

# 九州病害虫研究会 第90回研究発表会

共催

日本植物病理学会九州部会

日本応用動物昆虫学会九州支部

2015年11月11日（水）

会場 ホテル セントヒル長崎

## 講演要旨（病害）

## 病害 01

### 罹病スイセンから得られたカブモザイクウイルス分子系統グループの新種ウイルス様配列

○三苫真一郎・野見山玲衣・大島一里

我々の最近の研究の目的の一つは、カブモザイクウイルス分子系統グループにおいて新種や中間型ウイルス種を探すことであり、本グループにはスイセンに感染する *Narcissus late season yellows virus* (NLSYV) やスイセン黄色条斑ウイルス (NYSV) が含まれる。日本各地から罹病スイセンを採集し、ポティウイルス共通プライマーなどを用いてウイルスゲノムの 3' 末端領域を RT-PCR により増幅しクローニング後、塩基配列を決定した。外被タンパク質遺伝子について既報ウイルスと共に Species Demarcation Tool を用いた解析をすると、種の境界近辺の配列が認められた。そこでそれらが検出された幾つかの罹病スイセン植物株を選抜し、ウイルスゲノムの全長配列を決定後系統解析をしたところ、広島産 HR38 株は NLSYV や NYSV のクラスターには属さなかった。また NYSV の中国産 Zhangzhou 株は、NYSV の兵庫産 HG27 株と HR38 株の配列を親型に持つ組換え体であった。EMBOSS Needle の同一性解析や SimPlot での類似性解析などからも HR38 株の分類について考察する。

(佐賀大農)

## 病害 02

### タイ王国におけるカブモザイクウイルスの生物学的・遺伝学的性質

○八坂亮祐<sup>1,2)</sup>・Maneechoat P.<sup>3)</sup>・Chiemsombat P.<sup>4)</sup>・竹下稔<sup>5)</sup>・大島一里<sup>1,2)</sup>

カブモザイクウイルス (TuMV) は地中海沿岸地方や小アジアが拡散の起源地と考えられていることから、主にユーラシア大陸内の拡散について我々は検討してきた。本研究では未だ情報の少ないタイ王国の TuMV について検討した。罹病アブラナ科植物を採集し TuMV 感染について検討した結果、9 植物で感染が認められた。TuMV を単一病斑分離後、生物学的性質について検討すると、全分離株ともアブラナ属およびダイコン属植物に感染し、アジアに良くみられる病原性を持っていた。遺伝学的性質について検討した結果、1 分離株が world-B3 と Asian-BR ゲノム型グループを親型に持つ、これまで知られていないタイ王国独自の組換え体型であった。ゲノム内の 3 領域を用いて、それらの領域に組換え部位を持つ分離株を除き分子系統樹を作成したところ、いずれの 8 分離株も world-B3 ゲノム型グループに属し、タイ分離株のみでクラスターを形成した。以上から、タイ王国の TuMV は他国とは異なる遺伝学的性質を持っていた。

(<sup>1</sup>佐賀大農・<sup>2</sup>鹿児島大院連農・<sup>3</sup>タイ農業協同組合省・<sup>4</sup>カセサート大学・<sup>5</sup>宮崎大農)

○八坂亮祐<sup>1,2)</sup>・Maneechoat P.<sup>3)</sup>・Chiemsombat P.<sup>4)</sup>・竹下稔<sup>5)</sup>・大島一里<sup>1,2)</sup> (<sup>1</sup>佐賀大農・<sup>2</sup>鹿児島大院連農・<sup>3</sup>タイ農業協同組合省・<sup>4</sup>カセサート大学・<sup>5</sup>宮崎大農)

## 病害 03

### One Step RT-PCR によるランタンキュラス微斑モザイクウイルスの簡易遺伝子診断

○細川秀子・宮丸智成<sup>1)</sup>・早日早貴<sup>2)</sup>・菅野善明<sup>1)</sup>

宮崎県内の栽培ランタンキュラスに広く発生するランタンキュラス微斑モザイクウイルス (RanMMV) の血清学的診断法を確立した (第 89 回研究発表会)。今回、One Step RT-PCR による RanMMV の検出およびその被検試料について検討した。RanMMV 感染葉から調製した全 RNA を段階希釈し One Step RT-PCR の被検試料とし反応させた後、アガロースゲル電気泳動および EtBr 染色により、全 RNA 2 ng (葉 4 ng 相当) まで増幅産物が検出された。また、葉の磨砕液の遠心後の上清を被検試料として用いた場合においても増幅産物が確認され、上清 50,000 倍希釈 (葉 20 ng 相当) まで検出された。さらに、感染葉に針を刺し、これを One Step RT-PCR 反応液に入れた後、反応を行ったところ、増幅産物が検出された。これらの結果より、One Step RT-PCR による RanMMV の遺伝子診断においては、被検試料として RNA 調製を必要としない簡易な汁液添加で RanMMV の検出が可能であることが明らかとなった。

