

講 演 要 旨

病 害 の 部

イネもみ枯細菌病の発生実態把握のための 圃場調査法 2. 分布様式に基づいた 標本抽出法についての考察

漆間 徹・吉松 英明・挾間 渉
(大分県農業技術センター)

もみ枯細菌病に対する防除法は種子消毒と出穂期の予防散布を主体にある程度確立されているものの、精度の高い発生予察法および防除要否判定技術はいまだに確立されていない。そこで、本田期における圃場調査法、被害査定法を確立するために、過去に自然発生圃場ならびに人工発生圃場で実施された圃場全株調査のデータを用いて、分布様式に基づく必要標本数の推定ならびにその抽出方法について検討した。分布様式は各圃場ごとに求めた発生総率 (m) ならびに平均こみあい度 (m^*) との直線回帰式で求めた。その結果、直線回帰式は $m^* = 0.31 + 28.82m$ となり高い相関が認められ ($R^2 = 0.978$), $a = 0.31 > 0$, $b = 28.82 > 0$ の結果から調査圃場全体のもみ枯細菌病の発生は集中分布を示した。必要標本数は①スネデカ・コ克蘭式と②平均こみあい度と平均値(発病総率)の直線回帰式から推定した。①, ②とも、発病総率が高くなるほど必要標本数が減少するパターンを示し、②の場合、必要標本数が25株の場合に発病総率で2.0%以上を反映できる結果となった。また、必要標本数を用いて、1列のみを調査する方法と調査株数に応じた複数株を5列調査する異なるサンプリング方法による発病総率と母平均(全体で調査したときの発病総率)との比較をおこなった。圃場の母平均が高くなるにしたがい圃場がとりうる発病総率の最小値と最大値の範囲が多くなるため、必要標本数が多く必要となるが、許容誤差範囲を±15%とした場合には標本数やサンプル方法に関わらず、それぞれの発病総率は各母集団における95%の信頼区間内にあった。また、1列調査よりも5列調査の方が母平均をより反映した結果となった。

イネもみ枯細菌病を抑制する拮抗微生物 CAB-02の16S rRNA の塩基配列の解析

奥田 充¹⁾・井上 博喜²⁾・宮川 久義²⁾
(¹⁾九州農業試験場・²⁾中国農業試験場)

拮抗細菌CAB-02株(以下、CAB-02とする)はイネもみ枯細菌病による苗腐敗症を抑制する微生物として分離・選抜され、炭素源利用能等より新規 *Pseudomonas* 属細菌と同定された。本研究では、CAB-02の16S rRNA 遺伝子の塩基配列の相同性を解析し、分類学的位置を明らかにすることを試みた。培養菌体より抽出した染色体DNAを鋳型としたPCRにより16S rRNA 領域を増幅した。増幅産物の一次構造を決定し、ホモロジー検索した結果、いくつかの *Burkholderia* 属細菌の16S rRNA 遺伝子と最も高い相同性を示した。GenBankに登録されている *Pseudomonas* 属、*Burkholderia* 属および *Ralstonia* 属の29種の16S rRNA 遺伝子の塩基配列を用いてマルチプルアラインメントを行った結果においてもCAB-02の16S rRNA 遺伝子は *Burkholderia* 属細菌のものと高い類縁性を示した。以上の結果より、CAB-02 は *Burkholderia* 属に属することが示唆された。

アルミニウム感受性を異にするオオムギ 2品種におけるオオムギ斑葉モザイクウ イルスの増殖

花田 薫¹⁾・大貫 正俊¹⁾・酒井 淳一¹⁾
前田 孚憲²⁾・正岡 淑邦¹⁾・斉藤 彰¹⁾
(¹⁾九州農業試験場・²⁾岡山大学生物資源研究所)

わが国で分離されたオオムギ斑葉モザイクウイルスの1分離株(BSMV-J)の外被タンパク質(CP)の分子量は電気泳動によって約22Kと推定された。RT-PCRにより増幅したCP遺伝子の塩基配列を決定してBSMVのタイプ分離株と比較したところ、きわめて高い相同性を示した。アルミニウム(AI)に感受性を示すオオムギ品種Kearneyと抵抗性品種Daytonに、BSMV-Jを接種して通常の土壌条件下で育成した結果、両品種ともに同様な病徴を示し、ウイルス濃度にも大きな差はみとめられなかった。水耕栽培によって育成時のpHを一定にして検討した結果、AIが不活性なpH6ではウイルス接種に

よって特徴的な条斑えそが両品種に現れた。AIが活性を示すpH4ではウイルス接種の有無に関係なく、両品種とも全身的なえそを生じた。いずれの条件下でもRT-PCRによってウイルスの増殖は確認された。AIに対する感受性を異にする両品種でのBSMVに対する反応には、明らかな差はないと考えられた。

大分県のダイズに発生したうどんこ病に 対するダイズ品種の抵抗性反応

挾間 渉¹⁾・加藤 徳弘²⁾・吉田 茂敏¹⁾

(¹⁾大分県農業技術センター・²⁾大分県病害虫防除所)

1998年8月に大分県竹田市の農家圃場で新発生した *Erysiphe polygoni* 型の *Oidium* sp. によるうどんこ病に対し、国内主要品種のほか育成段階の系統も含め、1998年に42品種・系統を、1999年には61品種系統を供試して圃場レベルで抵抗性の品種間差異について検討した。1998年の試験では供試42品種中、九系234、九系236、九系251、九系272、T683、在来青豆、アキヨシの計7品種に発生し、いずれも多〜甚発生であった。発病した品種間にダイズの種類や交配組合せからみた共通性は認められなかった。なお、本試験では、沢田ら(1982)が多発生を報じた‘ヒュウガ’については、発病がまったく認められなかった。1999年の試験でも前年と同様、品種間において発病の有無は極めて明瞭であり、供試61品種・系統中、U482、T683、九系253、九系251、九系272、ヒュウガ、東山195号、アキヨシ、キタノスズ、九系234、九系236の11品種・系統にだけ発生が認められた。1998年と1999年の両年に共通に供試した35品種のうち32品種については、発病程度に区間・年次の変動はあるものの同一の結果であった。幼苗を利用した鉢試験は、圃場試験の結果を反映したことからうどんこ病の簡易検定法としての利用が可能である。一方、1998年に多発生した在来青豆と越前みどり枝豆は1999年には発病がまったくみられず、逆に1998年に発病がまったくなかったヒュウガでは1999年には多発生であった。うどんこ病菌のレース分化を示唆するものと考えられる。

