

Diseases of Cabbage Plug Seedlings in Japan and Control of the Diseases

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 窪田, 昌春 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001670

キャベツのセル成型育苗において発生する病害と その防除に関する研究[†]

窪田 昌春

(平成 21 年 9 月 9 日受理)

Diseases of Cabbage Plug Seedlings in Japan and Control of the Diseases

Masaharu Kubota

目 次

I 緒 言	57	IV キャベツのセル成型育苗における病害の 発生生態と防除対策	92
II セル成型育苗を導入したキャベツの集中育苗に おいて発生した新病害	59	1 キャベツセル成型苗の育苗条件が黒すす病の 発生に及ぼす影響	
1 <i>Pythium megalacanthum</i> による苗立枯病		2 底面給水による黒すす病の防除	
2 <i>Pythium zingiberis</i> による苗立枯病		3 黒すす病の防除効果がある殺菌剤の検討	
3 <i>Pythium ultimum</i> var. <i>ultimum</i> によるピ シウム腐敗病		4 ポリオキシン複合体のキャベツセル成型苗の 黒すす病に対する適用拡大のための効果判定試 験	
4 <i>Fusarium</i> 属菌による先枯病		5 ヒドロキシイソキサゾールによるピシウム腐 敗病の防除	
5 <i>Choanephora cucurbitarum</i> によるこうがい かび病		V 総合考察	105
III 三重県内の育苗施設におけるキャベツセル成型 苗の病害の発生実態と市販種子の病原菌による汚 染実態	74	摘 要	107
1 1997 年 8~11 月に発生した病害		引用文献	108
2 1998 年 1~3 月に発生した病害		Summary	111
3 1998 年 8 月~1999 年 3 月に発生した病害			
4 2004 年 8 月~2005 年 3 月に発生した病害		I 緒 言	
5 新病原以外の病原菌の菌生育と発病の適温		1990 年代中頃から国内の野菜生産においてセル成型 育苗法が導入された。セル成型育苗では、イネの育苗箱 と同じ大きさに規格化されたプラスチック製のセルトレ イを用い（日本施設園芸協会編，1999），ピートモスと パーミキュライトを主成分として軽量化された専用の培 養土を用いる（小林，1995；塚田，1990）。規格化され	
6 国内で市販されたキャベツ種子の糸状菌によ る汚染状況			

〒514-2392 三重県津市安濃町草生 360
企画管理部 業務推進室 企画チーム

[†] 本論文は京都大学博士（農学）学位論文を加筆，修正したものである。本論文の一部は日植病報 64: 323-327, J. Gen. Plant Pathol. 72: 123-125, 197-204, 関西病虫研報 40: 55-63, 41: 17-22, 41: 89-90, 42: 51-52, 43: 9-10, 44: 1-5, 47: 57-59, 48: 41-43, 48: 49-50, 野菜茶試研報 15: 1-10, 野菜茶研研報 2: 1-8 において発表した。

た資材を用いることで集中育苗が容易となること、一定量の苗を簡便に持ち運びできること、機械定植に対応できることなどから（藤原，2004；藤原ら，1998；1999；福地ら，1996；西本ら，1996；菅沼ら，1993；弓野ら，1996），農業生産における省力化に著しく貢献し，年々本法の利用が増加している。また，近年の環境問題に対する関心の高まりから，農薬の使用を最小限に抑えた栽培，即ち効率的な病虫害の防除体系が求められている。このような観点から以前にも増して圃場衛生や健全育苗の重要性が謳われてきている。この点からも，育苗を本圃と隔離して行うセル成型育苗法に対する期待は大きい。

このような背景の下，キャベツではセル成型育苗の導入がよく進んでいる。理由としては，苗が乾燥に比較的強く（藤原ら，1998；藤原，2004），葉節間が長いこと密植が可能であり，機械定植しやすいこと（藤原，2004；藤原ら，1998；1999；福地ら，1996；西本ら，1996；菅沼ら，1993；弓野ら，1996），苗単価を下げられること，また，そのため農家の苗購入意欲が高いことなどが挙げられる（松本ら，1996；高橋，2000）。

通常，キャベツのセル成型育苗では30×60 cmに128セルあるトレイを用いた密植栽培が行われている。しかしながら，この密植栽培は植物保護面において重大な問題をはらんでいる。密植は苗の病害抵抗性を低下させ，病害発生の誘因となって，病気の多発を引き起こす。発生した病気は密植された苗間を急速に伝播し，育苗施設内に蔓延する。そして，広い地域に苗を供給する集中育苗施設における病害の蔓延は，地域全体への苗の供給，それに続く作物自体の生産量にも大きな影響を及ぼす。また，感染苗による本圃への病原菌持ち込みも，圃場衛生面において由々しき問題となり得る。さらに，育苗時における病害は植物保護上だけでなく，病害による欠株や不良苗混入は補植や植え替えの労を生産者に強いるため（藤原ら，2001 b），省力化の大きな妨げにもなる。したがって，セル成型育苗による集中育苗生産では，より厳重な育苗施設・環境の衛生管理や病害防除の徹底が要求される。

しかし，セル成型育苗法は導入されてから余り時間が経過していないため，どのような野菜で，どのような病害が発生して問題を引き起こしているのか，ほとんど知見が得られていない。例えば，国内のキャベツ生産において，従来の地床育苗や育苗箱を用いる方法では，黒腐病，*Rhizoctonia solani* Kühnによる苗立枯病，べと病が発生することが知られている（岸編，1998）。しかし，セル成型育苗での文献情報はない。また，イネの箱育苗

法が開発された際，従来知られていなかった新病害が多数認められるようになったことから（大畑，1989），従来法と栽培環境が大きく異なるセル成型育苗では，発生する病害の種類は著しく異なるものと予想される。したがって，病害を未然に防ぎ，産地における安定的な生産を確保するためには，実際のキャベツのセル成型育苗現場でどのような病害が発生しているのかを調査し，発病条件や病原体の侵入経路などを明らかにする必要がある。

また，セル成型育苗で新たに見つかった新病害を防除するためには，薬剤による防除も必要不可欠である。しかし，平成15年3月の農薬取締法の改正で，無登録農薬の使用禁止，農薬の摘要基準の遵守義務が謳われ，違反者に対する罰則も設けられるなど，農薬の適正使用の厳密化が求められた。したがって，新病害の薬剤防除のためには，まず農薬登録が絶対不可欠であり，適用病害の登録には，病原体の分離同定，病原性の証明ならびに日本植物病理学会における病名登録が最小限必要である。

一方，三重県では，水田を利用した土地利用型野菜の栽培に取り組んでおり，三重県から距離的にも近い関西に大消費地を有するキャベツを主要作物に選定し，その産地形成を目指していた。また，野菜・茶業試験場と農業研究センターが共同して，1994年から進めた地域総合研究「水田における省力高付加価値露地野菜生産システムの確立」では，セル成型苗の利用を核としたキャベツ栽培の機械化栽培一環体系の農家への定着を一つのテーマとしており，兼業化が進み，水稲の単作地帯となっていた当地に，省力的な野菜生産技術としてキャベツの機械化栽培を導入して，水田を有効利用することによって地域の活性化を図る試みが行われた。その中において，キャベツ育苗の省力化も一つの課題であり，これを解決するために，1996年に民間の大型育苗施設を開設した。

本研究では，キャベツのセル成型育苗時に発生する病害について，上述の育苗施設と野菜茶業研究所内で定期的な詳細調査を行い，第II章ではそこで発見された新病害の原因を同定し，第III章で育苗施設におけるいろいろな病害の発生消長を明らかにするとともに，セル成型育苗時の病害に大きな影響を与える種子伝染性病原菌による種子の汚染状況を調査した。また，第IV章では，育苗施設において被害が大きかった病害に対する防除方法の検討を行った。そして，これらの成果をキャベツのセル成型苗の育苗現場における病害防除に資することを，本研究の目的とした。

本研究にご協力いただいたJA 三重中央育苗施設の皆様，三重大学助教 清水将文博士，三井化学株式会社

岡本吉弘博士，本稿のとりまとめに当たりご指導いただいた京都大学教授 奥野哲郎博士，准教授 田中千尋博士，助教 海道真典博士に厚く御礼申し上げます。

II セル成型育苗を導入したキャベツの集中育苗において発生した新病害

1 *Pythium megalacanthum* による苗立枯病

1996年4月，三重県津市の野菜茶業研究所内のガラ

ス室，および1997年2月，三重県内の民間野菜育苗施設において，キャベツのセル成型苗が立ち枯れる被害が発生した。被害株の地際部はややくびれて白色に乾腐していた (Fig. 1-1)。本研究所と育苗施設の被害株の罹病部位を顕微鏡観察したところ，同様の糸状菌の菌糸と *Pythium* 属菌の卵胞子様の器官が組織内に観察された (Fig. 1-2, 3)。これまで，*Pythium* 属菌によるキャベツの病害は，*Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick と，有性生殖器官を形成しない *Pythium*

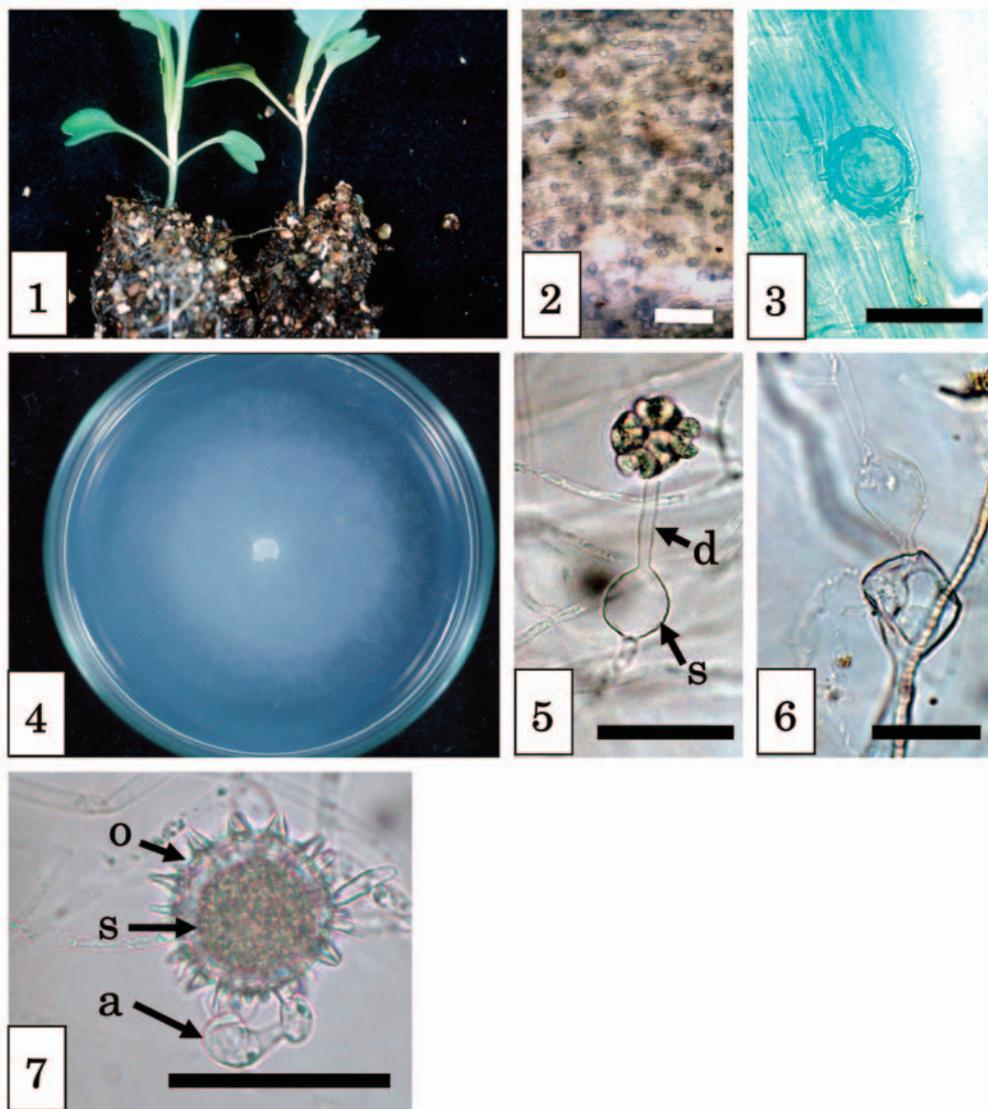


Fig. 1 Disease symptoms on cabbage plug seedlings caused by *Pythium megalacanthum* and morphology of the fungus.

1. Diseased (right) and healthy (left) seedlings found in a nursery.
2. Oospores in cabbage stem tissue (scale: 300 μ m).
3. An oospore in cabbage stem tissue (scale: 50 μ m).
4. A colony of the fungus after incubation on PSA at 25°C for 3 days.
5. Sporangium (s) with discharged tube (d) (scale: 50 μ m).
6. Sporangium, internally proliferating (scale: 25 μ m).
7. Oogonium (o), antheridial cells (a) and oospore (s) (scale: 50 μ m).

sp. によるピシウム腐敗病のみが報告されている (森ら, 1996) が, これらの菌種と形態的特徴が異なるため, 他菌種による苗立枯病と考え, 菌の分離・同定ならびに発病条件の検討を行った.

a 材料と方法

1) 菌の分離

本研究所で発生した被害株の罹病組織片を1%次亜塩素酸ナトリウム溶液に数分間浸漬し, 滅菌蒸留水で洗浄した後に1.5%寒天(WA)上に置いた. 発生した糸状菌の単菌糸をジャガイモ煎汁寒天培地(PSA:20%ジャガイモ煎汁, 2%ショ糖, 1.5%寒天)に植え継ぎ, 得られた単菌糸分離菌株のうちの1菌株(CPy)をPSAまたはWAで24°C, 継代培養して試験に供試した.

2) 分離菌の形態と生育温度

CPyを4日間培養したPSA片を, 蒸留水中で高圧蒸気滅菌したキャベツ苗の胚軸に1~2日間付着させて菌糸を発生させた後, ペトリ液[0.015% KH_2PO_4 , 0.015% MgSO_4 , 0.006% KCl , 0.04% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$]に浸漬した. 菌糸が発生した胚軸をペトリ液中で15°Cまたは25°C, 1~5日間培養し, 光学顕微鏡で観察した. また, PSA上に直径5mmのCPy培養片を置き, 10, 15, 20, 25, 30または35°Cで24時間培養し, 菌糸伸長速度を計測した.

3) 分離菌の病原性

子葉~第3葉展開期のキャベツ苗の胚軸にCPyを培養した5mm角のPSA片を付着させ, 20°C, 12時間日長の湿室に保ち, 4日後に病徴を調査して病原性の有無

を確認した. 発病適温を調べるため, 子葉~第1葉展開期のキャベツ幼苗の胚軸の表面にナイフで切り傷を付けてCPy培養片を接種し, 10, 15, 20, 25, 30または35°C, 12時間日長の湿室に4日間保った後, 病徴を調査した. また, 子葉~第3葉展開期の生育段階が異なるキャベツ苗にCPyを同様に有傷接種して, 12時間日長, 昼25°C, 夜20°Cの湿室に4日間保った後, 病徴を調査した.

b 結果と考察

得られたCPyは, 無隔壁の菌糸を持ち, PSA上では気中菌糸の少ない白色の菌叢を形成した(Fig. 1-4). また, 高圧蒸気滅菌したキャベツ組織で, 直径約25 μm で球状の遊走子のう, そこから伸びる逸出管, さらにその先端に球のうを形成し, 遊走子を分化させた(Fig. 1-5). 遊走子のうはまれに貫生した(Fig. 1-6). これらの形態から, CPyは*Pythium*属菌に含まれることがわかった.

滅菌キャベツ上では有性生殖器官も形成され, 造卵器は球~楕円形で頂生, 直径28.9~50.3(平均39.9) μm で表面に多数の円錐型, 針状, 乳頭状などの突起を持つ(Table 1, Fig. 1-7). 突起の長さは3.7~15.0(平均9.2) μm , 基部における太さは3.2~10.7(平均6.1) μm であった. 造精器は袋状やレモン型で, 造卵器1個当たり0~6個形成され, 同菌糸または異菌糸性で側着した. 大きさは10.7~23.5 \times 9.6~15.0(平均13.9 \times 11.9) μm であった. 卵胞子はほぼ球形, 直径22.5~41.7(平均32.3) μm , 壁厚は0.9~5.2(平均1.6) μm , 造卵器1個に対し1個形成され非充満であった. 厚膜胞子は形成

Table 1 Morphology and characteristics of an isolate of *Pythium megalacanthum* from cabbage

Morphology and characteristics		Isolate	<i>P. megalacanthum</i> ^a
Sporangia	Shape	Globose, proliferating	Globose, proliferating
Oogonia	Position	Terminal	—
	Shape	Globose, oval	Globose
Oogonial projections	Diameter (μm)	28.9-50.3 (39.9) ^b	36-45
	Shape	Conical, pointed	Conical, pointed
	Length (μm)	3.7-15.0 (9.2) ^b	6-9
Antheridia	Basal diameter (μm)	3.2-10.7 (6.1) ^b	5-6
	No. per oogonium	0-6 (3.2) ^b	0-5
	Shape	Sac-like	—
Oospores	Length (μm)	10.7-23.5 (13.9) ^b	13.5-17.5
	Width (μm)	9.6-15.0 (11.9) ^b	11.0-13.5
	Shape	Globose	Globose
Aplerotic	Aplerotic	100%	Aplerotic
	Diameter (μm)	22.5-41.7 (32.3) ^b	27-31

^a Refer to van der Plaats-Niterink (1981).

^b Numbers in parentheses are averages.

されなかった。以上に示された有性生殖器官の形態から、van der Plaats-Niterink (1981) の検索表や記載と比較して、CPyは *Pythium megalacanthum* de Bary と同定された。三重県内の民間育苗施設から分離された菌株も同様の形態であり、同種であると考えられた。

CPyは、PSA上において10~30℃で生育したが、35℃ではほとんど生育しなかった (Fig. 2)。菌糸伸長速度は25℃で最大となり16.0 mm/日であった。10、30と35℃では菌叢が疎になり生育が劣った。

キャベツ幼苗の胚軸にナイフで切り傷を付け、CPy培養片を貼り付け接種して20℃の湿室に保ったところ、水浸状に胚軸が腐敗して苗が倒伏したことから、その病原性が確認された。ただし、無傷の胚軸に接種した場合、発病株率は低く、第2葉展開期以降の苗では病徴は認められなかった。10~35℃の各温度で子葉~第1葉展開期の幼苗に有傷接種した場合、いずれの温度条件でも褐色~水浸状の病斑が形成された。10℃では水浸状の腐敗のみが観察されて褐色病斑は認められなかったが、病徴が最も激しく、苗の倒伏率も最も高かった (Fig. 3)。35℃では倒伏した株は認められなかった。病斑の形成率は、15~35℃の各温度では約50%であった。本病原菌の生育適温は25℃であるにも関わらず、接種試験から発病適温が10℃以下の低温であることが示された。これは、本病が、育苗現場において秋から冬期に発見されていることと矛盾しない。

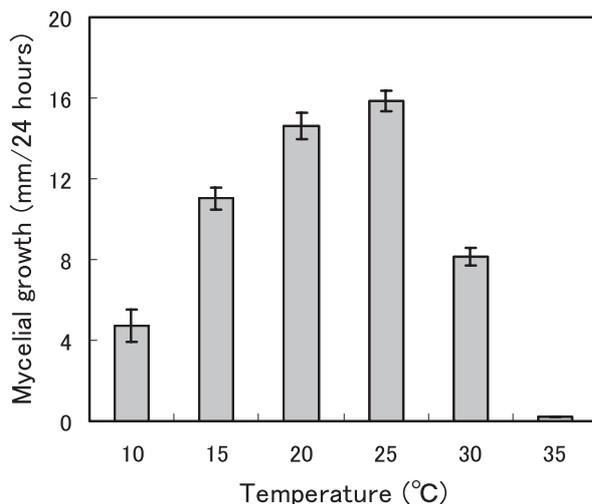


Fig. 2 Effect of temperature on mycelial growth of *Pythium megalacanthum* on PSA. Mycelial discs (5-mm diameter) of an isolate were incubated on PSA at 25°C for 2 days, and the colony diameters measured. Measurements were taken again after 24-hours incubation at each temperature. Experiments were repeated 6 times. Error bars indicate standard errors.

生育段階が異なるキャベツ苗にCPyを有傷接種して、12時間日長、20℃に置いた場合、水浸状病斑の形成率、苗の倒伏率とも、苗の生育が進むにつれて低下した (Fig. 4)。第3葉展開期の苗では接種部位に表面的な水

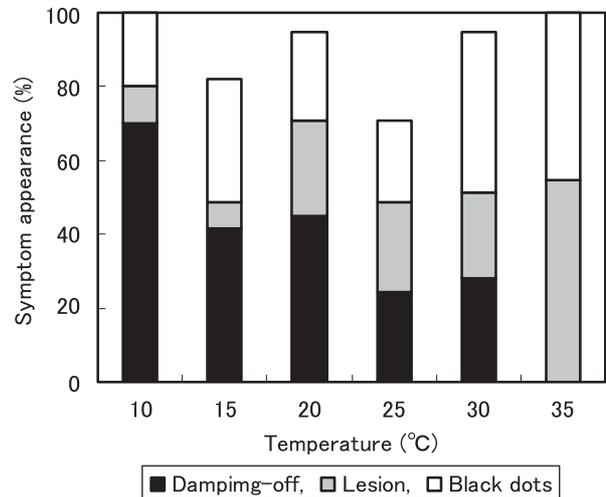


Fig. 3 Effect of temperature on symptom severity caused by *Pythium megalacanthum* on cabbage seedlings. Injured hypocotyls of one-week-old cabbage seedlings were inoculated with a mycelial disc of *P. megalacanthum*. The inoculated seedlings were kept moist and symptoms were observed 4 days after the inoculation. Experiments were repeated 6 times.

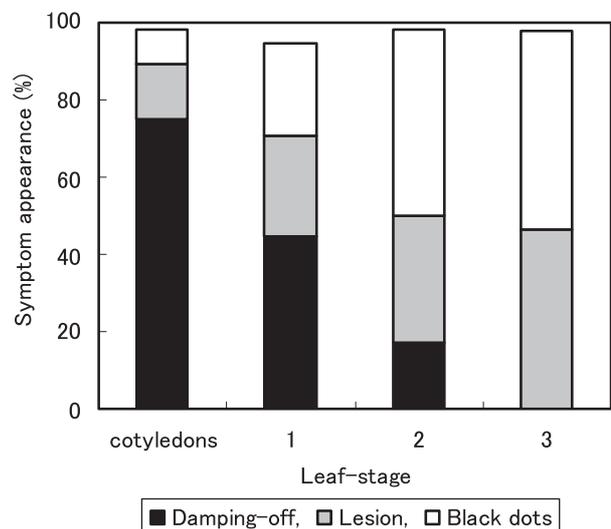


Fig. 4 Symptom severity caused by *Pythium megalacanthum* on cabbage seedlings of various leaf stages. Injured hypocotyls of seedlings at each leaf-stage were inoculated with a mycelial disc of *P. megalacanthum*. The inoculated seedlings were kept moist and incubated at 25°C during the day and 20°C at night. Symptoms were observed 4 days after the inoculation. Experiments were repeated 4 times.

浸状の病斑を形成したが、胚軸全体が侵されて倒伏する苗は認められず、生育の進んだ苗に対する発病力は弱いことが示された。

Pythium megalacanthum によるキャベツの罹病苗では、ピシウム腐敗病と同様に（森ら，1996），胚軸が水浸状に腐敗し、乾燥すると白色に乾腐するのが特徴である。ピシウム腐敗病は高温時に発生するが、*Pythium megalacanthum* による立ち枯れは低温期に発生する。本菌は生育の進んだキャベツ苗に対する病原性が弱く、本菌による病害は育苗期に限られると考えられ、生育が進んだ定植後の苗にも発生するピシウム腐敗病とは病態が異なる（森ら，1996）。よって、本菌をキャベツ苗立枯病の新病原として提案し、日本植物病名目録に承認、登録された（日本植物病理学会編，2000）。

2 *Pythium zingiberis* による苗立枯病

1998年8月に三重県津市の民間野菜育苗施設で育苗されていたキャベツのセル成型苗に、胚軸が腐敗して立ち枯れた株を発見した。立ち枯れた株の罹病部位を顕微鏡観察したところ、前出の *Pythium megalacanthum*、キャベツピシウム腐敗病菌である *Pythium aphanidermatum*（森ら，1996）とは形態が異なる *Pythium* 属菌が認められた。そこで、本病害について、病原菌の分離・同定ならびに発病条件の検討を行った。

a 材料と方法

1) 菌の分離と菌叢

罹病組織を WA に置き、生育した菌叢から単菌糸分離株を得て、PSA で継代培養した。分離菌の菌叢の性質を調べるため、本菌の直径 5 mm の培養片を PSA 上、10, 15, 20, 25, 30, 35 または 40°C で培養して菌糸の生育速度を測定した。コーンミール寒天培地（CMA : 2% トウモロコシ粗粉煎汁，1.5% 寒天）上でも 25°C の菌糸生育速度を測定した。

2) 分離菌の形態

分離菌の PSA 培養片を、蒸留水中で高圧蒸気滅菌した西洋シバ葉片（一谷，1992）に 24°C で 1 日接触させた後、PSA 片を取り除いて蒸留水に浸し、1, 5 および 7 日後に顕微鏡観察した。

3) 分離菌の病原性

分離菌の 5 mm 角の PSA 培養片を、子葉展開期のキャベツ幼苗の胚軸に付着させ、12 時間日長、20, 25, 30 または 35°C の温室に 4 日間保ち、病徴を調査した。子葉～第 3 葉展開期の異なる生育段階のキャベツ苗に分離菌

を同様に接種して 30°C に 4 日間保ち、病徴を調査した。

b 結果と考察

分離された単菌糸分離株は隔壁がない菌糸を持ち、PSA 上では chrysanthemum～rosette 型（van der Plaats-Niterink, 1981）、CMA 上では rosette 型の白色菌叢を形成した（Fig. 5-1）。PSA 上では、35°C で最も菌糸伸長が速く、10°C と 40°C で 12 時間当たりの菌糸伸長が 0.4 mm 未満となり、ほとんど生育しなかった（Fig. 6）。CMA 上、25°C で菌糸生育速度は 18.6 mm / 日であった。また、滅菌した西洋シバに分離菌を接種して蒸留水に 1 日浸漬すると、球状や西洋ナシ型の構造を伴わない膨状の遊走子のうを形成し（Fig. 5-2）、そこから逸出管が伸長、その先端に球のうを形成して遊走子を分化させた。球化した遊走子の直径は 11～13（平均 12） μm であった。以上、分離菌株は無隔壁菌糸を持ち、球のうを形成することから *Pythium* 属菌であることが示された。

分離菌株を接種した西洋シバを蒸留水に浸して 5 日後に有性生殖器官を観察したところ、造卵器は球状で頂生、ときに中間生であり、表面平滑、直径 24～37（平均 29） μm であった（Fig. 5-3）。造精器は、造卵器 1 個につき 2～10（平均 6）個形成され、頂生、袋状であり、屈曲して造卵器に側着した。造精器柄は造卵器や造卵器柄に巻き付き、ときに分枝して複数の造精器を形成した。分離菌を接種した西洋シバ葉片を蒸留水に浸して 7 日後に卵胞子を観察すると、直径 20～29（平均 23） μm の球形で、造卵器に対して非充満であった。以上の通りに示された分離菌の遊走子のうと有性生殖器官の形態、生育適温、生育速度は *Pythium zingiberis* Takahashi のものとよく一致した（桂ら，1967；高橋，1954）。一方、van der Plaats-Niterink（1981）の検索表や記載によると、形態的には *Pythium volutum* Vanterpool & Truscott とよく一致したが、温度に対する反応が大きく異なった。van der Plaats-Niterink（1981）は、*Pythium zingiberis* を *Pythium volutum* の synonym としているが、分離菌株は生育適温が、*Pythium volutum* より 10°C 以上高い（桂ら，1967；高橋，1954）。したがって両菌をそれぞれ別種として扱うのが適当であると考え、分離菌を *Pythium zingiberis* と同定した。

分離菌をキャベツ幼苗の胚軸に接種して 20～35°C に保ったところ、20°C では立ち枯れた株が認められなかったが、温度が高くなるにつれて立ち枯れ株が増加し、35°C では 96% の苗が立ち枯れた（Fig. 5-4, Fig. 7）。

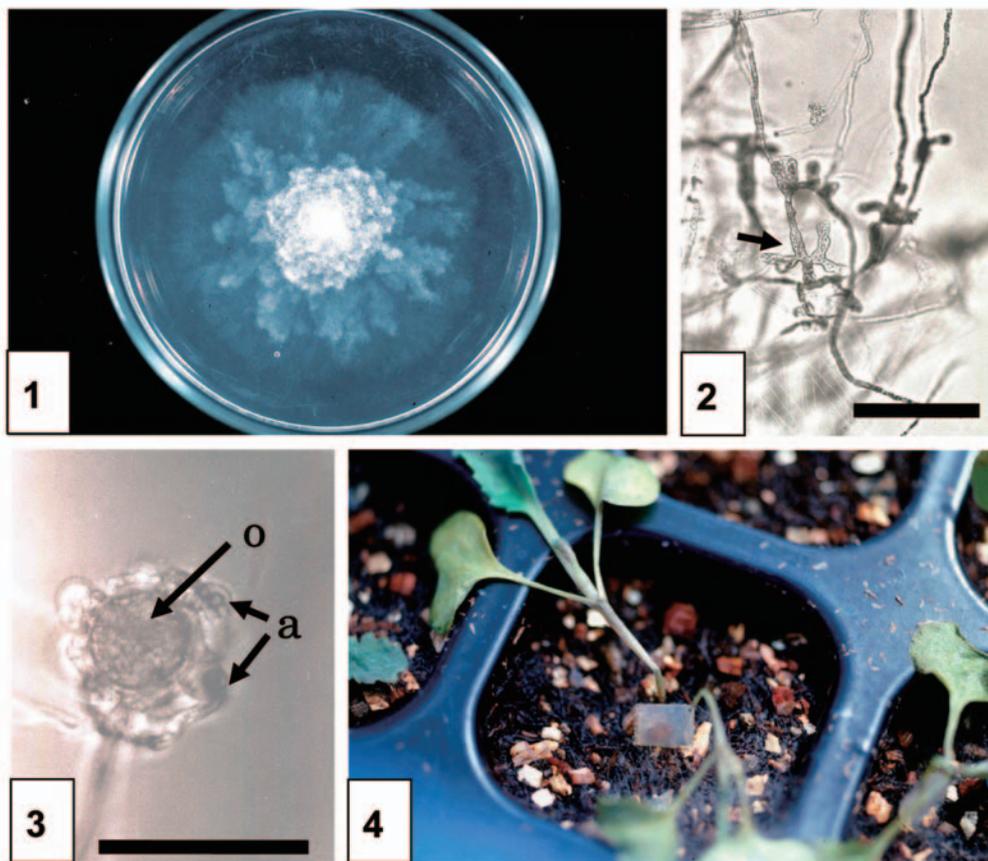


Fig. 5 Morphology of *Pythium zingiberis* and symptoms caused by the fungus on cabbage seedlings.

1. Colony after incubation on PSA at 25°C for 1 day.
2. Zoosporangium (scale: 25 μ m).
3. Oospore (o) with antheridia (a) (scale: 50 μ m).
4. Damping-off of cabbage seedlings after inoculation of hypocotyls with the mycelia at 30°C.

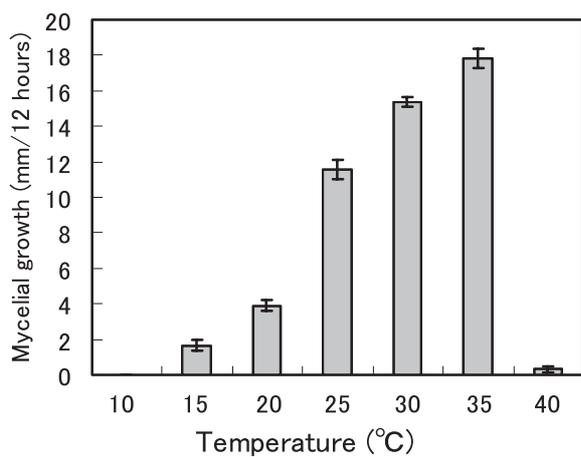


Fig. 6 Effect of temperature on mycelial growth of *Pythium zingiberis* on PSA. Mycelial discs (5 mm diameter) of an isolate were incubated at each temperature on PSA for 12 hours and colony diameters measured. Experiments were repeated 5 times. Error bars indicate standard errors.

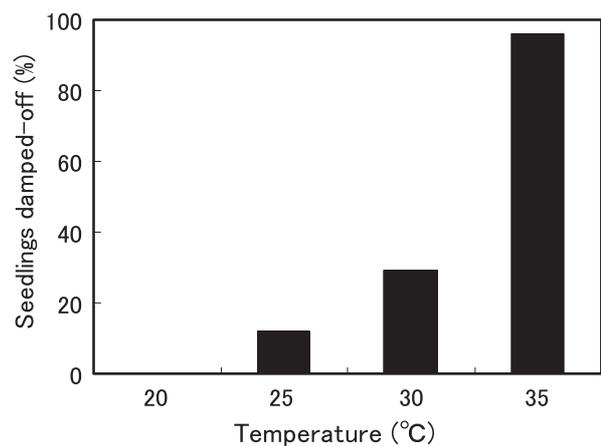


Fig. 7 Effect of temperature on damping-off of cabbage seedlings caused by *Pythium zingiberis*. Hypocotyls of one-week-old cabbage seedlings were inoculated with mycelial discs of *P. zingiberis*. The inoculated seedlings were kept moist at each temperature and the number of seedlings damped-off were counted 4 days after the inoculation. Experiments were repeated twice.

