



# レタスビッグベイン病の総合防除に関する研究

岩本, 豊

---

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2009-03-25

(Date of Publication)

2009-04-09

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4557

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004557>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



# 博士論文

レタスビッグベイン病の総合防除に関する研究

平成21年1月

神戸大学大学院農学研究科

岩本 豊

## 目次

1. 緒言	1
2. レタスビッグベイン病の物理的防除法について	1 3
1 実験材料と方法	1 3
2 結果	1 7
3 考察	2 0
3. レタスビッグベイン病の化学的防除法について	3 3
1) 灌注処理型薬剤の防除効果について	3 3
1 実験材料と方法	3 3
2 結果	3 6
3 考察	3 9
2) 汚染圃場におけるチオファネートメチル剤の防除効果について	4 3
1 実験材料と方法	4 3
2 結果	4 5
3 考察	4 7
4. レタスビッグベイン病の生物的防除法の試み	6 2
1 実験材料と方法	6 3
2 結果	6 4
3 考察	6 5
5. 総合考察	6 9
6. 摘要	7 7
7. 参考文献	8 0
8. Summary	9 3
9. 謝辞	9 6

## 第1章 緒 言

農業生産現場から解決策を求められる農作物の生産過程に生ずる障害要因の大半は病害に関するものであり、農業生産において大きな比重を占めている。元来、自然生態系においては、特に土壌中には、植物病原菌に対して寄生、競合、捕食等のなんらかの干渉力を与える微生物が存在し、生態系の均衡を保っていた。しかし、農業を行うようになった耕地では単一作物を栽培する傾向にあり、それによって微生物バランスが崩れ、さらに長期の連作や圃場への化学物質施用が拍車をかけ、その結果、一部の病原菌が増殖し、農作物の生産過程における大きな障害として表面化してきた（相野 1995b）。兵庫県においても、長期の連作が要因として土壌病害が顕在化してきている。なかでも、兵庫県の淡路島南部を中心としたレタス産地におけるレタスビッグベイン病の発生は、その典型的な一例である。

レタスビッグベイン病は、1934年にアメリカのカリフォルニアで、Jaggerらが最初に報告している（Jagger and Chandler 1934）。発病当初は、病原体が不明のまま、土壌伝染するウイルス病様の病害と考えられていた。その後、イスラエル（Tanne et al. 1970）、スウェーデン（Gripwall 1986）、イギリス（Tomlinson and Smith 1958；BOS and HUIJBERTS 1990）、ギリシャ（Tjavella-Klonari et al. 1991）、フランス、イタリア（Roggero et al. 2003）、ブラジル（Colariccio et al. 2003a；Colariccio et al. 2003b）、ドイツ、スペイン、デンマーク（Navarro et al. 2004）、チリ（Rosales et al. 2004）、オーストラリア（Latham et al. 2004）およびニュージーランド（Butler et al. 2005）など多数の国で発生が報告されている。

我が国で最初に発生が報告されたのは和歌山県で、1973年頃が初発生とされている（家村・中野 1977；家村・中野 1978a；家村・中野 1978b；岩木ら 1977；家村・中野 1979；岩木ら 1978）。1973年頃から和歌山県

白浜町のレタス栽培産地約 30ha の一部に発生し始め，1975 年には同地域のほぼ全域に広がった（栃原 1993）。そして，現在までに発生が報告されている都道府県は，長野県（清水 1982；清水ら 1986），静岡県（土崎ら 1993）埼玉県（土崎ら 1993），香川県（十河ら 2001），高知県，徳島県，岡山県，兵庫県，千葉県および沖縄県と Fig.1-1 に示すように全国に広範囲に広がっている。これらの産地のうち，発生が比較的早かった，和歌山県，長野県，静岡県では，本病により産地が崩壊したか，栽培作期を変更して本病の発生を回避しており，本病に対する対策は十分なものといえないのが現状である。

兵庫県でも 1994 年頃より淡路島南部の旧三原郡南淡町（現在，南あわじ市阿万）で初発生が確認されている（相野 2002；岩本ら 2003；岩本・相野 2004；Iwamoto et al. 2005）。発生当初は，散発していたが，年々発病圃場は増加し，島内レタス栽培面積（約 1,300ha）の約 30% に拡大している。（Fig.1-2）。ここ 4～5 年は，ビッグベイン病発生面積拡大割合の伸びは鈍化しているが，これは防除対策を講じるようになったからである。また，一部ではあるが，当初，軽微な発生の圃場が，防除対策を講じなかったために汚染程度が増加したために，発病程度が増加し，減収が甚だしく，ほとんど出荷の出来ない圃場もある（相野 2002）。すなわち，ビッグベイン病の発生圃場率は約 30% 程度で推移しているが，防除対策を講じなければ，本病の被害のためレタス栽培を断念し，他作物への転換が進むことになる。

1983 年に発病レタスから棒状のウイルスが分離され，レタスビッグベインウイルス (Lettuce big-vein virus, LBVV) と名付けられた (Kuwata et al. 1983；桑田 1985ab；日本植物病理学会 2000)。それ以降，LBVV がビッグベイン病の病原体であると信じられてきたが (Vetten et al. 1987)，最近になって新たなウイルスが発見され，ミラフィオリレタスウイルス

(Mirafiori lettuce virus, MiLV) と名付けられた (Roggero et al. 2000)。現在では、ビッグベイン病を引き起こすウイルスは LBVV ではなく MiLV ではないかと考えられている (Lot et al. 2002; Roggero et al. 2003; Colariccio et al. 2005)。また、日本においても 2002 年にビッグベイン病の症状に関して、MiLV の関与を報告している (夏秋ら 2000; 石川 2002; 前川ら 2002; 夏秋ら 2002; 前川ら 2004)。そのため、国際ウイルス分類委員会 (the International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) において学名が変更されることになり、LBVV は LBVaV (Lettuce big-vein associated virus)、MiLV は MLBVV (Mirafiori lettuce big-vein virus) と呼ばれるようになった。また、ミラフィオリレタスウイルスを純化し、その外被タンパク質をコードする遺伝子の塩基配列が明らかにされるなど (Kawazu et al. 2003)、ウイルスやウイルス媒介糸状菌である *Olpidium* 属菌の諸性質が精力的に研究が行われ、多数報告されてきた (Grogan et al. 1958; Tomlinson and Garrett 1962a; Tomlinson and Garrett 1962b; Huijberts et al. 1990; Campbell and Lot 1996; 守川ら 1997; Roggero et al. 2000)。

レタスビッグベイン病の症状は Fig.1-3 に示すように、葉脈付近の緑色が退色し、白色の葉脈が太くなったように見える。退色した部分と緑色の残った部分は非常にはっきりとし、葉縁の縮れは健全株に比べ顕著になる。外葉では網目状にくっきりと病徴が観察されるが、結球部分では不明瞭である (井上 1984; 栃原 1993; 関口 1995)。本病害は、株を枯死させることはないが、生育不良、結球不良を引き起こし、結果として収量が減少する (Fig.1-4)。本病害の恐ろしい点は、発病履歴の浅い圃場では、レタスの症状が軽く商品として出荷され、被害がほとんどなく、耕作者の防除意欲が低下する点である。年を経るに従って徐々に被害が拡大し、5 年以上経過すると球の肥大が遅れ、出荷不能となる株 (Fig.1-5) が散見されるよ

うになる（相野 2007）。

病原ウイルスとして，前述の棒状の LBVaV とひも状の MLBWV の 2 種類が報告されているが，いずれのウイルスともに土壤中に生息する *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang. (Fig.1-6, 1-7) によって媒介され (Pryor 1946 ; Grogan et al. 1958 ; Fry 1958 ; Teakle 1962 ; Campbell and Grogan 1963 ; Grogan and Campbell 1966 ; Campbell and Fry 1966 ; Campbell 1996 ; Fry and Campbell 1966), *Olpidium* 菌の感染過程は Temmink らにより詳細に観察されている (Temmink and Campbell 1968 ; Temmink and Campbell 1969a ; Temmink and Campbell 1969b)。しかし，このウイルスを媒介する *Olpidium* 菌については，最近，その性質から非アブラナ科系統の *Olpidium* 菌という報告があり (小金澤ら 2004), *Olpidium virulentus* と提案されている。

レタスビッグベイン病病原体の病原性は乾燥状態の汚染土壌及び乾燥したレタス根内部で長期間保持される。これはウイルス粒子が *Olpidium* 菌の休眠胞子内に取り込まれ，外界環境から保護されることによると考えられる。このように取り込まれたウイルス粒子が *Olpidium* 菌の休眠胞子から発芽した遊走子の内部に移り，レタスに感染することにより，レタス体内に侵入しビッグベイン症状を引き起こす。圃場間での伝搬は，罹病苗の移動や農機具への付着によって起こる。*Olpidium* 菌の寄主範囲は大変広く (Lin 1979), タマネギ等のビッグベイン病を発症しない作物にも寄生することである。汚染土壌で育てたこれらの苗を，未発生地にて定植すると，ウイルス粒子を持った *Olpidium* 菌も一緒に移動することになる。また，転作を行っても，寄主範囲が広いため *Olpidium* 菌の数を減らすことができず有効な手段とは言い難い。*Olpidium* 菌は通常，どこでも生息している菌で，本来病原性がない菌である (Lin 1979)。*Olpidium* 菌単独では連作しても作物に大きな影響は与えないが，一度，LBVaV, MLBWV のウイルスを獲得した *Olpidium* 菌の場合は異なる。連作を重ねるに従ってウイルスを

獲得した *Olpidium* 菌が増加し，定植直後からウイルス感染にさらされることになる（相野 2007）。このような伝染形態を取ることから，非常に防除が難しいレタスの難防除土壌病害とされている。

これまで本病の防除法に関する研究は土壌消毒技術を中心に数多くなされ，臭化メチル剤（Campbell et al. 1980），クロルピクリン剤（清水ら 1986c；White 1980）などによる化学的防除法や夏期の太陽熱を利用した物理的防除法（家村ら 1979；家村ら 1980；清水ら 1985a；清水ら 1985b）の有効性が確認されている。しかし，水田跡作に作付けを行う兵庫県のレタス栽培体系においては，十分な土壌消毒期間の確保は難しく，上記土壌消毒による防除法は，いずれも適用困難である。また，土壌消毒剤以外の薬剤防除については，数種薬剤についてその有効性が報告されているが（Tomlinson and Faithfull 1979；Tomlinson and Faithfull 1980；Campbell 1980；White 1983；神余ら 2001；神余ら 2002），詳細な処理条件の検討はなされておらず，実用には至っていないのが現状である。以上のことから，単一の防除手段で本病を防除するのは難しいとされている（相野 2002）。本論文では，難防除病害であるレタスビッグベイン病を防除するため，物理的防除，化学的防除，生物的防除を用いた総合的な防除対策について検討した。



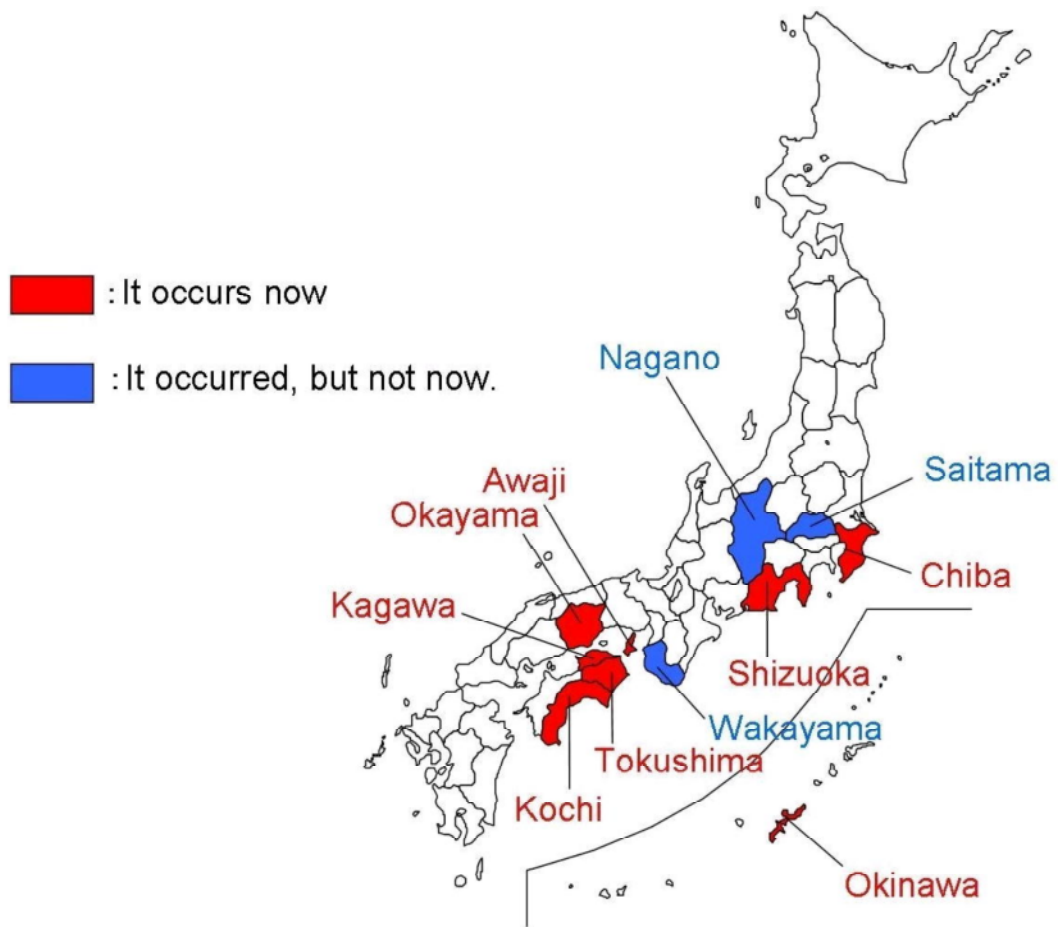


Fig.1-1 Prefectures where big-vein occurs in Japan

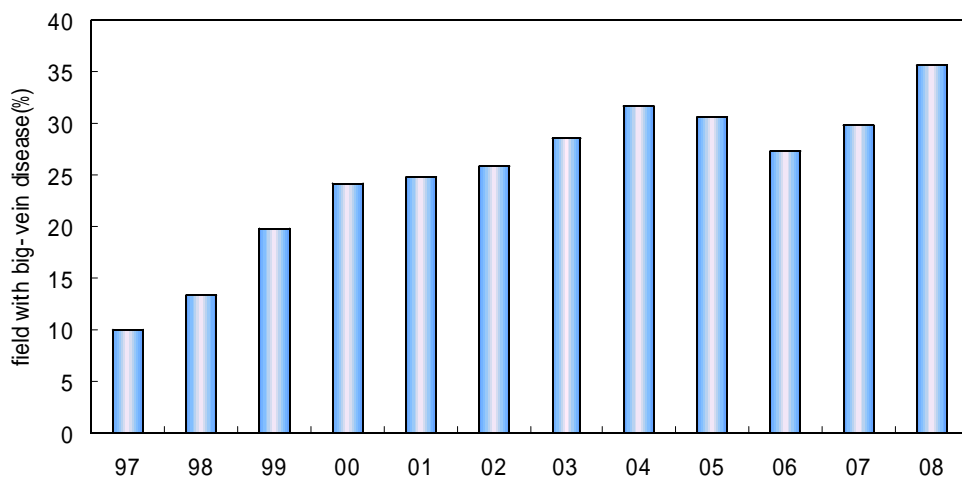


Fig.1-2 Occurrence of big-vein disease in Hyogo prefecture

(1997-2008). Data in 1997-2002 are quoted from Plant

Protection 56:509-511, data in 2003-2008 are unpublished



Fig.1-3 Lettuce Big-vein disease



Fig.1-4 Lettuce Big-vein disease(Slight lesion:marketable)



Fig.1-5 Lettuce Big-vein disease(severe lesion:unmarketable)

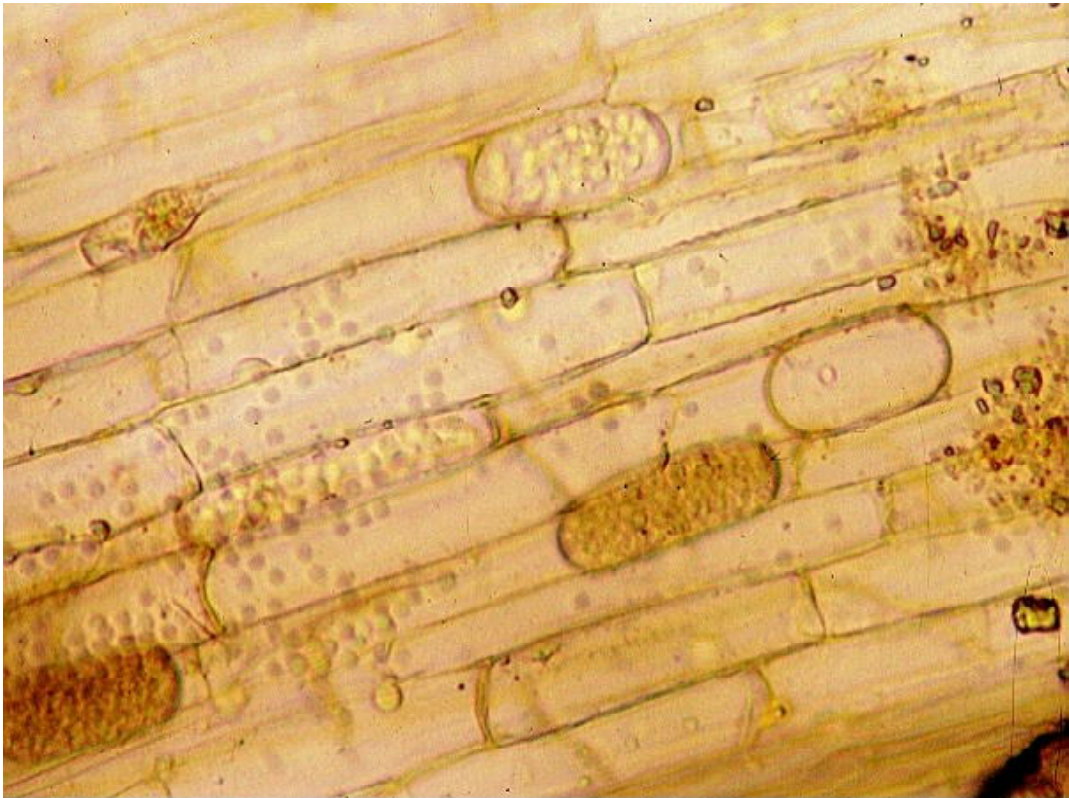


Fig.1-6 *Olpidium brassicae* (zoosporangia and zoospore)



Fig.1-7 *Olpidium brassicae* (resting spore)

