

講 演 要 旨

病 害 の 部

Burkholderia plantarii および *B. vandii* の分類学的再検討

平川 ゆみ・浦 広幸・古屋 成人
松山 宣明

(九州大学農学部)

Burkholderia plantarii は、1987年に畔上らにより、*B. vandii* は1994年に浦上らによりそれぞれ新種として記載された細菌であるが、いずれも、トロポロンを産生するなど類似した細菌学的性質を示すことが報告されている。また、現在 *B. gladioli* pv. *gladioli* と同定されている MAFF 301728, MAFF 301729, MAFF 301730 株はトロポロンを産生し、生理・生化学的試験においても典型的な *B. gladioli* とは異なる性質を示すことが報告されている。そこで本研究では、これら細菌の詳細な細菌学的・病理学的性質を明らかにし、分類学的再検討を行った。*B. plantarii* および *B. vandii* は生理・生化学的試験において、L-ラムノースの利用性で差異が認められた以外は全ての項目で同様の結果を示し、さらに各種植物に対する接種試験においても、差異は認められなかった。また、MAFF 301728, MAFF 301729, MAFF 301730 株は *B. plantarii* あるいは *B. vandii* とほぼ同様の結果を示し、40°Cにおける生育、トロポロン産生性、アドニトール、DL-スレオニン、アセトアミドの利用性において典型的な *B. gladioli* pv. *gladioli* とは明瞭な差異が認められた。特に各種ラン科植物に対し *B. plantarii*, *B. vandii* および上記3菌株は、病原性を示さないが、*B. gladioli* は病原性を示した。以上の結果より、*B. plantarii* および *B. vandii* は細菌学的並びに病理学的にも非常に類縁性が高く、同種として考えても良いのではないかと推定された。さらに MAFF 301728, MAFF 301729, MAFF 301730 株は、*B. gladioli* pv. *gladioli* ではなく、*B. plantarii* あるいは *B. vandii* に移すことが適切であると結論した。

佐賀県における BLASTAM を利用した 葉いもちの初発生時期の予測

菖蒲信一郎*・善 正二郎**・脇部 秀彦
(佐賀県農業技術防除センター)

BLASTAM は、葉いもちの発生時期・量を予測するための判定基準モデルとして全国的に活用されているが、佐賀県における BLASTAM の判定結果と本病の発生時期との適合性の検証を行った。まず山間早植え水稻のいもち病常発地帯において約1週間毎に見歩き調査を行い検討した。BLASTAM の適用期間は移植日を5月20日と想定し、移植20日後の6月10日からの35日間とした。その結果、箱剤処理圃場においては、6月下旬以降になると、BLASTAM の好適(準好適)条件が出現した1~2週間後に葉いもちの発生圃場率が増加することが認められた。これは移植約一カ月後の6月下旬以降は箱剤剤の効果が急激に低下するため、BLASTAM と実際の葉いもちの発生状況が一致するようになったと思われた。このことは、無箱剤区においては、BLASTAM の好適条件と病斑数の推移が、6月上~中旬からすでに一致することからも示唆された。次に全作型において、月2回行った25株調査結果を用いて検討した。その結果、早期水稻および早植え水稻では急激な葉いもちの発生圃場率の増加がみられた。またそれぞれの作型で BLASTAM の適用期間でかつ、箱剤剤の効力低下後に好適(準好適)条件が出現した場合、1~3週間後に発生圃場率が増加した。以上の結果から、本県においても BLASTAM の判定結果と葉いもちの発生時期との間には適合性がみられたが、BLASTAM による好適(準好適)条件の出現状況を情報として流す場合は、BLASTAM の適応期間は、主に移植20日後~55日後頃までとし、箱剤剤を処理している場合は、残効期間について説明することが重要と思われた。

*現在 佐賀県農業試験研究センター

**現在 佐賀県上場営農センター

1998年佐賀県における大豆早枯れ症の発生要因

山口純一郎・稲田 稔*・菖蒲信一郎
(佐賀県農業試験研究センター)

1998年産ダイズは8～9月に好天が続いたため旺盛に生育したが、10月中旬の台風10号の余波による風で倒伏し、その後の降雨の影響で茎が黒変し、本来の成熟期より早く枯熟する早枯れ症の発生が目立った。佐賀県内221圃場を調査したところ97圃場で早枯れ症の発生が認められ、倒伏した圃場での発生が多かった。早枯れ症株は、莢および茎に剛毛を伴う小斑点を形成したものが多く、その病斑から分離した菌の分生胞子は無色、単胞、新月形で大きさが19.8～26.4×2.2～4.4 μm、付着器は不整形で6.6～14.3×4.4～11.0 μm、2～3隔膜の剛毛を有しており、その形態および大きさから、分離菌は *Colletotrichum truncatum* と同定された。また、分離菌をPSA培地で25℃、暗黒下で培養し、形成した分生胞子を本葉2～3枚展開時のダイズの茎部に直接塗布して接種し、その後20℃多湿条件の人工気象器内で管理して病原性を検定したところ、すべての菌株で黒褐色の病斑を形成した。以上のことから、剛毛を伴った黒色病斑を形成した早枯れ症株は、ダイズ炭疽病の発病によるものと考えられた。しかしながら、早枯れ症の中には剛毛を伴う小斑点の病斑を形成していないものもあり、今後他の発生要因についても検討する必要がある。

*現在 佐賀県農林部

ギニアグラスに発生するいもち病(新称)

井上 興*・角田 佳則・鍛冶原 寛
(山口県農業試験場)

西南暖地における転作作物として期待されるイネ科の飼料作物であるギニアグラス (*Panicum maximum* JACQ.) を、1996～1998年に水田転換畑で栽培したところ、葉身に葉枯症状が観察された。本症は山口県では7月と10月に、沖縄県では3月に発生した。初め暗褐色の斑点が生じ、後に拡大し直径約5mmの紡錘形、中央灰白色、周辺紫褐色の斑紋となった。被害部分には洋なし型の分生子が観察された。常法により分離を行った結果、一種の糸状菌が分離された。本菌をオートミル培地で培養し、BLB照射を行うと葉上と同一の分生子が多数形成され、ギニアグラスに噴霧接種したところ、本症が再現され、同一の菌が再分離された。本菌のジャガイモ煎汁培地(PSA)上での菌叢は、灰緑色～暗緑色で表面に灰白色

の気中菌糸が薄く覆い、裏面は暗緑色となった。本菌の生育は10～35℃で認められ、30℃で約0.7cm/24時間の伸長速度であった。分生子柄は菌糸より直接分岐、単生あるいは叢生し暗褐色線状、先端はやや細く淡色で屈曲し2～4個の隔壁を有し、大きさは84.8 (45.0～125.0)×4.8 (3.8～6.3) μmであった。分生子は全出芽型で単生しジグザグ状に着生、淡いオリーブ色、紡錘型～洋なし型で普通3細胞、大きさは24.6 (20.0～28.8)×7.7 (6.3～8.8) μmであった。本菌は *Pycularia* sp. であると同定した。本菌は多くのイネ科植物に強い病原性を示したが、シコクビエに対する病原性が弱かった。ギニアグラスでは *Pycularia* sp. による病害は見あらず、ギニアグラスいもち病(新称)と呼称したい。