(南九大院園芸・<sup>1)</sup>南九大環境園芸・<sup>2)</sup>宮崎総農試)

## 病害 04

### ツルマメに発生する細菌病の探索

○入江沙織・古屋成人・松岡 健・大貫正俊<sup>1)</sup>・佐藤豊三<sup>2)</sup>・黒瀬大介<sup>3)</sup>・土屋健一

ダイズ (*Glycine max*) の祖先野生種であるツルマメ (*G. soja*) に発生する各種寄生病の中で、細菌病に関する記載はこれまで全くない。そこで、日本各地に自生するツルマメ群落 17 カ所を調査したところ、黄～褐色斑点や葉焼病斑などを呈する罹病個体が多数観察された。細菌感染が疑われた約 70 の罹病葉から 90 菌株の細菌を分離・保存した。そのうち、55 菌株がタバコ過敏感反応陽性であり、ダイズとツルマメに対する噴霧接種で、黄色集落の 10 菌株が葉焼症状を、また白色集落の 3 菌株が斑点性の病斑を生じ、病斑部から接種菌と同一の細菌が再分離された。これら 13 菌株は、16S rDNA の塩基配列に基づいた解析から、*Xanthomonas axonopodis* と *Pseudomonas syringae* に、それぞれ 99% 以上の相同性で類別された。また、ダイズ葉焼病菌 (*X. axonopodis* pv. *glycines*) および斑点細菌病菌 (*P. syringae* pv. *glycinea*) が、ツルマメにそれぞれと同様の病徴を示すことから、ツルマメに発生する細菌病は両種細菌によるものと推察された。今後は pathovar レベルでの詳細な同定試験を行う予定である。

(九大院農・<sup>1)</sup>九州沖縄農研・<sup>2)</sup>生物研・<sup>3)</sup>CABI Europe-UK)

## 病害 05

### 挿芽苗に対する非病原性 *Ralstonia solanacearum* の接種によるジャガイモ青枯病の発病抑制

○黒木達也・森 太郎<sup>1)</sup>・中原浩貴・松崎弘美・松添直隆

青枯病菌の非病原性変異株 (PC 株) を利用したジャガイモ青枯病の発病抑制効果について挿芽苗を用いて検討した。PC 株の菌濃度および菌の生死が発病抑制に及ぼす影響を調査したところ、 $10^6$  cfu/ml の生菌と  $10^8$  cfu/ml 生菌を加熱処理して得られた死菌の接種では発病抑制効果はなく、 $10^8$  cfu/ml の生菌の接種でのみ効果が認められた。ジャガイモ 5 品種を用いて、PC 株の接種による発病抑制効果の品種間差異を調査したところ、全ての品種において野生株感染後 14 日目で防除率は 45% 以上であった。上記の実験において、滅菌水を接種した対照区では 7 日目にほぼ全ての個体が枯死したのに対し、PC 株を接種した処理区では 14 日間で半数以上の個体が生存した。枯死個体と生存個体の茎内の野生株と PC 株の菌密度を調査したところ、PC 株の菌密度は両方の個体で有意差がなかったが、野生株の菌密度は生存個体より枯死個体で有意に高かった。今後、PC 株による発病抑制機構を解明するために、PC 株接種による植物内での PC 株の定着場所と植物の抵抗性誘導の調査を進めていく予定である。

(熊本県大院環境共生・<sup>1)</sup>滋賀大教育)

## 病害 06

### 非病原性 *Ralstonia solanacearum* によるナス半身萎凋病の生物的防除

○前原祥大・中原浩貴<sup>1)</sup>・森 太郎<sup>2)</sup>・松崎弘美<sup>1)</sup>・松添直隆<sup>1)</sup>

青枯病細菌 *Ralstonia solanacearum* の非病原性変異株 (PC 株) は、ナス青枯病に対して発病抑制効果がある (小川ら, 2012)。そこで、PC 株の他の土壌病害に対する発病抑制効果を調べるために、本研究ではナス半身萎凋病を対象とした。本研究では、PC 株の接種濃度、半身萎凋病菌の接種濃度および接種後の栽培温度の違いによる発病抑制効果への影響を調査した。その結果、PC 株接種濃度が高くなると、半身萎凋病の発病度は減少した。PC 株接種濃度  $10^8$  cfu/ml 以上で、高い防除率 (60% 以上) が得られた。また、半身萎凋病菌の接種濃度が  $10^6$  孢子/g 以上では、PC 株 ( $10^8$  cfu/ml) 接種区でも発病率は高かった。すなわち、半身萎凋病菌の接種濃度が高くなると、防除率は低下する傾向にあった。PC 株による半身萎凋病の防除率は、栽培温度が低温区 (20℃) では 49%、高温区 (30℃) では 80% 以上と高かった。以上の結果から、ナスへの PC 株接種は、青枯病だけでなく、半身萎凋病の発病をも抑制できる可能性が示唆された。今後、防除効果が上がる条件を明らかにしていく予定である。

