



Title	インゲン根腐病の発病経過と根圏、および病斑内の病原菌数
Author(s)	伊藤, 征男; IT0, Ikuo; 宇井, 格生 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 8(4), 391-395
Issue Date	1973-03-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11845
Type	departmental bulletin paper
File Information	8(4)_p391-395.pdf



インゲン根腐病の発病経過と根圏、 および病斑内の病原菌数

伊藤征男・宇井格生
(北海道大学農学部植物学教室)

The development of bean root rot and the number of pathogens in the rhizosphere and rotted tissues

Ikuro ITO and Tadao UI

(Department of Botany, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Received August 31, 1972

はじめに

Fusarium solani f. sp. *phaseoli* (Burk.) Snyder et Hansen によるインゲン根腐病は、我国では始め北海道に発生することが報ぜられ^{8),9)}、インゲンの主産地である十勝地方では作付面積の80%以上に発生する¹⁾。

F. solani f. sp. *phaseoli* の土壌中における行動など生態に関しては SNYDER 一派により多くの研究が行なわれているが、本病の畑における感染時期、病状の進行などについての研究は少なく、とくに我国では皆無に等しい。

本実験は、*F. solani* f. sp. *phaseoli* の土壌中の生活を解明するための第一歩として畑に栽培したインゲンの根腐病感染と病状の進行、これに伴う病斑組織、および根圏土壌中の *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数について検討したものである。

なお、本実験は、十勝農業試験場(北海道河西郡芽室町新生)の畑に栽培したインゲンを材料としたもので、圃場の管理その他について同場、赤井純、坪木和男(現、根釧農業試験場)の両氏の多大の御援助と御助言を頂いた。また、*F. solani* f. sp. *phaseoli* の同定は信州大学繊維学部松尾卓見教授の御好意により分壊された菌株を参考とした。ここにあわせて深甚な感謝の意を表わす。

材料と方法

1. インゲンの品種と栽培

用いたインゲンの品種は、十勝地方で最も普通に栽培されている大正金時である。

これを十勝農業試験場内の2年間インゲンを連作した畑で、前年のインゲン根腐病の発病株率が100%のところに播種、栽培した。肥料は、窒素: 燐酸: 加里, 4: 10: 7 (kg/10 a) とし、すべて基肥として施した。栽植密度は60×20 cm, 3本立として5月29日に播種した。

2. *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数測定

試験区の対角線上の5地点から、地表より5~10 cmの土壌を約500 gずつ採取し、充分に混和してその *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数を測定した。菌数の測定は、風乾した土壌10 gを殺菌水100 mlに懸濁し、振とう機で30分間振とう後、常法による希釈平板法により菌数を測定した。用いた平板培地は、駒田⁴⁾の考案した *Fusarium* 属菌の定量用培地を参考にし、2% 蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天培地に PCNB 50% 水和剤 13.5g/l, ジヒドロストレプトマイシン硫酸塩 300 ppm を加え、分注前に乳酸により、pH 4.0~4.5 に調整したものである。以下 PCNB・PSA とする。平板は 25°C, 7日間培養し、5枚のシャーレについて現われる *Fusarium* 属菌の菌叢数を数え、またそれらすべてを分離し、2% 蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天(以下、PSA とする)斜面上に移植し保存した。これらのうち *F. solani* f. sp. *phaseoli* をのちに記す方法により同定し、土壌中の本菌の菌数を求めた。

3. 発病程度

インゲン根腐病の発病程度は、胚軸、根の褐変の程度、および壊死の状態により、図版 A に示すような発病の程度によって、健全なものを0、地表下の胚軸、および根全体が褐変、壊死をおこしたものを5として病斑指数を定め、次のようにして発病度を求めた。

$$\text{発病度} = \frac{\sum (\text{病斑指数} \times \text{それぞれの病斑指数を示す個体数})}{\text{調査個体数}}$$

4. 病斑組織、根圏土壌からの *Fusarium* 属菌の分離と同定

病斑からの分離: STOVER ら⁷⁾の方法を改変した希釈平板法により行なった。すなわち、褐変した病斑組織(主として胚軸)を70%アルコールと1000倍昇こう水にそれぞれ約30秒間ずつ浸漬して表面殺菌を行ない、殺菌水で十分に水洗した。その一定量(生重約1g)を100mlの殺菌水とともに殺菌したワーレンブレンダーで磨砕した。この磨砕液を順次希釈し、先の土壌と同じ方法で菌数を測定した。菌数は、病斑組織の乾重1g当たりとして表わした。

