

## 講演要旨

### 病害の部

#### 現地ほ場調査に基づきいもち病の発生消長と防除対策

江藤 博文・小林 修司・梶原 孝樹  
仲 冽・草野 成夫\*  
(福岡県病害虫防除所)

水稲の主要病害であるいもち病は、育苗期から成熟期まで発生がみられ、その被害の発生がしばしば問題となっている。そこで、当防除所が県下80か所程度の現地ほ場で実施している病害虫発生予察調査でのいもち病の発生消長とその防除対策について検討した。なお、種子の保菌率は、プロッターテスト法による7年間（H5年～H11年）のデータを用いた。その結果、①穂いもちの発病率（8月5半旬～9月5半旬までの最高値）と収穫後の保菌率との間には相関がみられた。②8月2半旬及び5半旬の葉いもちの発病率と穂いもちの発病率（最高値）との間には相関がみられた（ $r^2=0.827^{**}$ ,  $0.733^{**}$ ）。③前年度産の保菌率と葉いもちの発病率との相関は認められなかった。さらに、②の結果により8月2半旬および5半旬の葉いもちの発病率と収穫後の保菌率について検討した。その結果、8月5半旬の葉いもちの発病率と収穫後の保菌率は極めて高い相関が認められた（ $r^2=0.950^{**}$ ）。以上のことから、防除所の発生予察調査での8月5半旬の葉いもちの発病率から、当年度産の保菌状況が推定できると考えられる。この調査は8月5半旬～9月5半旬までの穂いもちを対象とした50株の全穂調査より労力的に簡便であるため、農家段階での活用も可能と考えられる。また、気象要因等により保菌率の比率が増加すると予想される場合には、中生以降の品種を対象に8月5半旬調査後に速報等の情報を提供し、出穂期の基幹防除の徹底や補正防除の実施を呼びかけることにも活用できると考えられる。

\*現在 福岡県農業総合試験場果樹苗木分場

#### JPP-NET版BLSTAMを利用した山口県における葉いもちの発生予測

野崎 匠  
(山口県農業試験場)

山口県の中山間地帯における過去8年間（平成2～9年）の30ほ場における葉いもちの発生ほ場率（各年とも6月6半旬、7月3半旬、7月6半旬、8月3半旬調査）と、6月から7月の葉いもちの発生好適、準好適条件の出現回数との関係を検討して以下の成果を得た。山口県の中山間地帯における葉いもちの全般発生期と考えられる6月6半旬の発生ほ場率は、6月3半旬から4半旬の間の好適条件出現回数の合計値との相関が高く、相関係数は0.858であった。また、過去8年間の発生ほ場率は、6月6半旬の発生ほ場率が7月6半旬まで大きく影響したことから、6月6半旬の発生ほ場率をJPP-NET版BLSTAMで予測することで、葉いもち発生のピークである7月6半旬までの発生ほ場率を推測することができると考えられた。従来は、6月下旬の発生状況調査と1か月気象予報により7月1半旬に7月下旬の発生を予測していたが、本予測方法では、今までより10日程早く（6月21日の段階で）その年の葉いもち発生の多少を推測できると考えられた。また、山口県の中山間地帯における発病急増時期である7月3半旬の発生ほ場率と好適条件一斉出現回数との関係は、6月2半旬から6月6半旬の好適条件一斉出現回数を、案出した読みとり基準に従って計算することにより相関が高くなり、相関係数は0.944であった。このことから7月1日に7月3半旬の葉いもちの発生ほ場率を高い精度で予測できるとともに、上記6月21日の予測を補完または修正できると考えられた。

#### 九州・沖縄地域における水稲奨励品種のいもち病圃場抵抗性

藤田 佳克・平八重一之  
(九州農業試験場\*)

九州・沖縄地域における平成10年度の水稲奨励品種のいもち病圃場抵抗性を明らかにするために、奨励品種の中ので+型（11品種）、Pi-a型（13品種）、Pi-i型（20品種）

ならびに、比較品種として+型では新2号（圃場抵抗性強）、黄金錦（中）、*Pi-a*型ではほまれ錦（強）、キヨニシキ（中）、愛知旭（極弱）、*Pi-i*型ではトドロキワセ（強）、石狩白毛（弱）、イナバワセ（極弱）を供試し、通常の畑晩播法によって発病程度を比較した。試験は1999年と2000年の2回行った。品種の発病程度は1999年と2000年のいずれにおいても概ね類似した傾向を示した。+型品種では2ヶ年とも台中65号、いでゆもちの発病が少なく、強い抵抗性を示した。その他の品種はいずれも発病が多かった。*Pi-i*型品種ではトヨニシキとチヨニシキの発病が少なく、比較的強い抵抗性を示した。玉系94号の発病は、1999年には少なかったが、2000年にはやや多くなり、年次による違いが認められた。その他の品種はいずれの年にも弱い抵抗性を示した。*Pi-i*型品種ではトドロキワセが強い抵抗性を、キヌヒカリ、どんとこいがやや強い抵抗性を示した。普通期水稻のヒノヒカリや早期水稻のコシヒカリのような作付け面積率の高い主要品種には、圃場抵抗性の強い品種は認められなかった。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

### イネいもち病に対する各種薬剤の二次感染阻止効果

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)

佐賀県で使用されている数種薬剤について、出穂期に近い圃場内のイネを稈型の発泡スチロール（縦、横、高さ1 m）で囲って、イネいもち病に対する二次感染阻止効果を検討するとともに、分生子の形成および飛散状況を調査し、本効果をもたらす要因について解析した。トリシクラゾール水和剤20%および8%，トリシクラゾール・フェリムゾン水和剤，フェリムゾン・フサライド水和剤は、圃場において高い二次感染阻止効果を示した。トリシクラゾール・フェリムゾン水和剤，フェリムゾン・フサライド水和剤は、散布6日後までほとんど分生子の形成がみられず、非常に高い効果が持続した。また、これら3剤のいずれを散布しても、分生子は6日間ほとんど飛散せず、分生子の飛散に対する抑制効果が認められた。以上のことから、高い二次感染阻止効果をもたらす要因としてトリシクラゾール・フェリムゾン水和剤，フェリムゾン・フサライド水和剤では分生子の形成阻害と飛散阻止が、また、トリシクラゾール水和剤では主に飛散阻止が大きく働くものと考えられた。高い二次感染阻止効果を示した上記の薬剤は、主に穂いもち対象に使

用されており、少なくとも6日間分生子の飛散をかなり抑制することから、穂いもちの散布適期である穂ばらみから出穂期にかけて広域に散布することで安定した効果が得られるものと考えられた。

### イタリアンライグラスいもち病の発生推移調査と育種用有効薬剤の探索

角田 佳則・福原 宏行・水野 和彦  
藤原 健  
(山口県農業試験場)

西南暖地の早播きのイタリアンライグラス栽培圃場では、立枯症の発生が問題となっている。イタリアンライグラスいもち病が、播種後早い時期に感染すると立枯症を引き起こすことは知られているが、関与の程度や発生条件については報告がない。そこで、1997年から2000年までの4年間、圃場における自然感染条件下での発病について調査した。また、育種現場で用いるための防除薬剤についてスクリーニングを行った。圃場で「ミナミアオバ」等4品種を、8月中旬から10月中旬まで約2週間おきに播種時期を変えて栽培し調査を実施した。立枯症発生株から分離される糸状菌と立枯率との関係を解析した結果、最も多く分離されたのはピシウム属菌であったが、立枯症の発生率と最も相関が高かったのはいもち病菌であった。気象要素との関係では、播種1か月後の圃場における立枯症の発生は気温との相関が高く、中でも播種4日後から13日後までの10日間の最低気温との相関が高かった。品種では「ミナミアオバ」における立枯率といもち病菌検出率との相関係数が0.727と最も高く、立枯症におけるいもち病菌の関与の程度に品種間差が存在すると考えられた。立枯症の発生は、最低気温及び平均気温が上昇するほど増加するが、最高気温が30℃以上になると減少し、この傾向はいもち病菌の伸長速度と一致した。立枯症の発生、葉いもちの発生とも、播種時期の平均気温が20℃付近まで低下すると減少した。また、育種目的に使用する防除薬剤の探索を行った結果、供試した17薬剤のうち、イタリアンライグラスいもち病に対して安定した効果を示し、冠さび病の検定試験に影響しない薬剤としては、予防効果に優れる剤としてトリシクラゾールゾルとフェリムゾン・フサライドフロアブルが、治療効果の比較的高い剤としてフェリムゾン・フサライドフロアブルが有効と考えられた。これらの薬剤についてはいずれも薬害は認められなかった。

## 沖縄県で発生したジャガイモ青枯病の発 生生態

大城 篤・田場 聡・高江洲和子  
(沖縄県農業試験場)

沖縄県におけるジャガイモ青枯病の発生生態を解明することを目的として、青枯病発生率の推移と気象条件との関係、青枯病菌生理型の分布状況、および前作作物の種類と青枯病発生率の推移との関係について、現地圃場における調査を行った。その結果、種いも植付後30日間における日平均気温の積算値が637℃以上、日平均気温が21.2℃以上で経過した場合、植付後60日目には青枯病が多発する傾向がみられた。また、青枯病菌の生理型には、低温に適應した系統である biovar II と高温に適應した系統である biovar IV の存在が知られている。沖縄県における青枯病菌の生理型を調査した結果、ジャガイモの栽培年数がある程度経過すると、高温に適應した系統である biovar IV が分離される頻度が高くなる傾向がみられた。一般に、青枯病菌はウリ科、イネ科およびマメ科作物の圃場では増殖しにくいといわれている。そこで、ジャガイモの前作にマメ科作物であるラッカセイとダイズを栽培し、後作でジャガイモを栽培した場合の青枯病の発生推移を調査した。その結果、ダイズ前作区および前作なしの対照区に比較して、ラッカセイ前作区では土壤中における青枯病菌密度が高くなり、青枯病の発生率も高くなる傾向がみられた。したがって、沖縄県のジャガイモ生産地域では、前作としてのラッカセイ栽培には注意を要することが明らかとなった。

