

九州病害虫研究会 第 94 回研究発表会

2017 年 11 月 8 日 (水)

会場：沖縄県立博物館・美術館

(沖縄県那覇市おもろまち 3-1-1)

講演要旨 (病害)

【口頭発表】

病害 01

○児玉進之介・高木里歩・草場基章

タマネギペと病菌卵胞子の土壌からの抽出と生死判別法について

土壌中での卵胞子を起点としたタマネギペと病菌の生活環は不明な点が多く残されている。本研究では卵胞子の動態把握に向けて、土壌からの卵胞子の抽出、ならびに、卵胞子の生死判別法を検討した。土壌からの抽出は既報に基づいて行った。タマネギ栽培歴の無い水田から採取した土壌に罹病葉から抽出した卵胞子を添加した。この土壌をミルサーおよび超音波攪拌により水に懸濁し、75 μm メッシュの篩でろ過した。ろ液を20 μm メッシュの篩で濾し取るにより得られた卵胞子粗抽出画分を70%スクロース中で遠心分離し土壌粒子の除去を行った。さらに、遠心洗浄により卵胞子を沈殿として回収した。本法により添加した卵胞子の11.3%が抽出された。卵胞子の生死判別を4M NaCl中での原形質分離の有(生)無(死)を指標に行った。罹病葉から抽出した卵胞子では74.6%に原形質分離が観察された。一方、オートクレーブ処理した卵胞子では原形質分離は全く観察されず、本法により生死判別が正確に行えることが示唆された。

(佐賀大農)

病害 02

○山岸遥河・田場聡・立田晴記・関根健太郎

サッポロフキバッタから分離された昆虫病原性糸状菌の同定

2015年8月に北海道手稲山および天北峠において、体表面が黒色から黒褐色となり、後に白色菌糸に覆われて死亡するサッポロフキバッタが多数確認された。死亡虫体から分離された糸状菌9株をサッポロフキバッタ成虫に接種したところ、原病徴が再現され、接種菌と同一性状の糸状菌が再分離された。そこで典型的な菌株の形態観察を行った結果、分離された9株のうち6株はシンポジオ型の分生子形成様式で、無色単胞の分生子を形成したことから *Beauveria* 属菌であると推定され、その他3株はフィアロ型のフィアライドが輪生し、白色単胞の分生子を粘塊状に形成したことから *Lecanicillium* 属菌であると考えられた。そのためITS領域の遺伝子解析を行ったところ、それぞれ *B. bassiana* および *L. attenuatam* と同一種であることが支持された。さらに菌の形態においても、原記載種とほぼ一致した特徴を示すことが確認された。以上の結果から、分離菌を *B. bassiana* および *L. attenuatam* であると同定した。今後は本菌のデュアルコントロールへの応用について検討する予定である。

(琉球大農)

病害 03

○伊藤創¹・田場聡¹・伊藤勝仁²・生田大地³

アワユキセンダングサ抽出液を混合したPVA(ポリビニルアルコール)フィルムによるサツマイモネコブセンチュウの防除効果

アワユキセンダングサ(キク科植物)抽出液がサツマイモネコブセンチュウに対して高い忌避および殺虫活性を有し、優れた防除効果を示すことが報告されている。しかし土壌灌注処理において十分な効果を得るためには相当量の抽出液が必要となる。そこで処理量の削減と効果の向上を目的に植物抽出液を混合したフィルム資材(ポリビニルアルコール:PVA, ポリプロピレン:PP)を作製し、殺虫活性を評価した結果、特に原液を混合したPVAにおいて高い活性が認められた。次に植物抽出液を混合したPVAおよびPP(非水溶性または水溶性)の帯状および袋状フィルムを用いて防除試験を行ったところ、特に袋状(非水溶性PVA)の効果が高く殺線虫剤と同等であった。また1.5倍に濃縮した植物抽出液をPVAに混合した場合、抽出液無添加PVAに対して有意に高い根こぶ抑制効果が示され、植物抽出液とPVAフィルムによる化学的および物理的複合効果が確認された。本研究は内閣府戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」によって実施されました。

(¹琉球大農・²株式会社アイセロ・³株式会社中九州クボタ)

病害 04

○玉城優太¹・田場 聡¹・福地賢人¹・富高保弘²・関根健太郎¹・安次富厚³・澤岬哲也⁴

Colletotrichum tropicale によるジャボチカバ炭疽病（新称）の発生

2013年7月、沖縄県名護市および西原町のジャボチカバ (*Myrciaria cauliflora* Berg.) において、葉に褐色の小斑点を生じ、後に葉先端あるいは辺縁部に大型の淡褐色から黒褐色の病斑を生じる症状が発生した。罹病葉より得られた分離菌株を本植物葉へ有傷接種した結果、原病徴が再現され、病斑部から接種菌が再分離された。分離菌株の分生子は無色単胞、両端が丸い円筒形であり、大きさは平均 $15.7 \times 5.2 \mu\text{m}$ であった。付着器は皿球形、棍棒状および紡錘形で、大きさは平均 $11.6 \times 8.5 \mu\text{m}$ であった。以上の形態および培養特性は、*C. gloeosporioides* 種複合体の記載 (Sutton, 1980) とほぼ一致した。また、TUB2, GAPDH および GS 領域を用いた塩基配列は、いずれも *C. tropicale* (KC517181; Lima *et al.*, 2013) 他と高い相同性 (98~100%) を示し、分子系統樹において *C. tropicale* ex-holotype culture と同一のクレードを形成した。以上より、本菌を *C. tropicale* と同定した。本菌によるジャボチカバ病害は未記載であることから、ジャボチカバ炭疽病と命名したい。

(¹琉球大農・²九州沖縄農研・³沖縄農研セ・⁴沖縄農研セ名護)

病害 05

○東 経行¹・飯山和弘¹・伊藤孝弥¹・奥野健太郎²・土屋健一¹・古屋成人¹

九州のゴルフ場においてクリーピングベントグラスに発生した *Pantoea ananatis* による褐変病

九州のゴルフ場において、クリーピングベントグラス (*Agrostis stolonifera* L.) の葉身または葉鞘が黄色あるいは黒褐色の褐変を呈する細菌性の病害が発生した。罹病部から常法に従い細菌の分離を普通寒天培地を用いて行ったところ、黄色の集落を形成するグラム陰性細菌が均一に分離された。分離細菌をタバコ葉に注入したところ、典型的な過敏反応が認められた。さらに、*A. stolonifera* L. への剪葉接種により褐色の病斑が再現され、当該細菌が再分離された。各種細菌学的性状は *Pantoea ananatis* の基準菌株と同一の結果を示した。また糖の利用性においては本菌の近縁種である *P. agglomerans* あるいは *P. stewartii* などとは明確に異なっていた。さらに、16S rDNA の部分塩基配列を解析した結果、分離細菌は *P. ananatis* のそれと 99.7% の相同性を示した。本種細菌は日本においてイネ内穎褐変病やメロン果実内腐敗病の病原として報告されているが、本菌による *A. stolonifera* L. の病害は未報告であり、病名をクリーピングベントグラス褐変病 (bacterial browning) と提案したい。

