

## I 緒言

ゴボウ属植物は 6 種の存在が認められているが、食用となるのは *Arctium lappa* L. の 1 種で、野菜のゴボウは本種をさす (飛高 1989)。野生種はヨーロッパからアジアにかけて広く分布しているが、日本において自生種は認められていない。日本にゴボウがもたらされたのは千数百年前とされ、当時薬草として利用・栽培されたものが、その後野菜として栽培されるようになったと考えられる。明治後期の時点で既に栽培面積は 12,000ha と広く栽培されていた。1960 年代に 20,000ha 弱まで栽培面積は拡大したが、その後減少傾向にあり、1999 年に至っては 11,400ha に留まっている (農林水産省統計情報部編, 2001)。現在、世界的に見てもこのゴボウを食用として利用・栽培している国は日本のみである。中国、台湾等でもゴボウが栽培されているが、これらはすべて日本への輸出用として栽培されているものであり、その輸入量は 1999 年で年間 71,715 t に及ぶ (流通システム研究センター情報開発部編, 2001)。

北海道におけるゴボウの栽培は古くは明治期に始まる。直根で白茎品種を「札幌」という名称で栽培したのが始まりで、現在では品種が赤茎の早生種に変遷しているものの、全国的に第 4 位の産地を維持している。その栽培面積は、1996 年で 1,430ha に達したが、2000 年では 923ha に減少している。

ゴボウに発生する病害は本邦で 15 種 (日本植物病理学会編, 2000) が、北海道では 9 種が報告されている (成田ら 1998)。このうち、黒条病 (くろすじびょう) が最も普遍的に発生し、被害をもたらしている。本病の発生は、今のところ北海道でのみ認められている。

ゴボウ黒条病の報告は 1988 年の谷井らが初めてである。しかし、病原菌は担子菌系統の真菌と同定したのみで、属・種名は長い間不明のままであった。1998 年になって本病の病原菌が明らかにされ、病原菌は *Itersonilia perplexans* と同定された (堀田・安岡 1998, Horita and Yasuoka 2002)。

*I. perplexans* はゴボウ以外の植物において病原菌としての報告は少ない。その詳細は第 II 章「研究史」に譲るが大きく分けて、セリ科およびキク科の植物で病害の報告がある。発病部位も植物によって異なり、根部、茎葉および花弁に発病する。セリ科植物のパスニップでは *Itersonilia* 菌が根部の貯蔵腐敗を起こす

病原菌として重要であるが、根部以外にも茎葉および花弁に発病する (Channon 1969)。しかし、キク科植物では大多数が花弁にのみ発病する場合が多く、茎葉に特徴的な病徴を現す植物はゴボウのみである。そのため、ゴボウ分離株は *Itersonilia* 菌種の中でもユニークな菌群と考えられ、これらの同定および諸性質の解析は菌学的にも意義がある。また、道内におけるゴボウ栽培において黒条病の発生は大きな問題であることから、早急な防除対策の確立が現地から要望された。

筆者は 1997 年から 2002 年まで本病の発生生態と防除に関する研究を担当した。本報告は発生状況と被害様相、病原菌の同定、発生生態および防除対策について検討した結果を取りまとめたものである。

本研究を遂行するに当たり、元北海道立中央農業試験場クリーン農業部長宮島邦之博士 (元北海道立上川農業試験場長)、元北海道立中央農業試験場クリーン農業部長尾崎政春博士 (現北海道立十勝農業試験場長) には本研究課題を与えられるとともに、終始懇切なご指導を賜り、深甚なる感謝の意を表す。

本論文のご校閲を賜った北海道大学農学部教授上田一郎博士、同教授内藤繁男博士、同教授増田税博士、同助教近藤則夫博士に衷心より深く感謝の意を表す。

本研究を遂行するに当たり、元北海道立十勝農業試験場安岡眞二氏 (現北海道立上川農業試験場技術普及部)、元フロリダ大学ガルフコースト研究センター Robert J. McGovern 博士 (現フロリダ大学植物病理部) および同研究センター Teresa Seijo 氏には一部共同研究を実施し、絶大なご援助とご支援を頂き、心より感謝の意を表す。

また、本研究を行うに当たり、適切なご助言とご協力をいただいた故谷井昭夫博士 (元北海道立道南農業試験場)、元北海道立十勝農業試験場専門技術員室花田勉氏 (元北海道立道南農業試験場長)、筑波大学名誉教授椿啓介博士、元北海道立花・野菜技術センター主任研究員水島俊一氏 (現北海道立中央農業試験場長)、元同センター病虫科長柿崎昌志氏 (現北海道立道南農業試験場病虫科長)、元同センター病虫科角野晶大氏 (現北海道立中央農業試験場クリーン農業部病虫科長)、同センター病虫科小松勉氏、元同センター野田智昭氏 (現北海道立北見農業試験場畑作園芸科)。本試験の取り纏めに際して終始激励を賜った北海道植物防疫協会

長児玉不二雄博士，道立中央農業試験場クリーン農業部主任研究員田中文夫博士，多大なるご協力を頂いた北海道立花・野菜技術センター管理科病虫科担当の梶山幸道氏，本田悟氏および加藤章広氏はじめ管理科職員各位，元同センター臨時職員横江陽子氏，柴田明恵氏，芳沢洋吏子氏，高屋敷泰子氏に厚く感謝申し上げます。

加えて現地試験等でご協力を頂いた元空知東部普及センター大久保進一氏（現北海道立花・野菜技術センター野菜科），十勝中部普及センター中村浩氏（現大雪地区普及センター）はじめ各普及センター各位に深くお礼申し上げます。

最後に本報告を発行するに当たり，ご尽力下さった道立花・野菜技術センター場長青山俊夫氏，同研究部長塩澤耕二氏に重ねて感謝申し上げます。

## II 研究史

ゴボウ黒条病は、はじめ谷井ら (1988) によって報告された病害で、その病徴および病原菌の分離と病原性から、黒条病と報告されたのが最初である。しかし、病原菌の分類学的所属は明らかにされず、菌系に多数のクランプが見られることから、担子菌の 1 種であると記載している。本病の発生は谷井らの報告では 1986 年に認められているが、成田ら (1998) によると 1974 年に帯広市、1977 年に長沼町、栗山町および大野町で類似した症状の発生を認めていることから、北海道では古くから発生していたと推察される。北海道における本病の記載・報告は以上の 2 報に留まり、本州以南での発生報告は全くない。

黒条病の病原菌として同定された *Itersonilia* 菌は Derx (1948) によって設けられた属で、その詳しい形態は Olive (1952) によって記載されている。Derx による基準種、*I. perplexans* の報告ののちに *I. pyriformis* (Nyland 1949) および *I. pastinacae* (Channon 1963) が新種として報告されたが、これらの報告直後から両菌株と *I. perplexans* の異同について議論がなされた。*I. pyriformis* は厚膜胞子を形成し、これらにクランプを欠くことや麦芽エキス培地で気中菌糸が豊富に形成されること、あるいは射出胞子 (ballistospore) がやや短いことなどが *I. perplexans* との相違点とされている。Tubaki (1952) は Nyland (1949) が観察した基準種は麦芽エキス培地で孢子形成細胞の形成が未発達の菌株で、これらが厚膜胞子状に観察されるとした。他の培地で同菌株を培養すると *I. perplexans* と同様のクランプを持つ孢子形成細胞が観察され、両菌株の差異は明らかではないと報告した。*I. pastinacae* においてもパースニップに対し病原性を持ち、キクに対して病原性がないことや厚膜胞子を豊富に形成する特徴で新種として報告されたが、Sowell and Korf (1960) は疑問を呈している。これはパースニップに病原性を持つ同菌の中にも厚膜胞子を欠く菌株が存在することやパースニップ以外から分離された菌株の中にも厚膜胞子を豊富に形成する菌株があることに基づいている。その後、*Itersonilia* 3 種の Coenzyme Q が同一であること (Yamada and Konda 1984)、GC 含量、DNA の相同性および核型でも種の区別は明確でないこと (Boekhout ら 1991)、各種形態の再検討と交配試験から同一種と見なされること (Boekhout 1991) などから、現在では 1 属 1 種の菌群とされた (Boekhout 1998)。

*I. perplexans* の植物病原菌としての報告は主にキク科およびセリ科植物で多い。ゴボウ以外のキク科植物ではキク (Doddall 1956, McRitchie ら 1973, 西原 1958)、ダリア (西原 1958)、ヒマワリ (Sackston 1958, Seijo ら 2000)、アスター (McGovern and Seijo 1999) およびアーチチョーク (Cragg 1966) で報告されている。いずれの植物においても発病部位は花卉で、褐色の小斑点が形成され、これらが融合した花枯症状を起こす。ヒマワリでは子葉に発病が見られる場合があるが、本葉では初生葉でわずかに発生を見るのみである (Sackston 1958)。キク科植物における病害の報告はすべて発生状況および症状の記載に留まっており、発生生態に関する研究はほとんど行われていない。

セリ科植物ではパースニップ (Wilkinson 1952, Channon 1963) および ディル (Koike and Tjosvold 2001) で報告されている。パースニップでは主に根部の貯蔵中の発病 (*Itersonilia* canker) が問題であるが、葉にも小斑点を形成する場合は認められる。また、これら病斑は葉柄や花部へも進展し、種子の保菌を起こす (Channon 1969)。ディルにおける病徴も同様に茎葉での発病が認められている。パースニップにおける種子伝染は汚染種子を播種すると幼苗の葉に病斑が見られることや、種子から本菌が分離されることなどから証明された (Smith 1966)。しかし、汚染種子を播種しても根部の発病が増加するという確証が得られなかったことから、本病の伝染源として重要なのは他の植物からの射出胞子の飛散が原因とも考えられた (Channon 1969)。Gandy (1966) はキク栽培圃場の周辺に自生していた多くの植物から *Itersonilia* 菌が分離されることから、キク花枯病の伝染源として重要であると指摘した。一方、土壌中でパースニップで *Itersonilia* canker の罹病根を土壌中に埋没すると少なくとも 12 ヶ月程度本病菌が生存することから土壌伝染も否定できない (Smith 1967) とする報告もあり、第一次伝染源として何が重要かは現在まで明らかでない。

*Itersonilia* 菌に対する防除対策の報告は少ないが、パースニップで抵抗性品種の育成および種子消毒の試験例がある。抵抗性品種の育成は 1966 年に「Avonresister」が育成され (Channon ら 1970)、1988 年には「Andover」が育成されている (Davis ら 1989)。また、種子消毒対策として 45.5 °C の蒸気消毒を用いる方法が有効とされている (Smith 1966)。

### III 黒条病の発生状況と被害

本病は 1988 年に谷井らによって報告された病害であるが、その詳細については不明の点が多い。そのため、本病の症状の整理と発生時期等について調査を行った。また、発病によるゴボウ収量への影響についても調査した。

#### 1. 病徴

本病の病徴は地上部の葉にのみ認められ、根部には発生しない。北海道では初発時期が年によって異なるが、7月下旬～8月下旬にかけて初期病斑が認められ、その後、収穫期に至るまで、蔓延は起こる。葉でははじめ葉脈や葉柄に淡褐色の小病斑が生じる(Plate 1A)。その後葉脈に沿って黒褐色～黒色の病斑が拡大して条状の病斑となり、これが葉柄へ進展する場合も認められる(Plate 1B)。葉柄部でも同様の条状病斑が形成され、拡大とともに病斑の中心部は陥没する。このような罹病葉は激しい風雨にあうと病斑部から折れやすくなる(Plate 1C)。新葉では、病斑の進展が激しく、葉の抽出から展葉までの期間に感染が起こると葉縁部から黒褐色となって腐敗し、展葉が阻害され、縮葉症状を呈する(Plate 1D)。さらに葉肉部や葉柄全体が黒色・水浸状となって腐敗し、地上部の葉全体が消失する場合も認められる。

#### 2. 北海道における発生実態

##### 1) 調査方法

全道における黒条病の発生実態調査は 1998 年に行った。調査圃場は主要なゴボウ栽培市町村を対象に、1市町村当たり 3筆以上を無作為に選定した。地域別では道央地域で 11筆、十勝管内で 27筆、網走管内で 19筆の計 57筆である。調査日は 9月9日に清水町、9月10日に幕別町、池田町、本別町および足寄町、9月16日に常呂町、9月17日に網走市、小清水町、東藻琴村および清里町、9月18日に美幌町、津別町および帯広市、9月24日に音更町および芽室町、9月28日に滝川市、9月29日に真狩村および留寿都村で実施した。調査項目は発病株率、発病程度および葉柄の折れ株率で、1圃場当たり、25株を系統抽出して調査した。発病程度は4段階の指数、すなわち、0=病斑を認めない、1=葉および葉柄にわずかに病斑が認められる、2=葉および葉柄に病斑が多数認められる、3=葉柄の折れが見られ、30～50%が発病、4=葉

柄の折れが50%以上～全体が枯死で株ごとに調査し、その平均値で示した。本病に関する調査の他に前作、播種日および施肥量等の耕種概要も聞き取り調査を行った。

##### 2) 試験結果

1998年に全道のゴボウ圃場57筆について黒条病の発生状況を調査した結果、いずれの圃場でも発生が認められ、無発生圃場はなかった(Table 1)。発病株率は1圃場を除く全ての圃場で100%に達した。発病程度が2.0を越える圃場は48筆(84.2%)に達した。発病による葉柄の折れ株が全く認められない圃場は3筆(5.3%)に留まり、折れ株率が50%以上の圃場は40筆(70.2%)に達した。このうち折れ株率が100%の圃場は16筆(28.1%)で被害は大きかった。地域的な発生を見ると、道東地域での発生が多かった。道央地域では比較的少なく、特に転換畑での発生は少ない傾向であった。

本病の発生圃場における前作作物を調査したところ、イネ、コムギ、トウモロコシ、インゲンマメ、アズキ、ジャガイモ、テンサイ、ゴボウ、ヤマノイモ、ニンジンおよびキャベツであったが、特定の前作作物で本病の発生が多くなる傾向は認められなかった。播種日は4月25日から6月26日までで、その大多数は4月中旬から5月上旬のものが多かった。播種日と発生量では明らかな相関は認められなかった。窒素、リン酸および加里の全施肥量と黒条病の発生との関係も調査したが、明らかな相関は認められなかった。

#### 3. 黒条病の被害

##### 1) 調査方法

2001年に十勝農業試験場圃場で実施した有効薬剤の探索と防除時期を検討した試験区で発病が収量に及ぼす影響を解析した。収量は総収量、規格内収量、根重、有効根長(60cm以上)および最大根茎を調査した。これらと各試験区の9月28日および10月5日における発病調査(発病株率、発病程度及び枯死・折れ率)との相関係数を算出した。また、2000年および2001年において有効薬剤の探索と防除時期を検討した試験区の発病調査のうち、発病程度と枯死・折れ率における相関も求めた。

##### 2) 試験結果

2001年は、9月28日と10月5日の発病程度、枯死

・折れ率と総収量，規格内収量の間には負の相関が認められた。特に9月28日と総収量との間で相関が高く，発病程度および枯死・折れ率が高いほど総収量は減少した (Fig. 1)。有効根長で発病程度との相関が低く，根重で相関が高いことから，根重の減少が総収量，規格内収量の低下に影響していた。その他の収量調査項

目との間には相関は認められなかった。また，発病程度と枯死・折れ率との間には高い相関 (回帰式： $y=0.0103x^2-0.192x$ ) があり，発病程度 1.0 ~ 1.5 で枯死・折れ率は 0.3 ~ 3.5 % と推定され，折れ始めに相当した (Fig. 2)。

Table 1. Occurrence of black streak on edible burdock in the fields in 1998

No.	Locality	Area	Incidence (%)	Disease severity <sup>a</sup>	Snapped plants (%)	No.	Locality	Area	Incidence (%)	Disease severity	Snapped plants (%)
1	Shimizu	Kumaushi 6	100	2.6	61	31	Higashimokoto	Daishin	100	3.6	100
2		Kumaushi 8	100	2.2	24	32	kiyosato	Yamato	100	3.7	100
3	Makubetu	Senzyu	100	3.4	96	33	Bihoro	Tanaka	100	3.8	100
4		Senzyu	100	2.4	23	34		Fukuzumi	100	3.7	100
5		Senzyu	100	3.2	85	35	Tsubetsu	Koudai	100	3.0	68
6	Ikeda	kawai	100	3.2	100	36	Obihiro	Kawanishi	100	3.4	88
7		Takashima	100	3.4	96	37		Ohtsuka	100	3.9	100
8		Ohmori	100	3.3	80	38		Nakamura	100	3.2	76
9	Honbetsu	Tyeto	64	0.7	0	39	Otofuke	Nakasyowa	100	2.7	64
10		Tyeto	100	2.2	28	40		Isao	100	2.5	44
11		Tyeto	100	3.0	80	41		Kitakami	100	3.3	96
12		Ohibira	100	3.8	100	42		Syouei	100	3.0	72
13	Asyoro	Nishi 1	100	2.9	76	43	Memuro	Kitafushiko	100	3.2	84
14		Kamitoshibetsu	100	3.7	100	44		Nakafushiko	100	1.8	20
15		Washippu	100	1.4	4	45		Higashisakanouye	100	3.0	72
16		Washippu	100	3.3	84	46		Higashisakanouye	100	1.5	12
17	Tokoro	Tosa	100	3.0	68	47	Takikawa	Nishi 18	100	1.9	32
18		Tosa	100	2.6	52	48		Nishi 16	100	2.0	24
19		Gifu	100	2.8	72	49		Nishi 16	100	2.6	56
20		Gifu	100	3.2	84	50		Ebeotsu	100	2.3	44
21		Gifu	100	3.8	100	51		Ebeotsu	100	1.4	0
22	Abashiri	Katayama	100	3.9	100	52	Makkari	Kyoumei	100	2.5	44
23		Katayama	100	3.9	100	53		Miharu	100	2.7	68
24		Sanetoyo	100	3.8	100	54		Kano	100	1.4	4
25		Maruman	100	3.8	100	55	Rusutsu	Mitoyo	100	1.7	8
26		Sakae	100	3.8	100	56		Sannohara	100	2.0	12
27	Koshimizu	Asahi	100	3.7	100	57		Mukouoka	100	2.6	56
28		Hamakoshimizu	100	1.2	0						
29		Hamakoshimizu	100	3.1	88						
30		Kyowa	100	3.8	100						

<sup>a</sup> disease index : 0 = no visible symptoms; 1 = small brown or black lesions; 2 = black streak lesion on leaves or petioles; 3 = leaves snapped off at diseased lesion or 30 to 50% of the leaf or petiole diseased; 4 = 50% to entire plant diseased.

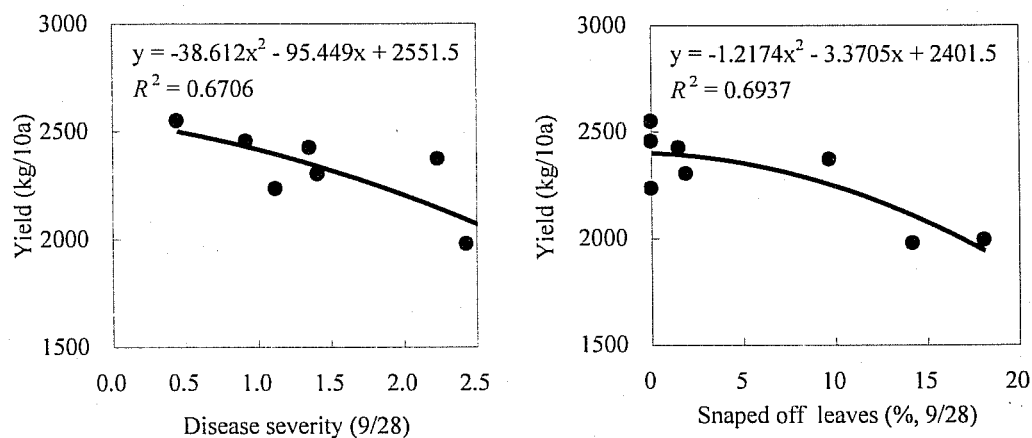


Fig. 1. Relationship between black streak severity of edible burdock on leaves and fresh weight of edible burdock roots in 2001

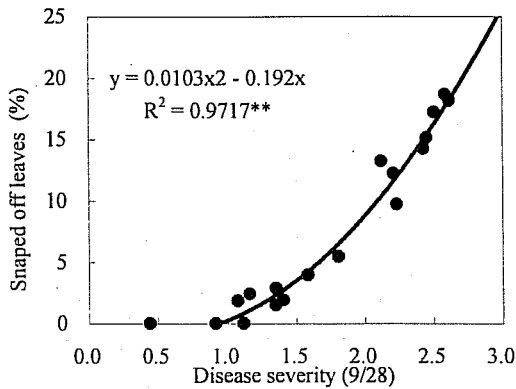


Fig. 2. Relationship between disease severity and percentage of snapped off leaves on the disease development of black streak on edible burdock

#### 4. 考察

本病の発病部位は谷井ら(1988)の報告にもあるように、葉および葉柄部に限られる。通常、葉脈に黒条症状が起こるが、出葉まもない若葉では葉縁部から黒褐色となり、縮葉あるいは葉全体の枯死が認められる。他のキク科植物に発生する *Itersonilia* 病害の症状はほとんどが花卉に現れるものが多い。わずかにヒマワリの幼苗の子葉および初生葉に病斑を形成する報告があるものの(Sackston 1958)、上葉への普遍的な病斑形成は起こらない。ゴボウ分離株はゴボウの葉に普遍的に病斑を形成させることから、他のキク科分離株とは寄生性の面で大きく異なる菌群であると考えられる。本病の病原菌の同定が長い間確定されなかったことは、葉や葉柄への病斑形成という *Itersonilia* 菌ではまれな病徴であったことも原因の一つである。一方、*Itersonilia* 菌によるセリ科植物(パースニップおよびディル)における病徴は、ゴボウ菌株による症状と非常に類似している(Channon 1963)。しかし、葉の病徴は小斑点を示すことと根部への発病が起こることで、病徴および発病部位は異なる。

北海道ではゴボウの茎葉に黒褐色病斑を形成する病害として黒斑細菌病、角斑病および輪紋病が発生する(北海道植物防疫協会編 2004)。これらの病徴ははじめ葉に円形の小斑点が形成され、これが拡大するに従って葉脈に区切られた角斑症状となるものが多い。黒条病が形成する葉脈を中心にした病斑とは容易に区別が可能である。

