

ISSN 0037-4091

植物防疫

昭和五十九年七月二十五日印刷 第三十八卷第八号

1984

8

VOL 38

特集 弱毒ウイルス

りんごの病害防除に!

*適用拡大になりました。

*赤星病 / 黒点病 / *黒星病
 斑点落葉病 / *すす点病 / *すす斑病

ピルノックス 水和剤



大内新興化学工業株式会社
 〒103 東京都中央区日本橋小舟町7-4

農薬要覧

農林水産省農蚕園芸局植物防疫課監修

農薬要覧編集委員会編集

好評発売中! 御注文はお早目に!

— 1983年版 —

B6判 463 ページ タイプオフセット印刷
 3,200 円 送料 250 円

—1982年版— 3,600円 送料300円

—1981年版— 3,600円 送料300円

—1977年版— 2,400円 送料250円

—1976年版— 2,200円 送料250円

—1975年版— 2,000円 送料250円

—1963~74, 1978~80 年版—

品切絶版

—主な目次—

- I 農薬の生産, 出荷
 種類別生産出荷数量・金額, 製剤形態別生産数量・金額
- II 農薬の流通, 消費
 農薬流通機構図 農薬の農家購入価格の推移 など
- III 農薬の輸出, 輸入
 種類別輸出数量 種類別輸入数量 仕向地別輸出金額など
- IV 登録農薬
 57年9月末現在の登録農薬一覧 農薬登録のしくみ
- V 新農薬解説
- VI 関連資料
 農作物作付(栽培)面積 空中散布実施状況
- VII 付録
 法律 農薬関係主要通達 名簿 登録農薬索引

お申込みは前金(現金・小為替・振替)で本会へ

薬農 木

豊かな収穫に貢献するデュポン農薬

今日の汗を明日の収穫にしっかり結びたい…。デュポンは1世紀を超える研究をベースに数かずの農薬を開発。そのひとつひとつが農作物の安定多収に貴重な役割をはたしています。“育てる心”にデュポンジャパンは技術でお応えします。

殺菌剤

ベンレート*/ベンレート*-T/ダコレート/スパグリン

殺虫剤

ランネート*45/ホスクリン

除草剤

ロロックス*/レナパック/ハイバー*X/ゾーバー*

デュポン ジャパン リミテッド 農薬事業部

〒107 東京都港区赤坂1丁目11番39号 第2興和ビル



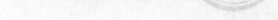
●デュポン農薬のお問い合わせは…

Tel.(03)585-5360

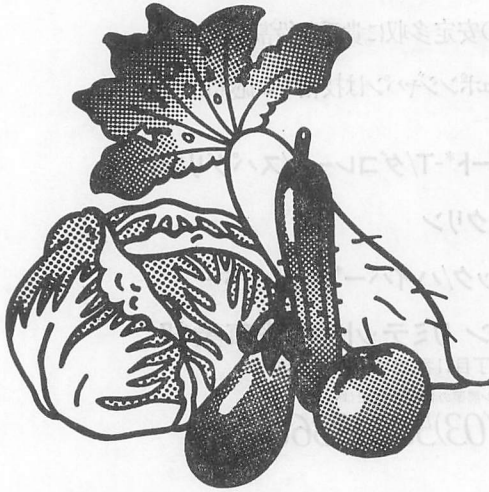
育ててほしいな、健やかに。



デュポン ジャパン



ホクコーの野菜農薬



取扱い
農協・経済連・全農



北興化学工業株式会社
〒103東京都中央区日本橋本石町4-2

●灰色かび・菌核病に卓効

スミレックス®
FD 水和剤
くん煙顆粒

●うどんこ・さび病に卓効

® **バイレトン** 水和剤5

●細菌性病害に卓効

カスミンボルドー
水和剤・FD

●効きめの長い低毒性殺虫剤

オルトラン®
水和剤
粒剤

●合成ピレスロイド含有新殺虫剤

ハクサツブ®
水和剤

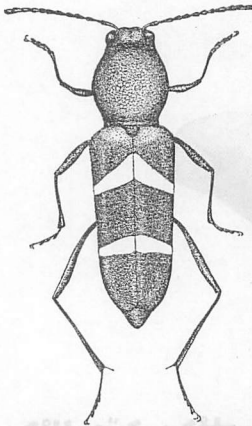
●コナガ・アブラムシ類に新しいタイプの殺虫剤

オルトランナック
水和剤

お近くの農協でお求めください。

確かな明日の
技術とともに...

病害虫の



○カミキリムシ類防除剤

トラサイド A
エース

○水稲害虫・やさい害虫に浸透殺虫剤

アルフェート®
粒剤

○優れた速効性と残効性

ハクサツブ®
水和剤

○種子初消毒剤

ケス水和剤

○多年性雑草に

バサグラン®
粒剤
水和剤

○高濃度化による小薬量の線虫剤

テロン*
92

○マツクイムシに多目的使用

スミパイン®

○林地用除草剤

ザイトロン*



サンケイ化学株式会社

東京・大阪・福岡・宮崎・鹿児島

本社・鹿児島市郡元町880

東京事業所・東京都千代田区神田司町2-1

植物防疫

Shokubutsu bōeki
(Plant Protection)

第 38 卷 第 8 号

昭和 59 年 8 月 号

目次

特集：弱毒ウイルス

トマトモザイク病防除のための弱毒ウイルスの利用とその現状	長井 雄治	1
ピーマンモザイク病の弱毒ウイルス利用による防除	後藤 忠則	5
ウリ類モザイク病防除のための弱毒ウイルスの作出	本吉総男・西口正通	9
弱毒ウイルス利用によるカンキツトリステザウイルスの被害回避	小泉 銘冊	14
ハスモンヨトウ核多角体病ウイルスの増殖手法とその問題点	岡田 斉夫	18
コカクモンハマキ類の天敵ウイルスの増殖手法とその問題点	佐藤 威	22
ブドウネアブラムシの生態と被害防止対策	土屋 恒雄	26
都道府県の植物防疫体制とその活動		
岐阜県——特に組織強化と事業の推進——	加納 正和	31
和歌山県——病害虫発生予察と防除指導の現況——	木村 修二	34

植物防疫基礎講座

DIBA 法による植物ウイルスの検出法	日比 忠明	36	
植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べかた(2)	後藤正夫・瀧川雄一	41	
紹介 新登録農薬		46	
新しく登録された農薬 (59.6.1～6.30)		49	
中央だより	13, 33, 49	協会だより	50
人事消息	30, 40, 49	次号予告	21
新刊紹介	4		

緑ゆたかな自然環境を

各種の作物に幅広く使えるようになりました

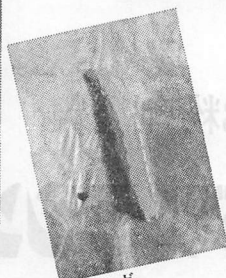
適用拡大!

トクチオン

乳剤・水和剤・粉剤・微粒剤F



●ハマキムシ



●コナガ

特長

- ①多くの作物の各種害虫に優れた殺虫力があります。
- ②毒性が低く安心して使用できます。
- ③蜜蜂、天敵に対する影響も少ない薬剤です。
- ④接触毒と食毒により優れた殺虫力を発揮します。
- ⑤比較的残効性のある薬剤です。
- ⑥薬剤抵抗性が問題の害虫にも効果があります。

*説明資料進呈



日本特殊農薬製造株式会社
東京都中央区日本橋本町2-4 ☎103

米づくりに



タケダ

稲害虫といもち病、 紋枯病を適期に防除!

●コブノメイガ・ツトムシ・ニカメイチュウなどの防除に!

パダン[®] 粒剤4・水溶剤・粉剤・粉剤DL

【適用害虫】ニカメイチュウ、ツトムシ、アオムシ、イネミズゾウムシ、コブノメイガ、ドロオイムシ、ハモグリバエ、シンガレセンチュウ、イネゾウムシ、ツマグロヨコバエ、ウンカ類など。

●イネミズゾウムシの本田防除に!

パダンバツサ[®] 粒剤

●稲害虫と紋枯病の同時防除に!

パダンバツサバリダシ[®] 粉剤

パダンサイドバリダシ[®] 粉剤

パダンナックバリダシ[®] 粉剤

●いもち病・紋枯病と稲害虫の同時防除に!

ラフパダンバリダ[®] B粉剤

ラフサイドパダンバリダシ[®] 粉剤

ラフサイドバリダス[®] 粉剤



特集：弱毒ウイルス〔1〕

トマトモザイク病防除のための弱毒ウイルスの利用とその現状

千葉県農業試験場 ^{なが} 井 ^い 雄 ^{ゆう} 治 ^じ

TMV に起因する トマトモザイク病の 防除対策として、古くから種子伝染、土壌伝染、接触伝染などに対応した対策がとられていたが、近年は抵抗性品種の開発・普及が目覚ましく、また、弱毒ウイルスも利用されている。これらの成果により、トマトモザイク病はもはや難防除病害とはみなされなくなった。ここでは、トマト系 TMV 弱毒ウイルス利用上の諸問題とその利用の現状について述べる。

I トマトモザイク病防除のために 開発された弱毒ウイルスの種類

弱毒ウイルスによるトマトモザイク病防除の試みは、1934 年に HOLMES¹⁾ によって報告されたものが最初のものである。彼は TMV を接種したトマトの茎を 34.6 °C で 15 日間処理することにより、TMV の無病徴系統を作り、これをトマトに接種して TMV に対する保護効果を認めている。大島²⁾は HOLMES の方法によりトマト系 TMV の弱毒系統 L₁₁ を作り、トマトの TMV に対して干渉効果のあることを認めた。しかし、この系統は不完全なものであったため、実用には至らなかった。後藤³⁾は L₁₁ を繰り返し *Nicotiana glutinosa* の単一局部病斑を通じて分離し、トマトに対して無病徴できわめて変異の少ない安定弱毒株 L₁₁A を選抜した。L₁₁A は多くの実用化試験を経て実用化された。その後、大島⁴⁾は L₁₁A を TMV 抵抗性のトマト GCR 237 で継代増殖し、抵抗性品種でも増殖する弱毒ウイルス L₁₁A 237 を選抜した。この系統は雷電、たのも、若潮など *Tm* の遺伝子を持つとされるトマト品種で利用効果が高く、静岡県で実用に供されている。一方、RAST⁵⁾は TMV を含むトマトの葉汁を亜硝酸で処理することにより、人工変異系統 MII-16 を作った。この系統はトマト苗に接種すると若干生育を抑制し、軽いモザイク症状を呈したが、強毒の TMV に対して干渉効果が認められた。この系統はヨーロッパで実用されている。

II 弱毒ウイルスの接種法

弱毒ウイルスを実用化するにあたって、まず大量接種

Utilization of Attenuated Strain of Tobacco Mosaic Virus for Control of Tomato Mosaic Disease.
By Yuji NAGAI

の方法を確立することが必要である。RAST⁵⁾ は弱毒ウイルス MII-16 の純化液の 1,000 倍希釈液にカーボランダムを加え、スプレーガンを用いて 1.5~2 気圧で 20~30 cm の距離からトマトの幼苗に吹きつけ、100% の感染率を確認した。しかし、FLETCHER⁶⁾ は同様の接種を距離別に行い、15 cm 以上の距離からでは感染率が低下するとした。筆者⁵⁾ は実用性を考慮し、市販の肩掛けまたは小型全自動噴霧器を用いて検討した。L₁₁A の増殖したトマト生葉磨砕汁液を水道水で 100 倍液とし、600~800 メッシュのカーボランダム (20 g/l) を加えて 5~6 kg/cm² の圧力で 1~2 葉期のトマト幼苗に 5 cm 以内の至近距離から噴霧接種 (0.5~1.0 l/m²) し、100% の感染を認めた。スプレーガンは噴口からの霧先を狭く調整してあるが、市販の噴霧器は霧先の広がりが大きいため、感染率を落とさないためには 5 cm 以内の至近距離から噴霧することが必要である。L₁₁A の希釈限界は TMV とほぼ同じく 100 万倍以上であるが、噴霧接種で高率の感染率を得るためにはトマト生葉の 100 倍希釈が必要であった。

III トマトモザイク病に対する 弱毒ウイルスの効果

1 TMV の感染時期と L₁₁A の効果

小餅⁷⁾ (1960) は弱毒ウイルス L₁₁ をトマトに接種し、その 7 日後に親ウイルス L を接種した場合には、L₁₁ の保護効果は十分でなく、L₁₁ 接種の 1 か月後に L を接種した場合には効果が高いことを報告している。RAST⁵⁾ はトマトの TMV に対して弱毒ウイルス MII-16 が保護効果を発揮するのに必要な増殖期間を接種後約 10 日としている。筆者ら (1979) の実験では、L₁₁A 接種 8 日後のトマト (播種：7 月 2 日、4 葉期) に TMV を接種した場合には、一応干渉効果が認められ、早期の発病が抑えられたが、接種 1 か月後にはモザイク株が発生した。これに対して L₁₁A 接種 18 日後の 6 葉期以後に接種した場合には、モザイク病徴を示す株はほとんど認められなかった。さらに、ハウスにおける夏栽培のトマト (播種：4 月 16 日) では、L₁₁A 接種の 50 日後および 60 日後にそれぞれ TMV を接種したところ、その 1 か月後になってもモザイク病徴はまったく認められなかつ

第1表 ハウス抑制栽培トマトの TMV に対する L₁₁A の接種効果 (長井ら, 1979)

L ₁₁ A の接種	TMV の接種		発病株率 (%)				発病指数 ^{a)}	収量 (kg/10株)	収量比 ^{b)}
	苗 齢	接種時期 月/日	8月6日	8月21日	9月6日	10月8日	9月6日		
接 種	4 葉期	7/23	20	70	80	80	70.0	30.9	116
	6 //	8/2	0	10	10	20	5.0	32.4	122
	8 //	8/12	0	0	10	40	5.0	32.9	124
	//	—	0	0	10	10	3.8	39.2	147
無 接 種	4 葉期	7/23	100	100	100	100	70.0	26.6	100
	6 //	8/2	0	100	100	100	52.5	29.2	110
	8 //	8/12	0	10	90	100	43.8	30.7	115
	//	—	0	0	80	100	42.5	31.7	119

注 a) 発病指数: $\frac{\sum \text{発病程度} (0.5 \sim 4) \times \text{発病株数}}{\text{調査株数} \times 4} \times 100$

b) L₁₁A 無接種区における TMV 早期接種区 (7/23) の収量を 100 とする。

第2表 TMV 抵抗性品種における L₁₁A 237 の干渉効果 (大島ら, 1978)

ウイルス ^{a)} トマト品種	L ₁₁ A	L ₁₁ A 237	L ₁₁ A + CH2	L ₁₁ A 237 + CH2	CH2	無接種
福 寿 2 号	0/5 ^{b)-c)}	0/5 —	1/5 sp	3/5 sp	5/5 ^{Chl} Dw	0/5 —
つ か ま	0/5 —	0/5 —	5/5 M	0/5 —	5/5 //	0/5 —
た の も	0/5 —	0/5 —	5/5 M	0/5 —	5/5 //	0/5 —
は っ ぼ う	0/5 —	0/5 —	5/5 m, sp	1/5 sp	5/5 //	0/5 —
雷 電	0/5 —	0/5 —	5/5 M	0/5 —	5/5 m	0/5 —

注 a) L₁₁A および L₁₁A 237: 10月8日接種, CH2 (強毒 TMV): 10月20日接種, 11月1日調査

b) 分母: 接種株数, 分子: 発病株数

c) —: 無病徴, M: モザイク斑紋, m: 軽微なモザイク斑紋, sp: 退緑斑, Dw: 萎縮, Chl: 退緑

た。

2 トマトの作型と L₁₁A の効果

L₁₁A の保護効果は TMV の被害の大きい越冬栽培で顕著であるが, 半促成や抑制栽培でも TMV の発生の多いところでは優れた保護効果が認められる。

青木ら¹⁾は L₁₁A を越冬, 半促成, ハウス抑制などの作型で, 3~4 葉期のトマト苗に接種したのち, TMV に汚染されているビニルハウスに定植したところ, 対照の無接種区に比べ, 増収率は越冬栽培で 95% (高知ファースト) ~365% (東光K), 半促成栽培では 27% (ハウスほまれ), ハウス抑制栽培では 31% (ハウスほまれ) であった。筆者らは 1~2 葉期のトマト幼苗に L₁₁A を噴霧接種したのち, 各種の作型で TMV を時期別に接種して L₁₁A の保護効果の検討を行ったところ, ハウス抑制栽培では無接種区に比べて 16~47% の増収が認められた (第1表)。露地抑制栽培では無接種区に対して 40~95% の増収が認められた。また, 越冬栽培では L₁₁A 接種区は発病率 10%, L₁₁A 237 接種区は 30%, 収量はそれぞれ 46% と 24% 増加した⁶⁾。

3 トマトの品種と L₁₁A および L₁₁A 237 の効果

TMV 感受性品種 (東光K, 愛知ファースト, 耐病宝

冠段飛, 福寿2号, ほまれ FR, ハウスほまれ, 新新冠) に対して L₁₁A 感染生葉汁液の 100 倍希釈液を噴霧接種し, その2週間後の増殖状況を *N. glutinosa* で検定した結果, 感受性品種の間では感受性に特に差があるとは認められなかった⁹⁾。

次に, TMV 抵抗性品種で同様の検定を行ったところ, 雷電, 大型瑞光, 強力秀光などは L₁₁A の感染率が著しく低く, その増殖性も不良であった。このように, L₁₁A は TMV 抵抗性品種では増殖性が劣るので, その干渉効果も不十分とみられる。大島ら⁸⁾は L₁₁A 237 を用いて, 静岡県における TMV 抵抗性品種たのも (*Tm* を保有) で試験したところ, L₁₁A では全株が発病したが, L₁₁A 237 の接種区では発病がきわめて少なかった (第2表)。

4 TMV の系統と L₁₁A の効果

弱毒ウイルス L₁₁ はその親ウイルス L に対して強い干渉効果を示し, TMV 普通系 (OM) に対してはほとんど干渉効果が認められない。ALEXANDER の Ohio I ~ V の各系統に対して L₁₁A の干渉効果を調べた結果⁷⁾ によると, L₁₁A は Ohio IV (大島らの L に類似) に対しては完全な干渉効果を示したが, ほかの 4 系統に対して

は不完全であった。しかし、わが国で発生しているトマトの TMV は 90% 以上がトマト系である (小室ら, 1966) とされているので, $L_{11}A$ はトマトで発生する TMV の 90% 以上に対して保護効果を示すと考えられる。千葉県では, 1976 年以来, 県内主要産地の各種作型で $L_{11}A$ の現地実証試験を行っているが, 1978 年の結果⁶⁾ は促成, 半促成, トンネル早熟, 露地, 抑制の各作型にわたり, 合計 200 万本以上のトマト苗に接種したところ, 大部分のは場で収穫期まで無病徴で経過し, 15~30% の増収が見込まれた。

IV 弱毒ウイルス $L_{11}A$ の増殖法

RAST⁹⁾ は弱毒ウイルスの増殖にあたり, 強毒 TMV の汚染を防ぐための細心の注意が必要であることを強調している。FLETCHER ら²⁾ は MII-16 の増殖の速さは強毒の TMV に劣るといふ。大島 (1977) も強毒 TMV は弱毒ウイルス $L_{11}A$ に先んじて増殖するから, 弱毒ウイルスの使用にあたり, 強毒 TMV がごくわずかでも混在すれば危険であると述べている。

筆者⁹⁾ は $L_{11}A$ 増殖中のトマトに TMV を接種した場合について検討した。最初に $L_{11}A$ をトマトの幼苗に接種し, 2 週間後に TMV を接種したところ, その 2 週間後にモザイク症状を示した株は 15 株中わずか 1 株で, しかも軽症であった。また, 4 株にはモザイク類似の異状が認められた。次にこれらの 15 株の新葉をそれぞれ磨碎し, 健全なトマト苗各 4 株 (合計 60 株) に接種し, 1~2 か月間病徴を観察し, さらに継代接種を行ったが, 三代にわたる継代接種で明りょうなモザイク病徴を示した株は 1 株も認められなかった。 $L_{11}A$ と TMV を混合接種すると TMV が $L_{11}A$ に対して 10^{-4} 以上の濃度では明らかなモザイク症状株が生じるので, 継代接種の実験結果からみて, $L_{11}A$ 増殖中のトマトに接種した TMV はほとんど増殖していないと思われる。もとより, 弱毒ウイルスの増殖は慎重に行う必要があるが, $L_{11}A$ が増殖したのちに万一 TMV の汚染があっても, それほど重大に考える必要はないと思われる。

千葉県農業試験場では弱毒ウイルスの増殖は以下のように行う。専用のガラス温室で $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ の下に, トマト品種福寿 2 号 (種子は 70°C 3 日間の乾熱消毒を実施) をくん炭培地に播種し, 1~2 葉期に $L_{11}A$ を生葉磨碎汁の 100 倍液として噴霧接種し, 3~4 葉期に径 15 cm のポリ育苗鉢 (くん炭とピートモス使用) に移植し, 約 2 か月間育成する。15~16 葉期に無病徴株を選び, 下葉 2~3 葉を残し, その他の全葉を葉柄基部から切り取

り, ポリ袋に詰め, -20°C の冷凍庫に保存する。増殖期間中は常時病徴を観察するとともに, 1~3 回検定植物に接種して, $L_{11}A$ の増殖確認と他ウイルス汚染の検定を行う。増殖時期は 4~6 月と 9~11 月とし, 盛夏期は避ける。

V 弱毒ウイルス利用の現状と問題点

千葉, 静岡, 愛知, 三重, 埼玉, 福岡の各県ではトマトの TMV 防除に弱毒ウイルスを利用している。また, 栃木, 兵庫両県では数年前まで利用していたが, 現在は利用していない。

弱毒ウイルスの供給や利用の方法は県により異なる。千葉県では県の事業として毎年約 100 万円の予算を計上し, 農業試験場で弱毒ウイルス $L_{11}A$ を増殖し, 濃厚汁液 (5~10 倍) に調製し, 農業改良普及所を通じて農家に無償で供与している。静岡県では農業試験場で弱毒ウイルス $L_{11}A$ と $L_{11}A 237$ を増殖し, 経済連を通じて農協に提供している。農協ではトマト生産出荷組合が弱毒ウイルス増殖温室で再増殖し, 汁液に調製し, 農家のトマトに動力噴霧機を用いて接種している。愛知県では農業総合試験場で弱毒ウイルス $L_{11}A$ を接種したトマト苗を農協に提供し, 農協のトマト生産出荷組合が育成増殖し, 汁液に調製し利用している。三重県では静岡県とほぼ同様に農業技術センターで $L_{11}A$ を増殖し, 農協が再増殖している。埼玉県では園芸試験場で増殖した弱毒ウイルス $L_{11}A$ を農業改良普及所を通じて農協に提供し, 農協が汁液に調製している。福岡, 栃木, 岐阜の各県では県独自の増殖事業は実施していない。

昭和 58 年度の関東東海地方における弱毒ウイルスの利用状況は第 3 表のとおりである。千葉県における年次別の利用状況は第 4 表のとおりである。近年は抵抗性品種の普及により弱毒ウイルスの利用は減少している。この傾向は静岡, 三重, 埼玉各県ではいっそう著しい。静岡県では最盛期には 100 ha に利用されていたが昭和

第 3 表 関東東海地方における昭和 58 年度のトマト弱毒ウイルスの利用状況

県名	作付面積	施設面積	利用面積
栃木	670 ha	211 ha	0 ha
千葉	1,080	808	74
埼玉	242	153	2
静岡	428	247	40
岐阜	320	197	0
愛知	743	396	38
三重	288	114	23

注 トマトの作付・施設面積は第 58 次 (昭和 56~57 年) 農林水産統計による。

第4表 千葉県における年度別トマトの作付・施設面積
と弱毒ウイルスの利用面積

年 度	作付面積	施設面積	利用面積
52	985 ha	675 ha	99 ha
53	992	697	146
54	1,010	724	157
55	1,080	734	94
56	1,080	799	94
57	1,080	808	83
58	—	—	74

注 作付面積と施設面積は農林水産統計による。

58年度は半分以下に減少し、埼玉県では最盛期の1/5以下に減少している。しかし、愛知県では感受性品種愛知ファーストの作付けが多いため、減少することなく、むしろ増加している。栃木、岐阜両県では抵抗性品種の普及が著しく、弱毒ウイルスはまったく使用されなくなった。

トマトモザイク病防除の両輪は抵抗性品種の利用と弱毒ウイルスの利用と言えるが、一部の県や産地を別にするれば、近年は抵抗性品種の普及が弱毒ウイルスを圧倒しているとみてよいであろう。優れた抵抗性品種の開発がますます盛んになっている現状では、今後も抵抗性品種

の作付けは増加するであろうから、弱毒ウイルスの利用はさらに減少すると思われる。ただし、今のところ、TMVの抵抗性を支配する遺伝子は T_m , T_m-2 , T_m-2a の3種類だけのようであるから、多数の品種も遺伝子的にみると、3種類に分類されてしまう。抵抗性品種といえども、同一品種を長期間栽培すると、これを侵すウイルス系統が生じる可能性があるから、今後とも弱毒ウイルスの研究は重要であるし、また、弱毒ウイルスを供給できる態勢を整えておくことも必要である。

引用文献

- 1) 青木宏史・荻原佐太郎 (1974): 千葉農試研報 14: 135~143.
- 2) FLETCHER, J. T. and J. M. ROWE (1975): Ann. appl. Biol. 81 (2): 171~179.
- 3) 後藤忠則・根本正康 (1971): 北海道農試彙報 99: 67~76.
- 4) HOLMES, F. O. (1934): Phytopathology 24: 845~873.
- 5) 長井雄治 (1981): 千葉農試特報 9: 1~109.
- 6) 大島信行ら (1965): 北海道農試彙報 85: 23~33.
- 7) ——— (1974): 植物防疫 28: 184~190.
- 8) ———ら (1978): 日植病報 44: 504~508.
- 9) RAST, A. Th. B. (1975): Publicatie No. 192, van het Proefstation voor de Groenten-en Fruitteelt onder Glas, Naaldwijk, pp. 76.