(熊本県大環境共生・<sup>1)</sup>熊本県大院環境共生・<sup>2)</sup>滋賀大教育)

## 病害 07

### 非病原性青枯病菌の培養ろ液における病原性株の増殖抑制

○中原浩貴・森 太郎<sup>1)</sup>・松崎弘美・松添直隆

青枯病菌の病原性野生株（野生株）と非病原性変異株（PC 株）を BG 液体培地内で混合し、静置培養すると、培養後期（培養 24 日目）に野生株のみ菌濃度が著しく減少した（環境微生物系学会合同大会，2014）。本研究では、その要因を解明するため、菌の培養ろ液が野生株と PC 株の増殖に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。両菌株の混合培養ろ液に両菌株を混合し、静置培養した結果、培養 10 日目に野生株の菌濃度のみ減少した。貧栄養条件（1/100BG 液体培地内）で両菌株を混合し、静置培養した結果、両菌株とも  $10^5$ - $10^6$  cfu/ml まで増殖した。野生株の培養ろ液、PC 株の培養ろ液および両菌株の混合培養ろ液を用いて、野生株と PC 株をそれぞれ単独静置培養した結果、PC 株の培養ろ液で培養した野生株のみ増殖が顕著に抑制された。また、PC 株培養ろ液の熱処理液でも同様の結果が得られた。以上より、PC 株の培養ろ液は野生株の増殖を抑制することが明らかになった。その要因としては、PC 株による培地内成分の変化（PC 株が生産する熱安定性の物質）が関与すると考えられた。

（熊本県大院環境共生・<sup>1)</sup> 滋賀大教育）

## 病害 08

### 宮崎県で発生したサトイモ疫病菌の 2, 3 の性状

○宮路寛輝・北代晃浩・菅野善明・川信修治・寺原亮治<sup>1)</sup>

サトイモは宮崎県全域で栽培されており、その生産量は日本一となっている。2014 年、県内栽培各地のサトイモの葉に褐色病斑、病斑の拡大に伴う葉の枯死および葉柄の腐敗などを引き起こす疫病と考えられる病害が多発し、大きな被害をもたらした。この疫病の防除対策構築の基礎的知見を得るため、病原菌の分離・同定および培養性状の調査を行った。疫病葉を表面殺菌後、WA 培地に置床、伸長した菌糸を単菌糸分離し、PDA 培地で培養した。分離菌株の菌糸は無隔でレモン型の遊走子のうを形成した。分離菌株の V8 培地上における菌糸の生育適温は 25 °C 付近が最適で 10 °C および 40 °C では菌糸の伸長が認められなかった。分離菌株の ITS 領域は既報の疫病菌と高い相同性を有していた。分離菌株の遊走子を健全サトイモ株の葉に有傷接種したところ、原病徴と同様の病徴が生じ、病斑部から菌が再分離された。これらの結果から、分離菌株をサトイモ疫病菌 (*P. colocasiae*) と同定した。現在、数種化学薬剤について分離菌株の培地上における菌糸生育に対する抑制試験を行っている。

（南九大環境園芸・<sup>1)</sup> 宮崎総農試畑作）

## 病害 09

### ソラマメ炭疽病を引き起こす *Colletotrichum gloeosporioides* 種複合体菌株の再同定

○鬼東耕治・中村正幸・樋口康一<sup>1)</sup>・野島秀伸<sup>2)</sup>・佐藤豊三<sup>3)</sup> 岩井 久

近年、鹿児島県で栽培されているソラマメに炭疽病様の病徴が確認された。1997 年にも同様の病徴が確認されており、病原菌が分離され、形態的特徴から *C. gloeosporioides* と同定されたが（野島・佐藤 1999）、当時は本種が種複合体と認識されていなかった。そこで、1997 年分離株（VC-7）と 2014 年分離株（BB01）を用いて、まず ITS、 $\beta$ -tubulin-2 および calmodulin の塩基配列を決定し、分子系統解析を行った。その結果、VC-7 は *C. siamense*、BB01 は *C. theobromicola* に類別された。VC-7 および BB01 の分生子は、共に無色、楕円形であり、PDA 培地上でそれぞれ、 $6.4$ - $25 \times 3.6$ - $6.8 \mu\text{m}$ 、 $10.6$ - $15.4 \times 2.7$ - $5.5 \mu\text{m}$  であった。付着器も両株共に不定形または棍棒形であり、SNA 培地上でそれぞれ  $7.1$ - $14.1 \times 4.7$ - $9.4 \mu\text{m}$ 、 $7.1$ - $12.9 \times 5.3$ - $11.2 \mu\text{m}$  であった。また、VC-7 および BB01 のソラマメへの分生子懸濁液噴霧接種を行ったところ、原病徴が再現され、接種菌が再分離された。以上のことから、ソラマメ炭疽病の病原菌として *C. siamense* および *C. theobromicola* の 2 種の病原追加を提案する。