## 抉芽浸漬接種法によるジャガイモ青枯病 抵抗性検定法の開発 (予報)

菅 康弘\*

(長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場)

ジャガイモ品種・系統の簡便で迅速な青枯病抵抗性検定法として抉芽浸漬法を適用する場合の接種菌濃度と温度条件について検討した。ジャガイモ半合成培地で培養したジャガイモ青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) AA3114株の菌体を、滅菌水で $10^5$ 、 $10^6$ および $10^7$ cfu/ml に調整し、ジャガイモ品種デジマおよびアノアカの抉芽に浸漬接種した。接種した抉芽は50穴のセル成形トレーに植付け、28℃および23℃の人工気象器内で管理し、青枯病の発病を約1ヶ月間にわたり経時的に調査した。その結果、接種菌濃度 $10^3$ および $10^7$ cfu/ml 区の場合には、温度28℃では出芽前の抉芽いも腐敗が多い上に発病も激

しく、供試2品種間で抵抗性の差異は観察されなかったものの、23℃では不出芽株率が総じて低く2品種間の発病株率に有意な差が認められた。また、 $10^6$ cfu/ml 区は温度28℃および23℃ともに発病が少なく、供試2品種間に発病の差異は認められなかった。以上の結果から、本法を用いてジャガイモ青枯病に対する抵抗性を検討する場合には、接種菌濃度を $10^5$ ~ $10^7$ cfu/ml 程度とし、温度23℃で生育させる条件が適当と考えられ、抵抗性の強弱は接種後1ヶ月程度で判定可能であると推察された。現在、汚染圃場を用いた検定結果と比較するため、抵抗性程度が既知のジャガイモ品種・系統について、上記条件での試験を実施中である。

\*現在 長崎県島原農業改良普及センター

## *Solanum toxicarium* の茎組織内にお ける青枯病細菌の動態

栗間 信行・岩井 久・荒井 啓  
(鹿児島大学農学部)

*Ralstonia solanacearum* の懸濁液 ( $10^8$ cfu/ml) に木綿針を浸し、トマトおよび *Solanum toxicarium* の地際より5cmの部位に刺針接種した後、細菌の移行と増殖を選択培地を用いたスタンプ法および希釈平板法で、組織内での細菌の挙動を透過型電子顕微鏡で、それぞれ調査した。*S. toxicarium* では、接種後1日目に接種部分の上位5cmの部位から細菌が再分離され、接種後日数が経つにつれ、さらに上位でも細菌が検出された。しかし、細菌の移行距離は短く、接種後12日目でも上位10cmまでの検出にとどまった。また、分離細菌数については、接種7、12日目に上位10cmの部位で茎組織1g当たりそれぞれ $10^3$ 、 $10^4$ cfuの細菌が分離された。接種部位ではそれぞれ $10^6$ 、 $10^7$ と、*S. toxicarium* 体内での細菌の増殖が認められた。トマトでは、接種後3日目で上位10cmの部位まで細菌は移行しており、7日目では25cm上位の部位に達していた。分離細菌数はいずれの部位でも *S. toxicarium* より多かった。*S. toxicarium* の電顕観察の結果、細菌が分離された部位の導管内に細菌が定着している様子が観察された。しかし、トマトと比べると定着した細菌数は明らかに少なかった。接種後12日目の *S. toxicarium* の二次木部導管内に認められた一部の細菌で、外形の異常や細胞質の電子密度の低下が認められ、細菌細胞の変性が示唆された。このような細菌が認められた導管に隣接した宿主の柔組織細胞では原形質分離を伴った細胞の変性や細胞壁の肥厚、高電子密度物質の集積等が顕著に認められた。以上の結果より、*S.*

*toxicarium* では病原細菌の移行と増殖が感受性植物に比べ抑制されることが明らかになり、宿主組織の変性は抵抗反応の結果生じたものであると推察された。

### トマトかいよう病菌のPCRによる検出

草野 成夫\*・吉永 文浩・中堀 裕二  
國武 孝浩  
(福岡県病害虫防除所)

平成11年11月から12年5月にかけて福岡県下の多くのトマト栽培ほ場でかいよう病が発生した。これに対処する過程で、多量の検体から迅速に本病原細菌を同定できるピオチン・アビジンシステムによるELISA法を開発し、前回報告した。しかし、抗原抗体反応による手法では、近縁細菌と非特異的の反応をすとの報告があるため、より正確な同定法としてPCRによる検出法を検討した。プライマーには病原性に関与するプラスミド領域を増幅するものを使用した。かいよう病細菌懸濁液を直接PCRに供試した場合、検出限界値は $10^2$ cfu/mlであった。また、 $10^8$ cfu/mlのかいよう病細菌懸濁液に同等濃度の*Erwinia*属菌や*Agrobacterium*属菌を1:99の割合で混合してもかいよう病細菌の検出が可能であった。罹病植物体から検出する際の核酸抽出法としてCTAB法とフェノール法を比較したが、いずれも有効であった。また、遠心分離した果汁の上清を直接PCRに用いれば、罹病果実からのかいよう病細菌の検出が可能であった。しかし、植物体基部にかいよう病細菌を接種し、1週間後に病徴が現われていないトマト葉を試料として用いるとELISAでは検出できたが、PCRでは不安定であった。この原因は不明である。今後は、簡易な抽出法を検討する予定である。

\*現在 福岡県農業総合試験場果樹苗木分場

### 施設栽培におけるシソ斑点病菌分生子の飛散

狭間 渉・吉松 英明  
(大分県農業技術センター)

グリセリン膠塗布スライドガラスを静置または回転式孢子採集器に装着し、シソの施設栽培圃場内におけるシソ斑点病菌分生子の飛散状況を採集器設置位置および高さ別、昼夜別および時間帯別に調査した。併せて、分生子飛散と施設内の気象要因および発病推移との関係について検討した。分生子飛散は、同一地点で設置高を変えた場合、地上180cmでは少なく、120cm、60cmと下位

になるほど多くなる傾向にあった。同一施設内では、畝間よりうっべいした株内の方が飛散数が多かった。斑点病発病盛期の1週間にわたって、昼夜別に分生子飛散数を調べた結果、1日当たり飛散数の76~99%、1週間の累計で97%が昼間(午前6時~午後6時)に集中していた。飛散推移を時間帯別に見ると、天候に関わりなく、正午前後2時間で1日当たり飛散数の大部分を占め、正午前後をピークとする日周期性がみられた。回転式孢子採集器は静置式孢子採集器に比べ、分生子の採集効率が10倍以上高かった。分生子の飛散数は前日~2日前の湿度条件(最低湿度、95%以上湿度連続時間、99%湿度累積時間)との間に相関( $r^2=0.3257\sim0.5196$ )が認められた。発病と、前日~5日前までの1日単位の分生子飛散数との関係について検討した結果、3日前の飛散数と当該日の発病葉率との間に $r^2=0.7264$ の高い相関が認められた。また、発病と施設内各種気象要因との関係について、同様に前日~5日前まで各一日単位で検討した結果、最高気温、最低気温、平均気温との相関は低く、4日前の各湿度条件との間の相関が $r^2=0.4412\sim0.5287$ と最も高かった。発病葉率と病斑数とは $r^2=0.9938$ と極めて高い相関があることから、分生子飛散の絶対数と分生子の感染効率を把握すれば、回転式孢子採集器の日別採集数から発病葉率の推定が可能であると考えられた。

### 熱水のマルチ畦内処理によるメロンつる割病とネコブセンチュウの同時防除

西 和文・並木 史郎・佐野 善一  
(九州農業試験場\*)

熱水土壤消毒では、熱水注入に要する時間の短縮が大きな課題とされている。著者らは、作畦後に熱水土壤消毒を実施する、いわゆるマルチ畦内処理によって熱水土壤消毒の効率化が図れると考え、検討を行った。マルチ畦内処理では、防除効果に加え、畦内が均一に消毒されること、消毒後も畦の形状に変化がないこと、土壤の硬化や土壤水分により作物の生育に影響されないこと、施用された肥料を作物が有効に利用できること、作物に生育障害が生じないこと等の条件が必要となる。今回は畦内の温度分布と消毒効果の均一性、畦の形状維持およびマルチ内処理によるメロンつる割病とネコブセンチュウの防除効果について報告する。作畦後の熱水土壤消毒においては、畦中央部よりも肩部の温度上昇がやや劣る傾向にあり、消毒効果を知るための目安として埋設した白絹病菌(*Sclerotium rolfsii*)も、同一深度では畦中央部よりも肩部での生存率が高かった。したがって、作畦後

の熱水土壤消毒では畦肩部の消毒効果を高めるために、熱水注入量を増加させたり太陽熱消毒との併用を図るなどの手段を講ずることが望ましいと考えられた。注入された熱水の移動に伴う畦肩部の崩壊は、熱水注入量を浸透量と釣り合いがとれるように調節することで防止可能であった。熱水のマルチ畦内処理の後に定植したメロンは、つる割病による黄化株が20%で、無処理区の68%と比較して低く、根こぶ指数も熱水のマルチ畦内処理区が0.27であったのに対し、無処理区は1.13と高く、収量は無処理区の2.4倍であった。以上の結果と、すでに報告した土壤の硬化程度および作物の生育への影響に関する調査結果（西ら、2000）を考え合わせると、熱水のマルチ畦内処理によりメロンつる割病とネコブセンチュウの同時防除が可能であると考えられる。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

