

土壤中におけるアブラナ科野菜根こぶ病菌休眠孢子の定量法

笹谷孝英・小川 奎*・高橋賢司**・天野哲郎*・鳥越洋一*
(四国農業試験場,*農業研究センター,**中国農業試験場)

A method for enumerating resting spores of *Plasmodiophora brassicae* WORON in the infested soil. by Takahide SASAYA, Kei OGAWA*, Kenji TAKAHASHI**, Teturo AMANO* and Youiti TORIGOE.* (Shikoku National Agricultural Experiment Station, Zentsuzi, Kagawa 765 ; *National Agriculture Research Center; **Chugoku National Agricultural Experiment Station)

A fluorescence microscopic method was improved to enumerate efficiently resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in the infested soil. The infested soil (1.0 g) was shaken with 0.05% (V/V) tween-80 solution for one hour and filtered through sieves of 60, 140 and 635 meshes by turns. The filtrated soil suspension was centrifugated (2,500 rpm, 10 min) and the pellet was resuspended in 10 ml of distilled water. The suspension was layered on a 40% (W/V) sucrose solution for ten minutes and the upper fraction (20 ml) was recovered. This operation enabled most mineral particles to settle out leaving resting spores. Resting spores in the suspension were counted under a reflected fluorescence microscope after staining with a fluorochrome, Calcofluor White M2R (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) aqueous solution. This improved method has the advantage of easier enumeration under a microscope and higher recovery efficiency of spores, as compared with the previous methods. And this method could be applied to the infested soils containing more than 10^4 spores / g.

緒 言

アブラナ科野菜根こぶ病は *Plasmodiophora brassicae* WORON に起因する土壌伝染性病害である。本病原菌は休眠孢子を形成し、それらが第一次伝染源となる。また、本病原菌の休眠孢子は耐性が強く、10年近くも土壌中に生存できるため、土壌中の休眠孢子密度が本病の発病程度を直接左右する重要な要因となる。

アブラナ科野菜の産地では連作を行うことも少なくない。そのため、本病の被害は拡大し、重要な問題となっている。したがって、本病に対する防除対策を立てるには、休眠孢子による土壌の汚染程度を正確に把握する必要があり、土壌中における休眠孢子の定量法の確立が重要である。

土壌中における根こぶ病菌休眠孢子の定量法には、検定植物の発病程度や感染根毛数などから休眠孢子密度を推定する間接法 (MACFARLANE, 1952 ; SAMUEL and GARRETT, 1945) と、顕微鏡下で休眠孢子数を測定する直接法の2種類がある。間接法は判定までに時間を必要とする点や、土壌温度や土壌水分などの環境条件の影響を受けやすいという欠点を有する (GWYNNE, 1959 ; HORIUCHI and HORI,

1980 ; NAIKI et al., 1978)。一方、直接法は定量に時間をそれほど必要とせず、土壌中の休眠孢子密度を直接把握できるという点ですぐれている。直接法は、BUCZACKI and OCKENDON (1978) が微分干渉顕微鏡を用いて土壌中の休眠孢子数を直接計測する方法を報告して以来、篩を用いたろ過操作により土壌粒子と休眠孢子の分離を効率的にした方法 (内記・北沢, 1984) や、蛍光色素染色を用いて休眠孢子の観察を容易にした方法 (TAKAHASHI and YAMAGUCHI, 1987) などへと順次改良されている。しかし、従来の直接法では低濃度汚染土壌での休眠孢子の定量は困難である。

本実験は低濃度汚染土壌中での休眠孢子数の測定精度向上のために、TAKAHASHI and YAMAGUCHI (1987) の蛍光色素染色を用いた定量法について、土壌からの休眠孢子の抽出方法の改良を検討した。また、検討の結果改良された定量法を発病程度の異なる根こぶ病発生圃場に適用し、自然汚染土壌中の休眠孢子密度の定量も試みた。

実験材料及び方法

1. 人工汚染土壌の調製

群馬県吾妻郡嬬恋村の土壌 (黒ぼく土) をできるだけ細かく粉碎後、2 mm および 1 mm の篩でふるい供試土壌とした。この供試土壌に、HORIUCHI and HORI (1980) の方法に準じてキャベツ根こぶ病罹病根から作製した休眠孢子懸濁液を、乾土 1.0 g 当り所定の休眠孢子密度となるよう混合し人工汚染土壌を調製した。