（鹿児島大農・<sup>2)</sup> 鹿児島農総セ・<sup>3)</sup> 鹿児島大島特殊病害虫・<sup>4)</sup> 生物研）

## 病害 10

### タマネギ乾腐病対策としてのセル成型トレイへの各種殺菌剤灌注処理効果のメタアナリシスと経済性

○正司和之・善 正二郎<sup>1)</sup>・稲田 稔<sup>1)</sup>・松尾洋一・田代暢哉

タマネギ乾腐病対策として、地床苗の殺菌剤への浸漬処理は有効な発病抑制手段である。しかし、機械定植に対応したセルトレイ苗に対する有効な苗消毒技術は確立されておらず、現場では対応に苦慮していた。そこで、セルトレイ苗に対して有効な殺菌剤ならびに処理法を見出すための試験を実施してきた。4年間で実施した6試験事例における発病株割合は無処理で6.2%~19.5%であった。セルトレイ苗へのトリフルミゾール水和剤の灌注処理と無処理のそれぞれの発病株割合の比(リスク比)をメタアナリシスで統合解析した結果、50倍液の統合リスク比は0.27(95%信頼区間:0.15~0.50)、100倍液では0.30(95%信頼区間:0.14~0.64)で、50倍液および100倍液を灌注することで無処理の約3割の発病にまで抑制できることが示された。50倍と100倍の防除効果を比較した結果、50倍の効果が優る傾向を示した。薬剤処理による損失回避額を統合リスク比を基に算出し、その額から薬剤経費を差し引いた結果、発病割合が16%を下回る場合には100倍、上回る場合には50倍で処理することで、収益に寄与することが示された。ペノシル水和剤についても同様の解析を実施した。

(佐賀上場営農セ<sup>1)</sup>佐賀農技防)

## 病害 11

### 次亜塩素酸水のイチゴ炭疽病菌に対する殺菌効果

○森脇丈治・平山喜彦<sup>1)</sup>・高山智光・渡辺慎一・松尾征徳・橋本好弘<sup>2)</sup>

特定防除資材である次亜塩素酸水のイチゴ炭疽病への有効性を調査した。イチゴ炭疽病菌5種1系統 *Colletotrichum aenigma*, *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. nymphaeae*, *C. fioriniae*, *C. acutatum* s. lato およびコーヒーノキ炭疽病菌 *C. theobromicola* (= *C. fragariae*) の分生子懸濁液 ( $10^4 \sim 10^5$  個/ml) を作成し、100倍容の次亜塩素酸水 (pH6.3, 有効塩素濃度 30ppm) と混合、即座に PDA 平板に塗布して培養したところ、全てで分生子は発芽せず、菌叢は形成されなかった。次にガラス室において、前もって *C. fructicola* を接種して発病させたイチゴ株の周囲にポット苗(さがほのか)を並べ、朝夕にじょうろで灌水(230~340ml/株/日)して栽培したところ、対照区では2週目から発病し、8週目の発病株率が63.3%であるのに対して、次亜塩素酸水区は8週目から発病し、発病株率は3.3%で、発病抑制効果が認められた。イチゴ苗への葉害は見当たらなかった。発病株の抜き取りおよび十分量の次亜塩素酸水を灌水することで、より効果的に伝染を抑制できると考えられる。

(九州沖縄農研<sup>1)</sup> 奈良農研セ<sup>2)</sup> サカタのタネ)

