ISSN 0037-4091

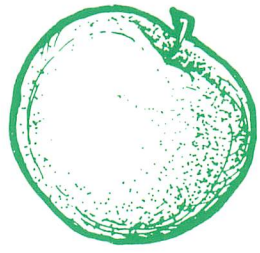
植物防疫

1990
12
VOL 44

特集　線虫学

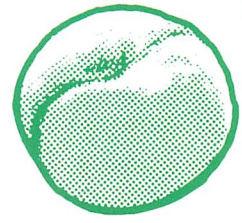
果樹の病害防除に抜群の効果

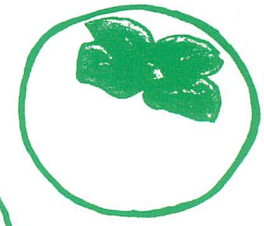
りんご
黒星病
斑点落葉病
赤星病
すす点病
すす斑病
黒点病



なし
黒星病
黒斑病
赤星病

もも
縮葉病
黒星病
灰星病





かき
円星落葉病

パルノックス
水和剤

NOC 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

☆日産化学

奏でるのは、実りの前奏曲（プレリュード）。

- 優れた抗菌力で、馬鹿苗病、ごま葉枯病、いもち病を同時に防除します。
- 低温時でも安定した消毒効果を示し、他剤の耐性菌にも高い効果があります。
- 乳剤なので薬剤の均一性が高く、攪拌の必要がありません。
- 種籾への吸着（浸透）に優れているので、消毒液は風乾せずに浸種できます。

実りのプレリュード・種子消毒剤

スポルタック®乳剤

●プロクロラズ……25%　SPORTAK®

®は西独シェーリングAGの商標登録

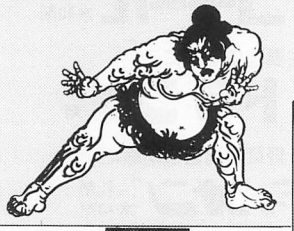
今年も、効きました。来年も、効きます。

水田除草、新時代。

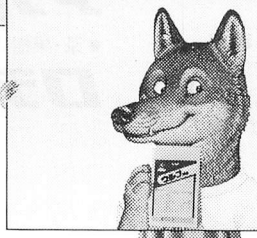
水田除草に新しい時代をひらいたDPX-84*剤

※DPX-84の一般名はベンスルフロンメチル

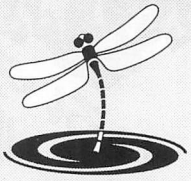
プッシュ®粒剤



ウルフ粒剤



ザーク®粒剤



ゴルボ®粒剤

フジクラス®粒剤

デュポン ジャパン

DUPONT

デュポン ジャパン リミテッド 農薬事業部
〒105 東京都港区虎ノ門2-10-1 新日鉱ビル-デュポンタワー TEL.(03)224-8683

■ホクコーの
主要園芸用農薬

●斑点細菌病などの
細菌性病害・葉かび病等諸病害に
カスミンボルドー®

●べと病・疫病に確実な効果
サンドファン®M・C 水和剤

●果樹・野菜の主要病害に
バイレトン®水和剤5・2.5
バイコラール®水和剤

●野菜の主要害虫防除に
オルトラン®水和剤 粒剤

●茶・果樹・野菜の諸害虫防除に
アディオン®乳剤 水和剤

●茶・果樹・施設野菜の主要害虫に
ロディー®乳剤 水和剤 くん煙顆粒剤

農薬会社は、日本農業の発展を願い、
安全で効果の高い農薬を創りおとどけしています。

農協 経済連 全農

北興化学工業株式会社
東京都中央区日本橋本石町4-4-20

フェロモン剤

——コナガ交信攪乱用フェロモン剤——

コナガコン®

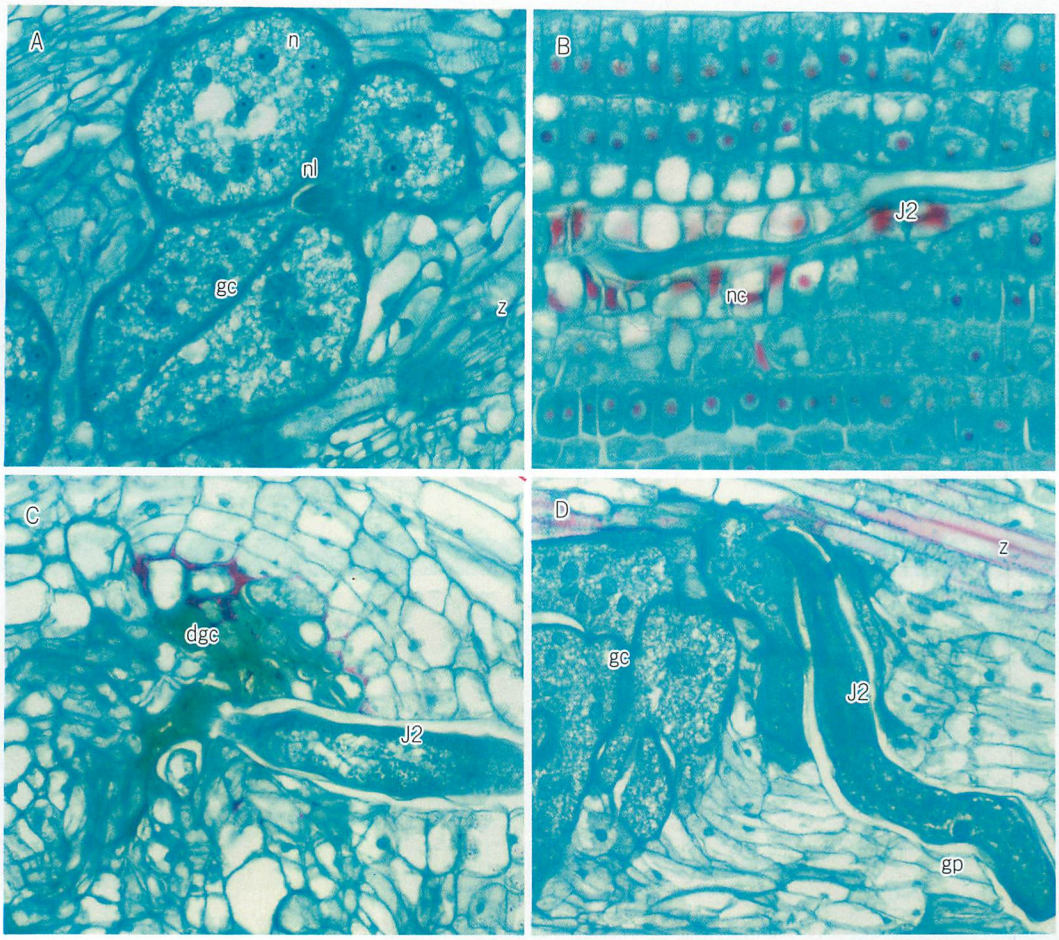
信越化学工業㈱の登録商標です。

サンケイ化学株式会社

本社 〒890 鹿児島市郡元町880 ☎ 0992(54)1161(代) ・ 東京本社 〒101 千代田区神田司町2-1 ☎03(294)6981(代)
盛岡・東京・名古屋・大阪・福岡・宮崎・鹿児島

対抗植物による線虫防除

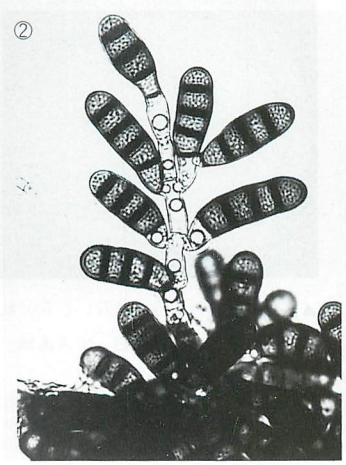
佐野善一氏原図（本文13ページ参照）

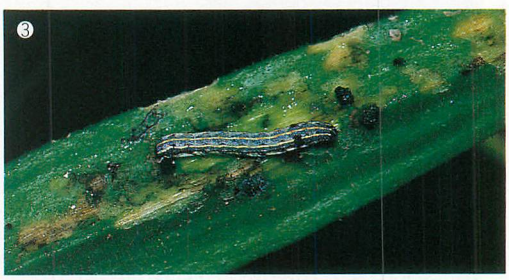


マメ科対抗植物およびトマトにおけるサツマイモネコブセンチュウの発育反応および根の組織的変化
A：トマト（福寿２号）、接種14日後、B：ラッカセイ（ナカテユタカ）、接種５日後、C：サイラトロ、接種23日後、D：*Crotalaria spectabilis*、接種35日後
dgc：退化した巨大細胞、 gc：巨大細胞、 gp：生殖原基、J2：２期幼虫、 n：核、 nc：壊死した細胞、nl：線虫の唇部、z：導管

オクラの病害虫

古谷真二・高井幹夫氏原図（本文48ページ参照）





①黒根病の病徴
②黒根病菌（*Thielaviopsis basicola*）の厚膜胞子
③果実を加害するハスモンヨトウ

カボチャ萎ちょう性病害の見分け方

（本文45ページ参照）

立枯病

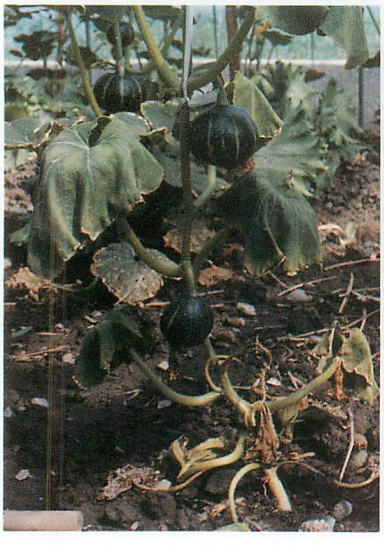
下長根鴻氏原図

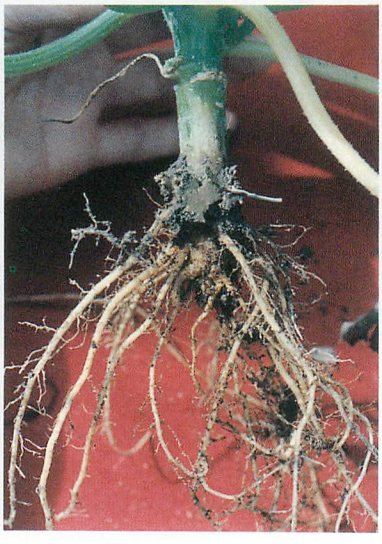
▲圃場における発病の初期症状

▲*F.solani* f.sp *cucurubitae* race 1 の大型分生子

疫病

宮田善雄氏原図

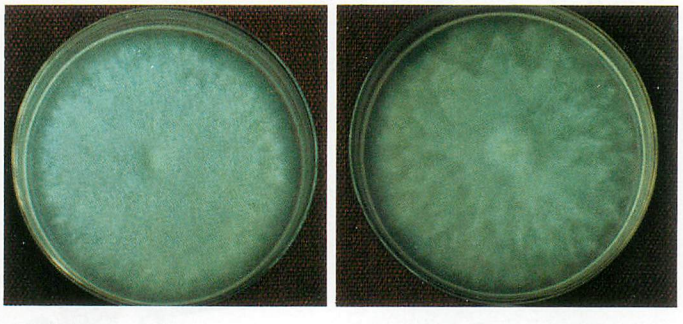




▲ハウス栽培カボチャの疫病：地際部が侵され褐変腐敗を起こしている

▲果実の病徴：病斑の表面に菌叢が生じ、白粉状を呈する．遊走子嚢の集塊で、*P.capsici* の特徴である．

▲*P.capsici*の遊走子嚢：顕著な乳頭突起を有する



▲菌叢に見られる放射状ないし花弁状模様（裏面から見るともっと顕著である）
左：カボチャ菌株、右：ナス菌株

植物防疫

Shokubutsu bōeki
(Plant Protection)

第44巻第12号
平成2年12月号

目　次

特集：線虫学

線虫の分子生物学の現状……奈良部　孝……1
線虫の天敵細菌……西澤　務……6
対抗植物による線虫防除……佐野　善一……13
有機物施用と線虫被害……中園　和年……17
マツノザイセンチュウ感染によるマツの枯損機構……黒田　慶子……21
ストック立枯病（新称）の発生……清水　時哉……25
インゲンマメのアファノミセス根腐病の発生……堀田　治邦・谷井　昭夫……27
非放射性核酸プローブによる植物病害の遺伝子診断法……兼松　誠司・夏秋　知英・日比　忠明……31
PCRによる植物病害の遺伝子診断法……佐野　輝男……39
海外ニュース：タイ国における線虫による作物の被害解析と防除……樋田　幸夫……44
植物防疫基礎講座
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方（6）
カボチャ萎ちょう性病害の見分け方……下長根　鴻・宮田　善雄……45
地域特産物の病害虫（5）　オクラの病害虫……古谷　眞二・高井　幹夫……48
新しく登録された農薬（2.10.1～10.31）……52
人事消息……51
新刊紹介……38
次号予告……47

BAYER

「確かさ」で選ぶ…バイエルの農薬

●いもち病に理想の複合剤
ヒノラブサイド®

●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
®ヒノラブバイバッサ

●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
®ヒノラブモンセレン

●イネミズ・カメムシ・メイチュウに
バイジット

●イネミズゾウムシ・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
®サンサイド

●イネミズ・ウンカ・ツマグロヨコバイに
D・S ダイシストン サンサイド粒剤

●さび病・うどんこ病に
®バイレトン

●果樹の黒星病・赤星病・灰星病・野菜のうどんこ病に
®バイコラール

●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

●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
®ボルスタール

●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

●新しい時代のヒ工剤登場
®ヒノクロア粒剤

●初・中期一発処理除草剤
特農 シンザン粒剤

●初・中期一発処理除草剤
特農 ザーク粒剤

●初・中期一発処理除草剤
特農 アクト®粒剤

●中期除草剤
®クロアSM粒剤

●バレイショ・アスパラの除草剤
センコル

®は登録商標

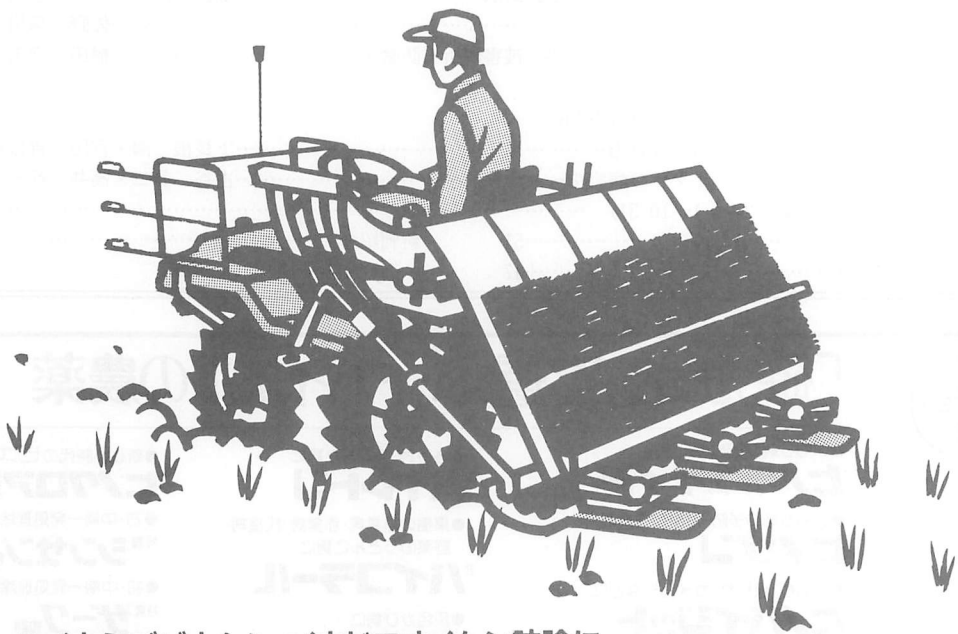
日本特殊農薬製造株式会社
東京都中央区日本橋本町2-7-1　〒103

パダン水溶剤：
ペースト肥料との
混和側条処理に

●農薬は正しく使いましょう！

タケダ

省力・低コスト稲作に
新しい技術！



●イネミズゾウムシ・イネドロオイムシ防除に

パダン® 水溶剤

●パダン水溶剤をペースト肥料と混和することにより、
田植、施肥、防除の3つの作業を同時に行うことができ極めて省力的です。
●水田初期害虫を的確に防除します。
●10a当り200～300gのパダン水溶剤をペースト肥料に混和するだけでよいので、防除費が低コストですみます。

注意：育苗箱処理（殺虫剤）との併用は重複となるのでさけること。

武田薬品工業株式会社 アグロ事業部 〒103 東京都中央区日本橋2丁目12番10号

特集：線虫学〔1〕

線虫の分子生物学の現状

農林水産省農業研究センター 奈良部 孝

線虫の分子生物学は，自活性線虫 *Caenorhabditis elegans* に焦点が絞られ，細胞学，発生学，遺伝学，神経学，行動学，内分泌学，薬理学，老年学などの広範な生命科学の分野の研究と相互に関連しながら進展してきた。今やウイルスやバクテリアでの分子生物学の知見を，高等動物の生命現象解明に当てはめるための生物モデルとして，最も重要な位置を占めるに至っている(Wood, 1988；一戸，1984；定家・鈴木，1989；宗像，1989)。

C. elegans の研究にリードされる形で，近年，植物寄生性線虫を含む他の線虫類の分子生物学が発展してきた。植物寄生線虫については，いまだ，DNA の塩基配列の差異に基づく分類・同定法の開発が進められている段階にすぎないが，最近になって，系統分類，特に，近縁な種・系統(おもに寄生性の差異に基づくレース，及びパソタイプ)間の分類・識別に多くの成果を上げてきている。本稿では，制限酵素断片長多型(RFLP)やハイブリダイゼーション法を利用した各種植物寄生線虫の分類・同定法を紹介するとともに，全塩基配列の決定された動物寄生線虫のミトコンドリア DNA のユニークな構造について紹介したい。

I 制限酵素断片長多型(RFLP)の利用

制限酵素断片長多型(Restriction Fragment Length Polymorphism: RFLP)とは，制限酵素を用いて DNA を切断したときの断片の長さが多型性を示すことをいう。すなわち，DNA 上に生じた変異を直接検出し，同一生物集団の変異系統を電気泳動のバンドパターンとしてとらえることができるわけである。

植物寄生線虫の RFLP は，ネコブセンチュウ主要4種(サツマイモネコブセンチュウ(*Meloidogyne incognito*)，ジャワネコブセンチュウ(*M. javanica*)，キタネコブセンチュウ(*M. hapla*)，アレナリアネコブセンチュウ(*M. arenaria*)とそれぞれのレース間(Curran et al., 1985, 1986)，及び長い間同一種と考えられていたジャガイモシストセンチュウ(*Globadera. rostochiensis*)とジャガイモシロシストセンチュウ(*Globodera. pallida*)間(Burrows and Boffey, 1986)の比較などが最初の試みである。細胞内の全 DNA をいくつかの制限酵素で切断し，その断片を電気泳動法で分離後，エチジウムブロマイドで染色する方法で系統間の変異を調べた。それぞれ1系統のみの実験ではあったが，種間・レース間ですべて異なる泳動パターンを示した。しかしこの方法で検出できる DNA は，反復配列を持つ DNA(ネコブセンチュウでは全 DNA の約 20％を占める(Pableo and Triantaphyllou, 1989))に限られるうえ，この部分は系統間の変異が現れにくい傾向がある(Dover et al., 1982)ため，一般的に系統間の分類には用い難い。

しかし，ダイズシストセンチュウ(*Heterodera glycines*)の全 DNA の RFLP 解析では，用いた8種類の制限酵素すべてについて，レース4はレース3及び5とは異なるバンドパターンを示した(Kalinski and Huettel, 1988)。また，マツノザイセンチュウ(*Bursaphelenchus xylophilus*)の二つの病原性の異なる2系統(MPSy-1, VPSt-1)及びニセマツノザイセンチュウ(*B. mucronatus*)の計3系統の RFLP 解析では，種間では明りょうな差異が認められ，系統間についても共通バンドが多いものの，差異が認められた(Bolla et al., 1988)。これらの例は同一種内の系統間で，反復配列を持つ DNA に変異が起きたものと考えられる。

このような核 DNA に代わり，現在 RFLP 解析に盛んに用いられているのはミトコンドリア DNA(mtDNA)である。mtDNA は，環状2本鎖で，全 DNA の1～10％を占め，物理的サイズが小さく(脊椎・無脊椎動物では14～19 kbp)，分離精製が容易であるなどの特徴を持つ。また，核 DNA の10～100倍の速度で変異し，反復配列を多数持つため，RFLP 解析による系統分類が容易である。

ネコブセンチュウでは，主要4種とそれぞれのレースを含む12系統について，12種類の制限酵素を用いて，mtDNA の RFLP 解析が行われた(Powers et al., 1986；Powers and Sandall, 1988)。全系統間で，検出された総バンド数に対する共通バンド数の割合から，塩基配列の相同性を求め，系統間の類縁関係を系統樹に表した(図-1)。個々の制限酵素ではレース間に差異が認められたものの，全体では，サツマイモネコブセンチュウのレース間で0.5～1.0％，キタネコブセンチュウで1.3～1.8％，アレナリアネコブセンチュウで0％の相違度しか認めら

Recent Progress on Nematode Molecular Biology. By Takashi Narabu

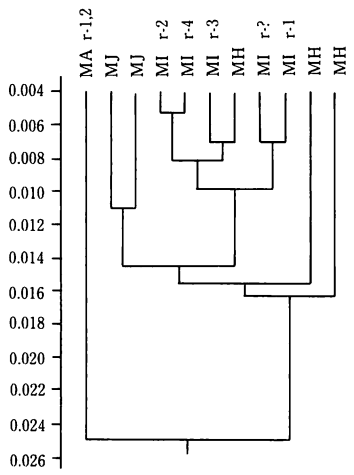


図-1 mtDNA の RFLP 解析によるネコブセンチュウ 4 種 12 系統の系統樹(Powers and Sandall, 1988)
数字は系統間の断片長の相違度. MI：サツマイモネコブセンチュウ，レース 1～4，レース不明，MJ：ジャワネコブセンチュウ，MH：キタネコブセンチュウ，MA：アレナリアネコブセンチュウ，レース 1,2.

れなかった。mtDNA の塩基配列は同一種内でも変異があり，例えば，ヒトで 0.36％，チンパンジーで 1.33％の種内変異が認められている(Wilson et al., 1985)。このことから，ネコブセンチュウのレース間の差異は種内変異の範囲内にあると考えられ，RFLP によるレースの判別は難しいものと思われる。また最も近いサツマイモネコブセンチュウとキタネコブセンチュウの系統間の相違度は，0.7％でキタネコブセンチュウの種内変異より小さく，最も遠いアレナリアネコブセンチュウとキタネコブセンチュウの間の相違度でも 2.4％で，ネコブセンチュウ主要 4 種はいずれも近縁な関係にあると推定される。

ダイズシストセンチュウとテンサイシストセンチュウ(*H. schachtii*)は形態的に非常に類似し，交雑も可能(Potter and Fox, 1965; Miller, 1976)なため近縁種と考えられていたが，mtDNA の RFLP から求めた両種の相違度は，14.5％と大きな値を示した(Radice et al., 1988)。これは同属間のショウジョウバエが 1.5～10％，ウニが 6～11％，マウスが 13～17％という値と比較して大きな数字であることがわかる。mtDNA の塩基配列の相違度は，種や系統の分化年代を推定する“分子時計”として利用することができる(Vawter and Brown, 1986)。ウニやショウジョウバエから計算された値を参考にすると，相違度 0.5～1.0％が 100 万年前の種分化と考えられるので，両線虫の種分化は 730～1,450 万年前に起きたと推測される。両シストセンチュウは種分化後，形態的な変化がほとんどないまま，現在に至っていると考えてよい。

ダイズシスト，テンサイシスト，ジャガイモシスト，ジャガイモシロシストの 4 種シストセンチュウは，タンパク質の二次元泳動によるバンド数の相違度から類縁関係が調べられており，4 種とも遺伝的に遠い関係にあるという(Bakker and Bouwman-Smits, 1988)。またネコブセンチュウのアイソザイムを使った類縁関係では，主要 4 種は比較的近い関係にあり(Esbenshade and Triantaphyllou, 1987)，mtDNA から求めたデーとほぼ一致した。シストセンチュウ類の種分化ははるか昔にさかのぼり，ネコブセンチュウ類は種分化したばかりの線虫であるといえよう。

II DNA-DNA ハイブリダイゼーション法

生物の DNA の一部を切り出してクローン化した DNA，あるいは RNA を鋳型にして合成した相補 DNA (cDNA)をプローブとして，目的の核酸配列を検出しようとするのがハイブリダイゼーション法である。特にウイルスの検出などの分野でよく用いられている方法であるが，検出精度がきわめて高く，また各種の実験キットも容易に入手可能なため，この方法を線虫の種(系統)の判別に用いようとする試みが増えている。

ハイブリダイゼーション法を用いるうえで最も重要なのは，目的とする線虫の種(系統)に特異的な核酸領域に対する DNA プローブをデザインして用いることである。これまでに植物寄生線虫の種・系統の識別に用いられたプローブを表-1 に示した。

最初は他の生物の系統識別のためにデザインされた DNA プローブが，そのまま線虫用のプローブとして用いられた。キタネコブセンチュウは有性生殖または半数型単為生殖のレース A と倍数型単為生殖のレース B に分けられ，形態的差異も指摘されているが(Eisenback and Hirschmann, 1979)，その識別は困難であった。Curran and Webster(1987)は，両レースの全 DNA を EcoRI で切断し，電気泳動後，*C. elegans* の 28 s, 18 s リボゾーム DNA の反復配列をクローニングしたプローブ(Nelson and Honda, 1985)を用いてハイブリダイゼーションを行った。その結果，レース A では 1 本，レース B では 2 本のバンドが認められ，両レースは明確に識別できた。

Bolla et al. (1987)は，マツノザイセンチュウでマツ属に病原性を示さない系統(MPSy-1 av)とオウシュウアカマツ *Pinus sylvestris* にのみ病原性のある系統(Mpsy-1)

表-1 植物寄生線虫の種・系統の識別に用いられたプローブ

属	識別された線虫	プローブ	文献
Meloidogyne	*M. hapla* (race A, B)	28 S, 18 S ribosomal DNA repeat cloned from *C. elegans*	CURRAN and WEBSTER (1987)
	M. chitwoodi	mtDNA cloned probe	HYMAN (1990)
Globodera	*G. pallida*	Nuclear single copy, cloned DNA probes	BURROWS and PERRY (1988)
Heterodera	*H. glycines*	mtDNA cloned probes	BESAL et al. (1988)
Bursaphelenchus	*B. xylophilus* (pathotypes)	Nuclear single copy DNA cloned from *Drosophila* ADH gene	BOLLA et al. (1987)
	B. mucronatus (pathotypes)	Cloned DNA probes containing part of the ribosomal repeat	WEBSTER et al. (1990)

の識別を行った。両系統の全DNAをHae IIIで切断し，電気泳動後，ショウジョウバエのアルコール脱水素酵素領域をクローニングしたプローブ(GOLDBERG et al., 1983)を用いてハイブリダイゼーションを行ったところ，MPSy-1 avでは1本，Mpsy-1では2本のバンドが認められた。

続いて，線虫オリジナルのプローブを用いた実験が行われた。BURROWS and PERRY (1988)は，ジャガイモシロシストセンチュウのゲノムDNAのHind III断片をクローニングし，スクリーニングを経たプローブを用いてドットブロットハイブリダイゼーションを行った。このプローブはジャガイモシロシストセンチュウのパソタイプPa 4及びPa 1のゲノムDNAとは反応したが，ジャガイモシストセンチュウのパソタイプRo 2，Ro 5及びRo 1とは反応せず，種の判別には有効であった。