また、既報の葉腐病(井上ら、1998)の発生と降雨量の間には相関が認められ、葉腐病の防除には、排水対策や過繁茂をさげ株間湿度を下げるのが重要と判断された。

*現在 山口県山口農林事務所

トウモロコシ南方さび病菌に対する AFLP 法の適用

平八重一之・西 和文
(九州農業試験場)

トウモロコシ南方さび病は、九州・四国・中国および近畿地域で発生が確認されているトウモロコシの重要病害である。本病の第一次伝染源は海外より飛来している可能性が極めて高いが、この点を証明するためには、本邦に分布している南方さび病菌 (*Puccinia polysora* UNDERWOOD) と海外、特に中国大陸の菌株との比較が重要と考えられる。また、抵抗性品種の利用を図る上でも、本邦に存在する南方さび病菌の遺伝的変異について、詳細な検討が必要である。そこで、本菌の遺伝的変異の検出法として、AFLP (amplified fragment length polymorphism) 法の適用を試みた。AFLP 解析には、PE Applied Biosystems 社の Microbial Fingerprinting Kit および GeneScan ソフトウェアを用い、罹病トウモロコシ葉由来の全DNAをもとに、*Eco* RI-AC プライマーと *Mse* I-CG プライマーの組合わせで選択的に断片を増幅した。まず、rDNA ITS 領域の PCR-RFLP 解析の結果それぞれ異なるグループに属する Ku-9401 株と Ku-9402 株について AFLP 断片の検出を試みたところ、10以上の断片で多型が認められた。次に、同一グループ内の Ku-9402 株と Ku-9601 株とで検討した結果、少なくとも5つの断片で多型が認められ、本邦の南方さ

び病菌がさらに幾つかのグループに分けられる可能性が示唆された。以上のことから、トウモロコシ南方さび病菌の遺伝的変異の解析に、AFLP法が有効であることが示された。今後、解析に有効なプライマーの組合わせを検索し、多数の本邦産および大陸産菌株についてAFLP解析を行うことにより、菌の遺伝的変異の検討や海外飛来説の証明に有効な知見が得られるものと期待される。

サツマイモネコブセンチュウの介在によるウリ科植物へのメロンつる割病菌の感染誘導

並木 史郎・佐野 善一
(九州農業試験場)

ウリ科植物では土壌線虫や土壌病原菌による被害を回避するために、抵抗性品種や抵抗性台木が重要な防除手段として利用されているが、メロンでは、これまでつる割病に抵抗性とされていた品種が罹病化する事例が多発しており、その原因究明は急務の課題である。そこで、ウリ科植物に対するサツマイモネコブセンチュウとメロンつる割病菌との複合感染が、抵抗性品種および非宿主の罹病化の一因となりうるかどうかを検証した。つる割病感受性のメロン品種にサツマイモネコブセンチュウとメロンつる割病菌を同時接種すると、線虫単独または病原菌単独で接種した場合には全く病徴が現われない低密度でも枯死症状が観察され、著しい発病助長が確認された。つる割病抵抗性のメロン品種にあらかじめ線虫を接種し、後から病原菌を接種すると、外部病徴は観察されなかったものの、茎部からは接種した病原菌が再分離され、抵抗性品種への病原菌の侵入、感染および増殖が確認された。また、メロンつる割病菌の非宿主であるキュウリおよびユウガオに線虫と病原菌を同時接種すると、生育抑制、葉の黄化、萎ちょうおよび枯死等の外部病徴が観察され、病原菌も再分離された。さらに、あらかじめ線虫を接種したキュウリに後から病原菌を接種し、一定時間後に根の部位ごとに病原菌を再分離し、根部における病原菌の感染部位を特定した。その結果、病原菌は根に形成されたゴールから優先的に再分離されたのに対し、ゴール間部および根の先端部からはほとんど再分離されず、ゴールから感染した病原菌が非宿主の抵抗性機作の変調に乗じて導管内で増殖するものと考えられた。以上の結果から、ネコブセンチュウの介在により、抵抗性品種および非宿主に対するメロンつる割病菌の感染が誘導されることが示唆された。

菌食性線虫アフェレンクス・アベネと線虫寄生細菌バストリア・ベネトランス混合施用による土壌病害・線虫害の同時防除

村上 尚子・石橋 信義
(佐賀大学農学部)

土壌病原菌 *Rhizoctonia solani* とサツマイモネコブセンチュウ (Mi) の同時防除を検討するために、菌食性線虫 *Aphelenchus avenae* (Aa) とネコブセンチュウ寄生細菌 *Pasteuria penetrans* (Pp) の混合施用を検討した。Pp は Aa には全く付着せず、また Aa の存在は Pp のサツマイモネコブセンチュウ 2 期幼虫への付着に何ら影響を与えなかった。次に病原体として *R. solani* AG-4 (ふすま培地で 0.1g/0.3g) と Mi (200頭/pot) を用い、防除材として Aa ($0, 1 \times 10^4, 5 \times 10^4, 1 \times 10^5$) と Pp (2.5×10^6) を供試し、キュウリ種子を用いてポットで試験した。その結果、*R. solani* 0.1g 単独接種でのキュウリ発芽率は 10% であったが、Aa 1×10^4 施用で 67%、 5×10^4 と 1×10^5 施用で 90% 以上となり Aa による病害防除効果は明らかであった。また、Pp を Aa と混合施用しても Aa の病原菌防除効果には全く影響しなかった。Aa は大量に土壌に施用するとネコブセンチュウの寄生植物への侵入を抑制するが、Pp との混合施用で Mi の根侵入率は更に低下した。即ちゴール着生数はそれぞれの単独施用よりも減少した。*Bacillus thuringiensis* (Bt) (3.5×10^8 spores/5ml) と混合施用した場合、Pp の Mi に対する付着能力は全く低下しなかった。Aa, Pp, Bt の 3 者を混合施用してもそれぞれの働きに何ら影響はなかった。昆虫病原性線虫スタイナーネマは Aa との混合施用も可能であることが判明しており、また本実験で Pp, Bt との両立性も証明された。本研究により、菌食性線虫 *A. avenae*、線虫寄生細菌 *P. penetrans*、昆虫病原細菌 *B. thuringiensis*、昆虫病原性線虫スタイナーネマの 4 者混合は可能である。即ちこれら生物的防除材の混合施用によって土壌病害虫、線虫害の生物的総合防除は可能である。

シソ斑点病菌の種子伝染と乾熱消毒法

挾間 渉・吉松 英明
(大分県農業技術センター)

大規模な企業の経営が行われているシソの栽培において、1990年代以降増加し始めた斑点病は、商品である葉に発生するため直接的に品質低下に結びつくこと、農業に対する規制強化から農薬登録の将来展望が開けないこ