フェニルアמיד系薬剤耐性ジャガイモ 疫病菌の長崎県における発生

管 康弘・仲川 晃生*

(長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場)

長崎県に分布するジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) の、フェニルアמיד系薬剤に対する

耐性菌の発生状況およびその程度を明らかにする目的で、圃場試験においてメトラキシル剤の効力を判定するとともに、県下各地より分離した菌の耐性菌検定を行った。長崎県総合農林試験場愛野支場内圃場で行った薬剤試験と同圃場から分離した菌株を用いた接種試験の結果、メトラキシル水和剤(25%製剤)の常用散布濃度での防除効果は、対照薬剤に比べ大きく低下し、メトラキシル耐性菌の発生が示唆された。次いで、同圃場ならびに長崎県各地から得た単菌糸分離株計50菌株を供試して、メトラキシル剤の最小生育阻止濃度(MIC値)および50%生育阻害濃度(EC₅₀値)を調べた。その結果、試験圃場から分離した27菌株のMIC値は全て200 μg/ml以上を示し、この中から任意に抽出した12菌株のEC₅₀値は全て10 μg/ml以上を示したため、試験圃場にはメトラキシル剤耐性菌が存在していたことが判明した。島原半島を中心とした県内各地のジャガイモ栽培圃場から得た23菌株は、EC₅₀値で10 μg/ml以上(10菌株)、10~0.1 μg/ml以上(3菌株)、0.1 μg/ml未満(10菌株)の3グループに類別された。このことから、長崎県のジャガイモ産地にはメトラキシル耐性菌が広く分布するものの、圃場によっては感受性菌も分離され、両者は産地内で混在しているものと推察された。また、離島部である対馬(上県町、峰町)分離菌全4菌株はメトラキシルに感受性であったことから、フェニルアמיד系薬剤に対する耐性菌の分布は地域によって異なるものと考えられた。

*現在 農業研究センター

ヨウ化メチル剤を用いた土壌病害虫防除 に関する研究

第1報 秋作におけるメロンの黒点根腐 病の防除

川越 洋二¹⁾・中村 正和^{1)*}・今村 幸久¹⁾

三浦 猛夫¹⁾・中村善二郎²⁾

(¹⁾宮崎県総合農業試験場・²⁾トーマン)

2005年の臭化メチル全廃に対応して臭化メチルの類縁化合物であるヨウ化メチルに着目し、メロンの黒点根腐病に対する防除効果を検討した。区の構成はヨウ化メチル区と無処理区で各区20m²で試験した。ヨウ化メチル区は1999年9月21日に中央の畝の中央1カ所にシャーレを置き、その中に30kg/10a相当量のヨウ化メチルを入れ、直ちに処理区全面を厚さ0.05mmのポリエチレンフィルムでトンネル被覆した。処理日から4日後に被覆を除去しその4日後(1999年9月29日)に定植した。その結果、メロン収穫時(定植後77日後)の株の萎凋は無

処理区では18.2%が萎凋したのに対して、ヨウ化メチル区では地上部の萎凋は全く見られなかった。収穫時の根の調査において無処理区では根の褐変度で31.1であったのに対してヨウ化メチル区は3.6であり、防除価は88.4であった。果実の品質調査もヨウ化メチル区では上位等級の割合が高かった。このことから、ヨウ化メチル30kg/10a処理でメロンの黒点根腐病に対する防除効果は高いと考えられる。圃場の深さに25cmにダイコン種子を埋設しヨウ化メチル処理後に取り出し、発芽を調査した結果、すべて不発芽であったことから、ヨウ化メチルは深さ25cmまで十分拡散していたと考えられた。ガス濃度は処理位置の深さ15cmで処理4日後には0ppmとなった。しかし、ヨウ化メチルの処理位置周辺のメロン株では下位葉の5枚~7枚に葉縁が焼ける症状が見られ、無処理区では見られなかったことから葉害である可能性があると考えられた。今後、処理量、処理期間等の検討が必要である。

*現在 宮崎県立農業大学校

ヨウ化メチル剤を用いた土壌病害虫防除に関する研究

第2報 ネコブセンチュウの防除

中村 正和^{1)*}・川越 洋二¹⁾・今村 幸久¹⁾
三浦 猛夫¹⁾・中村善二郎²⁾

(¹⁾ 宮崎県総合農業試験場・²⁾ トーメン)

臭化メチル代替剤の1つであるヨウ化メチル剤のサツマイモネコブセンチュウに対する防除効果および揮発状況を検討した。夏季のヨウ化メチル剤30kg/10a処理の防除効果を調査するため、1999年9月21日にヨウ化メチル剤を処理した。処理4日後に被覆を除去し、その4日後の9月29日にメロン(アールスメイト秋冬I)を定植した。試験終了時に、処理区の根こぶ指数が7.1、寄生株率が8.6%と、無処理区の根こぶ指数55.3、寄生株率100%と比較して高い防除効果が認められた。また、冬季の防除効果を調査するため、プラスチックコンテナを用いた用土消毒試験を行った。90時間密閉処理後、72時間ガス抜きを行い、ベルマン法(生土20g, 25℃ 72時間)により処理後の線虫密度を調査するとともに、トマト苗(大型福寿)を移植し、根こぶの着生率を調査した。無処理区でのトマト苗への根こぶ着生率が100%なのに対し、ヨウ化メチル剤400g/m³処理区では、処理後の線虫密度が0、トマト苗への根こぶの着生も全く認められなかった。さらに、効果的な処理条件把握のため、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、40℃の各温度条件下での発揮