1998年に全道の主要なゴボウ栽培地域で本病の発生がいずれの圃場においても認められた。発生量も1

圃場を除く全ての圃場で発病株率が100%に達し、発病程度2.0を超える圃場は全体の84%に及んだ。成田ら(1998)は黒条病に類似した症状を1974年に帯広市で、1977年には道央の長沼町、栗山町、および道南地域の大野町で認めており、古くから全道的な発生があったことを類推させる。1998年の調査結果によると道東地域を中心に発生が多く、道央地域では少ない傾向が認められた。この原因解析のため、前作、播種日および施肥量を調査したが、黒条病の発生と明らかな相関は認められなかった。同年の気象経過を見ると8月および9月の降水量が多く、特徴的な年であった。8月6半旬の降水量(mm)を地域別に比較すると、長沼町(中央農試観測データ)は83.5mm(平年35.2mm)、岩見沢市(中央農試稲作部観測データ)は83.0mm(平年25.7mm)に比べ、芽室町(十勝農試観測データ)は124.0mm(平年43.1mm)、訓子府町(北見農試観測データ)は133.5mm(平年28.5mm)と全体的に平年を上回る降水量が認められ、その程度は道東地域で目立っていた。同年の全道的な発生と道東地域の多発は気象要因(特に降水量)と最も関係が高いと考えられた。

黒条病による被害を2001年の発病データで解析したところ、発病程度、枯死・折れ率と総収量、規格内収量の間にも負の相関が認められ、本病の多発は確実に収量にも影響する。特に葉の折れは収量に大きく影響を与えると考えられ、発病程度と枯死・折れ率の高い相関から、折れ始めは発病程度で1.0～1.5と考えられた。有効根長と本病の発病は相関が低いことから、初発期頃には既に根は深く伸長し、本病の発病増加に伴って、根重の増加が抑制されることが最大の収量減をもたらしたと考えられる。ゴボウの品質および収量は葉の最大繁茂期(5月中旬播種で8月中旬～9月中旬)に決定されるとされ、この時期に病害虫等の障害は大きな収量減に結びつく(西田1998)。黒条病はこの葉の最大繁茂期に多発する病害であることから、本病の防除は高品質および安定多収栽培の必須条件であると考えられる。

## IV 病原菌の同定

ゴボウ黒条病は 1988 年に谷井らによって報告された病害であるが、病原菌は分離されていたものの、その分類学的位置は明らかにされていなかった。本章ではゴボウ黒条病菌を新たに分離し、菌種の同定と病原性試験を行うとともに、各植物から分離された *Itersonilia* 菌との寄生性の違いについて検討した結果を述べる。

### 1. 分離菌の形態

#### 1) 試験方法

1994 年～1996 年に分離された栗山株 9 菌株および芽室株 5 菌株 (Table 2) について各器官の形成およびその大きさを観察・測定した。器官の形成に用いた培地は射出胞子で麦芽エキス・酵母エキス寒天 (YMA) 培地、厚膜胞子でニンジン寒天 (CA) 培地、酵母細胞で麦芽エキス・ペプトン・酵母エキス寒天 (YPMA) 培地であった。各器官の形成が良好に認められた菌株ではそれぞれ 40 個について大きさを測定した。対照菌株として *I. perplexans* (IFO31350 および IFO31655 株) を供試した (Table 2)。

#### 2) 試験結果

分離菌は YMA 培地でいずれの菌株も白色の菌叢を示し (Plate II A), 菌系の隔壁にクランプを有し (Plate II B), 膨らみ細胞 (Inflated cell), 射出胞子 (Ballistospore) を形成した。膨らみ細胞は菌系の先端に生じ、細胞の基部は菌系幅と同じであるが、中間部は膨らみ、先端は再び細くなって突起を生じるか、射出胞子を生じた (Plate II C)。菌系細胞と膨らみ細胞の隔膜にはクランプが形成された。射出胞子は無色で半月形～卵形であった (Plate II D)。大きさは菌株、培養培地および成熟過程で変動が大きい。YMA 培地では平均 11.6 ～

16.7 × 8.0 ～ 11.9 μm (長径×短径) であった (Table 3)。射出胞子は発芽して付着器を形成するのが認められた (Plate II E)。厚膜胞子は Blme 943 株で形成が良好で、球形あるいは亜球形、単生あるいは二連状に形成された (Plate II F)。大きさは 9.9 ～ 15.1 μm であった。酵母細胞の形成は 3 菌株で認められ、単細胞となったものは出芽して増殖した (Plate II G)。大きさは培養条件で大きく異なり、平均 10.1 ～ 18.6 × 4.7 ～ 7.0 μm (長径×短径) であった。

対照として用いた *I. perplexans* は白色の菌叢、菌系のクランプ、膨らみ細胞、射出胞子および厚膜胞子を形成し、供試菌株と同様の形態で、その大きさは供試菌とほぼ一致した。対照菌株で酵母細胞の形成は認められなかった。以上から、分離菌は *I. perplexans* Derx と同定された。

### 2. 射出胞子形成培地の検討

#### 1) 試験方法

供試培地は 4% 麦芽エキス (MA) 培地、YMA 培地、ジャガイモ・グルコース寒天 (PDA) 培地、酸性 25% PDA 培地 (以下 1/4APDA と称する) およびコーンミール寒天 (CMA) 培地で射出胞子の形成量を比較した。前培養した黒条病菌 IB9602 株の含菌寒天 (直径 5mm) をそれぞれシャーレの中心部に置床し、15℃ 下で培養した。3 週間後、菌叢の直径を測定し、置床した母寒天に隣接する菌叢を直径 5mm のコルクポーターで打ち抜き、3 ディスクを 1ml の滅菌水の入った小試験管に入れ、1 分間タッチミキサーで vortex し、トーマの血球盤で浮遊する射出胞子の濃度を求めた。試験は 3 反復 (シャーレ 3 枚) で、2 回実施した。

Table 2. *Itersonilia* strains used in this study

Strain	Host plant	Locality	Year isolated	Other designation
Test isolates				
Blme941-1, Blme944-2, Blme943	edible burdock	Memuro, Hokkaido, Japan	1994	
Blme951, Blme952	edible burdock	Memuro, Hokkaido, Japan	1995	
IB9601, IB9602, IB9603, IB9604, IB9606 IB9607, IB9608, IB9609, IB9610	edible burdock	Kuriyama, Hokkaido, Japan	1996	
<i>Itersonilia perplexans</i> (reference isolates)				
IFO31350	air	Netherlands	-	CBS 144.68, ATCC 36404
IFO31655 ( <i>Itersonilia pastinacae</i> )	parsnip	U.K.	1960	CBS 356.64, ATCC 36403, IMI 092075
IFO31656 ( <i>Itersonilia pyriformans</i> )	<i>Acer macrophyllum</i>	U.S.A.	1948	CBS 286.50, ATCC 15496

**Table 3.** Dimensions of ballistospores, chlamydospores and yeast cells of *Iterosnilia perplexans*

Isolate	Location	Structure measurements ( $\mu\text{m}$ ) <sup>a,b</sup>				
		Ballistospore		Chlamydospore	Yeast cell	
		Length	Width	Diameter	Length	Width
Edible burdock isolate						
IB9601	Kuriyama	10.4-15.4	7.2-11.1	± <sup>c</sup>	9.7-22.6	5.4-9.8
IB9602	Kuriyama	12.1-19.4	7.4-15.0	—	—	—
IB9603	Kuriyama	11.0-26.6	8.0-19.3	±	—	—
IB9604	Kuriyama	9.9-18.7	7.0-11.1	—	7.1-12.6	3.5-7.1
IB9606	Kuriyama	10.8-16.8	7.2-11.2	±	—	—
IB9607	Kuriyama	11.4-21.0	7.4-14.3	—	—	—
IB9608	Kuriyama	11.3-18.6	9.3-13.0	±	—	—
IB9609	Kuriyama	9.8-15.1	6.8-11.0	±	—	—
IB9610	Kuriyama	11.2-19.0	7.5-13.1	±	—	—
Blme941-1	Memuro	10.5-14.7	7.0-10.6	±	8.2-25.5	4.9-8.9
Blme943	Memuro	10.8-18.2	7.6-12.0	9.9-15.1	—	—
Blme944-2	Memuro	11.7-17.1	7.9-10.0	±	—	—
Blme951	Memuro	12.0-21.6	9.0-13.4	±	—	—
Blme952	Memuro	13.5-19.9	8.9-12.2	±	—	—
<i>I. perplexans</i>						
IFO31350	Netherlands	9.2-23.6	7.4-13.6	—	—	—
IFO31655	U.K	14.7-22.1	8.7-14.1	11.0-18.5	—	—

<sup>a</sup> Fungal structures were taken from 2-3 week old yeast-malt agar plates (ballistospores and chlamydospores) or 1 week old yeast-peptone-malt agar (yeast)

<sup>b</sup> For each isolate, 40 spores were measured

<sup>c</sup> ± : rarely produced, — : not produced

## 2) 試験結果

菌叢の生育量は PDA 培地および CMA 培地で良好で、次いで 1/4APDA 培地であった。4%MA 培地では生育が劣った。射出胞子の形成は 1/4APDA 培地および CMA 培地で良好であった。以上から、接種源を作成する培地として 1/4APDA 培地および CMA 培地が適していた (Table 4)。

**Table 4.** Growth and sporulation of *Iterosnilia perplexans* IB9602 on various media at 15°C

medium <sup>a</sup>	Mean colony diameter after 21 days (cm)		Mean no. of ballistospores ( $\times 10^3$ ) <sup>b</sup>	
	Exp 1	Exp 2	Exp 1	Exp 2
4%MA	3.6a <sup>c</sup>	3.4a	6.1a	0.6a
YMA	4.7b	4.3b	7.7a	3.9ab
PDA	6.1d	5.9d	15.1ab	12.4b
1/4APDA	5.1c	5.1c	28.8bc	30.0c
CMA	5.9d	5.8d	30.4c	24.8c

<sup>a</sup> MA : malt extract agar, YMA : yeast malt agar, PDA : potato dextrose agar, 1/4APDA : four diluted acidified potato dextrose agar, CMA : corn meal agar

<sup>b</sup> Number of ballistospore per 3 disk (5mm diameter)

<sup>c</sup> Means in a column followed by the same letter are not significantly different at  $P=0.05$  according to Fisher's least significant difference test

## 3. ゴボウ分離株の病原性

### 1) ゴボウ分離株の接種試験 (葉)

#### (1) 試験方法

Table 2 で用いた菌株を供試し、ゴボウ (葉) に対する病原性を試験した。1/4APDA 培地で 2 週間前培養した各菌株の平板に滅菌水を加え、形成された射出胞子を面相筆で掻き取り、 $1 \times 10^4$  個/ml の孢子懸濁液を作成した。これを鉢植えのゴボウ (1 鉢当たり 2 株、3 ~ 4 葉期) にガラス噴霧器を用いて鉢当たり 5ml の孢子懸濁液を噴霧した。その後、鉢全体をビニル袋に入れ、15 °C 条件下、12 時間白色蛍光条件下の人工気象室で栽培した。試験は 3 反復で行った。2 週間後、発病葉率、発病葉率および発病程度を調査した。葉あるいは葉柄は以下の指数に基づき、株ごとに調査し、その平均値を発病程度とした。

指数 0 : 病斑を認めない

指数 1 : 葉または葉柄にわずかに病斑が見られる

指数 2 : 葉または葉柄に病斑が多数見られる

指数 3 : 葉または葉柄に折れが見られる、あるいは 30~50% が発病

指数 4 : 葉あるいは葉柄が 50% 以上発病 ~ 全体が枯死

### (2) 試験結果

ゴボウ分離各菌株はいずれもゴボウの葉や葉柄に黒条症状を再現させ、病原性が認められた (Table 5, Plate III, B)). 病斑は葉に多数形成され、葉柄ではやや少な



かった。菌株間で病原力に差が認められ、症状は IB9609 および Blme952 株で激しく、Blme941-1 株は軽かった。

## 2). ゴボウ分離株の接種試験 (根部)

### (1) 試験方法

菌株は IB9602 および Blme951 株を供試した。市販のゴボウを水洗後、長さ 10cm に切断し、0.5% 次亜塩素酸ナトリウム液で 5 分間殺菌し、滅菌水で 2 回洗浄後、プラスチックトレー (長さ 37cm×幅 27cm×高さ 6cm) に並べた。根部 1 本につき等間隔に 3ヶ所、含菌寒天を有傷接種した。対照区として寒天片のみ (YMA 培地) の接種区を設けた。接種後、プラスチックトレーに少量 (10cc) の滅菌水を加え、ビニル袋に包み、10℃、15℃および 20℃にそれぞれ保ち、発病の有無を調査した。試験は 2 回実施した。

### (2) 試験結果

供試した 2 菌株はいずれの温度条件においてもゴボウ根部に病原性を示さなかった。2 回試験を実施したが、同様の結果が得られた (Table 6)。

**Table 5.** Pathogenicity<sup>a</sup> of edible burdock isolates of *Itersonilia perplexans* on leaf and petiole of edible burdock cv. Yanagawarisou

Isolate	Incidence %		Disease severity <sup>b</sup>	
	Leaf	Petiole	Leaf	Petiole
IB9601	81.9	66.7	1.9	1.3
IB9602	87.5	66.7	1.9	2.0
IB9603	100.0	65.3	2.0	1.4
IB9604	95.8	69.4	2.0	2.0
IB9606	91.7	52.8	1.8	1.4
IB9607	83.3	50.0	1.8	1.5
IB9608	75.0	50.0	1.7	1.5
IB9609	87.5	75.0	2.1	2.2
IB9610	79.2	75.0	1.7	2.0
Blme941-1	55.6	20.8	0.8	0.2
Blme943	61.1	59.7	1.3	0.9
Blme944-2	86.1	48.6	1.4	1.1
Blme951	76.4	52.8	1.6	1.4
Blme952	87.5	81.9	2.3	2.6
Distilled water	0.0	0.0	0.0	0.0
LSD(0.05)	22.3	23.3	0.6	0.8

<sup>a</sup> Disease was evaluated 14 days after inoculation

<sup>b</sup> disease index: 0= no visible symptoms; 1 = small brown or black lesions; 2= black streak lesion observed on leaves or petioles; 3= snapped off at diseased lesion or 30 to 50% of the leaf or petiole diseased; 4= 50% to entire plant diseased

## 4. ゴボウ分離株の寄主範囲

### 1) 試験方法

供試菌株はゴボウ分離株の IB9602 および Blme951 株、*I. perplexans* 3 菌株 (IFO31650, IFO31655 および IFO31656, 発酵研究所より分譲) の計 5 菌株を供試した。植物は茎葉への接種 (幼苗) でキク科 17 種およびセリ科 6 種の計 23 種、花部接種はキクの 1 種を供試した。各植物の接種株数は 5~6 株 (4~5 葉期) で、試験は 2 回行った。各菌株を YMA 培地あるいは 1/4APDA 培地平板で培養し、前出の方法で射出孢子懸濁液を作製後、これを茎葉または花部に噴霧した。対照として滅菌水の噴霧区を設けた。接種後、植物はビニル袋に入れ、15℃下の人工気象室で生育させた。接種 2 週間後に発病の有無と症状を調査した。また、発病個体から接種菌の再分離を行った。すなわち、1/4APDA 培地を含んだ 9cm シャーレの上蓋内に病変組織を両面テープで貼り付け、48 時間密封して胞子を自然落下 (以下落下法と称する) させた。上蓋の病変組織を取り除き、15℃下、8 日間培養し、伸長した菌叢を釣菌し、再分離した。

### 2) 試験結果

ゴボウ分離株は供試した 2 菌株ともゴボウおよびキクの花弁に 100% 感染した (Table 7)。ゴボウでは葉や葉柄に黒条症状が再現され、キクの花弁でははじめ水浸状の小斑点で、後に淡褐色~褐色の大型病斑に進展する花枯れ症状が現れた (Plate II C)。これら発病植物の病斑部から高率に接種菌が再分離された。アーチチョークでの発病は 2 回接種のうち 1 回のみで発病が見られ、葉脈に沿って淡褐色に腐敗する症状となったものの、発病率は IB9602 株、Blme951 株でそれぞれ 42%、25% と低かった (Plate II D)。その他供試植物では発病が認められなかった。

一方、対照菌株の IFO31350 および IFO31656 株ではキクの花弁に花枯症状が生じた。ゴボウを含め、その他供試植物に病原性は認められなかった。IFO31655

**Table 6.** Pathogenicity<sup>a</sup> of edible burdock isolates of *Itersonilia perplexans* on root of edible burdock cv. Yanagawarisou

Isolate	Exp. 1			Exp. 2		
	10℃	15℃	20℃	10℃	15℃	20℃
IB9602	0/9 <sup>b</sup>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
Blme951	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9

<sup>a</sup> Disease was evaluated 14 days after inoculation

<sup>b</sup> No. of root infected / No. of root tested

**Table 7.** Host range of edible burdock and reference isolates of *Itersonilia*

Test plant	Cultivar	Edible burdock		<i>I. perplexans</i>			Not inoculated
		IB9602	Blme951	IFO31650	IFO31655	IFO31656	
Seedlings							
Asteraceae							
<i>Arctium lappa</i>	Yanagawarisou	+(BS) <sup>a</sup>	+(BS)	—	—	—	—
<i>Bellis perennis</i>	Super Sibelius	—	—	—	—	—	—
<i>Calendula officinalis</i>	Orange delight	—	—	—	—	—	—
<i>Carthamus tinctorius</i>	Maruba-syu	—	—	—	—	—	—
<i>Centaurea moschata</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	Chyuyou-syungiku	—	—	—	—	—	—
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	Start	—	—	—	—	—	—
<i>Cosmos bipinnatus</i>	Versailles	—	—	—	—	—	—
<i>Cynara scolymus</i>	green globe	±(BS)	±(BS)	—	—	—	—
<i>Dahlia variabilis</i>	dapper	—	—	—	—	—	—
<i>Gaillardia pulchella</i>	Red plume	—	—	—	—	—	—
<i>Helianthus annuus</i>	Luna	—	—	—	—	—	—
<i>Lactuca sativa</i>	M-Wrap-231	—	—	—	—	—	—
<i>Rudbeckia sp.</i>	Indian summer	—	—	—	—	—	—
<i>Zinnia elegans</i>	Royal purple	—	—	—	—	—	—
Umbelliferae							
<i>Apium graveolens</i>	Cornel 619	—	—	—	—	—	—
<i>Daucus carota</i>	Kouyou no.2	—	—	—	—	—	—
<i>Coriandrum sativum</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Cryptotaenia japonica</i>	Kanto-mituba	—	—	—	—	—	—
<i>Pastinaca sativa</i>	Hollow crown	—	—	—	—	—	—
<i>Petroselinum crispum</i>	Paramount	—	—	—	—	—	—
Bloom							
Asteraceae							
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	Start	+(PB)	+(PB)	+(PB)	—	+(PB)	—

<sup>a</sup> Disease severity was assessed 14 days after inoculation. +: plant diseased, ±: slightly diseased, —: no diseased, BS: black streak symptoms, PB: petal blight symptoms

株はいずれの供試植物に対しても病原性は認められなかった。対照の滅菌水接種区ではいずれの植物でも発病が認められなかった。

## 5. ゴボウ、アスターおよびヒマワリ分離株における寄主範囲の比較

### 1) 試験方法

ゴボウ分離株の IB9602, アスター分離株の 98-592 (フロリダ大学保存株) およびヒマワリ分離株の 99-1051 (フロリダ大学保存株) を用いて, 各菌株の寄主範囲を比較した。植物は茎葉接種 (幼苗) でキク科 8 種およびセリ科 6 種の計 14 種, 花部接種はキクおよびガーベラの 2 種を供試した。各植物は 4~6 株 (2~3 葉期) を供試し, 試験は 2 回実施した。接種は各菌株を 1/4APDA 培地平板で培養し, 前出の方法で射出胞子懸濁液を作製し, 噴霧した。対照として滅

菌水の噴霧区を設けた。接種植物はビニル袋に入れ, 15℃下の人工気象室で生育させた。接種 2 週間後に発病の有無と症状を調査した。また, 発病個体から落下法で接種菌の再分離も行った。

### 2) 試験結果

幼苗における発病はゴボウ分離株でゴボウのみに高い発病が認められた (Table 8)。アスターおよびヒマワリ分離株では両菌株ともアスター, ヒマワリにのみ感染した。セリ科植物の幼苗にはいずれの菌株も感染しなかった。花卉における発病はいずれの菌株もキクおよびガーベラで発病が認められた。ガーベラでは各菌株に病原力の差は認められなかったものの, キクの花弁ではゴボウ分離株の発病率が低かった。対照の滅菌水接種区ではいずれの植物でも発病が認められなかった。

**Table 8.** Pathogenicity of *Itersonilia* isolates from Asterceae on various crops

Test plant	Cultivar	Disease severity <sup>a</sup>		
		China aster <sup>b</sup>	Sunflower	Burdock
<b>Seedlings</b>				
<i>Anethum graveolens</i>	Bouquet dill	-	-	-
<i>Coriandrum sativum</i> (Cilantro)	-	-	-	-
<i>Coriandrum sativum</i> (Chinese parsley)	Forest queen	-	-	-
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>sativus</i> (carrot)	Kinko 4	-	-	-
<i>Daucus carota</i> (Queen anne's lace)	Queen of Africa	-	-	-
<i>Pastinaca sativa</i>	Javelin F1	-	-	-
<i>Alcea ficifolia</i>	Double apricot	-	-	-
<i>Arctium lappa</i>	Takinogawa long	-	-	+++
<i>Cynara scolymus</i>	Imperial star	-	-	-
<i>Callistephus chinensis</i>	Matumoto formula mix	++	++	-
<i>Helianthus annuus</i>	Sunrich orange F <sub>1</sub>	++	++	-
<i>Lactuca sativa</i>	Crispino mt0	-	-	-
<i>Tagetes erecta</i>	French honeycomb	-	-	-
<i>Zinnia elegans</i>	Benary's giant mix	-	-	-
<b>Bloom</b>				
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	Bright white	+++	++	+
<i>Garbera jamesonii</i>	-	+++	+++	+++

<sup>a</sup> Disease severity was assessed 9-11 days after inoculation. Disease index ; - : no disease, + : up to 30% diseased, ++ : 30 to 60% diseased, and +++ : >60% diseased

<sup>b</sup> China aster isolate : 98-592, edible burdock isolate : IB9602, sunflower isolate : 99-1051