## 病害 12

### 温水点滴処理によるハウスビワの白紋羽病罹病樹に対する治療効果

○古賀敬一・内川敬介<sup>1)</sup>・中村 仁<sup>2)</sup>

農業新技術 2014 に選定された「温水を用いた果樹白紋羽病の治療技術」について、本県特産であるハウスビワの罹病樹に対する治療効果を検証した。現地試験は2013年に県内2か所、2014年は新たに3か所で、いずれも8月中旬~9月上旬に行った。温水点滴処理の方法は「白紋羽病温水治療マニュアル」に準じたが、内川らによるとビワ根はナシやリンゴの根より耐熱性が低いとされているため、温水の設定温度を45℃とし、地下30cm(1樹あたり3か所測定)の地温が3か所すべて35℃を超えた時点で処理終了した。治療効果の確認は処理7ヶ月後に枝挿し法によって菌糸付着の有無で判断した。その結果、いずれの試験園でも処理終了までに約4時間を要し、地下30cmの地温35℃以上が2013年試験で8~15時間、2014年試験で7~10時間維持できた。そのため、菌糸付着はほとんど見られず、高い治療効果が確認できた。しかし、追加試験で3月11日に処理した樹では、地下30cmの地温35℃以上が1時間50分しか維持できず、菌糸付着もあったことから、治療効果は見られなかった。

(長崎農林部<sup>1)</sup> 長崎農技セ果樹茶<sup>2)</sup> 農研機構果樹研)

## 病害 13

### ハウスミカンすす斑病に対する Evidence-based Control (EBC) の実践

○田代暢哉・山口尚司<sup>1)</sup>・中島幸一<sup>1)</sup>・正司和之・松尾洋一・山口正洋<sup>2)</sup>

高温期に収穫されるハウスミカンでは、出荷後に‘すす斑病’（病原菌；*Cladosporium cladosporioides*）の発生による商品価値の低下を生じていた（Tashiro et. al. 2013）．そこで、EBC の手順に基づいた被害軽減対策を実践した．まず、各種殺菌剤の本病原菌に対する効果を調べたところ、高い活性を示すものはなかったが、イミノクタジン酢酸塩（以下、I 剤と略）、ペンチオピラド等が比較的優れていた．このうち、I 剤は収穫直前に果実腐敗対策として必ず散布されている．しかし、43 人の生産者のハウスから採取した I 剤散布果実に病原菌を接種したところ、効果が不十分な場合があった．これらのハウスでは樹上に設置されたスプリンクラーで薬液が散布されていた．一方、手散布ではスプリンクラーの場合の 2 割減程度の散布量でも優れた発病抑制効果が得られた．また、2 回散布することで効果がより高まった．これらのエビデンスを生産者に説明し、手散布と薬液の付着ムラをなくす工夫が各ハウスで実施された．その結果、本病の発生は激減し、2014 年 7 月以降、被害を認めていない．

（佐賀上場営農セ・<sup>1)</sup> JA からつ上場みかん選果場・<sup>2)</sup>東松浦農業改良普及セ）

## 病害 14

### キャプタン剤のオクラの 3 種苗立枯性病害に対する防除効果

○大城 篤・安次富厚・山城麻紀・澤岬哲也<sup>1)</sup>・新崎千江美<sup>2)</sup>

沖縄県のオクラ産地で問題となっている苗立枯性病害には、*Phytophthora nicotianae*（以後：Pn）、*Pythium ultimum*（以後：Pu）および *Fusarium* sp.（以後：Fu）の 3 種が関与している．そこで、これら病害に対して種子播種後の土壌灌注処理により防除効果が期待されるキャプタン剤（800 倍、1m<sup>2</sup> 当たり 2L、播種直後および播種 7 日後の 2 回灌注）の効果について試験した．Pn と Pu に対しては、本処理法により 2 年間を通して安定した防除効果が確認された．Fu に対する上記処理の試験（試験 1 年目）では、播種 1 ヶ月後の枯死株率については、処理区（8.7%）は対照区（100%）と比較して有意に低い値となった．しかし、播種 2 ヶ月後の処理区の枯死株率（60%）は、対照区（100%）と比較して有意に低い値となったが、その効果は低かった．そこで、試験 2 年目は、セルトレイ苗を植付け直後にキャプタン剤を上記処理量で 1 回灌注処理した場合の効果について検討した結果、植付け 2 ヶ月後の処理区の枯死株率（6.8%）は対照区（50.6%）と比較して有意に低い値となり、防除効果が確認された．