となどから重要な問題となっている。本病の生産地からは防除法確立の要望が強い。そこで、第一次伝染としての種子伝染の可能性と非農薬的種子消毒法について検討した。JA 大分市大葉部会の生産者が8℃下で保存してきた1991, 1994, 1996, 1997年産の各シソ種子1g(約1,250粒)当たりには、最少18個~最多1,260個のシソ斑点病菌 *Corynespora cassiicola* の分生子が付着しており、発芽能力を保持する活性胞子は、採種後経過年数1年以内の1997年産種子からのみ検出された。また、長時間表面殺菌した種子からも病原菌が検出されたことから、種子伝染は種子表面付着菌ばかりでなく種子内感染菌による場合もあることが判明した。保菌種子を播種した場合、外種皮殻上に生存する分生子が発芽して子葉または胚軸に感染することにより、種子伝染が成立する。シソ種子の発芽率は経年的低下が激しいので、採種後1~2年以内に使用する必要があるが、このような種子では発芽力を有する活性胞子の割合が高かった。保菌種子を45℃, 24時間の予備乾燥後に70, 73, 76℃, 2, 4, 6日の組み合わせで乾熱処理することにより、いずれの組み合わせによっても種子に由来する子葉および胚軸の発病を抑え、種子からの伝染を完全に断つことが可能であった。種子発芽率の低下を考慮した場合、実用的には70℃, 2日の処理で十分と考えられた。

ネギ小菌核腐敗病の薬剤防除

吉松 英明・挾間 渉・加藤 徳弘*
佐藤 通浩*
(大分県農業技術センター)

ネギ小菌核腐敗病は、2種の *Botrytis* 属菌 (*B. squamosa* および *B. cinerea*) によって引き起こされ、大分県内の根深ネギの産地で大きな問題となっている。そこで、苗からの病原菌の持ち込み防止、土壤中の菌核の殺滅および生育期の感染防止を目的として、薬剤によるネギ小菌核腐敗病の一連の防除試験を行った。チウラム・ベノミル水和剤、イプロジオン水和剤の苗浸漬処理による効果は明らかでなく、メチルイソチオシアネート・D-D 油剤、クロルピクリンくん蒸剤、カーバム剤、ダゾメット粉粒剤による土壌消毒は、防除効果が認められなかった。これに対し、ジカルボキシイミド系薬剤であるイプロジオン水和剤およびプロシミドン水和剤を土寄せ前に株元に2~3回散布または灌注することで高い防除効果が認められた。その処理量は0.2 l / m² の散布でも十分であった。白石ら(1995)は、*B. squamosa* の単独感染である本

病に対し、ベノミル水和剤の効果を認めているが、*B. squamosa* と *B. cinerea* の2種 *Botrytis* 属菌が関与している本試験では、ベノミル水和剤の効果は不十分であった。そこで、当該圃場から分離した2種の *Botrytis* 属菌についてベンズイミダゾール系薬剤、ジカルボキシイミド系薬剤およびジエトフェンカルブ剤に対する薬剤感受性を調査した結果、*B. squamosa* は供試したすべての菌株がベンズイミダゾール系薬剤およびジカルボキシイミド系薬剤に感受性であったのに対し、*B. cinerea* は半数の菌株がベンズイミダゾール系薬剤に対し高度耐性を示した。本病の病原菌としては現在のところ、*B. squamosa* が優占種と考えられるが、薬剤耐性菌の増加による防除効果の低下という観点から、*B. cinerea* による本病の発生にも十分注意を払う必要がある。

*現在 大分県病害虫防除所

Stemphylium lycopersici によるトルコギキョウ花腐れ症状の発生

稲田 稔¹⁾・山口純一郎²⁾・福田 和彦²⁾
御厨 初子²⁾・松崎 正文²⁾

(¹⁾佐賀県農村部・²⁾佐賀県農業試験研究センター)

1998年10月、川副町のハウス栽培のトルコギキョウにおいて、花卉に褐色の斑点および腐敗、上位葉に淡褐色の小斑点、下位葉に淡褐色の大型病斑を生じる被害が発生した。被害程度は品種「エクローサピンクフラッシュ」で最も高く、その他の品種では比較的低かった。これら各被害部からは *Stemphylium* 属菌が高率に分離された。各分離菌の分生子梗は群生または単生し、まれに分岐がみられ、先端が丸まった形状で、内部に1~11隔壁が認められた。また、分生子は黒褐色、円筒形、石垣状多細胞、表面に多数のイボがあり、両端のどちらかが尖った形態を示すものが多く認められ、大きさは40~70 μm × 14~22 μm であり、主に2~3横隔膜付近でくびれ、タテヨコ比がほぼ3:1であった。PDA 平板培地での培養で黄色色素を産生し、生育適温は25℃付近であった。これらの形態的および培養的特徴から分離菌を *Stemphylium lycopersici* (ENJYOJI) YAMAMOTO と同定した。分離菌をトルコギキョウに接種した結果、現地と同様の症状が再現され、接種菌が再分離された。本菌は粕山らによりトルコギキョウの茎葉部に発病し立枯れ症状をおこすことが既に報告されているが、花卉に対する被害は本報告が初確認である。一方、本菌に対する各薬剤の菌そう生育および胞子発芽抑制程度を薬剤添加 PDA 平板培地

上で検討した結果、ベノミルおよびチオファネートメチル・ジエトフェンカルブ剤の効果は低く、イミノクタジンアルベシル酸塩、トリフルミゾールおよびマンゼブ剤では高かった。これらの薬剤はトルコギキョウの他病害に登録があるため、同時防除剤として有効と考えられる。

萎凋病罹病ホウレンソウの残根が土壤消毒の効果におよぼす影響

鍛冶原 寛¹⁾・竹原 利明²⁾・高城 保志³⁾
 中山 尊登²⁾・齊藤 初雄²⁾・佐藤 剛²⁾
 角田 佳則¹⁾・井上 興¹⁾

(¹⁾山口県農業試験場・²⁾農業研究センター・³⁾岩手県農業研究センター・⁴⁾山口県山口農林事務所)

ホウレンソウ萎凋病の防除は、主にくん蒸剤による土壤消毒により行われている。しかしながらほとんどの圃場において、消毒後2～3作日には、本病の再発が見受けられる。そこで本要因を明らかにすることを目的として、ホウレンソウの収穫後の残根が土壤消毒の効果に与える影響について検討した。50cm四方のコンクリートポットを用い、萎凋病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* (nit 変異株 M2-1) に罹病したホウレンソウの根を、萎凋病菌 M2-1 汚染土壌の地表面、地下10cm、25cm部のそれぞれに埋め込んだ区を設定し、クロルピクリン油剤で土壤消毒を行った。その後、罹病根を回収し、消毒効果を確認するために、CMP 培地 (nit 変異株検出用培地) に置床して、萎凋病菌の検出根率を求めた。対照区は、罹病根を埋め込まずに土壤消毒を行った。その結果、いずれの地点の罹病根からも萎凋病菌が高率に検出され、地下10cm部の検出根率は93.8%であった。一方対照区の地下0～15cm部の土壌からは、萎凋病菌はまったく検出されなかった。次に、同様のコンクリートポットを用い、萎凋病菌 M2-1 の罹病根をそのまま土壌にすき込み、クロルピクリンで土壤消毒を行った区と、根を除去して土壤消毒を行った区を設け、消毒後にホウレンソウを栽培して、萎凋病の発生状況を調査した。その結果、罹病根をすき込んだ区の発病株率は、除去した区と比較して高く推移した。以上の結果から、収穫後圃場に残留する罹病根中の病原菌に対しては、土壤消毒の効果が低く、連作圃場における残根は、萎凋病の増加の主原因となることが示唆された。

バリダマイシン剤によるジャガイモ青枯病の防除法

菅 康弘・仲川 晃生

(長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場)