6. 各種植物から分離された *Itersonilia* 菌のゴボウに対する病原性

1) 試験方法

試験は 1998 年に実施した。花・野菜技術センター内のゴボウ栽培跡地、コスモス栽培跡地および裸地に生育した各種植物から *Itersonilia* 菌を分離した。植物は 4 月 17 日に葉脈や花卉が淡褐色あるいは褐色に腐敗しているものを採集して供試した。分離は落下法を用いた。分離菌株は一部を除き、病原性試験に供試した。鉢植えしたゴボウ（鉢当たり 4 株）に各分離菌の射出胞子を前出の試験と同様に接種し、15℃下の人工気象室で栽培し、病原性を確認した。また、1997 年に花野菜技術センター圃場のコスモスから分離した 9 菌株、1998 年 10 月に東川町のハチジョウナ (*Sonchus arvensis* var. *uliginosus*) から分離した 1 菌株および 1998 年のゴボウ黒条病の実態調査（第三章参照）から得られた分離菌株も併せて試験した。

2) 試験結果

各種植物から *Itersonilia* 菌を分離した結果、セイヨウタンポポ (*Taraxacum officinale*)、ヒメスイバ (*Rumex acetosella*)、フキおよびエゾノギシギシ (*Rumex obtusifolius*) などから *Itersonilia* 菌が分離された。同植

物からの分離率はいずれも低く、最大でも 26.5% であった (Table 9)。これら菌株とゴボウ分離株、コスモス分離株およびハチジョウナ分離株のゴボウに対する病原性を試験したところ、ゴボウ以外の植物から分離された *Itersonilia* 菌 33 株はすべてゴボウに病原性がなかった (Table 10)。一方、実態調査のゴボウサンプルから分離した菌株では 78 菌株中 2 菌株を除く 76 菌株 (97.4%) で病原性が認められた。

**Table 9.** Isolation of *Itersonilia perplexans* from weed

Plant	No. of plants isolated / No. of plants tested
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	0/6
<i>Dactylis glomerata</i>	0/4
<i>Petasites japonicus</i>	9/76
<i>Rumex acetosella</i>	2/5
<i>Rumex obtusifolius</i>	5/30
<i>Taraxacum officinale</i>	10/36
<i>Trifolium</i> spp.	0/3

7. 考 察

谷井ら (1988) は黒条病菌の特徴として PDA 培地の 11 日間培養で 18 ~ 19mm と生育が非常に緩慢であることを記載している。接種試験も孢子（射出胞子）ではなく、含菌寒天を用いた方法で実施している。こ

**Table 10.** Pathogenicity<sup>a</sup> of various plant isolates of *Itersonilia perplexans* on edible burdock cv. Yanagawarisou

Host plant	No. of isolate	No. of pathogenic isolate
<i>Arcium lappa</i>	78	76
<i>Cosmos bipinnatus</i>	9	0
<i>Petasites japonicus</i>	9	0
<i>Rumex acetosella</i>	1	0
<i>Rumex obtusifolius</i>	5	0
<i>Sonchus arvensis</i> var. <i>uliginosus</i>	1	0
<i>Taraxacum officinale</i>	8	0

<sup>a</sup> Disease were evaluated 14 days after inoculation

れら緩慢な生育と孢子形成の少なさは本病菌の同定および接種源の調整等に大きな障害となっていた。そのため、本試験では本病菌の基礎的な生育条件を把握することから検討した。分離法の検討では落下法と組織分離法で検討したが、組織分離法では全く本病菌は分離されなかった（データ省略）。そのため発生実態調査時に採集したサンプルは、採取後 2～3 日を経て分離に供試したため、組織分離法を用いると腐生菌が多く分離され、*Itersonilia* 菌の分離は不可能であった。一方、落下法を用いると本菌が葉サンプルで 65%程度分離され、本手法は有効であった。生育が遅いため、顕微鏡を用いて釣菌したが、本病菌の特徴であるクラップを確認することで、容易に見分けがつく。

本病菌の形成器官として、谷井ら（1988）は菌系の先端や中間部に厚膜孢子と思われる膨らみが見られ、この先端から離脱して分生孢子様のものが生ずることを述べている。これらと本試験で用いた分離株の異同について検討する上で、予備試験として各器官が良好に形成される培地について検討した。その結果、各器官が形成しやすい培地が明らかにでき、射出孢子、膨らみ細胞、厚膜孢子および酵母を豊富に形成させることができた。谷井（1988）の記載と比較すると「厚膜孢子と考えられる膨らみ」は膨らみ細胞（孢子形成細胞）と考えられ、「分生孢子様のもの」はその先端に形成される射出孢子と考えられた。「厚膜孢子（孢子形成細胞）と思われる器官は菌系の中間部にも観察された」とされるが、これは膨らみ細胞が直接発芽して菌糸を伸長させたためと考えられる。これ以外にも新たな球状の厚膜孢子と酵母細胞が観察された。各菌株における各器官の形成を比較すると、射出孢子、孢子形成細胞はいずれの菌株でも認められたが、厚膜孢子および酵母細胞は一部菌株でしか観察できなかった。各形成器官の形態とその大きさは *I. perplexans* の標準菌株および文献上の記載とほぼ一致した。上記の試験結果から、ゴボウの黒条症状から分離された系状菌は *I. perplexans* Derx と同定された。

*Itersonilia* 属菌では、とりわけ *I. perplexans* と *I. pastinacae* の異同に関して分類学上の議論がなされてきた（Sowell and Korf 1960）。これらの分類上の論点は厚膜孢子を多量に形成する特徴を *I. pastinacae* の同定基準としたところにある（Channon 1963）。同菌には厚膜孢子を多量に形成しない菌株があることや他の植物から分離された菌株にも厚膜孢子を多量に形成するものがあるため、明確な分類基準とならないことが指摘された（Sowell and Korf 1960）。ゴボウ分離株でも 1 菌株が厚膜孢子を多量に形成し、かつゴボウに病原性を持つものがあつた。また、ハチジョウナから分離された菌株および実態調査のゴボウ分離株でゴボウに病原性を持たない 2 菌株は厚膜孢子を多量に形成した。しかし、これら菌株はキクの花弁に病原性を示した（データ省略）。*I. pastinacae* はキクに病原性を持たないことから、これら菌株はどちらの菌種にもあてはまらなくなる。ゴボウ分離株の例からも、厚膜孢子的形成状況による *Itersonilia* 菌種の分類は明確でないと考えられる。

射出孢子を良好に形成する培地の検討により、接種源としての射出孢子が容易に採取可能となったことで、射出孢子を用いた接種で原病徴が再現された。以上から、*I. perplexans* がゴボウ黒条病の病原菌であることが明らかとなった（Horita and Yasuoka 2002）。しかし、黒条病菌の寄主範囲を調べた試験から、その寄生性には分化が見られた。黒条病菌のキク科植物およびセリ科植物茎葉に対する病原性はアーチチョークでわずかに発病が見られる場合があつたものの、再現性のある発病が認められたのはゴボウのみである。一方、同じキク科のアスターおよびヒマワリ分離株はゴボウに病原性を示さない。また、キクやダリアの花枯病から分離された *I. perplexans* は茎葉に病斑を形成する記載がない（Doddall 1956, McRitchie ら 1973, 西原 1958）。黒条病菌はキクの花弁に病原性があることから、他のキク科分離株と同様であるが、これに加えてゴボウにも特異的な病原性を持つユニークな菌群であると考えられる。*I. perplexans* が茎葉に病徴を現わす植物はパースニップとディルがあり（Channon ら 1969, Koike and Tjosvold 2000）、*I. perplexans* のサブグループ（菌群）を議論するためにはこれら分離株との病原性の比較が必要であるかもしれない。

*Itersonilia* 菌はキク科およびセリ科植物のほか、アブラナ科、シソ科、マメ科、ゴマノハグサ科など、多くの植物から分離されることが報告されている（Gandy, 1966）。ゴボウ跡地の周辺雑草等からも

*Itersonilia* 菌は容易に分離された。しかし、これら分離株はゴボウに病原性を示さなかった。ゴボウ黒条病菌は第一次伝染源として他の植物上から射出胞子が飛散してゴボウに発病が起こるとは考えられず、生活環はゴボウに依存していることが推察されるが、これら伝染方法を含めた考察は第VI章で述べる。

## V 黒条病菌の諸性質

前章でゴボウ黒条病菌として同定された *Itersonilia perplexans* は病原菌としての詳細な研究が少なく、その培養特性や諸性質は不明の点が多い。本章では本菌の培養上の特性や射出胞子の形成、発芽等の条件、酵母株の諸性質などを検討した。

### 1. ゴボウ黒条病菌の生育温度

#### 1) 試験方法

YMA 培地平板の中央に前培養した直径 5mm の含菌寒天を置き、異なる温度条件下で 14 日間培養した。温度は 5, 10, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5 および 30 °C の 9 処理区とした。菌系の生育は 3 日目および 14 日目に測定し、3 日目～14 日目の菌系生育量を 1 日当たりの菌系生育量に換算した。試験は 3 反復で行なった。供試菌株は IB9602 および Blme951 を用いた。

#### 2) 試験結果

菌叢の生育は 5 °C 以上 30 °C 未満で認められた (Fig. 3)。最適生育温度は 22.5 °C であった。1 日当たりの菌系生育量は最大で 1.3～1.8mm と非常に遅かった。供試した 2 菌株の生育は IB9602 株が Blme951 株に比べ生育量が優ったが、温度に対する反応はほぼ同じであった。

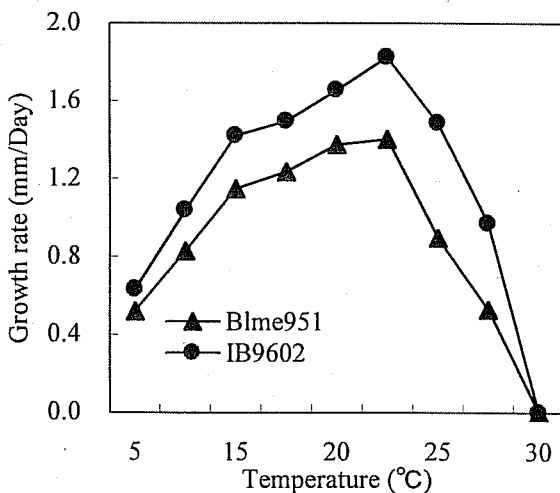


Fig. 3. Growth rates of *Itersonilia perplexans* isolates on yeast malt agar at various temperatures

### 2. 射出胞子の形成温度と培養期間

#### 1) 試験方法

前培養したゴボウ黒条病菌 IB9602 株の含菌寒天 (直径 5mm) を YMA 培地平板の中央部に置床した。これを 5, 10, 15, 17.5, 20, 22.5, 25 および 27.5 °C の暗黒条件下で培養し、1 週間毎に射出胞子の形成量を 3 週間後まで求めた。射出胞子の形成量は置床した母含菌寒天に隣接する菌叢を直径 5mm のコルクボーラーで打ち抜き、3 ディスクを 1ml の滅菌水の入った小試験管に入れ、1 分間タッチミキサーで振盪し、トーマの血球盤で浮遊する射出胞子の濃度を求めた。

#### 2) 試験結果

射出胞子の形成は 10 °C が最も良好で、3 週間を経過しても多くの射出胞子量が得られた (Fig. 4)。5 °C では 1 週間後の形成量が少なかったものの、2～3 週間後では形成量は増加した。15 °C の形成量は 1 週間目が良好で 3 週間目ではやや減少するものの、十分量の射出胞子が形成された。17.5～22.5 °C では 1 週間目に形成が認められるものの、徐々に形成量は減少し、3 週間目では形成が認められないか、わずかの形成に留まった。25 および 27.5 °C では形成が認められなかった。

### 3. 各温度条件下での射出胞子の発芽

#### 1) 試験方法

1/4APDA 培地で 2 週間培養した菌叢に滅菌水を加え、射出胞子を面相筆で掻き取り、 $1 \times 10^4$  個/ml の胞子懸濁液を作成した。これを 1/4APDA 培地平板の表面に噴霧し、所定温度条件下で培養し、12 時間後および 24 時間後の胞子発芽率を光学顕微鏡を用いて調査した。検鏡は 100 倍で 1 視野当たり 10 個程度の射出胞子密度の場所を選び、100 個の射出胞子について発芽管がわずかでも伸長したものを発芽胞子として数えた。温度条件は 5, 10, 15, 20, 22.5, 25, 27.5 および 30 °C の 9 処理で検討した。試験は 3 反復で実施した。供試菌株は IB9602 を用いた。

#### 2) 試験結果

培養 12 時間後における射出胞子は温度条件が 15～30 °C で 50% 以上が発芽した。24 時間を経過すると 80

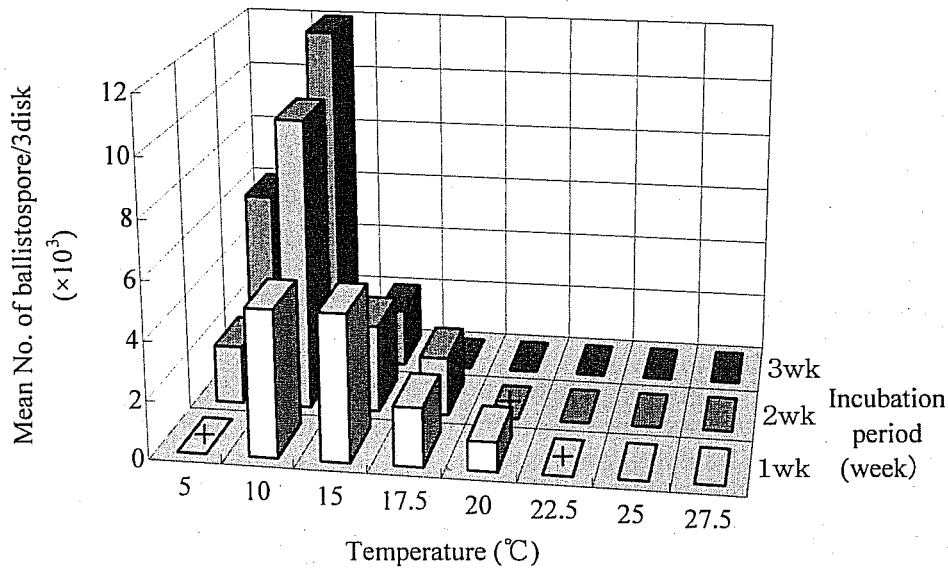


Fig. 4. Effect of temperature on sporulation of *Itersonilia perplexans* IB9602 on yeast malt agar

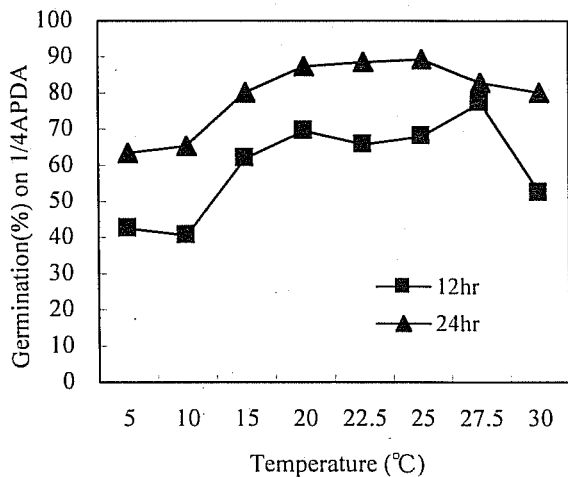


Fig. 5. Effect of temperature on the germination of ballistospore of *Itersonilia perplexans* IB9602 on acidified 25% potato-dextrose agar after 12 or 24 hour

%以上の発芽率となった(Fig. 5)。5～10℃では発芽が遅延するものの、24時間後で60%以上の発芽率に達した。最適発芽温度は20～25℃であった。

#### 4. ゴボウ黒条病菌(菌糸株)から形成される酵母株とそのタイプ

##### 1) 試験方法

1998年の実態調査時に採取したサンプルから分離した菌株および栗山町から分離した保存菌株をPDA培地およびYMA培地で継代培養を繰り返すと酵母細胞の形成が認められた。これら菌株を単胞分離して10%スキムミルク液に懸濁し、-80℃下で保存した。さらにYPMA培地上で培養し、菌糸発生の有無、菌糸伸長株についてはその形態について観察した。

##### 2) 試験結果

実態調査時の採取サンプルから分離した78菌株と栗山町から分離した9菌株の計87菌株から、酵母細胞を形成した菌株は21株であった(Table 11, Plate M)。酵母株はYPMA培地で乳白色の光沢を持つコロニーを示した。酵母株は性質の異なる2種が認められ、酵母状の形態を維持するものをY型、生育の初めは酵母状であるが、やがて菌糸が生じてくるものをY-H型として区別した(Plate Mb)。Y型の酵母株は出芽して増殖し、菌糸、付着器および射出胞子を形成しなかった。Y-H型の酵母細胞から伸長した菌糸はクランプの形成が不完全なシェードクランプを持ち、射出胞子も形成した。また、酵母細胞から発芽して付着器を形成する場合も認められた。Y型が32菌株、Y-H型が10菌株の計42菌株の酵母が得られた。

Table 11. List of yeast isolates of *Itersonilia* tested

Source of isolate		Yeast isolate	
Mycerial isolate	Locality	Type Y <sup>a</sup>	Type Y-H
IB9602	Kuriyama		IB9602-1
IB9802	Abashiri		IY9802-1
IB9808	Abashiri	IBY9818, IBY9831	
IB9812	Tokoro	IBY9819	
IB9815	Tokoro	IBY9832, IY9815-1	
IB9816	Tokoro	IBY9820	
IB9821	Memuro		IBY9814, IBY9821, IY9821-1
IB9831	Asyoro		IBY9822
IB9834	Asyoro		IBY9829, IY9834-1, IY9834-2
IB9835	Asyoro	IBY9806	
IB9837	Ikeda	IBY9803, IBY9823, IY9837-1, IY9837-3	IY9837-2
IB9838	Ikeda	IBY9804, IBY9830, IY9838-1, IY9838-2	
IB9840	Ikeda	IBY9805, IY9840-1, IY9840-2, IY9840-3	
IB9841	Otofuke	IBY9816, IBY9824	
IB9842	Otofuke	IBY9815, IY9842-1, IY9842-2, IY9842-3	
IB9847	Koshimizu	IBY9809	
IB9851	Obihiro	IBY9825	
IB9854	Honbetu	IBY9826	
IB9856	Shimizu	IBY9827	
IB9860	Makubetu	IBY9802, IBY9828	
IB9864	Bihoro	IBY9811	

<sup>a</sup> Y : Yeast strain, Y-H : Yeast-hyphae strain

## 5. ゴボウ黒条病菌酵母株の同定

### 1) 試験方法

酵母 42 株について炭素源の利用等の試験を Boekhout (1998) の方法に従って検討し、*Itersonilia* 菌の酵母の性質と比較した。試験項目はウレアーゼ活性、DNase 活性、25 および 30 °C の生育、50%グルコース条件下での生育、デンプンの分解などの諸性質と炭素源および窒素源の同化性 (39 種) である。炭素源および窒素源の利用はそれぞれ Yeast nitrogen base 培地 (Difco) および Yeast carbon base 培地 (Difco) を用いて、各試薬が 1% となるよう添加して検定した。

### 2) 試験結果

全ての酵母菌株はウレアーゼ活性、DNase 活性が陽性で、担子菌系酵母の特徴を有していた。Y 型酵母の炭素源および窒素源の同化性を試験したところ、3 菌株は Yeast nitrogen base 培地および Yeast carbon base 培地でいずれの試薬を添加しても生育せず、何らかの栄養要求性を持つ菌株と考えられた。残る 29 菌株は Boekhout (1998) の結果とほぼ一致した (Table 12)。Y 型酵母と Y-H 型酵母とはその性質に差はなく、いずれの菌株も *Itersonilia* 菌の酵母株であることが確認された。

## 6. ゴボウ黒条病菌酵母株の病原性

### 1) 試験方法

上記で得られた酵母株 42 菌株を YPMA 培地で培養し、2 日後にコロニーから 2 白金耳程度の菌量を掻き取り、これを 10ml の滅菌水に懸濁し、酵母浮遊液を作製した。これを 6 穴のプラスチックセルトレー (以下 6 パック) で栽培したゴボウ苗 (4 葉期) にガラススプレーを用いて噴霧接種した。接種後はセルトレーをビニル袋に入れ、15 °C 下、12 時間白色光条件下の屋内型人工気象室で生育させた。2 週間後にゴボウにおける発病の有無を調査した。また、各酵母株の母菌株 (菌系株) の病原性も併せて調べた。母菌株は 1/4APDA 培地平板で前培養した菌叢に滅菌水を加え、射出胞子を面相筆で掻き取り、 $1 \times 10^4$  個/ml の胞子懸濁液を作成し、これを噴霧接種して 2 週間後に発病の有無を調査した。

### 2) 試験結果

供試した菌系菌株の 21 母菌株はいずれもゴボウに病原性が認められた。一方、これらから得られた酵母株 42 菌株のうち、Y-H 型の酵母 10 菌株はいずれもゴボウに黒条症状の病斑を形成させ、病原性が認められた。しかし、Y 型酵母の 32 株はいずれの菌株もゴボウに病原性を示さなかった (Table 13)。



**Table 12.** Growth characteristics and assimilation of yeast strains on *Itersonilia perplexans*

Growth characteristics and assimilation	Yeast strain			Boekhout (1998)
	Y-H <sup>a</sup> (10) <sup>b</sup>	YNB <sup>c</sup> + (29)	YNB - (3)	
Urease, DNase, growth at 25°C	+ <sup>d</sup>	+	+	+
Growth at 30°C, growth at 50% glucose, starch formation	-	-	-	-
Glucose, galactose, sucrose, cellobiose, trehalose, raffinose, melezitose, starch, xylose, rhamnose, D-glucosamine, mannitol, succinate, 2-keto-D-gluconate	+	+		+
Maltose, L-arabinose, rhamnose, sorbitol, salicin, nitrate	+	+		V
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+		NT
Melibiose, glycerol, gluconate, citrate	+	V(28)		V
D-arabinose	V(5)	V(18)		V
Lactose	+	-		V
Ribose	V(6)	V(6)		V
Ethanol	V(8)	V(20)		V
α-Methy D-glucoside	V(4)	V(11)		-
Inulin, ribitol, inositol, nitrite	-	-		V
Sorbose, methanol, erythritol, dulcitol, DL-lactate	-	-		-

<sup>a</sup> Y-H : Yeast-hyphae strain, Y : Yeast strain<sup>b</sup> No. of isolate<sup>c</sup> YNB : Yeast Nitrogen Base medium<sup>d</sup> + : positive, - : negative, V : varied, NT : not tested**Table 13.** Pathogenicity of mycelial and yeast isolates of *Itersonilia perplexans* on leaf of edible burdock cv. Yanagawarisou