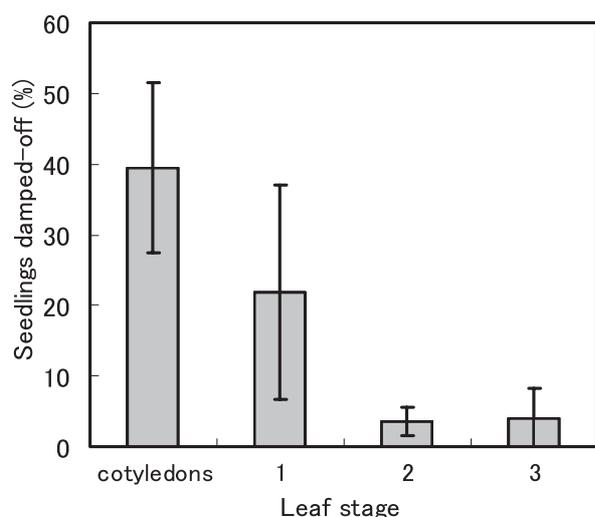


Fig. 8 Damping-off of various leaf-stage seedlings of cabbage caused by *Pythium zingiberis*. Seedlings at each leaf-stage were inoculated with mycelial disc of *P. zingiberis* on the hypocotyls. The inoculated seedlings were kept moist at 30°C, and the number of seedlings damped-off counted 4 days after the inoculation. Experiments were repeated 4 times. Error bars indicate standard errors.

異なる生育段階の苗に分離菌を接種して30°Cに保った場合には、苗の生育段階が進むにつれて立ち枯れ株率は低下した (Fig. 8).

本菌によるキャベツ苗の病徴は、ピシウム腐敗病 (森ら, 1996) や *Pythium megalacanthum* による苗立枯病と同様で、水浸状の病斑から、乾燥すると白色の乾腐となる。本菌による立ち枯れは夏季の高温期に発生しており、接種試験においても高温時に発病しやすいことが示された。また、本菌による病害も、*Pythium megalacanthum* による苗立枯病と同様に、生育が進んだ苗では発生しにくいと考えられ、ピシウム腐敗病とは病態が異なる。本研究によって、同菌による病害が生産現場において発生していることが示された。本菌をキャベツ苗立枯病の新病原として提案し、日本植物病名目録に承認、登録された (日本植物病理学会, 2009)。

3 *Pythium ultimum* var. *ultimum* によるピシウム腐敗病

2004年10月に三重県津市の民間野菜育苗施設においてセル成型育苗されていた第2~3葉期のキャベツ苗に、子葉基部の茎が水浸状に腐敗して苗全体が萎凋した株を発見した。この罹病茎をWA上で培養したところ、*Pythium* 属菌と思われる糸状菌が高率で分離された。こ

れまで、キャベツでは *Pythium aphanidermatum* と有性生殖器官を形成しない *Pythium* sp. によるピシウム腐敗病 (森ら, 1996)、前出の *Pythium megalacanthum* と *Pythium zingiberis* による苗立枯病が報告されているが、本分離菌の形態はこれらのものとは異なった。そこで、本病害について、病原菌の分離・同定ならびに発病条件の検討を行った。

a 材料と方法

1) 病原菌の分離と同定

育苗施設から持ち帰った自然発病罹病組織をWA上に置き、25°Cで培養して伸長した単菌糸を分離し、それぞれPSA上で培養して得た菌株のうち、1021-1, 1021-4, 1027-1を代表として以下の試験に用いた。これらの菌株を、CMA上、25°Cで培養して、菌叢と有性生殖器官の形態を観察した。ポテトデキストロース寒天培地 (PDA, 栄研化学) 上で同菌株の直径5mm菌叢ディスクを、5, 10, 15, 20, 25, 30, 35または40°Cで培養して、菌叢生育速度を調査した。また、蒸留水中でオートクレーブしたキャベツ葉片に同菌株を接種して、菌糸が蔓延した後、ペトリ液に浸して25°Cまたは5°Cで0~6日、その後25°Cで1日培養して、遊走子形成の有無を調べた。

2) 病原性の確認と発病適温

第2~3葉期に生育させたキャベツ苗の子葉に、3菌株いずれかの約5mm角のPSA培養片を置き、10, 15, 20, 25, 30または35°Cの湿室に4日間保ち、病徴を調査した。

3) 胚軸接種による発病

子葉展開期のキャベツ幼苗の胚軸上部 (子葉付け根) または胚軸基部 (地際部) に、3菌株の約5mm角のPSA培養片を付着させて、25°Cの湿室に6日間保ち、病徴を調査した。

4) 生育段階が異なる苗に対する病原性

子葉展開期、第1葉展開期、第2葉展開期または第3~4葉展開期のキャベツ苗の子葉に、3菌株の約5mm角のPSA培養片をのせ、25°Cの湿室に4日間保ち、病徴を調査した。

5) 生育が進んだ苗に対する病原性

播種後約2ヶ月のキャベツ苗の茎に、3菌株の約1cm角のPSA培養片を付着させ、25°Cの湿室に7日間保った後、ガラス温室で栽培を続けた。この間の病徴を観察した。有傷接種では、ナイフで切り傷を付けた茎に培養片を付着させた。

b 結果と考察

罹病組織からは、無色、無隔壁の菌糸を有する糸状菌が分離された。それらのうち、代表とした3菌株、1021-1, 1021-4, 1027-1はCMA上で、気中菌糸が旺盛な白色の菌叢に生育し (Fig. 9-1), 1週間の培養で有性生殖器官を形成した。いずれの菌株も造卵器は球形で直径15~28 μm , 表面平滑で頂生, 造精器は袋状で, 造卵器1個に対して1つ形成され, 85%以上が同菌糸性であった (Table 2, Fig. 9-2)。卵胞子は, 造卵器内に1つ形成され, 球形, 14~24 μm であった。生育適温は25°Cで40°Cでは菌叢生育しなかった (Fig. 10)。オートクレーブしたキャベツ葉片に3菌株を接種した場合には, 遊走子は形成されなかった。これらの3菌株は, その形態的特徴から *Pythium ultimum* var. *Trow ultimum* と同定された (van der Plaats-Niterink, 1981)。本菌は, 本邦においてアブラナ科野菜ではハクサイ, ブロccoliリーピシウム腐敗病菌として報告があるが (日本植物病理学会編, 2000), キャベツに対する病原菌としての報告はない。

1021-1, 1021-4, 1027-1 いずれかの菌株をキャベツ苗

の子葉に接種して25°Cの湿室に保ったところ, 96.7~97.6%の子葉に水浸状~黒色の病斑を形成し, そのうち1021-1では60.4%, 1021-4では68.8%, 1027-1では83.1%の苗が茎まで水浸状に侵され立ち枯れた (Fig. 9-3)。この病徴は, 育苗施設で自然発病したものと同様であった。10~35°Cでは25°Cで最も発病率が高かった (Fig. 11)。10°Cではほとんど発病しなかった。本菌の生育適温, 発病適温はともに25°Cであることが示され, 温暖な時期に発生することが推測される。今回の発見も温暖地である三重県の10月であった。

子葉展開期のキャベツ幼苗の胚軸上部 (子葉付け根) に1021-1, 1021-4, 1027-1を接種した場合, それぞれ76, 48, 43%の苗が立ち枯れたが, 地際部への接種では, いずれの菌株でも立ち枯れ率は10%未満であった (Fig. 12)。

子葉展開期, 第1~4葉展開期のキャベツ苗の子葉に, 3菌株をそれぞれ接種した場合には, いずれの菌株によっても79%以上の苗で病斑が形成され, 71~90%の高率で苗が立ち枯れた。

播種2ヶ月後の苗の茎に無傷で, 3菌株のいずれかを

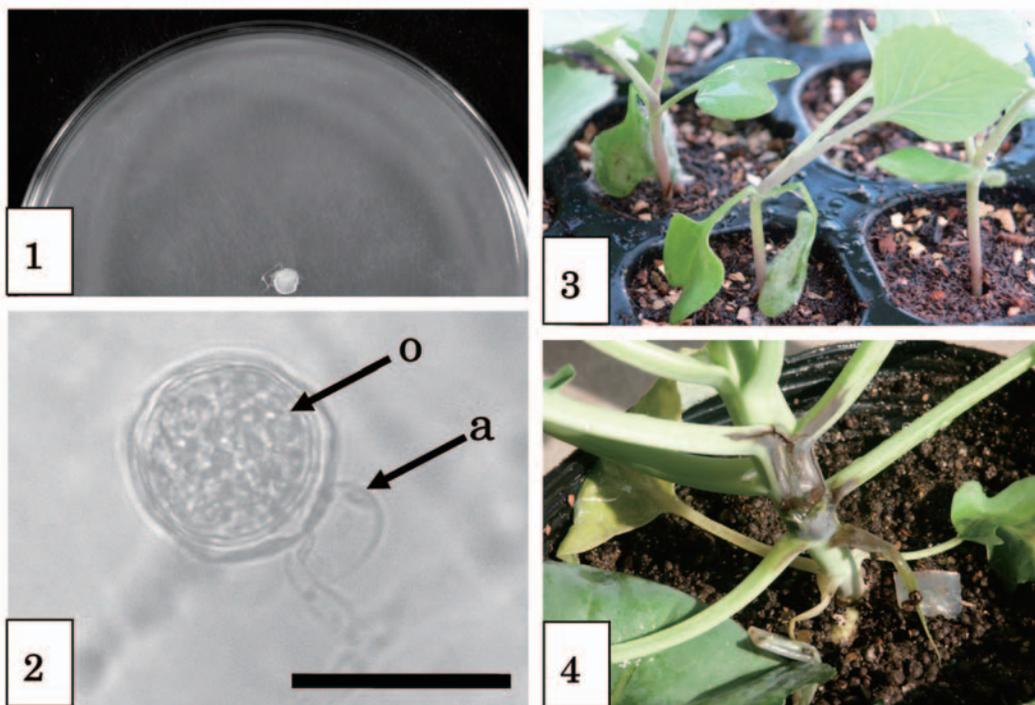


Fig. 9 Morphology of *Pythium ultimum* var. *ultimum* and symptoms caused by the fungus on cabbage seedlings.

1. Colony after incubation on PSA at 25°C for 24 hours.
2. Oospore (o) and antheridium (a) (scale: 20 μm).
3. Symptoms on a plug seedling after inoculation of the cotyledon with mycelia at 25°C.
4. Symptoms on a 2-months-old cabbage seedling after inoculation of the stem with mycelia at 25°C.

接種したキャベツ苗 31 株中、7 株で水浸状の病斑が形成され、そのうち 1 株が立ち枯れた (Fig. 9-4)。有傷接種した 31 株では、全ての株で水浸状病斑が形成され、そのうち 6 株が立ち枯れた。発病苗をガラス温室に移し、乾燥した条件で栽培を続けた場合、罹病部は白色乾腐症状となり、病勢の進展は認められないものの、生育が遅

延した。

本病はセル成型苗で発見され、「damping-off」と報告されたが、生育の進んだ苗にも発病し得ること、胚軸地際部より莖葉で発病しやすいこと、キャベツと同種の作物であるブロッコリーの定植後の苗にもピシウム腐敗病を起こすこと (窪田ら, 1995)、乾燥条件では

Table 2 Morphology and characteristics of *Pythium ultimum* var. *ultimum* isolates from cabbage

Morphology and characteristics		Isolate			<i>P. ultimum</i> var. <i>ultimum</i> ^a
		1021-1	1021-4	1027-1	
Oogonia	Position	Terminal	Terminal	Terminal	Terminal, sometimes intercalary
	Shape	Globose	Globose	Globose	Globose
	Diameter (μm)	19-25 (22.9) ^b	17-28 (22.8) ^b	15-25 (22.6) ^b	14-24 (21.5) ^b
Antheridia	No. of per oogonium	1(98%), 2(2%)	1(98%), 2(2%)	1(93%), 2(7%)	1-3
	Monoclinous	92%	87%	85%	Most
	Shape	Sac-like	Sac-like	Sac-like	Sac-like
	Length (μm)	6-21 (11.8) ^b	7-14 (11.2) ^b	8-20 (11.5) ^b	—
	Width (μm)	6-10 (8.4) ^b	4-11 (7.9) ^b	5-15 (8.3) ^b	—
Oospores	Shape	Globose	Globose	Globose	Globose
	Aplerotic	92%	100%	100%	Aplerotic
	Diameter (μm)	14-24 (20.4) ^b	15-23 (19.9) ^b	14-24 (19.9) ^b	12-24 (18) ^b
Colony	Growth temperature ($^{\circ}\text{C}$)	5-35 (25) ^c	5-35 (25) ^c	5-35 (25) ^c	5-35 (25-30) ^c

^a Refer to van der Plaats-Niterink (1981).

^b Numbers in parentheses are averages.

^c Numbers in parentheses are optimum temperatures.

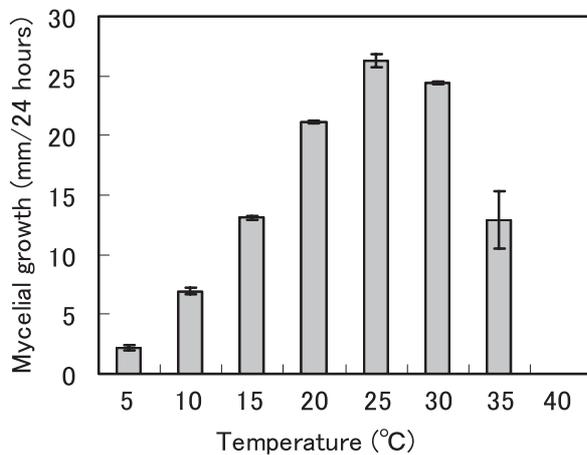


Fig. 10 Effect of temperature on mycelial growth of *Pythium ultimum* var. *ultimum* on PDA. Mycelial discs (5-mm diameter) of an isolate were incubated at 25°C on PDA for 1 day, and the colony diameters measured. Measurements were repeated after 24-hours incubation at temperatures shown. Experiments were repeated 3 times. Error bars indicate standard errors.

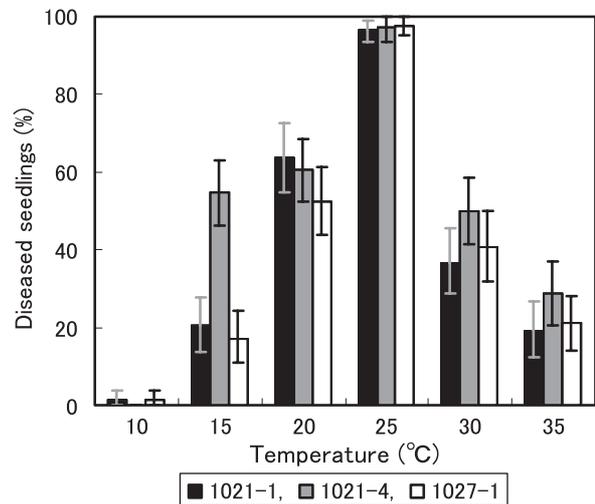


Fig. 11 Effect of temperature on disease occurrence caused by *Pythium ultimum* var. *ultimum* on cabbage seedlings. Cotyledons of one-week-old cabbage seedlings were inoculated with mycelial discs of 3 isolates (1021-1, 1021-4 and 1027-1) of *P. ultimum* var. *ultimum*. The inoculated seedlings were kept moist, and diseased seedlings were counted 4 days after the inoculation. Experiments were repeated 3 times. Error bars indicate standard errors.

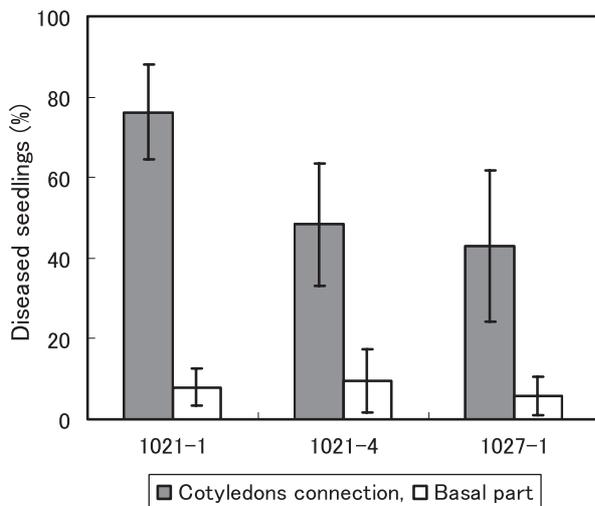


Fig. 12 Damping-off of cabbage seedlings after inoculation on the upper or basal hypocotyls with *Pythium ultimum* var. *ultimum*. One-week-old cabbage seedlings were inoculated with mycelial discs of 3 isolates (1021-1, 1021-4 and 1027-1) of *P. ultimum* var. *ultimum* on the upper (cotyledons connection) or basal part of the hypocotyls. The inoculated seedlings were kept moist at 25°C, and damped-off seedlings counted 6 days after the inoculation. Experiments were repeated 3 times. Error bars indicate standard errors.

Pythium aphanidermatum によるピシウム腐敗病と同様の白色乾腐症状となることから (森ら, 1996), 本病原である *Pythium ultimum* var. *ultimum* をピシウム腐敗病の病原に追加することを提案し, 承認された (日本植物病理学会, 2009).

4 *Fusarium* 属菌による先枯病

1997年9月～1998年12月に三重県津市の民間育苗施設において, キャベツセル成型苗に発生する病害の調査を行った中で, 子葉や頂芽が萎れたり腐敗する株や, 胚軸が褐色に腐敗した株の罹病部から *Fusarium* 属菌が分離された. これまで, 国内において *Fusarium* 属菌によるキャベツの病害の報告は *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl: Fries f. sp. *conglutinans* (Wollenweber) Snyder et Hansen による萎黄病のみであり, 腐敗性の病害は未報告である (日本植物病理学会編, 2000). 本節では, 育苗施設から分離した *Fusarium* 属菌菌株のキャベツに対する病原性を確認し, 種の同定を行った.

Fusarium 属菌の種を同定するための検索体型がいくつか提唱されているが (一戸, 1990), その多くで菌叢の生育速度と小型分生子の有無が重要視されている. そ

れ以外の検索キーとなる分生子, 菌叢, 分生子形成細胞の形態等は提唱者によってその重視度が異なる. しかし, *Fusarium* 属菌の菌叢の形状, および分生子の形態は同種と同定された菌株間でも大きな変異があることがよく知られており, これらの形態に頼った分類では不十分である. 一方, Booth (1971) によって提唱された検索表は, 生育速度と小型分生子の有無の他に, 分生子形成の様式を重視しており, 変異の大きな分生子や菌叢の形態を重視しているものより適切であると考えた. よって, 今回分離した6菌株について, Boothの検索表を用いて同定した.

a 材料と方法

1) 菌の分離

1997年11月に胚軸が腐敗した苗, 1998年2月, 8月, 10月に頂芽や子葉が萎れたり, 腐敗した苗の罹病部位を, WAに置いて24°Cで培養し, 伸長した単菌糸をPSAに移植した. 1997年11月に分離した菌株をF1-1, 1998年2月と8月に分離した菌株をF1-2, F1-3, 同年8月に分離した別の菌株をF2-1, 同年10月に分離した2菌株をF2-2, F2-3とした.

2) 分離菌株の病原性の確認

分離した菌株のPSA培養片をショ糖加用ジャガイモ煎汁 (PS; 20%ジャガイモ煎汁, 2%ショ糖) 中で25°C, 振とう培養して分生子を形成させた. 振とう後の培養液を2重のガーゼで濾過した後, 1000×gで5分間遠心分離して分生子を沈殿とした. 分生子を10⁶個/mlとなるように蒸留水に懸濁して, 子葉展開期のキャベツ幼苗に噴霧接種し, 昼間25°C, 夜間20°Cの湿室に14日間置いて病斑形成率を調査した. また, 子葉の罹病部をコットンブルー染色液 (乳酸: フェノール: グリセリン: 水: エタノール=1:1:1:1:8, 0.1%コットンブルー) で染色して, 顕微鏡観察した.

3) 分離菌株の同定

各菌株を, プロピレンオキシドで殺菌してWA上に置いたカーネーション葉片に接種し, 14日後に分生子の形態を顕微鏡観察した. また, PSで振とう培養して得た分生子をWA上で24°C, 1日間培養した後, PSAに単孢子移植して, 25°Cで4日間培養した後に形成された菌叢の直径を測定した. PSA上における10, 15, 20, 25, 30, 35と40°Cでの菌糸伸長速度を測定するとともに, 菌叢の形状や色を観察した.

4) 発病適温の検討

F1-1～3のうち, F1-3のPSA培養片をPS中, 25°C

で振とう培養後、遠心分離して得た大型分生子を 10^6 個/ml に調製して、子葉展開期のキャベツ幼苗に噴霧接種して 10, 15, 20, 25, 30 または 35°C の温室に保ち、14 日後に現れた病徴を調査した。

b 結果と考察

F 1-1~3 の PSA 上における菌叢では白色の気中菌糸が生じ、菌叢下の培地表面に紅色の色素を分泌した (Fig. 13-1, 2)。時間が経つと培地は黄褐色に変色した。F 2-1~3 の菌叢では白色の気中菌糸が生じ、中心

部に淡い桃色からサーモンピンクを呈し、やがて淡い黄~茶褐色に変色した (Fig. 14-1, 2)。PSA 上における単孢子由来コロニーの直径は 25°C 、4 日の培養で、F 1-1 は 43.6 mm, F 1-2 は 47.8 mm, F 1-3 は 52.0 mm, F 2-1 は 51.9 mm, F 2-2 は 58.7 mm, F 2-3 は 49.9 mm であった (Table 3)。PSA 上における F 1-1~3 の生育適温は $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ で、48 時間で 7~10 mm 菌糸伸長したが、 35°C では 0~0.2 mm しか菌糸伸長しなかった (Fig. 15)。F 2-1~3 の生育適温は 25°C であり、 35°C でも 48 時間で 1.3~1.8 mm 菌糸伸長した。F 1-1~3,

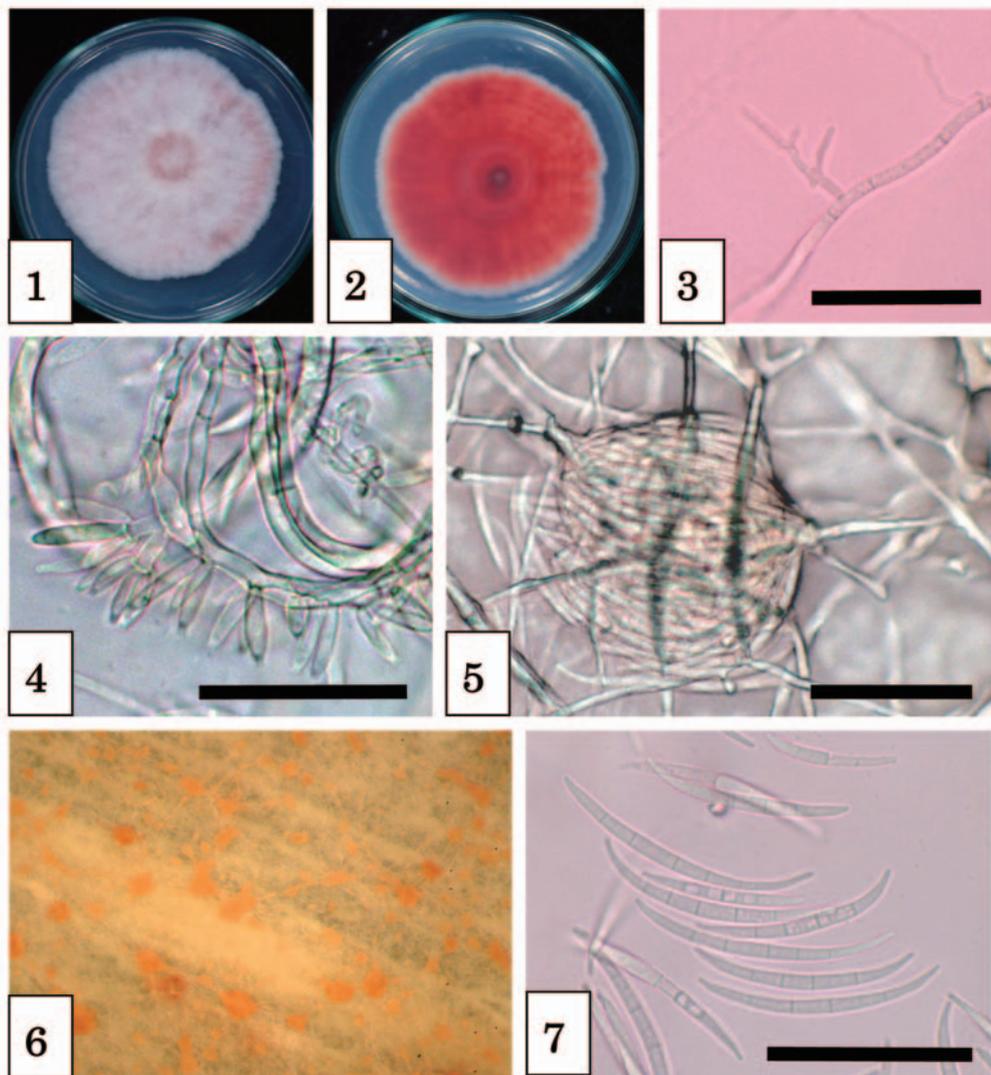


Fig. 13 Morphology of *Fusarium avenaceum*.

1. Upper surface of colony after incubation on PSA at 25°C for 10 days.
2. Under surface of colony after incubation on PSA at 25°C for 10 days.
3. Formation of primary macroconidia (scale: $50\ \mu\text{m}$).
4. Secondary macroconidiophores (scale: $25\ \mu\text{m}$).
5. Conidioma at the early stage (scale: $50\ \mu\text{m}$).
6. Conidioma on carnation leaf.
7. Macroconidia (scale: $50\ \mu\text{m}$).

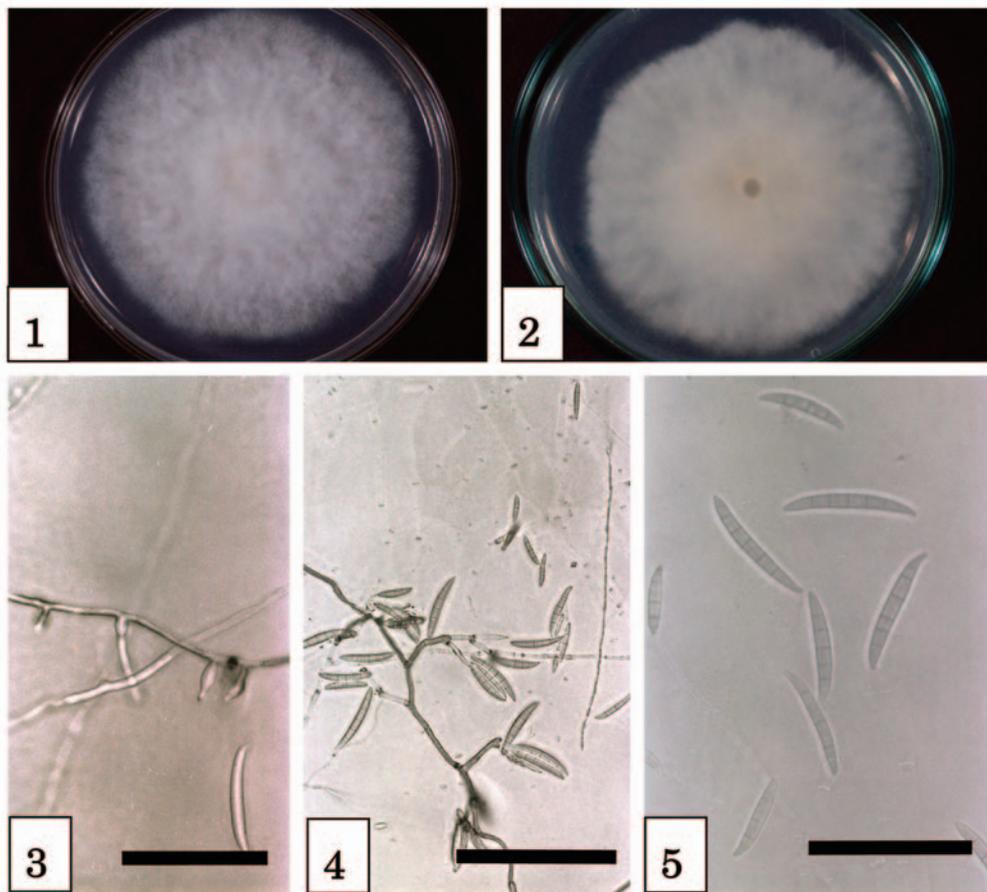


Fig. 14 Morphology of *Fusarium semitectum*.

1. Upper surface of colony after incubation on PSA at 25°C for 5 days.
2. Under surface of colony after incubation on PSA at 25°C for 5 days.
3. Polyblastic production of macroconidia (scale: 50 μm).
4. Macroconidiophores (scale: 100 μm).
5. Macroconidia (scale: 50 μm).

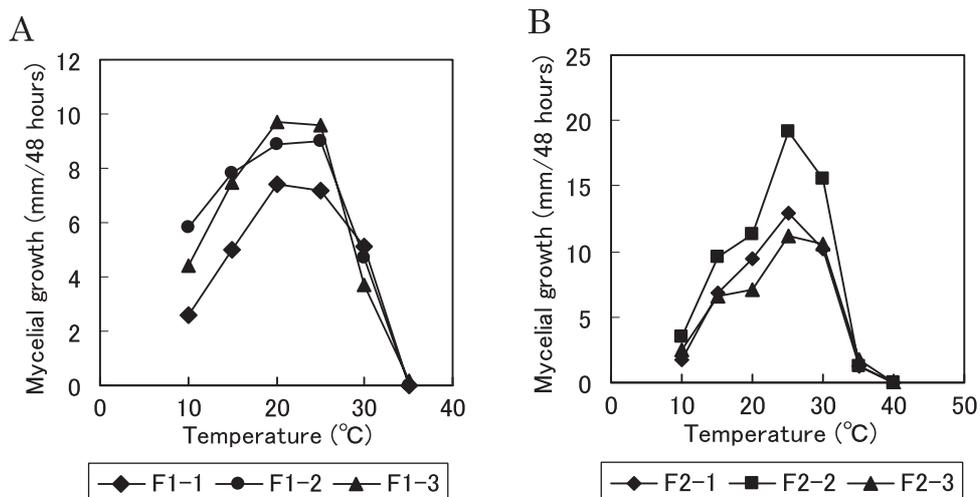


Fig. 15 Effect of temperature on mycelial growth of *Fusarium* isolates on PSA. Mycelial discs (5-mm diameter) of isolates were incubated at 25°C on PSA for 2 days, and the colony diameters measured. Measurements were repeated after 48-hours incubation at temperatures shown. Isolates of F1-1, 2 and 3 identified to *Fusarium avenaceum* (A). Isolates of F2-1, 2 and 3 identified to *Fusarium semitectum* (B). Experiments were repeated 6 times.

Table 3 Morphology and characteristics of *Fusarium* isolates from cabbage

Morphology and characteristics	Isolate					
	F1-1	F1-2	F1-3	F2-1	F2-2	F2-3
Growth rate (mm) ^a	43.6	47.8	52.0	51.9	58.7	49.9
Primary macroconidial formation	Polyblastic	Polyblastic	Polyblastic	Polyblastic	Polyblastic	Polyblastic
Secondary macroconidial formation	Monophialidic	Monophialidic	Monophialidic	Polyblastic or monophialidic	Polyblastic or monophialidic	Polyblastic or monophialidic
Macroconidial length (μm)	28.0-60.5 (47.7) ^b	28.8-64.2 (48.4) ^b	21.4-65.3 (47.8) ^b	25.7-55.6 (44.6) ^b	17.1-54.6 (37.6) ^b	21.4-53.5 (38.2) ^b
Macroconidial width (μm)	3.2-4.9 (4.0) ^b	2.1-4.3 (3.4) ^b	2.7-4.8 (3.7) ^b	3.2-5.4 (4.2) ^b	3.2-5.4 (4.3) ^b	3.7-5.4 (4.1) ^b
Macroconidial septate	3-6 (4.6) ^b	2-6 (4.0) ^b	1-6 (4.6) ^b	2-6 (4.6) ^b	1-7 (5.0) ^b	2-7 (4.6) ^b
Conidioma	+	+	+	-	-	-
Pigmentation on PSA	Rose	Rose	Rose	Peach, pale orange to brown	Peach, pale orange to brown	Peach, pale orange to brown
Identification ^c	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. semitectum</i>	<i>F. semitectum</i>	<i>F. semitectum</i>

^a Colony diameter after 4 days incubation from a single conidium on PSA at 25 °C.

^b Numbers in parentheses are averages.

^c Identification by Booth (1971)'s classification system.

F 2-1~3 の単胞を 4 日間 PSA で培養したときに形成された菌叢の直径は 2 cm 以上であり, Booth (1971) の検索表で生育が「速い」と判断された。

F 1-1~3 は, 滅菌したカーネーション葉片上で, 最初, 菌糸から直接形成された分生子形成細胞から多出芽的に一次大型分生子を形成した (Fig. 13-3). 一次大型分生子はやや湾曲した紡錘形で, 隔壁は 1~5 であった。二次大型分生子は, 一次大型分生子形成細胞から足指状に分枝した分生子形成細胞からモノフィアロ型に形成された (Fig. 13-4). 分生子形成細胞の分枝が進み, 二次大型分生子が多数形成された場合には分生子果 (conidioma) を形成した (Fig. 13-5). 分生子果は肉眼でオレンジ色に観察できるまで大きくなった (Fig. 13-6). 二次大型分生子は一次大型分生子よりも細く湾曲して, 三日月型であった (Fig. 13-7). F 1-1~3 の大型分生子の隔壁は薄かった。F 1-1~3 の大型分生子の長さは 21.4~65.3 μm で平均が 47.7~48.4 μm , 幅は 2.1~4.9 μm で平均が 3.4~4.0 μm , 隔壁数は 1~6 で平均 4.0~4.6 であった。F 1-1~3 では小型分生子は認められなかったが, まれに単胞の一次大型分生子が認められた。厚膜胞子はカーネーション葉片上で 34 日までの培養では認められなかった。F 1-1~3 は, 最初多出芽的に大型分生子を形成することから *Arthrosporiella* section に分類され, 二次大型分生子をモノフィアロ型

に形成すること, 紅色の色素を分泌することから *Fusarium avenaceum* (Corda: Fries) Saccardo と同定された。

F 2-1~3 では, カーネーション葉片上で, 最初菌糸から直接形成された分生子形成細胞よりシンポジオ型に多出芽する大型分生子を形成した (Fig. 14-3). 分生子の分離後には分生子形成細胞に分離跡が残った。分生子形成細胞はまばらに分枝して新たなシンポジオ型に多出芽する分生子形成細胞を形成した (Fig. 14-4). 菌糸の先端の分生子形成細胞ではモノフィアロ的に大型分生子を形成する場合があった。分生子果は形成されなかった。大型分生子は紡錘形でやや湾曲した (Fig. 14-5). F 2-1~3 の大型分生子は F 1-1~3 のものより湾曲が小さく, 細胞壁が厚かった。F 2-1~3 の大型分生子の長さは 17.1~55.6 μm で平均が 37.6~44.6 μm , 幅は 3.2~5.4 μm で平均が 4.1~4.3 μm , 隔壁数は 1~7 で平均 4.6~5.0 であった。小型分生子は認められなかったが, まれに単胞の大型分生子が認められた。厚膜胞子は 34 日の培養では認められなかった。F 2-1~3 は, 最初多出芽的に大型分生子を形成することから *Arthrosporiella* section に分類され, 多出芽的な大型分生子の形成が培養期間を通じて行われること, 分生子果が形成されないことから *Fusarium semitectum* Berk. et Rav. in Berk. と同定された。F 2-1~3 の大型分生子の長さはおよそ 20

～55 μm であり, *Fusarium semitectum* var. *majus* Wollenweber の記載とも重なるが, 隔壁数が5以下のものがほとんどであること, 分生子果が形成されないことから *Fusarium semitectum* であると判断した.

