae* は 618 菌株 (77.9%) であった。このうち、VCG 標準菌株との菌糸和合性から、VCG0330 には 428 菌株 (54.0%)、VCG0331 には 51 菌株 (6.4%)、VCG0332 には 41 菌株 (5.2%) が所属し、98 菌株 (12.3%) はこれら 3 つの VCG とは不和合性～和合性が低かった（表 11）。残る非病原性 *F. oxysporum* 175 菌株 (22.1%) と合わせ、不和合性群は 273 菌株 (34.5%) に上った。

産地毎に分布する VCG を図示すると、3 VCG とも県内に広く分布し、特に VCG0330 は調査 13 市町村中 12 市町村で検出され、ほぼ全域に分布した（図 16）。

表11 岩手県のホウレンソウ主要産地から分離した *Fusarium oxysporum* 菌株の VCG 構成

分離地	菌株総数	各 VCG に類別された菌株数 ^{a)}				
		VCG0330	VCG0331	VCG0332	NC(+)	NC(-)
遠野市	434	286 (65.9) ^{b)}	28 (6.5)	29 (6.7)	57 (13.1)	34 (7.8)
西根町	161	43 (26.7)	4 (2.5)	8 (5.0)	18 (11.2)	88 (54.7)
山形村	116	45 (38.8)	16 (13.8)	2 (1.7)	17 (14.7)	36 (31.0)
その他	82	54 (65.9)	3 (3.7)	2 (2.4)	6 (7.3)	17 (20.7)
合 計	793	428 (54.0)	51 (6.4)	41 (5.2)	98 (12.3)	175 (22.1)

a) VCG0330～0332 は病原性を有する菌糸和合性群²⁰⁾。また、NC (+) は病原性を有するが、他の菌株と和合性の低い菌株を示し、NC (-) は病原性を持たず、他の菌株とも不和合性の菌株を示す。

b) 分離地毎の VCG 構成比 (%)

(2) 主要産地別 VCG 構成

産地別では遠野市で分離した *F. oxysporum* 434 菌株のうち、400 菌株 (92.2%) が病原性を有しており、VCG0330 に 65.9% が所属し、VCG0331, 0332 に所属した菌株はともに 7% 弱程度であった（表 11）。このうち、VCG 0331 に所属した 2 菌株は病原性が認められなかった。西根町では 161 分離菌株のうち、54.7% にあ

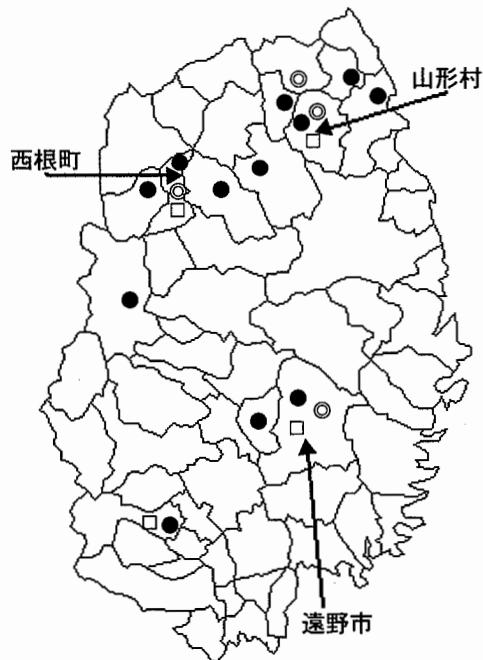


図16 岩手県におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の VCG の分布

● VCG0330, ○ VCG0331, □ VCG0332

たる 88 菌株は非病原性 *F. oxysporum* であった。病原性を有する 73 菌株 (45.4%) のうち、VCG0330 に所属したのは 26.7%，VCG0331, 0332 には 2.5～5% 程度の菌株が所属した（表 11）。山形村で分離した 116 菌株のうち、80 菌株 (69.0%) が病原性を有し、VCG0330 に 38.8%，VCG0331 に 13.8% の菌株がそれぞれ所属したが、VCG0332 に類別されたのはわずか 1.7% のみであった（表 11）。

この他、久慈市、岩手町、葛巻町、軽米町、九戸村、大野村、松尾村、雫石町、胆沢町、宮守村の 10 市町村から分離した *F. oxysporum* 82 菌株のうち、病原性を有した 65 菌株 (79.3%) は VCG0330 に 65.9%，VCG0331, 0332 にはそれぞれ 3.7%，2.4% の菌株が類別された（表 11）。このうち、VCG0330 に所属した菌株は軽米町を除く 9 市町村から分離された。一方、VCG0331 の 3 菌株は軽米町からのみ、VCG0332 の 2 菌株は胆沢町からのみ分離された。

(3) VCG 構成比の季節変動

上述の岩手県における VCG 分布について、作型別の季節変動をみると、6 月穫りの作型では 234 分離菌株が得られたが、その内訳は VCG0330 が 45.7%，VCG0331 が 4.3%，VCG0332 が 2.6% であった（表 12）。7 月穫りで得た 165 分離菌株は、VCG0330 に 53.4%，VCG0331 に 7.4%，VCG0332 に 9.1% が所属した。8

月穫りで分離した 150 菌株は、VCG0330 に 55.3%, VCG0331 に 12.0%, VCG0332 には 4.7% の菌株が類別された。一方、9 月穫りの 100 分離菌株のうち 73% が VCG0330 に所属し、VCG0331, VCG0332 に分類される菌株は認められなかった。以上の結果から、各作型を通じ、VCG0330 が常に優占し、作付が進むにつれてその占有率が高まる特徴があった。一方、VCG0331 および VCG0332 は各作型とも占有率は低かったが、夏作に当たる 7 月穫りおよび 8 月穫りでその割合がピークに達した。なお、和合性が低く、既知の VCG に分類されない菌株も平均 12.4% が常に存在した。

表12 ホウレンソウ根から分離した *Fusarium oxysporum* 菌株の VCG 構成比の季節変動

作型 (収穫月)	菌株総数	各 VCG に類別された菌株数 ^{a)}				
		VCG0330	VCG0331	VCG0332	NC(+)	NC(-)
6 月	234	107 (45.7) ^{b)}	10 (4.3)	6 (2.6)	23 (9.8)	88 (37.6)
7 月	309	165 (53.4)	23 (7.4)	28 (9.1)	42 (13.5)	51 (16.6)
8 月	150	83 (55.3)	18 (12.0)	7 (4.7)	23 (15.4)	19 (12.6)
9 月	100	73 (73.0)	0 (0)	0 (0)	10 (10.0)	17 (17.0)
合 計	793	428 (54.0)	51 (6.4)	41 (5.2)	98 (12.3)	175 (22.1)

a) 表 11 参照

b) 分離地毎の VCG 構成比 (%)

3. 菌糸和合性群の圃場内分布の多様性

わが国および岩手県における *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* の VCG の地理的分布についての結果を踏まえ、ホウレンソウ産地の圃場内の VCG 分布を調査し、圃場内における個体群構造について検討した。

材料および方法

(1) 菌株の採集

遠野市内の「雨よけ」ホウレンソウ連作圃場において、圃場を 16 区分 (2m × 7m / 区) して各区分から収穫期に達した複数の発病個体を無作為に採集した。常法により单胞子分離した *F. oxysporum* 130 菌株を低温保存した (1997 年)。この圃場は、ハウス栽培ホウレンソウ連作 13 年目で、年間 4 回作付けしている。前年初夏に土壌消毒後、当作が 5 作めである。

(2) VCG の決定

本章 1-1)-(2)「マイクロプレートを用いた VCG の決定方法」に準じた。

(3) 病原性検定

本章 1-1)-(3)「病原性検定」に準じた。

実験結果

(1) 菌糸和合性による分類

圃場内区画毎に分離した 130 菌株の中で、VCG0330 に 94 菌株 (72.3%) が分類され、最も大きな群を形成した (表 13, 図 17)。VCG0331 には 3 菌株 (2.3%), VCG0332 には 9 菌株 (6.9%) が分類された。残る 24 菌株 (18.5%) は、いずれの菌株とも和合しなかった (表 13)。

(2) 病原性検定

VCG0330 ~ 3 に分類された *F. oxysporum* 全 106 菌株は感受性品種「おかめ」に対して強い病原力を示した。また、これら 3 つの VCG に所属しなかった 24 菌株のうち、20 菌株は病原性を示したが、残る 4 菌株は病原性を示さなかった (表 13)。

(3) 圃場内の分布

VCG0330 に所属する菌株は区分 9 を除く 15 区分で確認され、圃場全体に広く分布した。これに対して VCG0331 に所属する菌株はハウス入り口付近の区分 2,

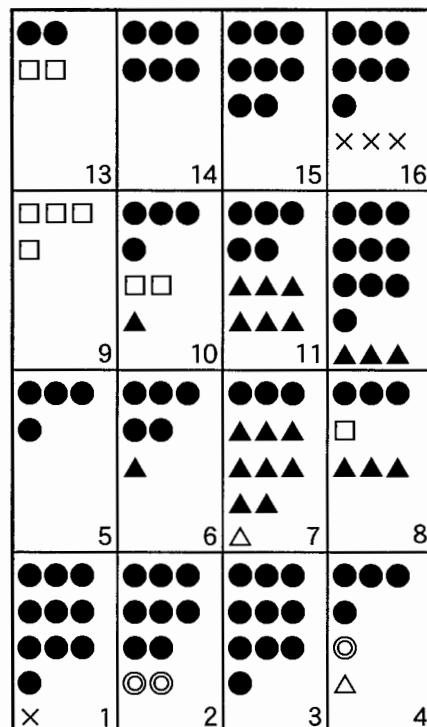


図17 ホウレンソウ萎ちよう病菌VCGの圃場内分布

● VCG0330, ○ VCG0331, □ VCG0332

▲ 和合性の低い強病原性の菌株群

△ 和合性の低い弱病原性の菌株群

× 非病原性の菌株群

図中の数値 1 ~ 16 は圃場内の区分番号で、表13 に対応する。

4にのみ分布した。VCG0332に所属する個体群は区分8, 9, 10, 13に比較的広く分布し、とくに区分9ではVCG0332のみが存在した。また、病原性を有するが、他の菌株と和合性の低い20菌株は圃場中央部付近に多様な集団を形成して存在した。なお、病原性を有しなかつた4菌株のうち、3菌株は圃場の隅に局在した(図17)。このように、区分によって構成比は異なるが、特定の個体群が優占し、また、16区分中11区分で複数の個体群が混在し、多様性を形成していた。

4. 菌糸和合性群の標準菌株の培養適温

既に述べたように、日本という地理的にも大きな規模から、一つの圃場という小さな規模においてまで、あらゆる場面で、病原菌の個体群はVCG0330が優占することが分かった。さらに、このVCG0330は連作の進行に伴い、分布割合が高まること、これに対して、マイナーなVCG0331および0332は季節的な消長がみられること明らかとなった。そこで、この個体群の季節変動がVCG毎の至適生育温度の違いを反映したものである可能性を明らかにしようとした。

材料および方法

病原菌VCGの標準菌株SP1～SP6(第10表)を供

試した。PDA平板上に含菌寒天を置床後、10, 15, 20, 25, 30, 35°Cの温度条件下で静置培養した。1菌株当たり5反復とし、培養6日後の菌叢直径から至適培養温度を求めた。

実験結果

各菌株の培養結果をVCG毎の各2菌株の平均値として図18に示した。VCG毎の生育最適温度はいずれも25°Cで、生育温度は20～30°Cの範囲にあり、15°Cでも生育は可能であったが、10°C以下または35°Cでは生育が著しく抑制された。このようにVCGの違いによる培養による生育適温に違いは認められなかった。

5. 考察

最近、ホウレンソウ萎ちよう病菌*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*が3種のVCGに類別されることが明らかにされ、VCG0330, 0331および0332と定義された^{20, 56)}。すなわち、世界中から集められたホウレンソウ由来の*F. oxysporum*は、f. sp. *spinaciae*のみが3つのVCGのいずれかに和合性があり、これ以外の非病原性*F. oxysporum*には和合性がない²⁰⁾。このVCGはDNAの多型解析(RFLP法, RAPD法)とともに*F. oxysporum*の分化型内の個体群の遺伝的背景を説明し得る手段とし

表13 一つの圃場に分布したホウレンソウ萎ちよう症状株から分離した*Fusarium oxysporum* のVCG構成と病原性

区分 ^{a)}	分離菌株数	病原性 ^{b)}											
		VCG0330			VCG0331			VCG0332			NC ^{c)}		
		++	+	-	++	+	-	++	+	-	++	+	-
1	11	9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2	11	9	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	6	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
5	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	6	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
7	12	3	0	0	0	0	0	0	0	0	8	1	0
8	7	3	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0
9	4	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
10	7	4	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0
11	9	7	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
12	13	10	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
13	4	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
14	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	10	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
合計		130	93	1	0	3	0	0	8	1	0	17	3
													4

a) 図16の区分番号に対応する。

b～c) 表9参照

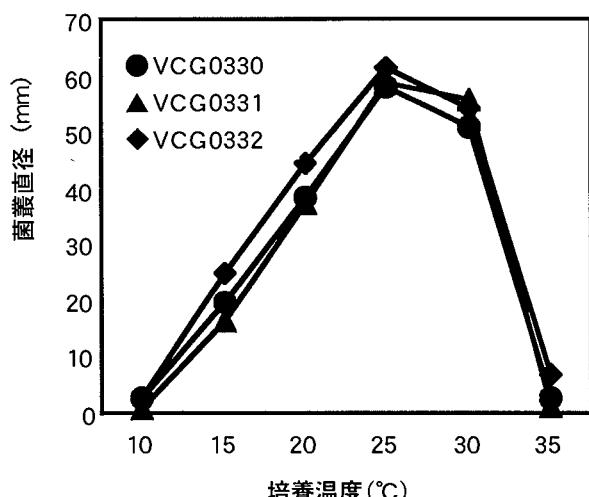


図18 ホウレンソウ萎ちよう病菌のVCG標準菌株の生育温度

VCG標準菌株として次の菌株を用い、菌叢直径は各2菌株の平均値を図示した。VCG0330:SP1およびSP6菌株、VCG0331:SP3およびSP5菌株、VCG0332:SP2およびSP4菌株。

て利用され、これまでに32の分化型で125以上のVCGの存在が明らかにされている⁵⁶⁾。

F. oxysporum f. sp. *spinaciae* の3VCGは世界中に広く分布し、日本にも3つのVCGが存在する。また、VCG0331に類別される菌株はVCG0330と0332の菌株に比較して病原力が弱いと報告されている²⁰⁾。

わが国には多くのホウレンソウ産地があり、国内のVCG分布および構成を明らかにすることは本病の発生実態を病原菌側から解析する手段として必要と考えられた。そこで、16府県の産地から分離された*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* 100菌株を用いてVCGの分布調べたところ、VCG0330および0331は全国的に広く分布することが明らかになった。一方、VCG0332は供試菌株の多かった岩手県でのみ確認されたが、今後、他の府県でも供試菌株を増やすことによってVCG0332が検出される可能性がある。わが国のVCGの構成比をみるとVCG0330には46.0%の菌株が類別され、VCG0331には39.0%、VCG0332には7.0%がそれぞれ類別された。アメリカ合衆国の場合をみると*F. oxysporum* 196菌株は、VCG0330に最も多い60.7%が分類され、VCG0331に24.0%、VCG0332には15.3%が分類されており²⁰⁾、日米で各VCGの構成比を比較すると、日本ではVCG0331の占める割合が高かったが、これについては、今後岩手県以外での供試菌株数を増やした解析が必要である。

また、3つのVCGの病原力について発病指数の平均値

から判断するとVCG0330(45菌株)およびVCG0332(7菌株)の病原力は、VCG0331(39菌株)のそれを上回っており、VCG標準菌株の病原性と同様にFiely et al.²⁰⁾の結果と一致した。しかし、VCG0331に所属する菌株群の発病指数は菌株による変動が大きく、中にはVCG0330および0332と同等の病原力を有するものもみられた。このことから、本群の菌株の病原力は変化しやすい可能性がある。

次に岩手県の主要産地におけるVCGの構成比をみると、供試 *F. oxysporum* 793分離菌株のうち、625菌株(78.8%)が病原性を有し、f. sp. *spinaciae*と同定された。3つのVCGの構成は、VCG0330が54.0%、VCG0331に6.4%、VCG0332には5.2%がそれぞれ分類され、いずれのVCGも岩手県内に広く分布することが明らかとなった。この場合、日本における3つのVCGの地理的分布解明に使用した67菌株の構成比と比較して、VCG0330はほぼ一致するが、VCG0331および0332の構成比は低い。本試験では供試菌株も多く、県内広域から分離していることから、本試験の結果が岩手県の分布実態をより正確に表しているといえる。

産地別にみると、遠野市では分離 *F. oxysporum* 菌株に占める病原菌の割合が最も高く(表8)、ほとんどがVCG0330に所属した。VCG0330、0332に所属する菌株の病原力はVCG0331の菌株のそれに優る²⁰⁾とされ、本研究によても確認できている。このことが本病の多発(表4)に関与していると筆者は考える。

西根町では分離 *F. oxysporum* 菌株のうち、VCG0330に所属した菌株の割合は他の2つのVCGに優占したものの、26.7%に過ぎず、分離菌株に占める病原菌株の割合も低い(表8)。西根町は夏期が高温多照となりやすい¹²⁹⁾ことから、萎ちよう症状を引き起こす主な要因は、根腐病や気象要因等が大きく影響していると考えられた。なお、同地域ではハウスの被覆資材に紫外線カットフィルムが普及しており、このことと萎ちよう病の少発生との関連性が注目される^{95, 96)}。

山形村では分離 *F. oxysporum* 菌株のうち、病原菌の割合が69.0%と高く(表8)、VCG0330に類別された菌株の割合が38.8%と比較的低く、一方、VCG0331に13.8%が類別され、遠野市、西根町に比較して高いという特徴があった。山形村では本病の発生が比較的少ないが(表4)、この地域は比較的冷涼なやませ地帯に位置することに加えて、病原力の劣るVCG0331の割合が比較的高いこともその要因の一つとなっているとも考えられる。

この他の10市町村では82分離菌株のうち、病原菌は65菌株(79.3%)で、このうち65.9%がVCG0330に

分類された。このように、他の市町村においても病原性菌に占めるVCG0330の割合が高いことが分かった。なお、軽米町では分離3菌株がすべてVCG0331に類別されたが、今後分離菌株を増やすことによってVCG0330および0332の分布が明らかになると考えられる。

岩手県内で分離した*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*のVCGの季節変動をみると、6月穫り以降、作型が進むに連れてVCG0330の占める割合が高くなること、7、8月穫り作型では、VCG0331、0332の構成比が高まるが、9月には分離されなくなることが明らかとなった。このことから、VCGによって生育適温が異なることが予想された。しかし、培養試験の結果、いずれのVCGも生育適温は既知の所見⁹²⁾と一致し、20～30℃の範囲にあり、生育温度で季節変動を説明することはできなかった。したがって、温度以外の要因が季節変動に関与していると考えられた。

F. oxysporum f. sp. *spinaciae*で確認されている3つのVCGの同一圃場における分布様式については、最も多くの菌株が類別されたVCG0330が圃場内16区分中15区分に分布し、圃場全体に広く存在していた。これに対してVCG0331に所属する個体群は圃場の一角に分布し、VCG0332は圃場中央部（区分9および10）から一角（区分13）にかけて横断的に分布していた。また、いずれの菌株とも和合しなかった不和合性菌群が圃場中央部付近で多様な集団として存在した。なお、これら3つのVCGに類別された全106菌株および不和合性の17菌株は感受性品種に対して強い病原性を示したことから、*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*と同定された。

ところで、この不和合性の17菌株と日本国内の地理的分布の検討で得られた3菌株を含む98菌株（全分離菌株の12.3%）は既知の3VCGには属さない*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*菌株であることが新たに明らかになった。Fiely et al.²⁰⁾の報告によると、*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*は3VCGのいずれかに属し、この3VCGに属さない菌株はいずれも非病原性菌であった。したがって、本研究で得られた既知のVCGに属さない菌株は新たなVCGである可能性がある。しかし、これらの菌株はいずれも和合性が低く、現段階で新たなVCGとして取り扱うことは難しいと考えられ、今後、さらに多くの菌株を収集し、詳細に検討する必要がある。

本研究によって、いずれの産地毎でも、VCG0330が他の個体群に優占するが、VCG構成比は産地によって異なり、作型によってもVCGの構成比が変動することが明らかになった。これが本病の発生実態あるいは連作に伴う発病増加に関与している可能性が推測されるが、産

地間では土壤条件、気象条件、発生の既往歴が異なるとともに、夏作前後の品種が異なるため、VCG構成比の変動要因についてさらに検討を要する。また、本研究で示唆された*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*の新VCGの可能性を明らかにするとともに、圃場内において個体群の構成比がどのように変動し、マイナーな個体群は連作に伴ってどのように多様な個体群形成に寄与するのかを明らかにすることは、植物病原菌の生態を理解する上で興味ある課題である。

第VI章 病原性検定法を利用したホウレンソウ萎ちよう病の品種抵抗性の検定

現在、ホウレンソウ萎ちよう病に対する品種の抵抗性検定法として確立された方法は見あたらない。O'Brien and Winters¹⁰³⁾は5葉期頃（播種21日後）の個体を用いて、病原菌液に根部を浸漬し、殺菌土壤に移植する方法によって検定を行っている。内記・森田⁹⁴⁾は病原菌を予め土壤混和する方法で検定した。一方、Fiely et al.²⁰⁾は分離菌の病原性検定において播種10日後に病原菌液を連続注射器で株元に注入接種する方法を探った。既に第IV章で述べたように病原性検定法の確立についての研究を進める過程で、病原菌株と品種の組合せによって発病程度に差異がみられたことから、本法がホウレンソウ品種の萎ちよう病抵抗性の検定に利用できるのではないかと考え、本実験を行った。

1. 病原性検定法の品種抵抗性検定への応用

ホウレンソウ萎ちよう病に対して抵抗性の異なる比較品種（対照品種）⁶⁸⁾において品種抵抗性を相対的に評価した試験例が見当たらない。そこで、本試験では内記・森田⁹⁴⁾によって抵抗性の比較に用いられた14品種を含む25品種を用いて、病原性検定法（第IV章）の品種抵抗性検定への適用を試み、抵抗性の程度を大別して、判定のための基準となる比較品種を提案しようとした。

材料および方法

検定品種には次の25品種を用いた。なお、下線を付した14品種は内記・森田⁹⁴⁾によって抵抗性の比較がなされているものである。

〔東洋種〕 福城、日本

〔西洋種〕 朝霧、おかめ、オラクル、キングオブデンマーク、札幌大葉、シンフォニー、ノーベル、ビロフレイ、マジック、ミンスター、ランド、

[中間種] アクティブ, アトラス, オーライ, 次郎丸,
新日本, ソロモン, ニューアジア, バル
チック, パレード, 豊葉, 丸粒強力ミニ
スター, リード, 若草

病原菌には *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* Spin1, Spin3, GIFU, F1-2, S1HI4 各菌株 (表 6) を供試し, PS で培養した芽胞状菌体 $5 \sim 9 \times 10^6$ bud cells / ml の懸濁液を用い, 1 セル当たり 5ml を連続注射器で根圈に灌注接種した。試験は冬期間に実施したため, 接種は子葉期と本葉 2 ~ 4 葉期の 2 回行った。発病調査は品種の抵抗性をより詳細に分けるために発病指数を 0 ~ 4 の 5 段階に分けて行い, その平均値で評価した。発病指数 0 : 健全, 同 1 : 発病初期にみられる極軽微な萎ちよう症状, 同 2 : 程度が指数 1 と 3 の中間, 同 3 : 典型的な萎ちよう症状, 同 4 : 枯死。

なお, 試験実施において, 上記品種のうち, 1998 年 1 月に 20 品種 (実験 1) を, 同年 3 月に 7 品種 (実験 2) を供試した。両試験の結果を相対的に比較するために, 入手が容易で, 抵抗性が異なると考えられる「アクティブ」および「おかめ」の 2 品種を両試験に含めた。

