

緒 言

北海道は835万 ha の面積を有し、わが国総面積の22.1%を占めている。このうち約109万 ha が耕地で、都道府県別では土地資源に最も恵まれている。しかし、北海道は地理的に日本列島の最北部に位置するため、他府県に比べ寒冷で厳しい自然条件下にある。このため本道の農業は気象条件に影響されることの少ない安定した畑作中心の有畜農業が主体で、耕地面積の76%が畑地で、24%が水田になっている（北海道開発調整部統計課、1983）。北海道の主要な畑作物は、ジャガイモ、テンサイ、野菜類、豆類、果樹類、トウモロコシおよび牧草類である。そのうちテンサイ (*Beta vulgaris* L. var. *saccharifera* Alef.) は北海道の開墾がはじまって間もない1871年に試作され、1880年には一般に栽培されるようになった作物で、現在日本では北海道にだけ栽培されている製糖原料である。テンサイの栽培面積は試作以来幾多の変遷を経て、1950年代の中期には飛躍的に増大し、1960年以降は40,000 ha を超え1981年には約74,000 ha に達し、北海道の普通畑作面積411,000 ha の約18%を占めるようになった。また ha 当りの収量も1960年代の前半は20トン台であったものが、後半には30トン台となり、1970年代には40トン台、1976年には50トン以上に達し（新田光雄、1983）、テンサイは北海道畑作の基幹作物となっている。

テンサイの栽培面積および収量の著しい増加の原因は社会・経済的な変化にもあるが、優良品種の普及と紙筒移植、施肥法改善と深耕、病虫害防除などの栽培技術の普及によるところが大きい。テンサイの病害は他の作物に劣らず多く、30種類以上に達している（日本有用植物病名目録、第1巻、1975）。その中には苗木枯病、褐斑病、根腐病、萎黄病およびそう根病など、大きな被害をもたらす重要病害があり、その防除はテンサイの安定生産のために欠くことのできないものになっている。

テンサイそう根病は1970年に道内各地に突然多

発し、局地的にはその被害が極めて大きく、壊滅的であったため、発生地域ではテンサイ栽培の継続が危ぶまれた。そのため道内の各農業試験研究機関では本病の原因および発生生態の解明、並びに防除法の確立に関する検討が行なわれた。

その結果、そう根病はネコブカビ科の *Polymyxa betae* 菌によって伝搬される新しいウイルス (beet necrotic yellow vein virus) に起因する土壤伝染性の病害であることが明らかにされた（神沢・宇井、1972; Tamada and Baba, 1973）。また本病の発生生態および育苗時における防除法は神沢（1982）などにより検討され、育苗時の感染防止対策が講じられたため、本病の発生は急激に減少した。しかし、本病原の感染は育苗時のみでなく、汚染された畑の土からも生じるため、特に近年は道内各地で汚染ほ場による発病・被害が多くなってきている。本病は我国のほか、イタリアをはじめヨーロッパ諸国にも発生しており、テンサイ栽培上の大きな障害になっている。

筆者は1970年以来、そう根病の病原ウイルスの媒介者である *P. betae* の寄生性の分化、ウイルス伝搬の機構、感染の条件など、*P. betae* の生態の解明とそれに基づいた防除法を確立するためにこの研究を行なった。本論文はその結果を取りまとめたものである。

本論文の取りまとめに当り、格別なご指導と懇切なご校閲、ご助言を賜った東京農業大学教授藤井溥博士、同大学総合研究所教授都丸敬一博士、同大学教授金木良三博士、北海道大学農学部名誉教授宇井格生博士、前北海道立中央農業試験場長馬場撤代博士（現北海三共株式会社）、農林水産省農業環境技術研究所土壤微生物分類研究室長亀谷満郎博士、前北海道立中央農業試験場病虫部長富岡暢氏（現武田薬品工業株式会社）、北海道立中央農業試験場病虫部長赤井純博士および北海道立北見農業試験場主任研究員齊藤泉博士に厚くお礼申し上げる。

また北海道立中央農業試験場特別研究員玉田哲男博士には本研究の初めから一部共同研究を組み絶大なご協力、ご支援と有益なご助言を頂き、更に本論文の作成に当たっては有益なご助言とご校閲を頂いた。中山利彦博士（現北海道てん菜協会）、斉藤正隆氏（現北農会）および手塚浩氏（現大日本インキ株式会社）には筆者が所属していた北海道立北見農業試験場長として、また馬場徹代博士および森義雄氏には北海道立中央農業試験場長としてそれぞれ格別なご指導とご鞭撻を頂いた。さらに真野豊氏（現北海道立中央農業試験場）および坪木和男氏（現北海道立上川農業試験場）、斉藤泉博士には北海道立北見農業試験場病虫予察科長としてそれぞれ種々のご指導を賜り、研究上の便宜を計って頂いた。北海道大学農学部教授生越明博士、駒沢大学北海道教養部三島出教授、前北海道立道南農業試験場長高桑亮博士（現日本チバガイキー株式会社）、農林水産省北海道農業試験場病理昆虫部主任研究官後藤忠則博士、同場てん菜部栽培第2研究室長杉本利哉博士、日本甜菜製糖株式会社農事技術部農事研究課長神沢克一博士、北海道原子力環境センター農業研究科長成田保三郎博士には、平素から格別なご指導とご鞭撻、有

益なご助言、特段のご協力を頂いた。ここに心から感謝の意を表する次第である。

さらに元北海道立北見農業試験場特用作物科長男沢良吉氏（現三菱油化株式会社）、元同場土壤肥料科長大垣昭一氏（現北海道立道南農業試験場）、前同場土壤肥料科長大崎玄佐男氏（現北海道立中央農業試験場）、北海道糖業株式会社札幌支社農務部農事技術課長補佐菅原寿一氏、北海道立中央農業試験場化学部赤司和隆氏とは一部共同研究を実施し、かつ研究遂行上において種々のご指導、ご協力を頂いた。発生実態調査および現地試験については道内各農業改良普及所、ホクレンてん菜事業本部、北海道糖業株式会社札幌支社および日本甜菜製糖株式会社の方々の絶大なご協力を頂いた。また北海道立北見農業試験場病虫予察科長宮島邦之博士、同場研究員田中民夫氏（現道南農試）、同場臨時職員大場涼子氏、松村昭子氏、北海道立中央農業試験場病虫部発生予察科長田村修博士、同場研究員萩田孝志氏、同場臨時職員干山佳代子氏および秋田谷恵氏には本研究遂行上の多大のご協力を頂いた。以上の方々に対し心からお礼申し上げます。

I. 既往の研究

そう根病の病徴

そう根病の病徴は増田ら (1970 a), 神沢・宇井 (1972) および神沢 (1982) によって詳しく記述されている。即ち、葉部症状は多様であるが、退緑黄化が最大の特徴で、その他に萎凋、縮葉および葉脈黄化を呈する。萎凋は最も早く現われる症状で、北海道の一般的なテンサイ栽培では、6月下旬ごろから特に晴天の日中に萎凋し、夜間あるいは曇天時に回復することが多い。萎凋の激しい個体は生育を停止し、枯死する。縮葉症状は葉面全体にしわが多く、葉身が著しく萎縮する。この症状株は発病初期から認められるが、生育途中で退緑黄化あるいは葉脈黄化症状に変化するものもある。退緑黄化症状は一般に最も多く見られる病徴であり、特に生育中期から後期に顕著である。この症状株は全部の葉身が退緑し、淡い黄色を呈するので、窒素欠乏株に認められる外位葉からの黄化、あるいは萎黄病に見られる葉先からの橙黄化とは明らかに異なる。収穫期近くの退緑黄化株の多くは葉柄がやや長く、直立する傾向にある。また、退緑黄化株の葉身にはマグネシウム、マンガンおよびカリウム欠乏症に似た葉縁からの壊死および葉害に似た径1～3mmの小型壊死斑点を伴うものがある。葉脈黄化はそう根病の最も特徴的な葉部症状であり、激発ほ場の中にみられることが多いが、発生割合は一般に極めて低い。葉脈の黄化は株全体の葉に現われるときもあるが、多くは一部の葉のみに現われる。黄化した葉脈は発病後期には壊死する。早期に激しい葉脈黄化を示した個体の多くは生育途中で萎凋して枯死する (Plate 1)。

一般にそう根病の発病株は同時に褐斑病 (病原菌: *Cercospora beticola*) および葉枯病 (病原菌: *Altaria alternata*) が激しく発病する例がある。

温室などでの鉢植栽培では播種後50日目ごろから、上記各種病徴、特に退緑黄化症状が顕著に現

われる。

葉部には様々な症状が現われるのに対し、根部の症状は共通して細根のそう生と根部維管束の変色であり、一般に育苗中に感染した個体の主根は細根がそう生するために土塊状を呈し、移植後に畑で感染した根は主根先端、側根などで細根がそう生する (宇井, 1973)。細根がそう生した主根または側根は木質化し折れやすく、維管束は黄褐色または褐色に変色する。重症個体は主根の全体が細く「小型」または根冠部を除いた主根が著しく細くなる「楔型」症状となり、主根先端部から腐敗し、繊維質のみが残る (Plate 2, 3)。

一般にそう根病の発病株は黒根病 (病原菌: *Aphanomyces cochlioides*)、根腐病 (病原菌: *Rhizoctonia solani*) に罹病するものが多い。

鉢植栽培では播種後50日目ごろから細根が異常に増殖しはじめ、その後細根の褐変・壊死が顕著に現われる。

そう根病の発生分布

そう根病は1972年に神沢・宇井 (1972) によって命名された病害であるが、我国で最初に本病の発生が認められたのは、1965年に北海道帯広市において日本甜菜製糖株式会社が行っていた連作テンサイであった (増田ら, 1967)。その後本病は1968年に僅かであるが一般農家畑にも認められ (増田ら, 1970 a), 1970年には道内各地に多発した。当時は本病の原因が不明であったため、連作障害様異常テンサイあるいはテンサイの異常生育と仮称されたが、1970年突然多発した原因は育苗土にあると推定され、育苗時における感染防止対策が緊急に指導されたため (中央農試他, 1972; 北見農試・日甜, 1972), 1972年以降の発生は激減した。しかし、その後も胆振、網走地方などには土壌が原因と思われる多発畑が認められている。

世界的にはイタリアで本病に類似した *Rizomania* と呼ばれる病害が早くから認められていた。

Rizomania は1950年代の中頃からイタリアの北部において生育が著しく劣り、側根が枯死、腐敗し、二次根が多く形成され、維管束部が褐変し、根中糖分が低下する原因不明のテンサイ病害として問題になっていた (Koch, 1967, 1976; Bongiovanni, 1973)。

Rizomania の発生分布は、イタリアでは1964年に北部15, 中央部2の合計17地方のみであったが、1971年にはテンサイ生産の66%を占めていた東部地帯にも広く認められたほか、中央や南部地方にも認められるようになった (Bongiovanni, 1973)。その後フランス (Putz and Vuittenez, 1974), ドイツ (Hamdorf ら, 1977), ユーゴスラビア (Ivanovic ら, 1978), ギリシャ (Kouyeas, 1979), ルーマニア (Codrescu ら, 1981) スイス (Hani and Bovey, 1983), オーストリア (Krexner, 1984) のほか、アメリカ合衆国 (Duffus ら, 1984) および中華人民共和国 (Gao ら, 1983) などからも本病の発生が報告されている。特にヨーロッパでは発生面積が年々拡大し、1983年現在本病の発生は西ドイツ, フランス, イタリア, オーストリア およびオランダを合すると約50,000 ha に達するとされており (Richard-Molard, 1984) のテンサイ栽培上の大きな障害になっている。

被害

そう根病の被害は頭葉重, 根重および根中糖分に及び、多発畑での収量は壊滅的である (増田ら, 1970 b ; 神沢, 1971 a ; 宇井, 1973)。また軽症の場合でも根中糖分の著しい低下が特徴とされている (Bongiovanni, 1973 ; Koch, 1967 ; 増田ら, 1970 a ; 神沢, 1971 a)。Bongiovanni and Lanzoni (1964) および玉田 (1976) は、栄養欠乏のように見える地上部症状の大部分は根の障害によって生じた二次的なものであると述べている。しかし、根部におけるウイルスの感染程度と被害との関係は明らかにされていない。

増田ら (1967) はそう根病の発病個体は窒素, 燐酸, ナトリウム, 苦土の吸収が阻害されていることを認めた。D' Ambra (1967) は Rizomania 罹病細根切片の観察から, *P. betae* の感染はテンサイの表皮および皮層のみであり, *P. betae* が感

染しても維管束には直接影響がなく, また罹病組織にはインドール酢酸の増加は認められなかったと報告している。Rizomania 罹病個体における生理的变化は, 生育期における呼吸の異常な増加, pentose phosphate 回路の刺激および糖の著しい消費 (Magro ら, 1975), 砂糖合成と中性インベルターゼの活性低下 (Macri and Vianello, 1976), 有機酸, 燐酸エステル, 中性の糖類の合成の減少とアミノ酸合成の促進等によると報告されている (Vianello ら, 1980)。

病原ウイルス

イタリアでは Rizomania の原因は長い間不明であったが, 1966年に初めて本病は熱に不安定で水によって伝搬される生物によることが示唆された (Alghisi and D' Ambra, 1966)。更に本病の発病個体の細根に *Polymyxa* 属菌が数多く感染していることが見出された (D' Ambra and Keskin, 1966)。

他方, Canova (1967) は Rizomania の発病個体から2種類のウイルスを分離し, 本病は *P. betae* とそのうちの1つの未同定のウイルス (A) の複合感染によって生じるらしいと報告した。しかし, その後このウイルスに関する報告は見あたらない。

日本では増田ら (1970 b) がそう根病の発生土壌を高圧蒸気消毒または臭化メチルで燻蒸殺菌すると, 発生が完全に消滅することから, この病害の原因に微生物が関与していることを最初に指摘した。その後この病害はイタリアに発生していた Rizomania と同じく, 発病個体の細根に常に *Polymyxa betae* Keskin の寄生を認めた (神沢, 1970 ; 神沢・宇井, 1972)。

一方, 玉田ら (1970) はそう根病の葉脈黄化症状株から桿状ウイルスを分離した。このウイルスはそう根病の病原であること, およびその諸性質から未記録ウイルスであることを明らかにし, テンサイえそ性葉脈黄化ウイルス (beet necrotic yellow vein virus, BNYVV) を命名した (Tamada and Baba, 1973)。更にこの病原ウイルスは *P. betae* によって媒介されることが明らかにされた (Tamada ら, 1974 ; Fujisawa and Sugimoto, 1977)。

Tamada and Baba (1973) が報告したのち, そ

う根病のウイルス (BNYVV) はイタリア (Faccioli and Giunchedi, 1974), フランス (Putz and Vuittenez, 1974), ドイツ (Hamdorf ら, 1977) およびユーゴスラビア (Tosic ら, 1978) などヨーロッパ各地の Rizomania から検出・分離され, それらは血清学的にも日本の BNYVV と同じであることが確認された (Kuszala and Putz, 1977; Rana ら, 1978)。

Tamada and Baba (1973) の報告によると BNYVV は Tabamovirus group に属する幅 20nm の桿状粒子で, 長さは 3 つに分けられ, 短粒子が 65~110nm, 中粒子が約 270nm, 長粒子が約 390nm である。汁液接種が可能であり, 宿主範囲はほぼアカザ科植物に限られる。ウイルス粗汁液中の耐熱性は 65℃~75℃, 耐稀釈性は 10^{-4} 付近, 耐保存性は 20℃ で 5 日間, 4℃ で 8 日間程度であり, 粗汁液を凍結融解するとウイルス活性は著しく低下する。

Tamada (1975, 1976) は BNYVV のなかに宿主反応の異なる系統があることを見出した。即ちツルナの接種葉に現われた病斑型から BNYVV を CR, CS, YS, NS の 4 系統に分けた。このうち YS 系統は最も病原性が強く, 典型的な葉脈黄化症状を発現する。本ウイルスは先に記したように, 3 つの異なった粒子からなり, 長・中粒子はすべての系統が持っているが, 短粒子はウイルス系統によって異なり, CR 系統は持っておらず, YS は約 105nm, CS は約 65nm, NS は約 65nm と 90nm であるとしている。

BNYVV の蛋白質および核酸の諸性質については Putz (1977) によって報告されている。

BNYVV の純化法については Tamada and Baba (1973) および Putz and Kuszala (1978) によって報告されている。

藤沢・杉本 (1976 b, 1977) は, テンサイ幼苗の根に BNYVV を汁液接種することによって, 細根のそう生, 褐変および葉の葉脈黄化など, そう根病の症状を発現させた。

そう根病の発病個体などからの BNYVV の検出法については, Dip 法および生物検定法に比べて, 免疫電顕法 (萩田・玉田, 1980) および ELISA

法 (玉田・萩田, 1982) は極めて精度の高いものであることが明らかにされたが, それらを使用した研究報告はまだ少ない。

Polymyxa betae

Polymyxa 属菌は変形菌門のネコブカビ目 (Plasmodiophorales) のネコブカビ科 (Plasmodiophoraceae) に属する絶対寄生菌である (宇田川ら, 1978)。 *Polymyxa* は Ledingham (1939) によって設けられ, 現在まで *P. graminis* Ledingham と *P. betae* Keskin の 2 種類が知られている。両種の形態には大きな差異はないが, 宿主範囲が異なり, *P. graminis* はイネ科, *P. betae* はアカザ科の植物に寄生する (Karling, 1968)。

P. betae の地理的分布は広く, 北海道では前記のそう根病発生地帯のほか, そう根病の発生をみていない地域からも検出されている (Fujisawa and Sugimoto, 1977; 神沢, 1982)。また, 外国では Rizomania の発生国のほかイギリス (Macfarlane, 1966), ポーランド (Stachyra, 1969), フィンランド (Habibi, 1969), カナダ (Barr, 1979) アメリカ合衆国 (Langenberg and Kerr, 1982) およびベルギー (Duchenne, 1983) などからも報告されている。

D' Ambra (1967 a) および藤沢・杉本 (1978) はスベリヒユに寄生する *Polymyxa* 属菌を認めている。彼らはスベリヒユから得られた *Polymyxa* 菌は宿主範囲が *P. betae* と異なるとしているが, 形態的特徴については詳しく調べられていない。

最近 Barr (1979) はカナダの各地から分離した *Polymyxa* 属菌の宿主範囲を研究し, シロザなどアカザ科植物に寄生する菌株はアオビユに寄生する菌株とは別の分化型とし, 前者は *P. betae* Keskin f.sp. *betae* Barr, 後者は *P. betae* Keskin f.sp. *amaranthi* Barr とすることを提案している。

日本でもそう根病の発生畑の土壤に生育したアオビユおよびイヌビユに *Polymyxa* 属菌の感染が認められている (神沢・宇井, 1972)。しかし各種植物に対する寄生性および形態については詳しく調べられていない。

P. betae の宿主範囲は, Keskin (1964), 神沢・宇井 (1972) および D' Ambra (1967) などによ

って報告されているが、寄生性の分化については詳しく調べられていない。

P. betae の遊走子の感染過程は Keskin (1964), Fuchs (1966) および Keskin and Fuchs (1969) によって光学顕微鏡で詳しく調べられている。また、変形体の微細構造と遊走子のうおよび休眠胞子の形成過程並びに遊走子のうと遊走子の微細構造については電子顕微鏡で詳細に調べられている (D' Ambra and Mutto, 1975, 1976, 1977)。

P. betae と BNYSV との関係

玉田・阿部・馬場 (1971) はそう根病の病土にテンサイを植え、*P. betae* とウイルスの感染を調べた結果、罹病個体の細根からは病原ウイルスと *P. betae* が高率に検出され、更に罹病根を浸漬して得た *P. betae* の遊走子を含む水にも感染性があることを認めた。Tamada (1975) は *P. betae* の遊走子内に病原ウイルス様粒子を認めた。Fujisawa and Sugimoto (1978) は罹病根からほぼ純粋に分離した *P. betae* の休眠胞子塊の接種によってウイルスの感染が認められたと報告している。Stokyら (1977) は変形体のなかに BNYSV 粒子を認めたと報告し、Fujisawa and Sugimoto (1978) は休眠胞子内に BNYSV らしい粒子を認めたと報告している。これに対し Langenberg and Giunchedi (1982) および Giunchedi and Langenberg (1982) は *P. betae* が感染したテンサイ細根組織内のウイルス粒子を電子顕微鏡で調べたが、BNYSV 粒子は菌体内に見出せなかったとしている。これらの報告のなかで写真を示しているのは Tamada (1975) による遊走子内のウイルス様の少数の粒子のみである。

発生環境

そう根病の発病に関与する環境要因としては土壌 pH、土壌水分および温度が重要であるとされている (Koch, 1976)。神沢 (1973 a) は病原汚染土壌を育苗土に使用した場合、発病・被害は育苗土の pH が 7.0 以上で激しくなるとしている。イタリアおよびドイツでも Rizomania の発生した畑の土壌は中性～微アルカリ性のところが多いとされている (Bongiovanni, 1973 ; Koch, 1976 ; Hamdorf and Lesemann, 1979)。しかしながら、

土壌 pH の上昇または石灰質資材の添加によって *P. betae* の感染程度および発病度が高くなる機作については解明されていない。神沢 (1971 a) は汚染育苗土の場合、育苗中のかん水量を多くすると発病・被害が高くなるとしている。またイタリアの Rizomania もポー川流域の低地など、多湿な地帯に多発する傾向があるとされている (Koch, 1967, 1976 ; Bongiovanni, 1973)。ただしイタリアの一部では、酸性土壌または排水良好の畑にも Rizomania が激発した例があるという (宇井, 1973)。Koch (1967) は *P. betae* の感染に温度が本質的に重要な意義をもつとしているが、神沢 (1971 a) は発病土で育苗しても、育苗時の温度はその後の発病・被害にあまり影響がなかったとしている。

以上のようにそう根病の発生環境のうち、*P. betae* の感染条件については不明の点が多い。

P. betae の休眠胞子の発芽

休眠胞子の発芽条件と発芽過程に関する報告は少ない。Habibi (1969) によると発芽は中性から弱アルカリ性、非宿主を含む植物根浸出液によって良好であり、その発芽は休眠胞子の細胞壁全体が溶解することによるとしているが、これを追試した報告はまだない。

防除法

育苗土の消毒には、加熱消毒 (菅原ら, 1975 ; 神沢, 1982) および化学薬剤による燻蒸消毒 (神沢, 1971 b) の効果が明らかにされている。また育苗管理によっても発病は抑制される (神沢, 1971 a, 1973 a)。

一方、本畑における防除対策は極めて難しいとされている (Bongiovanni, 1973 ; 宇井, 1973)。イタリアで奨励されている耕種の対策は、排水を良くすること、高糖性品種を栽培すること、病土の移動をさけることなどである。しかしこれらは本病が既に激発している畑には効果がなく、少発生畑に対してのみ若干の効果があるとされている (Bongiovanni, 1973)。我国での耕種的対策は健全苗を移植栽培することによって若干被害が軽減されることが報告されているのみである (増田・神沢, 1971)。薬剤防除についてはイタリアでは、

臭化メチル剤およびD-D剤の効果が明らかにされている。しかしD-D剤は、600ℓ/haを使用しても収穫期のテンサイにはRizomaniaの病徴が現われるという(Bongiovanni, 1973)。北海道でもD-D剤による本畑防除の試みがなされたが、4ℓおよび6ℓ/aの使用量では十分な効果がなく、特に多発畑では根中糖分が著しく低い(宇井, 1973; 菅原ら, 1971, 1974)。なお、イタリアではダゾメット剤による土壌燻蒸処理が高い効果を示したと報告されているが(Ghillini and D' Ambra, 1971)、北海道ではまだ確認されていない。

世界的に見ても、本畑での感染によるそう根病は難防除病害であり、実用的な防除法の確立が強く望まれている。

以上、*P. betae*の生態とテンサイそう根病の防除に関する既往の研究のうち、本報告に関連のあるものについてのみ記述した。

II. そう根病の発生分布と被害

A. 発生分布

そう根病は前に記したように1969年以前にも十勝および網走支庁管内などの一部の畑に発生していたが(増田ら, 1970 a), 1970年には北海道各地に突然多発したため, テンサイ栽培上大きな障害になった。北海道てん菜技術推進協会がまとめた1970年から1972年までの全道の発生概況調査によれば(宇井, 1973), 1970年の発生面積は約600 haに達し, 全道的に認められた。その発生分布は網走支庁管内が約400 ha, 十勝支庁管内が約100 ha, その他7支庁管内を合わせて約100 haであった。1971年には主として前2支庁管内の発生が激減したため, 全道で約90 haに減少した。しかし後志および胆振支庁管内での発生面積は殆んど減少しなかった。1972年の発生地域は網走, 胆振および後志支庁管内が主体で, 全道で約70 haであった。ここでは1970, 1971, 1973, 1974, 1982および1984年におけるそう根病の発生分布を調べ, 更に本病の発生とその環境, 特に土壤理化学性との関係について検討した。

1. 網走・北見地方における発生分布とその環境

1970年にそう根病が道内各地, 特に網走支庁管内に多発した原因の解明と, 本病が坪状または帯状に発生した畑の土壤理化学性を明らかにしようとした。

調査方法

ほ場選定・調査時期 1970年および1971年は網走支庁管内の全テンサイ畑を対象に9月中旬から10月上旬にそう根病の発生の有無を調べた。更に兩年とも約70筆のテンサイ畑を無作為に抽出し, 土壤特性および*P.betae*の寄生を調べた。

土壌と細根の採取 調査は場1筆当たり5地点につき, テンサイの主根から約10cm離れた畦間の表層約5~10cmの位置から細根を含む根圏土壌を採取した。育苗土はテンサイが不発芽のため畑に放置してあった紙筒から採取した。これらの土壌のpHはガラス電極式pHメーター(日立M-5)で水懸濁液(湿土1:水2.5)について測定した。礫, 腐植含量および土性は肉眼および触感で判定した。更にこれらの土壌から取り出した細根は*P.betae*の寄生およびウイルスの検出調査の材料に用いた。

発病と*P.betae*の寄生調査 ほ場におけるそう根病の発病の有無は葉部の黄化症状と根部維管束の褐変から判断し, 両病徴が明らかであるものを発病個体とした。更に採取した一部の土壌を1/5000 aワグネルポットに充填し, テンサイ「品種:ソロラーベ」を播種し, 約70日目にそう根病の病徴の発現を調べた。なお供試土壌にはpHが7.0程度になるように炭酸カルシウムを添加した。*P.betae*の寄生調査は, ほ場および上記ポットから採取したテンサイの細根を水洗いし, ラクトフェノール液に浸漬固定し, 0.1%コットンブルーあるいは, アニリンブルーまたは酸性フクシン液で染色したのち, 約10mmの長さのもの20本を光学顕微鏡で観察し, 寄生程度をTable 1に示した基

Table 1. Description of severity of infection of *Polymyxa betae* in rootlets of test plants

Severity	Infection
-	No infection.
Pl	Plasmodia are only observed.
+	Resting spore clusters are observed in a few rootlets and they are not mature.
++	Resting spore clusters are observed in some rootlets, and almost all of them are mature.
+++	Resting spore clusters are observed in almost all rootlets and all of them are mature.

