HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	テンサイの貯蔵腐敗に関する研究
Author(s)	内野, 浩克
Citation	北海道大学大学院農学研究科邦文紀要, 23(4), 319-401
Issue Date	2001-03-23
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/12195
Type	bulletin (article)
File Information	23(4)_p319-401.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大農邦文紀要 23(4)：319～401，2001

テンサイの貯蔵腐敗に関する研究*

内　野　浩　克**
（日本甜菜製糖株式会社）

Studies on Storage Rot in Sugar Beet*

Hirokatsu UCHINO**
(Graduate School of Agriculture, Hokkaido University,
Sapporo 060-8589, Japan)

目　　次

Ⅰ．緒言…… 320
Ⅱ．研究史…… 320
A．貯蔵の概念…… 320
B．海外における研究…… 321
C．日本における研究…… 327
Ⅲ．貯蔵腐敗の病原と菜根の品質変化…… 327
A．菜根から分離される糸状菌と貯蔵腐敗病の病原…… 327
a．菜根から分離される糸状菌…… 327
b．分離糸状菌の菜根に対する病原性…… 329
c．病原糸状菌の同定…… 330
d．考察…… 333
B．テンサイ貯蔵腐敗病菌 *Botrytis cinerea* の特徴…… 336
a．テンサイ分離株と他作物分離株の比較…… 336
b．侵入部位と感染源…… 337
c．考察…… 339
C．貯蔵腐敗病発生による菜根の品質変化… 339
a．発病個体の品質…… 340
b．貯蔵腐敗病菌による品質変化…… 342
c．考察…… 343
D．菜根から分離される病原細菌…… 346
a．パイルにおける軟腐症状の確認…… 346
b．特殊条件における軟腐症状の再現…… 347
c．分離細菌の植物病原性…… 348
d．病原細菌の同定…… 349
e．考察…… 351
E．細菌による貯蔵腐敗時の菜根の品質変化…… 353
a．軟腐菜根の品質…… 353
b．細菌による品質変化…… 354
c．考察…… 356
Ⅳ．パイル内に棲息する糸状菌と環境…… 357
A．パイル内における糸状菌の動向…… 357
a．パイルの部位と発生する糸状菌の種類…… 357
b．天場の菜根に発生する糸状菌の消長… 358
c．菜根の腐敗と天場空間内に浮遊する糸状菌胞子の消長…… 358
d．考察…… 360
B．パイルの温度環境と貯蔵菜根の劣化…… 361
a．パイル温度…… 362
b．菜根の品質…… 364
c．考察…… 366
Ⅴ．貯蔵腐敗病の制御…… 367
a．菜根の水分と貯蔵腐敗病発生の関係… 368
b．貯蔵温度と貯蔵腐敗病発生の関係…… 369
c．殺菌剤および食品添加物による貯蔵腐敗病の防除…… 370
d．拮抗細菌による貯蔵腐敗病の防除…… 372
e．考察…… 375
Ⅵ．総合考察…… 377

*北海道大学博士論文（2000）
Doctoral thesis submitted to the Graduate School of Agriculture, Hokkaido University (2000)

**現住所：日本甜菜製糖株式会社　〒104-0031 東京都中央区京橋2丁目3番13号
Present address: Nippon Beet Sugar Mfg. Co., Ltd., 3-13, 2 chome, Kyobashi, Chuo-ku, Tokyo, 104-0031 Japan

摘　　要…… 381
謝　　辞…… 383
引用文献…… 384
Summary …… 395
Plate …… 399

I. 緒　　言

日本のテンサイ製糖業は，1880年に北海道伊達市に建設された官営紋別製糖所に始まる。この製糖所は暫くして民間に払い下げられたが，原料不足から1901年には会社が解散している。その後1919年に帯広に製糖会社が設立され，産業として定着して現在に至っている。

北海道のテンサイは，紙筒を用いた育苗を行った後，畑に移植して栽培するという，世界的には特異な方法で栽培されているが，本法の開発により，直播栽培に比べて単位あたりの収量が大幅に増加した。また，その他の栽培技術の進歩，および品種改良等による収量増も加わり，社会情勢による変動はあるものの栽培面積も増加し，1980年代に入って70,000 haが作付けされ，総収量も常に300万t以上が確保できるようになった。

テンサイの収穫は10月中旬から11月にかけて行われる。製糖原料となる菜根は，工場内で処理されるまでの間，畑や耕作者の庭先，または主に工場に隣接する受入場と呼ばれる堆積場に野積みされて貯蔵される。収穫後の菜根は，時間とともに品質が劣化し，砂糖の回収率が低下するため，できるだけ早期に裁断して製糖することが望ましい。しかし工場の処理能力を増強すると，年次変動により収穫量が減少した時に，施設の遊休化を招く恐れがある。そこで，処理能力を変更せず劣化を最小限に抑える方策として，収穫した菜根を受入場に集め，大型の堆積物（パイル）を作製して長期間，集中管理する方法を採用した。このため貯蔵期間が150日以上に及ぶ年も出てきた。

貯蔵中の品質劣化の要因は，菜根自身の生理的変化と，微生物による分解の2者に分けることができる。生理的変化の中，最大のものは呼吸による砂糖の消費であるが，貯蔵温度の低温化により抑制が可能である。微生物による分解は，障害（主に凍結）により壊死した菜根の腐敗と，貯蔵腐敗病の発生の2者に分けることができるが，前者は被覆方法の改良により対処できる。すなわち，残された問題として貯蔵腐敗病の抑制が重要な課題となった。しかし日本においてはテンサイの貯蔵腐敗病に関する研究報告が極めて少なく，また，細菌を病原とする貯蔵腐敗の報告は皆無であった。貯蔵腐敗の病原微生物を明らかにし，これらの製糖に与える影響を調査し，腐敗防止の対策を講じて被害を最小限に食い止めるため，一連の研究を行った。

II. 研　究　史

A. 貯蔵の概念

砂糖原料であるテンサイは，FAO発表の1995年産の農作物に関する統計によれば，約50カ国で約800万haに作付けされている。主要な生産国はヨーロッパに集中しているが，アジアに約145万ha，南北アメリカに約65万ha，アフリカにも約9万haが作付けされている。イタリア南部やスペインのアンダルシア地方のように，秋から初冬にかけて播種する地帯もあるが，北海道も含め，一般には春播種，秋収穫が行われている。ヨーロッパの主要な生産国での収穫は9月から10月に始まり，収穫期間は1ヶ月から3ヶ月であるが，製糖期間はやや長く50日から120日程度である[125]。北海道では10月中旬から11月にかけて収穫し，裁断は120日前後行われる。製糖期間もほぼ同じであるが，濃厚汁製糖を行っている工場では200日程度になっている。

収穫されたテンサイ菜根は工場で裁断，製糖されるまでの間，畑や農家の庭先，受入場と呼ばれる堆積場，または工場内の施設に堆積される。この期間が原料の貯蔵にあたるが，貯蔵をほとんど行わずに裁断する国，畑や農家の庭先での小規模な堆積が一般的な国，受入場または工場内の施設で大規模に集中管理する国の3者がある。イタリアでの収穫は8月中旬に始まり10月中旬まで行われるが，高温高湿地帯であるため，畑に堆積すると原料の品質劣化が著しく，収穫した菜根は直ちに工場に運搬される。このため，貯蔵とは工場の施設（silo）での短時間の堆積を意味する[126]。アメリカ南部のカリフォルニア州は温暖な地域であるが，冬期は降雨が多いため，工場内で短期間の貯蔵が行われる。ヨーロッパの乾燥地帯では，収穫後，畑に数日間貯蔵した後，工場に搬入されて裁断される。比較的気候の温暖なイギリスや，北および西ヨーロッパでは，畑での貯蔵が数週間から1ヶ月程度に及ぶ。北部アメリカ，中央および東ヨーロッパ，中央アジアでは，圃場で凍害

を受ける恐れがあるため，受入場で長期間貯蔵される[201]。北海道でも，受入場における長期の貯蔵が採用されている。

貯蔵の条件が国によりかなり異なるため，貯蔵堆積物（パイル）の形状も様々である。畑や農家の庭先での貯蔵（農家貯蔵）では，パイルは角錐台や棒状に堆積される。ヨーロッパでは高さ約2m，幅約6mの角錐台型が一般的である[125]。オーストリアではやや大型で，パイルの高さは2～2.5m，幅は4～10mであるが被覆は行わない[76]。イギリスでは棒状に堆積するが，2週間以内に搬出されるものは断面三角形，高さ2～3m，幅4～6mとする。堆積期間が1ヶ月程度に及ぶ時は高さ2～3m，底辺約10mの台形の断面を持つパイルとし，シートや麦稈で被覆を行う[144,147]。受入場での貯蔵は通常1～2ヶ月に及び，断面台形の棒状に堆積する。フランスでは高さ4～6m，底辺4～6mとし，パイル1本あたりに1,500tを堆積する。オーストリアでは高さ3～3.5m，底辺15～20mとしている。これらの国では通風は行っていない。ドイツではかなり大型で，高さ9m，底辺30mとし，パイル1本あたりに約30,000tを堆積し通風を行っている[125]。アメリカでは更に大型で，7割以上のパイルが高さ5～7m，底辺55～67mに堆積され，長さは400m以上で貯蔵期間も150日以上に及ぶ[22]。北海道の受入場におけるパイルは，1980年代には高さ4～4.5m，底辺20～22m，1990年代後半にはやや大型化し，高さは同一であるが底辺は27m程度にまで拡幅され，通風を行わずに120日～150日貯蔵されている。なお，工場施設での貯蔵は，ほとんどの国でできるだけ短くされ，通常は2日程度であるが，オーストラリアのように1ヶ月程度に及ぶ貯蔵を行う国もある[125]。

工場に搬入された菜根は，洗浄後，コセットと呼ばれる短冊状の切片に裁断される。その後，熱湯中で砂糖を滲出し，砂糖以外の非糖分除去を行い，濃縮，結晶化して砂糖を製造する。これらの一連の工程において，収穫直後と同等の物理性，化学性が得られず，砂糖の回収率が低下することを貯蔵中の劣化と称している。劣化の原因は，既述のように菜根自身の生理的変化と，微生物による分解の2者に分けることができる。前者の主なものは呼吸による砂糖の消費であるが，この他に貯蔵中の萌芽も重要で，呼吸代謝，萌芽の両者による物理性の変化，非糖分の増加や組成の変化を生じる。微生物分解は，さらに障害による組織の壊死をともなう腐敗と，貯蔵腐敗病菌による加害に分けることができる。最大の障害は凍結で，その後融解すると短時間に微生物分解が生じ，砂糖の減少，非糖分の産生が起こる。貯蔵腐敗病は *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. を主とする糸状菌が病原となるが，細菌による軟腐症状も報告されており，これら病原にとって好適な環境で貯蔵が行われる時には，パイル内に蔓延し，菜根を壊死させ分解する。

菜根の品質劣化は，上述のように種々の要因によって起きるが，収穫から裁断までに生じる品質変化の多少を貯蔵性の良否と称している。良好な貯蔵性とは，パイル内での砂糖損失が少なく，貯蔵腐敗病の発生が少ないこと，裁断時の物理性，および非糖分含量の変化が少ないことで，これらの条件に合致した品種，栽培法，収穫法，および貯蔵管理法を開発することが，テンサイ栽培上の重要な研究課題の一つとなっている。

なお，主要なヨーロッパ諸国の平均的な貯蔵中の砂糖損失は，Martens and Oldfield[125] によれば，農家貯蔵時には1日，菜根1tあたり約200g，受入場貯蔵時には250～300g/t/day，通風を行っている工場施設内では約120g/t/dayと報告され，Graff[76] によれば，各々30～300g/t/day，175g/t/day，50～150g/t/dayと報告されている。また，高温での収穫が行われるイタリアでは，工場施設での平均的損失が1000g/t/dayに達するとされ[126]，アメリカ東部では，貯蔵期間中の砂糖損失が100～450g/t/day[83]，西部[130] および北部[24] の調査では約230g/t/dayと報告されている。テンサイ菜根の根中糖分は，栽培地，栽培品種によって大きく異なり，さらに栽培年次による変動も大きいが，15～18%程度であるので，収穫後，工場で裁断されるまでの期間（貯蔵期間）を100日，期間中の平均的な砂糖損失量を200g/t/dayと仮定すれば，収穫した菜根に含まれる回収可能な糖量の，およそ11～13%が貯蔵中に失われていると見積もられる。

B．海外における研究

1）貯蔵に影響する植物体の形質

貯蔵される菜根は，植物体自身の持つ形質，畑での生育過程，収穫時の条件により貯蔵開始時の状態が異なり，貯蔵性に大きな差異を生じる。

貯蔵性に影響する個体形質としては，根中糖分，

非糖分含量，および菜根の形状についての報告がある。Bugbee[15]は接種試験の結果から，根中糖分の高い菜根は低糖分個体に比べて，貯蔵腐敗病菌の1つである *Phoma betae* Frank が侵入しても，腐敗組織の拡大が抑制されることを見出し，この原因として，病原菌の産生する endopolygalacturonate trans-eliminase の量が，高糖分個体では低糖分個体に比べて抑制されるためと結論づけた。さらに，冷水浸出法による清澄液の純糖率(CJP)が，貯蔵腐敗に対する抵抗性の高低を判断する指標になると述べた[27]。非糖分の中，窒素成分については，窒素施肥の増加により，菜根中の α-アミノ態窒素が高くなった菜根で，貯蔵中の砂糖の損失が大きいことが報告されている[77]。Oldfield et al.[148]も，α-アミノ態窒素が高くなった菜根で，呼吸量が増加することを報告している。菜根の形状について，Koster et al.[117]によれば，小型の菜根は大きな個体に比べて表面積が大きいため，呼吸量が多いとされる。

遺伝的形質である品種間差については，呼吸率と貯蔵腐敗病に対する抵抗性に分けて論じられることが多い。呼吸率についてアメリカの Wyse et al.[213]は，近縁の系統間でも，50日の貯蔵で，呼吸率に2.5倍の差を生じることを報告し，貯蔵中の呼吸量の少ない品種を開発している[182]。その後，Campbell and Cole[36]も低呼吸品種を報告している。一方ヨーロッパでは，呼吸率の品種間差の存在について，否定的な報告が多い。Vanstallen[198]は，品種を根重型，中間型および糖分型に分類して呼吸率を調査した結果，これら3つのタイプと呼吸率の間に明瞭な関係は見出されなかったと報告した。Oldfield et al.[148]は，貯蔵中の呼吸量は，圃場での施肥量，収穫時の菜根に加わる損傷，貯蔵中の萌芽により影響を受けて増加するが，品種間差は認められなかったと報告している。貯蔵腐敗病に対する品種の抵抗性については，Gaskill[68]により，貯蔵中の腐敗組織率が品種により異なることが見出され，本病抵抗性品種の開発により，貯蔵腐敗病を抑制できる可能性が指摘された[71]。Dambroth[43]も，貯蔵中の根中糖分と還元糖の増減とともに，菜根の乾物含量と腐敗量の変化も，品種による差が大きいことを指摘した。

貯蔵腐敗病に対する抵抗性について，Bugbee[16]は *P. betae* の接種による貯蔵中の腐敗量を調査し，品種間差があることを証明した。その後 Bugbee[20]は，*Rhizoctonia solani* Kühn による根腐病抵抗性品種が，*P. betae* にも抵抗性を示すことを見出し，これらの育種素材を利用した抵抗性品種を発表している[19,23,33,34,35]。この他に，物理的損傷に対する菜根の耐性についても研究が行われている。Peterson and Hall[156]は，菜根に人工的に打撲傷を与える加傷機を試作して実験し，同一の力が加えられても，菜根が受ける打撲傷の程度は品種により異なり，その後の貯蔵性が異なることを見出している。

2）テンサイの栽培条件の影響

畑でのテンサイの生育は，収穫後の貯蔵性にも影響する。その要因として畑の肥沃度や施肥条件，病害虫の影響，および水分について検討が行われている。Dexter et al.[49]は，窒素の多肥は根中糖分の低下，非糖分の増加につながるが，これは，収穫時のテンサイが，実際には生育途中にあって未熟なためで，収穫前に窒素が低下する条件で収穫すると，貯蔵性が高まると指摘した。Koster et al.[117]は，テンサイ個体の最大糖量を得られるような施肥を行ったときに，貯蔵中の呼吸量が最少になると述べた。このように窒素の多い条件で生育した菜根は，貯蔵中の呼吸量が増加し，貯蔵性が低下する。一方 Gaskill[67]によれば，無窒素栽培のテンサイは，施肥個体に比べて貯蔵後の腐敗量が顕著に増加するとされ，適正な窒素施肥が，貯蔵には適するとみなされている。Larmer[120]は畑での施肥試験から，生育期間中に有効態リン酸が十分に与えられたテンサイは，貯蔵腐敗が少なく，*Phoma betae* の接種を行っても侵入量が減少すると報告した。Neeb and Grupe[140]は，砂耕栽培したテンサイを用い，カリウム，マグネシウム，マンガンまたはホウ素欠乏のテンサイは，貯蔵中の呼吸量が増加することを示し，窒素以外の土壌養分についても，欠乏時には貯蔵に悪影響を与えることを指摘した。

病害虫の影響について，Neeb and Grupe[140]は上述の報告の中で，萎黄性ウイルス病に罹病したテンサイも，貯蔵中の呼吸量が増加することを報告した。この他に，Tompkins and Pack[188]は，じゃのめ病に罹病したテンサイを10°C以上で貯蔵すると，腐敗が加速度的に進行することを報告した。Smith and Ruppel[177]は，褐斑病の侵入程度が高い畑で生育した菜根では，貯蔵中の腐敗個体数も多いことを指摘し，Graf[78]は，褐斑病およびうどんこ病の薬剤防除の有無と，収穫後の菜根の貯蔵性について調査した結果，うどんこ病の防除を行うと無防除に比べて貯

蔵性が高まるが，褐斑病の防除を行った個体は更に貯蔵性が良好で，両病害の防除を実施すると最も砂糖の損失が少くなると報告している。

生育期間中の水分条件と貯蔵性について，6月から7月の降雨量が不足した年の貯蔵時に，*P. betae* による腐敗が多発したことが報告されている[162,163]。しかし，旱ばつを受けたテンサイの腐敗量は，年により変動することが指摘され[70]，Bugbee[21]によれば，乾燥年に生育したテンサイは，湿潤年のものよりも，*P. betae* および *Botrytis cinerea* による貯蔵腐敗に対する抵抗性が高いが，秋の天候が逆に乾燥状態になると，湿潤状態よりも抵抗性は低下するとされている。

3）収穫時の物理的損傷の影響

菜根の貯蔵性に大きな影響を与える要因として，収穫時の物理的損傷が挙げられる。物理的損傷はタッピング（topping）と機械的損傷に分けられる。

テンサイの冠部は，根部に比べて根中糖分が3～4％低く，糖蜜糖分量が2倍程度と高いため，一般に，収穫時にはタッピング（冠部の切除）が行われる[47]。しかしタッピング面は病原菌の侵入口となり[186]，これらの菜根は，タッピングを行なわないものに比べて微生物による腐敗の進行が早いと報告されている[50,187]。Cole[38]は，タッピングを行った菜根は，行わない個体に比べて腐敗に対する感受性が高く，同時に呼吸率も高いと述べ，Stout and Smith[179]も，タッピングした菜根では呼吸による砂糖の損失が助長されると述べている。Akeson et al.[2]は，機械収穫した個体を用い，タッピングを行ったものと行わないものを集めて比較した結果，100日以上貯蔵した時の砂糖の損失量は，タッピングを行わない方が，行ったものより少なかったと述べた。菜根貯蔵中の呼吸量の変化については，収穫直後は非常に高まるが，数日間で直線的に減少し安定するとされている[178]。前者とは逆に Wyse and Peterson[212]は，タッピングによる菜根の呼吸率は，貯蔵開始時の10日間は著しく高まるが，その後は低下し，タッピングをしない個体よりもむしろ低くなると述べた。Koster et al.[117]による20日間の短期貯蔵の結果でも，最も呼吸率が低いのはタッピングを行った個体で，次いで，タッピングをしないが葉部を除去したもの，最も呼吸率が高いのは，冠部に葉柄が残っている個体であるとされた。また，Artschwager and Starrett[5]は，収穫後の傷を受けた菜根組織で，10日以内にスベリン化と傷周皮形成が起きることを観察し，菜根は収穫時の損傷の治癒ため，一次的に呼吸率の急増する期間を持つことを指摘した。この他 Dambroth[43]は，タッピングを貯蔵中の萌芽の観点から検討し，冠部（上胚軸より上の部分）の葉芽を十分に除去しないと，貯蔵中の砂糖の損失が大きくなることを指摘した。Vanstallen[198]も，タッピングを行った菜根は，行わない個体に比べて萌芽時に砂糖の損失が大きくなることを指摘している。このように，タッピングと貯蔵性の関係については，貯蔵期間中の呼吸率や萌芽量の影響が大きく，期間の長短によって結果が異なると考えられる。

機械的損傷には収穫機，輸送作業およびパイラー（積上げ機）を原因とするものがある。Dilley et al.[51]は，実験室内で激しい損傷を受けた菜根では，即座に呼吸率の上昇が起こり，低下して安定化するまでには10日間が必要で，呼吸量は無傷の個体の約4倍になると報告した。Wyse[206]は，機械収穫した菜根は，手掘のものに比べて呼吸率やカビの発生率が顕著に高くなり，タッピングよりはるかに影響が大きいことを指摘した。Cole[38]は，収穫および貯蔵時の機械的損傷は，貯蔵中の呼吸率と密接な関係があり，損傷の程度が大きくなるほど貯蔵中の呼吸率も高くなると述べた。Parks and Peterson[155]は，収穫機とともにパイラーによる損傷も大きいことを指摘した。Akeson and Stout[3]は，手掘のテンサイを鉄板上に落下させる実験を行い，菜根を90 cm以上の高さから落下させると，損傷を受けて貯蔵中の呼吸率が増加し，砂糖の損失も増加することを示した。Vukov and Patkai[202]は，テンサイの損傷が菜根の自重，弾性計数，および落下の高さにより決定されることを明らかにし，その限界値を示した。Wyse[208]は，彼の総括的報告の中で，貯蔵前の損傷を最小限にする重要性を述べ，Peterson et al.[157]は，低損傷型の収穫機とパイラーを試作し，開発の要点を示した。

4）収穫後の凍結と水分条件

収穫後の貯蔵性を左右する要因として，菜根の脱水と凍結の研究が行われている。Gaskill[69]は，収穫した菜根を乾燥させると糸状菌の侵入を受けやすく，腐敗しやすいことを指摘した。Cormack and Moffatt[42]は，菜根への *Phoma betae* の接種を行う時に，乾燥した組織を用いると，腐敗しやすいことを報告した。Vajna[196]は，脱水により25～33％の重

量が失われると，菜根の生物的機能が停止し，微生物の侵入に対する植物体の抵抗性が失われると報告した。Bugbee and Cole[25] も，貯蔵腐敗病に抵抗性の品種でも，24%の脱水状態で病原菌の接種を行うと，調査時の砂糖の回収率は，9%の脱水状態で接種を行った感受性品種と同等まで低下することを報告している。

イギリスでは収穫した菜根を畑に堆積するが，収穫時および収穫後の凍結が，菜根の劣化する重要な原因となり，1981～82年の寒波では，6万tが廃棄されている[175]。菜根も凍結状態のままならば体内成分に変化はないが，融解すると急速に劣化し，還元糖とガム物質が増加して，製糖上の問題になる[146]。オランダの de Nie et al.[45] も，融解により，還元糖とガム物質に加え，揮発性の酸が産生されると述べ，凍結防止の対処法を報告している。Heijbroek and Huijbregts[87] は，室内実験の結果から，菜根の凍結温度が－3～－3.5℃であることを示した。しかし凍結はしないものの，0～－1℃でも細胞は損傷を受け，砂糖の損失量が増加するとの指摘もある[207]。

5）貯蔵中の劣化

Pack[149] は，長期貯蔵する時の理想条件とは，貯蔵温度1.7℃で，浸透圧12気圧の湿潤な環境を作り，菜根を休眠状態にすることで，このような条件が保持できれば，菜根の呼吸率が最低となり，砂糖消費も抑制されるため，18ヶ月間，高品質で貯蔵することが可能であると述べた。しかし実際に，野外で大量の菜根を貯蔵する時には，工場に搬入されるまでの間に，菜根自身の呼吸，生理的変化，および微生物による腐敗等により砂糖の損失が起こり，劣化していく。

ヨーロッパの通常の条件では，全砂糖損失の約4分の3が，呼吸による損失であるとされている[47]。またイギリスでは，1ヶ月程度の通常の貯蔵時には，砂糖損失量の約半分が呼吸に起因すると言われている[91]。Oldfield et al.[143] によれば，健全な菜根の呼吸量は，貯蔵温度が10℃以下の時に最低になり，それ以上の温度では急激に増加するとされる。Barr et al.[8] は，24℃を越える時には腐敗量の増加が著しくなり，菜根の呼吸量も加速度的に増加して，砂糖の損失も著しいと指摘している。

アメリカの Wyse and Dexter[209] は，水洗した菜根を3℃で130日間貯蔵したところ，全砂糖損失量の約65%が呼吸により失われ，残りの損失は不純物の増加に起因し，この中の約80%がラフィノース，還元糖およびアミノ酸の増加により生じていると報告した。同時に，可溶性非糖分の変化は貯蔵温度と密接な関係にあり，10℃貯蔵時には還元糖が，3℃貯蔵時にはラフィノースが増加すると述べた。また，マルク（菜根中の不溶性固形分量）については年による変動が大きいと報じた[210]。Walker et al.[203] によれば，貯蔵後の菜根では根中糖分とブリックス（菜根中の可溶性固形分量）が低下し，全窒素，アミノ態窒素，およびアミド態窒素も減少するが，還元糖は増加し，ベタイン，全アニオンは変化しないとされる。Dexter et al.[50] は，2℃または8℃で貯蔵した菜根の品質を比較し，高温貯蔵後の圧搾汁は低温貯蔵より酸性化し，タッピングをして高温貯蔵する時には，還元糖が著しく増加すること，しかしカリウム，ナトリウム，アンモニア態窒素は，両貯蔵温度で差がなく，健全な菜根では貯蔵温度に拘わらず，可溶性アミノ酸量が増加しないと報告した。

腐敗による損失について Bugbee and Cole[24] は，アメリカの Red River Valley において，11月初旬から128日間にわたり，工場から排出される腐敗した菜根の量を調査し，合計重量は工場の裁断量の1.22%に相当するが，砂糖の損失量に占める腐敗菜根の影響は，約10%に相当すると報告した。Mumford and Wyse[137] は，表面の20%に糸状菌の発生が認められる菜根の呼吸率は，未発生の個体の2倍になり，15%発生した菜根の還元糖蓄積量は，未発生の3倍になると報告した。Oldfield et al.[146] は，健全な菜根では，貯蔵後であっても還元糖含量が0.8 g/100 g.sugar を越えることはないが，凍結後，融解した個体では著しく増加し，糸状菌発生個体でも同様に増加すると報告した。Vukov and Hangyál[201] も，同様の条件下での，還元糖の著しい増加を指摘している。また，Dochlenko[52] は，*Botrytis cinerea* または *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary が感染した菜根では，根中糖分の低下と還元糖の増加が起こり，製糖工程での中和アルカリ量も増加すると指摘した。

6）貯蔵中に発生する微生物

微生物による腐敗は，糸状菌と細菌による腐敗に分けられる。Vajna[197] は，その著書の中で Dorachovska and Sandera の研究を紹介し，貯蔵パイルから分離される糸状菌は3科19属30種であるが，ほとんどは腐生菌であると述べた。貯蔵腐敗病菌は

複数報告されているが，ヨーロッパの国々では，優勢な種として *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.を挙げる国が多い。Panassyuk[151]は，彼の報告書の中でMorotchkonskiの研究を紹介し，ウクライナの貯蔵菜根からは *Fusarium* 26種，*Penicillium* 24種が分離され，その中の各々7種と4種に病原性が確認されたと述べた。Morotchkonski and Vitasは，その後 *B. cinerea*，*Rhizopus* sp.および *F. culmorum* (W. G. Smith) Sacc.を貯蔵腐敗病菌として記載したとされる[152]。イギリスでは，堆積時の腐敗は *B. cinerea* によるものが最も一般的で[93]，*Helicobasidium purpureum* Pat.，*Phoma betae* Frank，*F. culmorum* による腐敗も貯蔵中に進行し，時として *Rosellinia necatrix* Prill.の感染を受けた菜根が，貯蔵中に急速に腐敗することが報告されている[92]。ドイツでは，貯蔵菜根は *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary，*B. cinerea*，*Typhula betae* Rostr.により激しい被害を受けるが，*F. betae* Sacc.，*F. udum* (Berk) Wr.，*Rhizoctonia violacea* Tul.および *P. betae* による貯蔵中の被害も認められると報告された[153]。Devillers[46]は，OrlowskaおよびKlaushofer and Hollausによる，製糖工場の菜根搬入場(silo)から採取した腐敗菜根からの糸状菌分離実験の結果として，ポーランドでは *B. cinerea* の分離頻度が最も高く，分離糸状菌全体の70%以上に達したこと，オーストリアでも，*B. cinerea* の分離率は50%以上に達したことを報告した。なお，Klaushofer and Hollaus[113]は，分離された糸状菌の同定を行い，*B. cinerea* を含め5属8種の形態的特徴を記載した。北アメリカでは，古くはEdson[57]が，*P. betae* が立毛中に感染し，その後，組織中に静止状態で生存し，貯蔵腐敗の原因になることを指摘した。Tompkins and Nuckols[186]は，タッピング部位から傷感染する病原として *P. betae* と *Fusarium* を報告し，その後，*Fusarium* は *F. culmorum* と *F. oxysporum* typeであり，これら3種の中では *P. betae* の病原性が最も強いと述べた[187]。Hodges[89]は，テンサイから分離した糸状菌を用いて，菜根を21°Cで貯蔵した時の病原性を調査し，寄生菌7属21種(中15種は *Fusarium*)，腐生菌6属31種(中24種は *Fusarium*)を報告した。Isaksson[98]は，*Botrytis* (cinerea type) による貯蔵腐敗病をアメリカで初記載した。Bugbee[17]は，*Penicillium claviforme* Bainierと *P. variable* Soppを病原菌として挙げ，さらに *P. cyclopium* Westlingと *P. funiculosum* Thom.を追加した[29]。なお，アメリカでは *B. cinerea* が優勢種とならないが，これは，*P. claviforme* が *B. cinerea* に対して拮抗能力を持つためと報告した[18]。Halloin and Robertsは，菜根堆積時の温度が35°C以上の異常高温になった時には，*Aspergillus fumigatus* Fresenが病原となることを報告した。カナダではCormack[41]が，貯蔵実験に供試した5000本の菜根を対象に，腐敗個体からの分離を行った結果，*Phoma betae*，*Aphanomyces*，*Pythium*，*Rhizoctonia* および *Fusarium* が分離されたと報告した。Mcknight[131]によれば，オーストラリアでは *Rhizopus nigricans* Ehrenberg，*Botrytis* sp.，*Fusarium* spp.が病原であるとされる。

貯蔵腐敗病の進行に最も影響するのは温度条件と言われている。Tompkins and Pack[188]は，*P. betae* による腐敗の進行は，10°Cを超えると加速度的に速くなると報告した。Barr et al.[8]は，18.5°C以上になると呼吸率が急激に上昇するが，その原因は寄生した糸状菌の生育が旺盛になり，腐敗の進行が速まるためと述べた。Gaskill[70]は，貯蔵時の温度が12°Cと18°Cの条件を比較し，両者の腐敗量の差が歴然としていることを報告した。また，病原菌により最適温度に差があるため，18°Cで接種を行う時には，*B. cinerea* の病原性が *P. betae* より高くなることを指摘した[72]。さらにパイルにおいても，15°C以下では *Botrytis* が腐敗の主要な原因になるが，28°C以上になると *Rhizopus* による被害量の方が多くなると報告した[73]。Toporovskaya[189]によれば，*B. cinerea* の生育最適温度は15～17°Cであるが，*Rhizopus*，*Phoma*，*Penicillium*，および *Fusarium* といった他の腐敗病菌は25～27°Cで，*B. cinerea* よりも高いとされる。

貯蔵中に発生する細菌について，Hull[92]は，凍結した菜根が貯蔵されると，*Leuconostoc dextranicum* de Beijerinckにより腐敗すると述べた。Atterson et al.[6]は，凍結した菜根より *L. mesenteroides* (Tsenkovskii) van Tieghem，および *Saccharomyces rosei* Boutroux等の3種の酵母を分離し，前者の細菌によりデキストランが産生され，後者の糸状菌により，臭い成分である酢酸イソアミルが産生されると報告した。ドイツではSchneider et al.[172]が，凍結菜根や付着土壌等から球菌を分離し，工場のロージュース(裁断した菜根を温湯に入れて，

砂糖分を浸出させた粗糖汁）から分離される細菌と同一の，*L. mesenteroides* と同定した。Vajna[197] は，Dorachovska and Sandera の研究として，貯蔵中に認められる細菌として *Bacterium coli* (Migula) Lehman & Neumann の他，ペクチンおよびセルロース分解菌の *B. betae* Chester *viscosum* と *B. betae flavum*，および乳酸産生の桿菌を挙げ，菜根の軟腐症状は，乳酸産生の細菌により生じると述べた。Bugbee et al.[28] は，貯蔵中の健全な菜根組織中にも細菌が存在することを報告し，*Pseudomonas* 属を含む5属を同定した。さらに，酸素が遮断されると，これらの内生菌により発酵が起こり，pH と根中糖分が低下し，還元糖が増加することを指摘した[39]。Kabashnaya[105] は，貯蔵中に軟腐症状を生じた菜根からは *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergey et al.，*Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula，*Bacillus* sp.，および未同定の Enterobacteriaceae の細菌が分離され，乾腐症状を生じた菜根からは *Erwinia bussi* (Migula) Magrou が分離されることを報告したが，これらの植物に対する病原性については検討しなかった。このように貯蔵中に菜根から分離される細菌に関しては，腐生的に生育するという記述が多く，寄生性については精査されていない。

7）腐敗の防止

貯蔵腐敗の防止策として，収穫直後の凍結，乾燥防止のための被覆法，貯蔵中の温度，湿度といった環境の制御，および薬剤についての報告が行われている。

Kessel[109] によれば，ドイツでは，収穫した菜根の40%が畑で貯蔵されるため凍結の危険が大きく，収穫菜根の被覆が重要とされる。イギリスでは，Oldfield and Duton[142] により，7.5～15 cm の厚さに藁で被覆する方法が推奨されたが，Bastow[9] により，ポリプロピレンの織布による被覆の方が，温度の変動が小さいことが指摘され，プラスチックシートによる被覆が，工場搬入前の霜害防止に利用されている[56,154]。一方アメリカでは，Dexter et al.[48] が冬期間のパイルの凍結，融解の防止にプラスチックシートの利用を試みたが，Akeson and Fox[1] は，藁による被覆の方が効果が安定しており，ポリプロピレンの織布による被覆は，パイル内部の凍結と融解を助長することがあると指摘した。フィンランドの Berghall et al.[10] によれば，ピートモス，プラスチックシート，雪の3層構造に被覆すると，3ヶ月の長期貯蔵でも，パイル内温度を＋3～－1℃に安定して保つことができるとされ，プラスチックシートは収穫直後の被覆には有効であるが，長期貯蔵時には不十分としている。

ところで，大量の菜根を堆積すると呼吸熱によりパイル温度が上昇する。このため，夜間の冷気をパイル内に強制通風して冷却し，砂糖の損失を軽減する方法が行われている[62]。Rice and Burke[161] によれば，貯蔵温度が6℃を越えると萌芽が始まるため，強制通風が必要とされる。現在行われてはいないが，ガス貯蔵（controlled atmosphere storage）では，貯蔵庫内の二酸化炭素濃度を6%，酸素濃度を5%とし，温度を2℃に保つ環境が，テンサイの貯蔵においては最適だと報告されている[108]。Wyse[207] も，貯蔵時の最適温度は1.5～5℃と報告している。しかし，冷却のための強制通風は菜根の乾燥を招く恐れがあり，長期の貯蔵では，パイルの堆積完了後，緩やかな通風により冷却することが重要で，堆積20日以降には通風量を半減するか，停止しても良いと述べられている[211]。

薬剤による防除について，古くは，パイル外層にライムミルクを塗布する方法が，表面の高 pH 化と，太陽光の反射による表面温度の上昇抑制の効果があり，腐敗防止に有効と報告された[61]。殺菌剤では，Mumford and Wyse[137] により菜根切片を用いた検索が行われ，ベノミルとチアベンダゾールが，*Penicillium* と *Botrytis* の有傷部からの侵入に効果があると報告された。Bugbee and Cole[26] は，抵抗性品種にチアベンダゾール処理をすることにより，*Phoma*，*Botrytis*，および *Penicillium* を混合接種するという条件でも，貯蔵腐敗を長期間，顕著に抑制できると報告している。Miles et al.[132] は室内でのスクリーニング法を開発し，チアベンダゾールは *Fusarium* にも効果があるが，*Rhizopus* には効果がないことを示し，両剤の他にオルトフェニルフェノールナトリウムも有効であると報告した。Vanstallen and Vigoureux[199] のように，3週間の短期貯蔵時には，チアベンダゾールの効果を疑問視する報告もあるが，Graf[79] のチアベンダゾールを用いた貯蔵パイル実験では，砂糖損失の減少を確認している。この他，貯蔵中の萌芽の抑制に，マレイン酸ヒドラジドの収穫前茎葉散布が有効とする報告がある[205]。なお，生物的防除法についての報告は見られ

ない。

C．日本における研究

日本における報告に関して，古くは，畑における被覆法が報告され，凍結および腐敗防止と，品質保持に，土壌で被覆する方法が推奨された[82,167]。劣化防止のための管理法では，富山[184]が自然通風処理について報告し，その後，強制循環通風処理[185]が検討された。しかし，この方法では，パイル内に乾燥する部分が生じるため[54]，堆積初期には加湿が重要であると指摘されている[55]。

植物体の形質に関しては，増田ら[127]が移植と直播の菜根を比較し，大型で球形の移植菜根の方が，貯蔵性が高いことを報告した。斎藤ら[165]は品種，栽培条件で菜根の硬さが異なることを確認し，貫入抵抗が大きい品種ほど，物理的損傷を受けにくいため，腐敗しにくいと述べた[164]。

井村ら[95]は菜根に機械的損傷を与えると腐敗が増加すること，傷の種類としては打撲傷の影響が大きいことを示し[96]，試作した装置を用いて，腐敗に影響する打撲の強さに限界値があることを確認した[86]。さらに，市販の収穫機の機種により，菜根の損傷の程度が異なることを示し[97]，収穫機における，損傷が大きい工程を特定し[133]，損傷を慣行機の60%に低下させた収穫機を開発した[134]。

菜根の呼吸による砂糖の損失に関しては，7°C，約120日の貯蔵で90～170 g/t/day[111]，8°C，113日の貯蔵で約70 g/t/day[85]との測定結果が報告されている。

貯蔵腐敗に関して，日本植物病名目録では，栃内[183]の報告が，「テンサイ貯蔵腐敗病」の病名の初記載とされている。その病原について，半澤・佐々木[84]は，貯蔵パイルから6種の糸状菌を分離し，砂糖分解の能力は *Penicillium expansum* Link ex Gray emend. Thom が最も強いこと，*Botrytis cinerea* は培養液の pH を低下させるが，*P. expansum* では上昇させると抄録で報じたが，詳しい成績は公表しなかった。松本[128]は，原料菜根の貯蔵中の主要な腐敗病菌は *Botrytis* sp.（cinerea 型）であると報告し，切片を用いた実験で PCP，エチル燐酸水銀，キャプタンで高い効果が認められ，キャプタンによる実用試験でも，高い効果が得られたと述べた[129]。これらの報告を基に，宇井[194]は貯蔵中の腐敗について概説した。採種用母根に関しては杉本[180]が詳述し，分離菌を *B. cinerea* の1系統と同定し，実用的防除剤としてフェニール沃化水銀を挙げた。内野・神沢[191]は，大型パイルから分離した糸状菌の中，*B. cinerea*，*Fusarium roseum*，*P. expansum*，および *Phoma betae* の4種を貯蔵腐敗病菌として同定し，中でも *B. cinerea* の分離率が突出して高く，病原性も最も強いことを報告した。さらに，パイル内に認められる糸状菌は，種によって発生時期や発生部位が異なっていることを指摘した[192]。また，貯蔵腐敗病に罹病した菜根で，根中糖分と搾汁 pH が低下し，還元糖が著しく増加することを認め，*B. cinerea* がスクロースからクエン酸を産生することを指摘した[107]。この他に，特殊条件下で貯蔵菜根に軟腐症状を生じる新病害として，*Leuconostoc mesenteroides* によるテンサイロイコノストック貯蔵腐敗病を提案した[193]。また，貯蔵腐敗病の生物防除について研究し，本病抑制効果の高い *Pseudomonas cepacia* D-202 菌株を見出した[99]。以上が，貯蔵腐敗病の国内における報告の全てと考えられる。

III．貯蔵腐敗の病原と菜根の品質変化

A．菜根から分離される糸状菌と貯蔵腐敗病の病原

貯蔵中に分離される糸状菌としては，30種以上が記載されている[197]。日本では1科6種が記録されたが，抄録のみであり，詳しい記述はされなかった[84]。

テンサイ貯蔵腐敗病の病原として，Edson[57]，Pape[153]，Panassyuk[151]，Bugbee[17]等により，複数の糸状菌が報告されている。日本では松本[128]が，主要な病原として *Botrytis* sp.を指摘し，杉本[180]が，採種用母根貯蔵時に発生する *B. cinerea* について詳述した。本項では，原料菜根を貯蔵した大型パイルから糸状菌を分離し，その病原性を調査し，貯蔵腐敗病の病原の同定を試みた。

a．菜根から分離される糸状菌

1）実験材料および方法

主に，1981/82年度から1983/84年度までの3製糖期，十勝地方を中心に，堆積中のパイルから腐敗菜根を採取した。これらは清浄なポリエチレン袋に入れて野外より持ち帰った。菜根の表層に生育した菌叢については，土粒を含まぬように，少量をピンセットで剝離した。腐敗組織については，滅菌メスを用いて腐敗組織と健全組織の境界部を切り出した。70%エタノールで軽く表面殺菌した後，滅菌水で水洗し，滅菌ろ紙を用いて良く脱水し，酸性 PDA

または酸性素寒天平板に置床した。25°Cに静置し，出現した菌叢先端部の菌糸片を顕微鏡下で切り取り，単菌糸分離株を得た。分離株をPDA平板上で生育させ，培養性質および形態を観察した。分離はできなかったが，菜根表面に明瞭な菌叢を形成した数種についても，同様に形態を観察した。

2）実験結果

パイルより採取した腐敗菜根からは，計398菌株を分離した。分離はできなかったが，菜根上に形成された菌叢を直接検鏡したものを含め，主としてBarnet and Hunter[7]，宇田川ら[195]，Domsh et al.[53]の記載を参考に，形態による分類を行った。Table 1に結果を示したが，菜根上に発生した糸状菌は4科19属に分類された。さらに，同一属でも異なる種と考えられる分離株があり，全体で28種に分類できた。これらの中，同一地点の腐敗組織より得た菌株の分類結果をTable 2に示した。計106菌株を調べたが，12属16種に分類でき，中71.7%は *Botrytis* sp.で，突出して高い分離率となった。この他，*Mucor* sp.(hiemalis type)，*Geotrichum* sp.，*Phoma* sp. 1 (betae type)，*Penicillium* sp. 3 (expansum type)，*Fusarium* sp. 1 (culmorum type) の5種が，

Table 1　Fungi isolated from stored sugar beet roots[a)]

Mastigomycotina
Aphanomyces sp. (cochlioides type)
Pythium sp.
Zygomycotina
Mucor sp. 1 (with black sporangia)
Mucor sp. 2 (hiemalis type)
Zygorhynchus sp.
Ascomycotina
Saccharomyces sp.
Deuteromycotina
Alternaria sp. (alternata type)
Botrytis sp. (cinerea type)
Cladosporium sp.
Fusarium sp. 1 (culmorum type)
Fusarium sp. 2 (nivale type)
Fusarium sp. 3 (oxysporum type)
Fusarium sp. 4 (solani type)
Geotrichum sp.
Nigrospora sp.
Papulaspora sp.
Penicillium sp. 1 (digitatum type)
Penicillium sp. 2 (decumbens type)
Penicillium sp. 3 (expansum type)
Penicillium sp. 4 (verrucosum type)
Phialophora sp.
Phoma sp. 1 (betae type)
Phoma sp. 2
Rhizoctonia solani
Rhizoctonia sp. (binucleate)
Scopulariopsis sp.
Trichocladium sp.
Trichoderma sp.

a) All isolates were collected from the surface and internal rotten tissues of sugar beet roots stored mainly in an area at Memuro factory during 1981/82 to 1983/84 campaigns.