実験結果

ホウレンソウの品種抵抗性において比較品種が定められていないため供試 5 菌株に対する供試全品種の発病指數 (表 14, 表 15) に基づき度数分布を求め, 抵抗性を「強」, 「やや強」, 「中」, 「やや弱」, 「弱」の 5 段階に区分した (表 16)。その結果, 抵抗性「強」は発病指數 0.87 未満の品種が該当し, 東洋種「禹城」1 品種のみが区分された。抵抗性「やや強」は発病指數 0.87 以上 1.63 未満の品種で中間種「アトラス」「ソロモン」の 2 品種がこれに区分された。また, 抵抗性「中」(発病指數 1.63 以上 2.4 未満) には西洋種の「札幌大葉」および「ノーベル」と, 中間種の「アクティブ」「オーライ」「新日本」「ニューアジア」「バルチック」「パレード」「豊葉」「丸粒強力ミニスター」「リード」「若草」の 12 品種が, 抵抗性「やや弱」(発病指數 2.4 以上 3.16 未満) には西洋種「朝霧」「おかめ」「オラクル」「シンフォニー」「ミンスター」と, 中間種「次郎丸」の 6 品種がそれぞれ区分された。そして抵抗性「弱」(発病指數 3.16 以上) には東洋種「日本」, 西洋種の「キングオブデンマーク」「ピロフレイ」「マジック」の 4 品種が区分された。

表14 ホウレンソウ萎ちよう病に対する品種抵抗性の比較 (実験 1)^{a)}

供試品種	菌株名別発病指數					同左平均発病指數	同左発病株率 (%)	内記・森田 ^{b)}
	Spin1	Spin3	GIFU	F1-2	S1HI4			
アクティブ	2.06	2.43	2.27	0.88	2.45	2.02	84.0	
朝霧	4.00	3.25	3.33	1.25	3.86	3.14	95.8	
アトラス	1.00	1.58	1.38	0.75	0.29	0.99	62.2	43.8
禹城	1.38	0.40	0.33	0.17	0.14	0.48	38.2	31.5
おかめ	2.89	3.25	3.64	2.89	2.59	3.05	98.0	
キングオブデンマーク	3.17	3.80	3.50	3.40	3.86	3.54	97.2	55.8
札幌大葉	1.83	1.67	2.78	1.44	3.00	2.14	92.1	
次郎丸	2.67	3.60	1.50	1.67	3.40	2.57	91.7	39.8
新日本	2.27	1.11	2.50	1.44	2.17	1.90	83.7	42.0
シンフォニー	3.33	3.33	2.75	1.57	3.29	2.85	97.2	71.2
日本	3.33	3.25	3.63	3.00	3.43	3.33	100.0	
ニューアジア	1.57	2.00	2.86	1.50	3.00	2.19	90.1	34.2
ノーベル	1.50	2.00	2.60	1.75	3.50	2.27	80.8	30.7
バルチック	1.63	2.14	2.13	1.71	1.50	1.82	85.2	49.2
パレード	1.90	2.38	2.64	1.33	2.55	2.16	85.8	
ピロフレイ	ND ^{c)}	ND	4.00	3.00	3.50	3.50	100.0	55.9
豊葉	1.14	2.14	3.00	1.00	2.13	1.88	86.3	34.3
丸粒強力ミニスター	3.00	1.33	2.00	0.71	3.00	2.01	71.8	41.8
ミンスター	3.00	4.00	1.67	1.33	4.00	2.80	86.1	43.5
若草	1.86	1.67	2.17	2.29	1.88	1.97	89.5	60.7

a) 播種: 1998 年 1 月 16 日, 接種: 1 月 27 日および 2 月 3 日, 調査: 2 月 23 日。

b) 内記・森田^{b)} のデータから転載した。数値は発病株率 (%) を示す。

c) 表中の ND は, 発芽不良による欠測を示す。

表15 ホウレンソウ萎ちよう病に対する品種抵抗性の比較（実験2）^{a)}

供試品種	菌株名別発病指數					同左平均 発病指數	株率(%)
	Spin1	Spin3	GIFU	F1-2	S1HI4		
アクティブ	2.73	3.17	1.63	1.32	0.78	1.93	60.8
おかめ	3.45	3.60	2.54	1.25	1.00	2.37	77.6
オーライ	2.67	2.44	0.67	1.77	1.93	1.89	71.1
オラクル	3.31	2.96	1.33	2.23	2.78	2.52	81.7
ソロモン	2.38	1.56	0.86	0.92	0.31	1.21	44.1
マジック	3.63	3.80	3.94	2.71	3.09	3.23	93.5
リード	2.23	2.45	0.93	1.52	2.56	1.94	69.3

a) 播種：1998年3月30日，接種：4月9日，調査：5月1日。

表16 ホウレンソウ萎ちよう病に対する品種の抵抗性区分

品種の抵抗性区分 ^{b)}				
強	やや強	中	やや弱	弱
禹城 ^{b)}	アトラス	バルチック	オラクル	マジック
	ソロモン	豊葉	次郎丸	日本
		オーライ	ミンスター・ランド	ピロフレイ
		新日本	シンフォニー	キングオブデンマーク
		リード	おかめ	
		若草	朝霧	
	丸粒強力ミンスター			
	アクティブ			
	札幌大葉			
	パレード			
	ニューアジア			
	ノーベル			

a) 供試 25 品種の 5 菌株に対する発病指數の度数分布に基づく階級区分。抵抗性「強」は 0.87 未満、抵抗性「やや強」は 0.87 以上 1.63 未満、抵抗性「中」は 1.63 以上 2.4 未満、抵抗性「やや弱」は 2.4 以上 3.16 未満、抵抗性「弱」は 3.16 以上。

b) 各抵抗性毎の品種の記載は、発病指數の低い順に行ったが、試験により順位は変動する。このため、今後の検定に当たっては下線を付した品種を各抵抗性の比較品種に使用し、相対評価を行なう必要がある。

2. 菌株による品種抵抗性の差異

病原性検定法の確立に関する研究（第IV章）の過程で、イネいもち病菌 *Magnaporthe grisea* 菌株とイネ品種の組合せによって圃場抵抗性に変動がみられたとする報告^{22, 57, 137)} に類似した現象が認められた。そこで、本項では *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* の菌株の違いによるホウレンソウ品種の抵抗性の差異について明らかにしようとした。

材料および方法

供試した病原菌として、Spin1, Spin2, Spin3, Spin4, GIFU, F1-2, S1HI4 の 7 菌株（表 6）を用いた。一方、

ホウレンソウ品種には入手の容易な市販の交雑品種であるアクティブ、ソロモン、オラクル、リード、オーライおよびマジック（いずれも株サカタのタネ）を供試した。菌の培養および接種方法は前節に準じ、PS で振とう培養（5 日間、室温）して得た芽胞状菌体（10⁷ bud cells / ml）を接種源として、予め 128 セルのプラグトレイで育苗した子葉期のホウレンソウに、1 穴当たり 5ml の接種源を連続分注器で注入接種した。栽培はガラス温室（20 ~ 30°C）にて行い、播種 32 日後に発病調査を実施し、次式により発病度を算出した。なお、接種試験は菌株と品種の 1 つの組合せ当たり 25 ~ 50 株を供し、2 反復で行った。

$$\text{発病度} = (3A + 2B + C) \times 100 \div (3 \times \text{調査数})$$

ただし、A : 枯死株数、B : 典型的な萎ちよう症状を示す株数、C : 発病初期にみられる萎ちよう程度の軽い株数。

実験結果

F. oxysporum f. sp. *spinaciae* 7 菌株と、ホウレンソウ 6 品種の各組合せにおける発病度をみると（表 17）、Spin1 および Spin2 菌株はいずれの品種に対しても発病度が 50 を超えた。Spin3 菌株はソロモンで発病度が 50 以下であったが、他の 5 品種では高い発病度を示した。Spin4 菌株はソロモンで発病度が低く、リード、オーライでも発病度 50 をやや下回ったが、他の 3 品種では高かった。GIFU 菌株はマジックでのみ発病度が高かった。F1-2 菌株はオラクルとマジックで発病度が高く、他の 4 品種に対しては発病度 50 を下回った。S1HI4 菌株はオラクル、リード、マジックで発病度が高く、オーライに対して発病度ほぼ 50、アクティブ、ソロモンに対しては発病度がかなり低かった。以上のように、一部の菌株と品種の組合せによって発病度に逆転がみられた。

そこで、分散分析によって菌株と品種の組合せによる交互作用⁵⁷⁾ の有無を検討したところ、危険率 1% 水準で交互作用が有意であることが確認された（表 18）。また、菌株あるいは品種における要因効果はそれぞれ危険率 1% あるいは 0.1% で有意性を認めた。

3. 考 察

ホウレンソウ萎ちよう病の品種抵抗性に関する研究は Cook et al.¹⁶⁾ が最初で、発病圃場で抵抗性品種「Virginia Savoy Spinach」を見出した。以降 O'Brien and Winters^{103, 104)} が市販品種および外国導入系統の抵抗性を検定し、有望系統を選抜し、育種素材としての可能性を指摘した。この中には日本からの導入系統

表17 ホウレンソウ萎ちよう病菌株と品種の組合せによる発病度の比較

接種菌株	品種別発病度 ^{a)}						平均 (菌株)
	アクティブ	ソロモン	オラクル	リード	オーライ	マジック	
Spin1	69.5	60.1	83.8	58.3	67.6	90.5	71.6
Spin2	85.7	72.8	73.9	64.9	69.4	89.6	76.0
Spin3	79.3	39.2	76.1	62.1	64.4	94.9	69.3
Spin4	69.8	31.3	66.0	49.1	47.3	81.9	57.6
GIFU	41.4	21.7	35.3	23.0	15.8	72.4	34.9
F1-2	32.8	24.5	62.0	38.6	44.3	66.5	44.8
S1HI4	19.6	8.3	69.7	64.0	49.4	77.1	48.0
平均(品種)	56.9	36.8	66.7	51.4	51.2	81.8	57.5

a) 発病度は播種 32 日後の値。1 菌株当たり 25 ~ 50 個体/品種とし、2 反復で行った。

表18 ホウレンソウ萎ちよう病菌株と品種の組合せによる発病度の差異の分散分析表

要因	自由度	平方和	分散	F-値 ^{a)}
菌株	6	17325.01	2887.502	28.557**
品種	5	16529.76	3305.953	32.696***
菌株×品種(交互作用)	30	7883.90	262.797	2.599**
誤差	42	4246.76	101.113	
計	83	45985.43		

a) 数値の右肩に付した **, *** はそれぞれの差異が危険率 1%, 0.1% 水準で有意であることを示す。

PI165710 および PI227230 が含まれ、比較的抵抗性の強いことを述べている。内記・森田⁹⁴⁾は日本で入手可能な 85 品種の抵抗性を検定し、東洋種あるいはその系統に比較的抵抗性の強い品種が含まれることを確認している。これらの抵抗性検定における接種方法は浸根接種あるいは土壌混和で、その作業性は必ずしも効率的でない。一方、第Ⅳ章における病原性検定法の確立に関する研究の過程で、品種の感受性差異を確認できことから、病原性検定法を品種の抵抗性検定に応用できると考えた。

本病に対して抵抗性があると判断された品種は日本国内の多様な土壌・気象条件のもとで栽培されることになる。すなわち、多様な産地の病原菌に対して安定して抵抗性を示す必要がある。また、本病に対する抵抗性評価において、抵抗性判定の基準となる比較品種が定められていない。そこで病原性検定法を利用して、由来の異なる病原菌 5 菌株に対するホウレンソウ 25 品種の抵抗性を検定し、平均発病度の度数分布により品種の抵抗性を 5 段階に類別した。これによると抵抗性「強」と評価された品種は「禹城」のみで、「やや強」には「アトラス」、「ソロモン」の 2 品種が区分された。岩手県内で 7 ~ 8 月積りの夏作で本病に対する耐病性品種として広く作付

けされている「アクティブ」は抵抗性「中」にランクされた。この品種は、汚染程度の高い圃場では株が枯死する事例が多くみられ、本試験の結果はその実態を反映していると考えられる。一方、上述した抵抗性の比較的強い 3 品種はいずれも秋～春作に適した品種³⁹⁾で、夏作に利用するためにはこれらを素材に新たに選抜する必要がある。

以上の品種の抵抗性区分は内記・森田⁹⁴⁾によるものと概ね一致した。このことから、第Ⅳ章において確立した病原性検定法は品種の抵抗性検定にも利用できると考えられた。また、抵抗性検定において抵抗性の比較品種として次の品種を用いると相対的に抵抗性を比較できると考えられた。すなわち、「強」：禹城、「やや強」：アトラスまたはソロモン、「中」：バルチックまたはアクティブ、「やや弱」：ミンスター・ランドまたはおかげ、「弱」：キングオブデンマークまたはマジック。

さらに、上述の実験および第Ⅳ章の実験で、品種と病原菌株との組合せによって抵抗性の順位に変動がみられた。そこで、*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* 7 菌株と、ホウレンソウ 6 品種の各組合せにおける発病度を比較したところ、7 菌株に対する平均発病度が最も高い品種は「マジック」で、次いで、「オラクル」、「アクティブ」、「リード」、「オーライ」、「ソロモン」の順になり、菌株では病原力の強い順に、Spin2, Spin1, Spin3, Spin4, S1HI4, F1-2, GIFU の順になった。菌株と品種の組合せでみると、S1HI4 菌株と F1-2 菌株で「アクティブ」の発病度が「リード」と「オーライ」より低く、この組合せで逆転がみられた。このことから、品種の抵抗性検定においては病原力の異なる複数の病原菌株を用いることが望ましい。

以上のように、本研究によって、第、章で確立した病原性検定法をホウレンソウ品種の萎ちよう病抵抗性検定に利用できること、および抵抗性の比較品種として 9 品種を例示した。また、品種の抵抗性は病原菌株との組合せによる差異がみられるため、抵抗性検定においては複数の病原菌株を用いることが望ましいと考えられた。

第Ⅶ章 ホウレンソウ萎ちよう病の防除

昨今、化学合成農薬の環境への影響に关心が集まる中、病害虫防除技術においては農薬を減らした病害制御技術、いわゆる省農薬防除法の確立が求められている。ホウレンソウ萎ちよう病において省農薬防除技術として考えられる手法には①抵抗性品種の利用、②太陽熱を利用した土壌消毒法、③非病原性フザリウムを利用した防除法、

④キチン質資材を利用した発病軽減法などがある。①についてすでに第VI章で述べたので、本章では②～④の技術の開発および検証を行った。

第1節 非病原性フザリウムを利用したホウレンソウ萎ちよう病の生物的防除

第IV章の病原性検定法の検証および第V章で述べたわが国におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌糸和合性群に関する調査の過程で、萎ちよう病の多発圃場に生育するホウレンソウの根部から非病原性の *F. oxysporum* が普遍的に分離されることが注目された。このような非病原性フザリウムを用いた土壤病害防除に関する研究は多数報告されている^{1, 5-7, 27, 63, 64, 76, 105-110, 134, 140}。そこで、本節では非病原性フザリウムを用いたホウレンソウ萎ちよう病の防除法について検討した。

1. 非病原性フザリウムの分離と発病抑制のための処理条件

ホウレンソウ萎ちよう病に対して発病抑制能力の高い非病原性フザリウムを選抜するとともに発病抑制を誘導するための接種条件を明らかにしようとした。また、他作物のフザリウム病等に対する発病抑制効果を検討した。

1) 非病原性フザリウムの分離および発病抑制効果

材料および方法

実験1 非病原性フザリウムは、本病の多発する圃場で発病を免れて健全に生育するホウレンソウ根面および根組織内から、常法により分離した S1HI1-w, S3HO3, S14HO2-2, S16HO1-2, S16HO2-2, S16HO3-2, S20HO5-1, S20HO5-2 の 8 菌株を PS 培養した芽胞状菌体を各々園芸培土 1g 当たり 10^5 cfu となるように播種前日に接種後、病原菌 S1HI4 菌株を 10^4 cfu / 乾土 g となるように接種した当日にホウレンソウ品種「おかめ」を播種した(10 粒 / ポット、3 連制)。発病は萎れ程度別に適宜調査し、発病度を次式により算出した。

$$\text{発病度} = (4A + 3B + 2C + D) \times 100 \div (4 \times \text{調査数})$$

ただし、A : 枯死株数、B : 典型的な萎ちよう症状を示す株数、C : B と D の中間的症状を示す株数、D : 発病初期にみられる萎ちよう程度の軽い株数。

実験2 第IV章において非病原性であることを確認した 10 菌株(970211, 970233, 970256, 970259, 970261, 970265, 970480, 970481, 970576, 970600)および実験1により選抜した 2 菌株(S3HO3, S1HI1-w)を用いて発病抑制能力を検討した。接種源の調製、接種方法等は実験1に準じたが、試験は 2 連制とした。

実験結果

実験1の発病推移および播種 31 日後における発病度から、非病原性フザリウム S1HI1-w, S3HO3, S20HO5-1, S20HO5-2 の 4 菌株が発病を抑制した(表19)。その発病抑制効果は S3HO3 菌株が最も高かった。なお、S3HO3 および S1HI1-w 両菌株はホウレンソウに対する病原性を認められなかったが、S20HO5-1 および S20HO5-2 菌株は播種 31 日後で弱い病原性が認められた。

次に、実験2では播種 18 日後における発病度から、

表19 ホウレンソウから分離した *Fusarium oxysporum* によるホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制効果(実験1)

供試菌株	播種後日数 ^{a)}					
	19日		25日		31日	
	発病株率 %	発病度	発病株率 %	発病度	発病株率 %	発病度
S1HI1-w	0	0	22.2	16.7	22.2	19.4
S3HO3	0	0	5.6	1.4	5.6	4.2
S14HO2-2	0	0	12.5	3.1	62.5	37.5
S16HO1-2	6.3	1.6	25.0	14.1	43.8	28.1
S16HO2-2	0	0	25.0	10.9	50.0	23.4
S16HO3-2	5.9	1.5	11.8	5.9	35.3	20.6
S20HO5-1	0	0	5.6	1.4	11.1	5.6
S20HO5-2	0	0	0	0	23.6	13.5
病原菌 S1HI4	28.6	12.5	38.5	19.2	57.1	41.1

a) 播種は 1993 年 3 月 11 日に行った。播種前日に供試菌株およびホウレンソウ萎ちよう病菌(S1HI4 菌株)を土壤に混和接種した。調査株数は各区とも 20 ~ 30 個体であった。

b) 病原性とは、供試菌株そのものによる発病株率を表す。

表20 非病原性フザリウムによるホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制効果(実験2)

菌株名 ^{b)}	播種後日数 ^{a)}					
	18日		22日		29日	
	発病株率 %	発病度	発病株率 %	発病度	発病株率 %	発病度
S3HO3	55.0	22.1	90.0	54.8	100	72.2
S1HI1w	16.7	5.6	100	70.8	100	87.5
970211	25.0	11.1	58.3	36.1	91.7	67.1
970233	75.0	36.1	100	86.1	100	100
970256	76.2	33.3	100	66.7	100	82.6
970259	33.3	11.1	58.3	58.3	58.3	58.3
970261	33.3	19.4	66.7	55.6	90.0	74.4
970265	32.5	15.0	80.0	64.2	100	93.3
970480	29.2	13.9	87.5	54.2	100	87.5
970481	16.7	5.6	50.0	22.2	75.0	55.6
970576	0	0	70.8	34.7	83.3	61.1
970600	12.5	4.2	58.3	29.2	100	75.0
病原菌 S1HI4	100	80.6	100	97.6	100	100

a) 播種は 1999 年 6 月 10 日に行った。播種 2 日前に非病原性フザリウム供試菌株を土壤に混和接種し、播種前日にホウレンソウ萎ちよう病菌(S1HI4 菌株)を接種した。調査株数は発芽ムラがあったため、試験区によって 5 ~ 20 個体とふれた。

b) 供試菌株は第IVおよびV章にて非病原性であることを確認済み。

非病原性フザリウム 970211, 970259, 970480, 970481, 970576 および 970600 の 6 菌株は、実験 1 で選抜した S3HO3, S1HI1-w 菌株とほぼ同等の発病抑制効果を示した（表 20）。接種 22 日後ではほとんどの菌株で病勢が進展した中で、970211, 970481, 970576 および 970600 の 4 菌株は発病度が 50 未満で、S3HO3, S1HI1-w 菌株より発病抑制能力が優れた。

2) 非病原性フザリウムの接種方法

材料および方法

(1) 接種時期

病原菌による土壌の汚染時期と非病原性フザリウムの施用時期の影響について検討した。供試菌株には病原菌として *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* S1HI4 菌株、非病原性フザリウムとして *F. oxysporum* S1HI1-w 菌株を用いた。接種源はフスマ培養¹⁰⁾し、1/5000a ワグネルポットに詰めた滅菌黒ボク土壌に対して非病原性フザリウムの場合、フスマ培養物を 100g、病原菌の場合にはフスマ培養物 20g を接種した。供試菌株の接種時期については①健全土壌に非病原性フザリウムを接種して 1 作後、次の作付け前に病原菌を接種した区、②健全土壌に非病原性フザリウムを接種し、次の作付け前に再度非病原性フザリウムを接種すると同時に病原菌を接種した区、③病原菌汚染土壌で 1 作後、次の作付け前に非病原性フザリウムを接種した区、および④非病原性フザリウム無接種区の 4 区を設けた。

(2) 接種菌量

発病抑制に必要な非病原性フザリウムの接種菌量について、病原菌の菌密度別に検討した。供試菌株は非病原性フザリウムとして *F. oxysporum* S3HO3 菌株、病原菌として S1HI4 菌株を用い、それぞれの PS での振とう培養菌体を所定の接種菌量の組合せ（表 21）になるように園芸培土に混和接種して、直径 12cm のポリポットに充填して培地とした。接種は、非病原性フザリウムを播種 2 日前、病原菌を播種前日にそれぞれ行った。また、萎ちよう程度別に発病調査を実施し、発病度を求めた。

表21 非病原性フザリウムおよびホウレンソウ萎ちよう病菌の接種菌量に関する試験区の構成

病原菌の接種菌量 ^{a)}	非病原性フザリウムの接種菌量				
	— ^{b)}	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵
—	○		○		○
10 ²	○		○		○
10 ³	○	○	○	○	○
10 ⁴	○		○		○

a) 芽胞状菌体による接種菌量、個/乾土 g

b) 非病原性フザリウムまたはホウレンソウ萎ちよう病菌無接種区

(3) 处理方法

非病原性フザリウムの土壌処理では汚染圃場での発病抑制期間が比較的短いことが判明したので、生育初期の感染をより効果的に防ぐため、あらかじめホウレンソウ根部が非病原性フザリウムに十分覆われることを期待して、種子または苗に直接接種する方法について検討した。種子接種は非病原性フザリウムの振とう培養菌懸濁液（ 1.7×10^7 bud cells / ml）に発芽種子を浸漬し、減圧（5 分間）または浸漬（一晩）により処理した。処理後、汚染土壌（病原菌を接種した後、ホウレンソウを作付して予め発病させた汚染土壌）に播種し、発病を調査した。対照には菌懸濁液の代わりに蒸留水を減圧接種した。苗への接種は、振とう培養菌体をセル成型育苗用培土（ソイルフレンド）1g 当たり 1.7×10^5 cfu になるように混和し、これを 288 セルのプラグトレイに充填し、14 日間育苗した。次いで、非病原性フザリウムを接種した苗（セル成型苗）を汚染土壌に移植し、適宜発病を調査した。品種には感受性の高い「おかめ」を用いた。なお、1 セル当たりの播種粒数を 1 ~ 2 粒とした。試験規模は 1 区 1/2 プランター、2 連制とした。

実験結果

(1) 接種時期

健全土壌の 1, 2 作目に非病原性フザリウムを適用し、2 作目に病原菌を接種した場合では高い発病抑制効果が認められた（表 22）。しかし、健全土壌の 1 作目のみに非病原性フザリウムを施用し、2 作目に病原菌を接種した場合、発病抑制効果が認められたものの播種 47 日後（収穫期）まで持続しなかった。また、すでに病原菌が定着している汚染土壌では、非病原性フザリウムを施用しても播種 24 日後に弱い発病抑制がみられただけで、播種 47 日後には無処理区と変わらなかった。