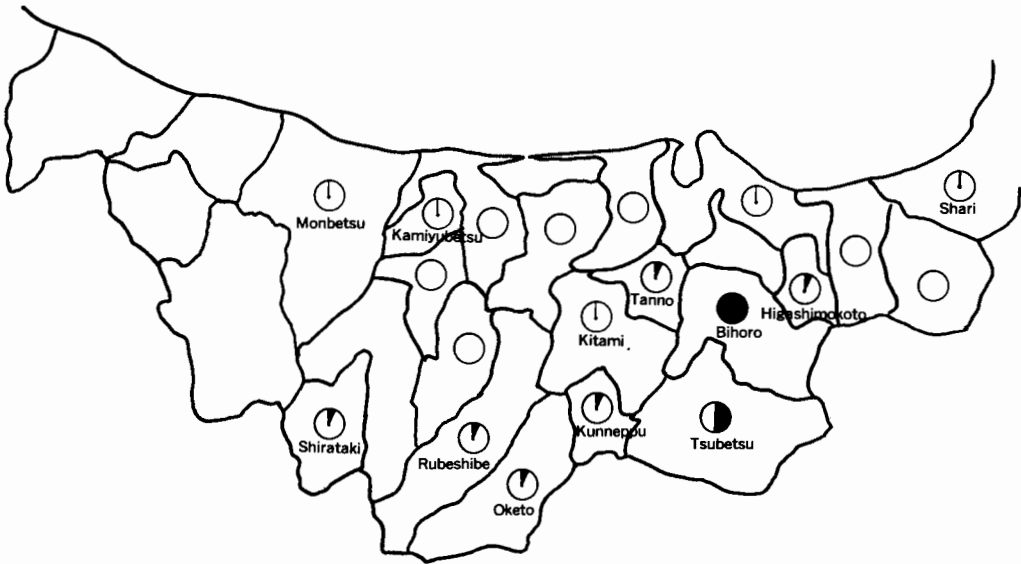


Fig. 1. Occurrence of rhizomania disease of sugar beet at Abashiri district in Hokkaido in 1970.
 ○ : 0% of fields affected, ⊕ : below 1%, ⊖ : 2-5%, ⊙ : 6-9%, ● : 10-20%, ⊛ : above 20%.

準により表わした。

結 果

1970年および'71年に網走支庁管内の全テンサイ畑を対象にそう根病の発生を調べた結果、本病の発生は2年間の調査で15市町村に認められた。そのうち1970年の発生はFig. 1に示すとおり13市町村191筆、同管内のテンサイ栽培面積の約2%、'71年は9市町村45筆、テンサイ栽培面積の約0.5%であった。発生畑の葉部症状(Plate 1)は褪緑黄化型が約70%、縮葉型が約20%、葉脈黄化型、要素欠乏型、壊死斑点型がそれぞれ数%であった。更に、葉脈黄化型または縮葉型と黄化型との複合症状も多くみられた。

次に美幌町とその周辺の数市町村から無作為に抽出したそう根病の発生畑およびほぼ同数の隣接無発生畑について栽培法を調べた結果、Table 2に示すように、発病は直播より紙筒移植栽培に圧倒的に多く認められた。ただし移植栽培でも、その発病は苗の来歴が異なると、同一畑内の畦を隔

Table 2. The incidence of rhizomania disease of sugar beet in different culture methods (in 1970 and 1971, Abashiri district)

Culture methods	No. of fields investigated	No. of fields that rhizomania occurred	% of fields that rhizomania occurred
Direct sowing	37	2	5.4
Transplanting	152	67	44.1

ててはっきりと分かれる例がしばしば見受けられた。発病株の分布は畑全面またはほぼ均一に点在することが多かった。以上の発生状況から発病個体の殆どは育苗時に感染したものと推定された。

それ故1970年に78ほ場、1971年に60ほ場、合計138筆のほ場について育苗土の特性を調査した結果、本病の発生と腐植および粘土含量との関係は認められなかったが、育苗土の種類とは密接な関係が認められた。即ちTable 3に示すように、本病は網走川堤防内土および製糖所の沈殿池土を育苗土に使用した場合に多発し、防風林土、草地土、山土などを育苗土に用いた場合には認められな

った。なお網走川堤防内土および製糖所の沈殿池土には炭酸カルシウムやライムケーキなどの石灰質資材が多量に混入されており、土壌 pH が高かった。また、発生畑では本畑の土壌 pH が高い例もあった。このため1971年に紙筒移植畑における育苗土および畑土壌の pH と本病の発生に関する調査を実施した。その結果は Fig. 2 に示すように、そう根病の発生が認められた畑は育苗土の pH が 6.2 以上または畑の土壌 pH が 6.8 以上であった。従って畑の土壌 pH が 5.0 以下であっても育苗土の pH が 6.2 以上の場合には発病を認めることがあった。

更に、本畑が病土になっているために部分的発生が認められた畑について、ほ場内の発生分布とその環境を調べるため、1974年にそう根病の発生畑のなかから美幌町と斜里町の各 1 筆を選定し、発病個体の分布と *P.betae* の寄生程度、並びに土壌 pH を調べた。その結果は Fig. 3 に模式的に示したように、重症個体の分布は美幌町が直径 8 ~

Table 3. Effect of soil samples used in nursery beds on the incidence of rhizomania of sugar beet

Soil samples from	No. of fields examined	No. of fields diseased
A windbreak	1	0
Meadow	2	0
Hill	6	0
Border of paddy field	1	1
Near bank of Tokoro river	12	1
Upland fields	71	20
Near bank of Tokoro river	23	21
Settling lagoon of sugar beet factory (Kitami)	17	15
do. (Bihoro)	5	5
Total	138	63

20m の坪状で、斜里町が幅 10~20m の帯状であった。これらの畑におけるそう根病の発生と土壌 pH および *P.betae* の分布の関係は 2 筆の畑で若干異なるが、発病を認めなかった部分の土壌 pH は 5.0 以下 (美幌) または 5.3 以下 (斜里) で、この部分に生育するテンサイ細根には、*P.betae* が寄生していないかまたは極めて少なかった。発病が軽症の部分では pH が 5.2 (美幌) または 5.9 (斜

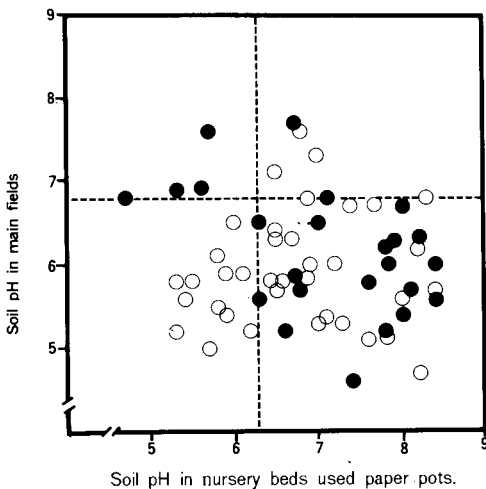


Fig. 2. Relation between soil pH in nursery beds and main fields and occurrence of rhizomania disease in main fields at Abashiri district in 1971. ●: rhizomania diseased fields. ○: no rhizomania diseased fields.

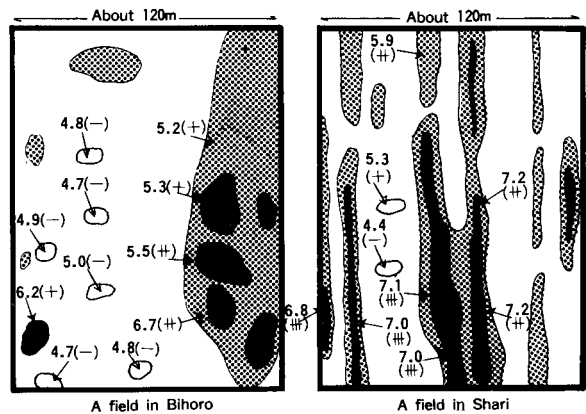


Fig. 3. Distribution of plants infected with *Polymyxa betae* and soil pH in fields showing different severity of rhizomania disease (schematic diagram). ○: healthy sugar beets. ⊙: slightly diseased sugar beets. ●: heavily diseased sugar beets. Figures indicate soil pH. Signs in the parenthesis indicate severity of *P. betae* infection (see Table 1).

里)で、*P.betae*の寄生は中程度であった。発病が重症の部分ではpHが5.3~6.7(美幌)または6.8~7.2(斜里)で、*P.betae*の寄生程度も高かった。なお、美幌町の重症地点は若干窪地になっていた。

次にそう根病多発畑3カ所から深さ別に採取した土壌について発病検定を行なった結果、Table 4に示すようにそう根病の発病および*P.betae*の寄生程度は一般に表土の方が心土より高かったが、地下50cmの土壌でも*P.betae*の寄生とそう根病の発病が認められた。

2. 北海道各地における発生分布とその環境

そう根病の病原ウイルス(BNYVV)とその媒介菌、*P.betae*の全道的な分布、並びに本菌の分布と土壌理化学性との関係を明らかにしようとした。

調査方法

調査時期、畑土壌の採取、土壌分析、採取土壌の発病検定、*P.betae*の寄生調査は前項の方法に準じた。

ELISA法によるBNYVVの検出調査 採取土壌から取りだしたテンサイ細根につき、ELISA法によりウイルスの検出を行なった。ELISA法は玉田・萩田(1982)の方法に準じた。即ち材料は供試植物の風乾細根50mgに0.15M NaCl, 0.05% Tween 20および2%ポリビニルピロリドンを含む0.02Mリン酸緩衝液(pH 7.4) 5mlと石英砂1gを加えて乳鉢で十分に磨砕し、その上清を供試した。検定は始めにBNYVV抗血清のγグロブリン1μg/mlでマイクロプレート(型式: Dynatech Microelisa)の穴の壁面を37℃で3時間覆い、γグロブリンを吸着させ、これに供試材料の上清を入れて4℃で16時間置き、その後500倍稀釈の酵素結合抗γグロブリンを加えて37℃で4時間、次いで酵素基質を加えて20℃で30~60分置いた試料について2波長マイクロプレー

Table 4. Occurrence of *Polymyxa betae* in soil samples from different depths in three rhizomania infested fields

Examined soils			Sugar beet seedlings used as a test plant ^{a)}	
Locality	Depth (cm)	pH (H ₂ O)	Occurrence of rhizomania ^{b)}	Severity of <i>P. betae</i> infection ^{c)}
Kiyosato	0-10	6.9	+	+++
	10-20	6.9	+	+++
	20-30	7.3	+	++
	30-40	7.5	+	++
	40-50	7.1	+	+
Shari	0-10	7.7	+	+++
	10-20	7.3	+	++
	20-30	4.6	-	+
	30-40	5.6	-	+
	40-50	5.0	-	-
Date	0-10	7.5	+	+++
	10-20	7.7	+	+++
	20-30	7.4	+	+++
	30-40	6.1	+	++
	40-50	5.8	+	++
Steamed soil		7.8	-	-

a) The seeds of sugar beet as a test plant were sown in soil samples placed in clay pots. The plants were grown in a greenhouse at 20-30C for 2 months.

b) Occurrence of rhizomania was determined by symptoms appearance, +:rhizomania symptoms were observed, -:symptoms were not observed.

c) Infection with *P. betae* was determined by the presence of resting spore clusters in the rootlets based on Table 1.

ト光度計(MTP-22, Corona)で波長405nmの吸光度を読みとった。酵素はアルカリフォスファターゼ、酵素基質はp-ニトロフェニルリン酸2ナトリウムを用いた。対照にはウイルスフリーのテンサイ細根磨砕液を用い、これと比較して修正した値が0.1以上であれば、BNYVVが存在すると判定した。なお、BNYVV抗γグロブリンおよび酵素結合抗γグロブリンは北海道立中央農業試験場玉田哲男博士から分譲されたものである。また発病調査、土壌および根の採取は農業改良普及所および製糖会社のご協力によって行なった。

結果

1973年および74年に全道14支庁のうち、13支庁91市町村324筆の畑についてそう根病の発生およびテンサイにおける*P.betae*の寄生調査を行なった結果、Table 5に示すとおりそう根病の発生は後志、胆振および網走の3支庁管内に認められた。また、*P.betae*が検出された畑は全調査畑の

26%, 10支管内に分布していた。これらの調査畑の土壤理化学性と発生および *P.betae* の分布との関係について検討した結果, 土壤 pH との間に密接な関連が認められた。即ち, Fig. 4 に示すように, そう根病の発生は pH 5.9以下では殆んど認められなかったが, pH 6.5以上からは明らかに多くなり, pH 7.0以上では約 60%の畑に認められた。

また, *P.betae* の検出畑割合は pH 5.9以下では6.9-17.5%であったのに対して, pH 6.0以上から急増し, pH7.5以上では100%であった。この傾向は土性および土質が異なっても変らなかった。

次に一部の採取土壤について発病検定を行なった結果, Table 6 に示すように, 発病畑から採取した土壤では, 供試した16筆の全土壤で検定に用いたテンサイにそう根病の病徴と *P.betae* の寄生が認められた。これに対し, *P.betae* が寄生していても発病していなかった25筆の畑から採取した土壤では約半数に発病を認めたと, 残りの約半数の土壤ではテンサイに *P.betae* が多量に寄生しても発病は認められなかった。

次に1982年に ELISA 法を用いて道内12支庁76市町村550筆の畑について病原ウイルスの分布を調査した結果, 本ウイルスは網走支管内

Table 5. Distribution of *Polymyxa betae* and rhizomania of sugar beet in Hokkaido

Districts	No. of fields examined	No. of fields that rhizomania occurred	No. of fields that <i>P.betae</i> was detected
Hidaka	1	0 (0%)	0 (0%)
Hiyama	6	0 (0)	1 (17)
Ishikari	7	0 (0)	0 (0)
Souya	7	0 (0)	1 (14)
Oshima	9	0 (0)	4 (44)
Sorachi	11	0 (0)	2 (18)
Rumoi	12	0 (0)	0 (0)
Shiribeshi	14	4 (29)	5 (36)
Kushiro	15	0 (0)	1 (7)
Kamikawa	16	0 (0)	6 (38)
Iburi	29	9 (31)	7 (24)
Tokachi	43	0 (0)	3 (7)
Abasbiri	154	26 (17)	55 (36)
Total	324	39 (12)	85 (26)

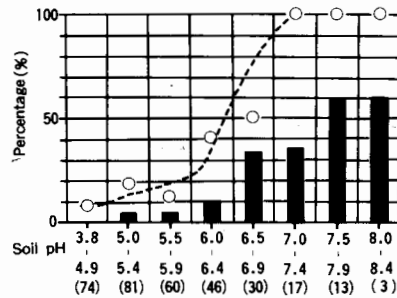


Fig. 4. Occurrence of rhizomania of sugar beet and detection of *Polymyxa betae* in 324 main fields at different pH in 1973 and 1974. ■ : % of fields that rhizomania occurred. ○ : % of fields that *P. betae* was detected. The figures in the parenthesis indicate numbers of fields investigated.

Table 6. Detection and pathogenicity of *Polymyxa betae* in soils collected from 41 fields in Hokkaido

Soil samples ^{a)}	No. of soils examined	No. of soils that rhizomania occurred ^{b)}	No. of soils that <i>P. betae</i> was detected ^{b)}
<i>P. betae</i> was detected, but rhizomania was not observed	25	12	25
Rhizomania was observed	16	16	16
Sterilized soil	4	0	0

a) Soil samples were divided into 2 groups on the basis of result on survey for distribution of *P. betae* shown in Table 5.

b) Detection and pathogenicity of *P. betae* in the soil samples was done with same method as Table 4.

37%, 胆振支庁管内27%, 後志支庁管内27%, 十勝支庁管内13%, 上川支庁管内18%, 全道平均で23%の畑から検出された。土壌 pH とウイルスの分布との関係についても調べた結果、本ウイルスの分布は土壌 pH 4.5から pH 7.8までの広範囲に認められたが、該当 pH の調査畑に対するウイルス検出畑の割合は、pH 6.0以下の畑では約18%で低く、pH 6.1-7.0では約33%, pH 7.1以上では約85%となり、高 pH で明らかに高かった (Fig. 5)。

3. 千歳地方の発生パターン と土壌理化学特性

千歳市およびその周辺のテンサイ畑でのそう根病の発生は、先の全道調査 (1982年) では低率であったが、1984年にはかなり多く見られた。前述のように、本病は汚染育苗土の使用等によって育苗時に感染する場合と、畑が病土であるために移植後に感染する場合があります、各々発生畑での発病株の分布が異なる。網走・北見地方における調査から、畑がそう根病の病土と化したところでは、発病株がスポット状など、不均一に分布すること、さらにこの原因は石灰質資材の施用量の多少に伴う土壌 pH の高低と密接に関係し、高 pH 土壌で多発していることを明らかにした。

本病のように畑に定着する病害は、地域および個々の畑での発病の実態を正確に把握し、発病の要因を解析することが極めて重要と考えられるが、これらの調査はまだ十分になされていない。

ここでは千歳地方を対象にそう根病の発生および被害と発生畑の土壌理化学性との関係を調査し、一筆の畑のなかで発病株の分布 (発生パターン) が異なる要因を明らかにしようとした。

調査方法

調査時期とは場選定 1984年10月上旬に千歳市、恵庭市、長沼町および由仁町のテンサイ畑から無作為にそれぞれ32, 11, 4 および24筆を

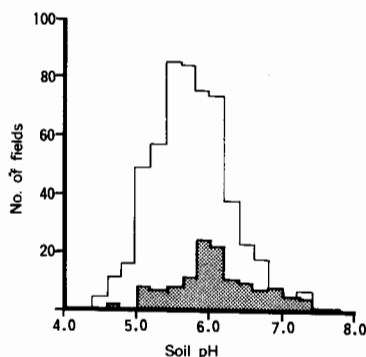


Fig. 5. Soil pH and detection of BNYVV by ELISA in rootlets of sugar beet grown in 550 fields at different districts in Hokkaido (1982). □: number of fields investigated. ■: number of fields that BNYVV was detected.

選定し、そう根病の発生調査畑とした。

精密調査畑の選定と調査項目 発病個体が認められた畑のなかから、発生パターンの異なる6筆を選定し、精密調査を行なった。精密調査畑は1筆当り3または5ヵ所、1ヵ所2畦×4m (約5m², 約30個体)につき、そう根病の発病程度、ウイルスの感染程度、収量および根圏土壌の理化学性を調べた。

発病調査 肉眼による発病の判定は葉部の退緑黄化の有無と根部の維管束褐変の有無に基づいた。精密調査畑では1個体毎に Table 7 に基づき葉部の黄化度および Table 8 に基づき根部発病度を調べた。

土壌と細根の採取 発病を認めなかった畑で

Table 7. Yellowing symptoms on leaves of rhizomania affected sugar beet plants

Rating	Symptoms on leaves
0(-)	Normal leaves.
1(+)	Some leaves showing slight yellowing.
2(++)	Most leaves showing yellowing.
3(+++)	All leaves showing yellowing, and the petioles elongating longer than healthy ones.
4(++++)	All leaves clearly yellowed and stunted, or dead.

$$\text{Yellowing severity} = \frac{\sum(\text{Rating number} \times \text{number of plants at each rating})}{\text{Total number of plants} \times 4} \times 100$$

は1筆当り5個体, また, 精密調査畑では発病調査した全個体から細根を含む根圏土壌約200gごとを採取した。これらは土壌分析および細根からのウイルス検出のための材料とした。

ウイルスの検出 発病を認めなかった個体(疑似を含む)の細根(風乾重として0.03g)および精密調査畑から採取した細根, 側根(直径2~5mm)および主根(中央側面から径10mmのコルクボーラーで打ち抜いた約300mm³大の細片)についてELISA法を用いウイルスの検出を行なった。

ELISA法は前項(II-A-2)に準じた。

収量 精密調査畑6筆, 1筆当り3または5ヵ所合計26ヵ所, 1ヵ所当り約30個体のテンサイにつき, 根重および根中糖分を測定した。

土壌分析 未発生病と精密調査畑から採取した土壌の化学分析を行なった。土壌分析の手法および使用機器はTable 9に示した。

なお, 本調査の実施に当り, 調査畑の選定およ

Table 8. Necrotic symptoms on roots of rhizomania diseased sugar beet plants

Rating	Symptoms on roots
0	Normal root.
1	Fibrovascular bundles in the tip of a main root or lateral roots showing slight necrosis.
2	Fibrovascular bundles in the tip of a main root showing clear necrosis.
3	Some parts of a main root showing corking or rotting.
4	Most parts of a main root showing rotting.

$$\text{Necrosis severity} = \frac{\sum(\text{Rating number} \times \text{number of plants at each rating})}{\text{Total number of plants} \times 4} \times 100$$

び材料の採取には財団法人北海道てん菜技術推進協会, 北海道糖業株式会社恵庭原料事務所および日本甜菜製糖株式会社由仁原料事務所, 糖分分析には農林水産省北海道農業試験場てん菜部の御協力をいただいた。

Table 9. Methods for analysis of soils and used instruments

Items	Methods	Ratio for extraction (Soil : Extractant)	Used instruments	Model of instruments
pH	H ₂ O extract	1 : 5	pH meter	HORIBA pH meter M-7 II
Electric conductivity(EC)	H ₂ O extract	1 : 5	EC meter	TDA conductmeter CM-2A
Exchangeable base K ₂ O CaO MgO	Schollenberger method	1 : 20	Atomic absorption spectrophotometer	HITACHI Atomic absorption spectrophotometer 170-50A
Cation exchange capacity (CEC)	Formol method	1 : 20		
Nitrate nitrogen	Phenol-Sulphuric acid method	1 : 10	Spectrophotometer	HITACHI spectrophotometer 101
Available P ₂ O ₅	Truog method	1 : 200	Spectrophotometer	do.
Trace elements				
Fe	1N Ammonium acetate extract	1 : 10		
Mn ^{a)}	do. (0.2% Hydroquinone)	1 : 5	Atomic absorption spectrophotometer	HITACHI Atomic absorption spectrophotometer 170-50A
Zn	0.1N Hydrochloric acid extract	1 : 10		
Cu	do.	1 : 10		

a) Easy reducible Mn.

結 果

そう根病の発生は千歳市, 恵庭市, 由仁町および長沼町の合計71筆中約60%に認められた。1筆の畑における発病株の分布 (発生パターン) は, 4つのタイプに類別された (Table 10)。即ち, 重症個体を含む大きなスポット状, 重症個体を含む小さなスポット状, 軽症で大きなスポット状および軽症で小さなスポット状である。これらの発生パターンは同一地域に混在していた。

精密調査を行なった発生パターンの異なる6筆では (Table 10およびPlate 4), 各調査畑とも一筆の畑で発病度が異なる箇所を調査対象に選んだため, そう根病の発病の激しさと被害の関係が明瞭に現われた (Table 11)。即ち, 葉の黄化度, 根の発病度および根のウイルス感染の程

Table 10. Patterns of distribution of rhizomania affected-sugar beet plants and sampling sites for investigation fields

Field No.	Incidence patterns of rhizomania	Sampling sites
1	Broadly and heavily infected patch	
2	do. (belt like)	
3	Limitedly but heavily infected patch	
4	Broadly but slightly infected patch	
5	Limitedly and slightly infected patch	
6	Limitedly but heavily infected patch	

■ : site showing heavily infected patch.
 □ : site showing slightly infected patch.

Table 11. Virus infection and yields in sugar beet plants showing different severity of rhizomania disease in fields

Field No. ^{a)}	Incidence patterns of rhizomania ^{a)}	Sample No.	Yellowing severity ^{b)}	Necrosis severity ^{b)}	Detection of virus in roots ^{c)}			Yields		
					Main roots	Lateral roots	Root-lets	Root weight (ton/10a)	Sugar content (%)	Sugar yield ^{d)} (kg/10a)
1	Broadly and heavily infected patch	1	0	9.0	•	0/20	2/16	6.52	13.3	866
		2	2.6	27.8	•	0/10	3/20	5.79	13.0	751
		3	16.2	20.8	•	5/23	9/10	4.77	11.5	550
		4	52.7	49.1	0/23	19/21	10/10	2.95	8.4	218
		5	95.9	65.0	1/26	26/28	10/10	1.52	7.3	110
2	do. (belt like)	6	4.0	21.7	•	0/27	18/26	4.56	14.0	637
		7	1.4	27.8	•	0/10	13/27	4.62	13.6	630
		8	17.1	29.0	•	1/32	19/28	3.65	13.1	478
		9	63.1	41.1	0/36	10/36	10/10	3.48	10.4	361
3	Limitedly but heavily infected patch	10	92.4	65.3	2/26	17/31	10/10	1.77	6.6	117
		11	0	7.0	•	0/10	0/20	5.46	13.7	750
		12	5.7	9.6	•	0/10	3/16	5.83	12.3	714
		13	9.6	16.8	•	2/26	10/10	5.46	11.1	605
		14	51.0	36.8	•	3/26	10/10	4.23	10.4	441
4	Broadly but slightly infected patch	15	82.3	42.7	0/38	11/38	10/10	3.74	7.6	283
		16	3.8	13.0	•	2/23	7/21	6.52	13.7	894
		17	3.0	17.5	•	0/10	4/17	6.03	12.9	776
		18	15.0	12.6	•	4/19	14/19	4.15	7.7	319
5	Limitedly and slightly infected patch	19	0	0	•	0/26	0/25	6.58	15.2	1002
		20	0	0.8	•	0/24	0/20	5.27	14.9	786
		21	15.2	12.1	•	3/27	8/10	5.22	13.1	683
		22	5.8	20.8	•	1/24	9/10	6.33	11.7	741
		23	16.0	5.9	•	7/26	10/10	4.91	11.4	558
6	Limitedly but heavily infected patch	24	0	3.0	•	0/19	2/21	6.65	11.4	761
		25	13.6	0.9	•	7/22	21/21	7.42	11.4	843
		26	41.0	33.3	1/10	21/21	10/10	5.20	9.3	481

a) See Table 10.

b) About 30 plants per a sample were examined.

c) Denominators are numbers of examined plants, and numerators are numbers of virus-detected plants. • : not tested.

d) Sugar yield : Root weight × Sugar content.

Table 12. A coefficient of correlation between each item investigated about 26 samples shown in Table 11

Items	Necrosis severity	Percentage of plants in which virus was detected from		Root	Sugar	Sugar
		Lateral roots	Rootlets	weight	content	yield
Yellowing severity	0.882*** ^{a)}	0.726**	0.654**	-0.857**	-0.851**	-0.898**
Necrosis severity		0.663**	0.581*	-0.859**	-0.791**	-0.888**
Percentage of plants in which virus was detected from lateral roots			0.609**	-0.693**	-0.791**	-0.779**
Percentage of plants in which virus was detected from rootlets				-0.628**	-0.693**	-0.754**
Root weight					0.671**	0.933**
Sugar content						0.873**

a) **, * : significant at 0.1% and 1% level, respectively.