Type of isolate	No. of isolate	Pathogenicity <sup>a</sup>	
		+	-
Source isolate (mycelial)	21	21	0
Yeast isolate (Y strain)	32	0	32
Yeast isolate (Y-H strain)	10	10	0

<sup>a</sup> Disease was evaluated 14 days after inoculation

## 7. 考 察

ゴボウ黒条病菌は最適生育温度が 22.5 °C で、5 °C では生育するものの、30 °C では生育しないことから、やや低温条件下で活動する菌と考えられる。西原 (1958) が示したキク花枯病菌 (*Itersonilia perplexans*) の温度反応とゴボウ黒条病菌とはほぼ一致した結果であることが明らかとなった。しかし、射出胞子の形成ではキク花枯病菌は 25 °C が最も多く、次いで 20 °C の順であったと記載している。ゴボウ黒条病菌の場合は 22.5 °C 以上ではほとんど射出胞子の形成は見られなかったことから、結果は大きく異なった。また、経時的な形成量の変化を見ると、培養 1 週間後では 15 °C、10 °C で多く、5 °C ではわずかに形成する程度であったが、3 週間後になると 10 °C、5 °C、15 °C の順で、5

°C における形成量は増加してくる。10 °C は培養の初期から 3 週間後まで安定的に胞子形成が見られたことから、射出胞子形成の最適な温度と考えられる。射出胞子の発芽に関してはいずれの温度でも発芽が見られ、24 時間後ではいずれも 60 % 以上の発芽率に達した。射出胞子の発芽に対して温度の影響はそれほど大きくないと考えられる。

*Itersonilia* 菌の大きな特徴として、菌系世代と酵母世代の両方を持つ二形性が挙げられる (Olive 1952, Boekhout 1991)。酵母世代は培養中に菌系菌株を水中に沈めると発生する。この変化は二核の菌系細胞の単核化によって引き起こされる。さらに酵母細胞が単独で菌系を発生させた場合、隔膜に不完全なクランプを形成する (Olive, 1952)。ゴボウ黒条病菌の菌系株の継代培養時に自然発生した酵母細胞はいずれも Boekhout (1998) に記載された性質と一致したことから、菌系株から出現した酵母世代であることが確かめられた。このうち、コロニーの周囲に菌系を再び形成する酵母株は 10 菌株あったが、伸長した菌系には Olive (1952) の記載に一致する不完全なクランプが観察され、単核化が起こった結果、酵母を生じたと考えられる。一方、Y 型の酵母株は交配により、再び 2 核の菌系に戻るが、Boekhout (1991) はこれら *Itersonilia* 菌の交配が 2 因子 (4 極) に支配されていると述べて

いる。すなわち、交配に関わる A 因子と交配後の菌系伸長に関わる B 因子である。 *Itersonilia* 菌は酵母化(単核化)を行い、新たな酵母株と交配し二核の菌系を形成することで、核の組み合わせを交換し、遺伝的多様性や安定性を保っていると考えられる。自然界で本菌の酵母株が単独で分離されないことから、酵母単独で生存できない何らかの要因があるかも知れない。

これら酵母のゴボウに対する病原性を検討してみたところ、Y-H 型菌株にのみ認められた。加えて Y-H 型酵母は菌系上に射出胞子を形成できる。ゴボウ黒条病菌の発病は、射出胞子のゴボウの葉上での発芽、付着器の形成 (Ingold 1983)、組織への侵入という一連の過程で成り立っているのかも知れない。これは Y 型酵母株の付着器形成が認められないことでも裏付けられた。

## VI 黒条病菌の発生生態

*Itersonilia* 属菌の発病条件については諸外国でもほとんど研究されていない。本邦で発生するゴボウ黒条病においても同様で、その発病に及ぼす射出胞子の接種濃度や植物体の感受性、発病に好適な気象条件、伝染方法および栽培条件等は本病の発生生態を解明する上で重要な検討項目である。伝染方法についてもパースニップで *Itersonilia* 菌の種子伝染が報告されており、ゴボウにおいても同様な伝染が起こりうるのかは興味深い。本章ではこれら発生生態に関する試験結果について述べる。

### 1. 射出胞子の接種濃度と発病

#### 1) 試験方法

素焼き鉢で栽培したゴボウ幼苗（品種：柳川理想、鉢当たり 4 株）に各濃度に調整した IB9602 株の射出胞子懸濁液をガラススプレーで噴霧接種し、発病程度を比較した。接種濃度は  $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^6$  個/ml の 5 段階で、対照として滅菌水噴霧のみの無接種区を設けた。接種後はビニール袋に入れ、 $15^\circ\text{C}$  下、12 時間白色光条件下の屋内型人工気象室で生育させた。接種 2 週間後に症状と発病葉率を調査した。

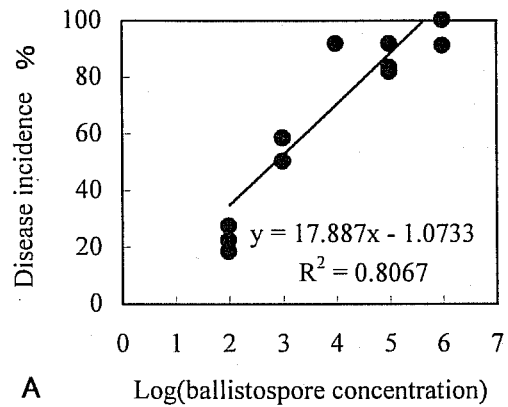
#### 2) 試験結果

葉における発病はいずれの接種濃度でも認められた。葉身および葉柄における発病率は葉身の方が高く、葉身では  $10^2$  個/ml 以上で、葉柄では  $10^3$  個/ml 以上で発病が認められた。接種濃度が増加するに伴って、葉身および葉柄ともに発病率が高まった (Fig. 6)。 $10^2 \sim 10^4$  個/ml 濃度では発病が顕著に増加するが、 $10^4 \sim 10^6$  個/ml 濃度では増加率は停滞した。接種濃度が  $10^4$  個/ml 以上になると縮葉症状が発生し、濃度の増加に伴って発生率は高まった。

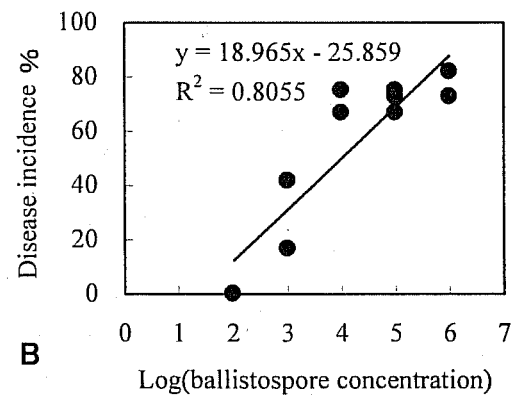
### 2. 葉齢と発病

#### 1) 試験方法

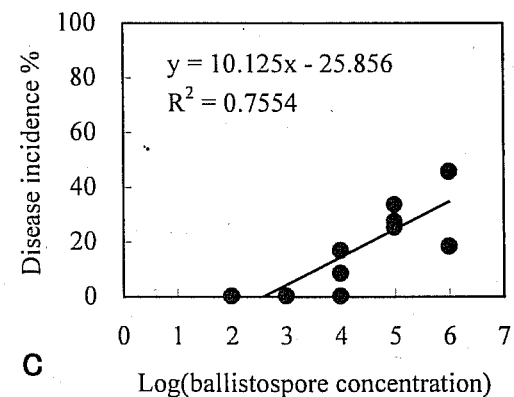
素焼き鉢で栽培したゴボウ（品種：柳川理想、1 回目 49 株、2 回目 58 株）を供試し、本葉の出葉日をそれぞれ記録した。出葉は葉の先端が 0.5cm 伸長したものを出葉とみなした。約 1 ヶ月間温室で栽培し、全葉の出葉日を調査後、ゴボウ黒条病菌 (IB9602 株) の射出胞子 ( $1 \times 10^4$  個/ml) を噴霧接種した。接種したゴボウは鉢ごとビニール袋に入れ、 $15^\circ\text{C}$  の人工気象室で栽



A



B



C

Fig. 6. Effect of inoculum density on disease development in edible burdock plants (cv. Yanagawarisou) inoculated with *Itersonilia perplexans* isolate IB9602 by foliar spraying. (A) leaf, (B) petiole, (C) rugose symptoms

培した。接種 14 日後にそれぞれの葉について発病程度を調査した。発病程度は葉身および葉柄を併せた指数を以下の通り設定し、その平均を算出した。

発病指数 0：病斑形成が認められず，1：葉脈あるいは葉柄にわずかに淡褐色病斑を形成，2：葉および葉脈に黒色病斑を形成，3：葉の大多数に病斑が形成され，奇形などが起こる，4：葉が枯死

試験は2回実施し，両試験のデータを合わせて解析し，出葉後日数が同じ葉のデータが3例以上のものを有効データとした。

## 2) 試験結果

ゴボウ葉は1回目の試験で171葉，2回目の試験で227葉の計398葉が出葉した。1回目の試験では株当たり本葉第5葉まで，試験2では株当たり本葉第4葉までの葉が得られた。葉は出葉後日数別で0日～34日までが得られ，このうち，出葉後23，31，34日の葉は3葉以下であったため，解析データから削除した。出葉後日数と発病の関係を見ると葉齢が若い（新葉）ほど葉の感受性は高まる傾向が顕著に現れた（Fig. 7）。出葉後2週間程度の葉ではほぼ100%の発病葉率で，以後日数が増加するに従って，発病葉率は減少した。出葉後30日を越えた葉では発病が認められなかった。発病程度は出葉後3～5日目の葉で最大となり，日数が増加するに従って，緩やかに減少した。2回の試験結果とも同様の傾向が認められた。

## 3. 温度条件と発病

### 1) 試験方法

鉢植えのゴボウ（品種：柳川理想，鉢当たり4株，3葉期）にゴボウ分離株の射出孢子（IB9602株， $1 \times 10^4$ 個/ml）を噴霧接種した。鉢全体をビニル袋に入れ，10，15，20および25℃の温度条件下で生育させた。これを1日おきに最終14日目まで発病葉率，発病程度（指数は上記参照，葉身と葉柄は分けて調査）および病斑数を調査した。試験は3反復で実施した。発病推移のデータから病勢進展曲線下面積（AUDPC）を求めた。

### 2) 試験結果

葉身の病斑は15および20℃で4日目，10および25℃では6日目に見られた。葉柄の病斑は20℃で4日目，15および25℃で6日目，10℃で8日目に見られた。葉身の発病推移ははじめ20℃で最も発病程度が高いが，日数を経過すると増加は緩慢となった。10℃および15℃では日数の経過とともに発病が増加し，最終的な発病程度は20℃および25℃に比べて優るようになった（Fig. 8A）。25℃では発病がかなり抑制された。葉柄でもはじめ20℃で発病が最も多いが，日数を経過すると増加は緩慢となり，最終発病程度は15℃区の方が20℃区よりも上回った。10℃では初期の発病がかなり遅く，14日目まで発病程度は増加するものの，20℃を越える発病には至らなかった（Fig. 8B）。葉柄でも25℃で発病がかなり抑制された。

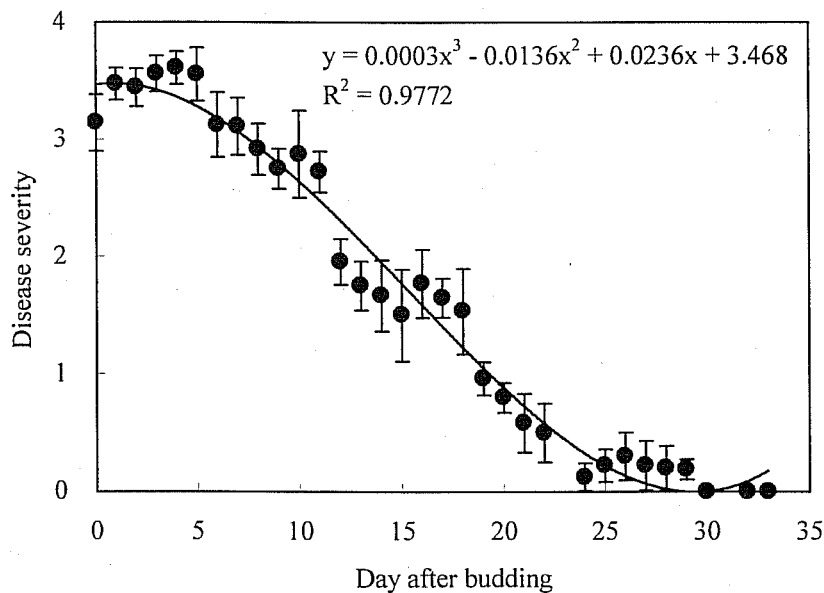


Fig. 7. Effect of leaf stage on disease development in edible burdock (cv. Yanagawarisou) inoculated with *Itersonilia perplexans* isolate IB9602. Disease severity rating based on a 0 to 4 scale, where 0=no symptoms and 4=50% more diseased. Bars represent standard error of the mean

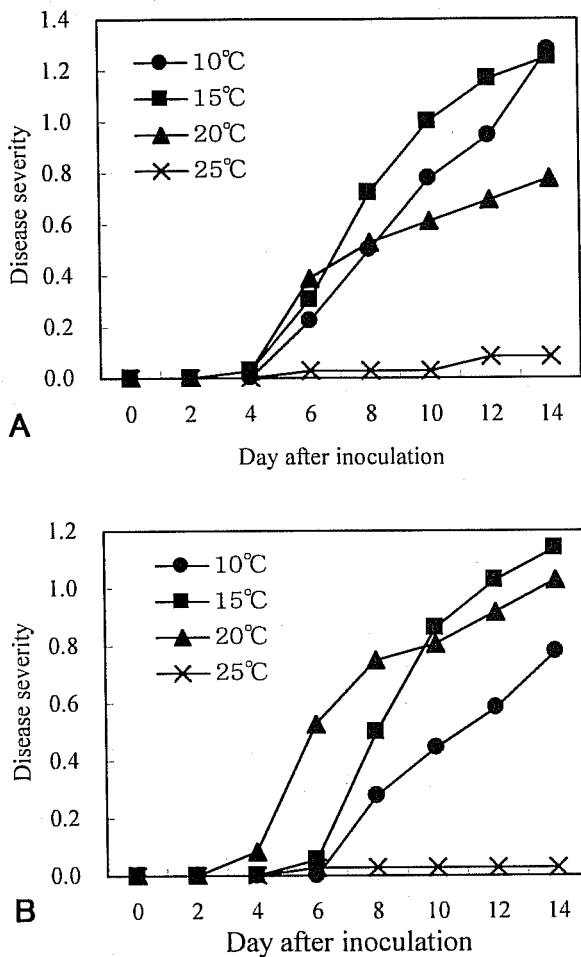


Fig. 8. Effect of temperature on disease development in edible burdock (cv. Yanagawarisou) inoculated with *Itersonilia perplexans* isolate IB9602 by foliar spray. Disease severity rating based on a 0-4 scale (see Fig. 7), (A) leaf, (B) petiole.

接種 14 日後までの発病推移を病勢進展曲線下面積 (AUDPC) で解析すると、葉身では 10 ~ 15 °C の値が大きく、次いで 20 °C であった (Table 14). 25 °C での発病は著しく抑制された。葉柄では AUDPC 値は 15 ~ 20 °C で最も大きく、次いで 10 °C であった。

#### 4. 葉面の濡れ時間と発病

##### 1) 試験方法

6 パックで栽培したゴボウ (品種：柳川理想) を供試し、ゴボウ黒条病菌 IB9602 株の射出胞子 ( $1 \times 10^4$  個/ml) を葉全体に十分かかるよう噴霧接種した。接種したゴボウを人工気象室の 10, 15, 20 および 25 °C の室にそれぞれビニール袋に入れて栽培した。0, 12, 24, 36, 48 および 72 時間後に袋から取り出し、1 時間程度送風機で風乾し、葉上の水滴を除去した後、そのまま 15 °C 条件下の人工気象室で栽培した。灌水は葉にかからないように行い、接種日から 14 日後に葉身と葉柄について発病率および発病程度を調査した。試験は 4 回行った。

##### 2) 試験結果

ビニール袋から取り出した後に 15 °C で栽培したときの人工気象室内の相対湿度は 86.6 % ( $\pm 2.4$ ) ~ 89.0 % ( $\pm 2.5$ ) であった。

4 回の試験で、15 および 20 °C での発病率の推移は濡れ時間が 12 時間でやや異なるものの、ほぼ同じ傾向であった。両温度条件では発病率の増加は濡れ時間が 12 ~ 24 時間で顕著に認められた。24 時間以上の濡れでは発病率の増加は認められないことから、感染に好適な濡れ時間は 24 時間以上と考えられ

Table 14. Area under disease progress curves (AUDPCs) of disease incidence, severity, and disease lesions on the leaf of edible burdock (cv. Yanagawarisou) inoculated with *Itersonilia perplexans* isolate IB9602 at various temperatures.

Temp (°C)	AUDPC <sup>a</sup>					
	Leaf			Petiole		
	DI	DS	LN	DI	DS	LN
10	425b	6.2bc	22.5bc	264b	3.4b	11.8a
15	547c	7.7c	26.2c	478c	6.0bc	24.8b
20	489c	5.3b	18.1b	592c	7.2c	27.4b
25	42a	0.4a	1.4a	25a	0.3a	0.8a

AUDPC, area under the disease progress curve; DI=disease incidence, DS=disease severity, LN=lesion number. Values followed by the same letters in a column are not significantly different ( $P < 0.05$ ) by Fisher's least significant difference test.

<sup>a</sup>AUDPCs were evaluated up to 14 days after inoculation

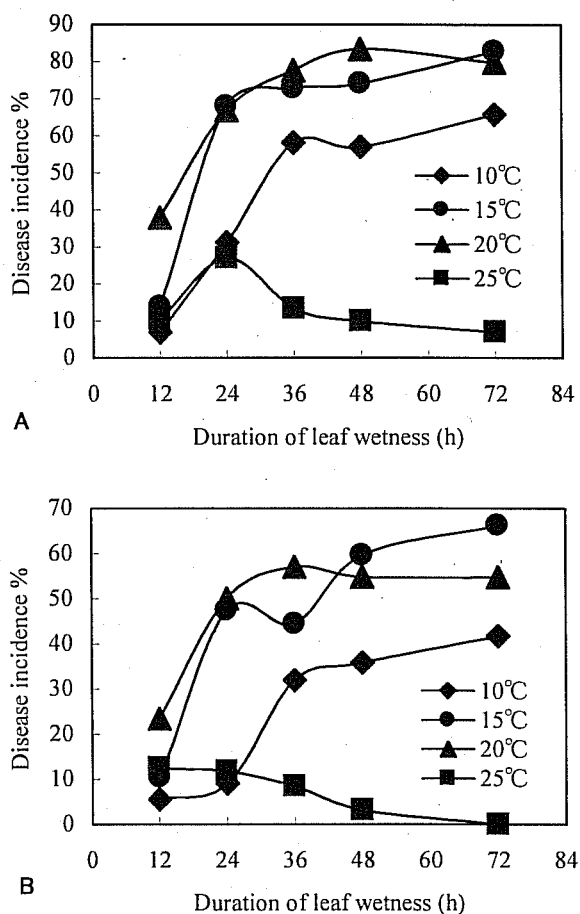


Fig. 9. Effect of temperature and duration of leaf wetness on the disease incidence of edible burdock inoculated with *Itersonilia perplexans*, isolate IB9602. A leaf. B petiole

た (Fig. 9). 10°Cでは、発病葉率の増加は試験によって反応が異なったが、24～36時間の濡れで顕著に認められ、15～20°Cに比べ、12時間程度長い濡れ時間を要した。25°Cでは発病がいずれの濡れ時間でも低かった。また、濡れ時間が発病率に及ぼす影響は葉と葉柄でほぼ同じ傾向であった。4回の試験データを用いて分散分析を行った結果、温度と葉面の濡れ時間で分散は有意となり、温度と濡れ時間の相乗効果が認められた (Table 15)。

## 5. 湿度条件と射出胞子の形成

### 1) 試験方法

各種の相対湿度は Winston and Bates (1960)の方法により異なる塩類飽和液を用いて作成した。1回目の試験で塩類飽和液は 15°C条件下で 56, 70, 81 および 86.5%の相対湿度を得るために、それぞれ硝酸カルシウム 12水和物、硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウムおよび塩化カリウムを用いた。2回目は 15°C条件下で 86.5, 94, 95.5 および 99%の相対湿度を得るために、それぞれ塩化カリウム、酒石酸ナトリウム、硝酸カリウム、リン酸2水素カリウムを用いた。対照として脱イオン水 (相対湿度 100%) を供試した。これら溶液を円筒形のプラスチックパック (直径 11cm × 高さ 6.5 cm) に 50ml 入れた。中央に直径 9cm の滅菌シャーレを入れ、これに 1/4APDA 培地を薄く伸ばしたスライドガラスを 1枚置いた。上蓋の中央に IB9602 株を接種して得られた黒条病の罹病葉柄 (片側のみ罹病した病斑で長さ 1cm, 0.5%次亜塩素酸ナトリウムで 1分殺菌) を貼り付けた。24時間でスライドガラスを交換し、48時間までスライドガラスを設置した。それぞれのスライドガラス上に落下した射出胞子を光学顕微鏡下で数えた。試験は 3反復で行った。

Table 15. Analysis of variance for effects of temperature and duration of leaf wetness on the disease incidence of edible burdock inoculated with *Itersonilia perplexans*, isolate IB9602

Source	Leaf					Petiole				
	df	SS	MS	F	P	df	SS	MS	F	P
Experiment(E)	3	2.949	0.883	21.0	<0.0001	3	2.364	0.788	36.0	<0.0001
Temp(T)	3	18.803	6.268	149.1	<0.0001	3	6.458	2.153	98.4	<0.0001
Duration(D)	4	9.430	2.357	56.1	<0.0001	4	3.209	0.802	36.7	<0.0001
T×D	12	4.472	0.373	8.9	<0.0001	12	3.260	0.272	12.4	<0.0001
Error	160	6.724	0.042			160	3.501	0.021		

df, degree of freedom; SS, sum of square; MS, mean of square; F, F value

## 2) 試験結果

1回目の試験では相対湿度が86.5%以下の条件下で48時間を経過しても射出胞子の形成は認められなかった。一方、相対湿度100%の条件下では24時間で多数の射出胞子が形成された。2回目の試験では24時間まで86.5, 94, 95.5, 99および100%のいずれの処理区でも射出胞子の形成が認められたが、94%以下では少なかった。24～48時間では95.5%以上でのみ射出胞子の形成が認められた(Table 16)。以上のことから、相対湿度が95%以上の条件下で射出胞子の形成は好適であると考えられた。