表22 非病原性フザリウムの接種時期とホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制効果

試験区	2 作目における発病率(%) ^{a)}	
	播種24日後	同47日後
健全土壌に非病原性フザリウムを接種して 1 作後、次の作付け時に病原菌 ^{b)} を接種	23.3	81.3
健全土壌に非病原性フザリウムを接種して 1 作後、次の作付け時に非病原性フザリウムおよび病原菌を同時接種	12.5	25.0
病原菌汚染土壌に 1 作後、次の作付時に非病原性フザリウムを接種	64.1	100
病原菌汚染土壌（非病原性フザリウム無接種）	100	100

a) 1991 年 7 月 31 日に 2 作目の播種を行った。

(2)接種菌量

病原菌接種菌量が 10^3 cfu / 乾土 g の場合、非病原性フザリウムを 10^4 cfu / 乾土 g および cfu / 乾土 g の菌量で施用した試験区は発病度が低く、明瞭な発病抑制効果が認められた（図 19）。一方、非病原性フザリウムの土壤接種菌量を 10^3 cfu / 乾土 g とした場合、病原菌の接種菌量が 10^2 ~ 10^4 cfu / 乾土 g の範囲で、どの試験区でも発病抑制効果が認められなかった（図 19）。非病原性フザリウムの接種菌量を 10^5 cfu / 乾土 g とすると、病原菌の接種菌量が 10^2 および 10^3 cfu / 乾土 g の場合、発病抑制効果が高く、病原菌が 10^4 cfu / 乾土 g では抑制効果は若干劣るもの、非病原性フザリウムの接種菌量が 10^3 cfu / 乾土 g の場合よりも高かった。なお、非病原性フザリウムを単独接種した場合、 10^2 ~ 10^5 cfu / 乾土 g の範囲で発病が認められなかった。

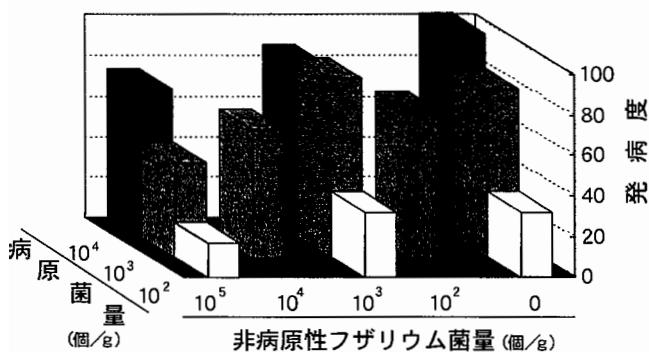


図19 非病原性フザリウムおよび病原菌の接種菌量とホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制効果

播種30日後における発病度を示した。

(3)処理方法

蒸留水を種子に減圧接種した場合の発病株率または発病度に比較して、非病原性フザリウムの減圧接種および浸漬接種した場合、発病度が低く、発病抑制効果が認められた（表 23）。なお、非病原性フザリウムを種子に接種することによる出芽への影響は認められなかった。

非病原性フザリウムを接種した床土で 14 日間育成したセル成型苗（本葉 2 ~ 4 葉期）を汚染土壤に移植した場合、移植後 18 日まで発病は明らかに少なく、移植後 27 日においても発病は抑制されていた（図 20）。

3) その他の土壤病害に対する発病抑制効果

材料および方法

ホウレンソウ立枯病 (*Pythium* spp.), キュウリつる割病 (*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*), メロンつ

表23 非病原性フザリウムの種子処理とホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制効果^{a)}

非病原性フザリウムの 種子処理方法	出芽率 %	発病株率 %	発病度
浸漬接種 (24 時間)	95.8	34.8	9.8
減圧接種 (5 分間)	91.7	15.9	8.5
対照 (蒸留水減圧処理)	93.8	42.2	26.7

a) 播種：1993年9月30日。発病は播種24日後に調査した。

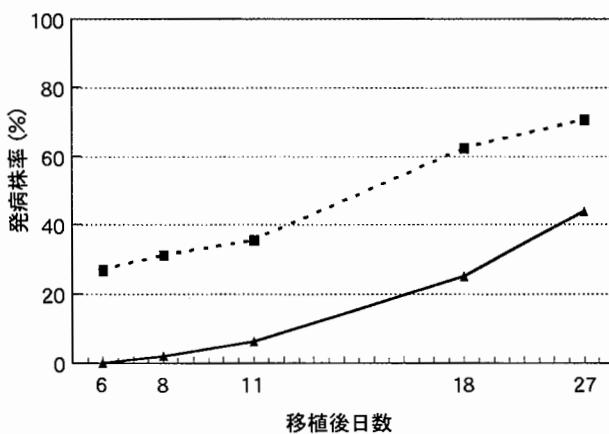


図20 非病原性フザリウムを育苗時に接種したセル成型苗の移植によるホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制効果

▲ 非病原性フザリウム接種苗
■ 非接種苗

る割病 (*F. oxysporum* f. sp. *melonis*), スイカつる割病 (*F. oxysporum* f. sp. *niveum*), ダイコン萎黄病 (*F. oxysporum* f. sp. *raphani*) およびシunjingiku萎ちよう病 (*F. oxysporum*) に対する非病原性フザリウム S3HO3 菌株の発病抑制効果を検討した。試験は、*Pythium* 病に対しては自然汚染土壤を用い、非病原性フザリウム S3HO3 菌株が 10^5 cfu / 乾土 g になるように混和接種した後、播種した。さらに、別の試験区では本菌を播種直後に土壤灌注処理した。この場合の接種菌量は 10^5 bud cells / ml の芽胞状細胞の懸濁液を、土壤 1kgあたり 200ml を灌注した。各 *Fusarium* 病に対しては非病原性フザリウム S3HO3 菌株が 10^5 cfu / 乾土 g なるように混和接種し、翌日に各病原菌を 10^4 cfu / 乾土 g なるように混和接種して各宿主作物を播種した。発病抑制効果は、*Pythium* 病については苗立枯れの発病株率で評価し、*Fusarium* 病については播種 30 日後に根部導管組織の褐変有無で評価した。

実験結果

ホウレンソウ立枯病 (*Pythium spp.*) に対して、非病原性フザリウムの土壤混和で発病抑制効果が高かった(図21)。土壤灌注でも発病は軽減されたが土壤混和に及ばなかった。

また、非病原性フザリウムは各種 *Fusarium* 病に対しても発病抑制効果が認められ、特にキュウリ、ダイコン、シュンギクでの効果が高かった(図22)。

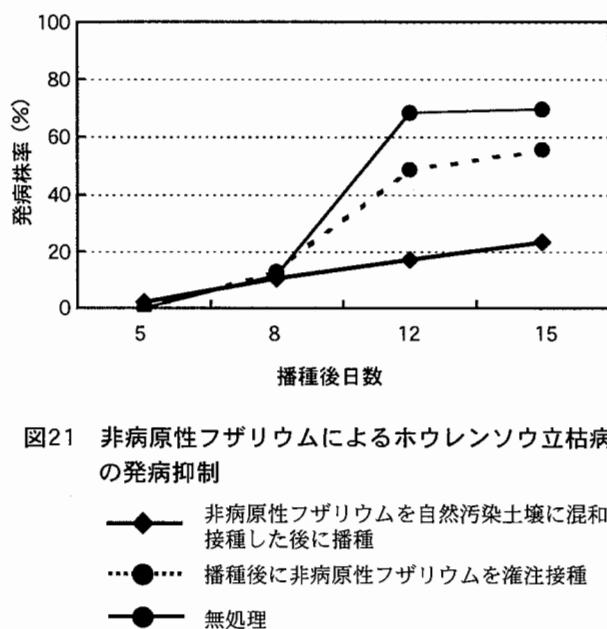


図21 非病原性フザリウムによるホウレンソウ立枯病の発病抑制

- 非病原性フザリウムを自然汚染土壤に混和接種した後に播種
- 播種後に非病原性フザリウムを灌注接種
- 無処理

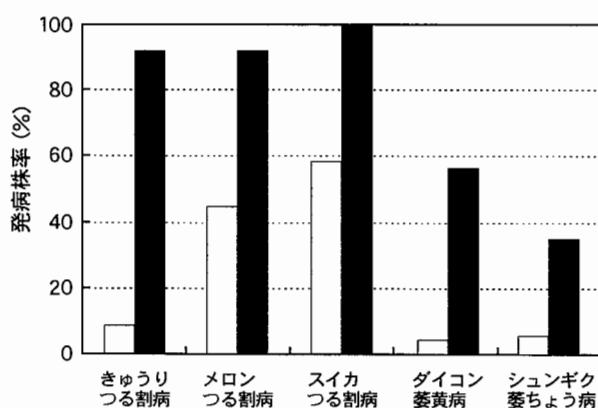


図22 非病原性フザリウムによる各種 *Fusarium* 病の発病抑制

- 播種2日前に非病原性フザリウムを土壤に混和接種し、播種前日に各病原菌を混和接種した。
 - 播種前日に病原菌を接種した。
- 発病は播種30日後における根部導管褐変の有無によって判定した。

2. 非病原性フザリウムを用いた防除法

ここでは非病原性フザリウムの他作物への病原性(安全性)および簡便な接種方法を検討するとともに、圃場試験によって防除効果の実用性を明らかにしようとした。

1) 非病原性フザリウムの作物に対する病原性の検討

材料および方法

非病原性フザリウム S3HO3 菌株の作物に対する病原性を検討した。供試作物はウリ科:キュウリ(南極1号), スイカ(チャンピオン), メロン(プリンス), ナス科:トマト(桃太郎), アブラナ科:ダイコン(いわて青首), カブ(時無小葉), キャベツ(YR青春), ハクサイ(大福), ブロッコリー(みかも), ナバナ(オータム・ポエム), ノザワナ, バショウナ, アカザ科:ホウレンソウ(アクティブ), キク科:レタス(ステディ), シュンギク(株張中葉春菊), セリ科:ミツバ(白茎ミツバ), ニンジン(時無五寸)の6科17種の作物である。供試菌の分生子懸濁液を園芸培土1g当たり 10^5 cfu/乾土gになるように混和接種した後, 直径12cmのポリポットに充填し, 植定作物を1995年8月20日に播種して33~57日間ガラス温室で栽培した。播種粒数は10~15粒とし, 適宜間引いた。なお, 対照には無接種区をおくとともに, キュウリ, スイカ, メロン, ダイコン, シュンギクについてはこれらに病原性を示す *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, f. sp. *niveum*, f. sp. *melonis*, f. sp. *raphani*, シュンギク分離株(*F. oxysporum*)を接種した。なお, 発病は根部導管組織の褐変を調査した。

実験結果

ホウレンソウ萎ちよう病多発ハウスで健全に生育するホウレンソウの根面から分離した非病原性フザリウム S3HO3 菌株はキュウリ, トマト, キャベツ, レタス, ミツバ, シュンギクなど供試した6科17種のいずれの作物にも病原性を示さず(表24), 各作物の生育も無接種のものと同様に良好であった。

表24 非病原性フザリウム S3HO3 菌株が病原性を示さない農作物^{a)}

科	農作物の種類			
ウリ	キュウリ	スイカ	メロン	
ナス	トマト			
アブラナ	ダイコン	カブ	キャベツ	ハクサイ
		ブロッコリー	ナバナ	ノザワナ
アカザ	ホウレンソウ			バショウナ
キク	レタス	シュンギク		
セリ	ミツバ	ニンジン		

a) 非病原性フザリウム S3HO3 菌株を土壤に混和接種後, 33~57日後に根部導管の褐変の有無によって判定した。

2) 育苗時における非病原性フザリウム S3HO3 菌株の接種方法の検討

材料および方法

実用化にあたっては非病原性フザリウムの簡便な接種方法を明らかにする必要がある。そこで①本菌分生子懸濁液 10^4 , 10^6 cfu / 乾土 g 相当量を床土に混和した区、②ホウレンソウを播種後、プラグトレイの上から本菌分生子懸濁液 (10^6 bud cells / ml) の床土重量の 1 / 10 容 (v/w) を播種当日、同 5 および 10 日後とそれぞれ時期を変えて灌注した 3 区、および③無処理区を設定した。なお、いずれも床土は 288 セルのプラグトレイに充填し、播種はあらかじめ流水で催芽した種子を 1 穴当たり 2 粒播きとした。15 日間育苗し、本葉が 2 ~ 4 枚展開したセル成型苗を予めプランター (57 × 18 × 15 cm) に充填した病原菌汚染土壌に移植した。栽植間隔は 10 × 10 cm とし、プランター当たり 14 株 (2 本立て)、3 連制とした。発病は移植 9 日後に地上部の萎ちようの有無で調査した。

なお、病原菌汚染土壌の試験開始時の微生物相はフザリウム菌数 3.6×10^3 cfu / 乾土 g、糸状菌数 16.3×10^3 cfu / 乾土 g、細菌数 6.1×10^6 cfu / 乾土 g、放線菌数は 10^6 cfu / 乾土 g 未満であった。*F. oxysporum* 菌数は 2.8×10^3 cfu / 乾土 g で、*Fusarium* 属菌数の約 8 割を占めた。

実験結果

非病原性フザリウムを播種前の床土に土壌混和する場合、無接種区の発病率が 29.6 であったのに対して 10^6 cfu / 乾土 g相当を土壌混和した区の発病率は 3.7、 10^4 cfu / 乾土 g相当では 14.8 と非病原性フザリウムの接種菌量が多い方で発病抑制効果がより高かった(図 23)。

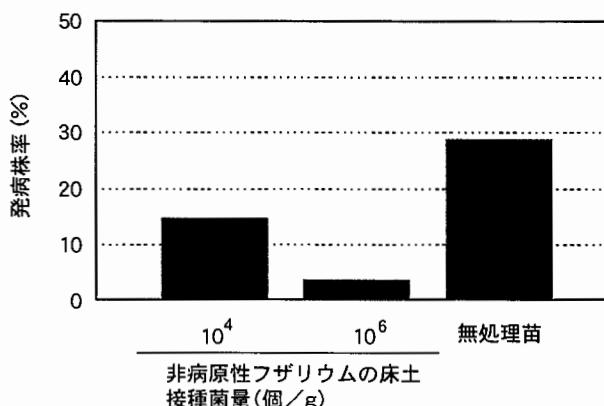


図23 非病原性フザリウムの床土接種菌量と移植後のホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制効果

床土に所定濃度になるように芽胞状菌体を接種し、15日間育苗後、ホウレンソウ萎ちよう病の病原菌汚染土壌に移植した。発病は移植後 9 日に調査した。

次に育苗中に非病原性フザリウム S3HO3 菌株分生子懸濁液を床土に灌注接種する時期については、無処理区の発病率が 29.6 であったのに対して、播種翌日灌注区の発病率は 23.1、播種 5 日後灌注区は 24.1、播種 10 日後灌注区は 11.5 と、播種 15 日後の移植時点に近い生育段階の苗に非病原性フザリウム S3HO3 菌株を接種した方が発病抑制効果は高かった(図 24)。しかし、この場合、床土に対して非病原性フザリウムを 10^6 cfu / 乾土 g 相当になるように土壌混和した区の発病率 3.7 には及ばなかった。

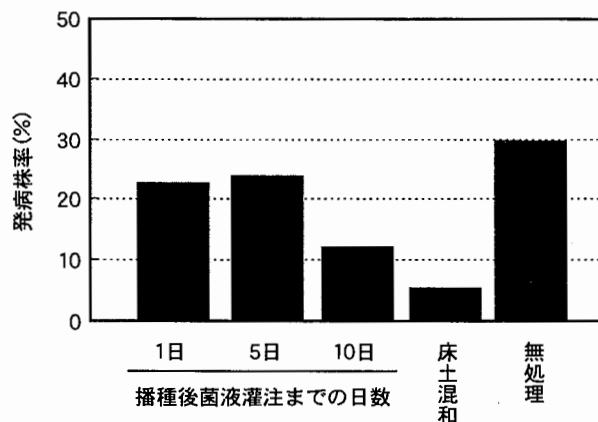


図24 育苗期間中における非病原性フザリウムの接種時期と移植後のホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制効果

床土に所定濃度になるように芽胞状菌体を接種し、15日間育苗後、ホウレンソウ萎ちよう病の病原菌汚染土壌に移植した。発病は移植後 9 日に調査した。

3) 園場試験

材料および方法

岩手県遠野市のホウレンソウ萎ちよう病が常発する一般農家の雨よけパイプハウス内に太陽熱利用による土壌消毒区(以下、太陽熱消毒区)および無消毒区を設置して試験を実施した。非病原性フザリウム S3HO3 菌株の接種は、1995 年 7 月 19 日に床土 1g 当たり 10^6 cfu / 乾土 g になるように分生子懸濁液を土壌混和し、翌日にその床土を詰めたプラグトレイ 1 セル当たりホウレンソウを 2 粒播いて 15 日間育苗した。本圃への苗の移植は 8 月 3 日に行った。なお、試験区は 2.4 m²、栽植間隔 10 × 10 cm とした。慣行の直播は 7 月 25 日に行った。

太陽熱消毒は 6 月 26 日から 7 月 25 日までの 30 日間透明マルチを用いて実施した。この間の太陽熱消毒区の深さ 10 cm における地温が 40°C 以上を記録した時間数は 131 時間であった。一方、同一ハウスの無消毒区(慣行播種区、非病原性フザリウム接種苗移植区および無接

種苗移植区)はシルバーマルチを用いて地温の上昇を抑えたため、深さ10cmにおける地温は40°Cを超えるなかつた。これらの区への播種は地温の下がるのを待つて7月25日に実施した。

移植13日後(直播21日後)に当たる8月16日に1回目の発病調査を実施し、移植18日後(直播26日後)に当たる8月21日には2回目の発病調査と生育調査(草丈、葉数)を実施した。なお、調査は区内2反復で実施し、萎ちよう症状の程度別に指数を与えて前出の式により発病度を算出した。

実験結果

供試ハウスは、連作8年目で土壤中の全フザリウム菌数は播種時で 19.3×10^3 cfu/乾土gであった。土壤中の可給態リン酸が過剰気味な圃場であったため、リン酸質肥料は無施用としたが、生育に影響はなかった。図25に示したように、直播区の無処理では播種21日後(8月16日)の発病株率は28.5%、播種26日後(8月21日)の発病株率は53.0%であったのに対し、全ての移植区では移植13日後(8月16日)まで発病が認められなかった。しかし、移植18日後(8月21日)になると無接種苗移植区では発病株率13.1となったのに対して、非病原性フザリウム接種苗移植区では発病株率5.0%と発病が少なかった。一方、直播の太陽熱消毒区の発病株率は播種21日後4.2%、同26日後8.0%で、非病原性フザリウム接種苗移植区と同等の防除効果であった。収穫量について8月23日から31日までの日推移を第25表に示した。移植苗の生育は直播に比較して若干劣ったため、収穫量のピークは直播区では播種29日後に当たる8月23日であったのに対し、移植区では非病原性フザリウム菌接種苗は移植22日後に当たる8月25日、無接種苗では移植22~24日後に当たる8月25~27日で、非病原性フザリウム接種によって収穫ピークは2日程度前進した。また、総収量は、非病原性フザリウム接種苗

表25 非病原性フザリウム前接種苗の移植によるホウレンソウ収量への影響

処理	ホウレンソウの日別収量 ^{a)} (kg/a)				収量計 (kg/a)	
	20(29) ^{b)}	22(31)	24(33)	27(36)		
移植栽培						
非病原性フザリウム						
前接種苗移植区	0	32.9	20.6	18.5	72.0	
非接種苗移植区	0	22.6	28.4	17.7	68.7	
直播栽培	54.5	9.3	6.4	0	70.2	

a) 軽微な萎ちよう症状を呈する個体は早朝収穫によって出荷可能であるので、収量に含めた。

b) 移植後日数(直播後日数)

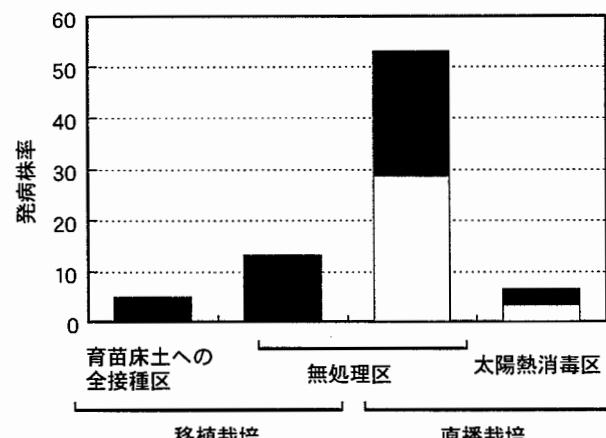


図25 非病原性フザリウム接種苗によるホウレンソウ萎ちよう病汚染圃場における発病抑制効果

■ 移植13日後(播種21日後)における発病株率
■ 移植18日後(播種26日後)における発病株率

移植区は直播区に比較してわずかに増収した。一方、太陽熱消毒の直播区での生育は無処理に比べて若干遅れる傾向にあった。

3. 非病原性フザリウムによる発病抑制機作

非病原性フザリウムS3HO3菌株はホウレンソウ萎ちよう病に対して発病抑制能力が高いことが圃場試験により実証された。ここでは本菌株による発病抑制機作を明らかにしようとした。

1) 病原菌の茎部針接種による発病抑制

材料および方法

非病原性フザリウム菌としてS3HO3菌株、病原菌として*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* S1HI4菌株またはM2-1菌株(*nit*変異株、表現型Nit M)を用い、動態追跡においては*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* S1HI4菌株の*nit*変異株(表現型nit 3)であるPn34菌株を用いた。供試植物にはホウレンソウ萎ちよう病に対して感受性の高い品種「おかげ」を用いた。接種源は両菌株ともPSにて25°Cで7日間振とう培養し、ガゼでろ過して調製した芽胞状菌体の懸濁液を用いた。接種菌密度は、非病原性フザリウムS3HO3菌株が市販の園芸培土1g当たり 10^5 cfuとなるように混和接種した翌日に、病原菌を同じ培土に 10^3 ~ 10^4 cfu/乾土gとなるように混和接種した。両菌株を接種した土壤を直径12cmのポリポットに詰め、10粒播種した。出芽後、ポット当たり6株に間引きした。

以上は次項以降の実験にも共通する方法および材料である。

本実験では、非病原性フザリウム S3HO3 菌株を所定濃度で予め接種した園芸培土で 14 日間生育させた本葉 2 ~ 4 葉期のホウレンソウ茎維管東部に、遠沈濃縮した病原菌 S1HI4 菌株の芽胞状菌体ペレットを 3 本の縫い針で直接接種した。発病調査は病原菌接種 9 日後に、根部導管の褐変程度別に行い、次式により根部導管褐変度を算出した。

$$\text{根部導管褐変度} = (3A + 2B + C) \times 100 / (3 \times \text{調査株数})$$

ただし、A : 導管のほとんどが褐変している株数、B : 導管の半分程度が褐変している株数、C : 導管の一部が褐変している株数。

実験結果

非病原性フザリウム S3HO3 菌株を前接種した土壤で生育させた後、茎部に病原菌泥を針接種した植物では、前接種しなかった場合に比較して発病度が低く、発病が抑制された（図 26）。

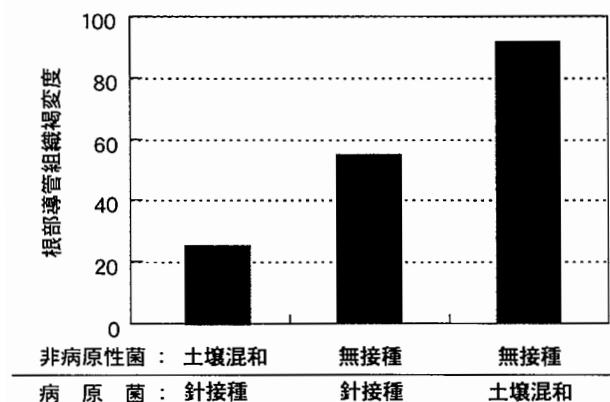


図26 非病原性フザリウム接種土壤で生育させたホウレンソウに対する病原菌針接種の影響

針接種は播種 14 日後に行い、植物体内に取り込まれた非病原性フザリウムによる交叉防御の発現を病原菌接種 9 日後に根部導管の褐変度別に調査した。

2) 非病原性フザリウム S3HO3 菌体の生死が発病抑制に与える影響

材料および方法

非病原性フザリウム S3HO3 菌株の芽胞状の生菌体、高压滅菌により得た死菌体およびメンブランフィルター ($0.45 \mu m$) で除菌した培養液を用い、その発病抑制効果を検討した。この場合、それぞれの濃度は非病原性フザリウム S3HO3 菌株 $10^6 cfu / \text{乾土 g}$ 相当に調整した。病原菌 M2-1 菌株の菌密度は $10^3 cfu / \text{乾土 g}$ とした。また、非病原性フザリウム S3HO3 菌株および病原菌のメンブランフィルター ($0.45 \mu m$) によるろ液を用いて、