状況を調査した。小型デシケーターに3gのヨウ化メチル剤を入れたガラス容器を入れ、定温器内に静置した。15分おきにガラス容器の重量を計測した。各濃度ともに容器内のヨウ化メチル剤はすべて揮発したものの、15℃条件下では、40℃条件下の2倍以上の時間を要した。以上の結果より、ヨウ化メチル剤は、サツマイモネコブセンチュウ防除剤として、有効であると思われる。今後、処理方法及び処理期間についての検討が必要である。

*現在 宮崎県立農業大学校

西日本のメロンに発生したMNSV 6分離株のCP遺伝子の塩基配列の比較

小山 麻希¹⁾・酒井 淳一²⁾
相原 弘和¹⁾・花田 薫²⁾

(¹⁾ 協和種苗株式会社 ²⁾ 九州農業試験場)

沖縄県、大分県、山口県、島根県、高知県、滋賀県の各メロンえそ斑点病発生地からメロンえそ斑点ウイルス(MNSV)を分離し、RT-PCRによりCP遺伝子領域を増幅してクローニングして塩基配列を決定した。さらに、プログラム clustalW を用いて塩基配列の比較解析を行った。その結果、この領域の塩基配列はいずれの分離株でも1173bpからなっていた。これらの配列について相同性を検討したところ、各分離株間の相同性は最低でも95%であり、塩基配列の変異は少なかった。また、これらは既報の配列のなかでは、長崎県で報告されたMNSV-NH および-NK に近縁であることがわかった。CP遺伝子のなかには特に変異に富む領域は特定できなかったが、塩基配列の違いは3'末端側に比較的多く見られた。塩基配列をもとに、NJ法により分子系統樹を作成したところ、供試した分離株のなかで、高知・大分・山口からの株は最も近縁であり、もっとも遠縁と思われるものは沖縄の分離株であった。また、これらに基づく系統樹から、この変異がある程度地域を反映したものであることが示唆された

ナスすすかび病の第1次伝染源

山口純一郎・御厨 初子・松崎 正文
(佐賀県農業試験研究センター)

佐賀県東松浦郡厳木町の隣接した2ほ場で1999年1月、4月および6月にトリフルミゾール剤耐性菌の発生動向を調査した。苗は同一業者から購入したにもかかわらず、ほ場内で発生したトリフルミゾール剤耐性菌の発生程度の推移は異なった。すなわち、前作で耐性程度の高い菌

(EC₅₀値10 μg/ml以上)が認められたほ場において、1月に程度の高い菌は認められなかったが、4月に認められ、6月には採取菌株の15%を占めた。一方、耐性度が中程度 (EC₅₀値1~10 μg/ml)のほ場では、DMI剤の散布回数は耐性程度の高いほ場より多かったにもかかわらず、耐性程度の高い菌は認められなかった。したがって、本菌は、主には場内で生存し次作へ伝染していると考えられた。また、本菌の生存場所として被害葉および資材が考えられるが、被害葉については陽熱処理後も菌が生存し伝染源となることがすでに確認された。しかし、農家は場においては収穫終了後、被害葉は除去されるか土中にすき込まれるため、資材における生存の可能性が高いと考えられたので、その確認を行った。前作で多発生したポリエチレンフィルム屋根型鉄骨ハウスにおいて、収穫終了後陽熱処理を行い、定植前の1999年9月17日に、施設内のポリエチレンフィルム11カ所および鉄骨12カ所を蒸留水で噴霧・洗浄し、洗浄液を回収後、ナス苗に接種して、発病好適条件で管理後発病状況を調査した。その結果、それぞれ1カ所ずつ前作で多発生した場所の近くからの回収した洗浄液接種苗で発病が認められ、資材での生存が確認された。

Print-capture PCR (P-PCR) 法による ジェミニウイルス保毒虫の簡易検定

大貫 正俊・花田 薫
(九州農業試験場)

ジェミニウイルスであるトマト黄化葉巻ウイルス (TYLCV) およびサツマイモ葉巻ウイルス (SPLCV) を対象に、P-PCR法によるシルバーリーフコナジラミ (以下、コナジラミ) 保毒虫の簡易検定について検討した。本法は核酸抽出を必要とせず、その概略は虫体をワットマン3MMろ紙上で押しつぶし、虫体成分をろ紙に転写後、ろ紙小片をPCRチューブに移して直接、PCR反応を行わせるものである。PCR反応には *Ex Taq* DNA polymerase を使い、プライマーはTYLCVの場合は約1.3kbpの産物、SPLCVは約1.0kbpの産物が特異的に増幅されるように設計した。P-PCRの結果、TYLCVおよびSPLCV保毒虫ともに検定に供試した全個体から想定される大きさのPCR産物が得られた。一方、健全対照のコナジラミ個体からはDNA断片は増幅されなかった。TYLCVおよびSPLCV保毒虫由来のPCR産物をクローニングして一部塩基配列および推定アミノ酸配列を決定した。これらを配列既知のウイルス株と比較したところ、TYLCV長崎株、SPLCV熊本株と塩基配列、

アミノ酸配列レベルでいずれも99%以上の相同性が認められた。これにより、保毒虫から得られたPCR産物はコナジラミ虫体内に存在するウイルスのゲノムDNAを鋳型として増幅されたものであることが証明された。以上、P-PCR法によりTYLCVおよびSPLCVの保毒虫検定が個体ごとに確実にできることが判明した。

スターチスに発生した立枯症状の原因解明

松浦 明・今村 幸久・三浦 猛夫
(宮崎県総合農業試験場)

近年、ビニルハウスで栽培されているスターチスが栽培途中に萎れ、枯死する障害が多く発生し問題となっている。立枯症状株から分離された糸状菌4菌株を健全スターチスの株元に接種した結果、すべての菌株で現地と同様の症状が再現された。PDA培地を用いて分離菌の形態調査を行った結果、分生子柄は淡褐色、上方で分岐し、先端には多数の分生子を葡萄の房状に形成した。分生子は無色~淡褐色、単胞、楕円形で大きさは9.5~14.1×5.8~11.0 μm (平均11.6×8.9)であった。また、黒色の菌核を形成し、その大きさは不規則であった。菌糸伸長は5~30℃の範囲で認められ、35℃では生育しなかった。生育適温は25℃付近であった。また、有傷接種でトマト、ピーマン、キュウリ果実に病原性を示した。以上の結果から今回スターチスに立枯症状を引き起こした病原菌は既知のスターチス灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* と同定した。次に現地農家6軒の発生状況を調査した結果、花色がイエロー系の品種では発病株率が平均58.4%、次にピンク系の品種では21.2%、ブルー系の品種では7.1%であり花色間で発病に差が認められた。現地の発生の差が花色 (品種) によるものかどうかを検討するため、分離菌をイエロー系のクリスタルイエローとブルー系のサンダーライトブルーに接種したところ、クリスタルイエローでは接種16株中10株に発病が認められたが、サンダーライトブルーでは16株中1株にしか発病が認められず、花色の違い (品種) により病原性に差が認められた。