根圏土壌からの分離: 移植ごてを用い根をなるべく損傷ないようにインゲンを抜き取り、そのままビニール袋に入れて室内に持ち帰り、分離に供した。茎を持って軽く振り、根に附着する土壌を落したのち、5株の地下部を100mlの殺菌水を入れた500ml容三角コルベンに入れ、振とう機で30分間振とうした。地下部を取り出したのちの液を根圏土壌懸濁液とした。これについて先の土壌と同じ方法で菌数を測定した。菌数は、根圏土壌の乾重1g当たりとして表わした。

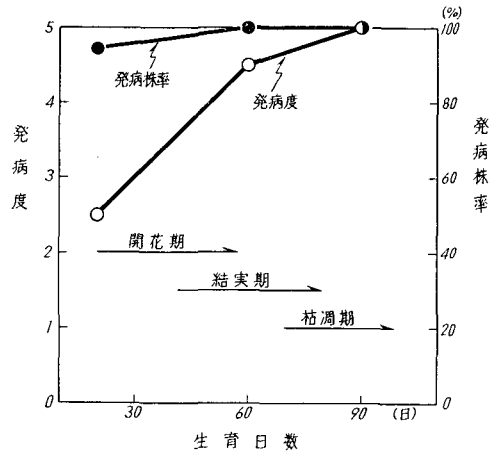
F. solani f. sp. *phaseoli* の同定: PSA 斜面培地に保存した *Fusarium* 属菌を、25°C、約1ヶ月間培養したのち、形成された分生胞子の形態により *F. solani* を同定した。このうち根腐病菌は、次のような接種試験により同定した。すなわち、プラスチック製コップにつめたパーミキュライトに隣酸エチル水銀溶液で表面消毒したインゲン種子を播種し、これに斜面培養に形成した分生胞子懸濁液を加え、温室で栽培した。発芽後10日目に根腐病の発病の有無を調査し、罹病個体から病原菌の再分離を行ない *F. solani* f. sp. *phaseoli* を同定した。

5. 病斑組織内の菌の形態観察: 病斑組織の内部の菌の形態は、組織をFAA固定後常法により、パラフィン切片(厚さ10μ)を作り、石炭酸チオニン、オレンジGで染色して検鏡した。

実験結果

1. 畑における感染時期と病状の進行

5月29日に畑に播種したインゲンを発芽時(6月8日)から約30日目(7月8日)、約60日目(8月7日、開花、結実期)、および約90日目(9月1日、枯凋期)の3回、試験区から1株おきにそれぞれ50個体を抜き取り



第1図 インゲン根腐病の病状の進行

発病株率、発病度を調査した。

また、おのおの調査時期に病斑組織内部の菌の形態を観察した。

畑に栽培したインゲンの発病株率は、発芽後30日目に94%で、ほとんどの個体が感染していた(第1図)。この時期の病徴は、主に主根、胚軸の褐変であるが、根系全体には拡がっておらず、発病度は2.5であった(図版B)。

その後、病状は激しくなり、発芽後60日目には、インゲンの地下部がすべて褐変し、発病度は4.5となった(図版C)。

この時期以降、罹病部の色調は、濃くなって黒褐色となり、激しいものでは、胚軸や主根の表皮が腐朽、崩壊し、側根の一部が離脱した。また一部の株は、地上部が黄化し、枯死するものもあった。地下部全体が褐色となっても程度の軽い株では、新たな側根の新生がみられた。すなわち、畑におけるインゲン根腐病は、生育の初期から発生し、開花、結実期と、その生育が進むにつれて病状が激しくなる。

病斑組織内における菌糸の蔓延は、発芽後30日目には、表皮細胞とそれに続く柔組織の部分に限られていた。発芽後60日目以降、地下部全体が褐変し、胚軸、主根の腐朽が認められる時期に組織内菌糸は、細胞間隙、細胞内に充満し、皮層部全体に蔓延していた。この病斑組織内に *Fusarium* 属菌の厚膜胞子が多数形成される(図版D, E)。

しかしながら、菌糸の蔓延は、発病度5とされる最も病状の激しい病斑組織でも皮層部に限られ、維管束には認められず、厚膜胞子は、皮層部にのみ形成された。

2. インゲンの生育と根圏土壌，および病斑組織内の *Fusarium* spp.，および *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数

