

ISSN 0037-4091

植物防疫

昭和六十二年八月二十五日印刷 第四十卷第九号

1987

9

特集 茎頂培養とウイルスフリー化

VOL 41

強力4駆に実力派新登場

共立スピードスプレーヤ

SSV-660F



苛酷な作業もバリバリこなす待望のSSV-660F。荷重バランスの優れた登坂性能とビッグサイズのタイヤで悪条件の場所でも安定走行を可能にしました。共立独自の整流機構から生まれる微粒子化された薬液は徒長枝まで確実に圧着固着。防除効果も一段とアップしました。広範囲な変速段数もメリット。作業に合せた車速が選択できます。SSV-660FはSSのパイオニア共立ならではの高性能スピードスプレーヤです。

＜仕様＞ ●寸法／3,300(全長)×1,320(全幅)×1,235(全高)mm ●重量／1,005kg ●走行用エンジン排気量／600cc ●送風用エンジン排気量／952cc ●走行部形式／4輪-4駆 ●薬液タンク容量／600ℓ ●噴霧用ポンプ吐出量／80ℓ/min ●送風機風量／550m³/min ●ノズル個数／16



株式会社 共立



共立エコ物産株式会社

〒181 東京都武蔵野市下連雀7-5-1 ☎0422-49-5941(代表)

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

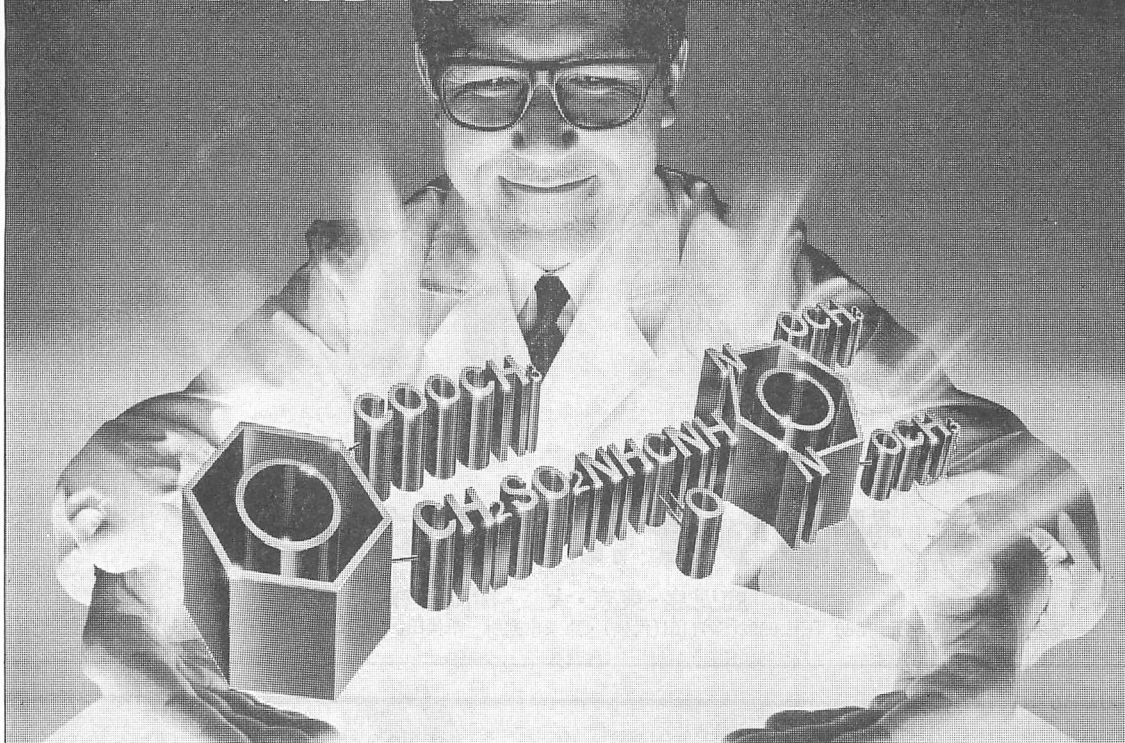
パルナックス

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

除草剤イノベーション。



水田除草剤の歴史に新しい1ページがひらかれた。

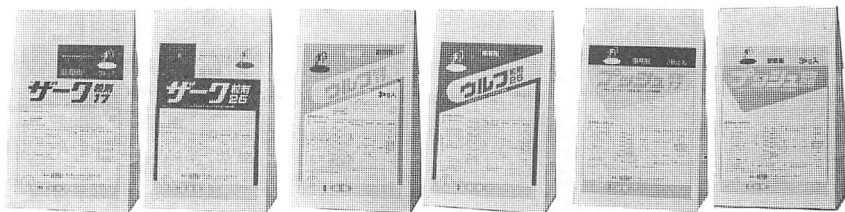
デュポン社が開発した画期的な水田除草剤、スルホニル尿素系除草剤DPX-84※
をベースに、いま「ザーク」「ウルフ」「プッシュ」誕生。

※DPX-84の一般名はベンスルフロンメチル。

新発売



水田除草、新時代。



●豊富な適用雑草 ●散布に余裕がもてる広い処理適期幅 ●長期間にわたる抑草効果 ●水稲、環境に高い安全性

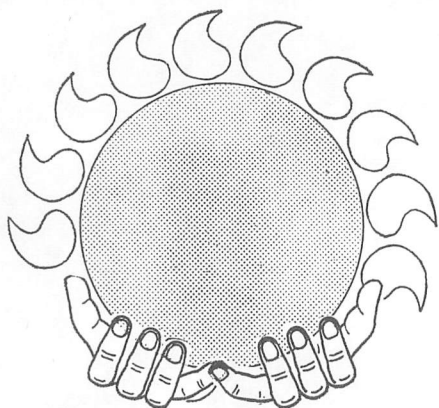
デュポン ジャパン

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 TEL.(03)585-9101



線虫剤と伴に30年



線虫剤の
トップブランド

テロン^{*}92



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)

豊かさを描いて。

豊かさに、確かさをプラスして、
さらに美しさを求める。
ホクコーは、より質の高い
実りの世界を、今日も
描き続けます。

健苗育苗に

総合種子消毒剤

デュボン **ベンレート^{*}T** 水和剤20

苗立枯病に

カヤベスト[®] 粉剤10

幼苗腐敗症・褐条病に

カスミン[®] 粒剤

新発売 苗立枯病・褐条病に

フタパロン 粉剤



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4-4-20

植物防疫

Shokubutsu bōeki
(Plant Protection)

第 41 卷 第 9 号
昭和 62 年 9 月号

目次

特集：茎頂培養とウイルスフリー化

リンゴの茎頂培養とウイルスフリー化——熱処理及び抗ウイルス剤との併用——	山家 弘士	1
モモ・ナシの茎頂培養とウイルスフリー化	宗形 隆	6
ブドウの茎頂培養とウイルスフリー化	貞松 光男	12
オウトウの茎頂培養とウイルスフリー化	野口 協一・山口 幸子・大沼 幸男	17
沖縄本島におけるシロガシラの侵入と被害の状況	金城 常雄・西村 真・中村 和雄	22
カンキツ園における温州萎縮ウイルスの伝搬——防風垣用サンゴジュの役割——	前 博視	27
ハマキコウラコマユバチの寄主発見から産卵まで	戒能 洋一	31
抗血清を利用した糸状菌病の診断	君島 悦夫・小林 慶範・西尾 健	36
センノカミキリの生態	阿久津喜作	43
病害虫発生予察情報のオンライン化	横田 敏恭	48
いもち病の研究に供試する菌株について	山中 達	51

植物防疫基礎講座

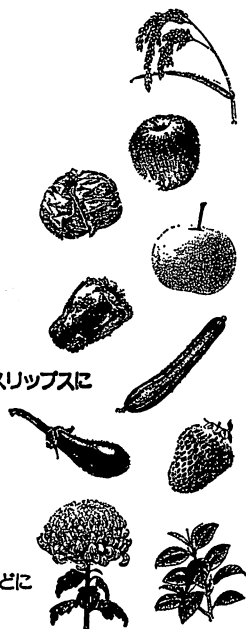
病害虫防除のための統計学 (7)	
非線型最小二乗法	宮井 俊一 52
紹介 新登録農薬	47, 56
新しく登録された農薬 (62.7.1~7.31)	5
学界だより	30
協会だより	42
人事消息	30
次号予告	50



「確かさ」で選ぶ…バイエル農薬

- いもち病に理想の複合剤
ヒノラフサイド®
- いもち病の予防・治療効果が高い
ヒノザン®
- いもち・穂枯れ・カメムシなどに
ヒノバイジット®
- いもち・穂枯れ・カメムシ・ウンカなどに
ヒノラフバイバッサ®
- 紋枯病に効果の高い
モンセレン®
- いもち・穂枯れ・紋枯病などに
ヒノラフモンセレン®
- イネミズ・カメムシ・メイチュウに
バイジット®
- イネミズ・ウンカ・メイチュウに
バサジット®
- イネミズ・ドロオイ・ウンカなどに
ガンサイド®
- イネミズ・ウンカ・ツマグロヨコバイに
D.S.ダイシストンガンサイド®

- さび病・うどんこ病に
® バイレトン®
- 灰色かび病に
® ユーパレン®
- うどんこ病・オンシツコナジラミなどに
® モレスタン®
- 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
® バイエルホルドワ®
[クスラヒットホルデ]
- コナガ・ヨトウ・アオムシ・ハマキムシ・スリップスに
® トクチオン®
- ミナミキイロアザミウマに
® ホルスター®
- 各種アブラムシに
® アリルメート®
- ウンカ・ヨコバイ・アブラムシ・ネダニなどに
® ダイシストン®
- アスバラガス・馬鈴しょの雑草防除に
® センコル®



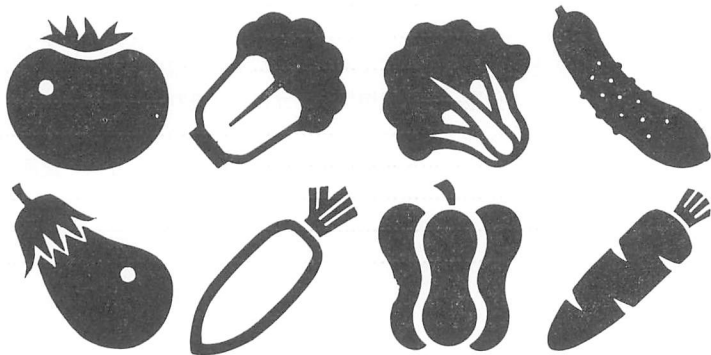
®は登録商標

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！



武田の野菜農薬



●キャベツ・はくさいのコナガ防除に

パダン[®] 水溶剤

●園芸作物害虫の基幹防除に

武田オルトラン[®] 水和剤
粒 剤

●イチゴ・ナス・スイカのハダニ類に

武田オサダン 水和剤 25

●キャベツのハスモンヨトウに

ランネート^{*}45 水和剤
「タケダ」

●速効性のアブラムシ防除剤

武田ピリマー^{*} 水和剤

●野菜・茶の害虫に

ナパール[®] 水和剤

●野菜・稲の害虫に

ルーバン[®] 水和剤

●野菜・茶の害虫に

フローピア[®] 水和剤

●速効性の野菜・茶の害虫防除剤

キーデックス[®] 水和剤

●アオムシ・コナガ・ヨトウムシなどに

武田 ペイオフ^{*} 乳剤

●新しい園芸作物殺虫剤

武田アクテリック^{*} 乳剤

●だいこんの亀裂褐変症に

バリダシン[®] 粉剤

●レタスすそ枯・いちご芽枯病に

バリダシン[®] 液剤

●野菜の灰色かび病・菌核病に

武田 ロブラー[®] 水和剤

●園芸作物病害の基幹防除に

武田 ダゴニール[®] 水和剤

●園芸作物の病害に

デュボン ベンレート[®] 水和剤

●畑の雑草防除に

武田 トレファアサイド[®] 乳剤

武田薬品工業株式会社

農薬事業部 東京都中央区日本橋2丁目12番10号

特集：茎頂培養とウイルスフリー化〔1〕

リンゴの茎頂培養とウイルスフリー化

——熱処理及び抗ウイルス剤との併用——

福島県果樹試験場 ^{やま}山 ^が家 ^{ひろ}弘 ^し士

はじめに

わが国のリンゴ高接病の病原ウイルスと寄生特異性の複雑な関係が YANASE (1973) らによって解明されて以来、植物防疫所を中心に母樹検疫体制が整備され、各県とも高接病ウイルスを保有していない母樹園の設置・指定が行われてきた。その結果リンゴ高接病の発生は大幅に減少し、高接ぎにより品種更新を円滑に進めることが可能となった。しかし、他方では病原性がないということから、apple chlorotic leafspot virus (CLSV-マルバ潜在系) や apple stem grooving virus (SGV) などについてはいささか軽視されてきたきらいがある。ちなみに福島県下で植栽されている品種“つがる”、“ふじ”について ELISA により CLSV, SGV を検定したところ、いずれも 100% が陽性であった。いうまでもなくこの CLSV はマルバカイドウに病原性のない系統である。このように全県的にウイルス感染樹が拡大したのは、国内で使用されているマルバカイドウがすでに CLSV, SGV に汚染されていたにもかかわらず、その繁殖性がきわめて優れているところから現在もおリンゴ台木として広く利用されているからであり、そのため台木から穂木への感染ルートが断ち切れないためである。そのほか高接ぎによる品種更新、育種年限短縮のための成木への高接ぎによる穂木の感染なども、永年性作物なるがゆえの宿命的な感染ルートである。これらのウイルスは接ぎ木により無病徴感染するため、人間がもっとも Powerful な Vector となって際限なくその感染域を広げていったものと考えられる。これらのことは決して本県だけの特殊事例ではないであろう。

これらのウイルスについてフリー個体を獲得するには、感染苗木を熱処理 (37~40°C) したのち先端部を切り取って実生台木に緑枝接ぎする CAMPBELL (1962a) の方法によるのが一般的である。この方法によってウイルスを除去するためには、CAMPBELL (1962b) も言及しているように熱処理期間の長さもさることながら、ウイル

スの増殖にとって不利な条件下でいかに新梢を急速に伸長させるかが重要なファクターとなる。すなわちこの方法は高温によるウイルスの増殖阻止効果により生じた新梢先端部の「拡大された無ウイルス域」を利用しているからである。この方法の欠点は耐熱性の弱い品種・台木に対し十分な加熱期間を与えることが困難なこと、また伸長量の確保も難しいことなどである。この難点を回避するため各研究者によって様々な改善策が報告されている。Wood (1972a) は 32°C の休止期間をはさみながら 2~3 回熱処理を行う方法により、もっとも耐熱性の強い SGV の除去に成功している。筆者らはより簡便で確実なフリー化技術を開発すべく 2, 3 の試みを行ったので、その結果について報告する。

I 茎頂培養によるウイルスフリー化

多くの草本植物について古くから茎頂培養によりウイルスフリー個体を作り出されてきた。わが国では森 (1969) らにより多くの作物について茎頂の大きさと除去されるウイルスの種類が明らかにされている。しかし木本植物については、このようなデータがないため、筆者 (1983) らはリンゴ品種“恵×紅玉”、“つがる”などを供試し、茎頂の大きさ $L_1=0.20\sim0.25$ mm, $L_2=0.30\sim0.50$ mm, $L_3=0.8\sim1.0$ mm, $L_4=4.0\sim5.0$ mm, $L_5=9.0\sim12.0$ mm 別に BA 1.0 mg/l 加用 MS 培地で培養し、5 か月後に増殖した苗条について ELISA により CLSV, SGV の検定を行った。その結果 L_3 以下に茎頂を切り取って培養すれば CLSV を確実に除去できることが明らかとなった。また L_5 の茎頂に由来する苗条も品種によってはすべて CLSV フリーとなった (第 1, 2 表)。この現象については HANSEN (1985a) らも言及しているように、CLSV が培養・増殖中に偏在化していくためではないかと推定されている。しかし、同じ苗条について SGV の検定を行ったところ、 L_1 の茎頂に由来する個体からも SGV が検出され SGV は除去されていないことが明らかとなった。

他方 HUANG (1980) らは SGV に感染しているリンゴから 0.1~0.2 mm 大に茎頂を摘出し In Vitro Micrografting の手法で SGV フリー・クローンを得ている。

Elimination of Apple Viruses by Shoot Tip Culture, Combined with Heattherapy or Ribavirin Treatment. By Hiroshi YAMAGA

第 1 表 “つがる” の摘出茎頂の大きさとフリー化状況 (5/22)

区 分	置床数	生 存 数 (被検数)	被検部位	CLSV 判定結果 (Abs)			SGV 判定結果 (Abs)		
				+	±	-	+	±	-
L ₁	20	11	苗 条			11 (0.25)	11 (0.75)		
L ₂	12	8	〃			8 (0.26)	8 (0.63)		
L ₃	12	8	〃			8 (0.26)	8 (0.67)		
L ₄	12	—	〃						
L ₅	15	4	〃			4 (0.19)	4 (0.95)		
Source tree		1	Bark	1 (5.31)			1 (0.31)		
Seedling		3	〃			3 (0.54)			3 (0.03)

第 2 表 “恵×紅玉” の摘出茎頂の大きさとフリー化状況 (6/22)

区 分	置床数	生 存 数 (被検数)	被検部位	CLSV 判定結果 (Abs)			SGV 判定結果 (Abs)		
				+	±	-	+	±	-
L ₁	12	1	苗 条			1 (0.34)	1 (0.58)		
L ₂	12	3	〃			3 (0.34)	3 (0.45)		
L ₃	12	11	〃			11 (0.35)	11 (0.49)		
L ₄	12	12	〃	10 (2.41)	2 (0.60)		12 (0.57)		
L ₅	20	10	〃	8 (3.37)	1 (0.77)	1 (0.43)	10 (0.59)		
Source tree		1	Bark	1 (2.47)			1 (0.25)		
Seedling		3	〃			3 (0.42)			3 (0.04)

このことは SGV が生長点 (Apical dome) 近くの組織にまで深く侵入していることを物語っているが、現在のところ、この大きさの茎頂を人工培地上で培養することは不可能である。そのため茎頂培養単独ではウイルス・フリー化のための有効な手段とはなり得ず、ウイルスの増殖・移行を効果的に阻止できる他のなんらかの手段と併用することが不可欠となる。

II 熱処理・茎頂培養併用によるウイルスフリー化

先に述べたように CAMPBELL (1962c) の方法は、熱処理した寄主から新梢先端部を切り取り、別に用意した実生台に緑枝接ぎしてウイルス・フリー個体を獲得するのであるが、徒手によって接ぎ木するために最小限 1.0~1.5 cm の新梢先端部が必要となる。この部分に無ウイルス域を作り出すためには 3~4 週間の加熱が必要であり、耐熱性の弱い品種などはこの間に高温障害により大半が枯死するか、あるいは接木ぎ後の活着率が著しく低下する。これを回避するため Wood (1973b) の方法が有効であるが、Heat Chamber の占有期間が長期にわたるため回転率の低下ならびに光熱費の増大を余儀なくされる。

現在のところリンゴで安定して培養できる茎頂部の大きさは 1.0 mm 前後であり、この部分が熱処理によって確実に無ウイルス域化できれば、これを培養すること

により容易にフリー・クローンが獲得できるであろう。このような観点から筆者 (1985) らは前処理として加熱を行った苗木から茎頂を切り出し培養する試験を行った。供試した材料は SGV に全身感染している鉢植えの 2 年生“ふじ”で 30°C で予備加熱し萌芽・伸長を確認したうえで RT. 37°C±0.5°C, RH. 50~70% の条件下で熱処理を行った。2W, 3W, 4W 後に加熱期間中の新梢伸長量を測定した後、実態顕微鏡下で 0.8~1.0 mm 大に茎頂を切り取り、BA 1.0 mg/l 加用 MS 培地に置床した。その後 40 日間隔で同一新鮮培地に継代した。4 回の継代後、十分に増殖した苗条の一部を切り取り F(ab')₂ 間接 ELISA により SGV の検定を行った。

その結果、新梢 No. 10-5, 1-2 に由来する苗条から SGV が検出されたが、ほかはすべて SGV フリーと判定された (第 3 表)。すなわち熱処理期間が 2W と短い茎頂でも加熱期間中の伸長量が 1 cm を超えるものはすべて SGV フリーとなり、熱処理期間の長さよりも、処理期間中の伸長量のほうがフリー化に与える影響の大きいことが判明した。またこの試験結果から茎頂部をさらに小さく切り取るにより、熱処理期間を大幅に短縮することも可能と推定される。なお同一ウイルスであっても寄主によっては同じ温度条件下でも不活化されるスピードの異なることが cucumber mosaic virus (CMV) について GAY (1967) らが明らかにしており、このことは当然リンゴについても当てはまるものと考えられ

第3表 熱処理期間・新梢伸長量とSGV フリー化状況 (品種:ふじ)

新梢 No.	37°C 加熱期間	37°C 加熱期間中の新梢長						ELISA Value OD-492	判 定
		加熱開始時	1 W後	2 W後	3 W後	4 W後	伸長量		
7-1	2 W	3.5 cm	7.5 cm	8.0 cm	cm	cm	4.5 cm	0.03	—
14-1	〃	4.5	8.0	8.0			3.5	0.02	—
15-1	〃	3.0	7.5	7.5			4.5	0	—
5-3	3 W	2.5	6.0	6.0	6.0		3.5	0.03	—
9-3	〃	2.5	6.5	6.5	6.5		4.0	0	—
10-5	〃	3.0	4.0	4.0	4.0		1.0	0.83	+
15-2	〃	0.5	4.5	5.0	5.5		5.0	0	—
1-2	4 W	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	1.0	0.71	+
3-1	〃	4.0	8.0	9.0	9.0	9.0	5.0	0.02	—
5-2	〃	2.0	4.5	4.5	4.5	4.5	2.5	0.05	—
6-3	〃	3.0	5.5	5.5	5.5	6.0	3.0	0	—
7-2	〃	3.5	7.0	7.5	7.5	7.5	4.0	0	—
10-4	〃	2.0	4.5	4.5	4.5	4.5	2.5	0.05	—
14-2	〃	2.0	5.0	5.0	5.0	5.0	3.0	0.05	—
Source tree								0.85	+
実 生								0.04	—

る。したがってここに示した条件が、他の品種・台木をフリー化するに当たって、普遍的に適用できる条件であると見なすのは早計であろう。

Ⅲ 抗ウイルス剤併用によるウイルスフリー化

Ribavirin (1-β-D-ribofuranosyl-1, 2, 4-triazole-carboxamide) は動物や人間の DNA, RNA ウイルスに対し広いスペクトルを有する合成スクレオシドである (WITKOWSKI et al., 1972)。

また植物ウイルスに対しても potato virus X (PVX) (LERCH, 1977), DHT との併用により CMV, PVX, tobacco mosaic virus, brome mosaic virus に対し単用で使用するよりも顕著な増殖阻止効果が見られている (SCHUSTER, 1981)。そのほか KLEIN (1983) らは Ribavirin を培地に添加してジャガイモの茎頂を培養した結果, PVX, potato virus S の除去に成功している。以上はいずれも草本植物での試験結果であるが、果樹関係では HANSEN (1982a) らが、あらかじめ Ribavirin を散布した *Chenopodium quinoa* に CLSV, SGV, など 8 種類のウイルスを接種し効果の有無を判定しているが、CLSV に対してのみ強く増殖阻止効果が見られ、SGV, Prunus necrotic ringspot virus, grape fanleaf virus, prune dwarf virus などに対してはなんらの効果も認めていない。

また生育期間中、7 日間隔で 500 ppm 溶液を散布したリンゴの 1 年生 苗木からは、翌春になっても CLSV

が検出されなかったことも併せて報告している。そのほか Ribavirin 添加培地でリンゴの茎頂を培養することによっても CLSV が除去できることを示した (HANSEN et al., 1985b)。

筆者ら (1986) は、SGV に対する効果の有無について再検討するために、Ribavirin 添加培地で SGV 感染苗条の培養を行った。供試材料は熱処理併用法で SGV を除去できなかった苗条 No. 10-5 ならびに No. 1-2 であり、試験開始直前に ELISA により SGV 陽性であることを再確認した。Ribavirin の添加濃度は 12.5 μg/ml, 25.0 μg/ml として標準培地 (MS, BA 1.0 mg/l) に添加後 15 分間オートクレーブを行った。処理期間は 40 日, 80 日, 120 日とし、各処理区で増殖した新しいシュートから任意の 1 本を選び、先端部 1.5 cm を切り取って 40 日間隔で新鮮培地に植え継いだ。対照区ならびに処理期間を完了したものは、同様にシュート先端部を切り取り標準培地に継代した。設計の概要は第 4 表のとおりである。25.0 μg 区では苗条がやや黄化しシュートの増殖数も低下する傾向が見られ、添加期間が長くなるほど枯死個体数が増加したが、12.5 μg 区では目立った被害は観察されなかった。

Ribavirin の残効が排除されたと考えられる 200 日後、240 日後に SGV を検定したところ、Ribavirin 添加培地で 80 日 (40 日×2 回) 以上継代処理した苗条は、濃度の高低にかかわらずすべてフリー化されていたが、40 日処理区では一部の個体から、また対照区は全個体から SGV が検出され、200 日後、240 日後の検定

第 4 表 試験区別 Ribavirin 添加ならびに移植・検定日程

試 験 区	処理開始	40 日後	80 日後	120 日後	160 日後	200 日後 ^{a)}	240 日後 ^{a)}
cont.	st	st	st	st	st	st	st
A	Rib	st	st	st	st	st	st
B	Rib	Rib	st	st	st	st	st
C	Rib	Rib	Rib	st	st	st	st

注 1) st : BA 1.0mg/l 加用 M. S. 培地 (標準培地)
2) Rib : 標準培地に Ribavirin を添加した培地
3) ^{a)} : ELISA 検定

第 5 表 Ribavirin 添加処理開始 240 日後の ELISA 検定結果

Rib. Conc. μg/ml	Source No. (SGV+)	対 照 区		A 区		B 区		C 区	
		+	-	+	-	+	-	+	-
0	1-2	10 (0.51)							
	10-5	10 (0.47)							
12.5	1-2			3 (0.39)	7 (0.007)		10 (0.006)		10 (0.007)
	10-5				10 (0.007)		10 (0.007)		10 (0.007)
25.0	1-2			1 (0.46)	9 (0.006)		8 (0.007)		8 (0.007)
	10-5				10 (0.006)		5 (0.007)		3 (0.007)

注 () はマイクロプレート・オートリーダーによる 660~492 nm 吸光度値

結果に異動はなかった。したがって、ここでは 240 日後の検定結果のみを表示した (第 5 表)。このように Ribavirin は CLSV だけでなく SGV についてもリンゴの生体内でその増殖を阻止する効果があり、Ribavirin 添加培地で増殖した新しいシュートの先端部がしだいに無ウイルス化されて行き、これを植え継いでいった結果、フリー化されたものと考えられる。このように本試験では HANSEN ら (1982b) の *C. quinoa* を材料にした試験と食い違う結果となった。これは Ribavirin の薬理作用が薬剤そのものの直接的な働きによるものではなく、寄主の代謝様式に深くかかわってウイルスの増殖を阻止することにあるため、寄主の異なる *C. quinoa* では効果が見られなかったのではないかと推定している。また本試験結果は、ウイルス感染苗木に生育期間中 Ribavirin を定期的に散布することによって、その先端部に「拡大された無ウイルス域」を作り出せる可能性を強く示唆しており、HANSEN (1982c) らのデータと併せ

て考えると、もっとも簡便な CLSV、SGV フリー化技術を開発するための手がかりを与えるものである。

お わ り に

筆者らはリンゴの既知ウイルス、接ぎ木伝染性病害が完全に除去された安全な種苗が供給できるよう、ウイルスフリー化技術を改善し、実用的な技術を開発してきた。しかし、熱処理・茎頂培養を併用する場合には培養室を設備する必要がある、cost 面から難点がある。また抗ウイルス剤の利用についても、一般に薬剤の効果がウイルスの種類によって特異的であり、この方法ですべてのウイルスを除去することは現時点では不可能であろう。近い将来、抗ウイルス・スペクトルが異なる数種の薬剤が開発されれば、現在よりもウイルスフリー化技術はいっそう簡便化され、健全種苗の作出・供給の効率化に大きく貢献するものと考えられる。

引用文献

- 1) CAMPBELL, A. I. (1962a) : Nature 195 : 520.
- 2) GAY, J. D. and C. W. KUHN (1967) : Phytopathology 57 : 459.
- 3) HANSEN, A. J. and L. GREEN (1982a) : Acta Horticulturae 130 : 183~184.
- 4) ——— and W. D. LANE (1985) : Plant Disease 69 (2) : 134~135.
- 5) HUAN, S.C. and D.F. MILLIKAN (1980) : Hortscience 15 : 741~743.
- 6) KLEIN, R.E. and C.H. LIVINGSTON (1983) : Phytopathology 73(7) : 1049~1050.
- 7) LERCH, B. (1977) : Phytopathology Z 89 : 44~49.
- 8) 森 寛一ら (1969) : 農事試験場研究報告 13 : 45~110.
- 9) SHUSTER, G. (1981) : Phytopathology Z 103 : 323~328.
- 10) WITKOWSKY, J. T. et al. (1972) : Journal of Medical Chemistry 15 : 1150~1153.
- 11) 山家弘士ら (1983) : 園芸学会研究発表要旨 昭 58 年度春季大会 : 78~79.
- 12) ——— ら (1985) : 同上 昭 60 年度春季大会 : 126~127.
- 13) ——— ら (1986) : 同上 昭 61 年度 春季大会 : 38~39.
- 14) YANASE, H. et al. (1973) : Acta Horticulturae 44 : 221~229.

