テンサイ根腐病菌 (*Rhizoctonia solani* AG 2-2) によるテンサイ子苗立枯病の衰退*

百町満朗**・宇井格生**

Mitsuro HYAKUMACHI** and Tadao UI**: Decline of Damping-off
of Sugarbeet Seedlings caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-2*

Abstract

Disease incidence in damping-off of sugarbeet seedlings induced by *Rhizoctonia solani* AG 2-2 declined rapidly after two successive triweekly plantings. However, there was not a great decrease in saprophytic activity by the flax baits until five to seven successive plantings. In a certain combination of soil and isolate, i. e., in Kiyokawa soil inoculated with sclerotia of isolate Rh-65, abnormally slow growth isolates in the early stage (less than half of the hyphal growth of healthy isolates during 5 days on potato dextrose agar) appeared after three to five successive plantings and then gradually accounted for almost the whole number of isolates.

When sclerotia were inoculated into the soil repeatedly with sugarbeet replants, disease incidence in the second successive crop of sugarbeet was extremely low (20%) compared with that of the first crop (60%), and disease incidence of the third crop was almost negligible. Such disease suppressiveness could have been induced only by adding living sclerotia to the soil independently of the presence of the host plant, but not induced by dead sclerotia or by successive replantings.

There was a greater increase in the number of soil microorganisms in the soil of 11th, but not 2nd successive crop of sugarbeet, than in the soil of non-inoculated and non-planted soil (control). The disease decline was not closely related with the total number of soil microorganisms.

(Received March 1, 1982)

Key Words: decline, damping-off, *Rhizoctonia solani* AG 2-2, sugarbeet, successive plantings.

緒 言

作物を連作するとき、はじめ激しく発病した土壌伝染病が、のち著しく減少する例が知られ、発病衰退現象 (disease decline phenomena)^{5,13,14,15,19)}と呼ばれている。また、発病の衰退した土壌は発病抑止土壌の一種と考えられ¹⁾、衰退要因についても研究が行われている⁹⁾。

Rhizoctonia solani による作物病害の衰退は、テンサイ根腐病について連作は場^{10,17)}で、ハツカダイコン

の苗立枯病について室内試験^{3,6,7,12,18)}で明らかにされている。後者については衰退の原因として、*Trichoderma harzianum* が関係することが示唆されている^{3,7,12)}。

本研究は、連作畑における *R. solani* 菌糸融合群第2群2型によるテンサイ根腐病の衰退と同様に、温室内で病土に繰り返し栽培したテンサイの苗立枯病の衰退とその要因を検討したものである。

本研究を行うにあたり、菌株および土壌を提供していただいた日本甜菜製糖 K.K. 神沢克一氏に感謝の意

* 本研究の一部は、昭和54年度文部省科学研究費補助金によった (課題番号 476032)。本報告の概要は、日本植物病理学会大会 (1980年4月) において発表した。

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

を表わす。

実験材料および方法

供試土壌 北海道帯広市清川町、日本甜菜製糖 K.K. 試験は場内牧草地の土壌（以下清川土壌と呼ぶ）を用いた。土性は火山性砂壤土、pH6.3である。また比較として北海道立北見農業試験場の試験は場の土壌（以下北見土壌と呼ぶ）を用いた。この土壌は火山性壤土、pH5.4である。いずれの土壌も2mmの篩を通して実験に供した。

供試菌株 清川試験は場のテンサイ根腐病罹病根より分離した *R. solani* Rh-65 菌株を用い、比較のため本別町の同罹病根より分離した H-17 菌株も用いた。いずれも菌糸融合群第2群2型に属す。

接種源 栄養を含む培地が付着していない菌核を用いるため二重ペトリ皿¹⁶⁾の外側素寒天(WA)上に形成した菌核を集め接種源とした。外側のペトリ皿には2% WA を、内側のペトリ皿にはツァベック・イースト・グルコース寒天培地を入れ、その中央にジャガイモ・グルコース寒天培地(PDA)平板の菌そう先端部分から切り取った径3mmの含菌寒天円盤を接種し、25°C、3週間培養した。

病土でのテンサイの繰り返し栽培 殺菌しない清川あるいは北見土壌300g(土壌水分;最大容水量の約45%)を腰高ペトリ皿(径9cm×深さ9cm)につめ、これに生重6.5mg、58mgおよび115mgの *R. solani* Rh-65 菌株あるいはH-17 菌株の菌核を加え、充分混合し病土を作った。菌核重量6.5mgおよび58mgは、それぞれ発病指数3と5を示したテンサイ株周辺土壌中の菌核重量にほぼ相当する¹⁰⁾。病土にテンサイ(品種モノヒル)を10粒ずつ播種し温室で栽培、苗の立枯れを観察した。3週間後にテンサイ苗を抜き取り、直ちにテンサイを播種し、これを11回繰り返した。各接種区は少くとも5反復設けた。