Table 2 Fungi isolated from rotten tissues of sugar beet roots[a].

Fungi	Number of isolates	Percent (%)
Mucor spp.	14	13.2
Alternaria sp.	1	0.9
Botrytis sp. (cinerea type)	76	71.7
Cladosporium sp.	1	0.9
Fusarium sp. 1 (culmorum type)	7	6.6
Fusarium sp. 3 (oxysporum type)	2	1.9
Fusarium sp. 4 (solani type)	1	0.9
Geotrichum sp.	11	10.4
Papulaspora sp.	2	1.9
Penicillium sp. 1 (digitatum type)	2	1.9
Penicillium sp. 3 (expansum type)	8	7.5
Penicillium sp. 4 (verrucosum type)	5	4.7
Phoma sp. 1 (betae type)	10	9.4
Rhizoctonia solani	1	0.9
Trichocladium sp.	1	0.9
Trichoderma sp.	1	0.9

a) All isolates were obtained from rotten tissues of sugar beet roots in piles in an area at Memuro factory.

Table 3 Relationship between mycelia colonizing on sugar beet root surfaces and fungi isolated from internal rotten root tissue.

Fungal genus isolated from rotten tissues	Mycelia colonizing on root surfaces		
	Botrytis	*Cladosorium*	*Penicillium*
Mucor	8.3[a]	15.0	20.8
Botrytis	95.8	90.0	70.8
Cladosporium	0.0	0.0	0.0
Fusarium	0.0	5.0	0.0
Geotrichum	4.2	0.0	12.5
Penicillium	0.0	10.0	33.3
Phoma	0.0	10.0	0.0

a) Percent of fungi isolated from rotten tissues, when the rotten sugar beet roots were classified with each mycelial type colonizing on the root surface. The total is not 100 % because multiple fungi were isolated from one root.

5％以上の分離率を示した。菜根表面に発生する主要な菌種と，内部組織より分離される菌種との関係をTable 3に示した。表面に *Botrytis* の菌叢が認められる個体では，内部組織からも *Botrytis* が高率で分離され，95.8％に達した。表面に *Penicillium* の菌叢が認められた個体では，内部組織の33.3％から *Penicillium* が分離されたが，同時に70.8％から *Botrytis* が分離された。表面に *Cladosporium* の菌叢が認められた個体では，内部組織の90.0％から *Botrytis* が分離され，*Penicillium* も10.0％分離されたが，菌叢として観察された *Cladosporium* は，内部組織からは全く分離されなかった。

b．分離糸状菌の菜根に対する病原性

1）実験材料および方法

パイルより分離された糸状菌14属22種を用いた。各菌株をブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天（以下PDA），25°Cで，7～14日間培養した。菌叢の周縁部を，直径8 mmのコルクボーラーで打ち抜いて接種源とした。宿主材料として，10月に畑より収穫し，3°Cで冷蔵しておいた健全な菜根を用いた。Gas-kill[72]の方法にしたがい，1辺6 cmの切片を，1菌株あたり4片ずつ作製し，中央部に接種源の菌糸片を載せた。15°C，湿室に2週間静置し，出現した褐変部の直径を測定し，腐敗面積を算出した。実験は3回に分けて実施し，各回に用いた *Botrytis* sp.の腐

Table 4 Evaluation for pathogenicity of fungi isolated from sugar beet roots in a storage pile by the interior type inoculation[a].

Fungi	Number of isolates tested	Rot index[b] (*Botrytis*=100)
Pythium sp.	1	2
Mucor sp. 1 (with black sporangia)	3	0
Mucor sp. 2 (hiemalis type)	6	0
Zygorhynchus sp.	1	0
Alternaria sp. (alternata type)	3	0
Botrytis sp. (cinerea type)	7	100
Cladosporium sp.	2	0
Fusarium sp. 1 (culmorum type)	2	65
Fusarium sp. 2 (nivale type)	4	1
Fusarium sp. 3 (oxysporum type)	2	9
Fusarium sp. 4 (solani type)	2	0
Geotrichum sp.	3	0
Nigrospora sp.	1	0
Papulaspora sp.	1	18
Penicillium sp. 2 (decumbens type)	2	1
Penicillium sp. 3 (expansum type)	2	39
Penicillium sp. 4 (verrucosum type)	2	2
Phialophora sp.	1	0
Phoma sp. 1 (betae type)	4	32
Phoma sp. 2	1	6
Rhizoctonia solani	1	0
Rhizoctonia sp. (binucleate)	1	0

a) Gaskil (1952)[72]. Four cubic sections (6cm x 6cm x 2cm each) of sugar beet roots were used for each inoculation. Mycelial inoculum grown on PDA was placed at the center of a section. The inoculated sections were incubated in the moist chamber at 15 °C. The area of lesion was measured after two weeks.

b) Rot index=(Area of lesion)/(Area of lesion of *Botrytis* isolate) x 100.

敗面積を100とする指数で表示した。

2）実験結果

Table 4に腐敗面積指数を示した。組織の褐変は，供試した種の半数にあたる11種で認められた。*Botrytis* sp.の15°C，接種2週間後の褐変の直径は21～44 mmで，供試菌種中最大であった。*Botrytis* sp.の腐敗面積を100とし，褐変の認められた菌種の腐敗面積指数を求めると，*Fusarium* sp. 1（culmorum type）が65，*Penicillium* sp. 3（expansum type）が39，*Phoma* sp. 1（betae type）が32となった。*Papulaspora* sp.，*Fusarium* sp. 3（oxysporum type）および*Phoma* sp. 2が，これに次ぐ指数であったが，かなり小さく，残る4種は接種源の直下がわずかに褐変したのみであった。

c．病原糸状菌の同定

1）実験材料および方法

前述の接種試験において，腐敗面積指数が30以上で，明瞭な病原性が認められた4種について同定を行った。

Botrytis sp.は，Czapek Dox寒天培地を基本に，炭素源としてブドウ糖，アラビノース，またはラフィノースを用い，20°C，暗黒下に静置した時の，菌叢の生育量と色を調査した。炭素源をブドウ糖とした培地を用い，20°C，暗黒に静置した菌叢の先端を切り取り，ギムザ染色法により，1細胞あたりの核数を測定した。同培地で2週間静置後，菌糸の幅および分生胞子の大きさを測定した。さらに1ヶ月静置後，形成された菌核の大きさを測定した。

Fusarium sp. 1は，PDA，25°C，暗黒における菌叢の生育量を調査した。Carnation leaf agar（以下CLA）[190]，25°C，12時間周期の照明下に2週間静置し，大型分生胞子の形成様式を観察し，大きさと隔壁数を測定した。同時に，厚膜胞子の形成様式を観察し，大きさを測定した。

Penicillium sp. 3 は，Czapek 寒天培地，25°C，暗黒における菌叢の生育量を調査した。同培地で 1 週間培養し，分生胞子形成様式を観察し，メトレ，フィアライドおよび分生子の大きさを測定した。菌叢の辺縁部をコルクボーラーで打ち抜き，1 菌株あたり 4 個の，皮付きのリンゴ果実に接種し，25°C，湿室に 10 日間静置して，組織が褐変した部分の直径を測定した。

Phoma sp. 1 は，オートミール寒天培地（以下 OA），20°C，暗黒下に 1 週間静置し，菌叢の生育と，分生子殻および分生胞子の形状を観察し，大きさを測定した。その後，照明下に 3 日間静置し，1 N水酸化ナトリウムを滴下して，色素の産生を調べた。

テンサイ幼苗への接種のため，2 %蔗糖加用ジャガイモ煎汁で，25°C，11 日間培養した菌体 2.5 g に，殺菌水 100 ml を加えて磨砕した接種液を作製し，直径 9 cm の腰高シャーレに，接種液 25 ml を混合した殺菌土を充填した。1 菌株あたり 3 シャーレを用い，1 シャーレあたりテンサイ種子 25 粒を播種して，25°Cのガラス温室で 18 日間栽培し，立枯れ苗数を調査した。実験には，比較対照として，畑で生育中の根部に，各々冠腐れ症状，根くびれ症状を生じた *P. betae* の BCR-02 および BST-01 の 2 菌株を用いた。

Table 5 Mycelial growth and color of *Botrytis* sp. isolates using three different carbon sources[a].

Isolates	Dextrose		Arabinose		Raffinose	
	Growth (mm/day)	Color	Growth (mm/day)	Color	Growth (mm/day)	Color
55-SR-004	12.5	gray	7.5	gray	7.6	gray
57-SR-053	12.0	gray	7.2	gray	6.0	gray
58-SR-087	8.7	white	6.3	yellow white	7.9	white
58-SR-095	10.6	white	5.5	white	5.7	gray
58-SR-100	7.6	gray	4.8	gray	4.2	gray
58-SR-105	9.4	white	5.3	gray	5.6	gray
58-SR-112	11.0	gray white	5.4	gray white	7.4	gray
58-SR-116	9.7	white	8.5	white	7.3	white
Average	10.2	–	6.3	–	6.5	–

a) Mycelial growth of isolates grown on Czapek Dox agar plate at 20 °C under dark condition was measured.

Table 6 Number of nuclei in a hyphal cell, dimensions of conidia and sclerotia of *Botrytis* sp. isolates.

Isolates	Number of nuclei per cell[a]	Conidia[b] (μm)	Sclerotia[b] (mm)
55-SR-004	32	12.1×8.0	–
57-SR-053	36	12.4×8.8	–
58-SR-087	32	10.1×7.0	+
58-SR-095	31	11.6×8.0	5.2×3.9
58-SR-100	32	11.6×7.6	3.6×2.7
58-SR-105	33	10.7×8.3	4.9×3.3
58-SR-112	30	11.0×9.4	5.4×3.7
58-SR-116	38	12.3×8.8	–
Range	–	7.5-17.5×5.3-12.3	1.9-10.8×1.4-8.9
Average	33	11.5×8.2	4.8×3.3

a) Giemsa stain was used to visualize the nuclei in a hyphal cell.
b) Dimensions of conidia and sclerotia of isolates grown on Czapek Dox agar with dextrose at 20 °C under dark conditions were measured two weeks after and one month after, respectively.

2）実験結果

a）*Botrytis* sp.

Table 5 および Table 6 に結果を示した。Czapek Dox 寒天培地上での気中菌糸の量，分生胞子の形成量，菌核の有無および形状と量はきわめて変化に富み，同一菌株でも継代により変化することがあった。炭素源にかかわらず，55-SR-004，57-SR-053 および 58-SR-100 は菌叢の色が灰色で，58-SR-087 および 58-SR-116 は菌叢の色が白色から黄白色であった。残る3菌株は，炭素源により菌叢の色がやや変化した。菌叢の伸長速度は，同一炭素源でも，菌株間で最大1.8倍の差があった。平均値では，炭素源をブドウ糖とする培地で10.2 mm/day，アラビノースとする培地で6.3 mm/day，ラフィノースとする培地で6.5 mm/day であった。検鏡による測定では，菌株間に大きな差は認められなかった。菌糸は無色で幅3～7 μm，ギムザ染色による核数の平均値は33であった。分生子柄は直立で，そう生し，上方は樹木状に分枝した。分生子柄の下方は褐色で，基部に膨れはなく，上方の，特に分枝の先端部は無色であった。高さは1～2 mm，またはそれ以上に長く，幅は9～17 μm であった。分生胞子は楕円形または倒卵形で，しばしば基部に突出したへそが認められた。胞子の色は無色から淡黄褐色で，表面は平滑，長さ7.5～17.5 μm，幅5.3～12.3 μm，平均では11.5×8.2 μm，縦/横比は1.4であった。菌核は半球形，またはシャーレ壁面に付着するときには不整形であった。菌核を形成しない株もあった。形成された菌核の表面はやや平滑で，はじめ白色であるが，時間の経過とともに黒色になった。半球形の菌核の大きさは，平均4.8×3.3 mm であった。

b）*Fusarium* sp. 1

Table 7 に結果を示した。PDA 培地上では，綿毛状の気中菌糸を豊富に形成した。気中菌糸は初め白色であったが，後に桃色または黄褐色を帯びた。菌叢の裏面および寒天表面はカーミン赤色に着色した。菌叢の生育はきわめて旺盛で，伸長速度は平均19 mm/day（5.7 cm/3 days）であった。CLA 培地上で，分生子柄はスポロドキアから分枝して生じ，分生子形成細胞は単純フィアライドであった。大型分生子は無色，三日月形で，やや湾曲した先端細胞と，鉤状の脚胞を生じた。隔壁数は主に5で，平均4.8であった。胞子長は29～43 μm，幅は4.4～6.1 μm で，平均38×5.1 μm であった。小型分生子の形成は認められなかった。厚膜胞子は卵形から球形で，直径は7.3～9.8 μm，平均9.1 μm で，中間生または頂生で，単一または連鎖して形成された。

c）*Penicillium* sp. 3

Table 8 に結果を示した。本菌は，Czapek 寒天培地上で青緑色の菌叢を形成した。強いカビ臭があり，無色の分泌液を産生した。なお，古い培養では灰緑色に変色した。菌叢裏面は白色から淡黄色で，培地は黄褐色に着色した。菌叢の伸長速度は平均5.6 mm/day であった。分生子柄は単条またはゆるい束状で，無色，滑面であり，やや不規則に分枝した。ペニシリは50 μm 程度で，分枝，メトレおよびフィアライドから構成された。メトレは多少円筒型で，2～5本が輪生帯を形成し，大きさは11～18×2.5～3.8 μm，平均では13.7×3.2 μm であった。フィアライドはトックリ型で，3～8本を生じ，6～10×2.0～3.1 μm，平均では8.1×2.4 μm であった。分生子は球形から亜球形で，滑面，淡かんらん

Table 7　Mycelial growth and dimensions of macroconidia and chlamydospores of *Fusarium* sp. 1 isolates.

Isolates	Mycelial growth[a)] (mm/day)	Macroconidia[b)]		Chlamydospores[b)] (μm)
		No. of septa	(μm)	
55-SR-048	22	4.8	37×5.0	9.0
57-SR-043	20	4.8	36×4.9	8.7
57-SR-075	16	4.8	40×5.3	9.5
58-SR-094	18	4.9	39×5.2	9.1
Range	–	3-5	29-43×4.4-6.1	7.3-9.8
Average	19	4.8	38×5.1	9.1

a) Mycelial growth rate of isolates grown on PDA at 25 °C under dark conditions was measured.
b) Dimensions of macroconidia and chlamydospores of isolates grown on CLA at 25 °C under 12 hours lighting conditions were measured.

Table 8 Physiological and morphological characteristics of *Penicillium* sp. 3 isolates.

Isolates	Mycelial growth[a)] (mm/day)	Metulae[a)] (μm)	Phialides[a)] (μm)	Conidia[a)] (μm)	Dim. of lesion on apple[b)] (mm/10days)
55-SR-080	5.5	12×3.3	7.6×2.1	3.5	19
57-SR-061	6.0	13×3.3	8.4×2.5	3.3	16
58-SR-084	5.6	14×3.2	8.1×2.4	3.4	22
58-SR-110	5.3	16×3.0	8.3×2.6	3.4	19
Range	–	11-18×2.4-3.8	6-10×2.0-3.1	2.6-3.7	–
Average	5.6	13.7×3.2	8.1×2.4	3.4	19

a) Mycelial growth rate and dimensions of fungal organs of isolates grown on Czapek agar at 25 °C under dark conditions were measured.
b) Four apple fruits/isolate were inoculated with mycelia and then incubated in the moist chamber at 25 °C for 10 days to measure the diameter of resulting lesions.

Table 9 Physiological and morphological characteristics of *Phoma* sp. 1 isolates.

Isolates	Mycelial growth[a)] (mm/day)	Pycnidia[a)] (μm)	Conidia[a)] (μm)	NaOH test[b)]	Rate of damping-off[c)] (%)
57-SR-023	9.0	266	3.2×5.5	N.R.	43.4
58-SR-012	9.3	–	3.8×5.5	N.R.	30.2
58-SR-086	7.7	329	3.7×5.5	N.R.	21.9
58-SR-123	8.9	280	3.3×5.7	N.R.	49.5
Range	–	210-410	2.5-4.4×4.4-7.1	–	–
Average	8.7	292	3.6×5.6	–	–
BCR-02[d)]	9.0	–	3.7×6.0	N.R.	31.3
BST-01[d)]	8.9	280-400	4.0×6.2	N.R.	25.0

a) Mycelial growth rate and dimensions of organs of fungal isolates grown on Oatmeal agar at 20°C under dark conditions were measured.
b) Pigmentation was observed after 1 N NaOH application on mycelia grown on Oatmeal agar. N. R. means no reaction.
c) Three pots were used for each inoculation. Homogenized mycelia were mixed with sterilized soil in pots. Twenty-five sugar beet seeds were sown in each pot, and then raised at 25°C in a glasshouse. Rate of damping-off was determined after 18 days.
d) BCR-02 and BST-01 were isolated from beet roots showing crown rot and constrictive symptoms in the field, respectively.

緑色で，直径 2.6～3.7 μm，平均 3.4 μm であった。リンゴへの接種では，25°C，10 日間で，平均直径 19 mm の腐敗部を生じた。

d）*Phoma* sp. 1

Table 9 に結果を示した。オートミール寒天培地上の菌叢は，初め白色，後，暗緑色となった。伸長速度は平均 8.7 mm/day (6.1 cm/7 days) であった。菌叢への水酸化ナトリウムの滴下による着色は認められなかった。分生子殻は埋没性または非埋没性の両者が混在した。黒褐色で，球形ないし亜球形で，外出孔は頸部を欠き，直径は 210～410 μm，平均 292 μm であった。分生胞子は桃色の粘出物として分生子殻から噴出し，1 細胞で，無色，平滑，楕円形から卵円形で，大きさは 4.4～7.1×2.5～4.4 μm で，平均 5.6×3.6 μm であった。供試した何れの菌株も，テンサイ幼苗に苗立枯病を起こした。

d．考　　察

貯蔵菜根に発生する糸状菌を形態により分類した結果，4 科 19 属 28 種を確認した（Table 1）。Vajuna[197] はその著書の中で，貯蔵中に出現する糸状菌 3 科 19 属を紹介したが，確認した糸状菌の中，*Mucor*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusar-*

ium, *Penicillium*, *Phoma*, *Rhizoctonia*, *Scopulariopsis*, および *Trichoderma* の10属は記載の中に含まれていた。また *Aphanomyces* と *Pythium* は Cormack[41] が記載した属であった。残る7属は記載の見あたらない属で，この中 *Geotrichum* と *Nigrospora* には，各々カンキツ類[31]，リンゴ[110] の貯蔵中に発生する種が含まれるものの，いずれもごく一般的な土壌菌であった。

菜根の組織からは，確認した糸状菌の約半数にあたる12属16種が分離され，この中71.7%は *Botrytis* sp.であった（Table 2）。パイル内の菜根表面には *Botrytis*, *Cladosporium*, および *Penicillium* の菌叢が多数認められたので，これらが表面に発生した菜根を採取し，腐敗組織から糸状菌の分離を行ったところ，表面の菌叢にかかわらず，*Botrytis* が高率で分離された（Table 3）。Devillers[46] も，ポーランドおよびオーストリアの silo（製糖工場の菜根搬入場）からの分離報告として，各々70%以上，50%以上が *B. cinerea* であったと記述している。北海道においても，これらの国々と同様，*Botrytis* sp.の分離率が突出して高く，パイル内に優先して発生していることを確認した。

分離した糸状菌の15°Cにおける病原性は，*Botrytis* sp.が最も強く，*Fusarium* sp. 1, *Penicillium* sp. 3, *Phoma* sp. 1の3種も強い病原性を示した（Table 4）。他国において，最も著名なテンサイ貯蔵腐敗病菌は *B. cinerea* で，この他に *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Phoma betae*, および *Rhizopus nigricans* Ehrenb.（*R. stolonifer*[170]）を病原として記載した報告が多い[17,93,98,131,152,153,187]。北海道においても概ね他国と同様で，上述の4種が貯蔵時の病原であり，松本[128] が指摘したように，*Botrytis* sp.が主要な病原菌になっていると判断された。なお，分離菌には諸外国で記載の多い *Rhizopus* が含まれなかった。Gaskill and Seliskar[73] によれば，パイル温度が15°C以下では，*Botrytis* が主要な腐敗の原因となるが，28°Cを越えると *Rhizopus* の被害が増加するとされている。北海道のパイルは低温に管理されているので，このことが，*Rhizopus* が分離されなかった一因となった可能性がある。

菜根組織からは，上述の4種の他に，病原性は認められないものの，*Mucor* spp.と *Geotrichum* sp.が比較的高率で分離された。Hodges[89] はテンサイから分離した糸状菌について，菜根を21°Cで貯蔵した時の病原性を検討し，腐生菌として *M. heterosporus* Fischer sensu Baijal & Mehrotra（*M. tuberculisporus*[169]）を報告した。Klaushofer and Hollaus[113] も，silo から採取した腐敗菜根から *M. hiemalis* Wehmer を分離，同定している。*Geotrichum* はテンサイからの分離報告はないが，果実類の貯蔵中に発生する菌として良く知られている。分離された両種は，北海道のテンサイ貯蔵時に発生する主要な二次腐生菌であると考えられる。

以上，テンサイ貯蔵腐敗病の病原糸状菌4種を特定したが，これらの同定結果は以下のようになった。

Botrytis sp.の同定は，Morgan[136] の記載にしたがって行った。供試菌株の分生子柄は長さ750 μm以上で，基部は膨らまなかった。菌糸細胞中の核数は30以上で，分生胞子の大きさは9～17×6～9 μmの範囲にあり，*B. cinerea* に相当した（Table 6）。Table 10 に供試菌株，原料用テンサイ菜根分離菌[113]，採種用テンサイ母根分離菌[180]，Ellis[60] および

Table 10 Comparison of the morphological characteristics between the test isolates and the descriptions on *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.

Description[a]	Number of nuclei/cell	Conidiophores (μm)	Conidia (μm)	Conidia L/B ratio	Sclerotia (mm)
Test isolates	33	1000-2000×9-17	11.5×8.2 (7.5-17.5×5.3-12.3)	1.40	1.9-10.8×1.4-8.9
Sugimoto	–	1000-2000×10-18	10.9×8.6 (6.3-15.0×6.3-12.5)	1.27	1.0-8.0×1.0-5.0
Klaushofer und Hollaus	–	3000×10	9.8-10.3×8-9	–	–
Ellis	–	>2000×16-30	8-14×6-9 (6-18×4-11)	1.35-1.50	–
Morgan	30	>750×-	12×8 (9-17×6-9)	1.50	>2-3

a) Sugimoto(1964)[180], Klaushofer und Hollaus(1966)[113], Ellis(1971)[60], Morgan(1971)[136].

Morgan[136]の測定値を示した。供試菌株はMorgan, Ellisの両記載と一致した。Klaushofer and Hollaus, および杉本の記載したテンサイ分離菌ともほとんど相違がなく，良く一致していた。供試菌株には菌核の有無，および炭素源を変えた時の菌叢の色で相違が見られ（Table 5），Morganの*B. cinerea* Type AおよびType Bに相当する菌株が含まれた。しかし両者の相違は，新しい分類群を設定するには不十分と言われており[135]，供試した全ての菌株を，*B. cinerea* Pers. ex Fr.と同定した。

Fusarium sp. 1の同定は，一戸[94]の方法に準拠し，Burgess et al.[30]の記載にしたがって行った。PDA, 25°Cの生育は2.0 cm/3 daysを越えて非常に早く，小型分生子の形成は認められなかった。培地表面はカーミン赤色に着色した。この結果，供試菌株は，Section Discolorに属す*F. culmorum*, *F. crookwellense* Bergess, Nelson & Toussoun, または*F. graminearum* Schwabe Group 2の何れかの種と考えられた。CLA上に形成された大型分生子の大きさは38×5.1 μmで，短くずんぐりした三日月形をしており，脚胞は鉤状で，先端細胞は尖頭状ではなかった（Table 7）。これらの形状はBurgess et al.[30]およびNelson et al.[139]により示された*F. culmorum*の図版と一致していた。本種は，テンサイの貯蔵腐敗病菌としてTompkins and Nuckols[187], Panassyuk[151], およびHull[92]により報告されている。供試菌株は，Tompkins and Nuckolsの示す図版とも相似であった。Booth and Waterston[12]の記載によれば，本種の大型分生子の大きさは3隔壁のもので26～36×4～6 μm，5隔壁のもので34～40×5～6 μmであり，供試菌株の測定値と良く一致していた。以上より，供試菌株を*F. culmorum* (W. G. Smith) Sacc.と同定した。

Penicillium sp. 3の同定は，Ramirez[160]の記載にしたがって行った。供試菌株のペニシリは，フィアライドより下部で，1～2回，不対称型の分枝をした。フィアライドは針状ではなく，Asymmetrica Sectionに属した。分生子柄は単条かゆるい束条で，Fasciculata Subsectionに属した。菌核の形成は認められず，分生子は滑面，ペニシリはやや散開性であるが，分枝は開かず，フィアライドはトックリ型で，6.5 μmより長く，*P. expansum*に相当した（Table 8）。本種はPanassyuk[151]が貯蔵菜根から分離して病原性を認め，Klaushofer and Hollaus[113]による形態の記載がある。日本では山本ら[214]がサツマイモの病原菌として記載している。Table 11にこれらの測定値を示したが，供試菌株の各器官の大きさは，いずれの記載とも良く一致していた。特に山本の記載とは，生育速度も含めて良く一致した。以上より，供試菌株を*P. expansum* Link ex Gray emend. Thomと同定した。

Phoma sp. 1の同定は，Boerema and Dorenbosch[11]の記載にしたがって行った。OA, 20°Cの生育は早く，4 cm/7 days以上であった。水酸化ナトリウムの滴下による菌叢の色調変化はなく，擬菌核も形成しなかった。分生子殻は球～亜球形で，剛毛はなく，外出孔は頸部を欠いた。分生胞子は1細胞で，長径の平均は5 μm以上であった。また，テンサイに病原性を有し，*P. betae*に相当した（Table 9）。本種はTompkins and Nuckols[186]およびMcknight[131]により，貯蔵腐敗病の病原として報告され，Edson[57]およびHull[92]により，立毛中に感染し，貯蔵中に腐敗が進行する種と指摘されている。Table 12に，テンサイ種子または幼苗からの分離菌[57,138]，および前述のBoerema and Dorenboschの記載数値を示した。供試菌株の測定値はこれらの記載と一致し，比較対照とした冠腐れおよび根くびれ症状分離の*P. betae*菌株とも良く一致し，*P. betae* Frankと同定した。

Table 11 Comparison of the growth rate and the morphological characteristics between the test isolates and the descriptions on *Penicillium expansum* Link ex Gray emend. Thom.

Description[a]	Growth rate (mm/day)	Metulae (μm)	Phialides (μm)	Conidia (μm)
Test isolates	5.6	11- 18 ×2.4-3.8	6 -10×2.0-3.1	2.6-3.7
Yamamoto et al.	5.6	13- 17 ×2.5-3.0	9 -14×2.0-2.5	2.5-4.5
Klaushofer and Hollaus	3.2	10-12.5× 2.4	8.5-11×2.4-2.9	3.4-3.6
Ramirez	3.6	10- 15 ×2.5-3.5	8 -12×2.3-3.0	3.0-4.0

a) Yamamoto et al.(1956)[214], Klaushofer and Hollaus(1966)[113], Ramirez(1982)[160].

Table 12 Comparison of pycnidial and conidial sizes between the test isolates and the descriptions on *Phoma betae* Frank.

Description[a)]	Media	Pycnidia(μm)	Conidia(μm)
Test isolates	Oatmeal agar	210-410 (292)	2.5-4.4×4.4-7.1 (3.6×5.6)
Naito and Sugimoto	Potato sucrose agar	86.4-574.1 (301)	2.7-5.4×4.5-7.2 (4.0×5.9)
Edson	String bean agar	125-635 (225-325)	2.6-4.3×3.8-9.4 (3.0-3.5×5.1-6.0)
Boerema and Dorenbosch	Oatmeal agar	−	2.5-5×3.0-10 (3-4×5-8.5)

a) Naito and Sugimoto(1978)[138], Edson(1915)[57], Boerema and Dorenbosch(1976)[11].

B．テンサイ貯蔵腐敗病菌 *Botrytis cinerea* の特徴

分離率および病原性から，主要な病原菌と判断された *B. cinerea* は，多犯性の糸状菌で，日本では食用作物6種，特用作物12種，牧草1種，野菜15種，草花35種，果樹10種および鑑賞樹木10種の計89種に寄生することが知られている[112]。テンサイ栽培地帯でも，輪作されるインゲンマメ，アズキ等に灰色かび病を生じる。テンサイ貯蔵腐敗病菌と，他作物病原菌の異同，およびテンサイへの感染様式について検討した。

a．テンサイ分離株と他作物分離株の比較

1）実験材料および方法

B. cinerea の，以下に示すテンサイ分離の4菌株，他作物分離の6菌株を用いて，種々の温度における生育量，およびテンサイに対する病原性を比較した。

供試菌株をPDA，25°Cで生育させ，菌叢周縁部を直径8mmのコルクボーラーで打ち抜いた。新たに作製したPDA平板に，打ち抜いた菌糸片を載せ，−2°C，および0〜35°Cの5°C間隔の恒温器に，1菌株あたり5平板ずつ静置した。菌叢の先端が平板の辺縁に到達するまでの時間と菌叢半径を測定し，1日あたりの菌叢の生育量を算出した。観察および測定は，最大84日まで行った。

菌株	分離作物	分離源	分離年	分離地
58-SR-105	テンサイ	貯蔵菜根	1983	芽室町
97-SR-010	テンサイ	貯蔵菜根	1997	帯広市
97-SR-014	テンサイ	貯蔵菜根	1997	芽室町
97-SR-016	テンサイ	貯蔵菜根	1997	音更町
TO-96112	インゲンマメ	罹病葉	1996	芽室町
TO-96113	インゲンマメ	罹病葉	1996	芽室町
W-I-951	インゲンマメ	罹病葉	−	−
BS 9202	宿根スターチス	花器	1992	士幌町
BC-1	イチゴ	果実	−	−
MI-3	ミニトマト	果実	−	−

10月に収穫後，4°Cで冷蔵しておいた健全なテンサイ菜根から，1辺6cm，厚さ2cmの切片を作製した。切片の中央部に，上述の菌糸片を載せ，15°C，湿室に静置した。2週間後に，出現した褐変部の直径を測定し腐敗面積を算出した。

2）実験結果

a）生育温度反応

各菌株の測定値をTable 13に示した。テンサイ分離株は−2〜30°Cの範囲で生育し，35°Cでの生育は認められなかった。他作物分離株の生育範囲も同様に−2〜30°Cであった。テンサイ株は，全て20°Cの伸長速度が最大で，9.54〜13.54 mm/day，平均12.0 mm/dayであった。他作物株では，イチゴから分離したBC-1株が，25°Cで最大値15.18 mm/dayとなったが，他はいずれも20°Cの伸長速度が最大で，10.35〜13.00 mm/day，平均11.6 mm/dayであった。

b）テンサイに対する病原性

結果をTable 14に示した。供試菌株は全て，テンサイ菜根組織に褐変を生じた。褐変面積の最小はトマトから分離したMI-3株の380 mm^2/2 weeksで，最大はテンサイから分離した97-SR-010株の724 mm^2/2 weeksであった。複数を供試したテンサイ株の褐変面積は603〜724 mm^2/2 weeksで，平均658 mm^2/2 weeks，インゲンマメ株は525〜647 mm^2/2 weeksで，平均593 mm^2/2 weeksであった。両者を比較すると，テンサイ株の平均値の方が大きかった。インゲンマメから分離したTO-96112およびW-I-951株，スターチスから分離したBS 9202株の褐変面積は，テンサイ株中で最小の58-SR-105株の値より大きかった。

Table 13 Mycelial growth of *Botrytis cinerea* isolates from sugar beet or four other vegetables on PDA.

Isolate	Host plant	Growth rate of various temperatures[a] (mm/day)								
		−2°C	0°C	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
58-SR-105	Sugar beet	0.28	0.86	3.09	5.95	10.36	11.50	8.94	0.27	0.00
97-SR-010	Sugar beet	0.03	0.29	2.59	4.54	9.50	9.54	7.00	0.11	0.00
97-SR-014	Sugar beet	0.15	1.25	3.57	5.79	9.87	13.42	12.63	0.22	0.00
97-SR-016	Sugar beet	0.13	1.17	3.97	6.98	10.30	13.54	10.97	0.26	0.00
TO-96112	Kidney bean	0.18	1.21	3.59	5.94	9.12	11.83	11.10	0.28	0.00
TO-96113	Kidney bean	0.35	1.20	2.69	5.86	8.30	13.00	12.29	0.25	0.00
W-I-951	Kidney bean	0.45	1.75	3.87	7.02	9.53	11.68	9.53	0.23	0.00
BS 9202	Statice	0.29	1.34	2.80	5.85	8.53	10.35	9.83	0.31	0.00
BC-1	Strawberry	0.22	1.12	2.39	4.71	8.62	12.62	15.18	0.27	0.00
MI-3	Tomato	0.23	1.19	3.96	6.45	9.23	11.00	7.75	0.02	0.00
Sugar beet	Mean	0.15	0.89	3.31	5.82	10.01	12.00	9.89	0.22	0.00
	S.D.[b]	0.09	0.38	0.52	0.87	0.35	1.63	2.12	0.06	−
Kidney bean	Mean	0.29	1.33	3.52	6.29	9.32	11.56	11.86	0.26	0.00
	S.D.	0.11	0.24	0.50	0.46	0.74	1.17	1.82	0.02	−
Others	Mean	0.25	1.21	3.05	5.67	8.80	11.33	10.92	0.20	0.00
	S.D.	0.03	0.09	0.66	0.72	0.31	0.96	3.13	0.13	−

a) Five PDA plates/isolate were used to measure the growth rate of various temperatures.
b) S. D.; Standard deviation.

Table 14 Pathogenicity of the *Botrytis cinerea* isolates from sugar beet or other vegetables inoculated on sugar beet root tissues.

Isolate	Host plant	Area of lesion on sugar beet root tissue[a] (mm^2/2 weeks)
58-SR-105	Sugar beet	603
97-SR-010	Sugar beet	724
97-SR-014	Sugar beet	624
97-SR-016	Sugar beet	681
TO-96112	Kidney bean	608
TO-96113	Kidney bean	525
W-I-951	Kidney bean	647
BS 9202	Statice	677
BC-1	Strawberry	559
MI-3	Tomato	380
Mean	Sugar beet	658(603-724)
(Range)	Kidney bean	593(525-647)
	Others	539

a) Four sections of beet root were used per isolate. The centers of sections were inoculated with mycelia of *B. cinerea* isolates grown on PDA. The sections were incubated in the moist chamber at 15°C for 2 weeks.

b．侵入部位と感染源

1）実験材料および方法

10月下旬に畑から手掘して，ナイフでタッピングした菜根と，トラクター牽引型の収穫機で掘り取った菜根を，各々80本用意した。大型のポリエチレン袋（90×105 cm）に20本ずつ入れ，これをプラスチックコンテナ（48×33×30 H cm）に納めた。1月中旬まで8°C，以後，3月上旬まで4°Cの倉庫で貯蔵した後，菜根を上，中および下部に区分し，各部分に腐敗の認められた菜根数を調べた。実験は，年次を変えて2回行った。

貯蔵菜根より分離した *B. cinerea* 株（BO-5；1980年，帯広市にて分離）を，PDA，25°Cで培養し，菌叢周縁部を直径8 mmのコルクボーラーで打ち抜

Table 15 Relationship between the incidence of storage rot lesion and the part of sugar beet root infection[a].

Harvesting method	Rotten root (%)	% of roots with lesions		
		Upper	Middle	Lower
Hand picking	28	26	0	3
Harvester	68	46	35	48

a) Sugar beets were picked manually or with a harvester at the end of October. Eighty roots for each harvesting method were stored in a warehouse at 8 °C until the middle of January, and then at 4 °C until early in March. One root was divided into three parts (upper, middle and lower), and the number of roots with storage rot lesion was counted for each part. Data are the average of two-year trials.

いた。手掘した健全な菜根を上，中，および下部に区分し，各々の部分から，周皮付の切片と，周皮を剝離した切片を作製した。切片上に，打ち抜いた菌糸片を載せ，湿室，15°Cに10日間静置し，出現した褐変部の直径を測定した。実験は2反復で行った。

上述の菌株を培養したPDA平板に，滅菌水を少量加え，滅菌した絵筆で菌叢表面を軽く撫でて分生胞子を浮遊させた。滅菌二重ガーゼで濾過した後，濃度を調整して接種用の胞子懸濁液を作製した。手掘した菜根の中央部を用いて，切片を作製した。切片上に内径16 mm，深さ10 mmのガラス円筒を載せ，調整した胞子懸濁液を1 mlずつ分注した。湿室，15°Cに10日間静置し，出現した褐変部の直径を測定した。実験は3反復で行った。

2）実験結果

a）菜根の貯蔵腐敗病発生部位

Table 15に結果を示した。手掘した菜根では，28%の個体に腐敗が認められたが，大半は，菜根の上部に腐敗箇所があった。下部に腐敗の認められた個体はわずか3%であり，中部に腐敗の認められる個体はなかった。機械収穫では，手掘の2倍以上の68%の個体に腐敗が認められた。腐敗箇所は上部と下部に多く，各々46%，48%であった。菜根中部の腐敗も，腐敗個体の半数に相当する35%に認められた。

b）感染様式と菜根の部位別感受性

Table 16に結果を示した。周皮上への接種では，上部組織の1切片にわずかな褐変が認められたが，他の切片では全く感染は認められなかった。周皮を剝離した組織への接種では，全ての部位の切片に，明瞭な褐変を生じた。褐変の面積を，切片の部位別に比較すると，上部では770 mm²/10 days，下部では283 mm²/10 daysで，上方の組織ほど褐変面積が大きかった。

Table 16 Comparison of the sensitivities of root parts to *Botrytis cinerea* between two inoculation methods.

Root part	Area of lesion[a] (mm²/10 days)	
	Tissue inoculation	Periderm inoculation
Upper	770	trace
Middle	530	0
Lower	283	0

a) A beet root was divided into three parts and sections were prepared for inoculation. Two peeled and unpeeled sections for each root part were used for Tissue inoculation and Periderm inoculation, respectively. Mycelial inoculum grown on PDA was placed at the center of each section. The sections were incubated in the moist chamber at 15 °C for 10 days.

