



Title	アズキ萎凋病に関する研究
Author(s)	近藤, 則夫
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 19(5), 411-472
Issue Date	1995-12-26
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/12168
Type	bulletin (article)
File Information	19(5)_p411-472.pdf



[Instructions for use](#)

アズキ萎凋病に関する研究*

近藤 則 夫

(北海道大学農学部植物寄生生物学講座)

(平成7年9月29日受理)

Studies on Adzuki Bean Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola*

Norio KONDO

(Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo 060, Japan)

目 次

- I. 緒 言
 - II. 研究史
 - III. アズキ萎凋病の発生状況と病原菌
 - A. 発生実態
 - B. 病徴, 発生消長及び収量に対する影響
 - a. 発生消長と発病
 - b. 収量に対する影響
 - C. 分化型とレース
 - a. 宿主範囲の検討
 - b. 近縁分化型との比較
 - c. レースの存在
 - D. アズキの齢と発病
 - E. 考 察
 - IV. アズキ萎凋病菌の遺伝学的分類
 - A. 体細胞和合性群による分類
 - B. 分子遺伝学的分類
 - C. 考 察
 - V. 生態と防除
 - A. アズキ萎凋病菌の分布
 - a. レースの分布
 - b. 十勝地方の土壌における病原菌存在の検討
 - c. 非耕地土壌中でのアズキ萎凋病菌生存の有無
 - B. アズキ萎凋病菌の土壌中での生存
 - a. 連作土壌中の菌密度変動
 - b. 土壌中厚膜孢子密度と発病
 - c. 土壌中における厚膜孢子的形成
 - d. 罹病残渣中での生存
 - e. アズキ萎凋病菌の各種植物根への侵入および根圏土壌中菌密度
 - C. アズキ萎凋病菌の分布に影響する要因
 - a. 種子伝染
 - b. 十勝土壌への罹病茎の混入
 - c. 土壌凍結と厚膜孢子的の生存
 - D. 連輪作とアズキ萎凋病の発病
 - a. 非宿主作物がアズキ萎凋病の発病と土壌中菌密度に及ぼす影響
 - b. 作物栽培歴とアズキ萎凋病菌の菌密度
 - c. アズキ萎凋病菌密度と発病に及ぼす水稲栽培の影響
 - d. 土壌消毒
 - E. 考 察
- VI. 抵抗性品種の探索
 - A. 抵抗性母本の探索
 - B. レース3による抵抗性母本選抜
 - C. 圃場検定
 - D. 幼苗検定による選抜
 - E. アズキ萎凋病抵抗性の遺伝子分析
 - F. 考 察
- VII. 総合考察
- 摘 要
謝 辞
引用文献
Summary

* 北海道大学博士論文 (1995)

I. 緒 言

北海道におけるアズキは畑作専業の十勝地方での栽培が主体であったが、1970年代からの水田利用再編対策の進展に伴い、空知、石狩、上川地方の水田転換畑での作付けが大幅に拡大した⁹⁷⁾。高い土壌水分あるいは湿潤状態になりやすい転換畑で問題となる病気として考えられたのが、*Phytophthora vignae* によるアズキ茎疫病^{41,99)}であり、その対策の1つが抵抗性品種「寿小豆」の奨励であった⁹⁷⁾。「寿小豆」の作付け面積は1974年には14.3%、アズキ茎疫病が報告された1976年頃には20%程度となった。

このような中、1983年にアズキが急激に萎凋し、立ち枯れる「アズキ急性萎凋症」が石狩郡新篠津村の「寿小豆」にはじめて発見され⁴²⁾、激発地では7月末に全株枯死など惨状を呈した。1984年には深川市などでも発生が認められ、1985年の発生面積は空地、石狩地方だけで2,000 haを越え、新たに上川地方でも発生が確認された⁴⁹⁾。

当初、この病気はアズキ立枯病として報告され⁴²⁾すでに立枯病の病原菌として *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* が報告されていたにもかかわらず、新しい分化型 (*F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*) として報告されるなど混乱もあったが、その後、本論文で明らかにするように、アズキの新病害「アズキ萎凋病」と命名され⁵²⁾、今日まで研究が続けられている。本病の病原菌は土壤伝染性糸状菌である *Fusarium oxysporum* であるが、この病気はその激しさと数年に亘って土壤中に病原菌が生存することなど防除の困難さから、アズキの重要病害であるアズキ落葉病に匹敵するほどアズキ生産に多大な影響を与えると予想された。

本病の防除対策試験として1985年から3年間、道立中央農業試験場と道立衛生研究所で生物農薬探索試験を行い、生物的防除法の確立を目指した⁴⁷⁾。この試験研究の中で本病原菌に対し有効な細菌、放線菌を同定し、この微生物が産生する拮抗性物質を単離するなど興味深い結果が得られた。しかし、温室内ではその効果が高かったものの、圃場での効果の判定にはさらに検討が必要であるとされ、実用性を欠いた。

本研究は、アズキ萎凋病菌の北海道内における分布、レース構成、生態を明らかにすることにより、

抵抗性品種の利用を含めた防除法確立のための基礎的知見を得る目的で行ったものである。

II. 研究 史

A. 北海道におけるアズキの萎凋、あるいは立枯症状に関する研究

北海道において、これまで報告されている代表的なアズキ (*Vigna angularis* (Wild.) Ohwi et Ohashi) の萎凋、立枯症状の原因には、アズキ落葉病、アズキ茎疫病、アズキ立枯病およびアズキ茎腐細菌病があげられる⁶⁹⁾。その病原菌、症状などについては以下に示すように多くの研究があり、一般に病徴からそれらの区別は難しく、分離操作が必要となることが多い。そのため、これら病害を混同することが多々ある。

アズキ落葉病は1932年に初めて注目された病害⁹⁰⁾で、全道各地で発生したが、とくに1960年代後半から、主としてアズキ産地の十勝地方で大発生して問題となり¹⁾、その後上川地方でも発生面積が増加したが、アズキ畑の大部分は水田転換畑であることから、水田に戻す湛水化による防除の可能性があった。実際、3か月湛水することでアズキ落葉病菌はほとんど死滅することが分かっている⁹⁰⁾。しかし、十勝地方は純畑作地域が多いため、この方法はとれず、輪作、抵抗性品種の利用により対応している。病原菌は最初 *Cephalosporium gregatum* とされ^{70,71)}、ダイズについて既に報告があった Brown Stem Rot⁹⁾の生態種の可能性があるとされた。その後、病原菌は *Phialophora gregata* とするのが妥当とされ²⁰⁾、寄生性試験の結果⁴⁵⁾ およびDNAの相同性比較試験から、アズキを侵す分化型は *P. gregata* f. sp. *adzukiicola* とされた¹¹¹⁾。

アズキ茎疫病は1977年、特に上川地方の水田転換畑で多発し問題となった⁹⁸⁾。この病原菌は、*Phytophthora vignae* f. sp. *adzukiicola* と命名され^{41,99)}、レースも明らかになっている。

また、アズキ立枯病は古くから報告のある病害^{28,29,33)}であるが、その病原については明確な結論は得られておらず、*Fusarium* sp. あるいは *F. oxysporum* とされ、アズキ立枯病として扱われたものにはアズキ茎疫病が存在していた疑いがあるなど、問題があった。この原因は、アズキ立枯病といわれる病気の症状は単一ではなく、茎腐れを主体とするものや、根腐れを主体とするものがあり、イン

ゲン根腐病菌による根腐れ、維管束褐変、アズキ茎腐細菌病、アズキ落葉病、アズキ莖疫病などとの関係を検討する必要があるとされてきた⁶⁹⁾。

そのような中、1983年に石狩郡新篠津村において、北沢・柳田⁴²⁾によりアズキの急性萎凋症状が発見され、アズキ立枯病として発表された。病原菌は *Fusarium oxysporum* であり、新しい分化型の可能性があるとされ、その病徴、発消長についても報告された⁴⁹⁾。その後、本病原菌は *Fusarium oxysporum* の新しい分化型 *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* と命名された⁴³⁾。しかし、すでにアズキ立枯病の病原菌は *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* とされていたことから、本症状に対してはアズキ立枯病という病名は用いるべきではなく、アズキ萎凋病とするのが妥当とされた。さらに本病原菌には3つのレースが存在することが明らかになった^{51,52)}。

防除法については、拮抗微生物を利用した生物学的防除法について検討され、*Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* から Chlororaphin, Phenazine-1-carboxylic acid, *P. cepacia* から pyrrol-nitrin, *Streptomyces flavus* から monazomycin like compound が単離された。これらの微生物はポット試験において高い発病抑制効果を示した³¹⁾。

B. *Fusarium oxysporum* の分類に関する研究

Fusarium 属菌の分類について最も基本となる仕事は、Wollenweber & Reiking¹⁰⁸⁾ による "Die Fusarien" である。これによると *Fusarium* 菌は、16 亜属 (section), 65 種, 55 変種, 22 型にまとめられ、その後の各分類体系の基礎となった。1940年代には Snyder & Hansen^{86,87,88)} の分類体系が発表され、種を著しく広い概念でとらえ8種とし、その下に病原性を基本とした34分化型 (forma specialis) を提唱した。その後 Raillo⁷⁹⁾, Bilay⁸⁾, Gordon²²⁾, Booth⁹⁾, Joffe³⁴⁾ などが新分類を発表した。これらの分類では、種のほかは変種を設けてかなり細分し、Wollenweber の後継者と目される Gerlach & Nierenberg²¹⁾ は、78種または変種を上げている。これらは Snyder & Hansen の分類体系とは基本的に異なる立場のものであるが、この中で一般的なものは Booth の分類体系である。一方、Snyder & Hansen の分類体系を発展させたものとして、Toussoun & Nelson⁹⁴⁾, Messian & Casini⁶⁸⁾, Matsuo⁶⁵⁾ の分類がある。Snyder & Hansen の分類体系は、分化型とレースの確立という植

物病理学にとっては極めて都合が良い反面、菌学的には不十分であったが、Nelson *et al.*⁷²⁾ は、孢子形成細胞とその形成様式のような形態的な面も重視することで Snyder & Hansen の分類をより厳密にした。これは実際的な同定に有効なように伝統的な菌類分類に忠実な分類体系の長所を生かし、上にあげた各分類体系の中の種名を交互に検索できるようにしたものである。

Fusarium oxysporum は、現在120以上の分化型とレースを含み、それぞれ宿主特異性を示す⁹⁾ ことが知られている。これらの決定には接種試験が欠かせないが、病原性は温度¹⁰⁷⁾、宿主の齢³⁰⁾、そして接種方法⁵³⁾ に影響される。また、菌類遺伝学に基づく、体細胞和合性 (VCG) による *F. oxysporum* の分類が試みられた^{16,78)}。また、そのほか宿主・病原交互作用を用いないで分類する方法としては、免疫学的分類¹⁰⁹⁾、制限酵素断片長多型 (RFLP) による分類⁹⁸⁾、DNA-DNA 再会合反応速度解析による分類⁵⁴⁾ などによる遺伝的類縁性の比較研究が主流となってきた。*Fusarium oxysporum* のリボソーマル DNA は高度に保存され変異がほとんどないとされ³⁸⁾、種あるいは亜種のレベルでの分類は困難とされた。一方、ミトコンドリア DNA (mtDNA) は、抽出の簡便さと DNA 分子の都合の良い大きさにより RFLP 解析に好適で、mtDNA、レース、VCG 間の関連性についていくつか報告があり、分化型ごとに特有な関係が認められている^{38,58)}。最近迅速簡単に分化型間のみならず、レースの判別もできる RAPD 法 (Random Amplified Polymorphic DNA) が利用されるようになってきた⁶¹⁾。

III. アズキ萎凋病の発生状況と病原菌

A. 発生実態

1983年に石狩支庁管内新篠津村水田転換畑で多発したのを初めとして、石狩支庁管内では当別町、江別市、空知支庁管内では深川市、美瑛市、浦臼町、月形町、北村、岩見沢市、栗沢町、長沼町、南幌町、上川支庁管内では美深町、士別市、風連町、剣淵町、比布町、和寒町、旭川市、美瑛町、上富良野町、中富良野町、胆振支庁管内では鶴川町、後志支庁管内では倶知安町、黒松内町で発生が確認された (図1, 表1)。1985年にはその発生面積は石狩、空知支庁管内で2,000 ha を超え、1989年には発生面積約6,000 ha、被害面積440 ha で総アズキ栽培

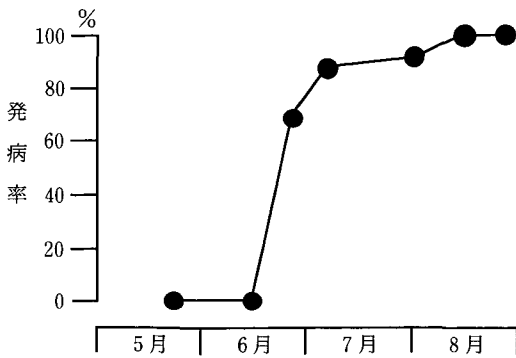


図2 アズキ萎凋病の発生病消長(ハヤテショウズ)
Fig. 2 Seasonal change of the incidence of adzuki bean wilt (Hayate-shozu)

感受性の品種の発病は、播種してからほぼ1月後の6月下旬から見られ(図2),「ハヤテショウズ」,「寿小豆」などの罹病性品種は、播種してから1月半から2月で90~100%発病した。一方,「宝小豆」,「エリモショウズ」などはこれら品種よりやや遅れ,2月半程で80~90%程度に達した。「ハツネショウズ」の発病率は2月半経過しても13%程度で,最終的に30%程度であった(図3)。

発病初期には初生葉が縁から黄化し,しだいに葉脈にえそが現れる。本葉には葉脈えそのほかに萎縮症状が現れるが,「ハヤテショウズ」,「寿小豆」に比べて症状が現れるのに時間がかかる「エリモショウズ」のように葉脈のえそが明確ではなく,萎縮症状が顕著な品種もある。ときには水浸状の褐色斑紋が現れることもある。最終的には病株全体の葉がしおれ,枯れ上がってくる。茎を切断すると維管束が褐

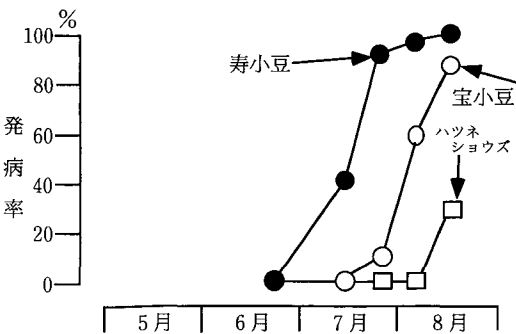


図3 アズキ萎凋病の発生病消長
Fig. 3 Seasonal change of the incidence of adzuki bean wilt

変しており, 導管には菌糸が充満している。茎あるいは葉柄の維管束褐変が激しくなると, 茎表面も褐変する。さらに症状が進展すると落葉し, 枯死する。枯死株の茎の表面には白桃色のスポロドキアを形成する。

b. 収量に対する影響

材料と方法

1987年5月28日, 新篠津村多発生圃場において「光小豆」,「宝小豆」,「寿小豆」を播種した。1区18 m²(7.5 m×2.4 m)4畝, 2本立てとし, 2反復した。9月29日に刈り取り乾燥後脱穀した。

結果

「寿小豆」は, 8月までに草丈が10~15 cm程度までしか生長せず100%枯死し, 収穫は皆無であった。「宝小豆」も収穫時の発病率が45%で, 収量は10 a 当り33.3 kgと少なかった。一方,「光小豆」は発病率は30%であったものの188.9 kgの収量が得られた(表2)。

無発病区との比較はできなかったが,「寿小豆」のように生育初期から発病率が高く, 発病株のほとんどが枯死する弱い品種は収穫皆無となるなど, 著しい被害を与えることは明らかである。

C. 分化型とレース

北沢, 柳田⁴²⁾は, アズキ, インゲンマメ, ペニバナインゲン, リョクトウ, ササゲ, ダイズ, ソラマメ, エンドウ, ライマメにアズキから分離した *Fusarium oxysporum* 菌を接種し, 本菌はアズキのみに病原性を示すことを明らかにし, さらに *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* を供試して, それらに対するアズキ, インゲンマメ(ブラジル産を含む), ササゲの反応の結果から, この新しい病害は上記2分化型と異なるとし, 病名をアズキ立枯病, 分化型 *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl:

表2 アズキ萎凋病多発生圃場における発病と収量
Table 2 The incidence of adzuki bean wilt and the yield

品 種	発病率	収量(kg/10a)
寿小豆	100% (240/240) ^{a)}	0.0
宝小豆	45 (108/240)	33.3
光小豆	30 (72/240)	188.9

a) 発病株数/供試株数

No. of plants diseased/no. of plants examined.

Fris f. sp. *adzukicola* Kitazawa et Yanagita を提唱した。

本試験ではまず、マメ科以外の各種作物及びアズキに近縁の *Vigna* 属植物に対する病原性から宿主範囲、各種マメ科作物に病原性を有する各分化型のアズキに対する反応を再度調べた。

また、*F. oxysporum* の多くの分化型にはレースが存在することが知られている。本病菌の場合にも、様々なアズキ品種の反応から、レースの存否を確認した。さらに接種試験と圃場でのアズキ品種の反応を比べることにより、スクリーニング法としての幼苗接種法の有効性を検討した。

a. 宿主範囲の検討

材料及方法

土壌接種法による各種作物の反応

菌株 FA 5 (美唄市の発病株から分離) をジャガイモしょ糖寒天培地 (PSA) 上で 25°C 1 週間培養し、滅菌水に懸濁後 3500 rpm, 10 分間遠沈して再懸濁した分生孢子懸濁液を土壌に混和 (濃度 10⁵/g 乾土) して素焼鉢につめた。アズキを含む 18 種 (表 3) の

植物の種子を 3% 次亜塩素酸ナトリウムで表面殺菌し、滅菌水で洗浄後播種し、温室に静置して 28 日後に発病の有無を調査した。また、同様にして得た菌株 FA 3 (美唄市の発病株から分離) の分生孢子懸濁液を土壌に混和 (濃度 10⁵/g 乾土) して素焼鉢につめ、アズキ 3 品種、インゲンマメ 10 品種、ペニバナインゲン 1 品種の種子 50 粒を供試し、温室において発病の有無を確かめた。

幼苗接種法

菌株 KF 646 (新篠津村の罹病アズキから分離) を PSA で培養し、同様にして得た濃度 10⁴, 10⁵, および 10⁶/ml のそれぞれの懸濁液を用意した。パーミキュライトに 25°C で 7~10 日間育て、初生葉が展開したアズキ幼苗を抜き取り、根を水でよく洗い、用意した各濃度の分生孢子懸濁液に 1 時間浸漬し、無病土をつめたポットに移植して 40 日後に発病程度を比較した。なお、各処理において 12~15 本のアズキを供試した。

発病程度 (Disease Severity Index: DSI) は接種各個体の発病の程度によって (0) 発病指数 1: 無発

表 3 各種作物に対するアズキ萎凋病菌の病原性^{a)}

Table 3 Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola* to several species of plants in a soil-inoculation experiment

供 試 作 物	品 種	供試個体数	発病数
アズキ	<i>Vigna angularis</i>	30	30
インゲンマメ	<i>Phaseolus vulgaris</i>	21	0
ダイズ	<i>Glycine max</i>	21	0
ナス	<i>Solanum melongena</i>	53	0
トマト	<i>Lycopersicon esculentum</i>	57	0
キュウリ	<i>Cucumis sativas</i>	60	0
メロン	<i>Cucumis melo</i>	30	0
ユウガオ	<i>Lagenaria siceraria</i>	21	0
スイカ	<i>Citrullus lanatus</i>	57	0
ネギ	<i>Allium fistulosum</i>	57	0
タマネギ	<i>Allium cepa</i>	66	0
イネ	<i>Oryza sativa</i>	60	0
コムギ	<i>Triticum aestivum</i>	60	0
エンバク	<i>Avena sativa</i>	51	0
トウモロコシ	<i>Zea mays</i>	30	0
ダイコン	<i>Raphanus sativus</i>	59	0
ハウレンソウ	<i>Spinacia oleracea</i>	54	0
ニンジン	<i>Daucus carota</i>	30	0

- a) 接種試験は菌株 FA5 (美唄市で分離) の孢子を 10⁵/g 乾土に調製して行った。結果は接種後 28 日目に測定した。In this test, isolate FA5 from Bibai was used with the concentration of 10⁵ spores/g dry soil. The number of diseased plants was determined 28 days after inoculation.

表4 アズキ萎凋病菌のインゲンマメに対する病原性
Table 4 Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukiicola* to Kidney bean

供 試 植 物	品 種	発病率(%)
インゲンマメ <i>Phaseolus vulgaris</i>	虎豆	0
	大正金時	0
	大手亡	0
	白金時	0
	姫手亡	0
	Black Valentine Bush	0
	Navy Bean	0
	Rossinha	0
	Red Kidney Bean	0
	Top Crop	0
	ベニバナインゲン アズキ	<i>Phaseolus coccineus</i> <i>Vigna angularis</i>
		0 100 43 0

病，維管束の褐変なし，(1)発病指数10：外部病徴は認められないが維管束の褐変のみあり，(2)発病指数 2×10^2 ：葉脈えそ，葉の黄化などの外部病徴が認められ，維管束の褐変あり，(3)発病指数 10^3 ：枯死，をそれぞれ与え，次の式によって計算し， $DSI > 1$ を罹病性， $DSI \leq 1$ を抵抗性と判定した。

$$DSI = \log \{ \text{平均発病指数} \}$$

アズキ萎凋病発病土における各種マメ科作物の反応

1987年4月に採取した新篠津村および深川市圃場の病土を $50 \times 70 \times 45$ cmの箱につめ，表6，7のような9種のマメ科作物を対照の「寿小豆」と交互にまいた。50日後に各作物の発病調査並びにと胚軸(冠部)からの*F. oxysporum*の分離を駒田培地⁽⁴⁹⁾を用いて行った。分離された*F. oxysporum*単孢子分離株は幼苗の浸漬接種法によりアズキ萎凋病菌か否かを判定した。

発病圃場における各種マメ科作物の反応

1988年6月2日，あるいは7月21日に新篠津村圃場に表8のようなマメ科作物9種をまき10月6日に発病を調査し，同様にアズキ萎凋病菌の感染について調べた。

結 果

土壌接種法において，本菌はアズキのみに病原性を有することが明らかになった(表3)。本菌はアズキ以外の17属の植物には病気を起こさず，さらにインゲンマメ，ベニバナインゲン各品種に対しても

病原性はなく，*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*とは異なる分化型に属することが確認された(表4)。

分生孢子による浸漬接種によって，自然発病と同様に初期には葉脈えそ症状が見られた。接種濃度が 10^5 /ml ($DSI=1.95$)， 10^6 /ml ($DSI=2.79$)のとき「寿小豆」に発病が認められ， 10^4 /ml ($DSI=0.60$)では僅かに維管束褐変のみが見られた(表5)。一方，「光小豆」はいずれの濃度でも発病は認められなかった。以上のことより，浸漬接種における分生孢子の濃度は 10^6 /ml以上が適当であると考えた。

新篠津村，深川市の発病圃場から採取した病土において，供試した9種のマメ科作物には全く異常は認められなかった(表6，表7)。リョクトウ，ササゲ，ダイズに高率で*F. oxysporum*が感染してお

表5 アズキ萎凋病菌の孢子濃度とアズキの発病程度(DSI^{a)})

Table 5 Effect of inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukiicola* on severity of adzuki bean

孢子濃度 (孢子/ml)	品 種		
	寿小豆	宝小豆	光小豆
0	0.00	0.00	0.00
10^4	0.00	0.60	0.00
10^5	1.95	1.70	0.30
10^6	2.79	2.50	0.48

a) Disease Severity Index

表6 アズキ萎凋病発病土(新篠津土壌)における各種マメ科作物の発病^{a)}とそれらの胚軸(茎)から分離される *Fusarium oxysporum* の病原性

Table 6 Frequency of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in the isolates from leguminous plants cultivated in diseased soil (Shinshinotsu) with adzuki bean wilt^{a)}

マメ科作物	発病 ^{b)}	胚軸(茎)からの <i>F. oxysporum</i> の分離 ^{c)}	萎凋病菌 の割合 ^{d)} (%)	寿小豆の 発病 ^{b)} (対照)
緑豆	0/15	14/15	0/14 (0.0)	25/27
十六ササゲ	0/15	15/15	0/15 (0.0)	24/28
赤種三尺ササゲ	0/15	15/15	0/15 (0.0)	20/28
大正金時	0/15	15/15	0/15 (0.0)	23/28
改良早生大福	0/14	14/14	0/14 (0.0)	17/26
白鶴の子	0/13	13/13	0/13 (0.0)	28/28
三十日絹莢エンドウ	0/13	4/14	0/4 (0.0)	28/31
アカクロバ	0/33	8/33	0/8 (0.0)	25/26
シロクロバ	0/21	4/21	1/4 (25.0)	26/26

a) 試験は病土を箱につめて実施した

Seeds of the crops were planted in the naturally infested soil in 50×70×45cm plastic boxes. Seeds of Kotobuki-shozu were also planted in the same boxes as control.

b) 発病本数/調査本数

No. of plants diseased/no. of plants tested.

c) *F. oxysporum* が分離された胚軸(茎)数/供試胚軸(茎)数

No. of hypocotyls (stems) from which *F. oxysporum* were isolated/no. of hypocotyls (stems) tested.

d) アズキ萎凋病菌菌株数/供試 *F. oxysporum* 菌株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/no. of isolates of *F. oxysporum* tested.

表7 アズキ萎凋病発病土(深川土壌)における各種マメ科作物の発病^{a)}とそれらの胚軸(茎)から分離される *Fusarium oxysporum* の病原性

Table 7 Frequency of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in the isolates from leguminous plants cultivated in diseased soil (Fukagawa) with adzuki bean wilt

マメ科作物	発病 ^{b)}	胚軸(茎)からの <i>F. oxysporum</i> の分離 ^{c)}	萎凋病菌 の割合 ^{d)} (%)	寿小豆の 発病 ^{b)} (対照)
緑豆	0/15	12/15	0/12 (0.0)	19/24
十六ササゲ	0/15	14/15	0/14 (0.0)	14/27
赤種三尺ササゲ	0/10	7/10	0/7 (0.0)	15/24
大正金時	0/15	10/15	0/10 (0.0)	23/24
改良早生大福	0/15	15/15	0/15 (0.0)	31/31
白鶴の子	0/15	10/15	0/10 (0.0)	20/23
三十日絹莢エンドウ	0/15	5/15	0/5 (0.0)	25/26
アカクロバ	0/30	5/30	0/5 (0.0)	26/27
シロクロバ	0/25	13/25	4/13 (30.8)	27/28

a) 試験は病土を箱につめて実施した

Seeds of the crops were planted in the naturally infested soil in 50×70×45cm plastic boxes. Seeds of Kotobuki-shozu were also planted in the same boxes as control.

b) 発病本数/調査本数

No. of plants diseased/no. of plants tested.

c) *F. oxysporum* が分離された胚軸(茎)数/供試胚軸(茎)数

No. of hypocotyls (stems) from which *F. oxysporum* were isolated/no. of hypocotyls (stems) tested.

d) アズキ萎凋病菌菌株数/供試 *F. oxysporum* 菌株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/no. of isolates of *F. oxysporum* tested.

表8 圃場における各種豆科作物の各種マメ科作物の発病とそれらの胚軸(茎)から分離される *Fusarium oxysporum* の病原性

Table 8 Frequency of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola* in the isolates from leguminous crops cultivated in a diseased field

マメ科作物	発病 ^{a)}	胚軸(茎)からの <i>F. oxysporum</i> の分離 ^{b)}	萎凋病菌の割合 ^{c)} (%)
緑豆	0/55	9/10	0/8(0.0)
十六ササゲ	0/29	24/24	0/10(0.0)
赤種三尺ササゲ	0/21	11/11	1/11(9.1)
大正金時	0/32	17/17	0/11(0.0)
改良早生大福	0/20	13/13	0/7(0.0)
虎豆	0/14	7/8	0/8(0.0)
白鶴の子	0/28	1/1	0/1(0.0)
アカクロバ	0/32	24/50	0/10(0.0)
シロクロバ	0/13	30/35	0/10(0.0)

a) 発病本数/調査本数

No. of plants diseased/no. of plants tested.

b) *F. oxysporum* が分離された胚軸(茎)数/供試胚軸(茎)数

No. of hypocotyls (stems) from which *F. oxysporum* were isolated/no. of hypocotyls (stems) tested.

c) アズキ萎凋病菌菌株数/供試 *F. oxysporum* 菌株数
No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/no. of isolates of *F. oxysporum* tested.

表9 アズキ萎凋病発生圃場で生育したアカクロバ及びシロクロバからのアズキ萎凋病菌の分離

Table 9 Frequency of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in the isolates from red and white clover cultivated in a diseased field

作物	胚軸(茎)からの <i>F. oxysporum</i> の分離 ^{a)}	萎凋病菌の割合 ^{b)} (%)
アカクロバ	5/12	1/4 (25.0)
シロクロバ	2/14	0/2 (0.0)

a) *F. oxysporum* が分離された胚軸(茎)数/供試胚軸(茎)数

No. of hypocotyls (stems) from which *F. oxysporum* were isolated/no. of hypocotyls (stems) tested.

b) アズキ萎凋病菌菌株数/供試 *F. oxysporum* 菌株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/no. of isolates of *F. oxysporum* tested.

