

昭和四十五年八月二十五日 印刷 第二十四卷 第八号  
昭和四十五年八月三十日 發行 (每月一回三十日發行)  
昭和二十四年九月九日 第三種郵便物認可



8

VOL 24

## 特集

## 土壤病害検診法

NOC

# 果樹・果菜に

■有機硫黄水和剤

## モナックス

りんご……うどんこ病・黒点病の同時防除に

■有機硫黄・DPC水和剤

### モナックス-K

りんご……ゴールドデンリシャスの無袋化

■植物成長調整剤

被膜剤

### サビナック

大内新興化学工業株式会社

東京都中央区日本橋小舟町1の3の7

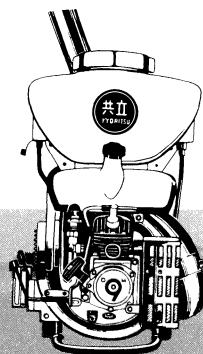
防除機を造って13年の経験が完成した画期的製品

## 共立背負動力防除機

### うまい米づくりはDM-9

いよいよ防除のシーズン。  
共立のDM-9が働きます。

※共立農機は果樹施設園芸の近代化をめざし散水かんがいシステムを扱うことになりました。ご用命をお待ちします。



散粉、散粒、ミストはもちろん草刈り、稲刈り、中耕除草、火焰放射等、20種に及び作業をこなし、年間フルに活用出来ます。



**共立農機株式会社**

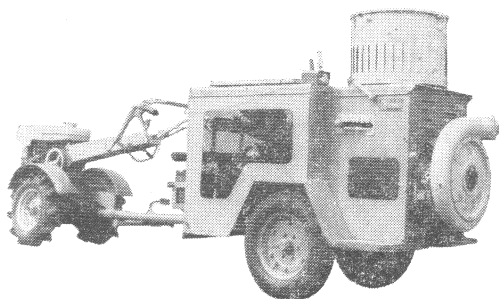
営業本部 〒160 東京都新宿区西新宿1-6-8  
TEL 03-343-3231 (大代)

# 世界に **アリミツ** 高性能防除機 伸びる

## **ブランドダスター** 散粉機の王様!

**PD-100B型** 牽引タイプです……ティラー等3～4 P.S程度で牽引でき、農道より散布するタイプです。  
エンジン付きです……強力なカワサキエンジンKF-150型を使用、17 P.Sの強馬力です。

**PD-100A型** マウントタイプです……15～20 P.SトラクターのP.T.Oを利用した軽量タイプです。

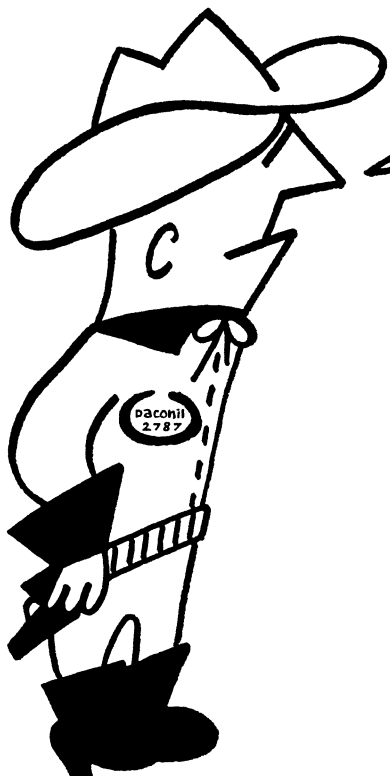


- **機構・操作が簡単です**……伝導部を一つのボックスにまとめたギヤー伝導です。また調節部も一ヶ所にあり操作が簡単です。
- **高性能・高能率です**……独自開発による送風機の自動首振装置により、ナイヤガラ粉管で100m巾均等散布ができます。(10a散布約15秒～20秒)
- **連続作業ができます**……補助農薬槽があり連続補給で能率的です。
- **耐久力絶大です**……伝導部はオイルボックス内でギヤー伝導で行い、半永久的です。



**有光農機株式会社**

本社 大阪市東成区深江中1 電話代 (971)2531



# 殺し屋無用

野菜・果樹をまもる総合殺菌剤

## ダゴニール®

### 5大効果

- あらゆる園芸作物の病害に確実な効果
- 長いあいだ効力を持ち続ける安定性
- 作物を保護する予防効果と強力な治療効果
- 作物への薬害の心配無用
- 殺虫剤、殺菌剤と混用可能



お求めは農協へ



新しい技術・新しいサービス

**クミアイ化学工業株式会社**

本社 東京都千代田区大手町2-6-2 ㊟100 電話 (03) (279) 4791



いもち病に

**ホクコー  
カスミン**®

- すぐれた防除効果を示します。
- 人畜・魚類・蚕に安全です。
- 農作物に無毒で、散布時のいやなにおいや残臭もありません。

野菜—きんかく病・灰色かび病に  
もも—灰星病・いんげん—きんかく病に

**スワレックス**®  
水和剤 30

ツマグロヨコバイ・ウンカ類に

ホクコー  
**マクバール**® 粉 剤

種子消毒に、殺菌力が強力な

**錠剤ルベロン**



創立20周年 東京都中央区日本橋本石町4の2 ☎103

種子から収穫まで護るホクコー農薬

**北興化学工業株式会社**

支店／札幌・東京・新潟  
名古屋・大阪・福岡



水稻の  
害虫防除に

**コーネン**® 製剤

**スミコーネン**  
粉 剤

**メオコーネン**  
粉 剤

**メオスミコーネン**  
粉 剤

- 稲いもち病に対してすぐれた予防効果と治療効果を有する新しい有機燐系の殺菌剤です。
- 新展開葉えの浸透移行性があり、残効性もすぐれています。
- いもち病の他にもんがれ病にも防除効果が期待されます。
- 毒性が比較的低く取扱いが容易です。■魚毒は少なく実用上殆んど問題となりません。



**サンケイ化学株式会社**

本 社 鹿児島市郡元町880 ☎890

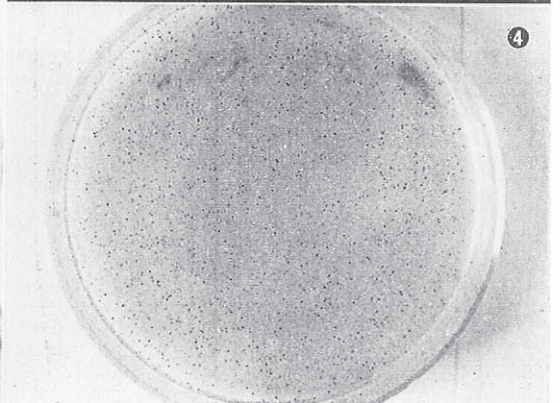
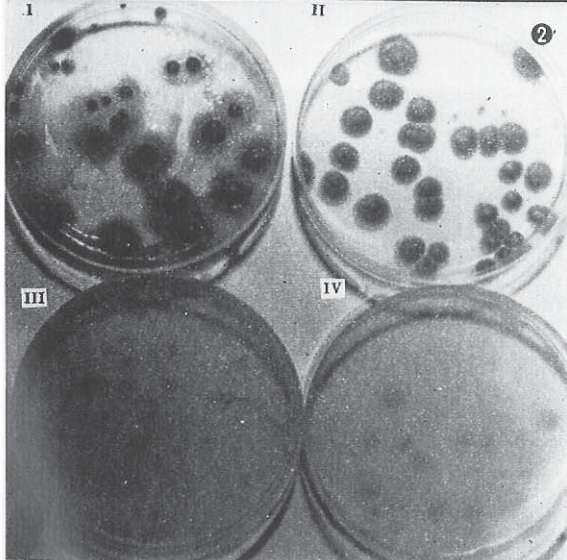
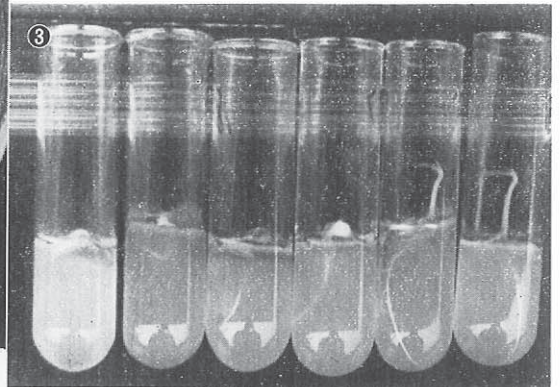
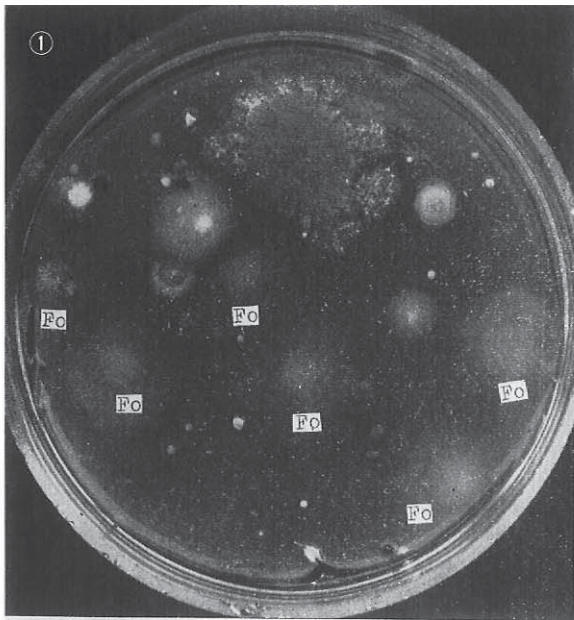
東京支店 千代田区神田司町2の1 (神田中央ビル) (294)-6981 (代)



# 各種土壌病原菌

の

## 検 診



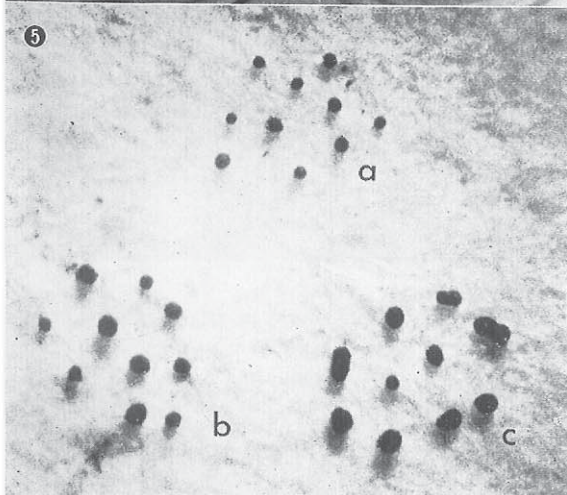
### <写真説明>

- ① 自然土から *Fusarium oxysporum* の分離  
Fo : *F. oxysporum*,  
培地 : PCNB 加用酸性ジャガイモ煎汁培地
- ② 土壌から *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* の分離と培地の種類との関係  
I : PCNB 加用酸性ジャガイモ煎汁培地, 培養温度 25°C,  
II : 同上培地, 培養温度 30°C,  
III : *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 培養ろ液培地, 培養温度 25°C,  
IV : NASH-SNYDER 氏培地, 培養温度 25°C
- ③ 幼芽検定法による *Fusarium oxysporum* のキュウリに対する病原性の検定
- ④ ベルジャードスター法により培地上にきわめて均一に散布された試料土壌
- ⑤ *Macrophomina phaseoli* の菌核  
a : 寄主上 (80 mμ), b : 土壌中 (100 mμ), c : 培地上 (120 mμ)

(①~③) 茨城県農業試験場 松田 明

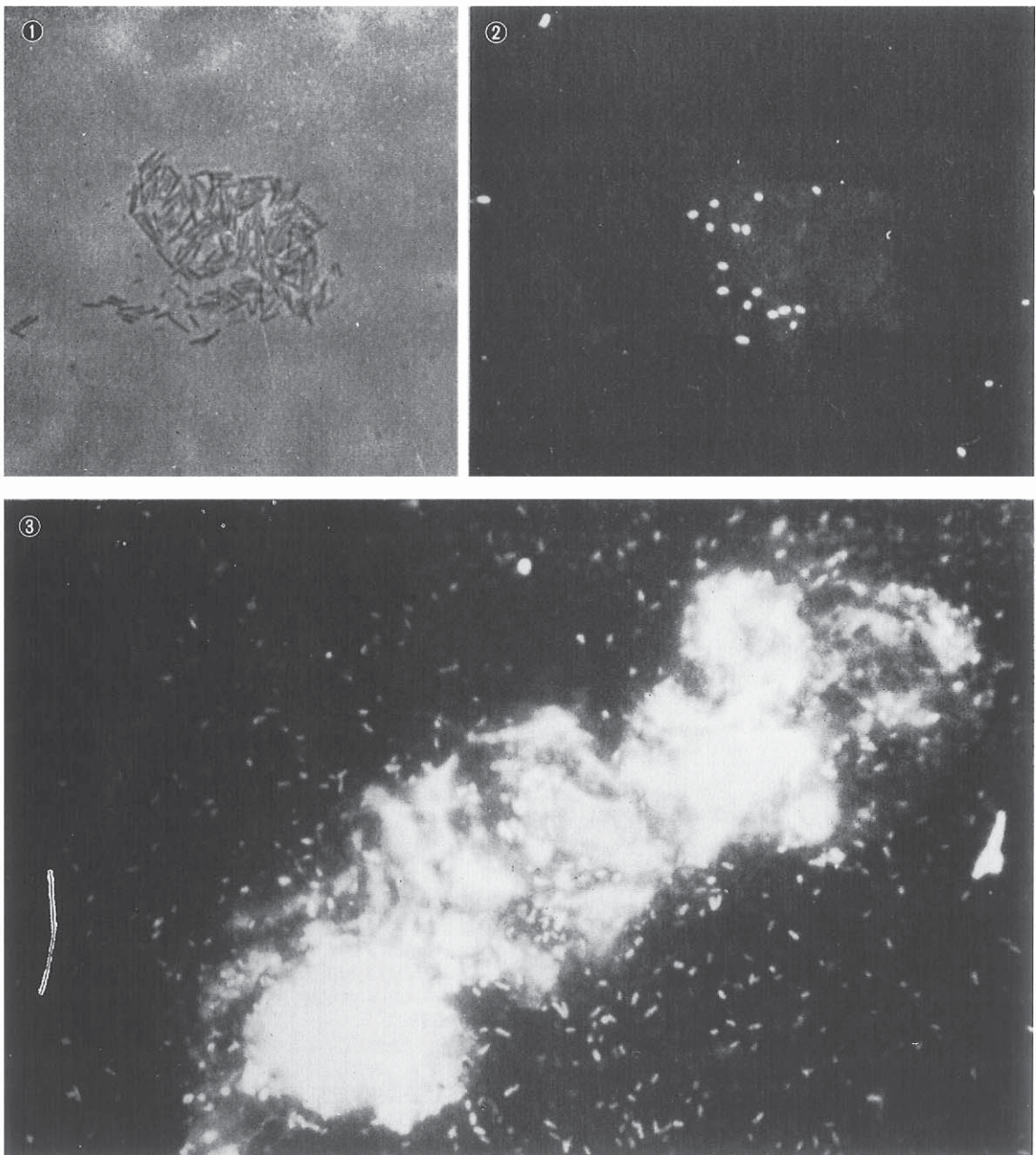
④ 農林省東海近畿農業試験場 駒田 旦

⑤ 農林省農業技術研究所 渡辺恒雄 各原図)



# 螢光抗体法による軟腐病細菌の染色

東北大学農学研究所 菊 本 敏 雄 (原図)



## <写 真 説 明>

- ① *Erwinia aroideae* と *Bacillus polymyxa* を混合し、螢光抗体染色したものを、位相差顕微鏡で観察した。両者の細胞がみえる。
- ② ①と同一視野を螢光顕微鏡でみると、*E. aroideae* の細胞だけが特異的に染色されてみえる。
- ③ あらかじめ *E. aroideae* をハクサイに接種し、発病した中肋組織の塗抹標本を螢光抗体で染色した。写真の中央に大きく見えるのは、崩壊したハクサイの腐敗組織片で強い自己螢光をだす。崩壊した組織中やそのまわりに無数の軟腐病細菌の細胞が認められる。



# 植物防疫

第 24 卷 第 8 号  
昭和 45 年 8 月号

## 目 次

### 特集 土壤病害検診法

土壤病害検診法の現状と問題点……………飯田 格…… 1

#### 各種土壤病害検診法

捕 捉 法……………生越 明…… 3

浮 上 法……………渡辺 恒雄…… 6

残 渣 法……………小倉 寛典…… 9

希 釈 平 板 法……………松田 明……12

ベルジャーダスター法……………駒田 旦……15

螢 光 抗 体 法……………菊本 敏雄……18

#### 土壤病害検診用選択培地

糸 状 菌 用 培 地……………渡辺文吉郎……21

細 菌 用 培 地……………脇本 哲……23

土壤伝染性ウイルスの検診法……………小室 康雄……26

#### 植物防疫基礎講座

*Pythium* 菌の見分け方……………高橋 實……29

種類名「粉粒剤」について……………俣野 修身……37

新しく登録された農薬 (45.6.1~6.30) ……………43

中央だより……………40 学界だより……………11

人 事 消 息…………… 5, 17, 20, 22 新刊紹介……………42



世界にのびる……

## バイエルの農薬

防 府 工 場

(ヒノサン・ディップテレックス  
原体プラント)

説明書進呈

日本特殊農薬製造株式会社  
東京都中央区日本橋室町 2 の 8

# 武田の新殺虫剤！



武田薬品

●ニカメイチュウに……

# パダン<sup>®</sup>

粉剤・水溶剤

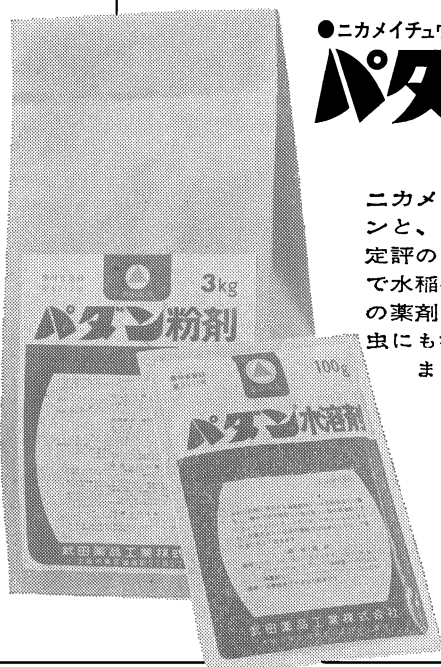
- パダンはつり餌として使われているイソメの体内にある殺虫成分を基礎として開発された、まったく新しいタイプの殺虫剤です。
- 今までの殺虫剤に抵抗性のできた害虫にもよく効きます。
- (稲)のニカメイチュウ・コブノメイガ・ツトムシ・アオムシ・ハモグリバエ・ドロオイムシ・シンガレセンチュウ(そさい)のアオムシ・コナガ(茶)のホソガ・ミドリヒメヨコバイ・(りんご)のキンモンホソガ・(柿)のヘタムシ・ホソガ(みかん)のエカキムシ等の重要害虫に抜群の効果を発揮します。

●ニカメイチュウとツマグロ・ウンカの同時防除に

## パダンナック<sup>®</sup>

粉剤

ニカメイ虫に卓効を示すパダンと、ツマグロ・ウンカ類に定評のあるNACとの混合剤で水稻害虫の同時防除及び他の薬剤で効きにくくなった害虫にも抜群の効果があります。



●そさい・果樹の病害に

## 武田ダユニール<sup>®</sup>

●水田・畑・果樹園の除草に

## 武田グラモキソン<sup>®</sup>

# 土壌病害検診法の現状と問題点

千葉大学園芸学部 飯 田 格

## はじめに

植物病害のうちで、現在最もやっかいなものはウイルス病と土壌伝染性病害(一般には土壌病害といっている)とであろう。この両者とも防除が困難であって、農作物の生産上大きな障害となっている。

土壌病害防除のためには、病害そのものについての診断も重要であるが、それと同時に、作付しようとする圃場にはどのような病原菌が、どの程度生息しているかを明らかにすること、すなわち、病原菌の検出と定量とが重要である。土壌病害では地上部の病害と違って、発病の初期における診断がむずかしく、発見が遅れがちである。したがって発病後の処置においても遅れがちである。とくに、現在地上部病害で大きな成果をあげている薬剤防除において、土壌による薬剤の吸着あるいは分解などにより、効果が十分に発揮されない。したがって、作付前における圃場の病原菌の検出および定量、すなわち、検診が重要となるわけである。そうして、その検診の結果に基づいて、作付の計画、あるいは作付変更、ときには土壌消毒の処置などがとられることになる。

土壌病害の検診法としては、現在いろいろの手法が考案され、かなりの成果をあげているが、また問題点も残されている。いずれの方法を用いても、土壌中における病原菌のありのままの状態をつかむことはむずかしい。しかし、今後研究の進歩によって、この点も次第に解決されるであろう。

## I 病原菌の生息密度測定の意義

一般に病害の発生は病原菌の生息密度が高いほど多発するから、土壌病害においても病原菌の定量、すなわち、生息密度の測定は重要なことである。現在生息密度の測定方法としては、希釈平板法、ベルジャーダスター法、コンタクトスライド法、浮上法、残渣法、あるいはアマ茎、キュウリ胚軸など利用の捕捉法、その他いろいろの方法が考案され、それぞれの病原菌に適用され、かなりの効果をあげている。これらの方法は、病原菌の種類に応じて、菌糸、分生孢子、厚膜孢子、あるいは菌核などのいずれかを対象とし、その密度測定に適用されている。しかし、これらの器官の発病に対する重要度との関連性についての検討が残されているように思われる。このこ

とが明らかにされればさらに精度が高まるであろう。

次に重要なことは密度の表わし方であろう。*Fusarium* 菌のように土壌中で主として厚膜孢子の形で生息している菌、あるいは白絹病菌のように菌核でいるものについては単位当たり(一般には乾土 1g 当たり)の個数(菌数)として表わしているが、*Rhizoctonia* 菌のように、菌糸がおもな生息の器官のようなものでは、単位当たりの個数としての表現がむずかしい。このような菌ではトラップ(たとえばアマ茎など)への菌糸のとりつきかたで比較表現しているが今後の一つの問題点であろう。

## II 病原菌の活性

発病と関連性の高い器官の定量ができて、そのもののすべてが発病させる能力、すなわち、*inoculum potential* をもっているかどうかについてはわからない。現在用いられている手法は必ずしもこの点を表わしうるとはいえない。培地を用いる場合も、トラップにおけるとりつきかたを調べる場合も、ともに腐生的な状態での検出である。したがって、寄生状態についてのことは明らかでない。活性を示すかどうかについての検定には、寄主植物を用いるのが一つの方法でないかと思われる。寄主植物を使つての方法は、実際作付しようとする前に、あらかじめその圃場の土壌を採取し、それに寄主植物を植えつけて、その発病状態からその圃場における活性を示す病原菌の密度を推定することである。この方法はその圃場における病原菌の菌数としての表現はむずかしいが、汚染の程度としては現わしうであろう。*HAGEDRON* (1958) は *Aphanomyces euteiches* によるエンドウ立枯病についてこの方法を適用し、成果をあげている。それは作付前にその作付予定圃場から土壌を採取し、植木鉢につめ、エンドウを播種して温室で栽培し、発病程度によって、圃場における発生程度を推定する方法である。そうして、その結果に基づいて作付の可否を決めている。この方法では圃場からの土壌の採取の方法、植木鉢への土のつめ方、供試エンドウの品種、1鉢当たりの播種数、土壌水分、土壌温度および pH などの条件について規定し、発病程度の分け方なども決めている。そうして、発病程度を数字で表わし、その数字を基にして作付の可否を決めている。方法は簡単であるが、成果はきわめて大きい。わが国でも、このような方法の検討も



必要があろう。

### III 病原菌の生理生態

病原菌の生理生態を明らかにすることは、病害の直接防除において重要なばかりでなく、病原菌の検出定量においても重要なことである。病原菌が土壤中でどのような状態で生息しているのか、あるいは腐生の性質の強い菌か、寄生的な菌かなどを明らかにする必要がある。すなわち、胞子の形（分生胞子、厚膜胞子、卵胞子、子のう胞子など）でいるのか、菌糸の状態なのか、菌核の状態なのか、腐生の生活にはどんなものを基質として生活しているかなどを明らかにすることである。また、これらの状態に及ぼす、土壤温度、湿度、反応、有機物、根からの分泌物、他微生物の影響、薬剤に対する感受性、病原菌の栄養要求などについての検討も重要である。こういったことが明らかになって、初めて、それに応じた手法がとられるであろうし、またその手法における土壤の採取の方法、扱い方、また培養の場合には好適培地、好適培養温度、密度の表現などについても考案されるであろう。これらの資料は一朝一夕ではできるものでなく、それぞれの病原菌についての資料の積み重ねが必要である。

### IV 病害発生の生態についての検討

病原菌の検出定量の目的は、その圃場における対象とする病害の発生について作付前に推定することにある。したがって、そのためには、病原菌の数量とともに、寄主植物との関連性についても検討の必要があろう。病原菌の寄主体への侵入および進展の方法、それらに及ぼす温度、湿度などの影響および寄主植物の抵抗性についての検討も必要であろう。たとえば、病原菌の生息密度が高く現われても、発病に好適条件でなく、抵抗性寄主であれば、発生は下回るであろうし、それに反し、生息密度が低く現われても、発病に好適条件で、かつ、罹病性

であれば、発生は多くなろう。これらの諸条件をどのように考慮に入れるか、一つの重みの係数とするかどうかについての検討も今後の問題点でないかと考えられる。

### V 土壤微生物の影響

病原菌の検出定量において障害となる一つは、目的とするもの以外の微生物である。とくに培地を用いて糸状菌を検出定量する場合に最も障害となるのは細菌類である。ときには、細菌類によって培地全体が占められ、目的とする病原菌の検出が不可能の場合がある。以前は培地を酸性にするとか、色素を添加するなどをして細菌類による影響を少なくしていたが、現在では抗生物質の添加によってこの点は改良され、ほぼ目的を達している。しかし、糸状菌類による汚染に対してはほとんど解決されていない。わずかに、PCNB が利用されているにすぎない。糸状菌類の検出の際の腐生的糸状菌類による汚染防止については今後の問題点であろう。それには特異的に作用する薬剤の開発が必要である。それはとりまなおさず選択培地の開発とも関連性をもつにいたろう。

### VI 血清学的手法の導入

血清学的手法による土壤病原菌の検出定量は一つの新しい試みである。現在は、試料の処理方法、血清の調製法など、いくつかの解決しなければならない問題点をもっているが、これらの点が解決されれば、検診上の有力な手法となろう。

## む す び

初めに述べたように、土壤病害防除にとって検診はきわめて重要なことである。現在のところ、検診の精度を高めるには、いくつかの方法の組み合わせが必要である。また、寄主植物を使つての、いわゆる幼植物検定は、設備、手法の点で簡単であり、今後の検討課題の一つでないかと考えられる。

### 次 号 予 告

次 9 月号は下記原稿を掲載する予定です。

水田害虫に対する天敵としてのクモ類

の役割

笹波 隆文

スプリンクラーによるカンキツ病害虫

防除薬剤の散布

山本 省二

インゲン菌核病の発生予察と防除

赤井 純

植物生長調整剤の果樹への利用

広瀬 和榮

コンニャク根腐病

竹内昭士郎

スイセンウイルス病

岩木 満朗

外国の病菌害虫を輸入する手続き

松本 安生

インドの旅

服部伊楚子

植物防疫基礎講座

小型昆虫のプレバート標本の新しい

作り方

高木 貞夫

定期購読者以外の申込みは至急前金で本会へ

1 部 136 円 (千とも)

# 捕捉法による土壌病害検診

農林省農業技術研究所 生 越 明

## I 捕捉法とその材料

土壌から病原菌を分離する方法は種々多様にわたっており、それらの方法に関する評論や、方法の相互比較などの研究報告も多い。その中でいわゆる捕捉法といわれるものはまた餌つけ法、トラップ法とも呼ばれるものであり、「乾燥した茎その他植物組織片を土壌に埋め、一定期間後そこに着生する病原菌の頻度を、再分離することにより測定し、その結果から土壌中の病原菌の活性、数量を相対的に評価する方法」である(宇井)。組織片としては、病原菌の性格により種々ものが用いられている。

例をあげると、*Thielaviopsis basicola*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia aroidae* にはニンジン切片, *Fusarium solani*, *Phytophthora infestans*, *Erwinia atroseptica* にはジャガイモ塊茎, *Helminthosporium sativum*, *Curvularia ramosa*, *Ophiobolus graminis*, *Fusarium culmorum* にはコムギ稈, *Phytophthora cinnamomi* にはアボカド、リンゴ、スイカあるいはパイナップルの葉身や根, *P. citrophthora*, *P. parasitica*, *P. syringae* にはレモンやオレンジの果実, *Pythium* に対してはトウモロコシ粒, ニンジン切片, ジャガイモ切片, キュウリ茎, カシの木片, *Aphanomyces* に対してはサトウダイコンの根組織, また種々の水生菌に対しては大麻種子, 米粒, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasianfectum* にはワタの根, *Helicobasidium mompa* にはニセアカシヤ, クワ, ナシ, ホソバカワヤナギの樹枝, *Phoma* sp. にはハッカの茎, *Rhizoctonia solani* に対してはソバ, ワタ, インゲン, アマの茎片, サトウダイコン葉柄, イナわらなどが用いられている。その他土壌菌を分離するための捕捉の材料として、それぞれの菌の性質を利用して、木片, セロファン, 毛髪, キチン, 皮, 羊毛, 菌核, グラスファイバー, ナイロンメッシュなども用いられている。