新しく登録された農薬 (62.7.1~62.7.31)

掲載は、種類名、有効成分及び含有量、商品名(登録年月日)、登録番号〔登録業者(会社)名〕、対象作物:対象病害虫:使用時期及び回数などの順。(…日…回は、収穫何日前まで何回以内散布の略。)(登録番号 16838~16848 まで計 11 件)

『殺 虫 剤』

マラソン・NAC 水和剤

マラソン 30.0%, NAC 30.0%

リンナックル水和剤 (62. 7. 7)

16839 (八洲化学工業)

りんご: シンクイムシ類・ハアキムシ類: 30 日 4 回, なし: アブラムシ類・シンクイムシ類: 14 日 4 回, もも: アブラムシ類・シンクイムシ類: 7 日一回, みかん: コアオハナムグリ・ケシキスイ類: 21 日 4 回

MPP 油剤

MPP 0.67%

ファインケム油剤 (62. 7. 7)

16840 (東京ファインケミカル)

まつ (伐倒木): マツノマダラカミキリ幼虫

フルバリネート・NAC 水和剤

フルバリネート 10.0%, NAC 30.0%

マブリックナック水和剤 (62. 7. 7)

16842 (長瀬産業)

かんきつ: コアオハナムグリ・ケシキスイ類・ミカンハモグリガ・アブラムシ類・チャノキイロアザミウマ・カメムシ類: 45 日 2 回, なし: シンクイムシ類・ハマキムシ類・ナンチビガ・アブラムシ類・カメムシ類: 45 日 2 回, 茶: チャノコカクモンハマキ・チャノキイロアザミウマ・チャノホソガ・チャノミドリヒメヨコバイ・カンザワハダニ: 21 日 2 回, ばら: アブラムシ類, つつじ: ツツジグンバイ

『殺 菌 剤』

テウラム・ベノミル粉剤

テウラム 20.0%, ベノミル 20.0%

ベンレート T コート (62. 7. 7)

16838 (デュボン)

麦類: 斑葉病・腥黒穂病・裸黒穂病・条斑病: は種前粉衣

イソプロチオラン・フルトラニル粒剤

イソプロチオラン 12.0%, フルトラニル 7.0%

フジワンモンカット粒剤 (62. 7. 7)

16841 (日本農薬)

稲: いもち病・紋枯病: 出穂 10~30 日前 3 回

グアザチン・フサライド粉剤

グアザチン 1.0%, フサライド 2.5%

ラブサイドベフラン粉剤 25DL (62. 7. 27)

16845 (三共), 16846 (九州三共), 16847 (八洲化学工業)

稲: いもち病・穂枯れ (ごま葉枯病菌・すじ葉枯病菌)・稲こうじ病: 30 日 4 回

『殺虫殺菌剤』

ブプロフェジン・フルトラニル粉剤

ブプロフェジン 1.5%, フルトラニル 1.5%

アブロードモンカット粉剤 DL (62. 7. 27)

16843 (日本農薬)

稲: 紋枯病・ツマグロヨコバイ幼虫・ウンカ類幼虫: 14 日 3 回

クロルピリホスメチル・トリシクラゾール粉剤

クロルピリホスメチル 2.0%, トリシクラゾール 1.0%

ビームレルダン粉剤 DL (62. 7. 27)

16844 (クミアイ化学工業)

稲: いもち病・ニカメイチュウ・イネツトムシ・コブノメイガ: 45 日 2 回

MEP・フサライド粉剤

MEP 3.0%, フサライド 2.5%

ラブサイドスミチオン粉剤 3DL (62. 7. 27)

16848 (北興化学工業)

稲: いもち病・ニカメイチュウ・ウンカ類・コブノメイガ・カメムシ類: 21 日 7 回, 但し, 穂ばらみ期以降 4 回

特集：茎頂培養とウイルスフリー化〔2〕

モモ・ナシの茎頂培養とウイルスフリー化

福島県果樹試験場 むな かた たかし
宗 形 隆

はじめに

福島県におけるモモの栽培面積は約 3,380 ha, ナシは 1,470 ha であり, 両樹種とも当県の果樹産業にとって主要な地位を占めている。近年, 落葉果樹におけるウイルスの研究が進み, 汚染や被害の実態が少しずつ明らかにされつつある。それによると, 現在栽培されている核果類, 仁果類などは広くウイルスに汚染されており, 少なからず品質や生産性に悪影響を及ぼしているものと見られている。

そこで県内のウイルス汚染実態を明らかにするため, 昭和 56~61 年の 6 か年にわたり, 試験場内及び農家は場に植栽されているモモ・ナシについて木本指標植物と ELISA 法によりウイルスの検定を行った。その結果は第 1, 2 表に示すとおりである。さらにモモでは表に示した以外にモモ斑葉モザイク病について, 場内に植栽されている品種についてのみ肉眼による調査を行ったが, 約 70% に感染が見られた。また, モモ斑入病 (柳瀬ら, 1984) が農家は場の 大久保・白鳳 各 1 樹から発見された。その他ユスラウメ台木の生育不良, 枯死現象などウイルスによるものと考えられる症状が各地で散見された。ナシについても果肉が蜜入り症状を呈したり, 小玉果になるなど収穫が不可能になり, ついには樹が枯死してしまうなど, 直接的に被害を被るナシ萎縮病 (福島果樹試, 1983~85), セイヨウナシの一部品種に被害の大きい粗皮病 (落合ら, 1980) も発生面積が拡大しつつあることが判明した。

これらの調査結果から, モモについてはほとんどの樹が apple chlorotic leafspot virus (CLSV) かモモ斑葉モザイク病, あるいは両方のウイルスに汚染されているものと見られ, ナシについてもウイルスに汚染されていない樹を見付けることは非常に困難な状況にあるものと考えられる。

I 落葉果樹のウイルスフリー化方法

落葉果樹からのウイルス除去については, 従来熱処理法が用いられてきた。これはウイルスに感染している苗

Shoot Tip Culture for Obtaining Virus-free Peach and Pear. By Takashi MUNAKATA

木を, 人工気象室などを用いて 37~40°C の高温で 1~6 か月栽培し, その間に伸長した枝の先端部 0.5~2 cm を実生台木新梢に緑枝接ぎをするか, 挿し木をして発根させフリー母樹を得る方法である。

しかし, この方法ではウイルスによっては除去が難しいものがあることがわかってきた。そこでより高率に, より確実にウイルスのフリー化を行うために, 熱処理期間中に伸長した生長点近傍にはウイルスが存在しないことを利用した, 熱処理・茎頂培養併用法 (第 1 図) を用いるようになった。そのため, 各樹種とその品種, 台木における茎頂培養の確立が急がれている。

II モモ品種の茎頂培養法とウイルスフリー化

1 材料及び滅菌方法

野外生育中のモモ品種白鳳から新梢を 3~4 cm の長さ に採取し (なるべく晴天の日が良く, 降雨中や降雨直後は雑菌の発生が多くなるので避ける), 次の方法で滅菌した。次亜塩素酸ソーダ溶液 (有効塩素 0.5%) + Tween 20 (0.05%) に新梢片を 15 分間浸漬した後, 滅菌水で 3 回洗浄する。この枝片から長さ 0.2~0.3 mm (L_1), 0.8~1.0 mm (L_2) の茎頂を摘出して培養に供した。

2 初代培養と培養の確立

初代培養には, 1/2~1/4 濃度の MS (Murasige-Skoog の培地で無機・有機をすべて含む) にベンジルアデニン (BA) 0.2 mg/l, ショ糖 30 g/l, 活性炭 1~2 g/l を加え, オートクレープ前に水酸化ナトリウムで pH 5.8 (以降, pH はすべて 5.8) に調整した寒天 (DIFCO BACTO-AGAR 6.0 g/l) 培地を用いる。活性炭の添加は 1.0 mm 以下の茎頂の生存率を高めるためには不可欠である。ただし, この培地でも長さ L_1 程度の微小茎頂の生存率は 30% 以下である。上記の培地で 30~40 日間培養後, 多量要素 1/2MS, BA 0.5 mg/l, ショ糖 30 g/l の寒天 (以降, 寒天はすべて 6.4 g/l) 培地に移植する。この培地で伸長がおう盛になるが, シュートの分枝・増殖は顕著でない。

次に 50~60 日培養後, 同一条件培地に基底部を切除して移植する (シュートが増殖しても分割しないほうがよい)。培養条件は全期間, 26°C, 16 時間日長, 照度

第1表 福島県内のモモ品種及び台木における CLSV, PRSV, PDV の感染実態

品 種	検 定 数	感 染 個 体 数						
		CLSV	PRSV	PDV	CLSV PRSV	CLSV PDV	PRSV PDV	CLSV PRSV PDV
あ 白 大 ゆ 砂	354 224 207 76 15	336 166 133 20 15	2		17 2			
白 西 や 橋 武 倉 八 の 山 馬	10 21 4 3 2	9 4 2 2 2			1			
早 小 早 紅 川	11 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1 1 1 1						
布 浅 松 千 都	1 2 2 1 1							
さ 大 ヒ 大 秀	1 1 1 1 11							
早 生 ネ ク タ リ ン 1 号	1 1 1 1 1	6 1 1 1 1						
伍 桃 5 号	1 1 1 1 1		1 1 1 1 1					
ニ ュ ー ヨ ー カ ド	1 1 1 1 5							
フ レ ー パ ー ト ッ プ	5							
ネ ク タ レ ッ ド 1	1 1 1 1 1							
伍 桃 14 号	1 1 1 1 1							
興 Silverprolific 津	2 2 1 1 2							
お は つ	2							
計	992	709	7		20			

CLSV, PRSV, PDV とも ELISA による検定

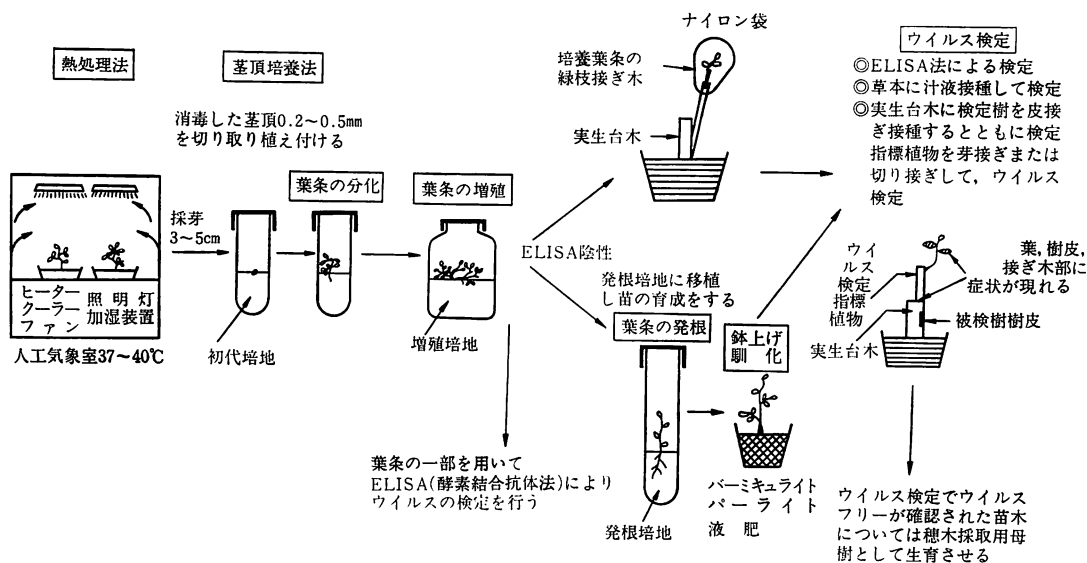
第 2 表 福島県のナシ主要品種におけるリンゴステムグルーピングウイルス、ナシペインイエロース病、えそ斑点病の感染実態

品 種	検 定 数	感 染 個 体 数						
		リンゴステムグルーピングウイルス (SGV)	ナシペインイエロース (PVY)	えそ斑点病 (PNS)	SGV PVY	SGV PNS	PVY PNS	SGV PVY PNS
二 十 世 紀 豊 水 幸 水	296	49	9	0	225	1	0	12
	299	17	0	0	166	1	0	115
	299	31	0	0	150	0	0	118

検定方法 SGV: ELISA 及び Virginia Crab による木本検定

PVY: Beurre Hardy, Nouveau Poiteau, Williams Bon Chretien による木本検定

PNS: HN 39 による木本検定



第 1 図 落葉果樹ウイルスフリー化のための熱処理・茎頂培養併用法

3,000 ルクスである。

3 増殖培養

前述の過程を経て増殖した 2~3 cm 程度のシュートを、3~4 本のシュート塊単位で切り取って増殖源とし、増殖培養を行う。この場合の培地には、初代培養の最終培地すなわち、多量要素 1/2MS, BA 0.5 mg/l, ショ糖 30 g/l の寒天培地を用いる。ただし、葉がやや黄化している場合にはインドール酪酸 (IBA) 0.01 mg/l 以下を添加すると有効である。また、増殖培養が確立した後は 1/2(KNO₃, NH₄NO₃)MS を用いたほうが、生育・増殖スピードともに早くなる。

4 発根培養

増殖培養で伸長したシュートを長さ 3 cm 程度に切り取って挿し穂とし、発根用培地に挿して発根させる。発根用培地には、多量要素 1/2MS, IBA 0.5 mg/l (この濃度は白鳳の場合で、品種により最適濃度に若干の差が

ある) ショ糖 30 g/l の寒天培地を用いる。IBA 濃度が低いと発根率が低く、高いと根が太く短くなって鉢上げの際活着不良になりやすい。

5 鉢上げ・馴化

試験管内で十分に発根生育させた苗を用い、ジフィーポットを使用してパーライト+バーミキュライト (1:2) の用土に鉢上げし、直後にベノミル 1,000~1,500 倍液を散布する。次に鉢をプラスチック育苗箱に入れて湿度を保つ。肥料は発根に用いた培養液 (ショ糖, IBA を除く) を 10 倍程度に希釈するか、市販のハイポネックス溶液を 400 倍に希釈して 1 週間に 1 回、3~4 週間散布する。その後、プラスチックのふたを徐々に取り去って馴化し、15~20 cm に伸長した時点で素焼きの鉢またはビニルポットに移植する。

6 CLSV, モモ斑葉モザイク病のフリー化

CLSV, モモ斑葉モザイク病を保有した苗木の白鳳を

32°C の人工気象室中で1週間予備加熱し、次いで 37°C で4週間処理を行った後、茎頂部約 1 cm を実生台木に緑枝接ぎをしたところ CLSV は完全にフリー化されていたが、モモ斑葉モザイク病はほとんどフリー化できなかった。次に、茎頂培養単独によるフリー化の試験を行ったところ 1.0 mm 以下の茎頂から育成した苗木はすべて CLSV フリーであった。また 1 cm 以上の大きさの茎頂由来のものでも培養が確立されるまでに 30% がフリー化されており、CLSV は増殖培養の過程内においても徐々にフリー化されていくことが判明した。モモ斑葉モザイク病についても CLSV 同様、1.0 mm 以下の大きさに茎頂を切り取り培養することによって、高率にフリー化できた。

これまでに L₂ 以下で茎頂培養が確立し、かつ CLSV がフリー化し、モモ斑葉モザイク病が症状を現していないモモ品種は、あかつき、ゆうぞら、日川白鳳、福島大玉白鳳、ちよひめなどである。

III ナシ品種の茎頂培養法とウイルスフリー化

1 材料及び滅菌方法

6 月上～下旬に野外生育中の幸水、豊水、ラ・フラン
ス、パートレットから新梢を約 3 cm の長さに採取し、

次の方法で滅菌した。次亜塩素酸ソーダ溶液（有効塩素 0.5～1.0%）+Tween 20（0.05%）に枝片を 10～20 分間浸漬した後、滅菌水で3回洗浄する（滅菌にエタノールを使用すると品種によっては培地に置床後褐変枯死したり、生育が悪いなどの影響が出ることもあるので避けたほうがよい）。この枝片から長さ 0.2～0.3 mm の茎頂を摘出して培養に供した。

2 初代培養

初代培養には、1/2(KNO₃, NH₄NO₃)MS に BA 1.0 mg/l を加えた寒天（DIFCO BACTO-AGAR の濃度は和ナシの場合 6.5 g/l、セイヨウナシで 5 g/l 前後が生育に良い）培地を用いる。一般にナシの場合伸長は遅いが、50～60 日で増殖培地に移植できる。

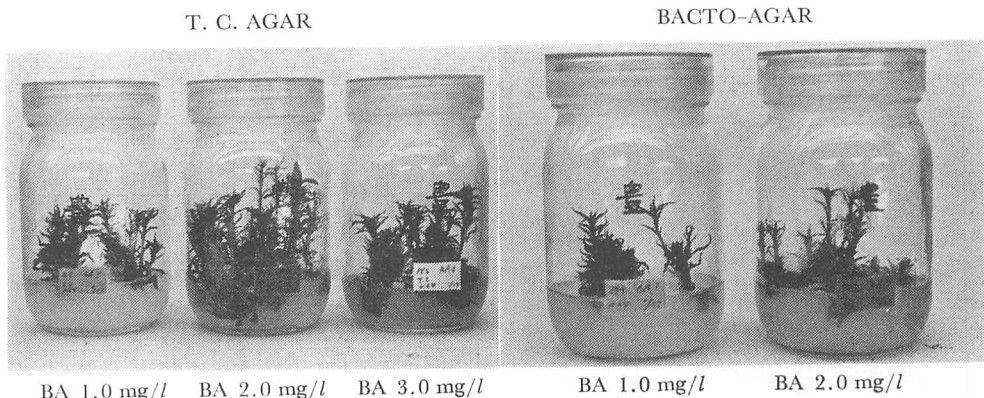
3 増殖培地

初代と同じ 1/2(KNO₃, NH₄NO₃)MS で BA 濃度を和ナシ 2.0 mg/l、セイヨウナシで 3.0 mg/l に上げた培地を用いる。寒天濃度は和ナシ 7 g/l、セイヨウナシ 5 g/l 前後が良いと思われる。和ナシでの増殖の程度は品種によって異なり、また使用する寒天の種類によっても生育スピード、増殖程度が異なった（第3表、第2図）。概して和ナシでは T.C AGAR を使用することにより生育、増殖が優れていた。セイヨウナシでは BACTO-AGAR のほうが適しており、品種間での生育、増殖差

第3表 ナシ品種豊水における寒天の種類と BA 濃度による増殖程度

BA濃度	寒 天 項 目	T. C AGAR		BACTO AGAR	
		反 復 数	1 cm 以上平均シュート数	反 復 数	1 cm 以上平均シュート数
BA 1.0 mg/l		15	6.4 本	13	4.0 本
BA 2.0 mg/l		15	11.2	7	6.8
BA 3.0 mg/l		15	7.4	—	—

分割移植 60 日後調査



第2図 豊水増殖試験

第4表 幸水発根条件の検討 (移植 30 日後調査)

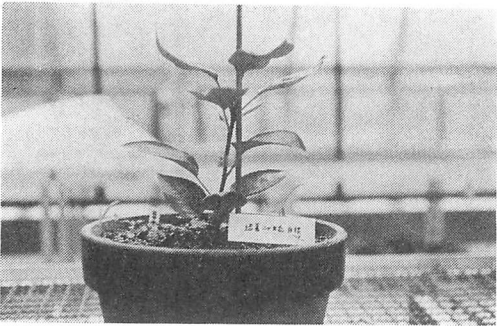
試 験 区			反復数	発 根 個体数	発根数 (平均)	発 根 長 (1 株平均)	根 の 形 状 ・ 他
A	H・フリー	→H・フリー	10	0	—	— mm	—
B ₁	H・フリー+PG	→H・フリー	10	0	—	—	—
B ₂	H・フリー+PG	→H・フリー+PG	10	0	—	—	—
C	IBA 0.1	→H・フリー	10	0	—	—	—
D ₁	IBA 0.1+PG	→H・フリー	10	6	2.2	63.0	主根細い、葉が成育不良
D ₂	IBA 0.1+PG	→H・フリー+PG	10	0	—	—	—
E	IBA 1.0	→H・フリー	10	7	3.8	59.0	主根やや太い、基部がカルス化する
F ₁	IBA 1.0+PG	→H・フリー	10	0	—	—	—
F ₂	IBA 1.0+PG	→H・フリー+PG	10	2	2.0	39.0	根は太いがしだいに腐ってくる
G	NAA 1.0	→H・フリー	10	4	1.75	60.1	根はやや太い、葉の生育良好
H ₁	NAA 1.0+PG	→H・フリー	10	2	2.5	56.0	根はやや太い
H ₂	NAA 1.0+PG	→H・フリー+PG	10	0	—	—	—

- 1) 各区とも移植後 6 日間の暗黒処理を行い、その後 A, C, E, G 区は H・フリー (ホルモン・フリー) の培地へ、B, D, F, H 区は H・フリー+PG 162 mg 培地へ移植。
2) IBA, NAA 2 mg の検討も行ったがいずれも基部にカルスが発達し不適當であった。

はあまり見られなかった。

4 発根培地

幸水の増殖培養で 3~4 cm 程度に伸長したシュート
を切り取って挿し穂とし、発根用培地に挿して発根させ
た。発根用培地には、多量要素 1/2MS、ショ糖 30 g/l
の寒天培地を用い、IBA、インドール酢酸 (NAA) の濃
度やフロログルシン (PG) の添加効果を調べた (第4
表)。これによると IBA (1.0 mg/l) の培地で6日間の
暗黒処理をした後、ホルモンフリーの培地へ移植した区
で発根率ももっとも高かったが、基部がカルス化するた
め鉢上げ時に根が脱落しやすかった。そのほか、いずれ
の区も同様の傾向が見られ、鉢上げ後に枯死する個体が
多く馴化がきわめて困難であった。PG の添加効果は見
られず、むしろ悪影響があるものと考えられる。セイヨ
ウナシでは野口ら (1984) の手法を用いたが、NAA (2.0
mg/l) 添加培地に 6 日間置床後ホルモンフリーの培地
へ移植することにより高い発根率が得られ、発根数・伸
長ともに良く鉢上げにも成功した。



第3図 二十世紀鉢上げ個体

第5表 熱処理・茎頂培養併用による SGV
フリー化状況

品 種	加熱 期間	反復 数	ELISA による 検定結果		
			+	±	-
二 十 世 紀	2W	4	0	0	4
	3W	1	0	0	1
新 水	10日	2	0	0	2
	2W	2	0	0	2
幸 水	2W	3	0	2	1
	3W	3	0	0	3
豊 水	1W	4	3	0	1
	10日	1	0	0	1
	2W	2	0	0	2
ラ・フ ラ ンス	2W	1	0	0	1
	3W	1	0	0	1
シ ル バ ー ベ ル	11日	4	2	0	2
	2W	4	3	0	1
	3W	5	1	0	4
マリゲリット・マリーラ	11日	2	0	0	2
	4W	5	0	0	5
グラント・チャンピオン	3W	3	0	0	3
パ ー ト レ ッ ト	3W	2	0	0	2
	4W	2	0	0	2
レッドパートレット	4W	1	0	0	1
	5W	2	0	0	2
	10W	2	0	0	2

- 1) 処理前検定ではすべて SGV 陽性
2) 熱処理は 32°C 1 週間予備加熱後 37°C 定温加熱
3) 採取した茎頂の大きさは 0.5~1.0 mm

5 緑枝接ぎによる鉢上げ・増殖

和ナシ発根個体の鉢上げ、馴化が困難であったので、実生台木の新梢に培養中の葉条を直接接ぎ木し、鉢上げを試みたところ幸水で 9/17 (52.9%) が活着し、その後の生育も順調であった。現在、和・ヨウナシのフリー化個体の育成には主にこの手法を用いている。

6 SGV のフリー化

現在植栽されているナシ品種のほとんどが感染しており、しかも ELISA 検定が可能である SGV を対照にしてフリー化の試験を行った。その結果、幸水の茎頂を 0.2~0.3 mm に摘出して増殖したものはすべて陽性反応を示し、茎頂培養だけでは SGV のフリー化は不可能であることが判明した。これに対し、熱処理併用法すなわち 32°C で 7 日間予備加熱処理をし（この期間に枝は急激に 10~15 cm 伸長する）、次いで 37°C で 1~10 W 加熱した後、0.5~1.0 mm の茎頂を摘出し、培養増殖させる。その個体を検定した結果は第 5 表に示すとおりで、ほとんどの個体が陰性となっており、SGV のフリー化に熱処理の併用がきわめて有効であった。ただし、山家ら (1985) が報告しているように加熱期間にはほとんど伸長しなかった枝由来の茎頂は、SGV がフリー

化されておらず、この期間にできるだけ長く伸長した枝から茎頂を採取することが、SGV フリー化にとって必要なことである。

おわりに

現在当県で行っているモモ・ナシにおける茎頂培養及びウイルスフリー化方法は以上述べたとおりであるが、今後研究が進むにつれて抗ウイルス剤使用による各種ウイルスのフリー化など、簡便な方法が適用できるようになる。また、培養中の植物体は環境の制御が比較的簡単なことと、培地中への変異源添加処理がしやすいことなどから育種への応用もおおいに期待できる。

引用文献

- 1) 落合政文・林 重昭 (1980): 日植病報 46(3): 417
- 2) 野口協一ら (1984): 寒冷地果樹に関する試験成績計画概要集(病害) 51~58.
- 3) ————ら (1985): 同上 33~34.
- 4) 福島県果樹試験場 (1983): 昭和 58 年度業務報告 133~138.
- 5) ———— (1984): 昭和 59 年度業務報告 116~122.
- 6) ———— (1985): 昭和 60 年度業務報告 137~144.
- 7) 柳瀬春夫・山家弘士 (1984): 日植病報 50(3): 435.
- 8) 山家弘士ら (1985): 60 年度園芸学会 春季講要 126~127.

「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

本会発行図書

農 林 害 虫 名 鑑

日本応用動物昆虫学会 監修

3,000 円 送料 300 円 A 5 判 本文 307 ページ ビニール表紙

日本応用動物昆虫学会の企画により、45 名の専門家が分担精検して、農林関係の重要害虫 2,215 種を収録した名鑑である。既刊の「農林病害虫名鑑(昭和 40 年)」を改訂し、編集に新しい工夫がこらされている。第 1 部では系統分類的に重要害虫(学名・和名・英名)がリストアップされ、第 2 部では農作物・果樹・花卉・林木・養蚕・貯蔵食品・繊維など 225 に分けそれぞれの害虫が示され、第 3 部は完璧な索引である。簡明、便利、かつ信頼して使える害虫名鑑であり、植物防疫の関係者にとって必携の書である。

特集：茎頂培養とウイルスフリー化〔3〕

ブドウの茎頂培養とウイルスフリー化

佐賀県果樹試験場 ^{まだ}貞 ^{まつ}松 ^{みつ}光 ^お男

Ⅰ ウイルスフリー樹作出の背景

わが国でブドウのウイルスが関心を持たれたのは、1960 年ごろから山梨県下の甲州種で問題になっていた味無果病がウイルスに起因することが明らかになってから（矢野ら，1979）であろう。味無果病は果実以外では外観健全樹との差は認められないが、果実成分、特に糖度が外観健全樹より 5～6 度低いのが特徴である。ブドウの商品価値には糖度が大きく影響するため糖度を上げるための栽培技術に意を注いでいる一方で、ウイルスによって糖度が著しく低下するという事実は、関係者に大きな衝撃を与えた。味無果病については、その後、難波ら（1979）はこれに関与するウイルスとして味無果ウイルス（GAV）の存在を報告した。一方、寺井ら（1985）はリーフロール病とフレック病のそれぞれの病原（前者を GLR、後者を GFL と略称）の複合感染によるとしており、GAV は GFL と同一である可能性を示唆している。他方、日本で栽培されている他の経済品種についてもウイルスの保毒検定がなされ、ほとんどが 1 種類以上のウイルスを保毒していることが明らかになり、優良系統として取り扱われているものの中にはある種のウイルスを保毒しておらず、そのために品質が向上したのではないかと考えられるものもあって、ウイルスフリー樹への関心が急速に高まった。

主産県の山梨県では、いち早く（昭和 51 年）「ぶどうウイルス対策協議会」を発足させ、「ぶどうウイルスフリー苗供給システム」に基づき、昭和 65 年までに全栽培面積の 40% をウイルスフリー苗に改植すべく、県を挙げて事業推進にあたっている。

一方、九州のブドウは全国の約 13% の栽培面積を占めるが、ウイルス問題については立ち遅れを否めなかった。特に、栽培の多い巨峰群では赤熟れ現象に悩まされ栽培管理面からの検討がなされてきたが、成熟期における高温という避けられない自然現象の壁にぶつかっていた。それが、赤熟れにウイルスも関与するということがわかり（田中，1981）、同時に山梨県の体制にも刺激を受けて、農水省果樹試験場口之津支場、九州各県果樹試

験場が検討の結果、九州農政局の協力を得て、九州でもブドウのウイルスフリー樹の作出を図ることになった。これが昭和 56 年のことである。佐賀県においてもこの事業の一環として栽培面積の約 8 割を占める巨峰についてフリー化を図った。器具や設備が整わない中での仕事であったので失敗も多かった。目的がフリー苗を得ることによってフリー化の手法を検討することにはなかったもので、公表されたフリー化の手法をたどった。ここに数少ない試験成果ではあるが、それらを参考に供するとともにカンキツも同時にフリー化を試みてきた中で、フリー化に伴う周辺技術や最終目標達成のためのシステム作りなど、新たに生じた問題点についても提起したい。

Ⅱ ウイルスフリー化の実際

1 フリー化の対象としたウイルス病

世界中で知られているブドウウイルス病は約 30 種とされているが、日本ではそのうちの約 10 種が知られている（ウイルス類似病害を含む）。この中には、品種や地域に偏在するものもあるため、広範囲に分布して経済的損失を与えるウイルス病の種類は限られる。ここでは、巨峰で広く分布が知られ被害も大きいとされる GLR と GFL（GAV を含む）をフリー化の対象とした。もっとも、検定植物として St. George と LN-33 を用いるので、このほかに、ファンリーフウイルス（GFV）やコーキーバーク（GCB）も検定できるが、フリー化しようとする母樹はこれらを保毒していないと判断した。たとえ保毒していたとしても、検定によって除かれるわけである。

2 フリー化対象品種

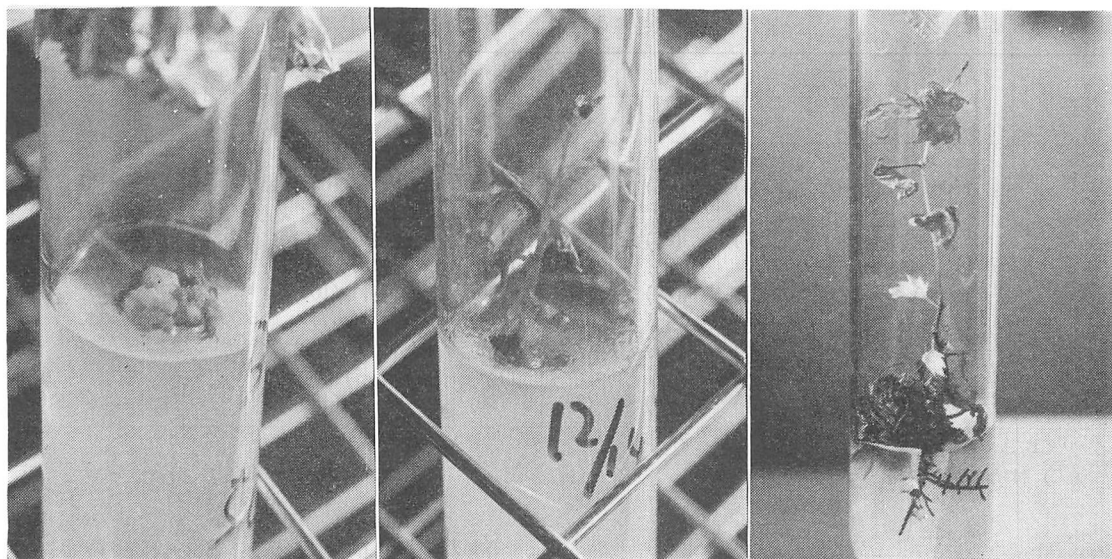
巨峰は県内で選抜した優良とみなされる 1 系統と台木用品種の 5BB、5C、8B、1202 の挿し木苗を鉢上げしたものを対象とした。台木用品種はとりあえず入手できたものについて行った。

3 フリー化の方法

フリー化の方法には熱処理法と茎頂培養法があるが、単独処理より両者を併用したほうがよりフリー化率が高まるのではないかと考え、まず熱処理を行い、その後に茎頂培養を行った。

熱処理は鉢植えの供試品種を人工照明装置付き

Virus-free Grapevines Through Shoot Tip Culture.
By Mitsuo SADAMATSU



A 期 (茎頂部の緑化・肥大期)

D 期 (小葉の展開・伸長期)

F 期 (地上部, 地下部の伸長期)

第1図 発育ステージ

(2,000 ルクス)の人工気象室内で昼間(12時間)38°C, 夜間(12時間)35°C 下で約8週間処理した。

茎頂培養は熱処理期間中に伸長した新梢を切除し, 次亜塩素酸ナトリウム液(3%)に浸漬し, 約5分間振とうしながら表面殺菌した。これを殺菌水で数回洗浄した後, 腋芽の茎頂部を実態顕微鏡下でメスを用い無菌的に約0.2mmの大きさに摘出し培地に置床した。ブドウの茎頂培養用の培地組成は研究者によって異なるが, ここでは笹原ら(1981)の処法によった。すなわち, 基本培地は1/2濃度のMS培地を用い, 茎頂部の緑化・肥大期まで(A期)はこれにNAA 0.1 mg/l, BA 1.0 mg/l, カイネチン 0.5 mg/l, アデニン 4.0 mg/l, ショ糖 30 g/l, 寒天 6.0 g/l を加用し pH 5.8 とした。A期から奇形葉形成期まで(B期)は基本培地のほかに1 AA 0.2 mg/l, BA 1.0 mg/l, カイネチン 0.5 mg/l, アデニン 4.0 mg/l, ショ糖 30 g/l とし, B期から多数の芽の形成, 伸長期まで(C期)はB期と同じ培地。C期から小葉の展開・伸長期まで(D期)は前記の培地組成のうち, BA を 0.5 mg/l, ショ糖を 15 g/l に減じたものを用い, D期から発根の誘導期まで(E期)はGalzy培地(1964)にNAA 0.1 mg/l を添加したもの, E期から地上部, 地下部の伸長期まで(F期)はGalzy培地のみを用いた。培養は既存のガラス張り恒温器の外側に蛍光灯を取り付け連続照射とし27°Cで行った。次の培地への移植は各生育ステージに到達したものから順次行った。

馴化はF期に達し根長が5cm以上になったものをしていねいに取り出しパーミキュライトを入れた植木鉢に植え付け, 全体をビニル袋で包んだ。これを室内において順次ビニル袋に穴を開け, 約1か月かけて馴化した(G期)。馴化が終わったものは鉢から育苗ほにおろした(H期)。育苗ほは網室内に設け, パーミキュライトや鹿沼土などを混和して用土とした。

4 発育ステージ別再生個体の到達率

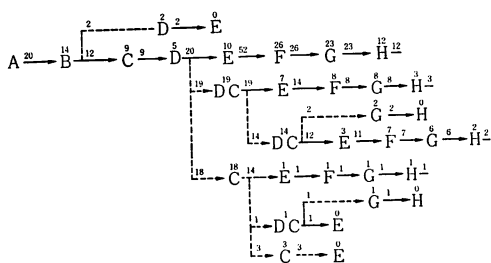
供試品種の各発育ステージ(A~H期)への到達数と到達率は第1表に示したとおりである。巨峰についてはさらに詳しい成績を第2図に示した。そこで, まず, 結果を第1表及び第1図により巨峰について述べる。茎頂部を20個体摘出し置床したうち, 肥大・緑化してA期に至ったのは70%の14個体であった。これらをB期の培地に植え接ぎ奇形葉の形成を見たのが正規ルートで75%であった。このようにして, C期:56%, D期:50%, E期:50%, F期:88%, G期:52%となり苗床に定植したのが12本であった。途中の到達率にかかわらず20個体から出発して12個体が得られたのは, 発育の過程で再生分化が見られたのでメスで無菌的に分割し供試個体を増やしたためである。なお, 分割してみると, 中に生育が進んだものや遅れたものがあった。そこで, 第1図の再生ルートに示したように, 例えばB期の段階で生育の進んだ2個体を得られたのでC期の培地を通り越してD期の培地に移植した。しかし, これらは次の発育ステージに進まなかった。同じように, D期で

第 1 表 供試品種の茎頂培養における発育個体数

品 種 名	正規ルートによる各発育ステージへの到達数								再生ルートによる H 期到達数	H 期到達総数
	A	B	C	D	E	F	G	H		
巨 峰	14/20 ^{a)} (70%)	9/12 (75%)	5/9 (56%)	10/20 (50%)	26/52 (50%)	23/26 (88%)	12/23 (52%)	12/12 (100%)	6	18
5 B B	18/20 (90)	14/18 (78)	7/15 (47)	6/7 (86)	4/6 (67)	4/4 (100)	3/4 (75)	3/3 (100)	0	3
8 B	14/18 (82)	6/14 (43)	4/6 (67)	4/5 (80)	4/4 (100)	4/4 (100)	1/4 (25)	1/1 (100)	0	1
5 C	19/20 (95)	16/19 (84)	15/17 (88)	6/15 (40)	5/7 (71)	3/5 (60)	2/3 (67)	2/2 (100)	0	2
1202	22/22 (100)	18/22 (82)	15/21 (71)	6/15 (40)	2/6 (33)	1/2 (50)	1/1 (100)	(1/1) (100)	1	2

a) B/A, A: 置床個体数, B: 発育個体数.