新刊紹介

『野菜のウイルス病』

——発生生態と診断・防除——

植物ウイルス研究所学友会 編

定価 5,500 円 (〒 300 円)

A 5 判, 474 ページ

(株) 養賢堂 (昭和 59 年 5 月発行)

本書は旧植物ウイルス研究所の職員だった研究者と同研究所で研修や共同研究を行った研究者が中心となり、昭和 54 年 11 月に急逝された小室康雄氏に対する追悼の意をこめて執筆されたものである。内容は小室氏の名著「野菜のウイルス」の基調を踏襲しながら、最新の知見に基づいて記述されている。

本書は野菜の種類別にみたウイルス病の発生生態と防

除の記載に大半のページが割かれており、そこにはわが国主要野菜 42 種に発生するすべてのウイルス 89 種について、ウイルスの諸性質が詳細に記述されているほか、これまで行われた調査研究の成果が表や図で豊富に記載され、引用文献も付されており、現段階における野菜のウイルス病の総集編とも言えるものとなっている。しかもそれだけでなく野菜ウイルス病の診断・同定を行う際に必要な試験である汁液接種法、昆虫伝搬試験法、土壌伝染試験法、抗血清試験法および電子顕微鏡観察法などについて方法と手順が具体的に、しかも詳細に記述され、実用的な技術書としての価値を高めている。また従来からの慣例に従いマイコプラズマ病も含まれており、ウイルス名索引では発生している作物が一見できる工夫がこらされている。野菜におけるウイルス、マイコプラズマ病は、今後とも一層重要度を増すものと思われるが、その防除対策樹立のために本書は好個の指導書として役立つに違いない。

(農業研究センター 岸 国平)

特集：弱毒ウイルス〔2〕

ピーマンモザイク病の弱毒ウイルス利用による防除

農林水産省北海道農業試験場 **後 藤 忠 則**

はじめに

タバコモザイクウイルス (TMV) によるピーマンのモザイク病はピーマンの主要病害の一つであり、それによる被害は年々増加の傾向にある。特に近年、TMV のトマト系統や普通系統に対して抵抗性と言われていたピーマンにモザイク症状を起こす新しい系統が各地で発生し、さらに大きな被害を与えている。この系統は 1972 年に尾崎ら⁹⁾ によって和歌山県下で発生したシントウガランのモザイク病株から初めて見いだされた。その後、長井ら⁶⁾ は千葉県においてピーマンのモザイク病株から類似したウイルスを検出し、ピーマン、トウガラシ全般に激発することを重視して、TMV のトウガラシ系統 (TMV-P) と呼称した。

TMV によるピーマンのモザイク病は、ウイルスに汚染された種子や土壌などが伝染源となり、その後の農作業によって容易に他の株へ伝播するので、その防除はきわめて困難である。現在、これを防ぐ適切な方法がなく、モザイク病による被害を余儀なくされている。したがって、本病の効果的な防除方法を確立するために、TMV によるトマトのモザイク病防除で成功している弱毒ウイルスを利用した方法^{1,4,7,8)} に従い、TMV のトウガラシ系統によって起こるピーマンモザイク病の防除を

試みた。まだ試験段階であるがきわめて有効な結果が得られたので、これまでの成績について紹介し、参考に供する。

本研究を行うにあたり、各府県で発生した TMV のトウガラシ系統を分譲してくださった各位に厚くお礼申し上げます。

I ピーマンのモザイク病

ここでは、筆者ら⁹⁾ が北海道においてトウガラシのモザイク病株から分離した TMV-トウガラシ系統の 1 分離株を用いて行った実験結果について述べる。第 1 表にトウガラシ系統のトウガラシ、ピーマン品種に対する接種試験の結果および比較に用いたトマト系統と普通系統の結果を合わせて示した。トマト系統および普通系統は、この両系統に抵抗性を持たない品種に対しては激しいモザイク症状を現すが、抵抗性の品種には接種葉にえそ斑点を生じてまもなく落葉するので、往々全身感染は免れる。これに対し、トウガラシ系統はいずれの品種にも全身感染して鮮明なモザイク斑紋を現す。その推移は、初め若葉が退緑し、葉縁が上方に巻き込み、やがて上葉に淡黄緑色の斑紋が現れ、葉面に凹凸が生じて顕著なモザイク症状を呈する。また果実にしばしば不整形の斑紋が現れ、奇形となることがある。病株は萎縮する

第 1 表 TMV の 3 種系統によるトウガラシ、ピーマン品種の反応

供 試 品 種	トウガラシ系統		ト マ ト 系 統		普 通 系 統	
	接 種 葉	全 身 葉	接 種 葉	全 身 葉	接 種 葉	全 身 葉
トウガラシ 札幌大長 (R)	退緑斑点	モザイク	えそ斑点	(-)	えそ斑点	(-)
ピーマン 緑王 (R)	退緑斑点	モザイク	えそ斑点	(-)	えそ斑点	(-)
エース (R)	〃	〃	〃	(-)	〃	(-)
ニューエース (R)	〃	〃	〃	(-)	〃	(-)
京みどり (R)	〃	〃	〃	(-)	〃	(-)
鈴みどり (R)	〃	〃	〃	(-)	〃	(-)
昌鈴 (S)	〃	〃	退緑斑点	モザイク	退緑斑点	モザイク
東京ししとう (S)	〃	〃	〃	〃	〃	〃

注 (R) : TMV のトマト、普通系統に抵抗性。
 (S) : TMV のトマト、普通系統に罹病性。
 (-) : 普通は感染しないが、ときにえそ症状となる。

Utilization of Attenuated Strain for Control of Pepper Mosaic Disease Caused by Tobacco Mosaic Virus.
 By Tadanori Goro

が、茎葉や果実にえそ症状を生じることはない。

一般ほ場での TMV によるピーマンのモザイク病は育苗時期に発生することが多く、さらに本ほ場で急速にまん延し、ほ場全体に広がる。感染株は激しいモザイク症状を呈し、株は萎縮する。このために、減収は大きく、トマトの例からみて 20~30% あるいはそれ以上と推定されていたが、筆者らの試験では、その減収は 36~40% に及んだ。

II 弱毒ウイルスの作出と性質

トウガラシ系統を本葉 5~6 葉期のシントウガラシの茎部に接種し、水洗後、水を満たした三角フラスコに挿し、35°C に調節した陽光定温器中で 15 日間熱処理した。処理後、ウイルスを接種した部位を切り取り、その茎片の粗汁液を 100 倍に希釈し *Nicotiana glutinosa* 葉に接種した。これに生じたえそ斑点を 1 個ずつ切り取り、少量の水を加えすりつぶし、その汁液をさらにシントウガラシの幼苗に接種した。その結果、供試したえそ斑点の約 1.4% からシントウガラシに軽い病徴を現す株が得られた。これらの中からもっとも症状の軽い株を選び、さらに前述と同様の熱処理を繰り返し行い、シントウガラシにごく軽微な病徴を呈するウイルス株を選択し、これを弱毒ウイルス Pa18 と名づけた。

Pa18 (弱毒ウイルス) は親ウイルスであるトウガラシ系統 (強毒ウイルス) が侵すトウガラシ、ピーマンのすべての品種に感染するが、ごく軽いモザイク病徴を呈するのみで、強毒ウイルスによって起こるような激しいモザイク症状や株の萎縮はまったく認められない (第 1 図参照)。また、ピーマン以外の植物に感染した場合の影響について、8 科 43 種に接種して調べたところ、5 科 24 種に感染したが、このうち 2, 3 の植物を除き無病徴か軽い症状を現すだけで、被害は認められなかつ



第 1 図 ピーマン“緑王”

左: 弱毒ウイルス (Pa18) 接種株
右: 強毒ウイルス (P) 接種株

た。弱毒ウイルスを利用するうえでのもう一つの大切なことは、その性質が変化しないことである。この点についてもいろいろ実験を行い調べたが、Pa18 を接種したピーマンに強い症状が現れた例はなく、Pa18 の性質がきわめて安定していることを示した。

III 弱毒ウイルスの利用

植物がある種のウイルスに感染すると、その近縁のウイルスに再感染しなくなる現象があり、これを干渉作用と呼んでいるが、弱毒ウイルスによるモザイク病の防除は、この現象を利用したものである。干渉作用の機作は明確にされていないが、先に侵入したウイルスが十分増殖していないと後で感染したウイルスが増殖することがある。Pa18 はピーマンに接種したのち 5~7 日目ごろから効果を現すが、十分な効果を発揮するには 10 日以上必要である。したがって、Pa18 を用いてピーマンのモザイク病を防除するには、その効果が現れるまで野性の強毒ウイルスに侵されないよう細心の注意が必要である。

以下に、弱毒ウイルス Pa18 を利用したモザイク病の防除方法について述べる。

1 弱毒ウイルスの増殖

Pa18 の接種源の増殖にはピーマン“緑王”、“エース”を使用している。これは Pa18 がこの両品種で比較的よく増殖することと、万一なんらかの理由で強毒ウイルスが入り込んだ場合に起きる病徴の変化などをチェックするためである。弱毒ウイルスの増殖にあたって特に注意することは、健全なピーマン苗を育てることと、純粋な弱毒ウイルスを用いることである。TMV は種子、床土、育苗資材などから伝染するので、育苗にあたってはいずれも TMV に汚染されていないものを使用することが必要である。弱毒ウイルスの接種はピーマンの苗が本葉 4~5 枚期ごろに行い、接種 15~20 日後に新しく展開した葉を摘み取り、直接あるいは凍結保存して使用する。

2 弱毒ウイルスの接種

弱毒ウイルスの接種は、ピーマンの子葉が完全に展開した幼苗期に行うのがもっとも効果的である。その方法は Pa18 に感染したピーマンの生葉重に 10~100 倍量の水を加え磨碎搾汁した液を親指大に折り畳んだガーゼの小片に浸し、これに 400 メッシュのカーボランダム (研磨剤) を附着させ、ピーマンの子葉の一部になすりつけて接種する。

大量の株に対する接種については、トマトで実用化されている噴霧器による接種方法⁵⁾に従って試験を行って

いるが、トマトと同様に非常に良い結果が得られた。試験はウイルスに感染したピーマン葉の搾汁液を水で 100 倍に希釈し、これに 400 メッシュのカーボランダムを 1~2% 加え、肩掛式噴霧器（大和式デラックス型）を用い、圧力 5 kg/cm²、距離 2~5 cm の高さからピーマンに噴霧接種した。この方法によりウイルスを高率に感染させることができるので、噴霧器による大量接種は十分可能であると考えられる。

3 接種苗の管理

1 の項で述べたと同様に、健全な苗を育てることがもつとも重要なことである。特にガーゼの小片でなすりつけて接種する場合は、接種苗中に 1 株でも TMV に感染している苗が混じっていると、それ以後に接種される株は強毒ウイルスに容易に感染する。したがって、接種前に十分注意し生育不良苗やウイルスに汚染されている疑いのある株を抜き取り伝染を防止しなければならない。また、TMV の感染を防ぐために、ピーマンが発芽した後鉢上げ（仮植）前までは苗に手を触れないようにする。前項のように子葉展開時に Pa18 を接種しておく、ちょうど鉢上げころには Pa18 の効果が完全になるので、鉢上げからの農作業は慣行により行ってよい。

以上の方法により正しく Pa18 を使用すると、十分な防除効果が期待できる。

IV 弱毒ウイルスの防除試験

Pa18 を利用した防除試験は 2 年間にわたって実施したが、ここでは 1983 年に行った防除試験の結果について紹介する。試験はピーマン“エース”を 4 月 1 日に播種し、1 回仮植した後 6 月 10 日に本ばに定植した。栽培方法は慣行に従った。試験区は 1 区 10 株 3 反復とし、処理は弱毒ウイルス (Pa18) 接種区、強毒ウイルス (P) 接種区、Pa18 と P (Pa18+P) の重複接種区および無接種区の 4 区制とした。弱毒ウイルスはピーマンの本葉が展開し始めた 4 月 23 日に子葉の一部に接種し、強毒ウイルスはさらに 20 日後の 5 月 13 日に本葉に接種した。病徴は、無病徴株を 0 とし、病徴を現した株には強さに応じて 1 から 5 までの指数を与え、10 日間隔で全株を調査した。

1) 病徴：P 単独接種区のピーマンの茎葉は、初め若葉が退緑し、やがて明りょうなモザイク症状を現すが、その後急速に症状が激しくなり、株が萎縮し、6 月 20 日の調査では病徴指数が最高に達した。これに対して、Pa18 単独接種区では葉面にわずかに凹凸を示し、のちにきわめて軽いモザイク症状を現すだけであった。ま

た、Pa18+P 区では 2, 3 の株に明らかなモザイク症状を示したが、その症状は P 単独接種区の株に比べ軽く、株の萎縮は認められなかった。他の株は Pa18 区と同様の経過をたどった。無接種区では 7 月上旬に強毒ウイルスの自然感染株が 1 株認められた。

次に果実に生じるモザイク症状の発生について調べた結果を、前期 (7, 8 月) と後期 (9, 10 月) に分けて第 2 表に示した。P 区のピーマン果実には明りょうなモザイク症状が認められ、その発生率は前期で 80.5%、後期では 73.6% と高率であった。Pa18 単独区および Pa18+P 区ではモザイク果の発生率は低く、もっとも高かった後期調査においてもそれぞれ 7.3% と 9.8% にとどまり、症状も軽微であった。また、無接種区では強毒ウイルスの自然感染株の果実のみにモザイク症状が認められた。

2) 生育：定植時 (6 月 10 日) と収穫終了時 (10 月 12 日) に草丈、茎径および生体重について調べた結果を第 3 表に示した。表からも明らかなように、P 区のピーマンの生育はいずれも無接種区に比べ著しく劣った。しかし、Pa18 区および Pa18+P 区での生育は若干劣る傾向を示したが、無接種区とほぼ同等であった (第 2, 3 図参照)。

第 2 表 ピーマン果実のモザイク症状発生率

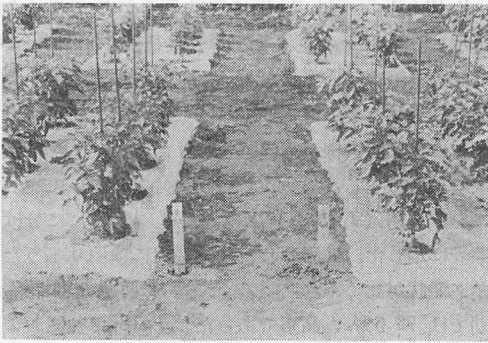
試験区	前 期			後 期		
	調査果数	モザイク果数	発生率 (%)	調査果数	モザイク果数	発生率 (%)
強毒株 (P) 接種	87	70	80.5	314	231	73.6
Pa18 + P 接種	120	2	1.7	408	40	9.8
弱毒株 (Pa18) 接種	105	4	3.8	455	33	7.3
無 接 種	137	1	0.7	474	6	1.3

注 無接種区の果実は、強毒ウイルスの自然感染株のものである。

第 3 表 ピーマンの生育

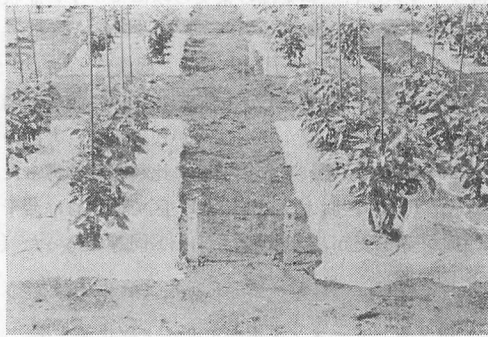
試験区	定 植 時		収穫終了時	
	草丈 (cm)	茎径 (cm)	草丈 (cm)	生体重 (g/株)
強毒株 (P) 接種	19.3 (74.5)	4.7 (87.0)	53.0 (86.2)	282.7 (64.5)
Pa18 + P 接種	23.7 (91.5)	5.0 (92.6)	61.0 (99.2)	371.0 (84.6)
弱毒株 (Pa18) 接種	24.3 (93.8)	5.1 (94.4)	62.6 (102)	422.0 (96.3)
無 接 種	25.9 (100)	5.4 (100)	61.5 (100)	438.3 (100)

注 () 内の数字は、無接種区を 100 としたときの比率を示す。



第2図 ビーマン“エース”

左：Pa18 と P の重複接種区
右：無接種健全区



第3図 ビーマン“エース”

左：強毒ウイルス接種区
右：Pa18 と P の重複接種区

第4表 ビーマンの収量 (10株当たり)

試験区	上物果実		全果実	
	個数	重量 (kg)	個数	重量 (kg)
強毒株 (P) 接種	99.0 (60.5)	2.93 (59.2)	133.7 (65.5)	3.38 (60.4)
Pa18 + P 接種	155.0 (94.7)	4.66 (94.1)	176.0 (86.3)	4.99 (89.1)
弱毒株 (Pa18) 接種	153.3 (93.6)	4.71 (95.2)	186.7 (91.5)	5.25 (93.8)
無接種	163.7 (100)	4.95 (100)	204.0 (100)	5.6 (100)

注 () 内の数字は、無接種区を 100 としたときの比率を示す。

3) 収量：収穫は7月18日から10月12日まで行い、調査結果を上物果実と全果実に分け第4表に示した。P区の収量は無接種区に比べ著しく劣り、全果実で39.7%、上物果実で40.1%減収した。これに対し、Pa18区では果実個数、重量とも無接種区とほぼ同等であった。また、後で強毒ウイルスを接種したPa18+P区

では、無接種区より収量はやや低かったが、Pによる減収をよく抑え、P単独接種区より全果実重量で32.3%、上物果実重量で37.1%増収した。なお、Pa18による防除試験は1982年にも同様の方法で行ったが、両年ともほぼ同じ結果が得られた。

V 各地の TMV のトウガラシ系統に対する Pa18 の干渉効果

Pa18の干渉効果がトウガラシ系統の分離株によって異なると、使用される地域によってPa18の防除効果に差が生じることになる。したがって、この点を確認するために、千葉、三重、福岡および宮崎各県で採集されたトウガラシ系統の分離株に対するPa18の干渉効果を北海道の分離株と比較して調べた。Pa18をビーマン“緑王”の子葉期に接種し、その20日後に各分離株を重複接種して、発現する病徴を30~40日間観察した。その結果、Pa18は北海道の分離株に対すると同様に各地域で採集されたいずれの分離株に対しても高い干渉効果を示し、強いモザイク症状を現す株はまったく認められなかった。

おわりに

以上、強毒ウイルスの利用方法と防除効果の試験例について述べたが、試験の結果からも明らかなように、Pa18は性質が安定しており、強毒ウイルスに対する干渉効果も高く、TMVのトウガラシ系統によるビーマンのモザイク病防除に優れた効果を示した。近い将来、Pa18はビーマンのモザイク病防除に実用化されると考えられる。しかし、Pa18はTMVのトウガラシ系統に対してはきわめて高い防除効果を発揮するが、トマト系統や普通系統にはほとんど効力を示さないため、利用するにあたっては、事前に防除対象となるTMVの種類を十分に把握しておく必要がある。また、Pa18を接種したビーマンに他のウイルスが重複感染すると、それぞれの単独感染株に比べ若干症状が強まる傾向があるので、他のウイルスが再感染しないように注意し、Pa18の防除効果が十分上がるように留意することが肝要である。

引用文献

- 1) 後藤忠則ら (1971) : 北海道農試彙報 99 : 67~76.
- 2) ————ら (1981) : 日植病報 47 : 409~410 (講要).
- 3) HOLMES, F. O. (1934) : Phytopathology 24 : 845~873.
- 4) 小餅昭二ら (1966) : 園芸学雑 35 : 67~74.
- 5) 長井雄治 (1981) : 千葉農試特報 9 : 1~109.
- 6) ————ら (1981) : 日植病報 47 : 541~546.
- 7) 大島信行 (1977) : 農および園 52 : 548~552.
- 8) ————ら (1965) : 北海道農試彙報 85 : 23~33.
- 9) 尾崎武司ら (1972) : 日植病報 38 : 209 (講要).

特集：弱毒ウイルス〔3〕

ウリ類モザイク病防除のための弱毒ウイルスの作出

農林水産省農業生物資源研究所 もとよし 本吉 ふきお 総男・西口 にしぐち 正通 まさみち

ウリ類のモザイク病防除のため、キュウリ緑斑モザイクウイルス (CGMMV) とカボチャモザイクウイルス (WMV) の弱毒株の作出と利用技術確立のための試験研究が昭和 55 年度より行われている。CGMMV については、すでに作出された弱毒株の一つが静岡県におけるマスクメロンのモザイク病防除のための実用化試験に供され、かなり良好な結果が得られている。WMV の弱毒株も若干分離されているが、このほうはウリ類のモザイク病防除にどの程度役だつたかについて、まだ検討段階にある。

CGMMV と WMV の弱毒株の作出と干渉作用については、部分的に日本植物病理学会で講演発表しているが (大島ら, 1981 a, b; 本吉ら, 1981; 本吉・西口, 1982; 本吉ら, 1984), ここでは、最近の知見と実用化試験に関する成績も参考にしつつ、研究の経過、現状および展望について述べる。

なお、本研究は筆者らと大島信行、木方行郎両氏との共同で行われたものであり、また研究の一部には埼玉県園芸試験場の善林六朗氏に参加していただいた。弱毒ウイルスの適正利用に関し研究を推進されている千葉県農業試験場と静岡県農業試験場の方々には多大な御協力をいただき、また CGMMV の弱毒株の実用化試験に関する静岡県農業試験場の成績については、概略を引用させていただいた。四国農業試験場の山本孝孺氏 (現 富山県農業試験場) からは WMV に関し貴重な御助言を賜わった。関係各位に厚く謝意を表する。

I キュウリ緑斑モザイクウイルス (CGMMV)

CGMMV は、長さが 300 nm, 幅が 18 nm の桿状のウイルスで、タバコモザイクウイルス (TMV) と同様、タバコウイルス (Tobamovirus) グループに属し、わが国では 3 系統 (スイカ系, キュウリ系および余戸系) が知られている。温室におけるマスクメロンにはスイカ系が発生しており、モザイク症や生育抑制を起こさせるほか、果実に玉えそ症やネット異常を生じさせて、その商品価値を著しく低下せしめる。玉えそというのは、果実

のネット間に灰褐色の小突起を中心に有する水浸状の斑点で、CGMMV-スイカ系の感染により多発する。しかし CGMMV に感染したメロンがすべて玉えそを生じるわけではなく、感染の時期、メロンの生理状態など種々の要因が重なって生じてくるものと考えられている。CGMMV の植物への伝染は種子消毒や土壌消毒によってある程度防ぐことができるが、接触による伝染力がきわめて強いため、施設、用具などに病原が付着していたり、少数の発病株が混在していたりすると、管理作業をする人の手や隣接する罹病植物との接触によって、簡単に広がってしまう。

このようなマスクメロンの玉えそ症による被害は、静岡県下の温室において特に問題になっていた。本研究では静岡県農業試験場の古木氏によって静岡県で採集された CGMMV-スイカ系の 1 株 (SH 株) を弱毒株作出の材料とした。SH から各種の処理を経て SH33b という弱毒株が得られるまでの過程を第 1 図に示す。変異誘発のための処理としては感染植物の温度処理、ウイルス粒子の亜硝酸処理、ウイルス RNA の紫外線照射などを行った。弱毒株の選択のため、上記の処理をしたウイルスの溶液または感染液の汁液をカーボラシムを振りかけたセンニチコウの葉にガラスべらによって塗布し、局部病斑を形成させた CGMMV はセンニチコウでは最初の侵入部位で増殖し、局部病斑を生じさせると考えられるが、その後、移行した場所でも局部病斑を作る。したがって、接種後なるべく早い時期に形成された病斑のみを集め、その一つ一つを 1~2 滴のリン酸緩衝液とともにすりつぶし、マスクメロンの芽生の展開直後の子葉にカーボラシムとともに塗布し、上葉に生じるモザイク症状の弱いものを選択することにした。

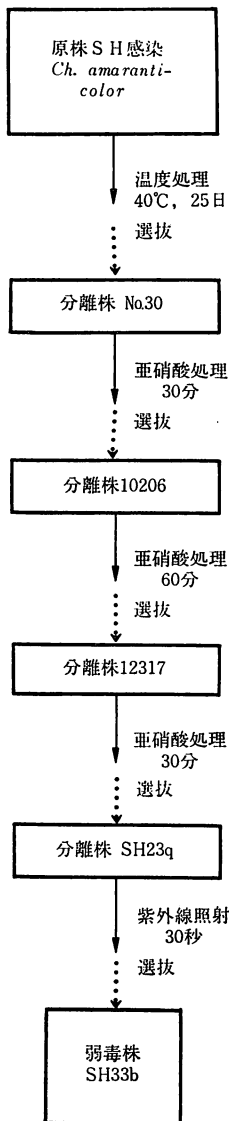
以下、SH33b の選択に至るまでの諸過程と、SH33b の干渉能および他の性質、およびマスクメロン栽培におけるモザイク病防除のための実用化試験の概要を述べる。

1 弱毒株作出のための変異誘導処理

(1) 温度処理

トマト系 TMV の弱毒株 L₁₁A は、強毒ウイルスを接種したトマトの茎を 35°C に 14 日間置き、その中で増殖したウイルスから選抜された弱毒株 L₁₁ の後代で、きわめて安定な弱毒性と強い干渉能を持つ。CGMMV

Isolation and Utilization of Attenuated Viruses for Controlling Cucurbit Virus Diseases. By Fusao Motoyoshi and Masamichi Nishiguchi



第1図 原株 SH から弱毒株 SH 33 b 作出に至る過程の概略

でも同様の方法で弱毒株を得ることができるのではないかと考え、*Chenopodium amaranticolor* の葉に原株 SH を接種し、40°C で 25 日間増殖をさせたものから局部病斑を通して弱毒ウイルスを分離することを試みた。分離した局部病斑を接種したマスクメロンのうち病徴の弱いものを選択したが、分離したウイルスはその後の接種試験の経過を見ると、まだかなり強い病原性を有していた。その後上記の試験とは別に、SH をセンニチコウに接種し、37°C で 13 日間増殖させたものからも弱毒株を得ることはできなかった (大島ら, 1981 a ; 本吉ら,

1981)。

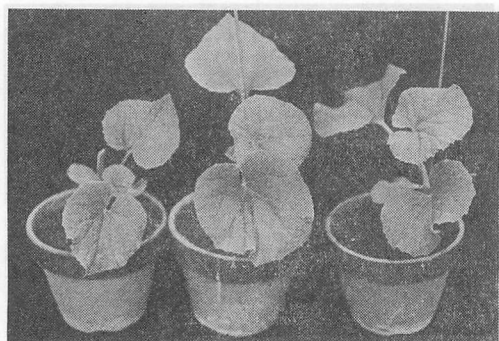
(2) 亜硝酸処理

亜硝酸によって TMV に突然変異が誘発されることは以前からよく知られ、オランダでは RAST(1972) が TMV を亜硝酸処理して弱毒株 (MII-16) を作出した。亜硝酸は RNA に作用し、脱アミノ反応によってシトシンをウラシルに、アデニンをヒポキサンチンに変える。複製の際 RNA が二本鎖を形成するとき、ヒポキサンチンはグアニンと同様シトシンと水素結合するので、複製されて生じるウイルス RNA ではグアニンに置き換わっている。すなわちアデニンのグアニンへの置換と同等である。

方法としては、純化した CGMMV を 1 M 酢酸緩衝液 (pH 4.0) に 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で懸濁し、等量の 4M 亜硝酸ナトリウム水溶液を加え、30 分または 60 分、22°C に保温したのち、1/15M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で 100 倍に薄め、センニチコウに塗布した。生じた病斑を分離し、マスクメロンに接種したところ、病徴の弱いもの、原株より強いモザイク症状を示すもの、黄斑を生じるものなどの変異が見られた (大島ら, 1981 a)。特に病徴の軽微なものを選び、ウイルス後代をさらに二度の亜硝酸処理と弱毒株の選抜を繰り返した。しかし、このようにして得た弱毒株も、マスクメロンに時折はつきりしたモザイクを生じることがあり、より安定な弱毒株を選抜することが必要であった。

(3) 紫外線照射

紫外線照射により、ウイルス RNA に少なくとも 2 種の不活性化を起こさせる変化が生じると考えられている。その一つは、ピリミジン残基(シトシンとウラシル)の 5, 6 二重結合を水の付加反応によって一重にする変化であり、もう一つは隣接する 2 個のピリミジン残基の 5, 6 二重結合どうしの反応により、ピリミジンダイマーが形成される反応である。これらの反応により、植物ウイルスは紫外線照射によってたやすく不活性化される。また、二本鎖 DNA で見られるような、生体内でのピリミジンダイマーの除去とその修復による活性の回復 (dark reactivation) は、大部分の植物ウイルスのような一本鎖 RNA ウイルスでは生じないと考えられる。紫外線照射による突然変異体を得るには照射を受けたウイルスの生体内での活性回復が必要であるが、植物ウイルスでは紫外線照射で突然変異が誘発された例は少なく、アルファルファモザイクウイルス (AMV) で報告されているぐらいである (van Vloten-Doting, 1980)。TAKAHASHI ら (1968) は TMV RNA に紫外線を照射し、高濃度でタバコ葉に接種すると不活化曲線から推論され



第2図 強毒株 SH と弱毒株 SH 33 b が感染したマスクメロン苗での病徴の比較

左: SH 感染. 本葉にモザイクが生じている。
中: SH 33 b 感染. 病徴はほとんどなし。
右: 健全.

る理論値よりも高率の感染が起こる現象を見だし、紫外線で不活化したバクテリオファージ T2 や T4 の多重感染の際観察される多重感染再活性化 (multiplicity reactivation) との類似性を指摘した。多重感染再活性化は、不活性化したウイルスどうしの組み換えによりウイルス活性が回復する現象として説明されている。植物ウイルスで多重感染再活性化に似た現象が起こる場合、突然変異が同時に生じうるかどうかはまったく不明であったが、筆者らは、ともかく亜硝酸処理で得られた弱毒株の一つ SH23q から RNA を抽出し、高濃度 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 0.02 M リン酸緩衝液, pH 7.0) で紫外線照射 (15W 殺菌灯下 30 cm で 30 秒) し、そのままの濃度でマスクメロン芽生に接種し、回収されたウイルスの後代から安定な弱毒変異株を分離することを試みた。マスクメロンでの検定の結果、今までより安定な弱毒性を示す SH33b を分離した (第2図)。

2 SH 33 b の性質と干渉能

SH33b はマスクメロン感染葉汁液を接種源としての限りモザイク症状は見られないが、純化を行って 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の高濃度の溶液にしてマスクメロンの子葉に接種すると、第一または第二本葉にかなり明りょうなモザイクを生じさせる。それでも原株 SH を接種したものと比べると病徴は弱く、それより上葉では病徴ははるかに弱くなる。病徴が濃度に依存している点はさらに追求する必要があるが、TMV の弱毒株 L₁₁A ではこのようなことはなく、CGMMV と TMV の病徴発現の様相が異なっているように思われる (本吉ら, 1984)。

SH33b の強毒ウイルスに対する干渉効果は、筆者らの実験条件ではあまり強くない。実験例を挙げると、SH

33b (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) をマスクメロンの子葉に一次接種し、10 日後 SH (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を上葉に接種したところ、二次接種の2週間後には約 50% にモザイクを生じた。ただしこの時期には SH のみを接種した植物はすべてモザイクを生じ、病徴は前者より強かった (本吉ら, 1984)。

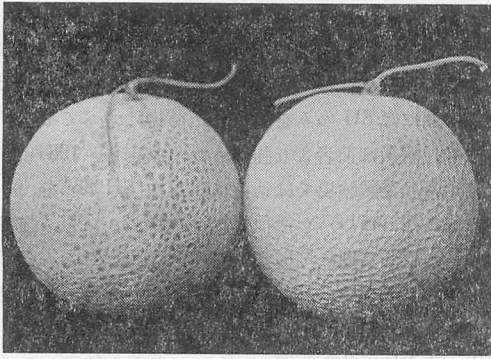
静岡県農業試験場では幼苗に弱毒株 SH33b を、8 葉期に強毒株 (N14) を接種したマスクメロンを、強毒ウイルスのみ 8 葉期に接種したものと比較している。SH 33b 接種の効果は、強毒株単独よりもモザイクの発生を 10~20 日遅らせる程度であった。ただしモザイクの程度は強毒株単独より弱かった。これらの結果から SH 33b は干渉効果は認められるが、力不足であることが指摘された。

3 実用化試験

上記のように基礎実験段階では SH33b の強毒株に対する干渉効果はあまりはっきり現れず、実際の栽培環境で役にたつかどうかについては疑問であった。しかし、SH33b の効果は慣行管理栽培での試験でよりはっきり現れることがわかった。それについて以下に述べる。

温室でのマスクメロン栽培では CGMMV による玉えその発生がもっとも問題になっている。静岡県農業試験場における試験によれば、交配期からネット形成初期における感染で玉えそが発生しやすい。同試験場にて現地慣行に準じて行った試験では、SH33b は強毒株と異なり、モザイクを生じず、軽微な玉えそを少数発生させたのみであり、また発病温室を使つての試験では、SH33b を接種していないメロンの慣行管理ではモザイク株率 12%、玉えそ、ネット異常などの発病果の率が 39.2% であり、SH33b を接種したものの慣行管理ではモザイクの発生はなく、軽微なネット異常率が 5.2% で玉えそは発生せず、防除効果ははっきりしていたが、植物の生育は若干抑制された (大沢ら, 1984)。また SH33b 接種は果実の品質や糖度にも影響がないとのことである。

さらに同試験場の計画により、現地における SH33b の防除効果に関する調査が、ガラス温室金網床栽培を行っている2か所で、58年3月末から6月下旬または7月上旬にかけて行われた。結果は、慣行区での玉えそ、ネット異常などの発病果が 30~40% あつたのに対し、弱毒株接種区では発病果が 3~5% であり、干渉の効果が明らかであったが、植物の生育は若干抑制された。その後 58年12月から翌年3月にかけての冬期栽培では、14か所の温室で試験が行われ、SH33b を接種されたマスクメロンでは果実の発病に対し良好な抑制効果が見られ、無接種における無病果にほとんど劣らない果実がで



第3図 弱毒株 SH 33 b を接種せず、強毒ウイルスが自然感染し、ネット間に玉えそを生じているマスクメロンの果実 (左) と、SH 33 b を接種しておいたマスクメロンの果実

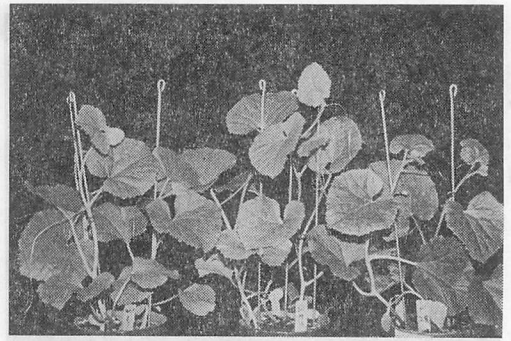
きるといふ結果であった (第3図)。しかしこの試験でも SH33b 接種では栽培の初~中期に特に生育が抑えられ、現在のところ栽培技術によって補う必要がある。この点に関しては弱毒株の今後の改良が必要と考えられる。また初期には植物が弱勢であるためストレスや薬剤の影響についても今後十分の検討が必要である。

II カボチャモザイクウイルス (WMV)

WMV はひも状のウイルスで、ジャガイモYウイルス (PVY) などと同じグループに属しており、従来大きくは WMV-1 と WMV-2 に分類されてきた。わが国に存在するものについても、いくつか性質の異なるものがあるようである (山本ら, 1982)。筆者らは四国農業試験場の山本孝彦氏 (当時) から分譲された2株、EおよびMから弱毒株を分離することとした。Eは愛媛県農業試験場でキュウリより分離された株で、Mは山本氏によりアレチウリから分離されたものである。なお、EとMとは血清学的に異なることが山本ら (1982) によって報告されている。

WMV はアブラムシによって伝搬され、多くのウリ類に激しいモザイク病を起こすので、特に防除が望まれているウイルスの一つである。プリンスメロン栽培でも WMV による被害が甚大であり、本研究では研究を進めて行くうえで、植物材料としてプリンスメロンを選んだ。Eはプリンスメロンに激しいモザイク症状を生じさせ、Mによる症状はそれより軽い、やはり非常にはっきりしたモザイクを生じる。

WMV の弱毒株の計画的な作出は CGMMV と比べるとかなり難しい。原因はいくつか存在するが、局部病斑を形成する宿主 *Ch. amaranticolor* が感染阻害物質を



第4図 WMV 弱毒株 2-1 の強毒株Mに対する干渉効果
左: 2-1 単独, 中: 2-1 を一次接種し, Mを二次接種したもの, 病徴は微弱.
右: M単独, 強い病徴.