これら捕捉法は普通土壌病原菌が、その強弱はあるにしても腐生的性質をもっていることを利用したものである。したがって病原菌の利用しやすいものを材料とすればよいわけであるが、病原菌によってその利用しやすい基質は異なっており、各菌についてくふうがなされている。このことからその病原菌の宿主となる植物から材料がとられていることが多い。その材料は土壌への設置、再分離などの操作のために取り扱いやすいものでなければ

ならない。またその材料は容易にいつでも多量に入手できるものでなければならない。このため病原菌の着生自体はよくても使用しにくいものもある。*Rhizoctonia* に対してアマの乾燥茎が上記の種々の条件から好適であるが、近年アマの栽培がほとんど行われなくなって入手することが困難になってきている。

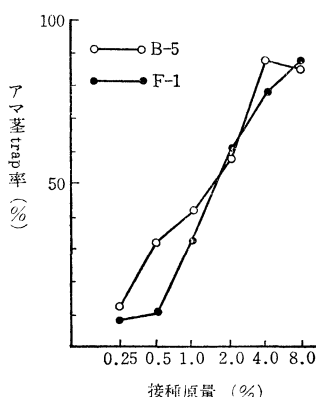
上にあげた捕捉法の例のほとんどは土壌から菌を分離するため、あるいは病原菌の生態の研究のために用いられたものであって、土壌検診を目的として開発されたものはほとんどない。しかしいずれにしても菌の分離頻度の高い土壌は菌の密度が高いことが推定され、それらの方法を土壌検診に用いる試みがなされている。個々の捕捉法の実際、材料の使用方法については、それぞれの報告に譲るとして、ここではアマ茎による *Rhizoctonia* の捕捉法を中心に、その他 2, 3 の例をあげて参考に供したい。

## II アマ茎による *Rhizoctonia solani* の捕捉

*R. solani* をアマ茎によって捕捉する場合の実際操作は、室内の場合と現地圃場の場合とで多少異なる。実験室の場合には長さ 1~2cm の材料を調査土壌によく混合して、一定温度に放置しておき、のち取りだして分離に供する。この際のアマ茎はナマのものでもよいが、成熟乾燥したもののほうが保存もきくし取り扱いやすい。*R. solani* の場合には 25°C 前後、土壌湿度は最大容水量の 30~60% の範囲がよく、また埋没期間は 3~4 日間がよい。分離培地は pH 4~5 の水道水寒天がよく、また抗生物質の併用も有力な手段である。接種土壌についてこのような条件下で行なった実験では接種量とアマ茎による捕捉率は次ページの図にみられるように、高い相関を示しており、分離頻度が土壌中の菌量を反映していることがうかがわれる。

圃場における捕捉法について実際に行なった手順とその結果について記す。畑に栽培したアマの成熟後に収穫した茎から同じような太さの部分を実約 15cm の長さに切り取り捕捉材料とした。これらの茎 10 本を 1 束として両端を針金でたばねたのち、プロピレンオキサイドで殺菌して使用前まで保存した。畑で分離を行なう個所の土壌に、この束を垂直に挿入して、束の上端が 2~3cm 地上にでる程度に埋める。これはもちろん回収のペンギ

のためである。アマの束は1週間そのまま放置し、のち静かに取りだし、付着した土壌を軽くふり落とし、ポリエチレン小袋に入れて実験室に持ち帰り、ただちに分離に供する。菌の分離は次の順序に従った。室内へ持ち帰ったアマ茎の束は地表にでていた部分と、下端を切り取っ



接種量と trap 率の比較  
(宇井・生越, 1964 より)

て、地表から約 5cm の所の茎を分離に供する。1 束のアマ茎のうち任意の 5 本を選び、これを流水中で、次いでストレプトマイシン 100 ppm を含む殺菌水中で十分に洗浄し、表面の土粒その他を落とす。過剰の水分は殺菌したろ紙で吸い取ってから、乳酸酸性 (pH 4~5) 水道水寒天を入れたシャーレの表面に並べる。25°C, 24 時間培養後解剖顕微鏡下で観察し、*Rhizoctonia* を生じたアマ茎の本数、およびその分離地点の番号を記載し、次いで培養基に移して保存した。これらは 4 カ所のサトウダイコン圃場につき栽培期間を通じて 1 週間ごとに、毎回 30 束を用いて行なった。その結果の一部は第 1 表のとおりであった。

*Rhizoctonia* の分離率のもっとも多い清川で年間平均 72.3% に達し、少ない畑では 20.9% であった。各圃場におけるサトウダイコンの *R. solani* による発病を比較すると、もっとも激しい清川では 78.4%、最少の北広島で 15.1% といちじるしい違いがあった。このなかで下島松圃場においては *Aphanomyces* による立枯病、黒根病が多く、根腐病と混在していたため、発病率は過大に算定されているきらいはあるが、それを除いて分離頻度の高い圃場ほど発病も多くなっている。またこの表には示されていないが、5~6 月あるいは 10 月の分離率の高い畑では根腐病の発生も高い傾向にあり、これらのことからある時期における *R. solani* の活性を測定すると、

その畑の発病の程度を推定することも可能であろう。しかしこの調査においてはサトウダイコン発病株から分離される菌とアマ茎から分離される菌の比較が行なわれておらず、問題は残されている。

### III その他 2, 3 の例ならびに捕捉法の問題点

PAPAVIZAS and DAVEY は *R. solani* について次のような実験を行なった。インゲンを連作することによって、*R. solani* にひどく汚染された土壌を作り、これを非汚染土壌で 1/2, 1/4, ..... 1/64 に希釈した。これにソバ茎を捕捉の材料として混入し、4 日後取りだして水道水寒天上におき、*R. solani* の分離率を調べた。一方同様の希釈土壌にインゲンを播種し、21 日後の子苗の胚軸の病変を調べると同時に菌の分離を行なった。その結果は第 2 表のようであった。

この結果から PAPAVIZAS らは指標植物法に比して捕捉法の簡便さと、時間がかからないことを強調している。胚軸への着生とソバ茎への着生とは高い相関を示しているが、それらと感染程度とはあまり相関がない。ここで問題となるのは発病に関与する菌と捕捉法によって分離される菌との関係である。この点に関する詳細な調査はない。一般に死んだ植物体は生きたそれよりも着生に対して選択性がないと考えられているが、どの程度まで非選択性であるのか捕捉法ではどのような材料を用いても常に問題となるところである。また捕捉法によってとらえられる菌は土壌中で活性状態にあるもの、すなわち活

第 2 表 *R. solani* によるインゲンの感染程度と胚軸およびソバ茎からの分離率 (PAPAVIZAS and DAVEY, 1959 より)

汚染土と非汚染土との比率	インゲンの感染程度	<i>R. solani</i> の分離率 (%)	
		インゲン胚軸	ソバ茎片
1 : 0	1.6	56	71
1 : 1	2.5	41	47
1 : 3	3.0	51	42
1 : 7	1.4	32	38
1 : 15	1.4	20	39
1 : 31	1.8	19	21
1 : 63	0.7	8	9
0 : 1	0.2	0	1

第 1 表 北海道のサトウダイコン畑における *Rhizoctonia solani* 活動の比較 (宇井ら, 1965 より)

圃 場	分 離 回 数	供試した束の総数	<i>R. solani</i> が分離された束の総数	同 分 離 率 (%)	サトウダイコンの発病率 (%)	存在する菌型の数
広島村北広島	15	446	142	31.8	15.1	13
恵庭町下島松	15	449	94	20.9	40.1	9
帯広市川西	20	596	290	47.4	64.1	18
帯広市清川	20	599	433	72.3	78.4	6

性の反映であり、植物残渣法では静止状態にあるもの、すなわち菌量の反映であると考えられている。では発病に關与するのはどの状態のものであるのか、捕捉法によって得たデータを評価する上に大きな問題である。とくに *Rhizoctonia* のように多かれ少なかれ、あらゆる地域、あらゆる土壌に存在し、それも第1表に示されるように複数の菌型で存在する菌については、その存否、量だけでは正確な評価はなされないと考えられる。

紫紋羽病菌のような場合にはこの点比較的簡単である。鈴井・鎧谷は紫紋羽病菌を土壌検診するためにニセアカシヤ、クワ、ナシ、ホソバカワナナギの枝を用い、菌を着生させることによって菌の存否、密度を推定しようとした。そして永年性作物を新植する場合には、この方法を実行することによって本病の発生をまぬかれうるのであるとしている。紫紋羽病菌のようにその存否によって判定できる病害の場合においては、*Rhizoctonia* の場合のような問題は生じない。

土壌からある特定の菌をできるだけ多く分離しようとする場合には、その菌がもっともよく着生する材料を用いることがよいことはいふまでもない。しかし菌の検出と病気との関連を考える場合にはいささか問題は別である。そこでは発病に關与する病原菌を反映するものが好ましい。この点を考慮して、捕捉法の材料として宿主植物組織をそれもまだ生きている状態で使用することが考えられる。*Phytophthora* のためのレモン、*Rhizoctonia* のためのインゲン胚軸、サトウダイコン葉柄、*Phoma* のためのハッカ茎の使用などはその例である。とくに *Rhizoctonia* のように菌型が云々される菌、あるいは種や form の同定がむずかしい菌についてはこれは有力な方法であろう。そしてこれらは指標植物法に近い。あるいはそのものといつてよいかも知れない。

Tsao はカンキツ類を侵す *Phytophthora* について“Serial dilution end-point method”をくふうした。これは汚染土壌を非汚染土壌で 1/2, 1/4, ……と希釈して行き、水を加えて泥状にしてレモンの果実を接触させ、どの希釈度でレモンの発病が終わるかを調べる方法である。これによってその土壌の相対的な発病力を推定するわけである。これはレモンに対する発病力を問題にしており、指標植物法に近いが、病原菌の相対量と検診法の主眼である病気とを密接に結びつけている。

しかし宿主植物からの生きた材料を用いた場合にも、その結果は発病をうまく反映するとは限らず、むしろ普通の捕捉材料と類似した数値を示すのが普通である。*Rhizoctonia* のような場合にはとくにそうである。このような点から捕捉法のみで土壌検診を行なうことのできる病害はごく限られたものであるといえよう。

#### おもな参考文献

- American Phytopathological Society (1967) : Source-book of laboratory exercises in plant pathology. W. H. Freeman and Company pp. 388.  
 DURBIN, R. D. (1961) : Botanical Rev. 27 : 522~560.  
 PAPAIVIZAS, G. C. and C. B. DAVEY (1959) : Plant Dis. Reprtr. 43 : 404~410.  
 鈴井孝仁・鎧谷大節 (1963) : 北農試彙報 82 : 46~54.  
 Tsao, P. H. (1960) : Phytopath. 50 : 717~724.  
 宇井格生 (1968) : 土壌病害用語解説 日本植物防疫協会 pp. 55~98.  
 ———・三井 康・鈴井孝仁・生越 明・呂 照雄 (1965) : 甜菜研究会研究年報 4 : 101~112.  
 ———・生越 明 (1964) : 北大農邦文紀要 5 : 5~16.  
 WARCUP, T. H. (1960) : in The Ecology of Soil Fungi. pp. 3~21.  
 ——— (1965) : in Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens. pp. 52~67.

#### 人 事 消 息

佐分利重隆氏 (農政局植物防疫課防除班発生予察係) は農林水産技術会議連絡調整課連絡調整第3班種苗保存導入係長に  
 児島司忠氏 (門司植物防疫所国内課防疫管理官) ・上野輝雄氏 (横浜植物防疫所新潟出張所長) は横浜植物防疫所本所国際課防疫管理官に  
 山内政臣氏 (横浜植物防疫所東京支所国際第2係長) は同上課輸入第2係長に  
 小野間倉三氏 (同上千葉出張所) は同上課輸入第3係長に  
 高田昌穂氏 (神戸植物防疫所国際課輸入第1係長) は同上課輸入第4係長に

大田 庸氏 (横浜植物防疫所東京支所国内係長) は横浜植物防疫所国内課輸出係長に  
 尊田望之氏 (同上本所調査課害虫係長) は同上所調査課防疫管理官に  
 岡野 清氏 (同上新潟出張所) は同上東京支所国際第2係長に  
 千田繁志氏 (同上秋田出張所) は同上所国内係長に  
 伊藤信一氏 (同上本所国際課防疫管理官) は同上晴海出張所長に  
 二本信春氏 (神戸植物防疫所小松島出張所長) は同上新潟出張所長に

# 浮上法による土壌病害検診

農林省農業技術研究所 渡 辺 恒 雄

土壌中に存在する病原菌の菌数を定量する方法はいくつかある。しかし現在のところ菌数を正確に定量することは技術的に困難で、数例を除いては満足しう状態にまでは至っていない。ここに紹介する浮上法による土壌病害検診もあまり実施された例がなく今後の発展が望まれる。

さて、土壌中の病原菌をなんらかの溶媒で浮上させ分離する試みは古くは *Phymatotrichum omnivorum* 菌の菌核をシヨ糖液で浮上させ分離した例<sup>9)</sup>があり、最近では *Helminthosporium sativum* 菌の孢子や *Macrophomina phaseoli* 菌の菌核がそれぞれ 鉾油<sup>7)</sup>や硫酸アンモニウム液(硫安液)<sup>10)</sup>を用いて分離定量され、これらの菌の土壌中の生態について多くの知見が得られている。

## I *P. omnivorum* 菌の菌核分離装置とシヨ糖液を利用した菌核の分離

*P. omnivorum* 菌は高温、多湿アルカリ性土壌を好む多犯性の土壌病原菌で直径 1 mm 以下の微小な菌核から 1 cm 以上に及ぶ大きな菌核を形成する。

この菌核を土壌から分離するのに ROGERS は 1936 年円筒ふるいと水平ふるいの 2 個のふるいを上下に組み合わせた菌核分離装置<sup>9)</sup>を考案した。円筒ふるいは大きさが直径 30 cm、高さ 38 cm あり粗い目(直径 1.6 mm)を有し回転運動をする。それに反し平行ふるいは縦 91 cm、横 61 cm あり、2 枚の細かい目(直径 0.3 mm)を有するふるいを 10 cm の間隔をおいて平行につないだもので往復運動をする。

土壌サンプルはまず円筒ふるいに入れられ、その中にとりつけられた水孔からでる水の圧力と攪拌機の衝撃により粉砕され、石や粗大な粒子や植物残渣などが円筒ふるいに残され、菌核や他の微粒子は密な平行ふるいに流しだされる。さらに微粒子は細かい目を通り抜けて流出し、主として菌核だけが平行ふるい上に取りだされる。それら全部を適当な容器に洗い落とし比重約 1.25 のシヨ糖液(55%, W/V)中でかきまぜると菌核が浮上するので、それらを別のろ過器に流しだす。その後水道水でよく洗えば菌核だけを比較的純粋に分離することができる。この装置を利用するとドラムカン約 15 杯、4 t の土壌が 1 日で処理され菌核だけを選別できるという。このようにして取りだした菌核は 54% が発芽力を有する

生存菌核であることが確認された。また使用したシヨ糖液は菌核の共存にはなんら影響がない。

## II 土壌中の *H. sativum* 菌分生孢子の鉾油を利用した分離法

カナダのコムギ畑には昔から *Helminthosporium sativum* 菌によるコムギ根腐病が広域にわたって発生しており、土壌中に同菌が存在し感染源となっているのではないかと長い間考えられてきた。そのためにたびたび土壌希釈法を用いて同菌の分離が試みられたがごくまれにしか検出することができず、土壌中での存在を正確に知ることはほとんど不可能に近かった。しかし LEDINGHAM らは 1955 年浮上法(Flotation method)を考案し、供試した 20 カ所の土壌全部に同菌が存在していることを確認<sup>7)</sup>した。

これは鉾油と水により乳濁液(emulsion)を形成させそこに土壌中の孢子を集め分離する方法である。その後この方法は改良されて、土壌中から分離した孢子の生死をも鑑別できる flotation-viability count method<sup>4)</sup>となった。この方法は 40 g の土壌サンプル(抱水量を 40%に保つ)に 10 ml の鉾油を加えてよくかきまぜ、試験管(直径 28 mm、長さ 300 mm)に移してさらに水を試験管の上端から 8 cm くらいまで加えてよく振とうする。約 5 分間静置しやや大きな粒子を沈殿させ、上層に浮いている全乳濁液約 25 ml を別の器に移し 45°C まで加温する。それにあらかじめ用意しておいた 1% の糖蜜を含む 8 ml の溶融寒天(45°C)を流しこみよく混ぜる。その乳濁液寒天液にスライドを入れて、片側だけを被覆する。その後約 20 時間 24°C で incubate 後、cotton blue で染色し、80 倍で検鏡し発芽(生存)孢子数を数える。土壌 1 g 当たりの孢子数は 1 枚のスライド上に検出された孢子数とある係数の積から算出する。この係数は乳濁液寒天の全重量を片面のスライドの乳濁液寒天の重量で割り、1/40 倍すれば算出できる。この方法で無殺菌の土壌に孢子を混ぜて作った人為的な病土からの孢子の再回収率は 98% に達した。

### 1 カナダのコムギ栽培地の生存孢子数

この方法を用いて 1959 年春 Saskatchewan 州の 100 カ所の耕地からそれぞれ 2 カ所を選び 200 の土壌サンプルについて分生孢子を検出<sup>7)</sup>したところ風乾土 1 g 当



たり最高 893 個、平均 118 個の胞子が見出された。最も普通に見られる胞子数は 200 個以下の例が多く、全体のサンプル中 87% を占めた。またその翌年 47 カ所の耕地から 94 のサンプルについて調査<sup>9)</sup>したところ平均 114 個の胞子が検出された。

胞子の生存率は土壌により異なり、27~91% の生存率<sup>9)</sup>を示した。1960 年度の調査では、土壌 1 g 当たり 8~253 個、平均 56 個の生存胞子が検出された<sup>9)</sup>。

また 1 夏休閑しておいた耕地からは平均 111 個、休閑せずにおいたムギ畑からは平均 148 個の菌数が検出<sup>4)</sup>されたが統計的な差がなかった。

## 2 刈株と土壌中での分生胞子の生存力

*H. sativum* 菌はいわゆる根生息菌 (Root inhabiting fungus) として考えられ、腐生的には長く生存できないとされている。しかし CHINN らがコムギ刈株に存在する分生胞子の生存力<sup>3)</sup>をテストしたところ、収穫直後の 10 月には 91% の胞子が生存力を有していた。1 夏休閑後、同じ圃場で同じように採集した 13 カ月後の胞子は 61%、20 カ月後には 40% の胞子が生存力を有していた。コムギ収穫前後に胞子が形成されたと仮定すると形成後 1 年半経ても約半数が発芽可能で、かなり強い生存力を有することがこの観察により明らかにされた。

土壌中での胞子の生存力<sup>3)</sup>についての実験は人為的な病土を使って行なわれたが、乾燥土 (抱水量 18%) 中では処理開始後 9 カ月経てもほとんど生存胞子数は変わらず長い生存力を有することが証明された。しかし水分過多の土壌 (抱水量 88%) では急速に生存力が落ち 9 カ月後には添加した約 2% の胞子しか生存しておらず、土壌中の水分量が胞子の生存を左右する大きな要因であることが明らかにされた。

これら土壌中の胞子数の変化も圃場の刈株からとりだした胞子の生存力テストもすべてこの flotation-viability count method の技術を利用して実験が可能になったのである。

## 3 土壌中の生存胞子数とコムギ根腐病発病との関係

flotation-viability count method により定量したコムギ耕作土中の生存胞子数と圃場におけるコムギ幼苗期 (4 葉期) の根腐病発生<sup>6)</sup>との間には正の相関関係があることが明らかにされた。これは地際の節間部の病徴に基づく罹病度と、分離培養による感染度から判定した。また自然の病土や人為的な病土においても 24°C の温室条件下で菌数と発病との間には高い正の相関関係があることが実験的に証明された。

## 4 有機物添加による生態防除とその理論

*H. sativum* 菌の生態防除の 1 例として Soybean meal

や緑肥などを病土に添加すると、病害防除に効果があがるということが明らかにされているが、これはこれらの有機物添加の結果、土壌微生物が増殖し、病原菌に対し拮抗作用が起こったせいであるという解釈が最も一般的に受け入れられている。

しかし CHINN らは 1953 年、有機物添加が病害防除に有効なのはそれらの添加により土壌中に存在する病原菌が発芽し、溶菌した結果菌数が減少したためであろうという仮説<sup>7)</sup>をたてた。その後この仮説は彼らの考案した浮上法の技術を利用して正しいことが証明<sup>8)</sup>された。

すなわち自然の土壌には拮菌作用があり、胞子は一般に未発芽の状態にあるが、糖蜜 (1.25%) やビタミン C (1.0%) を添加すると土壌中で胞子は 80% 近くも発芽する。このような土壌では添加後 2 週間目には胞子はほとんど検出できなくらいに減少した。しかし無添加区や、胞子発芽になんら影響のないブドウ糖 (1.25%) 添加区では胞子数はほとんど変化がなかった。処理後 16 週目には無添加区でも生存胞子数は約 1/3 に減少したがビタミン C や糖蜜添加区では全然菌を検出することができなかった。ブドウ糖区も対照の無処理区に比べてかなり菌数が減少していることが実験的に証明された。また同時に土中の細菌や放線菌、糸状菌の菌数について有機物添加による影響を調査したところ無処理区に比べ一般に増加していることが示された。

この実験から土壌中に有機物添加の結果病原菌の胞子が発芽し、その後溶菌現象が起こり菌数が減少するという仮説が拮抗現象の増加という考え方とともに正しいことが証明された。

## III 土壌中の *M. phaseoli* 菌核の 硫安液利用による分離法

*M. phaseoli* 菌は直径 80 $\mu$  前後の微小な菌核を形成する。この菌は土壌中で菌核により残存しているのであろうということは人為的に埋没した菌核が長い生存力を有することから一般に信じられていたが、自然の病土から菌核だけを純粹に分離し定量する方法はなかった。

しかし 1967 年、25% の硫安液を用いてこの菌の菌核を直接土壌より分離する方法が渡辺らにより報告<sup>10)</sup>された。

この方法は 3 ml 容の同筒形のガラス容器に 0.1 g の風乾土を入れ約 2 ml の 25% 硫安液を加えガラス棒でよくかきまぜる。約 5 分ほど静置し、大きな粒子や石を沈殿させた後、さらに 5 ml の硫安液をガラス棒をつたわらせて静かに加えて上部に浮いている菌核や他の粒子を、ロート中のろ紙上にあふれださせる。その後その硫

安液を減圧して除去すると菌核がろ紙上に取りだされる。ろ紙にはあらかじめ 5 mm 間隔で平行線を引いておき、菌核を数えやすいようにしておく。ろ紙上にとりだした菌核は実体顕微鏡 30 倍下で観察しながら個数を測定する。

菌核の生死を判定するにはろ紙上に取りだした菌核を 0.053% の次亜塩素酸液で 30 秒間処理し、さらに 50 ml の殺菌水で洗って表面殺菌後実体顕微鏡下で 1 個ずつ拾いだし PDA 培地に植えた。その後 30°C で 10 日間培養し一定の供試菌核数を使って、生存率を算出し、菌核数との積より風乾土 1 g 当たりの生存菌核数を算出する。

これらの実験に使用する 25% 硫安液や次亜塩素酸液は菌核の生存にはなんら影響がない。またこの方法による人為的病土からの培養菌核の再回収率はほぼ 100% に達した。またこの方法を用いて沖縄のサトウキビ畑や長野県のダイズ畑の土壌中には 1 g 当たり 10 数個の生存菌核が存在していることが明らかにされた<sup>10)</sup>。

### 1 土壌くん蒸処理後の菌核数の変動

北アメリカカリフォルニア州の森林育苗圃には、微粒菌核病がまん延しておりそのシロミ育苗区の土壌には風乾土 1 g 当たり平均 35 個、ボンデローサマツ育苗区や休閒区の土壌には平均 17 個の生存菌核が検出された。

また Pathofume や Trizone で土壌くん蒸したシロミ育苗区の約 3 年目の土壌には 3 個、ボンデローサマツ育苗区や休閒区にはそれぞれ 1, 3 個が見出され、くん蒸処理後約 3 年を経ても菌数の復活がかなりおそいこと、しかし罹病性のシロミを植えると菌の復活が促進されることが、この研究<sup>10), 11)</sup>により明らかにされた。

また深さ約 50 cm の無処理区の土壌には 10 個の生存菌核が検出されたが、処理区には 2~3 個存在しておりくん蒸処理が主として土壌の表層に限られ、深部にはあまり効果のないことが証明された。

### 2 土壌中の菌核数と炭腐病発生との関係

このシロミ育苗区の土壌に Pinto bean を植え、炭腐病の発生を 32°C の温室条件下で調べた<sup>10), 11)</sup>ところ、1 g の土壌当たり 35 個の生存菌核が見出された無処理区の土壌では播種後 30 日目には 11.5% の植物がこの菌により枯死あるいは罹病した。これに反し 3~10 個

の生存菌核を有する土壌くん蒸土では 1.3~1.9% の植物が枯死あるいは罹病し、土壌中の生存菌核数と炭腐病発生との間には高い正の相関関係があることが示された。また一定数の菌核を入れて作った人為的病土においても菌核数と発病との間には高い正の相関関係があることが実験的に証明された。

## IV そ の 他

大谷は 1962 年タバコの黒根病菌 *Thielaviopsis basicola* の厚膜胞子を第二リン酸カリ液 (比重 1.2) で土壌から浮上させ検定<sup>9)</sup>した。しかし土壌中の菌数の定量にはタバコ葉を用いる局部病斑法を使用した。

以上 4 種の病原菌の浮上法による土壌検診について簡単に述べたが、*H. sativum* 菌の例を見てもわかるとおり浮上法の開発により、土壌中で胞子が感染源として重要な役割を演じていることが実験的に証明された。また同菌の土壌中での生存や活動に及ぼす種々な環境要因なども菌数の変化を通して直接知ることが可能になった。

今後浮上法などを用いて土壌検診するにあたっては、土壌中の菌数ばかりでなく、病原菌と寄主作物をとりまく環境を十分考慮して総合的な見地から行なわれることがますます重要となるであろう。

### 引 用 文 献

- 1) CHINN, S. H. F. et al. (1953) : *Phytopathology* 43 : 701. (Abstr.)
- 2) ——— and R. J. LEDINGHAM (1957) : *Can. J. Bot.* 35 : 697~701.
- 3) ——— (1958) : *ibid.* 36 : 289~295.
- 4) ——— et al. (1960) : *ibid.* 38 : 533~539.
- 5) ——— and R. J. LEDINGHAM (1961) : *ibid.* 39 : 739~748.
- 6) ——— et al. (1952) : *Can. J. Pl. Science* 42 : 720~727.
- 7) LEDINGHAM, R. J. and S. H. F. CHINN (1955) : *Can. J. Bot.* 33 : 298~303.
- 8) 大谷快夫 (1962) : 岡山たばこ試験場報告 23 : 118.
- 9) ROGERS, C. H. (1936) : *J. Agr. Res.* 52 : 73~79.
- 10) WATANABE, T. et al. (1967) : *Phytopathology* 57 : 1010. (Abstr.)
- 11) 渡辺恒雄ら (1969) : 土と微生物 11 : 16~27.

