

講演要旨

病害の部

有機物施用圃場におけるイネ紋枯病の発生と被害

山口純一郎・稲田 稔
(佐賀県農業試験研究センター)

近年、化学合成物質への依存を低減した環境保全型農業が推進され、さらに特色ある米の栽培ニーズの中、有機物を施肥に組み込んだ水稲栽培が拡大している。そこで、有機物施用を主体とした圃場でのイネ紋枯病の発生と被害との関係について検討した。試験は、1989～1996年にかけて行い、有機物施用として、元肥に牛糞堆肥を穂肥に菜種油粕を用いた有機物単用区（肥効率換算からの窒素計10.3～17.7kg/10a）と牛糞堆肥の元肥に穂肥に化学肥料を用いた有機物＋化学肥料区（同計14.9～17.7kg/10a）を設置した。また対照として現地慣行の化学肥料単用区（同計10.5kg/10a）および無肥料区を設置した。各施肥区の水稲の生育において、稈長は年次により施肥区間で若干のばらつきが認められたが、草丈、茎数、穂数、収量とも無肥料を除き、ほぼ同等に推移した。有機物施用の両区における紋枯病の発病株率の年次推移は、化学肥料単用区と同様な傾向を示し、無防除の場合、当初少発生であったが多発生年以降は急増した。したがって次年の防除対策上、多発生年は防除により発生を抑えておく必要があると思われた。また、試験事例別に有機物施用両区の無防除の発生を化学肥料区と比較すると、発病株率は一定の傾向はみられず、病斑高率においても明らかな差は認められなかった。さらに有機物＋化学肥料施用区における紋枯病の発生程度と減収率の関係においては、 Y （減収率：％） $=0.29X$ （成熟期紋枯病圃場被害度）が得られ、化学肥料単用の場合（ $Y=0.27X$ ）とほぼ同じであった。以上の結果から、有機物を施用した水稲においても化学肥料施用で設定された紋枯病の要防除水準が適用できると考えられた。

奄美地域におけるジャガイモそうか病の発生実態

和泉 勝一・野島 秀伸
(鹿児島県農業試験場大島支場)

奄美地域のジャガイモ栽培は20数年の歴史があり、沖

永良部島と徳之島を中心に1,000ha余で栽培されている。作型は植付が11～12月で、2～4月に収穫される早掘り栽培で、露地の無マルチ栽培である。土壌は隆起サンゴ礁に由来する高pHの琉球石灰岩土壌が主体で、一部には酸性の粘板岩土壌もあるが、いずれも重粘な特殊土壌である。このように奄美地域におけるジャガイモ栽培は、本土とは異なった特徴的な栽培といえる。

1996年2～4月の収穫期に3回、沖永良部島において、そうか病の発生実態を調査した。現地圃場の連続した10株前後を掘取り、病斑型別に発病程度を調査した。また掘取った部分の土壌を採取して土壌化学性を調査し、栽培概要については農家から聞取った。今回の調査は、そうか病の発生と関係する要因を把握することを目的とし、多発圃場と発生が無いか少ない圃場を抽出するようにしたため、一般的な発生状況調査とは異なるが、そうか病の発生はいずれの時期においても発病程度の高い圃場が認められ、沖永良部島においてはかなりの発生があることが明らかとなった。また植松ら（1990）の報告に準じて病斑型を調査したが、いずれの病斑型も発生が認められた。そうか病の発生と土壌pHとの関係についてみると、pH5.2以上の圃場では発病程度が高くなることが認められ、既往の報告と一致すると考えられた。しかし低pHでも多発する圃場や逆に高pHでも発生が少ない圃場も認められ、耐酸性のそうか病菌の存在や連輪作など土壌伝染との関係が示唆された。薬剤防除との関係は明らかでなかった。今後さらに病原菌など発生実態について調査を進めるとともに、防除対策を検討したい。