(¹九大院農・²シンジェンタ)

病害 06

○藤堂麻依・中原浩貴・吉川麻璃萌・松添直隆

土壌への竹粉施用によるトマト青枯病の防除効果

本研究では、竹の農業分野での活用法を検討するため、竹を破碎し、自然発酵させた竹粉を利用した青枯病の防除効果を調査した。青枯病菌汚染土壌 (10^6 cfu/g) に竹粉または熱処理 (オートクレーブ 121°C , 20 分) した竹粉を異なる濃度 (0, 2, 5, 10 および 20% w/w) で混和し、2 週間静置した後にトマト ‘マイクロトム’ の 2-3 葉齢苗を移植し、青枯病の防除効果を調査した。青枯病に対する防除効果は、竹粉区より熱処理竹粉区で高く、熱処理竹粉を 20% 混和した区で最も高かった。また、青枯病菌の汚染濃度が異なる土壌 ($10^2 \sim 10^7$ cfu/g) に、竹粉または熱処理竹粉を 20% 混和し、同様に防除効果を調査したところ、熱処理竹粉区ではすべての汚染土壌で青枯病の発病が抑制された。土壌中の青枯病菌の菌密度は、竹粉区または熱処理竹粉区で減少し、熱処理竹粉区で顕著であった。以上より、青枯病菌汚染土壌への熱処理した竹粉の施用は、青枯病防除に有効であると示唆された。現在、竹粉による防除効果の要因を解明するため、竹粉中の抗菌性物質を調査している。

(熊本県大院環境共生)

病害 07

○西橋潤¹・近藤聡²・大音徳²・太田邦史³・桑田茂¹・大里修一¹

ゲノム改変技術によるサトウキビの育種について

サトウキビの耐病性向上は、食料やバイオ燃料の増産につながる重要な課題である。我々はゲノム上の様々な位置に DNA 切断を導入して大規模なゲノム改変を引き起こす新しい育種技術の開発を進めている。この育種法は高温活性型の制限酵素を植物細胞内で条件的に活性化して、ランダムに複数のゲノム変異を導入する技術である。サトウキビは高温環境にて生育し、高次倍数性で染色体数が多く、栄養繁殖性であることから、酵素活性化のための加温処理や多数の DNA 切断ストレスに耐性が見込めるなど、本法に適した性質を有している。本研究ではこのゲノム改変技術による耐病性育種を最終目標として、アグロバクテリウム法を用いて、制限酵素遺伝子のサトウキビへの導入を行った。使用するカルスは梢頭部の生長点組織から誘導し、黄色く固い細胞塊を選抜後、培養した。アグロバクテリウムとの共存培養後、ハイグロマイシンによる薬剤選抜により耐性カルスを得た。続いてシュート形成と発根を促した後、鉢上げして制限酵素を発現する複数の系統を取得した。

(¹明治大院農・²トヨタ自動車・³東大院・総合文化)

病害 08

○酒井皓大¹・三宅駿史¹・栗原美樹¹・近藤聡²・村本伸彦³・光川典宏³・大音徳²・太田邦史⁴・桑田茂¹・大里修一¹

新規ゲノム改変育種技術を用いたイネ耐病性系統取得の試み

DNA 解析技術の進歩によって、量的形質を対象としたゲノム解析やそれらを利用した育種が可能となってきた。圃場抵抗性は複数の抵抗性遺伝子の相乗効果と多くの遺伝子の複雑な連携とバランスによって病害抵抗性形質として現れる。我々はゲノム上の複数箇所に DNA 切断を導入してゲノム改変を行い、量的形質を含む新規形質の創成が期待されるゲノム改変育種技術の開発を進めている。本研究ではこのゲノム改変育種技術を利用した耐病性系統の創出を最終目標とし、その端緒となる研究としてイネの大規模ゲノム改変と本系に適したイネ白葉枯病菌による選抜法の検討を試みた。複数のプロモーターに連結した高温活性型の制限酵素遺伝子を日本晴に形質転換後、後代種子を取得した。各系統のカルス、葉において導入遺伝子や DNA 修復関連遺伝子の発現解析を行い、DNA 切断が生じていることを確認した。加温処理による活性化条件の検討を経て、複数系統を取得した。これらの系統の一部を用いて、イネ白葉枯病菌による接種試験と選抜条件の検討を行った。

(¹明治大院農、²トヨタ自動車、³豊田中研、⁴東大院・総合文化)

病害 09

○松尾涼平・前田一行・加納寛也・桑田茂・大里修一

イネいもち病菌における菌糸融合検出系の構築に向けて

子嚢菌類では準有性生殖によって遺伝的多様性が生じると報告されているが、イネいもち病菌 (*Pyricularia oryzae*) ではその知見は乏しい。我々は相同組換え (HR) 検出系を用いて、本菌の病原性変異と HR の関係について明らかにしてきた (2012 年度本大会)。本研究では、本菌でも準有性生殖が起きるか否かを HR 検出系で検討を試みた。YFP 蛍光により HR を簡易的に検出する 2 種類の機能不活化型マーカー (pMK-TG, pRS-Bar) をそれぞれ本菌に導入後、各組換え体を混合培養した。その結果、YFP 蛍光を示す菌株が得られたが、その蛍光はマーカー領域の変異によるものであった。そこで 2 種類のマーカー間の HR によって準有性生殖を蛍光検出する前段階として、菌糸融合と続く核融合の検出を試みた。核移行シグナル (NLS) を付加した 2 種類の蛍光タンパク質 (YFP-NLS, mCherry-NLS) の発現ベクターを構築し、それぞれ本菌に導入したところ、両系統は 2 種類の菌糸として識別でき、各々の核が観察できた。現在、この 2 系統を用いて融合条件の検討を進めている。

(明治大院農)