F 1-1～3 の分生子を噴霧接種したキャベツセル成型育苗の子葉では, 周縁から退色病斑が形成された (Fig. 16-1). 病斑の表面には白色の気中菌糸が発生し, 光学顕微鏡を用いた観察により, 気中菌糸上に一次大型分生子が形成されていることが認められ, その形態観察により接種菌であることが確認された. また, 被接種苗のほとんど全ての子葉で微小斑点が形成された (Fig. 16-2). 微小斑点を光学顕微鏡観察すると, 中心部の気孔から菌糸が侵入しているのが認められた (Fig. 16-3). これらの微小斑点から病斑が拡大する場合もあった. 罹病した子葉の表面には薄い菌叢が形成され, 時間の経過とともに濃くなり, 子葉全体を黄化させる場合もあった. 病徴が進展すると, 頂芽が侵され, 苗全体が枯れた. また, 罹病部位に接触した健全株の子葉, 本葉, 胚軸には水浸状の病斑が形成され, 白色の気中菌糸が発生して腐敗した. F 1-1 により子葉に病斑が形成された苗の割合は 13%, F 1-2 では 45%, F 1-3 では 50%であった. *Fusarium avenaceum* は多くの植物に, 導管を侵すことによる萎凋症状や, 根や胚軸の腐敗による立ち枯れを起こすことが Booth (1971) によって記載されている. 育苗施設においては, 子葉上の菌叢に形成された分生子が頭上灌水等で流れ, 葉の付け根等から新たな感染を引き起こす可能性がある. 育苗施設での自然感染で認めら

れた病徴は, 6 株中 5 株が水が溜まりやすい部分である頂芽の腐敗, 萎凋であった. 胚軸の褐変症状も 1 株で認められたが, 分生子を噴霧接種した場合には, 胚軸に傷を付け, 高湿度条件に保った場合のみ, 褐色腐敗の症状が認められた. 病斑のほとんどが子葉の周縁から広がったことから, *Fusarium avenaceum* は主として水孔から感染すると考えられる. これらの結果から *Fusarium avenaceum* のキャベツに対する病原性が示された.

F 1-1～3 の中で最も病原性が強かった F 1-3 を *Fusarium avenaceum* 菌株の代表として, その分生子をキャベツ苗に噴霧接種した場合, 10～30℃において高率で子葉に小斑点を形成し, 子葉が枯死に至るまで病徴進展する割合は 25℃で最も高かった (Fig. 17). この温度は, 菌の生育適温とほぼ一致した.

F 2-1～3 の分生子を噴霧接種した場合にも, F 1-1～3 と同様に, 子葉の周縁から退色病斑が形成され, その表面に気中菌糸が発生した. 気中菌糸上には, 大型分生子が形成され, その形態観察により接種した菌株であることが確認された. 罹病部位の接触による伝染も, F 1-1～3 と同様に認められた. しかし, F 1-1～3 の接種で認められたような微小斑点は形成されなかった. 病斑拡大等の病徴が進展する苗も, F 1-1～3 の場合よりも少なく, F 2-1 で 9%, F 2-2 で 3%, F 2-3 で 5%であった. *Fusarium semitectum* は, 国内ではシバの病原菌として挙げられている (日本植物病理学会編, 2000) が, 他の作物の病害の報告はない. しかし, 試験的にトマトに苗立ち枯れを起こしたことが記載されている (Booth,

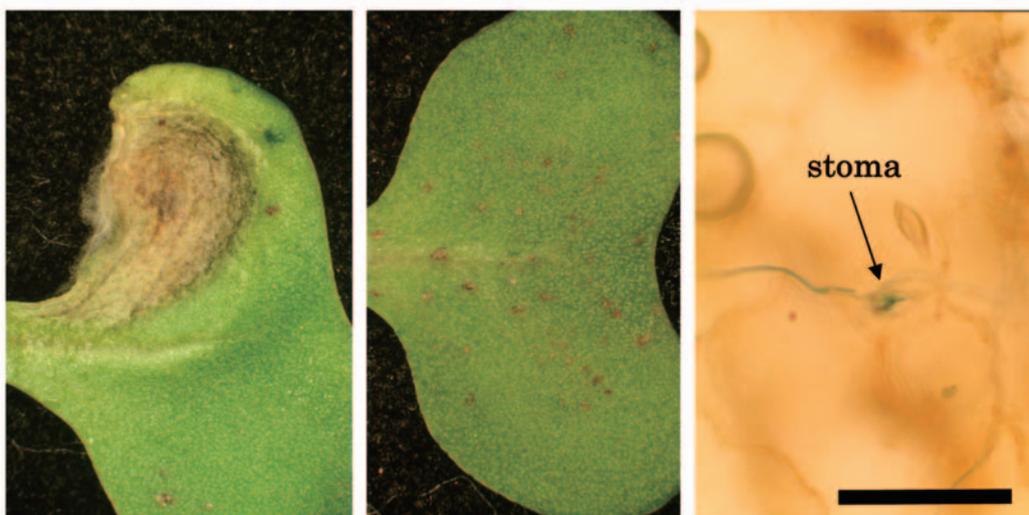


Fig. 16 Symptoms on cabbage cotyledons caused by *Fusarium avenaceum*.

1. Expanding lesion.
2. Small dots at early stage of infection.
3. Hypha penetrating into a stoma, stained with cotton blue (scale: 50 μm).

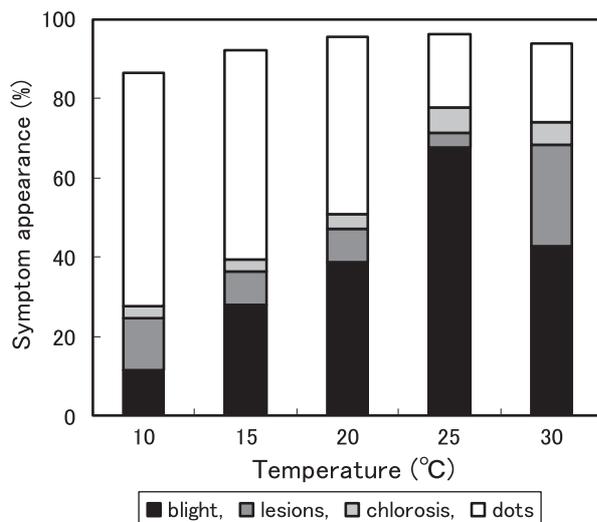


Fig. 17 Effect of temperature on severity of symptoms caused by *Fusarium avenaceum*. One-week-old cabbage seedlings were inoculated by spraying with a conidial suspension of *F. avenaceum*. The inoculated seedlings were kept moist at each temperature, and symptoms were observed 14 days after the inoculation. Experiments were repeated 3 times.

1971). 今回の F 2-1~3 の接種試験においては、キャベツ子葉の周縁に退色病斑が形成されたものの、病徴の進展は小さく、発病株率も 10%未滿と低かった。また、子葉での微小斑点も認められなかった。同菌は葉の周縁の水孔や傷から日和見的に感染すると思われる、病原性は弱いと考えられる。

キャベツ苗にこれらの菌株を接種した後、密閉せずに開放条件においた場合には、*Fusarium avenaceum* による微小斑点以外の病徴は現れなかった。高湿度条件でのみ病斑が形成され、被害が発生すると考えられる。また、自然感染による黒すす病の微小斑点や、子葉から離脱しなかった種皮から、*Fusarium avenaceum*、*Fusarium semitectum* による退色病斑が拡大する場合があった。両菌種が、他の微生物等によって形成された斑点や傷口から感染した後に、病原力を発揮して病徴進展させる場合もあると考えられる。

本研究結果から *Fusarium avenaceum* と *Fusarium semitectum* のキャベツ苗に対する病原性が確認された。これらの病害では、葉や頂芽の周縁部から病斑形成や腐敗が始まることから、既報の *Pythium* 属菌や *Rhizoctonia solani* により胚軸が侵される苗立枯病とは病徴が明らかに異なる。そこで、本病害をキャベツ先枯病 (bud blight) と提案し、日本植物病名目録に承認、登録された (日本植物病理学会, 2009)。

5 *Choanephora cucurbitarum* によるこうがいかび病

1998 年 8 月に三重県津市の野菜茶業研究所内の温室で育苗されていたキャベツセル成型苗の胚軸に、白色菌糸の先端に微小な黒点を持つ糸状菌が生じ、苗が萎れた (Fig. 18-1)。これまでに、キャベツにおいてはこのような形態の糸状菌による病害の報告はない。そこで、菌の分離・同定ならびに発病条件の検討を行った。

a 材料と方法

1) 菌の分離と分離菌の生育適温

罹病株の胚軸に生じた菌を PSA で培養したところ、気中菌糸を旺盛に生じる白色菌叢を持つ糸状菌が発生した。ここより得た単菌糸分離菌株の直径 5 mm の培養ディスクを、PSA 上で 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 と 40°C で培養して、菌叢生育速度を測定した。

2) 分離菌の病原性の確認と形態

分離菌の約 5 mm 角の PSA 培養片を子葉展開期のキャベツ幼苗の胚軸に接触させて、8~11 月のガラス室内、または 10~35°C の陽光定温器内の湿室に保ち、病徴を調査した。また、罹病組織上の形態を、顕微鏡を用いて観察した。

3) 生育段階が異なるキャベツ苗に対する病原性

子葉展開期、第 1 葉展開期、第 2 葉展開期、または第 3~4 葉展開期のキャベツ苗の胚軸に分離菌の 5 mm 角の PSA 培養片を付着させて、9 月にガラス室内の湿室に保ち発病を調査した。

b 結果と考察

PSA 培地上での菌叢生育は、5~40°C では 30°C で最も速く、12 時間で約 22 mm 菌糸伸長した。5°C では菌叢生育しなかった (Fig. 19)。

8~9 月のガラス室における試験では、接種の 3 日後にキャベツ幼苗の胚軸が水浸状に侵されて立ち枯れた。その後、罹病部を高湿度条件に保つと、初発見と同様の糸状菌が発生した。陽光定温機内や 10~11 月の接種試験では発病苗はほとんどなかった。また、接種直後から、ガラス室内において湿室を開放して湿度を下げた場合には、発病株は認められなかった。高温期の接種試験によって、分離菌の病原性が確認された。しかし、10~11 月や 35°C までの陽光定温機内での接種試験では発病苗がほとんどなく、本菌による病害は、非常な高温多湿時のみに発生すると考えられる。

罹病組織上において形成された分生子柄は、枝分かれ

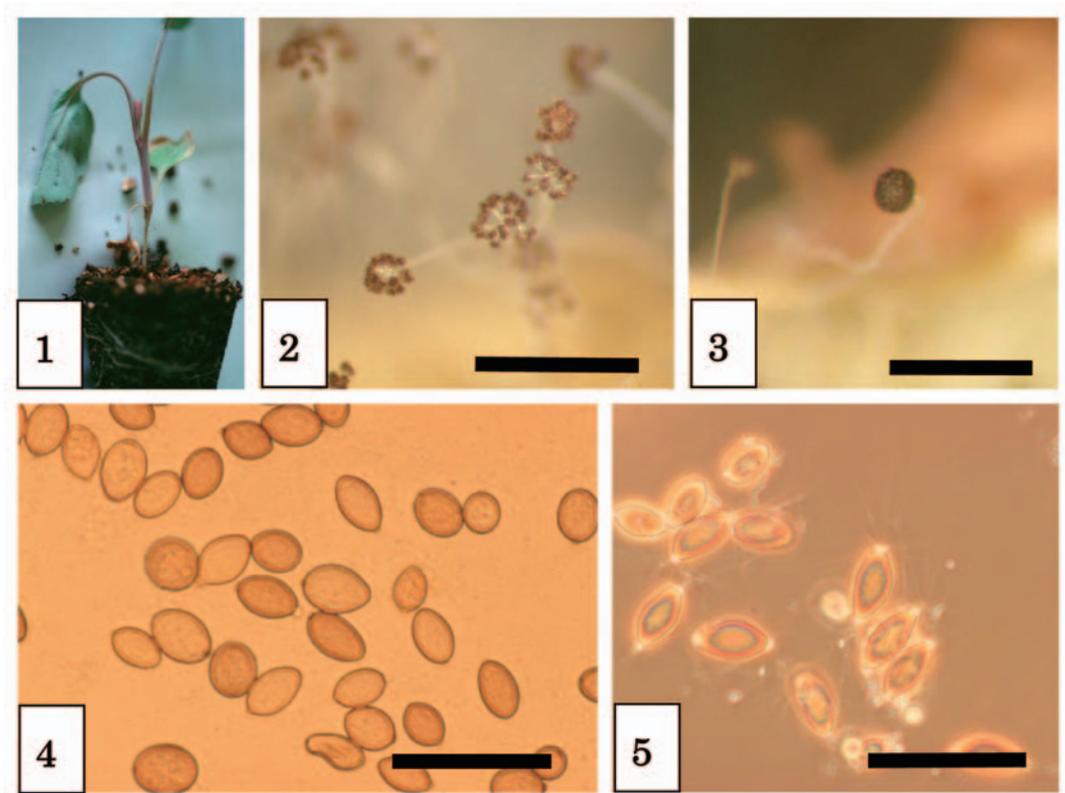


Fig. 18 Symptoms on a cabbage plug seedling caused by *Choanephora cucurbitarum* and morphology of the fungus.

1. Symptoms on a cabbage seedling.
2. Conidiophores (scale: 500 μm).
3. Sporangiophore (scale: 500 μm).
4. Conidia (scale: 50 μm).
5. Sporangiospores (scale: 50 μm).

せずに直立し、無色、絹糸状で、膨らんだ頂部に小柄を生じて分生子を形成した (Fig. 18-2)。分生子は褐色でレモン型や楕円形、大きさは $12\sim 20\times 6\sim 16$ (平均 17×11) μm であった (Fig. 18-4)。また、胞子のうも罹病組織上に形成され、胞子のう柄は枝分かれせずに直立し、無色で、頂部に胞子のうがうなだれるように傾いて形成された (Fig. 18-3)。胞子のうは黒色、球状で胞子のう胞子を形成する。胞子のう胞子は分生子よりも濃い褐色で紡錘形となり、分生子よりも細身である (Fig. 18-5)。また、表面に縦縞が入り、両端に複数の微毛を有する。大きさは $11\sim 20\times 7\sim 12$ (平均 18×9) μm であった。これらの罹病組織上に形成された形態から、分離菌は *Choanephora cucurbitarum* (Berk. et Rav.) Thaxter と同定された (唐津ら, 1995; 西原, 1968; 三宅ら, 1934; 吉田, 1950)。

高温期の接種試験において、子葉展開期の幼苗の 88%、第 1 葉展開期苗の 76%、第 2 葉展開期苗の 65%、第 3~4 葉展開期苗の 14% が立ち枯れたことから (Fig.

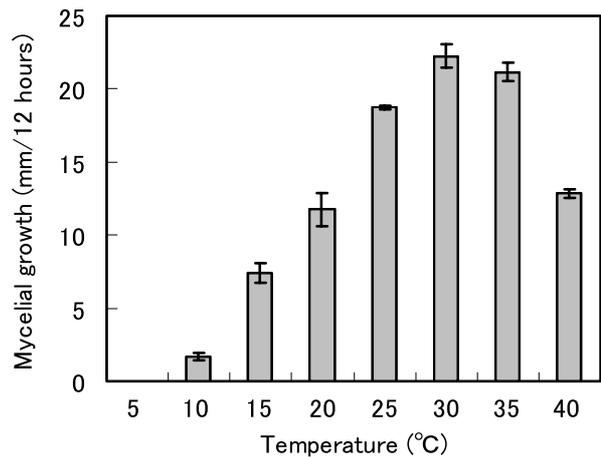


Fig. 19 Effect of temperature on mycelial growth of *Choanephora cucurbitarum* on PSA. Mycelial discs (5-mm diameter) of an isolate were incubated at 25°C on PSA for 12 hours, and the colony diameters were measured. Measurements were repeated after 12-hours incubation at temperatures shown. Experiments were repeated 3 times. Error bars indicate standard errors.

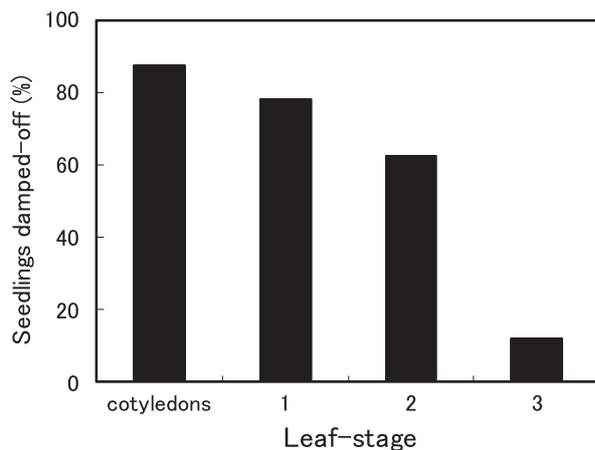


Fig. 20 Damping-off of cabbage seedlings at various leaf stages caused by *Choanephora cucurbitarum*. Mycelial discs of *C. cucurbitarum* were used to inoculate hypocotyls of seedlings at each leaf stage. The inoculated seedlings were kept moist in a greenhouse during the summer season, and damped-off seedlings were counted 5 days after the inoculation.

20), 同菌はある程度生育が進んだキャベツ苗に対しても, 高温多湿条件ならば病原性を示した. 本菌の高温適応性に加え, キャベツ苗が高温多湿によってストレスを受けるためと思われる.

本菌によるキャベツの病害は本邦では未報告であり, 他の作物の本菌による病害に倣って, こうがいかび病と呼ぶことを提案し, 日本植物病名目録に承認, 登録された (日本植物病理学会, 2009).

Ⅲ 三重県内の育苗施設におけるキャベツセル成型苗の病害の発生実態と市販種子の病原菌による汚染実態

1 1997年8~11月に発生した病害

三重県津市内で, 1996年にある民間野菜育苗施設が営業を開始した. その2年目である1997年の8~11月にキャベツセル成型苗に発生する病害を調査した. 野菜苗の大規模なセル成型育苗における病害の調査は本邦初である. また, 野菜茶業研究所内で育苗されたキャベツセル成型苗についても, 病害発生の報告を受けた場合に診断を行った.

a 材料と方法

1) 育苗方法

調査した民間野菜育苗施設における育苗方法は以下の通りである. 128穴のセルトレイ (30×60×9 cm) にセ

ル成型育苗用培養土 (野菜養土 S, ヤンマー) を充填して播種し, 25℃の恒温器内に2~3日置いて催芽した. その後, ファイロンハウスに移し, 網式のベンチ上で育苗した (Fig. 21). 灌水には高圧の噴霧装置を用い, 培養土の乾燥状況に応じて行われた. 農薬の散布は, 灌水にも使用している噴霧装置を用いて, 病害の発生に応じて行われた. 野菜茶業研究所内で調査を行ったセル成型苗は, 同様のセルトレイ, 培養土を用い, ガラス室, ファイロンハウス, 昼間25℃夜間20℃に調整された培養室などにおいて, コンクリート床や網式ベンチ上で育苗された. 野菜茶業研究所では, ノズルによる手灌水か高圧噴霧装置を用いて灌水した. また, 野菜茶業研究所内では農薬の散布は行わなかった.

2) 病害発生の実態調査

民間施設での調査は1997年8月28日から11月27日まで1週間毎に行った. 発生状況は, おおよそセルトレイ1枚につき2~3箇所以上立ち枯れや萎れた苗が認められた場合を「多」, セルトレイ1~2枚に約1箇所を「中」, セルトレイ3~10枚に約1箇所を「少」, それ以下を「わずか」とした. 病原菌の診断は, 立ち枯れや生育不良となった苗を採取し, 光学顕微鏡下で罹病部位を観察して行った. 顕微鏡観察で不明であった場合には, 罹病組織をWA上に置いて生育した糸状菌をPSAに植え継ぎ, そこでの形態によって同定した. PSA上で特徴的な形態を示さなかった場合には, 水中で高圧滅菌したシバに分離菌のPSA培養片を接種して, 形成された形態から菌を同定した. 以上より, *Rhizoctonia solani* と同定された菌株は, そのPSA培養片と, 菌糸融合群が既知の菌株のPSA培養片をWA上で対峙培養して菌糸の融合性を調べた (「新版土壌病害の手引」編集委員会編, 1984). 先枯病は前述の通り菌分離, 同定, 病原性確認を行った. 野菜茶業研究所内で発見された病害の診断も同様に行った.

3) 診断

黒すす病菌 [*Alternaria brassicicola* (Schweinitz) Wiltshire] は分生子の形態 (Ellis, 1971; 吉井, 1941), ピシウム腐敗病菌 (*Pythium aphanidermatum*) は遊走子のうと有性生殖器官の形態 (一谷, 1992; 森ら, 1996; van der Plaats-Niterink, 1981), 根朽病菌 [*Phoma lingam* (Tode: Fries) Desmazières] は柄子殻と柄孢子の形態 (小林ら編, 1992; Sutton, 1980), 苗立枯病菌の1つである *Pythium megalacanthum* は有性生殖器官の形態, *Rhizoctonia solani* は菌糸の形態によって同定した (Fig. 22-1~5).



Fig. 21 Cabbage plug seedlings in a nursery in Mie prefecture, Japan.

1. Plug trays on benches.
2. Two-week-old plug seedlings.
3. One-week-old plug seedlings.

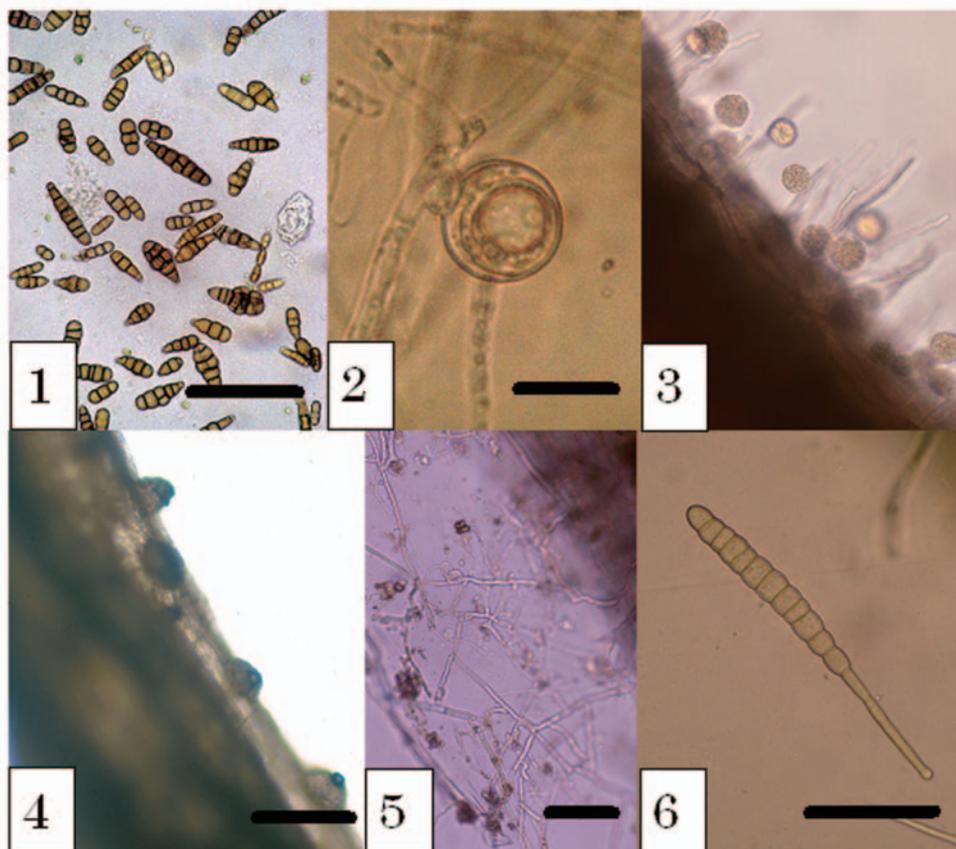


Fig. 22 Key for microscopic diagnosis of cabbage seedling diseases.

1. Conidia of *Alternaria brassicicola* (scale: 100 μ m).
2. Oogonium of *Pythium aphanidermatum* (scale: 20 μ m).
3. Zoospore proliferation of *Pythium aphanidermatum* on cabbage tissue.
4. Pycnidia of *Phoma lingam* in cabbage tissue (scale: 500 μ m).
5. Hyphae with right-angle branching of *Rhizoctonia solani* on cabbage tissue (scale: 100 μ m).
6. Conidium of *Alternaria brassicae* (scale: 100 μ m).

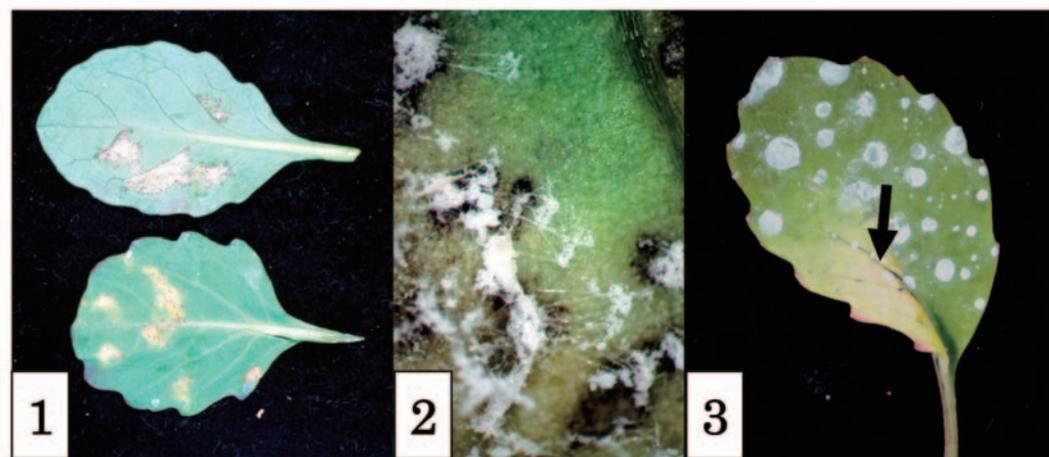


Fig. 23 Key for diagnosis of cabbage seedling diseases.

1. Lesion bordered by vein on upper surface (below) and under surface (upper) of cabbage leaves, caused by *Peronospora parasitica*.
2. Conidiophores of *Peronospora parasitica* on cabbage leaf.
3. Black lesion on vein surrounded by chlorosis, caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

b 結果と考察

秋冬穫りキャベツのセル成型育苗中に発生する病害では、黒すす病が8~11月の期間を通じて発生した。キャベツのセル成型苗における黒すす病の病徴は、最初、子葉に灰~黒色の病斑が形成され、やがて子葉の付け根から胚軸に黒色の病斑が拡大し、苗立ち枯れに至るのが典型的なものであった。本病は、同時に播種された各品種のトレイ群において一様に点在して発生した。9月中旬から10月初旬に育苗された品種‘如春’、‘金春’で多発生した (Fig. 24)。特に、10月初旬に播種された‘石井中早生’でも多発生し、この品種では発芽率も低かった。10月初旬に播種された‘石井3号’以外の品種においても、わずかずつ発生が認められた。野菜茶業研究所内でも、1997年8月に、ファイロンハウス内で育苗中のキャベツセル成型苗で、黒すす病により胚軸や子葉が灰~黒または赤褐色に枯れる被害が多発した。

本病の発生程度は品種によって大きく異なり、施設全体でまんべんなく発生していたことから種子伝染が疑われる (黒田ら, 1998)。また、本病は、激しい病徴に至り立ち枯れた苗から周辺の株にも伝染し、被害が拡大した。この施設では、高圧の噴霧灌水装置を用いて灌水を行っていたが、これが黒すす病菌の分生子の飛散を強く助長していたと考えられる。病徴を示していない苗でも、植物の表面上に黒すす病菌の分生子が認められることが多々あった。また、薬剤散布の際に添用される展着剤が黒すす病菌の分生子の植物体への付着を助長した可能性もある。病徴を光学顕微鏡観察すると、最初、くぼんだ

小斑点が拡大し、斑点上やその近傍に分生子が認められる。病徴が進展すると病斑上に茶褐色の分生子柄を形成し、多数の分生子が形成されるのが観察され、容易に診断できる。散布された殺菌剤の効果が認められ、薬剤散布後の一定期間は病勢の進展が止まる。本病は種子消毒の徹底と発生初期の薬剤散布により防除可能であると思われる。生育が進んだ苗の胚軸に発生した場合には、病斑が形成されても表面的なことが多く、立ち枯れまで至ることは少なかった。野菜茶業研究所内でも、高圧噴霧灌水を行っているハウス内で夏季に多発生した。

1996年4月に野菜茶業研究所内のガラス温室のコンクリート床に置かれたキャベツセル成型苗の品種‘松波’で、*Pythium megalacanthum* による苗立枯病が認められた。民間育苗施設においても1997年10月9日以降、*Pythium megalacanthum* による苗立枯病の発生が認められ、気温の低下に伴ってやや増加し、同一トレイ内で立ち枯れ株が増加した。前述の通り、本病の病徴は、最初、水浸状に胚軸部が腐敗して、乾燥すると白色になり、さらに病徴が進展すると苗全体が黄化して倒伏する。罹病組織を光学顕微鏡観察すると、大型で突起のある特徴的な卵胞子が多数認められ、容易に診断できる。本病は、少数の苗から発生し、同一トレイ内に罹病株が点するように二次伝染した。別のトレイの株への伝染はないものと思われた。一方、罹病組織を水に浸けると遊走子を形成することから、イネ用の育苗箱の上に置かれたトレイ内で、水を介して伝染していることが推測される。第II章の通り、*Pythium megalacanthum* の生育適温

は 25℃であるにも関わらず、同菌によるキャベツでの発病適温は 10℃であり、育苗施設においても、10 月以降の低温期でのみ発病が認められた。

民間育苗施設で主に発生した病害は黒すす病と *Pythium megalacanthum* による苗立枯病であったが、これらの他に根朽病菌, *Rhizoctonia solani* (培養型 I A) による苗立枯病, *Fusarium avenaceum* による先枯病, *Fusarium semitectum* による先枯病によって立ち枯れた苗が、調査期間中に 1 株ずつ認められた。根朽病は野菜茶業研究所内でも 8 月に 1 株で発見され、種子伝染が疑われた。本病の病徴は胚軸が白褐～茶褐色に乾腐し、罹病部に赤褐～黒褐色の球～楕円形やフラスコ

型の柄子殻が形成されることから診断できる (小林ら編, 1992; Sutton, 1980)。根朽病の二次伝染は認められなかった。*Rhizoctonia solani* による苗立枯病では胚軸部が褐色、水浸状に腐敗する。同菌は罹病組織を培地上に置くと容易に分離され、その菌糸は垂直に分枝し、分枝の基部がくびれているのが特徴である (「新版土壌病害の手引」編集委員会編, 1984)。

野菜茶業研究所では前出の病害の他に、8 月に *Pythium aphanidermatum* によるピシウム腐敗病が 2 枚のセルトレイで発生した。本病は同一トレイ内で急速に二次伝染し、1~2 日のうちに立ち枯れ株が急増する。病徴は、胚軸が水浸状に侵され、苗全体が萎れる。やや

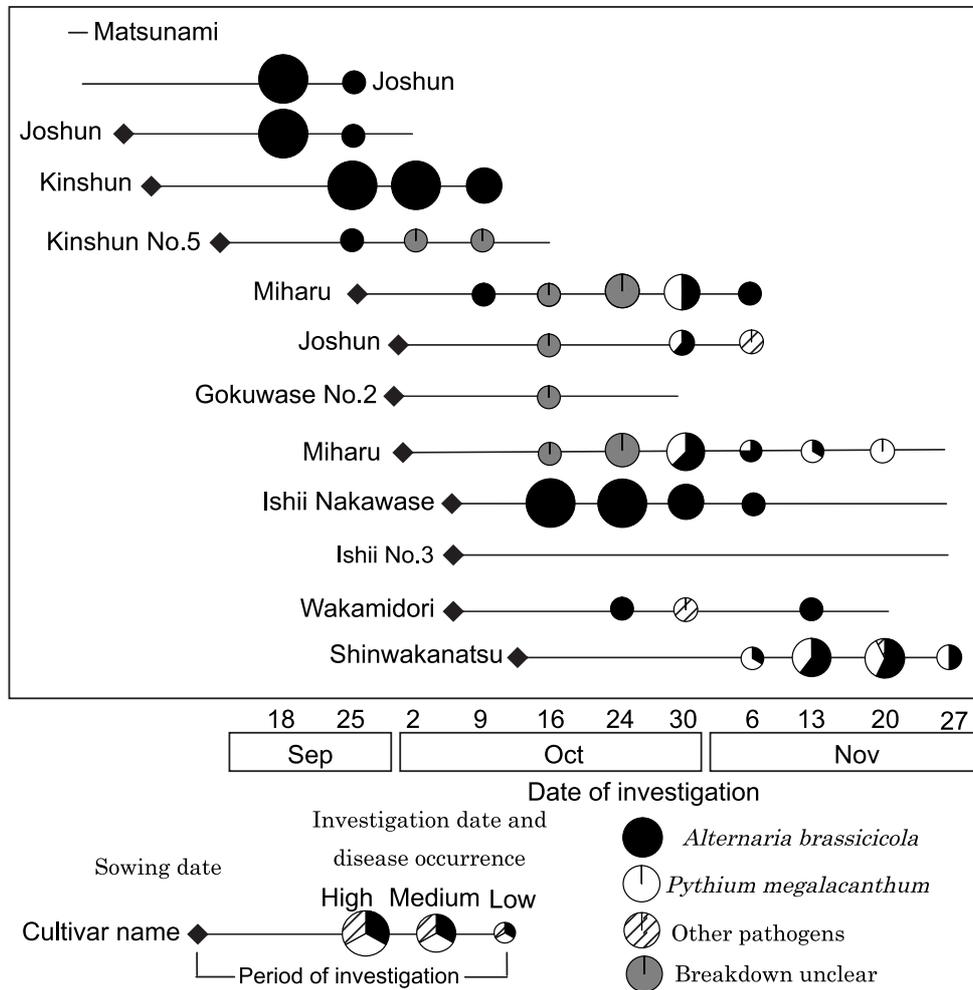


Fig. 24 Occurrence of damping-off and blight of cabbage plug seedlings between August and November 1997. Weekly observations were recorded for cabbage plug seedlings in a nursery in Mie prefecture, Japan. Seeds of each cultivar were sown on days shown (◆) and diseases were checked during the periods shown by bars. Circles on the bars show date of the investigation, and degrees of damping-off and blight occurrence are indicated by size. 'High' means >1 seedling damped-off or blighted per tray of 128 plugs, 'Medium', one seedling per 2-10 trays, and 'Low', one seedling for >10 trays. Patterns in the circles show relative proportions of different pathogens.