さらに、上の実験と並行して、播種を繰り返すたびに菌核あるいは対照としてプロピレンオキシドで殺菌した菌核(死菌核)を土壌に接種し、発病の推移を調査した。それらの対照として3週間ごとにテンサイのみを繰り返し栽培した区、土壌に菌核あるいは死菌核のみ繰り返し接種した区を設けた。何れも所定回数繰り返した後、新たに接種あるいは播種してテンサイ苗の発病を調べた。これらの実験は清川土壌とRh-65菌株を用い、その58mg菌核を接種した。実験は3反復した。

***R. solani* の活性** テンサイを繰り返し栽培する

ごとに、土壌中における *R. solani* の活性をアマ茎による捕捉率で比較した。すなわち、長さ約2cmのアマ茎を、予めプロピレンオキシドで殺菌し、テンサイを抜き取る2日前にテンサイ苗の胚軸に沿い土壌に差し込み、発芽しなかったところでは播種した箇所に差し込み、2日後に取り出した。これを殺菌水で洗い、WA平板上に並べ、本菌が出現するアマ茎の割合を、*R. solani* の捕捉率とし、その大小により土壌中の本菌の腐生活性を比較した。

再分離菌株中の生育異常株 アマ茎よりWA上に伸びた菌糸の先端を培地約4mm²とともに切り取り、PDAを入れた生長管(横断面1.5cmの正方形、長さ20cm)の一端に移植し菌糸の生長を観察した。それらのうち、菌糸の生長開始が著しく遅く、菌そう先端部が粗で、移植5日後の菌糸の伸長した距離が、接種に用いた母菌株の50%以下のものを初期生育異常株とし、分離菌株のうちに占める割合をその出現率とした。分離菌株と母菌株が同一か否かは培養性質および菌糸融合反応で比較した。

発病調査 播種後2週間目のテンサイ苗の立枯率を次式により求めた。

立枯率(%)

$$= \frac{\text{無接種区のテンサイ苗の出現本数} - \text{接種区のテンサイ苗の出現本数}}{\text{無接種区のテンサイ苗の出現本数}} \times 100$$

土壌微生物の定量 実験に用いた清川土壌の原土300gにRh-65菌株の菌核58mgを接種し、テンサイを2回および11回繰り返し栽培した後の土壌について土壌稀釈平板法により糸状菌、放線菌、細菌の定量を行った。用いた培地は、糸状菌にはローズベンガル加用リチャード培地、放線菌にはWA、細菌にはアルブミン培地である。

実験結果

病土に繰り返し栽培したテンサイの立枯病の衰退

Rh-65菌株の菌核を接種した清川土壌に、3週間ごとに繰り返し播種、栽培したテンサイの立枯率は、播種第1回目には接種菌量の多い程高かったが、2回目からは接種量と関係なく、いずれの区も立枯率は著しく低下し、19.0%以下となり、播種8、9回目にはほとんど0%となった(Fig. 1)。この傾向はH-17菌株の菌核を接種した清川土壌の場合でも、また、Rh-65菌株の菌核を接種した北見土壌の場合にも認められたが、後者の立枯率は播種第1回目から低く、2回目はさらに低下し、それ以後ほとんど発病は認められな

Fig. 1-(A, B, C) Decline of sugarbeet damping-off during successive replants. Soil was initially inoculated with 6.5mg (△), 58mg (●) and 115mg (○) sclerotia of *R. solani*/300g soil. A) and B) Kiyokawa soil inoculated with sclerotia of isolate Rh-65 and H-17, respectively, C) Kitami soil inoculated with sclerotia of isolate Rh-65.

Table 1. Damping-off of sugarbeet seedlings induced by initially and successively inoculated *Rhizoctonia solani* during successive replantings

Treatments every 3 wks				Damping-off of sugarbeet (%) ^{a)}			
1 st	2 nd	3 rd	4 th	1 st	2 nd	3 rd	4 th
B-S	B	B	B	65.0	12.0	7.7	7.4
B-S	B-S	B-S	B-S	63.0	21.4	9.1	4.0

B=sugarbeet planted. S=sclerotia inoculated.

a) Damping-off was expressed as the means of 3 replicates 2 weeks after sowing.

