

ISSN 0037-4091

植物防疫

昭和六十年八月二十五日発行
第三十九卷(毎月二回)第八号

1985

8

VOL 39

特集 ウイロイド

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

植物ウイルス検出システム

ポテト ウィルス測定キット

647411	ポテト 葉巻ウイルス	約1000~5000回分	¥52,000
649350	ポテト Aウイルス	約1000~5000回分	¥52,000
661350	ポテト Mウイルス	約1000~5000回分	¥52,000
649368	ポテト Sウイルス	約1000~5000回分	¥52,000
661368	ポテト Xウイルス	約1000~5000回分	¥52,000
647420	ポテト Yウイルス	約1000~5000回分	¥52,000



ポテト ウィロイド測定キット

821691	Potato Spindle Tuber Viroid(PSTV)	約200回分	¥75,000
--------	-----------------------------------	--------	---------

植物ウイルス標識抗体

807958	AP標識アップルモザイク・ウイルス抗体	500回分	¥20,000
814300	AP標識ビートネクロティック・イエローベイン・ウイルス抗体	500回分	¥20,000
807966	AP標識エルビニア抗体	500回分	¥20,000
807974	AP標識トマトリングスポット・ウイルス抗体	500回分	¥20,000

●各使用説明書は弊社バイオケミカル課までご請求下さい。



★信頼できる高品質な製品を毎日お届けする——
ベリンガー・マンハイム山之内株式会社
 〒101 東京都千代田区神田多町 2-9 神城ビル
 バイオケミカル課 TEL (03)252-6521

育てる心、大切に。デュポン農薬



豊かな収穫に貢献するデュポン農薬

長い時をかけ、額に汗して育てあげる。

そんな苦勞を無駄にできません。

よりよい品質を…

よりたくさんの農作物を…

デュポンジャパンはみなさまの収穫を技術で支えます。

殺菌剤 —— ベンレート*/ベンレート*-T/ダコレート/スパグリ

殺虫剤 —— ランネート*45/ホスクリン/バイデート*

除草剤 —— ロロックス*/レナパック/ハイパー*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



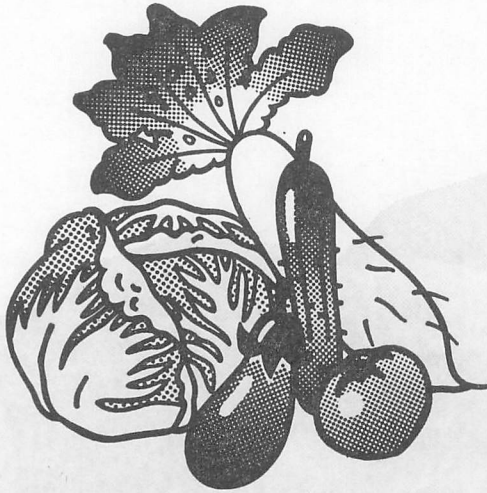
●デュポン農薬のお問い合わせは……

Tel.(03)585-9101

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

スミックス®水和剤
FD
くん煙顆粒

●うどんこ・さび病に卓効

® **バイレトコ** 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

ハクザツブ®
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...

サンケイ化学の誘引剤

ミバエ用誘引剤

サンケイ	適用害虫
プロテイン20	ミバエ類
ガードベイト水和剤	ミカンコミバエ
ユーケ"サイド"	ミカンコミバエ
ユーゲサイドD	ミカンコミバエ
キュウラルAD8	ウリミバエ

侵入警戒用誘引剤

ユーゲラルAD8	ミカンコミバエ・ウリミバエ
サンケイ ゴドリングコール	コドリング
メドフライコール	チチュウカイミバエ

適用害虫

ベイト剤

サンケイ
デナボン5%ベイト ネキリムシ・
ダンゴムシ・コオロギ

ナメクジ・カタツムリ用誘引剤

ナメトックス ナメクジ・カタツムリ類
アフリカマイマイ
スネール粉剤 ウスカワマイマイ・
ナメクジ類

ナメクジ・カタツムリ誘引剤兼ベイト剤

クリーンベイト ネキリムシ・ダンゴムシ・コオロギ・
ナメクジ・カタツムリ類



サンケイ化学株式会社

鹿児島・東京・大阪・福岡・宮崎

本社 鹿児島市郡元町880 TEL.0992(54)1161(代表)
東京事業所 千代田区神田司町2-1 TEL. 03(294)6981(代表)



植物防疫

Shokubutsu bōeki
(Plant Protection)

第 39 卷 第 8 号
昭和 60 年 8 月号

目次

特集：ウィロイド

ウィロイド感染症研究の現状	高橋 壮	1
ウィロイドの複製機構	飯 哲夫	9
リンゴさび果から検出されるウィロイド	小金沢碩城	14
ブドウから検出されるウィロイド	佐野輝男・四方英四郎	19
カンキツエクソコーティスウィロイドの生物学的性質	加納 健	23
ホップおい化病とその防除	佐々木真津生	28
北陸地方における異常気象とツマグロヨコバイの発生	成瀬 博行	33
異常気象とイネ葉しょう褐変病の発生	宮島 邦之	37
農薬の公定検査法解説 (5)	農林水産省農薬検査所	41
植物防疫基礎講座／昆虫行動解析法 (7)		
視覚機能の解析法	三村 瑠一	44
中央日より	8, 13	協会日より 50
学界日より	36	人事消息 36, 49
次号予告	50	出版部より 50



「確かさ」で選ぶ… バイエルの農薬

●さび病・うどんこ病に

® **バイレト**

●灰色かび病に

® **ユーパレ**

●うどんこ病・オンシツコナジラミなどに

® **モレスト**

●斑点落葉病・黒星病・黒斑病などに

® **アントラコール**

●もち病・網もち病・炭そ病などに

バイエルホルドウ

[クスラビットホルテ]

●アスバラガス・馬鈴しよの雑草防除に

® **センコ**

●コナガ・ヨトウ・アオムシ・アブラムシ・ハマキムシ・スリップスに

® **トクチオン**

●各種アブラムシに

® **アリルメート**

●アブラムシ・ネダニ・キスジノミハムシなどに

® **ダイシスト**



®は登録商標

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

農薬は正しく使いましょう！



タケダ

●いもち・紋枯病と 稲害虫の防除に—！



●いもち病・紋枯病の同時防除に

ビーム®バリダシン® 粉剤

●いもち病と稲害虫の防除に

パダンサイド®ビーム® 粉剤

●紋枯病と稲害虫の防除に

パダン®ハツサ®バリダシン® 粉剤

パダンサイド®バリダシン® 粉剤

パダンナック®バリダシン® 粉剤

●いもち病・紋枯病と稲害虫の同時防除に

パダン®バリダ®ビーム® 粉剤

ラフ®サイド®パダン®バリダシン® 粉剤

各種の病害虫を同時防除するためにパダン・バリダシンを基剤とした混合剤・DL剤が多数用意されています。発生病害虫の防除適期に合った混合剤をお選び下さい。

特集：ウイロイド〔1〕

ウイロイド感染症研究の現状

岩手大学農学部植物病理学教室 たか
高 はし
橋 つよし
辻

はじめに

近年の生命科学の飛躍的な発展によって、生物の自己増殖と保存の機構が分子レベルで解明されるようになった。また、遺伝子工学あるいは遺伝子操作という言葉が広く一般化して、遺伝子の本体である DNA が再び人々の注目を集め脚光を浴びているように見える。最近ではもう一つのタイプの核酸である RNA が、実は DNA の複製や機能発現を支えたり、ほかの多様な働きを持っていることもしだいに明らかにされている状況にある。それらの成果は、植物保護領域に所属する植物病理学、応用昆虫学、あるいは農薬学などの研究分野にも思想上さまざまな影響を及ぼしてきており、植物保護領域の研究課題でありながら、もはや分子生物学の知識を借りなければ理解できない部分が生じてきたと言っても過言ではないであろう。本号で紹介するウイロイドも、そのような状況の中で発見され、ようやくにして新しい病原体としての市民権が与えられるようになったのである。その間の事情をウイロイドの発見者であり、かつ命名者でもあるアメリカ農務省ベルツビル農業研究センターの T. O. DIENER が、いみじくも次のように述べている。

「通常の植物ウイルスであると一般に信じられていたジャガイモやせいも病 (potato spindle tuber disease) の病原因子を精製しようとしたところ、この因子はウイルス学や分子生物学で広く受け入れられている概念と一致しない性質を持ち、またこの因子がウイルスであるという従来の定説ともあわない結果が得られた。……ウイロイドと通常のウイルスとの間に根本的な違いのあることが認められるようになったのは、ウイルス学および分子生物学の基本原則が確立された後のことである」¹⁰⁾ と。

本号は、わが国で発見されたウイロイドの紹介をはじめ、ウイロイド感染症の基礎・応用研究を中心に特集号として企画されているが、本稿ではウイロイド病対策の基本原則を構築するための各研究分野における研究現況全般に関して、筆者の私見を含めて解説してみたい。

I ウイロイドは1本鎖環状 RNA である

—その種類と地理的分布—

ウイロイド (viroid) とはウイルスに似て非なることから「ウイルスもどき」、あるいは「ウイルス類似体」を意味するために付けられた造語である。前述の T. O. DIENER がそれまでの数年に及ぶ研究を踏まえて 1971 年、ジャガイモやせいもウイロイド (PSTV) と名づけたのが最初のウイロイドである。それから 10 数年を経過した現在、ウイロイドという言葉はようやく身近な言葉になりつつある。ウイロイドは病原微生物学的に同定された病原体の中ではもっとも小さなものである。ウイルスではその遺伝子 RNA (あるいは DNA) がコートタンパクに包み込まれているのに、この病原体はウイルス RNA よりもはるかに小さい裸の RNA そのもので、植物に感染増殖して、病気を引き起こす。ウイルスを自己増殖する生命であると定義するならば、ウイルスより小さいウイロイドはもっとも小さな生命と呼んでもよいだろう。今や「裸の RNA」の正体が突き止められるようになり、最初のウイロイドが発見されてから 15 種類のウイロイドが相次いで報告された (第 1 表)。そのうち 9 種類のウイロイドについて全塩基配列が決定された^{19, 28, 31)}。これまでの研究から、ウイロイドは共有結合で閉じた 1 本環状 RNA 分子で、らせん状に 2 本鎖領域とループ状の 1 本鎖領域が交互に連なり、分子全体として長さ 50 nm 前後の短い棒状構造をとることがわかった。9 種類のウイロイドの全塩基配列を比較すると、分子量 8~12.5 万ダルトン (246~371 塩基) の大きさで、これらのウイロイドにおいて完全に一致する共通の配列も一部見つかっている。このようなユニークな構造は、ウイロイドの研究で初めて明らかにされたもので、ウイロイドの塩基配列から見た機能を調べることによって、最小病原体の複製、起病性、起源などの一連の生物現象がしだいに解明されるものと期待される。すべて RNA 性で DNA から成るウイロイドはいまだ知られていない。

世界各地で発生が確認されているウイロイド感染症の地理的分布は、ウイロイドの種類、あるいは地域によってそれぞれ異なっている。第 1 図に示すように、南緯

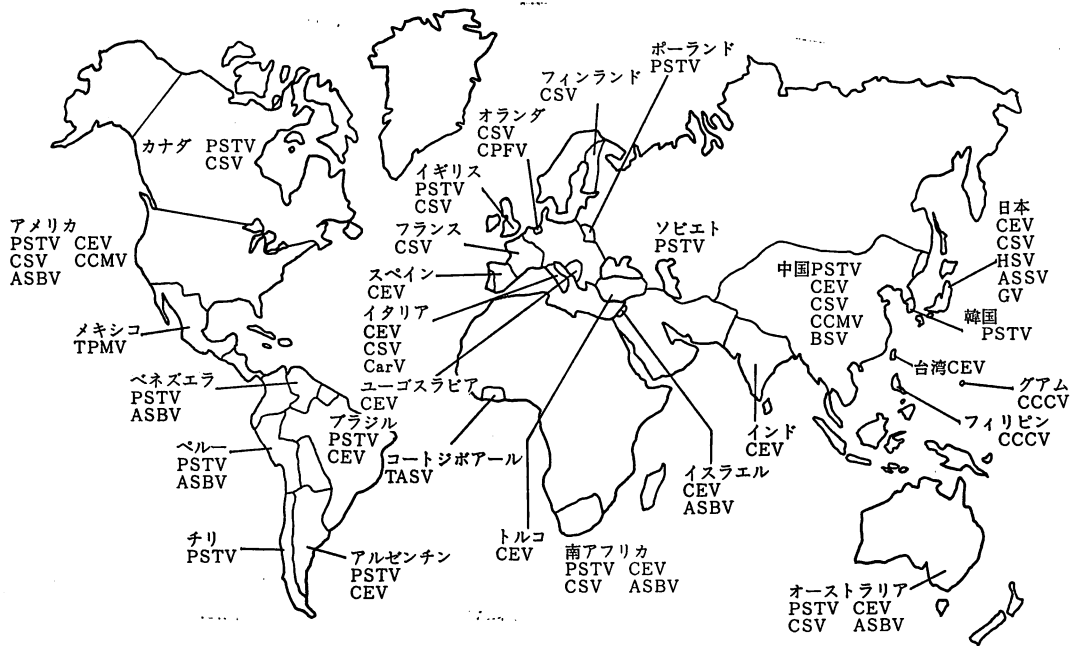
第1表 ウイロイドの種類¹⁾

ウイロイド	報告年 ^{a)}	塩基数
1. ジャガイモやせいもウィロイド	1967	359
2. カンキツエクソコーティスウィロイド	1968	371
3. キクわい化ウィロイド	1973	354, 356
4. キュウリペイルフルーツウィロイド	1974	303
5. キク退緑斑紋ウィロイド	1975	
6. ココヤシカダンカダンウィロイド	1975	246
7. ホップわい化ウィロイド	1977	297
8. コルムネアウィロイド	1978	
9. アボカドサンブロッチウィロイド	1979	247
10. トマト頂部わい化ウィロイド	1981	360
11. トマトプランタマチャウィロイド	1982	360
12. リンゴさび果ウィロイド	1982	
13. ゴボウわい化ウィロイド	1982	
14. ブドウウィロイド	1984 ²⁾	
15. カーネーションウィロイド	1984 ³⁾	
potato spindle tuber viroid (PSTV)		
citrus exocortis viroid (CEV)		
chrysanthemum stunt viroid (CSV)		
cucumber pale fruit viroid (CPFV) ^{b)}		
chrysanthemum chlorotic mottle viroid (CCMV)		
coconut cadang-cadang viroid (CCCV)		
hop stunt viroid (HSV)		
columnnea viroid (CV)		
avocado sunblotch viroid (ASBV)		
tomato apical stunt viroid (TASV)		
tomato planta macho viroid (TPMV)		
apple scar skin viroid (ASSV)		
burdock stunt viroid (BSV)		
grapevine viroid (GV)		
carnation viroid (CarV)		

a) 低分子 RNA が病原体であると最初に報告された年.

b) CPFV は HSV の 1 変異株である.

太字はわが国で確認されたウィロイド.



第1図 ウイロイド病発生の地理的分布 (1985年3月現在)

ウィロイドの略字は第1表を参照されたい.

40° から北緯 50° までの範囲の国々で発生しているが、農作物の栽培地帯において、これからも徐々に発生地域が広がるのではないかと懸念されている。その理由として、これまでの発生経過から見て、ウィロイドを保有した栄養繁殖体の検定が十分になされておらず、これらの移動の増加に伴い、汚染地域が拡大してきた経緯があるからである。

わが国では主に東北地方で栽培されているホップのわ

い化病とリンゴのさび果病、また関東以西で確認されているカンキツエクソコーティス病およびキクわい化病のつごう 4 種類のウィロイド病の発生が報告されている(第1表, 第1図)。最近、ブドウウィロイドが遺伝子診断法(後述)によって検出された²⁾。

II ウイロイド病は暑い気象条件下で発病し やすい——病徴に見られる共通性と宿主 域——

自然に発生するウイロイド病のなかには、長い間ウイルス病と見なされていたものから、あるいはウイロイドの概念が確立されたのちに意識的にウイロイドを探索しようとして同定されたものなど、ウイロイドの種類によって発見の経緯が異なっている。これらの研究は、自然ほ場、温室、および実験室における体系的な観察・実験に基づいて進められた。

ジャガイモやせいも病は 1922 年、アメリカのニュージャージー州で“a new potato trouble”として報告されてから約 50 年間ウイルス病として記載されていたもので、ジャガイモ栽培者の間で折にふれ問題にされた病気の一つであった。この病気はジャガイモの栽培品種や環境条件により、病徴の現れかたがまちまちであるが、一般にこの病気にかかったいも（塊茎）は細長くやせ、ときに不整形となり、目の部分は深くくぼむ。大きなひび割れを生ずることもあり商品価値はまったくない。地上茎には、品種によって多少の違いはあるが、モザイクや葉巻症状のごとき顕著な病徴が現れないので、収穫期になってはじめてその被害に気づくことになる。この病気の病徴は環境条件、特に気温の影響を受けやすく、ジャガイモの生育初期に冷涼な気候にありと、病徴は発現しないが、高温条件下で育成を始めたジャガイモには、激しい病徴が現れた¹⁰⁾。同様な現象は検定植物でも認められ、PSTV を接種したトマトを温室で 30°C 前後のような比較的高い温度条件下で育成すると、低温よりもウイロイドの濃度ははるかに高く、潜伏期も短くなった^{18, 17, 24)}。

かつてホップわい化病がまん延していたころの罹病ホップでは、6 月の栄養生長期に 30°C 前後の高温が続くと、節間の伸びが悪く、上位節の葉が下方にけん縮するようになり、典型的なわい化症状が観察された。また、比較的冷涼な年には、ホップ主茎の伸長はむしろ良く、たとえ感染していても病徴が現れることはまれであった。HSV の検定植物である四葉キュウリでは、HSV を接種後昼間温度 32°C (16 時間) - 夜間温度 27°C (8 時間) の温室、あるいは昼夜 32°C の定温下に格納した場合、いずれの条件下でも潜伏期は 14 日前後であった³²⁾。これに対して、昼夜 25°C の定温下における四葉キュウリでは、HSV は増殖するが接種後 30 日でも発病した株は認められなかった³²⁾。ウイロイド感染による病徴発現に高温が好ましいことは、CEV に感染したビ

ロードサンシチ²⁴⁾(あるいはトマト)や CPFV に感染したキュウリ³⁷⁾においても確認されている。さらに、草本の検定植物がまだ見つからない ASBV において、ASBV を樹皮そぎ接ぎ接種した collinson アボカドを 18~20°C よりも 28~30°C で育成したほうが早く発病することがわかった⁹⁾。この方法によって、ASBV の検定に要する期間はこれまでの 2 年が大幅に短縮されて、8 か月で検定を完了することができるようになった。

このように、ウイロイドが見つかった¹⁰⁾原の宿主および検定植物のいずれにおいても、病徴発現に及ぼす温度の影響はきわめて明りょうであり、高温条件が症状が激しく、かつ潜伏期が短くなるための重要な要因の一つであることが明白となった。しかも、原の宿主であれ、検定植物であれ、草本の植物であるならば、それらの病徴として葉のけん縮やエビナスティー、あるいは縮葉症状、節間が短縮して草姿全体がわい小化することなど、かなりの共通性を認めることができる。

これに対して、原の宿主が木本植物の場合には、それぞれ特有の病徴が現れるようである。例えば、CEV 感染カンキツ類では、果実が小さく、樹皮に亀裂を生じてそのはく脱が起こる¹⁰⁾。ASBV 感染アボカドの茎の表面はざらざらし、そのような茎には溝ができる。果実も小さい^{5, 16)}。CCGV 感染ココヤシの果実は丸みを帯びて小さく、さらに果実の表面に縦のひっかいた傷跡様の症状を生ずる¹⁰⁾。ASSV 感染リンゴの病徴は果実のみに生ずるようである。リンゴ品種の違いによって、さび果症状が出たり、斑入り果症状が出たりする^{38, 41)}。

一方では、意外に多くの植物で不顕性感染することが接種実験から明らかにされた。PSTV を例にとると、かつてジャガイモが唯一の自然宿主であったが、接種実験によって宿主域を調べたところ、このウイロイドは 12 科 158 種の植物に感染し、このうち病徴が発現したものはナス科とキク科に属する 29 種のみで、ほかはすべて不顕性感染することがわかった(第 2 表)。このように、PSTV の宿主域はかなり広い範囲に及ぶが、発病する宿主の数は相対的に少ない。これに対して、PSTV の増殖は起こるが、病徴が現れない宿主の数は 100 種以上に及び、分類学的に見て科を超えた植物種が多数含まれていることが注目された。他のウイロイドでも宿主域が検討され、不顕性感染する事例が報告された(第 2 表)。このことは、増殖性核酸であるウイロイドが病徴を発現せずに、植物細胞内で持続的に存続していることを示唆している。PSTV の宿主域研究から得られたもう一つの結論は、31 科 94 種に及ぶ植物が PSTV の非宿主であるということである¹⁰⁾。著者らが調べた HSV の宿主

第2表 ウイロイドの宿主域^{a)}

ウィロイド ^{b)}	顕性感染宿主	不顕性感染宿主
1. PSTV	キク科(2属2種) ナス科(5属27種)	オミナエシ科(1属1種), キキョウ科(1属1種) ゴマノハグサ科(4属6種), ナス科(16属113種) ナデシコ科(2属2種), ノラナ科(1属1種) ヒユ科(1属1種), ヒルガオ科(1属1種) マツムシソウ科(1属1種), ムクロジ科(1属1種) ムラサキ科(1属1種)
2. CEV	ウリ科(1属1種), キク科(3属4種) セリ科(1属1種), ナス科(5属20種) ミカン科(2属6種)	ウリ科(2属4種), セリ科(1属1種) ナス科(4属6種), マメ科(2属2種) ミカン科(1属8種)
3. GSV	キク科(4属9種) ナス科(2属2種)	キク科(19属37種), ウリ科(2属2種) ナス科(5属5種)
4. CPFV	ウリ科(9属19種), キク科(1属1種) クワ科(1属1種), ナス科(2属3種)	ウリ科(6属13種), キク科(1属1種) ナス科(4属4種)
5. CGMV	キク科(1属1種)	キク科(1属1種)
6. CCCV	ヤシ科(7属7種)	
7. HSV	ウリ科(4属5種), クワ科(1属2種)	ナス科(1属1種)
8. CV	ナス科(2属2種)	イワタバコ科(1属1種)
9. ASBV	クスノキ科(3属5種)	
10. TASV	ナス科(8属26種), ゴマノハグサ科 キク科(1属1種) (2属2種)	
11. TPMV	ナス科(1属1種)	ナス科(5属8種), キク科(1属1種)
12. ASSV	バラ科(1属1種)	
13. BSV	キク科(1属2種)	

a) DIENER¹⁰⁾, NIBLETT et al.¹⁸⁾, RUNIA and PETERS²⁰⁾, YAGUCHI and TAKAHASHI^{39, 40)} のほか多数の報告に基づいて作成した。

b) ウイロイドの略字は第1表を参照されたい。

域は比較的狭く、顕性感染がウリ科、クワ科の2科7種で、不顕性感染はナス科1種のみで認められ、他の15科57種のはすべて非宿主であった(第2表)^{39, 40)}。今後、各種ウィロイドの宿主域がより広範囲にわたって調べられ、自然状態におけるウィロイドの分布とその存続様式を明らかにする必要がある。それは、不顕性感染宿主の生理状態や栽培環境の変化によって、病徴がしばしば顕在化するので、疫学的に見て看過できない存在であると考えられるからである。

III ウイロイドは病汁液で容易にうつすことができる——ウィロイドの伝染と自然存続——

自然界におけるウィロイドの感染は、たいていの場合、水平伝播によって起こる。特に、草本のジャガイ

モ、トマト、ホップなどでは、罹病植物の茎葉の接触や農作業のときの病汁液、あるいは汚染器具の接触などに起因して容易に伝染する。ホップの場合を例にとると、株びらき、株ごしらえ、選芽、つるの手入れ、摘芯、収穫時のつる下ろし、つる切りなど、刃物類を使用する機会がきわめて多いので、汚染刃物による接触伝染を等閑視することができない。これに対して、木本植物では病汁液の摩擦接種による感染は比較的起こりにくいと言われているが、例えば、カンキツ類において接ぎ木、剪定作業などに用いるハサミ、ナイフなどによって罹病樹から伝染することがわかっている。このような刃物類で容易にうつる性質を利用して、汚染刃物で茎に切り付け接種する方法¹¹⁾が考案され、CEV¹²⁾や ASBV⁹⁾ の検定に応用されている。また、この切り付け法によって草本のキュウリ下胚軸に CPFV³⁷⁾ や HSV³²⁾ を接種することも

可能である。

ウイロイドが節足動物によって伝染することはすでに1920～30年代に報告されているが、これまでの実験では確認されておらず、ウイロイドの伝染に節足動物が関与することはむしろ否定的であると言われている。最近になって、PSTVがチューリップヒゲナガアブラムシ⁷⁾やメクラカメムシ²⁷⁾によって低率がらうつされることが実験的に証明された。ほかに、CEV、CSVやGPFVはネナシカズラの寄生によって伝染することが明らかにされている¹⁰⁾。ウイロイドの土壌伝染は知られていない。

種子や花粉、あるいは胚珠を通して次代へ垂直伝播する例は一部のウイロイド、例えばPSTV¹⁰⁾やASBV^{8, 38)}などで報告されているにすぎない。HSVはホップの花粉あるいは胚珠のいずれを介しても伝染せず、また、HSVの不顕性感染宿主であるトマトにおいても同様に、花粉あるいは胚珠伝染を示唆する結果が得られなかった⁴⁰⁾。

以上に述べたように、ウイロイドの種類によってその伝染方法はまちまちであるが、接触伝染および接ぎ木伝染はどのウイロイドにとっても共通した伝染様式であると理解される。果樹類のような木本植物の接ぎ木、剪定作業は、一歩誤ればウイロイド病の伝染を拡大させることにもなるので、ウイロイドの存続を有利にする手段にもなりかねない。ウイロイドはこのような宿主が生存するかぎり温存され、かつウイロイドの濃度がしだいに高まるものと見てよいであろう。

ウイロイドが塊茎、挿し木、株分けなどの栄養繁殖体、あるいは木本植物のような多年生の植物にひとたび感染すると、全身的に感染が広がり、これらの植物は終生ウイロイドを保有することになる。さらに、これらのものは、ウイロイドの増殖を支えるとともに、ウイロイドの伝染源にもなるので、ウイロイドの自然存続機構を維持するうえで重要な役割を演じていることになる。これに対して、一年生植物が宿主の場合には、罹病株からの種子は選抜淘汰することができるので、一年生植物におけるウイロイド病の発生は、将来においてそれほど問題となることはないであろう。

第1表に示した各種ウイロイドの原の宿主の中には、栄養繁殖性のもの(ジャガイモ、キク、ホップ、カーネーション)や、木本性のもの(カンキツ、ココヤシ、コルムネア、アボカド、リンゴ、ブドウ)のような多年生植物のほか、キュウリ、トマト、ゴボウなどわが国では一年生植物として種子から育成する宿主が含まれている。ところが、GPFV感染キュウリはオランダ西部の

ある地方のガラス温室で発見されたもので、これらのキュウリはガラス温室で長期間にわたって育成されたものであるという。TASV感染トマトはアフリカのコートジボアールで、また、TPMV感染トマトはメキシコで発見されたもので、これらの熱帯～亜熱帯地方におけるトマトは多年生の植物として育成されたものであるという。さらに、BSV感染ゴボウは中国で見つけられたが、中国ではゴボウを多年生の薬草として栽植しているという。したがって、ウイロイドが発見されたすべての宿主は、栄養体で繁殖する植物か、多年生の木本植物、あるいは作期が2年以上に及ぶような草本植物であり、それゆえに感染年次の経過に伴って病原ウイロイドが増殖し、ある条件下では病徴が顕在化するようになったのであろう。このような推移を経て、ウイロイド病として認識されるようになったものと理解される。

IV ウイロイド病を早期に診断することができるか——ウイロイドの検出法とその精度——

上述のように、ウイロイドが最初に見つけられた宿主は、感染を受けてから発病するまでに1～数年を要するものばかりである。このように潜伏期が長いために病原体に関する研究が立ち遅れ、長い間ウイルス性病に由来する病気として扱われてきたのである。それぞれの原の宿主における病徴診断は、特に木本植物ではきわめて至難なことであった。

このような状況にあって、病原学的研究への道が切り開かれるようになったのは、それぞれの病因に対する草本の検定植物が見つかった後のことである。検定植物に現れた病徴で判定する生物検定法によって病原ウイロイドの存在(あるいはその可能性)が比較的短期間で確かめることが可能となった。PSTV、CEV、CSV、HSVなどがそれである(第3表)。検定植物を探索することは、ウイルス病の場合もそうであるように、じみで根気のいる仕事であるが、病原体究明の突破口となり、これが契機となってウイロイドの基礎・応用研究が飛躍的に進展を見るようになった。