2. 被検土壌懸濁液の調製

土壌中から根こぶ病菌休眠孢子を抽出する操作は、次の方法を基本にして行った (BUCZACKI and OCKENDON, 1978 ; 内記・北沢, 1984 ; TAKAHASHI and YAMAGUCHI, 1987)。土壌 1.0 g に 0.05% (V/V) Tween-80 水溶液を 40 ml 加え、十分にかくはん後、75 反復/分で 2 時間振とうした。振とう後、30 メッシュ、60 メッシュ、140 メッシュ、400 メッシュの篩 (目の開き ; 500 μ m, 250 μ m, 105 μ m, 37 μ m) をメッシュの小さい方から順次用いて土壌懸濁液をろ過した。次に、この土壌懸濁液を 2,500 rpm で 10 分間遠心し、沈澱物を蒸留水 10 ml によく懸濁した。この土壌懸濁液を、50 ml 容の遠沈管中の 40% (W/V) ショ糖溶液 30 ml 上に静かに重層し、土壌粒子を沈澱させた。10 分間静置後、上清部 20 ml を取り、再度 2,500 rpm で 10 分間遠心した。遠心後に得られた沈澱物を、蛍光色素 Calcofluor White M2R の水溶液 (50 μ g/ml) に 5 ml となるように懸濁して被検液を作成した。

3. 休眠孢子数の算出方法

休眠孢子の観察は落射型蛍光顕微鏡 (UV 励起法) を用い 200 倍で行った。休眠孢子数の算出は血球計算盤 (64 区画) を用い、1 被検液につき血球計算盤測定を 5 反復した。なお、休眠孢子密度が 10^5 個/g・乾土以下の低濃度汚染土壌では血球計算盤測定を 20 反復とした。休眠孢子の判定は、直径が 3~5 μ m の外形がほぼ完全な球形で、青色の特異な蛍光を発するものを休眠孢子とした (BUCZACKI and CADD, 1976 ; 高橋・山口, 1988)。

実験結果

1. 土壌からの休眠孢子の抽出操作の検討

土壌からの休眠孢子の抽出法を改良するため、実験方法の「被検土壌懸濁液の調製」の項で述べた休眠孢子抽出操作について、振とう時間、土壌懸濁液のろ過方法、ショ糖溶液濃度および静置時間の項目を検討した。

1) 振とう時間

土壌より根こぶ病菌休眠孢子を分離するために必要な振とう時間を検討した。調製 3 時間後の人工汚

染土壌を供試し、振とう時間を10分間、30分間、1時間、2時間としたときの休眠孢子の回収率を調べた。Table 1に示すように、振とう時間が長くなるにしたがって休眠孢子の回収率は高くなり、1時間以上で十分な回収率が得られた。また、調製後1時間、3時間、6時間、1日間、2日間および1週間室温で放置した人工汚染土壌について、振とう時間を10分間および1時間としたときの休眠孢子の回収率を調べた。Table 2に示すように、振とう時間が10分間では、土壌の放置時間が長くなるにしたがい休眠孢子の回収率は低下した。これに対して、振とう時間が1時間では、放置時間が長くなっても休眠孢子の回収率は低下せず、大部分の休眠孢子が回収された。

Table 1. Effect of shaking periods on recovery of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* from artificially infested Soil

Shaking periods	Percentage of recovered resting spores (%) ^{b)}
10 min	55.8 ± 6.2 ^{c)}
30 min	85.4 ± 12.1
1 hr	99.5 ± 5.1
2 hr	105.7 ± 2.0

- a) Soil sample: 1.0 g, Ando soil, spore concentration 1.0×10^8 spores/g dry soil.
 b) Number of recovered spores \times 100/number of originally added spores.
 c) Mean and standard error in four experiments.