病害 10

○島崎茜・草場基章

SSR 分析によるメヒシバいもち病菌の遺伝的集団構造の解析

植物病原菌の進化には宿主植物に対する病原性獲得に加え、宿主の生育環境への適応が必須となる。一方、環境適応の機作はほとんどの病原菌で不明となっている。演者らは日本の広域で採集可能なメヒシバいもち病原菌(*Pyricularia grisea*, 以下、メヒシバ菌)を対象に、本菌の環境適応の実態解明を試みている。その一環として、本研究では本菌の集団構成の調査に必要となる Simple sequence repeat (SSR)マーカーの開発を行った。供試菌株として東北(青森, 秋田, 山形県)地方および九州(宮崎, 鹿児島, 佐賀県)地方から採集したメヒシバ菌計 66 株を用いた。メヒシバ菌の全ゲノム配列から検索された 8003 の SSR 座のうち、反復単位が 3 塩基以上で構成される 8 座について PCR プライマーを設計した。これら 8 座の全てで PCR 増幅産物の長さの多型が供試菌株間に観察された。これら多型から作成した系統樹中には明確なりネーミング構造が認められず、供試菌株集団は遺伝的に多様であることが示唆された。現在、供試菌株を東北と九州の集団に分け、集団構成の比較を検討している。

(佐賀大農)

病害 11

○中森大智¹・藤川貴史²・中村正幸¹・岩井 久¹

サンセベリア炭疽病菌 Sa-1-2 株のドラフトゲノム解析

サンセベリア炭疽病菌(Cs)は、サンセベリア属の植物のみに病原性を示す宿主特異性の極めて高い新種の糸状菌である。本実験では、Cs の発病機構、特に宿主特異性を担っている因子を明らかにするための基礎的データを得るためにドラフトゲノム解析を行った。Cs のゲノムサイズは、約 51Mb, GC 含量 50.8%, 推定遺伝子数は 13664 個であった。これらのデータを基に、これまでに遺伝子タギング法により得ている病原性消失株の破壊遺伝子で特定できていなかったものを解析したところ、破壊遺伝子は serine threonine-kinase, chitin synthase activator, epoxide hydrolase であることが新たに推定された。次に、今回得られた遺伝子情報を用い、最近同定された新種の情報も合わせて、Cs の分子系統解析を改めて行ったところ、炭疽病菌でこれまでに提唱されている 5 つの大きなクレード(真直型分生子の種)とは別に、CAM 植物のみに感染する種で独立したクレードを形成した。このことから、炭疽病菌の中でこれらの種は、CAM 植物に適応するため独自に進化を遂げていることが分かった。

(¹鹿児島大農・²農研機構果樹茶部門)

病害 12

椎葉美里・奥田 充¹・○竹下 稔

イネ幼苗の病徴型に基づいた Rice stripe virus の相対蓄積量の解析

鷲尾ら(1968)によるイネ幼苗検定における病徴型の分類法に従って、Rice stripe virus (RSV) のイネ幼苗におけるウイルス RNA 蓄積の相対定量解析を実施した。RSV の接種試験では、2~3 葉期のイネ幼苗に 1 株当たり約 5~10 頭の RSV 保毒ヒメトビウンカを配置し、7 日後に殺虫した。接種 21 日後に 6 パターンの病徴型に分類し、最上位葉と基部から試料を採取した。RSV の CP 遺伝子領域を標的とした相対定量 RT-PCR を行ったところ、病徴が激しい株で RSV の相対蓄積量が増加する傾向が認められた。最上位葉と基部との間で比較すると、RSV は基部で高い蓄積量を示す傾向が示された。また、宿主抵抗性の指標となる *PR1a* の転写物を調べたところ、病徴が比較的軽い一部の株において相対蓄積量が高くなっていた。さらに、全体を通してみると、病徴型のみで RSV の蓄積量を株ごとに推し量るのは難しいと推察された。以上の結果から、ほぼ同様の病徴型を示すイネ幼苗であっても、RSV の相対蓄積量は株ごとに異なるが、病徴が激しい株では基部で高くなる傾向が示された。

(宮大農・¹農研機構中央農研)

病害 13

○大貫正俊・高橋将一

新規ソベモウウイルスの機械的接種によるダイズ褐斑粒の発生確認

新たに日本での発生が確認されたソベモウウイルス (Soybean yellow common mosaic virus の近縁ウイルス : SYCMVrV) がダイズ褐斑粒の原因となるかポット試験により検証した。単病斑分離した SYCMVrV-K13 株を供試し、九州における主要ダイズ 6 品種を含む 11 品種の初生葉に対してウイルス感染葉の粗汁液を接種した。接種 3 週間後の病徴発現調査およびウイルス感染の検定を RT-PCR により実施した。さらに、各品種から収穫したダイズ子実の褐斑の有無と子実表面の変化について調査した。供試した 11 品種のうち、病徴発現および RT-PCR の結果がいずれも陽性であった白色および緑色ダイズ (6 品種) では、褐斑粒が認められた。病徴発現、RT-PCR ともに陽性の茶あるいは黒色ダイズ (2 品種) では、褐斑の有無は判然としなかったが、子実色の不規則な濃淡が認められた。一方、病徴発現が無いし遅延して軽く出現した品種 (3 品種) では、褐斑粒は認められなかった。以上の結果から、本ウイルスは、品種によってはダイズ子実の褐斑や粒色の変化に関与することが確認された。

(九州沖縄農研)

病害 14

○臼井真奈美¹・早日早貴²・黒木修一¹・櫛間義幸¹・富高保弘³・寺本 敏¹

ホオズキのトバモウウイルスに対する弱毒ウイルスの防除効果

宮崎県のホオズキ産地では、葉やがくのモザイクおよびえそ症状による品質や収量の低下が問題となっており、タバコ微斑モザイクウイルス (TMGMV) やトマトモザイクウイルス (ToMV) がその原因と考えられている。そこで、TMGMV の弱毒株である TMGMV-No.4 および ToMV の弱毒株である ToMV-L11A を用いて、両ウイルスの強毒株に対する防除効果を評価した。TMGMV-No.4 と ToMV-L11A をそれぞれ単独または混合接種したホオズキ苗および無接種苗を、現地および場内の強毒株混合汚染圃場に 3 月上旬に定植した。さらに、場内圃場では両強毒株の汁液接種も行った。その後、現地圃場では 7 月下旬、場内圃場では 8 月上旬の収穫期に発病程度を調査したところ、TMGMV-No.4 接種区では葉のえそ症状、ToMV-L11A 接種区では葉のモザイク症状が顕著に減少した。また、混合接種区では、両症状とも弱毒株無接種区に比較し減少した。