チャ赤焼病細菌とチャ樹から分離される 氷核活性細菌の関係

1) 培地上での相互作用

富瀨 毅¹⁾・西 八束¹⁾・飯山 和弘²⁾
松比良邦彦¹⁾・神寄 保成¹⁾

(¹⁾ 鹿児島県茶業試験場・²⁾ 九大生防研)

演者らは、チャ赤焼病の生態を解明するために、チャ園におけるチャ赤焼病細菌を含めた細菌フロアの推移について研究を進めている。その過程で、チャ赤焼病発生チャ園より高頻度で氷核活性細菌が分離された。チャ赤焼病は寒霜害発生年に多発することが報告されているため、チャ赤焼病発生に対する氷核活性細菌の影響について調査を進めており、今回は培地上での相互作用について報告する。King' B培地上で、チャ赤焼病細菌 K9301株とチャ樹から分離した氷核活性細菌 *Xanthomonas* sp. 20-993 (以下、INAX20-993) もしくはその培養ろ液を対峙させると、チャ赤焼病細菌が粘性を帯びることがわかった。この粘性は、チャ赤焼病細菌の菌体外多糖質 (以下、EPS) およびたんぱく質産生によることがわかった。この現象は、YPA 培地ではみられなかったが、YPA 培地にスクロースを加えると観察され、グルコースを加えた培地では観察されなかった。チャ赤焼病細菌はスクロースを含む培地でレバンを産生するため、上記の現象は INAX20-993によってレバンの産生が誘導されることを示唆するとおもわれた。また、チャ樹から分離された約100株の INAX すべてがチャ赤焼病細菌に対して EPS 産生を誘導した。EPS は細菌の葉への吸着や乾燥・葉害耐性等に関与しているとされているため、今後これらの点について、チャ赤焼病細菌と INAX の関係について調査を進める予定である。

鹿児島県におけるイネもみ枯細菌病に関する研究

4. 病原細菌の動態および追肥と発病について

野島 秀伸¹⁾・鳥越 博明²⁾
上之菌 茂^{1)*}・和泉 勝一¹⁾

(¹⁾ 鹿児島県農業試験場

²⁾ 鹿児島県農業試験場大島支場)

もみ枯細菌病の本田期における菌の動態を明らかにし、もみ枯症の発生予察方法を確立する必要から環境条件の異なる病原細菌接種ほ場 (ビニル被覆区、露場区) においてもみ枯細菌病のイネ体内の移行と増殖過程を調査

し、病原細菌量ともみ枯症発生との関係を検討した。

1997年～1999年に本田期の7月下旬～出穂期に稲体の最上位完全展開葉、二葉、三葉の葉舌を含む葉鞘部分の5 cm から超音波法により菌の検出を行った結果、稲体におけるイネもみ枯細菌病の動態からある程度の病原細菌量を保持していれば発病は多くなると考えられた。その際の病原細菌量は1葉鞘当たり10⁶CFU/g前後と考えられた。次に病原細菌の接種時期 (10⁶CFU/ml, 出穂21日前～出穂時) の違いが発病に及ぼす影響を検討した結果、出穂に近い接種において発病程度は高くなった。また、出穂21日、14日前の接種時に追肥した区では追肥無しの区より発病程度は高くなった。さらに追肥時期 (出穂21日前, 出穂時) の違いが発病に及ぼす影響を病原菌接種 (10⁶CFU/ml, 本田期8月上旬) 圃場で検討した結果、追肥時期が早いほど発病は多くなった。このことは早い追肥により稲体が菌量を保持し、そのことにより発病が多くなると考えられた。また、出穂時の菌接種 (10⁶CFU/ml) において追肥時期の違いが発病に及ぼす影響を調査した結果、ほとんどの穂で高い発病が認められ、差は認められなかった。このことから追肥時期の違う稲体 (穂) のもみ枯細菌病に対する感受性は同程度であると考えられた。

*現在 鹿児島県川辺農業改良普及所

ジャガイモそうか病に対する生物的防除技術の開発

第1報 クロルピクリン剤処理後の土壤中におけるトリコデルマ属菌の高頻度分離

仲川 晃生*・管 康弘・迎田 幸博
(長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場)

長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場内のクロルピクリン剤処理土壤中の糸状菌数をローズベンガル培地を用いた平板希釈法で調査すると、クロルピクリン剤処理により分離総数は低減するものの、分離されてくる糸状菌の中に占めるトリコデルマ属菌の分離頻度が、処理後約4ヶ月の土壤中で対照無処理区土壤が0.1%前後に対し、21.0%と高くその大半が *Trichoderma harzianum* であることが観察された。このことは、クロルピクリン剤の処理濃度を1/10常用処理量である3ℓ/10aとしても同様な結果を得た。トリコデルマ属菌は多くの糸状菌に対し拮抗的な作用を示すことが知られ、また、植物の生育促進効果を有することも知られていることから、トリコデルマ属菌を用いたジャガイモそうか病の生物防除効果について検討した。クロルピクリン剤処理土壤から分離