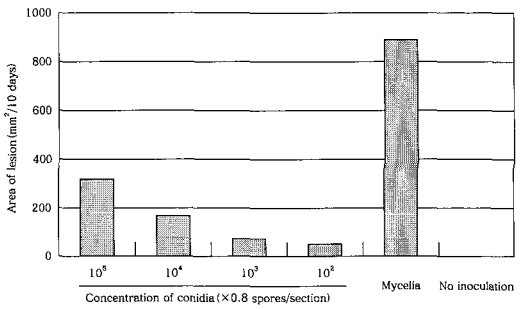


Fig. 1 Relationship between the area of lesion and the conidial concentration of inoculum in suspension[a].
a) Three sections of beet root were used for each inoculation. The conidia and mycelia were collected from a colony grown on PDA. Adjusted conidial suspensions were poured into a glass ring set at the center of a section. After inoculation, all sections were incubated in the moist chamber at 15°C for 10 days.

c）分生胞子の感染性

Fig. 1に結果を示した。最も褐変面積が大きかったのは菌叢接種で，879 mm²/10 daysであった。分生胞子接種は，菌叢接種に比べて褐変面積が明らかに小さく，最も高濃度だった0.8×10⁵ spores/section

でも 314 mm²/10 days だった。しかし，最低濃度の 0.8×10² spores/section でも，50 mm²/10 days の明瞭な褐変を生じた。

c．考　　察

北海道のテンサイおよび他作物から分離した *B. cinerea* 菌株の生育温度範囲は全て－2～30°Cで，イチゴから分離した1菌株を除き，生育適温は全て20°Cであった(Table 13)。テンサイ分離株とインゲンマメ分離株，およびその他の作物分離株の生育もTable 13に示したが，後2者の値は，テンサイ株の生育の，標準偏差の範囲内にあり，3者は一致していた。*B. cinerea* の生育適温は20～22°Cで，25°C以上になると急速に伸長速度が低下すると言われている[104]。また，本種は低温耐性が高く，0°Cでの生育が報告されている[14]。供試したテンサイ分離株の生育温度反応は，これらの記載と一致し，他作物株も，イチゴ分離の1菌株を除き，完全に一致した。

Klotz et al.[114] は，レモンから分離した *B. cinerea* について，菌株間の病原性の相違を報告し，分化型の存在を示唆した。一方，Schnellhardt and Heald[173] は，リンゴへの接種実験を行って，種々の作物から分離した *B. cinerea* 菌株が，全てリンゴに病原性を示し，多犯性であることを証明している。テンサイ菜根への接種の結果，分離作物にかかわらず，全ての菌株がテンサイに対する病原性を示した。複数株を供試した，テンサイ分離株とインゲンマメ分離株の平均値を比較すると，テンサイ株の褐変面積の方が大きかったが，他作物分離株でも，テンサイ分離株と同等以上の病原性を示すものがあり，テンサイに対する病原性について，両者に明確な相違は認められなかった(Table 14)。立毛中のテンサイ菜根について，*B. cinerea* による病害は報告されていない。実験結果から，テンサイ貯蔵腐敗病菌と，他作物灰色かび病菌は同一種であり，病原性の分化も起きていないと判断された。両者を併せて考えると，テンサイとともに，畑で輪作される他作物の灰色かび病菌が，貯蔵腐敗病菌として，テンサイを加害している可能性が示唆される。

菌叢接種により，テンサイ菜根への感染能を検討したが，*B. cinerea* は，菜根の部位にかかわらず，周皮上から宿主へ侵入することはできず，テンサイ菜根に対して角皮感染能を持たないと判断された(Table 16)。Tompkins and Nuckols[186] が指摘したように，出現する病斑は，手掘テンサイを貯蔵する時には，有傷部であるタッピング面のみに認められ，Wyse[206] や井村ら[95] の報告のように，機械収穫により周皮上に人為的な傷が与えられた時には，それらの傷部にも大量に認められた(Table 15)。これらの現象は，本菌が，テンサイ菜根に対して傷感染のみを行うことの傍証と判断された。

Botrytis 属菌は，宿主の壊死組織または土壌中の有機質等で腐生生長をした菌叢，または分生胞子により植物体に感染する[200]。畑土壌中には，他作物の灰色かび病菌が，菌核または植物残渣中の菌糸として存在しており，収穫時に，菜根の有傷部に土壌とともに付着して，堆積パイルに持ち込まれ，テンサイ貯蔵腐敗病の第一次感染源になると考えられる。同時に，パイル内で菜根上に形成され，飛散する分生胞子も，蔓延のための感染源として機能すると想定される。菌叢接種において，菜根切片上には速やかに明瞭な病斑が形成され，菌叢が高い感染能を有することが確認された。分生胞子接種の病斑は，菌叢接種に比べればかなり小さかったが，低濃度でも菜根組織に侵入することができた(Fig.1)。Louis[123] は，*B. cinerea* が，1胞子によりソラマメ葉上に小型病斑を形成し，これらが拡大，融合して大型病斑に発展することを観察している。調査値を基に作成した回帰曲線式より，1胞子接種時に期待される病斑面積を求めると，48 mm²/10 days と試算され，テンサイ菜根の有傷部に単独で着生した分生胞子も，貯蔵腐敗病の伝染源になり得ると判断された。Jarvis[103] は，*B. cinerea* のベリー類への感染を調査し，果実表面に着生した分生胞子が，湿潤条件で発芽後，腐生的に菌糸を伸長し，その後，植物体に侵入することを報告した。同時に，感染における壊死組織と，そこで生育した菌叢の重要性を指摘した。本実験において，菌叢と分生胞子では，テンサイ菜根上での病斑形成能に著しい差があったが，Jarvis の指摘した，植物組織との接触時における inoculum potential の著しい差が，形成された病斑の差につながったと判断される。テンサイ貯蔵腐敗病の，パイル内における進行においても，ベリー類と同様，菌叢による感染が，より重要な役割を果たしていると考えられる。

C．貯蔵腐敗病発生による菜根の品質変化

貯蔵後の菜根は，製糖原料として工場内に搬入される。中規模の工場では，水洗後，選果を行って腐敗個体を除去するが，大規模工場では無選果で裁断

される。製糖後期には貯蔵腐敗病に罹病した個体も増加するため，菜根の品質が劣化し，製糖工程に様々な影響を生じると言われている。菜根中の糖分の減少とともに，その他の品質についても分析し，被害の実態を検討した。

a．発病個体の品質

1）実験材料および方法

機械収穫後，無被覆で0～5℃の加湿装置付き倉庫に，または大型ポリエチレン袋に入れて8℃の倉庫に，約5ヶ月間貯蔵し，一部にテンサイ貯蔵腐敗病の発生した個体を用いた。

貯蔵腐敗病の進行による品質変化を調べるため，供試個体を，腐敗の認められない菜根，約10%の腐敗組織を含む菜根，30～50%の腐敗組織を含む菜根の3群に分け，菜根中の糖類，ブリックス（可溶性固形分），窒素化合物，全カチオン，全アニオン，カリウム，ナトリウムの含量，および圧搾汁のpHを測定した。

測定成分中，群間で顕著な相違が認められた根中糖分，還元糖，ブリックス，および搾汁pHについては，腐敗程度との関係を調べるため，以下の0～5の6階級の指数を用いて細分し，指数別に品質分析を行った。

腐敗程度指数	割断面の腐敗面積割合
0	腐敗部分は認められない。
1	約10%が腐敗している。
2	約25%が腐敗している。
3	約50%が腐敗している。
4	約75%が腐敗している。
5	割断面のほぼ全体が腐敗している。

同時に，一個体内の腐敗組織と，褐変を生じていない健全組織における品質の相違を調べるため，30～50%の腐敗組織を含む菜根を，腐敗組織と健全組織に切り分け，各々の組織の品質分析を行った。

根中糖分はSachs-Le Docte変法，還元糖はOfner法，ラフィノースは液体クロマト法，ブリックス（Refractometric brix）は屈折計法，pHはガラス電極法，カリウムおよびナトリウムは炎光法，アミノ態窒素はMoore-stein法，全窒素はケルダール法，アミド態窒素はアルカリ蒸留法，アンモニア態窒素は水蒸気蒸留法，ベタイン態窒素はライネッケ塩法，硝酸態窒素はAOACによる分析法，全カチオンおよび全アニオンはイオン交換樹脂法により調査した。

2）実験結果

Table 17に腐敗の進行度合いと，菜根中に含まれる糖類，ブリックス，およびpHの関係を示した。根中糖分とpHは，腐敗の進行にともなって減少，低下した。重度腐敗個体の根中糖分は12.01%で，健全に比べて4%以上減少し，pHは3.99まで低下した。これとは逆に，還元糖は腐敗の進行とともに増加した。健全個体では278 mg/100 gと少なかったが，重度腐敗個体では3122 mg/100 gと，著しく多くなった。ラフィノースおよびブリックスは，軽い腐敗ではほとんど変化しなかったが，重度腐敗個体では低下した。Table 18に腐敗の進行度合いと窒素化合物の関係を示した。重度腐敗個体では，全窒素およびアミド態窒素が明らかに減少していた。硝酸態窒素を除く，その他の成分も減少する傾向が認められた。Table 19に，腐敗の進行度合いと全アニオン，全カチオン，カリウムおよびナトリウムとの関係を示した。全アニオンは，重度腐敗個体で，増加する傾向が認められた。全カチオン，カリウムおよびナトリウムには，一定の傾向は認められなかった。

Fig. 2に腐敗程度と根中糖分，還元糖，ブリックスおよびpHの関係を示した。根中糖分は，腐敗程度の上昇とともに漸減した。腐敗程度指数0の値は

Table 17　Relationship between the extent of storage rot and the concentrations of saccharides, and brix, pH in sugar beet roots[a].

Root condition[b]	Sugar content (%)	Reducing sugar (mg/100g)	Raffinose (mg/100g)	Brix(%)	pH
Healthy	16.61	278	173	20.6	6.25
Slightly rotten	16.11	657	162	20.4	5.63
Severely rotten	12.01	3122	79	18.3	3.99

a) Beet roots were analyzed after 150 days of storage in a warehouse.
b) Slightly and severely rotten roots indicated 10% and 30-50% of rotten area, respectively.

Table 18 Relationship between the extent of storage rot and the concentrations of nitrogenous compounds in sugar beet roots.

Root condition[a)]	Nitrogenous compound (mg/100g)					
	Total-N	Betaine-N	Amido-N	Amino-N	Ammonia-N	NO_3-N
Healthy	200	23.2	32.0	49.9	4.5	13.6
Slightly rotten	189	24.0	31.3	52.4	4.7	13.6
Severely rotten	132	20.4	21.0	42.3	3.0	15.9

a) Method of determining root condition was described in Table 17.

Table 19 Relationship between the extent of storage rot and the total anion, and total cation, K and Na concentrations in sugar beet roots.

Root condition[a)]	Total anion (me/100g)	Total cation (me/100g)[b)]	K (me/100g)	Na (me/100g)
Healthy	9.4	9.2	7.71	1.80
Slightly rotten	11.1	9.3	7.56	1.57
Severely rotten	12.2	9.0	7.71	2.12

a) Method of determining root condition was described in Table 17.
b) me/100g; milliequivalent per 100g of fresh roots.

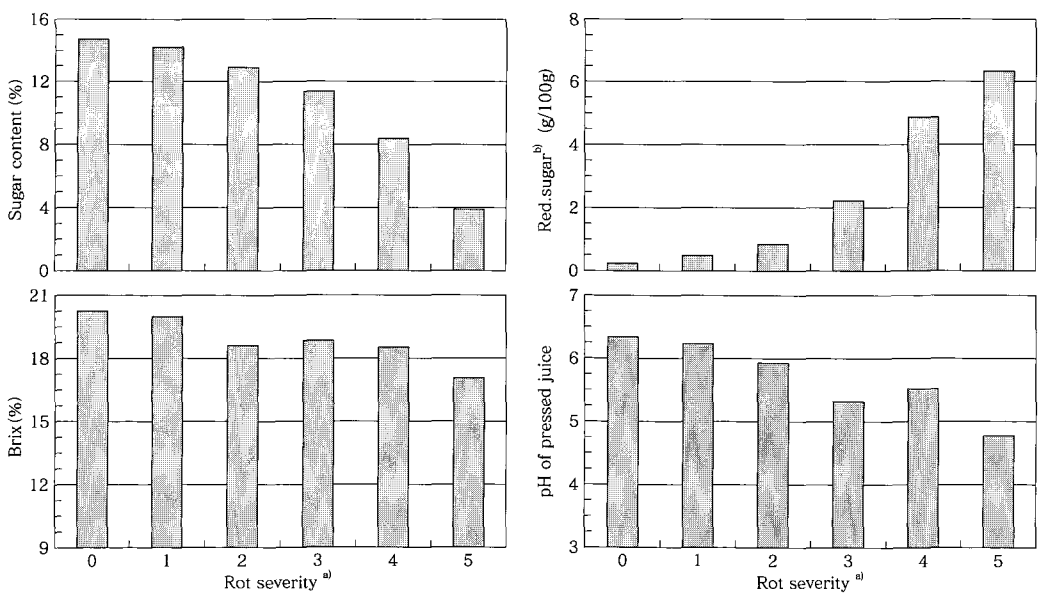


Fig. 2 Relationship between the storage rot severity and the qualities of sugar beet roots.
a) Each beet root was cut in two and divided to six classifications (0-5) based on the extent of rotten area of a section after 150 days storage. 0 indicates a healthy section, whereas 1 indicates 10% of a root section was rotten, 2, 25%; 3, 50%; 4, 75%; and 5, almost 100%.
b) Red. sugar; Reducing sugar.

Table 20 Comparison of qualities between sound and rotten tissues of stored sugar beet roots.

Condition of Plant	Condition of Root tissue	Sugar content (%)	Brix (%)	pH
Rotten	Sound	16.47	20.6	6.56
	Rotten	0.06	18.1	3.41
Healthy	Sound	15.79	19.0	6.63

a) Healthy roots and the roots with 30-50 % of rotten area were analyzed after 150 days of storage. Sound and rotten tissues from rotten roots were separately analyzed.

14.68%であったが，指数5では3.81%で，10%以上低下した。還元糖の指数0の値は209 mg/100 gと少なかったが，腐敗程度の上昇とともに漸増し，指数5では6,308 mg/100 gとなり，菜根中に6%以上認められた。ブリックスは，腐敗程度の上昇にともなって低下する傾向を示したが，指数5でも17.0%であり，指数0の20.2%との差は，3%未満と小さかった。pHも，腐敗程度の上昇にともなって低下する傾向が認められ，指数5では4.85まで低下した。

Table 20に，腐敗菜根における健全組織と腐敗組織の根中糖分，ブリックスおよびpHを示した。腐敗菜根の健全組織では，いずれの形質も，対照とした健全菜根の測定値とほぼ等しい値となった。一方，腐敗組織における根中糖分は0.06%で，ほぼ0%になった。pHは3.41で，著しく低かった。ブリックスは18.1%で，健全組織に比べてわずかに低下した。

b．貯蔵腐敗病菌による品質変化

1）実験材料および方法

収穫した菜根を水洗後，おろし機ですり下ろし，濾布に包んだ。圧搾機に装填し，200 kgf/cm^{2}の圧力を加え，菜根圧搾汁を作製した。500 mlのコルベンに250 mlずつ分注し，121°C，15分，オートクレーブした。*Botrytis cinerea* 菌株(58-SR-105，1984年，芽室町にて分離)および *Penicillium expansum* 菌株（57-SR-061，1983年，芽室町にて分離）を，予めPDAで生育させ，滅菌した圧搾汁に接種した。無接種液を含め，15°C，暗黒に，30日間静置した後，菌体を濾過，除去して，濾液の成分を測定した。

一方，Czapek培地を基本に，テンサイ菜根並のスクロース15%を含む培養液（1Lあたり，スクロース150 g，$NaNO_3$ 2 g，K_2HPO_4 1 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g，KCl 0.5 g，$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g）を作製した。500 mlのコルベンに200 mlずつ分注し，121°C，15分，オートクレーブした。*B. cinerea* 菌株（58-SR-053，1984年，芽室町にて分離）および上述の *P. expansum* 菌株（57-SR-061）を，予めPDAで生育させ，培養液に接種した。無接種液を含め，25°C，暗黒に，35日間静置した後，菌体を濾過，除去して，濾液の成分を測定した。

根中糖分，還元糖，ブリックス，およびpHは既述の方法，ラフィノースは酵素法，他の糖類および有機酸は液体クロマト法により測定した。

2）実験結果

a）菜根圧搾汁の品質変化

糖類，ブリックスおよびpHの変化をTable 21に示した。*B. cinerea* の接種により，培養後の根中糖分は0.00%になり，還元糖は10,282 mg/100 g，pHは4.47となった。*P. expansum* の接種でも，3成分は同様の増減傾向を示し，無接種に比べて，根中糖分は3.60%で著しく低く，還元糖は8,464 mg/100 gで著しく高く，pHは4.17で著しく低くなった。いずれの接種液でも，ラフィノースはわずかに増加し，ブリックスはわずかに低下した。有機酸の変化を

Table 21 Changes in concentrations of saccharides, brix and pH of the pressed juice inoculated with pathogens causing sugar beet storage rot[a].

Pathogen	Sugar content (%)	Reducing sugar (mg/100g)	Raffinose (mg/100g)	Brix (%)	pH
B. cinerea	0.00	10282	192	17.4	4.47
No inoculation	19.32	193	162	21.2	7.08
P. expansum	3.60	8464	158	18.9	4.17
No inoculation	18.73	231	128	20.8	6.27

a) Two hundred fifty ml of juice pressed from beet roots was dispensed into a 500-ml flask and autoclaved at 121 °C for 15 minutes. The flasks were inoculated with *Botrytis cinerea* (58-SR-105) or *Penicillium expansum* (57-SR-061) and incubated at 15 °C for 30 days.

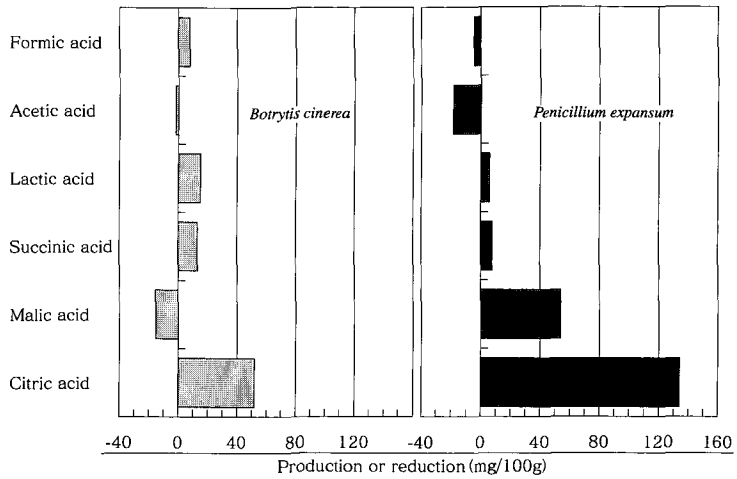


Fig. 3 Changes in concentrations of carboxylic acids in the pressed juice 30 days after inoculation of pathogens causing sugar beet storage rot[a].
a) The methodology was described in Table 21.

Table 22 Changes in concentrations of saccharides and pH of the culture solution inoculated with pathogens causing sugar beet storage rot[a].

Pathogen	Sucrose (g/100g)	Glucose (g/100g)	Fructose (g/100g)	Polysaccharides (g/100g)	pH
B. cinerea	1.19	7.17	6.76	0.0074	3.88
P. expansum	0.00	7.01	5.44	0.0182	2.84
No inoculation	15.20	0.00	0.00	0.0000	7.43

a) Two hundred ml of culture solution based on Czapek medium (sucrose 150g, $NaNO_3$ 2g, K_2HPO_4 1g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, KCl 0.5g and $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01g per 1 liter) was dispensed into a 500-ml flask, and was autoclaved at 121 °C for 15 minutes. The flasks were inoculated with *Botrytis cinerea* (58-SR-053) or *Penicillium expansum* (57-SR-061), and were incubated at 25 °C for 35 days.

Fig. 3に示した。*B. cinerea*の接種では，無接種に比べて，クエン酸含量が明らかに高くなった。コハク酸および乳酸もやや高い値を示した。*P. expansum*の接種もほぼ同様で，クエン酸含量が明らかに高くなり，リンゴ酸もかなり高かった。

b）スクロース分解産物

培養液の糖類およびpHの変化をTable 22に示した。*B. cinerea*または*P. expansum*の接種による各成分の変化は，圧搾汁への接種時と同様だった。スクロースは，各々1.19 g/100 g，0.00 g/100 gとなり，何れの菌の接種においても，接種前に添加したスクロースのほぼ全量が分解された。グルコースおよびフルクトースは，無接種液では検出されなかったが，両接種液では明瞭に産生が認められ，グルコースとフルクトースの和は，*B. cinerea*の接種で13.93 g/100 g，*P. expansum*の接種で12.45 g/100 gとなった。また両接種とも，わずかながら多糖類が検出された。pHは各々3.88，2.84で著しく低かった。Fig. 4に産生された有機酸の含量を示した。*B. cinerea*の接種では，クエン酸が大量に産生されており，リンゴ酸とコハク酸の産生も認められた。*P. expansum*の接種も同様で，クエン酸が大量に産生され，リンゴ酸とコハク酸の産生も認められた。

c．考　　察

テンサイ菜根には，主成分であるスクロースの他に，種々の成分が含まれる。これらの約35%は可溶性非糖分と呼ばれ，スクロースとともに滲出汁中に移行するため，製糖に影響を及ぼす。その主要なも

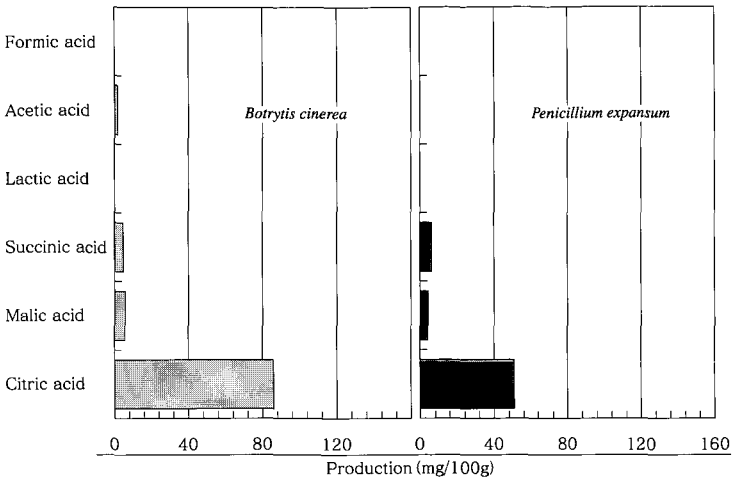


Fig. 4 Production of carboxylic acids in the culture solution inoculated with storage rot pathogens[a]. a) Methodology was described in Table 22.

のは，スクロース以外の糖類等の有機化合物，蛋白質等の窒素化合物，およびカリウム，ナトリウム等の灰分である[171]。

菜根中の可溶性固形分の総量を示すブリックス，スクロース含量を示す根中糖分，スクロースの分解物である還元糖，および pH の 4 形質について，貯蔵腐敗病の進行にともなう変化を調査した結果，腐敗の進行とともに，根中糖分は明瞭に低下し，これにともなって還元糖の著しい増加と，ブリックス，pH の明らかな低下が認められた（Table 17）。Walker et al.[203] は，貯蔵後の菜根では，根中糖分の低下とともにブリックスも低下し，還元糖は増加すると報告した。Wyse and Dexter[209] は，可溶性非糖分の変化は，貯蔵温度と密接な関係にあり，10°C貯蔵時には還元糖が，3°C貯蔵時にはラフィノースが増加すると述べた。一方，Oldfield et al.[146] は，健全な菜根では，貯蔵後であっても還元糖含量が 0.8 g/100 g. sugar を越えることはないが，糸状菌発生個体では著しく増加すると報告した。Vukov and Hangyál[201] も同様に，糸状菌発生個体，および貯蔵腐敗個体での，還元糖の著しい増加を指摘している。また，Dochlenko[52] は，*B. cinerea* または *Sclerotinia sclerotiorum* が感染した菜根では，根中糖分の低下と，還元糖および中和アルカリ量の増加が起こると指摘した。実験結果はこれらの報告と良く一致しており，貯蔵腐敗個体では根中糖分が低下し，逆に，還元糖が著しく増加すること，および，これらを含む可溶性固形分（ブリックス），pH が低下することを確認した。

Walker et al.[203] は，貯蔵中には全窒素，アミノ態窒素，およびアミド態窒素の減少が認められるが，ベタイン，全アニオンは変化しないと報告した。貯蔵腐敗における，これらの形質を調査した結果，重度腐敗個体では，健全な個体に比べて全窒素およびアミド態窒素が減少し，アミノ態窒素，ベタイン態窒素も減少する傾向が認められたが，全アニオンは増加する傾向にあった（Table 18，Table 19）。菜根が腐敗すると，菜根の細胞死によるタンパク分解が起こり，アミド，アミノ酸，およびアンモニアが産生される。同時に，腐生性細菌により，アミド，アミノ酸の分解が加速される。貯蔵腐敗では，微生物により窒素の分解が助長されるため，健全菜根よりも明確に，ベタイン態窒素も含めて，多くの窒素成分が低下すると考えられる。一方，Oldfield et al.[145] は，製糖工場における砂糖の滲出工程で微生物汚染が発生すると，工程汁の亜硝酸態窒素が増加することを報告した。亜硝酸態窒素の増加は，アニオンの増加につながる。貯蔵腐敗個体中でも同様に，微生物の増殖による亜硝酸態窒素の増加が考えられ，アニオンの増加につながった可能性がある。

腐敗個体におけるカリウム，ナトリウム，およびこれらの総量の指標となる全カチオンを測定した結果，健全個体と腐敗個体間には，明瞭な差は認められなかった（Table 19）。Dexter et al.[50] は，高温貯蔵時と低温貯蔵時の工程汁を比較し，還元糖量は，高温貯蔵時には明らかに高いが，灰分であるカリウ

Table 23 Correlation coefficient and regression equation concerning the relationship between rotten area and qualities of sugar beet roots.

Qualities	Regression equation[a)]	Correlation coefficient[b)]
Sugar content	$-0.001X^2-0.0178X+14.4$	−0.995***
Reducing sugar	$0.491X^2+20.3X+151$	0.991***
Brix	$0.00001X^2-0.0299X+20.0$	−0.913*
pH	$0.00004X^2-0.0183X+6.35$	−0.949**

a) X; % of rotten area of a root section. Method of determining rotten area of a root section was described in Fig. 2.
b) *, significant at 5 % level; **, at 1 % level; ***, at 0.1 % level.

ムとナトリウムについては，貯蔵温度による差がなかったと報告した。高温時には貯蔵腐敗が増加したと推定できるので，この結果は，貯蔵腐敗量が増加すると，工程汁の還元糖が増加するが，カリウムとナトリウムは変化しないと解釈することができる。工程汁の結果と同様，腐敗による菜根中のカリウム，ナトリウム，および全カチオンの変化はないと判断された。

腐敗量の調査では，割断面の腐敗面積を基にして指数を設け，腐敗程度として評価している。上述の実験において，特に変化の著しかった根中糖分，還元糖，ブリックス，およびpHの4形質について，指数別に測定を行った結果，中でも根中糖分と還元糖は，指数の増加にともなって，放物線状に低下または増加することが解った（Fig. 2）。腐敗程度を腐敗面積に換算し，4形質との回帰分析を行うと，いずれも高い2次の相関が得られ，特に，根中糖分と還元糖は，0.1%水準で有意な相関関係にあった（Table 23）。

腐敗した菜根を，健全組織と腐敗組織に分けて根中糖分を測定した結果，健全組織では，健全な菜根並の根中糖分が保持されていたが，腐敗組織ではほとんど0％になっていた（Table 20）。Kohlmeyer[115]の実験によれば，セルロースと糖類（グルコース）を含む培地内で *B. cinerea* を生育させると，先ず糖類の分解が起こり，セルロースの分解は，極めてゆっくりとしか進まない。菜根に侵入した微生物は，侵入部位にある炭素源を利用して増殖するが，テンサイ菜根中の主要な炭素源であるスクロースが，微生物によって速やかに分解されるため，腐敗組織では根中糖分がほぼ0％になる一方で，健全な組織では急速な生理的変化は起こらず，根中糖分の低下が起こらなかったと判断される。Mumford and Wyse[137]も，中庸な腐敗を示す菜根の，腐敗組織近傍の健全様組織と，腐敗の認められない中央部の組織を採取し，腐敗組織近傍では還元糖の増加が認められるものの，中央部の組織では増加が認められないと報告している。腐敗個体の腐敗組織にはスクロースが含まれず，健全組織では保持されるとすれば，腐敗組織量（腐敗の体積）とスクロースの減少量は，比例関係になると推定できる。したがって，腐敗量を腐敗面積（腐敗程度）として評価する時には，スクロースの減少量との関係は，2次曲線的になると推定できる。腐敗面積と根中糖分の間には，高い負の2次相関関係が認められ，さらに，スクロースの分解産物である還元糖との間に，高い正の2次相関関係が認められたが，これらの結果は，腐敗部におけるスクロース分解の特徴によると判断された。

腐敗組織中では，貯蔵腐敗病菌とともに他の微生物も増殖し，菜根を分解している。Mumford and Wyse[137]は，有傷菜根に，貯蔵腐敗個体由来の *Botrytis* 属菌および *Penicillium* 属菌を接種し，還元糖が増加することを確認したが，菜根中には，健全個体であっても内生菌が存在し[28]，嫌気条件下では，それらによる発酵が起こると報告されている[39]。そこで，滅菌した菜根圧搾汁に，貯蔵腐敗病菌の *B. cinerea* および *P. expansum* を接種して品質変化を調べた結果，いずれの接種においても，根中糖分の低下と，還元糖の増加が認められた（Table 21）。また，スクロースを炭素源とする培養液に，両菌を接種した場合も，スクロースが完全に分解され，還元糖の2成分であるグルコースとフルクトースが大量に産生された（Table 22）。これらの結果から，主要な病原である *B. cinerea*，これに次いで分離頻度の高い *P. expansum* の両菌は，スクロースから還元糖への高い転化能力を持ち，これらの病原菌によるスクロースの直接利用により，腐敗組織中での根中糖分の減少と還元糖の増加を起こしていると判断され

た。なお，重度腐敗個体では，多糖類のラフィノースが減少したが(Table 17)，滅菌圧搾汁中では減少が確認できず，スクロースを炭素源とする培養液中では，微量ながら多糖類の産生が認められた。ラフィノースの減少は，病原以外の要因により生じたと考えられる。

既述の Dexter et al.[50] の報告では，貯蔵菜根が健全に保たれる時には，可溶性アミノ酸の増加は認められないが，高温貯蔵時の菜根を用いると，工程汁の酸度が高くなったと述べられている。一連の実験を通じ，腐敗組織での pH の低下が認められ，貯蔵腐敗病菌の接種時においても，同様の pH 低下が認められた。これは，スクロースの転化によって産生される還元糖の一部が，さらに分解されて有機酸に変化するためと推察される。*B. cinerea* または *P. expansum* を接種した滅菌圧搾汁，およびスクロースを炭素源とする培養液における6種の有機酸を測定した結果，いずれの菌を接種した液でも，クエン酸($C_6H_8O_7$)が大量に産生されており，リンゴ酸($C_4H_6O_5$)およびコハク酸($C_4H_6O_4$)の産生も認められた(Fig.3, Fig.4)。なお3有機酸は，対象とした有機酸中では，比較的高分子の有機酸であった。腐敗組織における pH の低下は，貯蔵腐敗病菌により，還元糖から比較的高分子の有機酸が産生されるためであり，主要な有機酸はクエン酸であると判断された。

D．菜根から分離される病原細菌

テンサイ菜根の貯蔵中には，*Botrytis cinerea* を主病原とする貯蔵腐敗病が発生する。同時に，頻度は低いが，細菌によると考えられる黄色または白色の軟腐症状が，各地で散見されている。特に，上川地方の一部地域では，収穫時の天候が不順で，土砂や夾雑物が多量に付着したまま菜根が堆積された時に，短期間の中に激しい軟腐症状を生じて，大量の菜根が腐敗することがあった。日本では，貯蔵に関する細菌の報告は見あたらないが，諸外国では，貯蔵菜根から *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas fluorescens*[105]，乳酸産生の桿菌[197] 等が分離されている。しかし，これらの植物病原性については詳述されていなかった。

貯蔵パイル内において，軟腐症状の発生を確認し，軟腐症状の発生条件を検討した。さらに，軟腐症状の発生個体から得られた細菌について植物病原性を検討し，種の同定を行った。

a．パイルにおける軟腐症状の確認

1）実験材料および方法

大型パイルは，台形の断面を持つ長い棒状に堆積される。パイルの上部は天場，天場から地面に至る斜面は側面と呼称され，天場には，中央高約1.8 m の鉄製の枠体を載せ，周囲をプラスチック製の織布とシートで多重被覆している。天場には出入口を設けており，ここから作業者が出入りして管理作業ができる構造になっている。1985/86 年度の製糖期に，上川地方にある士別製糖所構内で，堆積したパイルの天場に，袋詰めした菜根を埋設して調査した。

機械収穫した菜根から健全な個体を選別し，タッピング位置を切り揃え，10 個体あたりの重量が均等になるように区分して，プラスチック製ネット袋(35×55 cm)に詰めた。40 個体を用いて根中糖分を測定し，残りは，パイル天場表層の3ヶ所および直下のパイル内3ヶ所の計6ヶ所に，1ヶ所あたり4袋ずつ埋設した。

埋設は 10 月 24 日に行い，92 日後の翌年1月23日に掘り出した。秤量後，菜根を割断し，腐敗部の症状から，細菌または糸状菌による腐敗に分類し，各々の腐敗個体率を算出した。既述の方法にしたがって根中糖分を測定し，埋設時と調査時の重量，

Table 24　Sugar loss and changes in pH due to bacterial and fungal rot in the storage pile at Kamikawa district[a].

Portion of storage pile		Rotten roots % by		Sugar loss (g/t/day)	pH
		Bacteria	Fungi		
West	Surface	0	10	103	6.25
	Inner	3	13	84	6.08
Center	Surface	43	3	328	5.11
	Inner	0	30	151	5.99
East	Surface	0	7	111	6.20
	Inner	0	20	51	6.18

a) Ten healthy sugar beet roots were put inside a plastic net bag. Four bags were set up each portion of a storage pile and the beet roots in bags were stored for 92 days.

根中糖分の変化から，次式により砂糖損失量を算出し，併せて，搾汁 pH を測定した。

$$(\text{砂糖損失量})(\text{g/t/day}) = \left\{(\text{調査時根中糖分}) \times \frac{(\text{調査時重量})}{(\text{埋設時重量})} - (\text{埋設時根中糖分})\right\} \times \frac{10{,}000}{(\text{貯蔵日数})}$$

2）実験結果

結果を Table 24 に示した。細菌によると考えられる軟腐症状は，天場中央部表層と西側内部に発生した。特に，中央部表層の発生が著しく高く，43%に達した。この部分では糸状菌による腐敗は 3 %と少なかった。砂糖損失量は 328 g/t/day で，調査した 6 ヶ所中，最大であり，pH も 5.11 で，最低であった。糸状菌による腐敗は，全ての箇所で認められたが，最も多かったのは中央内部で，30%に達した。砂糖損失量は 151 g/t/day で，6 ヶ所中 2 番目に多く，pH は 5.99 で，2 番目に低かった。

b．特殊条件における軟腐症状の再現

1）実験材料および方法

菜根の貯蔵環境は，菜根周囲に付着する土壌の種類および量によっても大きく変化する。以下の実験によって，付着土壌と軟腐症状の関係を検討した。

砂壌土畑（帯広市）で栽培したテンサイを手掘し，水洗した後，重量がほぼ均等になるように 20 本ずつに区分した。有効塩素 0.3%を含む高度サラシ粉液に 1 分間浸漬して表面殺菌し，実験に用いた。

10 月末に，テンサイが栽培されている砂壌土畑（芽室町），埴壌土畑（東藻琴村），および埴土畑（士別市）から畑土を採取した。同時に，各々の畑で収穫した菜根の周囲に付着している土壌を，貯蔵場に設置されているパイラー（菜根の積み上げ機）の除土装置通過時に採取した（以下遊離土）。

採取した 6 土壌から，混入している石礫および植物片を除去し，土壌水分が最大容水量に達するまで蒸留水を添加した。これらを 20%(W/W)の割合で，表面殺菌した菜根に塗布した。大型のポリエチレン袋に入れ，プラスチックコンテナに納めた後，8 °C の倉庫に 3 ヶ月間貯蔵し，軟腐症状の発現した個体数を調査した。実験は 2 反復で実施した。

調整した埴土遊離土を，0 ～20%（W/W）の割合で，表面殺菌した菜根に塗布した。大型のポリエチレン袋に入れ，プラスチックコンテナに納めた後，8 °Cの倉庫に 1 ヶ月間貯蔵した。軟腐症状の発現した個体数を調査し，根中糖分および搾汁 pH を測定した。実験は 3 反復で実施した。

軟腐症状を発現した菜根の，健全組織近傍の腐敗組織を滅菌針でかき取り，滅菌ペプトン水（ペプトン 10 g，NaCl 5 g/L）に入れて軽く振盪した。酵母エキス・ペプトン寒天培地（以下 EPA;酵母エキス 5 g，ペプトン 10 g，NaCl 5 g，寒天 15 g/L），または

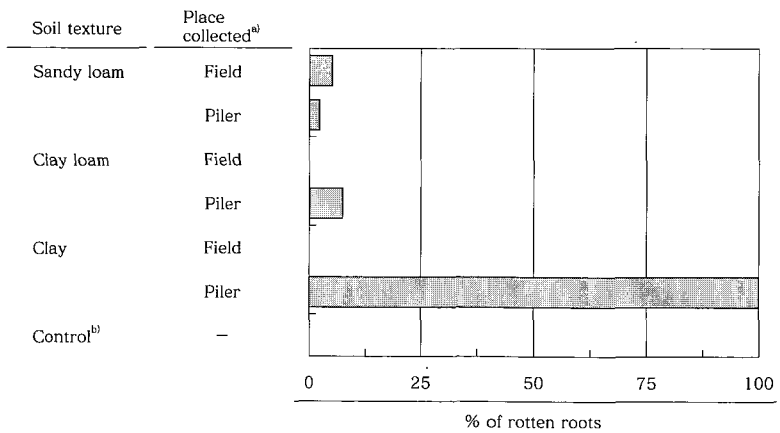


Fig. 5 Relationship between incidence of bacterial rot and soil types coated onto storage sugar beet roots.
a) Samples of field soils cultivated with sugar beet and the soil samples which were removed from harvested roots by a piler were collected in October. The washed beet roots were coated with each soil type at the rate of 200 g of soil per kg of root. After treatment, 20 roots were kept inside a polyethylene bag and stored in a warehouse at 8°C for 3 months. A trial was conducted in two replicates of 20 roots/unit.
b) Beet roots were washed before storage.

Table 25 Relationship between incidence of bacterial rot and amount of clay soil coated onto sugar beet roots.

Soil adhered (%)[a]	Rotten root (%)	Sugar content (%)	pH
20	100	2.8	3.73
10	85	11.6	4.08
5	15	16.5	5.82
0	0	17.3	6.23

a) The washed beet roots were coated with the clay soil which was removed by a piler. Twenty roots were kept inside the polyethylene bag and stored in a warehouse at 8 °C for one month. A trial was conducted in three replicates of 20 roots/unit.

酵母エキス・ペプトン・グルコース寒天培地（以下EPGA;酵母エキス5g，ペプトン5g，グルコース5g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1g，$CaCO_3$ 10g，寒天15g/L）に，懸濁液を画線し，室温に静置して，出現する細菌コロニーを分離した。常法により純化後，形態観察およびグラム染色を行った。

2）実験結果

付着土の種類と軟腐症状出現の関係をFig. 5に示した。埴土遊離土の塗布では，全個体に軟腐症状が出現したが，埴土畑土塗布では全く認められなかった。砂壌土，埴壌土では，畑土，遊離土のいずれを塗布しても，軟腐個体率は10%以下であり，ほとんど出現しなかった。

埴土遊離土の菜根付着率と，軟腐症状の出現の関係をTable 25に示した。土壌付着率が5%であっても，軟腐症状は15%の個体に出現し，土壌付着率の増加にともなって，軟腐個体率が漸増し，根中糖分およびpHが漸減した。

両試験においては，いずれも白色の軟腐症状が出現し，腐敗組織からは，主にグラム陽性球菌が分離された。

c．分離細菌の植物病原性

1）実験材料および方法

各地の貯蔵パイルから，1983～1986年の間に分離したグラム陰性桿菌18菌株，グラム陽性球菌11菌株と，前述の付着土の実験において分離されたグラム陽性球菌14菌株を用いた。比較対照として，グラム陰性桿菌のIFO-12380およびSR 79-33-3（いずれも*E. carotovora* subsp. *carotovora*）と，グラム陽性球菌のIFO-3426（*Leuconostoc mesenteroides*）を用いた。

後藤・瀧川[74]の方法にしたがって，グラム陰性桿菌18菌株とグラム陽性球菌10菌株を，EPAまたはEPGA，25°Cで，24～72時間培養した後，ペプトン水を用いて，約10^8cfu/mlの細菌懸濁液を作製した。

発芽，移植後，室温，散光下で1週間栽培したタバコ苗（*Nicotiana tabacum* L.）の葉肉中に，各細菌株の懸濁液を0.03ml注射接種した。30°Cに静置し，12～24時間後に，注射部位に現れた脱水，乾燥枯死症状（過敏感反応）を観察，調査した。

市販のジャガイモ塊茎，および手掘したテンサイ菜根を用いて切片を作製し，上述の方法により調整したグラム陽性球菌25菌株の細菌懸濁液を，1切片あたり30μl滴下し，滅菌針を用いて穿針接種した。湿室，25°Cに静置し，2～4日後に，組織の壊死を観察，調査した。

2）実験結果

分離細菌のタバコ過敏感反応の有無をTable 26に示した。グラム陰性桿菌では，供試した18菌株中5菌株の接種により，タバコ葉に明瞭な脱水・乾燥枯死を生じ，7菌株で軽い反応が認められた。対照として用いた*E. carotovora* subsp. *carotovora*

Table 26 Hypersensitive reaction of tobacco inoculated with the bacteria isolated from stored sugar beet roots with soft rot.