含み、局部病斑からプリンスメロンに WMV を感染させるにくいこと、弱毒化されると *Ch. amaranticolor* に病斑を作りにくくなるもの (例えば弱毒株 emmb) があることなどが挙げられる。*Ch. amaranticolor* の病斑からマスクメロンにウイルスを感染させることは、Mでは40%程度可能であったが、Eでは1~2%にすぎなかった。この点でもMとEは異なっている。現在得られている弱毒株 2-1 と emmb は、特に人工的な処理を加えず、MまたはEから分離されたものである。

1 弱毒株 2-1

Mを *Ch. amaranticolor* の局部病斑で継代したのち、病斑を1個ずつ分離し、汁液を作り、プリンスメロンに接種を行って回収されたウイルス株のうち、病徴の弱い株として選ばれたものが 2-1 である (大島ら, 1981b)。

干渉実験はプリンスメロンの子葉に 2-1 を一次接種し、12日後本葉にMまたはEを二次接種した。対照として無接種と 2-1, MおよびE単独の区を設けた。二次接種後2週間~1か月の病徴観察では、2-1 はMに対し病徴の程度を弱める効果を示した (第4図)。しかしEに対しては、Mに対する効果と比べると干渉効果はかなり弱く、Eの病徴ははっきりしていた (本吉・西口, 1982)。

2 弱毒株 emmb

MとEとの間の干渉効果を調べる実験を行った際、両ウイルスを接種したプリンスメロンから大変弱い病徴しか生じない株を得た (大島ら, 1981b)。この株はその後プリンスメロンおよびマスクメロンへの継代接種を続け、現在の株 emmb はプリンスメロンにほとんど病徴を生じさせない。ELISA 法による検査では、emmb はEに対して作られた抗体と反応するので、Eから変異に

よって生じたものであらうと考えられる。ただしEに対する干渉効果は強くないようであり、千葉県農業試験場でも同様の結果を得ている。

おわりに

以上述べてきたように、CGMMV については、まだ改良が必要ではあるが、実用可能な弱毒株が得られた。一方 WMV では、若干の弱毒株が得られたが、実用についてはこれから検討する段階にある。

CGMMV-スイカ系はかつてスイカのコンニャク果の病原として、スイカ栽培に大きな被害をもたらした。スイカの病害は種子消毒や土壌消毒によって避けられたが、CGMMV はその後マスクメロンの玉えそ症の病原として再び大きな被害をもたらすようになった。作物の品種や栽培様式の多様化とともに、ウイルスが思いがけない被害をもたらすことは今後も十分起こりうることで

ある。ウリ類にかぎらず、重要な作物におけるウイルス病防除のためには、ウイルス抵抗性品種の育成とともに、干渉作用を利用した弱毒株使用による防除方法を確立しておくことが必要であると思われる。

引用文献

- 1) 本吉総男ら (1981) : 日植病報 47 : 421.
- 2) _____・西口正通 (1982) : 同上 48 : 293.
- 3) _____ら (1984) : 昭和 59 年度日本植物病理学会大会講演要旨予稿集 : 155.
- 4) 大沢高志ら (1984) : 同上 : 156.
- 5) 大島信行ら (1981 a) : 日植病報 47 : 139.
- 6) _____ら (1981 b) : 同上 47 : 139.
- 7) RAST, A. TH. B. (1972) : Neth. J. Pl. Path. 78 : 110~112.
- 8) TAKAHASHI et al. (1969) : Japan. J. Microbiol. 12 : 187~193.
- 9) VAN VLOTEN-DOTING et al. (1980) : J. Gen. Virol. 46 : 415~426.
- 10) 山本孝孺ら (1982) : 日植病報 48 : 613~619.

中央だより

—農林水産省—

○難防除病害虫特別対策事業打合せ会開催さる

昭和 59 年度難防除病害虫特別対策事業打合せ会が次のとおり開催された。

1. CTV 弱毒ウイルス関係

- (1) 日 時 : 昭和 59 年 5 月 8 日 10 時~17 時
- (2) 場 所 : 農林水産省農蚕園芸局第 2 会議室
- (3) 出席者 : 群馬, 静岡, 和歌山, 広島, 愛媛, 佐賀各県, 果樹試験場, 同興津支場, 同口之津支場, 地方農政局, 植物防疫課, (社)日本果樹種苗協会

2. ハスモンヨトウ核多角体ウイルス関係

- (1) 日 時 : 昭和 59 年 5 月 17 日 13 時~17 時
- (2) 場 所 : 農林水産省農蚕園芸局第 2 会議室
- (3) 出席者 : 埼玉, 香川, 愛媛, 鹿児島各県, 農業研究センター, 植物防疫課, (社)農林水産航空協会

○果樹アザミウマ類の発生予察特殊調査計画検討会開催さる

果樹アザミウマ類の発生予察方法の確立に関する特殊調査計画検討会が 5 月 9 日農水省農蚕園芸局第 1 会議室において、関係県, 果樹試験場, 植物防疫課の担当官が

参集し開催された。

会議では、①果樹以外の主要な寄主植物の種類及びその上での発生消長調査、②各種トラップを用いた発生消長調査、③浸漬法による果実、新梢上での個体数調査、④越冬生態調査、⑤果実被害調査と要防除水準の設定等について計画の検討が行われた。

○特殊病害虫防除に関する打合せ会開催さる

特殊病害虫防除に関する打合せ会が、5 月 15~16 日横浜植物防疫所会議室において、鹿児島県, 沖縄県, 東京都, 農業環境技術研究所, 果樹試験場, 横浜・門司・那覇の各植物防疫所, 沖縄開発庁, 国土庁, 沖縄総合事務局, 九州農政局, 小笠原総合事務所, (社)農林水産航空協会及び植物防疫課の担当官が参集し開催された。

会議では、①昭和 58 年特殊病害虫特別防除事業の実施状況、②昭和 59 年度特殊病害虫特別防除事業の実施計画、③ウリミバエの不妊化成虫の空中放飼に関する試験について等の検討が行われた。

○生物利用防除技術導入事業現地検討会

昭和 59 年 6 月 8 日, 鹿児島県指宿市において、静岡, 鹿児島等関係各県, 農林水産省果樹試験場, 九州農政局及び植物防疫課の担当官が出席のもとに開催された。会議は、58 年度の事業実施状況, 問題点及び 59 年度の事業実施計画について検討が行われた。また、会議終了後、天敵放飼現場において、天敵の寄生状況等について調査が行われた。

特集：弱毒ウイルス〔4〕

弱毒ウイルス利用によるカンキツトリステザウイルスの被害回避

農林水産省果樹試験場興津支場 小 泉 銘 冊

はじめに

カンキツトリステザウイルス (CTV) はアブラムシで伝搬され、その被害の激しさから世界的に問題になっている。本ウイルスは中国・日本付近に古くから分布していたと考えられており、この地域で栽培されてきたカンキツや台木には抵抗性のものが多い。わが国でもっとも栽培の多いカラタチ台ウンシュウミカンはその代表的なものである。これに対し、地中海地方では2千年以上もCTVフリーの状態であったため、この地域で発達してきた品種には比較的、罹病性のものが多い。

近年、わが国ではウンシュウミカンの生産過剰、消費し好の多様化などに伴い、ネーブル、タンゼロ、タンゴールなどへの品種更新が活発である。これらは地中海地方由来のもの、あるいはそれを交配親として育成されたもので、CTVに罹病性のものが多い。幸い、わが国ではCTV抵抗性のカラタチを台木としているため、トリステザ病 (quick decline) は起こらないが、師部組織の部分的え死に起因するステムピッキング病が起り、樹勢の低下やわい化、果実の小玉化をもたらし、問題になっている。

さらに、カンキツは長年にわたって接ぎ木繁殖を行ってきたため、種々のウイルスを保毒し、なんらかの生理障害を起こしているものが多い。そのため、熱処理、茎頂接ぎ木などの手法を使ってウイルスフリー苗の作出が進められている。しかし、わが国のように、周囲のカンキツがCTVを保毒し、その有力媒介昆虫であるミカンクロアブラムシ (*Toxoptera citricida*) が定着している現状では、定植した罹病性カンキツのウイルスフリー苗はたちまち強毒ウイルスに感染し、激しい被害を受けることになる。そこで、弱毒ウイルスの強毒ウイルスに対する干渉効果を利用し、ウイルスフリー苗に適当な弱毒ウイルスを接種してほ場に植え出す試みが進められており、すでに一部では実用段階に達している。ここでは内外の報告を紹介し、今後の問題点を述べてみたい。な

Control of Citrus Stem Pitting Disease Caused by Citrus Tristeza Virus Using Mild Strain of Citrus Tristeza Virus or Citrus Vein Enation Virus: A Review. By Meisaku Koizumi

お、誌面の制約でCTVの系統問題を省略したので、その点は宮川の総説¹⁷⁾を参照されたい。

I ブラジルにおける実例

CTVに弱毒系統が存在することを最初に明らかにしたのはGRANT and COSTA⁹⁾である。ブラジルにおいて、アメリカ農務省との共同研究、トリステザ病抵抗性台木の探索の中で偶然見いだしたもので、この弱毒株を保毒しているカンキツにアブラムシで強毒CTVを接種しても激しい病徴を生じないことを認めた。その後GRANT and HIGGINS¹⁰⁾は、メキシカンライム上での反応でCTVをvery mild, mild, severeの3系統に分けた。また、カンキツの同一個体中にこれら弱毒系と強毒系が混在していることをも認めた。メキシカンライムに弱毒株と強毒株を同時接種した場合には干渉効果は見られず、弱毒株接種4か月後に強毒株を接種すると干渉効果が現れること、very mild strainはmild strainよりも優れた干渉効果を示すことなどを認めた。GIACOMETTI¹⁸⁾らは、very mild strainのCTVをサワーオレンジ(SO)、ユーレカレモン、マーシュグレープフルーツ(GFT)、ガレゴライム、ペラオレンジ、リオマンダリン、*C. webberii*の7種実生苗木に接種し、4か月後に第1回、10か月後に第2回の強毒接種を行った結果、サワーオレンジとユーレカレモンで明らかな干渉効果を認めた。

MÜLLER and COSTA¹⁹⁾は、トリステザ病が激しく発生している園内から症状の軽い樹、80本を選び出し、そのうちの45本から穂木を採取してトリステザ抵抗性台木(ラングプアーライムなど)に接種し、そこにペラオレンジ、ガレゴライムおよびルビーレットグレープフルーツの珠心胚実生の穂木を接ぎ、人工接種およびほ場における自然感染での干渉効果を調べた。4年半後の調査²⁰⁾では、ガレゴライム上で、ガレゴライム由来の8株の弱毒ウイルス前接種区で明らかな干渉効果を認め、そのうちの2株は特に優れていた。なお、干渉効果の増強を期待して3種の弱毒ウイルスを混合接種したが、効果の増強は認められなかった。その後、ペラオレンジでは3系統の弱毒株が優れた効果を示し、なんらステムピッキング病の発生を認めていない²¹⁾。1968年以降、

その効果に注目した生産者によって、1千万本の弱毒ウイルス保毒苗が作られ、その一部はすでにほ場で収穫をあげている。また、強毒株“Capao Bonito”系に対しても強い干渉効果を示し、本強毒株が分布している地域の2か所の農園で10年間栽培された結果、なお良好な生育を示している。また、この弱毒株を他のスイートオレンジ(SW)珠心胚実生に接種し、1972年以降、ほ場に定植したが、8年後の今日までウイルスフリーだった対照のものより生育良好であると報告している。なお、ブラジルにはわが国と同様、SY成分を含むCTVのfull complexとミカンクローブラムシが分布している。

II オーストラリアにおける実例

干渉効果利用については、オーストラリアでも古くから試験を重ねている。STUBBS²⁶⁾は、レモン苗に接ぎ木接種した場合にSY反応(黄化と激しい生育阻害)を起こさないCTVをほ場のリスボンレモン、マイヤーレモン、マーシュグレープフルーツから探索し、サワーオレンジ(SO)台スイートオレンジにミカンクローブラムシで前接種後、seedling yellows系CTV(CTV-SY)を接ぎ木接種した。その結果、リスボンレモンからのものは不完全ではあるが、干渉効果を示した。THORNTON and STUBBS²⁸⁾は、これをSO台マーシュグレープフルーツに接種し、ほ場に植え出した。マーシュグレープフルーツの穂木はほ場で見いだした30年生の無病徴、ライムテスト陰性のものから採種したものである。10年間はほとんど差がなかったが、その後、弱毒ウイルスを接種しなかった対照区の25本はすべて衰弱したのに対し、弱毒株接種区では35本中11本で病勢が進んだ以外は健全であった。しかしSW台マーシュグレープフルーツの対照区に比べると劣っていた²⁹⁾。SW台マーシュグレープフルーツで15年経過後もステムピッキング病が出なかったことは、穂木に用いたマーシュグレープフルーツになんらかの干渉作用因子が存在していた可能性を示唆する。

FRASER⁷⁾は、ほ場のグレープフルーツから採取した弱毒株をラフレモン台およびカラタチ台のグレープフルーツ実生に接種し、ほ場に植え付けた。20年間観察した結果、対照区では11本中8本で衰弱したのに対し、弱毒株接種区では117本中6本が衰弱し、4本で病勢が進んだだけで、他のものはすべて健全で、大きな果実を生産した。なお、強毒株を接ぎ木法で二次接種すると干渉効果は見られなかった⁶⁾。オーストラリアにはわが国と同様、CTV-full complexとミカンクローブ

ラムシが分布している。

III インドにおける実例

BALARAMAN¹⁾は、サワーライム上で接ぎ木による干渉効果の試験を行い、CTVのmild系と強毒系との間には明らかな干渉効果があること、しかし、この干渉効果は弱毒株と強毒株を同時に接種した場合には現れず、弱毒株接種8週間後に強毒株を接種すると現れることを認めた。BALARAMAN²⁾は、サワーライム自根樹にvery mildとmildの弱毒ウイルスを接種し、ほ場に定植したが、5年経過後も生育良好で収穫が多く、対照の無接種区より優れていると報告した。同様な干渉効果はシロン上でも認めている³⁾。

IV アメリカにおける実例

アメリカに分布するCTVは、アジアや南アメリカ、オーストラリア、南アフリカの諸地域に分布するCTV-full complexとは異なり、CTV-SPおよびトリステザ系が主体である。また、アブラムシもミカンクローブラムシは分布せず、ワタアブラムシ(*Aphis gossypii*)が主たるvectorである。1950年代まで、ワタアブラムシは一部に局在していたCTV-SYをほとんど伝搬しなかったが、その後カリフォルニアではワタアブラムシで容易に伝搬するCTV-SY変異株が急増し問題になっている²²⁾。COHEN⁴⁾は、SO台スイートオレンジから採取した3株の弱毒ウイルスがほ場において良好な干渉効果を示すこと、しかし、強毒株を樹皮片挿入法で接種するとほとんど効果がないことなどを認めた。そしてフロリダではmild株が広く分布しているので、SO台でもquick declineが起らないと述べている。

WALLACE⁸⁾は、CTV-SYをユウレカレモン、サワーオレンジ、グレープフルーツに接種すると激しい症状が出るが、やがて症状が回復し、そこから穂木で採取した弱毒株(RSY)は元のCTV-SYに対し強い干渉効果を示すこと、ほ場条件下でSO台スイートオレンジに接種しておくことや生育が抑制されるものの3年間にわたってほぼ正常であることを認めた。

V わが国における研究の現状

わが国では古くからカラタチ台ハッサクにステムピッキング病が発生し、問題になっていた。広島県では無病樹の探索を行い、60年生の1樹(No. 55)を発見した。その後のライム検定で弱毒CTVを保毒していること²³⁾、さらに、vein enation virus(CVEV)をも保毒していることが認められた²⁴⁾。この保毒ウイルス(HM-

55) はメキシカンライム上で強毒株に対し干渉効果を示した²⁷⁾。しかし、佐々木²⁸⁾の実験では二次接種として強毒株を接ぎ木法で接種した場合にはほとんど効果はなく、アブラムシによる場合も 15 頭/苗以上では効果なく、5 頭/苗以下でしか効果が認められていない。前記弱毒ウイルス保毒原木から採穂し育成したカラタチ台ハッサクをほ場に定植した結果、8 年後までに 0~25% (平均 10%) の樹が発病したが、対照の既存繁殖系では 76% の高率であった²⁴⁾。

宮川¹⁸⁾は、健全なハッサク、ユズおよびウンシュウミカンから得た弱毒 CTV をウイルスフリーのカラタチ台ウンシュウミカンおよびユズ苗に接ぎ木接種し、ほ場に定植した結果、4 年後でも強毒株の感染がなく、ステムピッチングの発生もないことを認めた。小泉¹⁹⁾はウイルスフリーの状態ではほ場に栽植されていたカンキツ実生自根樹 2,000 本以上の中から CTV 症状のない樹を選抜し、その保毒ウイルスを調べた結果、弱毒 CTV のほかに CVEV 単独保毒のものが多くを認めた。その中に、グレープフルーツ実生苗上では干渉効果がないが、サワーオレンジ苗上で CTV-SY に対し干渉効果を示すものがあること、ユズ実生苗上でもアブラムシで接種した CTV-SP に対し不完全ながら干渉効果を示すことを認めた¹⁴⁾。その後 SASAKI²⁵⁾は、CVEV の一分離株を前接種したユズ実生にアブラムシの数を変えて強毒株を接種した結果、5 頭/苗の 3 回反復接種でもステムピッチングは発生せず、HM-55 よりむしろ効果が高いことを認めた。

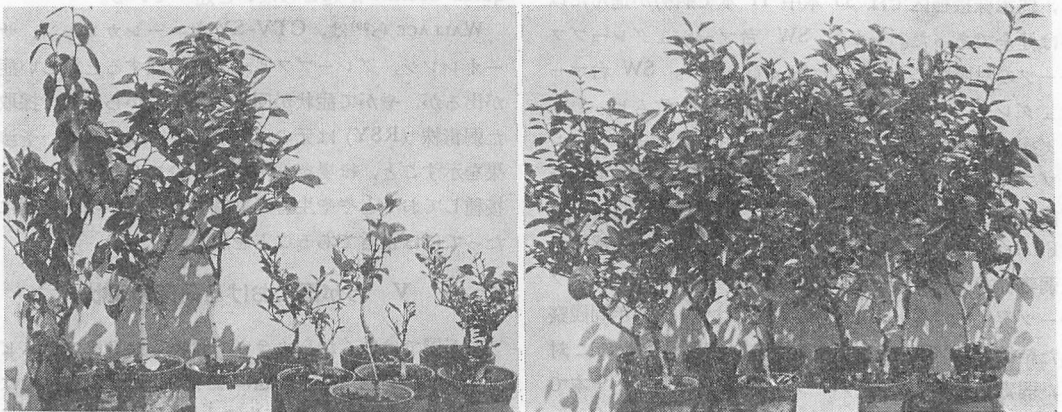
KOIZUMI¹⁵⁾は、外観健全なブンタン系実生樹 No. 145 から得た穂木をグレープフルーツ実生苗および SO

台スイートオレンジに接種すると、CTV-SY に対し強い干渉効果を示し、CTV が感染してもその濃度を低く抑えることを認めた。また、ガラス室内で各種カンキツ上で HM-55, No. 145 および CVEV を含む数種弱毒ウイルスの干渉効果を比較した結果、カンキツの種類によって効果のある弱毒株が異なることを認めている (小泉ら、未発表)。

家城¹¹⁾は、各種カンキツ 880 樹についてステムピッチングの発生程度を調べ、軽微なものについてライムおよびレモンに接種して検定し、弱毒株を探索した。そして、ライム上で干渉効果の認められたものについてウイルスフリーカラタチ台カンキツ苗に接種し、1 年後に数種強毒 CTV をアブラムシ (10~50 頭/苗) で接種して干渉効果を調べた。その結果、紅甘夏では M-16 (CTV mild+CVEV) がもっとも優れ、次いで HM-55 であり¹²⁾、清見では M-16、森田ネーブルでは M-8 (CTV-SP mild) および HM-55 の効果が優れていた (家城ら、未発表)。

VI 干渉効果利用上の問題点

以上述べた事例で明らかなように、弱毒ウイルスの干渉効果は接ぎ木で強毒ウイルスを接種すると破られる例が多い。また、アブラムシで接種した場合にも、アブラムシが多過ぎると破られる。このことは、弱毒ウイルスの干渉効果が不完全であることを示している。しかし、弱毒ウイルスを接種したグレープフルーツに強毒 CTV を感染させるには、前接種しなかったものに対するよりも多数のアブラムシが必要であること⁷⁾、自然感染に任せたものでは 20 年以上たっても、なお、干渉効果が持



ウイルスフリー区

弱毒ウイルス (No. 145) 前接種区

第1図 サワーオレンジ台スイートオレンジ上での干渉効果試験

ほ場のウンシュウミカン (CTV-full complex を保毒) で吸汁していたミカンクロアブラムシを放飼し、強毒ウイルスを接種。

続していること⁹⁾、ブラジルにおけるペラオレンジの例、わが国におけるハッサクの例などから考えて、適当な弱毒ウイルスさえ見いだせば、十分、実用性があるものと思われる。

しかし、弱毒ウイルスの保存および弱毒ウイルスを接種した原母樹の保存にあたっては、この干渉効果が不完全であることは重大な意味を持つ。もし、これら原母樹を自然感染の条件下に放置しておけば、やがて部分的であるにせよ強毒ウイルスの感染を受けることになる。採取した穂木がたまたまこのような部分であれば、干渉効果を期待できないだけでなく、幼木の段階から発病し、経済的栽培はできない。したがって、これら原母樹はアブラムシ対策を施した隔離施設内に保存すべきである。規模が大きい場合、やむをえず複製母樹を野外に置く場合には、定期的な検定と強毒ウイルス汚染樹の早期除去、ならびに定期的な複製母樹の更新が必要と思われる。

弱毒ウイルスの変異、特に強毒に変異する懸念があるが、現在までその事例は報告されていない。この点、引き続き観察する必要がある。

CTV に干渉効果があるとして注目された CVEV は、CTV と混合感染している場合が多い。アブラムシによる伝搬試験を行うと、これらがしばしば単離される。CVEV は、vector が CTV と共通であることはわかっているが、研究努力にもかかわらずその粒子は明らかでない。

ほ場に分布する CTV には、病原性や毒性の異なる種類の系統が混在している。ほ場に栽植されているカンキツ実生樹の中には、アブラムシの伝搬で分離した各種 CTV 系統が見いだされる。その中に、CTV-SY や CTV-SP、あるいはトリステザ系のほかに、SW を極度にわい化させる系統が認められた¹⁶⁾。このような強毒ウイルスに対し、これまで選抜してきた弱毒株が干渉効果を示すか否か、早急に検定する必要がある。

弱毒ウイルスの干渉効果は、あくまでもほ場に分布する強毒ウイルスとの関係であり、強毒ウイルスの系統あるいは構成要素に変化が起これば、効果が保たれる保証はない。強毒ウイルスに変化を起こさせる原因としては、カンキツの品種構成の変化、そして弱毒ウイルスの普及があるように思われる。すなわち、わが国にもっとも多く栽培されているカラタチ台ウンシュウミカンには CTV の full complex を保毒するが、カンキツの種類によっては、たとえ full complex の感染を受けても選択的に特定の系統しか増殖しない。このような品種が多くなると、アブラムシが伝搬するウイルスの系統が偏っ

てくる。弱毒ウイルスの普及によっても同様な変化が考えられる。ただし、後者の場合には、弱毒ウイルスだけが優勢になれば CTV の被害は出なくなり、好ましいことである。

わが国における弱毒ウイルスの利用は、ハッサクにおける HM-55 を除いてまだ緒についたばかりである。本年度から農林水産省植物防疫課が実施する難防除病害虫特別対策事業の一環として、CVEV を含めた新規開発弱毒ウイルスの利用が図られることになり、その成果が期待される。

引用文献

- BALARAMAN, K. (1980) : Proc. 8th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. p. 54~59.
- and K. RAMAKRISHNAN (1980) : *ibid.* p. 60~68.
- (1981) : *Zeitsch. Pflk. Pflsch.* 88 : 218~220.
- COHEN, M. (1976) : Proc. 7th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. p. 50~54.
- COSTA, A. S. and G. W. MÜLLER (1980) : *Plant Dis.* 64 : 538~541.
- COX, J. E. et al. (1976) : Proc. 7th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. p. 68~70.
- FRASER, L. R. et al. (1968) : Proc. 4th Conf. IOCV, Univ. Fla. Press, Gainesville. p. 27~31.
- GIACOMETTI, D. C. et al. (1965) : Proc. 3rd Conf. IOCV, Univ. Fla. Press, Gainesville. p. 14~17.
- GRANT, T. J. and A. S. COSTA (1951) : *Phytopathology* 41 : 114~122.
- and R. P. HIGGINS (1957) : *ibid.* 47 : 272~276.
- 家城 洋之ら (1981) : 日植病報 47 : 95 (講要).
- ら (1984) : 同上 50 : 85 (講要).
- 小泉 銘冊ら (1980) : 同上 46 : 415 (講要).
- KOIZUMI, M. and A. SASAKI (1980) : Proc. 8th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. p. 48~50.
- and S. KUHARA (1983) : Proc. 9th Conf. IOCV (in printing).
- 小泉 銘冊 (1984) : 日植病報 50 : (講要) (印刷中).
- 宮川経邦 (1982) : 植物防疫 36 : 426~430.
- ら (1983) : 徳島県果試研報 11 : 9~13.
- MÜLLER, G. W. and A. S. COSTA (1968) : Proc. 4th Conf. IOCV, Univ. Fla. Press, Gainesville. p. 71~82.
- (1972) : Proc. 5th Conf. IOCV, Univ. Fla. Press, Gainesville. p. 171~175.
- (1980) : Proc. Fla. State Hort. Soc. 93 : 62~64.
- ROISTACHER, C. N. et al. (1980) : Proc. 8th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. p. 78~82.
- 佐々木 篤 (1967) : 日植病報 33 : 162~167.
- SASAKI, A. (1979) : *Rev. Pl. Prot. Res.* 12 : 80~87.
- (1981) : 広島県果試研報 7 : 9~17.
- STUBBS, L. L. (1964) : *Austra. Jour. Agr. Res.* 15 : 752~770.
- 田中 寛康ら (1968) : 園試報 B8 : 79~90.
- THORNTON, I. R. and L. L. STUBBS (1976) : Proc. 7th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. p. 55~57.
- et al. (1980) : Proc. 8th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. p. 51~53.
- WALLACE, J. M. and R. J. DRAKE (1976) : Proc. 7th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. p. 58~62.