Table 13. Chemical characteristics of soil in six fields showing different incidence patterns of rhizomania disease in Table 10

Field No. ^{a)}	Incidence patterns of rhizomania ^{a)}	Sample No. ^{a)}	Chemical characteristics of soil					Calcium saturation rate (%)	Factors of fluctuation in soil pH
			pH (H ₂ O)	NO ₃ -N (mg/100g)	EC ^{b)} (mS/cm)	CEC ^{c)} (me/100g)	CaO (mg/100g)		
1	Broadly and heavily infected patch	1	5.3	1.5	0.32	18.8	199	37.7	Calcium saturation rate (CEC)
		2	5.2	1.7	0.30	11.9	125	37.5	
		3	5.2	1.5	0.39	11.3	134	42.3	
		4	5.5	1.9	0.37	9.0	194	76.8	
		5	6.3	1.6	0.26	5.4	222	146.8	
2	do. (belt like)	6	5.0	1.6	0.19	4.1	54	47.0	Calcium content
		7	5.0	1.0	0.17	4.4	64	51.8	
		8	4.9	2.6	0.29	6.0	83	49.5	
		9	5.5	2.5	0.40	10.8	179	59.3	
		10	5.6	3.3	0.41	10.9	197	64.5	
3	Limitedly but heavily infected patch	11	5.1	9.6	0.63	16.6	184	39.6	Calcium saturation rate (CEC)
		12	5.2	4.8	0.37	14.1	145	36.8	
		13	5.3	12.9	0.44	14.5	175	43.1	
		14	5.2	17.2	0.66	7.0	118	60.0	
		15	5.3	8.8	0.34	7.8	124	57.0	
4	Broadly but slightly infected patch	16	5.4	13.5	0.72	18.3	237	46.2	NO ₃ -N concentration
		17	5.1	9.9	0.56	21.8	218	35.7	
		18	5.9	3.5	0.68	13.2	177	47.9	
5	Limitedly and slightly infected patch	19	4.7	10.1	0.85	17.4	222	45.5	NO ₃ -N concentration
		20	4.5	9.5	0.94	17.3	165	34.1	
		21	5.0	4.3	0.47	17.1	211	44.1	
		22	5.6	5.9	0.59	18.0	191	38.0	
		23	5.5	5.5	0.41	16.8	184	39.0	
6	Limitedly but heavily infected patch	24	5.3	0.6	0.43	20.0	234	41.4	Calcium content
		25	5.7	0.5	0.24	21.7	270	44.4	
		26	6.0	0.6	0.20	22.6	316	49.9	

a) See Table 10.

b) EC : electric conductivity.

c) CEC : cation exchange capacity.

度と収量との間には高い相関が認められ (Table 12), 黄化度に応じて糖量の減収が明らかであった。

上記発生パターンの異なる6筆の畑の土壌化学性は Table 13に示すように、各調査畑とも発病度

の高かった箇所では、発病度の低かった箇所に比較して、土壌 pH が高い傾向にあった。このような地点 (調査箇所) 間における土壌 pH の差異をもたらした要因として、置換性 CaO 含量, Ca 飽

和度, NO₃-N 含量のいずれかの影響が認められた。即ち, ほ場No. 1 およびNo. 3 のスポット状重症地点では軽症地点に比べ土壌の緩衝能を示す塩基置換容量 (CEC) が小さいため, 両地点の置換性 CaO 含量にはさほど差がないにもかかわらず, Ca 飽和度は重症地点で高くなっており, このことが同地点の土壌 pH の上昇をもたらし, そう根病の多発をまねいたものと思われる。なお, このように重症地点において CEC が小さいのは Table 14 に示すように土壌粒径が粗粒であること, 並びに腐植含量が低いことに起因するものであった。一方, ほ場No. 4 およびNo. 5 では重症地点, 軽症地点間における Ca 飽和度, 置換性 CaO 含量には差がなかったが, 土壌 NO₃-N 含量が重症地点で少なく, このため土壌 pH の上昇がもたらされた。また, ほ場No. 2 の帯状重症地点およびNo. 6 のスポット状重症地点では軽症地点に比べ CEC が大きく, また NO₃-N 含量が多いか, も

病の発生程度は道内で最も高く, その中でも美幌町における発生は最も激しかった (宇井, 1973)。テンサイそう根病の発生は育苗時感染と本畑感染とに分けられるが, 本調査では同町を中心に網走支庁管内における兩年の多発の原因を調べた結果, 主として紙筒育苗土の汚染による病苗 (育苗時感染) の使用によることが確認された。これらの結果に基づき, その後は全道的に育苗には無病土の使用が緊急対策として講じられた為 (中央農試・北見農試・てん研, 1972; 北見農試・日甜, 1972), 育苗時の感染は殆んど認められなくなった。これまでに本病が最も広く発生した1970年でさえ, てん菜技術推進協会の調査では (宇井, 1973), 発生面積率は約1%とされていた。しかし, 1973年と1974年に実施した調査では *P.betae* は道内の324調査畑のうち, 26%から検出された。更に1982年の調査では病原ウイルスは道内550調査畑のうち, 23%に検出された。従って本調査から病原ウイルスは北海道各地に広く分布している

Table 14. Physical properties of soil samples in a field (Field No. 1 in Table 10) affected with rhizomania disease in Chitose district

Sampling No. ^{a)}	Content of carbon %	Content of humus %	Percentage of different particle size ^{b)}				Soil texture
			Coarse sand %	Fine sand %	Silt %	Clay %	
1	2.4	4.1	66.4	12.6	8.0	13.0	LS
2	2.1	3.6	71.1	14.4	9.0	5.5	LS
3	1.5	2.6	78.7	13.8	2.0	5.5	LS
4	1.1	1.9	81.2	13.8	1.0	4.0	S
5	1.5	2.6	83.8	11.2	3.0	2.0	S

a) See Table 10

b) Based on soil classification by International Pedological Society.

しくは同等にもかかわらず, 置換性 CaO 含量が多く, これに伴う Ca 飽和度の上昇等により土壌 pH が高まった。なお, 上記の土壌理化学性以外に土壌中の微量要素と発病の関係についても調査を行なったが判然としなかった。

4. 考 察

1970, 1971年の網走・北見地域におけるそう根

の拡大の原因は1972年以前における病苗と病土の移動によって, *P.betae* と病原ウイルスが各地に拡散されたためと推定される。従って, 今後菌密度が高くなれば, 本畑感染による発病が激しくなる可能性は十分にある。

千歳地方における本病の発生は調査した半数以上の畑に広く分布していたが, 1筆の畑内における発病株の分布は畑の一部に限られることが多かった。このことから当地方における発生

は育苗時感染ではなく, 畑が病土になっているものと考えられた。当地方の調査ではテンサイの葉の黄化程度と1筆の畑内における黄化株の分布の広さから, 発生パターンを4つのタイプに分け, それぞれ代表的な発生パターンを示す畑のテンサイについて病原ウイルスの感染程度と被害並びに土壌理化学性を調べた。その結果はⅡ-B-2-(2)で詳しく述べるように葉の黄化程度とウイルス

感染程度との間には高い正の相関が認められ、更にこれらと収量との間には高い負の相関が認められた。また、上記発生パターンは土壤理化学性と密接に関連していることが明らかになるなど、発生パターンの類別は今後の発生予想あるいは防除対策上に役立つと考える。

網走、北見地方の発生畑の土壤 pH はライムケーキまたは炭カルルの多量施用によって7.0以上を示すことも少なくなかったが、千歳地方では重症箇所でもさほど高くなく、5.5~6.0であった。ただし、後述するように本病が発生する土壤 pH の境界点と思われる5.0~5.5を中心として千歳でも無または少発生に分かれている点では網走、北見地方の場合と一致し、土壤 pH が発病にとって重要な要因であることが確認された。そこで千歳地方ではさらには場別に土壤 pH の変動要因について検討した結果、土壤 pH を高めている土壤化学的要因として以下の点をあげることができる。即ち、①、Ca 飽和度が上昇し易い、②、NO₃-N 含量が欠乏域にある。③、置換性 CaO 含量が高い。①、②、の要因は千歳地方において特異的に認められるものであり、これは農耕地を構成している母材（粗粒な淡色黒ボク土）に由来するものと思われる。即ち、このような土壤では CEC が小さく、また NO₃-N をはじめ養分の溶脱が著しく、かつ供給量も少ない。そこで農家では有機物、客土、反転客土等の土壤改良を行なっているが、造成年の浅い畑では造成ムラが生じ、このためスポット状に CEC 及び NO₃-N 含量が異なり、発病もスポット状に現われたものと推察される。なお、NO₃-N 含量および置換性 CaO 含量については一部では不均一な散布の影響も想定され得る。

以上のことから、千歳市のテンサイ畑では土壤母材の性質並びに肥培管理の不均一性により土壤理化学性が変化し、このため土壤 pH に及ぼす変動要因は多岐に渡っていることが認められた。従って、今後、現地における土壤 pH の制御を主体とした耕種的防除を行なう場合、土壤 pH 上昇の変動要因別に対策が必要とならう。

以上のことから本病が発生し易い土壤理化学特

性は、粒子が大きく、腐植が少なく、CEC が小さいか、NO₃-N が少ないか、あるいは CaO が多いために、pH が比較的高いか、石灰質資材の施用により pH が高くなり易い土壤であると考えられる。なお、土壤 pH が何故にそう根病の発生に影響を及ぼすか、またカルシウムを含む塩類の影響については後記のⅢ-C-2で検討した。

さらに *P.betae* が多量に寄生していてもそう根病の病徴を示さない個体から得られた菌株は、ウイルスを保毒していない可能性が高いので、後述のⅢ-B-2で、詳しく調査を行なった。

B. 被 害

そう根病の病徴は6月下旬から10月まで見られるが、早くから症状が現われた個体ほど重症で被害が大きい。重症の場合には生育途中で枯死し、収穫皆無になるが、現在、北海道で最も多くみられるのは軽症のものである。即ち、外観的には根がほぼ正常で、葉が軽く黄化した程度の個体である。本病が他の病害と異なる特徴の一つは、糖分の低下が顕著なことでありとされている（神沢, 1971 a ; Bongiovanni, 1973）。日本では従来からテンサイの買入れは根重を基準に行なわれてきた。このため生産者段階ではそう根病の発生による低糖分はさほど重視されていなかった。しかし1986年度から糖分取引になったので、本病の発生が生産者に直接的に影響することになる。育苗時感染によるそう根病の発生と被害の関係については既に神沢（1971 a）によって詳しく検討されている。しかし本畑感染による発病と被害の関係については、ヨーロッパでは2、3の報告はあるが（Koch, 1967 ; Bonngiovanni, 1973）、日本ではほとんど調べられていない。また、過去の報告は病徴と被害の関係に限られており、病原ウイルスの感染程度と被害の関係については不明である。ここでは育苗時感染と本畑感染のそれぞれについて発病程度と被害、ウイルスの感染程度と被害並びに品種と被害の関係について調べた。

1. 育苗時感染による発病と被害

(1). *P. betae* の密度と発病および被害

育苗土における病原ウイルス保毒 *P. betae* の密度とそう根病の発病・被害との関係を明らかにしようとした。

実験材料および方法

後述の実験(Ⅲ-C-1)で *P. betae* の休眠孢子が土壌100ml当り 17.8×10^5 (休眠孢子塊に換算して約50,000) 個以上と推定された伊達市の病土を、その加熱殺菌土に対し0.1%~100%までの6段階の割合で混合し、それらを用いテンサイ「品種：ソローベ」を約1ヵ月間紙筒育苗し、健全な北見農試ほ場に1区12m²、3反復で5月23日に移植し、収穫期(10月11日)に発病および収量調査を行なった。

結果

Table 15に示すように、0.1%病土混合区では、そう根病の発病が極くわずかで、被害を認めなかった。しかし、病土の混合割合が1%以上になると、発病・被害が明らかに認められ、病土の割合を増すことによって根部発病度が高くなり、それに平行して根重、根中糖分が低下し、病土100%区では殺菌土区に比較して減収率が根重で97%、根中糖分で64%であった。

(2). 感染時期と被害

生育期の異なる健全テンサイに病原ウイルス保毒 *P. betae* を接種し、*P. betae* の感染時期と発病及

び被害との関係について検討した。

実験材料および方法

殺菌土を入れた紙筒で育苗したテンサイの子葉展開期、本葉2~3葉期、本葉4~5葉期、本葉6~7葉期に *P. betae* の遊走子を含む病根浸漬水を1日おきに2回繰り返してかん注接種したのち、北見農試の健全畑に移植し、収穫期に発病および収量調査を1区9m²、2反復で行なった。なお、病根浸漬水は予め本病の病土で鉢植えしておいた

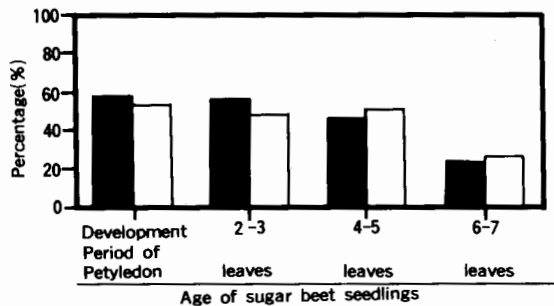


Fig. 6. Effect of the age of sugar beet seedlings inoculated by *Polymyxa betae* on the incidence of rhizomania disease and the loss of root weight in the main field. Inoculum source was used root washings containing *P. betae* zoospores. ■: necrosis severity of root (see Table 8) □: % of loss of root weight.

び被害との関係について検討した。

結果

Fig. 6に示したように、そう根病の発病・被害は接種時のテンサイの苗令によって異なった。即ち何れの接種時期でも発病したが、子葉展開期および本葉2~3葉期苗に接種した個体の根部は細い「小型」症状が多く、その40%以上が本病のために生育途中で枯死し、根重は約50%低下した。一方、6~7葉期接種区は、枯死個体が少なく、根部は主として「楔型」症状で、根重の減少は27%であった。

Table 15. Effect of amount of infested soil in paper pots on the incidence of rhizomania and yield of sugar beet^{a)}

Ratio of infested soil (%)	<i>P. betae</i> infection ^{b)}	Necrosis severity ^{c)}	Top weight (kg/1 are)	Root weight (kg/1 are)	Sugar content (%)
0	—	0.3	556	474	13.2
0.1	—	1.7	561	472	13.5
1	Pl	26.0	539	394	12.4
5	+	53.0	511	351	10.2
10	++	67.0	328	213	10.1
100	+++	97.0	67	12	4.8

a) Sugar beet seedlings were grown in paper pots containing different amounts of infested soils for 30 days and then were transplanted in non-infested main field. Symptoms and sugar yield were investigated at harvesting time.
 b) Recorded 65 days after sowing on basis in Table 1.
 c) See Table 8.

以上のようにそう根病による発病・被害はテンサイがその生育初期にウイルス保毒 *P.betae* に感染したときに、より激しくなった。

2. 本畑感染による発病と被害

(1). 発病の程度と被害

畑がそう根病の病土になっているために、本病が発生した一般の農家ほ場における発病の程度と被害との関係を明らかにしようとした。

調査方法

先の千歳地域におけるそう根病の発生分布調査(Ⅱ-A-3)で本病の発生が認められた畑のなかから、精密調査畑として選定した6筆、1筆当り3または5ヵ所(1ヵ所約30個体)合計26ヵ所における葉部の黄化度、根部の発病度および収量に基づき、発病と被害の関係を調べた。なお、調査方法はⅡ-A-3に記したとおりである。

結果

そう根病の重症個体の葉部は退緑黄化が激しく(Plate 1)、それらの根部は主根および側根の細根が異常に増加し、維管束が褐変し、主根先端から腐敗する(Plate 2および3)。千歳地方の10月上旬における6ほ場26ヵ所の葉の黄化度、根部発病度、細根および側根におけるウイルスの検出個体率、根重および根中糖分は先のTable 11のとおりであり、これらの調査項目間の関係はTable 12に示すように、葉の黄化度、根の発病度および根のウイルス検出個体率と根重、根中糖分との間には高い負の相関が認められ、病徴の激しさに応じて糖量の減収が著しかった。更に病徴が軽い個体では、根重はさほど低下しないが、根中糖分の低下が顕著であった。

(2). ウイルスの感染程度と被害

そう根病は先にも記したように病徴が多様多様であるが、ウイルスの感染程度と病徴、根重および根中糖分との関係は明らかにされていない。本項ではこれらの関係を明らかにし

ようとした。

調査方法

本調査は10月上旬に北見農試ほ場のテンサイと千歳地方の一般農家畑のテンサイについて実施した。北見農試ではそう根病の汚染畑に栽培したテンサイ「品種・モノヒル」から収穫期に病徴および発病程度の異なる12個体と対照として健全畑から1個体を採取し、それらの個体の細根(直径1mm以下の根)、側根(直径約2mmおよび約5mm)、主根(肥大部の中心部分)、根冠および葉におけるウイルスの感染程度をELISA法で調べた。千歳地域では前項の6筆の精密調査畑から採取した個体におけるウイルスの検出率と発病度および収量の関係についてまとめた。

結果

北見農試のテンサイにおける調査結果はTable 16に示すように、葉部に病徴を認めた個体では必ず細根からウイルスが検出された。そう根病の病徴が軽症から重症になるに伴ってウイルスの検出は細根から側根、主根、葉へ移行する傾向が明らかに認められた。葉からウイルスが検出されたのは葉脈黄化症状のみであった。また主根では維管束が黄褐変(Plate 2の2)していた部位のみか

Table 16. Detection of BNYVV by ELISA in different parts of sugar beet plants showing different symptoms in field

No. of samples	Symptoms on leaves ^{a)}	Symptoms on roots ^{b)}	Parts of sugar beet plants					
			Lateral roots			Center of main roots	Crown parts of roots	Leaves
			1 mm	2-4 mm	5 mm			
1	YV	Pro, N	>2.00 ^{c)}	>2.00	>2.00	>2.00	>2.00	>2.00
2	YV	Pro, N	>2.00	1.22	>2.00	>2.00	>2.00	>2.00
3	YV	Pro	>2.00	—	>2.00	0.11	0.06	>2.00
4	C	Pro, N	>2.00	>2.00	>2.00	>2.00	0.03	0.01
5	C	Pro, N	>2.00	>2.00	>2.00	>2.00	0.04	0.01
6	C	Pro	1.60	0.45	0.06	0.03	0.04	0.01
7	Y	Pro	1.66	1.76	>2.00	0.08	0.02	0.00
8	Y	Pro	>2.00	>2.00	1.02	0.01	0.01	0.00
9	Y	S-Pro	1.63	>2.00	0.04	0.01	0.01	0.00
10	S-Y	H	>2.00	0.09	0.01	0.01	0.02	0.01
11	S-Y	H	>2.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
12	S-Y	H	0.67	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
13	H	H	0.03	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01

a) YV: yellow vein, C: crinkle, Y: yellowing, S-Y: slight yellowing, H: health.

b) Pro: proliferation, N: necrosis, S-Pro: slight proliferation, H: health.

c) Absorbance values at 405 nm.

らウイルスが検出された。

千歳地方の発生パターン異なる6筆, 1筆当たり3または5ヵ所から採取したテンサイ(1ヵ所約30個体)の各部位別にウイルス検出率と葉部の黄化度および糖量との関係を調べた結果, Fig. 7, Fig. 8およびFig. 9に示すように, 調査項目の相互間で密接な関係が認められた。即ち, 細根からのウイルスは外観的にそう根病と推定された全ての個体, および極く一部ではあるが, 発生畑では外観的に健全な個体からも検出された。主根, 側根, 細根のうち, 側根からのウイルス検出個体率は被害程度と最もよく一致していた(Fig. 7)。ただし, 軽症個体の場合, ウイルスは細根から検出されても, 側根および主根からは検出されない例がしばしば認められた。

従って検定材料の部位は調査の目的に応じて選択すべきであり, 本病の発病個体であるか否かを判定する場合には, 本ウイルスとその媒介菌, *P.betae* の最初の感染部位である細根が最適であ

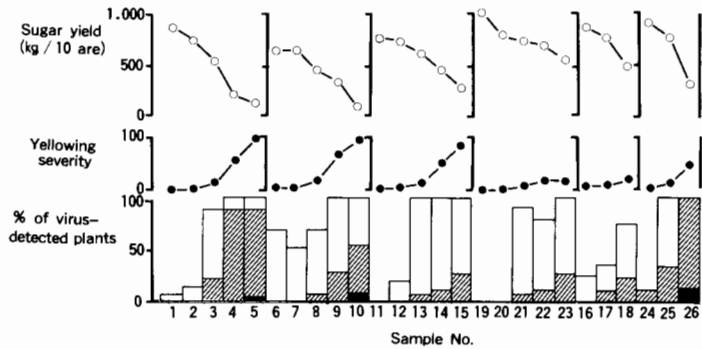


Fig. 7. Sugar yield, symptom severity and detection of virus in various parts of roots in sugar beet plants grown in six fields showing different incidence patterns of rhizomania in Table 10. This figure was drawn from Table 11. ■ : detection of virus from main roots, ▨ : detection of virus from lateral roots, □ : detection of virus from rootlets.

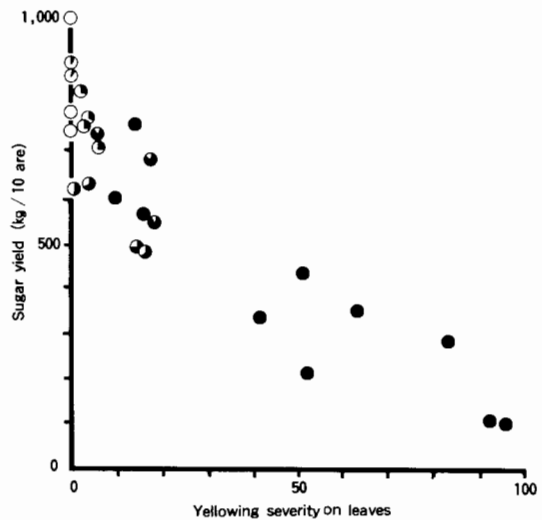


Fig. 8. Relation between yellowing severity on leaves and sugar yield in sugar beet with different percentages of virus detection in rootlets. This figure was drawn from Table 11. Yellowing severity was based on Table 7. ○ ; Indicates the percentage of virus detection, ● : 100% of plants that virus was detected, ○ : 0%

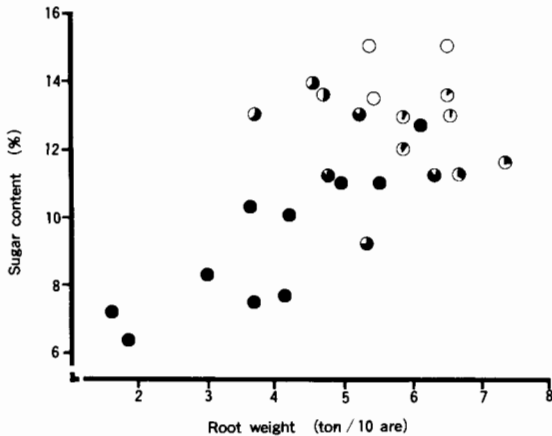


Fig. 9. Relation between root weight and sugar content in sugar beet with different percentages of virus detection in rootlets. This figure was drawn from Table 11. The percentage of virus detection is the same as in Fig. 8.

ろう。一方、ELISA 検定の吸光値またはウイルス検出個体率から本病による被害程度を推定しようとする場合には、側根を使用した方が細根を使用するより精度が少し高くなるものと思われる。

以上のように ELISA 法による病原ウイルスの検出と被害の関係は密接であるが、吸光値またはウイルス検出個体率から被害を推定しようとする場合には検定材料の採取時期、部位、調査個体数などについて更に詳しい検討が必要であると考えられる。

3. テンサイの品種・系統と発病

および被害

ヨーロッパで育成され、そう根病耐病性として期待されている主要品種・系統並びに「導入 2 号」から母系選抜した数系統について、そう根病の発病・被害、*P. betae* および病原ウイルスの感染を比較検討した。

実験材料および方法

畑での発病検定は多量の炭酸カルシウムおよびライムケーキを施用し、更にそう根病の病土で育苗したテンサイを 5 年間連作することによって、そう根病が均一に激しく発生するようになった北見農試は場で、1980 年から 1982 年にかけて 6～8 品種・系統を供試し、農試標準耕種法により 5 月中旬に直播し、10 月上旬から中旬に発病および収量調査を行なった。1980 年は 1 区 36m² 6 反復、1981 年は 1 区 24m² 6 反復、1982 年は 1 区 12m² 4 反復の乱塊法で行なった。

また未発生畑における供試品種の生産力を検定するために、1981 年に *P. betae* に汚染されていない北見農試は場に紙筒で育苗した主要 6 品種を移植して 1 区 24m² 4 反復乱塊法で栽培し、収量を調査した。

P. betae の感染検定は病根接種土壌を入れた素焼鉢に供試品種を播種し、18～25℃の温室に置き *P. betae* を感染させ、十分に増殖した約 2 ヶ月後に細根を採取し、ミキサまたは乳鉢で磨砕し、その水懸濁液中の休眠胞子塊数を Thoma の血球計算器で数え、風乾根 1 g 当りの胞子塊数を測定した。

ウイルスの感染検定は汁液接種と ELISA 法で

行なった。汁液接種は、健全畑に栽培した健全テンサイの 6～8 品種・系統の各 4 個体の葉身に、そう根病の葉脈黄化個体の葉身を 0.1%メルカプタエタノールを含む 0.1M リン酸緩衝液中で磨砕して得られた汁液を接種し、約 2 週間後にウイルスによる黄斑数を調査した。なお実験 1 は 7 月 7 日に本葉 8～10 葉期の第 4 と第 5 葉目に接種し、実験 2 は 7 月 16 日に本葉 18～20 葉期の第 12、13 および 14 葉目に接種した。

ELISA 法では、斜里町の褐色火山性土および伊達市沖積土の両病土を蒸気殺菌済の弱アルカリ性の沈殿池土で 10:90、50:50、および 80:20 に稀釈して、径 12cm 素焼鉢に充填して供試 3 品種の種子を 15 粒播種した。これを 20～30℃の温室に置き、播種後 15 日目（本葉出始め）から 65 日までの間に 5 回、1 区 2 鉢のテンサイ細根を採取して II-A-2 に準じて ELISA 法によりウイルス濃度を比較した。

結果

Table 17 に示すように、供試 15 品種・系統のうち「Maribo RT-2」は最も発病度が低く、根中糖分が高かった。しかしこの系統は Table 18 に示す通り生産力、特に根重が本質的に低かった。D-4、D-11、および D-13 は 1981 年に品種「導入 2 号」から選抜した系統であるが、いずれも親の「導入 2 号」より発病度が低く、根重および根中糖分も約 4 割高く、選抜効果が顕著に認められた。

P. betae の感染程度は、実験 1 では「Ritmo」および「Maribo RT-2」は標準とした品種「モノヒル」に比較して高く、5%水準で有意であった。実験 2 では「KWS 11057」と「KWS mono 6」は「モノヒル」より高かったが、他の 4 品種・系統は「モノヒル」とほぼ等しかった。以上 2 回の実験から「Maribo RT-2」の *P. betae* に対する感受性は「モノヒル」と同等か、むしろ若干高い傾向を示した。

ウイルスの感染程度は、汁液接種の結果では「Maribo RT-2」の黄斑数が「モノヒル」に比較して、実験 1 では差がなく、実験 2 では 5%水準で有意に少なかった。

ELISA 法では、細根中のウイルス濃度を示す吸光度 (405nm) が病土の種類および病土の稀釈濃度間で殆ど差がなかったため、それを反復とし、その平均値を Table 19 に示した。この実験ではウイルスの存在を示す吸光度の最小が0.03前後と判定されたので、幼苗は播種後15日目で既にウイルスに感染していると考えられる。「Maribo RT-2」の吸光度は特に育苗前半において「モノヒル」および「モノヒカリ」より明らかに低く、ウイルス濃度が低いようであった。

4. 考 察

そう根病の発病・被害の程度は本実験結果から *P.betae* (およびウイルス) の感染程度と感染時期によって大きく左右されることを認めた。感染程度は後述 (III-C) の各種要因によって影響されるが、特に土壌中の菌密度は重要であり、発病・被害が現われるにはある程度以上の菌密度が必要であると考えられる。神沢 (1975 b) は育苗時の感染による本病の被害限界菌量は病土の1000分の1の稀釈、または乾土100g 当り休眠胞子塊49個で、同49,000個程度 (風

乾病根0.1g) までは菌量が増加するほど被害も増大するが、それ以上では飽和状態であるとしている。本実験でも被害限界菌量は病土の1000分の1稀釈であると認められた。

ウイルス保毒 *P.betae* の感染は当然ウイルスの伝搬・感染を伴う。そう根病の被害はこのウイルスがテンサイのどの部位まで移行・増殖している

Table 17. Difference of varieties of sugar beets grown in infested soil in the incidence of rhizomania

Varieties or strains	Necrosis severity of roots			Root weight (kg/1 are)			Sugar content (%)		
	1980	1981	1982	1980	1981	1982	1980	1981	1982
Monohill	34 ^a	46	39	320	201	188	11.8	10.1	10.7
Maribo RT-1	31	43	•	339	205	•	11.9	12.0 [*]	•
Maribo RT-2	26 [*]	38 [*]	41	334	223 [*]	164 [*]	12.1	12.1 [*]	12.3 [*]
KWS mono 6	30 [*]	44	•	292	184 [*]	•	12.2	11.0 [*]	•
Ritmo	•	43	42	•	203	189	•	11.8 [*]	12.6 [*]
Maribo 17711	37	•	•	237 [*]	•	•	12.2	•	•
Nova gemo	34	•	•	323	•	•	10.9 [*]	•	•
KWS 11056	•	46	•	•	182 [*]	•	•	11.1	•
KWS 11057	•	46	•	•	185 [*]	•	•	10.4	•
Nova hill	•	46	•	•	193	•	•	9.8	•
Dounyu-2-gou	•	•	54 [*]	•	•	94 [*]	•	•	8.7 [*]
D-4	•	•	44 [*]	•	•	138 [*]	•	•	12.1 [*]
D-11	•	•	44 [*]	•	•	140 [*]	•	•	11.8
D-13	•	•	42	•	•	139 [*]	•	•	11.4
Monohikari	•	•	42	•	•	194	•	•	11.3
l. s. d. 5%	4	5	4	37	14	23	0.6	0.5	1.2
1%	6	6	6	50	18	31	0.8	0.6	1.7
C. V. (%)	17.9	14.4	6.7	16.7	9.4	10.2	6.5	7.4	7.4

a) * : significant at the 1% level compared with Monohill, • : not tested.