WEBSTER et al. (1990)は，日本産のニセマツノザイセンチュウとアメリカ産のマツノザイセンチュウから，リボゾームDNAの反復配列領域をデザインしたプローブ，pBm 4, pBx 6をそれぞれ作成し，各地から分離された両線虫の計16系統に対してドットブロットハイブリダイゼーションテストを行った。その結果pBm 4はニセマツノザイセンチュウの系統に対してのみ，pBx 6はマツノザイセンチュウの系統に対してのみ反応を示した。さらに，ニセマツノザイセンチュウ4系統については，ゲノムDNAのSal I/Hind III断片を電気泳動後，pBm 4をハイブリダイズしたところ，日本の系統とヨーロッパ系統ではバンドパターンに差異が認められた。フランス系統のニセマツノザイセンチュウは，日本系統のものより病原性が強いことが示唆されており(DEGUIAN and BOULBRIA, 1986)，病原性の異なる系統の識別にもハイブリダイゼーション法が有効であることが証明された。

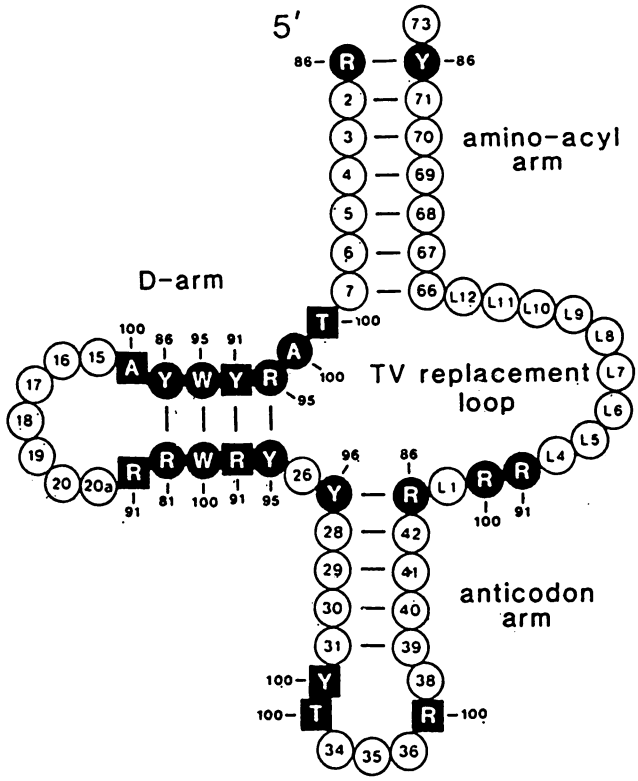
mtDNAをプローブにしたハイブリダイゼーションもいくつか行われている。BESAL et al. (1988)は，アメリカ産のダイズシストセンチュウのmtDNAをプローブにして，各地のダイズシストセンチュウ10系統を含むシストセンチュウ類5種16系統に対してドットブロットハイブリダイゼーションを行った。1系統を除いてダイズシストセンチュウの全系統とは強く反応し，テンサイシストセンチュウともわずかながら反応したが，他種とは反応を示さなかった。さらに，ジャワ島から分離されたダイズシストセンチュウとは反応を示さなかったことから，ダイズシストセンチュウにはmtDNAの塩基配列の異なる系統が存在し，また，ダイズシストとテンサイシスト間には一部相同な配列があるものと考えられる。

HYMAN (1990)は*M. chitwoodi*及びキタネコブセンチュウが感染しているゴールをそれぞれ数系統用意し，その粗汁液を直接ニトロセルロースフィルターに吸着させ，*M. chitwoodi*のmtDNAをプローブにして，ハイブリダイゼーションを行った。両線虫は形態的にはに酷似するが，この方法では*M. chitwoodi*の感染したゴールにのみ反応を示し，フィールド試験においても，近縁種の判別にハイブリダイゼーション法が利用可能であった。

III 線虫ミトコンドリアDNAの構造

mtDNAの全塩基配列は，脊椎動物では，ヒト，ウシ(ANDERSON et al., 1982)，マウス(BIBB et al., 1981)，アフリカツメガエル(ROE et al., 1985)で，無脊椎動物では，ショウジョウバエ(CLARY and WOLSTENHOLME, 1985)で決定されており，いずれも2つのrRNA，22のtRNA，13のタンパク質(チトクロームcオキシダーゼサブユニットI，II，III；ATPase 6, 8；NADH脱水素酵素複合体1～6,4 L,；チトクロームb)の遺伝子がコードされている。また，脊椎動物間ではmtDNA上の遺伝子の並び方も同一であったが，脊椎動物とショウジョウバエの間には差異が認められている(HYMAN, 1988)。

線虫では，ブタに寄生する*Ascaris suum*，自活性の*C. elegans*で全塩基配列が決定された(WOLSTENHOLME et al., 1987)。その構造は，これまでの脊椎・無脊椎動物の構造



図－2 *Ascaris. suum* のミトコンドリア tRNA 22 個の一般形(Wolstenholme et al., 1987)
TΨC アームの部分がループ構造に置換(TV replacement loop)．丸の中の数字は全体，及びループを構成するヌクレオチドの最大数．白ヌキアルファベット文字は，*A. suum* の 22 のミトコンドリア RNA 内での同一ヌクレオチドの出現頻度 80 %以上の部分(丸白ヌキ)，さらに他の生物の核 tRNA とも共通する部分(四角白ヌキ)を示す．横の数字は出現頻度(%)．A：アデニン，T：チミン，R：アデニンまたはグアニン，V：シトシンまたはチミン，W：アデニンまたはチミン．

とは異なり，ATPase 8 をコードする遺伝子がすべて欠損していたり，tRNA をコードする遺伝子サイズが小さいなどの特徴が認められた。さらに，mtDNA 塩基配列から推定される tRNA の二次構造は，いわゆる“クローバー構造”を取らず，3 本の腕の部分の 1 本(TΨC arm)が開き，ループ構造(TV replacement loop)に置換されたものであった(図-2)。このような構造は，これまで調べられた脊椎・無脊椎動物，カビ，バクテリアなどのミトコンドリア RNA には認められなかったものである。両線虫の核 tRNA は通常の構造であることはわかっているが，ミトコンドリア RNA の塩基配列は，まだ直接は調べられていない(Hyman, 1988)。もし推定どおりの構造であればミトコンドリアにおける転写様式も異なるであろうと推測され，興味深い。ATPase 8 の遺伝子の欠損についても，それが核 DNA にコードされているのか，あるいは ATPase 8 がなくても触媒作用が進行するのか，解明が待たれるところである。

おわりに

以上，分子生物学的手法を用いた植物寄生線虫の分類・同定を中心に述べてきた。形態的に類似した種間の分類・同定にはタンパク質(アイソザイム)の電気泳動や血清学的手法が有効であるが，寄生性を異にするレース・系統間の識別は困難であることは既に示されている(Esbenshade and Triantaphyllou, 1985；奈良部ら，1989；Misaghi and McClure, 1974)。これまで述べたよ

うに，DNAの塩基配列の相違を利用することで，レース・系統の判別を行うことが可能になってきた。特にハイブリダイゼーション法では，種や系統の識別が明確に行われ，利用価値が高い。現在，RIの使用がハイブリダイゼーション法の普及の障害になっていることもあり，今後RIを用いない手法の開発が望まれる。この点ではビオチンで標識したプローブを用いて，ジャガイモシストセンチュウとジャガイモシロシストセンチュウを判別することに成功しており(Burrows, 1989)，他の線虫への応用が期待される。

今後の大きな課題として，線虫の全DNAの塩基配列の解明が望まれよう。*C. elegans*については現在全DNAの塩基配列決定の作業が精力的に進められており，完成もそう遠くはないという(Coulson et al., 1988)。植物寄生種については，mtDNAの全塩基配列の決定が望まれる。種や系統間の比較や類縁関係をさらに正確に行うことができるばかりでなく，*A. suum*と*C. elegans*に認められたミトコンドリアRNAの構造が線虫全般に共通なのか比較ができるだろう。もし線虫のみが特殊なミトコンドリアRNAを持つのであれば，将来，線虫tRNA特異的阻害物質を開発し，選択的防除の可能性も出てくる。

引 用 文 献

1) Anderson, S. et al. (1982) : Mitochondrial Gene (Slonimski, P. et al. eds.), Cold Spring Harbor Laboratory, New York, pp. 5～43.
2) Bakker, J. and L. Bouwman - Smits (1988) : Phytopathology 78 : 900～904.
3) Besal, E. A. et al. (1988) : ibid. 78 : 1136～1139.
4) Bibb, M. J. et al. (1981) : Cell 26 : 167～180.
5) Bolla, R. I. et al. (1987) : J. Nematol. 19 : 304～310.
6) ——— et al. (1988) : ibid 20 : 309～316.
7) Burrows, P. R. (1989) : ibid 21 : 553～554.
8) ——— and S. A. Boffey (1986) : Revue Nématol 9 : 199～200.
9) ——— and R. N. Perry (1988) : ibid 11 : 441～445.
10) Ciary, D. O. and D. R. Wolstenholme (1985) : J. Mol. Evol. 22 : 252～271.
11) Coulson, A. et al. (1988) : Nature 335 : 184～186.
12) Curran, J. and J. M. Webster (1987) : Canadian J. Plant Pathol. 9 : 162～166.
13) ——— et al. (1985) : Parasitology 90 : 137～144.
14) ——— et al. (1986) : J. Nematol. 18 : 83～86.
15) Deguian, G. and A. Boulbria (1986) : OEPP/EPPO Bull. 16-445～452.
16) Dover, G. et al. (1982) : Genome evolution (Dover, G. and R . B. Flavell, eds.). Academic Press, New York, pp. 344～372.
17) Eisenback, J. D. and H. Hirschmann (1979) : J. Nematol. 11 : 5～16.
18) Esbenshade, P. R. and A. C. Triantaphyllou (1985) : ibid. 19 : 6～20.
19) ——— • ———(1987) : ibid. 19 : 8～18.
20) Goldberg, D. A. et al. (1983) : Cell 34 : 59～73.
21) Hyman, B. C. (1988) : J. Nematol. 20 : 523～531.
22) ———(1990) : ibid. 22 : 24～30.
23) 一戸 稔(1984) : 植物防疫 38(3) : 121～124.
24) Kalinski, A. and R. N. Huettel (1988) : J. Nematol. 20 : 532～538.
25) Miller, L. I. (1986) : Virginia J. Science 27 : 25
26) Misaghi, I. and M. A. McClure (1974) : Phytopathology 64 : 698～701.
27) 宗像信生(1989) : 蛋核酵 34(4) : 293～303.
28) 奈良部 孝ら(1989) : 日線研誌 19 : 46～51.
29) Nelson, D. W. and B. M. Honda (1985) : Gene 38 : 245～251.
30) Pableo, E. C. and A. C. Triantaphyllou (1989) : J. Nematol. 21 : 260～263.
31) Potter, J. W. and J. A. Fox (1965) : Phytopathology 55 : 800～801.
32) Powers, T. O. and L. J. Sandall (1988) : J. Nematol 20 : 505～511.
33) ——— et al. (1986) : ibid. 18 : 288～293.
34) Radice, A. D. et al. (1988) : ibid. 20 : 443～450.
35) Rou, B. A. et al. (1985) : J. Biol. Chem. 260 : 9759～9774.
36) 定家義人・鈴木堅之(1989) : 蛋核酵 34(4) : 290～292.
37) Vawter, L. and W. M. Brown (1986) : Science 234 : 194～196.
38) Webster, J. M. et al. (1990) : Revue Nématol. 13 : 255～263.
39) Wilson, A. C. et al. (1985) : Biol. J. Linnean Soc. 26 : 375～400.
40) Wolstenholme, D. O. et al. (1987) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 : 1324～1328.
41) Wood, W. B. (edit.) (1988) : The nematode *Caenorhabditis elegans*, Cold Spring Harbor Press, New York, 667pp.

特集：線虫学〔2〕

線虫の天敵細菌

社団法人日本植物防疫協会研究所　西澤　務（にしざわ つとむ）

はじめに

細菌類も線虫類も，共に通常直接目に触れられる存在ではないが，ミクロな生物圏を代表する二大生物群であることはいうまでもない。カンブリア期に出現したといわれる線虫類は，その誕生の瞬間から，既に20～30億年もの歴史をもつ大先輩の細菌類とのおつき合いを余儀なくされ，以後現在までの数億年にわたる進化の過程で，様々な相互作用のパターンを形作ってきたことになる。

両者間の直接的または間接的な相互作用の結果は，どちらかの一方にのみ有利な場合と，相互に利益を分かち合っている場合とに大別できるであろうが，それらの具体的現象のほとんどが境界領域における未解明の課題として残されている。しかし，これまでに少しでも明らかにされてきたそれらの相互作用について，自然生態系におけるエネルギー循環の視点など大局的見地から評価してみると，ささやかな彼らの作用のいずれも，終局的には人類の福祉に想像以上に大きなかかわりをもっていることが明らかになってくる。

与えられた標記のテーマに従えば，ここでの話題はいわゆる“線虫の伝染性細菌病”に絞るのが本筋ではあるが，はなはだ奇妙なことに，これまでに確認された真正の線虫寄生性細菌は，きわめて特殊な出芽細菌(目)に限られている。したがって，ここではあえて狭義の“天敵”にこだわることなく，やや視野を広めて，線虫の生活や密度変動にかかわる細菌類の作用を概括的に点検してみることにしたい。

I　いろいろな細菌—線虫の相互作用

1　細菌を餌としている線虫

土壌線虫のうち，いわゆる“自活性”または“腐生性”といわれる線虫は，実は食細菌性(bacteriophagous)のものと食(糸状)菌性(fungivorous)のものとに大別される。代表的な腐生性線虫群であるRhabditida目の線虫はほとんどが食細菌性で，口器や食道部の構造や機能はそれによく適応しており，β-グルクロニダーゼなどの細菌の消化に役立つ特殊な酵素の存在も確かめられている。

平均的にみて，自然地の土壌中の細菌密度は生土1g当たり100万～数10億，線虫密度は1.8^6～160^6/m²の範囲であり，そのうち50～60%は食細菌性線虫で占められているという。そして，それらの線虫の摂食量については，*Pelodera* sp.では1分間に1頭で42細胞，*Rhabditis marina*では1日1頭10^3～10^7細胞，*Caenorhabditis elegans*の場合は1日1頭約1μgの細菌量に及ぶとする調査例などがある(Poinar and Hansen, 1986)。

そのような彼らの貪欲な摂食活動を背景にして，古くから「土地の肥沃度と腐生性線虫の密度の間には正の相関がある」(Franz, 1950)などといわれてきているが，そうした効果を実証した代表例として，セルロースやキチン質等の難分解性有機物が土壌中で滞りなく分解され，植物への可給態養分に変えられて再利用される，いわゆる自然のエネルギー循環の全過程は，それらの食細菌性線虫の働き(食細菌活動)が介在してこそ円滑に進行し完結している，といえることを明らかにした貴重な研究報告がある(Trofymow and Coleman, 1982)。

近年新しい生物モデルとして医学・生理学及び薬学等の分野で盛んに使われるようになった*Caenorhabditis*属線虫を筆頭とする数種の食細菌性線虫は，しばしば*Escherichia coli*や*Bacillus subtilis*などの素性の知れた細菌を餌として飼育・培養され，分子生物学の発展に役立っている。

2　共利共生的関係

線虫の排せつ物が共存細菌の栄養となるなどの理由で，*Pseudomonas*属の根圏細菌や下水汚泥分解細菌の活性が線虫存在下で明らかに高まるといわれる事例や，線虫体内に住みついた細菌が，線虫に必要な代謝産物を供給しているという事例などが挙げられるが，典型的な共利共生関係(mutualism)は，*Steinernema*や*Heterorhabditis*などの昆虫寄生性線虫とその共生細菌*Xenorhabdus* spp.との間にみられる。これらの線虫は昆虫に対する毒素を生産し殺虫作用の決め手となっている*Xenorhabdus*属の細菌が存在しないと増えられないし，一方*Xenorhabdus*属菌はこれらの線虫体内以外からは検出されず，線虫が媒介者となることが不可欠なのである(Poinar and Hansen, 1986)。

Bacterial Antagonists and Hyperparasites of Plant-Parasitic Nematodes　By Tsutomu Nishizawa

3　細菌の媒介者としての線虫

Agrobacterium, *Pseudomonas*, *Erwinia* 等の属の土壌病の病原細菌が増えている罹病植物組織や，病原細菌が増えているマッシュルーム栽培床には食細菌性線虫がよく集まって増殖し，分散して病原細菌を媒介・拡散させるため，被害が激化することが多い。ネコブセンチュウやラセンセンチュウなど植物体の地下部に寄生する線虫も，しばしばそれらの土壌伝染性植物病原細菌の媒介役を果たしている。

イチゴの“カリフラワー病”は，ハガレセンチュウがその体表につけて運んだ細菌，*Corynebacterium fascians* と共に混合感染して生ずる典型的な複合病であり，現在もオーストラリアの一部の放牧地で深刻な問題となっている牛や羊の奇病(罹病牧草に含まれる神経毒による大量の家畜の急死現象)は，ライグラスにツブセンチュウの一種と *Corynebacterium rathayi* が混合感染したとき，罹病穂のゴールに猛毒物質が生成されるためである(Lanigen, et al., 1976)。

マメ科植物にとって重要な窒素固定共生細菌である根粒バクテリアは，*Cephalobus* 属や *Macrolaimus* 属などの線虫の体内を通過しても生き残っており，それらの線虫が土壌中での根粒バクテリアの分散に役立っている一方，シストセンチュウやネコブセンチュウは，直接的な加害作用に加えて，機構は不明ながら，はっきりした根粒形成を阻害するという副次的作用をもっており，マメ科作物の線虫害を相乗的に増大させている(Poinar and Hansen, 1986)。

II　細菌類による間接的な線虫密度抑制作用

腐生性の線虫の体内に細菌の存在を記録した報告は少なくないが，線虫への病原性が確かめられた事例は，出芽細菌を除いては事実上皆無の状態である。まして，植物寄生性の線虫——必要条件として，特殊な口器構造すなわち口針を備えており，その内腔は通常細菌細胞を通過させ得る程に大きくない——では体内に細菌の存在を認めることすらきわめてまれである。

しかしながら，多くの土壌細菌は直接的な寄生性はもたないものの，有機物の分解に深いかかわりをもっており，その過程で生ずる分解産物や代謝産物が鍵となってしばしば線虫に毒性や拮抗作用あるいは阻害作用をもたらしていることが明らかである。したがって，有機質資材の投与により有害線虫の密度低下がみられるとき，その重要な要因はこの辺りに存在するものと考えられる。片害作用(amensalism)と呼ばれるそのような現象の具体例として以下のような報告がある。

1　殺線虫性物質が作用する場合

(1)　脂肪酸類

Johnston(1957)はアメリカの水田で，イシュクセンチュウ等の密度が *Clostridium* 属の嫌気性土壌細菌の働きで生成される揮発性脂肪酸類の殺線虫作用により，顕著に低下することを最初に発見した。それらの個々の有機酸の相対的殺線虫作用はおおむねそれぞれの分子量に比例し，酪酸＞プロピオン酸＞酢酸＞蟻酸の順序であるが，それらの混合物の作用には連合作用がみられ，それぞれの単剤の作用に比べて相乗的に強化されることも明らかにした(Johnston, 1959)。水田における同様な効果は他の研究者によって追認されており(Holis and Rodriguez-Kábana, 1967)，畑地においても Patrick et al.(1965)や Sayre et al.(1965)により，麦稈類や緑肥をすき込んだときに生ずる分解産物が，腐生性の線虫に対するよりもネコブセンチュウやネグサレセンチュウに対して10倍も強い殺線虫力を示すことを認め，その主成分はやはり酪酸であることを確かめている。鶏糞類の土壌施用に伴う顕著な線虫密度抑制効果にも，その分解の過程で生ずるこれら非解離の脂肪酸類が重要な要因として働いているようである(Badra et al., 1979)。

(2)　可溶性硫化物

硫酸塩還元作用をもつ嫌気性の *Desulfovibrio* 属の土壌細菌などの働きで生ずる硫化水素などの可溶性硫化物が水田や畑地の有害線虫の密度抑制に役立っているといわれる(Rodriguez-Kábana et al., 1965; Jacq and Fortuner, 1979; Badra, et al.,1979)。

(3)　アンモニア

植物残渣や動物性有機物が土壌中で分解してゆく過程で，アンモニア化成菌の働きで生ずるアンモニアも線虫の密度制御に重要な役割を果たしているといわれる(Rodriguez-Kábana, 1986)。

(4)　菌体外毒素類

害虫防除に利用されている *Bacillus thringiensis* の菌体外毒素がネコブセンチュウその他の防除にも有効とする報告がある(Prasad et al., 1972; Ignoffo and Dropkin, 1977)。実用面からの検討が望まれる。

Katznelson et al.(1964)は，*Caenorhabditis*, *Rhabditis*, *Panagrellus* などの食細菌性線虫の虫体を液体培地や寒天培地中で溶壊させる粘液細菌 *Myxobacterium* 属の1種を検出したが，これは奇妙にも口針をもった食菌性線虫や植物寄生性線虫には全く無影響であったという。

一方，Iizuka et al.(1962)によれば *Pseudomonas* 属の土壌細菌134菌株について調べた結果，約半数の69菌株から *Rhabditis* 属線虫とネコブセンチュウの両者におお

むね同様に殺線虫作用または虫体溶壊作用が認められたという。Walker et al.(1966)は，培養汎液がネグサレセンチュウに強い致死作用を示す *Bacillus* sp.を記録している。

2　線虫の発育や行動に異常をもたらす場合

土壌細菌の種々な代謝産物による直接的な殺線虫作用とは別に，様々な要因が複合的に集約された結果としてか，線虫のふ化や寄主への誘引・侵入等の正常な行動の阻害や発育阻害を引き起こし，結果的に有害線虫の密度制御に役立っているという場面のあることが，最近明らかにされつつある(Katznelson and Henderson, 1964; Oostendorp and Sikora, 1989, 90)。

III　植物寄生性線虫に寄生する細菌類

1　*Pseudomonas* 属の細菌

既に述べてきたように，線虫類に寄生する細菌は，次項で述べる出芽細菌に事実上限定されていることは甚だ不思議なことである。出芽細菌以外で植物寄生性線虫の病原の可能性が考えられるものとしては，古く Adams and Eichenmuller(1963)によりアメリカオオハリセンチュウから検出された *P. denitrificans* が唯一の記録である。本細菌は経卵伝染するもののようで，温室内での本線虫の増殖が困難であったことの主要因と考えられたが，その後本細菌についての客観的な再確認の報告は見当たらず，かつ共生微生物であった可能性も高い。

このほかに数種のシストセンチュウの体内からリケッチア様微生物が検出されているが，それらも線虫体組織に起す病理的変化はほとんどみられず，したがって，共生者の可能性が高い(Sayre and Starr, 1988)。

2　出芽細菌 *Pasteuria penetrans*

線虫類に対する真正の病原細菌として，長い間“胞子虫”と呼ばれてきた珍しい細菌群がある。それは，植物寄生性線虫については，*Thorne*(1940)によりネグサレセンチュウに寄生するものがアメリカで最初に発見され，カイコの微粒子病の病原 *Nosema bombysis* と近縁な原生動物微胞子虫類ノセマ科に属すべきものとみなされ，仮に *Duboscqia penetrans* と命名された。その後追々世界各地の各種線虫から同種とみられるものの存在が記録され，寄生率の高さなどから有力な天敵とみなされるようになったものの，それらの形態や生理・生態，そして線虫密度制御機能等にかかわる試験研究はわずか二，三の研究者によっていわば片手間に進められてきたにすぎない。

かくして 35 年が経過した後に，それらは原生動物ではなく，原核細胞性の微生物であることが電顕観察や細菌学的手法を導入した実験によって証明され，真正細菌類の *Bacillus* に所属させるのが適当とする提案が Mankau (1975)によってなされたが，細菌学分野においてそのことが容認されるには至らなかった。このため Sayre and Starr(1985)は，これらの所属について多面的な精査検討を重ねた結果，シュードモナス類出芽細菌目の *Pasteuria* 属に所属させるべきものとする見解を表明した。これによって本細菌の所属をめぐる論争に終止符が打たれた訳である。

ちなみに，*Pasteuria* 属は，約 100 年前に Metchnikoff (1888)によってミジンコに寄生していた新属新種の微生物が *P. ramosa* と命名され，開設間もないパスツール研究所の業績として発表されたものである。以来今日までの約 1 世紀の間，それ以外の種の記載がまったくなかったことから，本属細菌の特殊性がうかがえる。

この天敵細菌の生活環は，寄主線虫のそれと見事に同調している。例えばネコブセンチュウに寄生するものでは，直径約 4 μm で皿形の胞子嚢に包まれた直径約 1 μm 前後の球形の厚膜内生胞子が耐久態かつ感染態のステージである。つまりこの状態で土壌水の動きや耕耘等によって受動的に分散し，好みの寄主線虫に逢遇できるまで長い年月の間耐久生存している。土壌中を移動する寄主線虫(2 期幼虫)に触れることができると，その体表にあたかも吸盤作用が働いているかのようにして着生する(図-1 参照)。幼虫の体表への胞子の着生程度におおむね対応して寄主組織への侵入が阻害され，著しい感染をうけた幼虫は活性を失い死滅してゆくが，軽度に感染された幼虫は健全な幼虫と同様に寄主植物の根内に侵入して

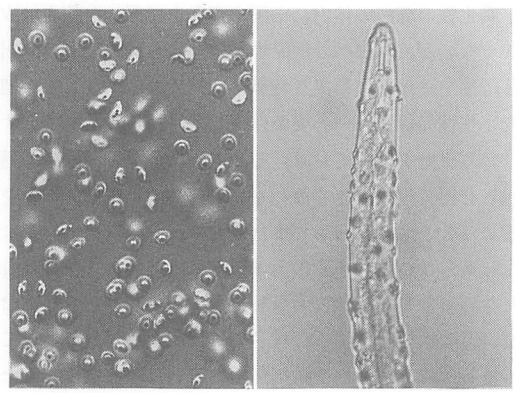
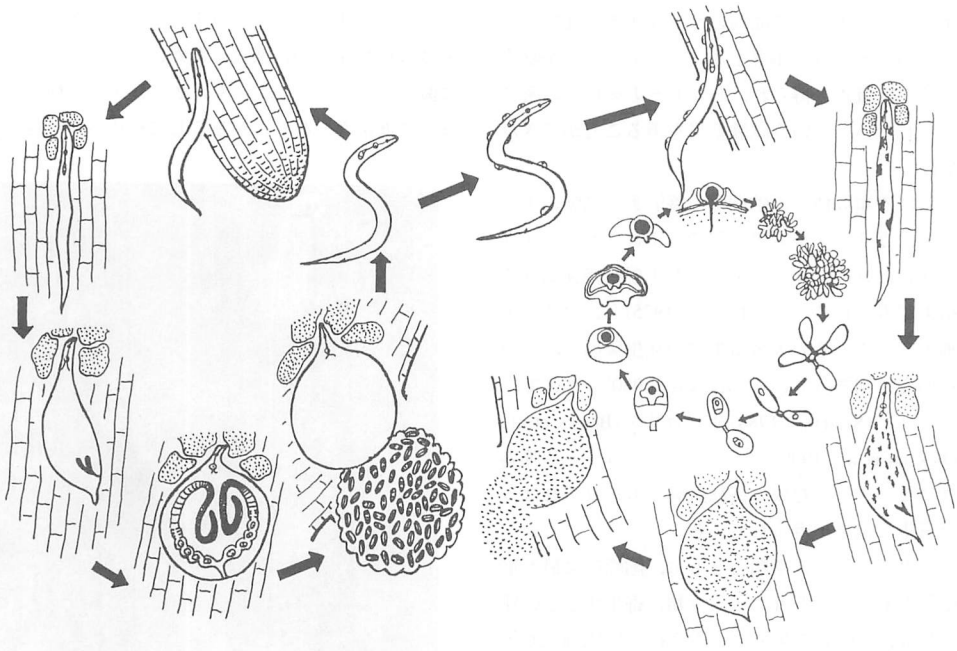


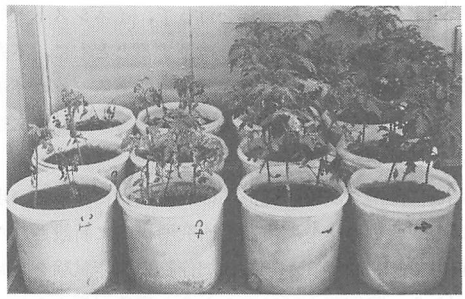
図-1　ネコブセンチュウ類にだけ特異的に寄生する出芽細菌
左：感染期の胞子群．直径約 4 ミクロンの皿形の胞子嚢の中央部に球形で径約 1 ミクロンの内生胞子がある．
右：多数の胞子が体表にとりついたネコブセンチュウの感染期幼虫の先端部分．