一方、草本の検定植物が見つかっていないココヤシのカダンカダン病、アボカドのサンブロッツ病、あるいはゴボウわい化病の場合には、それぞれの原の宿主の罹病組織から病気に特異的な低分子RNAを抽出してポリアクリルアミドゲル電気泳動法で確認するとともに、電子顕微鏡によって1本鎖RNAの環状形態が映し出されたことから、ウイロイドが病原体であろうと推定された。その後、GCCVおよびASBVがそれぞれの原の宿主に

第3表 ウイロイドの検定法

ウィロイド ^{a)}	生物検定法	ゲル電気泳動法	相補 DNA プローブ法
1. PSTV	トマト (Rutgers, Sheyenne など) ^{b)} <i>Scopolia sinensis</i>	+	+
2. CEV ²⁾	シトロン (Etrog) ピロッドサンシチ トマト (Rutgers)	+	-
3. CSV	キク (Mistletoe) シネラリア	+	+
4. CPFV	キュウリ (Sporu)	+	-
5. CCMV	キク (Deep Ridge)	+	-
6. CCCV	-	+	+
7. HSV	キュウリ (四葉)	+	+
8. CV	-	+	-
9. ASBV	アボカド (Collinson, Haas など)	+	+
10. TASV	トマト (Heinz 1370)	+	-
11. TPMV	トマト (Rutgers)	+	-
12. ASSV	-	+	-
13. BSV	-	+	-

a) ウイロイドの略字は第1表を参照されたい。

b) ()内は栽培品種を示す。

感染すること、また、両ウィロイドの相補 DNA をプローブ (検出試料: あらかじめアイソトープで標識したもの) として用いて、罹病植物の診断に応用することも可能となった。特に、CCCV ではその検定植物が見当たらないので、相補 DNA による診断が広域的に実施されているという。相補 DNA プローブ法 (遺伝子診断法とも呼ぶ) で検出が試みられたウィロイドとしては、上に述べた CCCV^{16, 22)}, ASBV^{1, 2, 21, 30)} のほかに、PSTV^{20, 23)}, CSV⁴⁾, HSV^{29, 35)} などがある (第3表)。著者らは、HSV の検出・定量法としてこれまでにキュウリ検定法およびポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いていたが³⁴⁾、さらに HSV の相補 DNA を調製して、感染ホップ株の診断を試みた。HSV の相補 DNA は岡山・バーグ法に準拠してベクタープライマーに HSV を組み込み閉環 DNA とし、これを大腸菌にクローン化して調製した。感染ホップの葉をフェノール抽出して全核酸を取り塩化リチウム可溶分画をニトロセルロースフィルター上に固定化し、³²P で標識した相補 DNA プローブとのハイブリッド形成を試みたところ、1 スポット当たり 100 pg の核酸量の検出が可能であり、感染初期の診断にも活用できることがわかった。ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による検出に比べて 10~100 倍精度が高い。また、キュウリ検定法で陰性であると判定されたホップ株でも、この方法によって感染していることが確認される事例があった。相補 DNA プローブ法による診断操作は、試験管内で多数の試料について短期間 (4~5 日) のうちに完了することができるので、有用な診断法の一つであると言える。今後、診断のための標識に、取

り扱いのやっかいなラジオアイソトープを使わない方法、例えば、蛍光色素やビオチンなどを標識した相補 DNA を使うのも普及を図る一つの方策ではなからうか。

最近、自己ハイブリッド形成法による ASBV の診断結果が報告された^{25, 30)}。この方法は、ウィロイド RNA の約 70% が相補結合していることに着目して、線状構造にした 1 本鎖 RNA の 5' 末端をポリヌクレオチドキナーゼによって ³²P で標識し、これを感染細胞の抽出液と反応させて診断する。この方法の精度は、上述の相補 DNA プローブ法よりも 10 倍ほど低い³⁰⁾。

ホップわい化病において、感染から発病までに 1~3 年かかるために、いかにして早期に診断するかという問題は、この病気が発見された当初からの懸案であった。その一つがキュウリ検定法で、0.25 g の試料でも検出可能であるが、診断結果の判定に 30 日間を要する^{33, 34)}。HSV のキュウリ検定をはじめ他のウィロイドの生物検定は、30°C 前後、あるいはそれ以上の高温条件で行うことが望ましい。すでに述べたように、20~25°C 近傍の検定では、潜伏期が長くなったり、発病しない場合もあり、生物検定法による診断はきわめて困難である。もう一つの方法は、ホップの葉をフェノール抽出したのち、低分子核酸を集めポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけてウィロイドのバンドを染色して見分ける方法で、エチジウムブロミドで染めると、1 ゲル当たり 10~100 ng の HSV を検出することができる³⁴⁾。銀染色すると、これより 10 倍ほど精度が良い。ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による診断は 9 時間以内で完了

するが、宿主由来の核酸が妨害して、キュウリ検定法 (1 ml 当たり 1~100 pg の HSV が検出できる) よりも一般に精度が低い。ほかに、ホップ毬花の樹脂成分の一つ、 α 酸含量を測定して診断する方法もあるが、接種当年では変化が認められないので早期診断法としては利用できない²⁴⁾。したがって、相補 DNA プローブ法がもっとも精度の高い検出法であるので、有用な早期診断法の一つであると言えよう。

上に述べたように、相補 DNA プローブ法は他の方法に比べて精度が良いという利点を持つが、軽症系統のような生物検定法による検出の困難な場合にも威力を発揮する。この場合、二重接種法 (軽症系統を接種後、激症系統を二次接種しても、軽微な病徴しか生じない場合、軽症系統の存在が示唆される。このような接種法を指す) の結果と照合するとより確実となるであろう。このことは、相補 DNA プローブ法によって、ウイルスの系統間、あるいは一次構造が相対的に類似しているウイルス間の識別が困難であることを物語っている。いずれにせよ、ウイルスは「裸の RNA」で抗原性がなく、抗血清診断ができないので、ウイルスの相補 DNA や自己ハイブリッドによって、あるいはウイルスの相補 RNA (anti-sense RNA と呼ぶ) によって診断する方法が各種ウイルスに適用される日はそう遠くないであろう。

そのほかに、高速液体クロマトグラフィーによって PSTV の検出・定量を行った報告がある¹⁴⁾。この方法の検出精度は 5 ng のオーダーであるが、ピーク相互の分離能はポリアクリルアミドゲル電気泳動法に劣るといふ。第 3 表に各種ウイルスの検出法をまとめた。

おわりに

植物の病原体にすぎなかったウイルスの発見は、病原体の「種」についての概念を RNA 分子のレベルにまで拡大させてくれるとともに、基礎・応用の領域にわたってさまざまな波紋を投げかけている。ウイルスの発見から 10 数年を経た今日、ウイルスとその感染症に関する研究は新しい展開期に入ったと言えよう。それは、各種ウイルスの化学構造の決定に続いて、それぞれのウイルスの相補 DNA が大腸菌でクローン化され、さまざまな配列を持ったウイルス RNA を人工的に作製して、構造と機能との関係を分子レベルで解明することが可能になったからである。クローン化した相補 DNA は、本稿で紹介したようにウイルス病診断のプローブとして利用できるし、また、感染細胞内のウイルスの検出・定量にも有力な武器として応用できよう。

複製に必要な配列や病徴を引き起こす配列がウイルス RNA のどの部位にあるのか。ウイルスの塩基配列から病徴を引き起こす配列を取り除いて、無病徴のウイルスが自由に作製できれば、これに外来遺伝子を挿入して RNA ベクターとして使えることも可能であろう。ウイルスの構造と複製をめぐる研究現況については、本号の飯の項 (9 ページ) で詳述されるので割愛した。

本号ではまた、わが国で見つかったリンゴさび果とブドウから検出されるウイルス、およびホップわい化病について、それぞれの発見者によって解説されている。さらに、現在でもなお警戒されているカンキツエクソコーティス病の発生について述べられている。

これまでの研究から、ウイルス病を治療することは不可能であり、予防が基本である。本特集号が、ウイルス病対策の緊急性を喚起する契機となれば幸いである。

引用文献

- 1) ALLEN, R. N. (1982) : *Intervirology* 18 : 76~82.
- 2) ——— and J. L. DALE (1981) : *Ann. Appl. Biol.* 98 : 451~461.
- 3) BOCCARDO, G. (1984) : *Abstr. 6th Intl. Congr. Virol.* p. 75.
- 4) CHEN, W. et al. (1982) : *Kexue Tongbao* 27 : 660~664.
- 5) DA GRACA, J. V. and S. P. VAN VUUREN (1977) : *Citrus & Subtrop. Fruit J.* 526 : 10~11.
- 6) ——— (1981) : *Plant Dis.* 65 : 46~47.
- 7) DE BOKX, J. A. and P. G. M. PIRON (1981) : *Neth. J. Plant Path.* 87 : 31~34.
- 8) DESJARDINS, P. R. et al. (1979) : *Calif. Agric.* 33 (10) : 14~15.
- 9) ——— et al. (1980) : *Plant Dis.* 64 : 313~315.
- 10) DIENER, T. O. (1979) : *Viroids and Viroid Diseases*, Wiley-Interscience, New York, pp. 252. [岡田吉美監訳 (1980) : ウィロイド—その病理と生化学, 共立出版, 東京].
- 11) GARNSEY, S. M. and J. W. JONES (1967) : *Plant Dis. Repr.* 51 : 410~413.
- 12) ——— and R. WHIDDEN (1973) : *ibid.* 57 : 886~889.
- 13) HARRIS, P. S. and I. A. BROWNING (1980) : *Potato Res.* 23 : 85~93.
- 14) 日比忠明ら (1984) : *日植病報* 50 : 87~88 (講要).
- 15) HORNE, W. T. and E. R. PARKER (1931) : *Phytopathology* 21 : 235~238.
- 16) MOHAMED, N. A. and J. S. IMPERIAL (1984) : *ibid.* 74 : 165~169.
- 17) MORRIS, T. J. and E. M. SMITH (1977) : *ibid.* 67 : 145~150.
- 18) NIBLETT, C. L. et al. (1980) : *ibid.* 70 : 610~615.
- 19) 岡田吉美 (1984) : *細胞工学* 3 : 1245~1254.
- 20) OWENS, R. A. and T. O. DIENER (1981) : *Science* 213 : 670~672.
- 21) PALUKAITIS, P. et al. (1981) : *Ann. Appl. Biol.* 98 : 439~449.
- 22) RANDLES, J. W. and P. PALUKAITIS (1979) : *J. Gen. Virol.* 43 : 649~662.
- 23) SALAZAR, L. F. et al. (1983) : *Amer. Potato J.* 60 : 587~597.
- 24) SÄNGER, H. L. and K. RAMM (1975) : *Modification of the Information Content of Plant Cells (MARK-*

- HAM, R. et al. eds.), Elsevier North-Holland, Inc. Amsterdam, p. 229~252.
- 25) ROSNER, A. et al. (1983) : Plant Mol. Biol. 2 : 15~18.
- 26) RUNIA, W. T. and D. PETERS (1980) : Neth. J. Plant Path. 86 : 135~146.
- 27) SCHUMANN, G. L. et al. (1980) : Amer. Potato J. 57 : 205~211.
- 28) 四方英四郎 (1984) : 遺伝 38 (11) : 215~227.
- 29) SHIKATA, E. et al. (1984) : Proc. Japan Acad. 60B : 202~205.
- 30) SPIEGEL, S. et al. (1984) : Phytoparasitica 12 : 37~43.
- 31) 高橋 壮 (1983) : ウイルス 33 : 115~122.
- 32) TAKAHASHI, T. and H. TAKUSARI (1979) : Phytopath. Z. 96 : 352~360.
- 33) ——— et al. (1982) : ibid. 103 : 285~293.
- 34) ——— et al. (1983) : J. Fac. Agric. Iwate Univ. 16 : 141~150.
- 35) 高橋 壮ら (1984) : 日植病報 50 : 111 (講要).
- 36) 後沢憲志ら (1968) : 長野園試報告 7 : 1~12.
- 37) VAN DORST, H. J. M. and D. PETERS (1974) : Neth. J. Plant Path. 80 : 85~96.
- 38) WALLACE, J. M. and R. J. DRAKE (1962) : Phytopathology 52 : 237~241.
- 39) YAGUCHI, S. and T. TAKAHASHI (1984) : Phytopath. Z. 109 : 21~31.
- 40) ——— (1984) : ibid. 109 : 32~44.
- 41) YAMAGUCHI, A. and H. YANASE (1976) : Acta Hort. 67 : 249~254.

中央だより

—農林水産省—

○昭和 60 年度病害虫発生予報第 3 号発表さる

農林水産省農蚕園芸局は昭和 60 年 6 月 28 日, 昭和 60 年度病害虫発生予報第 3 号 (60 農蚕 第3755号) を発表した。

内容は次のとおり

向こう約 1 か月間の病害虫の発生動向は次のように予想され, 特に稲のイネミズゾウムシ, かんきつ類の黒点病, 果樹のカメムシ類等が多目と見込まれます。

都道府県が発表する発生予察情報にも留意し, 的確な防除の実施に努めて下さい。

稲 : 稲の生育, 葉いもちの初発時期ともに平年並となっており, 今後の葉いもちの発生は平年並と予想されますが, 気象の推移によっては, 急激にまん延する時期を迎えていますので, 早期発見, 早期防除に努めて下さい。

特に, 作期が早く, 葉いもちと穂いもちが続いて発生する地域では注意が必要です。また, 穂いもちの防除は, 穂ばらみ期と穂ぞろい期となっています。梅雨明け前に出穂期を迎える西日本の早期栽培地帯では, 降雨の合間をみて的確な防除を実施して下さい。

縞葉枯病を媒介するヒメトビウンカの発生は, 北海道, 関東, 東海, 近畿, 九州の一部でやや多くなっています。今後, これらの地域では縞葉枯病の発生がやや多いと予想されます。

紋枯病の発生は, 稲の分けつが平年並ないしやや多く, また, 今後高温が予報されていますので, やや多いと予想されます。発生動向に留意して的確な防除を実施して下さい。

イネミズゾウムシの発生は, 全般的に前年より多くなっていますので, 発生動向に留意して的確な防除を実施して下さい。

現在までのセジロウンカ, トビロウンカの飛来数は少なく, 海外の状況からみて今後も多飛来はないと

予想されますが, 梅雨明けまでに多飛来した場合には飛来成虫を対象としての的確な防除を実施して下さい。

ツマグロヨコバイ, イネドロオイムシ, ニカメイチュウ, イネハモグリバエ, イネヒメハモグリバエの発生は一部を除き平年並以下と予想されます。

ばれいしょ : 疫病の発生は平年並以下と予想されます。さとうきび : アオドウガネの発生は平年並と予想されます。

バインアップル : バインアップルコナカイガラムシの発生は平年並以下と予想されます。

かんきつ類 : 黒点病の発生はやや多く, ミカンハダニ, ゴマダラカミキリ, チャノキイロアザミウマの発生は平年並ないしやや多いと予想されます。

ヤノネカイガラムシの発生は, 平年並, そうか病, かいよう病の発生は一部を除き平年並以下と予想されます。

りんご : 黒星病の発生はやや多く, キンモンホソガ, ハダニ類の発生は平年並ないしやや多いと予想されます。

斑点落葉病の発生は平年並と予想されます。

なし : 黒斑病の発生は九州の一部でやや多く, ハダニ類の発生は平年並ないしやや多いと予想されます。

黒星病の発生は平年並以下と予想されます。

もも : 灰星病の発生は関東以西でやや多いと予想されます。

ぶどう : べと病の発生は, 中国, 九州でやや多いと予想されます。

かき : うどんこ病の発生は, 近畿, 四国の一部でやや多く, 落葉病, カキミガの発生は平年並ないしやや多いと予想されます。

果樹共通 : カメムシ類の発生はやや多く, 今後も同様の傾向と予想されますので, 果樹園への飛来状況に留意して的確な防除を実施して下さい。

茶 : チャノミドリヒメヨコバイ, チャノコカクモンハマキの発生は一部を除きやや多いと予想されます。

チャノホソガ, カンザワハダニの発生は一部を除き平年並以下と予想されます。

野菜 : きゅうりのべと病, 斑点細菌病, なす・すいかのハダニ類の発生は平年並ないしやや多いと予想されます。

特集：ウイロイド〔2〕

ウイロイドの複製機構

東京大学理学部生物化学教室 飯 哲 夫

はじめに

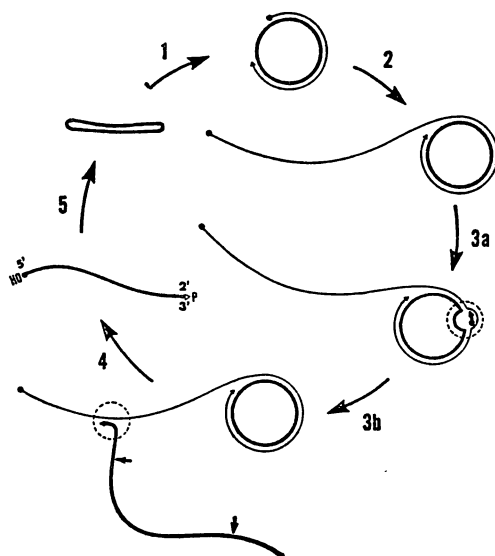
ウイロイドが、外被を持たぬ裸の小さな RNA であるという、従来のウイルスの概念を覆す新しいタイプの病原体であることが明らかになるにつれ¹⁾、植物病理学者のみならず、多くの分子生物学者もこの小さな RNA 分子に興味を抱くようになった。

本稿では、ウイロイドの複製に焦点を当て、まず複製機構について現在得られている知見を述べる。次にわれわれが HSV を用いて行った試験管内でのウイロイド RNA 合成の実験と、cDNA クローンをを用いた感染実験から得られた結果を紹介する。最後に、ウイロイドが植物の新しいベクターとして発展しうるかどうか論じたい。

I ウイロイドの複製

ウイロイド感染葉から全核酸を抽出し、そこに含まれるウイロイドと同じ方向性の配列を持つ+鎖 RNA、あるいはそれに相補的な配列を持つ-鎖 RNA を分析した結果、単位長のウイロイドのほかにも、それよりも長い複製中間体と考えられる数種の RNA 分子が検出された²⁻⁶⁾。電気泳動度から、長い+鎖 RNA の長さは単位長ウイロイドの整数倍と見積もられ、単位長ウイロイドがタンデムにつながった多量体 RNA であると予想された^{4,6)}。一方、-鎖 RNA は単位長からその 6~7 倍の長さのものまで見いだされたが、長い+鎖に比べ長さは不均一であった^{4,6)}。これらの単位長より長い分子種がどういう分子形態なのかを RNase に対する感受性を基に検討した結果、長い+鎖と長い-鎖から成る長い 2本鎖 RNA 分子は存在せず、2本鎖を形成している長さは、たかだか単位長であることが明らかとなった⁶⁾。また、RNase 抵抗性を示す 2本鎖 RNA 中には、単位長の+鎖環状ウイロイドは検出されるが-鎖環状 RNA は見いだされなかった⁶⁾。

以上に述べたような複製中間体と考えられる長い+鎖および-鎖 RNA の生成を説明する機構として、ローリングサークルモデルがいくつかの研究グループより提



第1図 ウイロイドの複製モデル

出されている^{2,4,6)}。第1図は、後述する試験管内で合成したウイロイド RNA 分子の感染実験の結果も踏まえて、われわれが提出したモデルである⁶⁾。単位長の環状+鎖ウイロイドを鋳型として、まず-鎖が合成される(ステップ1)。ローリングサークル型の合成機構により、環状+鎖 RNA が一周以上読まれることにより、長い-鎖が合成される(ステップ2)。次に2本鎖領域の特定部位より+鎖合成が開始し(ステップ3a)、長い-鎖を鋳型として長い+鎖が合成される(ステップ3b)。長い2本鎖 RNA が存在しないことから、ここで合成される+鎖は鋳型である長い-鎖とはハイブリッドを形成せず、1本鎖として存在すると考えられる。こうして合成された長い+鎖は、ウイロイド RNA 1単位当たり1か所存在する特異的切断部位で切断され、その結果、単位長線状ウイロイドが生成する(ステップ4)。最後に、単位長線状ウイロイドが環化し、環状ウイロイドとなる(ステップ5)。

以上の各ステップにかかわる酵素がなんであるかが次の大きな興味ある問題である。これまでの研究から、ウイロイドがタンパク質の構造遺伝子を持たないことはほぼ確実であり⁶⁻⁹⁾、したがって、複製に関与する酵素群

はすべて宿主に依存していると想像される。

SANGER らのグループは、RNA ポリメラーゼ II を特異的に阻害する濃度の α -アミニチンにより、ウイロイドの複製が阻害されるという実験から、RNA ポリメラーゼ II が複製に関与すると推測した¹⁰⁾。その後、この酵素が試験管内でウイロイド RNA を鋳型とし、単位長の一鎖 RNA を合成できることや¹¹⁾、ウイロイド RNA と親和性のあることが示された。

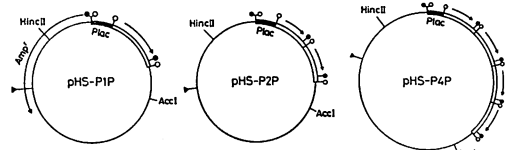
PSTV はその 95% が核小体に存在することが明らかとなった¹²⁾。核小体はリボソーム RNA が合成される場であり、ここでは RNA ポリメラーゼ I が働いているとされる。また、ウイロイド配列中に、マウスリボソーム RNA 遺伝子のプロモーター配列に類似の配列が見いだされることなどからも、RNA ポリメラーゼ I の関与が示唆された¹³⁾。このほかにも RNA ポリメラーゼ III や RNA 依存 RNA ポリメラーゼの関与を示唆する報告もある。

複製の最後のステップである線状ウイロイドの環状化に関しては、コムギ胚の RNA リガーゼにその能力があることが示されている^{14,15)}。この酵素は、基質となる線状 RNA 分子の 5' 末端が水酸基であること、3' 末端に 2', 3' 環状リン酸が付いていることを要求する。このような末端構造を持つ線状 PSTV が環状 PSTV と同程度の感染性を示すことが報告されている。ウイロイドの宿主にも同様な RNA リガーゼが存在し、複製の最後のステップで働いていると想像される。

II 試験管内におけるウイロイド RNA 合成

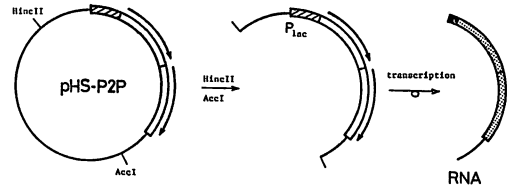
ウイロイドが複製に必要な酵素群をすべて宿主に依存しているということから、環状や線状ウイロイド以外の複製中間体も感染性を有することが示唆される。したがって、試験管内で複製中間体のモデル分子を作成した場合、そのモデル RNA 分子も、複製酵素の認識部位など複製中間体として必要な構造を完全に備えていれば、感染性を示すはずである。このような考えから、実際に複製中間体のモデル分子として、HSV の+鎖がタンデムにつながった RNA 分子や-鎖がタンデムにつながった RNA 分子を試験管内で合成し、それらの感染性を調べてみた。

タンデム+鎖または-鎖 RNA の合成には、大腸菌の RNA ポリメラーゼを用いることにした。そのためには、大腸菌 RNA ポリメラーゼプロモーター下流に HSV cDNA が挿入されたクローンを作製せねばならない。われわれは、すでに HSV の全長 297 ヌクレオチドを含む cDNA クローンを得ていたが¹⁶⁾、鋳型として



第2図 HSV の cDNA をタンデムに持つプラスミドの構造

● : EcoRI, ○ : BamHI, ▼ : PstI



第3図 感染性 RNA の試験管内合成

+鎖 2 単位の場合を示す。

使うためにさらに数ステップを踏み、第2図に示すプラスミドを作製した¹⁷⁾。

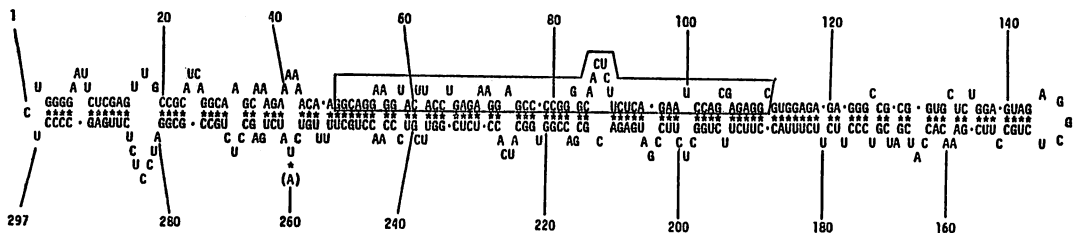
次に、これらの一連のプラスミドを HincII と AccI で切断し、HSV 配列を含む断片を鋳型として用い、大腸菌 RNA ポリメラーゼによって HSV 配列をタンデムに持つ種々の RNA を合成した (第3図)⁶⁾。合成された RNA 分子の両端には、プロモーターとベクターに由来する HSV とは無関係の配列が付加されている。

これらの RNA 分子の感染性を調べた結果を第1表に示す⁶⁾。HSV の+鎖を2単位以上内部に持つ RNA には強い感染性があったが、1単位 of +鎖 RNA およびすべての-鎖 RNA には感染性が見られなかった。

+鎖 HSV 配列を2単位以上含む RNA に感染性があったのは、この分子が、タンデム HSV RNA の内部を認識し、特異的に切断するエンドヌクレアーゼによって切断され、その結果単位長線状 HSV が生成したから

第1表 種々のウイロイド配列の感染性

核 酸	感 染 性
試験管内合成 RNA	
+鎖 1 単位	-
+鎖 2 単位	++
+鎖 4 単位	+++
-鎖 1 単位	-
-鎖 2 単位	-
-鎖 4 単位	-
cDNA クローン	
1 単位 (pHS-P1P, -P1M)	-
2 単位 (pHS-P2P, -P2M)	++
4 単位 (pHS-P4P, -P4M)	+++



第6図 HSV の全構造と region A

され、この領域のどこかで切断が起こるものと考えられる。現在このステップに関与するエンドヌクレアーゼを検査中である。

IV 複製の研究の今後の展望とウイロイドベクターの可能性

ウイロイドの複製の研究は、この5年余の間に急速な進展を遂げ、複製機構もかなり確立してきた。現在の研究は、複製モデルの各ステップを詳細に解析し、実証していくという段階に入っている。そのためには、従来の研究法に加え新たなアプローチが必要になるが、cDNA クローンによる感染系は、すでにタンデム+鎖の特異的切断に必要な領域がこの系を用いて同定されつつあるように、今後もその力を発揮していくことであろう。

DNA の操作は比較的容易なので、cDNA クローン上でウイロイドの塩基配列を変化させておき、そのような変異を持つクローンそのまま、あるいは RNA に読み換えて宿主に接種することにより、変異ウイロイドの人為的作製も可能である。得られた変異ウイロイドの解析により、ウイロイドの配列や構造上、複製に必須の要素が明らかにされるであろう。さらに、病原性とウイロイドの構造との関係も解明され、弱毒ウイロイドを人為的に生み出せるようにもなると期待される。

一方で、確立の望まれる系がもう一つある。現在までの複製機構の研究は、感染後長い時間を経て細胞中に蓄積した複製中間体と考えられる分子の解析を基礎にしており、検出される分子が次にどのように変化していくのか、どのような順序で出現するのかという問いに対して、直接的な証拠を提出できない。このような問題を解決するには、ラジオアイソトープを用いた実験が有効であり、それにはウイロイドの複製が同調して起こるような効率の良いプロトプラストへの感染系がもっとも適していると思われる。

プロトプラストへの感染系が確立すれば、今まで何週間もかけて行っていた感染性の検定も短時間で済むようになるし、cDNA クローンを用いて人為的に作った変

異ウイロイドの解析も、より迅速にかつ詳細に行えると思われる。特に、変異ウイロイドでも増殖可能なものしか扱えない現在の感染系に対し、複製のあるステップが進まないような変異株の解析も可能になるはずであり、その意味は大きい。

感染性 cDNA クローンをを用いる実験系の有用性は既述のとおりであるが、同時に、この系の確立により、ウイロイドを植物のベクターとして利用できるのではないかと、という考えが生まれた。つまり、cDNA クローン上のウイロイド配列中に外来の配列を挿入した組み換え DNA 分子をまず作製しておき、これを植物に接種すれば、外来の配列が挿入された大きなウイロイドが増殖するのではないかと考えられたからである。

しかし、実際にウイロイドをベクターとするには、前もって、ウイロイドの配列または構造中どの部分なら別の配列を挿入できるのか、または削っても増殖に影響しないのか、という問題を解決しておかねばならない。これはすなわち、ウイロイドの複製にウイロイドの配列や構造のどの領域が重要なかを明らかにすることを意味する。したがって、ベクター化の問題と複製の問題は切り離すことはできない。

ウイロイドの構造中、特異的切断に重要な region A には外来の配列を挿入できないことは予想されるが、その他の領域が複製にどれだけ重要であるか現在のところまったくわかっていない。われわれは、region A から離れた位置に、2塩基の欠失または4塩基の挿入を持つような変異ウイロイドを数種作製し、それらの感染性を調べてみたが、予想に反して、それらすべてに感染性を見いだすことができなかった。

ウイロイドは小さく操作しやすい反面、必須の諸要素がその小さい構造中に凝縮されている可能性も高い。現在は、1ないし2塩基の置換を持つ変異 HSV RNA を作製してそれらの増殖能力を調べているが、この実験結果が集積されれば、上述の問題も明らかにされると期待している。しかし、この1年ほどの間ウイロイドのベクター化ということ意識しつつ実験を進めてきて実感す

るのは、この道はそうたやすいものではないということである。

本稿は、HSV や PSTV を用いた実験の結果を中心にまとめた。第1図の複製モデルもこれらのウイロイドの複製機構として考えられたものである。これらのウイロイドに比べ構造上の類似性がきわめて低い ASBV やウイロイド様構造をとる ウイルソイド RNA の場合、第1図の機構と多少異なるモデルを考えたほうがよいことを示す報告がある²¹⁾。また、ある種のサテライト RNA の複製がウイロイドと共通性のあることを示唆する報告もある²⁰⁾。1本鎖環状 RNA という独特の構造を持つウイロイドの複製の研究から、植物ウイルスの複製のみならず、宿主である植物の核酸合成の基本的な現象が明らかにされるかもしれない。

引用文献

- 1) DIENER, T. O. (1979) : Viroids and Viroid Diseases. John Wiley & Sons, Inc. : 岡田吉美監訳 (1980) : ウイロイド—その病理と生化学, 共立出版, 東京.
- 2) BRUENING et. al. (1982) : FEBS Lett. 148 : 71~78.
- 3) ROHDE, W. and H. L. SÄNGER (1981) : Biosci. Rep. 1 : 327~336.