Table 18. Difference of yield in varieties of sugar beets grown in non-infested field

Varieties or strains	Top weight (Kg/1 are)	Root weight (Kg/1 are)	Sugar content (%)
Maribo RT-1	481	375	16.7
Maribo RT-2	506	342	16.5
Ritomo	495	367	16.7
KWS mono 6	551	389	16.1
Nova hill	446	461	15.9
Monohill	456	434	15.8
l. s. d. 5%	60	44	0.5
1%	n. s	61	0.7

Table 19. Detection of BNYVV by ELISA in rootlets of different sugar beet varieties in pots

Varieties or strains	Days after sowing				
	15	23	35	50	65
Maribo RT-2	0.05 ^a	0.14	1.49	>2.00	1.84
Monohill	0.08	0.21	1.79	1.79	>2.00
Monohikari	0.14	0.41	1.76	>2.00	1.87
Virus-free rootlets	0.00	0.01	0.01	0.00	0.02

a) Figures are mean values of A405 in 21 samples from rootlets of sugar beet seedlings.

かによって左右されるようである。即ち, *P. betae* によってテンサイの細根に感染したウイルスは側根を通じて主根の上部に達したもののほど被害が大きくなる。また本調査で設定した葉の黄化度および根部の発病度はウイルスの感染程度および実際の被害とも一致し, これらの病徴の強弱は被害の程度と見なしても差しつかえないものとする。

収穫期に ELISA 法を用い, ウイルスの感染程度を調べ, 被害を予測しようとする場合には材料として側根が最も適しているようであるが, ウイルス感染の有無を調べるためには, 感染率が最も高い細根が最適のようである。

前項で明らかにしたように, そう根病のウイルスは全道で約23%の畑に分布し, 軽症ではあるがそれらのテンサイがウイルスに感染しているとすれば, 少なく見積もっても砂糖収量は全道で1%以上低下していると推定される。全道のテンサイ糖の生産高は年間約400万トンであり, このうちの1%, 即ち4万トンの砂糖に相当する約100億

円が本病のために減収していると推定される。

そう根病による被害はテンサイの苗令が若いときに病原ウイルスの感染を受けると激しくなった。これは本ウイルスが生育初期に感染するほど体内で増殖・移行し易い(藤沢・杉本, 1976a)とされていることと一致するものであった。

テンサイ品種・系統とそう根病の発病および被害との関係では, 「Maribo RT-2」は病原ウイルスに対する抵抗性が他の品種より高いようであった。また「導入2号」からの選抜効果も認められることから, 耐病性品種育成の可能性はあると考えられる。しかし, これら供試品種は収量が低く実用化できるものは無いと判断された。今後, 更に多くの品種・系統についての発病検定および有望な母材からの選抜・交配を行なうと共に, *P. betae* およびウイルスに対する抵抗性簡易検定法の確立が必要である。

Ⅲ. *Polymyxa betae* の生態に関する研究

植物病原ウイルスを媒介する菌類として知られているものは、現在のところ真菌門のツボカビ科に属する *Olpidium brassicae*, *O. radical* (= *O. cucurbitacearum*), *Synchytrium endobioticum* と変形菌門のネコブカビ科に属する *Spongospora subterranea*, *Polymyxa graminis* および *P. betae* である。これら6種類のうち、*S. subterranea* を除く5種は、いずれも植物寄生菌としてはほとんど研究されていない。さらに、これらの菌は絶対寄生菌で、取扱いが困難なため、その生理生態はまだよく知られていない。特に *P. betae* はこれらの菌のなかでは最もおそく見出されたものであり、研究報告も少ない。

そのため、ここでは *P. betae* の寄生性の分化、ウイルス伝搬および感染に影響する要因について検討した。

A. *P. betae* の寄生性の分化

Polymyxa 属菌には現在 *P. graminis* Ledingham と *P. betae* Keskin の2種が知られており (Karling, 1968), いずれも植物病原ウイルスの媒介者として重要とされている (Teakle, 1980)。両者は宿主範囲が異なり、前者の宿主はイネ科植物、後者の宿主はアカザ科植物とされているが、テンサイそう根病の発生畑に生育した雑草からは、これら以外の植物に寄生する *Polymyxa* 属菌も報告されている (神沢・宇井, 1972; D' Ambra, 1967; 藤沢・杉本, 1978)。また *P. betae* は10年以上の永年牧草地からも検出されており、雑草のなかに本菌の宿主が存在するのではないかと推定されている (Koch, 1967)。本項では北海道のそう根病の発生土壤に栽植した各種植物における *Polymyxa* 属菌の感染とそれから分離された菌株の諸性質を調べた。

1. 各種植物における *Polymyxa* 属菌の感染

北海道のテンサイ畑に棲息する *Polymyxa* 属菌を採取するため、そう根病の病土に栽植した各種植物における *Polymyxa* の感染を調べた。

実験材料および方法

供試土壤 伊達市、津別町および斜里町から採取したそう根病の病土 1 ℓ 当りに育苗用肥料 2 g (N:10%, P₂O₅:13%, K₂O:4%, MgO:2%, H₃BO₃:0.05%) と苗立枯病防除のためヒドロキシイソキサゾール剤 (Hymexazol) 4% 粉剤 1 g を混和して供試土壤とした。

調査方法 供試土壤を径12cmまたは18cmの素焼鉢に入れ、23科108種の植物種子を播種または幼苗を移植し、20~30℃の温室内で3カ月以上生育させたのち、*Polymyxa* の感染を調べるためそれぞれの植物から細根を採取し十分に水洗した。これらの細根はラクトフェノール液で固定し、0.1% コットンブルーまたは酸性フクシンで染色して個体当たり10mm、20本を光学顕微鏡で調べ、*Polymyxa* の寄生程度を Table 1 に示した休眠胞子量を基準にして表した。

結 果

そう根病の発生土壤に栽植した各種植物のうち、*Polymyxa* 属菌の特徴的な休眠胞子塊は Table 20 に

Table 20. Infection of various plant species with *Polymyxa* sp. grown in rhizomania-infested soils of three different localities

Plant tested	Severity of infection of <i>Polymyxa</i>		
	Date soil	Tsubetsu soil	Shari soil
Chenopodiaceae			
Sugar beet	++++ ^{a)}	+++	+++
Swiss chard	+++	+++	+++
<i>Beta vulgaris</i> L. var <i>rapa</i>	+++	+++	+++
<i>B. procumbens</i>	.	+	.
Spinach	.	+	+
<i>Chenopodium murale</i>	+	++	+
<i>C. ficifolium</i>	++	++	+
<i>C. album</i>	++	++	+++
Amaranthaceae			
<i>Amaranthus retroflexus</i>	++	+	-
<i>A. blitum</i>	+	+	-
Portulacaceae			
<i>Portulaca oleracea</i>	++	++	-
<i>P. grandiflora</i>	+	+	-

a) See Table 1. . : not tested.

示すようにアカザ科、ヒユ科およびスベリヒユ科の3科5属20種の植物に認められた。寄生程度の概して高かった植物はテンサイ、飼料用テンサイ (*Beta vulgaris* L. var. *rapa* Dumort.), フダンソウ (*B. vulgaris* L. var. *cicla* L.) であった。中程度の寄生を認めた植物はシロザ (*Chenopodium album* L.), コアカザ (*C. ficifolium* Smith), *C. amaranticolor* Willd., アオビユ (*Amaranthus retroflexus* L.), スベリヒユ (*Portulaca oleracea* L.), ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.), *B. maritima* L., *C. capitatum* (L.) Asch., *C. quinoa* であった。寄生程度が低かった植物はアカザ (*C. album* L. var. *centroubrum* Makino), *B. trigyna* Wald. et Kit., *B. orientalis* Roth, *B. perennis* L., *B. procumbens* Chr. Sm. であった。なお伊達市および津別町土壤に栽植したアオビユ、イヌビユ、スベリヒユおよびマツバボタンには *Polymyxa* 属菌の感染が認められたが、斜里町土壤では認められなかった。

上記植物のほか次の22科87種についても調べたが、何れにも *Polymyxa* 属菌の寄生は認められなかった。

アカザ科：*Beta webbiana* Mog., *B. pattellaris* Mog.。ヒユ科：ハゲイトウ、ケイトウ。キク科：レタス、ヒャクニチソウ、ノゲシ、タンポポ、マリーゴールド、キク、コスモス、フキ、シンギク、ヨモギ、ダリア、アゲラタム、エゾオニアザミ、ヒナギク、ハチジョウナ。アブラナ科：タイナ、カンラン、ハクサイ、スカシタゴボウ、エゾスズシロ。ウリ科：メロン。イネ科：トウモロコシ、イネ、ヒエ、コムギ、オオムギ、チモシー、オーチャードグラス、スミズブROOMグラス、イタリヤライグラス、エノコログサ、スズメノカタビラ。マメ科：ダイズ、アルファルファ、アズキ、インゲンマメ、エンドウ、アカクローバ、シロクローバ。オオバコ科：オオバコ。ダデ科：ギシギシ、ヒメスイバ、オオイヌタデ、サナエタデ、ソバ、タニソバ、ソバカズラ、ミチヤナギ。ゴマノハグサ科：キンギョウソウ。ナス科：トマト、タバコ、ホオズキ、ペチュニア、イヌホオズキ、ジャガイモ、ナス。シュウカイドウ科：ペゴ

ニア。セリ科：セルリー、ミツバ、センキュウ、ニンジン。サボテン科：サボテン。ナデシコ科：カーネーション、ナデシコ、ヒロハノマンテマ、オオツメクサ、ハコベ、セキチク。ツユクサ科：ツユクサ。オダマキ科：オダマキ。トクサ科：スギナ。シソ科：シソ、ナギナタコウジウ、サルビア、ハッカ。ユリ科：タマネギ、ニラ、ニンニク、ユリ、アスパラガス。ベンケイソウ科：ベンケイソウ。ツルナ科：ツルナ。

2. そう根病の病土から分離された *Polymyxa* 属菌の特性

(1) 宿主範囲

前項で得られた *Polymyxa* 属菌の宿主範囲を明らかにするため、代表的な菌株を主な植物に接種し、寄生性を調べた。

実験材料および方法

Polymyxa 属菌の分離・培養 *Polymyxa* 属菌の分離は、前記の調査で *Polymyxa* の寄生が認められた3科5属20種の植物の細根から、実体顕微鏡下で他の菌類の寄生がなく、休眠孢子が多数存在する部分を切り取り、それらの根を磨碎し、ガラス管を使用して休眠孢子塊のみを吸い上げた (Plate 5 の4)。これを接種源とし、予め殺菌土を入れた素焼鉢に育苗しておいた分離源と同じ植物に再び接種して20~30℃の温室で増殖し、成熟した休眠孢子が多数形成された時に細根を採取し、水洗い、風乾して必要なときまで室内に保存した。これらの細根には *Polymyxa* 以外の菌の休眠孢子は認められなかった。

接種方法 接種源は *Polymyxa* の休眠孢子を含む上記風乾細根とし、これを1mm以下の細片にしてから蒸気殺菌土に混和した。供試菌株は津別町の病土に栽植した7種の植物から分離されたものとした。即ち、テンサイ菌株 (TNS-F-198554)、ホウレンソウ菌株 (SO-T-19841)、*Chenopodium murale* 菌株 (CM-T-19842)、コアカザ菌株 (CF-T-19849)、シロザ菌株 (TNS-F-198555)、アオビユ菌株 (TNS-F-198556) およびスベリヒユ菌株 (TNS-F-198553) を用いた。供試植物は径12cm素焼鉢に入れた接種土に播種し、菌の飛び込みを防止するため、鉢を20cm以上離して上記同様に温

室で約2カ月間生育させた。もし菌の飛び込みの疑いがあった場合には戻し接種によって寄生性を確認した。

結 果

12種の植物に対する7菌株の寄生性は、Table 21に示すように、分離された植物と同じ科に所属する植物に限られた。即ち、テンサイから分離された菌株の寄生性はすべてアカザ科植物のみであり、アオビユの菌株はヒユ科のみ、スベリヒユの菌株はスベリヒユ科のみに認められた。更に同じアカザ科植物からでも菌株間にわずかな寄生性の差が認められ、テンサイ菌株はテンサイおよびフダンソウなど *Beta vulgaris* には激しく寄生し、ハウレンソウ、*Chenopodium murale*、*C. capitatum* およびコアカザには中程度から軽い寄生であったが、シロザと *C. quinoa* には寄生しなかった。一方、シロザ菌株はシロザおよび *C. quinoa* には激しく寄生し、コアカザ、*C. murale* およびハウレンソウには中程度から軽い寄生であったが、テンサイとフダンソウには寄生しなかった。

また Table 22に示すように、ハウレンソウ、*C. murale*、*C. capitatum* およびコアカザからの菌株はテンサイとシロザの両方に寄生したが、これらの菌株が寄生したテンサイとシロザの細根を接種源にして、テンサイとシロザに交互接種した結果、テンサイに寄生した菌はシロザに寄生しなかったし、シロザに寄生した菌はテンサイに寄生しなかった。更に Table 23に示すように上記と同様にテンサイとシロザの菌株はハウレンソウ、*C. murale*、*C. capitatum* およびコアカザに寄生した。しかしそれらの植物の含菌細根を再びテンサイとシロザに接種したとき、その寄生性は分離源の宿主に依存し、テンサイからの菌株はシロザには寄生しないし、シロザからの菌株はテンサイに

Table 21. Host range of *Polymyxa* sp. infecting the plants grown in Tsubetsu soil

Test plants	Original host of <i>Polymyxa</i>						
	Sugar beet	Spinach	<i>C. murale</i>	<i>C. ficifolium</i>	<i>C. album</i>	<i>A. retroflexus</i>	<i>P. oleracea</i>
Sugar beet	+++ ^a	+++	+++	+++	-	-	-
Swiss chard	+++	+++	+++	+++	-	-	-
Spinach	++	++	++	++	++	-	-
<i>C. murale</i>	+++	+	+++	+++	++	-	-
<i>C. capitatum</i>	++	++	+	++	++	-	-
<i>C. ficifolium</i>	++	+	++	++	++	-	-
<i>C. quinoa</i>	-	++	+	++	++	-	-
<i>C. album</i>	-	++	+	++	++	-	-
<i>A. retroflexus</i>	-	-	-	-	-	+++	-
<i>A. blitum</i>	-	-	-	-	-	+++	-
<i>P. oleracea</i>	-	-	-	-	-	-	+++
<i>P. grandiflora</i>	-	-	-	-	-	-	+++

a) See Table 1.

Table 22. Infectivity of *Polymyxa* sp. isolated from spinach, *Chenopodium murale*, *C. capitatum* and *C. ficifolium* to sugar beet and *C. album*

Inoculum Resting spore clusters produced in	1 st inoculation		2 nd inoculation ^a		
		→	→	→	→
Spinach (SO-T-19841)	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet ^{b)}	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>	→	<input type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
<i>Chenopodium murale</i> (CM-T-19842)	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>	→	<input type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
<i>C. capitatum</i> (CC-T-19843)	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>	→	<input type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
<i>C. ficifolium</i> (CF-T-19849)	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>	→	<input type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>

a) Resting spore clusters of *Polymyxa* sp. propagated in 1 st inoculation were reinoculated to sugar beet and *C. album*.

b) : infected.
 : not infected.

Table 23. Infectivity of *Polymyxa* sp. isolated from sugar beet and *Chenopodium album* to spinach, *C. murale*, *C. capitatum* and *C. ficifolium*

Inoculum Resting spore clusters produced in	1 st inoculation		2 nd inoculation ^a		
		→	→	→	→
Sugar beet (TNS-F-198554)	→	<input checked="" type="checkbox"/> spinach ^{b)}	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input checked="" type="checkbox"/> <i>C. murale</i>	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input checked="" type="checkbox"/> <i>C. capitatum</i>	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input checked="" type="checkbox"/> <i>C. ficifolium</i>	→	<input checked="" type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
<i>C. album</i> (TNS-F-198555)	→	<input type="checkbox"/> spinach	→	<input type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input type="checkbox"/> <i>C. murale</i>	→	<input type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input type="checkbox"/> <i>C. capitatum</i>	→	<input type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>
	→	<input type="checkbox"/> <i>C. ficifolium</i>	→	<input type="checkbox"/> sugar beet	<input type="checkbox"/> <i>C. album</i>

a) Resting spore clusters of *Polymyxa* sp. propagated in 1 st inoculation were reinoculated to sugar beet and *C. album*.

b) : infected.
 : not infected.

は寄生しなかった。これらの結果は伊達市および斜里町の病土からの菌株でも同じであった。

以上の結果からテンサイ菌株とシロザ菌株は、ハウレンソウ, *C. murale*, *C. capitatum* およびコアカザを共通宿主とするものの、テンサイとシロザに対する寄生性は明らかに異なるものと認められた。

(2) 形態

そう根病の病土から分離された *Polymyxa* は宿主範囲から大まかに類別すると、テンサイ、シロザ、アオビユ、スベリヒユにそれぞれ寄生できる4つのグループに分けられた。ここではこれら4つの菌株とコアカザ菌株について形態を調べた。

実験材料および方法

光学顕微鏡による観察 テンサイ菌株 (TNS-F-198554), コアカザ菌株 (CF-T-19849), シロザ菌株 (TNS-F-198555), アオビユ菌株 (TNS-F-198556) およびスベリヒユ菌株 (TNS-F-198553) を前項と同様の方法で接種した土壌にそれぞれの分離源植物を播種し、20~25℃の温室内で生育させ、播種後10日目から2カ月間に5回鉢植個体の細根の一部を採取し十分に水洗したのち、前項と同様にして染色し、菌の形態を調べた。

電子顕微鏡による観察 上記の各植物の播種後約50日目に *Polymyxa* の感染細根を採取し、1~2mmに切ったものを材料に用い、6%のグルタルアルデヒドと2%オスミック酸で固定し、アセトン系列で脱水後プロピレンオキシドとSpurrの低粘性エポキシ樹脂の混合液(3:1)に移し、数日間放置してプロピレンオキシドを蒸発させたのちに70℃、8時間で重合させた。重合樹脂中の材料はウルトラマイクロノームに付けたガラスナイフで超薄切片にしてから、酢酸ウラニルと硝酸鉛で染色し、電子顕微鏡(日立HS-7D, 50KV)で観察した。

結果

テンサイ、コアカザ、シロザ、アオビユおよびスベリヒユの各菌株の寄生は各植物とも細根の表皮および皮層細胞に認められた(Plate 5 および 6)。形態的にはこれら菌株間に大きな差がなく、Keskin (1964) によって記述された *P. betae* と同

じであった。

即ち変形体は播種12日目ごろから認められ、成熟するまで裸でアメーバ状、通常約10~40 μ mの球形で(Plate 5の1・2, 6の4)、播種22日目ごろから休眠胞子に分割された。休眠胞子は厚膜で球形または六角形、直径3~10 μ m(平均約4.5 μ m)の別々の細胞が接着物質によって互に固く結合した塊となっていた。休眠胞子塊は4個から100個以上の胞子からなり、形、大きさは様々で、球状、船状、長方形、線状などの塊であった。その形状は宿主の細胞の形に依存しているようであり、幅が狭く長い細胞の多いアオビユやシロザでは線状に並んだ塊が多く(Plate 6の7・8)、幅の広い細胞の多いテンサイでは球状または長方形の塊が多かった(Plate 5の8)。休眠胞子の着色は成熟と関連があるらしく、始め無色、のち淡褐色から濃褐色に変化した。第1次遊走子は休眠胞子からの発芽によって産生されることをテンサイ菌株では確認できたが、他の4菌株ではまだ認めていない。遊走子のうは細胞膜をもち、形、大きさは様々で、手のひら状、卵状、円筒状または管状などであった。テンサイ、コアカザ、シロザおよびスベリヒユ菌株の遊走子のうは幅10~20 μ m、長さ15~60 μ mの手のひら状が多いが(Plate 5の5, 6の1・2・5)、アオビユ菌株の遊走子のうは幅5~12 μ m、長さ100 μ m以上の細い管状が多かった(Plate 6の3)。遊走子のうには多数の第二次遊走子が産生され、くびれた部分に隔壁があった。第二次遊走子の形、大きさ、構造はテンサイ菌株の場合、第一次遊走子と同じで、卵形または洋なし型、直径約4.5 μ m、長短2本のペン毛を持っていた(Plate 5の6)。

3. 考察

*Polymyxa*属菌はネコブカビ目(Plasmodiophorales)のネコブカビ科(Plasmodiophoraceae)に属している。Karling (1968)によると、この科は10属に分けられている。*Polymyxa*属の特徴は休眠胞子が小塊となり、その塊(嚢堆:cystosori)は形、大きさおよび構造が不定で、被子植物に寄生し、遊走子のうは大型で長形の裂片状、くびれるか分割され、長い逸出管を有するとされている。供試菌

株はすべてこの特徴を有していた。さらに、供試菌株の寄生性はイネ科植物に認められず、アカザ科、ヒユ科またはスベリヒユ科の植物に限られることから、*P. betae* に属すると認められた。

P. betae の寄生性分化に関する報告は最近までなかったが、1979年に Barr (1979) はカナダのオンタリオの土壤に生育させたシロザおよびアオビユから分離された *Polymyxa* の形態および宿主範囲を詳細に調べ、両菌株は形態的には差がなく、宿主範囲が明らかに異なり、シロザ菌株はアカザ科植物、アオビユ菌株はアオビユのみに寄生することから、両菌株を *P. betae* の分化型とし、シロザ菌株は *P. betae* f. sp. *betae*, アオビユ菌株は *P. betae* f. sp. *amaranthi* とすることを提案している。

しかし、前者はテンサイに寄生した例が1例のみである。一方、*P. betae* Keskin のヨーロッパ菌株はテンサイとシロザに寄生したと報告されている (Keskin, 1964; D'Ambra, 1967)。そのため Barr はヨーロッパ菌株とカナダ菌株は *P. betae* f. sp. *betae* の異なった生態型であると述べている。本研究では北海道のアカザ科植物から分離された *P. betae* はテンサイとシロザに対する寄生性においてヨーロッパ菌株系およびカナダ菌株系とも異なると認められた。それ故に北海道のテンサイ菌株とシロザ菌株は別々の分化型として分けるべきであると考えているが、筆者はまだカナダの菌株と北海道菌株との直接的な比較を行っていないので、本報告では北海道のテンサイ菌株とシロザ菌株にそれぞれ分化型名を与えることを保留する。

ハウレンソウ、*C. murale*、*C. capitatum* およびコアカザはテンサイ菌系とシロザ菌系の共通宿主であるから、これらの植物から分離された *P. betae* は両菌系が混在している可能性が高い。

北海道のアオビユからの *P. betae* 菌株はその形態および宿主範囲がカナダのものと一致するので *P. betae* Keskin f. sp. *amaranthi* Barr と同定された。

スベリヒユ菌株の形態は *P. betae* Keskin と同様であった。それらの宿主範囲はスベリヒユ科植物に限られた。スベリヒユ科とアカザ科は、アカザ科とヒユ科のように分類学的に近縁である。それ故にこの菌株は *P. betae* の1つの新しい分化型、

P. betae Keskin f. sp. *portulacae* として提案した (Abe and Ui, 1986)。

これらの結果から *Beta vulgaris* に高い寄生性のある *P. betae* のテンサイ菌株はそう根病の発生に関係し、他の分化型およびシロザ菌株は本病の発生に関係ないものと考えられる。

B. *P. betae* とそう根病の病原ウイルスとの関係

Polymyxa は絶対寄生菌であり、現在のところ合成培地では増殖できない。そのため形態的な観察には限界があり、宿主範囲が分類上重要視されている。前述のとおり *P. betae* では寄生性の分化が明瞭であり、それぞれの菌系 (または分化系) の宿主は特定の科あるいはその科のなかの特定の属に限られる。一方、そう根病の病原ウイルス (BNYVV) は汁液接種ではアカザ科、ヒユ科およびツルナ科の植物に感染するとされており (Tamada and Baba, 1973)、*P. betae* とウイルスの宿主範囲はかならずしも一致していない。また、*P. betae* の菌系 (または分化型) とウイルス伝搬との関係についても明らかでない。