Type of bacteria	Number of isolates[b]		
	+	±	−
Gram-negative rods	5	7	6
Gram-positive cocci	6	2	2
IFO-12380[c]	1		
IFO-3426[d]	1		

a) Bacterial suspension (10^8 cfu/ml) was injected into the mesophyll of tobacco plants. Inoculated plants were incubated at 30 °C for 24 hours.
b) The reactions of tobacco to isolates tested were classified as +, clear reaction; ±, weak reaction; and −, no reaction.
c) IFO-12380: *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*
d) IFO-3426: *Leuconostoc mesenteroides*

Table 27 Infectivity of gram-positive cocci isolated from stored sugar beet roots.

Reaction[b)]		Number of isolates		
Potato	Sugar beet	Gram-positive cocci	IFO-3426[c)]	SR79-33-3[d)]
+	+	10	1	
	w	5		
	−	2		1
w	+	3		
	w	0		
	−	4		
−	+	0		
	w	1		
	−	0		

a) Bacterial suspension was inoculated to potato tubers or sugar beet root sections with sharp needles. Inoculated plants were incubated in a moist chamber at 25 °C for two days.
b) The reactions of potato or sugar beet to isolates tested were classified as +, clear reaction; w, weak reaction; and −, no reaction.
c) IFO-3426: *Leuconostoc mesenteroides*
d) SR79-33-3: *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

(IFO-12380)も，明瞭な反応を示した。グラム陽性球菌では10菌株中6菌株で明瞭な過敏感反応が認められ，2菌株で軽い反応が認められた。対照として用いた *L. mesenteroides* (IFO-3426) も，明瞭な反応を示した。

グラム陽性球菌の，ジャガイモ塊茎およびテンサイ菜根における壊死の有無を Table 27 に示した。供試した25菌株中，ジャガイモ，テンサイの両者に，全く壊死を生じない菌株はなかった。ジャガイモ塊茎に明瞭な壊死を生じた株は17，軽い症状を認めた株は7菌株であった。テンサイ菜根に明瞭な壊死を生じた株は13，軽い症状を認めた株は6菌株であった。これらの中10菌株は，ジャガイモ，テンサイの両者に明瞭な壊死を生じた。対照として用いたグラム陽性球菌の *L. mesenteroides* (IFO-3426) は，ジャガイモ，テンサイの両者に明瞭な壊死を生じた。グラム陰性桿菌の *E. carotovora* subsp. *carotovora* (SR 79-33-3) は，ジャガイモには明瞭な壊死を生じたが，テンサイには壊死を生じなかった。

d．病原細菌の同定

1）実験材料および方法

タバコ過敏感反応が認められたグラム陰性桿菌12菌株，ジャガイモおよびテンサイに軟腐症状を生じたグラム陽性球菌18菌株を用いた。比較対照として，グラム陰性桿菌のIFO-12380 (*E. carotovora* subsp. *carotovora*) と，グラム陽性球菌のIFO-3426 (*L. mesenteroides*) を用いた。

形態および一般的な生理生化学的性質は，定法により調査した。グラム陽性球菌のデキストランおよび乳酸の産生は，Garvie[65)] の方法にしたがい，各々Sucrose agar，DTB培地 (Dilute tomato broth) を用いて調査した。DTB培地での培養は25°C，2日間とし，培養濾液について，酵素法によるD (−) およびL (+) -乳酸と，pHの測定を行った。牛乳培養試験にはリトマスミルク (Difco)，および，これに酵母エキスとグルコースを各0.5 g/L添加したイースト・グルコース・リトマスミルクを用い，後藤・瀧川[75)] の記載にしたがって調査した。

2）実験結果

a）グラム陰性桿菌

供試菌株は全てグラム陰性で，大きさが0.5〜1.0×1.0〜3.0 μmの短桿状，運動性があり，周毛を有した。これらの生理生化学的性質をTable 28およびTable 29に示した。全ての菌株が通性嫌気性で，カタラーゼ陽性であった。オキシダーゼ，ウレアーゼおよびフェニルアラニン・デアミナーゼは陰性であった。ゼラチンを加水分解したが，色素，硫化水素およびインドールの産生は認められなかった。硝酸塩を還元し，マロン酸塩を分解した。マンニトール，アラビノース，セロビオース，エスクリン，フルクトース，グルコース，マンノース，メリビオース，ラムノース，リボース，サリシン，スクロース，およびキシロースからの酸の産生が認められたが，アドニトール，イノシトールは利用できな

Table 28 Biochemical characteristics of the plant pathogenic gram-negative rods isolated from stored sugar beet roots.

Characteristics	59SR72	60SR48	58SR05	59SR70	59SR64	59SR65	59SR75	59SR61	60SR46	59SR63	59SR76	60SR45	IFO-12380[a]
Gram stain	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
OF test	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Urease	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Phenylalanine deaminase	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Arginine dehydrolase	−	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−
β-galactosidase	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lysine decarboxylase	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Ornithine decarboxylase	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pigment production	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
H_2S production	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Indole production	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges−Proskauer	+	+	−	−	+	+	+	−	+	−	−	+	−
Dissimilation Citrate	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+
Malonate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−

a) IFO-12380: *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

Table 29 Acid production from organic compounds by plant pathogenic gram-negative rods isolated from stored sugar beet roots.

Organic compounds	59SR72	60SR48	58SR05	59SR70	59SR64	59SR65	59SR75	59SR61	60SR46	59SR63	59SR76	60SR45	IFO-12380[a]
Adonitol	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Dulcitol	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−	−	−	−
Inositol	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	−	−	+	+	−	+	−	+	+	+	+	−	−
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	w	+	+	+	+
Dextrin	+	+	+	w	+	−	+	+	−	w	w	+	−
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	w	+	+	+	+	+	+
Inulin	−	−	−	−	−	w	−	−	−	−	−	−	−
Lactose	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Melibiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
α-methyl-glucoside	+	+	+	−	+	−	+	−	−	−	−	+	−
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	−	+	+	+	−	+	w	−	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

a) IFO-12380: *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

Table 30 Biochemical characteristics of plant pathogenic gram-positive cocci isolated from stored sugar beet roots.

Characteristics		62SR42	62SR12	62SR20	60SR53	61SR34	62SR18	62SR47	62SR48	60SR29	62SR10	62SR45	60SR33	60SR36	62SR16	62SR27	60SR34	60SR43	62SR40	60SR27	IFO-3426[a]
Gram stain		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
OF test		F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Catalase reaction		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Oxidase reaction		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Arginine dehydrolase		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Indole production		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Nitrate reduction		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Dextran formation		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Litmus milk		−	−	−	−	w	w	−	−	w	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Yeast glucose litmus milk		−	−	−	−	−	−	w	w	w	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Acid clot	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Reduction	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−
Lactic acid	D(−)	2.7	6.4	5.6	5.8	5.2	5.1	5.6	5.7	5.4	5.7	5.7	4.7	4.9	4.4	4.6	5.5	5.7	5.5	5.2	4.7
production (mg/ml)	L(+)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Final pH	4.3	4.2	4.2	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3	4.2	4.3	4.3	4.3	4.4	4.2	4.1	4.3	4.3	4.3	4.3	4.2
Dissimilation	Citrate	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Utilization of	Arabinose	−	w	w	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Arbutin	+	w	w	w	w	+	w	w	w	w	+	+	+	+	+	w	+	+	+	+
	Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	w	+	+
	Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Galactose	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+
	Glucose	+	w	w	w	+	+	w	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Maltose	+	w	w	w	+	+	w	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	w
	Mannitol	w	w	w	w	+	+	w	w	+	w	w	+	+	+	+	w	w	+	+	+
	Sucrose	+	w	w	w	+	+	w	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	w	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

a) IFO-3426: *Leuconostoc mesenteroides*

かった。比較として用いたIFO-12380は，マロン酸塩を分解しなかったが，他の性質は全て供試細菌と一致した。アルギニン・デヒドロラーゼ，β-ガラクトシダーゼ，リジン・デカルボキシラーゼ，オルニチン・デカルボキシラーゼ，およびVoges-Proskauer試験によるアセトイン産生，クエン酸塩の分解，ズルシトール，ソルビトール，デキストリン，イヌリン，ラクトース，マルトース，メレジトース，α-メチル・グルコシドおよびトレハロースからの酸産生は，菌株により反応が異なった。

b）グラム陽性球菌

供試菌株は全てグラム陽性で，直径0.5〜1.2 μmの球〜レンズ状をしており，数細胞が連鎖していた。芽胞は認められなかった。これらの生理生化学的性質をTable 30に示した。全ての菌株が通性嫌気性で，カタラーゼ，オキシダーゼ，およびアルギニン・デヒドロラーゼは陰性であった。インドールの産生は認められず，硝酸塩を還元しなかった。デキストラン，D（−）-乳酸を産生したが，L（+）-乳酸は産生しなかった。DTBにおける最終pHは4.1〜4.3であった。クエン酸塩は分解しなかった。アルブチン，エスクリン，フルクトース，グルコース，マルトース，マンノース，スクロース，およびトレハロースを分解した。比較として用いたIFO-3426は，これら全ての性質において供試細菌と一致した。リトマスミルクでの生育，イースト・グルコース・リトマスミルクでの生育，酸によるミルクの凝固，凝固後の消化，アラビノースおよびガラクトースの分解は，菌株により異なった。

e．考　　察

貯蔵期間中の降雪が多く，パイルが常に湿潤状態になる士別製糖所構内のパイルに，健全な菜根を埋設して92日間貯蔵した結果，軟腐症状が発生し，糸状菌による貯蔵腐敗病と同様，著しい砂糖の損失と

pH の低下が認められた(Table 24)。Shore et al.[176] は，イギリスにおける貯蔵時の，最大の劣化原因は，凍結菜根の融解による微生物腐敗であるが，パイルに夾雑物が入って嫌気的条件になった時も，同様の症状が発生すると報告した。Cole and Bugbee[39] は，健全な菜根を，酸素が遮断される条件に置くと，棲息する内生細菌による発酵が始まり，砂糖の減少，pH の低下，および還元糖の増加が起こると述べた。軟腐症状は，パイル内の，特に多湿条件になりやすい天場中央表層部に，集中して発生しており，水封により嫌気的条件が成立し，軟腐症状の発生につながったと判断される。

一方，土性の異なる3種類の畑土または遊離土を，十分に吸水後，健全な菜根表面に塗布すると，軟腐症状が，埴土遊離土塗布時にのみ出現し，埴土であっても畑土や，他の土性のものではほとんど発生しなかった（Fig. 5)。また，埴土遊離土では，塗布量が多いほど，軟腐個体率が高く，根中糖分と pH の著しい低下が認められたが，5％という，ごく少量を塗布する時にも，同様に軟腐症状が発生した（Table 25)。これは，菜根の発酵，壊死にともなって，腐生的に活動する細菌以外に，植物病原性の細菌が存在することを示唆している。

土壌の塗布実験では，主にグラム陽性球菌が分離されたが，今までにパイル内から採取した軟腐症状からは，同様の球菌とともに，グラム陰性桿菌も分離されていた。細菌の植物病原性を確認する方法としては，タバコ過敏感反応が知られている[74]。分離した2種類の細菌を用い，タバコへの注射接種を行った結果，両者とも，タバコ葉に過敏感反応を生じ，植物病原性が確認できた（Table 26)。

Vajna[197] の記載によれば，貯蔵中の菜根からは，*Bacterium coli*, *B. betae viscosum*, および *B. betae flavum* が分離されている。前者は *Esherichia coli* のシノニムで，後2者は，現在は使用されない種名であるが，いずれもグラム陰性桿菌である[13]。Bugbee et al.[28] は，健全な菜根内に棲息し，嫌気条件時に，発酵的に腐敗を生じるグラム陰性桿菌として，*Pseudomonas* spp.と *Erwinia* spp.を報告している。Kabashnaya[105] は，貯蔵中の軟腐菜根から *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* および *Pseudomonas fluorescens* を分離，同定している。北海道で，貯蔵中の軟腐菜根から分離されたグラム陰性桿菌の，形態および生理生化学的性質を調査した結果（Table 28, Table 29)，分離細菌は真直な稈状で，周毛を有し，運動性があり，通性嫌気性で，オキシダーゼ陰性，カタラーゼ陽性であった。フルクトース，グルコースおよびスクロースから酸を産生し，ウレアーゼ陰性，フェニルアラニン陽性であり，植物病原性を有することから，坂崎[166] の記述にある *Erwinia* 属の性質と一致した。さらに，ゼラチンを加水分解し，色素，インドールは非産生，硝酸塩を還元し，マロン酸塩を分解した。マニトール，アラビノース，セロビオース，エスクリン，マンノース，メリビオース，ラムノース，サリシン，およびキシロースを利用し，アドニトール，イノシトール，およびメレジトースは利用できなかった。Voges-Proskauer 試験，クエン酸塩の分解，ズルシトール，デキストリン，イヌリン，ラクトース，マルトース，およびトレハロースからの酸産生は，菌株により反応が異なったが，これらの諸性質と，Lelliott and Dickey[121] の記載による *Erwinia* 属菌との相似係数を算出すると，*E. carotovora* との係数が75～84％と最も高くなり，分離細菌を *E. carotovora* (Jones) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon と同定した。なお，対照として用いた *E. carotovora* subsp. *carotovora* (IFO-12380) との相似係数を，上述以外の性質も含めて算出すると，70～80％となり，両者は同一種と判断されるが，亜種の同定には至らなかった。

軟腐菜根から分離したグラム陽性球菌は，タバコに病原性を示したが，ジャガイモ塊茎およびテンサイ菜根に穿針接種したところ，両者にも病原性が認められた(Table 27)。ところで，凍結後，融解した菜根からは，グラム陽性球菌の *Leuconostoc dextranicum*[92] および *L. mesenteroides*[6] が分離されている。両者は，現在，単一の genospecies と考えられ，*L. mesenteroides* として，subspecies を形成している[64]。本細菌は，菜根の他，付着土壌や，製糖工場のロージュース（裁断した菜根を温湯に入れて，砂糖分を浸出させた粗糖汁）からも分離，同定されており[172]，テンサイ製糖の，原料から工場内まで，幅広く棲息する腐生菌として認識されていた。また，収穫したサトウキビに，sour storage rot を起こす腐生菌としても知られていた[58]。一方，Conn et al.[40] は，*L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* が，トマト果実に病原性を示すことを初めて報告した。彼らの実験に用いた菌株は，ジャガイモ塊茎には病原

性を示さなかったが，今回，比較対照として用いた *L. mesenteroides* IFO-3426 菌株は，ジャガイモ塊茎，テンサイ菜根の両者に病原性を示した。*L. mesenteroides* は，植物病原性を持たないと考えられていたが，本種の中には，植物病原細菌が含まれ，トマト以外にも宿主作物が存在すると判断された。

テンサイ菜根から分離され，テンサイに病原性を示したグラム陽性球菌の形態および生理生化学的性質を調査した結果(Table 30)，数細胞が連鎖しており，通性嫌気性で，スクロースからデキストランを形成すること，D(−)-乳酸を産生し，カタラーゼ，アルギニン・デヒドロラーゼ，およびインドール非産生，硝酸塩を還元しないことから，Garvie[66] の *Leuconostoc* 属菌の記載と一致していた。上述以外の性質も含めて，対照として用いた *L. mesenteroides* (IFO-3426) 菌株との相似係数を算出すると，76〜100%となり，両者は同一種と判断され，*L. mesenteroides* (Tsenkovskii) van Tieghem と同定した。本菌によりテンサイに軟腐症状を起こす病害は報告されておらず，新病害として，テンサイロイコノストック貯蔵腐敗病を提案した[193]。

E．細菌による貯蔵腐敗時の菜根の品質変化

貯蔵パイル中に観察される発病個体の品質について比較し，同時に病原細菌である *Leuconostoc mesenteroides*，および *Erwinia carotovora* による品質変化を比較，検討した。

a．軟腐菜根の品質

1）実験材料および方法

1994 年 11 月に，美幌製糖所に設置されているビートウォッシャー（菜根の洗浄機）の出口から，軟腐菜根および健全菜根を採取し，品質分析を行った。根中糖分は Sachs-Le Docte 変法，還元糖は Ofner 法，ラフィノースは酵素法，搾汁 pH はガラス電極法，全窒素はケルダール法，アミノ態窒素は Moore-stein 法，アミド態窒素はアルカリ蒸留法，アンモニア態窒素は水蒸気蒸留法，ベタイン態窒素はライネッケ塩法，硝酸態窒素は AOAC による分析法，有機酸は HPLC により測定した。

2）実験結果

採取した軟腐菜根の，軟腐の程度を，既述の腐敗程度指数を用いて調査した結果，平均 3.4 になった。糖類および pH の測定結果を Table 31 に示した。軟腐菜根と健全菜根を比較すると，根中糖分には 9 % 以上の差があり，軟腐菜根の値が著しく低かった。還元糖には 2,800 mg/100 g 以上の差があり，軟腐菜根の値が著しく高かった。軟腐菜根の pH は顕著に低く，5.18 であった。ラフィノースも 40 mg/100 g の差があり，軟腐菜根で明らかに低下していた。窒素化合物の測定結果を Table 32 に示した。軟腐菜根は健全菜根に比べて，全窒素およびアミド態窒素が明らかに低下していた。有機酸の測定結果を Table 33 に示した。健全な菜根にはギ酸，酢酸，および乳酸はほとんど含まれていなかったが，軟腐菜根では，酢酸および乳酸が著しく高く，各々99 mg/100 g，172 mg/100 g に達した。軟腐菜根のリンゴ酸とクエン酸は，健全菜根に比べて減少する傾向が認められた。

Table 31 Comparison of concentrations of saccharides and pH between roots with bacterial soft rot and the healthy roots collected from a separator in sugar beet factory.

Root condition	Sugar content (%)	Reducing sugar (mg/100g)	Raffinose (mg/100g)	pH
Soft rot[a)]	6.38	3059	23	5.18
Healthy	15.46	219	63	6.47

a) Roots exhibited 30 - 70 % bacterial soft rotting, and the average rot severity of the roots was 3.4.

Table 32 Comparison of concentrations of nitrogenous compound between roots with bacterial soft rot and the healthy roots collected from a separator in sugar beet factory.

Root condition	Nitrogenous compound (mg/100g)					
	Total-N	Betaine-N	Amido-N	Amino-N	Ammonia-N	NO_3-N
Soft rot[a)]	128	23.2	14.3	26.5	4.3	5.4
Healthy	153	27.6	20.4	25.9	1.8	9.5

a) Roots exhibited 30 - 70 % bacterial soft rotting, and the average rot severity of the roots was 3.4.

Table 33 Comparison of concentrations of carboxylic acids between roots with bacterial soft rot and the healthy roots collected from a separator in sugar beet factory.

Root condition	Carboxylic acid (mg/100g)				
	Formic	Acetic	Lactic	Malic	Citric
Soft rot[a)]	2	99	172	26	81
Healthy	1	2	0	43	104

a) Roots exhibited 30 - 70 % bacterial soft rotting, and the average rot severity of the roots was 3.4.

b．細菌による品質変化

1）実験材料および方法

収穫した菜根を水洗後，おろし機ですり下ろし，濾布に包んだ。圧搾機に装塡し，200 kgf/cm² の圧力を加え，菜根圧搾中を作製した。500 ml のコルベンに 250 ml ずつ分注し，121°C，15 分，オートクレーブした。*Leuconostoc mesenteroides* 菌株（62-SR-20，1988 年，士別市にて分離）および *Erwinia carotovora* 菌株(94-SR-01，1994 年，芽室町にて分離)を，予め EPGA で培養し，滅菌した圧搾汁に接種した。無接種液を含め，15°C，暗黒に，30 日間静置した後，菌体を濾過，除去して，濾液の成分を調査した。

一方，ショ糖 1.5%を含む培養液(1 L あたりショ糖 15 g，ペプトン 5 g，酵母エキス 5 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1 g) を作製し，500 ml のコルベンに 200 ml ずつ分注し，121°C，15 分，オートクレーブした。*L. mesenteroides* 菌株 (IFO-3426) および *E. carotovora* subsp. *carotovora* 菌株（IFO-12380）を，EPGA で培養後に接種した。無接種液を含め，28°Cで 7 日間，振盪培養した後，菌体を濾過，除去して，濾液の成分を調査した。

分析は前述の方法により行ったが，圧搾汁の乳酸のみは，酵素法によりD（−）とL（+）-乳酸に分けて測定した。ブリックスは屈折計により測定した。

2）実験結果

a）菜根圧搾汁の品質変化

糖類，ブリックス，および pH の変化を Table 34 に示した。*L. mesenteroides* 接種では，無接種に比べて，培養後の根中糖分および pH が低く，還元糖が高くなった。特に，pH は 3.76 で，顕著に低く，還元糖は 6065 mg/100 g となり，著しく増加した。ラフィノースとブリックスの変化はわずかであった。*E. carotovora* 接種は，無接種に比べて，培養後の根中糖分，ラフィノース，ブリックス，および pH が低く，還元糖が高かった。特に，ラフィノースは 44 mg/100 g と無接種の約 3 分の 1 に減少し，還元糖は 8480 mg/100 g と，無接種の 30 倍以上に増加した。

Table 34 Changes in concentrations of saccharides and brix, pH of the pressed juice inoculated with sugar beet bacterial storage rot pathogens[a)].

Bacterial pathogen	Sugar content (%)	Reducing sugar (mg/100g)	Raffinose (mg/100g)	Brix (%)	pH
L. mesenteroides	14.61	6065	118	19.9	3.76
E. carotovara	14.26	8480	44	18.8	5.19
No inoculation	18.73	231	128	20.8	6.27

a) Two hundred fifty ml of juice pressed from sugar beet roots was dispensed into a 500-ml flask, and was autoclaved at 121 °C for 15 minutes. The flasks were inoculated with *Erwinia carotovora* (94-SR-01) or *Leuconostoc mesenteroides* (62-SR-20), and were incubated at 15 °C for 30 days.

Table 35 Changes in concentrations of saccharides and pH of the culture solution inoculated with *Leuconostoc mesenteroides* or *Erwinia carotovora*[a)].

Inoculation	Sucrose(mg/100g)	Reducing sugar(mg/100g)	pH
L. mesenteroides	1200	99.5	3.94
E. carotovara	1420	18.8	4.77
No inoculation	1480	51.6	6.27

a) Two hundred ml of culture solution (sucrose 15 g, peptone 5 g, yeast extract 5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g per 1 liter) was dispensed into a 500-ml flask and autoclaved at 121 °C for 15 minutes. The flasks were inoculated with *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (IFO-12380) or *Leuconostoc mesenteroides* (IFO-3426), and were incubated at 28 °C with shaking for 7 days.

有機酸の変化を Fig.6 に示した。*L. mesenteroides* 接種では，無接種に比べてD（−）-乳酸が増加し，リンゴ酸，クエン酸が低下した。L（+）-乳酸は全く変化しなかった。特に，D（−）-乳酸の増加は著しく，*E. carotovora* 接種に比べて 6 倍以上に達していた。*E. carotovora* 接種では，無接種に比べて，ギ酸，D（−）-乳酸，L（+）-乳酸，コハク酸が増加し，酢酸，リンゴ酸，クエン酸が低下した。

b）スクロース分解産物

培養液の短期間分解時のショ糖，還元糖および pH の変化を Table 35 に示した。スクロースの分解は，両菌株の接種とも少量であった。*L. mesenter-*

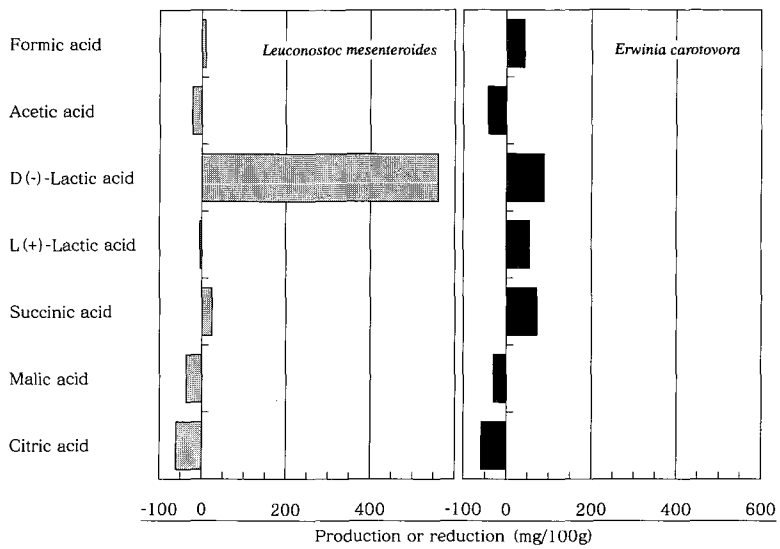


Fig. 6 Changes in concentrations of carboxylic acids in the pressed juice 30 days after inoculation of pathogens causing sugar beet bacterial storage rot[a].
a) Methodology was described in Table 34.

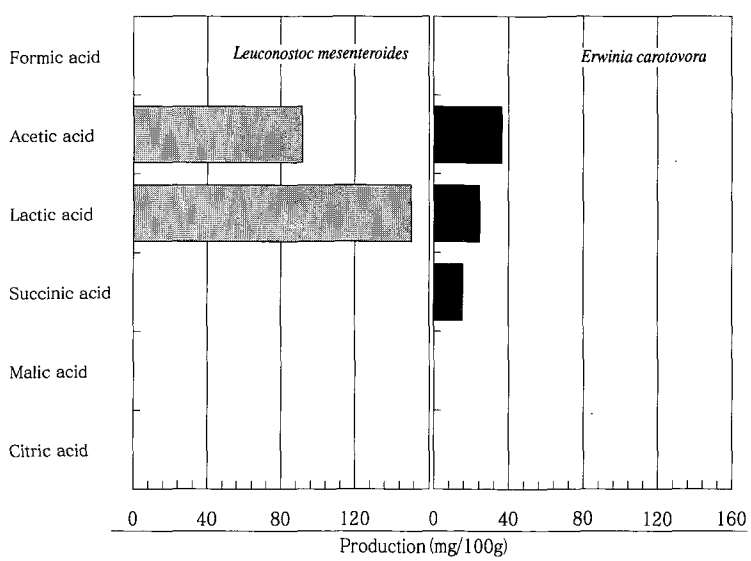


Fig. 7 Production of carboxylic acids in the culture solution inoculated with *Leuconostoc mesenteroides* or *Erwinia carotovora*[a].
a) Methodology was described in Table 35.

oides 接種は，*E. carotovora* subsp. *carotovora* 接種に比べれば，ショ糖が減少しており，還元糖は無接種より増加していた。pH は 3.94 で最も低かった。*E. carotovora* subsp. *carotovora* 接種では，*L. mesenteroides* 接種に比べてショ糖の減少が少なく，還元糖が無接種より低下していた。pH は低下したが，*L. mesenteroides* 接種よりは高かった。培養液中に含まれる糖類の分解により産生される各有機酸の量を Fig.7 に示した。*L. mesenteroides* 接種では，乳酸および酢酸が多量に産生された。*E. carotovora* subsp. *carotovora* 接種では，乳酸，酢酸に加えてコハク酸が産生されたが，*L. mesenteroides* 接種による産生量に比べると，かなり少なかった。

c．考　　察

Shore et al.[176] は，凍結後，融解時に，腐生的に *L. mesenteroides* が増殖した菜根では，スクロースの減少と，還元糖，ラフィノース，レバン，およびデキストランの増加が認められるが，この中，ラフィノースの増加は，低温による植物体の生理的反応で，他の糖類の変化は，細菌の代謝によると述べた。細菌による激しい軟腐症状を示した菜根の品質分析を行った結果，根中糖分，ラフィノース，および pH の著しい低下と，還元糖の著しい増加が認められた（Table 31）。窒素化合物では，全窒素およびアミド態窒素の明らかな減少が認められた（Table 32）。これらの変化は，既に述べた糸状菌 *Botrytis cinerea* を主要な病原とする，テンサイ貯蔵腐敗病発生時の変化と同一であったが，前述の凍結菜根における糖類の分析結果とは，ラフィノースが低下する点で異なっていた。

滅菌した菜根圧搾汁に，病原細菌の *L. mesenteroides* または *E. carotovora* を接種したところ，いずれの接種でも根中糖分が低下し，還元糖が増加した。また，両菌によるラフィノースの分解が確認され，特に，*E. carotovora* 接種で顕著に低下した（Table 34）。スクロースを主な炭素源とする培養液に，*L. mesenteroides* または *E. carotovora* subsp. *carotovora* を接種し，短期間，培養した結果，前者の接種では，スクロースが分解されて還元糖に転化されるため，スクロース含量が低下し，還元糖含量が増加した。後者の接種では，スクロースとともに還元糖も同等に分解されたため，スクロース，還元糖の両含量が低下した（Table 35）。貯蔵腐敗病菌 *B. cinerea* および *Penicillium expansum* が，スクロースから還元糖への強い転化能力を持ち，ラフィノースは分解しないことを既に述べた。実験結果から，ロイコノストック貯蔵腐敗病の病原である *L. mesenteroides* は，これらの糸状菌と同様，スクロースを速やかに分解し，還元糖に転化するが，あわせて，ラフィノースの分解能もわずかながら有すると判断された。軟腐症状から高頻度で分離される *E. carotovora* は，スクロース以外の糖である還元糖やラフィノースの分解能力も同様に高いため，これらを，逐次，分解していくと考えられ，軟腐症状におけるラフィノースの主要な分解者になっていると考えられた。

Norman and Rorabaugh[141] は，製糖工場の砂糖の滲出工程における最大の問題は，細菌汚染による砂糖からの乳酸の産生であると述べ，製糖工場では，細菌を原因とする乳酸産生が知られていた。細菌接種を行った滅菌菜根圧搾汁および培養液の pH は大きく低下し，有機酸の産生が示唆された。*L. mesenteroides* を接種した菜根圧搾汁では，D（−）-乳酸が著しく増加し，リンゴ酸とクエン酸が減少した。*E. carotovora* の接種では，ギ酸，D（−）-乳酸，L（+）-乳酸，およびコハク酸が増加し，酢酸，リンゴ酸，およびクエン酸が減少した（Fig. 6）。スクロースを主な炭素源とする培養液に，*L. mesenteroides* を接種すると，酢酸と乳酸が産生された。*E. carotovora* subsp. *carotovora* を接種すると，両有機酸とともにコハク酸が産生された（Fig. 7）。ビートウォッシャーより採取した軟腐菜根も，健全菜根に比べて，比較的低分子の酢酸（$C_2H_4O_2$）および乳酸（$C_3H_6O_3$）含量が高く，比較的高分子のリンゴ酸（$C_4H_6O_5$）およびクエン酸（$C_6H_8O_7$）含量が低くなっていた（Table 33）。*L. mesenteroides* は，最終産物として，D（−）-乳酸を特異的に産生することが知られている[66]。*E. carotovora* は植物病原性を有する細菌であるが，同時に，腐生性の強い細菌で，酢酸塩の分解能も有しており，有機物を完全分解できる[121]。糸状菌の *B. cinerea* および *P. expansum* が，スクロースから，クエン酸を代表とする比較的高分子の有機酸を産生することを既に述べた。軟腐症状から分離された細菌の有機酸産生は，これらの糸状菌とは異なり，*L. mesenteroides* では，スクロースから還元糖を経て，D（−）-乳酸を特異的に産生し，*E. carotovora* では，コハク酸以下の比較的低分子の有機酸に分解していく。さらに，これら

の細菌は，クエン酸等の比較的高分子の有機酸の分解能力も併せ持っていると考えられた。

IV．パイル内に棲息する糸状菌と環境

A．パイル内における糸状菌の動向

貯蔵腐敗は主に糸状菌によって生じる。長期貯蔵時には，貯蔵期間が150日以上に及ぶが，貯蔵の開始から搬出までに，パイルのどのような部位に，どのような糸状菌が発生し，どのような消長を示すかはほとんど調査されていなかった。北海道において，貯蔵中に発生する主な糸状菌の発生部位，および発生時期について検討した。

a．パイルの部位と発生する糸状菌の種類

1）実験材料および方法

1983年に，芽室および美幌製糖所管内で，1月に13ヶ所，3月に15ヶ所，計28ヶ所のパイルを調査した。1月調査時は，南北に長いパイルが8ヶ所，東西方向のパイルが5ヶ所であった。3月調査時は，南北方向が13，東西方向が2ヶ所であった。なお，調査パイルの大きさは，いずれも底辺約22 m，高さ約4.5 mの標準的な形状をしていた。調査部位を，パイルの両側面，天場および搬出時に露出する断面の4ヶ所に区分し，1区分あたり20個体，1パイルあたり80個体の，表面に糸状菌の発生した菜根を採取した。これらの菌叢を肉眼観察し，以下の基準を用いて6菌叢型に分類し，各型の発生率を求めた。なお両側面は，比較的高温に推移し，日射が多いと考えられる南面と西面，低温で，日射が少ないと考えられる北面と東面の2者に分けて調査した。

菌叢型	特　徴
Botrytis型	菌叢表面に灰色～灰褐色の粉状の分生胞子が認められる。または亜球形で，灰色～黒色の小粒の堅い菌核が認められる。
Cladosporium型	濃緑色の粉状の分生胞子が認められる。白色の菌叢はほとんど認められない。
Fusarium型	菌叢は気中菌糸が豊富で，主に黄色～明赤色に着色した部分を含む。または，鮭肉色の粘質な菌叢が認められる。
Geotrichum型	白色～乳白色の，粘質で酵母様の菌叢が認められる。
Penicillium型	菌叢表面に青緑色の粉状の分生胞子が認められる。
その他	－

2）実験結果

1月の発生率をTable 36に示した。側面ではBotrytis型とCladosporium型の発生率が高かった。Botrytis型は南・西で37%，北・東で39%の個体に認められ，Cladosporium型は南・西で38%，北・東で24%の個体に認められた。南・西と北・東を比較すると，南・西でのCladosporium型の発生率が高かった。天場ではPenicillium型とBotrytis型が高く，発生率は各々26%，25%であった。断面ではBotrytis型が高く，発生率は33%で，その他を除く他の4型は，ほぼ10%程度の発生であった。4部位の平均では，Botrytis型が33.9%で最も高く，次いでCladosporium型が21.3%と高かった。

3月の発生率をTable 37に示した。側面では，1月と同様，Botrytis型とCladosporium型の発生率が高かった。Botrytis型は南・西，北・東ともに，46%の個体に認められ，1月より増加した。Cladosporium型は南・西で23%，北・東で14%と

Table 36　Presence of various mycelial types in four parts of a pile of sugar beet roots in January (1983)[a].

Mycelial type[b]	Percent of moldy beet roots (%)				
	Side surface[c]		Top surface	Inside	Average
	S. or W.	N. or E.			
Botrytis	37	39	25	33	33.9
Cladosporium	38	24	17	10	21.3
Fusarium	5	8	6	13	7.7
Geotrichum	0	1	14	10	4.2
Penicillium	11	13	26	9	14.7
Others	10	15	13	35	18.3

a) A total of 13 piles were observed in the factories of Memuro and Bihoro.
b) Twenty moldy roots were collected from each part of a pile and were classified into six groups according to the predominant mycelial types colonizing the roots.
c) S. or W.; South or West, N. or E.; North or East.

Table 37　Presence of various mycelial types in four parts of a pile of sugar beet roots in March (1983)[a].

Mycelial type[b]	Percent of moldy beet roots (%)				
	Side surface[c]		Top surface	Inside	Average
	S. or W.	N. or E.			
Botrytis	46	46	14	27	33.2
Cladosporium	23	14	5	3	11.5
Fusarium	3	5	3	9	5.7
Geotrichum	3	5	45	2	12.1
Penicillium	12	15	28	15	17.2
Others	13	15	4	47	20.2

a) A total of 15 piles were observed in the factories of Memuro and Bihoro.
b) Methodology was described in Table 36.
c) S. or W.; South or West, N. or E.; North or East.

なり，1月より低下した。天場では Geotrichum 型が45%で最も高くなり，次いで Penicillium 型が28%と高かった。1月に最も発生率が高かった Botrytis 型は，14%に低下した。断面は，1月と同様，Botrytis 型の発生率が最も高く，27%であった。次いで高かったのは Penicillium 型で，15%であった。4部位の平均では，Botrytis 型が33.2%で最も高く，次いで Penicillium 型が17.2%，Geotrichum 型が12.1%であった。1月に比べると，Botrytis 型の発生率はほぼ同等であったが，Penicillium 型と Geotrichum 型が増加し，Cladosporium 型が低下した。

b．天場の菜根に発生する糸状菌の消長

1）実験材料および方法

1982/83年度の製糖期に，芽室製糖所構内に堆積したパイルを用い，パイル内の同一地点に発生する糸状菌を経時的に調査した。パイル天場の両肩部と中央に各2ヶ所ずつ，計6ヶ所に1辺1mの正方形の区画を設置した。供試パイルは10月27日から29日にかけて堆積し，約2週間の間隔で，区画内に発生する糸状菌の菌叢を肉眼観察した。既述の基準を用いて6菌叢型に分類し，各型の発生した個体率，および全体に占める糸状菌発生個体の割合を求めた。

2）実験結果

調査結果を Table 38 に示した。堆積8日後の11月6日の調査では，糸状菌の発生は認められなかったが，11月13日（15日後）には，3%の個体の表面に糸状菌が認められた。最初に観察されたのは Botrytis 型，Cladosporium 型，および Penicillium 型の3型であった。糸状菌発生個体率は，その後1月5日（68日後）まで急速に増加したが，以後は増加の速度が鈍りつつ漸増を続け，最終調査の2月22日（116日後）には48%となった。各菌叢型の推移を見ると，Botrytis 型は11月13日（15日後）から出現し，最終調査まで漸増を続け，27%に達した。Cladosporium 型も11月13日から出現し，12月16日まで顕著に増加して10%に達したが，以後，他の菌叢に覆われるようになり，ほとんど観察されなくなった。Penicillium 型も11月13日から出現したが，1月5日（68日後）までは極わずかな発生で，その後に漸増し，最終調査では24%に達した。Geotrichum 型は1月5日(68日後)までは観察されなかったが，1月14日から出現し，その後急速に増加して，最終調査では27%に達した。Fusarium 型は，1月までは散見される程度であったが，2月16日（110日後）と2月22日の最終調査では，約5%の発生が認められた。

c．菜根の腐敗と天場空間内に浮遊する糸状菌胞子の消長

1）実験材料および方法

1984/85年度から1986/87年度までの3製糖期に，芽室製糖所構内に堆積したパイルの天場で，菜根表面の糸状菌と組織の腐敗の発生，および天場空間内に浮遊する糸状菌胞子の構成比を経時的に調査した。

天場から，1回あたり50個体を無作為に採取し，菜根表面の糸状菌の有無を観察した後，割断して，既述の基準により腐敗程度を調査した。

胞子の採取は，天場の両肩部と中央の計3ヶ所で行った。供試培地としてはローズベンガル寒天培地を用いた。1985/86年度は，市販の捕捉器(RCS Air

Table 38　Changes in predominance of mycelial types colonizing sugar beet roots at the top surface of pile during storage[a].

Mycelial type	Date observed								
	6Nov.	13Nov.	2Dec.	16Dec.	5Jan.	14Jan.	1Feb.	16Feb.	22Feb.
Botrytis	0[b]	trace	3	9	7	13	21	20	27
Cladosporium	0	1	7	10	1	1	trace	0	0
Fusarium	0	0	0	1	trace	0	0	5	6
Geotrichum	0	0	0	0	0	4	9	21	27
Penicillium	0	1	1	1	2	5	13	24	24
Others	0	0	1	7	19	16	9	2	3
% of moldy roots	0	3	12	25	30	31	40	49	48

a) Piling of sugar beet roots was finished on 29 October, 1982. Each mycelial type was observed in six plots (one m^2 each) set on the top surface of a pile at about two weeks interval.

b) % of roots colonized by each mycelial type. The total is not equal to % of moldy roots because multiple mycelial types were found to one root.

Sampler；グンゼ産業）にベルト状に整形した培地を装着し，20～80 L の空気を吸引した。他の 2 製糖期は，高さ 30 cm の載台の上で，直径 9 cm のシャーレの蓋を開け，培地を 5 分間曝気した。採取作業後の培地は 25°Cに 2 日，その後 2 °Cに 2 週間静置し，出現したコロニーを属別に計数し，各属の構成比を算出した。1985/86 年度は 1 回あたり 6 枚，他の年度は 1 回あたり 15 枚の培地を用いた。

採取は，パイル堆積後，約半月の間隔で，以下の月日の午前 10～12 時に行った。

製糖期	採取時期						
	11月中旬	12月上旬	12月中旬	12月下旬	1月中旬	2月上旬	2月下旬
1984/85	11/16	11/30	12/15	12/28	1/14	2/1	3/2
1985/86	11/15	12/4	12/22	−	1/10	2/7	2/28
1986/87	11/7	12/4	−	12/26	1/8	1/21	2/16

2）実験結果

菜根における糸状菌と腐敗の発生推移を Fig.8 に示した。糸状菌発生個体率，腐敗個体率，および腐敗程度のいずれも，製糖期によりかなり変動した。菜根表面の糸状菌は，いずれの製糖期でも，11 月中旬から，既に発生が認められた。平均の糸状菌発生個体率は，1 月中旬の値が 12 月下旬の調査値より低下したが，全期間を通じて概ね漸増し，2 月下旬には 55%になった。腐敗個体率も同様に漸増し，2 月下旬の平均値は 47%になったが，12 月までの腐敗個体率と糸状菌発生個体率を比較すると，前者は後者よりも常に低かった。腐敗程度も全期間を通じて漸増し，2 月下旬の平均値は 0.46 になった。

天場空間に浮遊する糸状菌胞子の構成比を Table 39 に示した。主に捕捉された糸状菌胞子は *Botrytis*, *Cladosporium*, および *Penicillium* の 3 属で，これらの合計は 41～61%の間にあった。12 月中旬までの，堆積後早期の捕捉では，*Cladosporium* の割合が高く，構成比全体の約 50%を占めていた。しかし，その後は漸減し，2 月下旬には 5%になった。

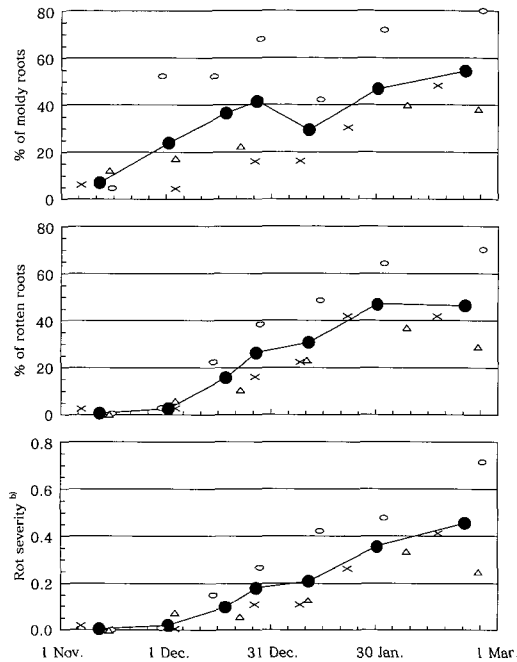


Fig. 8 Profiles of molding and rotting of sugar beet roots at the top surface of pile during storage[a].
a) 50 beet roots per one survey were randomly collected from the top surface of a pile.
b) Rot severity was determined based on a scale from 0 to 5.
○; 1984/85 ×; 1985/86 △; 1986/87 ●; Average

Table 39 Component ratios of fungal spores in space above the top surface of a sugar beet pile during storage[a].