乾燥すると、罹病部がくびれて白色に乾腐する。この病徴は *Pythium megalacanthum* による苗立枯病と同様である。ピシウム腐敗病の罹病部を水に浸けると数時間のうちに、膨状の遊走子のうから、球のう、そして遊走子を分化させるのが観察できる。また、罹病組織内には直径約 $25\mu\text{m}$ の球状の卵胞子も観察できる。

民間育苗施設においては、8月中頃に葉に、葉害によると思われる赤褐色斑点が形成された株が多数認められた。

2 1998年1~3月に発生した病害

前出の民間野菜育苗施設において1998年1~3月の冬間に育苗されたキャベツセル成型苗に発生する病害を調査した。

a 材料と方法

栽培方法、調査方法は前出の1997年8~11月と同様であったが、1998年1~3月では、施設内の最低温度が 10°C を下回らないよう暖房が行われた。また、この期間に育苗された品種は‘SE’のみであった。播種は1月12~14日に128穴のセルトレイ2,626枚、1月27日に800枚、2月2日に555枚、2月26日に242枚行われた。今回の調査では、立ち枯れや生育不良となった苗を採取し、1997年8~11月と同様に、罹病組織の光学顕微鏡

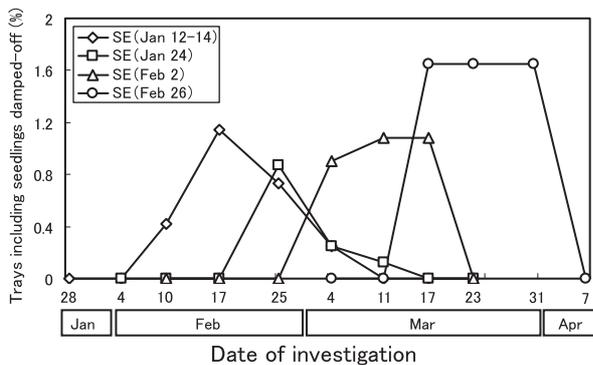


Fig. 25 Damping-off of cabbage plug seedlings caused by *Pythium megalacanthum* between January and April 1998. Weekly observations were recorded for cabbage plug seedlings in a nursery in Mie prefecture, Japan. Seeds of a cultivar ‘SE’ were sown on dates shown in parenthesis. For seedlings from each sowing date, damping-off caused by *P. megalacanthum* is expressed as a percentage by dividing the number of affected trays by the total number of trays. Each tray includes 128 plugs.

観察または病原菌の分離によって診断し、トレイ当たりの立ち枯れ、生育不良苗の割合も求めた。また、1997年8~11月には発生しなかったべと病の発生が認められたことから、葉裏の病斑上にできた、べと病菌に特徴的な分生子の形態を光学顕微鏡で観察して診断を行った (Fig. 23-1, 2)。

b 結果と考察

今回の調査では *Pythium megalacanthum* による被害が大きく、発病トレイ率は約1%以上に達した (Fig. 25)。各播種日毎に、トレイ1枚当たりの発病苗数を平均すると、3~18株であったが、発病株率が高いトレイでは最終的に半数以上の苗が立ち枯れた。本病の発生は播種後4~5週間でピークとなった。

黒すす病は、前出の8~11月と比較して発生が少なく、1~2月については、トレイ当たりの立ち枯れ株数はほぼ0であったが、気温が上昇した3月後半にやや増加して0.05となった (Fig. 26)。

気温が発病適温の 15°C に達した3月から、べと病による、坪状の苗の黄化や生育不良、立ち枯れ株を含むパッチが認められ、拡大した。また、調査期間中に、根朽病により2株、*Fusarium avenaceum* による先枯病によって1株の立ち枯れが認められた。

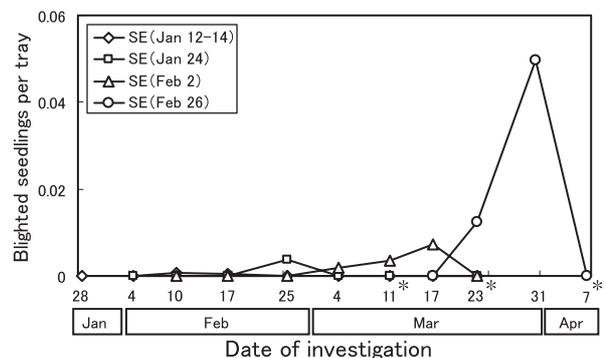


Fig. 26 Blight of cabbage plug seedlings caused by *Alternaria brassicicola* and outbreaks of downy mildew disease between January and April 1998. Weekly observations were recorded for cabbage plug seedlings in a nursery in Mie prefecture, Japan. Seeds of a cultivar ‘SE’ were sown on dates in parenthesis. Total numbers of blighted seedlings caused by *A. brassicicola* were divided by the numbers of trays, with data grouped by dates of sowing. Each tray includes 128 plugs. Dates of downy mildew outbreak are indicated by asterisks (*).

3 1998年8月～1999年3月に発生した病害

前出の育苗施設のキャベツセル成型育苗において発生する病害について、1998年8月～1999年3月に2年目の調査を行った。

a 材料と方法

育苗は1997年8月～1998年3月と同様に行われ、調査も1998年1～3月と同様に行った。今回は、育苗苗数が多かったため、全トレイの約半数のトレイについて調査を行った。1997年8月～1998年3月で発生が認められず、今回の調査で発生が認められた黒斑病は、罹病組織に形成された分生子の形態により診断した (Ellis, 1971; 吉井, 1941) (Fig. 22-6)。

b 結果と考察

1998年8～11月の調査で最も被害が大きかった病害は黒すす病であった。同病は3回播種された‘如春’、‘T684’と‘石井3号’での発生が多く、最高でトレイ当たり2.5株が立ち枯れた (Fig. 27)。今回の調査では、胚軸の地際部が褐色に侵されて立ち枯れた株が多かつ

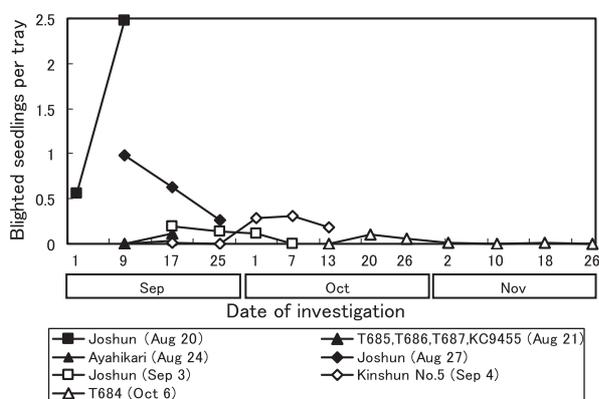


Fig. 27 Blight of cabbage plug seedlings caused by *Alternaria brassicicola* between August and November 1998. Weekly observations were recorded for half of the cabbage plug seedlings in a nursery in Mie prefecture, Japan. Seeds of cultivars were sown on dates in parenthesis. For seedlings from each sowing date, total numbers of blighted seedlings caused by *A. brassicicola* were divided by numbers of trays. Each tray includes 128 plugs. Numerical values for cultivars, ‘Shibuki’ (Jul 23), ‘Matsunami’ (Jul 28), ‘Matsunami’ (Aug 8), ‘Matsunami’ (Aug 11), ‘Kinshun No. 5’ (Sep 7), ‘Kinshun No. 5’ (Sep 14), ‘Miharu’ (Sep 30), ‘Miharu’ (Oct 2), ‘Gokuwase’ (Oct 2), ‘Ishii-nakawase’ (Oct 5), ‘Ishii No. 3’ (Oct 6) and ‘Miharu’ (Oct 12) were less than 0.1 and omitted.

た。これらの品種では、立ち枯れに至らない場合でもほとんど全ての苗に何らかの病徴が現れ、発芽率も低く、欠株が目立ったため、出荷時には欠株や罹病株を培養土ごと取り去り、健全な苗を植え換えてから出荷していた。1997年8～11月の調査でも、本病について、特定の品種で発生が多く、種子伝染の可能性が高い (黒田ら, 1998)。

長雨により高温多湿の条件が長期間続いた1998年9月後半～10月前半に育苗された‘金春5号’でも坪状に黒すす病が認められ、トレイ当たりの立ち枯れ株数が0.3と多発生し、生育が進んだ苗でも株全体が褐変して枯死した。通常、本葉3～4枚以上の苗には黒すす病による激しい病徴は認められないが、この期間には生育が進んだ苗にも、株全体が褐色に枯れる被害が認められ、さらに、隣接した苗に伝染して罹病苗が坪状に広がるのが認められた。これらの苗では、本葉や成長点に病斑が広がり、生育不能となった。この病徴は、罹病苗との接触や頭上灌水によって分生子が飛散した結果と思われる。通常、キャベツ本葉はワックス層で覆われるため水滴などが付着しにくい、農薬に混入された展着剤により、病原菌の胞子を含んだ水滴が付着しやすくなり、発病に至った可能性がある。

黒すす病の発生は、11月～3月の低温期ではトレイ当たりの立ち枯れ株数は0.1未満で少なく、本病は低温時には発生しにくいと考えられる。この期間の黒すす病による立ち枯れ株率は、1998年の同期と同様であった。

*Pythium megalacanthum*による苗立枯病は、主として10月以降の低温期に発生し、特に1999年2～3月に発生が激しかった (Fig. 28)。発生トレイ率は最大で1.5%であったが、1枚のトレイ内で最終的に3分の2の苗が立ち枯れた場合もあった。1～3月における本病の発生トレイ率は前年の調査とほぼ同様であった。本病は同一トレイ内で継続して罹病苗を増加させることから、トレイ内で二次伝染していると思われる。本病は10～3月の低温期に発生したが、1997年よりも気温が高く推移した1998年10～11月では (津地方気象台, 1997～1999), 1997年の同時期と比較して発生が少なかった。

べと病は1999年3月24日以降、2月1日播種の‘SE’の数カ所で坪状に発生が認められた。この時期には、日最高気温 (津地方気象台, 1997～1999) が本病の発病適温である15℃に達する。本病は坪状に発生し、本葉、子葉に病斑が形成され生育不良となる。成長点が侵された場合には、立ち枯れとなる。本病でも、葉の病斑に形成された分生子が、高圧噴霧頭上灌水によって飛

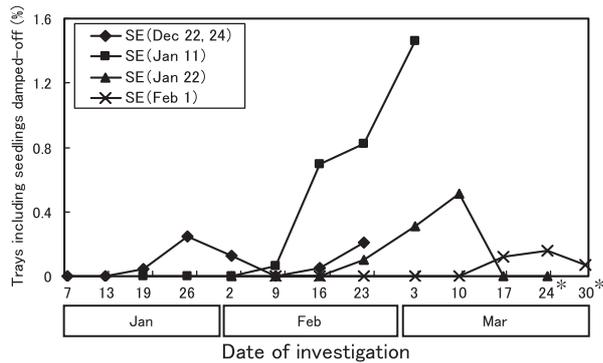


Fig. 28 Damping-off of cabbage plug seedlings caused by *Pythium megalacanthum* and outbreaks of downy mildew disease between January and March 1999. Weekly observations were recorded for cabbage plug seedlings in a nursery in Mie prefecture, Japan. Seeds of a cultivar 'SE' were sown on dates in parenthesis. For seedlings from each sowing date, damping-off caused by *P. megalacanthum* is expressed as a percentage by dividing the number of affected trays by the total number of trays. Each tray includes 128 plugs. Dates of downy mildew out-break are indicated by asterisks (*).

散して、二次伝染したと考えられる。

子葉から成長点に発見された先枯病のうち 1998 年 8 月 19 日、10 月 1 日と 20 日は *Fusarium semitectum*, 8 月 26 日は *Fusarium avenaceum* によるものであった。先枯病は発生件数、発生株率とも低いものの 1997 年の調査から数回の発生が認められた。本病害では、成長点が侵された場合に、苗が生育不良となる。また、先枯病菌は、黒すす病の病斑上から分離されることもあり、日和見的に感染している場合もあると考えられる。

Rhizoctonia solani による苗立枯病は、1997 年の調査と同様に発生件数は少なかったが、1998 年 9 月 25 日～10 月 13 日に発生したものは菌糸融合群 AG 2-2 培養型 III B によるもの、10 月 20 日に発生したものは AG 1 培養型 I B によるものであり、それぞれ同一トレイ内の隣接した株で発生し、二次伝染が疑われた。これらの *Rhizoctonia solani* の培養型は III B と I B であり、1997 年の調査で認められた I A とは異なった。*Rhizoctonia solani* は、通常胞子を形成せず移動性が小さい菌であることや、発生頻度が小さく、異なった培養型の菌が認められたことから、トレイの育苗施設と圃場との往復などにより、持ち込まれたと推測される。

黒斑病が 1999 年 2 月 9 日と 23 日に 1 株ずつ発見され、本施設における本病の発生は今回の調査で初めてであ

た。黒斑病菌は黒すす病菌と同じ *Alternaria* 属菌であり、種子伝染することが知られているが、黒すす病よりも低い温度で発生すると考えられる。

1998 年 8 月 11 日に認められた立ち枯れ株には、第 II 章で述べた通り、*Pythium zingiberis* によるものが含まれていた。本菌によるキャベツの病害は初発見であった。

以上の病害の他に、1999 年 2 月 2 日に立ち枯れた 1 株は、土壌や胚軸の表面を覆った粘菌により窒息したものと思われた。病原性のある菌が分離されず、原因不明な立ち枯れ株もあった。夏季には薬害、育苗期間を通じて乾燥によって枯死する株が認められた。

今回の調査においても、細菌による病害は認められなかった。この育苗施設では銅剤を散布しているため、1998 年の秋期は高温多湿条件が続いたにも関わらず、細菌病の発生が抑えられていた可能性がある。

4 2004 年 8 月～2005 年 3 月に発生した病害

第 1～3 節では運営開始直後の育苗施設のキャベツセル成型苗に発生した病害を調査した。それらの調査結果と、同施設の経年後におけるキャベツセル成型苗の病害発生状況を比較するために、2004 年 8 月～2005 年 3 月に、同施設で 1998～1999 年と同様に病害発生の実態調査を行った。

a 材料と方法

育苗施設におけるキャベツセル成型苗の育苗方法は、前回調査時の 1997～1999 年とほぼ同様であった。発病苗の調査方法も、前回と同様としたが、今回は、分離した菌の形態形成を盛んにするために、PSA の他に V 8 寒天培地 {20% V 8 ジュース (Campbell Soup), 3 ppm CaCO₃, 1.5% 寒天} も用いて、分離菌を培養し、形態観察、同定を行った。既知の病原菌 (日本植物病理学会編, 2000) 以外の糸状菌が分離された場合には、同菌の PSA 培養片を、子葉展開期のキャベツ幼苗の子葉に置いて 4 日間、25°C の湿室に保った後、病徴を観察して同菌の病原性を調べた。

b 結果と考察

調査期間中は黒すす病が最も多く発生し、8～11 月は品種によってトレイ当たり約 0.4 株、1～3 月には 0.1 株が黒すす病によって枯死または生育不良となった (Fig. 29)。生育被害にまでは及ばない程度の黒すす病の病斑が認められた苗も多数あった。以上の調査結果は 1997～1999 年

の調査と同様であった。根朽病が作期を通してわずかずつ、計 12 株で発生したが、これも前回の調査と同様であった。こういかび病と *Pythium aphanidermatum* によるピシウム腐敗病が 8~10 月に計 3 株、*Pythium megalacanthum* による苗立枯病が 10~3 月に計 10 株で発生した。*Pythium megalacanthum* による苗立枯病の発生は 1997~1999 年の調査より少なかった。*Pythium* 属菌による病害は、水を介して急速に伝染するが、調査期間を通じて乾燥気味に管理されていたためか、発生はわずかであった。本調査中、9 月下旬と 10 月上旬に大雨により施設が 2 回浸水し、その後に *Pythium ultimum* var. *ultimum* による病害が発生した。同菌は浸水により、施設内に侵入したと思われる。本菌によるキャベツの病害は国内では初発見であった。黒腐病が 3 月に発生し、種子伝染が疑われた。セル成型苗における同病の病徴では、導管に沿った葉の半身が黄化し、葉柄や茎に小病斑ができた (Fig. 23-3)。光学顕微鏡下では、罹病組織を水に浸けると、導管の断面から細菌が大量に流出するのが観察された。本病も、セル成型苗での発生は今回初めて認められた。黒斑病は 1 株のみであるが発生が認められた。前回発生が認められた先枯病、べ

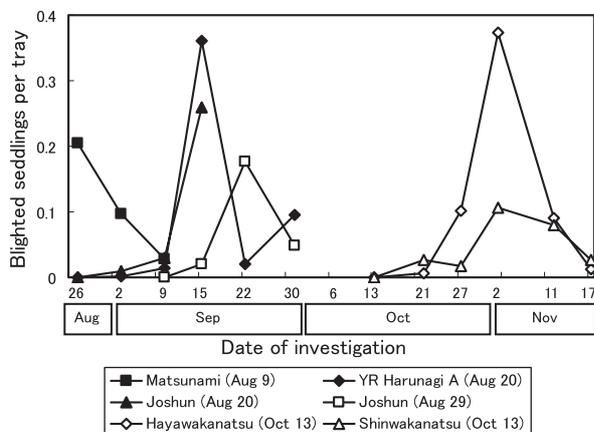


Fig. 29 Blight of cabbage plug seedlings caused by *Alternaria brassicicola* between August and November 2004. Half of the cabbage plug seedlings in a nursery in Mie prefecture, Japan, were observed once a week. Seeds of cultivars were sown on dates in parenthesis. For seedlings from each sowing date, total numbers of blighted seedlings caused by *A. brassicicola* were divided by numbers of trays. Each tray includes 128 plugs. Numerical values for cultivars, 'Fuyunobori' (Aug 15), 'Tamaki No. 155' (Aug 15), 'Tamaki No. 155' (Aug 23), 'Joshun' (Sep 3), 'Miharu' (Oct 4) and 'Wakaokami' (Oct 13) were less than 0.1 and omitted.

と病、*Rhizoctonia solani* および *Pythium zingiberis* による苗立枯病は発生が認められなかった。前回の調査時とは異なり、施設への関係者以外への出入が制限されたことにより、これらの苗立枯病菌や先枯病菌の侵入が抑えられた可能性がある。べと病の発生状況の違いは種子の汚染程度によるものと考えられる。

以上より、キャベツのセル成型育苗では、栽培される品種は若干変化しているものの、依然として種子伝染性病害が発生し、特に黒すす病が多発生していること、育苗期の違いにより、異なる種の *Pythium* 属菌による病害が発生していることが示された。

今回の調査では高温期に銅剤によると思われる薬害で多数の株が立ち枯れ、それらから、キャベツ子葉への人工接種によって 25%以上の割合で病斑を形成する糸状菌 3 菌株が分離された。それらのうち 2 菌株は *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., 他の 1 菌株は *Curvularia harveyi* Shipton と同定された (Ellis, 1971)。また、組織の観察等では原因不明であった生育不良苗から、キャベツ子葉への人工接種によって同様に病斑を形成する糸状菌 2 菌株が分離され、*Alternaria alternata*, *Penicillium* 属菌とそれぞれ同定された (Ellis, 1971; 小林ら編, 1992)。これらの菌によるキャベツ病害の報告はなく、生産現場において生育不良と枯死の第 1 要因となり得るかは不明である。薬害や原因不明の生育不良株から他の糸状菌も多数分離されたが、キャベツ子葉に対する病原性が認められた菌はなかった。

5 新病原以外の病原菌の菌生育と発病の適温

調査中に発生が認められた主な病害のうち、第 II 章において詳細な検討がなされた新病原以外の病原菌の温度特性を調べた。

a 材料と方法

1) 病原菌の生育適温

1997 年 8 月に野菜茶業研究所のキャベツセル成型苗から分離した黒すす病菌、*Pythium aphanidermatum*, 根朽病菌と民間育苗施設のキャベツセル成型苗から 1997 年 10 月に分離した *Rhizoctonia solani* 培養型 I A, 1998 年 10 月に分離した培養型 III B と I B, 1999 年 2 月に分離した黒斑病菌の、直径 5 mm の培養片を PSA 上、10, 15, 20, 25, 30, 35 と 40°C で培養して、それらの菌株の菌叢生育速度を調べた。

2) 根朽病の発病適温

前出の根朽病菌菌株の PSA 培養片を水中で振とうし

た後、2重のガーゼで濾過して分生子懸濁液を得た。遠心分離と希釈により 10^6 個/ml の同菌の分生子懸濁液を調整し、子葉展開期のキャベツ幼苗の子葉に噴霧して接種した。接種された幼苗を10日間、10、15、20、25、30と35°Cの温室に保った後の病徴を調査した。

3) 黒すす病の発病適温

前出の黒すす病菌菌株のPSA上の菌叢を水に浸してガラス棒でこすり、分生子懸濁液を得た。遠心分離と希釈により 10^6 個/ml の同菌の分生子懸濁液を調整し、子葉展開期のキャベツ幼苗の子葉に5 μ lを滴下して接種した。接種された幼苗を4日間、10、15、20、25、30と35°Cの温室に保った後、さらに開放条件に、各温度で4日間置いた後の病徴を調査した。

4) 黒斑病の発病適温

前出の黒斑病菌菌株のPSA上の菌叢をガラス棒でこすって分生子、菌糸片の懸濁液を得た。この懸濁液を子葉展開期のキャベツ幼苗の子葉に噴霧して10日間、10、15、20、25、30と35°Cの温室に保った後の病徴を調査した。

5) *Pythium aphanidermatum* と *Rhizoctonia solani* による発病適温

前出の *Pythium aphanidermatum* と *Rhizoctonia solani* の菌株の約5mm角のPSA培養片を、子葉展開期のキャベツ幼苗の胚軸に付着させて、6日間、10、15、20、25、30と35°Cの温室に保った後の病徴を調査した。

b 結果と考察

根朽病菌の生育適温は25°Cで、40°Cではほとんど生育しなかった (Fig. 30 A)。また、根朽病は20~30°Cで子葉における病斑形成率が大きくは変わらなかったが、子葉が枯れるまで病勢が進展した苗は25°Cで最も多くなった (Fig. 30 B)。10°Cでは発病しなかった。

黒すす病菌の生育適温は25°Cで、40°Cでは生育しなかった (Fig. 31 A)。黒すす病は病斑形成率、子葉枯死率とも25°Cで最も高く、15、30°Cでも子葉に病斑をよく形成したが、10°Cではほとんど病斑形成しなかった (Fig. 31 B)。黒斑病菌の生育適温は20°Cで、35°Cでもほとんど生育しなかった (Fig. 32 A)。黒斑病菌の病斑形成率は20°Cで最も高くなり、10°Cでもよく病斑形成したが、30と35°Cではほとんど病斑形成しなかった (Fig. 32 B)。黒すす病菌と黒斑病菌はともに *Alternaria* 属菌であり、種子伝染するが、生育、発病適温は黒斑病菌の方が低く、セル成型苗における発生状況に影響していると思われる。

Pythium aphanidermatum の生育適温は35°Cで、40°Cでも旺盛に生育した (Fig. 33 A)。また、*Pythium aphanidermatum* を胚軸に接種した場合には、20°Cで立ち枯れた苗がなかったが、35°Cで90%の苗が立ち枯れ、最も立ち枯れ率が高く (Fig. 33 B)、キャベツセル成型苗においても本菌による病害の発生は高温期に限られた。

Rhizoctonia solani の培養型 I A、I B、III B の生育

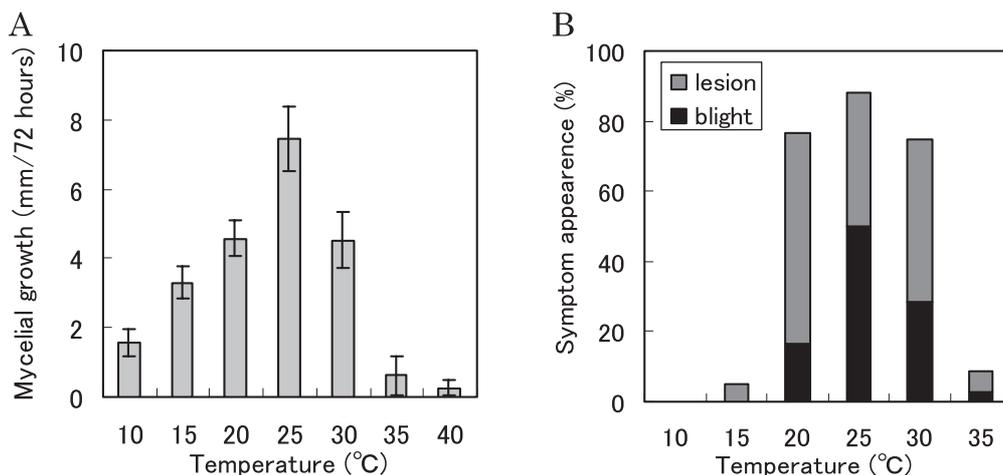


Fig. 30 Effect of temperature on mycelial growth of *Phoma lingam* on PSA (A), and disease severity (B) on cabbage cotyledons. Colony diameters were measured after 2-day incubation of fungal mycelial discs (5-mm diameter) at 25°C. Colonies were then moved to each of the indicated temperatures for a further 72 hours incubation. Colony diameters were again measured and mycelial growth was calculated. Cabbage seedlings were inoculated by spraying with conidial suspension of the fungus and then kept at each temperature with moisture. Symptoms on the cotyledons were observed 10 days after the inoculation.

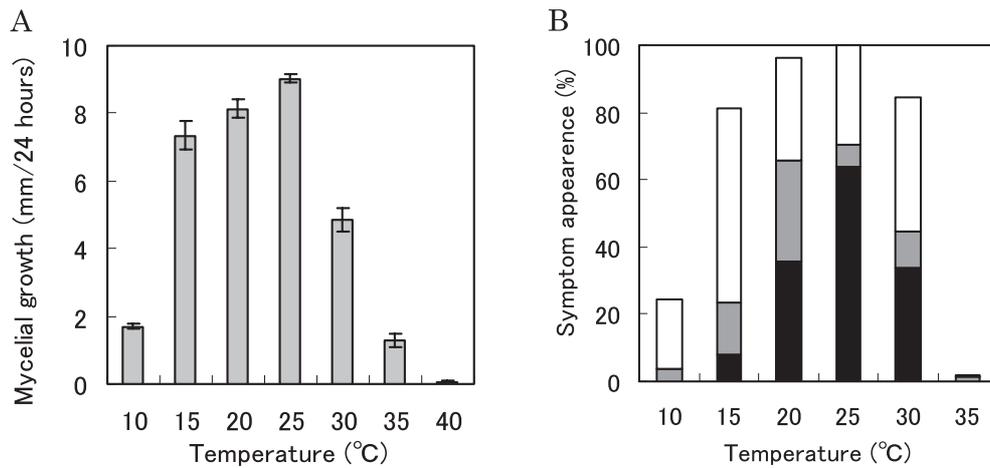


Fig. 31 Effect of temperature on mycelial growth of *Alternaria brassicicola* on PSA (A), and on disease severity (B) caused by the fungus on cabbage cotyledons. Colony diameters were measured after a 2-day incubation of fungal mycelial discs (5-mm diameter) at 25°C. Colonies were then moved to each of the indicated temperatures for a further 24 hours incubation, after which colony diameters were again measured and mycelial growth was calculated. Cabbage cotyledons were inoculated by dropping on 5 μ l of conidial suspension of the fungus, then kept moist at each temperature. Symptoms on the cotyledons were observed 8 days after the inoculation. Symptoms were judged as dots (\square), lesions (\blacksquare) or blight (\blacksquare).

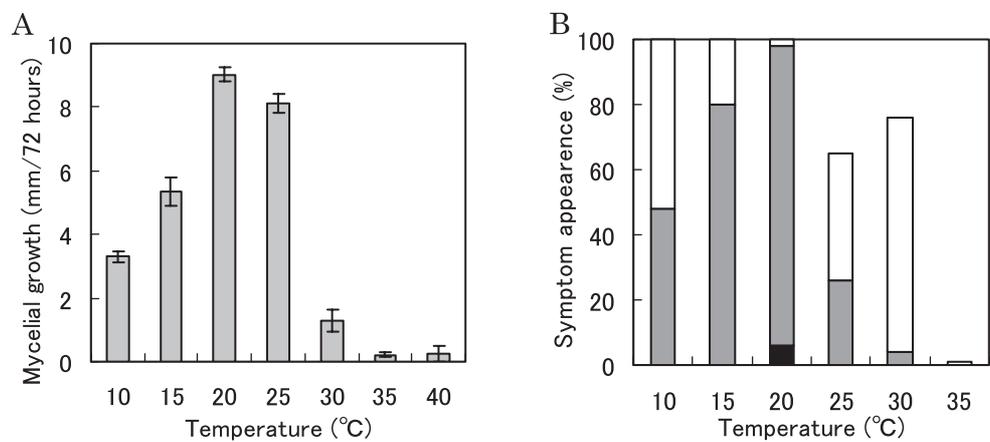


Fig. 32 Effect of temperature on mycelial growth of *Alternaria brassicae* on PSA (A), and on disease severity (B) caused by the fungus on cabbage seedlings. Colony diameters were measured after a 2-day incubation of fungal mycelial discs (5-mm diameter) at 25°C. Colonies were then moved to each of the indicated temperatures for a further 24 hours incubation, after which colony diameters were again measured and mycelial growth was calculated. Cabbage seedlings were inoculated by spraying with a hyphal suspension of the fungus and then kept moist at each temperature. Symptoms on the cotyledons were observed 6 days after the inoculation. Symptoms were judged as dots (\square), lesions (\blacksquare) or blight (\blacksquare).

適温はいずれも 25~30°Cであったが、ⅢB の生育適温がやや高いと思われた (Fig. 34 A, 35 A, 36 A). いずれの菌株でも 35°Cでは生育が劣り、40°Cでは生育しなかった. 培養型ⅢB以外の菌株では 10°Cでの生育が認められた. また、3つの培養型とも 25と 30°Cで立ち枯れ率がほぼ 100%であった (Fig. 34 B, 35 B, 36 B).

培養型 I A と I B では 35°Cでの立ち枯れ率が 30%前後となるのに対して、ⅢB では 100%近くであった. 15°Cでは I B が約 80%の苗に立ち枯れを起こし、他の 2 菌株の約 60%よりも立ち枯れ率が高かった. *Rhizoctonia solani* は 3つの培養型が育苗施設で苗立ち枯れを起こしたが、若干、温度反応が異なり、ⅢB はやや高温、

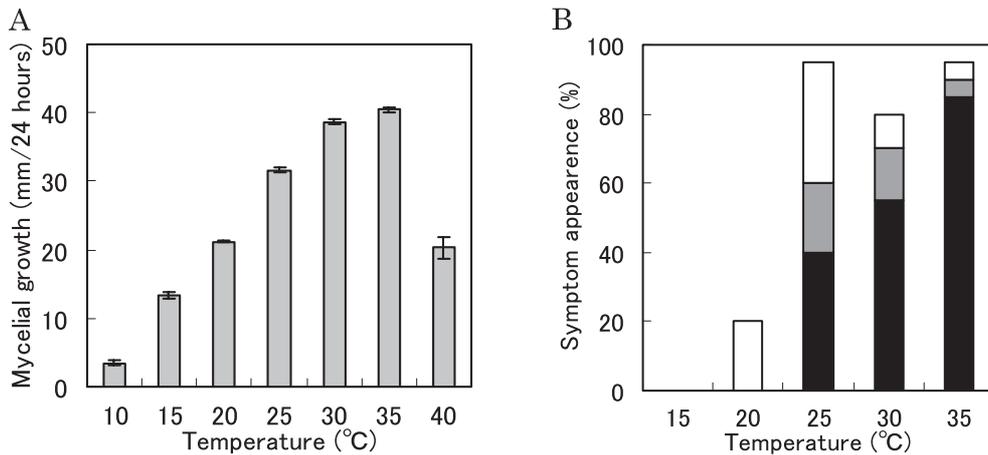


Fig. 33 Effect of temperature on mycelial growth of *Pythium aphanidermatum* on PSA (A), and on disease severity (B) caused by the fungus on cabbage seedlings. Colony diameters were measured after 12-hours incubation of mycelial discs (5-mm diameter) of the fungus at each temperature, and mycelial growth was calculated. Hypocotyls of cabbage seedlings were inoculated with mycelial discs (5×5 mm) of the fungus and then kept moist at temperatures shown. Symptoms on the hypocotyls were observed 6 days after the inoculation. Symptoms were judged as dots (□), lesions (■) or damping-off (■).