図－2　約4週間で完了する健全なネコブセンチュウの生活環（左）と，それに同調した罹病線虫及び病原出芽細菌の生活環（右）．

成長を始める。すると体表に着生していた胞子は発芽管を出し，角皮を貫通して線虫体内に侵入し，まず塊状の葉状体を形成する。葉状体は成長しつつある線虫の体内成分を栄養として迅速に二分裂法を繰り返しながら盛んに増殖する。かくして健全な寄主線虫が一世代を終える約4週間目ごろになると，被寄生線虫も一見健全線虫と変わりなく西洋梨形を呈するようになるが，その内部にはちょうど一世代を終え，胞子形成を完了して無数に増えた内生胞子（寄主1頭当たり約2×10^6個）が充満している。そのような罹病線虫（既に死がいとなっているが）の体表はつぶさに比較すれば，色彩が健全なものと若干異なり，かつ破れやすく，次の感染源となる胞子を土壌中に流出させる。したがって罹病線虫は寄主植物組織に若干の加害作用を及ぼすが，産卵・増殖はできない。このため，世代数を重ねるたびに土壌中の胞子密度は指数曲線的に増加し，それに対応して寄主線虫の密度は低下してゆくことになる（図-2 参照）。

筆者は，長年温室内でポットを用いて継代飼育をしてきたネコブセンチュウの一集団が，この種の天敵細菌のために全滅させられた経験をもっている。この微生物は後述するように，人為的利用の観点からいくつかの有利な特性を備えていることも追々明らかになってきたこともあって，長期的な評価さえするならば，必ずや望ましい結果が期待できることを確信しながら，種々な接種試験等による線虫密度抑制機能の実証を試みてきた。その結果，まず最初に，本天敵が発生している土壌を健全なネコブセンチュウの高密度土壌に重量比で20%混合した実験で，予想以上に速効的かつ顕著なネコブセンチュウ防除効果が得られた（図-3 参照）。次にやや規模を広げて野外のコンクリート枠試験で，ネコブセンチュウ高密度土壌に本天敵細菌汚染土壌を2.5 t/10 a の割合で1回だ



図－3　トマトの生育差で示した出芽細菌（ネコブセンチュウ系統）の線虫密度抑制機能の予備的検証実験
左6鉢：サツマイモネコブセンチュウの高密度土壌区（対照区）
右6鉢：同じ土壌4容に出芽細菌汚染土壌1容を混和した処理区．

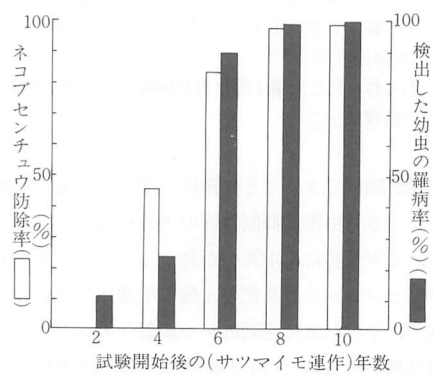
け混和接種し，以後感受性品種のサツマイモを連作してきたところ，6～8年目で事実上ネコブセンチュウが駆逐され，顕著な収量差も得られ，しかもその後線虫の密度復活もみられない，という試験結果を得ることができた(図-4 参照)。

海外における類似種の天敵細菌の機能実証試験の主なものとして，カリフォルニア大学でのネコブセンチュウ及びネグサレセンチュウを対象とした小規模接種試験で有望な結果が得られている(Mankau, 1975)し，セネガルの現地圃場でのこの種の天敵微生物の発生実態は，その有効性を如実に物語っている(Mankau, 1980)。加えて，オーストラリア(Stirling, 1984)やフロリダ(Brown et al., 1985 ; Dickson et al., 1990)でのマイクロプロットや圃場でのネコブセンチュウ対象の接種試験でもそれぞれはっきりした有望な結果が得られている。

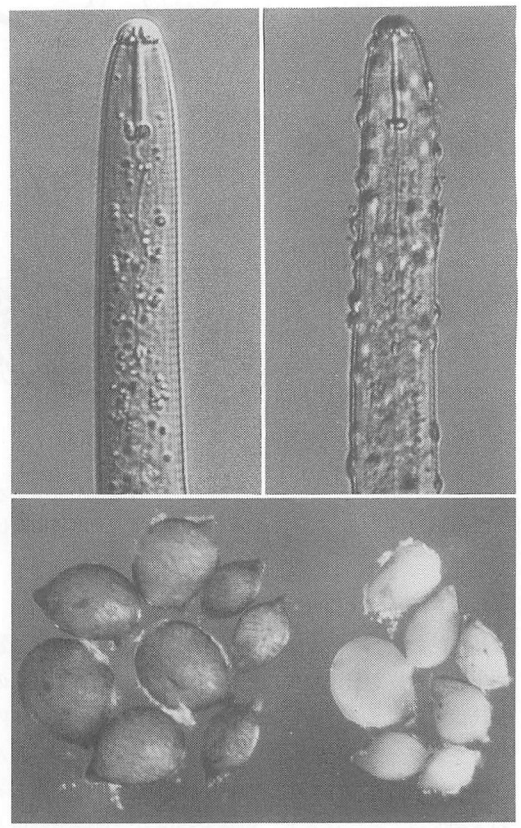
一方，ネコブセンチュウ類とともに，国際的に最も重要な線虫群であるシストセンチュウ類に寄生するこの種の天敵細菌は，これまで世界未記録であったが，約 20 年前に筆者は元農事試験場畑作部(北本市)の陸稲連作区の異常に低密度のイネシストセンチュウ集団から，シストセンチュウ類にのみ特異的に寄生する系統を発見した(図-5，6 参照)。

早速ポットでの接種試験を行って，イネシストセンチュウに対する密度抑制効果を検証するとともに，本系統は国際的に恐れられている重要線虫であるジャガイモシストセンチュウやダイズシストセンチュウも同様に寄生することを確かめ得た。

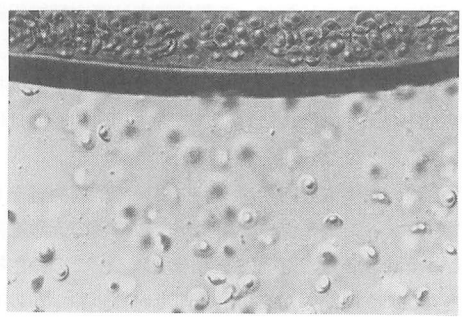
さらに，国立試験研究機関の筑波移転に伴って，現つくば市観音台の農業環境技術研究所構内に新設された試験圃場で，1980 年度から数種畑作物の連作試験を開始したところ，陸稲連作区で次のような現象が認められた。すなわち，連作開始 4 年目まではイネシストセンチュウ密度は指数曲線的に増大したが，5 年目からは逆に急激に減衰し，6 年目にはシストセンチュウの検出は困難なほどに低密度となり，かろうじて検出された線虫はほぼ



図－4　出芽細菌汚染土壌接種による野外コンクリート枠でのサツマイモネコブセンチュウ密度制御試験結果



図－5　シストセンチュウ類にだけ特異的に寄生する出芽細菌
上左：健全なダイズシストセンチュウの幼虫の先端部分．
上右：多数の胞子にとりつかれた幼虫の同じ部分．
下左：健全な幼虫から生じた健全な蔵卵シスト(シストの短径は約 0.5 mm)．
下右：胞子が寄生した幼虫から生じた雌虫の死体．



図－6　胞子が充満している罹病シストの部分と，流出した胞子群

100%が出芽細菌の寄生を受けていることが確かめられた。つまり，本天敵細菌が線虫密度自然減衰の決定的要因と認められたのである。

続いて1984年の秋には，栃木県農業試験場黒磯分場のダイズシストセンチュウ抵抗性品種検定圃場において，線虫密度が年々減衰してきてもはや検定試験の続行が困難な状況にあることを教えられた。早速実態調査を行った結果，ここでの線虫密度の自然減衰現象もイネシストセンチュウの場合と同種の天敵細菌の働きが決定的な要因とみて間違いないことがわかった。すなわち，同圃場からかろうじて検出される線虫はほとんどすべてが本細菌の感染を受けており，同圃場産の汚染土壌に健全なシストを接種しても線虫の増殖は起こらなかったが，同じ汚染土壌を高圧滅菌処理して本天敵細菌を除去した場合には，接種線虫の正常な増殖が認められたのである(Nishizawa, 1988)。

これらの出芽細菌の有害線虫防除への利用上有利な性質としてこれまでに分かったことは，①驚異的な乾燥耐性や高温耐性をもち，しかも数年間以上に及ぶ耐久生存性をもつために，環境適応性が著しく高く，適用条件がほとんど問題とならないし，取り扱いや保存が容易かつ便利であり，他の多くの生物の寄主一寄生者の組み合わせでみられているような，寄主線虫の密度復活が問題にならず，②各種の殺線虫剤に対して線虫以上に強い耐性を示すので，化学防除との併用も可能であり，③寄主特異性が著しく高いので，不必要な生態系のかく乱を招くおそれや，人畜への悪影響も全く考えられないこと，などである(西澤，1989)。

反面，異常な程の寄主特異性をもつことが災いして，現在のところ人工培地等を利用した工業的大量培養法の開発が甚だ困難で未成功である点が，生物農薬としての普及を阻んでいる最大の問題点である。しかしながら，上記のように各種の逆境に対して強い耐性をもつことから，次善の策として，例えば寄主線虫と本天敵細菌が混合感染している植物根を大量に育て，それを乾燥粉末製剤とすることで(本細菌の胞子のみが生残している)効率的な接種源を調製しうることはわかっている(Stirling and Wachtel, 1980)。

おわりに

長い間渇望されてきた卓効をもつ実用殺線虫剤の第1号として，戦時中にハワイで開発されたD-D剤を筆頭に，ハロゲン化炭化水素系の数種の土壌くん蒸剤は，線虫防除の決め手として国際的に広く愛用されてきたが，いまやそれらに対する使用規制の気運は日ごとに高まりつつあり，それらに替わる新しい防除技術の開発が研究者に期待されている最近の大きな課題である。

そのような背景から，斯学分野においてもバイオコントロールにかかわる研究の比重が必然的にしだいに高まりつつあり，有望な素材の探索・評価や実用技術開発を指向した研究が増えつつある。

かくして，最近の動向としては，これまでの長い間線虫天敵の中で最も重要なものとして幻想的に高い評価と期待が寄せられてきた“線虫捕食菌”については，もはやおおむね見切りがつけられ，代わって糸状菌では *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Nematophthora*, *Hirsutella* などの内部寄生菌の優れた機能が次第に浮き彫りにされ，一部実用化が進められつつある(Jatala, 1986; Kerry, 1987)。

天敵細菌としては，唯一の *Pasteuria* 属の出芽細菌についてその確かな機能が各国で追々確かめられ，広く国際的にしだいに大きな期待が寄せられつつある(Sayre and Starr, 1988; Dickson et al., 1990)。そして多くの先進諸国の公的及び私的研究機関でその大量培養法の開発研究が静かに進められつつある。その成否の如何を問わず，現に *Pasteuria* 属の線虫天敵細菌はいろいろな農業の現場において，有害線虫の密度制御に重要な機能を自然的に果たしている場合があることは疑いない。したがって，速効的・即決的効果の追求にのみこだわる場合を除けば，今でも本天敵細菌の力を借りて，貴重な耕地や施設の耕土を徐々に線虫抑止型土壌に改善してゆくことは可能なはずである。

引 用 文 献

1) Adams, R. E. and J. J. Eichenmuller (1963): Phytopathology 53: 745.
2) Badra, T. et al. (1979): Revue Nématol. 2: 29～36.
3) Brown, S. M. et al. (1985): Soil Biol. Biochem. 17: 483～486.
4) Dickson, D. W. et al. (1990): Proc. 2nd Internatl. Congr. Nematol. p. 70.
5) Franz, H. (1950): “Bodenzoologie als Grundlage der Bodenpflege”, Akademie-Verlag, Berlin. 316pp.
6) Hollis, J. P. and R. Rodriguez-Kábana (1967): Phytopathology 57: 841～847.
7) Ignoffo, C. M. and V. H. Dropkin (1977): J. Kans. Entomol. Soc. 50: 394～398.
8) Iizuka, H. et al. (1962): Agric. Biol. Chem. 26: 199～200.
9) Jacq, V. A. and R. Fortuner (1979): Revue Nématol. 2: 41～50.
10) Jatala, P. (1986): Ann. Rev. Phytopath. 24: 453～489.
11) Johnston, T. (1957): Phytopathology 47: 525～526.
12) ――― (1959): Nature 183: 1392.
13) Katznelson, H. and V. E. Henderson (1964): Canad. J. Microbiol. 10: 37～41.
14) ――― et al. (1964): ibid. 10: 699～704.

15) KERRY, B. R. (1987): in "Principles and practice of nematode control in crops" AP, pp. 233～263.
16) LANIGEN, G. et al. (1976): Austr. Vet. J. 52: 244～246.
17) MANKAU, R. (1975): J. Inverteb. Pathol. 26: 333～339.
18) ――― (1980): J. Nematol. 12: 230.
19) METCHNIKOFF, M. E. (1888): Ann. Inst. Pasteur 2: 165～170.
20) NISHIZAWA, T. (1988): Proc. 5th Internatl. Congr. Phytopath. p. 151.
21) 西澤 務(1989)：第1回バイオコントロール研究会講要，21～30.
22) OOSTENDORP, M. and R. A. SIKORA (1989): Revue Nématol. 12: 77～83.
23) ――― • ――― (1990): ibid. 13: 269～274.
24) PATRICK, Z. A. et al. (1965): Phytopathology. 55: 702～704.
25) POINAR, G. O. and E. L. Hansen (1986): Helm. Abst., B-55 : 61～81.
26) PRASAD, S. S. V. et al. (1972): J. Invertebr. Pathol. 20: 377～378.
27) RODORIGUEZ-KÁBANA, R. et al. (1965): Science, 148: 524～526.
28) ――― (1986): J. Nematol. 18: 129～135.
29) SAYRE, R. M. et al. (1965): Nematologica 11: 263～268.
30) ―――and M. P. STARR (1985): Proc. Helm. Soc. Wash. 52: 149～165.
31) ――― • ――― (1988): in "Diseases of nematodes, vol.I", CRC, Boca Raton, pp. 69～124.
32) STARR, M. P. and R. M. SAYRE (1988): Ann. Inst. Pasteur/Microbiol., 139: 11～31.
33) STIRLING, G. R. and M. F. WACHTEL (1980): Nematologica 26: 308～312.
34) ――― (1984): Phytopathology 74: 55～60.
35) THORNE, G. (1940): Proc. Helm. Soc. Wash. 7: 51～53.
36) TROFYMOW, J. A. and D. C. COLEMAN (1982): in "Nematodes in soil ecosystems" Univ. Texas Press, Austin, pp. 117～138.
37) WALKER, J. T. et al. (1966): Canad. J. Microbiol. 12: 347～351.

本会発行図書

農薬用語辞典 (改訂版)

日本農薬学会 監修

「農薬用語辞典」(改訂版)編集委員会 編

B 6判 112 ページ **1,422 円 送料 210 円**

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

お申込みは前金（現金・振替・小為替）で本会へ

本会発行図書

日本有用植物病名目録

日本植物病理学会 編

第 3 巻（果樹編）	第 4 巻（針葉樹編）	第 5 巻（広葉樹編）
B 6判 198 ページ	B 6判 232 ページ	B 6判 512 ページ
定価 2,369円(税込み) 送料 210円	定価 3,605円(税込み) 送料 260円	定価 4,017円(税込み) 送料 310円
採録樹種：温帯果樹，熱帯果樹など 43 種	採録樹種：林木，緑化樹，竹笹など 112 種	採録樹種：林木，花木，緑化樹など 387 種

お申込みは前金（現金・振替・小為替）で本会へ

（なお，第1，2巻は日本植物病理学会で発行しております）

特集：線虫学〔3〕

対抗植物による線虫防除

農林水産省四国農業試験場　佐野善一（さの ぜんいち）

近年野菜類を中心に連作障害が深刻な問題になっている。これは，施設栽培の普及，特産地の形成等に伴い，特定の作物の連作が多くなったことによる。このような連作障害の発生には，病原菌，肥料分の欠乏あるいは過多など種々の原因が関与しているが，ネコブセンチュウ(以下，センチュウを省略)やネグサレなどの有害線虫の密度上昇が一つの大きな原因となっている。これらの線虫は土壌中を住み場所とし，主に地下部を加害する。寄主植物に依存して増殖し，密度が高まるが，自身ではほとんど分散できないため，密度は連作により上昇しやすく，被害は慢性的様相を呈する。

これらの線虫の防除対策は，従来からくん蒸剤主体の薬剤防除法が普及している。しかし，薬剤の人畜に対する毒性や環境汚染などさまざまな問題が明らかになり，薬剤に依存しない防除法の確立が強く求められるようになった。対抗植物の利用は，このような非農薬的な防除法の一つとして注目されている。

対抗植物は，本来は栽培すると根から分泌する殺線虫性の物質によって，有害線虫の密度を積極的に低下させる植物とされているが，ここでは，現象面に着目し，単に栽培が有害線虫の密度低下に有効な植物としたい。

対抗植物に関する研究は，1953年のマリーゴールドの栽培がスイセンの根腐病の発生を抑えるという，現場からの報告に始まる。以来数多くの研究が行われ，わが国においてもマリーゴールドによる三浦ダイコンのキタネグサレ防除に関する優れた研究があり，既に本誌で詳述されている(大林，1973)。本稿では，多くの野菜類で被害の著しいネコブを中心に，対抗植物の線虫密度抑制効果，密度抑制のメカニズム，利用上及び研究上の問題点について述べてみたい。

報告に当たり，本文のご校閲を賜った農林水産省四国農業試験場 葭原敏夫生産環境部長に厚くお礼申し上げる。

I　主要線虫の対抗植物及び非寄主植物

わが国で重要なネコブとネグサレの対抗植物と非寄主植物を既往の報告をもとに，表-1に整理した。これらの

Effects of Antagonistic Plants on the Control of Plant-Parasitic Nematodes.　By Zen-ichi SANO

表-1　主要線虫の対抗植物・非寄主植物[a]

植物名	対象線虫[b]	植物名	対象線虫[b]
(イネ科)		*Cajanus cajan*	Mi
ギニアグラス	Mi, Mj, Mh	*Centrosema pubescens*	Mi
		Clitoria sp.	Mi
グリーンパニック	Mi, Mj, Mh	*Crotalaria incana*	Mi, Mj, Mh, Pc
ダリスグラス	Mi, Mj, Mh, Ma	*C. lanceolata*	Mi, Mj, Mh, Pc
バヒアグラス	Mi, Mj, Mh, Ma	*C. mucronata*	Mi, Mj, Mh, Ma
ペレニアルライグラス	Mi, Mh	*C. nubica*	Mi, Mj
パールミレット	Mi, Mj, Mh	*C. retusa*	Mi, Mj, Mh, Pc
ウィーピングラブグラス	Mi, Mj, Mh, Ma	*C. spectabilis*	Mi, Mj, Mh, Ma, Pc, Pp
パンゴラグラス	Mi, Mh		
ローズグラス	Mj, Mh	*C. striata*	Mi
カーペットグラス	Mj, Mh	*Desmodium tortuosum*	Mi, Mj, Ma
レスクグラス	Mi, Mj, Mh, Ma	*Glycine wightii*	Mi
コースタルバーミューダグラス	Mi, Mj, Mh, Ma	*Pueraria phaseoloides*	Mi
		Stizolobium deeringianum	Mh
スイッチグラス	Mi, Mj, Mh, Ma	(キク科)	
		アフリカンマリーゴールド	Mi, Mj, Ma, Pp
ビッグブルーテム	Mi, Mh		
ブッフェルグラス	Mi, Mh	フレンチマリーゴールド	Mi, Mj, Mh, Ma, Pc, Pp
ベイズイグラス	Mi, Mh		
Agropylon trachycaulum	Mi, Mh		
Bromus ciliatus	Mi, Mh	メキシカンマリーゴールド	Mi, Mj, Mh
Calamagrostis purpurascens	Mi, Mh		
Cenchrus fulua	Mi, Mj, Mh	ベニバナ	Mi, Mh
		(バラ科)	
C. grahamiana	Mi, Mj, Mh	イチゴ	Mi, Mj, Ma
Digitaria exilis	Mi, Mh	*Fragaria vesca*	Mi, Mj
D. sanguinalis	Mi, Mh, Ma	(ナス科)	
		トウガラシ(ピーマン)	Mj
Eragrostis lehmanniana	Mi, Mj, Ma	*Lycopersicon peruvianum*	Mi
		(アオイ科)	
Panicum deustum	Mi, Mh	ワタ	Mi, Mj, Mh, Ma
Pennisetum spicatum	Mi, Mj, Mh	(ヒルガオ科)	
Sorghum vulgare	Mh, Ma	サツマイモ[c]	Mi, Mj, Ma
Trisetum spicatum molle	Mi, Mh	(ウリ科)	
(マメ科)		スイカ	Mh
ラッカセイ	Mi, Mj, Pc, Pp	(ヒユ科)	
サイラトロ	Mi, Mj, Mh, Pp	アオゲイトウ	Mh
		(ユリ科)	
ハブソウ	Mh, Pp	アスパラガス	Mh, Pc, Pp

a)：引用文献 1),4),5),7),8),10),11),12),13),15),17),20),23) より作成.
b)：Mi-サツマイモネコブセンチュウ,Mj-ジャワネコブセンチュウ,Mh-キタネコブセンチュウ,Ma-アレナリアネコブセンチュウ,Pc-ミナミネグサレセンチュウ,Pp-キタネグサレセンチュウ.
c)：抵抗性品種.

線虫はいずれもきわめて寄主範囲が広く，作物から雑草まで多くの植物で増殖するが，表に掲げた植物には輪作による線虫防除効果が期待される。後述するように，対抗植物としての有効性や利用法が検討された植物は一部にすぎないが，今後実用化を進めるための一層の研究が望まれる。

これらの植物の利用及び研究に当たって留意すべき点は，線虫抵抗性あるいは密度抑制効果が種間で異なるのはもちろんのこと，同一種内でも品種や系統によって違う場合があることである(大林・近岡，1973；古賀・古閑，1981)。これまではマリーゴールドなど一部の植物で品種，系統間の効果の違いが比較されているが，その他の植物についてもこの点に関する検討が必要である。

また，表-1 は植物の密度抑制効果が線虫の種類によって大きく異なることを示している。一般の圃場では，複数の有害線虫の混発は普通にみられる。したがって，輪作に際しては，事前の線虫の種類調査と，適切な対抗植物の選定が必要であり，安易な輪作は線虫害を増大させる危険性がある。

このことと関連してネコブやシストには既に寄生性の異なるレースの存在が明らかとなり，抵抗性品種利用上の問題となっている。対抗植物を輪作に導入して線虫防除を行う場合も，このようなレースの存在に対応した植物の種類の選定と新たなレースの出現に備えた利用法の確立が必要であろう。

II　対抗植物の線虫密度抑制効果

これまでにマリーゴールド，クロタラリア属の植物，ラッカセイ，一部のイネ科の植物において栽培方法，栽培期間などとネコブやネグサレの密度抑制効果との関係が研究されている。これらの研究によると，キタネグサレに対してはマリーゴールド栽培の密度抑制効果は安定して大きく，密度を休閑の 1/5 から 1/10 以下に低下させる。また効果の持続期間も長く，密度は 400 日以上(4 作目まで)低く抑えられた。しかし，効果的に密度を低下させるためには最低 3 か月から 4 か月の栽培が必要とされている(Oostenbrink et al., 1957；大林・近岡，1973)。

ところが，ネコブに対する対抗植物の効果は必ずしも安定しない。すなわち，①効果が非常に高い場合(*Crotalaria spectabilis* 2 か月の栽培はサツマイモネコブの密度を DBCP や Dasanit 処理と同等の休閑の 1/10 に低下させ，また後作のオクラにおける密度の回復も薬剤処理区や休閑区よりはるかに遅かった(Huang et al., 1981))，②かなり高い場合(マリーゴールド 3 か月の栽培は密度を休閑区の 1/2 に低下させたが，後作スイカにおける密度回復は早かった(上村，1979))，③休閑をやや上回るか同程度(古賀・古閑，1981；Murphy et al., 1974；Suatmadji, 1969)，④効果は十分でない場合(小林，1974)，などの報告がある。

対抗植物の防除効果は，①対抗植物固有の密度抑制力，②栽培期間や栽植密度，生長量など栽培にかかわる要因，③温度や土壌条件など線虫の生理や行動にかかわる要因，によって変化し，効果の持続性には，後作における線虫の増殖率が大きく影響すると考えられる。より効果的な利用条件の解明が重要な課題と思われる。

III　線虫防除のメカニズム

ネコブ，ネグサレ，シストなどの重要線虫は植物に寄生してはじめて発育し，増殖できる。これらは土壌中でも 1 年以上は生き残るが，非寄生ではしだいに体内の貯蔵養分を消耗して死亡し，密度は低下する。このことから，対抗植物の線虫密度抑制効果は休耕条件下における密度の低下を上回る部分に求められる。これら対抗植物の線虫に対する作用は大きく二つに分けて考えることができる。一つは根外に殺線虫物質を分泌して根圏の線虫を死滅させる場合で，もう一つは根に侵入した線虫に対して根内で作用するいわゆる捕獲作物的な作用である。

1　根外における作用

アスパラガスのユミハリに対する防除効果はこの作用によるとされている。この植物は根から分泌する低分子量の配糖体と推定される殺線虫性の物質によって線虫を死滅させる(Rohde and Jenkins, 1958)。アスパラガスからは，この物質のほかにもシストのふ化阻害作用やその幼虫に対する殺虫作用がある植物成長阻害物質，アスパラガス酸がみいだされている(高杉ら，1977)。

他の対抗植物については，いまのところ殺線虫物質の分泌を裏付ける結果は得られていない。

2　根内における作用

(1)　殺線虫物質の作用

植物は種々の殺線虫物質を含んでいる。マリーゴールドの α-terthienyl は著名であり(Uhlenbroek and Bijloo, 1958)，別の対抗植物ウィーピングラブグラスも pyrocatechol を含んでいる(Scheffer, 1962)。そのほかにもアルカロイド類，テルペン類，フェノール類など，様々な

殺線虫性の物質が多くの植物から検出され，線虫抵抗性や密度抑制に重要な働きをしていると考えられている。ただし，これらの物質の存在と植物の線虫密度抑制効果との関連性は，必ずしも明確になっているわけではない。例えば α-terthienyl についても，キタネグサレに密度抑制効果のあるキク科の27属70種の植物がこの物質または類縁化合物を含み，根内のネグサレが近紫外線の照射によって急激に死亡すること(後述参照)から，根内でも殺線虫活性があると考えられている。しかし，α-terthienyl は，*in vitro* では好気条件下における近紫外線照射によって活性化されるが，嫌気条件下や暗黒条件のもとでは殺線虫効果は低いため，土壌中の根内での活性化のメカニズムはわかっていない。なお，マリーゴールドは，根の浸出液に殺線虫効果はなく，根外での効果はないとする見方が一般的である(Gommers, 1981)。

その他，ネコブの対抗植物として知られているクロタラリア属の植物は脊椎動物に有毒なアルカロイド，モノクロタリンを含むが，線虫抵抗性や密度抑制効果との関係は否定されている(Fassuliotis, 1969)。

(2)　根の組織的変化と線虫の発育阻害

ネコブやシストなどの定着性の内部寄生線虫は根内に形成された特殊な「摂食の場」から栄養をとって発育する。ネコブでは巨大細胞と呼ばれる多核の大型の細胞が形成される(口絵写真参照)。しかし，サツマイモネコブの対抗植物，ラッカセイでは細胞の肥大はまったくみられず，線虫周辺の細胞がえ死する(口絵写真参照)。このような，いわゆる過敏感反応はマリーゴールドや抵抗性のサツマイモにもみられる。一方，サイラトロでは巨大細胞は形成されるが十分発達せず，途中から退化していく(口絵写真参照)。このような植物では線虫はまったく発育できないか，3期幼虫に達することなく死亡する。