り、胚軸あるいは冠部からは *F. oxysporum* が分離されたが、シロクロバを除きアズキ萎凋病菌は検出されなかった。両土壌でシロクロバから分離される *F. oxysporum* の割合は他の作物に比べ少ない

ものの、アズキ萎凋病菌が約 25 あるいは 31% 検出された。

新篠津村発病圃場においては、シロクロバからはアズキ萎凋病菌は分離されなかったが、アカクロバ、赤種三尺ササゲからのみアズキ萎凋病菌が分離された。ただし、赤種三尺ササゲを含めて生育異常は認められなかった(表8, 表9)。以上のように本菌はシロクロバ、アカクロバ、赤種三尺ササゲに対して頻度は低いが寄生性が認められた。

b. 近縁分化型との比較

材料と方法

供試した菌株は深川市の発病株から分離した KF 843, American Type Culture Collection (ATCC) からの ATCC 18131, ATCC 42145, (*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*), ATCC 16608, ATCC 16609, ATCC 16610 (*F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*), および元北海道農業試験場佐藤倫造氏より分譲された FO 5 (*F. oxysporum* f. sp. *medicaginis*) である。

表10に載せた供試植物の、播種7日から10日後の幼苗をC-aの方法に準じ、 10^6 孢子/mlの濃度に調整した孢子懸濁液に1時間浸漬し、殺菌土をつめたポットに移植した。これらを温室内(18~33°C)におき、40日後に発病の調査をした。

結果

KF 843はアズキのほか、ヤブツルアズキ(*Vigna angularis* var. *nipponensis* (Ohwi) Ohwi et Ohashi)を侵し、葉には典型的な病徴である葉脈えそが現れて後に枯死した。しかし発病率20%と「寿小豆」より低かった(表10)。ケツルアズキ(*V. mungo* Hepper), ツルアズキ(*V. umbellata*), リョクトウ(*V. radiata* R. Wilczek)には病原性は認められなかった。アズキに対して *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* は、維管束褐変を示したのみで、外観症状は見られなかった。*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* はインゲンマメのほかササゲにも葉の黄化症状を示し発病率は低いながら病原性が認められた。一方、*F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* はササゲのほかインゲンマメに対して地上部の病徴は明確でなかったものの根腐症状を起こした。これら両分化型及び *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* はアズキに病原性がないことから、アズキから分離された *F. oxysporum* はアズキのみを侵す、極めて宿主特異性

表10 各種マメ科作物に対する *Fusarium oxysporum* 4分化型の病原性比較
 Table 10 Pathogenicity of four formae speciales of *Fusarium oxysporum* to leguminous species

作物	品種	<i>F. oxysporum</i> f. sp.						
		<i>adzukicola</i>	<i>phaseoli</i>		<i>tracheiphilum</i>			<i>medicaginis</i>
		KF843	ATCC 18131	ATCC 42145	ATCC 16608	ATCC 16609	ATCC 16610	FO5
アズキ	寿小豆	15/15 ^{a)} (+) ^{b)}	0/15 (+)	0/15 (-)	0/15 (+)	0/15 (-)	0/15 (-)	0/15 (-)
ヤブツル アズキ	—	2/10 (+)	0/10 (+)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)
ケツル アズキ	—	0/10 (-)	0/10 (+)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)
リョクトウ	小粒緑豆1号	0/10 (-)	0/10 (+)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)
	張家口緑豆	0/10 (-)	0/10 (+)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)
ツルアズキ	—	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)
ササゲ	十六ササゲ	0/10 (-)	3/10 (+)	0/10 (-)	0/10 (+)	0/10 (+)	4/10 (+)	0/10 (-)
	赤種三尺ササゲ	0/10 (-)	2/10 (+)	0/10 (-)	7/10 (+)	0/10 (-)	4/10 (+)	0/10 (-)
インゲン	大正金時	0/10 (-)	10/10 (+)	5/10 (+)	9/10 ^{a)} (-)	5/10 ^{a)} (-)	0/10 (-)	0/10 (-)
	改良早生大福	0/10 (-)	10/10 (+)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)
ダイズ	白鶴の子	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)
エンドウ	早生絹莢エンドウ	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)	0/10 (-)

a) 発病株数/供試株数

No. of plants diseased/no. of plants inoculated.

b) (+) 維管束の褐変が認められる。(-) 維管束の褐変が認められない。

(+) indicates vascular discoloration, (-) indicates no vascular discoloration.

c) 維管束褐変は認められないが根腐症状が現れた。

Root rot was observed, while vascular discoloration was not observed.

が高い新分化型であると考えられた。

c. レースの存在

材料と方法

罹病アズキから分離した菌株 KF 646, KF 895, KF 648, KF 1025 (新篠津村圃場産アズキから分離), F 285 (中富良野町圃場産アズキから分離) KF 654, KF 655, KF 843 (深川市圃場産アズキから分離)を用いて浸漬接種法により表 11 に示したアズキ 32 品種に接種し, その発病程度から抵抗性の有無を判定した。

また, 新篠津村圃場に各品種を 1 区 1.2 m², 株間 10 cm 1 粒まきで 2 反復播種し, 発病を調査して幼苗浸漬法による反応と比較した。

結 果

本菌には 3 つのレースが存在することが明らかになった (表 11)。レース 1 は「エリモショウズ」「寿小豆」「宝小豆」などを侵すが「光小豆」, 「ハツネショウズ」は侵すことができず, レース 2 は「光小豆」を, レース 3 は「ハツネショウズ」を侵す。「十育 123 号」, 「花小豆」, 「赤豆」, 「十系 325 号」, 「Acc 68 (岩在 54-22)」, 「円葉 (刈 63 号)」は, いずれのレースにも侵されない抵抗性の系統である。レースの判別品種として「十育 123 号」, 「ハツネショウズ」, 「光小豆」, 「寿小豆」を選び, 以後のレース検定に供試することとした。

なお, 圃場検定の結果から, いずれのレースに対しても抵抗性を示さない品種は, DSI が約 2.4~2.9 以上であることから, ほとんどの個体が外部病徴

表11 アズキ品種の幼苗検定と圃場検定の比較
 Table 11 Pathogenicity of adzuki bean cultivars and lines to inoculation with different isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukiicola*

品種, 系統	幼苗検定								圃場 ^{b)} 検定
	アズキ萎凋病菌株 ^{a)}								
	KF646	KF895	F285	KF648	KF654	KF655	KF843	KF1025	
花小豆 (刈154号)	0.00 R ^{c)}	...	0.00 R	...	0.20 R	...	0.24 R	0.20 R	0.09 R
赤豆	0.00 R	0.00 R	0.00 R	...	0.00 R	...	0.74 R	0.40 R	0.23 R
十育123号	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.24 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.28 R
十系325号	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.40 R	0.20 R	0.00 R	0.42 R
Acc68 (岩在54-22)	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.64 R
円葉 (刈63号)	0.00 R	...	0.00 R	...	0.00 R	...	0.00 R	0.00 R	0.85 R
ハツネショウズ	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.00 R	0.40 R	0.00 R	1.94 S	1.82 S	1.72 S
早生大粒1号	0.00 R	0.26 R	0.24 R	0.70 R	0.40 R	0.89 R	1.72 S	1.30 S	2.12 S
早生大納言 (女)	0.00 R	0.00 R	0.24 R	2.14 S	2.30 S	2.48 S	2.09 S	1.40 S	1.97 S
光小豆	0.40 R	0.00 R	0.00 R	1.28 S	1.33 S	1.57 R	1.74 S	2.50 S	1.74 S
十育122号	0.68 R	0.63 R	0.24 R	1.94 S	1.84 S	1.76 S	1.60 S	1.70 S	2.34 S
円葉1号 (刈71号)	2.11 S	2.05 S	2.07 S	...	2.00 S	...	2.73 S	2.70 S	2.36 S
小豆早生系-3	2.43 S	2.34 S	1.10 S	2.85 S	2.00 S	2.44 S
茶殻早生	2.47 S	2.25 S	2.34 S	...	3.00 S	2.85 S	2.34 S
小豆早生系-4	1.58 S	2.30 S	...	2.67 S	2.60 S	2.49 S
知北種 (I) (愛知)	1.94 S	2.15 S	1.91 S	...	2.78 S	2.34 S	2.62 S
剣-3	1.59 S	2.38 S	2.58 S	...	2.94 S	2.56 S	2.59 S
小豆 (W28)	2.07 S	2.40 S	2.04 S	...	2.90 S	2.71 S	2.53 S
小豆早生系-1	1.94 S	1.53 S	2.73 S	...	2.73 S	2.48 S	2.60 S
石野小豆 (更別)	2.07 S	1.45 S	2.54 S	...	2.87 S	2.48 S	2.71 S
十育120号	2.23 S	2.48 S	2.65 S	...	2.83 S	2.60 S	2.69 S
不詳 (13)	2.43 S	1.34 S	1.66 S	...	2.80 S	2.55 S	2.66 S
エリモショウズ	1.93 S	1.91 S	...	1.36 S	2.26 S	2.46 S	2.94 S	2.76 S	2.66 S
柴小豆	2.18 S	1.86 S	2.22 S	2.31 S	2.64 S	2.65 S	2.94 S	2.80 S	2.63 S
蔓小豆 (更別)	2.58 S	2.20 S	...	2.82 S	2.50 S	2.71 S
中納言 (刈47号)	2.48 S	2.50 S	...	2.75 S	...	2.73 S
中国在来1	2.26 S	2.60 S	...	2.78 S	2.70 S	2.74 S
小豆 (M2)	1.97 S	2.50 S	...	2.54 S	2.49 S	2.66 S
宝小豆	2.56 S	2.37 S	2.34 S	2.48 S	2.75 S	2.82 S	2.73 S	3.00 S	2.66 S
寿小豆	2.86 S	2.18 S	2.20 S	2.35 S	2.00 S	2.76 S	3.00 S	2.83 S	2.95 S
ハヤテショウズ	2.58 S	3.00 S	...	2.87 S	...	2.94 S
斑小粒系-1号	2.22 S	...	2.60 S	...	2.70 S	...	3.78 S	2.90 S	2.91 S

a) 接種菌量は 10^6 /ml.

Inoculum density was 10^6 spores/ml.

b) 圃場検定は1988年新篠津村発病圃場で行った。

The field test was conducted in 1988 at naturally infested field in Shinshinotsu.

c) 数字はDSI, R: 抵抗性, S: 罹病性を示す。

Disease severity rating (DSR) was determined 40 days after inoculation using a scale of 1=no symptoms to 10³=plants dead. Disease severity indexes (DSI) were calculated with the formula of DSI=log(mean (DSR)). Twelve to fifteen plants were included per cultivars. Uninoculated control plants (dipped in water) of all cultivars remained free of Fusarium wilt. Reaction class was based on the DSI scale: 1 \geq resistant (R), and 1<susceptible (S).

を示し、しかも枯死した。それに比べレース1に強い品種においては、レース2, 3に対しても高々DSIが1.7~2.3であり枯死する個体は稀であった。

また、菌株KF 646 (レース1) とKF 1025 (レース3) が同一の圃場から分離されたことから、圃場内には2つ以上のレースが混在することが推測された。

圃場における検定と幼苗の浸漬接種による検定を比較すると、レース3が示す反応と同様であることから、レース3を用いて幼苗で検定を行うことにより抵抗性品種のスクリーニングが容易にでき、圃場検定の前に効率よく選抜できると考えられた。

D. アズキの齢と発病

アズキ萎凋病の病原性検定は、初生葉が展開した幼苗で検定することとしたが、果たしてこの条件が最適かどうか、齢が進んだアズキにも接種して確認する必要がある。C-cの結果からもレースとアズキ品種の組み合わせによってはDSIがかなり変動する可能性があり、3つのレースについて検討した。

材料と方法

3%次亜塩素酸ナトリウムで滅菌、滅菌蒸留水で洗浄した「寿小豆」、「光小豆」、「ハツネショウズ」および「十育123号」の種子を5cm直径のパーミキュライトをつめたプラスチック製ポット (小ポット) に3粒まき各品種10ポット用意した。これらのポットを12cm直径のパーミキュライトをつめたポットの上に置き(大ポット)、種子が発芽したところで各ポット1本立てとした。アズキの第2本葉が展開したときに静かに下のポットから根を抜き、3つのレース (KF 646, KF 654, KF 843) のC-aの方法と同様にして用意した孢子懸濁液 (濃度 $10^6/ml$) に根を浸漬した。一晚浸漬後小ポットごと再び

これら無病土をつめた大ポットに載せ8週間生育させて発病をみた。

結果

「寿小豆」のDSIは幼苗接種と同様ですべてのレースで発病した。しかし、「光小豆」はレース2, 3では、また、「ハツネショウズ」でレース3では幼苗接種の結果とは異なって発病が見られなかった。「光小豆」、「ハツネショウズ」ともそれらの胚軸から接種菌が分離されることから、アズキ萎凋病菌はこれらアズキ品種の種子の発芽の早い時期に侵入し、若い齢のときは発病させることができるが、アズキの齢が進むと発病が難しくなると考えられる (表12)。

E. 考察

1983年に新たに報告されたアズキの立枯性病害について、その病原解明の試験を行う中で、北沢・柳田⁴²⁾が病名をアズキ立枯病、その病原菌を *Fusarium oxysporum* とし、さらに分化型を *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* と命名したことに対し疑問点が浮かび上がった。つまり、すでに松尾⁶⁰⁾によりアズキ立枯病の病原菌は *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* とされているにもかかわらず、北海道で発見された病害の病名をアズキ立枯病とした点である。

アズキ立枯病についての報告は、半沢²⁸⁾の記載が最初である。この中で、「アズキ立枯病は *Fusarium* sp. により起こる病害で、明治38年北海道札幌付近の小豆畑に蔓延して細菌病の比ではないこと、細菌病罹病小豆の茎幹部、地際部等に多数の菌叢をみ、一種の死物寄生菌 (*F. roseum*) の寄生するのを認めたこと、本年北海道より得た小豆立枯病をみると茎幹部に多数の紡錘状菌を付着していたこと、これらのことから、細菌の寄生によって衰弱した部分に死物的に多数の菌類の寄生したものか、あるいは紡錘状菌がその主因なのか確定することはできない」と述べ、後日の確証を待つとした。

原²⁹⁾はこの報告を受け、「本病は全株萎凋し遂に枯死するもので、Oudomannによれば、Phaseolus 属作物に *Fusarium oxysporum* Schl. が寄生するという事なので或は其菌だと信ずるが、未だその証明はない」としている。

以上のように、これらの報告はアズキ立枯病があるとしているものの、その病徴記載は不十分で、病気については不明確である。それ以後もいくつかの

表12 浸漬接種による第2本葉展開期アズキの発病
Table 12 Effect of adzuki bean age^{a)} on the incidence of adzuki bean wilt

レース(菌株)	DSI ^{b)}			
	寿小豆	光小豆	ハツネショウズ	十育123号
1(KF646)	2.21	0.00	0.00	0.00
2(KF654)	2.71	0.00	0.00	0.00
3(KF843)	3.00	0.28	0.28	0.00

a) Seedlings were used at the age of the second true leaves.

b) Disease Severity Index.

アズキ立枯病についての報告がある。まず鑄方³³⁾、渡邊¹⁰²⁾は被害アズキは茎の地際部に暗褐色ないし紅褐色の変色部を生じ、茎の一侧に沿い上部に進展し葉柄にも変色部を生じるとしているが、この症状はアズキ茎疫病の記載⁴¹⁾とよく一致している。本研究で扱ったアズキ病害の場合にも茎の外側に褐変が認められるけれども、これはあくまで導管内から表皮に向かって広がったのであって、決して茎表面から菌が内側に侵入したのではない。本病は導管病であることが前提である。

また渡邊¹⁰³⁾は発芽後間もない頃地際部が細くなって倒伏枯死するとしているが、本病は地際部から倒伏することはない。アズキ茎疫病でも苗立枯症状を示す⁹⁷⁾ことがあり、この点でも渡邊の報告したアズキ立枯病によく似ている。北沢・柳田⁴¹⁾も、アズキ茎疫病は罹病茎上には一時期 *Fusarium* 菌の胞子を形成することが多く、鑄方³³⁾の報告したアズキ立枯病に酷似していると考察している。

さらに、接種試験あるいは自然発病でまず気づく外部病徴としては、葉のしおれのほか葉脈えそ、上葉の縮れなどであるが、このような記載は上記二報告には全く見られない。

もちろん排水の良好である方が発病し易いという渡邊¹⁰³⁾の調査結果からも、それがすべてアズキ茎疫病であったとは主張できないが、渡邊の分離した菌が *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* であった⁶⁶⁾ということ、これまで明らかにしてきた実験結果から、*F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* によるアズキの病気をアズキ萎凋病、*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* による病気は、その病徴に疑問が残るもののアズキ立枯病とすべきと考えられた。松尾の記載では、渡邊の分離した菌はアズキに維管束の褐変を起こすとしており、本試験でもこの症状が再現されている。したがって、本研究による病原性、病徴発現の結果から、アズキ立枯病は *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* による病害、*F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* による病害をアズキ萎凋病とするのが妥当である。

本試験により、アズキ萎凋病菌にはレースが3つ存在することが明らかとなった。レース3に対する発病程度が、圃場試験における各品種・系統の発病程度と一致することから、レース3を用いた検定を行うことで、より迅速な抵抗性品種の選抜に寄与できると考えられる。この場合、接種に適当なアズキ

の齢は子葉が展開した時期である。なお、本葉2葉期頃には、「光小豆」、「ハツネショウズ」などの比較的抵抗性の品種では、それらを侵すレースでも発病しにくくなるので注意する必要がある。

IV. アズキ萎凋病菌の遺伝学的分類に関する研究

Fusarium oxysporum は各種植物に対する病原性の有無により、多くの分化型に分けられている⁶⁾。分化型を決定するには原理的にはこれまで報告のある、すべての宿主に対して接種試験を行わなければならない。しかし、これには多大な時間と労力を要し、環境要素、宿主の齢、接種条件によってもその反応は異なることから^{10,55,62)}、分化型の決定は難しい。このことから、植物の反応を介さず、簡便に、より正確に分化型を判別する方法が求められていた。

Puhalla⁷⁸⁾は変異源を使わずに自然発生的に得た硝酸代謝変異を選ぶ手法を導入した。つまり、二つの相補的な硝酸塩非利用突然変異 (*nit* 変異) を得ることにより、ヘテロカリオン形成の有無を肉眼的に観察できるようにし、体細胞和合性群 (VCG: Vegetative Compatibility Group) に分類した。また、Correll *et al.*¹⁵⁾ は、特異な調節遺伝子あるいは構造遺伝子に欠損がある *nit* 変異の表現型を選択するのに生理学的試験を導入して、Puhalla⁷⁸⁾ の仕事をより精密にし、この方法による分類をより能率的にした。

また、病原性試験では非病原性 *F. oxysporum* はある植物に対して非病原性であるとしか認識されず、遺伝的にどのような幅をもって土壤中に存在するのか知ることは、不可能である。ところが硝酸塩非利用突然変異を利用した体細胞和合性群による分類は、非病原性菌株の生態的位置を知る上で多大な情報を得ることを可能にした^{16,18,23)}。

本章では、まず北海道各地から分離、同定したアズキ萎凋病菌株と各種マメ科作物に病気を起こす各分化型との比較を体細胞和合性により行い、体細胞和合性群とレースとの関係を検討した。次にアズキに対し非病原性と判定された菌株について体細胞和合性群で分類し、アズキ萎凋病発生地と非発生地の比較を行った。

近年の分子生物学の発展に伴い、植物病原糸状菌においても DNA レベルで類縁性を論じることが分類学のみならず、生態学的研究においても重要に

なっている⁹⁵⁾。*F. oxysporum* の各分化型についての研究においても、体細胞和合性群と核 DNA あるいはミトコンドリア DNA の制限酵素断片長多型 (RFLP) の関係、あるいは分化型間の類縁性を考察する報告が多数ある^{24,39,58,59,106)}。さらに、病原性と非病原性 *F. oxysporum* の遺伝的類縁性についても mtDNA ハプロタイプから明らかにされようとしている²⁵⁾。また、Polymerase chain reaction 法 (PCR 法) を利用した種間、種内の変異、多様性についての報告も増えてきている^{27,61)}。

本章では、アズキ萎凋病、非病原性 *F. oxysporum* のリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) の internal transcribe spacer (ITS) 領域、ミトコンドリアリボソーム RNA 遺伝子 (mtrDNA) の断片を PCR 法により増幅することで、病原性、非病原性菌株間の遺伝的変異の検出を試みた。

A. 体細胞和合性群による分類

材料と方法

アズキ萎凋病菌は 1987 年から 1992 年にかけて第 III 章、図 1 に示した地点から採集した罹病アズキから分離した 106 株を供試した。また、分化型を決定するのに比較として供試した *F. oxysporum* ff. sp. *phaseoli* (ATCC 18131, ATCC 42145), *tracheiphilum* (ATCC 16608, ATCC 16609, ATCC 16610), *medicaginis* (FO 5) 計 6 菌株について、相互に和合性を検討した。「寿小豆」を用いた病原性試験により明らかになった非病原性 *F. oxysporum* については、罹病アズキから病原菌と同時に分離された 3 菌株、アズキ萎凋病発生圃場から分離された 9 圃場から 83 菌株、さらにアズキ萎凋病未発生地である十勝地方の 27 圃場から 111 菌株を供試した。

硝酸非利用突然変異株の選抜は、以下のように行った。Puhalla⁷⁸⁾ と Correll *et al.*¹⁵⁾ の方法に従い、窒素源として硝酸ナトリウムを加えた最少培地 (MM) に塩素酸カリウムを 1.5% 添加した変異菌作成培地 (MMC), あるいはトウモロコシ寒天培地 (CMA: Difco 社製) に同じく 1.5% 塩素酸カリウムを添加した変異菌作成培地 (CMAC) に MM 上で生育した野生型の *F. oxysporum* 菌糸片を置いた。22~25°C で 5~10 日間培養し、良好な生育を示したセクターの先端菌糸を MM 上に移し、薄い菌そうを呈する菌を変異菌として選抜した。

表現型の同定には、分離された変異菌株を 0.

05% 亜硝酸ナトリウムあるいは 0.02% ヒポキサンチンを加えた MM 培地上で生育させ、両培地で良好な生育を示す菌を *nit 1*, 亜硝酸培地でのみ薄い菌そうを示す菌を *nit 3*, ヒポキサンチン培地上でのみ薄い菌そうを示す菌を NitM とした。

相補性試験は、MM 培地上で NitM と *nit 1* あるいは *nit 3* との組み合わせで直径 6 cm とペトリ皿を用い、菌株間の距離を 2 cm にして対峙培養し、25°C で 2 週間培養した。調査は接種後 1 週間目と 2 週目に行い、ヘテロカリオンを形成し、野生型様の気中菌糸を形成した組み合わせのものを相補性があるとし、和合性群を決定した。一連の体細胞和合性群決定方法は Leslie⁵⁷⁾ に依った。

結 果

アズキ萎凋病菌の体細胞和合性群

アズキ萎凋病菌を含む 4 分化型間での体細胞和合性の検定において、*F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* については、用いた菌株が自己不和合性で明らかではなかったものの、アズキ萎凋病菌は少なくとも *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* と和合性は認められず、*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* によるアズキ立枯病菌とは異なる分化型に属することが確認された (表 13)。

KF 646 A, 89-823, 90-1391 (レース 1), 90-808, (レース 2), 90-750 B, 90-833, 91-759 (レース 3) を最初の体細胞和合性試験の組み合わせに用いた。その結果、7 菌株は同一の VCG に属することが明らかになった。次に代表変異菌株 90-750 B/3 (NitM), 90-750 B/10 (*nit 1*) を検定菌とし、その他のアズキ萎凋病菌株について得られた *nit 1* 変異株は 90-750 B/3 と、NitM 変異株は 90-750 B/10 と相補性試験を行って、同一のグループに属する株を選んだ。この両検定株と相補性を示さなかった株については、さらにこれらの中で相補性試験を繰り返してグループ分けを続けた。また、得られた NitM については、すべての *nit 1* 株と相補性試験を行った。なお、NitM が得られたのは 36 菌株であった。この結果、表 14 に示すように 106 菌株中 91 菌株は同一の VCG (VCG 0020 HU) に属し、残りの菌株のうち 3 菌株ずつを含む二つの体細胞和合性群 (VCG 0021 HU, VCG 0022 HU) が存在することが認められた。加えて、0020 HU と 0021 HU の両体細胞和合性群と相補性を示す 2 菌

表13 各種マメ科作物に対し病原性を有する *Fusarium oxysporum* 分化型間における相補性試験
 Table 13 Vegetative compatibility among isolates of *Fusarium oxysporum* ff. sp. *adzukicola*, *phaseoli*, *tracheiphilum*, and *medicaginis*

番号	分化型	菌株	番号								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	<i>adzukicola</i>	KF646A	+ ^{a)}	+	-	-	-	-	-	-	-
2		90-750B		+	-	-	-	-	-	-	-
3		KF654C				-	-	-	-	-	-
4	<i>phaseoli</i>	ATCC18131				-	-	-	-	-	-
5		ATCC42145					+	-	-	-	-
6	<i>tracheiphilum</i>	ATCC16608						-	-	-	-
7		ATCC16609							+	-	-
8		ATCC16610								+	-
9	<i>medicaginis</i>	FO5									-

a) + : 反応あり, - : 反応なし
 + = complementary ; - = no complementary.

表14 アズキ萎凋病菌の VCG とレースの関係
 Table 14 Vegetative compatibility groups and races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola*

VCG No.	レース				合計
	1	2	3	nd. ^{a)}	
0020HU	34	12	29	16	91
0020/21HU	1	0	1	0	2
0021HU	3	0	0	0	3
0022HU	3	0	0	0	3
0023HU	1	0	0	0	1
0024HU	1	0	0	0	1
0025HU	1	0	0	0	1
002-HU ^{b)}	0	3	1	0	4
合計	44	15	31	16	106

a) レース未検定
 Race identification was not examined.
 b) 自己不和合性株
 Self incompatibility isolates.

表15 アズキ萎凋病菌の VCG, 菌株, レース及び分離場所

Table 15 Isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola* and their vegetative compatibility groups

VCG No.	菌株	レース	分離場所
0020HU	91-759	3	美 瑛 町
	91-761	2	美 瑛 町
	91-762	2	美 瑛 町
	91-766	3	美 瑛 町

VCG No.	菌株	レース	分離場所
	91-776	3	美 瑛 町
	91-777	* ^{a)} 1	美 瑛 町
	91-778	1	美 瑛 町
	91-782	1	美 瑛 町
	90-1391*	1	江 別 市
	90-1397	3	江 別 市
	KF-843	3	深 川 市
	87-396	1	深 川 市
	87-600	?	深 川 市
	90-750B *	3	深 川 市
	88-162	3	深 川 市
	88-186	2	深 川 市
	88-227	3	深 川 市
	88-513	1	深 川 市
	88-529	1	深 川 市
	88-1748	2	深 川 市
	88-1750	1	深 川 市
	88-1753	3	深 川 市
	F8	?	深 川 市
	88-787	1	生 田 原 町
	88-790	2	生 田 原 町
	88-793 *	1	生 田 原 町
	89-808 *	1	岩 見 沢 市
	89-813 *	3	岩 見 沢 市
	89-823 *	1	北 村
	89-825 *	2	北 村
	89-1788	?	北 村
	89-1806	?	北 村
	91-497	3	俱 知 安 町

VCG No.	菌株	レース	分離場所	VCG No.	菌株	レース	分離場所
	91-499	2	倶知安町		92-157 *	3	浦臼町
	91-500	1	倶知安町		92-164 *	3	士別市
	91-502	3	倶知安町		92-165	3	士別市
	91-503	1	倶知安町		92-174 *	1	剣淵町
	91-505	1	倶知安町		B-6	3	剣淵町
	91-508 *	3	倶知安町		92-202	1	比布町
	91-510	3	倶知安町		92-203	3	比布町
	91-786	1	倶知安町		92-204	3	比布町
	90-803	3	長沼町		90-603	1	鷓川町
	90-805	1	長沼町	0020/21HU	B-2 *	3	剣淵町
	90-808	2	南幌町		B-5 *	1	剣淵町
	90-810	1	南幌町	0021HU	B-3 *	1	剣淵町
	90-811	2	南幌町		92-176 *	1	剣淵町
	KF646A *	1	新篠津村		91-726 *	1	黒松内町
	F285	?	新篠津村	0022HU	88-1704 *	1	新篠津村
	F288	?	新篠津村		91-653	1	新篠津村
	88-131 *	3	新篠津村		91-696	1	新篠津村
	88-533 *	?	新篠津村	0023HU	88-155 *	1	深川市
	88-592	3	新篠津村	0024HU	88-913 *	1	新篠津村
	88-726	1	新篠津村	0025HU	88-1364 *	1	新篠津村
	88-731	2	新篠津村	002-HU	KF654C *	2	深川市
	88-751 *	2	新篠津村		88-149 *	2	深川市
	88-886 *	1	新篠津村		90-836 *	3	当別町
	88-888	1	新篠津村		91-114 *	2	新篠津村
	88-890 *	?	新篠津村				
	88-891	1	新篠津村				
	88-908	1	新篠津村				
	88-910 *	3	新篠津村				
	90-316	3	新篠津村				
	90-427 *	1	新篠津村				
	91-125	1	新篠津村				
	91-645	1	新篠津村				
	91-812	1	新篠津村				
	91-1515 *	?	新篠津村				
	92-185	3	新篠津村				
	92-187	3	新篠津村				
	KF625	?	新篠津村				
	KF647	?	新篠津村				
	KF653	?	美唄市				
	90-816	3	当別町				
	90-833	3	当別町				
	90-837	2	当別町				
	90-838 *	1	当別町				
	90-839	1	当別町				
	92-154	1	浦臼町				
	92-155	3	浦臼町				
	92-156	3	浦臼町				

a) NitM 分離された菌株

Asterisk (*) indicates isolates from which Nit M mutants were derived.