(¹宮崎総農試・²宮崎県西臼杵支庁・³九州沖縄農研)

病害 15

○眞境名元次¹・玉代勢優奈¹・富高保弘²

RIPA 法によるメロン黄化えそウイルスの簡易診断

メロン黄化えそウイルス (MYSV) はキュウリ等に感染し、葉の黄化や斑紋等の症状を引き起こすトスポウイルスである。その診断には RT-PCR 法による遺伝子診断 (以下 PCR 法) が用いられているが、本診断法には高額な機材・試薬や専門的な技術が必要とされることに加え、検定結果を得るまで 1~2 日間を要する。さらに島嶼県である沖縄県では現地からサンプルが到着するまでの時間も加味されることから、採取地に関わらず現場で簡易に診断できる技術が求められている。そこで、迅速免疫ろ紙検定法 (Rapid Immunofilter Paper Assay) (以下 RIPA 法) による簡易診断キットを試作し、MYSV の診断技術として検討を行なった。その結果、PCR 法と比較した RIPA 法の検出精度は 87.5~100 %、MYSV 感染キュウリ葉摩砕液を用いた検出希釈限界は 32~64 倍程度で PCR 法に比べ検出感度が劣ったが、検出作業時間は 5~10 分と短く、操作も非常に簡易であることから現場での高い実用性が示唆された。

(¹沖縄防技セ・²九州沖縄農研)

病害 16

○植松紘一¹・堀田光生²

PCR法と前培養法を組み合わせたカーネーション萎凋細菌病菌感染苗の新たな検査方法の検討

萎凋細菌病菌に感染したカーネーションの苗を高精度で検査・判別するため、本菌の植物内での動態について選択培地を用いて経時的に調査するとともに、本菌を特異的に検出するプライマーを用いたPCR法と前培養法とを組み合わせた新たな検査方法について検討した。萎凋細菌病菌を断根接種した感受性品種では、接種7日目以降に、大半の苗の茎部および葉部から本菌が分離された。また、接種後、下位葉からは常に本菌が分離されたことから、本菌の感染の確認には下位葉の利用が有効と考えられた。次に本菌を接種した苗から定期的に最下位葉を採取し、液体選択培地中で振とう培養して増菌後、本菌に特異的なプライマーを用いてPCR検定する方法について、従来法との比較を行った。従来法では、接種20日目以降に低い頻度で本菌が検出されたのに対し、前培養とPCRを組み合わせた方法では、接種5日目以降に高頻度で本菌に特異的なバンドが検出された。以上より、今回新たに開発した検定法は、従来法より高精度で萎凋細菌病菌を検出可能と考えられた。

(¹長崎農技セ・²農研機構農環研)

病害 17

○齊藤紀子¹・菊原賢次¹・野方仁²

イチジクで発生した *Lasiodiplodia theobromae* によるラシオディプロディア落葉病 (新称)

2016年5~6月、加温ハウス栽培の「蓬萊柿」で多数の枝の葉が急激に脱落し、枝に残された葉も手で触れると容易に脱落する症状が発生した。脱落した葉は褐変や黄化は認められず、葉柄基部断面上部のみ褐変していた。常法で分離した結果、褐変部から気中菌糸に富む灰白色の菌叢の糸状菌が分離された。分離菌株を葉柄基部に接種すると葉が黄化しないまま脱落するか葉柄基部が褐変し、原病徴が再現された。脱落後の葉柄基部の断面からは供試菌株と同一の菌が分離された。分離菌株の成熟した分生子の大きさは、 $17.6 \sim 30.8 \times 13.2 \mu\text{m}$ (平均 $25.2 \times 13.2 \mu\text{m}$) で、 $10 \sim 40^\circ\text{C}$ 条件下で生育し生育適温は 30°C 付近と考えられた。菌株の rDNA-ITS 領域、EF1- α 領域の塩基配列を決定し、それぞれの塩基配列を用いた DDBJ の BLAST 検索の結果、既知の *Lasiodiplodia theobromae* 菌株 (ITS:KY425745 等, EF1- α : JX464056 等) と 100% 一致し、分離菌株は *Lasiodiplodia theobromae* と同定された。本病害は本邦未報告のため、病名をラシオディプロディア落葉病と提案する。

(¹福岡農林総試・²京築普及指導セ)

病害 18

○田代暢哉・浦川(尾形)綾子・正司和之・松尾洋一

Rhizopus oryzae によるカンキツ黒かび病 (病原追加)

2015年8月、佐賀県で収穫期~出荷時のハウスミカンに未知の軟化腐敗症状が発生した。発症果実は腐敗臭のある果汁を漏出し、先端が黒点状を呈する絹糸様のかびで覆われた。軟腐部位から生育が極めて早い白色・無隔膜の気中菌糸を有する菌が分離された。分離菌は寒天培地上で仮根を形成し、そこから褐色の胞子のう柄が直立、その頂端に黒色の胞子のうを形成。胞子のう柄先端の柱軸は球状~亜球状、胞子のう胞子は亜球形。生育適温は 35°C 。分離菌の rDNA-ITS の塩基配列は既報の *Rhizopus oryzae* のものと完全一致。以上から、本菌を *R. oryzae* と同定した。胞子のう胞子懸濁液の温州ミカン成熟果実への有傷接種で病徴が再現され、接種菌が再分離された。既報の *R. stolonifer* に加えて、*R. oryzae* をカンキツ黒かび病の新たな病原として追加したい。本病の発生は盛夏期に成熟果実の果肉にまで達する傷を生じた場合に多く、その要因として、胞子発芽が高温域および果汁中で極めて良好なことがあげられる。本病に対して慣行腐敗防止剤の効果はなく、果実の丁寧な取り扱いが必要である。

(佐賀上場営農セ)