病原菌分生子の発芽および発芽管伸長に与える影響を調査した。調査は病原菌分生子を各ろ液に浸してから室温で 48 時間後に行った。

実験結果

非病原性フザリウム S3HO3 菌株の芽胞状の生菌体を土壤に混和した場合、発病抑制効果が認められた。しかし、高压滅菌した死菌体または $0.45 \mu m$ のメンブランフィルターで菌体を除去した培養液を土壤混和に用いた場合、発病が遅延したが、発病抑制は認められなかった（図 27）。

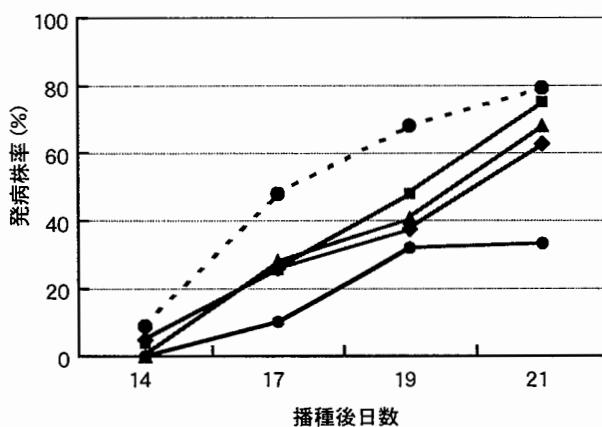


図27 非病原性フザリウムの生死がホウレンソウ萎ちよう病の発病抑制に及ぼす影響

- 生菌体
- 死菌体
- ▲ 培養ろ液(菌体除去)
- ◆ 培養ろ液(菌体除去後オートクレーブ処理)
- 対照(ホウレンソウ萎ちよう病菌)

また、非病原性フザリウム S3HO3 菌株の菌体を取り除いた培養液に病原菌の分生子を浸した場合、病原菌自身の培養液に処理した場合に比較すると、発芽率および発芽管伸長は 50% 程度阻害された（図 28）。

3) 根圈土壤、根面および根内における非病原性フザリウム S3HO3 菌株および病原菌の消長

材料および方法

非病原性フザリウム S3HO3 菌株の芽胞状菌体 $10^5 cfu / \text{乾土 g}$ を接種した後、病原菌 Pn34 菌株を $10^4 cfu / \text{乾土 g}$ となるように接種した。菌密度の測定は、非病原性フザリウム S3HO3 菌株（野生株）の検出に硝酸マイコナゾール $10 ppm$ ⁷⁰⁾ およびストレプトマイシン硫酸塩 $300 ppm$ を加用した MMPA¹³¹⁾ を、病原菌 Pn34 菌株（*nit* 変異株）の検出には前出の抗生物質 2 種類を加用した MMCPA¹³¹⁾ を用いた。供試した土壤および植物

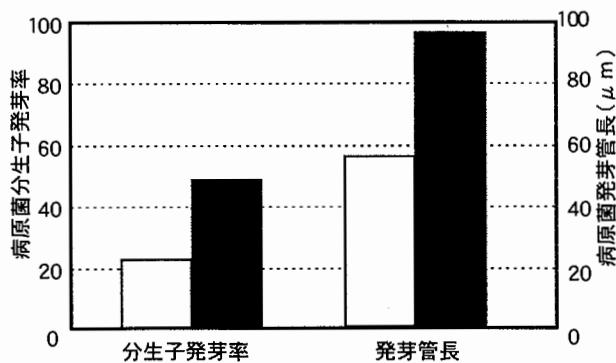


図28 非病原性フザリウムの培養ろ液がホウレンソウ萎ちよう病菌分生子発芽および発芽管伸長に及ぼす影響

□ 非病原性菌培養液
■ 病原菌培養液

開始時の病原菌分生子の発芽率7.6%。グラフは処理48時間後に調査した。

これらの培養液は0.45 μmメンブランフィルターにより菌体を除去したろ液である。

試料は発病調査後採取し、根に付着している土壌（根圈調査用）と、これを取り除いた根を100ml滅菌水で10分間激しく振とうした液（根面調査用）、さらに滅菌水にて振とうした根を回収し、1%次亜塩素酸ナトリウム溶液で表面殺菌後、地下根2cm切片に5ml滅菌水を加えて磨碎した液（根内調査用）としてそれぞれ調製後上述した2種類の培地に希釈平板した。

発病調査は適宜、地上部の萎ちよう程度別に実施し、次式により発病度を算出した。

$$\text{発病度} = (3A + 2B + C) \times 100 \div (3 \times \text{調査数})$$

ただし、萎ちよう程度 A：枯死株数、B：典型的な萎ちよう症状を示す株数、C：発病初期にみられる萎ちよう程度の軽い株数。

実験結果

ホウレンソウ萎ちよう病の病勢進展が緩慢で、非病原性フザリウムによる発病抑制効果は小さかった（図29）。根圈土壌中における非病原性フザリウムと病原菌の挙動は（図29）、それぞれの菌を単独接種した場合、非病原性フザリウムは発病開始の播種22日後まで 10^3 cfu/乾土g台にあったが、以降、同39日後には 10^2 cfu/乾土gまで低下した。病原菌も同様に推移した。両菌を同時に接種した場合、非病原性フザリウム菌量は病原菌をわずかに上回りながら推移した。

次に植物根面における両菌の消長の結果を述べる（図30）。非病原性フザリウムのみを接種した場合の本菌の根面菌量は播種21日後以降、徐々に低下した。これに

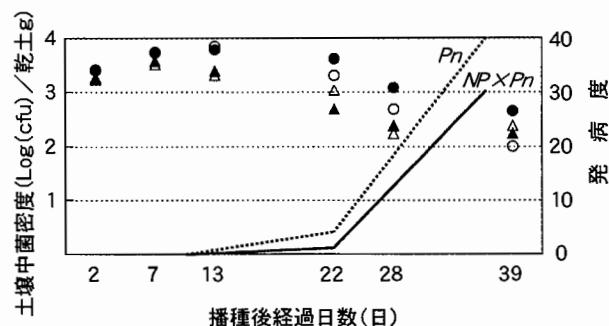


図29 根圈土壌における非病原性フザリウムおよびホウレンソウ萎ちよう病菌の消長と発病推移

- 単独接種における非病原性フザリウムの菌量
- △ 単独接種におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量
- 同時接種における非病原性フザリウムの菌量
- ▲ 同時接種におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量
- 单独接種: 非病原性フザリウム (NP: 野生株) またはホウレンソウ萎ちよう病菌 (Pn: nit 変異株) をそれぞれ土壌に接種した試験区
- 同時接種: 非病原性フザリウム (NP: 野生株) とホウレンソウ萎ちよう病菌 (Pn: nit 変異株) を同時に土壌接種した試験区
- Pn (-----) は病原菌単独接種区における発病推移
- $NP \times Pn$ (—) は同時接種における発病推移

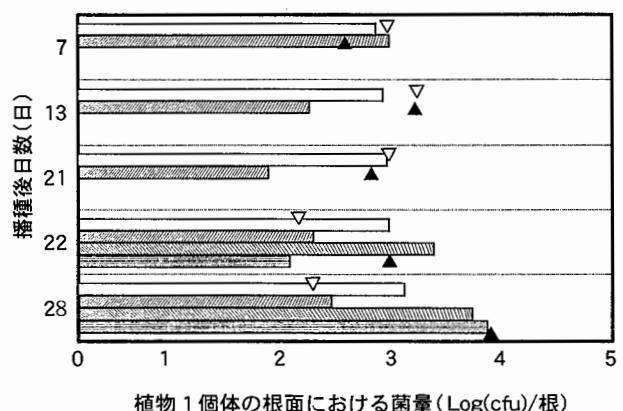


図30 植物根面における非病原性フザリウムおよびホウレンソウ萎ちよう病菌の消長

- ▽ 単独接種における非病原性フザリウムの菌量
- ▲ 単独接種におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量
- 同時接種区で健全株根内における非病原性フザリウムの菌量
- ▨ 同時接種区で健全株根内におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量
- ▨ 同時接種区で発病株根内における非病原性フザリウムの菌量
- ▨ 同時接種区で発病株根内におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量

単独・同時接種については図29参照

対して、土壤に単独接種した病原菌の菌量は発病後徐々に増加し、 10^4 cfu／根に達した。両菌を同時に接種した場合、健全株の根面では非病原性フザリウム菌量が 10^3 cfu／根台を維持した。病原菌量も健全株根面では 10^2 ～ 10^3 cfu／根にあったが、発病株根面においては増加し、ほぼ 10^4 cfu／根に達した。

植物根内における非病原性フザリウムと病原菌の挙動は次の通りである(図31)。非病原性フザリウムを土壤に単独接種した場合、本菌が初めて検出されたのは播種21日後以降で、健全株で最終的な単位菌量は10cfu／根2cmであった。同様に病原菌が初めて検出されたのは播種7日後で、以降単位菌量は増加し、外観上健全な状態でも 10^2 cfu／根2cmを超えた。両菌を同時に接種した場合、両菌とも播種13日後に検出され、健全株における単位菌量はともに10cfu／根2cm以下であったが、発病株根内では、病原菌が、単独接種の場合と同様に増加した。すなわち、病原菌が初めて根内から検出される時期をみると、単独接種の場合、播種7日後であったのに対して、非病原性フザリウムとの同時接種では同13日後に遅れた。

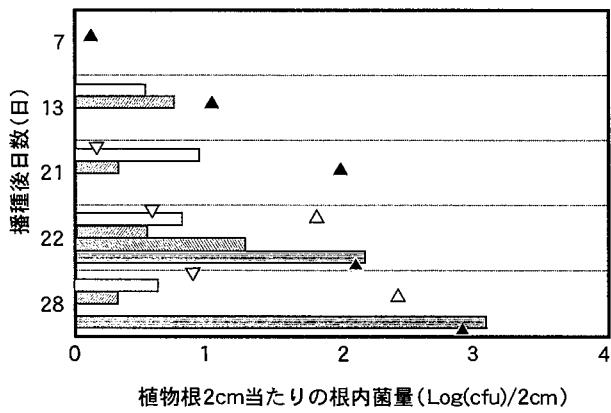


図31 植物根内における非病原性フザリウムおよびホウレンソウ萎ちよう病菌の消長

- ▽ 単独接種における非病原性フザリウムの菌量(健全株)
 - △ 単独接種におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量(健全株)
 - ▲ 単独接種におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量(発病株)
 - 同時接種区で健全株根内における非病原性フザリウムの菌量
 - 同時接種区で健全株根内におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量
 - ▨ 同時接種区で発病株根内における非病原性フザリウムの菌量
 - ▩ 同時接種区で発病株根内におけるホウレンソウ萎ちよう病菌の菌量
- 単独・同時接種については図29参照

4. 考 察

ホウレンソウ萎ちよう病菌の病原性検定法の確立(第IV章)およびその菌糸和合性群による類別(第V章)の研究を進める過程で、萎ちよう病の発生圃場に生育するホウレンソウ根から分離した *F. oxysporum* の中には非病原性の分離株が多数含まれていることが明らかとなつた。このような非病原性フザリウムによる交叉防御¹⁹⁾を利用した生物防除は、国内ではサツマイモ^{105, 109, 110)}や、トマト^{6, 63, 64, 140)}、イチゴ¹³⁴⁾などの *Fusarium* 病や、トマトの *Verticillium* 病^{5, 7)}を対象として研究されている。

本研究ではホウレンソウ根から分離した非病原性フザリウム S3HO3, S1HI1-w, 970211, 970481, 970576 および 970600 の 6 菌株で萎ちよう病の発病抑制効果が高いことを認め、主に S3HO3 菌株を用いて生物的防除法の開発および防除機作の解明を行つた。

非病原性フザリウムの接種方法については、これまで報告のあるサツマイモ、トマト、イチゴなどの作物は移植栽培が一般的な作物であり、非病原性フザリウム菌体懸濁液への苗の浸漬接種または断根接種を行うことにより、防除効果が得られている^{63, 109, 134, 140)}。イチゴでは、土壤消毒後に非病原性フザリウムのスマスマ培養菌体を土壤施用し、さらに苗根部に処理するとより効果的である¹³⁴⁾。一方、ホウレンソウでは、ソイルブロック苗の移植^{8, 112)}により、萎ちよう病をはじめとする立枯れ性の病害を軽減できると報告されている⁹⁾。

ここでは常法に従い、播種前の非病原性フザリウムの土壤混和または種子処理による防除の可能性を検討し、次に、これとホウレンソウの移植栽培との組合せについて検討した。

接種時期は、非病原性フザリウムによる発病抑制効果に大きな影響を与える。雨宮ら^{5, 7)}は植物の根が病原菌に遭遇する前に非病原性フザリウムの作用を受ける必要のあること述べている。本試験でも、病原菌を接種する以前に非病原性フザリウムを土壤施用した場合に発病抑制効果が認められたが、すでに病原菌に汚染された土壤に本菌を施用しても発病抑制効果は認められなかった。

接種菌量については、非病原性フザリウム 10^5 cfu／乾土 g 相当を接種した場合に病原菌のいずれの接種菌量においても発病度が低く、発病抑制がみられた。一方、非病原性フザリウムの施用菌量が病原菌量の等量以下の場合には効果が劣ると考えられた。この結果は *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* を用いたトマト萎ちよう病の発病抑制効果が、病原菌の 10 倍量の *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* を加えた土壤で最も高いとする報告^{5, 6)}と一致している。

非病原性フザリウムの利用技術に限らず、土壌病害の防除ではすでに汚染されている圃場で利用できる技術が求められる。このことを前提条件として非病原性フザリウムの処理方法を考察する。本菌を土壌施用する方法では収穫期まで防除効果が持続せず、これまでの報告^{109, 134)}と一致しており、実用化は難しいと考えられる。本菌を種子に直接接種する方法としては、常圧下で24時間浸漬するよりも、減圧下で5分間処理した場合に、より高い発病抑制効果が認められた。これは減圧後、常圧に戻す際に本菌が種皮内部に取り込まれたためと考えられる。しかし、本法は簡便であるが、土壌の汚染程度が高い場合には発病抑制効果が不安定になると予想された。一方、非病原性フザリウムを床土に混和接種し、育苗して本菌を取り込ませたホウレンソウ苗を病原菌汚染土壌に移植した場合は無処理の苗を移植した場合に比較して、高い発病抑制効果が認められた。この手法は移植栽培が一般的な作物における非病原性フザリウムの接種方法としてすでに実績がある^{5-7, 109, 134, 143)}。さらに、移植栽培のみでも耕種的に本病の発病を軽減できることがすでに明らかである⁹。発病抑制効果を高めるためには非病原性フザリウムを確実に根または根圏に接種し、定着させる必要があると考えられる。したがって、実用的な防除効果を得るために、移植栽培^{8, 9, 112)}と、その苗に非病原性フザリウムを確実に定着させる処理法を組み合わせ、発病抑制効果の持続性を高める必要がある。

このように移植栽培と非病原性フザリウムを組み合わせる方法では、播種前の床土に非病原性フザリウムを菌濃度が 10^6 cfu／乾土 g になるように土壌混和した場合に発病抑制効果が高いこと、また、床土に非病原性フザリウムを灌注接種する方法も同様に発病抑制効果が得られ、その育苗中の非病原性フザリウムの処理時期は、播種当日よりも移植日に近い方が効果的であることを明らかにした。発病抑制効果が最も高かったのは非病原性フザリウムを播種前の床土に直接混和する方法であり、非病原性フザリウムを接種した苗を圃場に移植する方法で高い防除効果が認められ、実用性は高いと考えられた。一方、床土に非病原性フザリウムを灌注処理する方法は作業上簡便であり、病原菌密度の高い人工汚染土壌においても発病抑制効果が確認できたことから、実用的な接種方法として有望である。なお、非病原性フザリウムを接種した苗を移植する方法で発病抑制効果が高いことはサツマイモ^{105, 109)}やイチゴ¹³⁴⁾などの報告と一致している。

非病原性フザリウム S3HO3 菌株はホウレンソウのみならずキュウリ、メロン、トマト、ナバナ、シュンギク、ミツバなど6科17作物に対して病原性を示さず、

現地圃場でホウレンソウ萎ちよう病防除のために使用しても実用上問題がないと考えられた。

また、非病原性フザリウム S3HO3 菌株はホウレンソウ萎ちよう病のみならず、ホウレンソウ立枯病や、キュウリ、メロンおよびスイカのつる割病、ダイコン萎黄病およびシュンギク萎ちよう病に対しても発病抑制効果を持つことから、さらに多様な病害に対する防除効果が明らかになれば、生物防除素材としての本菌への期待は大きい。このように、1つの非病原性フザリウム菌株が他の作物の Fusarium 病や、Fusarium 病以外にも発病抑制効果を発揮する例はいくつかある^{108, 109)}。しかし、本試験のように非病原性フザリウムを用いることにより Pythium 病の発病抑制が認められた試験はこれがはじめてと思われる。

ホウレンソウの移植栽培は以上のような防除効果だけでなく、ハウスでの在圃期間（8月取り）を直播の約30日から22日程度に短縮できるので、年間作付け回数を増やしてハウスの利用率を高め、収益を向上させることも可能で¹⁴²⁾、今後、実用化への期待は大きい。

微生物による病害防除機作として現在考えられているのは①寄生、②抗生、③競合、④抵抗性誘導である^{107, 108)}。Davis¹⁹⁾は、非病原性フザリウムによって交叉防御が生じるのは①抗生、競合などによる直接的な病原菌の活動抑制、②宿主の導管部でこれを閉塞することによる物理的な病原菌の侵入阻害、③獲得抵抗性などが働いていると考えた。また、Mandeel and Baker⁷⁹⁾は競合（栄養的競合、感染場面での競合）と抵抗性誘導の仮説を掲げて、これを実験的に証明している。本試験では主に競合の可能性について検討した。

非病原性フザリウム S3HO3 菌株を施用した土壌で14日間生育させたホウレンソウ（2～4葉期）苗の地際部の胚軸維管束部分に病原菌を針で直接接種したところ、非病原性フザリウム無施用土壌の苗より、接種部位付近の維管束組織の褐変程度が軽かった。この結果から、土壌に接種した非病原性フザリウムによってホウレンソウ体内で交叉防御が生じているものと考えられた。

次に非病原性フザリウムの生死が発病抑制に影響するかについて検討した。サツマイモつる割病に対する非病原性フザリウムの場合、生菌体で生じていた発病抑制は加熱殺菌によって消失した^{105, 110)}。また、菌体発芽液の発病抑制効果についても加熱処理によって消失することを認めている。本試験における非病原性フザリウム S3HO3 菌株の場合、菌体の生死が発病抑制の有無に関与することはこれに一致した。しかし、本試験では、メンブランフィルターで菌体を除去した培養ろ液およびこ

の培養ろ液のオートクレーブによる加熱処理では発病抑制がみられず、発病が遅延される程度であった。このような発病遅延は死菌体でも認められた。また、菌体を除去した培養ろ液には病原菌の分生子発芽および発芽管伸長に対して若干の阻害作用を認めた。このことから、本菌の場合は病原菌の分生子発芽および発芽管伸長阻害をしつつ、植物に対しては弱いながらも抵抗性を誘導し、発病遅延する。そして発病抑制には生菌体が重要な役割を担っていると考えられた。この点で、発病抑制は全身的な抵抗性の誘導によって生じているとした既報^{5, 7, 63, 64, 105, 107, 108, 110, 134)}とは若干異なっている。

以上から、非病原性フザリウム S3HO3 菌株はホウレンソウ体内に侵入し、病原菌との何らかの相互作用によって萎ちよう病の発病を直接的に抑制している可能性が認められた。

次の試験では、非病原性フザリウム野生株と病原菌 *nit* 変異株^{17, 116)}を用いてそれぞれを選択分離 130, 131) することによって①根圈土壤、②根面、③植物体内における消長を追跡し、それぞれの場面での「競合」関係を検討した。その結果、根圈土壤および根面における両菌はほぼ一定の菌量比を保っており、競合は認められなかつた。植物根内においては病原菌が初めて分離される時期は非病原性フザリウムの接種によって 6 日程度遅くなり、地上部に病徵のみられない株では非病原性フザリウムの割合が高いが、発病しつつある株では非病原性フザリウムの割合が低くなり、病原菌が優勢になった。このことから、本菌の場合、植物根内という生息場所において競合している可能性が認められた。

今後、詳細な検討が必要であるが、以上の結果を基に非病原性フザリウム S3HO3 菌株によるホウレンソウ萎ちよう病の交叉防御の機構を推察すると、主に植物根内における生息場所の競合^{19, 79, 107, 108)}によって生じており、一部に根面において病原菌の分生子発芽を阻害し、侵入を遅らせている^{108, 143)}可能性がある。

第2節 太陽熱を利用した土壤消毒によるホウレンソウ萎ちよう病の物理的防除

太陽熱利用による土壤消毒（以下、太陽熱消毒）で本病を防除しようとする場合、地下深 10cm で地温 40℃ 以上の時間数が 50 時間以上必要である³⁾。岩手県ではこれまで太陽熱消毒による本病の防除成功例が見あたらぬ。これは、地温を十分に確保できていないことに原因があると考えられた。そこで、本試験では、地温を確保するために被覆を二重とし¹²³⁾、また、太陽熱消毒後は不

耕起とすること^{124, 125)}によって、本法の処理効果の安定化を図り、防除効果を検証した。

1. 太陽熱利用による土壤消毒効果の検討

材料および方法

試験は岩手県遠野市の萎ちよう病が常発するホウレンソウ栽培ハウスで実施した。先ず、地温の上昇を補助するため石灰窒素 10kg/a および糞殻堆肥 300kg/a を施用し、耕起して畦立て後、圃場内に十分量灌水した。なお本圃場は前作で尿素 3.3kg、硫加 2.7kg、苦土 2kg および糞殻堆肥 600kg/a を施用している。太陽熱消毒区には透明マルチ（厚さ 0.1mm × 幅 5.4m）およびビニールトンネル（マルチと同質のフィルムを使用）によって二重被覆し、無処理区はシルバーマルチ（厚さ 0.07mm × 幅 1.8m）で覆った。温度測定装置（KADEC-U、コナシステム株）を設置後、1 ヶ月間（1995 年 6 月 26 日～7 月 25 日）ハウスを締め切り、太陽熱処理した。太陽熱消毒後は不耕起のまま、ホウレンソウ萎ちよう病に対する感受性品種「おかめ」を播種し、以降は農家慣行管理とした。不耕起としたのは消毒が不十分となりやすい作土直下層が耕起によって表層に混入しないようにするためである。

発病調査はホウレンソウの肥大期に地上部の萎ちよう程度別に実施し、次式によって発病度を算出した。また、収穫期に収穫調整重を測定した。

$$\text{発病度} = (3A+2B+C) \times 100 \div (3 \times \text{調査数})$$

ただし、A：枯死株数、B：典型的な萎ちよう症状を示す株数、C：発病初期にみられる萎ちよう程度の軽い株数。

なお、太陽熱消毒による土壤微生物への影響は処理前後およびホウレンソウ生育中における深さ 5～10cm における土壤中の *Fusarium* 属菌数および *F. oxysporum* 菌数を駒田培地^{62, 65)}を用いた希釀平板法⁵⁹⁾により調査した。

実験結果

太陽熱消毒による有効地温 40℃ 以上を確保した時間数は目標とした 50 時間を大幅に上回る 131 時間であった（図 32）。一方、シルバーマルチで被覆した無処理区では深さ 10cm の地温が 40℃ を超えることはなかった。その結果、消毒区では無処理区に比較して萎ちよう病の発病株率が低く、可販株率も高かった（表 26）。土壤中の *Fusarium* 菌数および *F. oxysporum* 菌数も太陽熱消毒によって大幅に減少し、土壤微生物相からもこの結果を支持できた（表 27）。また、収穫量も太陽熱消毒によって増収した（図 33）。