- 4) BRANCH, A. D. and H. D. ROBERTSON (1984) : Science 223 : 450~455.
- 5) ISHIKAWA, M. et. al. (1984) : Mol. Gen. Genet. 196 : 421~428.
- 6) DAVIES, J. W. et. al. (1974) : Virology 61 : 281~286.
- 7) SEMANCIK, J. S. et. al. (1977) : ibid. 80 : 218~221.
- 8) GROSS, H. J. et. al. (1978) : Nature 273 : 203~208.
- 9) ZELCER, A. et. al. (1982) : J. gen. Virol. 59 : 139~148.
- 10) MÜHLBACH, H. P. and H. L. SÄNGER (1979) : Nature 278 : 185~188.
- 11) RACKWITZ, H. R. et. al. (1981) : ibid. 291 : 297~301.
- 12) SCHUMACHER, J. et. al. (1983) : EMBO J. 2 : 1549~1555.
- 13) PALUKAITIS, P. and M. ZAITLIN (1983) : Plant infectious agent (ROBERTSON, H. D. et. al. eds.) : pp. 136~140, Cold Spring Harbor Laboratory, NY.
- 14) BRANCH, A. D. et. al. (1982) : Science 217 : 1147~1149.
- 15) KIKUCHI, Y. et. al. (1982) : Nucleic Acids Res. 10 : 7521~7529.
- 16) OHNO, T. et. al. (1983) : ibid. 11 : 6185~6197.
- 17) ——— et. al. (1983) : Proc. Japan Acad. 59 B : 251~254.
- 18) MESHI, T. et. al. (1985) : Mol. Gen. Genet. (in press.)
- 19) HUTCHINS, C. J. et. al. (1985) : Pl. Mol. Biol. 4 : 293~304.
- 20) KIEFER, M. C. et. al. (1982) : Virology 121 : 262~273.

中央だより

—農林水産省—

○昭和 60 年度病害虫発生予報第 4 号発表さる

農林水産省農蚕園芸局は昭和 60 年 7 月 10 日、昭和 60 年度病害虫発生予報第 4 号 (60 農蚕 3995 号) を発表した。

内容は次のとおり

向こう約 1 か月間の稲のいもち病の発生動向は次のように予想されます。都道府県が発表する発生予察情報にも留意し、的確な防除の実施に努めて下さい。

北陸、東海以西の一部では葉いもちの発病程度がやや高く、進行型病斑も多く認められています。また、稲の生育はやや軟弱気味でいもち病に対する抵抗力がやや弱くなっています。

これらの地域では、葉いもちが梅雨明け後しばらくの間まん延し、特に、日本海側の中山間部を中心としてやや多い発生になると予想されます。

北海道、東北及び関東の葉いもちは平年並の発生と予想されますが、今後しばらくの間曇りや雨の日が多いと予想されており、気象の推移によっては急激にまん延するおそれがありますので、発生動向に十分注意し、早期発見・早期防除に努めて下さい。

また、作期の早い稲では穂ばらみ期及び穂ぞろい期に穂いもちを対象とした防除を実施して下さい。

○難防除病害虫特別対策事業打合せ会議開催さる

昭和 60 年度難防除病害虫特別対策事業打合せ会議が、①ピーマン TMV 弱毒ウイルス関係は、6 月 25 日、農林水産省農蚕園芸局会議室において、岩手県、茨城県、高知県、農業環境技術研究所、野菜試験場、地方農政局及び植物防疫課の担当者を、②コカクモンハマキ顆粒状ウイルス関係は、6 月 26 日、農林水産省農蚕園芸局会議室において、埼玉県、長野県、静岡県、鹿児島県、農業環境技術研究所、果樹試験場、地方農政局及び植物防疫課の担当者が参集し開催された。

会議では、①事業実施方針、②昭和 60 年度の事業実施計画、③事業実施上の問題点、について検討が行なわれた。

特集：ウイロイド〔3〕

リンゴさび果から検出されるウイロイド

農林水産省果樹試験場盛岡支場 小 金 沢 碩 城

はじめに

わが国におけるリンゴの生産量は年間 100 万 t に達して、生産過剰ぎみになっている。その対策として高接ぎによる新品種への更新が進んでいるが、それに伴うウイルス病の拡散が懸念されている。かつて紅玉や国光といった品種が更新されたときに高接病が発生し問題となった。今また同じ問題を抱えている。現在、リンゴウイルス病の防除対策として各県でウイルス無毒化事業が開始されているが、その際いかにウイルス保毒の有無を検定するかが問題となる。高接病の病原ウイルスについては柳瀬らの努力によってすでに検定法が確立されているが、リンゴには他の果樹と同様にまだ多くの病原未知のウイルス性病害があり、これらの病害には実用的な検定法がないのが実情である。

リンゴさび果病は、これら病原未知の病気の一つで、各地で現に発生しており、今後高接ぎ更新に伴って拡散する恐れが十分ある。しかし本病は果実のみに病徴が発現するため研究は非常に少なく、ほとんどの場合病徴の記載および接ぎ木接種試験の結果のみで、病原に関する報告は筆者が研究を始めるまで皆無であった。

現在、本病の病原の同定および検定法について試験を進めているが、病原がウイロイドであると推定できる結果が得られたので、その概要および中国の劉らが行った試験^{7,8)}を紹介し、大方の参考に供したい。

I 来歴および発生状況

リンゴさび果病は、昭和9年、当時の満州農事試験場に奉職していた大塚により、奉天で開催された第二回満州農学会で国光の新病害として世界で初めて発表された。氏は接ぎ木により伝染することを認め、満州リンゴさび果病と命名した。氏によれば中国ではそれ以前から発生していたとのことである^{5,6)}。

日本では昭和25年ごろ長野県に発生が確認されたのが最初で⁹⁾、以後満州の二字を取り、リンゴさび果病の名で呼ばれるようになった。このさび果病とは別に岩手県でスターキング・デリシャスの果実に斑入りの症状が

現れる病気が見つかり、リンゴ斑入果病と命名されたが、その後の接ぎ木接種試験の結果さび果病と斑入果病は同じ病原によって起こることがわかった¹⁰⁾。

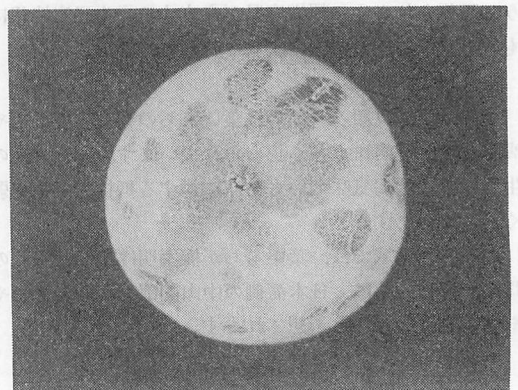
本病は青森、秋田、宮城、山形、福島各県などにも発生が認められ、リンゴ栽培地帯のほとんどで発生している。昭和59年の青森県りんご試験場および昭和56年の岩手県園芸試験場での調査では、それぞれの県内9か所で発生が確認されている。罹病した樹は発見され次第採されるため被害としては目だたない。

海外ではアメリカで1950年代の後半から、またヨーロッパでは最近になって発生が報告されているが、わが国や中国に比べて発生は少ない。中国では昭和30年ごろの調査によれば、遼東半島一帯で1万本以上のリンゴが発病し、また陝西省、山西省、河北省などで発病率が50%ないしそれ以上に達した地域があったとのことである⁷⁾。なお中国では当時膨大な調査研究が行われたもようであるが、その後続いた文化大革命の混乱の中で研究データおよび報告の大部分を遺失したとのことである。

II 病 徴

1 リンゴ

本病の病徴はリンゴの果実のみ現れ、葉や枝は健全なものと差がないのが普通である。果実での病徴は品種によって異なる。主に果面にさびが生じるものと斑入りの症状が現れるものがある。現在までに知られている



第1図 リンゴさび果病の病徴 (品種：国光)

A Viroid Associated with Apple Scar Skin Disease.
By Hiroki KOGANEZAWA

第2表 2系統をリンゴ樹に高接ぎ接種したとき、成木4品種の果実に現れた病徴型¹⁰⁾

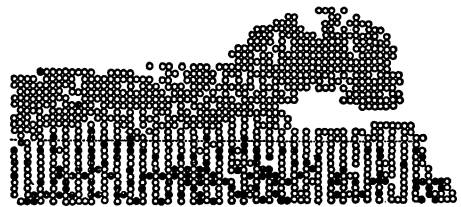
品 種	接 種 源	果 実 に 現 れ た 病 徴 型		
		1 年 後	2 年 後	3 年 後
スターキング	P-125(斑入り)	斑入り	斑入り, 斑入り-さび, さび	さび
	P-112(さび)	斑入り, 斑入り-さび, さび	斑入り, 斑入り-さび, さび	さび
紅 玉	P-125(斑入り)	斑入り	斑入り	斑入り
	P-112(さび)	無病徴	斑入り	斑入り
印 度	P-125(斑入り)	無病徴	さび	さび
	P-112(さび)	さび	さび	さび
国 光	P-125(斑入り)	無病徴	さび, 裂果	さび, 裂果
	P-112(さび)	さび	さび, 裂果	さび, 裂果

表の軽度感受性品種は弱い系統に感染しても病徴を現れない。またふじに対してはさびを生ずる系統と、生じない系統がある。

果実での病徴は以上のものであるが、葉にも病徴が現れるという報告がある。青木・大庭¹⁾は罹病国光穂木をズミ台木に切り接ぎした結果、上部の葉が葉の裏側に湾曲するのを観察した。この湾曲葉は罹病している国光の新梢には認めることはできなかった。後沢²⁾は5品種の罹病穂木をマルバ台に接ぎ木し、湾曲葉の発生を調査したが、国光苗 25 本中 3 本に認めたのみであったとし、湾曲葉をもって保毒の有無の判定を行うことは問題があるとした。一方劉ら(引用文献 7, 8) および私信はこの湾曲葉は国光のほか鶏冠などにも発生し、成木にも認められるとして、保毒の有無を検定する際に、もっぱら国光を用いて湾曲葉を調査している。筆者はまだこの湾曲葉を見たことがなく、類似の葉の症状は遺伝的な変異で生じることも知られているので、劉らの論文を読むまでは青木らの湾曲葉は何かの間違いと考えていた。劉らは台木として山定子 (*Malus baccata*) を用いており、青木らの用いたズミは満州ズミ (*M. baccata*) のことである(青木, 私信)。もし湾曲葉がさび果病の病徴であるならば検定は簡単になるので、今後台木との関連や発病に関与する環境要因などを調査する必要があると思われる。

2 ナシ

劉ら³⁾はさび果病とナシとの関係を詳しく調査している。さび果病がナシから移るのではないかとの考えは、すでに大塚が園地での観察結果から述べている。劉らの調査によれば、ナシとリンゴの混植園やナシ園に隣接し



第2図 リンゴとナシの混植園における発病樹の分布状況(劉ら, 1957)

○: 健全樹 ●: 発病樹 ⊕: ナシ樹

ているリンゴ樹では非常に多くさび果病が発生している(第2図)。ナシ樹がさび果病の病原を保毒していることは接ぎ木接種試験で確認され、保毒率は 90% 以上であった。ナシではヨウナシ, チュウゴクナシ, ニホンナシを問わず感染しても無病徴である。

III 伝 染

本病は接ぎ木で伝染し、高接ぎや樹皮の埋め込みなどの方法により接種すると、1, 2 年後に発病する。病徴は初め接種部位周辺にのみ現れ、3 年ほどかかって樹全体に広がる。高接ぎする際に中間台が保毒していると、高接ぎした穂木は感染する。高接ぎしてから果実がなるまで数年かかるので、発病に気がつくのは高接ぎしてから 3~5 年後のことが多い。高接ぎは穂木の増殖にも用いられるが、原木では無毒であっても大量に増殖した穂木が汚染されてしまうこともある。通常このような穂木の増殖の場合は果実を成らせることをしないので、汚染されたことを知らないまま保毒穂木を用いて一挙更新し、やっと収穫できる年になって発病に気がつくことに

なる。

他のウイロイド病と同じように、虫媒伝染は認められていない。また汁液伝染の報告もないが、後で述べるようにフェノール抽出した RNA で切り付け接種すると感染するので、剪定ばさみや接ぎ木ナイフで移る可能性はある。

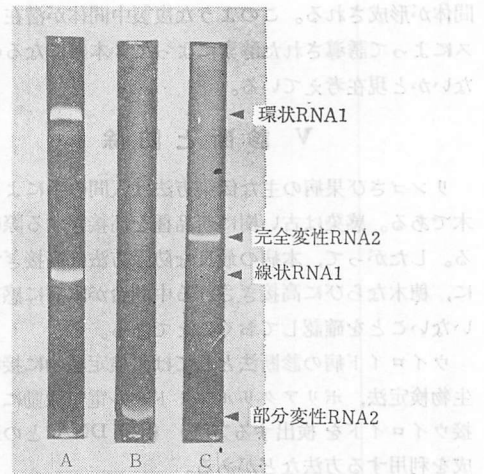
リンゴの根は互いに接触すると接合するので、隣接した樹では伝染することがある。後沢ら⁹⁾は保毒苗と健全苗の根をからませて植え付ければ、感染すると報告している。根に直接接ぎ木しても容易に感染させることができる。ナシからリンゴに伝染するのも同じく根の接触伝染と考えられる。

IV ウイロイドの分離および性状

筆者らはリンゴさび果病に罹病した果実の電子顕微鏡観察や各種の草本植物への接種試験を行ったが、結果はすべて陰性であった。そこで本病がウイロイド病であるかどうかを調べるために罹病果実より核酸を抽出し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動による解析を行った。その結果、健全対照や他のウイルス病感染樹に認められない2種の低分子 RNA が特異的に検出された。この2種の RNA を電気泳動度の早いものから順に ASSA-RNA 1, ASSA-RNA 2 (以下、それぞれ RNA 1, RNA 2 と略す) と命名した^{2,4)}。両 RNA 共に落花直後の果実を除いては収穫するまで検出でき、また無病徴感染している果実からも検出できる。果実以外では樹皮に多く含まれている。葉では RNA 2 は検出できるが RNA 1 の量は非常に少ない。葉や樹皮から検出する場合は同じ位置に泳動される宿主 RNA が存在するために、電気泳動を2回行う必要があった。

これらの2種の RNA は、ウイロイドで通常用いられる方法を組み合わせれば精製することができる。まずフェノール抽出を行い、2-メトキシエタノールによる多糖類の除去、次いで CF-11 セルロースを担体としたカラムクロマトグラフィー、最後にポリアクリルアミドゲル電気泳動を最初未変性、次いで変性条件で行って精製する。抽出材料としては果実がもっとも良い。果実にはきょう雑する宿主核酸も少なく、また容易に多量の材料を得ることができる。1本の成木があれば、発病したばかりの果実を約 30~40 kg 収穫できる。しかし RNA の取量は少なく、果実 1 kg より最高で 15 μ g、通常は 5 μ g 程度しか RNA 1 を得ることができない。

2種の RNA のうち RNA 1 は既知のウイロイドと同じ性質を持っている。すなわち、ポリアクリルアミドゲル電気泳動で既知ウイロイドとほぼ同じ位置に泳動さ



第3図 精製した低分子 RNA の変性条件下での電気泳動像

A: RNA 1, B: RNA 2, C: RNA 2 (泳動前に 100°C, 2 分熱処理)

れ、低濃度ゲルでは分子量は大きく、高濃度ゲルでは小さく見積られるというウイロイドと同じ性質を示した。また尿素を含む変性条件下では2本のバンドに別れた(第3図)。他のウイロイドに関する報告から遅く泳動されるバンドは環状、速く泳動されるバンドは線状構造をしていると思われる。

ポリアクリルアミドゲル電気泳動で精製した試料をリンゴ実生苗にカミソリの刃で切り付け接種を行うと感染し増殖する⁴⁾。リンゴ実生はウイルスフリーなので、RNA 1 はウイロイドと同じように自立的に増殖できるということになる。感染した実生はまだ結実していないので病徴を観察するに至っていないが、以上の RNA 1 の性質は植物に感染して自立的に複製される低分子環状 RNA というウイロイドの定義を満たしている。

一方、RNA 2 の性質は RNA 1 とかなり異なる。RNA 2 は高塩濃度で RNase に抵抗性であり、2本鎖 RNA と思われた。CF-11 セルロースクロマトグラフィーやヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーにおける挙動も2本鎖 RNA のそれと一致した³⁾。さらに尿素による変性条件下でのゲル電気泳動で異常に早く泳動された。このことから RNA 2 は線状2本鎖と推定された。また、熱処理をして完全に変性させ、1本鎖の状態に泳動させた場合、RNA 1 より分子量は大きかった(第3図)。最初 RNA 2 は RNA 1 の複製型(RF)と考えたが、既知のウイロイドで RNA 2 のように比較的多量の RF が検出されることはない。最新のウイロイド複製モデルによれば、ウイロイドより長い1本鎖の複製中

間体が形成される。このような複製中間体が潜在ウイルスによって誘導された酵素によって2本鎖になるのではないかと現在考えている。

V 診断と防除

リンゴさび果病の主な伝染方法は人間の手による接ぎ木である。感染は古い樹に新品種を高接ぎする際に起こる。したがって、本病の最良な防除方法は高接ぎする際に、穂木ならびに高接ぎされる中間台が本病に感染していないことを確認しておくことである。

ウイロイド病の診断法としては、検定植物に接種する生物検定法、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により直接ウイロイドを検出する方法、相補 DNA との雑種形成を利用する方法などがある。

さび果病を生物検定する場合には感受性品種に接ぎ木接種することになるが、この方法は本病の潜伏期間が長いこと、果実のみに病徴が発現するために検定植物の育成に時間がかかり、かつまた広い面積を必要とすることなどから実用的ではない。前述した国光苗の湾曲葉を利用する方法について、劉らの報告⁷⁾によれば4月に切り接ぎすれば7月には病徴が発現するとのことであり、検定に要する期間は短く、また検定用の穂木を用意するのも簡単である。他の方法としては、クラブリンゴの利用が考えられている。クラブリンゴは果実が小さく、接ぎ木した穂木に果実を成らせることは容易である。現在シュガークラブや NY 11902 などの品種が検定用として候補に挙がっている。

現在考えられる実用的な検定方法は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるものである。樹皮よりフェノール抽出して、塩化リチウム存在下 33% エタノールで沈殿させ、ゲル電気泳動を行う。この方法は今開発中であるが、500 mg の樹皮にエチジウムブロミドで染色して検定するのに十分な量が含まれており、銀染色法を用いればさらに少ない試料で検定することができると思われる。検定は2日間で済ますことができる。

以上述べた検定済みの無病穂木および台木を利用し、発病した樹は伐採し、その根は完全に除去してから改植すれば、本病はほとんど防除できると思われる。これ以外では、作業器具の消毒や隣接樹からの接触伝染の防止なども考えられる。これは一部の枝のみに病徴が認められまだ生産を続けたい場合やナン樹と隣接している場合にも必要と思われる。

VI 斑入果病類似症

リンゴ斑入果病に類似の症状があると思われるので紹

介しておく。一つは岩手、山形、青森の各県で発生している陸奥の病気で、有袋栽培をすると果実に斑入りを生ずる。斑入りの大きさはさび果病と比べると小さく、また無袋栽培では果面に凹凸ができるので区別することはできる。また、これはスターキング・デリシャスに接種するとさび果病と異なり、粗皮症状を生ずる。この病気はまだ正式に報告されておらず、新病害と思われる。

もう一つは横子に現れた症状で、果実に斑入り症状、葉にフレック、花卉にネクロシス、樹皮に粗皮症状が発現している。果実以外の症状は輪状さび果病に似ている。

この両病害共にウイロイド様 RNA は検出されず、果実以外の病徴が付随しているのが特徴で、リンゴさび果病とは異なる病気と考えられる。

おわりに

以上述べたように、さび果病の病原がウイロイドであるとのいくつかの証拠が得られているが、まだ解決しなければならぬ問題点がいくつかある。その一つは分離したウイロイドによって病徴を再現させることである。感染した実生から接種する計画であるが、現在ウイルスフリー樹を育成中であるので、最終的な結論を出すにはまだ数年かかる。果樹ウイルス病の試験は時間がかかるが、年々着実に成果が出ているのも事実である。

本稿を書くにあたって文献を読み返してみると、本病が高温を好むというウイロイドの特徴が散見されるのである。例えば、大塚⁵⁾は罹病果実は長形になると述べている。リンゴは最初主に縦方向に肥大し、それから横方向に肥大する。したがって、さび果病ではまだ低温である初期の発育は正常に近いが、高温時は影響が現れて果実が長形になるのである。果樹ではまだ病原未知のウイルス性病害があるので、こんなことも新しいウイロイド病発見の手だてにしたいと思っている。

引用文献

- 1) 青木二郎・大庭嘉邦 (1942): 農及園 17: 165~167.
- 2) KOGANEZAWA, H. et al. (1982): Acta Horticulturae 130: 193~198.
- 3) 小金沢碩城 (1983): 果樹誌報 C-10: 49~60.
- 4) KOGANEZAWA, H. (1985): Ann. Phytopath. Soc. Japan 51(2): 176~182.
- 5) 大塚義雄 (1935): 園学雑 6: 44~53.
- 6) ——— (1938): 同上 9: 283~286.
- 7) 劉福昌 et al. (1957): 苹果銹果病, 科学出版社, 北京, pp. 43.
- 8) ——— et al. (1962): 中国農科院果樹所 1962 年報: 71~79.
- 9) 後沢憲志ら (1968): 長野園試報告 7: 1~12.
- 10) YAMAGUCHI, A. and H. YANASE (1976): Acta Horticulturae 67: 249~254.

特集：ウイロイド〔4〕

ブドウから検出されるウイロイド

北海道大学農学部植物ウイルス病学・菌学講座 佐野 輝男・四方英四郎

はじめに

ブドウ栽培の歴史は古く、有史以前よりと言われる。その分布は広く全世界にわたっている。それだけにブドウの病害も多種多様であり、とりわけ、ウイルス病と言われるものでいまだ病原ウイルスが明確でないものも多い。ブドウはつる性の多年生植物で、栄養体繁殖なので一度ウイルスに感染するとそのままウイルスが保持され、株分けや接ぎ木などにより伝染・拡散するため、数種の病原が複合して感染していることもまれではない。

これまでウイロイドは栄養繁殖性の永年作物・果樹などに多く発見されているが、ブドウのウイロイド病の報告はなかった。今回われわれはブドウにウイロイドが感染していることを世界で初めて発見したが^{1,2)}、きわめて高率に検出できることから、まずブドウに対する病原性について慎重な研究を進めている段階である。私共の研究の中で、このウイロイドは病原性、分子構造および発生分布などの点でいくつかの興味深い性質を持っていることが明らかになってきた。いまだ試験・研究中のことが多いが、本稿に、これまで判明した点について概説する。

I ブドウウイロイドの検出

まず第1表に示すように、栽培ブドウの2品種についてそれぞれウイルス罹病樹と、生長点培養あるいは熱処理によるウイルスフリー樹の葉から、上田ら³⁾の方法で

第1表 ブドウウイロイドの検出

ブドウ品種	症 状	キュウリ検 定
カベルネ ソービニオン	リーフロール、フレック ウイルスフリー ^{b)}	6/6 ^{a)} 0/6
善 光 寺	リーフロール、フレック ウイルスフリー (生長点培養) ^{c)}	13/13 0/18

a) キュウリ発病数/供試数

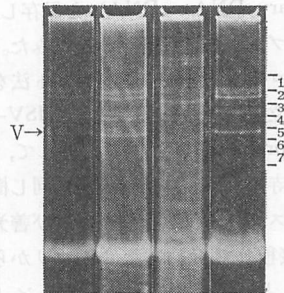
b) カベルネソービニオンのウイルスフリー樹は、上のウイルス汚染樹と系統が異なる。

c) 善光寺のウイルスフリー樹は、上のウイルス汚染樹から生長点培養により作出された。

A Viroid Isolated from Grapevine. By Teruo SANO and Eishiro SHIKATA

低分子量 RNA を抽出した。これをキュウリ (品種：四葉) に接種すると約3週間後にわい化、葉巻き、葉脈透化などの症状が現れた。キュウリの発病は、第1表の2品種すべてのウイルス罹病株を接種したもので確認された。

このキュウリの症状は、佐々木と四方^{4,5)}により報告されたホップわい化ウイロイド (HSV) あるいはオランダのハウス栽培のキュウリの病害であるキュウリ pale fruit ウイロイド (のちに筆者らは HSV のキュウリ変株：HSV-c と報告した)^{6,7)} などによる症状と酷似している。さらにウリ科を中心に寄主範囲を調べたところ、トウガン、センナリヒョウタンにわい化、葉巻き、葉脈透化、頂部え死を現し、ナス科のトマトに潜在感染した。カボチャとキク科のピロードサンシチには感染しなかった。これらの症状は HSV および HSV-c のものと非常によく似ており区別できなかった。

HSV HSV-c 健全ブドウ病原
接種 接種 接種
(a) (b) (c) (d)

第1図 ブドウウイロイドの15% PAGE 試験

(a) : HSV 接種キュウリ, (b) : HSV-c 接種キュウリ, (c) : 健全キュウリ, (d) : ブドウ病原接種キュウリ

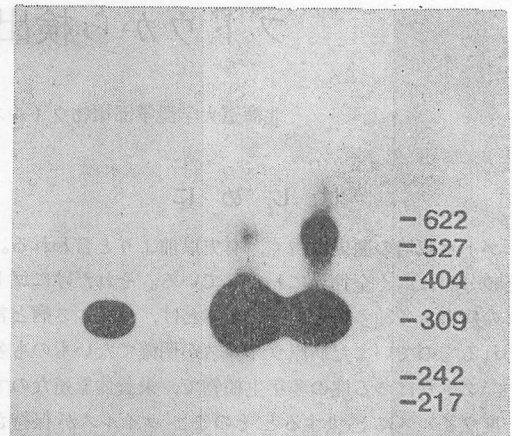
おのおの低分子量 RNA 分画を 15% PAGE で泳動した。V は HSV, HSV-c の位置。右側に示した 1~7 の分画に分け、キュウリに接種した結果を下に示した。×1 は原液、×10 はその 10 倍希釈液、数字は接種 8 週間後のキュウリ発病数 (4 本接種した)。

現在、ウィロイドであることを示すもっとも手っとり早い方法の第一は、病植物より抽出した核酸からポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) などで病植物に特有の低分子量 RNA を検出し、それが病原性と強い関係を持っていることを確認することである。そこでわれわれは、ブドウから分離した低分子量 RNA を接種して発病した前述のキュウリから低分子量 RNA を抽出し、15% PAGE で分析し、健全キュウリ、HSV および HSV-c 罹病キュウリから抽出した低分子量 RNA のパターンと比べてみた。その結果、ブドウの低分子量 RNA を接種したキュウリには健全キュウリにはない特異的バンドが1本観察され、このバンドとキュウリへの病原性は一致した。さらにこのバンドの移動度は、HSV および HSV-c の移動度とほぼ一致したことから、キュウリに病原性を持つブドウの低分子量 RNA は HSV および HSV-c と同程度の分子サイズを持つことが示唆され (第1図)、ウィロイド様の感染性低分子量 RNA であることが明らかになった。

II 遺伝子診断によるブドウウィロイドの検出

キュウリなどのウリ科植物に対する感染性と PAGE での移動度より、ブドウから分離した低分子量 RNA は HSV および HSV-c と類似したウィロイド様病原であると推定された。われわれはすでに HSV-c のクローニングを行い、クローン化した HSV-c の相補 DNA (complementary DNA : cDNA) を保存しているので、これを用いてブドウの遺伝子診断を試みた。遺伝子診断はノーザンブロット法とドットブロット法を用いて行った。放射性同位元素 ^{32}P で標識した HSV-c の cDNA をプローブ (probe : 検出用試薬) として、第1表のブドウ品種善光寺のウイルス病罹病樹、同じ樹から生長点培養でウイルスフリー化した樹、および善光寺の低分子量 RNA を接種して発病したキュウリから抽出した低分子量 RNA とハイブリダイゼーション (分子雑種形成) を行った。対照として HSV-c 罹病キュウリおよび健全キュウリを用いた。もし、HSV-c と類似した病原があれば、放射性同位元素 ^{32}P で標識した HSV-c の cDNA プローブとハイブリッドを形成し、オートラジオグラムで検出できるわけである。この反応は非常に特異性が高くかつ鋭敏である。結果は、対照の HSV-c だけでなく、善光寺の低分子量 RNA 接種キュウリおよび善光寺のウイルス病罹病樹からも HSV-c の cDNA プローブとハイブリッドを形成する RNA 分子種が検出された (第2図)。さらに、HSV-c の cDNA プローブとハイブリッドを形成する RNA は、キュウリに感染

(a) (b) (c) (d) (e)



第2図 遺伝子診断によるブドウウィロイドの検出
(a) : 健全キュウリ, (b) : HSV-c 罹病キュウリ,
(c) : ウイルスフリー化ブドウ (善光寺), (d) : ウイルス病罹病ブドウ (善光寺), (e) : ブドウ病原接種キュウリ.
HSV-c の cDNA をプローブとした. 右側の数字はヌクレオチド数.