Table 2. Effect of standing periods of artificially infested soil and shaking periods of soil suspensions on recovery of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* from artificially infested soil^{a)}

Standing periods	Shaking periods	
	10 min	1 hr
	Percentage of recovered resting spores (%) ^{b)}	Percentage of recovered resting spores (%)
1 hr	99.1 ± 3.6 ^{c)}	100.8 ± 5.1
3 hr	71.9 ± 13.5	100.9 ± 3.5
6 hr	67.8 ± 13.6	101.2 ± 1.0
1 day	62.3 ± 8.2	98.4 ± 1.4
2 days	57.5 ± 2.8	97.7 ± 1.4
1 week	—	100.3 ± 1.3

- a) Soil sample: 1.0 g, Ando soil, spore concentration 1.0×10^8 spores/g dry soil.
 b) Number of recovered spores \times 100/number of originally added spores.
 c) Mean and standard error in four experiments.

2) 土壌懸濁液のろ過方法

振とう後の土壌懸濁液から土壌粒子を効率よく除去するため、篩を用いたろ過方法を検討した。すなわち、目の大きさが異なる篩（30メッシュ、60メッシュ、140メッシュ、400メッシュ、600メッシュ、

635メッシュ)を3~4種類組み合わせ、メッシュの小さい篩から順次用いて土壌懸濁液をろ過し、休眠孢子の回収率と土壌粒子の除去率を調べた (Table 3)。篩のどの組合せにおいても接種した休眠孢子は大部分回収された。一方、土壌粒子の除去率は、最後に635メッシュの篩を用いたときが最も良く、95%以上の土壌粒子が除去された。したがって、本実験で検討した篩の組合せの中では、60メッシュ、140メッシュ、635メッシュの篩で土壌懸濁液を順次ろ過する方法が操作効率上から適当であると判断された。

Table 3. Effect of various combination of sieves on recovery of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* and removal of the soil particles from artificially infested soil^{a)}

Various combination of sieves ^{b)}	Percentage of recovered resting spores (%) ^{c)}	Removal efficiency of soil (%) ^{d)}
1	99.5 ± 1.3 ^{e)}	90.4 ± 2.5 ^{e)}
2	99.5 ± 0.5	95.9 ± 0.3
3	100.1 ± 1.5	94.1 ± 0.8
4	99.9 ± 0.6	95.4 ± 0.3
5	100.1 ± 1.0	88.1 ± 2.6

- a) Soil sample: 1.0 g, Ando soil, spore concentration 1.0×10^8 spores/g dry soil.
 b) 1: Filtrating through the sieves of 250 μ m, 105 μ m, 37 μ m and 25 μ m pore size.
 2: Filtrating through the sieves of 250 μ m, 105 μ m, 37 μ m and 20 μ m pore size.
 3: Filtrating through the sieves of 250 μ m, 105 μ m and 25 μ m pore size.
 4: Filtrating through the sieves of 250 μ m, 105 μ m and 20 μ m pore size.
 5: Filtrating through the sieves of 500 μ m, 250 μ m, 105 μ m and 37 μ m pore size.
 c) Number of recovered spores $\times 100$ / number of originally added spores.
 d) Dry soil weight after filtrating through sieves $\times 100$ / dry soil weight prior to filtrating through sieves.
 e) Mean and standard error in four experiments.

3) ショ糖溶液濃度および静置時間

ショ糖溶液の上に土壌懸濁液を重層して、休眠孢子をできるだけ沈澱させずに、土壌粒子を効率よく沈澱させ除去するためのショ糖溶液濃度および土壌懸濁液重層後の静置時間を検討した。すなわち、50ml用遠沈管に3段階濃度(20%, 30%, 40%)のショ糖溶液を30ml入れ、その上にろ過・遠心後の土壌懸濁液10mlを静かに重層し、10分間、30分間、1時間それぞれ静置した。静置後、上部20mlを静かにピペットで回収し、休眠孢子の回収率と土壌粒子の除去率を検討した。その結果をTable 4に示す。ショ糖溶液濃度が20%, 30%, 40%と高くなるにしたがい休眠孢子の回収率も高くなった。一方、静置時間が長くなるにしたがい休眠孢子の回収率は低下した。また、回収した土壌懸濁液400mmの吸光度を測定し、土壌粒子の除去率を検討した。その結果、ショ糖の濃度が低くなるにしたがい、また、静置時間が長くなるにしたがって土壌粒子の除去率は上昇した。このような結果から、土壌粒子の除去率はそれほど高くないが、休眠孢子の回収率が高いという点で、40%ショ糖溶液上に重層し、10分間静置する方法が最も良いと考えられた。