## 残渣法による土壌病害検診

高知大学農学部 小 倉 寛 典

土壌病害の発生は土壌中に存在する病原菌量により左右される。このため、あらかじめ土壌中の菌量を知ることができれば、それは病害の防除あるいは予防措置を講ずる必要があるかどうかを判断する際の一つの目安になるであろう。その一つの手段として残渣法があげられる。この方法は、土壌中の病原菌の腐生生活の主場面である植物残渣を取りだして残渣より出現する病原菌数により土壌汚染度を知らうとするものである。以下にその実施要領と応用例について解説してみよう。

### I 準備する器具

ふるい（孔径 1cm, 5mm, 2mm）、約 1 l 容のピーカーあるいはそれに類する容器、振とうフラスコ（300～500 ml 容）、ガーゼ（紅茶濾しでも代用できる）、ピンセット、シャーレ、ろ紙、寒天培地、殺菌水。ふるいおよび 1 l 容ピーカー以外はすべて殺菌後使用する。

### II 手順と方法

#### 1 土壌の採取

採取地点は圃場の広さにより異なるが、苗圃の場合には 1m<sup>2</sup> 当たり 1 カ所、本圃の場合には約 10m<sup>2</sup> 当たり 1～2 カ所とする。採取土壌深度は病原菌の種類、土壌の物理的条件などにより異なるが普通の畑地では 2.5～10cm とする。採取量は各地点約 200～500 g でよい。

#### 2 残渣の採取

各地点の土壌をよく混和して孔径の異なるふるいに連続的に通し、各ふるいに残った土壌および 2mm のふるいを通った土壌をピーカーに入れ水を注いでよくかきまぜ、上澄液に浮遊する残渣を集める。これを数回くり返してなるべく多数の残渣を採集する。とくに試料が細かくなるにつれ、この操作のくり返しが必要になるようである。採取土壌地点の多い場合には土壌全量を混和せず数地点ごとに分けたほうが分布密度の多少が明確になる。また、採土量は多いほうが好結果が得られるようである。このようにして得た残渣を殺菌水を入れた振とうフラスコに入れ、1 分間 50～70 回の割合で 5～15 分間振とうし、残渣に付着する土壌粒子や胞子など洗い落とす。さらに殺菌水を入れ換えてこの操作を数回くり返す。この場合、小さい残渣や腐植の進んだ残渣は砕けやすくなるので振とう数や水洗時間を加減する。また、長大な

残渣はあらかじめ中央部を約 2cm 残して両端は除外する。また、培養中に出現する細菌類を除くために殺菌水にストレプトマイシン 50ppm、ローズベンガル 50ppm を添加すると効果はあるが、藻菌類の出現頻度はやや低下するようである。

#### 3 病原菌の分離

水洗した残渣を殺菌したガーゼに広げてそのまま殺菌したろ紙に移し、約 1～2 時間水分を除去する。この残渣を寒天培地を流したシャーレに移し、20～28℃ に静置する。細かい残渣はそのまま培地上に置き、大きい残渣は中央部を 5～1mm に切り取り使用する。長いまま使用する場合には生育の速い菌のため目的の菌の出現を見落とす場合がある。残渣は 100 片を任意に選び、1 シャーレ内に 4～5 片を移植する。培地は *Pythium* 用としてはストレプトマイシン 50ppm 添加ジャガイモ煎汁寒天培地、*Fusarium oxysporum* 用としては PCNB 加用ジャガイモ煎汁希釈寒天培地（ジャガイモ煎汁—ジャガイモ 200g、ショ糖 20g—を 1/5 に希釈、PCNB 0.1%, コール酸ナトリウム 0.05%, ストレプトマイシン 100ppm、寒天 20g/l、H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> にて pH 4.5 に調整）、*Rhizoctonia solani* 用としてはジャガイモ煎汁寒天培地あるいは水寒天培地でいずれもストレプトマイシン 50ppm を添加し、乳酸で pH 5.0～4.8 に調整したものを使用する。培養は *P. aphanidermatum* は 28℃ で 2～4 日間、*F. oxysporum* は 20～22℃ で 7～10 日間、*R. solani* は 25℃ 前後で 3～5 日間である。こうして培地上に出現する病原菌を菌そうの特徴により、あるいは検鏡により確認する。さらに各菌を斜面培地を入れた試験管に移し、同時に表面殺菌した種子を植え付けて罹病の有無を検討する。

### III 残渣法による病原菌検出の成績

#### 1 腐植の程度

病原菌汚染圃場にわらを 2 週間ごとにすき込み、残渣から病原菌を分離した（第 1 表）。

*P. aphanidermatum* は比較的新しい残渣から、*F. oxysporum*、*R. solani* はやや古い残渣から多く出現する。わらの腐植の程度によりキュウリ苗の立枯率は異なり、各病原菌の検出率の多い腐植わらでは立枯率も増加し、検出率と発病率との間にはある程度の相関が認められた

第1表 植物残渣の腐植の程度と病原菌の検出率

病原菌	わら埋没期間	7日	21	35	63	91	119
<i>P. aphanidermatum</i>		*21	23	2	6	3	2
<i>F. oxysporum</i>		7	26	28	31	11	10
<i>R. solani</i>		18	34	31	24	4	7

\* % : 病原菌出現比率

第2表 植物残渣の腐植の程度とキュウリ幼苗立枯病発生率

病原菌	わら埋没期間	7日	21	35	63	91	111
<i>P. aphanidermatum</i>		*46	40	0	0	0	0
<i>F. oxysporum</i>		10	26	20	25	12	17
<i>R. solani</i>		23	71	44	8	12	3

\* % : キュウリ幼苗立枯率

(第2表)。

## 2 残渣の大きさ

同じ程度に腐植したわらを取りだして、その大きさによる病原菌検出の難易を検討した(第3表)。*P. aphanidermatum*では、わらが大きくなるにつれ出現率は低下し、一般土壌菌の出現率が增加する。この菌は他の土壌菌によりかなりの阻害をうけるようである。*R. solani*もややこの傾向は認められるが、*F. oxysporum*では他菌の影響はほとんど認められない。しかし、いずれの菌でも残渣は0.5cm以下のもののほうが病原菌の存在を確認するに便利である。

第3表 土壌中の残渣の大きさと病原菌の分離頻度\*a

病原菌	残渣の長さ	病原菌	一般土壌糸状菌
<i>P. aphanidermatum</i>	2cm	*b17	422
	1	22	275
	0.5	29	131
	0.1	23	157
<i>F. oxysporum</i>	2	37	288
	1	46	251
	0.5	36	106
	0.1	44	92
<i>R. solani</i>	2	54	184
	1	41	132
	0.5	66	109
	0.1	61	67

\*a : 土壌混入 20 日後のわらより検出

\*b : わら 100 片より出現する菌数

## 3 土壌採取点数

病原菌は土壌中に均一には分布していない。いま、4 m<sup>2</sup> 当たりの *R. solani* の分布は採取地点数を増すと平

第4表 土壌採取地点数\*と *R. solani* 検出頻度

	採取地点数	各地点の <i>R. solani</i> (%)	平均
第1回実験	1	8	8 %
	4	14, 13, 11, 6	11.0
	9	15, 15, 13, 12, 7, 7, 6, 4, 1	8.9
第2回実験	1	12	12
	4	13, 10, 7, 4	8.5
	9	18, 14, 14, 14, 12, 6, 6, 3, 3	10.0

\* 採取範囲 : 2m×2m, 採取量 : 1 地点 500 g

均値では大差は認められないが、各地点によりかなりの変動が認められる(第4表)。このことから採取地点数はなるべく多いほうが好ましい。圃場においては採取土壌を混和するよりも、いくつかのブロックに分けて調査する必要があるように思われる。

## 4 土中菌量と発病との関係

土壌病害は第1, 2表から明らかなように土壌中の菌量がある量に達すると急激に発生する傾向がある。この場合、幼苗期を侵す病原菌の発生は急激であるから短時間の消長を明らかにすればよい。これに反し、生育全期を通じて発生する場合には長時間にわたって病原菌の消長を追求する必要がある。第5表は幼苗立枯病の消長を調査したものである。残渣による病原菌の検出はいずれも播種直前に行なった。立枯率は大体検出率と相対的な関係をもつようである。しかし、土壌環境が異なれば検出菌量は同程度でも立枯率はかなり異なる点に留意しなければならない。とくに、この傾向は *P. aphanidermatum* によく見られる。この菌では土壌中の菌密度とともに環

第5表 キュウリ幼苗立枯率と病原菌検出率との関係

病原菌	栽培* 条件		%			
<i>P. aphanidermatum</i>	高多温湿	罹病率 検出率	99 17	100 21	72 9	12 3
	低乾温燥	罹病率 検出率	54 12	21 12	18 9	13 8
<i>F. oxysporum</i>	高多温湿	罹病率 検出率	41 25	10 11	8 16	8 4
	低乾温燥	罹病率 検出率	36 21	13 14	10 12	5 8
<i>R. solani</i>	高多温湿	罹病率 検出率	91 24	92 20	46 18	24 7
	低乾温燥	罹病率 検出率	88 27	72 21	31 8	13 3

\* 高温 : 25~28°C, 低温 : 20~23°C

多湿 : 80% 容水量, 乾燥 : 60~65% 容水量

第6表 キュウリつる割病の発生と病原菌検出頻度

植付後日数	罹病率	検出率
0	—%	3%
10	0	7
30	7	16
60	29	26
90	44	24

境要因の解析が必要であろう。これに対し *F. oxysporum* は環境要因による変動は少なく、立枯病発生率は土壌中の菌密度とかなり密接な関係をもつものと推測される。一方、圃場におけるキュウリつる割病の発生の経時的変化は土壌中の病原菌の経時的増大と相関があるように思われる(第6表)。すなわち、土壌中の菌量はキュウリを植え付けることにより次第に増加し、60日前後において大体一定量に到達する。キュウリ罹病率も菌量の増加よりややおくれて増加する。しかし、90日目に根を抜き取って調査すると約80%の個体が根に病徴を現わしている。このことは土壌中で病原菌の増殖が認められた時期には、病徴は現われないが根の一部はすでに侵されているものと思われる。また、土壌中には多くの系統の病原菌が混在する。第7表からも明らかに、病原菌の検出率が同程度でも菌株によって病害の発生様相はかなり異なっている。しかし、弱病原性菌株でも菌量

第7表 トマト萎ちょう病の発生と病原菌検出頻度

植付後日数	F 1001 号菌		F 1005 号菌	
	罹病率	検出率	罹病率	検出率
0	—%	4%	—%	9%
30	87.5	19	25.0	17
60	100	16	75.0	21

が多い場合には被害は激しい。これら各菌株は多くのものが識別が困難である。

以上の諸結果により、残渣法を用いて土壌中の病原菌の菌量を調査することは本実験に用いた3病原菌ではある程度可能であろう。その場合、残渣の形状、採土位置、点数など実験目的に応じて適当に選ぶ必要がある。しかし、検出率は実験当初に予期したよりもかなり低く、この点についてはさらに詳しい検討が必要であろう。また、この方法で検出される菌群は必ずしもその場における活性を現わすものでないことにも留意する必要がある。さらに、作物の病徴の発現には病原菌の菌量だけでなく環境が両者に与える影響を考慮する必要がある。とくに *P. aphanidermatum* ではこの影響がいちじるしい。残渣法を土壌病害検診技術として用いる場合には環境要因の解析ならびに発病限界の菌量を確実に知るための検出率の精度の向上が必要である。

## 学界だより

### ○農業科学シンポジウム開催のお知らせ

日本植物病理学会、日本応用動物昆虫学会、日本雑草防除研究会、植物化学調節研究会、日本農芸化学会の共催で、「農業の問題点と研究の進め方」と題するシンポジウムが下記要領によって開催されます。

期 日：11月14日(土) 午前9時30分～午後5時

場 所：京都市左京区岡崎公園 京都会館会議場

講演題名と講演者(予定)

#### 1 植物ウイルスの感染と増殖

植物ウイルス研 児玉忠士氏

#### 2 昆虫ホルモンの害虫防除への応用

予防衛生研 大滝哲也氏

### 3 殺虫剤抵抗性とその対策

名古屋大農 斎藤哲夫氏

### 4 異種植物間の競合

千葉大理 沼田 真氏

### 5 総合防除 (Integrated Control)

高知農技研 桐谷圭治氏

講演は1題40分、討論20分(午前2題、午後3題)

参加費：500円(学生300円)、当日会場にて支払のこ

と  
懇親会：会費1,000円、シンポジウム終了後京都会館別館にて開催

申 込：シンポジウム会場、懇親会場に人員の制限がありますので、それぞれについて出席希望の方は所属氏名明記の上、シンポジウム準備委員会(京都市左京区北白川一京都大学農学部藤田稔夫気付)あてに11月5日までにお申込み下さい。なお、申込用紙の書式は問いません。



# 希釈平板法による土壤病害検診

茨城県農業試験場 松 田 明

病原菌の土壤中における生存様式はその種類によって異なるので病土検診にあたっては、目的とする病原菌の検出に適する方法がとられなければならない。従来から、いろいろな角度から検診法の一つとしての希釈平板法の弱点が指摘されている。すなわち、本法によって分離される微生物は他栄養的、好気的な細菌、放線菌、胞子を大量に形成する糸状菌であり、分離される微生物は培地の種類によって大きな影響をうけ、直接検鏡法の約 1/10~1/100 しか計算されない。平板上に現われるコロニーは胞子または菌糸の一部のどちらから生まれたものか一般的に不明であり、土壤中のカビの活性を評価するにはあまり役に立たない。一方、土壤微生物の相対関係または単 1 種の行動を研究する場合には本法はおそらく最も有用な手段になりうると指摘されている。

したがって、こうした希釈平板法のもつ弱点と利点から検診可能な土壤病害も限定されてくる。土壤伝染性フザリウム菌は厚膜胞子の形で土壤中に生存しているので、この胞子を定量の対象とする限り、本法は有効な検診手段になりうると考えられる。わが国では、*Fusarium oxysporum* を中心に本法を適用した検診技術がいろいろ試験されているので、これらの結果の概要をとりまとめた。今後の発展の資料となりうれば幸いである。

## I 必要な器具類

①採土用具：シャベルまたは採土器、8~10 メッシュのふるい。②ガラス器具類：三角フラスコ（容量 200~500 ml）、殺菌水の場合、従来綿で栓をしているが、アルミ箔を使用すると比較的能率がよい。シャーレ、メスピペット（1, 2 cc）、ホールピペット（10cc）。③振とう器。④電動分注器：一定量ずつ迅速に自動的に秤量でき、能率的である。殺菌、保温も可能である。

## II 希釈平板法の手順

### 1 土壤の採取

正しい検診結果を得るためには、第 1 に採土点数が問題となる。しかし、これに関する研究例は少なく、理想的な標本抽出法は確立されていない。現段階では土壤線虫の検診における 9 等分画法に従って土壤採取をするよりほかに方法はない。

次に、検診の立場からすると、採土層位は最も発病に

関与する土層を選ぶべきだろう。フザリウム菌の垂直分布をみると、キュウリ栽培圃場では 0~40 cm の広範囲に分布しているが、特殊な条件がなければ 0~10 cm の比較的浅い層に最も多く生存している。しかし、砂土では 0~5 cm より 5~10 cm の層の密度が高くなる（茨城農試、1966）。鳥取県の砂丘において、チューリップ球根腐敗病菌も 10~15 cm に最も多く生存し、20 cm より深層、10 cm より浅層に少ないことが認められている（西村ら、1963）。また、一般にフザリウム菌は春から夏にかけて増加し、9~10 月に最高となり、冬季に減少する。したがって、土質、土性および季節によって圃場における分布は複雑になるが、一般的には作土をなるべく広範囲によく混合して採土するのがよいと思う。

### 2 土壤の保存

土壤微生物の測定は採土直後に実施しなければならないとされているが、このことは検診事業のように採土点数の多い時には困難である。*F. oxysporum* の場合、生土のまま室内または冷蔵庫に保存しておいても、30~50 日間に約 50% 減少し、風乾すると、その菌数は 50~60 % 減少する。しかし、風乾後の菌数の減少は数カ月間きわめて少ない（茨城農試、1966；広島農試、1968；農事試、1968）。したがって、調査点数、労力および器具などから判断して土壤の保存法を決めるべきであろう。すなわち、短期間であれば、冷蔵庫または冷凍室（2~5°C）、長期間のときはいったん風乾してから保存する。

### 3 希 釈

供試土壤は 8~10 メッシュのふるいでふるい分けて大きな植物残渣、礫を除く。これを一定量（10 g）取り、一定量（90 ml）の殺菌水の入った三角フラスコに移し、振とう器で強くふりまぜる。この振とう時間は研究者によって異なるが、最低 20 分は必要である。これを原液として段階希釈液を調製する。2 回目からの希釈では原液ほど長く振りまぜなくてもよいが、筆者らは 5 分間振とうしている。篠田ら（1966）は一般土壤微生物を対象としたとき、1 回目 30 分間、2 回目 15 分間の振とうが最もよいと報じている。

WARCUP（1960）によると、出現するコロニー間に干渉作用があり、コロニー数が多すぎたり、生育速度の速いコロニーが出現するとこの作用は顕著となり、実際より低く計数される。したがって、供試土壤の菌量によ

て希釈段階を考慮する必要がある。カビでは 1 シャーレ平均 25 コロニーが適当とみなされている。

*F. oxysporum* の場合、希釈シリーズは十進法よりも、原液 (10 倍) から直接目的の希釈率にする方法がより高い出現率となる (東海近畿農試, 1964)。

市販のピペットは穴が小さく希釈に時間がかかる上に時々土壌粒子で穴がつまり不便である。それで希釈用ピペットを作るとよい。1 ml ピペットでは先端の口径が約 1.0 mm, 5~10 ml では約 1.5 mm が適当である。

#### 4 流し込み

希釈が終わる次第流し込むようにする。希釈液から 1 ml を殺菌シャーレに取り、これに溶かした培地 7~10 ml を加え、すばやく均一に混合させる。この操作は現在電動自動分注器があるので、これを利用するとよい。

培地に streptomycin と rose bengal が入っているとき、培地を 2~3 日前にシャーレに流し込み、表面を乾燥させた後、その表面上に希釈液を分散させるとカビの出現数は多くなる (POHARIA ら, 1954)。 *F. oxysporum* の分離でも同じような現象が認められ、一般に、このような方法で分離されている。

大量にシャーレやピペットを殺菌する場合には、ブリキ製または銅製のかんを作っておくと便利である。

#### 5 培養

流し込みが終わって寒天が固まると、シャーレは裏返しにして定温器内に入れる。培養温度は 25~30°C, 5~7 日間の保温期間が適当である。 *F. oxysporum* f. sp. *raphani* では培養温度が 18~20°C が適当とされている (駒田, 1964)。また、 *F. oxysporum* の場合には暗所よりも散光下で培養するほうがコロニー出現数は多くなり、識別も容易になる。

#### 6 微生物数の計数

一般に、乾土 1 g 中の菌数で表示するため、供試土壤の水分含量は必ず測定しておく。各培地上のコロニー数はシャーレ底部にインクまたはガラス鉛筆などで印をつけながら計数し、次式によって算出する。

$$N = \frac{a \times b \times 100}{100 - x}$$

ただし、N : 乾土 1 g 中の微生物数、a : コロニー数の平均、b : 希釈倍数、x : 土壤の水分含量。

篠田ら (1966) は 1 試料 6~4 枚のシャーレを供試し、最多および最少のコロニー数を示したシャーレ以外のシャーレのコロニー数の平均にて微生物数を表示するのが望ましいと報じている。

以上述べた手順 (振とう時間、希釈率、シャーレの枚数など) を一度決めたならば、常にそれを守り、土壤採

取からシャーレ培養までが 1 日のうちに終了するように実験を計画する必要がある。

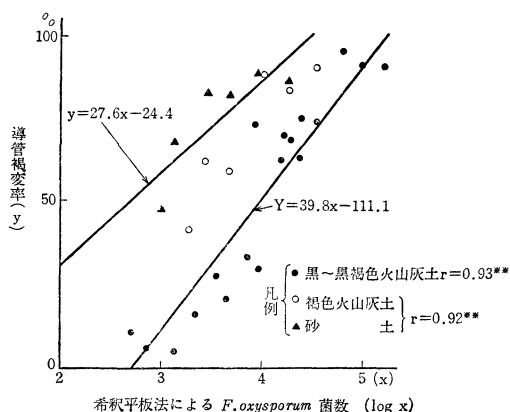
#### 7 コロニーの判定

*F. oxysporum* 分離用培地を使用すると、 *F. oxysporum* のコロニーは赤~赤紫色を呈するから、他のカビとは容易に識別される。もし、判定困難なときには、顕微鏡で分生胞子の形態調査を行なう。

*F. oxysporum* には多くの form が存在し、これを識別する選択培地は現在見出されていない。それで、出現した *F. oxysporum* のコロニーの form のみを検出するために、幼芽検定法 (土壤病害の手引 II 7 ページ参照) が案出された。キュウリに対し病原性のある *F. oxysporum* 型コロニーを計数するために筆者らは次のようにしている。すなわち、短試験管 (10 cm, 内径 20 mm) にジヒドロストレプトマイシン 100 ppm を添加した Water agar を 10~15 cc 注入し、これに検定しようとするコロニーを移植し、この部分に根長 10 mm 程度に催芽したキュウリ種子 (品種: 青長地這) を埋没し、四面ガラス張り定温器 (25°C) におく。キュウリの場合には、根部の褐変は他の form によっても起こるので、少なくとも 10 日間栽培した後、根部を切断し、導管まで褐変させたコロニーが病原性のある *F. oxysporum* として計数する。

### III 土壤中のフザリウム菌菌数と発病との関係

土壤病害の簡易検診法に関する特殊調査が昭和 41 年から 3 年間実施され、数県農試でフザリウム菌が対象とされた。これらの結果をみると、三重農試では希釈平板法またはベルジャーダスター法によって出現する菌数は変異が大きく、検診法としての価値に疑問をなげかけているのは異色であった。しかし、他農試ではこの問題はあまり強調されなかった。駒田ら (1965) は希釈平板法により検出される菌数の変異係数の大きい欠点を是正するため、ベルジャーダスター法を案出したが、同一土壤条件下では両測定法によって検出される病原菌数とダイコン萎黄病の罹病指数との間には正の相関関係 (希釈平板  $r = 0.616$ , ベルジャーダスター法  $r = 0.760$ ) のあることが認められた。筆者らも、ポット試験ではあるが、同一土壤では病原菌数の多いほどキュウリつる割病の発生が多くなることを認めた (第 1 図)。これによると、乾土 1 g 当たり病原菌数が 10,000 個存在すると、黒~黒褐色火山灰土では栽培期間 45 日でキュウリ (品種: 青長地這) つる割病菌による導管褐変率は約 50% となる。しかし、キュウリの栽培期間を長くするにつれ、発病率は各菌数段階で高くなるが、菌数の低い段階 (乾土 1 g

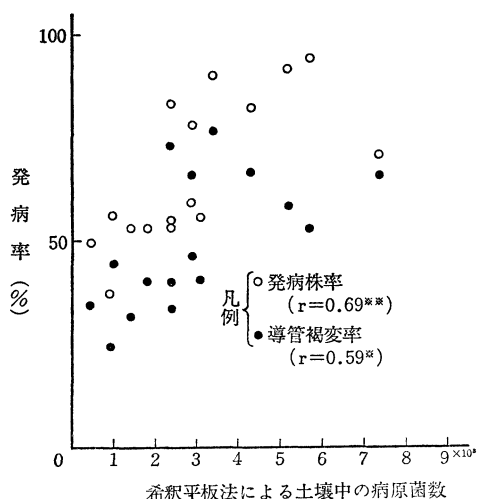


第1図 土壌中の *Fusarium oxysporum* 菌数とキュウリ  
つる割病発生との関係 (ポット試験, 茨城農試,  
1965~67)

当たり 500~2,000 個) ではなくに顕著に増加することが認められた。また砂土および褐色火山灰土では黒~黒褐色火山灰土より同一菌数でも高い発病を示した (茨城農試, 1967, 1968)。

一方, 実際圃場における病原菌数 (希釈平板法で測定) とキュウリつる割病発生との関係をみると, 岩手農試 (1967, 1968) では土壌中の植え付け前の病原菌数とつる割病発生との間には高い相関 ( $r=0.7834$ ,  $n=27$ ) のあることを認めた。そして, 乾土 1g 当たり  $4 \sim 7 \times 10^3$  の病原菌数があると, 圃場発病は 10~20% の発病株率になると推定した。しかし, 他試験場では土壌中の病原菌数が多くなると発病は多くなる傾向は認めるが, 地域, 年次差などからみると, 必ずしも相関を認めることは困難であるとした。

筆者らが黒~黒褐色火山灰土の圃場において, キュウリつる割病菌の病土を接種して行なった各種試験区のうち無処理区のみについて播種前の病原菌数と約3カ月間栽培した後の発病との関係を第2図に示した。これによると, 病原菌数と発病株率との間にやや低い正の相関関係を認めた。茨城農試で行なった実態調査とあわせ考えると, 乾土 1g 当たり 3,000 個以下の場合でも発病株



第2図 土壌における病原菌数とキュウリつる割病発生との関係 (圃場試験, 茨城農試, 1965~69)

率は 30~50% となるが, 比較的軽微なものが多く, 枯死株は少なかった。ネコブセンチュウの寄生はつる割病およびトマト萎ちょう病の発生を助長するが, この助長効果は病原菌数の低い段階で著顕に現われる (稲生, 1968)。また, 3,000 個以下の低い病原菌数では圃場発病との間に相関が認められない。このような現象は 3,000 個以下の比較的低い菌数段階では寄主の発病が病原菌数よりも他の条件 (土壌水分と温度, 生物的因子, 栽培法など) に支配される場面が大きいことを示唆している。しかし, 3,000~5,000 個以上の高い菌数になると, 環境条件よりも病原菌の発病力が強く影響して高い発病株率または被害度を示す圃場が多くなるように判断された。

以上記述したように, 圃場における病原菌の分布は複雑であり, 作物の発病を規制する条件は非常に多く, 土壌中の病原菌数が同一であっても寄主の発病は異なり, 圃場における発病量の推定をむずかしくしている。今後, 各種土壌条件下において病原菌数と発病との関係についてますます研究が積み重ねられて発病を正しく予測できる一般式が作成されることを望む。



小川ら<sup>2)</sup>によると試料土壌は生のままビニール袋に入れて 20°C または冷蔵保存が最も安定しているとのことである。

## 2 操 作

前以って秤量した空のシャーレ（身だけ）と選択培地を分注したシャーレ（ふたをとって）とを第1図に示すようにベルジャー底部のガラス板上に同心円上に交互に配列する。次いで散粉器の時計ガラスに試料土壌を載せ、ベルジャー頭部の開口部に懸垂し、ゴム栓を手で押しつけて密着させ、真空ポンプを作動させて減圧する。所定気圧（-300mg 程度）に達したら、コックを閉じ、ゴム栓を上方に勢よくはずすと、土壌は気流によって器底のシャーレに第2図のように均一に散布される。一定時間（2~3分）放置し器内に浮遊している土壌が沈降するのを待ってシャーレを取り出し、培地の入っているほうはただちにふたをして培養し、空のほうは外壁と内側の側壁に付着した土壌を脱脂綿かティッシュペーパーで拭いさって秤量し、空袋との差から土壌量を求め、4枚の平均値を算出してシャーレ1枚当りに散布された土壌量とし、培養後得られたコロニー数から単位土壌当たりの菌数が計算される。

シャーレ内に散布される土壌量は土壌の種類が一定なら減圧度と時計ガラスに載せる試料土壌量を一定にすれば、毎回の散布量はほとんど一定であるが、できる限り精度を高めるために空のシャーレを置いて実験のたびに散布量をチェックするのが望ましい。

## II 試料土壌の希釈

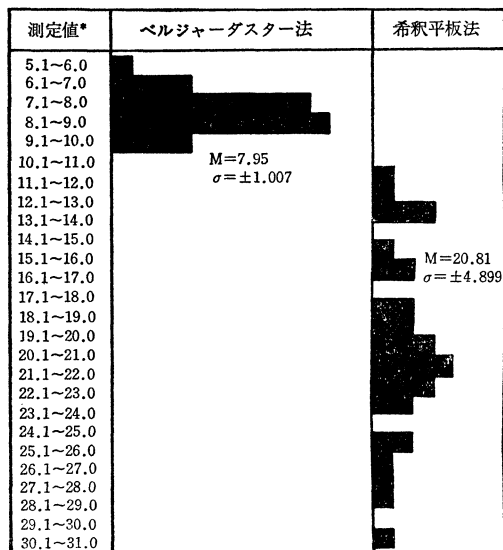
散布量は時計ガラスに載せる試料土壌量の増減によってある程度の加減は可能であるが、土壌中に定量の対象とする菌が多過ぎる場合は希釈する必要があるが生じてくる。soil plate 法の場合にも同様のことが求められるわけであるが、JOHNSON ら<sup>2)</sup>は試料土壌を殺菌した砂で希釈する方法を提唱している。しかし、粒径の異なる砂と土壌を均一に混合するのは容易なことではない。そこで、試

料土壌の一部（粉碎後に）を乾熱殺菌して試料土壌と混合して希釈する方法を考案した。下表にこの希釈の操作が測定値に与える影響を検討した結果を示したが、その変動は希釈平板法のそれよりもはるかに小さく、本法は適当な方法であると考えられる。

## III 測定の精度について

定量法というからにはできるだけ高い精度を示すものでなければならない。しかし、化学物質の定量分析法と異なり、真の意味での精度の検討は技術的に不可能であるから、実用性という点から測定値の分散によって判断をくださなければならない。

第2図に同一試料土壌（風乾、粉碎したもの）について、ベルジャーダスター法と希釈平板法によってそれ



\* 乾土 1g 当たりの菌数 (×10<sup>3</sup>)

第2図 同一試料土壌から希釈平板法とベルジャーダスター法とにより、それぞれ30回ずつ *F. oxysporum* の定量を行なった測定値の分散

試料土壌の希釈倍率の違いによる測定値の変動

ベルジャーダスター法		希 釈 平 板 法		
希 釈 倍 率 (試料土壌 : 殺菌土壌)	<i>F. oxysporum</i> の 菌 数*	希 釈 倍 率	希釈シリーズの作り方	<i>F. oxysporum</i> の 菌 数*
1 : 19	9.6	× 10,000	× 10 → × 100 → × 10,000	23.3
1 : 9	9.5	× 5,000	× 10 → × 100 → × 5,000	29.7
1 : 4	9.7	× 2,000	× 10 → × 2,000	18.7
1 : 1	9.3	× 1,000	× 10 → × 1,000	25.0
		× 500	× 10 → × 500	25.3
		× 200	× 10 → × 200	22.2

注 \* 菌数 × 10<sup>3</sup>/g 風乾土。

ぞれ 30 回の定量操作を行なって、得られた数値の分散の比較を示したが、本法の場合、希釈平板法に比較してはるかに測定値のばらつきが小さく、実用性の高い方法と考えられる。

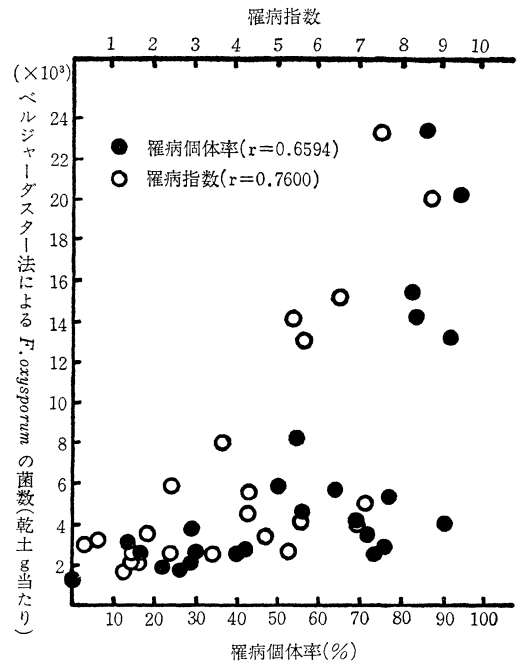
#### IV 測定値と被害の関係

ダイコン萎黄病菌 *F. oxysporum* f. *raphani* の密度の異なる土壌をポットに入れ、ベルジャーダスター法によってそれら土壌中の菌量を測定するとともに、ダイコンを栽培してその被害と測定菌量との関係を検討した 1 例を第 3 図に示した。ここにみられるように、両者の間には比較的高い相関が認められ、同時に希釈平板法によって求めた菌量と被害との相関よりも高い値を示している。

#### おわりに

自然土壌中の *Fusarium oxysporum* の菌量の測定にもっとも適した方法を考案しようという目的はほぼ達成された。しかし、他の多くの方法がそうであるように本法もやはり一握りの試料土壌中の菌量を測定するための方法に過ぎないのであって、圃場の発病の危険度を予知するという「検診」の目的に到達するにはまだ解決すべき問題を残していることを反省させられる。

圃場の検診を目的として土壌中の病原菌量を測定するとき、重要なのは必ずしも菌量の絶対値を把握することではなく、寄主作物の被害との間の相関の高い数値が常に得られることである。その際重要な意味をもつのは病原菌密度のきわめて不均一な圃場からの試料土壌の採取法であり、試料の保存、定量のための試料の予措の方法であろう。このような定量以前の方法と定量法とは信頼度の高い検診のための車の両輪ともいえる関係にあるわ



第 3 図 ベルジャーダスター法により求めた土壌中の *F. oxysporum* f. *raphani* の菌量とダイコン萎黄病の被害との関係

けで、その方法の確立が急がなければならない。

#### 引用文献

- 1) BUXTON, E. W. & KENDRICK JR., J. B. (1963) : Ann. appl. Biol. 51 : 215~221.
- 2) JOHNSON, L. F. & MANKA, K. (1961) : Soil Sci. 92 : 79~84.
- 3) 小川 奎・竹内昭士郎 (1968) : 日植病報 34 : 169.
- 4) WARCUP, J. H. (1950) : Nature. 166 : 117.