Genus	M.Nov.[b]	E.Dec.	M.Dec.	L.Dec.	M.Jan.	E.Feb.	L.Feb.
Botrytis	0[c]	trace	2	14	19	42	43
Cladosporium	51	50	52	26	15	7	5
Penicillium	6	11	3	1	21	11	11
Others	43	39	43	59	45	40	41

a) Fifteen plates or six strips of Rose bengal agar per one survey were used for the trapping of fungal spores from 1984/85 to 1986/87 trials. The media were exposed to the air at three locations of the top surface of a storage pile, and then incubated at 25°C for two days, and at 2°C for another two weeks.
b) E.; early, M.; middle, L.; late.
c) % of fungal colonies growing on the media.

Botrytis の分生胞子は12月上旬から捕捉された。構成比に占める *Botrytis* の割合は，その後2月上旬まで漸増を続け，2月下旬には43%になった。構成比に占める *Penicillium* の割合は1～21%であったが，12月以前と1月以降に区分すれば，後者における割合が高かった。

d．考　　察

パイル内に発生する糸状菌には5つの主要な菌叢型があり，パイルの側面，天場，断面の各部位により，優先する型に相違が認められた（Table 36, Table 37)。パイル側面は南・西面と北・東面に分けて調査したが，南・西面で Cladosporium 型がやや多い傾向が認められた。パイル天場における糸状菌の発生は，堆積15日後という，かなり早い時期から認められ，糸状菌発生個体率は漸増していったが，各菌叢型により期間中の消長は異なっていた（Table 38)。

観察および触診によれば，パイル側面は乾燥し，天場は湿潤で，断面は両者の中間的な水分環境になっていた。パイル側面を南・西面と北・東面に区分すると，前者における糸状菌の発生量は，後者よりも多い傾向があった。天場の状態を時期別に観察すると，堆積直後は乾燥していたが，パイルの被覆が行われ，野外温度が低下するにしたがって，12月中旬頃より菜根の表面が濡れ始め，以後，濡れの程度が増大していった。

Botrytis 型は，1月，3月の両時期とも，部位別発生率の平均値が，5菌叢型中，最も高く，パイル全体で優勢な型になっていると考えられた。本型は天場で初発時より認められ，糸状菌発生個体率の増加とともに漸増していった。前項において，*B. cinerea* は貯蔵腐敗病の病原の中でも分離率が突出して高く，菜根に対する病原性が最も強いことを述べた。パイルの部位を問わず，あらゆる部位の菜根表面に，本菌が優勢に発生し，腐敗の進行にともなって増加していくことが確認できた。

Cladosporium 型はパイル側面に多数観察された。南・西面と北・東面を比較すると，日射を受けて比較的高温になりやすい南・西面で，発生率がやや高かった。天場では，Botrytis 型と同様，初発時より認められ，菜根表面が乾燥していた12月までは，Botrytis 型よりも発生率が高かったが，天場の湿潤化とともに観察されなくなった。*Cladosporium* 属菌の中，*C. herbarum* (Pers.) Link ex S. F. Gray および *C. sphaerospermum* Penz.は，空気および土壌中に，ごく一般的に棲息しており，草本，木本の植物遺体上に着生して，腐生生活を送ると言われている[59]。本型は，パイル内が乾燥した環境にある時に，壊死を生じた周皮上に着生し，菌叢を伸長させたと判断される。また，南・西側面と北・東側面における発生率の比較から，乾燥に加えて比較的高温の環境下で，発生しやすいと判断される。

Penicillium 型は，1月の天場の最も優勢な型で，3月の天場と断面でも，第2に優勢な型となっていた。天場では初発時より認められたが，12月まではほとんど増加せず，貯蔵の中期以降に増加した。*Penicillium* 属菌は，一般には土壌棲息性で，食物上で腐生生活を送る糸状菌として知られている[158]。半澤・佐々木[84]の抄録には，パイルから分離された糸状菌の1つに，*P. expansum* が含まれるが，Kuehn and Gunderson[119]は，冷凍食品に発生する好冷性糸状菌として，本菌を含む *Penicillium* spp.を報告している。Penicillium 型は，貯蔵中期以降の，パイル温度は低温ながら，菜根の活性が低下してくる時期から，菌叢を伸長させたと考えられる。

Fusarium 型は，最終調査時にやや増加した。Tompkins and Nuckols[186]等，*Fusarium* 属を貯蔵腐敗病菌とする報告が多数あるが，Toporovskaya[189]によれば，貯蔵腐敗病菌の中，*B. cinerea* の最適温度が15～17°Cであるのに対し，*Fusarium* sp. は25～27°Cと報告されている。Fusarium 型は，パイルの高温化にともなって，菌叢を伸長させたと考えられる。

Geotrichum 型は，3月の天場で最も優勢な型となっていた。しかし，天場での推移を見ると，乾燥条件にあった12月までは，全く観察されず，1月中旬以降の湿潤条件下で急増した。代表的な本属菌の *G. candidum* Link は，貯蔵および輸送中にも発生するカンキツ白かび病の病原で[32]，Heintzeler[88]により，*Oidium lactis* の種名で，湿潤条件を好むことが報告されている。パイル内でも，湿潤条件が整った後に発生したと判断される。

パイルの天場には，中央高が約1.8 mの，かまぼこ形の空間が設けられている。菜根表面に発生した糸状菌の菌叢上には，多数の分生胞子が形成されるが，これらは，パイル内のわずかな気流に乗って，天場空間内に飛散すると考えられる。そこで，落下法または集じん法により[44]，浮遊胞子の構成比を調

Table 40 Correlation coefficient between the component ratios of fungal spores in space above storage pile and the factors of storage rot of sugar beet.

Fungal spores	% of moldy roots	% of rotten roots	Rot severity
Botrytis	0.752**a)	0.947**	0.945**
Cladosporium	−0.182	−0.601**	−0.569*
Penicillium	0.042	0.075	0.088

b) *, significant at 5 % level; **, at 1 % level.

査した。なお Jarvis[102] によれば，畑での *Botrytis* 胞子の飛散は，相対湿度が急激に変化する時期に最大になるとされるので，この時期に相当する午前10〜12時に採取を行った。

実験では空間内胞子とともに天場の菜根を採取したが，菜根における糸状菌発生個体率が，貯蔵初期からほぼ直線的に増加したのに対し，腐敗個体率および腐敗程度は，増加の開始時期がやや遅く，12月以降に漸増した（Fig. 8）。

空間内胞子の構成比を見ると，菜根表面に発生した菌叢と同属の *Botrytis*，*Cladosporium* および *Penicillium* の胞子が多数を占めていた（Table 39）。これらの胞子の増減を見ると，*Botrytis* の構成比は，貯蔵期間を通じて漸増し，*Cladosporium* の構成比は，12月中旬までは高かったが，以後漸減し，*Penicillium* の構成比は，貯蔵の後期にやや高くなった。これらの消長は，菜根表面に発生する菌叢型の消長とほぼ一致していた。

Table 40 に，空間内胞子の構成比と，菜根表面の糸状菌発生個体率，腐敗個体率および腐敗程度との一次相関係数を示した。*Cladosporium* の構成比と，腐敗個体率および腐敗程度との間には，各々1％，5％で有意な負の相関が認められた。Gregory and Hirst[80] によれば，農業地帯の空気中では，*Cladosporium* が40％以上を占め，優勢な種になっている。11月中旬の，パイル空間内胞子の構成比を見ると，*Cladosporium* が全体の51％を占めており，前者の値とほぼ等しいことから，堆積直後のパイル空間は，通常の農業地帯の空気と同一の，空中菌組成になっていると考えられる。しかし，パイル内の貯蔵腐敗の進展により，優勢となった他の糸状菌の胞子数が増加し，構成比が漸減したと判断される。*Botrytis* の構成比と3者との間には，いずれも1％水準で有意な，高い正の相関が認められた。これらの中では，*Botrytis* の構成比と腐敗個体率との相関係数が最も高かった。Fig. 9に，腐敗個体率と

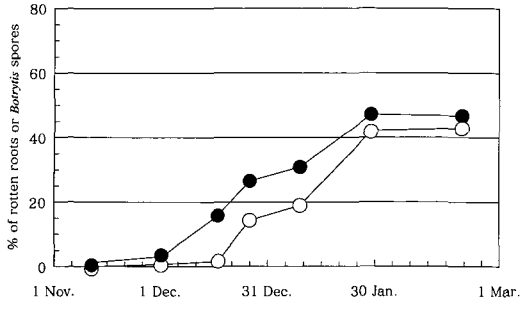


Fig. 9 Profiles of rotting and the component ratios of *Botrytis* spores in space above the top surface of a sugar beet pile[a].
a) Methodology was described in Fig. 8 and Table 39.
●; Average of rotten roots ○; Average of *Botrytis* spores

Botrytis の構成比の推移を，対比して示した。両者の推移はほぼ一致しているものの，腐敗個体率の明らかな増加が，12月中旬より始まったのに対し，*Botrytis* の構成比の増加は，これよりやや遅れて，12月下旬より始まった。パイル内では，堆積後，間もなく，菜根表面に糸状菌が発生するが，Botrytis 型が優勢となり，腐敗を生じる。腐敗個体の表面には，*Botrytis* の分生胞子が形成され，これらは天場空間内に飛散する。腐敗の進展とともに，分生胞子の形成量は増加し，やがて，天場空間内の空中菌としても，優勢な種になったと判断される。

B．パイルの温度環境と貯蔵菜根の劣化

貯蔵パイルは野外に堆積されるため，周囲の環境，特に外気温の影響を強く受ける。Devillers[47] も，貯蔵中の砂糖損失の最大要因は，貯蔵日数と貯蔵温度であると指摘している。また，Gaskill[68] 等，高温貯蔵時には，貯蔵腐敗の進行が速いとする報告が多い。大型パイルでは，各部位により環境が大きく異なると予想されるので，実際のパイルにおける部位別の温度分布，腐敗の発生，および砂糖損失量について検討した。

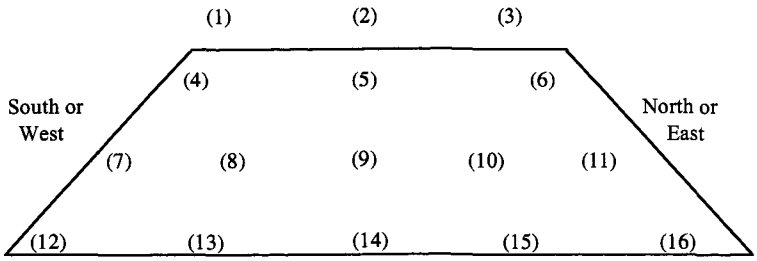


Fig. 10 Portions of a storage pile at which temperature and root qualities were determined[a].
a) One copper constantan censor and 40 beet roots were set up at each portion (No. 1-16) during the storage periods of 1981/82 to 1983/84 trials. The average storage period was 115 days. Temperature was monitored every three hours. At the same time, outside air temperature was measured at the location of 1.5 m above ground of storage yard. Beet roots were retrieved at the end of storage, and rot severity, root weight and sugar content were determined.

a．パイル温度

1）実験材料および方法

1981/82年度から1983/84年度の3製糖期，芽室製糖所構内に堆積したパイルを用いて調査した。パイルは底辺22 m，高さ4.5 m，長さ約100 mの断面台形の棒状で，パイルの天場に，中央高1.5 m以上の鉄製の枠体を載せ，ポリプロピレン製の織布およびシートで多重被覆した。なお貯蔵期間中，パイル管理のため，天場中央部のシートを人為的に開閉し，時々，除雪を行った。

Fig. 10に示す16ヶ所に，温度測定用のセンサー（銅－コンスタンタン熱電対）を埋設した。なお，1981/82年度と1982/83年度は東西に長い方向，1983/84年度は南北に長い方向にパイルを配置したので，両側面については，比較的高温に推移した南面と西面，低温に推移した北面と東面を，各々同一の部位とみなして調査した。また，野外温度測定のため，パイルに近接する高さ1.5 mの位置に柱を立て，遮光して温度センサーを設置した。各製糖期の調査開始月日，終了月日および貯蔵期間は以下の通りである。

年 次	1981/82年度	1982/83年度	1983/84年度
開始年月日	1981年11月1日	1982年10月28日	1983年10月26日
終了年月日	1982年3月2日	1983年2月25日	1984年2月7日
貯蔵期間	121日	120日	104日

温度は3時間毎に自動計測し，1日分の8点を平均して，日平均温度を求めた。同時に，最高温度と最低温度を記録した。

2）実験結果

貯蔵全期間の，部位別日平均温度の平均値をFig. 11に示した。野外温度は－4.6°Cで，パイル内温度はいずれも野外より高かった。最高は下層中央（No. 14）の5.8°C，最低は下層北東端（No.16）の－0.3°Cで，部位により，最大で6.1°Cの差があった。。パイル中央部（No.2，5，9，14）では，日平均温度が

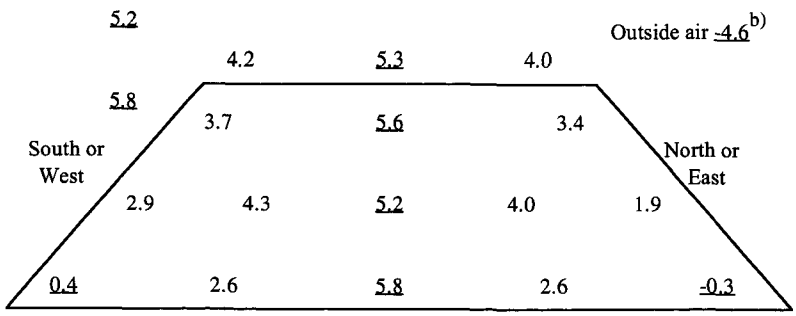


Fig. 11 Daily mean temperatures in each portion of storage piles throughout the storage period of 1981/82 to 1983/84 trials[a].
a) Methodology was described in Fig. 10.
b) Underlined figures are the temperatures above 5°C and below 1°C.

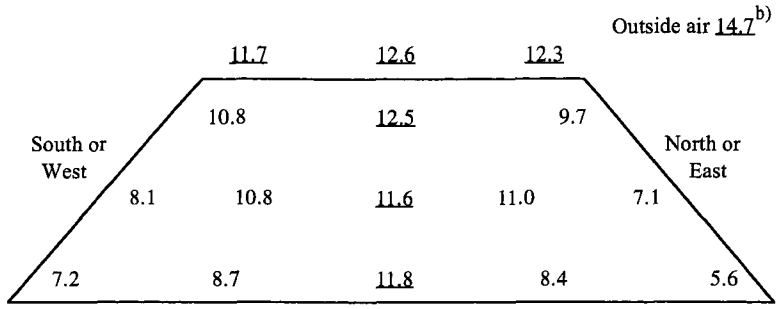


Fig. 12 Average of maximum temperatures in each portion of storage piles during 1981/82 to 1983/84 trials[a].
a) Methodology was described in Fig. 10.
b) Underlined figures are the temperatures above 11°C.

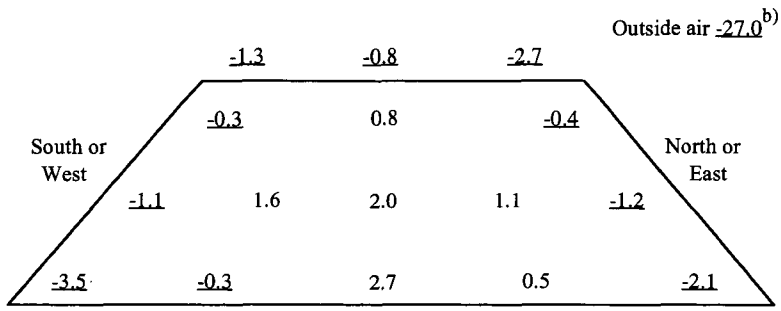


Fig. 13 Average of minimum temperatures in each portion of storage piles during 1981/82 to 1983/84 trials[a].
a) Methodology was described in Fig. 10.
b) Underlined figures are the temperatures below 0°C.

5°Cを越え，パイル下層の両端（No.12，16）では，1°C以下になった。

最高温度の3製糖期の平均値をFig.12に示した。野外温度の最高温度は14.7°Cで，パイル内温度はいずれも野外より低かった。最高は天場中央（No.2）の12.6°Cで，最低は下層北東端（No.16）の5.6°Cであった。パイル中央部（No.2，5，9，14）および天場両端（No.1，3）では，最高温度が11°Cを超えていた。

最低温度の3製糖期の平均値をFig.13に示した。野外温度の最低温度は−27.0°Cで，パイル内温度は，野外よりかなり高かった。最高は下層中央（No.14）の2.7°C，最低は下層南西端（No.12）の−3.5°Cであった。パイルの周囲(No.1，2，3，4，6，7，

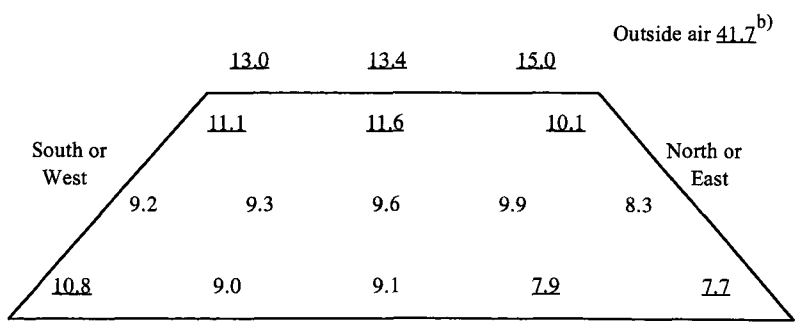


Fig. 14 Average of temperature ranges in each portion of storage piles during 1981/82 to 1983/84 trials[a].
a) Methodology was described in Fig. 10.
b) Underlined figures are the temperatures above 10°C and below 8°C.

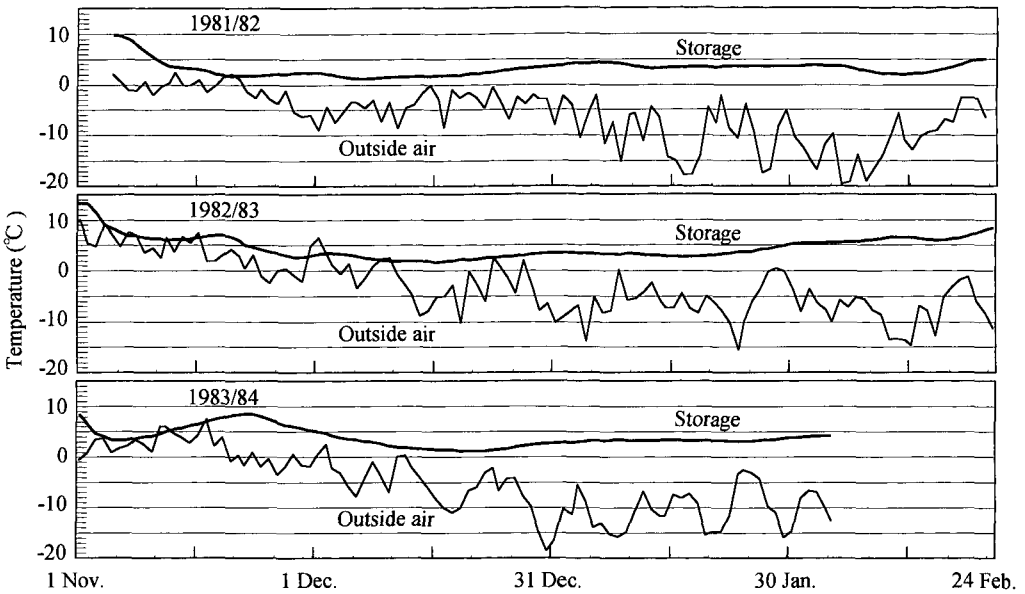


Fig. 15 Profiles of daily mean storage temperature and outside air temperature[a].
a) Storage temperature was measured at portion No. 10 of a storage pile (see Fig. 10). Outside air temperature was measured 1.5 m above the ground of a storage yard. Every 3 hours, data were collected and averaged as the daily temperature.

11, 12, 16)，および下層の南西端と中央の中間点（No.13）は，最低温度がマイナスとなった。

最高，最低温度から求めた貯蔵期間中の温度較差を Fig.14 に示した。野外温度の較差は 41.7°Cで，パイル内温度の較差は，いずれも，野外温度の値よりかなり小さかった。パイル内では，天場，上層（No. 1, 2, 3, 4, 5, 6）と下層南西端（No.12）の較差が 10°C以上と大きく，天場北東端（No.3）が 15.0°Cで最大であった。下層の北・東側の 2 部位（No.15, 16）は，温度較差が 8 °C以下と小さく，No. 16 が 7.7°Cで最小であった。

パイル全体の平均値に比較的近い，中層の，中央と北東端の中間点（No.10），および野外温度の，貯蔵期間中の推移を Fig. 15 に示したが，3 製糖期とも共通した傾向が認められた。野外温度は，測定開始時より 2 月中旬まで，激しく変動しつつ低下していった。No.10 の温度は，堆積直後は野外温度より，かなり高かったが，短期間に急激に低下し，野外温度に近い値となった。その後はゆっくりと低下し，12 月上，中旬に 1 ～ 2 °Cの範囲で最低となり，以後，搬出時までゆっくりと上昇した。

b．菜根の品質

1）実験材料および方法

温度測定を行った同一パイルのセンサー埋設位置に，調査用の菜根を埋設した（Fig. 10）。機械収穫した菜根から健全な個体を選別し，ナイフを用いてタッピング位置を切り揃えた。プラスチック製ネット袋に，10 個体あたりの重量が 9.6～10 kg になるように菜根を詰め，1 ヶ所あたり 4 袋を埋設した。なお埋設時の根中糖分は，1981/82 年度 16.11%，1982/83 年度 18.53%，1983/84 年度 14.80%であった。

貯蔵終了時に掘り出して秤量した後，全個体を割断して，既述の 6 階級の指数により調査し，次式により腐敗程度を算出した。

$$(\text{腐敗程度}) = \sum\{(\text{当該指数}) \times (\text{当該個体数})\} / (\text{調査個体数})$$

腐敗程度調査後，定法である Sachs-Le Docte 変法により根中糖分を測定し，埋設時と調査時の重量，根中糖分の変化から，砂糖損失量を算出した。

2）実験結果

部位別の腐敗程度を Fig. 16 に示した。最も腐敗程度が高かったのは，中層中央（No.9）で 0.29 であった。最も低かったのは下層南西端（No.12）で

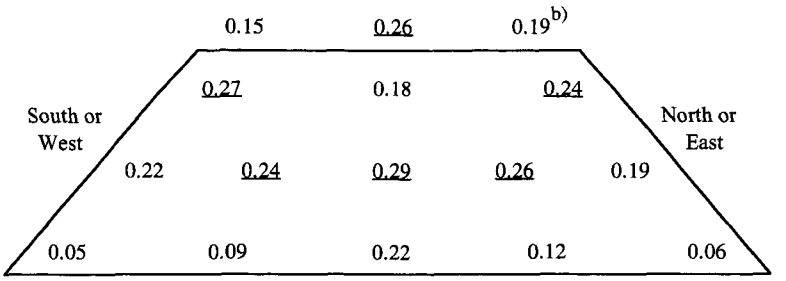


Fig. 16 Averages of rot severity in sugar beet roots in each portion of storage piles during 1981/82 to 1983/84 trials.[a)]

a) Methodology was described in Fig. 10.

b) Rot severity was determined based on a scale from 0 to 5. Underlined figures are averages above 0.24.

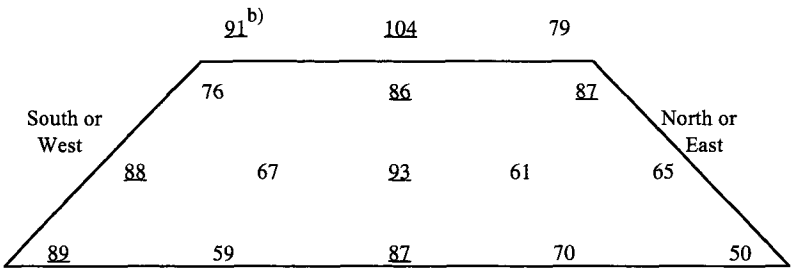


Fig. 17 Averages of daily sugar loss (g/t/day) in each portion of storage piles during 1981/82 to 1983/84 trials[a)].

a) Methodology was described in Fig. 10.

$$(\text{D.S.L.}) = \{(\text{Final S.C.}) \times \frac{(\text{W.C.})}{100} - (\text{Initial S.C.})\} \times \frac{10{,}000}{(\text{Days Stored})}$$

D.S.L.: daily sugar loss (g/t/day), S.C.; sugar content (%), W.C.; weight change (%)

b) Underlined figures are the averages above 80 g/t/day.

0.05であった。腐敗程度には最大で0.24の差があった。腐敗程度はパイル下層の両端（No.12, 16）が低く，パイル中心とその周辺(No.2, 4, 6, 8, 9, 10, 14）で高かった。

貯蔵期間中の，1日あたりの砂糖損失量をFig. 17に示した。最も多い砂糖損失量は天場中央（No.2）の104 g/t/dayで，実験を行った3製糖期の，貯蔵開始時の平均根中糖分が16.48%，平均貯蔵期間が115日であることから，貯蔵期間中に，菜根に含まれる全砂糖量の7.26%が失われた。最も少なかったのは下層北東端（No.16）の50 g/t/dayで，期間中に3.49%相当量の砂糖が失われた。砂糖損失量には最大で54 g/t/dayの差が認められた。パイル中央部と上方の両側(No.1, 2, 5, 6, 9, 14)および南・西側面の下方（No.7, 12）では，砂糖損失量が大きかった。

パイルの日平均温度の平均値，腐敗程度，および砂糖損失量を，天場，内部，および辺縁，または上，中，下層に区分して集計した数値をTable 41に示した。3製糖期の全部位の平均は，日平均温度3.5°C，腐敗程度0.20，砂糖損失量は，菜根が含有する全糖量の5.5%に達し，79 g/t/dayとなった。天場とその他の部位を比較すると，日平均温度，腐敗程度，および砂糖損失量の3者とも，天場が高かった。天場以外の部位を，内部と辺縁に区分して比較すると，日平均温度と腐敗程度は内部が高く，砂糖損失量は辺縁がわずかに大きかった。辺縁を南・西と北・東に分けて比較すると，3者とも南・西の値が高かった。天場以外の部位を，上，中，下層に区分して比較すると，日平均温度は下層から上層に向かって高くなり，砂糖損失量も，上層に向かうほど増加した。腐敗程度は下層が最も低く，中層と上層はほぼ等しい値であった。

Table 41 Daily mean temperature, rot severity and daily sugar loss in various parts of storage piles.

Division	Portion No.	Daily mean temp. (°C)	Rot severity[b)]	D.S.L. (g/t/day)[c)]
Top surface	1, 2, 3	4.5	0.24	98
Inner part	4～16	3.2	0.19	75
Rim	12, 7, 4, 5, 6, 11, 16	2.5	0.17	77
South or west	4, 7, 12	2.4	0.18	84
North or east	6, 11, 16	1.6	0.16	67
Inside	8, 9, 10, 13, 14, 15	4.1	0.20	73
Top	4, 5, 6	4.2	0.23	83
Middle	7, 8, 9, 10, 11	3.6	0.24	75
Bottom	12, 13, 14, 15, 16	2.2	0.11	71
Average	1～16	3.5	0.20	79
Outside air		−4.6	−	−

a) Method was shown in Fig. 10.
b) Rot severity was determined based on a scale from 0 to 5.
c) $(\text{D.S.L.}) = \{(\text{Final S.C.}) \times \frac{(\text{W.C.})}{100} - (\text{Initial S.C.})\} \times \frac{10{,}000}{(\text{Days stored})}$
D.S.L.: daily sugar loss (g/t/day), S.C.; sugar content (%), W.C.; weight change (%)

c. 考　　察

1980年代における北海道の貯蔵パイルは，高さ4～4.5 m，底辺20～22 mで，原料菜根の裁断が開始される10月中旬から，終了する2～3月まで，被覆は行うが通風は行わずに貯蔵管理されていた。近年，高さは変わらないものの，底辺は27 m程度まで拡幅されたが，管理方法は，基本的には変わっていない。他国と比較すると，パイルの規模はオーストリアのものに近いが，同国の貯蔵期間は約40日であり，かなり短い[76]。アメリカでは150日以上の長期貯蔵が行われているが，パイルの規模は高さ5～7 m，底辺55～67 mで，通風を行っており，北海道の管理法とはかなり異なっている[22]。調査を行ったパイルの日平均温度は−0.3～5.8°Cで，部位により6.1°Cの差があり，パイル内温度が均一でないことが確認できた(Fig. 11)。高温部はパイルの中央で，低温部はパイル下層の両端であったが，同様の規模のパイル温度を調査した堂腰ら[54]の調査結果と一致していた。

貯蔵菜根は，呼吸により体内の砂糖を消費するが，ATPとして蓄積されない自由エネルギーの一部は，直接，熱として体外に放出される。パイルはシートにより被覆されているものの，周囲には低温の外気があり，熱伝導により，外気から遠いパイルの中心部は高温化し，辺縁，特に，薄層化している下層の両端は低温化すると判断される(Fig. 11)。最低温度についても同様の機作により，パイルの周囲で低下していた (Fig. 13)。

野外の熱源としては，外気の他に日射がある。貯蔵場には，実験を行ったパイルと同型のものが，複数，並置されており，高位置にあたるパイルの天場は，強い日射を受けるが，下層ほど受光は少ない。また，南・西側面に比べて，北・東側面では受光が少ない。最高温度を見ると，日平均温度の高かったパイル中央の4部位に加えて，天場の両端が高かった(Fig. 12)。最高，最低の温度較差を見ると，天場，上層とともに下層南西端が大きく，下層北東部が小さかった(Fig. 14)。これらの差は，日射による放射熱の獲得の多寡により生じたと判断された。

パイル温度の経時的推移を見ると，堆積直後はかなり高く，その後，急激な低下があったが，以後は安定し，堆積1～1.5カ月後に最低となり，以後はゆっくりと上昇した (Fig. 15)。Stout[178]によれば，菜根の呼吸率は，収穫直後はかなり高いが，数日内に直線的に低下するとされる。Wyse and Peterson[212]も，貯蔵開始の10日間は，呼吸率が顕著に高いことを指摘している。貯蔵開始時に認められた急激な温度変化は，人為的な管理操作とともに，菜根呼吸率の変化による呼吸熱の急激な減少のためと判断される。また早坂[85]は，室内における4°Cでの貯

蔵実験の結果から，呼吸率は，収穫50日後に最低になり，以後は漸増すると述べた。貯蔵パイルでは，管理のために人為的開閉を行ってはいるが，貯蔵期間中の経時的な温度推移には，菜根から放出される呼吸熱の変化が，主に関与していると考えられた。

パイルの腐敗程度の平均は0.20，砂糖損失量の平均は79 g/t/dayであった（Table 41）。Graf[76]によれば，ヨーロッパの貯蔵場における平均的な砂糖損失量は175 g/t/dayであるとされる。北海道の1日あたりの砂糖損失量は，ヨーロッパの水準よりも低い値であったが，菜根の収穫時の根中糖分が，本実験に用いた16.48%，北海道の貯蔵期間が115日，ヨーロッパでは40日と仮定すると，貯蔵全期間を通じて，北海道では菜根に含まれる全砂糖量の5.5%が，ヨーロッパでは4.2%が失われることになり，北海道の損失量の方が大きいとも言える。

パイルを部位別に見ると，腐敗程度はパイル中心とその周辺で高く（Fig. 16），砂糖損失量は腐敗程度の高い部位と，南・西側面の下方で大きかった（Fig. 17）。菜根を高温で貯蔵する時，腐敗程度[68,92]および砂糖損失量[125]が増加することは良く知られている。パイルの部位を幾つかに区分して比較すると，天場とその他の部位では天場が，内部と辺縁では内部が，上層と下層では上層が，各々腐敗程度が高かったが，いずれも日平均温度の高低の傾向と一致していた（Table 41）。日平均温度と腐敗程度の回帰を求めた結果，1%水準で有意な正の相関（r＝0.735）が認められ，パイル内の高温の部位で，腐敗程度が高くなっていることが確認できた（Fig. 18）。

砂糖損失量は，腐敗程度と同じく，天場とその他の部位では天場が，上層と下層では上層が，各々大きかったが，内部と辺縁を比較すると，腐敗程度とは逆に，辺縁の砂糖損失量が大きかった。これは，特に南・西側面の砂糖損失量が大きかったことに起因していた（Table 41）。日平均温度と砂糖損失量の回帰を求めた結果，5%水準で有意な正の相関（r＝0.544）が認められたものの，温度と腐敗程度の関係に比べて，両者の相関係数は小さかった。また，腐敗程度と砂糖損失量の間には，明確な相関は認められなかった（Fig. 18）。Wyse and Dexter[209]は，貯蔵中に発生する総砂糖損失量の50～60%は，菜根の呼吸により発生していると報じた。Bugbee and Cole[24]によれば，貯蔵腐敗に起因する砂糖損失量は，総量の約10%とされる。砂糖損失の原因として

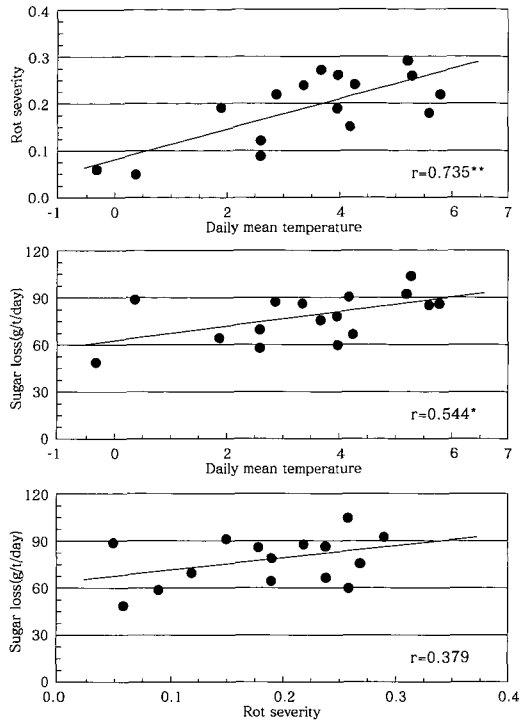


Fig. 18 Linear regressions of daily mean temperature, rot severity and sugar loss in a storage pile.
a) Data were those from Figures 11, 16 and 17.
b) Correlation coefficient*, significant at 5% level;**, at 1% level.

は，これらの他に，貯蔵中の萌芽や，凍結した菜根の微生物による二次腐敗が知られている。実験において，日平均温度が平均以下であった南・西側面での砂糖損失量が大きかったが，当該部分は最低温度が低く，温度較差が大きかったことから，凍結による二次的腐敗も生じており，温度と砂糖損失量の相関係数を，低下させたと考えられた。

V．貯蔵腐敗病の制御

Gaskill[69]は，収穫した菜根を乾燥させると，貯蔵腐敗が増加することを報告した。貯蔵温度が腐敗の進行に最も大きな影響を及ぼすことは，前項で確認した。殺菌剤チアベンダゾールが，貯蔵腐敗の抑制に有効であることが，Mumford and Wyse[137]や他の研究者により報告されている。貯蔵腐敗病制御のための水分，温度条件と，殺菌剤，その他を利用した方法について検討した。

a．菜根の水分と貯蔵腐敗病発生の関係

1）実験材料および方法

手掘した菜根を，電動送風機を用いて乾燥し，5，10および20%の乾燥個体を作製した。これらを大型のポリエチレン袋に20本ずつ入れ，プラスチックコンテナに納めた。8°Cの倉庫に52日間貯蔵し，調査した。実験は3反復で実施した。

また，手掘した菜根を，湿らせた紙製および化学繊維製の拭き取り布（キムタオルおよびキムテックス，（株）十條キンバリー）で被覆した。これらを大型のポリエチレン袋に20本ずつ入れ，プラスチックコンテナに納めた。8°Cの倉庫に貯蔵し，所定の吸水率に達するまで，時々，秤量を行って水を補給した。所定の吸水率に達したものは，その時点で被覆を除去し，133日間貯蔵後に調査した。実験は4反復で実施した。

既述の方法により腐敗程度を求め，根中糖分，還元糖を測定した。貯蔵後の砂糖量および還元糖量は，重量補正を行い，収穫時の菜根100gあたりの数値として表示した。

2）実験結果

乾燥処理の結果をTable 42に示した。5～20%，菜根を乾燥させるために，25～117時間を要した。無処理の，52日間貯蔵後の乾燥は1%であった。貯蔵終了時の腐敗個体率および腐敗程度は，無処理では，各々10.0%，0.05であったが，他の処理では，乾燥割合の増加にともなって漸増し，21%乾燥では，各々91.7%，0.87になった。貯蔵後の砂糖量は乾燥割合

Table 42　Effects of drying of sugar beet roots immediately harvesting.

Ventilation[a)] (hours)	Weight change[b)] (%)	Rotten roots (%)	Rot[c)] severity	Sugar[d)] (g/100g)	Red. sugar[e)] (mg/100g)
117	−21	91.7	0.87	16.4(94)[f)]	615(634)
43	−11	65.0	0.54	16.7(95)	335(345)
25	− 5	36.7	0.36	17.2(98)	225(232)
0	− 1	10.0	0.05	17.5(100)	97(100)

a) Beet roots except for the control were dried with a ventilator immediately harvesting. Each unit was kept inside a polyethylene bag and stored in warehouse at 8 °C for 52 days. A trial was conducted in three replicates of 20 roots/unit.

b) $(\%\text{ of weight change}) = \frac{(\text{Weight after storage})}{(\text{Weight at harvest})} \times 100 - 100$

c) Rot severity was determined based on a scale from 0 to 5.

d) Sugar; g per 100g of fresh roots at harvest.

e) Reducing sugar; mg per 100g of fresh roots at harvest.

f) Figures in parentheses are the index for control (=100).

Table 43　Effect of water supply during storage period.

Water supply[a)] (days)	Weight change[b)] (%)	Rotten roots (%)	Rot[c)] severity	Sugar[d)] (g/100g)	Red. sugar[e)] (mg/100g)
133	+10	22.5	0.22	17.4(107)[f)]	158(52)
77	+ 5	33.8	0.29	16.9(104)	187(62)
14	+ 3	47.5	0.66	16.5(102)	395(131)
0	− 1	61.3	0.84	16.2(100)	301(100)

a) Except for the control, each beet root was wrapped in wet papers and synthetic textiles during the water supplying period. An unit of 20 roots was kept inside a polyethylene bag and stored in a warehouse at 8 °C for 133 days. A trial was conducted in four replicates of 20 roots/unit.

b) $(\%\text{ of weight change}) = \frac{(\text{Weight after storage})}{(\text{Weight at harvest})} \times 100 - 100$

c) Rot severity was determined based on a scale from 0 to 5.

d) Sugar; g per 100g of fresh roots at harvest.

e) Reducing sugar; mg per 100g of fresh roots at harvest.

f) Figures in parentheses are the index for control (=100).