株(剣淵町から分離)から成る体細胞和合性群(VGC 0020/21 HU)を得た(表 14, 15)。そのほか自己不和合性株が 4 菌株, 単独の自己和合性株が 3 菌株認められた。なお, 体細胞和合性群のコード番号は Leslie⁵⁶⁾の方法に従い, 0020 から始めて HU (Hokkaido University) を番号の最後につけた。

レースと体細胞和合性群, あるいは地域と体細胞和合性群には特に対応関係はなく, 菌株の大部分を占める 0020 HU には 3 レースすべてが含まれており, 表 15 に示すように北海道内各地の菌株が含まれていた。相補性のある組み合わせではほとんどが 2 週間以内に, 早い反応は菌糸が接触して 1 日ほどで(接種から 5 日ほど)強い反応を示した。

非病原性 *F. oxysporum* の体細胞和合性群

発病圃場及び十勝地方のアズキ萎凋病未発生のアズキ栽培圃場から分離した非病原性 *F. oxysporum* 菌株について, それぞれ 86 菌株, 111 菌株, 計 197

菌株を供試して体細胞和合性群により分類した。MM培地上では強い反応からときに弱い反応まで組み合わせによってさまざまであったが、これらすべてを同じ体細胞和合性群とみなした。なお、得られた各菌株のNitMについては、すべてのnit 1あるいはnit 3と相補性試験を行った。これにより単独自己和合性株も含めて35（単独自己和合性株11株を含む）の体細胞和合性群が認められた（表16, 17）。この中で単独自己和合性株を除くVCGではアズキ萎凋病発生地と未発生地（十勝地方）で共通

表16 アズキ萎凋病発生地及び未発生地から分離された、アズキに対し非病原性の *Fusarium oxysporum* 菌株と VCG

Table 16 Vegetative compatibility groups in non-pathogenic *Fusarium oxysporum* to adzuki bean collected from soils in the naturally infested fields and from soils in the not-infested fields

VCG No.	発生地	未発生地	合計
2001HU	10	22	32
2002HU	12	11	23
2003HU	11	7	18
2004HU	2	14	16
2005HU	6	9	15
2006HU	8	6	14
2007HU	3	8	11
2008HU	4	4	8
2009HU	2	3	5
2010HU	3	2	5
2011HU	3	1	4
2012HU	0	4	4
2013HU	0	4	4
2014HU	2	1	3
2015HU	2	1	3
2016HU	1	1	2
2017HU	0	2	2
2018HU	0	2	2
2019HU	0	2	2
2020HU	0	2	2
2021HU	1	1	2
2022HU	0	2	2
2023HU	2	0	2
2024HU	2	0	2
単独自己和合性株	11	3	14
自己非和合性株	1	0	1
合計	86	111	197

表17 非病原性 *Fusarium oxysporum* の VCG, 菌株及び分離場所

Table 17 Vegetative compatibility groups in non-pathogenic *Fusarium oxysporum* to adzuki bean collected from soils in the naturally infested fields and from soils in the not-infested fields

VCG No.	菌株	分離場所
2001 HU	88-1490	新篠津村 発病土壌
	89-631	深川市 発病土壌
	89-690	深川市 発病土壌
	89-1662	深川市 発病土壌
	90-1331	当別町 発病土壌
	90-1334	当別町 発病土壌
	90-1364	当別町 発病土壌
	90-1384	当別町 発病土壌
	91-724 ^{*a)}	黒松内町 発病茎部
	T 3-8	浦幌町 未発病土壌
	T 5-21*	豊頃町 未発病土壌
	T 1-5	浦幌町 未発病土壌
	T 6-3	豊頃町 未発病土壌
	T 6-5*	豊頃町 未発病土壌
	T 10-2	本別町 未発病土壌
	T 10-3	本別町 未発病土壌
	T 12-9	本別町 未発病土壌
	T 23-24	音更町 未発病土壌
	T 24-1	鹿追町 未発病土壌
	TN 2	芽室町 未発病土壌
TN 12	芽室町 未発病土壌	
TN 19	芽室町 未発病土壌	
TN 39	芽室町 未発病土壌	
TN 44	芽室町 未発病土壌	
TN 8	芽室町 未発病土壌	
T 10-8	本別町 未発病土壌	
T 27-4	新得町 未発病土壌	
T 10-15	本別町 未発病土壌	
T 7-13	池田町 未発病土壌	
33-24	浦幌町 未発病土壌	
TN 24	芽室町 未発病土壌	
2002 HU	88-1481	新篠津村 発病土壌
	88-1495	新篠津村 発病土壌
	88-1507*	新篠津村 発病土壌
	88-1531	新篠津村 発病土壌
	88-1749	深川市 発病土壌
	89-728	深川市 発病土壌
	90-1304	新篠津村 発病土壌
	90-1969*	南幌町 発病土壌
	91-721	黒松内町 発病茎部
	91-722	黒松内町 発病茎部

VCG No.	菌株	分離場所	VCG No.	菌株	分離場所
	92-1	新篠津村 発病土壤	2005 HU	88-1545	新篠津村 発病土壤
	92-19	新篠津村 発病土壤		88-1549	新篠津村 発病土壤
	T 5-13	豊頃町 未発病土壤		89-561	深川市 発病土壤
	T 6-7*	豊頃町 未発病土壤		89-562*	深川市 発病土壤
	T 6-19*	豊頃町 未発病土壤		90-1305	新篠津村 発病土壤
	T 6-20	豊頃町 未発病土壤		92-8	新篠津村 発病土壤
	T 6-21	豊頃町 未発病土壤		T 1-10	浦幌町 未発病土壤
	T 14-4	土幌町 未発病土壤		T 11-6	本別町 未発病土壤
	T 18-1*	中札内町 未発病土壤		T 12-6	本別町 未発病土壤
	T 27-13*	新得町 未発病土壤		T 12-14	本別町 未発病土壤
	T 29-1	清水町 未発病土壤		T 17-12*	帯広市 未発病土壤
	T 30-12*	清水町 未発病土壤		T 17-25*	帯広市 未発病土壤
	TN-1	芽室町 未発病土壤		T 24-16	鹿追町 未発病土壤
2003 HU	88-1491*	新篠津村 発病土壤		T 26-15	鹿追町 未発病土壤
	88-1514	新篠津村 発病土壤		TN 7	芽室町 未発病土壤
	88-1557*	新篠津村 発病土壤	2006 HU	88-1470	新篠津村 発病土壤
	89-515	新篠津村 発病土壤		88-1482	新篠津村 発病土壤
	89-669	深川市 発病土壤		90-1325	当別町 発病土壤
	90-1333*	当別町 発病土壤		90-1351	当別町 発病土壤
	90-1356*	当別町 発病土壤		90-1995*	南幌町 発病土壤
	90-1387*	当別町 発病土壤		91-695*	新篠津村 発病土壤
	91-840	新篠津村 発病土壤		91-855	新篠津村 発病土壤
	92-3*	新篠津村 発病土壤		92-12	新篠津村 発病土壤
	92-22	新篠津村 発病土壤		T 7-12*	池田町 未発病土壤
	T 3-23	浦幌町 未発病土壤		T 12-5	本別町 未発病土壤
	T 7-4	池田町 未発病土壤		T 17-20	帯広市 未発病土壤
	T 12-1	本別町 未発病土壤		T 17-25	帯広市 未発病土壤
	T 16-7	芽室町 未発病土壤		T 23-23*	音更町 未発病土壤
	T 24-12	鹿追町 未発病土壤		TN 30	芽室町 未発病土壤
	T 25-21	鹿追町 未発病土壤	2007 HU	89-623	深川市 発病土壤
	TN 36	芽室町 未発病土壤		89-685*	深川市 発病土壤
2004 HU	90-1319*	新篠津村 発病土壤		92-18	新篠津村 発病土壤
	90-1370	当別町 発病土壤		T 10-8	本別町 未発病土壤
	T 1-1	浦幌町 未発病土壤		T 17-16	帯広市 未発病土壤
	T 1-2	浦幌町 未発病土壤		T 21-18	帯広市 未発病土壤
	T 2-5	浦幌町 未発病土壤		T 22-5*	音更町 未発病土壤
	T 3-20	浦幌町 未発病土壤		T 23-20	音更町 未発病土壤
	T 3-25	浦幌町 未発病土壤		T 25-5	鹿追町 未発病土壤
	T 5-6	豊頃町 未発病土壤		T 26-3	鹿追町 未発病土壤
	T 5-16	豊頃町 未発病土壤		T 27-12	新得町 未発病土壤
	T 8-2	池田町 未発病土壤	2008 HU	88-1542	新篠津村 発病土壤
	T 11-3	本別町 未発病土壤		89-605	深川市 発病土壤
	T 19-7*	中札内村 未発病土壤		90-1310*	新篠津村 発病土壤
	T 23-6*	音更町 未発病土壤		90-1311	新篠津村 発病土壤
	T 24-14	鹿追町 未発病土壤		T 7-4	池田町 未発病土壤
	TN 11*	芽室町 未発病土壤		T 16-7*	芽室町 未発病土壤
	TN 42	芽室町 未発病土壤		T 22-9	音更町 未発病土壤

VCG No.	菌株	分離場所	VCG No.	菌株	分離場所
2009 HU	TN 20*	芽室町	2025 HU	92-15	新篠津村
	88-1539	新篠津村		92-20*	新篠津村
	88-1556*	新篠津村	2026 HU	92-17*	新篠津村
	T 5-18*	豊頃町	2027 HU	T 27-11*	新得町
	T 10-10	本別町	2028 HU	89-1664*	深川市
2010 HU	T 21-17*	帯広市	2029 HU	T 11-2*	本別町
	88-1758	新篠津村	2030 HU	89-821*	北村
	88-1759	新篠津村	2031 HU	90-822*	当別町
	88-1761*	新篠津村	2032 HU	89-603*	深川市
	T 25-5	鹿追町	2033 HU	89-1658*	深川市
2011 HU	TN 41	芽室町	2034 HU	92-53*	新篠津村
	89-1607	北村	2035 HU	89-571*	深川市
	89-1654	深川市	2036 HU	T 7-15*	池田町
	90-1357*	当別町	2037 HU	89-1665*	深川市
	T 30-18	清水町	2038 HU	92-17*	新篠津村
2012 HU	T 4-2	浦幌町	2039 HU	92-11*	新篠津村
	T 5-12	豊頃町	200-HU	90-1307*	新篠津村
	T 5-19	豊頃町			
	T 24-7	鹿追町			
	T 7-10*	池田町			
2013 HU	T 9-2*	池田町			
	T 9-4*	池田町			
	T 9-9*	池田町			
	90-1388	当別町			
	92-7*	新篠津村			
2014 HU	T 7-14	池田町			
	88-1471*	新篠津村			
	89-555	深川市			
2015 HU	T 4-4*	浦幌町			
	90-1386	当別町			
2016 HU	T 5-9*	豊頃町			
	T 12-8*	本別町			
2017 HU	T 7-11	池田町			
	T 9-1*	池田町			
2018 HU	T 9-5*	池田町			
	T 16-19*	芽室町			
2019 HU	TN 38	芽室町			
	T 10-1	本別町			
2020 HU	T 10-5*	本別町			
	89-639*	深川市			
2021 HU	T 18-2	中札内村			
	89-1797*	北村			
2022 HU	T 1-9	浦幌町			
	T 3-16	浦幌町			
2023 HU	T 19-1	中札内村			
	90-1353	当別町			
2024 HU	90-1364*	当別町			

a) NitM が分離された菌株
 Asterisk (*) indicates isolates from which Nit M mutants were derived.

な VCG は 15 であり、発生地単独の VCG は 2、未発生地では 7 であった。最も多い VCG (2001 HU) は発生地 10、未発生地 22 菌株を含み、それぞれの地域中の割合は 11.2%、19.1% を占めた。ただ、体細胞和合性群を両地域まとめて菌株数の多い方から並べたとき、10 番目までの VCG に含まれる菌株の割合は発生地、未発生地それぞれ 71.3%、77.7% となり、その中にはそれぞれの地域単独の体細胞和合性群は認められなかった。

アズキ萎凋病菌の変異株 90-750 B/3 (NitM)、90-750 B/10 (nit 1) との相補性についても検討したが、すべての組み合わせで反応は見られなかった。

B. 分子遺伝学的分類

材料と方法

DNA の抽出

表 18, 19 に示した *F. oxysporum* 各分化型 29 菌株、非病原性 *F. oxysporum* 49 菌株、および *F. lateritium*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. roseum* の単孢子分離株を 0.2% 酵母抽出エキス (Difco 社製) 加用ジャガイモしょ糖寒天培地で培養した。この液体培地を 9 cm 直径シャーレ 5 枚に 20 ml 分注して、それぞれの菌株を接種し 5 日間 25°C で培養した。菌体を吸引ろ過し、液体室素を加

表18 *Fusarium* 属菌各種の菌株と3組のプライマー組み合わせを供試してPCR法により増幅されたrDNA断片長(bp)Table 18 rDNA fragments of *Fusarium* spp. isolates amplified by polymerase chain reaction with three combinations of primers

	VCG	菌株番号	プライマー組み合わせ		
			ITS1,4	MS1,2 ≡bp	ML1,4
<i>F. o. adzukicola</i>	0020HU	KF646A	480	700	920
		90-750B	480	700	920
		92-174	480	700	— ^{a)}
		88-592	480	700	—
		88-131	480	700	—
		91-653	480	700	—
		88-227	480	700	—
	91-761	480	700	—	
	0020/21HU	B-2	480	700	920
	0021HU	B-3	480	700	920
0022HU	88-1704	480	700	920	
0024HU	91-653	480	700	920	
002-HU	KF654C	480	700	920	
<i>F. o. phaseoli</i>		ATCC42145	480	700	—
		ATCC18131	480	700	920
<i>F. o. tracheiphilum</i>		ATCC16609	480	700	920
<i>F. o. medicaginis</i>		FO5	480	700	—
<i>F. o. asparagi</i>		R2-5	480	700,610	—
<i>F. o. cucumerinum</i>		507	480	700	—
<i>F. o. raphani</i>		494	480	700	—
<i>F. o. batatas</i>		SUF221	480	700	—
<i>F. o. melonis</i>		487	480	700	—
<i>F. o. lycopersici</i>		515	480	700	—
<i>F. o. lini</i>		512	480	700	—
<i>F. o.</i> (クリムソクローバより分離)		2-5	480	700	—
<i>F. o.</i> (インゲンマメより分離)		KF901-3	480	700	—
<i>F. latertium</i>		488	480	700	—
<i>F. solani</i> f. sp. <i>pisi</i>		477	480	610	—
<i>F. moniliforme</i>		CB86318	480	700	—
<i>F. o. roseum</i> f. <i>cecalis</i>		SUF554	480	740	—

a) 未検討

Not examined.

ATCC42145, ATCC18131, ATCC16609は American Type Culture Collection より入手

SUF221, SUF554 は信州大学より分譲

CB89318は京都府立農業総合研究所より分譲

FO5 は北海道農業試験場より分譲

その他は北海道大学保存菌株

ATCC42145, ATCC18131, and ATCC16609 were offered from American Type Culture Collection.

SUF221 and SUF554 were offered from Shinsyu University.

CB89318 was offered from Kyoto Prefectural Agricultural Institute.

FO5 was offered from Hokkaido National Agricultural Experiments Station.

The other isolates were preserved in Hokkaido University.

えて乳鉢で磨碎(約4~5g)した。その粉体を30mlプラスチック管に移し、10mlの抽出用緩衝液(100mM Tris, pH 8.0; 50mM EDTA; 100mM NaCl; 10mM *p*-mercaptoethanol; 1% SDS)を加え、混合した。懸濁液を65°Cで10分間保ち、その後5mlの水冷した5M 酢酸カリウム(酢酸カリウム29.4g, 酢酸11.5mlを蒸留水で100mlとしてオートクレーブ滅菌)を加えた。この懸濁液を20分間氷上に置いた。4°C, 10,000g 10分間の遠沈のあと、上清は10mlのphenol/chloroform/isoamyl alcohol (25:24:1)で抽出した。核酸は2倍量の無水エタノール(-20°C)で沈澱させ、5分間室温に保った。試料は5,000gで15分間遠心し、ペレットは70%エタノールで1回洗った。エタノールは減圧して除き、30分間乾燥した。試料に1mlのTE(10mM Tris, 1mM EDTA, pH 7.4)を加えて60分間室温に置いた後に、-20°Cで保存した。

DNAの増幅

オリゴヌクレオチドプライマーはWhite *et al.*¹⁰⁵⁾によりまとめられたリボソームRNA遺伝子(rDNA)の増幅用プライマーを利用した。核内リボソームRNA反復ユニットの内部のスペーサー領域を増幅するためにITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')とITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')、ミトコンドリア小rDNAにはMS1(5'-CAGCAGTCAAGAATATTAGTCAATG-3')とMS2(5'-GCGGATTATCGAATTAAATAAC-3')、ミトコンドリア大rDNAにはML1(5'-GTACTTTTGCATAATGGTTCAGC-3')とML4(5'-GAGGATAATTTGCCGAGTTCC-3')、ML5(5'-CTCGGCAAATTATCCTCATAAG-3')とML6(5'-CAGTAGAAGCTGCATAGGGTC-3')、ML7(5'-GACCCTATGCAGCTTCTACTG-3')とML8(5'-TTATCCCTAGCGTAACTTTTATC-3')を用いた。

反应用チューブに10×Taq用緩衝液10μl, dNTP混合液(2mMの各dNTPを含む)4μlを混合し、各プライマーを0.2μM, Taqポリメラーゼを2.5Uになるように滅菌蒸留水を加え50μlとして、これに5μg/mlとした各DNA試料50μlを加えて反応溶液100μlとした。次に1滴の鉍物油を加え、微量遠心機で短時間遠心した。この反応混

合液をサーマルサイクラーで次の要領で反応させた。すなわち、最初の変性を94°Cで4分間、続いて94°C変性1分間、55°Cでアニーリング1分間、72°Cで伸長2分間のサイクルを30回繰り返す、最後の伸長を72°Cで10分間とした。

増幅産物はTBE緩衝液(1000ml中Tris 10.8g, ほう酸5.5g, EDTA 0.05M (pH 8.0)を含む)中1.5%低温融解アガロースゲルで電気泳動し、ゲルは0.1μg/ml エチディウムブロマイド溶液で染色した。

結 果

プライマーITS1とITS4による増幅産物の大きさは、すべての菌株で約480bpであった。MS1とMS2の組み合わせでは、約700bpと610bpの増幅産物が認められた*F. oxysporum* f. sp. *asparagi*の各分化型では約700bpのバンドが1本のみ見られ、*F. solani* f. sp. *pisi*で610bp, *F. roseum* f. *cerealis*で740bpであった(表18)。アズキに対し非病原性の*F. oxysporum*についてはバンドが1本(700bp)のみの菌株と、2本(610bp, 700bp)の2型が認められた(表19)。また、ML1とML4ではすべての菌株については行わなかったが、約920

表19 非病原性*F. oxysporum*の各VCGに属する菌株と3組のプライマー組み合わせを供試してPCR法により増幅されたrDNA断片長(bp)

Table 19 rDNA fragments of nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* amplified by polymerase chain reaction with three combinations of primers

VCG	菌株番号	ITS1, 4	MS1, 2	ML1, 4
2001HU	TN39	480	700,610	— ^{a)}
	T6-3	480	700	—
	89-690	480	700	—
	TN12	480	700	—
	T10-3	480	700	—
	90-1334	480	700,610	—
	T1-5	480	700,610	—
	T3-24	480	700	920
	TN19	480	700,610	920
	TN41	480	700,610	920
	90-1384	480	700	920
2002	T29-1	480	700	—
	T5-13	480	700,610	—
	T14-4	480	700	—
	88-1495	480	700,610	—

VCG	菌株番号	ITS1, 4	MS1, 2	ML1, 4
	89-728	480	700,610	—
	88-1481	480	700	—
	90-1696	480	700,610	—
	TN1	480	700	—
	T27-13	480	700,610	920
2003	T7-4	480	700	—
	T25-21	480	700	920
	92-3	480	700	920
	89-669	480	700	920
2004	90-1370	480	700	—
	TN11	480	700	—
	T1-1	480	700	920
	90-1319	480	700	920
2005	T24-16	480	700	—
	90-1305	480	700	—
2006	90-1995	480	700	—
2007	89-685	480	700,610	—
	T21-8	480	700	—
	92-18	480	700	920
2008	90-1310	480	n. a ^{b)}	920
	T16-7	480	700	920
	90-1311	480	700	920
2009	T10-10	480	700	920
	88-1539	480	700	920
2014	92-7	480	700	920
2016	90-1386	480	700	—
2017	T7-11	480	700	—
2019	T16-19	480	700	—
2020	T10-5	480	700	920
2022	89-1797	480	700,610	—
2025	92-20	480	700	920
2034	92-53	480	700	—
2039	92-11	480	700	920

a) 未検討 b) 増幅されず

a) Not examined. b) Not amplified.

bpの増幅産物が病原性、非病原性を問わず得られた。なお、ML5とML6およびML7とML8ではいずれの菌株でも増幅産物は得られなかった。

C. 考 察

*F. oxysporum*の各分化型はそれぞれ固有のVCGとなること、これまで多数報告されている^{7,15,19,44,78)}。本研究においてもアズキ萎凋病菌は宿主が近縁と考えられる3つの分化型のいずれの分化型とも相補性を示さなかった。本病害は病原性試験で明らかにしたように、アズキ立枯病を起こす⁶⁶⁾

F. oxysporum f. sp. *phaseoli*とは異なる分化型に属する*F. oxysporum*によって起こることが明らかであり、従って病名もアズキ萎凋病とすることが適当であることが確認された。

アズキ萎凋病菌のVCGの構成は、レース1, 2, 3はほとんどの菌株(約85%)が同一のVCGに属し、その他に単独の自己和合性VCGを含む少数の菌株から成るVCGが存在するという特徴を示した。これは*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*のレースと体細胞和合性群の関係とよく似ている¹⁸⁾。

他の分化型のレースと体細胞和合性群の関係については、Correll¹⁴⁾の総説に詳しいが、この中で提案されている体細胞和合性群とレースの進化モデルから見ると、アズキ萎凋病菌はここでいうIII型の特徴を表している。つまり、各レースが共通の体細胞和合性群から進化してきたというモデルである。レースと体細胞和合性群には1対1の関係が見られないため相補性検定でレースを決定することはできないが、体細胞和合性群による分類は、病原菌の遺伝的な多様性を検出できるとともに、非病原性*F. oxysporum*と区別する有効な方法である。ただ、問題となるのが次の4点である。つまり、(1) *nit*変異株を作りにくい菌株の取り扱い、(2) 自己非和合性菌株の取り扱い、(3) 弱い反応を示す組み合わせをどのように判断するか、(4) 複数の体細胞和合性群と反応する菌株の取り扱いである。

(1), (2)については体細胞和合性群による分類の最大の弱点であり、ミトコンドリアRNA遺伝子の制限酵素断片長多型^{24,25,38)}による検出など、分子遺伝学的手法が必要になってくる。

次に弱い反応をどのように扱うかであるが、この問題についてはGordon & Okamoto²⁴⁾が議論している。弱い反応の原因については、*Ophiostoma ulmi*¹¹⁾、*Cryphonectria parasitica*⁵⁾の例のように遺伝的類縁性が低いためなのか、Gordon & Okamoto²³⁾が示したように、同一の菌株の組み合わせでも使用した*nit*変異株によって異なる可能性もあり、明らかでないとしている。彼らも推測しているように弱い反応でも細胞質的相互連絡が可能と考えられ、異なる体細胞和合性群とすることには同意できない。

最後に複数の体細胞和合性群と相補性のある菌株、いわゆる“Bridging Isolate”の問題であるが、Katan *et al.*³⁷⁾は*F. oxysporum* f. sp.

radicis-lycopersici の体細胞和合性群に関する報告で、進化の観点からこのような菌株は体細胞和合性群の集中化過程の段階を意味するのか、あるいは反対に、新しい体細胞和合性群を形成し多様化の段階を示しているのではないかと述べて、他の分化型内の体細胞和合性群間にも存在する可能性があると考えられている。アズキ萎凋病の場合、剣淵町あるいは黒松内町という本病害の発生地域の周辺に近い所で、既存の体細胞和合性群から新たな体細胞和合性群への多様化が見られつつあるのではないかと考えた。

植物病理学的側面から見て非病原性 *F. oxysporum* は、いくつかの報告で示されたように^{2,81)}、病原菌との拮抗作用について関心が払われてきた。そこで問題になって来るのが、どのくらい非病原性 *F. oxysporum* に遺伝的多様性が存在するのか、拮抗作用を有する系統がどのくらいの占有度で存在するのか、あるいはそもそも遺伝的相違の有無を証明できるのか否かであった。

Correll *et al.*¹⁵⁾ は非病原性 *F. oxysporum* についても硝酸還元能欠損変異株を用いた相補性試験により遺伝的に類似した群に簡単に分類できることをセロリの根からの分離株について示した。このほか、トマトの根からの非病原性株の分類について¹⁸⁾ など、いくつかの報告がなされてきた。その後 Gordon & Okamoto^{23,24,25)} は、メロン栽培地の非病原性株の VCG による分類をすとともに、*F. oxysporum* f. sp. *melonis* も含めた、*F. oxysporum* 株の mtDNA のハプロタイプを比較することにより、体細胞和合性群間の関係についてそれらの類似度、起源について考察している。

アズキ萎凋病は道央から西部にのみ存在し、アズキの大産地である十勝地方で未だ発生は見られないので、*F. oxysporum* の集団構造が未発生地と発生地でどのような差異を示すのか、両地の非病原性株について体細胞和合性群による分類を試みた。調べた菌株の大部分 (70%以上) は 10 の共通の体細胞和合性群に含まれ、明確な違いは認められなかった。

ミトコンドリアの制限酵素断片長他型 (RFLP) を比較することで *F. oxysporum* の分化型間、あるいは非病原性株との系統発生的な研究がなされてきている^{25,38)}。しかし、病原性とミトコンドリア遺伝子の関連についてはほとんど明らかになっていない。Xue & Goodwin¹¹⁰⁾ は *Leptosphaeria*

maculans の強病原性株と弱病原性株のミトコンドリア大 rDNA の V 領域の挿入塩基配列の違いから病原性の違いを説明しようとしたが、その機能については明らかにしていない。本研究においても比較的研究が進んでいる ITS 領域とミトコンドリア rDNA 領域を PCR 法により増幅することで、病原菌と非病原菌の系統発生的比較を目的にしたが、アズキ萎凋病菌と非病原性株には明確な差は認められなかった。ただ、非病原性株の中にプライマー MS1 と MS2 で増幅したとき 2 本のバンドを示す株が相当数存在したことが病原性株と異なっていた。しかし、この意味については不明である。

V. 生態と防除

第 III 章の結果より、アズキ萎凋病は北海道中央部を中心として発生しており、十勝地方を中心とした北海道東部には一部例外はあるが、存在しないことが明らかになった。また、同時にアズキ萎凋病菌には 3 つのレースが存在することが確認された。そこで、これらレースの分離頻度は発生地により異なるか否か検討し、非耕地土壌及び未だ発生の見られない十勝地方の土壌から直接 *Fusarium oxysporum* を分離して病原性を検定することで、さらに詳しく本菌の分布について検討した。

Fusarium oxysporum の土壌中における生存形態は厚膜胞子であるとされる⁸⁰⁾。宿主が生きている間、導管内に繁殖していた菌は宿主の枯死後導管周辺の柔組織細胞の死滅に伴って、しばらく腐生生活を営み、栄養の欠乏あるいは他の微生物の繁殖による代謝産物の集積により、厚膜胞子を形成し、耐久生存の生活を始めると考えられている⁷⁵⁾。

厚膜胞子の生存には作物の根が大きな影響を与える。連作、あるいは輪作によって土壌中の菌密度がどのように変化するか、それを把握することは耕種的防除法を確立する上で重要なことである。本章では、様々な条件下における土壌中菌密度を測定し、効果的な防除法を確立することを目的とした。

また、病気の伝搬には罹病残渣、病原菌汚染種子が関わることが多いが、十勝地方にアズキ萎凋病の発生が見られないことに関して、これらの要因との関係について考察した。また、発生地である北海道中央部と十勝地方で異なる環境要因のうち、土壌凍結とアズキ萎凋病菌の生存についても検討した。

表20 罹病アズキから分離されたアズキ萎凋病菌のレース
 Table 20 Race identification of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* isolated from diseased adzuki bean in Hokkaido

採集場所	圃場No.	供試 菌株数	分離株数			
			レース1	レース2	レース3	
石狩地方	新篠津村	1	4	2	1	1
		2	2	1	1	0
		3	2	1	0	0
		4	4	0	0	3
	当別町	1	5	4	0	1
		2	5	2	1	0
		3	8	1	3	4
		4	10	2	4	2
	江別市	1	11	7	0	2
		2	9	8	0	0
		3	3	1	0	0
	南幌町	1	5	5	0	0
		2	6	1	2	1
	小計			74	35	12
空知地方	岩見沢市	1	4	4	0	0
		2	6	4	1	1
	美唄市	1	2	1	1	0
		深川市	1	3	0	2
	2		2	2	0	0
	3		2	2	0	0
	4		3	2	0	1
	5		2	0	1	0
	6	2	2	0	0	
	7	3	0	1	2	
	長沼町	1	5	1	2	1
	浦臼町	1	4	1	0	3
	北村	1	2	2	0	0
		2	5	5	0	0
3		7	6	1	0	
小計			52	32	9	9
上川地方	士別市	1	2	0	0	2
	中富良野町	1	2	2	0	0
	剣淵町	1	4	3	0	1
	美瑛町	1	25	16	5	2
	比布町	1	3	1	0	2
	小計			36	22	5
後志地方	倶知安町	1	7	6	0	1
	黒松内町	1	3	1	0	0
小計			10	7	0	1
胆振地方	鷗川町	1	7	6	1	0
	合計			179	102	27

A. アズキ萎凋病菌の分布

a. レースの分布

材料と方法

北海道各地から採集されたアズキ発病株からアズキ萎凋病菌を分離した。これから得られた単胞子分離株をレース検定品種に接種してレースを判定した。第III章C-aと同様にして接種を行った。

結 果

レースの頻度分布は圃場あるいは地域により異なったが、全体的にみてレース1が106菌株で最も多く、レース2と3はそれぞれ33と39でほぼ同率であった(表20, 表21)。石狩, 空知, 上川支庁管内では同様な傾向を示した。調査37圃場のうち21圃場では同一の圃場から複数のレースが分離された。また、倶知安町の例では同一の発病アズキから複数のレースが分離された(表21)。ほとんどの圃場では複数のレースが混在している可能性が高いと考えられる。

表21 単一アズキから分離されるアズキ萎凋病のレース
Table 21 Race identification of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* collected from the identical adzuki bean plant

個体 ^{a)} No.	供 試 菌株数	分離株数		
		レース1	レース2	レース3
1	8	2	1	4
2	7	1	3	3
3	4	1	2	1
合計	19	4	6	8

a) 罹病アズキは1991年後志管内倶知安町の圃場で採集した
Diseased plants were collected from a field in Kucchan in 1991.

b. 十勝地方の土壤中における病原菌存在の検討

材料と方法

1988年と1992年に十勝地方の合計40地点より採取したそれぞれの土壌約1kgから、駒田培地を用いて希釈平板法により *Fusarium oxysporum* を分離し、その土壌中菌密度を測定するとともに、前に述べた方法と同様にしてアズキ萎凋病菌の検定を行った。なお、1988年の試験では、アズキ落葉病選択分離培地⁴⁵⁾を用いてアズキ落葉病菌の菌密度についても調べた。

結 果

調査した40地点の *F. oxysporum* の土壌中密度は0.4~48.3×10³ cfu/乾土であり、分離された659菌株にアズキ萎凋病菌は存在しなかった(表22)。なお、1992年の調査は8月に行ったこともあつてか、アズキ落葉病の症状はいずれの圃場でも認められなかった。

c. 非耕地土壌中でのアズキ萎凋病菌生存の有無

新篠津村は1955年頃より開拓された地域であり、開拓初期の頃は実に全耕地の70%をアズキが占めていたこともあつた³²⁾。現在、防風林地帯になっているところもかつては畑であった所が多く、アズキ萎凋病の起源を探る上で重要と考え、非耕地の土壌中に本菌が存在するか否か調査を行った。

材料と方法

新篠津村の発生圃場付近の8箇所の非耕地土壌約1kgから駒田培地を用い、*Fusarium oxysporum* を分離して、第III章C-aの方法でアズキ萎凋病菌か否かを検定した。

土壌の採集地は、激発圃場隣接地1カ所を含む防風林内6カ所、河畔1カ所、泥炭採集地1カ所である。

結 果

3箇所の非耕地土壌からアズキ萎凋病菌が分離されたが(表23)、泥炭採集地からは分離されなかった。アズキ萎凋病菌が分離された3地点のうち発生畑近傍防風林を除いて少なくとも10年以上は水田が周辺にある地点であり、罹病残渣、病土の混入の可能性も考えられるが、アズキ栽培圃以外でも相当生存できる可能性がある。また、一般の発病畑と同様にいずれのレースも存在した。

B. アズキ萎凋病菌の土壌中での生存

a. 連作土壌中の菌密度変動

材料と方法

1987年から1992年まで石狩支庁管内新篠津村連作圃場(1984年発生が認められ、その後アズキを連作)の土壌を10箇所から計2kgを採取し、風乾した。これから土壌希釈平板法により選択分離培地(駒田培地)で *Fusarium oxysporum* を分離した。分離した *Fusarium oxysporum* についてアズキ萎凋病菌であるか否かを確かめるため、幼苗検定法で述べたと同様の方法で「寿小豆」あるいは「斑小粒系1号」を用いて接種試験を行った。また、分離されたアズキ萎凋病菌について検定品種を用い、接種試験によりレース検定を行った。

表22 十勝地方アズキ栽培圃場土壌から分離した *Fusarium oxysporum* のアズキに対する病原性
 Table 22 Pathogenicity of isolates of *F. oxysporum* collected from soils of fields in Tokachi district on adzuki bean

年	採集場所	圃場No	<i>F. oxysporum</i> の菌密度 (cfu/g of dry soil)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>adzukicola</i> の頻度 ^{a)}	<i>Phialophora</i> <i>gregata</i> の菌密度 (cfu/g of dry soil)	
1988	芽室町	1	9.5×10 ²	0/16	6.6×10 ³	
		清水町	1	5.9	0/18	11.0
		本別町	1	5.4	0/29	0.0
	豊頃町	1	0.4	0/2	0.0	
		浦幌町	1	2.7	0/11	0.0
			2	2.1	0/8	0.0
	池田町	3	3.1	0/10	0.0	
		1	3.1	0/10	0.0	
		2	2.9	0/8	0.6	
	1992	浦幌町	3	12.3	0/38	0.0
1			5.3	0/10	—	
2			7.5	0/15	—	
豊頃町		3	36.3	0/25	—	
		4	2.9	0/6	—	
池田町		1	14.8	0/25	—	
		2	48.2	0/25	—	
本別町		1	7.2	0/15	—	
		2	4.5	0/9	—	
		3	4.2	0/10	—	
		4	0.9	0/2	—	
士幌町		1	7.1	0/16	—	
		2	7.0	0/12	—	
芽室町		3	8.9	0/21	—	
		2	3.0	0/25	—	
帯広市		1	9.1	0/25	—	
		2	10.2	0/25	—	
		3	10.1	0/25	—	
中札内村		2	2.1	0/5	—	
		1	8.2	0/18	—	
音更町		1	7.5	0/25	—	
		2	5.4	0/11	—	
鹿追町		1	8.3	0/11	—	
		2	12.2	0/25	—	
		3	27.6	0/25	—	
新得町		1	9.2	0/22	—	
		2	7.2	0/15	—	
清水町	1	17.1	0/25	—		
	2	3.4	0/8	—		
合計	1	7.4	0/7	—		
	2	10.9	0/20	—		
				0/659	—	

a) 萎凋病菌数/供試菌株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates tested.