#### 人 事 消 息

吉村 潔氏 (横浜植物防疫所東京支所) は名古屋植物防疫所本所国際課調査係長に  
 波方頼政氏 (名古屋植物防疫所国際課輸入第 3 係長) は同上課輸入第 1 係長に  
 大森安雄氏 (同上所伏木出張所) は同上課輸入第 3 係長に  
 村上 豊氏 (同上本所国際課) は同上所国内課輸出係長に  
 清水政利氏 (同上所清水支所長) は同上所清水支所国際係長事務取扱に  
 荒井定吉氏 (神戸植物防疫所水島出張所長) は同上所南部出張所長に  
 山下光生氏 (名古屋植物防疫所国際課調査係長) は同上所富山出張所長に  
 松本安生氏 (横浜植物防疫所国際課輸入第 4 係長) は神

戸植物防疫所本所国際課防疫管理官に  
 中里 清氏 (神戸植物防疫所国内課種苗係長) は同上課輸入第 1 係長に  
 細川一伍氏 (同上所坂出支所国際係長) は同上課輸入第 2 係長に  
 和氣 彰氏 (同上所今治出張所長) は同上所国内課防疫管理官に  
 山内勤司氏 (同上所岸和田出張所) は同上課種苗係長に  
 島田禎三郎氏 (同上所坂出支所長) は同上所坂出支所国際係長事務取扱に  
 上原久八郎氏 (同上所田辺出張所長) は同上所今治出張所長に  
 仙波岩巳氏 (名古屋植物防疫所清水支所国際係長) は同上所田辺出張所長に



## 螢光抗体法による土壤病害検診

東北大学農学研究所 菊 本 敏 雄

### まえがき

螢光抗体法は Coons らが 1942 年に、基礎研究に成功して以来、その技術の改良とあいまって、応用の途は広い研究分野に開かれてきている。そして今や現代生物学の研究において、重要な技法としての位置を占めつつあり、すでに発表された文献は数千にも及んでいる。ところが以下問題の土壤病害と関連した分野に、本法の利用が試みられるようになったのは新しく、いずれも初歩的な段階にとどまっている。こうした研究の現状からして、「螢光抗体法による土壤病害検診」は日常的な手技として確立されたものでないことを、初めにおことわりしておきたい。にもかかわらず「検診」というテーマに対して、本法はすぐれた能力を発揮するであろうということは十分期待される。つまり螢光抗体法の特色は特異性のきわめて高い抗原抗体反応を利用したもので、感度も高い。したがって検診する材料中にさまざまな微生物の混在が許されるし、通常数時間以内に結果の判定が可能である。

### I 螢光抗体法の概略

螢光抗体法の詳細な一般的手技は成書<sup>1,2)</sup>にゆずり、ここでは土壤病害の検診に参考になるとと思われる点にとどめたい。

螢光抗体法は螢光抗体の作製と螢光抗体による標本染色の二つの部分からなっている。

#### 1 螢光抗体の作製

螢光抗体は次の順序で作られる。①免疫原の作成、②免疫、③免疫血清、④ $\gamma$ -グロブリンの調製<sup>3)</sup>、⑤螢光色素の標識<sup>4)</sup>、⑥螢光抗体の精製<sup>5)</sup>、⑦反応力価の測定。

まず、よい螢光抗体を得るには交叉反応が少なく、抗体価の高い血清を用意する必要がある。免疫原は、原則的にはできるだけ検診する材料と近い条件下で培養することが好ましいといわれている。すなわち免疫原を土壤の抽出液で培養する<sup>6)</sup>とか、また培地に植物組織の抽出液を添加する<sup>7)</sup>などの方法である。しかし軟腐病細菌 (*E. aroideae*) の例では、ハクサイの腐敗組織や土壌中の本菌を螢光抗体染色した観察結果から、肉汁ペプトン培地で培養した免疫原で十分であることがわかった。一方使用する免疫原によっては抗体価があがりにくいこと

もある。軟腐病細菌の加熱菌体 (O 抗原) もこの例で、こうした場合アジュバント免疫法<sup>7)</sup>なり、Roschka が O 血清製造法<sup>8)</sup>として考案したアルコールとアセトンによる抽出菌の利用など取り上げてみる必要がある。さらに検診に際して問題なことは、免疫原に種特異性抗原の存在がはっきりしている場合は別として、そうでない菌については多価抗血清<sup>9)</sup>の調製も一法として考えられる。

#### 2 螢光抗体による染色

染色は次のステップを踏んで行なう。①標本、②固定、③染色、④洗浄、⑤封入、⑥検鏡。

螢光抗体を用いる染色には、直接法、間接法および補体法などそのほかにも目的により、いくつかの特殊な染色法が実施されている。筆者は直接法と間接法による染色を試みたが、われわれの場合この二つの染色法が実際的であると思われる。また土壤病害の検診ということからすれば、標本については組織切片よりも、簡単な土壤あるいは植物組織の塗抹法が一般に利用されるものと考えられる。これらの塗抹標本の固定は普通、瞬間的な火炎による固定でよい。染色は螢光抗体が乾燥してしまわないように湿室で行なう。この湿室として、台所で食品の保存に使用している手ごろな大きさの冷パットが利用できる。標本の染色は室温あるいは 37°C で 30 分間行なうのが普通である。土壌中の軟腐病細菌については 4°C 1 晩の染色で良好な結果が得られた。次に染色標本の洗浄には、コルネットや洗たくばさみではさみ、スタラーでゆるやかにかきまぜる。なお洗浄に大量を要するリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) の組成は次のようである。Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(無水, MW, 141.97) 1.20g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O (MW, 137.99) 0.22g, NaCl (MW, 58.44) 8.50g, 蒸留水で 1 l とする。封入剤としてエルパノール (三光純薬) が市販されている。また一般には緩衝グリセリン液 (pH7.0) が使用されているが、pH9.0~9.5 0.5M 炭酸重炭酸緩衝液を用いた緩衝グリセリン液で封入すると螢光が強くなるという報告もある<sup>10)</sup>。都合で染色した標本をただちに検鏡できないときは、マッペ (市販されており、障子を小さくしたようなもの) などに標本をのせポリ袋に入れて密封し、4°C で保存しておくことができる。

## II 蛍光抗体法による検診の実際

広い意味で土壌病害の検診を、土壌の検診と植物の検診に分けて話を進めてゆきたい。

### 1 土壌の検診

(1) 土壌の直接染色：まず土壌について病原菌の有無を調べるのに、土壌をそのまま染色する方法がある。この方法はむしろ生態的な意味で興味深いものといえる。HILL ら<sup>9)</sup> (1967) は土壌の染色のために、ナイロンの布で底ばりしたガラス容器 (1.5×1.45cm) を考案し、土壌粒子上における *B. subtilis* や *B. circulans* の集落を観察している。筆者はナイロンストッキングの布を二重にして 0.1~0.2g の土壌を包み、これを蛍光抗体の入った小さな容器に浸漬する方法で、土壌を直接染色した。PBS を満たしたビーカーに、この包みをつるし、スターでゆるやかにかきまぜながら土壌の洗浄を行なった。この土壌の微量をカバーグラス上に静かに広げ、風乾したのちマウントして検鏡した。あざやかな黄緑色に染まった軟腐病細菌の細胞が容易に検出された。ただしこの場合、乾土 1g 当たり  $10^6$  以上の細胞が存在している必要があった。一方土壌の自己蛍光は観察に際していちじるしい障害とはならなかった。

(2) 土壌塗抹標本の染色：古く THOMASON ら<sup>11)</sup> (1956) は新鮮な土壌に *Malleomyces pseudomallei* の懸濁液を接種し、3 通りの方法によって塗抹標本とした。すなわち、①接種土壌を直接スライドグラス上に塗抹、②接種土壌に生理食塩水を加え 10 倍に希釈し、ろ紙でこしたる液の塗抹、③さらにこのろ過液を遠心し、その沈殿の塗抹である。①と②の標本では、土壌 1g 当たり  $2.2 \times 10^6$  までしか検出されなかったのに対し、③では  $2.2 \times 10^4$  まで検出され、精度は 100 倍もよくなった。また EREN ら<sup>12)</sup> (1966) はネマトーダを捕食する糸状菌 (*Arthrobotrys conoides*) を土壌に接種し培養後、経時的に菌糸の伸長を蛍光抗体染色により調査測定している。この場合の標本は殺菌水で培養土壌を希釈 (1:25) し、ふりまぜたのち上澄 0.4ml をピペットでとりスライド上に広げ (1cm<sup>2</sup>)、風乾したものである。

(3) コンタクトスライド法の応用：SCHMIDT らは主としては生態学の立場から、コンタクトスライド法と蛍光抗体法を組み合わせ、一連の研究を進めている。氏らによるこれらの研究は土壌微生物学の領域に蛍光抗体法を導入する先駆的役割をはたしたといえる。

最初の実験<sup>13)</sup>は、殺菌土壌に無菌のスライドを埋没させ、そこへ *Aspergillus flavus* の孢子懸濁液を接種した。培養 2~4 日後にスライドを取り出し、片面をきれいに

洗い落とし他の面は蒸留水で、大きな土壌粒子だけを注意深く除去した。風乾ののち火炎固定を施し、蛍光抗体染色を行なった。このようにしてスライド上に生育した *A. flavus* の姿を蛍光抗体法の応用により、初めて捕えることができたのである。氏は最近同様な方法により、土壌中の *Phizobia* についても報告している<sup>14)</sup>。

### 2 植物の検診

(1) 腐敗組織の塗抹標本の染色：組織の軟腐をひき起こす病害については、その腐敗組織を直接カバーグラスに塗抹することができる。筆者は軟腐病細菌を用い、播種して 15 日のハクサイ葉面ならびに株基付近の土壌にその懸濁液を接種した。ハクサイの結球後、発病株の腐敗組織を塗抹標本とし、蛍光抗体染色を行なった。検鏡の結果、これらの腐敗株から接種に用いた軟腐病細菌が容易に検出された<sup>15)</sup> (口絵写真参照)。また PATON<sup>6)</sup> (1964) は腐敗組織における *P. syringae* を蛍光抗体法で観察している。

(2) 組織搾汁液の塗抹標本の染色：組織が十分軟化しない病害については、直接塗抹することはむずかしい。そこで組織を乳鉢ですりつぶすかまた適当な方法で搾汁液を得る必要があろう。MORTON ら<sup>16)</sup> (1965) はタバコ、トマトなど 4 種の作物を供試して、蛍光抗体法による *P. solanacearum* の検診を試みている。氏は作物の茎を小さく切り、生理食塩水中に数時間放置後、分泌物を集めている。さらに別の方法として、茎の小片をやっとこではさみ、汁液を生理食塩水に集めた。このようにして得た組織の汁液をスライド上に塗抹した。他方、TRINICK<sup>17)</sup> (1969) は根粒中の根粒菌を検診するのに蛍光抗体法を応用している。根粒の塗抹標本は水滴中でピンセットを用いて根粒をつぶす方法によっている。氏は蛍光抗体法により迅速に検診できることを強調している。

### 3 検診の精度をあげるくふう

土壌を直接染色する方法で、検診にひっかかる範囲はおおよそ土壌 1g 当たり  $10^6$  以上の菌数であることはすでに述べた。土壌中に一様に菌が分布していたと仮定して、この土壌の 1mg をスライド上に塗抹標本とした場合、標本中には 1,000 個以上の細胞が含まれる計算になる。つまり実際の検診には、この程度の菌密度が要求されることを示している。THOMASON ら<sup>11)</sup>はこの土壌に生理食塩水を加え、ふりまぜ、ろ紙でこしたる液を遠沈する操作を実施することで、検出の精度を 100 倍も高めることに成功している。この操作は土壌に限らず、植物組織の検診にも応用できることはいうまでもない。以上のことから理解されるように、検診を容易にするには菌の密度

を高める操作が有効な手段となるわけである。

(1) ミクロコロニー法：ある程度濃縮して密度を高めたサンプルは、次に適当な選択培地に接種し、数時間培養する。つまり培地の表面に小さな集落を形成させるのである。そしてこれらの集落をカバーガラスに印画し、標本作製する<sup>9,15,18)</sup>。

(2) 罹病性植物組織の利用：病原菌により適当な植物組織を選び、表面殺菌を行ない病原菌による自然汚染を除去する。この植物組織から、手ごろな大きさのブロックを作る。そして検診すべきサンプルをこのブロックに接種し、ブロックの腐敗をまって、スライドに塗抹する。筆者はこの方法を軟腐病細菌に適用してよい結果を得た。

## む す び

医学の領域で、患者の診断に蛍光抗体法が取りいれられていることからして、土壤病害の検診にも本法を利用しようという動きは、きわめて当然のことと思われる。ところが、蛍光抗体法は血清学を基礎としており、植物病原菌に関する血清学的知識の集積は医学分野のそれとは比較にならない。こうした研究の現状が、具体的に蛍光抗体法を実施する上で、大きな障害になっていることはいうまでもないことであろう。しかしながら、すでに紹介したとおり土壤病害に関連する分野においても、蛍光抗体法を利用しようという努力がはらわれてきている。筆者はこうした人々の研究成果を整理し、土壤病害の検診に役だてようと考えた。初めにもふれたように、蛍光抗体法による土壤病害検診の方法は確立されたものではないので、以上紹介したいくつかの点を参考にして、それぞれの病原菌について、蛍光抗体法の利用法を創意くふうしていただきたいと思う。最後につけ加えておきたいことは、蛍光抗体の特異性の問題である。周知のとおり、土壤中には多種多様な微生物が生息しており、目

的とする菌とは関係のない菌が染色されることも当然起こりうるということを忘れてはならない。この点、結果の判定に際して十分注意していただきたい。

## 参 考 文 献

- 1) 鈴江 懐・浜島義博 (1963) : 蛍光抗体法 医学書院
- 2) 国立予防衛生研究所 学友会編 (1964) : ウイルス実験学総論 丸善
- 3) 中村 弘・尾上 薫 (1966) : 蛋白質 核酸 酵素 11 (15) : 181~196.
- 4) 川村明義 (1966) : 同上 11 (15) : 215~228.
- 5) HILL, I. R. and T. R. G. GRAY (1967) : J. Bacteriol. 93 : 1888~1896.
- 6) PATON, A. M. (1964) : J. appl. Bact. 27 : 237~243.
- 7) 山村雄一・石坂公成 (編) (1963) : 免疫化学 朝倉
- 8) 中谷林太郎・坂崎利一 (訳) (1964) : 腸内細菌同定法 一成堂
- 9) 菊本敏雄・坂本正幸 (1967) : 日植病報 33 : 181~186.
- 10) PITAL, A. and S. L. JANOWITZ (1963) : J. Bacteriol. 86 : 888~889.
- 11) THOMASON, B. M., M. D. MOODY and M. GOLDMAN (1956) : ibid. 72 : 362~367.
- 12) EREN, J. and D. PRAMER (1966) : Soil Sci. 101 : 39~45.
- 13) SCHMIDT, E. L. and R. O. BANKOLE (1962) : Science 136 : 776~777.
- 14) ——— and B. B. BOHLOOL (1968) : J. Bacteriol. 95 : 1987~1992.
- 15) 菊本敏雄・坂本正幸 (1969) : 日植病報 35 : 29~35.
- 16) MORTON, D. J., P. D. DUKES and S. F. JENKINS, JR. (1965) : Phytopath. 55 : 1191~1193.
- 17) TRINICK, M. J. (1969) : J. appl. Bact. 32 : 181~186.
- 18) CHADWICK, P. and L. ABBOTT (1964) : Can. J. Microbiol. 10 : 853~859.

## 人 事 消 息

上ノ菌 誠氏 (横浜植物防疫所国際課輸入第2係長) は神戸植物防疫所小松島出張所長に  
小田 保氏 (同上課輸入第3係長) は同上所水島出張所長に  
坂田卯三隆氏 (門司植物防疫所国際課輸入第2係長) は同上所高知出張所長に  
堂元邦典氏 (同上所国内課種苗器具係長兼防除係長) は同上所浜田出張所長に  
中野 実氏 (門司植物防疫所国際課輸入第3係長) は門司植物防疫所本所国際課輸入第2係長に  
豊沢 隆氏 (同上所国内課輸出係長) は同上課輸入第3係長に  
山崎 昭氏 (神戸植物防疫所国際課防疫管理官兼輸入第

2係長) は門司植物防疫所国内課防疫管理官に  
中村 浩氏 (門司植物防疫所三角出張所) は同上課輸出係長に  
中須和俊氏 (同上所名瀬出張所兼与論出張所) は同上課種苗器具係長に  
中北博道氏 (横浜植物防疫所国内課輸出係長) は同上所八代出張所長に  
高木友三朗氏 (名古屋植物防疫所国際課輸入第1係長) は同上所伊万里出張所長に  
高坂淳爾氏 (農技研病理昆虫部病理科糸状菌病第2研究室長) は九州農業試験場環境第1部長に  
梅谷献二氏 (横浜植物防疫所調査課防疫管理官) は園芸試験場環境部主任研究官に

# 土 壤 病 害 検 診 用 選 択 培 地

## —糸 状 菌 用 培 地—

農林省九州農業試験場畑作部 渡 辺 文 吉 郎

植物体からあるいは土壤から病原菌を分離し、これを同定する場合の培地の種類は多いが、土壤から量的かつ定性的な検診を目的とする場合の選択培地の種類は限定される。病原菌の種類、残存様式、検診方法によって培地が異なってくる。

一般に土壤微生物調査では厳密の意味の標準培地あるいは公定培地はない。したがって培養条件とともに利用した培地のオリジナル名あるいは変法した場合はその組成などを記載しておく必要がある。糸状菌用選択培地についてはすでに土壤病害の手引Ⅱ(1964)に記述されており、重複をさけたい。ここでは代表的な培地について略記し、詳しくはそれぞれの報文を参照されたい。

### Ⅰ 一般糸状菌用

植物体、土壤からの分離用に主として用いられるが、定量的な調査にも利用される。

**1 ペプトン・グルコース寒天** (MARTIN, 1950 ; JOHNSON, 1957)

寒天……………20.0 g    ローズ・ベンガル 1 : 30,000  
MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O…1.0 g    ストレプトマイシン  
ペプトン……………5.0 g    30μg/ml  
グルコース…………10.0 g    オーレオマイシン 2μg/ml  
蒸留水……………1,000 ml

**2 CZAPEK・Dox 寒天**

寒天……………15.0 g    FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O…………0.01 g  
NaNO<sub>3</sub> ……………3.0 g    シュ糖……………30.0 g  
K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ……………1.0 g    酵母エキス…………1.0 g  
MgSO<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O ……0.5 g    蒸留水……………1,000 ml  
KCl……………0.5 g    pH4.5 とする。

**3 トウモロコシ煎汁寒天** (RIKER, 1936)

寒天……………17.0 g  
トウモロコシ粉…………20.0 g  
ペプトン……………20.0 g  
グルコース……………20.0 g  
蒸留水……………1,000 ml  
調製：トウモロコシ粉末を 500 ml の水で約 60°C で 1 時間加熱し、布でろ過し、ろ液を寒天のとけた 500 ml に加える。pH は 5.0~6.0 とする。

### Ⅱ *Fusarium* 菌用

**1 ジャガイモ煎汁希釈培地** (駒田, 1964)

ジャガイモ煎汁 (5 倍希釈) ……………1,000 ml  
グルコース……………4.0 g  
寒 天……………20.0 g

調製：使用直前に H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液で pH 4.0~4.2 にして 1 : 1,000 の PCNB (75%) と 300 ppm のジヒドロストレプトマイシンを加える。

**2 ペプトン・PCNB 寒天** (NASH, 1952 ; PAPAIVIZAS, 1967)

ペプトン……………15.0 g  
寒 天……………20.0 g  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ……………1.0 g  
MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O ……0.05 g  
PCNB (75%) ……1 : 1,000  
蒸留水……………1,000 ml

調製：以上の基本培地にテトラサイクリン (塩酸塩) 50mg, oxgall 0.5 g, ストレプトマイシン100~300 mg を加える。

### Ⅲ *Rhizoctonia* 菌用 (残渣法用)

寒天……………15.0~25.0 g  
蒸留水……………1,000 ml  
ストレプトマイシン… 100~300mg

調製：使用直前にリン酸で pH4.8 とする。培地表面の湿度を除くため、あらかじめ 72 時間シャーを倒置する。残渣から発芽した菌糸は同定のためジャガイモ煎汁寒天に移植する。

### Ⅳ *Pythium*, *Phytophthora* 菌用

**1 HENDRIX & KUHLMAN 寒天培地** (1965)

NaNO<sub>3</sub>……………2.0 g    酵母エキス…………0.5 g  
MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O…………0.5 g    寒天……………15~40 g  
FeSO<sub>4</sub>……………0.01 g    ストレプトマイシン  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>……………1.0 g    ……50ppm  
KCl……………0.5 g    ローズ・ベンガル…60ppm  
蒸留水……………1,000 ml    PCNB (75%) ……100ppm  
シュ糖……………30.0 g    マイコステイン

……… 100,000単位

pH は乳酸で pH4.8 とする。

50mg の土を 0.3% 寒天培地で 100 ml の懸濁液とし、この 1 ml を HENDRIX 培地で培養する。*Pythium* 菌で希釈平板法でやる場合は低い希釈濃度が良い (100~1,000 倍)。

## 2 *Pythium* 菌捕捉法用培地 (GOTH, 1967)

捕捉培地としてスイート・コーン種子が最も良い。この種子を 16 時間蒸留水に浸漬し、121°C で 30 分間高圧殺菌し、次に 100 個の種子を 1 l の土壌 (ガラス容器内に 2cm の深さに広げて土壌湿度を 100% とする) に 1cm の深さで 2cm 離して置く。25°C で 4 時間培養後、蒸留水で洗って、SCHMITTHENNER 寒天培地上に置く。発芽した菌糸をコーン・ミール寒天上に移植して同定し、ナタネ苗で病原性の検定を行なう。

SCHMITTHENNER 培地 (1962)

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> …………… 30.0mg    ZnCl<sub>2</sub> …………… 1.67mg  
K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> …………… 20.0mg    FeCl<sub>2</sub> …………… 0.10mg  
MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O …… 20.0mg    EDTA …………… 11.60mg  
CaCl<sub>2</sub> …………… 0.56mg    蒸留水 …………… 1,000 ml  
MnCl<sub>2</sub> …………… 2.88mg

上記の培地にシヨ糖 0.41 g, L-アスパラギン 0.12 g  
thiamine hydrochloride 0.04mg, Endomycin 5mg,  
streptomycin 50mg, 寒天 20 g

## V *Verticillium* 菌用 (NADAKAVUKAREN, 1959; EASTON, 1969)

(1) 圃場内 20 カ所から採土したものから 30 g の土壌に 1,470 ml の殺菌水を加え、2~3 分間強くふった後、この懸濁液 0.3 ml を ethanol-streptomycin 寒天 (penicillin G 50ppm 加用) に分注し、22~25°C で培養、2 週間後にカウントする。

調製：寒天培地 (寒天 7.5g/l) に 100ppm ストレプトマイシンを加え、最終土壌希釈液を寒天培地に混合す

る直前に 0.5 ml の無水アルコールを加える。

(2) 圃場から採土深 10cm 以内で 1 カ所 100 g 宛、5 カ所から採土する。土壌洗浄法 (EVANS, 1967) により小型菌核を分離する。培地は希釈 PDA (250 g のジャガイモの煎汁, グルコース 5 g, 寒天 20 g, 蒸留水 1,000 ml) に 200μg のストレプトマイシンを添加する。7~10 日で小型菌核を形成する。別法 (EVANS, 1966) として風乾した篩別土壌 50 mg を 180 ml の殺菌水 (1% calgon 加用) で振りまぜる。この液を 5 分間静置し、上澄液をピペットで除き、20 ml を残して 5 回これをくり返す。最後に残部の 20 ml を 20 個のシャーレ (寒天培地) に分注して室温で 10 日間培養後にコロニーをカウントする。

## 参 考 文 献

- 1) 土壌病害の手引 II (1964) : 日本植物防疫協会 pp. 125.
- 2) EASTON, G. D., M. E. NAGLE, and D. L. BAILEY. (1969) : phytopath. 59 : 1171~1172.
- 3) EVANS, G. · W. C. SNYDER, and S. WILHELM (1966) : ibid. 56 : 590~594.
- 4) ——— S. WILHELM. and W. C. SNYDER. (1967) : ibid. 57 : 1250~1255.
- 5) GOTH, R. W., T. E. DEVAY. and F. J. SCHICK. (1967) : ibid. 57 : 813 (Abstr.)
- 6) HENDRIX, F. F. JR, and E. G. KUHLMAN. (1965) : ibid. 55 : 1183~1187.
- 7) ——— W. M. POWELL. and J. H. OWEN (1966) : ibid. 56 : 1229~1232.
- 8) JOHNSON, L. F. et al. (1960) : Methods for studying soil microflora plant disease relationships. pp. 178.
- 9) KUHLMAN, E. G. and F. F. HENDRIX. (1965) : phytopath. 55 : 500 (Abstr.)
- 10) NADKAVUKAREN, M. J. and C. E. HORNER. (1959) : ibid. 49 : 527~528.
- 11) PAPAIVIZAS, G. C. (1967) : ibid. 57 : 848~852.
- 12) SCHMITTHENNER, A. F. (1962) : ibid. 52 : 1133~1138.