った。

すなわち、供試した土壌、菌株の種類、および接種菌量により、最初の発病程度は異なるが、テンサイを繰り返して栽培するとき、いずれも第2回目から発病は著しく低下し、立枯病の衰退することが認められた。

繰り返して接種した土壌でのテンサイ立枯病

病土にテンサイを繰り返して栽培したときに、発病の衰退する原因を明らかにするため、前項の実験と同様に病土にテンサイを繰り返して栽培し、播種ごとに菌核をさらに接種した。菌核の接種量は毎回 58mg である。その結果、播種2回目以後新たに菌核を接種しても発病は増加せず、上と同様著しく低かった (Table 1)。このことから、発病が衰退した土壌では発病抑制作用のあることが示唆される。

土壌の発病抑制作用の発現と寄主、病原菌の関係

発病の衰退した土壌中に存在すると考えられる発病抑制作用が、寄主、病原菌の何れの存在により生じた

かを明らかにするため、(i) 接種をしない土壌にテンサイを繰り返して栽培し、(ii) テンサイを栽培せずに菌核のみを繰り返して土壌に加え、また、(iii) この対照として死菌核を同様土壌に繰り返して加えた。所定期間後、すべてにテンサイを栽培しその発病を調べた。

菌核のみを2回以上繰り返して加えた土壌で発病は著しく低く、発病の抑制されることを認めた。これに対しテンサイのみを繰り返して栽培した土壌も、また、死菌核を繰り返して加えた土壌も、その後の菌核接種により苗は激しく発病し、発病の抑制は認められなかった (Table 2)。

これらの結果から、病土にテンサイを繰り返して栽培したときに見られる発病の抑制は、寄主の存在とは関係なく、病原菌菌核のみの存在でも生ずることが知られた。

土壌中における *R. solani* の活性と初期生育異常菌株

病土にテンサイを繰り返して栽培する間におこる接

Table 2. Decline of damping-off of sugarbeet seedlings induced by successive plantings and reinoculation of *R. solani*

Treatments every 3 wks				Damping-off of sugarbeet (%) ^{a)}			
1 st	2 nd	3 rd	4 th	1 st	2 nd	3 rd	4 th
B	B	B	B-S	0	0	0	62.1
S	B-S	B-S	B-S	—	27.3	10.7	0.0
S	S	B-S	B-S	—	—	17.4	7.4
S	S	S	B-S	—	—	—	18.6
B-dS	B-S	B-S	B-S	0	68.4	20.0	8.7
B-dS	B-dS	B-S	B-S	0	0	60.0	21.7
dS	B-S	B-S	B-S	—	61.7	20.0	9.6
dS	dS	B-S	B-S	—	—	65.3	9.3

B=sugarbeet planted. S=sclerotia inoculated. dS=dead sclerotia inoculated.

a) Damping-off was expressed as the means of 3 replicates 2 weeks after sowing.

Fig. 2—(A, B, C) Isolation of *R. solani* (—) and slow growth isolates of the fungus (----) from the flax stem baits incubated in the soil during successive replants. Soil was initially inoculated with 6.5mg (Δ), 58mg ($\bullet$) and 115mg ($\circ$) sclerotia/300g soil. A) and B) Kiyokawa soil inoculated with sclerotia of isolate Rh-65 and H-17, respectively, C) Kitami soil inoculated with sclerotia of isolate Rh-65.

種菌の活性の変化をアマ茎捕捉率で調査し、初期生育異常株の出現率、および捕捉した菌株と接種した母菌株の異同を調べた (Fig. 2)。

Rh-65 菌株を清川土壌に接種した場合、接種量の多い区では播種 4 回目まで捕捉率は著しく高く、ほとんど 100% であったが、5 回目以降次第に減少し、10 回目には全く捕捉されなかった。これに対し接種量の最も低い区では、播種第 1 回より捕捉率は低く約 50% で、以後減少し、6 回目には全く捕捉されなかった。これと同様、繰り返し栽培に伴う捕捉率の低下は、H-17 菌株の菌核を接種した清川土壌、Rh-65 菌株の菌核を接種した北見土壌でも、ほぼ同様の傾向であった。これら捕捉率から見て、*R. solani* の活性が低下

する前に発病は抑制されていると認められる。

アマ茎に捕捉された *R. solani* のうち、初期生育の遅い異常株は、Rh-65 菌株を清川土壌に接種したとき、接種量の多い 2 区で播種 3～5 回目より出現し、以後播種回数が増加するに伴い分離株の大半を占めるに至った。これに対し、接種量の最も少ない区の土壌、および H-17 菌株を接種した清川土壌、Rh-65 菌株を接種した北見土壌からは異常株は出現しなかった。

異常株以外の *R. solani* の再分離株は、培養性質から接種に用いた母菌株と同一であると認められた。

分離された異常株は菌株により菌糸の生長速度が著しく異なり、中には移植後 20 日経ても数 mm しか伸びず、その後生育を停止した株もあった。しかし、大

Fig. 3. Number of microorganisms in Kiyokawa soil initially inoculated with 58 mg sclerotia (Rh-65)/300g soil following sugarbeet replants.