Table 4. Effect of concentrations of sucrose solution and standing periods of the soil suspension on recovery of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* and removal of the soil particles from artificially infested soil a)

Concentrations of sucrose solution	Standing periods of soil suspension					
	10 min		30min		1hr	
	Percentage of recovered resting spores(%) ^{b)}	Absorbance of soil suspension ^{c)}	Percentage of recovered resting spores (%)	Absorbance of soil suspension	Percentage of recovered resting spores (%)	Absorbance of soil suspension
20%	83.5 ± 6.1 ^{d)}	1.9	70.7 ± 2.5	1.4	66.7 ± 5.0	1.1
30%	86.8 ± 4.6	2.0	78.3 ± 4.4	1.8	72.9 ± 8.6	1.4
40%	98.9 ± 3.3	2.4	93.9 ± 7.2	1.9	79.1 ± 5.5	1.5

- a) Soil sample : 1.0 g , Ando soil, spore concentration 1.0×10^8 spores/g dry soil.
b) Number of recovered spores $\times 100$ / number of originally added soil.
c) Removal of the soil particles was measured by absorbance of the soil suspension at 400nm
d) Mean and standard error in four experiments.

Soil sample (1.0 g)

- Add 40 ml of 0.05 % (V/V) tween-80 solution
- Shake for 1 hr
- Filter through the sieves of 60 mesh, 140 mesh and 635 mesh

Filter

- Centrifugate (2,500 rpm, 10 min)

Pellete

- Resuspend in 10 ml of distilled water
- Layer on 40 % (W/V) sucrose solution
- Stand for 10 min

20 ml upper fraction

- Centrifugate (2,500 rpm, 10 min)

Pellete

- Resuspend in 5 ml of Calcofluor White M2R solution (50 μ g/ml)

Observation under a reflected fluorescence microscope

Fig. 1. Procedure for enumerating resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in the infested soil.

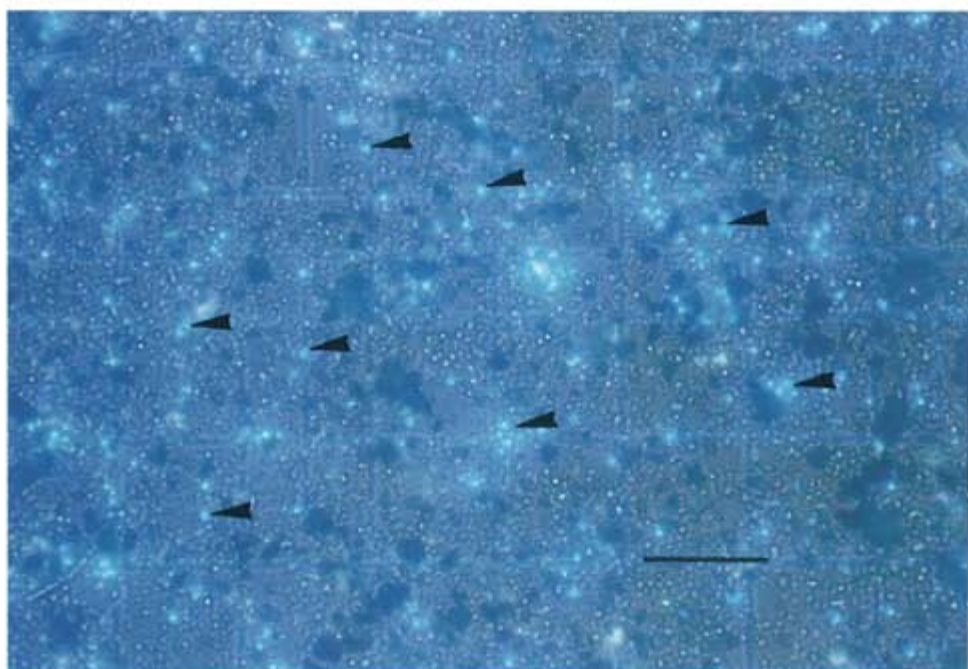


Fig.2. Resting spores of *Plasmodiophora brassicae* (arrowed) in the soil suspension observed with reflected fluorescence microscope. Bar represents 20 μm .