() はその発育ステージへの到達率



第 2 図 巨峰の茎頂培養ルートと発育個体数

→正規ルート,再生ルート, A~H: 発育ステージ (本文参照)

→発育ステージ→ m: 置床個体数 n: 発育(到達)個体数, DC: B, C 期に用いた培地組成のうちシロ糖を 15 g/l に減じたものを用いた。

生育が遅れた個体が得られたので, C 期ないし DC 期の培地に戻した。これらも正規ルートほどには次の発育ステージへ進まなかった。

巨峰以外の台木用品種については第 1 表に見られるように, 各発育ステージへの到達率は品種間に大差なく巨峰と同一傾向を示した。しかし, 巨峰のように再生分化しなかったので得られた個体数は少なかった。

茎頂培養の効率をあげるにはまず培地組成が問題になる。ブドウの茎頂用培地に関する報告は多数にのぼるが, 大部分は基本培地に MS (希釈) 培地を用いており, これに発育ステージによって植物ホルモンの種類やシロ糖の加用濃度を変えたものがほとんどである。培地組成は品種によって異なり (山川ら, 1986), 黒井ら (1985) は, 巨峰の茎頂培養用培地について検討を加えているが, 再生個体獲得率は筆者が用いた培地と大差ないように思われる。

筆者の成績で問題なのは, 馴化の段階での損失である。巨峰ではこの段階で半数が失われている。馴化には用土や管理技術が伴う。用土は一般に人工土 (パーミキュライト, パーライトなど) が用いられる場合が多い。しかし, 用土だけで片づくものではないので, 管理上のコツと経験が必要になる。病害もよく発生する。筆者も最近はかなりじょうずになったと思うが, まだルーチンワークとするまでには至っていないのが残念である。

5 再生個体のウイルス検定

ウイルスフリー個体を得る方法のうち, 熱処理法によるウイルスフリー化は, 田中ら (1981) は GLR について, 無病微個体が全体の 22% (28 本) 得られ, これを検定した結果 3 個体だけがフリー化されていたという。井理ら (1982) は 27.3%, 西島ら (1985) は 6 個体中 2 個体がフリーであったとしている。一方, 茎頂培養によるフリー化率は, 井理ら (1982) は 80.4% であったとしており, 熱処理法よりはるかに高いフリー化率である。筆者は熱処理法と茎頂培養法を併用することによって多くの種類のウイルスを高率にフリー化できるのではないかと考えた。

得られた再生個体について, 検定植物として LN-33 と St. George を用いて生物検定を行った。LN-33 で GLR と GCB を, St. George で GFV と GFL を検定できる。今年で 3 回目の検定を実施中であるが, 2 年目の検定で 26 本中 1 本 (5BB) に GFL の反応らしいものが生じた。3 年目の今年はこれらにいくつかの検定植物を加え精査しているので, 今年中に結論が下せそうである。もし, 1 本だけがウイルスを保有していたとなるとフリー化率は 96% となり, 併用法の効果があつたとみるべきであろう。したがって, 近年は併用法が行わ

第2表 ウイルスフリー化した巨峰果実の形質

区	果房重(g)	着粒数	果径(mm)		1粒重(g)	果芯長(mm)	糖度	酸	糖酸比	種子数	果皮色			
			長径	短径							カラーチャート	L	a	b
フリー対照	294.7	24.7	29.4	26.0	12.1	8.9	19.1	0.365	52.6	2.0	10.5	6.3	8.2	0.8
	208.6	25.5	27.2	25.1	10.4	8.7	12.2	0.583	26.2	1.1	6.9	12.3	7.0	0.7

対照はフリー樹に隣接して植えられている樹で、フリー樹の母樹ではない。
1986年8月29日調査

れる場合が多いが、併用法も GFV は抜けやすいが、GLR (Monette, 1984) や yellow speckle (BARLASS ら, 1982) は抜けなかったという報告もあり、なお検討を要する。

6 ウイルスフリー樹の果実形質

昭和 57 年に苗床に下ろした個体から自根苗を作り、一般は場に定植していたうちの 1 本が、昭和 61 年になって果実形質を調査できる程度に結実したので、隣接の保毒樹と果実の形質を比較した。ウイルスフリー化樹は初結果でしかも過結果状態 (通常の約 2 倍量の結実) にあったが、第 2 表に見られるように、保毒樹に比し 1 果房当たりの着粒数はほとんど変わらないのに対し、果粒が大きいために果房重は重くなっている。また、糖度は明らかに高く、酸は逆に低かった。果皮色は紫黒色を帯び保毒樹と大きな差が認められた。ただし、種子数はフリー化樹が多かった。ここでの保毒樹はフリー化した母樹ではないのでフリー化によってどの程度形質が変わったかは明らかではないが、通常栽培されている巨峰のそれと比較すれば格段に優れた高品質を備えているといえる。

ウイルスフリー樹の果実形質について、山川ら (1983) の Cabernet Franc, 山川ら (1982), 西島ら (1985) の甲州についての調査結果を見ても、前述と同じ傾向が認められている。最近、業者の園でもウイルスフリー樹の結実を見ており、巨峰、ブラックオリンピア、ピオーネ、マスカットベリー A、ポートランド、ナイアガラ、ルビー オクヤマでも高品質果が得られている (植原, 1986)。このように、ブドウにおいてはウイルスフリー樹の果実は格段に優れた品質を有し、大粒になる、糖度が高い、果皮色が濃くなる、熟期が早くなるなど高品質性を高める性質を持ち、収量も増加するため、生産者としても 1 日でも早く導入を図りたいのは当然であろう。

III ウイルスフリー化とこれにかかわる問題点

ウイルスフリー化技術は、それが完成したとしても最

終目標が達成されたとはいえない。カンキツにおいても多くの県で無毒化施設が設置されフリー苗が作出されたが、それにもかかわらず一般は場への保毒苗の持ち込みを完全に防ぐことはできないでいる。これは、生産者が欲する品種を、必要とする量、必要とする時期にフリー苗で対応できなかったためである。佐賀県では、試験場で作出した母樹から団体の運営する品種開発センターで 1 年間増殖を図り、次年度は各農協営の増殖用ハウスで増殖し、3 年目には生産者の手に渡す、短期大量増殖システムによってある程度成功したように思う。山梨県が「ぶどうウイルス苗供給システム」を策定し、計画的にフリー苗への改植を進めているのは当然のことといえる。この場合、できるだけ短期間で生産者の必要とする量を供給できるようなシステムにしなければならないが、これには短期大量増殖技術も必要になる。

1 大量増殖法にかかわる問題点

ウイルスフリー化の手法としてブドウでも茎頂接ぎ木法がある (ENGELBRECHT et al., 1979) が、大量増殖を兼ねるという点では茎頂培養法はるかに優れている。茎頂培養では置床個体数を増やす以外に培養の過程で分化中のものを分割して個体数を増やす方法がある。これについて今回いくらか検討を加えたが、本格的な試験ではなかった。この場合、大量増殖技術とは別に、このようにして再生した個体の遺伝的な変異の幅とその発生率が問題になる。ブドウではいろいろ説があるようだが、品種によっても結果がふれることが考えられる。この点の見極めが必要だがもし実用上問題になる変異があるとすれば、早期検定法が必要になる。これもないとすれば、早期に結実させて形質を確認後、穂木の増殖法や活着率の増進によって増殖を図らねばならない。

2 フリー化技術と検定法にかかわる問題点

フリー化技術を真に実用的なものにするには、再生した全個体がフリーとなる方法を確立する必要がある。熱処理法、茎頂培養法のほかに薬剤処理法も考えられている (MONETTE, 1984) がいずれも単独処理では不十分であるので、これらの処理を組み合わせる場合の条件を検

討して 100% フリー化できる条件の確立が欲しい。もし、これが不可能となるとフリーか否かの検定に時間を要する。生物検定では早期検定法 (寺井ら, 1984) もあるが、再生個体が検定のために接ぎ木できる大きさになるまでかなりの期間を要する。ELISA 法はその点、検定が短期間で可能であるが GFV や GAV (難波, 1986) など一部のウイルスに限られる。今後多くのウイルスについて精度の高い早期検定法の確立が望まれる。

3 台木にかかわる問題点

ブドウは台木と穂木で品種が異なる。穂木品種に対して栽培上もっとも適合した台木品種を探索すべく多くの台木試験がなされたが、ウイルス保毒という条件でなされたため台木試験は振り出しに戻った。フリー樹どうしの台木試験結果がでるまではまだ時間を要するので、その間は自根苗ということになるが、各地でフィロキセラの発生も増加しており、栽培上の問題点も大きいので、できるだけ多くの場所で試験がなされ早期に結果が得られることが望まれる。

4 ウイルスの伝播にかかわる問題点

ブドウウイルスにはまだ伝播方法が明らかにされてい

ないものがある。ここで問題にした GLR や GFL もしかりである。vector の存在次第では対応策を変えねばならない。ウイルスフリー個体も各地で得られていることであり、試験研究の早い進展が望まれる。

引用文献

- 1) BARLASS, M. et al. (1982): Ann. Appl. Biol. 101: 291~295.
- 2) ENGELBRECHT, D. J. and URSULA SCHWERDTFEGER (1979): Phytophylactica 11: 183~185.
- 3) GALZY, R. (1964): Ann. Epiphyties 15: 245~256.
- 4) 井理正彦ら (1982): 日植病報 48: 685~687.
- 5) 黒井伊作・澤田吉男 (1985): 園学雑 54: 1~8.
- 6) MONETTE, P. L. (1984): Comb. Proc. Int. Pl. Prop. Soc. 33: 90~100.
- 7) 難波成任ら (1979): 日植病報 45: 70~73.
- 8) ——— (1986): 日植病報 (講要) 52: 557.
- 9) 西島 隆ら (1985): 山梨果試研報 6: 101~106.
- 10) 笹原宏之ら (1981): 園学雑 50: 169~175.
- 11) 田中寛康 (1981): 今月の農薬 25: 42~45.
- 12) ———・難波成任 (1981): 日植病報 (講要) 47: 413.
- 13) 寺井康夫ら (1984): 同上 50: 433.
- 14) ———・矢野 龍 (1985): 山梨果試研報 6: 95~98.
- 15) 山川祥秀ら (1982): 園学雑 50: 454~460.
- 16) ———・守屋正憲 (1983): 同上 52: 16~21.
- 17) ———ら (1986): 山梨大醸酵施設報 21: 7~15.
- 18) 矢野 龍・寺井康夫 (1979): 日植病報 (講要) 45: 568.
- 19) 植原宣紘 (1986): 果樹種苗 24: 10~17.

本会発行図書

新 版 土 壌 病 害 の 手 引

「新版土壌病害の手引」編集委員会 編

B5 判 349 ページ 上製本

定価 6,000 円 送料 350 円

長く親しまれてきた「土壌病害の手引」旧版を新しく書き直し、全面的に改訂しました。土壌病害全般にわたって、基礎から応用までを詳しく解説しております。土壌病害研究の専門家はもちろん、学生、普及所、試験場など幅広い方々にご利用いただけます。

内 容 目 次

- 第1章 土壌病害とは
 - 土壌病害と病原/土壌病害の特色/土壌病菌の特色/防除の特殊性
- 第2章 土壌病害の診断
 - 土壌病害の見分けかた/種々の土壌病害の見分けかた/病原の分離から同定まで (一般的手法)/種々の病原の分離と同定
- 第3章 病原の生態と発病のしくみ
 - 病原の生活環/土壌病害の発病環境/病原菌と土壌微生物、宿主植物との間の相互関係/土壌伝染性ウイルス病/線虫病
- 第4章 土壌病害の防ぎかた
 - 薬剤防除/物理的防除/生態的防除/抵抗性品種 (台木) の利用
- 第5章 土壌病害の実験法
 - 接種試験法 (接種法と調査法)/病原の検出と定量/病原の培養と保存/薬剤試験法/品種抵抗性検定法/生態実験法

付 録

文献/培地組成と作りかた/土壌病害用語解説/病名・病原名索引

お申込みは前金 (現金・振替・小為替) で本会へ

特集：茎頂培養とウイルスフリー化〔4〕

オウトウの茎頂培養とウイルスフリー化

山形県立園芸試験場 のぐち きょういち やまぐち さちこ おおぬま ゆきを
野口 協一・山口 幸子・大沼 幸男

近年、核果類果樹のウイルス病の種類、保毒状況などの実態がしだいに明らかになりつつある中で、わが国のオウトウにおけるウイルス病の研究はきわめて遅れをとっている。

わが国におけるオウトウ栽培が、当初から導入品種で構成されてきた歴史と、欧米におけるオウトウウイルス病の発生、被害実態を考えると、収量や品質の低下あるいは障害が、わが国においてもやがて表面化する恐れがある。

一方、オウトウ果実の輸入全面解禁を迎え、山形県では、産地の安定基盤を確立するため、茎頂培養によるウイルスフリー種苗を育成すると同時に、増殖培養による優良品種、台木の大量増殖を行い、早急に生産者に対する供給を実施しようと計画されている。

I わが国で認められたウイルス病

オウトウにおけるウイルス病の種類は、U.S.D.A. の Handbook No. 437 (1976), SMITH の Textbook (1972) 及び国際果樹ウイルス委員会で調査した結果をまとめると、総計 60 を数える (山口, 1977)。NÉMETH (1986) の最新書には、Sweet cherry (*P. avium*) で 38 種, Sour cherry (*P. cerasus*) で 22 種, 両者、重複しているものを除くと、オウトウでは総計 49 種のウイルス病が記載されている。

このうち、わが国では、PDV (Prune dwarf virus), PRSV (Prunus necrotic ringspot virus), GRM (Green ring mottle), LC (Little cherry) 及び CLSV (Apple chlorotic leaf spot virus) の 5 種類のウイルスあるいは接ぎ木伝染性の病原が確認されている。

PDV, PRSV (小畑ら, 1968a; 岸ら, 1969) とも、甘果オウトウでは明らかな症状は認められないが、混合感染すると収量の減退や生育障害の原因になるといわれ、現在追試中である。GRM は、感染しても病徴を現さない (小畑, 1986b)。LC は果実の着色が悪く、果粒が小さくなり、商品価値を失う。欧米では、かなりの被害が出ており、強制伐採により撲滅に努めている。わ

The Shoot Tip Culture for Producing Virus-free Sweet Cherry. By Kyoichi NOGUCHI, Sachiko YAMAGUCHI and Yukio OHNUMA

が国ではサトザクラに潜在感染している報告 (田中ら, 1966) があるが、甘果オウトウにおいては不明である。CLSV は潜在感染しており、病徴は見られない (宗形, 1982)。

II PDV, PRSV の感染実態

PDV については、小畑ら (1968a), 岸ら (1969), 宗形 (1983) の調査があるが、酸果オウトウの Montmorency で 100%, 高砂 (Rockport Bigarreau) は高率に保毒していることが確認されている。筆者らの、山形県内一般栽培園における調査においても、高砂が高率に保毒しており、その他の品種では認められなかった (第 1 表)。ただし、1984 年の調査では、佐藤錦で保毒樹が認められた。

PRSV は、小畑ら (1968a), 岸ら (1969) の調査で保毒樹は認められていないが、宗形 (1983) は、佐藤錦、高砂で低率ではあるが感染樹を確認した。筆者らは、1984 年に一般栽培園及び園芸試験物内は場、1985 年には一般栽培園を対象に調査を行ったが、一般栽培園の佐藤錦、ナポレオン (Napoleon Bigarreau) が低率ではあったが保毒していた (第 1 表)。場内の品種保存品種及び一般成木 385 樹を対象に調査した結果、保毒率は 3.6 % であった。その中で、No. 8 (山形園試育成品種)、

第 1 表 県内一般栽培園における PDV, PRSV の感染実態 (1985)

品 種	調査樹数	PDV 保毒率	PRSV 保毒率
高 砂	9	55.6%	0 %
佐 藤 錦	{ 8 ^{a)} 27	25.0 0	0 7.4
ナポレオン	{ 8 ^{a)} 21	0 0	0 4.8
大 紫	6	0	0
レ ニ ア	3	0	0
旭 光	2	0	0
南 陽	1	0	0
黄 玉	2	0	0
蔵 王 錦	1	0	0
日 の 出	1	0	0
ジャポレー	3	0	0
ナボ×佐藤	2	0	0
総 計	78	6.4	3.8

a) 1984 年調査

Guigne d' Annonay, Early Purple Guigne, 富士山は、その品種すべてが保毒しており、当初から感染していた疑いが濃い。そのほか、佐藤錦, Mummüt で感染が認められている。これら保毒樹の栽植は場における面的分布を見ると、孤立化しており、花粉伝染による感染の拡大は少ないものと思われる。本調査の結果では、PDV, PRSV の混合感染樹の例は見られなかった。

III ウイルスフリー化の方法

果樹など栄養繁殖作物のウイルスフリー化を図るには、保毒個体を熱処理し、その先端部を切り取って繁殖する方法が古くから行われてきた。最近、茎頂組織を試験管内で培養する方法が実用化している。

熱処理によるウイルス除去は、植物体が処理期間中に高温のため枯死する例があり、処理に長期間を要するウイルス病の場合は、フリー化が困難である。これを可能にする方法として茎頂培養法が脚光を浴びている。この方法は、無菌操作できる施設と高度な技術を必要とするが、その前に、おのおのの樹種、品種における培養系の確立が必須条件となる。

IV 茎 頂 培 養 法

甘果オウトウの茎頂培養については JONES and HOPGOOD (1979), LINEBERGER (1983), SNIR (1982) などの研究があるが、これらの研究はマイクロ繁殖法を主たる目的としているため、用いている茎頂の大きさは 1 mm あるいは 2~5 mm と比較的大きい。ウイルスフリー化を目的とする場合には、より小さな茎頂を培養することが重要となるので、筆者らは 0.2~0.3 mm 大の茎頂で培養可能な方法の確立を検討した。

1 材料及び方法

佐藤錦, ナボレオン及びアオバザクラの伸長中の新梢を採取し供試した。材料を Tween 20 (0.1%) 添加次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素 0.5%) で 10~15 分間殺菌し、無菌水で洗浄後、実体顕微鏡下で、長さ 0.2~0.3 mm 大の茎頂を摘出し培養した。基本培地は MURASHIGE and SKOOG (MS) 培地とし、培地のショ糖濃度 30 g/l, 寒天濃度 7 g/l, pH 5.8 に調整した。培養はすべて 23~26°C, 照度 3,000 Lux, 16 時間日長の条件下で行った。

2 培養確立

初代培養にはベンジルアデニン (BA) 0.1 mg/l を添加した 1/3 濃度の MS 培地が適当である。

基本培地として MS 培地のほか、LINSMAIER and SKOOG 培地, TABACHNIC and KESTER 培地, 石原修正

第 2 表 オウトウ初代培養培地の成分濃度が茎頂の生長に及ぼす影響 (1985)

培 地 組 成	生 存 率 (%)	平 均 生 鮮 重 (mg)
MS 無機多量, 微量, 有機要素 1/2 濃度	70	1.1
〃 〃 〃 1/3 〃	100	28.7
〃 〃 〃 1/4 〃	100	22.7
MS 無機多量要素のみ 1/3, 他は標準濃度	50	0.2
〃 〃 〃 〃, 他は 1/2	70	1.4

37 日間培養後の調査結果。各区 10 茎頂。

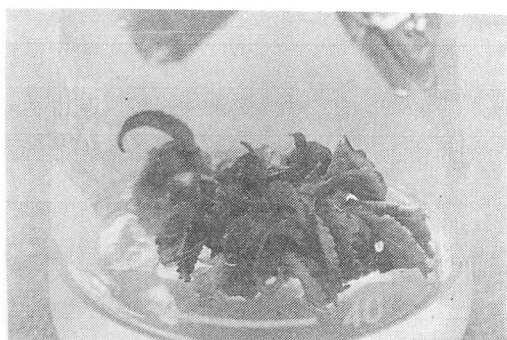
KNOP 培地の各培地を検討したところ、MS 培地を希釈した培地がもっとも適していた。しかもその希釈程度は培地の全成分を 1/3 濃度とした培地で生育が優れていた。また、無機多量成分のみを 1/3 濃度とし、他の成分の濃度を上げると茎頂の生育は阻害される (第 2 表)。

BA 濃度は、茎頂の大きさが 1 mm 程度の場合 0.5 mg/l で培養可能であるが、茎頂の大きさが小さくなるにつれてより低い濃度にする必要があり、0.2~0.3 mm 大では、佐藤錦及びナボレオンは 0.1 mg/l, アオバザクラは 0.1~0.5 mg/l が適している。

初代培養約 1 か月経過後、BA 0.3~0.5 mg/l を添加した 1/2 濃度の MS 培地に継代移植し培養する。培養確立に当たっては、茎頂の生育に応じて順次培地濃度及び BA 濃度を緩やかに上げていくことが重要である。例えば初代培養の 30 日間終始 1/4 濃度 MS 培地においたものと、2 週間後に 1/3 濃度 MS 培地に移植したものを比較すると、後者は生育、生存率が明らかに優れる。また、宗形 (1986) は初代培養に 1/4 濃度 MS 培地を用い、1 か月後標準濃度の MS 培地に移植した場合、一部のシュートが生育停止し、枯死することを認めている。これは小さい茎頂ほど生育に必要な培地濃度及び BA 濃度のレベルが低く、生育が進むにつれて、これらの要求量が順次高くなっていくためと考えられる。

3 増殖培養

シュートは長さ 1 cm 程度まで生長したときに増殖培養に移す。増殖用培地は BA 1~3 mg/l を添加した標準濃度の MS 培地を用いる。ただし、シュート塊を形成した個体を繰り返し継代して増殖する場合、標準濃度の MS 培地に比較し培地の無機多量成分を 1.5 倍濃度にした MS 培地で生育が優れ、シュートの増殖率も高い (第 1 図)。シュートの増殖は、充実したシュート塊を用いれば、1 か月後には 2~4 倍に増殖する。ただし、増殖培養時における個体の生育やシュートの増殖程度は品種により差が見られるので、各品種ごとにより適する培地組成や BA 濃度などについて検討する必要がある。



第1図 オウトウ(佐藤錦)の増殖培養

4 発根培養

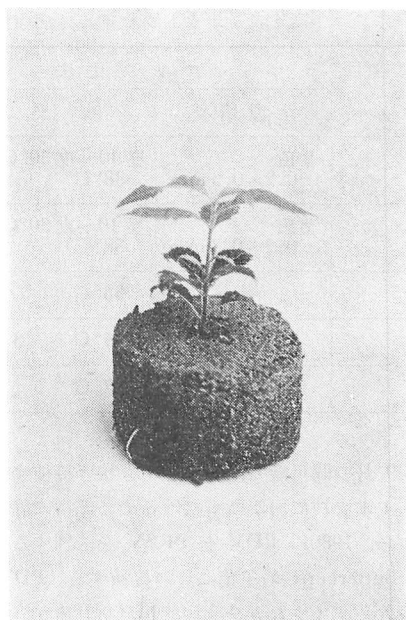
増殖培養で 2~3 cm に伸長したシュートをナフタレン酢酸ナトリウム (NAA) 0.1~0.3 mg/l を添加した 1/2 濃度 MS 培地に挿して発根させる。このとき充実したシュートを用いれば、70~80% の発根個体が得られる。

5 鉢上げ、馴化

発根した個体は、オートクレープ済みのパーミキュライトを入れた素焼き鉢に移植し、ハイポネックス (N : 5—P₂O₅ : 10—K₂O : 5) 400 倍液をかん注した後、ビーカーまたはビニール袋で覆い湿度を保つ。徐々に覆いを解き過度に乾燥しないように管理すれば、1 か月後には馴化した苗が得られる。鉢上げ、馴化の際の問題点は糸状菌の寄生による活着率の低下である。この防止対策について、宗形 (1986) は鉢上げ直後のベノミル 1,000 倍液散布が有効であるとしており、殺菌剤の散布は是非必要であると考えられる。

6 直接発根法

最近、リンゴでは培養シュートをオーキシジン処理した後、直接用土に挿して発根させる直接発根法が提唱され、試みられている (ZIMMERMAN and FORDHAM, 1985)。これは、*in vitro* の寒天培地で発根させた植物体は馴化率が低いため、それを改善する方法と併せて、繁殖作業の効率化を図る面から注目されている (石原ら, 1983)。この直接発根法をオウトウにおいて検討したところ、適用可能であった。すなわち、インドール酪酸 (IBA) 1,000 mg/l 50% エタノール溶液に 5 秒間浸漬処理するか、オキシペロン粉剤塗布処理した後にハイポネックス 400 倍液をかん注したオートクレープ済みのパーミキュライト・ピートモス混合土 (1 : 1) に挿し木する。そのほかに、IBA 0.3 または 1.0 mg/l を添加した 1.5 % ショ糖溶液に 3~6 日間暗黒下で浸漬処理した後、ハイポネックス 400 倍液を吸水させたオートクレープ済み



第2図 オウトウ台木の直接発根法による馴化個体

のジフィーナインに挿し木する方法でも可能である。挿し木したシュートは、3~4 週間ラップで覆った容器中で湿度を保ち、徐々に覆いの程度を解いて管理すれば 1~1.5 か月後には馴化した苗が得られる (第2図)。これらの方法による活着率は、*in vitro* での発根法に比較し同等以上であった。発生した根は寒天培地のものと比較して根毛が発達しており、馴化後の新梢の伸長程度も明らかに優れている。このように、直接発根法は種苗の効率的な繁殖法として優れている。今後、糸状菌の発生防止や、挿し木後の管理方法など細部を検討する余地があるが、*in vitro* での発根法に代わるものと考えられる。

以上のことから、オウトウにおける茎頂培養は、上記の方法で、0.2~0.3 mm 大に摘出した茎頂のほとんどが培養確立し、シュートの増殖、発根を経て馴化した苗を得ることができる (野口ら, 1987)。この方法は、佐藤錦、ナポレオン、アオバザクラ以外のオウトウ品種、台木に適用可能と思われる。

V PDV, PRSV の検定法

PDV, PRSV の検定法には、木本指標植物に対する接ぎ木、草本植物への接種及び ELISA 法による診断法がある (第3表)。

木本による検定は、八重ザクラの一種、白普賢を指標植物にし、保毒していれば接ぎ木部はヤニを分泌し、木質部がえ死する (岸ら, 1968 ; 小畑ら, 1968)。この方

第3表 オウトウウイルス病（接ぎ木伝染性病害も含む）のフリー化法と検定法

ウイルス病	フ リ ー 化 法		検 定 法		
	茎 頂 培 養	熱 処 理	木 本	草 本	ELISA
PDV	茎頂 0.2~0.3 mm	昼 40~夜 30°C 3 週間 38°C 2 週間	白 普 賢	カボチャ (Buttercup)	○
PRSV	茎頂 0.2~0.3 mm	昼 40~夜 30°C 3 週間 38°C 2 週間	白 普 賢	カボチャ (Buttercup) キュウリ (Chicago Pickling)	○
GRM		38°C 6 週間	関 山		
LC		37.5°C 3~4 週間	Sam, Canindex-I		
CLSV		37°C 20 日間	GF-305	Chenopodium quinoa	○

法は 4~9 月の間可能で、樹皮をそぎ接ぎ接種するだけでよく、1 本の枝に何か所も接げるので非常に簡便である (山口ら, 1980)。PDV と PRSV を区別するにはカボチャ (Buttercup) の子葉に汁液接種する。PDV であれば鮮黄色モザイクなど全身症状が見られるが、PRSV では接種葉に黄色輪紋が見られるが、全身感染は見られない (岸ら, 1968)。

直接 ELISA 法による検定 (PATPONG ら, 1982) は、あらかじめ IgG (PDV : 2.5 μg/ml, PRSV : 1.25 μg/ml) を吸着させたプレートを用意し、オウトウの葉または枝の樹皮に 10 倍量の磨砕液 (0.01 M PBS-Tween (pH 7.4) + 2% PVP + 0.2% DIECA + 0.2% ovalbumine) を加え、磨砕して試料液を作る。プレートに試料液と conjugate (PDV : 400 倍, PRSV : 1,600 倍) を加えて一晩静置後、洗浄して酵素基質液を加え、マイクロプレート光度計で吸光度を測定して判定する。この方法は大量のサンプルを検定するのに便利であり、培養中の植物体でも利用できる所以で早期検定が可能である。

VI 摘出茎頂の大きさと PDV, PRSV のフリー化

茎頂培養によって PDV, PRSV を確実にフリー化できる摘出茎頂の大きさについて検討した。材料は、PDV を保毒している高砂及び PRSV を保毒している佐藤錦の新梢を採取して供試した。それぞれ茎頂部を 0.2~0.3 mm, 0.4~0.6 mm, 1.0 mm の大きさ別に摘出し、BA 0.1 mg/l 添加 1/4 MS 培地に置床後、継代培養して得られた葉条を切り取り磨砕し、直接 ELISA 法で検定した。

検定の結果、PDV において、摘出茎頂の大きさが 0.2~0.3 mm ではいずれも陰性と判定されたが、0.4~0.6 mm では 1/7 個体 (14.3%), 1.0 mm では 2/5 個体

第4表 摘出茎頂の大きさと PDV, PRSV のフリー化 (1986)

茎頂の大きさ (検定部位) (mm)	検体 No.	PDV		PRSV		
		吸光度 ※1	判定	吸 光 度		判定
				※2	※3	
0.2~0.3 (培養葉条)	1	0.07	—	0.07	0.17	—
	2	0.07	—	0.08		—
	3	0.08	—	0.08		—
	4	0.09	—	0.08		—
	5	0.07	—			—
	6	0.08	—			
	7	0.08	—			
	8	0.07	—			
	9	0.08	—			
	10	0.07	—			
0.4~0.6 (培養葉条)	1	0.08	—	0.08	0.19	—
	2	0.08	—	0.08		—
	3	0.07	—	0.20		+
	4	0.07	—			—
	5	0.51	+			+
	6	0.08	—			—
	7	0.08	—			
1.0 (培養葉条)	1	0.07	—	0.07	1.82 1.99	—
	2	0.41	+	0.08		—
	3	0.08	—	0.25		+
	4	0.07	—			+
	5	0.35	+			+
対照						
+ (培養葉)		0.23	+	0.21	1.92	+
— (培養葉)		0.08	—	0.07	0.17	—
— (皮 部)		0.06	—	0.07	0.13	—

※1, ※2 : 6 月 4 日検定, ※3 : 11 月 10 日検定

(40%) が陽性であった (第4表)。PRSV において、0.2~0.3 mm ではいずれも陰性と判定されたが、0.4~0.6 mm では 2/6 個体 (33.3%), 1.0 mm では 3/5 個体 (60%) が陽性であった。

この結果、確実に PDV, PRSV のフリー個体が得ら

れる茎頂の大きさは、0.2～0.3 mm の大きさである。

以上、PDV, PRSV を取り上げ、茎頂培養によるウイルスフリー化について述べた。最初に述べたように、わが国におけるオウトウウイルスの実態が詳細に解明されていない現状では、LC など網にかからない重要な接ぎ木伝染性の病気が存在することも十分考えられる。したがって、茎頂培養によって、すべてのウイルス病がフリー化できるとはいえないので、フリー苗の作出には、むしろ一定期間熱処理した後、茎頂培養する併用法によりベターな方法ではないかと考え、現在その方法を試行している。

引用文献

- 1) 石原愛也ら (1983) : 園学要旨, 昭 58 春: 80～81.
- 2) JONES, O. P. and M. E. HOPGOOD (1979) : J. Hort. Sci. 54: 63～64.
- 3) 岸 国平ら (1968) : 日植病報 34: 143～150.
- 4) ————ら (1969) : 園試報 A8: 141～150.
- 5) 北島 博 (1977, 1978) : 農及園 52: 1420～1424, 1540～1544, 53: 75～78.
- 6) LINEBERGER, R. (1983) : Hort. Sci. 18: 182～185.
- 7) 宗形 隆 (1982) : 昭 57 年度落葉果樹の病虫害に関する重要研究問題検討会資料
- 8) ———— (1983) : 昭和 58 年度寒冷地果樹に関する試験成績収録
- 9) ———— (1986) : 果樹におけるバイオテクノロジーの開発と利用, 果樹試育種部編: 55～56.
- 10) NÉMETH, M. (1986) : Virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit trees. Akadémiai Kiadó, Budapest, 840 pp.
- 11) 野口協一ら (1987) : 山形園試研報 6: 19～37.
- 12) 小畑琢志ら (1968a) : 植防調査研報 6: 7～12.
- 13) ———— (1968b) : 日植病報 34: 377.
- 14) PATPONG, P.・柳瀬春夫 (1982) : 果樹試報 A9: 165～176.
- 15) SMITH, K. M. (1972) : A Textbook of Plant Virus Diseases. 3rd. Ed. Academic Press, New York and London, 684 pp.
- 16) SNIR, I. (1982) : Hort. Sci. 17 (2) : 192～193.
- 17) 田中彰一・広瀬和栄 (1966) : 日植病報 32: 23～25.
- 18) U. S. D. A., Agriculture Handbook No. 437 (1976) : Virus diseases and noninfections disorders of stone fruits in North America, 433 pp.
- 19) 山口 昭 (1977) : 植物防疫 31 (10) : 25～29.
- 20) ————ら (1980) : 果樹試報 A7: 63～70.
- 21) ————ら (1982) : 同上 A9: 159～164.
- 22) ZIMMERMAN, R. H. and I. FORDHAM (1985) : J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110: 34～38.