前項1の実験と併行して7月8日，8月7日，および9月1日にインゲンの根圏土壌，および病斑組織内の *Fusarium* 属菌とそのうちの *F. solani* f. sp. *phaseoli* の定量をした(第1表，第2表)。播種前の土壌中の *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数は， $4.6 \times 10^2/g$ (乾土)であった。

第1表 インゲンの生育と根圏土壌中の *Fusarium* 属菌，および *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数

菌数 ($\times 10^3/g$ 乾土)	生育日数		
	30	60	90
<i>Fusarium</i> 属菌	30.3	47.6	560.0
<i>F. solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	2.1	7.2	140.0

インゲン根圏土壌中の *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数は，インゲンの発芽後約30，60，90日目には，それぞれ2.1，7.2， $140.0 \times 10^3/g$ (乾土)であり，インゲンの生育，病状の進行とともに増加する。特に，発芽後90日目の枯凋期に当たるインゲンの根圏土壌中では *Fusarium* spp.，および *F. solani* f. sp. *phaseoli* とも他の調査時期に比べて著しく多い。この時期の胚軸地際部の病斑上に *F. solani* f. sp. *phaseoli* のスポロドキアが形成され，青白色の胞子塊が多量に認められた。このスポロドキアは，軽度の褐変壊死部に形成されず，表皮が腐朽，崩壊したところにのみ認められた。

第2表 インゲンの生育と病斑組織中の *Fusarium* 属菌，および *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数

菌数 ($\times 10^2/g$ 乾重)	生育日数		
	30	60	90
<i>Fusarium</i> 属菌	122.6	130.0	387.9
<i>F. solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	15.3	29.3	77.4

病斑組織中の *Fusarium* spp. および *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数もまた，インゲンの生育，病状の進行とともに増加し，インゲンの発芽後約30，60，90日目にはそれぞれ，15.3，29.3， $77.4 \times 10^2/g$ (乾重)であり，枯凋期の褐変が皮層部全体に広がる時期に最も多くなる。病斑組織，および根圏土壌から分離される *Fusarium*

属菌のうち *F. solani* f. sp. *phaseoli* 以外は，主に *F. oxysporum* であった

結 論

インゲン根腐病の畑における感染は，インゲンの発芽後まもなく，主根に赤褐色の病斑を生じ，色調は次第に濃くなり，黒褐色に近くなる。それとともに病斑は，拡大し，主根の先端部まで腐朽する^{1),2),8),10)}。実験に供したインゲンの根腐病も，これと全く同じような経過をたどり，生育の初期から感染し，発芽後約30日目には，すでにほとんどの株が発病する。その後，病状は激しくなり，開花，結実期には発病度は4.5となり，褐変，壊死は，胚軸，根系全体に広がる。枯凋期には，インゲンの胚軸，根系全体は，完全に根腐れをおこし，表皮は崩壊し，側根は，枯死して離脱するものが多い。そのため開花，結実期以降，地上部が黄化するものもあり，激しい発病株は，枯死するものもある。これら根腐れ症状を呈した病斑組織，および根圏土壌中の *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数は，インゲンの生育，根腐病の病状の進行とともに増加し，枯凋期には，著しく増加する。

F. solani f. sp. *phaseoli* の厚膜胞子は，自然土壌中では発芽しないが，根圏で発芽し⁵⁾，寄主に侵入しない場合には厚膜胞子を再形成する⁶⁾。したがって根圏土壌中の *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数の増加は，このように根圏で腐生的に増加した厚膜胞子と病斑組織の腐朽した部位に形成されるスポロドキアに形成された大型分生胞子によると考えられる。とくに後者は，枯凋期の発病株に多くみられるところから，この時期における菌数の激増は，これによると考えられる。

F. solani f. sp. *phaseoli* のインゲンへの侵入は，地下部の気孔，傷口，クチクラより行なわれ，表皮細胞を貫穿した菌糸は，表皮および皮層の細胞間隙，細胞内に伸展し，そこに厚膜胞子を形成する^{2),3)}。畑で発病した根腐病の病斑組織内の厚膜胞子は，発芽後約30日目の生育の最も盛んな時期にはみられず，開花，結実期以降，皮層全体が褐変，壊死をおこした細胞間隙，細胞内に形成される。このことから，病斑組織を磨砕して定量した *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数は，生育の最も盛んな発芽後30日目には，病斑組織中の菌糸の断片であり，開花，結実期以降は，そこに形成された厚膜胞子が加わったものと考えられる。