以上の検討により改良された操作手順をまとめると Fig.1 のようになり、被検土壌懸濁液中の休眠孢子は Fig. 2 に示すように観察された。

2. 休眠孢子濃度の異なる土壌での定量

本改良法を用いて、休眠孢子密度が 10^4 個から 10^8 個/g・乾土までの5段階の人工汚染土壌を調製し、それらの土壌からの休眠孢子的回収率を調べた。Table 5 に示すように、汚染程度が低い 10^5 個/g・乾土においては $94.0 \pm 6.0\%$ 、 10^4 個/g・乾土においても $125.0 \pm 26.0\%$ と十分な回収率が得られた。このことから、本改良法は 10^4 個/g・乾土以上の休眠孢子密度の測定が可能であると思われた。

3. 自然汚染土壌中の休眠孢子的の定量

根こぶ病の発生圃場における休眠孢子密度の測定を本改良法を用いて試みた。すなわち、発病程度が異なる6つのキャベツ栽培畑(群馬県農業総合試験場高冷地分場圃場)の土壌を採取し、休眠孢子的の定量を行った(Table 6)。調べたいずれの圃場においても、乾土1g当り 10^5 個以上の休眠孢子的の存在が認められた。また、発病度(発病度は吉川ら(1981)にしたがい、キャベツ各個体の根こぶの発病程度により4段階に分け、発病度 = $\{ \sum(\text{程度別発病株数} \times \text{指数}) / (3 \times \text{全調査株数}) \} \times 100$ で表した)が100と激しい発病を示している圃場では、休眠孢子密度は $6.9 \sim 7.2 \times 10^5$ 個/g・乾土であった。一方、発病度が83.3の圃場では休眠孢子密度が 5.9×10^5 個/g・乾土、それより発病度が低く52.8の圃場では休眠孢子密度が $3.6 \sim 4.1 \times 10^5$ 個/g・乾土であった。このように発病度の高い圃場では休眠孢子密度も高い傾向が伺われた。

Table 5. Recovery of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* from soil artificially infested with various densities of the inoculum

Spore concentration added to soil (Spores/g dry soil) ^{a)}	Percentage of recovered resting spores (%) ^{b)}
10 ⁸	98.9 ± 3.3 ^{c)}
10 ⁷	97.8 ± 3.0
10 ⁶	96.6 ± 4.2
10 ⁵	94.0 ± 6.0
10 ⁴	125.0 ± 26.0

a) Soil sample : 1.0g, Ando soil.

b) Number of recovered spores × 100 / number of originally added spores.

c) Mean and standard error in four experiments.

Table 6. Estimates of the number of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in soils from naturally infested fields ^{a)}

Field names	Incidence of disease (%) ^{b)}	Disease index ^{c)}	Soil pH	Number of the resting spore in soil (10 ⁵ spores/g dry soil)
A - 1	75.0	52.8	6.2	3.6 ± 0.2 ^{d)}
A - 2	100.0	52.8	6.2	4.1 ± 0.1
B - 1	100.0	100.0	5.9	6.9 ± 0.2
B - 2	100.0	83.3	6.1	5.9 ± 0.3
C - 1	100.0	100.0	5.7	7.2 ± 0.6
C - 2	100.0	100.0	6.1	6.9 ± 0.8

a) Soil sample:1.0g, Ando soil.

b) Incidence of disease = the number of infected cabbage roots × 100 / the total number of cabbage roots examined.

c) Disease index = (0 × n₀ + 1 × n₁ + 2 × n₂ + 3 × n₃) × 100 / 3N. n₀ ~ n₃ : the number of cabbage roots in each grades of clubroot severity according to YOSHIKAWA *et al.* (1981). N : the total number of cabbage roots examined.

d) Mean and standard error in four experiments.