## 人 事 消 息

青木紀憲氏 (長野県総務部財政課長) は長野県農政部長に  
宮本晃一氏 (同上県農政部長) は長野県農業信用基金協会へ

棚沢正晴氏 (同上県長野農業改良普及所長) は長野県農政部長農業改良課長に

長岡伊三郎氏 (同上県農政部農業改良課長) はセントラルガラス株式会社へ

宇田 拓氏 (和歌山県農林部みかん課長) は和歌山県果樹園芸試験場長兼務

東 史郎氏 (同上県果樹園試場長) は和歌山県果実農業

協同組合連合会技術顧問に

藤本伸哉氏 (熊本県企画部長) は熊本県農政部長に

松下 勝氏 (同上県農政部長) は同上県企画部長に

井手迫金氏 (鹿児島県農試熊毛支場長) は鹿児島県農政部農業改良課専門技術員に

今村 実氏 (同上鹿屋支場畑作研究室長) は同上県農業試験場熊毛支場長に

日産化学工業株式会社本社は東京都千代田区神田錦町 3 の 7 の 1 (興和一橋ビル) へ移転。電話は 03 (295) 2311 番に変更

# 土 壤 病 害 検 診 用 選 択 培 地

——細菌用培地——

農林省農業技術研究所 脇 本 哲

## はじめに

植物の病原細菌の中には土壤中に永く生存していて第1次の伝染源となる、いわゆる、土壤伝染性のものが少なくない。*Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* および *Corynebacterium* などに含まれる多くの病原細菌はこの種類に入り、中でも、根頭がんしゅ病菌 (*A. tumefaciens*)、そ菜軟腐病菌 (*E. aroideae* および *E. carotovora*)、トマト青枯病菌 (*P. solanacearum*)、トマトかいよう病菌 (*C. michiganense*) などは代表的な土壤伝染性の病原細菌である。

土壤伝染性病害の発生生態を究明するためには、まず、病原細菌の土壤中での動向を明らかにすることが重要な課題である。そのためには、土壤中の目的細菌を定量的に検索する方法が確立されなければならない。従来、自然界から病原細菌を定量するための方法として、培養法、指標植物法、血清法、フージ法、蛍光抗体法などが開発されて、いろいろの場面で応用されている。これらの方法にはそれぞれ一長一短があるが、うまく利用すれば土壤中の病原細菌を検索する方法としても利用することができる。しかし、もし理想的な選択培地が考案されれば、培養法が最も簡便で、しかも正確であることは疑う余地がない。

植物病原細菌の選択培地に関する研究は医学関係細菌のそれに比べて遅れており、今後の重要な研究課題であるが、ここではとくにわが国で重視され研究の進んでいる軟腐病菌と青枯病菌の選択培地を主体にして検討してみたい。

## I 選択培地の理論

細菌用培地と呼ばれるものは糸状菌よりもむしろ細菌の培養に適したものであり、その意味では多くの培地はすでにある程度の選択性を持っているともいえる。しかし、ここでいう選択培地とは、目的とする特定の種類の細菌だけを特異的に増殖させたり、また、培地上にできるコロニーに識別しやすい特徴を持たせることによって、複雑な微生物系から特定の菌だけを分離検出するためにくふうされた培地を意味している。そのためには一般培地にいろいろのくふうを加えなければならない。培地に選択性を持たせるためには次のような方法がある。

### 1 栄養要求性の差を利用する方法

細菌は一般に糖類、アミノ酸類、無機塩類などの栄養源に対する要求性が異なる。その差を利用することによ

って培地にある程度の選択性を持たせることができる。*WIERINGA* はペクチンを単一の炭素源として加えた培地を軟腐病菌の分離のために考案しているが、これはその1例である。合成培地や細菌の代謝過程などの研究が進めば、この面からの選択培地も進歩するものと思われる。

### 2 色素、抗生物質、その他特定菌の生育阻止物質を利用する方法

医学関係では腸内細菌を分離するために、培地に種々の色素、たとえば、クリスタル紫、エオシンY、メチレンブルー、ブリリアントグリーンなどを加えた培地が用いられている。これらのトリフェニールメタン系の色素はいずれもグラム陽性菌の生育を抑制する作用があり、グラム陰性菌のための選択培地に利用することができる(津山, 1962)。植物病原細菌の大部分はグラム陰性であり、しかも土壤中にはグラム陽性の雑菌が混在することから、これらの色素類の利用価値は高い。

また各種の抗生物質も利用される。*SEGALL* (1969) によって考案された軟腐病菌検出用培地の成分のうち、アクチジオンは糸状菌の生育を抑え、ノボピオシンはおもにグラム陽性細菌の生育を抑える作用がある。今後、各種の病原細菌と各種の抗生物質との相互関係が明らかになれば、選択培地を作成する上に抗生物質の役割は大きいものと期待される。抗生物質の他、数種の抗菌性物質も利用されている。グラム陰性細菌の生育を抑えるために加えられるフェニルエチルアルコール、大腸菌群を抑制して赤痢菌やサルモネラ菌を分離しやすくするためにSS培地に加えられる胆汁酸、チオ硫酸ナトリウムおよびクエン酸塩などはその例である。

### 3 指示薬を利用する方法

細菌は培地中の糖を分解することによって酸を生成する。したがって、特定の糖を含んだ培地にブロムチモールブルー (BTB) のような指示薬を加えておけば、コロニーとその周辺が酸によって黄色に変化する。また培地中にトリフェニールテトラゾリウムクロライド (TTC) を加えておくと、糖代謝の過程で生産されるアルドーズやケトーズによって試薬が還元され、コロニーとその周辺が赤色に変化する。これらの変化とコロニーの形などに病原細菌の特徴が現われ、比較的容易に目的菌を区別できる。軟腐病菌の分離のために広く用いられている変法ドリガルスキー培地(津山, 1962)は前者の例であり、*KELMAN* (1954) が青枯病菌の病原性検討のために考案したいわゆる *KELMAN* 培地は後者の例である。



## II 軟腐病菌用選択培地

土壌中または寄主作物などから柔軟腐病菌を分離定量するためには変法ドリガルスキー培地 (津山, 1962) が広く利用されている。また最近, SEGALL (1969) によって新しい選択培地が報告された。これらの組成は次のようである。

### 1 変法ドリガルスキー培地の組成

肉汁ペプトン培地 (肉エキス 10 g, ペプトン 10 g, 食塩 5 g, 水 1 l, pH7.0) 1 l, 乳糖 10 g, クリスタル紫 0.1% 水溶液 5 ml, BTB (0.2% アルカリ溶液) 溶液 40 ml, pH6.8~7.0, 100°C, 30 分で3回間欠滅菌する。

この培地中に含まれるクリスタル紫は土壌中に生息しているグラム陽性菌の生育を抑えることによって軟腐病菌の分離を容易にし, また BTB は, 乳糖を分解して酸を生成する菌のコロニーとその周辺を黄色に変化させる。この培地では, 乳糖から酸を生成する菌はいずれも黄化し, 軟腐病菌と区別できない場合もあるので, ニンジン平板法などの指標植物による病原性確認方法を併用することが望ましい。これらの方法では土壌 1 g 当たり  $10^3$  個以下の軟腐病菌を検索することは困難である。

### 2 SEGALL 培地の組成

ラフィノーズ 10 g,  $K_2HPO_4$  2 g,  $(NH_4)_2SO_4$  5 g, エオシン Y 0.4 g, メチレンブルー 0.065 g, アクチジオン 250 ppm, ネオマイシン 40 ppm, ノボジオシン 40 ppm, 寒天 15 g, 水 1 l。

この培地の詳細はまだ報告されていないが, グラム陽性菌を抑えるための色素類と, 各種の抗生物質を使用している点に特徴がみられる。SEGALL はこの培地によって  $10^3$  /ml の濃度の軟腐病菌を含む自然の試料から菌を検索することができたという。この培地と変法ドリガルスキー培地との優劣は今後検討する必要がある。

## III 青枯病菌用選択培地

KELMAN (1954) は青枯病菌の病原性の有無強弱を判別する培地として, いわゆる KELMAN 培地を考案した。また岡部 (1969) は PDCVA 培地を用いて土壌に接種した軟腐病菌の生態を詳細に研究している。

### 1 KELMAN 培地の組成

ペプトン 1%, カゼイン加水分解物 (Difco) 0.1%, ブドウ糖 0.5%, TTC 0.005%, 寒天 1.7%。TTC は 0.5% 水溶液として保存し, 使用に際してろ過, 滅菌し, 溶融した培地に加える。

この培地に青枯病菌を培養すると, TTC は菌によって還元され, コロニーが赤色を帯びてくる。32°C, 36 時間培養後, そのコロニーの色と性状を観察することによって病原力の強弱を判定することができる。バター質で赤色コロニーは病原力が弱いかまたはまったく失ったものであり, 流動質で中心が桃色の白色コロニーは強い

病原力を持ったものである。しかし, この培地には特別の選択性はなく, 他の *Pseudomonas* 属細菌や *Erwinia* 属細菌によっても赤色のコロニーができる。したがって, 今後, 抗生物質や色素などの添加によって選択性を付与するよう改良することが期待される。

### 2 PDCVA 培地の組成

ペプトン 10 g, デキストローズ 10 g, 寒天 15 g, 水 1 l, クリスタル紫 (0.1% 液) 5 ml。

この培地はクリスタル紫によってグラム陽性菌の生育を抑えるが, 完全な選択培地ではない。各種のグラム陰性菌がコロニーとなって現われるが, 岡部 (1969) によると, 青枯病菌の表面コロニーは特異な性状を示し, 土壌中には類似したコロニーを作る雑菌はまったくないという。この培地を使用して希釈平板法を行なうことによる検出可能な病原細菌の限界濃度はほぼ  $10^4$  /g であり, シャーレの枚数を増して病菌を捕えるチャンスを高めれば  $5 \times 10^3$  /g 程度まで感度を高めることができるという。トマトを発病させるために必要な土壌中の病原細菌量はほぼ  $10^4$  /g であるので, 選択培地による希釈平板法は土壌検診の目的に利用できる可能性が高い。

## IV 土壌検診のための具体的方法

### 1 準備すべき器具類その他

培地材料および試薬類, 滅菌試験管, 滅菌フラットシャーレ, 滅菌メスピペット (先端口径 1.0 mm の 1 ml ピペットと同 1.5 mm の 5 ml ピペット), 定温器, オートクレープ, 滅菌蒸留水, 採土器, (超音波発生装置)。

### 2 試料の採取

一般圃場から土壌を採取するためには採土器を使用するのが便利である。土壌中での細菌の分布は深さと密接な関係にあり, 軟腐病菌は発病地では 60 cm の深さまでに濃厚に分布しているといわれる (田中ら, 1967)。また, 病原細菌は作物と密接な関係があり, 寄主作物の根や地上部から分泌されるアミノ酸類, 糖類などの栄養源の供給を受けて局部的に増殖する (富樫ら, 1968, 1969; 菊本ら, 1969)。軟腐病菌はハクサイの葉が接している部分の土壌中でとくに増殖が早く, これが直接に感染源となって発病をひき起こすといわれる。したがって検診のためには, 作物から離れた部分の深さ 10~15 cm のところからの土壌と, 作物の株元から 0~5 cm の深さの表土とを時期別に採取するのが適当である。採取した土壌はなるべくすみやかに供試しなければならぬが, 保存の必要のある場合には乾燥を防ぎながら 2~5°C の冷蔵庫中におく。

### 3 試料調整

採取土壌 (1 地点約 100 g) は, その一部を含水量の測定に用い, 残りを病原細菌の定量に使用する。含水量の測定のためには, 土壌の一部を秤量びんにとり, 100°C の乾熱器中で恒量になるまで乾燥させ, 乾燥前後の重量の差から含水量を求める。

残りの土壌から 50 g を秤量して、1 l 入り フラスコに入れ、滅菌水 450 ml を加え、土壌中の細菌をよく分散させるために 5 分間強く振とうし、1 分間静置したのちこの上澄を 100 倍および 10,000 倍に希釈する。

振とうする代わりに超音波で短時間処理すれば土壌団粒中の細菌をよく分散させることができるが、超音波は一方では細菌を破壊する作用もあるので慎重な予備実験が必要である。服部・菊本 (1964) によれば軟腐病菌の場合 10K サイクルで 3~4 分間処理が適当であろうといわれるが、この方法の一般化は今後の課題と思われる。

土壌中の病原細菌の密度が低く、そのままでは検索できない場合には、試料の前処理として増菌法 (病原細菌の増殖に最も適した液体培地を加え、数時間~十数時間培養する方法) や遠沈集菌法 (分画遠心により細菌を濃縮する方法) などが有効な場合もある。しかし、これらの方法を適用した場合は、元の試料中の病原細菌濃度を定量的に示すことは困難である。

#### 4 培 養

あらかじめ溶かして 50°C に保った選択培地 3 ml に試料の各希釈液 0.5 ml ずつを加え、すみやかに滅菌シャーレに流し込み、平板とする。1 希釈液について 5 枚以上の平板を作る。シャーレの温度が低い場合は培地が一面に広がりにくいので、あらかじめ 50°C 近くに温めておくといよい。シャーレは 25~30°C の定温器中に入れ 2~3 日間培養する。

#### 5 計 数

培地上に現われたコロニーの性状から目的細菌を識別しながら計数する。この場合、1 枚のシャーレに 30~300 個のコロニーができるように試料調整の際の希釈度を加減することが必要である (津山, 1962; 岡部, 1969)。乾土 1 g 当たりの細菌数  $N$  は次式によって示す。

$$N = \text{コロニー平均値} \times \text{希釈倍率} \times \text{原土重量} \div \text{乾土重量}$$

軟腐病菌の場合も青枯病菌の場合も経験によって選択培地上のコロニーをある程度正確に見分けることができるが、なお疑わしいコロニーについては指標植物に接種することによって病原性を確認し、計数値の補正資料としなければならない。

### V 定量値と発病との関係

土壌中の軟腐病菌数は冬期から 4~5 月ごろまでは少ないが、5 月下旬から 6 月にかけて次第に増加する。8 月には減少傾向がみられ、9~10 月にふたたび高くなる。しかし、ハクサイの感染に直接に関与する軟腐病菌は、ハクサイの中肋が接触している局所的な土壌中に存在するものであることが明らかにされた。この部分の土壌は病原細菌の増殖に必要な栄養源を常に葉から供給されるため菌の濃度はいちじるしく高い。そして土壌 1 g 当たりの病原細菌数が約  $10^5$  に達するところから発病がみられる (富樫ら, 1969)。ハクサイから離れた場所では、その

時期でも、菌の濃度はあまり高くない (富樫, 1968)。

青枯病の発病に必要な菌量は、KELMAN ら (1965) によると、トマトを水耕または砂耕した場合、 $5 \times 10^4$  / ml 以上であるといわれる。また JENKINS ら (1967) によると  $2.5 \times 10^4$  / ml 土壌であるといわれる。これらの数値は人工環境下の試験結果であり、環境 (温・湿度、土性、土壌微生物相など) と品種などの違いによって変動するものと思われるが、これらの結果から判断して、自然条件下でも病原細菌数が約  $10^4$  / g の濃度に達すると発病の危険性が高いと考えてよからう。

軟腐病菌においても青枯病菌においても、約  $10^4$  / g の土壌中菌数が発病のために必要とみられることと、現在の選択培地による病原細菌の検索可能な限界濃度が  $10^3 \sim 10^4$  / g であることから考えて、選択培地を利用して土壌検診を行ない、発病の危険性を予知することも決して不可能ではなからう。

### お わ り に

植物病原細菌のための選択培地はなお少数であり、現在使用されている選択培地も理想的なものということとはできない。培地上の目的細菌を識別するためにはかなりの経験と、なんらかの補助的手段に頼っている現状である。しかし、土壌伝染性細菌病、とくに軟腐病と青枯病の病原細菌の土壌中での生態に関する研究は最近活発に行なわれており、顕著な業績がみられる。この傾向がなお続けば、さらにすぐれた選択培地も考案され、各種の土壌伝染性病害のための土壌検診技術は一段と向上するものと思われる。

### 参 考 文 献

- 服部 勉・菊本敏雄 (1964) : 土壤病害の手引Ⅱ 日本植物防疫協会 41~55.  
 JENKINS, S. F. JR ら (1967) : *Phytopathology* 57 (1) : 25~27.  
 KELMAN, A. (1954) : *ibid.* 44 (12) : 693~695.  
 ———・L. SEQUEIRA (1965) : *ibid.* 55 (3) : 304~309.  
 菊本敏雄・坂本正幸 (1965) : 東北大農研報告 17 (1) : 43~56.  
 ———・——— (1969) : 日植病報 35 (1) : 36~40.  
 岡部徳夫 (1969) : 静岡大農研究報告 19 : 1~29.  
 SEGALL, R. H. (1969) : *Phytopathology* 59 (8) : 1049. (要旨)  
 富樫二郎 (1968) : 坂本教授還暦記念論文集 367~372.  
 ———・坂本正幸 (1969) : 東北大農研報告 20 (2) : 279~292.  
 ———・——— (1969) : 日植病報 35 (2) : 110. (要旨)  
 田中 博・坂本正幸 (1967) : 同上 33 (2) : 113. (要旨)  
 津山博之 (1962) : 東北大農研彙報 13 (4) : 221~345.

# 土 壤 伝 染 性 ウ イ ル ス の 検 診 法

農林省植物ウイルス研究所 小 室 康 雄

わが国における土壤伝染性ウイルスについての研究は古くからムギ類を中心に行なわれ、続いてソラマメ・エソモザイク病、タバコ矮化病となされてきた。また最近では、このほかにいくつかの土壤伝染性ウイルスが確認され、若干の作物で問題になり、あるいは問題になろうとしている。また将来、イチゴ、クワ、果樹、花卉などの一部のものでもウイルスの研究が進むとともに新しい土壤伝染性ウイルスの確認も十分予想できる。

現在わが国で土壤伝染の確認されているものは第3表のような 10 数種のものであるが、ウイルスの場合も細菌、糸状菌による土壤病害の場合と同様に、あるいはそれにも増してその検診法はむずかしい。以下、わが国で確認されているものを中心に記してみることにする。

## I ウィルス病であることの確認

作物に異常が認められ、それが細菌病あるいは糸状菌病でないことがわかったとき、一般に養分あるいは土壤水分の過多少といった生理的異常、品種とか系統といった作物の種子に基因する遺伝的な異常、さらにウイルス病による異常といった疑いがもたれる。ウイルス病の中には十分の研究が行なわれるまでは生理病あるいは遺伝病ではないかと考えていたものが数多くある。土壤伝染性のウイルス病の中にもその研究初期には生理的異常(主として土壤に基因する)と考えられていたものが多い。そこでまず第1には問題にしている病気がウイルス病であることの確認が必要になる。細菌、糸状菌病でないことを顕微鏡で確かめたあと、生理病、遺伝病にはみられない伝染性の病気であることを調べることになる。

Ⅲの項で記すが、わが国で明らかになっている土壤伝染性ウイルスは、すべて汁液による人工接種が可能であるから、汁液による人工接種を健全植物に対して行なってウイルス病であるかどうかの判定をするのが簡便な方法になる。検定に用いる植物はその問題の作物のほかに、予想されるウイルスの判定に有効と考えられる検定植物1~3 種くらいを選定するのがよい。その細かい点についてはここでは省く。

## II 土 壤 伝 染 す る こ と の 確 認

ウイルス病と判定された場合、次にそれが土壤伝染に基因しているかどうかの判定が必要になる。圃場におけ

る観察がその判定の大きな根拠になるのであるが、実験的な証明もまた必要である。発病株の周囲から土壤を採取し、殺菌ポット中に入れ、種子あるいは健全種苗を播種、植え付けてその発病の有無を調べる。もちろん殺菌土壤を用いた対照区を設けることも必要である。試験区の苗に発病株が出現すれば申しぶんないが、場合によっては地上部の茎葉になんらウイルス症状がないときでも、その根部はウイルスに感染していることもあるから、その根を掘り出して検定植物に汁液接種すると有効である。これについて三つの例を以下示すことにする。

Ⅳの項で土壤伝染の三つの型をある程度説明するつもりであるが、まず最初の例は第1群としたトマトにおける TMV の例である。2~10 年連作したトマト圃場 A, B, C の3カ所から、まだその地上部にモザイク病の発生のみられない時期に葉と根を1組にして 20, 20, 10 株採集して、その組ごとにその葉と根から TMV が回収できるかどうか検定した。A, B, C 各区の栽培条件、品種などここでは省くが、その結果を第1表に示す。畑への定植後 A, B 区は約4カ月、C区は約2カ月後に調べたが、第1表のように葉(-)、根(+)の組が、テストした計 50 組中 24 組 (48%) もでてきた。地上部に病徴を示さず、かつそこからウイルスが回収される以前にその根部はすでにウイルスに感染していることを示すものといえる。

第1表 A, B, C 各区のトマトの茎葉部、根部についての TMV の検定試験結果 (小室・岩木, 1969)

区 別	A	B	C
検 定 数	20株	20株	10株
葉(-), 根(-)の株数	7	0	3
葉(-), 根(+)の株数	11	6	7
葉(+), 根(-)の株数	0	0	0
葉(+), 根(+)の株数	2	14	0

第2の例はⅣの項で第2群とした菌類により媒介されるもので、メロンにおけるメロン・えそ斑点・ウイルスについてのものである。メロンの本病の発生の多い浜松市近郊の発病地土壤にメロン種子を播種し、播種後1カ月後にその1株ずつについて葉および根から本ウイルスが回収されるかどうか検定した。第2表の結果は播種後1カ月目のもので、メロン上にはなんら病徴が見られて

第2表 発病地土壌に植え付けたメロンの株別にみた葉および根からのウイルス分離状況  
(小室・古木・江塚, 1970)

土壌採取地別	植付株数 (検定株数)	ウイルス検出株数			
		葉(-) 根(-)	葉(-) 数(+)	葉(+) 根(-)	葉(+) 根(+)
浜松周辺A	25	12	13	0	0
〃〃B	20	6	14	0	0
〃〃C	15	3	12	0	0
千葉(殺菌土壌)D	20	20	0	0	0

いなかったのであるが、その根部はすでに高率に本ウイルスに感染していたことがわかる。

第3の例はⅣの項で第3群とした線虫により媒介されるもので、アスターにおけるタバコ・茎えそ・ウイルス(TRV)の例である(小室・吉野・一戸, 1969)。アスターの黄色輪紋病の発生の多い畑の土壌を採取し、そこに殺菌土壌で育成したアスター苗を植え付け約2カ月後にその苗の発病をみた。対照区としては蒸気殺菌した発病地土壌を供試した。その結果、発病地土壌に植え付けたアスター163株中病徴のみられたものはわずか1株であった。しかしその163株のうち病徴のみられない20株について、その根部からTRVの回収試験を行なったところ、1株からさらにTRVが分離された。ここでは20株しか調べてないが、163株すべてについて試験を行なえば、さらに数株のものにはTRVが根部感染していたと予想される。殺菌発病地土壌に植え付けたアスター132株では発病株がなかった。

発病地から土壌を採取し、そこに作物を育てる場合、その作物の種類、品種によってその発病に差がでてくる

のは当然であるから、なるべく感受性の高いものを選定する必要がある。ムギ類・萎縮・ウイルスの場合にはコムギ(埼玉27号)、コムギ・縞萎縮・ウイルスにはコムギ(畠田)、オオムギ・縞萎縮・ウイルスにはオオムギ(ゴールデン・メロン)が判定に有効とされている。これら3種のコムギ、オオムギを播種すると、その病徴の発現の有無、病徴の程度からウイルス病の判定とともに、病原ウイルスの種類の推定もできるわけである。その播種時期も通常の播種時期よりも1カ月ほど早いほうが病徴がよく発現し判定しやすい。

### Ⅲ わが国における土壌伝染性ウイルスの種類とその発生する作物の種類

「土壌伝染性ウイルスの検診法」は現在の段階では病原ウイルスの種類を同定すれば、まず判定できるといえる。もちろん、わが国あるいは世界で未報告のウイルスが分離されてきたような場合には多くの試験研究が必要にはなってくるが。

そこでわが国ですでに明らかになっている土壌伝染性ウイルスの種類とその発生する作物の種類を覚えておくことと便利になる。これらの点を媒介者、ウイルス粒子の形態も含めてまとめると第3表になる。

第3表を参考にしながら、被検土に播種または定植によって発病した植物のウイルスの種類の同定の仕方について以下簡単に記してみる。

#### 1 植物上における病徴

問題にしている作物の種類によって土壌伝染するウイルスの種類がまず限定されてくる。たとえば、タバコだとTMV、タバコ・矮化病・ウイルス、タバコ・茎えそ

第3表 わが国に発生する土壌伝染性ウイルスの種類、発生する作物の種類、媒介者、ウイルス粒子の形態についての一覧

ウイルス名	発生の確かめられているおもな寄主	媒介者 (確認はされていないが可能性の高いものも含む)	ウイルス粒子の形態、大きさ(mμ)
(1)タバコ・モザイク・ウイルス	トマト、ピーマン、タバコ	ウイルスの土壌中の残存、媒介者不要	棒状, 300×15
(2)キュウリ・緑斑モザイク・ウイルス	キュウリ、スイカ、ユウガオ	同上	棒状, 300×15
(3)ムギ類・萎縮・ウイルス	コムギ、オオムギ	<i>Polymyxa graminis</i>	短桿状, 160×25
(4)コムギ・縞萎縮・ウイルス	コムギ	同上	ひも状, 300×13, 600×13
(5)オオムギ・縞萎縮・ウイルス	オオムギ	同上	ひも状, 300×13, 600×13
(6)タバコ・矮化病・ウイルス	タバコ	<i>Olpidium brassicae</i>	球状, 径20
(7)タバコ・ネクロシス・ウイルス	タバコ、(チューリップ)	同上	球状, 径25~30
(8)メロン・えそ斑点・ウイルス	メロン	<i>Olpidium</i> に近い菌	球状, 径30
(9)タバコ・茎えそ・ウイルス	タバコ、アスター	<i>Trichodorus minor</i>	棒状, 185×25, 75×25
(10)トマト・リングスポット・ウイルス	スイセン	<i>Xiphinema spp.</i>	球状, 径30
(11)ソラマメ・えそモザイク・ウイルス	ソラマメ、エンドウ	不明	桿状, 150×25, 250×25
(12)イネ・えそモザイク・ウイルス	イネ	不明	桿状, 275×13, 550×13

・ウイルス、タバコ・ネクロシス・ウイルス、コムギならムギ類・萎縮・ウイルス、コムギ・縞萎縮・ウイルスが問題になる。タバコ、コムギ上の病徴を参考書などを利用して調べると、その病徴からだけでも、その病原ウイルスがなんであるか、ある程度判定できることが多い。

## 2 数種検定植物に対する汁液接種

I の項でも述べたが第3表にあげたウイルスはすべて汁液接種が可能である。問題にしている植物上の病徴が判然としないとき、あるいはその病原ウイルスを確認する必要があるときには、可能性のあると考えられる病原ウイルスについて、今までに明らかになっているそれらウイルスの検定植物に汁液接種を行なうことになる。

## 3 抗血清を用いての血清試験

第3表にあげたウイルスの多くのものについては、その研究を行なっている試験場、研究所などで抗血清が用意されていることが多い。それらの抗血清の分譲を受けるとか、問題になっている病株標本をそれらの場、所に送付して血清反応を依頼すると、ウイルスの同定を確実にかつ迅速に行なうことができる。

## 4 ウィルス粒子の形態の観察

ウイルスの種類によって第3表のように各種の形態のものがあり、かつその大きさにも差異があるから、電子顕微鏡を利用あるいは依頼できる場合には、dip 法などによってウイルス粒子を確認すると同定に役立つ。

## 5 X体の観察

TMV, ムギ類のウイルス病, イネ・えそモザイク・ウイルス病などでは罹病植物の主として表皮細胞内に特殊な異常小体を作るものがあるので、ウイルスの種類によってはそれらを観察することも同定の一助になる。

# IV 媒介者の種類

病原ウイルスの種類が明らかになれば、とくにその媒介者の種類の検討をしなくてもその媒介者がなんであるかがある程度推察できるが、ウイルスの同定をさらに確認する必要がある場合、あるいは土壤消毒の試験を詳しく行なおうとする場合、あるいはウイルスと媒介者との相互関係をさらに明らかにしようとする場合などには、その媒介者を用いての伝搬試験が必要になる。

土壤伝染するウイルスは、その伝染方法からみて以下のような三つの型に大別される。

## 第1群：TMV 群

第3表にあげた(1), (2)のウイルスは、耐保存性1年以上, 耐熱性 90°C 以上, 耐希釈性 100 万倍以上と毒力がきわめて安定しており、前作の病株の残骸、とくに根の中にウイルスが残っていて、とくに媒介者がなくて

も次期作の健全作物の根がそれにふれると感染を起こすものである。

## 第2群：菌類により媒介されるもの

(3)~(8)のウイルスは *Olpidium*, *Polymyxa* といった糸状菌がウイルスを伝搬して媒介者になっている。外国ではこのほか *Spongospora*, *Synchytrium* で媒介されるウイルスも知られている。

## 第3群：線虫により媒介されるもの

(9), (10)は線虫の *Trichodorus* (ユミハリセンチュウ属), *Xiphinema* (オオガタハリセンチュウ属) によって媒介されるウイルスである。この線虫により運ばれるウイルスは植物上に輪紋や糸葉症状を示すものが多く、その寄主範囲が広く種子伝染する特徴をもっているものが多い。外国では上記2属の他に外寄生性線虫 *Longidorus* 属により媒介されるウイルスも知られている。

(3)~(10)の媒介者である菌および線虫の同定についてはそれぞれその専門家に頼まないとできないし、それらのウイルス伝搬試験についてはそれぞれ特殊の技術が必要であるので、それらの専門家の意見を参考にして実験を進めることになる。これらについてはここでは省略する。

第3表にあげた(11), (12)のウイルスについては、その媒介者がまだ不明である。また第3表にあげてない温州ミカン・萎縮・ウイルス、クワ・モザイク・ウイルスも土壤伝染するものと考えられているが、その十分な確認や媒介者についての試験はまだなされていない。

これらの土壤伝染性ウイルスは、一般に地上部における媒介者(主として媒介昆虫)がみつからないことも大きな特徴といえるから、地上部における媒介者を探す各種の試験をしてもみつからない場合には種子伝染とともにこの土壤伝染を疑ってみる必要がある。もっともわが国ではまだ発生のみられてないタバコ・リングスポット・ウイルスでは線虫とともに地上部においてスリップスによる伝搬が認められている。

# おわりに

土壤伝染性ウイルスの検診については、初めに記したようにまだ十分のものとはいえず、今後の研究にまたねばならない点が多々残されている。これらウイルス病の伝染経路を明らかにして、それを遮断する方法など、もちろん土壤消毒法なども含むが、防除法の確立のためにも、ウイルスと媒介者の確認、伝搬にあたっての両者の相互関係などについての基礎的な試験研究が推進されていくことが要望される。それとともに簡便かつ迅速な検診法も次第に開発されていくものと思う。

## 植物防疫基礎講座

*Pythium* 菌 の 見 分 け 方

大阪府立大学農学部 高 橋 實

本年の水産学会で永年の課題であったアサクサノリの赤腐病菌を新種として *Pythium porphyrae* n. sp. と発表したが、土壤病菌として被害のいちじるしい *Pythium* 菌が海水に棲息してアサクサノリを侵害していることには驚かされた。しかし、もともと *Pythium* 属菌は *P. monospermum* として水中から初めて分離されたもので、土壤菌として分離されたのはその後のことであって、海水に生活していることもありうる。*Pythium* 菌が陸、海、水生の広範な生活圏をもつことは、水中を遊泳する遊走子、罹病組織に長期間残存し生命を維持する卵胞子など、繁殖器管の多様性と強い腐生栄養による生活にあると考えられる。ところが、*Pythium* 菌は寄主根圏や腐殖質のない自然土壌ではきわめて短時日のうちに消滅することが明らかである。このことは *Pythium* 菌の生存が土壌を場とする土壌微生物の腐生的競走や抗生によって影響されていることを示すもので、*Pythium* 菌が分離検定しにくい原因となっている。

土壤病菌としての *Pythium* 菌は主要農作物の病害として数多い報告があり、わが国でも 30 種以上の菌種が同定されている。実際にはさらに多くの *Pythium* 病害が発生していると思われるが、割合に報告が少ないのは検診と同定が煩わしいためと考えられる。

*Pythium* 菌の検診と同定にあたってとくに留意すべき事項と考えられるものに、*Pythium* 菌を土壌から適確に検出する方法、分離に効果的な選択分離培地、同定分類の基本となる孢子嚢(のう)の形態と発芽法の確立、適当な分類検索表などがある。以下に *Pythium* 菌の検定法と検索についてよく使用されている方法を述べることにした。

I *Pythium* 菌の検出

*Pythium* 菌の土壌中における存在を簡単にしかも正確に知る方法があれば被害予測上最も望ましいことであるが、土壌中の微生物の混在と、*Pythium* 菌を直接見分ける方法が困難であるために、種々の検出法が実施されている。次に常用されている 2, 3 の *Pythium* 検出法を紹介する。