ハスモンヨトウ核多角体病ウイルスの増殖手法とその問題点

農林水産省農業研究センター おかだひねお
岡 田 斉 夫

ハスモンヨトウ核多角体病ウイルスの利用については、昭和59年度から農林水産省植物防疫課の防除事業として県農業試験場で量産し、本害虫の防除に使用されることになった。天敵ウイルス利用による害虫防除には、目的とするウイルスを大量に確保する必要がある。一般に昆虫ウイルスの大量増殖には感受性宿主昆虫の幼虫が利用されている。そこでまず宿主であるハスモンヨトウ幼虫の大量累代飼育手法について、次にハスモンヨトウ核多角体病ウイルスの増殖手法について、その問題点を折りまげながら記述する。

I ハスモンヨトウの大量累代飼育

1 飼育環境、準備

1) 飼育室：ハスモンヨトウは飼育時の光周期による休眠あるいは発育変化は見られない。飼育温度は25~26°C 恒温、湿度は40~60%であることが望ましい。温度が28°C以上あるいは22°C以下では繁殖力が低下する。またつゆ期などで湿度が70%以上になると飼料が腐敗しやすい。若齢幼虫はさう光性が高く、明りが無いほうが均一に発育しやすいので飼育室に暗箱を設置し、1~2 齢幼虫はここで飼育したほうがよい。

2) 飼育容器：飼育容器は虫の態あるいは幼虫齢期によって例えば第1表の容器を用いていた。幼虫の飼育には大、中、小と3種の容器を使用する。若齢幼虫を大き

い容器で飼育すると不ぞろいになりやすい。また容器内が多湿あるいは乾燥しないようにふたに適当な穴を開けてパイレン網を張って湿度の調節をする。

3) 病気の予防と容器の消毒：ハスモンヨトウの幼虫も各種の病原微生物に侵されやすい。累代飼育虫に侵入した病原微生物、特に胞子虫やウイルスはこれを取り除くことは容易ではない。そこで室内、定温器、実験台などは常に清潔に保ち、使用した飼育容器は次亜塩素酸ナトリウムの1%液(市販の本剤は有効塩素が12%であるから約10倍に希釈する)槽を用意して使用済みの容器を1昼夜浸漬して消毒する。実験台上も飼育作業終了時に本剤で消毒する。使用したピンセットはクレゾール石鹼の5%液に1昼夜投入して消毒する。

4) ハスモンヨトウの入手：野外採集した虫あるいは他の研究機関から譲り受けた虫から飼育を始めることになる。いずれにしても胞子虫やウイルスなどに感染していないか確認してから累代飼育に移ったほうがよい。特に野外で採集した虫はいろいろな病原微生物に感染していることがある。

そこで試験管(径2cm、深さ10cm程度が便利)に綿栓をし乾熱滅菌した後、人工飼料を約7gずつ入れて幼虫を個体飼育する。産卵させた雌成虫の腹部を解剖して生物顕微鏡を用いて600倍で検鏡し、胞子虫の有無を観察する。ハスモンヨトウの場合は1齢から人工飼料

第1表 飼育容器の種類

容器名(仮称)	容器の大きさ	ふたの穴		
		数	大きさ(cm)	網のメッシュ
成虫飼育用容器	長径26cm, 短径20cm, 高さ6cm, 合成樹脂製容器	—	—	—
卵飼育用容器	径9cm, 高さ2cm, 合成樹脂製シャーレ	—	—	—
若齢(1~2 齢) 幼虫飼育用容器	径9cm, 高さ2cm, 合成樹脂製シャーレ(すり合わせのよいもの, 例ギヤマン)	—	—	—
中齢(3~4 齢) 幼虫飼育用容器	長径20cm, 短径15cm, 高さ5cm, 合成樹脂製容器	2	径3	50
老齢(5~6 齢) 幼虫飼育用容器	長径26cm, 短径20cm, 高さ6cm, 合成樹脂製容器	4	径3	30
蛹飼育用容器	長径26cm, 短径20cm, 高さ6cm, 合成樹脂製容器	—	—	—

第2表 人工飼料の組成

組 材	組成 1	組成 2
インゲンマメ粗びき	1,000 g	—
インゲンマメ (湿)	—	1,000 g
フスマ粗びき	1,000	500
エビオス	400	200
L-アスコルビン酸	40	20
p-オキシ安息香酸メチル	30	15
ソルビン酸	15	7
プロピオン酸	30	15
寒天	130	65
水	7,000	3,000

で飼育を始めて幼虫期間を健全に発育すれば、非感染虫とみてよいようである。

2 人工飼料の調製

人工飼料の組成は第2表に示した。本飼料の場合は主材となるインゲンマメ (ウズラマメ、金時、大正白金時、手亡、黒三度、五目豆、マスターピースなど、これらに類似するまめであれば変わりはないようであるが、ダイズ、ソラマメでは発育が遅延する) を粉碎機で1mm以下に、フスマは2mm以下に粗びきしておくことと便利である。飼料の混合には混合かくはん機を使用すると均質に調製することができる。まず組成1では、寒天以外の全組材と水7lのうち3lとを混合かくはん機で混合する。この場合L-アスコルビン酸、p-オキシ安息香酸メチル、ソルビン酸およびプロピオン酸は先に若干量の水とともにホモジナイザーで乳化しておくことと均質になりやすい。寒天は残りの水4lとともになべに直接入れて100°Cで30分以上、十分に加熱溶解し先の組材と速やかに混合する。棒状寒天を使用する場合は加熱開始前に水の中で、手でよくもみほぐすと溶解しやすい。

次に粉碎機や混合かくはん機を使用しない場合は組成2を調製する。インゲンマメ500gを流水に約1昼夜浸漬する。浸漬後柔らかくなったインゲンマメは約1kgである。これを水3lのうち1lとともにミキサーで細かく砕く。この磨砕の際にL-アスコルビン酸、p-オキシ安息香酸メチル、ソルビン酸およびプロピオン酸を加えると均質に混合することができる。これに寒天以外の組材を加えて混合する。寒天は残りの水2lとともになべに直接入れて100°Cで30分間以上加熱溶解し、全組材を混合する。室内にひと晩放置冷却後5°Cで保存すれば1か月は使用できる。

各組材の量は厳密なものではなく、1割程度の増減は本害虫の発育には支障を起こさない。防腐剤にジヒドロ酢酸ナトリウムを用いると幼虫の2~3割が黄色虫となって繁殖力がなくなるので本剤を使用してはならない。

3 飼育方法

1) 成虫：例えば、長径26cm、短径20cm、深さ6cmの合成樹脂製容器にザラ紙を裏打ちして、成虫を5~10対收容し、10%蜂蜜液を脱脂綿に含ませて与える。蜂蜜液は2日に1回取り換え、同時に産下された卵塊を切り取って別の容器で飼育する。成虫、特に雄は乾燥に弱いので容器の底に敷いたザラ紙に水を打つ。蜂蜜液の給餌には合成樹脂製ピストン缶 (軟こう入用) など、径3cm、深さ0.5cmのふたあるいは底に脂肪綿を敷き、蜂蜜液を含ませて与える。

2) 卵：すり合わせのよい容器に收容し、卵が黒くなるまで飼育する。

3) 幼虫：黒色化したふ化直前の卵塊を若齢幼虫飼育用容器に移す。沓紙を敷いた同容器に人工飼料を幅2cm、長さ5cm、厚さ5mm程度に切って入れ、この上に約300卵粒塊を置く。翌日ふ化状況を観察し全卵ふ化した卵塊に由来する幼虫を累代飼育用とする。

ふ化5日後に2齢終~3齢に発育する。ここで中齢幼虫飼育用容器へ移す。沓紙を敷いた同容器に幅、厚さとも2cm、長さ5cm程度の人工飼料を4、5本並べる。この上に若齢幼虫用容器の底に敷いていた沓紙ごと (飼料の残塊、糞のあるまま) 移す。

ふ化9日後に4齢終~5齢になる。ここで老齢幼虫飼育用容器に移す。ザラ紙を敷いた同容器に幅、厚さとも2cm、長さ5cm程度の人工飼料を6、7本並べ、100~150個体ずつ入れる。この上に二折したザラ紙を置く。ザラ紙は個体間の干渉を少なくし、共食いを防ぐ。また乾燥時にはこれを防止し、多湿時には吸湿して湿度調節の役目を果たす。

ふ化12日後 (6齢に達して1日後) にザラ紙を敷いた老齢幼虫飼育用容器に約50個体ずつ入れ、幅、厚さとも2cm、長さ5cmの人工飼料を6、7本与える。5齢期と同様に二折したザラ紙をその上に置く。2~3日後に飼料上に置いたザラ紙の上に飼料を補給し、さらにその上に二折したザラ紙を置く。ふ化後16~18日で飼料の残塊、糞の間、ザラ紙の間で蛹化する。

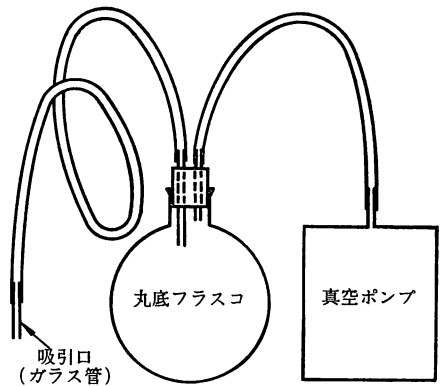
4) 蛹：蛹は取り出して別の容器で飼育する。蛹は乾燥に弱いので必ず保湿する。蛹化した状態で飼育すると飼料の残塊や糞が腐敗して悪臭を放つ。

5) 各態の経過日数：25~26°Cで飼育した場合、卵期間は約4日、幼虫期間は約17日 (1齢2.7日、2齢2.2日、3齢2日、4齢2.1日、5齢2.5日、6齢5.6日)、蛹期間約10日、産卵前期間約3日、計34日で1世代を経過する。

6) 累代飼育上の注意：ハスモンヨトウも1対の親の

第3表 S1NPV 多角体大量生産用人工飼料

組材	飼料 A	飼料 B
インゲンマメ粗びき	1,000 g	1,000 g
フスマ粗びき	1,000	1,000
エビオス	400	400
L-アスコルビン酸	40	40
p-オキシ安息香酸メチル	30	30
ソルビン酸	15	15
プロピオン酸	30	30
水	3,000	4,000
多角体数	5×10^{11} 個	—
寒天	130	40
水	4,000	4,000



第1図 病死虫回収装置

子孫のみから累代飼育すると、比較的早く（3世代目あたりから）不受卵卵あるいは胚子まで发育してふ化しない卵を産むようになる。そこで、①早く産下された卵塊のみを累代飼育する、②全卵ふ化した卵塊に由来する幼虫のみを累代飼育用とする、③5齢まで发育のそりよい集団の、しかも发育の早い幼虫のみを累代飼育用とする、このように飼育すると累代飼育の影響は少なく、過去に昭和45年から53年まで、室内で80世代飼育し続けたことがあった。

II ハスモンヨトウ核多角体病ウイルスの大量生産

1 ウイルスのハスモンヨトウ幼虫への接種方法

ハスモンヨトウに核多角体病ウイルス (S1NPV) を感染させる方法に、①罹病虫体液を体腔内に注射する、②植物葉に多角体浮遊液を噴霧して添食する、③人工飼料表面に多角体浮遊液を噴霧して添食する、④人工飼料に多角体を混合して添食する、方法がある。④がもっとも高効率であるので、ここでは、この方法について記述する。

ハスモンヨトウの病死幼虫齢期と多角体生産量は2齢以降は体重の増加に比例して多角体生産量が急増し、6齢中期に死亡した場合に最大量に達する。したがって5齢中期に感染させ、6齢中期に発病、死亡させて回収する方法が本核多角体の大量生産にもっとも高効率である。

5齢中期幼虫に添食し感染させるための人工飼料中の多角体量は 3×10^7 (個)/g 飼料であるが、安定した感染をさせるため第3表、飼料A (多角体添食用飼料) を調整する。まず、インゲンマメ粗びき、フスマ粗びきなどを混合する水3lのうち0.5lと防腐剤3種および所定量の多角体とをホモジナイザー乳鉢に入れて乳化する。次に第3表、飼料Aの点線以上の全組材を混合かく

はん機の乳鉢に入れて混合する。寒天は水4lとともになべに入れかくはんしたのち、100°Cで30分間以上、十分に加熱溶解する。寒天溶解液の温度が高いと多角体の活性に影響する恐れがあるので、80°C以下に冷えてから混合かくはん機乳鉢に流入し、速やかに先の全組材と混合し、冷却する。

調製した多角体添食用飼料は、ザラ紙を2枚敷いた老齢幼虫飼育用容器に150gずつ分配する。5齢中期（5齢1日後）幼虫を150個体ずつ入れ、上に二折したザラ紙を置きふたをして48時間飼育する。

2 多角体添食後の飼育管理

S1NPVに感染したハスモンヨトウ幼虫は共食いが激しく、集団飼育では約半数の幼虫が共食いによって失われる。共食い防止のためザラ紙を幅1~2cmに切り、1容器当たり2枚分を緩衝物として入れると共食いによる損失を大幅に減少させることができるが、個体間の接触による損傷を防止することはできない。また病死虫の回収作業もきわめて困難である。

そこで個体飼育容器を作成し、これによって飼育するのが便利である。個体飼育容器は合成樹脂製板を使用し、次のように作製する。内寸法、長径40cm、短径30cm、高さ2.5cmの容器—(A)、長さ39.8cm、高さ2cm、厚さ1mm、および長さ29.8cm、高さ2cm、厚さ1mmの合成樹脂製板、各9本を直角に交差させ、その1角は長さ3.9cm、幅2.9cm、深さ2cmとなった仕切格子板—(B)を(A)に着脱自在に施す。(A)の短径壁片側は深さ2cmとし、他の短径壁内側および長径壁内側に深さ2.06cmを中心位置として幅1.2mm、深さ2mmの溝を切り込み、これに長径40.2cm、短径30.3cm、厚さ1mmの透明な合成樹脂製板—(C)を差し込み、長さ3.9cm、幅2.9cm、深さ2cmの飼育個室が縦10、横10、計100個得られるよ

うにする。ふたには通気のため各飼育個室に 1.5 mm の穴を 5 個、1 枚のふたに計 500 個せん孔する。

人工飼料 (第 3 表, 飼料 B) を調製し, 容器 (A) に 700 g ずつ流し込み均等にす。次に (B) を (A) の底板まで押さえ込む。上に新聞紙を置いて 1 昼夜放置後, 多角体添食虫を各飼育個室に 1 個体ずつ, 1 容器当たり 100 個体ずつ収容し, ふたをして斜めに立て掛ける。各容器が密着しないように容器間に緩衝物を挟み, 2 cm 程度あけて配列する。

3 病死虫の回収

SINPV 病死虫は皮膚が弱く破損しやすい。このためピンセットや葉さじでは回収できないので, 第 1 図のような真空ポンプを利用した吸引回収装置を作製し回収すると, 病死虫および流出した体液をきわめて容易に, かつ高効率に回収することができる。この場合, 回収容器には硬質ガラス製の丸底フラスコを用いる。その他のガラス容器の場合は, 減圧により破損の危険がある。

4 容器の消毒, 洗浄

個体飼育容器の飼料の残塊, 糞には多量の多角体が残っているので慎重な取り扱いが必要である。まず仕切格子板 (B) を取り外し, 容器 (A) の飼料の残りおよび糞を金属製へらで除去し, 燃却する。(B) を (A) に入れ, 次亜塩素酸ナトリウム液槽に 3 日間程度浸漬し消毒したのち水洗する。

III 多角体濃度の測定, および感染価の算定

1 多角体濃度の測定

SINPV 病死虫体に, その約 3 倍量の脱イオン水を加えてホモジナイザーで磨砕し, 100 メッシュの 戸過板

(パイレン網, またはテロンゴース) で戸過する。戸液中の多角体 (ウイルス封入体) を 1,000 g ~ 2,000 g (一般の遠心沈殿器, 容量 50 ml × 4 本架は 3,000 ~ 4,000 rpm) で 15 分遠心して沈殿させる。上清を捨てて沈殿物に脱イオン水を加えて駒込ピペットで再浮遊させ遠心洗浄する。この遠心洗浄を 2 ~ 3 回繰り返したのち, 多角体浮遊液にトリトン X-100 (pH 7.0) をごく少量添加して 10 倍階段希釈する。多角体数の測定は血球計算盤を用いて顕微鏡 (600 倍) 下で算定する。この場合, 血球計算盤上の多角体が 50 ~ 500 個程度となる濃度で測定する。

2 感染価の算定

本来, SINPV 多角体の力価検定は, 多角体標準品を設定して感染力価を測定すべきである (岡田, 1976) が, ここでは感染価の算定について記述する。

10 倍階段希釈した多角体浮遊液の $10^2 \sim 10^6$ (多角体) / ml を植物葉 (シロクロバ, ダイズなど) に塗布し, 風乾後にハスモンヨトウの脱皮直後の 2 齢幼虫に 48 時間食下させる。供試虫数は 1 濃度当たり 30 個体とする。接種後幼虫は人工飼料を与えて個体飼育で 15 日間観察し, 死亡虫は顕微鏡で検鏡し多角体の有無を判定する。個体飼育は, 例えば径 1.6 cm, 深さ 10 cm の試験管に綿栓を施し乾熱滅菌したものをを用いる。感染価 ($-\log LC_{50}$) が 10^2 (多角体) / ml のオーダーであれば十分としてよいようである。

引用文献

- 1) 岡田齊夫 (1975): 農薬 22: 46~49.
- 2) ——— (1976): 中国農試報 E 12: 1~66.
- 3) ——— (1977): Rev. Plant. Protec. Res. p. 102~128.

次号予告

次 9 月号は下記原稿を掲載する予定です。

特集: コガネムシ類

ドウガネブイブイの発生生態 稲生 稔・高井 昭
オオクロコガネの発生生態 吉岡幸治郎・山崎康男
コガネムシ類成虫に対する誘引物質

横溝徹世敏・永田健二

植物防疫基礎講座

ドウガネブイブイの飼育法 甘日出正美

アカピロウドコガネおよびヒメコガネの飼育法

澤田 正明

青果物市場病害研究の現状

永田英明・山下修一・土居養二

ナシのハマキガ類の寄生性天敵昆虫 行成 正昭

ウメにおける白紋羽病の被害実態

宮本久美・山本省二

都道府県の植物防疫体制とその活動〔広島県〕

——病害虫防除所を中心にして—— 本実 慈朗

植物防疫基礎講座

植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べか

た (3)

後藤正夫・瀧川雄一

定期購読者以外の申込みは至急前金で本会へ

定価 1 部 500 円 送料 50 円

ココクモンハマキ類の天敵ウイルスの増殖手法とその問題点

農林水産省果樹試験場 佐藤 威^{さ とう たける}

リンゴココクモンハマキ *Adoxophyes orana fasciata* とチャノココクモンハマキ *Adoxophyes* sp. に対する、天敵ウイルスを利用した新防除技術の確立が進められている。本技術が普及段階へと発展していくためには、まだ幾多の難問を解決していかなければならない。そのためには、まずもって素材であるウイルスの確保が先決事項である。ここではココクモンハマキ類の天敵ウイルスの量産方法の現状と、これに関するいくつかの問題点を整理してみたい。

ココクモンハマキ類の天敵ウイルスは、今までに6種類が発見・分離されている。これらのウイルスのうち、どれを量産するかは、利用上の特性を十分に考慮して決めなければならない。

そこで、まず本題に入るに先立ち、これら天敵ウイルスの利用上の性質について簡単に述べてみたい。

I コクモンハマキ類の天敵ウイルスとそれらの利用特性

1 リンゴココクモンハマキ顆粒病ウイルス

本ウイルス (以下、AoGV と略記する) は AIZAWA and NAKAZATO (1963) によって最初に報告されたが、現在、筆者らが用いている株は、本間健平氏により 1967 年に再発見されたものである。AoGV は発見宿主であるリンゴココクモンハマキと、同胞種チャノココクモンハマキに病原性があることが知られている。最近、ソ連からの情報によれば、ハマキガの一種 *Polychrosis botrana* に対しても病原性であるという (CHKHUBIANISHVILI, 1983, 私信)。

AoGV の利用上の最大の特徴は、若齢幼虫期に高濃度のウイルスを摂食し感染した個体であっても、老熟幼虫期まで発育・生存する点であろう。したがってココクモンハマキ類のように食害性昆虫では、散布世代での被害軽減効果は期待されず、次世代の密度低減効果に依存せざるをえない。この特徴は本ウイルスを増殖しようとする場合にはつごうの良い点である。また、AoGV 罹病幼虫は体表が黄白色を呈し、やがて死ぬが、死体は数日間はそのままの形状で保たれる。これも特徴の一つと言えよう。

AoGV は野外散布実験が行われた唯一のコクモンハマキ類の天敵ウイルスであり、リンゴ園や茶園での有効性が実証されている。それらの結果は、志賀・中沢 (1980)、小泊 (1980) に要約されている。

2 リンゴココクモンハマキ核多角体病ウイルス青森株

本ウイルス株 (以下、AoNPV (A) と略記する) は佐藤・於保 (1980) により青森県下のリンゴ園で採集したリンゴココクモンハマキ幼虫より分離された。AoNPV (A) も発見宿主と同様に、チャノココクモンハマキにも病原性を示す。本ウイルスに感染した幼虫は 2~3 週間以内に死亡する。AoNPV (A) の病原力の強さの程度は、前述の AoGV と次に述べる AoNPV (N) との中間程度である。

3 コクモンハマキ核多角体病ウイルスオランダ株
本ウイルス株 (AoNPV (N) と略記) はヨーロッパに分布するココクモンハマキ *Adoxophyes orana (reticulana)* の核多角体病ウイルスとして、PONSEN and DE JONG (1964) によって報告されたものであり、両博士の好意により導入してきたものである。

AoNPV (N) はリンゴココクモンハマキとチャノココクモンハマキの両種幼虫に対し、強い病原性を示す。若齢期に感染した幼虫は、1~2 週間以内に死亡する。若齢ほど、また、高濃度感染虫ほど早く死亡する。

AoNPV (A) および AoNPV (N) 罹病幼虫はしだいに黄白~黄褐色を呈するようになり、表皮が破れやすくなる。死後、虫体は茶褐色に変じ、体液の流出が見られる。

両ウイルス株とも、ほ場散布実験はまだ行われていないが、室内実験および網室内散布実験の結果から推察すると、散布世代においても被害軽減効果が期待できる素材であるように思われる。

4 コクモンハマキ細胞質多角体病ウイルス

本ウイルスは PONSEN and BRUINVIS (1963) により、ココクモンハマキ *Adoxophyes orana (reticulana)* より発見された。利用上の性質については不明である。

5 チャノココクモンハマキ細胞質多角体病ウイルス
本ウイルスは渡部 (1973) によって、チャノココクモンハマキ幼虫から発見された。このウイルスも、利用上の特性についてはほとんど追究されていない。

6 チャノコカクモンハマキ昆虫ボックスウイルス

本ウイルスは宮崎県下の茶園で発生していたチャノコカクモンハマキ幼虫より分離された。発見者の石川ら(1983)によると、本ウイルスは発見宿主以外に、リンゴコカクモンハマキ、リンゴモンハマキ、ミダレカクモンハマキ、チャハマキに病原性を示すという。また、チャノコカクモンハマキの場合、若齢幼虫に高濃度のウイルスを接種すると、幼虫態での死亡率が高まるが、4~5齢幼虫に接種した場合、あるいは、低濃度のウイルスを接種した場合は蛹態での死亡率が高まるという。

本ウイルスの利用上の特徴は、宿主範囲が比較的に広いことであろう。本ウイルスを用いれば、リンゴ園や茶園で同時発生しているハマキ類幼虫の、同時防除が可能になるかもしれない。

上記の6種類のコカクモンハマキ類の天敵ウイルスのうち、ほ場もしくは網室内散布実験が行われたウイルスは、AoGV, AoNPV (A), AoNPV (N) の3種類である。これらの散布実験の結果からは、AoGV は直接的に被害に結びつかない世代の、また、AoNPV (N) は被害に結びつきやすい世代の、それぞれふ化期前後に散布することが望ましいと推察される。

そこで、これら3種類の天敵ウイルスの増殖方法について述べてみたい。

II 天敵ウイルス増殖用宿主の選定

一般に罹病虫の体重と、ウイルス含有量は比例している傾向があり、増殖用宿主には大型昆虫を用いるほうが有利である。しかしながら、コカクモンハマキ類の天敵ウイルスでは、残念ながらこのような代替宿主は見つかっていない。かつて、PONSEN (1966) は AoNPV (N) の増殖用宿主としてヨトウガ幼虫を用いることを提唱したが、JURKOVICOVA (1979) は、これはヨトウガのウイルスの感染に帰因するものと結論づけ、ヨトウガ幼虫は利用できないとされた。

前述のように、コカクモンハマキ類の天敵ウイルスのいずれもが、リンゴコカクモンハマキとチャノコカクモンハマキの両方に病原性を示す。この両種を天敵ウイルス増殖用宿主の面から比較すると、終齢幼虫の生体重が重いこと、卵期や幼虫期における低温保管調整にも耐えること、さらに、近親交雑による悪影響も出にくいこと、などの点でチャノコカクモンハマキのほうが優れている。

III コカクモンハマキ類の天敵ウイルスの増殖施設

ある程度の天敵ウイルスの量産をしようとする場合、それなりの増殖設備を整えなければならない。自動化が達成されていない現状では、宿主昆虫の大量飼育のための設備と、ウイルス増殖のための設備とに大別される施設が必要である。

1 宿主昆虫の大量飼育施設

1) 飼育準備室：人工飼料や飼育用資材などを準備・調製するための部屋であり、オートクレーブ、乾熱滅菌器、混合かくはん器（例えば、三英製作所 5DM 型、あるいは、小平製作所扱いケンミックス）、はかり、それに荒茶などを粉末にするための粉砕器などを設置する。

2) 飼料・原料保管庫：人工飼料と、それらの調製用基材を保存するための、4°C 前後に保たれる冷蔵庫である。

3) 飼育作業室：蛹の取り出しや、卵塊の切り取りを行うための部屋である。大型冷蔵庫を一角に設置し、卵の切り取りや容器洗浄作業の前に、成虫の低温麻ひ処理を行うと蛾の逃避や鱗粉の飛散が防げてつごうが良い。

4) 飼育室：果代飼育を行うための部屋で、室温 26 ± 1°C、湿度 60% 前後、14 時間照明の環境条件が保たれることが必要である。中に、卵を接種する際の卵表面殺菌、給餌、接種やふ化卵塊の残渣の除去などを行うための、簡易型クリーンベンチを設置することが望ましい。

5) 飼育容器洗浄室：飼育規模と飼育容器に合った消毒槽（0.15% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液槽）と洗浄流し台を設置する。

2 ウイルス増殖施設

1) ウイルス接種室：ウイルスの卵塊接種あるいは幼虫接種を行うための部屋で、簡易型クリーンベンチや、ウイルス接種源調製の小型かくはん器などを備える。

2) 増殖室：ウイルス罹病虫の飼育を行うための部屋で、室温 26 ± 1°C、湿度 60% 前後で、作業時のみ点灯のできる暗室環境条件が望ましい。

3) ウイルス回収・製剤室：ウイルス罹病虫を回収し、製剤化するための部屋である。回収や製剤化に必要な機器、すなわち、真空吸引器、高速ホジナイザー、高速冷却（連続）遠心機、真空凍結乾燥機、混合かくはん器、粉砕器などを必要に応じて設置する。また、作業室全体を UV 照射のできる殺菌灯の配置も望ましい。作業者がウイルスで汚染されやすいので、必ず専用の手

洗い場も設ける。

4) ウイルス保管室：接種源ならびに生産ウイルスの保管を行うための、4°C前後の冷蔵庫である。

5) 増殖容器洗浄室：増殖容器と増殖規模、増殖スケジュールに合った消毒槽(0.3%次亜塩素酸ナトリウム水溶液槽)と洗浄流し台を設置する。

このほかに、ウイルス製剤の力価検定を行うための力価検定室なども配置する必要があるが、ここでは省略する。

IV 宿主昆虫チャノコカクモンハマキの大量飼育

宿主昆虫としてのチャノコカクモンハマキの具体的な飼育方法については、山谷・玉木(1972)や佐藤(1981)に詳しく述べてあるので、これらを参照していただくとして、ここでは割愛する。

V コカクモンハマキ類の天敵 ウイルスの大量増殖

コカクモンハマキ類の天敵ウイルスの中で比較的増殖の容易なAoGVの具体的な増殖方法については、すでに本誌35巻5号で紹介したので、これも参照していただきたい。ここでは、その後一部改良したAoGVの増殖方法と、AoNPV(A)およびAoNPV(N)の増殖方法の概略について述べてみたい。

1 AoGVの増殖方法

1) ウイルス増殖用人工飼料：市販のカイコの人工飼料(例えば、日本農産工業シルクメイト)なども、ウイルス増殖用飼料として活用できる。この場合、湿体飼料をそのまま用いると、防腐剤不足のためか、雑菌が繁殖することがある。多少煩わしくとも、粉体飼料をベースに、防腐剤(粉体1kg当たり、プロピオン酸ナトリウム10g、ソルビン酸カリウム2g、デヒドロ酢酸ナトリウム2g)と粉末寒天20gを加えて自家調製することが望ましい。