表23 非耕地土壌（新篠津村）からのアズキ萎凋病菌の分離
Table 23 Isolation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola* from soils of non-cultivated areas (Shinshinotsu)

採取月日	発生畑近傍防風林		河畔雑木林		水田横防風林	
	<i>Fusarium oxysporum</i> ^{a)} (乾土 1g)	萎凋病菌 分離頻度 ^{b)} (レース)	<i>Fusarium oxysporum</i> (乾土 1g)	萎凋病菌 分離頻度 (レース)	<i>Fusarium oxysporum</i> (乾土 1g)	萎凋病菌 分離頻度 (レース)
1988. 7.20	240	1/10 (3)	—	—	—	—
11.18	280	1/10 (1)	1000	1/14 (1)	100	1/25 (1)
1989. 6.14	200	0/23	—	—	—	—
10.14	1300	0/30	—	—	—	—
1990. 4.26	1300	2/47 (1,2)	450	0/31	1400	0/41
11.13	690	2/31 (2,2)				

- a) 土壌から分離された全 *Fusarium oxysporum* の菌密度
 Population of *F. oxysporum* (cfu/dry soil)
 b) アズキ萎凋病菌数/供試菌株数
 No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates tested.

表24 連作土壌中におけるアズキ萎凋病菌の菌密度変動と各レースの頻度
Table 24 Population density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola* in soil of a continuous adzuki field (Shinshinotsu)

年	日時	全 <i>F. oxysporum</i> (cfu/g 乾土)	萎凋病菌 ^{a)} 割合	レース		
				1	2	3
1987	5.19	1700	31.4% (11/35)	7	1	1
	5.28	2800	13.7 (17/124)	5	1	3
	10.15	3800	22.4 (19/85)	—	—	—
1988	5.19	1100	14.3 (28/196)	20	3	4
	7.20	2400	27.0 (69/256)	39	3	3
	9.7	3100	26.7 (4/15)	24	1	2
1989	5.8	1800	12.5 (2/16)	—	—	—
	6.4	1400	10.0 (4/10)	3	0	1
1990	4.26	7200	4.1 (2/49)	2	1	2
	6.26	8600	4.0 (2/50)	—	—	—
	7.6	13000	12.8 (6/47)	—	—	—
	7.26	17000	4.2 (2/48)	—	—	—
	11.13	3200	8.5 (4/47)	—	—	—
1991	5.13	12000	4.0 (2/50)	1	1	0
	6.19	14000	8.0 (4/50)	—	—	—
	8.10	8400	10.0 (5/50)	—	—	—
	7.20	12200	34.0 (17/50)	—	—	—
	9.13	11300	8.0 (4/50)	—	—	—
1992	4.22	8000	4.1 (2/49)	—	—	—
	6.10	5200	6.3 (3/48)	—	—	—

- a) 病原性を検定した *F. oxysporum* 菌株に占めるアズキ萎凋病菌の割合 (アズキ萎凋病菌数/供試菌株数)
 Proportion of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in total *F. oxysporum* examined. (No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/N. of isolates of *F. oxysporum*.)

結 果

土壌の採取時期により変動はあるが、全 *Fusarium oxysporum* の菌密度は $1.1 \times 10^3 \sim 1.7 \times 10^4$ cfu/g 乾土であるのに対し、アズキ萎凋病菌の割合から推定される菌密度は $5.0 \times 10^2 \sim 4.1 \times 10^3$ cfu/g 乾土で、その割合は 4.0~34.0%であった (表 24)。1990 年 7 月, 1991 年 6 月, 7 月にはその他の時期と比べ菌密度は高い水準となったが、これは、この時期は丁度アズキに病徴が現れる時期に重なっており、茎表面に形成したスプロドキアからの胞子を計測した可能性がある。その他は $3 \sim 5 \times 10^2$ cfu/g 乾土程度であった。

レースの頻度はレース 1 が圧倒的に多く、レース 2 と 3 はほぼ同程度の頻度であった。

b. 土壌中厚膜胞子密度と発病

材料と方法

厚膜胞子の作成は以下のように行った。20 g アズキ切断茎, 5 mM KNO_3 と 0.5% ブドウ糖を含む栄養培地 125 ml を 500 ml フラスコに入れ、滅菌した。これにレース 1 (KF 646 A) レース 2 (KF 654 C), レース 3 (90-750 B) の胞子懸濁液を接種し 2 週間培養した。これを滅菌ペーパータオル上で 2 週間乾燥させ、細かく砕いて 50 メッシュの篩を通して厚膜胞子を含むアズキ残渣を得た。滅菌した川砂にこれらを所定量混和して素焼きポットにつめ、「寿小豆」を播種して温室内においた。発病の有無は 40 日後に確認した。

結 果

レース 1 (KF 654 A), レース 2 (KF 646 C) は 10^2 cfu/g 乾土以下の菌密度のとき発病率は 12% と低かったのに対し、レース 3 (90-750 B) では菌密度

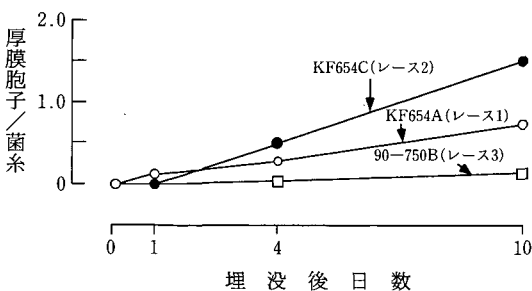


図 5 土壌中に埋没した菌糸に形成されるアズキ萎凋病菌の厚膜胞子

Fig. 5 Chlamydospore formation on buried mycelia in soil

が 50 cfu/g 乾土でも 80% 以上の発病率を示し、病原性が高いと考えられる (図 4)。また、アズキの発病には先に述べた 10^2 cfu/g 乾土オーダーのアズキ萎凋病菌の土壌中菌密度で十分であることが推定される。

c. 土壌中における厚膜胞子の形成

材料と方法

9 cm 直径ペトリ皿中のジャガイモしょ糖寒天培地にアズキ萎凋病菌の各レースを生育させ、滅菌ガラス小片を間にしてスライドガラスを菌叢の上に置き 1 週間培養 (25°C) した。表面に菌糸が伸びたスライドガラスを静かにはぎとり、新篠津村発病土壌 (蒸留水を風乾土に対し 25% 加える) 中に垂直に埋没して室温 (20~25°C) に置いた。埋没後 1, 4 および 10 日目に各 2 枚ずつのスライドガラスを病原菌の付着した面を傷めないように静かに掘り上げて風乾した。風乾したスライドガラスは火炎固定後炭酸ローズベンガル液 (ローズベンガル 1.0 g, 5% フェノール 100 ml, 塩化カルシウム 100 mg) で染色, 水洗, 風乾して顕微鏡観察を行った。観察は $\times 40$ の対物レンズを用いて、任意 10 視野について厚膜胞子数を測定した。

結 果

埋没時の菌体の状態は原形質の充満した菌糸であり、ところどころ小型分生胞子が認められた。厚膜

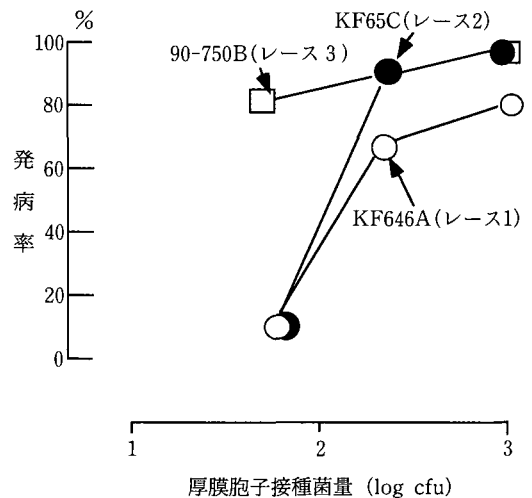


図 4 アズキ萎凋病菌厚膜胞子量と発病

Fig. 4 Effect of inoculum density on the incidence of the disease

孢子形成数は菌株により異なったが、埋没した後1~4日目に菌糸に形成された(図5)。菌糸は次第に原形質の染色性が失われていった。

d. 罹病残渣中での生存

材料と方法

1988年9月に採集したアズキ萎凋病発病「エリモショウズ」(新篠津村圃場産)の茎(15cmに切断)を2カ月自然乾燥させ、11月にナイロンストッキングに10本ずつつめた。これらを1m×1m枠内のアズキ萎凋病無発生の自然土壌の地上部(0cm)、地下部10cm、20cmおよび30cmに設置し、所定の時期に取り出し、アズキ萎凋病菌を分離して生存の有無を確かめた。その方法は、5gの茎を100mlの滅菌水とともにホモジナイザーで15000rpm、5分間磨砕して10倍あるいは100倍に希釈して駒田培地にひろげ、*F. oxysporum*の菌叢数を計測した。分離された菌について「寿小豆」を用いて前述のように病原性検定を行った。

また、大きな根、茎などを取り除いた新篠津村アズキ連作圃場土500gに2000mlの水道水を加え、よく攪拌した後数分間静置し、浮遊した残渣を32メッシュ、100メッシュのふるいを通した。この操作を10回行ってふるい上に残った残渣を上述の方法で磨砕してアズキ萎凋病菌の残渣に含まれる菌密度を推定した。

結 果

地表においた罹病茎は251週後でも原形を保っていたが、地中に埋没した茎は細かい断片に分解していた。しかし、その罹病残渣の埋没位置にかかわらず、 $4.2 \times 10^4 \sim 3.5 \times 10^5$ /g乾燥残渣の菌密度を示し、その変動幅は小さかった(表25)。この残渣を顕微鏡で観察すると厚膜孢子が多数観察され、厚膜孢子の形で長期間に亘って、ほぼ一定の菌密度が維持されていた。

自然発病圃場から得た残渣は、32あるいは100メッシュのふるいに残った、細かい残渣で、普通土

表25 アズキ萎凋病菌の罹病残渣中での生存

Table 25 Recovery of *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukiicola* from diseased stem located below or on the soil surface following exposure to natural conditions in Hokkaido (Naganuma)

埋没後期間 (週)	罹病残さ の位置 深さ(cm)	<i>F. oxysporum</i> の分離 (1g乾燥残渣中の数)	百分率 %	萎凋病菌割合 ^{a)}
87	0	5.2×10^4	83.7	(41/49)
	10	1.3×10^5	41.7	(20/48)
	20	2.4×10^5	49.0	(24/49)
	30	3.1×10^5	31.3	(15/48)
139	0	5.1×10^5	48.0	(24/50)
	10	1.3×10^5	32.0	(16/50)
	20	2.1×10^5	34.0	(17/50)
	30	3.2×10^5	34.0	(17/50)
181	0	2.0×10^5	64.0	(32/50)
	10	3.9×10^5	36.0	(18/50)
	20	5.5×10^5	34.7	(17/49)
	30	5.8×10^5	48.0	(24/50)
223	0	1.3×10^5	56.0	(28/50)
	10	6.4×10^5	22.0	(11/50)
	20	8.8×10^5	40.0	(20/50)
	30	4.0×10^5	20.0	(10/50)
251	0	4.2×10^5	90.0	(45/50)
	10	3.2×10^5	46.0	(23/50)
	20	3.9×10^5	68.0	(34/50)
	30	6.9×10^5	38.0	(19/50)

a) () 内の数字は、アズキ萎凋病菌数/供試した *F. oxysporum* 数
No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

壤希釈平板法ではこのぐらゐの残渣も含めて計測していると考えられる。乾土1g中に換算すると、土壤希釈平板法で測定したときの菌密度の10分の1から100分の1になること(表26)から、土壤中では厚膜胞子の大部分が遊離した状態で、単独で存在していると考えられる。

e. アズキ萎凋病菌の各種植物根への侵入および根圏土壤中菌密度

材料と方法

アズキ根への侵入

アズキ萎凋病菌のアズキへの侵入時期を調べるため、50×60×40 cmの箱につめた新篠津村圃場病土に「寿小豆」、「光小豆」をまき、所定の日数後に土から取り出して以下の方法で*F. oxysporum*を分離した。すなわち、アズキ根を流水で一晩洗浄し、100 ppm ストレプトマイシン硫酸塩を加え、滅菌蒸留水をリン酸でpH 4.0とし、その溶液中で1時間ゆるやかに攪拌して表面殺菌した。滅菌蒸留水で3回洗浄後濾紙で水分をとって駒田培地にのせた。得られた単胞子分離株については「寿小豆」を用いてアズキ萎凋病菌であるか否かの検定をした。

また、23°Cの恒温室においたポット(直径20 cm, 高さ30 cm)に新篠津村発病圃場土をつめて上記と同様の方法で「寿小豆」、「光小豆」、「ハツネショウズ」および「十育123号」について分離、検定を行った。

さらにbと同様にして作成した厚膜胞子を土壤中濃度が 5.0×10^2 cfu/g 乾土になるようによく滅菌川砂と混和し、同様の試験を行った。100 mm×80 mm×8 mmのアクリル製の根箱につめ3%次亜塩素酸で表面殺菌した「寿小豆」と「十育123号」

種子をまいた。20°Cの恒温室において3, 7, 10日後に発芽した種子を取り出し、3%次亜塩素酸で表面殺菌し滅菌蒸留水でよくすすぎ、よく水分をとって駒田培地に置床した。なお、分離された*F. oxysporum*については接種試験によりアズキ萎凋病菌であることを確認した。

アズキ品種と根圏土壤中の菌密度

1992年6月10日新篠津村圃場に「十育127号」、「十育131号」、「エリモショウズ」を1区3 m²に、1粒ずつ10 cm間隔で3畝まいた。9月16日に発病率を調査後、各品種5株を抜き取り振盪法により得た根圏土壌から土壤希釈平板法により菌密度を測定し、分離された*F. oxysporum*について幼苗検定を行ってアズキ萎凋病菌の割合を推定した。

また、大箱(50 cm×70 cm×45 cm)に新篠津村発病土壌をつめ、これに1993年6月29日に上記の品種をまいて、7月8日(初生葉展開期)、8月20日(第5本葉展開期)、9月30日(枯凋期)にそれぞれ5本抜き取り根圏土壌から分離して、上記と同様にしてアズキ萎凋病菌の割合を出し、アズキ萎凋病菌に及ぼす品種の影響を考察した。さらに1994年6月2日に「エリモショウズ」を栽培した大箱に再び「エリモショウズ」、「十育127号」のあとに「十育127号」、「十育131号」のあとに「エリモショウズ」を播種して同様に土壤中菌密度と発病率を測定した。

各種作物根へのアズキ萎凋病菌の侵入と根圏土壤中菌密度

1992年4月新篠津村発病圃場から採取した土壌を20 cm直径、25 cmの高さのポットにつめ、表34に示した作物を播種した。20°Cのコイトロン

表26 土壤中植物残渣からのアズキ萎凋病の分離

Table 26 Isolation of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* from residue^{a)} of plants in naturally infested soil

メッシュ ^{a)}	19/May, '88		20/JUL., '88		13/Nov., '90	
	<i>F. oxy.</i> ^{b)} の菌密度	萎凋病菌割合 ^{c)} %	<i>F. oxy.</i> の菌密度	萎凋病菌割合 %	<i>F. oxy.</i> の菌密度	萎凋病菌割合 %
32	128	40.0 (20/50)	19	20.0 (8/40)	31	10.0 (5/50)
100	97	4.1 (2/49)	34	39.1 (18/46)	23	8.0 (4/50)

a) 残渣は32及び100メッシュのふるいを通して得た。

Residue was collected through 32 and 100 meshes sieves with soil suspension.

b) *F. oxy.* は乾土1g中の残渣内の*F. oxysporum* 数
population of *F. oxysporum* (cfu/g dry residue)

c) () 内の数字は、アズキ萎凋病菌数/供試した*F. oxysporum* 数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

表27 病土における播種後日数と根から分離されるアズキ萎凋病菌 (室外)

Table 27 Isolation of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* from seedling roots in natural condition

播種後日数	寿小豆	光小豆
2	0/3 ^{a)}	0/3
8	3/4	2/4
13	0/3	0/3

a) アズキ萎凋病菌数/供試 *F. oxysporum* 株数
No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

内で3カ月栽培し、茎を切断して枯死させ、2週間水を供給しないで保持した。これから根を掘りだし、洗浄せずに分離まで4°Cにて保存した。分離法は水道水で1時間洗い、次いで滅菌水中で2時間振とうし、3%次亜塩素酸ナトリウムで滅菌、滅菌水で洗浄後駒田培地にのせる方法で行った。分離された菌は前述と同様にしてアズキ萎凋病菌か否か検定した。

120°C、30分間オートクレーブした滅菌新篠津村土壌に 4×10^3 cfu/g乾土となるように厚膜孢子形成土壌(KF 646 A/13 (*nit* 1)を供試して作成)を混和し、各種作物を播種して8週間後に駒田培地を使い、根と根圏土壌から接種菌を分離した。接種菌の確認はMM培地で行った。なお、厚膜孢子を含む土壌は次のようにして作成した。すなわち、0.2%酵母抽出物を含むジャガイモしょ糖液体培地(100mlフラスコ)で25°C5日間培養した菌体(菌株KF 646 A/13: *nit* 1)を蒸留水で5分間洗い、20枚の菌体マットを150mlの蒸留水を加えてミキサーで1分間混合した。これを3500rpm、10分間遠心し、再度150mlの蒸留水に懸濁して風乾した土壌1kgによく混合した。この土壌をプラスチックの

袋にいれ、4週間25°Cで培養した。その後風乾して使用まで4°Cで保存した。

結 果

アズキ根への侵入

自然発病土壌で生育させたアズキ各品種を駒田培地に置いた場合、まず子葉あるいは子葉付近の根から菌叢が現れ、続いて主根中間部、あるいは側根からも分離された。播種後2~3日ではアズキ萎凋病菌は分離されなかったが、7あるいは8日目に供試したすべての品種で分離されるようになった(表27, 28)。しかし、10日目、あるいは13日目には旺盛に*F. oxysporum*が根から出現したものの、アズキ萎凋病菌は再び検出できなくなった。また、この傾向は罹病性、抵抗性品種にかかわらず同様であった。

厚膜孢子接種土壌では自然発病土とは異なり、播種3日後から7、10日目まで下胚軸と、それに接した根の付近からのみ*F. oxysporum*が分離され、どの時期においてもアズキ萎凋病菌は分離された(表29)。

アズキ品種と根圏土壌中の菌密度

自然発病圃場においては、これまでの品種試験の結果と同様に「十育127号」、「十育131号」には全くアズキ萎凋病は発病しなかった。また、根圏土壌中の全*Fusarium oxysporum*の菌密度は「エリモショウズ」を含めた3品種でほとんど同じ程度であったが、アズキ萎凋病菌の割合は「十育127号」で0%、「育131号」で3.6%と抵抗性の2品種では低かった(表30)。一方「エリモショウズ」では22.2%と高かった。

枠圃場で行った試験では、播種前の全*F. oxysporum*の菌密度は 3.6×10^8 cfu/g乾土で、アズキ萎凋病菌の割合3/41から推定されるアズキ萎凋病菌の菌密度は、 2.6×10^2 cfu/g乾土であった

表28 病土における播種後日数と根から分離されるアズキ萎凋病菌 (23°C恒温室)

Table 28 Isolation of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* from roots of seedling cultivated in naturally infested soil at a constant temperature condition (23°C)

播種後日数	寿小豆	光小豆	ハツネショウズ	十育123号
3	0/18 ^{a)}	0/46	0/46	0/30
7	2/49	3/50	6/50	1/26
10	0/50	0/50	0/50	0/50

a) アズキ萎凋病菌数/供試 *F. oxysporum* 株数
No. of isolation of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

(表31)。「エリモシヨウズ」は8月には62%が発病したが、「十育127号」,「十育131号」は、全く発病しなかった。「エリモシヨウズ」の場合、発病株のほかに無病徴の株の根圏土壌中菌密度を測定した。無病徴株の場合、発病株ほど菌密度は増えなかった

表29 接種土壌における播種後日数と根から分離されるアズキ萎凋病菌 (20°C恒温室)

Table 29 Isolation of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* from roots of seedling cultivated in artificially infested soil at a constant temperature condition (20°C)

播種日数	寿小豆	十育123号
3	3/4 ^{a)}	2/4
7	7/9	6/8
10	4/4	4/5

a) アズキ萎凋病菌数/供試 *F. oxysporum* 株数
No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

表31 アズキ各品種根圏土壌におけるアズキ萎凋病菌密度 (粋圃場^{a)})

Table 31 Effect of adzuki bean cultivar on population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in rhizosphere in naturally infested field soil^{a)}

品 種	根圏土壌中 <i>F. oxysporum</i> の菌密度 ^{b)} ($\times 10^3$)			土壌中菌密度 ($\times 10^3$)
	8/Jul.	20/Aug. ^{c)}	30/Sep.	14/Dec.
十育127号	2.0 (0/5)	14.0 (1/42)	3.1 (2/50)	2.2 (3/47)
十育131号	12.0 (2/30)	39.0 (0/50)	3.3 (0/44)	2.5 (8/48)
エリモシヨウズ(発病)	—	94.0 (7/50)	39.0(47/50)	
エリモシヨウズ(健全)	12.0 (1/27)	10.0 (3/45)	26.0(26/44)	4.6(22/50)

- a) 播種前(4月16日)の土壌中菌密度は 3.6×10^3 (アズキ萎凋病菌の割合: 3/41)
Population of *F. oxysporum* was estimated to be 3.6×10^3 cfu/g dry soil before seeding (No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*: 3/41).
- b) () 内は、アズキ萎凋病菌菌株数/供試 *F. oxysporum* 菌株数
No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.
- c) 8月20日の発病率はエリモシヨウズ62% (13/21), 十育127号, 十育131号は0%であった。
% of diseased plants were 62, 0, and 0, in Erimo-shozu, Toiku No. 127, and Toiku No. 131, respectively.

表32 アズキ各品種根圏土壌におけるアズキ萎凋病菌密度

Table 32 Effect of adzuki bean cultivar on population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in rhizosphere and % of diseased plants in naturally infested field soil

品 種 (前作)	播種時の 土壌中菌密度 ^{a)}	発病率 (%)
エリモシヨウズ(エリモシヨウズ)	1.3×10^4 (10/46)	62.5
エリモシヨウズ (十育131号)	7.8×10^3 (3/48)	25.0
十育127号 (十育127号)	7.1×10^3 (1/48)	0.0

a) () 内は、アズキ萎凋病菌菌株数/供試 *F. oxysporum* 菌株数
No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

表30 アズキ各品種根圏土壌におけるアズキ萎凋病菌密度 (自然発病土壌)

Table 30 Effect of adzuki bean cultivar on population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in rhizosphere in naturally infested field soil^{a)}

品種	発病率 (%)	土壌中の <i>F. oxysporum</i> 菌密度 (cfu/g 乾土)	萎凋病菌割合 ^{b)} (%)
十育127号	0.0	2.0×10^3	0.0 (0/49)
十育131号	0.0	1.0×10^3	3.6 (1/28)
エリモシヨウズ	82.1	2.0×10^3	22.2 (10/45)

- a) 試験は新篠津村のアズキ萎凋病発生圃場で行った。
The experiment was conducted at a field in Shinshinotsu.
- b) () 内は、アズキ萎凋病菌菌株数/供試 *F. oxysporum* 菌株数
No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

が、菌密度は発病株に次いで高く、 1.5×10^3 cfu/g 乾土 (9月30日) と推定された。

一方、抵抗性の2品種の根圏土壌中菌密度とは明らかな差が認められた。12月の根雪前の土壌中菌密度は、抵抗性品種栽培区では $1.4 \sim 4.2 \times 10^2$ cfu/g 乾土に対し、「エリモショウズ」栽培区では 2.0×10^3 cfu/g 乾土と推定された。この傾向は翌年も同様であり、6月の播種時のアズキ萎凋病菌菌密度は、「エリモショウズ」あとで 2.8×10^3 cfu/g 乾土、「十育127号」あとで 1.5×10^2 cfu/g 乾土、「十育131号」あとで 4.9×10^2 cfu/g 乾土であった (表32)。この菌密度を反映してアズキ萎凋病発病率は「エリモショウズ」連作区で62.5%、「十育131号」あとの「エリモショウズ」で25.0%となった。

各種作物根へのアズキ萎凋病菌の侵入と根圏土壌中菌密度

自然発病土壌では根から分離されたのはアズキとコムギのみであった (表33)。ジャガイモと水稻は非病原性の *F. oxysporum* の根への着生率も低かった。接種土壌においてはアズキ、インゲンマメ、コムギのアズキ萎凋病菌分離率が高く、根圏土壌中菌密度は接種菌密度の100倍から300倍に増加していた (表34)。一方、テンサイ、水稻ではアズキ萎凋病菌分離率は低く、根圏土壌中菌密度はほとんど変化しないか、あるいは水稻の場合は1/8ほどに減少した。アズキ萎凋病菌の水稻根への着生が困難であると考えられる。

C. アズキ萎凋病菌の分布に影響する要因

a. 種子伝染

材料と方法

1988年10月に発病、無発病まとめて収穫し、脱穀した新篠津村アズキ萎凋病発病圃場産の「エリモ

表33 自然発病土壌 (新篠津土壌) における各種作物根からのアズキ萎凋病菌の分離
Table 33 Isolation of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* from roots of crops cultivated in naturally infested field soil (Shinshinotsu)

供試作物 (品種)	<i>F. o.</i> の分離率 ^{a)}	萎凋病の分離 ^{b)}
アズキ (寿小豆)	13/13	2/13
ジャガイモ (男爵いも)	10/10	0/10
インゲンマメ (改良早生大福)	16/17	0/12
テンサイ (モノミドリ)	28/28	0/11
トウモロコシ (スイートコーン)	19/19	0/12
コムギ (チホクコムギ)	14/16	1/11
水稻 (ゆきひかり)	8/52	0/7

a) *F. oxysporum* が分離された切片/供試切片

No. of sections from which *F. oxysporum* was isolated/No. of sections tested.

b) アズキ萎凋病菌株数/供試菌株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

表34 人工接種土壌におけるアズキ萎凋病菌の各種作物根への着生と根圏土壌中菌量
Table 34 Colonization of roots of crops with *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* and population of this fungus in rhizosphere in artificially infested soil

供試作物 (品種)	萎凋病菌分離率 ^{a)} (%)	根圏土壌中菌密度 ^{b)} (cfu/g dry soil)
アズキ (寿小豆)	25/47 (53.2)	170,000
インゲンマメ (金時豆)	15/30 (50.0)	300,000
テンサイ (モノミドリ)	7/58 (12.1)	1,700
コムギ (チホクコムギ)	15/26 (57.7)	100,000
水稻 (ゆきひかり)	0/19 (0.0)	130

a) 萎凋病菌が分離された根切片数/供試切片数

No. of sections from which *F. oxysporum* was isolated/No. of sections tested.

b) 播種時の土壌中菌密度は $1,000$ cfu/g 乾土

Population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* was estimated to be 1.0×10^3 cfu/g dry soil at seeding.