病害 19

○山城麻希・大城篤・安次富厚

2種 *Talaromyces* 属菌によるパインアップル小果腐敗病の発生（病原追加）

2015年7月、沖縄県産パインアップルにおいて、果実内部の小果から果托にかけて腐敗症状を示す病害が発生した。本症状は既報の *Fusarium ananatum* によるパインアップル小果腐敗病と思われたが、病斑組織からは *Penicillium* 属菌と推察される糸状菌が複数分離された。これら菌株を用いて果実に爪楊枝接種した結果、原病徴が再現され接種菌が再分離された。MEA培地上で、分離菌株はメトレとペン先型のフィアライドを有し、それぞれの大きさは $8.2-15.8 \times 2.5-3.8 \mu\text{m}$ と $9.0-16.2 \times 1.9-3.0 \mu\text{m}$ であり、分生子は楕円形、平滑、単胞で大きさは $2.0-3.6 \times 1.5-2.5 \mu\text{m}$ であった。各菌株間で形態的に明瞭な違いは認められなかったが、CYA培地上において37°C条件下での生育速度の違いにより概ね2種類に識別された。また、分離菌株の rDNA-ITS, β -tubulin および RPB2 領域を連結し作製した分子系統解析を行った結果、一方を *Talaromyces stollii*, 他方を *T. amestolkiae* と同定した。以上より、これら菌株と *F. ananatum* による病徴の識別が困難であるため、両菌株を本病の病原として追加したい。

(沖縄農研セ)

病害 20

○湯田達也・西岡一也・尾松直志・西八束

鹿児島県本土および沖永良部島におけるサトイモ疫病の初発時期

サトイモ栽培で問題となる疫病について、鹿児島県本土および沖永良部島における発生状況を調査し、年次による初発時期の違いとその要因を検討した。県本土の初発時期は、2016年は6月上旬頃とみられ、2017年は始良市の1ほ場で6月29日に確認された。2016年は日平均気温（以下、気温）が23°C前後の日が5月下旬から多かった。2017年は6月中旬まで気温が20°C前後と低く、初発時期の6月下旬に気温が25°C以上に上昇し、降雨も連続したことから、発病に好適な条件になったと考えられる。一方、沖永良部島の初発時期は、2016年は4月中旬頃、2017年は5月上旬頃とみられた。2016年4月は気温が20~23°Cで推移し平年より高い日が多かったが、2017年の4月の気温、降水量に前年と大きな差はなかった。沖永良部島で初発時期が異なった要因については、気象要因以外にも予防的な防除の実施状況などが考えられ、さらに詳細な検討が必要である。

(鹿児島農総セ)

病害 21

○菅 康弘

ジャガイモ挿芽を使用した種いも消毒剤の薬害観察に適する温度条件

ジャガイモ種いもの薬剤浸漬処理は供試薬剤によって出芽遅延を生じることがあるが、圃場試験では判然としない場合もある。また、春・秋作の温度の違いと薬害との関係は不明であった。そこで、フルアジナム SC100 倍とストレプトマイシン・オキシテトラサイクリン水和剤 (Agr) 40 倍に浸漬処理した品種ニシユタカの種いもから得た挿芽を、畑土壌を詰めたシードリングケースに植付け、15°C~31°Cの温度条件下で薬害発生状況を観察した。その結果、出芽は全般に23°Cまでは温度の上昇に伴い早まり、27および31°Cではやや遅れた。また、Agr処理区は無処理区に比べ、特に低い温度条件下で出芽が遅延する傾向が認められた。萌芽長は、各処理とも温度の上昇に伴い長くなる傾向を示した。温度別に出芽日数と萌芽長を比較したところ、15°Cおよび19°C下ではAgrによる生育阻害が明瞭であったが、23°C以上では処理間に有意差は認められなかったため、薬剤の影響を明確にするためには23°C未満の温度条件が適すると推察された。現在、他の薬剤を含めジャガイモ芽への影響を調査中である。

(長崎農技セ)

病害 22

○菖蒲信一郎・渡邊幸子

タマネギベと病に対する各種薬剤の二次伝染抑制効果

2016年および2017年の春期に、タマネギベと病の各種薬剤について感染前散布（本病の感染前から7日間隔で2〜3回散布）と感染後散布（本病の感染後から7日間隔で2〜3回散布）の防除効果を調べた。その結果、試験に供試したいずれの薬剤も感染後散布と比較して感染前散布の防除効果が高く、感染後散布では治療効果を有するとされる薬剤であっても十分な効果は得られなかった。供試薬剤の中では、マンゼブ水和剤（商品名：ジマンドアイセン水和剤）、フルオピコリド・ベンチアバリカルブイソプロピル水和剤（商品名：ジャストフィットフロアブル）、フルアジナム水和剤（商品名：フロンサイドSC）の感染前散布の防除効果が高い傾向にあった。中でもマンゼブ水和剤の防除効果が最も安定しており、ベと病が多発生した2016年中・晩生タマネギ（品種ターザン）での試験においても、本剤を核とした予防散布体系区では、本病の発生を収穫直前まで低く抑えた。

（佐賀農業セ）

病害 23

○菊原賢次¹・飯山和弘²・松元賢²・古屋成人²

福岡県で採取されたナシ黒星病菌におけるDMI剤感受性の低下

2006〜2008年に本県産ナシ黒星病菌の各種DMI剤に対する感受性検定を実施した結果、フェナリモルに対する感受性は低下し（防除価0〜79）、ヘキサコナゾール（75〜96）とフェンブコナゾール（85〜100）も低下傾向にあったが、ジフェノコナゾール（100）は高かった。現在も、DMI剤と同等以上に有効な薬剤は普及しておらず、DMI剤中心の防除体系が続いているため、更なる感受性低下が危惧される。そこで、本県における現在の感受性を明らかにするため、2015年5月に県内14ほ場からナシ黒星病分生子を採取、集菌、超低温で保存し、翌年4月に鉢植えのナシを用いて試験を実施した。その結果、ジフェノコナゾール（防除価26〜100）、ヘキサコナゾール（1〜85）、フェンブコナゾール（0〜44）、フェナリモル（16〜50）に対する薬剤の感受性はいずれも前回試験より低下した。一部の菌でヘキサコナゾールよりジフェノコナゾールの防除価が低い事例が初めて確認された。一方、QoI剤のマンデストロビン（80〜99）の防除効果は高く、DMI剤の代替剤として期待される。

（¹福岡農林試・²九州大）

病害 24

○玉代勢優奈¹・大城篤²・安次富厚²

Pectobacterium carotovorum によるスイゼンジナ軟腐病の発生（新称）

2017年5月、沖縄県南風原町の施設栽培スイゼンジナにおいて、茎および葉が軟化腐敗する症状が確認された。病変部からは菌泥の漏出が確認され、普通寒天培地で培養したところ白色で円形、扁平、全縁状のコロニーを形成する細菌が高率に分離された。これら分離菌株をスイゼンジナに噴霧接種すると原病徴が再現され、接種菌が再分離された。細菌学的性状調査を行った結果、グラム陰性、緑色蛍光色素を生産せず、OF試験はF、硝酸塩を還元し、ジャガイモ塊茎腐敗能が認められたことから *Pectobacterium* 属と推定された。また、インドールを産生し、37°Cで生育することが明らかとなった。Darrasse *et al* (1994)の *Erwinia carotovora* (*P. carotovorum* spp.)を検出するプライマーを用いてPCR検定を行った結果、予定長の増幅断片が得られたことから本細菌を *P. carotovorum* と同定した。分離菌株の subspecies については今後検討する予定である。以上より、本細菌によるスイゼンジナの病害は本邦では初報告であることから、病名をスイゼンジナ軟腐病と提案したい。