## 第2章 レタスビッグベイン病の物理的防除法について

レタスビッグベイン病の発病に関連するウイルスは、いずれも糸状菌である *Olpidium* 菌によって媒介されるため、本病防除法の一つとして土壤消毒技術の確立が当初から研究され、夏期の太陽熱を利用した物理的防除法（家村ら 1979；家村ら 1980；清水ら 1985a；清水ら 1985b）の有効性が確認されている。また、近年、赤外線透過型フィルムを用いることによって、消毒後、通常のマルチとして利用できる省力的な太陽熱利用土壤消毒法の開発（合田ら 1999）も報告されている。

しかし、太陽熱を利用した土壤消毒技術は、天候の影響に大きく左右され、十分な防除効果が得られない場合や、これら土壤消毒による防除法は、水田跡作に作付けを行う兵庫県のレタス栽培体系においては、十分な土壤消毒期間の確保が難しい一面もある。

そこで、本研究では物理的防除技術の確立を目的に *Olpidium* 菌の耐熱性について検討を行い、また、太陽熱利用土壤消毒時に添加資材を投入することにより防除効果をより長期に安定させる新たな太陽熱利用土壤消毒法の開発を試みた。

### 1 実験材料と方法

#### *Olpidium* 菌の耐熱性について

##### 1) 供試土壤の作製

兵庫県三原郡南淡町（現在：南あわじ市）のビッグベイン病激発圃場よりレタス栽培後に採取した土壤を接種源として供試した。採取した汚染土壤を室温下で風乾・砕土した後、滅菌バーミキュライトと1：1 (V/V)の割合で混合し実験に供試した。



## 2) 処理方法

### (1) 長期低温処理

35℃, 40℃, 45℃ に設定した恒温器内に検定土壌を保持し熱処理を行った。なお, 検定土壌については, 土壌飽和度 0% (乾熱処理) 及び 100% (湿熱処理) のものを供試した。熱処理後 1 ~ 5 6 日経過後, 逐一処理土壌を取り出し, 90ml 容透明プラスチックカップに 60ml 充填した。これにあらかじめ滅菌土で育成した本葉展開 1 ~ 2 葉期のレタス幼苗 (品種: サントス 2 号, ビッグベイン病罹病性品種) を 10 株/カップの割合で移植し, 18℃, 連続照明下 (20,000lx) の人工気象器内で育苗した。育苗中の土壌水分は, *Olpidium* 菌の根内感染を促すため飽和状態を維持した。

### (2) 短期高温処理

50℃, 55℃, 60℃ に設定した恒温水槽に検定土壌を浸漬し, 熱処理を行った。検定土壌については前記と同様に, 土壌飽水度 0% 及び飽水度 100% のものを供試した。所定時間経過後, 処理土壌を取り出し, 前記と同様にレタス幼苗を移植し検定に供試した。

## 3) 検定方法

### (1) *Olpidium* 菌根内感染調査

移植 2 ~ 3 週後にレタス幼苗をプラスチックカップから取り出し, 根部をていねいに水洗し, 付着している土塊を充分取り除いた。これを光学顕微鏡で検鏡し, レタス根内に形成された *Olpidium* 菌の遊走子嚢及び休眠胞子数を計測した。なお, 計測は主根から分岐した 1cm までの側根について行い, 処理区あたり 5 株, 1 株あたり 5 か所の側根を調査した。

### (2) 発病調査

根内感染調査で残ったレタス苗は温室内 (20℃) で育苗を継続し, 移植 8 週間後にビッグベイン病の病徴発現の有無を調査した。なお, 追肥として移植 4 週間後に液肥 (ハイポネックス: 5 - 10 - 5) の 1,000 倍液

を各区とも 50ml/カップの割合で施用した。レタス葉の葉脈透化または葉脈付近の退緑が認められた株を発病株として、発病株率を算出した。

### 太陽熱利用土壌消毒における *Olpidium* 菌密度の変化

#### 1) 試験圃場

試験は 2001 年及び 2002 年に兵庫県三原郡南淡町阿万の現地農家圃場を用いて行った。試験圃場はビッグベイン病に強度に汚染された圃場で、レタスを連続 2 作、作付けを行う圃場である。

#### 2) 太陽熱利用土壌消毒

太陽熱利用土壌消毒は赤外線透過型マルチフィルムを用いて畦立てを行い、その上から防風ネットをかけて処理を行った (Fig.2-1)。処理期間は、2001 年が 7 月 25 日から 9 月 17 日、2002 年が 7 月 28 日から 9 月 15 日までである。処理後は防風ネットを除去し、赤外線透過型マルチフィルムはそのままマルチ資材として利用して、レタスの栽培を行った。

なお、処理期間中は電子式自記温度計を用いて、地表面から 0 ~ 5cm、5 ~ 10cm、10 ~ 15cm 及び 15 ~ 20cm の位置の温度を計測した。

#### 3) 菌密度調査

太陽熱利用土壌消毒処理後、15 日後、32 日後、62 日後に処理区の土壌を採取した。0 ~ 5cm、5 ~ 10cm、10 ~ 15cm 及び 15 ~ 20cm の各深度から採土し、採取した土壌を室温下で風乾・砕土した後、滅菌バーミキュライトと 1 : 1 (V/V) の割合で混合した。これを 90ml 容プラスチックカップに充填し、あらかじめ無病土で育成したレタス幼苗 (本葉 2 ~ 3 葉期) を移植した。移植後、人工気象器内 (18℃, 明条件下) で育成した。移植 2 ~ 3 週後にレタス幼苗をプラスチックカップから取り出し、根部をていねいに水洗し、付着している土塊を充分取り除いた。これを光学顕微鏡で検鏡し、レタス根内に形成された *Olpidium* 菌の遊走子嚢及び休眠胞子数を計測した。なお、計測は主根から分岐した 1cm までの側根について行い、

処理区あたり 5 株，1 株あたり 5 か所の側根を調査した。

## 太陽熱利用土壌消毒時の添加資材施用がビッグベイン病の発病に及ぼす影響について

### 1) 添加資材の施用

太陽熱利用土壌消毒時に添加資材を施用して，レタスビッグベイン病の発病に及ぼす影響を検討した。添加資材としては，DL-メチオニン，石灰窒素（粒状），尿素系ポリマーを用いた。DL-メチオニンは 40kg/10a，石灰窒素は 100kg/10a，尿素系ポリマーは 200kg/10a を畦立て時に施用し，赤外線透過型マルチフィルムで被覆し，太陽熱利用消毒を行った。

### 2) 圃場試験（秋作）

秋作に供試したレタス品種は「JT31」で，移植は 2001 年は 9 月 27 日に，2002 年は 9 月 15 日に行った。1 区 50 株（17 m<sup>2</sup>）の 3 反復で移植した。2001 年 10 月 28 日および 2002 年 10 月 20 日に各区全株を対象に発病調査を次の指標を用いて行った。0：未発病，1：発病はしているが，経済的被害は無い。2：発病し，小球化しているが出荷は可能である。3：小球化のため，出荷不能である。4：未結球のため出荷不能。すなわち，発病指数 0，1 及び 2 のものが，出荷可能であることを示す。なお，発病度は以下の式を用いて計算した。

$$\text{発病度} = 100 \times [ (\text{発病程度指数}) / (4 \times \text{調査株数}) ]$$

### 3) 圃場試験（冬作）

冬作に供試したレタス品種は「サントス 2 号」で，移植は，2001 年は 12 月 11 日に，2002 年は 11 月 1 日に行った。1 区 50 株（17 m<sup>2</sup>）の 3 反復で移植した。2002 年 3 月 8 日および 2003 年 2 月 14 日に各区全株を対象に発病調査を上記の指標を用いて行い，発病度を算出した。

## 2 結果

### Olpidium 菌の耐熱性について

#### 長期低温処理

太陽熱利用土壌消毒を想定した比較的低温で長期間の熱処理を行ったところ、土壌飽水度 100%の湿熱条件下では、40℃ 及び 45℃、28 日間以上の熱処理によって、*Olpidium* 菌の遊走子嚢および休眠胞子の根内感染は認められなくなった。しかし、処理温度が 35℃ の場合は、56 日間を経過した土壌からも *Olpidium* 菌の根内感染が認められ死滅効果は不十分であった。一方、土壌飽水度 0%の風乾土壌を用いた乾熱条件下での熱処理では、35℃、40℃、45℃ の各処理温度とも、56 日間処理でも高率に *Olpidium* 菌遊走子嚢および休眠胞子の根内感染が確認された (Table 2-1)。ビッグベイン病の発生は *Olpidium* 菌の根内感染と相関が認められ、湿熱条件下 40℃ 以上且つ処理期間 28 日間以上の熱処理によって抑制された。しかし、35℃-56 日間の熱処理では発病は認められなかったものの、*Olpidium* 菌が低密度ではあるが観察されたため、完全な消毒ではなかった。一方、乾熱処理では 45℃、56 日間処理でも発病が認められた (Table 2-3)。

#### 短期高温処理

土壌消毒の方法として蒸気あるいは熱水を用いた土壌消毒を想定した高温での短期間処理を行ったところ、湿熱条件下では、*Olpidium* 菌の根内感染は 60℃ -30 分、55℃ -3 時間、50℃ -9 時間の熱処理によって遊走子嚢及び休眠胞子とも確認されなくなり、本菌は 60℃ 前後の熱処理によって比較的短時間で死滅することが明らかとなった。しかし、風乾土壌を用いた乾熱条件下での検定では 50℃、55℃、60℃ のいずれの処理でも高率に *Olpidium* 菌の根内感染が確認された (Table 2-2)。レタスビッグベイン病の発病は低温処理時と同様に、*Olpidium* 菌の根内感染と相関が見られ、湿熱条件下での熱処理によって発生が抑制された (Table 2-4)。

## 太陽熱利用土壌消毒における *Olpidium* 菌密度の変化

太陽熱利用土壌消毒は、消毒後 1 作目においては高い効果が認められるが、2 作目以降には再汚染が進み効果が低下する。そこで太陽熱利用土壌消毒後の再汚染の原因を明らかにするために、太陽熱利用土壌消毒期間の地温の推移と *Olpidium brassicae* の菌密度の変化を調査した。その結果、地温は 7 月下旬の最も地温が上昇した時間帯において、地表面では 40℃ 近くまで上昇したが、地表下 10cm 以下では約 30 ~ 35℃ 前後を推移していた (Fig.2-2)。

*Olpidium* 菌の休眠孢子数は、消毒前には地下 0 ~ 10cm で多くの孢子が観察された。その後、消毒期間を経るに従って下層部からの検出が多くなり、処理 32 日後には 0 ~ 10cm で検出できなくなり、より深い部分で多くの休眠孢子が観察された (Fig.2-3)。遊走子嚢数は、処理前および消毒 15 日後では各深さとも比較的検出数が少ないが、消毒 32 日、62 日後では 0 ~ 10cm の比較的土壌の浅い部分で多くの遊走子嚢が確認された (Fig.2-4)。

## 太陽熱利用土壌消毒がビッグベイン病の発病に及ぼす影響について

### 秋収穫作型試験

本作型の試験では、2001 年、2002 年ともレタスビッグベイン病の発病は収穫間際まで認められず、全体的に少発病条件下の試験であった。そのため各処理区間の効果の差は判然としなかった。しかし、2001 年の試験において、無処理区の発病株率が 5.5%、発病度 1.4 であったのに対して、太陽熱利用土壌消毒を行った区は発病株率が 0.6%、発病度 0.1 で防除価は 92.9 であった (Table 2-5)。また、各種補助資材を処理すると尿素系ポリマー施用区、石灰窒素施用区とも発病は全く認められず、その防除効果が明らかとなった。赤外線透過型フィルムを用いずに、通常黒マルチを用いた場合は、若干の効果の低下が認められた。商品化率は、各区とも 100%であった。なお、いずれの処理区とも薬害は認められなかった。

## 冬収穫作型試験

この作型は、レタスビッグベイン病の被害が最も激しい作型である。1作目に引き続いて同一圃場で2作目のレタスを栽培し、太陽熱利用土壤消毒の効果の持続性と補助資材の施用効果を検討した。まず、太陽熱利用土壤消毒単独の効果については、無処理区の発病株率が81.1%であったのに対して太陽熱利用土壤消毒区の発病株率は51.2%となり、発病度も無処理区が37.2であったのに対して太陽熱利用土壤消毒区で19.2となった。防除効果の程度はやや小さいが、商品化率を比べると無処理区が2.3%であったのに対して太陽熱利用消毒区は51.2%と約半数のものが出荷可能となり、太陽熱利用土壤消毒の効果の持続性が確認された(Table2-6)。

次に各種補助資材を圃場に施用した場合の太陽熱利用土壤消毒の効果について検討した。各種補助資材は、太陽熱利用土壤消毒時に施用し、その後の発病を比較した。まず、2001年の試験においては(Table 2-6)、無処理区の発病株率が81.1%、発病度37.2に対して、太陽熱利用土壤消毒+メチオニン(40kg/10a)処理区での発病株は約半分の43.8%になり、発病度も17.4となった。防除価は53.2となった。太陽熱利用土壤消毒+尿素系ポリマー(200kg/10a)もメチオニンとほぼ同等の防除効果を示し、防除価は62.4であった。最も施用効果が高かったのは、太陽熱利用土壤消毒+石灰窒素処理区(100kg/10a)で、発病株率は27.6%、発病度が10.2となり、防除価は72.4であった。商品化率で防除効果をみると、無処理区の商品化率が2.3%であったのに対して太陽熱利用土壤消毒単独処理区で51.2%であった。各種補助資材を施用すると商品化率はいずれも向上し、太陽熱利用土壤消毒+メチオニン処理区で80.1%、太陽熱利用土壤消毒+尿素系ポリマー処理区で88.5%、太陽熱利用土壤消毒+石灰窒素処理区で96.2%となった。なお、本作型においても薬害は認められなかった。2002年の試験も2001年と同様の傾向であり(Table 2-7)、無添加区の発病株率・発病度が100.0%、37.4であったのに対して、メチオニン、

尿素系ポリマーを添加すると発病株率は、共に 70.0 %程度に抑制され発病度はメチオニンを施用した場合、22.8 であった。最も効果の高かった資材は石灰窒素で発病株率 56.1 %，発病度 18.2 となり防除価は 51.3 となった。以上の結果より、太陽熱利用土壌消毒時に各種補助資材を施用することはレタスビッグベイン病防除に有効であることが明らかとなった。

### 3. 考察

レタスビッグベイン病に対する防除対策としての太陽熱利用土壌消毒は、1970年代から研究されているが、レタスを連作する兵庫県の作型では十分な効果が期待できず、新たな手法が必要となっていた。本研究でビッグベイン病を媒介する *Olpidium* 菌の太陽熱消毒による死滅を土壌の深さ毎に検討したが、62日間の太陽熱消毒でも深さ 10 ~ 15cm より深い部分では遊走子嚢および休眠胞子が確認され、完全な消毒になっていないのが明らかとなった。これが原因により土壌の深部からの再汚染が行われ、2作目のレタス栽培においてレタスビッグベイン病が発生するものと推察された。*Olpidium* 菌の死滅温度については様々な報告がされており、Teakle は、*Olpidium* 菌の遊走子は 35℃，10 分間の熱処理によって不活化としている (Teakle 1962)。しかし、これらの結果は Campbell らにより疑問視され (Campbell and Grogan 1963; Campbell and Lin 1976)，我々の試験においても *Olpidium* 菌の不活化には温度と時間もさることながら、土壌飽水度も大きく影響すると思われた。

そこで、通常太陽熱利用土壌消毒に併せて各種補助資材を施用し、防除効果の増強を試みた。その結果、1 作目においては各処理区とも高い防除効果を示し、各処理区間の防除効果の差は判然としなかったが、2 作目については各種補助資材の施用効果が明らかとなった。各種補助資材の施用効果のメカニズムは明らかではないが、これら資材の施用によりウイル

スを媒介する *Olpidium* 菌の菌密度を低減し、これがビッグベイン病の発病抑制効果につながったものと推察される。ただし、石灰窒素については施用後、土壤中で加水分解し、シアナミドを生成し、これが *Olpidium* 菌の菌密度低減につながったものと考えられる。





Fig.2-1 Soil solarization (in Awaji, Ama)

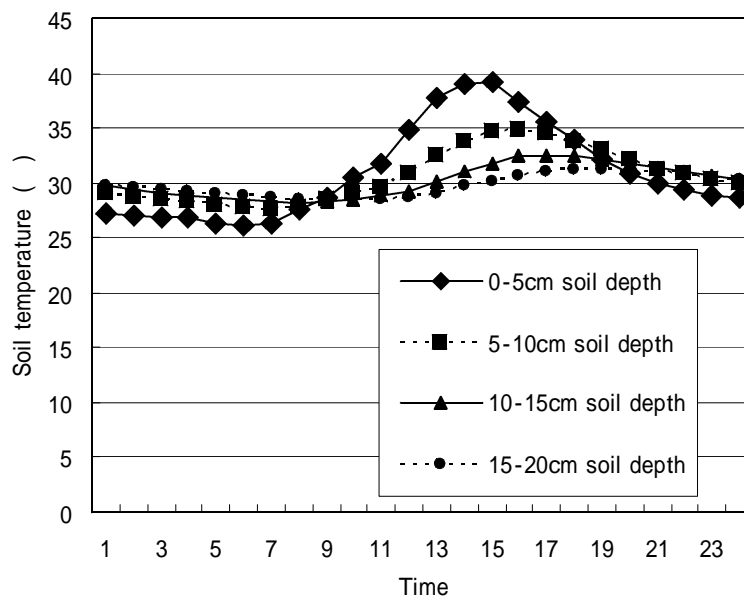


Fig.2-2 Changes in the soil temperature in the soil solarization plot



Fig.2-3 Effect of soil solarization on the number of resting spores of *Olpidium brassicae*

Vertical bars denote standard errors

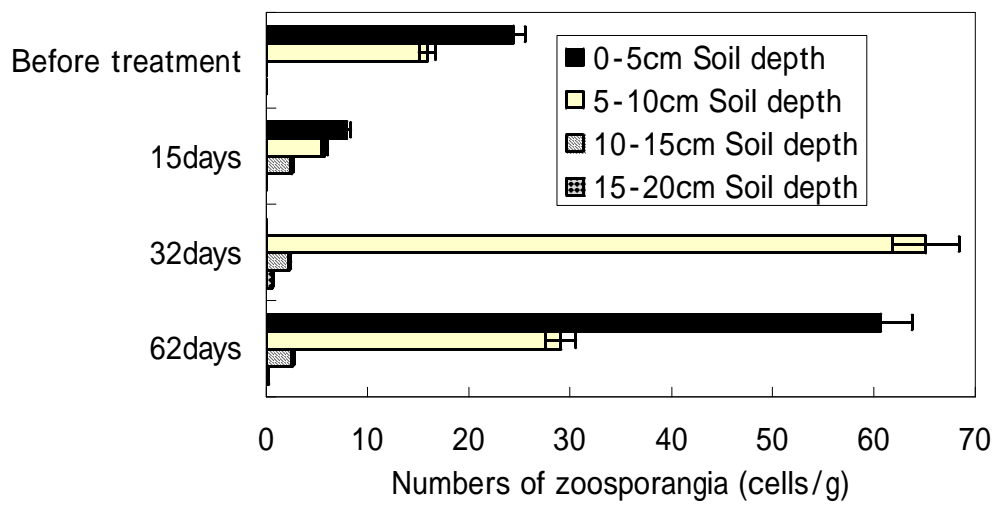


Fig.2-4 Effect of soil solarization on the number of zoosprangia of *Olpidium brassicae*

Vertical bars denote standard errors

Table 2-1 Effect of heat treatment at low temperature on roots infected with *Ospidium brassicae*

Treatment period (day(s))	Number of zoosporangia and resting spores of <i>Ospidium</i> formed in the root							
	Wet heat <sup>1)</sup>				Dry heat <sup>2)</sup>			
	control <sup>3)</sup>	35 °C	40 °C	45 °C	control <sup>3)</sup>	35 °C	40 °C	45 °C
1	+++ <sup>4)</sup>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
14	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
21	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++
28	+++	+++	—	—	+++	+++	+++	+++
42	+++	++	—	—	+++	+++	+++	+++
56	+++	+	—	—	+++	+++	+++	++

1) Wet heat: Heat treatment was done at 100% water saturation of soil.