農業に関する唯一の統計資料集！ 登録のある全ての農薬名を掲載！

農 薬 要 覧

農林水産省農蚕園芸局植物防疫課監修

— 1986年版 —

B 6 判 636 ページ タイプオフセット印刷
4,100 円 送料 300 円

— 主 な 目 次 —

- I 農薬の生産、出荷
種類別生産出荷数量・金額 製剤形態別生産数量・金額
主要農薬原体生産数量 種類別会社別農薬生産・出荷数量など
- II 農薬の流通、消費
県別農薬出荷金額 農薬の農家購入価格の推移 など
- III 農薬の輸出、輸入
種類別輸出数量 種類別輸入数量 仕向地別輸出金額など
- IV 登録農薬
60年9月末現在の登録農薬一覧 農薬登録のしくみなど
- V 新農薬解説
- VI 関連資料
農作物作付(栽培)面積 空中散布実施状況など
- VII 付 録
農薬の毒性及び魚毒性一覧表 名簿 登録農薬索引など

—1983年版— 3,200円 送料250円

—1982年版— 3,600円 送料300円

—1981年版— 3,600円 送料300円

—1977年版— 2,400円 送料250円

—1976年版— 2,200円 送料250円

—1975年版— 2,000円 送料250円

—1963～74, 1978～80, 84,
85年版—

品切絶版

お申込みは前金(現金・小為替・振替)で本会へ

沖縄本島におけるシロガシラの侵入と被害の状況

沖縄県農林水産部 きんじょう つねお にしむら まこと
金城 常雄・西村 真
 農林水産省農業研究センター なかむら かずお
中村 和雄

はじめに

従来、沖縄県の野菜類における鳥類の被害は、ヒヨドリ及びハト類によるものが大部分であったが、近年秋期から春先にかけて沖縄本島南部地域を中心にシロガシラによるインゲンマメ、トマトに対する被害が発生し、大きな問題となってきている。

シロガシラはヒヨドリ科に属する鳥で、わが国には八重山諸島にシロガシラの1亜種ヤエヤマシロガシラのみが分布している。ヤエヤマシロガシラは「特殊鳥類の譲渡等の規制に関する法律」により、絶滅の恐れのある種として特殊鳥類に指定されている。しかし、シロガシラによる被害が増大してきたため、1986年11月に沖縄県南部地区8市町村会から「特殊鳥類ヤエヤマシロガシラの駆除対策に関する要請」が県に提出された。シロガシラはもともと沖縄本島には分布していなかったが、後述するように、1976年に本島南部で発見されて以来、生息地域を拡大しつつある。この沖縄本島におけるシロガシラはヤエヤマシロガシラとは異なるのではないかという指摘があったこともあって、県に提出された要請は環境庁に持ち込まれ、沖縄本島の亜種の検討が行われた。その結果、1987年2月に環境庁において特定鳥獣増殖検討会（鳥類分科会）が開かれ、「沖縄本島に生息するものはヤエヤマシロガシラとは異なり、むしろ台湾産のシロガシラと近似するから、当面はタイワンシロガシラと呼ぶのが適当である」と結論された。しかし、現在亜種問題は最終的な結論を得ていないので、ここでは沖縄本島に生息するものを単に「シロガシラ」とする。

以下、沖縄本島におけるシロガシラの分布と被害、防除対策の現状について述べる。本稿を取りまとめるにあたり沖縄県農業試験場病虫部 長嶺将昭主幹、沖縄野鳥研究会 比嘉邦昭氏、神奈川県立博物館 中村一恵博士、山階鳥類研究所 杉森文夫博士、林業試験場東北支場 由比正敏博士、環境庁野生生物課から、有益なご助言と貴

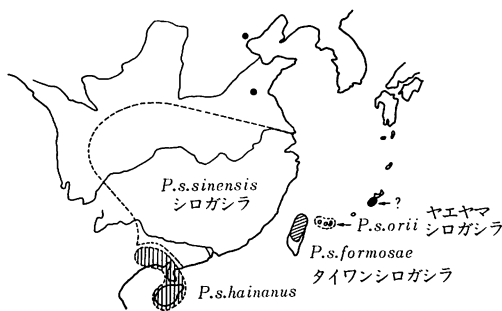
重な資料の提供を得た。ここに厚く御礼申し上げる。

I シロガシラの亜種と分布

ヒヨドリ科 *Pycnonotidae* の鳥は、小型ないし中型種で、アジアからアフリカの熱帯地域を中心に分布している。わが国には、ヒヨドリとシロガシラの2種だけが生息するが、ヒヨドリはこの科の中でもっとも北に生息域を持つ種である。もともと、低山帯や庭園などに生息し、果実や木の実を採食するものが多い (BROWN, 1984)。

シロガシラ *Pycnonotus sinensis* の基亜種 *P. s. sinensis* は、中国の陝西省、河南省南部から広西省、広東省まで広く生息しており、広西省西南部や海南島には冬鳥として訪れるほか、山東省、河北省でも旅鳥としての記録がある (郑, 1976; BROWN, 1984)。また、台湾には南部を除く地域に別亜種タイワンシロガシラ (*P. s. formosae*) が分布し、中部から以北の平野部ではもっとも普通に見かける鳥で、非繁殖期には100羽以上の群れを見ることが珍しくないという (小林・張, 1977)。このほか、海南島に *P. s. hainanus*, それに八重山諸島にヤエヤマシロガシラ (*P. s. orii*) などの亜種が分布する (第1図)。

P. s. orii は、与那国島で捕獲された標本に基づいて命名されたもので (KURODA, 1923)、その後1928年に西表島で迷鳥として採集されている。一方、1929年に



第1図 シロガシラの主な亜種とその分布 (郑, 1976; 小林・張, 1977; BROWN, 1984, その他からく)

●は旅鳥としての記録

Invasion of the Chinese Bulbul, *Pycnonotus sinensis*, to Okinawa Island and the Status of Damage on Vegetables by it. By Tsuneo KINJO, Makoto NISHIMURA and Kazuo NAKAMURA

石垣島で採集された標本は *orii* とは別の亜種として、*P. s. kobayashii* と命名されたが、PETERS (1960) によって両者は同一亜種とされたため、現在は *orii* が、与那国、西表、石垣をはじめ、周辺の波照間、小浜、竹富、黒島などに生息する (森岡, 1974)。しかし、このシロガシラは原記載のものに比べて後頭部の白色部分が広いなどの違いが指摘されている (白井・佐野, 1983)。

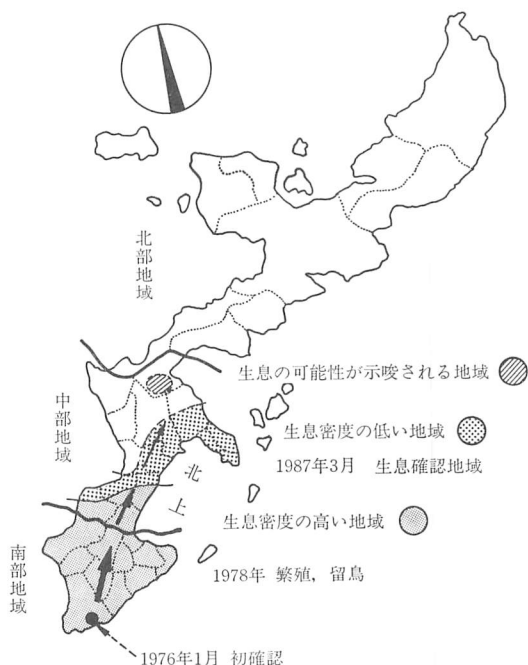
一方、最近沖縄本島南部に侵入し、定着したシロガシラは、やはり後頭部の白色部分が広いことから *orii* とは別亜種である可能性が早くから指摘されてきた。そこで、前述のように、1986 年環境庁によって本島及び与那国から標本の採集が行われた結果、「本島のものと与那国のものとは亜種レベルで異なること」と、「与那国のものは原記載通り *orii* であること」が確認された。ただし、沖縄本島及び八重山に生息するシロガシラの最終的な帰属については、なお問題が残っており、現在環境庁において検討中である。その結果は、近く公表される予定である。

なお、沖縄本島のシロガシラについては、人為的に持ち込まれたものが定着した可能性が強いが、自然の分布拡大の結果による可能性もあり、今のところ、結論を出すに至っていない。

II 沖縄本島における分布拡大

1976 年 1 月糸満市摩文仁で 1 羽が目撃され、続いて同年 2 月には 5 羽の生息が確認された (比嘉, 1976)。これが沖縄本島での本種の初確認である。その後、1978 年の 5 月ごろには親鳥が昆虫を巣に運ぶのが観察され、繁殖、留鳥化が確認された。初確認から 3~4 年後には、隣接の玉城村、知念村あたりで散発的に生息が見られるようになり (比嘉, 1980)、その後、徐々に本島南部地域で生息数が増加していき、1981 年ごろから露地トマト栽培地域の豊見城村、糸満市などで被害が目立つようになった。1983 年から 84 年にかけては本島東側沿いの林縁部、農耕地づたいに北上し、1987 年 3 月現在、中部地域の宜野湾市、沖縄市及び具志川市の一部地域でも生息が確認されている (第 2 図)。また、1986 年 12 月には具志川市北方の石川市東恩納地区の野菜畑で数羽見たとの情報があったため、1987 年 3 月同地のトマト栽培地域において調査を行った結果、確認には至らなかったが生息している可能性が示唆された (第 2 図)。

このように沖縄本島におけるシロガシラは、初確認後生息域を徐々に拡大しながら北上しつつあるが、特に南部地域から中部の一部地域においては農耕地、林縁部及び集落内はもちろん街中の公園などでも鳴き声が聞かれ



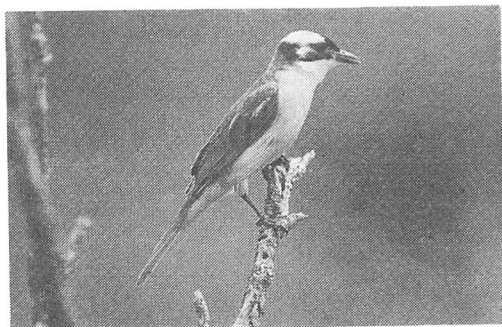
第 2 図 沖縄本島地域における分布域の拡大

るなど、生息密度が高まっている。今後生息域が中・北部地域へ拡大していくことが予想され、それに伴い野菜類、ミカン類を含む他の果樹への加害が懸念される。

なお、東海岸沿いの近隣離島での生息は未調査のため不明であるが、距離から考えて生息の可能性は十分考えられる。

III シロガシラの生態

シロガシラは全長 18.5 cm でヒヨドリより小さく、尾が長く、体形はヒヨドリに似ている。頭前部が黒く、後部は白い (第 3 図)。しかし、まれに後頭部の黒いタ



第 3 図 シロガシラ

沖縄県知念村で。撮影者：儀間朝治氏。沖縄野鳥研究会編「沖縄県の野鳥」から転写。

イプも見られる。頬には小さい斑があり、背面は全体に緑灰色で、腹面は白っぽく、胸が汚れている。くちばしと脚は黒い (沖縄野鳥研究会, 1986)。鳴き声は高く、様々な声を出す。

わが国に生息するシロガシラの習性などは不明な点が多いが、台湾産のシロガシラは小喬木の地上から 1~1.8m くらいの高さの枝上に営巣し、巣は枯草の根、枯葉、イネ科植物のススキ、チガヤ、サトウキビなどの穂や葉を主材にしてクモの糸で綴って深い碗形の巣を作る。1 巣当たりの産卵数は 3~4 個で、産卵期は 4 月ごろから 7 月ごろまでである (清棲, 1978)。

また、ヤエヤマシロガシラは、灌木林、雑木林、マツ林、村落付近、果樹園などに生息し、地上に降りることはまれである (清棲, 1978)。一方、沖縄本島に生息するシロガシラは林縁部近くの草原、農耕地、村落、低木林地域で多く見られる。

食性については、春から夏にかけて昆虫を主とした動物質を多く食し、秋から冬にかけては、果実類、葉菜類などの植物質を主に食し、ヒヨドリとほぼ同様な食性である。これまで観察された野生の餌は、ガジュマル、アカギ、ゲッキツ、リュウキュウコクタン、イヌビワ、クワ、テルミノイヌホウズキ、ビロウなどの果実で、農作

物では、カンキツ類 (ウンシュウミカン、タンカン、シークワーサーなど)、パパイヤ、バンジロウ、テリハバンジロウ、サクランボ、ザクロ、ジャカトウ、ビワなどの果樹の熟果、さらにインゲンマメなどのマメ類及び果菜類のトマト、ピーマン、葉菜類のキャベツ、結球ハクサイ、カリフラワー、ブロッコリー、菜類、レタス、根菜類のダイコンなどに及んでいる。

IV 被害の状況

沖縄本島でのシロガシラによる農作物への被害は、1981 年ごろから記録がある (沖縄県, 1981)。当時は、南部地域の豊見城村、糸満市の一部でトマトなどが加害されたが、被害面積及び被害金額はわずかであった。その後、1983 年から 84 年にかけて生息域が拡大するに伴い、被害作物もトマト、インゲンマメ、レタス、キャベツなどと増加した。前述の駆除対策に関する要請 (1986 年 11 月) によると、被害面積 246.84 ha、被害金額 11,643 万円となっている (第 1 表)。

筆者らは 1987 年 2 月下旬から 3 月上旬にかけて本島内のトマト栽培地を、南部、中部、北部地区に区分けして (第 2 図参照)、鳥によるトマトの被害状況を調べた。その結果 (第 2 表)、被害果率は南部の糸満市 真栄平

第 1 表 沖縄本島南部地域におけるシロガシラによる被害面積と被害金額 (南部地区市町村会) (1985年)

項 目	作物名	インゲンマメ	ト マ ト	レ タ ス	キャベツ	ピーマン	そ の 他	合 計
被害面積 (ha)		75.14	11.90	24.00	28.60	5.00	102.20	246.84
被害金額 (千円)		83,430	6,536	6,482	4,944	3,125	11,914	116,431

その他は、山東菜、ダイコン、チンゲンサイ、結球ハクサイ、エンドウマメ、カリフラワー、オクラ、パクチョイなど

第 2 表 トマト栽培地域における野鳥類の被害状況

対象地域	項 目 調査市町村	調査ほ場数 (か所)	調査果数 (果)	被害果数 (果)	被害果率 (%)	ほ場当たり野鳥飛 び立ち数 (羽)		備 考
						シロガシラ	ヒヨドリ	
南 部	糸満市真栄平	4	162.8	77.8	47.8	23.3	0	露地栽培 〃
	豊見城村饒波	4	261.3	26.3	10.1	10.0	2.8	
中 部	宜野湾市長田	1	98.0	14.0	14.3	0	2	施設栽培 ^{a)} 〃 〃 (1 か所露地) 施設栽培
	勝連町南風原	3	275.3	5.0	1.8	0	0	
	読谷村渡慶次	3	262.0	21.0	8.0	0	0	
	石川市東山	3	127.3	10.7	8.4	0	0	
北 部	宜野座村祖慶	2	313.5	31.5	10.0	0	4.0	露地栽培 〃
	今帰仁村崎山	6	442.7	24.2	5.5	0	0.3	

数字はほ場当たり平均値

a) 施設の出入口及び側窓がほとんど開放されて、鳥の出入りは自由に行える。

調査は南部地域が 1987 年 2 月 25, 28 日、中部地域同 3 月 3, 4 日、北部地域同 3 月 12, 13 日。

(47.8%) 及び豊見城村饒波 (10.1%) で特に高かった。被害の著しかった真栄平においてはほ場当たりのシロガシラ飛び立ち数も多く、多いほ場で 44 羽、少ないほ場で 8 羽の飛び立ちが確認され、ヒヨドリは認められなかった。また、豊見城村饒波では同一ほ場でヒヨドリとの混棲が見られたが、個体数及び被害は真栄平に比べて少なかった。

被害の著しい糸満市真栄平一帯は南部地域でも平たん部が多く、山林からはやや離れた所でサトウキビ畑やスキ原が散在しており、以前から村落近くでトマト、キャベツなどの野菜類が栽培されている地域である。また、豊見城村饒波もほぼ同様であるが、真栄平に比べて雑木林に隣接した畑地が多く、トマト以外にキャベツ、レタス、インゲンマメ、エンドウなどの栽培が盛んな所である。なお、同地域のトマトは 1982 年ごろまでは露地栽培が主であったが、近年は鳥による被害防止のため施設栽培や寒冷紗などによる被覆栽培に変わりつつある。

中部地域でのシロガシラの生息密度は、現在のところ一部を除き全般的に低く、鳴き声が散発的に聞かれる程度である。畑地周辺の雑木林などではヒヨドリが数羽ずつ見受けられ、トマト栽培施設内で加害している個体も見られた。

北部地域のトマトは糸満市と同様に露地栽培が主であるが、鳥による被害は中部地域と同様に南部地域に比べて少なく、やはり周辺雑木林及びトマト畑などでヒヨドリが散見されたが、シロガシラの確認はできなかった。

シロガシラのトマトへの加害は、朝から夕方までほぼ一日中見られる。朝方隣接した山林や雑木林などから畑地に移動してきた群れは、トマト畑の支柱用の竹などに止まり、物色しながら果実を食害する。果実が少し黄色味を帯び始めると加害が始まる。最初は刃物で切りつけ

たような切り裂き傷を作り、そこをつつきながら摂食し、著しい場合には表皮の一部を残すだけとなる (第 4 図)。本種はヒヨドリと違い、1~2 羽で加害することは少なく、数羽から数 10 羽の群れで食害している場合が多く見受けられる。なお、群れで加害している畑に人が入っても、彼らは支柱づたいに移動するだけで、かなり接近して初めて隣の畑地などへ移動するが、人が畑から離れると再び戻ってきて加害を始める。また、ヒヨドリの場合は、鳴き声を聞くまで畑への侵入はなかなか気がつかないことが多いが、シロガシラは畑地であろうと樹上であろうと鳴き声が激しく、その鳴き声に慣れると遠くからでも聞き分けることができる。

インゲンマメの加害部位は主に莢であるが、幼莢及び花や葉も摂食する。莢は質がよく、真っすぐなものを好み、その中ほどをくちばしではさみ込んで食いちぎるといふヒヨドリと同様な摂食のしかたをとる。産地における近年のインゲンマメ栽培は側面をサランネットや寒冷紗で囲い、さらに上部をタフベルで覆うという栽培様式が多くなったため (第 5 図)、鳥による被害も以前より少なくなったが、被覆しない一部地域においては被害は大きい。

キャベツ、レタスの加害もヒヨドリと同様に、未結球のものや結球したものの葉を食い破りながら中央部を食害する。糸満市及び豊見城村では、2~3 月の寒い時期にトマト畑及びそれに隣接したレタス、キャベツ、結球ハクサイ畑などへ飛しょうしてきた群れが、いったん羽ばたきながら作物上で静止し、その後、降下して加害するのが観察された。しかし、同じ畑でアオムシなどを捕食する個体も確認されている。

一方、八重山諸島におけるヤエヤマシロガシラの個体数は少なく、牧場隣接の雑木林が入り混じったような開けた草地などで 3~4 個体見られる程度で、農作物への被害はほとんど認められないという (1987 年現在、安



第 4 図 トマトの被害果
糸満市真栄平 (1987 年 3 月 5 日)



第 5 図 インゲンマメの被覆栽培 (知念村)

田, 私信)。

V 防除対策の現状

沖縄県で行われている鳥類の防除は、有害鳥獣駆除に基づく銃器による駆除(ヒヨドリが主体)、物理的・化学的刺激を用いて忌避する方法のほか、インゲンマメなどに見られる側面をサランネットや寒冷紗で囲い、上面をタフベルで畑全体を被覆する方法が取られている(安田, 1982)。

シロガシラに対しては、銃器による駆除は特殊鳥類に該当するということから一切行われてこなかったが、1987年には南部の野菜産地である知念村、大里村、豊見城村から駆除申請が環境庁に提出され、同年3月25日から4月24日にかけて銃器及び捕鳥網による駆除捕獲が実施された。その結果は、知念村で20羽のシロガシラが駆除されたのみで、他の2村での捕獲はなかった。銃器による駆除はヒヨドリ同様、猟友会に委託して実施されているが、人身事故の発生する恐れもあるため、市街地や集落に隣接した畑では実施が困難である。

現在ヒヨドリなどに対して行われているかかし、防鳥テープ、シルバーテープのつり下げ、空き缶を利用した鳴子、目玉風船などは、シロガシラの場合も刺激に対して慣れやすく、効果は長続きしないようである。

現在行われている防除法の中で畑を被覆する方法はもっとも効果的であるが、資材費が高つくことや設置に労力を要する欠点がある。しかし、インゲンマメ産地である南部の知念村一帯では鳥害防止以外に、保温や風によって生じる風ずれ果防止にも効果をあげている。一方、被害の多いトマトはもとより露地栽培が主体で、鳥害防止対策はほとんど図られていない状況であった。しかし、鳥による被害が年々増加するに伴って、一部地

域では施設及び被覆栽培により被害防止を図る所も出てきている(第6図)。しかし、畑全体を被覆するには経済的に高つくき、多大な労力を要することから、依然として露地栽培が多く、特に1月から3月ごろ収穫の露地物ではその被害も甚大である。

お わ り に

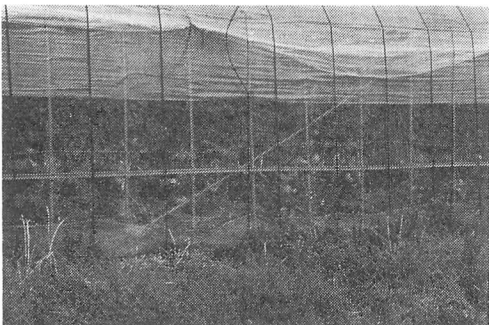
ヒヨドリ科の種は、新しい生息地への適応力が強く、温帯から亜熱帯、熱帯へ侵入しない導入された種が定着に成功した例が多い。シロガシラと同属の *P. jocosus* は、インド原産であるが、オーストラリア、カリフォルニア、フロリダ、ハワイなどに定着し、*P. cafer bengalensis* もオーストラリアやハワイ、メラネシアの島々などに定着して、いずれも農作物に害を与えている(WILLIAMS and GIDDINGS, 1984)。

沖縄本島に定着したシロガシラは、さらに分布域を拡大していくことは確実と思われるが、沖縄からさらに北上する可能性も否定できない。その生息地が主として村落の周辺など開けた場所であり、群れで行動するなどの習性から、ヒヨドリに優るとも劣らない害鳥となりうる危険性を持っている。しかし、シロガシラも冬期以外は昆虫類を主とした動物質の餌を好んで摂食するのが観察されているので、害虫の天敵としての役割も評価しなければならない。

ともあれ、本種の亜種とその分布域について早急に結論を出し、不明な点が多い生態について解明して、被害防止対策を立てることが緊急に必要となっている。また、中国大陸及び台湾に生息するシロガシラの生態や被害の実情などを調査研究することと、沖縄本島への侵入経路を解明することが、今後の対応のために必要である。

引用文献(主なもののみ)

- 1) BROWN, E. D. (1984): The Birds of China, Oxford Univ. Press, Oxford, 602 pp.
- 2) 鄭 作新 (1976): 中国鳥類分布目録(第2版), 科学出版社, 1218 pp.
- 3) 清棲幸保 (1978): 日本鳥類大図鑑 I. (増補改訂版), 講談社, 444 pp.
- 4) 小林桂助・張 英彦(1977): 台湾の鳥類相, 日本鳥学会, 181 pp.
- 5) 沖縄野鳥研究会編 (1986): 沖縄県の野鳥, 沖縄野鳥研究会, 265 pp.
- 6) 白井祥平・佐野芳康 (1983): 西表島の自然, 新星図書出版, 128 pp.
- 7) WILLIAMS, P. N. and L. VAL GIDDINGS (1984): Wilson Bull. 96: 647~655.
- 8) 安田慶次 (1982): 植物防疫 36: 12~15.



第6図 トマトの施設栽培
周辺は寒冷紗囲い(豊見城村)

カンキツ園における温州萎縮ウイルスの伝搬

—— 防風垣用サンゴジュの役割 ——

三重県農業技術センター紀南かんきつセンター ^{まえ}前

^{ひろ}博 ^み視

はじめに

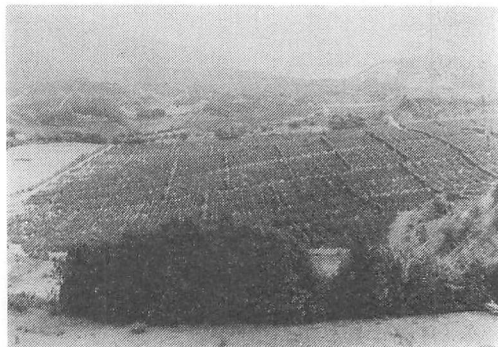
温州萎縮ウイルス (SDV) はわが国で最初に発見されたカンキツ類のウイルス病で (山田ら, 1952), 現在ではほぼ全国のカンキツ栽培地に分布している。県内にも 1940 年代から尾張系ウンシュウミカンや早生ウンシュウミカンに, 温州萎縮症状を示す樹体が見られていたが, 1965 年に名古屋植物防疫所のウイルス検査で温州萎縮ウイルスが確認された。1975 年までは一部に集団発生園が見られる程度であったが, 近年カンキツ類新品種の普及による品種更新が進むにつれ, 本病に汚染された苗木や穂木が導入され保毒樹が増加している。

温州萎縮ウイルスは接ぎ木伝染のほか, 隣接樹への感染や汚染園地に健全樹を植栽しても数年後に発病することから, 土壤伝染性であることが推察されているが, 伝染機構が明らかではなく, 発生園地の実態調査やベクターの探索が進められている。集団発生事例の多くは, カンキツの温州萎縮ウイルス保毒樹から, 隣接したカンキツ類に同心円状に拡大しているが, このたび, カンキツ園内に防風垣として植栽されているサンゴジュに沿って温州萎縮ウイルスが長方形状にまん延し, これまでと異なった集団発生園地が認められた。この園地における本病のまん延にサンゴジュが関与していると考えられたので, 1982~86 年にかけて調査し, 若干の知見が得られた (前, 1986) ので, その概要を紹介し参考に供したい。

本試験の遂行に当たり, 御指導いただいた農林水産省果樹試験場興津支場 小泉銘冊博士, 加納 健氏, 同安芸津支場家城洋之博士に深く感謝の意を表する。

I 集団発生園の状況

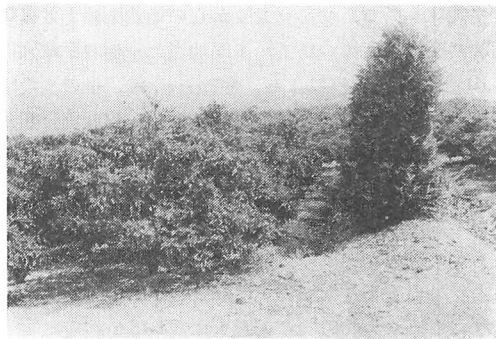
調査園地は, 三重県熊野市金山町内の山林を 1964~70 年にかけて開園した, 緩傾斜による段丘式の早生ウンシュウミカン 95 ha の団地で (第 1 図), 20 m 間隔に農道が設けられ, 道路によって 1 区画 20 m×100 m のほ場になっている。1 区画の中にサンゴジュによる防風垣が農道と直角に 25 m 間隔で 3 列植栽され, 興津早



第 1 図 熊野市金山町早生ウンシュウミカン団地

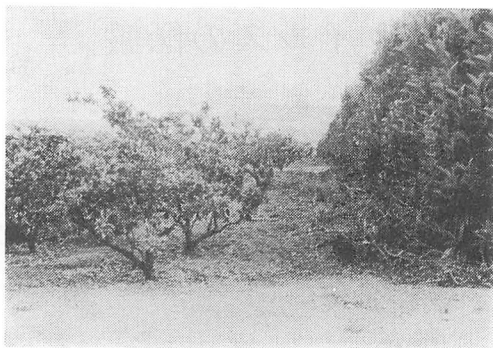
生及び宮川早生が農道間に 10~11 列, 防風垣間に 11 列植栽されている。サンゴジュは 20 m 間に 90 cm 間隔で約 20 本植栽され, 農道をはさんで帯状に連なっている。

この団地のウンシュウミカンに温州萎縮症状が確認されたのは 1975 年ごろで, 当時は散在的に発生が見られる程度であったが, その後, これらの樹を中心に発生面積が拡大し, 1982 年には顕著な温州萎縮症状を示す樹体が, 2~3 a の集団で随所に見られ, 総発生面積が 2 ha に及んだ。これら集団の発生様相を観察してみると, その多くは防風垣用サンゴジュに沿って長方形状に拡大している (第 2~4 図)。また, 低地部で防風垣の必要性の少ない地区では, 温州萎縮症状が発生する以前にサンゴジュが伐採され, すでに根部が腐敗している園地にも他の園地と同様に温州萎縮症状の集団発生園地が多く



第 2 図 温州萎縮ウイルスフリー樹

A Role of China Laurestine (*Viburnum odoratissimum* KER.) on the Spread of Satsuma Dwarf Virus in Citrus Orchard. By Hiromi MAE



第3図 防風樹と温州萎縮ウイルス保毒樹

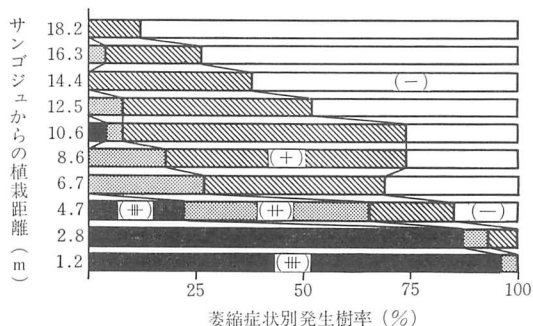


第4図 温州萎縮病の伐採跡

見られた。1982年に同病徴が認められなかった園地で、その後防風垣周辺に病徴が認められ新規発生園地が増加している。

II サンゴジュからの植栽距離と萎縮程度

1982年5月に温州萎縮症状が激しい樹体群の一部について、SDVによるELISA検定と白ゴマ検定を実施したところ、いずれも顕著な陽性反応を示し、ウンシュウミカンの萎縮症状は温州萎縮ウイルスの感染によるものであることが明らかになった。また、同年11月に主発生地3か所で、サンゴジュからの植栽距離と温州萎縮症状の発生程度について、1園地当たり植栽距離別に9～10本を肉眼観察により、－，＋，＋，卅の4段階に分け調査した。肉眼による萎縮症状の程度別分類基準は、(卅)：樹全体に春葉が小さく舟型及びサジ型を呈してそう生する萎縮症状が見られ、樹体がわい化しているもの、(＋)：萎縮症状が樹冠の1/2程度に見られるもの、(＋)：樹冠の一部に萎縮症状が見られるもの、(－)：外見上正常な樹体を呈しているもの、とし、萎縮症状について、肉眼判定とともにELISA検定によって温州萎縮ウイルスとの関連を調べた。



第5図 サンゴジュからの植栽距離とウンシュウミカンのSDV発生程度 (1982年)

第1表 ウンシュウミカンの萎縮程度とSDVのELISA検定結果との関係 (1983年)

ELISA	樹体の萎縮程度			
	－	＋	＋	卅
＋	0	1	5	15
－	42	18	1	0

数値は樹数を示している。

サンゴジュからの植栽距離別によるミカンの萎縮症状の発生程度は、植栽距離が2.8m以内では100%の発生樹率で、4.7m地点では85%、6.7～12.5mで68%、14.4～18.8mで26%とサンゴジュに隣接した樹体ほど発生樹率が高く、顕著な萎縮症状を示した樹体が多い。距離が遠くなるにしたがって症状が軽く、発生樹率も低下している(第5図)。なお、調査園地だけでなく他の発生園やサンゴジュを伐採した園地も同傾向であった。

肉眼判定によるミカンの萎縮程度とELISA検定によるSDV保毒との関係については、萎縮程度が(＋)以上の明らかな萎縮症状を示した樹体では、21樹中20樹に陽性反応が見られた。しかし、萎縮程度が(＋)の樹では19樹中1樹が陽性反応を示したにとどまり、健全樹(－)はすべて陰性反応を示した(第1表)。

III 防風樹の保毒程度

温州ミカンに隣接している防風樹の保毒状況を明らかにするため、1983年は前記園地のミカンとサンゴジュ、1984～86年には同園地と多気郡多気町及び場内の園地から、ミカン、サンゴジュ、イヌマキ、ヒサカキ、ヒノキ、シキミ、茶樹の新芽を5月に採取し－70℃のフリーザーで保存した。調査は1983年12月、1984年9月、1985年7月、1986年11月にELISA検定を実施

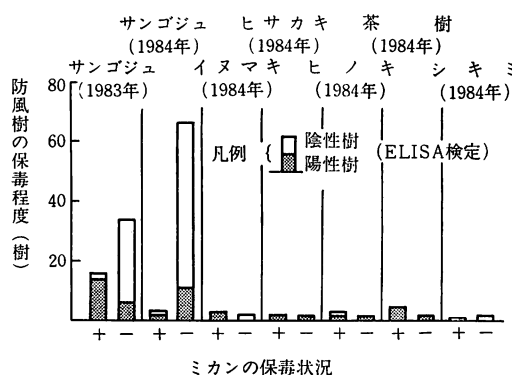
し、保毒の判定はマイクロエライザ・ミニリーダの 410 nm で、健全樹との差が吸光度 0.15 以上を陽性とした。なお、金山町のサンゴジュの検定は 20 m 間に 20 本程度植栽されている中から、約 5 本に 1 本の割合で行った。また、サンゴジュの ELISA 検定と生物検定との比較をするため、1984 年 5 月に採取した新芽を -70°C で保存し、6 月に白ゴマ検定を実施した。なお、サンゴジュの新芽にアブラムシ類の寄生が多く、ウイルス検定用の新芽採取に困難をきたすため、採取の容易な花蕾での ELISA の可否について、1985 年 5 月に採取し -70°C で保存後新芽との比較を行った。

ミカンに隣接するサンゴジュでの保毒状況を ELISA 法で調査したところ、明らかな陽性反応を示し、その保毒率は第 6 図に示すように、ミカンが温州萎縮ウイルスを保毒している場合は、サンゴジュの保毒率も 1983 年、1984 年ともきわめて高く、同一園地であってもミカンが温州萎縮ウイルスフリーの場合は低い傾向にあった。また、防風垣周辺のミカンに保毒樹が見られない園地でも、11 調査地点中 2 地点でサンゴジュの集団保毒

樹が認められた。その園地について 1984 年から 1986 年にかけて追跡調査を行った結果、1985 年に 2 園地ともサンゴジュの ELISA 陽性樹が 1 樹増加し、防風垣方向に温州萎縮ウイルスが拡大した。翌 1986 年に当初から陽性反応を示したサンゴジュに隣接するミカン 16 樹中 1 樹に陽性樹が認められ、その樹冠中央部に顕著な温州萎縮症状が見られた。陽性サンゴジュの樹体症状は、1982 年ごろには健全樹と差がなく外見上の判別は困難であったが、1986 年に樹勢が衰え新梢の発生が少なくなった。

サンゴジュ以外の防風樹種別の ELISA 法による SDV 保毒状況調査では、1984 年にイヌマキでサンゴジュと同様の傾向が認められ、1985~86 年に再調査したところ、ヒサカキ、ヒノキ、茶樹、シキミと同様に隣接しているミカンの保毒程度とは関係なく陽陰性反応を示し、一定の傾向が認められなかった。

サンゴジュの ELISA 検定と白ゴマ検定を比較したところ、ELISA 法で陽性反応を示す樹体のみ、白ゴマにえ死斑点が認められた(第 2 表)。なお、サンゴジュでの温州萎縮ウイルスの保毒について、KOIZUMI ら (1986) によって、同園地の ELISA 陽性サンゴジュの白ゴマ検定の結果、明らかな陽性反応が認められ、発病ゴマを接種源として、シトロン苗にナイフ切り付け接種によって、数か月後にシトロンに ELISA 陽性反応が認められた。このシトロンにウンシュウミカンの実生穂木を高接



第 6 図 ミカンの発病と隣接する防風樹での SDV の保毒状況

第 2 表 ELISA 検定と白ゴマ検定の比較 (1984 年)

樹種	ミ カ ン		サンゴジュ				
	No. 1	No. 2	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
ELISA	+	-	+	+	+	+	-
白ゴマ検定	+	-	+	+	+	+	-

白ゴマ検定は 1 検体 3 鉢使用

第 3 表 ELISA 検定によるサンゴジュの新芽と花蕾の発色程度の比較 (1985 年)

項目 調査 か所	吸 光 度		項目 調査 か所	吸 光 度	
	新 芽	花 蕾		新 芽	花 蕾
A-1	1.98(+), 1.89(+)	1.94(+), 2.00<(+)	D-8	0.18(-), 0.14(-)	0.13(-), 0.09(-)
2	2.00<(+), 1.58(+)	1.92(+), 2.00<(+)	10	0.18(-), 0.14(-)	0.15(-), 0.07(-)
3	1.89(+), 1.41(+)	1.97(+), 2.00<(+)	E-1	0.16(-), 0.12(-)	0.12(-), 0.09(-)
D-1	0.19(-), 0.14(-)	0.13(-), 0.11(-)	2	0.18(-), 0.12(-)	0.12(-), 0.14(-)
3	0.16(-), 0.12(-)	0.13(-), 0.21(-)	4	2.00<(+), 2.00<(+)	1.97(+), 2.00<(+)
4	1.99(+), 1.74(+)	1.97(+), 2.00<(+)	7	2.00<(+), 1.93(+)	1.91(+), 2.00<(+)
5	1.03(+), 1.01(+)	1.98(+), 2.00<(+)	8	2.00<(+), 2.00<(+)	1.99(+), 2.00<(+)
6	2.00<(+), 1.93(+)	1.98(+), 2.00<(+)	9	1.96(+), 1.93(+)	1.99(+), 2.00<(+)
7	1.97(+), 2.00<(+)	1.96(+), 2.00<(+)			

ミカン陽性 (1.97~2.00<), 陰性 (0.11~0.22)

ぎしたところ、典型的な温州萎縮病の病徴を呈し、サンゴジュの ELISA 陽性樹は温州萎縮ウイルスによるものであることが明らかにされた。さらに、サンゴジュの温州萎縮フリー苗を温州萎縮ウイルス感染ほ場より採取した土壤に植栽すると、2~8 か月で温州萎縮ウイルスに感染し、カンキツ類に比べて温州萎縮ウイルスを速やかに捕そくすることを報告している。

ELISA 法によるサンゴジュの新芽と花蕾の比較では、保毒の判定は双方とも同様であるが、新芽に比べて花蕾のほうが同一検体の吸光度数値にバラツキが少なく安定していた (第3表)。このことから、検体としては花蕾が試料採取も容易で、同一検体の吸光度数値も安定していることから望ましいと考えられた。

おわりに

今回調査を実施したウシユウミカン団地は、1964~70 年にかけて農地造成した 95 ha のカンキツ園で、全面協業経営によって全園同一の栽培管理がとられている。新規造成地のため温州萎縮ウイルスによる土壤汚染の恐れもないほ場で、温州萎縮病が防風垣用サンゴジュを中心にして両側に同規模の発病が認められ、しかも同年度に植栽されたほ場に集中している。サンゴジュは愛知県稲沢市から苗木で購入され、ミカンと同時に植栽された。

温州萎縮ウイルスのまん延はサンゴジュに隣接する両側の樹体から始まり、同時に長方形に急速に拡大して、サンゴジュに近いものほど萎縮症状が強く、遠ざ

かるに従って症状が軽くなっていること、サンゴジュの伐採されたほ場にも集団発生園が多く見られること、調査開始時から集団発生しているほ場の近くで新規発生ほ場が増加している。さらにはサンゴジュのみが保毒し、隣接するミカンが健全な園地の追跡調査の結果、温州萎縮ウイルスは最初保毒サンゴジュに隣接したサンゴジュに感染し、その後、ミカンに感染することが確認された。これらのことから、当園地で発生している温州萎縮ウイルスのまん延には、本病を保毒しているサンゴジュが起因しているものと考察される。未汚染地への本病のまん延については、土壤管理機などによる汚染土壌の搬入から、カンキツ類に比べて本病の捕そくしやすいサンゴジュに感染し、増殖したのちミカンに感染する可能性が推察される。他の防風樹種についても、温州萎縮ウイルスを保毒する恐れがあり、調査を進めているが現在のところ定かではない。

なお、1984 年に温州萎縮ウイルスに汚染された園地をブルドーザによって抜根と 50 cm の深耕したのち改植した園地で、1986 年に保毒樹が認められたが、同処理にクロルピクリン及び D-D 油剤をかん注処理した園地では、保毒樹が見られず感染防止効果が期待されるが、さらに検討を要する。

引用文献

- 1) KOIZUMI, M. et al. (1986) : 第10回 IOCV 録文集 (製本中)
- 2) 前 博視 (1986) : 三重農技研究報告第14号 : 45~50.
- 3) 山田峻一・沢村健三 (1952) : 東近農試研究報告 (園芸1) : 61~71.