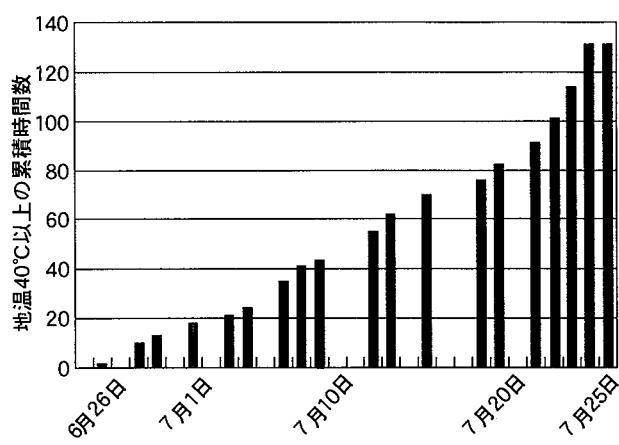


図32 太陽熱消毒期間における深さ10cmの地温が40°Cを超えた累積時間数の推移
透明マルチの上にさらにトンネルを作り、二重被覆とした。

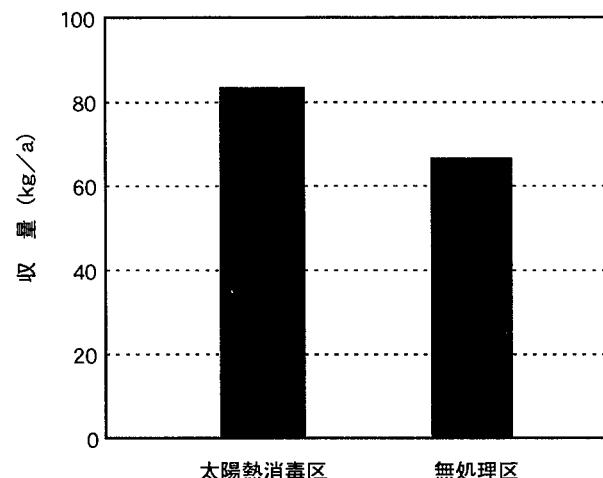


図33 太陽熱利用による土壤消毒のホウレンソウ収量への影響
収量は下葉を除いた出荷調整重を示す。

表26 ホウレンソウ萎ちよう病に対する太陽熱利用による土壤消毒効果

試験区	播種後日数 ^{a)}								
	22日			27日					
	調査株数	発病株率	発病度	調査株数	発病株率	発病度	可販株率 ^{b)}	展開葉数	平均草丈
		%			%		%	枚	cm
太陽熱消毒区	120	3.4	1.9	100	6.5	3.6	96.5	4.6	18.5
無処理区	120	28.7	18.7	100	53.0	28.5	79.0	6.0	19.6

a) 1995年7月25日に播種した。

b) 萎れ程度が軽いものは、気温の低い早朝に収穫すると収穫可能であるため「可販」とした。

表27 太陽熱消毒の土壤中の *Fusarium* 属菌数への影響

土壤採取時期	ホウレンソウ 生育段階 ^{a)}	太陽熱消毒区における菌数				無処理区における菌数		
		<i>Fusarium</i> spp.	<i>F. oxysporum</i>	<i>Fusarium</i> spp.	<i>F. oxysporum</i>	cfu/乾土g		
(月/日)								
処理前 (6/6)	—	540	90	540	90			
処理直後 (7/25)	播種直前	<	<	1,930	1,100			
処理14日後 (8/8)	2~4葉期	40	<	3,390	1,100			
処理27日後 (8/21)	収穫期	70	30	1,140	330			

a) 1995年7月25日に播種した。

太陽熱消毒効果に大きく影響する深さ10cmの地温40°Cの時間数について、1日毎の時間数はアメダス気象観測地点(遠野)での日照時間数と高い相関が認められ、次の回帰式によって説明できた(図34)。

$$y = 1.3129x - 1.1731 \quad (r = 0.92)$$

ただし、x:1日の日照時間数、y:1日の地温40°Cの確保時間数。

この回帰式によると、有効地温40°Cを確保できる日照

時間は39時間と計算できる。

なお、気温等他の気象パラメータとの相関はみられなかった(データ省略)。

2. 考察

太陽熱利用による土壤消毒法は多くの土壤病害に対して実用的な防除効果が期待できる¹¹⁸⁾。露地での太陽熱処理については国内外で報告が多いが、ハウス密閉による

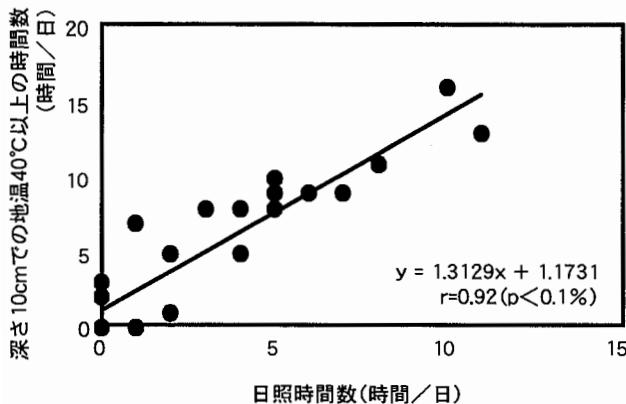


図34 地下深10cmにおける地温40°C以上を記録した1日当たりの時間数とアメダス気象観測地点における日照時間数との関係

試験実施場所: 岩手県遠野市

太陽熱処理期間: 1996年6月26日～7月25日

太陽熱処理はわが国で開発・確立された土壤消毒法であり^{61, 120)}、トマト萎ちよう病¹²⁰⁾、イチゴ萎黄病^{60, 61)}、キュウリつる割病⁹⁹⁾などのFusarium病やナス半身萎ちよう病⁶⁰⁾などVerticillium病に有効であることが報告されている。ホウレンソウ萎ちよう病に対する太陽熱消毒効果については露地栽培^{123, 125)}、ハウス栽培^{3, 118, 119, 124)}とも実用的な防除効果が確認されているが、いずれも高温期に処理することを条件としている。岩手県におけるホウレンソウは夏季の冷涼なやませ気象を利用して栽培されるため、これまでに太陽熱処理による土壤消毒効果は期待できないとされてきた。しかし、二重被覆による地温の確保¹²³⁾と不耕起による消毒済作土層の攪乱回避^{124, 125)}によって太陽熱消毒効果の安定を期すことができると考えた。さらに、処理時期としては本病の多発しやすい夏穫り作型の前に当たる6～7月に行うことによってその実用性を検討しようとした。その結果、太陽熱処理によって土壤中のFusarium菌数は検出限界以下に減少し、感覚性品種でも本病の発生を抑制できるばかりでなく、無処理に比較して増収することがわかり、岩手県でも実用的な防除方法であることが確認された。なお、本試験において、1日ごとの日照時間と深さ10cmの地温40°C以上³⁾を記録する時間数に高い相関が認められた。この日照時間とは、アメダス気象観測地点（遠野）における値を指す。この場合、外気温をパラメータに採用すると相関係数は低下した。このような日照時間数と地温上昇との関係を述べた報告は見当たらないが、太陽熱処理で効果を期待できる条件として、赤司³⁾は地温40°C以上の時間数が50時間以上必要で、天候は概ね快晴かつ25°C以上の日が7日以上あることが条件となる。このこと

から、北海道では7月中旬から8月にかけて2週間程度処理るべきことを報告している。秋田県では秋田市と角館町で本処理開始時期が異なること、最高気温30°C以上かつ最低気温20°C以上の積算日数が9日間得られることが必要である¹¹⁹⁾。鳥取県では5月または6月に30日以上処理後、不耕起とすることで実用的な防除効果が期待できる¹¹⁸⁾。本試験において得られた回帰式によると累積日照時間が39時間を超えた場合に地温40°C以上50時間の条件³⁾が満たされることになる。しかし、日照時間のみ算出法では太陽熱消毒が困難な冬季でも可能と誤った判定される危険性があるため、日射による熱量をパラメータに加えるなど、より的確な判定指標を設ける必要がある。したがって、現段階では本法の適用時期が6～7月に限定される。今後、岩手県内で本技術を普及するためには適用時期および地域区分を明らかにする必要があろう。

第3節 キチン質資材を利用したホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減効果およびその持続性

作物のFusarium病に対してキチン質をはじめとする有機質資材の施用が発病軽減効果を示すことが報告されている^{23, 28, 55, 82)}。本項ではキチン質資材としてカニ殻発酵資材を用い、本病の発病軽減に対する効果を検討した。

1. キチン質資材による発病軽減効果の検討

ポット試験によってホウレンソウ萎ちよう病発病軽減のための資材施用時期等処理条件を明らかにし、圃場試験によってその実用性を明らかにしようとした。

1) 資材の施用時期、土壤の汚染程度と発病の関係（ポット試験）

材料および方法

キチン質資材としてカニ殻発酵資材（商品名「ネオアップ」（株）コーポケミカル製、施用量30kg/a；主成分：カニ殻発酵物42%、有機質21%、バーミキュライト7%で構成、肥料成分は窒素2.2%、リン酸5.3%、カリ1.9%、pH9.1）^{2, 21)}を用い、ポット試験により発病軽減に有効な施用時期を明らかにしようとした。供試土壤の原土壤として旧岩手県立農業試験場内畑土壤（腐植質火山灰土壤、前作：大豆、ダイコン、土壤微生物相：糸状菌57.3×10³cfu/乾土g、放線菌3.0×10⁵cfu/乾土g、細菌10.5×10⁶cfu/乾土g、Fusarium属菌10²cfu/乾土g未満）を用いた。本試験ではホウレンソウ萎ちよう病菌S1HI4菌株の芽胞状菌体を原土壤に接種し、ホウレンソウを栽培して発病させて作製した汚染土壤100,

10, 1, 0g を、新しい原土壤 1kg に対して混和し、供試土壤とした。また、資材の施用時期について①1 作目に資材を施用し、2 作目直前に病土を混和する区（施用 A 区）、②1 作目に病土を混和し、同時に資材を施す区（施用 B 区）の 2 つを比較した（表 28）。供試土壤を 1 / 5000a ワグネルポットに充填後、品種「おかめ」を 30 粒播種した。収穫期に地上部の発病および根部導管褐変の状況を、症状の程度別に調査し、発病度を算出した。なお、発病程度および算出式は前節（第 2 節）に準じた。また、本試験では作付前後の供試土壤中の微生物相を希釈平板法⁵⁹⁾により調査した。

表28 キチン質資材の施用方法に関するポット試験の試験区構成

試験区	施用 A 区 ^{a)}				施用 A 区 ^{b)}			
	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
資材施用区 (30kg/a)	1/10 ^{c)}	1/100	1/1000	0	1/10	1/100	1/1000	0
無施用区 (0 kg/a)								

a) 施用 A 区： 資材を施用して 1 作後、2 作目直前に汚染土壤を混和した。

b) 施用 B 区： 汚染土壤を混和し、同時に資材も施用した。

c) 汚染土壤の混和比： 原土壤の重量に対する汚染土壤の混和重量の比率。

実験結果

汚染土壤の混和量が多い順に A1(B1):100g, A2(B2):10g, A3(B3):1g, A4(B4):0g（無施用区）と略記した。記号の A, B は施用時期の別を示し、以下に述べるとおりである。

(1)資材施用 1 作後病土混和（施用 A 区）：キチン質資材施用のみの 1 作目で萎ちよう病の発生は認められなかつた（図 35）。土壤中の糸状菌数は作付によって増加したが、その他の放線菌をはじめ微生物相に変動はなかつた（表 29）。

病土を混和した 2 作目は、全体的に播種 34 日後まで発病が抑制傾向に推移した。収穫期（播種 45 日後）には A2 区で発病株率は資材無処理区と変わらなかつたが、発病度は低くかつた。さらに、A3 区では株率、発病度とも低く、両区とも収穫時まで発病軽減が持続した。A1 区では無施用と同程度の発病を示した。また、生育は無処理区と同程度であった（図 35）。

3 作目では、播種 25 日後調査で発生は無処理区よりも少なく、収穫時（播種 50 日後）では A1 区で無処理区より発病が少なかつた。A2 および A3 両区では無処理区と発病傾向が変わらなかつたが、根部導管褐変率は低かつた（図 35）。3 作目前後で資材施用の有無による土壤微生物相に変動はみられず、作付後の *Fusarium* 菌数は各区の発病程度により増減した（表 30）。

(2)病土への資材施用（施用 B 区）：病土にキチン質資材施用した 1 作目は、全体的に、急激に病勢が進展した。B1 区での発病度は資材無処理区よりやや低かつたものの、B2 および B3 区を含め全体的に発病株率が高く、発病軽減はあまりみられなかつた（図 35）。1 作目前後における土壤微生物相は、作付前の *Fusarium* 菌量が高く、作付後の菌量は発病状況に応じて低くなつた。そのほかの微生物相には一定の傾向はみられなかつた

表29 キチン質資材施用試験（ポット試験）における 1, 2 作目播種前の土壤微生物相

試験区 ^{a)}	1 作目播種前				2 作目播種前			
	糸状菌 × 10 ⁴	放射菌 × 10 ⁵	細菌 × 10 ⁶	<i>Fusarium</i> × 10 ³	糸状菌 × 10 ⁴	放射菌 × 10 ⁵	細菌 × 10 ⁶	<i>Fusarium</i> × 10 ³
施用区								
A1	4.6	3.0	32.2	3.0	9.1	< ^{c)}	ND ^{d)}	8.0
A2	5.6	1.5	15.0	2.3	15.8	<	ND	2.7
A3	7.4	<	7.2	1.0	17.0	6.4	14.7	4.3
A4	3.7	<	19.6	2.5	19.3	<	11.7	0.3
B1	6.7	<	8.3	20.5	19.9	0.3	19.7	20.0
B2	8.4	<	8.1	26.0	28.6	9.1	27.2	12.0
B3	6.2	1.0	8.8	25.5	10.9	6.6	29.1	7.3
B4	6.7	1.3	12.0	19.7	20.5	7.6	28.7	7.0
無施用区								
A2	7.9	4.0	20.8	<	10.3	4.5	10.4	4.7
B2	4.8	1.6	15.4	23.3	26.3	2.4	16.5	17.0
B4	5.7	3.0	10.5	0.0	21.8	5.0	12.3	2.3

a) 各試験区の記号は表 28 参照

b) 全糸状菌のうちの *Fusarium* 属菌数を示す。

c) 各オーダーで検出限界以下

d) 未調査

表30 キチン質資材施用試験（ポット試験）における3作目前後の土壤微生物相

試験区 ^{a)}	3作目播種前				3作目跡地			
	糸状菌 × 10 ⁴	放射菌 × 10 ⁵	細菌 × 10 ⁶	Fusarium ^{b)} × 10 ³	糸状菌 × 10 ⁴	放射菌 × 10 ⁵	細菌 × 10 ⁶	Fusarium ^{b)} × 10 ³
施用区	cfu／乾土 g				cfu／乾土 g			
A1	13.5	3.4	12.6	21.0	8.8	< ^{c)}	33.6	50.0
A2	14.1	2.1	14.8	15.0	13.0	5.6	15.8	33.0
A3	21.6	<	14.3	4.0	13.0	8.7	32.8	30.0
A4	18.4	<	10.8	<	19.6	<	26.0	19.6
無施用区	cfu／乾土 g				cfu／乾土 g			
A1	10.3	<	18.7	ND ^{d)}	8.5	<	56.8	50.0
A2	18.0	<	10.7	ND	15.2	<	29.7	17.7
A3	16.2	<	9.2	ND	14.0	10.1	14.5	28.5
A4	16.8	<	26.2	ND	7.5	<	14.0	34.3
施用区	cfu／乾土 g				cfu／乾土 g			
B1	7.7	<	6.6	19.3	12.2	<	22.0	30.7
B2	10.8	1.3	15.7	18.0	19.3	<	46.7	30.3
B3	17.7	1.4	27.0	14.6	16.0	<	44.0	48.7
B4	11.8	<	26.0	29.0	10.5	<	40.0	36.0
無施用区	cfu／乾土 g				cfu／乾土 g			
B1	9.0	0.8	15.5	ND	8.8	<	16.5	50.0
B2	16.8	2.5	9.0	ND	15.3	<	36.8	17.7
B3	9.8	2.0	11.5	ND	11.7	<	26.8	28.5
B4	9.7	<	12.7	ND	8.2	<	19.5	34.4

a) 各試験区の記号は表 28 参照

b) 全糸状菌のうちの *Fusarium* 属菌数を示す。

c) 各オーダーで検出限界以下

d) 未調査

(表 29).

2作目では、B1 区は播種後 29 日まで、B2, B3 両区は 34 日後まで発病が少なかったが、収穫期（播種後 45 日）の発病は無処理区同様に増加した。生育量は無施用区と変わらなかった（図 35）。

3作目は、25 日後では無処理区より発病は少なかったが、収穫期（播種後 50 日）ではほとんど変わらなかった（図 35）。3作目前後の土壤微生物相で大きな変動はみられなかった（表 30）。

2) 圃場試験

材料および方法

前述のキチン質資材の連用による本病発病軽減効果の持続性について検討した。先ず、本資材を施用するに当たり土壤消毒の要否について岩手県葛巻町の農家圃場において検討した。土壤消毒剤にはダゾメット粉粒剤（3kg/a）を用い、①土壤消毒後資材施用区、②土壤消毒区、③キチン質資材施用区（無消毒）、④無処理区の4区をおいた。次に岩手県遠野市の本病が常発する現地農家圃場にて表 31 に示すような試験区配置計画の下、資材は 30kg/a を夏作前に毎年施用した。なお、施肥は農

家慣行とし、耕種概要を表 32 に示した。試験規模は 16 m²/区とし、収穫期に地上部の発病調査を実施した。

実験結果

土壤消毒とキチン質資材施用の組合せを比較した結果（表 33）、土壤消毒後に本資材を施用した場合の発病株率が最も低く、次いで土壤消毒のみの場合であった。本資材のみでは無処理に比較して若干発病軽減された。

次に連用試験の1年目は試験前に全面土壤消毒したこともあり、発生は少なかった。その中でキチン質資材施用区の発病は無施用区に比較し有意に少なかった（表 34）。試験2年目ではキチン質資材施用後の1, 2作とも本病の発生が少なく、中でも本資材を前年に施用した区および連用区で発生が少なかった（表 35）。試験3年目の本病の発生は、1, 2作目で少なく、3作目で多発した。3作を通じて3年間連年施用した区で発生が少なかった（表 36）。また、本資材を1, 3年目に隔年施用した区における発生も少なかった。一方、1, 2年目に資材施用し、当年施用しなかった区の発生は3作目で増加した。また、この発病軽減の傾向は、少発生ながら根腐病でも確認された（表 37）。

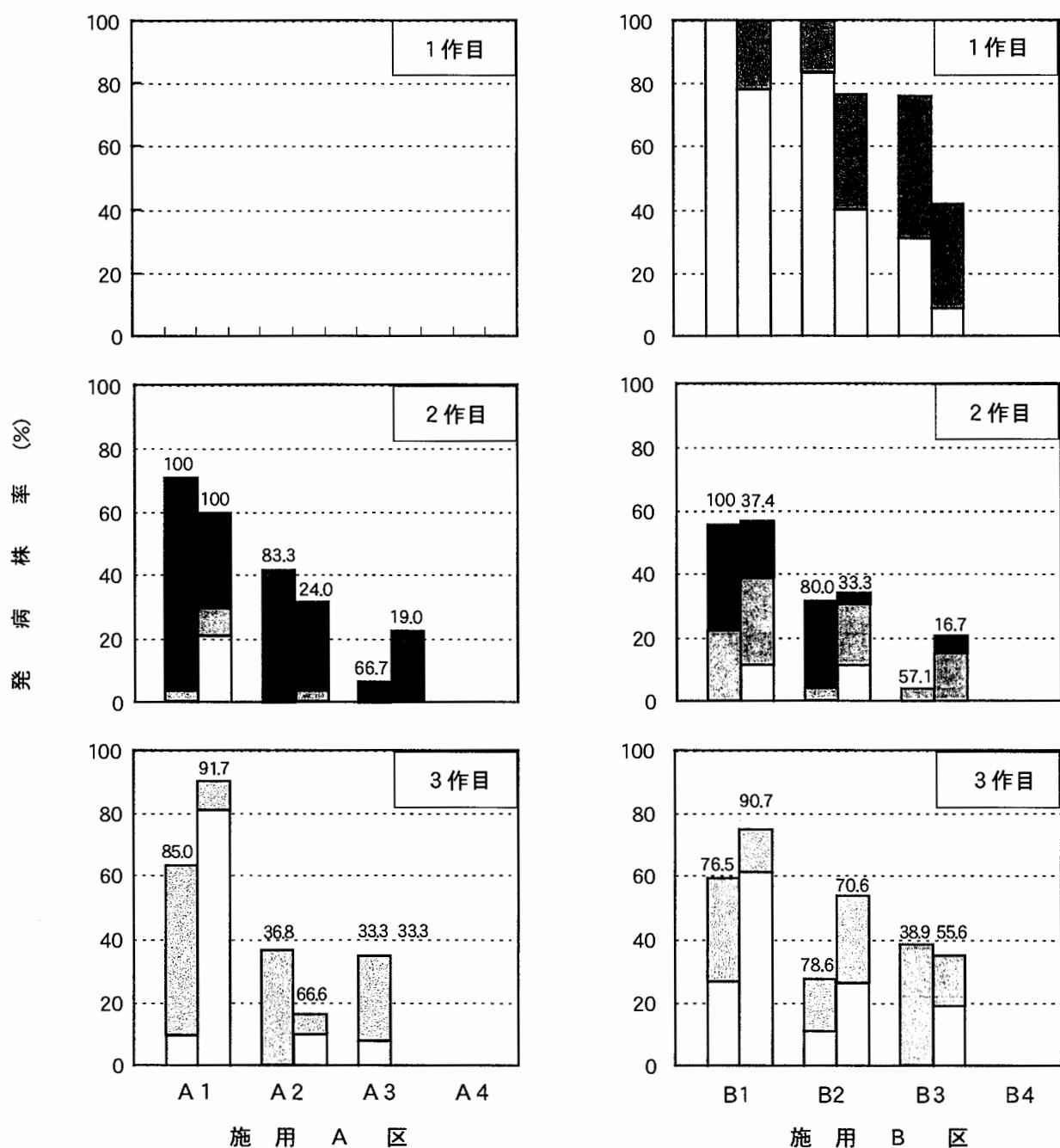


図35 病原菌汚染程度別土壤におけるキチン質資材の施用による萎ちよう病の発病への影響(ポット試験)

図中の棒グラフは隣接する2本を一組とし、左は資材30kg/aを施用した場合の発病、右は無処理区の発病を示す。また、棒グラフの頂部に付した数値は根部導管の褐変率(%)を示す。なお、施用区A1～A4およびB1～B4の記号は表28に示した。

各棒グラフの網掛けの区分は作期毎の調査日の違いを示す。

播種日 (1993年)				
1作目	4月 28日	播種 21日後	同 29日後	-
2作目	6月 15日	播種 29日後	同 34日後	同 45日後
3作目	8月 19日	播種 25日後	同 50日後	-

表31 遠野市における圃場試験の試験区構成^{a)}

試験区番号	試験目的	1995年	1996年	1997年
①	連年施用の効果確認	施用 ^{b)}	施用	施用
②	効果の持続性の確認	"	"	無施用
③	隔年施用の効果確認	"	無施用	施用
④	効果の持続性の確認	"	"	無施用
⑤	効果の持続性の確認	無施用	施用	"
⑥	無処理(対照)	"	無施用	"

a) 試験圃場は試験初年に全面を土壌消毒した。

b) キチン質資材の施用有無を示す。

表32 遠野市における圃場試験の耕種概要^{a)}

項目	1995年		1996年		1997年		
	1作目 ^{b)}	1作目	2作目	1作(2)	2作(3)	3作(4)	
土壌消毒	8/5	なし		なし			
資材施用	8/18	6/10		6/12			
播種月日	8/25	6/16	8/9	6/10	7/22	9/5	
供試品種	アクティブ	テクノス	アクティブ	テクノス	アクティブ	サンラバト	
調査月日	9/13	7/12	9/5	7/3	8/22	9/30	

a) 1995年は土壌消毒および資材の施用を農家慣行で2回作付した後に行った。1996年および1997年は農家慣行で1回作付けした後に資材を施用した。

b) 資材施用後1作目であることを示す。2~3作目の表記についても同様である。

表33 キチン質資材の施用と土壌消毒の併用によるホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減効果^{a), b)}