した菌株を含め5種12菌株を使い、ガラス室条件下でジャガイモ品種ニシユタカを、そうか病汚染土壌を詰めた径17cmのビニールポットに植え付けて試験を行った。トリコデルマ属菌はPSA培地で10日間培養し、殺菌水を加えて得た胞子浮遊液(1×10⁷spors/ml)を5ml/ポットの割合で加えた。この結果、そうか病防除効果は菌株により異なるものの、*T.harzianum*、*T.virens*等の中に高い防除効果を有す菌株があった。次いで、ふすま・パーミキュライト培地で20日間培養したトリコデルマ属菌を、春作露地栽培条件下でジャガイモの植え溝に200g/mの割合で施用し、防除効果を調べた結果、*T.harzianum*(菌株RT9102S、T9141N、いずれも中国農試分離菌)および*T.virens*(菌株G2、出光興産分離菌)菌の防除効果が良く、防除価は菌株RT9102Sで90.1、菌株T9141Nで91.5、菌株G2で93.0と高い値を示した。一方、トリコデルマ属菌の処理がジャガイモの茎長、茎葉重および収量に及ぼす影響は無処理区と差がなく、ジャガイモの生育促進に及ぼす効果は判然としなかった。

*現在 農業研究センター

ジャガイモそうか病防除有機資材投入後の土壤微生物相の変化

尾松 直志¹⁾・鳥越 博明¹⁾・外菌 幸夫²⁾

¹⁾ 鹿児島県農業試験場大島支場

²⁾ 鹿児島県沖永良部農業改良普及所)

奄美群島のジャガイモは、沖永良部島や徳之島で1,000ha余り栽培されているが、他産地と同様そうか病が発生し問題となっている。一方、奄美群島の土壌は降雨後数日はほ場作業が困難な粘質な琉球石灰岩土壌が多く、そうか病に有効なクロルピクリンによる土壌消毒と種いも消毒の併用による防除が行われていない。そこで、近年そうか病の抑制効果が報告されている有機資材を用い、奄美群島の土壌における有機資材投入効果および投入後の土壤微生物相の調査を行った。和泊町のそうか病発現地ほ場で、大豆タンパク質300kg/10aと米ぬか300k/10aを用い、1998年11月2日に手散布で資材をまき、耕耘・定植後、無マルチで栽培した。2月16日に各区5mずつ3ヶ所から収穫し、病斑型別に発病面積を調査し発病度を算出した。発病面積程度は0:無発病, 1:1%未満, 2:2~10%, 3:11~25%, 4:26~50%, 5:51%以上とした。その結果、発病度は無処理62.7、大豆タンパク質施用区38.6、米ぬか施用区34.2と資材投入により発病を抑制した。なお、これまで有機資材投入によるそうか病の抑制効果は土壌pHの低下によるとさ

れているが、今回試験では各処理間での土壌pHの差は認められなかった。また、収穫期に土壌中の総菌数を調査したところ、無処理区に対し、大豆タンパク質施用区では約4倍、米ぬか施用区でも約2.5倍に増加し、特に放線菌数が増加した。さらに、放線菌群の中に大豆タンパク質施用区では対無処理比で5倍、米ぬか施用区では2倍の拮抗性を示す菌株が含まれていた。今後、増加した放線菌群の中のそうか病菌の割合等について検討する予定である。

輪作圃場におけるサトイモ萎凋病菌および非病原性 *Fusarium oxysporum* の密度

西村 範夫

(野菜・茶業試験所久留米支場)

1986~1988年にサトイモ萎凋病が発生した農家の18圃場において、各圃場1ヶ所の畦上に5mの調査位置を設定した。1987~1992、1998年の冬春期にそれぞれ10ヶ所の表層10cmから採土し、改変駒田培地で*F.oxysporum*を分離し、密度を測定した。また1991、1992、1998年には菌糸和合法(vegetative compatibility)により病原菌と非病原菌を識別して密度を測定した。*F.oxysporum*密度は発病翌年で3,100~36,000cfu/g乾土(以下単位は省略)であった。発病により高くなった密度は2、3年低下した後に増減し、最高密度は22,000であった。*F.oxysporum*の増殖事例はラッキョウ圃場で得られた。1988年4月に5,800、9月に4,400、1989年2月に21,000、4月に17,000であり、種ラッキョウ収穫前後から地温が低下するまでに増殖したと推察された。メチルプロマイド剤で土壌消毒された2圃場では700と3,100に低下した*F.oxysporum*密度は次年度以降に高くなり、また病原菌密度はそれぞれ4年後と2年後の1991年に9,600と8,700に増殖した。サトイモ以外の作物が7~10年栽培された8圃場を1998年に調査した結果、病原菌密度は920~3,800であった。一方、1991と1992年の調査結果から非病原菌密度の推移を調べたところ、発病1~6年後の非病原菌密度はほぼ同等であった。また、1992年に未発病圃場の任意の10ヶ所から採土し、病原菌の有無を調査した。本病多発地域内にある未発病のサトイモ4圃場の内の3圃場と2~3Km離れた地域の3圃場の内の1圃場で、病原菌が分離された。以上の結果、本病病原菌は非宿主の輪作圃場で密度が増減する、発病後10年経過しても消滅しない、多発地域では未発生の圃場にも病原菌が息息する、並びに非病原菌密度は発病の影響を受けないことが明らかになった。

福岡県における *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭疽病の発生消長

池田 哲也*・平嶋 隆祥**・國武 孝浩
河口 道功***・草野 成夫

(福岡県病害虫防除所)

平成3年に長崎県で初発生した *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭疽病は、本県では平成9年に初確認されたが、10年秋においては本ほ定植後も県南地域を中心に、これまで発生がなかった果実でも多発病し大きな被害をもたらした。さらに冬季から春先にかけて再び多発が懸念されたので、本病の発生消長を明らかにするため、県内8ヵ所の現地ほ場で発病部位毎の調査を平成10年12月から11年12月にわたり定期的に行った。