（沖縄農研セ・<sup>1)</sup> 沖縄農研セ名護・<sup>2)</sup>宮古農林水産振興セ）

## 病害 15

### UV-B 照射によるトマトでのウイルス病抵抗性の誘導について

○竹下 稔・松浦昌平<sup>1)</sup>・佐藤 衛<sup>2)</sup>

UV-B の照射により *Tomato mosaic virus* によるトマトモザイク病が抑制されることが先の大会で報告された（松浦ら、2015）．今回、トマトにおいて UV-B の照射による *Cucumber mosaic virus* (CMV) 黄斑系統(CMV-Y)の感染増殖と病徴誘導への影響、さらに複数種の宿主抵抗性関連遺伝子の転写活性に関する解析を行った．CMV-Y は人工気象器内で育成した 2.5 葉期のトマト苗（品種 桃太郎 8）の第 1-2 本葉に接種した．UV-B の照射には波長 280-290 nm ( $\lambda_p = 285\text{nm}$ ) の深紫外線 LED を使用した．人工気象器内のトマト個体に対して接種 2 日前から試料回収日の前日まで照射を行い、非接種上位葉を回収した．UV-B の照射条件は葉上照射強度 50 mW/m<sup>2</sup>、日中 8 時間の連続照射とし、照射量は 1 日当たり約 1400 J/m<sup>2</sup> とした．CMV-Y 接種試験の結果、UV-B 照射個体と非照射個体を比較したところ、前者においてウイルス RNA の蓄積量低下傾向が認められたが、明瞭な病徴軽減は観察されなかった．次に抵抗性に関連するとされる宿主遺伝子の転写活性を調べたところ、UV-B 照射個体で *PR1a* 等数種遺伝子に関して転写物蓄積量の増加傾向が認められた．

（宮大農・<sup>1)</sup> 広島総研農技セ・<sup>2)</sup> 花き研）

## 病害 16

### 農業生物資源ジーンバンクに保存されているインゲンマメ南部モザイクウイルスの外被タンパク質遺伝子配列に基づく種の再考

○大貫正俊・酒井淳一・笹谷孝英

我が国のツルマメ (*Glycine soja*) には、韓国で報告された Soybean yellow common mosaic virus (SYCMV) と同種と推定される sobemovirus がしばしば感染している。このウイルスと日本のダイズで発生が報告されている別種 sobemovirus であるインゲンマメ南部モザイクウイルス (*Southern bean mosaic virus, SBMV*) を識別するため、農業生物資源ジーンバンク (NIAS ジーンバンク) に保存されている SBMV の 2 株 (MAFF307034, 307035) を供試し、SBMV および SYCMV 特異的プライマーによる RT-PCR を実施した。その結果、NIAS ジーンバンク保存 2 株ともに SYCMV 特異産物のみ増幅された。また、SYCMV の外被タンパク質 (CP) 領域増幅用プライマーを用いて RT-PCR を実施した場合もこれらの株からは、SYCMV-CP の増幅産物が得られ、塩基配列を解析した結果、韓国の SYCMV の CP と塩基配列、アミノ酸配列レベルでそれぞれ 95, 99% の相同性が認められた。NIAS ジーンバンク保存の SBMV も SYCMV の可能性が示唆され、これらウイルスの種に関しては再考を要すると判断された。  
(九州沖縄農研)

## 病害 17

### 残さ分解によるピーマンのトウガラシ微斑ウイルス (PMMoV) 土壌伝染防止効果の検討

○早日早貴・榎間義幸・黒木修一<sup>1)</sup>・寺本敏

促成長期栽培が主体の宮崎県のピーマン産地では、栽培終了後の地上部残さのハウス外への持ち出しが困難なことから、栽培ほ場へのすき込みが行われている。しかし、これでは PMMoV の次作への感染が懸念されるため、残さ分解処理技術の確立が必要である。そこで、牛糞堆肥 400kg/a、米ぬか 25kg/a、分解促進資材 8kg/a (*Bacillus* 菌等配合資材) を供試し、各資材単独または併用した場合の残さ分解能力の検討を行った。試験は PMMoV 感染残さをすき込んだ滅菌培土に各資材を混和して分解処理を行った。その結果、牛糞堆肥処理区はすき込んだ残さ重量の 78.0% が減少し、無処理区と比較して有意に減少した。牛糞堆肥を処理した区では処理 9 日後に土壌 ELISA 値が有意に上昇したことから、牛糞堆肥を 400kg/a 処理することで残さの分解が促進されることが示唆された。また、牛糞堆肥と分解促進資材を併用することで、微生物活性値が有意に高くなり、PMMoV 感染残さすき込んだ滅菌培土は処理 61 日後に目標である土壌 ELISA 値 0.1 以下にできた。

(宮崎総農試・<sup>1)</sup>宮崎県営農支援課)

## 病害 18

### 静岡県におけるメロン退緑黄化病の発生状況と雑草からのウイルスの検出

○影山智津子・土井誠・芳賀一<sup>1)</sup>・松野和夫<sup>2)</sup>・古木孝典<sup>3) 現1)</sup>

静岡県では 2013 年 12 月に初めてメロン退緑黄化病 (病原ウイルス *Cucurbit chlorotic yellows virus*, 以下 CCYV) が発生したが、発病温室内のタバココナジラミの死滅処理と防除マニュアルに沿った対策によって、3 月以降は発生が見られなくなった。しかし、7 ヶ月後の 2014 年 10 月に約 10km 離れたメロン温室で再び発生し、その後も周辺地域で発生が拡大していることが判明した。静岡県ではタバココナジラミは野外で越冬できないとされているため、メロン温室で発生が認められなかった 3~9 月までの本ウイルスの生存場所を調査するため、周辺雑草の CCYV 保毒調査を行った。雑草中の CCYV は濃度が低く通常の RT-PCR 法では検出できなかったため、CCYV 特異的プライマー (行徳ら 2009) の外側の配列に新たなプライマーを設計し、nested RT-PCR を行ったところ検出が可能となった。その結果、アブラナ科、キク科を含む 6 科 11 種の植物から CCYV が検出された。