### 熱水土壤消毒法の処理時期が土壤成分およびネコブセンチュウ、メロン黒点根腐病防除に及ぼす影響

森山 美穂\*・横山 威・松森 信  
郡司掛則昭

(熊本県農業研究センター農産園芸研究所)

臭化メチル代替技術の一つと期待される熱水土壤消毒法の効果的かつ実用的な技術を確立するために、メロン黒点根腐病およびネコブセンチュウ防除を対象に熱水土壤消毒の処理時期および処理量について検討した。また、熱水の土壤への注入による作物への影響および土質や土壤成分への影響についても検討した。ネコブセンチュウと黒点根腐病が混発している圃場で、100l/m<sup>2</sup>および200l/m<sup>2</sup>の熱水を、それぞれ畝立て前および畝立て後に処理した。その結果、ネコブセンチュウに対しては、いずれの処理条件でも根部における根こぶ付着率は0%であり、熱水土壤消毒により、高い防除効果が認められた。黒点根腐病に対しては、いずれの処理条件でも収穫前の萎凋・枯死株は71.4%~100%であった。また、収穫後の根部調査では、無処理区の子のう殻形成率が100%であったのに対し、いずれの処理条件でも子のう殻形成率は無処理区より低く、本法による黒点根腐病に対する防除効果が認められ、ネコブセンチュウとの同時防除の可能性が示唆された。さらに、熱水注入量100l/m<sup>2</sup>よりも200l/m<sup>2</sup>の方が、畝立て前よりも畝立て後の方が黒点根腐病による子のう殻形成株率は低かった。特に、畝立て後の熱水200l/m<sup>2</sup>注入処理は、子のう殻形成株率が5.3%と最も低く、ネコブセンチュウと黒点根

腐病の同時防除における効果的かつ実用的処理条件であると考えられた。なお、土壤への熱水の注入により、pHが上昇し、ECおよび土壤上層の硝酸態窒素が低下する傾向が認められたものの、メロンの生育、収量に及ぼす影響は全く認められなかった。

\*現在 熊本県農政部

### 土壤病害虫防除のための臭化メチル代替技術の開発 2. ヨウ化メチル剤を用いた冬春作メロンの黒点根腐病の防除

川越 洋二・今村 幸久・三浦 猛夫  
(宮崎県総合農業試験場)

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、冬春作メロンの黒点根腐病に対する防除効果を検討した。区の面積はヨウ化メチル区と対照の臭化メチル区が20m<sup>2</sup>、無処理区が15m<sup>2</sup>で試験した。2000年1月21日にヨウ化メチル区はプラスチックケースに30kg/10a相当量のヨウ化メチルが注入してある缶を区の中心部に置いた。対照の臭化メチル区は、30kg/10a相当量を区の中心部に配布した。両区とも処理区全面を厚さ0.1mmのポリエチレンフィルムでトンネル被覆した後、処理した。処理日から12日後に被覆を除去し、さらに13日後の2月15日に定植した。その結果、定植後92日後のメロン収穫時には無処理区では88.8%が萎凋したのに対し、ヨウ化メチル区の萎凋株率は2.7%と萎凋を抑えていた。収穫時に根の褐変を調査すると、無処理区では根の褐変度が88.0であったのに対しヨウ化メチル区では10.1、臭化メチル区では7.9であり、防除価はそれぞれ88.4および91.0であった。果実の重量および糖度ともにヨウ化メチル区は臭化メチル区と同程度であった。以上の結果から、メロン黒点根腐病に対し、ヨウ化メチル30kg/10aの冬季処理は臭化メチルの同量同時期処理と同等の高い防除効果があると考えられた。ヨウ化メチルのガス濃度は処理位置の深さ15cmで処理12日後には0ppmとなり、臭化メチルのガス濃度の推移とほぼ同様であった。本試験では、ヨウ化メチル処理後25日目に定植したが、筆者が第1報で報告した下位葉の5枚~7枚に葉縁が焼ける様な症状は見られなかった。処理後から定植までの期間についてはさらに検討が必要である。

## ショウガ圃場での根茎腐敗病および雑草 防除における臭化メチル代替技術の検討

織田 拓\*

(長崎県総合農林試験場)

臭化メチルの2005年全廃が決定され、ショウガの病害虫防除においても代替技術の開発が求められている。そこで、ショウガ圃場での各種薬剤による根茎腐敗病および雑草に対する防除効果について検討した。3月17日にカーバムナトリウム塩液剤(原液40L/10aを3倍希釈)、ダゾメット粉粒剤(30kg/10a)およびクロルピクリン錠剤(10,000錠/10a)は土壌散布, クロルピクリン・D-Dくん蒸剤(30L/10a)はかん注, 臭化メチル(27kg/10a)は密閉開缶した。処理面積は9~18m<sup>2</sup>で2反復とした。4月12日にガス抜きを行い, 4月24日に定植した。メタラキシル粒剤(30kg/10a)は7月19日に施用した。5月31日に各区0.25m<sup>2</sup>ずつ3カ所で雑草の生育状況を, また, 6月22日から7~10日間隔で根茎腐敗病菌による地上部の病徴を調査した。根茎調査および収穫は11月17日に実施した。その結果, 10月11日の発病株率は, 無処理区で65.3%, カーバムナトリウム塩液剤で0.9%, ダゾメット粉粒剤で1.7%, クロルピクリン・D-Dくん蒸剤で8.1%, クロルピクリン錠剤で35.0%, 臭化メチルで3.4%であった。カーバムナトリウム塩液剤とダゾメット粉粒剤では単独処理および生育期防除との組合せを比較した結果, 地上部の発病は差がなかったが, 11月17日の根茎調査では各土壌消毒剤と生育期防除の組合せの方が発病が少なかった。雑草防除効果はクロルピクリン錠剤がカヤツリグサ類に対して低く, クロルピクリン・D-Dくん蒸剤が同雑草に対して若干低かった。他薬剤は臭化メチルと同等の雑草防除効果を示した。以上の結果, クロルピクリン錠剤以外の供試薬剤で根茎腐敗病および雑草に対して臭化メチルと同等の防除効果が得られ, 土壌消毒後の土壌流入もなかったため臭化メチル代替技術として有効であるものと考えられた。

\*現在 長崎県病害虫防除所

## *Fusarium oxysporum* 硝酸塩代謝能欠 損菌株用の選択培地

西村 範夫

(野菜・茶業試験場久留米支場\*)

5倍以上に希釈した土壌懸濁液から *F. oxysporum* 硝酸塩代謝能欠損菌株 (*nit* 菌) を分離できる選択培地を考案した。本培地は, 蒸留水 1 l に KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g, KCl

0.5g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g, NaNO<sub>3</sub> 2 g, クエン酸水素二アンモニウム 2g, ホウ酸 0.5g, 硝酸エコナゾール 5 または 10mg (ジメチルスルホキシド 0.5ml に溶解), 微量要素液 0.2ml, クロラムフェニコール 0.25g, 寒天 20g を加えて 15 分間 高圧滅菌する。その後, KClO<sub>3</sub> 10g, L ソルボース 20g, イミノクタジン酢酸塩 25% 液剤 0.05ml, トルクロホスメチル 50% 水和剤 1mg を添加し, 培地を 55℃ に下げてから 10% リン酸で pH 3.7~3.9 に調整する。直径 9cm のペトリ皿に 15ml を分注し, 3~5 日間暗所に置き表面を乾燥させて使用する。試料の土壌懸濁液が 10 または 5 倍希釈の場合は, 硝酸エコナゾールを 10mg, イミノクタジン酢酸塩 25% 液剤を 0.4ml とする。微量要素液は蒸留水 95ml にクエン酸 5g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5g, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1g, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.5g, MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.5g, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.05g を加えて高圧滅菌後に冷蔵庫で保存する。6 分化型の *nit* 菌胞子をそれぞれの自然発病土壌懸濁液に加えて分離能力を調べた結果, 10 倍希釈以上の土壌懸濁液 0.5 または 1 ml を試料にした場合, *nit* 菌のみが大コロニーを形成した。5 倍希釈土壌懸濁液 1 ml の場合は, *F. solani* のコロニーが多い 2 土壌で *nit* 菌の識別が難しかったが, 4 土壌では容易であった。培養日数は 25℃ で 5~9 日が適していた。供試菌株に細胞が充実し気中菌糸が豊富なものを使用しないと回収率が低下した。また, 胞子のみの懸濁液を試料にした時に生育しない菌株があったが, これらの菌株も懸濁液に酵母エキス 0.1g/l を添加するとコロニーを形成した。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

## ラオス国野菜栽培の病害虫防除における 自然資材の利用

中園 和年<sup>1)</sup>・Khamvongsa, Thonglo<sup>2)</sup>

筒井 佳壽<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 緑資源公団, <sup>2)</sup> ラオス国ヴィエンチャン県農林部

<sup>3)</sup> 国際協力事業団)

ラオス国ヴィエンチャン県の 5 農村を対象とした国際協力事業団による「農業農村開発計画」事業においては農民の収入増と生活改善のため, 特に雨季における野菜の雨よけ栽培法を導入して大きな成果を収めつつある。しかし, 各種病害虫の発生とその防除が大きな課題となっている。演者らは, 手始めに材料が得やすく費用も少なく済む自然資材の利用によるトマト斑点細菌病の防除試験を行った。供試剤は (1) トウガラシ・ニンニク・焼酎混合希釈液剤, (2) 竹瀝水・木酢液混合希釈液剤および (3) 米醸造酢 50 倍希釈液剤とし, 雨よけ栽培