Ralstonia solanacearum により引き起こされるジャガイモ青枯病に対するバリダマイシン剤 (以下 VM) の茎葉散布による防除効果を、遅植えによる耕種的防除法と比較した。また、本剤の種いも浸漬処理による防除効果も併せて調べた。試験は青枯病汚染圃場で行い、1998年8月28日にジャガイモ品種デジマを植付け、出芽後所定濃度の VM 液剤 (VM 5%含有) を200～300ℓ/10a 相当量散布した。散布は9月22日から約7日間隔で計6回行った。試験区は VM 液剤250倍液散布、500倍液散布および250倍液種いも浸漬+散布の3処理区と遅植え区 (9月11日植付) を設置し、クロルピクリンくん蒸剤 (以下 CP) 処理区および無処理区を設けた。種いも処理試験は、VM 液剤の50、100、250、および500倍液に切断した種いもを浸漬・風乾した後植付け、経時的に発病程度を調査した。茎葉散布試験では、最終調査時の発病度が、無処理区で46.9、CP区で7.8であったのに対し、遅植え区で20.3、250倍液散布区では23.3であり、VM 250倍液散布では遅植え区と同等の防除効果を示した。総いも重および上いも重は CP 区が最も高く、次いで VM 250倍液散布区、遅植え区の順に低下した。以上の結果、VM 液剤250倍液の茎葉散布は、耕種的防除法の遅植えと同等の防除効果と収量の増加をもたらすものと考えられた。一方、種いも浸漬処理による青枯病の発病度は、数値上は50倍液および100倍液浸漬区では低いものの、試験区間で統計的有意差は認められなかった。500倍液種いも浸漬区や250倍液種いも浸漬+散布区では無処理に比べ出芽率が低下したため、VM 液剤の処理濃度とジャガイモの出芽率との関係については再度検討する必要があると考えられた。

Colletotrichum gloeosporioides によるソラマメ炭疽病 (新称) の発生

野島 秀伸¹⁾・佐藤 豊三²⁾

(¹⁾鹿児島県農業試験場・²⁾四国農業試験場)

鹿児島県の露地栽培およびハウス栽培のソラマメ (青果用) において1997年頃より、葉に円形から不正形の黒褐色斑、莖にも黒褐色斑を生じ、症状が進むと立枯れを呈する病害の発生が認められるようになった。病斑部から菌を分離した結果、全てから *Colletotrichum* 属菌が分

離された。単孢子分離した分離株 VC4 を PDA 培地で培養後、得られた分生子懸濁液を 1.2×10^6 個/ml に調整し、ソラマメに無傷および有傷（10束針）で噴霧接種した。その結果、莖、葉および莢に強い病原性を示した。接種後の病斑部からは同様の *Colletotrichum* 属菌が再分離され、ソラマメに発生するこの病害は *Colletotrichum* 属菌によるものであることが明らかになった。

分離株 VC4 は PDA 培地上で無色、単胞、円筒形、大きさ $15.6 \sim 19.5 \times 3.6 \sim 5.2 \mu\text{m}$ ($16.9 \times 4.5 \mu\text{m}$) の分生子を形成し、PCA 培地における発芽時の付着器は棍棒状からやや不規則な形を呈し、大きさは $10.4 \sim 13.0 \times 6.5 \sim 9.1 \mu\text{m}$ ($11.3 \times 7.5 \mu\text{m}$) であった。剛毛は PDA 培地上、宿主上で散見される程度であった。PDA 培地上 25°C での菌糸伸長は 5 日間で直径 6.5cm と速い生育を示し、生育適温は $25 \sim 28^\circ\text{C}$ であった。既報のマメ科炭疽病菌の形態、SUTTON (1992) や小林ら (1980) の *Colletotrichum* 属菌に関する報告と比較した結果、今回のソラマメ分離株 VC4 は *Colletotrichum gloeosporioides* と同定した。国内外における *C. gloeosporioides* によるソラマメの病害の記載はなく、今回発生した本菌による病名にソラマメ炭疽病を提案する。

オルガロイフィルムを用いた臭化メチル減量処理およびクロルピクリンテープ剤処理によるメロン黒点根腐病の防除

大田 哲史¹⁾・今村 幸久²⁾・田村 逸美³⁾
三浦 猛夫²⁾

¹⁾宮崎県東臼杵南部農業改良普及センター

²⁾宮崎県総合農業試験場・³⁾宮崎県営農指導課

2004年まで臭化メチルの供給量が削減されることに対応して、ガス透過性の低い被覆資材（オルガロイフィルム）を利用した臭化メチル減量処理を行い、防除効果を検討した。また、全廃される2005年からの代替剤として、クロルピクリンテープ剤の畦立後畦中央1条表面処理で、耕耘によるガス抜きを行わない処理の防除効果、薬害、作業性を検討した。まず、トンネル内の臭化メチルのガス濃度は、処理量を $20\text{kg}/10\text{a}$ に減量したオルガロイフィルム被覆区では、処理1日目 1500ppm 、2日目 1175ppm 、3日目 260ppm 、4日目 1.25ppm となった。これに対して、対照の処理量 $30\text{kg}/10\text{a}$ ポリエチレンフィルム被覆区では、処理1日目 1000ppm 、2日目 815ppm 、3日目 150ppm 、4日目 2ppm となり、ガスがほとんど抜けてしまった4日目以外、臭化メチルの処理量を減量

したオルガロイフィルム被覆区の方が高いガス濃度となった。防除効果についても、無処理区の発病が甚発生（発病株率100%）の中、臭化メチル $20\text{kg}/10\text{a}$ オルガロイフィルム被覆処理では発病株率が5.0%で、対照の臭化メチル $30\text{kg}/10\text{a}$ ポリエチレンフィルム被覆処理（発病株率8.2%）と同等の高い防除効果であった。一方、クロルピクリンテープ剤の畦立後畦中央（115cm間隔）表面処理は発病株率18.3%で、耕耘によるガス抜きなしで、対照の臭化メチル $30\text{kg}/10\text{a}$ 処理とほぼ同等の高い防除効果となった。作業性については、処理が非常に簡便で、刺激性や臭いについても、薫蒸剤の処理と比較すると低い水準であった。なお、薬害は、いずれも認められなかった。今回の処理は、夏の高温時の処理であったことや土質が砂地であったため、ガスの拡散やガス抜けもよく高い防除効果となった。

佐賀県で分離されるブドウ晩腐病菌とペンズイミダゾール系薬剤に対する感受性

井手 洋一・田代 暢哉・衛藤 友紀
(佐賀県果樹試験場)