塊茎えそ症のジャガイモから検出された植物ウイルスについて

迫 和也¹⁾・大島 一里¹⁾・仲川 晃生²⁾
松尾 和敏³⁾・小川 哲治⁴⁾・四方英四郎⁵⁾
佐古 宣道¹⁾

¹⁾佐賀大学農学部・²⁾長崎県総合農林試験場愛野

³⁾長崎県病害虫防除所・⁴⁾長崎県総合農林試験場

⁵⁾北海道グリーンバイオ研究所)

長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場圃場内で採集された塊茎にえそ症状を示すジャガイモ14検体および長崎県下で採集された塊茎にえそ症状を示すジャガイモ14検体の合計28検体について、ジャガイモ葉からの病原ウイ

ルスの検定を Western blotting 法により行った。その結果、ジャガイモYウイルス (PVY) が100%、ジャガイモSウイルスが57%、ジャガイモXウイルスが25%検出されたが、ジャガイモMウイルスは検出されなかった。また、PVY のえそ系統に世界で最も特異的と報告されている PVYT-4E7 モノクローナル抗体 (大島ら, 1991; McDonald *et al.*, 1994) が全ての塊茎えそ症のジャガイモ葉と反応したことから、感染している PVY の外被タンパク質は $^{10}\text{S-T-X-X-X-X-X-Q}^{17}$ のアミノ酸配列 (畑谷ら, 1994) を有しており、えそ系統に近縁なウイルスと思われた。そこで塊茎えそ症を示すジャガイモ葉から *Solanum tuberosum* (Konkei) を用いて単病斑分離を3回繰り返して PVY を分離した。その後常法により PVY 精製後、電子顕微鏡観察を行った結果、約720nm の potyvirus 様粒子が観察された。またこの PVY について宿主範囲について検討したところ、*Chenopodium quinoa* は局部病斑を示さず、タバコ (*Xanthi nc* および *Samsun*) は葉脈えそ症状を示した。

RT-PCR 法によるジャガイモYウイルスの検出

小川 哲治¹⁾・花田 薫²⁾・大貫 正俊²⁾
大島 一里³⁾・畑谷 達児⁴⁾

(¹⁾長崎県総合農林試験場・²⁾九州農業試験場
³⁾佐賀大学農学部・⁴⁾北海道大学農学部)

長崎県の主要なジャガイモの品種であるデジマおよびニシユタカにウイルスが原因と思われるモザイク病、えそ症状の発生が近年増加傾向にあり問題となっている。本研究では、これらの症状の原因と考えられる病原ウイルスの一つ、ジャガイモYウイルス (PVY) について RT-PCR (逆転写-Polymerase chain reaction) 法を用いてジャガイモ葉からの検出を試みた。1996年10月、島原半島のジャガイモ栽培地よりモザイク症状または地上部にえそ症状が観察されるジャガイモ葉を合計17株採取した。採取した葉からの核酸の抽出方法は、大貫・花田 (1996) の報告に従い、CF11 セルロースを用い精製した。RT-PCR に用いたプライマーは、既報の PVY の塩基配列より各系統で保存性の高い部分のうち、NIB (核内封入体 b) の 3' 末端と CP (外被タンパク質) の 3' 末端付近の塩基配列に由来し、約990bpの DNA 断片の増幅が予想されるようにデザインした。対照として PVY の普通系統 (O) を2株 (大島ら, 1991, 農林水産ジーンバンクより分譲)、タバコえそ系統を2株

(T13: Hataya *et al.*, 1994, T: 農林水産ジーンバンクより分譲) 用いた。RT-PCR を行った結果、対照の4株並びに長崎の17株のうち12株より予想された位置に明瞭な増幅断片が確認された。また、既報の塩基配列より増幅が予想される配列において普通系統とタバコえそ系統間の判別が可能と思われる3種の制限酵素 (*Hinc* II, *Hinf* I, *Alu* I) により各増幅断片を消化した。その結果、各切断パターンは、長崎の12株のうち1株は普通系統と、残りの11株はタバコえそ系統 (T) と類似していた。