（¹沖縄防技セ・²沖縄農研セ）

病害 25

○土屋健一¹・Htet Wai Wai Kyaw¹・黒瀬大介²・中村友香¹・森田泰彰³・矢野和孝³・安次富厚⁴・大城 篤⁴・堀田光生⁵・松元 賢⁶・飯山和弘¹・古屋成人¹

九州で発生したショウガ科植物青枯病と病原細菌の系統解析

ショウガ科植物青枯病は、1995年に高知県で初発生以降、四国、本州（栃木、和歌山、島根、静岡）ほか九州地域へと拡大し、2008年に鹿児島（徳之島）でショウガに、2009年に同（南九州市）でクルクマに、また同年、長崎、宮崎で、および2013年に熊本でショウガに、さらに沖縄では3種ウコン（安次富ら、2015）およびクルクマに発生が報告された。そこで、九州5県産のショウガ科分離菌株について、病理学的、生理生化学的、および遺伝学的性質について比較検討した。供試菌株はすべて、タバコ過敏反応は陽性で、ショウガ等を萎凋させ、レース4の特徴を示した。いずれの菌株も biovar 4 に類別され、16S rDNA の塩基配列および phylotype 判別用マルチプレックス PCR 解析から、いずれも *Ralstonia solanacearum*, phylotype I と同定された。また、エンドグルカナーゼ遺伝子 (egl) 配列に基づく sequevar は、徳之島株が 16、その他の地域株は 30 であった。一方、rep-PCR 法による系統判別 (Horita et al., 2004) では、前者が DNA タイプ II、後者は同タイプ I であった。

(¹九大院農・²CABI Europe-UK・³高知県農技セ・⁴沖縄農研セ・⁵農研機構農環研・⁶九大熱研セ)

病害 26

○篠崎 毅¹・青野光男¹・清水伸一¹・成松耀司²・越智政友³

キウイフルーツかいよう病 (biovar1) に対する *Actinidia chinensis* 品種の抵抗性評価

2000年に愛媛県で発生したキウイフルーツかいよう病 (病原: *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae* biovar1) は、発生後徐々に周辺地域に拡大し 'Hort16A' を中心に大きな被害を及ぼし現在も発生は継続している。そこで今後生産拡大が期待される *A.chinensis* 品種等について biovar1 に対する抵抗性を検討した。試験は biovar1 の発生園地で実施した。供試品種は、'ヘイワード'、'レインボーレッド'、'Hort16A'、'Zesy002' の4品種とし、2014年3~6月にヘイワード苗木 (2年生) に各品種を高接ぎし3年間継続調査した。その結果、'Zesy002' のみ3年間赤褐色樹液の漏出や枯死もなく健全であった。また、葉の発生度は 'ヘイワード' 23.9、'Hort16A' 45.6、'レインボーレッド' 59.7 に対し 'Zesy002' は 3.5 と低かった。新梢の萎れや花蕾の褐変も同様に 'Zesy002' が少なく抵抗性は高いと考えられ、接木3年目であるが biovar1 の発生地域での栽培が可能と考えられた。

(¹愛媛果樹研セ、²愛媛中予局、³ゼスプリ・ジャパン)

病害 27

○浦野知¹・宮路克彦²・井上広光³・藤川貴史³

カンキツグリーンニング病伝搬の感染源としてのゲッキツ樹のハザード解析

南西諸島で庭先や生け垣に好んで植栽されるゲッキツは、カンキツグリーンニング病 (以下、CG病) の病原細菌の好適な宿主ではない。しかし、剪定等によって年間を通じて新芽が多く発生するため、これに産卵する媒介虫ミカンキジラミの個体群を増加させるという意味で、CG病拡散の危険要因の一つである。そのため、ゲッキツは、CG病の緊急防除や根絶事業において、薬剤防除の対象とされてきた。一方、ゲッキツ樹体内に一時的に病原細菌が保持されることによって媒介虫の保毒源となる可能性が指摘されてきたことから、虫媒伝染の直接的な危険要因としての評価が必要となった。そこで、ゲッキツを感染源としたときのCG病伝搬シナリオを策定し、可測なパラメータを用いて、ゲッキツハザード H を定義した。次に、ゲッキツを危険要因とするCG病伝搬リスクモデルを開発した。また、このモデルにパラメータ値を代入することにより、防除努力の最適配分に資するゲッキツの定量的リスク評価を行なったので報告する。

(¹ペコ IPM パイロット・²鹿児島農総セ・³農研機構果樹茶部門)

【ポスター発表】

病害 P1

○富高保弘¹・國友映理子²・横山とも子²・宇杉富雄³・津田新哉³

ソラマメにえそモザイク症状を引き起こす *Bymovirus* 種の同定

我が国で栽培するソラマメで、葉および茎にえそやモザイク症状を伴う病害が発生し、その病葉からは *Bymovirus* 様ウイルスが検出されることを報告した（平成 25 年度日本植物病理学会関東部会）。しかしながら、戻し接種によって原病徴が再現されておらず、病原かどうかは不明であった。そこで本研究では本ウイルスのソラマメへの病原性を確認するとともに性状について詳細に解析した。ソラマメ病葉の粗汁液を健全ソラマメに汁液接種し、圃場あるいは網室で 11 月から 4 月まで栽培したところ、現病徴が再現された。ウイルス粒子を粗精製し、電子顕微鏡で観察したところ、粒子長は約 575nm および約 300nm のひも状粒子が認められた。本ウイルスの外被タンパク質の推定される分子量は約 32 kDa で、アミノ酸配列には *Potyvirus* 科に保存されたモチーフが認められ、既報のウイルス種とのアミノ酸配列の同一性は 34% 以下であった。以上より、本ウイルスは新種の *Bymovirus* であると考えられ、英名を Broad bean necrotic mosaic virus (BNMV)、和名をソラマメえそモザイクウイルスと提案したい。