条件下で育った在来種ミニトマトに対して6~7葉期から1週間ごとに3回、ハンドスプレーによって散布した。供試トマト株数は各薬剤区および無処理対照区ともに7株とし、最終散布後9日目に病気の進展状況（主枝の下葉枯れ上がり数）と果（花）房数を調べた。その結果、枯死葉数（平均）は、無処理対照区が12枚であったのに対し、3種自然農薬散布区ではいずれも3~4枚であり、無処理区との差異が見られた。また無処理対照区ではトマト株の頂葉にも既に斑点細菌病の初期病徴が表れていたが、供試薬剤処理区の病斑は頂葉から2~3枚下の葉に止まっていた。果（花）房数は処理区間で差異はなかった。以上の結果は自然農薬の散布効果についてある程度の可能性を示すものと思われる。

### ナシ黒星病に対する有機銅フロアブルを用いた発芽直前防除の効果とその意義

井手 洋一・田代 暢哉・衛藤 友紀  
(佐賀果樹試験場)

ナシ黒星病に対する発芽直前防除剤として使用されたPCP剤が1970年代前半に水質汚濁性の問題で使用中止となった。以後、代替剤として石灰硫黄合剤7倍や有機銅・マシン油水和剤40倍が用いられてきたが、高価格であること、さらに、1980年代後半には感染後の散布でも防除効果を有するDMI剤（ステロール脱メチル化阻害剤）が使用されるようになり、発芽直前防除は軽視されるようになった。しかし、本病の効率的な防除を行うためには感染を未然に防ぐことが重要であるため、生育期の防除で用いられる保護殺菌剤で、耐性菌発生の可能性が低い有機銅フロアブル800倍を用いた発芽直前防除の効果について検討した。その結果、発芽直前1回の散布で黒星病の発病が著しく抑制されること、有機銅水和剤の発芽直前散布を行ったうえで開花期前後にDMI剤を散布すると、DMI剤のみを用いた場合に比べて防除効果が向上することが明らかになった。また、DMI剤の散布回数を減らせる可能性も示唆された。これらの結果は芽基部鱗片の病斑に形成される分生胞子が第一次伝染源として重要であり、発芽直前防除が重要であることを示している。なお、10aあたり300ℓの量で散布した場合の薬剤費は約1,200円/10aで、石灰硫黄合剤の約1/4、有機銅・マシン油水和剤の約1/6に軽減された。今後は、発芽直前防除の有無による菌の動態を明らかにするとともに、落葉上に形成される子のう胞子の第一次伝染源としての重要性について検討する予定である。

### ナシ白紋羽病の発病樹に対する薬剤および根部風乾処理による治療効果

中尾 茂夫・大隈 恒  
(大分県農業技術センター)

白紋羽病におけるこれまでの発病樹対策は薬剤防除が中心で、その有効性は数多く報告されている。とくに、フルアジナム剤は予防効果と長期残効に由来する卓効性が報告されている。しかし、発病樹の株元土壌を掘り上げ病斑部を処理した後、薬液灌注しながら土壌を埋め戻す現行の方法は、フルアジナム剤でも処理後しばらくすると旧病斑部に菌糸の再発生がみられるケースがあり、治療効果が必ずしも確実でない。そこで、本病対策に苦慮している現地のナシ園を対象に確実な治療効果を上げることがをねらいとして、フルアジナム剤と根部風乾の併用処理を検討した。その結果、発病樹の根部の病斑部が十分露出する程度に周辺土壌を掘り上げ、フルアジナム剤1,000倍を成木1樹当たり約100ℓを株元全体に灌注処理し、そのまま根部風乾を続けることによって、病斑部は菌糸の消失と共に健全化し、かつ根部の新しい発病防止が図られ、発病樹は確実に発病状態から脱し、健全樹へと回復することが明らかになった。また、総じて新根発生および樹勢回復が促されることが明らかになった。なお、根部風乾によって、①病斑部は急速に菌糸が消失し、根は完全に枯死していなければ徐々にカルスが盛り上がり健全化する、②罹病根は健全部分まで露出風乾させておくと、その先がすぐに発病することはない、③発病樹は根部風乾しても風乾前より樹勢が低下することはない、④病斑部は削りすぎると風乾処理しても枯死する、⑤株元の地際部土壌の多湿が防止できることなどが観察された。

### 長崎県のビワにおける *Colletotrichum acutatum* の発生状況

小嶺 正敬<sup>1)</sup>・織田 拓<sup>2)\*</sup>

(<sup>1)</sup> 長崎県果樹試験場、<sup>2)</sup> 長崎県総合農林試験場)

ビワ炭疽病をひきおこす病原菌には *Colletotrichum gloeosporioides* と *C. acutatum* の2種がある。これら2種の菌は、薬剤に対する感受性が異なっていることで知られる。そこで、有効な薬剤を効果的に用いた防除対策を講ずるために、現地の露地ビワ栽培圃場における2種の発生状況を調査した。また、長崎県の一部地域ではビワおよびイチゴの栽培圃場が近接している場合もあるため、ビワおよびイチゴから分離された *C. acutatum* のビ

ワおよびイチゴの両者に対する病原性を調査した。長崎市の露地ビワの腐敗果から1999年(14圃場51菌株)と2000年(16圃場62菌株)に菌を分離し、その形態および菌叢の観察、併せてベノミル1,250ppmとジエトフェンカルブ625ppmに対する感受性も調査し、ベノミル剤添加PDA培地上で無添加に比べ20%以上生育し、かつジエトフェンカルブ添加PDA培地上でも生育した菌を*C. acutatum*と同定した。*C. acutatum*は、1999年には14圃場で50菌株、2000年には16圃場で57菌株が分離されたのに対し、*C. gloeosporioides*は、1999年には1圃場で1菌株、2000年には4圃場で5菌株が分離されたのにとどまった。このことから長崎県の露地ビワにおける炭疽病としては*C. acutatum*が優占種であることが明らかになった。また、ビワおよびイチゴに対する両宿主からの分離菌の病原性を調べるために、イチゴおよびビワから分離された*C. acutatum*の分生子懸濁液を施設栽培ビワの落弁期幼果(長崎早生および福原早生)にそれぞれ噴霧接種し、収穫14日後まで果実内部からの発病の有無を調査した。その結果、イチゴ分離菌の接種区においてもビワに対する発病が確認された。さらに、このビワ発病果から再分離された各宿主由来の*C. acutatum*をイチゴ苗(とよのか)に噴霧接種した結果、*C. acutatum*による炭疽病の症状を示した。したがって、ビワから分離された*C. acutatum*はイチゴに、イチゴから分離された*C. acutatum*はビワにそれぞれ病原性を示すことが確認された。このことから、ビワおよびイチゴの栽培圃場が隣接する地域では発病果、発病株の処分をそれぞれ適切に行う必要があると考えられた。

\*現在 長崎県病害虫防除所

### 中晩生カンキツ‘不知火’の果実腐敗に対するベンズイミダゾール系剤とイミノクタジン酢酸塩剤との混用散布による発病抑制効果の向上

田代 暢哉・井手 洋一・衛藤 友紀  
(佐賀県果樹試験場)

食味に優れることから消費者の支持を得て、一躍人気品種となった中晩生カンキツ‘不知火’であるが、収穫後に腐敗果が多発して問題になっている。腐敗の主な原因は、収穫から出荷までの期間が短い加温および無加温施設栽培では緑かび病、収穫から出荷までに長期間の貯蔵を要する露地栽培では緑かび病と軸腐病である。現在、防腐剤としてイミノクタジン酢酸塩剤が主に使用されているが、緑かび病に対する効果は不安定で、長期貯蔵の

後半に増加する軸腐病には効果を示さない。一方、ベンズイミダゾール系剤は同剤耐性菌が広く分布しているために緑かび病に対する効果は期待できず、最近では使用頻度が少なくなったが、軸腐病には優れた効果を有している。そこで、これらの防腐剤の特徴を生かした防除、すなわち軸腐病に優れた効果を示すベンズイミダゾール系剤と同剤耐性緑かび病菌に対して優れた抗菌活性を示すイミノクタジン酢酸塩剤とを混用散布することによって両病害に対して安定した効果が得られるのではないかと考え、1998年から3か年にわたって試験を実施した。その結果、加温および無加温の各施設栽培並びに露地栽培の各作型において、イミノクタジン酢酸塩液剤2,000倍とベンズイミダゾール系剤であるチオファネートメチル水和剤2,000倍またはベノミル水和剤4,000倍との混用散布によって、それぞれの薬剤を単独で散布した場合に比べ、緑かび病に対する防腐効果が顕著に向上し、軸腐病の発生も極めて少なかった。混用散布のためにコストがかさむという問題はありますが、これまでよりも有効な対策であると考えられた。今後、効果向上機構の解明とともに濃度、散布時期、耐雨性について検討を加え、よりすぐれた防除技術に発展させたいと考えている。

### 奄美群島で発生した宿根アスターうどんこ病とその薬剤防除

尾松 直志・鳥越 博明  
(鹿児島県農業試験場大島支場)