10年12月以降から収穫終了時までの本ほでの調査では、新たな発病はほとんど認められなかった。ただし、黄化した下葉の黒変部や下葉の葉柄基部から本病原菌が多く検出された。11年における親株床での初発は4月中下旬頃であり、その後、発病部位の摘除と薬剤防除を実施しても、親株・育苗床とも発病の進展を抑えることができなかった。しかし、本ほでは、9月末からビニル被覆までの降雨が少なかったため、ほとんど果実の発病は確認されず、葉身や葉柄部等についても下位に古い病斑を認めたものの新たな発病は少なかった。多発生した10年は、9月末から降雨が続き、ビニル被覆直前の10月17日には台風が襲来した。さらに発病が多かった本県の作型では、出蕾、開花時期ともに早かった。このことから、10年に特異的に発生した果実での発病は、9月末から10月の降雨により発病部位から分生子が飛散し果実に感染、発病したことが考えられる。今後も、10年のような発病条件が整うと果実で多発病することが予想される。そのため、早期のビニル被覆と親株床における予防散布、発病株の早期発見に努め、本ほへの感染・発病株の持込を防ぐことが重要である。

*現在 甘木農林事務所

**現在 築上農業改良普及センター

***現在 久留米農業改良普及センター

カンキツ褐色腐敗病に関与する疫病菌とその防除薬剤

田代 暢哉¹⁾・植松 清次²⁾・松崎 正文³⁾
井手 洋一¹⁾・衛藤 友紀¹⁾

¹⁾ 佐賀県果樹試験場・²⁾ 千葉県暖地園芸試験場

³⁾ 佐賀県農業試験研究センター)

1999年9月、佐賀県で極早生温州ミカンを中心に多発生した褐色腐敗病は、罹病果実が樹上にとどまりやすく、果実表面に多量の遊走子のうが形成され、その後、ミイラ状に乾固する点で従来の記載とは異なっていた。県内7園地の罹病果実からの分離菌は、PDA, CMA, V 8 A 上で遊走子のう、厚膜胞子を形成し、遊走子のうは間接発芽することから *Phytophthora* 属菌と判断された。温州ミカン、ネーブルの果実に無傷接種で原病徴を再現し、病斑上に多量の遊走子のうを形成した。菌そうは星状型で、遊走子のうはやや顕著～顕著な乳頭突起を有し、倒洋梨形～卵形で、大きさ(平均値)は $50 \times 28 \mu\text{m}$ 、L/B = 1.7で、水中で容易に脱落し、脱落痕は $5 \mu\text{m}$ 以下と短い。厚膜胞子の大きさ(平均値)は $28 \mu\text{m}$ 。12～34℃で生育し、最適は30℃～32℃。以上から、本菌は既知のカンキツ褐色腐敗病菌 *P. citrophthora* とは明らかに異なり、*P. palmivora* に類似しているが、有性器官は調査中であり、種名については *Phytophthora* sp. とするにとどめる。次に、本病に対して保護効果に優れる薬剤を選抜するために温州ミカン果実を用いた室内スクリーニングを行った結果、水酸化第2銅水和剤や銅・メタラキシル水和剤などの無機銅剤およびその混合剤が高い発病抑制効果を示した。一般にそう菌類に優れた効果を示すフェニルアマイド系剤等を含む薬剤の効果は銅剤との混合剤を除いて不十分であった。さらに、これらの薬剤についてほ場試験を行った結果、無機銅剤およびその混合剤の残効は他剤に比べて長いことが明らかになった。

イチジク株枯病菌を媒介するアイノキクイムシおよび *Poecilips* sp. に対する有効薬剤の探索

梶谷 裕二・山中 正博

(福岡県農業総合試験場)

アイノキクイムシとキクイムシ *Poecilips* sp. はイチジク株枯病の病斑部に穿孔し、かつ虫体に株枯病菌を保持していることから、本病の媒介虫である可能性が高い。そこで、株枯病の感染防止対策を確立するために、キク

クイムシに対して効果の高い薬剤を探索した。所定の濃度に滅菌水で希釈した6種類の薬剤にイチジク主枝の切片(直径40~50mm×厚さ10mm)を30秒間浸漬し、風乾後、滅菌濾紙を敷いた90mmのシャーレ内に静置した。直ちに供試虫をシャーレ内の切片上に10~20頭放飼後、23℃に保持した。放飼2日後に死虫数を調査し、abbottの式により補正死虫率を算出した。その結果、アイノキクイムシに対して効果が高かった薬剤(補正死虫率80%以上)は、スミチオン水和剤1,000倍、スプラサイド水和剤1,000倍およびアディオ乳剤200倍であった。これに対して、モスピラン水溶剤は200倍でも効果がなかった(同0%)。次に、*Poecilips* sp. に対して同様に調査したところ、アイノキクイムシ同様、スミチオン水和剤の1,000~20,000倍、スプラサイド水和剤の1,000~10,000倍およびアディオ乳剤200倍の効果が高かった。また、*Poecilips* sp. を供試して薬剤処理3日後の殺虫効果を調査したところ、スミチオン水和剤1,000倍および5,000倍とスプラサイド水和剤1,000倍の効果が高かった。これに対して、薬剤処理直後では高い効果が認められたアディオ乳剤の200倍は効果がほとんど認められなかった。(同11.1%)。今後、野外において、室内で効果が認められた上記薬剤を供試し、株枯病感性防止のための処理時期および処理方法について検討する予定である。

沖縄県と熊本県で分離したジャガイモYウイルス塊茎えそ分離株の遺伝子解析

瀬戸口裕美¹⁾・大島 一里¹⁾・仲川 晃生²⁾*

¹⁾ 佐賀大学

²⁾ 長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場)

九州の長崎県や鹿児島県でジャガイモ塊茎えそ病(PTND)が発生しており、ジャガイモYウイルス(PVY)えそ系統(PVY^N)のPVY塊茎えそ(PVY^{TN})分離株が病原であることを既に報告した(平石ら, 1998; 大島ら, 1998)。最近、沖縄県や熊本県でもPTNDの発生が認められたので、両県から罹病ジャガイモ塊茎を採集後、PVY^{TN}分離株のゲノム一部の領域の塩基配列を決定し、今日まで報告されているPVYと分子系統学的に比較した。即ち、沖縄県のPVY^{TN}分離株(TNOK102およびTNOK104)、熊本県のPVY^{TN}分離株(TNK110)を *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc で増殖後、それらの感染葉から全核酸を抽出した。その後、逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応法を用いてPVY^{TN}分離株の5'非翻訳領域およびP1遺伝子を含んだ5'末端領域、外皮タンパク質(CP)遺伝子および3'非翻訳領域を含