佐賀県内では、ここ数年、ブドウ晩腐病の発生が増加傾向にある。そこでまず、県内3産地4圃場の発病果実から分離した *Colletotrichum* 属菌のうち病原性を示した30菌株について種の同定を試みた。その結果、30菌株中29菌株は、白色～灰褐色の菌そうを呈し、円筒型の分生胞子 ($11.1 \sim 19.4 \times 3.5 \sim 4.7 \mu\text{m}$)、不整形の付着器を形成し、菌糸伸長の生育適温は 28°C （最低 10°C 、最高 35°C ）であることから *C. gloeosporioides* と同定された。残りの1菌株は、暗赤色の菌そうで、紡錘型と円筒型の分生胞子 ($13.1 \sim 15.9 \mu\text{m} \times 3.2 \sim 4.9 \mu\text{m}$) が混在し、棍棒状の付着器を形成すること、菌糸は $25 \sim 30^\circ\text{C}$ で最もよく生育した（最低 10°C 、最高 35°C ）が、*C. gloeosporioides* に比べると伸長が遅いことから *C. acutatum* と同定された。次に、本病の防除で広く使用されているペンズイミダゾール系薬剤に対する感受性についてチオファネートメチル剤を用いて検討したところ、*C. gloeosporioides* と同定した29菌株うち20菌株は最小生育阻止濃度（MIC） 0.4ppm 以下の感受性菌であったが、残りの9菌株はMIC値 $1,600\text{ppm}$ 以上の耐性菌で、一方、*C. acutatum* はMIC値 $1,600\text{ppm}$ 以上を示した。さらに、チオファネートメチル剤を常用濃度の 700ppm で散布した果実に対して分生胞子懸濁液 (10^5 個/ml) を噴霧接種した結果、同剤感受性 *C. gloeosporioides* の接種では発病を認めなかったが、同剤耐性 *C. gloeosporioides* および *C. acutatum* では

激しく発病した。今後、さらに多くの調査地点数、菌株数について検討し、*C. acutatum* およびベンズイミダゾール耐性 *C. gloeosporioides* の出現頻度と防除効果低下の関係について詳細な調査を行うとともに、有効な防除方法について検討する予定である。

ナシ輪紋病菌 (*Botryosphaeria berengeriana* f. sp. *piricola*) の薬剤感受性と果実を用いた薬剤の効果判定

梶原 武利¹⁾・田代 暢哉²⁾・井手 洋一²⁾
衛藤 友紀²⁾

¹⁾佐賀県西松浦農業改良普及センター

²⁾佐賀県果樹試験場

現在、ナシ輪紋病の登録薬剤は47種類にものぼるが、防除効果については不明確な点が多い。そこで、ナシ輪紋病に登録のある薬剤の中で主要な28種類を用い、本病原菌に対する抗菌活性について検討した。菌糸伸長阻止効果を判定するために、常用濃度および常用の1/200濃度の薬剤添加 PDA 培地に菌そうディスクを置床し、3日間培養後に伸長阻止率を求めた。また、直接的な殺菌効果を見るために、常用濃度の薬液に1分間浸漬した菌そうディスクを PDA 培地に置床し、伸長阻止率を求めた。胞子発芽阻止効果の判定は、常用の1/200濃度の薬剤添加培地に胞子懸濁液を滴下して、6時間後および3日後に発芽状況を調査し、発芽阻止率を求めた。さらに、同濃度で発芽を完全に阻止した薬剤については、常用の1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200濃度の薬剤添加培地を用いて最低胞子発芽阻止濃度を求めた。その結果、菌糸伸長については28薬剤のうち7薬剤が90%以上の阻止率を示し、胞子発芽については8薬剤で100%の阻止効果がみられた。これら8薬剤のなかでフルアジナム水和剤は他の薬剤よりも低濃度(0.62ppm)で発芽阻止効果を示したが、3日後には阻止効果は消失した。次に、果実上での効果判定を行うために常用濃度の薬液を‘二十世紀’果実に散布し、風乾後、胞子懸濁液を有傷接種した。その結果、キャプタン・ベノミル水和剤、キャプタン・有機銅水和剤、フェナリモル・有機銅水和剤、有機銅水和剤の4剤は高い発病抑制効果を示した。また、キャプタン・ベノミル水和剤とキャプタン水和剤について、薬剤散布後、累積降雨量0, 50, 100mmの人工降雨処理を行い、耐雨性を調べたところ、キャプタン・ベノミル水和剤では耐雨性の高い傾向がみられた。今後、これらの薬剤を中心に圃場試験を実施する予定である。

長崎県の露地ビワに発生した果実腐敗の原因と分離されたビワ灰斑病菌の薬剤感受性

古賀 敬一*

(長崎県果樹試験場)

1997年および1998年の2カ年連続して、長崎県内の露地ビワ産地で果実腐敗が多発した。そこで、腐敗の発生原因を解明するため、長崎市および三和町等のビワ産地から採取した合計262果を調査した。その結果、約半数に当たる138果は果頂部から腐敗しており、その大部分がビワ灰斑病菌である *Pestalotiopsis* 属菌によるものであった。本病の防除薬剤として従来からベンズイミダゾール系薬剤が使用されているが、近年、生産現場からは薬剤の効果を疑問視する声があった。そこで、平板希釈法によって本病菌のベノミルに対する薬剤感受性検定を行った結果、MIC 値1 ppm以下の感受性菌とMIC 値100ppm以下の中等度の低感受性菌およびMIC 値が100ppmを越える低感受性菌の3群に分かれた。これら低感受性菌は露地ビワの主産地である長崎市大崎地区、千々地区、三和町川原地区から採取した果実および罹病葉に多く、ほとんどがベノミル1,000ppmでも菌糸生育が認められた。野島ら(1996)はビワ灰斑病菌として *P. eriobotrifolia* および *P. neglecta* の2種を提唱しているが、各産地から分離された2種ともベノミルに対する低感受性菌の存在が確認された。なお、ベノミル低感受性菌の *P. eriobotrifolia* に対して低濃度で菌叢生育を抑制した薬剤はイミノクタジナルベシル酸塩水和剤で、MIC 値のピークは10ppmであった。

*現在 長崎県加津佐農業改良普及センター

ハウスマンゴーの葉から分離された *Colletotrichum* 属菌とその防除薬剤について

尾松 直志¹⁾・野島 秀伸²⁾・鳥越 博明¹⁾

¹⁾鹿児島県農業試験場大島支場

²⁾鹿児島県農業試験場)

ハウス栽培マンゴーにおいて褐色や灰白色の葉枯れ性の病害が発生することから、病斑の種類ごとに菌を分離調査した。分離菌は5タイプの菌株群に分けられ、健全なマンゴー葉への菌叢接種により検討したところ、白色菌叢の菌株群と灰黒色綿毛状の菌株群の2タイプで針による有傷接種で病原性を確認した。両タイプの菌株群も剛毛を有する分生子層を形成し、分生子は楕円形をして

いることからいずれも *Colletotrichum* 属菌と考えられ、複数の *Colletotrichum* 属菌によって発病していると予想される。前者のタイプはすでに報告のある *C. gloeosporioides* と思われるが、両タイプとも褐色病斑、灰白色病斑から分離され枝枯れ症からも分離されたことから、菌の同定と病徴の再現については今後詳しい調査を行うものとする。これら2タイプの代表的な菌株を用いて、ペフラズエート水和剤(1000倍)、ベノミル水和剤(1000倍)、プロピネブ水和剤(1000倍)、イブロジオン水和剤(1000倍)、カスガマイシン水和剤(1000倍)、キャプタン水和剤(800倍)、マンゼブ水和剤(500倍)を供試し、PDA 薬剤混入平板培地に菌叢ディスクをのせ菌糸伸長抑制効果を調査した結果、両タイプの菌株に効果のある薬剤は、マンゼブ水和剤、プロピネブ水和剤、ペフラズエート水和剤で、特にマンゼブ水和剤は培養10日後でも菌糸伸長が見られず最も効果が高かった。圃場内では複数のタイプの菌によって発病すると考えられるので、両タイプの菌に効果のある薬剤を用いて薬剤防除を行う必要がある。