夏播きダイコンに発生した *Colletotrichum* 属菌による病害

牟田 辰朗*

(鹿児島県農業試験場大隅支場)

1995年8～9月に鹿児島県溝辺町の夏播きダイコンで激しく枯れ上がる症状が発生し、病斑から長さ20 μm 前後の鎌形の分生子を形成する *Colletotrichum* 属菌が分離された。本病は葉身、葉柄、葉脈に発生し、葉では灰緑色～灰褐色の直径1～2mmの円形の斑点を生ずる。褐色または黒色の縁があるものや、黒色の小斑点もみられた。病斑が融合すると褐色不整形に枯れ込む。葉脈、葉柄ではやや縦長の黒色小斑点や紡錘形の病斑となる。発病が激しいときは葉身全体が灰緑色～灰色に急激に枯れ上がる。1995年に組織分離した PDA 培養菌層の摩砕液をダイコンに接種し、病斑を再度組織分離した結果、培養形態をやや異にする4菌株が得られた。4菌株のダイコンの病斑を保湿すると鎌形の分生子を形成した。分離菌9501は PDA 平板培地 (以下 PDA) で灰色～暗灰色を呈し、剛毛をもつ分生子層に鎌形の分生子を形成し、菌核を多数形成した。PD 液体培地や Spezieller Nährstoffarmen agar 平板培地 (以下 SNA) でも鎌形の分生子を形成した。分離菌9502は PDA では分生子をほとんど形成せず、菌核を多数形成した。SNA では鎌形の分生子を形成した。分離菌9503は PDA では剛毛のない分生子層および鎌形の分生子を多数形成した。分生子層は淡い黄土色を呈した。菌核の形成はみられなかった。分離菌9504は PDA では剛毛をもつ分生子層に多数の鎌形の分生子を形成し、培地全体が濃い黒色を呈した。9501と同様の菌核は形成されなかった。1996年に同地域から組織分離した菌は9501または9502に類似したものが多く、9503や9504に類似するものは少なかった。4菌株はダイコンに強い病原性を認め、9502はハクサイ、コマツナ、チンゲンサイ、タイサイにも寄生性がみられた。

*現在 鹿児島県果樹試験場

セル苗移植によるホウレンソウ萎凋病の 防除

鍛冶原 寛¹⁾・井上 興¹⁾・村本 和之²⁾

角田 佳則¹⁾・宮川 久義³⁾

¹⁾山口県農業試験場・²⁾山口県大島柑きつ試験場

³⁾中国農業試験場

ホウレンソウ萎凋病の防除は、主として農薬による土壌消毒によって行われている。しかし、近年安全な野菜を求める消費者の要望が強くなっており、農薬をできるだけ使用しない防除技術の開発が望まれている。そこで、耕種的防除法の1つであるセル苗移植栽培によるホウレンソウ萎凋病の発病抑制効果について検討した。

6月下旬に品種「おかめ」のネーキット種子を、山口県農業試験場で1穴1～2粒播きになるように改良した専用の播種機を用いて、チェーンポットCP303に播種し、育苗した。播種14日後の本葉が3～4枚展開した苗を、山口県都濃郡鹿野町のホウレンソウ萎凋病汚染圃場に移植した。対照として、現地慣行のシーダーテープ播種を行う区を設けた。播種40日後の健全株率を調査した結果、対照区が30.6%に対して、セル苗移植区では70.4%、10a当り収量では、対照区が100kgに対し、セル苗移植では381kgであり、高い増収効果が認められた。また、同時期に他2カ所の圃場で実施した同じ試験においても、同様の結果を得た。ポット試験で、移植時期と発病抑制効果の関係を検討した結果、播種後7日の移植でもっとも効果が高く、遅くなるにつれて発病が増加した。しかし、播種7日後では根の張りが十分でなく、作業が困難なため、移植の適期は播種後10日前後と考えられた。また、移植から発病までの日数について検討した結果、移植後30日までに萎凋症状を示す株は殆ど認められなかった。夏穫りホウレンソウは、通常移植後30日までには収穫できるため、セル苗移植は耕種的防除法として実用上十分な効果があると考えられた。