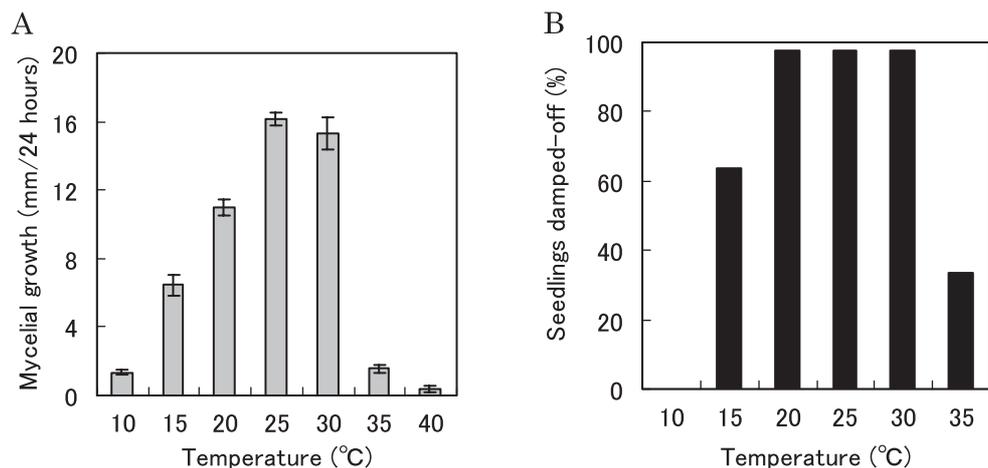


Fig. 34 Effect of temperature on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* IA on PSA (A), and on damping-off (B) of cabbage seedlings. Colony diameters were measured after a 1-day incubation of fungal mycelial discs (5-mm diameter) at 25°C. Colonies were then moved to each of the indicated temperatures for a further 24 hours incubation, after which colony diameters were again measured and mycelial growth was calculated. Cabbage hypocotyls were inoculated with mycelial discs (5×5 mm) of the fungus and then kept moist at temperatures shown. Seedlings damped-off were counted 6 days after the inoculation.

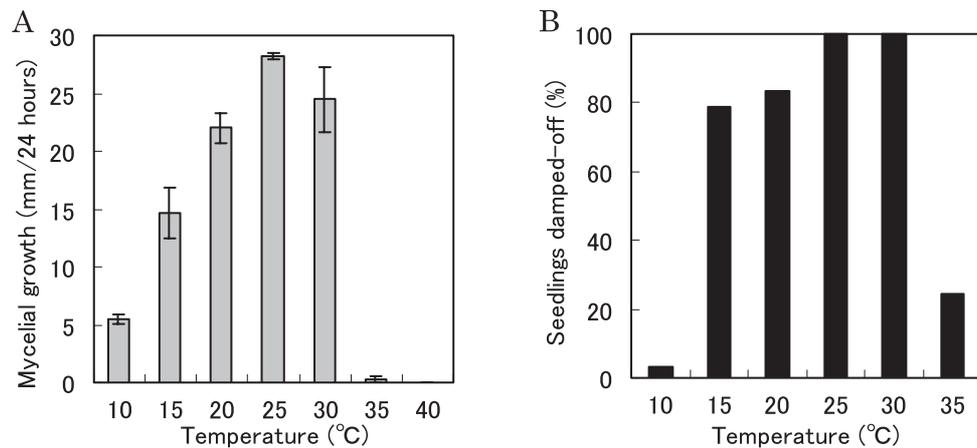


Fig. 35 Effect of temperature on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* IB on PSA (A), and on damping-off (B) of cabbage seedlings. Colony diameters were measured after a 1-day incubation of fungal mycelial discs (5-mm diameter) at 25°C. Colonies were then moved to each of the indicated temperatures for a further 24 hours incubation, after which colony diameters were again measured and mycelial growth was calculated. Hypocotyls of cabbage seedlings were inoculated with mycelial disc (5×5 mm) of the fungus and then kept moist at temperatures shown. Seedlings damped-off were counted 6 days after the inoculation.

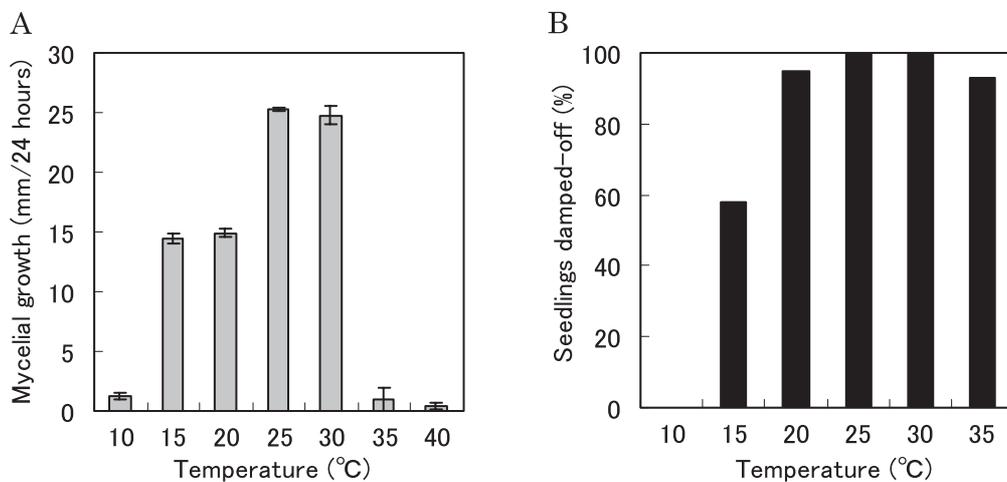


Fig. 36 Effect of temperature on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* IIIB on PSA (A), and on damping-off (B) of cabbage seedlings. Colony diameters were measured after a 1-day incubation of fungal mycelial discs (5-mm diameter) at 25°C. Colonies were then moved to each of the indicated temperatures for a further 24 hours incubation, after which colony diameters were again measured and mycelial growth was calculated. Hypocotyls of cabbage seedlings were inoculated with mycelial disc (5×5 mm) of the fungus and then kept moist at temperatures shown. Seedlings damped-off were counted 6 days after the inoculation.

IB はやや低温でも病害を発生させると思われ、季節によって異なる培養型が苗木枯病を起こす可能性がある。

6 国内で市販されたキャベツ種子の糸状菌による汚染状況

本研究からキャベツのセル成型育苗で黒すす病などの種子伝染病害が多発生することが示された。世界的には *Alternaria brassicicola* (黒すす病菌) により 50% 以上の種子が汚染されたロットも報告されている (Humpherson-Jones, 1985; Petrie, 1974; Richardson, 1970; Tahvonon, 1979; Wu, 1979; Wu ら, 1984)。国内産のキャベツ種子からも同菌が分離されることが Tohyama ら (1995) によって報告されているが、我が国では、一般的に微生物による種子の汚染状況に関する情報が少ない。作物の種子消毒や初期生育時期に適切に病害防除を行うためには、種子伝染性病原菌による汚染率やその菌種に関する情報が必要である。ここでは、国内で市販されたキャベツ種子ロットを、採種地、あるいは殺菌剤処理の有無や保存期間の長さによってグループ分けして、黒すす病菌を中心とした糸状菌病原菌による汚染率を調査した。

a 材料と方法

1) 糸状菌の分離

日本国内で市販されていた 123 ロットのキャベツ種子を、1984~89 年産で殺菌剤無処理、12~17 年間冷蔵された 65 ロット、1984~89 年産で殺菌剤処理され 12~17 年間冷蔵された 18 ロット、1994~98 年産で殺菌剤処理され、または無処理で 3~7 年間冷蔵されたそれぞれ 10 ロット、2001 年産で殺菌剤処理され 4 カ月間冷蔵された 9 ロット、殺菌剤無処理の 11 ロットにグループ分けした (Table 4)。各ロットから 100 粒を WA に置き、25°C で 6 日間培養した。培養期間中に、各種子について

最も優占的に生育した糸状菌を PSA に移植した。2001 年産の種子からは、16 と 28 カ月の冷蔵後にも菌の分離を行った。

2) データ解析

糸状菌による各グループのロットの汚染率、各ロットにおける種子の糸状菌による汚染率と、分離された全糸状菌に対する黒すす病菌の割合を調査した。生産時期と殺菌剤処理の有無でグループ分けされたロットの糸状菌による汚染率を二項分布に近似し、95% の信頼区間を求めた。各ロットにおける種子からの糸状菌または黒すす病菌の分離率を生産時期と殺菌剤処理の有無によるグループ毎に平均し、スチューデントの t 検定と Bonferroni の多重検定によって有意差検定 ($P < 0.05$) した。また、各ロットの種子における黒すす病菌の分離率を生産地域毎に平均し (Fig. 37)、 t 検定または Bonferroni の多重検定によって有意差検定 ($P < 0.05$) した。黒すす病菌の全分離菌に対する割合を、生産時期と殺菌剤処理の有無によるグループ毎に平均し、二項分布に近似して 95% の信頼区間を求めた。2001 年産種子の 4、16 と 28 カ月冷蔵後の全糸状菌と黒すす病菌分離率を二項分布に

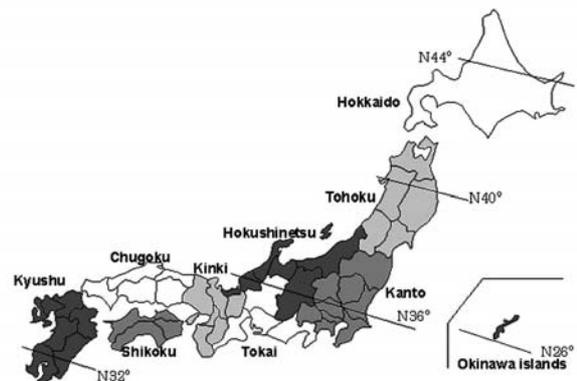


Fig. 37 Location of seed production districts in Japan.

Table 4 List of cabbage seed lots used for fungal isolation. Information includes location, length of storage and whether treated with fungicide.

Refrigeration period	Production year	Fungicide treatment	No. of lots	Production district						
				Tohoku Hokushinetsu	Kanto	Tokai	Kinki	Chugoku Shikoku	Kyushu	Abroad
12-17 years	1984-1989	-	65	10	10	17	18	4	6	0
12-17 years	1984-1989	+	18	3	4	5	0	6	0	0
3-7 years	1994-1998	-	10	0	0	2	6	1	0	1
3-7 years	1994-1998	+	10	2	0	2	0	6	0	0
4 months	2001	-	11	2	0	3	2	2	0	2
4 months	2001	+	9	3	1	1	0	3	0	1

近似して95%の信頼区間を求めた。また、同様の種子について黒すす病菌の全分離糸状菌に対する割合を二項分布に近似して95%の信頼区間を求めた。

3) 糸状菌の同定と病原性検定

黒すす病菌はPSA上の菌叢と分生子の形態から同定した。同一のロットから同様の菌叢を生じる糸状菌が分離された場合は、その内の1菌株を代表として同定と病原性の検定を行った。病原性の検定では、約5mm角の各菌株のPSA培養片を、播種後約1週間のキャベツ幼苗の子葉に置き、25℃の温室に4日間保ち、現れた症状を観察した。接種した38%以上の子葉に病斑形成した菌株について、PSAまたはV8寒天培地上における菌叢の性状と分生子の形態から同定した。黒すす病菌以外の*Alternaria*属菌は菌叢にblack light-blueを照射して形成された分生子の形態により同定した。*Fusarium avenaceum*は、プロピレンオキシドによって殺菌後、WA上に置いたカーネーション葉片で培養して同定した。

4) チウラムの菌分離に与える影響

8~95%で黒すす病菌に汚染された種子のロットの100粒をチウラム粉剤〔有効成分80%、三共アグロ株〕で粉衣して糸状菌の分離に用いた。

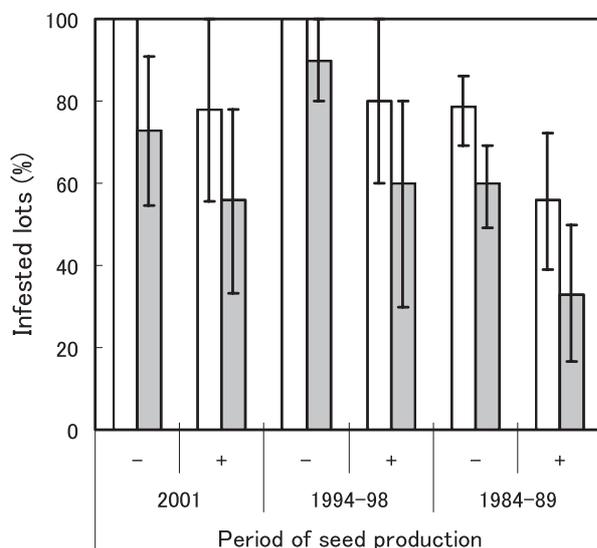


Fig. 38 Frequency of fungal infection in various seed lots. Graph shows seed lots infested with any fungi (□), with *Alternaria brassicicola* (■), treated with fungicide (+), or without fungicide (-). Seed lots used were: 11 lots of seeds produced in 2001 without fungicide, 9 in 2001 treated with fungicide, 10 each in 1994-1998 with and without fungicide, 65 in 1984-1989 without fungicide and 18 in 1984-1989 with fungicide. Error bars indicate 95% confidence intervals.

b 結 果

1) 糸状菌の分離

キャベツ種子のロットを生産時期と殺菌剤処理の有無によって分けた全てのグループにおいて50%以上のロットから糸状菌が分離された (Fig. 38). 1984~89年に生産されたロット群において糸状菌が分離されたロットの率は、他の時期のものよりも低かった。各生産時期の殺菌剤処理されたロット群では、無処理のものよりも糸状菌が分離されるロットの率が低くなった。黒すす病菌は、生産時期と殺菌剤処理の有無によって分けられたグループによって33~90%のロットから分離された。黒すす病菌以外の糸状菌のみが分離されるロットは、黒すす病菌が分離されたロットよりも少なかった。生産時期によってグループ分けされた殺菌剤処理ロットの種子における糸状菌の分離率の平均は7~15%で、殺菌剤無処理では17~37%であった (Fig. 39). 各生産時期のロット群において、殺菌剤処理ロットでは無処理よりも糸状菌の分離率が低く、2001年産では有意差が認められた。

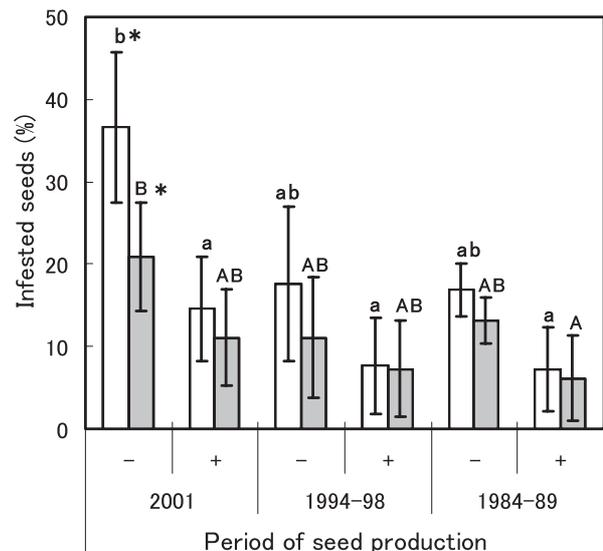


Fig. 39 Frequency of seed infection by any fungi (□) or *Alternaria brassicicola* (■), treated with fungicide (+) or without fungicide (-). Seed lots used were: 11 lots of seeds produced in 2001 without fungicide, 9 in 2001 treated with fungicide, 10 each in 1994-1998 with and without fungicide, 65 in 1984-1989 without fungicide and 18 in 1984-1989 with fungicide. Error bars indicate standard errors. Different letters express significant differences (Bonferroni's multiple comparison, $P < 0.05$). Lowercase letters indicate isolation of any fungi, and the rates of seeds produced in 2001 (*) with fungicide and those without fungicide were significantly different (t -test, $P < 0.05$). Uppercase letters are for *A. brassicicola* only.

また、有意差は認められなかったものの、古く、保存期間が長かったロットの方が糸状菌の分離率が低かった。黒すす病菌は、殺菌剤処理では6~11%、無処理では11~21%の種子から分離された。各生産時期の種子において有意差は認められないものの、殺菌剤無処理のものが、処理のものよりも黒すす病菌汚染率が高かった。しかし、黒すす病菌の汚染率が高いロットは少なく、汚染率が0%または低いものが多かった (Fig. 40)。この傾向は、保存期間が長いロット群ほど顕著であった。

黒すす病菌は、生産時期と殺菌剤処理の有無によって分けられたロット群において、分離された全糸状菌の57%以上を占めた (Fig. 41)。なお、糸状菌が分離された種子の粒数は、殺菌剤無処理の1984~89年産では1101、殺菌剤処理では130、1994~98年産の殺菌剤無処理で176、処理で77、2001年産では殺菌剤無処理で403、処理で131であった。黒すす病菌の全分離糸状菌に占める割合は、各生産時期において、殺菌剤処理区の方が高かった。

東海、近畿、中国と四国、九州の西日本の各地方で生産された殺菌剤無処理の種子からの黒すす病菌分離率は12% (平均17.3%) を超え、東北と北信越、関東を含む東日本の4%未満 (平均3.7%) よりも有意に高かった (Fig. 42)。なお、東北と北信越で生産されたロット数は12、関東は10、東海は22、近畿は26、中国と四国で7、九州は6、海外が3であった。40%以上の高率で黒すす病菌が分離されたロットも、全て東海以西の生産であった。北海道と沖縄では、商業的なキャベツ種子の生産は行われていない。

た (Fig. 42)。なお、東北と北信越で生産されたロット数は12、関東は10、東海は22、近畿は26、中国と四国で7、九州は6、海外が3であった。40%以上の高率で黒すす病菌が分離されたロットも、全て東海以西の生産であった。北海道と沖縄では、商業的なキャベツ種子の生産は行われていない。

2) 冷蔵期間を変化させた種子からの糸状菌分離

2001年産の殺菌剤無処理の8ロットと殺菌剤処理の10ロットの種子について、4、16、28カ月の冷蔵期間後に糸状菌を分離したところ、全糸状菌、黒すす病菌とも分離率が、冷蔵期間が長くなるにつれ低下した (Fig. 43)。全期間を通じて、殺菌剤無処理の種子において、殺菌剤処理の種子よりも糸状菌が高率で分離された。殺菌剤無処理の種子では、4カ月の冷蔵期間時に400、16カ月で311、28カ月で307菌株が分離され、殺菌剤処理の種子では4カ月で131、16カ月で71、28カ月で57菌株が分離された。その全分離糸状菌中における黒すす病菌の割合は、殺菌剤処理で59~81%、殺菌剤無処理で37~46%で、いずれの冷蔵期間でも、殺菌剤処理の方が高かった (Fig. 44)。また、冷蔵期間が長くなるほど、黒すす病菌の全分離糸状菌中の割合が高くなった。

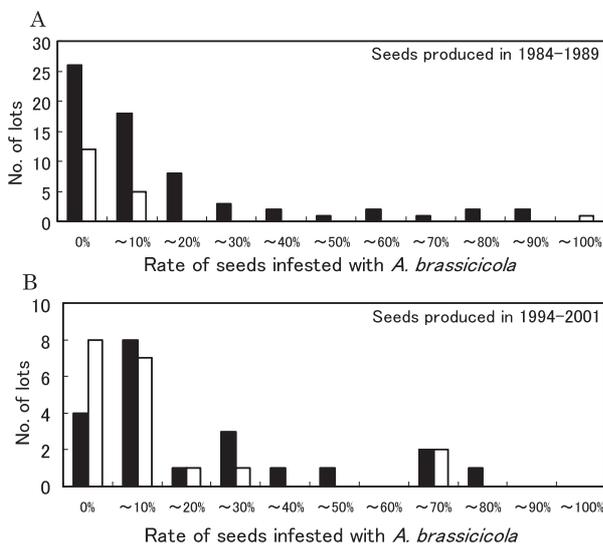


Fig. 40 Number of lots from which *Alternaria brassicicola* was isolated. A: Lots produced in 1984-1989 without fungicide (■), or treated with fungicide (□). B: Lots produced in 1994-2001 without fungicide (■), with fungicide (□). Seed lots used were: 21 lots produced in 1994-2001 without fungicide, 19 in 1994-2001 treated with fungicide, 65 in 1984-1989 without fungicide and 18 in 1984-1989 with fungicide.

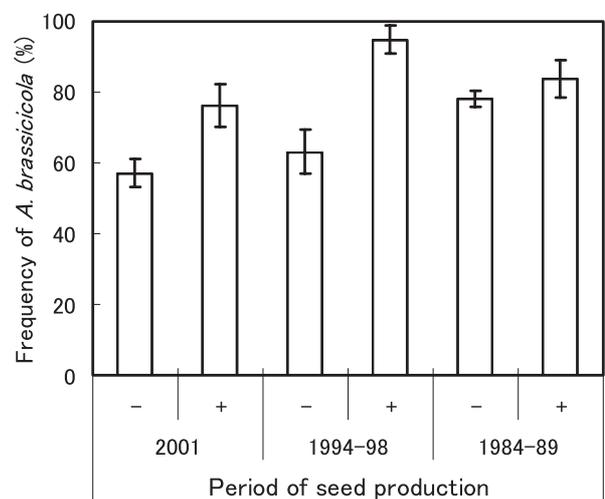


Fig. 41 Frequency of *Alternaria brassicicola* in total number of all fungi isolated from seeds treated with fungicide (+) and without fungicide (-). Fungi isolated from 1101, 130, 176, 77, 403 and 131 seeds in 65 lots produced in 1984-1989 without fungicide, 18 in 1984-1989 treated with fungicide, 10 in 1994-1998 with fungicide, 10 in 1994-1998 without fungicide, 11 in 2001 without fungicide and nine in 2001 with fungicide, respectively, were included. Error bars indicate 95% confidence intervals.

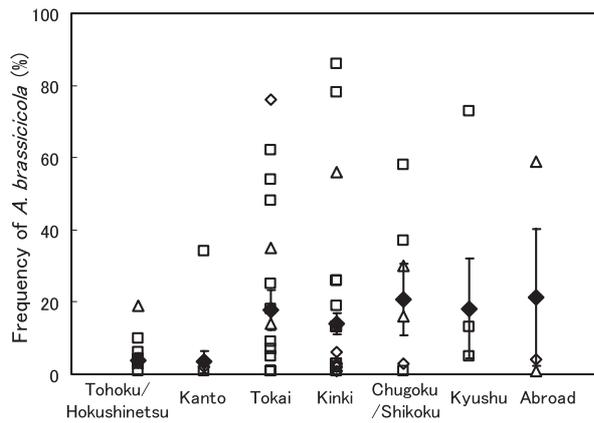


Fig. 42 Frequency of isolation of *Alternaria brassicicola* from seeds without fungicide treatment, produced in each district. Lots produced in 1984-1989 (□), in 1994-1998 (△), and in 2001 (×), averages (◆) with standard errors. Twelve, 10, 22, 26, 7, 6 and 3 lots were used for Tohoku/Hokushinetsu, Kanto, Tokai, Kinki, Chugoku/Shikoku, Kyushu and abroad, respectively.

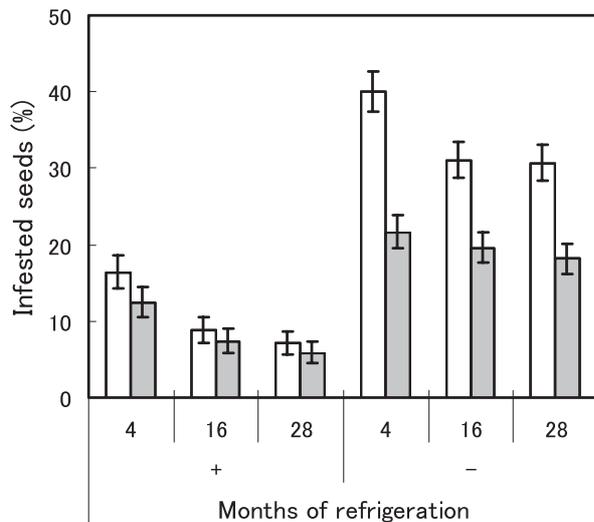


Fig. 43 Effect of refrigeration on frequency of isolation of fungi from seeds produced in 2001. Any fungi (□), *Alternaria brassicicola* (■), treated with fungicide (+), without fungicide (-). Ten lots of seeds produced in 2001 without fungicide and eight lots treated with fungicide were used. Error bars indicate 95% confidence intervals.

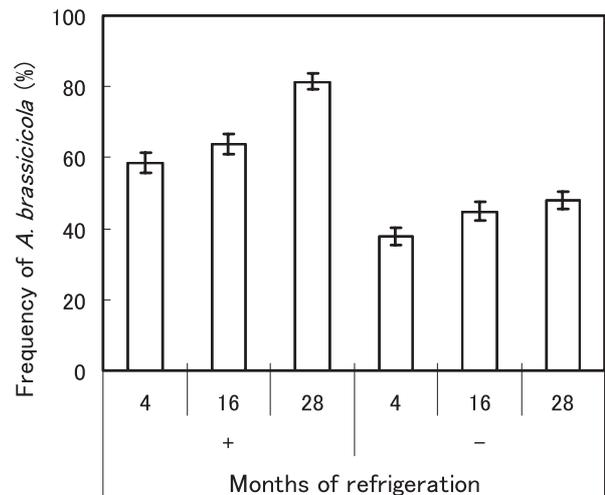


Fig. 44 Effect of refrigeration on frequency of *Alternaria brassicicola* in total fungi isolated from seeds produced in 2001. Treated with fungicide (+), without fungicide (-). Ten lots of seeds produced in 2001 without fungicide and eight lots treated with fungicide were used. Fungi isolated from 400 seeds without fungicide refrigerated for 4 months, 311 for 16 months, 307 for 28 months and 131 seeds treated with fungicide refrigerated for 4 months, 71 for 16 months and 57 for 28 months were considered in the rates. Error bars indicate 95% confidence intervals.

3) チウラムの糸状菌分離に与える影響

10ロットについて各ロット100粒の種子から糸状菌を分離したところ、黒すす病菌の分離率は8~95%であったが、チウラムを粉衣すると3%以下となった (Table 5).

4) 黒すす病菌以外の分離糸状菌の病原性

キャベツ子葉を用いた8~22回の接種において、85菌株を代表する22菌株が38%以上で病斑を形成した。これらには、72菌株を代表する9菌株の *Alternaria alternata*, 2菌株の *Rhizopus oryzae* Went et Prinsen Geerligs, 3菌株の *Fusarium avenaceum*, 2菌株の *Penicillium* spp., 3菌株の *Aspergillus niger* van Tieghem, 1菌株の *Aspergillus flavus* var. *columnaris* Raper and Fennell, 1菌株の *Aspergillus ostianus* Wehmer と同定前に失った1菌株が含まれる (Table 6). *Alternaria alternata* は Ellis (1971), *Rhizopus oryzae* は Lunn (1977), *Fusarium avenaceum* は Booth (1971), *Aspergillus flavus* var. *columnaris* は Onions (1966 a), *Aspergillus niger* は Onions (1966 b), *Aspergillus ostianus* は Klich (2002) の検索表や記載により同定した。 *Penicillium* spp. は小林ら編 (1992)

の検索表によって、属まで同定した。これらの菌株の合計の分離率は低く、2001年産で殺菌剤無処理の種子について4.5%、全分離菌中の割合で12.4%であったが、他のロット群については、種子からの分離率が0.9%以下、全分離菌中の割合が5.1%以下であった。

c 考 察

本研究においては、キャベツ種子を、特定の微生物を対象とした選択培地ではなくWA上に置いて糸状菌を分離した。分離された糸状菌には絶対寄生菌は含まれず、各種子において最も生育が旺盛、または速かった1菌株のみを分離した。セル成型育苗の場合、キャベツ種子は、発芽勢を揃えるため、しばしば播種後25°Cに置かれる。よって、本研究においても25°Cで菌の分離を行った。種子上での微生物の消長は温度以外の要因にも影響されるが、セル成型育苗の催芽時には25°Cの条件で分離された糸状菌がある程度優勢であると思われる。

本研究では種子内における分離菌の存在部位と細菌類については考慮していない。また、古い種子も含まれるため、種子の発芽率も無視した。しかし、国内においては、種子の糸状菌による汚染実態に関する報告が少ないため、その大まかな概要を把握することも必要であると考えた。

古い種子より新しい種子からより高い頻度で糸状菌が分離された。しかし、17年間冷蔵保存されてきた種子からも黒すす病菌が分離され、さらにその全分離糸状菌中に占める割合は、古い種子ほど高かった。Maudeら(1980b)は、12年間10°Cで保存されたキャベツ種子から黒すす病菌を分離したが、本研究では、より低い保存温度ではあるが、より長い保存期間後にも同菌を分離した。種子のより深い部分にまで感染できる病原菌は、単なる混入菌とは異なり、表面殺菌や表面洗浄の後もその生物活性を維持できると考えられる(Holzhausenら, 1974; Humpherson-Jones, 1985; Maudeら, 1980a);

Table 5 Effects of thiram treatment on isolation of fungi from cabbage seeds

Lot No.	Isolation rate (%)			
	Dusting with thiram		Without treatment	
	Any fungus	<i>Alternaria brassicicola</i>	Any fungus	<i>Alternaria brassicicola</i>
1	3	2	99	95
2	0	0	62	56
3	0	0	34	29
4	0	0	60	56
5	0	0	58	56
6	1	1	85	84
7	0	0	65	60
8	3	3	86	48
9	0	0	37	33
10	0	0	15	8
Mean	0.7±0.4	0.6±0.4	60.1±8.7	52.5±8.5

Mean values given standard error.

Table 6 Identification of fungi other than *Alternaria brassicicola* isolated from various seed lots with and without fungicide treatment, which produced spots on young cabbage cotyledons

Production year	Fungicide treatment	Total seed	All fungi isolated	Isolates producing spots on cabbage cotyledons							Percentage of infested seeds ^b	Percentage of the isolates ^c
				Total	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Rhizopus oryzae</i>	<i>Fusarium avenaceum</i>	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	Not identified ^a		
1984-1989	-	6500	1101	19	12	1	1	3	1	1	0.3	1.7
1984-1989	+	1800	130	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1994-1998	-	1000	176	9	8	1	0	0	0	0	0.9	5.1
1994-1998	+	1000	77	2	2	0	0	0	0	0	0.2	2.6
2001	-	1100	403	50	45	0	2	2	1	0	4.5	12.4
2001	+	900	131	5	5	0	0	0	0	0	0.6	3.8

^a The isolate was lost before identification.

^b Percentage of seeds infested with the isolates that produced spots on cabbage cotyledons.

^c Percentage of the isolates in a total of isolated fungi.

b ; Petrie, 1974 ; Pound ら, 1951 ; Sivapalan ら, 1992 ; Tahvonen, 1979 ; Tohyama ら, 1995 ; Vannacci ら, 1987 ; Wu, 1979). 黒すす病菌については, Maude ら (1980 b) が, 種子内部の深くまで侵入した種子からは, 12 年間の保存後に高率で同菌が分離できるが, 表面的な感染の場合はその分離率が低いことを示している. 本研究では, より短い保存期間 (4~28 カ月) でも, 保存期間が長くなることによる全分離糸状菌の分離率の低下と比較して, 黒すす病菌分離率の低下の程度が小さかった.

糸状菌は殺菌剤処理された種子からも分離された. 保存期間が長く薬効期限を過ぎていたことも一因であろう. しかし, 同時期に生産された種子間では, 殺菌剤処理された種子の方が糸状菌の分離率は低く, 薬効期限内に何らかの殺菌効果があったと考えられる. 殺菌剤処理した場合にも, 黒すす病菌の分離菌中における割合が高くなり, ここでも混入菌よりも病原菌の種子における生存率が高くなること示された. チウラムは国内においてしばしば種子消毒に用いられている殺菌剤であるが, 粉衣することによって黒すす病菌を含む糸状菌の分離率を低下させた. しかし, 土壌に播種後の種子における効果には, 議論が必要であろう.

本研究では黒すす病菌の汚染率が 10% 以下のロットが多く, この傾向は 10 ロット以上を用いた試験の国内外の報告にも示されている (Tohyama ら, 1995 ; Holzhausen ら, 1974 ; Maude ら, 1980 a ; Petrie, 1974 ; Pound ら, 1951 ; Richardson, 1970). しかし, より高い分離率を示した報告もある (Tahvonen, 1979 ; Wu ら, 1984).

これまでキャベツ種子の生産地と病原菌の汚染程度の関連性を示した報告はない. 唯一, Wu (1979) が台湾内におけるキャベツの採種適地を検討する中で, 各候補地において生産された種子の病原菌による汚染率を調査している. 日本は南北に長く, キャベツの低温を要する花芽誘導に不適である温暖地, 沖縄から, 冬季の低温のためキャベツの採種栽培に不適な北海道も含んでいる. その間の採種地では, 東日本よりも温暖な西日本において黒すす病菌の汚染率が高かった.

また, 本研究では, キャベツ種子から分離された黒すす病菌以外の糸状菌でも, キャベツ子葉への人工接種によって病斑形成するものが認められた. それらの中では, 第 II 章の通り, *Fusarium avenaceum* のみが, 本邦においてキャベツの病原菌としての報告がある. 同菌によるキャベツの病害は, 前述の通り, セル成型育苗において

発見された. Wu (1979) も, 表面殺菌したキャベツ種子から *Fusarium* 属菌を分離したが, 分類や病原性についての記載はなく, 同種を含んでいたかは不明である. 一方, Tahvonen (1979) もキャベツ種子から *Fusarium avenaceum* を分離したが, 菌糸片を種子に付着させた場合に病原性が認められなかったことを報告している.

Alternaria alternata はキャベツ種子からしばしば分離されている (Holzhausen ら, 1974 ; Tohyama ら, 1995 ; Wu, 1979 ; Wu ら, 1984). 本研究においても, キャベツ子葉への接種によって病斑形成した菌株以外は同定しなかったが, 同菌様の菌叢を形成する糸状菌が多数分離された. 本邦で分離された同菌をキャベツに接種した場合に病斑形成した例が報告されており (Tohyama ら, 1995), 同菌は, 菌株によってはキャベツ子葉に対して日和見感染すると思われる. 同菌は表面殺菌した種子から分離される場合があり (Holzhausen ら, 1974 ; Wu, 1979), 種皮表面に付着しているだけでなく, 感染していると思われる.

本研究でキャベツ種子から分離された *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* 属菌 1 菌株でキャベツ子葉に病斑形成するものがあつた. これらの菌株も, 長期保存の後に分離されることから, 表面的な混入ではなく, 感染していると思われた. *Aspergillus* 属菌, *Penicillium* 属菌, *Rhizopus* 属菌のキャベツ種子からの分離が既に報告されているが, それらの病原性の研究はなされていない (Holzhausen ら, 1974 ; Tahvonen, 1979 ; Wu, 1979 ; Wu ら, 1984). 人工接種でキャベツ子葉に病斑形成した *Aspergillus ostianus* と *Aspergillus flavus* var. *columnaris*, *Penicillium* 属菌 1 菌株は, 殺菌剤処理されていない新しい種子のみから分離された.