試験区	調査株数	発病株率 ^{c)} (%)
土壌消毒後に資材施用	120	32.5
土壌消毒のみ	120	45.8
汚染土壌に資材施用	120	72.5
無処理	120	88.3

a) 試験場所：葛巻町田部農家圃場

b) 土壌消毒開始：1995年7月7日(ダゾメット粉粒剤4kg/a), 資材施用：7月17日, 播種：7月20日, アクティブ

c) 発病調査：8月18日(播種後29日)

表34 キチン質資材の施用によるホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減効果(初年目)^{a)}

試験区	調査株数	発病株率(%)	備考 ^{b)}
資材施用	873	1.3	①~④
無施用	655	5.6	⑤, ⑥

a) 試験場所：遠野市遠野町農家圃場, 耕種概要是表32参照

b) 試験区番号は表31参照

表35 キチン質資材の施用によるホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減効果(2年目)^{a)}

試験区	発病株率(%)		備考 ^{c)}
	1作目 ^{b)}	2作目	
資材連年施用	0.1	1.0	①, ②
1年目施用, 当年無施用	0.4	0.7	③, ④
1年目無施用, 当年施用	0.9	1.3	⑤
無施用	1.0	2.0	⑥

a) 表34参照。調査株数は1回の調査で1区当たり500~600株とした。

b) 表32参照

c) 表31参照

表36 キチン質資材の施用によるホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減効果(3年目)^{a)}

試験区	発病株率(%)			備考 ^{c)}
	1作目 ^{b)}	2作目	3作目	
資材連年施用	1.1	3.3	12.1	①
1, 2年目施用, 当年無施用	2.5	4.4	19.5	②
1年目施用, 2年目無施用, 当年施用	3.2	3.8	13.5	③
1年目施用, 2年目および当年施用	8.3	4.7	22.3	④
1年目無施用, 2年目施用, 当年無施用	4.1	5.9	29.9	⑤
無施用	6.4	7.1	36.5	⑥

a) 表34参照。調査株数は1回の調査で1区当たり500~600株とした。

b) 表32参照

c) 表31参照

表37 キチン質資材の施用によるホウレンソウ根腐病の発病軽減効果^{a)}

試験区	発病株率(%)			備考 ^{c)}
	1作目 ^{b)}	2作目	3作目	
資材連年施用	0.3	0.4	0.5	①
1, 2年目施用, 当年無施用	0.5	1.0	1.5	②
1年目施用, 2年目無施用, 当年施用	1.4	0.8	0.8	③
1年目施用, 2年目および当年施用	0.8	0.4	1.9	④
1年目無施用, 2年目施用, 当年無施用	1.2	0.8	0.6	⑤
無施用	2.0	0.4	1.3	⑥

a) 表34参照。調査株数は1回の調査で1区当たり500~600株とした。

b) 表32参照

c) 表31参照

2. 考 察

いくつかの土壌病害を対象として発病軽減をうたった資材が流通している^{23, 28, 55)}。これらは一般に「微生物資材」または「微生物改良資材」と称されているが、肥料取締法の一部改正によって、これらは「その他の土壌改良資材」と表現することになった。このような「その他の土壌改良資材」の一つにキチン質資材がある。これは一般にカニ殻資材とも称されるが、本資材を土壌施用することでキナーゼを分泌できる *Streptomyces* spp. が増殖し、キチン質を細胞壁に持つ *Fusarium* spp.²⁴⁾ など糸状菌が溶菌され、防除効果につながると考えられている^{28, 55, 82)}。このキチン質資材がホウレンソウ萎ちよう病の発病に対してどのように影響するかについては報告が見当たらない。そこで、本試験ではキチン質資材が本病の発病に与える影響をポット試験により明らかにし、圃場試験によってその実用性を評価した。

本試験では、先ず、ポット試験によってキチン質資材の施用時期、すなわち、すでに病原菌に汚染された圃場でも発病軽減効果が期待できるか、あるいは汚染される前に施用する必要があるのかについて検討し、併せて、

土壤の汚染程度の影響についても検討した。その結果、施用時期については土壤が汚染される前に本資材を施用する方がホウレンソウ萎ちよう病の発病を軽減できる可能性が認められた。ただし、これは土壤の汚染程度があまり高くない場合で、高い場合には本資材の施用は、むしろ、発病を助長した。このことから、すでに病原菌に汚染された圃場において本資材を使用する場合には土壤消毒が必要と考えられた。なお、作付け前後における土壤微生物相を調査したが、いずれの試験区においても本資材の施用による放線菌の増加^{21, 23, 28, 55, 71)}は認められなかつた。ナス半身萎ちよう病 (*Verticillium dahliae*) に対してカニ殻資材を用いた場合には放線菌密度の増加は土壤がやや乾燥気味の方が湿润状態よりも有効であることが報告されている⁷¹⁾。ホウレンソウは播種時に1作分の灌水を施すため、土壤は湿润状態が2週間程度続くことになる。このことが本資材施用によって放線菌密度が増加しなかつたことの要因として考えられる。

また、供試したキチン質資材の施用によって、ホウレンソウの根部導管組織の褐変率は対照区並に高かったにも関わらず、地上部の発病が抑制されたことから、本資材の施用は草勢を維持し、植物に対して間接的に抵抗力を付与し、発病を軽減している可能性がある。本資材をリンゴ紫紋羽病 (*Helicobasidium mompa* Tanaka) の治療に用いた場合、放線菌が増加して発病軽減し、樹勢も回復したとする報告²¹⁾と肥料効果により樹勢が回復したとする報告²⁾がある。いずれも樹勢が回復したとする点で共通する。

藤原²³⁾は、土壤病害抑止のための有機物利用上の問題点として①土壤消毒との組合せ利用、②利用作物の限定、③対象病害による有機物の選択、④効果を過信しないこと、の4点に留意すべきことを述べている。個別の有機物や微生物資材についてその発病軽減効果を調べた報告は多いが、実用的な使用方法については明らかになっていない。そこで、キチン質資材の実用性について、汚染圃場（岩手県葛巻町）において土壤消毒の併用要否について検討したところ、本資材を単独で使用した場合に無処理に比較してわずかに発病軽減効果を認めたが、土壤消毒には及ばないこと、土壤消毒後に本資材を併用することで、防除効果を向上できることが明らかとなった。これは先のポット試験の結果と一致する。この結果を受けて、本病の多発する汚染圃場（岩手県遠野市）を一旦全面土壤消毒した後、本資材の連用、隔年使用等の条件を変えて使用方法を検討したところ、2年目以降は土壤消毒をせずに本資材を年1回施用することによって発病軽減できることが明らかになった。また、このように無

処理区の発病が少い場合には单年施用でも、処理当年は発病軽減できることが明らかになった。この傾向はポット試験と一致した。一方、前年使用し、当年施用しなかつた場合には、施用区に比較して発病株率が高かつた。以上の結果から、本資材は汚染圃場においては必ず土壤消毒した後、夏作前に施用する。翌年以降は同時期に本資材を1回施用することによって、発病軽減効果が持続することが明らかになった。

第Ⅷ章 総合考察

ホウレンソウの生態的特性からみて最適な作型は秋播き栽培である³⁹⁾。この時期から冬季にかけての作型は食味に優れるが、基本的作型だけに生産量が多く、価格は安い。一方、高冷地や寒冷地では夏季冷涼な気象特性を利用し、降雨の影響を受けにくいパイプハウスを利用した「雨よけ」栽培という新たな作型が普及した³⁹⁾。この栽培様式による生産物は「雨よけほうれんそう」という一つのブランドとして市場評価が高い。この栽培様式によって春から秋にかけて、同一ハウスで年間3~5回の作付けが可能になり、土地集約性が高まって収益性も飛躍的に向上した。しかし、換金性が高いが故に連作されることが多く、連作障害が顕在化し、特にホウレンソウの可食部である茎葉に黄化や萎ちようをもたらす土壤病害が深刻な問題となってきた^{3, 86)}。

本研究では、岩手県におけるホウレンソウ土壤病害の発生実態を調査し、産地毎の立枯病、根腐病および萎ちよう病の発生相を明らかにするとともに、萎ちよう病が全県的に発生していることを確認した。そして、ホウレンソウ生産において重要病害である萎ちよう病の発生状況が産地によって異なったので、先ず、分離菌のホウレンソウに対する病原性を簡便に検定する方法を確立し、産地別の病原菌の分離頻度で考察した。次に菌糸和合性群 (vegetative compatibility group, VCG) による病原菌の類別を試み、わが国および岩手県におけるVCGの分布を明らかにするとともに、産地別あるいは一つの圃場内におけるVCG構成の解析を行った。また、病原性検定法がホウレンソウ品種の抵抗性検定にも適用できることを明らかにした。本病の防除法として、ホウレンソウに病原性を持たない非病原性の *Fusarium oxysporum* (非病原性フザリウム) を用いた生物的防除法を開発するととも、太陽熱利用による土壤消毒法が岩手県でも適用できることを明らかにした。さらに、キチン質資材を用いた本病の発病軽減および効果の持続性を検討し、使用方法を明らかにした。以下、得られた結果に基づき、総合考察する。

1. 岩手県のホウレンソウ産地における土壤病害の発生実態

岩手県内で発生が確認されている土壤病害は立枯病、根腐病、萎ちよう病および株腐病の4種である³⁸⁾。しかし、これらの発生実態については明らかにされていない。調査の結果、立枯病、根腐病および萎ちよう病は遠野市、西根町および山形村という本県の主要な産地で広く発生していること、一方、株腐病は遠野市および山形村の一部等、極限られたハウスでのみ発生しているに過ぎないことが明らかとなった。これら3種の土壤病害は、遠野市では主に萎ちよう病と根腐病が、西根町では主に根腐病がそれぞれ多く発生したが、山形村ではいずれも発生は少ない、といった実態にあった。このような発生差異に関し、内記・加納⁹⁰⁾、内記^{86, 87)}および赤司³⁾は連作年数あるいは土壌型の違いを説明したが、本調査では、土壤消毒後のハウスを除いて調査したが、連作年数や土壤型では発生実態を説明できなかった。また、本県では施肥基準³⁵⁾を基本として有機物施用や施肥管理が土壤診断に基づいて指導されているため、いずれの産地でも土壤理化学性に顕著な違いは見出しつらいと考えられる。土壤理化学性以外では生物性、特に病原菌の汚染程度あるいは地域の気象条件によって発生実態を説明できる可能性がある。

ホウレンソウ土壌病害の中で特に萎ちよう病は土壤消毒以外に防除対策がなく、難防除病害に位置づけられる⁸⁷⁾。本病は岩手県内で調査した13市町村全てで分布が確認され、本県のホウレンソウ生産において被害の拡大が懸念される。そこでこの萎ちよう病の発生実態と土壤生物性あるいは地域の気象との関連について考察する。産地毎の夏季の気象については、武田¹²⁹⁾によれば、遠野市は比較的高温、西根町は高温多照、山形村は比較的冷涼な地帯に位置する。調査では主要産地毎に萎ちよう症状を呈する株を採集し、主に根導管組織から *F. oxysporum* を単胞子分離し、後述する病原性検定法によって萎ちよう病菌の分離率を明らかにした。これらのことから、産地毎の萎ちよう病の発生実態を次のように説明できる。遠野市では萎ちよう症状株の発生が多く、病原菌の分離率も高い。夏季の高温によって萎ちよう病の発病が助長されやすい。西根町では萎ちよう症状株の発生が多いが、病原菌の分離率は低い。萎ちよう病の発生は少なく、夏季の高温多照によって、生理的な萎ちよう症状が生じやすい。また、山形村では萎ちよう病が発生するものの、夏季冷涼な気象により、萎ちよう症状を呈する株の発生が少ない。

以上の知見から、今後、圃場毎にカルテ^{101, 114)}を作成

し、耕種概要や収穫量の変動、土壤病害の発生状況および気象等を記録し、これを解析することによって萎ちよう病の防除指導上役立つものと考えられる。

2. ホウレンソウから分離した *Fusarium oxysporum* の病原性検定法

植物病原性 *F. oxysporum* には83以上の分化型があり、さらに作物に病原性を有さない非病原性菌が存在する。ホウレンソウに病原性を持つ分化型は f. sp. *spinaciae* であるが、テンサイ萎黄病菌 f. sp. *betae* のように寄生性を有する分化型も存在する¹¹⁾。しかし、ホウレンソウに強い病原性を有するのは f. sp. *spinaciae* のみのようである。一方、ホウレンソウ体内には非病原性フザリウムの存在することが知られており^{1, 49, 50)}、これらは *F. oxysporum* であることが確認されている。

Fiely et al.²⁰⁾によってホウレンソウに病原性を有する *F. oxysporum* は3種のVCGに分類されることが明らかにされている。また、RAPD法(Random amplified polymorphic DNA analysis)によって病原性VCGを非病原性菌と区別することも可能とされている¹³⁵⁾。しかし、VCG 2に類別された菌株の中には病原性を有しない菌株が含まれた^{20, 45)}。したがって、分離した *F. oxysporum* を萎ちよう病菌であると同定するには最低限、接種試験によって病原性を確認する必要がある¹⁰⁾。

ところが、*Fusarium* 属菌の病原性検定の実験法の解説書の中にはホウレンソウ萎ちよう病に関する記述が見当たらない^{33, 59, 84)}が、接種試験例としては赤司³⁾、Fiely et al.²⁰⁾、Naiki and Kanoh⁸⁹⁾がある。また、本病に対する品種の抵抗性を検定した接種試験例^{94, 103, 104)}がみられるが、いずれも多数の菌株を扱うには適さないと考えられた。

そこで、多くのホウレンソウ萎ちよう病菌株を扱うための簡易病原性検定法を検討し、次のようなメリットのある実験法を確立した。
① 128セルのプラグトレイの使用により、一度に多数の検体を扱えること(4菌株/トレイ)
② 市販のセル成型育苗培土を使用できるので、培土によるフレが少ないこと
③ 接種源はPSによる培養液を原液(芽胞状菌体 $10^7 \sim 10^8$ bud cells / ml)のまま使用でき、かつ、接種源量は1菌株当たり30ml程度と少量であること
④ 接種は本病に対する感受性の高い出芽～子葉期(播種7～10日頃)に行うことにより、確実に発病させることができること、また、
⑤ 接種作業および発病調査法が簡便であること、さらに⑥冬期間でも温室の温度を10°C以上に保つことで、結果の再現性が確保されていること。

武地¹²⁸⁾はダイコン萎黄病菌 *F. oxysporum* f. sp. *raphani* の検定法として二重底ガラス容器法を開発した。この方法は恒温水槽で地温を確保し、結果の再現性を確保しようとした。しかし、検定菌株を滅菌黒ボク土壌に接種し、ガラス管に充填するという作業を要する。この点で、本試験で確立した病原性検定法の実験は簡便で、高い再現性が得られることから、より実用的といえる。

今回考案した病原性検定法はホウレンソウ萎ちよう病のみならず、他の土壌病害にも応用できると考えられるので、土壌病害の発生実態解明に広く利用されるであろう。

3. ホウレンソウ萎ちよう病菌の菌糸和合性群による類別とその分布

F. oxysporum f. sp. *spinaciae* は3種のVCGに類別され、それぞれが世界中に広く分布することが報告されている²⁰⁾。わが国では3種のVCGの存在が明らかにされているものの、多くのホウレンソウ産地における地理的な分布様式が不明であるため、産地間、あるいは圃場内におけるVCG構成を明らかにした。調査の結果、VCG0330および0331は国内に広く分布すること、VCG0332は岩手県に限られるマイナーな存在ではあるが、今後他県でも発見される可能性が高いことが明らかとなった。また、VCG構成では日本、岩手県、遠野市、西根町、山形村、あるいは遠野市内の1圃場という調査規模の如何に関わらず、VCG0330が常にVCG0331および0332よりも優先した。アメリカ合衆国においても同様で、Fiely *et al.*²⁰⁾は本病原菌が種子伝染¹⁴⁾することに注目し、市販品種の種子からの検出を試みたが、病原菌は分離されなかった。このことから、VCG構成の特徴は種子伝染以外の要因によってもたらされたと考えられる。また、本研究によって、VCG構成に季節的な変動のあることが明らかになった。メジャーなVCG0330は作型が進むにつれ、構成比率が高まり、VCG0331および0332は7～8月穫りの作型で構成比率が高まったものの、9月穫りでは分離されなくなった。

このことから、VCG0330があらゆる場面で優先している要因は、本群が他のVCGよりも連作により蔓延しやすい、あるいは現在のホウレンソウの栽培体系において他のVCGよりも適合性が高い、ということによるものかもしれない。今後、同一圃場におけるVCG構成の年次比較を行うなど、継続的に調査することによって個体群生態が明らかになると思われる。

ところで、圃場内において、ある特定の個体群が優先

的に存在した上で別の個体群が圃場内に混在している例はリンゴ紫紋羽病菌 *Helicobasidium mompa* Tanaka⁵⁴⁾ や、メロンつる割病菌 *F. oxysporum* f. sp. *melonis* race2¹⁴⁴⁾、トマト萎ちよう病菌 *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* race3⁸⁰⁾でみられる。このような個体群構造がどのような過程で形成されるに至ったのかについては明らかにされていない。ホウレンソウ栽培は、簡易パイプハウスを利用した「雨よけ」栽培が導入されて以来、同じ圃場で1年間に3～5回連作され、作型毎に異なる品種が作付されるのが一般的である。このため、病原菌は短期間に作付される多様な品種に適応することが求められ、圃場内で多様な個体群を形成し、種として生存をはかる必要が考えられる。

さらに、本研究によって既知のVCG^{20, 56)}に属さない病原菌の存在が明らかにされた。病原性が弱いとされるVCG0331²⁰⁾でも病原力には幅がみられたことから、上記のような病原菌の品種への適応によって遺伝的変異が生じ、このような病原菌群が新たなVCGを形成していく可能性は高い。

4. 病原性検定法を利用したホウレンソウ萎ちよう病に対する品種抵抗性の検定

夏季は市場でホウレンソウが品薄となるため、価格が高騰する。このため、高冷地や寒冷地では夏季冷涼な気象特性を活用し、パイプハウスで雨よけした夏ホウレンソウが盛んに栽培されるようになった。しかし、いかに夏が冷涼とはいえ、本来のホウレンソウの栽培適期からみれば気温は高く、日照時間も長いため、抽苔性や耐暑性を考慮して西洋系品種が採り入れられるようになった³⁹⁾。最近では播種機を用いるため、西洋系品種の特徴である平滑な丸種子を求める向きもある¹²⁾。

O'Brien and Winters¹⁰³⁾、内記・森田⁹⁴⁾によれば、一般に西洋系品種は萎ちよう病に弱い。しかし、西洋系の中にも比較的耐病性のある品種もみられ⁹⁴⁾、最近の品種では「アクティブ」の耐病性が高く、岩手県内でも夏季の主力品種となっている。

本研究で考案した病原性検定法を用いて萎ちよう病に対する品種の抵抗性について、現在の市販品種および既往の品種⁹⁴⁾で比較したところ、抵抗性は度数分布に基づき5段階に分類され、市販品種のほとんどは「中」～「弱」に位置づけられた。これまでにホウレンソウ萎ちよう病を対象として抵抗性の基準となる品種は決定されていない。本研究において5段階の抵抗性ランク毎に比較品種を例示したことは、今後の品種抵抗性の検定において相対的な評価を可能とし、品種導入に際して一つの判

断基準を与えるものと期待される。また、岩手県をはじめとするホウレンソウ産地での夏の主力品種とされている「アクティブ」は抵抗性「中」に分類された。本病に対する品種の抵抗性は量的なものと推定されており⁹⁴⁾、ほとんどの品種は菌密度の高い圃場では被害が拡大するおそれがある。

F. oxysporum f. sp. *spinaciae* では病原菌株との組合せによって品種の抵抗性に変動がみられた。同様の報告はイネいもち病菌 *Magnaporthe grisea* でもみられる^{22, 57, 137)}。ホウレンソウにおけるこのような抵抗性変動は統計的には有意であったが、誤差分散は病原力の菌株間差あるいは品種間差という個々の要因効果よりも小さく、イネ品種といもち病菌の間ほど顕著ではない。現在のところ、この変動現象は一部の菌株と品種に限られるため、品種抵抗性検定上は病原力の強い菌株を使用すれば、特に大きな影響はない。しかし、先に述べたように産地では病原菌の個体群が多様で、その構成比も季節変動することに加えて、今後、多様な系統の品種が育成されることを考慮すると、この病原菌と品種の組合せによる変動が、宿主とレースの関係に発展する可能性も否定できない。

5. ホウレンソウ萎ちう病の防除

1) 非病原性フザリウムを利用したホウレンソウ萎ちう病の生物的防除

ホウレンソウから分離した *F. oxysporum* の病原性検定法の確立および病原菌の菌糸和合性群による類別的研究を進める過程で、萎ちう病の発生圃場に生育するホウレンソウ根から分離した *F. oxysporum* の中には非病原性の分離株が多数含まれ、これらによって本病を発病抑制できることを認めた。

このような非病原性フザリウムによる Fusarium 病の生物的防除に関する研究は、サツマイモつる割病で小川¹⁰⁵⁾が実用的な防除効果および防除機作を報告して以来、日本でも盛んになり、多くの作物で取り組まれてきた^{107, 108)}。しかし、圃場試験で成功した事例は少ない^{27, 76, 105, 109, 134)}。本研究では本病の発病抑制能力を有する非病原性フザリウムがホウレンソウ以外の作物に対しても病原性を持たず、安全であること、育苗中に本菌を接種した苗を汚染圃場に移植すると無接種苗に比べて発病が抑制され、防除効果が土壤消毒と同等になることを確認した。

Davis¹⁹⁾は、非病原性フザリウムによって交叉防御が生じるのは①抗生、競合などによる直接的な病原菌の活動抑制、②宿主の導管部でこれを閉塞することによる物理的な病原菌の侵入阻害、③獲得抵抗性などが働いてい

ると考えた。わが国における非病原性フザリウムによる発病抑制に関する研究^{5, 7, 105, 110, 134)}では植物体における全身的な抵抗性の誘導が生じていると考えられている^{107, 108)}。一方、Alabouvette のグループ^{4, 143)}は発病抑止土壤における病原菌と非病原性フザリウムの栄養的競合を証明し、Mandeel・Baker⁷⁹⁾はこの両者の証明を試みた。

本研究では生態研究のマーカーとして利用できる¹³⁰⁾ *nit* 変異株^{17, 116)}を用いた根圈土壤、植物根面および根内の動態追跡等の解析から、本菌の交叉防御機構は、植物根面で病原菌の分生子の発芽および発芽管伸長を阻害し、侵入を遅らせるとともに、根内では生息場所における競合によって病原菌の増殖を抑制していると推定された。このことから、移植栽培との組合せによってみられる防除効果は次のような機作によって引き出されたと考察した：育苗によってホウレンソウの生育段階が進むため、病原菌の感染機会は後退し、移植後はセル苗の根圈および根面の非病原性フザリウムによって病原菌の感染が阻害され、根内では弱い誘導抵抗によって発病を遅延させるとともに、競合によって病原菌の蔓延を遅らせる。

また、非病原性フザリウムの接種によって移植後のホウレンソウ根の活着が良好であることを観察した。今後、非病原性フザリウムの植物生育促進糸状菌 (Plant growth promoting fungi)^{30, 31)}としての可能性¹³⁹⁾も検討する必要があろう。

この非病原性フザリウムの大量増殖は小川¹⁰⁵⁾の方法に準じて可能である。今後、本技術を普及させるために、ホウレンソウの移植栽培という新しい栽培法をどのように生産現場に定着させるかが重要な課題である。

2) 太陽熱を利用した土壤消毒によるホウレンソウ萎ちう病の物理的防除

岩手県における太陽熱利用による土壤消毒法の実証試験について考察する。寒冷地としては北海道³⁾および秋田県¹¹⁹⁾で本法が成功しているが、岩手県ではこれまで成功例がなかった。その要因として、地温が十分に確保されていないことがあげられる。そこで、土壤をマルチとトンネルで2重に被覆することによって地温の確保をねらうとともに、処理後耕起による消毒が不十分となりやすい作土直下層の土壤が表層に混入しないように、本試験では処理後を不耕起¹²³⁻¹²⁵⁾とした。その結果、本法は岩手県においても実用的な土壤消毒法であることが実証できた。今後、本法の適応地帯および適応時期を明らかにする必要があるが、そのためにも地温の確保状況を、気象パラメータによって如何に説明するかがポイントになる。本試験によって地下10cmの地温40°C以上の時