植物病原ウイルスの媒介菌とウイルスとの間には明らかに異なる2つの関係、即ち、非永続的および永続的な関係があるとされている (Teakle, 1983)。永続的な関係の特徴としては①遊走子が生体外でウイルス伝搬能を獲得しない。②ウイルスが電顕で遊走子表面にみられない。③遊走子のウイルス伝搬能がそのウイルスに特異的な抗血清処理によって減少または除去されない。④ウイルス伝搬能が休眠胞子の風乾または酸処理によって減少または除去されない。⑤ウイルスが遊走子の超薄切片内に認められることなどである。一方、非永続的な関係はこの逆とされている (Teakle, 1983)。

P. betae と BNYVV との関係は④および⑤の一部に関する2. 3の知見 (玉田ら, 1971; Tamada, 1975) から永続的な関係とみなされている。しかし、上記①~⑤の各事項のほとんどはまだ十

分に確認されていない。

そこで、ここでは BNYVV の伝搬機構をさらに解明するため、*P. betae* の寄生性の分化とウイルス伝搬の関係、*P. betae* の無毒化、*P. betae* のウイルス獲得、ウイルス伝搬に及ぼす各種処理の影響および菌体内におけるウイルス粒子の所在を調べた。

1. *P. betae* の寄生性の分化とウイルス伝搬の関係

Olpidium brassicae には沢山の生態型が知られており、生態型によって伝搬するウイルスの種類が異なる。例えばタバコに寄生性のある *O. brassicae* は TNV (タバコネクロシスウイルス) を伝搬するが、LBVV (レタスピックペインウイルス) は伝搬できない。一方、レタスに寄生する *O. brassicae* は LBVV を伝搬するが TNV は伝搬できない。また、*Spongospora subterranea* には変異株が、*P. betae* には分化型がそれぞれ報告されている。しかしながら *P. betae* の分化型とウイルス伝搬との関係についてはまったく報告がない。本項ではそう根病の病土から分離された宿主範囲の異なる *P. betae* 菌株とウイルス伝搬の関係を明らかにしようとした。

(1) *P. betae* の菌株とウイルス伝搬の関係

そう根病の発生地から採取した寄生性の異なる *P. betae* 菌株につき、BNYVV の伝搬の有無を明らかにしようとした。

実験材料および方法

供試菌株 テンサイ菌株 (TNS-F-198554)、ハウレンソウ菌株 (SO-T-19841)、*Chenopodium murale* 菌株 (CM-T-19842)、コアカザ菌株 (CF-T-19849)、シロザ菌株 (TNS-F-198555)、アオビユ菌株 (TNS-F-198556) およびスベリヒユ菌株 (TNS-F-198553) の 7 菌株の休眠孢子塊約 100 個ごとをそれぞれの分離源と同じ植物に接種し、増殖したものを供試した。これらの含菌細根には *Olpidium*, *Aphanomyces*, *Pythium* および *Rhizoctonia* 属菌などの寄生菌は混入していなかった。

接種方法 上記の *P. betae* 休眠孢子を含む各植物の細根を風乾保存しておき、使用前に長さ 1 mm 以下の細片にして蒸気殺菌土にそれぞれ混和し、径 9 cm 素焼鉢に入れ、供試植物の種子を播種し、20~25℃の温室で生育させた。各植物は鉢当たり 2~4 個体植えとし、2~4 回繰り返した。

調査方法 接種後約 2 カ月目にそれぞれの鉢から細根を採取し、十分に水洗したのち *P. betae*

Table 24. Transmission of BNYVV by seven isolates of *Polymyxa betae* isolated from different plant species

Test plants ^{a)}	<i>P. betae</i> and the original host (isolate no.)						
	<i>P. betae</i> from sugar beet (TNS-F) 198554	<i>P. betae</i> from spinach (SO-T) 19841	<i>P. betae</i> from <i>C. murale</i> (CM-T) 19842	<i>P. betae</i> from <i>C. ficifolium</i> (CF-T) 19849	<i>P. betae</i> from <i>C. album</i> (TNS-F) 198555	<i>P. betae</i> f. sp. <i>amaranthi</i> (TNS-F) 198556	<i>P. betae</i> f. sp. <i>portulacae</i> (TNS-F) 198553
Sugar beet	● ^{b)}	●	●	○	—	—	—
Swiss chard	●	●	●	○	—	—	—
Spinach	●	●	●	○	○	—	—
<i>C. murale</i>	●	●	●	○	○	—	—
<i>C. capitatum</i>	●	●	●	○	○	—	—
<i>C. ficifolium</i>	●	●	●	○	○	—	—
<i>C. quinoa</i>	—	○	○	○	○	—	—
<i>C. album</i>	—	○	○	○	○	—	—
<i>A. retroflexus</i>	—	—	—	—	—	○	—
<i>A. blitum</i>	—	—	—	—	—	○	—
<i>P. oleracea</i>	—	—	—	—	—	—	○
<i>P. grandiflora</i>	—	—	—	—	—	—	○
Wheat	—	—	—	—	—	—	—
Barley	—	—	—	—	—	—	—

a) Test plants (at least 10 plants each) were inoculated with resting spores of *P. betae* through soil.

b) *P. betae* was observed by a light microscope in rootlets of test plants. BNYVV was detected by ELISA in extracts of rootlets of test plants.

- : infected with *P. betae* and BNYVV.
- : infected with *P. betae* but not with BNYVV.
- : not infected with *P. betae* and BNYVV.

と BNYVV の感染を調べた。*P. betae* の感染調査は前述の III-A-1 に準じて行ない、BNYVV の感染調査は II-A-2 に準じて ELISA で行なった。

結 果

異なった植物から得られた *P. betae* 7 菌株を接種した 14 種の植物における *P. betae* の寄生と BNYVV の感染は Table 24 の一覽表のとおりであった。即ち、テンサイ菌株は、テンサイ、フダンソウ、ハウレンソウ、*Chenopodium murale*, *C. capitatum* およびコアカザに寄生し、ウイルスもこれらの植物から検出された。ハウレンソウおよび *C. murale* 菌株は、テンサイおよびシロザを含む供試全アカザ科 8 種に寄生した。しかしウイルスはテンサイおよびコアカザを含む 6 種から検出されても、*C. quinoa* とシロザからは検出されなかった。コアカザ菌

株は、供試した全アカザ科8種に寄生したが、ウイルスはどの植物からも検出されなかった。シロザ菌株はテンサイおよびフダンソウを除くアカザ科6種に寄生したが、ウイルスは検出されなかった。*P. betae* f. sp. *amaranthi* のアオビユ菌株はヒユ科に、*P. betae* f. sp. *portulacae* のスベリヒユ菌株はスベリヒユ科にのみ寄生したがこれらのいずれの植物からもウイルスは検出されなかった。

以上、そう根病ウイルスの伝搬は菌系(分化型)によって異なった。

(2) *P. betae* の菌密度に及ぼす各種植物の影響

前項までに認められた *P. betae* および BNYVV の宿主特異性を確認するため、寄生性の異なる *P. betae* が棲息している伊達市のそう根病の病土に各種の植物を栽植し、その跡地土壌におけるそう根病の発病程度を調べた。

実験材料および方法

供試土壌 そう根病の病土である伊達市の洪積土(砂壤土, pH (H₂O) 7.1) と製糖所の沈殿池から掘り上げた沈殿土(砂壤土, pH7.8), および蒸気殺菌した沈殿土を使用した。

供試植物 北海道の主要な畑作物、観賞用植物および雑草を使用した。

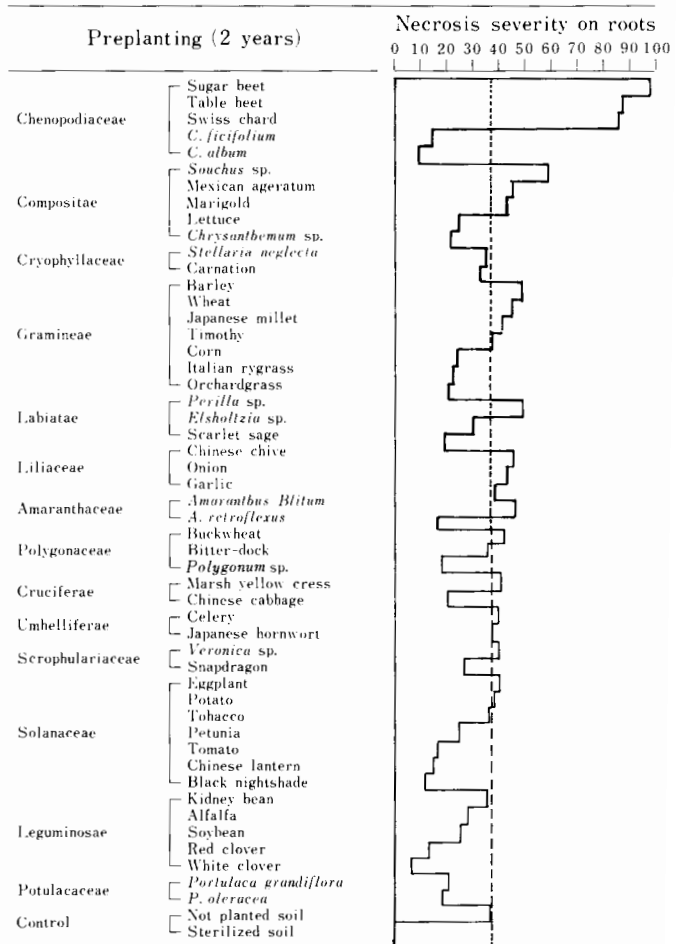
調査方法 供試土壌に上記各種植物を2または3年間栽植したのちに土壌中の *P. betae* およびウイルスの密度を調べるため全区にテンサイを播種し、温室で育苗したのち、一部はほ場に移植し秋の収穫期まで生育させてから根部のそう根病の発病を Table 8 の基準に基づいて調べ、発病度で表示した。更に一部の個体についてはテンサイ細根部のウイルス濃度を II-A-2 に準じて ELISA 法で調査した。

結果

伊達市の病土と沈殿土の等量混合土を径18cm素焼鉢に充填し、14科50種の植物

をそれぞれ2年間連続して栽植したのち、これらの土壌をテンサイ移植用紙筒(約25穴)に充填し、テンサイを播種して44日間温室で育苗してから、北見農試の健全ほ場に1区19個体、2反復で移植し、そう根病の発病を調査した。結果は Table 25 に示すように、発病度は、テンサイ、テーブルビートおよびフダンソウなど *Beta vulgaris* L. に所属する植物の栽植跡では対照裸地区の38に比較して著しく高かったが、同じアカザ科でもコアカザ

Table 25. Effect of kinds of preceding crops and weeds grown in infested soil on the severity of rhizomania of sugar beet ^{a)}



a) Plants of 50 species from 14 families were grown in pots filled with infested soil for two years. In the third years, sugar beet plants were grown for 44 days in paper pots which were filled with the soil used in the pots of 50 species as above, and then transplanted into a healthy field. The results showed with necrosis severity on roots of their sugar beet plants at the harvest time (see Table 8).

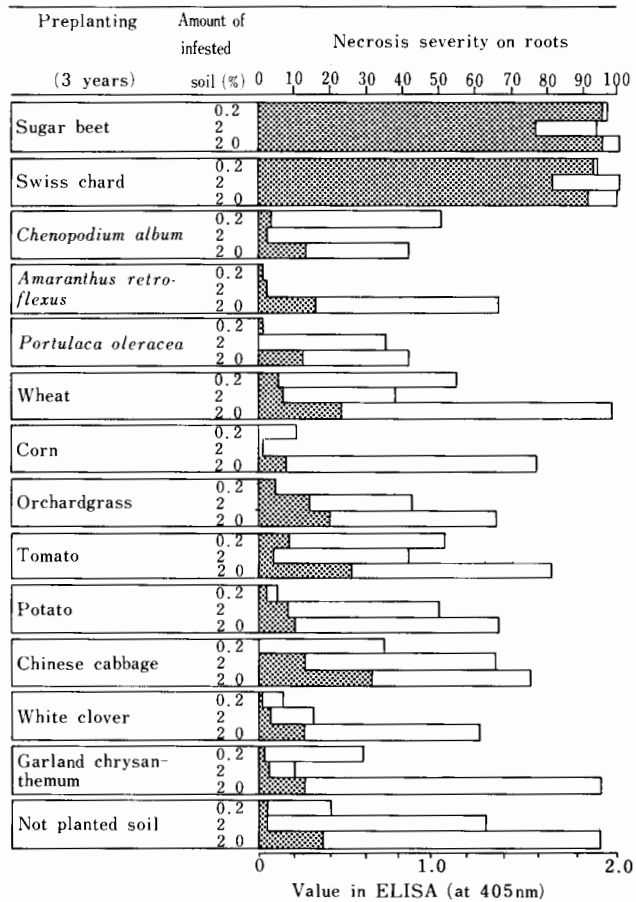
およびシロザのように *Chenopodium* 属に所属する植物の跡，およびシロクロバー，アカクロバ，イヌホオズキ，ホオズキ，トマト，アオビユ，サルビア，オーチャードグラスなどの跡では対照裸地より低かった。根重は発病度に反比例し，テンサイ，テーブルビートおよびフダンソウの跡では著しく低かったが，シロザ，アカクロバ，およびスベリヒユなどの跡では対照の健全土における正常個体とほぼ同等の高い値であった。

次に病土割合の異なる土壌について検討した。この実験は蒸気殺菌した沈殿土に伊達市の病土を0.2%，2%または20% (V/V) ごと混合して径18cm素焼鉢に充填し，テンサイ，シロザなど13種の植物を3年間栽植したのち，2倍量の蒸気殺菌土に混和し約8ℓのポリエチレンバット (縦32cm，横22cm，高さ12cm) に入れた。これらにテンサイ種子を50粒播種し，20～30℃の温室内に置き，約4カ月目にそう根病の発病度およびウイルスの感染を調査した。結果は Table 26に示すように，そう根病の発病およびウイルスの感染程度は，テンサイおよびフダンソウの跡では病土の混合割合に関係なく高かった。これに対しシロザなど他の供試植物の跡では，全般的に低く，発病度は病土の混合割合に依存していた。

(3) 考 察

そう根病の病原ウイルス (BNYVV) の感染はウイルスの宿主であるアカザ科植物にテンサイ菌株を接種したときに認められたが，シロザ菌株，*P. betae* f. sp. *amaranthi* または *P. betae* f. sp. *portulacae* を接種した場合には認められなかった。汁液接種では，BNYVV の宿主はシロザを含むアカザ科の多くの植物，ツルナ科のツルナおよびヒユ科のセンニチコウなどとされているが (Tamada and Baba, 1973)，本研究結果から明らかであるように，ウイルスが自

Table 26. Effect of kinds of preceding crops and weeds grown in different amount of infested soil on the severity of rhizomania of sugar beet ^{a)}



a) Plants of 13 species were grown in pots filled with different amounts of infested soils for three years. In the fourth years, sugar beet plants were grown in the soils of different preceding crops for four months, and then were examined on the incidence of rhizomania and the infection of BNYVV by ELISA.
 ■: necrosis severity on roots (see Table 8).
 □: value in ELISA.

然感染する植物の種類は，*P. betae* の宿主より少ない。このことは次に行なった各種植物の栽植跡の土壌における調査からも裏付けられた。即ち，テンサイ跡ではウイルスを保毒した菌の密度が著しく高くなったために，そう根病の発病が激しくなったものと推定されたのに対し，シロザ，コアカザ，アオビユおよびスベリヒユ跡ではウイルス

を保毒した菌の密度が増加しなかったため、発病度が低かったものと推定される。

以上のことから *P. betae* による BNYVV の伝搬は菌の分化型または菌株によって異なるとともに、*P. betae* が増殖する植物の種類によって異なると結論される。

2. ウイルスの無毒化と獲得

Polymyxa betae がウイルスの媒介者であることの確証を得るためには、無毒の *P. betae* を用いて菌がウイルスを獲得するかどうかを調べなければならぬ。そこで、前章 (II-A-1) で述べたように、発生実態調査のなかで無病徴でありながら、*P. betae* の寄生が認められた個体から分離した数菌株について、ウイルスをチェックしながら継代培養した結果、そう根病の病原ウイルス (BNYVV) を持っていない *P. betae* を得ることが出来た。さらに、先の実験では、BNYVV を保毒している *Polymyxa betae* のテンサイ菌株 (TNS-F-198554) はコアカザにも寄生し、ウイルスを伝搬した。しかし、コアカザから分離された菌株はウイルスを伝搬しなかった。ここではコアカザ通過による BNYVV の無毒化を確認すると共にウイルス無毒の菌株が再び本ウイルスを獲得できるか否かについて検討した。

(1) コアカザ通過による *P. betae* のウイルス無毒化

そう根病の病原ウイルス保毒 *P. betae* を用い、コアカザで増殖したのちのウイルス伝搬能を確認する。

実験材料および方法

供試菌株 テンサイ (TNS-F-198554)、ホウレンソウ (SO-T-19841) および *C. murale* (CM-T-19842) 菌株を用いた。これらの菌株の分離・増殖は前項に準じて行なった。

接種方法 上記3菌株をそれぞれテンサイとコアカザに接種して増殖させたのち、休眠胞子を含む細根を採取し、それを接種源としてテンサイに接種した。接種方法は前項と同様に細根を風乾したのち、1 mm以下の細片にして蒸気殺菌土に混和した。こ

れを径9 cm鉢に入れ、供試植物の種子を播種して20~25℃の温室で生育させた。

調査方法 播種後約2カ月目に採取した細根について、*P. betae* は光学顕微鏡で、ウイルスはELISA法で調べた。調査方法は前項 (II-A-2) に準じた。

結 果

Table 27に示すとおりテンサイ、ホウレンソウおよび *C. murale* 菌株をコアカザで増殖してからテンサイに接種したとき、*P. betae* はすべての個体に感染していたが、ウイルスはそれらのどの個体からも検出できなかった。一方、対照のテンサイ増殖菌を接種したものでは全個体からウイルスが検出された。

以上の結果から供試3菌株ともに、コアカザを通過することによってウイルスが無毒化されたものと考えられる。

(2) ウイルス無毒 *P. betae* のウイルス獲得

菌類によるウイルス獲得には、*O. brassicae* の遊走子によるタバコネクロシスウイルスの獲得のように生体外からなされるものと、*O. brassicae* によるレタスピックベインウイルスおよびタバコ矮化ウイルス、または *P. graminis* による soil borne wheat mosaic virus およびオオムギ縮萎病ウイルスのように生体内でのみなされるものの2

Table 27. Transmission of BNYVV by three *Polymyxa betae* isolates propagated on sugar beet and *C. ficifolium*

Inoculum <i>P. betae</i> resting spores (isolate no.)	1 st inoculation ^a	2 nd inoculation ^b
Sugar beet isolate (TNS-F-198554)	<input type="checkbox"/> Sugar beet	<input type="checkbox"/> Sugar beet
	<input type="checkbox"/> <i>C. ficifolium</i>	<input type="checkbox"/> Sugar beet
Spinach isolate (SO-T-19841)	<input type="checkbox"/> Sugar beet	<input type="checkbox"/> Sugar beet
	<input type="checkbox"/> <i>C. ficifolium</i>	<input type="checkbox"/> Sugar beet
<i>C. murale</i> isolate (CM-T-19842)	<input type="checkbox"/> Sugar beet	<input type="checkbox"/> Sugar beet
	<input type="checkbox"/> <i>C. ficifolium</i>	<input type="checkbox"/> Sugar beet

a) Each isolate was inoculated to sugar beet and *C. ficifolium* through soil in first inoculation.

b) Two months after 1st inoculation, each isolate propagated on sugar beet and *C. ficifolium* was again inoculated to sugar beet through soil.

c) *P. betae* was observed by a light microscope in rootlets of test plants, BNYVV was detected by ELISA in extracts of rootlets of test plants.

: infected with *P. betae* and BNYVV.

: infected with *P. betae*, but not with BNYVV.

種類が知られている。本項では無毒の *P. betae* がウイルス感染テンサイからウイルスを獲得出来るか否かを調べた。

実験材料および方法

供試菌株 先の II-A-1 のそう根病の発生分布調査で *P. betae* が多数感染していてもそう根病の症状を示さない遠軽町の健全テンサイ個体から分離された菌を健全テンサイで数回繰り返し培養し、これを接種したテンサイにはそう根病の病徴も、ウイルスの感染も認められなかった (Plate 3 の 3・4)。本実験にはこのウイルス無毒菌株 (P-1 菌株) と、前項で述べたテンサイそう根病発病個体から分離した TNS-F-198554 および T-1-100 菌株をコアカザで増殖し、それぞれウイルスを無毒化した Pf-9 および Pf-115 菌株を使用した。

接種源の作出 蒸気殺菌土で育苗した本葉 4-5 葉期のテンサイ葉身または細根にそう根病の葉脈黄化症状を呈した葉から得たウイルス粗汁液を接種し、葉脈黄化症状を現わし、根部維管束が褐変し、細根からウイルスが検出できた個体をウイルス単独感染個体とした (Plate 1 の 6)。上記の無毒 *P. betae* をこれらのウイルス単独感染個体

で増殖したとき、それらの菌がウイルスを獲得できるか否かを調べた。即ち、接種源は下記 A, B, C, D の 4 つの処理区から得られた根浸漬水および細根とした。A 区はウイルス単独感染体にウイルス無毒 *P. betae* 菌株を感染させたもの、B 区はウイルス単独感染個体、C 区はウイルス無毒 *P. betae* のみを感染させたもの、D 区はウイルスも *P. betae* も感染させない健全個体とした。根浸漬水は鉢植テンサイを水道水に 12 時間浸漬して採取し、直ちに接種した。細根は十分に水洗したのち風乾して用いた。A および C 区から得た根浸漬水には *P. betae* 遊走子が、細根には *P. betae* 休眠胞子がそれぞれ多数認められた。

検定方法 根浸漬水は予め殺菌土で育苗しておいた鉢植えの健全テンサイ「品種：ソロラーベまたはモノヒル」根圏に注入接種した (遊走子接種)。風乾細根は 1 mm 以下の細片にして殺菌土に混和し、テンサイ種子を播種した (休眠胞子接種)。

調査方法 遊走子接種後約 40 日目、または休眠胞子接種後約 60 日目に Table 7 に基づいて発病を調査し、黄化程度「++」以上の個体を発病個体とみなした。*P. betae* および BNYVV の感染調査は発病調査後に採取した細根について前項に準じて行なった。

結 果

細根を接種したものは Table 28 に示すとおり、ウイルスの伝搬はウイルスと *P. betae* の両者を感染させた A 区から採取した細根を接種した個体だけに認められた。一方、対照とした *P. betae* のみの感染個体である C 区から採取したものでは、細根に軽い壊疽を生じたが、ウイルスは伝搬されなかった。またウイルスのみの感染個体である B 区から採取したものを接種した場合には、*P. betae* の感染もウイルスの感染も認め

Table 28. Acquisition and transmission of BNYVV by non-viruliferous sugar beet isolates of *Polymyxa betae* from plants infected with only the virus

	Rootlets used as inoculum source	No. of sugar beet plants examined	No. of plants infected with	
			<i>P. betae</i>	BNYVV ^e
A	Sugar beet infected with BNYVV and <i>P. betae</i> (P-1) ^a	12	12	12
	do. (Pf-9) ^b	24	24	10
	do. (Pf-115) ^c	16	16	2
B	Sugar beet infected with BNYVV ^b	22	0	0
C	Sugar beet infected with <i>P. betae</i> (P-1) ^c	12	12	0
	do. (Pf-9) ^d	24	24	0
	do. (Pf-115) ^d	16	16	0
D	Healthy sugar beet	21	0	0

a) BNYVV was inoculated by manual inoculation of sap to leaves of young seedlings, and 2 months later, three isolates of non-viruliferous *P. betae* were inoculated to roots of systemically virus-infected plants, respectively.

b) BNYVV was inoculated by manual inoculation of sap to leaves of sugar beet seedlings.

c) P-1 isolate of *P. betae* was obtained from healthy sugar beet. This isolate was free from BNYVV. Resting spores of the isolate was inoculated through soil to sugar beet.

d) Pf-9 and Pf-115 were obtained from viruliferous sugar beet isolates of *P. betae*, TNS-F-198554 and T-1-100, respectively. They were changed from viruliferous to non-viruliferous after being grown on *C. ficifolium*. Resting spores of these isolates were inoculated through soil to sugar beet.

e) BNYVV infection was examined by ELISA.

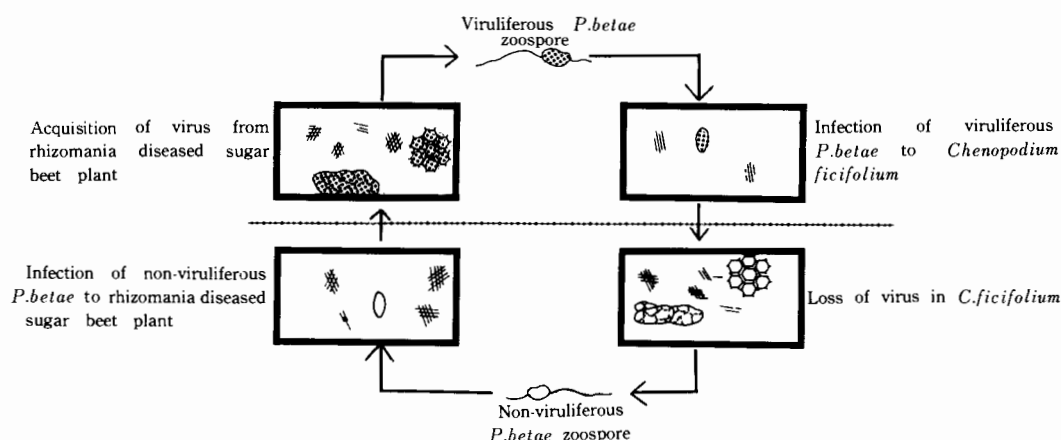


Fig. 10. Schematic diagram on the relationship of the acquisition of BNYVV and the loss of the virus in *Polymyxa betae*. ☆:resting spore, ⊕:zoosporangium, ⊖:plasmodium, ●:virus particles.