表35 収穫したエリモシヨウズ種子(新篠津村発病圃場)からのアズキ萎凋病菌の分離

Table 35 Isolation of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* from seeds

供試種子数	<i>F. oxysporum</i> が分離された種子数	萎凋病菌数/供試菌数
189	24	6/21 (28.6%)

シヨウズ」種子を塩化第二水銀で殺菌し滅菌水で洗浄後、駒田培地に置き *F. oxysporum* を分離した。これらの単胞子分離株について「寿小豆」を用いて病原性検定を行った。

また、新篠津村産の「エリモシヨウズ」発病株莢から滅菌ピンセットで種子を取り出し、同様にして検定を行った。

結果

脱穀後の種子の28.6%からアズキ萎凋病菌が分離された(表35)。脱穀作業をとおさないで直接莢から種子を無菌的に取り出したときの分離率は21%あまりとなり(表36)、脱穀作業の有無にかかわらず分離率は変わらなかった。本病の種子伝染が考えられた。

b. 十勝土壤への罹病莖の混入

材料と方法

新篠津村の発病圃場から得た「エリモシヨウズ」罹病莖を20×30×7 cmの箱につめた十勝農試落葉病検定圃場土(表14の1988年芽室町圃場1)にすき込み、「エリモシヨウズ」を播種し発病を見た。試験は温室内(18~28°C)で行い、40日後に抜き取りアズキ胚軸から駒田培地で分離し確認した。また、第

1回の試験終了直後、再び第2回試験として「エリモシヨウズ」を播種して発病を見た。

結果

罹病残渣を混入することにより、十勝地方土壤においてもアズキ萎凋病が起き、続けてアズキを栽培しても1回目と発病率は変わらないことから(表37)、十勝地方の土壤が抑止型土壤である可能性は低い。

c. 土壤凍結と厚膜胞子の生存

材料と方法

B-eと同様にして作成した厚膜胞子土壤を 1.4×10^4 cfu/g 乾土の菌密度に調整し、40%の蒸留水を加えてポリプロピレン製容器につめ、密閉した。これを4°Cおよび-20°Cにおいて所定の時期に菌密度を計測した。

結果

-20°Cにおいては4°Cと比べると若干菌密度は低いが、ほとんど最初に接種した菌密度と変化がなく、16週間菌密度が維持され(表38)、土壤凍結は本菌の生存に影響を与えなかった。

D. 連輪作とアズキ萎凋病の発病

a. 非宿主作物がアズキ萎凋病の発病と土壤中菌密度に及ぼす影響

材料と方法

アズキ萎凋病多発生圃場(新篠津村, 1985年7月には、圃場全体にほぼ100%発生した)の各区50m²に畝幅60cmとして、株間はインゲンマメ「大正金時」、ジャガイモ「メークイン」、テンサイ「モノヒル」、トウモロコシ「ハニーバンタム」は30cmとし、コムギ「はるひかり」は畝間30cmで10a当た

表36 罹病したエリモシヨウズの種子からのアズキ萎凋病菌の分離

Table 36 Isolation of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* from seeds of naturally infested Erimo-shozu

個体 No.	全節数	褐変が認められる最上位節 No.	供試種子の節 No.	<i>F. oxysporum</i> が分離された種子割合 ^{a)}	萎凋病菌が分離された割合 ^{b)}
1	14	9	5	7/9	0/1
			8	18/19	1/3
2	9	9	5	15/15	0/3
			6	7/7	1/1
3	9	9	3	3/5	0/1
			6	5/6	1/5

a) *F. oxysporum* が分離された種子/供試種子

No. of seeds from which *F. oxysporum* was isolated/N. of seeds tested.

b) アズキ萎凋病菌数/供試株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

り 10 kg 条播きした。これらを 2 年連作, あるいはインゲンマメ, ジャガイモ, コムギを栽培した後アズキ「エリモショウズ」を栽培し, 発病率を調べた。

これと同時に根圏土壌中の *F. oxysporum* の菌密度を土壌希釈平板法により, また, 分離された *F.*

oxysporum 中のアズキ萎凋病菌の割合は, 「寿小豆」で病原性を検定して調べた。各年の播種あるいは苗の移植日は, 1986 年 5 月 19 日, 1987 年 5 月 21 日, 1988 年 5 月 20 日, 1989 年 6 月 3 日であり, アズキの発病率は 1988 年は 9 月 4 日, 1989 年は 9 月 8 日に調査した。

結 果

インゲンマメを 2 年連作することにより, アズキ連作区での発病率が 98% に対して 75% と若干低下したが, 他の作物では連作区とほとんど差が認めら

表37 アズキ萎凋病未発生土壌での罹病残渣混入によるアズキ萎凋病の発生

Table 37 Colonization of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in Tokachi field soil.

土壌及び残渣の処理		発病率 (%) (発病株数/供試株数)			
土壌殺菌	残渣混入	第 1 回試験		第 2 回試験	
+	+	23.9	(17/71)	55.6	(25/45)
+	-	0.0	(0/36)	0.0	(0/22)
-	+	23.3	(14/60)	39.5	(17/43)
-	-	0.0	(0/67)	0.0	(0/42)

表38 土壌温度とアズキ萎凋病の生存

Table 38 Effect of low soil temperature on survival of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*

温度 (°C)	接種後の時間 (週)						
	0	1	2	4	8	12	16
4	1.4 ^{a)}	3.1	1.9	2.0	3.1	2.4	2.4
-20	1.4	2.6	1.5	1.3	1.7	1.5	1.4

a) 土壌中菌密度 (10³ cfu/g dry soil)
Population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in soil.

表39 非宿主作物導入によるアズキ萎凋病の発病

Table 39 Effects of non-host cultivation on the incidence of adzuki bean wilt

圃場 No.	栽培来歴 ^{a)}				発病率 (%)	
	'86	'87	'88	'89	'88	'89
1	KB	PO	SW	AB	-	56.0
2	KB	KB	AB	AB	74.9	96.0
3	PO	PO	AB	-	90.9	-
4	BE	BE	AB	-	94.4	-
5	SC	SC	AB	-	97.9	-
6	SW	SW	AB	-	97.9	-
7	AB	AB	AB	AB	98.0	95.0

a) AB: アズキ, KB: インゲンマメ, SW: 春小麦, PO: ジャガイモ, BE: テンサイ, SC: トウモロコシ, AB: Adzuki bean, KB: Kidney bean, SW: Spring wheat, PO: Potato, BE: Beet, SC: Corn

表40 非宿主作物導入によるアズキ萎凋病土壌中菌密度変動 (1987年)

Table 40 Effects of non-host cultivation on population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in soil (1987)

圃場 No. ^{a)}	土壌中 <i>F. oxysporum</i> の菌密度 (萎凋病菌株数/供試菌株数) 10 ³ cfu/g 乾土		
	19/May	28/May	15/Oct.
1	—	—	5.2 (4/37) ^{b)}
2	—	—	3.0 (1/41)
3	—	—	4.3 (3/42)
4	—	—	4.0 (ND/42)
5	—	—	6.3 (2/36)
6	—	—	1.5 (4/37)
7	1.7 (11/35)	2.8 (17/124)	3.8 (19/85)

a) 表39と同じ圃場

Each field number indicates the same number in Table 39.

b) *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* 菌株数/*F. oxysporum* の菌株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.

c) ND は萎凋病菌が検出できなかったことを示す。

Isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* were not detected.

れなかった(表39)。また、3年間アズキ以外の作物、すなわちインゲン、ジャガイモ、コムギを栽培することにより連作区と比べ発病率は低下したが、依然50%以上の発病率であった。

土壌中の菌密度については検出限界以下であったためかアズキ萎凋病菌が検出されないことがあった。非宿主作物が栽培されている間の菌密度はアズキ連作区より少ない傾向があった(表40, 41, 42)。しかし、再びアズキを栽培すると菌密度は連作区と同程度となり、菌密度の面からみても2年あるいは3年これらの作物を導入しても発病抑制は困難であることが推定される。

b. 作物栽培歴とアズキ萎凋病菌の菌密度

材料と方法

実際の圃場における連輪作との関係をさらに探るため、実態調査を行った。調査した圃場ではほとんどアズキ、水稻、コムギが栽培作物であった。1989年から1990年にかけて、水田転換畑のアズキ萎凋病発生地域あるいはその隣接地などから土壌を2kg採取し、前述の方法と同様にしてアズキ萎凋病菌の菌密度を推定した。また、その圃場について作物栽培歴の聞き取りを行った。

表41 非宿主作物導入によるアズキ萎凋病土壌中菌密度変動(1988年)

Table 41 Effects of non-host cultivation on population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in soil (1988)

圃場 No. ^{a)}	土壌中 <i>F. oxysporum</i> の菌密度(萎凋病菌株数/供試菌株数) 10 ³ cfu/g 乾土					
	19/May		20/Jul.		7/Sep.	
1	3.9	(3/17) ^{b)}	1.1	(ND ^{c)} /13	4.7	(1/11)
2	2.0	(1/15)	0.2	(ND/8)	6.2	(10/14)
3	4.9	(ND/28)	1.2	(1/16)	6.3	(7/15)
4	5.6	(1/15)	0.4	(ND/13)	7.1	(6/11)
5	3.6	(ND/15)	0.4	(1/8)	7.3	(2/5)
6	7.3	(1/15)	1.5	(1/15)	7.7	(7/14)
7	1.1	(28/196)	2.4	(69/256)	3.1	(4/15)

a) 表39と同じ圃場

Each field number indicates the same number in Table 39.

b) *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* 菌株数/*F. oxysporum* の菌株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates *F. oxysporum*.

c) NDは萎凋病菌が検出できなかったことを示す。
Isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* were not detected.

培養歴の聞き取りを行った。

結果

アズキ栽培から次のアズキ栽培までの期間、水稻の作付けが連続し、かつ、その回数が多いほど土壌中の菌密度が少ない傾向にあった。一方、コムギをアズキの間に栽培した圃場では菌密度はアズキ連作区と変わらない場合が多く、アズキ栽培後6作コムギを栽培してもアズキ連作区とほとんど変わらないところがあった(表43)。

c. アズキ萎凋病菌密度と発病に及ぼす水稻栽培の影響

材料と方法

1987年に水田転換した深川市のアズキ萎凋病激発圃土壌(A圃場)を1988年から1992年まで5年間毎年4月あるいは5月に圃場20箇所から計40kg採取し、枠(45×70×40cm)につめた。5月下旬に「エリモショウズ」と「光小豆」をまいて(2反復)その発病を見た。

また、上の圃場と1988年から水田転換した深川市の圃場(B圃場)、1984年から既に水田に転換していた新篠津村の圃場3カ所についてそれぞれ水田と畦畔から、所定の日に土壌を10箇所から2kg採取して常法によりアズキ萎凋病菌菌密度の変動を調べた。

結果

「エリモショウズ」の場合、A圃場において前年には100%の発病率であったが1年間水稻を作付け

表42 非宿主作物導入によるアズキ萎凋病土壌中菌密度変動(1989年~1990年)

Table 42 Effects of non-host cultivation on population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in soil (1989-1990)

圃場 No. ^{a)}	土壌中 <i>F. oxysporum</i> の菌密度(萎凋病菌株数/供試菌株数) 10 ³ cfu/g 乾土					
	4/Jun.		8/Sep.		26/Apr.	
1	3.8	(3/35) ^{b)}	5.7	(8/55)	8.6	(2/46)
2	—	—	7.1	20/56)	6.3	(1/47)
7	1.4	(4/40)	—	—	7.2	(2/49)

a) 表39と同じ圃場

Each field number indicates the same number in Table 39.

b) *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* 菌株数/*F. oxysporum* の菌株数

No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates *F. oxysporum*.

表43 作物栽培歴とアズキ萎凋病菌の土壤中菌密度
Table 43 Crop cultivation history and population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* in soil

採集場所 ^{a)}	栽 培 歴 ^{b)}									採集年月日	土壤中菌密度 ^{c)}	
	82	83	84	85	86	87	88	89	90			
1 深川市		R	A	A	R	R	AW	WW	W		89,10,13	4300 (23/24)
2 深川市		R	R	R	R	R	R	A			89,10,13	3800 (2/26)
3 深川市				AW	WW	WW	WW	WA	O		89,10,13	2600 (12/49)
4 深川市				AW	WW	WW	WW	WAW	WW	W	89,10,13	700 (1/52)
5-1 深川市			A	R	R	R	R	R			89,10,13	10 (0/1)
5-2 深川市			R	R	R	R	R	R			89,10,13	400 (0/14)
5-3 深川市			A	AW	WW	WW	WW	A			89,10,13	2500 (8/48)
5-4 深川市		W	W	A	A	AW	WW	WA			89,10,13	7100 (28/40)
5-5 深川市		W	W	A	A	A	A	AW	W		89,10,13	3800 (32/50)
5-6 深川市		W	W	A	A	A	A	A			89,10,13	9300 (45/46)
6-1 深川市			R	R	A	A	A	V			89,10,13	900 (4/30)
6-2 深川市			R	A	V	A	AW	WW	W		89,10,13	1500 (15/49)
6-3 深川市		R	R	R	R	R	A	AW	W		89,10,13	800 (2/32)
6-4 深川市			R	A	R	R	R	R			89,10,13	30 (0/6)
7 深川市	R	SW	WW	WW	A	P	A	A			89,10,13	5600 (13/38)
8 新篠津村	A	AW	WW	WW	WW	WW	WW	WW	WW		88,11,18	3400 (7/16)
9 南幌町	W	AW	WW	AW	W	AW	W	A			89, 7,15	2900 (3/49)
10 北 村					R	R	R	A			89, 7,29	5800 (25/50)
11-1 北 村	W	AW	W	AW	W	AW	W	A			89, 7,29	680 (9/35)
11-2 北 村	W	AW	W	AW	W	AW	W	A			89, 7,29	700 (32/48)
12-1 深川市	R	R	R	R	AW	WL	L	A			89, 9,12	4500 (7/38)
12-2 深川市	R	R	R	R	AL	LW	W	A			89, 9,12	1600 (0/46)
13 当別町								A	A		90, 8, 3	8900 (17/27)
14 当別町								A	A		90, 8, 3	3400 (7/42)
15 当別町							WW	WW	A		90, 8, 3	9100 (35/49)
16 当別町								BA	BA		90, 8, 3	2900 (29/48)
17 鷓川町			BA	BA	BA	BA	BA	BA	BA		90, 8, 6	4200 (41/50)
18 長沼町							WW	WW	A		90, 8, 1	5000 (1/31)
19 南幌町					A		WW	WW	A		90, 8, 1	5300 (10/45)

a) 同一番号は隣接する同一農家圃場を示す

The same number indicates the adjoining field.

b) A：アズキ，W：秋小麦，R：水稲，B：水稲苗床，S：春小麦，O：タマネギ，P：カボチャ，L：食用ユリ，V：野菜

A: Adzuki bean, W: Wheat, R: Rice, B: Nursery of rice, S: Spring wheat, O: Onion, P: Pumpkin, L: Edible lily, V: Vegetables

c) 土壤中の *Fusarium oxysporum* 数 (cfu/g 乾土)，(萎凋病菌数/供試菌数)

Population *F. oxysporum* in soil cfu/g dry soil (No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.)

することでそれが34.8%に低下し、さらに水稲作付け回数が増えるほど低下していった、4年以上作付けすると発病は見られなくなった(表44)。一方、「光小豆」では、水稲作付け前は87%の発病率が水稲作付けにより、2.2%になり、それ以降、作付け回数を増やすと全く病気は見られなくなった。ま

た、水稲1回作付け後の柁圃場内土壌の菌密度は、「エリモショウズ」栽培区で「光小豆」栽培区の5~38倍と推定された。

深川市A圃場の土壤中菌密度は転換後1年目、2年目には8月末から9月初めに病原菌が検出されなくなったものの10月中旬に再び分離された(表

表44 水稻栽培後の土壌におけるアズキ萎凋病の発生
(深川市, A 圃場)

Table 44 Effect of rice cultivation on the incidence
of adzuki bean wilt (Fukagawa field A)

水稻作付け回数	年	発病率 (%)	
		エリモシヨウズ	光小豆
1	1988	34.8 (31/89)	2.2 (2/90)
2	1989	12.3 (8/65)	0.0 (0/71)
3	1990	4.4 (3/71)	0.0 (0/71)
4	1991	0.0 (0/42)	0.0 (0/43)
5	1992	0.0 (0/15)	0.0 (0/15)

a) 発病株数/全株数

No. of plants diseased/No. of total plants.

45)。ところが3年目以降は5年目の春から夏にかけて検出されたが、7年目まで秋期に再び菌密度が増加することはなかった。B圃場では4年目の春から夏にかけてに一時高い菌密度を示したが、転換2年目以降、秋にはほとんど検出されなかった(表46)。

新篠津村圃場においては6年目以降アズキ萎凋病菌が検出されなくなり、深川市圃場とほぼ同様な結果となった(表47)。また、いずれの圃場でも畦畔からは時々検出されるのみで、圃場内ほど緊密度は高くなかった。

いずれの圃場でもレース1が分離される頻度が高かった。

d. 土壌消毒

材料と方法

1990年6月29日、新篠津村アズキ萎凋病発生圃場において1区5m²(1m×5m)にダゾメット粉粒剤(3,5-ジメチルテトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジン-2-チオン,有効成分95%)を1.5kg(30kg/10a)散布し、よく混和してビニールフィルムで被覆した。7日後の7月6日にビニールフィルムを除去し、ガス抜きをしたあと7月26日に「寿小豆」を播種した。なお、処理区、無処理区ともに3反復行い、土壌中の*F. oxysporum*およびアズキ萎凋病菌菌密度は前述のように測定した。糸状菌数はローズベンガル培地(KH₂PO₄ 1.0g MgSO₄・7H₂O 0.5g, ペプトン 5.0g, グルコース 10.0g, ローズベンガル 0.003g, 寒天 20g, 蒸留水 1000ml), 細菌

と放線菌は1/2希釈のNutrient Agar(栄研社製)を用いて、希釈平板法により測定した。

また、土壌消毒が翌年の発病に及ぼす影響を見るために、1991年7月20日から2週間同様な方法でダゾメット粉粒剤を120m²に処理し、2週間後にガス抜きを行い、無作付けのまま放置し、翌1992年6月10日、そこに「エリモシヨウズ」を播種して、発病率と土壌中の菌密度を測定した。

結 果

1990年試験の場合、発病率は無処理92.0%に対し、処理区15.3%と顕著な発病率の差が認められた。処理直後から*F. oxysporum*の菌密度は無処理区の1/100ほどになり、アズキ萎凋病菌は全く検出されなかった(表48)。

また、1991年から1992年にかけての試験においても、前年処理区の発病率は無処理区の1/3となり、効果が認められた(表49)。ただ、アズキ萎凋病菌密度は処理当年から翌年4月までは明らかに低下していたが、翌年6月の播種時期には無処理と変わらない菌密度であった。

E. 考 察

アズキ萎凋病の発生地において各レースの分離頻度は各圃場で異なるものの、3つのレースすべてが混在して分布している可能性が高いと考えられる。また、十勝地方の土壌から分離した*F. oxysporum*の中にアズキ萎凋病菌は存在せず、本菌は十勝地方にはもともと存在しなかった可能性が高い。

アズキ連作圃場、各種作物を栽培した輪作圃場、また、激発圃場での水稻作付け後の水田における本病原菌密度の推移について調べた。土壌伝染性病害の輪作あるいは、湛水による発病軽減効果についてはこれまで多数の報告があり、下長根ら⁸²⁾はこの輪作効果について多くの例をまとめている。オオムギ、アルファルファ、コムギ、トウモロコシの輪作によるインゲンマメ根腐病の発生軽減^{60,89,90)}、アルファルファとの輪作によるトマト萎凋病、ジャガイモ萎凋病の軽減²⁶⁾のように輪作効果の認められる場合もあり、逆に病気を増加させる効果も作物によってはある。トマト萎凋病に対するダイズ、クローバの栽培⁶³⁾、サツマイモつる割病に対する5年輪作も全く効果がないという例もある⁷⁷⁾が、一般に非宿主であるイネ科作物及びアルファルファを含む輪作体系はフザリウム病を軽減する傾向があるとされる。発病軽減効果が現れる原因として次の3つ

表45 水稲栽培とアズキ萎凋病菌菌密度の変動 (深川市, A圃場)
 Table 45 Change of population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in soil of paddy field converted from infested field (Fukagawa field A)

年	月	日	水 田						畦 畔		
			土壌中の <i>F. oxysporum</i> 及び萎凋病菌菌密度 ^{a)}			レース			土壌中の <i>F. oxysporum</i> 及び萎凋病菌菌密度		
				%	()	1	2	3		%	()
1987.	4.10	1600	33.3	(7/21)	2	1	1	—	—	—	
	6. 4	1500	43.5	(10/23)	5	0	3	—	—	—	
	7. 1	2300	48.6	(18/37)	9	1	2	—	—	—	
	8.27	30	0.0	(0/1)	—	—	—	3200	0.0	(0/12)	
	10.21	10	100.0	(1/1)	0	0	1	1200	18.8	(3/16)	
1988.	5. 2	680	31.3	(5/16)	2	1	0	6500	—	—	
	6.11	1800	27.8	(5/18)	3	1	1	—	—	—	
	7.14	760	6.3	(1/16)	0	1	0	5600	7.1	(1/14)	
	8. 3	640	14.3	(2/14)	2	0	0	5000	0.0	(0/13)	
	9. 8	400	0.0	(0/13)	—	—	—	2100	0.0	(0/9)	
1989.	10.18	190	42.9	(3/7)	3	0	0	6700	0.0	(0/15)	
	4.19	50	25.0	(1/4)	1	0	0	20	—	—	
	6.27	40	0.0	(0/2)	—	—	—	1900	4.3	(1/23)	
	7.24	110	0.0	(0/5)	—	—	—	—	—	—	
	9.12	280	0.0	(0/21)	—	—	—	6900	8.1	(3/37)	
1990.	10.12	220	0.0	(0/23)	—	—	—	1000	0.0	(0/38)	
	4.26	160	0.0	(0/9)	—	—	—	5100	2.1	(1/48)	
	8. 1	190	0.0	(0/7)	—	—	—	9500	0.0	(0/50)	
	11.13	170	0.0	(0/14)	—	—	—	5700	2.1	(1/47)	
	1991.	5.13	2600	2.0	(1/50)	1	0	0	11000	4.1	(2/49)
7.30		1000	2.1	(1/47)	1	0	0	19000	0.0	(0/50)	
9.13		900	0.0	(0/13)	—	—	—	11000	0.0	(0/50)	
11.13		920	0.0	(0/32)	—	—	—	5000	2.3	(1/44)	
1992.		4.22	30	0.0	(0/4)	—	—	—	6000	0.0	(0/29)
	8.11	400	0.0	(0/19)	—	—	—	2200	2.1	(1/48)	
	11.13	170	0.0	(0/7)	—	—	—	2400	0.0	(0/48)	
1993.	4. 6	700	0.0	(0/21)	—	—	—	3700	0.0	(0/43)	
	11.14	40	0.0	(0/2)	—	—	—	—	—	—	

a) *F. oxysporum* 菌密度 (cfu/g 乾土), アズキ萎凋病菌の割合, () 内の数字は, アズキ萎凋病菌数/供試した *F. oxysporum* 数
 Population of *F. oxysporum* in soil (No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.)

に要約される。1) 土壌中病原菌密度の低下, 2) 病原力の低下, 3) 複合病の軽減による発病抑制である。

Fusarium 病菌は土壌中で菌糸から容易に厚膜胞子を形成することが知られていて⁵⁰⁾, 土壌微生物の代謝産物により誘発された溶菌を伴って厚膜胞子が形成されると考えられている。本菌も土壌中では菌糸に速やかに厚膜胞子を形成することが明らかであ

り, おそらく生育期間中, 茎表面に生じたスポロドキアからの大型分生胞子も土壌中で厚膜胞子に転換するものと考えられる。

病原菌密度に関して, 本病連作圃場において, 播種前には全体の *F. oxysporum* の密度は $1.1 \sim 12.0 \times 10^3$ に対し, 本病原菌は $1.6 \sim 5.3 \times 10^2$ と推定された。一般に自然圃場における, 播種直前の菌密度は厚膜胞子数を測定しているに等しいと推

表46 水稲栽培とアズキ萎凋病菌菌密度の変動 (深川市, B圃場)
 Table 46 Change of population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in soil of paddy field converted from infested field (Fukagawa field A)

年	月	日	水			田			畦 畔		
			土壌中の <i>F. oxysporum</i> 及び萎凋病菌菌密度 ^{a)}			1	レース 2	3	土壌中の <i>F. oxysporum</i> 及び萎凋病菌菌密度		
			%						%		
1988.	5.	2	1100	13.3	(2/15)	0	2	0	1700	—	—
	6.	11	1000	36.8	(7/19)	3	0	2	—	—	—
	7.	14	490	8.3	(1/12)	1	0	0	2400	6.3	(1/16)
	8.	3	1400	13.3	(2/15)	1	0	1	1700	0.0	(0/13)
	9.	8	280	0.0	(0/10)	—	—	—	1600	0.0	(0/12)
	10.	18	560	29.4	(5/17)	5	0	0	430	0.0	(0/14)
1989.	4.	19	130	10.0	(1/10)	1	0	0	340	0.0	(0/11)
	6.	27	120	0.0	(0/5)	—	—	—	1500	0.0	(0/23)
	7.	24	370	7.9	(3/28)	3	0	0	—	—	—
	9.	12	610	3.2	(1/31)	1	0	0	2900	0.0	(0/36)
	10.	12	200	0.0	(0/25)	—	—	—	2100	0.0	(0/41)
1990.	4.	26	790	2.7	(1/37)	1	0	0	3200	4.2	(2/48)
	8.	1	140	0.0	(0/7)	—	—	—	4400	0.0	(0/48)
	11.	13	280	0.0	(0/29)	—	—	—	1300	2.0	(1/50)
1991.	5.	13	3200	10.2	(5/49)	5	0	0	7100	2.1	(1/47)
	7.	30	1400	18.8	(9/48)	8	1	0	10000	0.0	(0/50)
	9.	13	1300	0.0	(0/24)	—	—	—	8500	0.0	(0/25)
	11.	13	900	3.3	(1/33)	—	—	—	8000	0.0	(0/43)
1992.	4.	22	90	0.0	(0/2)	—	—	—	1500	2.8	(1/36)
	8.	11	680	0.0	(0/30)	—	—	—	4400	2.0	(1/50)
	11.	13	330	0.0	(0/15)	—	—	—	6300	2.0	(1/50)
1993.	4.	6	670	5.0	(1/20)	—	—	—	5200	0.0	(0/11)
	11.	14	860	0.0	(0/29)	—	—	—	—	—	—

a) *F. oxysporum* 菌密度 (cfu/g 乾土), アズキ萎凋病菌の割合, () 内の数字は, アズキ萎凋病菌数/供試した *F. oxysporum* 数
 Population of *F. oxysporum* in soil (No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.)

測され⁸⁰⁾, 厚膜孢子密度と発病の試験から 50 cfu/g 乾土以上あれば発病に十分な量であり, この菌密度は妥当と考えられる。松田⁶³⁾ は, キュウリつる割病の場合発生を顕著にするのに 3×10^3 /g 乾土以上を必要としており, 本病の場合とは際立った違いが認められる。

他作物との関連という点で実態調査を行い, 栽培歴と菌密度の関係を調べた。傾向として水稲の作付け年数が長いところで菌密度は低く, 激発圃場に隣接する圃場であっても水稲栽培が6年以上のところでは, ほとんど病原菌は検出されなかった。一方, イネ科でもコムギ後では7作以上作付けしても, 連

作圃場と変わらない菌密度を示した。また, これらコムギ作の後から分離されたアズキ萎凋病菌の病原性試験においても, これらの圃場のアズキの発病は軽減せず, 病原力がコムギ栽培で低下する可能性は低い。コムギは輪作作物としては不適であると考えられた。*F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* の場合も宿主であるワタの栽培後より, イネ科作物特にオオムギ後のほうが菌密度が増加することがある⁸⁴⁾ など, 残渣を利用して腐生的に生存する能力が高いと考えられる。

インゲンマメ, ジャガイモ, トウモロコシ3作を栽培することで確かに発病率は対照と比べ減少した

表47 水田化したアズキ萎凋病発生土壌中での菌密度の変動(新篠津村圃場)

Table 47 Change of population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in soil of paddy field converted from infested field (Shinshinotsu)

年月日	水 田			畦 畔		
	土壌中の <i>F. oxysporum</i> 及び萎凋病菌菌密度 ^{a)}			土壌中の <i>F. oxysporum</i> 及び萎凋病菌菌密度		
		%		%		
1988.	5, 19	0	—	0	—	—
	7, 20	100	75.0 (3/4)	240	6.7 (1/15)	—
	9, 7	20	—	130	0.0 (0/13)	—
1989.	5, 8	0	—	130	—	—
	6, 14	20	0.0 (0/1)	70	—	—
	7, 14	20	0.0 (0/1)	—	—	—
1990.	9, 8	0	—	40	—	—
	4, 26	0	—	6600	0.0 (0/50)	—
	1991.	11, 13	120	0.0 (0/6)	600	0.0 (0/17)

a) *F. oxysporum* 菌密度(cfu/g 乾土), アズキ萎凋病菌の割合, ()内の数字は, アズキ萎凋病菌数/供試した *F. oxysporum* 数

Population of *F. oxysporum* in soil (No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.)