1998年5月に鹿児島県大島郡与論町茶花のハウス栽培宿根アスターにうどんこ症が発生し、その後同様な症状は奄美群島全域で見られるようになった。そこで、本病の病徴と標徴、病原菌の形態および発生消長を調査するとともに、防除薬剤および防除時期の検討を行った。本病は葉裏、表に菌糸を表生し、白色粉状の斑点を形成し、発病が多くなると茎や花柄にまで発生し、発生程度は品種によって異なった。分生子は分生子柄頂部に連鎖状に形成し、無色、単胞、楕円形でフィロシン体は観察されなかった。分生子の大きさは、 $29.6\sim 47.6\times 12.9\sim 21.9\mu\text{m}$ であった。発芽管は乳頭突起状の付着器を形成し、山梨県から報告されている*Erysiphe cichoracearum*型の*Oidium* sp.によるうどんこ病と同一と判断された。鹿児島農試大島支場場内ビニールハウスに罹病性品種「ホワイトキャプテン」を定植し、うどんこ病の発生消長を調査した結果、苗持ち込みがなければ電照打切り時期まで発病株率の増加はみられなかったが、苗持ち込みがある場合は生育初期から急速に進展し、苗持ち込みが



その後の発病に大きく影響することがうかがえた。防除薬剤としては、EBEDC 乳剤500倍、イミノクタジン酢酸塩・ポリペリン水和剤1,000倍の効果が高く、次いでヘキサコナゾール水和剤2,000倍の効果が高く、防除時期としては摘心後ある程度葉が展開する摘心約2週間後と、電照打ち切り時期から発蕾し、花柄の分岐が盛んとなる電照打ち切り約2週間後までが重要と考えられた。また、育苗および収穫後の株を利用する二度切り栽培の防除については検討しておらず、今後の課題である。

### バンダから分離された細菌の性状ならびに *Burkholderia vandii* の分類学的再検討

平川 ゆみ・浦 広幸\*・古屋 成人  
竹下 稔・高浪 洋一  
(九州大学大学院農学研究院)

1998年7月、福岡県糸島郡で洋ランの一種バンダの葉が褐色に腐敗する病害が発生した。罹病葉から病原細菌の分離を行い、*Burkholderia gladioli* と同定した。木嶋らは、同様に罹病バンダ葉から分離した細菌を *B. gladioli* pv. *gladioli* と同定したが、本細菌の細菌学的性質は畔上らにより記載された *B. plantarii* とよく似ていることが明らかとなった。一方、浦上らはバンダから分離した細菌を新種 *B. vandii* として報告したが、細菌学的性状から *B. vandii* と *B. plantarii* を識別するのは困難であった。そこで本研究では、木嶋らの *B. gladioli* pv. *gladioli*、*B. plantarii* 並びに *B. vandii* の分類学的再検討を行った。生理・生化学的試験の結果、*B. plantarii* と *B. vandii* で明確な差異が認められた項目はL-ラムノースの利用性のみであった。また、木嶋らの *B. gladioli* pv. *gladioli* は *B. vandii* と全ての項目で同様の性質を示した。さらに、病原性においてもこれら3種細菌には相違が見られなかった。次に、脂肪酸分析を行った結果、3種細菌の全菌体および膜脂肪酸組成比は極めて類似していた。また、これら3種細菌の膜蛋白質並びに菌体外分泌蛋白質をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分画したところ、バンドパターンには明確な差異は認められなかった。さらに、*B. plantarii* の特異的な検出が可能なプライマーを用いたPCRでは *B. plantarii*、*B. vandii* および木嶋らが分離・同定した *B. gladioli* pv. *gladioli* のいずれからも約180bpの一本のDNA断片が検出された。続いて、*B. vandii* の16S-23SリボソームDNAスペーサー領域の塩基配列を決定後、*B. plantarii* の配列と比較すると、

96%の相同性が認められた。以上の結果から、木嶋らが分離・同定した *B. gladioli* pv. *gladioli* は *B. plantarii* であること、バンダに病原性を示す細菌はトロポロン非産生性の *B. gladioli* であることを明らかにすると同時に、*B. plantarii* および *B. vandii* は同種・異名であると推察した。

\*現在 福岡県八女地域農業改良普及センター

### *Corynespora citricola* によるメボウキ黒あし病 (新称) の発生

田場 聡・大城 篤・高江洲和子  
(沖縄県農業試験場)

2000年8月、沖縄県糸満市および沖縄県農業試験場施設圃場(沖縄県那覇市首里)のメボウキ苗に、地際部および根が黒色に変色して枯死する症状が発生した。本症状は、これまでにメボウキで報告された病害とは明らかに異なると考えられたため病原菌の分離・同定、接種試験(病徴の再現)、有効薬剤のスクリーニングを行った。その結果、罹病株からは高率に *Corynespora* 属菌が分離された。分離菌をPDAで培養して得られた分生子懸濁液 ( $1.0 \times 10^6$  個/ml) にメボウキ苗を浸根接種すると、病徴が再現され、さらに接種苗からは同一菌が再分離された。本菌は黒色病斑部に子座を有する分生子柄を単生した。分生子柄は淡褐色~褐色で直立、分生子はボロ型、淡褐色で円筒形、長楕円形または棍棒状で通常2~4個連鎖し、大きさは  $24-297.2 \times 2.4-9.6$  (平均  $105.1 \times 6.8$ )  $\mu\text{m}$ 、隔膜は0~27個であった。培地上での生育適温は25~30℃、最適pHは6付近であった。また本菌は培地中に赤紫~黒色の色素を産した。分離菌はEllis (1957) の記載に従い *Corynespora citricola* M. B. Ellis と同定した。本菌によるメボウキの病害は、これまでに報告が無いため、本病名をメボウキ黒あし病と称したい。また数種薬剤(イプロジオン、キャプタン、チオファネートメチル、ベノミル、マンネブ)を用いたin vitroの薬剤試験ではマンネブの効果が最も高く、10ppm区においても高い菌糸伸長阻止効果(阻止率90.6%)が認められた。

## チャ赤焼病細菌とチャ樹から分離される 氷核活性細菌との関係

### 6) 低温処理による病斑形成促進に関わ る諸要因

富濱 毅・西 八束  
(鹿児島県茶業試験場)

チャ赤焼病は、主に晩秋期から春期に発生する低温性の病害で、特に寒霜害発生年に多発することが報告されている。一方、チャ樹からは比較的高い温度で氷核を形成する氷核活性細菌が多数分離される。演者らはこれまでに、接種および低温処理試験において、氷核活性細菌 *Xanthomonas campestris* (以下、INAX と略す) はチャ赤焼病細菌 *Pseudomonas syringae* pv. *theae* (以下、*P. s. t.* と略す) による病斑形成を促進することを確認した。そこで本報告では、低温処理後の薬剤 (カスガマイシン・銅水和剤) の防除効果と、*P. s. t.* に対して拮抗性を持つ *Pseudomonas fluorescens* AT9805 (以下、*P. f.* と略す) の防除効果について検討した。低温処理として、*P. s. t.* と INAX を混合接種後、 $-4^{\circ}\text{C}$ 、2時間の処理を行い、その7日後に同様の処理を行う2回低温処理法を用いた。その結果、カスガマイシン・銅水和剤を1回目の低温処理直後に散布した場合、*P. s. t.* による病斑形成を著しく抑制したが、2回目の低温処理直後に散布した場合には、病斑形成の抑制効果は不十分であった。また、*P. s. t.* と *P. f.* を混合接種し、2回低温処理した場合も、病斑形成の抑制効果は不十分であった。このため、*P. f.* の散布時期の検討は行わなかった。以上のことから、室内接種試験において、最初の低温処理直後に薬剤散布した場合には防除効果が高いことが明らかとなり、ほ場におけるチャ赤焼病防除法として、 $-4^{\circ}\text{C}$ 前後の低温に最初に遭遇した時期に薬剤を散布すれば有効であることが示唆された。また、拮抗細菌の選抜の際には、2回低温処理法により効果の確認をする必要があると考えられた。

### イネいもち病菌 Kyu9439013株を特定す る分子マーカー

平八重一之<sup>1)</sup>・藤田 佳克<sup>1)</sup>・山口純一郎<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>九州農業試験場\*・(<sup>2)</sup>佐賀県農業試験研究センター)

分子マーカーをもちいてイネいもち病菌の伝染経路を実証するためには、多数の菌株を効率的に解析できること、他の菌株と明確に識別可能な菌株を供試すること、さらに、着目する分子マーカーが安定であることが重要

である。そこでまず、野外でその動態を追跡するための候補菌株として、レース047のKyu9439013 (以下、Kyu と略) 株を選定した。近年九州地域で分離されるいもち病菌株は、その殆どがレース007であるため、ハナエチゼン (*Pi-z*, *Pi-a*) 等の品種をもちいることにより、容易にKyu株の一次スクリーニングが可能である。つぎに、簡便性および再現性を考慮し、Kyu株を特定するPCRマーカーの探索を行った。対照菌株には、試験予定地の佐賀県相知町および熊本県菊鹿町において採集・分離した160株を供試した。その結果、Kyu株では、それぞれ21塩基のプライマーPJF1とPJR1を組み合わせたPCR法によって約1,300bpの断片が増幅されるのに対し、一方対照菌株では、すべての菌株で750bpの増幅断片が認められた。また、抵抗性遺伝子型推定用の標準菌株18株について同じく上記のPCR解析を行ったところ、750bpの増幅断片が認められる菌株とまったく断片の増幅が認められない菌株が半数ずつ存在した。Kyu株に特有な1,300bp断片は、さらに、PDA斜面培地をもちいて7日毎に35回継代した後代株および、ハナエチゼンの病斑上に形成させた胞子を新たなイネ苗に7回繰り返し接種して得た後代株についても、安定に検出された。以上より、Kyu株を特定する本マーカーは、いもち病菌の伝染経路やレース遷移の解明に有効に利用できるものと期待される。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