1 罹病植物根端から *Pythium* 菌の簡易検出法

病勢の軽い植物とくにキュウリ、トマト、ナスなどの

幼苗を抜き取ってみると、細根の先端が淡褐色を示していることがある。また立枯や腰折の病徴を示している幼苗をみると、地際部または根部が淡褐色あるいは水浸状になっていることがある。このような罹病組織を切り、スライド上で碎いて検鏡すれば、*Pythium* 菌の菌糸や卵胞子を見出すことがある。

## 2 埋没スライド法

スライドを土壌中に埋没しておき、付着した病原菌を直接検鏡する CHOLODNY や ROSSI などの方法である。土壌にスライドガラスを挿入し、1~3 週間放置後、スライド表面に傷をつけないようにして静かに抜き取り、表面の土を除去し、スライドの片方を拭いて風乾する。次に湯煎上か、または火焰でかわかし固定する。固定後はローズベンガル染色液(ローズベンガル 1.0 g, 5% フェノール 100 ml, CaCl<sub>2</sub> 0.01 g)で 5~10 分間染色し、水洗、乾燥後に検鏡する。低倍率で 1 視野中の数量を数え、300 視野の菌糸密度をもって表示する。

## 3 コンタクトスライド法

ROSSI や CHOLODNY の埋没スライド法の変法として、スライドガラスを 2% 寒天液に浸して、寒天の薄膜を作ったコンタクトスライドを土壌中に挿入し、3~5 日後に抜き取って、ローズベンガル染色によって検鏡する。また、トウモロコシ寒天を用いて好結果を得ることができる。コンタクトスライド法は直接法の中でも最も効果がよく常用されているが、菌糸の付着が悪いことと、他の土壌微生物が多数混入するなどの点から次の間接法を併用することをすすめたい。

## 4 希釈平板法

土壌粒子に混在する病原菌を直接分離する方法で、供試土壌 2 g を 10 ml の殺菌水中に投入してかきまぜ、その 1 ml をピペットで採り、これに 10 ml の殺菌水を加えて希釈する。各希釈濃度の土壌懸濁液をそれぞれ 1 ml ずつ取り、あらかじめペトリ皿に分注して固まらした酸性トウモロコシ寒天上に流し込むか、または *Pythium* 菌選択培地である PCNB-Streptomycin 添加トウモロコシ寒天上に流し込んで、20~24°C に 24 時間放置する。

本法は最終希釈濃度が 10<sup>-4</sup>、病原菌の種類によるが 24~30°C、5~7 日間の保温期間が好適である。



### 5 土壤平板法

土壤を直接寒天培地上に分散させる土壤平板法が *Pythium* 菌の検出に適している。表層土壌 0.005~0.015 g をニコローム線で殺菌したペトリ皿に入れ、リン酸で pH 4.0 に調節した 0.5% 酵母エキスを加用 **CZAPEK-Dox** 寒天培地を溶解、冷却して、ペトリ皿に 8~10 ml を分注し、土壤を十分分散させる。研究室では MARTIN と JOHNSON の Rose bengal, Streptomycin 加用 Peptone dextrose 培地の 1/8~1/16 組成培地を用いて好結果を得ている。

### 6 指標植物法

*Pythium* 菌に感受性の強い寄主を指標植物として、罹病植物数によって検出と病原性をみる方法である。指標植物にはキュウリ、ニューメロン、トマトなどが適当である。供試土壌 500~600 g を植木鉢に取り、あらかじめ 0.2% 昇コウアルコールで消毒したキュウリ幼苗（茎長 1~3 cm）を各鉢に 10~20 本植え約 10 日後に罹病数を調査する。別法としては供試土壌を大型ペトリ皿に 200 g 入れ、キュウリ種子を 20~30 粒播種し、28°C で約 10 日後に罹病苗数を測定する。

### 7 捕捉法（トラップ法）

*Pythium* 菌の寄生しやすい植物片を土中に埋没しておき、これに寄生した病原菌を間接的に分離する方法である。

(1) ジャガイモ切片の土壤埋没法 (HINE & LUNA 法): 約 3 mm<sup>3</sup> のジャガイモ切片を土壌中に埋没しておき、一定時間後に取り出し水洗後 Streptomycin-Pimaricin 液中に浸漬し、約 1 時間後に取り出して殺菌水で十分に洗ってから、Streptomycin-Pimaricin 添加寒天培地上に置き、31°C、24 時間培養する。この分離法によれば *P. aphanidermatum* と *P. ultimum* が他の *Pythium* 属菌から選択的に分離されると同時に他の糸状菌も Pimaricin によって 100% の抑制を受ける。

(2) ニンジン切片の土壤埋没法 (研究室常法): 本研究室ではニンジン切片 (5 mm<sup>3</sup>) を供試土壌中に埋没して糸状菌を發育させ、約 48 時間後に取り出して水洗後

に Streptomycin 添加トウモロコシ寒天上に置き、20~24°C で 24 時間保った後に發育した菌糸の先端を植え替える。この操作を 2, 3 回反復すれば糸状菌を細菌から分離できる。

(3) キュウリ苗切片による捕捉法 (研究室常法): キュウリ、インゲン幼苗およびトウモロコシ種子をトラップ材料とした。材料の幼茎約 1 cm の切片またはトウモロコシ種子を 4 mm<sup>3</sup> にした細片を 0.2% 昇コウアルコールで 5 分間消毒後十分水洗する。供試土壌約 100 g を大型ペトリ皿に取り、これにトラップ材料 20~30 個を投入して、十分埋没し、28°C に 3 日間放置後、材料を流水で洗い、ろ紙上で脱水する。材料はあらかじめ 2% 水道水寒天培地上にストレプトマイシンを 1 滴ずつ滴下した平板上に置き、28°C、3 日間培養後に培地上の菌叢を検鏡した。

### 8 各検出法による *Pythium* 菌検出結果

各検出法による *Pythium* 菌の検出効果を比較するために、罹病性のキュウリ、トマト、抵抗性のカボチャ、インゲンを寄主として育成している土壌に *P. aphanidermatum* を接種し、7 週間後に根圏土壌を採取して供試した。結果は第 1 表のとおりである。

トラップ法が *Pythium* 菌の検出に最も有効であり、土壤平板法では検出できなかったがさらに検討を必要とする。またコンタクトスライド法の併用が検出によいと思う。

## II *Pythium* 菌の分離と培養

*Pythium* 菌の検出で困難なことは、混在する多数の土壤微生物によって培地が汚染されることである。そのため選択培地を用いて、雑菌の生育を阻止して *Pythium* 菌だけを生育させることである。よく用いられる培地での *Pythium* 菌の生育と孢子形成は第 2 表のとおりである。

これらの培地で *Pythium* 菌の分離培養培地として最も利用されているものには次のようなものがある。

第 1 表 各検出法による *Pythium* の検出

接種土壌の育成植物	植 物 残渣法	ト ラ ッ プ 法			土壤平板法	希釈平板法	指標植物法 (キュウリ苗 の発病率)
		埋没管法	キュウリ茎	トウモロ コシ粒			
キ ュ ウ リ カ ボ チ ト マ	0 %	0 %	70%	60%	0	0	20
	0	0	80	100	0	0	10
	0	0	90	80	0	0	40
ダ イ コ ン イ ン ゲ ン 無 根 圏	0	0	100	20	0	0	30
	0	0	90	80	0	0	20
	0	0	85	80	0	0	0

第2表 各培地上の *P. ultimum* の生育と孢子形成

培地	菌叢の生育密度			形成	
	基面菌叢密度	気中菌叢密度	菌叢直径	分生孢子	卵胞子
ジャガイモ煎汁寒天	+ 7	+ 3	68.8mm	+ 2	+ 1
トウモロコシ煎汁寒天	+10	+ 5	105.0	+ 4	+ 4
エンバク煎汁寒天	+10	+ 5	102.0	+ 4	+ 8
タマネギ煎汁寒天	+ 8	+ 3	92.6	+ 8	+ 6
ミカン皮煎汁寒天	+ 4	+ 3	57.2	+ 5	+ 2
寒天単用	+ 6	+ 1	100.0	+ 1	+ 1
ヘモグロビン寒天	+ 3	±	42.5	+ 9	+10

## 1 分離培地

(1) トウモロコシ煎汁寒天：トウモロコシ粉 20 g, 寒天 20 g, 水 1 l. pH 5.0~6.0. コンタクトスライド法のスライドに塗抹するほか、平板培地、選択培地などの基本培地として、*Pythium* 菌の分離、培養培地として最も利用されている。細菌汚染を防ぐために、3N-HCl をもって pH 4.0 に補正した酸性トウモロコシ煎汁寒天を用いることもある。

(2) 寒天培地：平板法やコンタクトスライド法に用いられる培地で、寒天 20 g を水 1 l で融解し加圧殺菌して使用する。

## 2 選択分離培地

土壤中に混在する細菌、放線菌および糸状菌の生育を抑制して、*Pythium* 菌だけを分離する培地で、抗生物質や殺菌剤を基本培地に添加したものを一般に使用している。次によく用いられる培地を述べる。

(1) Pimaricin-Penicillin-Polymyxin 寒天：ECKERT & TSAO による *Phytophthora* や *Pythium* の選択培地である。Pimaricin 100 ppm, Penicillin 50 ppm, Polymyxin 50 ppm 添加トウモロコシ煎汁寒天である。

(2) Streptomycin-Pimaricin 寒天：HINE & LUNA は *Pythium* の選択培地として用いている。Streptomycin sulfate 100 ppm, Pimaricin 100 ppm を寒天培地に添加

して加熱殺菌する。

(3) Streptomycin, Teramycin, Kanamycin 添加トウモロコシ煎汁寒天：細菌から *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* を分離するために常用されている培地で、Streptomycin 90~100 ppm, Teramycin 10~50 ppm, Kanamycin 10~20 ppm を目的に応じてトウモロコシ煎汁寒天に添加して使用する。

(4) PCNB-Streptomycin 添加トウモロコシ煎汁寒天：よく用いられる *Pythium* 菌の選択分離培地で、Streptomycin 50 ppm, PCNB 1,000 ppm 添加トウモロコシ煎汁寒天(CMA) は細菌、放線菌の生育を阻止するとともに *Rhizoctonia*, *Fusarium* の生育を抑制する(第3表)。また *Pythium* 菌は Actidione やエチルリン酸水銀添加によって選択的に分離できることもある。

(5) Rose bengal-Streptomycin-PCNB 添加 Peptone dextrose 寒天：Strep.-PCNB-CMA 培地のトウモロコシ煎汁の代わりに、30 ppm Rose bengal と Peptone dextrose を添加したもので、土壤平板法その他の検出培地に応用されよい結果を得ている。

## 3 純粋培養

分離培地で 2, 3 回反復植え替えすれば、混入している細菌類が除かれるのでトウモロコシ煎汁寒天 (CMA) に移して保存する。

*Pythium* 菌は CMA 上で生育がきわめて良好であるから、もし他菌が混入していても生育の差を利用して、分離することもできる。すなわち CMA 上で 24 時間培養した後に菌糸の先端を白金耳でとり、別の CMA 培地に植え替えるのであるが、これを 3 回ぐらい反復すればよい。最も困るのは 2 種以上の *Pythium* 菌が混在している場合で、検鏡によって混在が明らかになったならば、培地上の菌をふたたび土壤中に戻し、キュウリ、ニンジンなど 2, 3 のトラップ植物を選んで分離をくり返さなければならない。

第3表 Streptomycin-PCNB-CMB 培地による選択分離

殺菌剤 (ppm)	<i>P. ultimum</i>	<i>R. solani</i>	<i>F. oxysporum</i> f. <i>lycopersici</i>	<i>S. rolfsii</i>
PCNB-1,000	3.80 (2.50)	— (—)	± (±)	— (—)
500	++	2.20	±	—
400	++	5.80	2.70	3.50
200	++	6.20	2.50	3.80
Actidione 100	—	—	—	—
50	— (—)	— (—)	1.70 (1.40)	— (—)
10	0.8 (1.2)	1.0 (1.0)	2.20 (2.20)	— (—)
1.0	++	+	+	+
EMP 0.1	5.60 (4.80)	3.90 (2.20)	2.5 (1.90)	± (±)
0.01	++ (4.30)	3.70 (3.60)	2.60 (2.10)	2.80 ±
0.001	++	3.90	2.90	3.50

### III *Pythium* 菌の形態と性状

純粋分離をした *Pythium* 菌は形態観察によって *Pythium* 菌であることを確かめ、さらに種の分類の基本となる胞子のうの発芽実験を行なって、胞子のうの形態を明確にする。次に *Pythium* 菌の分類上に重要な形態および器官の性質や状態についてとくに留意すべき諸点を述べる。

#### 1 形態は培地上の器官を用いて観察する

*Pythium* 菌は培地上でよく生育し、また、各種の器官を容易に形成するが、*P. hemmianum*, *P. vexans* やノリ赤腐病菌などは培地上で器官の形成が悪い。このような菌種では罹病組織中に形成された器官を用いて観察する。*Pythium* 菌の各繁殖器官の形態や大きさは、培地の種類や培養温度などの物理的変化によって変化をうけることが少ない。したがって培地上の形態と病組織中の形態や性状には分類上重視するほどの特徴的差異は認められない。

#### 2 形態観察には特定の培地を使用しない

前項で *Pythium* 菌の器官の形態は物理的、化学的条件（一般の形態観察上の条件）によって、ほとんど変化しないと述べた。したがって、器官の形態観察を行なう菌叢を生育させる培地は特定なものを使用しない。一般によく使用されている培地は前述したトウモロコシ煎汁寒天で、その他にアマの種子やジャガイモなどの煎汁寒天を用いている。ただ留意しなければならないのは、同種と同定する場合には原著者の使用した培地と同一種の培地を用いて形態や性状の比較を行なうことが望ましい。

#### 3 *Pythium* 菌と他土壌菌との形態、性状上の差異

土壌中の多数の微生物と病原菌が *Pythium* 菌の分離と同定に困難性を増している。しかし大多数の微生物類は特別な分離培地と方法（前述）によって除去できるが、しばしば *Phytophthora* 菌（疫病菌）が最後まで混在して困惑をきたすことがある。*Pythium* と同科の *Pythiaceae*（ピシウム菌科）に属する *Phytophthora* 菌は、器官の種類、形態が非常に似ているので見分けがつかない。最も顕著な形態的差異は、胞子のうの形態と発芽法であるから、これらの相違を検討する。*Phytophthora* の胞子のうはレモン型、ぼうすい形で直接遊走子を形成して放出するが、*Pythium* の胞子のうは球形、膨形状、糸状形などで、発芽して球のうを形成し、その中に遊走子を形成する。これらの差異は比較的容易

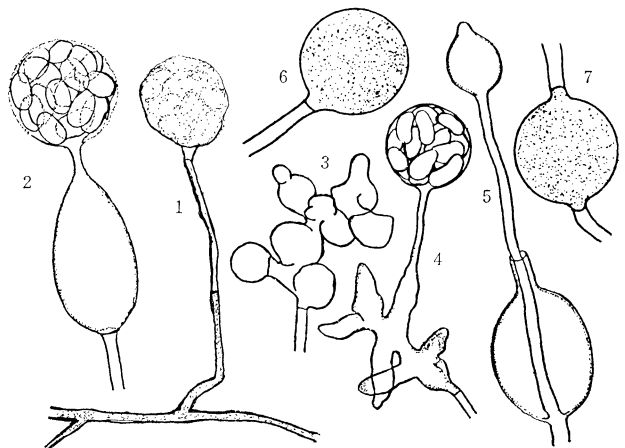
に見分けられそうであるが、発芽が *Pythium* では困難な場合が多く、見分けもむずかしい。

#### 4 胞子のうの形態が菌種の分類の基本になる

*Pythium* 菌の属の分類は胞子のうの形態によって、糸状形系と球形系とに大別される。胞子のうの形態が分類上最も重要であるが、胞子のうの形が何であるかは胞子のうが発芽してみなければわからない。たとえば、糸状胞子のうは菌糸とまったく区別がつかないし、球形胞子のうは分生胞子と形、大きさともに同形で、発芽法の差異によって区別する。膨状胞子のうは糸状と見分けにくいこともあるが少しなれば容易である（第1図）。

#### 5 胞子のうと分生胞子の発芽法の区別

胞子のうは発芽すると遊走子を形成するが、分生胞子は発芽管を出して発芽する。とくに *P. debaryanum* 系統のように胞子のうも分生胞子も球形である場合には、発芽法によって区別するほかない。*P. aphanidermatum* 系統は胞子のうが膨形状で不整形であって、遊走子による発芽が容易である。また *P. monospermum* 系統は糸状の胞子のうを有し、発芽は遊走子を形成しきわめて容易である。球形、糸状、膨状体の各胞子のうともに、培地上の胞子のうを形成している菌叢の薄片をとり、スライド上またはシャーレ内の蒸留水中に入れて、20~26°C に放置して、5分~24時間すれば発芽する。発芽温度、時間は菌種によって異なるようで一定していない。また蒸留水中で簡単に発芽しない球形胞子のうもあるので、発芽条件は種々の要因を組み合わせで決定する。糸状、膨状胞子のうは蒸留水中で比較的容易に遊走子を形成する。



第1図 胞子のうの形態と遊走子

1: 糸状胞子のう, 3, 4: 膨状胞子のう,  
2, 5: 球形胞子のう, 6, 7: 分生胞子

## 6 蔵卵器の形態と卵胞子の状態

*Pythium* 菌の蔵卵器は表面が平滑か突起をもっている。卵胞子が蔵卵器内に入っている状態には器内を充滿、不充滿の2種があって、これらの形と状態が種の決定には胞子のうに次いで重要な役割をもっている。

## 7 雄精器の形成部位と蔵卵器への付着状態

雄精器が蔵卵器に付着している状態は、数とともに、蔵卵器柄と同株か異株かで分類の特徴となる。

*Pythium* 菌の以上のような各器官の形態を図示すれば第2図のようである。

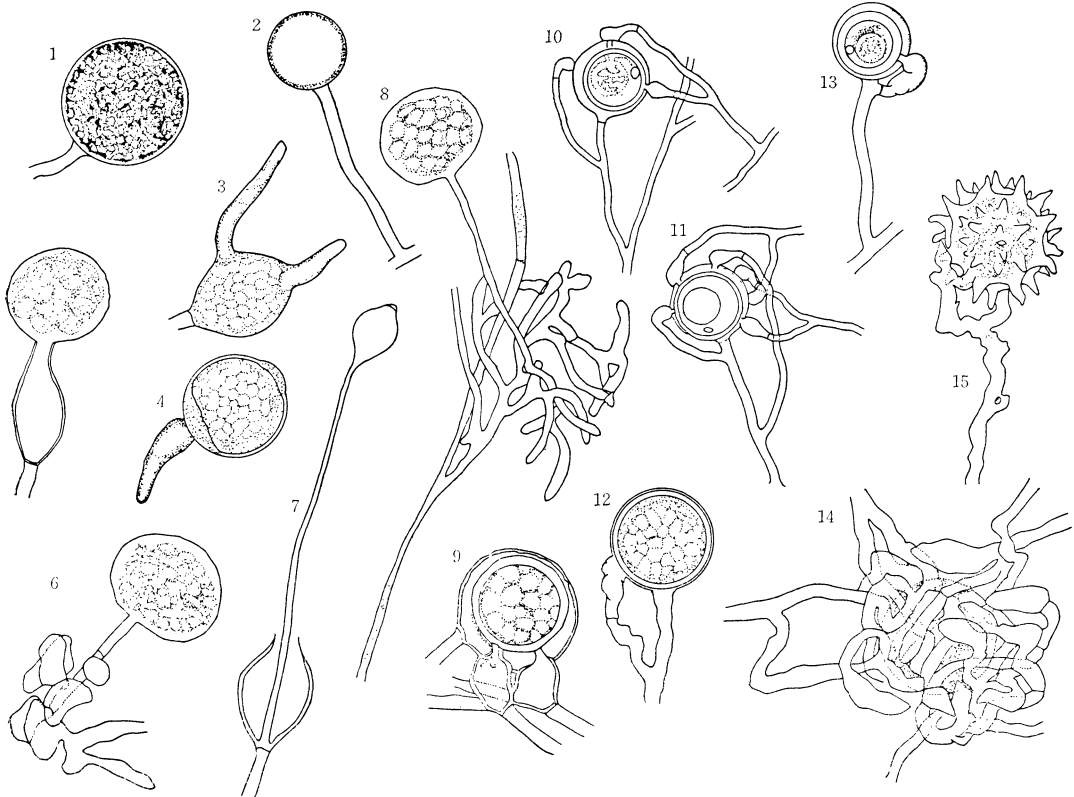
## IV *Pythium* 属菌の種の検索

*Pythium*属菌の分類検索法には種々あるが、胞子のうの形態を基本とした MATTHEWS の検索表に日本産 *Pythium* を入れて分類すれば次のとおりである。

### *Pythium* 属菌の検索

- A. 胞子のう糸状、膨状(B)
- B. 有性器官不明、分生胞子形成、水生… *P. afertile*
- B. 有性器官形成(C)
- C. 藻類、水生の小動物に寄生(D)

- D. 雄精器は隔膜により菌糸と区別されない、緑藻の1種に寄生…………… *P. tenue*
- D. 雄精器は隔膜により菌糸と区別、卵胞子不充滿(E)
- E. 蔵卵器平滑
  - 藻類に寄生、雄精器1個、異株生…………… *P. gracile*
  - 藻類に寄生、雄精器1~5、同株生…………… *P. angustatum*
  - 藻類に寄生、異株生…………… *P. adhaerens*
  - Daphnia hyalina*, *Bosmina coragoni* に寄生…………… *P. daphnidarum*
- E. 卵胞子網状、藻類に寄生… *P. dictyosporum*
- D. 雄精器は隔膜により菌糸と区別、卵胞子充滿…………… *P. akanense*
- E. ノリに寄生、雄精器1個…………… *P. marinum*
- E. ノリに寄生、雄精器1~5… *P. porphyrae*
- G. コマツナギの葉に寄生…………… *P. indigoferae*
- G. 腐生、卵胞子充滿(F)
- F. 胞子のう多数(G)
- G. 雄精器形成
  - 菌糸は極度に膨状、雄精器は蔵卵器柄に形成…………… *P. torulosum*
  - 雄精器は蔵卵器柄に形成しない……………



第2図 *Pythium* 菌 の 各 器 官 の 形 態

1~4: 分生胞子, 5~8: 胞子のうおよび遊走子, 9~15: 蔵卵器, 卵胞子および雄精器

- .....*P. monospermum*  
 G. 雄精器不明, 蔵卵器まれ.....*P. papillatum*  
 F. 胞子のう少数(H)  
 H. 膨状体形成, 雄精器 1~2 .....*P. inflatum*  
 H. 鎖状の分生胞子形成, 雄精器多数.....  
 .....*P. catenulatum*  
 C. 高等植物に寄生, 腐生(I)  
 I. 卵胞子不充滿  
 雄精器, 同株生, 異株生.....*P. oryzae*  
 雄精器, 通常中間生.....*P. aphanidermatum*  
 雄精器 1~2, 分生胞子鎖状.....*P. perniciosum*  
 雄精器多数, 異株生.....*P. arrhenomanes*  
 I. 卵胞子充滿  
 雄精器 1~6, 同株生, 異株生.....  
 .....*P. graminicolum*  
 雄精器は蔵卵器を巻く.....*P. zingiberum*  
 雄精器 8~15, 異株生, 同株生.....*P. nelumbium*  
 A. 胞子のう球形, 楕円形(J)  
 J. 胞子のう, 球のうを形成(K)  
 K. 有性器官形成(L)  
 L. 蔵卵器平滑(M)  
 M. 卵胞子不充滿(1~6)  
 1. 蔵卵器 14~43 $\mu$ , 雄精器 1.....*P. ostracodes*  
 2. 分生胞子形成, 雄精器 1.....*P. rostratum*  
 3. 蔵卵器 19~39 $\mu$ , 雄精器 1~3, 巻く.....  
 .....*P. oedochilum*  
 4. 蔵卵器 19~41 $\mu$ , 雄精器 6~8, 巻く.....  
 .....*P. palingenes*  
 5. 蔵卵器 11~27 $\mu$ , 雄精器 1~5 .....  
 .....*P. paroecandrum*  
 6. 蔵卵器 22~25 $\mu$ , 雄精器 1 底着.....  
 .....*P. cucurbitacearum*  
 7. 蔵卵器 8.9~25 $\mu$ , 雄精器 1, 異株生.....  
 .....*P. fragariae*  
 M. 卵胞子不充滿(1~4)  
 1. 雄精器, 異株生.....*P. proliferum*  
 2. 雄精器, 円筒形.....*P. ferax*  
 3. 雄精器, 同株生.....*P. nagai*  
 4. 雄精器 1~4, 巻く, 側着.....*P. helicoides*  
 L. 蔵卵器刺状.....*P. megalacanthum*  
 K. 有性器不明(N)  
 N. 菌糸細い, 遊走子の逸出管長い.....*P. diacarpum*  
 N. 胞子のうはカワホネ腐朽葉上に形成.....  
 .....*P. undulatum*  
 N. Spirogyra に寄生.....*P. carolinianum*  
 J. 胞子のう, 球のうを生じないか, 形成困難, 分生胞子形成  
 O. 有性器官形成(P)  
 P. 蔵卵器平滑(Q)  
 Q. 卵胞子充滿  
 腐生, 胞子のう球形.....*P. rostratum*  
 胞子のう不明.....*P. conidiophorum*  
 蔵卵器形成まれ.....*P. hemmianum*  
 Q. 卵胞子平滑, 不充滿, 腐生あるいは寄生  
 R. 酢にわく線虫に寄生.....*P. anguillulae-aceti*  
 R. Marchantia に寄生, 分生胞子鎖状.....  
 .....*P. marchantiae*  
 R. 上記以外のもの(S)  
 S. 胞子のう形成されないかあるいはまれ  
 分生胞子不規則.....*P. vexans*  
 雄精器 1 個, 蔵卵器柄上に形成.....  
 .....*P. ultimum*  
 雄精器 1~6 個.....*P. debaryanum*  
 蔵卵器形成まれ, 12~21.9 $\mu$  .....  
 .....*P. debaryanum* var. *pelargonii*  
 蔵卵器 25.5~34.7 $\mu$ , Pelargonium  
 に寄生.....*P. splendens*  
 S. 胞子のう形成  
 分生胞子形成.....*P. pulchrum*  
 分生胞子形成しない.....*P. compectens*  
 厚膜胞子形成.....*P. iwayamai*  
 Q. 卵胞子網状, 水生植物に寄生.....*P. cystosiphon*  
 P. 蔵卵器刺状, まれに平滑  
 蔵卵器刺長く多数.....*P. spinosum*  
 蔵卵器刺少数あるいは平滑.....*P. irregulare*  
 蔵卵器刺多数, 雄精器, 同株生.....  
 .....*P. mamillatum*  
 蔵卵器刺多数, 通常雄精器, 底着.....  
 .....*P. echinulatum*  
 蔵卵器刺多数, 雄精器, 側着.....  
 .....*P. echinocarpum*  
 蔵卵器多数, 卵胞子充滿.....*P. acanthicum*  
 N. 有性器官不明(T)  
 T. Prothalli に寄生, 胞子のう鎖状 .....  
 .....*P. intermedium*  
 T. 土壌中で腐生, 分生胞子鎖状にならない  
 .....*P. elongatum*  
 A. 胞子のう不明, 蔵卵器刺状.....*P. artotrogus*

## V 日本産 *Pythium* 菌の種類

わが国で分離された既発表の *Pythium* 菌は第4表のとおりで, 未発表菌株約 50 株が保存されており, 他研究機関の保存菌を入れれば日本産 *Pythium* 菌はほぼ数十種くらいになる。

## VI 多犯性の 2, 3 *Pythium* 菌の形態

*Pythium* 菌を形態, 性質, 病原性などの特徴から分けると, *P. debaryanum* 系, *P. aphanidermatum* 系, *P. monospermum* 系, *P. spinosum* 系のようになる。次に多犯性の 2, 3 *Pythium* 菌の形態上の特徴と分類的な考察を述べてみる。

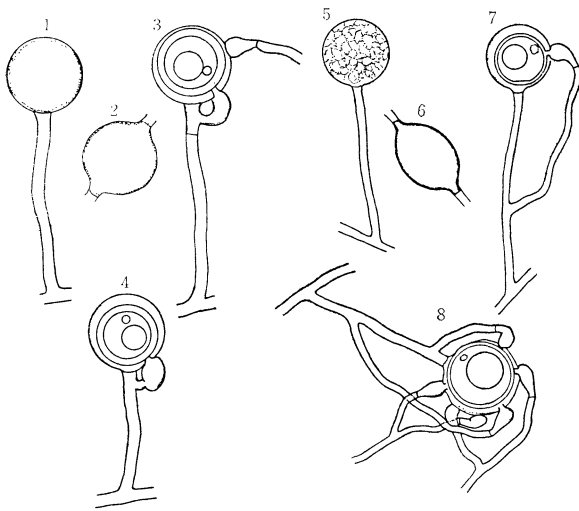
### 1 *P. debaryanum* と *P. ultimum* の分類上の差異

両者ともに本来は同種のものと考えられるが, 雄精器の数と発生部位によって分けられている。*P. ultimum* の雄精器は蔵卵器柄上にその直下から 1 個のみ形成され