(¹九州沖縄農研・²千葉農総セ・³中央農研)

病害 P2

○久保田健嗣¹・千秋祐也¹・富高保弘²・田中穰¹・津田新哉¹

新規ディジェネレートプライマーを用いたエマラウイルスの網羅的検出

フシダニ類媒介性のエマラウイルス属ウイルスは、国内ではイチジクモザイクウイルスおよびシソモザイクウイルスが発生し、海外では新種が次々と報告されている。既知および未知のエマラウイルス種を幅広く検出できる手法を開発するため、データベースに登録されたエマラウイルスの配列情報から種間で保存されたアミノ酸配列領域を探索し、対応する塩基配列のディジェネレートプライマーを設計した。国内発生の上記 2 種の感染葉 RNA、または国内未発生エマラウイルス 8 種の人工合成した部分長 RNA と各ウイルスの宿主植物 RNA の混合物を鋳型として、ランダムプライマーにより cDNA を合成し、これを鋳型としてディジェネレートプライマーを用いて PCR を行ったところ、プライマー設計時に配列が未知であったウイルス種を含め、全種を検出することができた。また、既報のプライマーよりも幅広い種を検出できた。本研究の一部は農林水産省・農食研究推進事業「シソサビダニが引き起こすオオバのモザイク病およびさび症の防除体系確立」（課題番号 27001C）により実施された。

(¹農研機構・中央農研・²農研機構・九州農研)

病害 P3

○千秋祐也¹・宇杉富雄¹・富高保弘²・田中穰¹・津田新哉¹・久保田健嗣¹

シソモザイクウイルス感染シソ株の無病徴側枝からのシソサビダニによるウイルス獲得可能性の検討

シソサビダニ媒介性のシソモザイクウイルスが感染した青シソ株には、葉にモザイクを発病する側枝と無病徴で経過する側枝が混在する。圃場での対処は感染株の抜取りが基本であるが、収量維持と労力軽減の観点から発病枝のみの除去が望まれている。その際に残された無病徴枝が伝染源となり得るかを検討するため、両枝の葉について、ウイルス濃度、および、獲得吸汁させたシソサビダニのウイルス保毒虫率を調査した。リアルタイム RT-PCR による定量では、無病徴枝の葉からはウイルスが検出されるものの、濃度は発病枝の 1000 分の 1 未満であった。発病枝と無病徴枝の葉で獲得吸汁させたサビダニから 1 頭ごとにウイルスを検出した結果、発病枝由来では 10 頭中 6 頭から検出されたが、無病徴枝由来では 1 頭のみからごく薄いバンドが検出された。現在、両枝の葉を獲得吸汁源としたシソサビダニによるシソ幼苗へのウイルス媒介試験を行っており、これらの結果も踏まえて無病徴枝が伝染源となる可能性を評価する。本研究の一部は、農食研究推進事業 (27001C) により実施された。

(¹農研機構・中央農研・²農研機構・九州農研)

病害 P4

○櫛間義幸

改良 DIBA 法における抗体処理時間及び基質・発色反応時間の短縮

改良 DIBA 法は生産現場でのウイルス病や *Phytophthora* 属菌の診断に有効であるが、抗体処理に 30 分、基質・発色剤の処理時間 15 分を要するため、最終判定までに約 1 時間が必要である。そこで、改良 DIBA 法の抗体処理時間及び基質・発色処理時間の短縮化について検討した。それぞれ処理時間を 5 分間隔で段階的に変化させて、得られたメンブレンシートの発色スポットをイメージスキャナ及び画像解析ソフト ImageJ を用いて解析した。キュウリ黄化えそ病 (MYSV) では抗体の処理 20 分間までは時間に応じて発色が徐々に強くなる傾向が見られたが、サトイモ疫病菌 (*Phytophthora colocasiae*) では処理 5 分間で強い発色が見られ、その後の顕著な変化は見られなかった。また、基質発色剤の反応は処理時間 5 分でも強い発色が認められた。これらの結果から、両病害とも抗体処理時間 10 分間、基質・発色処理時間 5 分間で十分に判定することが可能と考えられる。

(宮崎総農試)

病害 P5

○富村健太¹・平松紀士²・真武信一³・藤川貴史¹

カンキツグリーンング病発生地におけるカンキツウイルス・ウイロイドの発生調査

現場でのカンキツグリーンング病の検定において、まず目視による肉眼診断が行われている。本病に典型的な症状が報告されているにもかかわらず、生理障害や微量元素欠乏症などの要因が検出効率を阻害している。そこで本研究では、カンキツグリーンング病原細菌 (CG) との混合感染が疑われるカンキツウイルス・ウイロイド種の感染実態を把握することを目的に、本病原細菌の感染が疑われるカンキツ試料について網羅的にカンキツウイルス・ウイロイド種の検定を行った。その結果、カンキツトリステザウイルス (CTV) は全ての試料で感染しており、次いでリンゴステムグルーピングウイルス、温州萎縮ウイルスの順に重複感染事例がみられた。また、カンキツウイロイド種についてはカンキツエクソコーティスウイロイドに感染した事例はみられなかった。以上の結果より、CG および CTV を除くと、CG の感染が疑われるカンキツ樹において感染しているウイルス・ウイロイド種の感染は、ウイルス感染よりはウイロイド感染の事例が多く、これら重複感染は多くて 4 種程度であることが示唆された。

(¹ 農研機構果樹茶部門・² 沖縄北部農水振セ・³ 沖縄県農研セ)

病害 P6

○大城篤¹・玉代勢優奈²・貴島圭介³・稲田拓郎¹・安次富厚¹・山城麻希¹

トマト栽培施設内で発生するムラサキカタバミのトマト黄化葉巻病 (tomato yellow leaf curl virus) の感染状況調査

著者らは沖縄県内に発生するトマト黄化葉巻病 (以下; TYLCV) の自然感染植物としてムラサキカタバミ (以下; Oc) を見だし、さらに Oc の増殖源となる鱗茎で本ウイルスの存在を明らかにした (大城ら, 2015)。今回、TYLCV 感染 Oc 株から採取した子鱗茎を培養土へ移植し、萌芽した根出葉で TYLCV の感染を確認した Oc 株を用いてタバコナジラミを介した健全トマトへの伝播試験を行った結果、ウイルスの伝搬が確認された。さらに、2016 年作のトマト (定植 3 ヶ月程度) での TYLCV の発生率が 0~2% 未満の施設 7 カ所を対象に Oc を施設内から採取し、TYLCV の感染状況を調査した。その結果、Oc が発生した施設は 5 カ所で、TYLCV に感染した Oc が検出された施設は 4 カ所であり、さらに、各施設での Oc の TYLCV 感染株率は 5.6~18.2% であった。以上より、ムラサキカタバミのトマトでの TYLCV 発生への関与は大きいものと推察されることから、本植物が生育する圃場では、本植物の防除が重要であると考えられる。