○鳥害研究会の発足

鳥による農作物およびその他の被害と防除に関する情報交換を主な目的として、鳥害研究会が発足しました。ここでは、鳥害に直接関係するものばかりでなく、そのための基礎研究も対象とします。

当面、日本応用動物昆虫学会大会と日本鳥学会大会の際に、研究会を開催することと、「鳥害研究会ニュース」を年1回以上発行することを、主な活動とします。

多くの方々の参加を歓迎いたします。

事務局：農業研究センター鳥害研究室内

Tel 02975-6-8925, 8825

会費 (年間) : 個人 1,000 円, 団体 10,000 円。

加入手続 : 加入希望者は、氏名、所属、所属住所、主な関連分野をお書き下さり、1年分の会費を添えて、下記にお送り下さい。

〒305 茨城県筑波郡谷田町観音台 3-1-1

農業研究センター鳥害研究室内

鳥害研究会 松岡 茂

(郵便振替口座 東京 0-159047, 鳥害研究会)

人事消息

(9月1日付)

浜屋悦次氏 (環境研環境生物部微生物管理科糸状菌分類研究室長) は農業環境技術研究所環境生物部微生物管理科長に

大畑貫一氏 (環境研環境生物部微生物管理科長) は退職

ハマキコウラコマユバチの寄主発見から産卵まで

農林水産省農業環境技術研究所 かい
戒 の
能 よう
洋 いち
一

はじめに

ハマキコウラコマユバチ (*Ascogaster reticulatus* WATANABE) はコウラコマユバチ亜科に属する、内部単寄生性の卵一幼虫寄生蜂である。寄主は茶樹の害虫であるチャノコカクモンハマキ (*Adoxophyes* sp.), リンゴコカクモンハマキ (*Adoxophyes orana fasciata* WALSINGHAM), コスジオビハマキ (*Choristoneura diversana* HÜBNER) など、ハマキガ科の7種が記載されている (WATANABE, 1967; 上条, 1973; 高木, 1974)。本種はハマキサムライコマユバチ (*Apanteles adoxophyesi* MINAMIKAWA) と共にチャノコカクモンハマキの有力な天敵である (高木, 1974; 南川・刑部, 1980)。

筆者がハマキコウラコマユバチ (以下、コマユバチ) の研究に着手したのは 1979 年である。TAMAKI (1966) によってチャノコカクモンハマキ (以下、ハマキ) の人工飼育法が確立されており、農業技術研究所で大量に飼育されていたことから、この寄生蜂も容易に飼育することができた。すでに、この寄生蜂の産卵行動を制御するカイロモンの存在は確認され、生物検定法も確立されており、筆者らは化学分析にとりかかった。そして、種々のクロマトグラフィーを試みたが化学構造の決定までには至らなかった。当時、USDA の LEWIS 一派による、*Trichogramma* のカイロモンを用いて寄生効率を高める試みが盛んに行われていたことで、多くの興味ある論文 (戒能, 1980 を参照) に刺激されたものである。その後、2 年の中断を経て人工飼育のための交尾条件の研究 (KAINOH, 1986) を行った後、寄主発見・産卵行動の研究を再開し、現在に至っている。

この寄生蜂は、寄主卵期に産卵して寄主 4 齢幼虫期に脱出して繭を作る、卵一幼虫寄生蜂 (KAWAKAMI, 1985) という特殊性を持った種であることから、生物学的に興味深い種々の側面を持っている。ここでは、今まで主に行ってきた寄主発見・産卵行動に関する一連の研究結果をまとめて述べてみたい。

I 寄主発見行動とカイロモン

1 植物の影響

多くの寄生性昆虫が、寄主の存在する植物に対して誘引されることが知られている (VINSON, 1985)。これは、寄主の生息場所の手がかりとして重要とされている。

コマユバチの研究は、寄主であるハマキ卵塊上での産卵行動から始められたが、寄主発見行動における寄主植物の役割を明らかにする必要に迫られ、まず手始めとして、異なった植物上に雌蜂を放したときの行動を観察した。植物は、野外のチャ、ダイズ (以上、ハマキの寄主植物として記載)、サトイモ、イネ (以上、寄主植物として未記載) を選び、雌蜂を 1 頭ずつ放し、放飼後 1 分間の行動をテープレコーダーに記録した。その結果、寄主植物上に限らず非寄主植物上でも探索行動が見られ、植物の影響はほとんど見られなかった。また、Y 字管オルファクトメーターを用いた実験からも植物に対する顕著な誘引性、及び寄主植物に対する選好性は確認できなかった (戒能, 未発表)。このようにコマユバチと植物との結び付きが弱い理由として、ハマキの寄主植物範囲が広いこと (南川・刑部, 1980)、この蜂の探索行動が主に歩行中心で飛び回ることが少ないため生息域が狭く、「寄主生息場所の発見」としての植物に対する依存性が少ないこと、などが考えられよう。

2 寄主成虫の産卵部位に対する雌蜂の反応

寄主の生息域内で羽化したり外から入った蜂は、何を手がかりにして寄主に接近するのだろうか。この疑問を解くために、ハマキの産卵活動跡に対する雌蜂の反応を調べた。草地に置いた網ケージ (1.5×1.5×1.2 m) の中で、16 本のポット植えのチャの苗を 4×4 の格子状に並べた。交尾したハマキの雌 20 頭をケージ中央で放し、翌日、産卵の有無を調べてみると、中央の 3 個のポットにそれぞれ 2 卵塊ずつ産卵が確認された。産卵されている葉に隣接した葉、同じ苗の 10~20 cm 離れた葉及び産卵されていないポットからの葉を採取した。コントロールとしてまったくハマキに接していないチャの苗から 2 枚を採取し、これらの葉に対する雌蜂の反応を葉上の探索行動 (滞在) 時間で調べてみた。産卵の確認されたポット 3 個の中の 2 個では、産卵された葉に隣接した葉において他の葉と比べ有意に長い探索行動 (105.6

Host-Finding and Oviposition of the Parasitoid, *Ascogaster reticulatus* WATANABE. By Yooichi KAINOH

秒, 74.5 秒) が観察された ($P<0.05$)。ケージ内のその他の葉及び無処理の葉では, 平均 7~26 秒の探索行動時間であった。また別の室内実験からも, ハマキが産卵した近くの葉に対して雌蜂の探索行動が見られ, 綿密な探索行動が行われた部位には寄主の鱗粉の存在が確認された。ハマキの産卵部位付近の鱗粉は, 雌蜂にとって卵塊に到達するための手がかりになるようである。

ハマキの未交尾と既交尾の雌の行動を比べると, 既交尾雌は, 消灯後から動きが活発になり, 産卵直前の雌は腹部末端を容器の壁に接触させるようにして左右に振りながら歩く行動が観察されるが, 未交尾雌は明期・暗期を通じて動き回る個体はきわめて少なかった。すなわち, 産卵直前のハマキが歩き回るうちに産卵場所の近くに鱗粉を付着させていることがわかった。

3 寄主鱗粉の役割

卵塊周辺の鱗粉の役割を確認するために, 直径 20 cm, 高さ 5 cm の円筒形の枠を作り, 上下をガラス板で挟んだ。上のガラス板内側中央の円内 (直径 6 cm) には, ハマキの鱗粉あるいは, 前後翅の 70% エタノール抽出物を処理し, それぞれ中央にハマキの 1 卵塊を両面テープで張り付けた。また, コントロールとして, 円内には何も処理しないで卵塊のみを張り付けた。この中に雌蜂を 1 頭ずつ放し, 5 分間の行動を観察した結果, 鱗粉があると雌蜂は時間はかかるがより確実に卵塊に到達することがわかった (第 1 表)。その効果は抽出物でも見られることから, 化学物質すなわちカイロモンの効果である。化学的性質が卵塊のそれと似ていること (KANO et al., 1982) から, 卵塊表面のカイロモンと同じ物質が類縁化合物と思われる。

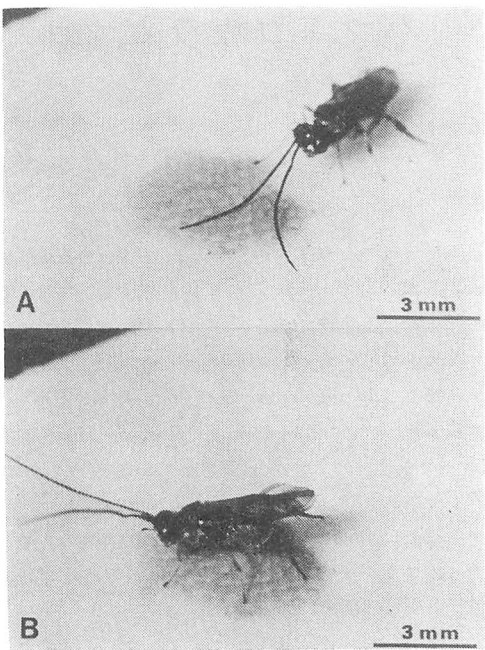
4 寄主卵塊上での行動とカイロモン

雌蜂の寄主卵塊に対する反応は以下のとおりである。

第 1 表 寄主の鱗粉及びその抽出物のハマキコウラコマユバチの探索行動に及ぼす効果

項 目	直径 6cm の円内の処理		
	寄主の鱗粉	鱗粉抽出物	コントロール
放飼雌蜂数	31	25	30
円内に入った蜂数 (その割合, %)	28 (90)	25 (100)	24 (80)
卵塊に到達した蜂数 (その割合, %)	20 (71)	25 (100)	10 (42)
円内に入ってから 卵塊に到達するまでの時間 (秒) ^{a)}	25 a	13 b	2 c

a) 同一文字間では有意差がないことを示す ($p<0.05$)。ダンカンの多重検定による。

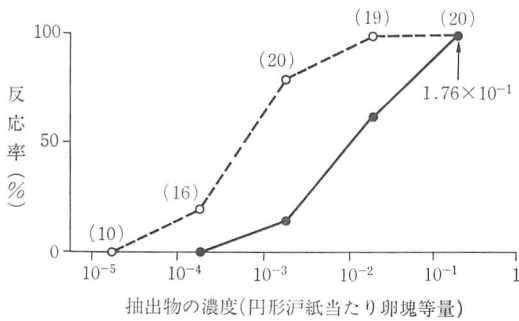


第 1 図 ハマキコウラコマユバチの寄主卵塊に対する行動
A: 触角での寄主探索, B: 産卵管での寄主探索

ランダムに歩き回っていた蜂は, 触角が卵塊周辺に触れると, 触角を卵塊に密着させて這わせながら動かし, ゆっくり歩く「触角での寄主探索」(第 1 図 A) を示しながら卵塊上を数回往復した。そして, 腹部を下方に曲げ産卵管を卵塊表面上に突き立てながら歩いて移動し, 産卵場所を探索する「産卵管での寄主探索」(第 1 図 B) を数秒間継続した後, 立ち止まって産卵を行った。雌蜂はこの行動を繰り返し, 100 卵前後から成る 1 個の卵塊に対し約 45 分間産卵行動を行った後, 立ち去った。卵塊をパラフィルムや細かいナイロンメッシュで覆った場合には雌蜂はまったく反応を示さなかったが, 卵塊の水抽出物で処理した沱紙には, 卵塊と同じような行動を示した。すなわち, このコマユバチの寄主発見には寄主鱗粉と卵塊のカイロモンが重要な役割を果たしている。

II 寄主卵塊上のカイロモン

寄主卵塊上のカイロモンの生物検定には, コマユバチの産卵活性のもっとも高い 3 日齢の雌を用いた。サンプルはガラスキャピラリーで 5 μ l 採取し, 円形沱紙 (直径 6 mm) に含浸させた後, 風乾させた。これを横に固定した 15 ml のサンプル管に入れ, 雌蜂の反応を 1~5 分間観察した。活性は, 「触角での寄主探索」をスコア 1, 「産卵管での寄主探索」をスコア 2, 反応が無ければ



第2図 ハマキコウラコマユバチに対する卵塊抽出物の濃度—反応曲線
 -----: 触角での寄主探索, —: 産卵管での寄主探索. カッコ内の数字は供試虫数を示す.

スコア 0 として平均スコアで表した。

ハマキの卵塊の抽出溶媒は、極性の高いほど抽出しやすい (KAINOH et al., 1982)。そこで、パラフィン紙に産ませたハマキの卵塊を 70% エタノールに 2~3 日浸漬し、抽出液を濃縮後、段階希釈し生物検定を行うと、抽出液の濃度に依存して雌蜂の反応は高まった(第2図)。また、濃縮した卵塊抽出液 1 ml を Sephadex G-25 カラム (2.5×100 cm) を用い、蒸留水で溶出すると、活性のピークは二山型となり、分子量の異なる少なくとも二つの物質からなることがわかった (KAINOH et al., 1982)。

III 寄主体液中のカイロモン

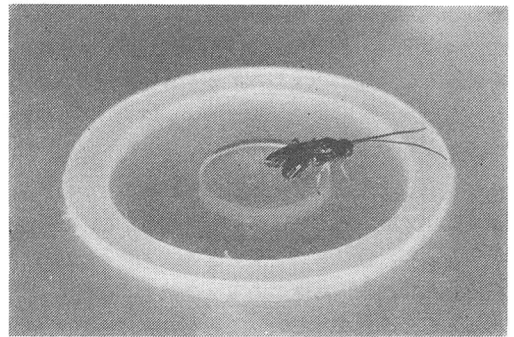
前述の円形濾紙を用いた生物検定法では、高濃度の卵塊抽出液を用いても雌蜂は卵の産下は行わず、すぐ立ち去る。卵の産下を引き起こすには別の刺激が必要なのである。川上 (1983) は、パラフィルムを使った人工卵を用いて、卵塊摩砕物中にコマユバチが産卵することを確認した。その後、山口 (1987) は同様の人工卵を用いた実験で雌蜂の産卵と共にマーキング物質が注入されることを示した。筆者は、この人工卵を改良し、産卵を引き起こすカイロモンの分析を試みた。

1 生物検定法

人工卵は、2 枚のパラフィルムの間に試験液を挟んだもので、産卵行動を引き起こすのに必要な卵塊の 70% エタノール抽出液 (卵塊表面のカイロモン) をパラフィルム面に滴下し、乾燥させた。これに 3 日齢の雌蜂を入れ、30 分間放置して産卵させた後 (第3図)、試験液中の卵数を暗視野実体顕微鏡下で数え、卵数から生物活性を判定した。

2 寄主体液カイロモンの種特異性

寄主卵塊の摩砕液に見られた産卵活性は、ハマキの他のステージや他の昆虫には存在するのだろうか。これを



第3図 人工卵に産卵中のハマキコウラコマユバチ

第2表 人工卵による寄主の各ステージ、非寄主昆虫体液の産卵活性の比較

材 料 ^{a)}	産卵率	平均産卵数 ^{c)}
チャノコカグモンハマキ 卵塊 ^{b)}	35/35	56.9 b c
終齢幼虫	10/10	71.4 b
♀蛹	9/10	42.8 c
♂蛹	9/10	42.3 c
モンシロチョウ 終齢幼虫	7/10	61.6 b c
カイコガ 終齢幼虫	9/10	49.5 b c
チャイロコメノゴミムシダマシ 終齢幼虫	10/10	105.9 a

a) 各材料 0.4 g 当たり蒸留水 1 ml の割合で摩砕した。

b) 0.2 g 当たり蒸留水 1 ml の割合で摩砕した。

c) 同一文字間では有意差がないことを示す (P<0.05)。ダンカンの多重検定による。

調べるために、種々の虫体材料を蒸留水と共に摩砕し、遠心分離機にかけ、その上澄みを生物検定した。その結果、寄主の卵塊、幼虫、蛹の摩砕液だけでなく、他の鱗翅目昆虫のモンシロチョウ、カイコガの幼虫にも活性があり、また、鞘翅目昆虫であるチャイロコメノゴミムシダマシの幼虫摩砕液にも活性があった(第2表)。このことは、このカイロモンの種特異性が低く、普遍的に昆虫の体液に存在する物質である可能性を示している。これに対し、寄主卵塊上のカイロモンは寄主を含めてハマキガ科の数種に特異的である (KAWAKAMI and KAINOH, 1986)。寄主発見行動における種特異性は、寄主卵塊を発見した時点で決定されるので、寄主体液中のカイロモンは必ずしも特異的である必要はないのであろう。

3 寄主体液中のカイロモンの同定

寄主体液カイロモンの分析にあたり、寄主体液を効率よく集める必要があった。卵塊を大量に集めるのは困難なので、活性は若干劣るが蛹の体液を用いることにした。冷凍したハマキの蛹を切断し、遠心分離機にかけて

集めた体液を分析に用いた。熱に対して安定であることがわかったので、熱処理後の蛹体液を遠心分離機にかけ、上澄みを Sephadex G-25 カラム (1.5×97 cm) にかけて、蒸留水で溶出した。各フラクションの産卵活性を調べ、ニンヒドリン発色を行ったところ、活性のピークがニンヒドリン発色のピークに含まれることから、活性物質はアミノ酸であることが示唆された。このことを確認するために、各フラクションをアミノ酸分析計にかけ定量を行った結果、活性のあるフラクションにアミノ酸がもっとも多く含まれており、活性のピークとアミノ酸のピークが一致した。そこで、主な合成アミノ酸を蒸留水に溶かし (0.1~0.01 M) 生物検定したところ、セリン、プロリン、グリシン、アラニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、ヒスチジン、アルギニンなどに活性があった。卵塊摩砕液をアミノ酸分析計にかけ、これら活性アミノ酸の定量を行い、これと同じ組成で合成アミノ酸混合液を作り、卵塊摩砕液の活性と比較すると、同等の活性であった。これらの結果から、寄主卵中の体液カイロモンとしてアミノ酸が重要であることがわかった。この結果は、前述の種特異性の低い普遍性のある物質であることを裏づけている。

アミノ酸が産卵刺激物質となっている例は、ヒメバチ科の *Ioplectis conquisitor* (ARTHUR et al., 1969, 1972; HEGDEKAR and ARTHUR, 1973), タマゴヤドリコバチ科の *Trichogramma dendrolimi* (WU and QIN, 1982) などの寄生蜂で見られ、寄主体液中の産卵刺激物質という意味では、これらの寄生蜂に限らずかなり普遍的なものと思われる。

IV 産卵行動に影響する要因

コマユバチが寄主卵塊での産卵を終了するまでには、カイロモン以外にも種々の要因が関与している。ここでは、雌蜂の日齢、寄主卵塊の日齢、既寄生のマーキングなどについて検討した結果を述べる。詳しくは、KAINOH と TAMAKI (1982) を参照していただきたい。

1 雌蜂の日齢と産卵力

雌雄一対のコマユバチを羽化後容器に入れ、毎日ハマキ卵塊と蜂蜜を与えた。この寄生卵塊を飼育し、蜂の齢数から産下卵数を推定した。雌蜂は羽化後 1 日目にはもっとも多い 150 卵以上の産卵が可能で、一生を通じて約 700 卵産卵された。また、0 から 7 日齢の産卵未経験の雌蜂に卵塊を続けて与え連続の産卵能力を調べると、3 日齢の雌蜂がもっとも産卵力があり、平均 217 卵の産卵が可能であった。このように、この蜂は羽化直後から高い産卵力を持ち、餌 (蜂蜜) を十分与えた場合にはかな

りの産卵が可能である。

2 寄主日齢の影響

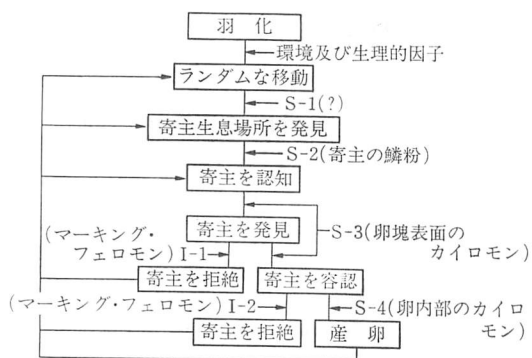
雌蜂がハマキ卵塊上で産卵を始めてから無関心になるまでの時間を卵塊の日齢別に調べてみると、1 日齢から 6 日齢に進むに従って産卵時間は増加した。しかし、その場合の寄生率は日齢が進むに従い低下した。効率よく人工飼育する場合には、若齢のハマキ卵塊を雌蜂に与えれば、短時間で高い寄生率が得られる。

3 既寄生寄主の認識

1 個のハマキ卵塊に次々と雌蜂を産卵させていった場合、産卵時間は後の蜂ほど有意に減少した。このことは、次に産卵する蜂が、卵塊がすでに寄生されていることを認識して早めに立ち去ったと思われる。また、雌蜂が既寄生卵塊に産卵する場合は、未寄生卵塊に産卵する場合と比べ、同じ産卵行動 (ovipositor-probing) 時間内でも産下卵数が少ないこと (KAWAKAMI and KAINOH, 1985) から、雌蜂が probing を行いながら卵粒ごとに既寄生寄主の認識を行って、産卵の可否を決定しているのであろう。山口 (1987) は、バラフィルムを用いた人工卵に既寄生卵塊の摩砕物を入れた場合には産卵が抑制されること、そしてこの効果は、未寄生卵塊の磨砕物に雌蜂由来の毒液 (venom) を加えた場合にも見られることを示した。このことから、雌蜂が産卵と同時に毒液を注入し、これが以後の産卵を抑制しているらしい。毒液がマーキング物質 (フェロモン) として利用されている例はヒメバチ科の *Phaeogenes cynarae* (BRAGG, 1974), コガネコバチ科の *Nasonia vitripennis* (WYLIE, 1965; 1970), *Muscidifurax zaraptor* (WYLIE, 1971), *Carph-ractus cinctus* (JACKSON, 1966) などで報告されている。

V ま と め

以上述べてきたコマユバチの寄主発見から産卵までの行動とそれにかかわる行動制御物質を第 4 図に示した。寄主の生息場所に入った雌蜂は、寄主由来の鱗粉 (S-2) のある付近を綿密に探索しているうちに、カイロモン (S-3) でハマキ卵塊を発見し、産卵行動をとる。このとき、卵塊の表面あるいはその付近にマーキング・フェロモン (I-1) があれば立ち去るだろう。産卵行動をとり産卵管を卵に刺したとき、寄主内部のカイロモン (S-4) の刺激で卵を産下する。このとき、寄主内部のカイロモンと同時に雌蜂由来のマーキング・フェロモン (I-2) があれば、産卵を避け別の卵に産卵管を刺す。こうして一つの卵塊に産卵を続けていくと寄生卵が多くなり、ある一定の寄生率になったところで立ち去り、また別の卵塊の探索にでかける。



第4図 ハマキコウラコマユバチの寄主発見から産卵までの行動と行動制御物質
S-1 ~ S-4: 刺激物質
I-1 ~ I-2: 阻害物質または忌避物質

VI 応用への展望

コマユバチの寄主発見・産卵行動の研究を通じて、本種が主に歩行によって寄主を探索する歩行型であること、そして寄主発見の手がかりが葉上の寄主の鱗粉であることなどから、LEWIS ら (1975) が *Trichogramma* spp. で行ったように、鱗粉由来の物質を用いて野外での探索活動を人為的に高めうる可能性がある。また、人工卵を用いて大量の蜂の卵を採取できるようになったことから、人工培地での大量飼育の可能性も開けるであろう。しかし、この蜂は単寄生であるので、飼育中の競争をいかに防ぐかが問題となる。

コマユバチの寄主範囲は狭く、チャノコカクモンハマキと同じハマキガ科のチャハマキ (*Homona magnanima* DIAKONOFF) の卵塊に産卵させた場合には、チャハマキの血球による包囲化作用 (encapsulation) を受け、蜂の幼虫は発育しない (KAWAKAMI and KAINOH, 1986)。

このような寄主の生体防御機構や、寄生蜂による防御機構のかく乱メカニズムを探ることにより、人為的に寄生蜂の寄主範囲を広げる (北野, 1985) といった新たな生物的防除の道も開けてくるだろう。

引用文献

- 1) ARTHUR, A. P. et al. (1969): Nature 223: 966~967.
- 2) ——— et al. (1972): Can. Ent. 104: 1251~1258.
- 3) BRAGG, D. E. (1974): Ann. Ent. Soc. Am. 67: 931~936.
- 4) HEGDEKAR, B. M. and A. P. ARTHUR (1973): Can. Ent. 105: 787~793.
- 5) JACKSON, D. J. (1966): Trans R. Ent. Soc. Lond. 118: 23~49.
- 6) 戒能洋一 (1980): 植物防疫 34: 204~209.
- 7) KAINOH, Y. (1986): Appl. Ent. Zool. 21: 1~7.
- 8) ——— et al. (1982): ibid. 17: 102~110.
- 9) ——— and Y. TAMAKI (1982): ibid. 17: 194~206.
- 10) 上条一昭 (1973): 応動昆 17: 77~83.
- 11) 川上俊武 (1983): 第27回日本応用動物昆虫学会大会講演要旨 p. 48.
- 12) KAWAKAMI, T. (1985): Appl. Ent. Zool. 0: 380~386.
- 13) ——— and Y. KAINOH (1985): ibid. 20: 362~364.
- 14) ——— (1986): ibid. 21: 8~14.
- 15) 北野日出男 (1985): 化学と生物 23: 734~741.
- 16) LEWIS, W. J. et al. (1975): J. Chem. Ecol. 1: 343~347.
- 17) 南川仁博・刑部 勝 (1980): 茶樹の害虫, 日本植物防疫協会, 東京, pp. 322.
- 18) 高本一夫 (1974): 茶試研究報告 10: 91~131.
- 19) TAMAKI, Y. (1966): Appl. Ent. Zool. 1: 120~124.
- 20) VINSON, S. B. (1985): Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology Vol. 9 (KERRUT, G. A. and L. I. GILBERT eds.), Pergamon Press, p. 417~469.
- 21) WATANABE, C. (1967): Insecta Matsumurana 29: 41~44.
- 22) WU, Z. X. and J. QIN (1982): Acta Ent. Sinica 25: 363~372.
- 23) WYLIE, H. G. (1965): Can. Ent. 97: 279~286.
- 24) ——— (1970): ibid. 102: 886~894.
- 25) ——— (1971): ibid. 103: 1537~1544.
- 26) 山口弘実 (1987): 応動昆 31: 80~82.

新しい [植物防疫] 専用合本ファイル

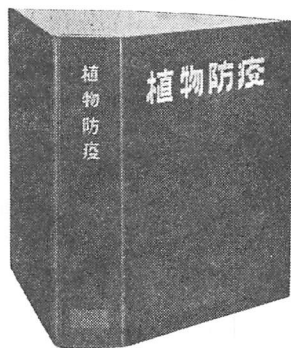
本誌名金文字入・美麗装幀

本誌B5判 12冊1年分が簡単にご自分で製本できる。

- ①貴方の書棚を飾る美しい外観。
- ②穴もあけず糊も使わず合本ができる。
- ③冊誌を傷めず保存できる。
- ④中のいずれでも取外しが簡単にできる。
- ⑤製本費がはぶける。
- ⑥表紙がビニールクロスになり丈夫になった。

改訂定価 1部 600円 送料 350円

ご希望の方は現金・振替・小為替で直接本会へお申込み下さい。



抗血清を利用した糸状菌病の診断

農林水産省横浜植物防疫所 きみしまえつ お ことばやしよしのり にし お たけし
君島悦夫・小林慶範・西尾 健

は じ め に

抗血清を植物病原糸状菌の分類・同定、検出や病害の診断に利用しようとする試みは古くから行われてきたが、高感度の血清学的手法である蛍光抗体法や酵素結合抗体法 (ELISA) が開発されて以降、特に盛んとなってきた。ただ、ウイルスや細菌と比較すると、ごく少数の研究が行われているにすぎない。糸状菌に関する血清学的研究の多くは、*Phytophthora*, *Pythium* (WHITE, 1976; KRYWIENCZYK and DORWORTH, 1980), *Fusarium*, *Rhizoctonia* 属などについて行われてきた。これらの属に含まれる種や系統には、形態学的特徴のある器官を形成させるのが困難であったり、あるいは形態観察だけでは判別ができないなどの理由から、その同定に長期間を必要とするものが多い。筆者らは、輸出入青果物、苗木などから発見された糸状菌の同定をきわめて短期間、場合によっては罹病植物を受け取った当日中に行う必要のある場合に直面することがよくある。このような場合、菌糸しか観察されないときには通常の方法によっては、属の推定すら困難である。このため、形態観察によらない迅速・簡便な識別・診断法の開発が要望されていた。このような理由から、数年来 *Phytophthora* 属とその近縁属についての血清学的な検出・診断法について検討してきたので、得られた成果を中心にして、糸状菌の血清学的研究の現状について述べてみたい。

I 抗血清利用の目的及び長所

糸状菌抗血清の利用目的は三つに大別される。その一つは、分類学的な研究への利用で、化学分類の一方法としての利用である。*Phytophthora*, *Pythium* 属菌では、有性・無性胞子などを通常の培養法では形成しないものや、きわめて形成困難なものが多い。そのうえ、形態的特徴を識別する技術の習得にも長年の経験が必要で、これらの属に不慣れな者にとっては特に形態観察による識別は難しい。このため、この2属については抗血清を利用して分類しようとする研究が多い。*Fusarium* 属では数多くの分化型やレースが存在するが、これらの同定には

植物への接種による病原性検定試験が不可欠である。これには長期間を要するため、抗血清を利用した簡易同定法の開発が行われている (荒木, 1983)。その他 *Rhizoctonia solani* の菌糸融合群を抗血清を利用して識別できるとの報告もある (ADAMS and BUTLER, 1979)。

もう一つは、生態学的研究への利用である。土壌中や植物組織中に存在する菌を蛍光抗体法により特異的に染色し、生存形態や密度を調べる試みが行われている。*Phytophthora megasperma*, *P. cinnamomi* の土壌中の生態の調査は、通常、捕そく法によっているが、この方法によって遊走子の密度を直接測定することは困難である。また、土壌サンプルの検鏡によっては類似菌との識別は不可能である。このため蛍光抗体法を用いた調査が行われた (MALAJCZUK et al., 1975; MACDONALD and DUNN, 1979)。また、ブドウ、アズナなどの枝枯病の病原菌 *Eutypa armeniacae* は腐生菌と共存する付傷組織から検出された (GENDLOFF et al., 1983)。その他、土壌中での病原菌の生存形態を知る目的や、拮抗微生物の生物防除効果の判定にも利用された (DEWEY et al., 1984; EL-NASHAAR, 1986)。各種土壌病害の生物防除法の研究が盛んな今日、抗血清の生態学的研究への利用も増加するものと予想される。

最後の一つは、病原菌の検出や病害の診断への利用である。ダイズ種子からの *Phomopsis longicolla* の検出 (GLEASON et al., 1987)、ブドウで潜在感染している *Botrytis cinerea* の検出 (SAVAGE and SALL, 1981) や、病徴に特徴がなく他の菌によるものと見分けが困難で、地中海地域のカンキツ園で大きな問題となっている Mal Seco 病 (*Phoma tracheiphila*) の診断 (NACHMIAS et al., 1979) などに ELISA などが利用された。また、植物検疫への応用例として、アメリカで中国向けコムギ中の黒穂病菌 *Tilletia controversa* 胞子の検査に ELISA の開発が試みられている (BANOWETZ et al., 1984)。

血清学的診断法は、通常分離培養法や、切片の光学顕微鏡観察に比べて、迅速なこと、精度は劣らないこと、多数の検体の取り扱いが容易で検査のオートメーション化が可能なことなどの利点がある。

II 抗原の調製法及び抗原物質の性状

抗血清の作製に用いられる抗原の調製は、主に次の方

Serological Diagnosis of Fungal Diseases. By
Etuo KIMISHIMA, Yoshinori KOBAYASHI, Takeshi NISHIO

第1表 *Phytophthora syringae* (131191 株) のS抗血清の血清学的特異性

供 試 菌 株	保 存 機 関	寒天ゲル内拡散法 ^{a)}	蛍光抗体法	ELISA ^{b)}
<i>Phytophthora syringae</i> 131191	CMI	++	+++	0.50
<i>P. syringae</i> 34002	ATCC	++	+++	0.39
<i>P. syringae</i> 62472	CMI	++	+++	0.38
<i>P. capsici</i> 8386	IFO	++	++	0.38
<i>P. castaneae</i> 9753	IFO	++	+	0.19
<i>P. erythroseptica</i> 181716	CMI	++	++	0.22
<i>P. palmivora</i> 9755	IFO	++	++	0.20
<i>P. parasitica</i> var. <i>nicotianae</i> 4873	IFO	++	++	0.16
<i>P. porri</i> 30416	IFO	++	++	0.20
<i>Pythium aphanidermatum</i> 7030	IFO	—	—	0.02
<i>Py. cucurbitacearum</i> 23	OPUP	—	—	0.02
<i>Py. debaryanum</i> 7659	NUP	*	—	*
<i>Py. irregulare</i> 30346	IFO	—	—	0.02
<i>Py. porphyrae</i> 30347	IFO	*	—	*
<i>Py. ultimum</i> 10034	OPUP	—	—	0.02
<i>Py. vexans</i> 7	OPUP	—	—	0.02
<i>Aphanomyces euteiches</i>	UUP	*	—	0.02
<i>Botrytis cinerea</i>	YPPS	—	—	0.02
<i>Colletotrichum graminicola</i> c 8-2-1	YPPS	—	—	0.00
<i>Fusarium oxysporum</i> 7157	IFO	—	—	0.00
<i>F. solani</i> f. sp. <i>mori</i> 7708	IFO	—	—	0.00
<i>Nectria haematococca</i> 18280	ATCC	—	—	0.00
<i>Phomopsis</i> sp.	YPPS	—	—	0.01
<i>Rhizoctonia solani</i>	YPPS	—	—	0.01
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	YPPS	—	—	0.00
<i>Verticillium dahliae</i>	YPPS	—	—	0.01
<i>V. tricorpus</i> 71799	CMI	—	*	*

CMI : Commonwealth Mycological Institute, ATCC : American Type Culture Collection, IFO : 醸酵研,
OPUP : 大阪府大, NUP : 新潟大, UUP : 宇都宮大, YPPS : 横浜植植

a) SDS ゲルを使用した試験結果. *Pythium vexans* のS抗原で吸収した抗血清を使用した.

b) CLARK and ADAMS (1977) の方法により測定した ELISA 価 (405nm の吸光度).