間数は、その地域に近いアメダス気象観測地点での日照時間数と高い相関がみられた。しかし、日照時間のデータのみでは冬期間でも太陽熱消毒が可能と判断される危険がある。赤司³⁾、佐古ら¹¹⁸⁾あるいは佐山・福田¹¹⁹⁾が示したような気温等のパラメータをさらに加える必要がある。本試験では外気温の寄与率が低かったため、日照時間の単相関以上の式は得られなかった。したがって、本試験で得られた回帰式は当面6~7月に限定して使用されるべきであろう。

3) キチン質資材を利用したホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減効果およびその持続性

本病の生態的防除法⁸²⁾としてキチン質資材（商品名：ネオアップ^{2,21)}）を用いて汚染圃場における本病の発病軽減を確認した。キチン質資材は広義には有機質資材に含まれるが、このような有機物によって一般に土壌病害が軽減されるとする反面、助長されるとする報告もみられる^{23,55,82)}。本研究では同一圃場において3カ年間実施した試験の結果、キチン質資材の施用効果を確認した。一般にキチン質資材による発病軽減は、資材の施用によって土壤中の放線菌が増加し、キチン質成分を細胞壁に含む *Fusarium* 属菌など病原糸状菌が溶菌されるために生じると考えられている^{28,55,82)}。しかし、本試験では資材施用直後および栽培跡地での放線菌の顕著な増加はみられなかつた。この点について、ホウレンソウの根圈における放線菌密度がホウレンソウの出芽期頃にピークになる例があるということ（相澤私信）や、ナスの根圈では土壤が湿潤状態よりもやや乾燥気味の状態で放線菌が増えやすい⁷¹⁾という報告から、放線菌密度を調査した時期あるいは土壤の水分条件が影響したのではないかと考える。したがって、先に述べたようにホウレンソウの感受性が高い出芽～子葉期、すなわち、播種後2週間頃までの放線菌密度が高まっているようであれば、この時期に病原菌の感染阻害をしている可能性が推察される。

このキチン質資材を利用した発病軽減法は岩手県内すでに実用化されている技術であるが、先に述べた太陽熱利用による土壤消毒と本技術を組み合わせることによって、化学合成農薬を用いずに、持続的かつ実用的な防除対策が実現できるであろう。

以上、ホウレンソウ萎ちよう病の省農薬防除技術として、非病原性フザリウム利用による防除法、太陽熱利用による土壤消毒法、キチン質資材による発病軽減法の3つの方法を検証した。総合的病害虫管理システム^{97,106,111)}が提唱される中で、これらの個別技術は本病を中心とす

るホウレンソウの病害虫防除のための一メニューとして、持続的な農業生産に寄与できると考える。

第Ⅸ章 摘 要

ホウレンソウ生産において土壌病害は重大な被害をもたらすことが知られている。本研究では、はじめに岩手県における土壌病害の発生実態を明らかにし、萎ちよう病が重要な病害であることを確認した。その上で、萎ちよう病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*) の分離および菌糸和合性群 (vegetative compatibility group, VCG) の類別によって発生実態の解析を試みた。さらに、本病の防除法について検討を加え、農薬を用いない防除方法を明らかにした。本論文はこれらの成果を述べたものであり、以下に概要を述べる。

1. 岩手県のホウレンソウ産地における土壌病害の発生実態

岩手県の主要な産地である遠野市、西根町、山形村を定点として6~9月穫り作型におけるホウレンソウ土壌病害の発生実態を調査した。発生が確認された土壌病害は萎ちよう病、根腐病、立枯病および株腐病であった。これらの発生様相は地域間差がみられ、遠野市では主に萎ちよう病と根腐病が発生し、西根町では特に根腐病の発生が多く、萎ちよう病の発生もみられた。山形村では土壌病害の発生そのものが多くないが、主に萎ちよう病が発生した。このような発生実態の違いは、土壌型や連作年数では一定の傾向が見いだせないが、これら3産地を含む14市町村で広域に難防除病害である萎ちよう病の発生がはじめて明らかにされ、今後の発生拡大が懸念された。

2. ホウレンソウから分離した *Fusarium oxysporum* の病原性検定法

ホウレンソウから分離した *Fusarium oxysporum* の病原性検定法を検討した。土壤への接種菌量は 10^2 cfu / 乾土 g で発病し、 10^4 cfu / 乾土 g で急激に病勢進展してほぼ枯死した。この場合、接種源には、ショ糖加用ジャガイモ煎汁液体培地による振とう培養菌体（芽胞状菌体）を用いると、汚染土壤を接種源とした場合と発病傾向が一致した。また、病原菌の接種時期については、ホウレンソウの出芽～子葉期に接種すると播種時あるいは本葉2~4葉期以降の接種よりも発病度が高かった。検定品種には「おかめ」、「マジック」、「オラクル」は病原菌の菌株間差も少なく、感受性が高かった。なお、検

定に際し、次のような簡便法が多数の試料の検定に有効であることを確認した：セル成型用培土を用い、128セル・プラグトレイで出芽～子葉期のホウレンソウ幼苗に菌液を均一に灌注接種する。2～3週間後に試験区全体の発病を概観した簡易発病指数で評価する。この検定法によって産地で発生する萎ちよう症状株から分離した *Fusarium oxysporum* 菌のホウレンソウに対する病原性を調査した。その結果、全分離菌株に対する病原性菌株の割合は、遠野市で 91.7% と非常に高く、次いで山形村では 69.0% と高かった。しかし、西根町では分離率が 45.3% と低く、この地域間差は本病の発生実態におおよそ符合した。

3. ホウレンソウ萎ちよう病菌の菌糸和合性群による類別とその分布

F. oxysporum f. sp. *spinaciae* の菌糸和合性群 (VCG) を用いて、わが国における VCG の地理的な分布、岩手県における分布および圃場内の個体群構造について検討した。その結果、VCG0330, 0331 が国内に広く分布し、VCG0332 は供試菌株数の多かった岩手県でのみ確認された。岩手県では 3 つの VCG すべてが県内に広く分布しており、VCG0332 が本県にのみ偏重するものではなく、VCG0330, 0331 と同様にわが国に広く分布するものと考えられた。いずれの場合も、VCG0330 が優占し、VCG0331 および VCG0332 はマイナーな個体群に過ぎなかった。圃場内においても同様で、VCG0330 が優占して広く分布し、この他のマイナーな VCG0331, 0332 やこの他の菌株群とともに多様性を形成した。また、岩手県における分離株の VCG 構成には季節的な変動がみられ、VCG 0331 および 0332 は夏作（7～8 月穫り）に構成比がピークに達し、秋作（9 月穫り）では検出されなかった。一方、VCG0330 は他の 2 つの VCG に比べて常に優先し、作型が進むにつれて構成比率が高まった。このことから、VCG0330 は連作に伴って蔓延しやすい可能性が示唆された。なお、3 つの VCG の標準菌株は、いずれも生育適温 20～30°C、最適温度 25°C で一致し、温度反応のみでは季節変動を説明できなかった。本研究によって既知の VCG に属さない病原菌の存在が新たに明らかになったが、これらは和合性が低かった。

4. 病原性検定法を利用したホウレンソウ萎ちよう病の品種抵抗性の検定

新たに確立した病原性検定法で品種の抵抗性検定を行った。 $10^5 \sim 10^6$ bud cells / ml の病原菌液を幼苗の

株元に連続注射器で注入接種することによって萎ちよう病の発病指数に品種間差がみられた。病原菌として 5 菌株を用い、発病指数の平均を基に、度数分布により検定 25 品種の抵抗性強度を「強」～「弱」の 5 段階に区分し、それぞれの区分に対応する比較品種を設定した。「強」：禹城、「やや強」：アトラスまたはソロモン、「中」：バルチックまたはアクティブ、「やや弱」：ミンスター ランドまたはおかめ、「弱」：キングオブデンマークまたはマジックである。これにより、本病に対する品種の抵抗性評価を相対的に行うことが可能となった。なお、本試験で一部の品種と菌株の組合せによって発病度に順位の逆転がみられた。この現象は分散分析によって有意であったが、交互作用の誤差分散は菌株あるいは品種の要因効果のそれよりも小さかった。

5. ホウレンソウ萎ちよう病の防除

1) 非病原性フザリウムを利用したホウレンソウ萎ちよう病の生物的防除

ホウレンソウ根から分離された多数の非病原性 *F. oxysporum* のうち、S3HO3 菌株をはじめとする 6 菌株を土壤に前接種すると、本病の発病を抑制できることがわかった。そこで、主に非病原性フザリウム S3HO3 菌株を用いて本病の防除法を検討した。土壤接種では、本菌を 10^4 bud cells / 乾土 g 以上かつ病原菌の 10～100 倍量の菌密度で病原菌より先に接種する必要がある。しかし、土壤接種では発病抑制効果が収穫期まで持続しなかったため、本菌接種床土 (10^6 bud cells / 乾土 g) で育苗した苗を汚染土壤に移植したところ、効果が持続することがわかった。本菌のホウレンソウ以外の作物に対する安全性を調べたところ、キュウリ、メロン、トマト、ナバナ、シュンギク、ミツバなど 6 科 17 作物に対して病原性を持たなかった。そこで本病の常発する現地圃場において、本菌の接種床土で 15 日間育苗した苗を移植したところ、太陽熱利用による土壤消毒と同等で、非接種苗に優る高い防除効果が得られ、本法が実用的な防除法であることを確認した。なお、本菌は本病の他、ホウレンソウ立枯病や各種 *Fusarium* 病に対しても発病抑制効果を示した。非病原性フザリウムによる本技術の防除機会を検討したところ、針接種により交叉防御の生じていることが確認されたこと、本菌の培養ろ液は病原菌分生子の発芽および発芽管伸長を阻害すること、本菌を接種した場合は病原菌単独接種の株よりも病原菌の根内からの検出が遅れるとともに、発病前のホウレンソウ根内では本菌の分離菌数が病原菌を上回ることから、両菌の競合現象が示唆された。

2) 太陽熱を利用した土壤消毒によるホウレンソウ萎ちよう病の物理的防除

岩手県において本病を対象とする太陽熱利用による土壤消毒法の適用性を検討した。ここでは有効地温（深さ10cm, 40°C以上）を確保するためにマルチ被覆し、さらにトンネル被覆するという二重被覆とし、処理後は不耕起とすることによって、6～7月の1ヶ月間の処理によって有効地温を記録した時間数は131時間に達し、夏穫り作型前に高い防除効果を確認できた。1日の地温確保時間数はアメダス気象観測（地点：遠野）における日照時間数に比例した。以上、本法を6～7月に実施した場合、岩手県において実用的な防除方法である。

3) キチン質資材を利用したホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減効果およびその持続性

キチン質資材としてカニ殻発酵資材(30kg/a)を用いた。ポット試験および現地圃場試験の結果、土壤消毒後に本資材を施用することによって本病を発病軽減できるが、汚染土壤に直接施用した場合には発病軽減効果の低いことが明らかとなった。そこで、別の常発圃場において初年目に土壤消毒した後、本資材を施用し、以降3カ年間にわたり、資材の連年あるいは隔年施用等の施用条件に関する検討を行ったところ、本資材を毎年1回施用することで発病軽減効果が持続すること、隔年施用では施用しない年に本病の増加がみられることが明らかとなった。よって、発病軽減効果を引き出すために、本資材は毎年1回土壤施用する必要がある。

第X章 引用文献

- 1) 赤坂安盛・中南真理子 (1992). 非病原性フザリウムによるホウレンソウ萎凋病の防除. 1. 非病原性フザリウムの分離と施用効果(講要). 北日本病虫研報 43: 197.
- 2) 赤坂安盛・仲谷房治・安藤義一 (1995). リンゴ紫紋羽病に対するトルクロホスメチル水和剤、アンバム液剤および発酵かに殻資材の効果と圃場条件による差異(講要). 北日本病虫研報 46: 212.
- 3) 赤司和隆 (1991). ホウレンソウ根腐病の発生機構と生態的防除法に関する土壤肥料学的研究. 北海道立農業試験場報告 74: 1-100.
- 4) Alabouvette, C., Couteaudier, Y., and Lemanceau, P. (1986). Nature of intragenetic competition between pathogenic and nonpathogenic *Fusarium* in a wilt-suppressive soil. NATO advanced study Institutes series Series A (Life sci.): 165-178.
- 5) 雨宮良幹・平野和弥・飯田 格 (1985). トマト半身萎ちよう病に対する抵抗性の誘導. 千葉大園学報 36: 135-139.
- 6) 雨宮良幹・山口健一・平野和弥・飯田 格 (1986). 交叉防御によるトマト萎ちよう病の発病抑制. 千葉大園学報 37: 79-83.
- 7) 雨宮良幹・小池正徳・平野和弥 (1989). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるトマト半身萎ちよう病の発病抑制. 土と微生物 33: 27-34.
- 8) 荒井 滋・岡山健夫 (1982). ホウレンソウの移植栽培法に関する研究(第1報). 裁植密度および定植時期が生育、収量に及ぼす影響について. 奈良農試研報 13: 31-37.
- 9) 荒井 滋・岡山健夫・小畠博文 (1984). ホウレンソウの移植栽培法に関する研究(第3報). ホウレンソウ萎ちよう病の耕種的防除法について. 奈良農試研報 15: 10-19.
- 10) 荒木隆男 (1984). 土壤病害の実験法(「新版土壤病害の手引き」編集委員会、「新版土壤病害の手引き」). 廣済堂、東京, pp. 213-279.
- 11) Armstrong, G. M. and Armstrong, J. K. (1976). Common hosts for *Fusarium oxysporum* formae speciales *spinaciae* and *betae*. Phytopathology 66: 542-545.
- 12) 芦澤正和 (1988). ホウレンソウ(西 貞夫, 「野菜園芸ハンドブック」). 養賢堂、東京, pp. 970-985.
- 13) 芦澤正和・飛驒健一・吉川宏昭 (1979). ダイコンの萎黄病抵抗性育種に関する研究. I 抵抗性育種素材の検索. 野菜試報 A6: 39-70.
- 14) Bassi, A., Jr. and Goode, M. J. (1978). *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* seedborne in spinach. Plant Dis. Repr. 62: 203-205.
- 15) Booth, C. (1971). The Genus *Fusarium*, Commonwealth Mycol. Inst., London, pp. 237.
- 16) Cook, H. T., Nugent, T. J., Parris, G. K. and Porter, R. P. (1947). *Fusarium* wilt of spinach and the development of a wilt-resistant variety. Va. Agric. Exp. Stn. Bull. 110: 1810-1820.
- 17) Correll, J.C., Klittich, C.J.R. and Leslie, J.F. (1987). Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. Phytopathology 77: 1640-1646.
- 18) Correll, J.C., Morelock, T.E., Black, M.C., Koike, S. T., Brandenberger, L. P. and Dainello, F. J. (1994). Economically important diseases of spinach.

- Plant Dis. 78: 653-660.
- 19) Davis, D. (1967). Cross-protection in *Fusarium* wilt diseases. *Phytopathology* 57: 311-314.
- 20) Fiely, M. B. Correll, J.C. and Morelock, T. E. (1995). Vegetative compatibility, pathogenicity, and virulence diversity of *Fusarium oxysporum* recovered from spinach. *Plant Dis.* 79: 990-993.
- 21) 藤田孝二・岩谷 齋・清藤盛正 (1990). パーライト, カニがら配合肥料及びアンバム剤の併用による紫紋羽病の治療法と, その効果発現要因 (講要). 北日本病虫研報 41: 208.
- 22) 藤田佳克・鈴木穂積 (1980). イネいもち病圃場抵抗性の菌株による変動. 北日本病虫研報 31: 16-17.
- 23) 藤原俊六郎 (1993). 有機物および微生物資材による土壌病害抑止の可能性 (日本土壌肥料学会編「植物土壌病害の抑制対策」). 博友社, 東京, pp.145-176.
- 24) 深溝 慶・豊田秀吉・西口 勉・松田克礼・張 順彗・大内成志 (1991). 固体高分解能 ^{13}C -CP/MAS NMR によるフザリウム菌細胞壁の解析 (講要). 日植病報 57: 105.
- 25) 福西 務 (1978). ホウレンソウ根腐症状株とその土壌から分離される病原菌 (講要). 日植病報 44: 86.
- 26) 福西 務・片山 順・内藤松一・山川和彦・小坂能尚 (1995). クロルピクリン錠剤のマルチ畦内くん蒸消毒によるホウレンソウ萎ちよう病の防除. 「関西病虫研報 37: 55-56
- 27) 本多範行・川久保幸雄 (1998). 非病原性フザリウム菌によるラッキョウ乾腐病の生物的防除. 土と微生物 51: 13-18.
- 28) 堀 兼明 (1989). 有機質土壌改良資材 (伊達昇編「有機質肥料と微生物資材」). 農文協, 東京, pp.64-67.
- 29) Hungerford, C.W. (1923). A *Fusarium* wilt of spinach. *Phytopathology* 13: 205-209.
- 30) Hyakumachi, M. (1994). Plant growth promoting fungi from turfgrass rhizosphere with potential for disease suppression. *Soil Microorganisms* 44: 53-68.
- 31) 百町満朗 (1998). 植物生育促進菌類による抵抗性誘導とその機構. 平成10年度植物感染性理談話会. pp.69-78.
- 32) 一谷多喜郎・福西 務 (1979). ホウレンソウの立枯病をおこす *Pythium ultimum* Trow. (講要). 「関西病虫研報 21: 44.
- 33) 飯田 格 (1984). 接種試験法 (接種法と調査法) (「新版土壌病害の手引き」編集委員会, 「新版土壌病害の手引き」). 廣済堂, pp.215-221.
- 34) 岩手県 (1999a). 平成10年度 農作物病害虫・雑草防除基準. 盛岡, pp.173-174.
- 35) 岩手県 (1999b). 農作物施肥基準 (『農業べんり帳』, 「農業普及」臨時増刊号). 岩手県農業改良普及会, 盛岡, pp.710.
- 36) 岩手県立農業試験場 (1976a). 岩手県耕地土壤図 (県北部). 岩手県立農業試験場.
- 37) 岩手県立農業試験場 (1976b). 岩手県耕地土壤図 (県南部). 岩手県立農業試験場.
- 38) 「いわての農作物病害虫図鑑」編集委員会 (1995). いわての農作物病害虫図鑑 (III) 野菜・花き編. 岩手県植物防疫協会, 盛岡, pp.91-94.
- 39) 香川 彰 (1997). 「高品質ホウレンソウの栽培生理」. いしづえ, 東京, p.138.
- 40) 勝部和則 (1997a). 非病原性フザリウム菌によるフザリウム病の防除～ホウレンソウ萎ちよう病の防除. バイオコントロール研究会レポート 5: 9-15.
- 41) 勝部和則 (1997b). カニ殻発酵資材を用いたホウレンソウ萎ちよう病の発病軽減 (講要). 日植病報 63: 492.
- 42) 勝部和則 (1998a). ホウレンソウ萎ちよう病感受性に及ぼす宿主の生育ステージと品種の影響 (講要). 日植病報 64: 363.
- 43) 勝部和則 (1998b). 岩手県のホウレンソウ栽培ハウスにおける *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* の単純な個体群構造 (講要). 日植病報 64: 613.
- 44) 勝部和則 (1999a). 日本産 *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* のVCG およびその国内分布 (講要). 日植病報 65: 400.
- 45) 勝部和則 (1999b). 日本産 *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* 菌糸和合性群の地理的分布および圃場内個体群構造. 日植病報 65: 563-568.
- 46) 勝部和則 (1999c). ホウレンソウ萎ちよう病菌に対する品種の抵抗性評価 (講要). 北日本病虫研報 50: 231.
- 47) 勝部和則, 赤坂安盛 (1995). 非病原性フザリウム菌による生物防除と太陽熱消毒を組み合わせたホウレンソウ萎ちよう病の体系的防除 (予報) (講要). 日植病報 61: 643-644.
- 48) 勝部和則・赤坂安盛 (1996). 非病原性フザリウム菌利用によるホウレンソウ萎ちよう病の生物的防除 (3) 発病抑制機序 (講要). 日植病報 62: 278-279.
- 49) 勝部和則・赤坂安盛 (1997). 非病原性 *Fusarium oxysporum* 利用によるホウレンソウ萎ちよう病の

- 防除. 日植病報 63: 389-394.
- 50) 勝部和則・赤坂安盛・仲谷房治 (1994). 非病原性フザリウム菌によるホウレンソウ萎ちよう病の生物的防除 2. 非病原性フザリウム菌の処理方法. 北日本病虫研報 45:72-75.
- 51) 勝部和則・伊藤広美 (1999). 岩手県のホウレンソウ主要産地における萎ちよう病菌のVCGとその季節変動 (講要). 日植病報 65: 664-665.
- 52) 勝部和則・加藤昌亮・竹原利明・萩原 廣・中山尊登・長井克将・赤坂安盛 (1997). 非病原性フザリウム菌利用によるホウレンソウ萎ちよう病の生物的防除(4) 非病原性フザリウム菌培養ろ液の発病に及ぼす影響 (講要). 日植病報 63: 219-220.
- 53) Katsume, K., Takagi, Y. and Akasaka, Y. (1998). Practical control of Fusarium wilt of spinach with non-pathogenic *Fusarium oxysporum* (Abstr.). Abstracts of invited & offered papers: 5.2.60 (7th International Congress of Plant Pathology, Edinburgh).
- 54) Katsumata, H., Ogata, T. and Matsumoto, N. (1996). Population structure of *Helicobasidium mompa* in an apple orchard in Fukushima. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62: 490-491.
- 55) 木嶋利男 (1992). 括抗微生物による病害防除. 農文協, 東京, pp.193.
- 56) Kistler, H. C., Alabouvette, C., Baayen, R.P., Bentley, D., Brayford, D., Coddington, A., Correll, J.C., Daboussi, M.-J., Elias, K., Fernandez, D., Gordon, T.R., Katan, T., Kim, H.G., Leslie, J.F., Martyn, R.D., Micheli, Q., Moore, N.Y., O'Donnell, K., Ploetz, R.C., Rutherford, M.A., Summerell, B., Waalwijk, C., and Woo, S. (1998). Systematic numbering of vegetative compatibility groups in plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 88: 30-32.
- 57) 清沢茂久 (1985). 品種抵抗性と菌系病原性 (清沢茂久編, 植物疫学-数理統計的手法の適用). 博友社, 東京, pp.140-156.
- 58) 小畠博文・荒井 澄・岡山健夫 (1979). 奈良県における夏ホウレンソウの生育障害について (講要). 関西病虫研報 21: 46.
- 59) 小林紀彦 (1992). 土壌伝染性病原菌の計数, 分離, 同定 (土壤微生物研究会編「新編土壤微生物実験法」). 養賢堂, 東京, pp.72-124.
- 60) 小玉孝司・福井俊男 (1979). 太陽熱とハウス密閉処理による土壌消毒法について. 奈良農試研報 10: 71-82.
- 61) 小玉孝司・宮本重信・宮川俊平・志賀陽一 (1976). 夏期の温室密閉による土壌消毒法. 農業および園芸 51: 889-894.
- 62) 駒田 旦 (1976). 野菜のフザリウム病菌 *Fusarium oxysporum* の土壌中における活性評価技術に関する研究. 東海近畿農試研報 29: 132-269.
- 63) 駒田 旦・磯崎真英・山本広基 (1993). 養液栽培における, 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるトマト萎ちよう病の生物防除. 島根病虫研報 18: 27-30.
- 64) 駒田 旦・磯崎真英・山本広基 (1994). 養液栽培における, 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるトマト萎ちよう病の生物防除における防除機作. 島根病虫研報 19: 5-12.
- 65) 駒田 旦・小川 奎 (1980). フザリウム病菌の活性評価 (松尾卓見・駒田 旦・松田 明編, 「作物のフザリウム病」). 全国農村教育協会, 東京, pp. 120-228.
- 66) 国永史朗・久保庭 孝・寺中理明・若井田正義 (1975). ホウレンソウ根腐症状株からの *Aphanomyces cochlioides* の分離およびその病原性 (講要). 日植病報 41: 118.
- 67) 國安克人 (1980). 品種抵抗性検定法 (松尾卓見・駒田 旦・松田 明編, 「作物のフザリウム病」). 全国農村教育協会, 東京, pp.386-398.
- 68) 國安克人 (1984). 品種抵抗性検定法 (「新版土壌病害の手引き」編集委員会, 「新版土壌病害の手引き」). 廣済堂, 東京, pp. 258-268.
- 69) 國安克人・竹原利明 (1992). 熱水土壌消毒法のホウレンソウ萎ちよう病防除効果: 熱水処理土壌および無処理土壌からのホウレンソウ萎ちよう病菌と非病原性フザリウム菌との分離比率. 関東東山病虫研報 39: 121-123.
- 70) 草刈真一・岡田清嗣 (1993). 硝酸マイコナゾール添加PDA培地による *Fusarium* 属菌の選択分離 (講要). 日植病報 59: 75.
- 71) 草刈真一・岡田清嗣・中曾根 渡・嘉儀 隆・瓦谷光男 (1991). カニガラ施用による放線菌増加とナス半身萎ちよう病の発病抑制効果について (講要). 日植病報 57: 104.
- 72) 草刈真一・辻 博美・山田貴義・田中 寛 (1979). *Pythium* sp. によるホウレンソウの立枯病. 日植病報 45: 268-271.
- 73) Larsson, M. (1994). Prevalence and pathogenicity