(静岡農林研・<sup>1)</sup>静岡病害虫防除・<sup>2)</sup>西部農林・<sup>3)</sup>中遠農林)

## 病害 19

### スベリヒユ、イヌタデおよびセイヨウタンポポに発生した白絹病（新称）

○森田 昭

大村市の山野に自生しているスベリヒユ(2012年6月28日確認)、イヌタデ(2013年6月13日確認)およびセイヨウタンポポ(2013年6月26日確認)の3種の野草が軟腐状となって褐変枯死し、その上に気中菌糸、白色菌糸塊およびナタネ種子大の褐色球形菌核を認めた。それらの褐変部から白絹病菌様の糸状菌が分離され、その分離菌は馬鈴薯煎汁寒天培地上での生育適温、菌叢の色および形状、主軸菌糸幅、かすがい連結有などがツワブキ白絹病菌と一致した。これら野草からの分離菌はすべて各宿主の野草に対してツワブキ白絹病菌と同様に病原性を示し、病徴の再現を認め再分離も可能であった。この結果から、軟腐症状を呈した3種の野草から分離された糸状菌は白絹病菌(*Sclerotium rolfsii* Saccardo)と同定し、スベリヒユ、イヌタデおよびセイヨウタンポポの白絹病と呼称し、白絹病菌の宿主の追加を提唱する。

## 病害 20

### *Diaporthe pseudophoenicicola*および*Neofusicoccum parvum*によるマンゴー軸腐病（病原追加）

○澤岬哲也・新崎千江美<sup>1)</sup>・安次富厚<sup>2)</sup>・大城 篤<sup>2)</sup>

2012年頃から沖縄県産マンゴー晩生品種‘リペンス（夏小紅）’の出荷果実において、はじめ果梗部が褐色、水浸状となり、のちに全体が軟化、腐敗する病害が発生している。病斑組織からは *Diaporthe* 属菌および *Neofusicoccum* 属菌が高率に分離され、これら菌株をマンゴー果実に接種した結果、病徴が再現され、接種菌が再分離された。*Diaporthe* 属菌の PDA 上の菌叢は汚白色で、分生子殻は黒色、球形、直径 146~300 $\mu$ m、 $\alpha$  型分生子は無色、紡錘形~楕円形、油滴を含み、大きさは 7.0~8.9  $\times$  2.9~3.7  $\mu$ m で  $\beta$  型分生子は見られなかった。*Neofusicoccum* 属菌の菌叢は灰白色のちに黒色で、分生子殻は黒色、壺球形~洋梨形、直径 210~390 $\mu$ m、分生子は無色、単胞、紡錘形~長楕円形、大きさは 15.4~19.6  $\times$  6.1~7.4  $\mu$ m であった。これらの形態的特徴と EF1- $\alpha$  遺伝子の塩基配列に基づく分子系統解析の結果より、前者を *Diaporthe pseudophoenicicola*、後者を *Neofusicoccum parvum* と同定した。既報のマンゴー軸腐病の病徴と識別が困難であることから、本病の病原として追加したい。  
(沖縄農研セ名護・<sup>1)</sup> 宮古農水振興セ・<sup>2)</sup> 沖縄農研セ)

## 病害 21

### パインアップル小果腐敗病菌の感染時期

○新崎千江美・澤岬哲也<sup>1)</sup>・大城 篤<sup>2)</sup>・竹内誠人<sup>1)</sup>・諸見里知絵<sup>1)</sup>

近年、沖縄県産出荷パインアップル果実において小果腐敗病が多発しており、ほ場の防除適期の解明が急務となっている。そこで、小果腐敗病菌 (*Fusarium ananatum*) の感染時期を明らかにするために、パインアップルの出蕾、開花時期の無病徴の小果内部から病原菌の分離を試みた。その結果、出蕾期果実では 30.0%、開花期果実では 72.2% の割合で *Fusarium* 属菌が分離された。各生育ステージの分離菌株を 3~6 株選びパインアップル果実へ爪楊枝接種を行った結果、すべての接種菌株で病原性が確認された。また、パインアップルの出蕾、開花および果実成熟期に *F. ananatum* の *nit* 変異株を噴霧接種し、収穫後の果実病斑から *nit* 変異株の分離を試みた結果、出蕾期接種の果実では発病果実 7 果中 3 果、開花期接種の果実では発病果実 13 果中 12 果の病斑から *nit* 変異株が分離され、果実成熟期接種の発病果実からは *nit* 変異株は分離されなかった。以上の結果から、パインアップルへの本病原菌の感染は出蕾期およびそれ以前より始まり、とくに開花期が重要な感染時期であると考えられた。  
(宮古農水振興セ・<sup>1)</sup> 沖縄農研セ名護・<sup>2)</sup> 沖縄農研セ)