性を持つ特異的バンドと一致することも確認されたのである。以上のことから、われわれがブドウから分離した低分子量 RNA が HSV あるいは HSV-c と近縁のウィロイドであることが明らかになった。

この遺伝子診断の結果は、先に行ったキュウリへの接種試験の結果と完全に一致したことから、われわれが用いた cDNA プローブはブドウウィロイドの検出にきわめて有効であることが示された。本法は実際のは場診断法としても利用可能ではないだろうかと考えている。現在までのところ、確実な診断を下すためには、かなり手間を要する抽出方法が必要であることや、検出感度を上げるために cDNA プローブを放射性同位元素で標識しなければならないなどの制約がある。今後、この遺伝子診断を実用化するにあたっては、これらの欠点を改良して、より簡便迅速でかつ手軽な診断法にする必要がある。

III ブドウウィロイドの病原性——ウイルス性病害との関係——

現在まで 10 種類以上のウィロイドやウイルス様病原が報告されているが、いずれも農作物に基だしい被害を及ぼすことが知られている。ホップわい化病にしても、ココヤシカダンカダン病にしても穂花や果実に被害が及ぶ。ブドウウィロイドのブドウに対する病原性はどうか

か。これまで報告された病原未知のウイルス病との関係はどうであろうか。

ブドウウィロイドとウイルス性病害との間の関係について調べた。この研究は山梨県農業試験場の矢野氏、寺井氏との協力によって行ったもので、検定にはあらかじめ生物検定によってブドウのリーフロールとフレックにそれぞれ単独感染あるいは混合感染していることが確認されているブドウ4品種、および生物検定の結果、リーフロール、フレック、コーキーバーク、ファンリーフすべてに陰性であり、いわゆる健全といわれる3品種、合わせて4品種9試料を用いた。これらの試料から低分子量RNAを抽出し、キュウリ検定、PAGE検定および遺伝子診断などによりウィロイド感染の有無を検定した。その結果、リーフロール、フレック、コーキーバークそれにファンリーフのすべてに陰性であったいわゆる健全樹を含む全試料からウィロイドが検出されている。ここで“健全”ブドウからもウィロイドが検出されることから、少なくとも上記4種類のウイルス病とブドウウィロイドとは直接的関係はないように思われる。しかし、健全を含むすべての試料から検出されたということは、このウィロイドが従来の検定法では完全に見逃されており、すでにかかなり広い範囲にわたって広がっている可能性を示している。

われわれは現在、ウイルスおよびウィロイドフリーのブドウにウィロイドを戻し接種して、ブドウに現れる影響を観察中であるが、ブドウのような多年生の果樹の場合、はっきりした影響が現れるまで数年を要することもまれではなく、結果を得るまでにはまだかなりの時間がかかると思われる。今後さらに検定の範囲と検体数を増やし、このウィロイドのブドウに及ぼす影響について確認したいと思っている。

IV ブドウウィロイドの分布

現在、日本で栽培されているブドウ品種の多くは欧米からの導入品種やその選抜改良品種である。したがって、ブドウから検出されたウィロイドは決して日本特有のものではなく、むしろ欧米から導入品種と共に持ち込まれたのではないかという疑いがある。ごく最近欧米より導入されたブドウ品種を、国別に分けてウィロイドの検出を試みた。その結果、フランスから導入したもので6試料中3試料、アメリカとハンガリー導入品種はいずれも5試料全部、そして西ドイツとオーストリアからのものそれぞれ1試料からウィロイドが検出された。日本の品種では9試料中7試料から検出された。これらについては、日本に導入後短期間になんらかの要因で新たに

ウィロイドに感染した可能性もあるが、導入後1年しか経っていない1983年導入のものからも、6試料中4試料(導入国はフランスとハンガリー)でウィロイドが検出されていることを考えると、導入以前すでにウィロイドに感染していた可能性のほうが強いと考えられる。このようなことから、われわれはブドウのウィロイドはすでに全世界的に分布していると推定している。

V ブドウウィロイドの防除法——ウィロイドフリー化の問題点——

われわれの検定の結果から、ウィロイドがきわめて高率に検出され、さらに、いわゆる健全といわれているブドウからも検出されたことを考えると、各地のブドウはすでに高率にウィロイドに汚染されていると思われる。

現在ブドウは熱処理や生長点培養によるフリー化が行われている⁸⁾。これまでのわれわれの試験結果から見ると、第1表の善光寺のウイルス病汚染母樹から生長点培養でウイルスフリー化した1例のほか、甲州のウイルス病汚染母樹より生長点培養でウイルスフリー化した1例、および同じ汚染母樹より熱処理と生長点培養を組み合わせでウイルスフリー化に成功した1例、合計3例がある。善光寺と甲州のそれぞれ生長点培養によるウイルスフリー樹系統では、同時にウィロイドもフリーであった。しかし、甲州の熱処理と生長点培養を組み合わせでウイルスフリー化したものからはウィロイドが検出されている。まだ例数は少ないが、このことからブドウウィロイドを生長点培養によりフリー化できることは明らかである。ただし、ウィロイドが一般に高温(28~30°C)で増殖しやすいこと、耐熱性が80~140°Cであることを考えると、従来の熱処理法によるフリー化はウィロイドに限っていえば有効かどうか疑問である。

いずれにせよ、ウイルス同様、ウィロイドも従来の方法でフリー化することができそうである。しかし、ここでもっとも注意しなければならないことに台木の問題がある。われわれはブドウの栽培品種と同時に、ブドウ台木用として用いられている“5BB”や“SO4”の検定も行ってみたが、SO4からウィロイドが検出されている。このことは栽培品種同様、台木もすでにウィロイドに汚染されている可能性を示唆している。あるいは台木がウィロイド感染の原因となっていたのかもしれない。つまり、いくら栽培品種を生長点培養などでフリー化しても、台木がフリー化されていないとすべてむだになってしまうということである。ブドウウィロイドのフリー化を行うにあたっては、台木のフリー化を同時に進め、まず確実にウィロイドフリーであることが保証された台木

を大量に供給できる 態勢を作らねばならないと思われる。

VI ブドウウイルスとホップわい化病

われわれはこれまで一貫してホップわい化病の研究を行ってきた。ホップわい化病は、今のところ欧米での発生の報告はなく、日本特有の病害と考えられている。その病原ウイルスは、オランダのハウス栽培のキュウリで発生したキュリパールフルーツ病の病原ウイルスと寄主範囲および病徴など非常によく似ている⁹⁾。そして両者の全一次塩基配列を決定した結果、HSV は 297 塩基¹⁰⁾、HSV-c は 303 塩基⁷⁾で、両者の間では 16 か所で塩基の置換、欠失、挿入などの違いが見られるのみで、全体として 95% という非常に高い塩基配列の相同性があることが明らかになった⁷⁾。このようなことがわかってみると、二つの類似した病原が、日本とオランダというまったくかけ離れた地域で、しかもホップとキュウリというあまり関係のなさそうな宿主から分離されたことに大きな疑問が残った。その後ホップわい化病の病因を探る経過の中で、われわれは今ブドウのウイルスを見だし、寄主範囲、PAGE、ハイブリダイゼーションなどの結果から、このウイルスが HSV あるいは HSV-c と非常によく似ているらしいことも明らかになった¹²⁾。したがって、ブドウのウイルスと HSV および HSV-c との関係は、あらゆる点で興味深い問題を提供することとなったのである。現在までのところ、日本産ブドウ善光寺から分離したウイルスの全一次塩基配列がほぼ明らかになったが、驚くべきことに、このブドウ善光寺のウイルスは 297 塩基より構成されており、塩基数では HSV と完全に一致した。そして HSV との違いはわずか 1 か所の塩基置換が起こっていたのみであった。この事実は善光寺から分離したブドウウイルスと HSV がおそらく同一起源であろうことを示唆している。わが国においては、ブドウ栽培地とホップ栽培地がほぼ重なり合って分布している地域が多いことを考えると、ブドウウイルスとホップわい化病との間になんらかの関係があっても不思議ではない。さらに現在までのわれわれの検定の結果では、ほとんどのブドウがこのウイルスを保有していることや、歴史的に見てブドウ

ウのほうがホップよりも古くから日本に導入され栽培されてきたことを考えると、もともとブドウに感染していたウイルスがなんらかの原因でホップに感染し、ホップわい化病を引き起こしたのではないかと考えてもよさそうである。われわれは現在、欧米より導入したブドウから分離したウイルスについても塩基配列を決定中である。これが HSV 型か HSV-c 型か非常に興味深いところである。

おわりに

ブドウから検出されたウイルスの検出法、検定法、防除法および分布と病原性などについてまとめてみた。検定法としてはキュウリ検定や遺伝子診断、フリー化は生長点培養がそれぞれ有効なことが明らかになったが、このウイルスを分離してからまだ 1 年しか経っていないので、その発生分布やブドウに対する病原性など未解決の部分も多い。今後はこれらの点の解明を進めていきたいと考えている。

なお、本研究を行うにあたり、貴重なブドウの試料を提供していただいた、マンズワイン株式会社 上野雄靖博士、井理正彦氏、山梨県果樹試験場 矢野 龍氏、寺井康夫氏、池田町 河口将征氏に対し深く感謝の意を表す。また研究を行うにあたり、種々有益なる御助言、御協力をいただいた、東京大学理学部 岡田吉美博士、飯哲夫氏、東京農工大学 大野峰司博士に対し、深く感謝の意を表す。

引用文献

- 1) SHIKATA, E. et al. (1984) : Proc. Japan Acad. 59 B : 251~254.
- 2) SANO, T. et al. (1985) : J. gen. Virol. 66 : 333~338.
- 3) UYEDA, I. et al. (1984) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 50 : 331~338.
- 4) SASAKI, M. and E. SHIKATA (1977 a) : Proc. Japan Acad. 55B : 103~108.
- 5) _____ (1977 b) : ibid. 55 B : 109~112.
- 6) VAN DORST, H. J. M. and D. PETERS (1974) : Neth. J. Pl. Path. 80 : 85~96.
- 7) SANO, T. et al. (1984) : Nucl. Acid Res. 12 : 3427~3434.
- 8) IRI, M. et al. (1982) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 48 : 685~687.
- 9) 佐野輝男ら (1981) : 日植病報 47 : 599~605.
- 10) OHNO, T. et al. (1983) : Nucl. Acid Res. 11 : 6185~6197.

特集：ウイルス〔5〕

カンキツエクソコーティスウイルスの生物学的性質

農林水産省果樹試験場興津支場 か加 のう納 たけし健

カンキツエクソコーティスウイルス (citrus exocortis viroid, CEV)²⁸⁾ は、カラタチ (*Poncirus trifoliata*) やその交雑種を特異的に衰弱させる。これら罹病性植物を台木として CEV 保毒穂木を接ぐと、生育が悪く、収量も上がらない (第1図)。わが国では耐寒性、耐病性、果実品質の面からカラタチを台木としたカンキツがもっとも優れているため、エクソコーティス病の存在は栽培上きわめて重大な脅威である。本病は FAWCETT と KLOTZ⁷⁾ により 1948 年に初めて報告され、当初、接ぎ木伝染性であることからウイルス病として扱われていたが、後に病原がウイルスであることが判明した。わが国においては、1963 年に田中³²⁾ が発生を確認した。その後、各地試験場の導入品種の保存園を中心に本病が分布していることが明らかになり³¹⁾、一部導入品種のみが保毒する病害と考えられてきた。しかし、近年の中晩柑類への改植、高接ぎ更新などによって一般農家園での発生も認められるようになった。CEV は接ぎ木伝染によるほか、ナイフやはさみなどでも容易に接触伝染するので、今後のまん延が懸念されている。

本稿では CEV の生物学的性質、すなわち寄主範囲とその病徴、生物検定法、分離株間の病原性の差異、弱毒株によるわい化栽培試験、病原性と塩基配列との関係など最近の研究成果を紹介する。本稿で言及していない部分は平井・山田¹²⁾ および牛山³³⁾ の総説を参照されたい。本稿の校閲ならびに御指導をいただいた果樹試験場興津

支場病害研究室長小泉銘冊博士に謝意を表す。

I 寄主範囲と病徴

CEV はカラタチのほか、ラングプアライム (*Citrus limonia*)¹⁹⁾ や各種 シトレンジ (*C. sinensis* × *P. trifoliata*)²⁾ の樹皮にはく皮症状 (bark scaling) を示し、それらを台木としたカンキツをわい化、衰弱させる。カンキツおよび類縁植物の大部分は CEV を保毒するが、病徴を現す植物は少ない。カンキツ類の中で激しく反応する植物はエトログシロン (*C. medica*) で、検定植物として使われている。葉のエピナスティー (epinasty)、葉脈中肋のコルク化やえそ、葉柄基部のえそなどの明瞭な症状を示し、樹は萎縮する。

草本植物では、ナス科とキク科を中心に病徴を示す植物が見いだされている。トマト (品種: Rutgers)²⁷⁾、ピロードサンシチ (*Gynura aurantiaca*)³⁸⁾、キク (品種: Bonnie Jean)¹⁸⁾ などが激しい症状を示し、検定用や増殖用植物として使われる。草本植物での病徴はいずれの植物でも類似しており、エピナスティー、葉脈えそ、縮葉、萎縮などである。その他、何らかの病徴を示す植物は以下のとおりである。

ミカン科: Dorshapo スイートレモン (*C. limetta*)³⁶⁾、Palestine スイートライム (*C. limettioides*)³⁶⁾、Harvey レモン (*C. limon*)²⁴⁾、キューバンジャドック (レモンの雑種)³⁶⁾

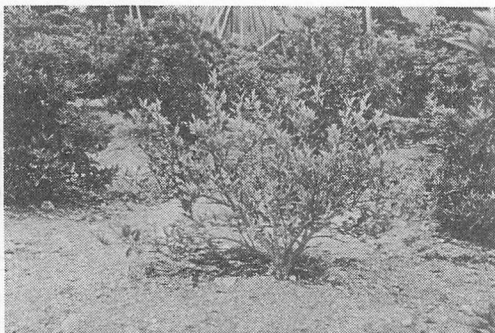
キク科: キク (品種: Mistletoe, Spider, Velvet Ridge)^{18, 22)}、*Gynura sarmentosa*³⁸⁾、ヒャクニチソウ (*Zinnia elegans*)¹⁴⁾

ナス科: *Petunia* 属 3 種³⁷⁾、*Physalis* 属 3 種³⁷⁾、*Scopolia* 属 6 種^{29, 30)}、ジャガイモ^{29, 30)}、その他の *Solanum* 属 7 種³⁷⁾

ウリ科: キュウリ (品種: Baarlose Nietplekker, Spuru)²²⁾

セリ科: セルリ²²⁾

CEV がジャガイモ、トマト、ピロードサンシチなどに示す病徴が potato spindle tuber viroid によるものと極似することから、当初、両者はきわめて近縁なウイルスと考えられた³⁰⁾。しかし、後に異なる塩基配列を持つ別種のウイルスであることが判明した¹¹⁾。



第1図 カラタチ台スイートオレンジの衰弱症状

Biological Properties of Citrus Exocortis Viroid.
By Takeshi KANO

II 生物検定法

1 木本植物による検定

CEV の検定法として、現在、エトログシトロン (以下、シトロンと称する) への接ぎ木接種がもっとも一般的であるが、これに至るまでには種々の試みがあった。本病はカラタチやラングプアライムの病気として発見された経緯があり、当初これらの植物が検定植物として利用された。MOREIRA¹⁹⁾ は、接ぎ木接種によりラングプアライム実生が約4か月で幹に黄斑を生じ、後に樹皮に亀裂を示すことを見いだした。また、被検樹にラングプアライム、カラタチを高接ぎした場合には6~8か月で病徴を現すことを認めた。WEATHERS と GALAVAN²⁰⁾ は、スイートライムなども樹皮のはく皮や亀裂を生じ検定用に使えるとしたが、発病までの潜伏期間が1年以上かかる点に問題があった。

本病の検定が一段と確実になったのは、GALAVAN⁵⁾ によるシトロンの利用からである。カラタチやラングプアライムでは、幹や樹皮の症状を見る必要があり、検定に長時間を要したが、シトロンは新梢に症状が発現するので検定期間が1~5か月に短縮された。彼らはシトロンの系統の中で、U.S.D.C.S. 60-13 (以下、60-13 と称する) と P.I. 109620 が特に感受性が高いこと、これらは他の検定植物にまったく症状を示さなかった分離株でも症状を現すことを認めた。SALIBE と MOREIRA²⁴⁾ は、Harvey レモンを検定植物として報告したが、その後は利用されていない。

GARNSEY と COHEN¹⁰⁾ はシトロンの各系統の感受性を比較し、アリゾナ 861 (以下 861 と称する) がもっとも激しい病徴を呈することを明らかにした。861 はその後、代表的な検定植物として広く使われている。

ROISTACHER²¹⁾ は 861 から得た実生の CEV に対する感受性を調べ、そのうちの1本が検定植物として優れていることを認め、アリゾナ 861-S-1 (以下、S-1 と称する) と命名した。S-1 は強毒 (severe) 株に対して 861 と同等あるいはより激しく反応し、弱毒 (mild) 株と極弱 (very mild) 株に対しては 861 よりも鋭敏に反応した。S-1 の反応の特徴は、葉の中肋や葉柄の基部に顕著に現れるえそ症状で、これは弱毒株と極弱株の検出に特に有効であった。

2 草本植物による検定

木本植物による検定では、検定植物の育成に手間と時間がかかり多数の被検材料を扱うことが困難である。そこで、より簡易な生物検定法として、長尾と脇本¹⁷⁾ は、フェノール抽出した CEV をトマトに接種する検定法を

開発した。本法は罹病カンキツ葉からフェノール抽出、塩化リチウムによる RNA の分画、透析およびエタノール沈殿を経て濃縮 CEV を得、トマトの幼苗に摩擦接種するもので、病徴発現までの日数を短縮することができた。しかし、抽出・濃縮操作があるので、多量の材料を扱うことは困難であった。

加納と山口¹⁴⁾ は、長尾と脇本の方法を追試するとともに、新たに簡易検定法としてピロードサンシチを用いた直接ナイフ接種法を開発した。すなわち、罹病カンキツ枝を切り付けたナイフで直接、ピロードサンシチの茎を切り付け、これを交互に繰り返すだけの方法である。この方法で罹病カンキツ枝を接種源とした場合、最少4回の切り付けでピロードサンシチに伝染し、10回以上の切り付けでほぼ100%伝染した。同様な方法でトマトに切り付けた場合には発病率が低く、実用性がなかった。この検定法では、被検材料は前年生の枝あるいは当年生の枝で十分硬化したものが良く、また冷蔵庫あるいは冷凍庫で保管すれば100日後でも伝染力があつた。しかし、後述するように、CEV の一部分離株 (弱毒株など) はピロードサンシチに反応しないので、強毒株のみが検定可能である。

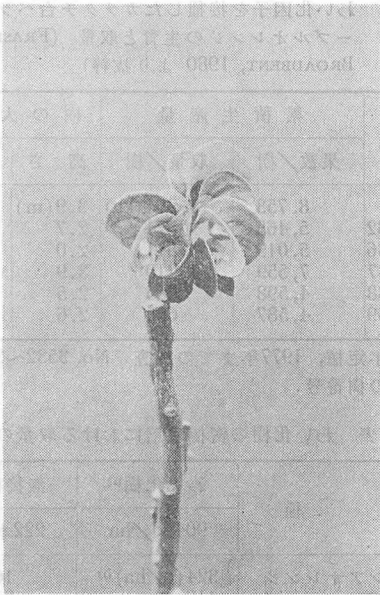
III 病原性の異なる分離株

1 木本植物での反応の差異

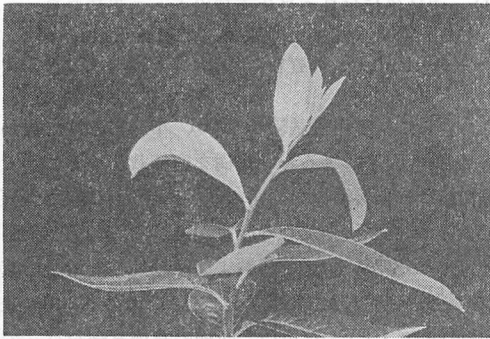
CEV に病原性の異なる分離株 (系統) が存在することは、ほ場栽植樹での症状の違いや検定植物での反応の差異により以前から知られていた。

WEATHERS と GALAVAN²⁰⁾ は、由来の異なる3種罹病樹の保毒病原について調べ、感受性台木での潜伏期間、およびカラタチでのフロログルシノール塩酸反応が異なることを明らかにした。SALIBE と MOREIRA²³⁾ は、ラングプアライム台スイートオレンジの各種罹病樹を調査し、はく皮の程度と形態、樹の萎縮程度および潜伏期間が種々異なることを見だし、系統の存在を示唆した。オーストラリアでは、すそ腐れ病対策として抵抗性台木のカラタチを利用しているが、その台木部にさまざまなエクソコーティス症状が現れ、FRASER^{8,9)} は、病原性の異なる系統の存在と、同一樹中での混合感染の可能性を考えた。

CEV はシトロン上でもっとも明瞭に病徴を現すので、近年、シトロンの反応を中心に分離株の病原性が論じられている^{1,15,20,21)}。強毒株はシトロンに激しいエビナスティー、葉脈や幹のえそとコルク化、顕著な萎縮を示し (第2図)、弱毒株はこれらの症状がいずれも軽く、葉柄基部や葉の中肋に軽いえそを示す (第3図)。中間株



第2図 強毒株によるシトロソ (S-1) のエビナスティ-と萎縮



第3図 弱毒株によるシトロソ (S-1) の軽いエビナスティ-

(moderate) は強毒と弱毒の中間の病原力を示す分離株で、弱毒株より反応の軽いものは極弱株と呼ばれている。

ROISTACHER ら²⁰⁾は、強毒株を接種源とし、ナイフ接種により 50 本のシトロソ (861 または 60-13) に接種したところ、そのうちの 27 本が強毒、12 本が中間、7 本が弱毒、4 本が極弱の反応を示し、それらの症状はシトロソからシトロソへ永続的に伝染した。この結果から強毒株保毒樹内にはさまざまな反応を示す CEV が混合感染しているものと結論した。

2 木本および草本植物への接種例

木本植物と草本植物の両方に接種して、病原性を比較した例は少ない。KAPUR ら¹⁵⁾はシトロソ (861) の反応で強毒、中間、弱毒の三つに分けた分離株をビロードサ

ンシチに接種した。強毒と中間株はビロードサンシチに激しい症状を示したが、弱毒株は感染すらしなかった。UTERMOHLEN ら³⁴⁾は、シトロソ (861) に激しい症状を示し、ビロードサンシチとトマトに症状を示さない系統 (unusual strain) を見いだした。

BAKSH ら¹⁾は、強毒株および弱毒株保毒カンキツ葉から電気泳動法で CEV を検出したが、ゲルから回収した CEV をトマトとビロードサンシチに接種したところ、いずれも激しい症状を示した。VISVADER と SYMONS³⁵⁾は、後述のオーストラリアでわい化栽培試験に供試している分離株をキク (品種: Bonnie Jean) に接種し、病徴を示すことを認めている。なお、BROADBENT ら⁴⁾がこの分離株をシトロソ (60-13) で検定したところ、シトロソ上では強毒株と同じ激しい反応を示した。

3 わが国で見いだされた分離株の病原性

わが国では、これまで強毒株のみが知られていたが、最近、検定植物上の反応から弱毒の CEV と思われる分離株が見いだされた。佐々木²⁶⁾は、エクソコーティス病の検定中に、シトロソ (60-13) がいったん、典型的なエビナスティ-と葉の中肋や葉柄でのえそを生じた後、しだいに症状が回復し、やがて消失する現象を認めた。症状が回復後、下垂葉症状 (硬化葉が葉柄着生位置より下方へ垂れ下る) が高率に観察された。下垂葉症状は接ぎ木伝染し、既知の他のウイルスと無関係であり、CEV

第1表 わが国の CEV 分離株の病原性の違いによる分類

群	エトログシトロソ ^{a)}			ビロードサンシチ
	S-1	861	60-13	
I	++ ^{b)}	++	++	++ (+) ^{c)}
II	++	++	+	++ (+)
III	++	++	++	- (-)
IV	+~++	-	+	- (-)
V	+	+	-~+	- (-)
VI	+	-~+	-	- (-)

a) S-1, 861, 60-13 はエトログシトロソの系統であるアリゾナ 861-S-1, アリゾナ 861, U.S.A. C.S. 60-13 を示す。

b) ++: 激しいエビナスティ-, 葉裏中肋のコルク化えそ (シトロソ). 激しい縮葉, エビナスティ- (ビロードサンシチ).