- of spinach root pathogens of the genus *Pythium* in Sweden. Plant Pathology 43: 261-268.
- 74) Larsson, M and Gerhardson, B. (1992). Disease progression and yield losses from root diseases caused by soilborne pathogens of spinach. Phytopathology 82: 403-406.
- 75) Larsson, M. and Olofsson, J. (1994). Prevalence and pathogenicity of spinach root pathogens of the genus *Aphanomyces*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Cylindrocarpon* and *Rhizoctonia* in Sweden. Plant Pathology 43: 251-260.
- 76) Lemanceau, P., Bakker, P. A. H. M., Jan de kogel, W., Alabouvette, C. and Schippers, B. (1992). Effect of pseudobactin 358 production by *Pseudomonas putida* WCS358 on suppression of *Fusarium* wilt of carnations by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. Appl. Environ. Microbiol. 58: 2978-2982.
- 77) Madhosingh,C. (1980a). *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* : A biochemical comparison of race 1 and race 2. Phytopath. Z. 98: 27-39.
- 78) Madhosingh,C. (1980b). Isoenzymes in isolates of *Fusarium oxysporum* caused by spinach diseases. Phytopath. Z. 98: 56-67.
- 79) Mandeel, Q. and Baker, R. (1991). Mechanisms involved in biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 81: 462-469.
- 80) Marlatt, M.L., Correll, J.C. and Kaufmann, P.K. (1996). Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United states. Plant Dis. 80: 1336-1342.
- 81) Martyn, R. D., Kim, D. H., Rush, C. M. and Dillard, E. A. (1990). Relationship among the vascular wilt Fusaria of the Chenopodiaceae (Abstr.). Phytopathology 80: 1008.
- 82) 松田 明 (1981). 土壌伝染性の生態的防除手段としての輪作と有機物施用. 植物防疫 35: 12-18.
- 83) 松尾卓見 (1962). *Fusarium* 菌 (土壌病害対策委員会, 「土壌病害の手引 I」). 日本植物防疫協会, pp.57-67.
- 84) 松尾卓見 (1980). フザリウム病菌の種類と同定 (松尾卓見・駒田 旦・松田 明編, 「作物のフザリウム病」). 全国農村教育協会, 東京, pp. 17-59.
- 85) 内記 隆 (1983). 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.
- 86) 内記 隆 (1984a). ホウレンソウの土壌病害とその対策 (1). 植物防疫 38: 475-478.
- 87) 内記 隆 (1984b). ホウレンソウの土壌病害とその対策 (2). 植物防疫 38: 557-562.
- 88) Naiki, T., Gonda, Y. and Kageyama, K. (1986). *Pythium* species causing damping off of spianach seedlings under plastic house cropping. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 52: 772-778.
- 89) Naiki, T. and Kanoh, M. (1977). On *Fusarium* wilt of spinach and its causal fungus. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 43: 297-300.
- 90) 内記 隆・加納正和 (1978). 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.
- 91) Naiki, T. and Kano, M. (1978). Grouping of *Rhizoctonia solani* Kühn causing root disease of spinach in plastic house cropping. Ann. Phytopahol. Soc. Jpn. 44: 554-560.
- 92) Naiki, T and Morita, Y. (1983a). The population of spinach wilt fungus, *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*, and the wilt incidence in soil. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 49: 539-544.
- 93) Naiki, T and Morita, Y. (1983b). Isolation of spinach wilt fungus, *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*, from weed roots grown in field. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 49: 573-575.
- 94) 内記 隆・森田恭充 (1983). ホウレンソウ萎ちよう病に対する品種抵抗性の比較. 関西病虫研報 25: 10-13
- 95) Naito, Y., Honda, Y. and Kumagai, T. (1996). Effects of supplementary UV-B radiaion on development of damping-off in spinach caused by the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum*. Mycoscience 37: 15-19.
- 96) Naito, Y., Honda, Y. and Kumagai, T. (1997). Supplementary UV-B radiaion induced *Fusarium* wilt of spinach in a glasshouse. Ann. Phytopahol. Soc. Jpn. 63: 78-82.
- 97) 中筋房夫 (1997). 総合的害虫管理. 養賢堂, 東京, p. 273.
- 98) 日本植物病理学会編 (1993). 日本有用植物病名目録 (II). 日本植物防疫協会, 東京, pp.47-48.
- 99) 西内美武・森本松男・中越謙三・斎藤 正 (1977). 太陽熱による密閉ハウスの高温処理が土壌中の *Fusarium oxysporum* の生存に及ぼす影響. 四国植防 12: 19-24.

- 100) 野村良邦・加藤喜重郎・竹内昭士郎 (1979). キヤ ベツ萎黄病抵抗性の早期検定法に関する研究. 農事試 研報 24: 141-182.
- 101) 農林水産省農業研究センター編 (1989). 連作障 害総合防除システム開発の手引き. 養賢堂. 東京. p.255.
- 102) 農林水産省東北農政局岩手統計情報事務所 (1998). 平成9年度農作物統計(野菜・果樹・工芸農作物編). pp.20-21.
- 103) O'Brien, M. J. and Winters, H. F. (1977) . Evaluation of spinach accessions and cultivars for resistance to Fusarium wilt. I. Green-house-bench method. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 102 : 424-426.
- 104) O'Brien, M. J. and Winters, H. F. (1978) . Evaluation of spinach accessions and cultivars for resistance to Fusarium wilt. II . Environmental control test. Plant Dis. Repr. 62 : 427-429.
- 105) 小川 奎(1988). サツマイモつる割病に関する研 究. 農研センター研報 10: 1-127.
- 106) 小川 奎 (1992). 環境保全型農業における土壤 病害の総合管理. 植物防疫 46: 451-454.
- 107) 小川 奎 (1997). 微生物によって誘導される作 物の病害抵抗性. 植物防疫 51: 116-121.
- 108) 小川 奎 (1998). 微生物による病害の制御(西 尾道徳・大畑貫一編「農業環境を守る微生物利用技術」), 家の光協会, 東京, pp.30-58.
- 109) 小川 奎・駒田 旦 (1984). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病の生物的防 除. 日植病報 50:1-9.
- 110) 小川 奎・駒田 旦 (1986). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病に対する全 身的な抵抗性の誘導. 日植病報 52:15-21.
- 111) 岡田利承 (1992). 環境保全型農業における総 合的害虫管理. 植物防疫 46: 443-446.
- 112) 岡山健夫・荒井 滋 (1983) . ホウレンソウの移 植栽培法に関する研究(第2報). 土壤水分が生育, 収 量におよぼす影響について. 奈良農試研報 14: 29- 39.
- 113) 奥田純一郎・古田 力 (1964) . ホウレンソウ立 枯病の病徵と病原菌について(講要). 日植病報 29: 89.
- 114) 大畑貫一・門間敏幸・北川靖夫・伊藤純雄・駒田 旦 (1985) . 連作障害防止のためのほ場カルテシス テムの開発. 第1報 連作障害の実態解析とほ場カル テシステム開発の意義. 農研センター研報 4: 1-50.
- 115) Paulitz, T. C., Park, C. S. and Baker, R. (1987). Biological control of Fusarium wilt of cucumber with nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. Can. J. Microbiol. 33: 349-353.
- 116) Puhalla, J. E.(1985). Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis vegetative compatibility. Can. J. Bot. 63: 179-183.
- 117) Reyes , A. A. (1977) . Spinach wilt in Ontario. Plant Dis. Repr. 61: 1067-1070.
- 118) 佐古 勇・新田 晃・油本武義 (1991) . 中山間地 夏どりホウレンソウの萎ちよう病防除に対する早期の ハウス密閉処理による太陽熱土壤消毒法の適用につい て. 鳥取園試研報 1: 59-73
- 119) 佐山 琳・福田秀樹 (1997) . 秋田県におけるハウ ス栽培ホウレンソウの土壤病害に対する太陽熱消毒の 効果を期待できる条件. 北日本病虫研報 48: 103-105.
- 120) 志賀陽一・宮川逸平 (1970) . 温室の夏期の保温性 にもとづく土壤消毒法について(講要). 日植病報 36: 194.
- 121) 嶋崎 豊・内山総子 (1985) . 埼玉県における夏 まきホウレンソウ立枯症の発生実態(講要). 日植病報 51: 93.
- 122) 嶋崎 豊・内山総子 (1988) . *Pythium* 属菌に よるホウレンソウ立枯病の発生生態と防除. 埼玉園試 研報 16: 37-47.
- 123) 清水寛二・川田 和 (1986). 太陽熱利用による 水田転換畑露地野菜の土壤病害防除に関する研究(第 1報) 二重トンネル被覆によるフザリウム病及び根こ ぶ病の防除効果. 滋賀農試研報 27: 47-56.
- 124) 清水寛二・川田 和 (1987). 太陽熱利用による水 田転換畑露地野菜の土壤病害防除に関する研究(第3 報) 野菜の苗立枯病に対する太陽熱消毒の防除効果. 滋賀農試研報 28: 23-30.
- 125) 清水寛二・鈴木良治・高士翔助・川田 和 (1987). 太陽熱利用による水田転換畑露地野菜の土壤病害防除 に関する研究(第2報) アブラナ科根こぶ病に対する 防除効果. 滋賀農試研報 28: 7-22.
- 126) Snyder, W.C. and Hansen, H.N. (1940) . The species concept in *Fusarium*. Am. J. Bot. 27: 64-67.
- 127) Sumner, D. R., Kays, S.J. and Johnson, A.W. (1976) . Etiology and control of root diseases of spinach. Phytopathology 66: 1267-1273.
- 128) 武地誠一(1995). 二重底ガラス容器によるダイコ ン萎黄病の発病試験法. 土肥誌 66 : 61-64.
- 129) 武田眞一(1995). 岩手県におけるイネいもち病発

- 生の地域区分（岩手県立農業試験場, 平成7年度病害虫防除に関する試験成績). 岩手農試資料 7-No.15 : 24-47.
- 130) 竹原利明 (1992). 糸状菌における *nit* 変異株の作出と利用. 植物防疫 46 : 395-399.
- 131) 竹原利明・國安克人 (1994). *nit* 変異株を用いたフザリウム病の発生生態の解明Ⅱ. *Fusarium oxysporum* の *nit* 変異菌株の選択分離培地を用いた分離. 日植病報 60: 705-710.
- 132) 棚橋一雄 (1988). 岐阜県におけるホウレンソウ土壌病害の発生実態. 植物防疫 42: 487-491.
- 133) 棚橋一雄 (1990). ホウレンソウの苗立枯れに対するレンパレン水和剤の効果と使い方. 農薬研究 37: 41-46.
- 134) 手塚信夫・牧野孝宏 (1991). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるイチゴ萎黄病の生物的防除. 日植病報 57:506-511.
- 135) Thornton, A. B. and Correll, J. C. (1993). Randomly amplified poly-morphic DNA analysis of *Fusarium oxysporum* associated with spinach. Phytopathology 83: 1368.
- 136) 津田和久・小坂能尚・古賀博則・津下誠治・久保康之・堀野修 (1998). ホウレンソウ根部より分離された数種の細菌によるホウレンソウ萎ちよう病の防除効果(講要). 日植病報 64: 338-229.
- 137) 柚木利文・江塙昭典・守中正・桜井義郎・篠田治躬・鳥山国士 (1970). いもち病に対するイネ品種の抵抗性に関する研究(第4報) 園場抵抗性の菌系による変動. 中国農試報 E6: 21-41.
- 138) 綿原考夫 (1985). ホウレンソウ(清水茂監修「訂正追補野菜園芸大事典」). 養賢堂, 東京, pp.1325-1338.
- 139) 渡辺健・千葉智胤・小川奎 (1994). 非病原性 *Fusarium oxysporum* の作物生育促進効果(予報)(講要). 日植病報 60: 335.
- 140) 渡辺健・戸嶋郁子・小川奎 (1991). トマト萎ちよう病に対する非病原性フザリウム菌の定植前接種方法の検討. 関東東山病虫研報 38: 85-87.
- 141) 渡辺健三・富江典子・森茂樹 (1985). 夏どりホウレンソウ萎ちよう病対策としての土壌消毒とフザリウム菌量の推移(講要). 関西病虫研報 27: 64.
- 142) 山本幸彦・小野剛士・豆塚茂実(1994). 野菜栽培におけるセル成型苗の利用 第3報 セルの大きさと葉菜類の作付回数. 福岡農総試研報 B 13: 15-20.
- 143) Zegerman, M., Couteaudier, Y., Alabouvette, C. and Pave, A. (1987). Modélisation du processus de compétition nutritive entre microorganismes : application aux *Fusarium*. Agronomie 7: 797-806.
- 144) Zuniga, T.L., Zitter, T.A., Gordon, T.R., Schroeder, D. T. and Okamoto, D. (1997). Characterization of pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* causing Fusarium wilt of melon in New York. Plant Dis. 81: 592-596.

Studies on Fusarium Wilt of Spinach.

Kazunori KATSUBE

Summary

The outbreak of soil-borne diseases inflicts economic damage on spinach cropping. In this study, the incidence of soil-borne diseases of spinach was surveyed at major cropping areas in Iwate prefecture. It was revealed that Fusarium wilt of spinach, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*, has been the most serious disease. Based on these results, distinctive incidence of Fusarium wilt among cropping areas was analyzed by comparing the isolation rate of pathogenic fungi and distribution of vegetative compatibility groups with nitrate non-utilizing (*nit*) mutants. Finally, control methods were researched without chemical fungicides. Results obtained were as follows.

1. Surveys of incidence of soil-borne diseases of spinach at major cropping areas in Iwate prefecture

At major cropping areas such as Tono, Nishine and Yamagata, outbreaks of soil-borne diseases of spinach were observed from June to September at the harvesting periods, that is, Fusarium wilt, root rot, damping-off and foot rot. The incidence of outbreaks distinguished the areas as follows. In Tono, incidence of Fusarium wilt and root rot disease was recognized. In Nishine, incidence of root rot disease was mainly recognized, and Fusarium wilt was also observed. And in Yamagata, although incidence of soil-borne disease was not abundant, incidence of Fusarium wilt was observed. Damping-off was not abundant and foot rot was hardly observed. The relationships between these distinctive incidence and soil-type, or continuous cropping years were not founded. However, Fusarium wilt disease was most important for spinach cropping because the outbreak of this disease has been observed in different many areas.

2. Establishment of the methods for pathogenicity test of *Fusarium oxysporum* isolated from wilted spinach

The methods for the pathogenicity test of *F. oxysporum* isolated from spinach were studied. The inoculated density to soil for disease incidence was 10^2 colony forming units / g of soil (cfu), and 10^4 cfu was needed for disease development. In this case, the disease development using a budcell suspension for inoculum was used as well as using conidia in infested soil. The most susceptible growth period of spinach for pathogenic fungi was at the emergence-cotyledon period, and then disease severity was higher than inoculation at the sowing period or after 2 – 4 leaves had developed. The most sensitive spinach cultivars were cv. 'Okame', 'Magic' and 'Oracle', because these varieties wilted without differences in severity against all tested pathogenic isolates. The next method of pathogenicity test was simple and was suited to test many isolates isolated from wilted spinach as follows. Spinach seedlings were grown to the emergence-cotyledon period in a nursery on a plug tray (128 cells, using mixed soil for plug seedlings), and then were drenched evenly with budcells suspension (10^7 – 10^8 budcells/ml). After 2 – 3 weeks, the pathogenicity of isolates were assessed with the simple disease rating that surveyed them on the whole of the treatment. The isolation rates of pathogenic *F. oxysporum* obtained from wilted spinach in major cropping areas were investigated with the above pathogenicity test. It was found that the isolation rate was high in Tono (91.7%) and Yamagata (69.0%), but the rate was low in Nishine (45.3%), a result that approximately agreed with survey incidence of Fusarium wilt at major spinach dropping areas.

3. Distribution of vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* recovered from wilted spinach

Geographic distribution and population structure of mono-cultured spinach of Japanese isolates of *F. oxysporum* f.sp. *spinaciae* in Japan and Iwate prefecture were studied on the basis of vegetative compatibility groups (VCGs) with *nit* mutants and pathogenicity tests. VCG0330 and 0331 are distributed widely in Japan. Although, VCG0332 was detected only in one prefecture from which many isolates were tested, VCG0332 must also be present in other prefectures because VCG0332 is distributed widely in Iwate prefecture. In every case such as in Japan, Iwate, major cropping areas and a field, VCG0330 existed preferentially and VCG0331 and 0332 were minor groups. In the field, isolates of *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* had diversity with one major VCG and other minor groups. Seasonable variation of VCGs composition in Iwate prefecture was found. Although the composition rate of minor groups, VCG0331 and 0332, had reached a peak in summer cropping, these isolates could not be detected in autumn cropping. On the other hand, the rate of the major group VCG0330 gradually became higher as continuous cropping was increased. VCG0330 may be easy to spread with the above condition. Optimum growth temperatures of standard isolates of 3 VCGs were equal at 20 – 30°C. Pathogenic isolates which were not compatible with the three pathogenic VCGs nor with pathogenic isolates were found widely in Iwate prefecture, Japan.

4. Evaluation of spinach cultivars for resistance to Fusarium wilt disease applying pathogenicity test

The established method for the pathogenicity test of *F. oxysporum* isolated from wilted spinach was applied to the evaluation of spinach cultivars for resistance to Fusarium wilt. The differentiation of variety resistance was observed with the inoculation method with the following conditions. Inoculum density was prepared at 10^5 – 10^6 budcells/ml, and then the seedlings were inoculated with isolates using a repeating syringe. Resistance was classified into 5 levels by a frequency distribution with an average disease index of 25 cultivars, inoculated with 5 isolates of pathogenic fungi, respectively. Comparative cultivars were decided at respective resistant levels for relative evaluations and were as follows. 'Highly resistant': 'Ujo' ; 'Lightly resistant': 'Atras' or 'Solomone' ; 'Intermediate': 'Baltic' and 'Active' ; 'Slightly susceptible': 'Munsterland' and 'Okame' ; 'Highly susceptible': 'King of Denmark' and 'Magic'. The host-pathogen interaction was statistically significant at the 1% level on the analysis of variance in disease severity. However, the interactive variance ratio was small in comparison with variations in fungal virulence and host resistance.

5. Control methods of Fusarium wilt of spinach

[1] Biological control of Fusarium wilt of spinach with non-pathogenic *F. oxysporum*

Many isolates of *F. oxysporum* were recovered from spinach grown in the field infested with Fusarium wilt pathogen. Non-pathogenic strains were included in these isolates. Non-pathogenic *F. oxysporum* isolates S3HO3, S1HI1-w, 970211, 970481, 970576 and 970600 showed cross-protection against *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* when isolates were inoculated by soil-application before infestation with the pathogen. *F. oxysporum* isolate S3HO3 was mainly used for development of control methods. Non-pathogenic *F. oxysporum* isolate must be inoculated into soil before infestation with pathogenic fungi. An inoculum density of more than 10^4 bud-cells / g of soil and 10 – 100 times the pathogen inoculum density was required for the soil-application of bud-cell suspension. This cross-protection, however, did not continue through the harvesting. In order to extend the duration of disease suppression, pre-treatment of spinach seedlings with non-pathogenic *F. oxysporum* S3HO3 was combined with subsequent transplanting to reduce disease development. The most effective pre-treatment method for seedlings was mixing a bud-cell suspension (10^6 cfu / dry soil g) with nursery soil before sowing and then growing seedlings for 15 days before transplanting. Disease suppression then lasted through harvesting

with a high protective value when pre-treated seedlings were transplanted in infested soil. Non-pathogenic *F. oxysporum* S3HO3 was not pathogenic for spinach and many other vegetable crops. A practical control test of Fusarium wilt of spinach by transplanting seedlings pre-treated with non-pathogenic *F. oxysporum* was assessed in the natural infested field. The protective effect of this method was even greater than that obtained by direct sowing, and more effective than transplanting without non-pathogenic *F. oxysporum*. And that was as effective as solar heating sterilization in a closed green plastic house in summer. The protective effect lasted through harvesting. These results suggest that control of Fusarium wilt of spinach by transplanting culture with non-pathogenic *F. oxysporum* should be practical. In addition, non-pathogenic *F. oxysporum* was able to suppress not only Fusarium wilt but also *Pythium* damping-off on spinach and other pathogenic fusaria of cucumber, melon, watermelon, radish and garland chrysanthemum when non-pathogenic *F. oxysporum* was added to the soil before inoculation of respective plant pathogens. Furthermore, the mechanisms of disease suppression by non-pathogenic *F. oxysporum* were studied. The mechanical plugging of wounds with bud-cell pellets of non-pathogenic *F. oxysporum* induced the cross-protection in spinach plants. The culture broth filtered with a 0.45 μ m mesh membrane filter had the ability to inhibit pathogen growth, such as the inhibition of conidia germination or the elongation of germtubes. Finally, the result of the prosperity and decay of both densities of non-pathogenic *F. oxysporum* and pathogen in root tissue suggests that competition with each fungus has appeared in spinach root tissue. This is because colony formation of non-pathogenic *F. oxysporum* recovered from healthy spinach root tissue was more than that of pathogen, but colony formation of non-pathogenic *F. oxysporum* recovered from diseased root tissue was less than that of pathogen. In addition, the detected period of pathogen from root tissue inoculated with non-pathogenic *F. oxysporum* was later than the one without non-pathogenic *F. oxysporum*. These result suggest that competition has appeared in spinach root between non-pathogenic *F. oxysporum* and pathogenic *F. oxysporum*.

[2] Control of Fusarium wilt of spinach by solar heating sterilization in the closed plastic house

In Iwate prefecture, solar heating sterilization has not succeeded before. The reason for this failure was considered to be the difficult of raising the soil temperature. In order to address this problem, mulching plus plastic film used to raise the effective soil temperature (40°C at depth of 10cm), and no cultivation after sterilization to avoid confusion of sterilized soil and non sterilized soil, were studied in the naturally infested field. Solar heated sterilization was applied from June 26 to July 25 and there were 131 hours of the effective soil temperature. High protective effect was observed for this treatment before summer harvesting. The daily hours of the effective soil temperature correlated with the sunshine duration time of the meteorological observation point in Tono (AMeDAS observation point). The above result suggests that solar heating sterilization is also a practical control method during June and July in Iwate prefecture.

[3] Effect and durability of disease suppression of Fusarium wilt of spinach by soil-application with composted chitin materials

Composted crab shells were used for suppression of Fusarium wilt of spinach in this study. In pot level and the field level studies, disease suppression with soil application of this material after soil sterilization has been higher than without soil sterilization and with no application. In another field, the applying condition was studied. The most effective disease suppression was observed through harvesting when the composted crab shell material has been applied to soil every year. The soil sterilization was treated in the first year, but has not been needed after the next year. An increase in disease was observed in the no application year when an alternative year application system was used. These results suggest that composted crab shells must be applied to the soil every year to suppress Fusarium wilt of spinach in a field.