## 病害 22

### ダイレクト PCR によるサトウキビ黒穂病菌の簡易検出法

○田中 穰・尾川宜広<sup>1)</sup>・下地 格<sup>2)</sup>・境垣内岳雄・服部太一朗・早野美智子・樽本祐助

黒穂病はサトウキビの最重要病害の一つであり、育種事業においても接種試験による抵抗性評価を特性検定として実施し、新たに育成する品種には一定以上の黒穂病抵抗性を求めている。特性検定では鞭状物を抽出した個体の割合によって抵抗性を評価しているが、最終結果を得るまでに長期間を要することや標準品種の発症率の変動が大きいことなどから、より迅速かつ明瞭な結果が得られる手法を検討した。サトウキビ3品種に黒穂病菌を接種し、約1ヶ月毎に杉澤ら(2002)による黒穂病菌のITS領域特異的プライマーを用いたPCRによる検出を試みたところ、鞭状物の抽出より2ヶ月以上早く検出され、検出率は接種3ヶ月後にはほぼピークに達した。鞭状物を抽出した全ての個体はPCRで陽性を示し、徒長、節間短縮及び小葉化、茎長部の褐変等の症状を示す個体も同様に陽性を示した。さらに、直径2mm程の葉小片をProteinase K処理し、ライセートを直接PCRに供することで、迅速簡易に黒穂病菌を検出することが可能であり、抵抗性評価の一手法として有効と考えられた。

(九州沖縄農研<sup>1)</sup> 鹿児島農開発総セ大島<sup>2)</sup> 沖縄農研)

## 病害 23

### 2015年春夏季におけるキウイフルーツ葉からの *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae* (biobar3)の検出

○野口真弓・白石祥子・口木文孝

2014年春季に佐賀県内のキウイフルーツで葉の斑点症状や激しい枝枯れ等の症状が認められ、*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biobar3によるキウイフルーツかいよう病であることを確認した。本試験は、2015年春季～夏季のキウイフルーツ葉における病斑内細菌密度を明らかにするため、経時的にbiobar3が発生した7～10圃場から採取したキウイフルーツ葉の15斑点部位/圃場を供試し、病斑内細菌密度の推移を調査した。斑点部位を滅菌水内で粉碎し、その懸濁液を段階希釈してNA培地で培養した。biobar3のコロニー形成は4月は平均95.0%だったが、気温の上昇に伴い菌の検出が困難となり、8月は平均26.7%となった。コロニー形成のうち病斑内細菌密度は、4月は93.9%が $10^5$ cfu/ml以上の高密度であった。6月以降密度は低下し、8月は95.0%が $10^3$ cfu/ml以下の低密度であり、芹澤ら(1993)のbiobar1と同様の結果となった。今後は、秋以降の病斑内細菌密度について計測する。

(佐賀果樹試)

## 病害 24

### キウイフルーツ苗木におけるかいよう病菌(biovar3)の樹体内移動

○篠崎 毅・青野光男・楠元智子・清水伸一

2014年4月、愛媛県内のキウイフルーツにおいて国内で初めてbiovar3によるかいよう病が確認された。感染後のかいよう病菌の樹体内移動は速いとされるものの不明な点が多いことから、ポット試験において枝及び葉への接種後のかいよう病菌の樹体内移動を調査した。試験はヘイワード(3年生)の枝及び新梢葉に穿刺接種し15～91日後にPCR及びsemi-nested PCRにより移動を調査した。その結果、枝接種では15日後には接種部位の周辺部位、新梢及び葉柄まで、33日後には根部まで、61日後には樹全体に移動した。一方、新梢葉接種では15日後には葉柄まで、37日後には新梢基部まで、61日後には主枝まで、91日後には根部までの移動を確認した。なお、接種部位からの赤色の樹液漏出や葉での病徴進展は認められなかった。これらの結果から、枝や葉に感染したかいよう病菌は感染部位において症状が発現する前に速やかに樹体内を移動するものと推察された。なお、接種株の今後の症状の発現については継続して調査することとしている。

(愛媛果研セ)