半は生育を続ける間に徐々に生長速度が増加して、母菌株と同程度になった。また、生長速度が回復しても、菌そうの形状が母菌株と異なり、気中菌糸が多く菌核形成能力を喪失した株もあった。

土壌中の微生物数

病土にテンサイを繰り返し栽培した期間における土壌中の微生物数を定量したところ (Fig. 3), 接種後テンサイを11回繰り返し栽培した後の土壌では、無接種の原土と比較し、糸状菌、放線菌、細菌はそれぞれ、1.72, 6.52, 5.1倍であり、微生物数、特に放線菌と細菌の著しい増加が認められた。しかし、発病が著しく低下した栽培2回目の土壌では、それぞれ1.2, 0.8, 1.7倍に過ぎず、極端な微生物数の増加は認められなかった。また、播種2回目、および11回目の土壌から出現する糸状菌の菌そうのうち、*Trichoderma* 属菌の占める割合は数%と低く、繰り返し栽培に伴う *Trichoderma* 属菌の顕著な増加は見られなかった。

考 察

連作によるテンサイ根腐病の衰退現象は、北海道で畑¹⁷⁾および人為的に接種した圃場¹⁰⁾で認められている。本研究の結果、*R. solani* 菌糸融合群第2群2型のは場分離株を接種した病土に、温室内でテンサイを繰り返し栽培すると、苗の発病は播種2回目以降著しく低下した。一方、*R. solani* 菌糸融合群第4群を用

いた同様の実験では、テンサイの発病衰退は認められなかったが、後に、これは供試土壌の pH が高かったためであり、pH の低い土壌では緩慢ではあるが発病が衰退するとされた³⁾。今回の実験で、発病が衰退するのは接種5週間後で、病原菌の捕捉率が低下せず、本菌の土壌中における活性がほとんど低下しない前であった。この時期は Henis⁷⁾ がハツカダイコンを1週間ごとに繰り返し栽培するとき、5回目に発病低下が起こるとしているのと、ほぼ同じである。

病土に栽培したテンサイが一度発病した後に、土壌に新たに菌核を接種しても発病は極めて軽微で、また、菌核のみを繰り返し接種した土壌でも発病は少なかった。一方、対照としたテンサイのみを繰り返し栽培した、あるいは死菌核を繰り返し加えた土壌では、接種により激しい発病が認められた。このことは、土壌に発病抑制作用が現われるのは、生きた菌体が土壌に加わったときのみであることが明らかで、寄主の存在が必要としたハツカダイコン立枯病に関する Henis⁶⁾ の結果とは異なり、コムギ立枯病に関する Gerlagh⁵⁾, Zogg・Amiet¹⁹⁾ の結果、およびダイコン立枯病に関する本間⁸⁾ の結果と同じであった。

病土にテンサイを繰り返し栽培するに伴い、土壌中の微生物数は増加するが、播種2回目におけるその数は発病はすでに低下しているにもかかわらず、原土と比較し著しい差はなかった。これは栽培を繰り返すと

き、増大する全微生物数と土壌の発病抑制作用の間に関連がないことを示すものである。Henis ら⁷⁾は繰り返し栽培により全糸状菌数に匹敵するくらい増加した土壌中の *Trichoderma harzianum* が発病抑制の主要因であるとしているが、テンサイ立枯病の発生が低下した播種2回目、および発病が完全に衰退した播種11回目の土壌中に、*Trichoderma* 属菌は顕著に増殖したとは認められなかった。この相違は、用いた土壌、菌群、および接種源調整法の違いによると考えられる。とくに本実験は菌核のみを接種したのに対し、Henis らの接種源は多量のジャガイモ組織を含む菌体であることが、*Trichoderma* 属菌の著しい増殖をもたらしたと考えられる。