* 試験を行っていない

法が採用されている。液体培養した菌糸を遠心またはブフナーロートで集め、よく洗浄した後に生理食塩水またはリン酸緩衝生理食塩水を加えて、乳鉢、ワーリングブレンダーあるいはガラスビーズを用いた細胞破碎装置などでホモジナイズする。これをさらに超音波処理した後、低速遠心 (10,000~20,000×g, 10~30 分間) して上清と沈殿物に分ける。普通はこの上清 (可溶性分画) を抗原として用いているが、場合によっては沈殿物 (細胞壁分画) も抗原として用いられている。筆者らの抗原の調製法もこの方法によっている。その他、液体培養後の培養液中に分泌された菌体外成分を濃縮・精製して抗原として用いた例もある (NACHMIAS et al., 1979; DEWEY et al., 1983; MOESTA et al., 1983)。このようにして得られた抗原は、ウイルスや細菌に比べて一般に抗原性が低く、高力価の抗血清を得るのは難しい。家兎への免疫方法は、抗原にアジュバントを加え乳化後、筋肉内または皮下に注射する方法が一般的である。

抗原物質の性状を調べた研究は非常に少ない。*Acremonium loliae* の抗原物質は、Biogel A-5m カラムクロ

マトグラフィーで、分子量 5×10^6 ダルトン以上の分画に溶出される。この分画は 95% 多糖類、4% タンパク質及び 1% 脂質を含み、電気泳動後はタンパク部分には抗原性のないことが確かめられており、抗原物質の本体は多糖類であろうと考えられている (MUSGRAVE et al., 1986)。*Rhizoctonia solani* の抗原は、オートクレーブ後 pronase 処理しても活性が保持され、非タンパク性の物質が主体と考えられている (ADAMS and BUTLER, 1979)。

筆者らの試験で、*P. erythroseptica* の可溶性分画中の抗原物質は、熱に対して安定で、Sephadex G-200 カラムクロマトグラフィーでは、大部分が排除容量付近に溶出され、かなりの高分子であることが推察され、また、この Sephadex G-200 のピーク分画は糖及びタンパク質の呈色反応を示すが、トリクロロ酢酸による除タンパク後も大部分の抗原性が残る。このことから、この抗原物質の主体は多糖類ではないかと推察されているが、詳細は不明である。一方、タンパク質が抗原の主体であったとの報告もある (NACHMIAS et al., 1979; DEWEY et

al., 1984)。

III 各種菌抗血清の特異性

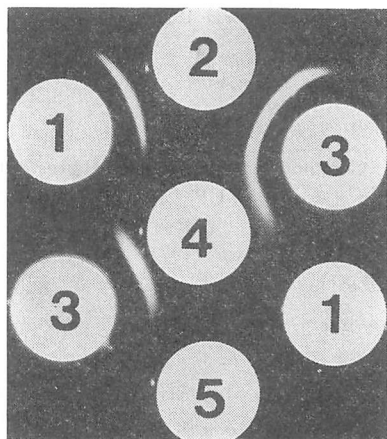
1 *Phytophthora* 属及びその近縁属

今までに抗血清が作製され、血清学的な性質の調べられた *Phytophthora* 属菌は、*P. cinnamomi*, *P. cactorum*, *P. arecae*, *P. medii*, *P. palmivora*, *P. drechsleri*, *P. cryptogea*, *P. parasitica* var. *nicotianae* 及び筆者らが調査した *P. syringae*, *P. capsici*, *P. phaseoli*, *P. erythroseptica* などがある。これらの抗血清は可溶性 (S) 分画 (抗原) あるいは細胞壁 (CW) 分画 (抗原) のいずれかで作製されたものであるが、これらは寒天ゲル内拡散法や蛍光抗体法による試験で、*P. phaseoli* を除き、いずれも *Pythium* 属を含む他属菌とは反応せず、属特異的に反応し、種特異的の反応を示すものはない。ただし、吸収抗血清を用いた試験では、*P. cactorum* (BURRELL et al., 1966), *P. cinnamomi* (MERZ et al., 1969; HALSALL, 1976) で、種特異的な反応が認められている。

P. syringae (CMI 131 191) で作製し調製した S 抗血清の反応特異性を三通りの血清学的手法を用いて調べた結果を第1表に示した (西尾ら, 1983a, b; 君島ら, 1984)。使用した抗血清は、いずれの方法でも *Pythium* 属を含む他属の菌株とは反応が認められず、*Phytophthora* 属菌とだけ特異的に反応した。*Phytophthora* 属間では、抗血清を作製した *P. syringae* の3菌株が蛍光抗体法と ELISA で他種より強い反応が認められた。S 抗血

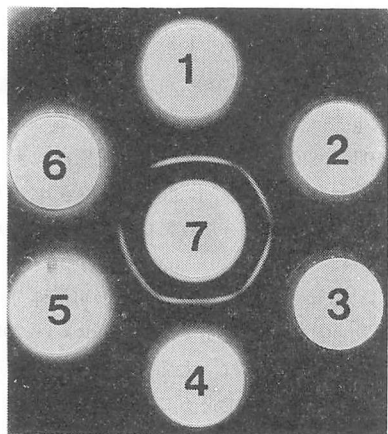
清 (S 抗原で作製したもの) と CW 抗血清 (CW 抗原で作製したもの) を比較すると、いずれの方法によっても S 抗血清がより特異性が高いものと思われた。

寒天ゲル内拡散法では、0.8% 寒天ゲルを用いた場合に S 抗原は、S 及び CW の両抗血清と反応し、4~5 日後に1本の鮮明な沈降帯と3~4本の不鮮明な沈降帯が形成された。しかし、SDS ゲル (0.3% SDS を含む) を用いると、24 時間以内に1本の鮮明な沈降帯が形成され、非常に速やかで、また数種疫病菌の S 抗原間ではこの沈降帯は互いに連続し、共通抗原の存在を示唆した (第1図)。CW 抗原は、通常寒天ゲル中を拡散せず、CW, S 両抗血清のいずれとも沈降帯を形成しなかったが、SDS ゲル中では CW 抗血清と反応して比較的幅広い沈降帯を形成した。しかし、S 抗血清とはほとんど反応しなかった (第2図)。このことは、S と CW 抗原間の抗原物質の組成の違いによるものと推察される。



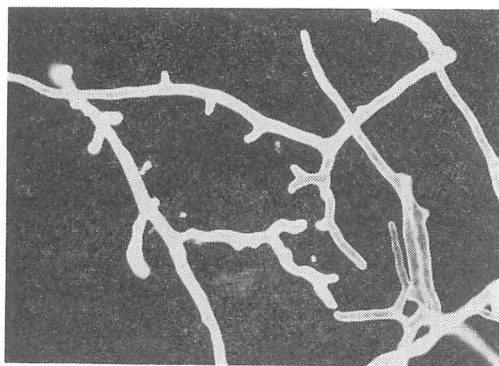
第2図 SDS 寒天ゲル中での *Phytophthora syringae* の2種抗原の反応

well 1: S 抗血清, 2: S 抗原, 3: CW 抗血清, 4: CW 抗原, 5: PBS (対照)



第1図 SDS 寒天ゲル中での反応

well 1: *Phytophthora syringae* CMI 131191, 2: *P. syringae* ATCC 34002, 3: *P. syringae* CMI 62402, 4: *P. erythroseptica*, 5: *P. capsici*, 6: PBS (対照), 7: *P. syringae* CMI 131191 の S 抗血清



第3図 蛍光染色された *P. syringae* 菌糸

蛍光抗体法は、FITC ラベル抗ウサギ IgG-ヤギ IgG を用いた間接染色法によって菌糸を染色して、落射蛍光顕微鏡で観察する方法によった。この方法では、S, CW 両抗血清とも *P. syringae* 菌糸がもっとも強い蛍光を示した (第3図)。

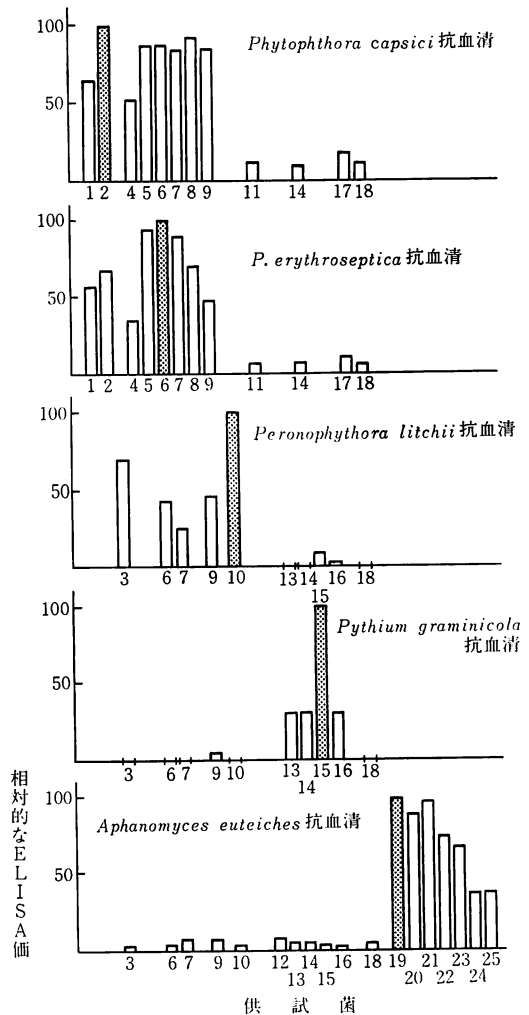
ELISA (アルカリ性リン酸分解酵素ラベル抗体を使用) では各種菌の S 抗原を供試して、抗血清の特異性を検討した。この場合用いる抗原の濃度を一定にして比較試験する必要がある。しかし、今のところ抗原物質の詳細が不明であるので、吸光度 ($OD_{280nm}=0.6$) を一定にした S 抗原液を試料として ELISA 価を測定している。これは、かなり乱暴な方法であるが、この ELISA の反応条件 (コーティング γ -グロブリン $5 \mu g/ml$, コンジュゲート 1/200 希釈) では、*Phytophthora* 属以外の菌は高濃度の抗原試料でも ($OD_{280nm} \geq 0.6$) 反応しないし、逆に *Phytophthora* 属菌では、その濃度を 1/10 に希釈しても ($OD_{280nm}=0.06$) ELISA 価は 20~30% 低下する程度であること、抗原を調製する菌糸の培養日数や培養基を変えても、通常に生育している菌糸を用いる限り ELISA 価に大きな変動はないことなどから、筆者らの方法で測定した ELISA 価は、抗原の相対的な近縁関係を示しているものと推察している。

P. syringae 抗血清以外の *Phytophthora* 属及びその近縁の *Peronophythora*, *Pythium* 及び *Aphanomyces* 属菌抗血清を作製してその反応特異性を調べた。その結果、*P. phaseoli* 抗血清は *Pythium* 属菌にもよく反応し、また、Ko ら (1978) によって *Phytophthora* 属にきわめて近縁な属として初記載された *Peronophythora litchii* の抗血清は *Phytophthora* 属菌ともよく反応した以外は、属特異的に反応することが明らかとなった (第4図)。

これらの属の場合、抗血清は属の推定に有力な武器となりうる。

2 *Fusarium* 属

Fusarium 属菌の血清学的研究は古くから行われ、その分類への利用が試みられている。荒木 (1983) によれば、*Fusarium* 属菌 3 種、数分化型・菌株を用い、寒天ゲル内拡散法や免疫電気泳動法により検索した結果、*F. oxysporum* と *F. moniliforme* との間では共通の反応が見られ、免疫学的に密接であったが、*F. solani* は両種とはまったく反応を示さず異質で、3 種間の免疫学的な異なる関係は、SNYDER と BOOTH のいずれの分類方式ともよく符合するとしている。IANNELLI ら (1982) は、*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* 及び *F. moniliforme* の菌糸磨砕液の上清を抗原とし抗血清を作製し、*F. oxysporum* の四つの分化型 (*dianthi*,



第4図 各種抗血清の反応特異性

網点部はホモログな抗原を示し、他はこれを 100 とした場合の相対的な ELISA 価を示した (5 回以上反復試験の平均値より算出)、番号空欄は試験を行っていないことを示す。

1: *Phytophthora cambivora*, 2: *P. capsici* IFO 8386, 3: *P. capsici* IFO 30696, 4: *P. castaneae*, 5: *P. cryptogea*, 6: *P. erythroseptica*, 7: *P. megasperma*, 8: *P. melonis*, 9: *P. syringae* CMI 131 191, 10: *Peronophythora litchii*, 11: *Pythium aphanidermatum* IFO 7030, 12: *Py. aphanidermatum* UOP 344, 13: *Py. debaryanum*, 14: *Py. irregulare*, 15: *Py. graminicola*, 16: *Py. spinosum*, 17: *Py. ultimum*, 18: *Py. vexans*, 19: *Aphanomyces euteiches* UU-1, 20: *A. euteiches* UOP Ap-25, 21: *A. euteiches* AE-F 2, 22: *A. cochlioides* AC-13, 23: *A. cochlioides* AC-M 4, 24: *A. iridis* UOP Ap-1, 25: *A. iridis* UOP Ap-7

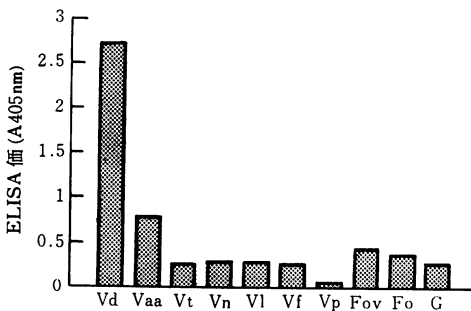
melonis, pisi, lycopersici) と *F. oxysporum* f. sp. *melonis* の三つのレース (1, 2, 3) の各菌株を寒天ゲル内二重拡散法などで調査し、吸収抗血清を用いれば分化型の識別が可能であったと報告した。

3 *Rhizoctonia solani*

Rhizoctonia solani の菌糸融合群の血清学的な性質が ADAMS と BUTLER (1979) により調べられた。それによれば、菌糸磨砕液の上清を抗原とし、抗血清を作製して寒天ゲル内拡散法を行ったところ、AG-1~AG-5 の各群はいくつかの共通抗原を持ち、また AG-2, AG-3, AG-5 にはおのおの少なくとも一つの特異の抗原を持つことが解明された。AG-1 と AG-4 は血清学的に区別できるが、AG-2-1 と AG-2-2 は区別できないとし、血清学的なグループは菌糸融合群と一致すると報告されている。

4 *Verticillium* 属

Verticillium 属菌を用いた試験はいくつか報告されている。FITZELL ら (1980) は、*V. dahliae* の抗血清を作製し、他の4種の *Verticillium* 菌と比較した。それによると、*Verticillium* 属にも属特異的な共通抗原が存在することがわかった。さらに細胞壁分画の抗血清が、可溶性分画の抗血清よりも特異性が高く、*V. nigrescens* よりも *V. tricorpus* のほうが血清学的に *V. dahliae* に近いと報告している。また、GERIK ら (1987) は *V. dahliae* 抗血清は、*V. albo-atrum* と多少反応するものの他の5種の *Verticillium* 菌とはほとんど反応しなかったと報告している (第5図)。



第5図 *Verticillium dahliae* 抗血清に対する各種菌株の ELISA 価 (GERIK et al., 1987 から作成)

- Vd : *V. dahliae*

Vaa : *V. albo-atrum*

Vt : *V. tricorpus*

Vn : *V. nigrescens*

Vl : *V. laterutium*

Vf : *V. fungicola*
- Vp : *V. pasoliotia*

Fov : *Fusarium oxysporum*
f. sp. *vasinfectum*

Fo : *F. oxysporum*

G : *Gliocladium* sp.

第2表 *Botrytis cinerea* 抗血清に対する各種菌のラジオイムノアッセイ (RIA) 相対値

供 試 菌	RIA 相対値
<i>Botrytis cinerea</i>	1.00
<i>B. allii</i>	.48
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> minor	.24
<i>S. sclerotiorum</i> major	.11
<i>Monilinia fructicola</i>	.10
<i>Aspergillus niger</i>	<.0005
<i>Pythium aphanidermatum</i>	<.0005
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	<.0005
<i>Rhizoctonia solani</i>	<.0001

SAVAGE and SALL, 1981 から作成

5 その他の属

上記にあげたほかに、*Aspergillus*, *Botrytis*, *Eutypa*, *Phymatotrichum*, *Phomopsis* 属菌などの報告がある。GLEASON ら (1987) の *Phomopsis longicolla* 抗血清は、*Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* と *D. p.* var. *caulivola* に強く反応したが、他の *Fusarium* 菌などの種子伝染性病原菌7種にはまったく反応せず、種子からの本菌の検出が可能であると報告している。また、JOHNSON ら (1982) の *Epichloë typhina* 抗血清は、*Pythium*, *Phytophthora*, *Aphanomyces* 菌など供試した14種の菌株とはまったく反応しなかったと報告している。*B. cinerea* の抗血清の特異性をラジオイムノアッセイ (RIA) によって調べた例を第2表に示した (SAVAGE and SALL, 1981)。

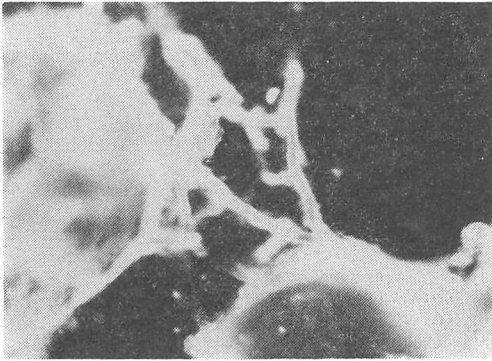
IV 疫病菌抗血清を用いた診断例

Phytophthora 属菌に特異的の反応を示した *P. syringae* と *P. erythroseptica* 抗血清を用い、蛍光抗体法と ELISA により人工接種または自然感染の罹病組織からの *Phytophthora* 属菌の検出、診断を試みた例について紹介したい。

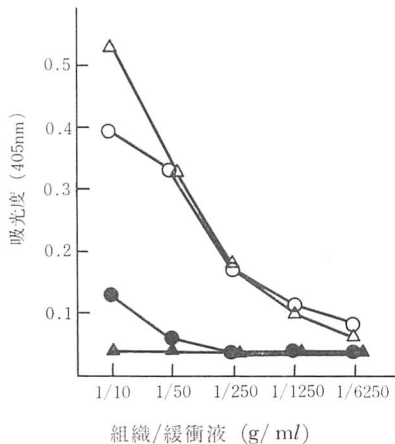
1 人工接種植物からの検出

P. syringae をライラック葉とリンゴ果実に接種し、罹病組織の磨砕液または凍結切片をスライドガラス上に風乾固定し、蛍光染色し観察した結果、寄主植物組織中の供試菌菌糸片の発する顕著な蛍光が観察された (第6図)。ただ、ライラック葉柄など自己蛍光反応の強い部位では検出困難であった。

また、組織磨砕液の上清を抗原として ELISA による検出を行ったところ、リンゴ果実、ライラック葉の罹病部試料は高い ELISA 価を示し、健全部試料と顕著な差があり、特異抗原を容易に検出することができた (第7図)。



第6図 りんご果実組織内で蛍光観察された *P. syringae* 菌糸



△罹病リンゴ, ▲健全リンゴ,
○罹病ライラック, ●健全ライラック

第7図 ELISA による検出

2 自然発病株の診断

次に自然発病したズッキーニ、レイシ、テッポウユリ、ガーベラ、カーネーション、カスミソウの診断例を紹介したい。これらはいずれも、輸入検査で発見されたものや、栽培農家のほ場や温室内で発病したもので、同定を依頼されたものである。いずれも病徴などから

Phytophthora 属菌または *Pythium* 属菌が関与している可能性が高いと思われたので、血清学的診断を試みるとともに正子らの疫病菌選択分離培地により病原菌を分離し、生理試験及び形態観察を行い同定を試みた。

その結果は第3表に示すとおりである。すなわち蛍光抗体法または ELISA で顕著な血清反応を示したズッキーニ、テッポウユリ、ガーベラ、カスミソウからの分離菌は *Phytophthora* 属菌であると同定された。また、血清反応で陽性を示したレイシからの分離菌は同定の結果、*Peronophthora litchii* であることがわかった。一方、血清反応を示さなかったカーネーションからの分離菌は今のところ、卵胞子は形成されるものの遊走子の放出を観察できず、形態的に同定が困難であるが、チアミンを含まない培地でもよく発育することなどから、*Phytophthora* 属菌とは考えにくい。

このように抗血清を用いた方法では、同定依頼を受けた当日もしくは翌日には *Phytophthora* sp. による病害と、一応の診断を下すことができた。

V 問題点と将来展望

以上のように、今までに作製された各種糸状菌の抗血清は、*Phytophthora* 属菌の抗血清も含めて、属特異的または同属内のグループ特異的である。属の推定も困難な場合などには、この属特異的な反応特異性を持つ抗血清は十分に利用価値のあることはすでに述べたとおりである。しかし、さらに特異性の高い抗血清、例えば種特異的なもの、あるいは系統特異的なものが得られるならば、その利用価値は一段と高められる。特異性の高い抗血清（抗体）を得る方法として、一つは抗原の性質を調べてより特異的な抗原を精製して抗血清を作製する方法で、筆者らは現在このための抗原物質の精製を進めている。もう一つの方法は、モノクローナル抗体の利用であろう。最近、HARDHAM ら (1986) は、*P. cinnamomi* の遊走子を抗原として、分離株特異的、種特異的及び属特異的な反応特異性を持つモノクローナル抗体の作製に成功したと報告している。糸状菌のモノクローナル抗体利

第3表 血清学的診断と生理・形態学的同定の比較

寄主 (由来)	病徴	ELISA 価 ^{a)} (対照区)	蛍光抗体法	同定結果
ズッキーニ (アメリカ)	果実腐敗	0.35* (0.03)	+	<i>Phytophthora capsici</i>
レイシ (台湾)	〃	0.47** (0.03)	+	<i>Peronophthora litchii</i>
テッポウユリ (沖永良部島)	茎腐れ	0.78 (0.00)	+	<i>Phytophthora</i> sp.
ガーベラ (神奈川県)	根腐れ	0.64 (0.01)	Not tested	<i>Phytophthora</i> sp.
カーネーション (東京都)	地際部の腐敗	0.00 (0.00)	—	<i>Pythium</i> sp. (?)
カスミソウ (静岡県)	根腐れ	Not tested	+	<i>Phytophthora</i> sp.

a) カボチャの根 (*), 培養菌糸 (**), その他は原寄主の罹病組織を試料とした。

用による検出・診断法の研究は、今後さらに活発となるものと予想される。

一方、得られた抗血清の利用技術の改良も今後に残された課題と思われる。生態学的な研究や、罹病組織からの検出には蛍光抗体法や ELISA が有力な方法であり、これらの方法は今後とももっとも頻繁に利用されるであろう。最近、GERIK ら (1987) がワタの根からの *Verticillium dahliae* の検出に用いた酵素抗体染色法 (immunoenzymatic staining) は、蛍光顕微鏡を必要とせず実体顕微鏡で観察が可能であるし、GLEASON (1987) が報告した Seed immunoblot assay (SIBA) は種子伝染性病害の診断技術として興味ある方法である。今後さらに、簡便な利用技術の開発が望まれる。

引 用 文 献

- ADAMS, G. C., Jr. and E. E. BUTLER (1979) : Phytopathology 69 : 629~633.
- 荒木隆男 (1983) : 北海道 畑作物の土壤病害, pp. 221~231.
- BANOWETZ, G. M. et al. (1984) : Mycologia 76(1) : 51~62.
- BURRELL, R. G. et al. (1966) : Phytopathology 59 : 422~426.
- DEWEY, F. M. et al. (1984) : ibid. 74 : 291~296.
- EL-NASHAAR, H. M. et al. (1986) : ibid. 76 : 1319~1322.
- FITZELL, R. et al. (1980) : Aust. J. Biol. Sci. 33 : 115~124.
- GENDLOFF, E. H. et al. (1983) : Phytopathology 73 : 760~764.
- GERIK, J. S. et al. (1987) : ibid. 77 : 261~265.
- GLEASON, M. L. et al. (1987) : ibid. 77 : 371~375.
- HALSALL, D. M. (1976) : J. Gen. Microbiol. 94 : 149~158.
- HARDHAM, A. R. et al. (1986) : Can. J. Bot. 64 : 311~321.
- IANNELLI, D. et al. (1982) : Mycologia 74 (2) : 313~319.
- 君島悦夫ら (1984) : 植防研報 20 : 1~6.
- KO, W. H. et al. (1978) : Mycologia 70 : 380~384.
- KRYWIENCYK, J. and C. E. DORWORTH (1980) : Can. J. Bot. 58 : 1412~1417.
- MACDONALD, J. D. and J. M. DUNIWAY (1979) : Phytopathology 69 : 436~441.
- MALAJCZUK, N. et al. (1975) : Aust. J. Bot. 23 : 289~309.
- MERZ, W. G. et al. (1969) : Phytopathology 59 : 367~370.
- MOESTA, P. et al. (1983) : Eur. J. Cell Biol. 31 : 167~169.
- MUSGRAVE, D. R. et al. (1986) : New Zealand J. Agric. Res. 29 : 121~128.
- NACHMIAS, A. et al. (1979) : Phytopathology 69 : 559~561.
- 西尾 健ら (1983a) : 植防研報 19 : 47~53.
- (1983b) : 同上 19 : 55~62.
- SAVAGE, S. D. and M. A. SALL (1981) : Phytopathology 71 : 411~415.
- WHITE, D. G. (1976) : ibid. 66 : 523~525.

協 会 だ よ り

○昭和 62 年度各種成績検討会開催のお知らせ

- リンゴ農薬連絡試験 10月21日(水), 22日(木)
福島県会津若松市
- 茶農薬連絡試験 10月29日(木)
岐阜市
- 落葉果樹農薬連絡試験 11月24日(火), 25日(水)
家の光会館, 家の光ビル
- カンキツ農薬連絡試験 12月2日(水), 3日(木)
家の光会館
- 一般及び特別委託試験, 野菜病害虫シンポジウム
別表のとおり
- 桑農薬連絡試験 12月15日(火)
家の光会館

いずれも午前 10 時より開催

家の光会館・ビル: 東京都新宿区市ヶ谷船河原町 11

電話 (03) 260-3198 (会館), 4791 (ビル)

	殺菌剤分科会	殺虫剤分科会
	家の光会館(7階)	家の光ビル(7階)
12月7日(月)	○野菜関係成績検討会	○野菜関係成績検討会
8日(火)	○野菜関係成績検討会	○野菜関係成績検討会
9日(水)	○野菜関係成績検討会	○病害虫緊急対策研究会成績検討会(コガネムシ等土壌害虫)
	合同会議(13:00~)	
10日(木)	○病害虫緊急対策研究会成績検討(イネ馬鹿苗病)	○野菜病害虫防除研究会シンポジウム
11日(金)	○水稻関係成績検討会	○水稻関係成績検討会
12日(土)	○水稻関係成績検討会	○水稻関係成績検討会

セノカミキリの生態

東京都農業試験場 阿久津 喜作

はじめに

近年、カミキリムシ類による果樹、樹木などの加害が問題となっている。例えばブドウではブドウトラカミキリ、リンゴ、カンキツ類を加害するゴマダラカミキリ、クリ、ナシではシロスジカミキリ、クワ、イチジクのキボシカミキリ、マツ類におけるマツノマダラカミキリなどである。

セノカミキリ (*Acalolepta luxuriosa* BATES) は 1970 年ごろから東京をはじめ、埼玉など関東のウド栽培地帯に激発し、寄生株率 70% に及ぶ被害が発生して問題となった。

カミキリムシ類は、加害のもっとも大きい幼虫期を寄主植物内にせん孔して過ごすために、外部からの観察が難しく、その生態の詳細についてはほとんど明らかにされていない。セノカミキリについては、石井 (1920)、高橋 (1928) による報告があるのみで、生態の詳細については研究されていない。ここでは、筆者が 1976 年から 1983 年にかけて東京都のウド栽培地帯で行った研究を述べ、参考に供したい。

I 発生実態と発生源の解明

主要ウド栽培府県へのアンケート調査によれば、本種は 1970~1978 年に東京都をはじめ埼玉、神奈川、群馬、茨城各県で発生し、問題になっていることがわかった。また、東京都のウド畑ではどのくらいの食入株率を示すかについて調査したところ、都内 39 地点の抽出畑のうち 19 地点 (54.3%) に発生が認められ、高いところでは 79% の食入株率を示す畑も見られた。

本種の発生源については、三つの侵入ルートが考えられた。第一には東京都の農家が根株を養成するため、群馬県の赤城山、榛名山などの高冷地農家に委託栽培を行う。その際、苗に食入した本種が高冷地で繁殖し、秋に掘り取られて東京に戻る根株に多数の幼虫が食入していたか、それとも高冷地のウド畑周辺のセノキ、タラノキから飛来したものがウドに食入し、東京に運び込まれるという仮説、すなわち、高冷地からの侵入ルートであ



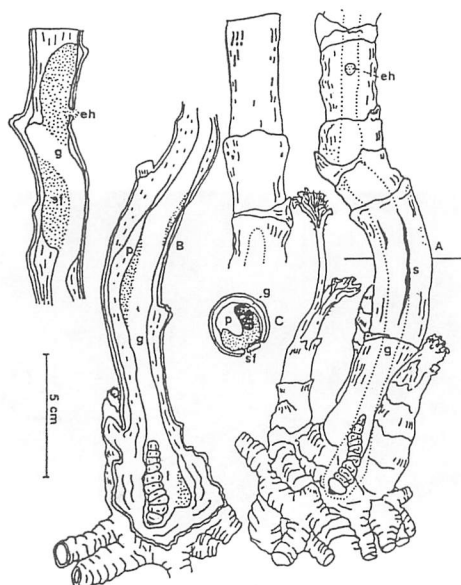
第1図 軟化栽培の後、廃棄されたウドの根株
ここから羽化した成虫がウド畑に飛来して産卵する。

る。しかし、高冷地における食入率、高冷地から東京に戻された根株の食入率がきわめて低いことから、多発の要因とする根拠にはならなかった。第二のルートは、東京都のウド畑周辺のウコギ科植物からの侵入である。しかし、ヤツデ、キズタ、ウコギ、カクレミノ、タラノキなど 355 株について調査した結果、ウコギに食入していた幼虫 2 例、ヤツデ、キズタで後食中の成虫各 1 頭を得たのみで、このルートも否定された。

第三の侵入経路は軟化芽収穫後山林内などに捨てられる廃棄根株からウド畑へ侵入するルートである。この廃棄根株への食入率はきわめて高く、調査した 15 か所のうち半数で食入が認められ、最高 46% の食入率のところもあった。東京都のウド畑における本種の激発、高い食入率は、幼虫が食入したまま廃棄された根株から羽化・脱出した成虫が、初夏に畑に飛来して産卵する結果起こるものであることがわかった。本種が栽培ウドに付くようになった経路には、長い歴史があるように思われる。ウドは百数十年の栽培歴があり、山ウドが原種である。そのころ、すでにウドについていたものが栽培ウドで生活環を送るようになったと想像される。

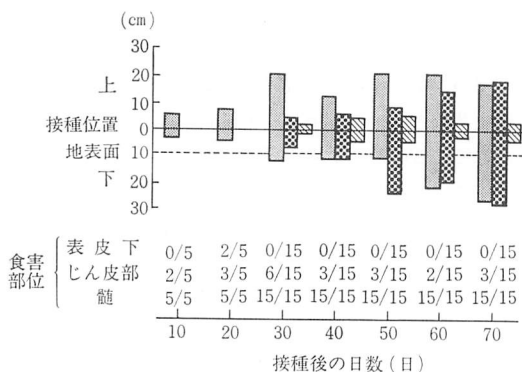
II 食害とウドの生育に及ぼす影響

本種の幼虫は、ウドの茎内をどのようにせん孔して食害し、発育するのだろうか。これを知るために、卵をウドの茎内に接種し、定期的に掘り取って坑道の状況や幼虫の頭幅を調べた。5月に定植したウドの茎に7月29



第2図 ウドにおけるセンノカミキリ幼虫のせん孔

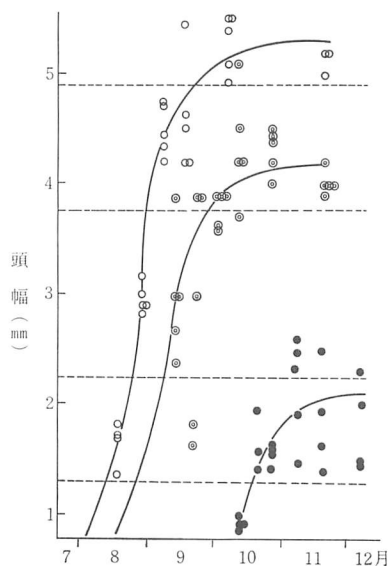
A: 幼虫の食入によって萌芽したウド,
B: 被害株の縦断面, C: 被害茎の横断面,
eh: 食入孔, g: 坑道, l: 幼虫, p: 蛹部,
s: 裂目, sf: 糞