2) Dry heat: Heat treatment was done using air-dried soil.

3) control: Test soil that had been left at low temperature for a prescribed period was used.

4) Number of *Ospidium* cells: +++, over 100 cells/plant; ++, 10-100 cells/plant; +, 1-10 cell(s)/plant.

Table 2-2 Effect of heat treatment at high temperature on roots infected with *Ospidium brassicae*

Treatment period	Number of zoosporangia and resting spores of <i>Ospidium</i> formed in the root							
	Wet heat <sup>1)</sup>				Dry heat <sup>2)</sup>			
	control <sup>3)</sup>	50 °C	55 °C	60 °C	control <sup>3)</sup>	50 °C	55 °C	60 °C
5min	+++ <sup>4)</sup>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
15	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++
30	+++	+++	+++	—	+++	+++	+++	+++
45	+++	+++	+++	—	+++	+++	+++	+++
1hr	+++	+++	+++	—	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	++	—	+++	+++	+++	+++
3	+++	+++	—	—	+++	+++	+++	+++
5	+++	+++	—	—	+++	+++	+++	+++
7	+++	++	—	—	+++	+++	+++	+++
9	+++	—	—	—	+++	+++	+++	++

1) Wet heat: Heat treatment was done at 100% water saturation of soil.

2) Dry heat: Heat treatment was done using air-dried soil.

3) control: Test soil that had been left at low temperature for a prescribed period was used.

4) Number of *Ospidium* cells: +++, over 100 cells/plant; ++, 10-100 cells/plant; +, 1-10 cell(s)/plant.

Table 2-3 Effect of heat treatment at low temperature on disease occurrence

Treatment period (days)	proportion of diseased plant(%)							
	Wet heat <sup>1)</sup>				Dry heat <sup>2)</sup>			
	control <sup>3)</sup>	35 °C	40 °C	45 °C	control <sup>3)</sup>	35 °C	40 °C	45 °C
7	100.0	62.5	50.0	75.0	100.0	12.5	50.0	75.0
14	100.0	75.0	100.0	100.0	100.0	62.5	100.0	50.0
21	100.0	100.0	62.5	62.5	100.0	100.0	83.3	100.0
28	100.0	100.0	0.0	0.0	100.0	100.0	50.0	100.0
42	100.0	50.0	0.0	0.0	100.0	100.0	75.0	50.0
56	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0

1) Wet heat: Heat treatment was done at 100% water saturation of soil.

2) Dry heat: Heat treatment was done using air-dried soil.

3) control: Test soil that had been left at low temperature for a prescribed period was used.

Table 2-4 Effect of heat treatment at high temperature on disease occurrence

Treatment period (time)	proportion of diseased plant(%)							
	Wet heat <sup>1)</sup>				Dry heat <sup>2)</sup>			
	control <sup>3)</sup>	50 °C	55 °C	60 °C	control <sup>3)</sup>	50 °C	55 °C	60 °C
0.5	100.0	100.0	100.0	0.0	100.0	100.0	80.0	75.0
1.0	100.0	75.0	50.0	0.0	100.0	75.0	80.0	40.0
3.0	100.0	100.0	50.0	0.0	100.0	80.0	100.0	100.0
5.0	100.0	83.3	0.0	0.0	100.0	15.0	100.0	80.0
7.0	100.0	10.0	0.0	0.0	100.0	60.0	75.0	50.0
9.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0	80.0	85.0	70.0

1) Wet heat: Heat treatment was done at 100% water saturation of soil.

2) Dry heat: Heat treatment was done using air-dried soil.

3) control: Test soil that had been left at low temperature for a prescribed period was used.



Table 2-5 Effect of soil solarization on the occurrence of lettuce big-vein disease in the autumn cropping in 2001<sup>a)</sup>

	Diseased plants(%)	Disease severity <sup>b)</sup>	Prevention value	Percentage of marketable plants <sup>c)</sup> (%)	Phytotoxicity
Infrared-permeable film + methionine	0.0a <sup>d)</sup>	0.0a	100.0a	100.0	-
Infrared-permeable film + urea polymer	0.0a	0.0a	100.0a	100.0	-
Infrared-permeable film + calcium cyanamide	0.0a	0.0a	100.0a	100.0	-
Infrared-permeable film	0.6a	0.1a	92.9a	100.0	-
Black film	0.6a	0.1a	92.9a	100.0	-
+calcium cyanamide					
Black film	0.6a	0.1a	92.9a	100.0	-
control(no film)	5.5b	1.4b	-	100.0	-

- a) Seedlings of Cultivar 'JT31' at the 3 or 4-leaf stage were transplanted on September 27 in a field naturally infested with the pathogen of the disease. The big-vein symptoms were evaluated for all the plants on October 26.
- b) Disease severity =  $100 \times [ \text{disease severity index} / (4 \times \text{total number of plants examined}) ]$
- c) Plants with disease severity indices of 0, 1, and 2
- d) The same letter indicates that no significant difference was recognized at 5% level in Tukey's multiple range test.

Table 2-6 Effect of soil solarization on the occurrence of lettuce big-vein disease in the winter cropping in 2001<sup>a)</sup>

	Diseased plants (%)	Disease severity <sup>b)</sup>	Prevention value	Percentage of marketable plants <sup>c)</sup> (%)	Phytotoxicity
Infrared-permeable film + methionine	43.8a <sup>d)</sup>	17.4a	53.2a	80.1a	-
Infrared-permeable film + urea polymer	32.0b	14.0a	62.4a	88.5a	-
Infrared-permeable film + calcium cyanamide	27.6b	10.2a	72.4b	96.2a	-
Infrared-permeable film control (no film)	51.2a	19.2a	48.4a	51.2b	-
	81.1c	37.2b	-	2.3c	-

a) Seedlings of Cultivar 'Santos No2' at the 3 or 4-leaf stage were transplanted on December 11 in a field naturally infested with the pathogen of the disease. The big-vein symptoms were evaluated for all the plants on March 8.

This table is already published in *Plant Protection* 56:509-511

b) Disease severity =  $100 \times [ \text{disease severity index} / (4 \times \text{total number of plants examined}) ]$

c) Plants with disease severity indices of 0, 1, and 2

d) The same letter indicates that no significant difference was recognized at 5% level in Tukey's multiple range test.

Table 2-7 Effect of soil solarization on the occurrence of lettuce big-vein disease in the winter cropping in 2002<sup>a</sup>

	Diseased plants (%)	Disease severity <sup>b)</sup>	Prevention value	Percentage of marketable plants <sup>c)</sup> (%)	Phytotoxicity
Infrared-permeable film + methionine	69.0a <sup>d)</sup>	22.8a	39.0a	97.7a	-
Infrared-permeable film + urea polymer	78.3a	21.7a	42.0a	100.0a	-
Infrared-permeable film + calcium cyanamide	56.1a	18.2a	51.3b	98.3a	-
Infrared-permeable film control (no film)	77.6a	28.2a	24.6a	94.3a	-
	100.0b	37.4b	-	90.7b	-

a) Seedlings of Cultivar 'JT31' at the 3 or 4-leaf stage were transplanted on November 1 in a field naturally infested with the disease. The big-vein symptoms were evaluated for all the plants on February 14.

b) Disease severity =  $100 \times [ \text{disease severity index} / (4 \times \text{total number of plants examined}) ]$

c) Plants with disease severity indices of 0, 1, and 2

d) The same letter indicates that no significant difference was recognized at 5% level in Tukey's multiple range test.

### 第3章 レタスビッグベイン病の化学的防除法について

これまでの本病の化学的防除法に関する研究は土壌消毒技術を中心に数多くなされてきた (Campbell et al. 1980 ; 清水ら 1986 ; White 1980)。しかし、土壌消毒剤の使用は、当該圃場のみならず周辺域にまで大きな環境負荷を与えることとなる。実際、これらの化学的防除法に用いられていた臭化メチルについては、「オゾン層を破壊する物質モントリオール議定書」締約国のうちの、先進諸国で「不可欠用途」および緊急対策用として国が使用可能な量を除く臭化メチルの生産が 2005 年に生産が全廃されている。そこで、より環境負荷の少ない化学的防除薬剤に着目した。一般の化学薬剤については、数種薬剤についてその有効性が報告されているが (Campbell et al. 1980 ; Campbell 1980 ; Tomlinson and Faithfull 1979 ; Tomlinson and Faithfull 1980 ; Walsh 1994)、詳細な処理条件の検討はなされておらず、実用には至っていないのが現状である。そのため、本研究では実用的なレタスビッグベイン病防除技術の開発を目的に、病原ウイルス媒介系状菌である *Olipidium brassicae* に対する有効な薬剤の検索を行うとともに、薬剤の効果的な処理方法を確立したのでその結果を報告する。

#### 1) 灌注処理型薬剤の防除効果について (室内試験)

##### 1. 実験材料と方法

検定土壌の作製 2000 年 7 月に兵庫県南あわじ市 (旧三原郡南淡町阿万) のビッグベイン病激発圃場より採取した土壌を接種源として供試した。採取した汚染土壌を室温下で風乾・砕土した後、滅菌パーミキュライトと 1:1 の割合で混合し調製した。

供試薬剤 Table 3 - 1 に示した殺菌剤 36 薬剤を供試し、*Olipidium* 菌に対

する感染阻害効果，ビッグベイン病発病抑制効果及びレタスに対する薬害について検討した。なお，薬剤処理は各薬剤の使用基準にしたがって希釈した常用濃度で行った。

薬剤検定方法 90ml 容プラスチックカップに検定土壌を 60ml 充填した後，所定濃度に調製した供試薬剤 50ml を灌注施用し，検定土壌に薬剤が十分浸透したことを確認した後，プラスチックカップ底部に設けた排水孔より余分な薬剤を除去した。これにあらかじめ無病土（メトロミックス 350，Scotts-Sierra 製）で育成した本葉展開 1～2 葉期のレタス幼苗（品種：サントス 2 号）を 9 株/カップの割合で移植し，18 ，連続照明下（20,000lux）の人工気象器内に保持した。*Olpidium* 菌の根内感染を促すため，育苗期間中の土壌水分量は飽和状態を維持した。

*Olpidium* 菌数調査：レタス根内に形成された *Olpidium* 菌数を光学顕微鏡を用いて計数した。すなわち，検定土壌移植 3 週間後のレタス幼苗をプラスチックカップから取り出し，根部を水洗し，付着している土塊を充分取り除いた後，根内に形成されている *Olpidium* 菌の遊走子嚢および休眠胞子数を光学顕微鏡下で計数した。なお，計数は主根より分岐した側根の分岐部位より 1cm 分について行った。調査株数は 5 株とし，1 株 5 か所について計数を行い，次式により *Olpidium* 菌感染率を算出した。なお，実験は 1 薬剤あたり 2 反復とした。

$$\textit{Olpidium} \text{ 菌感染率 ( \% ) } = A / B \times 100$$

A：薬剤処理苗根内の遊走子嚢数 + 休眠胞子数

B：無処理苗根内の遊走子嚢数 + 休眠胞子数

発病・薬害調査：残ったレタス苗は人工気象器内に置き，検定土壌移植 8 週間後に発病の有無を調査した。発病調査は 3 反復で行い，レタス葉の葉脈透過または葉脈付近の退緑が認められた株を発病株とした。また，レタス地上部の薬害については，育苗期間を通して以下の指標により調査する

とともに、検鏡時（感染菌数計測時）に根部の状態を観察した。

- : 薬害が認められない
- + : わずかに生育抑制が認められるが、その後回復した
- ++ : 葉の黄化、根部腐敗が観察され、生育抑制が認められた
- +++ : 著しい生育抑制が認められた
- ++++ : 全く生育しないか、枯死した

薬剤処理条件の検討 *Olipidium* 菌に対して感染抑制効果の認められた薬剤について、薬剤処理条件がレタスビッグベイン病の防除効果に及ぼす影響を明らかにするため以下の実験を行った。なお、供試薬剤としてチオファネートメチル水和剤（商品名：トップジンM<sup>®</sup>水和剤）を用いた。

処理濃度と防除効果 100ml 容プラスチックカップに検定土壌 80ml を充填した後、1,000 ~ 10,000 倍希釈（チオファネートメチルの有効成分濃度として 70, 88, 140, 175, 233, 350, 467 および 700ppm）の 8 段階に調製したチオファネートメチル水和剤 60ml を灌注施用した。薬剤検定時と同様に検定土壌に薬剤溶液が十分浸透したことを確認した後、余分な薬剤溶液は除去し、本葉展開 1 ~ 2 葉期のレタス幼苗を 2 株/カップの割合で移植し、18℃、連続照明下（20,000lux）の人工気象器内に保持した。実験は 1 区あたり 4 カップを供試し、4 反復で行った。移植 3 週間後に各カップより 1 株を供試して、*Olipidium* 菌の感染数を上記に従って調査し、*Olipidium* 菌感染率を算出した。さらに残ったレタス苗は人工気象器内で育苗を継続し、移植 8 週間後に発病調査を行った。なお、以下の実験についても処理条件以外の方法については特に断らない限り本法と同様に行った。

処理量と防除効果 灌注処理する薬剤量は、あらかじめ実験に供試する検定土壌の飽和水分量を計測し、容水量に対する割合で 0（無処理）、10、20、40、60、80 および 100 %（飽和容水量）の 7 段階に設定した。所定量の供試薬剤（処理濃度：1500 倍）を灌注処理し、薬剤処理量が *Olipidium* 菌の

根内感染および発病に及ぼす影響を検討した。実験は3反復で行った。

処理時期と防除効果 薬剤処理時期が防除効果に及ぼす影響を明らかにするため、移植当日、1日後、2日後、3日後、5日後、7日後および10日後に灌注処理（処理濃度：1500倍）し、根内 *Olpidium* 菌数の計数および発病調査を行った。実験は3反復とした。

防除効果の持続期間 供試植物は最低温度 13℃、最高温度 25℃ に設定したガラス温室内で育成した。上記同様に 100ml 容プラスチックカップに検定土壌 80ml を充填し、薬剤灌注処理（処理濃度：1500倍）は移植当日に行った。その後、本葉展開 1～2 葉期のレタス幼苗を 1 株/カップの割合で移植し、移植 12 週間後まで経時的に発病調査を行った。なお、実験には 1 区あたり 15 カップを供試し、3 反復で行った。

## 2 結果

### ビッグベイン病に対する有効薬剤の検索

*Olpidium* 菌感染抑制効果：各種殺菌剤の土壌灌注処理が *Olpidium* 菌のレタス根内感染に及ぼす影響を Table 3-1 に示した。本実験に供試した 36 薬剤のうち、*Olpidium* 菌の感染調査が可能であった 28 薬剤の中では、24 薬剤に何らかの感染抑制効果が認められたが、フェナリモル水和剤、フルトラニル水和剤、イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤およびバリダマイシン液剤の抑制効果は認められなかった。一方、感染抑制効果の認められた 24 薬剤の中では、ポリカーバメート水和剤、チオファネートメチル水和剤およびベノミル水和剤の効果が極めて高く、*Olpidium* 菌の感染阻害率は、いずれの薬剤も 99.9 % 以上であった。次いでジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤、クレソキシムメチルフロアブル、各種 EBI 剤（フェナリモル水和剤を除く）、スルフェン酸系水和剤、キャプタン水

和剤，トリアジン水和剤及びカスガマイシン・塩基性塩化銅剤の感染抑制効果が高く，感染阻害率は99.5%以上であった。

発病抑制効果及びレタスに対する薬害：検定土壌移植8週間後に病徴発現の有無を調査し，ビッグベイン病発病抑制効果について検討した（Table 3-1）。3反復の実験で発病が認められなかった薬剤は，チオファネートメチル水和剤，ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤，ベノミル水和剤，ジフェノコナゾール水和剤，トリアジメホン水和剤，トリフルミゾール水和剤，ヘキサコナゾールフロアブル，スルフェン酸系水和剤およびキャプタン水和剤の9薬剤であった。また，アゾキシストロビンフロアブル，トリホリン乳剤およびTPNフロアブル処理での平均発病株率は20%以下であり，無処理区に比較して病徴発現が抑制された。一方，各種殺菌剤の土壌灌注処理によるレタスの薬害は，有機硫黄剤，EBI剤及び銅剤で激しく発生し，これら薬剤の土壌灌注処理によりレタスの生育は著しく抑制された（Table 3-1）。薬害が認められなかった薬剤は，ホセチル水和剤，チオファネートメチル水和剤，ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤，ベノミル水和剤，アゾキシストロビンフロアブル，フルトラニル水和剤，ポリオキシシン水和剤，TPN水和剤，イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤およびシアゾファミドフロアブルであった。以上の結果より，*Oplidium* 菌の感染を抑制し，レタスの生育に影響を与えない薬剤として以下の実験にはチオファネートメチル剤を用いた。

#### チオファネートメチル剤の処理条件の検討

チオファネートメチル剤の処理濃度が防除効果に及ぼす影響：チオファネートメチル剤（以下TM剤）灌注施用時の処理濃度が*Oplidium* 菌の根内感染とビッグベイン病の発病に及ぼす影響をTable 3-2に示した。*Oplidium* 菌の根内感染はTM剤の灌注施用により，いずれの処理濃度でも無処理区と比較して抑制され，*Oplidium* 菌感染率（対無処理区）は6%以