黒斑病菌 (*Alternaria brassicae* (Berkeley) Saccardo) と根朽病菌 (*Phoma lingam*) もよく知られたアブラナ科作物の種子伝染性病原菌であり, しばしば 10% 以上の分離率となる場合も報告されている (Humpherson-Jones, 1985 ; Jacobsen ら, 1971 ; Pound ら, 1951 ; Richardson, 1970 ; Tahvonen, 1979 ; Williams, 1967). 国内でもセル成型苗での被害が認められている (中野, 1998) が, 両菌とも今回は分離されなかった. その理由として, 両菌による汚染がなかった, 保存中に死滅した, あるいは, 今回の分離の条件下では同菌の生育が劣ったことが考えられるが, いずれによるのかは不明である. 黒斑病菌については, アブラナとカラシナ種子においては保存中に急速に汚染率が低下することが報告されている (Shrestha ら, 2003 ; Vishnuavat ら, 1985).

Holzhausen ら (1974) と Tohyama ら (1995) も国内産のキャベツ種子から黒斑病を分離できなかったが、イギリスでは高い汚染率が報告されている (Humpherson-Jones, 1985; Richardson, 1970). 同菌の汚染率には気候が大きく影響していると思われる。ただし、10ロット以上を用いたキャベツ種子の研究では、黒斑病菌よりも黒すす病菌が高率で分離される例が多数報告されている (Holzhausen ら, 1974; Humpherson-Jones, 1985; Maude ら, 1980 b; Petrie, 1974; Pound ら, 1951; Richardson, 1970; Tahvonen, 1979; Tohyama ら, 1995; Wu ら, 1984). しかし、国内では、黒すす病菌の宿主となり得るキャベツ以外の作物の種子においては、黒すす病菌以外の *Alternaria* 属菌が黒すす病菌よりも高い率で分離されており (Tohyama ら, 1995), 開花や採種条件の違い、各 *Alternaria* 属菌の宿主の選好性、地理的分布の影響が推測される。

IV キャベツのセル成型育苗における病害の発生生態と防除対策

1 キャベツセル成型苗の育苗条件が黒すす病の発生に及ぼす影響

キャベツのセル成型育苗においては黒すす病の被害が大きい。同病に対して効果的な防除対策を考えるためには、育苗条件が同病の発生に及ぼす影響を把握しておく必要がある。キャベツのセル成型育苗では、冬期には播種後、トレイを1~2日間、25℃に保つ催芽処理が行われている。この処理が汚染種子からの黒すす病の発生に及ぼす影響について調べた。また、セル成型育苗では、ピートモスとバーミキュライトを主成分とした専用の培養土が用いられるが (小林, 1995; 塚田, 1990), 黒すす病の発生には培養土の性質も影響すると考えられる。そこで異なる培養土を用いた場合の種子汚染に起因する黒すす病発病への影響を調べた。さらに、同病は種子伝染性であるが、種子汚染以外の伝染源の感染経路についても検証しておく必要がある。そこで、本節では、黒すす病菌に汚染されたセルトレイ、培養土からの感染の可能性も検討した。

a 材料と方法

1) キャベツセル成型苗の育苗と黒すす病菌の培養

新品の128穴のセルトレイ、または0.7 g/l次亜塩素酸カルシウムに浸漬し、水洗いした後のセルトレイに、ピートモスとバーミキュライトを主成分としたセル成型

育苗用の培養土 (野菜養土 S, ヤンマー) をつめてキャベツ種子を播種し、一晩25℃の湿室に保って催芽処理を行い、その後、ガラス温室で育苗した。ガラス温室は11~4月の間は最低気温が16℃になるように加温した。灌水は頭上灌水で行った。

接種やセルトレイ、種子の汚染に用いた黒すす病菌分生子は、PSA上で24℃、2週間以上培養した同菌の菌叢に蒸留水を加えてガラス棒でこすって得て、遠心分離と蒸留水による懸濁・希釈によって濃度を調製した。

2) 黒すす病菌汚染トレイが黒すす病の発生に及ぼす影響

播種1週間後のキャベツセル成型苗に、 10^5 個/mlの黒すす病菌の分生子懸濁液を噴霧して一晩25℃の湿室に保った後、ガラス温室で2週間育苗を続けて発病させた。発病した苗と培養土を取り除いた後のトレイを用いてキャベツを育苗し、播種2週間後に発病状況を調査した。ここでは、前作発病区と対照区各1枚のセルトレイを用いた試験を6反復行った。また、 10^4 個/mlの黒すす病菌分生子懸濁液に浸漬したセルトレイを風乾して育苗に用い、播種2週間後に、黒すす病の発生状況を調査した。本試験では、汚染区・非汚染区各1枚のセルトレイを用いて、5反復行った。

また、培養土を介した黒すす病の伝染の有無を調べるために、播種1週間後のキャベツセル成型苗約100株の株元に 2×10^6 個/mlの黒すす病菌分生子懸濁液5mlを灌注して、10日後に黒すす病の発生状況を調査した。本試験は2反復行った。

3) 培養土が黒すす病の発生に及ぼす影響

10^6 個/mlの黒すす病菌分生子懸濁液に減圧浸漬して作製した汚染種子と非汚染種子を、前出のセル成型育苗用培養土、または、園芸用の培養土として一般的に用いられる粒状の培養土 (クレハ園芸培土, 呉羽化学, 以下、粒状培土と略す) を充填したセルトレイに播種して、2週間育苗した後、黒すす病の発生状況を調査した。セル成型育苗用培養土または粒状培土、汚染・非汚染種子の組み合わせによる4区について、各区セルトレイ1枚を用いた試験を3反復行った。

4) 催芽処理が黒すす病の発生に及ぼす影響

前出と同様に作製した汚染種子を播種後、1日間25℃の湿室に保つ催芽処理を行った場合と、播種直後からガラス温室で育苗した場合の、播種2週間後の黒すす病の発生状況を調査した。本試験は、催芽処理区と無処理区で各1枚のセルトレイを用いて3反復行った。

Table 7 Effects of infestation of tray with *Alternaria brassicicola* on subsequent disease occurrence.

Treatment to trays	Germination (%)	Diseased seedlings (%)
Diseased plants in former cultivation ^a	72.1±5.2	0.5±0.2
New or sterilized	77.0±7.1	0
Artificially infested ^b	76.3±7.0	0
New or sterilized	86.7±3.9	0

^a One-week-old cabbage seedlings on trays were inoculated with *A. brassicicola* conidia, then cultivated for 2 weeks. After removal of the infected seedlings, cabbage seeds were sown in the same trays. Diseased seedlings were counted 2 weeks after sowing.

^b Cabbage seedlings were cultivated on trays, which were soaked with conidial suspension (10^4 conidia/ml) of *A. brassicicola*. Diseased seedlings were counted 2 weeks after sowing.

b 結果

1) 黒すす病菌汚染トレイが黒すす病の発生に及ぼす影響

黒すす病を発生させたセルトレイを無洗浄で再利用した場合、各1枚のトレイを用いた6回の試験について、全播種数768のうち発芽した554株中3株のみで黒すす病が発生し、トレイ当たりの発病率では0.5%であった (Table 7)。1回の試験当たりの発芽株数は、殺菌したトレイまたは新しいトレイの1枚を使用した場合と差が認められなかった。

黒すす病菌分生子懸濁液に浸漬したセルトレイを用いて育苗した場合には、各1枚のトレイを用いた5回の試験において、黒すす病の発病は認められなかった。

黒すす病菌の分生子懸濁液を、約100株のキャベツセル成型苗の株元に灌注した2回の試験で、外観上の病徴を現した株は認められなかった。

2) 培養土が黒すす病の発生に及ぼす影響

セル成型育苗用培養土または粒状培土をつめたセルトレイ1枚ずつに汚染種子を播種して育苗した3回の試験において、非汚染種子を播種した場合と比較して有意 (Tukeyの多重比較, $P < 0.05$) に発芽数が少なくなった (Fig. 45)。また、汚染種子と非汚染種子を播種した場合とも、粒状培土よりもセル成型育苗用培養土の方が発芽率が有意 (Tukeyの多重比較, $P < 0.05$) に高かった。汚染種子を播種して、粒状培土とセル育苗用培養土で育苗した場合、発病株数に差は認められなかったが、枯死株数は粒状培土を用いた方が有意 (t 検定, $P < 0.05$) に多かった。汚染種子を播種した場合、セル育苗用培養土の方が粒状培土よりも無病株数が多くなった。

3) 催芽処理が黒すす病の発生に及ぼす影響

汚染種子を播種して催芽処理を行って育苗した場合、催芽を行わなかった場合と比較して有意 (t 検定, $P < 0.1$) に黒すす病発病株が少なかった (Fig. 46)。発芽数には差が認められなかった。播種数から不発芽と発

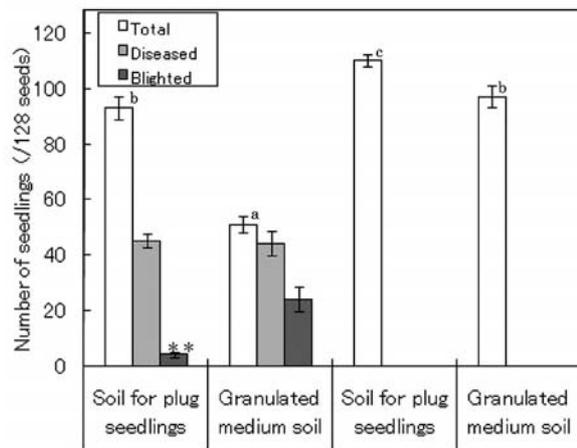


Fig. 45 Disease occurrence on cabbage seedlings grown from seeds infested with *Alternaria brassicicola* on soil for plug seedlings or on granulated medium soil. Infested seeds were produced by soaking with a conidial suspension (10^6 conidia/ml) of the fungus. Symptoms were assessed 2 weeks after sowing. 'Diseased' includes seedlings with lesions and blighted seedlings. The double-asterisk (**) indicates a statistically significant difference (t -test, $P < 0.05$) between data for blighted plants on the two different soils types. Different letters on bars for 'Total' show that there is a statistically significant difference (Tukey's multiple comparison, $P < 0.05$). Experiments were repeated 3 times. Error bars indicate standard errors.

病株数を除いた無病株数は、催芽処理区で1トレイ当たり68.7株、催芽処理しなかった区で41.3株となり、催芽処理区の方が多かった。

c 考察

セル成型育苗を大量に行っている施設ではセルトレイを再利用しているが、中野 (1998) によりキャベツの根朽病がセルトレイを介して伝染することが示唆されている。しかし、本研究では、黒すす病菌の分生子に汚染さ

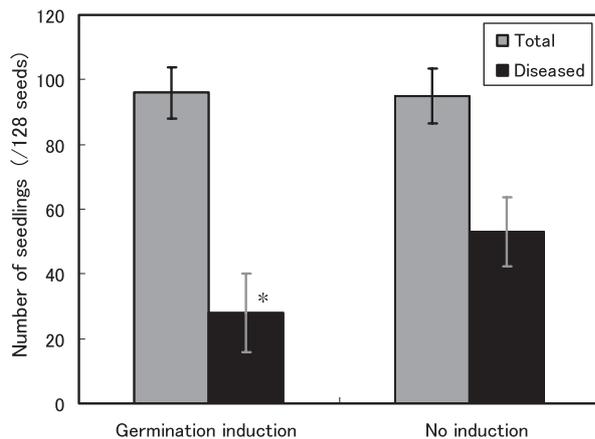


Fig. 46 Disease occurrence on cabbage seedlings grown from seeds infested with *Alternaria brassicicola* with or without germination induction. Infested seeds were produced by soaking with a conidial suspension (10^6 conidia/ml) of the fungus. Germination was induced after sowing by incubating trays overnight at 25°C. Symptoms were assessed 2 weeks after sowing. The asterisk (*) on a bar for 'Germination induction' shows the statistically significant difference (*t*-test, $P < 0.1$) from 'No induction'. Experiments were repeated 3 times. Error bars indicate standard errors.

れたトレイや前作で発病したトレイを使用した場合にも、同病が発生した株はわずかであった。前述の通り、市販種子の多くは程度の差はあるものの黒すす病菌に汚染されており、本試験では、WA上で培養した場合に黒すす病菌の分離率が5%以下であった種子を用いているが、本試験での黒すす病の発生程度ならば種子汚染による可能性がある。これらのことから、黒すす病菌に汚染されたトレイを介して同病が蔓延する可能性は低いと考えられる。

キャベツセル成型育苗の現場では、黒すす病により胚軸が褐色に腐敗する病徴も見られたが、本研究では、培養土に黒すす病菌の分生子を灌注した場合に病徴を示した株はなく、培養土を介しての伝染の可能性は低いと考えられる。黒すす病菌は病斑上に大量の分生子を形成するが、これらの分生子が培養土に落下して二次伝染を引き起こす可能性も低いことが推測される。また、セル成型育苗では常に新しい培養土を用いるため、上述の胚軸に発生する病徴は汚染種子に由来したものと考えられる。

セル成型育苗用培養土と粒状培土のどちらを用いたときにも汚染種子を播種した場合には、非汚染種子の場合より発芽率が低下し、黒すす病菌による発芽阻害が示唆された。しかし、汚染種子を用いた場合にも無病株が認

められ、種皮上における表面的な汚染の場合、必ずしも発病に結びつく訳ではないことが示された。本研究で用いた汚染種子は種皮表面のみに黒すす病菌の分生子が付着したものであると考えられるが、同菌が種子の胚部にまで進入する率と育苗時の発病率に相関があるとMaudeら(1980b)が報告している。粒状培土を用いた場合、セル成型育苗用培養土の場合よりも発芽率が低くなり、汚染種子では黒すす病によって枯死以外の病徴を現した株の割合は同様であるものの枯死株率が高くなり、症状が激しくなることが示された。使用した粒状培土は適度な硬さの小粒に成型されており、水を含んだ場合にも形状が崩れずに重くなる。これらの物理性により発芽が阻害あるいは遅延され、その間に汚染種子由来の黒すす病菌が胚部に感染し、さらなる発芽阻害や発芽後の初期発病における症状の激化をもたらした可能性がある。

播種直後の催芽処理を行わずに育苗した場合、催芽処理した場合よりも不発芽、発病株とも多くなった。最終的な発芽数では、処理、無処理間で差は認められなかったが、この試験は12月の低温期に行ったため、催芽処理、無処理の間の生育差が大きく出たと思われ、外観上、無処理では発芽を含めて1~3日程度遅れている印象を受けた。これらのことから、培養土に関する試験と同様に、発芽の遅れによって黒すす病菌が胚部へ感染する可能性が高まると考えられた。種子上における菌の生育が速いことはKnox-Davies(1979)によっても観察されている。温度などの育苗条件によって発芽が速い品種を選択することや、加温などにより発芽を促すことも黒すす病の対策となろう。また、Knox-Davies(1979)は、形がいびつな種子や未熟な種子では発芽不良となる率が高く、黒すす病菌による汚染程度や実生の発病率が高いことを報告しており、十分に成熟した種子を選別して用いることも有効な黒すす病対策であると思われる。

2 底面給水による黒すす病の防除

セル成型育苗では、生育むらの防止や水管理の容易さから底面給水が注目されている。そのうち、セルトレイの培地部に対する水位を一時的に上げて水を染みこませた後、速やかに排水するエブ&フロー方式を用いたキャベツセル成型育苗が試みられている(藤原ら, 2001a; 佐藤ら, 2002; 吉岡ら, 2002)。このエブ&フロー方式による底面給水が、キャベツセル成型育苗時の黒すす病の発生に及ぼす影響を調べた。

a 材料と方法

1) 黒すす病菌汚染種子由来の同病の発生に対する底面給水の影響

第1節と同様に作製した汚染種子を播種して、頭上灌水またはエブ & フロー方式による底面給水を行いながら育苗して、播種2週間後に黒すす病の発生状況を調査した。エブ & フロー区、頭上灌水区とも各1トレイを用いた試験を4反復行った。

2) 底面給水が黒すす病の二次伝染に及ぼす影響

播種1週間後のキャベツセル成型苗の1トレイ(128セル)中の4株ずつ2箇所(計8株)に 10^6 個/mlの黒すす病菌分生子懸濁液を噴霧して25°Cの温室に一晚保った後、温室内で頭上灌水またはエブ & フロー方式による底面給水を行いながら育苗を続けた。頭上灌水では、トレイに対して常に同じ方向から灌水した。接種2週間後にトレイ中の全株について黒すす病の発生状況を調査した。各灌水処理区1トレイを用いて3反復の試験を行った。

3) 茎葉に付着した黒すす病菌分生子からの発病に底面給水が及ぼす影響

播種1週間後のキャベツセル成型苗に、 10^5 個/mlの黒すす病菌分生子懸濁液を噴霧して、その直後から温室内で、頭上灌水またはエブ & フロー方式による底面給水を行って2週間育苗を続け、黒すす病の発生状況を調べた。この試験は約60株の苗を用いて3反復行った。また、同様に噴霧接種後、25°Cの温室に一晚保った後に温室において頭上灌水または底面給水で育苗を2週間続け、黒すす病の発生状況を調査した。本試験は、約60株を用いて4反復行った。

b 結果

1) 黒すす病菌汚染種子由来の同病の発生に対する底面給水の影響

黒すす病菌に人工的に汚染されたキャベツ種子を播種したセルトレイ1枚を底面給水または頭上灌水で育苗した場合、4回の試験で、発芽と発病株数に差が認められなかった (Fig. 47)。

2) 底面給水が黒すす病の二次伝染に及ぼす影響

セルトレイ中の一部の株のみに黒すす病菌の接種を行って頭上灌水で育苗を2週間続けた場合、灌水の向きによって発病株が広がった (Fig. 48)。底面給水の場合には、発病株が被接種株以外にはほとんど広がらなかった。

3) 茎葉に付着した黒すす病菌分生子からの発病に底面給水が及ぼす影響

全株に黒すす病菌を接種して底面給水で育苗を続けた場合には、頭上灌水と比較して、子葉に病徴を現した株の割合が有意 (t 検定, $P < 0.05$) に低くなった (Fig. 49)。特に、株全体の枯死や子葉が枯れる激しい病徴を示す株の割合が低かった。黒すす病菌を噴霧した直後に温室に一晚置いて底面給水した場合にも、頭上灌水と比較して、発病株率で有意 (t 検定, $P < 0.05$) な差が認められた。病斑形成率に差は認められなかったが、株全体が枯死または子葉が枯れる激しい病徴を示した株の割合が有意 (t 検定, $P < 0.05$) に低くなった (Fig. 50)。

c 考察

底面給水と頭上灌水で育苗した場合、汚染種子由来の初期発病は灌水方法の違いによる差が認められなかったが、地上部における二次伝染を含めた病徴進展は、底面給水では抑えられることが示された。黒すす病菌は病斑上に大量に分生子を形成することから、株間の接触と、頭上灌水によって生じる飛沫とともに分生子が飛散することにより二次伝染に至ることが推測できる。トレイ中の一部の株のみに接種を行った試験では、頭上灌水では散水される方向に従って症状の激しい発病株が広がったのに対して、底面給水の場合、接種株とその近傍の株以外

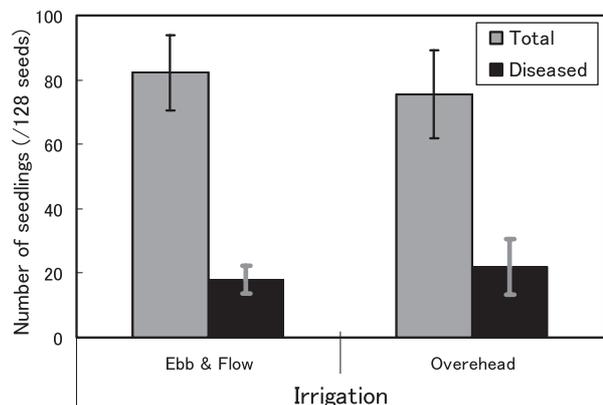


Fig. 47 Disease occurrence on cabbage seedlings grown from seeds infested with *Alternaria brassicicola* with Ebb & Flow or overhead irrigation. Infested seeds were produced by soaking with a conidial suspension (10^6 conidia/ml) of the fungus. With Ebb & Flow irrigation, soil was soaked with water from the bottom of the trays once a day. For overhead irrigation, seedlings were showered with water by a nozzle. Symptoms were assessed 2 weeks after sowing. Experiments were repeated 4 times. Error bars indicate standard errors.

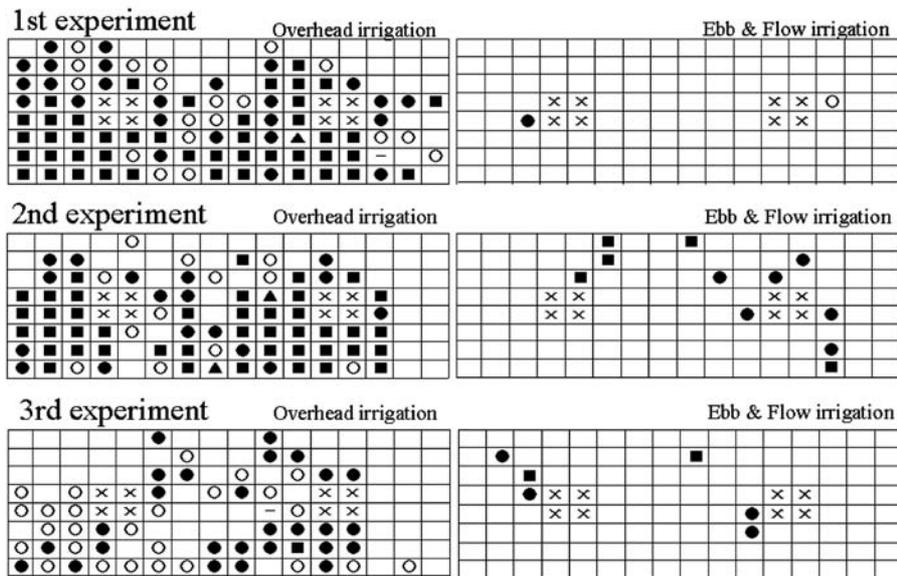


Fig. 48 Incidence of diseased seedlings caused by *Alternaria brassicicola* in each tray with Ebb & Flow or overhead irrigation. Eight seedlings (×) in trays were inoculated by spraying with conidia of the fungus. Symptoms on seedlings were assessed 2 weeks after the inoculation and classified as seedlings with dots on leaves (○), seedlings with lesions on leaves (●), seedlings with blighted leaves (■) and blighted seedlings (▲). Direction of overhead irrigation by showering was constant from right over to left below in these figures.

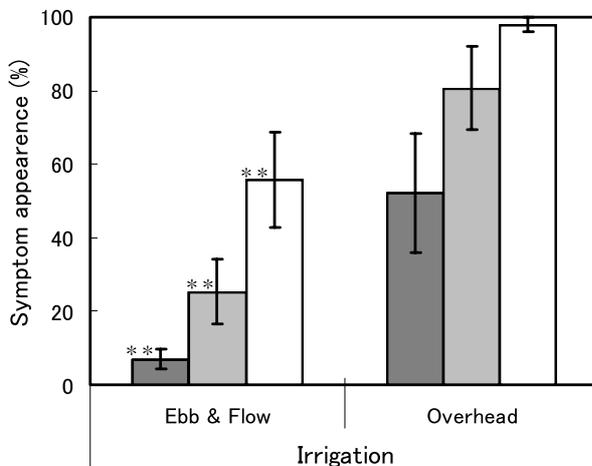


Fig. 49 Effect of Ebb & Flow or overhead irrigation systems on disease occurrence and symptoms caused by *Alternaria brassicicola* on cabbage seedlings inoculated under dry conditions. One-week-old cabbage seedlings were inoculated by spraying with a conidial suspension (10^5 conidia/ml) of the fungus. The seedlings were kept in a greenhouse and symptoms on the seedlings were investigated 2 weeks after the inoculation. Symptoms were categorized as cotyledon blight (■), cotyledon lesions (▣) including blight, and total (□) including cotyledon dots and both above. Double-asterisks (**) on bars for 'Ebb & Flow' show a statistically significant difference (t -test, $P < 0.05$) from 'Overhead'. Experiments were repeated 3 times. Error bars indicate standard errors.

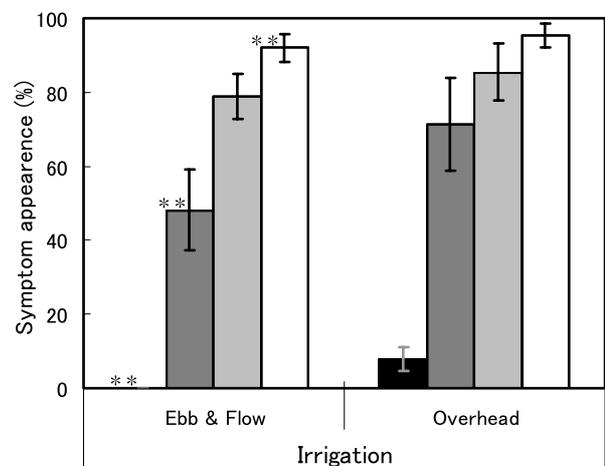


Fig. 50 Disease occurrence and symptoms on cabbage seedlings caused by *Alternaria brassicicola* with Ebb & Flow or overhead irrigation after infection with the fungus. One-week-old cabbage seedlings were inoculated by spraying with conidial suspension (10^5 conidia/ml) of the fungus. The seedlings were kept moist overnight to promote infection. Seedlings were then kept in a greenhouse and symptoms investigated 2 weeks after the inoculation. Symptoms were categorized as seedling blight (■), cotyledon blight (▣) including seedling blight, cotyledon lesions (▣) including both above, and total (□) including dots on cotyledons and all three above. Double-asterisks (**) on bars for 'Ebb & Flow' show a statistically significant difference (t -test, $P < 0.05$) from 'Overhead'. Experiments were repeated 4 times. Error bars indicate standard errors.

で新たに発病した株はほとんど認められず、分生子の飛散による二次伝染がほぼ完全に抑えられた。また、接種直後から被接種株を乾燥しがちなガラス温室内で育苗した場合にも、底面給水では頭上灌水と比較して黒すす病の発病や症状の激化が顕著に抑えられ、地上部の1日1度の灌水時の濡れや頭上灌水による高湿度化を防ぐだけでも黒すす病の抑制に効果があることが示された。接種後に、黒すす病菌が感染しやすい湿室に一晩置いて感染を成立させてから底面給水で育苗した場合にも、頭上灌水と比較して、激しい病徴を現した株が少なかった。病斑が子葉の葉柄を伝って胚軸にまで至るような激しい病徴は、子葉上の初期病斑で形成された分生子が灌水によって流れたことによる二次伝染の結果と推測できるが、底面給水ではこのような二次伝染が抑えられたと考えられる。

3 黒すす病の防除効果がある殺菌剤の検討

キャベツのセル成型育苗で大きな被害を与えている黒すす病の殺菌剤による防除に関する報告は、国内では種子に対する処理に関するもののみで、2004年まで適用

登録された殺菌剤がなかった(黒田ら, 1998)。その後、キャベツのセル成型苗に対しては、2004年にポリオキシン複合体の種子処理と散布が適用登録された。しかし、1剤のみでは使用回数が制限されることもあり、十分な防除は難しい。また、薬剤耐性菌の出現も危惧される。そのため、黒すす病に適用できる殺菌剤の登録を増やすことも、同病の防除には必要である。本節では、応急的な適用拡大も視野に入れ、キャベツの糸状菌病害に対して既に適用登録がある殺菌剤の黒すす病防除効果を検討した。

a 材料と方法

1) 培地上での黒すす病菌の生育に殺菌剤が及ぼす影響

PSAで24°C、2週間以上培養した黒すす病菌の菌叢を水中でこすって得た分生子懸濁液を、19種類の殺菌剤(Table 8)をキャベツでの使用濃度で含ませたWAに塗沫して、24°Cで24または48時間培養した後、顕微鏡で観察した。各薬剤100個の分生子についての観察を4反復行った。また、直径5mmの同菌のPSA培養ディ

Table 8 Fungicides registered for use on cabbage in Japan and evaluated for effects on *Alternaria brassicicola*

Fungicide	Maker	Concentration at use (mg/l) ^a	Fungal pathogen of registered target ^b
Chlorothalonil	Sumitomo Chemical Garden Products	400	<i>Peronospora parasitica</i>
Copper nonylphenol sulfonate	Yonezawa Chemical	600	<i>Peronospora parasitica</i>
Validamycin	Sumitomo Chemical Garden Products	62.5	<i>Rhizoctonia solani</i>
Thiophanate-methyl	Kumiai Chemical Industry	700	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Fultolanil	Nihon Nohyaku	500	<i>Rhizoctonia solani</i>
Copper oxychloride	Nissan Chemical Industry	1500	<i>Peronospora parasitica</i> , <i>Alternaria brassicae</i>
Fosetyl-aluminium	Nippon Soda	1600	—
Iprodione	Yashima Chemical Industry	500	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Mancozeb	Kumiai Chemical Industry	1500	<i>Peronospora parasitica</i>
Benomyl	Sumitomo Chemical Garden Product	250	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Procymidone	Sumitomo Chemical	500	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Tolclofos-methyl	Hokko Chemical Industry	1000	<i>Rhizoctonia solani</i>
Metalaxyl	Syngenta	200	<i>Pythium</i> spp.
Polyoxins	Kaken Pharmaceutical	200	<i>Alternaria brassicicola</i>
Iminoctadine	Kumiai Chemical Industry	500	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Mixture of mancozeb and metalaxyl	Sankyo Agro	1100 (mancozeb), 200 (metalaxyl)	<i>Peronospora parasitica</i>
Mixture of oxadixyl and copper oxychloride (CO)	Hokko Chemical Industry	200 (oxadixyl), 1346 (CO)	<i>Peronospora parasitica</i>
Mixture of oxadixyl and chlorothalonil (TPN)	Sumitomo Chemical Garden Products	64 (oxadixyl), 320 (TPN)	<i>Peronospora parasitica</i>
Mixture of iminocadine (Im) and copper oxychloride (CO)	DIC	50 (Im), 1470 (CO)	<i>Peronospora parasitica</i>

^a Concentration registered for use on cabbage.

^b Fungicides legally permitted in Japan for use on cabbage for protection from target pathogens.

スクを、同様に殺菌剤を含ませた PSA で 24°C, 7 日間培養して菌叢直径を測定した。本試験は 8 反復行った。

2) キャベツセル成型苗における各殺菌剤の防除効果

19 種類の殺菌剤の予防効果を調べるために、播種 9 日後 (子葉展開期) のキャベツセル成型苗に、各殺菌剤のキャベツにおける使用濃度 (Table 8) に調製した水溶液を散布し、翌日、 10^5 個/ml に調整した黒すす病菌の分生子懸濁液を噴霧して 25°C の湿室に一晩置いた後、ガラス温室で育苗を続け、接種の 9 日後に病徴を調査した。また、同殺菌剤の治療効果を調べるため、播種 10 日後のキャベツセル成型苗に、上述と同様に黒すす病菌を接種し、接種の 2 日後に殺菌剤を散布し、その後 7 日間ガラス温室で育苗して病徴の調査を行った。病徴調査の結果より、各殺菌剤について、病徴別に「0: 発病なし, 1: 子葉に微小点あり, 2: 子葉に病斑あり, 3: 子葉が枯死して茎に病斑が進展, 4: 苗全体が枯死」の発病指数を与え、

$$\text{発病度} = \Sigma (\text{発病度別株数} \times \text{指数}) \div (\text{調査株数} \times 4) \times 100$$

$$\text{防除価} = 1 - (\text{発病度} \div \text{無散布の発病度})$$

の式により防除価を算出し、各殺菌剤について、約 30 株を用いた 4 回の試験の平均値を求めた。

b 結果と考察

1) 培地上での黒すす病菌の生育に殺菌剤が及ぼす影響

ホセチル (fosetyl-aluminium), TPN (chlorothalonil), ノニルフェノールスルホン酸銅 (copper nonylphenol sulfonate), マンゼブ (mancozeb), イミノクタジン (iminocadine), オキサジキシル・TPN 混合 (mixture of oxadixyl and chlorothalonil), マンゼブ・メタラキシル混合剤 (mixture of mancozeb and metalaxyl) の各殺菌剤を含ませた WA で黒すす病菌の分生子を 24 時間培養した場合、分生子の発芽が完全に抑制された (Fig. 51)。ポリオキシシン複合体 (polyoxins), イプロジオン (iprodione), イミノクタジン・銅混合剤 (mixture of iminocadine and copper oxychloride), 銅 (copper oxychloride), オキサジキシル・銅混合剤 (mixture of oxadixyl and copper oxychloride) でも、不安定ながら、殺菌剤無添加と比較して発芽が抑制された。他の殺菌剤では分生子の発芽阻害は認められなかった。48 時間後の観察ではポリオキシシン複合体, イプロジオン, 銅, イミノクタジン, イミノクタジン・銅混合剤, オキサジキシル・銅混合剤では発芽率がやや上昇した。ホセチル, TPN, ノニルフェノールスルホン酸銅, マンゼブ, オキサジキシル・TPN 混合, マンゼブ・メ

タラキシル混合剤では、48 時間後でも発芽が認められなかった。銅剤では発芽した菌糸が数珠状、フルトラニル (fultolanil) とポリオキシシン複合体では球状となり、また、トルクロホスメチル (tolclofos-methyl) では分枝が多くなる異常が認められた (Fig. 52)。

ホセチル, イプロジオン, ポリオキシシン複合体, イミノクタジンを含む PSA 上では 7 日後の菌叢生育が 1 mm 以下となり、菌叢生育がほとんど認められなかった。チオファネートメチル (thiophanate-methyl) とメタラキシル (metalaxyl) では、殺菌剤無添加の場合と菌叢直径が同等で、菌叢の生育阻害が認められなかった。他の殺菌剤では、ある程度の菌叢の生育阻害が認められた (Fig. 53)。

2) キャベツセル成型苗における各殺菌剤の防除効果

キャベツセル成型苗に黒すす病菌を接種する 1 日前にトルクロホスメチル, イプロジオン, イミノクタジン, ポリオキシシン複合体, マンゼブ・メタラキシル混合剤を散布した場合には、無病徴株の率、防除価とも高くなり、これらの殺菌剤による予防効果が高いことが示された (Fig. 54)。プロシミドン (procymidone), マンゼブ, イミノクタジン・銅混合剤, オキサジキシル・TPN 混

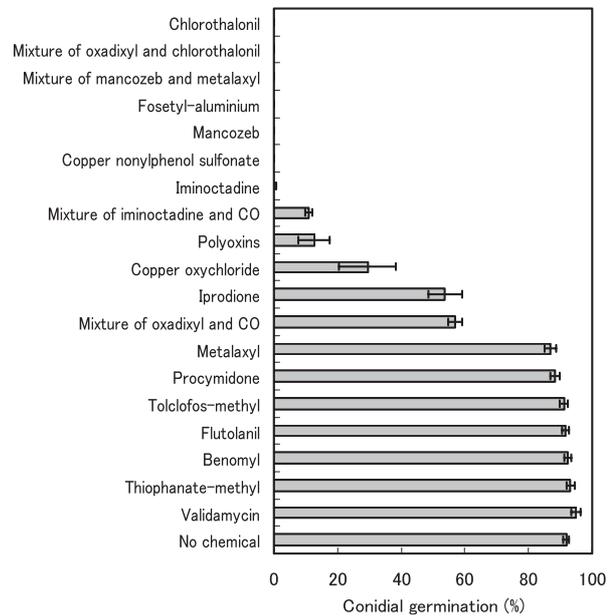


Fig. 51 Effects of fungicides on conidial germination of *Alternaria brassicicola*. Figure shows germination frequency of *A. brassicicola* conidia on 1.5% agar including fungicide, after 24-hours incubation at 24°C. For concentrations of the fungicides refer to Table 8. CO as a component of mixtures refers to copper oxychloride. Experiments were repeated 4 times. Error bars indicate standard errors.