**Table 16.** Effects of relative humidity on the production of ballistospores from diseased petiole sections using the fall method<sup>a</sup>

Relative humidity (%)	Number of ballistospore	
	0-24hr	24-48hr
86.5	120±94.7 <sup>b</sup>	0
94.0	12±3.5	0
95.5	306±126.8	435±161.6
99.0	411±151.2	130±8.3
100	880±220.0	494±194.4

<sup>a</sup> Discharged ballistospores were dropped on a slide glass coated with thin layer of 25% acidic PDA under a humidity chamber

<sup>b</sup> Mean±standard error of the mean

## 6. ゴボウ黒条病菌の種子伝染の可能性

## 1) 試験方法

ゴボウ(品種:柳川理想)は前年の栽培圃場で越冬させ、2001年の4月18日に出葉が認められた株を掘り取り、1区4m<sup>2</sup>(30株)の枠圃場(前年までゴボウ未栽培)に移植した。試験は3反復で行い、施肥量はN, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>Oがそれぞれm<sup>2</sup>当たり18, 42, 18gであった。開花始めから約1週間後の8月15日および約3週間後の8月30日にゴボウ黒条病菌IB9602株の射出胞子(1×10<sup>4</sup>個/ml)を株当たり16mlとなるようハンドスプレーで噴霧接種した。第2回接種日から4週間後の9月27日に1区当たり10花器(頭状花で10房、約70～80花穂)を任意に採取した。これを乾燥器(ヤマトDG82)内で25℃、1日乾燥させた後、花穂から種子を取り出し、室温で保存した。

種子からの菌の分離は10月3日に行い、落下法を用いた。すなわち、種子を滅菌水で十分吸水させた

後、プラスチックシャーレの上蓋に両面テープで固定し、これを1/4APDA培地平板上にかぶせた。15℃下で8日間培養し、生育した菌叢を検鏡し、*Itersonilia*菌が分離された種子を保菌種子とした。*Itersonilia*菌は菌糸のクランプ、胞子形成細胞、射出胞子の形成で同定した。

検鏡で確認された*Itersonilia*菌は一部を純粋分離し、ゴボウに対する病原性を調査した。分離株は1/4APDA培地で3週間培養後、6パックで栽培したゴボウ(品種:柳川理想、2～3葉期)6株に、各菌株の射出胞子(1×10<sup>4</sup>個/ml)を10ml噴霧接種した。植物体はビニル袋に入れ、15℃下の人工気象室で2週間栽培し、発病の有無を調査した。

## 2) 試験結果

ゴボウは開花期間が3日程度と短いため、接種花部における花卉の枯死等の症状は確認できなかった。また、採取種子の変色等の発生は認められなかった。

採取種子から*Itersonilia*菌を分離したところ、全ての反復で分離され、保菌率は19～48%と高かった(Table 17)。これら種子から純粋分離できた45菌株についてゴボウに対する病原性を試験しところ、44菌株(97.8%)がゴボウの葉脈および葉柄に黒条症状を再現させ、病原性を有した(Table 18)。

**Table 17.** Isolation of *Itersonilia perplexans* from edible burdock seeds obtained from artificially inoculated flowers

Seed lot	No. of seed	Infested seed	Incidence (%)
I	100	19	19
II	100	48	48
III	100	38	38
Total	300	105	35

**Table 18.** Pathogenicity of *Itersonilia* isolates from infested seeds on edible

Seed lot isolated	No. of isolate	No. of pathogenic isolate	Incidence (%)
I	7	7	100.0
II	23	23	100.0
III	15	14	93.3
Total	45	44	97.8

## 7. 汚染種子の発芽苗における発病

### 1) 試験方法

前出の保菌種子を播種し、幼苗における発病の有無を調査した。各反復の種子を 72 穴のセルトレー 2 枚に播種し、温室（約 20℃）で栽培した。約 1 週間後に出芽を確認し、十分灌水後、ビニル袋に入れ、15℃下の人工気象室で栽培した。2 週間後に発病の有無を調査し、発病苗はさらに落下法で *Itersonilia* 菌の再分離を行った。

### 2) 試験結果

保菌種子を播種したところ、反復により発芽率は異なり、約 34～74%であった。幼苗を温室条件下で栽培すると、子葉の葉柄あるいは第 1 葉の葉脈および葉柄に黒条症状が発生した (Plate V)。発病苗率は 1.3～21.5%で、いずれの反復でも発病が認められた (Table 19)。発病した苗の病斑全てから *Itersonilia* 菌が再分離された。

**Table 19.** Frequency of natural black streak infection on edible burdock seedlings from infested seeds

Seed lot	No. of seed tested	Germination		Infection	
		No. of seed	Incidence (%)	No. of seedlings	Incidence (%)
I	144	77	53.5	1	1.3
II	144	49	34.0	3	6.1
III	144	107	74.3	23	21.5
Total	432	233	53.9	27	11.6

## 8. 初発時期と発生推移

### 1) 試験方法

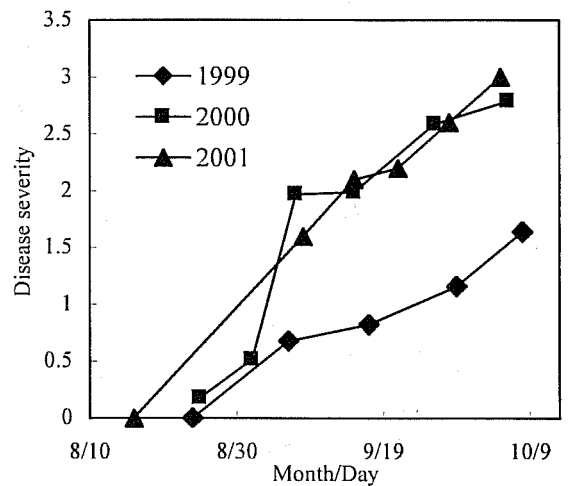
1997～2001 年の 5 年間、道立十勝農業試験場内のゴボウ圃場で、黒条病の初発を随時観察した。1999～2001 年は初発以降の発病程度および枯死・折れ率を 10 月上旬まで計 5～6 回調査した。発病程度は 6 段階の指数を以下の通り設けて算出した。

- 0：病斑なし
- 1：葉および葉柄にわずかに病斑が見られる
- 2：葉および葉柄に病斑が多数見られる
- 3：葉柄の折れが見られ、50%以下の折れ率
- 4：葉柄の折れが 50%以上
- 5：枯死

30 株を調査し、その平均値を示した。試験は 3 反復で実施した。

### 2) 試験結果

各年のゴボウ黒条病の初発日は 7 月 21 日～8 月 25 日、年次間で差が認められた。初発以降の発生推移を見ると、1999 年は初発日以降の病勢の進展が緩慢で 10 月 8 日の発病指数は 1.64 と中程度の発生であった。枯死・折れ率は 2.2%でほとんど認められなかった。2000 年は 9 月 1 日まで発病が緩慢であったが、9 月 7 日にかけて急激に進展し、10 月 6 日には発病程度が 2.8 と多発生になった。2001 年は初発日以降病勢の進展が直線的に増加し、10 月 5 日の発病程度は 3.0 と多発生になった (Fig. 10)。また、2000 年と 2001 年は茎葉の枯死・折れが 9 月 3 半旬から見られ始め、10 月上旬の最終調査時で枯死・折れ率はそれぞれ 22.3%、32.7%となった。



**Fig. 10.** Comparison of disease development of black streak on edible burdock leaves in the different year (Memuro)

## 9. 播種時期と初発時期、発生量の関係

### 1) 試験方法

1998 年に道立十勝農業試験場内で 5 月 3 日、20 日、6 月 4 日播種の 3 処理区を設けてゴボウ（品種：柳川理想）を栽培した。調査は初発日を確認し、発病率と枯死率率について、7 月 30 日～10 月 1 日まで計 4 回行った。

### 2) 試験結果

初発日は 5 月 3 日と 5 月 20 日播種区とも 7 月 21 日、また、6 月 4 日播種区では 8 月 7 日と遅かった (Fig. 11)。発病率は播種時期が早いほど高い傾向が認められた。しかし、最終調査時の 10 月 1 日では発病率でほとんど差は認められなかった。枯死率は 9 月



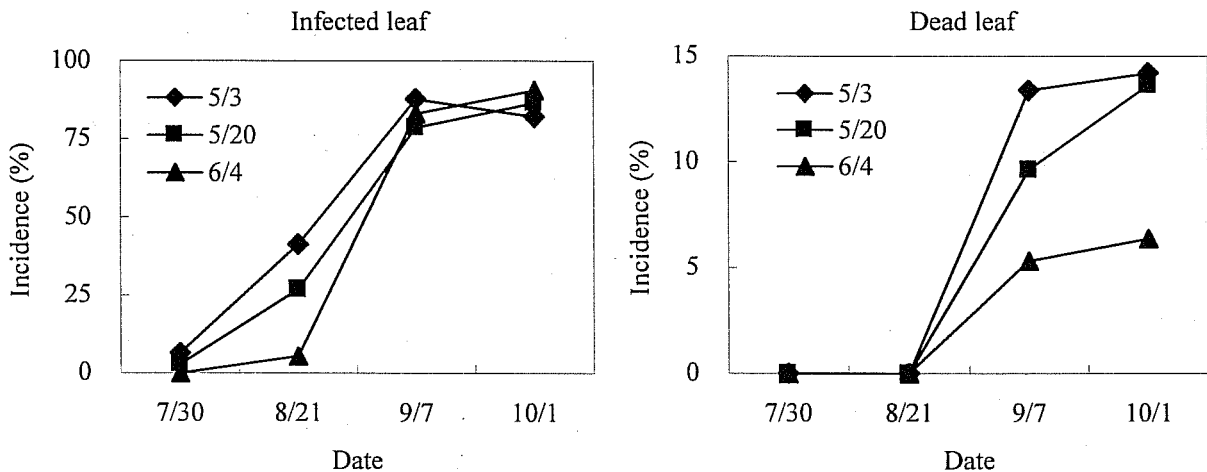


Fig. 11. Disease incidence (%) of black streak at various planting date in the field

7日の調査で播種時期が早いほど発生は多い傾向にあるが、10日1日の調査では5月3日播種区および5月20日播種区の差はほとんど見られなかった。一方、6月4日播種区では他の試験区より明らかに低かった。

## 10. 圃場における病斑の発生推移

### 1) 試験方法

1997年に道立花・野菜技術センター内の試験圃場で実施した。5月8日にゴボウ(品種:常豊)を播種し、7回の調査時期(8月14日, 26日, 9月2日, 9日, 16日, 22日および30日)に8.9m<sup>2</sup>当り全株のゴボウを抜き取り、全葉の病斑形成率を部位ごと(葉表, 葉裏および葉柄)に調査した。

### 2) 試験結果

1回当たりの調査株数は143~188株であった。病斑の形成部位は葉および葉柄と比較すると葉に形成される割合が高かった。葉での病斑形成は表側および裏側で調査した結果、表側に形成される割合が高かった。この割合は7回の調査時期いずれにおいても、変わらなかった(Fig. 12)。9月下旬に葉表の病斑が顕著に増加したが、葉裏および葉柄では認められなかった。

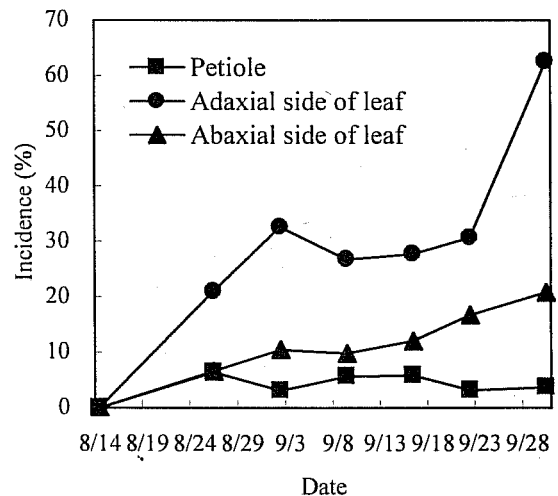


Fig. 12. Disease development of black streak on the position of edible burdock leaves

区当たりの面積はそれぞれ13.2, 14.0, 15.0, 16.0m<sup>2</sup>とした。試験は2反復で実施した。8月11日から9月24日までの計7回の発病葉率を調査した。

### 2) 試験結果

うね幅が狭いほど初発時期が早く、発病葉率も高い傾向が認められた(Fig. 13)。最終調査時の9月24日の発病葉率は最も狭い66cmで36.8%、最も広い80cmで9.8%とその差が大きかった。

## 11. うね幅と発病との関係

### 1) 試験方法

1999年に花・野菜技術センター圃場で試験した。5月8日にゴボウを播種(品種:柳川理想)し、株間7cm, 施肥 N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O = 18:42:18kg/10a, 高うね栽培した。うね幅は66, 70, 75および80cmの処理区を設け、1

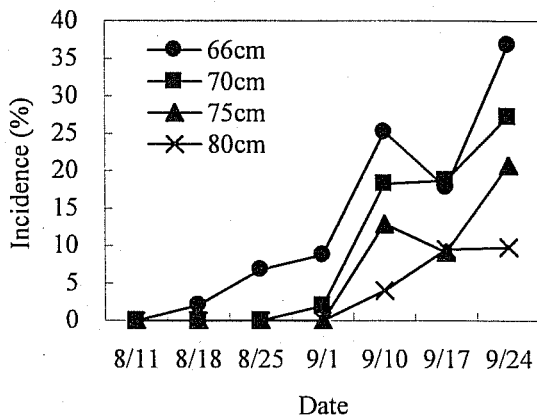


Fig. 13. Disease incidence (%) of black streak at various interrow space in the field

## 1 2. 連輪作と発生量の関係

### 1) 試験方法

1999年に十勝農業試験場内のゴボウ連作圃場(5年連作)と輪作圃場(1995~1998年:ゴボウ-野生エンバク-ナガイモ-マリーゴールド)で、ゴボウ(品種:柳川理想)を栽培し、黒条病の発生を比較した。1区当たり30株の発病指数(前出,第IV章8)を8月24日~10月8日まで計5回調査した。試験は3反復で実施した。

### 2) 試験結果

連作圃場の方が輪作圃場よりも発病程度は高く推移した(Fig. 14)。発生初期の9月6日の発病程度は、輪作圃場が0.7、連作圃場が1.4と最も差が大きかったが、その後は徐々に小さくなり、最終調査時の10月8日には輪作圃場が1.6、連作圃場が1.9とほぼ同程度の発生量となった。

## 1 3. 考 察

ゴボウ黒条病の発病は病原菌の接種濃度、ゴボウの葉齢、接種後の温度および葉面の濡れ時間に大きく影響を受けることが明らかとなった。また、相対湿度も罹病組織から落下する射出胞子量に大きく影響を与える。

一般圃場では多発時に葉が縮葉する激しい症状が若葉に発生する(Horita and Yasuoka 2002)。試験結果から考察すると、同症状は若葉が最も感受性が高いことと射出胞子の飛散量の増加によって発生すると考えられる。射出胞子の飛散量は罹病した病斑が高い相対湿度

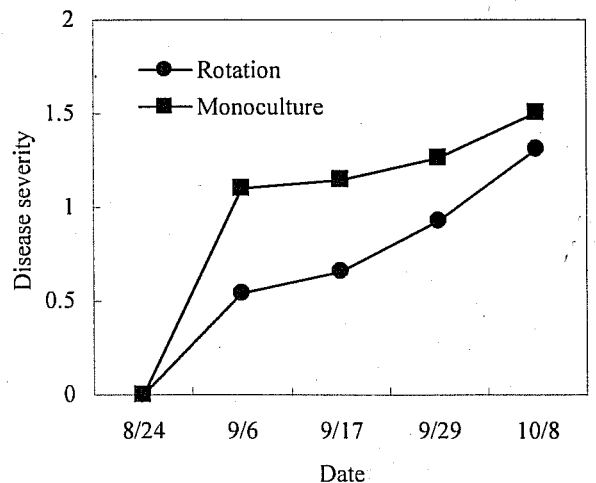


Fig. 14. Comparison of crop rotation and monoculture on disease development of black streak in the field

に長時間遭遇することで射出胞子の形成および離脱が促進されることに起因しているのかも知れない。

圃場における播種時期およびうね幅と発病との関係を検討した結果、播種時期が早いほど初発期が早く、またその後の発病程度も高く推移し、うね幅が狭いほど初発は早まった。このことはいずれもうね間が葉でうっ閉される時期が早まることに起因すると考えられる。葉によるうっ閉が始まると株内の相対湿度は増加し、長時間高く維持される。その結果、降雨の度に株内の相対湿度が高まり、病斑部における射出胞子の形成~離脱量が増加すると考えられる。感受性の高い新葉はこれらうっ閉した葉に覆われた芯部から出葉し、生長しなければならない。温度条件が20℃以下で、降雨が1日(葉面の濡れが24時間)以上続いた場合は確実に新葉に感染がもたらされると考えられる。

北海道十勝地方におけるゴボウの生育特性は西田(1998)により明らかにされている。これによるとゴボウの生育は3つのステージに分けられた。第1のステージは播種後60日までの生育が緩慢な期間、第2のステージは播種後60~120日までの生育が増加する期間、最後のステージは120日以降で植物が衰退する期間に分けられた。第2ステージのうち、播種後90~120日は、根の肥大が最も旺盛となる最大生育期である。5月播種(晩春まき)ではおおよそ8月中旬~9月中旬が最大生育期に該当する。1992~1996年に実施した収量調査で、この最大生育期における生育程度が最終的な収量に最も影響を与えることから、この時期はゴボウの生産上最も重要と考えられる(西田

1998)。従って、この期間の生育を阻害する要因、例えば病害虫および風害などによる葉の損傷は有意に収量減をもたらすと考えられる。特に黒条病は普遍的に発生する病害で、好適な気象条件下では最大生育期に十分蔓延しうることから、収量減をもたらす要因の一つと考えられる。事実、2001年の本病の発生は収量減をもたらすことが明らかにされた。

北海道における黒条病は毎年発生があるものの、多発年は突発的である。多発をもたらす要因は8月および9月の低温と多雨で、これらと密接な関係のある温度、相対湿度、葉面の濡れ（結露）時間や葉齢などが本病の発生に与える影響をそれぞれ解明できた。そのため、本病の防除対策に当たっての研究に大きく貢献したと言える。

本病の第一次伝染源として保菌種子による伝染の可能性を明らかにできた。*Itersonilia* 菌の射出胞子を花器に噴霧すると保菌種子が得られ、保菌種子を播種し、苗における発病も確認した。ゴボウの種子は6月上～中旬に着穂揃となり、順次開花して、7月中旬に開花盛期となり、結実する（飛高 1989）。6月は十分種子感染を起こす温度条件であるが、抽台株は葉によるうっ閉が見られないため、好適な相対湿度となる確率は低いと考えられる。しかし、パースニップでは *I. perplexans* (Syn= *I. pastinacae*) による root canker（本邦未発生）で自然感染による種子伝染が報告されており（Smith 1966）、ゴボウにおいても低率ながら種子伝染は起こると考えられる。

ゴボウでは連作圃場で、初発が早まり、その後の発生量も急増することから、罹病残渣中の病原菌が伝染源となることも十分考えられる。伝染源として保菌種子および罹病残渣がどの程度重要であるかはさらに精査する必要がある。また、健全葉からもゴボウ黒条病菌は分離されることから（データ省略）、葉上に着生して世代を繰り返す、好適な発生環境がもたらされると葉に感染・発病するのかもしれない。

種子伝染性病害の重要性を評価する場合、汚染種子に始まる病気の進行から作物被害に至るまでの疫学的データは重要な解析要因となる（Mew ら 2000）。疫学的データを求める場合、種子伝染への依存度を第一に把握する必要がある。依存度は種子伝染のみによる単利的種子伝染とその他伝染法と相互に関連する複利的伝染に類別される（國安 1999）。本病は種子伝染と土壌伝染、空気伝染（開花期の射出胞子の飛散）を加えた複利的種子伝染と考えられ、各伝染方法の重要度はそれぞれの疫学的データを積み重ね、明らかにして

いく必要がある。

## VII 防除対策

*Itersonilia* 菌の病害に対する防除対策はほとんど試験例がない。同菌によるパースニップの root canker に対して抵抗性品種が開発されているが、耕種的および化学的防除対策の試験例はない。本章ではゴボウ黒条病菌に対する有効薬剤を探索し、その効果的な利用方法について検討した結果を述べる。

### 1. 薬剤等による *Itersonilia* 菌の生育抑制

#### 1) 試験方法

*Itersonilia* 菌酵母株 (IBY9814 および IBY9821) を用いて各種薬剤に対する感受性を試験した。検定には 31 剤を供試した (Table 20)。各薬剤は滅菌水で 1000 倍および 10000 倍に希釈し、この溶液に濾紙ディスク (アドバンテック、抗生物質検定用、直径 8mm、厚手) を浸漬し、風乾後、YPMA 培地平板上へ等間隔に 3 個置床した。この平板に各酵母菌株 ( $1 \times 10^4$  個/ml) を噴霧し、3 ~ 5 日後に濾紙ディスクの周囲に形成された阻止円を測定した。試験は 3 反復で行った。検定は数回に分けて実施し、それぞれ滅菌水浸漬のものを対照とした。

#### 2) 試験結果

培地上で農薬等に対する *Itersonilia* 菌の感受性を試験した結果、14 薬剤で抗菌活性が認められた (Table 20, Plate VI)。このうち、1000 倍希釈液の農薬で 10mm 以上の阻止円を形成したものはイミベンコナゾール乳剤、ジフェノコナゾール乳剤、シプロコナゾール液剤、テトラコナゾール液剤、テブコナゾール水和剤 F、プロピコナゾール乳剤、ピテルタノール水和剤、イミノクタジン酢酸塩液剤、ポリオキシシン複合体乳剤、フルアジナム水和剤およびキャプタン水和剤であった (Table 20)。また、10000 倍希釈液で両菌株とも阻止円が形成された薬剤はジフェノコナゾール乳剤、テトラコナゾール液剤、テブコナゾール水和剤 F、プロピコナゾール乳剤、イミノクタジン酢酸塩液剤およびフルアジナム水和剤であった。いずれの薬剤に対しても 2 菌株は同一の感受性であった。