一方，*Crotalaria spectabilis* では発達した巨大細胞が形成され，維持されるにもかかわらず，線虫は生殖巣がほとんど生長せず，3期幼虫への脱皮も起こらない(口絵写真参照)。ホウキモロコシの場合は発育した線虫はほとんどが雄成虫になる(佐野ら，1983；佐野・中園，1986)。これらの植物においては，線虫は，次に述べるファイトアレキシンの作用で死滅し，あるいは栄養分の不足，特に生殖器官の生長や脱皮に関連した物質の不足などのために，正常な発育ができないと考えられる。

(3)　ファイトアレキシンの生成

これまで，ネコブやシストに対する作物の抵抗性の機構に関連して生長調節物質，アミノ酸類，フェノール類の関与に注目した多くの研究が行われてきたが，最近線虫抵抗性がファイトアレキシンの生成によることを示す有力な結果が報告されている(Veech, 1982)。スクリブナーネグサレが寄生した *Phaseolus lunatus* において，comestrol 及び psoralidin の集積が，サツマイモネコブの寄生した抵抗性ダイズ，センテニアルでは glyceollin の集積が，またサツマイモネコブの寄生した抵抗性のワタでは terpenoid の集積が明らかにされている。これらの例では，ファイトアレキシンが効果的に作用するための3条件，すなわち，適当な生成(集積)の時間，適当な集積の場及び十分な殺虫あるいは発育阻害効果についてさらに検討すべき点が残されているが，ファイトアレキシンの生成は線虫抵抗性発現の重要なメカニズムと考えられている。

おわりに

線虫の被害は一般に慢性的である。連作を続けると徐々に線虫密度が高まり，被害も大きくなっていく。したがって，線虫の防除対策は本来作付体系を中心に考えるべきである。その際，対抗植物を体系の中に組み入れれば単なる抵抗性植物の栽培よりもさらに効果は大きいであろう。対抗植物には殺線虫剤のような即効性はなく，また，自身の経済性も低いものが多いが，土壌生態系のバランスの改善，有機物補給，除塩対策などの優れた特性がある。今後，線虫防除効果を高めるための基礎的，応用的研究を一層推進するとともに，他の防除手段との併用も検討し，実用的な利用法を確立する必要がある。

引用文献

1) Daulton, R. A. C. and R. F. Curtis (1963): Nematologica 9: 357～362.
2) Fassuliotis, G. and P. G. Skucas (1969): J. Nematol. 1: 174～178.
3) Gommers, F. J. (1981) Helminthological Abstracts—Series B 50: 9～24.
4) Good, J. M. et al. (1965): Phytopathology 55: 1026～1030.
5) Haroon, S. and G. C. Smart, Jr. (1983): J. Nematol. 15: 649～650.
6) Huang, C. S. et al. (1981): Nematologica 27: 1～5.
7) 一戸　稔(1980)：北日本病虫研報 31：1～8.
8) 古賀成司・古閑孝彦(1981)：熊本県農試報告 7：51～90.
9) 小林義明(1974)：関東東山病虫研報 21：147～148.
10) Linde, W. J. van der (1956): Nematologica 1: 177～183.
11) McGlohon, N. E. et al. (1961): North Carolina Agric. Expt. Sta., Tech. Bull. 148: 39pp.
12) Murphy, W. S. et al. (1974): J. Nematol. 6: 103～107.
13) 農林水産技術会議事務局編(1984)：地力維持・連作障害克服を基幹とする畑地新管理方式の開発に関する総合研究・研究成果 155：216 pp.
14) 大林延夫(1973)：植物防疫 27：367～371.
15) ————・近岡一郎(1973)：神奈川園研報 21：91～102.
16) Oostenbrink, M. et al. (1957): Nematologica 2: 424

～433s.
17) PEACOCK, F. C. (1957): ibid. 2: 76～84.
18) POTTER, J. W. et al. (1969): ibid. 15: 29～34.
19) ROHDE, R. A. and W. R. JENKINS (1958): Univ. Maryland Agr. Exp. Sta. Bull., A-97: 20pp.
20) 佐野善一ら(1982)：九州病虫研報 28：224.
21) ――――ら(1983)：同上 29：132～136.
22) ――――・中園和年(1986)：日線虫研誌 16：48～55.
23) SASSER, J. N. (1954): Univ. Maryland Agr. Exp. Sta. Bull. A-77: 31pp.
24) SCHEFFER, F. et al. (1962): Zeitschrift für Pflanzenernahrung und Bodenkunde 98: 14～120.
25) SUATMADJI, R. W. (1969): Studies on the effect of *Tagetes* species on plant parasitic nematodes, H. Veenman and Zonen N. V. Wageningen: 132pp.
26) 高杉光雄ら(1977)：北農試研報 118：105～111.
27) UHLENBROEK, J. H. and J. D. BIJLOO (1958): Rec. Trav. chim. Pays-Bas 77: 1004～1009.
28) 上村道雄(1979)：農及園 54：1503～1508.
29) VEECH, J. A. (1982): J. Nematol.: 2～9.

本 会 発 行 図 書

『市場病害ガイドブック』

田中 寛康（前農林水産省果樹試験場保護部長）編 B 6 判 口絵カラー42ページ 本文230ページ

定価 **3,000円**（本体 2,913円） 送料 **260円**

果物，野菜，花など，生鮮農産物，花きの流通過程や貯蔵中に発生し，商品価値を低下させる各種の，いわゆる「市場病害」についてのガイドブックです。総数 261 点の病害を取り上げ，市場で見つかる市場病害をほぼ網羅しており，各病害について，特有な病徴写真（カラー）を多数掲載しておりますので，科学的な解説書としても，現場においてすぐ役立つ診断マニュアルとしてもお使いいただけます。

お申し込みは前金（現金書留・郵便振替・小為替など）で直接本会までお申し込み下さい。

本 会 発 行 図 書

『芝草病害虫・雑草防除の手引』

芝草農薬研究会 編 A 5 判 口絵カラー40ページ 本文256ページ

定価 **3,500円**（本体 3,398円） 送料 **310円**

芝草に有害な病害虫・雑草について口絵カラー写真による紹介と病害編，害虫編，雑草編，農薬編，付録に分けた本文でその学名・英名・別名を取り上げ，発生，生態，防除法までをそれぞれ総論，各論に分けて詳しく解説し，付録ではゴルフ場での芝生管理を基本的な要点と実際について解説してあります。ゴルフ場など芝草を栽培管理する関係者にとりその病害虫・雑草防除の適切な方法が求められている現在，関係指導者も含めて必携となる指導・解説書です。

お申し込みは前金（現金書留・郵便振替・小為替など）で直接本会までお申し込み下さい。

本 会 発 行 図 書

新 刊 ！

『農薬適用一覧表 1990年版』

（平成 2 農薬年度：平成 2 年 9 月30日現在）

農林水産省農薬検査所 監修 A 5 判 441ページ

定価 **2,600円**（本体 2,524円） 送料 **310円**

殺菌剤・殺虫剤・除草剤・植物成長調整剤に分け，各作物別(芝は草種別)・病害虫雑草に適用のある農薬を使用基準を含めてすべて網羅した一覧表です。付録には毒性及び魚毒性と農薬一般名（商品名）一覧表及び農薬商品名・一般名対比表を収録した病害虫防除の指導者はもちろん防除業者や販売業者など農薬取扱者にとって必携の資料です。

お申し込みは前金（現金書留・郵便振替・小為替など）で直接本会までお申し込み下さい。

特集：線虫学〔4〕

有機物施用と線虫被害

農林水産省九州農業試験場　中園和年（なかぞの かずとし）

現今，線虫防除の主流をなす殺線虫剤は，しばしば土壌処理後の密度回復が急激で農業現場の悩みの種となっている。密度の急激な復元には，くん蒸剤の土壌微生物相への悪影響も関連していよう。有機物の利用はこのような状況における頼みの綱ともいえる側面をもつ。

一般に，土壌に施された有機物は植物養分の補給源，土壌の物理・化学的性質の改善，土の微生物相とその活性の維持増進などの効果を与えるといわれる(甲斐，橋元，1976)。ここでは，わが国の線虫防除における有機物利用の歴史を概観し，線虫防除における有機物の機能について考えてみたい。

I　有機物の施用と線虫防除効果

わが国の線虫防除における有機物利用への関心はかなり古い時期からあったと思われる。堀正太郎(1915)は，当時関東以北で猖獗(しょうけつ)をきわめたダイズ嫌地病の病原がシストセンチュウの一種であることを初めて報告した中で，被害防止のため窒素肥料(石灰窒素)の施用を推奨した。また，1941年の論考の中では，クワの線虫防除に堆肥の利用を勧めたと記し，野津(1940)によるクワの線虫防除におけるその実証を高く評価している。表-1に有機物の施用例と対象線虫及び効果を年代順にまとめて示した。野津(1940)は1933年(昭和8年)から農林省(当時)の指定試験としてクワの線虫(ネコブセンチュウ)の防除に関する研究を行い，広範にわたる基礎的，先駆的成果を残した。この試験における堆肥の効果は土性の改変による線虫の移動・行動の阻害にあると結論された(後述)。

以後の研究は第二次世界大戦の終了をまたねばならなかった。表-1からわかるように，線虫防除に利用された有機物は初期段階では堆肥ないし厩肥であり，近年になってはコンポスト，牛糞，鶏糞，バーク堆肥，緑肥，キャベツ葉，マノン有機堆肥等のいわゆる有機質資材，米糠，ペプトン，グルコースなどのほか，動物質資材として，羊毛堆肥，蒸製蹄角粉，乾血粉末などである。試験がなされた土壌はいずれも線虫の被害が出やすいとされる砂土，砂壌土，火山灰土(黒ボク土)となっている。防除対象線虫はネコブセンチュウ，ダイズシストセンチュウ及びネグサレセンチュウが主体となっており，作物としては，かつて最重要作物であったクワ，ダイズ，サツマイモを初めとし，近年になっては商品作物としての重要性のゆえに各種の葉根菜および果菜類が対象となっている。施用量は研究者により区々であるが，10a当たり，最低0.5tから何らかの効果が出るように見受けられ，ある程度の安定した効果は資材の種類にもよるが，おしなべて1t以上を要し，作物ごとの連用が基本となるようである。

施用の効果も資材，作物及び線虫によって特徴があり，多くの場合，作物の生育・収量は増加している。中には乾燥鶏糞(0.5t)の施用によりダイコンの岐根が増え，上物率が減った例もある(千本木ら，1984)。このことはダイコン，ニンジン，ゴボウなどのような，きれいな根が収穫の対象となる作物では特に施用上の工夫(有機物の種類，量，時期)が必要なことを示している。一方，線虫の土壌中密度や寄生度ないし被害度などに対する効果は変動が大きく，作物の生育ないし収量が増加したときでも必ずしも明りょうではない場合が多い。このような変動の要因として試験圃場内あるいは試験区内の線虫の分布と密度の不均一性(偏り)，土壌試料のサンプリング法の問題も関係していると思われる。この問題はさておき，井上(1958)によれば厩肥の施用により，ダイズシストセンチュウの寄生に伴うダイズの黄変症状は軽微となり，施用量の増加につれて症状の現れる時期がおくれ，草丈，子実重とも増加したが，同時にシストの数も増えたことから，厩肥の効果は線虫に対する密度抑制ではなく，寄主植物に対する肥料的条件の改善にあるとされた。しかし，同じダイズシストでありながら，関谷ら(1959)の試験ではダイズ連作の一定段階ではダイズの生育・収量増とともに，シスト数の減少が示されている。

同様に有機物施用による線虫密度ないし発病度の減少は，ネコブセンチュウでもまたネグサレセンチュウでもみられており(表-1)，有機物が直接的にもせよ間接的にもせよ，土壌中の線虫生存に対し抑圧的に働くことは明らかである。例えば古賀(1976 a，b)によれば，水田転換畑における線虫の耕種的防除技術として夏季2か月の湛水だけでは十分でなかったネコブセンチュウの防除効果が脱水豚糞等の有機物(0.5t以上)を併用処理すること

Organic Amendments and Crop Injuries by Plant-Parasitic Nematodes.　By Kazutoshi NAKASONO

表-1　わが国における有機物の線虫防除試験概要

有機物の種類	施用量 (t/10 a)	試験条件	土壌型	対象線虫	作物	効果		文　献
						生育・収量	線虫密度・発病度	
1)腐熟堆肥	3.8, 7.5	枠・圃場	砂土	ネコブセンチュウ	クワ	枝条増	侵入・寄生虫数減	野津(1940)
2)厩肥	0.9〜7.5	圃場	砂壌土	ダイズシストセンチュウ	ダイズ	草丈・子実増	シスト数増	井上(1958)
3)堆肥＋硫安または石灰窒素	1.9	圃場	火山灰土	同上	同上	草丈・子実増 根瘤数増	シスト数減 (連作で増)	関谷ら(1959)
4)堆厩肥	1.2, 2.4	圃場	黒色火山灰土	ミナミネグサレセンチュウ	サツマイモ	いも収量増	発病度減	後藤(重)(1964)
5)粗堆肥・厩肥	0.6〜2.3	圃場	火山灰含安山岩埴壌土	同上	ジャガイモ	いも収量増	発病度の差なし	後藤・大島(1965)
6)完熟堆肥	9	圃場	火山灰壌土	サツマイモネコブセンチュウ	キュウリ, サツマイモ, レッドクローバ	—	圃場密度減, 雌の産卵数増	石橋(1970)
7)稲わら堆肥	1	圃場	火山灰土	キタネグサレセンチュウ	ダイコン	無増収	年次間の密度増	近岡ら(1971)
麦わら堆肥	1	〃	(多腐植質)		スイカ(裏作)	〃	抑制, 自活性線虫増	
おが屑堆肥	1	〃			キャベツ(〃)	〃		
コンポスト	1	〃				〃		
牛糞	1	〃				減収		
乾燥人糞	1	〃				〃		
8)脱水豚糞	0.5〜1	圃場枠＋	黒色火山灰土	サツマイモネコブ, ジャワネコブセンチュウ	無寄主	—	密度の激減	古賀(1976 a, b)
緑肥	0.5	湛水処理			ナス, ホウレンソウ, ニンジン	収量増	密度の激減	
稲わら＋石灰窒素	2.7＋0.3	(2か月)					(1〜2作で復元)	
ペプトン	2.4							
グルコース	2.5							
9)乾燥鶏糞	1(毎作)	ワグネルポット	黒色火山灰土	キタネグサレセンチュウ	インゲン(初) キャベツ(2) トマト (3)	—	3作目で密度減	近岡ら(1978)
牛糞	1(毎作)						効果なし	
10)バーク堆肥	5	圃場	—	ナミイシュクセンチュウ, ナガイモユミハリセンチュウ	ツツジ	生育増	密度増加	山崎ら(1980)
11)鶏糞＋苦土石灰	0.5＋0.2	圃場	淡色黒ボク土	キタネグサレセンチュウ	ダイコン		効果なし	千本木ら(1984)
乾燥鶏糞	0.5	(一部3年連用)			トウモロコシ(裏作)	岐根多発 やや増収	2〜3年密度減, 効果なし	
鶏 糞+HSC-1	0.5＋0.2					増収	密度抑制, 被害	
マノン有機堆肥	0.5					〃	度減	
同上＋石灰窒素	0.5＋0.1					岐根多発	密度抑制 同上	
蚕糞	0.2							
12)羊毛堆肥	各0.25〜0.75	ポット	—	サツマイモネコブ, キタネグサレセンチュウ	キュウリ, トマト	—	寄生度低下, 細	中込・宮川(1986)
鶏糞						—	菌増, 同上	
汚泥							効果なし	
蒸製蹄角粉							ネグサレにはいずれも無効	
乾血粉末								
13)のこ屑牛糞堆肥(完熟)	2.5, 5, 10	ワグネルポット	黒色火山灰土	サツマイモネコブセンチュウ	トマト	生育増	寄生度やや減, 被害度減	中園(1989)
14)稲わら堆肥	1	圃場	黒色火山灰土	キタネグサレセンチュウ	ダイコン	—	密度・被害指数減	大林(1989)
おが屑堆肥	1	(3年連用)					〃	
コンポスト	1						〃	
米糠	1〜2 g	腰高シャーレ					効果顕著	
その他								

で飛躍的に高まった。一方，大林(1989)によれば各種有機物の施用による三浦半島のキタネグサレセンチュウの防除効果は，薬剤処理のような劇的な密度の低減ではなく，緩慢であり，高密度の線虫防除よりも薬剤処理後の密度回復の抑制にその本領があるという。

以上のようにみてくると，有機物の線虫防除効果は単に有機物と線虫の間の1対1の対応関係ではないことが推察され，その効果は各種の要因と条件によって定まる総合的な結果といえそうである。

II　有機物の線虫密度抑制及び被害軽減の機作

有機物の線虫防除効果に関する解析的な研究は，わが国ではほとんどない。ここでは諸外国の報告も参照しながら問題点を以下のように整理してみた。

1　線虫の移動・行動の阻害による効果

既に述べたとおり，野津(1940)は堆肥の施用によりクワのネコブセンチュウ防除に好結果を得た。実験の一部をかいまみると以下の通りである。砂土と堆肥の混合比(重量比)を種々に変えた試験枠の中心点にネコブセンチュウの2期幼虫を接種し，15 cm の距離に植えたキュウリの根こぶ着生数を11日後に調べたところ，砂土10に対する堆肥の割合が2以上では0,1以下ではその割合が小さくなるほど増加した。同様の試験によるネコブセンチュウの移動距離も堆肥の混合比が小さくなるほど長くなった。本線虫の生存率に対する堆肥の施用効果はなかったこと，及び幼虫の移動に最適の土壌粒径組成(0.2～0.4 mm)があったことから，砂土のクワにおける堆肥の効果は土性の改変による線虫の行動阻害が主要な機作であろうと結論された。他の土壌型においても同様の効果があるかどうかは残念ながらいまだ明らかではない。

2　天敵微生物及び自活性線虫の増殖による効果

土壌線虫類の天敵としては，小はウイルスから糸状菌，細菌，そして大は昆虫類(トビムシ，ハエの幼虫)まで多種多様である(西沢，1984)。Linford et al.(1938, 39)は，ハワイのパイナップル栽培で問題の大きいネコブセンチュウの防除に，パイナップルと牧草(*Panicum* 属)の生茎葉及び砂糖を土壌施用したところ(室内試験)，12週間後のネコブセンチュウ密度がきわめて効果的に減少した。同時に有機物施用区では食腐・食細菌性線虫(自活性線虫)と捕食性線虫の密度が高まり，土壌生息性ダニ類の増殖もみられた。一方，土壌中の植物片や線虫の遺体からは多くの線虫捕食菌類(*Arthrobotrys oligospra*，その他)が検出された。以上のことから，彼らは，本試験の有機物施用は糸状菌や細菌類の増殖を促し，これらを餌とする自活性線虫の増殖，線虫食性のダニ類や捕食菌類の増殖と活性の増大という食物連鎖の中で，ネコブセンチュウの密度が抑えられたと考察した。この研究に刺激されて有機物の施用による線虫天敵など各種微生物及び自活性線虫の増殖と遷移，それに伴う捕食菌類の活性の増大などに関する数多くの研究が生まれた(例えば，Cooke, 1962)。

以上のように，有機物の土壌施用には各種土壌微生物や小動物の増殖を促し，線虫の天敵微生物の活性を高めることに一つの大きな機能があるとみられる。また増殖した自活性線虫と植物寄生性線虫との植物根面での生態的拮抗関係も観察されている(Ishibashi and Kondo, 1988)。さらに，各種微生物の培養汎液が殺線虫性をもつことも知られている(Mankau, 1969)。

3　土壌中における分解産物の殺線虫効果

植物の含有する成分には殺線虫性を帯びるものがあり，代表的なものとしてマリーゴールドの α-terthienyl がある。これらは *in vitro* での効果はあっても *in vivo* では効果を生じないものが多い。ここではそれらについては省略し，土壌中における分解産物の殺線虫効果にふれる。

Sayre et al.(1965)は，土壌施用により線虫密度抑制効果が知られるライムギとチモシーの茎葉を室内及び圃場条件の土壌中で腐敗分解させ，一定の方法により分解産物を抽出し，分画した。各画分のサツマイモネコブセンチュウ2期幼虫及びキタネグサレセンチュウに対する殺線虫力を検定したところ，Rf値が0.45～0.58の画分が強い殺虫効果を示した。この画分の分解産物は酪酸と同定され，pH 4.0で効果が大きく，pH 7.0ではほとんど失効した。面白いことに自活性線虫に対する殺線虫力は微弱であった。家禽や家畜類の糞の土壌施用効果も分解生成される低級脂肪酸やフェノール類の殺線虫作用に負うところが大きいようである(Badra et al., 1979)。

4　作物の線虫抵抗性を高める効果

Van der Laan(1956)によれば，堆肥または厩肥施用区のジャガイモにおけるシストセンチュウの根への侵入寄生虫数は，化学肥料区に比べ少なく，侵入虫の発育が遅れ雄虫の出現率が著しく高まった。これは抵抗性品種でみられる現象に類似し，有機物の施用が作物の生理的条件に影響し，線虫抵抗性が向上したためと考察された。

5　植物の生育促進と被害軽減の効果

以上に述べた有機物施用効果のほかに，最終的に無機化した窒素その他の成分が栄養素として植物生育の増進に役立つことには疑問の余地がない。筆者らの研究室が行ったトマトのネコブセンチュウ加害に対する厩肥施用

の効果は明りょうであった(中園, 1989)。すなわち，線虫無接種条件の無厩肥区におけるトマトの地上部生育量(生体重206 g)＝100に対する線虫接種条件(16.5頭/1 ml 土壌)の生育量は無厩肥区では70に減じたが，厩肥区(10 t/10 a)では127となり，無厩肥の無線虫区よりもなお大きかった。根に対する線虫の寄生度に大差はなかったので，施用した厩肥の効果はトマトの生育増進に寄与したものと考えられる。

この試験で注意を引いた現象として，地下部重の全生体重(地上部＋地下部)に対する割合が厩肥無施用区に比べ施用区で小さかったことが挙げられる。一般にネコブセンチュウの密度が高いほど根のこぶ量は増大し，重量も増すが，この試験ではほぼ同じ線虫寄生度であっても厩肥の施用によって根こぶの重量が軽減されることが示された。また根の細根が増えることも観察された。松口・新田(1988)は，堆厩肥による連作障害軽減効果は根圏微生物生態の改善，病害抑止力の増大，根群発達促進，根活力増大などの根圏生態に対する作用によるものであると主張している。筆者らの試験も根の機能と厩肥効果との関連を示すものと思われ，今後の課題として，興味深い。

おわりに

有機物の線虫防除効果は決して劇的な抑圧力ではなく，多分に遅効的，総合的である。有機物の効果を過信することもいましめねばなるまい(駒田, 1983)。最近，連作圃場で知られている有害線虫の密度減衰現象等をも含め，今後，解析的，かつターゲットを絞った研究が必要であろう。

引用文献

1) Badra, T. et al. (1979): Rev. Nématol. 2: 29～36.
2) 近岡一郎ら(1971)：神奈川農試共研報 2：1～50.
3) ————・竹沢秀夫(1978)：関東病虫研報 25：127.
4) Cooke, R. C. (1962): Ann. Appl. Biol. 50: 507～513.
5) 後藤 昭・大島康臣(1965)：指定試験(病害虫) 5：1～77.
6) 後藤重喜(1964)：宮崎農試報 5：1～121.
7) 堀正太郎(1915)：病虫雑 2：927～930.
8) ————(1941)同上 28：704～711.
9) 井上 寿(1958)：北日本病虫研報 9：89～90.
10) 石橋信義(1970)：応動昆 14：127～133.
11) 甲斐秀昭・橋元秀教(1976)：土つくり講座III，農文協，東京，206 pp.
12) 古賀成司(1976 a)：九州農研報 38：112.
13) ————(1976 b)九病虫研会報 22：126～130.
14) 駒田 旦(1983)：関東病虫研報 30：1～9.
15) Linford, M. B, et al. (1938): Soil sci. 45: 127～140.
16) ———— and Yap, F. (1939): Phytopathology 29: 596～609.
17) Mankau, R. (1969): ibid. 59: 1170.
18) 松口龍彦・新田恒雄(1988)：土肥誌 59：1～11.
19) 中込暉雄・宮川寿之(1986)：関西病虫研報 28：78.
20) 中園和年(1989)：日線虫誌 19：38～45.
21) 西沢 務(1984)：植物防疫 38：27～33.
22) 野津六兵衛(1940)：島根蚕試特報 94 pp.
23) 大林延夫(1989)：神奈川園試報 39：1～90.
24) Sayre, R. M. et al. (1965): Nematologica 11: 263～268.
25) 関谷一郎ら(1959)：長野農試報 2：157～171.
26) 千本木市夫ら(1984)：関東病虫研報 31：183～185.
27) Van der Laan, P. A. (1956): Nematologica 1: 112～125.
28) 山崎和雄ら(1980)：関東病虫研報 27：176～177.