+: 軽いエビナスティ-, 葉裏中肋のコルク化, えそ. なお, エビナスティ-は展葉とともに回復することもあり判定は困難である (シトロソ).

c) 被接種 ビロードサンシチについてポリアクリルアミドゲル電気泳動によりウイルス感染の有 (+), 無 (-) を確かめた。

弱毒系統が原因であろうと推察された。

加納と小泉¹³⁾は全国各地から採集したエクソコーティス分離株をシトロン (S-1, 861, 60-13) とピロードサンシチを用いて検定し、検定植物上の反応によって6群に分類した (第1表)。Iはこれまでわが国での存在が確認されていた強毒株である。IIは60-13に軽い症状を示した以外はIと同様な反応である。IIIはシトロンに激しい症状を示すが、ピロードサンシチに無症状、IV, V, VIはシトロンでの反応は概して弱く、ピロードサンシチでは無症状のものである。ピロードサンシチから低分子RNAを抽出し5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動に供した結果、病徴を示したもの (I, II) ではCEVのバンドが検出されたが、III~VI群を接種しても無症状であったピロードサンシチからは検出されず、感染していないものと考えられた。IV, V, VI群の分離株はKAPURら¹⁴⁾が報告した弱毒株に相当する。わが国に見いだされるCEVはI群のものももっとも多く、II~VI群の分離株はきわめて少ないように思われる。

4 電気泳動による弱毒株の検出

最近、BAKSHら¹⁾、BOCCARDOら²⁾はカンキツ葉から抽出したRNA成分を電気泳動にかけることによってCEVを検出できることを報告した。BAKSHら¹⁾は、弱毒株をシトロンに接種して検定する場合には、強毒株に比べ長期間を要し、しかも病徴発現が不安定で診断が困難であるが、電気泳動法によれば強毒、弱毒にかかわらず安定して検出できるので弱毒株の検出に適していると述べている。

IV 弱毒株によるわい化栽培の試み

カンキツは通常、その栽培風土に適した台木品種に接ぎ木して栽培されるが、台木によって樹の生育は著しく異なる。その中で、カラタチはもっとも優れたわい性台木とされている。このようなカラタチ台カンキツを、さらにCEVの弱毒株あるいは伝染性わい化因子 (dwarfing principle) によりわい化させる方法が検討されている^{6,8,9)}。オーストラリアでは前述のように多くのカラタチ台カンキツの中から、樹高が低く、台木部のはく皮症状の軽い樹が選出され、この性質が接ぎ木伝染性であることが確認された⁹⁾。予備試験は1955年に開始され、カラタチ台ネーブルオレンジ苗に、わい化因子を保毒する9種類のカンキツ樹 (No. 3531~3539) の組織を接ぎ木接種してほ場に定植したところ、5年後にはわい化効果が現れた⁹⁾。特に、No. 3532, 3536, 3538, 3539の保毒因子は樹の大きさと収量を著しく減少させた⁹⁾。しかし、果実の品質と大きさには影響がなかった (第2

第2表 わい化因子を接種したカラタチ台ペラミーネーブルオレンジの生育と収量 (FRASER and BROADBENT, 1980より抜粋)

接 種	累 積 生 産 量		樹 の 大 き さ	
	果数/樹	収量/樹	高 さ	幅
無接種	8,753	1,364(kg)	3.9(m)	4.1(m)
No. 3532	5,465	874	2.7	3.5
No. 3536	5,019	841	2.0	3.3
No. 3537	7,559	1,210	3.9	3.6
No. 3538	4,598	685	2.5	3.1
No. 3539	4,587	695	2.6	2.8

1955年定植、1977年までの調査。No. 3532~39は、接種源の樹番号。

第3表 わい化樹の密植栽培における収量の増加

品 種	わい化樹 ^{a)}	無接種樹 ^{a)}
	904本/ha	222本/ha
バレンシアオレンジ	324(t/ha) ^{b)}	165
ネーブルオレンジ	416	215

a) 異なる栽植密度 (本/ha) での栽培試験。いずれもカラタチ台。苗木時に接ぎ木接種。

b) 定植後15年目の単位面積当たりの累積収量。(オーストラリア, N. S. W. Department of Agriculture の資料, 1979より)

表)。さらに、実用化試験が1961年から各地で行われた。伝染性因子によるわい化樹を密植栽培することで、通常の栽培 (無接種樹を通常の栽植密度で栽培した場合) に比べ、単位面積当たりの収量が上がり、各種作業が省力化し、かんがい水、肥料および除草剤の使用量が減少することが判明した (第3表)。アメリカのCOHENら⁹⁾も弱毒株のCEVを用いて同様の栽培試験を行っている。

V 生物学的性質とCEVの塩基配列との関係

VISVADERとSYMONS⁹⁾は前述のわい性樹^{8,9)}が保毒するCEV分離株であるCEV-DE 25 (No. 3532保毒)、CEV-DE 26 (No. 3536保毒) およびCEV-A (カラタチ以外の台木を用いたオレンジより分離) の塩基配列を決定し、GROSSら¹¹⁾のCEV-C (カリフォルニア産分離株) の塩基配列と比較した。なお、CEV-Aの配列決定の途中で、純化したCEV-Aの中に塩基配列の異なるCEVが混在していることが明らかにされ、CEV-AMと命名された。CEV-C, A, AM, DE 25, DE 26はすべて371個の塩基を持っていたが、塩基配列にはいずれも若干の違いが見られた。CEV-Aの塩基配列との相違点は、C, AM, DE 25が4塩基、DE 26は27

塩基であった。DE 25 と DE 26 は塩基配列が大きく異なるにもかかわらず、同じようにわい化と関連している点が注目された。DE 25 と DE 26 がわい化の真の原因であるか否かは、これらの純化標品をカラタチ台カンキツに接種すれば判明する、と VISVADER らは述べている。

VI 今後の問題点

近年、わが国のカンキツ栽培では品種更新に伴いウイルスおよびウィロイドの汚染が拡大しつつある。台木としてカラタチを今後も使うためには、エクソコーティス病の防除は不可欠である。もっとも重要なのは母樹検疫であり、これまで開発された検定法をより高精度でかつ大量検定できるよう今後とも改良する必要がある。外国においては、CEV 弱毒株あるいはわい化因子を利用したわい化栽培の試みがなされているが、それらは病原性が弱いことを確認した後に十分な計画と管理の下に行われている。一方、CEV 強毒株感染により樹勢が弱く、とげの少なくなったレモンを優良系統と誤認して増殖した結果、本病が拡散し、被害を受けた例もある²⁵⁾。カンキツは、ウイルス病に感染すると樹勢が低下し、一時的に収量が上がり品質が向上するものの、やがて決定的に衰弱する場合が多い。一時的な品質向上を品種・系統の変異と見誤らないように注意が必要である。

わが国の CEV の変異株については、現在、検定植物上での反応の違いが調べられたにすぎない。弱毒株がわい化栽培に利用できるか否かは今後、慎重な試験が必要であろう。

引用文献

- 1) BAKSH, N. et al. (1984) : Proc. 9th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. pp. 343~352.
- 2) BITTERS, W. P. et al. (1954) : Citrus Leaves 34 : 8~9, 34.
- 3) BOCCARDO, G. et al. (1984) : Proc. 9th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. pp. 357~361.
- 4) BROADBENT, P. et al. (1971) : Plant Dis. Repr. 55 : 998~999.
- 5) CALAVAN, E. C. et al. (1964) : Phytopathology 54 : 1359~1362.

- 6) COHEN, M. et al. (1980) : Proc. 8th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. pp. 195~200.
- 7) FAWCETT, H. S. and L. J. KLOTZ (1948) : Citrus Leaves 28 : 8.
- 8) FRASER, L. R. et al. (1961) : Proc. 2nd Conf. IOCV, Univ. Florida Press, Gainesville. pp. 34~39.
- 9) ——— and P. BROADBENT (1980) : Proc. 8th Conf. IOCV, IOCV, Riverside. pp. 201~208.
- 10) GARNSEY, S. M. and M. COHEN (1966) : Proc. Fla. State Hort. Soc. 78 : 41~48.
- 11) GROSS, H. J. et al. (1982) : Eur. J. Biochem. 121 : 249~257.
- 12) 平井正志・山田峻一 (1977) : 植物防疫 31 : 391~394.
- 13) 加納 健・小泉銘冊 (1985) : 日植病報 51 : (印刷中) (講要).
- 14) ———・山口 昭 (1985) : 果樹試報 B 12 : 95~107.
- 15) KAPUR, S. P. et al. (1974) : Proc. 6th Conf. IOCV, Univ. California Div. Agr. Sci., Richmond. pp. 105~109.
- 16) MOREIRA, S. (1961) : Proc. 2nd Conf. IOCV, Univ. Florida Press, Gainesville. pp. 40~42.
- 17) 長尾記明・脇本 哲 (1980) : 日植病報 46 : 417~418.
- 18) NIBLETT, C. L. et al. (1980) : Phytopathology 70 : 610~615.
- 19) OLSON, E. O. and A. V. SHULL (1956) : Plant Dis. Repr. 40 : 939~946.
- 20) ROISTACHER, C. N. et al. (1969) : ibid. 53 : 333~336.
- 21) ——— et al. (1977) : ibid. 61 : 135~139.
- 22) RUNIA, W. TH. and D. PETERS (1980) : Neth. J. Pl. Path. 86 : 135~146.
- 23) SALIBE, A. A. and S. MOREIRA (1965a) : Proc. 3rd Conf. IOCV, Univ. Florida Press, Gainesville. pp. 108~112.
- 24) ——— (1965b) : ibid. pp. 119~123.
- 25) 佐々木篤 (1982) : 今月の農薬 26(8) : 66~70.
- 26) ——— (1985) : 日植病報 51(講要) : (印刷中).
- 27) SEMANCIK, J. S. and L. G. WEATHERS (1972) : Virology 49 : 622~625.
- 28) ——— (1980) : C. M. I. /A. A. B. Descriptions of Plant Viruses, No. 226, pp. 4.
- 29) SINGH, R. P. et al. (1972) : Phytopathology 62 : 790.
- 30) ——— and M. C. CLARK (1973) : FAO Plant Protection Bulletin 21(6) : 121~125.
- 31) 田中寛康・山田峻一 (1971) : 園試報 B 11 : 149~155.
- 32) 田中彰一 (1963) : 日植病報 28 : 88 (講要).
- 33) 牛山欽司 (1978) : 農業および園芸 53 : 397~402.
- 34) UTERMÖHLEN, J. G. and J. S. SEMANCIK (1982) : Phytopathology 72 : 937.
- 35) VISVADER, J. E. and R. H. SYMONS (1983) : Virology 130 : 232~237.
- 36) WEATHERS, L. G. and E. C. CALAVAN (1961) : Phytopathology 51 : 262~264.
- 37) ——— et al. (1967) : Plant Dis. Repr. 51 : 868~871.
- 38) ——— and F. C. GREER, JR. (1972) : Proc. 5th Conf. IOCV, Univ. Florida Press, Gainesville. pp. 95~98.

特集：ウイロイド〔6〕

ホップわい化病とその防除

キリンビール株式会社原料部 佐々木 眞津生

はじめに

ホップわい化病はビールの原料となる毬花の収量および品質を著しく低下させるホップの重大な病気である。本病は1970年山本ら¹⁾によって最初に報告された。当時は適当な検定植物も見つかっていなかったため病原は検出されていなかったが、発生状況、伝染性などから本病はウイルス病であろうと推測されていた。1977年本病原の新しい宿主植物としてウリ科のキュウリなどが発見された²⁾。また、キュウリを検定植物に用い本病原の解明が試みられ、本病原はそれまでホップでは知られていなかったウイロイド³⁾であることが明らかとなった⁴⁾。

ホップはビール会社とホップ組合との契約栽培になっている。1977年には本病が1株でも発生しているほ場面積の集計はキリン社契約面積の19%にも達し、重大な事態であった。同年、本病の撲滅を目的として本格的な防除対策が開始された。その結果、現在の発生はごく限られた一部のほ場のみとなったが、まだ撲滅には至っていない。

本稿では本病の発生経過、病徴と被害、病原、診断法およびキリン社でこれまで取り進めてきた防除対策について記した。

本病の防除対策推進にあたり、種々貴重な御指導をいただいた村山大記北海道大学名誉教授および北海道大学農学部四方英四郎教授に深謝の意を表する。

I 本病の発生経過

本病は1952年ころからすでに福島県下のほ場で発生していたようであるが、1960年ころにはその発生が増え相当目だつようになった¹⁾。当初は罹病ホップが枯れるようなこともなく、栽培法により極端な減収も抑えられたため特別な対策はとられていなかった。その後、本病が伝染性の病気であると同時に、本病の品質的な被害が明らかとなり本病の重要性が問題となった。

キリン社の全契約面積に対する本病の発生ほ場面積の割合は、1975年に11%、1976年で16%、1977年には19%と増加した。この急激な増加は本病の伝染による

ものが含まれているが、それにも増して全体的な調査が進むにつれ、新たに発生ほ場が発見されたことに由来している。1977年には防除対策を推進するためホップ組合が実施する発生調査、改植指導、健全苗育成などの対策事業に対して、また、耕作者の改植に対して助成策を開始した。その結果、発生ほ場面積の割合は1978年に14%、1979年には10%と着実に低下し、1984年では全体の1.7%とごくわずかになった。本病の発生を罹病株数で見ると、本病がもっとも発生していた1977年では約5万株(全体の4%)の罹病株があったのに対し、1984年には約600株(全体の0.04%)に減少した。

II 病徴と被害

ホップはクワ科のつる性宿根草であり、高さ約5mの棚で栽培している。ホップは雌雄異株であり、ビールの原料となるいわゆるホップは雌花の集中花序で毬花と呼んでいる。毬花は松かさのような形をしており、3cm前



第1図 ホップわい化病の病徴(7月)
繁茂の少ないところが罹病株である。このような顕著な罹病ほ場は近年見られない。

後の小さなものであるが、1つる当たり約 2,000 個ほど着生する。ホップは地下部の株で越冬し、春先に出てきた芽はそのまま伸長させると 8m 以上になる。

本病に罹病したホップの節間は伸長が悪く、また、上部にいくほど側枝の伸長も悪い。したがって、健全なホップが棚の上部までよく繁茂するのに対し、罹病ホップは杉の木型の生育相となる(第1図)。また、罹病株の葉および穂花は健全なものと比較し小型となる。これまでいくつかの栽培品種における病徴比較試験の結果、病徴の程度に差は認められるものの枯死するような品種は知られていない。

本病の被害は生育が劣り、着花数が減少するため穂花収量が半減する。しかし、本病がホップの重大な病害となる理由は減収以上に穂花の品質が極度に低下するところにある。罹病穂花ではビールのほろにがさの元である樹脂成分の α 酸含量が健全穂花の 1/2 から 1/3 に低下してしまう。

III 病 原

ホップわい化 ウイロイド (Hop stunt viroid, 以下 HSV と略す) は一本鎖の環状 RNA である²⁾。ホップを含みこれまでに知られている HSV の宿主植物はすべて HSV に全身感染する。

1 粗汁液中での耐性

HSV は非常に耐性のある病原である⁶⁾。罹病キュウリ粗汁液中の HSV は 84°C で 10 分間加熱しても感染性があり、4°C で 3 日間保存しても感染性がある。また、罹病キュウリおよび罹病ホップの葉の粗汁液は 1,000 倍に希釈しても感染性がある。60°C で通風乾燥した罹病穂花では 1 年以上も HSV の感染性が保持されている。

2 伝染性

HSV は接ぎ木および汁液で伝染することが確認されている。その他の伝染方法は野ネズミによって伝搬されたものと推測されたものがあるだけであり、虫媒伝染、土壌伝染などの報告はない。このことは罹病株の改植により本病の絶滅を可能とし、防除対策上幸運なことである。一方、HSV は前述のとおり非常に耐性のある病原であるため、栽培管理に使用するカマやハサミなどの農器具による伝染には特に注意が必要である。ホップは多年生作物であり、苗で増殖している。罹病株の苗は当然のことながら HSV に感染しており、防除対策がとられる以前に本病が増加したのは罹病苗によって各地のは場に伝搬されたためであった。

3 宿主範囲

HSV の宿主植物としてホップのほかにクワ科のカナ

ムグラ、ウリ科のキュウリ、ユウガオなど 9 種、ナス科のトマトの計 3 科 11 種の植物が汁液接種試験により HSV に感染することが知られている⁶⁾。しかし、ホップ以外の一般の植物から HSV が検出された報告はなく、自然宿主はホップだけのようである。このことは HSV の伝染方法が接ぎ木および汁液伝染に限られていることと同様、防除対策上幸運なことである。しかし、佐野ら⁴⁾はブドウから HSV に非常に近いと思われるウイロイドを検出しており、HSV との異同が注目される。

IV 診 断

診断は防除対策の重要な柱である。本病の診断には、①病徴観察、②穂花の樹脂分析、および③検定植物への接種による 3 種類の 方法がある。これらの方法は迅速さ、経費および精度において一長一短があるが、それぞれの長所を生かして本病の診断法が確立されている。

1 病徴観察による診断¹¹⁾

外観病徴による診断は潜伏感染株こそ検出できないが、迅速さ、経費、確かさにおいて 3 拍子そろっている。しかし、その判定には相当の熟練を要する。特に低温の年は病徴が不明瞭であり、また、東北北部では一般的に病徴が不明瞭な傾向にあるので注意を要する。

2 穂花の樹脂分析による診断

本診断は穂花の樹脂成分のうち α 酸含量が罹病穂花で特異的に 1/2 から 1/3 に低下することを指標としたものである¹¹⁾。樹脂成分には α 酸のほかに β 酸があるが、 β 酸含量は HSV の感染の有無にほとんど影響されない。このことを利用して α 酸および β 酸含量の比を分光光度計で簡易に測定する方法も開発されている。本診断法により潜伏感染株も検出される⁶⁾。

3 検定植物への接種による診断

本診断は HSV の感染により明瞭な病徴を現す植物を利用するものである。筆者ら⁹⁾のこれまでの経験ではキュウリが最適である。キュウリは発芽がそろっており、接種計画が立てやすく、種子の価格も高くない。本診断は潜伏感染株を高率に検出でき、何株か分の試料をまとめて 1 試料として検定する集団検診も可能である。しかし、本診断では接種したキュウリを約 30°C の温度条件で育てる必要があり、それより温度が低いと発病までの日数が長くなり、診断精度が低下するので注意を要する。本診断は現在のところもっとも精度が高い方法であるが、結果が得られるまで 2 週間以上要するところが欠点である。

キュウリへの接種方法として、当初は検定しようとするホップの葉の摩砕液をキュウリの子葉にのみ接種して

いた。その後、キュウリへの接種時期、接種部位について検討した結果、子葉展開時のキュウリの子葉と同時に胚軸にもこすりつけ接種すると発病までの期間が1週間ほど早くなり、約2週間で発病することが明らかとなった⁸⁾。しかし、防除対策における診断では健全であることの証明が必要なわけで、少なくとも接種後40日間発病の有無を観察している。

6月から8月のホップ葉を接種源材料としたキュウリを用いた集団検診の検討結果では、約10a分の株数に相当する200株中1株の罹病株を100%検出可能なことが確認されている。実用段階では正確さを期すため最高50株分を1試料として実施している。本診断では前述したように接種したキュウリを約30°Cで育てる必要があり、加温設備のあるハウスなどが必要である。現地で採取した検定試料は接種までディープフリーザーに凍結保存しておけばよいが、温室設備のある検定実施場所まで凍結状態で輸送するのは、輸送中の試料の融解によるHSV感染性の低下が懸念される。HSVは約60°Cで乾燥した穂花で1年以上感染性を有していることにヒントを得て簡易で現場的な試料調製・送付方法が確立されている⁷⁾。現在実施している方法は集団検診単位ごとに生葉のディスクをまとめ、シリカゲルで乾燥する方法である。シリカゲル乾燥試料はディープフリーザー凍結保存試料と同等のHSV感染性を有しており、診断精度にまったく問題ないことが確認されている⁷⁾。

4 その他の診断法

ホップの葉から抽出したRNAをポリアクリルアミドゲル電気泳動により、直接HSVのバンドとして検出する方法もあるが、キュウリ検定より精度的に相当劣る¹⁰⁾。また、HSVに相補的なDNA(cDNA)による診断も可能であるが、実用段階には至っていない⁹⁾。

V 防除対策

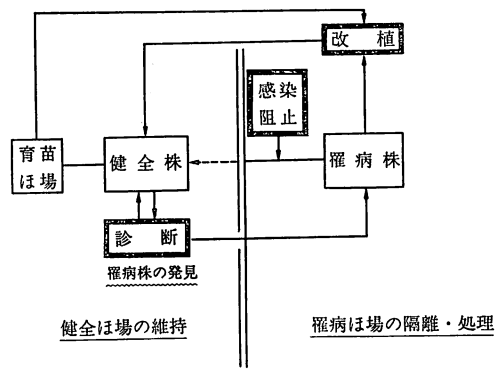
現在のところウイロイド病を治癒する化学物質などはなく、本病は不治の病気である。したがって、本病の防除対策は健全ほ場、健全株の維持と罹病ほ場・罹病株の隔離・処置ということになる。第2図はキリン社での防除対策を図示したものである。

1 健全ほ場の維持

健全ほ場を維持することは防除対策上もっとも重要なことである。そのためには健全苗を使用し、ほ場が健全であることを確認(診断)し、ほかからの伝染を阻止しなければならない。

(1) 健全苗の使用

植え付け苗は保証付きの健全苗を使用しなければなら



第2図 ホップわい化病の防除対策

ない。現在はホップ組合で育苗ほ場を管理し、健全苗を供給できる体制になっている。採苗ほ場にはこれまで本病の発生が認められていない地区の優良なほ場を指定している。指定ほ場については病徴観察による診断のほか毎年キュウリによる集団検診を実施し、健全であることを確認している。本病が当初罹病苗によって伝搬された経験を生かし、農家間での苗の授受を厳禁している。

(2) 診断

最低、年に1回は各ほ場について外観病徴による一筆調査を実施し、その結果をほ場台帳に記入している。ほ場台帳には苗の来歴、発病歴、改植状況、その後の経過などを記入できるようになっている。病徴診断で断定しきれない場合は穂花の樹脂分析もしくはキュウリへの接種試験を行う。もし、本病が発生した場合にはその伝染経路などの発生要因を可能な限り追求し、その後の防除に役だてることが重要である。

(3) ほ場間・ほ場内の伝染の防止

本病は汁液で伝染するため罹病ほ場所所有者は特に注意を要する。作業は常に健全ほ場・健全株を優先すると同時にカマヤハサミなどを使い分けることが重要である。また、ほ場内の伝染を防止するためにはカマヤハサミなどを1株ごとに消毒する必要がある。消毒にはホルマリンおよびカセイソーダが有効なことが報告されている⁹⁾。

発病株の隣接株は高率に潜伏感染していることがこれまでの調査で明らかとなっている⁹⁾。1980年から1981年に潜伏感染に関する調査のため、一般ほ場の発病株に隣接した外観が健全な株をキュウリで検定した。その結果、供試した20株のうち17株(85%)からHSVが検出された。供試ほ場は株ごとに刃物消毒などの防除対策を実施していなかったためこのように高率に潜伏感染株が検出されたものと思われるが、この結果は本病がいかに容易に伝染するか警告を与えてくれるものである。罹病株が発見された場合、感染源を除去するためつるの

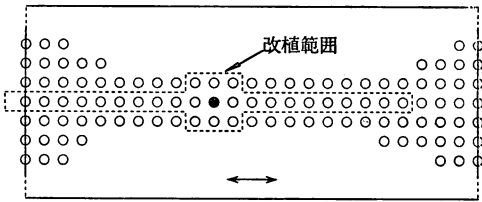
切断、株の腐敗処理（後述）を実施しているが、同時に罹病株の隣接株も同様の処理をすることが望ましい。また、罹病株周辺は改植範囲（後述）に応じて罹病部分とし、そこに明瞭なくいを打つとか、ひもでその部分を囲み健全部分と区別して管理することが重要である。

2 改植

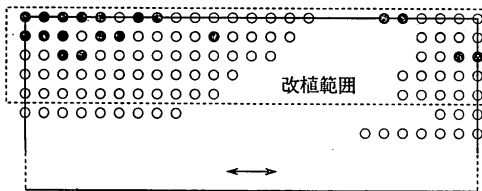
改植はほ場内の発生形態により部分改植と全面改植がある。部分改植はほ場内のごく一部の株に発生した場合、全面改植はほ場内に罹病株が散在もしくはまん延している場合である。

(1) 改植範囲の設定

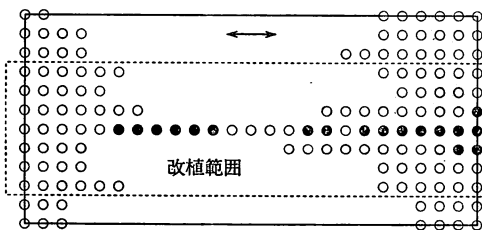
改植範囲はこれまでの経験から次のように設定されている。罹病株が1株発見された場合その畝の罹病株の前後各10株ずつ、および、罹病株の両隣の畝の罹病株に対応する株を真ん中にして3株ずつの合計27株（罹病株を含む）を改植の対象株としている（第3図a）。実際にはこの改植範囲設定方法を基準として発生状況に応じて設定している。具体的な例を第3図b、cに示した。



a. 改植範囲の基本的な設定



b. 改植範囲の具体例 (1)



c. 改植範囲の具体例 (2)

○外観健全株 ●発病株 ← 畝の方向

第3図 改植範囲

(2) 改植方法

改植ではいまでもなく完全に株を除去しなければならない。ホップは根が深く、地下茎もよく発達することからいねいな作業が要求される。6月から7月にかけて病徴観察で罹病株と診断された株はその時点で、その他の改植対象株は収穫直後にそれぞれ腐敗処理を行い、翌春ていねいに掘り取るという手順で株を除去している。株の腐敗処理はまず地際部でつるを切断し、株の芽床部を掘り出す。掘り出した芽床部をカマで切除し、ほ場外へ出し焼却処分する。それと同時に土中に残っている株を腐敗させるため、株に切れ目を入れ1株当たり約300gの尿素をふりかけ覆土する。この処理を行うと翌春にはその部分が完全に腐敗しているが、深部の根は翌春でも生存している。それらの根を腐敗させるため収穫後早い時期に株を中心に30cm間隔でクロルピクリンをかき注している。クロルピクリンが接触した根は翌春に腐敗している。より完全に深部の根まで腐敗させる方法として浸透移行性の除草剤について検討されている。その結果、グリホサートは根の先端部分まで良好に腐敗させるという好成績が得られている。

3 再発生の防止

改植をしても再発生する場合がある。その原因として次の場合が考えられる。

①罹病苗の植え付け

②感染源の残存

- a. 改植対象株の見落としによる放置
 - b. 不完全な抜根による地下茎などの残存
 - c. 抜根株のは場周辺での放置
 - d. 部分改植の場合、改植範囲外での罹病株の残存
- ③ほ場外からの新たな感染

以上の原因のうち、①の罹病苗の植え付けは現在ホップ組合で管理している健全な養成苗を使用しているので問題ないが、意外な落とし穴であるので注意を要する。②の感染源の残存はこれまでの再発の主要原因となっている。aの株の見落としとしては支柱わきの株が見落とされて感染源となる場合がよくある。bの地下茎の残存、cの抜根株のは場周辺での放置ではまず株の腐敗処理を必ず実施し、さらに処理株をていねいに掘り取り、焼却処分などを行いほ場内はもとよりほ場周辺からも完全に除去することが重要である。dの部分改植における改植範囲外の罹病株の残存は常にその可能性があり、株単位の管理をするとともに改植部分を区別して管理する必要がある。③のは場外からの感染は同一耕作者ではかに罹病ほ場を所有している場合に見られる。また、栽培地によっては共同収穫を行っているところがあるが、罹病ほ場、

改植ほ場などをよく認知し、そのほ場、その部分を区別して作業にあたらなければならない。

本病の場合、改植をしたからもうだいじょうぶといったものではない。管理を怠ったためまた発生するというのが病気の宿命である。ほ場は常に適期適正な管理をし、抜根株の残渣、地下茎が残存していないか、改植対象株が残っていないか、ほ場周辺に野生化したホップはないかなど念入りに観察することが改植を成功させる鍵である。

おわりに

本病が伝染性の病気であることが報告されて以来すでに15年が経過した。本格的な防除対策が開始された1977年ではキリン社契約ほ場の19%に本病の発生が見られた。1984年にはそれが1.7%と減少し、罹病株数ではわずかに600株(全体の0.04%)に不足であった。ホップの改植は多大な経費を要すると同時に、植え

付け苗が成株になるまでの1,2年は減収を伴う。本病の発生がこのようにごくわずかとなったのはホップ組合および耕作者の理解と努力のたまものであり、画期的な成果と思われる。今少しの努力により本病が絶滅せんことを切に期待する。

引用文献

- 1) DIENER, T. O. (1979): Viroids and viroid diseases, A Wiley-Interscience Pub., USA.
- 2) OHNO, T. et al. (1982): Virology 118: 54~63.
- 3) SANO, T. et al. (1984): Nucleic Acids Research 12: 3427~3434.
- 4) ——— et al. (1985): J. gen. Virol. 66: 333~338.
- 5) SASAKI, M. and E. SHIKATA (1977): Proc. Japan Acad. 53 B: 103~108.
- 6) ——— (1977): ibid. 53 B: 109~112.
- 7) 佐々木真津生ら (1981): 日植病報 47: 416.
- 8) ———ら (1982): 植物ウイロイドの生物学および生化学的検出法の開発とその応用, 昭和56年度文部省科研費(56360004)報告書, pp. 1~7.
- 9) 高橋 社 (1981): 農及園 56: 331~332.
- 10) ——— (1981): 同上 56: 629~632.
- 11) 山本初美ら (1970): 北海道大学農邦紀要 7: 491~515.

本会発行図書

農薬用語辞典(改訂版)

日本農薬学会 監修
「農薬用語辞典」(改訂版)編集委員会 編

B 6 判 112 ページ 1,400 円 送料 200 円

農薬関係用語 714 用語をよみ方、用語、英訳、解説、慣用語の順に収録。他に英語索引、農薬の製剤形態および使用形態、固形剤の粒度、液剤散布の種類、人畜毒性の分類、魚毒性の分類、農薬の残留基準の設定方法、農薬希釈液中の有効成分濃度表、主な常用単位換算表、濃度単位記号、農薬関係機関・団体などの名称の英名を付録とした必携書。講習会のテキスト、海外出張者の手引に好適。

お申込みは前金(現金・振替・小為替)で本会へ

増刷できました!

「植物防疫」総目次

B 5 判 63 ページ 定価 1,200 円 送料 200 円

昭和 22 年 4 月に創刊された雑誌「農薬」(農薬協会発行)から「農薬と病虫」へと経てきた雑誌「植物防疫」の創刊号から第 36 巻(昭和 57 年 12 月号)までの総目次。項目別に見やすく編集。植物防疫研究者の必読雑誌である「植物防疫」の総目次をという御要望にこたえて発行!