チャ赤焼病細菌に対する拮抗細菌の温度特性

富 濱 毅・西 八東・松比良邦彦
神 畠 保成
(鹿児島県茶業試験場)

チャ赤焼病は、晩秋と早春に発生する低温性の病害であるが、有効な防除法が確立されていない。演者らは赤焼病細菌に対して培地上で拮抗性を示す4種類のチャ葉上細菌を分離し、拮抗性の温度特性について検討したので報告する。PST-4 培地(迫田ら, 1995)上で、拮抗細菌 AT9809 および AT9820 は7℃で阻止帯形成能が低下したが、拮抗細菌 AT9805 および AT9907 は、25℃, 15℃, 7℃いずれでも高い阻止帯形成能を維持した。リーフディスク法を用いて、拮抗細菌 AT9805 の赤焼病細菌 K9301 に対する病徴抑制能を25℃, 15℃, 7℃条件下で検討した。15℃では、赤焼病細菌 K9301 に対して拮抗細菌 AT9805 を10倍量混合接種すると‘ゆたかみどり’ではほとんど病徴が観察されなかったが、‘やぶきた’では若干病徴が観察された。25℃および7℃では赤焼病細菌 K9301 のみの接種でも病徴があまり認められず、拮抗細菌 AT9805 の病徴抑制効果は判然としなかった。

チャ赤焼病細菌選択培地における *Pseudomonas* 属細菌の生育について

迫田 琢也¹⁾・永江美也子²⁾・江口 武志^{2)*}
岩井 久²⁾・荒井 啓²⁾
(¹⁾横浜植物防疫所・²⁾鹿児島大学農学部)

著者らが作成した培地 PST-4 (King's B 培地にセファレキシムとシクロヘキシミドを添加したもの)を用いることで、チャ赤焼病細菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *theae*, 以下 *P. theae* と略す) をチャ樹体から検出できることは、すでに報告されている(西ら, 1996, 1998)。本実験では、PST-4 と新たに調整した PST-5 (PST-4 に BTB と SDS を加えたもの)を用いて、既知の *Pseudomonas* 属細菌の生育について調べた。*P. theae* 6 分離株、*Pseudomonas* 属22分離株、*Burkholderia* 属2分離株、*Ralstonia* 属2分離株の計32分離株を用いて、コロニー形成の有無および形成されたコロニーの性状を比較した。*P. theae* は両培地で生育し、形成されたコロニーは、PST-4 において乳白色・円形で、PST-5 において黄色～淡黄色・円形で、色調にのみ違いが認められた。他の供試細菌は PST-4 および PST-5 において、いずれも11分離株が生育し、15分離株は生育しなかった。両培地で生育した細菌の種類はほぼ同じであったが、1分離株 (*P. azotoformans*) を除いて、*P. theae* とはコロニー性状に明らかに違いが認められた。*P. azotoformans* は *P. theae* とコロニー性状が類似し、識別は困難であった。*P. azotoformans* は蛍光色素産生細菌に属し、我が国では、イネ初より分離されているが、チャ園で分離されたという報告はない。本実験の結果、PST-4 と PST-5 の選択性にはほとんど差がなかった。PST-4 は PST-5 に比べ調整が簡単で、これまで実用に供されていることから、*P. theae* の選択培地として今後も利用できるものと考えられる。

*現在 熊本県病虫害防除所

カンキツエクソコーティスウイルスがウンシュウミカン品種「山川早生」の生育並びに果実品質におよぼす影響

下村 克己・草野 成夫
(福岡県農業総合試験場果樹苗木分場)

カンキツエクソコーティスウイルス (CEVd) は、カラタチを台木に用いたカンキツで、樹勢の低下や枯死を招くなど、栽培上最も重要な病害の一つである。CEVd の生育におよぼす影響については多くの報告が

あるが、果実品質に対する影響についての報告はほとんどない。そこで、CEVd がカンキツ樹体におよぼす影響を3種の台木、カラタチ、ヒリュウ、シクワシャーに接ぎ木したウンシュウミカン品種「山川早生」を用いて調査した。その結果、生育に対する影響はカラタチ、ヒリュウ台木を用いた場合顕著であり、特にカラタチでは、調査項目（主幹径、樹高、葉数）全てにおいて、フリー区と比較して明らかに劣った。また、果実品質に対する影響は、1樹当たりの着果数を等しくすると、カラタチ、ヒリュウ台木を用いた区で1果重が小さく、糖度が高い傾向が認められた。一方、葉面積当たりの着果負担を等しくすると、1果重、糖度ともに差は認められなかった。これらのことから、1樹当たりの着果数を等しくした場合に認められた糖度の向上は、CEVd を保毒して果実肥大が不良になったことによる濃縮効果の可能性が高いと考えられた。以上のことから、CEVd の山川早生の生育に対する影響は、カラタチ、ヒリュウ台木を用いた場合顕著であり、果実品質に対する影響も生育不良による着果負担力の低下が大きな要因であると考えられた。今後、葉の光合成能力や根の活性に対する、CEVd の影響を明らかにする必要がある。

長崎県における5種のジャガイモウイルスの春作での発生実態

小川 哲治^{1)*}・内川 敬介¹⁾・仲川 晃生²⁾
平田 憲二³⁾・小嶺 正敬³⁾

¹⁾長崎県総合農林試験場・²⁾長崎県総合農林試験場
愛野馬鈴薯支場・³⁾長崎県病害虫防除所)

長崎県の暖地二期作ジャガイモ栽培地帯において、ウイルスが原因と思われる茎葉のモザイク症状およびえそ症状の発生が近年増加している。本県におけるジャガイモウイルス病の発生実態を明らかにするため、1997年12月に島原半島の青果ジャガイモ栽培地での、秋作時におけるウイルス病の発生実態を調査した結果、ジャガイモYウイルス(PVY)の発生を中心にジャガイモSウイルス(PVS)などとの混合感染が認められた(日本植物病理学会九州部会、1998年)。今回は、春作時におけるジャガイモウイルス病の発生実態を明らかにするため、1998年4月に同じ地域内において、ウイルス病様症状を呈した株から茎葉を採取し、ELISA法によって5種のウイルス、PVY、Xウイルス(PVX)、PVS、Mウイルス(PVM)および葉巻ウイルス(PLRV)の発生様相を調査した。ウイルスが検出された株の割合は、全調査株

中73.9%に達し、検出株は、1種のウイルスに感染していたものと2種以上のウイルスに混合感染していたものに分けられた。全検出株中、単独感染株の割合は20.5%で、混合感染株は79.4%を示し、ウイルス病様株の大半が2種以上のウイルスに感染していた。単独感染株では、PVY 57.1%、PVS 28.6%、PLRV 14.3%となり、PVYの検出頻度が一番高かった。PVMは今回も検出されなかった。一方、混合感染株では、PVY+PVS、PVY+PLRV、PVY+PVS+PLRVのようにPVYを中心にPVSやPLRVとの感染が認められる場合が多く、これら3つの感染型が全体の約60%であった。単独・混合感染株を併せた全ウイルス検出株での、ウイルス種ごとに検出される割合は、PVYが79.4%と最も高く、PVSおよびPLRVは、混合感染株まで含めると67.6%、47.1%となった。以上の結果より、春作時におけるジャガイモでは、PVY、PVSおよびPLRVの3種ウイルスが多発していることが明らかとなった。秋作時の調査結果も同様であったことから、これら3種ウイルスは暖地二期作ジャガイモ栽培地帯におけるジャガイモウイルス病の主体をなすことが示唆された。