考 察

本実験では土壌中から根こぶ病菌休眠胞子を抽出するための操作方法を検討し、休眠胞子密度が10⁴ ~ 10⁵個/g・乾土のような低濃度汚染土壌に対しても適用できるような定量法の開発を試みた。

土壌中の根こぶ病菌休眠胞子の定量法はBUCZACKI and OCKENDON (1978)の方法から内記・北沢 (1984), TAKAHASHI and YAMAGUCHI (1987)の方法へと順次改良されてきた。いずれの定量法も土壌粒子から休眠胞子を抽出するため、汚染土壌を界面活性剤を含む水溶液に懸濁して振とうする方法を採

用している。BUCZACKI and OCKENDON (1978) および内記・北沢 (1984) の定量法では土壌懸濁液を一晩静置あるいは2時間振とうしている。同様にTAKAHASHI and YAMAGUCHI (1987) は振とう時間を2~3時間としている。本実験で1.0 gと少量の供試土壌にもかかわらず1時間の振とうで十分な回収率が得られることを明かにし、従来の定量法に比べて供試土壌量を少なくし、さらに抽出操作時間を短縮した。また、振とう10分間では汚染土壌調製後放置時間が長くなるにつれ休眠胞子の回収率が低下したが、振とう1時間では放置時間に関わりなく大部分の休眠胞子が回収されたことから、振とう時間1時間が土壌粒子から休眠胞子を分離するための必要かつ十分な長さであることが明かとなった。次に、BUCZACKI and OCKENDON (1978) は土壌懸濁液をガーゼでろ過することにより、土壌懸濁液より粗砂等の土壌粒子を除去しているが、この過程で休眠胞子の損失が多く、休眠胞子の回収率は $84.0 \pm 13.0\%$ であった。そこで、内記・北沢 (1984) はこの過程を30メッシュ、60メッシュ、120メッシュ、200メッシュ、400メッシュの篩で順次ろ過する方法にかえ、休眠胞子回収率を $95.0 \pm 2.0\%$ と向上させた。本実験では篩をいろいろ組み合わせろ過する方法を検討したところ、60メッシュ、140メッシュ、635メッシュの篩を組み合わせろ過する方法で、休眠胞子の回収率を低下させることなく、しかも、内記・北沢 (1984) の方法では $88.1 \pm 2.6\%$ の土壌粒子しか除去されなかったのに対して、 $95.4 \pm 0.3\%$ とさらに効率よく土壌粒子を除去することができた。次に、BUCZACKI and OCKENDON (1978) および内記・北沢 (1984) の定量法では、休眠胞子を含んでいる土壌懸濁液を40%ショ糖溶液に懸濁させ、3℃に2日間保ち、休眠胞子を浮遊させたまま土壌粒子を沈澱させる比重浮上法を用い、更に微細な土壌粒子を除去する方法を行っているが、この方法では休眠胞子と土壌粒子の分離作業が煩雑で、しかも定量に2~3日間も必要とする。また、土壌粒子と休眠胞子の識別が困難であるという欠点も有する。TAKAHASHI and YAMAGUCHI (1987) は休眠胞子を蛍光色素 Calcofluor White M2R で染色することによって、休眠胞子と土壌粒子の識別を明確にした。このことにより比重浮上過程を省略し、休眠胞子の分離操作が容易となり、しかも測定時間が短縮した。そして、この方法を用いて乾土10 g 当り 10^7 個の休眠胞子を接種した土壌から、 $100.9 \pm 5.0\%$ という高い休眠胞子回収率を得た。しかし、TAKAHASHI and YAMAGUCHI (1987) の方法は、 10^5 個/g・乾土以下という休眠胞子密度の低い土壌では顕微鏡視野当りの休眠胞子数が少なく、計測が困難である。そこで、本実験ではろ過後の懸濁液を40%ショ糖溶液上に重層して10分間静置することにより、さらに多くの微細な土壌粒子を除去し、顕微鏡による観察を容易とした。また、土壌懸濁液の濃縮が可能となり、低濃度汚染土壌でも検出精度が向上した。その結果、本改良法では休眠胞子密度 10^5 個/g・乾土の人工汚染土での休眠胞子回収率は $94.0 \pm 6.0\%$ 、 10^4 個/g・乾土でも $125.0 \pm 25.9\%$ と、従来のTAKAHASHI and YAMAGUCHI (1987) の方法より、 10^5 個以下の低濃度汚染土壌での検出精度を高めることができた。