イチゴうどんこ病の耕種的防除：低温暗黒処理苗に対する育苗期高温処理の効果と収量におよぼす影響

益永 輝幸¹⁾・緒方 清春²⁾

増永 哲也²⁾・大野 和朗¹⁾

¹⁾福岡県農業総合試験場・²⁾福岡県病害虫防除所

イチゴうどんこ病は高温で抑制されることが知られている。そこで、イチゴうどんこ病の耕種的防除法として低温暗黒処理前の育苗期高温処理の有効性および収量への影響を検討した。1996年7月6日から8月16日までの42日間ガラス室内で育苗する高温処理区と露地で育苗する無処理区を設け、うどんこ病の発病を比較した。日平均気温が20～25℃で経過した7月上旬ではどちらの区でも最上位葉での発病小葉率は増加したが、気温が上昇した7月中旬以降では両区とも最上位葉での発病小葉率は低下した。7月中下旬では高温処理区の日平均気温は無処理区より約2℃高く経過し、各葉位での発病小葉率については高温処理区が無処理区よりも有意に低く推移したことから、育苗期での高温はうどんこ病を効果的に抑制するものと推察された。なお、露地育苗でも発病が低く推移し、低温暗黒処理直前には発病葉がほとんど認められなかった。1996年には7月中旬以降、露地でも日平均気温が28℃前後と高温で推移したため、露地育苗でも発病が抑制されたと考えられる。冷夏であった1992年の露地育苗では同時期に発病葉が認められていた。また、定植後での発病は両区とも認められなかった。この原因として高温により育苗期での発病が抑制され、感染源が本ぼへ持ち込まれなかったことが考えられた。なお、高温処理による収量の減少は認められなかった。以上のように、育苗期高温処理はイチゴうどんこ病の耕種的防除法として有効である可能性が示唆された。

マレーシアで分離されたズッキーニ黄斑モザイクウイルス (BLM-21) の外被タンパク質遺伝子の解析

奥井 久貴¹⁾・Zakaria Sidek²⁾

大島 一里¹⁾・佐古 宣道¹⁾

¹⁾佐賀大学農学部・²⁾Fac. Agr. Univ. Pertanian Malaysia)

マレーシアの Kota Bharu において、1992年に採集されたモザイク症状を呈したカボチャ葉から病原ウイルス

(BLM-21) を分離し、その生物学、血清学的性質および外被タンパク質遺伝子のアミノ酸配列を解析した。分離した BLM-21 の電子顕微鏡観察から、約700-725nm の紐状ウイルスが観察され、potyvirus グループに属すると思われた。また BLM-21 の外被タンパク質の分子量は SDS-PAGE により約34kDa と推定された。BLM-21 の宿主範囲について検討すると、アカザ科には局部病斑、マメ科およびウリ科のトカドヘチマには感染せず、それ以外のウリ科にはモザイク症状を示した。宿主範囲の結果の一部はカボチャモザイクウイルス (WMV-2) に類似していたが、BLM-21 は佐賀大学農学部植物ウイルス病制御学研究室所有の WMV-2 に対する抗血清および ZYMV (169株) に対する抗血清を用いた二重抗体サンドイッチ酵素結合抗体法で ZYMV 抗血清と強い反応が認められた。さらに BLM-21 の外被タンパク質遺伝子の塩基配列を解析し、アミノ酸配列を推測した。その配列と既報の ZYMV、WMV-2 およびパパイヤ輪点ウイルス (PRSV) のアミノ酸配列を比較したところ、ZYMV との相同性が約91-90%であったのに対して、WMV-2 とは約70%、PRSV とは約60%であった。以上の結果から BLM-21 は ZYMV の一系統であることが明らかとなった。