下となった。処理濃度と感染菌数の関係は、1000（有効成分量：700ppm）～2000倍（同：350ppm）希釈では、感染率は0.1%以下であったが、4000倍（同：175ppm）以上の希釈を行うと感染菌数は増加傾向を示し、感染率は0.2～5.2%であった。また、ビッグベイン病の発病は1000～2000倍希釈薬剤の灌注処理により、無処理区に比較して顕著に抑制され、無処理区の発病株率が95.8%であったのに対して、薬剤施用区の発病株率は10%以下となった。

チオファネートメチル剤の処理量が防除効果に及ぼす影響：T M剤処理量が*Olpidium*菌の根内感染とビッグベイン病の発病に及ぼす影響をTable 3-3に示した。レタス根内に形成された*Olpidium*菌数は、遊走子嚢及び休眠孢子とも薬剤処理量が増加するとともに減少し、容水量100%の薬剤処理によりレタス根1cm当たりの全*Olpidium*菌数（遊走子嚢＋休眠孢子）は0.02個となった。ビッグベイン病の病徴発現は少量処理区（10～60%処理区）で高率に認められたが、処理量の増加に伴って発病株率は減少し、容水量100%処理区では5.6%の発生に留まった。

チオファネートメチル剤の処理時期が防除効果に及ぼす影響：T M剤の灌注処理を移植当日～移植10日後に行い、*Olpidium*菌の根内感染とビッグベイン病の症状発現に及ぼす影響を検討した（Table 3-4）。レタス根への*Olpidium*菌感染及び病徴発現は、T M剤の移植当日～2日後処理により顕著に抑制され、無処理区の発病株率が93.3%であるのに対してT M剤処理区の発病株率は10%以下となった。しかし、移植3日後以降の薬剤処理では、感染菌数の増加が確認されるとともに、発病株率の急激な増加が認められた。

チオファネートメチル剤の発病遅延効果：T M剤の発病遅延効果を明らかにするため、移植・灌注処理84日後まで経時的に発病調査を行った（Fig.3-1）。無処理区におけるビッグベイン病の初発生は、移植28日後

に確認され、その後急激に発病株数は増加した。移植 56 日後の発病株率は 83.3%に達し、移植 56 日後以降は漸増傾向で移植 84 日後の発病株率は 96.7 %であった。これに対して、T M 剤処理区の初発生は移植 42 日後に確認されたが、発病株率は低く、その後の発病株数の増加も緩慢であった。移植 56 日後の発病株率は 10%であり、T M 剤施用による発病抑制効果が確認された。しかし、移植 56 日後以降には発病株数の増加が認められ、移植 84 日後の発病株率は 80%となった。

### 3 . 考 察

レタスビッグベイン病の経済的被害には、ビッグベイン症状の発生による品質低下と生育不良に伴う小球化及び不結球による収量低下があげられる。レタスの小球化及び不結球は外葉の生育が不十分な状態で生育が進んだことが原因で発生するとされており（塚田 1986）、ビッグベイン病の発生が外葉の生育を妨げ、結果として収量低下を招いていると考えられる。また、一般的にレタスの外葉及び地下部では、結球開始期まで急激な生育量の増大が認められ、それ以降は比較的緩慢となり、球の肥大が急速に進行すると言われている（塚田 1986）。したがって、圃場移植時から結球開始期までの生育初期に感染・発病することによって、より大きな被害を生じることになる。そこで、本研究ではビッグベイン病による経済的被害を許容水準以下にすることを目的に、*Olpidium* 菌の初期感染抑制ならびにビッグベイン病発病抑制効果を示す薬剤の探索とその処理条件の検討を行った。

病原ウイルス媒介系状菌である *Olpidium* 菌のレタス根への感染抑制効果は、実験に供試した多くの薬剤で確認されたが、感染菌率（対無処理区）が 10 %以下であってもレタスビッグベイン病が発病に至る薬剤も認めら

れた（岩本豊ら,2002）。これは *Olpidium* 菌の感染が低率であっても，病原ウイルスを保毒していれば発病に至ることを示しており，本病防除のための薬剤選定にあたっては，安定した感染阻害効果を持つ薬剤を選定する必要があると考えられた。今回の実験に供試した各種系統の殺菌剤 36 薬剤の中では，レタスに対して薬害が認められず，*Olpidium* 菌の感染ならびにビッグベイン病の病徴発現を抑制する薬剤としてチオファネートメチル剤及びベノミル剤が有望であった。チオファネートメチル剤及びベノミル剤は共にベンゾイミダゾール系殺菌剤に分類され，代謝産物であるカルベンダジム（MBC）が病原菌に対して殺菌作用を示すと言われている（香月ら 1995）。著者らの結果は，ベノミル剤処理が *Olpidium* 菌に対して遊走子の運動性は阻害しないが，レタス根への感染及び遊走子嚢の成熟を抑制するとした Campbell らの既往の報告と一致した（Markatt and Kittrick 1963；Campbell et al. 1980）ことから，チオファネートメチル剤についても同様の作用機作が働いたと考えられた。また，今回の実験条件下ではベノミル剤の施用による薬害は認められなかったが，Campbell（Campbell 1980）はベノミル剤の過度な施用により薬害が認められ，レタス生体重が減少することを報告しているため，我々はレタスに対する安全性を考慮し，ビッグベイン病に対する有効薬剤としてはチオファネートメチル剤が有望であると判断した。

チオファネートメチル剤の土壌灌注処理による発病抑制技術確立のため，最適処理条件の検討を行った結果，1000 倍～2000 倍希釈薬剤の施用による *Olpidium* 菌の感染抑制及び発病抑制効果がきわめて高く，チオファネートメチルの有効成分量として 350ppm 以上が必要であることが明らかとなった。また，薬剤処理量と *Olpidium* 菌感染との関係においては，薬剤の施用量が増加するにしたがって感染菌数は減少し，それに伴って発病株率の低下が確認された。発病抑制の程度は施用量が多いほど高く，薬

剤施用量が防除効果に大きく影響すると考えられた。これらの結果から、本病を対象にチオファネートメチル剤の灌注処理を行う場合、有効成分量として、350ppm 以上の薬剤がレタス根圏に十分量施用されることが必要であると考えられた。さらに、薬剤の処理時期が防除効果に及ぼす影響を検討したところ、*Olpidium* 菌の感染抑制効果及び発病抑制効果とも移植当日処理が最も優れ、処理時期が遅くなるほど防除効果が低下することが明らかになった。岩木ら（1978）は病土への植え付け期間と発病との関係を検討し、病土との接触期間が1日間であっても、環境条件が良好であれば高率に発病するとしている。これらのことから *Olpidium* 菌のレタス根への感染は移植直後から行われていると推測され、移植当日の薬剤施用が処理時期として適当であると思われた。

一方、薬剤の灌注施用による発病遅延効果を検討した結果、無処理区の発病増加期が移植約30日後であったのに対して、薬剤施用区では移植約60日後であり、長期間におよぶ発病抑制効果の持続が確認された。このことから、移植時の薬剤灌注施用が *Olpidium* 菌の初期感染を抑制し、発病を遅延させたものと考えられ、防除効果は約1カ月間持続すると思われた。レタスの栽培期間（在圃期間）は1カ月以上であるが、移植時に薬剤灌注を行うことによって、経済的被害に大きく影響する圃場移植時から結球開始期までの生育初期の発病を抑制することが可能であることが明らかとなった。

以上より、チオファネートメチル剤土壌灌注施用のレタスビッグベイン病に対する有効性とその処理条件が明らかとなった。本研究で示したチオファネートメチル剤の発病抑制効果は主として実験室内での検定結果に基づくものであるが、発病圃場における移植時土壌灌注試験（3L/m<sup>2</sup>）において同様の高い発病抑制効果と発病程度軽減による商品化率の向上が確認されており、実用性は十分にあると思われる。今後、さらに発病圃場にお

ける発病抑制効果の確認と商品性向上の実証を行うことにより、チオファネートメチル剤処理がレタスビッグベイン病の総合防除における有用な技術の一つとなることが期待される。

## 2) 汚染圃場におけるチオファネートメチル剤の防除効果について(圃場試験)

### 温室内での防除試験

#### 1. 実験材料と方法

##### 1) 温室内における防除効果の検討

検定土壌の作製 2000年7月に兵庫県三原郡南淡町のビッグベイン病激発圃場より採取した土壌を接種源として供試した。採取した汚染土壌を室温下で風乾・砕土した後、滅菌バーミキュライトと1:1の割合で混合し作製した。プランター(内容積:60cm×18cm×18cm)に滅菌土壌15Lを充填後、上記により作製した検定土壌を3L混合し、十分に攪拌した。

薬剤検定方法 実験は2001年12月～2002年3月に、兵庫県立農林水産技術総合センターのガラス温室内で行った。上記により作製した検定土壌にあらかじめ無病土(メトロミックス350, Scotts-Sierra製)で育成した本葉展開2～3葉期のレタス苗(品種:サントス2号)を5株/プランターの割合で移植した。移植後、1500倍に希釈したチオファネートメチル水和剤(商品名:トップジンM水和剤, 以下TM剤)を300ml/株の割合で株元灌注し、検定土壌に薬剤が十分浸透したことを確認した後、プランター底部に設けた排水孔より余分な薬剤を除去した。*Olpidium* 菌の根内感染を促すため、育苗期間中の土壌水分量は飽和状態を維持した。なお、実験は1区あたり3プランターを供試し、2反復で行った。

発病調査 発病調査は検定土壌に移植してから12週間まで経時的に行った。調査は肉眼観察で行い、レタス葉の葉脈透化または葉脈付近の退緑が認められた株を発病株とした。

## 2)圃場における防除効果

試験は2001年9月～11月及び2001年12月～2002年3月に兵庫県南あわじ市で行った。試験には罹病性のレタス品種JT31(日本たばこ産業)を供試した。市販育苗土(与作N-15,片倉チッカリン製)で育苗した3～4葉期のレタス苗を2001年9月27日に移植した。マルチは黒ポリマルチを用いた。TM水和剤は1500倍に希釈した薬剤を移植時から2週間隔で計3回,1回当たり3L/m<sup>2</sup>の割合で土壌灌注した。施肥,灌水等の一般管理は現地慣行とした。試験は1区6m<sup>2</sup>(36株)の3反復とした。11月14日,全株を対象に,ビッグベイン症状の有無を発病程度別に調査し,以下の式に従って発病度を算出した。

$$\text{発病度} = (A \times 4 + B \times 3 + C \times 2 + D) / 4 \times \text{調査株数} \times 100$$

A:発病が認められ,未結球

B:発病が認められ,結球するが出荷不能

C:発病が認められ,小玉になるが出荷可能

D:発病は認められるが,収量には影響しない

E:未発病

また,商品化率については,上記指標を用いて以下の式に従って算出した。

$$\text{商品化率} = (C+D+E) / \text{調査株数} \times 100$$

薬害については,随時達観により施用直後から収穫期まで経時的に調査した。

冬期試験では,レタス品種は現地慣行品種である罹病性品種のコンスタントを用いた。TM水和剤は1500倍に希釈した薬剤を移植時から3週間隔で計3回,上記と同様に施用した。移植は2001年12月12日に行った。試験は1区6m<sup>2</sup>の3反復とした。経時的に発病の有無を調査するとともに,2002年3月20日に全株を対象に,ビッグベイン症状の有無を調査し,上

記の計算式により発病度および商品化率を算出した。

### 3) 耐病性品種との組み合わせによる防除効果

試験は 2001 年 11 月～ 2002 年 2 月に兵庫県三原郡南淡町阿万の現地農家圃場（水稻跡）において実施した。レタス品種としては、罹病性品種であるサントス 2 号（株フジイシード）と耐病性品種のロジック（横浜植木株）を用いた。TM 水和剤は、1500 倍に希釈した薬剤を移植時から 3 週間隔で計 3 回、3L / m<sup>2</sup>の割合で土壌灌注した。移植は 2001 年 11 月 1 日に行い、2 条植え、黒ポリマルチトンネル被覆栽培を行った。施肥、灌水等の一般管理は現地慣行とした。試験は 1 区 5.6 m<sup>2</sup>（33 株）の 3 反復とした。2002 年 2 月 14 日、全株を対象に、ビッグベイン症状の有無を発病程度別に調査した。発病度および商品化率は上記の式に従って算出した。

## 2. 結果

### 1) 温室内での防除試験

TM 剤の防除効果の持続性を明らかにするため、移植・灌注処理 84 日後まで経時的に発病調査を行った（Fig.3-2）。無処理区におけるビッグベイン病の初発生は、移植 14 日後に確認された。28 日後より急激に発病株数は増加し、移植 56 日後の発病株率は 73.3%であった。移植 56 日後以降は漸増傾向となり移植 84 日後の発病株率は 100.0 %であった。これに対して、TM 剤処理区の初発生は移植 35 日後に確認されたが、発病株率は低く、その後の発病株数の増加も緩慢であった。移植 56 日後の発病株率は 20%であり、TM 剤施用による発病抑制効果が確認された。

### 2) 圃場における防除効果

年内穫り作型では、レタスビッグベイン病の発病は、無処理区で移植後 4



週目より確認され、その後漸増した。T M 剤処理区では移植 8 週後に、初発が確認されるに止まった(Fig.3-3)。収穫期における全株調査においては、無処理区の発病株率が 27.1 %であったのに対して、T M 剤施用区は 3.7 %であった(Table 3-5)。発病程度別株数頻度では、無処理区で収量性に影響される発病程度 C ランクの株が 7.1 %認められたが、T M 剤施用区では、収量に影響する発病株は認められなかった。発病度は無処理区が 7.6 であったのに対して、T M 剤施用区は 1.0 であった。また、商品化率は両区とも 100.0 %であったが、無処理区では C 及び D ランクの発病が 27 %あった。以上より、年内穫り作型における T M 剤施用による防除効果は、無処理区と比較して高く、薬剤灌注処理による薬害は、各試験区とも認められなかった。

レタスビッグベイン病による経済的被害が最も著しい厳寒期穫り作型での T M 剤施用の適用性を検討した結果、両試験区とも移植 3 週後には発病が認められた。無処理区の発病の推移は移植後 3 週目より急激に増加し、移植 9 週目には発病株率が 95 %を越えた(Fig.3-4)。一方、T M 剤施用区の発病推移は漸増傾向で、移植 9 週後の発病株率は 28.3 %であり、薬剤施用による防除効果が確認された。収穫期における全株調査においては、無処理区の発病株率が 97.8 %であったのに対して、T M 剤施用区は 35.6 %であった。また、両試験区の発病程度別株数頻度は、無処理区で出荷不能球率が 19.0 %を占めた。一方、T M 剤施用区では、出荷不能球率は皆無であった。以上より、本作型においても T M 剤施用による防除効果は顕著で、薬剤灌注による薬害も認められなかった(Table 3-6)。

### 3) 耐病性品種との組み合わせによる防除効果

レタスビッグベイン病の耐病性品種として現在、市販されている品種ロジックを供試し、慣行の罹病性品種サントス 2 号を対照に薬剤施用との併

用効果を検討した。ビッグベイン病の発病はいずれの試験区とも移植 3 週後には発病が認められたが、対照区のサントス 2 号・薬剤無施用区の発病は移植後 3 週目より急激に増加し、収穫期（移植 12 週目）には発病株率は 100 % となった。一方、TM 剤施用区の発病推移はいずれも漸増傾向であり、特に耐病性品種の発病の増加は緩慢であった。収穫期におけるそれぞれの発病株率は罹病性品種であるサントス 2 号で 47.0 %、耐病性品種のロジックでは 25.8 % であった (Fig.3-5)。収穫期における各試験区の発病程度別株数頻度は、サントス 2 号を用いた薬剤無施用区で出荷不能球率が 17.5 %（発病程度：A 及び B）、収量性に影響される発病株（発病程度 C）は 58.3 % を占めた。一方、TM 剤施用区では、罹病性品種のサントス 2 号の出荷不能球率は 1.5 % と非常に低く、収量性に影響しないもの及び無発病株をあわせた株率は 96.9 % であった。また、耐病性品種に薬剤施用を行った試験区の発病程度はさらに低く、出荷及び収量に影響するものは認められなかった。発病度はサントス 2 号・無処理区が 48.3 であったのに対して薬剤施用区は 12.9（防除価 73.3）、耐病性品種ロジックを用いた場合は 6.4（防除価 86.7）となった。また、出荷球率についてもサントス 2 号を用いた薬剤無施用区が 82.5 % に止まったのに対して、薬剤施用区はいずれも 98 % 以上となり、特に耐病性品種ロジックを用いた場合の出荷球率は 100.0 % であった (Table 3-7)。以上より、耐病性品種と TM 剤施用の併用効果が顕著であると認められた。

### 3 . 考察

レタスビッグベイン病の発生による経済的被害は、ビッグベイン症状によるレタス品質の低下と生育不良に伴う小球化及び不結球による収量低下

が主なものである。生育不良球発生の原因としては、結球開始期までの外葉形成期の生育不良が主な要因と考えられる。したがって、圃場移植時から結球開始期までの生育初期に保毒 *Olpidium* 菌が感染し、ビッグベイン病が発生することにより、より大きな被害を生じることになる。我々は、レタスビッグベインウイルス媒介系状菌である *Olpidium* 菌の初期感染を抑制する薬剤のスクリーニングを行い、TM剤の感染抑制効果が高いことを明らかにした。そこで、本研究ではビッグベイン病による経済的被害を許容水準以下にすることを目的に、発病圃場におけるTM剤の適用性をビッグベイン病防除効果ならびに経済的被害軽減効果の両面から検討した。

病原ウイルス媒介系状菌である *Olpidium* 菌のレタス根への感染抑制効果は、室内スクリーニングにおいて供試した多くの薬剤で確認されたが、発病抑制効果を示す薬剤は少なかった。これは *Olpidium* 菌の感染が低率であっても、病原ウイルスを保毒していれば発病に至ることを示している。現在、本病の防除技術としては、クロルピクリン剤等による土壌消毒や本研究でも用いた耐病性品種の利用があげられる。また、近年、赤外線透過型フィルムを用いることによって、消毒後通常のマルチとして利用できる省力的な太陽熱利用土壌消毒法の開発や、太陽熱利用土壌消毒の補助資材として尿素系ポリマーや石灰窒素の施用の有効性が確認されている。また、全く新たな防除法として、*Olpidium* 菌の感染を阻害する植物内生細菌の探索とその効果の実証されている。しかし、これら化学的防除、生態的防除、物理的防除及び生物的防除についても、単独で用いた場合には、十分な防除効果の継続が期待できないのが現状である。その原因としては、上述の *Olpidium* 菌の低率感染であっても発病に至る本病発生の特性が影響するものと考えられる。