合剤でも高い防除価が得られたが、前出のものよりは効果が不安定であった。ベノミル (benomyl)、メタラキシルでは子葉に現れる病徴が、無散布の場合と差がなく、防除効果が全く認められなかった。バリダマイシン (validamycin)、チオファネートメチル、ホセチルも防除価が低く、防除効果がないと考えられた。TPN、銅、フルトラニル、オキサジキシル・銅混合、ノニルフェノールスルホン酸銅は、効果が認められた場合もあったが、不安定で黒すす病の防除には不適であると考えられた。TPN とマンゼブを含む殺菌剤では分生子の発芽阻害が推測されたが、培地上で分生子発芽の阻害率が高かったホセチル、ノニルフェノールスルホン酸銅による防除効果は小さかった。これらのことより、黒すす病に対する予防剤としては、イプロジオン、トルクロホスメチル、

イミノクタジン、ポリオキシシン複合体、プロシミドン、マンゼブを含む薬剤が有効であると考えられた。

接種の2日後に各殺菌剤を散布して、病徴進展の抑制効果を検討した場合には、接種前の散布と比較して、概して病徴が激しくなった。この場合は、プロシミドンで無病徴株の割合、防除価が最も高くなった (Fig. 55)。プロシミドンにはやや劣るものの、イプロジオン、トルクロホスメチル、マンゼブ・メタラキシル混合剤でも子葉の病徴が軽減されたが、試験の反復間で効果にばらつきが見られた。ポリオキシシン複合体、バリダマイシン、マンゼブなどでも病徴の軽減効果が認められる場合があったが、その効果は低かった。他の殺菌剤では病徴の軽減は認められず、黒すす病の防除には不適であると考えられた。また、接種後に殺菌剤を散布した場合の防除効果

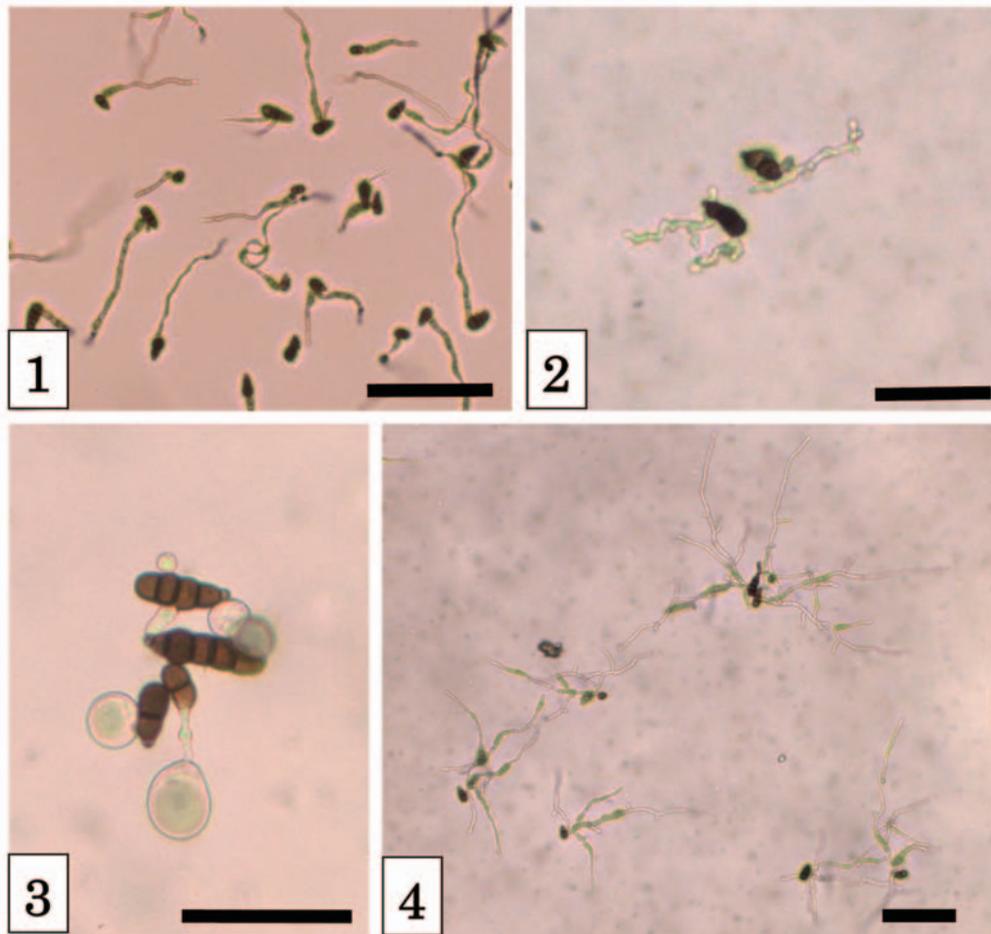


Fig. 52 Effects of fungicides on morphology of conidial germination of *Alternaria brassicicola*. Conidia of the fungus were incubated for 24 hours at 24°C on 1.5% agar (WA) including fungicides at concentrations shown in Table 8.

1. Germination on WA without fungicide (scale: 100 μ m).
2. Bead-like hyphae on WA with copper oxychloride (scale: 50 μ m).
3. Swelling hyphae on WA with flutolanil (scale: 50 μ m).
4. Over-branching hyphae on WA with tolclofos-methyl (scale: 100 μ m).

と、分生子発芽や菌叢生育の阻害には相関性が認められなかった。以上の結果より、黒すす病菌感染後の病徴抑制にはプロシミドンが最適であり、イプロジオンとトルクロホスメチルも有効である。また、マンゼブとメタラキシルは単剤では防除効果が低かったが、混合剤では高い効果が得られた。

本試験中には、使用した殺菌剤による薬害は認められなかったが、育苗施設においてはマンゼブや銅剤によると思われる薬害が認められており、高温期には注意が必要である。また、培地上の孢子発芽や菌叢生育の阻害程度と、植物に散布した場合の防除効果は相関性がない場合が多く、有効な薬剤のスクリーニング時には、植物上での効果を検討しなければならないことが示された。

4 ポリオキシン複合体のキャベツセル成型苗の黒すす病に対する適用拡大のための効果判定試験

ポリオキシン複合体は多くの作物の *Alternaria* 属菌による病害に対して、適用されており、黒田ら (1998) により、キャベツの黒すす病菌汚染種子を当剤に浸漬することで消毒効果が得られることも示されている。本剤

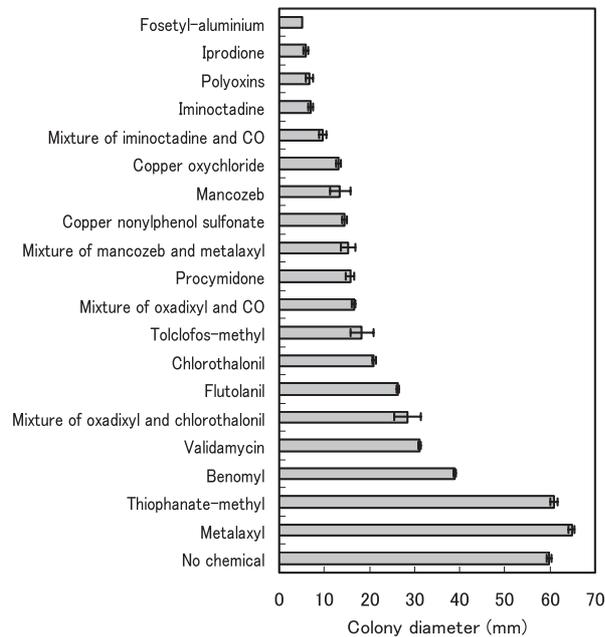


Fig. 53 Effects of fungicides on mycelial growth of *Alternaria brassicicola*. Mycelial discs (5-mm diameter) of the fungus were incubated on PSA including fungicide. For concentrations of the fungicides refer to Table 8. CO as a component of mixtures refers to copper oxychloride. The colony diameter was measured after 7-days incubation at 24°C. Experiments were repeated 8 times. Error bars indicate standard errors.

のキャベツセル成型苗の黒すす病に対する適用拡大が期待され、そのための効果判定試験を行った。本試験は日本植物防疫協会による「新農薬実用化試験」によって行われた。

a 材料と方法

播種時散布の効果を判定する試験では、 10^6 個/ml の黒すす病菌分生子懸濁液に浸漬して作製したキャベツ汚染種子をセルトレイに播種し、その直後に1トレイ当たり 500 ml のポリオキシン複合体水和剤 (有効成分 50%) 1,000 倍希釈液を散布した。その後ガラス室内で3週間育苗して発病状況を調査した。苗散布での効果を

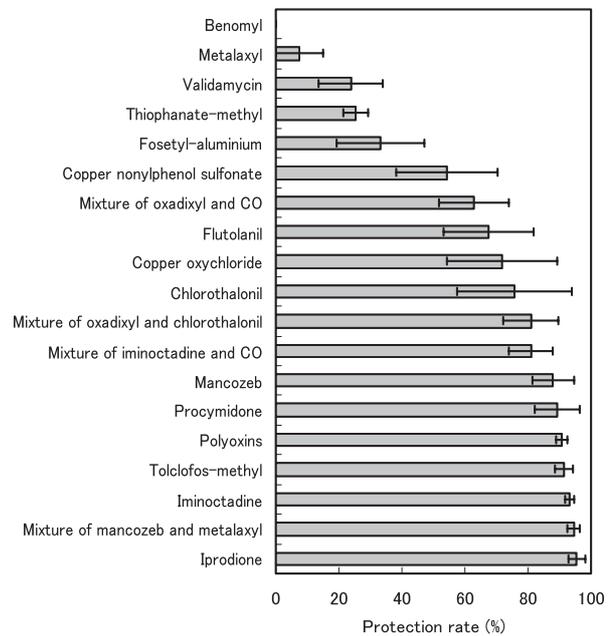


Fig. 54 Effects of treating cabbage seedlings with fungicide prior to inoculation with *Alternaria brassicicola*. Seedlings were treated with fungicide 9 days after sowing, then inoculated with the fungus by spraying with conidia 10 days after sowing. For concentrations of the fungicides refer to Table 8. CO as a component of mixtures refers to copper oxychloride. Symptoms on the seedlings were assessed 9 days after the inoculation according to a 0-4 scale: 0; no symptom, 1; dots on leaves, 2; lesions on leaves, 3; blight of leaves and 4; blight of whole seedlings. Disease severity and protection rate were then calculated using the equations below,

$$\text{Disease severity} = \frac{\sum [(\text{no. of seedlings with each symptom}) \times \text{index}]}{[4 \times (\text{total no. of seedlings})]}$$

$$\text{Protection rate} = 1 - \frac{(\text{disease severity for each treatment})}{(\text{disease severity for no treatment})}$$

Experiments were repeated 4 times. Error bars indicate standard errors.

調べる試験では、同様の種子を播種後1週間ガラス室内で育苗して子葉展開期まで生育した苗に当剤の2,500倍希釈液を1トレイ当たり500ml散布し、さらにその1週間後、第1葉展開期の苗に2回目の散布を同量行った。その後、1週間育苗を続け、発病状況を調査した。播種時土壌灌注・苗散布・無散布区とも各1トレイを用いて3反復の試験を行った。

発病状況の調査では、病徴別に「0：発病なし，1：子葉に病斑あり，2：子葉が枯死，3：子葉が枯死して茎に病斑が進展，4：苗全体が枯死」の発病指数を与え、

$$\text{発病度} = \Sigma(\text{発病度別株数} \times \text{指数}) \div (\text{調査株数} \times 4) \times 100$$

$$\text{防除価} = 1 - (\text{発病度} \div \text{無散布の発病度})$$

 の式により防除価を算出した。

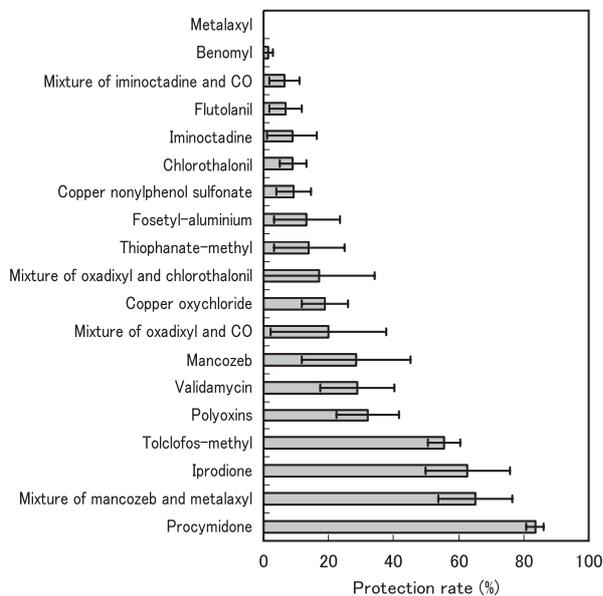


Fig. 55 Effects of fungicide treatment applied to cabbage seedlings after inoculation with *Alternaria brassicicola*. Seedlings were inoculated with the fungus by spraying with conidia 9 days after sowing and then treated with each fungicide 11 days after sowing. For concentrations of the fungicides refer to Table 8. CO as a component of mixtures refers to copper oxychloride. Symptoms on the seedlings were assessed 9 days after the inoculation according to a 0-4 scale: 0; no symptom, 1; dots on leaves, 2; lesions on leaves, 3; blight of leaves and 4; blight of whole seedlings. Disease severity and protection rate were then calculated using the equations below,

$$\text{Disease severity} = \Sigma[(\text{no. of seedlings with each symptom}) \times \text{index}] / [4 \times (\text{total no. of seedlings})]$$

$$\text{Protection rate} = 1 - (\text{disease severity for each treatment}) / (\text{disease severity for no treatment})$$

 Experiments were repeated 4 times. Error bars indicate standard errors.

b 結果と考察

汚染種子を播種して3週間セル成型育苗を行った場合、3反復の発病株率は平均95%で、発病度は37.8となった (Table 9)。ポリオキシシン複合体1000倍希釈液を播種直後に散布した場合では、発病株率が23.1%、発病度が7.0となり、発病度より無処理に対する防除価を算出すると81.5%となった。苗に2500倍液を2回散布した場合は、発病株率が35.4%、発病度が9.6となり、防除価が74.6%と算出された。

ポリオキシシン複合体1,000倍希釈液の播種後散布、2500倍希釈液の苗散布は無散布区と比較して防除効果があり、実用性があると判定された。当剤による薬害や汚れは認められなかった。本剤では発芽後の散布よりも、播種時の散布効果が高く、種子伝染性病害に対する初期防除の重要性が示された。本研究や、他場所の同様の研究により (黒田ら, 1998; 日本植物防疫協会編, 2001; 2002; 2004), 2004年にポリオキシシン複合体について、キャベツの黒すす病に対して、種子浸漬、土壌灌注とセル成型苗への散布による使用登録が得られた。

5 ヒドロキシイソキサゾールによるピシウム腐敗病の防除

本研究によりキャベツのセル成型苗においても *Pythium aphanidermatum* によるピシウム腐敗病が発生することが認められた。同病は水を介して急速に伝染して大きな被害をもたらす場合がある。しかし、同病に対して適用登録のある殺菌剤はなく、防除が困難である。

ヒドロキシイソキサゾールは作用機作が明らかにされていないものの、数種の *Pythium* 属菌による病害に対して防除効果を示し (Nakanishiら, 1983), キャベツピシウム腐敗病菌と同種の *Pythium aphanidermatum* によるタバコ舞病、ハウレンソウ立枯病に対して適用登録されている。本剤のキャベツセル成型苗のピシウム腐敗病に対する防除効果も既に認められている (山内ら, 1998) が、本節ではヒドロキシイソキサゾール30%液剤 (HIX) を用いて、より実用に即した処理での防除効果と、効果の時間的な特性を検討した。

a 材料と方法

1) 防除効果の検討

梅雨明け後の高温期にガラス室内でキャベツのセル成型苗を育苗し、播種11または6日後に、1,000または500倍希釈したHIXを1トレイ当たり500ml散布し、その1日後にピシウム腐敗病菌を培養した約5mm角

Table 9 Effects of polyoxins on diseases of cabbage seedlings grown from seeds infested with *Alternaria brassicicola*

Treatment	Dilution ^a	Repeat	No. of seedlings	Diseased seedlings (%)	Severity ^b	Protection rate (%) ^c
Poured on soil just after sowing	1000	1	104	33.7	12.5	
		2	107	19.6	4.6	
		3	113	15.9	4.0	
		Average	108	23.1	7.0	81.5
Sprayed onto seedlings	2500	1	86	37.2	9.8	
		2	115	33.0	9.1	
		3	100	36.0	9.8	
		Average	100	35.4	9.6	74.6
None		1	101	99.0	42.8	
		2	104	91.3	29.8	
		3	92	94.6	40.8	
		Average	99	95.0	37.8	

^a A formulation including 50% polyoxins was used.

^b Symptoms on the seedlings were recorded 3 weeks after sowing and each symptom assigned a value according to a 0-4 scale: where: 0; no symptom, 1; lesions on cotyledons, 2; blight of cotyledons, 3; cotyledon blight with lesion on hypocotyls and 4; blight of whole seedlings. Disease severity was calculated using the following equation:
Disease severity = Σ [(no. of seedlings with each symptom) \times index] / [4 \times (total no. of seedlings)] \times 100

^c Protection rate was calculated using the following equation:

Protection rate = $1 - (\text{disease severity for each treatment}) / (\text{disease severity for no treatment})$.

の PSA 培養片を 1 トレイ中の 32 セルの培地表面に置いた。同時に、同菌を培養した PSA 上にキャベツ苗または本葉を置いて作製した罹病組織とともに、トレイを水に浸して接種を行った。その 13 日後に立ち枯れ株数を調査した。立ち枯れ率から {防除価 = $1 - (\text{処理区立ち枯れ率} \div \text{無処理立ち枯れ率})$ } の式により防除価を算出した。各区 1 トレイを用い、播種 11 日後薬剤散布の試験は 1 回、6 日後散布の試験は 2 回行った。

薬剤散布を 2 回行う試験では、播種 7 日後に HIX の 1 回目散布を行い、その 1 日後に接種を行った。その接種の 6 日後に再び薬剤散布を行い、2 回目散布の 7 日後に立ち枯れ株数を調査した。本試験は各区 1 トレイを用いて 3 反復行った。

2) 防除効果の経時変化

キャベツセル成型苗において播種後から 10 日の間に、HIX の 1,000 または 500 倍希釈液を 1 トレイ当たり 500 ml、1 回散布し、播種 7 日後に約 5 mm 角のピシウム腐敗病菌の PSA 培養片を胚軸に付着させて 30°C の湿室に 4 日間保った後、立ち枯れ株率を調査した。1,000 倍希釈液の試験では 1 区約 30 株を用いて 3 反復、500 倍希釈液の試験では 5 反復行った。また、播種後 5~11 日の間に 1 回、HIX の 1,000 または 500 倍希釈を 1 トレイ当たり 500 ml 散布し、播種 11 日後にピシウム腐敗病菌の PSA 培養片を胚軸に付着させ、30°C の湿室に 4 日間保った後、立ち枯れ率を調査した。1,000 倍希釈液の試

験では 1 区約 30 株を用いて 4 反復、500 倍希釈液の試験では 5 反復行った。さらに、より長期の HIX の効果を調べるために、播種 5 日後のキャベツセル成型苗に HIX の 500 倍希釈液を散布して、その 9、12 または 15 日後にピシウム腐敗病菌の培養片を胚軸に付着させて 30°C の湿室に 4 日間保った後、立ち枯れ率を調査した。本試験では、各区約 30 株の苗を用いて 3 反復行った。

3) 培地上における HIX のピシウム腐敗病菌菌叢生育抑制

HIX を体積比で 1/500 または 1/1,000 含む PSA 上で直径 5 mm のキャベツピシウム腐敗病菌菌叢ディスクを 30°C で 24 時間培養して菌叢直径を、6 反復計測した。

b 結 果

1) 防除効果

1 回散布の試験のうち、播種 11 日後に HIX を処理した 1 回目の試験では、無散布区の立ち枯れ率が 33.6% となり、処理区の立ち枯れ率はほぼ 0% となった (Table 10)。播種 6 日後に HIX を処理した 2 回の試験では、無処理区の立ち枯れ率が 64.2% と 86.7%、1,000 倍液処理区で 30.3% と 36.8% となり 2 回の試験で同様の結果が得られた。500 倍液では 46.2% と 72.9% で効果がばらついた。3 回の試験の防除価平均は 500 倍液処理で 47.1、1,000 倍液で 70.1 となった。

2 回散布の試験では、平均立ち枯れ率は無処理区で

Table 10 Effects of hydroxyisoxazole on damping-off of cabbage seedlings after inoculation with *Pythium aphanidermatum*^a

Treatment ^b	Experiment	Dilution of chemical				No chemical
		500		1000		
		Damping-off (%) ^c	Protection rate (%) ^d	Damping-off (%) ^c	Protection rate (%) ^d	Damping-off (%) ^c
Single	1	0.8	97.6	0	100	33.6
	2	46.2	28.0	30.3	52.8	64.2
	3	72.9	15.8	36.8	57.5	86.7
	Average		47.1±31.2 ^e		70.1±18.4 ^e	
Double	1	13.4		1.6		29.7
	2	12.8		2.4		28.5
	3	14.2		0.8		46.6
	Average	13.5±0.4	61.3 ^f	1.6±0.5	95.4 ^f	34.9±5.8

^a Hypocotyls of 32 seedlings in a tray (128 plugs) were inoculated with mycelial disc (5×5 mm) of the fungus. In addition, the tray was soaked to water with cabbage leaves infected with the fungus.

^b A formulation including 30% hydroxyisoxazole was used for treatment 1 day before the inoculation. In double treatments, the fungicide was used again 6 days after the inoculation.

^c Seedlings damped-off were counted 2 weeks after the inoculation.

^d Protection rate was calculated by the following equation:

$$\text{Protection rate} = 1 - (\text{frequency of seedlings damped-off for treatment}) / (\text{frequency of seedlings damped-off for no treatment})$$

^e In tests for single treatment, experiments were repeated three times separately, so protection rates for each repeat was averaged.

^f In tests for double treatments, three repeats were simultaneous, so a protection rate was calculated from an average of damping-off frequencies for the repeats.

34.9%, 500 倍液処理区で 13.5%, 1,000 倍液区で 1.6% であり, 防除価は 500 倍液区で 61.3, 1,000 倍液区で 95.4 となった. これらの結果から, HIX の 1 回散布より 2 回散布でキャベツ苗のピシウム腐敗病に対する防除効果が高くなること, 500 倍液よりも 1,000 倍液処理で防除効果が安定することが示された. また, 発病率が低い場合には, ほぼ完全に防除できることも示唆された. ただし, 500 倍希釈液では, 葉の周縁が白色に枯れる葉害が認められた.

2) 防除効果の経時変化

全苗に病原菌菌叢を附着させて温室に保った試験では, 無処理区において, 温室内の試験よりも立ち枯れ率が安定して, 平均 65~85% となった. このような条件で, 播種直後から HIX の 1,000 倍希釈液を 1 回散布した場合, 播種の 3~9 日後, すなわち接種の 4 日前~2 日後, 500 倍希釈液散布では播種日から播種 9 日後, すなわち接種 7 日前~2 日後に防除効果が認められた (Fig. 56). 特に接種 4 日前~当日に散布した場合の防除価は 40 以上となり安定した. しかし, 病勢が進展した接種 3 日後の散布では効果が劣った. 播種直後の培養土表面に HIX を散布した場合, 1,000 倍希釈液よりも 500 倍希釈液の残効性が高かった. 播種 5 日後の子葉展開期から HIX を 1 回散布した試験では, 全体的に防除価がやや低かったが, 1,000 倍希釈液で 27~45, 500 倍希釈液で 26~63 となり, 接種 6 日前~当日の散布である程度

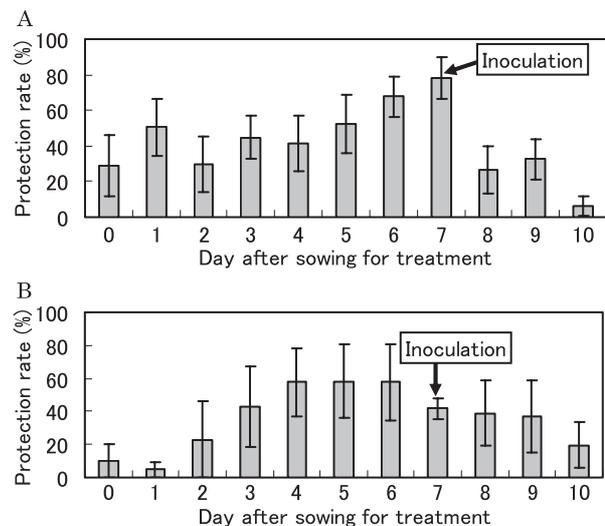


Fig. 56 Effects of hydroxyisoxazole treatment applied just after sowing, on damping-off of cabbage seedlings caused by *Pythium aphanidermatum*. Soil and seedlings were treated with a formulation of 30% hydroxyisoxazole diluted by 500 (A) or 1000 (B) times. Mycelia of the fungus were used to inoculate seedling hypocotyls 7 days after sowing. Damping-off of the seedlings was assessed 4 days after the inoculation and protection rate was calculated using the following equation: Protection rate=1-(frequency of seedlings damped-off for treatment)/(frequency of seedlings damped-off for no treatment) Experiments were repeated 5 times for 500-times dilution or 3 times for 1000-times dilution. Error bars indicate standard errors.

防除効果が認められた (Fig. 57). 1,000 倍希釈液を播種直後から処理し始めた場合よりも、子葉展開後から処理を始めた方が、接種の5~6日前処理時の防除効果が高く、培養土を介さずに苗に直接散布した方が防除効果が持続した。500 倍希釈液を処理して9, 12, 15日後の接種では、防除価が2~17で防除効果が認められなかった。

3) 培地上での菌叢生育抑制

HIX を1/500 含む培地で、キャベツピシウム腐敗病菌を30℃, 24時間培養した場合の菌叢直径は23.1±1.2 mm, 1/1,000 含む培地では31.0±1.4 mm, 薬剤を含まない場合には75.6±0.7 mm となり、HIX を含む培地では菌叢生育が遅延した (Fig. 58).

c 考 察

HIX は病原菌の生育を完全に阻害するものではなく (Nakanishi ら, 1983), 植物の抵抗反応と相まって防

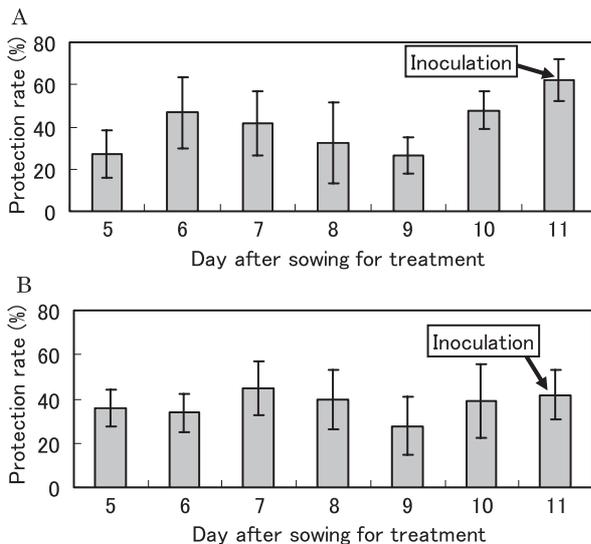


Fig. 57 Effects of hydroxyisoxazole treatment onto cabbage seedlings on damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*. Seedlings were treated with a formulation of 30% hydroxyisoxazole diluted by 500 (A) or 1000 (B) times. Fungal mycelia were used to inoculate seedling hypocotyls 11 days after sowing and damping-off of the seedlings was assessed 4 days after the inoculation. Protection rate was calculated using the equation below, $\text{Protection rate} = 1 - (\text{frequency of seedlings damped-off for treatment}) / (\text{frequency of seedlings damped-off for no treatment})$. Experiments were repeated 5 times for 500-times dilution or 4 times for 1000-times dilution. Error bars indicate standard errors.

除効果を示すものと思われた。Kamimura ら (1974) や小川ら (1976) によると、HIX は植物に速やかに吸収され、 β -N-グルコシドへと代謝されて植物の生育を促進するが、HIX そのものは植物の生育を抑制する。500 倍希釈液での葉害、防除効果の不安定は、高濃度処理により HIX の代謝が遅れ、植物の生理条件が乱れたことによる可能性がある。HIX の代謝が進み、植物の生育が促進されている状態では病原菌に感染されにくくなると思われる。一方、HIX は土壤に吸着しやすく (Nakanishi ら, 1974), 土壤灌注した場合、表面近くに留まるため、播種深度が浅いキャベツにおける効果の発揮には有利であると考えられる。HIX は土壤中ですばやく分解されるが (Nakanishi ら, 1974; 高日ら, 1980), ピートモスとバーミキュライトを主成分とするセル育苗用培養土での分解に関する研究例はない。キャベツセル成型苗におけるピシウム腐敗病の感染、発病過程の詳細な分析はなされていないが、葉害についても考慮し、播種時の HIX 500 倍希釈液土壤灌注、その後、1 週間おきの 1,000 倍希釈液散布などの使用が、同病の防除には適当と考えられた。今後、HIX の適用登録が望まれる。また、HIX は、*Pythium* 属菌による病害に対して広く防除効果があるため、キャベツの *Pythium megalacanthum* と *Pythium zingiberis* による苗立枯病や *Pythium ultimum* var. *ultimum* による病害に対しても効果が期待できる。

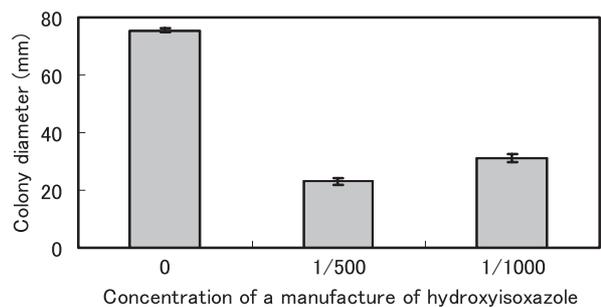


Fig. 58 Effects of hydroxyisoxazole on mycelial growth of *Pythium aphanidermatum* on PSA. Mycelial disc (5-mm diameter) of the fungus was incubated on PSA including a formulation of 30% hydroxyisoxazole diluted by 500 or 1000 times for 24 hours at 30℃. Experiments were repeated 6 times. Error bars mean standard errors.

V 総合考察

キャベツのセル成型苗の育苗には約1ヶ月を要し、その三重県における供給期間は、一般的には8月から翌年の3月である。本研究における調査結果からこの期間の病害の発生活消長のモデルを図示した (Fig. 59)。1997~1999年の調査では育苗施設の営業開始直後、2004~2005年の調査ではその経年後の調査と位置づけられるが、黒すす病を筆頭にした種子伝染性病害と、季節によって異なる種の *Pythium* 属菌による病害を中心として、発生する病害の種類、季節による消長に大きな差は見られなかった。黒すす病は最も発生頻度が高く、全期間を通じて発生して被害も最も大きかった (Table 11)。特に8~10月の暖かい期間には多発生する。*Pythium aphanidermatum* によるピシウム腐敗病は夏期に発生し、発生頻度は低いものの急速な二次伝染により大きな被害を及ぼすことがある。べと病は3月、日最高気温が15°Cを超えるあたりから発生し、やはり急速に二次伝染する。*Pythium megalacanthum* による苗立枯病は、10~3月の低温期に発生し、二次伝染して被害も大きくなる。*Rhizoctonia solani* による苗立枯病、根朽病、先枯病、黒斑病は年間を通じて発生するものの、発生頻度は低く、二次伝染も少ないことから被害は小さい。同様に低頻度、一次的な感染にとどまるものとして、温暖期の *Pythium ultimum* var. *ultimum* によるピシウム腐敗病と3月に発生した黒腐病がある。こうがいかび病と *Pythium zingiberis* による苗立枯病は、いずれも高温期に発生し、病原菌の性質から二次伝染しやすいと考えられるが、現在のところ、単発的な発生にとどまっている。

育苗施設において最も大きな被害を出した黒すす病菌は種子伝染し、国内市販種子におけるその汚染率も高いことが示された。育苗現場においても種子のロットによ

り黒すす病の発生程度が異なり、汚染が激しいと思われたロットの種子由来の苗では、立ち枯れや生育不良までは至らなくともほとんど全ての苗に何らかの病徴が現れる場合があった。欠株の多くも、種子伝染した黒すす病菌の感染による不発芽であると推測される。加えて、頭上灌水により同病の二次伝染が助長され、底面給水時よりも病徴の進展も盛んになることが示された。また、セルトレイを用いることによる密植が苗周辺を高湿度に保ち、病害の発生に適した環境条件を作り出している可能性がある。特に、長雨時には、通常、黒すす病によっては激しい病徴にならない生育が進んだ苗でも立ち枯れる例が見られた。キャベツの採種栽培においては栽培期間が長期に渡り、結実以後は、作物が黒すす病菌の感染に適した低栄養条件とならざるを得ないこと、また、国内においては採種が梅雨時期と重なることから、ある程度

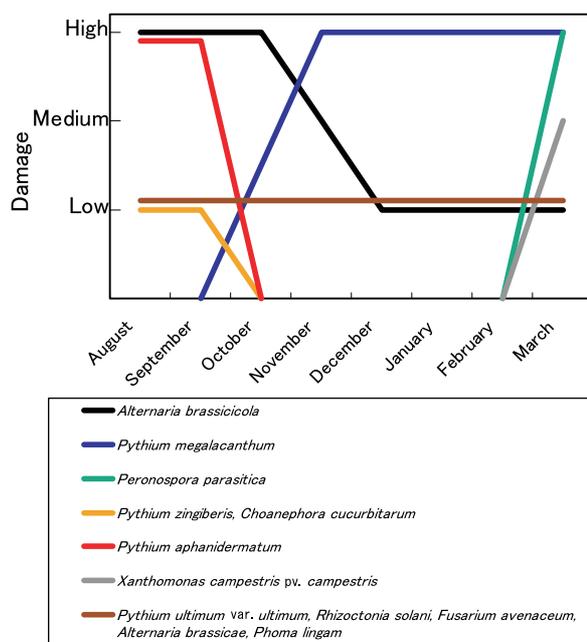


Fig. 59 Incidence of diseases caused by each pathogen on cabbage plug seedlings in Mie prefecture.