お申込みは前金(現金・振替・小為替)で本会へ

北陸地方における異常気象とツマグロヨコバイの発生

はじめに

北陸地方では 1981 年の記録的な豪雪ののち、84 年、85 年と連続して大雪に見まわれた。そのため最近では 83 年を除きツマグロヨコバイの少発傾向が続いている。今年も少発生が見込まれており、少なくとも富山県では防除を必要としないことは確実である。雪国の住民にとって大きな負担となる雪も、害虫の発生を抑えるという思わぬ効用を持っている。

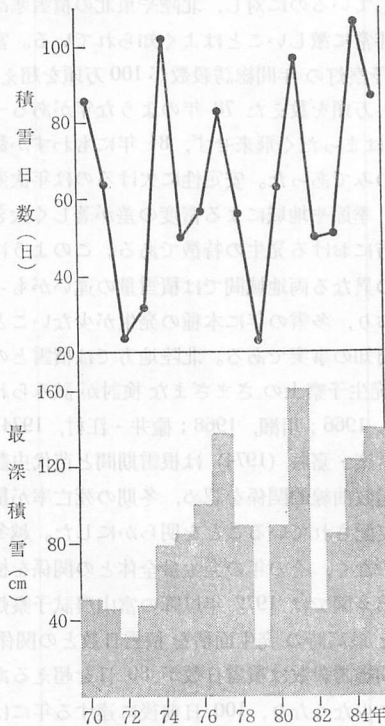
他の害虫と同様、ツマグロヨコバイの場合も気象条件がどのような過程を通じて個体群に影響を与え、密度の変動を引き起こすのか十分に解明されてはいない。しかし、北陸地方における発生の実態から見て、本種は数多くの稲作害虫の中で積雪の影響をもっとも強く受けやすい種であることは間違いない。近年気象変動は激しさを増す傾向にあり、一部では異常気象も取りざたされている中で、個体数変動とのかかわりを見極めておく必要があると思われる。ここでは、主に富山県における発生予察データを用いて、若干の検討を試みたので報告する。

I 北陸地方の積雪

北陸地方は気温の推移から見て寒冷地とは言えない。富山市の年平均気温は 13.5°C で、ほぼ同緯度に位置する前橋市や水戸市など関東地方の内陸部と変わらない。一方、降水量はこれらの地域よりはるかに多く、富山市で年間 2,300 mm を超える。これは言うまでもなく冬期に積雪がきわめて多いためであり、北陸地方の気象を特徴づけている。しかしひとくちに北陸と言っても、50 cm 以上の積雪日数が平均 80 日以上にも達する上越市から 15 日前後の富山市や金沢市、さらには海流の影響でほとんど 50 cm 以上にならない輪島市や新潟市まで、積雪量は地域によって大きく異なる。

場所による違いだけでなく、年によっても積雪量は変動する。第 1 図は 1970 年から 85 年までの富山県における最深積雪と積雪日数を示したものであるが、30 cm にもならなかった 79 年から、160 cm 以上を記録した 81 年まで 130 cm もの開きがある。積雪日数でも 100

富山県農業試験場 なる 成 瀬 ひろ 博 ゆき 行



第 1 図 最深積雪および積雪期間の年次変動 (富山気象台)

日以上続いた 74 年や 84 年のような年もあれば、72 年や 79 年のようにわずか 20~30 日にとどまる年もあった。全体の傾向としては 70 年代前半の少雪傾向に対し、それ以後は多雪の年が多くなっているようである。特に大雪は 2 年間続かないと言われているにもかかわらず、84 年、85 年と連続したのはかなり異常なこととみなされている。

富山県では 12 月下旬ころから積雪が始まり、1 月中旬~2 月中旬にもっとも多く、3 月上旬~中旬ごろに消雪となるのが普通のパターンである。しかし年によっては年末から屋根の雪おろしを余儀なくされたり、逆に 1 月中はほとんど積雪のない年もあり、必ずしも時期は一定していない。

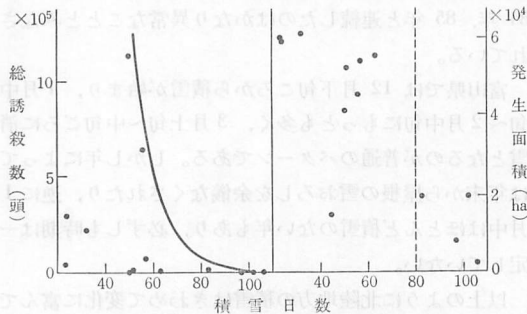
以上のように北陸地方の積雪はきわめて変化に富んでおり、生物に与える影響も年ごとに变化する。気象に関してはどの範囲を異常とするのかかわからないが、少なく

Abundance of the Green Rice Leafhopper under Abnormal Climatic Conditions in the Hokuriku District. By Hiroyuki NARUSE

とも最近のツマグロヨコバイの少発傾向はいささか異常と思われる。

II 積雪とツマグロヨコバイの発生

西南暖地や東海地方などではツマグロヨコバイの密度が安定しているのに対し、北陸や東北の積雪寒冷地帯の変動が非常に激しいことはよく知られている。富山県でも農試予察灯の年間総誘殺数が100万頭を超えた1975年や65万頭を数えた78年のような年がある一方で、81年にはまったく飛来せず、84年にもわずか数頭を確認したのみであった。安定性に欠けるのは年次変動だけでなく、季節や地域による密度の差が著しく大きいのも北陸地方における発生の特徴である。このように変動パターン異なる両地域間では積雪量の違いがもっとも際だっており、多雪の年に本種の発生が少ないことは経験的にも周知の事実である。北陸地方では積雪との関係について発生予察上のさまざまな検討が試みられており(ÔTAKE, 1966; 川瀬, 1968; 楡井・江村, 1974 など)、中でも常楽・嘉藤(1974)は根雪期間と苗代虫数との間に負の指数曲線的関係を認め、冬期の死亡率が積雪量によって支配されていることを明らかにした。越冬後の密度だけでなく、その年の発生量全体との関係を検討するため、第2図では1972年以降の富山農試予察灯年間総誘殺数と最高時の発生面積を積雪日数との関係で示した。年間総誘殺数は積雪日数が80日を超えるあたりから非常に少なくなり、100日前後に達する年にはほとんど誘殺されず、絶滅に近い状態になる。しかし60日程度までの範囲では特定の傾向は認められず、積雪の少ない年に発生がそれだけ多くなるとは言えない。次に発生面積を見ると、やはり80日以上年には多いときでも2万ha、84年は約2,700haにすぎず、局部的な発生にとどまったのに対し、60日前後までの年では前年の豪雪の影響から回復していない82年を除き、4~6万ha



第2図 積雪日数が総誘殺数(富山農試予察灯)および発生面積(富山県全体)に及ぼす影響

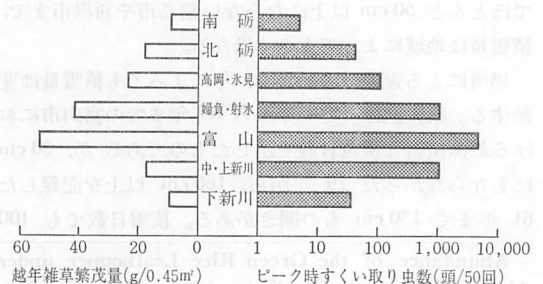
を記録し、密度の高低はあるものの富山県全域で発生を認めた。

以上の結果から見ると、通常の年は越冬後の増殖率の大きさによってその年の発生量が決められるのに対し、一定の限界を超える異常な積雪の年には絶滅に近い密度から最後まで回復することができないものと考えられる。これは富山県程度の積雪では常に発生を左右するほどの影響を与えることができないのを意味しているが、同じ北陸地方でも積雪量の格段に多い新潟県では佐渡など限られた地域を除き、冬期の死亡率の及ぼす影響はより強くなるとと思われる。

III 積雪下の死亡要因

積雪に関連した越冬幼虫の死亡には、摂食できないための餓死、雪の重量を受けた圧死、融雪水による窒息死などが考えられるが、調査の困難さもあって実態はほとんど明らかになっていない。しかし実験的には織田(1971)が積雪深、積雪日数を組み合わせて生存率を比較した結果、1m以上の積雪では約1か月、50cmの場合は約2か月で生存率が非常に低くなることを報告した。またÔYA(1979)によれば、0°Cの低温条件下では餌を与えなくても長期間生存し、60日後で20%、80日後でも50%が死亡するにすぎない。一方、融雪水と同じ0°Cの水中でも直ちに窒息しないが、40~50日後には死亡率が95%に達し、60日を超える生存は不可能であるという。これらは積雪下におけるツマグロヨコバイの生活をうかがい知るための貴重なデータと言える。

積雪量と死亡率との関係は一律ではなく、ほ場によって大きく異なる。例えば透水性が不良の場合は融雪水の滞水期間が長くなり、越冬幼虫にとって不利になる。また雑草の存在は積雪前後の餌としての意味(織田, 1968; 大矢・佐藤, 1973)のほかに、雪の重圧から守る働きも無視できない。関口ら(1981)は富山県内の透水性の良



第3図 雑草繁茂量とツマグロヨコバイの発生量

好なところではスズメノカタビラなどの越年性雑草の繁茂量が多く、晩秋から早春への生存率を高めることにより発生の地域差の原因となっていることを見いだした。

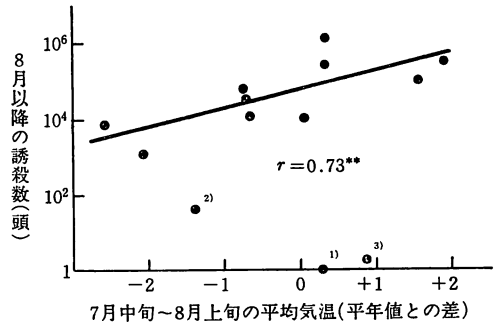
雑草が本種の発生にいかにか強い影響を及ぼすか第3図からも認められる。ここでは1978年における雑草繁茂量とピーク時の50回振りすくい取り虫数を対比して地域ごとに比較したが、雑草の多い地域ほど密度も高くなる明らかな傾向が認められた。

越冬幼虫の生存に関しては、このほかにも秋の耕起やわらの焼却など、人為的な影響も含めてさまざまな要因が複雑に絡み合っているものと考えられる。

IV 越冬後の増殖

北陸地方ではピーク時に株当たり100頭を超える多発年でも、田植え後間もないころは1,000株調査して1頭も発見できないほどの低密度が普通であり、この間の増殖率は著しく高い。越冬後の増殖に関する要因は明らかではないが、経験的に多発年は高温多照であることが知られている(上田, 1955)。第4図には急激に密度が上昇する時期に当たる7月中旬～8月上旬の気温と8月以降の誘殺数との関係を示した。豪雪により発生が抑えられた1981年、82年、84年を除き、両者の間には明らかな相関関係が存在し、高温の年ほど発生量も多くなる傾向が認められた。本種の発生を単なる気温で説明するのはもちろん適当ではないが、少なくとも大雪以外の年に夏の気温が高い場合は多発の警戒が必要であろう。

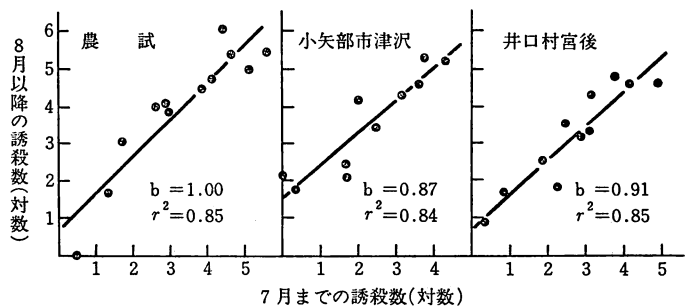
北陸地方の個体数変動が安定性に欠けるのは、大雪の年に発生が著しく抑えられるためだけでなく、夏期の高温など増殖に適した年に他の地方ではまれにしか見られないほどの高密度に達しうることも一つの原因である。すなわち、個体群の密度調節機能が弱いものと考えられる。Itô and JORAKU (1982) は各県の予察灯やほ場のすくい取り調査のデータを解析した結果、東海～西日本地方では春世代とピーク世代密度(対数)との回帰係数bの値が1より小さく、以前から言われているように密度に依存した制御機構が働くのに対し、北陸地方では値がより大きく、1以上になることもあるので環境抵抗からのエスケープによる多発がしばしば起こっていることを示唆した。第5図に示した富山県内3か所における過去の誘殺数を用いた試みによっても同様の結果が



第4図 平均気温と誘殺数(1972～84年, 富山農試予察灯)
1): 1981年, 2): 1982年, 3): 1984年

得られた。現地の2か所は欠測が少なく、比較的信頼性が高いと見られる所を選んだ。ここでは7月下旬までと8月上旬以降との関係をプロットしたが、bの値は農試で1.00, 小矢部市津沢, 井口村宮後でもそれぞれ1に近い0.87および0.91となり、明らかな密度依存性は認められなかった。しかし常楽ら(1983)によれば、1975年から78年までの富山農試は場における株当たり密度調査のデータを用い、個体数変動を解析した結果、越冬後の第一世代の密度はピークの第三世代と平行的に変動せず、第二から第三世代への増殖率と相補的な関係にあるという。これは初期密度の影響がピーク世代にまで及ばないだけでなく、7月から8月にかけて急激に増加する際に密度効果が働くことを意味している。第5図の農試の例でも豪雪のため誘殺数がきわめて少なく、ほ場の密度を正確に反映しているかどうか信頼性に乏しい。82年と84年を除けばbの値は0.65となり、同じような結論を導くことができる。

以上のように、北陸地方でも増殖過程における密度依存性の存在を必ずしも否定することはできない。おそらく富山農試の位置する富山市南部や佐渡のような多発地帯では、豪雪により発生が抑えられないかぎり普遍的に



第5図 誘殺数を用いた回帰分析

認められるであろう。しかし実際の個体数変動に及ぼす作用は東海～西日本地域におけるほど強くなく、密度を安定化させるには至っていない。

北陸地方で密度制御機構が有効に働かないのは、クモ類などの生物的環境やイネの品種、栽培法などが異なることのほかに、ツマグロヨコバイ自身の性質に差があり、産卵や飛しょう行動に及ぼす密度の影響がより少ないことも原因として考えられる。

おわりに

南方系の昆虫とみられるツマグロヨコバイは、分布の北限に近い北陸地方では冬期の積雪という厳しい条件の中で生存を強いられている。積雪の多い年には絶滅に近いほど密度が低下する一方で、越冬後の爆発的な増殖によってそれを補い、ようやく個体群を維持しているものと考えられる。北陸地方に特有な激しい個体数の変動は気象条件に基づく必然的な結果である。

北陸地方ではイネ萎縮病などのウイルス病が発生しないかわりに吸汁被害が問題になるのは、初期密度がきわ

めて低いのに対し、稲作後半期にしばしば著しい高密度にまで増加するからである。このように積雪は害虫としての性格を決定づけるほど重要な影響を与えている。

しかし、積雪とツマグロヨコバイの発生との関係は従来から間接的なデータを用いた検討が行われているにすぎない。実際に雪の下で何が起きているのかという疑問はいまだに解き明かされていない。個体群動態や吸汁被害の解明など、ほかの多くの問題とともに今後に残された課題である。

引用文献

- 1) ITO, Y. and T. JORAKU (1982): Appl. Ent. Zool. 17: 337~349.
- 2) 常楽武男・嘉藤省吾 (1974): 北陸病虫研報 22: 30~31.
- 3) ———ら (1983): 応動昆 27: 146~151.
- 4) 川瀬英嗣 (1968): 植物防疫 22: 280~284.
- 5) 楡井幹男・江村一雄 (1974): 北陸病虫研報 22: 32~34.
- 6) 織田真吾 (1968): 同上 16: 30~33.
- 7) ——— (1971): 同上 19: 42~44.
- 8) ÔTAKE, A. (1966): Res. Popul. Ecol. 8: 62~68.
- 9) 大矢慎吾・佐藤昭夫 (1973): 北陸病虫研報 21: 65~68.
- 10) ÔYA, S. (1979): Appl. Ent. Zool. 14: 319~325.
- 11) 関口 亘ら (1981): 北陸病虫研報 29: 19~23.
- 12) 上田勇五 (1965): 植物防疫 19: 481~485.



○カリフォルニア大学(デービス分校) A. A. GRIGARICK 教授講演会

「米国におけるイネミズゾウムシの現状」

日時: 昭和 60 年 8 月 17 日 (土) 14~18 時

場所: 名古屋ターミナルホテル (電(052)561-3751)
(名古屋駅から歩いて 2 分)

連絡先: ご参加の方は下記にご連絡下さい。来聴欲
〒514 津市上浜町

三重大学農学部昆虫学研究室内

日本応用動物昆虫学会東海支部

支部長 岸本良一 電話 (0592)32-1211

人事消息

(6月18日付)

奈須壮兆氏 (環境研資材動態部派遣職員) は環境研環境生物部昆虫管理科昆虫行動研究室主任研究官に

安田壮平氏 (同上研環境生物部派遣職員) は熱研センター研究第一部主任研究官に

(6月19日付)

寒川一成氏 (北陸農試環境部派遣職員) は派遣延長 (イ

ンドネシア)

(6月25日付)

奈須壮兆氏 (環境研環境生物部昆虫管理科昆虫行動研究室主任研究官) は退職

(7月5日付)

真鍋 勝氏 (食総研食品保全部マイコトキシン研究室) は同研応用微生物部長に

高橋達児氏 (熱研センター研究第二部長) は同センター研究第一部長に

鈴木大助氏 (環境研資材動態部肥料動態科多量要素動態研主任研究官) は同研環境管理部資源・生態管理科環境情報管理室主任研究官に

横井 肇氏 (農研センター耕地利用部長) は退職

太田輝夫氏 (食総研応用微生物部長) は退職

昆野昭農氏 (熱研センター研究第一部長) は退職
(7月7日付)

斉藤康夫氏 (環境研環境生物部派遣職員) は退職

(研究職 OB ニュース 60 年 1~6 月)

一戸貞光氏 (中国農試場長) は北里大学獣医畜産学部教授に

東山太郎氏 (果樹試場長) は日本果樹種苗協会専務理事に

徳永美治氏 (農研センター次長) は開発肥料(株)顧問に
西浦昌男氏 (果樹試興津支場長) は日本植物調節剤研究協会技術顧問に

奈須壮兆氏 (環境研環境生物部主任研究官) は国際協力事業団インドネシア駐在専門家に

異常気象とイネ葉しょう褐変病の発生

北海道立北見農業試験場 宮 島 邦 之

イネ葉しょう褐変病は、従来、発生地域が北日本に限られていたが、1982年にはアフリカのブルンジでも発生が認められ¹⁾、わが国ばかりでなく海外諸国においても水稻の安定生産ならびに品質向上を図るうえで大きな障害となっている。本病が冷害年に多発し、特に気象要因と密接に関連していることは、古くから知られ、現在でも変わらない。本病の発生生態と対策については本誌(31巻7号, 1977)で概説されているので、ここではその発生を支配する気象要因について紹介することとしたい。

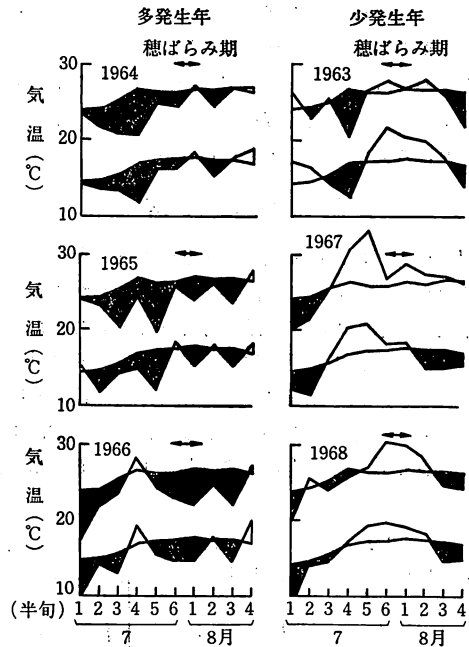
I 異常気象と発生

栗林²⁾は、1918年北海道で「イネ靱黒変病」の発生を認め、1922年に多発したのちほとんど発生が見られなかったが、1926年道央、道北地域で激発し、著しい被害を及ぼすものであることを報告している。この年の気象、特にイネの穂ばらみ期から出穂期にあたる7月下旬および8月上旬の最低気温についてみると、旭川市で14.0°Cおよび14.3°Cであり、いずれも平年値より約3°Cも低い。さらに、この時期は曇天で降雨日数が多く、冷涼多湿であり、冷害年であったといえる。

古宇田³⁾は、1935年異常低温に見まわれた青森県でも「黒秤」の発生を認め、穂ばらみから出穂の時期が低温、曇天の気候に遭遇した品種は特に発病が激しかったとしている。

この「イネ靱黒変病」および「黒秤」の両病は、当時病原細菌が確認されなかったが、その病徴がイネ葉しょう褐変病の病徴によく一致することから、本病と同一病害と考えられる。

1960年代になってから、本病が数年続いて多発した年と少発年の年との気温を第1図に示した。多発年(1964, 65, 66年)と少発年(1963, 67, 68年)を比較すると、多発年の7月下旬の気温は3か年の平均で少発年よりも最低気温が1.8°C、最高気温が2.4°C低い。一方、7月上・中旬あるいは8月中旬の気温は両者間で明らかな差異が認められなかった。このことから、本病は、穂ばらみから出穂期のイネが異常低温に遭遇すると発生



第1図 多発年と少発年における7, 8月の最高, 最低気温

する低温性病害といえよう。

1976年には8月全般が異常低温に見まわれ、北海道のほか東北6県および新潟県の山間高冷地や海岸冷涼地帯で本病および類似症が発生した。千葉⁴⁾は、青森県における発生面積は作付面積の11.7%に達し、出穂期前後に、平均気温17~20°C、最小湿度70%以上、日照5時間以下となった日の出現が多く、しかもこれらの条件が2日以上続く地域では多発するとし、さらに発生面積割合と平均出穂期前5~9日の平均気温、降水量との間の重相関係数が有意であることを明らかにした。渡辺⁵⁾、田中⁶⁾もそれぞれ岩手県、山形県において、特に標高の高い地帯ほど本病が多発することを認め、この要因として穂ばらみ期から出穂期の異常低温、少照および多雨を挙げている。

このような異常気象年における本病の発生は、北日本のみに限られるばかりでなく、同じような要因が整えば海外諸国でも認められる。すなわち、AUTRIQUE and MARAITE⁷⁾は、1982年5月赤道直下のブルンジにおいて、標高1,500~1,600mの湿地帯で栽培したイネに本

病の発生を認め、4月15日から5月15日の出穂前後31日間の平均気温が19.5°Cで、降雨日数が30日もあり、この冷涼多湿な気象が大きな誘因であると報告している。さらに隣国のザイルでの発生も認められている (MARAITE, 私信)。

本病の多発は穂ばらみ期の異常低温と密接に関連していることが明らかになった。しかし、この時期のイネ体に存在する病原細菌の菌量と発病との関係は不明であり、発生予察および薬剤防除の面から見て、今後解明しなければならない課題と考えられる。

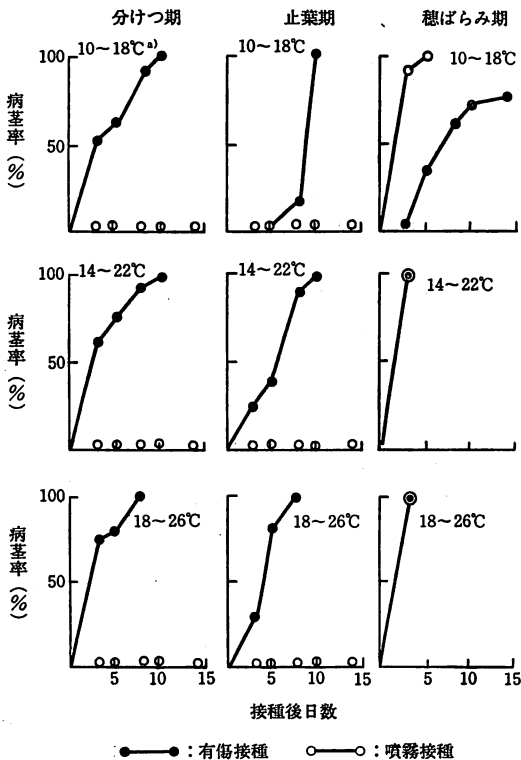
II 気温と発病

ほ場での発病は、移植後の苗腐敗^{a)}を除くと一般に穂ばらみ期以降認められるが、感染時期を明らかにするために作期の変動および生育時期別の接種を行ったところ、移植期を変えても発病はいずれも穂ばらみ期以降認められ、それ以前の生育ステージにあるイネは周囲に発病株があっても発病しなかった。また、分けつ期、止葉期および穂ばらみ期に有傷・噴霧接種してから低温 (夜

10°C—昼18°C)、中温 (14°C—22°C) および高温 (18°C—26°C) の下に保つと、有傷接種でいずれのステージのイネも発病したが、噴霧接種では穂ばらみ期接種のイネのみが発病した (第2図)。さらに、穂ばらみ期にイネの幼穂を抜き取ってから、細菌浮遊液に浸した綿を止葉葉しょう内に挿入した場合また穂ぞろい期の止葉葉しょう内に細菌浮遊液を注入したとき、これらの止葉葉しょうの発病は幼穂が未抽出の穂ばらみの止葉葉しょうに比較していずれも著しく抑制されることから、穂ばらみ期の発病には幼穂の存在が大きく関与していると考えられる。これらのことから、本病の発生する要因として、まずイネの生育ステージが挙げられる。したがって、以下の発病と気象の関係については穂ばらみ期のイネに限って述べることにしたい。

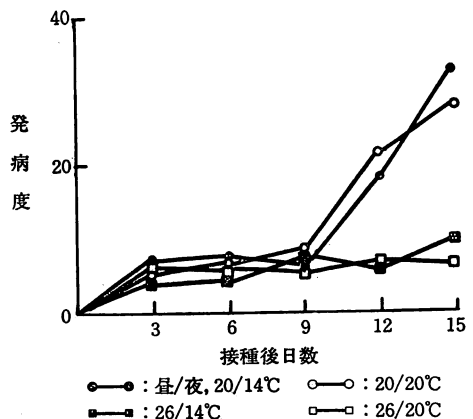
穂ばらみ期における低温処理とその前後の接種時期との発病に及ぼす影響について見ると、接種直後のイネを14°Cのファイトロン内に3日間または6日間置いた場合、止葉葉しょうおよび穂が黒褐～灰褐色になって腐敗し、出すくみ穂を生じ、処理期間の長いほど発病は激しかった。一方、3日間または6日間低温処理した直後に接種したときには、小型の褐色斑紋を生じ、発病は抑制された。このことから、低温に見まわれているイネは感受性が高まり、このとき感染すると発病は増大するが、低温にあった後のイネではその後感染しても発病は抑制されるものと思われる。

発病に及ぼす気温の影響については、ポットに育てた穂ばらみ期のイネの止葉葉しょう裏面に10⁷/mlの細菌浮遊液を注射器で注入し、所定の温度に調整したファイトロン内に5日間置き、その後ガラス室内に移して調査した。第3、4図に示すように、昼間20°Cで夜間14°Cまたは20°Cの条件下では、3日後止葉葉しょう

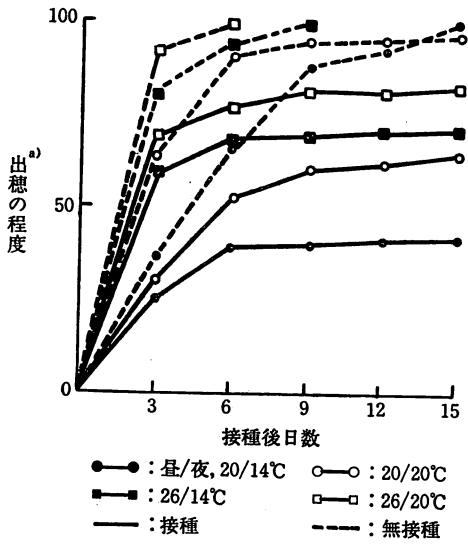


第2図 イネの生育ステージおよび接種法と発病との関係

a) 夜間の気温—昼間の気温



第3図 発病に及ぼす昼夜温の影響



第4図 出穂に及ぼす昼夜温の影響

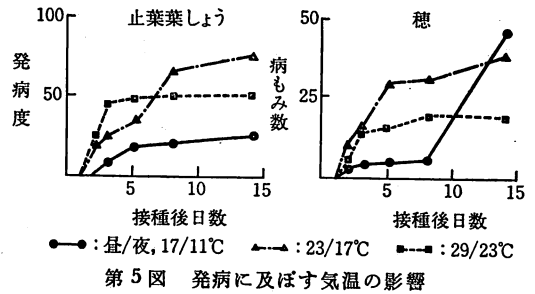
a) 0: 穂が未抽出, 50: 穂の1/2が抽出, 100: 穂首が抽出

に小さな円～だ円形で水浸状暗緑色の病斑が生じ、その後も緩慢に進展・拡大しながら周縁部が暗褐色、中央部が灰褐色の不定形で大きな斑紋になった。「みご」は下部に濃褐色で凹陷した数 cm の条斑を形成して出すくみ穂を生じ、夜温が低いほど激しかった。穂ではもみの内・外穎が全面黒褐～灰褐色になった。一方、昼間 26°C で夜間 14°C または 20°C の下では、葉しょうの病斑は水浸状から急速に淡褐色に変わり、その後の進展は止まり、淡褐色で不定形の小さな斑紋になった。穂でも褐点～褐色斑紋のもみが生じたが、出すくみ穂はほとんど発生しなかった。