著者らの圃場試験により、栽培期間が約3カ月にもわたる厳寒期穫り作

型においても，生育初期の感染を抑制することによって発病が遅延し，生育後半には発病するが経済的被害（Zink and Grogan 1954）を最小限に食い止めることが可能であることが明らかとなり，TM剤の実用性は非常に高いものと判断された。さらに，これまでに育成された耐病性品種の問題点は，それほど強い抵抗性を持たず，汚染程度の高い圃場においては罹病性品種と同程度の発病を示す場合があるとされているが（川頭洋一 2000；Fujii et al. 2003），本実験においては耐病性品種との併用により防除効果，商品性及び収量性の向上が確認されたことから，これらとの組み合わせにより，より安定した防除効果が期待される。本実験の結果は，メチルブロマイド処理にカルベンダジムを併用することにより防除効果が向上するとした WHITE（1983）の既往の報告とほぼ一致したことから，メチルブロマイドの使用を避け，チオファネートメチル剤でレタスビッグベイン病に対処できると考えられる。レタスビッグベイン病は過去において防除の成功事例は皆無に等しく，発生した産地はすべからく崩壊しているのが現状であり，本病防除の現地圃場における成功事例としては最初の報告である。このように土壌病害の中でも難防除性の高い病害であるが，今後，さらに様々な防除技術を加えることにより，TM剤の灌注施用を含むレタスビッグベイン病の総合防除の効果が高まるものと期待される。

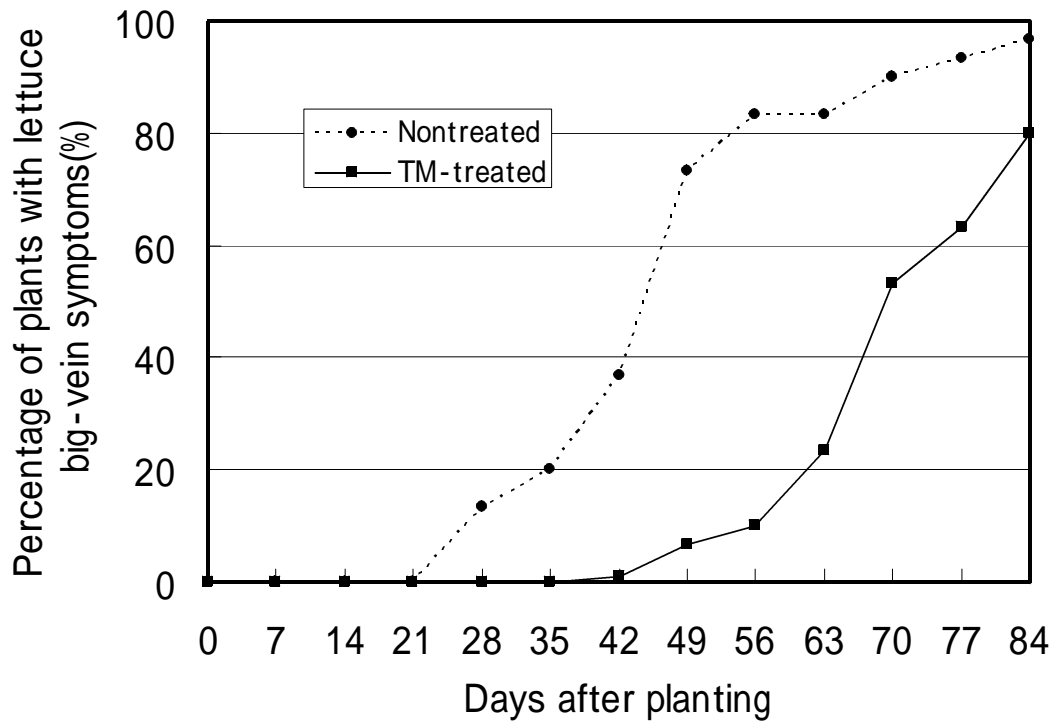


Fig.3-1 Persistency of the effect of drenching with thiophanate-methyl on the expression of lettuce big-vein symptoms

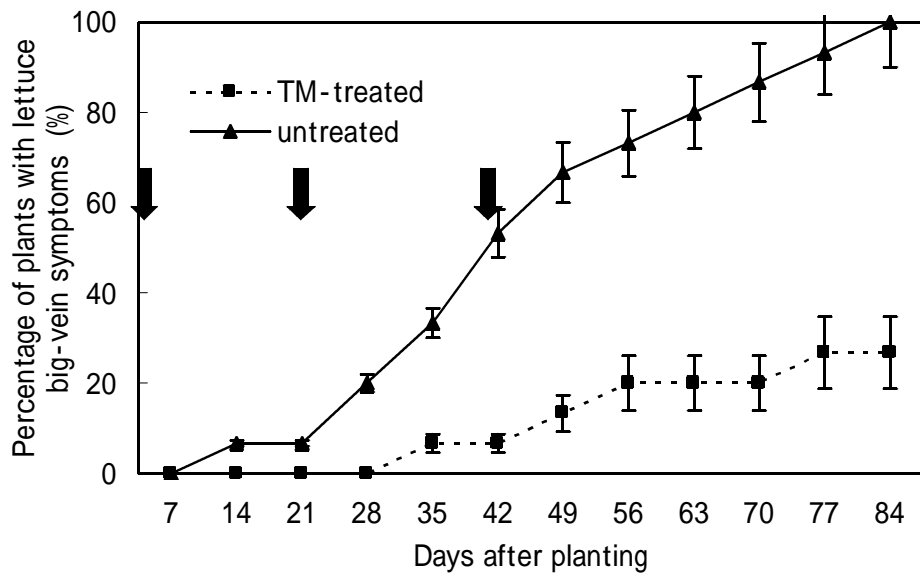


Fig.3-2 Effect of thiophanete-methyl drenching on the expression of the big-vein symptoms in the greenhouse

A mixture of 15L of sterilized soil and 3L of inoculum filled a container. Five lettuce seedlings at the two to three-leaf stages ('Santos No.2', a susceptible local common cultivar) grown in disease-free soil were transplanted in a container. Each plant was drenched with 300ml of thiophanate-methyl WP diluted to 1500-fold at the base. The experiment was conducted in a greenhouse.

↓ : drenching time of thiophanate-methyl  
Vertical bars denote standard errors.

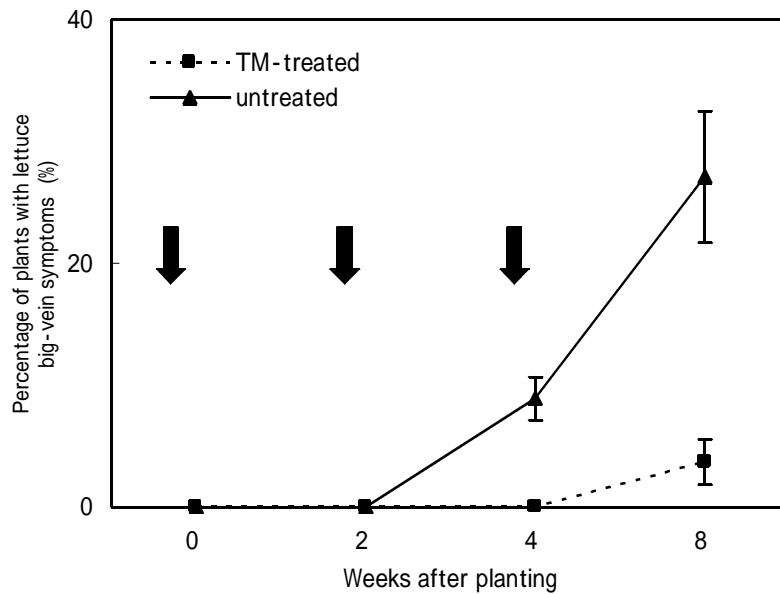


Fig.3-3 Effect of thiophanete-methyl drenching on the expression of the big-vein symptoms in autumn crop in the commercial field  
 Cultivar 'JT31' was used for autumn cultivation as a susceptible local common cultivar. Lettuce seedlings at the 3 or 4-leaf stage were transplanted on September 27 (30plants per plot:10 m<sup>2</sup>). TM diluted to 1500-fold was applied three times at two-week intervals after transplanting by drenching at the plant base at a ratio of 3L/m<sup>2</sup>.  
 ↓: drenching time of thiophanate-methyl  
 Vertical bars denote standard errors.

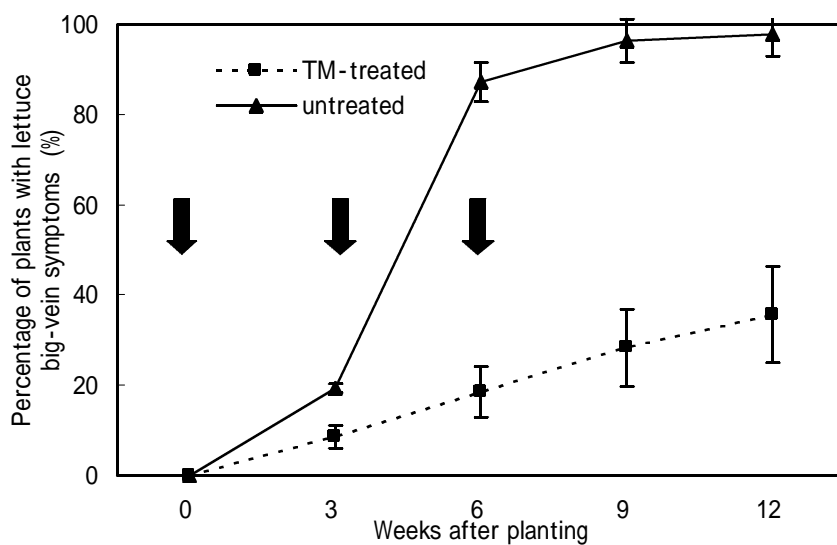


Fig.3-4 Effect of thiophanete-methyl denching on the expression of the big-vein symptoms in winter crop in the commercial field  
 Cultivar 'Constant' was used for winter cultivation as a susceptible local common cultivar. Lettuce seedlings at the 3 or 4-leaf stage were transplanted on December 12 (30plants per plot:10 m<sup>2</sup>). TM diluted to 1500-fold was applied three times at three-week intervals after transplanting by drenching at the plant base at a ratio of 3L/m<sup>2</sup>.  
 ↓: drenching time of thiophanate-methyl  
 Vertical bars denote standard errors.



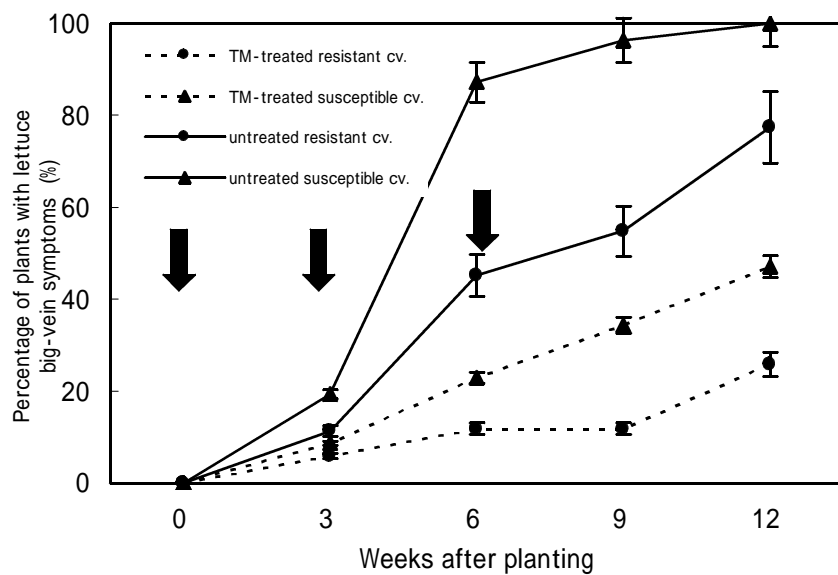


Fig.3-5 Effect of the combination of cultivation of a moderately resistant cultivar with thiophanate-methyl application in winter crop in the commercial field

Lettuce cultivars used were susceptible cultivar,'Santos No.2' and moderately resistant cultivar,'Logic'. Lettuce seedlings at the 3 or 4-leaf stage were transplanted on November 1 (30plants per plot:10 m<sup>2</sup>). TM diluted to 1500-fold was applied three times at three-week intervals after transplanting by drenching at the plant base at a ratio of 3L/m<sup>2</sup>.

↓: drenching time of thiophanate-methyl  
Vertical bars denote standard errors.

Table 3-1 Effect of various chemicals on infection of lettuce by *Olpidium brassicae* and the expression of lettuce big-vein symptoms

Fungicide and formulation	Dilution (times)	Percentage infection(%) <sup>a)</sup>	Symptom expression <sup>b)</sup>			Phytotoxicity <sup>c)</sup>
			Trial no.			
			1	2	3	
Manzeb WP	600	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	-	-	++++
Maneb WP	600	-	-	-	-	++++
Polycarbamate WP	600	0.04	0/2	-	-	+++
Tolclophos-methyl WP	1000	3.9	3/4	4/4	0/4	+
Fosetyl WP	800	66.7	1/3	4/4	4/4	-
Thiophanate-methyl WP	1500	0.04	0/4	0/4	0/4	-
Diethofencarb· Thiophanate-methyl WP	1500	0.3	0/4	0/4	0/4	-
Benomyl WP	2000	0.02	0/4	0/4	0/4	-
Iprodione WP	1000	-	-	-	-	++++
Procymidone WP	1000	33.7	3/4	2/4	4/4	+ ~ ++
Azoxystrobin WP	2000	0.6	1/4	1/4	0/4	-
Kresoxim-methyl WP(SC)	2000	0.4	0/3	2/3	0/2	+++
Metominostrobin WP	1000	1.9	2/4	3/4	0/3	+++
Difenoconazole WP	3000	0.2	0/4	0/4	0/3	++
Triadimefon WP	2000	0.2	0/4	0/4	0/4	+
Triflumizole WP	1000	0.2	0/4	0/4	0/3	++
Triforine EW	1000	0.2	1/4	0/2	0/4	++
Fenarimol WP	6000	92.8	1/2	2/2	3/3	+++
Myclobutanil EW	4000	-	-	-	-	++++
Hexaconazole WP(SC)	1000	0.7	0/4	0/3	0/4	+++
Flutolanil WP	1000	120.6	4/4	4/4	4/4	-
Polyoxins WP	1000	16.2	4/4	3/4	4/4	-
Dichlofluanide WP	800	0.3	0/4	0/4	0/4	++
Captan WP	600	0.5	0/3	0/4	0/4	++
Chlorothalonil(TPN) WP	1000	0.7	2/4	0/4	0/4	-
Fluazinam WP	1000	1.2	-	-	-	++++
Triadine WP	600	0.1	0/4	0/4	1/4	+
Fludioxonil WP(SC)	1000	-	-	2/3	-	+++
Cymoxanil· Manzeb WP	1000	-	-	-	-	++++
Iminoctadine-albesilate WP	1000	112.9	4/4	4/4	4/4	-
Validamycin L	800	164.6	4/4	4/4	3/4	++
Cyazofamid WP(SC)	500	15.8	3/4	3/4	1/4	-
Copper sulfate basic	800	3.1	1/4	3/4	0/4	+
Copper chloride basic	600	-	-	-	-	++++
DBEDC EW	1000	-	-	-	-	++++
Kasugamycin· Copper chloride basic	1000	0.2	2/4	2/4	0/4	+
Nontreated control	-	-	4/4	4/4	4/4	-

a) Percentage of infection(%)= (total number of *Olpidium* cells in treated roots / total number of *Olpidium* cells in nontreated roots)×100.

b) Number of plants with big-vein symptoms in 8 week / number of plants tested.

c) Phytotoxicity index, - : no phytotoxicity, + : slight, ++ : moderate, +++ : heavy, ++++ : severe.

d) Not investigated because of phytotoxicity.

Table 3-2 Effect of concentration of thiophanate-methyl on infection of lettuce by *Olpidium brassicae* and the expression of lettuce big-vein symptoms

Dilution	Concentration (ppm) <sup>b</sup>	Number of cells(cells/cm)			Percentage <sup>a)</sup> infection(%)	Diseased plants(%)
		zoosporangia	resting spores	total		
× 1000	(700)	0.1	0.2	0.3	< 0.1	8.9 a <sup>c)</sup>
× 1500	(467)	0.1	0.0	0.1	< 0.1	5.3 a
× 2000	(350)	0.1	0.0	0.1	< 0.1	9.7 a
× 3000	(233)	0.2	0.3	0.5	0.2	14.6 a
× 4000	(175)	0.5	0.2	0.7	0.2	39.6 b
× 5000	(140)	6.2	1.5	7.7	2.4	47.9 b
× 8000	(88)	8.2	3.2	11.4	3.5	50.0 b
× 10,000	(70)	12.8	4.0	16.8	5.2	79.2 c
Nontreated control		214.7	107.3	322.0	-	95.8 d

a) Percentage infection(%)= (total number of *Olpidium* cells in treated roots / total number of *Olpidium* cells in nontreated roots) × 100.

b) Concentration of active ingredients.

c) The same letter indicates that significant difference was not recognized at 5% level in Duncan's multiple range test.

Table 3-3 Effect of volume of thiophanate-methyl on infection of lettuce by *Olpidium brassicae* and the expression of lettuce big-vein symptoms

Drenching volume	Number of cells (cells/cm)			Percentage <sup>a)</sup>	Diseased
	zoosporangia	resting spores	total	infection (%)	plants (%)
10% <sup>b)</sup>	153.1	71.8	224.9	82.8	100.0 <sup>a)</sup>
20%	108.7	30.8	139.5	51.9	83.3 b
40%	43.2	8.2	51.4	18.5	66.7 c
60%	18.8	1.3	20.1	9.1	52.7 c
80%	10.5	3.3	13.8	4.9	16.7 d
100%	< 0.1	0.0	< 0.1	< 0.1	5.6 d
Nontreated control	178.3	80.3	258.6	-	91.6 a

a) Percentage infection(%)= (total number of *Olpidium* cells in treated roots /total number of *Olpidium* cells in nontreated roots) × 100.

b) Ratio of water holding capacity.

c) The same letter indicates that significant difference was not recognized at 5% level in Duncan's multiple range test.

Table 3-4. Effect of timing of treatment with thiophanate-methyl on infection of lettuce by *Olpidium brassicae* and the expression of lettuce big-vein symptoms

Days after planting	Number of cells(cells/cm)			Percentage <sup>a)</sup>	Diseased
	zoosporangia	resting spores	total	infection(%)	plants(%)
0	0.1	< 0.1	0.1	< 0.1	3.7 a <sup>b)</sup>
1	0.2	< 0.1	0.3	0.3	3.7 a
2	0.2	0.0	0.2	< 0.1	8.3 a
3	1.4	< 0.1	1.4	0.6	49.1 b
5	6.5	2.8	9.3	3.9	85.2 c
7	11.8	2.5	14.3	5.9	100.0 c
10	11.1	3.7	14.8	5.6	65.9 d
Nontreated control	218.5	33.2	251.7	-	93.3 c

a) Percentage infection(%)= (total number of *Olpidium* cells in treated roots /total number of *Olpidium* cells in nontreated roots) × 100.

b) The same letter indicates that significant difference was not recognized at 5% level in Duncan's multiple range test.