の増加にともなって，明瞭に漸減し，還元糖量は明瞭に漸増した。21%乾燥の砂糖量は，無処理に比べ6%減少し，還元糖量は無処理の6.34倍になった。

給水処理の結果をTable 43に示した。菜根の吸水は，乾燥に比べると非常に緩慢で，3%吸水に14日間，5%吸水に77日間を要した。全133日間では，10%の吸水となった。貯蔵後の腐敗個体率および腐敗程度は，無処理では，各々61.3%，0.84であったが，他の処理は，吸水量の増加にともなって漸減し，10%吸水では，各々22.5%，0.22になった。貯蔵終了時の砂糖量は吸水割合の増加にともなって，漸増する傾向が見られ，還元糖量は，5%以上の吸水では，無処理より低い値となった。10%吸水の砂糖量は，無処理に比べ7%高く，還元糖量は無処理の約半分であった。

b．貯蔵温度と貯蔵腐敗病発生の関係

1）実験材料および方法

1988/89年度～1992/93年度までの5年間，10月末（平均10月29日）に手掘して，通常のタッピングを行った菜根を，毎年480本用意した。これらを重量がほぼ均等になるように20本ずつに区分した後，160本を用いて開始時の根中糖分を測定した。残りの中160本には，貯蔵腐敗抑制のため，ジクロランおよびチオファネートメチルを含む調整殺菌剤を，各々0.5 g a.i./kgの割合で，菜根に粉衣した（薬剤処理）。残った160本は無処理とし，各々，大型のポリエチレン袋に20本ずつ入れ，プラスチックコンテナに納めた。無処理と薬剤処理の各4コンテナ，計8コンテナずつを秤量後，高温または低温の倉庫に格納し，11月中旬（平均11月12日）から3月中旬（平均3月19日）まで，平均127日間貯蔵後，調査した。

既述の方法により腐敗程度を調査した後，無処理はそのまま，薬剤処理は腐敗した組織を切除して，根中糖分を測定し，既述の式により砂糖損失量を求めた。貯蔵開始時および調査時の，重量および根中糖分を用いて，1日あたりの砂糖損失量を求めた。薬剤処理の値は，腐敗による損失を含まない，主に呼吸による損失とみなし，無処理との差から，腐敗による損失を算出した。各倉庫には自記温度計を設置し，貯蔵中の庫内平均温度を求めた。

2）実験結果

低温貯蔵（平均4.5°C）の結果をTable 44に示した。手掘した菜根を使用したため，貯蔵腐敗の発生は少なかったが，腐敗個体率，腐敗程度の平均は，各々27.3%，0.25となった。無処理の平均砂糖損失量は49 g/t/dayで，薬剤処理では37 g/t/dayとなった。無処理の砂糖損失量を呼吸と腐敗による損失の和，薬剤処理の損失量を呼吸による損失と見なし，両者の差から算出した貯蔵腐敗による損失は，年度により0～31 g/t/dayまで変動したが，平均12 g/t/dayと算出された。

高温貯蔵（平均9.3°C）の結果をTable 45に示した。低温貯蔵に比べて明らかに貯蔵腐敗が増加し，腐敗株率は，低温貯蔵の1.30倍にあたる35.5%，腐敗程度は1.44倍にあたる0.36となった。平均砂糖

Table 44 Relationship between incidence of storage rot and sugar loss under low-temperature storage[a].

Year	Storage temp. (°C)	Rotten roots (%)	Rot[b] severity	Sugar loss (g/t/day)[c]		
				Total	Respiration	Storage rot
1988/89	5.4	20.4	0.23	78	70	8
1989/90	4.7	22.5	0.25	31	30	1
1990/91	4.5	55.0	0.42	79	50	29
1991/92	4.2	16.3	0.16	21	21	0
1992/93	3.8	22.5	0.19	34	13	31
Average	4.5	27.3	0.25	49	37	12

a) Sugar beets were harvested manually and topped following commecial standards at the end of October. Eighty roots each for nontreatment and chemical treatment to inhibit storage rot were stored in a warehouse from November to March (average period of 127 days).

b) Rot severity was based on a scale from 0 to 5.

c) Total sugar loss was calculated from the non treatment data. Sugar loss due to respiration was calculated from the chemical treatment data which did not include rotten tissues. Sugar loss due to storage rot was calculated as follows:
(Sugar loss due to storage rot)=(Total sugar loss)−(Sugar loss due to respiration)

Table 45 Relationship between incidence of storage rot and sugar loss under high-temperature storage[a].

Year	Storage temp. (°C)	Rotten roots (%)	Rot severity	Sugar loss (g/t/day)		
				Total	Respiration	Storage rot
1988/89	9.5	35.0	0.34	103	98	5
1989/90	9.4	25.0	0.33	50	40	10
1990/91	9.3	51.3	0.55	93	79	14
1991/92	9.3	31.3	0.29	51	38	13
1992/93	9.1	35.0	0.27	76	41	35
Average	9.3	35.5	0.36	75	59	16

a) Methodology was described in Table 44.

損失量は，無処理 75 g/t/day，薬剤処理 59 g/t/day で，低温貯蔵の，各々1.53 倍，1.59 倍に相当し，増加割合は，腐敗株率および腐敗程度の値より大きかった。無処理と薬剤処理の差より算出した腐敗による損失は，年度により 5～25 g/t/day まで変動したが，いずれの年度も低温貯蔵より大きな値で，平均 16 g/t/day と算出され，低温貯蔵の 1.33 倍に相当した。

c．殺菌剤および食品添加物による貯蔵腐敗病の防除

1）実験材料および方法

殺菌剤としてクロロタロニル，ジクロゾリン，ジクロラン，イプロジオン，プロシミドン，チアベンダゾール，チオファネートメチル，およびビンクロゾリンを，食品添加物としてグリシン，レシチン，塩化カリウム，塩化ナトリウム，炭酸ナトリウム，炭酸水素ナトリウム，および砂糖を供試した。

テンサイ菜根から，1辺 6 cm，高さ 2 cm の切片を作製した。所定の濃度に調整した溶液に，切片を1分間，浸漬した。*Botrytis cinerea* の 3 菌株（BO-2；1968 年，帯広市にて分離，BO-4；1979 年，帯広市にて分離，55-SR-004；1981 年，芽室町にて分離）を，予め PDA で生育させ，菌叢の辺縁をコルクボーラで打ち抜いて，処理後の切片の中央部に載せた。湿室，15°Cに 7～10 日間静置し，調査した。実験は 4 反復で実施した。

収穫した菜根を，10 本あたりの重量が均等になるように区分した。動力噴霧器を用いて，重量の 1％相当の薬液を，菜根表面に噴霧した。風乾後，プラスチック製ネット袋に 10 本ずつ詰め，倉庫内に堆積した菜根の山に埋め込んだ。水道水をミスト状に添加した湿潤な外気を時々送風し，庫内温度 3～5 °C で，118 日間貯蔵し，調査した。実験は 3 反復で実施した。

収穫した菜根を，重量が均等になるように区分し，プラスチック製ネット袋に 10 本ずつ詰めた。製糖工場の貯蔵場に堆積した幅 22 m，高さ 4.5 m のパイル

Table 46 Effects of fungicides to *Botrytis cinerea* isolated from sugar beet roots with storage rot.

Fungicide	Concentration[a] (ppm)	Rot index[b]			Phytotoxicity
		BO-2[c]	BO-4[c]	55-SR-04[c]	
Chlorothalonil	750	50			−
Dichlozolin	500	1			−
Dicloran	500	3	4		−
	1000			19	−
Iprodione	500		7		−
	1000			8	±
Procymidone	500		7		−
	1000			8	−
Thiabendazole	600	12			−
Thiophanate-methyl	700	32	93	−	
Vinclozolin	1000			10	±
Non treatment	−	100	100	100	

a) Four cubic sections (6 cm x 6 cm x 2 cm each) of sugar beet roots were dipped in each fungicide solution for one minute. Mycelial inoculum grown on PDA was placed at the center of section. The sections were incubated in a moist chamber at 15 °C. Area of lesion was measured after 7 to 10 days of inoculation.

b) Rot index=(Area of lesion)/(Area of lesion of untreated sections) x 100

c) Number of *Botrytis cinerea* isolate.

の天場に，4袋を1組として，半面が見えるように埋設した。背負い式動力噴霧器を用い，4 L/m² の水量で薬剤を散布した。通常の管理を行って116日間貯蔵し，調査した。実験は5反復で実施した。なお，貯蔵期間中のパイル平均温度は4.1°Cであった。

菜根切片では，腐敗面積を測定し，無処理を100とする指数を算出した。同時に，切片組織の変化（薬害）について肉眼観察した。

倉庫およびパイルに埋設した菜根は，糸状菌発生個体率，または0～5の指数による糸状菌発生程度を調査し，薬害の有無を肉眼観察した。埋設時と調査時の重量，根中糖分の変化から，砂糖損失量を算出した。

2）実験結果

殺菌剤の検索結果をTable 46に示した。いずれの薬剤も *B. cinerea* の菌糸伸長を抑制した。ジクロゾリン，ジクロラン，イプロジオン，プロシミドン，チアベンダゾール，およびビンクロゾリンは，腐敗面積指数が20以下となり，卓効が認められた。イプロジオン1,000 ppm処理では，切片表面が軽く変色した。ビンクロゾリンの1,000 ppmでは，1切片に小型のかいようが認められた。

食品添加物の結果をTable 47に示した。ほとんどの処理で，*B. cinerea* の菌糸伸長が促進される傾向が認められたが，グリシンではやや抑制された。しかし，10%の高濃度処理でも，腐敗面積指数は61であり，殺菌剤処理に比べると，明らかに効果が劣った。塩化ナトリウム30%では，切片表面が軟質になった。炭酸ナトリウム60%では，切片表面が変色した。

菜根を用いた倉庫貯蔵の結果をTable 48に示した。プロシミドンの糸状菌発生個体率は10%で，無

Table 47 Anti-fungal effects of chemical compounds against *Botrytis cinerea* isolated from sugar beet roots with storage rot[a].

Chemical compound	Concentration (%)	Rot index[b]	Phytotoxicity
Glycine	1	89	−
	10	61	−
Lecithin	1	106	−
	10	121	−
Potassium chloride (KCl)	1	122	−
	42	146	−
Sodium chloride (NaCl)	5	105	−
	30	196	+
Sodium carbonate (Na_2CO_3)	2	134	−
	60	9	+
Sodium hydrogencarbonate ($NaHCO_3$)	1	125	−
	10	111	−
Sucrose	12	124	−
Non treatment	−	100	

a) Methodology was described in Table 46.
b) Isolate 55-SR-04 of *B. cinerea* was used as the inoculum.

Table 48 Effects of fungicides on incidence of storage rot of sugar beet in a warehouse[a].

Fungicide	Amount applied (mg a.i./kg root)	% of moldy roots	Sugar loss (g/t/day)	Phytotoxicity
Dicloran	12.5	37	59	−
Thiabendazole	15.0	37	98	−
Procymidone	12.5	10	131	+
Non treatment	−	35	80	

a) Ten roots for each fungicide treatment by spraying were placed inside a plastic net bag, and were then buried into the piled sugar beet roots in a warehouse. The beet roots were stored at 3 - 5 °C with ventilation with humid air for 118 days. Each trial was conducted in three replicates of 10 roots/unit.

Table 49 Effects of fungicides on incidence of storage rot roots located on the top surface of a sugar beet storage pile.

Fungicide	Amount applied (g a.i./m²)	Mold severity[b)]	Sugar loss (g/t/day)	Phytotoxicity
Dicloran	5.0	0.12	51	−
Thiabendazole	6.0	0.16	63	−
Non treatment	−	0.29	169	

a) Forty roots for each treatment were set on the top surface of sugar beet storage pile, and were then sprayed with each fungicide with a shoulder-type sprayer. The pile was stored at 4.1 °C as mean temperature for 116 days. Each trial was conducted in five replicates of 40 roots/unit.
b) Mold severity was determined based on a scale from 0 to 5.

処理の35%に比べて低下した。しかし，菜根表面は黒変しており，砂糖損失量は131 g/t/dayで，無処理の80 g/t/dayより明らかに大きかった。ジクロランとチアベンダゾールの発生個体率は，ともに37%で，無処理とほぼ等しかった。チアベンダゾールの砂糖損失量は98 g/t/dayで，無処理よりわずかに大きかったが，ジクロランでは59 g/t/dayとなり，無処理より小さかった。

パイル天場における実験結果をTable 49に示した。ジクロラン，チアベンダゾールの糸状菌発生程度は，各々0.12，0.16で，無処理の0.29より明らかに低かった。砂糖損失量も，各々51 g/t/day，63 g/t/dayとなり，無処理の169 g/t/dayより顕著に小さくなった。両剤の比較では，チアベンダゾールよりジクロランの方が，発生程度，砂糖損失量ともに小さかった。

d．拮抗細菌による貯蔵腐敗病の防除

1）実験材料および方法

十勝地方7市町村の，種々の作物が作付けされた畑および非耕作地の土壌133点を採取した。6ヶ所の貯蔵場に堆積されたパイルから，健全または腐敗した菜根の組織片36点を採取した。

土壌または組織片の摩砕物10 gに，滅菌水90 mlを加え，10分間振盪して10^1液を作製し，順次，10^6液まで希釈した。細菌の分離にはアルブミン寒天培地および100倍希釈肉エキス寒天培地（以下DNB）を用いた。希釈液の3濃度を選び，1濃度1培地あたり5枚の平板に，1平板あたり0.1 mlの割合で希釈液を分注し，コンラージ棒で全体に塗り広げた。これを25°C，暗黒に，10〜14日間静置した。

接種用貯蔵腐敗病菌株として58-SR-105（*Botrytis cinerea*；1984年，芽室町にて分離）および57-SR-061（*Penicillium expansum*；1983年，芽室町にて分離）を用いた。*B. cinerea*はCzapek-Dox培地を基本とする完全培地[37]，*P. expansum*はPDAを用い，25°C，1日3時間照明下に静置し，分生胞子を形成させた。静置7日後に，Tween 80 1 ml/Lを含む10%滅菌スクロース液を分注し，形成された分生胞子を浮遊させ，滅菌ガーゼで濾過した後，10^5胞子/mlに濃度を調整した分生胞子懸濁液を作製した。

静置後の細菌分離培地の中，出現した細菌コロニー数が20〜500個の培地を10枚選び，*B. cinerea*または*P. expansum*の胞子懸濁液を，各5枚ずつに噴霧接種した。これらを25°C，暗黒に，3日間静置し，コロニー周辺に阻止円を形成した細菌を分離した。

純化後，分離時と同一のアルブミン寒天培地またはDNBに画線し，4°Cおよび8°Cに1ヶ月静置し，生育の有無を調べた。

各分離株をペプトン，酵母エキス液体培地，25°Cで，5日間振盪培養した。PDA平板の中央部に，直径8 mmの滅菌ペーパーディスクを置き，培養液40 μlをディスク内に分注し，4時間静置した。前述の*B. cinerea*または*P. expansum*の胞子懸濁液を，各4枚の平板に噴霧接種し，25°C，暗黒に，さらに2日間静置して，形成された阻止円の直径を測定した。

テンサイ菜根切片を作製し，先端が鈍い円錐形をした鉄棒を，一定の高さから落下させて，切片中央部に小孔を作った。前述の各分離株培養液0.8 mlを，切片上面に塗布した後，10^7胞子/mlに調整した*B. cinerea*または*P. expansum*の胞子懸濁液を切片中央の小孔に分注した。湿室，8°Cに2週間静置し，出現した病斑の面積を測定した。

菜根切片に，各分離株培養液を穿針接種し，湿室，25°Cに4日間静置し，組織の変化を観察した。

Table 50 Five bacterial isolates antagonistic to pathogens causing storage rot of sugar beet.

Isolate	Isolation			Minimum temperature for growth[b)]	Dim. of inhibition zone (mm)[c)]	
	Locality	Material[a)]	Medium		*B. cinerea*	*P. expansum*
D-19.2	Makubetsu	Soil (radish)	DNB	8	19	14
D-189.2	Obihiro	Soil (maize)	DNB	4	23	17
D-193.1	Obihiro	Soil (wheat)	DNB	4	20	12
D-197.2	Obihiro	Soil (soy bean)	DNB	4	30	19
D-202	Obihiro	Soil (sugar beet)	DNB	4	33	18

a) Crops in parentheses were those cultivated in fields from which soil samples were collected.
b) Bacterial colonies grew on DNB at 4°C or 8°C for one month.
c) Forty μl of bacterial suspension each isolate was applied onto paper discs on albumin agar plates, after which spore suspension of *Botrytis cinerea* or *Penicillium expansum* was sprayed on the agar plates. The diameter of inhibition zone on the plate was measured after incubation for two days at 25 °C.

ほぼ重量の等しいテンサイ菜根を4分割し，これらから無作為に，1細菌株あたり4片を選んだ。前述の各分離株培養液に組織片を浸漬し，菜根重量の約2％量を付着させた。対照には，殺菌した液体培地を付着させた。ポリエチレン袋に異なる細菌株を処理した5片を1組として入れ，8°Cに2ヶ月間静置した後，腐敗程度および根中糖分を測定した。

上述の各実験結果を基に，5細菌株を選抜した。比較対照としてIFO-14595菌株（*Pseudomonas cepacia*）を用い，定法により形態および生理生化学的性質を調査した。

手掘した菜根に，自作した加傷機を用いて，軽い打撲傷を与えた。一部は根中糖分を測定し，残りは，20本あたりの重量が均等になるように区分した。ペプトン，酵母エキス液体培地，25°Cで，2日間振盪培養した各菌株の培養液に浸漬し，菜根重量の約2％量を付着させた。薬剤処理では，ジクロランおよびチオファネートメチルを，各々0.5 g a.i./kgの割合で，菜根に粉衣した。対照には，殺菌した液体培地を付着させた。大型のポリエチレン袋に20本を入れ，さらにプラスチックコンテナに納めた後，重量を測定した。8°Cの倉庫に107日間貯蔵し，腐敗を調査し，重量，根中糖分を測定した。実験は3反復で行った。

2）実験結果

B. cinerea または *P. expansum* に抗菌活性を示した細菌3114株を分離した。分離源別では，土壌から3013株，テンサイ菜根組織片から101株を分離した。分離培地別ではアルブミン寒天から1,896株，DNBから1,218株を分離した。

これらの中，低温での生育が可能で，培地上での

Table 51 Antifungal effects and phytotoxicity of five isolates of bacteria on beet root sections[a)].

Isolate	Rot index[b)]		Phytotoxicity[c)]
	B. cinerea	*P. expansum*	
D-19.2	25	42	−
D-189.2	34	86	−
D-193.1	32	48	−
D-197.2	29	61	−
D-202	34	56	−

a) Surfaces of the cubic sections of beet root were coated with 0.8 ml of bacterial suspension of each isolate. Spore suspension of *Botrytis cinerea* or *Penicillium expansum* was poured into the hole made of the center of the surface. The sections were incubated in a moist chamber at 8 °C. The area of lesions was measured after two weeks.
b) Rot index=(Area of lesions)/(Area of lesions of noncoated) x 100
c) Necrosis of root tissues was observed four days after inoculation by the puncturing method.

B. cinerea および *P. expansum* の両者に対して大型の阻止円を形成する細菌株，テンサイ切片上でも両貯蔵病菌の生育を抑制し，かつテンサイに病原性を示さない細菌株，菜根の4分割片に対する処理で，貯蔵腐敗病の発生が少なく，かつ静置後の根中糖分が高い細菌株を順次選抜した結果，5細菌株を得た。D-19.2菌株は幕別町のダイコン畑土壌，他の4菌株は，作物は異なるものの，いずれも帯広市内の畑土壌から分離された細菌株となった。分離培地は全てDNBであった。Table 50に示すように，D-19.2菌株の生育下限温度は8°Cであったが，他の4菌株は全て4°Cであった。PDA平板上での阻止円の直径

は，*B. cinerea* に対しては 19～33 mm，*P. expansum* に対しては 12～19 mm で，*B. cinerea* に対する阻止円の方が大きかった。Table 51 に示すように，テンサイ切片上での腐敗面積指数は *B. cinerea* 接種では 25～34，*P. expansum* 接種では 42～61 で，*B. cinerea* に対する腐敗抑制効果の方が高かった。Table 52 に示すように，いずれの細菌株も，テンサイ菜根の 4 分割片で，貯蔵腐敗病の発生を抑制し，2 ヶ月静置後の根中糖分は，対照よりも高い値を示した。5 細菌株間では，D-19.2 およびD-193.1 の腐敗程度が低く，D-189.2 の値が高かった。

Table 52 Control of storage rot and sugar loss in split sugar beet roots by antifungal bacteria.

Isolate[a)]	Rot severity[b)]	Sugar content (%)
D-19.2	0.15	16.26
D-189.2	0.60	16.24
D-193.1	0.00	16.32
D-197.2	0.15	16.41
D-202	0.35	16.62
Control[c)]	1.80	15.08

a) A beet root split into four. About 5 ml of bacterial suspension was applied to each split by dipping. The four splits were kept inside a polyethylene bag and incubated at 8°C for two months. Each trial was conducted in five replicates.
b) Rot severity was conducted based on a scale from 0 to 5.
c) Root splits were dipped in a sterilized nutrient solution.

選抜した細菌株の形態および生理生化学的性質を Table 53 に示した。5 細菌は全て短桿状で，大きさは 0.6～1.1×1.2～3.1 μm，グラム陰性，1～数本の極毛を有した。生理生化学的性質も全て一致し，オキシダーゼおよびカタラーゼ陽性，好気性であり，ポリ β ヒドロキシ酪酸（PHB）の蓄積能を有し，硫化水素生成能およびアルギニン加水分解能はなく，レブリン酸および 2,3-ブチレングリコール資化性能を有した。比較に用いた IFO-14595 は，硝酸塩の還元能を有する点のみが，5 細菌株と異なったが，他の性質は全て一致していた。

細菌処理した菜根個体の貯蔵結果を Table 54 に示した。いずれの細菌株でも，対照に比べて腐敗個体率および腐敗程度が明らかに低下した。最も腐敗

Table 53 Morphological and biochemical characteristics of the five bacterial isolates.

Characteristics	D-19.2	D-189.2	D-193.1	D-197.2	D-202	IFO-14595[a)]
Cell shape	Short rod	Short rod	Short rod	Short rod	Short rod	Short rod
Cell diameter (μm)	0.7-1.0	0.7-1.1	0.6-0.9	0.6-1.0	0.7-1.1	0.7-1.0
Cell length (μm)	1.5-2.4	1.8-2.7	1.2-2.4	1.7-3.1	1.7-3.1	1.4-2.3
Gram stain	−	−	−	−	−	−
Motility	+	+	+	+	+	+
Flagella	Polar>1	Polar>1	Polar>1	Polar>1	Polar>1	Polar>1
PHB accumulation	+	+	+	+	+	+
Arginine dehydrolase	−	−	−	−	−	−
Catalase reaction	+	+	+	+	+	+
Denitrification	−	−	−	−	−	−
Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	+
H_2S production	−	−	−	−	−	−
Indole production	−	−	−	−	−	−
Lysin decarboxylase	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	−
OF-test	Oxidative	Oxidative	Oxidative	Oxidative	Oxidative	Oxidative
Ornithine decarboxylase	+	+	+	+	+	+
Oxidase reaction	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	−	−	−	−	−	−
Urease	+	+	+	+	+	+
Utilization of: Arabinose, 2,3-Butylene glycol, Citrate, Fructose, Glucose, Malate, Mannitol, Sucrose, Xylose, Levulinate	+	+	+	+	+	+
Adonitol, Inositol, Rhamnose	−	−	−	−	−	−

a) IFO-14595: *Pseudomonas cepacia*.

Table 54 Control of storage rot of sugar beet in a warehouse by the five avaiable bacterial isolates.

Isolate[a)]	% of rotted roots	Rot severity	Sugar loss (g/t/day)
D-19.2	23.3	0.26	107
D-189.2	21.7	0.23	96
D-193.1	23.3	0.24	100
D-197.2	25.0	0.19	85
D-202	13.3	0.13	81
Chemical treatment[b)]	6.7	0.04	51
Control[c)]	40.0	0.43	67

a) About 20 ml of bacterial suspension was applied on each beet root by dipping. Twenty roots for each treatment were kept inseide a polyethylene bag and stored in a warehouse at 8°C for 107 days. Each trial was conducted in three replicates of 20 roots/unit.
b) Beet roots were dressed with 5 g a. i./kg dicloran and 5 g a. i./kg thiophanate-methyl.
c) Beet roots were dipped in a sterilized nutrient solution.

が少なかったのはD-202処理で，腐敗個体率は対照の40.0%に対して13.3%，腐敗程度は，対照の0.43に対して0.13となった。しかし，同時に調査した薬剤処理の腐敗個体率，腐敗程度は，各々6.7%，0.04で，細菌処理よりも明らかに低い値であった。薬剤処理の砂糖損失量は51 g/t/dayで，対照の67 g/t/dayより明らかに小さい値となったが，細菌処理の値は81～107 g/t/dayで，いずれの処理も対照より大きな値となった。

e．考　　察

菜根を約20%まで乾燥した後に貯蔵すると，腐敗は乾燥割合に応じて漸増し，砂糖の減少と還元糖の増加が認められた（Table 42）。Gaskill[69]は，収穫した菜根を圃場内に数日放置し，6～15%乾燥させた後に7°Cおよび18°Cで貯蔵し，同様の結果を得ている。Bugbee and Cole[26]は，3種の貯蔵腐敗病菌を混合接種し，相対湿度の異なる条件で貯蔵すると，いずれも激しい腐敗を生じるが，菜根の乾燥程度が大きいものほど砂糖の損失量が多かったと報告している。Bugbee[21]によれば，畑において，秋期が乾燥条件で推移した菜根と湿潤条件で推移したものを比較すると，後者の方が貯蔵腐敗が少ないとされる。菜根の含水量を，貯蔵中に徐々に増加させたところ，吸水期間の延長とともに腐敗が漸減し，砂糖量は高水準に，還元糖量は低水準に維持することができた（Table 43）。Vajna[196]は，菜根を25%以上乾燥させると生物的機能が停止し，微生物の侵入に対する植物体の抵抗性が失われると述べた。長期貯蔵では，病原微生物に対する菜根の抵抗性が，常に高く保たれる必要がある。特に収穫直後の乾燥は，菜根細胞に強いストレスを与えるため，植物抵抗性を低下させると判断される。貯蔵中の緩慢な吸水は，菜根の生物的機能の維持に働き，病原微生物に対する抵抗性の維持に有効であったと判断される。

貯蔵温度は菜根の品質劣化に最も大きく影響する。貯蔵中の品質劣化では，微生物による腐敗とともに，菜根の呼吸による糖分損失が重要な位置を占める[47]。Oldfield et al.[143]によれば，呼吸による砂糖損失量は10°C以下で最低になり，それ以上では急激に増加する。Barr et al.[8]は，18°C以上では，糸状菌の発生による呼吸率の上昇が大きいと述べている。腐敗に関してGaskill[70]は，7°Cと18°C貯蔵時の腐敗率を比較し，両者に7倍以上の差があると報告した。Tompkins and Pack[188]も，*Phoma betae*による腐敗が10°C以上で急激に増加すると報告している。このように，10°C以上の急激な劣化を指摘する報告が多い。既述のように北海道の平均パイル温度は4°C前後なので，長期貯蔵時の，10°C以下の低温域における温度の影響を調査した（Table 44, Table 45）。年度による変異がかなり大きかったが，呼吸・その他による砂糖損失量は，平均127日，4.5°Cまたは9.3°C貯蔵時に，各々37 g/t/day，59 g/t/dayとなり，高温時の方が大きく，両者の差は1.6倍であった。なお，実験には手掘の菜根を使用し，損傷が余り加わらないようにしているため，これらの値は，実用上到達し得る最低の損失量と思われる。腐敗株率と腐敗程度も明らかに高温時が高く，低温時に比べて，各々1.3倍，1.4倍であった。腐敗による砂糖損失量も同様で，低温時12 g/t/day，高温時16 g/t/dayと算出され，明らかに高温時が大きかった。また，高温時の砂糖損失量は低温時の1.3倍で，腐敗株率の比と一致していた。先項において，貯蔵腐

敗病菌 *Botrytis cinerea* の菌叢伸長速度を調査したが，4.5°C，9.3°Cの値は，各々3.03 mm/day，5.46 mm/day と算出され，両者の比は1.8倍となった。腐敗株率および腐敗程度の比は，伸長速度の比より小さかったが，これらの数値は，病原の感染，定着，および宿主の抵抗性にも影響を受けるため，単純な生長量の比より，やや小さくなると考えられる。

Pack[149] は，テンサイを長期貯蔵する時の理想的条件とは，菜根を休眠状態にする条件であり，1.7°Cで，菜根細胞の浸透圧が12気圧に維持できる湿潤状態が保たれるならば，18カ月間，高品質で貯蔵できると述べた。貯蔵腐敗病の抑制の面からも，貯蔵条件に関しては同様のことが言えるので，長期貯蔵時には，菜根を低温で，湿潤な状態に保つことが重要と判断される。

貯蔵腐敗病の防除薬剤として，松本[129] は，有機塩素系殺菌剤のキャプタンが有効であると報告した。杉本[180] は，採種用母根の防除剤としては，キャプタンよりもフェニール沃化水銀およびフェニール酢酸水銀の方が，さらに効果が高いと報告した。Mumford and Wyse[137] は，ベンゾイミダゾール系のベノミルとチアベンダゾールの有効性を認め，Miles et al.[132] も，オルトフェニルフェノールナトリウムとともに，両剤の効果を確認した。

有機塩素系としてクロロタロニル，ベンゾイミダゾール系としてチアベンダゾールとチオファネートメチル，現在，灰色かび病防除に広範に使用されている殺菌剤として，ジカルボキシイミド剤のジクロゾリン，イプロジオン，プロシミドン，およびビンクロゾリン，その他の殺菌剤として，これらと同様に *Botrytis* 属菌の胞子発芽抑制および菌糸伸長阻止力の強いジクロラン[63] を選び，菜根切片を用いて防除効果を調査した。その結果，全ての剤で *B. cinerea* による腐敗が抑制されたが，中でもジカルボキシイミドの4剤，チアベンダゾール，およびジクロランの効果が高かった（Table 46）。

ところで貯蔵菜根は，収穫後の農産物とみなされるため，食品添加物以外の殺菌剤の使用が禁止されている。食品添加物の中には，*Penicillium* によるカンキツの貯蔵病害に対する抑制効果が確認された炭酸水素ナトリウム[4] や，抗細菌作用を有するアミノ酸のグリシン[116] 等があり，食塩や糖類のように水分活性調整機能を持つものも微生物の生育を抑制することが知られている[106]。7種類の食品添加物について防除効果を調査した結果，グリシンにわずかな効果が認められたが，前述の殺菌剤に比べると，かなり劣った（Table 47）。

これらの検索結果を基に，ジクロラン，チアベンダゾール，およびプロシミドンを選び，倉庫内に貯蔵した菜根に対する効果を調査した。その結果，プロシミドンでは糸状菌発生個体率が低下したが，薬害が認められ，他の2剤では発生個体率の低下は認められなかったが，ジクロランで砂糖損失量を減少できた（Table 48）。実際のパイルを用いた実験では，チアベンダゾール，ジクロランの両剤とも，糸状菌発生を抑制し，無処理に比べて砂糖損失量を減少できた（Table 49）。これらの結果から，ジクロランの貯蔵腐敗病防除効果は，チアベンダゾールと同等かやや優ると判断されたが，前述のように，食品添加物のみが使用可能である。チアベンダゾールは殺菌剤であると同時に，食品添加物中の防ばい剤としての使用が認められている化合物で，実用上はチアベンダゾールのみが使用可能であると判断された。なお本剤はヨーロッパにおいても，パイルにおける防除効果が確認されている[79]。

拮抗細菌を用いた収穫後の農産物の病害防除について，Pusey and Wilson[159] は，*Pseudomonas cepacia*，*P. fluorescens*，*Bacillus thuringiensis*，および *B. subtilis* によって，有傷のモモ等の核果類の *Monilinia fructicola* による加害を抑制できると報告した。Janisiewicz[100] は，*Pseudomonas* sp. と *Acremonium breve* を混合接種し，収穫後のリンゴの *B. cinerea* および *P. expansum* による加害を抑制できると報告した。さらにピロルニトリン産生の *P. cepacia* により，リンゴとナシの *B. cinerea* および *P. expansum* による加害を抑制できると述べた[101]。Wilson and Chalutz[204] は，2種の酵母と *P. cepacia* および *P. syringae* に，収穫後のカンキツにおける *Penicillium digitatum* と *Penicillium italicum* による腐敗の抑制効果を認めている。テンサイにおける拮抗細菌または有用細菌の利用について，Suslow and Schroth[181] は，fluorescent *Pseudomonas* spp. による増収効果を報告した。Krezel and Stankiewicz[118] は，ズブチリン様のポリペプチドを産生する *Bacillus subtillis* No.93 菌株を種子処理すると，*Phoma betae* による苗立枯病を抑制できると報告した。李・生越[122] は，fluorescent pseudomonads を主とする細菌群で，*Pythium* spp.

を主病原とする苗立枯病が抑制できると報告した。Lovic et al.[124] によれば，テンサイ種子および根部から分離した fluorescent pseudomonads を含む細菌群は，産生する phenazine-1-carboxylic acid により，*P. betae* と *Rhizoctonia solani* による苗立枯病を抑制する。Shar-Smith and Burns[174] は，*Pseudomonas putida* 40RNF 株を処理したペレット種子を作製し，*Pythium* による苗立枯病を殺菌剤と同程度まで抑制できたと述べた。Homma et al.[90] は，*Stenotrophomonas* sp. SB-K88 菌株により，*Pythium* spp.または *Rhizoctonia solani* による苗立枯病を抑制でき，さらに Sayama et al.[168] は，同菌株により，そう根病の媒介糸状菌である *Polymyxa betae* の早期感染を抑制できると報告した。しかし，拮抗細菌によるテンサイ貯蔵腐敗病の防除に関する研究報告は見あたらない。

テンサイ菜根の主要な貯蔵腐敗病菌は *B. cinerea* および *P. expansum* であり，堆積したパイルは低温で長期に貯蔵される。土壌または菜根表面から 3,114 細菌株を分離し，両病原に対して抗菌活性を有し，8°C以下の低温での生育が可能で，テンサイへの病原性がなく，かつ根中糖分の低下が少ない細菌との観点から検索を行い，5 細菌株を選抜した（Table 50，Table 51，Table 52）。これらの形態および生理生化学的性質は全て同一で，比較対照とした IFO-14595 菌株とほぼ一致し（Table 53），Palleroni の記載[150] からも *Pseudomonas cepacia* と同定した。選抜した 5 菌株は，結果的に上述の諸性質を有するが，分離源は全て畑土壌で，貧栄養培地の DNB から得られた菌株となった。これらを菜根に処理し，8°Cで 107 日間貯蔵した結果，いずれの細菌株も薬剤処理には及ばないものの，貯蔵腐敗病の明瞭な抑制効果が認められ，中でも D-202 菌株の効果が高かった（Table 54）。しかし，薬剤処理では砂糖損失量を減少できたのに対し，拮抗細菌処理では，いずれの菌株でも砂糖損失量が無処理より大きかった。このように，拮抗細菌がスクロース分解能を有する時には，菜根中の砂糖がわずかずつ消費されるので，貯蔵腐敗の発生量が少なく，長期に貯蔵する時には，無処理より砂糖損失量が大きくなる危険性があると認識したが，貯蔵腐敗病の生物防除の可能性が同時に示唆された訳で，得られた細菌株の改良，新たな細菌株の検索，またはこれらが利用可能なパイルの環境の研究等を推進することにより，実用化に向けて前進できると考えられる。

VI. 総合考察

北海道では，テンサイ栽培面積の拡大，生産量の増加にともない，1980 年代初頭より収穫後の菜根の貯蔵量が増大し，貯蔵期間が長期化したため，貯蔵中の品質劣化の抑制が，製糖産業にとって非常に重要な課題となった。劣化の主要な原因には，呼吸による砂糖の消費，凍結による壊死菜根の腐敗，および貯蔵腐敗病の発生の 3 者があるが，前 2 者が，貯蔵パイルの低温化や被覆の徹底により回避可能であるのに対し，後者の研究はほとんど行われておらず，制御の方法も確立されていなかった。貯蔵腐敗の病原微生物を明らかにし，これらの製糖に与える影響を調査するとともに，これらの発生を制御するために一連の研究を行った。

初めに，菜根上および組織内に棲息する糸状菌を調査した結果，4 科 19 属 28 種の糸状菌が分離され，この中，腐敗組織からは 12 属 16 種が分離された。これらの中の 4 種が，15°Cの温度条件下で，テンサイ菜根に明らかな病原性を示し，各々 *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.，*Fusarium culmorum* (W. G. Smith) Sacc.，*Penicillium expansum* Link ex Gray emend. Thom，および *Phoma betae* Frank と同定された。4 種の中では *B. cinerea* の分離率が最も高く，病原性も最も強かった。本菌は，ヨーロッパを中心とする多数の国において，貯蔵腐敗病の主要な病原とされているが[46,93,153]，北海道においても最重要の病原であると判断した。

テンサイから分離された *B. cinerea* 菌株と，他作物分離株を比較すると，生育温度反応が一致しており，テンサイ菜根に対しても同等の病原性を示した。Schnellhardt and Heald[173] が指摘したように，本種は多犯性であり，同一種が複数の作物の病原となり得る。収穫方法と腐敗の関係をみると，貯蔵腐敗病の病斑は，損傷した組織上に広がっており，接種実験によっても，本菌は菜根に角皮感染できないことが解った。本菌の分生胞子は，1 胞子でも菜根に傷感染することが可能であるが，Jarvis[103] が指摘したように，菌叢接種時の病斑は，胞子接種時に比べてはるかに大型で，感染力には明らかな差があった。これらの結果から，テンサイ貯蔵腐敗病の病原である *B. cinerea* は，畑に発生するインゲンマメ灰色かび病菌等の，他作物に寄生する *B. cinerea* と同一種

で，収穫時に，菜根に付着する土壌に混じって貯蔵パイルに侵入し，タッピング面，または収穫や堆積により生じた損傷部から傷感染して一次病斑を形成する。病斑上では，菌叢を伸長させて隣接する菜根に感染し，同時に形成される分生胞子が菜根間や天場の空間を浮遊して，離れた位置にある菜根にも感染し，パイル全体に蔓延していくと考えられる。なお，分生胞子と伸長菌叢では，後者の感染力の方がはるかに強いので，パイル内における病勢拡大の主要な役割は，菜根表面に伸長する菌叢が担っていると考えられる。

貯蔵腐敗病に罹病した菜根では，根中糖分，ブリックス，およびpHの明らかな低下と，還元糖の顕著な増加が起こった。また，ラフィノース，窒素成分が低下する傾向が認められたが，カリウム，ナトリウムは変化しなかった。滅菌した菜根圧搾汁，およびスクロースを炭素源とする培養液への，*B. cinerea* または *P. expansum* の接種実験の結果，および罹病菜根の組織別の分析結果から，両菌は，感染，侵入した菜根組織において，含有されるスクロースを速やかに分解して還元糖に転化し，その一部を先ずクエン酸に分解した後，さらに低分子の有機酸に分解していくと判断された。したがって，上述の根中糖分と還元糖の変化は，貯蔵腐敗病菌によるスクロースの直接分解の結果であり，pHの変化は有機酸産生の結果である。なお，両菌にはラフィノースの分解能力はなく，貯蔵腐敗時の菜根のラフィノース低下は，両菌以外の腐生的微生物によって生じている可能性が高い。根中糖分の低下は，菜根の呼吸によるスクロースの消費によっても起きるが，呼吸による低下時には，還元糖の急激な増加や，pHの顕著な低下は起こらない[146]。還元糖およびpHと，腐敗量の間には高い相関が認められるので，貯蔵腐敗病発生の指標として両者を使用できる可能性が高いと考えられる。

細菌による貯蔵腐敗について，日本では全く報告がなかった。上川地方の，堆積直後から常に湿潤な状態になっているパイルに，健全な菜根を埋設したところ，これらに軟腐症状が発生することを確認した。Kabashnaya[105]は，貯蔵中の軟腐菜根から *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* を分離，同定している。北海道の貯蔵パイルの軟腐菜根からは，グラム陰性桿菌とグラム陽性球菌が分離されたが，この中，グラム陰性桿菌はタバコ葉に過敏感反応を生じ，形態および生理生化学的性質から *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon と同定した。

これとは異なり，収穫時の天候が不順で，土砂や夾雑物が付着したまま菜根が堆積された場合，短期間の中に激しい軟腐症状が起こることがあった。そこで，パイラー通過後の埴土遊離土を採取し，健全な菜根に塗布すると，少量の塗布でも軟腐症状が発生することが解った。実験によって腐敗した菜根の軟腐症状からは，上述のパイルの軟腐菜根から分離されたのと同一の，グラム陽性球菌が分離された。これらはタバコ葉に過敏感反応を生じ，ジャガイモ塊茎およびテンサイ菜根に壊死を生じた。形態および生理生化学的性質から，本菌を *Leuconostoc mesenteroides* (Tsenkvskii) van Tieghem と同定した。*L. mesenteroides* は，凍結融解菜根を分解する腐生菌[6,92]，製糖工場内に幅広く棲息する腐生菌[172]と認識されていた。しかしConn et al.[40]も指摘したように，本細菌種には植物病原性株が含まれ，新病害としてテンサイロイコノストック貯蔵腐敗病を提案した。

細菌による加害を受けた貯蔵中の軟腐菜根は，糸状菌 *B. cinerea* によるテンサイ貯蔵腐敗病の罹病菜根と同様に，根中糖分とpHが明らかに低下し，還元糖が顕著に増加した。同時に，ラフィノースと窒素成分が低下した。滅菌した菜根圧搾汁への *L. mesenteroides* または *E. carotovora* の接種実験から，両細菌は，スクロースを速やかに分解して還元糖に転化することが解った。また，*B. cinerea* および *P. expansum* とは異なり，ラフィノースも分解することを確認した。スクロースを主な炭素源とする培養液への接種実験も含め，*L. mesenteroides* はスクロースから主にD（−）-乳酸を産生し，*E. carotovora* は，主にコハク酸以下の比較的低分子の有機酸を産生すると判断された。先に，還元糖およびpHが，貯蔵腐敗病の発生量を知る上で，有効な指標として使用できる可能性を指摘したが，両者は，細菌による貯蔵腐敗時にも同様な変化をするので，貯蔵パイルにおける微生物腐敗の量を把握する指標として活用できる可能性が高い。また，糸状菌による腐敗ではクエン酸が，細菌による腐敗では乳酸が増加するため，両者を測定することにより，腐敗の原因を糸状菌と細菌に区別できる可能性がある。さらに，*L. mesenteroides* ではD（−）-乳酸が特異的に

増加することから，乳酸を，D（−）型とL（+）型に区別して測定することにより，細菌による貯蔵腐敗を，*L. mesenteroides* を主とするものか，*E. carotovora* を主とするものかに区別できる可能性が示唆された。