摘 要

1. 畑に栽培したインゲンの生育最盛期(発芽後約30

30日目)、開花、結実期(発芽後約60日目)、枯凋期(発芽後約90日目)における根腐病の病状と病斑組織、および根圏土壤中の *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数について調べた。

2. インゲンの根腐病は、生育のきわめて早い時期から発生し、発芽後約30日目には、すでに94%のインゲンが発病していた。病状は、インゲンの生育とともに激化し、発病した地下部は、赤褐色から黒褐色、或いは暗褐色へと変わる。病状の激しいものでは、胚軸、主根の表皮が腐朽、崩壊し、また側根が離脱するものもあり、一部に地上部が黄化、枯死するものもある。

3. 病斑組織内の菌糸は、細胞間隙、細胞内を蔓延し発芽後60日目以降のインゲンの皮層部全体に拡がる。厚膜胞子は、褐変した皮層組織内に形成される。

4. 病斑組織、根圏土壤の *F. solani* f. sp. *phaseoli* の菌数は、インゲンの生育、根腐病の病状の進行とともに増加し、枯凋期には著しく増加した。枯凋期の腐朽した病斑組織上にスポロドキアが形成され *F. solani* f. sp. *phaseoli* の大型分生胞子が多量に認められた。枯凋期、根圏土壤での増加は、この時期の腐朽した病斑組織上に形成されたスポロドキアによる大型分生胞子が多いものと考えられる。病斑組織、根圏土壤中の *Fusarium* 属菌は *F. solani* f. sp. *phaseoli* のほかは主に *F. oxysporum* であった。

引用文献

- 1) 赤井 純 (1967): 北海道における豆類病害の昨今。植物防疫, 第21巻, 467-470.
- 2) CHATTERJEE, P. (1958): The Bean root rot complex in Idaho. *Phytopathology*, **48**: 197-200.
- 3) CHRISTOU, T. and W. C. SNYDER. (1962): Penetration and Host-parasite relationships of *Fusarium solani* f. *phaseoli* in the Bean Plant. *Phytopathology*, **52**: 219-226.
- 4) 駒田 且 (1964): 土壤病害の手引 (II), P 1-7, 日本植物防疫協会.
- 5) JAKSON, R. E. (1957): Fungistasis as factor in

the rhizosphere phenomenon. *Nature*, **180**: 96-97.

- 6) SCHROTH, M. N. and F. F. HENDRIX JR (1962): Influence of non-susceptible plants on the survival of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Phytopathology*, **52**: 906-909.
- 7) STOVER, R. H. and B. H. WAITE (1953): An improved method of isolating *Fusarium* spp. from plant tissue. *Phytopathology*, **43**: 700-701.
- 8) 田中一郎・北沢健治 (1957): 菜豆根腐病について (予報). 日植病報, **22**: 57 (講要).
- 9) ———— (1958): 菜豆根腐病について (第2報). 日植病報, **23**: 57 (講要).
- 10) ZAURNEYER, W. J. and H. REX. THOMAS A monographic study of Bean diseases and methods for control U.S.D.A., Technical Bulletin No. 1868, p. 20-25.

Résumé

The development of bean root rot of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the number of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* in the rhizosphere and rotted tissues were studied in the plot of experimental farm where the severe occurrence of root rot had observed. 30 days after germination of bean plants, 94% of them was already infected, and the reddish discoloured lesions spread all over the underground tissues. In the tissues the hyphae of pathogen were spread intercellularly and intracellularly. The rotted tissues increased and the colour turned into dark brown until the fructification of bean plants, and then chlamydo spores of the pathogen were produced in rotted cortical cells. Sporodochia appeared on the stems of bean plants near to harvest time. The number of *Fusaria* in the rhizosphere and rotted tissues of bean plants increased gradually with their age, especially in their maturity. Those *Fusaria* were mainly *F. solani* f. sp. *phaseoli* and *F. oxysporum*. Remarkable increase in the number of pathogens in the maturity, probably due to the newly formed macroconidia in sporodochia.

図 版 説 明

A. 発病程度

0: 病斑指数, 0

1: 病斑指数, 1

2: 病斑指数, 2

3: 病斑指数, 3

4: 病斑指数, 4

5: 病斑指数, 5

B. インゲン根腐病の病徴, 発芽後約 30 日目

C. インゲン根腐病の病徴, 発芽後約 60 日目

D. E 病斑組織中の *Fusarium* 属菌厚膜胞子 (発芽後約 90 日目)