Table 3-5 Effect of thiophanate-methyl application on the expression of lettuce big-vein symptoms in autumn crop<sup>a)</sup>

	Diseased plants (%)	Disease <sup>b)</sup> severity	% of diseased plants categorized as <sup>c)</sup>					Percentage of <sup>d)</sup> unmarketable plants (%)	Phytotoxicity
			A	B	C	D	E		
TM-treated plants	3.7a <sup>e)</sup>	1.0a <sup>e)</sup>	96.3	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0a <sup>e)</sup>	-
untreated plants	27.1b	7.6b	72.9	20.0	7.1	0.0	0.0	0.0a	-

a) Cultivar 'JT31' was transplanted (seedlings at the 3 or 4-leaf stage) on September 27 in a field naturally infested with the disease. TM diluted to 1500-fold was applied three times at two-week intervals after transplanting by drenching at the plant base at a ratio of 3 L m<sup>-2</sup> and the existence of the big-vein symptoms were estimated for all the plants on November 14

b) Disease severity :

$$\text{Disease severity} = 100 \times \left[ \frac{(\text{disease severity index}) \times (\text{no. of diseased lettuce plants})}{4 \times \text{total number of plants examined}} \right]$$

c) Disease severity index :

A (disease severity index=0) : no symptoms

B (disease severity index=1) : symptoms are found, but without economic significance

C (disease severity index=2) : reduced head size, but harvestable

D (disease severity index=3) : not harvestable because of reduced head size

E (disease severity index=4) : not harvestable because of the absence of head formation

d) Percentage of unmarketable plants =  $(n_D + n_E) / \text{total number of plants examined} \times 100$

e) Values with the same letters in the same column are not significantly different ( $p < 0.05$ , *t-test*)

Table 3-6 Effect of thiophanate-methyl application on the expression of lettuce big-vein symptoms in winter crop<sup>a)</sup>

	Diseased plants (%)	Disease <sup>b)</sup> severity	% of diseased plants categorized as <sup>c)</sup>					Percentage of <sup>d)</sup> unmarketable plants (%)	Phytotoxicity
			A	B	C	D	E		
TM-treated plants	35.6a <sup>e)</sup>	8.9a <sup>e)</sup>	64.4	31.1	4.4	0.0	0.0	0.0a <sup>e)</sup>	-
untreated plants	97.8b	44.7b	2.2	34.4	44.4	16.8	2.2	19.0b	-

a) Cultivar 'Constant' was transplanted (seedlings at the 3 or 4-leaf stage) on December 12 in a field naturally infested with the disease. TM diluted to 1500-fold was applied three times at three-week intervals after transplanting by drenching at the plant base at a ratio of 3 L m<sup>-2</sup> and the existence of the big-vein symptoms were estimated for all the plants on March 20.

b) Disease severity :

$$\text{Disease severity} = 100 \times [ (\text{disease severity index}) \times (\text{no. of diseased lettuce plants}) / 4 \times \text{total number of plants examined} ]$$

c) Disease severity index :

A (disease severity index=0) : no symptoms

B (disease severity index=1) : symptoms are found, but without economic significance

C (disease severity index=2) : reduced head size, but harvestable

D (disease severity index=3) : not harvestable because of reduced head size

E (disease severity index=4) : not harvestable because of the absence of head formation

d) Percentage of unmarketable plants =  $(n_D + n_E) / \text{total number of plants examined} \times 100$

e) Values with the same letters in the same column are not significantly different ( $p < 0.05$ , *t-test*)

Table 3-7 Effect of the combination of cultivation of a moderately resistant cultivar with thiophanate-methyl application on the expression of lettuce big-vein symptoms<sup>a)</sup>

	Lettuce <sup>a)</sup> cv	Diseased plants(%)	Disease <sup>b)</sup> severity	% of diseased plants categorized as <sup>c)</sup>					Percentage of <sup>d)</sup> unmarketable plants(%)	Phytotoxicity
				A	B	C	D	E		
TM-treated plants	Logic	25.8a <sup>e)</sup>	6.4a <sup>e)</sup>	74.2	25.8	0.0	0.0	0.0	0.0a <sup>e)</sup>	-
TM-treated plants	Santos No.2	47.0b	12.9b	53.0	43.9	1.5	1.5	0.0	1.5a	-
untreated plants	Logic	77.4c	26.2c	22.6	54.8	21.0	1.5	0.0	1.5a	-
untreated plants	Santos No.2	100.0d	48.3d	0.0	24.3	58.3	14.6	2.9	17.5b	-

a) Lettuce cultivars used were susceptible cultivar, 'Santos No.2' and moderately resistant cultivar, 'Logic'. Seedlings at the 3 or 4-leaf stage were transplanted on November 1 in a field naturally infested with the disease. TM diluted to 1500-fold was applied three times at three-week intervals after transplanting by drenching at the plant base at a ratio of 3 L m<sup>-2</sup> and the existence of the big-vein symptoms were estimated for all the plants on February 14.

b) Disease severity :

$$\text{Disease severity} = 100 \times [ (\text{disease severity index}) \times (\text{no. of diseased lettuce plants}) / 4 \times \text{total number of plants examined} ]$$

c) Disease severity index :

A (disease severity index=0) : no symptoms

B (disease severity index=1) : symptoms are found, but without economic significance

C (disease severity index=2) : reduced head size, but harvestable

D (disease severity index=3) : not harvestable because of reduced head size

E (disease severity index=4) : not harvestable because of the absence of head formation

d) Percentage of unmarketable plants =  $(n_D + n_E) / \text{total number of plants examined} \times 100$

e) The same letters indicate that significant difference was not recognized at 5% level in Duncan's multiple range test.



#### 第4章 レタスビッグベイン病の生物的防除法の試み

レタスビッグベイン病の物理的防除法および化学的防除法について論じてきたが、食の安全・安心の確保から化学的防除に代わる新たな防除法の開発が強く要望されている。その一つとして、拮抗微生物などを用いた生物的防除法が開発研究されている。トマト青枯病やトマト根腐萎凋病では、それぞれ防除効果がある病害抑制微生物が報告されている（相野 1993；相野 1995；Aino 1997；岩本・相野 2007；岩本・相野 2008）。トマトの根から分離された内生細菌 *Pseudomonas fluorescens* FPH9601 が、トマト青枯病やトマト根腐萎凋病に対して発病抑制効果があることはすでに報告されている（岩本・相野 2007）。また、レタスビッグベイン病に対する拮抗菌の存在も相野（相野ら 2002）によって示唆されている。そこで、レタスビッグベイン病の生物的防除の可能性を検証するために、本章では、拮抗菌の選抜およびその効果の実証を試みた。

生物的防除については、実験室内での発病抑制効果を証明した実験例は数多く報告されている。しかし、実用化に際して多くの研究者が失敗しているのが現状である。また、成功した事例があっても、その効果を一般普遍化するのが困難で、必ずしも良い評価を得ることができていないのが現状である。このような現象は、特定場所の限定された条件下のみに起こりうるものとして処理されている。これら多くの失敗例において、生物的防除の成功に重要な要因が隠されている。その中で相野らによるトマト青枯病対象の生物防除資材「セル苗元気」は、農薬登録がなされ効果の普遍化を行った数少ない事例である。

農薬を用いて防除する場合においても、圃場の汚染程度および圃場条件等によって、その効果が大きくふれることがある。生物的防除では、汚染程度がさらに効果の発現に大きく影響する。このような現象が生じるため、

生物的防除の安定的な効果に疑問が投げかけられ、普遍的な技術となり得ない原因となっている（鈴木ら 2000）。そこで、生物的防除の現実的な適用方法を明らかにすべく、レタスビッグベイン病に対する生物的防除法の可能性を検討した。

## 1. 実験材料と方法

供試菌株 レタス及びキャベツの根面・根内から P-1 培地（ $\text{NaNO}_3$ :5g, Betaine:5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ :1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ :0.5g,  $\text{KCl}$ :0.2g, Sodium Desoxychorate:1g, Agar:15g,  $\text{H}_2\text{O}$ :1000ml）を用いて分離した内生細菌（佐藤 2003）100 菌株の内、培養中に死滅した 21 菌株を除いた 79 菌株を検定に供試した。

検定方法 1/10PDA（1/10 ジャガイモ半合成培地）培地で供試菌を 25℃、7 日間培養し、滅菌水を加え供試菌懸濁液とした。これを滅菌した園芸用培土（「スミソイル」住化農業資材株式会社製）とバーミキュライト（細粒）を 1：2 に混合した培地に混和し、さらに 25℃、7 日間培養した。培養した供試菌資材を 488 穴のセルトレイに充填し、レタス種子（サントス 2 号；現地慣行品種で罹病性）を播種した。このセルトレイを検定土壌を 10ml 敷き詰めたパートトレイ（10cm × 10cm × 6cm）の中に置き、20℃以下になるようにした温室内で 50 日間育苗した。50 日間育苗後、レタス苗に生じたビッグベイン症状の有無により発病株率を調査した。供試個体数は 20 株とした。なお、薬害の有無は育苗期間中を通じて行い、育苗 50 日後の発病調査時に最終判定を行った。

### ポット試験

上記の実験で得られた発病抑制効果を示し、かつ薬害を生じなかった菌株 No.73 について、ポット試験を行い、その発病抑制効果を検討した。No.73

菌株を 1/10PDA 培地で 25℃ 1 週間培養後， $10^5$ CFU/g になるように滅菌培養土（スミソイル：バーミキュライト = 1 : 2）に混和し，25℃，2 週間再培養した。この培養土をセルトレイ（200 穴）に充填し，充分灌水後，レタス種子（サントス 2 号）を播種し，25℃，20,000lx の人工気象器内で育苗した。育苗後，本葉 5 葉期に現地汚染土壌を充填したポリポット（10.5cm）に移植し，20℃以下になるようにした温室内で 90 日間育苗した。90 日間育苗後，レタス苗に生じたビッグベイン症状の有無により発病株率を調査した。供試個体数は 25 株とした。なお，薬害の有無は育苗期間中を通じて行い，育苗 90 日後の発病調査時に最終判定を行った。

### 圃場試験

No.73 菌株について，現地圃場において防除効果試験を行い，その発病抑制効果を検討した。ポット試験と同様に No.73 菌株を 1/10PDA 培地で 25℃ 1 週間培養後， $10^5$ CFU/g になるように滅菌培養土（スミソイル：バーミキュライト = 1 : 2）に混和し，25℃，2 週間再培養した。この培養土を用いて，レタス種子（ロジック：耐病性品種）を播種し，育苗を行った。移植は 2002 年 11 月 1 日に行い，1 区 50 株（17 m<sup>2</sup>）の 3 反復とした。発病調査は 2003 年 2 月 14 日に各区全株を対象にレタス苗に生じたビッグベイン症状の有無により発病株率を調査した。なお，薬害の有無は生育期間中を通じて行い，発病調査時に最終判定を行った。

## 2．結果

本研究ではビッグベイン病による経済的被害を許容水準以下にすることを目的に，*Olipidium* 菌の初期感染抑制ならびにビッグベイン病発病抑制効果を示す内生細菌の探索を行った。その結果，供試した分離菌 79 菌株中レタスビッグベイン病の発病を 50%以下に抑えた菌株が No.25,73,79,82 の 4 菌株が見いだされた。しかし，No.73 以外の 3 菌株についてはレタスの

生育に影響を与えたため、実用的な菌株としては No.73 のみであった (Table 4-1)。そのため、ポット試験には No.73 株を供試した。その結果、無処理区の発病株率が 66.7%であるところ、No.73 株処理区の発病株率は 33.3%となり、発病株率より求めた防除価は 50.0 であり、レタスビッグベイン病発病抑制効果がポット試験でも実証された (Table 4-2)。

圃場試験の結果は、防除価で太陽熱利用土壌消毒単独で 17.9、*Olpidium* 菌感染阻害細菌単独で 31.0、太陽熱利用土壌消毒 + 尿素系ポリマー + *Olpidium* 菌感染阻害細菌 66.6、太陽熱利用土壌消毒 + 石灰窒素 + *Olpidium* 菌感染阻害細菌で 89.8 となり、圃場試験においても *Olpidium* 菌感染阻害細菌の防除効果が確認された (Table 4-3)。

### 3. 考察

本試験で用いた供試菌株は内生細菌 (endophytic bacteria) に分類される。内生細菌は、「生活環のある時期、明らかな害を引き起こすことなく、宿主植物の組織内部に生息する生物」と定義されている (佐藤 2003)。言い換えれば植物の根の中に侵入し、高い定着性を有し、増殖する能力を持ち、宿主には病気を起こさない細菌である (鈴井ら 2000)。病害抑制菌の作用機作については、未だ不明な点が多いが、*Olpidium* 菌に対して内生細菌が何らかの作用を起こし、病原菌の媒介者である *Olpidium* 菌の侵入を阻害したことにより発病が抑制されたものと思われる。

今後は、さらに検定菌株数を増やし、より発病抑制効果の高い菌株の選抜を継続するとともに、実際のレタス栽培圃場での実証を行い、内生細菌を用いた生物的防除が難防除病害であるレタスビッグベイン病に対する総合防除技術の一つとなることを期待する。

Table 4-1 Suppressive effect of expression of lettuce big-vein symptoms by endophytic bacteria

Strain No.	Diseased plants (%)	Phytotoxicity	Strain No.	Diseased plants (%)	Phytotoxicity
1	85.7	-	57	68.2	-
2	85.7	-	58	69.6	-
3	86.4	-	59	69.6	-
4	81.0	-	60	85.0	-
5	72.2	-	61	88.0	-
6	77.3	-	63	90.9	-
7	85.7	-	64	84.2	-
8	90.9	-	65	85.0	-
9	81.2	-	66	85.0	-
12	82.6	-	67	82.6	-
13	68.2	-	68	95.2	-
14	100.0	-	69	95.7	-
15	91.3	-	70	78.9	-
16	75.0	-	71	87.0	-
18	95.7	-	72	91.3	-
19	57.1	-	73	39.1	-
21	100.0	-	74	86.4	-
22	81.0	-	75	90.9	-
23	88.0	-	76	92.0	-
24	90.5	-	77	90.9	-
25	40.9	+	78	78.3	-
26	83.3	-	79	45.5	+
27	68.2	-	80	87.0	-
28	91.3	-	81	72.2	+
29	94.7	-	82	41.7	+ +
30	87.5	-	83	88.0	+
33	91.7	-	86	68.2	+
35	68.4	-	87	58.3	+
36	100.0	-	88	90.9	+
40	95.8	-	89	57.1	+
44	94.7	-	90	63.6	+
46	78.3	-	91	85.7	+
47	78.3	-	92	95.5	-
49	73.7	-	93	68.4	-
50	80.2	-	94	100.0	-
52	90.9	-	95	95.7	-
53	90.9	-	96	100.0	-
54	94.1	-	99	66.7	-
56	100.0	-	control	100.0	-

Lettuce cultivars used were susceptible cultivar, 'Santos No.2' .  
 Phytotoxicity index, - : no phytotoxicity, + : slight, ++ : severe.

Table 4-2 Effect of endophytic bacteria on the occurrence of lettuce big-vein disease in a pot test

	Diseased plants(%)	Preventive value	Phytotoxicity
No.73	33.3	50.0	-
Control	66.7	-	-

Lettuce cultivars used were susceptible cultivar, 'Santos No.2' .  
Phytotoxicity index, - : no phytotoxicity, + : slight, ++ : severe.

Table 4-3 Effect of endophytic bacteria on the occurrence of lettuce big-vein disease in a field test in 2002<sup>a</sup>

	Diseased plants (%)	Prevention value	Percentage of marketable plants (%)	Phytotoxicity
Infrared-permeable film	82.1a <sup>b</sup>	17.9a	100.0a	-
Endophytic bacteria (EB)	69.0b	31.0a	100.0a	-
Infrared-permeable film + urea polymer+EB	33.4c	66.6b	100.0a	-
Infrared-permeable film + calcium cyanamide+EB	10.2c	89.8c	100.0a	-
control (no film)	100.0a	-	90.7b	-

a) Seedlings of Cultivar 'Logic' at the 3 or 4-leaf stage were transplanted on November 1 in a field naturally infested with the disease. The big-vein symptoms were evaluated for all the plants on February 14.

b) The same letter indicates that no significant difference was recognized at 5% level in Tukey's multiple range test.