1980年代から1990年代前半にかけての，北海道の標準的貯蔵パイルの規格は，底辺20〜22 m，高さ4〜4.5 mで，長さは100 m以上に及ぶが，最近ではさらに大型化が進んでいる。その管理法を他国と比較すると，大きさはほぼ中庸であるが，通風を行わず，枠体を載せて周囲を被覆する点，貯蔵期間が100日を越えてかなり長い点が特徴と言える。このような大型パイル内は，部位により環境が大きく異なると予想された。パイル内に発生する糸状菌を調査した結果，Botrytis型，Penicillium型，Fusarium型，Cladosporium型，およびGeotrichum型の5つの主要な菌叢型が認められ，調査部位，調査時期により，各菌叢型の出現率が異なっていた。前述のように，*B. cinerea*，*P. expansum*，および *F. culmorum* の3者は，テンサイ菜根に病原性を持ち，中でも *B. cinerea* の病原性が高い。Botrytis型はパイルの全ての部位で優勢となり，堆積直後から出現し，菜根表面の糸状菌発生個体率の増加にともなって漸増していった。好冷性種[119]を含むPenicillium型は，菜根の抵抗性がやや低下してくる貯蔵の中期から発生し，以後漸増した。Fusarium型は，パイルが高温化する貯蔵後期に発生した。後2者については，貯蔵の温度環境の指標となる菌と捕らえることができる。菜根に病原性を持たない残る2型の中，Cladosporium型は貯蔵の早期から出現し，パイル側面のような，乾燥した部位に多数観察された。Geotrichum型は天場のような湿潤な部位に多数観察された。両者については，貯蔵の水分環境の指標菌と捕らえることができる。

天場に設けられた空間内に浮遊する空中菌を調べると，*Botrytis*，*Cladosporium*，および *Penicillium* が主要な構成菌であった。時期別にみると，堆積直後は *Cladosporium* の構成比が高く，一般の農業地帯の空中[80]と同様の環境であったが，貯蔵腐敗の進行とともに *Botrytis* の構成比が漸増していった。天場空間に占める本菌の構成比の推移は，パイル内の腐敗個体率の推移と完全に同一のパターンながら，時間的には，やや遅れて増加が始まっていた。すなわち，天場空間における *Botrytis* の構成比は，直前の菜根の腐敗状況を反映していると言える。

貯蔵パイルは，被覆を行って外的環境と隔離されることにより，菜根堆積部ばかりでなく，天場空間を含めて一つの独立した生態系を形成している。しかし，菜根の呼吸により発生する熱，外気温の変化，および太陽の放射熱により，各部位の温度環境は均一とはならず，各々の環境に適した糸状菌が発生する。パイル内で優勢となる糸状菌は *Botrytis* であるが，その他に発生する糸状菌を知ることにより，その部位の温度，水分環境を推定することができ，また，腐敗の進行度合いを予想する指標として，天場空間に浮遊する糸状菌胞子の構成比を利用できる可能性が示唆された。

上述のように，パイル内の微生物環境には，部位によりかなりの差異があることが判明したので，特に，これらの棲息に影響すると考えられるパイル内温度と，腐敗の発生および砂糖損失量について調査を行った。平均115日の貯蔵を行った時の，パイル内の日平均温度は3.5°C，貯蔵腐敗程度は0.20，砂糖損失量は79 g/t/dayであり，貯蔵全期間中に，菜根が含有する全糖量の5.5%が失われたが，パイルの部位により，各々6.1°C，0.24，54 g/t/dayの差があり，部位別にみれば，かなり不均一で異なっていた。パイル各部位の温度差については，貯蔵菜根から放出される呼吸熱により暖められたパイル内部の空気と，パイル周囲にある低温の外気との間で熱伝導が生じること，パイルの断面が台形をしており，部位によって交換される熱量に差があること，また，日射の受光量が部位により異なり，吸収する放射熱に差があることが原因であり，これらに起因してパイル内の不均一な環境が形成されると考えられる。

貯蔵時の温度が高温になると，貯蔵腐敗病菌の加害による腐敗程度[70,92]および砂糖損失量[125]の両者が増加することが知られている。温度と同様，これら両者の値もパイルの部位によりかなり異なっていたが，各部位におけるこれらと温度との相関を求めると，特に，温度と腐敗程度の間には高い正の相関が認められ，高温部ほど腐敗程度が高いことを確認した。なお，温度と砂糖損失量の間にも正の相関が認められたが，腐敗程度と砂糖損失量の間には，有意な相関は認められなかった。Wyse and Dexter[209]が述べたように，砂糖損失の最も大きな要因は，呼吸による砂糖の消費で，高温部ほど呼吸が激しく損失量が大きい。同時に，高温部では貯蔵腐敗病菌に

よる感染，侵入が増加しやすく，これらの加害による損失も大きくなる。しかし低温部でも，凍結壊死後の腐敗のような，その他の要因による損失が生じるため，温度と砂糖損失量の相関は，温度と腐敗程度との相関に比べれば低くなると判断された。

このように大型パイルでは，部位により温度環境がかなり異なり，これに起因して，異なる微生物環境が形成されているが，このことは，テンサイ貯蔵腐敗病の病原の活動にも大きな影響を与えている。*B. cinerea* は，テンサイ菜根に対する明らかな病原性を認めた4種の糸状菌の中でも，特に病原性が強く，腐敗組織からも突出した高頻度で分離された。また，菜根表面に発生する菌叢型が，Botrytis 型とは異なっている腐敗菜根の組織からも高率で分離された。さらに，菜根表面に発生する主要な菌叢型の中でも，パイルの全ての部位で優勢になる型で，同時に，天場空間内に浮遊する主要な空中菌の1つでもあり，*Botrytis* の菜根表面および天場空間における占有率と，貯蔵パイル内の腐敗個体率の間には，高い正の相関が認められた。*B. cinerea* は，北海道の採種用テンサイ母根を貯蔵する時の病原でもあるが[180]，大型パイルとして堆積された原料菜根に発生するテンサイ貯蔵腐敗病の病原菌も，本種であると判断できる。

P. expansum も，菜根表面に発生する主要な菌叢型の1つで，天場空間内に浮遊する主要な空中菌の1つでもあったが，これらの占有率と，腐敗個体率の間の相関，腐敗個体からの分離率，およびテンサイ菜根に対する病原性のいずれにおいても，*B. cinerea* に比較すると低かった。本種は貯蔵腐敗病の病原ではあるが，*B. cinerea* が感染した菜根に二次的に寄生し，腐敗を助長するという性格が強いと考えられる。

F. culmorum は，菜根表面に発生する主要な菌叢型の1つではあったが，天場空間内に浮遊する主要な空中菌ではなかった。腐敗個体からの分離率は *P. expansum* とほぼ同等で，テンサイ菜根に対する病原性は，*B. cinerea* より弱いものの，*P. expansum* に比べればむしろ高かった。Toporovskaya[189] は，*Fusarium* を好温性の病原と位置づけており，北海道ではパイル温度が低く管理されているため，主要な病原とはなり得ず，温度の上昇する貯蔵後期になって，わずかに活動すると考えられる。

P. betae は菜根組織より分離され，病原性も認められたが，菜根表面に発生する主要な菌叢型，天場空間内に浮遊する主要な空中菌のいずれでもなかった。Edson[57] は，本菌は畑で感染後，菜根の組織中において静止状態で生存を続けることを指摘した。本菌が分離された菜根は，畑で感染後にパイル内に持ち込まれた可能性も高く，*P. betae* は他の3種に比べて，貯蔵腐敗病菌としての重要性はかなり低いと考えられる。

なお諸外国では，上述の4種の他に，高温貯蔵時の病原として *Rhizopus* sp. を挙げる国が多い。本実験では分離されなかったものの，パイルが高温化する時には，貯蔵腐敗病菌として重要性を得る可能性があり，注意が必要であろう。

貯蔵腐敗病を制御するために，まず，菜根の水分および温度の影響について検討した。Gaskill[69] の報告と同様，堆積前の菜根の乾燥は，貯蔵腐敗病の発生を助長した。逆に，貯蔵期間中，緩慢な吸水を続けた菜根では，腐敗の進行が抑制された。貯蔵腐敗病に対する菜根の抵抗性には，菜根組織の水分条件が関与すると言われており[196]，腐敗抑制の観点から，堆積菜根の水分条件を高めに保つことが重要と判断された。貯蔵温度について，10°C以上の高温貯蔵時に腐敗が増加するとの報告が多いが，5カ年の平均で，127日間，4.5°Cと9.3°Cで貯蔵した時の砂糖損失量は，呼吸による損失で1.6倍，腐敗による損失で1.3倍の相違があり，腐敗抑制の観点からも，より氷点に近い低温で貯蔵することの重要性が確認できた。なお，4.5°Cにおける呼吸による砂糖損失量は37 g/t/day と算出され，この値が，実用上到達しうる最低の砂糖損失量と考えられる。

9殺菌剤，7食品添加物の貯蔵腐敗病防除効果を検討した結果，ジクロランの効果が最も高く，野外パイルでの実験においても効果を確認できた。食品添加物の防ばい剤としての登録を持つ，殺菌剤のチアベンダゾールも，Graf[79] の報告と同様，高い防除効果が認められた。

畑土壌を分離源に，貧栄養培地を用い，*B. cinerea* および *P. expansum* の両菌に抗菌活性を有し，8°C以下の低温での生育が可能で，テンサイに対して病原性を持たず，かつ根中糖分の低下が少ない細菌を選抜した結果，*Pseudomonas cepacia* の5菌株を得た。8°C，107日間の長期貯蔵において，これらの拮抗細菌処理，特にD-202菌株処理は，薬剤処理には及ばないものの，無処理に比べて腐敗個体率および

腐敗程度を3分1以下に低下させた。このように，明らかな腐敗抑制効果が認められたにもかかわらず，砂糖損失量は無処理よりも大きかった。これは，使用した細菌株が有するわずかなスクロース分解能のために，長期の貯蔵中に，徐々に砂糖が消費されたためと考えられる。

テンサイ菜根の貯蔵パイルより糸状菌を分離し，貯蔵腐敗病の病原を特定した。また，一般の貯蔵中に軟腐症状を起こす病原細菌を特定するとともに，特殊条件下で発生するテンサイロイコノストック貯蔵腐敗病の病原を特定し，*L. mesenteroides* に植物病原性を見出した。これらによるテンサイ菜根の品質変化を調査した結果，根中糖分，還元糖，および搾汁 pH の測定により，貯蔵パイルの腐敗の程度を把握でき，有機酸の測定により，腐敗の病原がある程度推定できる可能性を見出した。大型パイルは菜根の堆積部および天場空間を含めて1つの独立した生態系を形成しているが，温度，水分環境の相違により，各部位に発生する糸状菌が異なることを見出した。逆に，発生する糸状菌を調査することにより，パイル内の温度，乾湿の状況を把握できる可能性が示唆された。また，パイル内の菜根の腐敗個体率の増加にともなって，天場空間に浮遊する *Botrytis* 胞子の構成比が漸増することを見出した。これらの実験結果は，貯蔵場におけるパイルの腐敗状況を把握する上で活用が可能であり，貯蔵期間中の各時点において，適切な管理，対処法，および工場への搬入時期を決定する上で，有用な情報を提供することができる。

テンサイ貯蔵腐敗病の主要な病原が *B. cinerea* であり，本菌が他作物の灰色かび病の病原として畑に存在し，菜根表面に付着する土壌に混じってパイル内に持ち込まれることを明らかにした。また，本菌は貯蔵菜根に角皮感染できないことから，収穫，堆積における除土の重要性と，反面，除土作業における損傷の低減が，腐敗の制御上，重要であることを明確にした。菜根の損傷軽減のための収穫および堆積作業機の改良については，他者による研究が行われており，実用機も開発されている。

堆積後のパイルにおける薬剤防除については，ジクロランの効果が高いことを見出したが，貯蔵菜根は収穫後の農産物とみなされ，農薬を使用できないことから，食品添加物の防ばい剤であるチアベンダゾール処理が，現段階では，実用上，最も効果的と判断した。しかし，加工食品の原料であるテンサイ菜根に対しては，コスト面，環境問題への配慮から薬剤の使用は差し控えたい現状にある。貯蔵の温度，水分条件からは，菜根の水分を高めに保って，病原に対する植物体の抵抗性を維持し，パイル温度をできるだけ低温に保って，病原の活動を抑制することが，貯蔵腐敗病の制御において重要であることを明確にした。これらを踏まえ実用上は，乾燥防止のためのパイルへの散水，低温化しやすいパイル裾部への断熱マットの施工，パイル側面における断熱用空気層保持のための枠体取り付けといった被覆方法の改善，パイルの検温を基にした被覆シートの適正な開閉等を行うようになった。また，薬剤に代わる方法として，貯蔵腐敗病の抑制効果を有する拮抗細菌を見出したが，長期貯蔵時には，砂糖損失の観点から解決すべき問題があり，得られた拮抗細菌株の改良，さらに効果の高い菌株の再検索，または，これらの有用細菌が，他の微生物に優先して増殖できるパイル内環境の制御法等について，さらに研究を進め，将来，実用化されることを期待したい。

摘　　要

テンサイ貯蔵腐敗病の病原糸状菌および病原細菌の特定，これらによる菜根の品質変化，大型パイルにおける本病の発生と微生物環境の関係，および貯蔵腐敗病の制御に関する研究を行った。

Ⅰ．貯蔵腐敗病の病原と菜根の品質変化

1．菜根から分離される糸状菌と貯蔵腐敗病の病原

貯蔵菜根には4科19属28種の糸状菌が認められ，この中，腐敗組織から12属16種が分離された。最も分離率が高かったのは *Botrytis* sp.であった。菜根表面に発生する糸状菌により，腐敗菜根を Botrytis 型，Cladosporium 型，および Penicillium 型の3菌叢型に分けて分離を行うと，内部組織からは，いずれの菌叢型からも *Botrytis* sp. が高率で得られたが，*Cladosporium* sp. は分離されなかった。

分離された糸状菌の菌糸片を菜根切片に接種すると，*Botrytis* sp. で最大の病斑が形成され，*Fusarium* sp.，*Penicillium* sp.，および *Phoma* sp. にも明瞭な病原性が認められた。

これら4種は，各々 *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.，*Fusarium culmorum* (W. G. Smith) Sacc.，*Penicillium expansum* Link ex Gray emend. Thom，およ

び *Phoma betae* Frank と同定された。

2．テンサイ貯蔵腐敗病菌 *B. cinerea* の特徴

貯蔵腐敗病罹病テンサイ，灰色かび病罹病のインゲンマメ，スターチス，イチゴ，およびトマトから分離した *B. cinerea* 菌株は全て，PDA，－2～30℃で生育が可能で，35℃では生育しなかった。イチゴ分離の1菌株を除き，生育最適温度は20℃であった。これらの菌株は全てテンサイに明瞭な病原性を示した。

手掘収穫した菜根では，貯蔵腐敗病の病斑がタッピングを行った上部に集中していたが，機械収穫により損傷を受けた菜根では，腐敗個体率が手掘菜根の2倍以上になり，菜根の中，下部にも，上部とほぼ同率で病斑が出現した。*B. cinerea* の菌糸片を，菜根の周皮上に接種しても角皮感染は起こらず，周皮剝離部に接種した時のみ病斑が形成された。周皮剝離部における分生胞子接種では，8×10^1～8×10^4 胞子の，いずれの量でも感染が可能だったが，菌糸片接種に比べると病斑はかなり小さかった。

3．貯蔵腐敗病発生による菜根の品質変化

貯蔵腐敗病により約半量の組織が腐敗した菜根は，健全菜根に比べて根中糖分および搾汁 pH が明瞭に低下し，還元糖が顕著に増加した。ラフィノース，ブリックス(可溶性固形分)，全窒素も低下したが，カリウムおよびナトリウムは変化しなかった。罹病菜根を，腐敗組織と未腐敗の組織に分割して測定すると，腐敗組織では根中糖分がほぼ0％になり，pH も著しく低下していたが，未腐敗の組織では根中糖分，pH とも健全な菜根と同等の値が保たれていた。菜根の腐敗面積と，根中糖分または pH との間には高い負の，還元糖との間には高い正の2次相関が認められた。

滅菌した菜根圧搾汁に *B. cinerea* または *P. expansum* を接種すると，根中糖分，pH が著しく低下し，還元糖が顕著に増加したが，ラフィノースは低下せず，有機酸ではクエン酸が顕著に増加した。スクロースを炭素源とする培養液に両菌を接種すると，スクロースがほぼ完全に分解され，グルコースとフルクトースが大量に産生された。有機酸ではクエン酸の明白な産生が認められた。

4．菜根から分離される病原細菌とその同定

上川地方の，堆積直後から常に湿潤な状態にあるパイルで，天場中央部の表面に，明らかな軟腐症状が出現することを確認した。

上川地方の埴土畑，他の地域の埴壌土畑および砂壌土畑から土壌（畑土）を採取し，同時に，収穫した菜根に付着し，パイラーの除土装置により除去される土壌（遊離土）を採取した。これらを健全なテンサイに塗布して貯蔵すると，埴土遊離土を塗布した菜根にのみ，激しい軟腐症状が出現した。本症状は塗布量が少ない時にも明瞭に出現し，菜根の根中糖分と pH を低下させた。

パイル内で軟腐症状を生じた菜根から分離したグラム陰性桿菌18菌株をタバコ葉に注射接種すると，12菌株に過敏感反応が認められた。これらは *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon と同定された。

パイルおよび土壌塗布実験において，軟腐症状を生じた菜根から分離したグラム陽性球菌は，10菌株中8菌株にタバコ過敏感反応が認められた。25菌株をジャガイモ塊茎およびテンサイ菜根に穿針接種すると，17菌株がジャガイモに，13菌株がテンサイに明瞭な壊死を生じ，中10菌株は両者に病原性を示した。これらは *Leuconostoc mesenteroides* (Tsenkvskii) van Tieghem と同定され，本細菌による新病害に，テンサイロイコノストック貯蔵腐敗病の病名を提案した。

5．細菌による貯蔵腐敗時の菜根の品質変化

パイル内で約半量の組織に軟腐症状を生じた菜根は，健全菜根に比べて根中糖分および搾汁 pH が明瞭に低下し，還元糖が顕著に増加した。ラフィノースおよび全窒素も低下した。有機酸では酢酸と乳酸が増加し，リンゴ酸とクエン酸が減少した。

滅菌した菜根圧搾汁に，*L. mesenteroides* または *E. carotovora* を接種すると，根中糖分および pH が著しく低下し，還元糖が顕著に増加した。ラフィノースは，特に *E. carotovora* 接種時の低下が顕著であった。有機酸では，*L. mesenteroides* 接種で，D（－）-乳酸が特異的に増加し，*E. carotovora* 接種ではギ酸，D（－）-乳酸，L（＋）-乳酸，およびコハク酸が増加した。スクロースを主な炭素源とする培養液に，*L. mesenteroides* または *E. carotovora* subsp. *carotovora* を接種すると，前者では酢酸と乳酸が顕著に産生され，後者では，両有機酸に加えてコハク酸がわずかに産生された。

II. パイル内に棲息する糸状菌と環境

1．パイル内における糸状菌の動向

パイル内の菜根表面に発生する糸状菌には，5つの主要な菌叢型が認められた。Botrytis 型はパイルの全ての部位に高率で発生し，平均発生率は5菌叢型中で最高であった。Penicillium 型も全ての部位に発生した。本型は Botrytis 型に比べて平均発生率では低かったが，天場での発生率は，これを上回った。Fusarium 型も全ての部位で観察されたが，発生率は，前2者よりかなり低かった。Cladosporium 型は主に乾燥した側面に，Geotrichum 型は主に湿潤な天場に発生した。

パイル天場における糸状菌発生個体は，堆積15日後の11月中旬から認められ，2月下旬まで漸増した。発生する菌叢型中，Botrytis 型は11月中旬から認められ，漸増した。Penicillium 型も早期から観察されたが，1月以降になって漸増した。Fusarium 型は2月中旬以後にわずかな発生が認められた。Cladosporium 型は11月中旬から観察されたが，12月中旬を境に，以後ほとんど観察されなくなった。Geotrichum 型は貯蔵期間の前半には観察されず，1月中旬以降から観察され，急増した。

パイル天場に設けられている中央高1.8 m の空間内に浮遊する主要な糸状菌胞子は *Cladosporium*, *Botrytis*, および *Penicillium* の3属であった。パイル堆積直後は，これらの中 *Cladosporium* が構成比の半数を占め，*Botrytis* は捕捉されなかったが，その後 *Cladosporium* の構成比は漸減し，逆に *Botrytis* の構成比が漸増した。*Botrytis* の構成比と，菜根表面の糸状菌発生個体率，腐敗個体率，および腐敗程度との間には，高い正の相関が認められ，中でも *Botrytis* の構成比と腐敗個体率との相関係数が高かった。

2．パイルの温度環境と貯蔵菜根の劣化

底辺22 m，高さ4.5 m，長さ約100 m のパイルを，平均115日間貯蔵する実験を，3カ年行った結果，パイル内の日平均温度は3.5°C，菜根の腐敗程度は，0～5の指数で0.20となった。期間中の砂糖損失量は，菜根が含有する全砂糖量の5.5%に達し，日平均79 g/t/day となった。腐敗程度，砂糖損失量とも，パイルの部位により大きく異なっていたが，パイル内温度と密接な関係があり，日平均温度と腐敗程度の間には1%水準で，砂糖損失量との間には5%水準で，各々有意な正の相関が認められた。

III. 貯蔵腐敗病の制御

1．菜根の水分と貯蔵腐敗病発生の関係

収穫した菜根を，短期間に最大20%まで乾燥して貯蔵すると，乾燥割合が高くなるにしたがって腐敗が激しくなり，明らかな根中糖分の低下と還元糖の増加が認められた。逆に，長期間にわたって10%まで徐々に吸水させると，吸水割合が高くなるほど腐敗が少なくなり，根中糖分の低下と還元糖の増加が抑制された。

2．貯蔵温度と貯蔵腐敗病発生の関係

手掘した菜根と，これらに腐敗防止のための薬剤処理を行った菜根を，長期間，低温域で貯蔵し，呼吸および腐敗による砂糖損失量を比較した。平均9.3°Cで貯蔵する時の，呼吸による砂糖損失量は59 g/t/day，腐敗による値は16 g/t/day，平均4.5°Cで貯蔵する時は，各々37 g/t/day，12 g/t/day と算出され，呼吸または腐敗による砂糖損失量とも，氷点に近づくほど抑制された。

3．殺菌剤および食品添加物による貯蔵腐敗病の防除

9殺菌剤，7食品添加物を用い，貯蔵腐敗病に対する防除効果を検討した結果，ジクロランとチアベンダゾールの効果が高く，両者では，ジクロランが安定して貯蔵腐敗病の発生と砂糖の損失を抑制した。

4．拮抗細菌による貯蔵腐敗病の防除

土壌133点，菜根組織片36点を材料に，3114細菌株を分離し，*B. cinerea* と *P. expansum* の両病原菌に抗菌活性を有し，8°C以下での生育が可能で，テンサイに対する病原性がなく，かつ，選抜時のテンサイ菜根における根中糖分の低下の小さい *Pseudomonas cepacia* の5菌株を得た。これらを処理した菜根を，長期間貯蔵すると，貯蔵腐敗病が明らかに抑制され，特にD-202菌株では，腐敗株率および腐敗程度が，無処理の3分の1まで抑制された。しかし，砂糖損失量は，無処理より小さくはならなかった。

謝　辞

本研究を行うにあたり，北海道大学大学院農学研究科　教授　生越明博士には，終始有益なご指導と本論文の校閲を賜った。また，北海道大学大学院農学研究科　教授　小林喜六博士，同農学研究科　教

授 喜久田嘉郎博士，同農学研究科 助教授 近藤則夫博士には本文の校閲を賜った。北海道立北見農業試験場 場長 児玉不二雄博士，岡山大学資源生物科学研究所 教授 玉田哲男博士には，貴重な文献の紹介と多くの示唆を頂いた。北海道立十勝農業試験場病虫科 科長 田中文夫博士，同道南農業試験場 故谷井昭夫博士，同花・野菜技術センター 堀田治邦氏，北海三共株式会社開発普及部 課次長 佐々木正人氏には，貴重な菌株を分譲していただいた。これらのご厚意に対して心から深く謝意を表する。

日本甜菜製糖株式会社総合研究所 副所長 神沢克一博士には，本研究の課題を与えて頂き，共同で本研究を実施し，常に懇切なご指導とご鞭撻を頂いた。同取締役所長 佐山晃司博士にも，懇切なご指導とご鞭撻を頂くとともに，研究の一部を共同で実施して頂いた。清水工場工務課イーストグループ副課長 石栗秀博士，飼料事業部 次長 井村悦夫氏，札幌支社農務部原料課 課長 早坂昌志氏，美幌製糖所工務課製造グループ 課長 村椿孝行氏，芽室製糖所製造グループ 課長代理 藤崎裕之氏には，研究の一部を共同実施し，諸分野に関する有益な指導と示唆，激励を頂いた。また，総合研究所第一グループおよび清川農場の職員各氏をはじめ，農務関係者一同には研究遂行上数多くの便宜と多大なご協力を頂いた。これらの諸氏に対して心から感謝の意を表する。

引用文献

1. Akeson, W. R., and Fox, S. D.: Reduction of sugar loss in sugarbeet piles with straw and plastic covering. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **18**: 116-124, 1974
2. Akeson, W. R., Fox, S. D., and Stout, E. L.: Effect of topping procedure on beet quality and storage losses. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **18**: 125-135, 1974
3. Akeson, W. R., and Stout, E. L.: Effect of impact damage on sucrose loss in sugarbeets during storage. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **20**: 167-173, 1978
4. Arimoto, Y., Homma, Y., and Misato, T.: The effect of sodium hydrogencarbonate on the occurrence of citrus storage diseases. J. Pesticide Science **2**: 163-167, 1977
5. Artschwager, E., and Starrett, R. C.: Suberization and wound-cork formation in the sugar beet as affected by temperature and relative humidity. J. Agricultural Research **47**: 669-674, 1933
6. Atterson, A., Carruthers, A., Dutton, J. V., Hibbert, D., Oldfield, J. F. T., Shore, M., and Teaque, H. J.: Veränderungen in Rüben nach Gefrieren und Lagern. Zeitschrift für die Zuckerindustrie **89** Nr. 8: 466-467, 1964
7. Barnett, H. L., and Hunter, B. B.: Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth edition. Macmillan Publishing Company, New York, 1987
8. Barr, C. G., Mervine, E. M., and Bice, R. A.: A preliminary report on the effect of temperature and beet conditions on respiration and loss of sugar from beets in storage. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Third General Meeting: 52-65, 1940
9. Bastow, J.: Alternative clamp covering materials-results from preliminary trials 1982. British Sugar Beet Review **51** No. 2: 29-32, 1983
10. Berghäll, S., Eronen, L., and Walliander, P.: Long time storage of sugar beet under cold climatic conditions. Zuckerindustrie **121**: 939-943, 1996
11. Boerema, G. H., and Dorenbosch, M. M. J.: The *Phoma* and *Ascochyta* species described by Wollenweber and Hochapfel in their study on fruit-rotting. Studies in Mycology **3**: 1-57, 1973
12. Booth, C., and Waterston, J. M.: *Fusarium culmorum*. C. M. I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria: No. 26, 1964
13. Bradbury, J. F.: Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB International Mycological Institute, England, 1986
14. Brooks , C., and Cooley, J. S.: Temperature

relations of apple-rot fungi. J. Agricultural Research 8: 139-164, 1917

15. Bugbee, W. M.: Sucrose and cell walls as factors affecting Phoma storage rot of sugar beet. Phytopathology **63**: 480-484, 1973
16. Bugbee, W. M.: Resistance in *Beta vulgaris* to Phoma storage rot in the North Central region. Plant Disease Reporter **57**: 204-207, 1973
17. Bugbee, W. M.: *Penicillium claviforme* and *Penicillium varriable*: pathogens of stored sugar beets. Phytopathology **65**: 926-927, 1975
18. Bugbee, W. M.: *Penicillium claviforme*: sugar beet pathogen and antagonist of *Botrytis cinerea*. Can. J. Plant Science **56**: 647-649, 1976
19. Bugbee, W. M.: Resistration of F1001 and F1002 sugarbeet germplasm. Crop Science **18**: 358, 1978
20. Bugbee, W. M.: Resistance of sugar beet storage rot pathogens. Phytopathology **69**: 1250-1252, 1979
21. Bugbee, W. M.: The effect of plant age, storage, moisture and genotype on storage rot evaluation of sugarbeet. Phytopathology **69**: 414-416, 1979
22. Bugbee, W. M.: Storage rot of sugar beet. In: Compendium of beet diseases and insects, (ed. by Whitney, E. D., and Duffus, J. E.), pp. 37-39. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 1986
23. Bugbee, W. M., and Campbell, L. G.: Combined resistance in sugar beet to *Rhizoctonia solani*, *Phoma betae*, and *Botrytis cinerea*. Plant Disease **74**: 353-355, 1990
24. Bugbee, W. M., and Cole, D. F.: Sugarbeet storage rot in the Red River Valley 1974-75. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **19**: 119-24, 1976
25. Bugbee, W. M., and Cole, D. F.: The effect of root dehydration on the storage performance of a sugar beet genotype resistant to storage rot. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **20**: 307-314, 1979
26. Bugbee, W. M., and Cole, D. F.: Comparison of thiabendazole and genetic resistance for control of sugar beet storage rot. Phytopathology **69**: 1230-1232, 1979
27. Bugbee, W. M., and Cole, D. F.: Sucrose content, clear juice purity and storage rot of sugarbeet. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **23**: 154-161, 1986
28. Bugbee, W. M., Cole, D. F., and Nielsen, G. E.: Microflora and invert sugar in juice from healthy tissue of stored sugar beet. Applied Microbiology **29**: 780-781, 1975
29. Bugbee, W. M., and Nielsen, G. E.: *Penicillium cyclopium* and *Penicillium funiculosum* as sugarbeet storage rot pathogens. Plant Disease Reporter **62**: 953-954, 1978
30. Burgess, L. W., Liddell, C. M., and Sumnerell, B. A.: Laboratory manual for Fusarium research, second edition. University of Sydney, Sydney, 1988
31. Butler, E. E.: Pathogenicity and taxonomy of *Geotrichum candidum*. Phytopathology **50**: 665-672, 1960
32. Butler, E. E., Webster, R. K., and Eckert, J. W.: Taxonomy, pathogenicity, and physiological properties of the fungus causing sour rot of citrus. Phytopathology **55**: 1262-1268, 1965
33. Campbell, L. G., and Bugbee, W. M.: Development of sugarbeet germplasm lines resistant to storage rot. North Dakota Farm Research **41** No. 6: 18-19, 31, 1984
34. Campbell, L. G., and Bugbee, W. M.: Registration of storage rot resistant germplasms F1004, F1005 and F1006. Crop Science **25**: 577, 1985
35. Campbell, L. G., and Bugbee, W. M.: Registration of sugar beet germplasm with combined storage rot resistance and low storage-respiration rate. Crop Science **29**: 836, 1989
36. Campbell, L. G., and Cole, D. F.: Registration of two sugarbeet germplasms having low storage-respiration rates. Crop Science **28**:

205-206, 1988

37. Clark, C. A., and Lorbeer, J. W.: Comparative nutrient dependency of *Botrytis squamosa* and *B. cinerea* for germination of conidia and pathogenicity on onion leaves. Phytopathology **67**: 212-218, 1977
38. Cole, D. F.: Effect of cultivar and mechanical damage on respiration and storability of sugarbeet roots. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **19**: 240-245, 1977
39. Cole, D. F., and Bugbee, W. M.: Changes in resident bacteria, pH, sucrose and invert sugar levels in sugarbeet roots during storage. Applied and Environmental Microbiology **31**: 754-757, 1976
40. Conn, K. E., Ogawa, J. M., Manji, B. T., and Adaskaveg, J. E.: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, the first report of a coccoid bacterium causing a plant disease. Phytopathology **85**: 593-599, 1995
41. Cormack, M. W.: Sugar beet. 29th Ann. Rept. Can. Plant Disease Survey, 1949: 33, 1950
42. Cormack, M. W., and Moffatt, J. E.: Factors influencing storage decay of sugarbeet by *Phoma betae* and other fungi. Phytopathology **51**: 3-5, 1961
43. Dambroth, M.: Untersuchungen zum Lagerverhalten gewaschener und ungewaschener Zuckerrüben in Abhängigkeit von Genotyp, Temperatur und Ernteverfahren. Zucker **23** Nr. 6: 167-172, 1970
44. Davies, R. R.: Air sampling for fungi, pollens and bacteria. In: Methods in Microbiology, (ed. by Booth, C.), pp. 367-404. Academic Press, London, 1971
45. de Nie, L. H.. der Poel, P. W. van, and de Velde, M. H. van.: Sugar beet and frost damage in the Netherlands-A successful approach to prevent the delivery of frozen beet. Zuckerindustrie **110**: 37-42, 1985
46. Devillers, P.: Processus microbiologiques pendant le stockage des betteraves. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 21-34, 1980
47. Devillers, P.: Quality and storage. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research 50 Years of Sugar Beet Research 1932-1982: 113-125, 1982
48. Dexter, S. T., Frakes, M. G., and Sunderland, D. L.: Winter protection of piled sugar beet roots. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **12**: 455-461, 1963
49. Dexter, S. T., Frakes, M. G., and Wyse, R. E.: The effect of low, medium and high nitrogen fertilizer rates on the storage of sugar beet roots at high and low temperatures. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **14**: 147-159, 1966
50. Dexter, S. T., Frakes, M. G., and Wyse, R. E.: A method of evaluating the processing characteristics of sugarbeets, based on juice constituents: A prescription of beet quality. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **16**: 128-135, 1970
51. Dilley, D. R., Wood, R. R., and Brimhall, P.: Respiration of sugarbeets following harvest in relation to temperature, mechanical injury and selected chemical treatment. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **15**: 671-683, 1969
52. Dochlenko, J. J.: Zuckerverluste beim Aufbewahren der Rüben. Zapiski 4, 77-86, 1926・27 (summarized in Review of Applied Mycology (1928) **7**: 356.)
53. Domsh, K. H., Gams, W., and Anderson, T.-H.: Compendium of Soil Fungi Vol. 1. Academic Press, London, 1980
54. 堂腰 純・佐藤久二・井上博元・秦泉寺敦・堤平・富山信夫：原料てん菜の貯蔵法について 第2報 長期貯蔵法に関する試験．てん菜研究会報 **25**：216-220，1983
55. 堂腰 純・富山信夫・秦泉寺敦・富樫繁弘：原料てん菜の貯蔵法について 第3報 加湿循環通風貯蔵法に関する試験．てん菜研究会報 **26**：175-179，1984

56. Dutton, J., and Houghton, B.: Comparison of alternative clamp covering materials. British Sugar Beet Review **52** No. 3: 38-40, 1984
57. Edson, H. A.: Seedling disease of sugar beet seedlings and their relation to root-rot and crown-rot. J. Agricultural Research **4**: 135-168, 1915
58. Egan, B. T.: Investigations into the sour storage rot problem. Proc. of the Thirty-first Sugar Cane Conference: 15-26, 1964
59. Ellis, M. B.: 193. Cladosporium. In: Dematiaceous Hyphomycetes, pp. 308-319. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 1971
60. Ellis, M. B.: 110. Botrytis. In: Dematiaceous Hyphomycetes, pp. 178-184. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 1971
61. Fort, C. A., and Stout, M.: White washing sugar beets to reduce sugar losses in storage. Sugar **40** September: 34-39, 1945
62. Fort, C. A., and Stout, M.: Suggested procedure for obtaining lower temperatures during sugar beet storage. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Fourth General Meeting-1946: 515-523, 1947
63. Friz, R., Laroux, P., et Gredt, M.: Mécanisme de l'Action fongitoxique de la Promidione (26019 RP ou Glycophène), de la Vinchlozoline et du Dicloran sur *Botrytis cinerea* Pers. Phytopath. Z. **90**: 152-163, 1977
64. Garvie, E. I.: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (Knudsen and Sorensen) comb. nov. and *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (Beijerinck) comb. nov. International Journal of Systematic Bacteriology **33**: 118-119, 1983
65. Garvie, E. I.: 5. Separation of species of the genus *Leuconostoc* and differentiation of the *Leuconostocs* from other lactic acid bacteria. Methods in Microbiology **16**: 147-178, 1984
66. Garvie, E. I.: Leuconostoc vanTieghem 1878, 198 emend mut. char. Hucker and Pederson 1930, 66. In: Bergey's manual of systematic bacteriology vol. 2, (ed. by Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., and Holt, J. G., et al.), pp. 1071-1075. Williams and Wilkins, London, 1986
67. Gaskill, J. O.: Progress report on the effects of nutrition, bruising, and washing upon rotting of stored sugar beet. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Sixth General Meeting, 1950: 680-685, 1950
68. Gaskill, J. O.: Possibilities for improving storage-rot resistance of sugar beets through breeding. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Sixth General Meeting, 1950: 664-669, 1950
69. Gaskill, J. O.: Drying after harvest increases storage decay of sugar beet roots. Phytopathology **40**: 483-486, 1950
70. Gaskill, J. O.: Effect of wilting , drought, and temperature upon rotting of sugar beets during storage. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Sixth General Meeting, 1950: 653-659, 1950
71. Gaskill, J. O.: Progress report on breeding for storage-rot resistance in sugar beets. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Seventh General Meeting, 1952: 396-399, 1952
72. Gaskill, J. O.: A study of two methods of testing individual sugar-beet roots for resistance to storage pathogens. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Seventh General Meeting, 1952: 575-580, 1952
73. Gaskill, J. O., and Seliskar, C. E.: Effect of temperatures on rate of rotting of sugar beet tissue by two storage pathogens. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Seventh General Meeting, 1952: 571-574, 1952
74. 後藤正夫・瀧川雄一：植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方(1). 植物防疫 **38**：339-344, 1984
75. 後藤正夫・瀧川雄一：植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方(2). 植物防疫 **38**：479-484, 1984

76. Graf, A.: Techniken der Rübenlagerung - Synthese der Basisdokumentation. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 45-55, 1980
77. Graf, A.: Lagerungsversuche mit Sorten und N-düngung an Zwei Standorten im Jahrf 1978. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 149-155, 1980
78. Graf, A.: Ein Eingärreger Lagerungsversuch mit *Cercospora* und *Erysiphe* Befallenen Rüben. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 221-224, 1980
79. Graf, A.: Grosstechnische Lagerungsversuche bei Zuckerrüben mit Thiabendazol-Behandlung. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 75-82, 1980
80. Gregory, P. H., and Hirst, J. M.: The summer air-spora at Rothamsted in 1952. J. Gen. Microbiol. **17**: 135-152, 1957
81. Halloin, J. M., and Roberts, D. L.: Temperature as a determining factor in the storage rot of sugarbeet caused by *Aspergillus fumigatus*. J. Sugar Beet Research **32**: 59-67, 1995.
82. 濱 浪夫：テンサイ収穫後の注意.北農 **7** 第9号：5-7, 1940
83. Hansen, C. M.: The storage of sugar beets. Argicultural Engineering **30**: 377-378, 1949
84. 半澤 洵・佐々木酉二：甜菜貯蔵中に発生する黴に就て. 札幌農林会報 **25**(118)：490, 1934
85. 早坂昌志：貯蔵中のテンサイの呼吸について. てん菜研究会報 **32**：102-106, 1991
86. 早坂昌志・斎藤英俊・神沢克一：テンサイの機械的損傷と貯蔵性 第4報 打撲の強さと腐敗. てん菜研究会報 **30**：182-186, 1988
87. Heijbroek, W., and Huijbregts, A. W. M.: Some factors affecting frost damage to sugar beets. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 47th Winter Congress: 35-52, 1984
88. Heintzeler, I.: Das Wachstum der Schimmelpilze in Abhangigkeit von der Hydraturverhaltnissen unter verschiedenen Ausenbedingungen. Arch. Mikrobiol. **10**: 92-132, 1939
89. Hodges, F. A.: Fungi of sugar beets. Phytopathology **26**: 550-563, 1936
90. Homma, Y., Katoh, K., Uchino, H., and Kanzawa, K.: Suppression of sugar beet damping-off by seed bacterization with *Stenotrophomonas* sp. SB-K88 in a paper-pot system. Proc. of the Fourth International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Japan-OECD Joint Workshop: 205-208, 1997
91. Houghton, B., and McMillan, P.: How to minimise losses in storage. British Sugar Beet Review **59** No. 3: 18-20, 1991
92. Hull, R.: Spoilage of sugar beet. British Sugar Beet Review **20**: 25-29, 1951
93. Hull, R.: Root diseases. In: Sugar beet diseases Bulletin No. 142, pp. 41-52. Her Majesty's Stationery Office, London, 1960
94. 一戸正勝：Fusarium 属の分類と同定. 植物防疫 **47**：329-333, 1993
95. 井村悦夫・早坂昌志・斎藤英俊・神沢克一：テンサイの機械的損傷と貯蔵性 第1報 収穫及び積上時の損傷の影響. てん菜研究会報 **28**：108-114, 1986
96. 井村悦夫・早坂昌志・斎藤英俊・神沢克一：テンサイの機械的損傷と貯蔵性 第2報 損傷の種類とその影響. てん菜研究会報 **28**：115-120, 1986
97. 井村悦夫・中山邦雄・早坂昌志・斎藤英俊・神沢克一・道場三喜雄：テンサイの機械的損傷と貯蔵性 第3報 収穫機による損傷と貯蔵性. てん菜研究会報 **29**：154-160, 1987
98. Isaksson, A.: A Botrytis form causing storage rot in sugar beets. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Third General Meeting-1942: 423-430, 1943
99. Ishikuri, S, Uchino, H., and Kanzawa, K.: Isolation of *Pseudomonas cepacia* D-202: an available biocontrol agent to the storage rot of sugar beet. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. **58**: 456-460, 1992