本会発行図書

侵入を警戒する病害虫と早期発見の手引

A 5 判，126 ページ　口絵カラー 8 ページ

定価 2,678 円(税込み)　送料 260 円

監修　農林水産省横浜植物防疫所

海外からの病害虫の侵入・定着を阻止するには，港での検疫とともに，不法持ち込み等による侵入病害虫の早期発見が極めて重要です。

本書は，この観点から多くの人に侵入病害虫に対する警戒心と目による協力をお願いするため，横浜植物防疫所が中心になってまとめた，当面我が国への侵入が警戒される54病害虫の解説書で，それぞれの，既発生病害虫との相違点を述べた“発見のポイント”を中心に，図録を付して，1病害虫で見開き2ページとし，図鑑としても，第一線での検索用としても使いやすいように工夫した書です。

お申込みは前金（現金・振替・小為替）で本会へ

特集：線虫学〔5〕

マツノザイセンチュウ感染によるマツの枯損機構

農林水産省森林総合研究関西支所　黒田慶子（くろだけいこ）

はじめに

マツノザイセンチュウ（*Bursaphelenchus xylophilus*）（以下，線虫）のアカマツに対する加害性が確認された当時，食菌性の線虫が病原体であるとは，なかなか信じられなかったようである（徳重・清原 1969）。この線虫はマツ樹幹内では柔細胞類の内容物を摂食するが，幼苗の場合を除いて，摂食による組織の物理的破壊が枯死の直接的原因ではないことが判明しており，発病機構解明に向けて研究が続けられてきた（田村，1984）。1984年までの研究経過については本誌の特集で詳しく解説されている（徳重，1971；森本，1973；真宮，1975；田村，1984）。

病原線虫を発見した徳重（1971）はその当初から水分生理学的な見方で，この病気は萎凋病であり，水分欠乏による枯死であるととらえ，通導（通水）機能の障害によるものと考えていた。その後，通水阻害の原因として樹脂あるいは細胞分解物の充塡が挙げられたが，充塡は局部的であり主因とするには問題があると判断された（黒田ら，1984）。通導機能障害はなかなか立証されず，Ikeda and Suzaki（1984）による報告のほかに活発な議論がないまま，「毒素の関与」が注目されることになった。マツがあまりにも急激に枯死するためである（奥，1990）。線虫が生産する酵素あるいはマツ組織が生産する毒性物質の検索が行われ，セルラーゼや安息香酸などが報告されているが（田村，1984），枯死との関連が十分に説明されたとはいえない。

そのような時期にTamura et al.（1987）は，線虫感染木では木部樹液の上昇パターンが乱れることを，色素の樹幹注入によって視覚的に明らかにし，発病との関連を示唆した。引き続き筆者らは，水分通導の異常に注目して研究を進め，発病機構を説明する新しい知見を得た。近年なお，マツ枯れの真の病因が青変菌や酸性雨であるとの見解が発表されることもあり，線虫感染による発病の機構を早急に論理的に説明する必要があると思われるため，まだ仮説の部分も含むが，ここに研究の経緯と共に紹介したい。

Mechanism of Pine Wilt Following Infection of *Bursaphelenchus xylophilus*.　By Keiko Kuroda

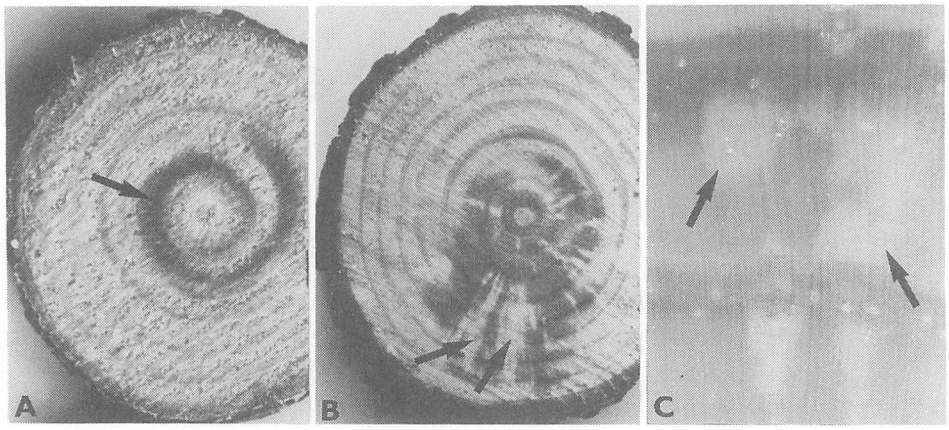
I　気体による通水阻害と病気の進行

木部樹液の上昇パターンは，樹幹基部の1点から水溶性色素（酸性フクシン）を注入することにより追跡できる。それによると，健全なマツの根から吸い上げられた水は，材内をらせん状に上昇し枝に達することがわかっている。ところが本病に感受性のクロマツに線虫を接種すると，2週間後ほどでらせん状のパターンを示さなくなる（図-1）（Tamura et al., 1987；Kuroda et al., 1988）。これは木部樹液の流れが部分的に妨げられ，迂回して上昇するためである。

通水パターンが乱れた試料で，染色されず特に白く見える部分（図-1 B矢印）を拡大すると，通水組織である仮道管の中に気体が充満していることがわかった（図-1 C）（Kuroda et al., 1988）。木部の含水率も通水パターンが乱れ始めるころ（2週間ごろ）から低下する。このような状況から，樹幹内で単に水の流れが滞ったのではなく，仮道管内の水が気体によって排除され，その部分で樹液の上昇が妨げられているものと推定された。

このような「気体の充塡により通導組織から水が排除される」現象は，キャビテーションあるいはエンボリズムと呼ばれており，Zimmermann（1983）は「植物の萎凋病では非常に重要な現象でありながら，病理学者は注目していない」と指摘している。キャビテーションによる通水阻害の過程は次のように説明される。針葉樹の通水組織は，直径20～30 μm，長さ1 mm程度の仮道管から成り，仮道管内の水（木部樹液）は，通常その壁孔を通じて途切れることなく根から葉までつながっている。樹高によっては10 m以上にもなる水柱は，水の凝集力によって連続すると考えられており，蒸散により葉から水分が失われるにつれて，仮道管内の水はしだいに梢のほうに引き上げられる。ところが何らかの原因により，ある仮道管内に気泡が生じるとその内部の水は急激に排除され（キャビテーション）て水柱が切れる。結果としてその仮道管に連なる部分では樹液は上昇できなくなる（Zimmermann, 1983）。

水柱の切れた仮道管数が少ない間は樹液はその部分を迂回して上昇できるが，広範囲でこのようなキャビテーションが起こると上昇できる樹液の量が減少し，水分欠



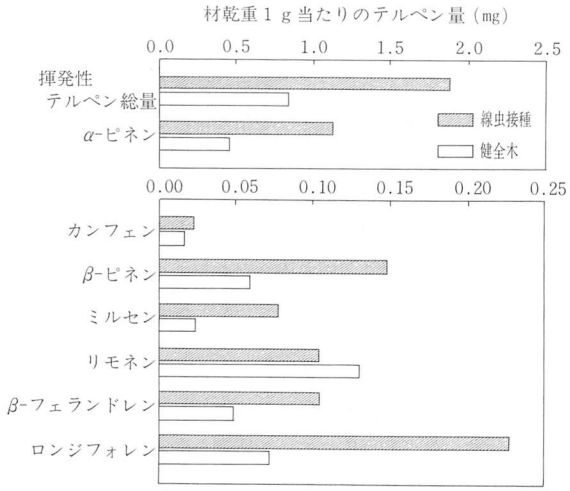
図－1　線虫接種後のクロマツ（11 年生）における通水阻害の進行
線虫接種 1 週後までみられる正常ならせん状の樹液上昇（A 矢印），通水パターンが乱れた接種 3 週後における通水阻害部（B 矢印），及び通水阻害部の気体が充満した仮道管（C 矢印）．

乏のためマツの生命が脅かされる。線虫接種から 1 か月ほどたつと，クロマツ樹幹の木部は含水率が健全木の 3 分の 1 程度に減少しており（Kuroda et al., 1988），通水組織として機能していないものと推定された（Coutts, 1976）。樹幹横断面に触れると乾燥しているのがわかる状態で，柔細胞や形成層の壊死が樹幹全体で始まり，樹脂の分泌が停止している。この時期は外観的には針葉の変色が旧葉から始まったころで，まだ枯れたとは判断されないが，伐倒するとマツは既に枯死に近い状態であることに驚く。樹木，特に常緑の針葉樹は，生理的な異常が外観から推察し難いため，発病を早期に発見するのが困難である。

II　キャビテーション原因物質の検索

気体の充塡（＝キャビテーション）はどのように起こるのであろうか。幹に大きな傷がある場合は，外気が入る可能性が指摘されている（Coutts, 1976）。本病のように傷のない場合については研究例は少ないが，次のような説明がある。夏季の日中，樹木の木部樹液には図-3 に示すように著しいテンション（張力）がかかり，仮道管内の水柱は非常に切れやすい状態にある。これは，葉からの蒸散が盛んになりどんどん水を引き上げようとするが，土壌中の水分が不足しており，要求を満たすだけの水が上がらないためである（Zimmermann, 1983）。樹液の表面張力がこのテンションに抵抗できなくなると水柱が切れてキャビテーションが起こる（Tyree and Sperry, 1988）。健全な樹木の枝に表面張力の低い物質，例えばブタノールなどを注入すると，樹液の表面張力を低下させてキャビテーションが起こることも報告されている（Tyree and Sperry, 1988）。

マツ材線虫病の通水阻害部（図-1 B 矢印）を詳しく観察すると，水溶性の色素による染色部との境界が非常に明りょうであり，にじみがないのに気づく。おそらく疎水性の物質が存在するのであろう。そこで，キャビテーションを起こしうる物質として，通水阻害部に含まれる，疎水性でガス化しやすい物質に注目し，ガスクロマトグラフィーにより分析してみた（Kuroda, 1989）。その結果，線虫接種 2 週後のキャビテーションが開始したばかりの木部では，モノテルペン，セスキテルペンが健全木の数倍に増加しており，中でも α-ピネンの増加が著しいことがわかった（図-2）。揮発性物質は接種 3 日後というキャビテーションが開始していない時期から既に増加しており，接種 2～3 週後ごろに最高値に達する（Kuroda, 1990）。したがってテルペンの増加はキャビテーションの開始（接種 2 週後ごろ）に先立つ現象であることが確認され，樹脂道の周囲のエピセリウム細胞や放射組織の柔細胞内で，テルペン類の合成が活性化したためであろうと推定された。この物質は細胞にとっては毒性物質であり，蓄積量が多くなると，液胞などの膜系が破壊されて細胞外に漏れるものと考えられる。線虫感染後のマツ樹幹で増加したテルペン類は，線虫の運び屋であるマツノマダラカミキリの誘引物質として働くことが既に報告され（池田，1981），誘引剤として利用されているが，樹幹内での生理的な意味や働きについてはこれまで議論され



図－2　線虫接種2週後のクロマツにおける揮発性テルペンの増加

ていなかった。

モノテルペンは揮発性で気化しやすいうえに，表面張力が水より低い。したがって仮道管内の水柱切断に寄与する可能性は十分にある。実際に少量の α-ピネンを健全なクロマツ樹幹に注入すると，その上部で線虫を接種した場合と同様にキャビテーションによる通水阻害部が肉眼で確認され，樹幹内での関与が示唆された(Kuroda, 1990)。またテルペンの疎水性は，水柱が切れた毛管内への水の再流入を阻害するのに有効であると推定される。

III　線虫の分布とマツ組織の生理異常

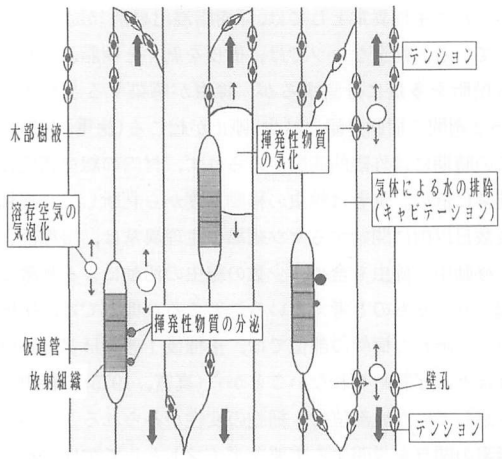
10年生前後のアカマツやクロマツの枝に傷をつけて，1万頭の線虫を接種した場合，そのすべてが樹体内に入るのではなく，無事侵入できる線虫はけた違いに少ない(橋本, 1975)。しかし侵入した少数の線虫の移動は速く，据置法を併用して調べると1日に20～80 cm移動すると報告されている（橋本, 1975；清原・鈴木, 1976)。樹高4 m程度の10年生クロマツの樹幹全体に分布するのに数日しかかからない。「据置法」とは試料の湿度を保ったまま室温に1か月保存し，線虫の増殖を待って樹幹各所の線虫分布の有無を調べる方法である。樹幹内の線虫密度が非常に低い時期には，伐倒直後のベルマン法による分離では全く検出できないこともあるため，感染初期の線虫の動態について論ずる場合には，据置法による線虫分布の確認が必要である。

マツ組織内でのテルペン合成の活性化は，線虫感染3日後には既に開始しており，異物の侵入に対するマツ組織の生理的反応が非常に早いことがわかる。感染初期にみられる生理異常としては，「樹脂浸出異常」がよく知られている。健全なマツでは，樹皮を剝ぐと樹脂，いわゆる松脂を多量に分泌するが，線虫が感染するとわずか1～2週間で樹脂分泌の減少・停止が起こる(徳重, 1971)。この時期には外観的病徴がみられず，材内の線虫密度は非常に低い。筆者は線虫の移動速度から判断して，接種後数日以内に開始するマツ組織の生理異常は，接種部より移動中の線虫も含め，少数の線虫の活動による刺激で起こりうるものと考えている。ところが他方では，接種枝から離れた樹幹の部位では，接種後1週間ほどは線虫はほとんど認められないことから(真宮, 1975)，線虫が生息していない部位で，細胞の変性がみられることが，毒素の関与を説明する重要なポイントとして挙げられている(奥, 1990)。しかしこの場合，線虫分布の有無は据置法でなく伐倒時の線虫分離の結果で判断しているため，細胞の変性部分に線虫が生息していなかったことは証明されていない。また，細胞の変性が認められる近辺を既に線虫が通過している可能性も十分にあり，これを毒素の関与を示す根拠とするには問題がある。

Ceratocystis 属などの菌が針葉樹に感染した場合にも，テルペン類の増加，及びキャビテーションによると推定される乾燥帯の形成が普通にみられ(Croteau, 1987)，これはマツ材線虫病に限らず，病原体の侵入に対する宿主組織の普遍的な反応であるといえる。しかし菌の感染では，菌糸の存在する付近で局部的にテルペン類が増加することが多いのに対し，線虫の場合，接種枝付近を中心として樹幹全体で速やかなテルペンの増加とキャビテーションがみられる（Kuroda et al, 1988：Kuroda, 1990)。感染直後の線虫の活動の影響は，線虫が少数であるため無視されることが多いが，このような菌の感染との相違点から推定しても，樹幹全体に短期間で分布した線虫の活動により，宿主組織の反応も樹幹全体で起こると考えるのが妥当であろう。

IV　気体による通水阻害のメカニズム

線虫が感染した感受性マツにおける通水阻害のメカニズムは，まだ仮説の部分も含むが，以下のように考えられる(図-3)。線虫がマツの組織内に侵入すると，放射組織の柔細胞やエピセリウム細胞（図には省略）ではその活動の刺激によって代謝が異常になり，モノテルペンなど二次代謝産物の合成が増大する。細胞の原形質膜の劣化に伴って，そのような物質は仮道管内に放出される。著しいテンションがかかった木部樹液に，揮発性あるいは表面張力の低い物質が加わると，仮道管内の水柱が切れてキャビテーションが起こる。テンションが著しくな



図－3　通水阻害のメカニズム（木部組織縦断面）

るにつれて樹液内の溶存空気が小さな気泡として出現するならば，揮発性物質がその拡大に寄与する可能性もある。健全な樹木でも，テンションが非常に強くなった場合，一時的に水柱が切れてキャビテーションが起こり，夜間にテンションが弱まるとまた水柱が連続すると推定されている(Zimmermann, 1983)。このようなキャビテーションが起こった場合に，仮道管内壁に，モノテルペンなど疎水性の物質が付着するとその仮道管内に再度水が入るのを妨げ，通水阻害をいっそう促進するものと推定される。

おわりに

本病の発病機構に関する多くの研究報告では，供試木としてさまざまな樹齢のマツが用いられているが，樹齢により結果に食い違いが認められる。特に幼苗(当年～2年生前後)の場合，線虫による組織破壊の影響が大きく，病徴進展が5～6年生以上の場合とかなり異なる（黒田ら，1984)。本稿では，常に10年生前後のクロマツの場合について議論を進めてきた。幼苗のほうが取り扱いが容易ではあるが，今後発病機構についてさらに細部にわたって議論を進めるには，この点に注意が必要である。

筆者らは，本病によるマツの枯死が，樹幹全体で進行する極度の水分欠乏に起因することを確認するとともに，その水分欠乏の原因が「気体の充塡（キャビテーション）による通水阻害」であることを初めて明らかにした。キャビテーションの原因物質としては，揮発性テルペンが関与する可能性が示された。しかしながら樹幹内の水の動きについてはまだ不明な点が多く，キャビテーションの原因について議論するにはさらに研究を進める必要がある。現在，本病に抵抗性のテーダマツなどの線虫に対する生理的反応について研究を進めており，感受性種の反応との違いを明らかにすることにより，発病にかかわる要因がさらに明確になるものと考えている。

引用文献

1) Coutts, M. P.（1976）：Eur. J. For. Pathol. 6：372～381.
2) Croteau, R. et al.（1987）：Plant Physiol. 85：1123～1128.
3) 橋本平一（1975）：森林防疫 24：189～192.
4) Ikeda, T. and T. Suzaki(1984)：日林誌 66：412～420.
5) 池田俊也（1981）：植物防疫 35：395～400.
6) 清原友也・鈴木和夫（1976）：87回日林論 227～228.
7) Kuroda, K.（1989）：日植病報 55：170～178.
8) ――――（1990）：Eur. J. For. Pathol. 印刷中
9) ――――et al.（1988）：日植病報 54：606～615.
10) 黒田慶子ら（1984）：95回日林論 471～472.
11) 真宮靖治（1975）：森林防疫 24：192～199.
12) ――――（1976）：植物防疫 30：109～113.
13) 森本 桂（1973）：同上 27：175～179.
14) 奥 八郎（1990）：日本農芸化学会誌 64：1254～1257.
15) 田村弘忠（1984）：植物防疫 38：138～141.
16) Tamura, T. et al.（1987）：日線虫研誌 17：23～30.
17) 徳重陽山（1971）：植物防疫 25：480～484.
18) ――――・清原友也（1969）：日林誌 51：193～196.
19) Tyree, M. T. and J. S. Sperry（1988）：Plant Physiol. 88：574～580.
20) Zimmermann, M. H.（1983）：Xylem structure and the ascent of sap, Springer-Verlag, Berlin, pp. 143.

〔新しい病害〕

ストック立枯病（新称）の発生

長野県野菜花き試験場　清水時哉（しみずときや）

1989年3～6月にかけて，長野県南安曇郡穂高町の施設栽培のストックに，地際部が褐変し，くびれて枯死する腰折れ症状株が多数発生し問題となった。その原因を調査したところ，*Fusarium* 属菌による新しい病害であることが明らかになった。ここでは，その概要について述べる。*

I　発生様相と病徴

発生は，定植後1か月ごろ，かん水したところ，倒伏する株が，ハウス内数か所にみられ，初めて気づいた。症状の発生は植物体の生育が進むと少なくなったが，収穫期に入っても所々で倒伏し，枯死株の山ができるほどであった。

病徴は，地際部が侵されて褐変し，立枯症状を呈するものであるが，萎ちょうは認められないため，倒伏して初めて発病に気づくことが多い。病原菌は地際の茎を表面から侵し，心部に達するようで，病勢が進展すると地際部がくびれて容易に引き抜けるようになる。なお，維管束の褐変は認められない。

また，当時の栽培品種は，「ボールホワイト」であったが，病原性再現試験に用いた「ホワイトワンダー」及び，本年度に栽培された別の品種にも発生が認められたので，病原性の品種間差はまずないと考えられた。

II　病原菌の分離

常法により，褐変部から病原菌の分離を行ったところ，*Fusarium* 属菌が高率に分離された。分離菌をストック苗に浸根接種したところ，接種後2週間目ごろより地際部がくびれ，立枯れ症状を呈したので，分離菌を病原菌と断定した。なお，同一菌が立枯れ症状株から再分離された。

III　病原菌の病原性

本菌をフスマ培養し，オオムギ（アサマオオムギ）及びソラマメ（河内一寸蚕豆）に土壌接種したところ，オオムギに対しては強い出芽前立枯れを起こし，ソラマメに対しても強い立枯れを起こした。また，分生胞子懸濁液をオオムギ穂に噴霧接種し，かん水量を多めに管理したところ，主に穂首に褐変症状が認められ，一部麦穂も褐変し，赤かび病と類似の症状を示した。

IV　病原菌の同定

本病菌の菌叢は，PSA培地上で鮮やかな紅色を呈し，スポロドキアの形成も認められた。菌糸生育の最適温度は25℃で，小型分生胞子はまれにしか観察できず，1～5隔膜を持つ大型分生胞子（図-1）をフィアライドから大量に形成する。

以上のことから，本菌はSNYDER and HANSEN分類体系より *Fusarium roseum* と同定し，その病原性から，分化型は *cerealis,* cultivarは大型分生胞子の形状から“Graminearum”と断定した。なお，厚膜胞子及び完全世代については確認していない。

本菌は，ムギ類赤かび病菌，ソラマメ立枯病菌と同一菌で，全国的に分布し，県内でも小泉らが中信地方のムギから分離しており，存在が確認されている。おそらく，県内のソラマメにも分布していると考えられる。

本菌によるストックの病害はわが国では報告がなく，その病徴から立枯病と命名した。

図-1　大型分生胞子の形状

* 本稿の一部は平成2年度日本植物病理学会大会において発表した。

Occurrence of Stock (Matthiola incana R. Br) Take-all Disease.　By Tokiya SHIMIZU

V 防 除 対 策

本病菌の侵入経路は今のところ特定できないが，発生圃場では，土壌消毒後，新しく堆積した稲わら堆肥を施用しており，これが汚染されていたのではないかと考えている。そこで防除対策として，被害残渣を圃場内に残さない，敷わらとして麦わらを避ける，稲わらを使用する場合も，前作にムギ類の栽培歴のあるものは避ける，堆肥の場合も同じである，育苗土に麦稈・稲わらを混合する場合は，その後の土壌消毒を徹底する，などが考えられる。

本病は今のところ拡大する気配はないが，本菌が全国的に分布することから，栽培形態の変化によっては発生することも十分考えられるので，注意が必要である。

引 用 文 献

1) 松尾卓見ら (1980) : 作物のフザリウム病，全農教，東京，pp. 502
2) 農業研究センター (1990) : 平成元年度総合農業試験研究成績・計画概要集

本 会 発 行 図 書

新 刊 ！

『農薬の散布と付着』

日本農薬学会　農薬製剤・施用法研究会　編　B 5 判　本文 170 ページ
定価　**3,400円**（本体 3,301円）　送料　**260円**

施用された農薬薬剤の挙動について，施用法，防除機，散布法・剤型，植物表面と付着の関係・葉面からの取り込み，今後の散布技術の展望を詳述した農薬関係の技術書。

お申し込みは前金（現金書留・郵便振替・小為替など）で直接本会までお申し込み下さい。

本 会 発 行 図 書

新 刊 ！

『応用植物病理学用語集』

濱屋悦次（前農林水産省農業環境技術研究所微生物管理科長）編著　B 6 判　506 ページ
定価　**4,800円**（本体 4,660円）　送料　**310円**

植物病理学研究に必要な用語について，植物病理学はもちろん，農薬，防除，生化学，分子生物学などについても取り上げ(約 6,800 語)，紛らわしい用語には簡単な説明を付けそれぞれを英和，和英に分けてアルファベット順に掲載し，また，付録には植物のウイルス，細菌，線虫の分類表を付した用語集です。植物病理学の専門家はもちろん広く植物防疫の関係者にとってご活用いただきたい用語集です。

お申し込みは前金（現金書留・郵便振替・小為替など）で直接本会までお申し込み下さい。

本 会 発 行 図 書

『農薬ハンドブック1989年版』

農薬ハンドブック1989年版編集委員会　編　A 5 判　670ページ
定価　**4,500円**（本体 4,369円）　送料　**310円**

市販農薬を用途別に，薬剤の名称，作用特性，使用上の注意，各製剤ごとにその商品名，使用方法，適用病害虫，雑草など詳しく解説した本文と，農薬の一般名・商品名，化学名・化学構造式・物理化学的性質，毒性・魚毒性を表とした農薬成分一覧表，農薬残留基準・農薬登録保留基準・農薬安全使用基準の解説，農薬中毒の治療法を付録とし，索引では登録薬剤名・一般名（ＩＳＯ名）から商品名の英名まで含めて収録しました。今回より判型をＢ６判からＡ５判に拡大し，農薬関係の会社紹介を追加いたしました。農薬関係の総合的な解説書です。

お申し込みは前金（現金書留・郵便振替・小為替など）で直接本会までお申し込み下さい。

〔新しい病害〕

インゲンマメのアファノミセス根腐病の発生

北海道立十勝農業試験場　堀田（ほりた）　治邦（はるくに）・谷井（たにい）　昭夫（あきお）

はじめに

北海道におけるインゲンマメの作付面積は，昭和63年度農林水産統計（農林水産省編）によると17,500 haで，全国の栽培面積の約87%を占めている。十勝地方は北海道の中でもインゲンマメの主要な産地として位置しており，北海道の作付面積の70%を占めている。畑作中心である十勝地方では，昔からマメ作が輪作体系の中に取り入れられ，インゲンマメは今でも重要な基幹作物の一つである。

インゲン根腐病は，北海道において1957年に初めて発生が確認されて以来（田中・北沢，1957），難防除の病害として十勝地方のインゲンマメに多く被害を与えてきた。現在でもその発生面積はインゲンマメの病害虫の中で最も多い。

本病の病原菌は *Fusarium solani* f. sp *phaseoli* で，その感染のほぼ90%以上はインゲンマメの生育初期に起こる。根には赤褐色の病斑が形成され，地上部には二次的に葉の黄化や草丈の減少等が現れる。

しかし，1988年，中札内村のインゲンマメ圃場で上記の *Fusarium solani* による病徴と異なり，立枯症状を示すものが多発生した。胚軸及び根部の腐敗が激しく，罹病部からは *Aphanomyces* 菌が高率に分離された。同菌は接種試験の結果，自然発病と同じ症状を生じた。

マメ科植物に寄生する *Aphanomyces* 菌として，*Aphanomyces euteiches* Drechsler がある。日本ではエンドウに激しい根腐病を起こす菌として著名で，エンドウのほか多くのマメ科植物に病原性を有することが報告されている（横沢ら，1974）。

Pfender and Hagedorn（1982）は，インゲンマメで *Aphanomyces* 菌による根腐病の発生を報告している。この菌は *A. euteiches* と形態的に大きな差異がないが，寄生性で大きく異なっており，インゲンマメ及びアルファルファに強い病原性を示すのに対し，エンドウには寄生性がない。そこで，この菌を *Aphanomyces euteiches* Drechsler f. sp. *phaseoli* Pfender & Hagedorn とすることを提唱している。

中札内村で発生した *Aphanomyces* 菌は，*A. euteiches* F-3株（エンドウ分離株，東日本学園大学，横沢氏より分譲）と比較した結果，Pfender and Hagedorn（1982）の記載にほぼ一致し，両菌は寄生性で大きく異なった。したがって，本菌を *A. euteiches* f. sp *phaseoli* と同定し，本病名をインゲンアファノミセス根腐病とすることを報告した（堀田・谷井，1990）。

本稿では，本病害の発病推移，病徴及び本病菌の諸性質などについて記述する。

I 病　徴

本病の病徴は，インゲンマメの発芽直後からみられる。はじめ，根に淡褐色の斑紋が現れ，病勢の伸展は緩慢であるが，播種20～30日後の6月中～下旬になると病勢は急激に伸展する。この時期が低温に経過した年次は，病勢の伸展が7月上旬にずれ込むこともある。根部の病斑が水浸状に根全体に広がるにつれて，胚軸部にも褐色～淡紅色の水浸状病斑が現れる。胚軸部に発病した個体は側根の再生が著しく不良となるため，根張りが悪く容易に抜くことができる。生育初期に本病が激発すると葉が脱水症状を起こしてしおれ，そのほとんどは倒伏，枯死する。その結果，発生圃場は廃耕となることが多い。

発生程度の軽い場合，生育初期のインゲンマメ根部に発病は認められるものの，地上部には病徴が現れないことが多い。しかし，罹病株は生育抑制され，草丈が低く，開花後に葉が黄化，萎ちょうする。また，主根は地際部から細くなり空洞化するが，側根の再生によりその後の生育は保たれる。しかし，莢つきは悪く減収程度はきわめて大きい。

現地圃場において，本病は *Fusarium solani* による根腐病と混合あるいは複合して発生することが多い。しかし，両病害は根及び胚軸部における初期の病徴によって診断することが可能である。*F. solani* の場合，根及び胚軸部の病斑は水浸状を呈することなく赤褐色となり，胚軸部への病斑の伸展も緩慢で，倒伏もほとんど起こらない。

Occurrance of Aphanomyces Root Rot of Common Bean. By Harukuni Horita and Akio Tanii

表－1　*Aphanoryces* 分離株の蔵卵器及び卵胞子の大きさ

菌　株	蔵 卵 器(μm)	卵 胞 子(μm)	卵胞子壁(μm)	付着蔵精器数
KNa 8810	32.6(26.0～38.3)	24.5(18.5～30.6)	2.1(1.5～2.9)	1～3
KSa 8820 s	31.7(27.3～34.9)	23.6(19.7～27.6)	2.2(1.8～2.9)	1～3
KNa 8833	30.5(26.3～34.7)	22.6(18.3～27.1)	2.1(1.5～3.0)	1～3
KNa 8830 s	29.9(26.7～33.2)	22.6(19.4～26.5)	2.1(1.7～2.6)	1～2
KNa 8826-1	29.4(25.4～33.1)	22.1(18.9～26.6)	2.2(1.8～2.7)	1～2
KNa 8819 s	28.8(24.0～33.5)	21.9(18.0～25.4)	2.1(1.7～2.6)	1～2
KNa 8814 s	28.1(24.2～31.8)	20.8(18.8～25.4)	2.2(1.7～2.7)	1～3
KSa 8818-1 s	28.0(21.8～33.5)	21.5(16.5～28.2)	2.0(1.5～2.7)	1～3
KNa 8807 s	27.3(24.2～34.0)	20.5(17.6～24.9)	2.3(2.0～2.9)	1～3
PFENDER and HAGEDORN[a)]	28.5～32.7	20.5～23.0		1～4

[a)]PFENDER and HAGEDORN (1982)