## 第5章 総合考察

本論文では難防除病害であるレタスビックベイン病の防除法を確立するため、あらゆる方法を単独でどの程度防除効果があがるか検討してみた。本研究から得られた結果より、以下の3点と、これから研究を進めなければならない論点について絞って考察を試みた。

### レタスビックベイン病に対する物理的防除法

物理的防除法の代表としてあげられるのが太陽熱利用土壤消毒法である。本防除方法は施設内でのイチゴ萎黄病に対して開発された土壤消毒法であるが、家村・中野(1980)は露地栽培のレタスに応用し、レタスビックベイン病の防除に成功している。本研究において、ウイルス媒介糸状菌である *Oplidium* 菌の耐熱性が 40 ~ 60 の間であり、土壤水分がその消毒効果に大きく影響されることが明らかとなった。しかし、低菌密度の条件では十分に太陽熱利用土壤消毒が適応可能であり、防除対策のベースとなる技術の一つとして有望であった。また、マルチ被覆資材についてその種類を検討し、赤外線透過型フィルムを用いることにより、太陽熱利用土壤消毒後、通常のマルチとして利用できる生産技術を合田ら(1999)が開発し、本研究でもこのマルチ資材を用いることによって防除効果を上げることができた。しかし、太陽熱利用土壤消毒の効果は1作目までが限度であり、2作目には急激に発病するようになる。消毒期間中の気象条件が良ければ、地表下30 cmでも十分な *Oplidium* 菌の死滅効果が得られるが、その年によって効果の程度は変動する。通常の場合は、地表下10 cmまでが消毒効果の限界である。したがって、1作目では十分消毒された土壤でレタスは生育できるが、2作目になると、地表下10 cmよりも下層部分より、*Oplidium* 菌が遊走子の形態で移動し、レタス根に感染が起こり発病に至ると推測された。本研究でとりあげた試験でも、*Oplidium* 菌の分布状態から上記のことを確認することができた。そこで、太陽熱利用土壤消毒



時に補助資材を用いた場合のレタスビッグベイン病に対する発病抑制効果および持続効果を検討した。太陽熱利用土壌消毒時に赤外線透過型フィルムマルチを行い，補助資材として，DL-メチオニン(40kg/10a)，尿素系ポリマー(200kg/10a)，石灰窒素(100kg/10a)を土壌混和し，太陽熱利用土壌消毒後2作目での防除効果を調べた結果，石灰窒素が最も優れた防除効果を示したほか，メチオニンおよび尿素系ポリマーでも無処理と比較して有意な防除効果が認められ，商品化率も向上した。以上のことから，太陽熱利用土壌消毒時の補助資材の施用は，レタスビッグベイン病防除に有効であると判断された。

#### レタスビッグベイン病に対する化学的防除法

これまでレタスビッグベイン病の防除法に関する研究は，クロルピクリンや臭化メチルによる土壌消毒を中心に数多くなされてきた。しかし，これら薬剤による土壌消毒は環境に対する影響が大きく，特に臭化メチルについては2005年にモントリオール議定書により，農業分野での使用は不可能となった。クロルピクリンくん蒸剤およびクロルピクリンテープ剤は，レタスビッグベイン病に対して登録された数少ない農薬であるが，前述のとおり環境に対する負荷の他に，これら土壌消毒による防除法は，水稻跡作に作付けを行う兵庫県のレタス作付け体系においては，太陽熱利用土壌消毒同様，十分な土壌消毒期間の確保が難しく，防除効果の持続性も消毒後，1作が限界で，2作目からは本病の発生が確認されている。そこで，土壌消毒剤(くん蒸)以外の薬剤による防除効果について検討した。くん蒸剤以外の方法については，数種の薬剤について，その有効性が報告されてはいるが，詳細な処理条件の検討はなされてはならず，利用できる農薬は皆無であった。本研究では，これらの点を明らかにするために市販農薬36薬剤について *Olapidium* 菌の感染阻害効果，レタスビッグベイン病発

病抑制効果およびその使用方法を詳細に検討した（岩本ら 2002）。また，併せてレタスビッグベイン病汚染圃場における防除効果も検討した（Iwamoto et al. 2005）。

その結果，チオファネートメチル水和剤（商品名：トップジンM水和剤）およびベノミル水和剤（商品名：ベンレート水和剤）が，*Oplidium* 菌の遊走子感染抑制に対して高い効果を示すことが明らかとなった。また，レタスビッグベイン病発病抑制効果も確認された。ただし，ベンレート水和剤についてはレタスに対して薬害の事例が報告されていることから，その後の試験研究においては，チオファネートメチル水和剤を供試することとした。圃場試験においては，チオファネートメチル水和剤 1,500 倍を 3L/m<sup>2</sup> の割合で定植直後および 2 週間隔で 2 回株元土壌灌注処理することにより，高い防除効果が得られることが明らかとなった。ただし，環境負荷の観点から定植直後の 1 回処理も試みたところ，発病はするが商品化率は向上し，実用化技術として有望であった。これら防除技術は定植着後の生育前半の *Oplidium* 菌の感染を阻害することにより，結球体勢にはいるまでのレタスにビッグベイン病が発病しないようにし，商品化率を向上させようとするものであり，生育期後半にはどうしても感染を抑制させることは不可能で発病に至るが，商品として収穫可能とさせる技術である。したがって，本技術もあくまで総合防除技術の一つとして考えるべきものである。

本研究を通して行った試験により，チオファネートメチル水和剤（化学農薬）の利用法の開発が進められ，農薬登録もなされたので生産者が利用できる技術の一つとなった。

#### レタスビッグベイン病に対する生物的防除法の試み

トマトやハクサイにおいて植物内生細菌を用いた土壌病害（トマト：青枯病，根腐萎凋病，ハクサイ：根こぶ病）の防除法が報告され，一部で生

物農薬として農薬登録がなされ販売が開始された内生細菌もある。

しかし、レタスビッグベイン病に対して同様の内生細菌が存在するか否かは不明であった。そこで、普及技術への前段階として *Olpidium* 菌の感染を阻害する内生細菌を検索することを目的に試験を行った。そして、感染阻害細菌として選抜されたものについては、レタスビッグベイン病の発病抑制効果をシードリングバイオアッセイチャンバー法により検討した。

アブラナ科野菜およびレタス根面および根内から分離した79菌株を用いて、*Olpidium* 菌の感染を阻害する内生細菌をスクリーニングした。その結果、無処理区の *Olpidium* 菌感染数を有意に減少させる4菌株を選抜することができた。しかし、4菌株の内3菌株はレタスの生育に対して影響を与えたため有望な菌株は1菌株であった。この菌株について、レタスビッグベイン病の発病抑制効果を検討したところ、高い発病抑制効果を示した。このように、*Olpidium* 菌の感染を阻害する内生細菌の存在とそれを用いたビッグベイン病の発病抑制の可能性の知見が得られた。しかし、今後、生産者が利用できる技術とするためには、その処理方法や農薬登録の問題が残されていると考えられる。

## 総合防除

この研究において取り上げた化学的防除、物理的防除、生物的防除の他に栽培面から検討する課題として抵抗性品種の利用があげられる。レタスビッグベイン病に対する抵抗性品種の育種は主にアメリカで行われ、1980年代に、耐病性品種「Sea Green」、「Thompson」、「Pacific」が相次いで世に送り出された。日本では、(株)横浜植木が「Sea Green」を抵抗性母本として「アントレー」を育成し、現在、さらに耐病性を増強させた「ロジック」を開発した。この品種は第3章の化学的防除法の中で供試した品種である。

これらの品種は、土壌中の病原菌密度が低い状態では効果を示すが、激発条件下では完全に発病を抑制することができないと思われる。しかし、発病し、症状を呈しながらも結球・肥大し商品として出荷することができる。この点において利用価値が高い品種といえる。今後、さらに強い耐病性や抵抗性を持つ品種が育成される可能性があり、生産者からも大いに期待される分野である。

これら多方面からレタスビッグベイン病の防除について考えてきたが、残念ながら現段階では、単独の技術で生産者を満足させられる防除効果を示す技術は無いといえる。そこで、補助資材を投入した太陽熱利用土壌消毒後、*Olpidium* 菌の感染を阻害する内生細菌を内生させた耐病性品種のレタス「ロジック」を現地汚染土壌に定植し、組み合わせ防除効果を検討した。その結果、それぞれの防除価は、太陽熱利用土壌消毒単独で 17.9、

*Olpidium* 菌感染阻害細菌単独で 31.0、太陽熱利用土壌消毒 + 尿素系ポリマーで 42.0、太陽熱利用土壌消毒 + 石灰窒素で 51.3、太陽熱利用土壌消毒 + 尿素系ポリマー + *Olpidium* 菌感染阻害細菌 66.6、太陽熱利用土壌消毒 + 石灰窒素 + *Olpidium* 菌感染阻害細菌で 89.8 となった。さらに激発圃場での効果、あるいはさらなる防除効果を期待する場合は、化学的防除を組み合わせることにより防除価はさらに増加すると期待される。このように難防除土壌病害であるレタスビッグベイン病でも技術を組み合わせることにより十分実用性のある結果を得ることが示唆された。

最後に生産者の収益性の向上についても触れておくと、防除対策を全く講じない場合、発病株率は 100 % となるが、ここにチオファネートメチル剤を施用すれば、発病株率は 48.3 % に減少し、また収益性に大きく関与する 2 L 球比率は、0 % から 45.2 % に向上することが明らかとなっている。収益性は防除対策を講じなければ 18.6 万円/10a に留まるが、チオファネートメチル剤を灌注施用することにより 26.2 万円/10a に向上する。さらに、

耐病性品種と組み合わせれば 39.5 万円/10a となり，冬レタスの標準収益である 38.6 万円/10a を上回る効果が見られた。今後，さらに耐病性の強い品種の試作が行われ，また，本研究で選抜された内生細菌も種子に直接コーティングする形で使用する実用化手前まで開発されている。

最後に，本研究で得られた成果について論じてみたい。本研究を行う以前のレタスビッグベイン病の防除対策といえば，土壌燻蒸剤による土壌消毒が唯一の方法であった。しかし，これは環境に与える負荷が非常に大きく，また作業者にとっても負担の大きい作業であった。また，防除効果についても長期間持続しないという技術であった。さらに，経済性を考えてみると 10a 処理するのにかかる経費はクロルピクリンテープ剤の場合，処理に要する経費は労賃を考えずに薬剤代だけで約 10 万円/10a と非常に高価であり，冬レタスの標準収益が 38.6 万円/10a であることから考えても，とうてい受け入れられる技術ではなかった。本研究により，太陽熱利用土壌消毒を中心とした物理的防除法が確立し，世界で初めて，土壌消毒剤以外の一般の殺菌剤の農薬登録が行われ，化学的防除法が見いだせた。また，生物的防除法についてもその可能性が認められたことから，耕種的防除とあわせて総合防除体系を構築することができるようになり，兵庫県におけるレタスの栽培面積は 2000 年前後に一時期，レタスビッグベイン病の被害の増加により，約 1,000ha 程度まで減少したが，太陽熱利用土壌消毒の普及，チオファネートメチル剤の農薬登録及び耐病性品種の育種の進展等もあり，2002 年以降は，約 1,300ha を維持することができている ( Fig.5-1 )。これは過去の発生地が軒並み産地崩壊から逃れられなかったことからみても，一定の成果が上げられたものと考えられる。さらに，現在，チオファネートメチル剤以外の薬剤の登録に向けた試験が行われており，これらの薬剤が利用可能となれば，耐性菌対策にも寄与するであろう。本研究で得られた成果とこれら今後の研究の発展により，さらにレタスの安定生産に寄与

できるものと期待する。

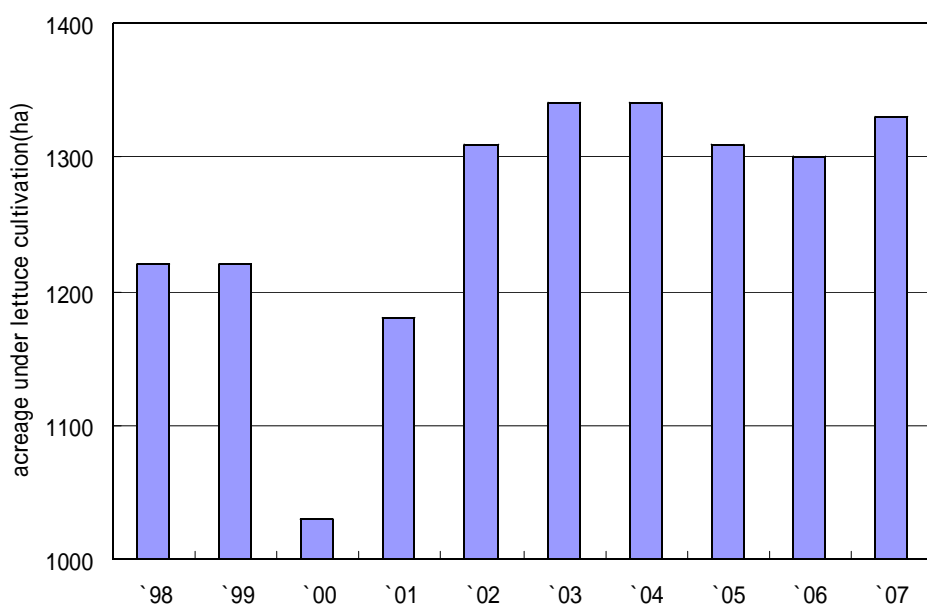


Fig. 5-1 Change of acreage under lettuce cultivation  
in Hyogo prefecture

## 摘 要

本論文はレタスビッグベイン病の総合防除に関して実験を行ったもので得られた結果は以下のとおりである。

### 1. レタスビッグベイン病に対する物理的防除法

#### 1) 太陽熱利用土壌消毒時の *Olpidium* 菌の分布調査

太陽熱利用土壌消毒後の再汚染の原因を明らかにするために、*Olpidium brassicae* の菌密度の変化を調査した。その結果、消毒前には地下 0 ~ 10cm で多くの休眠孢子が観察された。その後、消毒期間を経るに従って下層部からの検出が多くなり、処理 32 日後には 0 ~ 10cm で検出できなくなり、より深い部分で多くの休眠孢子が観察された。遊走子嚢数は、処理前および消毒 15 日後では各深さとも比較的検出数が少ないが、消毒 32 日、62 日後では 0 ~ 10cm の比較的土壌の浅い部分で多くの遊走子嚢が確認された。

#### 2) 太陽熱利用土壌消毒の防除効果（秋作）

太陽熱消毒の効果を検討したところ、無処理区の発病株率が 5.5%、発病度 1.4 であったのに対して、太陽熱消毒のみを行った区は発病株率が 0.6%、発病度 0.1 で防除価は 92.9 であった。また、各種補助資材を処理すると尿素系ポリマー施用区、石灰窒素施用区とも発病は全く認められず、その防除効果が明らかとなった。また、赤外線透過型フィルムを用いずに、通常の黒マルチを用いた場合でも、若干の効果の低下は認められたが、赤外線透過型フィルムとほぼ同等の防除効果が確認された。商品化率は、各区とも 100%であった。なお、いずれの処理区とも薬害は認められなかった。

#### 3) 太陽熱利用土壌消毒の防除効果（冬作）



太陽熱消毒単独の効果については、無処理区の発病株率が 81.1 %であったのに対して太陽熱消毒区の発病株率は 51.2 %となり、発病度も無処理区が 37.2 であったのに対して太陽熱消毒区の発病度は 19.2 となり、効果の程度は小さいが太陽熱消毒の効果の持続性が確認された。

次に各種補助資材を圃場に処理した場合の太陽熱利用土壌消毒の効果について検討した。太陽熱利用土壌消毒時に各種補助資材を施用し、その後の発病を比較した。メチオニン（40kg/10a）処理区は無処理区の発病株は約半分となった。尿素系ポリマー（200kg/10a）もメチオニンとほぼ同等の防除効果を示し、防除価は 62.4 であった。最も処理効果が高かったのは、石灰窒素処理区（100kg/10a）で、防除価は 72.4 であった。

## 2. レタスビッグベイン病に対する化学的防除法

### 1) 防除薬剤の検索

本実験に供試した 36 薬剤のうち、*Olipidium* 菌の感染調査が可能であった 28 薬剤の中では、24 薬剤に何らかの感染抑制効果が認められたが、フェナリモル水和剤、フルトラニル水和剤、イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤およびバリダマイシン液剤の抑制効果は認められなかった。一方、感染抑制効果の認められた 24 薬剤の中では、ポリカーバメート水和剤、チオファネートメチル水和剤およびベノミル水和剤の効果が極めて高く、*Olipidium* 菌の感染阻害率はいずれの薬剤も 99.9 %以上であった。しかし、薬害の有無から実用性が認められたのは、チオファネートメチル水和剤のみであった。

### 2) 処理条件の検討

チオファネートメチル剤は、濃度 350ppm 以上をレタス根圏部に十分量、移植当日に灌注することで優れた防除効果を示した。さらに、防除効果は約 1 ヶ月間持続し、薬害は認められず、レタス生育初期の防除技術と

して有効であることが明らかとなった。

### 3) 圃場における防除効果

レタスビッグベイン病の化学的防除技術確立のため、本病に対する有効薬剤の探索を行ったところ、チオファネートメチル剤の有効性が確認されたため、本剤の圃場における適用性を検討した。チオファネートメチル剤の土壌灌注は発病圃場においても長期間有効であり、経済的被害の最も大きい厳寒期収穫の作型においても利用可能であった。さらに、本剤と耐病性品種を組み合わせると、発病株率、被害程度とも減少し、商品性及び収量性の向上が認められた。

### 3. レタスビッグベイン病に対する生物的防除法の試み

供試した分離菌 79 菌株中レタスビッグベイン病の発病を 50%以下に抑える菌株が No.25,73,79,82 の 4 菌株認められた。しかし、No.73 以外の 3 菌株はレタスの生育に影響を与えたため、実用的な菌株として No.73 を選抜した。この No.73 菌株について発病抑制効果をポット試験で調べたところ防除価 50 が得られ、その有効性が確認された。また、圃場試験でも発病抑制効果が認められた。

## 参考文献

相野公孝 (1993) 蛍光性シュードモナスによるトマト青枯病防除 . 農業技術体系土壌肥料編 . 第 1 巻 :148 の 3-148 の 6

相野公孝 (1995a) 蛍光性 *Pseudomonas* を用いたトマト青枯病の生物的防除に関する研究 . 日本土壌肥料学雑誌 66:211-212

相野公孝 (1995b) 蛍光性 *Pseudomonas* を用いたトマト青枯病の生物的防除に関する研究 . 神戸大学博士論文 .

Aino, M(1997)Biocontrol of bacterial wilt of tomato by producing seedlings colonaized with endophytic antagonistic pseudomonads, Proceedings of the fourth international workshop on plant growth-promoting rhizobacteria Japan-OECD joint workshop, : 120-123

相野公孝 (2002) レタスビッグベイン病の発生と防除 . 植物防疫 , 56 : 509-511 .

BOS, L., HUIJBERTS, N. (1990) Screening for resistance to big-vein disease of lettuce (*Lactuca-sativa*). CROP PROTECTION 9 : 446-452.

Butler, R. C., Fletcher, J. D., France, C. M. (2005) Virus surveys of lettuce crops and management of lettuce big-vein disease in New Zealand. New Zealand Plant Protection, Volume 58.

Campbell, R.N., Grogan, R.G. ( 1963 ) Big-vein virus of lettuce and its transmission by *Oipidium brassicae*. *Phytopathology* 53:252-259.

Campbell, R.N., Fry, P,R. ( 1966 ) The nature of the associations between *Oipidium brassicae* and lettuce big-vein and tobacco necrosis viruses. *Virology* 29:222-233.

Campbell, R.N., and Lin, M.T. ( 1976 ) Morphology and thermal death point of *Oipidium brassicae*. *Amer. J. Bot.* 63:826-832.

Campbell, R.N., Greathead, A. S. and Westerlund, F. V. ( 1980 ) Big vein of lettuce: Infection and methods of control. *Phytopathology* 70:741-746.

Campbell, R.N. ( 1980 ) Effects of benomyl and ribavirin on the lettuce big vein agent and its transmission. *Phytopathology* 70: 1190-1192.

Campbell, R.N., and Lot, H. ( 1996 ) Lettuce ring necrosis, a virus-like disease of lettuce: evidence for transmission by *Oipidium brassicae*. *Plant Disease* 80:611-615.

Campbell, R.N. ( 1996 ) Fungal transmission of plant viruses. *Annu Rev. Phytopathol* 34:87-108.

Colariccio, A., Chaves,ALR, Eiras,M. (2003a) Presence of lettuce big-vein disease and associated viruses in a subtropical area of Brazil. PLANT PATHOLOGY 52:792-792.

Colariccio, A., Chaves,ALR, Eiras,M.,Chagas,C,M.,Lenzi,R.,Roggero, P (2003b) Presence of lettuce big-vein and associated viruses in a subtropical area of Brazil. New Disease Report 7:1-2.

Colariccio, A., Chaves,ALR, Eiras,M.,Chagas,C,M.,Roggero,P (2005) Detection of Varicosavirus and Ophiovirus in lettuce associated with lettuce big-vein symptoms in Brazil. Fitopsthol.bras. 30:416 -419

Fry, P,R.(1958)The relationship of *Olipidium brassicae* (Wor.) Dang. to the big-vein disease of lettuce. New Zealand J.Agr. Research 1:301-304.