### rDNAのRFLP分析によるタバコ赤星病 菌の個体群構造の解析

草場 基章・大石 恵・八重樫博志  
(佐賀大学農学部)

タバコ赤星病菌 *Alternaria alternata* (Fries) Keissler tobacco pathotype は腐生菌である *A. alternata* から突然変異により生じるものと考えられている。一方、実際の圃場における本菌の発生生態については不明な点が多く残されている。そこで、本菌の発生機構の解明に向けて、リボソームRNA遺伝子 (以下、rDNA) のRFLP分析により個体群構造を解析した。菌株の採集は1999年7月に鹿児島県加世田市のタバコ圃場 (面積約30a) で行った。圃場全体から任意に選んだ30植物体から、1植物体当たり1菌株ずつ分離する方法 (①) と、1植物体を選び、その全病斑から1病斑当たり1菌株ずつ分離する方法 (②) で菌株を採集し、それぞれ、29菌株 (①) と24菌株 (②) のタバコ赤星病菌が得られた。これら菌株から抽出した全DNAを制限酵素 *Xba*I で切断し、電気

泳動による分画後、*A. alternata* 由来の rDNA クローン Alt1 を用いてハイブリダイゼーションを行った。その結果、圃場全体から採集した菌株集団 (①) からは9種、同一植物体から採集した菌株集団 (②) からは10種と多様な rDNA 多型が検出された。したがって、本圃場のタバコ赤星病菌は極めて複雑な個体群構造を有することが明かとなり、本菌が実際の圃場においても遺伝的に多様な腐生性 *A. alternata* から成立していることが強く支持された。また、rDNA 多型の分布頻度は圃場全体および同一植物体上の菌株集団間で類似していた。すなわち、同一圃場内では、菌株の分布に偏りが生じていないことが示唆された。この結果は、本菌の個体群構造を調査する際のサンプリング方法に有効な情報を提供するものと考えられる。

### RAPD 分析によるブドウ枝膨病菌の個体群構造の解析

小長井 健<sup>1)</sup>・草場 基章<sup>1)</sup>・田代 暢哉<sup>2)</sup>  
八重樫博志<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 佐賀大学農学部、<sup>2)</sup> 佐賀県果樹試験場)

ブドウの最重要病原菌の一つ、ブドウ枝膨病菌 (*Phomopsis* sp.) は近年九州各地に急速な広まりを見せている。このような、本菌の広域にわたる伝播様式については不明な点が多く残されている。そこで、RAPD 分析によりブドウ枝膨病菌の個体群構造を解析し、本菌の伝播様式について検討を試みた。供試菌株として佐賀県果樹試験場内のブドウ圃場から分離された34菌株を用いた。また、これらと地理的由来の異なる菌株として、佐賀県内の他のブドウ圃場および福岡県、大分県から分離された計5菌株を用いた。RAPD 分析のプライマーとしてはオベロン社製のランダムプライマー (OPA-01, OPA-07およびOPB-02) を用い、常法に基づく反応条件下でPCRを行った。RAPD 分析の結果、OPA-07の増幅 DNA 断片パターンは全供試菌株で全く同一となった。また、他の2つのプライマーでは、それぞれ、3種 (OPA-01) および2種 (OPB-02) のパターンが得られたが、同じプライマーで得られたパターン間では、少数の増幅 DNA 断片のみが異なっていた。従って、供試したブドウ枝膨病菌の菌株は互いに遺伝的に近縁であり、同一系統に属するものと考えられた。また、これら各プライマーで検出された増幅 DNA 断片パターンを組み合わせると、供試菌株は3種のRAPDに基づく多型に類別された。これら多型の地理的分布について検討したところ、同じ多型の菌株が同一県内の離れた圃場間、さら

には他県にもまたがって分布することが明かとなった。このことは、同一系統に属する菌株が広域に分布することを支持するものであり、このような広域分布は苗木伝染により生じているものと考えられた。

### *Geotrichum candidum* citrus race S31株における *S31PG1* 相同配列の解析

中村 正幸・和田 行央・岩井 久  
荒井 啓

(鹿児島大学農学部)

これまでにS31株のcDNAライブラリーより *S31PG1* の単離と解析を行い、*S31PG1* と本菌の病原性について報告した (中村ら, 1999)。本研究では、S31株のゲノムライブラリーより、プロモーター領域およびターミネーター領域を含む *S31PG1* とその相同配列 (*S31PG2*) を単離し、解析を行った。今回新たに単離した *S31PG2* は、368アミノ酸をコードし、最初の27残基がシグナルペプチドと考えられ、予想される成熟タンパク質の相対分子量は35.2kDa、等電点は6.15であった。*S31PG1* と *S31PG2* がコードするタンパク質の相同性は95%と高かったが、構造や触媒作用に関与するとされるチロシンやアスパラギン酸に置換しているものがあつた。一方、プロモーター領域の相同性は約40%と比較的低かった。培地中およびレモン果皮での両 PG 遺伝子の発現パターンを調べるため、RT-PCR とノーザン解析を行った結果、グルコース、スクロースおよびペクチンを炭素源とした培地中で培養した菌体および接種したレモン果皮より両 PG 遺伝子の増幅バンドが得られた。しかし、ノーザン解析では、スクロースを炭素源とした培地でシグナルが得られなかった。このことは、カタボライトリプレッションではなく、本菌がスクロースを利用できないことがその理由と考えられた。それぞれの液体培養物の無菌ろ液をレモン果皮に作用させた実験では、PG 遺伝子の発現量とレモン果皮の分解程度に相関性が認められた。以上の結果から、両 PG 遺伝子は構造的に発現し、本菌の病原性に強く関与していると考えられた。

### ムシトリナデシコから分離されたキュウリモザイクウイルスに関する研究

奥野健太郎<sup>1)</sup>・亀谷 満朗<sup>2)</sup>・竹下 稔<sup>1)</sup>  
古屋 成人<sup>1)</sup>・高浪 洋一<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 九州大学大学院生物資源環境科学府・農学研究院、

<sup>2)</sup> 山口大学農学部)

山口県山口市においてムシトリナデシコにモザイク症状を示す株が見いだされた。ムシトリナデシコに発生するウイルス病については詳細な研究が行われていないことから、病原ウイルスを同定するために、宿主範囲と病徴調査、アブラムシ伝搬性、粗汁液中の安定性、血清学的類縁関係、電子顕微鏡観察、外被タンパク質・RNAの性状等について検討した。9科30種の植物へ汁液接種をしたところ、9科28種に感染し、アブラムシによって非永続的に伝搬された。本ウイルスの粗汁液中における安定性は、不活化温度70-75℃、希釈限界 $10^{-4}$ ~ $10^{-6}$ 、保存限界7-14日であった。また、電子顕微鏡観察では直径約30nmの球状粒子が確認され、CMV抗血清を用いた寒天ゲル拡散法による血清学的試験では陽性反応を示した。以上の結果から、本ウイルスはキュウリモザイクウイルスであると考えられた。本ウイルスの血清型はCMV-Y型であり、外被タンパク質はSDS-PAGEによりCMV-Yと同じ泳動度を示した。さらに、RNA3のcDNAを作製し、その塩基配列を決定した。全長は2218bpから成っており、サブグループIに属する他のCMVとは塩基レベルで97%、アミノ酸レベルで97%以上の相同性が認められ、サブグループIIのCMVとは83%以上の相同性を示した。本ウイルスは、その血清型判定や塩基配列解析の結果からキュウリモザイクウイルスのサブグループIに属することが明らかとなるとともに、その宿主範囲からラゲナリア系統群に属すると考えられた。また、ムシトリナデシコへのキュウリモザイクウイルスの感染は系統特異的ではなく、いずれの系統によっても全身モザイク症状および奇形を示した。

### キュウリのズッキーニ黄斑モザイクウイルス防除における弱毒ウイルスおよび耐病性品種の実用性

今村 幸久<sup>1)</sup>・小坂 能尚<sup>2)</sup>・川越 洋二<sup>1)</sup>  
三浦 猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 宮崎県総合農業試験場

<sup>2)</sup> 京都府農業資源研究センター

ウイルス感染に起因する接木キュウリの萎凋症状には、ZYMV, CMV, WMV-2およびPRSV-Wが関与していると言われており、宮崎県でも露地キュウリ等で萎凋株から高率にZYMVを主としたウイルスが分離されている。そこで、ウイルスによる萎凋対策としてZYMVの弱毒株ZY95およびウイルス耐病性品種T-152の本県での実用性を2年間検討した。区の構成は弱毒株接種区、T-152区、無接種区とし、弱毒株接種区、無接種区には

南極1号を供試した。強毒ZYMVの自然感染を促すため、感染株を試験区内に配置した条件下で、無接種区では両年ともモザイク症状や萎凋症状株がみられ、特に2000年は栽培末期において70%の株が萎凋したが、弱毒株接種区では両年とも萎凋は全く観察されなかった。なお、T-152区では両年ともモザイク症状、萎凋症状とも全く観察されなかった。ELISAによる検定の結果、栽培末期における強毒ZYMVの感染株率は無接種区では1999年が46%、2000年が86.7%であったのに対し、弱毒株接種区では1999年が0%、2000年が6.7%と明らかに低かった。なお、弱毒株接種区における弱毒ZYMVの感染株率は1999年は64%と低かったが、2000年は100%であった。一方、T-152区では両年とも強毒ZYMVの感染は全く確認できなかった。なお、CMV, WMV-2およびPRSV-Wの感染は両年とも確認できなかった。ZYMVの弱毒株ZY95は強毒ZYMVに対する干渉効果が強く、接種による生育・収量・品質への影響はみられず、実用性は高いと思われる。T-152は強毒ZYMVに対する強い耐病性を示し、またべと病、うどんこ病に対する耐病性も示し、収量・品質とも安定しており、ZYMVを含むキュウリ病害に対する環境保全型防除の視点からも有望な品種と思われる。