られなかった。根浸漬水を接種したものは表示を省略したが、細根を接種したときとほぼ同じであった。

以上の結果はウイルスフリーの *P. betae* 菌株がウイルス感染テンサイ細胞内で増殖することによってウイルスを獲得したことを示すものであった。

(3) 考 察

Keskin (1964) は、*P. betae* が感染したテンサイは葉が黄化および奇形を呈し、生育も劣ったと報告している。また Barr (1979) は *P. betae* が感染したハウレンソウおよびシロザは無接種の個体より小さく、それらの根にはかなり激しい壊疽を生じたと報告している。しかし、本実験では無毒 *P. betae* がテンサイに感染しても、根は外観的に健全または細根が軽微な褐変を示すのみで、テンサイの生育への影響は認められなかった。*P. betae* 単独感染によるテンサイへの被害をより明らかにするためには、ドイツ、カナダおよび日本の菌株間での比較検討が必要である。

そう根病の病原ウイルス無毒 *P. betae* を使用したウイルス獲得実験の結果は、ウイルス無毒 *P. betae* がそう根病のウイルスに感染したテンサイ細根内で増殖する過程において遊走子のうおよび休眠胞子にウイルスを獲得し、遊走子の感染によ

ってそのウイルスを健全テンサイに伝搬したことを示すものと考えられる。これは *P. graminis* による soil borne wheat mosaic virus (Canova, 1966; Rao and Brakke, 1969), オオムギ縮萎ウイルス (遠山・草葉, 1970), *Olpidium brassicae* によるレタスピックペインの病原体 (Tomlinson and Garrett, 1964) の獲得と同様であると認められた。なお、本実験結果のうち、無病徴個体から分離された P-1 菌株によるウイルス獲得の概要は共同研究として既に発表した (Tamada, Abe and Baba, 1974)。

ウイルス無毒化実験に用いた *P. betae* 菌株はいずれもテンサイに寄生性があり、ウイルスも獲得できることから、コアカザによってウイルスを獲得できない系統だけが選択されたものではないと思われる。*P. betae* のウイルスフリー化とウイルスの獲得を模式的に示すと Fig. 10 のようになる。これはレタスのピックペインの病原体を保毒している *Olpidium brassicae* がテンサイ、*Plantago major*, あるいは *Veronica persica* で増殖することによってウイルスを失い、無毒化されること (Campbell, 1962; Tomlinson and Garrett, 1964) あるいはタバコ矮化ウイルスを保毒している *O. brassicae* がレタスで増殖することによってウイル

スフリー化されること（日高・多川，1976）と似ているが，レタスピックベインウイルスおよびタバコ矮化ウイルスの場合には上記植物中で増殖していないか，それらの植物に寄生した *Olpidium* 中でウイルスが増殖できないかのどちらかであるとされている。これに対し，BNYVV はコアカザ中で増殖できるにもかかわらず，*P. betae* がそのウイルスを獲得できないのである。菌類によって伝搬されるウイルスについては現在までこのような報告がない。なおコアカザでウイルスフリー化が生じる理由は明らかでなく，今後の検討課題である。

3. 各種処理とウイルス伝搬の関係

前項までの実験結果から，そう根病の病原ウイルス（BNYVV）は *P. betae* によって獲得・伝搬されることが確認できた。本項では更に *P. betae* におけるウイルスの所在を知るため，ウイルスを保毒している *P. betae* 休眠胞子の長期保存，湛水，熱，酸（HCl），アルカリ（NaOH）処理および休眠胞子および遊走子に対するウイルス抗血清処理が BNYVV の伝搬に及ぼす影響について検討した。

(1) 長期保存

P. betae と同じネコブカビ科に属する *Plasmodiophora brassicae* および *P. graminis* の休眠胞子は土壤中で8年程度生存するとされている（Karling, 1968; 安・吉野, 1964）。*P. betae* についても神沢（1982）は8年程度生存可能であるとしている。さらにそう根病はテンサイを10年目に栽培した畑にも発生している。ここで

はウイルス保毒 *P. betae* が棲息している病土を風乾および湿潤状態で室内に長期間保存し，*P. betae* の生存とウイルスの感染性の保持を経時的に調べた。

実験材料および方法

津別町および伊達市のそう根病発生畑から採取した病土を風乾および湿潤（含水率約30%）状態でビニール袋に入れて室内に保存し，

経時的に素焼鉢に充填してテンサイ種子を播種して，*P. betae* および BNYVV の感染，並びにそう根病の発病を調べた。

結 果

Table 29に示すように，津別町の病土では保存15年目でも，*P. betae* と BNYVV の感染，およびそう根病の発病が認められ，保存年次が経過しても発病は10年間殆ど低減しなかった。また風乾土と湿潤土の間でも *P. betae* の感染，そう根病の発病に大きな差を認めず，両者の感染性は長期間保持された。

伊達市の病土の結果は表示を省略したが，上記同様に湿潤および風乾状態で保存13年目を経過したが，現在も *P. betae* とウイルスの高い感染が認められ，その間，湿潤，風乾両者の感染性は殆ど低減していない。

(2) 湛水处理

土壌伝染性の植物病原菌のなかには湛水によって比較的短期間で死滅するものもあるが，*P. betae* およびそう根病の病原ウイルスについては明らかにされていない。そこで湛水が本菌の生存とそう根病の発病に及ぼす影響を調べた。

実験材料および方法

2 m × 3 m のコンクリート枠にポリエチレンフィルムを敷き，テンサイ製糖所の沈殿土（そう根病の病土）を深さ30cmに充填し，2年間湛水状態に保ち，3年目に畑地に戻してテンサイを直播栽培した。1枠当たりテンサイ24個体，2反復とした。

Table 29. Persistence of BNYVV infectivity in infested soils stored under air-day and moist conditions at room temperature^{a)}

Stored conditions	Stored periods 5(years)	No. of sugar beet plants examined	No. of plants diseased	No. of plants infected with	
				<i>P. betae</i>	BNYVV
Moist soil	10	15	15	15	15
	13	4	4	4	3
	15	18	9	18	10
Air-dried soil	5	10	3	8	5
	10	23	23	23	23
	13	6	6	6	5
soil	15	21	10	21	12
	15	10	5	9	7

a) Infectivity tests were done by symptoms appearance, detection of virus by ELISA and infection of *P. betae* in rootlets of test plants grown in treated soils

結 果

湛水処理後の土壤に栽培したテンサイには、対照無処理のものと同様に、*P. betae* の感染が認められ、そう根病が激しく発病し、処理の影響はまったく認められなかった。

(3) 加熱処理

前述のとおり *P. betae* の休眠胞子は室温では土壤中で15年間以上生存できることが明らかになった。ここではテンサイ細根中または罹病組織から遊離した休眠胞子を用い、比較的低温で長期の処理を含む耐熱性を湿熱と乾熱について検討した。

実験材料および方法

湿熱処理には *P. betae* (TNS-F-198554菌株) の休眠胞子を多数含む生病根10gを乳鉢で磨砕し、水道水300mlを加え、100メッシュの篩を通し、10mlづつを試験管に分注したものを供試材料とした。これを20, 35, 37, 40, 45, 50および60℃で1, 3, 5, 7, 14または21日間加熱処理した。乾熱処理には風乾病根約0.5gを試験管に入れ、所定温度の定温器内に置いた。これらの処理済休眠胞子は石英砂と Hoagland and Arnon 合成培養液 (後述のⅢ-C-1-(1)参照) で予め育苗しておいた2葉期のテンサイの根圏に接種し30日目に *P. betae* とウイルスの感染性を調べた。

結 果

P. betae の感染性は、Table 30に示すように湿熱では40℃14日間、45℃7日間または50℃5日間で消失した。一方、乾熱では、60℃21日間処理でも保持されていた。

P. betae の寄生を認めた個体にはそう根病の発病およびウイルスの感染も認められた。ただし、湿熱40℃7日間処理の一部の個体では *P. betae* が寄生しても、そう根病の症状が出現せず、ウイルスも検出されなかった。更にこれらの個体から分離された *P. betae* を健全テンサイで継代培養して

Table 30. Effect of heat treatment of virus-carrying resting spores of *Polymyxa betae* on transmission of BNYVV^{a)}

Heated conditions	Temperatures (C)	Heated periods (days)	No. of sugar beet plants examined	No. of plants diseased	No. of plants infected with	
					<i>P. betae</i>	BNYVV
Moist	20	7	12	12	12	12
		14	30	30	30	30
	35	14	30	30	30	30
		37	7	18	18	18
	21		3	3	3	3
	40	1	3	3	3	3
		3	3	1	1	1
		7	18	4	7	5
		14	30	0	0	0
	45	7	12	0	0	0
14		30	0	0	0	
50		1	11	11	12	11
		3	3	2	2	2
	5	6	0	0	0	
	7	12	0	0	0	
60	14	30	0	0	0	
	1	3	0	0	0	
Dried	37	21	8	8	8	8
		40	21	3	3	3
	50	21	3	3	3	3
		60	21	3	3	3

a) Infectivity tests were done by symptoms appearance, detection of virus by ELISA and infection of *P. betae* in rootlets of test plants grown in soil mixed with each heated resting spores.

もウイルスの伝搬は認められなかった。このことは40℃7日間の湿熱によってウイルス保毒 *P. betae* の一部がウイルスフリー化することを示すものとする。

(4) 酸およびアルカリ処理

タバコモザイクウイルスでも不活性化するとされている強酸または強アルカリ液にレタスピックベインウイルス (LBVV) 保有 *Olpidium brassicae* を浸漬処理しても、LBVV は不活性化されない。それ故このウイルスは *O. brassicae* の菌体内に存在すると考えられている (Campbell, 1962)。ここではそう根病の病原ウイルスの所在が *P. betae* の菌体の外側か内側かを明らかにする一つの方法として、休眠胞子に対する酸およびアルカリ処理がウイルスの伝搬に及ぼす影響を調べた。

実験材料および方法

P. betae (TNS-F-198554菌株) 休眠胞子を多数

含む風乾病根を磨碎して得た *P. betae* の休眠孢子塊 (9.6×10⁴個) を塩酸0.1N液10mlまたは水酸化ナトリウム0.1N液10mlに、15分から24時間浸漬処理した。この孢子塊は水道水で3回洗い殺菌土200mlに混和したのち、素焼鉢に入れてテンサイを播種し、約70日目に *P. betae* とウイルスの感染および発病を調べた。

ウイルスは II-A-2 に準じて ELISA 法で検出した。

結 果

Table 31に示すように、0.1N塩酸液 (pH 1.2) に24時間浸漬した休眠孢子を接種した土壤に栽植したテンサイでは *P. betae* の寄生もそう根病の発病も認められなかった。一方、同液に2時間以内の浸漬では、*P. betae* が生存し、BNYVV の感染性も保持されていた。

また、0.1N水酸化ナトリウム液 (pH 12.4) の2時間浸漬処理では *P. betae* の休眠孢子およびウイルスに対してまったく影響がなかった。

(5) ウイルス抗血清処理

そう根病の病原ウイルス保毒 *P. betae* に対する BNYVV 抗血清処理が本ウイルスの伝搬に及ぼす影響を調べ、本ウイルスが菌体の表面に付着しているか否かを確認しようとした。

実験材料および方法

上記の酸およびアルカリ処理の実験に使用したのと同じ休眠孢子塊9.6×10⁴個にリン酸緩衝生理的食塩水で、10、50および100倍に希釈した BNYVV 抗血清を5mlずつ加え、30分間室温で振盪したのち、殺菌土200mlに混和後、テンサイを播種した。

また、根浸漬水から得られた *P. betae* の遊走子を1/15Mリン酸緩衝液 (pH 7.0) で100~1,000倍の5段階に希釈した BNYVV 抗血清液に加え30分間振盪したのち、健全テンサイの本葉4葉期苗にかん注接種した。これらのテンサイは、播種後約60日目に *P. be-*

tae とウイルスの感染および発病を調査した。ウイルスは II-A-2 に準じて ELISA 法で検出した。

結 果

Table 32に示すように、休眠孢子を抗血清で処理しても、テンサイに対する *P. betae* および BNYVV の感染性はまったく影響がなく、接種した殆どのテンサイにそう根病の典型的な病徴が発現した。また遊走子に対する結果も Table 33に示すように、抗血清の濃度に関係なく、処理の影響はまったく認められなかった。

(6) 考 察

そう根病の病土の長期保存の実験結果から、*Polymyxa betae* は室内に保存した湿潤および風乾土壤中で少なくとも15年間生存でき、ウイルスの感染性も保持されていることが明らかになった。

Table 31. Infectivity of virus-carrying resting spores of *Polymyxa betae* treated with hydrochloric acid or sodium hydroxide ^{a)}

Treatments	Soaking time	No. of sugar beet plants examined	No. of plants infected with	
			<i>P. betae</i>	BNYVV
0.1N HCl	15 min	10	10	10
	30 min	10	10	10
	1 hr	7	7	7
	2 hr	9	9	9
	24 hr	5	0	0
0.1N NaOH	15 min	8	8	8
	30 min	10	10	10
	1 hr	10	10	10
	2 hr	10	10	10
Untreated spores		9	9	9
Not inoculated		10	0	0

a) Infectivity tests were done by detection of virus by ELISA and infection of *P. betae* in rootlets of test plants grown in soil mixed with each treated *P. betae*.

Table 32. Infectivity of virus-carrying resting spores of *Polymyxa betae* treated with BNYVV-antiserum ^{a)}

BNYVV antiserum (dilution ratio)	No. of sugar beet plants examined	No. of plants infected with	
		<i>P. betae</i>	BNYVV
1 : 10	12	12	12
1 : 50	10	10	10
1 : 100	9	9	9
Untreated spores		11	11
Not inoculated		10	0

a) Infectivity tests were done by detection of virus by ELISA and infection of *P. betae* in rootlets of test plants grown in soil mixed with *P. betae* resting spores treated with antiserum.

またウイルス保毒 *P. betae* に対する加熱、塩酸、水酸化ナトリウムおよび BNYVV 抗血清の処理結果からウイルスの感染性は *P. betae* が死滅しない限り保持されるものと思われる。これらのことから、ウイルスは菌体内に存在し、厳しい環境から保護されているものと考えられる。

4. *P. betae* におけるウイルス粒子の所在

前項のウイルス保毒 *P. betae* に対する各種処理の実験結果から BNYVV は *P. betae* の菌体内に取り込まれているものと推定されたが、*P. betae* の菌体内にウイルス粒子らしいものを示した事例は Tamada (1975) が報告したのみで、むしろ菌体内にウイルス粒子が見られないとの報告がある (Giunchedi and Langenberg, 1982 ; Langenberg and Giunchedi, 1982)。更に他のウイルスについても菌体内での粒子は見出されていない。ここでは *P. betae* の菌体内におけるウイルス粒子の所在を証明する目的で各発育期の菌体内についてウイルス粒子を探索した。

(1) *P. betae* 菌体内の観察

ウイルスの所在を知るため、ウイルス保毒 *P. betae* の菌体切片についてウイルス粒子の観察を行なった。

実験材料および方法

材料 *P. betae* の TNS-F-198554 菌株を接種した土壌に 60~120 日間鉢植栽培し、そう根病の葉脈黄化症状を呈したテンサイから採取した細根を蒸留水で十分に洗滌したのち光学顕微鏡下で *P. betae* の各発育期のものが多量に寄生している部分のみを切り取って供試材料とした。

電子顕微鏡観察 長さ 1~2 mm に切った細根を 6% グルタルアルデヒドを含む pH 6.8 の 0.2 M リン酸緩衝液で 4℃、4 時間前固定し、同じ緩衝液で 1 時間に 3 回洗った。次いで 2% オスミウ酸で 4℃、20 時間後固定し緩衝液で洗い、アセトン系列で脱水し、プロピレンオキサイドを誘導剤として、低粘性エポキシ樹脂 (Spurr's low viscosity resin) に包埋し、70℃ で 8 時間重合させた。

Table 33. Infectivity of virus-carrying zoospores of *Polymyxa betae* treated with BNYVV-antiserum^{a)}

BNYVV-antiserum (dilution ratio)	No. of sugar beet plants examined	No. of plants infected with	
		<i>P. betae</i>	BNYVV
1: 100	8	8	8
1: 200	8	8	8
1: 400	8	8	8
1: 500	8	8	8
1: 1000	8	8	8
Untreated spores	8	8	8
Heated spores ^{b)}	8	0	0
Not inoculated	8	0	0

a) Infectivity tests were done by detection of virus by ELISA and infection of *P. betae* in rootlets of test plants inoculated with *P. betae* zoospores treated by antiserum.

b) Heated at 50 C for 30 min. to confirm of contamination of resting spores.

重合ブロックをガラスナイフで超薄切片とし、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色し、透過型電子顕微鏡 (Hitachi HS-7 D, 出力 50 kv) で観察した。

光学顕微鏡観察 上記の樹脂包埋ブロックの一部を 0.5~2.0 μm の切片とし、Humphrey and Pittman (1974) の方法に準じ、methylene blue, azure II, basic fuchsin で 3 重染色して光学顕微鏡で観察した。

蛍光顕微鏡観察 長さ 3~5 mm に切った細根を冷カルノア液に入れ 4℃ で 4 時間固定し、99.5% エタノールで洗滌したのち、今泉・久保 (1980) の方法に準じ、ポリエチレングリコール (分子量 3000~4000) に包埋し、2~4℃ の室内で回転式ミクロトームで厚さ 4 μm の切片とした。この切片を BNYVV のウサギ抗血清と FITC 結合 γ グロブリンを使用した間接法で染色し、透過式蛍光顕微鏡 (Nikon FS-3) で UV フィルターを使用して観察した。なお、BNYVV の抗血清はタバコ組織の粉末で非特異的な γ グロブリンを吸収させてから使用した。

結 果

樹脂およびポリエチレングリコール (PG) に包埋したテンサイ細根の切片を光学顕微鏡で観察したとき、細根の表皮および皮層部には種々の発育期の *P. betae* が認められたが、篩部、木部および形成層などの中心柱には認められなかった。

(Plate 5 の 2)。

PG 包埋の切片を蛍光抗体の間接法で染色し、蛍光顕微鏡で観察したとき、BNYVV の存在を示す黄緑色の蛍光は、主として *P. betae* の変形体が感染していた宿主の細胞およびその周辺細胞で明らかであった (Plate 5 の 3)。しかし、宿主の篩部を含む中心柱および *P. betae* の休眠孢子並びに遊走子のうが見られた細胞では判然としなかった。

電子顕微鏡観察では、*P. betae* の変形体はしばしば非常に大きく、テンサイの1つの細胞全体を占有している場合もあった。BNYVV 粒子は変形体の細胞膜の外側に接触している殆どのテンサイ細胞質内に多数見られた (Plate 10)。しかし *P. betae* 変形体内部には認められなかった。菌体内では、一部の未熟遊走子の液胞および原形質に多数の桿状粒子が見られた (Plate 9 の 4・5 および Plate 11)。これらの粒子はテンサイ細胞質内の BNYVV 粒子 (Plate 9 の 3) と同様に、幅約 15 nm、長さ約 70~350 nm で、それらの一部には約 45度の角度で網目状に配列されている像も認められた (Plate 9 の 5)。一方、休眠孢子内にはウイルス粒子は認められなかった (Plate 8)。

(2) 休眠孢子からウイルスの検出

これまでの実験結果から、そう根病の病原ウイルスは *P. betae* の休眠孢子にも存在すると思われるが、電子顕微鏡ではそれを確認できなかった。そこで本項では単離した休眠孢子塊から ELISA 法を用いてウイルスの検出を試みた。

実験材料および方法

0.1M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) に懸濁したウイルス保毒 *P. betae* (TNS-F-198554) の休眠孢子塊に Driselase (協和発酵KK, 東京) を 2% になるように添加して 37°C で 24 時間振盪し、休眠孢子塊に付着している根組織の薄片を分解したのち、0.02M リン酸緩衝液で 3 回洗い、更にこの休眠孢子塊表面に付着しているウイルスを除去するために、生理的食塩水で 500 倍に稀釈した BNYVV 抗血清液の中に入れ、室温で 30 分間静置したのち蒸留水で 3 回洗った。最後に低倍率の

光学顕微鏡でガラス管を用いて休眠孢子塊のみを吸い上げた。更に一部のものは最も安定なウイルスであるタバコモザイクウイルスをも不活性化するとされている 1 N 塩酸に 2 時間浸漬し、緩衝液で十分に洗滌した。

これらの休眠孢子塊は 200, 100 および 50 個に分けて約 1.5ml 容のアナライザー・チューブに入れ、0.15M NaCl, 0.05% Tween-20 およびポリビニルピロリドンを含む 0.02M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.2ml と少量のカーボランダムを加えてガラス棒で十分に磨砕した。この磨砕液中におけるウイルス粒子の存在を ELISA 法で調査した。対照としては保毒および無毒の *P. betae* 休眠孢子塊多数を含むテンサイ細根磨砕液とした。実験は 1 区 3 反復とし、平均吸光度で示した。

結 果

Table 34 に示すように、*P. betae* 休眠孢子塊の個数別に調べた吸光度は休眠孢子塊数の増加に伴って高くなった。また、塩酸に浸漬した休眠孢子でもその吸光度は低下しなかった。なおウイルスの感染性は後述 (Table 35) のとおり休眠孢子 50 個で認められた。これらの結果から供試した休眠孢子にはウイルスが存在していたものと考えられる。

Table 34. Detection of BNYVV by ELISA in different numbers of resting spore clusters of viruliferous sugar beet isolate of *Polymyxa betae*

Used <i>P. betae</i> (isolate no.)	No. of resting spore clusters	Absorbance at 405 nm
Viruliferous (TNS-F-198554)	0	0.03 ^{c)}
	50 (pure) ^{a)}	0.07
	100 (pure)	0.13
	200 (pure)	0.20
	200 (pure)(HCl) ^{b)}	0.20
	about 2000 (not pure)	>2.00
Non-viruliferous (Pf-9)	about 500 (not pure)	0.02
	about 1000 (not pure)	0.02

a) Pure means resting spore clusters without rootlets ; not pure, with rootlets.

b) HCl treatment was performed by soaking the clusters in 1 N HCl for 2 hr.

c) The figure shows mean values from each of the three tests.

(3) 考 察

P. betae の遊走子内に認められた桿状粒子はネガティブ染色法で観察される幅20 nm (Tamada and Baba, 1973; Putz and Vuittenez, 1980) よりやや狭いが, Putz and Vuittenez (1980) は樹脂に包埋し, 電子染色したときには, 宿主組織内の BNYVV 粒子においても, 幅は10~15 nm であるとしている。また BNYVV 粒子の一部は宿主組織内で互いに45度の角度で網目状に配列されていることが一つの特徴とされている (Tamada, 1975; Putz and Vuittenez, 1980)。以上

の2点は遊走子内に認められた桿状粒子が BNYVV 粒子と著しく似ていることを示すものである。これらの粒子は先に Tamada (1975) が示した遊走子内の少数のウイルス様粒子ともよく似ている。

しかしながら本調査では, 変形体と休眠胞子内にはウイルス粒子を見出せなかった。この原因については不明であるが, *P. betae* の生活史 (Keskin, 1964; D'Ambra and Mutto, 1975, 1976) からウイルスを菌体内に獲得するのに最も適している時期は細胞壁を持たずに栄養生長する変形体の時期であろうと推定される。Stocky ら (1977) は変形体の中に BNYVV 粒子を認めたと報告している。また Fujisawa and Sugimoto (1977) は休眠胞子に BNYVV らしい粒子を認めたとしている。しかし, これらの報告では粒子の数, 所在位置, 形態等に関する記述がないし, 写真もない。従って変形体および休眠胞子内では BNYVV の所在が未だ電顕レベルで確認されていないと理解すべきであろう。

一方, 本実験では ELISA 法で休眠胞子にウイルスが存在することを示す結果が得られた。休眠胞子を宿主に接種すると, ウイルスが感染することから, 休眠胞子にウイルスが存在することを病原性から示した報告はあるが (Fujisawa and Sugimoto, 1977), 抗血清による証明は本実験結果が初めてである。

Table 35. Infection of BNYVV by inoculation of various numbers of resting spore clusters of *Polymyxa betae*

No. of resting spore clusters inoculated per a plant	No. of plants tested ^{b)}	No. of plants infected with	
		<i>P. betae</i>	BNYVV ^{c)}
0 ^{a)}	4	0	0
1	19	0	0
10	5	0	0
50	5	1	1
100	5	5	5
200	2	2	2
500	3	3	3

- a) Resting spore clusters were isolated from sugar beet root tissues infected with viruliferous isolates (TNS-F-198554). One cluster contained about 35 resting spores.
- b) Sugar beet seedlings grown in sand culture with nutrient solution were used as test plants.
- c) BNYVV infection was examined by ELISA.

以上のようにウイルスが *P. betae* の休眠胞子に存在することは明らかであるが, 電顕でその粒子が見出せなかった理由としては, ①. ウイルス粒子が休眠胞子の細胞壁の内側に吸着されていて観察しがたい部位にあるか, ②. 数が極めて少ないか, ③. このウイルスは, ウイルス保毒 *P. betae* がコアカザを通過することによって速やかに無毒化されるなど, *P. betae* の菌体内では増殖していないためと推定される。

C. *P. betae* の感染に影響する要因

そう根病の発生分布は, 前記Ⅱのように一筆の畑内および地域によって大きく異なり, 一般に不均一である。このことは土壤中に *P. betae* の感染を左右するいくつかの要因の存在を示唆している。神沢 (1982) は既に育苗時感染による本病の発病条件について検討し, 土壤中の菌密度, 土壌 pH, 土壌水分が重要であるとしているが, それらの実験は病土を用いたものであり, *P. betae* の休眠胞子や遊走子を用いた検討は行なわれていない。

ここでは先の発生分布調査から *P. betae* の感染に重要な影響を及ぼすと考えられた菌密度, 土壤理化学性, 温度について検討した。

1. 菌密度

P. betae の第一次感染源は休眠胞子から発芽した遊走子である。従って, 土壤中の休眠胞子密度

が高いほど本菌の感染程度が高くなるものと推定される。菌量と発病については神沢 (1975 b) の報告があるのみで、具体的な菌密度と感染の関係については十分に解明されていない。本項では感染に必要な最少菌量、菌密度と感染程度との関係を明らかにしようとした。

(1) 感染に必要な最少菌量

P. betae およびウイルスの感染に必要な最少の休眠孢子数を知るために、所定数の休眠孢子をテンサイ苗に接種し、感染の有無を調べた。

実験材料および方法

休眠孢子塊 ウイルス保毒 *P. betae* の TNS-F-198554 菌株の休眠孢子塊を前項と同様にガラス管を用いて光学顕微鏡下で集め、1, 10, 50, 100, 200 および 500 個づつを下記の試験管培養の健全テンサイの 2 葉期苗に接種した。この休眠孢子塊の平均孢子数は約 35 個であった。

調査方法 石英砂を入れた径 24mm, 長さ 12cm, 底部に培養液を置換するために径 5mm のガラス管を付けた試験管に供試テンサイ幼苗を 1 個体ごと移植し、所定の休眠孢子塊をその幼苗の根元に接種して一部を改変した Hoagland and Arnon の合成培養液 (実験農芸化学, 下, 1978) を用いて生育させた。合成培養液は水道水 1 ℓ に KNO₃: 0.51 g, KH₂PO₄: 0.68 g, Ca (NO₃)₂: 0.82 g, MgSO₄: 0.24 g, ETDA-Fe 0.5% 液: 1 ml を溶解

し、水道水で 5 倍に希釈し、更に H₃BO₃ と MnSO₄ を微量加えたものである (pH 7.2)。石英砂は 20~30 メッシュのものを用了。テンサイは人工照明下 16 時間 23℃, 暗黒 8 時間 15℃ の恒温室で接種後約 60 日間生育させたのち、水洗し、細根における *P. betae* とウイルスの感染を調べた。*P. betae* は光学顕微鏡で、ウイルスは前記の II-A-2 に準じて ELISA 法で調べた。

結 果

P. betae およびウイルスの感染は Table 35 に示すように、休眠孢子塊 1 個および 10 個では認められず、50 個では 5 個体中 1 個体に認められ、100 個以上では全ての個体に認められた。

(2) 菌密度と感染程度

土壌中の *P. betae* 密度の差異がテンサイにおける本菌の感染程度およびそう根病の発病に及ぼす影響について調べた。

実験材料および方法

蒸気殺菌した美幌町の沖積土 (pH 7.7) 100ml 当りにテンサイの風乾病根 0.001 g から 5 g を混和し接種土壌とした。これを径 9 cm 素焼鉢 7 個づつに入れ、鉢当りテンサイを 10 粒播種して 20~25℃ の温室内に置き、経時的に *P. betae* の感染と発病を調べた。

結 果

テンサイは播種後 7 日目に発芽した。*P. betae* の寄生程度は Table 36 に示すように、病根接種量によって異なり、0.01~5 g 接種では播種後 12 日目に変形体を認めた。播種 57 日目に各区 5 個体を 1/5,000 a ワグネルポットに 1 個づつ移植し、147 日目に調査した結果、そう根病の発病度は *P. betae* の寄生程度に比例し、病根 0.001 g 接種区では葉に病徴がなく、根部に極めて軽度の維管束部の褐変を認められた程度であったが、0.1~5 g 接種区では伊達市の発病土壌とほぼ同等に高かった。従って、対照として供試した伊達市の病土の *P. betae* 密度は病根約 0.1 g 以上に相当すると推定された。

以上のように *P. betae* の寄生程度およ

Table 36. Effect of different amounts of *P. betae* resting spores inoculated in soil on infection of the fungus and rhizomania severity of sugar beet plants^{a)}

Amount of inoculum (per 100 ml soil)		Infection of <i>P. betae</i> in days after sowing (days)						Necrosis severity on sugar beet roots
Air-dried rootlets	Resting spores (×10 ³)	12	17	22	27	37	57	
0 (g)	0	-	-	-	-	-	-	0
0.001	0.178	-	-	P1	P1	+	+	4
0.01	1.78	P1	P1	P1	+	+	+	12
0.1	17.8	P1	P1	+	+	+	+	84
1.0	178	P1	P1	+	+	+	+	92
5.0	891	P1	P1	+	+	+	+	100
Infested soil		P1	P1	+	+	+	+	100

a) Sugar beet seedlings were grown in pots filled with soils inoculated at different amounts of inoculum, and they were examined on infection of *P. betae* in rootlets at different periods after sowing (see Table 1) and on necrosis on roots 5 months after sowing (see Table 8).