第4表 日本産 *Pythium* 菌と寄主植物

菌 種	分 離 寄 主	報 告
<i>P. aphanidermatum</i> (EDSON) FITZPATRICK	カボチャ, トマト キュウリ キュウリ, ナス ビート セルリー ナス	楠元(1950) 高橋・川瀬(1954) 沢田(1942) 高橋・田中・一谷(1970)
<i>P. akanense</i> TOKUNAGA	マリモ	徳永(1932)
<i>P. aploveriticum</i> TOKUNAGA	アオミドロ, ヨコワミドロ	徳永(1935)
<i>P. artotrogus</i> (MONT.) DE BARY	チョマ	沢田(1927)
<i>P. debaryanum</i> HESSE	キュウリ イネ イチゴ セルリー	高橋・川瀬(1954) 藤黒(1918) 高橋・川瀬(1965)
<i>P. carolinum</i> MATTHEWS	イネ苗	
<i>P. cucurbitacearum</i> TAKIMOTO	キュウリ キュウリ	滝本(1945) 高橋(1954)
<i>P. diclinum</i> TOKUNAGA	イネ苗	徳永(1935)
<i>P. echinocarpum</i> ITO et TOKUNAGA	イネ苗	伊藤・徳永(1933)
<i>P. iwayamai</i> ITO	オオムギ, コムギ	伊藤・徳永(1933)
<i>P. megalochanthus</i> var. <i>callistephi</i> TASUGI et SIINO	エゾギク, チシャ	
<i>P. monospermum</i> PRINGSHEIM	イネ苗 水生菌	伊藤・徳永(1933) 高橋(1945)
<i>P. nagaii</i> ITO et TOKUNAGA	イネ苗	伊藤・徳永(1933)
<i>P. oryzae</i> ITO et TOKUNAGA	イネ苗	伊藤・徳永(1933)
<i>P. spinosum</i> SAWADA	キンギョソウ, サツマイモ ナタネ, テンサイ, イチゴ, チャ レンコン ビート	沢田(1926) 山本(1961) 高橋・大内・ALICBUSAN (1965) 高橋・田中・一谷(1970)
<i>P. ultimum</i> TROW	サツマイモ トロロアオイ	高橋(1945) 高橋(1954)
<i>P. helicum</i> ITO	池 水	伊藤(1942)
<i>P. polypapillatum</i> ITO	池 水	伊藤(1942)
<i>P. pleroticum</i> ITO	池 水	伊藤(1942)
<i>P. marsipium</i> DRECHSLER	キュウリ	高橋・川瀬(1956)
<i>P. vexans</i> DE BARY	トマト	高橋(1954)
<i>P. zingiberum</i> TAKAHASHI	ショウガ, トマト, ナス, キュウリ, トロロアオイ, アサガオ	高橋(1954)
<i>P. hemmianum</i> TAKAHASHI	ヘチマ, トマト, ナス, キュウリ, トロロアオイ, アサガオ	高橋(1954)
<i>P. oedochilum</i> DRECHSLER	イチゴ	高橋・川瀬(1965)
<i>P. mamillatum</i> MEURS	イチゴ	高橋・川瀬(1965)
<i>P. mastophorum</i> DRECHSLER	イチゴ	高橋・川瀬(1965)
<i>P. fragariae</i> TAKAHASHI et KAWASE	イチゴ	高橋・川瀬(1965)
<i>P. porphyrae</i> n. sp.	アサクサノリ	高橋・一谷・佐々木(1970)
<i>P. nelumbium</i> TAKAHASHI et OUCHI	レンコン	高橋・大内・ALICBUSAN (1965)
<i>P. ostracodes</i> DRECHSLER	レンコン	高橋・大内・ALICBUSAN (1965)
<i>Pythium</i> spp. (未定)	ソラマメ, ビールムギ, 洋芝, ナス, スイレン, キュウリ, トマト, セル リー, テンサイ, マリーゴールド, サルビア, アスター, レタス, イチ ゴ	以下研究室保存菌





第3図 *P. ultimum* と *P. debaryanum* の形態  
1~4: *P. ultimum*, 5~8: *P. debaryanum*  
1, 2, 5, 6: 分生孢子, 3, 4, 7, 8: 藏卵器と雄精器

る。ところが多くの同定者によると、2個の雄精器を認めており、また培養条件によっては、雄精器が2個であることもあり、藏卵器よりはなれた部位からも形成されており、*P. debaryanum* と同じ形態のものがみられている。血清反応からも差異が認められない。形態は第3図のとおりである。

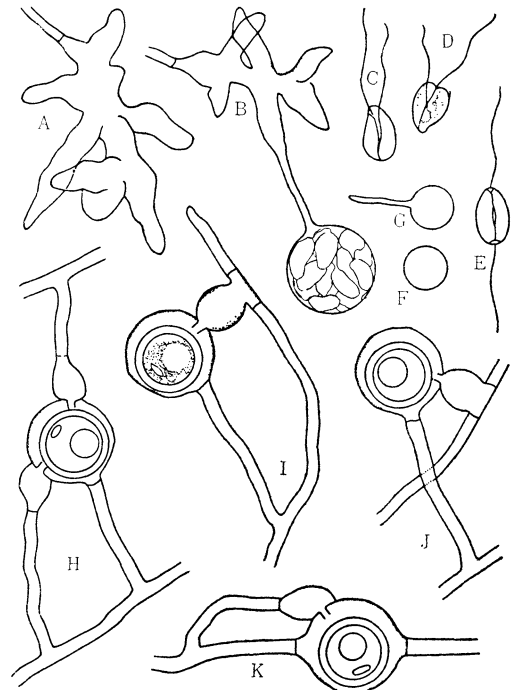
## 2 *P. aphanidermatum* の雄精器

本菌ほど病原性が強く、寄主範囲と分布の広い菌種は外にない。また、その雄精器の独特な形は一目で分類できるほどの特徴である。本菌の形態は第4図のとおりである。

## VII 考 察

*Pythium* 菌は現在 100 種くらい知られているが、わが国でも約 30 種ほど報告されている。研究室で保存している菌株は約 80 株で、同定されたものが約 20 種あって、未同定を含めるとおそらく数十種の *Pythium* 菌が現在日本に存在していると思われる。とくに *P. aphanidermatum* と *P. debaryanum* は各地で各種の植物から分類されており、今後さらに増加すると思われる。

*Pythium* 菌の土壌中における生存は土壌微生物による抗生と競走で容易なものではないが、寄主根圏や有機質が存在する場では菌糸の状態で生存するので、検診法によって検出できる<sup>9)</sup>。しかし卵胞子の状態で土壌粒子や



第4図 *P. aphanidermatum* の形態  
A~E: 孢子的うと遊走子,  
H~K: 藏卵器と雄精器

腐殖の中に生存している場合には検出が困難であるから、時期的にまた検出法について検討する必要がある。

検出法はキュウリ幼茎を捕捉材料としたトラップ法が最も良い結果を示したが、さらにコンタクトスライド法を改良して併用すれば簡便でよい方法である。分離した *Pythium* 菌については、形態の特徴を写真にとり、胞子のうの発芽実験結果を記載して検索すればよいが、不明の点については質問することによって理解できると思う。

## 参 考 文 献

- 1) GARRETT, S. D. (1960): Camb. Univ. Press.
- 2) MIDDLETON, J. T. (1943): Mem. Torr. Bot. Club 20: 1.
- 3) MATTHEWS, V. D. (1931): Univ. North Carolina Press.
- 4) TAKAHASHI, M. and T. OZAKI (1965): Univ. Osaka Pref. Press. Ser. B 17: 1.
- 5) 高橋 實 (1968): 坂本教授還暦記念論文集 287.

# 種 類 名「粉 粒 剤」に つ い て

農林省農業検査所 俣 野 修 身

最近、散布技術の改良に伴い農薬の新しい製剤の開発が試みられている。農薬製剤は粉剤、粒剤、水和剤、乳剤、くん煙剤などの種類名を採用し、農薬登録に対処してきたが、これらの種類名では律することのできない新製剤に対する需要が生じてきた。そこで新たに「粉粒剤」を種類名に採用し、新製剤を一定の基準に基づいて処理することになった。しかし、「粉粒剤」の領域はまだ定見のない現状に鑑み関係各位の意向を十分採択しつつ行政上の要請と判断に基づいて検討を行なった次第であるが、なるべくすみやかにこの領域の概念が混乱することなく定着することを望むとともに実現に協力したいと考えている。

## 1 種類名

固形のまま散布される製剤を「粉剤」、「粒剤」、「粉粒剤」にわけける。ただし、除草剤は商品名で製剤形態を表わすことになっている。

(例) MEP 粉剤、ジメトエート粒剤、ダイアジノン粉粒剤、NIP 除草剤(商品名 ニップ粒剤)など

## 2 物理的・化学的性状

従来、物理的・化学的性状の項に粉末、細粒などの表現を用いてきたが改めて次のような4段階の粒度呼称を用いることになった。

粒度呼称	粒 度
	JIS 規格      タイラー篩
微 粉	44 $\mu$ 以下      300 メッシュ以上
粗 粉	44~105 $\mu$ 150~300 メッシュ
微 粒	105~297 $\mu$ 48~150 メッシュ
細 粒	297~1,680 $\mu$ 10~ 48 メッシュ

## 3 粉 剤

微粉は従来の粉剤にあたる。種類名は「粉剤」である。粉剤の物理的・化学的性状の表示は一応「粉末」のままとする。

## 4 粒 剤

細粒は従来の粒剤にあたる。種類名は「粒剤」である。物理的・化学的性状は「細粒」と表示している。

## 5 粉粒剤

「微粉」、「粗粉」、「微粒」、「細粒」の単独あるいはこれらの組み合わせのうちで3、4に述べた粉剤、粒剤を除いた粒度構成の製剤を「粉粒剤」と名付ける。「粉粒剤」で二つまたはそれ以上の粒度構成の場合には、たとえば“粗粉および微粒”のように表示する。その際、品質管

理と消費者の便に供するため混合割合を混在比(重量比)で表わす\*。たとえば“粗粉1および細粒1”のように表示する。

\* 混在比の数値はこの種の製剤の製造、貯蔵に伴う誤差を許容し、精度は  $\pm 20\%$  以内とする。ただし、粒度構成が連続して二つまたはそれ以上の粒度呼称にまたがる場合には、精度は製品の重量の  $\pm 10\%$  以内とする。なお、表示された粒度構成の重量の合計は製品の重量の  $80\%$  以上でなければならない。

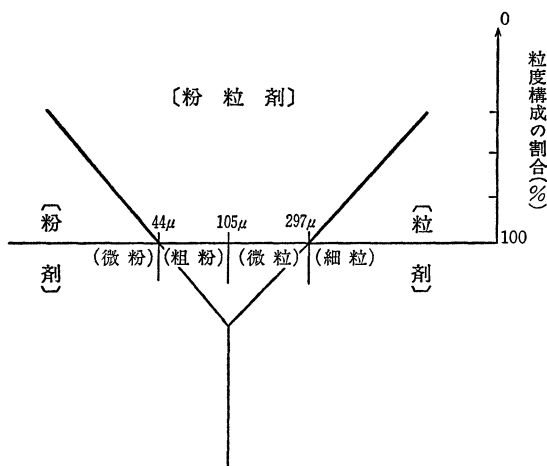
(例) “微粉2および細粒1”では許容誤差は微粉  $67\% \pm 13\%$ 、細粒  $33\% \pm 7\%$  になる。

粒度構成が連続した“微粒2および細粒1”では製品の  $10\%$ 、すなわち、許容誤差は微粒  $67\% \pm 10\%$ 、細粒  $33\% \pm 10\%$  となる。

また、表示された粒度構成の重量の合計が製品の重量の  $80\%$  以上であるということは、前記の“微粉2および細粒1”で微粉  $55\%$ 、細粒  $27\%$ 、“微粒2および細粒1”で微粒  $58\%$ 、細粒  $24\%$  でも、いずれも合計は  $80\%$  をこえるため許容されることになる。

(解説) 固形のまま散布される農薬製剤は従来「粉剤」と「粒剤」で表現されてきた。これらはすでに10年以上も実用に供されているもので、その概念は定着している。今回、新しく“ゴマシオ粉剤”、“粉粒剤”、“微粒剤”、“重質剤”などの名で開発されつつある製剤形態の農薬は、従来の「粉剤」、「粒剤」と異なり、散布機具や散布方法にも多少のくふうが必要であろう。しかし、これらの新しい製剤形態が定着するには若干の時間を要すると思われる。それは使用者の側からも、製造の側からも、また、散布機具の側にもいえることで、大量生産と広域散布の実績に基づいて判断されるであろう。このような現状から関係者の意見を求めつつ「粉剤」と「粒剤」についての概念を既成の概念として受けとめ、それ以外のものを一括して「粉粒剤」としてまとめることにした。われわれは最初は粒度構成で「微粉」、「粗粉」に相当するものを「粉剤」とし、「微粒」、「細粒」に相当するものを「粒剤」とし、「粉剤」と「粒剤」を混合したものを「粉粒剤」とすることを考えたが、従来の「粉剤」、「粒剤」の範囲を広めることにより、使用者に混乱をもたらすおそれを考慮して、新製剤形態を一括して「粉粒剤」として、使用者に注意を喚起させることが行政上望ましいと判断した。「粉粒剤」についての概念図を第1図に示す。この図でも明らかなように「粉粒剤」の粒度構成

は広範であり、粒度分布と混在比の組み合わせは無限の可能性を含んでいる。しかし、「粉粒剤」の実用化にあたっては、単に粒度分布や混在比の組み合わせをふやすことによって、いたずらに使用者に混乱をもたらすことをさげなければならない。当面、必要最少限にとどめ、混在比も 1:1 とか 1:2 のように簡潔に整理することが望ましい。



第1図「粉粒剤」の概念図

44~297μの範囲はいかなる割合の粒度構成でも「粉粒剤」である。また44μ以下と297μ以上では80%以下の混在比の場合、他のいかなる粒度構成のものが混在しても「粉粒剤」となる。なおY型の境界線を上下左右に移動させることによって、いろいろな定義づけが可能である。

### 1 「粉粒剤」の品質

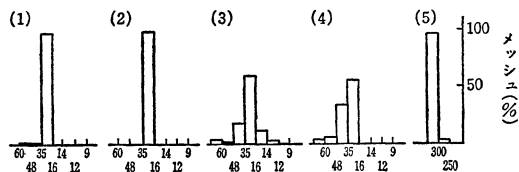
「粉粒剤」の特長およびその効果については日本植物防疫協会の委託試験成績検討会などですでに報告されている。品質管理の点について農業検査所で調査したことに若干ふれてみる。

われわれは登録申請中の「粉粒剤」について品質の安定性を(1)粒度分布およびそのバラツキ、(2)輸送による製品の粒度分布の安定性、(3)製品中の有効成分の均一性について検討した。

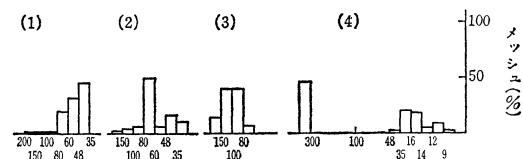
#### (1) 粒度分布およびバラツキ

従来の「粉剤」、「粒剤」の粒度分布の例を第2図に示す。第2図から明らかなように「粉剤」は「微粉」、すなわち、粒径44μ以下にすべて入る。「粒剤」は「細粒」、すなわち、297~1,680μに入っている。

「粉粒剤」の粒度分布の例を第3図に示す。「ゴマシオ粉剤」と「粉粒剤」は「微粉」と「細粒」を混合したものである。「ゴマシオ粉剤」は「微粉2および細粒1」



第2図「粒剤」および「粉剤」の粒度分布  
(1)~(4)「粒剤」、(5)「粉剤」



第3図「粉粒剤」の粒度分布  
(1)~(3)「微粒剤」、(4)「粉粒剤」

に相当し、外観は粉末の中にわずかに粒状のものが混在した、一見「粉剤」と区別がつきにくい製品である。これは粒度構成を重量比で表現しているため、容積として見掛け比重の大きい細粒(約1.0)に比して見掛け比重の小さい微粉(約0.5)が大部分を占めるためである。「粉粒剤」は「微粉1および細粒1」で、外観は粒状を呈している。これは細粒のまわりに微粉がまぶされた状態になっているためである。「微粒剤」といわれているものの性状は「微粒」以外に「粗粉」または「細粒」を含むものが多い。これは製剤技術上、粒度分布の中心を「微粒」においても完全にその範囲に収めることが困難なためである。該当する「粉粒剤」の粒度分布のバラツキは、われわれの調査ではすべて許容誤差内に収まった。

#### (2) 輸送による製品中の粒度分布の安定性

3kg包装の「粉粒剤」を九州から当所まで輸送したもののについて1袋中の粒度分布を上、中、下に層別して調べた。また、振とう機で長期間振とうしたのち輸送品と同様にして粒度分布をみた。その結果、輸送および振とうによる粒度分布のかたより、すなわち分級による粒度分布の変動は認められなかった。

#### (3) 製品中の有効成分の均一性

「粉粒剤」の製品内または製品間での有効成分のバラツキは「粉剤」や「粒剤」と同等であった。前記の輸送品についての分析値を1例として示す。試料は上から4層に区分して採った。

1. 2.21%
2. 2.19
3. 2.24

4. 2.21  $\bar{X}=2.21\%$   $R=0.05$

以上の結果、われわれは「粉粒剤」の品質保持については一定の品質を保証することが可能であると判断している。

## 2 粒度分布の測定法

粒度の基準はJIS規格で表現することをたてまえてするが、タイラーの標準篩を準用することも認める。

粒度分布の測定法は下記の農薬公定検査法に従う。

### (粒度検査法)

水によって膨潤するものおよび水溶性のものは乾式法により、それ以外のものは湿式法によって行なう。

① 湿式法：試料 50 g を 200 ml のビーカーにとり、界面活性剤 1% を含む水 60~80 ml を加え、ガラス棒を用いてよくねりまぜて分散させ、試料をフルイ網<sup>注1)</sup>上に移す。水 100 ml を残りの試料に注ぎ加え、同様にフルイ網上に移し、この操作をくり返してビーカー内の試料全部をフルイ網上に移す。次にゴム管から水を少量ずつゆるやかに試料に注ぎかけ<sup>注2)</sup>ながらフルイを水平にふり動かして試料を通過させる。流出した水の中に試料がほとんど認められなくなってからフルイ網に残った試料を網の隅に寄せ集め、注水をとめる。少量の水を洗

びんでふきつけて残留する試料を蒸発皿に洗い移し、しばらく静置して上澄液を傾斜して捨て、水浴上で乾燥し、残留物を秤量し、試料の通過量の百分率を算出する。

- 注 1) フルイわくの内径 20 cm, 深さ 4.5 cm の標準フルイを用いる。  
2) ゴム管は内径約 1 cm, 水の流量は毎分 4~5 l を標準とする。

② 乾式法：試料 20 g をフルイ<sup>注1)</sup>に入れ、片手で毎分約 150 回の速さでフルイわくをたたき、25 回たたくごとにフルイを約 90 度回転させる<sup>注2)</sup>。この際凝集したものはハケ<sup>注3)</sup>を用いて軽くすりつぶす。このようにして 1 分間のフルイ通過量が 0.1 g 以下になったとき、フルイ網上に残った試料を取り出して秤量し、試料の通過量の百分率を算出する。

- 注 1) フルイは湿式法と同じものを用いる。  
2) 100 メッシュ以上の細かい粉末度の場合は、フルイわくをたたくことなく、ハケを用いてフルイ網上の試料をゆるやかに軽くなでて網を通過させる。  
3) ハケは穂の長さ 2 cm, 幅 3 cm の毛のしなやかな平ハケを用いる。

# 農 薬 要 覧

農林省農政局植物防疫課監修

農薬要覧編集委員会編集

好評発売中！ ご注文はお早目に！

— 1970 年版 —

B 6 判 508 ページ タイプオフセット印刷

実費 850 円 70 円

— おもな目次 —

- I 農薬の生産、出荷  
品目別生産、出荷数量、金額 製剤形態別生産数量、金額  
主要農薬原体生産数量 44年度会社別農薬出荷数量 など
- II 農薬の輸入、輸出  
品目別輸入数量 品目別輸出数量 仕向地別輸出金額など
- III 農薬の流通  
県別農薬出荷金額 44年度農薬品目別、県別出荷数量 など
- IV 登録農薬  
44年9月末現在の登録農薬一覧
- V 新農薬解説
- VI 関連資料  
水稻主要病害虫の発生・防除面積 空中散布実施状況 防除機械設置台数 法定森林病害虫の被害・数量 など
- VII 付録  
法律 名簿 年表

— 1964 年版 —

B 6 判 320 ページ

実費 340 円 70 円

— 1965 年版 —

B 6 判 367 ページ

実費 400 円 70 円

— 1966 年版 —

B 6 判 398 ページ

実費 480 円 70 円

いずれもタイプオフセット印刷

— 1963, 1967, 1968, 1969 年版 —

品切絶版

お申込みは前金（現金・振替・小為替）で本会へ

## 中央だより

### 一農 林 省一

#### ○昭和 44 年度農薬の生産、出荷数量とまる

44 年度 (43.10~44.9) の農薬生産額は、886 億円で前年に比べて 17.5% 増加し、一方出荷額は 816 億円で前年に比べて 17.2% 増加した。

農薬生産額の内訳をみると、殺虫剤 360 億円、対前年比 4.0% 増、殺菌剤 233 億円、対前年比 20.3% 増、殺虫殺菌剤 75 億円、対前年比 30.6% 増、除草剤 187 億円、対前年比 42.6% 増などとなっており、出荷額についても、同じような傾向がみられる。

次に、出荷額について水稲用と園芸その他用に分けてみると、水稲用出荷額は 431 億円、園芸その他用は 385 億円と推定され、その比率はほぼ昨年並みの 52.8 対 47.2 となっている。

水稲用農薬はウンカ類が 41、42 年度に続いて大発生をみたこと、40 年以降病害虫の異常発生が続いたこと、および関係者の努力などにより病害虫防除がよく行なわれ、また、新農薬の普及も顕著で昨年に比べ 17.6% の増加となっている。

他方、園芸その他用の農薬は、商品農産物としての強い需要に支えられて着実な伸びをみせており、農薬出荷額は前年に比べて 16.6% の増加となっている。

44 年度の空中散布防除実施面積は 141 万 ha で前年に比べて 17.5% の増加となっており、うち水稲病害虫防除が 124 万 ha となっている。

農薬の低毒性化の傾向は、農薬による危被害および農産物中における残留毒性の社会問題化に伴い急速に進展しており、本年度においても、特定毒物が全体の 10.5% と昨年の 10.8% を下回り、普通物が 89.5% と増加している。この傾向はパラチオン、TEPP 剤および水銀剤などに代わって低毒性農薬の普及が本格的に進められている現状から、今後さらに強まるものと考えられる。

44 年度の農薬輸出額は、43 年度以降不振が続けている中国向けが本年度さらに減少したが、韓国、インドネシア、ソ連などの伸張により 84 億に達し、前年に比べて 31% の増加となった。

仕向地別にみると、韓国 14 億円、インドネシア 8 億円、ソ連 6 億円、イタリー 5 億円と前年を大幅に上回り、その他台湾、北鮮などアジア地域および中南米諸国を中心に顕著な伸びを示した。しかし、42 年度において全輸出額の 39% を占めた中国が前年に続き減少し、

12 億円にとどまった。

輸出の内訳は、原体、中間体が 44 億円と前年に比べ 180% と大幅に上回り、製剤では殺虫剤 21 億円、殺菌剤 6 億円、除草剤 12 億円となり、殺菌剤が中国向け水銀剤の不振から減少したほかは、前年度をかなり上回った。

品目のおもな動向をみると、原体、中間体では BHC、ジメトエート、PAP、カスガマイシン、製剤では、ひ酸鉛、ダイアジノン乳剤、MIPC 水和剤、MCC 水和剤、DCPA 乳剤などが前年を上回った。

次に輸入は、前年に比べて 24% の増加となり 99 億円に達した。

輸入の内訳は、原体が 61 億円で前年に比べて 10% 増、製剤 38 億円で前年に比べて 54% 増となった。

品目別では、原体ではダイアジノン、EDB、MTMC、CAT、製剤ではホルモチオン、DMTP、パラコートの増加が目立っている。

#### ○病害虫総合防除対策事業実施要額の制定について通達する

近年における農作物病害虫の防除は、農薬および防除機械の急速な進歩により、化学製品などを主体とした病害虫防除が中心となっているが、防除の省力化および効率化、病害虫の農薬抵抗性の獲得および発達の防止、天敵の保護、特定毒物など急性毒性の強い農薬の使用回避、農産物中の農薬残留防止などの重要性にかんがみ、病害虫防除を合理化することがきわめて重要である。

このためには、農薬の適正かつ安全な使用とあいまって生物的防除などを取り入れた総合防除対策を早急に推進する必要があるので、総合防除対策の一環として果樹害虫天敵利用促進事業を実施することにし、45 年 6 月 26 日付け 45 農政第 2887 号をもって農林事務次官より各地方農政局長および北海道知事あてに通達された。

なお、本事業の対象とする天敵は、

ルビーロウムシの天敵：ルビーアカヤドリコバチ

ミカントゲコナジラムの天敵：シルベストリコバチ

イセリヤカイガラムシの天敵：ベタリヤテントウムシである。

#### ○病害虫総合防除対策事業実施要額の運用について通達する

標記の件について、45 年 6 月 27 日付け 45 農政第 2889 号をもって農林省農政局長より各地方農政局長および北海道知事あてに通達された。

## 一本 会一

## ○線虫および土壌病害両対策委員会発展的に解散す

線虫対策委員会は、昭和 33 年当時、線虫類による農作物の被害は、従来防除対策がないままに等閑視されていたが、これを放任できない状態に達し、植物防疫上重要な問題となったため、同年 4 月本会が主催した線虫対策協議会において、線虫研究関係者よりその対策の急速な樹立が要望されて設置される運びになったものであり、植物寄生性線虫の防除に関する調査研究ならびに技術の普及を行ない、国の土壌線虫施策事業に協力して線虫防除の推進をはかり、12 年間にわたって次の事業を行なった。

## ☆線虫防除技術研修会の開催

33 年 7 月—農業技術研究所、千葉大学 園芸学部、  
千葉県葛飾農協

## ☆スライドの作製

土壌線虫とその防ぎ方

## ☆協会式線虫検診器具の斡旋

## ☆線虫和名の統一

## ☆土壌線虫検診研修会の開催

38 年 1 月—岡山農試（中国地区）、同 3 月—岩手農試（北海道・東北地区）、同 8 月—名古屋大学（東海近畿・四国地区）および九州農試（九州地区）、  
39 年 8 月—長野農試（関東東山・北陸地区）

## ☆図書「永年作物線虫防除基準」の作製

## ☆線虫に関する特殊委託試験の実施および成績検討会の開催

土壌病害対策委員会は、病害防除上長年の懸案であった土壌病害防除について畑作振興に伴う畑地改善の上からも重要課題と考え、また、その調査研究および啓蒙指導が要望され、その推進をはかるために 37 年 6 月に本会内に設置された。その後 9 年間にわたり下記の事業を行なった。

## ☆土壌殺菌剤に関する特殊委託試験の実施および成績検討会の開催

## ☆図書の刊行

土壌病害の手引Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、土壌病害防除基準、土壌病害国内文献集、土壌病害用語解説・土壌病害防除基準（合本）

## ☆土壌病害談話会の協賛

38 年 9 月—北海道大学、39 年 11 月—京都大学、  
41 年 10 月—盛岡市、43 年 10 月—鹿児島大学

## ☆土壌病害検診および防除技術研修会の開催

37 年 11 月—東京都農試

39 年 4 月—農業技術研究所、東京都農試（農林省主催の協賛）

## ☆現地視察

38 年 6 月—東京都農試 江戸川分場（キュウリつる割病およびサラダナの根腐病）

40 年 8 月—東京都練馬区（温室培養土蒸気消毒）

## ☆スライドの作製

土壌病害とその防ぎ方、クロルピクリン剤の使い方

以上のように両対策委員会ともその目的とする調査研究ならびに技術普及の面で大いに斯界に貢献してきたが線虫対策委員会は 4 月 28 日に、土壌病害対策委員会は 6 月 17 日にそれぞれ委員会を開催し、発展的に解散した。

なお、今後の線虫および土壌病害についての事業は野菜病虫害防除研究会（既報 3 月号 43 ページ参照）に含まれることになっている。

## ○イネ白葉枯病防除シンポジウム開催さる

6 月 26 日九州農業試験場においてイネ白葉枯病防除対策推進協議会専門委員、県試験場担当者、関係会社技術者ら約 120 名参会のもとに行なわれた。

午前 10 時より遠藤常務理事の開会挨拶について九州農業試験場天辰克巳場長、イネ白葉枯病防除対策推進協議会専門委員会水上武幸副委員長の挨拶ののち、午前中は九州農業試験場の西沢正洋委員が座長となり、イネ白葉枯病防除薬剤のスクリーニング方法についての技術講習を行なった。解説者および題目は次のとおりである。

- (1) 九州農試におけるイネ白葉枯病に対する薬剤のバット試験法について 九州農試 久原重松氏
- (2) 九州農試におけるイネ白葉枯病に対する薬剤のベット試験法について 同上 田部井英夫氏
- (3) 噴出菌泥検鏡法（B. E 法）によるイネ白葉枯病防除薬剤のスクリーニングについて

福井農試 伊阪実人氏

午後は午前中解説された 3 法について出席者が実際に実演を行なったのち、全員 3 班に分かれて、(1) バット試験法、(2) ベット試験法、(3) B. E 法の各実施展示された 3 コーナーを各 40 分ずつ見て回り、午後 3 時終了した。

4 時より北陸農試山田昌雄氏の「インドネシアの農業と病害虫」と題する演講があり、5 時散会した。

なお、詳細については次号に掲載する予定である。

## ○微量散布に関する第 5 回研究会開催さる

本年度から微量散布研究会の事業の一環として実施することになった地上散布用の微量散布機ならびに農薬に関する受託試験について、本年は対象作物を水稻に限り、

12 県の農業試験場に依頼しているが、今回静岡県農業試験場へ委託した地上散布用背負形微量散布機の試験が実施される機会に現地研究会を開催した。

7月2日午前5時より、浜松市石玉北町の現地圃場において、県農試機械営農部、病虫部の試験担当関係者、本研究会幹事、および防除機械メーカー（共立、久保田、丸山の3社）技術者ら立会いのもとに、3供試機について、スミチオン L60 のニカメイチュウ第1世代に対する防除効果試験を開始、6時30分、好条件下で散布作業を終了した。

11時より本研究会々員らが参加し、現地試験における作業経過の概要、供試機の散布装置、作業性能の説明があり、3機種それぞれの散布実演が行なわれた。

午後1時10分より県農試機械営農部（浜松市都田町）講堂において関係者約100名が参会し、研究会が開催さ

れた。初めに遠藤常務理事の開会挨拶について、静岡県佐野敏男農産園芸課長補佐の挨拶があつてのち、農業技術研究所田中俊彦幹事が座長となり、まず県農試早川千吉郎機械営農部長があらかじめ行なった各機種別の基礎（性能）試験成績について、同植物防疫部佐野利男研究主幹が現地試験における薬剤の落下、飛散状況などの成績概要について、同気象研究室岩崎正男研究主幹が水田の気象変化についてそれぞれ説明を行なった。次に農業機械化研究所武長孝主任研究員より今年、大阪府農林技術センターで試験された野菜に対する地上微量散布機の実験概要の紹介、続いて園芸試験場北島博環境部長の果樹、野菜に対する微量散布について講演が行なわれた。2時30分より総合研究討論に入り、活発な質疑応答が行なわれ、3時30分閉会した。

## 新刊紹介

「北海道病害虫防除提要」改訂版

桑山 覚・田中一郎 監修

遠藤和衛・岩田 勉・黒沢 強・森 芳夫 著

頒価 1,500 円 A5判 636 ページ

北海道植物防疫協会 発行

（札幌市北1条西7丁目北緯ビル

北海道農業改良普及協会内）

昭和6年発行の北海道農事試験場による「病害虫防除提要」、同32年の遠藤・森両氏による本書初版についてここに「第3の提要」（著者のことば）が誕生した。この間実に40年である。今日の北海道の防除技術を自らの手で築いてこられた桑山・田中両博士が監修され、前および現病害虫専門技術員として試験場と防除第一線の間を20年以上足しげく往来された4氏が執筆され、加うるに関係者多数のなみなみならぬ協力によって完成した本書は、まさに次代に引き継がれる半世紀にわたる先輩たちの汗と泥にまみれた記録といえる。なぜなら、これだけの陣容と資料を駆使できるのは、北海道にとってあとにも先にも到底望めないし、また冷害、戦争、新農業、農業規制などを経てきた「歴史」を随所に汲みとれるからである。

内容は、緒論、防除資材、普通作物、特用作物、野

菜、飼料作物、果樹、観賞植物の各病害虫、貯穀・穀粉害虫、有害動物、家畜害虫の11章からなり、防除資材の章では硫酸銅、ひ酸鉛から始まって抗生物質、誘引剤、鳥獣忌避剤にいたる幅広い農業の解説、詳しい取り扱い方、防除機械を中心に150ページ、普通作物の章ではイネ、ムギ類、ダイズ、ジャガイモなどの病虫害を中心に140ページ、この2章で全体の約半分を占める。イネではイネ縞葉枯病、いもち病など病害18種の病徴、誘因、伝染経路、防除法を、ヒメクササキリ、ニカメイガなど害虫18種の被害状況、経過習性、形態、防除法を順に要領よくまとめている。有害動物としてのダニ、線虫、鳥、野鼠、野兔などを別項目に、また多くの家畜害虫にもかなりのページを割いている。カラー絵写真（8ページ）は鮮明かつ独特の貴重な写真が多く、巻末には付録として明治以来の北海道病害虫発生年表がある。最近の農業規制および行政指導をゲラの段階で織込んであるが（著者談）、その労を多としたい。もしそれがなかったら本書の利用価値が半減したかも知れないからだ。索引がないのは、精細な目次である程度カバーされるとはいえ、「読者の本書利用の便を欠く結果となり」（監修者のことば）惜しまれる点である。校正は行きとどいている。

防除提要は一般的な読物とは違い、いわば辞書のようなものだが、本書が北海道に限らず（ミカンとクワの病虫害を欠くとしても）広く全国の植物防疫関係者に利用される病虫害辞典になることを期待したい。

（農業技術研究所 一戸 稔）

## 新し く 登 録 さ れ た 農 薬 (45.6.1~6.30)

掲載は登録番号, 農薬名, 登録業者(社)名, 有効成分の種類および含有量の順.