が, 菌密度低下が原因か否かは判然としなかった。ネグサレセンチュウの量と発病にも明確な関連はなく(未発表), 複合病の軽減効果の面からも3作で低下する事の原因とは考えにくい。確かにこれら作物を栽培すると僅かだが発病は低下するが, 本病の防

除には不十分である。

水稻栽培(田畑輪換), 湛水による防除についてはスイカつる割病, バナナ萎凋病⁶⁷⁾, トマト萎凋病⁴⁰⁾, キュウリつる割病⁶⁴⁾の例があり, 耕種的防除法としては基本となる防除法である。本病の場合も水稻作付けにより顕著に発病は減少し, 5~6年後には発病は認められなくなって効果的な方法であると考えられた。ただ, 湛水期間中は検出限界以下に菌密度は減少するが, 秋以降になると再び病原菌が分離されることが, 水田に転換後3年から4年目まで見られたことから, 本菌の完全な死滅には相当の年月が必要である。

湛水と *F. oxysporum* の生存に関する研究は駒田⁵⁰⁾に詳しいが, この中でトマト萎凋病菌, キュウリつる割病菌については水稻作期間程度の湛水は病原菌の生存には影響を与えず, 病原菌は4ヶ月後も相当生存しており, 3年間水稻を栽培しても逆に菌密度が増加することもあったとしている。また, 水稻根圏の菌密度に対する影響は認めていない。しかし, 本病の場合これとは異なり, 1年栽培してもある程度効果があり, 5年~6年水稻を導入することでほとんど防除できると考えた。幸いなことに本病の発生分布はほとんどが水田転換畑に集中しており, 水稻栽培による防除が可能である。

罹病性及び抵抗性アズキへの病原菌の侵入について自然発病土における試験では7~8日目に根から分離されるようになり, 培地上では主として子葉下部付近から分離されることから, 本菌の侵入場所は

表48 土壌消毒によるアズキ萎凋病菌菌密度変動と発病軽減効果(1990年度)

Table 48 Effect of fumigation on the incidence of adzuki bean wilt and population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in soil (Experiment 1 in 1990)

月日	処理	発病率 (%)	土壌中の <i>F. oxysporum</i> 及び萎凋病菌菌量 ^{a)}		糸状菌 ×10 ⁴	細菌 ×10 ⁶	放線菌 ×10 ⁶
			%				
6.29	処理直前	—	86.0	4.0 (2/50)	11.0	7.0	5.3
7.6	無処理	—	130.0	12.8 (6/47)	17.0	20.0	5.1
7.6	処理	—	1.7	0.0 (0/5)	0.5	320.0	0.4
7.26	無処理	—	170.0	4.2 (2/48)	11.0	9.4	6.4
	処理	—	1.4	0.0 (0/5)	1.2	92.0	1.9
9.7	無処理	92.0	—	—	—	—	—
	処理	15.3	—	—	—	—	—

a) *F. oxysporum* 菌密度(×10²cfu/g 乾土), アズキ萎凋病菌の割合, ()内の数字は, アズキ萎凋病菌数/供試した *F. oxysporum* 数

Population of *F. oxysporum* in soil (No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.)

表49 土壌消毒によるアズキ萎凋病菌菌密度の変動と発病軽減効果 (1991年度)

Table 49 Effect of soil fumigation on the incidence of adzuki bean wilt and population of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* in soil (Experiment 2 in 1991)

月日	処理	発病率	土壌中の <i>F. oxysporum</i> 及び萎凋病菌菌量 ^{a)}		糸状菌 ×10 ⁴	細菌 ×10 ⁶	放線菌 ×10 ⁶	
1991			%					
7.20	無処理	—	122.0	34.0	(17/50)	19.5	10.3	6.5
8.10	無処理	—	86.4	10.0	(5/50)	14.1	27.4	4.8
	処理	—	14.3	8.0	(4/50)	7.6	51.1	4.4
9.13	無処理	—	113.3	8.0	(4/50)	21.3	24.2	4.3
	処理	—	1.8	0.0	(0/3)	3.3	38.5	5.0
11.13	無処理	—	159.1	6.1	(3/49)	25.8	62.1	3.7
	処理	—	22.4	6.0	(3/50)	6.3	69.0	4.8
1992								
4.22	無処理	—	80.1	4.1	(2/49)	18.8	38.2	5.4
	処理	—	0	—	—	1.6	19.2	5.8
6.10	無処理	—	52.8	6.3	(3/48)	11.6	17.8	2.7
	処理	—	30.8	14.0	(7/50)	5.5	25.4	4.5
9.16	無処理	43.0	—	—	—	—	—	—
	処理	15.8	—	—	—	—	—	—

a) *F. oxysporum* 菌密度 (×10²cfu/g 乾土), アズキ萎凋病菌の割合, () 内の数字は, アズキ萎凋病菌数/供試した *F. oxysporum* 数

Population of *F. oxysporum* in soil (No. of isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*/No. of isolates of *F. oxysporum*.)

この部分と推察される。その後10~13日目には分離された *F. oxysporum* の中にアズキ萎凋病菌が含まれておらず, その時期腐生性の *F. oxysporum* が急速に増殖したと考えられる。また, 抵抗性アズキにも本菌の侵入が認められるものの発病しないことから, 抵抗性の機作は進展抵抗性と考えられる。

抵抗性品種と罹病性品種の根圏における菌密度の違いについては, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*⁴⁾, *F. oxysporum* f. sp. *pisi*¹³⁾, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*³⁶⁾ について報告がある。抵抗性の品種の根圏土壌では菌密度が小さく, その機作として根からの滲出物の孢子発芽に対する抗菌的あるいは栄養的な抑制, あるいは他の微生物の活動促進による病原菌の抑制など考えられたが, 依然として明らかではない。いずれにしても抵抗性品種の根圏では菌の増殖を促進しないために菌密度に差が生じると考えている。ワタの場合³⁵⁾ 抵抗性品種の後に罹病性品種を栽培しても発病が少ないことが報告されているが, アズキ萎凋病の場合も同様の結果となった。今後この機作を明らかにする必要がある。

Fusarium 菌による病気においては, 発病の激し

い地域が存在する一方, 連作によっても病害の発生しない, あるいは拡大しない地域が存在し, 後者は発病抑制型土壌として注目され, その要因についてこれまで多くの報告がなされている^{12,83,84,104)}。道内における本病の分布が偏っている原因が, 十勝地方の土壌が発病抑止型土壌によることなのか否か調べた。その結果, 罹病残渣を十勝土壌に混入すると発病が認められたことから, 十勝土壌が発病抑止型土壌とは考えられない。また, 環境要因の一つとして気温, 特に冬季の凍結が菌の分布に影響することが, コムギあるいはイネ科牧草の雪腐病で知られている⁹³⁾。ここでは十勝地方が土壌凍結地帯として良く知られている⁹⁶⁾ ので, 土壌凍結が本病原菌の生存にどのような影響を与えるかを調べた。実験室において長期の凍結にもかかわらず, それほどの菌密度の低下はなく, 土壌凍結は本菌の分布に影響する要因ではないと考えられた。

前年まで発病が全くなかった所に突然, アズキを連作すると坪状にアズキ萎凋病が発生することがあった。そのような場所は多くが前年にアズキの脱穀作業を行った所で, 罹病残渣がその感染源である

と考えられる。現在までのところ発病が認められていない十勝地方にも罹病残渣を持ち込むことで容易に発病させることができるので、今後発生地拡大に注意する必要がある。また、実験的に明らかにはできなかったが、自然発生圃場産のアズキ種子から病原菌が分離されたことから、種子による伝搬も懸念される。

土壌消毒は施設園芸などの集約的、高収益の作物に適用し易いが、畑作物の土壌病害に利用する方法としては、スポット的な発生をしている場合、それ以上の拡大を防止するために行うのが最適な方法であると考えられる。ダゾメット粉粒剤などの土壌消毒剤は、アズキ萎凋病に対し効果が高いので、本病の拡大防止のためには有効な方法であると考えられた。

VI. 抵抗性品種の探索

アズキ萎凋病の病原菌の同定などに混乱があり、アズキ萎凋病の正しい認識がなされていなかったため、本病はアズキ落葉病、アズキ茎疫病のように育種目標にはなっていなかった。しかし、その実態が明らかになるに従い、その重要性が指摘されるようになった⁵²⁾。これまでの結果から、畑作物の輪作など耕種的防除法はほとんど効果がなく、水稻栽培では被害が相当な程度まで低下するのには5~6年の栽培が必要ということで、即効性は期待できない。そこで、既存のたとえば「エリモショウズ」なみの品質を有し、かつアズキ萎凋病に対し抵抗性の品種に対する期待が大きい。

抵抗性の品種を育成しようとする場合、特に必要とされるのは、遺伝資源となる抵抗性育種素材と、抵抗性の系統を確実にかつ能率的に選抜するための検定法である。北海道立十勝農業試験場は、アズキ育種場所であり遺伝資源が豊富なことから、同場の協力を得てこの中から抵抗性育種素材の探索を行うこととした。また、検定法については第III章の結果から、幼苗を用いた抵抗性品種のスクリーニングが効率的にできると考えられた。

本章では抵抗性母本の探索に圃場検定、あるいは幼苗検定を行い、続いて各交配系統の抵抗性については圃場検定、あるいは交配後世代が比較的新しい系統については幼苗検定を行って有望な品種・系統を選抜した。次に代表的系統・品種のアズキ萎凋病抵抗性遺伝子分析を行い、その抵抗性の遺伝様式を明らかにすることを目的として本研究を行った。

A. 抵抗性母本の探索

材料と方法

アズキ萎凋病抵抗性母本探索のため72品種・系統(表50)について新篠津村の発生圃場において試験を行った。試験区は1区1.2m²、株間10cm1粒まきで2反復した(1987年5月28日は種)。施肥量は農家慣行法によった(N:3.0, P₂O₅:16.0, K₂O:9.0kg/10a)。調査は7月10日及び30日に圃場で外部病徴が現れた本数から発病率を、9月4日には維管束の褐変程度を基準に下記の式から発病度を算出した。なお9月4日の発病率はアズキを採取してから調査まで期間をおいたため、外部病徴を見分けられなかった。

$$\text{発病度} = \frac{\sum(\text{指数} \times \text{当該個体数})}{\text{全個体数} \times 5} \times 100$$

指数 発病程度

- | | |
|---|-------------------|
| 0 | 無発病 |
| 1 | 維管束の褐変が全節数の25%以下 |
| 2 | 維管束の褐変が全節数の50%以下 |
| 3 | 維管束の褐変が全節数の75%以下 |
| 4 | 維管束の褐変が全節数の100%以下 |
| 5 | 枯死 |

結 果

「十系325号」「十系337号」「十系350号」「十育118号」「十育123号」「円葉(刈63号)」「花小豆」「Acc68(岩在54-22)」「Acc1056」は7月30日(播種63日後)の発病率が0%、9月4日の発病度も20%以下と低く、抵抗性と判定された(表50)。

抵抗性の母本となった品種を検討した結果、「十系325号」「十系337号」は「黒小豆(岡山)」から、「十系350号」「十育118号」は「円葉(刈63号)」から、「十育123号」は「小長品-10」から抵抗性が由来したと推定される。

B. レース3による抵抗性母本選抜

材料と方法

1989年、1990年には33品種についてレース3(KF843)による前述と同様な幼苗検定と圃場検定(区制は1区1.2m²、株間10cm1粒まき、2反復、1989年6月12日播種、8月17日調査あるいは1990年6月13日播種、8月12日調査)を行った。また、1991年、1992年、1993年は幼苗検定のみをレース3(90-750B)を供試して行った。

結 果

「十系440号」と「Acc86」を除く31品種につい

表50 アズキ萎凋病激発圃場における品種抵抗性の比較

Table 50 Resistance on cultivars or lines of adzuki bean to adzuki bean wilt under field condition

No.	品種・系統	発病率(%)		発病度 4/Sep.	No.	品種・系統	発病率(%)		発病度 4/Sep.
		10/Jun.	30/Jun.				10/Jun.	30/Jun.	
1	2020	27.9	80.0	65.7	37	小豆 (W74)	49.8	93.8	76.8
2	2025	13.2	24.7	47.4	38	小豆 (W30)	17.4	91.3	79.0
3	6041	26.8	80.5	70.6	39	小豆 (M2)	4.0	64.9	73.0
4	6067	1.9	30.8	40.8	40	小豆 (W69)	14.0	98.0	70.7
5	6133	6.8	87.4	86.4	41	小豆 (W14)	1.9	64.9	86.4
6	十系185号	8.4	66.3	92.3	42	小豆 (W28)	16.9	44.2	58.3
7	十系207号	0.0	47.7	49.2	43	小豆早生系-4	6.5	70.1	85.2
8	十系325号	0.0	0.0	3.2	44	北庚1号 (端野)	16.9	91.2	82.8
9	十系337号	0.0	0.0	21.2	45	早生円葉 (女)	14.7	85.4	95.7
10	十系350号	0.0	0.0	9.7	46	不詳 (13)	9.1	68.5	86.7
11	十系399号	25.7	83.1	51.4	47	小豆早生系-1	3.1	72.2	95.9
12	十育80号	2.1	12.6	24.0	48	小豆早生系-3	8.5	68.2	85.5
13	十育96号	1.4	11.5	32.3	49	石野小豆 (更別)	9.6	63.2	82.9
14	十育106号	15.2	94.1	85.6	50	川島小豆 (北見)	13.7	71.6	75.0
15	十育108号	10.4	50.0	81.6	51	浦佐 (島根)	8.3	56.5	40.9
16	十育115号	7.0	85.7	88.8	52	栃木円葉1号 (刈79号)	10.3	79.8	74.0
17	十育117号	63.9	91.1	96.8	53	早生 (刈82号)	17.3	71.2	61.0
18	十育118号	0.0	0.0	22.3	54	高橋早生 (刈87号)	28.5	97.2	68.9
19	十育119号	61.8	98.6	94.0	55	中納言 (刈47号)	23.1	80.6	49.3
20	十育120号	11.4	83.2	79.9	56	早生小豆 (刈91号)	12.9	75.6	69.6
21	十育122号	19.1	33.3	26.8	57	円葉 (刈63号)	0.0	0.0	24.3
22	十育123号	0.0	0.0	17.2	58	岩手大納言	6.7	80.9	72.6
23	茶殻早生	9.7	47.7	76.2	59	花小豆	0.0	0.0	3.3
24	ハヤテショウズ	92.2	100.0	100.0	60	Acc 68 (岩在54-22)	0.0	0.0	2.2
25	光小豆	0.0	28.2	12.3	61	知北種 (I) (愛知)	10.3	58.2	53.6
26	宝小豆	4.9	42.4	74.1	62	剣先 (刈4号)	21.3	79.7	76.5
27	柴小豆	5.3	52.7	43.1	63	小納言 (刈55号)	43.7	77.0	68.2
28	寿小豆	57.5	87.4	97.3	64	円葉 (刈61号)	9.1	82.2	66.5
29	ハツネショウズ	8.0	42.4	34.3	65	円葉 (刈71号)	19.0	85.5	58.5
30	エリモショズ	9.6	82.6	82.0	66	能登小豆	67.9	97.2	100.0
31	早生大納言	3.1	8.2	22.5	67	Acc 175 (西根在3M)	24.1	89.1	71.5
32	早生大粒1号	4.8	56.0	46.8	68	茶小豆 (中国)	34.9	72.2	66.3
33	アカネダイナゴン	0.0	15.4	28.5	69	中国在来1	91.3	100.0	100.0
34	ベニダイナゴン	7.5	67.5	71.8	70	USSR-3 (g)	63.5	92.3	81.9
35	ホッカイシロショウズ	9.7	62.5	68.2	71	Acc 1055	16.0	58.7	70.6
36	斑小粒系1号	69.7	100.0	100.0	72	Acc 1056	0.0	0.0	3.2

てはレース3を用いた幼苗検定と圃場検定の結果は一致した(表51)。「十系440」号の場合、幼苗検定での判定は罹病性(DSI=1.93)、圃場検定では抵抗性(DSI=0.30)、「Acc 86」の場合、幼苗検定でDSI=1.31、圃場検定でDSI=0.77となった。このように幼苗検定と圃場検定の結果が異なるのはこれ

らの2系統のみであり、その理由は明らかではない。しかし両系統のDSIは比較的lowく、初生葉に病徴が現れる程度で全く弱い系統とは言えず、耐病性といってよい。

アズキ萎凋病抵抗性母本の候補を5年間で28品種選抜した(表51, 52)。

表51 抵抗性品種作出のためのアズキ母本の幼苗検定選抜と圃場検定の比較

Table 51 Resistance on lines and cultivars for breeding screened by seedling test and field test

年度	品種, 系統	DSI ^{a)}	
		幼苗検定 (KF843)	圃場検定 (新篠津村)
1989	アカネダイナゴン	2.02 S ^{b)}	1.64 S
	金時 (長野)	2.78 S	2.52 S
	美甘大納言	2.41 S	2.31 S
	小長品-10	0.00 R	0.00 R
	浦佐 (島根)	2.40 S	2.01 S
	丸葉 (刈68号)	0.00 R	0.83 R
	黒小豆 (岡山)	0.00 R	0.00 R
	京都大納言	2.18 S	2.13 S
	大納言 (兵庫)	2.80 S	2.99 S
	川島小豆(北見)	2.67 S	2.77 S
	十育80号	1.30 S	2.04 S
	十育96号	2.02 S	2.12 S
	十育125号	0.24 R	1.00 R
	十系207号	1.95 S	1.72 S
	十系323号	0.00 R	0.79 R
	十系337号	0.00 R	0.00 R
	十系350号	0.00 R	0.64 R
	十系440号	1.93 S	0.30 R
	十系425号	0.00 R	0.79 R
	Acc 71	0.00 R	1.00 R
Acc 86	1.31 S	0.77 R	
Acc 160	2.57 S	2.45 S	
Acc 161	0.40 R	1.00 R	
Acc 266	0.00 R	0.54 R	
Acc 1056	0.00 R	0.72 R	
寿小豆	2.65 S	2.86 S	
1990	清原春小豆	0.00 R	1.00 R
	黒小豆(刈114号)	2.69 S	2.96 S
	十育91号	1.74 S	2.87 S
	姉子系-1	1.64 S	2.66 S
	Acc 787	2.97 S	2.80 S
	Acc 1090	2.86 S	2.56 S
	Acc 1553	0.45 R	0.90 R
	十育118号	0.34 R	1.00 R

a) Disease Severity Index

b) S : 罹病性反応, R : 抵抗性反応
S : Susceptible, R : Resistant.

C. 圃場検定

材料と方法

1988年から1992年まで5年間, 新篠津村発病圃

表52 抵抗性品種作出のためのアズキ幼苗検定
Table 52 Resistant on lines and cultivars for breeding screened by seedling test

年度	品種, 系統	DSI ^{a)}
		幼苗検定 (90-750B)
1991	Acc 33	0.63 R ^{b)}
	Acc 66	0.51 R
	Acc 261	1.79 S
	Acc 349	0.00 R
	Acc 422	0.33 R
	Acc 830	1.96 S
	Acc 843	2.08 S
	Acc 912	2.24 S
	Acc 1054	2.35 S
	Acc 1205	2.64 S
	Acc 1250	2.37 S
	Acc 1490	2.30 S
	Acc 1553	1.81 S
1992	小豆 (W20)	2.02 S
	早生大粒 (W13)	1.88 S
	小豆 (日試) (W24)	1.43 S
	Acc 239	0.22 R
	Acc 385	1.16 S
	Acc 910	2.85 S
	十系560号	0.00 R
	92089	2.08 S
	8624F5-6	0.19 R
	Acc 62	0.58 R
1993	Acc 820	0.31 R
	Acc 826	0.47 R
	Acc 1085 CBu	2.81 S
	Acc 2038	2.94 S
	北育3号-3	0.81 R
	十系34号	2.43 S
	エリモシヨウズ	2.79 S
	ハツネシヨウズ	1.23 S
	アカネダイナゴン	1.22 S

a) Disease Severity Index

b) S : 罹病性反応, R : 抵抗性反応
S : Susceptible, R : Resistant.

場において十育系統, 十系系統, 予備選抜系統のアズキ萎凋病抵抗性検定試験を行った。区制は1区1.2 m², 株間10 cm 1粒まきとし, 2反復した。施肥は農家慣行法とした。

結 果

5年間で616系統について検定を行った。その中

から「十育127号(十系454号)」は、4年間供試して、いずれの年においても抵抗性反応を示し、1994年には「きたのおとめ」として品種登録された(具体的データは略)。

D. 幼苗検定による選抜

材料と方法

十勝農業試験場豆類第2科で育成したアズキ系統の中から、アズキ萎凋病抵抗性の有望品種が特性検定試験で選抜されてきたので、レースごとの反応を確認した。表53に示した孢子形成用液体培地で各菌株を3週間培養し、4重のガーゼでろ過した分生孢子様菌体を $10^6/ml$ 濃度にして、この懸濁液に子葉展開期の各系統12~15本の苗を1晩浸漬した。これらをポットにつめた無発病土壌に移植し、40日後に前述の基準で調査し、判定した。供試菌株はKF646 A(レース1), KF654 C(レース2), 90-750 B(レース3)である。

同様にして、育成系統の中からアズキ萎凋病抵抗性品種を選抜するため、菌株90-750 B(レース3)あるいはB-6(レース3, 1993年剣淵町の罹病アズキから分離)を用いて幼苗検定を行った。

次に、幼苗検定法によりF5, F6世代の抵抗性系統選抜を行った。菌株はKF843(レース3)を用いた。

なお、液体培地¹⁷⁾で形成した接種源を用いて、PDA培地で培養した分生子による接種方法と同様に「寿小豆」、「光小豆」、「ハツネシヨウズ」に接種して各レースについて病原性を確認した。

結 果

「十育127号」、「十育131号」、「十育132号」は3つのレースに対して抵抗性の反応を示した(表55)。また、1993年と1994年の試験では、対照の「エリモシヨウズ」、「ハツネシヨウズ」、「アカネダイナゴン」を除く34品種・系統が抵抗性であった(表56, 57)。「ハヤテシヨウズ」、「エリモシヨウズ」はもとより、すべての抵抗性の品種の胚軸からもアズキ萎凋病菌の各レースが再分離され、維管束の褐変などの症状がないにもかかわらず病原菌が侵入していた。

液体培地で培養した接種源を用いても先の結果と同様であり(表54)、本接種源は幼苗検定に有効である。この方法で接種試験を行った結果、「十系350号」、「十育123号」、「十系337号」、「6067」を交配母本とすることで、高い確率で抵抗性系統を選

表53 液体培地の組成

Table 53 Contents of liquid medium for inoculum

K ₂ HPO ₄	0.5g
MgSO ₄	0.5g
KCl	0.5g
Fe-EDTA	10.0mg
しょ糖	30.0g
L-アスパラギン	2.0g
酵母抽出物	1.0g
蒸留水	1.0L

表54 液体培地で形成した接種源による発病

Table 54 Disease severity of adzuki bean cultivars with inoculum made in liquid medium

菌 株	レース	品 種		
		寿小豆	光小豆	ハツネシヨウズ
KF646	1	2.21 ^{a)}	0.45	0.00
KF654	2	2.56	1.45	0.28
KF843	3	2.73	1.52	1.34

a) Disease severity index.

表55 アズキ萎凋病抵抗性有望品種の幼苗検定

Table 55 Root inoculation test for certification of resistant cultivars to adzuki bean wilt

系統・品種	DSI ^{a)}		
	レース1 (KF646A)	レース2 (KF654C)	レース3 (90-750B)
十育127号	0.00R	0.00R	0.00R
十育131号	0.00R	0.00R	0.20R
十育132号	0.00R	0.00R	0.40R
ハヤテシヨウズ	2.28S	2.63S	2.98S
エリモシヨウズ	1.91S	2.28S	2.60S

a) Disease severity index.

抜できた(表58)。このほかにも「8202 F5-23」、「十系379号」、「5135」、「十系393号」を交配母本することも有効であった。「十系440号」については、幼苗試験で弱いながら罹病性の反応を示し、圃場では抵抗性を示す系統であるが、これを母本としたときほとんどが抵抗性であることから、抵抗性系統と考えて差し支えないと考えられた。

ただ、罹病性と判定された「光小豆」×「6041」の組み合わせでも抵抗性系統が相当選抜されたことについては、今後さらに検討する必要がある。

表56 幼苗検定による有望系統の探索 (1993年試験)
Table 56 Root inoculation test for screening of resistant lines of adzuki bean in 1993

系統名	母	父	DSI	
			B-6	90-750 B
十育134号	TA 290017	十系325号	0.79 R	
十育135号	十育80号	十系393号	2.24 S	
十育136号	十系438号	十育123号	0.00 R	
十系542号	十育119号	十系325号	0.51 R	
十系556号	十育119号	十系350号	0.62 R	
十系573号	6067	十育120号	0.94 R	
十系576号	6067	6133	0.77 R	
十系582号	十系350号	十育123号	0.19 R	
十系583号	十系350号	十育123号	0.00 R	
十系584号	十系350号	十育123号	0.33 R	
十系585号	十系350号	十育123号	0.00 R	
十系586号	十系350号	十育123号	0.00 R	
十系587号	十系350号	十育123号	0.43 R	
十系588号	十系350号	十育123号	0.41 R	
十系589号	十系350号	十育123号	0.47 R	
十系590号	Acc 1553	十系350号	0.00 R	
十系591号	十系459号	8049	0.33 R	
十系593号	エリモショウズ	8039	0.33 R	
十系594号	十系438号	十系425号	0.19 R	
93002	十系491号	十系485号	0.00 R	

供試菌株は90-750 B (レース 3)
Isolate 90-750 B (rece 3) was used for this test.

E. アズキ萎凋病抵抗性の遺伝子分析

材料と方法

レース判定品種の「光小豆」「ハツネショウズ」「十育123号」と3レースすべてに罹病性の「斑小粒系1号」と交配を行い、それぞれのF1, F2の各レースに対する反応を見、 χ^2 分析により遺伝子分析を行った。接種法は、前述の方法と同様である。

「光小豆」「ハツネショウズ」「十育123号」の抵抗性遺伝子座についてその異同を検討した。「光小豆」と「十育123号」, 「ハツネショウズ」と「十育123号」の交配から得たF1, F2の、レース1, レース2に対する反応からそれを推定した。

また、レース2あるいはレース3を「光小豆」に接種したときの発病率を「斑小粒系1号」の場合と比較した。浸根接種した両品種の苗30本づつを40×30×10 cmの同一の箱(中に滅菌土壌をつめた)に移植し、発病を見た。実験は3反復した。

結 果

「光小豆」と「斑小粒系1号」のF2のレース1に

表57 幼苗検定による有望系統の探索 (1994年試験)
Table 57 Root inoculation test for screening of resistant lines of adzuki bean in 1994

系 名	母	父	DSI	
			B-6	90-750 B
十育136号	十系438号	十育123号	0.49 R	0.58 R
十育137号	7067	十系350号	0.31 R	0.58 R
十系585号	十系350号	十育123号	0.64 R	0.67 R
十系594号	十系438号	十系425号	0.49 R	0.81 R
十系604号	十系491号	十系485号	0.76 R	0.80 R
十系605号	9043	十系487号	0.30 R	0.76 R
十系606号	十育127号	十系485号	0.81 R	0.88 R
十系607号	十育127号	十系485号	0.81 R	0.86 R
十系608号	十育127号	十系485号	0.56 R	0.87 R
十系609号	十育127号	十系485号	0.71 R	0.97 R
十系610号	十育127号	十系485号	0.85 R	0.93 R
十系611号	8064	十育123号	0.60 R	0.97 R
十系612号	8064	十系425号	1.56 S	2.48 S
十系613号	8064	十系425号	0.83 R	0.88 R
十系614号	十系459号	Acc 71	2.35 S	2.72 S
十系615号	十育125号	8064	1.43 S	2.40 S
十系616号	十育122号	8039	0.00 R	0.41 R
十系622号	8419 F5	十系459号	3.00 S	3.00 S
十系36号			2.03 S	2.06 S
94011			1.47 R	1.98 R
94017			0.00 R	0.18 R
94025			2.60 S	2.75 S
94032			2.62 S	2.81 S
Acc 2100			3.00 S	3.00 S
エリモショウズ			2.74 S	2.96 S
ハツネショウズ			2.09 S	1.79 S
アカネダイナゴン			1.17 S	1.98 S

に対する抵抗性と罹病性の分離比は1:3と推定され、「光小豆」のレース1に対する抵抗性は1対の劣性遺伝子に支配されていると考えられた。同様に「ハツネショウズ」のレース1, 2に対する抵抗性は1対の劣性遺伝子に支配されていることが明らかになった(表59)。ただ、これら抵抗性遺伝子の遺伝子座についての異同については明らかではない。

一方、「十育123号」のレース1, 2, 3に対する抵抗性は1対の優性遺伝子に支配されていることが明らかになり、「十育123号」の抵抗性遺伝子は「光小豆」, 「ハツネショウズ」の抵抗性遺伝子とは異なる遺伝子座に存在すると推定された(表60)。

「斑小粒系1号」はレース1, 2, 3に対し100%発

表58 幼苗検定による系統選抜
Table 58 Screening of resistant lines from F5 progenies using a seedling root dip procedure

試験年度	世代	交配組合わせ	抵抗性系統数	罹病性系統数
1989	F 5	十系350号×ハツネショウズ	58	24
		十育120号×十系350号	44	7
		小豆(M2)×十系350号	52	10
		小豆(W30)×十系350号	32	6
		エリモショウズ×十系350号	27	17
		6041×十系350号	74	13
		十育119号×十系350号	34	6
		エリモショウズ×8202F5-23	28	9
		十育80号×十系350号	6	0
		十育80号×十系379号	3	2
		十育80号×5135	27	9
		十育80号×十系393号	10	9
		エリモショウズ×十系337号	37	2
		1990	F 5	光小豆×十系339号
十育119号×十育123号	53			0
光小豆×6041	81			32
十系440号×ハツネショウズ	77			2
7067×十系350号	139			0
6067×十育120号	34			51
十系438号×十育123号	18			4
小豆(M2)×十育123号	67			6
6067×6133	26			14