II 病　原　菌

1　分離及び培養

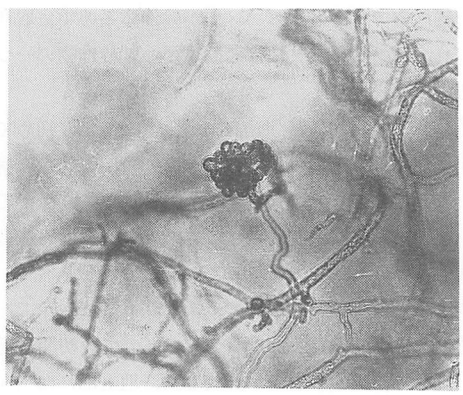
罹病インゲンマメの根部病斑からは *Aphanomyces* 菌が分離される。本病菌の分離率はストレプトマイシン(約 200 ppm) を添加したグルコース加用ジャガイモ煎汁寒天培地 (PDA) 及び素寒天培地で低く，*Aphanomyces* 選択培地 (PFENDER et al.,1984) を用いると高率である。本病菌の生存はコーンミール寒天培地 (CMA) や PDA 培地で，約 10°Cの条件に置くと 6 か月以上保たれる。また，生存期間は PDA よりも CMA でやや長い。

2　形態及び寄生性

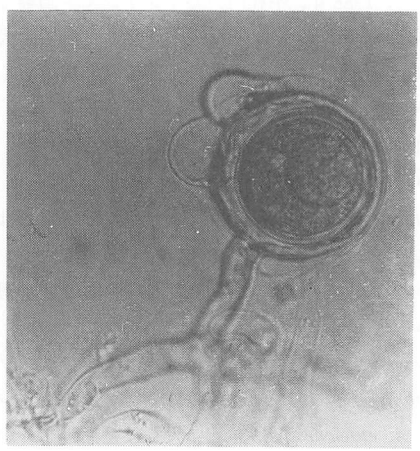
本病菌を土壌接種し，インゲンマメを播種すると容易に感染が起こり，自然発病と同じ病徴を発現し，さらに罹病根の組織中には卵胞子の形成が認められた。また，罹病組織及び含菌寒天片を殺菌水中に浮かべると遊走子の形成が認められ，*Aphanomyces* 属の特徴であるブドウ状の被嚢胞子集塊も観察された (図-1)。

CMA で約 3 週間培養後の本病菌の有性器官について観察した。蔵卵器は球形で短枝に頂生し，大きさは 21.8～38.3 μm (平均 29.6 μm) である。蔵卵器膜は表面平滑であるが内面は不均一である。蔵卵器内には球形で平滑の卵胞子が 1 個形成され，大きさは 16.5～30.6 μm (平均 22.2 μm) である。膜は平滑，均一でその厚さは 1.5～3.0 μm である。蔵精器は蔵卵器と異なる菌糸から生じる diclinous であり，蔵卵器に 1～3 個着生する。蔵精器柄は蔵卵器柄に密に接し，蔵精器は蔵卵器を包むように着生する (表-1，図-2)。

遊走子嚢の形態は菌糸状で，幅 6.7～8.9 μm，長さは不定で数百 μm の場合が多い。遊走子は遊走子嚢から一列に逸出し，先端部で被嚢胞子となり，ブドウ状集塊となる。被嚢胞子は球形で，直径 9.9～11.4 μm (平均 10.6 μm) である。



図－1　本病原菌の被嚢胞子塊



図－2　CMA 上に形成された有性器官

本病菌菌糸の温度に対する生育反応を図-3 に示した。本病菌は 4°C及び 35°Cで全く生育せず，最適生育温度は 28°C付近であった。*A. euteiches* F-3 株とは 28°C以上の温度域で異なり，F-3 株は 35°Cでも生育可能であった。

表-2　*Aphanomyces* 分離株の病原性

作　物	品　種	KNa 8810	KNa 8830 s	KNa 8807 s	KSa 8818-ls	F-3 *
インゲンマメ	大正金時	+++	+++	++	++	+
エンドウ	小緑	−	−	−	−	++
アルファルファ	コモン	+	+	+	+	+
ダイコン	春陽大根	−	−	−	−	−
テンサイ	モノエース	+	+	−	−	+
ルタバガ	パープルトップ	−	−	−	−	−
キャベツ	グリーンボール	−	−	−	−	−
コムギ	チホクコムギ	−	−	−	−	−
トマト	福寿二号	−	−	−	−	−

*　*Aphanomyces euteiches* エンドウ分離株

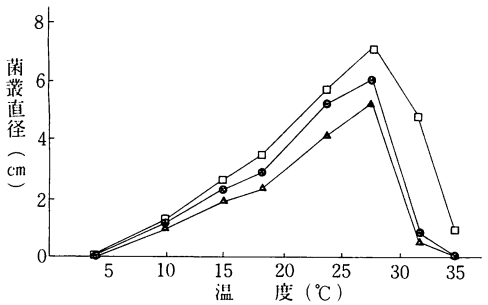


図-3　*Aphanomyces* 分離株の温度反応
●-●：KNa 8810 及び▲-▲：KNa 8807 s；インゲン分離株
□-□：F-3：エンドウ分離株（*A. euteiches*）

また，本病菌菌糸の pH に対する生育反応については F-3 株とほぼ同様で，良好な生育は pH 5〜7 でみられた。

次に，本病菌の寄生性について検討した。結果を表-2 に示す。本病菌はマメ科植物の中でインゲンマメ及びアルファルファに感染したが，エンドウに寄生性はなかった。そのほか，テンサイに立枯れ症状を起こす菌株が存在したが，アブラナ科野菜に寄生性を示すものはなかった。

3　病原菌の同定

Pfender and Hagedorn (1982) によると，*A. euteiches* とその分化型 f. sp. *phaseoli* は寄生性で大きく異なり，前者の寄主植物がエンドウ，インゲンマメ，アルファルファのマメ科植物のほか，ダイコン，テンサイ，キャベツなどにも及ぶのに対し，後者はインゲンマメ及びアルファルファのみである。また，形態的な差異として f. sp. *phaseoli* は蔵卵器と卵胞子の間げきが *A. euteiches* に比較して広いことをあげている。さらに，*A. euteiches* の場合 32℃でも良好な生育を示すのに対し，f. sp. *phaseoli* は同温度で著しく抑制され，温度反応にも差異がみられるとしている。

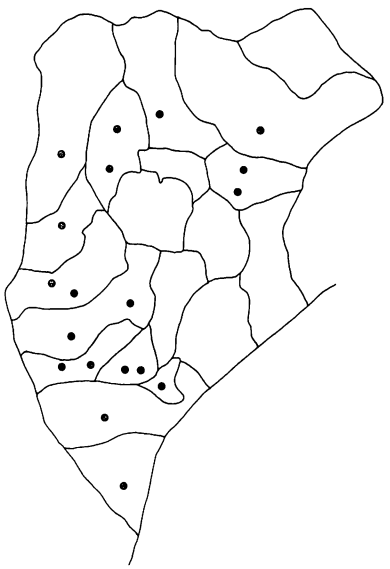


図-4　十勝地方における *Aphanomyces euteiches* f. sp. *phaseoli* の分布

筆者らが分離した *Aphanomyces* 菌もインゲンマメに強い病原性を示すが，エンドウに寄生性を有せず，蔵卵器と卵胞子間の間げきも *A. euteiches* に比較して広く，温度反応の点からも Pfender and Hagedorn (1982) の f. sp. *phaseol* の記載に一致していた。したがって，本病菌は *Aphanomyces euteiches* Drechsler f. sp. *phaseoli* Pfender and Hagedorn と同定された。

III　十勝地方における本病菌の分布

1989 年に十勝地方における本病菌の分布状況を調査した。採取土壌をつめた素焼鉢（直径 16 cm）にインゲンマメ（大正金時）を播種し，温室内で栽培管理した。発病株からの本病菌の分離には，改変した Pfender ら (1984) の選択培地（コーンミール寒天 1,000 m*l*，メタラ

キシル 30 mg, チオファネートメチル 20 mg, バンコマイシン 200 mg) を用いた。本培地は *Alternaria* 菌の生育を阻止しない欠点があるが, *Aphanomyces* 菌の菌糸伸長は *Alternaria* 菌に比較して速いため, 本病菌の分離には障害とならない。

その結果, 供試した 34 土壌標本中 19 の土壌で発病がみられ, いずれの発病株からも *Aphanomyces* 菌が分離された。さらに, 分離全菌株はインゲンマメ(大正金時)に病原性を有することが確認された。この結果は, 本病菌の分布が十勝地方で 13 市町村のかなり広い地域に及んでいることを意味する(図-4)。今後, 本病の発生実態とあわせて, さらに本病菌の分布状況を精査する予定である。

おわりに

アファノミセス根腐病は, その被害の大きさから早急な防除対策が強く要望されている。現在, その防除法について試験を進めているが, 幸いに, 本病による初期発病は尿素を播種一週間前に全面土壌混和 (N 10 kg/10 a 程度) すると著しく抑制されることが明らかとなっている。この発病抑制機作については, 現在, 当場の土壌肥料科と共同して各態窒素の本病菌に対する影響及び土壌中での量的推移などとの関連で検討中である。

なお, 現地圃場で, 本病は *F. solani* による根腐病と混・複合して発生することが多く, 両病菌に対応しうる実用的防除技術として拮抗微生物を利用した生物的防除法との組み合わせについて試験を進めているところである。

最後に, 本研究に当たっては, 財団法人豆類基金協会から多大なご援助をいただいた。ここに深謝の意を表する。

引用文献

1) 堀田治邦・谷井昭夫(1990):日植病報　56：385.
2) 田中一郎・北沢健治(1957):同上　22：57～58.
3) PFENDER, W. F. and D. J HAGEDORN (1982) : Phytopathology　70: 1078～1082.
4) ――― et al (1984) : Plant disease　68 (10) : 845～847.
5) 横沢菱三ら (1974) : 日植病報　40: 454～457.

月刊雑誌「植物防疫」
B 5 判　毎号 56～64 ページ
充実した内容と迅速なニュース
平成 3 年 (1991 年 1～12 月号の 12 冊)
前金購読料 6,720 円 (税込・送料共)

植物防疫講座　第 2 版
(全 3 巻)
各巻とも B 5 判　上製本
定価 3,200 円 (税込)
セット価格 9,000 円
(税込・直販のみ)
送料サービス
病害編　(356 ページ)
害虫・有害動物編　(335 ページ)
農薬・行政編　(362 ページ)

農薬要覧　1989 年版
農林水産省農蚕園芸局植物防疫課　監修
定価 4,400 円(税込)送料 310 円
B 6 判　666 ページ

社団法人
日本植物防疫協会
東京都豊島区駒込1-43-11
〒170　電話 (03)944-1561
FAX (03)944-1399
振替 東京1-177867
お申込は現金・小為替・
振替などで直接本会へ

農薬用語辞典 (改訂版)
日本農薬学会　監修
定価 1,442 円 (本体 1,400 円)
B 6 判　112 ページ　送料 210 円

農薬ハンドブック――1989 年版――
農薬ハンドブック 1989 年版編集委員会　編
A 5 判 670 ページ　定価 4,500 円 (税込)　送料 310 円

非放射性核酸プローブによる植物病害の遺伝子診断法

東京大学農学部植物病理学研究室　兼松誠司
宇都宮大学農学部植物病学研究室　夏秋知英
農林水産省農業生物資源研究所　日比忠明

はじめに

特定の核酸（遺伝子）の検出，定量あるいはその類縁性検定の手段として，現在最も一般的な方法は，これと相補的な塩基配列部分を持つ核酸をあらかじめ放射性同位元素などで標識し，対象とする核酸をこの標識核酸とハイブリダイズ（分子雑種形成）させることによって検知する方法である。この際に用いる標識核酸を核酸プローブと呼ぶ。この方法は簡便・迅速で，しかもきわめて特異的に高感度で目的とする核酸を検出できるため，コロニーハイブリダイゼーション，プラークハイブリダイゼーション，ドットハイブリダイゼーション，インサイチュハイブリダイゼーション，サザンブロッティング，ノザンブロッティング，RFLP（制限酵素断片長多型性）解析法など，同じ原理を応用した各種のハイブリダイゼーション技法が工夫され，現在では，分子生物学的研究はもとより，植物病理学分野における各種病害の診断や研究に広く利用されていることは周知のとおりである。

ハイブリダイゼーション法やPCR法（DNAポリメラーゼ増幅法）などを用い，病原の核酸・遺伝子の塩基配列相同性を識別することによって，病害の診断や病原の同定を行う方法を，遺伝子診断法あるいは分子診断法と呼ぶ。遺伝子診断法では核酸を，従来の血清学的診断法では主にタンパク質を，それぞれ検出することから，得られる情報は互いに異なるが，遺伝子診断法による検出の特異性と感度は，最新の血清学的診断法によるそれに匹敵あるいはそれを凌駕する。

従来，ハイブリダイゼーション法には，主として放射性同位元素で標識した核酸プローブが用いられてきた。この放射性核酸プローブを用いる方法は，検出感度が非常に高い優れた方法であるが，被爆の危険を伴うため，法律で定められた一定の設備を有し，国の許可を受けた閉鎖系のRI施設内で実験を行わなければならない。さらに，標識によく用いられる^{32}Pの半減期が14日と短いうえに，分子内照射による核酸プローブの自己分解が急激に進行するため，一定の検出感度を保持した標識核酸プローブを長期保存することは不可能である。このような問題点が，これまでハイブリダイゼーション法による遺伝子診断法の実用化を遅れさせていた最大の原因であった。この点を解決するため，放射性同位元素を用いない核酸標識法の開発が以前から進められていたが，最近になって，標識法及びその検出法ともに長足の進歩を遂げ，検出感度が放射性核酸プローブに匹敵するような非放射性核酸プローブが実用化されるに至った。非放射性標識法及びその検出法には各種の方法があるが，現在では，その数種について，それぞれの反応に必要な試薬類をセットにした標識キットや検出キットが市販されている（バイオトレンド編集委員会　1990）。これらのキットを用いることによって，きわめて簡便・迅速に非放射性核酸プローブを調製することができるうえ，それらの標識プローブは安全で，長期の保存によっても一定の高い検出感度を保持している。この非放射性核酸プローブの実現によって，ハイブリダイゼーション法による実用的な遺伝子診断法が，ついに確立したといえよう。植物の病害の診断や病原の同定にも，既に，非放射性核酸プローブが利用され始めており，今後，従来のELISA法なみに，急速な勢いで普及するものと考えられる。

そこで，本稿では，非放射性核酸プローブによる植物病害の診断法について，筆者らの経験を踏まえて，主として核酸の標識以降，検出に至るまでの実際の操作過程を，具体的にご紹介した後，本法の国内外における応用の現状について簡略にとりまとめることにしたい。なお，ハイブリダイゼーション法（小林ら，1990）や核酸プローブ技術（高橋，1988，90），及び主として放射性核酸プローブによるウイロイド病の診断（高橋，1986）については，それぞれ詳細な文献があるので，併せてご参照いただきたい。

I　非放射性核酸プローブによる診断法の原理

非放射性核酸プローブによる診断法について，その方法の概略を，ビオチン標識核酸プローブを用いる方法を

Gene Diagnosis of Plant Diseases with Non-radioactive DNA・RNA Probes.　By Seiji KANEMATSU, Tomohide NATSUAKI and Tadaaki HIBI

例にして，模式的に示した(図-1)。すなわち，最初に診断対象とする病植物や病原から核酸（DNA あるいは RNA)を粗抽出し，これを変性させてから，ナイロンメンブレンまたはニトロセルロースメンブレン上に固定する。次に，検知すべき病原由来の非放射性標識核酸をプローブとして，これとハイブリッドを形成させる。続いて，ハイブリッド内の標識核酸プローブに検出用酵素を結合させる。最後に，検出用酵素の基質を加え，酵素反応による基質の発色あるいは発光を検出する。

上記の最初の操作には，診断目的によって各種の方法があり，一般には，診断対象の核酸をメンブレンに直接スポットする方法（ドットハイブリダイゼーション）や同じく核酸を電気泳動後にゲルからメンブレンにブロットする方法（サザンあるいはノザンブロッティング）が用いられるが，細菌の検出・同定を目的とする場合などには，コロニーをアガープレートからメンブレンにブロットする方法（コロニーハイブリダイゼーション）も使われている。また，細胞・組織などにおける病原の存在や分布状況を検出するためには，病植物の細胞・組織を細胞・組織化学に準じた処方で処理して標本とする方法（インサイチュハイブリダイゼーション）が利用される。

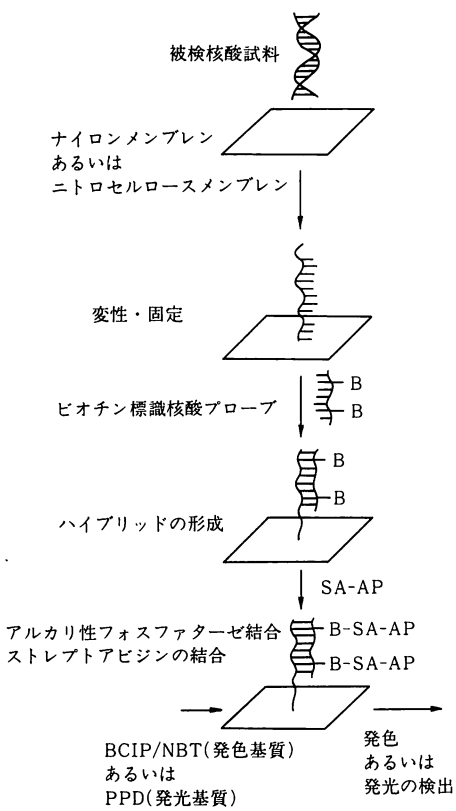


図-1　ビオチン標識核酸プローブによる診断法の原理
B：ビオチン，SA-AP：アルカリ性フォスファターゼ結合ストレプトアビジン

プローブに用いる核酸としては，いずれも病原由来の精製 2 本鎖 DNA または 2 本鎖 RNA，DNA クローンまたは cDNA クローン，あるいはこれらのクローンから *in vitro* で調製した cRNA（アンチセンス RNA）などが用いられる。また，病原の核酸の塩基配列の一部と相補的な配列を有する合成オリゴヌクレオチドも用いられる。なお，最近では PCR 法によって増幅した DNA クローンも，プローブとして利用されている。いずれのプローブ核酸もハイブリダイゼーションの際には，熱変性させて 1 本鎖核酸として使用する。

核酸の非放射性標識法には各種の方法があるが（表-1)，最も一般的な方法は，基本的に，抗原性のある低分子物質を核酸の塩基部分に結合・標識する方法と，検出用酵素を直接核酸の塩基部分に結合・標識する方法である。前者の方法で調製された標識核酸は，検出反応に先立って，検出用酵素を結合させた抗体をさらに結合させる必要があり，後者ではその必要がないが，一般に，検出感度は前者のほうが高い。前者の方法のための低分子標識物質として，現在よく用いられているのは，ビオチン，ジゴキシゲニンなどである。ビオチンによる核酸の標識法には，光化学反応を利用して，フォトビオチンのビオチン基を核酸塩基に結合させる方法(Mcnnes et al., 1990)と，biotin-11-dUTP や biotin-14-dATP などのビ

表-1　主な非放射性核酸標識法とその検出法

標　識　法	検　出　法
ビオチン化ヌクレオチドの取り込み（ニックトランスレーション法・ランダムプライミング法）	アルカリ性フォスファターゼ結合(ストレプト)アビジンの結合→ BCIP/NBT による発色あるいは PPD による発光
フォトビオチンの光照射によるビオチン基の塩基部位への結合	同上
ジゴキシゲニン化ヌクレオチドの取り込み（ランダムプライミング法）	アルカリ性フォスファターゼ結合抗ジゴキシゲニン抗体の結合→ BCIP/NBT による発色あるいは PPD による発光
スルホン基のシトシン部位への導入	抗スルホン基一次抗体及びアルカリ性フォスファターゼ結合二次抗体の結合→ BCIP/NBT による発色
ペルオキシダーゼあるいはアルカリ性フォスファターゼのグルタールアルデヒドによる塩基部位への架橋結合	ルミノールによる発光(ペルオキシダーゼ) BCIP/NBT による発色(アルカリ性フォスファターゼ)

オチン化ヌクレオチドを，ニックトランスレーション法あるいはランダムプライミング法によって核酸に取り込ませる方法(KLEVAN et al., 1990)とがある。こうして調製されたビオチン標識核酸プローブには，ハイブリダイゼーション後に，検出用酵素を結合した抗ビオチン抗体あるいはアビジン（またはストレプトアビジン）を結合させる。アビジンはビオチンと特異的に結合する糖タンパク質である。ジゴキシゲニン標識の場合には，digoxigenin-dUTP などジゴキシゲニン化ヌクレオチドを，ランダムプライミング法によって核酸に取り込ませる。ジゴキシゲニン標識核酸プローブには，ハイブリダイゼーション後に，検出用酵素を結合した抗ジゴキシゲニン抗体を結合させる。一方，検出用酵素を直接核酸に結合・標識する方法では，グルタールアルデヒドなどによって，酵素を核酸の塩基部分と架橋結合させる。

以上いずれの方法においても，検出用酵素としては，アルカリ性フォスファターゼあるいはペルオキシダーゼが利用されている。植物の診断のためには，内在性酵素による非特異反応を避けるため，植物に本来存在しないアルカリ性フォスファターゼを用いたほうがよい。

最後の検出は，結局，診断対象の核酸とハイブリッドを形成した標識核酸（核酸プローブ）に結合している検出用酵素の活性を検知することになる。この検出法として一般的な方法には，検出用酵素の基質として，発色基質を用い発色反応によって活性を検出する方法(発色法)と，発光基質を用い化学発光反応によって活性を検出する方法(発光法)とがある。前者の発色反応は，従来 DIBA 法などで用いられている方法（日比，1984）と全く同一である。後者は，最近，化学発光反応を安定・増強させる試薬が開発されたことによって，実用化された手法である。発色法の場合，アルカリ性フォスファターゼ用には 5-bromo-4-chloro-3-indolylphosphate（BCIP）と nitroblue tetrazolium（NBT）の混合液，ペルオキシダーゼ用には過酸化水素水と 4-chloro-1-naphthol (4 CN) の混合液などを，基質としてそれぞれ用い，酵素反応の結果生じる沈着色素による青紫色のシグナルを得る。発光法の場合は，アルカリ性フォスファターゼ用には 4-methoxy-4-(3-phosphatephenyl) spiro [1, 2-dioxetane-3, 2'-adamantane] (PPD)，ペルオキシダーゼ用にはルミノールなどを，それぞれ基質として用い，酵素反応の結果生じる化学発光を X 線フィルムに感光させてシグナルを検出する。なお，インサイチュハイブリダイゼーションの検出法として，ハイブリダイゼーション後，ビオチン標識核酸プローブに FITC 結合アビジンを結合させ，蛍光顕微鏡によってハイブリッドの蛍光を観察するという方法もある。

II　非放射性核酸プローブによる診断の技法

非放射性核酸プローブによる具体的な診断技法について，ここでは最も簡便な方法の一つとして，光化学反応で標識したビオチン標識核酸プローブを用い，ドットハイブリダイゼーションで，アルカリ性フォスファターゼによる発色によって検出する方法を，例として述べる。この操作のためのフォトビオチン標識キット及び検出キットが，Bresatec 社や BRL 社などから市販されているので，それらを用いると便利である。

1　核酸プローブの調製

① 暗所で，フォトビオチン酢酸塩を 1 μg/μl になるように滅菌蒸留水に溶かし，使用時まで−20°Cで暗所保存する。

② プローブとする核酸（DNA，RNA）を 0.1 mM EDTA で 1 μg/μl の濃度に調製する。

③ 暗所で，5 μl ずつ等量のフォトビオチン溶液と核酸溶液とをエッペンドルフチューブ（1.5 ml）にとり，混合する。

④ このチューブを氷中に垂直に立て，あらかじめ 15 分以上点灯して安定させた水銀ランプ（岩崎電気 BHRF 100 V 500 WH など）の下約 10 cm の位置に置き，約 20 分間ふたを開けたままの状態で静置して，光照射による標識反応を行う。

⑤ 反応後の液に 100 mM Tris-HCl/1 mM EDTA (pH 9.0) を加え，全量を 100 μl にする。

⑥ この液に 100 μl の 2-ブタノールを加え，よくかくはんした後，10,000 rpm で 1 分間遠心する。上層のブタノールを捨てる。

⑦ ⑥の操作を再度繰り返し，下層（水層）を 30〜40 μl に濃縮する。

⑧ 5 μl の 3 M 酢酸ナトリウムと 100 μl のエタノールを加え，−20°Cで一晩あるいは−80°Cで 1 時間静置する。

⑨ 15,000 rpm，10 分の遠心を行う。上清を捨て，ペレットを 70%冷エタノールで軽くリンスした後，真空下で乾燥させる。

⑩ ペレットに蒸留水あるいは 0.1 mM EDTA を加え，核酸濃度が 0.1〜0.5 μg/μl になるように溶解する。こうして調製した核酸プローブは−20°Cで，少なくとも 1 年間は安定な状態で保存できる。

なお，ニックトランスレーション法あるいはランダムプライミング法によって，ビオチンあるいはジゴキシゲニンで標識した核酸プローブを調製する場合も，それぞ

れの市販のキット (BRL 社製, BMY 社製など) を用い, プロトコールに従って各操作を行えば, フォトビオチンの場合とほぼ同等の検出感度をもった標識核酸プローブを得ることができる。

2 被検核酸試料の調製

診断対象とする材料の種類や診断・同定の目的によって, 被検核酸試料の調製法はそれぞれ異なるが, ここでは, ウイロイド感染葉からの核酸試料の調製法を例として示す。

① 感染葉 0.2 g に 2 m*l* の抽出用緩衝液 (0.5 M NaCl, 0.1 M Tris-HCl pH 8.5, 0.5% SDS, 0.25% DIECA) を加え磨砕する。

② 磨砕液に, 2 m*l* ずつのクロロホルムと水飽和フェノールを加え, 激しく振とうして核酸を抽出する。

③ 8,000 g で 10 分間遠心し, 上清の水層を集める。

④ この上清に, 2 倍容のエタノールを加え, −80°C で 1 時間静置して核酸を沈殿させる。

⑤ 10,000 g で 10 分間遠心する。上清を捨て, ペレットを真空下で乾燥させる。

⑥ ペレットに 20 μl の蒸留水を加えて懸濁する。この懸濁液を被検核酸試料とする。

3 ドットハイブリダイゼーション

① DNA 試料の場合：試料 2 μl を 95°C で 5 分間加熱した後, 氷中で急冷する。これに氷冷した等量の 20 X SSC を加えた後, 氷冷した 10 X SSC で段階希釈し, その各 1 μl ずつを, ナイロンメンブレン (Amersham Hybond-N, NEN Gene Screen Plus など) にスポットする。

RNA 試料の場合：試料 2 μl に, 6 μl の変性液 (65% formamide, 8% formaldehyde, 1×MOPS buffer, pH 7.0) を加え, 65°C で 5 分間加熱した後, 氷中で急冷する。これに氷冷した 8 μl の 20 X SSC を加えた後, 氷冷した 10 X SSC で段階希釈し, その各 1 μl ずつを, ナイロンメンブレンあるいはニトロセルロースメンブレン (S & S BA 85 など) にスポットする。なお, いずれの場合も, メンブレンは, あらかじめ 10 X SSC に 5 分間浸した後, 風乾させたものを用いる。

② DNA 試料の場合：①の操作後, メンブレンを風乾し, 次いで, 変性液 (1.5 M NaCl, 0.5 M NaOH) に 5 分間, 中和液 (1.5 M NaCl, 0.5 M Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.2) に 1 分間, メンブレンを浸す。室温で風乾した後, 試料面を下にして UV トランスイルミネーター上に数分間置いて UV を照射し, 核酸をメンブレン上に固定する。

RNA 試料の場合：①の操作後, メンブレンを風乾し, ただちに, ナイロンメンブレンの場合には, 上記と同様に UV を照射して, ニトロセルロースメンブレンの場合には, 真空オーブンで 80°C, 2 時間減圧加熱して, 核酸をメンブレン上に固定する。