びそう根病の発病度が最大に達する菌密度は土壤 100ml 当り病根 0.1 g (休眠孢子 17.8×10^5 個) で、感染最少菌密度は 0.001 g (休眠孢子 17,800 個) または テンサイ 1 個体当り休眠孢子塊 50 個であると認められた。

2. 土壤 pH

前記 II-A のそう根病の発生分布に関する調査から、土壤 pH と発病との関係は密接であると認められた。また増田ら (1970 a), 神沢 (1973 a) は育苗土の pH が高いときにそう根病の発病が激しくなることを指摘している。更にそう根病の病土には炭酸カルシウムなど石灰質資材が多量に施用されたために pH が高くなっている。しかし、Ca イオンと pH のどちらが本病の発病に影響しているかは確認されていない。ここでは炭酸カルシウムを添加したときにそう根病の発病度が高くなる原因を解明するために、Ca イオンまたは pH がそう根病の発病、*P. betae* の休眠孢子的発芽、遊走子の生存および感染に及ぼす影響について調べた。

(1) pH とそう根病の発病

各種塩類および硫黄の添加による土壤 pH の変化が休眠孢子に由来する *P. betae* の感染およびそう根病の発病に及ぼす影響を明らかにしようとした。

実験材料および方法

供試土壤 そう根病の病土である伊達市の洪積土 (土壤, pH 7.3), 美幌町の沖積土 (埴土, pH 6.8), 斜里町の褐色火山性土 (砂壤土, pH 7.5) および泥炭土 (壤土, pH 6.5) と、無病土である訓子府町の湿性黒色火山性土 (壤土, pH 5.4) 並びに無病土にテンサイそう根病発病個体から採取した風乾病根 (土壤 1 l 当り 0.5 g) を混合接種した土壤を使用した。

土壤 pH の調整 炭酸カリウム, 炭酸カルシウム, 水酸化カルシウム, 硫酸カルシウム, 過磷酸石灰, 硫酸アルミニウムおよび硫黄の所定量を供試土壤に添加し、十分に混和した。

土壤調査 土壤 pH は湿土 20 g に純水 50 ml を加えて懸濁液とし、ガラス電極式

pH メータ (日立 M-5) で測定した。更にそのろ液について電気伝導度 (EC) を電気伝導計 (東亜電器 CM-2 A), 金属イオンを原子吸光度計 (日立 170-50 A) を用いて測定した。

感染・発病調査 pH を調整した土壤を素焼鉢に入れ、テンサイ「品種：モノヒル」を播種し、20~30℃の温室内に置き、40~90 日目に採取した細根について *P. betae* とウイルスの感染を調べた。*P. betae* の寄生調査は III-A-1 に準じ、ウイルスの感染調査は ELISA 法で行なった。そう根病の発病調査は播種後 2~3 カ月目に Table 7 の葉部黄化程度に基づいて行なった。

結果

伊達市洪積土, 訓子府町湿性黒色火山性土, 美幌町沖積土を 2 : 5 : 3 の割合に混合した土壤に炭酸カリウムまたは 3 種の石灰質資材の所定量を混和し、1 処理当り径 12 cm 鉢 3 個に入れ、テンサイを播種し、83 日目に *P. betae* の寄生、107 日目に葉部黄化程度を調べた。炭酸カリウムの添加による土壤 pH の変化と *P. betae* の寄生との関係は Table 37 に示すように、*P. betae* の寄生程度は 4 g 以上の添加区では土壤 pH と無関係に後述するカリウムの影響で、抑制される傾向が認められたが、1~3 g までは添加量の増加による土壤 pH の上昇に平行して高くなった。

Table 37. Effect of treatment of potassium carbonate on soil pH and on infection of *Polymyxa betae*^{a)}

Amount of K ₂ CO ₃ (g/1000ml soil)	Soil pH (H ₂ O)	Infection of <i>P. betae</i> ^{b)}	Yellowing symptoms on leaves ^{c)}
1	6.3	3/3 +	-~+
2	6.8	3/3 ++	-~+
3	7.1	3/3 ++	+
4	7.2	3/3 +	+
5	7.5	2/3 +	-~+
6	8.0	1/3 +	-
7	8.0	1/3 PI	-

a) Infested soil was mixed with different amounts of K₂CO₃. Seeds of sugar beet were sown in their soil in pots. pH was measured 36 days after sowing. Infection of *P. betae* was examined 83 days after sowing.

b) Denominations are numbers of examined plants, and numerations are numbers of *P. betae*-infected plants. + shows severity of *P. betae* infection (see Table 1).

c) See Table 7.

次に3種の石灰質資材の添加による土壌 pH の変化と *P. betae* の感染との関係は Table 38 に示すように、炭酸カルシウムと水酸化カルシウムの場合には添加量の増加による土壌 pH の上昇に伴って、*P. betae* の寄生程度が高くなり、葉部の黄化程度も高くなったのに対し、過燐酸石灰の場合には添加量の増加に伴って土壌 pH が低下し、*P. betae* の寄生程度も低下した。

次に風乾病根 (0.5 g / 土壌 1 ℓ) を混和した訓子府の湿性黒色火山性土に炭酸カルシウムまたは硫酸カルシウムの所定量を混和して1処理につき径12cm鉢4個に入れ、テンサイを播種し、92日目に *P. betae* とウイルスの感染を調べた。Table 39 に示すように、土壌 pH は、炭酸カルシウムでは前記の実験結果 (Table 38) と同様に添加量の増加に正比例して上昇したが、硫酸カルシウム添加区では0.4程度低下した。*P. betae* の感染程度は、炭酸カルシウム添加区では土壌 pH 5.6, 5.7では低く6.1から急に高くなり、さらに pH 7.2までは添加量に正比例して高くなった。一方、硫酸カルシウム添加量に関係なく *P. betae* の寄生程度はいづれも極めて低く、ウイルスの感染程度も低い個体が多かった。そのため炭酸カルシウム添加区のテンサイにはそう根病の病徴が認められたが、硫酸カルシウム添加区にはまったく認められなかった (plate 1 の4)。なお、上記の炭酸カルシウムと硫酸カルシウム添加区の播種34日目における土壌の水抽

Table 38. Effect of treatment of calcium compounds on soil pH and on infections of *Polymyxa betae*^{a)}

Amount of calcium compounds (g/1000ml soil)	Soil pH (H ₂ O)	Infection of <i>P. betae</i> ^{b)}	Yellowing symptoms on leaves ^{c)}
CaCO ₃ (Ca)			
0 (0)	5.7	2/3 P1~+	+
1 (0.4)	6.2	3/3 #	+~#
2 (0.8)	6.5	3/3 #	#
5 (2.0)	7.2	3/3 #	#
20 (8.0)	7.6	3/3 #	#
Ca(OH) ₂ (Ca)			
0.5 (0.3)	5.9	3/3 P1~#	+~#
1 (0.5)	6.2	3/3 +~#	#
2 (1.1)	6.7	3/3 #	#
3 (1.6)	6.9	3/3 #~#	#
4 (2.2)	7.1	3/3 #	#
5 (2.7)	7.4	3/3 #	#
10 (5.4)	8.3	3/3 #	#
Superphosphate (Ca)			
10 (0.9)	5.2	1/3 +	-
50 (4.4)	5.0	1/3 P1	-
100 (8.7)	4.8	0/3 -	-

a), b) and c) are the same as footnotes of Table 37.

Table 39. Effect of treatment of calcium carbonate and calcium sulfate on soil pH and on infections of *Polymyxa betae* and BNYVV^{a)}

Amount of calcium compounds (g/1000ml soil)	Soil pH (H ₂ O)	Infection of <i>P. betae</i> ^{b)}	No. of plants infected with BNYVV ^{b)}	Yellowing symptoms on leaves ^{c)}
CaCO ₃ (Ca)				
0.50 (0.2)	5.6	1/4 --~P1	2/4	--~+
1.25 (0.5)	5.7	2/4 --~P1	2/4	--~+
2.50 (1.0)	6.1	4/4 +~#	4/4	--~#
6.00 (2.0)	6.7	4/4 #	4/4	+~#
7.50 (3.0)	7.2	4/4 #~#	4/4	#~#
10.00 (4.0)	7.8	4/4 #	4/4	#~#
15.00 (6.0)	7.9	4/4 #	4/4	#~#
Ca SO ₄ ·2H ₂ O (Ca)				
0.86 (0.2)	5.3	1/4 --~P1	2/4	--~+
2.15 (0.5)	5.2	1/4 --~P1	2/4	--~+
4.30 (1.0)	5.1	1/4 --~P1	1/4	--~+
8.60 (2.0)	5.0	1/4 --~P1	2/4	-
12.90 (3.0)	5.1	1/4 --~P1	2/4	--~+
17.20 (4.0)	4.9	1/4 --~P1	3/4	-
25.80 (6.0)	5.0	1/4 --~P1	2/4	-
Ca non-applied soil	5.6	2/4 --~P1	1/4	-
Steamed soil	7.0	0/4 -	0/4	-

- a) Infested soil was mixed with different amounts of CaCO₃ or Ca SO₄·2H₂O. Seeds of sugar beet were sown in their soils in pots. pH, infection of *P. betae* and BNYVV were examined 92 days after sowing.
 b) Denominations are numbers of examined plants, and numerations are numbers of plants infected with *P. betae* or BNYVV. + shows severity of *P. betae* infection.
 c) See Table 7.

出液中のカルシウム濃度は、Table 40のとおり大きな差がなく、*P. betae* の寄生程度とは無関係であった。

次に硫酸アルミニウムの添加による土壌 pH の変化と *P. betae* の感染との関係を検討するため、伊達市と斜里町の病土に所定量の硫酸アルミニウムを混和して1処理につき径12cm鉢2個に入れ、テンサイを播種し、約60日目に *P. betae* の感染を調べた。結果はTable 41に示すように、両土壌とも添加量の増加に反比例して土壌 pH が低下し、4 g 添加区（土壌 pH 4.6または4.9）では水抽出液中の Al および Mn 濃度が急に高くなった。しかし、*P. betae* の寄生は Al および Mn 濃度が高くなる直前の 2 g 添加区（土壌 pH 5.1または5.4）からすでに認められなかった。従って本実験での *P. betae* の寄生程度の差は土壌 pH の影響によるものであり、アルミニウムおよびマンガンイオンの影響は明らかでなかった。

次に硫黄の添加による土壌 pH の変化と *P. betae* の感染との関係を検討するため、斜里町火山性土、

泥炭土および伊達市洪積土の3種の病土に硫黄の所定量を混和して20~30℃の温室に約5カ月間置いたのち、それぞれの処理土壌を径18cm鉢2個に入れ、テンサイを播種し、88日目に *P. betae* の寄生を調査した。Table 42に示すように *P. betae* の寄生は、硫黄の添加による土壌 pH の低下に平行して低くなり、pH 4.7以下になった土壌では認められなかった。更にこの硫黄多量添加土壌における *P. betae* の生存の有無を調べるため、上記の硫黄3 g および4 g 添加の伊達市土壌に炭酸石灰を多量に添加して pH を再び高く変換したのち、テンサイを播種し、72日目に *P. betae* の寄生を調べ

Table 40. Changes of chemical properties of soils by application of calcium carbonate and calcium sulfate

Amount of calcium compounds (g/1000 ml soil)	Soil pH (H ₂ O)	EC (1:2.5) (m.mho/cm)	Element concentration in soil extracting solution (1:2.5) ^{a)}					
			Ca	K	Mg	Na	Al	Mn
Ca CO ₃								
0.5	5.8	0.42	21	5	13	16	1.6	0.3
2.5	6.2	0.59	42	6	46	20	1.0	0.3
7.6	7.2	0.72	80	6	48	19	0.6	0.1
15.0	7.5	0.96	108	6	46	20	0.5	0.1
Ca SO ₄ ·2H ₂ O								
0.86	5.6	0.70	42	7	6	6	0.8	0.8
4.3	5.4	2.11	112	10	8	17	0.6	3.1
12.9	5.3	3.04	109	10	7	15	0.7	5.0
25.8	5.3	3.05	109	10	8	20	0.6	4.7
Ca non-applied soil	5.4	0.70	20	5	6	11	1.5	0.4

a) ppm

Table 41. Effect of treatment of aluminium sulfate on soil pH and on infections of *Polymyxa betae*

Used soils	Amount of Al ₂ (SO ₄) ₃ (g/1000 ml soil)	Soil extracting solution (H ₂ O 1: Soil 2.5):			Infection of <i>P. betae</i> ^{a)}
		pH (H ₂ O)	Al (ppm)	Mn (ppm)	
Alluvial soil from Date	0	6.3	0.8	0.0	2/2 ++
	0.5	6.0	0.5	0.1	2/2 ++
	2	5.4	0.3	0.3	0/2 -
	4	4.9	2.1	1.7	0/2 -
	6	4.6	7.3	3.4	0/2 -
Volcanic ash soil from Shari	0	5.9	0.6	0.1	2/2 ++
	0.5	5.7	0.4	0.1	1/2 +
	2	5.1	0.8	0.8	0/2 -
	4	4.6	2.2	2.5	0/2 -
	6	4.2	>10	6.1	0/2 -

a) See footnotes of Table 39.

た結果、pH 変換区における *P. betae* とウイルスの感染は、対照の硫黄無添加区と同等に高かった。このことは5カ月間以上 pH 4.7以下の低 pH 状態に置いても *P. betae* の感染性は低下しないことを示すものであった。

以上、*P. betae* 休眠胞子に由来する感染は土壌反応が中性から弱アルカリ性の場合に激しくなり、逆に弱酸性で抑制され、土壌 pH 5.3前後では認められなかった。ただし、本実験では pH が休眠胞子の発芽に影響したか、発芽して生じた遊走子の生存または感染に影響したかは明らかでないの、さらに次の実験を行なった。

Table 42. Effect of treatment of sulfur dust on soil pH and on infections of *Polymyxa betae*

Used soil	Amount of sulfur dust (g/100 ml soil)	Soil pH (H ₂ O) ^{a)}	Infection _{b)} of <i>P. betae</i>	Yellowing symptoms on leaves ^{c)}
Peat soil from Shari	0	6.9	4/4 ††	††
	1	5.9	4/4 ††	†††
	2	5.1	4/4 ††	+
	3	4.7	0/4 —	—
	4	4.1	0/4 —	—
Volcanic ash soil from Shari	0	7.8	4/4 ††	†††
	1	6.2	4/4 ††	†††
	2	4.8	2/4 ††	††
	3	4.0	· ·	·
	4	3.8	· ·	·
Alluvial soil from Date	0	7.6	4/4 ††	††
	1	5.8	4/4 ††	†††
	2	4.8	0/4 —	+
	3	4.1	0/4 —	—
	4	3.8	0/4 —	—

a) Sulfur dust was applied to the soil at five months before sowing of sugar beet, and then soil pH was measured 7 days before sowing.
 b) and c) are the same as footnotes of Table 37.

pH を HCl と NaOH で調整した。発芽調査 調査は休眠孢子から放出された遊走子または埋没した休眠孢子塊を直接顕微鏡で観察する方法と、休眠孢子から放出された遊走子をテンサイに接種して感染程度で判定する間接的な方法とで行なった。遊走子の直接観察には Thoma 血球計算器を用い、0.1ml 当りの遊走子数を次のように表示した。—：0 個，+：1～10 個，++：11～50 個，+++：51～100 個および++++：100 個以上。休眠孢子塊の直接観察には病根を土壌から回収して乳鉢で磨碎し、0.1% コットンブルー液中で数分間加熱染色し、光学顕微鏡下で休眠孢子の染色性を調査

(2) pH と *P. betae* 休眠孢子の発芽

P. betae の休眠孢子は土壌中で長期間休眠して、高 pH の土壌条件で、しかも宿主植物の根の接近によって発芽・感染すると推定されるが、その発芽機構に関する研究報告は Habibi (1969) のもののみである。Habibi によると発芽は中性からアルカリ性、非宿主を含む植物根浸出液で良好であるとされているが、これを追試した報告はまだない。ここでは pH が本菌の休眠孢子の発芽に及ぼす影響を調べると共に、発芽過程についても観察した。

実験材料および方法

供試土壌 訓子府の湿性黒色火山性土 (pH 5.8, 健全土) を用いた。

供試病根 そう根病の病原ウイルス保毒 *P. betae* (TNS-F-198554 菌株) の休眠孢子を多数含む細根を約 5mm または約 10mm の細片あるいは細根を乳鉢で磨碎し、200メッシュの篩を通して休眠孢子塊懸濁液 (休眠孢子塊 10⁴/ml) にして用いた。

土壌浸出液 成田・西山 (1955) の方法に準じ、供試土壌 1 l を素焼鉢に入れ、熱湯 1.5 l を注いで得た浸出液を東洋ろ紙 (No. 2) でろ過し、

染色によって発芽前の休眠孢子は細胞質が青く染まるが、発芽済のものは空になるため染まらないので (Plate 5 の 8), 休眠孢子塊中の各孢子の染色程度に 0～5 の指数を与え、各区 300 個を調査し、次式により空胞度を求めた。

$$\text{空胞度 (\%)} = \frac{\sum (\text{該当指数} \times \text{個数})}{\text{調査個数} \times 5} \times 100$$

ただし、指数 0 は休眠孢子塊の全孢子が染色されたもの、指数 1 は 4/5 以上、指数 2 は 4/5～2/3、指数 3 は 2/3～1/2、指数 4 は 1/2～1/3、指数 5 は 1/3 以下が染色されたものとした。間接的な方法は病根を混和接種した供試土壌を素焼鉢に入れ、脱塩水に 15 時間浸し、その浸漬水を予め育苗しておいた鉢植えの健全テンサイ苗 (2 葉期) にかん注接種して、66 日目に *P. betae* の寄生程度を調べた。

結果

最初に土壌浸出液 300ml に休眠孢子懸濁液 50ml を混合し、pH を 5.5 から 8.0 までの 5 段階に調整して径 6 cm のペトリ皿に 5 ml ごと入れ、20℃ に置き休眠孢子から放出されて供試液中を遊泳している遊走子の密度を調べた。結果は Table 43 に示す

ように *P. betae* の遊走子は、pH 5.5区では全く認められなかったが、pH 6.5, 7.0および8.0区では実験開始4日目から認められ、その後も高い密度が維持された。

次に供試土壌 1 ℓ に約 5 mm に切断した *P. betae* の休眠胞子を含む風乾病根 0.5 g を混和接種し、炭酸カルシウムと硫酸カルシウムの所定量を添加して土壌 pH を調整し、径 12 cm 鉢に入れ、テンサイ苗 (4 葉期) を移植し、18 日目に回収した休眠胞子の発芽程度を直接検鏡による方法で調査した結果、休眠胞子の発芽程度を示す空胞度は pH が高くなった炭酸カルシウム添加区 (pH 7.3) では 42% で高かったが、Ca として同じ量になるように添加した硫酸カルシウム区では (pH 5.3) 対照の無添加区とほぼ同じく 23% で低かった。

更に上記病根を超薄切片にし、休眠胞子塊を電子顕微鏡で観察すると、1 つの休眠胞子塊のなかで、既に発芽して内容物がなく細胞壁だけのもの、逆に電子染色性の高い油滴が多数存在し、まだ休眠中と思われるもの、あるいは油滴が殆どなく、ミトコンドリアが目立ち、細胞壁の一部が切れ、発芽直前と思われるものなどが見られた (Plate 7)。

この観察においても発芽したと思われる休眠胞子は、硫酸カルシウム区より炭酸カルシウム区で多く認められた。

なお、本調査結果から *P. betae* の休眠胞子の発芽過程は Habibi (1969) が報告したように、細胞壁全体が溶解することによって遊走子が放出されるのではなく、*Plasmiodiophora brassicae* と同様に、休眠胞子に形成された小さな穴から生ずると思われた。また本菌の発芽は 1 個の塊を形成している数 10 個の休眠胞子に一斉に生ずるのではなく、非同調的であると認め

られた。

次いで約 10 mm に切断した風乾病根 18 g を 9 段階の pH に調整した訓子府町の土壌 1 kg (乾土) に混和接種し、9 cm 素焼鉢 4 個ごとに入れてから半数の鉢はそのまま、残り半数には健全テンサイ苗 (2 葉期) を移植したのち、それぞれの鉢を脱塩水に浸漬し、その浸漬水を健全なテンサイに接種する間接的方法で調べた。テンサイを移植しなかったときの結果は Table 44 に示すように、*P. betae* の感染は試験開始から 14 日目以降に認められたが、浸漬水の採取源によって異なり、浸漬水の

Table 43. Effect on pH of soil extract on germination of *Polymyxa betae* resting spores

pH of soil extract ^{a)}	Days after soaking of resting spores											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	
5.5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
6.0	---	---	---	---	---	---	---	+	##	##	---	---
6.5	---	---	---	+	##	##	##	+	##	##	##	---
7.0	---	---	---	+	##	##	##	##	##	##	##	##
8.0	---	---	---	##	##	##	##	+	##	##	##	##

a) pH was adjusted with HCl and NaOH.

b) *P. betae* zoospores were expressed by the abundance of swimming zoospores in per 0.1 ml soil extract soaked resting spores; ---: 0, +: 1-10, #: 11-50, ##: 51-100, ###: over 100.

Table 44. Infectivity of the water soaked from soil treated with superphosphate or calcium carbonate which contained *Polymyxa betae* resting spores.

Amount of calcium compounds ^{a)} (g/1000 ml soil)	pH (range) ^{b)}	Inoculation with water soaked from soil treated						
		Days after soaking ^{c)}						
		2-4	6-8	10-12	14-16	18-20	22-24 (days)	
Superphosphate (P ₂ O ₅ : 20%)	100	4.3 (4.0-4.7)	---	---	---	---	---	
	50	4.6 (4.0-5.1)	---	---	---	---	---	
	10	5.1 (4.2-5.5)	---	---	---	---	---	
	7	5.3 (4.8-5.9)	---	---	---	+	+	+
	5	5.4 (4.9-6.0)	---	---	---	##	##	##
	0	5.8 (5.0-6.6)	---	---	---	##	##	##
Calcium carbonate (CaCO ₃ : 53%)	50	7.5 (7.2-7.8)	---	---	---	##	##	##
	100	8.0 (7.6-8.4)	---	---	---	---	##	##
	200	8.1 (7.7-8.4)	---	---	---	---	---	##

a) The soils containing infected rootlets were mixed with different amounts of superphosphate or calcium carbonate and were filled in pots.

b) Soaked water was taken out from the soils at two day-intervals and were measured pH.

c) Soaked water was inoculated to healthy sugar beet seedlings, and 60 days later *P. betae* infection was examined.

d) Mark shows severity of *P. betae* infection (see Table 1).

pH が平均5.1 (最低 pH 4.2~最高 pH 5.5, 過石 10 g 添加) 以下で認められず, pH 5.3以上で認められた。また, テンサイの苗を移植してから浸漬した場合には, 移植しない場合に比べて休眠孢子が発芽が促進されるために感染が2~4日早められ, 感染程度も高くなった。しかし, pH との関係ではテンサイを移植しなかった時と殆ど同じ傾向であった。

以上, *P. betae* の休眠孢子の発芽は土壌 pH 5.3 前後で大巾に異なり, 低 pH で抑制され, 高 pH で促進されると認められた。

(3) pH と *P. betae* 遊走子の感染性

P. betae の遊走子を多量に採取することが難しいため, 遊走子の諸性質に関する報告は少ない。Fuchs (1966) は遊走子の感染過程を調べ, 遊走子の感染には約2時間を要することなどを報告している程度である。前述のように, 高 pH 土壌では低 pH 土壌に比較して *P. betae* の寄生程度が明らかに高いが, これは土壌 pH が *P. betae* の休眠孢子の発芽に影響するのみでなく, 遊走子の活性にも影響するものと推定される。そこで本項では pH が *P. betae* 遊走子の感染性に及ぼす影響を調べた。

実験材料および方法

***P. betae* 寄生テンサイの準備** *P. betae* 遊走子を多量に採取するため, 遊走子のうを沢山有するテンサイを次のようにして準備した。即ち, 前記 III-C-1-(1)と同じ試験管, 石英砂, 合成培養液(一部改革1/5 Hoagland and Arnon 液)を用いて育苗した2葉期のテンサイ「モノヒル」に *P. betae* (TNS-F-198554菌株) 休眠孢子を接種し, 葉に黄化症状が認められたとき, 新しい培養液に3~4時間浸漬して遊走子懸濁液を取り, 再び砂耕の健全テンサイにかん注接種した。接種後約30日目に細根に遊走子のうが多数形成され, 葉に明瞭な退緑黄化が認められた個体を遊走子採取用テンサイとして使用した。

遊走子の採取 上記 *P. betae* 寄生テンサイが植えられている試験管を培養液に浸し, 4時間後にその液を回収した。この根浸漬液には約 10^4 /ml

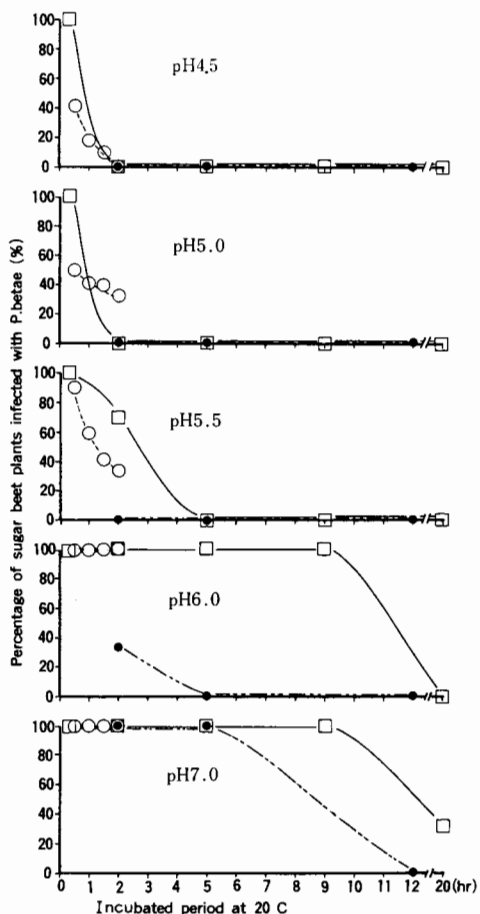


Fig. 11. Effect of zoospore suspensions of *Polymyxa betae* incubated at different periods under five different pH on infection to sugar beet seedlings. ●: adjusted pH with 0.01 N HCl, □: adjusted pH with 1% H₂SO₄, ○: adjusted pH with 0.5% citric acid. Zoospore suspensions adjusted at each pH were incubated at 20 C for from 10 min. to 20 hr, and then they were adjusted at pH 7.0 with 0.05 N NaOH before inoculation to healthy sugar beet seedlings.