病したのに比べて、「光小豆」は、平均でレース2に対して9.9%，レース3に対しては16.3%と、供試したすべての個体が発病することはなかった（表61）。

F. 考 察

アズキ萎凋病菌のレースを明らかにし、多数の品種・系統の圃場での反応との関連を明らかにする過程で、レース3を用いた幼苗検定が抵抗性品種選抜に有効であることが明らかになり⁵¹⁾、主として抵抗性系統を交配親として22組み合わせ、1217系統を検定した。その結果、高率で抵抗性系統が選抜された。圃場検定も同時に行って5年間で616系統を検討したが、幼苗検定法は圃場検定より大量、正確かつ迅速に抵抗性系統の選抜が可能であることは明らかである。これまでの結果から、アズキ萎凋病の防除法として最も効果的であるのが抵抗性品種の栽培であるが、これらの系統の中から将来有望な品種が選抜されると考えられる。

抵抗性の遺伝子分析から「十育123号」（抵抗性は「小長品-10」に由来すると考えられる）の抵抗性

遺伝子と「光小豆」あるいは「ハツネショウズ」の抵抗性遺伝子は複対立遺伝子ではないことが明らかになった。さらに、「十育123号」は「光小豆」あるいは「ハツネショウズ」が持つ抵抗性遺伝子は持たないと考えられ、すべてのレースに抵抗性を示す抵抗性遺伝子のみを有する品種である。一方、「赤豆」は「ハツネショウズ」の親品種であるが、すべてのレースに抵抗性の反応を示し、「ハツネショウズ」の抵抗性遺伝子の他に、これとは別の遺伝子座に座乗する抵抗性遺伝子を持つと考えられ、抵抗性遺伝子を複数持つ品種の一例であろう。

他の品種・系統についての抵抗性遺伝子分析は、部分的ながら「花小豆(刈154号)」について行った（未発表）。この品種は「十育123号」と同様にすべてのレースに抵抗性を示すが、その抵抗性遺伝子は異なるようである。抵抗性に関与する遺伝子は複数存在する可能性があり、抵抗性かつ良質品種を育成する上で今後それを明らかにする必要がある。また、「光小豆」あるいは「ハツネショウズ」が「寿小豆」や「ハヤテショウズ」のように接種個体のほと

表59 アズキ萎凋病抵抗性の遺伝子分析

Table 59 Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola* in progenies of crosses between resistant and susceptible adzuki bean cultivars

レース(菌株)	品種と交配	供試本数	分離		χ^2 値	P
			理論比	観察比		
1 (K F 646)	光小豆	30	All R	30R : 0S
	ハツネショウズ	30	All R	30R : 0S
	十育123号	27	All R	27R : 0S
	斑小粒系1号	30	All S	0R : 30S
	F1 (光小豆×斑小粒系1号)	3	All S	2R : 1S
	F2 (光小豆×斑小粒系1号)	120	1R : 3S	39R : 81S	3.60	0.05~0.10
	F1 (ハツネショウズ×斑小粒系1号)	14	All S	10R : 4S
	F2 (ハツネショウズ×斑小粒系1号)	120	1R : 3S	31R : 89S	0.04	0.80~0.90
	F1 (十育123号×斑小粒系1号)	33	All R	33R : 0S
	F2 (十育123号×斑小粒系1号)	67	3R : 1S	51R : 16S	0.08	0.70~0.80
2 (K F 654)	光小豆	30	All S	20R : 10S
	ハツネショウズ	30	All R	30R : 0S
	十育123号	30	All R	30R : 0S
	斑小粒系1号	30	All S	0R : 30S
	F1 (光小豆×斑小粒系1号)	20		7R : 13S		
	F2 (光小豆×斑小粒系1号)	149	All S	52R : 97S
	F1 (ハツネショウズ×斑小粒系1号)	15	All S	3R : 13S
	F2 (ハツネショウズ×斑小粒系1号)	99	1R : 3S	27R : 72S	0.27	0.50~0.70
	F1 (十育123号×斑小粒系1号)	30	All R	30R : 0S
	F2 (十育123号×斑小粒系1号)	132	3R : 1S	102R : 30S	0.36	0.50~0.70
3 (K F 843)	光小豆	33	All S	11R : 19S
	ハツネショウズ	30	All S	21R : 9S
	十育123号	29	All R	29R : 0S
	斑小粒系1号	30	All S	0R : 30S
	F1 (光小豆×斑小粒系1号)	19		6R : 13S		
	F2 (光小豆×斑小粒系1号)	120	All S	4R : 116S
	F1 (ハツネショウズ×斑小粒系1号)	8		6R : 2S		
	F2 (ハツネショウズ×斑小粒系1号)	120	All S	7R : 113S
	F1 (十育123号×斑小粒系1号)	31	All R	31R : 0S
	F2 (十育123号×斑小粒系1号)	213	3R : 1S	165R : 48S	0.69	0.30~0.50

表60 十育123号と光小豆及びハツネショウズの抵抗性遺伝子座について

Table 60 Resistance Gene Loci to *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola* in Adzuki Bean Cultivars Hikari shozu, Hatsune shozu and Toiku No. 123

レース	組み合わせ ^{a)}	分離		χ^2 値	P
		理論比	観察比		
1 (K F 646A)	HIK×123 F1	All R	9R : 0S		
	HIK×123 F2	13R : 3S	85R : 10S	3.426	0.02~0.05
	HAT×123 F1	All R	10R : 0S		
2 (K F 654C)	HAT×123 F2	13R : 3S	78R : 11S	2.386	0.05~0.10
	HAT×123 F1	All R	10R : 0S		
	HAT×123 F2	13R : 3S	68R : 10S	1.800	0.10~0.20

a) HIK : 光小豆, HAT : ハツネショウズ, 123 : 十育123号

HIK : Hikari shozu, HAT : Hatsune shozu, 123 : Toiku No. 123

表61 レース2, 3の小豆と斑小粒系1号に対する病原力の比較

Table 61 Comparison of virulence of race 2 and 3 on Hikari-shozu and Buchishoryukei No.1

レース (菌株)	反復	品 種	R : S
2 (KF654)	1	光小豆	28 : 2
		斑小粒系1号	0 : 30
	2	光小豆	28 : 2
		斑小粒系1号	0 : 30
	3	光小豆	17 : 4
		斑小粒系1号	0 : 25
3 (KF843)	1	光小豆	26 : 5
		斑小粒系1号	0 : 25
	2	光小豆	23 : 7
		斑小粒系1号	0 : 30
	3	光小豆	28 : 3
		斑小粒系1号	0 : 30

んどが発病するということがなく、常に一部のみしか発病しないことから、これらの抵抗性には主働遺伝子のほかに微動遺伝子が関与している可能性があり、多様な抵抗性遺伝子を持つと考えられる。

また、「黒小豆(岡山)」「円葉(刈63号)」「小長品-10」は、アズキ萎凋病の抵抗性の遺伝子素材で、いずれも本州から採集された品種・系統である。現在までの所、本州ではアズキ萎凋病の発生は確認されていない。これら品種・系統あるいはこれらを母本とする品種がどのくらい本州に分布しているか明かではないが、本州に何故本病が存在しないのかという問題を考える上で、抵抗性の品種・系統の存在は重要な鍵になると考えられる。これまでのアズキ落葉病の抵抗性品種の育種結果とアズキ萎凋病の抵抗性品種・系統の選抜結果を比べると大部分の品種・系統は両病害に対する抵抗性、罹病性が一致している。ちなみに「十育127号」として4年間圃場試験に供試し、幼苗検定でも各レースに対する反応を確認した「きたのおとめ」も両病害に対して抵抗性であり、2つの病気に抵抗性の品種は比較的容易に選抜できると考えられる。中にはアズキ萎凋病に抵抗性、アズキ落葉病に罹病性、またその逆の反応を示す系統も見つかったが、同じ導管病に対する抵抗性の機作を考える上で興味深い。おそらく、アズキ萎凋病の抵抗性に関与する遺伝子がアズキ落葉病に対しても多面発現的に作用するのか、両病害の抵

抗性遺伝子が強い連鎖関係にあるのだろう。

将来的には「浦佐(島根)」のようなアズキ茎疫病抵抗性品種を利用して、アズキ茎疫病も含めた3病害に抵抗性の品種育成が可能と考えられる。

VII. 総合考察

アズキ萎凋病は、1983年に北海道石狩支庁新篠津村で初めて発見された病害である。その後、空知、上川支庁管内で発生が確認され、面積は少ないものの後志、胆振支庁管内でも発生している。しかし、北海道のアズキ生産の40%以上を占める大産地である十勝支庁管内では未だ発生は認められていない。

アズキの主要な土壌病害であるアズキ落葉病は1960年代後半から、そして1970年代中頃からはアズキ茎疫病の発生が認められてきたが、アズキ立枯病も古くからアズキの病害として注目されてきた病害の一つである。当初、アズキ萎凋病はアズキ立枯病として報告され、その分化型は *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukiicola* とされた。しかし、アズキ立枯病の病原菌は *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* として既に記載されていること、病徴など記載と異なる点が多いことなどから、本研究で再確認を行った。各種作物に対する病原性試験、病徴の検討からこれまでのアズキ立枯病の報告とは異なり、新病害であることを確認した。なお、病原菌の分化型は、先命権の関係からそのまま *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* とされた。

また、32品種・系統を用いた接種試験の結果、アズキ萎凋病には3つのレースが存在し、レース1, 2および3と名付けた。これら3レースは本病が発生している所からほとんど同時に分離されたが、レース1の分離頻度が他の2レースに比べ高かった。レース1に侵されるのは最も弱い品種と判断されるが、この中には「エリモショウズ」、「寿小豆」「ハヤテショウズ」など主要品種が含まれており、発生の拡大が懸念された。

本病の発生は主として北海道中央から西部の水田転換畑で、1960年代から始まった水田利用再編対策の進展に伴い、アズキ栽培が増えた地域にあたる。1976年に発見されたアズキ茎疫病が1977年には大発生したこともあり、抵抗性品種が求められ、比較的抵抗性であった「寿小豆」の作付けが、20%ほどに増えた。しかし、後に明らかになったよう

に、「寿小豆」はアズキ萎凋病に対しては最も弱く、激烈な症状を示すため、アズキ萎凋病の存在を際立たせたのではないかと考えられる。発見当初は先に述べた病名の混乱もあり、明確にアズキ萎凋病と他の病害を区別することができず、一部アズキ茎疫病と判断して積極的に「寿小豆」に転換して行き、アズキ萎凋病の大発生を助長した場所もあった。1983年の新篠津村での大発生も同様な状況だったのではないかと考えられる。また、発生地での作物栽培歴とアズキ萎凋病の土壌中菌密度調査あるいは、各作物根圏でのアズキ萎凋病菌の推移から、転作物としてのコムギはアズキ萎凋病菌の菌密度減少にはほとんど影響しないと考えられる。*F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* はオオムギ栽培後のほうがワタ栽培後より菌密度が増加することがある⁸⁵⁾など、アズキ萎凋病菌もコムギ残渣を利用して生存する可能性が高い。水稻の栽培はこれとは対照的に菌密度を減少させ、発病率を低下させる。水田化については効果があるという報告⁶⁴⁾と、それほど効果が認められないという報告⁵⁰⁾があるが、アズキ萎凋病に対しては効果的な防除方法である。

アズキ萎凋病は現在のところ、北海道中央～西部に発生しているのみで、北海道以外ではその発生の報告はない。十勝地方の各地のアズキ栽培土壌からアズキ萎凋病菌の分離を試みたが、全く検出できなかった。一方、発生地付近の防風林内、河畔など非耕地土壌からも、3レースすべてがみつかっており、本病原菌の拡大、起源を考察する上で興味深い。どのようにしてこの分化型が生じてきたか、アズキの栽培歴もそれほど変わらない十勝地方で何故発生しなかったか、その機構は依然として不明である。十勝地方の土壌に罹病残渣を接種するとアズキ萎凋病が同様な発病程度で起きることから、発病抑制型土壌の可能性はないと考える。また、十勝地方の土壌凍結が病原菌の生存に及ぼす影響について検討したが、凍結状態で厚膜胞子は長期間生存しており、全く影響が認められなかった。作付け品種も罹病性である「エリモショウズ」が70%程を占め、当然病原菌が存在すれば発病が認められると予想され、抵抗性品種による影響もないと考えられる。

広い発生面積、発見の経緯などを考えるとアズキ萎凋病の発生の起源は新篠津村から当別町付近ではないかと推測される。新篠津村と当別町の発生が激しい地域はほとんど隣接するところで、同一地域と

して考えてよい。

F. oxysporum は有性世代を欠く糸状菌であるため、その遺伝的な多様性については不明ことが多いが、近年、硝酸還元能欠損変異株を利用した体細胞和合性群により分類する方法が確立され、遺伝的背景が明らかにできるようになった。アズキ萎凋病菌の集団構造についてもこの方法で検討した。その結果、ほとんどが一つの群に属し(約85%)、その中には3つのレースがすべて含まれていた。いずれの地域の菌株も遺伝的にほぼ同一な集団と考えられる。

病原菌の起源について言及した中で有名なのは、*Phytophthora infestans* のメキシコ中央高地起源説である⁷³⁾。この説の証拠として病原菌の集団が病原性も含めて様々な遺伝的マーカーに関して多様性を示すことをあげている。また、Vavilov¹⁰¹⁾ は栽培作物の起源についてはあるが、集団の遺伝的変異性はその種が発祥し、他の地域への分布の中心となった地域に最も高いと提唱した。これらに従うと、主として新篠津村土壌にはいくつかの別の体細胞和合性群が存在しており、遺伝的に多様性が大きく、先に述べた地域が発生の起源地の可能性が高いと考えられる。実際この地域は1950年代の開拓期にアズキ栽培に偏っていた経緯もあり、淘汰圧が働いたと推測される。また、発生地の周辺部に近い剣淵町では、菌株の大部分を占める体細胞和合性群と他の体細胞和合性群と相補性を示す体細胞和合性群が存在しており、新しい体細胞和合性群の派生の可能性を示す一つの現象ではないかと考えられる。

発生地の偏りが両地域の非病原性株の体細胞和合性群と関係があるか否かについて、アズキ萎凋病菌と同様な方法で非病原性の *F. oxysporum* の遺伝的多様性について調べた。アズキ萎凋病の発生地と未発生地での一つの体細胞和合性群に顕著な頻度の差が認められた以外は確認された35体細胞和合性群のうち上位10体細胞和合性群の中に両地域とも70%以上の菌株が含まれ、優先する体細胞和合性群はほぼ同様と考えてよい。アズキ萎凋病菌と非病原性株の間には *F. oxysporum* f. sp. *asparagi*¹⁹⁾ のように相補性は認められる場合はなかった。

Kistler *et al.*³⁸⁾ は、*F. oxysporum* の rDNA の制限酵素サイトは *Neurospora* 属菌に比べ変異が少なく、種レベルで現れるもので分化型段階では検出できないと論議している。それに対し mtDNA の

RFLPは個体群間の遺伝的相違を探索できるとし、アブラナ科作物に病原性のある *F. oxysporum* 各分化型について調べ、明瞭な違いを認めた。さらに、PCR法を用い、ランダムな単一プライマーを使うRAPD法により、簡便に分化型を判別することを目的とした報告がなされた⁶⁾。このような方法は、遺伝的な分類、系統発生学的研究に多大な威力を発揮すると思うが、その病原性がどのような機能で発現されるのか明らかにするのは困難である。Xue & Goodwin¹⁾は、*Leptosphaeria maculans*の強病原性株と弱病原性株の病原性の違いをその機能については明らかにしていないものの、ミトコンドリア大rDNAのV領域の挿入塩基配列の違いから説明しようとした。本論文でもrDNAのITS領域のほか、ミトコンドリア小rDNAとミトコンドリア大rDNAについて同様なプライマーを用いて検討したが、分化型間はもとより、病原性と非病原性菌株の間でも増幅産物に明らかな違いは、一部を除いて認められなかった。今後、ミトコンドリアDNAの他の部分の塩基配列さらに構造の検討が必要と考えられる。

アズキ萎凋病菌のレースの検討の過程から、アズキ萎凋病抵抗性の多数の品種・系統を圃場検定、あるいは幼苗検定で選抜することができた。幼苗検定法は簡易検定法として優れており、短期間で多数の品種・系統を検定できる。また、アズキ落葉病とアズキ萎凋病抵抗性の強い連鎖あるいは多面発現が推測されたことにより、アズキ落葉病の接種試験が難しいことを考慮して、アズキ萎凋病による検定で同時にアズキ落葉病抵抗性系統の選抜ができる可能性がある。このためには遺伝子分析など、まだ検討すべきことは残っているが、両病害の反応を多数比較する限りでは充分現実性がある方法と考えられる。本病の防除法として5年から6年水稻を栽培することで本病の発生を防ぐことができると結論したが、この方法は効果的であるが時間がかかることもあり、計画的な運営が必要である。一方、抵抗性品種の栽培は農業生産のコストを下げ、アズキ生産への貢献は大である。アズキ萎凋病の他、アズキ落葉病、アズキ莖疫病すべてに抵抗性の品種を育成することが望まれている。

摘 要

1983年にアズキが急激に萎凋し、立ち枯れる「ア

ズキ急性萎凋症」が北海道石狩支庁石狩郡新篠津村の「寿小豆」にはじめて発見された。激発地では7月末に全株枯死するなど惨状を呈した。発見当初、この病害の病名について混乱が生じたのでそれを整理した。次いで、病原菌の生態、分類について検討し、抵抗性品種の利用も含めた防除法を確立する目的で本研究を行った。

I. 発生状況と病原菌

1. 発生実態

アズキ萎凋病の発生分布は主として石狩、空知、上川支庁管内を中心とした北海道中央部から西部に限られており、アズキの大産地である十勝支庁管内では発生が認められていない。

2. 病 徴

初発の時期は品種によって異なるが、標準的な栽培(5月下旬播種)においては本病に感受性の品種の発病は、播種してからほぼ1月後の6月下旬から見られ、発病初期には初生葉が縁から黄化し、しだいに葉脈にえそが現れる。また、本葉には葉脈えそのほかに萎縮症状が現れる。また、「ハヤテショウズ」、「寿小豆」に比べて症状が現れるのに時間がかかる「エリモショウズ」のように葉脈のえそが明確ではなく、萎縮症状のみが顕著な品種もある。また、ときには水浸状の褐色斑紋が現れることもある。最終的には病株全体の葉がしおれ、枯れ上がってくる。莖を切断すると維管束が褐変しており、導管には菌糸が充満している。

3. 病原菌の同定と病名

接種試験では、アズキ萎凋病菌はアズキ以外の17属の植物には病気を起こさず、さらにインゲンマメ、ペニバナインゲン各品種に対しても病原性はない。また、近縁の宿主の病原菌である、*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*、*F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*は、*F. oxysporum* f. sp. *medicaginis*はアズキに対し病原性を示さなかった。これらのことから本菌はアズキのみを侵す*F. oxysporum*の新分化型であることが再確認された。

そこで本病害をアズキ萎凋病、病原菌を*F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*とし、アズキ立枯病菌である*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*とは異なる分化型であることを明らかにした。

4. レースの存在

アズキ萎凋病菌には3つのレースが存在すること

が明らかになった。レース1は「エリモショウズ」「寿小豆」「宝小豆」などを侵すが「光小豆」,「ハツネショウズ」は侵すことができず,レース2は「光小豆」を,レース3は「光小豆」,「ハツネショウズ」を侵す。「十育123号」,「花小豆」,「赤豆」,「十系325号」,「Acc68(岩佐54-22)」,「円葉(刈63号)」は,いずれのレースにも侵されない抵抗性の系統である。レースの判別品種として「十育123号」,「ハツネショウズ」,「光小豆」,「寿小豆」を選び,以後のレース検定に供試することとした。

また,圃場における検定と幼苗の浸漬接種による検定を比較すると,レース3が示す反応と同様であることから,レース3を用いて幼苗で検定を行うことにより抵抗性品種のスクリーニングが容易にでき,圃場検定の前に効率よく選択できると考えた。

II. アズキ萎凋病菌の遺伝学的分類

1. アズキ萎凋病菌の体細胞和合性による分類

硝酸塩非利用突然変異株を利用した体細胞和合性により,アズキ萎凋病菌 *F. oxysporum* f. sp. *adzukiicola* とアズキ立枯病菌 *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* との比較を行った。両者に和合性は認められず,この分類法によってもアズキ萎凋病菌はアズキ立枯病とは異なる分化型に属することが確認された。

検定した萎凋病菌106菌株中91菌株は同一のVCG (VCG0020HU) に属し,残りの菌株のうち3菌株ずつを含む二つのVCG (VCG0021HU, VCG 0022 HU) が存在することが認められた。加えて,0020HU と 0021HU, 両VCG と相補性を示す2菌株から成るVCG (VCG0020/21HU) を得た。そのほか自己不和合性株が4菌株,単独の自己和合性株が3菌株認められた。

レースとVCG,あるいは地域とVCGには特に対応関係はなく,菌株の大部分を占める0020HUには3レースすべてが含まれており,北海道内各地の菌株が含まれていた。

2. 非病原性 *F. oxysporum* の体細胞和合性による分類

アズキ萎凋病発病圃場及び十勝地方の未発生アズキ圃場から分離した非病原性 *F. oxysporum* 菌株について,それぞれ86菌株,111菌株,計197菌株を供試して体細胞和合性群により分類した。単独の和合性群を含めて35群認められた。VCGを両地域

まとめて菌株数の多い方から並べたとき,10番目までのVCGに含まれる菌株の割合は発生地,未発生地それぞれ71.3%,77.7%となり,その中にはそれぞれの地域単独のVCGは認められなかった。

3. リボソームRNA遺伝子からの増幅断片の比較

F. oxysporum f. sp. *adzukiicola* 11菌株, *F. oxysporum* 11分化型計12菌株, *F. solani* f. sp. *pisi*, *F. roseum* f. *cerealis*, *F. moniliforme*, *F. lateritium* 各1菌株,非病原性 *F. oxysporum* 50菌株について検討した。

核内リボソームRNA反復ユニットの内部のスペーサー領域(プライマーITS1とITS4)の増幅産物,ミトコンドリア大rDNA(プライマーML1とML4)の増幅産物は同様の大きさで差はなかった。ミトコンドリア小rDNA(プライマーMS1とMS2)から, *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* を除いて *F. oxysporum* の各分化型では約700bpの増幅産物が得られ, *F. solani* f. sp. *pisi* で約610bp, *F. roseum* f. *cerealis* で約740bpであった。アズキに対し非病原性の *F. oxysporum* についてはバンドが1本(700bp)のみの菌株と,2本(610bp,700bp)の2型が認められた。

III. 生態と防除

1. レースの分布

レースの頻度分布は圃場あるいは地域により異なったが,全体的にみてレース1が106菌株で最も多く,レース2と3はそれぞれ33と39でほぼ同率であった。ほとんどの圃場では複数のレースが混在している可能性が高いと考えられる。

2. 十勝地方の土壌における病原菌存在の検討

調査した十勝地方40地点の *F. oxysporum* の土壌中菌密度は0.4~48.3×10² cfu/g乾土であり,分離検定した659菌株にアズキ萎凋病菌は存在しなかった。

3. 非耕地土壌中でのアズキ萎凋病菌生存の有無

3箇所の非耕地土壌からアズキ萎凋病菌が分離されたが,このうち発生畑近傍防風林を除いて少なくとも10年以上は水田が周辺にある地点であり,アズキ栽培圃以外でも相当生存できる可能性がある。また,一般の発病畑と同様にいずれのレースも存在した。

4. 連作土壌中の菌密度変動

土壌の採取時期により変動はあるが,全 *Fusar-*

ium oxysporum の菌密度は $1.1 \times 10^3 \sim 1.7 \times 10^4$ cfu/g 乾土であるのに対し、アズキ萎凋病菌の推定される菌密度は $5.0 \times 10^2 \sim 4.1 \times 10^3$ cfu/g 乾土で、その割合は 4.0~34.0% であった。レースの頻度はレース 1 が圧倒的に多く、レース 2 と 3 はほぼ同程度の頻度であった。

5. 土壌中厚膜孢子密度と発病

アズキの発病には 10^2 cfu/g 乾土オーダーのアズキ萎凋病菌の土壌中菌密度で十分であることが推定された。ただ、レース 1 (KF646A), レース 2 (KF654C) は 10^2 cfu/g 乾土以下の菌密度のとき発病率は 12% と低かったのに対し、レース 3 (90-750 B) では菌密度が 50 cfu/g 乾土でも 80% 以上の発病率を示し、病原力が高いと考えられる。

6. 土壌中における厚膜孢子的形成

アズキ萎凋病菌の厚膜孢子形成頻度は菌株により異なったが、埋没した後 1~4 日目にいずれの菌株の菌糸にも形成された。菌糸は次第に原形質の染色性が失われていった。

7. 罹病残渣中での生存

罹病残渣を地表、地下 10 cm, 20 cm, 30 cm におき、罹病残渣中のアズキ萎凋病菌の生存菌密度を測定した。地表においた罹病茎は約 5 年後でも原形を保っていたが、地中に埋没した茎は細かい断片に分解していた。しかし、その罹病残渣の埋没位置にかかわらず、約 5 年間 $4.2 \times 10^4 \sim 3.5 \times 10^5$ /g 乾燥残渣の菌密度を示し、その変動幅は小さかった。この残渣を顕微鏡で観察すると厚膜孢子が多数観察され、厚膜孢子的の形で長期間に亘って、ほぼ一定の菌密度が維持された。

8. アズキ萎凋病菌のアズキ根への侵入

自然発病土壌に播種したアズキの場合、選択分離培地に置くと、まず子葉あるいは子葉付近の根からアズキ萎凋病菌の菌叢が現れ、続いて主根中間部、あるいは側根からも分離された。播種後 2~3 日ではアズキ萎凋病菌は確認されなかったが、7 あるいは 8 日目に供試したすべての品種で分離されるようになった。しかし、10 日目、あるいは 13 日目には *F. oxysporum* が根から旺盛に出現したものの、アズキ萎凋病菌は再び検出できなくなった。また、この傾向は罹病性、抵抗性品種にかかわらず同様であった。

厚膜孢子接種土壌では自然発病土とは異なり、播種 3 日後から 7, 10 日目まで下胚軸と、それに接し

た根の付近からのみ *F. oxysporum* が分離され、どの時期においてもアズキ萎凋病菌は分離された。

9. アズキ品種と根圏土壌中の菌密度

自然発病圃場、枠圃場において品種と根圏土壌中のアズキ萎凋病菌菌密度の関係について検討した。「十育 127 号」、「十育 131 号」などの根圏土壌中の本菌菌密度は罹病性品種「エリモショウズ」よりはるかに低かった。枠圃場試験では 12 月の根雪前の本菌の土壌中菌密度は、抵抗性品種栽培区では $1.4 \sim 4.2 \times 10^2$ cfu/g 乾土に対し、「エリモショウズ」栽培区では 2.0×10^3 cfu/g 乾土と推定された。この傾向は翌年も同様であり、6 月の播種時の本菌菌密度は、「エリモショウズ」あとで 2.8×10^3 cfu/g 乾土、「十育 127 号」あとで 1.5×10^2 cfu/g 乾土、「十育 131 号」あとで 4.9×10^2 cfu/g 乾土であった。この菌密度を反映して本病発病率は「エリモショウズ」連作区で 62.5%、「十育 131 号」あとの「エリモショウズ」で 25.0% となった。

10. 各種作物根へのアズキ萎凋病菌の侵入と根圏土壌中菌密度

接種土壌においてアズキ、インゲンマメ、コムギからのアズキ萎凋病菌分離率が高く、根圏土壌中菌密度は接種菌密度の 100 倍から 300 倍に増加していた。一方、テンサイ、水稻ではアズキ萎凋病菌の分離率は低く、根圏土壌中菌密度はほとんど変化しないか、あるいは水稻の場合は 1/8 ほどに減少した。アズキ萎凋病菌の水稻根への着生が困難であると考えられた。

11. 種子伝染

脱穀後のアズキ種子の 28.6% からアズキ萎凋病菌が分離された。脱穀作業をとおさないで直接莢から種子を無菌的に取り出したときの分離率は 21% あまりとなり、脱穀作業の有無にかかわらず分離率は変わらなかった。本病の種子伝染が考えられた。

12. 十勝土壌へのアズキ罹病茎の混入と発病

アズキ罹病残渣を混入することにより、十勝地方土壌においてもアズキ萎凋病が起き、続けてアズキを栽培しても 1 回目と発病率は変わらないことから、十勝地方の土壌が抑止型土壌である可能性は低いと考えられた。

13. 土壌凍結が厚膜孢子的の生存に及ぼす影響

-20°C においては 4°C と比べると若干菌密度は低下するが、ほとんど最初に接種した菌密度と変化が

なく、16週間菌密度が維持され、土壤凍結は本菌の生存に影響を与えなかった。

14. 非宿主作物がアズキ萎凋病の発病と土壤中菌密度に及ぼす影響

2年あるいは3年インゲン、ジャガイモ、コムギを導入しても発病抑制は困難であった。

15. 各種作物の栽培歴とアズキ萎凋病菌の菌密度

実際の圃場における連輪作との関係をさらに探るため、実態調査を行った。調査した圃場ではほとんどアズキ、水稻、コムギが栽培作物であった。アズキ栽培から次のアズキ栽培までの期間、水稻の作付けが連続し、かつ、その回数が多いほど土壤中の菌密度が少ない傾向にあった。一方、コムギをアズキの間に栽培した圃場では菌密度はアズキ連作区と変わらない場合が多かった。

16. 水稻栽培の菌密度と発病に及ぼす影響

「エリモショウズ」の場合、前年には100%の発病率であった土壤で1年間水稻を作付けすることにより34.8%に低下し、さらに水稻作付け回数が増えるほど低下していき、4年以上作付けすると発病は見られなくなった。一方、「光小豆」では、水稻作付け前は87%の発病率が水稻作付けにより、2.2%になり、それ以降、作付け回数を増やすと全く病気は見られなくなった。また、水稻1回作付け後の柵圃場内土壤の菌密度は、「エリモショウズ」栽培区で「光小豆」栽培区の5~38倍と推定された。

土壤中菌密度は転換後1年目、2年目には8月末から9月初めに病原菌が検出されなくなったものの10月中旬に再び分離された。ところが3年目以降は5年目の春から夏にかけて検出されたが、7年目まで秋期に再び菌密度が増加することはなかった。また、畦畔からは時々検出されるのみで圃場内ほど菌密度は高くなかった。