③ メンブレンを耐熱ポリバッグに入れ, 0.2 m*l*/cm² メンブレンの液量のプレハイブリダイゼーション溶液 (50%formamide, 5×SSC, 50 mM Na-phosphate pH 6.5, 5 mM EDTA, 0.2% SDS, 0.2 mg/m*l* Ficoll 400, 0.2 mg/m*l* polyvinylpyrolidone, 0.2 mg/m*l* BSA, 0.25 mg/m*l* 熱変性サケ精子 DNA) を加えた後, 気泡を除いてポリシーラーでシールし, 42°C で 3〜6 時間, ゆっくり振とうしながらプレハイブリダイゼーションを行う (通常 3 時間で十分だが, 6 時間行うと発色の際のバックグラウンドが低く抑えられる)。

④ ビオチン標識核酸プローブ溶液を 95°C で 5 分間加熱し, 氷中で急冷させた後, 約 0.1 μg/m*l* の濃度になるようにハイブリダイゼーション溶液 (4 容のプレハイブリダイゼーション溶液に 1 容の 0.5 g/m*l* Na-硫酸デキストラン溶液を加えたもの) に加える。ポリバッグのプレハイブリダイゼーション溶液を捨て, この核酸プローブを含むハイブリダイゼーション溶液と交換し, 再びシールした後, 42°C で一晩, ゆっくり振とうしながらハイブリダイゼーションを行う。

⑤ メンブレンを取り出し, 200 m*l* の 2×SSC/0.1% SDS 溶液中で室温で振とうしながら, 5 分ずつ 3 回の洗浄を繰り返す。次いで, 200 m*l* の 0.1×SSC/0.1% SDS 溶液中で 55°C, 15 分ずつ 3 回の洗浄を繰り返す。洗浄を終えたメンブレンは, 乾燥させないようにポリバッグに入れて保存する。

なお, ここではハイブリダイゼーション及び洗浄のための標準的条件を示したが, 実際の最適条件は, 用いる核酸プローブの種類(DNA, RNA), 鎖長及び GC 含量, 形成させるハイブリッドの種類 (DNA/DNA, DNA/RNA, RNA/RNA)及びミスマッチングの率などによって異なるので, 反応温度, 反応溶液のイオン強度あるいはホルムアミド濃度などを変えることによって, 調整する必要がある。詳しくは文献 (小林ら, 1990) を参照されたい。

4 発色反応

① 洗浄後のメンブレンをポリバッグに入れ, ブロックエース (大日本製薬製) 原液を加えてシールした後, 65°C で 1 時間, ゆっくり振とうしてブロッキングを行う。

② アルカリ性フォスファターゼ結合ストレプトアビジン (BRL 社製) の 1 mg/m*l* 保存液を, 1 μg/m*l* の濃度になるように buffer 1 (0.1 M Tris-HCl pH 7.5, 1 M

NaCl，2 mM $MgCl_2$，0.05% TritonX-100）で希釈する。ポリバッグからブロックエース液を捨て，この反応液を加えて，室温で10分間，ゆっくり振とうしながら反応させる。

③　メンブレンを取り出し，200 m*l* の buffer 1 中で室温で振とうしながら，15分間ずつ3回洗浄する。

④　次いで，200 m*l* の buffer　2（0.1 M　Tris-HCl pH 9.5，1 M NaCl，2 mM $MgCl_2$）中で室温で振とうしながら，10分間ずつ2回洗浄する。

⑤　NBT と BCIP の各保存液を，使用直前にそれぞれ 0.33 mg/m*l* と 0.17 mg/m*l* の濃度になるように，buffer 3（0.1 M Tris-HCl pH 9.5，0.1 M NaCl，5 mM $MgCl_2$）に加え，混合する。メンブレンを新しいポリバッグに入れ，この発色液を加えて暗所に静置する。通常，5-10分後には発色反応が認められ始めるが，さらに約3時間反応させる。

⑥　メンブレンを取り出して，buffer 4（0.1 M Tris-HCl pH 7.5，1 mM EDTA）ですすぎ，反応を停止させる。メンブレンは，buffer 4 とともにポリバッグ内にシールするか，あるいは風乾して保存する。結果の写真撮影は，メンブレンが濡れた状態で行う。

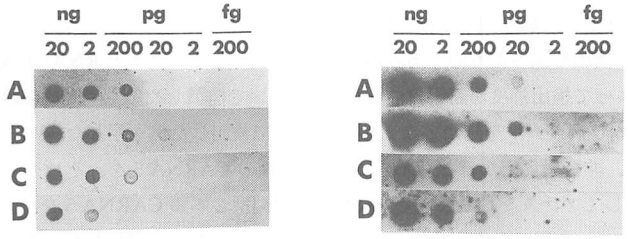
なお，発光反応による検出法では，上記①でブロックエースの代わりに 3%BSA（65°C，20分間熱処理済み）を含むブロッキング液を用いる点などを除いて，④までの操作は発色反応と基本的に同様である。⑤以降，メンブレンの上に発光基質 PPD と反応の安定・増強剤を含む検出液を均等にかけ，室温・暗黒下で3時間ほど静置して化学発光反応が定常状態に達したときに，オートラジオグラフィに準じた方法で，X 線フィルム（Kodak XAR film など）に15分間程度感光させて，シグナルを検出する。この方法のための検出キットも BRL 社や BMY 社などから市販されている。

III　非放射性核酸プローブによる病害診断の現状

植物病害の診断や病原の同定に，非放射性核酸プローブを用いた例について，以下，病原別にご紹介する。

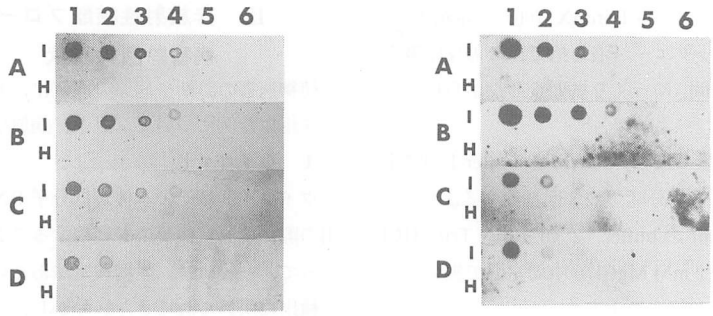
1　ウイロイド

ウイロイドはその本体が低分子 RNA であるため，検出の際に抗原抗体反応を利用することができない。したがって，一般には，生物検定法あるいは電気泳動法がその検出に用いられてきた。しかし，生物検定法は感度は高いものの，最低でも2週間ほどの日数がかかる。また，草本検定植物のみつかっていないウイロイドには適さない。一方，電気泳動法では1～2日で検定ができるが，最小 10 ng オーダーのウイロイドを必要とする。そこで，より検出感度の高い，核酸プローブによるウイロイドの検出法を開発するため，従来から，精力的な研究が行われてきた。このうち放射性核酸プローブを用いた例については，他の文献（高橋，1986）を参照いただきたい。非放射性核酸プローブを用いた例としては，フォトビオチン標識 cDNA プローブによる avocado sunblotch viroid，coconut cadang-cadang viroid，キクわい化ウイロイド及び potato spindle tuber viroid（PSTV）の検出（Forster et al.，1985；McInnes et al.，1989），cDNA より調製したビオチン標識 RNA プローブによる PSTV の検出（Roy et al.，1989）などの報告がある。また，最近，同じく cDNA より調製したビオチン標識 RNA プローブを用いて，インサイチュハイブリダイゼーションを行った後，lissamine-rhodamine 結合ストレプトアビジンを結合させ，その結果得られるプローブの蛍光シグナルを共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡で観察し，最終的にコンピュータ画像解析を行うことによって，PSTV が細胞の核小体内に局在していることを示した報告もなされている（Harders et al.，1989）。



図－2　4種の非放射性 cDNA プローブによる精製 PSTV の検出

左：発色法，右：発光法　A：フォトビオチン標識プローブ，B：ニックトランスレーションによるビオチン標識プローブ，C：ランダムプライミングによるビオチン標識プローブ，D：ランダムプライミングによるジゴキシゲニン標識プローブ

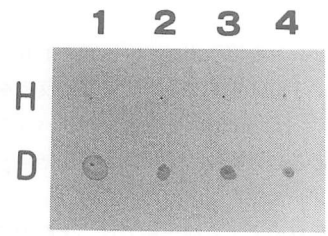


図－3　4種の非放射性 cDNA プローブによる感染トマト葉からの PSTV の検出
左：発色法，右：発光法　I：感染葉，H：健全葉　A～D：図-2 と同一　希釈段階　1：1/2，2：1/10，3：1/50，4：1/250，5：1/1250，6：1/6250

図-2 に，非放射性核酸プローブを用い，ドットハイブリダイゼーションと発色法あるいは発光法によって，精製 PSTV を検出した例を示す（兼松ら，1990）。これは，フォトビオチン法，ニックトランスレーション法，ランダムプライミング法の各法によって調製した 3 種のビオチン標識 cDNA プローブ及びランダムプライミング法で調製したジゴキシゲニン標識 cDNA プローブについて，それらの検出感度を比較した実験の結果である。プローブに用いた PSTV-cDNA は，ベクタープラスミドより切り出したモノマーである。発色法では，3 種のビオチン標識 cDNA プローブによる PSTV の検出限界はいずれも 20 pg，ジゴキシゲニン標識 cDNA プローブによるそれは 200 pg であった。また，発光法では，最小 2～20 pg の PSTV を検出することができた。ちなみに，従来の報告によれば，放射性核酸プローブを用いた場合のウイロイドの検出限界は 2～20 pg であるので，これらの非放射性核酸プローブは検出感度のうえで遜色がない。図-3 は，PSTV 感染トマト葉から II-2 で記した方法で粗抽出した核酸試料について，図-2 の実験と同じ 4 種の核酸プローブを用いて，PSTV の検出を試みたものである（兼松ら，1990）。プローブによって検出感度が若干異なるが，最大 250～1,250 倍希釈までシグナルを認めることができる。健全トマト葉では，非特異反応がほとんど認められない（プローブ核酸としてプラスミド由来の余分な配列を含まない cDNA モノマーを用いた点，ブロッキング剤としてフォスファターゼの混在の恐れがないブロックエースあるいは熱処理した BSA を用いた点などが，非特異反応が低く抑えられた原因と考えられる）。

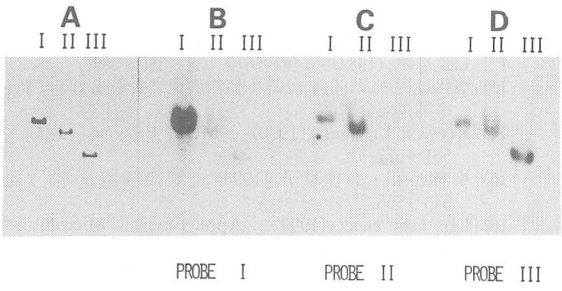
2　ウイルス

植物ウイルスでは，cowpea mosaic virus (Al-Hakim et al., 1986)，オオムギ黄化萎縮ウイルス（Habili et al., 1987），papaya mosaic virus（Roy et al., 1988；Eweida et al., 1989），ジャガイモ S ウイルス（Eweida et al., 1989），ニンジン潜状ウイルス（Natsuaki et al., 1990）などで，いずれもビオチン標識した cDNA プローブあるいは 2 本鎖 RNA プローブによる検出・診断の例が報告されている。

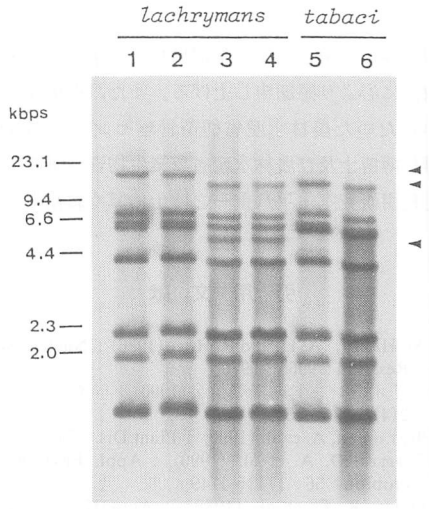


図－4　フォトビオチン標識 2 本鎖 CARNA 5 をプローブとした CMV 感染タバコ葉からの CARNA 5 の検出
H：健全葉，D：感染葉　生葉重/スポット；1：8 mg，2：800 μg，3：80 μg，4：8 μg

図-4 に，キュウリモザイクウイルス（CMV）感染葉に含まれるサテライト RNA（CARNA 5）を，フォトビオチンで標識した複製型 2 本鎖 CARNA 5 をプローブとして検出した例を示した（Wang et al., 1990）。図-5 は，3 種の CARNA 5 を，それぞれに対応するビオチン標識複製型 2 本鎖 CARNA 5 をプローブとして，ノザンブロッティングで識別したものである（Wang et al., 1990）。3 種の CARNA 5 は，互いに電気泳動度が異なるとともに，形成されたハイブリッドのシグナル強度に差があることから，塩基配列の相同性にも違いがあると考えられる。



図－5　フォトビオチン標識2本鎖CARNA 5をプローブとした3種CARNA 5のノザンブロッティング
A：3種2本鎖CARNA 5の電気泳動像（銀染色）　B～D：それぞれ，2本鎖CARNA 5-I，-II，-IIIをプローブとしたノザンブロット像



図－6　フォトビオチン標識pUC 18をプローブとしたキュウリ斑点細菌病菌DNA及びタバコ野火病菌DNAのRFLP解析（矢野ら，1990）
1～4：キュウリ斑点細菌病菌4系統のDNAのHind III断片　5～6：タバコ野火病菌2系統のDNAのHind III断片　矢印：種あるいは系統に特異的なDNA断片

3　細菌・MLO・糸状菌

植物病原細菌では，*Erwinia* 属細菌（露無ら，1987），カンキツかいよう病菌（Hartung et al., 1989），トマト斑葉細菌病菌（Cuppels et al., 1990），コロナチンプラスミドを導入したクワ縮葉細菌病菌（佐藤ら，1990）などで，それらの検出や同定に非放射性DNAプローブが利用されている。

図-6は，キュウリ斑点細菌病菌とタバコ野火病菌とを，フォトビオチンで標識したプラスミドpUC 18自体をプローブとし，ゲノムDNAのRFLP解析を行うことによって，識別した例である（矢野ら，1990）。この例やカンキツかいよう病菌のRFLP解析例（Hartung et al., 1989）にみられるように，適切な非放射性RFLPプローブを用いることによって，従来の細菌学的方法や血清学的方法では相互の識別に繁雑な試験を必要とする種や系統などを，簡便・迅速に識別することができる。

植物MLOでは，アスターイエロースMLO，elm yellows MLO（Davis et al., 1988），tomato big bud MLO（Davis et al., 1988；Lee et al., 1990），chrysanthemum yellows MLO（Bertaccini et al., 1990）などで，病害の診断やMLO相互の類縁関係解析のために，ビオチン標識DNAプローブが利用されている。植物MLOは培養が不可能で，また精製も困難なので，MLO感染植物の師部細胞に特異的なDNAクローンをプローブとして用いるこの方法は，MLOの診断・同定法として優れた方法である。

植物病原糸状菌では，まだ応用例が少ないが，*Phytophthora parasitica* の同定に，スルホン化DNAプローブを用いた例が報告されている（Goodwin et al., 1989）。

以上にみられるように，非放射性核酸プローブによる植物病害の診断法や病原の同定法は，技術として，既に十分実用化の段階に達しているといえよう。

おわりに

以上，非放射性核酸プローブによる植物病害の遺伝子診断法について，その技法の実際と診断・同定への応用の現状を簡略にご紹介した。現在では，遺伝子操作技術が，市販の便利な各種試薬キットや詳細なプロトコールなどを利用することによって，植物病理学の分野においても日常的な技術となったことに加えて，放射性同位元素標識に代わる高感度の非放射性標識法が開発されたことから，非放射性核酸プローブは，今後，診断・同定はもとより，植物病理関係の各分野の研究に幅広く利用されていくことになろう。

遺伝子診断法には，現在，ここに記した核酸プローブを用いるハイブリダイゼーション法のほかに，PCRによる方法がある。その詳細については本号に紹介があるのでご参照いただきたいが，PCR法では，理論的には試料中に存在するたった1分子の核酸でも，これを増幅し検出できるほど検出感度が高いが，定量性は乏しい。一方，非放射性核酸プローブを用いる方法は，PCR法に比べて感度的には劣るものの，定量性があり，RFLP解析など各種ハイブリダイゼーション技法と組み合わせて幅広く応用できる，などの特徴がある。今後は，診断・同定の目的によって両技法を適宜使い分けていく必要があろう。

最後に，本稿をまとめるに当たって，研究のご指導・ご助言を賜った東京大学農学部植物病理学研究室・土崎常男教授に心より感謝申し上げる。また，貴重な図をご提供いただいた農林水産省種苗管理センター調査研究課・矢野 博博士及び農林水産省農業生物資源研究所微生物機能利用研究室・平八重一之博士に厚くお礼申し上げる。

引 用 文 献

1) Al-Hakim, A. H. and R. Hull (1986) : Nucleic Acids Res. 14 : 9965～9976.
2) バイオトレンド編集委員会(1990)：バイオトレンド 2(4)：136～151.
3) Bertaccini, A. et al. (1990) : Plant Dis. 74 : 40～43.
4) Cuppels, D. A. et al. (1990) : Appl. Environ. Microbiol. 56 : 1743～1749.
5) Davis, R. E. et al. (1988) : Acta Hortic. 234 : 115～122.
6) Eweida, M. et al. (1989) : J. Virol. Methods 26 : 35～44.
7) Forster, A. C. et al. (1985) : Nucleic Acids Res. 13 : 745～761.
8) Goodwin, P. H. et al. (1989) : Phytopathology 79 : 716～721.
9) Habili, N. et al. (1987) : J. Virol. Methods 16 : 225～237.
10) Harders, J. et al. (1989) : EMBO J. 8 : 3941～3949.
11) Hartung, J. S. and E. L. Civerolo (1989) : Phytopathology 79 : 793～799.
12) 日比忠明 (1984) : 植物防疫 38 : 380～384.
13) 兼松誠司ら (1990) : 日本植物病理学会平成2年度夏季関東部会講演.
14) Klevan, L. et al. (1990) : Meth. Enzymol. 184 : 561～577.
15) 小林裕和・小林京子 (1990) : 植物細胞工学 2 : 543～555.
16) Lee, I-M. et al. (1990) : Appl. Environ. Microbiol. 56 : 1471～1475.
17) McInnes, J. L. et al. (1989) : J. Virol. Methods 23 : 299～312.
18) Mcinnes, J. L. et al. (1990) : Meth. Enzymol. 184 : 588～600
19) Natsuaki, T. et al. (1990) : Amm. Phytopath. soc. Japan 56 : 354～358
20) Roy, B. P. et al. (1988) : Phytopathology 78 : 1425～1429.
21) ――― et al. (1989) : J. Virol. Methods 23 : 149～156.
22) 佐藤 守・酒井富久美 (1990) : 日本植物病理学会平成2年度夏季関東部会講演.
23) 高橋豊三 (1988) : DNA プローブ，シーエムシー，東京，pp 407.
24) ――― (1990) : DNA プローブII，シーエムシー，東京，pp 397.
25) 高橋 壮 (1986) : 植物防疫 40 : 531～539.
26) 露無慎二ら (1987) : 日植病報 53 : 120～121.
27) Wang, W. Q. et al. (1990) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 56 : 33～38.
28) 矢野 博ら (1990) : 日本植物病理学会平成2年度夏季関東部会講演.

新 刊 紹 介

「ダニのはなし」生態から防除まで I, II

江原昭三 編

定価 I, II 各1,545円（税込）

B6判 I 228ページ, II 222ページ

技報堂（1990年9月）

私達の生活にダニがいかに密接にかかわっているかを，本書は30人のダニ学に従事する第一線の研究者によって，ダニの専門外の一般読者にも十分理解でき，興味がもたれるよう平易に執筆されており，編者，執筆者のユニークさとご苦心がうかがえる。

ダニは種類が多く，現在，地球上から4万種を超えることが知られており，また，日本からはこれまでに約1,700種のダニが確認されているが，著しく小さい動物であるために，まだ未発見や未研究のダニが極めて多いそうである。

本書の内容は，大別して土に住むダニ，住まいのダニ，恐しいツツガムシ病を媒介するツツガムシ，家畜につくマダニ，ミツバチにつくダニ，農業上重要な植物のダニ，ダニを食べるダニ（天敵）などからなっており，これらダニの姿や細かいしぐさ，生態及び防除法が新しい知見もいれて書かれている。テレビ，新聞，雑誌などで，最近の建築ブームを反映して住居内のタタミやジュウタンに発生するダニ類，あるいはダニとアレルギーとの関係などがたびたび報じられていることから，一般にダニへの関心は以前より高まっていると考えられる。しかし，ダニというと，ただ不快，不潔なものと頭から信じこんでいる人も多いと思われるが，本書を一読して，ダニの生活様式の多種多様性や人間にとって，自然界にとって有益なダニもたくさんいることを理解できよう。

編者は，“読者がダニという身近な小さな生きものの生きざまに多少なりとも興味をもっていただくことができるならば，この本の誕生の目的は達せられたことになる”と述べているが，まさしくその通りといえる。

現在，日本にはダニ類研究会（編者が会長）があり，発足して17年経過，会員数は約170名であるが，ダニ類の分類，生態及び防除に関する研究は万全とはいえない現状である。本書を通して，ダニ類に対し関心をもち，かつ，この分野に今後進まれる研究者が一人でも多く出ることを期待したい。

（井上晃一）

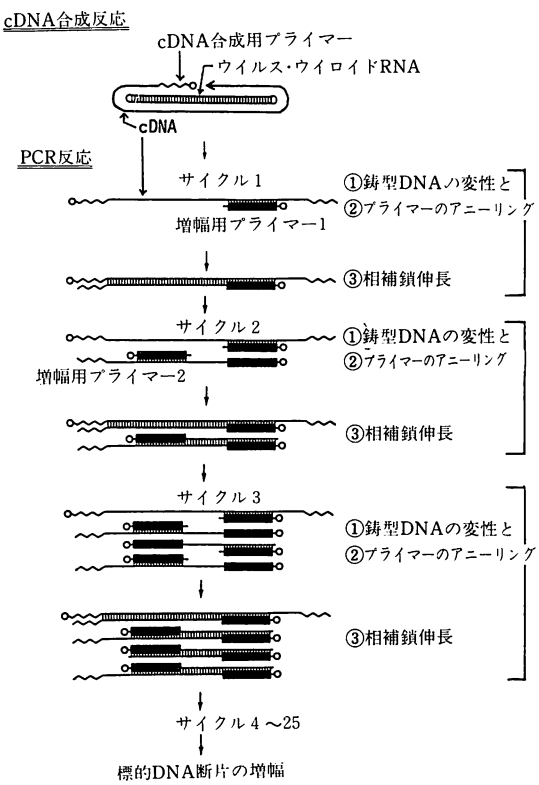
PCRによる植物病害の遺伝子診断法

北海道大学農学部植物ウイルス病学・菌学講座　佐野輝男（さの てるお）

I 原　理

Polymerase Chain Reaction (PCR)は，DNAポリメラーゼ反応により，互いに逆の方向性を持ち，数百塩基を隔てて向かい合った二つのDNAプライマー(通常20塩基程度)にはさまれたDNA領域を増幅する技術である。DNA合成反応を繰り返し連続して行うことにより，微量のDNA断片を検出可能なレベルにまで増幅するので，chain reaction(連鎖反応)の名前がある。一種のDNAクローニング技術で，従来の大腸菌プラスミド等を用いるクローニング法に比べ，完全に *in vitro* の系(試験管内)で目的とするDNA断片だけを，数時間のうちに数十万倍に増幅，分離できるという利点を持っている。原理的にはMullis and Faloona(1987)により開発され，大腸菌DNAポリメラーゼIのクレノー断片を用いた系で，ヒトβグロビンDNA等の増幅に利用され，その有用性が示されたが(Saiki et al., 1985)，DNA合成反応を繰り返すたびごとに，90°C以上の高熱でDNAの熱変性を行うため，反応液に大腸菌DNAポリメラーゼを追加する必要があり，実用的な方法とはいえなかった。しかし，その後，耐熱性細菌 *Thermus aquaticus* より分離した耐熱性のDNAポリメラーゼ(Taqポリメラーゼと呼び，95°Cでも失活しない)の利用と，反応の完全自動化装置の開発により，実用的なDNA増幅法として急速に普及した(Saiki et al., 1988)。

PCRの原理の模式図を図-1に示した。標的となる2本鎖DNAの熱変性(図1-①：94°C，1分間)，互いに向かい合った一対のDNAプライマーと変性した1本鎖DNAとのアニーリング(図-1-②：55°C，2分間)，DNAポリメラーゼによる相補鎖伸長(図-1-③：72°C，3分間)の3段階を基本サイクルとし，1サイクルごとに標的DNA断片は2倍に増幅される。したがって，このサイクルを20回繰り返すことで標的DNA断片は2^{20}倍(約百万倍)に増幅されることになる。通常は25～35回程度が有効な増幅回数とされており，それ以上サイクル数を増やしてもDNAポリメラーゼの熱による活性低下等の原因により回数に見合う増幅は得られない。また20回の増幅で理論的には約100万倍に増幅されるはずであるが，実際にはDNAプライマーと鋳型DNAとのアニーリング効率(図-1-②の段階)やDNA合成効率(図-1-③の段階)等が関係して100％の効率は得られない。とはいえ，仮に十万～数十万倍程度の増幅であっても，現在のDNA検出法(ポリアクリルアミドやアガロースゲル電気泳動など)の検出感度からすれば十分すぎる量であり，増幅後，PCR反応液の一部を直接ゲル電気泳動等で分析することにより，容易に目的のDNA断片の有無を知ることができる。例えば，アガロースゲル電気泳動でDNA断片を検出する場合，検出限度を10 ng程度とすると，25回の増幅で10万倍に増幅されれば，もともと10 ng÷10^5



図－1　PCRの原理の模式図

ウイルス・ウイロイドRNAから合成したcDNAを，互いに向かい合う方向性を持つ増幅用プライマー1と2で増幅する。PCR反応は，①鋳型DNAの変性(94°C，1分間)，②プライマーのアニーリング(55°C，2分間)，③相補鎖伸長(72°C，3分間)の3段階を1サイクルとし，これを繰り返して標的DNA断片を増幅する。

Gene Diagnosis of Plant Diseases with PCR.　By Teruo Sano

$=10^{-4}$ ng$=0.1$ pg(ピコグラム)の標的 DNA 断片があれば検出できることになる。これはラジオアイソトープに匹敵する検出感度である。

II 植物ウイルス・ウイロイド病診断の実施例

筆者らは，このようにラジオアイソトープ等を用いずに，高感度で特異性の高い検出が可能な PCR を植物病害の新しい診断法として利用することを目的として，数種植物ウイルス・ウイロイド病で検討を行っている。その実施例を示しながら，本法の持つ利点，欠点及び今後の問題点等を示したい。

ホップわい化ウイロイド(HSV)の診断手順を表-1 に示した。多くの植物ウイルス及びウイロイドは RNA 型の遺伝子を持つため，PCR で増幅する前に，まず逆転写反応により cDNA を合成しなければならない。逆転写反応(Reverse Transcription)と PCR を組み合わせるので“RT-PCR”とか，cDNA を PCR で増幅するので cDNA-PCR などと略すこともある。HSV 感染キュウリから抽出した核酸試料を HSV の一部と相補的な合成 DNA プライマー(図-2，プライマー 5)と混ぜ，逆転写反応液に入れ 37～42℃で 1 時間 cDNA 合成を行う。合成 DNA プライマーのかわりにランダムプライマーを用いてもよい。この反応液の一部(5 μl 程度で十分)を直接 PCR 反応液(45 μl程度)の中に入れ，25～35 回程度の PCR を行う。PCR 反応液は，cDNA 合成にも用いたプライマー 5 と，それと約 210 塩基を隔てて逆向きの方向性を持つプライマー 6 (各 DNA プライマーの位置と方向性は図-2 を参照)，及び，Taq ポリメラーゼ，基質(dGTP, dATP, dCTP, dTTP)を含んでいる。逆転写反応液と PCR 反応液の組成は似ているため，逆転写反応液の一部を直接 PCR 反応液に入れても，PCR の反応阻害は起きない。最後に，PCR 反応後，反応液の一部(1/10 量の 5 μl 程度で十分)を取り，直接アガロースゲル電気泳動等を行い，期待される DNA 断片の有無を観察する。図-2 に示したように，HSV で用いたプライマーからは，約 210 塩基の DNA 断片が増幅されるはずである。図-3 に示したように，HSV 感染キュウリ抽出液から約 210 塩基の DNA 断片の増幅が確認された。さらに増幅された DNA 断片は，サザンハイブリダイゼーションで HSV の cDNA プローブと反応し，間違いなく HSV の cDNA が増幅されたことが確認された。

従来 HSV の遺伝子診断法として，われわれはラジオアイソトープ(^{32}P)標識した合成 DNA プローブによるドットブロットハイブリダイゼーション法(ドット法と略す)を用いてきた。本法もきわめて鋭敏で特異性の高い診断法であるが，検体試料をある程度精製しないと非特異的な反応が出て判定が困難な場合があった。PCR による遺伝子診断ではどうであろうか？　抽出方法の簡易化が可能かどうか検討するため，HSV 感染キュウリから粗汁液をさく汁し，順次，以下の処理を行った。①フェノール処理による粗核酸分画の抽出，②メトキシエタノール処理による多糖類の除去，③臭化セチルトリメチルアンモニウム処理によるポリフェノール類等の除去，④2 M 塩化リチウム可溶性の全 DNA 及び低分子量 RNA 分画の回収，⑤ DNase I 処理による低分子量 RNA 分画の回収，の 5 分画である。そして，各分画の試料の一部を cDNA 合成反応液に入れて反応後，PCR 遺伝子診断に供した。その結果，図-3 に示したように，最も簡単な処理である①のフェノール抽出のみの粗核酸分画からも容易に HSV の cDNA 断片が増幅され，最も精製度の高い⑤の DNase I 処理後の分画と増幅量に違いは認められなかった。ドット法による遺伝子診断では，③の臭化セチルトリメチルアンモニウム処理までやらないと非特

表-1 植物ウイルス・ウイロイドの PCR 遺伝子診断手順

(1) 反応 1　～cDNA 合成反応～

ウイルス・ウイロイド RNA 溶液 (1～10μg 程度) 数μl
cDNA 合成用プライマー
　あるいはランダムプライマー(20 pmo$l/\mu l$) ……1μl
各 5 mM (dGTP, dATP, dTTP, dCTP)混液　2μl
10 倍逆転写用緩衝液(0.5 M TrisHCl, pH 8.3, 0.1 M gCl_2, 0.1 M ジチオスレイトール) ……2μl
MMuLV 逆転写酵素 (BRL 社, 200 U/μl) ……1μl
滅菌蒸留水を加えて合計 20μl とする.