100. Janisiewicz, W. J.: Biocontrol of post harvest diseases of apples with antagonist mixtures. Phytopathology **78**: 194-198, 1988
101. Janisiewicz, W. J., and Roitman, J.: Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. Phytopathology **78**: 1697-1700, 1988
102. Jarvis, W. R.: The despersal of spores of *Botritys cinerea* Fr. in a raspberry plantation. Trans. Brit. Mycol. Soc. **45**: 549-559, 1962
103. Jarvis, W. R.: The infection of strawberry and raspberry fruit by *Botrytis cinerea* Fr. Ann. Appl. Biol. **50**: 569-575, 1962
104. Jarvis, W. R.: Part 3 Form and function, pp. 20-61. *Botryotinia* and *Botrytis* species: taxonomy, physiology and pathogenicity, Monograph No. 15. Minister of Supply and Services Canada, Ottawa, 1977
105. Kabashnaya, L. V.: Role of bacteria in etiology of pit storage rot of sugar beet. Mikrobiologicheskii Zhurnal 48 No. 2: 26-29, 1986
106. Kang, C. K., Woodburn, M., Pagenkopf, A., and Cheney, R.: Growth, sporulation, and germination of *Clostridium perfringens* in media of controlled water activity. Applied Microbiology **18**: 798-805, 1969
107. 神沢克一・内野浩克・佐山晃司・村椿孝行：テンサイ貯蔵腐敗病に関する研究　第3報　貯蔵腐敗病（*Botrytis cinerea*）の被害について．てん菜研究会報　**28**：154-159，1986
108. Karnik, V. V., Salunkhe, D. K., Olsen, L. E., and Post, F. J.: Physio-chemical and microbiological studies on controlled atmosphere storage of sugarbeets. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **16**: 156-167, 1970
109. Kessel, W. C. von: Schutz der Zuckerrübenmieten auf den Feldern gegen Frost. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 225-231, 1980
110. Khanna, K. K., and Chandra, S.: A new disease of apple fruit. Plant Disease Reporter **59**: 329-330, 1975
111. 木村正洋・久保田喜三・福森保則：テンサイの貯蔵中における CO_2 の発生量と糖分損失について．てん菜研究会報　**32**：102-106，1990
112. 岸　國平：作物病害事典．全国農村教育協会，東京，1988
113. Klaushofer, von H., und Hollaus, F.: Zur Frage der Bedeutung der Schimmelpilze in der Rübenzuckertechnologie. I. Taxonomische Untersuchungen an einigen von Lagerrüben isolierten Schimmelpilzen. Zeitschrift für die Zuckerindustrie 1966 Nr. 8: 452-456, 1966
114. Klotz, L. T., Calavan, E. C., and Zentmeyer, G. A.: The effect of Botrytis rot on lemons. California Citrograph **31**: 247, 262, 1946
115. Kohlmeyer, von J.: Über den Cellulose-Abbau durch einige Phytopathogen Pilze. Phytopath. Z. **27**: 147-182, 1956
116. 駒形和男・小川博望・福島　清・伊藤　武：グリシンによる微生物の生育阻害．食衛誌　**9**：289-294，1968
117. Koster, R. B., Raats, P, and Jorritsma, J.: The effect of some agronomical factors on the respiration rates of sugar beet. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 109-125, 1980
118. Krezel, Z., and Stankiewicz, M.: Effect of *Bacillus subtilis* 93 on the infection of sugar beet seedlings with *Phoma betae*. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent. **49**/2b: 517-523, 1984
119. Kuehn, H. H., and Gunderson, M. F.: Psychrophilic and mesophilic fungi in frozen food products. Applied Microbiology **11**: 352-356, 1963
120. Larmaer, F. G.: Keeping quality of sugar beet as influenced by growth and nutritional factors. J. Agricultural Research **54**: 185-198, 1937
121. Lelliott, R. A., and Dickey, R. S.: *Erwinia* Wenslow, Brodhurst, Buchanan,

Krumwiede, Rogers and Smith 1920, 209. In: Bergey's manual of systematic bacteriology vol. 1, (ed. by Krieg, N. R., Holt, J. G., et al.), pp. 469-476. Williams and Wilkins, London, 1984

122. 李 王休・生越 明：てん菜種子のバクテリゼーションに関する研究II．テンサイ根面細菌の立枯病菌に対する抗菌性とテンサイ生育促進効果．日植病報 **52**：175-183, 1986

123. Louis, D.: Les modalités de la pénétration du *Botrytis cinerea* Pers. dans les plantes. Ann. Epiphyties **14** (1): 57-72, 1963

124. Lovic, B., Heck, C., Gallian, J. J., and Anderson, A. J.: Inhibition of the sugarbeet pathogens *Phoma betae* and *Rhizoctonia solani* by bacteria associated with sugarbeet seeds and roots. J. Sugar Beet Research **30**: 169-184, 1993

125. Martens, M., and Oldfield, J. F. T.: Storage of sugar beet in Europe; report of an I.I.R.B. enquiry. Journal of the I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research **5** No. 2: 102-128, 1970

126. Mantovani, G.: Beet storage under Italian weather conditions. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 157-174, 1980

127. 増田昭芳・神沢克一・加川勝久：てん菜の品質と貯蔵性について．てん菜研究報告 補巻 **11**：70-76, 1970

128. 松本広治：甜菜の貯蔵腐敗菌について．日植病報 **25**：62, 1960

129. 松本広治：甜菜の貯蔵腐敗防止について．日植病報 **25**：62-63, 1960

130. McCready, R. M., and Goodwin, J. C.: Sugar transformation in stored sugar beets. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **14**: 197-205, 1966

131. Mcknight, T.: Plant protection, Diseases of root crops. Queensland Agricultural J. **61**: 152-158, 1945

132. Miles, W. G., Shaker, F. M., Nielson, A. K., and Ames, R. A.: A laboratory study on the ability of fungicides to control beet rotting fungi. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **19**: 288-293, 1977

133. 宮本啓二・松田清明・佐藤禎稔・道場三喜雄・山島由光・原 令幸・玉木哲夫・鶴 龍蔵・神沢克一・早坂昌志・斎藤英俊・安久津昌義・松田 悟： テンサイの損傷と貯蔵性に関する調査 第1報 収穫機の工程の各部分で受ける損傷の影響．てん菜研究会報 **30**：175-181, 1988

134. 宮本啓二・松田清明・佐藤禎稔・山島由光・原令幸・鶴 龍蔵・神沢克一・井村悦夫・南部哲男・早坂昌志・斎藤英俊・安久津昌義・松田悟：テンサイの損傷と貯蔵性に関する調査2．損傷防止対策を施した収穫機がテンサイの損傷と貯蔵性に及ぼす効果．てん菜研究会報 **32**：94-101, 1990

135. Morgan, D. J.: Numerical taxonomic studies of the genus *Botrytis* I. The *B. cinerea* complex. Trans. Br. Mycol. Soc. **56**: 319-325, 1971

136. Morgan, D. J.: Numerical taxonomic studies of the genus *Botrytis* II. Other *Botrytis* taxa. Trans. Br. Mycol. Soc. **56**: 327-335, 1971

137. Mumford, D. L., and Wyse, R. E.: Effect of fungus infection on respiration and reducing sugar accumulation of sugarbeet roots and use of fungicides to reduce infection. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **19**: 157-162, 1976

138. 内藤繁男・杉本利哉：じゃのめ病菌によるてん菜の根腐症状について．てん菜研究会報 **20**：93-102, 1978

139. Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Marasas, W. F. O.: 8. Section Discolor, pp. 107-123. *Fusarium* Species, an Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press, USA, 1983

140. Neeb, O., und Grupe, H.: Einfluß von Nährstoffmangel und Vergilbungsinfektion auf die Zuckerveratmung lagern der Zuckerrüben. Zucker **13** Nr. 14: 348-357, 1960

141. Norman, L. W. and Rorabaugh, G. O.: Studies of lactic acid in the silver battery. American Society of Sugar Beet Technolo-

gists Proc. of Eighth General Meeting 1954, 8 part 2: 242-247, 1954

142. Oldfield, J. F. T., and Dutton, J. V.: Principles of clamp design to give minimum loss of sugar and minimum deterioration of beet in storage. British Sugar Beet Review **38** No. 1: 15-18, 1969

143. Oldfield, J. F. T., Dutton, J. V., and Houghton, B. J.: Deduction of the optimum conditions of storage from studies of the respiration rates of beet. International Sugar Journal **73**: 326-330, 361-365, 1971

144. Oldfield, J., Dutton, J., and Houghton, B.: Clamping for minimum sugar and beet losses. British Sugar Beet Review **47** No. 3: 7-10, 1979

145. Oldfield, J. F. T., Dutton, J. V., and Shore, M.: Effects of thermophilic activity in diffusion on sugar beet processing. International Sugar Journal **74**: 260-263, 301-305, 1974

146. Oldfield, J. F. T., Dutton, J. V., and Teague, H. J.: The significance of invert and gum formation in deteriorated beet. International Sugar Journal **73**: 3-8, 35-40, 66-68, 1971

147. Oldfield, J. F. T., Shore, M., Dutton, J. V., and Houghton, B. J.: Beet storage on the farm under U. K. conditions. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 205-219, 1980

148. Oldfield, J. F. T., Shore, M., Dutton, J. V., and Houghton, B. J.: Agricultural factors affecting beet respiration rates. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 127-138, 1980

149. Pack, D. A.: The effect of moisture on the loss of sugar from sugar beets in storage. J. Agricultural Research **32**: 1143-1152, 1926

150. Palleroni, N. J.: *Pseudomanas* Migula 1894, 237 (Nom. cons. Opin. 5, Jud. Comm. 1952, 237). In: Bergey's manual of systematic bacteriology vol. 1, (ed. by Krieg, N. R., Holt, J. G., et al.), pp. 141-199. Williams and Wilkins, London, 1984

151. Panassyuk, M. P.: Main results of the scientific research work during 1936 of the Pan Soviet Scientific Research institute for the sugar industry. 285 pp., Leningrad, 1937 (summarized in Review of Applied Mycology (1938) **17**: 367-368.)

152. Panassyuk, M. P.: Main results of the scientific research work during 1937 of the Pan Soviet Scientific Research institute for the sugar industry. pp. 257-260, Leningrad, 1939 (summarized in Review of Applied Mycology (1940) **19**: 321-322.)

153. Pape, H.: Pilzparasitäre Krankheiten der eingemieteten Zucker- und Futterrüben. Illustríerte Landwirtlchaftlíche Zeitung **46** Nr. 14: 176-177, 1926

154. Parry, D.: Convenient clamp covering. British Sugar Beet Review **57** No. 3: 15-16, 1989

155. Parks, D. L., and Peterson, C. L.: Sugarbeet injury within harvesting and handling equipment. Transactions of the American Society of Agricultural Engineering **22**: 1238-1244, 1979

156. Peterson, C. L., and Hall, M. C.: Effect of cultivar on impact resistence of sugarbeets. Zuckerindustrie **108**: 1162-1165, 1983

157. Peterson, C. L., Thompson, J. C., Hall, M. C., and Muller, E. R.: Developing concepts in low damage harvesting of sugarbeets. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **21**: 210-220, 1982

158. Pitt, J. I., and Hocking, A. D.: Chapter 7 *Penicillium* and related genera. In: Fungi and food spoilage, pp. 169-257. Academic Press, Sydney, 1985

159. Pusey, P. L., and Wilson, C. L.: Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. Plant Disease **68**: 753-756, 1984

160. Ramirez, C.: Manual and Atlas of the

Penicillia. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1982

161. Rice, B., and Burke, J. I.: The effect of crowning root injury and temperature on sucrose loss in the storage of sugar beet. I. I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 95-108, 1980

162. Richards, B. L.: Relation of rainfall to the late blight of Phoma rot of sugar beet. Phytopathology **12**: 443, 1922

163. Richards, B. L., and Tompkins, C. M.: The late blight of the sugar beet. Phytopathology **21**: 289-314, 1931

164. 斎藤英俊：テンサイ品種の貫入抵抗と貯蔵中の腐敗．てん菜研究会報 **35**：136-144，1993

165. 斎藤英俊・早坂昌志・井村悦夫・南部哲男・神沢克一：テンサイの機械的損傷と貯蔵性 第5報 テンサイの硬さについて．てん菜研究会報 **31**：168-174，1989

166. 坂崎利一：Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, second edition.近代出版，東京，1974

167. 佐々木斌司：テンサイ収穫後根部の処理法と重量および糖分の関係．北農 **2** 第10号：4-5，1935

168. Sayama, M., Uchino, H., Kanzawa, K., and Y. Homma: Suppression of rhizomania of sugar beet by bacterization with a strain of rhizobacteria. Proc. of the Fourth International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Japan-OECD Joint Workshop: 191-193, 1997

169. Schipper, M. A. A.: On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species. Studies in Mycology **17**: 1-52, 1978

170. Schipper, M. A. A.: A revision of the genus *Rhizopus*. I. The *Rhizopus stolonifer*-group and *Rhizopus oryzae*. Studies in Mycology **25**: 1-19, 1984

171. Schiweck, H., Jeanteur-De Beukelaer, C., und Vogel, M.: Das Verhalten der stickstoffhaltigen Nichtzuckerstoffe von Rüben während des Fabrikationsprozesses. Zuckerindustrie **118**: 15-23, 1993

172. Schneider, von F., Hoffmann-Walbeck, H. P., und Abdou, M. A.-F.: Über Polysaccharidbeldner in der Zuckerfabrikation. I. *Leuconostoc mesenteroides* aus Frostrüben, Schwemm- und Waschwässern und Rübensäften. Zucker **21**: 652-657, 1968

173. Schnellhardt, O., and Heald, F. D.: Pathogenicity tests with *Botrytis* spp. when inoculated into apples. Phytopathology **26**: 786-794, 1936

174. Shar-Smith, D. A., and Burns, G.: Biological control of damping-off of sugar beet by *Pseudomonas putida* applied to seed pellets. Plant Pathology **45**: 572-582, 1996

175. Shore, M., Dutton, M. J. V., and Houghton, B. J.: Beet losses again? British Sugar Beet Review **50** No. 3: 20-22, 1982

176. Shore, M., Dutton, M. J. V., and Houghton, B. J.: Evaluation of deteriorated beet. International Sugar Journal **85**: 106-110, 136-139, 1983

177. Smith, G. A., and Ruppel, E. G.: Cercospora leaf spot as a predisposing factor in storage rot of sugar beet roots. Phytopathology **61**: 1485-1487, 1971

178. Stout, M.: Respiratory losses from sugar beets soon after harvest. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **9**: 350-353, 1957

179. Stout, M., and Smith, C. H.: Studies on the respiration of sugar beets as affected by bruising, by mechanical harvesting, severing into top and bottom halves, chemical treatment, nutrition and variety. American Society of Sugar Beet Technologists Proc. of Sixth General Meeting, 1950: 670-679, 1950

180. 杉本利哉：テンサイ採種用母根の貯蔵腐敗病とその防除．てん菜研究報告 補巻 **3**：93-101，1964

181. Suslow, T. V., and Schroth, M. N.: Rhizobacteria of sugar beet: effects of seed application and root colonization on yield.

Phytopathology **72**: 199-206, 1982

182. Theurer, J. C., Wyse, R. E., and Doney, D. L.: Root storage respiration rate in a diallel cross of sugarbeet. Crop Science **18**: 109-111, 1978

183. 栃内吉彦：Ⅳ. 甜菜貯蔵腐敗病. 甜菜—栽培と管理,(北海道大学甜菜研究会編), pp.102-104. 博友社, 東京, 1959

184. 富山信夫：自然通風処理による大型パイル貯蔵について. ビート生産技術研究会報告 第2回 1961・7：91-102, 1962

185. 富山信夫・堤 平・臼井 寛：原料てん菜の貯蔵法について 第1報 貯蔵の状態と品質の変化. 甜菜研究会報 **25**：211-215, 1983

186. Tompkins, C. M., and Nuckols, S. B.: Development of storage diseases in sugar beets resulting from hook injury. Phytopathology **18**: 939-941, 1928

187. Tompkins, C. M., and Nuckols, S. B.: The relation of type of topping to storage losses in sugarbeet. Phytopathology **20**: 621-635, 1930

188. Tompkins, C. M., and Pack, D. A.: Effect of temperature on rate of decay of sugar beets by strains of *Phoma betae*. J. Agricultural Research **44**: 29-37, 1932

189. Toporovskaya, Yu. S.: Sravnitel'naya agressivnost' gribov - vozvuditeleï kagatnoï gnili Sakharnoï Sveklÿkh rezhimakh. Dostizh, nauki-proiz-vu, Kiev, 1966: 106-108, 1966 (summarized in Review of Applied Mycology (1967) **46**: 454.)

190. Tousson, T. A., and Nelson, P. E.: A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species. Pennsylvania State University Press, USA, 1968

191. 内野浩克・神沢克一：テンサイ貯蔵腐敗病に関する研究 第1報 分離される糸状菌とその病原性について. てん菜研究会報 **26**：180-189, 1984

192. 内野浩克・神沢克一：テンサイ貯蔵腐敗病に関する研究 第2報 貯蔵中に発生する糸状菌の変遷について. てん菜研究会報 **26**：190-193, 1984

193. 内野浩克・神沢克一：テンサイロイコノストック貯蔵腐敗病(新称). 日植病報 **55**：509-510, 1989

194. 宇井格生：テンサイの主要病害とその研究 Ⅳ. 貯蔵中の腐敗. 甜菜研究会研究報告 **2**：73-76, 1960

195. 宇田川俊一・椿 啓介・堀江義一・三浦宏一郎・箕浦久兵衛・山崎幹夫・横山竜夫・渡辺昌平：菌類図鑑 上・下. 講談社サイエンティフィク, 東京, 1978

196. Vajna, S.: 3.3 Wasserverlust und Wilken der Zuckerrübe. In: Zuckerrüben- Lagerung, pp. 45-54. Verlag Dr. Albert Bartens, Berlin, 1962

197. Vajna, S.: 3.8 Verhalten gegenüber Mikroorganismen. In: Zuckerrüben- Lagerung, pp. 62-70. Verlag Dr. Albert Bartens, Berlin, 1962

198. Vanstallen, R.: Influence du type de betterave, de la fumure azotte et de la qualite d' arrachage sur la perte en sucre par respiration. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 139-148, 1980

199. Vanstallen, R., et Vigoureux, A.: Influence d' un traitement fongicide sur la perte en sucre pendant le stockage. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 83-93, 1980

200. Verhoeff, K.: 6. The infection process and host-pathogen interactions. In: The biology of *Botrytis*. (ed. by Coley-Smith, J. R., Verhoeff, K., and Jarvis, W. R.), pp. 153-180. Academic Press, London, 1980

201. Vukov, K., and Hangyál, K.: Sugar Beet Storage. In: Sugar technology reviews 12, pp. 143-265. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 1985

202. Vukov, K., und Pátkai, G.: Die Mechanischen Beschädigungen der Zuckerrübe. Zuckerindustrie **103**: 848-850, 1978

203. Walker, H. G., Rorem, E. S., and McCready, R. M.: Compositional changes in diffusion juices from stored sugar beets. Journal of

the American Society of Sugar Beet Technologists **11**: 206-214, 1960

204. Wilson, C. L., and Chalutz, E.: Postharvest biological control of Penicillium rots of citrus with antagonistic yeasts and bacteria. Scientia Horticulturae **40**: 105-112, 1989

205. Wittwer, S. H., and Hansen, C. M.: The reduction of storage losses in sugar beets by preharvest foliage sprays of maleic hydrazide. Agronomy Journal **43**: 340-341, 1951

206. Wyse, R. E.: Effect of harvest injury on respiration and sucrose loss in sugarbeet roots during storage. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **20**: 193-202, 1978

207. Wyse, R. E.: Effect of low and fluctuating temperatures on the storage life of sugarbeets. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **20**: 33-42, 1978

208. Wyse, R. E.: Injury and mold growth as determinants of storage life. I.I.R.B. International Institute for Sugar Beet Research Proc. of the 43rd Winter Congress: 5-19, 1980

209. Wyse, R. E., and Dexter S. T.: Source of recoverable sugar losses in several sugarbeet varieties during storage. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **16**: 390-398, 1971

210. Wyse, R. E., and Dexter S. T.: A study of changes in the marc content of the sugarbeet during storage. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **16**: 289-298, 1971

211. Wyse, R. E., and Holdredge, R. M.: A comparison of forced ventilation and natural convection as means of cooling sugarbeet storage piles in several geographic locations. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **21**: 235-246, 1982

212. Wyse, R. E., and Peterson, C. L.: Effect of injury on respiration rates of sugarbeet roots. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists **20**: 269-280, 1979

213. Wyse, R. E., Theurer, J. C. and Doney, D. L.: Genetic variability in post-harvest respiration rates of sugarbeet roots. Crop Science **18**: 264-266, 1978

214. 山本和太郎・前田己之助・大安範子：栽培植物に発生する青黴病の研究 第1報. 兵庫農科大学研究報告 **2** 第2号：23-28, 1956

Summary

In 1980s, the area cultivated with sugar beet totaled 70,000ha, and root yeild was maintained at more than three million tons in Hokkaido. However, storage rot, occurring on large amounts of roots piled outdoor for long periods during winter, has become increasingly economically important. This paper describes the studies on the causal fungi and bacteria of storage rot, the changes in fungal flora in a large pile, and the measures of reducing the storage rot damage and sugar loss of stored roots.

I. Causal agents of storage rot and the changes in quality of sugar beet roots

1. Fungi isolated from stored sugar beet roots and their pathogenicity

Four families comprising 19 genera including 28 species of fungi were found in sugar beet roots stored in piles, and among these, 12 genera including 16 species were isolated from rotten tissues. *Botrytis* sp. was most frequently isolated at the rate of 71.7%. The mycelia predominantly colonizing the root surface were classified into five types: the Botrytis, Cladosporium, Fusarium, Geotrichum and Penicillium types. The Botrytis, Cladosporium and Penicillium types were frequently observed on rotten tissues. *Botrytis* sp. was frequently isolated from internal tissues of rotten beet roots colonized by these three mycelial types, but *Cladosporium* sp. was less frequently isolated from them. *Botrytis* sp. was the most pathogenic among the 22 species tested by inoculation to the root tissue of sugar beet. *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. and *Phoma* sp. also formed clear lesions on root tissues following inoculation. The four species were identified as *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr., *Fusarium culmorum* (W. G. Smith) Sacc., *Penicillium expansum* Link ex Gray emend. Thom and *Phoma betae* Frank.

2. Characteristics of *B. cinerea*: pathogen of storage rot in sugar beet

Mycelia of *B. cinerea* isolated from sugar beet, kidney bean, statice, strawberry and tomato could grow on PDA at the temperature range of -2 to 30°C, but not at 35°C. Their optimum growth temperature was 20°C except for one isolate from strawberry. All *B. cinerea* isolates, regardless of host plants from which they were isolated, rapidly infected the root tissues of sugar beet. The incidence of storage rot of sugar beet roots harvested by a machine was more than twice of that harvested manually. Storage rot lesions appeared on all parts of the bruised beet roots harvested by a machine, whereas the lesions were mainly observed on the upper part of beet roots dug up manually. The mycelia of *B. cinerea* were incapable of cuticular infection through the periderm of sugar beet roots. Rot lesions were only observed on tissues when mycelia were inoculated on peeled roots. Conidia of *B. cinerea* were also capable of wound infection through the peeled root tissue at the spore concentration ranging from 8×10^1 to 8×10^4. The size of rot lesions resulting from conidial inoculation, however, was much smaller than that from mycelial inoculation.

3. Changes in qualities of sugar beet roots due to fungal storage rot

A significant decline in sugar content and pH, as well as a marked increase in the concentration of reducing sugar, was observed in the sugar beet roots exhibiting decay in approximately half of the tissues due to fungal storage rot. Concentrations of raffinose, brix and total nitrogen also declined, but those of potassium and sodium were almost constant. The sugar content and pH of sound tissues separated from rotten beet roots remained at the same level as those of healthy roots; however, the sugar content was nearly 0%

and pH was markedly low in rotten tissues separated from the same rotten roots. Regarding the relationship between storage rot and root qualities, it was found that the rotten area of the storage roots had a significant positive quadratic correlation with sugar content and a significant negative quadratic correlation with the concentration of reducing sugar. A significant decline in sugar content and pH, as well as a marked increase in the concentration of reducing sugar, was also found in juice pressed from sugar beet roots inoculated with *B. cinerea* or *P. expansum*. The concentration of raffinose was not reduced, and among the carboxylic acids, citric acid concentration was markedly increased in the pressed juice. Sucrose was almost completely reduced, whereas significant amounts of glucose and fructose were produced in the artificial media containing sucrose as the sole carbon source and inoculated with *B. cinerea* or *P. expansum*. Concerning the carboxylic acids, citric acid was markedly produced in those media.

4. Pathogenic bacteria isolated from stored sugar beet roots showing soft rot and the identification

Bacterial soft rot was found at the center of the top surface of storage piles under continuously high humid conditions applied immediately after piling at Kamikawa district. Three types of field soil samples (clay, clay loam and sandy loam soils) and three samples of "separated soils", which were removed by a piler from the beet roots harvested in those fields, were collected from Kamikawa and other districts. The washed healthy sugar beet roots were coated with the six types of soil samples and then stored in a warehouse. Severe bacterial soft rot was only observed on the beet roots which were coated with the separated clay soil collected from Kamikawa district. Bacterial soft rot was observed irrespective of the quantity of the soil coated, and the sugar content and pH of beet roots were significantly decreased. The pathogenicity of 12 among 18 gram-negative rod-shaped bacterial isolates from sugar beet roots stored in piles and exhibiting bacterial soft rot was confirmed by the tobacco hypersensitive reaction test. All these isolates were identified to be *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon. Concerning gram-positive coccoid bacterial isolates from beet roots with bacterial soft rot in storage piles and from the roots exhibiting soft rot symptoms in the soil-coating trials, eight out of ten isolates were found to be pathogenic by the tobacco hypersensitive reaction test. Of the 25 isolates which were inoculated to potato tubers and sugar beet roots by the puncturing method, 17 isolates were pathogenic to potato, 13 to sugar beet and 10 to both potato and sugar beet. All these isolates were identified to be *Leuconostoc mesenteroides* (Tsenkovskii) van Tieghem. The designation "Leuconostoc storage rot" of sugar beet was proposed for this soft rot caused by *L. mesenteroides*.

5. Changes in qualities of stored sugar beet roots due to bacterial storage rot

A significant decline in sugar content and pH, as well as a marked increase in the concentration of reducing sugar, was found in the stored sugar beet roots exhibiting decay of approximately half of the tissues due to bacterial soft rot. A decline in the concentration of raffinose and total nitrogen was also found in the same roots. Among the carboxylic acids, the concentrations of acetic acid and lactic acid also decreased in those roots. A significant decline in sugar content and pH, as well as a marked increase in the concentration of reducing sugar was found in the juice pressed from sugar beet roots inoculated with *L. mesenteroides* or *E. carotovora*. Raffinose was markedly reduced in the juice pressed from beet roots inoculated with *E. carotovora*. Concerning carboxylic acids, only D(-)-lactic acid was significantly increased in the juice pressed from beet roots inoculated with *L. mesenteroides*, and formic acid, D(-)-lactic acid, L(+)-lactic acid and succinic acid were slightly increased in the juice pressed from beet roots inoculated with *E. carotovora* under the same culture conditions. Ace-

tic acid and lactic acid were markedly produced in the artificial media containing sucrose as the major carbon source and inoculated with *L. mesenteroides*. Productions of succinic, acetic and lactic acids were found in the artificial media inoculated with *E. carotovora* subsp. *carotovora*.

II. Fungi occurring in storage piles of sugar beet roots and conditions suitable for their proliferation

1. Changes in fungal flora in large outdoor piles of sugar beet roots during the storage period

Mainly five mycelial types were found on the surface of the storage pile of sugar beet roots. The Botrytis type was frequently observed in all parts of a storage pile. The average percentage of moldy beet roots of this type was the highest among the five mycelial types. The Penicillium type was also observed in all parts of a pile. The average percentage of moldy beet roots of this type was lower than that of the Botrytis type; but on the top surface of storage pile, the percentage of the Penicillium type was higher than that of the Botrytis type. The Fusarium type was also observed in all parts of a pile. However, the average percentage of this type in every part of a storage pile was markedly lower than those of the Botrytis and Penicillium types. The Cladosporium type was mainly found on the dry surface along the sides, while the Geotrichum type, on the humid top surface of storage piles. Moldy roots were observed on the top surface of a storage pile in the middle of November, 15 days after piling, and the incidence increased gradually until late in February, the end of the storage period. The incidence of the Botrytis type increased gradually from the middle of November to late February. The Penicillium type was observed from the early stage of storage, but the occurrence of this type increased gradually from January. A low incidence of the Fusarium type was observed in the middle of February. The Cladosporium type was abundantly observed in the early stage of storage from the middle of November, but was scarcely observed from the middle of December. The Geotrichum type was not observed in the early stage of storage, but was observed in the middle of January, and then rapidly increased, particularly on the top surface of storage piles. *Cladosporium*, *Botrytis* and *Penicillium* were the main genera found as fungal spores in space above the top surface of a storage pile. The component ratio of *Cladosporium* in space (1.8m height) above the sugar beet pile was approximately 50% immediately after piling, but gradually decreased during the storage period. On the contrary, the component ratio of *Botrytis* spores gradually increased during the storage period, though no spores were collected from the atmosphere immediately after piling. It was found that the component ratio of *Botrytis* spores in the atmosphere had a high positive correlation between the rate of moldy roots, the rate of rotten roots and the severity of storage rot in sugar beet piles. The highest correlation coefficient was found between the component ratio of *Botrytis* spores and the rate of rotten roots.

2. Relationship between temperature of a storage pile and rot severity or increase in sugar loss in stored sugar beet roots

Pile temperature, rot severity and sugar loss in stored sugar beet roots in a large outdoor pile (22m in width, 4.5m in height, approximately 100m in length) were measured for three years and presented as averages of storage periods of 115days. The average of daily mean temperature of a pile was 3.5°C, and the average of storage rot severity was 0.20 based on a scale from 0 to 5. The average of daily sugar loss was 79 g/t/day, equivalent to 5.5% of the total sugar yield contained in the stored sugar beet roots. The values for these three factors were markedly different, depending on the portion of a storage pile from which samples were obtained. It was, however, found that the daily mean temperature had a significant positive correlation with rot severity ($P=0.01$), and with sugar loss ($P=0.05$) in storage piles.

III. Controlling storage rot of sugar beet

1. Relationship between water content of beet roots and incidence of storage rot

A severer storage rot, and a more marked decrease in sugar content and increase in the concentration of reducing sugar were found in more dehydrated roots dried with a ventilator immediately after harvest. On the other hand, less severe storage rot and sugar content decline, as well as the suppression of increase in the concentration of reducing sugar, were found in roots with higher water content due to moist conditions during storage.

2. Relationship between storage temperature and incidence of storage rot

After harvesting manually, untreated and the chemically treated sugar beet roots were stored at two-grade, relatively low temperatures during a long storage period. Sugar losses due to respiration and that due to storage rot were calculated to be 59g/t/day and 16g/t/day, respectively, at the average storage temperature of 9.3°C. The losses were decreased when the storage temperature was close to the freezing point, and were calculated to be 37g/t/day and 12g/t/day, respectively, at the average storage temperature of 4.5°C.

3. Prevention of storage rot using chemical compounds

Dicloran and thiabendazole were effective against sugar beet storage rot among nine fungicides and seven chemical compounds tested. Particularly, dicloran stably prevented the occurrence of storage rot and sugar loss.

4. Biological control of storage rot using antifungal bacteria

A total of 3,114 antifungal bacteria were isolated from 133 soil samples and 36 sugar beet root tissue specimens. Five isolates of *Pseudomonas cepacia* were selected as biological agents exhibiting the following features:1) excellent antifungal activity against both sugar beet storage rot pathogens, *B. cinerea and P. expansum*, 2) ability to grow below 8°C, 3) avirulent to sugar beet roots and 4) their application results in a small amount of sugar loss. They successfully reduced the incidence of storage rot even during long-term storage trials. Particulary, isolate D-202 was the most effective in suppressing the rate and severity of root rotting, one-third to those of untreated roots. D-202 treatment, however, was unable to prevent sugar loss as compared with nontreatment.

Plate I

Storage pile

1. Large outdoor storage piles of sugar beet roots at a stock yard in Hokkaido in winter

Symptoms of storage rot

2. Symptom of fungal rot
3. Soft rot symptom of bacterial storage rot

Component of fungal spores trapped from the atmosphere on the top surface of a storage pile

4. Trapped early in December
5. Trapped late in February

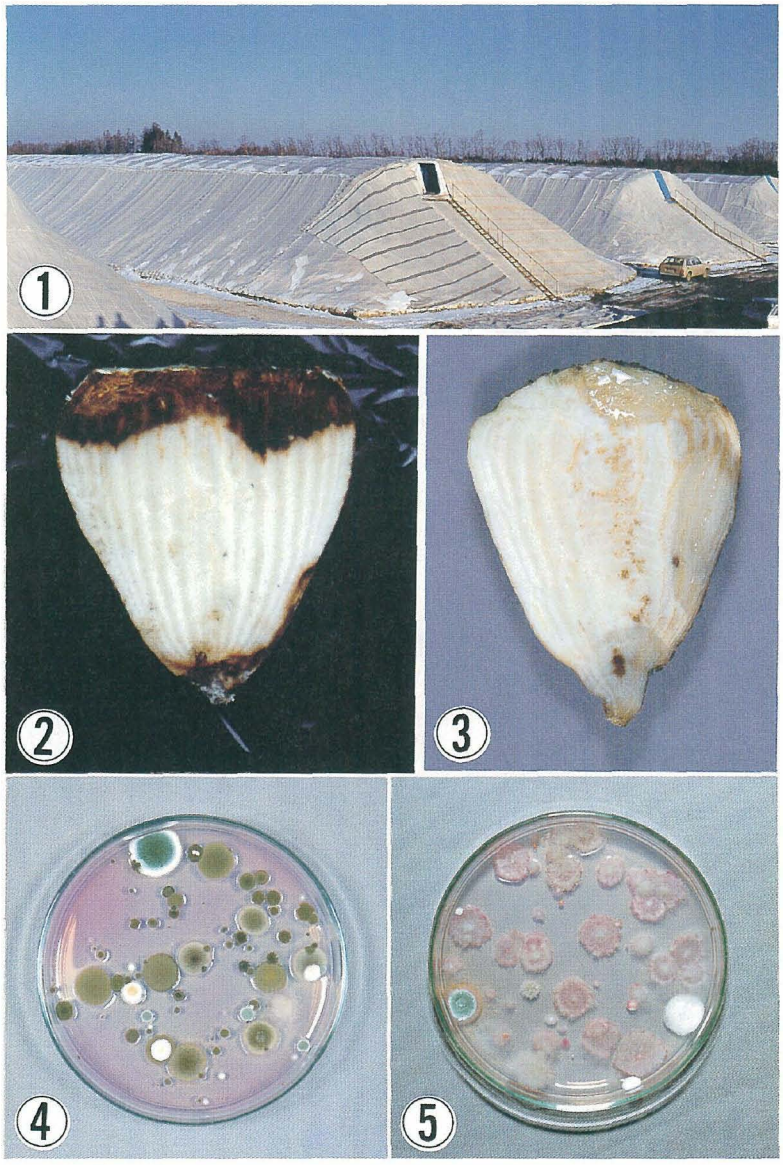


Plate II

Five mycelial types observed on the surface of storage pile of sugar beet roots

1. Botrytis type
2. Penicillium type
3. Cladosporium type
4. Geotrichum type
5. Fusarium type

Causal agents of storage rot in sugar beet

6. Macroconidia of *Fusarium culmorum*

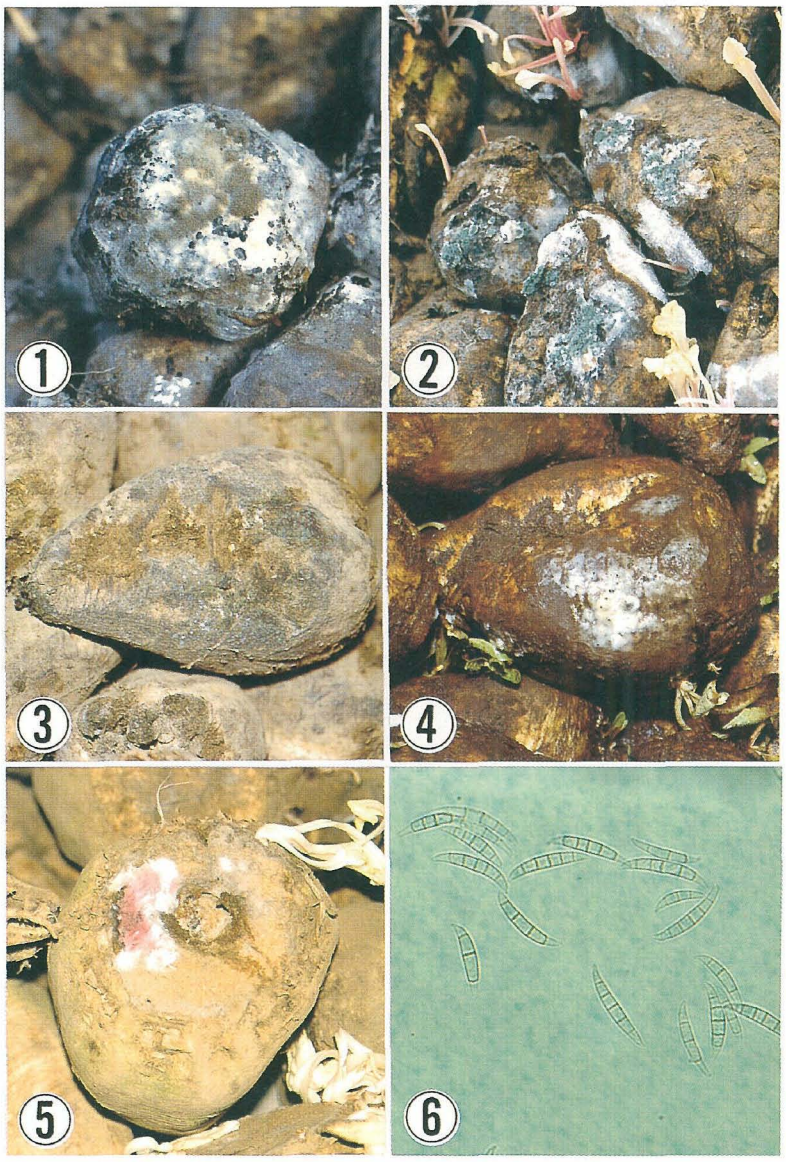
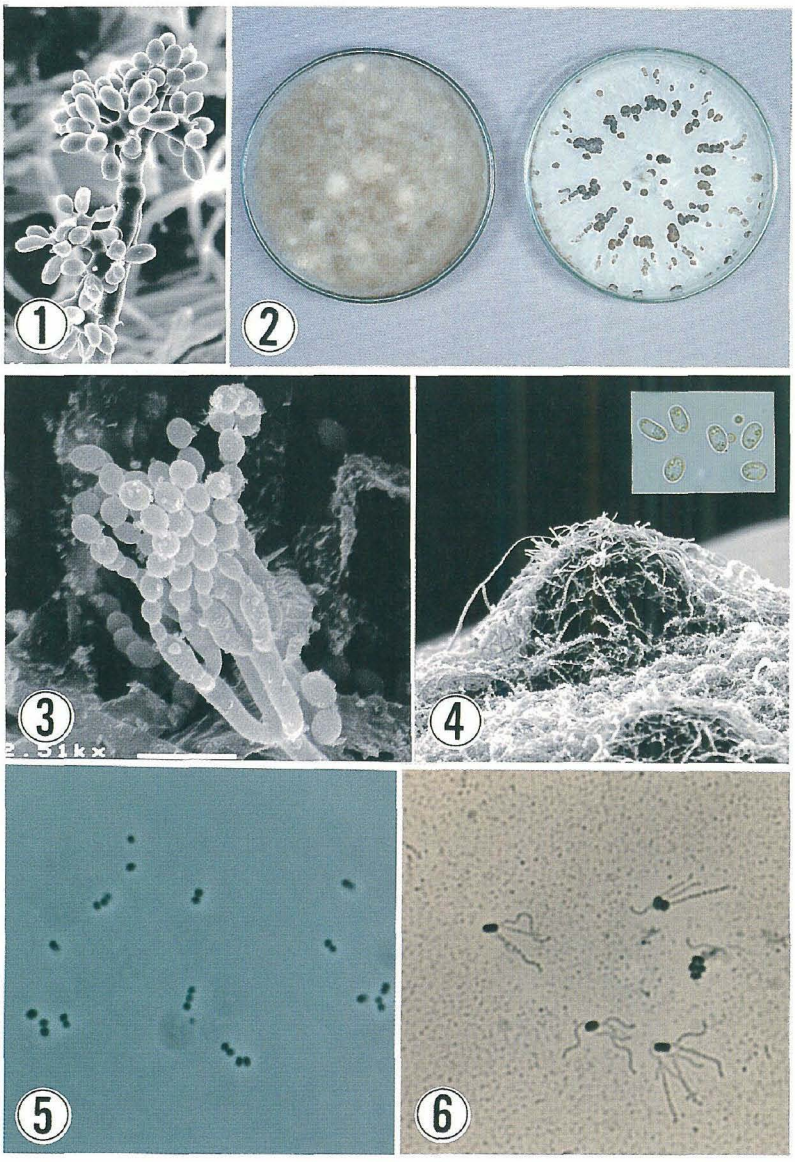


Plate III

Causal agents of storage rot in sugar beet (continued)

1. Conidiophore and conidia of *Botrytis cinerea*
2. Two mycelial types of *B. cinerea*
3. Metulae, phialides and conidia of *Penicillium expansum*
4. Pycnidia and conidia of *Phoma betae*
5. Coccoid cells of *Leuconostoc mesenteroides*
6. Rod cells of *Erwinia carotovora*