2) ウイルス接種方法：接種用ウイルス懸濁液は雑菌繁殖の見られなかった増殖容器から採った罹病虫を、滅菌水中で磨砕し、テトロンゴースなどで汙過したものを2,500rpm10分と8,000rpm20分の分画遠心により部分精製する。得られたウイルス包埋体を、殺菌剤のチオファネートメチル剤と界面活性剤のTriton X-100の各1,000倍液にペニシリンGとストレプトマイシンを少量加えた滅菌水に懸濁させる。接種源のウイルス濃度は、ほぼ1罹病虫当量/10mlとなるようにする。

産卵支持体より切り取った卵塊を眼点期(以下、黒化卵塊と呼ぶ)に、接種用ウイルス懸濁液に0.5~1分間

浸漬する。これを風乾もしくは、沓紙を直角に当てて水滴を除去する。これらを5~6卵塊(約350~400卵数)ずつ、アルミホイルのポートに載せて、人工飼料を約100g入れた増殖容器(プラスチック製密閉容器：大日本インキ製ディッキーK7, 28×19.5×6cm,あるいはサノヤ製K-6A, 25.5×19×9.5cm)に入れる。なお、接種に用いる卵塊には、卵塊全体が眼点期で黒化したものを用い、卵塊表面にかびなどの雑菌繁殖が見られないものを用いる。また、卵塊の残渣は接種後5日ほどして、ポートとともに容器から除く。

増殖容器内に、幼虫隔離用のパラフィン紙を入れると、罹病虫の体重は入れないものより増加し、接種卵粒数に対する罹病虫の歩留まりも良くなる。しかしながら、ウイルスの回収時には、この隔離体が作業効率を低下させる。したがって隔離用パラフィン紙は、箱の底面を軽く覆うぐらいの枚数(大型薬包紙の半切で30枚ぐらい)に抑える。

3) ウイルスの回収方法：接種後3週間ほどで、罹病虫を回収する。従来、個体ごとにピンセットでつまんで回収していたが、作業効率が悪い。この代わりに、BAUGHER(1974)や岡田(1977)が用いた真空吸引器を用いると、作業効率が多少向上する。

4) 増殖容器の消毒処理：罹病虫を回収した後の増殖容器はゴムベラを用いて残渣を捨て、そのまま0.3%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に、3日間以上浸し、ウイルスの無毒化処理をする。その際、容器全体が常に消毒液に浸っていることが肝心である。処理後、温湯で洗浄する。

2 AoNPV(A)の増殖方法

1) ウイルスの接種方法：接種用ウイルス懸濁液を調製するには、AoGVの場合と同様に、雑菌繁殖の見られなかった増殖容器から回収した罹病虫を用いる。罹病虫を滅菌水中で磨砕し、テトロンゴースなどで汙過したものを、1,000rpm5分と3,500rpm15分の分画遠心操作により部分精製する。得られたウイルス多角体をAoGVの場合と同様な滅菌水中に懸濁させる。血球計算盤を用いて含有多角体数を計測し、多角体数が 5×10^7 /mlとなるように、滅菌水で調整する。この接種源液に、黒化卵塊を浸漬処理する。その後の取り扱いかたや、増殖用容器、飼料、容器当たりの接種卵塊数はAoGVの場合とほぼ同じである。

2) ウイルスの回収方法：接種後2~3週間に、体色が黄褐色に変じた罹病虫を、前述の真空吸引器を用いて順次回収する。容器当たり得られる罹病虫数は平均約160個体で、1罹病虫当たりに含まれる多角体数は平均 2.0×10^8 である。

増殖に用いた容器の消毒・洗浄などは AoGV の場合と同様である。

3 AoNPV (N) の増殖方法

このウイルスは、前述の2種のウイルスより病原力が強いので、卵塊接種方法は適当ではない。この方法で高濃度のウイルスを接種すると、罹病虫は若齢のうちに死亡し、個体当たりのウイルス収量が少ない。逆に、接種源のウイルス濃度を下げると、罹病率が低下し、総収量が少なくなる。そこで、本ウイルスの場合は、めんどうでも幼虫に接種する方法を取らざるをえない。

1) ウイルス接種源の調製：接種用ウイルス懸濁液は、AoNPV (A) の場合と同様にして調製する。最終的に、多角体数が約 $2 \times 10^8/\text{ml}$ となるように調整する。これをまだ固化していない人工飼料 (45~50°C) に、飼料容量の 10% 入れ、すばやく十分にかくはんし、直ちに冷却固化させる。

2) 接種用幼虫の飼育とウイルス接種：ウイルス接種には主に3齢幼虫を用いる。接種時における虫齢をなるべく同じにするため、密閉容器 (例えば、サンコープラスチック K-1A, 12.3×8.8×2.8 cm) に累代飼育用人工飼料 20 g をフレック状にして入れ、これに表面殺菌した黒化卵塊を 5~6 卵塊 (350~400 卵) ずつ接種する。発育をそろえるため、接種後 2~3 日で未ふ化卵を除去する。

ふ化1週間後に、増殖容器に移し、前述のウイルス接種源用人工飼料をフレック状にして約 80 g 入れる。

3) ウイルスの回収方法：ウイルス接種後 10 日から2週間に、AoNPV (A) の場合と同様に、体色が黄褐色に変わってくる罹病虫を、真空吸引器を用い、順次回収する。

増殖容器当たり得られる罹病虫数は約 150 個体で、1罹病虫当たり平均 1.5×10^9 の多角体が含まれる。

増殖容器の消毒・洗浄方法については AoNPV (A) の場合と同様である。

VI ウイルス増殖上の問題点

1 宿主昆虫の大量飼育に伴う問題点

ヤガ科昆虫では、成虫期の給餌で産卵数が大きく左右され、1雌当たり 1,000~1,500 卵を得ることもできるが、チャノコカクモンハマキにおいては、成虫期の給餌は産卵数にあまり影響せず、1雌当たりの産卵数は 70~100 卵でしかない。このことは、給産卵数に占める累代飼育用の卵の割合が大きいことを意味している。飼育

効率が悪いばかりでなく、大量の卵を得ようとすると、大量の成虫を扱わなければならない、多量の鱗粉などの飛散が起り、アレルゲンと化する恐れもある。この点、中山・小島 (1978) が用いたポリエチレン製袋を利用した採卵法が有効かもしれない。

2 低コスト化を図るうえでの問題点

清水ら (1982) の試算によると、10 a 当たり散布量に相当する AoGV の生産原価は、罹病虫を個体ごとに回収する方法で 1,263.5 円である。この内訳は、材料費 95.8 円、人件費 830.0 円、原価償却費 145.7 円、光熱水料 35.2 円、製剤費 156.8 円であるという。また、罹病虫を飼料と一緒に凍結乾燥し製剤化する方法では 963.2 円になるという。このように、ウイルス生産原価に対するウイルス回収時の作業労賃の割合がきわめて大きい。この問題を解消するためには、より簡便で省力的なウイルスの回収方法の確立が必要である。

3 自動生産装置の開発上の問題点

省力化、低コスト化を図るには、自動生産装置の開発が望ましい。佐藤 (1981) により自動生産システムモデルが提起されたが、これには近親交雑に耐え、かつ安定した再生産力を持ち、発育が均一なチャノコカクモンハマキの系統を育成することが前提になる。TAMAKI (1966)、山谷・玉木 (1972) はチャノコカクモンハマキでは循環交雑が必要であると述べているが、当果樹試験場では、人工飼料育・循環交雑で 100 世代以上を経過させた累代飼育系統から、近親交雑に耐える系統の選抜に成功しており、現在、45 世代目に達している。

今後、自動生産装置の開発を進めていくためには、本種の行動習性に関するより詳細なデータを積み重ねていく必要がある。

引用文献

- 石川 巖ら (1983) : 応動昆 27 : 300~303.
 JURKOVICOVA, M. (1979) : J. Invertebr. Pathol. 34 : 213~223.
 PONSEN, M. B. (1966) : Meded. Rijksfaculteit Land. Wetenschappen Gent. 31 : 553~557.
 ——— and T. BRUINVIS (1963) : Ent. exp. appl. 6 : 239.
 ——— and D. J. DE JONG (1964) : Entomophaga 9 : 253~255.
 佐藤 威 (1981) : 植物防疫 35 : 233~237.
 ——— 於保信彦 (1980) : 第 24 回応動昆大会講要 29.
 志賀正和・中沢 齊 (1980) : 植物防疫 34 : 467~471.
 小泊重洋 (1980) : 同上 34 : 462~466.
 中山 勇・小島一郎 (1978) : 応動昆 22 : 126~128.
 清水 等ら (1981) : 第 26 回応動昆大会講要 137.
 TAMAKI, Y. (1966) : Appl. Ent. Zool. 1 : 120~124.
 渡部 仁 (1973) : 応動昆 17 : 1~4.
 山谷絹子・玉木佳男 (1972) : 植物防疫 26 : 165~168.

ブドウネアブラムシの生態と被害防止対策

山梨県果樹試験場 ^{つち}土 ^や屋 ^{つね}恒 ^お雄

はじめに

ブドウネアブラムシ *Phylloxera vastatrix* PLANCHON は、1856年アメリカ・ニューヨーク州昆虫技師 ASA FITCH によって葉こぶ被害が発見されたのが最初と言われるが、アメリカのロッキー山脈以東の野生ブドウで生息していたものが起源とも言われている。

わが国においては、明治15年にアメリカより輸入したブドウで被害のあることが、明治18年5月、当時東京芝区三田育種場で確認されたのが最初と言われている。苗木30万本を焼却処分したと言われ、葉こぶ、根こぶ被害がいかに大きかったかを物語っている。

その後わが国全土に広まり、東京をはじめ愛知、岐阜、兵庫、岡山など各地の苗ほで被害が確認され、さらには、青森、長野、新潟、栃木、山梨などでも被害が発見された。

大正2年になり、当時の農商務省では抵抗性台木を輸入することを決め、大正3年にアメリカより7品種、2,000本を輸入して各地へ配布した。

大正5年に、農商務省は山梨県へ補助金を交付し、農事試験場(当時)にブドウネアブラムシの研究を着手させた。また大正6年には、各県の試験場を通じて1道3府39県および台湾、朝鮮、同13年には未調査県を対象として被害実態調査の行われた経過がある。

山梨県農事試験場においては20数年間にわたり、当時の専任技手らによって精力的な調査研究がなされ、ブドウネアブラムシの生態学的研究や抵抗性台木を利用した防除試験が実施され、その研究成果については、大正12年、同14年、さらに昭和12年に報告がなされており、今日、わが国のブドウ栽培が全国的に盛んになった基礎作りをなし、当時のブドウ栽培に多くの光明をもたらした。

以来、ブドウ栽培では抵抗性台木利用によってブドウネアブラムシの被害防止対策が確立され、現在に至っている。しかし今日、ブドウの産地化が進み、栽培技術の向上と良品質高級ブドウの普及、さらに品種の多種多様化、ハウス栽培、短期間に多収穫を挙げるために10a当たりの栽植本数を多くする方法なども考えられるよう

Ecology and Control of the Grape Phylloxera.
By Tsuneo TSUCHIYA

になり、苗木を早く育成しなければならぬために自根栽培が増加するようになった。その結果、ブドウネアブラムシの被害が目だつようになってきており、栽培上問題化されるようになってきている。

昭和47年ごろになり、奈良県下の自根苗栽培の巨峰に被害が大きくなり、当時農林省でも実情調査を全国的に実施したことがあり、さらに昭和56~58年にかけては、茨城県や長野県においても被害が目立ち再度農水省では調査を実施した。

古い産地である山梨県においては、ブドウ苗木の生産はブドウネアブラムシの抵抗性台木に接ぎ木して作るものと認識されており、自根栽培の普及は比較的少なく問題は起こっていない。しかし、現地での自根ブドウを調べてみると、やはり根こぶ被害は多くなっている。そこで栽培者も抵抗性台木利用苗での栽培へ移行するべく努力している。

また最近では、ブドウの赤熟れやウイルス病との関連から、台木の選択の問題も起こりつつあり、ブドウ栽培と台木との関係についてもさらに研究する必要を迫られている。

I 生態と被害状況

ブドウネアブラムシの生活環と発育経過は第1図のとおりであり、発生型は次の四つに区別される(第2図)。

(1) 根こぶ型——根(細根)に寄生するもの

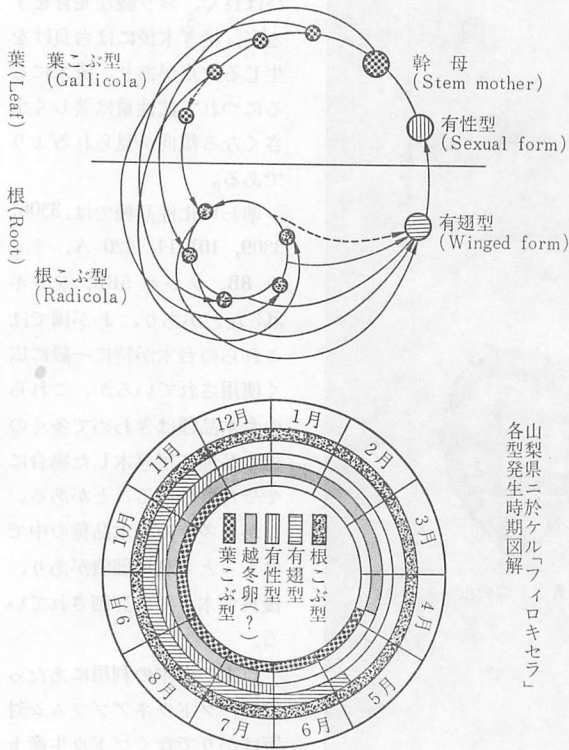
土中の細根に寄生するもので、年9回の世代を繰り返すが、ほとんどが新根に寄生してこぶを作り、その根こぶの表面に寄生加害して生息する。増殖が激しいので新根から新根へと広がり被害が大きいものである。

幼虫は発育が進むと無翅の雌虫となり、単為生殖によって多数の卵を産み付ける。ふ化幼虫は根に寄生して無翅の雌虫となり、これも単為生殖を繰り返して根こぶ型の世代を送り、最終世代の幼虫が根に寄生して越冬する。

土中での増殖は5~6月と9~10月であるが、各世代のなかで一部擬蛹を生じて羽化、これが有翅型となって土中より脱出すると言われている。

(2) 葉こぶ型——葉に寄生するもの

葉に寄生して葉こぶを作るもので、年10回の世代を繰り返す。1回目の葉こぶ内で発育した幹母は単為生殖



『フィロキセラ』経過図解(ベルナー博士考案)

各山梨県発生時期図解「フィロキセラ」

第1図 ブドウネアブラムシの発生経路 (山梨農試報)

により産卵する。ふ化幼虫は新しい葉こぶを作って発育し成虫となって単為生殖を繰り返す、6月と9~10月に増殖するので、この時期に葉の被害が多く発生する。この葉こぶ型の一部は根に下って細根に寄生して根こぶ型となるものもある。

(3) 根こぶ型より生じる有翅型

有翅型成虫は、5~11月までの間に、土中の根こぶ型より生じ、その発生期は5月と10月である。この有翅型成虫の寿命は、室内では3か月あまりと短く、産卵数も1~5個と少ないと言われる。

成虫は歩行または飛しょうにより樹枝上に至り葉の裏面または粗皮間げきに産卵する。

(4) 有翅型より生じる有性型

有翅型成虫の産卵したもので、有性型卵の卵期は10日あまり、ふ化すれば有性型成虫を生じる。

この有性型については不明な点が多いと言われるが、外国では、両性生殖の結果から、越冬卵を産生し、春季4月下旬ごろから発生する葉こぶ型幹母はこの越冬卵よりふ化したものであるとも言われている。

被害については第3図に示したが、幼虫や成虫が根と葉に寄生してこぶを作り樹勢を弱らせ、根からの養分吸

取が妨げられるために、地上部では、萌芽不良不齊となる。さらに、開花時期には花冠をはじき飛ばす活力がないために、不完全開花(俗に帽子冠り)となり花流れを起し、不完全果房(俗にエビ)となりやすい。根の被害が進むと葉縁から葉焼け症状が現れ落葉に至ることもある。また樹勢が弱ることから干害、凍害を受けやすくなる。

気象との関係についても調査研究がなされており、降雨の少ない地域では被害が多く、増殖が激しいと言われ、降雨が多くて土壌水分の過多状態では活動が緩慢となる。特に越冬期間中の水分過多の状況下では越冬量が少ないと言われる。

根の被害は一般に見られるが、葉の被害はまれにしか発生しないし、毎年被害が生じるものでもないのでよく注意していないと見つけることができない。

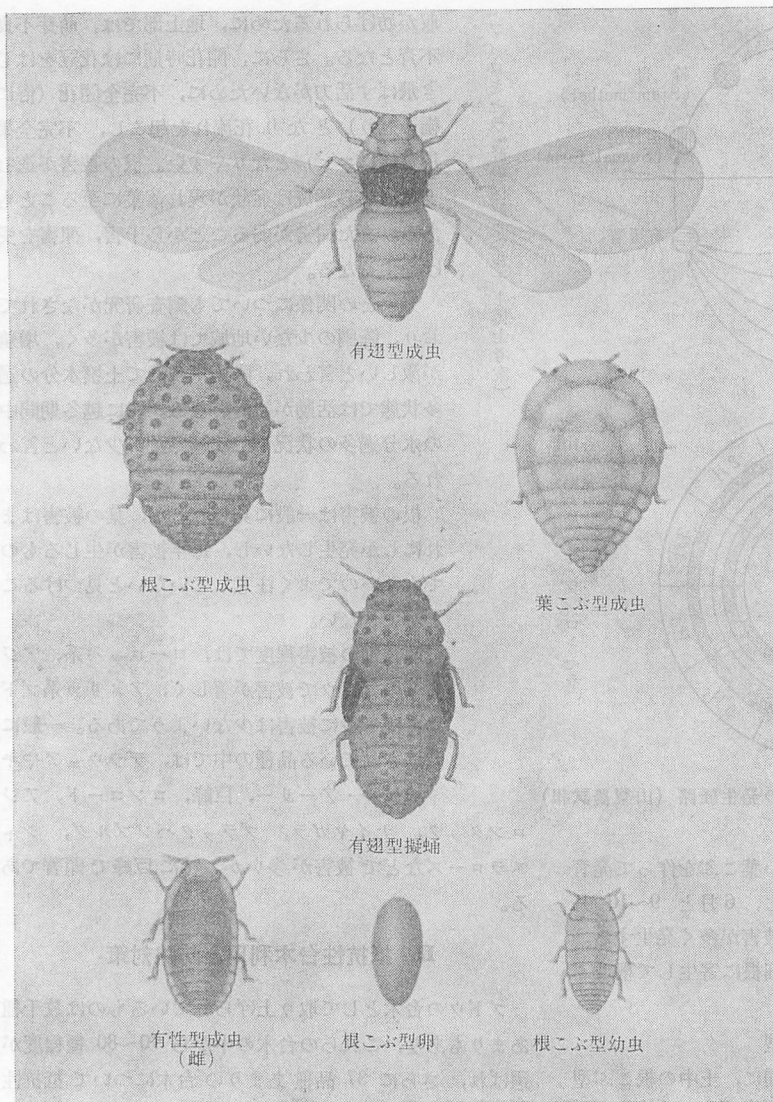
品種別の被害程度では、ヨーロッパ系、アジア系のブドウで被害が著しく、アメリカ系ブドウでは一般に被害は少ないようである。一般に栽培されている品種の中では、デラウェアやキャンベル・アーリー、巨峰、コンコード、アジロンダック、ナイヤガラ、ブラックハンブルグ、シャスラローズなどで被害が多いが、特に巨峰で顕著である。

II 抵抗性台木利用と防除対策

ブドウの台木として取り上げられているものは数千種あまりもあり、これらの台木の中から70~80種程度が選ばれ、さらに37品種あまりの台木について抵抗性(免疫率)が検討されている。

わが国で古くから利用されている台木品種は、喬化性品種とわい化性品種、さらに準わい化性品種の三つに区分されているが、実用に供されているのは喬化性品種の中では、イブリッド・フラン、ムールベードル・ルペストリス1202号、アラモン・ルペストリス・ガンゼン1号、プリスクー・ルペストリス601号、クーデル503号、ソロニスオセロ1613号などで、これらの品種は幹の肥大成長がおう盛で、根は太く遠方にまでよく伸び深根性である。

わい化性品種としては、グロアールとソロニス・シードリングの2品種がある。幹の肥大成長は良くなく、根は浅根性であるために毛根は多いが遠くまで長く太く伸びる根は少ないと言われている。また幼齢期の新梢の伸



第2図 ブドウネアブラムシ (山梨農試報)

びは良く、おう盛な發育をするが、接ぎ木後には台負けを生じる欠点があり、成木になるにつれて拮性は著しく小さくなる傾向が見られるようである。

準わい化性品種では、3306, 3309, 101-14, 420-A, テレキ 8B, テレキ 5BB, テレキ 5C などがあり、わが国ではこれらの台木が特に一般に広く使用されているが、これらの台木品種はきわめて多くの穂木品種に接ぎ木した場合にやや台負けすることがある。しかし多くの台木品種の中ではもっとも利用価値があり、優良台木として評価されている。

以上の台木の利用にあたっては、ブドウネアブラムシ対策ばかりでなくブドウ生産上からみても重要な課題であるため、その選択にあたっては土性などの栽培環境を十分考えて選ぶべきである。

自根苗木における被害対策は抵抗性台木を用いることによって解決されるが、近ごろ自根苗木や台木品種でも被害が生じている根こぶ防除について現在試験中である。試験中の薬剤のうち有効と思われる

第1表 ブドウネアブラムシ (葉こぶ) に対する ESP 乳剤の散布効果 (1983) (兵庫農産総合センター農試)

	調査 gall 数	(生)			(死)		成・幼虫生息 gall 率	
		成虫	幼虫	卵	成虫	幼虫		
ESP 乳剤 (1,000倍)	(1)	33	0	0	0	黒変死, 腐敗多		0 % 0
	(2)	30	0	0	0	計数不可		
無散布	(1)	25	32	5	864	4	1	60 32
	(2)	35	7	10	57	6	0	

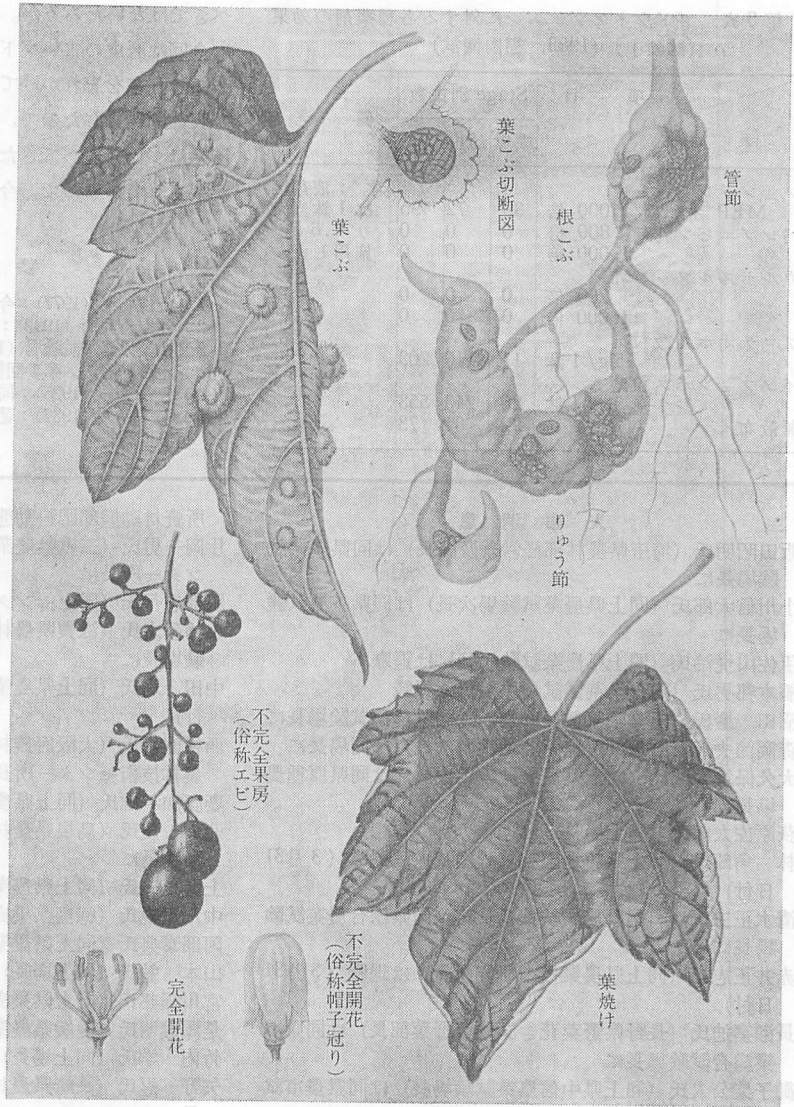
注 調査は新葉の葉こぶを対象として各区 5~10 葉採集。

るものの中でブドウでの適用登録がないものもあり、防除の参考にしてほしい。

山梨県果樹試験場では巨峰の自根苗を用いて、エチルチオメトン粒剤により鉢処理で試験したところ、1鉢当たり土壌約2lに15~30g処理で十分殺虫効果が得られている。処理量が1鉢当たり5~10gでは不十分であり、現在も処理方法について検討中である。また、カルボスルファン乳剤や粒剤についても試験しているが、殺虫効果も高いようである。

兵庫県農業総合センター農試や福岡県園芸試験場の試験結果を第1~3表に示したが、葉こぶ型に対しては、ESP乳剤1,000倍が有効であり、根こぶに対する効果は、カルボスルファン粒剤、ダイアジノン・メソミル粒剤、エチオフェンカルブ乳剤、ベンゾエビン乳剤などが有効のようである。

ブドウ栽培は台木を用いてこそ良品多収が得られるものである。ブドウ園からブドウネアブラムシをなくすためにはブドウ栽培の原点に戻り、抵抗性台木利用を推進す



第3図 ブドウネアブラムシによる被害状況 (山梨農試報)

第2表 ブドウネアブラムシ (根こぶ) に対する薬剤の土壌施用効果 (1983) (兵庫県農業総合センター農試)

薬剤	施用量	供試樹数	調査gall数	生息状況 (成虫)・(幼虫)・(卵)			死亡状況, その他
カルボスルファン粒剤	30g/m ²	4	225	0	1	2	ほとんどが黒変死, 黄変死少
ダイアジノン・メソミル粒剤	60g/m ²	3	241	0	0	0	すべて黒変死
エチオフェンカルブ乳剤	3l/m ²	4	190	1	3	80	すべて黄変死
PAP 乳剤	3l/m ²	4	213	21	23	146	ほとんど黄変死, 黒変死少
無散布	—	2	132	65	50	412	成虫 50, 幼虫 23 (黄変死)

第3表 ブドウネアブラムシに対する各種薬剤の効果 (試験I) (1983, 福岡県試)

区	項目	Stage 別虫数			備考
		成虫	幼虫	卵	
フェンパレレート	MEP 水和剤 1,000 倍	39	72	95	注：液剤区は1鉢当たり1.6lを施用した。
	ベンゾエピン乳剤 800 倍	0	0	0	
	ク 1,000 倍	0	0	0	
	カルボスルファン乳剤				
	ク 700 倍	0	0	0	
	ク 1,000 倍	0	0	0	
	プロチオホス微粒剤				
	5g/1鉢	11	110	203	
	イツフェンホス粒剤				
	5g/1鉢	26	243	553	
無散布		22	31	73	

べきではないだろうか。

今回は歴史の古いブドウ栽培の中で、ブドウの害虫としての存在を忘れかけていたブドウネアブラムシの被害が突然問題化したので、先人の研究成果を中心に生態と防除について述べてきた。しかし、防除については課題が残されているので、今後さらに研究を進め解決策を見いだしたい。

参考文献

- 1) 上住 泰 (1977) : 今月の農業 21 (6) : 63~65.
- 2) 川上善兵衛 (1932) : 葡萄全書 p. 333~385.
- 3) 山梨県農事試験場 (1923) : 葡萄害虫「フィロキセラ」とその防除法, 第1回報告.
- 4) _____ (1925) : 同上, 第2回報告.
- 5) _____ (1937) : 葡萄フィロキセラ試験研究成績書, 第3回報告

人事消息

飯田昭明氏 (埼玉県農林部経営普及課長) は同県農業試験場長に
 小川信太郎氏 (同上県農業試験場次長) は同県茶業試験場長に
 伊佐山悦治氏 (同上県農業試験場長) は退職
 橋本邦男氏 (同上県茶業試験場長) は退職
 沼田 巖氏 (千葉県原種農場長) は同県農業試験場長に
 森岡節夫氏 (同上県暖地園芸試験場次長) は同場長に
 大久保増太郎氏 (同上県農業試験場次長) は同県原種農場長に
 荻原佐太郎氏 (同上場長) は退職
 林 角郎氏 (同上県暖地園芸試験場長) は退職 (3月31日付)
 清水正三氏 (山梨県農業試験場長) は同県総合農業試験場長に
 赤井正志氏 (同上県農業技術研究所長) は退職 (3月31日付)
 長瀬嘉迪氏 (長野県野菜花き試験場野菜部長) は同県農業総合試験場長に
 御子柴公人氏 (同上県中信農業試験場長) は同県農事試験場長に
 酒井忠久氏 (同上県農事試験場作物部長) は同県野菜花き試験場長に
 御子柴 穆氏 (同上県土壌肥料部長) は同県中信農業試験場長に
 戸田正行氏 (同上県農業総合試験場長) は退職
 高野利康氏 (同上県野菜花き試験場長) は退職
 藤井孝文氏 (新潟県畜産試験場長) は同県農業試験場長に
 井上孝良氏 (同上県専門技術員室長) は同県園芸試験場長に
 酒井友慶氏 (同上県農業試験場長) は退職
 築取作次氏 (同上県園芸試験場長) は退職
 高橋耕二氏 (福井県農林部農産普及課長) は同県農業試験場長に
 栗原暹淳氏 (同上県農業試験場長) は農業環境技術研究