(¹ 沖縄農研セ・² 沖縄防技セ・³ 八重山農林振興セ)

病害 P7

○安次富厚¹・宮城早苗²・稲田拓郎¹・大城 篤¹・山城麻希¹・松村まさと³・阿波根直恭³・大城和久⁴・長浜隆市⁴・目取眞要⁵・鍛冶山拓美⁵・大石彩子⁶・下地聡子⁶・渡久山みき⁷・貴島圭介⁸・山口綾子⁹・細川理恵⁹・寺村皓平⁹・岩井 久¹⁰

沖縄県内のパッションフルーツにおける各種ウイルス病の発生実態

沖縄県の冬春期パッションフルーツ栽培において、新葉の萎縮や草勢の低下などの症状が確認され問題となっている。このため、県内全域の栽培圃場（133地点）を対象に、ウイルス病が疑われる株の症状の確認と、国内で感染報告のある6種ウイルスの特異的プライマーを用いたRT-PCR検定により、発生実態を調査した。その結果、症状は、多いものから、成葉の巻葉、葉面亀裂および葉脈間黄化の順に確認された。RT-PCR検定により感染が確認された各ウイルスの発生圃場率は、East Asian passiflora distortion virus (EAPDV, 新種として提案中) が2.4%, East Asian passiflora virus-AO (EAPV-AO) が1.2%, Passiflora latent virus (PLV) が85.7%であった。Broad bean wilt virus 2, Cucumber mosaic virusおよびEAPV-IBの感染は確認されなかった。EAPDVおよびEAPV-AO感染株では葉の萎縮や果実の奇形症状が確認された。PLV感染株では特定の症状は認められなかったが、県内全域で確認されたことから、今後、冬春期栽培において近年問題視されている草勢低下との関係を調査する必要がある。

(¹沖縄農研セ・²沖縄県庁・³沖縄農研セ名護・⁴沖縄北部農改・⁵沖縄中部農改・⁶沖縄南部農改・⁷宮古農改・⁸八重山農改・⁹沖縄防技セ・¹⁰鹿児島大農)

病害 P8

○久野公子¹・櫛間義幸¹・黒木修一¹・田村逸美²

宮崎県におけるサトイモ疫病の発生推移

宮崎県では、平成26年からサトイモ疫病が多発生するようになり、甚大な被害をもたらしている。本病の発生生態は未だ明らかではなく、加えて防除薬剤が限られていることから、現場では対応に苦慮している。そこで、県内における発生消長を明らかにし、今後の防除対策の参考にするため、平成28年～29年に現地の発生調査を行った。平成28年産の巡回ほ場における初発生は7月11日で、発病株率は0.7%であった。その後、病徴は急激に進展し、4日後の調査では42.0%、11日後には86.7%、18日後には発病株率100%でとなった。平成29年産においては、7月18日に極微発生を確認し、7日後の調査では発病株率11.9%、14日後では53.6%と前年よりは発病株率の増加が緩慢であった。しかし、8月6日～7日の台風通過により8月中旬にはほぼ100%と急激な進展が見られた。2カ年の調査で、発病株率の急激な増加が気温や降雨量等の環境条件に大きく影響されることが推測されたが、感染源や初発生に至る要因が不明であるので、今後も更なる調査が必要である。

(¹宮崎総農試・²サンケイ化学)

病害 P9

○藤原和樹¹・西菜穂子²・福元智博²・細川理恵³・藤川貴史¹

人工培地を利用した潜伏感染カンキツグリーンング病原細菌の検出技術の開発

カンキツグリーンング病は、難培養性の病原細菌 *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas) によって引き起こされるカンキツの重要病害の一つである。国内においては沖縄県と鹿児島県奄美群島の一部で発生しており、九州本島への侵入が警戒されている。既発地域では根絶を目指して PCR によるカンキツ樹の CLas 感染の診断が実施されているが、グリーンング病には CLas の潜伏感染期間が存在し、その間の樹勢は健全樹と区別ができず、CLas も PCR の検出限界以下の菌密度で生息していると考えられるため、潜伏感染樹の早期発見は困難を極めている。そこで、新たに開発した CLas 人工培地を利用し、培地上での増殖と PCR を組み合わせて潜伏感染カンキツ樹の早期発見を可能にする検出技術の開発を試みた。潜伏感染が疑われているカンキツ樹から葉を採取し、PCR で陰性反応を示した葉の抽出物を 2 週間人工培地上で培養したところ、PCR により陽性反応が認められた。以上により、人工培地と PCR を組み合わせることで、潜伏感染樹の早期発見が可能になると考えられた。

(¹農研機構・²鹿児島農総セ・³沖縄防技セ)

病害 P10

○尾川 宜広¹、福元 智博¹、山口 卓宏¹、藤川貴史²

ダイレクリアルタイム PCR によるカンキツ類からのグリーンング病病原細菌検出の試み

鹿児島県のカンキツグリーンング病 (CG 病) 病原細菌の発生調査において、検定方法として DNA 抽出キットによる精製 DNA を用いたリアルタイム PCR を行っている。これは高精度・高感度の検定法であるが、DNA 抽出の課程が高コストでやや煩雑である。一方、バイオマッシャーⅢによる粗抽出 DNA を用いたダイレクト PCR 法 (Fujikawa et al, 2013) が安価で簡易な検定方法として報告されている。そこで、粗抽出 DNA サンプルを用いたダイレクリアルタイム PCR による CG 病病原細菌の検出を試みた。粗抽出に用いる緩衝液、プライマーを検討した結果、バイオマッシャーⅢにより蒸留水中で磨砕した感染樹の葉柄から粗抽出した DNA を鋳型として、本県の検定法で使用されている同条件で、*tufB* 遺伝子を対象としたプライマー qCG-*tufB*-F1、qCG-*tufB*-R1 によるリアルタイム PCR (奥田ら, 2009) を行ったところ、CG 病病原細菌の検出が可能であった。今後、検定方法として利用可能かどうか、実証試験を行う。

(¹鹿児島農総セ大島、²農研機構果樹茶部門)