いずれの圃場でもレース1が分離される頻度が高かった。

17. 土壤消毒の効果と土壤中のアズキ萎凋病菌菌密度の変動

当年処理の場合、発病率は無処理92.0%に対し、ダゾメット粉粒剤を30 kg/10a 土壤に混和して殺菌処理した区では15.3%と顕著な差が認められた。処理直後から *F. oxysporum* の菌密度は無処理区の1/100ほどになり、アズキ萎凋病菌は全く検出されなかった。

また前年処理区の発病率は無処理区の1/3とな

り、効果が認められた。

VI. 抵抗性品種の探索

1. 抵抗性母本の探索

圃場試験の結果から、アズキ萎凋病抵抗性母本として、「円葉(刈63号)」「花小豆」「Acc 68(岩在54-22)」「Acc 1056」「黒小豆(岡山)」「小長品-10」が選抜された。また、レース3を用いた幼苗検定と圃場検定より、アズキ萎凋病抵抗性母本の候補を4年間で23品種選抜した。

2. 圃場検定による選抜

5年間で616系統について検定を行った。その中から「十育127号(十系454号)」は、4年間供試していずれの年においても抵抗性反応を示し、1994年には「きたのおとめ」として品種登録された。

3. 幼苗検定による系統選抜

「十系350号」、「十育123号」、「十系337号」、「6067」を交配母本とすることで、高い確率で抵抗性系統を選抜できた。

4. アズキ萎凋病抵抗性の遺伝子分析

「光小豆」と「斑小粒系1号」のF₂のレース1に対する抵抗性と罹病性の分離比は1:3と推定され、「光小豆」のレース1に対する抵抗性は1対の劣性遺伝子に支配されていると考えられた。同様に「ハツネショウズ」のレース1, 2に対する抵抗性は1対の劣性遺伝子に支配されていることが明らかになった。

一方、「十育123号」のレース1, 2, 3に対する抵抗性は1対の優性遺伝子に支配されていることが明らかになり、「十育123号」の抵抗性遺伝子は「光小豆」、「ハツネショウズ」の抵抗性遺伝子とは異なる遺伝子座に座乗すると推定された。

謝 辞

本試験を行うに当たり、北海道立十勝農業試験場豆類第二科 村田吉平氏、島田尚典氏、藤田正平氏には貴重な種子の分譲、さらに遺伝子分析のための交配をしていただいた。また、北空知地区農業改良普及所(現農業改良センター)佐々木高行氏(現南羊蹄地区農業改良センター)には本病の調査、圃場の選定に全面的に協力していただいた。そして、新篠津村 武田氏には貴重な畑を永年に亘り貸していただいた。この場をかりて謝意を表する。

元北海道立中央農業試験場病虫部長赤井 純博士

(現北海道植物防疫協会会長), 同齊藤 泉博士(現北海三共株式会社), 北海道立北見農業試験場長土屋貞夫博士には終始暖かいご助言と激励を賜った。

北海道立中央農業試験場病虫部長児玉不二雄博士には本研究を行うに当たり, 初期の頃から種々ご教授をいただき, 貴重なご意見を頂いた。また, 田村修博士, 角野晶大氏はじめ北海道立中央農業試験場病虫部の皆様には圃場試験等で多大なご協力を頂いた。さらに小林喜六博士, 秋野聖之氏はじめ北海道大学農学部植物寄生病学講座の各位には有益なご助言とご協力をして頂いた。各位に哀心から感謝の意を表する。

本論文の校閲の労をとっていただいた北海道大学農学部教授 生越 明博士, 同教授 木村郁夫博士, 同教授 喜久田嘉郎博士に対し深甚なる謝意を表する次第である。

引用文献

1. 赤井 純・坪木和夫・後木利三: 十勝地方に多発したアズキ落葉病の発生と被害について, 日植病報, 37: 168, 1971
2. AIBOUETTE, C., COUTEDIER, Y., and LOUVET, J.: Studies on disease suppressiveness of soils. X. Comparison of the fungal microflora colonizing the roots of muskmelons growing in a wilt-suppressive and a wilt-conducive soil. *Agronomie (Paris)*, 4: 135-140, 1984
3. ALLIGTON, W. B., and CHAMBERLAIN, D. W.: Brown stem rot of soybean. *Phytopathology*, 38: 793-802, 1948
4. ARON, H., KATAN, J. and KEDER, N.: Factors affecting penetrance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes. *Phytopathology*, 64: 455-461, 1974
5. ANAGNOSTAKIS, S. L., and WAGGONER, P. E.: Hypovirulence, vegetative compatibility, and the growth of cankers of chestnut blight. *Phytopathology*, 71: 1198-1202, 1981
6. ARMSTRONG, G. M., and ARMSTRONG, J. K.: Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. in P. E. Nelson, T. A. Toussoun, and R. J. Cook, eds.: *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. 391-399, Pennsylvania State University Press, University Park, 1981
7. BAAYEN, R. P.: Examination of the relationships between vegetative compatibility groups and races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Plant Pathology*, 42: 839-850, 1993
8. BILAL, V. I.: The Fusaria (Biology and Systematics). Akad. Nauk. Ukr. SSR, Kiev. 320pp, 1955
9. BOOTH, C.: The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 237pp, 1971
10. BOSLAND, P. W., and WILLIAMS, P. H.: An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility and geographical origin. *Can. J. Bot.*, 65: 2067-2073, 1987
11. BRASIER, C. M.: Inter-mycelial recognition systems in *Ceratocystis ulmi*: their physiological properties and ecological importance. in D. H. Jennings and A. D. M. Rayner eds. *The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium*. 451-497, Cambridge University Press, Cambridge, 1984
12. BURKE, D. W.: *Fusarium* root rot of beans and the behavior of the pathogen in different soils. *Phytopathology*, 55: 1122-1126, 1965
13. BUXTON, E. W.: Differential rhizosphere effects of three pea cultivars on physiologic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 40: 305-317, 1957
14. CORRELL, J. C.: The relationship between species, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 81: 1061-1064, 1991
15. CORRELL, J. C., KLITTECH, C. J. R., and LESLIE, J. F.: Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology*, 77: 1640-1646, 1987
16. CORRELL, J. C., and PUHALLA, J. E.: Vegetative compatibility groups among nonpathogenic root-colonizing strains of *Fusarium oxysporum*. *Can. J. Bot.*, 64: 2358-2361, 1985
17. ELIAS, K. S., and SCHNEIDER, R. W.: Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, 81: 159-162, 1991
18. ELIAS, K. S., SCHNEIDER, R. W., and LEAR, M. M.: Analysis of vegetative compatibility groups in nonpathogenic populations of *Fusarium oxysporum* isolated from symptomless

- tomato roots. *Can. J. Bot.*, **69**: 2089-2094, 1990
19. ELMER, W. H. and STEPENS, C. T.: Classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* into vegetatively compatible groups. *Phytopathology*, **79**: 88-93, 1989
 20. GAMS, W.: *Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes)*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp226, 1971
 21. GERLACH, W., and NIERENBERG, H.: The genus *Fusarium*-A Pictorial Atlas. **209**: 1-406, Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstmirtsch-Dahlem, 1982
 22. GORDON W.L.: The taxonomy and habitats of *Fusarium* species from tropical and temperate regions. *Can. J. Bot.*, **38**: 643-658, 1960
 23. GORDON, T. R. and OKAMOTO, D.: Vegetative compatibility groupings in a local population of *Fusarium oxysporum*. *Can. J. Bot.* **69**: 168-172, 1990
 24. GORDON, T. R. and OKAMOT, D.: Variation in mitochondrial DNA among vegetatively compatible isolates of *Fusarium oxysporum*. *Exp. Mycol.* **16**: 245-250, 1992
 25. GORDON T. R. and OKAMOT, D.: Variation within and between populations of *Fusarium oxysporum* based on vegetative compatibility and mitochondrial DNA. *Can. J. Bot.* **70**: 1211-1217, 1992
 26. GOSS, M. W. and AFENASIEV, M. M. : Influence of rotations under irrigation on potato scab, *Rizoctonia* canker, and *Fusarium* wilt. *Nebr. Agr. Exp. Sta. Bull.* **317**: 1-18, 1938
 27. GRAJAI-MARTIN, M. J., SIMON, C. J., and MUEHIBAUER, F. J.: Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to characterize race 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Phytopathology*. **83**: 612-614, 1993
 28. 半沢 旬: 小豆の病害, 五 小豆の立枯病, 立枯病, *興農雑誌*, **14**: 176, 1906
 29. 原 摂祐: 小豆の病害と其防除法 11, 立枯病, *農業及び園芸*, **17**: 631, 1942
 30. HART, L. P., and ENDO, M. M.: The effect of time of exposure to inoculum, plant age, root development, and root wounding on *Fusarium* yellows of celery. *Phytopathology* **71**: 77-79, 1981
 31. HASEGAWA, S., KONDO, N., and KODAMA, F.: Suppression of *Fusarium* wilt of adzuki bean by rhizosphere microorganisms. in Hedin, P. A., Editor. *Naturally Occurring Pest Bioregulators*. 407-416, American Chemical Society, Washington, DC, 1991.
 32. 北海道立農業試験場: 開拓地土壌調査報告書 (昭和32年度), 24-27, 1957
 33. 鑄方末彦: 第4章 小豆及び緑豆, V. 食用作物学上巻: 291-202, 朝倉書店, 東京, 1949
 34. JOFFE, A. Z.: A modern system of *Fusarium* taxonomy. *Mycopathol. Mycol. Appl.* **53**: 201-228, 1974
 35. KATAN, J., FISHER, G., and GRINSTEIN, A. : Short- and long-term effects of soil solarization and crop sequence on *Fusarium* wilt and yield of cotton in Israel. *Phytopathology* **73**: 1215-1219, 1983
 36. KATAN, T., and KATAN, J.: Vegetative-compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from tissue and the rhizosphere of cotton plants. *Phytopathology* **78**: 852-855, 1988
 37. KATAN, T., ZAMIR, D., SARFATTI, M., and KATAN, J.: Vegetative compatibility groups and subgroups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* **81**: 255-262, 1991
 38. KISTLER, H. C., BOSEI and, P. W., BENNY, U., LEONG, S., and WILLIAMS, P. H.: Relatedness of strains of *Fusarium oxysporum* from crucifers measured by examination of mitochondrial and ribosomal DNA. *Phytopathology* **77**: 1289-1293, 1987
 39. KISTLER, C. C., MOMOL, E. A., and BENNY, U.: Repetitive genomic sequences for determining relatedness among strains of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* **81**: 331-336, 1991
 40. 木谷清美・国安克人・夏目孝男: 転換畑におけるラジノクロウバ白絹病の防除に関する研究, *四国農試報*, **18**: 139-160, 1968
 41. 北沢健治・柳田麒作: アズキ茎疫病の病原菌について, *日植病報*, **44**: 74-75, 1978
 42. 北沢健治・柳田麒作: アズキ立枯病の病原菌 *Fusarium oxysporum* Schl. について, *日植病報* **50**: 643-645, 1984
 43. KITAZAWA, K., and YANAGGITA, K.: *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *adzukicola* n. f. sp., a wilt fungus of *Phaseolus angularis*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **55**: 76-78, 1989

44. KLEIJN, J.: The Elegans fusaria causing wilt disease of carnation. II. Distinction of vegetative compatibility groups. *Neth. J. Pl. Path.* **94**: 185-194, 1989
45. KOBAYASHI, K., KONDO, N., Ui, T., TACHIBANA, H., and AOTA, T.: Difference in pathogenicity of *Phialophora gregata* isolates from adzuki bean in Japan and from soybean in the United States. *Plant Disease* **67**: 387-388, 1983
46. KOBAYASHI, K., TNAKA, F., KONDO, N., and Ui, T.: A selective medium for isolation of *Cephalosporium gregatum* from soil and populations in adzuki bean field soils estimated with the medium. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **47**: 29-34, 1981
47. 児玉不二雄: タマネギ乾腐病とその防除に関する研究, 北海道立農業試験場報告, **39**: 1-65, 1983
48. 児玉不二夫・長谷川伸作: アズキ立枯病とその生物防除の可能性, 今月の農業 **30**: 22-27, 1986
49. 児玉不二雄・五十嵐文雄・赤井純・長谷川伸作: アズキ立枯病の発生消長, 日植病報 **52**: 142, 1986
50. 駒田 且: 野菜のフザリウム病菌, *Fusarium oxysporum* の土壤中における活性評価技術に関する研究, 東海近畿農業試験場研究報告 **29**: 132-269, 1976
51. KONDO, N. and KODAMA, F.: *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola*, causal agent of adzuki bean wilt, and detection of three races of the fungus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **55**: 451-457, 1989
52. 近藤則夫・児玉不二雄: アズキ立枯病とその病原菌, 植物防疫, **43**: 384-388, 1989
53. KRAFT, J. M., and HAGLUND, W. A.: A reappraisal of the race classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Phytopathology* **68**: 273-275, 1978
54. KUNINAGA, S., and YOKOSAWA, R.: Genetic relatedness within and between formae speciales of *Fusarium oxysporum* as measured by DNA-DNA reassociation kinetics. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **55**: 261-223, 1989
55. LATIN, R. X., and SNEII, S. J.: Comparison of methods for inoculation of muskmelon with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant Disease* **67**: 493-495, 1986
56. LESLIE, J. F.: A proposal for numbering vegetative compatibility groups of formae speciales in *Fusarium*. *Fusarium notes. An international Newsletter* **7**: 4-5, 1988
57. LESLIE, J. F.: Genetic exchange within and asexual populations of the genus *Fusarium*. in Ploetz, R. C. editor. *FUSARIUM WILT OF BANANA*: 37-48, APS Press, St. Paul, Minesota, USA, 1990
58. MANICON, B. Q., BAR-JOSEPH, M., KOTZE, J. M., and BECKER, M. M.: A restriction fragment length polymorphism probe relating vegetative compatibility groups and pathogenicity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Phytopathology* **80**: 336-339, 1990
59. MANICOM, B. Q., BAR-JOSEPH, M., ROSNER, A., VIGODSKY-HAAS, H., and KOTZE, J. M.: Potential applications of random DNA probes and restriction fragment length polymorphisms in the taxonomy of the Fusaria. *Phytopathology* **77**: 669-672, 1987
60. MALOY, O. C. and BURKHOLDER, W. H.: Some effects of crop rotation on the *Fusarium* root rot of bean. *Phytopathology* **49**: 583-587, 1959
61. MANULIS, S., KOGAN, N., REUVEN, M., and BEN-YEPHET, Y.: Use of the RAPD technique for identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* from carnation. *Phytopathology* **84**: 98-101, 1994
62. MARTYN, R. D., and MCLAUGHLIN, R. J.: Effects of inoculum concentration on the apparent resistance of watermelons to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant Disease* **67**: 493-495, 1983
63. 松田 明: 希釈平板法による土壌病害診断, 植物防疫, **24**: 322-324, 1970
64. 松田 明・尾崎克己・下長根鴻: 水田土壌における *Fusarium oxysporum* の分布, ならびに転換畑の土壌静菌作用の変動について, 茨城県農試研報, **20**: 17-30, 1979
65. MATSUO, T.: Taxonomic studies of phytopathogenic Fusaria in Japan. *Rev. Plant Prot. Res.* **5**: 34-45, 1972
66. 松尾卓見: その他のフザリウム病, 作物のフザリウム病, 松尾卓見・駒田 且・松田 明編集全国農村教育協会, 東京, 469, 1980
67. MEREDITH, D. S.: Major banana diseases: Past and present status. *Rev. pl. Path.* **49**: 539-543, 1970
68. MESSIAEN, C. M., and CASSINI, R.: Recherches sur les fusarioses. La systematique des

- Fusarium*. Ann. Epiphyt. 19: 387-454, 1968
69. 成田武四・(III) アズキ, 北海道農作物病害総覧, 236-250, 北海道農務部農業改良課, 札幌, 1980
70. 成田武四・赤井 純・坪木和夫: アズキ落葉病菌 *Cephalosporium* 菌について, 日植病報, 37: 168-169, 1971
71. 成田武四・赤井 純・坪木和夫: アズキ落葉病菌とその病原菌, 植物防疫, 25: 353-358, 1971
72. NELSON, P. E., TOUSSOUN, T. A., and MARASAS, W. F. O.: *Fusarium* species: An Illustrated Manual for Identification: 1-193, Pennsylvania State University Press, University Park, 1983
73. NIEDERHAUSER, J. S.: *Phytophthora infestans*: The Mexican connection. in J. A. Lucas, R. C. Shattock, D. S. Shaw, and L. R. Cooke, eds. *Phytophthora*: 25-45, Cambridge University Press, England, 1991
74. 小倉寛典: 土壤病原菌の腐生生活に関する研究 第5報 植物残渣上の糸状菌の推移, 高知大研報, 17 13-24, 1968
75. 小倉寛典: 第3節 土壤中におけるフザリウム菌の生態, 松尾卓見・駒田 旦・松田 明編集作物のフザリウム病: 103-135, 全国農村教育普及協会, 東京, 1980
76. 小倉寛典・山田 巧: 土壤病原菌の腐生生活に関する研究 第6報 病原型および腐生型の *Fusarium oxysporum* の土壤中での変動, 高知大研報, 24: 115-121, 1975
77. POOLE, F. R.: The necessity of rotation of crop for the control of diseases of the sweet potatoes. *Phytopathology* 29: 750, 1936
78. PUHALLA, J. E.: Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.* 63: 179-183, 1985
79. RAILLO, A.: Griby roda *Fusarium*. 1-415, State Publ. Moskva. Gos. izd-vo selk-hoz. lit-ry, 1950
80. SCHIPPERS, B. and van ECK, W. H.: Formation and survival of chlamydospore in *Fusarium*. in Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Cook, R. J. eds. *Fusarium: Disease, Biology, and Taxonomy*: 250-260, The Pennsylvania State University, 1981
81. SCHNEIDER, R. W.: Effects of nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum* on celery root infection by *F. oxysporum* f. sp. *apii* an novel use of the Lineweaver-Burk double reciprocal plot technique. *Phytopathology* 74: 646-653, 1984
82. 下長根鴻・尾崎克己: 第4節 生態的防除(耕種的・生物的) 松尾卓見・駒田 旦・松田 明編集, 作物のフザリウム病: 338-360, 全国農村教育普及協会, 東京, 1980
83. SMITH, S. N.: Comparison of germination of pathogenic *Fusarium oxysporum* chlamydospores in host rhizosphere soils conducive and suppressive to wilts. *Phytopathology* 67: 502-510, 1977
84. SMITH, S. N., and SNYDER, W. C.: Relationship of inoculum density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato. *Phytopathology* 57: 511-517, 1971
85. SMITH, S. N., and SNYDER, W. C.: Persistence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in fields in the absence of cotton. *Phytopathology* 65: 190-196, 1975
86. SNYDER, W. C. and HANSEN, C. N.: The species concept in *Fusarium*. *Am. J. Bot.* 27: 64-67, 1940
87. SNYDER, W. C. and HANSEN, H. N.: The species concept in *Fusarium* with reference to section *Martiella*. *Am. J. Bot.* 28: 738-742, 1941
88. SNYDER, W. C. and HANSEN, H. N.: The species concept in *Fusarium* with reference to section *Dicolor* and other sections. *Am. J. Bot.* 32: 657-666, 1945
89. SNYDER, W. C. SCHROTH, M. V. and CHRISTOU, T.: Effect of plant residues on root rot of bean. *Phytopathology*. 67: 501-510, 1959
90. 田中文夫・土屋貞夫・近藤則夫・小林喜六: 転作地帯のアズキ落葉病に対する田畑輪換の効果, 日植病報, 50: 98-99, 1984
91. 田中一郎: 注意すべき病害虫, 病虫害雑誌, 20: 299-304, 1933
92. TAYLOR, G. S.: *Fusarium oxysporum* and *Cylindrocarpon radicolica* in relation to their association with plant roots. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 47: 38-391, 1964
93. 富山宏平: 麦類雪腐病に関する研究, 北農試報告 47: 1-234, 1955
94. TOUSSOUN, T. A. and NELSON, P. E.: A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species: 1-51, Pa. Sta. Univ. Press, Pa, 1968
95. 柘植尚志・草場基章・足立嘉彦: 植物病原糸状菌の RFLP. 植物防疫, 46: 315-319, 1992
96. 土谷富士夫: 農地の土壤凍結作用とその現状, 北

- 海道の農業気象, 35: 39-46, 1983
97. 土屋貞夫: アズキ茎疫病とその防除に関する研究, 北海道農業試験場報告, 72: 1-76, 1988
98. 土屋貞夫・児玉不二雄: 上川管内におけるアズキ茎疫病の病原菌と発生状況, 日植病報, 44: 75, 1978
99. 土屋貞夫・児玉不二雄: アズキ茎疫病とその病原菌, 植物防疫, 32: 357-360, 1978
100. 宇井格生・赤井 純・内記 隆・伊藤征男: 連作及びオオムギ休閑跡地に栽培したインゲンの根腐病発生と被害, 北大農文紀要, 8: 386-390, 1973
101. VAVILOV, N. I.: Geographische Genzentren unsere Kulturpflanzen. Verbandlungen des V. Int. Kongr. Vererb. Wissenschaft. Berlin 1927. Aeits. f. Ind. Abst. u. Vernerbungl. Suppl. 1: 342-369, 1928
102. WARREN, W. H., and KOMMEDAHL, T.: Fertilization and wheat refuse effects on *Fusarium* species associated with wheat roots in Minnesota. *Phytopathology* 63: 103-108, 1973
103. 渡邊龍雄: アズキの立枯病とその防ぎ方, 農業及び園芸, 35: 1312-1316, 1960
104. WENSLY, M. H., and MCKEEN, C. D.: Populations of *Fusarium oxysporum* f. *melonis* and their relation to the wilt potential of two soils. *Can. J. Microbiol.* 9: 237-249, 1963
105. WHITE, T. J., BRUNS, T., Lee, S., and TAYLOR, J.: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. in Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., and White, T. J. eds. *PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications*, 315-322, Academic Press, New York, 1990
106. WHITEHEAD, D. S., GODDINGTON, A., and LEWIS, B. G.: Classification of races by DNA polymorphism analysis and vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisii*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 41: 295-305, 1992
107. WILLIAMS, P. H.: *Fusarium* yellows. pp124-129 in Williams, P. H., ed. *Screening Crucifers for Multiple Disease Resistance*, 124-129, University of Wisconsin, Madison, 1981
108. WOLLENWEDER, H. W. and REINKING, O. A.: Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung, 1-355, Paul Parey, Berlin, 1935
109. WONG, W. C., WHITE, M., and WRIGHT, I. G.: Production of monoclonal antibodies to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. *Lett. appl. Microbiol.* 6: 39-42, 1988
110. XUE, B. and GOODWIN, P. H.: Inserts and G-C rich DNA sequences in the mitochondrial large ribosomal subunit of *Leptosphaeria maculans*. *Mycol. Res.* 98: 445-452, 1994
111. YAMAMOTO, H., KOBAYASHI, K. and OGOSHI, A.: Isozyme polymorphism in *Phialophora gregata* isolates from adzuki bean and soybean in Japan. *Ann. Phytoath. Soc. Japan* 93: 584-590, 1990

Summary

Adzuki bean (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi) wilt or damping-off was first discovered by Hanzawa (1906), who reported that a *Fusarium* sp. was the causal agent of this disease. The disease has been reported several times since this initial publication (Hara, 1942; Ikata, 1949; Matsuo, 1980; Watanabe, 1960). In 1980, Matsuo reported that the isolate collected by Watanabe was *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

In 1983 a destructive wilt of adzuki bean occurred in Hokkaido, the northernmost island of Japan, and the total area of diseased fields increased to about 2000 ha in 1985. Kitazawa and Yanagita (1989) reported that the isolate of *F. oxysporum* collected from diseased adzuki beans showed specific pathogenicity to adzuki bean and proposed a new forma specialis: *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*. However, some confusion about the disease names and formae speciales was found in those reports.

In this study, I have put this confusion to rest by pathogenicity and genetic tests, and reported the ecology of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*. Also, methods of control for this disease were examined.

I. The incidence and the causal agent of the disease

1. Distribution of adzuki bean wilt disease in Hokkaido

Adzuki bean wilt is localized in the western or the central part of Hokkaido such as the Ishikari, the Sorachi and the Kamikawa district, and has not been observed in the eastern part of Hokkaido, such as the Tokachi district.

2. Symptomatology

The initial symptoms on susceptible cultivars (for example cv. Kotobuki-shozu) appeared in the end of June about one month after seeding. They were

characterized as wilting and vein necrosis, especially on the upper true leaves. Also, rugosity was often seen in cv. Erimo-shozu in which the incidence of disease appeared later than in cv. Kotobuki-shozu. Severely infected plants were completely defoliated or dead. At this stage of disease development, the dead stems were covered with white-pink sporodochia of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*. Vascular discoloration was evident on all susceptible plants and was apparent before the initial appearance of leaf necrosis.

3. Host range study

The *Fusarium oxysporum* (reported as *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*) isolated from wilted adzuki bean plants was pathogenic to adzuki bean (*Vigna angularis*) and *Vigna angularis* var. *nipponensis*, causing external symptoms of wilt, and not pathogenic to 17 other genera tested including some leguminous plants. *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, and *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* were not pathogenic to adzuki bean. The pathogen of adzuki bean wilt was, thereby, accepted as *F. oxysporum* Schlechtendahl: Fris f. sp. *adzukicola* Kitazawa et Yanagita and not as f. sp. *phaseoli*. Therefore, a new Japanese name "Adzuki icho-byo" for the adzuki bean wilt was proposed.

4. Reaction of adzuki bean cultivars and lines to *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*

It was evident that there are three pathogenic races of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*, based upon the differential reaction of inoculated cultivars. I suggested the following cultivars be used as differentials to identify these races of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*: Toiku 123 (resistant to all three races), Hatsune-shozu (resistant to race 1 and race 2), Hikari-shozu (resistant to only race 1), and Kotobuki-shozu (susceptible to all three races). Six cultivars or lines (Kari No. 63, Kari No. 71, Acc68, Akamame, Toiku No. 123, and Tokei No. 325) were also considered resistant with *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* race 1, 2, and 3. In the field test, the reaction of cultivars was the same as that of cultivars inoculated with race 3. Therefore the greenhouse inoculation procedure was deemed useful for accelerating breeding for resistance to this disease.

II. Genetic analysis in *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*

1. Vegetative compatibility groups in *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*

Vegetative compatibility analysis with nitrate utilizing (*nit*) mutants was carried out for the comparison of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* with *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, and for grouping isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola*. Complementary reactions between *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* and *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* were not recognized. So, it was confirmed that the causal agent of adzuki bean wilt was a distinct forma specialis of *Fusarium oxysporum*. Ninety one isolates out of 106 isolates examined belonged to the same vegetative compatibility group (VCG) designated 0020HU. The rest of the isolates tested were classified into three VCGs, four self-vegetative incompatible isolates, and three self-compatible isolates. No correlation was found between the vegetative compatibility groups and races, or fields. VCG 0020HU contained all three races.

2. Vegetative compatibility groups in *F. oxysporum* non pathogenic to adzuki bean

Isolates collected from infested field soil and those from non-infested field soil in the Tokachi district belonged to common VCGs, and frequency of VCGs was not markedly different between them.

3. Comparison of PCR amplified fragments from ribosomal DNA (rDNA)

Fifty strains of *Fusarium* spp. including 11 isolates of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* were examined. PCR amplified fragments from the internal transcribed spacers (ITS) of rDNA and the mitochondrial rDNA had no variation among 50 strains.

III. Ecology and control of the disease

1. Distribution of the pathogen and its races

The frequency with which specific races were recovered varied in fields, but, overall, race 1 was most numerous with 106 isolates recovered from among 178 isolates. The number of isolates recovered of race 2 and race 3 was 33 and 39, respectively. In 22 of the 37 fields surveyed, two or three races were isolated from the same field, and in a field in Kucchan-cho three races were isolated from the same plant.

In the Tokachi district no isolate of *F. oxysporum* f. sp. *adzukicola* was recovered among 659 isolates of *F. oxysporum* isolated from soil collected from 40 fields. In diseased areas the fungus was also iso-

lated from noncultivated spots such as river banks and bushes, and all the races pathogenic to adzuki bean cultivars were recovered.

2. Survival of the pathogen

Chlamyospores were formed in 1 to 4 days after burying mycelia of the pathogen into soil and minimal inoculum density (no. of chlamyospores) for the incidence of this disease was estimated at 10^2 cfu/g dry soil. Also, chlamyospores in stems of diseased adzuki bean survived for about 5 years under natural field conditions.

The disease occurred in a sample of soil from the Tokachi district artificially infested with residue of diseased adzuki bean. Chlamyospores in soil survived for 16 weeks even at -20°C . Therefore, the soil of the Tokachi district was not suppressive, and no correlation existed between survival of the pathogen and soil freezing.

The pathogen was frequently isolated from seeds of naturally infested adzuki bean.

3. Control of the disease by cultural methods

Field surveys for the effect of crop rotation on the disease incidence of adzuki bean and the inoculum density in soil showed that rice cultivation had efficacy of making the level of inoculum potential low in the soil. And an experiment with rice cultivation in a infested field exhibited low incidence of this disease. I concluded that cultivation of rice for 5 to 6 years was effective enough for the control of this disease.

IV. Detection of resistant cultivars

1. Screening of resistant cultivars and lines

Screening test resulted in finding resistant cultivars such as Kari No. 63, Kuro-shozu (Okayama), Sho-chohin-10, etc. Kitano-otome (Toiku No. 127) was selected as a resistant cultivar in a 4-year field test and registered at the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan in 1994. By using a seedling dipping method with race 3, 1217 progenies from 22 crosses were examined for resistance to the disease effectively and many candidates for resistant lines were obtained.

2. Gene analysis of resistance

The inoculation procedure with seedling was also used to determine the inheritance of resistance to the pathogen. The F₂ progenies of Hikari-shozu × Buchishoryukei No. 1 and Hatsune-shozu × Buchishoryukei No. 1 segregated in a ratio of 1R : 3S, in-

dicating that resistance in Hikari-shozu to race 1 and resistance in Hatsune-shozu to both race 1 and 2 is recessive. On the other hand, the reaction of the F₁ progenies of Toiku No. 123 × Buchishoryukei No. 1 indicated complete dominance for resistance to race 1, race 2, and race 3. The segregation ratios of the F₂ progenies also show that one dominant gene controls resistance. In addition it was shown that these resistant cultivars had different resistance gene loci to both race 1 and race 2.