んだ3'末端領域のcDNAを増幅し、pBluescript SK⁺にクローニングした。最低3クローンについて塩基配列を決定し、それらのP1およびCP遺伝子の塩基配列と諸外国及び本邦のPVY⁰(普通系統)、PVY^NおよびPVY^{TN}分離株の塩基配列を合わせて、PHYLPの近隣結合法を用いて分子系統樹を作成した。その結果、沖縄県および熊本県から採集した分離株は、P1およびCP遺伝子ともに既に報告されている長崎県、鹿児島県で分離したPVY^{TN}分離株と塩基配列で高い相同性を示し、P1およびCP遺伝子の系統樹において、PVY^Nグループに含まれた。

*現在 農業研究センター

福岡県におけるトマト黄化葉巻病の発生

草野 成夫¹⁾・池田 哲也¹⁾*

國武 孝浩¹⁾・河口 道功¹⁾**

石井 貴明²⁾・平嶋 隆祥¹⁾***

⁽¹⁾ 福岡県病害虫防除所・⁽²⁾ 福岡農試験

福岡県の県南部において、トマト黄化葉巻ウイルス(TYLCV)感染によると考えられるトマト(品種: JT60)の萎縮や黄化症状を呈する株が発生した。そこで、本県における発生状況を明らかにするため、PCR法利用のためにプライマーとしてTYLCV静岡株の塩基配列より4種類、核酸抽出法として3種類の方法について検討を行った。その結果、プライマーは、どの組み合わせにおいてもTYLCVに特有のバンドが増幅された。また、簡易な抽出法としては、抽出液としてCTABを利用し、その後クロロホルム・イソアミルアルコールで核酸を分離する方法が優れていた。本手法により県内のトマト産地での罹病状況を調査した。肉眼で明確に病徴が分かる株も含めて約200サンプルの検定を行ったところ、トマト黄化葉巻病は、本県の主要品種である'ハウス桃太郎'でも発生していることが明らかとなった。また、県外から苗を購入したミニトマトからもTYLCVが検出された。本病の発生は、トマト栽培農家のうちの8.6%であり、ごく一部のほ場で50%以上の罹病率であるが、その他のほ場は、5~0.01%であった。また、病徴等から、静岡県で発生しているTYLCVとは異なる系統であると考えられた。以上のことから、本病害は、①県南部に集中している。②県外から入れた苗で発生している。③発生確認時期から考えて、シルバーリーフコナジラミの媒介による伝搬が行われた。④本ウイルス感染による被害は大きい等のことが判明した。

*現在 甘木農林事務所

**現在 久留米農業改良普及センター

***現在 築上農業改良普及センター

長崎県におけるトマト黄化葉巻病の発生状況

道添 英昭^{1)*}・内川 敬介²⁾・大貫 正俊³⁾
 平田 憲二¹⁾・難波 信行¹⁾・小川 哲治¹⁾
 早川栄一郎⁴⁾

(¹⁾ 長崎県病害虫防除所・²⁾ 長崎県総合農林試験場

³⁾ 九州農業試験場・⁴⁾ 長崎県農業技術課)

トマト黄化葉巻病は、Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) により引き起こされるウイルス病で、長崎県では1996年大村市において発生が確認された。その後、発生が拡大し、1998年に佐世保市、1999年に琴海町、諫早市、森山町、島原市、国見町、有家町、川棚町の計4市5町で発生が確認され、現在も発生地は拡大傾向にある。1996年以降発生地での発生および被害状況調査、栽培状況の聞き取り調査を行った。被害状況を調査した結果、大玉トマトとミニトマトを比較すると、ミニトマトの方が被害が軽いなどの違いが認められ、静岡県での同様な報告(加藤, 1999)と一致していた。また、8~12月の間での定植期別の発生状況を調査すると、発生圃場率、発生株率ともに8月に定植したトマトが最も被害が大きく、その後定植期が遅くなるにつれ被害程度は軽くなる傾向が認められた。これは病原ウイルスを媒介するシルバーリーフコナジラミの侵入防止を目的とした防虫網設置を8月の高温のため省略したことが影響したものと考えられた。地域ごとの発生状況を調査した結果、発生圃場率では12.5~90.0%、発病株率では0.1~25.2%と地域により差が認められた。聞き取り調査において、各発生地域間でトマト苗のやり取り等が行われていないこと、各発生地で採集した発病株を遺伝子診断した結果、同一系統のウイルスであることが明らかになったことなどから、本県における本病害の発生地拡大は、ウイルスを保毒したシルバーリーフコナジラミの風による飛翔、トマト以外の作物、物、人に付着し、感染・拡散したものが原因であると考えられた。

*現在 長崎県農林部

Solanum toxicarium から分離された *Pepper mild mottle virus* の病原型と外被タンパク質遺伝子配列

新林 友美¹⁾・和田 行央¹⁾・岩井 久¹⁾
 松添 直隆²⁾・荒井 啓¹⁾

(¹⁾ 鹿児島大農・²⁾ 熊本県立大環境共生)

我々は先に、*Solanum toxicarium* から分離された棒状ウイルスを、宿主範囲、血清試験、ならびに外被タンパク質 (CP) コード領域の塩基配列から、*Pepper mild mottle virus* の1系統と同定しており、PMMV-STと命名している。*Capsicum* 属植物に感染する tobamovirus は、ピーマン各種の反応により、P₀, P₁, P_{1.2}, P_{1.2.3}の4つの病原型に分けられており、その反応に基づき、ピーマン側に幾つかの抵抗性遺伝子 (L 遺伝子) が存在することが明らかにされている。そこで PMMV-ST の病原型を調べるためにピーマン8品種への接種試験を行った。その結果、本ウイルスは L⁺, L¹, L³ 遺伝子を持つすべての品種に全身感染した。即ち、L⁺, L¹ 遺伝子を持つ4品種 (土佐じし、土佐ひかり、ししままれ、トサヒメ) ならびにL 遺伝子が不明である京ゆたかには無病徴全身感染し、L³ 遺伝子を持つ3品種 (みはた1号、みはた2号、トサヒメR) には全身えそを引き起こした。よって、PMMV-ST は P_{1.2.3}型に分類された。L 遺伝子抵抗性には CP が関与していることが以前より知られている。そこで、推定された PMMV-ST の CP のアミノ酸配列を、L² 抵抗性遺伝子を打破した系統であるスペイン分離株 (PMMV-S, P_{1.2}型) および千葉分離株 (PMMV-J, P_{1.2}型) と比較したところ、異なっていたのは146番目のグルタミン酸がグリシンに変異している点のみであった。またこのCPの変異は、同じく P_{1.2.3}型である (L³ 抵抗性遺伝子を打破する) イタリア分離株、茨城分離株ならびに高知分離株のいずれとも全く異なっていた。これらの実験結果から、PMMV-ST は、L³ 抵抗性遺伝子を打破する新たな PMMV であることが示唆され、この1アミノ酸の変異が L³ 抵抗性遺伝子の打破に関与するものと考えられた。