キュウリモザイクウイルス系統の混合感染に関する研究

重見 知宏・菊原 賢次

竹下 稔・高浪 洋一

(九州大学農学部)

植物ウイルスの干渉効果の機構に関する研究の一環として、異なるキュウリモザイクウイルス (CMV) 分離株をタバコ品種 Xanthi-nc に同時混合接種した場合の各々のウイルスの感染ならびに病徴発現について検討した。供試ウイルスとして subgroup I に属する CMV-Y, CMV-m1, CMV-O ならびに subgroup II に属する CMV-m2, CMV-GT の各 CMV 分離株を用いた。CMV-Y はタバコに特有の黄色モザイク症状を示すことから、CMV-Y と他の分離株とを混合接種した場合の上位葉における黄色病徴発現の有無を観察することにより、干渉作用の強弱を推定した。Subgroup I の CMV-Y と subgroup II の CMV-m2あるいは CMV-GT とを $1 \mu\text{g}/\text{ml}$: $100 \mu\text{g}/\text{ml}$, $10 \mu\text{g}/\text{ml}$: $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ および、 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$: $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で同時混合接種した場合、CMV-Y の濃度比が低い試験区 ($1 \mu\text{g}/\text{ml}$ および 10

$\mu\text{g}/\text{ml}$) のタバコで黄色モザイク症状の発現が顕著に抑制された。一方、ともに subgroup I に属する CMV-Y と CMV-m1 あるいは CMV-O とを同時混合接種したタバコでは、CMV-Y の濃度比が低い場合でも上葉に CMV-Y 特有の黄色モザイク症状が現れた。これらの結果は、同時混合接種においては異なる subgroup に属する CMV 間で干渉作用が認められ、同一 subgroup 間では干渉作用が認められないことを示している。これらの結果は、一次ウイルスと二次ウイルスとを間隔を置いて接種した実験では、異なる subgroup 間よりも同一 subgroup 間で強い干渉効果が見られると先に報告した結果とは異なっており、興味深い現象と思われる。近縁のウイルスを同時接種した場合と、接種時期を違えたいわゆる干渉効果試験の場合とでは、感染組織内におけるウイルス分離株間の相互作用の機構に違いがあるものと推察される。

Geotrichum candidum 分離株間のイミノクタジンおよびクロラミン-T に対する感受性の比較

Dewa Ngurah Supurapta・山口 公美

荒井 啓・岩井 久

(鹿児島大学農学部)

カンキツ果実、カンキツ園土壌および非カンキツ圃場土壌より分離した *Geotrichum candidum* 各10分離株のイミノクタジン (IC) およびクロラミン-T (CT) に対する感受性を調べた。まず、PDA 培地における殺菌剤に対する感受性試験を行った。各種濃度の殺菌剤をしみこませたる紙円板の周辺に生じる菌叢生育阻止円法で調べた。IC は、1, 10, 100, 1,000ppm濃度の薬液 $25 \mu\text{l}$ をしみこませたる紙円板を 10^5 spores/ml 濃度の菌液を混ぜた PDA 平板上におき、 25°C 、5日間培養後の阻止円で判定した。CT では0.1, 0.2, 0.5, 1%濃度で行った。その結果、IC および CT に対する各分離株の感受性が異なった。両薬剤とも濃度が高くなるに従って阻止円は大きくなった。IC に対する感受性は分離源によって異なり、カンキツ果実からの分離株と土壌からの分離株に有意差が認められ、カンキツ果実からの分離株の感受性が高かった。カンキツ園土壌および非カンキツ圃場土壌からの分離株間では IC に対する感受性に有意差は認められなかった。一方、CT に対する感受性については3種分離源からの分離株間に有意差は認められなかった。つぎに、レモン果皮に幅3mm深さ5mmの穴を明け、