## 『殺 虫 剤』

**BHC乳剤**11010 三明リンデン乳剤**20** 三明ケミカル  $\gamma$ -BHC 20%**EPN粉剤**

11003 ミカサEPN粉剤 三笠化学工業 EPN 1.5%

**PAP・MTMC粉剤**

11031 日産エルツマサイド粉剤 日産化学工業 PAP 2%, MTMC 1.5%

11032 日産エルツマサイド粉剤 東京日産化学 同上

11033 日産エルツマサイド粉剤 北海道日産化学 同上

11034 日産エルツマサイド粉剤 関西日産化学 同上

**MEP・NAC粉粒剤**10987 ミカサスミナック粉粒剤**D** 三笠化学工業 MEP 2%, NAC 1.5%10988 金鳥スミナック粉粒剤**D** 大日本除虫菊 同上10989 ヤシマスミナック粉粒剤**D** 八洲化学工業 同上**MEP・MPMC乳剤**

11039 三共スミバル乳剤 三共 MEP 30%, MPMC 15%

11040 三共スミバル乳剤 北海三共 同上

11041 三共スミバル乳剤 九州三共 同上

**MBCP粉剤**

11014 日曹ホスベル粉剤 日本曹達 O-メチル-O-(4-プロム-2,5-ジクロルフェニル)-フェニルホスホノチオエート 2%

11015 三共ホスベル粉剤 三共 同上

11016 三共ホスベル粉剤 北海三共 同上

11017 三共ホスベル粉剤 九州三共 同上

11018 日農ホスベル粉剤 日本農薬 同上

**NAC粉剤**11011 三明デナボン粉剤**2** 三明ケミカル NAC 2%**NAC水和剤**11012 三明デナボン水和剤**50** 三明ケミカル NAC 50%11013 三明マイクロデナボン水和剤**85** 三明ケミカル NAC 85%**MIPC乳剤**

11000 サンケイミプシン乳剤 サンケイ化学 MIPC 20%

**MTMC・EPN粉剤**

11049 キングツマホス粉剤 キング化学 MTMC 1.5%, EPN 1.5%

**MTMC・MEP粉剤**

11048 キングツマホス粉剤 キング化学 MTMC 1.5%, MEP 2%

**DN水和剤**11038 トモノダナデン水和剤 トモノ農薬 2,4-ジニトロ-6-シクロヘキシルフェノール酢酸塩25%  
クロルベンジレート乳剤11001 トモノアカル**338** トモノ農薬 4,4'-ジクロルベンジル酸エチル 21%**PPPS・マシン油乳剤**11009 デルボール乳剤 兼商化学工業 2-[2-(*p*-ター  
ンメリブチルフェノキシ)-イソプロポキシ]-イ  
ソプロピル-2-クロルエチルスルフィド18%, マ  
シン油 64%

## 『殺 菌 剤』

**水和硫黄剤**

11002 トモミルドー トモノ農薬 硫黄 75%

**TPNくん煙剤**10990 三光ダコニールくん煙剤 三光化学工業 テト  
ラクロルイソフタロニトリル 28%10991 ダコニールくん煙剤 昭和ダイヤモンド化学  
同上11036 ダコグレン 三光化学工業 テトラクロルイソ  
フタロニトリル 50%**スルフェン酸系くん煙剤**11035 ユービーグレン**A** 三光化学工業 N'-(ジクロ  
ルフルオルメチルチオ)-N,N-ジメチル-N'-フェ  
ニルスルファミド 40%**シクロヘキシミド水和剤**11004 アクチジオン水和剤**30** ヤシマ産業 シクロヘ  
キシミド 3%**カスガマイシン粉剤**11019 三共カスミン粉剤**30** 三共 カスガマイシンー  
塩酸塩 0.34%(カスガマイシンとして 0.3%)11020 三共カスミン粉剤**30** 北海三共 同上

## 『殺虫殺菌剤』

**マラソン・カスガマイシン粉剤**11021 三共カスミンマラソン粉剤 三共 マラソン1.5  
%, カスガマイシンー塩酸塩 0.23%(カスガマ  
イシンとして 0.2%)

11022 三共カスミンマラソン粉剤 北海三共 同上

**MEP・NAC・有機ひ素粉粒剤**10983 ミカサアソスミナック粉粒剤**D** 三笠化学工業  
MEP 2%, NAC 1.5%, メタンアルソン酸鉄  
0.4%10984 金鳥アソスミナック粉粒剤**D** 大日本除虫菊  
同上10985 ヤシマアソスミナック粉粒剤**D** 八洲化学工業  
同上10986 クミアイアソスミナック粉粒剤**D** クミアイ化  
学工業 同上**MEP・NAC・カスガマイシン・CPA粉剤**10992 カスランスミナック粉剤 北興化学工業 MEP  
2%, NAC 1.5%, カスガマイシンー塩酸塩 0.14  
%(カスガマイシンとして 0.12%), ペンタクロ  
ルフェニルアセテート 2%

10993 三共カスランスミナック粉剤 三共 同上



- 10994 三共カスランスマナック粉剤 北海三共 同上  
 10995 三共カスランスマナック粉剤 九州三共 同上  
 10996 ヤシマカスランスマナック粉剤 八洲化学工業  
 同上  
 10997 ミカサカスランスマナック粉剤 三笠化学工業  
 同上  
 10998 「中外」カスランスマナック粉剤 中外製薬 同上  
 10999 サンケイカスランスマナック粉剤 サンケイ化  
 学 同上

#### MEP・MTMC・カスガマイシン粉剤

- 11028 三共カスツマスミ粉剤 三共 MEP 2%, MT  
 MC 1.5%, カスガマイシン一塩酸塩 0.23% (カ  
 スガマイシンとして 0.2%)  
 11029 三共カスツマスミ粉剤 北海三共 同上  
 11030 三共カスツマスミ粉剤 九州三共 同上

#### CYP・カスガマイシン粉剤

- 11023 三共カスシュアサイド粉剤 三共 CYP 1.5%,  
 カスガマイシン一塩酸塩 0.23% (カスガマイシ  
 ンとして 0.2%)

- 11024 三共カスシュアサイド粉剤 北海三共 同上

#### MTMC・カスガマイシン粉剤

- 11025 三共カスツマ粉剤 三共 MTMC 2%, カスガ  
 マイシン一塩酸塩 0.23% (カスガマイシンとし  
 て 0.2%)

- 11026 三共カスツマ粉剤 北海三共 同上

- 11027 三共カスツマ粉剤 九州三共 同上

#### カルタップ・IBP粉剤

- 11042 武田バダジン粉剤 武田薬品工業 1,3-ビス-  
 (カルバモイルチオ)-2-(N,N-ジメチルアミノ)  
 プロパン塩酸塩 2%, IBP 2%

- 11043 クミアイバダジン粉剤 クミアイ化学工業 同上  
 『除草剤』

#### 塩素酸塩除草剤

- 11008 ツルキラー 丸善薬品産業 塩酸塩ナトリウム  
 75%

#### ベンチオカーブ除草剤

- 11044 サターン乳剤 クミアイ化学工業 S-(4-クロ  
 ルベンジル)-N,N-ジエチルチオールカーバメート  
 50%

- 11045 サターン粒剤 クミアイ化学工業 S-(4-クロ  
 ルベンジル)-N,N-ジエチルチオールカーバメート  
 10%

#### ベンチオカーブ・CNP除草剤

- 11046 サターンM粒剤 クミアイ化学工業 S-(4-クロ  
 ルベンジル)-N,N-ジエチルチオールカーバメー  
 ト 7%, CNP 6%

#### 『殺そ剤』

#### りん化亜鉛殺そ剤

- 11006 ラッタス 大塚薬品工業 リン化亜鉛 3%

#### クマリン系殺そ剤

- 11005 チューモア「コンク」 中部製薬 3-( $\alpha$ -アセト  
 ニルベンジル)-4-ヒドロキシクマリン 1%

#### 『植物成長調整剤』

#### 植物成長調整剤

- 11047 ミカンカット 山本農薬  $\alpha$ -ナフタリン酢酸ナ  
 トリウム 20%

- 11007 ラクヨ 山本農薬 トリブチルトリチオホスフ  
 ェート 75%

#### 『その他』

#### 忌避剤

- 11037 ナラマイシン粉剤 田辺製薬 シクロヘキシミ  
 ド 0.2%

注 今回新たに登録されたアソスマナック粉剤Dは、  
 種類名を MEP・NAC・有機ひ素粉剤として登録  
 された。

#### 訂正とおわび

前号7月号口絵写真Iの説明のうち写真原図者氏名に  
 間違いがありました。訂正するとともにおわびいたし  
 ます。

③～⑥ 香川県農業試験場 上原 等氏

⑦～⑨ 徳島県農業試験場 山本 勉氏は誤りで、

③～⑥ 徳島県農業試験場 山本 勉氏

⑦～⑨ 香川県農業試験場 上原 等氏

の各原図です。

(編集部)

## 植物防疫

第24巻 昭和45年8月25日印刷  
 第8号 昭和45年8月30日発行

実費150円 千6円 6カ月 780円(千共)  
 1カ年 1,560円(概算)

昭和45年

編集人 植物防疫編集委員会

—発行所—

8月号

発行人 井上 菅次

東京都豊島区駒込1丁目43番11号 郵便番号 170

(毎月1回30日発行)

印刷所 株式会社 双文社

社団法人 日本植物防疫協会

東京都板橋区熊野町13番地

電話 東京(944)1561～3番

振替 東京177867番

—禁 転 載—

増収を約束する！ 日曹の農業

収穫直前の野菜害虫防除に好適

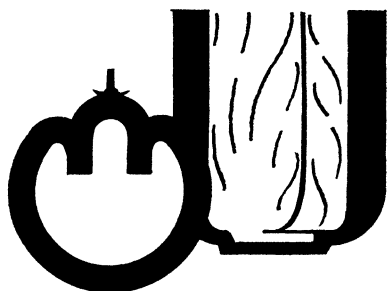
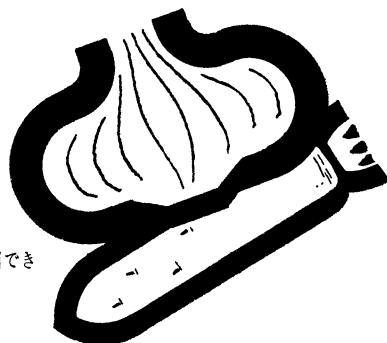
# ホスピット

乳剤 75

展着剤は

## ラビデン

どんな農業でも混用でき  
効果を高めます。



野菜のべと病疫病防除に

# ラビアジン

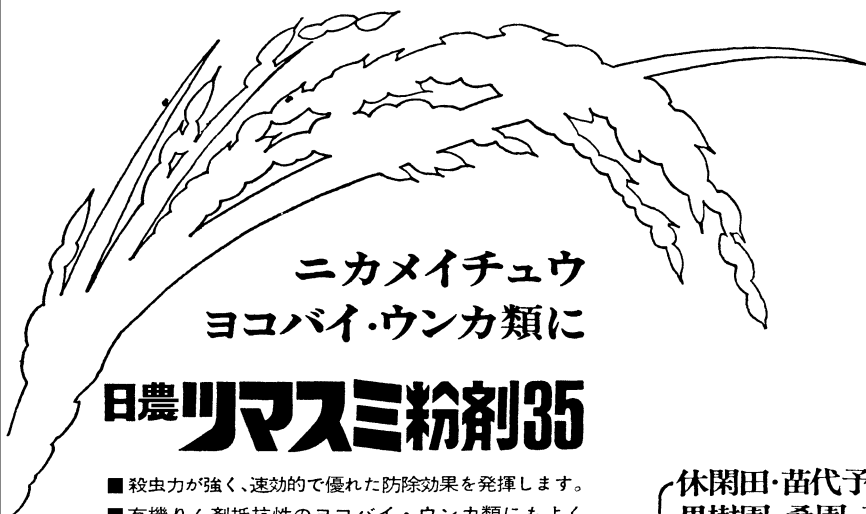
水和剤



### 日本曹達株式会社

本社 東京都千代田区大手町 2-2-1

支店 大阪市東区北浜 2-90



ニカメイチュウ  
ヨコバイ・ウンカ類に

## 日農 リマスミ粉剤35

- 殺虫力が強く、速効的で優れた防除効果を発揮します。
- 有機りん剤抵抗性のヨコバイ・ウンカ類にもよく効きます。
- ヨコバイ・ウンカ類が媒介するウイルス病の予防に好適です。
- 人畜毒性が低いので、薬剤が飛散しやすいパイプダスター防除や広域防除に最適です。

休閒田・苗代予定地・水田畦畔  
果樹園・桑園・茶園の除草に

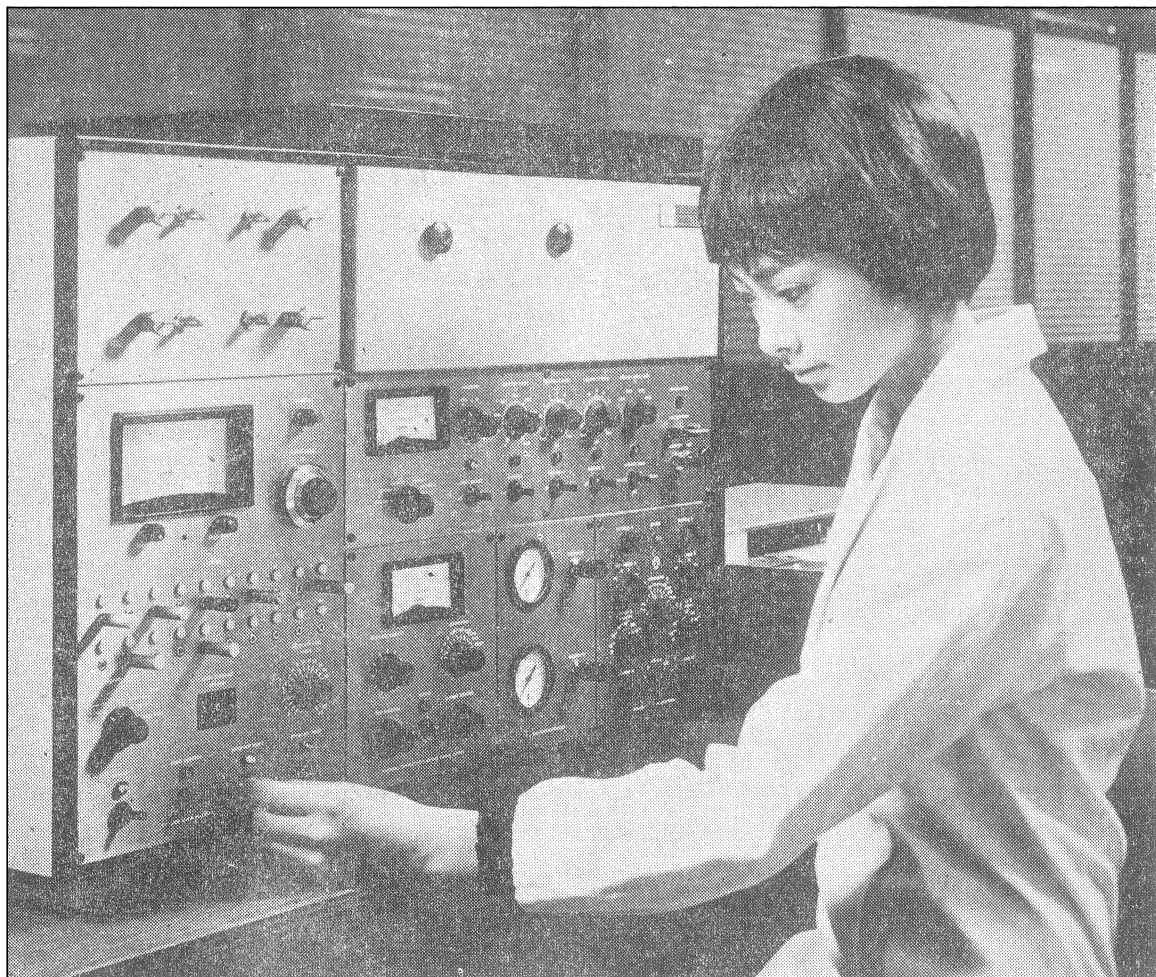
## 日農 クレモキリン



### 日本農薬株式会社

東京都中央区日本橋通1の4 栄太楼ビル

# 斯界待望のニュー・モデュラインを国産化！



オール ソリッドステート

## 1700 / 1800 シリーズ

— NEVA ガスクロマトグラフ —

NEVA が国産化をスタートさせて以来、その高感度、高性能、多応用性、高信頼性、使いやすさの点で、早くも高すぎる評価をいただいている理想のガスクロマトグラフです。

いかなる昇温率でも使用可能

- マトリックス方式
- オートマチック・リニヤー方式
- リニヤー方式
- アイソサーマル方式
- マニュアル方式

相互交換可能なモデュライン検出器

- TCD
- FID
- H<sub>2</sub>ECD
- N<sub>2</sub><sup>63</sup>ECD
- AFID

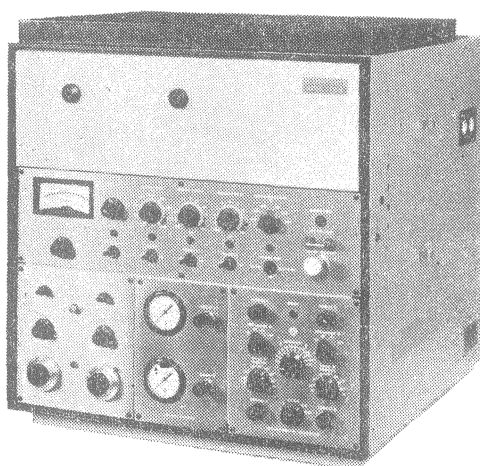
明日の科学に奉仕する

# NEVA

日電バリアン株式会社

本社：東京都港区麻布飯倉町3の13（麻布台ビル）〒106 TEL. 東京(03)582-6481(代表)  
工場：東京都府中市四ッ谷5丁目8の1 〒183 TEL. 府中(0423)64-2111(代表)  
大阪営業所：大阪市東区北浜5の22(新住友ビル第2号館)〒541 TEL. 大阪(06)231-6385・4460

- ▲1800シリーズ：総合研究用デュアルカラム方式
- ▼1700シリーズ：高感度分析用デュアルカラム方式



カタログ請求やお問い合わせの際は、いつでもご連絡ください。

# 世界的な評価を堅持する NEVAのNMR

画期的なコンパクトタイプ

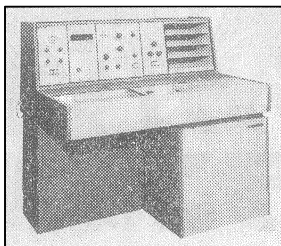
## T-60型

磁場14 K G

周波数60 MHz

分解能0.5 Hz

感度 S / N = 18 : 1



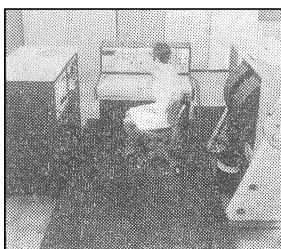
新しい性能を数多く内蔵

## XL-100型

分解能  $3 \times 10^{-9}$

感度 S / N = 50:1 (5 mm管)

190 : 1 (12 mm管)



研究用

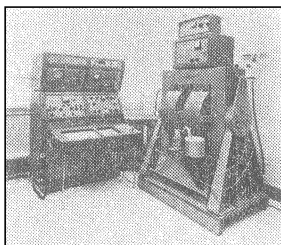
## HA-100D型

磁場23 K G

周波数100 MHz ( $H^1$ )

分解能  $3 \times 10^{-9}$  (0.3 Hz)

感度 S / N = 40 : 1



性能・感度ともに世界最高

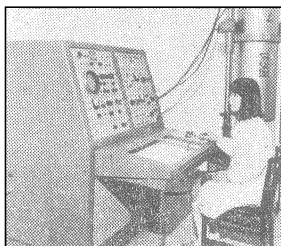
## HR-220型

磁場51.7 K G

周波数220 MHz

分解能  $5 \times 10^{-9}$  (1.1 Hz)

感度 S / N = 55 : 1



◆詳細なカタログご希望の方はご連絡下さい。

明日の科学に奉仕する

# NEVA

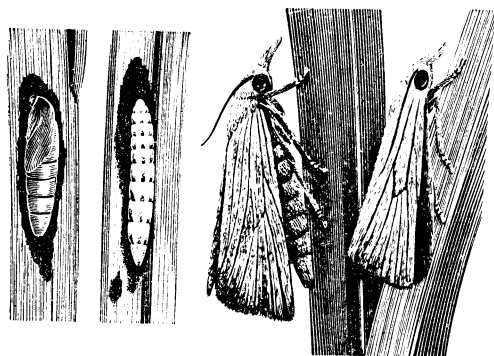
日電パリアン株式会社

本社：東京都港区麻布飯倉町3-13（麻布台ビル）TEL.東京(03)582-6481（代表）  
工場：東京都府中市四ッ谷5丁目8の1 TEL.府中(0423)64-2111（代表）  
大阪営業所：大阪市東区北浜5の22（新住友ビル第2号館）TEL.大阪(06)231-6385・4460



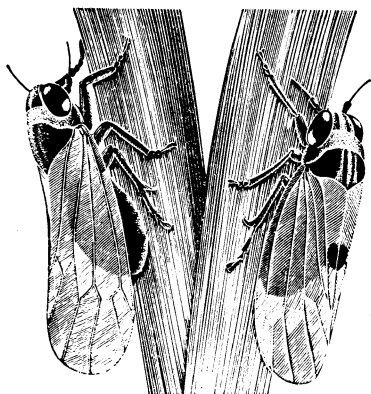
## ホカスラン粉剤

カスランは予防効果と治療効果を兼ねそなえたすぐれたもち病防除剤です。人畜毒性はきわめて低く、無臭のため残臭の心配がなく使いやすい薬剤です。



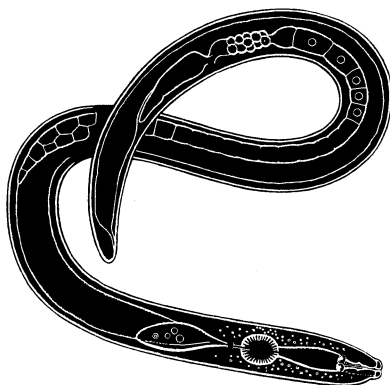
## ダイアジール粒剤3

ニカメイチュウに強力で、速効的な効きめがあります。ツマグロ・ウンカ類にもすぐれた防除効果がありますので、水稻害虫の同時防除剤として最適です。



## 中外コスバン粉剤 ホバッサ粉剤

コスバン、バッサともに新しいカーバメート系のツマグロ・ウンカ防除剤で他の薬剤に抵抗性のある害虫にもすぐれた効きめがあります。



## ネマモール粒剤

ネマモールは使用薬量が少しで、強力な殺線虫効果を発揮しますので、大変経済的です。使い方が簡単でガス抜きの必要もなく、また生育中に使用できるので省力化にも役立ちます。ネマモールは殺線虫効果ばかりでなく、作物の生育を促し、良質の作物を増収することができます。

豊作を約束するバルサン農薬



中外製薬株式会社

東京都中央区京橋2-2  
TEL 東京(274)5411

自信を持ってお奨めします **兼商の農薬**



**アゾマイト®**



**キノゾドー®** 水和剤

■夏場の新しい殺ダニ剤 **新発売**

**デルボール**

■りんご・みかん・桃・茶・  
ホップのダニに

**スマイト**

■果樹・そさいの強力殺虫剤

**マリックス**

■ヒルムシロ・ウキクサ・  
アオミドロに

**モゲトン**



**兼商株式会社**

東京都千代田区丸の内2-4-1

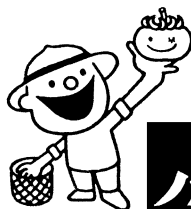
## 躍進する明治の農薬

イネしらはがれ病の  
専用防除剤



**フェナジン明治**  
水和剤・粉剤

トマトかいよう病の  
専用防除剤



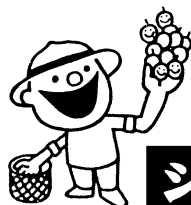
農業用  
**ノボオシン明治**

野菜、果樹、コンニャク  
細菌病防除剤



**アグレプト水和剤**

ブドウ(デラウェア)の  
種なし・熟期促進  
野菜、花の生育(開花)促進、増収



**シベリン明治**



**明治製薬・薬品部**

東京都中央区京橋2-8

安全で効きめの確かな日産の新発売農薬！

メイチュウ・ツマグロ・ウンカ類の防除に

日産 **エルツマサイド** 粉剤  
(PAP・MTMC粉剤)

いもち病・メイチュウ・ツマグロ・ウンカ類の同時防除に

日産 **カスエルナック** 粉剤  
(PAP・NAC・カスガマイシン粉剤)

手まきのできる水稻刈り取り跡除草剤

日産 **カリアート-JLA** 微粒剤  
(2,4PA・ATA除草剤)



日産化学



昭和四十五年八月二十五日  
昭和四十五年九月三十日  
昭和二十四年九月九日  
発行  
第三種郵便物認可  
植物防疫第二十四卷第八号  
(毎月一回三十日発行)

使って安全・すぐれた効きめ

●野菜のアブラムシ・ダニ防除に

**エカチン<sup>®</sup>TD粒剤**

●手でまける、ヨトウ・ネキリの特効薬

**ネキリトン<sup>®</sup>**



**三共株式会社**

農薬部 東京都中央区銀座3-10-17  
支店営業所 仙台・名古屋・大阪・広島・高松



北海三共株式会社

九州三共株式会社

実費 一五〇円 (送料六円)