### RT-PCRと融合タンパク質抗血清を用いたサツマイモ葉からのSPFMVの検出

田中 裕子<sup>1)</sup>・大西 克典<sup>2)</sup>・奥田 充<sup>1)</sup>  
酒井 淳一・大貫 正俊<sup>1)</sup>・花田 薫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 九州農業試験場\*・<sup>2)</sup> 熊本工業大学工学部

サツマイモに発生するウイルスに対しては、これまでいくつかの血清学的な検出法が試みられているが、非特異反応により検定結果が不安定であることが指摘されている。そこで、大腸菌での発現タンパク質を抗原とする、より特異性の高い抗血清を用いたサツマイモウイルスの血清学的検出法について検討した。Glutathione S-transferase(GST)との融合タンパク質としてSPFMV-CPを発現させた大腸菌からGST+CPを精製した。得られたGST+CPに対する抗血清を作製し、ウエスタンブロッティングに用いたところ、8,000倍希釈までSPFMVと反応が見られた。DIBA, ELISAにおいても、SPFMVとそれぞれ反応が見られた。RT-PCRとELISAの検出結果を比較した場合、RT-PCRで検出された試料はすべてELISAでも反応が見られた。コントロールとして用いた健全植物は、RT-PCRでもELISAでも本抗血清と反応しなかったことから、本抗血清を用いた

ELISA によって SPFMV が検出可能であることが確認された。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

### 佐賀県におけるトマト黄化葉巻病の発生経過とその要因について

善 正二郎<sup>1)</sup>・古田 明子<sup>2)</sup>・糸山 亨<sup>3)</sup>\*

篠田 徹郎<sup>3)</sup>\*・河合 章<sup>3)</sup>\*

<sup>1)</sup> 佐賀県上場営農センター

<sup>2)</sup> 佐賀県農業技術防除センター

<sup>3)</sup> 野菜・茶業試験場)

佐賀県におけるトマト黄化葉巻病の発生経過を調査するとともに、発生に関与する要因としてシルバーリーフコナジラミ（以後、コナジラミと省略）による経卵伝染の有無と TYLCV の宿主範囲について PCR 法により検討した。本県では、1999年2月に佐賀県川副町と東与賀町の施設トマトにおいて初めて TYLCV の発生を確認し、同年11月までに13市町村に発生が拡大し、2001年2月までに14市町村で発生が認められた。また、2000年9月には、トルコギキョウで新たに被害が認められた。佐賀県で採集したコナジラミと静岡県および佐賀県で発生した TYLCV とを組み合わせた媒介試験により、佐賀県のコナジラミは両県で発生した TYLCV を高い割合で獲得することが明らかとなったが、経卵伝染は行われなかった。保毒虫と5科14種の植物を用いて、TYLCV の感染試験を行った結果、トマト、タバコおよびノゲシが TYLCV に感染することが明らかとなった。トマトの病徴としては、生長点付近の葉に黄化および葉巻を認めたが、タバコ、ノゲシは無病徴であった。ナス、イヌホオズキ、キュウリ、キャベツ、キク、ヨモギ、ハルジオン、ノボロギク、タカサブロウ、マリーゴールドおよびニチニチソウには感染しなかった。トマトおよびトルコギキョウで TYLCV が発生した圃場周辺のノゲシは、調査した全ての株が TYLCV に感染しておらず、重要な伝染源としての可能性は低いと思われた。しかし、TYLCV の伝染源の探索は、雑草を含めて幅広く行う必要があると思われる。

\*現在 野菜茶業研究所

### トマト黄化葉巻ウイルスの自然感染宿主として新たに見出された2種雑草

大貫 正俊<sup>1)</sup>\*・行徳 裕<sup>2)</sup>・森山 美穂<sup>2)</sup>\*\*

竹下佐和子<sup>3)</sup>・横山 威<sup>2)</sup>・花田 薫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 九州農業試験場\*\*\*、<sup>2)</sup> 熊本県農業研究センター

<sup>3)</sup> 熊本県宇城農業改良普及センター)

海外ではトマト黄化葉巻ウイルス (TYLCV) の reservoir host として複数の雑草が知られているが、日本ではこれまで報告がなかった。そこで、トマト黄化葉巻病の発生実態の解明および本病防除対策に資するため、野外での感染植物の有無を調査した。平成12年10月と11月に熊本県三角町の発病ハウス内外の雑草を採集し、TYLCV 特異検出用プライマーを用いて PCR 検定を行った。10月の調査では発病ハウス内のウシハコベ (*Stellaria aquatica*) およびエノキグサ (*Acalypha australis*) から TYLCV 特異的な PCR 産物が得られた。これら PCR 産物を4塩基認識の制限酵素、*Hae* III と *Rsa* I によって切断し、そのパターンを調べたところ、対照とした TYLCV 長崎系統の切断パターンと一致した。また、TYLCV の系統識別用プライマーを用いた PCR によっても雑草に感染した TYLCV は長崎系統であることが裏付けられた。11月の調査では、ハウス内のエノキグサは採集できなかったが、10月調査時に感染ウシハコベが認められたハウスから採集したウシハコベにおいて再度、TYLCV 特異的な PCR 産物が得られた。11月の調査で感染が認められたウシハコベは、いずれも媒介虫であるシルバーリーフコナジラミの密度が高かったハウス内の株であり、媒介虫密度の低いハウスおよびハウス外の株での TYLCV 感染はみられなかった。このことから、媒介虫密度と雑草感染との間には関連があると推測された。以上、TYLCV の自然感染宿主としてウシハコベ、エノキグサの2種が確認された。これら2種雑草については海外でも報告がなく、新発見である。

\*現在 国際農林水産業研究センター沖縄支所

\*\*現在 熊本県農政部

\*\*\*現在 九州沖縄農業研究センター

### 福岡県におけるトマト黄化えそ病の発生

吉永 文浩・草野 成夫\*・國武 孝浩

中堀 裕二

(福岡県病害虫防除所)

平成12年6月に福岡県宗像郡のミニトマトで株のわい化、莖葉と果実のえそ症状が発生した。DAS-ELISA に

より TSWV が検出され、本病はトマト黄化えそ病と診断された。侵入経路等の解明のため ELISA では場内外の汚染状況を調査したところ、植物18種類58個体中、ともに無病徴であったギンギシとオランダミナグサ各1個体で TSWV を確認した。またアザミウマ5~20頭を1検体とした43検体のうち、ほ場入口のすぐ外でシロツメクサに寄生したミカンキイロアザミウマ3検体で TSWV の保毒を確認した。一方、このほ場の苗を供給した種苗センター内外の植物9種23個体は、全て陰性であった。同年10月には三井郡で、えそ症状のハウストマトから TSWV が検出された。再びほ場内外の植物等20種類64検体を調査したところ、ともに無病徴のイヌビユとタネツケバナの植物体、そしてほ場の800m先に自生するセイタカアワダチソウに寄生したアザミウマ1検体が陽性を示した。しかし他のトマトや周辺の作物、他の雑草類、アザミウマは全て陰性であった。同年11月には鞍手郡で、輪紋症状等を示すトルコギキョウから TSWV が検出された。汚染状況調査では、植物等38種類173検体中、無病徴のものを含むトルコギキョウ21検体、えそ症状のアスター5検体、黄化と退緑斑症状等のキャンディタフト5検体、いずれも無病徴のサクラタデ、タネツケバナ、トウガラシが陽性を示した。このうちトルコギキョウ、アスター、キャンディタフトでは RT-PCR でも TSWV を確認した。ほ場周辺は約1ヶ月前にアザミウマが発生したとのことだったが、既に防除後で検体が十分に採取できず、保毒虫は確認できなかった。3件とも侵入経路は確定できなかったが、汚染苗の導入等が考えられた。以上より TSWV は雑草など多くの植物に無病徴感染すること、キャンディタフトなどアブラナ科作物にも自然感染し被害を及ぼすことが明らかとなった。

\*現在 福岡県農業総合試験場果樹苗木分場

### 福岡県で発生したトマト黄化えそウイルス(TSWV)によるピーマン(パプリカ)黄化えそ病について

石井 貴明<sup>1)</sup>・国武 孝浩<sup>2)</sup>・嶽本 弘之<sup>1)</sup>  
奥田 充<sup>3)</sup>・花田 薫<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup> 福岡県農業総合試験場, (<sup>2)</sup> 福岡県病害虫防除所

<sup>3)</sup> 九州農業試験場\*)

1998年5月、福岡県のピーマン(パプリカ)を栽培する1圃場で成葉に黒褐色えそ斑および退緑輪紋を生じるとともに上位葉が黄化縮葉症状を呈し、甚だしい場合には全体が萎縮し枯死する株が多発生した。罹病株から分

離した病原は TSWV 普通系統に対するモノクローナル抗体と DAS-ELISA 法で陽性反応を示した。本病原は汁液接種によりピーマンを含む6科15種に感染し、ピーマンでは原病徴を再現した。*Nicotiana rustica* および *N. glutinosa* の罹病葉から RT-PCR 法により TSWV の N タンパク質領域を含む cDNA 断片を増幅した。増幅産物の塩基配列を解析し、推定される N タンパク質のアミノ酸配列を既知の TSWV 普通系統の BR-01株のそれと比較したところ、97%以上の高い相同性を示した。以上の結果から本県のピーマン(パプリカ)に発生した TSWV は普通系統に属すると考えられた。なお、本県でピーマンにおいて TSWV の発生が認められたのは本例が初めてである。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