### 2. 有効薬剤の圃場における防除効果

#### 1) 試験方法

1997 ~ 2000 年に圃場における有効薬剤の効果を検討した。試験は 1997 ~ 2000 年に北海道滝川市の道立

花・野菜技術センター圃場、1999 ~ 2000 年に北海道河西郡芽室町の道立十勝農試圃場で実施した。

花・野菜技術センター圃場では品種「柳川理想」を用いて試験した。施肥は 1997 ~ 1998 年で N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : K<sub>2</sub>O = 12 : 16 : 12 / 10a, 1999 ~ 2000 年で N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : K<sub>2</sub>O = 18 : 42 : 18 / 10a となるよう施用し、播種は標準播種期の 5 月 7 日 ~ 8 日に行った。根域を確保するため、高畦栽培を行った。供試薬剤は 1997 年が 4 薬剤 (フルアジナム水和剤は 2 濃度実施)、1998 年が 3 薬剤、1999 年が 7 薬剤、2000 年が 5 薬剤であった。薬剤散布は 1997 ~ 1999 年が 8 月中旬 ~ 9 月上旬にかけて 3 ~ 4 回、2000 年は 9 月中旬 ~ 10 月上旬にかけて 3 回行い、200 ℓ/10a の薬量を背負式の手動噴霧器あるいは動力噴霧器で散布した。試験は 1 区当たり 10.6 ~ 16.5 m<sup>2</sup>, 3 反復で実施した。調査は 1997 ~ 1999 年が 9 月中・下旬に、2000 年が 10 月 12 日に実施し、年度によって調査項目が異なっているものの、発病株率、発病葉率、発病葉柄率、折れ率および発病程度を調査した。発病程度は指数を 1997 ~ 1998 年が 0 ~ 4 (第 III 章 2 を参照)、1999 ~ 2000 年が 0 ~ 5 (第 VI 章 8 を参照) とし、株ごとに調査し、その平均値で示した。

十勝農試圃場では品種「柳川理想」を用いて試験した。施肥は農家慣行の標準施肥で栽培し、播種は標準播種期の 5 月上旬に行った。供試薬剤は 1999 年が 4 薬剤 (フルアジナム水和剤は 2 濃度実施)、2000 年が 4 薬剤であった。薬剤散布は 1999 年が 8 月中旬 ~ 下旬にかけて 3 回、2000 年が 8 月下旬および 9 月上旬の 2 回実施し、150 ~ 200 ℓ/10a を背負式動力噴霧器で散布した。試験は 1 区当たり 16.4 ~ 19.7 m<sup>2</sup>, 3 反復で実施した。調査は 9 月中旬 ~ 10 月上旬にかけて 2 回実施し、年度によって調査項目が異なっているものの、発病株率、枯死・折れ率および発病程度を調査した。発病程度は指数を 0 ~ 5 (第 VI 章 8 を参照) とし、株ごとに調査し、その平均値で示した。

#### 2) 試験結果

##### (1) 花・野菜技術センター圃場

1997 年の試験では、フルアジナム水和剤の 1000 倍および 2000 倍の防除効果が高く (Table 21)、葉表および葉裏の発病葉率は無散布区と比較して統計的に有意差 (5%) が認められた。葉柄の発病率は 1000 倍のみで有意差が認められた。折れ率では反復間でデータにふ

**Table 20.** Susceptibility of *Itersonilia* yeast isolates to fungicides applied by paper disk method<sup>a</sup>

Fungicide (formulation <sup>b</sup> %)	Inhibition zone (mm, diameter)			
	10 <sup>3</sup> diluent		10 <sup>4</sup> diluent	
	IBY9814 <sup>c</sup>	IBY9821	IBY9814	IBY9821
Imibenconazole (EC, 15%)	13.6	10.2	0.0	0.0
Difenoconazole (EC, 25%)	39.2	38.8	28.5	25.3
Cyproconazole (L, 9%)	21.6	20.8	0.0	0.0
Tetraconazole (L, 11.6%)	29.5	24.3	15.4	13.8
Tebuconazole (F, 40%)	47.1	45.3	35.2	34.7
Propiconazole (EC, 25%)	34.7	34.8	20.1	21.0
Triadimefon (WP, 5%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Triforine (EC, 15%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Bitertanol (WP, 25%)	27.6	26.6	1.7	0.0
Pyrifenox (WP, 5%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Fenarimol (WP, 12%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Copper oxychloride (WP, 32%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Oxolinic acid (WP, 20%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Iminoctadine albesilate (WP, 40%)	6.5	8.9	0.0	0.2
Iminoctadine triacetate (L, 25%)	12.0	14.8	3.8	7.9
Validamycin A (L, 5%)	0.0	0.0	0.0	0.0
BlasticidinS (EC, 1%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Polyoxins (EC, 10%)	23.8	28.7	0.0	1.4
Azoxystrobin (F, 20%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Kresoxim-methyl (F, 41.5%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Fluazinam (WP, 50%)	33.3	31.3	28.5	23.5
Fludioxonil (F, 20%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Diethofencarb·thiophanate-methyl (WP, 12.5·52.5%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Thiophanate-methyl (WP, 70%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Zineb (WP, 72%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Mancozeb (WP, 75%)	3.0	4.5	0.6	0.0
Chlorothalonil (F, 40%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Captan (WP, 80%)	13.8	10.2	0.0	0.0
Dochlofluanid (WP, 50%)	9.6	1.1	0.0	0.0
Hymexazol (L, 30%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Mepanipyrim (F, 40%)	0.0	0.0	0.0	0.0

<sup>a</sup> Paper disk (8mm, Advantec Ltd.) were immersed in each fungicide solution. Inhibition were evaluated with inhibition zone (mm) around the disc on yeast peptone malt agar. The experiments were conducted with three replicates.

<sup>b</sup> WP : wettable powder, EC : emulsifiable concentrate, F : flowable, L : liquid

<sup>c</sup> Yeast isolate tested

**Table 21.** Effect of fungicide applications on incidence of black streak on various edible burdock leaf portions in 1997 (Takikawa)

Fungicide	Dilution	Incidence (%) <sup>b</sup>				
		Leaf	Adaxial side of leaf	Abaxial side of Leaf	Petiole	Snap off
Fluazinam (WP, 50%) <sup>a</sup>	1000	42.5 a	36.2 a	8.7 a	4.7 a	2.4
Fluazinam (WP, 50%)	2000	45.8 a	42.4 a	19.5 a	9.3 ab	3.4
Mepronil (WP, 75%)	1000	65.3 ab	55.4 ab	19.0 a	18.2 ab	5.8
Zineb (WP, 72%)	500	60.2 ab	55.3 ab	22.8 a	15.4 ab	3.3
Imibenconazole (EC, 15%)	1000	77.8 ab	70.9 b	27.4 ab	27.4 ab	7.7
Control	-	90.4 b	86.8 b	44.7 b	35.1 b	8.8

<sup>a</sup> WP : wettable powder, EC : emulsifiable concentrate

<sup>b</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

れが認められ、統計的な有意差は明らかでなかった。葉害は認められなかった。

1998 年では全体的な発生量が少なく、無散布区で葉の発病率が 39.5%に留まった。薬剤散布区ではフルアジナム水和剤 1000 倍およびジフェノコナゾール乳剤 3000 倍の効果が高く、無処理区に比較し 5%で有意差が認められた (Table 22)。葉柄の発病および葉の折れはほとんど認められなかった。葉害は認められなかった。

1999 年では、発病率および発病程度でプロピコナゾール乳剤、テトラコナゾール液剤、フルアジナム水和剤、ピテルタノール水和剤、キャプタン水和剤およびポリオキシシン複合体乳剤の防除効果が認められた。

(Table 23)。特にプロピコナゾール乳剤、テトラコナゾール液剤およびフルアジナム水和剤の効果が高かった。しかし、少発生条件下での試験であった。また、プロピコナゾール乳剤では薬剤散布後に抽出した新葉の展開が不完全で縮葉となる葉害が発生し、イミノクタジン酢酸塩液剤では薬剤の付着した葉が日射を受けると褐色に変色する症状が現れた。その他薬剤で葉害は認められなかった。

2000 年ではテブコナゾール水和剤 F およびフルアジナム水和剤の効果が高く、発病率、発病程度および折れ率で有意な発病抑制効果が認められた ( $P < 0.05$ )。特に折れ率の抑制効果は顕著であった。葉害は認められなかった (Table 24)。

**Table 22.** Effect of fungicide applications on incidence of black streak on edible burdock leaves in 1998 (Takikawa)

Fungicide	Dilution	Incidence (%) <sup>b</sup>		
		Leaf	Petiole	Snap off
Fluazinam (WP, 50%) <sup>a</sup>	1000	15.5 a	3.3	0.4
Difenoconazole (EC, 25%)	3000	11.3 a	0.4	0.0
Cyproconazole (L, 9%)	3000	28.7 ab	4.2	0.4
Control	-	39.5 b	2.7	0.8

<sup>a</sup> WP : wettable powder, EC : emulsifiable concentrate, L : liquid

<sup>b</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

**Table 23.** Effect of fungicide applications on disease development of black streak on edible burdock leaves in 1999 (Takikawa)

Fungicide	Dilution	Incidence (%)	Disease severity
Propiconazole (EC, 25%) <sup>a</sup>	1000	3.3 a <sup>b</sup>	0.03 a
Tetraconazole (L, 11.6%)	3000	5.6 ab	0.06 ab
Fluazinam (WP, 50%)	2000	7.8 abc	0.08 abc
Bitertanol (WP, 25%)	1000	11.1 bc	0.11 bc
Captan (WP, 80%)	800	13.3 c	0.13 c
Polyoxins (EC, 10%)	1000	13.3 c	0.13 c
Iminoctadine triacetate (L, 25%)	1000	54.4 e	0.54 e
Control	-	40.0 d	0.40 d

<sup>a</sup> EC : emulsifiable concentrate, L : liquid, WP : wettable powder

<sup>b</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

**Table 24.** Effect of fungicide applications on disease development of black streak on edible burdock leaves in 2000 (Takikawa)

Fungicide	Dilution	Incidence (%)			Disease severity (Leaf)
		Plant	Leaf	Snap off	
Tebuconazole (F, 40%) <sup>a</sup>	3000	100.0	68.4 a <sup>b</sup>	2.0 a	0.8 a
Fluazinam (WP, 50%)	1000	96.7	79.2 b	1.8 a	1.0 a
Captan (WP, 80%)	800	100.0	93.3 c	6.2 ab	1.4 b
Tetraconazole (L, 11.6%)	3000	100.0	96.1 c	12.6 bc	1.6 bc
Sodium hydrogen carbonate (WS, 80%)	800	100.0	97.0 c	21.9 c	1.8 c
Control	-	100.0	99.1 c	20.6 c	1.9 c

<sup>a</sup> F : flowable, WP : wettable powder, L : liquid, WS : water-soluble powder

<sup>b</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

## (2) 十勝農試圃場

1999年の試験では、フルアジナム水和剤の1000倍および2000倍の防除効果が高く(Table 25)、発病株率および発病程度で無散布区と比較して統計的に有意差( $P < 0.05$ )が認められた。キャプタン水和剤およびテトラコナゾール液剤では9月17日調査で防除効果が認められたが、その程度は低く、9月29日調査時では効果が認められなかった。アゾキシストロピン水和剤Fは防除効果が認められなかった。薬害は認められなかった。

2000年では葉の発病程度および折れ率でテブコナゾール水和剤Fの効果が最も高く、次いでフルアジナム水和剤の順であった。テブコナゾール水和剤Fはいずれの調査時期でも無散布区と有意で、特に枯死・折れ率では顕著な抑制効果が認められた。フルアジナム水和剤の2000倍では10月6日の調査で有意な防

除効果が認められた( $P < 0.05$ )。その他薬剤の効果は一般的に低かった。薬害は認められなかった(Table 26)。

## 3. 薬剤の散布開始時期の検討

### 1) 試験方法

圃場における薬剤の効果試験で効果の高かったフルアジナム水和剤1000倍およびテブコナゾール水和剤Fの3000倍について、有効な散布開始時期を検討した。花・野菜技術センター圃場および十勝農試圃場において、1999～2000年はフルアジナム水和剤、2001年はフルアジナム水和剤およびテブコナゾール水和剤Fについて試験した。

花・野菜技術センター圃場では、1999年の8月中旬～9月中旬に防除を開始し、2回散布を行う3処理区、2000年は同様に9月中旬～10月中旬の2回散布区を3処理区で試験した。2001年は防除開始日を初

**Table 25.** Effect of fungicide applications on disease development of black streak on edible burdock leaves in 1999 (Memuro)

Fungicide	Dilution	Incidence(%)		Disease severity	
		9/17	9/29	9/17	9/17
Fluazinam (WP, 50%) <sup>a</sup>	1000	1.1 a <sup>b</sup>	25.3 a	0.0 a	0.3 a
Fluazinam (WP, 50%)	2000	10.0 a	25.3 a	0.1 a	0.3 a
Tetraconazole (L, 11.6%)	3000	43.3 b	74.7 b	0.4 b	0.8 b
Captan (WP, 80%)	800	46.7 b	76.0 b	0.5 b	0.9 b
Azoxystrobin (F, 20%)	3000	60.0 bc	82.7 b	0.6 bc	1.0 b
Control		74.3 c	92.0 b	0.8 c	1.2 b

<sup>a</sup> F : flowable, WP : wettable powder, L : liquid

<sup>o</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

**Table 26.** Effect of fungicide applications on disease development of black streak on edible burdock leaves in 2000 (Memuro)

Fungicide	Dilution	Incidence(%)				Disease severity	
		Plant		Snap off		(Leaf)	
		9/26	10/6	9/26	10/6	9/26	10/6
Tebuconazole (F, 40%) <sup>a</sup>	3000	81.1	95.6	1.8 a <sup>b</sup>	2.7 a	1.1 a	1.3 a
Fluazinam (WP, 50%)	2000	97.8	100	5.4 ab	6.0 a	1.8 ab	1.9 b
Captan (WP, 80%)	800	100	100	12.2 ab	19.6 b	2.2 b	2.5 c
Tetraconazole (L, 11.6%)	3000	100	100	13.2 ab	16.7 b	2.1 b	2.5 c
Control		100	100	18.6 b	22.3 b	2.6 b	2.8 c

<sup>a</sup> F : flowable, WP : wettable powder, L : liquid

<sup>o</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

発前, 初発 6 日後および初発 16 日後とする 2 回散布区をフルアジナム水和剤およびテブコナゾール水和剤 F について検討し, 無散布区に対する薬剤の防除効果を比較した。耕種概要は 1999 および 2000 年とも薬剤の効果試験圃場と同一である。2001 年は品種が「柳川理想」, 施肥は N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : K<sub>2</sub>O = 19 : 37 : 15 / 10a, 播種は 5 月 4 日に行った。

十勝農試圃場では 1999 年は 8 月上旬～9 月上旬に防除を開始し, 2 回散布を行う 4 処理区, 2000 年は同様に 8 月中旬～9 月上旬の 2 回散布区と初発確認後の 2 回散布区の 4 処理区で検討した。2001 年は防除開始日を初発前, 初発後, 折れ始めとし, 2 回散布を行う 3 処理で検討した。それぞれ全期間防除区と無散布区の調査結果と比較した。耕種概要は 1999 および 2000 年とも薬剤の効果試験圃場と同一である。2001 年は品種が「柳川理想」, 栽培管理は農家慣行で行った。

## 2) 試験結果

花・野菜技術センター圃場では 1999 年の初発日が 8 月 24 日と遅かった。無散布区の最終調査時(9 月 29 日)の発病程度は 0.6 と少発生で, 葉・葉柄の枯死・折れはほとんど認められなかった。散布区に比較し, 最も効果が高かった試験区は, 初発 3 日後から散布を開始した 8 月下旬・9 月上旬散布区であった (Table 27)。

2000 年は初発日が 9 月 8 日と遅かった。試験圃場が湿害の影響で生育が不良で, うね間がうっ閉する時期が遅かったためと考えられる。9 月中旬から試験を開始し, 発病は 9 月中・下旬散布区で最も低かった。折れ率は 9 月中・下旬散布区および 9 月下旬・10 月上旬散布区で同程度の発病抑制効果が認められた (Table 28)。

2001 年は初発日が 8 月 11 日であった。中発生の条



**Table 27.** Effect and timing of fluazinam<sup>a</sup> applications on the disease development of black streak in 1999 (Takikawa)

Treatment	Date (month/day) of application				Incidence of leaf (%)	Disease severity
	8/17	8/27	9/6	9/17		
A	○	○	-	-	33.3 a <sup>b</sup>	0.33 a
B	-	○	○	-	28.3 a	0.28 a
C	-	-	○	○	31.7 a	0.32 a
Control	-	-	-	-	56.7 b	0.57 b

<sup>a</sup> Fluazinam (WP,50%), ×1000<sup>b</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test**Table 28.** Effect and timing of fluazinam<sup>a</sup> applications on the disease development of black streak in 2000 (Takikawa)

Treatment	Date (month/day) of application				Incidence (%)			Disease severity (Leaf)
	9/13	9/21	10/4	10/13	Plant	Leaf	Snap off	
A	○	○	-	-	100.0	87.1 a <sup>b</sup>	7.4 ab	1.2 a
B	-	○	○	-	100.0	91.6 a	6.8 a	1.3 a
C	-	-	○	○	98.3	96.9 b	23.4 c	1.8 b
Control	-	-	-	-	100.0	99.5 b	21.4 bc	1.8 b

<sup>a</sup> Fluazinam (WP,50%), ×1000<sup>b</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test**Table 29.** Effect and timing of fungicides applications on the disease development of black streak in 2001 (Takikawa)

Fungicide <sup>a</sup> of application	Starting point	Date (month/day) of application				Incidence (%)			Disease severity (Leaf)
		8/7	8/17	8/27	9/7	Plant	Leaf	Snap off	
F	Before <sup>b</sup>	○	○	-	-	93.3	78.1 bcd <sup>c</sup>	0.0 a	0.9 a
F	After 6 days	-	○	○	-	96.7	82.4 bcd	3.3 a	1.1 abc
F	After 16 days	-	-	○	○	100.0	90.8 cde	6.2 a	1.3 c
T	Before	○	○	-	-	100.0	70.3 b	2.0 a	0.9 ab
T	After 6 days	-	○	○	-	86.7	66.8 ab	2.3 a	0.8 ab
T	After 16 days	-	-	○	○	100.0	91.2 de	5.7 a	1.3 c
Control	-	-	-	-	-	100.0	100.0 e	27.2 b	1.9 d

<sup>a</sup> F : Fluazinam (WP,50%), ×1000, T : Tebuconazole (F, 40%), ×3000<sup>b</sup> Day was based on first disease occurrence<sup>c</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

件下で最終的な折れ率は 27 %程度に達した。最も高い防除効果が得られたのはフルアジナム水和剤区の初発前(4日前)散布開始区とテブコナゾール水和剤Fの初発6日後の散布開始区で、初発期前後に防除を開

始する試験区で効果が高かった(Table 29)。初発16日後に薬剤散布を開始する試験区ではいずれの薬剤も防除効果が低かった。

十勝農試圃場では 1999 年の初発が 8 月 25 日であった。無散布区の最終調査時(9 月 29 日)の発病程度は 1.2 と少発生で、葉・葉柄の枯死・折れはほとんど認められなかった。2 回散布区のうち効果が高かった試験区は、8 月中旬・下旬散布区、8 月下旬 2 回散布区および 8 月上旬・9 月上旬散布区で、初発日よりも 20 日早い 8 月 5 日に散布を開始した 8 月上旬・中旬区では防除効果が低かった(Table 30)。

2000 年は初発日が 8 月 16 日、葉・葉柄の枯死・折れは 9 月 15 日から認められた。無散布区における最終調査時(9 月 29 日)の発病程度は 2.8、枯死・折れ率は 22.3 % と多発生であった。2 回散布区のうち効果が高かった試験区は、8 月中旬・下旬散布区、初発直後散布・8 月下旬散布区、8 月下旬・9 月上旬散布区で

あった。9 月上旬・中旬散布区では明らかに防除効果が劣った。(Table 31)。

2001 年は初発が 8 月 13 日であった。無散布区最終調査時(10 月 5 日)の発病程度は指数の平均で 3.0、枯死・折れ率は 32.7 % と多発生で過去 3 カ年のうちで最も発生量が多かった。本年は防除開始時期を初発前、初発直後および葉柄の折れ始めの時期に設定して比較したところ、フルアジナム水和剤とテブコナゾール水和剤 F とも初発直後に防除を開始した試験区で高い防除効果が認められた。また、折れ始めの開始時に散布を開始した区では、両剤とも発病程度、枯死・折れ率は無散布区に比較して有意差がなく、防除効果は認められなかった(Table 32)。

**Table 30.** Effect and timing of fluazinam<sup>a</sup> applications on the disease development of black streak in 1999 (Memuro)

Treatment	Date (month/day) of application					Incidence (%)		Disease severity	
	8/5	8/14	8/20	8/27	9/6	9/17	9/29	9/17	9/29
A	○	○	○	○	○	3.3 ab <sup>b</sup>	13.3 a	0.03 ab	0.13 a
B	○	○	-	-	-	18.9 c	54.7 b	0.20 bc	0.63 b
C	-	○	○	-	-	14.5 abc	28.0 a	0.14 abc	0.29 a
D	-	-	○	○	-	1.1 a	25.3 a	0.01 a	0.25 a
E	-	-	-	○	○	30.0 c	29.3 a	0.32 c	0.29 a
F	-	-	-	-	-	74.3 d	92.0 c	0.82 d	1.16 c

<sup>a</sup> Fluazinam (WP,50%), ×1000

<sup>b</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

**Table 31.** Effect and timing of fluazinam<sup>a</sup> applications on the disease development of black streak in 2000 (Memuro)

Treatment	Date (month/day) of applications						Incidence(%)				Disease severity		No. of leaf (10/5)
							Plant		Snap off				
	8/14	8/19	8/25	8/31	9/5	9/15	9/28	10/5	9/28	10/5	9/28	10/5	
A	○	-	○	-	○	○	82.2	97.8	2.4 a <sup>b</sup>	3.6 a	1.2 a	1.4 a	3.3 a
B	○	-	○	-	-	-	95.6	100	3.9 a	8.8 a	1.6 ab	1.9 a	3.0 ab
C <sup>c</sup>	-	○	-	○	-	-	95.6	100	2.9 a	6.6 a	1.4 a	1.7 a	2.9 b
D	-	-	○	-	○	-	100	100	5.4 a	6.0 a	1.8 ab	1.9 a	3.1 ab
E	-	-	-	-	○	○	100	100	15.1 b	17.2 b	2.5 bc	2.6 b	2.7 b
F	-	-	-	-	-	-	100	100	18.6 b	22.3 b	2.6 c	2.8 b	2.8 b