RT-PCR によるカンキツからの温州萎縮ウイルスの検出

下村 克巳¹⁾・岩波 徹²⁾
 加納 健²⁾・家城 洋之²⁾

(¹⁾ 福岡県農業総合試験場果樹苗木分場・²⁾ 果樹試験場)

温州萎縮病は、わが国の主要なカンキツである温州ミ

カンにおいて、樹勢や収量の低下を招く重要病害である。本病は、温州萎縮ウイルス (SDV) によって引き起こされ、その伝染様式は、接ぎ木や汁液による他、土壌伝染するとされている。しかし、土壌による伝染機構については不明のため、抜本的な対策が確立されていない。したがって、本病防除のためには、ウイルスフリー化とともに、母樹の早期の検定による伝染拡大防止が重要である。本病の検定は、酵素結合抗体法 (ELISA) により可能である。しかし、この手法は、大量のサンプルの検定には適しているものの、サンプル採取時期が限定されるという問題がある。一方、最近の栽培現場では、穂木の採取や接ぎ木の直前に当たる冬季のサンプルの検定に対する要望が増加している。そこで、今回は、ELISA では検出が困難な、冬季のサンプルからの SDV 検出のために、RT-PCR の適用を試みた。検出用プライマーは、SDV の強毒系統 SDV-58 の塩基配列を基に設計し、その中から、検出感度の高い 4 つのプライマーペアを選抜した。さらに、その 4 つのプライマーペアと、SDV およびその近縁ウイルスであるカンキツモザイクウイルス (CiMV) に罹病したカンキツの旧葉から抽出した全核酸を用いて RT-PCR を実施した。その結果、選抜したプライマーペアの内の 1 つは、SDV および CiMV の両方の検出が可能であった。以上のことから、今回設計したプライマーペアを用いた RT-PCR によって、冬季のカンキツサンプルからの SDV 検出が可能であると考えられた。

TYLCV によるトルコギキョウの葉巻症状

内川 敬介¹⁾・大貫 正俊²⁾・田中 俊憲¹⁾
道添 英昭³⁾*・平田 憲二³⁾
難波 信行³⁾・早田 栄一郎⁴⁾

(¹⁾ 長崎県総合農林試験場・²⁾ 九州農業試験場

³⁾ 長崎県病害虫防除所・⁴⁾ 長崎県農林部)

1999年9月、西彼杵郡琴海町において節間の萎縮、葉表を内側にして巻く葉巻症状および葉脈の隆起を呈するトルコギキョウ生育異常株が発生した。また、同年11月には大村市でも同様の症状を示す生育異常株が確認された。この症状はウイルスの病徴であると思われたため、顕著に葉巻症状を示す琴海町および大村市のトルコギキョウを PCR 法により診断した結果、いずれの地域のトルコギキョウ生育異常株も TYLCV に感染していることが確認された。日本では静岡県、愛知県のトマトで確

認されている TYLCV のイスラエル mild isolate と長崎県など北部九州のトマトで確認されている TYLCV イスラエル株の 2 系統があることが報告されている。そこで、大貫ら (1999) の手法により系統の確認を行った結果、トルコギキョウより分離された TYLCV はイスラエル株であることが示唆された。

*現在 長崎県農林部

イタリアのキンセンカから分離したカブモザイクウイルスの遺伝子解析

宮崎 茂樹・富村 健太・大島 一里
(佐賀大学農学部)

イタリアのキンセンカ (*Calendula officinalis*) から採集したカブモザイクウイルス (TuMV) Ca1 分離株のゲノムの全塩基配列を決定し、本邦および諸外国のアブラナ科植物 (*Brassica* 属および *Raphanus* 属植物) から採集した分離株のゲノムと分子系統学的に比較した。さらに、Ca1 分離株の宿主範囲について、主にアブラナ科植物を用いて検討した。既に全塩基配列が決定されている本邦の *Raphanus* 属植物から採集した 5 分離株、本邦の *Brassica* 属植物から採集した 3 分離株、外国の *Brassica* 属植物から採集した 3 分離株の合計 12 分離株の全塩基配列 (富村ら, 1999) と今回決定した Ca1 分離株のゲノムの全塩基配列とを合わせて、タンパク質をコードする遺伝子ごと、ゲノム全領域の塩基配列の分子系統樹を近隣結合法で作成した。その結果、それぞれの遺伝子の系統樹およびゲノム全領域の系統樹において、本邦の *Raphanus* 属植物から採集した分離株から構成される lineage, 本邦および外国の *Brassica* 属植物から採集した分離株から構成される lineage がみられ、Ca1 分離株は単独の lineage を形成した。また、系統樹の位相から、Ca1 分離株は、*Raphanus* 属植物から採集した分離株から構成される lineage に近いものと思われた。Ca1 分離株の宿主範囲を検討すると、キンセンカに葉脈透化症状を示し、カブ、ハクサイ、カラシナ、ダイコンに全身感染した。既に報告されている TuMV 分離株と Ca1 分離株の宿主範囲とを比較した結果、Ca1 分離株は、本邦のダイコンから採集した分離株の病原性と類似していた。以上の結果から、Ca1 分離株は、これまで報告されていない新しい遺伝的特徴を持った分離株であることが明らかとなった。