第3図 接種時期を変えた場合のセンノカミキリ幼虫による坑道の拡大と被害部位

■ 7月29日接種, ■ 8月13日接種,
▨ 9月22日接種, 破線以下は地中を示す。
被害は部位別に被害株数/調査株数で示した。

日, 8月13日, 9月22日の3回に分けて卵を接種し, 接種日から10日間隔で5株ずつ掘り取り, 茎を二つに裂いて調査をした。ふ化幼虫ははじめ, 表皮下の維管束部を食害するが, 2齢脱皮後すぐじん皮部を経て髓に食入する。そしてしだいに坑道を拡大し, 7月と8月接種では, 70日後に40~50cmの長さ達する。せん



第4図 接種時期を変えた場合の幼虫頭幅の経時的変化

○: 7月29日接種, ◎: 8月13日接種, ●: 9月22日接種, 破線は推定された幼虫の齢期, 実線は頭幅の変化から推定される幼虫の生長曲線。

孔ははじめ上部に向かって拡大するが, 秋季には下方へのせん孔が進み, ついには地中の根株に達する。得られた幼虫の頭幅の変化から幼虫の齢期を推定すると, 7月接種では接種70日後(10月8日)にはほぼ5齢に達し, 8月ではそれより遅れ, 4齢のまま冬を越すと考えられる。9月22日接種では, 生育が著しく遅れ, 70日を経過しても坑道は7~8cmにとどまった。頭幅の推定では2齢と考えられ, 冬期地上部が枯死するウドでは越冬できず, 死亡するものと考えられる。

ウドの枯死, 倒伏, 萌芽と幼虫の食入との関係を調べてみると, 倒伏したり, 萌芽したりしている株には食入が多く, 高い相関が見られる。しかし, 枯死株との間には相関が見られなかった。ウドの生育との関係については食入株と無食入株の間に有意な差が見られない。しかし, 芽の形成には明らかな差が見られ, 食入株では小さくなる傾向が見られた。この理由は, カミキリが食入して髓を食害する時期の7~8月には, ウドはすでに栄養生長を遂げ, 加害のもっとも激しいときには芽の形成期に当たるためと考えられる。

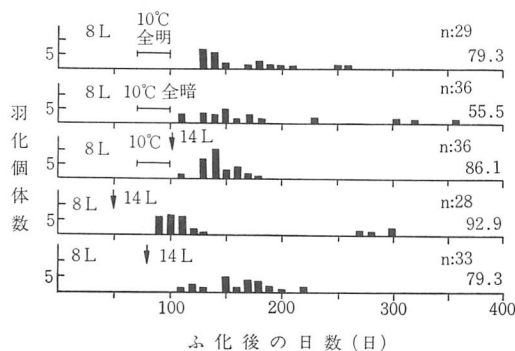
III 幼虫の发育に及ぼす日長, 低温の影響

ウドに付くセンノカミキリは, 年1世代で6月から8月にかけて羽化, 交尾, 産卵し, ふ化した幼虫は夏から

第1表 センノカミキリ幼虫の食入がウドの芽の形成に及ぼす影響

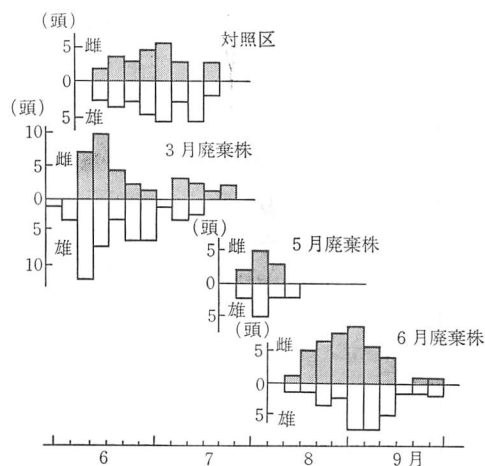
	調査株数	1株当たりの休眠越冬芽数			合計
		大芽	中芽	小芽	
被害株	97	1.14±1.08 ^{a)}	1.06±1.01	1.53±1.43	3.81±1.23
健全株	124	1.75±0.92 ^{a)}	0.70±0.85	1.07±1.03	3.53±1.13

a) 被害株及び健全株の間には危険率5%で有意差 (t検定)



第5図 低温処理時及び処理後の日長変更がセンノカミキリの羽化に及ぼす影響

矢印は日長の変更時期を示す。――は冷蔵期間



第6図 ウドの軟化後の廃棄株におけるセンノカミキリの羽化脱出消長 (1977)

対照区は地中に埋没した根株からの脱出消長を示す。

秋にかけてウド茎内で发育した後、老熟幼虫で越冬する。翌年の春、老熟幼虫は蛹化し、再び成虫となってウド畑に飛来する。このような生活環を調節している要因は、主として幼虫の发育期における日長と温度である。人工飼料で飼った幼虫を使って長日 (14 L)、短日 (8 L) 条件を与えた実験では、長日から短日への切り替えは深い休眠を引き起こす。また、一度生じた休眠を適当な時期に覚せいさせるには長日化が必要である。しかし、長日条件への切り替えだけでは必ずしも斉一な蛹化は起こらない。ふ化幼虫を短日条件で70日飼育した老熟幼虫を10°Cに30日間遭遇させ、その後長日条件で飼育した場合がもっとも蛹化がそろう。木村 (1974) は、マツノマダラカミキリ老熟幼虫を10°Cか15°Cに2か月間遭遇させると高率で蛹化が起ることを確かめている。

IV 羽化と後食による性成熟

センノカミキリは、初夏から羽化が始まる。3月、5月、6月に軟化栽培され、廃棄された根株を集めて成虫の羽化・脱出消長を調べてみると、早いもので5月下旬から始まり、9月中旬に及ぶ。脱出時期がずれる理由は、老熟した幼虫の食入した根株が軟化栽培開始まで冷蔵されているためである。脱出は羽化後すぐに起こるわけではなく、体が固まるまで5~7日間蛹室に停留する。

脱出した成虫は、一定期間後食して初めて卵巣が成熟する (小島・林, 1969)。この習性はフトカミキリ亜科の特徴を示すものであるが、性成熟に必要な後食量や期間など詳細はわかっていない。センノカミキリは後食位置もほぼ一定していて、地上から20~30 cmの茎、地上から数えて1~4番目くらいの枝の付け根を後食する。後食開始後、産卵までに必要な日数を後食期間とすると、ほぼ9~15日間を要する。後食開始後30日間の摂食量を調べてみると、雌雄とも12~13日までおう盛な摂食パターンが見られる。後食と交尾の関係、すなわち、交尾可能な性成熟は果たして後食と深くかかわっているのだろうか。この疑問にこたえるため、羽化後の日齢と交尾反応の実験を行ってみた。羽化・脱出後十分後食した未交尾の雌雄を羽化当日、2日目、3日目の成虫と遭遇させ、交尾するかどうかを試みたのである。その結果、雄では羽化後6日目には100%が交尾可能であり、雌では6日後で70%、10日後には100%が交尾可能であることがわかった。このことは、後食しなくとも脱出時にはすでに交尾可能であることを示している。しかし、脱

出した雌を解剖してみると卵巣の発達は見られない。そこで脱出した雌成虫に後食させず、交尾もない区、後食させ、交尾のない区、後食させず交尾させた区、後食も交尾ともにさせた区を作り、10日、15日間飼育して卵巣の発育と卵巣小管数を調べてみた。その結果、後食、交尾ともなかった区では卵巣の発達は見られず、卵巣小管数も少なかった。また、交尾しても後食しなかった区では同様に卵巣の発達は見られなかった。さらに、後食しても交尾させなかった区では正常に後食し、交尾した区より卵巣の発育は悪いことがわかった。以上のことから、フトカミキリ亜科に属するカミキリムシ類が後食によって性成熟を図るという事実は、実験結果からも支持される。しかし、十分後食した雌でも交尾の有無によって卵巣の発育に差が見られ、交尾した雌の卵巣の発育が早まることは、交尾が卵の成熟を促す重要な役割を果たしていることを示している。また、交尾回数の多い雌ほど産卵数が多いことからこの考えは支持される。

V 配 偶 行 動

カミキリムシ類の配偶行動については、本誌第 41 巻 2 号に岩淵 (1987) による詳しい解説が行われており、その中に本種の行動が紹介されているので参照されたい。至近距離での配偶行動は、接触性フェロモンが関与していることは疑いないが、その主要成分はまだ同定しきれていない。また、このフェロモンが雄の触角のどの感覚毛によって受容され、行動が解発されるのかについては興味のある問題であるが、今のところ不明である。走査電顕による観察では、感覚毛の形態の雌雄差は見いだされていない。

VI 産 卵

カミキリムシの中でもフトカミキリムシ類は、限られた植物を選択し、生きた植物に産卵加工を行って産卵することから、もっとも進化した種類に属するといわれている。センノカミキリは寄主の選択、産卵加工の習性からフトカミキリ類の特徴を備えている。すなわち、産卵加工は茎に一文字の深いかみ傷を付け、そこに頭を下にして1個のバナナ状の卵を産み付ける。

畑のウド1株当たりの産卵は1卵がもっとも多く、株当たり2卵、3卵は少なくなり、1株に5卵以上産み付けた例は見られない。I δ 示数から産卵の集中度を調査したり、負の二項分布、ポアソン分布の当てはめを行ってみた結果からは、何か1株への集中的産卵を避ける習性が見られる。このことは、あとから産卵しようとする雌に対し、先に産み付けた雌が産卵ずみの情報 (例

第2表 センノカミキリがウド1株当たりに産み付けた卵数と産卵株の推移 (1978)

1株当たりの産卵数	7月13日調査		8月4日調査		8月28日調査	
	株数	% ^{a)}	株数	% ^{a)}	株数	% ^{a)}
0	771	—	558	—	449	—
1	29	80.6	147	67.1	192	62.3
2	5	13.9	53	24.2	87	28.2
3	2	5.6	19	8.7	26	8.4
4	0	0.0	0	0.0	4	1.0

a) 総産卵株数を 100 とした場合の指数

えばリンゴミバエ (PROKOPY, 1972) やアズキゾウムシ (OSIMA ら, 1973) のように) を与えることによって限られた寄主における共倒れを防いでいるとも考えられる (1株に2頭の幼虫が食入していることはきわめて少ない)。

フトカミキリ類は、少数の卵を長期にわたって産卵する習性を持っている。マツノマダラカミキリは1日に1~2卵ずつ平均100卵を2か月にわたって産み (越智, 1969)、クワを加害するキボシカミキリでは、1雌当たり 353 ± 12 卵を 95 日 ± 21 日にわたって産卵する (伊庭, 1979)。カンキツ類を加害するゴマダラカミキリでは、多くて90卵、平均30~40卵を長期にわたって産卵することが知られている (川村, 1977)。センノカミキリは、 286.9 ± 83.1 卵で産卵期間は 75.3 ± 19.5 日である。

カミキリムシの産卵能力は、一般にどれだけ多くの卵をいかに長期間産むかによって示される。しかし、雌の大きさや後食量によっても異なることがキボシカミキリで確かめられている (伊庭, 1982)。センノカミキリでは、同一雄との交尾回数や他の雄との頻繁な交尾によっても産卵が多くなることが確かめられた。

お わ り に

ウド栽培地帯に発生しているセンノカミキリの生活環は、ウドを寄主として成り立っている。ウドは冬期から軟化栽培を行うために集積されるが、その中には、畑で根株を養成中に食入した大部分のセンノカミキリ幼虫が潜入している。したがって、軟化芽を収穫した後廃棄される根株は、翌年の根株養成畑における成虫の飛来源となる。この廃棄根株を粉碎するか、くん蒸してしまえば生活環が絶たれ、被害をなくすることが可能である。そのためには、栽培農家による一斉防除が必要である。それも1度行えば十分効果があると思われる。

本種の生態には、まだ多くの興味ある問題が残されて

いる。前に述べた接触性フェロモンの受容機構、雌が出すと思われる産卵ずみ情報のフェロモンの存在などである。カミキリムシ類の生態研究は、まだ緒に付いたばかりであり、これからの研究が大いに期待される分野である。

引用文献

1) 伊庭正樹 (1979) : 第 30 回蚕糸学大会講要 p. 14.
2) ——— (1982) : 日蚕雑誌 51 : 223~227.

3) 石井 悌 (1928) : 病虫害雑誌 7 : 686~689.
4) 岩淵喜久男 (1987) : 植物防疫 41 : 6~11.
5) 川村 満 (1977) : 農薬 24 : 59~65.
6) 木村重義 (1974) : 林学会東北支部会誌, 第 26 回大会講要集 141~143.
7) 小島圭三・林 匡夫 (1969) : 原色 日本 昆虫生態図鑑, 1 カミキリ編, 保育社, 大阪, 302 pp.
8) Osima, K. et al. (1973) : Agr. Bio. Chem. 37:2679~2680.
9) 越智鬼志夫 (1969) : 日林誌 51 : 188~192.
10) PROKOPY, R. J. (1972) : Environ. Entmol. 1 : 326~332.
11) 高橋 奨 (1928) : 蔬菜害虫各論, 文明堂, 東京, 511pp.

紹介 **新登録農薬**

『植物成長調整剤』

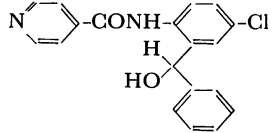
イナベンフィド水和剤 (61.10.28 登録)

本剤は中外製薬(株)によって開発された植物成長調整剤で、土壌あるいは種子処理した場合のみ草丈短縮作用を示す特徴を有する。その作用機作としては、ジベレリン生合成系の阻害が考えられる。

商品名：セリタード水和剤

成分・性状：製剤は有効成分 4'-クロロ-2'-(d-ヒドロキシベンジル) イソニコチンアニリド 50.0% を含有する類白色水和性粉末である。純品は無色～淡黄褐色無臭プリズム結晶で、融点 210~212℃, 溶解度 (g/l, 30℃) は水 0.001, メタノール 2.35, アセトン 3.60, エタノール 1.61, クロロホルム 0.59, キシレン 0.58 である。

(構造式)



適用作物・使用目的及び使用方法：第 1 表参照。

使用上の注意：

- ① 散布に当たっては希釈液をよくかき混ぜ、ジョロなどで箱外に漏水しないように散布すること。
- ② 本剤は草丈を抑制することによって、徒長防止をはかるものである。保温育苗や高温条件下での育苗の場合など播種時にあらかじめ徒長することが予想され

る条件下で使用する。

③ 北海道では通常の育苗条件下で使した場合、苗の草丈不足を生じるおそれがあるから、特に徒長しやすい育苗条件下で使用する。

④ 東北、北陸では苗が生育遅延を起こすような低温に接する条件下では、苗の草丈不足を生じるおそれがあるので、使用を避けること。

⑤ 本剤を使用した苗は、本田生育初期に若干草丈伸長速度が遅れるが、収量などには影響しない。

⑥ 本剤の徒長防止効果は品種によって多少の差があるので、あらかじめ各品種の特性や本剤の効果を確かめたいうで使用する。

⑦ 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、特に初めて使用する場合には、病虫害防除所等関係機関の指導を受けること。

毒性：

(急性毒性) 普通物。

① 粉末は目に対して刺激性があるので、目に入らないように注意すること。万一、目に入った場合には直ちに水洗し、医師の手当を受けること。

② 粉末は皮膚に付着しないように注意すること。万一付着した場合には直ちに石けんでよく洗い落とすこと

③ 使用の際はマスクを着用すること。また、薬剤を吸い込んだりしないように注意し、作業後はうがいをする。

(魚毒性) A 類。

なお、本剤のほか、イナベンフィド粒剤 (セリタード粒剤) が同時に登録された。

イナベンフィド粒剤の使用目的及び使用方法：第 2 表参照。

第 1 表 イナベンフィド水和剤 (セリタード水和剤)

作物名	使用目的	使用時期	本剤のみの使用回数	使用量	使用方法
稲 (箱育苗)	徒長防止 葉齢促進	播種時	1 回	育苗箱 (30×60×3 cm 使用土壌約 5 l) 1 箱当たり 0.125~0.25 g	育苗箱 1 箱当たり 500 ml の水に希釈して覆土前の床土に均一に灌注する

第 2 表 イナベンフィド粒剤 (セリタード粒剤)

作物名	使用目的	使用時期	使用回数	10 a 当たり使用量	使用方法
水稻	下位節間短縮による倒伏軽減	出穂 40~60 日前	1 回	3~4 kg	湛水条件下で均一に散布する

病害虫発生予察情報のオンライン化

農林水産省農蚕園芸局植物防疫課 横 田 敏 恭

はじめに

病害虫発生予察オンラインシステムは、昭和 62 年 3 月に試運転を行い、4 月から一部稼動を開始した。病害虫発生予察事業全体の概要は第 1 図のとおりであり、図に示した部分がオンライン化される。

I オンラインシステムの概要

発生予察事業の実務を行っている都道府県の病害虫防除所と農林水産省の植物防疫課を、NTT の DRESS (Denden Real time Sales management System) により第 2 図のとおりオンライン化し、従来郵送で行っていた病害虫発生状況等調査結果並びに全国及び都道府県の病害虫発生予察情報をオンラインで伝達するとともに、DRESS センターの集計機能及び保存機能を利用して、従来人手で行っていた情報の集計、整理を行う。

II 情報の入出力

1 病害虫発生状況等調査結果

入力：端末器（パソコン）画面に報告該当月の項目が表示されるので、そこにデータを入力する。入力データはフロッピーディスクにストックした後一括送信する。

出力：全国のデータは定められた日に DRESS センターの大型コンピュータで集計される。集計データは必要な時にパソコンで受信し、フロッピーディスクにストックした後プリントアウトする。

2 ウンカ類飛来状況

1 と同じであるが、データの入出力が毎日可能である。

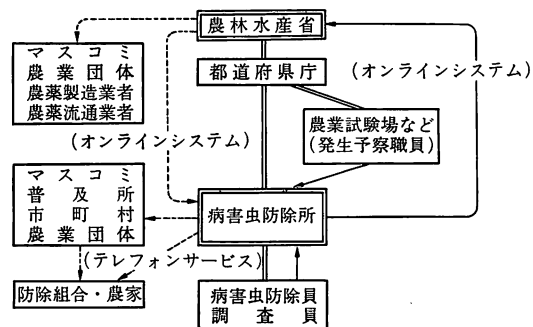
3 発生予察情報

入力：まず情報の見出しを入力し、その後文章を入力する。やはり情報はフロッピーディスクにストックした後一括送信する。

出力：まず情報発表状況一覧表を出力し、次にこの中から必要な情報を通番により選択して出力し、フロッピーディスクにストックした後プリ

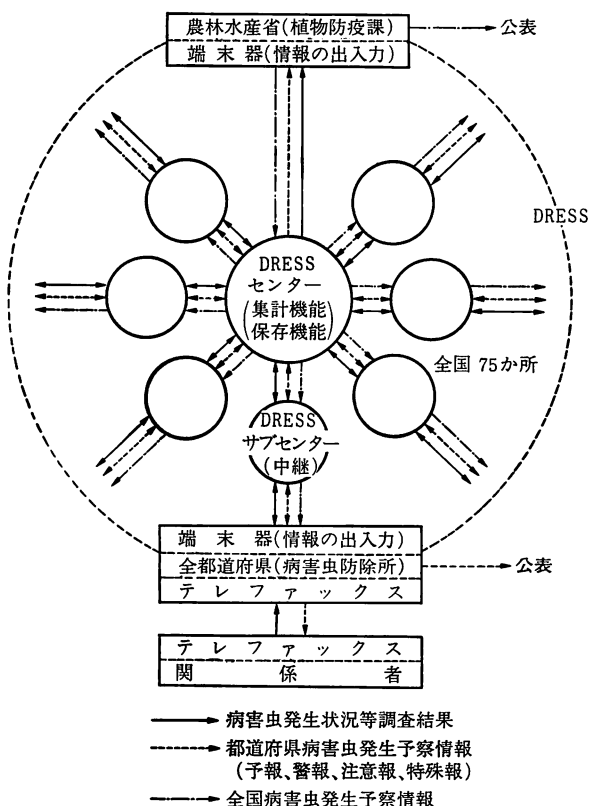
ントアウトする。

いずれの情報についてもプリントアウトの際にはワー



＝事業の指示、指導、…発生予察情報の伝達
— 調査結果の報告、回発生予察情報提供機関

第 1 図 病害虫発生予察事業の概要



——→ 病害虫発生状況等調査結果
- - - - - 都道府県病害虫発生予察情報（予報、警報、注意報、特殊報）
——→ 全国病害虫発生予察情報

第 2 図 病害虫発生予察オンラインシステムの概要

New On-line System for Forecast Informations. By Toshiyasu YOKOTA

第1表 病虫害発生状況等調査結果

県	名	作物名：水稲										昭和62年6月23日			
		ばか苗病 育の発生 量	本田発 病株率	発生面 積 (h a)	ヒメトビ 発生時 期	ウンカ 越冬代 密度	(1) 成虫発 生量	幼虫発 生量	ヒメトビ 越冬前 幼虫密 度	ウンカ 本田発 生面積 h a	(2) 予想発 生量	縞葉枯病 保毒虫 率	発病株 率	発生面 積 (h a)	予想発 生量
北海道 北岩宮 秋山福 茨栃群 埼千	道 手 城 田 形 島 城 木 馬 玉 葉	○0株	○	1000	△ ○ ○		○ □ ○	□ □		0	□ ○ ○				○ □ □
		● △0株	▲0%	1020	□ □ ○		▲ ○ ●	▲ ○ ○		100	▲ ○ ○				▲ □ ▲
		○ ○ ○	□	40	○ ● ○		○ ● ●	○ ● ●		26435 15300	○ ○ ○	▲3.3% ▲3.9%			▲ □ ▲
		● ●	○	5500	○ ○		● ○	● ○		974	○ ○	▲6.8% △	□0%		○ □
		●	□0.1%	2797	○		○	○							

第2表 ウンカ類飛来状況

ウンカ種別：セジロウンカ

県名	地名	トラップ名	07/01	07/02	07/03	07/04	07/05	07/06	07/07	07/08	07/09	07/10	07/11	07/12	
佐賀 佐賀 佐賀 長崎 長崎	賀賀賀 賀賀賀 賀賀賀 崎諫 崎時	川副町 川副町 嬉野市 早津市 津市	60W白熱	0	3	40	0	3	29	18	29	40	0	170	120
			ネットトラップ	0	140	25	10	48	18	5	3	11	23	31	20
			60W白熱	4	6	54	26	206	0	0	35	42	0	263	
			ネットトラップ	0	136	158	564	68	78	354	331	15	81	22	3
			60W白熱	1	44	279	60	1362	1486	96	7	24	19	3	59

第3表 情報発表状況一覧表 (警報及び注意報)

通番	発表年月日	県名	情報種類	情報番号	作物名	病虫害名
0187	62/06/30	兵庫	注意報	2	水稲	縞葉枯病
0190	62/07/01	長野	注意報	3	アブラナ科野菜	コナガ
0192	62/07/02	大分	注意報	2	落葉果樹	カメムシ類
0193	62/07/03	秋田	注意報	2	麦類, トウモロコシ等	アワヨトウ
0194	62/07/03	鹿児島	注意報	4	水稲	セジロウンカ

第4表 オンライン化の効果

区 分	現 状	オンライン化完成後 (64 年度以降)
病虫害発生状況等調査結果の伝達，集計の迅速化	都道府県 → 国 → 都道府県 (郵送) (集計印刷) (郵送) 3 日 4 日 3 日 10日	都道府県 → DRESS センター → 国 → 都道府県 (ライン) (集計) (ライン) 分単位
病虫害発生状況等調査結果の全国集計	国，人手，年 8 回	DRESS センター，月 2 回
全国及び都道府県病虫害発生予察情報伝達の迅速化	国 → 都道府県 都道府県 → 国 (郵送) 1 ～ 3 日	国 → 都道府県 都道府県 → 国 (ライン) 分単位
都道府県病虫害発生予察情報の整理活用	国 ： 人手，全都道府県対象 都道府県： 人手，隣接都道府県のみ	国 ： DRESS センター，全都道府県対象 都道府県： 〃 〃

プロソフトを利用する。出力例は第1～3表のとおり。見込み，ほかに電話回線を新設すればさらにその基本料。

III オンライン化の効果

第4表のとおり。

通信料金：DRESS サブセンターまでの電話料。

2 他のシステムとの関係

IV 年 次 計 画

61 年度：植物防疫課及び 15 都府県（岩手，福島，群馬，埼玉，神奈川，東京，福井，滋賀，大阪，広島，香川，愛媛，佐賀，長崎，沖縄）病虫害防除所に端末器（パソコン）設置，試運転

本システムは，当面病虫害発生予察事業内部のシステムとして運用し，他のシステムとのオンライン化は今後の検討課題とする。具体的には，今後農業関係全体の情報システムが検討されることになると思われるが，その中での位置付けということになろう。

62 年度：一部稼動，宮城，山梨，富山，石川，京都等 16 府県の病虫害防除所に端末器設置

なお，病虫害防除所には，端末器とともにテレファックスを設置し，都道府県病虫害発生予察情報を市町村，農協等に提供するとともに，調査員から病虫害発生状況等調査結果を受信する。

63 年度：全都道府県のオンライン化完成

3 端末器パソコンの機能

64 年度：全面稼動

DRESS の端末器としては情報の入出力のみであるが，パソコンとしての情報の集計，解析，保存等に活用する。

V そ の 他

1 利用料金

基本料金：DRESS 使用料として月 22,000 円程度の

次 号 予 告

次 10 月号は下記原稿を掲載する予定です。

シロイチモジマグラメイガの産卵行動 服部 誠
イネ葉しょうの濡れ時間と紋枯病の病斑進展 武田 真一
クリタマバチの防除の現状 行徳 裕
わが国のダイズ細菌病 西山 幸司
アメリカシロヒトリの定位行動 廣岡 芳年

タバコ立枯病の風雨による二次伝染

原 秀紀・小野 邦明
ミナミキイロアザミウマの物理的防除法 鈴木 寛
カブリダニに対するハダニの「防御」——錯綜した 齋藤 裕
被食―捕食者の関係――

定期購読者以外のお申込みは至急前金で本会へ

定価 1 部 500 円 送料 50 円

いもち病の研究に供試する菌株について

クマイ化学工業株式会社 やま なか すすむ
山 中 達

いもち病菌は、寒天培地上で培養を続けると、菌株の多くは変異し、母菌の性状（分生孢子形成能や病原性など）を持続し得ないことは、多くの研究者の経験するところである。一般に、病斑上の分生孢子を単孢子分離し、ジャガイモ煎汁寒天培地（PDA）上に培養すると、分離直後の培養では、菌株のほとんどは均一な菌そうを形成し、孢子形成が良好である。次いで、継代培養を続けていくと、いわゆるセクター（扇状変異体）の生成などによって、不均一な菌そうとなり、1～2年後には、多くの菌株は母菌とは異なった菌そうを示すようになる。これらの菌株は孢子形成能が低下し、そのために病原性の検定が困難となることが多い。また、病原性についても分離直後の病原性と異なったり、あるいはまったく喪失するものも出現する。

以上のように、いもち病菌が変異を起こしやすいことは、本病を研究するに当たって、供試菌の選択に頭を痛めるところである。すなわち、供試菌の選択を誤ると、研究途上で変異を生じ、研究を最初からやり直さねばならぬことも起こるであろう。ところで、いもち病に関する研究論文を拝見していると、以前私が農林省に在職中関係していた「いもち病菌の菌型に関する特殊調査」の共同研究で手がけた菌株が使用されているのをしばしば目にする。当時、これらの菌株は変異がほとんど起こらない菌株として選出され、共同研究実施中レース検定の標準菌株として使用されたものである。これらは現在分離後 20 年以上も経過しているにもかかわらず、その病原性が変わっていないことを考えると、その安定性をうかがい知ることができよう。これらの菌株の来歴については、知られざる一面もあり、これを解説しておくのも、あながち無駄なことでもあるまいと思い、あえてここに記すこととした。

① 研 53-33（研は旧農林省農業技術研究所の略、数字は 1953 年に分離した 33 番目の菌株の意）：この菌株は愛知農試の稲橋分場（現 山間技術実験農場）の関東 51 号の罹病穂首から分離されたものである。分離当初は race 037（race C1）とされたが、間もなく *Pi-ta* 因子を持つ品種を侵害するようになり、現在その性質を常時保持している。数少ない race 137（T1）の代表菌

株として広く使用されている。

② 研 62-89：Pi No. 5 の葉から分離された。race 303（T2）として、病原性が安定していて、分生孢子形成も良好である。

③ 研 60-19：関東 52 号の葉から分離された。race 037（C1）の代表菌株として広く使用される。病原性は安定しており、孢子形成も良好であるが、孢子形成能を失った変異菌がまれに生ずることがある。

④ 北 373：北海道立農試の成田らが、1959 年栄糯の葉から分離した菌株で、孢子形成がきわめて良好な race 007（N1）の代表菌株の一つである。孢子形成能、病原性共に安定しているが、まれに *Pi-ta* 因子を侵害する変異菌や、また多量に孢子を形成するが、まったく病原性を喪失した変異菌などの分出（Sorting-out）が認められることがある。

⑤ 研 54-20：改良愛国の葉から分離され、race 003（N2）として安定している。ただ孢子形成能は分離当初より低下している。

⑥ 研 54-04：岐阜農試ほ場の神力 11 号の葉から分離された。この菌株は race 003（N3）であるが、分離当初から病原性が弱く、日本稲に小型の罹病性病斑（M 型）を形成する珍しい菌株である。本菌の病原力については、清沢の論文（農業技術 24：232～234, 1969）を参照されたい。

なお、次に挙げる菌株（P-2）は昔から広く使用されている菌株で、今後も使用されることが多いと思われるので、私の経験から得られた本菌の特徴について記してみよう。

⑦ P-2：この菌株は 1948 年、北陸農試で分離されたもので、孢子形成が抜群に良好であり、PDA 上で色素を形成しない。また、一般にいもち病菌は PDA 上では孢子形成がきわめて不良であるが、本菌はかなりの量の孢子を形成する特徴を有する。薬剤試験その他に幅広く使用される著名な菌株である。本菌は元来、race 003（N2）に位置づけられるが、往々にして race 303（T2）が分出する。この分出した菌株が P-2b として使用されている。

以上のほかにも、性状の安定した各種のいもち病菌が研究者によって使用されていることはいうまでもない。長期にわたる研究には、分離直後の新しい菌株を使用することは避けるべきで、性状が安定した、確実な菌株を使用することが肝要であろう。

A Note on the Isolate Using in Research on Rice Blast. By Susumu YAMANAKA

植物防疫基礎講座

病害虫防除のための統計学 (7)

非線型最小二乗法

農林水産省農業環境技術研究所 みや 井 しゅん いち
宮 俊 一

はじめに

病害虫の研究においても、観測値（データ）に曲線を当てはめなければならない場合がよくある。そのときに普通に使われる方法が最小二乗法である。特に、当てはめる曲線が非線型モデルである場合の最小二乗法を、ここでは非線型最小二乗法と呼ぶことにする。非線型最小二乗法は、線型の場合と違って、計算が非常に面倒である。けれども、最近のパソコンの普及により、プログラムさえあれば、誰でも比較的容易にそれを適用できるようになってきた。

本稿は、非線型モデルとしてロジスチック曲線を当てはめることを例にして、非線型最小二乗法をできるだけわかりやすく解説することを目的としている。数式による展開をなるべく少なくするよう心がけたが、そのために舌足らずな説明しかできない箇所がでてきてしまったような気もする。最小二乗法一般について、もっと詳しいことを知りたい方は、中川・小柳（1982）を参照して欲しい。

I 非線型モデルとしてのロジスチック曲線

病害虫の増殖や農作物の生長などを研究するとき、観測値にS字状の曲線を当てはめることがよくある。そのような曲線として、ロジスチック曲線、Gompertz の曲線、Richards の曲線がよく知られているが、それ以外の曲線もいくつか提案されている (FRANCE and THORNLEY, 1984)。ここではもっともよく用いられているロジスチック曲線を例として話を進めるが、非線型最小二乗法の基本的な考えかたは他のモデルの場合でも変わらないことは言うまでもない。

ロジスチック曲線を表す式は、パラメータの組み入れかたにより、いろいろと考えられるが、ここでは次の形の式を考えることにしよう。

$$Y = \alpha / [1 + \exp(\beta - \gamma X)] \quad \dots\dots\dots (1)$$

ただし、Xは独立変数であり、生長曲線の場合は時間を表す。Yは従属変数であり、個体数、密度、乾物重など

を表す。 α , β , γ はパラメータである。これらのパラメータの意味は次のように解釈することができる。X $\rightarrow$ ∞ とすると、Y $\rightarrow$ α となることからわかるように、 α は最終的に生長が止まったときに到達している値を表すことになる。X=0, すなわち初期時点では、

$$Y = \alpha / [1 + \exp(\beta)]$$

となることから、 β はYの初期値に関係するパラメータである。また、Yを時間Xで微分すると生長速度が得られるが、それは、

$$dY/dX = \gamma Y(1 - Y/\alpha)$$

となることから、 γ は生長率に関係するパラメータであることがわかる。特に、Yの値が小さい初期生長のころには、生長率はほとんど γ だけに支配されることになる。なお、(1) 式で用いた exp なる表記法は、例えば exp(X) ならば e^X (e は自然対数の底) を意味する。

最小二乗法を用いてパラメータの推定を行うとき、ロジスチック曲線が非線型モデルであるということはどういう意味なのであろうか。これは単にロジスチック曲線が直線ではなくて曲線であるということではない。曲線ということなら次の式で表される放物線も曲線である。

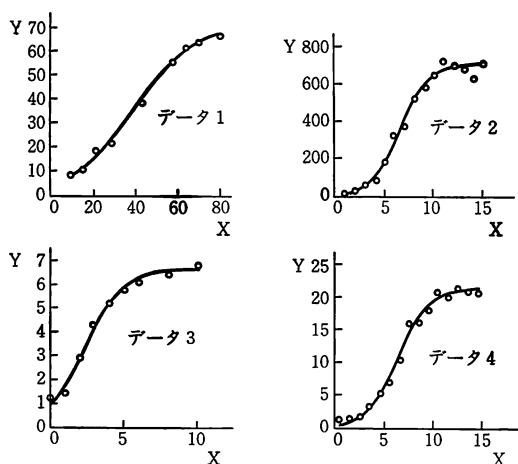
$$Y = \theta_1 + \theta_2 X + \theta_3 X^2 \quad \dots\dots\dots (2)$$

ただし、 θ_1 , θ_2 , θ_3 はパラメータである。けれども、放物線は線型モデルであって、非線型モデルではない。この違いはどこにあるのであろうか。これは、線型か非線型かはパラメータに関していつているのであり、変数に関してではないところにある。すなわち、線型モデルとはすべてのパラメータが線型の形となっているモデルであり、それに対して非線型モデルとは少なくとも一つのパラメータが非線型の形となっているモデルのことなのである。この判定は、パラメータを変数、Xを定数とみなして、Yをパラメータで偏微分したときに、パラメータが残らないモデルは線型であり、一つでも残るモデルは非線型であるとすればよい。(2) 式の放物線では、

$$\partial Y / \partial \theta_1 = 1, \partial Y / \partial \theta_2 = X, \partial Y / \partial \theta_3 = X^2$$