*現在 長崎県病害虫防除所

九州で分離されたジャガイモYウイルス塊茎えそ系統の遺伝子解析

奥蘭 江理¹⁾・大島 一里¹⁾・仲川 晃生²⁾
小川 哲治^{3)*}・松尾 和敏⁴⁾

¹⁾佐賀大学農学部・²⁾長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場・³⁾長崎県総合農林試験場・⁴⁾長崎県北振興局)

長崎県においてジャガイモYウイルス(PVY)の一系統により引き起こされるジャガイモ塊茎にえそ症状を示す病害が発生している。今日まで長崎県内で採集し遺伝子解析してきた、えそ症状を示すジャガイモ塊茎の他に、本研究では長崎県の五島および鹿児島県の徳之島からジャガイモ塊茎を採集し、それらの塊茎から得られるPVY塊茎えそ系統について遺伝子解析を行った。即ち、えそ症状を示すジャガイモ塊茎を滅菌した土壌に播種し、生育してきたジャガイモ葉からフェノール法により全核酸を抽出した。その後、逆転写-polymerase chain reaction法により、PVY RNAのP1タンパク質遺伝子および外被タンパク質遺伝子の相補DNAを増幅し、pBluescript II SK⁺に組み込みクローニングした。それらの遺伝子について塩基配列を決定し、既に本邦で報告されているPVY塊茎えそ系統およびPVY黄斑えそ

系統, 外国で報告されている PVY と塩基配列およびアミノ酸配列の相同性を比較し, 分子系統学的に解析した。その結果, 長崎県の五島および鹿児島県の徳之島の PVY 塊茎えそ系統の P1 タンパク質遺伝子および外被タンパク質遺伝子は, 既に報告されている長崎県の PVY 塊茎えそ系統と塩基配列およびアミノ酸配列において高い相同性を示した。また塩基配列を用いて分子系統学的に解析すると, 両地域の塊茎えそ系統の2つの遺伝子は, 本邦の黄斑えそ系統, 外国の tobacco vein necrotic stain および potato tuber necrotic ringspot strain のクラスターに属した。

*現在 長崎県病害虫防除所

九州内で分離されたカブモザイクウイルスの病原性と遺伝子解析

廣田 亮・木場 理絵・大島 一里
(佐賀大学農学部)

ポティウイルス属のカブモザイクウイルス (TuMV) を九州内で採集し単病斑分離後, 生物学的性質即ち病原型 (pathotype) を調べるとともに, さらに5'末端領域 (5'非翻訳領域とP1タンパク質遺伝子) および3'末端領域 (外被タンパク質遺伝子と3'非翻訳領域) の遺伝子解析を行った。まず病原型を検討するために, アブラナ科植物であるカブ (品種: 博多据り), ハクサイ (品種: 野崎1号, 結球野崎2号および結球京都3号), ナタネ (品種: 農林32号) およびダイコン (品種: 耐病総太りおよび秋まさり) に TuMV 分離株を接種した。その結果九州で採集した TuMV 分離株のほとんどはダイコンに感染し, *Brassica* 植物における反応から主に2病原型に分かれた。次にこれらの分離株の感染葉から全核酸を抽出後, 逆転写-polymerase chain reaction 法 (RT-PCR 法) を用いて TuMV RNA から相補 DNA を増幅し, pBluescript II SK⁺ に組み込んでクローニングした。得られたプラスミド DNA を用いて塩基配列を決定したところ, 全ての TuMV 分離株の P1 タンパク質遺伝子は1086塩基, 外被タンパク質遺伝子は864塩基で構成されていた。次に得られた P1 タンパク質遺伝子および外被タンパク質遺伝子の塩基配列を基にして近隣結合法 (FELSENSTEIN, 1989) を用いて分子系統樹を作成したところ, 主に P1 タンパク質遺伝子において2グループに分けられた。その分子系統学的な2グループは, アブラナ科植物を用いた場合の2病原型, また分離株を採集した地理的な分布とは必ずしも一致していなかったが, TuMV が分離された宿主植物のグループと一致し

ているように思われた。

石垣島のタバコから分離された Potyvirus の分子分類

眞岡 哲夫・野田千代一

(国際農林水産業研究センター沖縄支所)

1997年7月に石垣市のタバコから分離されたウイルス (SOL4) の, 外被タンパク質 (CP) のシークエンスを行い, 分子分類学的見地から同定を試みた。既報の Potyvirus の塩基配列から, CP 領域保存配列に対するプライマー (POTCP1F~4F) を設計し, 下流側に Poly A 領域アダプタープライマーを用いて, RT-PCR によりウイルスゲノムの3'末端領域を増幅し, 塩基配列を決定した。得られた配列をホモロジーサーチ (BLAST) で解析したところ, tobacco vein banding mosaic virus (TVBMV) と高いホモロジーが得られた。そこで, TVBMV の配列をもとに再度プライマーを作成し, CP 全領域を増幅して, クローニング・シークエンスを行った。以上の方法により, SOL4 ゲノム RNA の3'末端部分, 1155塩基の配列を決定した。決定された配列から, CP は271個のアミノ酸から構成されていることが判明した。CP のアミノ酸配列は, TVBMV 台湾株 (CHANG *et al.*, 1994), 同アメリカ株 (HABERA *et al.*, 1994) と, それぞれ98.16%, 98.90%の相同性を示した。また, 他の Potyvirus との相同性は60-65%程度と低かった。3分離株の CP アミノ酸はすべて271個で5カ所で置換が認められた。3'非翻訳領域 (3'NCR) は, SOL4, 台湾株, アメリカ株がそれぞれ, 184, 182, 183塩基からなり, SOL4 は, 台湾株, アメリカ株に対し, それぞれ97.80%, 95.08%の相同性を示した。Poly A 近傍の配列は, SOL4 と台湾株が良く一致し, アメリカ株はやや異なった。以上から, SOL4 分離株は, TVBMV と同定された。本株が分離された石垣島は, 台湾とは至近距離にあるが, 両株は全く同一ではないことが明らかになった。

スイカにおけるキュウリ緑斑モザイクウイルス増殖におよぼす温度の影響

森山 美穂¹⁾・古賀 成司¹⁾・花田 薫²⁾
(¹⁾熊本県農業研究センター・²⁾九州農業試験場)