所資材動態部肥料動態科長に
 片岡一男氏 (三重県農業技術センター作物部長) は同センター所長に
 服部忠行氏 (同上センター所長) は退職 (3月31日付)
 小路政之氏 (滋賀県農林部農産普及課長) は同県農業試験場長に
 中田 均氏 (同上県農業試験場長) は退職 (3月31日付)
 西村直彬氏 (大阪府農林部参事兼森林育成課長) は同県農林技術センター所長に
 妻鹿加年雄氏 (同上県農林技術センター所長) は退職
 北山 茂氏 (島根県農林水産部農政課長) は同県農業試験場長に
 上野良一氏 (同上県農業試験場長) は退職
 中川正視氏 (徳島県果樹試験場次長) は同場長に
 阿部泰典氏 (同上県農業試験場次長) は同場長に
 山本 勉氏 (同上場長) は退職 (3月31日付)
 宮川経邦氏 (同上県果樹試験場長) は退職 (ク)
 是澤儀明氏 (愛媛県農業試験場次長) は同場長に
 竹内 学氏 (同上場長) は退職
 矢野 忍氏 (長崎県農林部次長) は同県総合農林試験場長に
 陣野久好氏 (同上県総合農林試験場長) は退職 (3月31日付)
 仁田脇 昭氏 (宮崎県中部農林振興局長) は同県総合農業試験場長に
 後藤重喜氏 (同上県総合農業試験場長) は退職 (3月31日付)
 宮里久男氏 (沖縄県農林水産部営農指導課長) は同県農業試験場長に
 内原英昇氏 (同上県農業試験場長) は退職 (3月31日付)

日本特殊農業製造株式会社は、3月1日付けで高知出張所を大阪営業所に統合、また4月1日付けで農業研究所西日本地域試験室を下記へ移転。
 〒783 高知県南国市大浦乙 2549
 電話 (0888)-63-3552

都道府県の植物防疫体制とその活動〔岐阜県〕

——特に組織強化と事業の推進——

岐阜県農政部農業技術課 か の ま か
加 納 正 和

1 組織の変遷

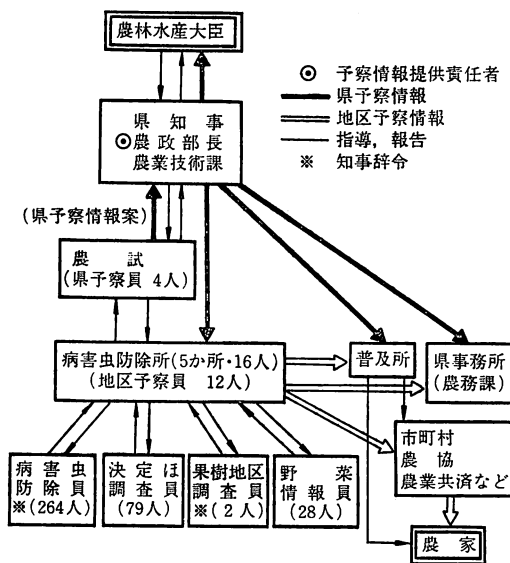
昭和 15 年北日本にイモチ病、西日本にウンカが大発生して、45,000 t という被害が発生した。これを契機に翌 16 年から国庫補助による病害虫発生予察事業が開始されるに伴い岐阜県でも、農業試験場に予察本部を置き、県内 7 か所に観察所を設置することにより病害虫発生予察事業の基礎ができた。しかし戦時中は諸般の事情により十分にその成果を上げないまま経過したが、戦後食糧増産が急務となり、病害虫防除対策の基礎となる本事業が再開され、昭和 23 年には観察所を 5 か所に統合するとともに専任の観察員を配置して事業内容の充実が図られた。その後、昭和 26 年の植物防疫法の改正に伴って発生予察事業が明文化され、昭和 27 年の県条例をもって設置された 15 病害虫防除所に各 1 名の観察員を配置するとともに、市町村段階にも病害虫防除員を配置して発生予察事業および病害虫防除に関する事務に従事させることとなり、これによって病害虫発生予察組織の原形が整った。

その後、農業の選択的拡大を背景に発生予察対象農作物もイネなど普通作物に、果樹、茶、野菜などが加わり、事業内容の増加と多様化が進んだ。そこで昭和 44 年には農業試験場に発生予察科を新設するとともに、15 病害虫防除所と新たに 5 か所に農業試験場病害虫発生予察出張所を設置して発生予察体制の一層の充実が図られた。

昭和 48 年には、病害虫発生予察事業や防除指導のより効率化のため、病害虫発生予察出張所を廃止するとともに、15 病害虫防除所を整理統合して専任職員による独立機関としての 5 病害虫防除所となった。さらに昭和 57 年には県下一本の岐阜県病害虫防除所と、変化に富んだ環境条件に対応するために 3 支所を設置して、植物防疫事業の近代化と合理化を図った。

このように、農作物の総合病院としての農業試験場、農作物の保健所的な役割に消防的な業務を加え、さらには警察署的な農業指導取締り業務等幅の広い行政事務も担う、地域の植物防疫センターとしての病害虫防除所等一連の植物防疫体制が整備され現在に至っている。

Plant Protection System and Activity in Gifu Prefecture. By Masakazu KANOH



第 1 図 病害虫発生予察事業機構図

2 事業推進

発生予察事業は、的確な発生予察情報の提供と情報内容の防除実施組織への正確な伝達にある。そのために県ではきめ細かい情報収集と地区報の活用に重点を置いて推進している。

的確な発生予察情報の作成にあたっては、県予察ほ場、地区予察ほ場での定点調査、予察員による定期的な巡回調査に加えて農業改良普及員、病害虫防除員、各種調査員などからの情報を収集して、病害虫発生予察情報（次月予報）案を作成する。その予察情報案をもって、行政、研究、各種団体等で構成される病害虫発生予察情報会議に図ったのち、病害虫発生予察県情報として関係機関へ送付するとともに、新聞など報道機関に発表している。病害虫防除所長（支所長）は、その県情報を基に、それぞれ地域の諸条件を加味して簡潔で見やすいスタイルにアレンジした地区報を作成し、関係機関に伝達している。

そこで、農業試験場、病害虫防除所および各支所の役割分担は以下ようになる。

農業試験場（発生予察科）では、病害虫防除所と協議して病害虫発生予察実施細目を定めるとともに、病害虫

病虫害情報

病虫害の発生は10日前後のおくれ — 5月予報
 イネミズソウムシの発生は昨年なみ

作物	病虫害	発生量	発生時期					防除のポイント
			5	10	15	20	25	
イネ	生育							山間田圃
	イネヒメハダ	やや多			発生			冬越した数 昨年並
	ヒトメダカ	やや少						粟刈前 田圃地帯では夏も防除
防除適期								稲刈後が効果的、田圃直前に使用 (イネミズソウムシ) (ヒトメダカ)
大豆	生育	おそい			開花			10日前後のおくれ
	赤かび病	やや多			発生			開花ころ 雨が多いと増加
	赤さび病	並			発生			
	うどんこ病	並			発生			
防除適期								雨間散布も効果あり (赤かび病) (うどんこ病)
タマネギ	生育	おそい						葉数1.5枚少
	べと病	やや少			発生			
	軟腐病	やや多					発生	スリップスが発病を助長
防除適期								降雨前防除が効果的 (べと病) (軟腐病) (スリップス)

防除記録をつける習慣をしましょ。

農薬は注意書をよく読んで正しく使いましょ。

5月の天気予報



晴天の日が多い。
 月はじめと下旬には、ぐずつく。
 気温やや高い 降水量 並

農薬は使う前にラベルをよく読んで！
 子供の手が届かない所に保管！

岐阜県病害虫防除所
 TEL 0584-591116

病虫害防除所

第2図 病虫害発生予察情報 (地区報)

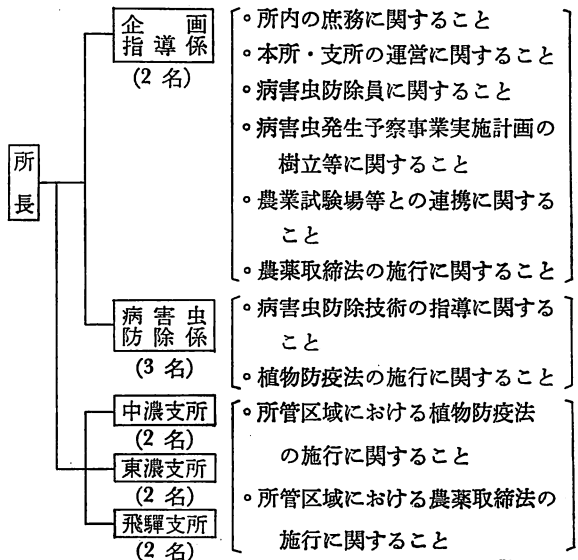
防除所と協力して予察法改善のための重点調査および国が行う特殊調査に協力して、発生予察方法の確立と改善を行っている。

病虫害防除所の組織および所掌事務は右のとおりである。

病虫害防除所は、県庁・農業試験場と常に連絡を密にして、農作物有害動植物防除実施要綱および病虫害発生予察実施細目に従って事業を遂行している。特に本所においては、本所・支所の調査データを収集し電子計算機を活用して台帳を作成するとともに、予察式などを作成して、病虫害発生予察情報の提供を行っている。

おわりに

昭和16年に開始された病虫害発生予察事業は、数回のお余曲折を繰り返しつつ一応の体制が整ったところである。植物防疫事業は全国組織としての病



害虫防除所の存在で初めてその実を挙げることができるものであり、ますますの充実が必要である。

反面、最近の病虫害発生予察事業費の削減および発生予察職員の定数減など厳しい社会情勢の下で、植物防疫事業を遂行することは至難の業である。このような情勢

に対応するには、病虫害発生予察事業の内容を見直し業務内容にアクセントを付けるとともに、調査観察および事務能率向上のための機械器具を導入して、病虫害防除所機能の内容の近代化を図れるよう要望したい。

中央だより

一農林水産省一

○昭和 59 年度病虫害発生予報第 2 号発表さる

農林水産省農蚕園芸局は昭和 59 年 5 月 25 日付け 59 農蚕第 2892 号をもって、主要農作物の主な病虫害の向う約 1 か月間の発生動向の予想を発表した。

イネ：苗いもちの発生は、全般的に少ない状態となっていますが、全国的に育苗期間中の低温等の影響でイネの生育が遅れ軟弱化しており、いもち病菌に対する抵抗性が弱まっているものと予想されます。

従って、今後葉いもちの発生を防ぐため、現在育苗中の地域では栽培管理に注意し、罹病苗を本田に持ち込まないようにするとともに、すでに田植が終了したところでは、補植苗を本田内に放置せず速やかに処理して下さい。

イネ縞葉枯病を媒介するヒメトビウンカの発生は、北関東、近畿、四国、九州の一部でやや多く、その他の地域では平年並以下となっており、今後の発生も同じ傾向が続くと予想されます。

また、関東、近畿の一部ではヒメトビウンカのイネ縞葉枯ウイルスの保毒虫率が高いので、これらの地域では、本田に飛び込む前の防除及び箱施薬を実施して下さい。

イネミズゾウムシは、本年新たに大分、宮崎の 2 県で発生が確認されました。また、本虫の発生は、一部を除いて、前年より多いと予想されますので、箱施薬の実施や発生状況に応じて水面施薬等による防除の徹底を図って下さい。

また、関東以北では、気温が低いと予報されていますので、イネドロオイムシ、イネヒメハモグリバエ、イネハモグリバエといった低温性害虫の発生に注意して下さい。

なお、ツマグロヨコバイ及び萎縮病の発生は平年並以下、ニカメイチュウの発生は少ないと予想されます。ムギ：赤かび病の発生は、北陸の一部でやや多いと予想されます。

ジャガイモ：疫病の発生は北日本では気温が低く降水量が多いと予報されていますので今後の気象情報に注意し、的確な防除を実施して下さい。

サトウキビ：今後、黒穂病、アオドウガネの防除時期になりますので、発生状況に応じて的確な防除を実施し

て下さい。

パインアップル：パインアップルコナカイガラムシの発生は、少ないと予想されます。

カンキツ：黒点病は枯枝量が多くなっていますので、今後の発生は全般的にやや多いと予想されます。

そうか病、かいよう病、ミカンハダニの発生は一部でやや多いほかは平年並と予想されます。

ヤノネカイガラムシの発生は平年並と予想されます。

リンゴ：黒星病の発生は長野でやや多くなっています。

本病は低温多雨に経過すると、発生が助長されるので的確な防除を実施して下さい。

うどんこ病の発生は一部でやや多いほかは少ないと予想されます。

斑点落葉病及びキンモンソガの発生は平年並以下と予想されます。

ナシ：黒斑病の発生は、鳥取で多いほかは、平年並と予想されます。

黒星病及びハダニ類の発生は一部でやや多いほかは平年並と予想されます。

モモ：せん孔細菌病、モモハモグリガの発生は一部でやや多いほかは平年並以下と予想されます。

灰星病及びハダニ類の発生は平年並以下と予想されます。

ブドウ：黒とう病の発生は平年並以下と予想されます。

カキ：うどんこ病、炭そ病、円星落葉病、角斑落葉病及びカキミガの発生は平年並と予想されます。

果樹共通：カメムシ類の果樹園への飛来数は平年並以下となっています。今後の果実被害も平年並以下と予想されます。

チャ：チャノキイロアザミウマの発生はやや多いと予想されます。

炭そ病、チャノコカクモンハマキ、チャハマキの発生は一部でやや多いほかは平年並と予想されます。

チャノソガ、チャノミドリヒメヨコバイ、カンザワハダニの発生は一部でやや多いほかは平年並以下と予想されます。

野菜：ウイルス病を媒介するアブラムシの発生は一部でやや多いほかは平年並以下と予想されます。

キュウリの斑点細菌病の発生は一部でやや多いほかは平年並と予想されます。

ミナミキイロアザミウマは新たに大阪で発生が認められ現在までに 21 都府県で施設栽培のキュウリ、メロン、ピーマン、ナスを中心に発生が確認されています。今後これらの地域では施設から露地への分散防止を図るとともに早期発見に努め的確な防除を実施して下さい。



第2図 地区予察ほ場（フェロモンによる誘殺調査）
手前はコナガの誘殺トラップ、奥はハスモン
ヨトウの誘殺トラップ（調査地：和歌山市）

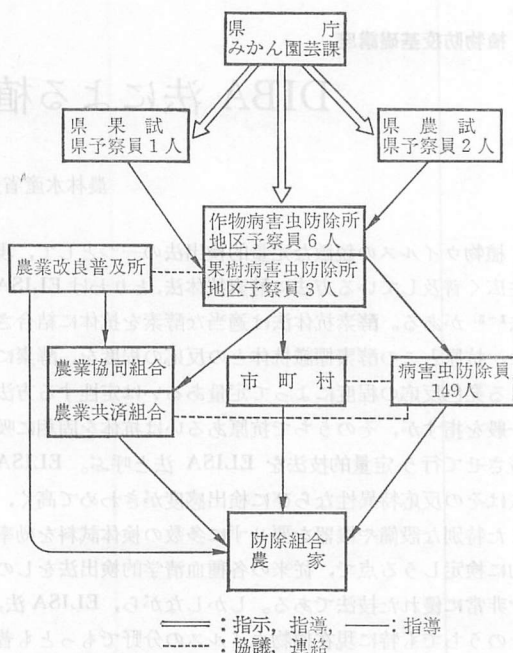
コン(5)、キャベツ(4)、レタス(4)、スイカ(5)、ト
マト(6)、ナス(5)、ピーマン(4)、キュウリ(5)、ハ
クサイ(5)、ネギ(2)、ニンジン(3)、イチゴ(6)、そ
の他：野そ(サツマイモ、ミカン)

(3) 調査

調査は地区予察ほ場やその他調査施設における定点調
査および巡回調査による病虫害の発生状況調査のほか、
最近では農業耐性菌（イチゴ、ミカン等の灰色かび病）
の検定、抗血清によるヒメトビウソカノ保毒虫検定、フ
ェロモントラップ（野菜類およびダイズのハスモンヨト
ウ、キャベツ・ハクサイ・ダイコンのコナガ、モモのコ
スカジバ、カキのチャノコカクモンハマキ）による害虫
の発生調査を実施しているほか、気象調査も実施してい
る。作物の生育状況調査については試験場栽培部で調査
された結果を利用している。定点および巡回調査等は2
人1組になって実施し、その結果を解析するとともに調
査観察資料を県予察員に報告している。

(4) 発生予察情報

発生予察情報は県予察員が調査観察資料を解析し、予
察情報原案を作成し県農林部長によって発表されてい
る。この場合「発生予報」は例年4～11月の毎月初め
発表するため、予察情報原案については前月の28日
ごろまでに作成・提出するよう努めている。このほか
58年度においては「注意報」6回、「特殊報」2回を発



第3図 病虫害防除指導関係組織図

表したところである。情報の伝達については第1図のと
おりで、時間を短縮するため病虫害防除所などを経由し
ないで第一線の指導者にも県から直接情報を提供してい
る。

3 防除指導

病虫害防除指導は第3図に示すとおりであり、県防除
指針、発生予察情報などにに基づき指導を行っているこ
ろであるが、特に試験場、防除所ではお互いに協議し、
近年の発生状況ならびに今後の発生見通しなどから重点
防除病虫害を定めて指導の徹底を図っている。また農業
改良普及所、県事務所等の機関を中心とする地域病虫害
防除協議会の開催する会議、検討会などに出席し防除指
導を図っているほか、病虫害防除員の地域別研修会を実
施し、資質向上に努めている。また農業団体、農薬販売
業者が主催する講習会、研修会にもそのつど出席し、病
害虫防除指導はもとより農業安全指導に努めている。

植物防疫基礎講座

DIBA 法による植物ウイルスの検出法

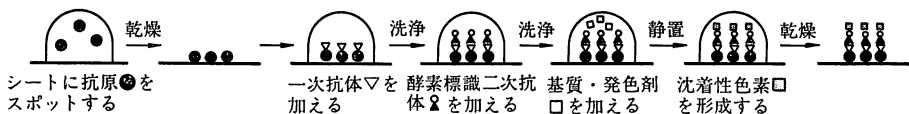
農林水産省農業生物資源研究所 ひ び ただ あき
白 比 忠 明

植物ウイルスの鋭敏な定量的検出法の一つとして、現在広く普及している方法に酵素抗体法、とりわけ ELISA 法¹⁻³⁾がある。酵素抗体法は適当な酵素を抗体に結合させ、抗原とこの酵素標識抗体との反応の程度を、酵素による発色反応の程度によって定量あるいは定性する方法一般を指すが、そのうちで抗原あるいは抗体を固相に吸着させて行う定量的技法を ELISA 法と呼ぶ。ELISA 法はその反応特異性ならびに検出感度がきわめて高く、また特別な設備や機器を要せずに多数の検体試料を効率的に検定しうる点で、従来の各種血清学的検出法をしのぐ非常に優れた技法である。しかしながら、ELISA 法、そのうちでも特に現在植物ウイルスの分野でもっとも普及している二重抗体法⁴⁾を実際に経験された方ならずで御承知のとおり、この方法ではあらかじめおのおのウイルスに対する抗体についてその γ グロブリン化や酵素標識などの準備操作が必要な点、また、マイクロプレートの γ グロブリンによるコーティングに始まり、最終結果の判定に至るまでの一連の反応操作がかなり複雑で比較的長時間を要する点などが、その欠点として挙げられる。そこで ELISA 法の反応原理に従ってその長所を生かしながら、かつその欠点を補う簡便でより実用的な抗原タンパク質検出法として新たに登場したのが、ここに紹介する Dot Immunobinding Assay (DIBA ; Dot ELISA ともいう)である。筆者ら^{5,6)}は本法の原報⁷⁾の技法に大幅な技術的改良を施すことによって、本法による新たな植物ウイルス検出法を開発した。ここにその間の若干の経緯にも触れながら、本法の実際の操作を具体的に述べ、これから各種のウイルスについて本法を試みようとする方々の参考としたい。

I DIBA 法の概要

タンパク質の電気泳動的解析手段の一つとして、最近

新たに開発され急速に普及しつつある技法に免疫ブロット法⁸⁾がある。これは Western blotting 法の一つで、抗原タンパク質をポリアクリルアミドゲルで泳動・分離したのち、ニトロセルロース膜上にブロットし、膜上の抗原タンパク質を酵素抗体法によって特異的に高感度で検出する技法である。DIBA 法は本来、HAWKES ら (1982)⁹⁾がこの免疫ブロット法をより簡略化することによって、モノクローナル抗体産生細胞株の大量スクリーニングなどに応用しうる簡便な検出法に改良した技法である。第1図に DIBA 法の原理を模式的に示した。すでに述べたように本法の原理は ELISA 法と同様だが、その術式はかなり異なる。最大の違いは、ELISA 法では固相としてポリスチレン製マイクロプレートを用い、最後の発色反応の結果を溶液状態で測定するのに対して、DIBA 法では固相としてニトロセルロースシートを用い、最後の結果はシート上の発色スポットとして得られるという点である。このため DIBA 法では発色剤として酵素反応によって沈着性色素を形成するような物質を使用する。操作の概略は次のとおりである。まず、ニトロセルロースシート上に抗原液をスポットしたのち、室温で乾燥させることによって、抗原をシート上に固着させる。次いでこの抗原に対する抗体(一次抗体)を処理してシート上の抗原と反応させる。さらに一次抗体に対する抗体(二次抗体)を反応させる。この二次抗体はあらかじめ適当な酵素で標識してある。このように本法ではいわゆる抗異種グロブリン抗体法を採用している。2段階の抗原抗体反応を終えたところで、発色反応のため、酵素の基質および発色剤を処理する。発色剤は本来透明で水に溶けた状態にあるが、酵素反応によって紫～赤紫色に発色するとともに、酵素周辺に沈着してくるので、肉眼で明りょうな発色スポットとして認められるようになる。以上が本法の原理であるが、標識酵素と



第1図 DIBA 法の原理模式図

してパーオキシダーゼを採用した原報の方法を、そのまま植物ウイルスの検出に適用してみたところ、精製ウイルスの場合にはさほど問題はないが、感染葉粗汁液などの場合には著しい非特異反応を生じ、まったく利用できないことが明らかになった。それと同時に、原報の方法では貴重な抗体を大量に消費する点も問題であった。そこで本法を植物ウイルスの実用的な検出法として改良するために、上記の非特異反応の除去と反応の微量化に重点を置いて、種々の技術的検討を加えた。本法の場合、その非特異反応の原因として、大きく分けて、①植物自体の内在酵素による反応、②抗体の非特異的吸着による反応、③混在する非特異抗体による反応、の3点が考えられる。実際に、本法原報の方法について、その非特異反応の原因を解析したところ、上記①～③のいずれもが関与しており、特に③が著しいことが明らかにされた。そこで各種の技術的検討を経たのち、最終的に次のような方法で、これらの原因を取り除き、非特異反応を最小限に抑えることができた。すなわち、①の反応を防ぐためには、高等植物に本来存在しない酵素を標識用酵素として採用することとし、アルカリ性フォスファターゼを用いた。また、本酵素の発色剤として、酵素反応によって沈着性色素を形成するテトラゾリウム塩を採用した。②の反応を抑えるため、抗原抗体反応の全過程に、2%ポリビニルピロリドン (PVP)、0.2% 仔ウシ血清アルブミン (BSA) および 0.05% Tween 20 を加用したトリス食塩緩衝液 (TBS) を用いた。③の反応は抗ウイルス抗体液中に混在する非特異抗体を吸収法で除去することによって抑えることができる。特に本法の場合、その検出感度がきわめて高く、一方、スポットされた粗汁液試料中には多数の非特異抗原が存在するため、たとえ抗体液中の非特異抗体の混在がわずかであっても、これらの非特異抗体と非特異抗原との間で起こる反応によって、肝心の特異的抗原抗体反応が覆い隠されてしまうことから、かなり徹底した吸収を行う必要がある。このために筆者らは、健全葉粗汁液からその超遠心沈殿分画の凍結乾燥粉末を作製し、あらかじめ最適濃度に希釈した抗ウイルス抗体液をこの粉末で繰り返し吸収する方法を採用した。以上のような非特異反応抑制のための改良ならびに次項で具体的に述べる微量化のための改良をそれぞれ加えることによって、DIBA 法を植物ウイルスの実用的検出法として利用することが可能になった。

II DIBA 法の実際

本法の具体的方法について、TMV の場合を例として述べる。

1 材料および準備

(1) ウイルス材料

TMV-OM 感染タバコ葉、精製 TMV-OM。

(2) 器具

ニトロセルロースシート (Bio Rad 社製 15×9.2 cm, 孔径 0.45 μm, ミリポア社製 HAHY 30×30 cm, 孔径 0.45 μm, など): 試料数に応じて軟らかい鉛筆で 10×10 mm のマス目を引き、必要な面積分をハサミで切り取って使用する。なお、シートは必ずビニル手袋かピンセットで扱う。微量ピペット、ペトリ皿 (用いるシートの大きさに応じて径 9~15 cm のもの) 数枚、ガラス板 (用いるシートの大きさに応じて 2.5×7.5~8×8 cm 程度のもの) 数枚、ホールスライドガラス (穴径 1.5 cm) 数枚、ガラス棒数本、カミソリ、汙紙、1.5 ml マイクロチューブ、微量高速遠心機、微量ミキサー、振とう器。

(3) 試薬溶液

TBS: 20 mM トリス・塩酸—500 mM NaCl, pH 7.5。

TTBS: 0.05% Tween 20—TBS。

TTBSPB: 2% ポリビニルピロリドン (PVP, MW, 40,000)—0.2% 仔ウシ血清アルブミン (BSA)—TTBS。
ブロック液: 2% PVP—2% BSA—TTBS。

一次抗体液: 抗 TMV-OM—ウサギ血清 (γ グロブリン化の必要はない) を TTBSPB によって 1/200~1/2,000 倍に希釈し、後述の方法で吸収しておく。

二次抗体液: アルカリ性フォスファターゼ標識—抗ウサギ IgG—ヤギ IgG (標識済みの製品が TAGO 社などから市販されている) 原液を TTBSPB によって 1/2,000 倍に希釈する。

AP9.5 緩衝液: 0.1M トリス・塩酸—0.1M NaCl—5 mM MgCl₂, pH 9.5。

基質・発色液: 0.33 mg/ml nitro blue tetrazolium (NBT, Sigma 社製 grade III など)—0.17 mg/ml 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate-*p*-toluidine salt (BCIP, Sigma 社製など)—AP9.5 緩衝液。

1 mg の NBT に 3 ml の AP9.5 緩衝液を加え、ミキサーで 1~2 分間かくはんして溶解させたのち、10,000 rpm, 5 分間の遠心を行い、その上清を集める。一方、0.5 mg の BCIP に 10 μl の *N,N*-dimethylformamide を加え、微量ミキサーで 1 分間かくはんして溶解させる。前の NBT 溶液をかくはんしながら、これに BCIP 溶液を滴下して加える。この基質・発色液は使用直前に調製し、冷暗所に保存する。

停止液: 10 mM トリス・塩酸—5 mM EDTA, pH

7.5.