<sup>a</sup> Fluazinam (WP,50%), ×1000

<sup>b</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's least significant difference test

<sup>c</sup> Fungicide application started after finding the first disease occurrence of black streak

**Table 32.** Effect and timing of fungicides applications on the disease development of black streak in 2001 (Memuro)

Fungicide <sup>e</sup> of application	Starting point	Date (month/day) of application						Incidence(%)						No. of leaf (10/5)
								Plant		Snap off		Disease severity		
		8/10	8/16	8/20	8/29	9/15	9/26	9/28	10/5	9/28	10/5	9/28	10/5	
F	Before <sup>b</sup>	○	-	○	○	○	-	84.5	84.5	0.0 a <sup>c</sup>	0.4 a	0.9 ab	0.9 ab	2.3 d
F	Before	○	-	○	-	-	-	97.8	98.9	1.9 a	5.6 a	1.4 b	1.6 c	2.7 cd
F	after	-	○	-	○	-	-	90.0	90.0	0.0 a	1.8 a	1.1 b	1.2 abc	2.0 cd
F	after	-	-	-	-	○	○	100	100	14.2 bc	18.5 bc	2.4 c	2.6 d	2.9 a
T	Before	○	-	○	-	-	-	97.8	98.9	1.5 a	4.6 a	1.4 b	1.6 bc	2.6 bc
T	after	-	○	-	○	-	-	38.9	51.1	0.0 a	0.0 a	0.4 a	0.6 a	2.7 cd
T	after	-	-	-	-	○	○	100	100	9.7 b	22.7 b	2.2 c	2.7 d	1.9 ab
Control		-	-	-	-	-	-	100	100	18.1 c	32.7 c	2.6 c	3.0 d	1.9 a

<sup>a</sup> F: Fluazinam (WP,50%), ×1000, T: Tebuconazole (F, 40%), ×3000

<sup>b</sup> Day was based on first disease occurrence

<sup>c</sup> Means within columns followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$  according to Fisher's protected least significant difference test

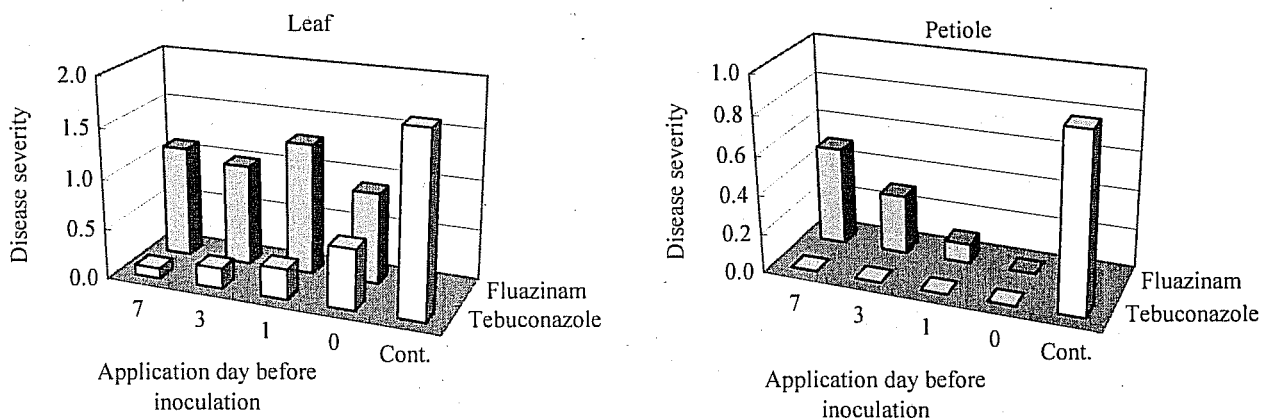
#### 4. 薬剤の展開葉処理による中心葉の防除効果

##### 1) 試験方法

6穴のプラスチックセルトレーでゴボウを3葉期まで栽培し、展開した第2葉にフルアジナム水和剤(1000倍)およびテブコナゾール水和剤F(3000倍)の薬液を面相筆で塗布し風乾した。薬剤処理区は接種日から7日前、3日前、1日前および当日の4処理区をそれぞれ設けた。接種は黒条病菌 IB9602株の射出胞子( $1 \times 10^4$ 個/ml)をガラス噴霧器を用いて接種し、ビニル袋に入れて15℃で生育させ、14日後に第3葉における発病を調査した。

##### 2) 試験結果

フルアジナム水和剤およびテブコナゾール水和剤Fは第2葉に塗布することで第3葉の発病を抑制させた(Fig. 15)。フルアジナム水和剤に比べ、テブコナゾール水和剤Fの方が全体的に防除効果が高かった。葉と葉柄では葉柄での防除効果が高かった。薬剤の処理日別に防除効果を見るとフルアジナム水和剤では葉の発病でいずれの処理日も同程度の防除効果が認められたが、葉柄では接種日に近い薬剤散布区ほど効果が高かった。一方、テブコナゾール水和剤Fは葉で7日前処理が最も高く、接種日に近いほど発病は増加した。葉柄では発病が全く認められなかった。



**Fig. 15.** Influence of black streak development on the third leaves of edible burdock by fungicides applications on second leaves

## 5. 考察

*Itersonilia* 菌に対して抗菌活性を持つ薬剤の探索は今までに報告がない。培地上で *Itersonilia* 菌に対する抗菌活性を試験した結果、17 薬剤に抗菌活性が認められた。このうち、フルアジナム水和剤およびエルゴステロール生合成阻害剤（イミベンコナゾール乳剤、ジフェノコナゾール乳剤、シプロコナゾール液剤、テトラコナゾール液剤、テブコナゾール水和剤 F、プロピコナゾール乳剤およびピデルタノール水和剤）は高い抗菌活性を有した。さらに圃場条件下で実用的な効果をもたらした薬剤はフルアジナム水和剤（1000 倍）およびテブコナゾール水和剤 F（3000 倍）の 2 剤であった。フルアジナム水和剤は本病に対して農薬登録を有し、北海道で本病に対する唯一の指導参考上の薬剤である（北海道農政部農業改良課・北海道病害虫防除所編 2005）。テブコナゾール水和剤 F は未登録である。

薬剤の効果的な散布方法は初発直後～初発 6 日後程度に初回散布を行い、10 日間隔で 2 回程度実施する方法が最も効果が高く、実用性に優れた。従って、実際の防除体系はゴボウの生育状況および気象経過などを参考にうね間が葉で覆われる時期の特に降雨後に圃場を観察し、初発病斑が確認されたら、薬剤散布を開始することが推奨されている。病斑は葉表で最も形成されやすかったことから、50 株程度の葉表を良く観察する必要がある。

薬剤による防除は多くの病害で暦日によるスケジュール散布が行われている場合が多いが、望ましい方法はその発生生態に基づいて防除適期が決定されることである（吉野 1985）。イネいもち病ではその目安となる基準として、株間湿度や植物体の感受性に関連づけられる作物の生育ステージで現すのが最も望ましいとされている。ゴボウの場合、その生育ステージが細かく表現できないことから、茎葉によりうね間が覆われる時期とせざるを得なかった。また、要防除水準の検討については薬剤の散布回数が少ないことおよび気象変動の大きい突発性病害であることを勘案すると、現段階では難しい。今後さらに疫学的な研究に取り組めば、感染好適日などを設定した発生予察に基づいた防除体系も可能となるであろう。

防除の開始期となる初発期はゴボウの葉の生育が旺盛で、うね間が一面覆われるほど繁茂している。そのためスプレーヤで上部から薬剤を散布しても、薬液が内部の葉に十分到達できるかが懸念される。特に感受性の高い未展開の新葉が地際部からわずかに抽出した

場所には薬液がほとんど付着できないと考えられる。そこでフルアジナム水和剤およびテブコナゾール水和剤 F を外葉に薬剤を散布しただけで、中心葉（新葉）の発病を抑制できるか試験した。フルアジナム水和剤は散布後 7 日経過した葉でも発病を抑制し、散布日と射出胞子の接種日が近いほど発病は低下した。しかし、フルアジナム水和剤は残効性や耐雨性を持ち、予防効果に優れているものの、浸透移行性は持たないとされている（日本植物防疫協会編 2001）。フルアジナムの防除効果は病原菌への直接的な抗菌作用に加え、ゴボウ宿主への抵抗性を付与する等の作用もあるかもしれない。農薬の中には強い殺菌力を有し、かつ、ファイトアレキシン等の生成を誘導するものが知られている（石崎 1987）。一方、テブコナゾール水和剤は浸透移行性を持つ薬剤で、射出胞子接種 7 日前処理が最も発病を抑制した。以上の結果から、両剤はゴボウ黒条病に対してある程度繁茂した生育状況下でも効果を十分に発揮できる薬剤であることが明らかとなった。

## VIII 総合考察

ゴボウ黒条病は北海道で古くから発生していた病害であるが、その発生実態はほとんど把握されていなかった。1998年の全道的な発生状況の調査から、本病は北海道のゴボウ産地で広く発生していることが明らかとなった。また、本試験で取り組んだ1997年以降の花・野菜技術センター圃場で発生が毎年見られたことから、ゴボウでは最も普遍的に発生する病害といえる。しかし、発生分布は今のところ北海道に限られている。このことは本道が本病菌の発生環境に最も好適な気象要因をもたらすためと考えられる。

本州以南では春まき栽培が主流であるため（飛高1989）、気象的には本病菌に好適な梅雨の時期はまだゴボウの生育ステージが初期生育段階であることから、葉によるうね間へのうっ閉度は少なく、発病が起これないと類推される。さらにその後の7～8月の高温条件（25℃以上）は、本病の蔓延を抑制するであろう。一方、秋まき作型も本州では一部存在するが、6月末の収穫時にわずかに本病が発生するかも知れない。しかし、ゴボウが抽苔するリスクがあり、作付けはわずかである（飛高、1989）。

ゴボウ黒条病は1988年の谷井らにより病名が提案されたが、病原菌については不明のままであった。本研究により培養的性質、特に射出胞子形成条件等が明らかになったことで研究が進展し、射出胞子を用いた多くの試験に取り組むことができた。その結果、ゴボウ分離菌は他の宿主植物からの *Itersonilia* 菌と明らかに区別できる病原性を持つことが明らかとなった。*Itersonilia* 属菌は現在1属1種で、ゴボウ分離株は形態的特徴から本種の *Itersonilia perplexans* Derx に一致する。しかし、病原性の観点から見ればゴボウ分離菌は *I. perplexans* の中でも特徴的である。つまりキクの花弁に病原性を示すことは他のキク科植物から分離された *I. perplexans* と同様であるが、ゴボウ茎葉に病原性を持つ菌株はゴボウ分離株のみで特異な菌群であった。このことから、キク科植物に感染する *I. perplexans* の中でひとつのサブグループと考えられる。また、パースニップやディルなどのセリ科植物に特異な病原性を持つ分離株はキク科分離株と比較して、明らかに寄生性は異なり、病原性の異なる菌群と考えられる。*Itersonilia* 菌はキク科およびセリ科以外の植物からも多数分離されていることから（Gandy 1966）、分離植物の異なる *Itersonilia* 菌の寄生性を比較することで、

今後、病原性の分化等の特性を明らかにできるであろう。

真菌を大きく3つの基本タイプに分類すると菌糸状真菌（糸状菌）、単細胞性真菌（酵母）および二形性真菌に分類される（山口1999）。*Itersonilia* 菌は菌糸状の栄養形と酵母状の栄養形を持つ二形性真菌に属する。植物病原菌の中で、二形性真菌の代表的な菌はトウモロコシ黒穂病菌の *Ustilago maydis* である。同菌の二形性と病原性との関連が、近年、多くの研究成果をもたらした。生物学的・病原学的役割が解明されつつある（Bölker 2001; Lengeler ら 2000）。同菌の病原性発現は単核である小生子（酵母状を示す）が葉に着生して生活し、異なる形質をもつ小生子が融合し、二核化することから始まる。二核化した細胞は菌糸状となって伸長して感染を起し、黒穂胞子となって増殖する。胞子内では核融合が行われ、発芽により前菌糸、小生子を形成する。病原性の支配に最も重要なのは小生子の融合から菌糸形成の過程で、これは2つの交配因子（A および B）に支配されている。A 因子は細胞の融合に関与し、フェロモンに基づいた細胞認識を支配し、同一因子を持つと融合は起これない（Bölker ら 1992）。B 因子は細胞融合後の核融合と病原性の発現に関与する（Gillissen ら 1992）。*Itersonilia* 菌酵母株の交配試験でも2因子による交配システム（4極）が最も一致することが指摘されている（Bockhout 1991）。

*Itersonilia* 菌のゴボウ株（菌糸株）からも酵母菌株（単核）が培養中に自然発生し、42菌株が得られた。このうち、haploid growth を起こして菌糸を生ずる菌株（Y-H型）はゴボウに病原性を持つのに対し、出芽増殖のみで酵母状に留まる菌株（Y型）は病原性を持たない。核の単核化（dikaryon の菌糸から酵母への形態変換）が行われ、Y型酵母になるとゴボウへの病原性は喪失する。一方、Y型酵母同士の組み合わせで混合培養すると細胞融合が認められ、菌糸が出現してくる（データ省略）。さらにこれら組み合わせの酵母を混合してゴボウに接種すると病原性が発現する。この機構は *Ustilago maydis* で明らかにされている二形性形態と病原性との関連に類似しており、*Itersonilia* 菌においても同様の過程を経て病原性が発現することを強く示唆している。

真菌症を引き起す病原真菌は二形性真菌が多いとされる（山口1999）。真菌症はAIDS等による免疫不全

患者が併発する病気として注目され、その病原性発現機構に関して多くの研究がなされてきた (Lengeler ら 2000)。この中で担子菌 *Cryptococcus neoformans* によるクリプトコックス感染症の二形性転換機構や交配様式等は *Ustilago maydis* の機構に良く類似している。しかし、*C. neoformans* の病原性は酵母の形態で引き起こされることから、病原性の発現様式は *Itersonilia* 菌と全く反対であると考えられる。*Itersonilia* 菌の酵母は分類学上 *Cryptococcus albidus* var. *albidus* に最も近いとする見解は興味深い (Boekhout, 1991)。その病原性機構は全く異なると推定される。

自然界から *Itersonilia* 菌の酵母株は分離されていないが、その生活環において二形性を利用して腐生生活と寄生生活を使い分けていることは十分類推される。今後は二形性変換と病原性との関連を詳しく解明することが必要である。また、本菌は他の二形性菌と比べ、菌糸株および酵母株として独自に保存・継代できる利点がある。これは二形性の変換機構解明の好適な研究材料としても利用できるであろう。

ゴボウ黒条病は年度によりその発生が大きく変動する。気象条件あるいはゴボウの生育状況の影響により、変動がもたらされると考えられる。防除対策を構築する上で、その発生生態と多発条件の解明が防除対策への大きな布石になると考えられた。

本病菌の感染条件を調査したところ、射出胞子の好適感染温度は 10～20℃で、低温域で感染しやすいことが明らかとなった。しかし、実際の発生状況を見ると本病の初発時期は 7 月下旬以降で、ほとんどが 8 月である。温度条件は 7～8 月よりも 5～6 月の方が好適条件であるにもかかわらず、実際には発病しない。これは、胞子の形成や飛散に相対湿度が大きく関係しているためと考えられる。ゴボウは茎葉の生育が 7 月下旬頃から旺盛となり、うね間が葉で一面覆われるようになる。これに降雨があると葉面の長時間の濡れおよび好適湿度条件が維持され、発病が起これると考えられる。そのため、葉によるうっ閉が早まる条件である早い播種時期および狭いうね幅では初発が早まる傾向が認められる (安岡・堀田 2002)。加えて、初発後の発生量も同様に温度や降雨による影響を受けるが、夜露の影響も大きい。特に道東 (特に十勝地方) では 8 月中旬頃になると葉に夜露を生じるため、実態調査で道東地方の発生が多い理由なのかもしれない。

病原菌にとって相対湿度の重要性は胞子に与える影響が最も大きく、その形成、生存、発芽および感染に影響を与える (Harrison ら 1994)。多くの病原菌は高

い相対湿度によって直接的あるいは間接的に胞子形成から感染までの過程は促進される。大多数の病原菌は相対湿度 90～100%の時に胞子形成が起こり、98～100%でもっとも顕著となる。*Itersonilia* 菌においても相対湿度の病斑から落下する射出胞子量 (胞子形成～胞子離脱) に与える影響を検討したところ、相対湿度 95.5%以上で豊富になることが明らかとなった。

本病の発生量は 9 月で顕著な増加を見るが、これは 9 月の気象条件に大きく左右されると考えられる。また、葉の感受性は新葉 (芯葉) で最も高いことが明らかとなった。発病や胞子形成の好適条件が長く続いた場合、射出胞子の飛散量が増大して、新葉が感染すると激しい縮葉症状が現れ、激発状態となる (Horita and Yasuoka 2002)。発病程度、特に収量に影響するレベルやそれに影響を与える環境条件については温度、降雨や夜露による葉面の濡れ時間、病斑付近の相対湿度および葉の感受性などのパラメータが複雑に関与して起こると考えられる。この複雑化したパラメータの相互作用を精査することが本病の発生をより正確に捉え、起こりうる激発条件に警鐘を与えることが可能となろう。

第一次伝染源の調査を行ったが、他の植物から分離される *Itersonilia* 菌はゴボウに感染するものは認められなかった。そこで、ゴボウにおける種子伝染のモデル試験を行ったところ、本病菌をゴボウ花部に接種し、約 1 ヶ月後に得られた種子から接種菌が分離され、さらに同種子の幼苗に発病が認められたことから、種子伝染の可能性が示唆された (堀田・安岡 2002)。しかし、市販種子 (300 粒程度) からは *Itersonilia* 菌を分離できなかったこと (データ省略) からみて、種子伝染はあるとしても、低率であると考えられた。また、連作畑では初発後の発病程度も高く推移するため、前年の罹病残渣も重要な伝染源と考えられる。種子消毒の必要性については種子由来の伝染源がどれほどの重要性があるかを把握して議論する必要がある。

ゴボウ黒条病菌に対して有効な薬剤を探索し、実際の発生圃場で防除効果を試験した結果、フルアジナム水和剤 (1000 倍、2000 倍) およびテブコナゾール水和剤 F (3000 倍) の効果が高かった。*Itersonilia* 菌に対して防除効果を持つ薬剤が明らかにされたのは本試験が初めてである。フルアジナム水和剤は 1000 倍で農業登録され (茎葉散布、収穫 21 日前まで、3 回以内)、本薬剤を用いた実用的な防除対策の指導が可能となった。散布時期を検討した結果から、初発直前～初発後 (6 日程度) に初回散布を行い、その 10 日後

に2回目を散布する防除法が最も効果が高く、初発を確認してからの散布で十分高い防除効果が期待できる。この結果に従って、実際の生産現場では①ゴボウの茎葉でうね間が覆われる時期から本病の圃場観察を開始し、初発を確認する、②初発が見られたらすみやかにフルアジナム水和剤（1000倍）を散布し、その10日後に2回目を散布する、の手順で防除が指導されている。

本病の防除対策として耕種的防除を用いる方法はあるが指導される技術となっていない。多発を回避できる播種時期、うね幅についてはその効果については明らかにできたが、ゴボウの品質に与える影響についてはさらに検討が必要である。すなわち、ゴボウの品質は根部が肥大しすぎると商品価値は低下するため、うね幅を広げることは根部肥大を招く。うね幅を広げるとともに、株間を狭くすることで高い商品価値の生産物が得られると考えられ、この検討が必須となる。また、連作についても罹病残渣がもたらす第一次伝染源を回避する意味で重要な防除対策となる。しかし、実態調査の中では連作圃場は少なく、ゴボウは既に輪作体系の1作物として位置づけられている。

本研究でゴボウ黒条病菌が解明され、その発生生態に基づいて薬剤による適期防除が可能となり、フルアジナム剤を用いた2回の薬剤散布を行う防除体系が明らかとなった。この体系は「農作物病害虫・雑草防除ガイド」（北海道農政部農業改良課・北海道病害虫防除所編 2005）や「北のクリーン農産物表示制度生産集団登録基準」（北海道クリーン農業推進協議会 2003）に活用され、黒条病の防除基準やクリーン農業技術としての普及が図られている。また、黒条病の防除は必然的にゴボウの高品質・持続的生産に大きく寄与するものである。