Table 11 Degree of disease occurrence caused by each pathogen on cabbage plug seedlings

Frequency	Expansion	Pathogens
High	Large	<i>Alternaria brassicicola</i>
Medium	Large	<i>Pythium megalacanthum</i>
Low	Large	<i>Pythium aphanidermatum</i> , <i>Peronospora parasitica</i>
Low	Medium	<i>Rhizoctonia solani</i>
Low	Small	<i>Choanephora cucurbitarum</i> , <i>Fusarium avenaceum</i> , <i>Alternaria brassicae</i> , <i>Pythium ultimum</i> var. <i>ultimum</i> , <i>Pythium zingiberis</i> , <i>Phoma lingam</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>

の黒すす病菌による種子汚染は避けられない。海外では、キャベツの採種栽培における防除試験の研究例があるが、国内では採種栽培時の防除に対する注意が払われていない (Maude ら, 1980 a)。そのため、採種以後の対策が必要となる。種子粉衣が認められている殺菌剤もいくつかあり、培地上での黒すす病菌の分離に対して有効なものもあるが、セル成型育苗における同病の発生状況からしても、育苗現場において有効であるとは言い難い。また、播種後においても、キャベツの黒すす病を対象として使用登録されている殺菌剤はポリオキシシン複合体しかない。野菜においては、作物の体積や栽培面積が小さいため、果樹や普通作物と比較して殺菌剤の使用量は少ない。特に、種子処理用殺菌剤の使用は、圃場への散布と比較するとその使用量はごくわずかである。本研究においてはキャベツの黒すす病に対して未登録で有効な薬剤が示されたものの、一般的に野菜を対象とした登録殺菌剤は少ない。しかし、集中育苗の現場における種子伝染性病害の多発生は、広域的に、その後の生産物の量、質にまで影響を及ぼすため、それを防ぐための、種子処理用も含めた野菜を対象とした殺菌剤の登録に今後期待したい。ポリオキシシン複合体の防除効果判定試験においては、発芽後よりも播種直後の処理による効果が大きく、種子伝染性病害に対してはより早い生育段階での防除が有効であることが示された。また、植物体への散布と比較して収穫期までの影響が残りにくいという意味でも、殺菌剤の種子処理による病害の初期防除は有用であろう。一方、種子伝染性病原菌による種子の汚染程度にも常に注意を払う必要がある。近年海外からの輸入種子が急増しており、海外採種においては、国内採種の場合と種子汚染を起こす病原菌の種類や頻度の傾向が異なる可能性もある。

セル成型育苗における黒すす病の防除においては、二次伝染を止め、病徴の進展を抑えるという2つの面において底面給水が有効である。しかし、キャベツにおいては苗の単価を上げることが困難であり、コストの面から設備の導入が進んでいない。また、他の病害、特に水で媒介される *Pythium* 属菌による病害への影響は、今後検討されなければならない。なお、底面給水については、黒すす病と同様に、苗の茎葉上で大量の胞子を作って二次伝染する他の病害に対しても有効であると考えられる。

Pythium 属菌による病害では、本研究で初報告された新病害も含めて、季節依存的に異なる種が関与する。*Pythium* 属菌の多くは宿主植物上で遊走子を形成し、水を介して伝染する。セル成型苗では培地容積が小さく、

灌水時には培地表面に水が流れることが多くなり、発生状況からしても、トレイ内での二次伝染が高頻度で起きていると推測される。調査を行った施設では灌水に上水道水を用いているため、灌水を介しての *Pythium* 属菌の施設内への侵入は考えにくく、*Pythium aphanidermatum*、*Pythium zingiberis* は周辺から埃等とともに、あるいは人に付着するなどして持ち込まれたと考えられる。*Pythium ultimum* var. *ultimum* については、本研究の場合は、大雨による床上冠水時に施設内に侵入したと考えられた。*Pythium megalacanthum* については、世界的にも分離例が少なく (van der Plaats-Niterink, 1981)、侵入経路は不明である。培養土からの可能性が高いと思われるが、今のところ、培養土から菌の分離はなされていない。

Rhizoctonia solani による苗立枯病も異なる培養型の菌株により、その温度特性によって異なる時期に発生した。本研究では、I A、I BとIII Bの3つの培養型による苗立ち枯れが認められたが、他の培養型による苗立ち枯れが発生する可能性もある。*Rhizoctonia solani* は通常胞子形成が認められず、移動性が小さいため、育苗施設にはセルトレイなどの資材や人に付着して侵入したと思われる。セルトレイはイネ用の育苗箱に置いて育苗を行い、苗の出荷、定植時には、育苗箱、トレイごと生産者に引き渡され、定植圃場の土壌と接触する。定植後、セルトレイと育苗箱は回収され、水洗いの後、再利用されていた。定植圃場において、これらの資材に病原菌が付着し、充分洗い落とされずに次回の育苗に使用された可能性がある。キャベツの根朽病ではセルトレイを介しての伝染が中野 (1998) によって報告されている。また、1997~1999年の調査時には生産者が比較的自由に施設内に入り出していたため、これらの人を介して *Rhizoctonia solani* が施設内に侵入した可能性もある。侵入後は、上述の通り移動性が小さいため、初発病株の近傍のみで二次伝染が認められ、トレイ全体に立ち枯れ株が広がるなどの大きな被害とはならなかった。

種子伝染することが知られている根朽病、黒斑病、黒腐病も単発的に発生したが、二次伝染は認められなかった。先枯病も同様に発生したが、本病についても、種子伝染が疑われた。2004年の夏期には育苗施設においてこうがいかび病が発生したが、施設への入り口付近の発生であり、外部からの侵入が疑われた。こうがいかび病は、高温時のみでしか発生しないと思われる。

従来の地床や育苗箱などを用いたキャベツの育苗では、土壌伝染する *Rhizoctonia solani* や *Pythium* 属菌によ

る苗立ち枯れ、あるいはべと病に対しては注意が払われていたが(岸編, 1998), 他の病害に対する対策は検討されていない。海外においては、上述の苗立ち枯れに加えて、黒すす病、根朽病、黒斑病に関する研究例も多いが、国内の育苗現場においては大量に播種し、異常な苗を排除するという方法をとってきたため、定植後には大きな被害を与えない黒すす病などは考慮されてこなかったと思われる。しかし、セル成型育苗においては、セルトレイ上の苗そのものが商品であるため、欠株や異常株を完全に排除しなければならず、上述のような病害の発生状況が顕わになったと考えられる。密植により、苗の下部の湿度が高く保たれること、二次伝染が容易になることも、病害の発生を助長している。また、施設内で、常に新しい培養土を用い、単一の作物を育苗するため根域の微生物相が貧困であることが推測され、*Pythium* 属菌などによる土壌病害を助長している可能性がある。このような環境に適応できた病原菌による新病害は、今後も発見される可能性がある。本研究で、種子や苗から分離され、人工接種によって病斑などを形成した糸状菌もそれらの新病害の原因候補であろう。

現在、他の作物においてもセル成型育苗は普及しつつあるが、本研究で明らかにされたように、セル成型育苗においては、種子伝染性病害、特に宿主植物の地上部で大量に胞子を形成する病原菌によるものと、*Pythium* 属菌や疫病菌類などの水媒介性の病原菌による病害の発生が顕著になることが予想される。各作物の各作型においても、これらの病害を中心に発生状況を詳細に調査し、年間の発生病害をよく理解した上で、それに基づいて防除対策を検討する必要がある。種子伝染性病害に対しては、まず、各作物について種子の病原菌による汚染状況を把握することにより、防除対象となる病害が明らかとなり、効率的な防除対策の検討が可能となる。種子の海外生産も増えていることから、産地毎の汚染状況の傾向をつかむことも重要である。そして、有効な種子消毒、そのためには今後、有効な種子消毒剤を登録し、その処理方法にも改善の余地があると思われる。また、発芽が遅れることにより病害が発生しやすくなる場合もあるため、播種直後には、速やかに発芽できるような催芽条件を整えることも有効であろう。水媒介性の病原菌に対しては、まず病原菌を施設内に持ち込まないことが重要である。個々の生産者や小規模な施設で育苗を行う場合には難しい面もあるが、用水には水道水を用いること、施設への人の出入りの制限や、施設に立ち入る際の手洗い、靴の履き替えなども有効と思われる。使用後に回収

したセルトレイなどの資材は、水洗いだけでなく、消毒液を用いた洗浄や日干しによる十分な消毒後に再利用に回す必要がある。発芽後の対策では、作物毎あるいは種子ロット毎に、病原菌による種子汚染の状況、季節による病害発生病害を十分把握するとともに、各年の気候条件も考慮して発生する病害を推測した上で、高湿度を避ける環境整備などの耕種的な手法に加え、有効な薬剤を選択、利用することが効率的な防除につながると考えられる。

セル成型育苗では、単位面積当たりの苗数が多く、培地容量も小さいことから、少量の残効性が高い抵抗性誘導剤や土壌処理剤、定着性が優れた有用微生物を処理することにより、育苗時はもとより、定植後においても病虫害を防除できる可能性がある。これらの性質を持った製剤の開発が期待される。

摘 要

1990年代中頃からキャベツに導入されたセル成型育苗時に発生する病害を三重県内の民間育苗施設において詳細に調査し、育苗期間を通して、発生する病害の種類と各病害の発生病害を明らかにするとともに、その中で発見された新病害の病原体を同定し、その性質を調べた。また、育苗施設における病害発生状況の調査の中で最も被害が大きかった黒すす病について、市販種子における同病菌の汚染状況や殺菌剤処理、保存期間がその汚染率に与える影響を調べた。さらに、この黒すす病や*Pythium* 属菌による苗立ち枯れに対する底面給水や薬剤による防除の可能性を検討した。

1 セル成型育苗を導入したキャベツの集中育苗において発生した新病害

セル成型育苗において発生したキャベツの新病害は *Choanephora cucurbitarum* によるこうがいかび病、*Fusarium avenaceum* と *Fusarium semitectum* による先枯病であった。また、*Pythium megalacanthum* と *Pythium zingiberis* による苗立ち枯れも発見され、苗立ち枯病菌として病原追加された。*Pythium ultimum* var. *ultimum* による茎葉の病害も発見され、ピシウム腐敗病菌として病原追加した。*Pythium megalacanthum* の生育適温は 25℃であるが、キャベツ苗における発病適温は 10℃で低温であった。こうがいかび病菌、*Pythium zingiberis* とも生育適温は 30℃以上の高温であり、発病適温も 30℃以上であった。特に、こうがい

かび病は高温多湿時のみにしか発生しないと考えられた。先枯病の2病原菌と *Pythium ultimum* var. *ultimum* の生育低温は 25°C 付近であり、発病適温も同様であった。しかし、*Fusarium semitectum* の病原性は弱く、育苗現場においては日和見的な感染に限られると考えられる。

2 三重県内の育苗施設におけるキャベツセル成型苗の病害の発生実態

三重県地域におけるセル成型苗の育苗期は、通常8月から翌年の3月までであるが、育苗施設において最も大きな被害を出していたのは黒すす病で、年間を通じて発生し、種子伝染が疑われた。特に、8~10月の温暖期における発生が激しかった。11~3月の低温期には *Pythium megalacanthum* による苗立枯病が多発生し、セルトレイ内での二次伝染も疑われた。*Pythium aphanidermatum* によるピシウム腐敗病は高温期、べと病は日最高気温が 15°C を越えるようになる春先、3月に発生し、急速に二次伝染した。*Pythium zingiberis* と *Pythium ultimum* var. *ultimum* による病害も、それぞれの生育適温に合わせて発生が認められ、*Pythium* 属菌による病害は、温度条件に応じて異なる種によって年間を通じて発生することが示された。種子伝染性の根朽病、先枯病、黒斑病は発生頻度が低く、二次伝染も認められなかったが、育苗期間を通じて発生した。同様に種子伝染したと思われる黒腐病が3月に発生した。異なる培養型の *Rhizoctonia solani* による苗立枯病がその温度特性に応じて、年間を通じて発生した。こうがかび病は高温期のみならず発生し、二次伝染も認められなかった。細菌による病害は、銅剤を散布していたためか、黒腐病以外は診断できなかった。

営業開始直後と経年後では、病害の発生病消長に大きな差は認められず、黒すす病を主とした種子伝染性病害と水媒介される *Pythium* 属菌による病害の発生が多かった。

3 キャベツ市販種子の糸状菌による汚染実態

殺菌剤を処理されずに国内で市販されたキャベツ種子を、12~17年、3~7年または4ヶ月の保存期間でグループ分けして糸状菌を分離すると、17年間冷蔵保存されたロットの種子からも糸状菌が分離され、グループによって17~37%の種子から糸状菌が分離された。そのうち黒すす病菌は57~80%を占めた。殺菌剤処理された市販種子から同様に糸状菌を分離すると、7~15%の種子

から糸状菌が分離され、その75%以上が黒すす病菌であった。全分離菌中における黒すす病菌が占める割合は、殺菌剤処理、長期保存された種子でより高くなり、これらの処理下において病原菌が混入菌よりも生存しやすいことが示唆された。国内では温暖地域で採種された種子の黒すす病菌による汚染程度が高かった。

4 キャベツのセル成型育苗における病害の発生実態と防除対策

黒すす病菌に汚染されたセルトレイを用いた場合や、培養土に同菌の胞子を灌注した場合にも、顕著な黒すす病の発生は認められず、キャベツのセル成型苗においては、同病の一次伝染源は種子汚染以外考えにくい。汚染種子由来の罹病苗から、頭上灌水によって胞子が飛散して、二次伝染して大きな被害を出すことが推測されるが、灌水を底面給水とすることにより、二次伝染が抑えられ、被害の拡大を防げる。また、底面給水による灌水では、黒すす病の病徴進展が緩やかとなることが示された。

プロシミドン、イプロジオン、トルクロホスメチル、マンゼブ・メタラキシル混合剤など、キャベツの黒すす病に対して使用登録されていない殺菌剤で、同病原菌接種前の散布による予防と、接種後の散布による病徴進展抑制の効果が高いものが認められた。しかし、いろいろな殺菌剤による培地上における黒すす病菌の生育阻害と、植物体上での防除効果は必ずしも一致しなかった。

ポリオキシソキサゾールの播種時土壌灌注や苗への散布により、キャベツセル成型苗の黒すす病に対する高い防除効果が得られた。他所における同様の試験結果も考慮し、同剤のキャベツ黒すす病に対する使用が2004年に認められた。

ヒドロキシソキサゾールのキャベツピシウム腐敗病に対する防除効果が認められた。

引用文献

- 1) Booth, C. (1971): The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute (CMI), Kew, UK.
- 2) Ellis, M.B. (1971): Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew, UK.
- 3) 藤原隆広 (2004) : セル成型苗を利用したキャベツの齊一化・省力化栽培技術の開発. 野菜茶研報, 3, 147-198.
- 4) 藤原隆広, 吉岡宏, 佐藤文生 (1999) : キャベツセル成型苗の形態的・物理的性状が全自動移植機による機械定植適応性に及ぼす影響. 農作業研究, 34, 77-84.
- 5) 藤原隆広, 吉岡宏, 佐藤文生 (2001 a) : エブ&フロー灌水と培養液へのNaCl添加によるセル成型育苗の省力化とキャベツ苗品質の向上. 農作業研究, 36, 153-161.
- 6) 藤原隆広, 吉岡宏, 佐藤文生 (2001 b) : 吸引器を利用し

- た苗の詰め替え作業によるキャベツセル成型苗の定植作業の省力・軽作業化. 農作業研究, 36, 205-209.
- 7) 藤原隆広, 吉岡宏, 四方久, 佐藤文生 (1998): 全自動機械定植におけるキャベツセル成型苗の定植期の総合評価. 農作業研究, 33, 73-79.
 - 8) 福地信彦, 青柳森一 (1996): キャベツ, レタス, パセリーのセル成型苗の育苗法. 千葉農試験研, 37, 73-84.
 - 9) Holzhausen, M. A. and P. S. Knox-Davies (1974): Pathogens of cruciferous vegetable crops in commercial seed samples in South Africa. *Phytophylactica*, 6, 289-294.
 - 10) Humpherson-Jones, F. M. (1985): The incidence of *Alternaria* spp. and *Leptosphaeria maculans* in commercial brassica seed in the United Kingdom. *Plant Pathol.*, 34, 385-390.
 - 11) 一戸正勝 (1990): 講座/真菌の分離と分類・同定 4 *Fusarium* 属菌. 防菌防霉, 18, 399-406.
 - 12) 一谷多喜郎 (1992): 講座/真菌の分離と分類・同定 20 *Pythium* 属菌. 防菌防霉, 20, 107-116.
 - 13) Jacobsen, B. J. and P. H. Williams (1971): Histology and control of *Brassica oleracea* seed infection by *Phoma lingam*. *Plant Dis. Rept.*, 55, 934-938.
 - 14) Kamimura, S., M. Nishikawa, H. Saeki and Y. Takahi (1974): Absorption and metabolism of 3-hydroxy-5-methylisoxazole in plants and the biological activities of its metabolites. *Phytopathology*, 64, 1273-1281.
 - 15) 桂琦一, 谷岡義春 (1967): *Pythium* によっておこるショウガおよびミョウガの根茎腐敗病. 関西病虫研報, 9, 49-55.
 - 16) 唐津達彦, 来嶋義一, 小橋口慎哉 (1995): ホウレンソウのこうがい毛かび病 (新称) について. 九病虫研報, 41, 33-35.
 - 17) 岸国平編 (1998): 野菜/キャベツ. 日本植物病害大事典, pp. 342-347. 全国農村教育協会, 東京.
 - 18) Klich, M. A. (2002): Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, the Netherlands.
 - 19) Knox-Davies, P. S. (1979): Relationships between *Alternaria brassicicola* and *Brassica* seeds. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 73, 235-248.
 - 20) 小林五郎 (1995): 育苗培地, 容器の種類と特徴. 加除式農業技術体系 野菜編 12 共通技術・先端技術 施設・資材, pp.93-102. 農産漁村文化協会, 東京.
 - 21) 小林享夫, 勝本謙, 我孫子和雄, 阿部恭久, 柿島真編 (1992): 植物病原菌類図説. 全国農村教育協会, 東京.
 - 22) 窪田昌春, 手塚信夫, 我孫子和雄, 石井正義 (1995): *Pythium ultimum* Trow var. *ultimum* によるブロッコリーのピシウム腐敗病 (新称). 日植病報, 61, 503-506.
 - 23) 黒田克利, 富川章 (1998): キャベツのセル成型苗に新たに発生した黒すす病の種子消毒による防除. 関西病虫研報, 40, 121-122.
 - 24) Lunn, J. A. (1977): *Rhizopus oryzae*. CMI Descript. Pathogenic Fungi Bact. No. 525. CMI, Kew, UK.
 - 25) 松本功, 宮本誠 (1996): 野菜の慣行栽培とセル成型苗・機械移植栽培の経済性比較. 農業経営通信, 187, 22-25.
 - 26) Maude, R. B. and F. M. Humpherson-Jones (1980 a): The effect of iprodione on the seed-borne phase of *Alternaria brassicicola*. *Ann. Appl. Biol.*, 95, 321-327.
 - 27) Maude, R. B. and F. M. Humpherson-Jones (1980 b): Studies on the seed-borne phases of dark leaf spot (*Alternaria brassicicola*) and grey leaf spot (*Alternaria brassicae*) of brassicas. *Ann. Appl. Biol.*, 95, 311-319.
 - 28) 三宅一郎, 伊東信吾 (1934): 新病害南瓜の軟腐病の研究 (予報). 病虫雑, 21, 241-250.
 - 29) 森充隆, 萩原廣, 竹原利明 (1996): *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick および *Pythium* sp. によるキャベツピシウム腐敗病 (新称). 関東病虫研報, 43, 63-66.
 - 30) Nakanishi, T. and H. D. Sisler (1983): Mode of action of hymexazol in *Pythium aphanidermatum*. *J. Pesticide Sci.*, 8, 173-181.
 - 31) Nakanishi, T., Y. Takahi and T. Tomita (1974): Microbial conversion of hymexazol in soil. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan*, 40, 383-391.
 - 32) 中野智彦 (1998): 機械移植栽培におけるキャベツ根朽病の伝染経路遮断による発生抑制. 関西病虫研報, 40, 89-90.
 - 33) 日本施設園芸協会編 (1999): 野菜生産機械化の手引き. 日本農業機械化協会, 東京.
 - 34) 日本植物防疫協会編 (2001): 平成 13 年度 新農薬実用化試験成績 (イネ・野菜等) - 病害防除 - (IV 関東・東山・東海地域). 日本植物防疫協会, 東京.
 - 35) 日本植物防疫協会編 (2002): 平成 14 年度 新農薬実用化試験成績 (イネ・野菜等) - 病害防除 - (IV 関東・東山・東海地域). 日本植物防疫協会, 東京.
 - 36) 日本植物防疫協会編 (2004): 平成 16 年度 新農薬実用化試験成績 (イネ・野菜等) - 病害防除 - (IV 関東・東山・東海地域). 日本植物防疫協会, 東京.
 - 37) 日本植物病理学会 (2009): 日本植物病名目録追録. http://www.ppsj.org/pdf/misc-tsuirouku_090602.pdf
 - 38) 日本植物病理学会編 (2000): 日本植物病名目録. 日本植物防疫協会, 東京.
 - 39) 西原夏樹 (1968): *Choanephora cucurbitarum* によるラジノクローバーのこうがい毛かび病. 日菌報, 9, 38-42.
 - 40) 西本登志, 泰松恒夫 (1996): キャベツセル苗の倒伏性の品種間差異について. 奈良農試研報, 27, 17-23.
 - 41) 小川正巳, 太田保夫 (1976): 3-ヒドロキシ-5-メチルイソキサゾールの植物生育調節作用について. 農技研報, D 27, 103-137.
 - 42) Onions, A. H. S. (1966 a): *Aspergillus flavus*. CMI Descript. Pathogenic Fungi Bact. No. 91. CMI, Kew, UK.
 - 43) Onions, A. H. S. (1966 b): *Aspergillus niger*. CMI Descript. Pathogenic Fungi Bact. No. 94. CMI, Kew, UK.
 - 44) 大畑貫一 (1989): 稲の病害-診断・生態・防除-. 全国農村教育協会, 東京.
 - 45) Petrie, G. A. (1974): *Alternaria brassicicola* on imported garden crucifer seed, a potential threat to rapeseed production in western Canada. *Can. Plant Dis. Survey*, 54, 31-34.
 - 46) Pound, G. S., P. C. Cheo, O. H. Calvert, and R. D. Raabe (1951): Extent of transmission of certain cabbage pathogens by seed grown in western Washington. *Phytopathology*, 41, 820-828.
 - 47) Richardson, M. J. (1970): Investigations on seed-borne pathogens of *Brassica* spp. *Proc. Int. Seed Test Assoc.*, 35, 207-223.
 - 48) 佐藤文生, 吉岡宏, 藤原隆広, 岡田邦彦 (2002): エブ & フロー方式灌水における肥培条件がキャベツセル成型苗の生育および機械移植適性, 結球重に及ぼす影響. 野菜茶研研報, 1, 15-22.

- 49) Shrestha, S. K., L. Munk and S. B. Mathur (2003): Survival of *Alternaria brassicae* in seeds and crop debris of rapeseed and mustard in Nepal. *Seed Sci. Technol.*, **31**, 103-109.
- 50) 「新版土壌病害の手引」編集委員会編 (1984): 新版土壌病害の手引. 日本植物防疫協会, 東京.
- 51) Sivapalan, A. and J. W. Browning (1992): Incidence of *Alternaria brassicicola* (Schw.) Wiltsh. on *Brassica oleracea* seeds. *Aust. J. Exp. Agric.*, **32**, 535-537.
- 52) 菅沼健二, 岩瀬博貞 (1993): キャベツセル成型苗における苗質と生育及び収量. 愛知農総試研報, **25**, 179-186.
- 53) Sutton, B. C. (1980): Phoma. The Coelomycetes, pp. 378-388. CMI, Kew, UK.
- 54) Tahvonon, R. (1979): Seed-borne fungi on cruciferous cultivated plants in Finland and their importance in seedling raising. *J. Sci. Agric. Soc. Finland*, **51**, 327-379.
- 55) 高橋伸幸 (2000): セル成型苗利用によるキャベツ全自動移植体系の経済性評価. 農業経営通信, **206**, 14-17.
- 56) 高橋實 (1954): 農作物の疾病を起因する数種 *Pythium* 属菌の形態並びに分類について. 日植病報, **18**, 113-118.
- 57) 高日幸義, 中西逸郎, 大塚猛夫, 中神和人, 太田香, 加藤重博, 大前光子 (1980): イネ中苗育苗におけるタチガレン剤の施用方法に関する検討 (3) 土壌中におけるタチガレンの残存量. 関西病虫研報, **22**, 38.
- 58) Tohyama, A. and M. Tsuda (1995): *Alternaria* on cruciferous plants. 4. *Alternaria* species on seed of some cruciferous crops and their pathogenicity. *Mycoscience*, **36**, 257-261.
- 59) 津地方気象台 (1997~1999): 気象月報.
- 60) 塚田元尚 (1990): 育苗システムとセルナエ. 農業及び園芸, **65**, 111-117.
- 61) Van der Plaats-Niterink A.J. (1981): Monograph of the genus *Pythium*. *Stud. Mycol.*, **21**, 1-242.
- 62) Vannacci, G. and G. E. Harman (1987): Biocontrol of seed-borne *Alternaria raphani* and *A. brassicicola*. *Can. J. Microbiol.*, **33**, 850-856.
- 63) Vishnuavat, K., V. K. Agrawal and R. S. Singh (1985): Relationship of discoloration of mustard (*Brassica campestris* var. *sarson*) seed infection by *Alternaria brassicae* and its longevity on seed. *Seed Res.*, **13**, 53-56.
- 64) Williams, P. H. (1967): Occurrence of *Phoma lingam* on cabbage seed from Australia after treatment with hot water. *Plant Dis. Rept.*, **51**, 566-569.
- 65) Wu, W. S. (1979): Survey on seed-borne fungi of vegetable. *Plant Prot. Bull. (Taiwan)*, **21**, 206-219.
- 66) Wu, W.S. and J. H. Lu (1984): A semiselective medium for detecting seed-borne *Alternaria brassicicola*. *Plant Prot. Bull. (Taiwan)*, **26**, 67-72.
- 67) 山内智史, 我孫子和雄 (1998): 水管理および薬剤処理によるキャベツセル成型苗の立枯症状の抑制. 北日本病虫研報, **49**, 57-60.
- 68) 吉井甫 (1941): 菜類黒斑病および甘藍黒煤病に就て. 病虫雑, **28**, 14-18.
- 69) 吉田政治 (1950): 豌豆の毛黴病について. 岡山農試臨時報告, **47**, 269-286.
- 70) 吉岡宏, 佐藤文生, 藤原隆広, 福高恭史, 藤井泰志 (2002): エブ&フロー灌水方式によるキャベツセル成型苗の低コスト・省力・大量育苗システムの開発. 園学研, **1**, 175-178.
- 71) 弓野功, 木野内和夫, 関谷敏邦 (1996): 野菜移植機の利用に関する研究. 茨城農総センター研報, **3**, 55-77.

Diseases of Cabbage Plug Seedlings in Japan and Control of the Diseases

Masaharu Kubota

Summary

In Japan, plug seedlings became popular from the middle of the 1990 s. Diseases of cabbage plug seedlings in a commercial nursery in Mie prefecture were investigated in 1997-99, soon after its foundation, then several years later in 2004-05. Our investigation found several new diseases of cabbage; the causal agents were identified and conditions favouring disease occurrence were canvassed. Of these diseases, black sooty spot disease was found to be most damaging to seedlings, so it was decided to study the frequency of seed infestation with this pathogen as well as the effects of fungicides on the disease and the contribution of Ebb & Flow irrigation to suppression of the disease.

New diseases found on cabbage plug seedlings were Choanephora rot, caused by *Choanephora cucurbitarum*, and bud blight caused by *Fusarium avenaceum* or *Fusarium semitectum*. *Pythium megalacanthum* and *Pythium zingiberis* were added to known causal agents of damping-off, and *Pythium ultimum* var. *ultimum* was identified as another causal agent of Pythium rot. *Pythium megalacanthum* showed greatest growth at 25°C, in the temperature range 5-40°C, but it caused most damping off at 10°C, between 10-35°C. *Choanephora cucurbitarum* and *Pythium zingiberis* grew well and caused disease symptoms at temperatures over 30°C. *Pythium ultimum* var. *ultimum*, and *Fusarium* spp. causing bud blight, showed greatest growth at 25°C and were also most effective at this temperature in causing disease.

In Mie prefecture, cabbage plug seedlings were cultivated from August to March. Sooty spot disease caused by *Alternaria brassicicola* was found to be most damaging to the seedlings. The disease, which is seed-borne, occurred over the whole cultivation period, but was particularly severe in the warm season from August to October. In the cool seasons from November to March, damping-off caused by *Pythium megalacanthum* occurred frequently. Secondary infection by the disease was suspected, with an increase of damped-off seedlings in each plug tray. Damping-off caused by *Pythium aphanidermatum* occasionally expanded rapidly in the hot seasons. Downy mildew caused by *Peronospora parasitica* expanded rapidly from March, specifically those days when the highest temperature exceeded 15°C. Diseases caused by *Pythium zingiberis* or *Pythium ultimum* var. *ultimum* were also observed, and different *Pythium* species caused disease under different temperature conditions. Three cultural types of *Rhizoctonia solani* caused damping-off, which transmitted only to neighboring seedlings. Isolates of the cultural types showed little difference in response to temperature. Other seed-borne diseases, such as black leg caused by *Phoma lingam*, bud blight by *Fusarium* spp. and leaf spot by *Alternaria brassicae*, occurred only a few times during the whole cultivation period and without secondary infection. Damping-off or seedling rot caused by *Choanephora cucurbitarum* occurred only in summer and secondary infection was not observed. Black rot caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* occurred in March and was suspected to be seed-borne. Diseases found on cabbage seedlings just after foundation of the nursery and those of several

years later were similar, being mostly *Alternaria* sooty spot and *Pythium* spp. damping-off.

Fungal infestation was investigated in commercial batches of cabbage seeds produced between 1984 and 2001. A total of 123 lots were divided into six groups by production periods (1984-1989, 1994-1998, and 2001) and by use or non-use of fungicides. One hundred seeds from each lot were incubated separately on agar at 25°C, to isolate the predominant fungus on each seed. *Alternaria brassicicola* was isolated most frequently, being found on 0-94% of the seeds, depending on seed lot, or on 6-21% of the seeds grouped by production period and fungicide treatment. The pathogen was isolated even from seeds refrigerated for 17 years. *Alternaria brassicicola* accounted for 57-95% of all isolated fungi by group and the rate was higher on older or fungicide-treated seeds. Seeds produced in Western Japan which had not been treated with fungicide, were infested with *Alternaria brassicicola* at rates of over 12%, higher than those for the eastern region (<4%). The infestation was higher in warmer areas of Japan. Eighty-five isolates, other than *Alternaria brassicicola*, also produced spots on cabbage cotyledons after artificial inoculation. However, they were not isolated as frequently and were found on less than 5% of seeds in groups defined by production period and fungicide treatment. Most of these isolates were *Alternaria alternata*.

Alternaria brassicicola conidia, on plug trays or applied onto soil, rarely caused sooty spot disease on cabbage plug seedlings. This suggests that plug trays and soil may not mediate the disease. Soil for plug seedlings is mainly composed of peat moss and, after sowing, is kept in humid conditions overnight to unify germination. If seeds contaminated with conidia of the pathogen were sown without this induction treatment, or if heavier soil than soil for plug seedlings was used, germination was hindered and disease on the seedlings became severe. Ebb & Flow system irrigation did not differ from overhead irrigation in terms of frequency of germination or diseased plugs from the contaminated seeds. However, Ebb & Flow system irrigation significantly decreased the frequency of infection and severity of symptoms after inoculation of the seedlings with conidia of the pathogen. The secondary infection was also suppressed with Ebb & Flow system irrigation.

Procymidone, iprodione, tolclofos-methyl and a mixture of moncozeb and metalaxyl were effective for suppression of *Alternaria* sooty spot disease of cabbage, although those fungicides were not registered to be used on the disease in Japan. Growth inhibition of *Alternaria brassicicola* on media which included each of 19 fungicides was not consistent with suppression, by the same fungicides, of disease caused by the fungus on cabbage seedlings. Treatment with polyoxins of the seedlings and soil after sowing was effective for suppression of *Alternaria* sooty spot disease. So polyoxins were registered in 2004 for use on cabbage in Japan.

Hydroxyisoxazole was effective for protection of cabbage seedlings from damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*.