個の *P. betae* 遊走子が認められた。なお, 休眠孢子の子の混入はまったく認められなかった。

pH の調整 *P. betae* 遊走子を含む根浸漬水

60mlごとを100ml容ビーカーにとり、スターラで掻きまぜながら1%硫酸、0.5%クエン酸または0.01N塩酸を加えて所定のpHに調整し、20℃定温器内に30分～61時間静置し、接種直前に0.05N水酸化ナトリウムを用い各区一斉にpH7.0に再調整した。

生存・感染検定 各pHに所定時間保持した遊走子懸濁液(根浸漬水)を予め育苗しておいた試験管内の砂耕テンサイ苗(2葉期)の根圏に5mlごとかん注接種し、人工照明16時間・23℃、暗黒8時間・15℃の恒温室に置き、約30日目にこれらテンサイの葉の黄化、*P. betae*の寄生およびウイルスの感染程度を調べた。ウイルスはII-A-2に記したELISA法で検出した。1区当り3-12個体のテンサイ苗を使用した。

結 果

Fig. 11に示すように、*P. betae*の感染個体率は遊走子懸濁液のpHが高いほど、またpH調整後から接種までの保存時間が短いほど明らかに高い傾向があった。この傾向はpHを調整するために使用した塩酸、硫酸およびクエン酸でほぼ同じであったが、塩酸では他の2者より生存時間が少し短い傾向であった。なお、表示を省略したが、そう根病の発病およびウイルスの感染の程度は*P. betae*の感染個体率と同様の傾向であった。特に約2時間保存後の遊走子接種では、そう根病の病徴が明瞭な(黄化程度++以上)発病個体の出現はpH6.0以上で多く、pH5.0以下では稀にしか現われなかった。

以上の結果から遊走子の感染性は合成培養液のpH6.0～7.0では10時間程度保持されるが、pH5.0以下では2時間以内にほとんど消失すると結論される。

3. カリウムとリン酸

(1) 土壌中のカリウム濃度と

***P. betae*の感染**

前項2-(1)の実験で炭酸カリウムを多量に添加すると*P. betae*の寄生が抑

制される傾向が認められたので、本項では土壌中のカリウム濃度が*P. betae*休眠孢子由来の感染および発病へ及ぼす影響を調べた。

実験材料および方法

供試土壌 前項2-(1)で使用した伊達市と斜里町のそう根病の病土および訓子府町の無病土を用いた。

供試塩類の土壌混和 炭酸カリウムと硫酸カリウムの所定量を供試土壌に混和し、径15cm鉢3個に入れ、テンサイを播種した。また訓子府町の湿性黒色火山性土(約1,000ℓ)に伊達市の洪積土(病土)約40ℓを混和し、2m×1.5mのコンクリート枠に深さ35cmに充鎮し、供試塩類の所定量を約25cmの表層土全体に混和したのち、テンサイを枠当り24カ所に直播した。この実験は1処理当り2枠とした。

調査 土壌の化学性、*P. betae*の感染およびそう根病の発病調査を前項に準じて行なった。

結 果

鉢試験の結果はTable 45に示すように、*P. betae*の寄生は両カリウム塩の添加量の増加に反比

Table 45. Effect of treatment of potassium to infested soil on soil pH and on severity of *Polymyxa betae* infection

Amount of potassium compounds (g/1000ml soil)	Soil pH		Severity of <i>P. betae</i> infection ^{b)}		Yellowing symptoms on leaves ^{c)}		Root weight (g/plant) ^{c)}		
	(H ₂ O) ^{a)}		D	S	D	S	D	S	
	D	S	D	S	D	S	D	S	
K₂CO₃ (K)									
0	0	7.0	7.2	+	+	卄	卄	6	6
0.9	0.5	7.2	7.5	+	+	卄	卄	13	10
1.8	1.0	7.8	7.9	+	+	+	+	18	22
3.6	2.0	8.4	8.3	+	-	-	+	19	19
5.4	3.0	8.9	9.2	-	-	-	-	32	48
7.1	4.0	9.4	9.3	-	-	-	-	34	26
K₂SO₄ (K)									
1.1	0.5	6.8	7.2	+	+	卄	+	15	14
2.2	1.0	7.3	6.8	+	+	+	-	13	18
4.4	2.0	7.0	6.9	+	+	+	-	16	29
6.6	3.0	6.9	7.2	-	+	-	-	28	30
8.8	4.0	6.5	7.0	Pl	+	-	-	27	39

a) pH was measured 47 days after sowing of sugar beet. D: Date soil, S: Shari soil.
 b) *P. betae* infection was examined 62 days after sowing (see Table 1).
 c) Yellowing severity and root weight were examined 99 days after sowing.

Table 46. Effect of treatment of potassium carbonate to infested soil on soil pH, on the incidence of rhizomania and on yield of sugar beet

Amount of Ca and K compounds (Kg/1 are)	Soil pH (H ₂ O) ^{a)}	Necrosis severity on roots ^{b)}	Root weight (Kg/a)	Sugar content (%)	Harmful ions to the sugar manufacture (ppm) ^{c)}		
					N	K	Na
CaCO ₃ 94 (53%) 377	6.1 7.6	2.6 43.8	340 140	15.6 8.6	150 112	1092 2635	154 377
CaSO ₄ · 72 1/2H ₂ O 216 432	5.0 4.8 4.7	3.2 0.5 0	420 440 460	17.2 17.3 17.3	258 192 169	1273 1069 1300	138 108 131
K ₂ CO ₃ 35 71	5.6 6.1	0 0	440 560	16.7 17.6	238 254	1750 1580	96 69
Control	5.2	11.5	270	17.0	250	1292	138

a) pH was measured 128 days after sowing of sugar beet.
b) See Table 8.
c) The figure shows concentration in cruds roots.

例して低下した。特にKとして3g以上添加した区では、その傾向が顕著であった。コンクリート枠試験の結果はTable 46に示すように、K₂CO₃を1a当り35kgまたは71kg添加区では、そう根病の発病抑制が顕著に認められ、収量は一般の健全個体と変りなかった。

(2) 土壤中のリン酸濃度と *P. betae* の感染

前項2-(1)において過燐酸石灰を土壤に多量に添加した場合、*P. betae* の感染程度が低下した。しかし、これが土壤pHの低下によるか、リン酸の影響によるかは不明であった。ここではpHの高い土壤と過燐酸石灰の主成分であるリン酸一カルシウムを用い、土壤中のリン酸濃度が *P. betae* の感染に及ぼす影響を調べた。

実験材料および方法

訓子府町の土と製糖所の沈殿土を4:6の割合に混合し、120℃、30分間蒸気殺菌したものと、これに風乾病根(0.5g/土壤1ℓ)を混和接種した土壤を用い、両土壤に所定量のリン酸一カルシウムおよび対照として硫酸カルシウムを混和し、1処理につき径12cm鉢4個に入れ、テンサイを播種し温室に置き、98日目に *P. betae* とウイルスの感染および葉部の黄

化程度を調査した。

結 果

Table 47に示すように土壤pHは硫酸カルシウムおよびリン酸一カルシウムとも添加量の増加に反比例して若干低くなった。細根におけるウイルスの感染は両カルシウム塩の間で差がなかった。しかし、*P. betae* の寄生程度および葉部黄化程度はリン酸一カルシウムの添加量が多くなると若干低くなる傾向が認められた。

以上、カリウムおよびリン酸は通常の施用量では *P. betae* の感染を抑制しないが、施用量が極端に

多い場合には、カルシウムとは対症的に *P. betae* の感染を若干抑制するものと考えられる。

4. 温 度

植物病原ウイルスの媒介者として知られている菌類は比較的低温を好む傾向がある。例えば *O. brassicae* の増殖には10, 13または16℃が18℃または27℃より適している (Fry and Campbell, 1966)。

Table 47. Effect of treatment of calcium dihydrogen phosphate to infested soil on infection of *Polymyxa betae*

Amount of calcium compounds (g/1000ml soil)	Soil pH (H ₂ O) ^{a)}	Infection of <i>P. betae</i> ^{b)}	Yellowing symptoms on leaves ^{b)}
CaSO ₄ · 2H ₂ O (Ca)			
1.61 0.38	8.0	4/4 #	##
3.23 0.75	8.0	4/4 #	##
6.45 1.50	7.8	4/4 #	##
9.68 2.25	7.7	4/4 #	##
12.90 3.00	7.6	4/4 #	##~##
Ca(H ₂ PO ₄) · H ₂ O (Ca) (P)			
0 0 0	8.1	4/4 #	##
2.36 0.38 0.58	7.7	4/4 ++~##	##~##
4.73 0.75 1.16	7.3	4/4 +++~##	+++~##
9.45 1.50 2.33	7.0	4/4 +++~##	+++~##
14.18 2.25 3.49	6.8	4/4 +++~##	+++~##
18.90 3.00 4.65	6.7	4/4 +++~##	+++~##

a) pH was measured 34 days after sowing of sugar beet.
b) *P. betae* infection and symptoms were examined 98 days after sowing.

また、*P. graminis* の最適温度も比較的
低く18℃とされている (Ledingham,
1939)。その理由は低温の方が高温の場
合より遊走子の運動が長く持続すること、
および低温では一般に土壤水分が高いこ
との2点があげられている (Teakle,
1983)。一方、*P. betae* の増殖最適温度は
前2者より少し高く、多湿下では15℃よ
り25℃の方が寄生程度が高いとされてい
る (Koch, 1967) しかし、北海道ではそう根病
の発病個体でも夏季の高温時には細根に *P. betae*
の寄生を認めることはまれであり、高温抑制も推
定され得る。

ここでは各温度条件下での *P. betae* 休眠胞子由
来の感染・発病、ならびに遊走子の生存期間およ
び感染について検討した。

(1) 温度とそう根病の発病

温度が土壤中の *P. betae* の活性に及ぼす影響を
明らかにするため、病根接種土を用い、3段階の
温度でテンサイを育苗し、*P. betae* の感染・発病・
被害を調べた。

実験材料および方法

温室、ビニールハウスおよび戸外の3カ所で、
病根接種土 (風乾病根1.7g / 土壤100g) を用い
てテンサイを紙筒育苗し、播種後13日目から53日
目の間に4回、1回につき15個体を採取し、5個
体×4反復の合計20個体は *P. betae* の感染を調べ、
残り10個体×4反復の合計40個体は紙筒を取り去
り、水道水で病土を丁寧に洗い落とし、健全な北
見農試ほ場に移植した。なお各々の育苗場所にお
ける2時間毎の日平均気温は、戸外で約10℃ (9.5
~11.7℃)、ビニールハウスで15℃ (14.0~15.4℃)
および温室で23℃ (22.9~23.3℃) であった。

結 果

テンサイの発芽所要日数は育苗温度で異なり、
10℃で13日、15℃で9日および23℃で7日であ
った。*P. betae* の感染は Table 48に示すように、高
温の23℃区で早く、播種後13日目に変形体が認め
られたのに対し、低温の10℃区では播種後36日目
に初めて変形体が認められた。寄生程度も23℃区
では10℃区より明らかに高かった。さらに Fig.

Table 48. Effect of temperatures during growth period
of sugar beet seedlings on infection of
polymyxa betae

Temperatures after sowing	Days after sowing			
	13	23	36	53
10 C	0/20 ^{a1}	0/20	3/20 (Pl)	5/20 (+)
15 C	0/20	1/20 (Pl)	16/20 (Pl)	20/20 (++)
23 C	2/20 (Pl)	13/20 (Pl)	10/20 (+)	20/20 (++)

a) Infection of *P. betae* (See Table 39).

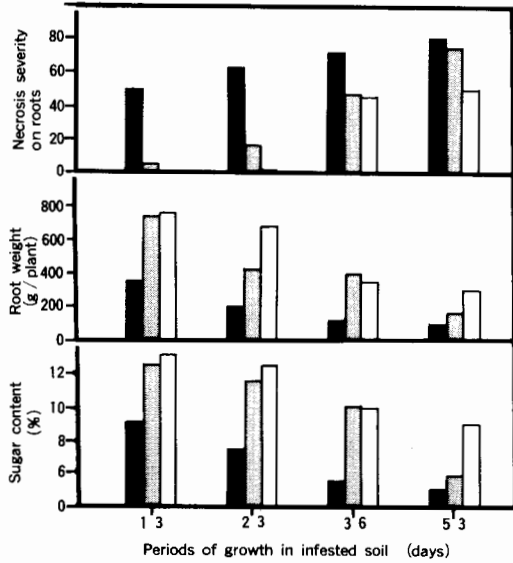


Fig. 12. Effect of growth periods and temperatures of
sugar beet seedlings grown in infested soil
on the incidence of rhizomania disease, root
weight and sugar content. In April sugar
beet seedlings grown in infested
soils under different temperatures for
various periods were transplanted in
non-infested main field. These plants were
examined the incidence of rhizomania and
yield at the harvest time. ■ : grown at
23 C, ▨ : grown at 15 C, □ : grown at
10 C.

12に示すように、ほ場に移植した個体におけるそ
う根病の発病および被害も23℃区では10℃区に比
較して明らかに激しかった。病土での育苗日数を
増すに従って、10℃区の苗でも、発病度が高くな
る傾向にあり、育苗温度間の差は小さくなったが

根中糖分の差は小さくならなかった。

(2) 温度と *P. betae* 遊走子の生存時間

温度が *P. betae* 遊走子の生存時間に及ぼす影響を明らかにするため、遊走子を各温度下に所定時間保ったのち、健全テンサイに接種し、感染の程度を調べた。

材料および方法

遊走子 供試 *P. betae* 菌株および遊走子の採取は前項Ⅲ-C-2-(3)に準じた。

温度処理 遊走子懸濁液40-50mlを100ml容ビーカーに入れ、5-37℃の定温器に2-21時間保った。または同液10mlを径18mm試験管に入れ、35-50℃恒温水槽に10分間保った。

生存検定方法 温度処理後の遊走子液は試験管を用いた砂耕の健全テンサイ苗の根圏に5mlごと注入接種した。このテンサイは前述の23-15℃の恒温室内に置き約30日目にそう根病の発病と *P. betae* およびウイルスの感染を調べた。

結 果

Fig. 13に示すように、温度処理および保存時間の異なる *P. betae* 遊走子をテンサイに接種したとき、そう根病による葉の黄化程度は低温・短時間の保存ほど高く、高温・長時間の保存ほど低か

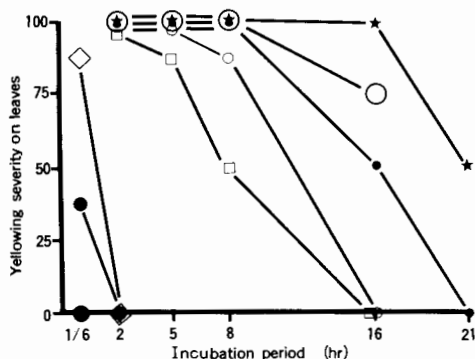


Fig. 13. Effect of temperatures on infection of zoospores of *Polymyxa betae* to sugar beet seedlings. Suspensions of zoospores were incubated at pH 7.0 at different temperatures, and they were inoculated sugar beet seedlings. Yellowing severity was based on Table 7.
 ★ : 5C, ○ : 10C, ● : 20C, ◊ : 25C, □ : 30C, ◇ : 35C, ● : 37C, ● : 40C, ● : 45C, ● : 50C.

った。更に *P. betae* の寄生程度およびウイルスの感染程度も黄化程度と同じ傾向であった。

即ち、*P. betae* 遊走子の感染性の消失は40、45および50℃では10分間以内、25および30℃では16時間以内、20℃では21時間以内、5℃では21時間以上であると認められた。

(3) 温度と *P. betae* 遊走子の感染

温度が遊走子の感染・侵入に及ぼす影響を明らかにするため、遊走子を温度の異なった条件下で健全テンサイ苗の根に接種し、感染の程度を調べた。

実験材料および方法

遊走子 供試 *P. betae* 菌株および遊走子の採取は前項Ⅲ-C-2-(3)と同様に行なった。

温度処理と感染検定方法 遊走子懸濁液10mlを前述の試験管(排水孔はパラフィルムで閉じた)を用いた砂耕の健全テンサイ苗の根圏に注入接種したのち、5℃間隔で5℃から40℃まで8段階の恒温室内に4、20または48時間保ったのち、未感染の遊走子を洗い流すため、試験管の排水孔のパラフィルムを取り除き、水道水を十分に流した。その後はⅢ-C-2-(3)と同様に23-15℃の恒温室内で約30日間育苗したのち感染および発病を調べた。

結 果

各温度下における *P. betae* 遊走子の感染は Table 49に示すように、5-35℃で認められた。しかし、その寄生程度は15-30℃では高く、5、10、および35℃では低かった。

以上、*P. betae* の感染は主として15-30℃で生じ、適温は20-25℃であると認められた。

5. 土壌水分

P. betae は *O. brassicae* など他のウイルス媒介菌と同様に、土壌中に遊離水があるときに遊走子によって移動・分散するので、土壌水分が少ないときより多いときに感染が旺盛であるとされている(Koch, 1967)。本項では土壌水分が *P. betae* の感染に及ぼす影響を確認するために、病土を用いた紙筒育苗時の土壌水分とそう根病の発病との関係について調べた。

実験材料および方法

津別町のそう根病の病土を紙筒につめ、それを

Table 49. Effect of temperatures and periods of inoculation by *Polymyxa betae* zoospores on infection of the fungus and BNYVV

Temperatures at inoculation (C)	Periods of inoculation (hr)	examined	No. of plants		diseased
			infected	with	
			<i>P. betae</i>	BNYVV	
5	4	3	1 (+) ^{a)}	1	0
	20	3	2 (+)	2	0
	48	6	2 (+)	5	2
10	4	3	3 (+)	3	3
	20	3	3 (++)	3	3
	48	6	6 (++)	6	6
15	4	3	3 (++)	3	3
	20	3	3 (++)	3	3
	48	6	6 (++)	6	6
20	4	3	3 (++)	3	3
	20	3	3 (++)	3	3
	48	6	6 (++)	6	6
25	4	3	3 (++)	3	3
	20	3	3 (++)	3	3
	48	6	6 (++)	6	6
30	4	3	3 (++)	3	3
	20	3	3 (++)	3	3
	48	6	6 (++)	6	6
35	4	3	3 (++)	3	3
	20	3	3 (+)	3	2
	48	5	5 (++)	5	1
40	48	6	0 (-)	0	0

a) See Table 39.

木箱 (40cm×25cm×高さ15cm) に入れてテンサイを播種し、ビニールハウス内で育苗した。水分の調節は出芽直後から少湿区：葉がしおれない程度の最少必要量の水を3～5日間隔でかん水、適湿区：2～3日間隔でかん水、および過湿区：殆ど毎日かん水の3水準とし、45日間育苗してから10個体は *P. betae* の感染を調査し、残りの個体はほ場に1区15個体、4反復で移植した。

結 果

Table 50に示すように土壤水分が高いほど *P. betae* の寄生程度、そう根病の発病が激しく、根重および根中糖分が低下した。なお、神沢 (1973a) も土壤水分と発病・被害について検討しているが、土壤水分による発病の差は本試験の結果よりさらに大きく、多湿下での発病が激

しいとされている。

7. 考 察

石英砂、合成培養液および特製の試験管を使用して育苗したテンサイに対する *Polymyxa betae* 休眠孢子塊の接種試験結果から、*P. betae* とウイルスの感染に必要な最少菌量は平均35個の休眠孢子を含む休眠孢子塊50個であると判断された。Fujisawa and Sugimoto (1976) は殺菌土で生育させた鉢植テンサイを用い、休眠孢子塊を接種した結果、*P. betae* とウイルスの感染は100～200個接種区に認め、50個接種区には認められなかったとしている。この差異は接種条件によるものと思われる。それ故ここで使用した砂耕は、接種条件として、土壌を用いた場合とほぼ同等か、やや優れていると考えられる。

菌量が *P. betae* の感染時期および感染程度に影響することは、Table 36の鉢試験の結果から明らかである。この場合、感染の飽和点は土壌100ml当り1,782,000個 (風乾病根0.1g) であると判断された。これを休眠孢子塊の平均孢子数を35個として、乾土100ml当りの休眠孢子塊に換算すると、約50,000個になる。この数値は神沢 (1957b) が紙筒育苗土に接種したときに得られた飽和菌量とほぼ一致していた。

土壌に石灰質資材を施用し、土壌 pH が変化することによって感染程度に変動を生じる土壤病害は、そう根病以外にも多数知られているが、その機作は対象作物および病原菌によって様々であり、

Table 50. Effect of soil moisture during the growth period of sugar beet seedlings on infection of *Polymyxa betae*, incidence of rhizomania and yield of sugar beet

Table 50. Effect of soil moisture during the growth period of sugar beet seedlings on infection of *Polymyxa betae*, incidence of rhizomania and yield of sugar beet

Soil moisture	Infection of <i>P. betae</i> ^{a)}	Necrosis severity	Root weight (Kg/1 are)	Sugar content (%)
Low	5/40 (+)	13	290	16.0
Intermediate	11/40 (+)	24	290	15.9
High	17/40 (++)	56	220	15.3

a) See Table 39.

アブラナ科植物の根こぶ病は、酸性土壌で発生し易く、石灰の施用によってアルカリ性化した土壌で発生し難いとされている (Larson and Walker, 1934; 田村・竹谷, 1977)。ただし、最近これは土壌 pH の影響では無く、Ca イオンが病原菌 (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) の活性を阻害するためであるとする報告がある (Hamilton and Crete, 1978)。また、カラシナ立枯病は強酸性土壌で発病が抑制されるが、その原因の1つは土壌 pH の低下に伴って増加する Al イオンが病原菌 (*Rhizoctonia solani*) の活性を低下させるためであるとされている (小林・Ko, 1983)。一方、ジャガイモのそうか病 (病原菌: *Streptomyces scabies* (Thax.) Waksman et Flenrici) およびコムギ立枯病 (病原菌: *Gaeumannomyces graminis*) の発生は石灰の施用によって激しくなる。これは石灰施用による土壌 pH の上昇に伴ってそれぞれの病原菌の活性が高まるほか (Cook and Nugent, 1942; Gillespie, 1918; Gillespie and Hurst, 1918; Smiley and Cook, 1973), ジャガイモでは土壌中の置換性 Ca の増加が、間接的に病原菌に対する塊茎の感受性を高めるためとされている (Davisら, 1976; Eichiger, 1957; Horsfallら, 1954)。また *P. graminis* が伝搬する BYMV によるオオムギ縞萎縮病も高 pH 土壌での発病が明らかに多いとされている (安・吉野, 1964)。

P. betae の感染は、本研究結果から Ca イオンでは促進も抑制もされないが、土壌 pH の高低に影響されることが明らかになった。従って石灰質資材の過施用でそう根病が多発する主たる原因は、土壌 pH の上昇にあると結論される。なお土壌溶液中の Al イオンは pH 4.5 以下になると急速に溶出されるが (Scheffer and Schachtschabel, 1976) *P. betae* の感染が抑制される土壌 pH 5.0~5.5 程度では特に高くならないので、低 pH 土壌における *P. betae* の感染抑制は Al イオンによるものではないと考えられる。また、*P. betae* の遊走子を用いた実験結果から、pH は特に遊走子の生存時間に大きく影響することが明らかになった。即ち、20℃での遊走子の感染性は pH 7.0 前後では10時間以上保持されるのに対し、pH 5.0では2時間以

内にほとんど消失する。

以上のように低 pH 土壌では休眠胞子の発芽が抑制されるのに加えて、遊走子の寿命が短くなるために、感染が抑制されると思われる。

温度と *P. betae* の感染程度との関係は、Koch (1967) および Horak and Schlosser (1979) の報告と同様に、23℃では10℃あるいは15℃より感染・増殖が促進されると思われた。また、遊走子を用いた実験結果から、*P. betae* が感染できる温度の範囲と各温度条件下における生存期間が明らかになった。即ち、遊走子は低温の5℃では21時間以上生存可能であるが、この温度では感染ができないか、極く僅かであった。一方、高温の35℃でも感染は生じるが、遊走子の感染能力は2時間以内で失われると認められた。

以上のことから本菌の感染は主として15-30℃で生じ、適温は20-25℃であると考ええる。

P. betae は土壌中の遊離水を利用して分散、移動する菌であるから (Koch, 1967), その感染は、当然少湿より多湿の土壌条件下で多くなる。ただしそう根病の発生は、育苗時の感染個体は勿論、本圃での感染個体においても、低湿地だけでなく、乾燥地にも認められる。このことは宇井 (1973) が述べているように、*P. betae* に汚染されていれば、どのような畑であっても降雨によって土壌水分の高い時期があれば、*P. betae* はテンサイに感染し、そう根病が発生することになると考えられる。従って北海道では適当に降雨があれば、テンサイの生育初期に当る春期から初夏が高温年ほどそう根病の発病が激しくなるものと推定される。