### DAS-ELISA 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

(宮崎県総合農業試験場)

DAS-ELISA 法において、サンプルとコンジュゲートを別々に処理する手法(以下通常法)と同時に反応させる手法(以下同時分注法)を比較検討し、キク発病葉からのトマト黄化えそウイルスの検出感度の向上および検定時間の短縮化を図った。まず、サンプル磨碎液の添加物としてポリビニルピロリドンを2.0%、亜硫酸ナトリウムを0.1%で供試し、各手順におけるキク感染株の発病葉をサンプルとして検出感度を検討した結果、通常法ではサンプルの希釈倍率1,600倍までしか検出ができなかったが、同時分注法では6,400倍まで検出が可能であった。また、同時分注法のコーティング処理時間の検討では、検討した37℃、0.5h、1.0h、2.0h、4.0h、4℃、16.0hの各処理時間で大きな差は認められなかった。コンジュゲート液とサンプル液の同時分注処理時間の検討では、各処理時間で検出感度に大きな差が認められ、37℃、0.5hの処理が最も検出感度が低く、37℃、1.0h、2.0h、4.0hと反応時間が長くなるにつれて検出感度が高くなっていったが、最も検出感度が高かったのは4℃、16.0hの処理であった。最も短時間で検出できる処理方法を検討した結果、コーティング処理時間を37℃、0.5h、コンジュゲート液とサンプル液の同時分注処理時間を37℃、0.5hにした処理が、サンプル希釈倍率3,200倍まで検出が可能で、サンプル希釈倍率400倍までは吸光度の測定限界に達し、実用的な検出感度を得ることができた。

\*現在 宮崎県病害虫防除所

### 九州で発生したトマト黄化えそウイルス (TSWV) の S RNA 3' 末端の比較

奥田 充・酒井 淳一・花田 薫  
(九州農業試験場\*)

1997年～2000年に九州各地でキク、トマト、ピーマンおよびパプリカに発生した TSWV10株の N 遺伝子を含む3' 末端領域を RT-PCR により増幅し、塩基配列から予想される N 遺伝子のアミノ酸配列の比較と3' 末端非翻訳領域の比較に基づき分離作物の異なる TSWV の系統分化の可能性について遺伝子レベルの解析を行った。全ての供試株の N 遺伝子の推定アミノ酸配列の相同性は全ての株において極めて保存されており、既報の TSWV 株と比較しても大きな差異は認められなかった。アミノ酸配列の類似性に基づく系統樹からは2つの遺伝的グループが認められ、熊本県で栽培されたキクから分離された株を例外としてキクに感染する株は一つの遺伝的グループに分けることが出来た。このグループは3' 末端非翻訳領域に基づく系統樹においても同一のものとなった。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

### 熊本県のリンドウから分離されたソラマメウイルス2の RNA2の塩基配列

酒井 淳一<sup>1)</sup>・田中 正美<sup>2)</sup>・花田 薫<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>九州農業試験場\*・

<sup>2)</sup>熊本県農業研究センター農産園芸研究所)

1998年、熊本県菊池郡合志町の熊本県農業センター内で栽培されているリンドウに黄化・えそを伴うウイルス性症状が確認された。検定植物を用いた生物検定ならびに血清試験の結果から、このリンドウにはソラマメウイルス2 (*Broad bean wilt virus2*: BBWV-2) が感染していることが明らかになった。そこでこのリンドウから分離された BBWV-2-KU の RNA2 のクローニングを行って、その塩基配列を決定し、既報の *Fabavirus* 属のウイルスとの比較を行った。その結果、BBWV-2-KU の RNA2 のほぼ全長の3,576塩基の塩基配列が明らかになった。塩基配列から推定される1,064アミノ酸残基からなる推定分子量119kDa の ORF のアミノ酸配列を *Fabavirus* 属に属す BBWV-2 の3分離株、*Patchouli mild mosaic virus* (PaMMV) および BBWV

-1の2分離株と比較した。BBWV-2-KU は BBWV-2 の3分離株および PaMMV とは90%以上の高い相同性を示したが、BBWV-1の2分離株とは60%程度と低かった。このことから BBWV-2-KU は遺伝的特性からみても BBWV-2に分類されると考えられた。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

### 九州・沖縄で発生したキクわい化ウイルスの塩基配列

花田 薫・酒井 淳一  
(九州農業試験場\*)

九州沖縄では、これまでに熊本県および鹿児島県でキクわい化ウイルス (CSVd) の発生が報告されている。これまで発生が知られていなかった6県のうち5県 (福岡・佐賀・大分・宮崎・沖縄) のキク8品種から、RT-PCR によって CSVd の検定を行った。その結果、福岡県・宮崎県・沖縄県のキクから CSVd が検出された。増幅された RT-PCR 産物をクローニングしてえられた9クローンの塩基配列を決定した結果、すべての CSVd は254塩基から構成されており、イギリスで報告されている CSVd-E (Gross et al., 1982) と高い相同性を有していた。しかし、全塩基配列が CSVd-E と同一なものではなく、クローンによって CSVd-E と1～6塩基の配列が異なっていた。本邦ですでに報告されている CSVd の塩基配列と比較すると沖縄県の1クローンは兼松ら (1998) が報告した山形県の CSVd と一塩基を除いて同一配列であり、沖縄県の別のクローンは尾川ら (1999) が報告している鹿児島県と同じ配列であった。

\*現在 九州沖縄農業研究センター

### 鹿児島県のフリージアから分離されたインゲンマメ黄斑モザイクウイルスの病原性と外被タンパク質遺伝子の塩基配列

小屋松雅史<sup>1)</sup>・和田 行央<sup>1)</sup>・尾川 宣広<sup>2)</sup>  
岩井 久<sup>1)</sup>・荒井 啓<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>鹿児島大学農学部・<sup>2)</sup>鹿児島県農業試験場)

鹿児島市のフリージアより分離したインゲンマメ黄斑モザイクウイルス Sf-1C 分離株、沖永良部島のフリージアより分離した Ef-1C 分離株、Ef-28C 分離株および茨城県のグラジオラスより分離された Ibaraki 1 分離株における病原性の調査および外被タンパク質 (CP) 遺伝子と3' 非翻訳領域 (3' NCR) の塩基配列を調べた。インゲンマメ4品種を用いた分類法に基づき病原型を調べ

たところ、4つの分離株はいずれもIV型に属していた。つぎに、4つの分離株と既存の分離株のCP遺伝子を比較したところ、Sf-1C、Ef-1C、Ef-28C間で高い相同性が見られた。また、Ibaraki 1分離株と、他のグラジオラス分離株（IV型）と高い相同性が見られた。CPのN末端領域の推定されるアミノ酸のアラインメントを作成したところ、同じ病原型の分離株ではアミノ酸の変異箇所が同じグループ内では一致していた。CPの推定されるアミノ酸配列をもとに作成した分子系統樹では、4つの病原型グループI、II、IIIおよびIV型はそれぞれ独立したクラスターを形成し、病原性とCP遺伝子の塩基配列の多様性に関連性が見られた。3' NCRの塩基配列をもとに作成した分子系統樹では、分離源宿主の種ごとにそれぞれ独立したクラスターを形成し、分離源宿主の種と3' NCRの塩基配列との関連性が見られた。以上のことから、BYMV各系統が宿主適応し進化していることが示唆された。

毒候補を探索し、ラフレモン台上野早生上での病徴が弱いものを1株得た。この弱毒候補株について、RT-PCR増幅断片の塩基配列を解析したところ、少なくとも2変異株の混合感染が確認でき、さらにそのアミノ酸配列を基に系統樹を作成したところ、カンキツモザイクウイルスに属することが推察された。この弱毒候補株は採集時、圃場で果実にモザイク症状を呈しておらず、有望な弱毒系統である可能性が高いと考えられた。

#### RT-PCRによる温州萎縮ウイルスグループの検出と弱毒候補株の遺伝子解析

伊藤 隆男<sup>1)</sup>・塩谷 浩<sup>1)</sup>・伊藤 伝<sup>1)</sup>  
尾崎 克巳<sup>2)</sup>・村本 和之<sup>3)</sup>・岩波 徹<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 果樹研究所カンキツ研究部・<sup>2)</sup> 南九州大学

<sup>3)</sup> 山口県大島柑きつ試験場・<sup>4)</sup> 果樹研究所

温州萎縮ウイルス（SDV）、カンキツモザイクウイルス（CiMV）、およびネーブル斑葉モザイクウイルス（NiMV）は、同じSDVグループに属する近縁ウイルスであり、土壌伝染が示唆されている。このため、これらウイルスの一般圃場への新たな拡散を防ぐには採穂母樹の正確な検定が最も重要であるが、SDVグループの全てのウイルスを診断するために現在行われているゴマテスト（白ゴマを用いた生物検定）は時間や労力の負担が大きく、大量検定に適していない。そこで、既報のSDVグループウイルスゲノムの塩基配列を比較して、保存度の高い領域をプライマーとして設計し、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）を行った。その結果、SDV、CiMV、およびNiMVの各系統の保毒カンキツ全てから、約1,400～1,500塩基の特異的増幅断片を得ることができた。このRT-PCRは、SDV抗血清を用いた酵素結合抗体法による診断では検出困難なCiMV系統およびNiMVも簡易、迅速に検出でき、SDVグループウイルスの大量検定に利用できると考えられた。一方、SDVグループウイルスの汚染圃場における被害回避には、弱毒ウイルスの干渉効果利用が有効と考え、発病圃場より弱