(4) 一次抗体液の吸取

TMV の精製に用いたのと同じのタバコ品種の健全葉 250 g を材料として、ウイルスの精製操作と同一の手順で磨砕・搾汁ならびに低速遠心したのち、第1回目の超遠心の沈殿分画を集め、凍結乾燥させて粉末とし、 -70°C で保存しておく。TTBSPB によって 1/200 ~ 1/2,000 倍に希釈した抗 TMV 血清の希釈液に 10 mg/ml の割合で上記粉末を加え、微量ミキサーでかくはんしながら 37°C で2時間処理したのち、15,000 rpm, 10 分間遠心してその上清を集める。加える粉末量を半減しながら、この操作を 2~3 回繰り返す。吸収済みの抗体液は緑色を帯びるが、反応にはまったく支障ない。

2 方法

① ウイルス感染葉からカミソリで約 5 mm 四方の葉片を切り出し、これをホールスライドガラスの穴の中央に置く。この葉片上に 40 μl の TTBS を滴下し、ピンセットで葉片の端を押さえながら、ガラス棒の先で葉片を押しつぶす。十分に磨砕されたら、残渣は残して粗汁液だけを微量ピペットで吸い取って、マイクロチューブに移す。次いで、微量遠心機で 10,000 rpm, 5 分間の遠心を行い、この上清を抗原液原液とする。実際の検定にあたっては、この原液をさらに TTBS で適当な濃度に希釈した液を用いる。ここでは 10 倍段階で希釈したものを用意することとする。各希釈抗原液はおのおの 20 μl ずつあれば十分である。精製ウイルス液を抗原液として用いる場合にも、同様に TTBS で希釈すればよい。

② ニトロセルロースシートをベトリ皿内の TBS 中に浸す。この際シートの端のほうからゆっくりと気泡を追いつながりながら浸してゆくとよい。TBS が十分に浸透しなかったシートの部分では以後の反応がうまくいかない。そのままの状態でも約 15 分間ほど静置し、シート全面に TBS が浸透したところで、シートを濾紙上に取り出し、室温に約 5 分間置いて乾燥させる。

③ ①で調製した抗原液を、微量ピペットを用いて、先ほどのシートの各マス目の中央におのおの 1 μl ずつスポットしていく。スポットされた試料は、そのまま室温に 5 分間置くと完全に乾燥し、シートに固着する。なお、試料中の抗原濃度がきわめて低い場合には、同一スポット上で上記のスポット操作を数回繰り返すことによって、抗原をシート上で濃縮することができる。

④ 次いでこのシートをベトリ皿内のブロック液中に浸し、室温で 30 分間静置する。ブロック液の液量はシート上面が完全に浸る程度でよい。

⑤ シートを取り出し、表面に残ったブロック液を濾紙で軽く吸い取る。シートが乾燥しないうちに、これをスポット面を上にしてガラス板上に移し、シート表面に一次抗体液を滴下してこの液でシート全面を覆う。2×7 cm 程度のシートであれば、約 400 μl の抗体液で足りる。次いでシートをガラス板ごと、湿らせた濾紙を敷いて湿室状態にしたベトリ皿内に移し、ふたをして室温に静置する。

⑥ 1 時間後、シートを取り出し、ベトリ皿内の蒸留水中に移して軽くすすいだのち、蒸留水を捨て、替わりに TTBSPB をベトリ皿に注ぐ。シートをこの中で 20 分間軽く振とうしながら洗浄する。この間、TTBSPB を 1 回交換する。

⑦ ⑤と同様の方法で今度は二次抗体液を処理し、同じく室温で 1 時間反応させたのち、⑥と同様に洗浄する。

⑧ シートをベトリ皿内の AP9.5 緩衝液中に移し、同じく軽く振とうしながら 20 分間洗浄する。この間緩衝液を 1 回交換する。

⑨ シートをガラス板上に移し、⑤と同様の要領で今度は基質・発色液を処理し、湿室、遮光状態で室温に静置する。

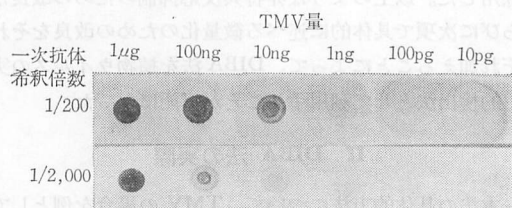
⑩ 約 5~10 分後には、発色反応が目に見えるようになるが、最終結果を得るまでさらに 3~4 時間静置したのち、停止液にシートを浸して反応を止める。

⑪ 最終結果の判定は、シートを湿らせた状態で肉眼観察し、赤紫色のスポットの有無を検定することによって行う。必要ならば、このシートを TLC 用クロマトスキャナーを用いて反射法によって波長 400 nm でスキャンし、各スポットに対応する各吸光ピークの面積をデータ処理装置で計算させてもよい。

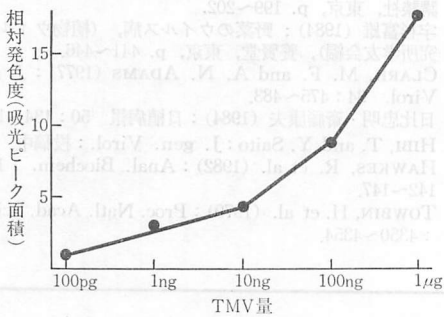
⑫ 反応後のシートは室温で乾燥後、ポリエチレン袋に封じ、冷暗所に保存する。必要なときに水中に浸せば、再び濃く発色する。

3 結果

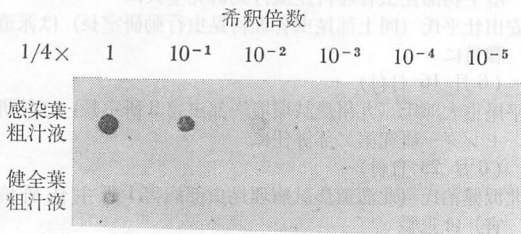
第2図に精製 TMV を 1 μg から 10 pg まで 10 倍段階希釈でスポットした場合の反応例を示した。一次抗



第2図 DIBA 法による精製 TMV-OM の検出結果



第3図 DIBA 法による精製 TMV-OM の検量曲線



第4図 DIBA 法による感染葉粗汁液からの TMV-OM の検出結果

体液として、上段が抗血清原液の 1/200 倍希釈液，下段が 1/2,000 倍希釈液をそれぞれ用いた場合であるが，前者では 100 pg，後者では 1 ng まで反応が認められる。いずれにしてもこの検出感度は従来の ELISA 法のそれに匹敵する。また，発色スポットの大きさや発色の強度は，スポットされた抗原量に比例している。このシートを前に述べた方法でスキャンし，得られた各ピークの面積を，スポットされた抗原量に対してプロットすると，第3図のような曲線が得られる。同一の条件下で実験する限り，この検量曲線から逆に試料中のウイルス量を定量することができる。

第4図は TMV 感染タバコ葉の粗汁液を対象に行った試験結果の1例である。一次抗体液として抗血清原液の 1/2,000 倍希釈液を用いているが，この場合，感染葉粗汁液では 1/4,000 倍希釈まで反応が認められる。一方，健全葉粗汁液ではまだわずかに非特異反応が残っているが，発色はきわめて弱く，その反応終末希釈倍数も感染葉粗汁液のそれよりも2けたも低い。図中，健全葉粗汁液の 1/4 倍希釈で認められるスポットは緑色で，これは粗汁液自体の色である。なお，一次抗体液として 1/200 倍希釈のものを用いた場合には，1/2,000 倍希釈の場合に比べて，感染葉粗汁液の反応終末希釈倍数がさらに1けた上がるが，非特異反応のほうもやはり1けた上

がる。

多数の試料を同時に検定する実際の診断作業にあたっては，あらかじめ上の実験例に示したような要領で一次抗体液ならびに抗原液の希釈試験を行って，それぞれの最適希釈倍数を選定しておき，実際の診断はその濃度で行う。上の例の場合であれば，実際の診断は，一次抗体液として抗血清原液の 1/2,000 倍希釈液，抗原液として感染葉粗汁液の 1/40~1/400 倍希釈液を用い，健病間の反応を比較して，健全葉のそれより発色の強いものを陽性と判定すればよい。

III 展望と問題点

本法の植物ウイルス病診断法としての特徴をまとめると，以下のとおりである。①検出感度がきわめて高く，従来の ELISA 法の感度に匹敵する。②反応には特殊な機器を要せず，抗体の γ グロブリン化や酵素標識操作も省くことができる。③操作および反応がきわめて簡便，迅速で，操作の開始から結果の判定までに要する時間は約8時間である。④検査に要する試料および抗体の量はきわめて微量で，感染葉 20 mg 以下，一次，二次抗体とも原抗体液 0.02 μ l/スポット以下である。⑤発色スポットは明りょうな赤紫色を呈し，最終反応値の判定が明確に行える。⑥定量性の精度は ELISA 法にやや劣るが，発色スポットの吸光ピーク面積計算によって定量が可能である。⑦反応後のシートは乾燥状態で長期保存できる。

本法の最大の特徴は，その操作の簡便性と並んで，その検出感度の高さにあるが，この点が，ELISA 法の場合と同様に，逆に非特異反応を生じやすい原因ともなる。ELISA 法ではこの非特異反応を抑えるために，二重抗体法がくふうされたのだが，その場合には抗異種グロブリン抗体を用いることができない。本法では，非特異抗体をかなり徹底的に吸収することによって，これらに起因する非特異反応を抑えたが，この点についてはさらに技術的改良が必要であろう。非特異反応の抑制方法としては，アフィニティー・クロマトグラフィーによる特異抗体の精製という手段も考えられるが，もっとも効果的な手段はモノクローナル抗体の利用である。アメリカでは，すでに数種植物ウイルスに対するモノクローナル抗体が市販されていると聞くが，わが国でも近々そのような抗体が手軽に入手できるようになれば，本法は一段とその真価を発揮するようにならう。

現在，先に述べた方法で，TMV 以外の 2, 3 の植物ウイルスについても，TMV の場合とほぼ同様の結果が得られている。結論として，DIBA 法はその検出感度に

において従来の ELISA 法に匹敵し、その簡便性、迅速性においてそれに勝るきわめて実用的なウイルス検出法と考えられるので、今後、動物ウイルスをも含めて各種のウイルスの検出に本法が適用され、それに伴って本法の技法自体もさらに洗練されていくことが期待される。

引用文献

- 1) 久原重松 (1980): 植物防疫 34: 129~135.
- 2) 花田 薫 (1983): 植物病理学実験法 (佐藤昭二ら編),

講談社, 東京, p. 199~202.

- 3) 宇杉富雄 (1984): 野菜のウイルス病, (植物ウイルス研究所学会編), 養賢堂, 東京, p. 441~446.
- 4) CLARK, M. F. and A. N. ADAMS (1977): J. gen. Virol. 34: 475~483.
- 5) 日比忠明・斎藤康夫 (1984): 日植病報 50: 134~135.
- 6) HIBI, T. and Y. Saito: J. gen. Virol.: 投稿中.
- 7) HAWKES, R. et al. (1982): Anal. Biochem. 119: 142~147.
- 8) TOWBIN, H. et al. (1979): Proc. Natl. Acad. Sci. 76: 4350~4354.

人事消息

(7月1日付)

岩本 毅氏 (農蚕園芸局植物防疫課農薬対策室長) は植物防疫課長・農薬対策室長事務取扱に
管原敏夫氏 (同上課長) は農蚕園芸局農産課長に

(7月6日付)

関谷俊作氏 (農林水産技術会議事務局長) は農蚕園芸局長に

榎淵欽也氏 (同上局研究総務官) は同事務局長に

小島和義氏 (農蚕園芸局長) は退職

(7月16日付)

武舎修夫氏 (大臣官房文書課課長補佐 (文書管理班担当))

は農蚕園芸局総務課課長補佐 (管理班担当) に

小野 仁氏 (植物防疫課農業航空班技術係長) は同課検査

第一班輸入検査係長に

萩野英明氏 (同上課検査第一班輸入検査係長) は構造改

善局出向 (計画部資源課環境保全班環境保全班長に)

吉津昭吉氏 (農蚕園芸局総務課課長補佐 (管理班担当))

は農薬検査所総務課長に

新井 實氏 (農薬検査所総務課長) は農蚕園芸局普及教育課課長補佐 (庶務班担当) に

(6月12日付)

日高輝展氏 (環境研環境生物部主任研究官) は環境研環境生物部昆虫管理科昆虫行動研究室長に

安田壮平氏 (同上部昆虫管理科昆虫行動研究室長) は派遣職員に

(6月16日付)

平尾重太郎氏 (九州農試環境一部虫害3研究室長) は熱研センター研究第二部併任に

(6月23日付)

北沢健治氏 (北海道農試病理昆虫部病害1研主任研究官) は退職

(7月5日付)

大畑貫一氏 (農研センタープロジェクト研究第二チーム長) は環境研環境生物部微生物管理科長に

駒田 且氏 (同上センター病害虫防除部土壌病害研究室長) は同センタープロジェクト研究第二チーム長に

国安克人氏 (野菜試環境部病害2研主任研究官) は同上センター病害虫防除部土壌病害研究室長に

斎藤康夫氏 (環境研環境生物部微生物管理科長) は派遣職員に

本会発行図書

日本有用植物病名目録

日本植物病理学会 編

第3巻 (果樹編)

B 6判 198 ページ

定価 2,300 円 送料 200 円

採録樹種: 温帯果樹, 熱帯果樹など 43 種

第4巻 (針葉樹編)

B 6判 232 ページ

定価 3,500 円 送料 250 円

採録樹種: 林木, 緑化樹, 竹笹など 112 種

第5巻 (広葉樹編)

B 6判 512 ページ

定価 3,900 円 送料 300 円

採録樹種: 林木, 花木, 緑化樹など 387 種

お申込みは前金 (現金・振替・小為替) で本会へ

(なお, 第1, 2巻は日本植物病理学会で発行しております)

植物防疫基礎講座

植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べかた (2)

静岡大学農学部植物病理学研究室 後藤 正夫・^{ごとう}まさお ^{たきかわ}たきかわ ^{ゆういち}ゆういち 雄一

III 形態的性質

細菌の同定に必要な形態的性質には、細菌細胞の形状、大きさ、運動性、べん毛の有無と着生位置、グラム反応、芽胞の有無および位置、莢膜の有無、抗酸性染色の有無、菌体内顆粒の有無、などが含まれる。これらの性質を調べるには光学顕微鏡による方法と、電子顕微鏡による方法がある。前者は普通顕微鏡または位相差顕微鏡により油浸レンズを用いて観察する。一般には、染色した細菌細胞を普通顕微鏡で観察する方法が採られる。この場合、高い解像力を得るためには照明の調整が大切で、ケーラー照明の手順に従って、照明器具、集光器あるいは絞りを調節する。細菌細胞を生きたまま観察するには、位相差顕微鏡が適している。この場合は光軸のセントリングが必須で、これが不十分であると鮮明な像は望めない。

1 細菌の培養

細菌の形態的特徴は培養の新旧、温度、培地の種類など培養条件や、生菌観察、固定・染色菌体の観察など実験方法によって大きく変動することがある。一般に古い培養は、若い培養に比べて菌体が小さく、病斑内の細菌は培地上のそれに比べて小さい。また細菌にとって不適当な培養条件では、形と大きさの変異幅が増加し、菌体は小型化したり逆に大型化して著しく不均一となる。均一な大きさと形を観察するには、若い培養の無染色標本を用い、位相差顕微鏡で調べるのがもっともよい。染色した標本について観察する方法も一般に行われるが、固定の段階で菌体収縮が起こるため、その結果は生菌観察と必ずしも一致しない。したがって形態的性質を記載する場合は、培地の種類、培養温度、培養日数、実験方法などを明記する必要がある。一般には肉エキス・ペプトン寒天または酵母エキス・ペプトン寒天の斜面培地に24時間培養した菌体を用いる。

2 普通染色

これは細菌の形および大きさの検査に広く用いられるが、菌体が一様に染色するか、まだら状に不規則染色す

るかも大きな識別性状となる。染色液としてはフクシン、クリスタル紫、メチレン青などの塩基性色素溶液が用いられる。

1) 石炭酸フクシン液の調製：保存液A：塩基性フクシン 10g を 95% エタノール 100ml に溶解。保存液B：フェノール 5g を蒸留水 100ml に溶解。使用に際しA液 10ml とB液 100ml を混合する。

2) 方法：①菌体を培地から釣りとって少し濁る程度に滅菌水に懸濁し、その1白金耳をスライドガラス上約1cm²に広げて風乾する。②塗沫面を上にしてバーナーの小火炎上を2~3回通し固定する。③染色液を数滴滴下して1~2分静置する。④水道水で静かに染色液を洗い流したのち、余分の水を濾紙で吸い取る。⑤セダー油を1滴載せて油浸レンズで観察する。

上記の操作中、風乾と火炎固定はガラス表面への菌体の固着と殺菌を目的としたものであるが、菌体の収縮と外部構造の変化を避けることはできない。この欠点を補うためにホルマリン固定、オスミック酸固定、Bouin 固定などの化学的固定を行うこともある。

3 形

普通染色した菌体を光顕で観察する方法がもっとも一般的である。位相差顕微鏡で生菌を観察する場合は菌体の移動を防ぎ、細胞の輪郭を明りょうにするため寒天スライド法またはゼラチンスライド法を用いると便利である。溶解した1~1.5% 素寒天にスライドガラスを瞬間浸して、ガラス表面に薄い寒天被膜を作る。裏側の寒天をきれいにぬぐい取ったのち、表面の寒天層の真中に白金耳で細菌懸濁液を1滴滴下して静かに広げる。カバーガラスをかけたのち、余分の寒天を切り取り、必要であれば周囲をパラフィンで封ずる。形態の記載は、まっすぐな桿状 (straight)、やや湾曲した桿状 (curved)、長桿状 (elongated)、短桿状 (short)、枝分かれ (branching) の有無、膨大部 (fusiform) の有無、細胞両端の形 (鈍円 (round ended)、直角 (square ended)、尖鋭 (tapered) など) を識別して行う。また菌体の配列は孤立 (single)、2個連結 (pairs)、短鎖 (short chains) (5細胞未満)、長鎖 (long chains) (5細胞以上) などに分けて記録する。

4 大きさ

Methods for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (2). By Masao Goro and Yuichi TAKIKAWA

細菌の大きさを正確に測定することは種々の技術的困難を伴う。高倍率の光顕観察では菌体の輪郭がしばしばハローによって不鮮明となるほか、風乾・固定による菌体収縮も見逃せない。電顕測定では前者の欠陥は解決されるが菌体収縮が大きい望ましくない。一般にはこれらの点に留意しつつ、普通染色した標本を接眼移動測微計で測定する。若い培養を用いても普通菌体の大きさにはかなり大きな変異の幅があるので、なるべく多数の菌体を無作為に選んで測定し、その最大値、最小値、平均値を記載する。

5 グラム反応

グラム染色法で調べるのがもっとも一般的であるが、3% KOH 溶解性またはアミノペプチダーゼ活性などによっても調べることができる。これによって細菌はグラム陽性 (Gram type positive)* とグラム陰性 (Gram type negative) の2群に大別される。この性質は細菌細胞壁の構造、抗生物質感受性などいくつかの生理的性質と相関性があるため、重要な識別性状となっている。

① グラム染色

グラム染色の結果は培養の新旧、菌体の損傷の有無などによって影響を受けるので、若い培養を用いることが大切で、できるだけ既知のグラム陽性菌を用いて比較染色することが望ましい。

1) グラム染色液の調製：保存液 A：クリスタル紫 7 g を 95% エタノール 100 ml に溶解する。保存液 B：フェノール 5 g を蒸留水 100 ml に溶解する。使用の際、A液 10 ml と B液 100 ml を混合する。

2) サフラニン染色液の調製：サフラニン 2.5 g を 95% エタノール 100 ml に溶解し、使用に際してこれを 10 倍に希釈する。

3) ルゴール液の調製：ヨウ素 1 g とヨウ化カリ 2 g を蒸留水 300 ml に溶解する。褐色瓶に保存する。

4) 脱色剤：95% エタノール。

5) 方法：①普通染色と同じ要領で細菌を塗抹・風乾・固定したスライドガラスに、グラム染色液を載せて 1 分間染色する。②染色液を水道水で静かに洗い流し、余分の水を濾紙で吸い取る。③ヨウ素・ヨウ化カリウム液を滴下して 1 分間静置する。④簡単に水洗し、濾紙で余分の水を滴を除いたのち、この上からアルコールを、紫色の色素が流れ出なくなるまで連続的に滴下する (ただし 1 分以上は続けない)。⑤簡単に水洗してから、サフラニン染色液で約 10 秒間対比染色する。⑥水洗後カバーガラスを載せて検鏡する。

* グラム染色の結果に限定する場合は、Gram reaction positive, negative, variable などと記す。

(2) 水酸化カリウム溶液による識別

3% KOH の 1 滴をスライドガラス上に取り、これに肉エキス・ペプトン寒天または酵母エキス・ペプトン寒天の 24 時間斜面培養から菌体を 1 白金耳取ってよく混ぜる。グラム陰性菌では菌体が凝集して粘ちょうとなり、白金耳で混合液を持ち上げると糸を引くのに対し、グラム陽性菌では菌体が均一に分散し、液質も水性のまま変わらない。

(3) アミノペプチダーゼ活性による識別

1) 試薬の調製：4.0 g の Lアラニン-4-ニトロアニリド塩酸を蒸留水 100 ml に溶解する。

2) 方法：試薬を濾紙 (直径 9 cm) にスプレーして湿らせ、これを寒天平板上の集落の上に乗せて軽く押さえる。5 分後ペトリ皿を光に透かしてみると、グラム陰性菌はアミノペプチダーゼによって遊離したパラニトロアニリンで黄色反応が見られるのに対し、グラム陽性菌ではこの変色が見られない。

6 運動性

細菌はべん毛の推進力で移動運動する。この運動性は、狭い範囲で振動するブラウン運動とは明確に区別される。運動性は位相差顕微鏡を用いると簡単に確認できる。若い液体培養を 1 白金耳スライドガラスに取り、カバーガラスをかける。10~20 倍の乾式対物レンズで観察すると活発に運動する菌体が観察される。周毛菌と極毛菌では運動速度、菌体の揺れかたが違うので、注意すればこの段階で両者を識別することが可能である。

普通顕微鏡で運動性を観察する場合は、細菌懸濁液または液体培養の小滴を白金耳で取ってカバーガラスの中央に置く。これを逆さにして、ホールスライドガラスの穴の中央に水滴がくるようにカバーガラスをかける。両者の間に少量の水をしみ込ませてカバーガラスを固定し鏡検する。はじめ 10 倍の対物レンズを用いて水滴の周縁に焦点を合わせる。次に 400 倍のレンズに代え、集光器と絞りを調節して光量を下げると水滴の周辺で活発に運動する菌体が観察される。

7 べん毛染色

細菌の種類によっては、培養条件によってべん毛の発達が著しく異なる場合があるので、べん毛染色にあたっては、前もって運動性を確認しておく必要がある。運動性の菌体が少ない場合は、新しい寒天斜面培地に継代培養して運動性菌体を増加させる。

(1) 山中氏変法

1) 媒染剤の調製：20% タンニン酸水溶液に、加熱溶解後放冷した 3% 酒石酸アンチモニルカリウムを 10:9 の割合になるまでかくはんしながら加え、白濁させる。

2) 銀液の調製: 5% 硝酸銀溶液 100 ml に 25~30% アンモニア水 0.5 ml と 4% NaOH 1 ml を加える。濃褐色の沈殿を生ずる。

3) 方法: ①寒天斜面培地 24 時間培養から菌体を白金耳で取り、約 5 ml の滅菌水に静かに懸濁する。わずかに濁る程度がよい。②懸濁液の 1 白金耳を取り、コルネットピンセットにはさんだカバーガラスに、直径数 mm の円形に静かに塗抹し、風乾する。③カバーガラスの塗抹面を上にして弱い火炎で固定する。④媒染剤をカバーガラスに満載し、火炎上にかざして媒染剤の白濁が消えるまで徐々に加熱する。⑤透明化した媒染剤が再びわずかに白濁するまで放冷する。⑥カバーガラスの裏面から静かに水道の水を流して十分に洗う。⑦余分の水を濾紙で除いたのち、銀液を満載し、わずかに蒸気が上がるまで火炎上で加熱する。⑧静かに水洗したのち、スライドガラスに載せ鏡検する。

電顕観察する場合はリントングステン酸カリウムまたは酢酸ウラニルでネガチブ染色するか、シャドウイング法を行う。

(2) Ryu の方法

1) 染色液の調製: 溶液 1: 5% 石炭酸溶液 10 ml, タンニン酸 2 g および硫酸アルミニウムカリウム・12 水塩 (ミョウバン) 飽和溶液 10 ml を混合する。溶液 2: クリスタル紫のアルコール飽和溶液 (12 g / 100 ml)。

染色液の調製は溶液 1 と 2 を 10:1 の比率で混合し、室温に保存する。この染色液は安定で、汙過の必要はない。

2) 方法: ①細菌懸濁液をスライドガラスまたはカバーガラスに塗抹して風乾する。②染色液を載せ 5 分間静置する。③水道水で 2~3 分間洗って色素を完全に洗い落としのち、常法に従って鏡検する。

カバーガラスに塗抹した細菌細胞のすべてが、一様にむらなくべん毛染色されることはまれで、きれいに染色した菌体は限られた一部の視野でしか見られないことが多い。このため染色標本を広い範囲にわたって、くまなく調べる必要がある。染色が悪いと菌体の回りに長短さまざまな糸状体が観察されることがある。べん毛は菌体の長径をやや超える長さ、特有のゆるやかな波長を持っているので区別される。

8 ポリ-β-ヒドロキシ酪酸 (PHB) 顆粒

非蛍光性 pseudomonads では、貯蔵物質として細胞内に PHB 顆粒を形成するものがあり、分類上の識別性状となっている。この物質は一般に窒素源制限—炭素源過剰下で形成されやすい性質がある。普通は染色法で検出するが、位相差顕微鏡や化学分析による方法もある。

一般には酵母エキス・ペプトン寒天や肉エキス・ペプトン寒天斜面培地に 24~48 時間培養した菌体を用いるが、これらに 5% グルコースを加えた培地や、唯一の炭素源として 0.5% の DL-β-ヒドロキシ酪酸を含む合成培地に培養して確認することもできる。

1) 染色液の調製: 0.3 g のスタンブラック B を 100 ml の 70% エタノールに溶解。

2) 方法: 普通染色の要領で菌体をスライドガラスに塗抹し、風乾したのち火炎固定する。これに染色液を満載し 10~15 分間静置する。余分の染色液を捨ててから、キシロールで軽くスライドガラスを洗う。余分のキシロールを濾紙で吸い取ったのち、鏡検する。PHB は暗紫色顆粒として観察される。キシロール洗浄後、サフラン (0.5% 水溶液) で 5~10 秒間対比染色すると、淡紅色に染まった細胞質と PHB を染め分けることができる。

Corynebacterium 属細菌でもスタンブラック B で染まる脂質性顆粒を形成するものがある。これは電顕でも大型顆粒として認められる。

9 莢膜染色

莢膜および粘質層の検出には、生菌を使って検出する方法と、風乾・固定した菌体について染め分ける方法があるが、ここでは後者について述べる。

Hiss 法: 1 白金耳の細菌懸濁液と同量の血清または 10% スキムミルク溶液をカバーガラスに取ってよく混ぜた後、塗抹する。風乾後静かに加熱して固定する。染色液 (クリスタル紫 0.1 g を蒸留水 100 ml に溶解) を満載し、蒸気が上がるまで加熱する。これを硫酸銅 20% 水溶液で洗い、濾紙で水分を吸い取ったのち鏡検する。菌体は暗紫色に、莢膜は淡青色に染め分けられる。

10 抗酸性染色

Mycobacterium 属細菌およびそれに近縁な細菌の一部は加熱した石炭酸フクシンで染色したのち、酸アルコールで処理しても脱色しない特性を持っている。植物病原細菌では、ブルーベリーのこぶから分離された *Nocardia vacinii* を除き抗酸性染色するものはなく、識別的意义はない。特に調べる必要はない。

IV 培養的性質

種々の固型培地、液体培地に培養して発育状態を調べる。細菌学の領域によっては、同定にあたって生理・生化学的性質に重点を置き、識別性状としての培養的性質の意義を過少評価する傾向がないわけではない。しかし特徴ある集落外観を持つ数種の属 (genus) からなる植物病原細菌では、培養的性質が少なくとも属のレベルで

重要な識別性状となる。

1 寒天平板培養

集落の形状は培地の種類、組成、pH、集落の分散密度、培養日数、培養温度などによって大きく変化することがある。これは *Pseudomonas solanacearum* のF型集落に典型的な例を見ることができる。この細菌は肉汁寒天平板培地では pH 6.8 付近で 48 時間目に特徴ある流動性の白色集落を形成するが、pH が 7.0 以上になったり、集落密度が極端に高かったり、培養日数が 3~4 日を超えると、この特徴が現れなかったり、現れても速やかに消失する。また培地に糖を加えると一部の Op 型 (B 型) も F 型の集落性状を現してることがある。

したがって集落性状の記載にあたっては、培地の種類、組成、培養条件などを明確に付記することが重要となる。集落の形はルーペ (または低倍率顕微鏡) で観察する。平板培地上で記録すべき事項は次のとおりである。

(1) 発育の遅速

孤立集落が肉眼的に認めうる大きさに発達するまでの時間 (日数) および直径約 1 mm の大きさに発達するのに要する時間 (日数) を記録する。細菌の集落は糸状菌の集落のように連続的に生長するものではなく、直径数 mm に達した後はあまり大きくならない場合が多いため、長期間にわたって大きさを記録する必要はない。

(2) 色

集落の色は透過光ではなく、反射光で調べる。非水溶性色素の産生によって黄色、紅色、紫色などに着色する。これは発育段階や菌体集団の大きさによっても変化することがある。特に増殖初期の小型集落では色調を読み取るのは難しく、斜面培養で記録するのが好ましい。しかし逆に孤立集落の発達過程で見られる微妙な色の変化は一つの特徴となる。

(3) 形

集落の形を点状 (punctiform)、円形 (circular)、不規則形 (irregular)、アメーバ状 (amoeboid)、根状 (rhizoid)、巻毛状 (curled)、乱糸状 (filamentous) などのように区別して記録する。植物病原細菌は大部分が円形集落を形成し、一部の細菌がときに不規則形またはアメーバ状集落を形成するにすぎない。これは逆に言うと、分離培地上で円形集落以外の特殊な集落形態をとる細菌は、植物病原細菌の可能性が小さいことを意味する。

(4) 高さ

ペトリ皿の裏からルーペで観察して識別するが、判定しにくい場合はペトリ皿のフタを取って、上から観察す

る。膜状 (effused)、へん平 (flatt)、丘状 (raised)、中高 (convex)、こぶ状 (umbonate) などに識別するが、大部分の植物病原細菌は丘状集落を形成し、一部の細菌でへん平または中高の集落が見られるにすぎない。集落の高さは細菌多糖質産生の有無によって影響されることがあり、初め盛り上がった集落を形成するが時間の経過とともに低くなるがあるので、観察時の培養時間に注意を要する。

(5) 縁辺の形

これは集落の縁どりの形を指し、全縁 (entire)、鈍鋸歯状 (undulate)、波状 (lobate)、乱歯状 (erose)、菊花状 (fimbriate) などに識別される。大多数の植物病原細菌は、全縁集落を形成し、一部に鈍鋸歯状または波状の集落を形成するものがある。集落縁辺の形は、野生型の S 型集落では全縁であるが、R (ラフ) 型に変異するとしばしば波状または鈍鋸歯状を呈することがある。また培地の種類、培地表面の乾燥などによっても変わることがあるので注意を要する。

(6) 表面の性状

ルーペでペトリ皿の裏側から観察するが、判別しにくいときはフタを取って集落の表面を観察する。平滑 (smooth)、粗面 (rough)、しわ状 (rugose) などに識別して記録する。植物病原細菌の野生型は多くの場合、表面平滑な集落を形成するが、まれに粗面集落を形成する場合がある。