10²濃度の菌液20 μ lをそそぎ接種した。接種前あるいは接種後に所定濃度の薬液35 μ lを処理し、果実を湿室(25 $^{\circ}$ C)におき、5日後に腐敗程度を観察した。その結果、ICでは濃度が高くなるに従って腐敗程度が低くなり、1,000ppm処理区において病斑の進展が完全に押さえられた。CTでは病斑の抑制が認められなかった。

カンキツタターリーフウイルス検出のためのモノクローナル抗体の利用

草野 成夫・下村 克己

(福岡県農業総合試験場果樹苗木分場)

カンキツタターリーフウイルスは、カラタチ台木と穂木品種の接ぎ木部位に離層を形成して、生育の不良や樹勢の衰弱、さらには枯死を起こす病原として知られている。福岡県では、毎年3,500点の検定を行っているが、使用している日本植物防疫協会からのエライザセット[コーティング抗体：ポリクローナル抗体(PAb)、酵素標識抗体：モノクローナル抗体(MAb)]が平成8年夏をもって供給停止となった。そこで、供給の可能なモノクローナル抗体のみでの検定法について検討した。その結果、コーティング抗体としてMAbを使用した場合、DAS-ELISA(ダブル・サンドウィッチ・エライザ)では、酵素標識抗体をPAbとすると発色が認められるものの、MAbでは全く発色が認められなかった。そこで、ニトロセルロースメンブレンを使用するDIBA法を試みたところ、下記の方法で検定が可能であった。即ち、ブロッキング操作では、3種類のブロッキング剤の内、ブロックエースがウイルスフリー試料の着色を最も低く抑えた。また、磨砕後の試料が10倍では、ウイルスフリー試料でも着色するため、100倍程度に希釈する必要があった。さらに、新梢の採集時期は、検出感度の関係から30日以内で行う必要があった。なお、BCIP/NBTによる試料スポットの沈着性着色では、浸漬時間によりメンブレン全体が着色されるので、厳密なタイムスケジュールが必要であった。

既知の *Diaporthe* 属菌との対峙培養および交互接種によるキウイフルーツ果実軟腐病菌 (*Diaporthe* sp.) の同定

梶谷 裕二¹⁾・兼松 聡子²⁾

(¹⁾福岡県農業総合試験場・²⁾果樹試験場)

日本国内における *Diaporthe* 属菌による果樹病害とし

ては5種類が報告されている。その中で *Diaporthe medusaea* と *D. eres* は孢子形態および大きさが類似するため同定が難しく、このため両菌は分類学的に混乱しているところである。今回、先に報告したキウイフルーツ果実軟腐病菌 (*Diaporthe* sp.) の種名を明確にする目的で、既知の *Diaporthe* 属菌による病害の子のう孢子由来の菌株との対峙培養および相互の作物に対する交互接種を行った。その結果、同一子のう由来のナシ胴枯病菌 (*D. medusaea*) 8菌株とキウイフルーツ果実軟腐病菌 (*Diaporthe* sp.) 8菌株とのナシ切り枝上での対峙培養において有性世代が形成された。また、両菌との間で形成された子のう由来の8菌株(同一子のう由来)とモモホモプシス腐敗病菌 (*D. eres*) 8菌株(同一子のう由来)とのモモ切り枝上での対峙培養においても有性世代が形成された。また、キウイフルーツ収穫果実、カンキツ幼果、ナシ切り枝およびモモ切り枝に対する果実軟腐病菌の病原性を調査したところ、本菌の病原性はナシ胴枯病菌やモモホモプシス腐敗病菌とほぼ一致した。以上の結果から、キウイフルーツ果実軟腐病菌 (*Diaporthe* sp.) は、ナシ胴枯病菌 (*D. medusaea*) およびモモホモプシス腐敗病菌 (*D. eres*) と同一の菌であると考えられた。

鹿児島県におけるチャ炭そ病・輪斑病の発生状況

徳永 太蔵¹⁾・松比良邦彦²⁾

(¹⁾鹿児島県病害虫防除所・²⁾鹿児島県茶業試験場)