Rh-65 菌株の菌核を多量に加えた清川土壌にテンサイを栽培するとき、播種3回目から初期生育の極めて遅い株が現れた。この株はその後分離される菌株の大半を占めたものの、播種6回目以降の分離株数の減少に伴い出現する株数は急激に低下した。出現した生育異常株は、アメリカ合衆国で報告されている diseased isolates²⁾ と形態・性質などに類似点が多いが、これまでの実験で生育の異常性は菌糸融合により別の菌株に転移することがないなどの点で同一とはいえない。なお、異常株の病原性は、健全な母菌株と比べ著しく低かった¹¹⁾。異常株は初期生育が極めて遅いことから Garrett のいう inoculum potential⁴⁾ を左右する性質のうち、生育が遅く基質に到着が遅れる点で、病気の低下と関係する可能性も考えられる。

しかし、H-17 菌株を接種した清川土壌、および Rh-65 菌株を接種した北見土壌で発病の衰退が認められたにもかかわらず、生育異常株は分離されなかった。この原因は、生育異常株が存在しなかったため、

あるいは単に分離されなかったための何れかは明らかでない。このような株は連作は場の土壌からも得られている¹²⁾が、その発現のみで衰退の要因を説明することは困難であろう。

摘 要

1. *Rhizoctonia solani* 菌糸融合群第2群2型の菌核を接種した土壌に、3週間ごとにテンサイを繰り返し播種、栽培すると、2回目ですでに苗の発病は著しく減少し、その後ほとんど発病が認められなくなった。この減少は土壌中の腐生活性の低下を伴わなかった。

2. 同様の苗立枯病の衰退は、菌株、接種菌量、および土壌の種類を異にした場合にも認められた。

3. 菌株と土壌の組合せによっては、播種3回目以降、土壌から初期生育の極めて遅い株が分離され、播種回数の増加に伴い、分離菌株の大半を占めた。

4. 病土にテンサイを繰り返し栽培するたびに菌核を接種しても、立枯率は増加することなく、2回目に著しく低下し、3回目以降は発病はほとんど認められなかった。また、テンサイを栽培せず、菌核のみを繰り返し接種した土壌に播種したテンサイは、ほとんど発病しなかった。

5. 死菌核の接種、あるいはサンサイ栽培を繰り返しした土壌に菌核を接種したとき、テンサイ苗は著しく発病した。すなわち、病土に繰り返しテンサイを栽培したとき、土壌に見られる発病抑制作用は、寄主の存在、あるいはその発病とは関係なく、生きた菌体の存在するとき発現した。

6. 発病の衰退と土壌中の全微生物数との関連は明らかでなかった。

引 用 文 献

1. Baker, K. F. and Cook, R. J. (1974). Biological Control of Plant Pathogens. W. H. Freeman and Co., San Francisco. pp. 433.
2. Castanho, B. and Butler, E. E. (1978). Phytopathology 68: 1505-1510.
3. Chet, I. and Baker, R. (1980). *Ibid.* 70: 994-998.
4. Garrett, S. D. (1965). In Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens (Baker, K. F. and Snyder, W. C. eds.) Univ. Calif. Press, Berkeley, Los Angeles and London. pp. 4-17.
5. Gerlagh, M. (1968). Neth. J. Plant Pathol. 74 (Suppl. 2): 1-97.
6. Henis, Y., Gaffar, A. and Baker, R. (1978). Phytopathology 68: 900-907.
7. Henis, Y., Gaffar, A. and Baker, R. (1979). *Ibid.* 69: 1164-1169.
8. 本間善久・山下洋子・久保千冬・石井正義 (1981). 日植病報 47: 388 (講要).
9. Hornby, D. (1979). In Soil-Borne Plant Pathogens (Schippers, B. and Gams, W. eds.). Academic Press, London. pp. 133-156.
10. 百町満朗・生越 明・神沢克一・宇井格生 (1979). 日植病報 45: 524 (講要).

11. 百町満朗・宇井格生 (1980). 同上 46 : 392 (講要).
12. Liu, S. and Baker, R. (1980). *Phytopathology* 70 : 404-412.
13. Menzies, J. D. (1959). *Ibid.* 49 : 648-652.
14. Shipton, P. J. (1975). *In* Biology and Control of Soil-Borne Plant Pathogens (Bruehl, G. W. *ed.*). Am. Phytopath. Soc., St. Paul, Minnesota. pp. 137-144.
15. Shipton, P. J. (1977). *Ann. Rev. Phytopathol.* 15 : 387-407.
16. 宇井格生 (1966). 日植病報 32 : 203-209.
17. 宇井格生・小林喜六・内記 隆・百町満朗 (1977). てん菜研究会報 19 : 37-47.
18. Wijetunga, C. and Baker, R. (1979). *Phytopathology* 69 : 1287-1293.
19. Zogg, H. and Amiet, J. A. (1980). *Phytopath. Z.* 97 : 193-213.