## 引用文献

- Boekhout, T. (1991) Systematics of *Ustilago*: A comparative phenetic study. Mycol. Res. 95 :135-146.
- Boekhout, T., Poot, G. Hackman, P. and Steensma, H. Y. (1991) Genomic characteristics of strains of *Ustilago*: Taxonomic consequences and life cycle. Can. J. Microbiol. 37 : 188-194.
- Boekhout, T. (1998) *Ustilago* Derx. In The yeasts, a taxonomic study fourth edition. (ed. Kurtzman, C. P. and Fell, J. W.), Elsevier, Amsterdam. pp. 775-776.
- Bölker, M. (2001) *Ustilago maydis* - a valuable model system for the study of fungal dimorphism and virulence. Microbiology 147: 1395-1401.
- Bölker, M., Urban, M. and Kahmann, R. (1992) The a mating type locus of *Ustilago maydis* specifies cell signaling components. Cell 68: 441-450.
- Channon, A.G. (1963) Studies on parsnip canker. I. The causes of the diseases. Ann. Appl. Biol. 51 : 1-15.
- Channon, A.G. (1969). Infection of the flowers and seed of parsnip by *Ustilago pastinacae*. Ann. Appl. Biol. 64 : 281-288.
- Channon, A.G., Dowker, B.D. and Holland, H. (1970). The breeding of Avonresister, a canker-resistant parsnip. J. Hort. Sci. 45 : 249-256.
- Cragg, I.A. (1966) *Ustilago perplexans* on globe artichoke. Plant. Pathol. 15 : 47.
- Davis, D.W., Pflieger, F. L. and Shehata, M. A. (1989) 'Andover' parsnip. HortScience 24 : 521-522.
- Derx, H.G. (1948) *Ustilago*, nouveau genre de Sporobolomycètes à mycélium bouclé. Bull. Bot. Gard. Buitenzorg, Ser. II 17 : 465-472 (in German).
- Dosdall, L.T. (1956) A petal blight of chrysanthemum incited by *Ustilago perplexans*. Phytopathology 46 : 231-232.
- Gandy, D.G. (1966). *Ustilago perplexans* on chrysanthemums: alternative hosts and ways of overwintering. Trans. Br. Mycol. Soc. 49 : 499-507.
- Gillissen, B., Bergemann, J., Sandmann, C., Schroeer, B., Bölker, M. and Kahmann, R. (1992) A two-component regulatory system for self/non-self recognition in *Ustilago maydis*. Cell 68: 647-657.
- Harrison, J. G., Lowe, R. and Williams, N. A. (1994) Humidity and fungal disease of plants - problems, In Ecology of plant pathogens (eds. Blakeman, J.P. and Williamson, B), CAB international, UK. pp. 79-97.
- 北海道立農試クリーン農業研究班編(2003) クリーン農業技術体系, ごぼう. 北海道クリーン農業推進協議会, 札幌, pp.115-117.
- 北海道農政部農業改良課・北海道病害虫防除所編(2005) 農作物病害虫・雑草防除ガイド, ごぼう. 北海道, 札幌, pp.80-81.
- 北海道植物防疫協会編(2004) 北海道病害虫防除提要, 26 ゴボウの病害. 北海道植物防疫協会, 札幌, pp.479-482.
- 堀田治邦・安岡眞二(1998) ゴボウの黒条病を起こす *Ustilago perplexans* について. 日植病報 64 : 431 (講要).
- Horita, H. and Yasuoka, S. (2002). Black streak of edible burdock caused by *Ustilago perplexans* in Japan. J. Gen. Plant Pathol. 68 : 277-283.
- 堀田治邦・安岡眞二(2002) ゴボウの黒条病の種子伝染について. 北日本病虫研報 53 : 88-90.
- Ingold, C.T. (1983) Structure and Development in an isolate of *Ustilago perplexans*. Trans. Br. Mycol. Soc. 80 : 365-368.
- 石崎 寛(1987) 農業科学. 養賢堂, 東京, pp.91-92.
- Koike, T. and Tjosvold, A. (2001) A blight disease of Dill in California caused by *Ustilago perplexans*. Plant Dis. 85 : 802.
- 國安克人(1999) 種子伝染の意義と種子伝染病による被害. 種子伝染病の生態と防除(大畑貫一・國安克人・高橋廣治・栃原比呂志・長尾記明編). 日本植物防疫協会, 東京, pp.37-41.
- Lengeler, K. B., Davidson, R. C., D'souza, C., Harashima, T., Shen, W., Wang, P., Pan, X., Waugh, M. and Heitman, J. (2000) Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64: 746-785.
- McGovern, R.J. and Seijo, T.E. (1999) Petal blight of *Callistephus chinensis* caused by *Ustilago perplexans*. Plant Dis. 83 : 397.
- McRitchie, J.J., Kimbrough, J.W. and Engelhard, A.W. (1973) *Ustilago* petal blight of chrysanthemum in Florida. Plant Dis. Rep. 57 : 181-182.
- Mew, T.M., Merca, S.D., Gonzales, P., Guevarra, J. and Huelma, C. (2000) 種子伝染性菌類病の疫学. 種子伝



- 染性病害の管理・研究・制御（農林水産省 野菜・茶業試験場編），全国農村教育協会，東京，pp.24-31.
- 成田武四・赤井 純・土屋貞夫・児玉不二雄・宮島邦之・田村修(1998) 北海道における農作物および鑑賞作物の病害誌. 北海道立中央農業試験場，北海道，pp.452-453.
- 日本植物病理学会編(2000) 日本植物病名目録，ゴボウ. 日本植物防疫協会，東京，pp.199-200.
- 日本植物防疫協会編(2001) 農薬ハンドブック，19 フルアジナム剤. 日本植物防疫協会，東京，pp.330-332.
- 西田忠志(1998) ごぼうの発芽特性及び生育特性. 北海道立農試集報 74 : 452-453.
- 西原夏樹(1958) キク花枯病. 植物防疫 12 : 441-445.
- 農林水産省統計情報部編(2001) 平成 11 年産野菜生産出荷統計. 農林統計協会，東京，p106.
- Nyland, G. (1949) Studies on some unusual Heterobasidiomycetes from Washington state. *Mycologia* 41 : 686-701.
- Olive, L.S. (1952) Studies on the morphology and cytology of *Itersonilia perplexans* Derx. *Bull. Torrey Bot. Club.* 79 : 126-138.
- 流通システム研究センター情報開発部編(2001) 野菜データブック 2001. 流通システム研究センター，東京，pp.81-87.
- Sackston, W.E. (1958) *Itersonilia perplexans* on sunflowers in Uruguay. *Phytopathology* 48 : 108-109.
- Seijo, T.E., McGovern, R.J. and de Blandino, A.M. (2000) Petal blight of sunflower caused by *Itersonilia perplexans*. *Plant Dis.* 84 : 1153.
- Smith, P. R.(1966) Seed transmission of *Itersonilia pastinacae* in parsnip and its elimination by a steam-air treatment. *Aust.J.exp.Agric.Anim.Husb.* 6 : 441-444.
- Smith, P. R.(1967) The survival in soil of *Itersonilia pastinacae* Channon, the cause of parsnip canker. *Aust. J. biol. Sci.* 20: 647 -660.
- Sowell, G. and Korf, R.P. (1960) An emendation of the genus *Itersonilia* based on studies of morphology and pathogenicity. *Mycologia* 52 : 934-945.
- 谷井昭夫・宇田川俊一・堀田治邦(1988) 担子菌系統の真菌によるゴボウの黒条病（新称）. 日植病報 54 : 117(講要).
- 飛高義雄(1989) 野菜園芸大百科 12 ダイコン，カブ，ニンジン，ゴボウ（農文協編）. 農山漁村文化協会，東京，pp.457-494
- Tubaki, K. (1952) Studies on Sporobolomycetaceae in Japan: II .On *Itersonilia*. *Nagaoa* 2 : 62-66.
- Wilkinson, R.E. (1952) Parsnip canker is caused by *Itersonilia* sp. *Phytopathology* 42 : 23.
- Winston, P.W. and Bates, D. H. (1960) Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* 41 : 232-237.
- Yamada, Y. and Konda, T. (1984) The coenzyme Q system in strains of species in the genus *Itersonilia*, Sporobolomycetaceae. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 30 : 313-315.
- 山口英世(1999) 病原真菌と真菌症. 南山堂，東京，pp.3-9.
- 安岡眞二・堀田治邦(2002) ゴボウの黒条病の好発病条件の解析. 北日本病虫研報 53 : 91-94.
- 吉野嶺一(1985) 第 X 章 病害防除. 植物疫学（清沢茂久編著）. 博友社，東京，pp.210-212.

## 摘 要

ゴボウに発生する黒条症状は病原菌が明らかにされていない。そこで、病原菌の同定と諸性質、発生環境並びに防除に関する研究を行った。

### 1. 黒条病の発生状況および本病の被害実態

本病の病徴は地上部の葉にのみ認められ、成葉でははじめ葉脈や葉柄に淡褐色の小病斑が生じる。やがて葉脈に沿って黒褐色～黒色の病斑が拡大して条状の病斑となる。病葉は風雨により病斑部から折れやすくなる。新葉では、葉縁部から黒褐色となって腐敗し、展葉が阻害され、縮葉症状に至る。1998年に全道のゴボウ圃場57筆について調査した結果、いずれの圃場でも黒条病の発生が認められ、無発生圃場は認められなかった。発病株率は1圃場を除く全ての圃場で100%に達した。本病の発生と収量への影響を2001年に調査した結果、9月28日と10月5日の地上部茎葉の発病程度、枯死・折れ率と総収量、規格内収量の間負の相関が認められた。特に9月28日の総収量との間で高く、発病程度および枯死・折れ率が高いほど総収量は減少した。

### 2. 病原菌の同定

分離菌はクランプを形成し、射出胞子、厚膜胞子、膨らみ細胞および酵母細胞を形成した。射出胞子は膨らみ細胞の先端に形成され、無色で半月形、大きさは麦芽エキス・酵母エキス寒天培地で $11.6 \sim 16.7 \times 8.0 \sim 11.9 \mu\text{m}$  (長径×短径)であった。射出胞子は発芽し、付着器を形成するのが認められた。厚膜胞子は球形あるいは亜球形で、単生あるいは連鎖状に形成され、長径 $9.9 \sim 15.1 \mu\text{m}$ であった。酵母細胞は出芽して増殖し、 $10.1 \sim 18.6 \times 4.7 \sim 7.0 \mu\text{m}$  (長径×短径)であった。以上の特徴から、分離菌は *Itersonilia perplexans* Derx と同定された。

射出胞子の形成は酸性25%PDA培地およびコーンミール寒天培地で良好であった。分離菌はいずれもゴボウの葉や葉柄に病原性を有した。しかし、ゴボウ根部に病原性を示さなかった。キク科17種およびセリ科6種の幼苗ではゴボウのみに高い発病が認められた。アスターおよびヒマワリ分離株では両菌株ともゴボウに病原性がなかった。花卉における発病はキクおよびガーベラで発病が認められた。その他6植物から分離した *Itersonilia* 菌33株はすべてゴボウに病原性が

なかった。

### 3. 黒条病菌の諸性質

黒条病菌の生育は $5^{\circ}\text{C}$ 以上 $30^{\circ}\text{C}$ 未満で認められた。最適生育温度は $22.5^{\circ}\text{C}$ であった。射出胞子は $10^{\circ}\text{C}$ で最も良好に形成し、3週間を経過しても多くの射出胞子を形成した。 $5^{\circ}\text{C}$ でも2～3週間経過すると形成量は増大する。 $15^{\circ}\text{C}$ では1週間目から形成は良好で3週間目でも十分量の射出胞子が形成された。射出胞子の発芽率は温度条件が $15 \sim 30^{\circ}\text{C}$ のとき12時間で50%以上、24時間では80%以上であった。最適発芽温度は $20 \sim 25^{\circ}\text{C}$ であった。

ゴボウ黒条病菌の87菌株中21菌株で酵母の形成が認められた。酵母は性質の異なる2種が認められ、酵母の形態を維持するものをY型、酵母コロニーから菌糸が形成されるものをY-H型として区別した。Y-H型の酵母から生育する菌糸はクランプの形成が不完全なシュードクランプを形成した。また、Y-H型菌株はいずれも射出胞子を形成した。全ての酵母菌株はウレアーゼ活性、DNase活性が陽性で、担子菌系酵母の特徴を有していた。Y型酵母の炭素源および窒素源の同化性を試験したところ、いずれの酵母もBoekhout(1998)の *Itersonilia* 菌の酵母の性質と一致した。Y-H型酵母の10株はいずれもゴボウに病原性が認められたが、Y型酵母の32株はいずれの菌株もゴボウに病原性はなかった。

### 4. 黒条病の発生環境

葉における発病は接種濃度が増加するに伴って、発病率も高まり、射出胞子が $10^2 \sim 10^4$ 個/ml濃度では発病が顕著に増加した。葉柄の発病は $10^3$ 個/ml濃度で認められたものの、葉柄の発病率は葉身に比べて少なかった。縮葉症状は $10^4$ 個/ml接種区から認められた。

ゴボウの葉齢が増加するに従って、黒条病に対する感受性は低下した。出葉後3～5日目の葉が最も感受性が高かった。

発病に与える温度の影響ははじめ $20^{\circ}\text{C}$ が高いものの、最終的な発病程度は10および $15^{\circ}\text{C}$ が優った。 $25^{\circ}\text{C}$ では発病がかなり抑制された。14日までの発病推移を病勢進展曲線下面積(AUDPC)で解析すると、葉身では $10 \sim 15^{\circ}\text{C}$ の値が大きく、次いで $20^{\circ}\text{C}$ であ

った。

発病に与える葉面の濡れ時間の影響は 15 および 20 °C でほぼ同じ傾向で、濡れ時間が 12 時間～24 時間で発病が顕著に増加した。10 °C では発病程度の増加は 24～36 時間で認められた。射出胞子の形成は相対湿度が 95.5 % 以上でのみ射出胞子の形成が認められた。

ゴボウ黒条病菌の射出胞子をゴボウの開花期に接種し、採取種子から *Itersonilia* 菌を分離したところ、全ての反復で分離され、保菌率は 19～48 % であった。大多数の分離菌株はゴボウに病原性を有した。保菌種子を播種したところ、1.3～21.5 % の発病が認められた。発病苗の病斑全てから *Itersonilia* 菌が再分離された。従って、種子伝染の可能性が示された。

発病は播種時期が早いほど高い傾向が認められたが、最終調査時の 10 月 1 日には病葉率ではほとんど差は認められなかった。うね幅と発病との関係ではうね幅が狭いほど初発時期が早く、発病葉率も高い傾向が認められた。連作圃場の方が輪作圃場よりも発病程度は高い傾向が認められた。

## 5. 防除対策

培地上で *Itersonilia* 菌の農薬に対する感受性を試験した結果、17 剤で抗菌活性が認められた。このうち、1000 倍希釈液の農薬で十分な阻止円 (10mm 以上) が得られたものは 11 薬剤で、10000 倍希釈液で阻止円が形成された薬剤はジフェノコナゾール乳剤、テトラコナゾール液剤、テブコナゾール水和剤 F、プロピコナゾール乳剤、イミノクタジン酢酸塩液剤およびフルアジナム水和剤であった。

花・野菜技術センターおよび十勝農業試験場の圃場で実施した薬剤の効果試験で防除効果が高かった薬剤はフルアジナム水和剤の 1000 倍および 2000 倍、テブコナゾール水和剤 F の 3000 倍であった。両剤とも発病葉率、発病程度および葉柄の折れ率で有意な発病抑制効果が認められ、特に折れ率の抑制効果は顕著であった。葉害は認められなかった。

薬剤の散布適期は花・野菜技術センター圃場ではフルアジナム水和剤で初発前 (4 日前) 区、テブコナゾール水和剤 F 区で初発確認 6 日後の開始区で、十勝農業試験場圃場では初発直後の散布区が最も高く、初発直前～直後の第 1 回薬剤散布で効果が高かった。

フルアジナム水和剤およびテブコナゾール水和剤 F は第 2 葉に塗布することで第 3 葉の発病を抑制させた。処理日別ではフルアジナム水和剤は葉身でいずれ

も同程度であったが、葉柄では接種日に近いほど効果は高まった。一方、テブコナゾール水和剤 F は葉身で 7 日前処理が最も高く、接種日に近いほど発病は増加した。

本研究によって病原菌の同定や発生環境が解明され、それに基づいた薬剤による防除体系が確立した。その成果は黒条病の防除基準やクリーン農業の生産技術として活用されている。

# Identification, Ecology and Control of Black Streak on Edible Burdock Caused by *Itersonilia perplexans* Derx

by

Harukuni HORITA

## Summary

Black streak disease of edible burdock (*Arctium lappa* L.) has been observed periodically in Hokkaido Prefecture, Japan since 1988. The disease generally occurs in vigorously growing edible burdocks with high yield potentials and can result in total yield loss in severely infested fields. The fungus isolated from black streak lesions produced a white to cream colony in culture and had clamp connections. Though the fungus was pathogenic to edible burdock, the taxonomic status of the causal fungus has thus far not been investigated in detail. The objectives of this study were to identify the causal fungus of black streak of edible burdock, investigate the ecology of the black streak pathogen, and develop a chemical control method for the black streak disease.

### 1. Symptom and geographical distribution of the black streak disease in Hokkaido and its damage to edible burdock yield

The symptoms in the field were observed 2 or 3 months after sowing and characterized initially as small, dark brown to black spots on leaf veins and petioles. The necrotic spots developed longitudinally along the veins and petioles, giving the appearance of black streaks. Dark brown or black streaks, surrounded by pale yellow halos, were observed on infected leaves. Larger necrotic spots occasionally were formed in the centers or on the margins of lamina of young leaves. In severe cases, diseased leaf veins or petioles were snapped off at the necrotic lesions.

During an extensive field survey in 1998 for edible burdock diseases in Hokkaido, the incidence of black streak disease was 100%. Therefore, disease severity or incidence of snap off leaves was positively correlated with loss of total or quality standards yield in 2001.

### 2. Identification of the black streak pathogen

An *Itersonilia* sp. was isolated from rotting leaf veins and petioles. The fungus had a feathery mycelium and developed a white to pale cream colony color. The mycelium was composed primarily of branched hyphae with clamp connections at the septa. Ballistospores were lunate, ovoid to pyriform, and subglobose,  $11.6-16.7 \times 8.0-11.9 \mu\text{m}$  and germinated immediately either with hyphae, secondary ballistospores or appressoria. The fungus occasionally produced chlamydospores and yeast cells. Chlamydospores were terminal or intercalary, globose to subglobose, thick walled,  $11.8-15.2 \times 9.9-14.2 \mu\text{m}$ . Yeast cells spontaneously formed in several isolates when grown on yeast peptone malt agar (YPMA) and measured  $7.1-25.5 \times 3.5-9.8 \mu\text{m}$ . Based on the morphological characteristics, the causal agent was identified as *Itersonilia perplexans* Derx.

All isolates tested caused typical symptoms - numerous black streak lesions on leaves or petioles similar to those on diseased plants observed in the field. Nor were disease symptoms observed on edible burdock roots inoculated with mycelium disks of the isolates. When edible burdock isolates of *I. perplexans* were used to inoculate seedlings of other crops, symptoms on mature leaves were not observed on other hosts. The isolates were also pathogenic to chrysanthemum and gerbera, and caused petal blight. *Itersonilia* Isolates of china aster, sunflower, and other plants were not pathogenic to edible burdock seedlings.

### 3. Characteristics of the black streak pathogen

Average values for growth rates of representative two isolates of edible burdock used in temperature were tested. Both isolates had maximum growth at  $22.5 \text{ }^\circ\text{C}$  and no growth at  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ . Colonies of the fungus produced the greatest number of ballistospores on acidified 25% potato-dextrose agar (1/4APDA) and corn meal agar, and at 10 and  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  during 3 weeks. Sporulation was also increased on 2-3 weeks at  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Ballistospores germinated  $\geq 50\%$  by 12 h, and  $\geq 80\%$  by 24 h at temperatures in the range

15-30 °C . The optimum temperature for germination was at 20-25 °C .

Of the 87 black streak hyphal isolates, yeast cells spontaneously were formed in 21 isolates. Yeast cells were divided into two types. One was to keep a yeast phase (Y), the other was to develop a monokaryotic hyphal phase from a yeast phase (Y-H). The monokaryotic mycelium derived from Y-H type yeast born a pseudoclamps and a ballistospores. The both type of yeasts, isolated from edible burdock hyphal isolates, closely matches the yeast description (Boekhout 1998) of *I. perplexans* according to cultural and morphological characteristics including assimilation of carbon and nitrogen source. All of Y-H type yeasts were pathogenic to edible burdock seedlings, but all of Y type isolates were not pathogenic to the seedlings.

#### 4. Ecology and transmission of the black streak pathogen

Symptoms of black streak on leaves increased in a linear fashion as inoculum density of *I. perplexans* increased from  $10^3$  to  $10^6$  ballistospores/ml. Rugose symptoms on young leaves were observed at densities of  $=10^4$  ballistospores/ml. Disease severity of *I. perplexans* in relation to leaf age followed a degradation curve when the leaves were inoculated with ballistospores. Disease severity was high in newly emerged leaves up to 5 days old, declined as leaf age increased to 29 days, and was zero when leaf age increased from 30 to 33 days. The analysis of variance (ANOVA) showed that temperature had a significant effect on the area under the disease progress curves (AUDPCs) of disease incidence, disease severity and lesion number ( $P < 0.01$ ) . Leaf infection occurred at 10, 15 and 20 °C , and slight infection was obtained at 25 °C . Initial disease development was enhanced at 20 °C . However, final disease severity at 14 days was the same at 10, 15 or 20 °C . Only low levels of disease incidences were observed at 12h of leaf wetness. A high level of disease incidence was observed at 15 °C or 20 °C with all leaf wetness durations, and a similar trend was observed when inoculum density was increased at these same temperatures. Extended wetness periods were needed to achieve a high level of infection at 10 °C . , Infection decreased rapidly above 20 °C , and little disease incidence at 25 °C was observed even when wetness duration was maximal. Ballistospores required 24 h to 36 h of continuous leaf wetness to cause visible symptoms by infection on edible burdock. Ballistospores production in infected lesions required at least 95.5% RH.

To investigate the possibility of seed transmission of *I. perplexans*, it was necessary to use seed artificially infested by the fungus. The seeds, were observed from the edible burdock flowers inoculated ballistospores of the isolate of *I. perplexans* at August, carried the fungi ranged from 19-48% at October. When infested seeds were sowed in a fumigated potting soil, 1.3-21.5% seedlings had typical symptoms of black streak.

Disease incidence was higher after the May planting than after the June planting. Disease was also higher at narrow spacing than at wider spacing. Early planting or narrow row spacing results in a conducive microenvironment for infection of edible burdock by *I. perplexans*. Early planting exposes plants to ideal temperatures for infection, while narrow spacing leads to rapid canopy closure with concomitant high relative humidities and long durations of leaf wetness that also favor disease development.

#### 5. Chemical control methods of the black streak disease

The effectiveness of different fungicides to control the yeast isolates of *I. perplexans* was tested *in vitro* on YPMA using a paper disk method. Among the tested fungicides, 17 fungicides were effective for yeast growth at  $10^3$  diluents. Difenoconazole, tetraconazole, tebuconazole, propiconazole, iminocadine triacetate and fluazinam were the highly effective, showing a strong inhibition, at  $10^4$  diluents. In field experiments over four years in Takikawa (Hokkaido ornamental plants and vegetables research center) and Memuro (Hokkaido Tokachi agricultural experiment station), fluazinam ( × 1000 and 2000) and tebuconazole ( × 3000) were the most effective against incidences of leaf and snap off and disease severity.

Effect of timing of fluazinam or tebuconazole application on development of black streak was evaluated at various application timings on edible burdock fields. Incidence of snap off, and disease severity of black streak were significantly less at fluazinam or tebuconazole when the application schedule began at around the initial disease occurrence rather than when the first application was made 16-17 days after the initial disease occurrence.

From the result of identification, characteristics, ecology and effective fungicides of edible burdock pathogen, an integrated control method of the black streak disease was established and is in common use as a standard control method in Hokkaido.