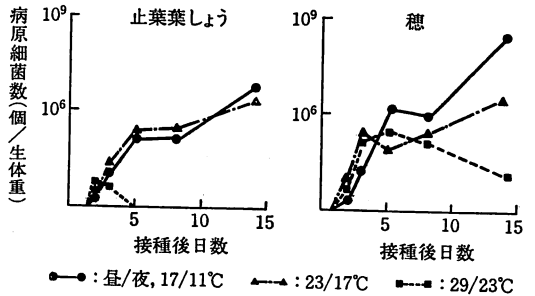
昼間、低温のときイネの出穂は緩慢になり、長時間を要するようになる。すなわち、感受性である期間が長引くことによって発病が促進されるものと考えられる。

III イネ体における病原細菌の増殖温度

発病は低温の下で促進されることが明らかになったが、病原細菌の生育温度についてみると、ペプトン水中において 14°C および 20°C では緩慢に増殖するが、48 時間後には 26°C の場合と同菌量の $10^7 \sim 10^8$ に達し定常期になった。本細菌は生育適温が 26～28°C と高いが、低温の下でも活発に増殖しうるといえる。次にイネ組織における本細菌の増殖温度を検討した。前項の実験と同様に穂ばらみ期に接種したイネを低温(昼間 17°C—夜間 11°C)、中温(23°C—17°C) および高温(29°C—23°C) に調整したフライントロン内に 14 日間置き、所定



第5図 発病に及ぼす気温の影響



第6図 穂ばらみ期のイネ体における葉しょう褐変病菌, *Pseudomonas fuscovaginae* の増殖に及ぼす気温の影響

の日ごとに止葉葉しょうと穂を切り取って表面洗浄したのち、乳鉢で磨研し希釈平板法により本細菌を定量した(第5, 6図)。低温に保ったイネでは、止葉葉しょうに小さなだ円～不定形で水浸状の病斑が現れ、緩慢に拡大しながら暗緑色になり、14 日後まで進展・拡大し、その間菌は活発な増殖を示した。穂では水浸状で暗緑～淡褐色の病もみ数が漸増し、14 日後には黒褐色になり、菌はもっともおう盛に増殖し $10^8/g$ に達した。中温に保ったイネでは葉しょうに黒褐～灰褐色の病斑を生じ、菌は活発に増殖したが、穂では褐変もみが漸増し、菌は緩慢な増殖を示した。一方、高温に保ったイネでは、葉しょうの病斑は水浸状から急速に淡褐色になって進展・拡大を停止し、菌もほとんど増殖せず、穂でも褐点～褐色斑紋のもみが生じたが、病もみ数は少なく、菌も減少して $10^4/g$ になった。

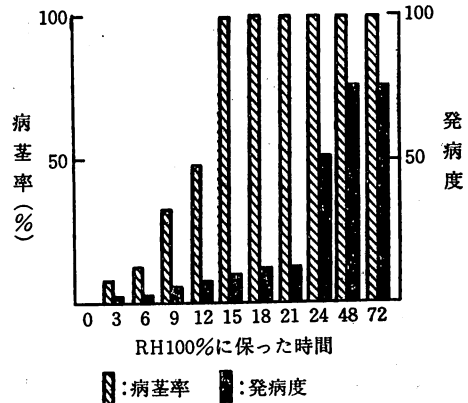
イネ体組織において病原細菌の増殖が低温の下で促進されることは、本細菌は生育適温が高いが低温でも活発に増殖できることと、本細菌の増殖に好適な基質である幼穂が湿度の高い止葉葉しょう内にとどまっている時間が長くなることによると考えられる。一方、高温では、幼穂が短時間で抽出するので、生育適温であるにもかかわらずほとんど増殖することができなくなる。本細菌は止葉葉しょうよりも幼穂でおう盛に増殖することか

ら、低温下のもみおよびその浸出液に本細菌のエネルギー源となる物質が含有するものと推察され、今後これらのごとについて検討することが要望される。

IV 湿度と発病

細菌病は一般に多湿の下で発生するものが多い。本病の発生にも高い湿度は重要な要因と推察されるので、感染および発病と高い湿度の持続時間との関係を検討した。ポットに栽培した穂ばらみ期のイネの止葉葉しょうに 10⁷/ml の細菌浮遊液を噴霧接種し、飽和湿度の接種箱内に所定の時間保ったのち野外において水滴を乾かし、その後ガラス室内に移した。接種6日後に病基率、15日後に発病度を調べた。接種したイネを飽和湿度の下に保った時間と発病との関係を第7図に示した。接種直後のイネを乾かしたとき発病は認められなかった。しかし、飽和湿度の下に3時間以上保つと発病し、その時間が長いほど病基率は高くなり、15時間以上では100%に達した。また、発病度も飽和湿度の下に保つ時間が長いほど高くなり、24時間で47、48時間で75になった。

イネ体表面で居住型生存をしている本細菌は、高い湿度が長時間続くと、葉しょう上の水膜中を遊泳して葉しょうの開いた部分から葉しょう内部に移動することとその後幼穂組織での増殖とが促進されて、葉しょう裏面



第7図 多湿の持続時間と発病

の退化した異常形態の開孔気孔⁵⁾から侵入し、発病を助長するものと考えられる。

引用文献

- 1) AUTRIQUE, A. and H. MARAITE (1983) : FAO Plant Pro. Bull. 31 : 94.
- 2) 千葉末作ら (1977) : 北日本病虫研報 28 : 38~43.
- 3) 古宇田清平 (1935) : 農及園 10 : 2816~2821.
- 4) 栗林数衛 (1926) : 北農試事業成績 1173~1192 (未発表.)
- 5) 宮島邦之 (1983) : 道農試報告 43 : 1~74.
- 6) ————ら (1985) : 日植病報 (印刷中, 講要).
- 7) 田中 孝ら (1977) : 北日本病虫研報 28 : 59.
- 8) 渡辺 茂ら (1977) : 同上 28 : 60.

作物保護の新分野

理化学研究所 見里朝正 編

A5判 235 ページ 定価 2,200 円 送料 250 円

昭和56年から始まった理化学研究所主催のシンポジウム「科学的総合防除」の講演内容を加筆してとりまとめた好著。我が国の先端を行く研究者が化学的、生物的防除はもちろん、光・音・遺伝子工学等を駆使して作物保護の新分野にいとむ最新技術を紹介する。

内容目次

I. 「科学的総合防除」とは

II. 光の利用

光の昆虫誘引作用の利用/光の昆虫忌避作用の利用/紫外線除去フィルムによる植物病原糸状菌の孢子形成阻害/雑草防除における光質の活用

III. 環境制御

湿度環境制御によるハウス野菜病害の防除/環境制御による雑草防除/太陽熱利用による土壌消毒/水の利用による病害防除

IV. 音の利用

音と昆虫/鳥と音/動物と音/魚と音

V. 生物的防除

作物病害の生物的防除/生物的防除と害虫管理/雑草の多様性とその生物的防除/生物的防除への遺伝子工学応用の可能性

VI. ソフト農業の開発

ソフト農業開発の現状/大豆レシチン・重曹農業の開発/過酸化カルシウム剤の開発/フェロモンの利用・開発

VII. 外国の現状

ヨーロッパにおける科学的総合防除/ソビエトの現状/東南アジアにおける作物保護の現状/アメリカにおける病害虫の総合防除の現状

農薬の公定検査法解説(5)

農林水産省農薬検査所

[24] PMP 粉剤

[分析法]

- ① 試薬および装置 } PMP 水和剤の法第 14 条第 2
- ② 検量線の作成 } 項の検査方法に準ずる。
- ③ 分析操作

PMP 50 mg を含む試料を容量 100 ml の共栓三角フラスコに正確に量りとり、アセトン 50 ml を加え 35°C の水浴中で 30 分間振り混ぜる。この液をガラス濾過器(3G4)で濾過し、濾液を 100 ml のメスフラスコにとる。残留物に 10 ml のアセトンを加え、かき混ぜ、濾過する。この操作を 4 回繰り返し、濾液と洗液を合わせ、アセトンで定容とする。

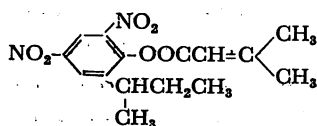
この液 10 ml を 100 ml のメスフラスコに正確にとりエタノールで定容とし、試料溶液とする。

以下、PMP 水和剤の検査方法に準じて操作し、PMP の百分率を算出する。

[25] BINAPACRYL 水和剤

化学名：2,4-ジニトロ-6-セコンダリーブチルフェニルジメチルアクリレート (C₁₈H₁₈N₂O₆)

構造式：



性質：m. w: 322.32。黄白色粉末結晶，m. p. 68.0 ~ 69.0°C。アセトン，キシレン，エタノールに易溶。

用途：ハダニ類およびうどんこ病防除に用いられる。

[分析法]

① 試薬および装置

BINAPACRYL 純品：BINAPACRYL 原体をヘキサンで数回再結晶する (m. p. 68.0 ~ 69.0°C)。

BINAPACRYL 標準溶液：BINAPACRYL 純品 250

Explanatory Notes of Official Testing Methods for Agricultural Chemicals. By Agricultural Chemicals Inspection Station.

mg を 25 ml のメスフラスコに正確に量りとり、アセトンで定容とする。

内標準物質溶液：トリフェニルメタン (試薬特級品，TPM) 200 mg を 100 ml のメスフラスコに正確に量りとり、アセトンで定容とする。

装置：水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフ。

分離管：内径 3 mm，長さ 1.0 m，ガラス製。

充てん剤：5% シリコン DC-200/ガスクロム Q (60 ~ 80 メッシュ)。

② 検量線の作成

BINAPACRYL 標準溶液 1, 2, 3, 4, 5 ml をそれぞれ容量 25 ml の共栓三角フラスコに正確にとり、内標準物質溶液 5 ml を正確に加え、アセトンで全量を 10 ml とする。振り混ぜた後、その 1 μl をマイクロ注射器でとり、下記の操作条件により、ガスクロマトグラムを記録する。BINAPACRYL (t_R 7.0 分) および TPM (t_R 3.0 分) のピーク高さを測定しピーク高比を求め、重量比に対する検量線を作成する。

ガスクロマトグラフ操作条件

試料気化室温度：230°C

分離管温度：185°C

キャリアーガス圧力：0.8 kg/cm² (N₂)

水素ガス圧力：1.0 kg/cm²

空気圧力：0.9 kg/cm²

検出器感度：10² MΩ 0.32 V

記録紙送り速度：10 mm/min

③ 分析操作

BINAPACRYL 50 mg を含む試料を容量 50 ml の共栓三角フラスコに正確に量りとり、これに内標準物質溶液 10 ml を正確に加え、アセトンで全量を 20 ml とし、これを 20 分間激しく振り混ぜる。10 分間静置後、上澄み液 1 μl をマイクロ注射器でとり、以下、検量線の作成の場合と同様に操作し、試料中の BINAPACRYL の量を検量線より求め、百分率を算出する。

[解説]

カラム充てん剤が検討された。担体としてガスクロム Q、液相としてシリコン OV-17、シリコン DC-200、SE-52、XE-60 が試験された。その結果、いずれも良好なピークが得られたが、保持時間の点から 5%-シリコ

ン DC-200 が用いられることになった。また、内標準物質としてジブチルフタレート、ジオクチルフタレート、カフェイン、トリフェニルメタン等についても試験されたが、ピークの形状、保持時間等の点でトリフェニルメタンがもっとも適していた。

本法による分析の正確度および精度は、 n が5のとき回収率は100.1%、 σ は0.65であった。共通試料の分析結果も満足すべきものであった(第19表)。

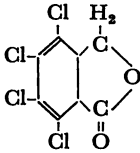
第19表 共通試料の分析

分析者	\bar{x} (%)	σ	n
A	51.41	0.34	5
B	51.51	0.46	5
C	51.66	0.45	5
D	51.78	0.21	5

〔26〕 フサライド粉剤

化学名：4, 5, 6, 7-テトラクロルフタリド
($C_8H_2Cl_4O_2$)

構造式：



性質：m. w. 271.92。白色結晶，m. p. 209~210°C。ベンゼン、テトラヒドロフランにやや難溶，アセトン、アルコールに難溶。

用途：殺菌剤。イネのいもち病防除に用いる。

〔分析法〕

① 試薬および装置

フサライド純品：フサライド原体をジオキサソで数回再結晶する (m. p. 209~210°C)。

フサライド標準溶液：フサライド純品 150 mg を 50 ml のメスフラスコに正確に量りとり，テトラヒドロフランで溶解したのち定容とする。

内標準物質溶液：2-ナフチルフェニルケトン (試薬特級品，2-NPK) 300 mg を 50 ml のメスフラスコに正確に量りとり，テトラヒドロフランで定容とする。

装置：水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフ。

分離管：内径 3 mm，長さ 1.5 m，ガラス製。

充てん剤：3% シリコンガム SE-30/クロモソルブ G (AW-DMCS) (60~80 メッシュ)。

② 検量線の作成

フサライド標準溶液 4, 5, 6, 7, 8 ml をそれぞれ容量 50 ml の共栓三角フラスコに正確にとり，内標準物質溶液 2 ml を正確に加え，テトラヒドロフランで全量を 10 ml とする。振り混ぜた後，その 2 μ l をマイクロ注射器でとり，下記の操作条件によりガスクロマトグラムを記録する。フサライド (t_R 5.0 分) および 2-NPK (t_R 9.3 分) のピーク高さを測定し，そのピーク高比を求め，重量比に対する検量線を作成する。

ガスクロマトグラフ操作条件

試料気化室温度：250°C

分離管温度：210°C

キャリアーガス圧力：0.9 kg/cm² (N₂)

水素ガス圧力：0.9 kg/cm²

空気圧力：1.2 kg/cm²

検出器感度：10² M Ω ，0.08 V

記録紙送り速度：10 mm/min

③ 分析操作

フサライド 36 mg を含む試料を容量 50 ml の共栓三角フラスコに正確に量りとり，これに内標準物質溶液 4 ml を正確に加え，テトラヒドロフランで全量を 20 ml とし，これを 50°C の水浴中で 10 分間振り混ぜる。10 分間静置後，上澄み液 2 μ l をマイクロ注射器でとり，以下，検量線の作成の場合と同様に操作し，試料中のフサライドの量を検量線より求め，百分率を算出する。

〔解説〕

カラム充てん剤が検討された。担体としてクロモソルブ G (AW-DMCS) とクロモソルブ G (AW)，液相としてシリコン DC-550, SE-30, SE-52, SP-1000 等が試験された。その結果，本法の条件のときピーク形状，分離の状況等がもっとも良好であった。また，内標準物質として 2-ナフチルフェニルケトン，ジオクチルアジペート，ジ-n-ブチルセバケート等が検討されたが，2-ナフチルフェニルケトンがもっとも適していた。

本法による分析の正確度および精度は n が 5 のとき回収率は 99.9%， σ 0.002 であった。共通試料の分析結果も満足すべきものであった(第20表)。

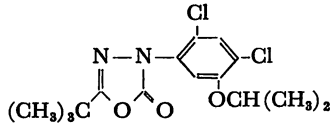
第20表 共通試料の分析

分析者	\bar{x} (%)	σ	n
A	2.62	0.009	5
B	2.63	0.012	5
C	2.61	0.012	5
D	2.64	0.011	5
E	2.64	0.010	5

〔27〕 オキサジアゾン乳剤

化学名：5-ターシャリーブチル-3-(2,4-ジクロル-5-イソプロポキシフェニル)-1,3,4-オキサジアゾリン-2-オン (C₁₆H₁₈Cl₂N₂O₃)

構造式：



性質：m. w. 345.23。白色結晶性粉末，m. p. 89.0～90.0°C。ベンゼン，トルエン，クロロホルム，四塩化炭素，アセトン等に易溶，メタノール，エタノール，その他有機溶媒に可溶，水に 0.98 ppm/25°C 溶ける。

用途：除草剤。ノビエその他の1年生雑草およびマツバイの防除に用いられる。

〔分析法〕

① 試薬および装置

オキサジアゾン純品：オキサジアゾン原体をヘキサンで数回再結晶する (m. p. 89.0～90.0°C)。

オキサジアゾン標準溶液：オキサジアゾン純品 300mg を 25ml のメスフラスコに正確に量りとり，クロロホルムで定容とする。

内標準物質溶液：トリフェニルメタン (試薬特級品，TPM) 225mg を 100ml のメスフラスコに正確に量りとり，クロロホルムで定容とする。

装置：水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフ。

分離管：内径 3mm，長さ 1.0m，ガラス製。

充てん剤：5% シリコン DC-200/ガスクロム Q (60～80メッシュ)。

② 検量線の作成

オキサジアゾン標準溶液 1, 2, 3, 4, 5ml をそれぞれ容量 25ml の共栓三角フラスコに正確にとり，内標準物質溶液 5ml を正確に加え，クロロホルムで全量を 10ml とする。振り混ぜた後，その 2μl をマイクロ注射器でとり，下記の操作条件により，ガスクロマトグラムを記録する。オキサジアゾン (t_R 5.0 分) および TPM

(t_R 2.7 分) のピーク高さを測定しピーク高比を求め，重量比に対する検量線を作成する。

ガスクロマトグラフ操作条件

試料気化室温度：235°C

分離管温度：200°C

キャリアーガス圧力：0.8 kg/cm² (N₂)

水素ガス圧力：1.0 kg/cm²

空気ガス圧力：0.9 kg/cm²

検出器感度：10² MΩ，0.32 V

記録紙送り速度：10 mm/min

③ 分析操作

オキサジアゾン 45mg を含む試料を容量 25ml の共栓三角フラスコに正確に量りとり，これに内標準物質溶液 5ml を正確に加え，クロロホルムで全量を 10ml とする。この 2μl をマイクロ注射器でとり，以下，検量線作成の場合と同様に操作し，試料中のオキサジアゾンの量を検量線より求め，百分率を算出する。

〔解説〕

カラム充てん剤が検討された。担体としてガスクロム Q，液相としてリン酸添加の PEG 20 M，シリコン DC-200，SE-52 が試験された。その結果，いずれも良好なピークが得られたが，保持時間，および内標準物質との分離状況を考慮して，5% シリコン DC-200 が採用された。また，内標準物質としてジブチルフタレート，ジオクチルフタレート，カフェイン，カルバゾール，トリフェニルメタンなどが検討され，保持時間，ピーク形状等の点でトリフェニルメタンが最適と考えられた。

本法による分析の正確度および精度は，n が 20 のとき回収率は 99.8%，σ は 0.053 であった。共通試料の分析結果も満足すべきものであった (第 21 表)。

第 21 表 共通試料の分析

分析者	\bar{x} (%)	σ	n
A	12.47	0.057	5
B	12.57	0.075	5
C	12.53	0.015	5
D	12.61	0.064	5

(終わり)

植物防疫基礎講座

昆虫行動解析法 (7)

視覚機能の解析法

長崎大学教養部心理学教室 **三 村 圭 一**

第1表 視覚とその研究法

視覚の成立と視覚行動発現過程	主な研究法	視覚機能
1. 光受容細胞による光の吸収	分光学的方法	a. 各種波長に対する感度 (色覚)
2. 光受容細胞の興奮発生	生化学的方法 電気生理学的方法	b. 偏光覚
3. 神経回路による情報処理	行動実験的方法	c. 運動視
4. 光に誘発された行動の発現	遺伝学的方法 形態学的方法	d. 形態視 e. 立体視

昆虫が彼らの目を通して、何をどのように見うるかを知るには、さまざまな手法がある。以下述べる視覚機能の研究法には、特に昆虫だからといって、特別なものがある訳ではない。他の動物に比べて、体や目の構造が異なるために、それなりのくふうを要するくらいが特異的であるにすぎない。したがって、以下の種々の方法は、動物一般の視覚機能の研究法にも一般化できる。

I 視覚の成立とそれに対応した研究法

視覚的刺激の生体への作用は、第1表の左側に示すように、まずレンズなどの光学系構造を通過した光を、目の中の光受容細胞が吸収し、次にそれを光受容細胞の興奮という電気現象に変換する。続いてその電気現象は、光受容細胞から、次々と多くの神経細胞間を伝達され、中枢へ伝えられる。そして終局的に、神経の興奮として中枢へ伝えられた光の情報、いろいろな中枢のレベルで、出力として光に依存した走性的・反射的および本能的行動を解発する。これら視覚情報の処理過程の解明は、それら4段階に対応して、さまざまな研究法がある (第1表)。

一方、昆虫の見る世界には、さまざまな面がある。第1表の視覚機能に見られるように、①昆虫は特定の波長の光に対する感度が高い。このことは直ちに色覚と結びつくものではなく、昆虫が色覚を持つといえるためには、少なくとも3種以上の波長を高い感度で見分ける機能を持たねばならない (第2図参照)。②光受容細胞の構造と、光受容細胞の応答とから偏光の感受が可能である。③動くものの情報を処理する機能がある。④ある程度の形を弁別することができる。⑤遠近感覚を持っている。これらの視覚機能を測定するための方法も、第1表

に示すように、きわめて多岐にわたる。各研究法の具体的内容は第2表に示してある。

視覚機能の解析は、かように多方面から可能であるが、このような多方面の測定法すべてについて詳述することは、紙面のつごう上不可能なので、本稿においては、比較的多くの機能の研究にかかわりを持つ電気生理学的測定法と行動実験的方法とに限って述べたいと思う。他の測定法については、それぞれ成書を参照していただきたい。

II 電気生理学的測定法 (第1図)

神経細胞は、興奮の表現として、細胞膜内外の電位差に変化を生じる。これを記録するための方法が、ここに述べる電気生理学的測定法である。測定は、細胞内に電極を刺入して、個々の細胞の電位変化を調べる細胞内記録法と、細胞外から、多くの細胞の電位変化をまとめて調べる細胞外記録法とがある。およその見当をつけるためには、記録の容易な細胞外記録でよいが、詳細を知るためには、細胞内記録を行わねばならない。ただ、あまりに小さい細胞では、細胞内記録は困難である。

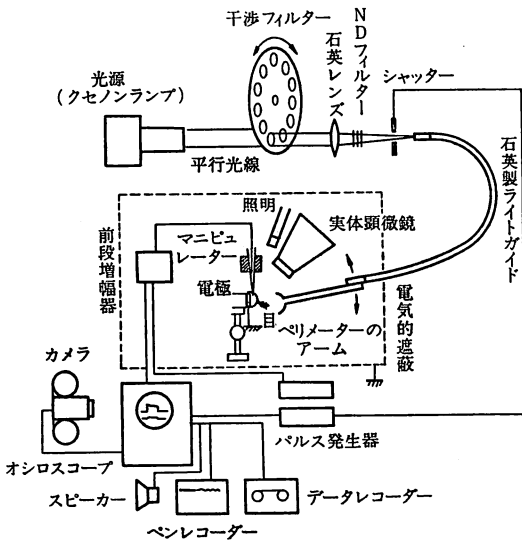
1 電気生理学的測定に必要な周辺器機

神経細胞の発生する電位は、きわめて微弱な (細胞内記録で 10 mV のオーダー、細胞外記録でその 1/10 な

Techniques in Insect Behavior Analysis (7).
Techniques for Studying the Insect Visual Functions. By Keiichi MIMURA

第2表 主 な 観 察 ・ 測 定 法

研究法	主 な 観 察 ・ 測 定 法	
分光学的方法	顕微分光測光法, 偽瞳孔	
生化学的方法	クロマトグラフィー, 電気泳動法, 免疫学的方法	
電気生理学的方法	細胞内記録, 細胞外記録	
行動実験的方法	条件反応 反 射 走 性 その他視覚特異性行動	} の利用 { 機械的記録法 光電管法 光軌記録 その他
遺伝学的方法	視覚突然変異種の解析	
形態学的方法	光学顕微鏡 電子顕微鏡	{ 色素の細胞内注入 アイソトープ標識, 酵素活性利用による細胞識別



第1図 光刺激に対する電氣的応答の記録法

いし 1/100 のオーダー) ため, かなりの増幅をせねばならない。このため生じる周辺の電気器機や電灯線などからの誘導を避けるため, 金網または金属板で, 標本周囲を遮へいする必要がある。簡便な方法として, アルミホイルを利用することもできる。これら遮へい物は接地させねばならない。

材料が小さく, しかも手術や電極操作は微小な操作を必要とするので, 双眼実体顕微鏡は必需品である。また, その照明も材料近傍は多くの器材や装置が立て込むため場所をとらぬよう, そして先に述べた誘導現象を避けるために, できれば強い光源を別の場所に置いて, そこからライトガイドなどを使用して照明するのが好ましい。

標本(目)は, しっかり固定されねばならないが, 固定によって昆虫の呼吸を妨げないようにもしなければならぬ。昆虫の種によって異なるが, 昆虫の体の適当な場所を小さな固定台に蜜蝋(蜜蝋と松脂を熱して混合したものがよい)を使って固定する。昆虫によっては, きわめて薄く削ったプラスチック板に切り込みを入れ, その切り込みに首を挟むと, 頭部がしっかり固定でき, 長く生かすことができる場合がある。固定台は, その基部にボールジョイントがあって, 必要に応じて位置を回転できるとつごうがよい。

電極や刺激用具を固定し, かつ必要に応じて微小な移動をさせるために, マイクロマニピュレーターを使う。種々のタイプが市販されているが, 昆虫用としては, ベーターヒ型が一般的であるが, 用途によってはそれ以外のタイプを用いる。微動には, 油圧式がよいとされている。そのほか, 顕微鏡の台をマニピュレーターの代わりに使って, よい効果を挙げることも可能である。

光の実験では, できれば光源からの入射方向を自由に換えられ, しかも光源の位置が変わっても, 常に標本に光がまっすぐに当たり, 入射方向も正確にコントロールできることが望ましい。このために, 昆虫視覚の研究者たちは, 各自自家製のペリメーターを使用している。これに装着できる光源としては, ライトガイドが有効で, ライトガイド先端をペリメーターに固定し, 他端は光源からの光を入れるようにする。昆虫は近紫外光に感じるものが多いため, ライトガイドは高価ではあるが, 石英製ファイバーを詰めたものを使用すべきである。

光源は太陽光のスペクトルに近いキセノンランプを用いるのがよい。ランプからの光を石英製コンデンサレンズで平行光線にし, 各種波長の光を得るため, 干渉フィルターを通し, 石英レンズでライトガイド先端に光を集

める。この光路に紫外光透過可能な材質の ND (neutral density) フィルター何枚かをセットして強さを加減できるようにし、さらにライトガイド先端近くにはシャッターを置く。シャッターは電磁式で、後述のパルス発生器(または電気刺激装置)でコントロールする。

記録装置は、増幅器、オシロスコープ、カメラ、ペンレコーダー、データレコーダーから成る。最後の二者はなくてもよいが、ペンレコーダーはあったほうが便利である。生物用増幅器の特性は、直流ないしはそれに近い超低周波から数十 kHz にわたる周波数領域で高い増幅度を持たねばならない。最近の増幅器は、この要求に十分にこたえうるものが市販されている。ただし、微小電極を用いる場合、電極抵抗が数十から 100 MΩ 以上に達するため、特別の前段増幅器が必要である。このような広い周波数特性を持つ電気現象を忠実に記録するためには、陰極線オシロスコープが不可欠である。画面上の波形は、カメラ(長時間記録カメラ)で撮影する。電気現象のモニターとして、ペンレコーダーを用いたり、またスパイク状電位ならばスピーカーの音を聞いてモニターすることもできる。必要に応じて、データレコーダーに記録することもよい。しかし後で再生してフィルムやオシロペーパー上に記録しなおさねばならないので、経済的ではあるが、結局実験と同じ時間がかかることになる。ただし、スパイク状電位の頻度をスパイクカウンターを用いて数量化するときは便利である。

刺激を制御したり(シャッターの開閉など)、場合によっては電極を介して細胞に通電したりするために、パルス発生器または電気刺激装置が必要である。普通は、出力波形の持続・強さ・頻度が任意に設定され、また起電パルスからの任意の遅延をもって発生するよう作られたものならば、生体用でなくとも利用できる。

最後に、標本を置く台または机についてであるが、これは他からの振動を防ぐための配慮がなされねばならない。除震台として市販されているが、高価であるため、以下のことに注意をすれば、それで代用できる。まず、机は太く重い木材かコンクリートで作った、できるだけがっちりした重いものを用いること、できれば近くに置かねばならない他の周辺器機(ペリメーターや実体顕微鏡など)と別の机を用いること、机の脚と床との間には防振材(例えば防振ゴム)を挟むこと、机の面上に小さな防振ゴム片を何か所か置き、その上に 5 mm 以上の厚さの鉄板を置いて机上をおおうこと(アースにも利用できる)、そしてその上に標本をセットする。セットは机上面が鉄板なので、前述の標本台をマグネットスタンドに固定して置けば、しっかり固着できる。