となり、すべて右辺にパラメータが現れないので線型モデルと判定される。それに対して、(1) 式のロジスチック曲線では、パラメータ α だけを取り上げてみても、

$$\partial Y / \partial \alpha = 1 / [1 + \exp(\beta - \gamma X)]$$



第1図 生長に関する4組のデータのプロット
曲線は非線型最小二乗法で当てはめたロジスチック曲線

となり、右辺にパラメータ β, γ が残るので非線型モデルということになる。

最小二乗法により観測値にモデルを当てはめる場合、モデルが線型であるか非線型であるかの違いは重要である。モデルが線型であると、パラメータの推定が容易であるだけでなく、パラメータの推定値や従属変数 Y の予測値が統計的に好ましい性質を持つことになるのに対し、非線型の場合には、それらが成立しなくなるからである。この点については後節で説明したい。

ロジスチック曲線を当てはめるために用いるデータとしては、RATKOWSKY (1983) が用いた4組のデータを使用することにする。ここでは具体的な数値は挙げないが、図示すると第1図のようになる。この図から明らかに、これらのデータに対してS字状の生長曲線を想定することはきわめて妥当であると思われる。RATKOWSKY (1983) はロジスチック曲線以外の生長曲線の当てはめも行っているが、ここではロジスチック曲線の当てはめだけを考える。

II 最小二乗法の考えかた

Y と X に対して n 組の観測値が得られているとし、それらをそれぞれ Y_i, X_i ($i=1, 2, \dots, n$) で表そう。 Y と X の間に (1) 式のロジスチックモデルが想定される場合、最小二乗法では、それを次のように表す。

$$Y_i = \alpha / [1 + \exp(\beta - \gamma X_i)] + u_i$$

一般のモデルの場合であるならば、これは、

$$Y_i = f(\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_p; X_i) + u_i \quad \dots\dots\dots (3)$$

と書くことができる。ただし、 $\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_p$ は p 個の

未知のパラメータであり、 u_i は誤差項を表す確率変数である。 u_i に関しては、以下の仮定が置かれる。

- (i) すべての i に対して u_i の平均は 0 である。
- (ii) すべての i に対して u_i は同一の分散 σ^2 を持つ。
- (iii) u_i と u_j ($i \neq j$) は互いに無相関である。
- (iv) u_i は正規分布に従う。

パラメータの推定を行うだけならば仮定 (iv) は必要ないが、有意性検定及び信頼区間を導くためにはこの仮定が必要となる。

ここで $\hat{\theta}_1, \hat{\theta}_2, \dots, \hat{\theta}_p$ を、それぞれ $\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_p$ の推定値としよう。このとき (3) 式は、

$$Y_i = f(\hat{\theta}_1, \hat{\theta}_2, \dots, \hat{\theta}_p; X_i) + e_i \quad \dots\dots\dots (4)$$

と書き表せる。ただし、 e_i は、観測値 Y_i とその予測値 $f(\hat{\theta}_1, \hat{\theta}_2, \dots, \hat{\theta}_p; X_i)$ の間の残差を表す。この残差の平方和を S とすれば、

$$S = \sum_{i=1}^n e_i^2 = \sum_{i=1}^n [Y_i - f(\hat{\theta}_1, \hat{\theta}_2, \dots, \hat{\theta}_p; X_i)]^2 \quad \dots\dots\dots (5)$$

となる。最小二乗法とは、この残差平方和 S が最小になるようにパラメータを推定する方法であり、その結果得られる推定値 $\hat{\theta}_1, \hat{\theta}_2, \dots, \hat{\theta}_p$ は最小二乗推定値と呼ばれる。 S を最小にすることからわかるように、最小二乗推定値は、(5) 式の S を $\hat{\theta}_i$ で偏微分したものをすべて 0 に等しいとして得られる方程式、

$$\partial S / \partial \hat{\theta}_i = 0 \quad (i=1, 2, \dots, p) \quad \dots\dots\dots (6)$$

を解くことによっても求められる。この (6) 式は、正規方程式と呼ばれる。

先に挙げた仮定の中で、モデルの誤差の構造に関する仮定 (ii) は、パラメータの推定方法や推定値の推測に影響を及ぼす重要なものなので、少し補足しておこう。この仮定は、 u_i の分散、すなわち Y_i の分散がどこでも均一であるとするものである。この仮定が必要な理由は、もし分散が均一でなければ、分散の大きい Y の観測値の精度は低く、逆に分散の小さい Y の観測値の精度は高いので、パラメータの推定の際にこれらを等価に扱うことができなくなるからである。生物現象を扱う場合、 Y の観測値が大きくなるにつれてその分散も大きくなるがよく起こるが、このようなときには仮定は満たされていないことになる。この仮定が成立しているかないかの判定は、第1図のように観測値を図示することにより行う。この例では、だいたい仮定は満たされていると判断して差し支えなさそうである。もし Y の値が大きくなるにつれてその分散も大きくなるような傾向が見られるならば、対数をとるとか、逆数をとるなどして

分散を均一化させてから最小二乗法を適用すればよい。ロジスチック曲線を当てはめる場合、例えば対数をとるならば、(3)式に対応する式は、

$$\log(Y_i) = \log[\alpha / \{1 + \exp(\beta - \gamma X_i)\}] + u_i$$

ということになる。

III 線型最小二乗法

非線型最小二乗法に進む前に、線型モデルの場合について説明しておく。もっとも単純な線型モデルは直線回帰モデルであるが、ここでは(2)式の放物線を当てはめることを考えよう。この場合、(3)式は、

$$Y_i = \theta_1 + \theta_2 X_i + \theta_3 X_i^2 + u_i$$

であり、残差平方和Sは、(5)式より、

$$S = \sum_{i=1}^n [Y_i - (\hat{\theta}_1 + \hat{\theta}_2 X_i + \hat{\theta}_3 X_i^2)]^2$$

となる。したがって、正規方程式は(6)式より、

$$\partial S / \partial \hat{\theta}_1 = -2 \sum_{i=1}^n [Y_i - (\hat{\theta}_1 + \hat{\theta}_2 X_i + \hat{\theta}_3 X_i^2)]$$

$$\partial S / \partial \hat{\theta}_2 = -2 \sum_{i=1}^n [Y_i - (\hat{\theta}_1 + \hat{\theta}_2 X_i + \hat{\theta}_3 X_i^2)] X_i$$

$$\partial S / \partial \hat{\theta}_3 = -2 \sum_{i=1}^n [Y_i - (\hat{\theta}_1 + \hat{\theta}_2 X_i + \hat{\theta}_3 X_i^2)] X_i^2$$

をすべて0と置いて得られる。すなわち、整理した形で示すならば、

$$n \hat{\theta}_1 + \left(\sum_{i=1}^n X_i \right) \hat{\theta}_2 + \left(\sum_{i=1}^n X_i^2 \right) \hat{\theta}_3 = \sum_{i=1}^n Y_i$$

$$\left(\sum_{i=1}^n X_i \right) \hat{\theta}_1 + \left(\sum_{i=1}^n X_i^2 \right) \hat{\theta}_2 + \left(\sum_{i=1}^n X_i^3 \right) \hat{\theta}_3 = \sum_{i=1}^n X_i Y_i$$

$$\left(\sum_{i=1}^n X_i^2 \right) \hat{\theta}_1 + \left(\sum_{i=1}^n X_i^3 \right) \hat{\theta}_2 + \left(\sum_{i=1}^n X_i^4 \right) \hat{\theta}_3 = \sum_{i=1}^n X_i^2 Y_i$$

となる。この正規方程式は、 $\hat{\theta}_1$ 、 $\hat{\theta}_2$ 、 $\hat{\theta}_3$ に関する連立一次方程式なので簡単に解くことができる。

独立変数がp個ある一般の線型モデルの場合、(3)式に対応する式は、

$$Y_i = \theta_1 X_{i1} + \theta_2 X_{i2} + \dots + \theta_p X_{ip} + u_i \dots \dots \dots (7)$$

と書き表せるが、正規方程式が連立一次方程式(パラメータがただ一つの場合は単なる一次方程式)になるという結果は、この一般の線型モデルに対しても成立する。すなわち、線型モデルでありさえすれば、パラメータの最小二乗推定値は容易に求めることができるのである。

以下に、線型最小二乗法に関して得られるいくつかの結果を証明抜きで挙げておく。さらに詳しいことが知りたい方は、ジョンストン(1972)を参照されたい。

(i) 最小二乗推定値は不偏推定値である。

(ii) 最小二乗推定値は、 Y_i の一次関数となるので、正規分布に従う。

(iii) 最小二乗推定値は、 Y_i の一次関数となる任意の他の不偏推定値よりも小さな分散を持つ。

(iv) 誤差項 u_i の分散 σ^2 の不偏推定値 $\hat{\sigma}^2$ は、
 $\hat{\sigma}^2 = S / (n - p) \dots \dots \dots (8)$

である。ただし、nは観測値の個数、pはパラメータの個数である。

(v) Yの予測値は不偏であり、さらに正規分布に従う。

IV 非線型最小二乗法

非線型最小二乗法が線型最小二乗法とどのように違うのかを理解してもらうために、非常に単純な非線型モデルである次の指数関数を考えてみよう。

$$Y_i = \exp(-\theta_1 X_i) + u_i$$

このモデルは、パラメータを θ_1 ただ一つしか含まない。 θ_1 の最小二乗推定値を $\hat{\theta}_1$ とするならば、それは(5)式で定義される次の残差平方和Sを最小にすることにより得られることになる。

$$S = \sum_{i=1}^n [Y_i - \exp(-\hat{\theta}_1 X_i)]^2$$

正規方程式は、このSを $\hat{\theta}_1$ で偏微分して、それを0と置くことにより得られる。

$$\begin{aligned} \partial S / \partial \hat{\theta}_1 = 2 \sum_{i=1}^n [X_i \exp(-\hat{\theta}_1 X_i)] \\ [Y_i - \exp(-\hat{\theta}_1 X_i)] = 0 \end{aligned}$$

これを整理すると、

$$\sum_{i=1}^n X_i Y_i \exp(-\hat{\theta}_1 X_i) - \sum_{i=1}^n X_i \exp(-2\hat{\theta}_1 X_i) = 0$$

となる。この正規方程式を見てわかるように、 $\hat{\theta}_1$ について解くことは簡単ではない。線型モデルの場合は正規方程式はいつも(連立)一次方程式となって容易に解くことができるのに対し、非線型モデルでは、この例のようにきわめて単純な1パラメータのモデルの場合でさえ、解くのが非常に難しい非線型方程式となる。したがって、非線型最小二乗法では、数値的に反復計算を繰り返して(5)式の残差平方和Sを最小にするパラメータを見つけないければならない。これは一種の最小化(最適化)問題であり、このためのさまざまな解法が提案されている(中川・小柳, 1982)。

次の節において非線型最小二乗法のもっとも基本的な解法の一つである Gauss-Newton 法について解説するが、その前に非線型モデルの最小二乗推定値の性質などが線型モデルの場合とどのように異なるのかを説明しておこう。

線型最小二乗法の節でいくつかの結果を簡条書きにし

たが、非線型最小二乗法の場合にはそれらはすべて成立しなくなる。すなわち、最小二乗推定値は、不偏推定値ではないし、正規分布に従わず、最小分散推定値でもない。また、 Y の予測値は不偏ではなく、正規分布に従わない。さらに、(8) 式の誤差項の分散の推定値は不偏ではない。ただし、観測値の数を増やしていくと線型モデルで得られる結果に漸近的に近づいていくことが知られているので、十分に多くの観測値がありさえすれば、この性質を用いて近似的に線型モデルの結果を適用することができる。けれども、観測値の個数がいくつ以上であれば線型最小二乗法の結果を近似的に適用してもかまわないというような、一般的ガイドラインは何もない。これは、モデルと観測値の組み合わせごとに違うものと考えられている。すなわち、非線型モデルの中には、きわめて線型モデルに近いものから非常に非線型なものまであり、その非線型性の度合いはさまざまである。しかも、それは観測値との組み合わせによっても変化する。非線型性が弱い場合には、観測値の数がそれほど多くなくても線型モデルと同じ性質を持つとみなして問題はないが、非線型性が強い場合には、かなりたくさん観測値を用いても線型モデルで得られている結果は適用できないといえる。非線型性を測る尺度については本稿では触れる余裕がないので、関心のある読者は Box (1971), BATES と WATTS (1980), RATKOWSKY (1983) を参照されたい。

V Gauss-Newton 法による解法

非線型モデルが (3) 式のように一般的な形で表されているとしよう。まず、パラメータ $\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_p$ の値に十分近いと考えられる初期値がなんらかの方法で得られているものとし、それらを $\theta_1^{(0)}, \theta_2^{(0)}, \dots, \theta_p^{(0)}$ で表そう。(3) 式非線型関数 f をパラメータ $\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_p$ の関数と考えて、

$$\theta_1 = \theta_1^{(0)}, \theta_2 = \theta_2^{(0)}, \dots, \theta_p = \theta_p^{(0)}$$

のまわりでテイラー級数に展開し、一次の項だけを残して二次以上の項は無視すると、 f は次のように一次式で近似できる。

$$\begin{aligned} f(\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_p; X_i) \simeq & f(\theta_1^{(0)}, \theta_2^{(0)}, \dots, \\ & \theta_p^{(0)}; X_i) + (\theta_1 - \theta_1^{(0)}) \frac{\partial f}{\partial \theta_1} + (\theta_2 - \theta_2^{(0)}) \\ & \frac{\partial f}{\partial \theta_2} + \dots + (\theta_p - \theta_p^{(0)}) \frac{\partial f}{\partial \theta_p} \dots \dots \dots (9) \end{aligned}$$

ただし、偏導関数 $\partial f / \partial \theta_1, \partial f / \partial \theta_2, \dots, \partial f / \partial \theta_p$ は、 $\theta_1 = \theta_1^{(0)}, \theta_2 = \theta_2^{(0)}, \dots, \theta_p = \theta_p^{(0)}$ での値を用いる。この (9) 式を (3) 式に代入すると、

$$\begin{aligned} Y_i - f(\theta_1^{(0)}, \theta_2^{(0)}, \dots, \theta_p^{(0)}; X_i) \\ \simeq (\theta_1 - \theta_1^{(0)}) \frac{\partial f}{\partial \theta_1} + (\theta_2 - \theta_2^{(0)}) \frac{\partial f}{\partial \theta_2} + \dots \end{aligned}$$

$$+ (\theta_p - \theta_p^{(0)}) \frac{\partial f}{\partial \theta_p} + u_i \dots \dots \dots (10)$$

なる式が得られる。ここで、

$$Y_i - f(\theta_1^{(0)}, \theta_2^{(0)}, \dots, \theta_p^{(0)}; X_i) = W_i,$$

$$\frac{\partial f}{\partial \theta_1} = Z_{i1}, \frac{\partial f}{\partial \theta_2} = Z_{i2}, \dots, \frac{\partial f}{\partial \theta_p} = Z_{ip},$$

$$\theta_1 - \theta_1^{(0)} = \phi_1, \theta_2 - \theta_2^{(0)} = \phi_2, \dots, \theta_p - \theta_p^{(0)} = \phi_p$$

と置き換えれば、(10) 式は、

$$W_i \simeq \phi_1 Z_{i1} + \phi_2 Z_{i2} + \dots + \phi_p Z_{ip} + u_i \dots \dots \dots (11)$$

となる。この (11) 式は、 W を従属変数、 $Z_1, Z_2, \dots, Z_p$ を p 個の独立変数と考えれば、(7) 式の線型モデルと同じものになる。したがって、線型モデルの場合と同様に、容易に $\phi_1, \phi_2, \dots, \phi_p$ の推定値を求めることができる。これを $\phi_1^{(1)}, \phi_2^{(1)}, \dots, \phi_p^{(1)}$ で表そう。

$$\theta_1 - \theta_1^{(0)} = \phi_1, \theta_2 - \theta_2^{(0)} = \phi_2, \dots, \theta_p - \theta_p^{(0)} = \phi_p$$

なる関係があることから、反復計算第 1 回目の $\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_p$ の推定値 $\theta_1^{(1)}, \theta_2^{(1)}, \dots, \theta_p^{(1)}$ は、

$$\theta_1^{(1)} = \theta_1^{(0)} + \phi_1^{(1)}, \theta_2^{(1)} = \theta_2^{(0)} + \phi_2^{(1)}, \dots,$$

$$\theta_p^{(1)} = \theta_p^{(0)} + \phi_p^{(1)}$$

となる。また、このときの残差平方和 S を $S^{(1)}$ で表すことにする。

次に、このようにして得られた $\theta_1^{(1)}, \theta_2^{(1)}, \dots, \theta_p^{(1)}$ を先の初期値の代わりに用いて同じ計算を繰り返し、反復計算第 2 回目の推定値 $\theta_1^{(2)}, \theta_2^{(2)}, \dots, \theta_p^{(2)}$ を求める。このときの残差平方和は $S^{(2)}$ で表す。

この計算を収束するまで繰り返して、最後に得られた推定値を最小二乗推定値とする。また、誤差項 u_i の分散 σ^2 の推定値は、最後に得られた残差平方和を自由度 $n-p$ で割ることにより求められる。

線型モデルに Gauss-Newton 法を適用した場合には、ただ 1 回の反復計算で最小二乗推定値が得られる。これはパラメータの初期値をどのように選ぶかには関係なくいつでも成り立つ。このことから予想できるように、非線型モデルの場合でも、非線型性が小さいならば比較的少ない回数の反復計算で収束が起こるが、それが大きいときには収束が遅くなったり、ひどいときには収束しないこともある。線型モデルと違って、非線型モデルの場合には適切な初期値を選ぶことが非常に大事である。

第 1 図に示した四つのデータに対して Gauss-Newton 法により (1) 式の形のロジスティック曲線を当てはめた。ロジスティック曲線の場合のパラメータの初期値は次のように決めればよい。 α は生長が最終的に頭打ちになったときの値であるから、その初期値 $\alpha^{(0)}$ は、第 1 図から読み取って、データ 1 では 70、データ 2 では 700、データ 3 では 6.5、データ 4 では 21 とすればよいであろう。 α の値が決まれば、これを用いて (1) 式を次のように変形する。

第 1 表 ロジスチック曲線のパラメータの最小二乗推定値と誤差項の分散の推定値

	データ 1	データ 2	データ 3	データ 4
$\hat{\alpha}$	72.48	702.9	6.687	21.52
$\hat{\beta}$	2.617	4.442	1.745	3.949
$\hat{\gamma}$	0.067	0.688	0.755	0.621
$\hat{\sigma}^2$	1.34	744.1	0.0353	0.518

$$\log(\alpha^{(0)}/Y-1) = \beta - \gamma X$$

ただし、対数は自然対数である。この左辺をZと置き直せば、

$$Z = \beta - \gamma X$$

となるが、これはXを独立変数、Zを従属変数とする直線の式である。したがって、回帰直線を当てはめて、定数項の値から β の初期値 $\beta^{(0)}$ 、傾きから γ の初期値 $\gamma^{(0)}$ がそれぞれ得られる。

このようにして決められる初期値から出発して反復計算を行い、最終的に第1表に示す推定値が求められた。第1図に描いてあるロジスチック曲線は、これらの推定値を用いたものである。

RATKOWSKY (1983) によるならば、これら四つのデータとの組み合わせでは、ロジスチック曲線の非線型性の程度が、Gompertz の曲線や Richards の曲線などの他の生長曲線よりも小さかった。また、ロジスチック曲線

の式の形は、パラメータの組み入れかたを変えることにより、いろいろと変化させることができ、それによっても非線型性の程度は違ってくるが、(1)式の形のロジスチック曲線は他のものよりも非線型性の程度は小さいという結果が得られている。これらのことから、(1)式のロジスチックモデルは、線型モデルに比較的近いモデルであると考えられよう。

なお、よく用いられる解法に Marquardt 法と呼ばれる方法があるが、これは Gauss-Newton 法を改良して安定化させ、さらに解への収束を速めるようにしたものである。この BASIC で書かれたプログラムリストが刀根 (1981) に付いている。

引 用 文 献

- 1) BATES, D. M. and D. G. Watts (1980) : J. R. Statist. Soc., B. 42 : 1~25.
- 2) BOX, M. J. (1971) : ibid. 33 : 171~201.
- 3) FRANCE, J. and J. H. M. THORNLEY (1984) : Mathematical Models in Agriculture. Butterworths, 335 pp.
- 4) J. ジョンストン (1972) : (竹内 啓ら訳, 1975) 計量経済学の方法, 全訂版 (上), 東洋経済新報社, 東京, 238 pp.
- 5) 中川 徹・小柳義夫 (1982) : 最小二乗法による実験データ解析, 東京大学出版会, 東京, 206 pp.
- 6) RATKOWSKY, D. A. (1983) : Nonlinear Regression Modeling. Marcel Dekker, 276 pp.
- 7) 刀根 薫 (1981) : BASIC, 培風館, 東京, 239 pp.

紹介

新登録農薬

『殺虫剤』

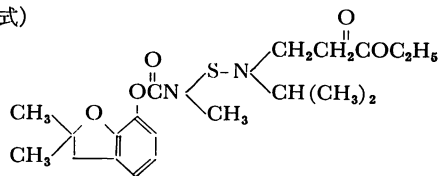
ベンフラカルブ粒剤 (61.10.28 登録)

本剤は大塚化学(株)によって開発された殺虫剤である。本剤の作用機構は、他のカーバメート系殺虫剤と同様に、接触あるいは植物の組織・汁液の摂食、吸汁を通じて虫体内に入り、昆虫の神経伝達に参与しているアセチルコリンを分解する酵素であるアセチルコリンエステラーゼを阻害し、殺虫活性を発現するものである。

商品名：オンコル粒剤 5

成分・性状：製剤はエチル-N-[2,3-ジヒドロ-2,2-ジメチルベンゾフラン-7-イルオキシカルボニル(メチル)アミノチオ]-N-イソプロピル-β-アラニナート 5.0% を含有する青緑色細粒である。純品は淡黄色粘ちょう液体で比重 d_4^{20} 1.171, 沸点 110°C (0.023 mmHg), 水 (20 $^\circ\text{C}$) に約 8 ppm 溶解し、ベンゼン、ジクロロメタン、メタノール、n-ヘキサンなどの有機溶媒に易溶である。

(構造式)



適用作物・適用害虫名及び使用方法：第 1 表参照。

使用上の注意：

(1) 水稻の育苗箱に使用する場合

① 育苗箱の上から均一に散布し、葉に付着した薬剤を払い落とし、軽く散水して田植機にかけて移植すること。

② 軟弱徒長苗、むれ苗、移植適期を過ぎた苗などには薬害を生じるおそれがあるので注意すること。

③ イネ苗の葉がぬれている場合薬害が生じやすいので、葉に付着している露を払い落としてから薬剤を散布し、軽く散水すること。

④ 誤って過剰に使用すると葉先枯れなどの薬害を生じることもあるので、所定の使用量、使用方法を厳守すること。

⑤ 本田が砂質土壌の水田や漏水田、未熟堆肥多用田

第 1 表 ベンフラカルブ粒剤 (オンコル粒剤 5)

作物名	適用害虫名	使用量	使用時期	本剤及びベン フラカルブを 含む農薬の総 使用回数	使用方法	
水稲	イネミズゾウムシ	育苗箱 (30×60× 3cm, 使用土壌約 5l) 1箱当たり50 g	移植当日	1回	本剤の所定量を 育苗箱の上から 均一に散布する	
	イネドロオイムシ イネヒメハモグリバエ ツマグロヨコバイ ヒメトビウンカ	育苗箱 (30×60× 3cm, 使用土壌約 5l) 1箱当たり80 g				
きゅうり すめろん	ミナミキイロ アザミウマ	0.5～1.0g/株	育苗期後半 または定植時		株元処理	
なす ピーマン		0.5g/株				
キャベツ	コナガ	3～6kg/10a (1～2g/株)	定植時			植穴土壌混和 または 株元処理
ねぎ	ネギハモグリバエ ネギアザミウマ	3～6kg/10a	定植時 または生育期 (ただし収穫の 45日前まで)			植溝土壌混和 または 株元処理
カーネーション	スリップス類	6kg/10a	生育期	—	株元処理	

の場合は使用を避けること。

⑥ 本田の整地が不均整な場合は薬害を生じやすいので、代かきは丁寧に言い、移植後田面が露出したりしないように注意すること。移植後は直ちに湛水し、極端な浅水、深水は避けること。また、深植えにならないように注意すること。

⑦ 本田への移植後低温が続き、苗の活着遅延が予測される場合は使用を避けること。また、移植後極端な高温が続くと予測される場合も使用を避けること。

⑧ 本剤を施用した苗を移植した本田では DCPA 剤の施用は避けること。

(2) 畑作に使用する場合

① 本剤をきゅうり、すいか、メロン、なす、ピーマンに使用する場合

イ. 過剰に使用すると葉縁が黄化するなど薬害を生じるおそれがあるので、使用量及び使用回数を厳守すること。

ロ. 育苗期に使用する場合には、育苗期後半 (定植 7 日前から定植期) に使用し、前半の使用は避けること。

ハ. 軟弱徒長苗では薬害を生じるおそれがあるので使用を避けること。

ニ. 高温乾燥期の使用は薬害を生じるおそれがあるので使用を避けること。

② キャベツの植え穴に使用する場合は、施用後軽く土壌を混和してから植え付けること。

(3) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、

使用方法などを誤らないように注意し、特に初めて使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

毒性：

(急性毒性) 医薬用外劇物。

① 取扱いは十分に注意すること。

万一誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、安静にして直ちに医師の手当を受けさせること。

本剤使用中に身体に異常を感じた場合には安静にして直ちに医師の手当を受けること。

② 本剤による中毒の治療方法としては硫酸アトロピン製剤の投与が有効である。

③ 散布の際は防護マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣を着用すること。

また、粉末を吸い込んだり浴びたりしないように注意し、作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをする。

(魚毒性) B—s 類。一時に広範囲に使用する場合には十分注意すること。養魚田では使用しないこと。養魚池などに直接田水が流れ込むおそれのある水田では使用しないこと。

(殺菌剤)

オキサジキシル・銅水和剤 (61.10.28 登録)

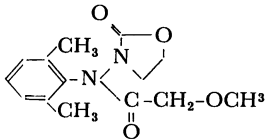
オキサジキシルはスイス・サンド社によって開発されたオキサゾリジノン系殺菌剤である。その作用機作は、アシルアラニン系殺菌剤と同様、RNA 合成に関与する

ポリマーゼ阻害と考えられている。

商品名：サンドファンC水和剤

成分・性状：製剤は 2-メトキシ-N-(2-オキソ-1,3-オキサゾリジン-3-イル)アセト-2',6'-キシリジド 10.0 % 及び塩基性塩化銅 67.3% を含有する淡緑色水和性粉末である。オキサジキシル純品は白色結晶粉末で、融点 104~105°C, 蒸気圧 2.5×10^{-8} mmHg (20°C), 溶解性 (g/l, 25°C) は水 3.2~3.4, ヘキサン 0.12, アセトン 320, エタノール 42, クロロホルム 610 である。

(構造式)



適用作物・適用病害名及び使用方法：第 2 表参照。

使用上の注意：

① 本剤は無機の銅を含むため、きゅうりに対して薬害を生じやすいので下記の事項を十分注意すること。

イ。幼苗期は特に発生しやすいので、中期以降の散布にすること。

ロ。高温時の散布は病状が激しくなることがあるので避けること。

ハ。連続散布すると葉の周囲が黄色したり硬化したりするので過度の連用を避けること。

② 本剤の連続使用によって薬剤耐性菌が出現するおそれがあるので、なるべく連用を避け、作用性の異なる他の薬剤と組み合わせて輪番で使用する。

③ 本剤の使用に当たっては使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、特に初めて使用する場合には病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

毒性：

(急性毒性) 普通物。

① 誤飲誤食などのないように注意すること。万一誤って飲み込んだ場合には、吐き出させ、安静にして直ちに医師の手当を受けさせること。本剤使用中に身体に異常を感じた場合には、安静にして直ちに医師の手当を受けること。

② 粉末は目に対して極めて強い刺激性があるので、散布液調製時には保護眼鏡を着用して薬剤が目に入らないように注意すること。万一、目に入った場合には直ちに水洗し、医師の手当を受けること。

③ 散布の際はマスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。また、散布液を吸い込んだり浴びたりしないように注意し、作業後は手足、顔などを石けんでよく洗うがいをすること。

(魚毒性) B 類 (オキサジキシルは A 類)。

一時に広範囲に使用する場合には十分注意すること。

なお、本剤のほか、オキサジキシル・マンゼブ水和剤 (サンドファンM水和剤) が同時に登録された。

オキサジキシル・マンゼブ水和剤の適用病害名及び使用方法：第 3 表参照。

第 2 表 オキサジキシル・銅水和剤
(サンドファンC水和剤)

作物名	適用病害名	希釈倍数 (倍)	使用時期	本剤及びオキサジキシルを含む農薬の総使用回数	使用方法
はれいしょ	疫病	500~700	収穫 7 日前まで	3 回以内	散布
トマト	疫病		収穫前日まで	4 回以内	
きゅうり	べと病			3 回以内	

第 3 表 オキサジキシル・マンゼブ水和剤 (サンドファンM水和剤)

作物名	適用病害名	希釈倍数 (倍数)	使用時期	本剤のみを使用する場合の使用回数	使用方法	オキサジキシルを含む農薬の総使用回数	マンゼブを含む農薬の総使用回数
はれいしょ	疫病	500~750	収穫 14 日前まで	3 回以内	散布	3 回以内	7 回以内
きゅうり	べと病	500~1,000	収穫前日まで				3 回以内
たまねぎ		500~750	収穫 7 日前まで				5 回以内
ぶどう		750~1,000	収穫 60 日前まで	2 回以内		2 回以内	2 回以内

植 物 防 疫

第 41 巻 昭和 62 年 8 月 25 日印刷
第 9 号 昭和 62 年 9 月 1 日発行

定価 500 円 送料 50 円 1 か年 6,100 円
(送料共概算)

昭和 62 年

9 月号

(毎月 1 回 1 日発行)

編集人 植物防疫編集委員会

発行人 遠藤 武雄

印刷所 株式会社 双文社印刷所
東京都板橋区熊野町 13-11

— 発 行 所 —

東京都豊島区駒込 1 丁目 43 番 11 号 郵便番号 170

社団法人 日本植物防疫協会

電話 東京 (03) 944-1561~6 番

振替 東京 1-177867 番

— 禁 転 載 —

新発売!

少薬量で フロアブル……1.6%
乳 剤……1.4%

大きな効果

果樹・野菜・茶などの広範囲の害虫防除に
— 新合成ピレスロイド剤 —

増収を約束する

日曹の農業

日曹 スカウト

フロアブル
乳 剤

- 黒星病・赤星病・うどんこ病などの防除に

トリブミン[®] 水和剤

- 果樹・いちごのハダニ防除に

ニッソラン[®] 水和剤

- 畑作のイネ科雑草除草に

ナブ[®] 乳剤



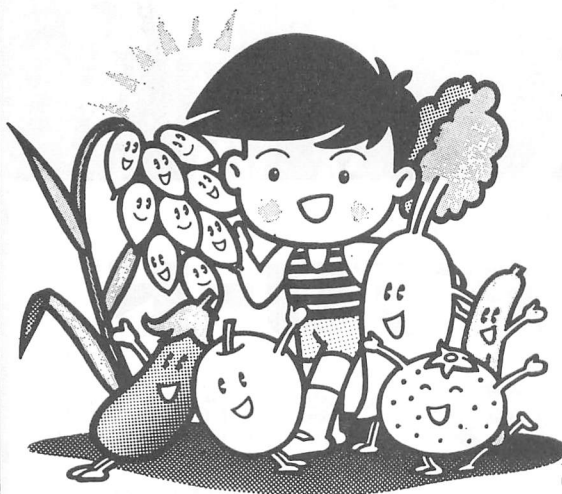
日本曹達株式会社

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・東京・名古屋・福岡・四国・高岡

豊かな収穫が見えてくる。



三 共 の 農 薬



- 粒剤タイプで省力的/
土壌センチュウ・ミナミキイロアザミウマ防除剤

バイデート^{*} 粒剤

- 野菜、柿、茶の諸害虫に

エビセクト[®] 水和剤



三共株式会社 北海三共株式会社
九州三共株式会社

イネの健康、大切に。



いもち病・健苗・ムレ苗

フジワン®

もんがれ病

モンカット®

ウンカ・ヨコバイ

アプロード®



日本農薬株式会社
東京都中央区日本橋1丁目2番5号

®は日本農薬の登録商標です。

— 連作障害を抑え健康な土壌をつくる! —

花・タバコ・桑の土壌消毒剤

パスアミド[®]

微粒剤

- ❖ いやな刺激臭がなく、民家の近くでも安心して使えます。
- ❖ 作物の初期生育が旺盛になります。
- 安全性が確認された使い易い殺虫剤

- ❖ 広範囲の土壌病害、センチュウに高い効果があります。
- ❖ 粒剤なので簡単に散布できます。
- 各種ハダニにシャープな効きめのダニ剤

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

バイデン

乳剤

- 澄んだ水が太陽の光をまねく / 水田の中期除草剤

キノンドー[®]

水和剤80
水和剤40

モゲブロン[®]

粒剤



アグロ・カネショウ株式会社

東京都千代田区丸の内2-4-1

くん蒸作業・薬剤散布にシゲマツの防毒マスク

シゲマツのマスクが大切な健康を守ります。

くん蒸作業に大好評



GM-131

隔離式防毒マスク
国検合検第45号



GM-76

UIHフィルタ付
直結式小型

乳剤

粉剤の散布に



株式会社 重松製作所

本社 〒101-91 東京都千代田区外神田3-13-8

☎ 03 (255) 0255 (代表) FAX. 03 (255) 1030

昭和六十二年
九月九日
第九百三十三号
（毎月一物）
郵便物
（認行）

チカラのウルコ

頑固な雑草に必殺一発パンチ！

63年本格販売

62年の試販結果は、
大好評！！

話題の低コスト除草
一発処理除草剤



農協・経済連・全農

クミアイ化学工業株式会社




 水田除草 新時代

ゆたかな実り—明治の農薬

稲・いもち病、白葉枯病、もみ枯細菌病、
きゅうり・斑点細菌病防除に……………



オリゼメート粒剤

きゅうり、トマト、てんさい、かんきつ、ピーマン、すいか
メロン、茶、ばら、たまねぎ、稲、レタス、キャベツの
病害防除に……………

カッパーシン水和剤





明治製菓株式会社

104東京都中央区京橋2-4-16



定価 五〇〇円
（送料 五〇円）