茶の主な病害である炭そ病と輪斑病について、過去における発生状況を調査し、その発生傾向について検討を行った。まず、鹿児島県茶業試験場内の無防除圃場において、過去4年間における両病害の発生状況と、気温・降水量との関係を検討した。炭そ病については、秋芽の発病葉数が多いと、次年の一、二番茶の発病葉数が多くなる傾向がみられた。これは、秋芽の病葉が越冬病葉として圃場内に残り、次年の春の発病源として大きく関与しているためかと思われた。さらに、秋芽萌芽期において気温20 $^{\circ}$ C以上時の年間降水量が多いと、秋芽における発病葉数が多くなる傾向もみられた。これは、炭そ病の発生好適条件の気温22 $^{\circ}$ C以上、湿度80%以上に近くなるためかと思われた。輪斑病については、三番茶摘採期における合計降水量と、三番茶摘採以降の病葉数を比較したところ、降水量が多くなると病葉数も増加する傾向がみられたが、降水量が約500mmになると逆に病葉数の減少

がみられた。これは、輪斑病の感染経路が傷口からの胞子感染が多いため、ある程度までの降水量は、発生を助長する要因となるが、それ以上になると胞子の流失を促し発生が減少するためと思われた。次に、慣行防除圃場において、同期間における両病害の発生状況を検討した。両病害とも発生前の適切な時期に防除を行っている場合には、その後の発生は少ないが、防除のタイミングを逸している場合には、その後の発生を抑えきれていない傾向がみられた。また、防除圧がかかっているため、発生状況と気象については、傾向が見られず検討はできなかつた。

今回の両病害に関する検討は、データ数が少ないため統計的な解析はできなかったが、今後データをさらに蓄積し、発生と気象の傾向について検討してゆきたい。

チャ赤焼病菌に対する有効薬剤の探索

西 八東¹⁾・荒井 啓²⁾

(¹⁾鹿児島県茶業試験場・²⁾鹿児島大学農学部)

チャ赤焼病は、*P. syringae* pv. *theae* により引き起こされる病害であるが、本病の防除は主に銅剤の散布に限られている。このため、同一剤の連用による耐性菌の出現も懸念され、また、防除体系における薬剤の組み合わせも困難である。そこで、本病原菌に対する有効薬剤の探索を行った。

供試菌として、鹿児島菌株16菌株、静岡菌株12菌株の計28菌株をキングB培地により25℃で2日間培養し、滅菌水で 10^6 CFU/mlに調整したものを接種源とした。9種の薬剤と硫酸銅を供試し、各薬剤を段階的な濃度(250～64,000倍)になるようにPDA培地pH7(Difco)に添加した。その後、各培地に上記で調整した菌を滅菌した爪楊枝で接種し、25℃で2日間培養した。各薬剤の効果の判定は、菌の生育の有無を調査し、最小阻止濃度(MIC)により行った。各供試薬剤のMICは、オキシテトラサイクリン・ストレプトマイシン剤では $0.2+2.3 \mu\text{g/ml}$ 以下、ストレプトマイシン剤では $3.1 \mu\text{g/ml}$ 、カスガマイシン・銅剤では $3.1+28.1 \mu\text{g/ml}$ 、カスガマイシン剤では $10 \mu\text{g/ml}$ 、バリダマイシン剤では $55 \mu\text{g/ml}$ 、ミルデオマイシン剤では $200 \mu\text{g/ml}$ 以上、オキシリニック酸剤では $25 \mu\text{g/ml}$ 、水酸化第二銅剤では $62.5 \mu\text{g/ml}$ 、ジチアノン剤では $1,600 \mu\text{g/ml}$ であった。なお、硫酸銅のMICは、1993年以前の分離菌では 0.313mM 、1996年分離菌株では 0.625mM で、MICの上昇が認められた。