2 電極

細胞内記録をするなら、ガラス毛细管電極でなければならない。これは微小電極製作器(puller)を用い、径 1~2 mm のガラス管の一部に熱を加えて掃引し、先端を 0.1 μm 以下にとがらし、その中に細胞内液と等張の塩溶液を詰めたものである。このガラス毛细管電極の根元から銀線を入れ、その銀線を前段増幅器の入力端子にハンダづけして用いる。電極先端の太さや形は、刺入する細胞の大きさや型によって刺入しやすいようくふうがある。場合によっては、より刺入しやすいように先端をさらに研磨することもある。昆虫の光受容細胞に刺入するときは、カミソリの刃の小片で作った小型ナイフなどで、固い角膜に電極を入れうる程度の穴を開け、そこから電極を刺入する。先端をいためないためである。

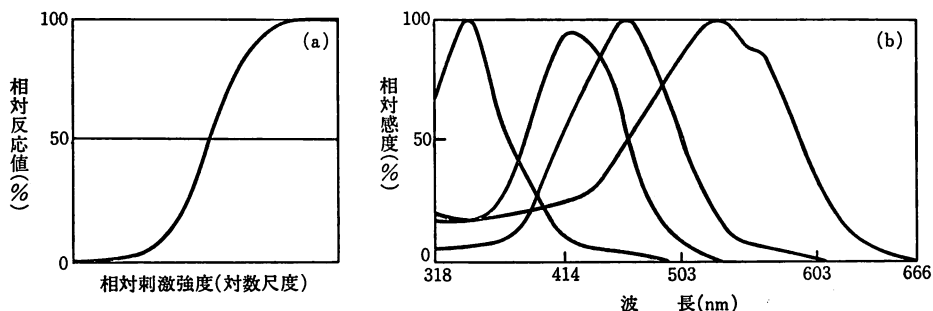
先端が太いガラス毛细管電極は、細胞外記録に用いることができる。光受容細胞層付近なら、網膜電図(ERG)の記録が可能であるし(第3図C)、視葉内あるいは脳内なら、神経細胞から発生するスパイク電位をまとめて記録するのに用いることができる。網膜電図を目の表面からとるだけなら、生理食塩水を浸した脱脂綿片だけでも電極になりうる。

このほか、細胞外から神経細胞活動をまとめて記録する電極としては、金属線(銀、銅、タングステン、ニクロム)を絶縁被覆して用いることもある。この場合、先端を細くするため電解研磨を利用する。また、切断した神経の束から記録をとる方法として吸引電極法がある。これは細いガラス管の中へ、神経束の断端を吸い込み、その管を通して記録(または刺激)する方法である。

これらの記録用電極と対して用いねばならぬ不関電極が必要である。昆虫によって体のどの部位に置くかは異なるが、記録している電気現象の発生源とは関係のないところに置くのが普通である。通常、銀-塩化銀コーティング電極を用いると分極も起こらない。

3 記録電位の処理、その他

刺激光の波長、つまり色に対する感度を問題にする場合は、各干渉フィルターを通った光の強さは異なるので、その補正が必要である。そのためには、はじめから各干渉フィルターを通った光の強さを、ND フィルターの組み合わせで一定にするか、あるいは電気的応答を記録したあとで修正をするかのいずれかの方法をとる。前者の場合は、結果の処理が容易ではあるが、近紫外光をも含めて 20 枚近くある干渉フィルターそれぞれに対応して、光の強さを等しくする ND フィルターをそろえるのは大変である。したがって多くの場合、後者の方法を用いる。あらかじめ各干渉フィルターを通した光の強



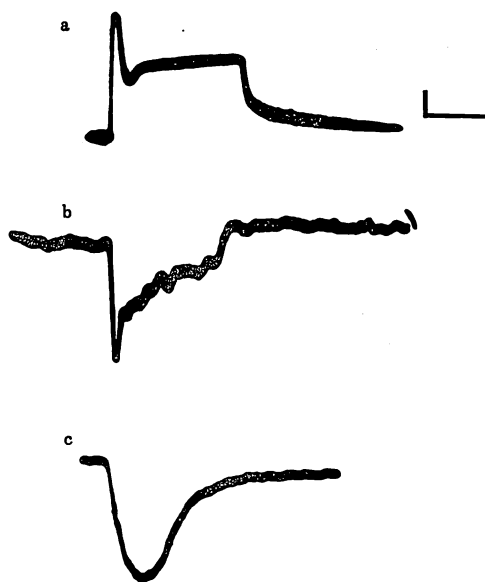
第 2 図 電気的応答の強さ-応答曲線 (a) と分光感度曲線の例 (AUTRUM, 1968 から改変) (b)
 分光感度曲線はミツバチ (働きバチ) の 4 種の光受容細胞の例。

さを光子数単位で測定しておく。そして光の強さに対する電気的応答の関係(強さ-応答曲線)を調べ、各波長の強さに応じて、その曲線を補正(いわばずらす)して色に対する感度曲線(分光感度曲線)を求めることが要求される(第2図)。原理的には、電気的応答を生じる最小の光の強さ(閾値)を各波長について求め、それを基に分光感度曲線を求めるべきであるが、強さ-応答曲線の形からわかるように、応答が出るか出ないかの部分は、きわめて誤差が大きくなる可能性がある。そこで、もし単一細胞で求めた強さ-応答曲線の傾きが、波長によって変わらないのであれば、便宜上最大応答の半分(図の 50%)の点を指標として用いる。こうすれば誤差が少なくてすむ。

網膜電図で調べる場合は、もし目の中に複数の波長感度の異なる光受容細胞を含む昆虫なら(そういう昆虫は多いが)、結果の処理は複雑になる。この場合、特定の極大感度の波長で強く照射して、選択的にその波長に対する感度の高い光受容細胞を順応させて調べるなどの手続きで処理できる。しかし波長に対する感度を調べるには、最終的には細胞内記録をとらないと信頼できるデータとはならない。

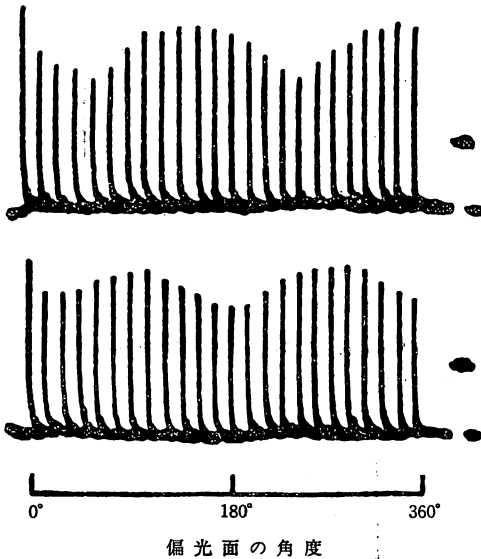
電気的応答は、光受容細胞や、それと連絡する二次の神経細胞は、普通はスパイク状の応答はなく、緩やかな、そして刺激の強さを増すと振幅を増す電位として生じる(第3図)。中枢の神経細胞でも、このようなスパイクを出さないものがある。このような場合には、応答の大きさは応答の振幅を指標として測定する。これに対し、スパイク状電位を発生する神経細胞では、スパイクは出るか出ないかのデジタル信号なので(第5図)、応答量はスパイクの頻度を指標として測定する。

色の情報以外の視覚機能を測る場合も、このことは同じである。偏光感度を測るときは、ライトガイドの刺



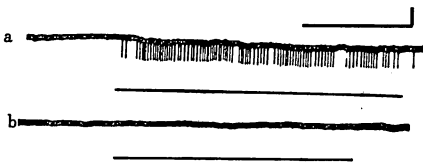
第 3 図 細胞内 (a と b) と細胞外記録 (c) の例
 a はハエ複眼の光受容細胞, b はハエの視葉板 (二次神経細胞) からの応答である。光受容細胞は、光によって膜を介しての分極を減らす方向(脱分極)の電位が生じ、二次神経細胞では、逆に分極を増す方向(過分極)の電位が生じる。c はハエの光受容細胞層に、先端が太いガラス毛细管電極を刺し、深さ約 250 μm で記録した網膜電図である。較正電圧は、a と b に関しては 10 mV, c に関しては 0.5 mV, 時間尺度は、a と b に関しては 0.2 秒, c に関しては 50 ミリ秒を示す。

激端と目との間に、紫外光を透過する材質の偏光板を置き、それを回転して応答をとる(第4図)。高次神経細胞で、動く対象に特異的に応答するものがあるが(第5図)、これらについては、刺激方法もそれなりに適宜考



第4図 偏光に対する応答の例 (SHAW, 1967 より改変)

バッタの一種の複眼の光受容細胞からの細胞内記録で、偏光板を回転して、偏光照射に対する応答を見ると、特定の偏光面で極大、それと90度ずれた偏光面で極小となる。この図は隣接する2個の光受容細胞から記録されたものである。



第5図 運動対象に対して特異的に応答する神経細胞の例 (細胞外記録)

ハエの視葉内の神経細胞から記録されたものだが、運動対象検知機能を持つ神経細胞には、ここに示すように、動きの方向選択性を持つものがある。ある方向に物を動かすと、aのように激しくスパイク放電を示すが、逆の方向に動かすと、bのようにまったく応答しない。較正電圧と時間尺度は、それぞれ1mVと0.5秒である。

案する必要がある。

III 行動実験的方法

1 視覚機能を調べる指標となる行動

視覚機能を調べるために利用できる行動には、昆虫の視覚機能と種が多様性のため、昆虫によって利用可能なものと、そうでないものがある。例えば、von FRISCH

による有名なミツバチの条件づけによる色覚の研究は、ミツバチのような目や高度な脳を持たない昆虫では、たして利用できるかどうかは疑わしい。結局のところ、行動を指標にした視覚研究は、調べる昆虫の習性や目の特性などを考慮したうえで、それ相応のくふうがなされねばならないといえる。したがって、以下の方法も、そのまま画一的に使うべきでなく、一種のヒントとして受けとめ、創意くふうがなされるべきであろう。

それはともかく、利用できる行動としては、光を使った条件反応の形成のほか、光に基づく反射や、光走性などの利用が考えられる。そのほか、具体的には、目を使って獲物を捕える昆虫行動、動くものを追う視運動反応、普通の環境では異性を追う行動として見られる追跡行動 (chasing behaviour)、飛しょうする昆虫に見られる着地反応 (landing response) などは十分視覚の研究に応用可能である。

2 行動の記録ならびに測定法

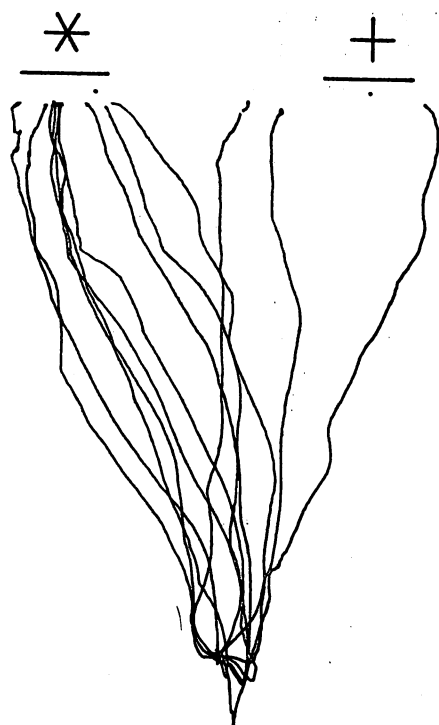
最後に、上記のさまざまな行動の具体的な記録法 (アクトグラフ) を概観しておこう。これらは一般的な手法なので、すでに述べたように、観察すべき行動の種類や目的によって改変して利用されるべきである。一部はすでにこのシリーズに掲載され、詳細に述べられている。

(1) 機械的行動記録法

この測定法は、昆虫の動きによって生じた機械的な力をそのまま利用して記録させる方法である。歴史的には、かなり古くから考案されている。例えば、シーソーのような装置で、支点到置かれた棒の一端を記録用ペンとして用い、他端に昆虫を入れた箱を置く。昆虫が動けば、バランスが少し崩れてシーソーが動き、ペンが振れる Rocking-box などがある。また、シロネズミの行動によく使われていると同方法の回転かご (rolling wheel) を昆虫に応用した例もある。昆虫の歩行に従って、円形のかごが回転し、その回転状況が記録されるようくふうされている。このシリーズの第1回で紹介された飛しょう風洞も、機械的行動記録法の一つである。

(2) 光電管法

光源からの光のビームを光電管 (photocell) で受け、明るさの変化を電気的に記録する。もし昆虫が光路を横切って瞬間的に遮れば、その瞬間を記録することができる。これが原理であるが、注意すべきは、このとき使用する光の波長である。観察すべき昆虫の目が感受できない波長や強度を用いなければならない。一般に 700 nm 以上の長波長側 (赤や赤外光) に対しては、感度がきわめて低いといわれているので、この波長が使われるが、あらかじめ光走性などを利用して、使用すべき光を、そ



第6図 XYトラッカーを用いた昆虫の動きの軌跡の記録

羽を除いたハエの前面に、図の上方に示すような二つの照射図形を示すと、ハエはそれに向かって歩く。その軌跡が記録されている。

の昆虫が感受するかどうかを検査してから用いるべきであろう。赤い光に感度が無いといわれている昆虫でも、以外とそれを感じていることがあるので、十分注意しなくてはならない。

(3) 行動軌跡記録法

上記の諸測定法では、昆虫が移動したことはわかるが、実験によっては、どう動いたかを解析することを必

要とすることがある。これを調べるためには、映画としてフィルム上に撮影するか、ビデオ装置で記録するか、あるいはストロボ法によって、一枚のフィルムに重ね焼きする方法がとられる。しかし光に対する応答行動を見るのであるから、ストロボ法は適当ではない。むしろこれに代わるものとして、一定の照明下で、フィルムを巻き上げないようカメラを操作して、モータードライブ方式で継続的にシャッターを切る方式をとったほうがよい。これによって、点状ではあるが、行動軌跡を一枚のフィルムに撮影できる。

このほか、ビデオカメラを利用したXYトラッカー装置があり、市販されている。移動する昆虫を、一つの黒点と見なして、その軌跡をXYレコーダーに記録することができ、至便である(第6図)。問題は、さらにその軌跡の解析をどう処理するかであるが、パソコンの普及している今日、デジタイザなどを接続して、行動軌跡の解析を行うとよいであろう。

以上のほか、電気容量を利用する法など各種あるが、紙面のつごう上割愛する。成書を参考にいただきたい。

以上、主として電気生理学的方法と行動実験的方法を概観したが、たくさん内容を圧縮してしまったので、十分に細かいところまで記述することができなかった。視覚機能が複雑であることと対応して、その測定法が多岐にわたっていることをご理解いただければ幸甚である。

参考文献

- MILLER, T. A. (1979): *Insect Neurophysiological Techniques*, Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin.
 DREIFELDER, D. (1979): 生物化学研究法, 野田春彦訳, 東京化学同人, 東京.
 古河太郎 (1969): 生物学的技術II, 吉岡書店, 京都, pp. 439~468.
 立田栄光ら (1979): 昆虫の神経生物学, 培風館, 東京.

人事消息

神戸植物防疫所は、6月25日付けで下記へ移転した。
 〒650 神戸市中央区波止場町1番1号
 神戸第2地方合同庁舎 電話は従来どおり
 岐阜県植物防疫協会は、4月1日付けで事務所を下記に移転した。
 〒500 岐阜市下奈良 2-8-1 岐阜県福祉農業会館内
 6階 電話 0582-73-1111 内 685
 グラン商事株式会社は、4月30日付けで下記へ移転。
 〒813 福岡市東区大字津屋 1284-5
 電話番号 092-622-7784~6
 株式会社イハラグリーンと理研薬販株式会社は、5月1日付けで合併し、新会社、株式会社理研グリーンとな

った。住所は旧理研薬販株式会社に同じ。
 東亜合成化学工業株式会社は、5月7日よりダイヤル・イン方式採用により下記のとおり電話番号を変更した
 開発二部新農薬グループ 03-597-7333
 石原農販緑化株式会社は、5月16日付けで、社名を下記のように変更した。
 (新社名) 石原農薬販売株式会社
 日本アップジョン株式会社農畜産部は、6月1日付けでアップジョンファーマシューティカルズリミテッドに移管された。
 関東兼商株式会社は、6月10日より事務所を下記に移転
 〒371 前橋市南町3丁目 12-1
 電話 0272-23-3591 (代表)

協会だより

○人事異動

(6月1日) 総務部長・事業推進部長(兼務) 箕島龍久(事業推進部長), 出版部長(兼務) 高田昌稔(試験部長)

(5月31日) 退職 齋藤 恵(総務部長・出版部長(兼務))

○第61回理事会, 第40回通常総会開催

5月21日, 午後1時30分から市ヶ谷会館において第61回理事会及び第41回通常総会が開催された。総会出席者は123名であった。

定刻, 栗田常務理事が開会を宣し, 石倉理事長が開会の挨拶を行った。

【通常総会議事内容】

石倉理事長が議長となり, 遠藤常務理事が提出議案の説明を行い, 審議が行われた結果, 昭和59年度事業報告及び収支決算並びに損益計算報告案, 60年度事業計画及び収支予算案等はすべて原案どおり議決された。

役員改選については, 全理事, 監事, 評議員の改選が行われ, 同日開催された第60回理事会では, 新理事間で常勤理事の互選がなされ, 理事長及び常務理事は重任し, また, 顧問及び参与も重任することとなった。新役

員・顧問・参与は次のとおり。

[理事長] 石倉秀次 [常務理事] 遠藤武雄, 栗田年代
[理事] 赤保谷明正, 飯田 格, 宇井格生, 内山良治, 石井象二郎, 大森 主, 岸 明正, 下山一二, 鈴木照磨, 宗 展生, 館沢幸雄, 中村房一, 新堀正孝, 馬場 起, 福田秀夫, 古田 好, 森本至郎, 山瀬 博, 與良 清, 吉見康宏, 渡辺一夫

[監事] 麻生軍廣, 河野達郎, 佐々木享

[評議員] 各都府県植物防疫協会長(除理事・監事県)

[顧問] 明日山秀文, 上遠 章, 三坂和英

[参与] 飯島 鼎, 岩田吉人, 向 秀夫

なお, 昭和60年度収支予算は次のとおり。(単位: 千円)

	予算額	前年度予算額	増減
公益一般会計	390,864	356,420	34,444
公益委託試験会計	1,809,170	1,629,560	179,610
収益事業会計	117,438	116,798	640
国庫委託費会計	1,958	2,105	△147
計	2,319,430	2,104,883	214,547

○出版部より

☆6月分の新規登録はありませんので、「新しく登録された農薬」は休載いたします。

次号予告

次9月号は下記原稿を掲載する予定です。

特集: イネもみ枯細菌病

- イネもみ枯細菌病の九州における発生の現状 茂木 静夫
- イネもみ枯細菌病の四国における発生の現状 十河 和博
- イネもみ枯細菌病の病原細菌 植松 勉
- イネもみ枯細菌病の防除対策 吉田桂輔・吉村大三郎
- 苗箱におけるイネ苗立枯れと病原細菌 畔上 耕児

- 小笠原諸島におけるミカンコミバエの根絶の経過と
駆除確認調査 沼沢健一・土生和毅・諸橋公穂・
馬庭昭一・村垣 茂
- ワタアブラムシの生活環とバイオタイプ 稲泉 三丸
- わが国における「くん煙農薬」の開発経過と今後の
課題 富樫邦彦・岩根吉孝・中村一年
- 植物防疫基礎講座/昆虫行動解析法(8) 大場 信義
- 発光シグナルの記録とその解析法 大場 信義

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

<p style="font-size: 1.2em; font-weight: bold;">植物防疫</p> <p>昭和60年 8月号 (毎月1回1日発行)</p> <p style="text-align: center; font-weight: bold;">—禁 転 載—</p>	<p>第39巻 昭和60年7月25日印刷 第8号 昭和60年8月1日発行</p> <p>編集人 植物防疫編集委員会</p> <p>発行人 遠藤武雄</p> <p>印刷所 株式会社 双文社印刷所 東京都板橋区館野町13-11</p>	<p style="font-size: 1.2em; font-weight: bold;">定価 500円 送料 50円</p> <p style="text-align: center;">— 発 行 所 —</p> <p>東京都豊島区駒込1丁目43番11号 郵便番号 170</p> <p style="font-weight: bold;">社団法人 日本植物防疫協会</p> <p>電話 東京(03)944-1561~6番 振替 東京 1-177867番</p>	<p style="font-size: 1.2em; font-weight: bold;">1か年 6,100円</p> <p>(送料共概算)</p>
--	---	---	---

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

日曹ロニオン 水和剤

きゅうり・しゅんぎくのべと病防除に

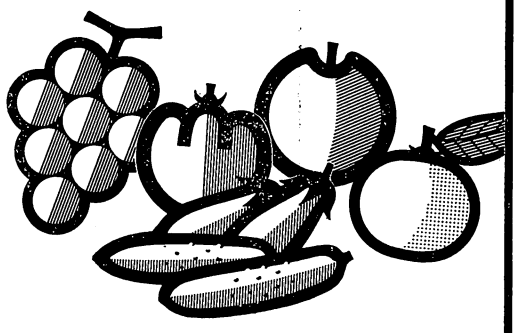
アリエッティ 水和剤

ぶどうのべと病防除に

日曹アリエッティC 水和剤

畑作のイネ科雑草除草に

クサガード 水溶剤



果樹・野菜の害虫防除に

ホスピット75 乳剤

なす・茶・果樹・花のハダニ類防除に

日曹トルピラン 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2-90
営業所 札幌・仙台・信越・名古屋・福岡・四国・高岡

博友社

162 東京都新宿区相場町9
振替東京6-240 TEL 03-268-8271

植物病原菌学
徳永芳雄著

植物病原菌類分類の根本書である。菌類の概念等を総編で示し、各論では、鞭毛菌亜門など亜門別章立てして精密に分類されている。三百余の図とともに詳細な解説がある。とくに和文・欧文・菌学名・宿主植物の各索引は、本文中の網・目・科・属の検索表とともに非常に要を得ている。

A5判・三九七頁・定価五八〇〇円・千三〇〇

コンピュータによる数理統計的手法を導入することにより、最近外国で植物疫学の急速な進展をみた。発生から防除にいたる過程を、各種条件に応じたシミュレーション化が可能となったからである。本書は、数理統計的手法を紹介、解説するとともに、本来の病理学的側面をもあわせてドッキングを図ったものである。

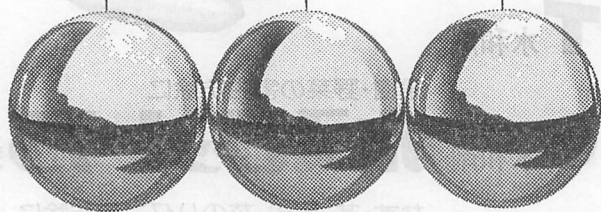
〔目次より〕〔疫学編〕疫学の定義・用語の整理／流行／病原の同定／病原の生活環／第一次発生源／伝染／生存・越冬・越冬／品種抵抗性と菌系病原性／病勢進展曲線／病害防除／発生予察／抵抗性品種の利用〔統計編〕分布を前提とした検定・推定／分布によらない検定／単回帰分析／相関／実験計画法と分散分析／重回帰分析／電子計算機プログラムを用いた重回帰分析／実験式のあてはめ／用量反応関係の解析／分類のための多変量解析／標本調査法〔附表〕植物ウイルスとその記号／植物病原細菌の学名／正規分布の上側確率／正規分布のパーセント点〔索引〕事項／生物種名病名(日・英・学名)

■A5判・六〇四頁・定価九八〇〇円・送料三五〇円

植物疫学
数理統計的手法の適用

清沢茂久編著

執筆 清沢茂久・柿島真・吉野嶺一・大塚雅雄・三輪哲久・原田久也・山口秀和・宇田川武俊・小林和彦・鈴木茂・宮川三郎



他病害虫との
同時防除が
やりやすい。

最も
タイムリーに
散布できる。

防除プランが
たてやすい。

散布適期の
幅が
広いから…

幅を効かせて、新登場。

モンカットは、日本農薬の研究所から生まれた、最新の紋枯病防除剤です。治療・予防の両効果とも優れ、しかも残効性が長い。特に、散布適期の幅が広く、安全性の面でも優れているので、使い易さは抜群。単剤には、粉剤・水和剤・顆粒水和剤、いもち病や各種害虫の同時防除の混合粉剤など豊富に揃えました。高い効果・長い残効性・広い散布適期幅と、紋枯病防除に“文句なし”の効きめで、いま颯爽の登場です。

●混合粉剤●モンカットラブサイド/フジワンモンカット/
アプロードバツサモンカット/アプロードダイアモンカット
/モンカットラブサイドスミ/フジワンモンカットスミ

紋枯病にモン句なし。 モンカット®



モンカットのシンボルマークです。

®：「モンカット」は日本農薬(株)の登録商標です。



日本農薬株式会社
〒103 東京都中央区日本橋1-2-5栄太楼ビル

農業技術 B5判 定価400円(〒45円) (1年千共4,800円)

昭和21年創刊 農業技術の月刊総合雑誌

農林水産研究とコンピュータ

斎尾乾二郎他編著 A5判上製 定価3,800円 〒300円

農林水産研究の各分野におけるコンピュータ利用の現状と展望、およびコンピュータ利用技法についての解説

新編農作物品種解説

川嶋良一監修 A5判上製 定価3,000円 〒300円

全国の精鋭育種家92氏が、普通作物・工芸作物の延べ529品種について、来歴・普及状況・特性の概要・適地および栽培上の注意等を詳しく解説

作物試験法(復刻版)

続作物試験法(復刻版)

戸苅義次他編 A5判上製 定価各4,700円 〒350円

本書は昭和38年に第6版で絶版になっていたが、各方面からの要望が多いため原本のまま復刻したものである。作物に関する試験研究方法を各項目別に当時の第一線研究者24氏が解説した最高の手引書として現在も類書がない

実験以前のこと—農学研究序論

小野小三郎著 B6判 定価1,600円 〒250円

創造的研究とは何か、創造的研究の取り組み方と問題点等を述べた、農学・生物学についての唯一の研究方法論

作物品種名雑考

農業技術協会編 B6判 定価1,800円 〒250円

普通作物・工芸作物の品種名の由来、命名の裏話等を、育種専攻19氏が解説した品種改良の裏面史

果樹品種名雑考

農業技術協会編 B6判 定価1,800円 〒250円

わが国の主要果樹の品種名の由来、命名裏話、あわせて各果樹の起源、渡来と定着の状況を果樹育種専攻14氏が解説

作物—その形態と機能<上・下巻>

北條良夫・星川清親編 A5判上製 定価上巻3,200円

下巻2,700円 〒上下巻とも300円

作物の一生を、新しい作物学の主張のもとに、種子・花成・栄養体とその形成・生産過程・登熟・生育障害に分けて論述したもので、作物の研究発展と食糧生産に新生面を拓く道標

〒114 東京都北区西ヶ原
1-26-3

(財団法人) 農業技術協会

振替 東京 8-176531
Tel (03) 910-3787

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

❖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

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



アグロ・カネショウ株式会社

(旧社名:兼商株式会社)

東京都千代田区丸の内2-4-1

もんがれ防除には—頼りになる……**フミカの**



農協・経済連・全農

もんがれ病をはじめ
疑似もんがれ症にも

褐色菌核病菌
褐色もんがれ病菌
赤色菌核病菌防除
登録認可!!



●各種の病害虫の同時防除は、これらの薬剤を基剤とした混合剤・DL剤が多数用意されています。

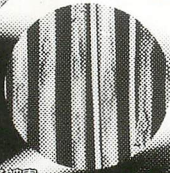
褐色もんがれ病菌による被害



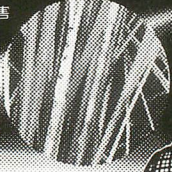
もんがれ病による倒伏



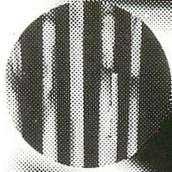
褐色菌核病菌による被害



もんがれ病による被害



赤色菌核病菌による被害

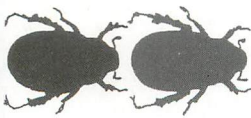
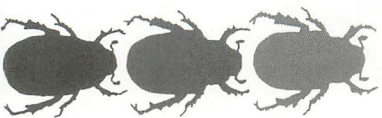


自然に学び 自然を守る
フミカ 化学工業株式会社
本社 東京都台東区池之端1-4-26 〒110-91

昭和
和六
二十
四年
年十
九八
七月
月二
九一
五日
日日
第發
印行
三行
種(植
月物
一防
第疫
三第
十三
九卷
日第
一八
行)號
可



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 (〒102) TEL. 03-237-5185

定
価
五
〇
〇
円
(送
料
五
〇
円)