本改良法を用いて根こぶ病発生圃場の休眠胞子密度を計測したところ、乾土1 g 当り 10^5 個以上の休眠胞子の存在が認められた。また、発病度の高いところでは休眠胞子密度も高く、発病度と休眠胞子密度には密接な関係が伺われた。吉川ら (1981) および内記・北沢 (1984) は根こぶ病の発生が認められる圃場で、 10^5 個/g・乾土以上の休眠胞子を検出している。また、吉川ら (1981) は土壌消毒により休眠胞子密度が 10^4 個程度に低下した圃場では発病が認められなくなったことから、 $10^4 \sim 10^5$ 個/g・乾土程度が作物被害に直接関係する休眠胞子密度であると推定している。よって、圃場における汚染程度を把握するには、 10^4 個/g・乾土までの休眠胞子密度が正確に測定されなくてはならないと考えられる。本改良法は土壌中の休眠胞子密度が 10^4 個/g・乾土まで測定できるので、実際の圃場における根こぶ病汚染程度の土壌検診に適用できるものと考えられる。

摘 要

根こぶ病菌休眠孢子の定量法については、検出精度の向上をはかるため、土壌からの休眠孢子抽出操作を検討し、TAKAHASHI and YAMAGUCHI (1987) が提案した方法を次のように改良した。すなわち、汚染土壌1.0 gに0.05% (V/V) Tween-80水溶液を40ml加え、1時間振とう後、60メッシュ、140メッシュ、635メッシュの篩で順次ろ過した。このろ液を遠心(2,500 rpm, 10分間)し、沈澱物を蒸留水10 mlに懸濁後、40% (W/V) ショ糖溶液の上に重層した。10分間静置後、上部20 mlを取り遠心(2,500 rpm, 10分間)し、沈澱物を蛍光色素 Calcofluor White M2R 水溶液(50 µg/ml)に懸濁して被検液とした。休眠孢子的観察は落射型蛍光顕微鏡を用い、休眠孢子数は血球計算盤により測定した。本改良法により人工汚染土壌中の休眠孢子密度を定量したところ、 10^4 個/g・乾土までは大部分の休眠孢子が回収され、適用可能であった。また、本改良法を用いて根こぶ病発生圃場の休眠孢子密度を定量したところ、乾土1 g 当り 10^5 個以上の休眠孢子的存在が認められ、発病度の高いところでは休眠孢子密度も高い傾向が伺われた。したがって、本改良法により低濃度汚染圃場における休眠孢子密度も定量可能であると考えられた。

引 用 文 献

- BUCZACKI, S. T. and S. E. CADD (1976) : Trans. Br. Mycol. Soc., 67: 133 - 136.
BUCZACKI, S. T. and J. G. OCKENDON (1978) : Ann. appl. Biol., 88: 363 - 367.
GWYNNE, D. C. (1959) : Ann. appl. Biol., 47: 361 - 363.
HORIUCHI, S. and M. HORI, (1980) : Bull. Chugoku Natl. Agric. Exp. Stn., E., 17: 33 - 55.
MACFARLANE, I. (1952) : Ann. appl. Biol., 39: 239 - 256.
NAIKI, T., K. KAGEYAMA, and H. IKEGAMI (1978) : Ann. Phytopath. Soc. Japan, 44: 432 - 439.
内記 隆・北沢宗一 (1984) : 関西病虫研報 26: 9 - 14.
SAMUEL, G. and S. D. GARRETT (1945) : Ann. appl. Biol., 32: 96 - 101.
TAKAHASHI, K. and T. YAMAGUCHI (1987) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 53: 507 - 515.
高橋賢司・山口武夫 (1988) : 植物防疫, 42: 218 - 220.
吉川宏昭・芦澤正和・飛騨健一 (1981) : 野菜試験場報告 A, 8: 1 - 21.