以上のように、*in vitro* ではオキシテトラサイクリン・ストレプトマイシン水和剤、ストレプトマイシン液剤、カスガマイシン・銅水和剤、カスガマイシン液剤、オキシリニック酸水和剤、バリダマイシン液剤、水酸化第二銅水和剤の効果が高かった。また、茶園では、炭そ病、もち病など他の病害に対しても銅剤の使用頻度は高く、今後も本菌の銅剤感受性に留意する必要があると考えられた。

鹿児島県与論町に発生したサンセベリア炭そ病(仮称)

中村 正幸・荒井 啓

(鹿児島大学農学部)

1996年鹿児島県与論町のサンセベリア(*Sansevieria trifasciata* PRAIN)に水浸状の病斑を呈し、後にこれが拡大し、枯死するものが認められた。罹病葉を表面殺菌後、常法により菌の分離を行った。その結果、病斑部より菌叢が黒色と淡紅色を呈する2種の菌が分離された。淡紅色を呈する分離株(Sa-1)の菌叢は中央部が淡紅色で、周縁はクリーム色を呈し、稀に菌核を形成した。分生子は層状になった分生子柄上に形成され、剛毛が認められた。分生子は棍棒状で、大きさは $10\sim 23.8\times 5\sim 8.7$ (μm)であった。付着器は亜球形～倒卵形で、暗褐色をしており、大きさは $5\sim 17.5\times 5\sim 12.5$ (μm)であった。黒色を呈する分離株(Sa-2)の菌叢は灰白色～灰黒色で、剛毛および菌核は認められなかった。分生子層に形成された分生子は楕円形～円筒形で、大きさは $10\sim 20\times 3.8\sim 6.3$ (μm)であった。付着器は不整形で、淡緑色～鶯色をしており、大きさは $6.3\sim 21.3\times 5\sim 17.5$ (μm)であった。以上の形態的特徴から2種の菌はいずれも炭そ病菌と同定され、Sa-1は*Colletotrichum orbiculare*、Sa-2は*C. gloeosporioides*と考えられたが、さらに寄生性等を調べ同定したい。

つぎに、Sa-1、Sa-2を有傷および無傷でサンセベリアに単独あるいは混合接種した。その結果、有傷接種ではSa-1、Sa-2、混合接種区とも病徴を示し、いずれの菌も再分離された。無傷接種では、Sa-1のみ病徴を示した。以上のことより、本症状が単一病原によるものか複合病原によるものかをさらに確かめる必要があり、「サンセベリア炭そ病」と仮称したい。

分子生物学的手法による植物病原菌の同定

1. アルカリ法による DNA 抽出の迅速化

三島 忍・松元 賢・松山 宣明
(九州大学農学部)

分子生物学的手法による植物病原菌同定の迅速化を目的に、DNA 抽出法の検討を行った。*Pyricularia oryzae*, *P. zingiberi*, *Rhizoctonia oryzae* および *R. solani* のそれぞれ 4 菌株、計 16 菌株を供試した。凍結乾燥菌体約 20mg を 0.5% の Polyvinylpyrrolidone を含む 0.5N NaOH 100 $\mu\ell$ 中に加え、攪拌・遠心後、上清 5 $\mu\ell$ を採集し、さらに 20mM Tris-HCl 緩衝液 495 $\mu\ell$ を加えた。その内 5 $\mu\ell$ を、18S リボソーム RNA 遺伝子の増幅のために供試した。さらに、増幅産物について制限酵素 (*Msp* I, *Hha* I, *Hae* III, *Sau* 3A I, *Bam* H I, *Hin* d III および *Eco* R I) による PCR-RFLP 解析を行った。増幅産物の制限酵素 *Hha* I, *Msp* I および *Hae* III による RFLP 解析の結果、*Hha* I による消化断片のパターンが *Pyricularia* 属菌と *Rhizoctonia* 属菌との間で明確な違いを示した。従って、アルカリ法は植物病原菌の DNA 抽出に有効であり、従来の抽出法に比較して実験操作の簡易さにおいて優れていることが明らかになった。