表面の性状と同時に集落の光沢も記録する。一般に平滑集落の多くは湿光 (glistening) を、また粗面集落は鈍光 (dull) を持っている。

表面平滑な集落でも、ペトリ皿を傾けて斜め前方からの光で観察すると、表面に細かな格子状模様を認める場合がある。これは特に発育初期の集落で顕著に現れるが、平板に直角の透過光では認めることができない。

(7) 質

白金耳で集落に触れ、その質 (texture) を識別する。バター質 (butyrous)、粘ちょう (viscous)、膜状 (membraneous)、ぜい弱 (brittle) などに区別する。植物病原細菌の大部分はバター質集落を形成するが、一部の細菌は粘ちょうな集落を作る。この場合、初めはバター質で、培養時間の経過とともに粘ちょう性を高めるのが普通である。

(8) 透明度

植物病原細菌の中には菌体外多糖質を作り、不透明な集落を形成するものと、これを作らず透明な集落を形成するものがある。透明度によって透明型 (transparent)、半透明型 (translucent)、不透明型 (opaque) などと区

別する。これは突然変異によって変わる一方、培地成分(糖の有無など)の影響も大きく受ける。

2 寒天斜面培養

斜面培地に線状に植菌して、発育の良否、菌層の色、形、高さ、光沢、表面性状、透明度、質、水溶性色素の産生などを調べる。前項で孤立集落の調査を完全に行えば、斜面培養の調査は必ずしも必要ではない。斜面培養特有の性状は菌層の形であるが、植物病原細菌は大部分が糸状(filiform)の発育を示すので、これが識別性状となることは少ない。斜面培養は色素産生の有無を検査する場合に有効で、集落の色(非水溶性色素)と培地の着色(水溶性色素)に区別して記録する。水溶性の蛍光色素は後述するように、普通、キング培地で調べるが、褐色色素は肉汁寒天やジャガイモ培地でもよく産生される。

3 寒天高層培養

せん刺溝内の発育状況や、菌層の形を調べるが、植物病原細菌はいずれも糸状発育を示し、識別性状としての意義はほとんどない。同定にあたっては、これを省いても差し支えない。

4 液体培養

ブイヨン培養と合成培地(ウシンスキー培地、フェルミ培地、コーン培地など)がある。いずれも発育の良否、皮膜形成の有無、沈殿の状態、色素産生の有無などを調べる。ブイヨン培養では混濁程度と皮膜形成の有無が識別性状として役だつ。特に後者は繊毛の発達を反映するもので、重視される。上記の合成培地は、増殖の有無によってそれぞれ含有する基質利用性を知ることができるが、それらは今日ではN源およびC源利用性として生理・生化学的性質の中で調べられる。したがって、最近ではこれらの合成培地発育性を細菌同定に用いることはほとんどない。(つづく)

本会 30 周年記念出版物

「三十年の活動」

B 5 判 特上製本 252 ページ

「植物防疫総目次」

Vol. 1~36 (1947~1982)

B 5 判 63 ページ

上記 2 冊箱入り、実費 5,000 円(送料サービス)、「三十年の活動」のみ実費 3,800 円(送料サービス)若干余部がありますので、御希望の方は前金でお申し込み下さい。先着順にて発送いたします。

「三十年の活動」

内 容 目 次

- 第 I 章 戦中戦後の植物防疫(座談会)
- 第 II 章 委員会、研究会
- 第 III 章 委託試験事業
- 第 IV 章 国の委託(補助)による調査研究事業
- 第 V 章 用語審議委員会
- 第 VI 章 出版事業
- 第 VII 章 国際協力
- 第 VIII 章 都道府県植物防疫協会との連絡協調
- 第 IX 章 研究所
- 第 X 章 植物防疫資料館
- 第 XI 章 その他の事業
- 第 XII 章 時の流れ

「植物防疫総目次」

内 容 目 次

- 〔1〕 植物防疫全般
- 〔2〕 病害虫全般
- 〔3〕 植物病理
- 〔4〕 昆虫・ダニ類
- 〔5〕 線虫(ネマトーダ)(殺線虫剤)
- 〔6〕 有害動物
- 〔7〕 雑草と除草剤
- 〔8〕 農薬、農機具
- 〔9〕 その他
- 〔10〕 特集一覧

なお総目次のみ御希望の方は定価 1,200 円
送料 200 円にて販売いたします。

紹介

新登録農薬

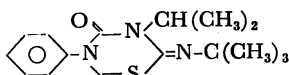
『殺虫剤』

ブプロフェジン水和剤 (58. 12. 16 登録)

日本農薬(株)が開発し、殺成虫作用はないが、強い殺幼虫作用をもつ。殺幼虫作用は脱皮異常としてあらわれるため処理後すぐには効果がなく、遅効的であるが、残効性は長い。また、殺虫選択性をもつため、カイコ、ミツバチ、天敵など有用昆虫や環境に対する影響も少ない。このため、かんきつの訪花昆虫にも影響がなく開花期の散布も可能である。有機燐剤、カーバメート剤と交差抵抗性を示さないため抵抗性ウンカ、ヨコバイ等にも効果がある。

商品名：アプロード水和剤

成分・性状：製剤は有効成分 2-ターシャリーブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3, 4, 5, 6-テトラヒドロ-2H-1, 3, 5-チアジアジン-4-オン 25.0% を含有する類白色水和性粉末 300 メッシュ以上である。原体は白色結晶性粉末で比重 1.18, 融点 104.5~105.5°C, 溶解度は水 0.0009 g/l, ベンゼン 370 g/l, エタノール 80 g/l, 酸, アルカリに安定, 光, 熱に安定である。



適用作物・適用害虫名及び使用方法：第1表参照

使用上の注意：

① 本剤は成虫を直接殺す作用がないので、幼虫主体

の時期に散布するのが望ましい。また、その場合、薬剤散布後も幼虫は直ちに死亡せず、死亡までに3~7日を要するので十分留意すること。

② 成虫の防除を必要とする場合には、成虫に有効な薬剤と組み合わせて使用すること。

③ 本剤の散布適期は、本剤の性質から害虫発生初期の比較的低密度の時期であり、多発時の散布は直ちに密度を低下させることが出来ないのので、その場合は速効性のある薬剤と組み合わせて使用すること。

④ 散布の際はマスク、手袋などをして散布液を吸い込んだり、多量に浴びたりしないように注意し、作業後は顔、手足など皮膚の露出部を石けんでよく洗い、うがいをする。

⑤ 散布液調整後はできるだけ速やかに散布すること。

⑥ 本剤の使用に当っては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、とくに初めて使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

毒性：普通物であるが誤飲誤食などのないよう注意すること。魚毒性はB類である。

なお、単剤のブプロフェジン水和剤(商品名：アプロード水和剤、アプロードゾル)のほか、混合剤として、ブプロフェジン・BPMC 粉剤(アプロードバッサ粉剤 DL)、ブプロフェジン・BPMC・イソプロチオラン粉剤(フジワンアプロードバッサ粉剤 DL)、ブプロフェジン・BPMC・MEP・イソプロチオラン粉剤(フジワンアプロードスミバッサ粉剤 50 DL)、ブプロフェジン・BPMC・フサライド粉剤(アプロードラブサイドバッサ粉剤 DL)、ダイアジノン・ブプロフェジン粉剤(アプロードダイアジノン粉剤 DL)、ダイアジノン・ブプロフェジン粒剤(アプロードダイアジノン粒剤)が同時に登録になっている。

アプロードゾル及び混合剤の適用作物、適用病虫害名及び使用方法：第2~8表参照

第1表 アプロード水和剤

作物名	適用害虫名	希釈倍数(倍)	使用時期	本剤及びブプロフェジンを含む農薬の総使用回数	使用方法
稲	ツマグロヨコバイ幼虫 ウンカ類幼虫	1,000~2,000	収穫7日前まで	4回以内	散布
麦類	ヒメトビウンカ幼虫		収穫前日まで	3回以内	
きゅうり なす	オンツコナジラミ幼虫	1,000~1,500		収穫14日前まで	
茶(履下栽培を除く)	クワンシロカイガラムシ若令幼虫 チャノミドリヒメヨコバイ幼虫	1,000	摘採7日前まで	2回以内	

第2表 アプロードバッサ粉剤 DL

作物名	適用害虫名	10アール 当り使用量	使用時期	本剤のみを使用 する場合の 使用回数	使用方法	ブプロフェジン を含む農薬の総 使用回数	BPMC を含 む農薬の総使 用回数
稲	ツマグロヨコバイ ウンカ類	3~4 kg	収穫7日 前まで	4回以内	散布	4回以内	5回以内

第3表 フジワンアプロードバッサ粉剤 DL

作物名	適用病害虫名	10アール 当り使用量	使用時期	本剤のみを使用 する場合の 使用回数	使用方法	ブプロフェジンを含む 農薬の総使 用回数	BPMC を含 む農薬の総使 用回数	イソプロチ オランを含 む農薬の総 使用回数
稲	いもち病 ツマグロヨコバイ ウンカ類	3~4 kg	収穫14日 前まで	3回以内	散布	4回以内	5回以内	3回以内

第4表 アプロードゾル

作物名	適用害虫名	希釈倍数	10アール当り 散布液量	使用時期	本剤及びブプロフェジン を含む農薬の総 使用回数	使用方法
麦類	ヒメトビウンカ 幼虫	40~60倍	3 l	収穫7日 前まで	3回以内	空中散布

第5表 フジワンアプロードスミバッサ粉剤 50DL

作物名	適用病害虫名	10アール 当り使用量	使用時期	本剤のみを使用 する場合の 使用回数	使用方法	ブプロフェジンを含む 農薬の総使 用回数	BPMC を含 む農薬の総使 用回数	MEP を含 む農薬の総使 用回数	イソプロチ オランを含 む農薬の総 使用回数
稲	いもち病 ニカメイチュウ ツマグロヨコバイ ウンカ類 カメムシ類	3~4 kg	収穫14日 前まで	3回以内	散布	4回以内	5回以内	7回以内	3回以内

第6表 アプロードラブサイドバッサ粉剤 DL

作物名	適用病害虫名	10アール 当り使用量	使用時期	本剤のみを使用 する場合の 使用回数	使用方法	ブプロフェジンを含む 農薬の総使 用回数	BPMC を含 む農薬の総使 用回数	フサライド を含む農薬 の総使用回数
稲	ツマグロヨコバイ ウンカ類 いもち病	3~4 kg	収穫21日 前まで	4回以内	散布	4回以内	5回以内	穂ばらみ期 以降は 4回以内

第7表 アプロードダイアジノン粉剤 DL

作物名	適用害虫名	10アール 当り使用量	使用時期	本剤のみを使用 する場合の 使用回数	使用方法	ダイアジノン を含む農薬の 総使用回数	ブプロフェジン を含む農薬 の総使用回数
稲	ツマグロヨコバイ ニカメイチュウ ウンカ類 コブノメイガ イネツトムシ	3~4 kg	収穫21日 前まで	4回以内	散布	4回以内	4回以内

第 8 表 アブロードダイアジノン粒剤

作物名	適用害虫名	10アール 当り使用 量	使用時期	本剤のみを使用 する場合の 使用回数	使用方法	ダイアジノン を含む農薬の 総使用回数	プロフェジ ンを含む農薬 の総使用回数
稲	ニカメイチュウ ツマグロヨコバイ ウンカ類 フタオビコヤガ イネハモグリバエ イネヒメハモグリバエ	3~4 kg	収穫21日 前まで	4回以内	満水散布	4回以内	4回以内

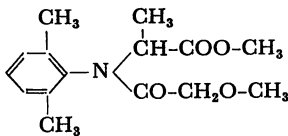
『殺菌剤』

メタラキシル水和剤 (59. 2. 3 登録)

本剤は、スイス国チバガイギー社によって開発された予防効果、治療効果を併せもつ浸透移行性の殺菌剤である。病原菌の菌糸の伸長、胞子の形成を阻止し、また植物の茎葉部からすみやかに吸収移行し処理後伸長した茎葉部への菌の侵入も阻止する。また、本剤とヒドロキシソキサゾールとの混合剤は箱育苗中における各種病原菌の複合感染による苗の黄化、立枯れ及び根の生育促進に効果がある。

商品名：リドミル水和剤

成分・性状：製剤は有効成分メチル N-(2-メトキシアセチル)-N-(2,6-キシリル)-DL-アラニナート 25.0% を含有する類白色水和性粉末 250 メッシュ以上である。原体は類白色結晶で比重 1.21, 融点 71.8~72.3 °C, 溶解度は水 0.71%, メタノール 65%, ベンゼン 55%, 熱 300°C まで安定である。



適用作物、適用病害名及び使用方法：第 9 表参照
使用上の注意：

① 生育期大土寄せ時(初発時まで)にジョウロなどで株元の土壌に灌注すること。

② 本剤は疫病発生に際して予防的に処理した方がより効果的である。発生が予想される場合、又は初発生を見たら直ちに処理し、処理適期を失しないよう注意すること。

③ 本剤の連続使用によって、薬剤耐性菌が出現し、効果の劣った事例があるので、過度の連用をさげ、なるべく作用性の異なる他の薬剤と組み合わせて輪番で使用すること。

④ 本剤の使用に当っては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、とくに初めて使用する場合には専売公社技術員の指導を受けることが望ましい。

⑤ 散布の際はマスク、手袋などをして粉末や散布液を吸い込んだり、浴びたりしないように注意し、作業後は顔、手足などの皮膚の露出部を石けんでよく洗い、うがいをするとともに、清水で洗眼すること。

毒性：普通物であるが誤飲誤食などのないよう注意すること。魚毒性はA類である。

なお、単剤のメタラキシル水和剤のほか、混合剤として、ヒドロキシソキサゾール・メタラキシル粉剤(タチガレエース粉剤)が同時に登録になっている。

混合剤の適用作物、適用病害名及び使用方法：第 10 表参照

第 9 表 リドミル水和剤

作物名	適用病害名	希釈倍数	使用時期	本剤及びメタラキシルを含む農薬の総使用回数	使用方法
たばこ	疫病	2,000~4,000 倍	大土寄せ時	—	株当たり 200 ml 株元灌注

第 10 表 タチガレエース粉剤

作物名	適用病害名 使用目的	使用量	使用時期	本剤のみを使用する場合の使用回数	使用方法	ヒドロキシソキサゾールを含む農薬の総使用回数	メタラキシルを含む農薬の総使用回数
稲 (箱育苗)	苗立枯病(ピシウム菌、フザリウム菌)根の生育促進 ムレ苗防止	育苗箱 (30×60×3cm, 使用土壌約 5l) 1 箱当り 6~8g	は種前	1 回	育苗箱土壌に均一に混和する	—	—

新しく登録された農薬 (59.6.1~6.30)

掲載は、種類名、有効成分及び含有量、商品名(登録年月日)、登録番号〔登録業者(会社)名〕、対象作物：対象病害虫：使用時期及び回数などの順。ただし除草剤については、適用雑草：使用方法を記載。(…日…回は、収穫何日前まで何回以内散布の略。)(登録番号 15769~15774 まで計6件)

なお、アンダーラインのついた種類名は新規のもので〔 〕内は試験段階時の薬剤名である。

『殺虫剤』

アセフェート・アレスリンエアゾル

アセフェート 0.25%, アレスリン 0.20%

オルトランAスプレー (59.6.14)

15770 (北興産業)

ばら・きく：アブラムシ類

マシン油乳剤

マシン油 98.0%

ライトマシン (59.6.14)

15771 (井筒屋化学産業)

かんきつ：ミカンハダニ・ヤノネカイガラムシ(幼虫)

: 6~10月

BPMC 粉剤

BPMC 15.0%

バッサ FD (59.6.14)

15772 (クマイイ化学工業), 15773 (三笠化学工業)

なす・きゅうり(温室・ハウス等): ミナミキイロアザ

ミウマ: 前日3回, すいか・メロン(温室・ハウス等)

: ミナミキイロアザミウマ: 前日4回

『除草剤』

グルホシネート液剤 [Hoe 866]

グルホシネート 18.5%

バスタ液剤 (59.6.14)

15769 (ヘキストジャパン)

桑: 一年生雑草: 雑草茎葉散布, 鉄道・公園・庭園・堤
とう・駐車場・道路・運動場・宅地・のり面等: 一年
生雑草・多年生雑草: 雑草茎葉散布

ピアラホス液剤 [MW-801]

ピアラホス 32.0%

ハービエース液剤 (59.6.14)

15774 (明治製菓)

花木・桑・日本芝: 畑地一年生雑草: 雑草茎葉散布

人事消息

(研究職 OB ニュース 59年1~4月)

嶋田 饒氏(北海道農試草地開発2部長)は国際武道大
学体育学部教授に

赤塚 恵氏(北陸農試場長)は小野田化学(株)技術顧問
に

串崎光男氏(草地試環境部長)は国連 FAO 専門家に
石崎信之氏(北海道農試病昆虫部主任研究官)は北海道薬
科大学教授に

川井一元氏(農林水産技術情報協会専務理事)は同会研
究顧問に

伊藤一雄氏(林試保護部長)は同上会技術主幹に

川嶋良一氏(農研センター所長)は農林漁業金融公庫理
事(融資第一部担当)に

(研究職 OB ニュース 59年4~6月)

坂井健吉氏(環境研所長)は農林水産技術情報協会専務
理事に

大塚化学薬品株式会社は、3月1日付けで社名を変更。

新社名 大塚化学株式会社

日本カーリット株式会社は、5月14日付け(業務開始
日)で本社を下記へ移転した。

〒105 東京都港区芝二丁目3番3号

芝東京海上ビル2階

新電話番号 農薬部 (03) 457-1316

日本サイアナミッド株式会社は、電話番号を各部直通と
した。農薬本部の番号は、農薬本部 03-586-9712, 営
業部-9713, 企画部-9714, 開発部-9715

中央だより

—農林水産省—

○防除要否予測技術導入事業打合せ会開催さる

昭和 59 年度防除要否予測技術導入事業打合せ会が次
のとおり開催された。

(1) 日時: 昭和 59 年 6 月 15 日 10 時 30 分~
17 時

(2) 場所: 農林水産省三番町分庁舎会議室

(3) 出席者: 北海道, 岩手, 宮城, 茨城, 千葉, 長
野, 石川, 広島, 山口, 愛媛, 福岡, 佐賀, 鹿
児島各県, 農業研究センター, 農業環境技術研
究所, 果樹試験場, 東北農業試験場, 地方農政
局, 植物防疫課, (財)気象協会

協 会 だ よ り

一 本 会

○第 59 回理事会, 第 40 回通常総会開催

5月25日午後1時30分から東京都市ヶ谷の家の光会館で理事会・総会を開き, 総会出席の会員にあらかじめ理事会を傍聴願ひ, 理事会終了後総会に切りかえた。

遠藤常務理事が定刻に開会を宣言。

石倉理事長が議長となり, 挨拶し, 議事録署名名人に石井象二郎理事と佐藤六郎理事を指名して承認された。

議事は下記提出議案順に審議し, 原案どおり議決された。

第1号議案 昭和58年度事業報告及び収支決算並びに損益計算報告案

第2号議案 昭和58年度収支差額並びに剰余金処理案

第3号議案 昭和58年度事業計画及び収支予算案

第4号議案 会費及び会費徴収方法

第5号議案 役員人事

第6号議案 役員及び顧問報酬

第3号議案の昭和59年度予算は, 公益一般会計は356,420千円, 公益委託試験会計は1,629,560千円, 収益事業会計は116,798千円, 国庫委託費会計は2,105千円, 合計2,104,883千円である。

第4号議案の会費は通常会員は500円, 賛助会員は固定会費が1口30,000円1口以上, 事業割会費が試験費の8%, 特別会員は30,000円となった。

2時30分理事会は終了し, 続いて通常総会を開会して石倉理事長が議長となり, 第1~6号議案を上程し, 承認を得た。

第5号議案の役員人事については, 団体会員の人事異動による次の理事の交代が承認されたほか, 安尾理事死去後の理事の補充並びに体制の一層の強化について諮られたところ通常会員から福田秀夫, 栗田年代の両氏が選

出され, 栗田理事は理事会の決議により常務理事に就任することが承認された。

また, 河田顧問が健康上の理由から顧問の常勤を退かれることになった。

◎団体会員の人事異動に伴う理事の交代

[交代就任] 宇井格生 (北海道植物防疫協会)

遠藤二郎 (農薬工業会)

馬場 赴 (日本植物調節剤研究協会)

[交代辞任] 遠藤和衛 (北海道植物防疫協会)

石井潤一 (農薬工業会)

千野知長 (日本植物調節剤研究協会)

議事終了後, 退任・新任理事の挨拶並びに来賓の祝辞があり, 午後3時10分閉会した。

【職 員 募 集】

勤務場所 事務局又は研究所

募集人員

短大卒以上 応用昆虫学専攻 (男子 2~3名)

短大卒以上 植物病理学専攻 (男子 1~2名)

短大卒以上 商学又は経済学専攻 (男子 1名)

高卒以上 専攻不問 (女子 1名)

給 与 国家公務員行政職(一)表に準ずる。通勤手当(全額), 住宅手当等支給。

提出書類 1.履歴書(写真添付) 2.卒業(見込)証明書 3.成績証明書 4.身体検査書 5.担任教官の推せん書 6.作文(400字詰原稿用紙2枚, 課題:本会を希望した理由)

締 切 昭和59年9月29日(土)

提 出 先 社団法人日本植物防疫協会総務部 (TEL 03-944-1561)

選 考 第1次 書類選考(結果を本人に通知)

第2次 面接及び筆記試験

(試験日 10月22日(月))

内 定 昭和59年11月下旬本人に通知

植 物 防 疫

第 38 卷 昭和 59 年 7 月 25 日印刷
第 8 号 昭和 59 年 8 月 1 日発行

定価 500 円 送料 50 円 1 か年 6,150 円
(送料共概算)

昭和 59 年

編 集 人 植物防疫編集委員会

— 発 行 所 —

8 月 号

発 行 人 遠 藤 武 雄

東京都豊島区駒込1丁目43番11号 郵便番号 170

(毎月1回1日発行)

印 刷 所 株式会社 双文社印刷所

社 団 法 人 日 本 植 物 防 疫 協 会

— 禁 転 載 —

東 京 都 板 橋 区 熊 野 町 13-11

電 話 東 京 (03) 944-1561~6 番
振 替 東 京 1-177867 番

増収を約束する **日曹の農薬**

果樹・野菜の広範囲の病害防除に

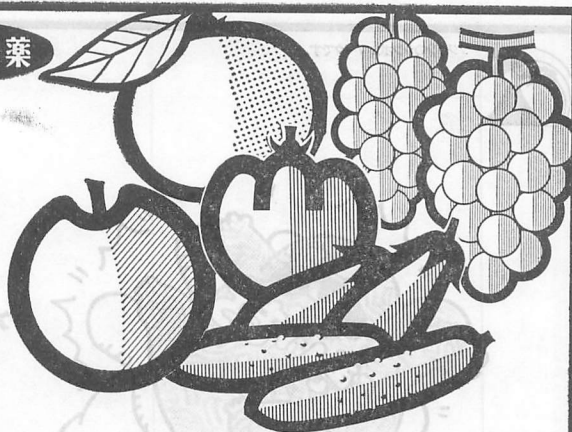
トップジンM
水和剤

灰色かび病・菌核病の防除に

日曹ロニラン
水和剤

ぶどうのべと病防除に

日曹アリエツァイC
水和剤



なす・茶・果樹・花のハダニ類防除に

日曹トルピラン 乳剤

果樹・野菜の害虫防除に

ホスピット75 乳剤



日本曹達株式会社

本社 〒100 東京都千代田区大手町2-2-1
支店 〒541 大阪市東区北浜2-9-0
営業所 札幌・仙台・信越・名古屋・福岡・四国・高岡

いもち病・白葉枯病・粃枯細菌病に…

サッとひとまき強い力がなが〜くつづく

オリゼメート粒剤



- 抜群の防除効果を発揮する
- 根からすみやかに吸収され、長期間(約45日)効果が持続する。
- 1回の散布で通常の散布剤の2〜3回分の効果に匹敵する。



明治製菓株式会社
104東京都中央区京橋2-4-16



フジワンのシンボルマークです。

楽農の喜び すべてをためる笑顔

さあ来い、穂いもち、ひとヒネリだ!



穂いもち、フジワン、まず予防。

- 散布適期中が広く、散布にゆとりがもてます。
- すぐれた効果が長期間(約6週間)持続します。
- 粉剤2~3回分に相当する効果を発揮します。
- 稲や他作物に薬害を起こす心配がありません。
- 人畜、魚介類に安全性が高く安心して使えます。

フジワン[®]粒剤

®は日本農薬の登録商標です。

〈本田穂いもち防除〉

使用用量：10アール当り4kg

使用時期：出穂10~30日前(20日前を中心に)

あなたの稲を守る〈フジワン〉グループ

フジワン粒剤・粉剤・粉剤DL・乳剤・AV
 フジワンブラエス粉剤・粉剤DL
 フジワンカヤフォス粒剤
 フジワンダイアジノン粒剤

フジワンエルサンバッサ粉剤・粉剤DL
 フジワンスミチオン粉剤・粉剤DL・乳剤
 フジワンツマスマミ粉剤・粉剤40DL
 フジワンスミバッサ粉剤50DL

フジワンND粉剤・粉剤30DL
 フジワンツマサイド粉剤・粉剤DL
 フジワンバッサ粉剤DL
 フジワンアプロードバッサ粉剤DL



日本農薬株式会社

〒103 東京都中央区日本橋1-2-5 栄大樓ビル

実験以前のこ

— 農学研究序論 —

農学博士 小野小三郎著 農業技術協会発行

B 6判 304頁 定価 1,600円 ㊦ 250円

本書は、「農業技術」に延べ32回にわたって連載したものを一括取りまとめたものです。

国立農試で作物の病害研究に専念し、ついで企業の研究所長として新農業創製の研究管理に当たり、さらに植物病理学会会長を務めた著者が、長い研究ならびに研究管理生活を通じて、苦しみ、悩みながら研究を進めてきた体験にもとづき、創造的研究とは何か、創造的研究の過程はどう分けられるか、各過程における問題点は何か、それらの処し方はどうすればよいかなどを整理し、提示したものです。

農学・生物学についての研究方法論としては唯一のなものであり、文献も豊富に載せられているので、これらの関係の研究者およびその方面に進まれる人達にとって貴重な指針になるばかりでなく、一般読者にとっても科

学的なもののお考え方などを知るうえに、少なからず参考になるものです。

— 主な目次 —

第一部 実験以前のこ / I 研究における創造性
II 構想への準備期 III 啓示期 IV 研究計画期 V
実験期 VI 実験周辺の諸問題

第二部 続・実験以前のこ / I 研究における個性
論 II 研究における偶然の役割 III 研究における技
術の問題 IV 研究における科学史の意義 V 研究に
おける明部と暗部

注文は農業技術協会 [㊦ 114 東京都北区西ヶ原 1-26-3
Tel 03-910-3787 振替 東京 8-176531] または最寄りの書店経由でお願いします。

— 連作障害を抑え健康な土壌をつくる! —

花・タバコ・桑の土壌消毒剤

パスアミド

微粒剤

- ❖ いやな刺激臭がなく、民家の近くでも安心して使えます。
- ❖ 広範囲の土壌病害、線虫に高い効果があります。
- 安全性が確認された使い易い殺虫剤

マリックス® 乳剤
水和剤

- ボルドーの幅広い効果に安全性がプラスされた有機銅殺菌剤

キノンドー® 水和剤80
水和剤40

- ❖ 作物の初期生育が旺盛になります。
- ❖ 粒剤なので簡単に散布できます。

- ボルドー液に混用できるダニ剤

ブデン® 乳剤

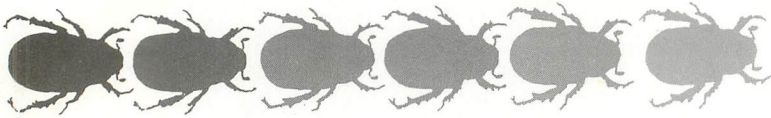
- 澄んだ水が太陽の光をまねく / 水田の中期除草剤

モゲブロン® 粒剤



兼商株式会社

東京都千代田区丸の内 2-4-1



ほおっておけない畑のゲリラ。



広く使える土壌害虫防除剤

ダイアジロン® 粒剤

- コガネムシ類をはじめ多くの土壌害虫にすぐれた殺虫効果を発揮します。
- 適用作物の範囲が広く、使いやすい薬剤です。
- いろいろな処理方法で使えます。
- 土壌中の残留が少なく、作物に安全です。
- 薬害がなく、安心して散布できます。

普及会事務局 **日本化薬株式会社**

東京都千代田区富士見 1-11-2
TEL. 03-237-5185



未来を拓く 技術と創造の



農協・経済連・全農

クミカの農薬

●稲もみがれ病・園芸・畑作難防除病害に

バンシタック®
粉剤DL、粉剤、水和剤75、ゾル

●浸透持続型いもち防除剤

ビーム® **ビームジン**
粉剤DL、粉剤、水和剤 粉剤DL、粉剤、ゾル
ゾル、粒剤

安全性・経済性・高い信頼

●水田除草剤

サターンS 粒剤
サターンM 粒剤
クミリードSM 粒剤

★いま、新しい結論。水田初期除草剤

クマイ **ソルネット** 粒剤

★確かな一発
初期水田一発処理除草剤

クマイ **クサホープ**® 粒剤
★初期一発でも体系使用でも幅広く使える
グラバック® 粒剤
★稲に安全 一発処理剤のホープ
シルベノン 粒剤



自然に学び 自然を守る
クマイ化学工業株式会社
本社 東京都台東区池之端 1-4-26 〒110-91