スイカでのキュウリ緑斑モザイクウイルス (CGMMV) 弱毒株の実用化を図るにあたり, 基礎的知見を得るために, 異なる温度条件下における強毒株および弱毒株のス

イカでの増殖について検討した。スイカ本葉展開直前時の子葉に強毒株 CGKK および弱毒株 CGSA をそれぞれ単独に接種し、20℃、25℃、30℃に設定した人工気象室内で栽培した。接種1日後から20日後まで、病徴の出現の有無を調べるとともに、各本葉を葉位別にそれぞれ採取し、DAS-ELISA法を用い、ウイルスの増殖について調査した。20℃では強毒株は全ての葉で増殖が認められたのに対し、弱毒株では本葉3枚目でのみ強毒株より2日遅れて増殖が認められた。病徴は、弱毒株では認められず、強毒株では接種19日後に認められた。次に25℃では、弱毒株の増殖は強毒株に比べて2～5日遅く、病徴の出現も2日遅かった。30℃では、弱毒株は強毒株に比べ2～8日遅く、病徴の出現は2日遅かった。また、各温度設定区で共通して検定した本葉3枚目で両株の増殖を比較してみると、強毒株は温度に関係なく、接種後日数の経過とともに増殖が認められたのに対し、弱毒株では30℃での増殖はほとんど認められず、温度の影響を受けると考えられた。また、同温度条件下での本葉3枚目では、弱毒株は強毒株に対し2～8日程度増殖が遅かった。以上の結果より、供試した温度条件下では強毒株と弱毒株の増殖や病徴の出現に相違が認められた。そこで、25℃の温度条件下で両株を接種した場合でのCGMMVの増殖と病徴の出現について調査し、単独接種した場合と比較した。弱毒株接種8日後に強毒株を接種した場合、CGMMVの増殖は強毒株接種6日後から認められ、強毒株接種10日後まで増殖した。しかしながら、その後は増殖が抑えられ、接種後日数の経過とともに増殖する単独接種の場合とは異なる傾向が認められた。

鹿児島県におけるキクエそ病の発生について

尾川 宜広¹⁾・宮ノ原陽子²⁾・林川 修二²⁾
和泉 勝一¹⁾

(¹⁾鹿児島県農業試験場・²⁾鹿児島県病害虫防除所)

1997年5月加世田市でキクの先端部からえそが現われ葉には退緑斑のみられる株が確認された。また、同年の10月には有明町で、12月には和泊町、与論町でも葉に同様の症状のみられる株が確認された。以上の病徴はトマト黄化えそウイルス(TSWV)によるキクエそ病に類似していたのでDAS-ELISAで検定を行ったところ全ての株で陽性反応が認められ、鹿児島県でのTSWVの発生が初めて確認された。そこで、県内におけるキクエそ病の発生状況調査を、1998年4、6、7、11月に4市21町で行った。1調査地点当たり1～19圃場、各圃場で病

徴のみられる株または無病徴の株を1品種あたり3～10株を選び、最終的には1291株を調査した。各株の病徴のみられる葉、無病徴の株では最上位展開葉を供試し、日本植物防疫協会の作成したTSWVの普通系に対するモノクローナル抗体を用いたDAS-ELISAで検定した。なお、対照とした健全株の吸光度の2倍以上を陽性とした。キクエそ病は加世田市、串良町、瀬戸内町、喜界町、知名町、和泊町、与論町で発生が認められ、その他の市町村では発生が認められなかった。発生市町村の中でも、和泊町、与論町での発生圃場率は両町とも100%、発生株率はそれぞれ、56.2%、86.1%となり、特に高くなった。また調査地点によって発生した品種が異なり、発生の多かった和泊町、与論町では町内で栽培しているほとんどの品種で発生が認められた。

ELISA法およびRIPA法によるトマト黄化えそウイルス(TSWV-O)のキクからの検出

松浦 明・今村 幸久・三浦 猛夫
(宮崎県総合農業試験場)

トマト黄化えそウイルス(TSWV-O)によるキクエそ病の効率的な早期診断法を確立するため、ELISA法の最適な検出条件と、現地での簡易診断法の開発を目指しRIPA法の利用を検討した。ELISA法の検出条件では、緩衝液添加物の検討を行った。サンプル磨砕液とコンジュゲート液を別々に反応させる従来法で、0.1Mリン酸緩衝液(0.05% tween20 加用)を基本緩衝液として、0.1% Na₂SO₃、2.0% ポリビニルピロリドン(PVP)、0.2% 牛血清アルブミン(BSA)を組み合わせて検討した結果、Na₂SO₃のみ、Na₂SO₃+PVP、Na₂SO₃+PVP+BSAの区ではいずれも感度が高く、1600倍まで検出可能であった。Na₂SO₃を添加しなかったPVP+BSA区は他の区に比べ検出感度が低く、800倍までの検出感度であった。次にサンプル磨砕液とコンジュゲート液を別々に分注する従来法と同時に分注する同時法を比較すると、従来法が希釈倍率1600倍までしか検出できなかったのに対し、同時法では3200倍まで検出感度が向上する事が判明した。今後は同時法を用いるのが感度や作業時間の面からも効率的と考えられた。RIPA法によるキク発病葉からの検出については、着色ラテックスの抗体感作濃度を150 μg/ml、白色ラテックスのろ紙塗布量を10 μl/枚とし以下の検討を行った。その結果、着色ラテックスの濃度は、50倍希釈で最もバンドが明瞭であった。また、キク感染葉からの検出感度は希釈倍率

25,600倍まで検出可能なサンプルもみられたが、確実に検出できる希釈倍率は800倍までであった。しかしながら、ウイルス濃度が高い発病株だけの検定手法とすれば、検定時間も短く精度も高いことから、現地での簡易診断に十分利用できると考えられた。

PCR-ELISA 法によるカンキツタター リーフウイルスの検出系の確立

末継 真人¹⁾・大島 一里¹⁾・井手 洋一²⁾

田代 暢哉²⁾

(¹⁾佐賀大学農学部・²⁾佐賀県果樹試験場)

カンキツタターリーフウイルス (CTLV) は、カンキツの接ぎ木部異常症の病原ウイルスとして報告されている。これまでのカンキツ樹からの CTLV の検出には、主に enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法が用いられてきた。しかし ELISA 法には CTLV に対する抗血清が必要であるため入手しづらいこともあり、reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR) に比べて感度が低い等の問題があった。またイムノキャプチャー RT-PCR (IC-RT-PCR) 法においては、長期間保存した CTLV 感染葉から CTLV が検出できない等の問題があった (黒木ら, 1998)。そこで CTLV 検出における問題点を解決できる可能性のある PCR-ELISA 法による CTLV 検出系の確立を試みた。PCR-ELISA 法には、ペーリンガー・マンハイム社の RT-PCR ELISA DIG Labeling キットおよび PCR ELISA (DIG Detection) キットを使用した。まず、CTLV 感染 *Chenopodium quinoa* 葉およびカンキツ葉から、フェノール法を用いて PCR-ELISA 法で CTLV を検出できるか検討した。その結果、CTLV 感染 *C. quinoa* 葉から CTLV RNA を検出できたが、CTLV 感染カンキツ葉からはできなかった。そこで RNeasy Plant Mini キットおよび Fast RNA GREEN キットを用いたところ、CTLV 感染カンキツ葉からも検出できた。-80°C で11ヵ月間冷凍保存またはシリカゲル中で14ヵ月間乾燥保存した感染 *C. quinoa* 葉を用いたところ、11ヵ月間冷凍保存した試料からは CTLV を検出できなかったが、14ヵ月間乾燥保存した試料からは CTLV を検出できた。即ち CTLV 感染葉の長期保存には、乾燥保存が適していると考えられた。また、PCR-ELISA 法は電気泳動をする必要がなく、ELISA プレートリーダーで吸光度を測定できる利点を持ち、CTLV 感染カンキツ葉からの CTLV の検出に有効であることが明らかとなった。