合田薫, 小林尚司, 加藤雅宣, 日岡千之 (1999) 着色フィルムを用いた太陽熱消毒によるレタスビッグベイン病の防除について, 日植病報 65:682.

Gripwall, E. (1986) Incidence of lettuce big vein in Sweden (soil-borne virus,*Olipidium brassicae*). Vaextskyddsnotiser 58:133-135.

Grogan, R,G., Zink, F,W., Hewitt, W,B., Kimble, K,A. (1958) The association of *Olipidium* with the big-vein disease of lettuce.

Phytopathology 48:292 -297.

Grogan, R.G. and Campbell, R.N. (1966) Fungi as vectors and hosts of viruses. *Ann.Rev.Phytopathol.* 4:29-52

Hiroya, Fujii., Takahide, Sasaya., Akane, Takezaki., Koichi, Ishikawa., Masatake, Fujino. (2003) Resistance to Lettuce Big-Vein Disease in Lettuce Cultivars. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 72:315-317.

Huijberts, N., Blystad, D.R., Bos, L. (1990) Lettuce big-vein virus : mechanical transmission and relationships to tobacco stunt virus. *Ann. Appl. Biol.* 116:463-475.

家村浩海，中野昭信（1977）. レタスビッグベイン症の発病時期と初期感染防止. *関西病虫研報* 19:132-133

家村浩海，中野昭信（1978a）. レタスビッグベインの発生と土壌pHの関係および土壌の消毒方法について. *関西病虫研報* 20:96

家村浩海，中野昭信（1978b）. レタスビッグベインウイルスの感染阻止法について. *和歌山農試研報* 6:33-38.

家村浩海，中野昭信（1979）. レタスビッグベイン病の発生生態と防除. *植物防疫*, 33:249-252.

家村浩海，中野昭信（1980）. レタスビッグベイン病の夏期露地湛水マルチ法による防除．関西病虫研報 22:59.

石川浩一（2002）ビッグベイン症状の発現における *Lettuce big-vein virus* と *Mirafiori lettuce virus* との関係．日植病報 68:213.

井上忠男（1984）レタス ウイルス研究所学友会編 野菜のウイルス病．241-246.

岩木満朗，中野昭信，家村浩海，栃原比呂志（1977）. わが国における lettuce big vein 病の発生とその土壌伝染．日植病報 43:76.

岩木満朗，中野昭信，家村浩海，栃原比呂志（1978）. わが国におけるレタスビッグベイン病の発生とその土壌伝染．日植病報 44:578-584.

岩本豊，相野公孝，前川和正，神頭武嗣，加藤雅宣（2002）レタスビッグベイン病に対する有効薬剤の検索．日植病報 68:96.

岩本豊，相野公孝，神頭武嗣，前川和正（2003）レタスビッグベイン病に対する有効薬剤と処理条件．日植病報 69:366-372.

岩本豊，相野公孝（2004）熱処理が *Olpidium brassicae* の死滅に及ぼす影響について．関西病虫研報 46:39-41.

Iwamoto, Y., Aino, M., Kobayashi, S., Kanto, T. (2005). Evaluation of thiophanate-methyl effectiveness for the control of lettuce big-vein disease in a commercial field. *Soil Microorganisms* 59 : 117-123.

岩本豊, 相野公孝 (2007) *Pseudomonas fluorescense* FPH9601 がトマトの各種病害に与える影響. *日本土壤微生物学会報* 61:11-16.

岩本豊, 相野公孝 (2008) *Pseudomonas fluorescense* FPH9601 菌株によるトマト根腐萎凋病発病抑制効果. *日本土壤微生物学会報* 62:3-8.

Jagger, I.C., and Chandler, N. (1934) Big vein, a disease of lettuce. *Phytopathology* 24: 1253-1256.

神余暢一, 十河和博, 森充隆, 鐘江保忠 (2001) レタスビッグベイン病に対する有効薬剤の検索. *四国植防* 36:75

神余暢一, 十河和博, 森充隆, 鐘江保忠 (2002) レタスビッグベイン病の防除. *四国植防* 37:15-22

川頭洋一 (2000) レタスビッグベイン病抵抗性育種をめぐる諸問題. *農業および園芸* 75:1075-1080.

Kawazu, Y., Sasaya, T., Morikawa, T., Sugiyama, K., Natsuaki, T. (2003) Nucleotide sequence of the coat protein of Mirafiori lettuce virus. *J.Gen.Plant.Pathol.* 69:55-60



小金澤碩城，高山智光，笹谷孝英（2004）*Olpidium brassicae* sensu lato アブラナ科系統と非アブラナ科系統の休眠孢子形成の差異．日植病報 70:307-313.

香月繁孝，数賀山靖，後藤宗玄（1995）農薬便覧第8版．103，社団法人農山漁村文化協会，東京．

Kuwata, S., Kubo, S., Yamashita, S. and Doi, Y. (1983) Rod-shaped particles, a probable entity of lettuce big vein virus. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 49:246-251.

桑田茂（1985a）タバコ矮化病およびレタスビッグベイン病の病原ウイルスに関する研究．日植病報 51:261.

桑田茂（1985b）タバコわい化ウイルスとレタスビッグベインウイルスの血清学的類縁関係．日植病報 51:353.

Lin, M.T. (1979) Occurrence and host range of *Olpidium brassicae* in Central Brazil. Plant Disease Report 63:10-12

Latham, L.J., Jones, R.A.C., McKirdy, S.J. (2004) Lettuce big-vein disease: sources, patterns of spread, and losses. AUSTRALIAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH 55 (2): 125-130.

Lot, H., Campbell, R. N., Souche, S., Milne, R. G. and Roggero, P. ( 2002 ).  
Transmission by *Olpidium brassicae* of *Mirafiori lettuce virus* and *Lettuce  
big-vein virus*, and their roles in lettuce big-vein etiology.  
Phytopathology 92:288-293.

前川和正 , 笹谷孝英 , 藤井寛也 , 石川浩一 , 岩本豊 , 神頭武嗣 , 相野公孝  
( 2002 ) レタスビッグベイン病の病徴発現およびレタスビッグベインウイ  
ルスと *Mirafiori lettuce virus* の検出におよぼす栽培温度の影響 . 日植  
病報 68:232.

前川和正 , 笹谷孝英 , 藤井寛也 , 石川浩一 , 神頭武嗣 , 岩本豊 , 相野公孝  
( 2004 ) レタスビッグベイン病に関連する 2 種ウイルス , *Mirafiori lettuce  
virus* と *Lettuce big-vein virus* の血清学的検出 , 病徴発現および生育温度  
の関連 . 日植病報 70:320-322

Markatt, R,B.,and Kittrick, R,T. ( 1963 ) Fungicidal control of big- vein in  
irrigated lettuce crops. Phytopathology 53:597-599.

守川俊幸 , 築尾嘉章 , 夏秋知英 ( 1997 ) チューリップ微斑モザイク病 ( 新  
称 ) の媒介者 . 日植病報 63:504

夏秋啓子 , 金子真紀 , 夏秋知英 , 鈴木薫 , 守川俊幸 , 奥田誠一 ( 2000 ) ビ  
ッグベイン症状を示すレタスから検出されるチューリップ微斑モザイク  
ウイルス類似のウイルス様粒子 , 日植病報 66 : 146.

夏秋啓子，守川俊幸，夏秋知英，奥田誠一（2002）わが国のビッグベイン  
症状を示すレタスから検出された Mirafiori lettuce virus，日植病報 68  
：309-312.

Navarro, J.A., Torok, V.A., Vetter, H.J., Pallas, V. (2004) Genetic  
variability in the coat protein genes of lettuce big-vein associated virus  
and Mirafiori lettuce big-vein virus. Archives of Virology 150(4):  
681-694.

日本植物病理学会（2000）日本植物病名目録（初版）. 日本植物防疫協会，  
東京

Pryor, D.E. (1946) Exploratory experiments with the big-vein disease of  
lettuce. Phytopathology 36:264-272.

Rosales, I.M., Sepulveda, P., Bruna, A. (2004) First report of Lettuce  
big-vein virus and Mirafiori lettuce virus in Chile. PLANT DISEASE 88:  
1286.

Roggero, P., Ciuffo, M., Vaira, A.M., Accotto, G.P., Masenga, V., Milne,  
R.G. (2000) An *Ophiovirus* isolated from lettuce with big-vein symptoms.  
Arch Virol 145:2629-2642.

Roggero, P., Lot, H., Souche, S., Lenzi, R., Milne, RG. (2003)  
Occurrence of Mirafiori lettuce virus and Lettuce big-vein virus in  
relation to development of big-vein symptoms in lettuce crops. EUROPEAN  
JOURNAL OF PLANT PATHOLOGY 109:261-267.

佐藤憲正(2003)内生菌，生態学事典 巖佐庸，松本 忠夫，菊沢喜八郎編  
p442. 共立出版，東京

関口昭良（1995）日本植物病害大事典（岸國平編）. 421，全国農村教育  
協会，東京.

清水節夫（1982）長野県におけるレタスビッグベイン病の発生について。  
関東病虫研報 29:82-83.

清水節夫，武田和男，石坂尊雄（1985a）レタスビッグベイン病の防除  
1．作期と発病．関東病虫研報 32:104-105.

清水節夫，武田和男，石坂尊雄（1985b）レタスビッグベイン病の防除  
2．耕種的防除．関東病虫研報 32:106-107.

清水節夫，武田和男，石坂尊雄（1985c）レタスビッグベイン病の防除  
3．薬剤防除．関東病虫研報 32:108-109

清水節夫，石坂尊雄，武田和男，塚田元尚，大谷英夫，関口昭良，松下利  
定（1986）レタスビッグベイン病の防除に関する研究．長野野菜花き試報  
:81-92.

十河和博，神余暢一，森充隆，鐘江保忠（2001）レタスビッグベイン病に対する太陽熱および補助資材を併用した土壤防除効果．四国植防 36:75

鈴井孝仁，岡田齋夫，国見裕久，牧野孝宏，斎藤 雅典，宮下清貴編集  
(2000)微生物の資材化・研究の最前線:117-127,ソフトサイエンス社,東京

Tanne, E., Nitzany, FE., Avizohar,Z. (1970) Israel lettuce big vein virus and *Olpidium-brassicae*. FAO PLANT PROTECTION BULLETIN 18:43.

Teakle, D. S. (1962) Transmission of tobacco necrosis virus by a fungus, *Olpidium brassicae*. Virology 18:224-231.

Teakle,D.S.,Gold,A.H. ( 1964 ) Prolonging the motility and virus-transmitting ability of *Olpidium* zoospores with chemicals. Phytopathology 54:29-32.

Temmink, J,H,M. and Campbell, R.N. ( 1968a ) The ultrastructure of *Olpidium brassicae* .Formation of sporangia. Can.J.Bot 46:951- 956.

Temmink, J,H,M. and Campbell, R.N. ( 1968b ) The ultrastructure of *Olpidium brassicae* .Zoospores. Can.J.Bot 47:227-231.

Temmink, J,H,M. and Campbell, R.N. ( 1968c ) The ultrastructure of *Olpidium brassicae* .Infection of host roots. Can.J.Bot47:421- 431.

Tjavelia-Klonari.,K ,Manousopoulos., J ,Katis.,N,Tomlinson,J.A,  
Clay.,C.M. ( 1991 ) OCCURRENCE OF LETTUCE BIG VEIN DISEASE IN GREECE. ISHS  
Acta Horticulturae 287:435-442.

栃原比呂志 ( 1993 ) レタスビッグベイン病 . 作物ウイルス病事典 . 397- 398

Tomlinson, J.A.,Smith, B.R. ( 1958 ) Big vein disease of lettuce in  
Britain. Plant Pathol. 7:19-22.

Tomlinson, J.A., Garrett, R.G. ( 1962a ) Role of *Olpidium* in the  
transmission of big-vein disease of lettuce. Nature 194:249-250.

Tomlinson, J.A., Garrett, R.G. ( 1962b ) Studies on the lettuce big vein  
virus and its vector *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang. Ann.  
Appl.Biol.54:45-61

Tomlinson, J. A.and Faithfull, E. M. ( 1979 ) Effects of fungicides and  
surfactants on the zoospores of *Olpidium brassicae*. Ann. Appl.Biol.  
93:13-19.

Tomlinson, J. A.and Faithfull, E. M. ( 1980 ) Studies on the control of  
lettuce big-vein disease in recirculated nutrient solutions. Acta  
Horticulturae 98:325-332

塚田元尚 ( 1986 ). レタス生理と栽培技術.34 - 36 , 誠文堂新光社 , 東京 .

土崎常男 , 栃原比呂志 , 亀谷満朗 , 柳瀬春夫 ( 1993 ). 原色 植物ウイルス病事典 . 397 - 398 , 全国農村教育協会 , 東京 .

Vetten, H. J., Lesemann, D.-E., and Dalchow, J. ( 1987 ). Electron microscopical and serological detection of virus-like particles associated with lettuce big vein disease. *Phytopathology* 120:53- 59.

Walsh, J.A. ( 1994 ) Effect of some biotic and abiotic factors on symptom expression of lettuce big-vein virus in lettuce (*Lactuca sativa*) . *Journal of Horticultural Science* 69:21-28

White, J. G. ( 1980 ). Control of lettuce big-vein disease by soil sterilisation. *Plant Pathol.*29:124-130.

White, J. G. ( 1983 ). The use of methyl bromide and carbendazim for the control of lettuce big-vein disease. *Plant Pathol.*32:151-157.

## Studies on Control of Lettuce big-vein disease by Integrated Control

### Summary

Lettuce big-vein disease is the most serious soil-borne fungus-transmitted viral disease of lettuce (*Lactuca sativa L.*). This disease was first reported in the United States. It had become a problem especially during the cooler period of the year. The economic importance of the disease consists of the unattractive appearance of the foliage, which reduces the market value, delay in head formation, decrease of head size and reduction of the rate of harvestable plants. The causal agent of this disease has been considered to be a virus transmitted by the obligately parasitic soil-inhabiting fungus, *Ospidium brassicae*. After many years of research, the pathogenic agent causing big-vein symptoms was confirmed to be the rod-shaped *Lettuce big-vein virus* (LBVV), belonging to the genus *Varicosavirus*. However, the etiology of big-vein disease required reevaluation because a second soil-borne virus, *Mirafiori lettuce virus* (MiLV), belonging to the genus *Ophiovirus*, was found to occur commonly in lettuce plants showing big-vein symptoms. Furthermore, lettuce plants infected with MiLV alone consistently developed the symptoms, indicating that MiLV was the main agent of lettuce big-vein disease.

In Japan, lettuce big-vein disease first occurred in Wakayama. In Hyogo, the occurrence of the disease was confirmed in Awaji Island in 1994, and



the damage caused by the disease has been increasing year after year. Various control measures had been tested against the disease, e.g. soil sterilization with chemicals such as chloropicrin and methyl bromide ,soil solarization and drenching of several kinds of fungicides .

1 . Big-vein disease occurs on lettuce worldwide in temperate regions. The causal agent is transmitted from diseased to healthy plants by zoospores of the lettuce root-infecting fungus *Olpidium brassicae*. To develop chemical control measures for lettuce big-vein disease, the efficacy of thiophanate-methyl was confirmed in a commercial field. Soil drenching with thiophanate-methyl has been found to be effective over a long period of time even in fields severely infested with the disease. Moreover, combining the application of the chemical with the cultivation of a moderately resistant cultivar reduced the rate of diseased plants and improved the marketability of crops. The chemical was effective even in winter cultivation, when economic damage predominates.

2 . To develop chemical control measures against lettuce (*Lactuca sativa*) big-vein disease (BV), 36 fungicides were tested for the effect on infectivity by *Olpidium brassicae* and the expression of lettuce big-vein symptom by drench treating. Thiophanate-methyl(TM) was effective with optimum conditions as follows: (i) the effective concentration of TM was more than 350 ppm; (ii) soil around lettuce roots was saturated with ca. 50ml TM per 90ml pot; and (iii) treatment with TM on day of transplanting. The effects of TM persisted for ca. 1 month. No phytotoxicity were observed. From these result, TM application was effective during the

initial growth period of lettuce for the control of lettuce big-vein disease.

To develop chemical control measures for lettuce big-vein disease, the efficacy of thiophanate-methyl was confirmed in a commercial field. Soil drenching with thiophanate-methyl has been found to be effective over a long period of time even in fields severely infested with the disease. Moreover, combining the application of the chemical with the cultivation of a moderately resistant cultivar reduced the rate of diseased plants and improved the marketability of crops. The chemical was effective even in winter cultivation, when economic damage predominates.

3 . To establish a method for control of lettuce big-vein disease, biological control methods utilizing endophytic bacteria were tested. First, 100 strains of endophytic bacteria were isolated from the root surfaces and from inside the roots of lettuce and cabbage. Their suppressive effects on symptoms of lettuce big-vein disease were examined. Results show that four strains exhibited suppressive effects on lettuce big-vein disease. However, three strains of the four inhibited the lettuce growth. Secondly, the remaining strain (No.73) was subjected to a pot test. Its suppressive effects were confirmed.

## 謝 辞

本論文のとりまとめにあたり格別のご指導と綿密な御校閲を賜った神戸大学大学院農学研究科教授 土佐幸雄博士ならびに神戸大学大学院農学研究科客員教授 相野公孝博士に深甚な感謝の意を表す。また、本論文をまとめるにあたり、御校閲を賜った神戸大学大学院農学研究科教授 伊藤一幸博士ならびに神戸大学大学院農学研究科教授 佐々木満博士に深謝の意を表す。

研究遂行にあたり、あわじ島農業協同組合営農部営農生活課ならびにあわじ島農業協同組合阿万支所営農課の皆様にも多大のご協力を頂き、また、現地試験に圃場の提供を賜った南あわじ市阿万の坂木氏および川崎氏に感謝の意を表す。

さらに、兵庫県立農林水産技術総合センター農業技術センター大西忠男所長、元病害虫防除部部長足立年一博士、病害虫防除部部長高木廣氏、同研究主幹長田靖之氏には格別のご高配をいただいた。また、本研究の遂行に多大なご協力を頂いた兵庫県南淡路農業改良普及センターの野菜担当普及指導員の皆様、兵庫県立農林水産技術総合センター農業技術センター病害虫防除部の合田薫氏、神頭武嗣博士、松浦克成氏、光川嘉則氏、松末晴美氏、藤村さゆり氏、藤原幸代氏、浅田佳代子氏、兵庫県立農林水産技術総合センター北部農業技術センター農業部 前川和正博士、兵庫県立農林水産技術総合センター淡路農業技術センター農業部 小林尚司博士ならびに西口真嗣氏をはじめとする兵庫県立農林水産技術センター諸氏に感謝の意を表す。