↓ 37～42℃ で 1 時間反応.

(2) 反応 2　～PCR 反応～

上記の cDNA 合成反応液 ……5μl
PCR 増幅用合成 DNA プライマー
　1(HSV プライマー 5；20 pmo$l/\mu l$) ……1μl
　〃 2(　〃　6；〃) ……1μl
各 1.25 mM(dGTP, dATP, dTTP, dCTP)混液
……8μl
10 倍 PCR 用緩衝液 (0.1 M Tris・HCl, pH 8.3, 0.015 M $MgCl_2$, 0.5 M KCl, 0.1%ゼラチン) 5μl
Taq DNA ポリメラーゼ(1.25 U/μl) ……1μl
滅菌蒸留水 ……29μl

↓ 'PCR'；94℃, 1 分間→ 55℃, 2 分間→ 72℃, 3 分間を 25～35 サイクル

(3) 検出　～電気泳動～

上記 PCR 反応液の一部 (5～10μl) を直接，2%アガロースゲルあるいは 5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動する.

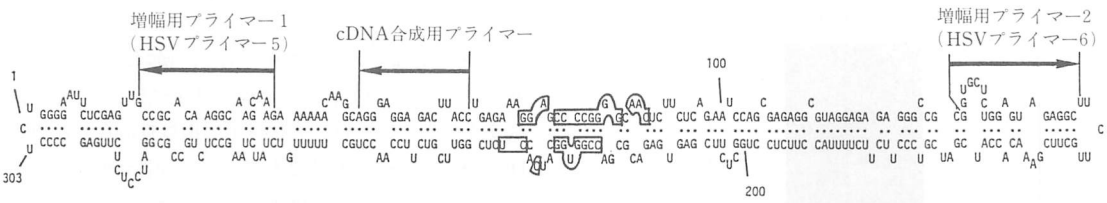


図-2　HSV 検出用プライマーの略図
増幅用プライマー1と2は，逆の方向性を持ち，互いに向かい合っている．この二つのプライマーで囲まれる約210塩基の DNA 断片が増幅される．

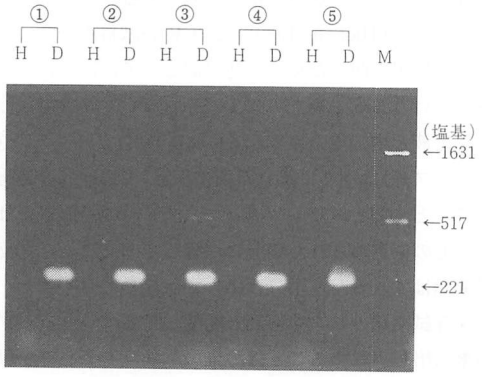


図-3　HSV の PCR 遺伝子診断の結果
PCR で増幅後，反応液(100 μl)の一部(10 μl)をアガロースゲル電気泳動で検出した．①：フェノール処理した粗核酸，②：メトキシエタノール処理後，③：臭化セチルトリメチルアンモニウム処理後，④：2 M 塩化リチウム処理後，⑤：DNase I 処理後の各試料．
H は健全キュウリ，D は HSV 罹病キュウリを示す．罹病キュウリ(D)のすべての試料(①～⑤)から，約210塩基の DNA 断片が検出された．M は分子量マーカー．

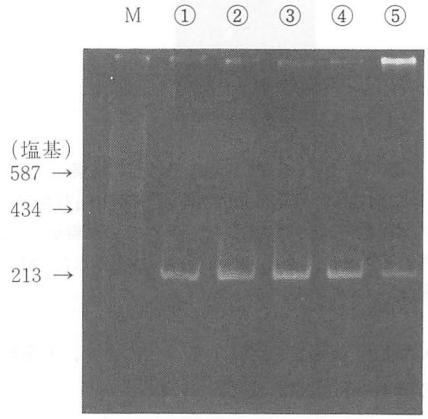


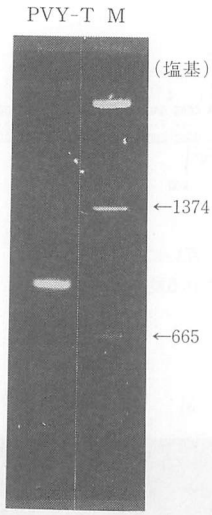
図-4　CEV の PCR 遺伝子診断の結果
PCR で増幅後，反応液(50 μl)の一部(5 μl)をポリアクリルアミドゲル電気泳動で検出した．①～⑤は図-3 の分画と同じ．CEV 罹病トマトのすべての試料(①～⑤)から，期待される約210塩基の DNA 断片が増幅された．M は分子量マーカー．

異反応が出る場合があり，検体濃度の低い試料等では，確実な診断結果を得るためには⑤の DNase I 処理まで行う必要があった。したがって，PCR 遺伝子診断では，ドット法より試料調製を簡易化することが可能である。

さらに，図-3 に示したアガロースゲル電気泳動の1レーンに泳動した検体量は，約1 mg の HSV 感染キュウリ葉から抽出した核酸量に相当することから，極微量の葉組織からの検出が可能である。PCR が元来，1本の髪の毛あるいは1個の精子の DNA から特定の遺伝子断片を増幅，検出できる方法として報告され，普及してきたことを考えると(Saiki et al., 1988)，これはむしろ当然の結果といえるかもしれない。10 分子程度の RNA 分子でも検出できるという信じられないような報告もある(Kawasaki and Wang, 1989)。

図-4 は，カンキツエクソコーティスウイロイド(CEV)感染トマトを用いて行った同様の試験の結果である。最後の電気泳動はポリアクリルアミドゲルで行っている。HSV 感染キュウリの場合と同様，最も簡単な①のフェノール抽出のみの粗核酸分画から容易に CEV の cDNA 断片が増幅，検出された。

また図-5 は，ジャガイモ Y ウイルス(PVY)に応用した結果である。PVY のゲノム RNA を抽出し，外被タンパク質遺伝子(約800塩基)に相当する cDNA 断片を PCR で増幅，検出した。PVY の外被タンパク質遺伝子の両末端に位置し，逆の方向性を持ち，向かい合った1組の PVY 特異的合成 DNA を PCR 用プライマーとする以外は，HSV の場合とほぼ同じ方法でうまくいった。図-5 の PVY は T 系統であるが，同じプライマーで O 系統の外被タンパク質遺伝子の cDNA も増幅，検出できた。そして，増幅した DNA 断片を制限酵素で切断し，得られ



図－5　PVY の PCR 遺伝子診断の結果
PCR で増幅後，反応液(100 μl)の一部(10 μl)をアガロースゲル電気泳動で検出した．PVY-T の試料からは，期待される約 800 塩基の DNA 断片が検出された．M は分子量マーカー．

た DNA 断片の長さを比較することにより，T 系統と O 系統の識別も可能であった。

III　今後の課題と展望

本法は以上の例で示したように，短時間のうちに目的とする DNA 断片のみを大量に増幅できる非常に簡便な方法であるが，これを診断法として利用する場合には，まだ解決しなければならないいくつかの課題と問題点がある。

PCR は，前述のように一種の試験管内クローニング法であり，その特徴は検体試料中に存在する微量な DNA 断片を数十万倍に増幅して検出するという点にある。ところが，ウイルスやウイロイドのような伝染性病原体により引き起こされる病害では，試料により標的 DNA(この場合は逆転写反応で合成された cDNA)の濃度が一定でないことが多く，どの程度増幅すれば検出に十分であるかを決めることが難しい。つまり，何サイクルかの PCR を行って目的の DNA 断片が検出されなかった場合でも，その検体に標的 DNA(あるいは RNA)が含まれていない(陰性)といえるのか否か，そのボーダーラインの設定が難しい。25 サイクルの PCR で陰性でも，Taq ポリメラーゼを添加して，さらに 25 サイクル(合計 50 サイクル)やればプラスとなる可能性がありうるからである。これはいくらでも検出感度を上げることができ，一見，とても便利な点のように思われる。しかし，ここで注意しなければならないのは，試料や試薬，器具類の標的 DNA 断片による汚染の問題である。増幅のサイクルを増やせば増やすほど，非常に検出感度が高くなるので，試薬及び器具類を介して試料中に極微量混在した標的 DNA 断片が増幅，検出されてくる可能性が増す。特に 40～50 サイクル以上の PCR を行う場合は，試薬や検体の取り扱いに十分な注意を払う必要がある。また，一度に多数の未知検体を何回も繰り返し処理する診断の場合は，抽出の過程のピペット操作や遠心チューブのフタの開閉操作等により，陽性検体から陰性検体に汚染が広がらないよう細心の注意を払う必要がある。

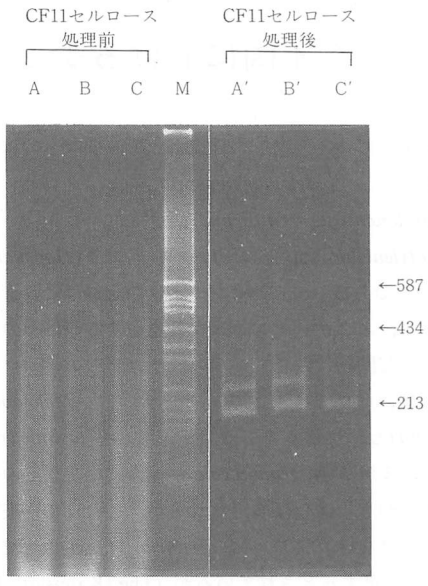
Kwok and Higuchi (1989) は，PCR の試料汚染による偽陽性の出現を防ぐための予防措置として，以下の点に留意して行うことを報告している。① PCR で増幅した後の反応液と増幅前の検体，試薬及び器具(ピペット，遠心チューブ等)は別々に離れた所に保存し，物理的な隔離を行うこと。②ピペットやチップ，チューブ等の器具は専用のものを定められた場所に保管しておくこと。③反応試薬類はできるだけ小分けにして保存しておくこと。同じ保存試薬類のフタを何回も開閉してピペットチップを頻繁に出し入れすることは汚染の危険度を高める。保存試薬を小分けにすることでこの危険性を減らすことができ，さらに，もし偽陽性と思われる反応が出た場合でも，小分けにした使用中の容器のみを廃棄すればよい。④陽性対照はできるだけ低濃度の試料を用いること。増幅された DNA 断片がバンドとして検出できる最低限の濃度でよい。いたずらに高濃度の陽性対照を用いることは汚染の危険性を高くするだけである。⑤緩衝液のみの陰性対照区をできるだけ多く設けること。⑥反応液は検体数分の各保存液を一度まとめて混合した後，検体数分に分注し，DNA 溶液は必ず一番最後に入れること。⑦試薬，器具類は必ずオートクレーブしたものを用いる。ただし，DNA プライマー，基質(dNTPs)，酵素はオートクレーブしない(ただし，これらの溶液を繰り返し使用した場合の溶液の汚染は特に注意が必要なので，上記③の項目を厳守)。⑧使い捨ての手袋等を着用し，もしも汚染の危険のあるときは，頻繁に交換すること，等々である。

PCR 遺伝子診断のもう一つの問題点，これはどのような診断法でも同じであるが，検体試料調製の方法である。先に実施例で示したように，HSV 感染キュウリや CEV 感染トマトの場合，フェノール処理のみの粗核酸分画から容易に標的 DNA 断片が増幅された。しかし，本法は cDNA 合成と PCR という 2 種の酵素反応がいかに効率良く行われるかが重要なポイントであるだけに，植物抽出液中に含まれる核酸以外の様々な不純物による反応阻

害には特に注意する必要がある。われわれの行った例で経験的にいえることは，褐変したものや粘性の高い抽出液からはうまく増幅できない例が多いという点である。このような場合は，CF 11 セルロース等で不純物を除去してやると増幅してくることが多い(図-6)。可能な限り，次の条件に合うように検体試料調製を行うことが望ましい。①長期間冷凍保存した試料は避け，できるだけ生材料から核酸抽出を行う。②検体量はできるだけ少量とする(多くても 1 g 程度)。

以上のように，診断法としての PCR にはまだまだいくつかの問題点があるとはいえ，最も重要な問題点の一つはそれが鋭敏すぎることによることを考えると，本法は従来の診断法をしのぐすぐれた検出感度の診断法である。また，本法は標的が変わっても，その標的に合った PCR 用合成 DNA プライマーのデザインさえうまく行えばよいという利点を持ち，基本的には遺伝子配列の一部が明らかになったもの(少なくとも 100 塩基以上であるほうが検出するときに都合が良い)すべてに即座に適用可能である。現在，多くの植物ウイルス，ウイロイドの遺伝子配列が次々に明らかにされつつある状況を考えると，本法の適用範囲も急速に広がりつつあるといえる。さらに，この合成 DNA プライマーが診断の特異性を決定する鍵であり，血清診断の抗血清，核酸ハイブリダイゼーションの cDNA プローブ等の診断薬に相当する。この合成 DNA の長さは 20 塩基程度，GC 含量 40～60 % が適当といわれているが，現在，簡易な DNA 自動合成装置が市販されており，20 塩基程度の DNA を化学合成することは非常に簡単になっている。これらの状況は，今後 PCR 遺伝子診断を行ううえで非常に有利で好都合な点と考えられる。

PCR は，ここ 1，2 年の間に急速に普及し，今では遺伝子の迅速クローニング，組み換え，突然変異導入，シークエンス，cDNA ライブラリーからの特定配列検出等と非常に様々の分子生物学分野で汎用されるようになった。しかし，診断への応用となると，ヒトの遺伝病やウイルス病等の診断例を除き，実施例は少なく(現在活発に応用の試みられている分野は多いと思われるが)，まだまだ特殊な技術という感が強い。今後さらに，従来から行われている診断法との詳細な比較検討を経て，本法がどこまで植物病害の診断分野に応用できるのか検討を重ねていく必要があると思われる。



図－6　CF11 セルロース処理の PCR 遺伝子診断に及ぼす影響

長期間(1 年以上)冷凍保存した CEV 罹病トマト 3 検体から，図-3 の④分画に相当する試料を調製し，PCR 遺伝子診断を行ったが，期待される DNA 断片の増幅はみられなかった(A, B, C)．これを CF 11 セルロース処理をして，再度 PCR 遺伝子診断を行ったところ，期待される約 210 塩基の DNA 断片が増幅された(A′, B′, C′)．M は分子量マーカー．

引　用　文　献

1) Kawasaki, E. S. and A. M. Wang (1989) : Detection of Gene Expression *in* PCR Technology, Ed. by Erlich, H. A., Stockton Press, New York, pp. 89～97.
2) Kwok, S. and R. Higuchi (1989) : Nature 339 : 237-238.
3) Mullis, K. B. and F. Faloona (1987) : Meth. Enzymol. 155 : 335～350.
4) Saiki, R. K. et al. (1985) : Science 230 : 1350～1354.
5) ――――et al. (1988) : ibid. 239 : 487～491.

海外ニュース

タイ国における線虫による作物の被害解析と防除

タイ国において作物加害線虫として主要なものは，ネコブセンチュウ(*Meloidogyne* spp.)，ニセフクロセンチュウ(*Rofylenchurus reniformis*)，ラセンセンチュウ(*Helicotylenchus* spp.)，ヤリセンチュウ(*Hoplolaimus* spp.)などである。シストセンチュウの記録はこれまで見当たらず，ネグサレセンチュウは生息するが，その加害はほとんど問題にされていない。ネコブセンチュウは日本と同様，サツマイモネコブセンチュウ（*Meloidogyne incognita*)とジャワネコブセンチュウ(*M. javanica*)が主要種で，ほかに *M. graminicola* が稲作圃場及びその後作のダイズからしばしば検出されるが，これによる被害は明らかではない。なお，*M. arenaria, M. exigua* 及び *M. naasi* も生息するとされているが (The Kasetsart Journal 12(1), 1978. p. 68～70.)，筆者はこの 3 種の生息をまだ確認していない。

筆者は過去 3 年間，タイ農業局植物病理微生物部において，線虫による作物の被害防止に関する研究をタイの研究者と共同で行ってきた。以下，現在タイで最も問題視されている線虫，すなわち，サツマイモネコブセンチュウとジャワネコブセンチュウによる作物被害と，その防除法に関する研究の一端を紹介してみたい。

1　ネコブセンチュウによる作物の被害解析

サツマイモネコブセンチュウ及びジャワネコブセンチュウは野菜類，繊維作物，果樹類など多くの作物を加害するが，ここでは，ポット(1/5,000a)で栽培したマングビーンとケナフに両種線虫のいずれかを接種し，これら作物の生育と収量に及ぼす影響を調べた。最初にネコブセンチュウを接種したマングビーンと無接種のそれの収量を比較した試験の結果をみてみよう。マングビーンにジャワネコブセンチュウ 2 期幼虫を個体数をかえてそれぞれ接種し，接種個体数別にマングビーンの被害発現の程度を調べた(表-1)。その結果，本線虫 2 期幼虫を 1,000 個体以上接種すると，100 個体以下の接種と比べ，明らかに減収することがわかった。

ネコブセンチュウによる被害を数量的に把握するためのもう一つの例として，サツマイモネコブセンチュウを接種したケナフの生育と収量，さらに茎ぐされ症(Stem rot)との関連を調べた試験の結果を表-2 に示した。これをみると，ネコブセンチュウ接種区では収量（茎葉重)，葉面積とも無接種区のそれらに比べ著しく劣っている。さらにネコブセンチュウが，タイ東北部でケナフ減収要因として問題視されている茎ぐされ症を誘発する一因である可能性を示唆しており，きわめて興味深い。

表-1　*M. javanica* を接種したマングビーンの収量

接種線虫数	草　丈 (cm)	莢実重 (g)	子実重 (g)
0	49.9±6.0 a	9.7±3.9 a	7.6±2.8 a
100	52.5±8.4 a	6.5±2.5 ab	5.1±2.0 ab
1,000	51.1±7.8 a	5.1±2.0 b	4.0±1.6 b
10,000	51.8±8.9 a	4.6±2.0 b	3.6±1.2 b

数値は 5 個体の平均．英字は *Duncan* の多重比較による有意差を示す．

表-2　*M. incognita* を接種したケナフの収量

	接種区	無接種区	t 検定
茎葉重(g)	151.6±27.8	297.1±31.8	**
葉面積(cm^2)	97.6± 4.0	107.6± 4.9	*
茎ぐされ罹病率(%)	37.5	0	

数値は 8 個体の平均.

2　ネコブセンチュウの防除

タイ国においても農薬の人畜及び環境に及ぼす影響は問題視され始めており，病虫害の総合防除に関する研究が行われている。ここでは，筆者らが行っている対抗植物の輪作によるマングビーンのネコブセンチュウ防除試験について述べてみたい。マングビーンはジャワネコブセンチュウの加害を受け易く，ポット栽培のものにこの線虫を接種すると，枯死する個体もみられる。マングビーンを連作すると，線虫害はより大きくなるが，後作にマリーゴールド，ギニアグラス，トウモロコシなどネコブセンチュウの寄生しにくい植物または作物を栽培すると，土壌中の線虫密度は著しく低下し，この後に播種したマングビーンの生育は良好であった。実用面から考えると，マングビーンとトウモロコシの輪作が最も有望といえよう。　　（在タイ TARC 研究員　**樋田幸夫**）

Damage Caused by Nematodes Atlacking Food Crops and its Control Measures in Thailand.　By Yukio TOIDA

植物防疫基礎講座

ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方（6）

カボチャ萎ちょう性病害の見分け方

茨城県園芸試験場　下長根鴻
京都府立大学農学部植物病理学研究室　宮田善雄

I　カボチャ立枯病

カボチャ立枯病は，南アフリカにおいて1932年に初めて報告され，病原菌は *Fusarium javanicum* Koord v. *th-obromae*(App. and Strk.)Wr.とされた(Doidge and Kresfelder. 1932)。1941年にSnyder and Hansenは本菌が特にウリ科作物に対して病原性の強いことから，*F. solani* App. and Wr. f. *cucurbitae* Snyder and Hans.とした。その後，Toussoun and Snyderは1961年に，ペポカボチャなどの果実のみに病原性を有する *F. solani* f. *cucurbitae* を分離し，従来までの病原菌と区別するために，raceをもうけ，カボチャの苗と果実に病原性を持つ菌をrace 1，果実のみに病原性をもつ菌をrace 2とした。現在までの本病の分布は，アメリカ，カナダ，イタリア，オランダ，南アフリカ，オーストラリアなどである．わが国では，1978年に初めて沖縄県のニガウリ栽培圃場で本病が確認され，次いで，1987年には岡山県及び茨城県において発生が認められた。

1　病徴

本病は苗床及び本圃で発生する。苗床では初め幼苗の生育が悪く，子葉は生気がなくなり黄化してくる。このような苗を引き抜いてみると，株元は褐変してくびれ，表面はコルク化している。地際部の茎に黄白色の縦縞状の病斑が現れることもある。病斑が進展すると，やがて株全体が萎ちょう枯死する。疫病の場合には，幼苗期に発病すると，地際部分が水浸状になってくびれ，萎ちょう枯死するので区別がつく。

本圃では定植約1か月ころから発病が認められ，初め株元の葉が黄化してしおれる。このような株の地際部は褐変し，多湿条件では病斑上に灰白色の菌叢がみられる場合もある。茎基部組織がコルク化して根は腐って脱落することが多く，その上部から新しい根が伸びている場合もある。疫病の場合には，伸長した茎に発病すると，黒褐色に変色して軟腐し，地際部の茎に発生すると黄褐色水浸状に軟化してくびれるのが特徴である。立枯病は収穫期になると病徴は顕著になり，ほとんどの株は腐敗して枯死する。本病は *Fusarium oxysporum* 菌による導管病とは異なり，維管束のみならず柔組織まで侵されるのが特徴である。

果実では，初め土壌に接している部分に赤褐色の斑点が形成され，その後，病斑は拡大して中心は赤褐色～黄褐色となり，その外側は赤橙色で，さらに，その外側は白色の輪紋状の病斑となり，ワックス層を残して腐敗する(粕山，1990)。果実内に侵入した菌糸は容易に種子腔に達して種子伝染の原因となる。

本菌はカボチャのほか，スイカ，キュウリ，ユウガオ，ヒョウタン，マクワウリ，プリンスメロン，ヘチマなどのウリ科作物に立枯症状を呈するが，アレチウリ及びウリ科以外の植物には発病は認められない（下長根ら，1989)。

2　病原菌の生態

本菌は子嚢菌類の一種である。完全時代は *Nectria haematococca* であるが，ヘテロタリックであることから自然状態で子嚢殻を形成することはまれである。病斑上には不完全時代である *F. solani* の小型分生子と大型分生子を形成する。小型分生子は長い分生子梗上に擬頭状に形成され，無色でだ円形または卵形で単胞，まれに一隔膜のものもある。大きさは9～16×2～4μmである。分生子梗に隔膜のあることが *F. solani* 菌の特徴である。大型分生子の大きさは20～68×3～6μm，隔膜数は3～6であるが，多くは4隔膜である（金城ら，1989;下長根ら，1988)。

3　病原菌の分離法及び特徴

現在までのところ本菌に対する選択培地はない。*Fusarium* 属菌の検出に用いられる駒田培地は，オックスゴールと $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ の量が多いと本菌の生育が悪く，それぞれ半量にすると生育が良好となり，さらに，メタラキシルを添加すると検出率が高まった報告(粕山，1990）がある。ジャガイモ煎汁寒天培地上での本菌の生育は比較的早く，斜面培地へ移植した後約1週間ほどで培地一面に綿毛状に生育する。菌叢の色は最初，灰白色

Diagnosis of Pumpkin Wilting Disease: Root Rot and Phytophthora Rot.　By Ko Shimonagane and Yoshio Miyata

であるが，菌株によっては後に淡褐色，暗褐色，青緑色あるいは紫色などを呈するものがある。また，褐色～暗褐色の色素を生産したり，菌核状の菌体を形成するものがある。本菌の生育温度は10～30℃で，5℃以下及び35℃以上では生育しない。生育適温は25～28℃である。

（下長根　鴻）

引用文献

1) Doidge, E. M. and L. J. Kresfelder(1932): Farming in S. Africa 7: 299～300.
2) 粕山新二（1989）：平成元年度日植協育技研シンポジウム資料 45～59.
3) ――――ら(1990): 平成2年度日植病学会講演要旨予稿集: 107.
4) ――――ら(1990): 同上: 108.
5) 金城衣恵ら(1987): 日植病報 53: 86.
6) 大戸謙二ら(1989): 植物防疫 43: 625～628.
7) 下長根 鴻ら(1989): 関東東山病虫研報 36: 54～56.
8) Snyder, W. C. and H. N. Hansen (1941): Ame. J. Botany 38: 738～742.
9) Toussoun, T. A. and W. C. Snyder(1961)Phytopathology 51: 17～22.

II　カボチャ疫病

キュウリ(宮田ら，1990)，メロン(宮田・手塚，1990)に続き，ウリ類の疫病シリーズの最後はカボチャである。病原菌はほとんどの場合，*Phytophthora capsici* であると考えてよいが，ただし，分類的にやや問題を残している(後述)。本菌はカボチャと同様にスイカも侵す。かつて，和歌山で，大規模開発されたスイカ圃場で激しい被害が出たことがある。スプリンクラーによるかん水が急激な伝播まん延を助長した大きな要因と考えられるが，ここはそれ以前からカボチャの栽培地帯で，病原菌の供給源がすぐそばにあったことも要因として見逃せない。

1　症状と病徴

カボチャはもともと露地で地這栽培されてきた。したがって，発病は地際部はもちろん，蔓，葉，果実などあらゆる部位から発生をみた。とくに，降雨時に水たまりとなる箇所の蔓や葉，常に地面と接している果実の底面から発病する場合が多かった。先の和歌山の場合も，ビニルマルチ上の水たまりから最も激しく発生していた。しかし，近年になると，ハウス栽培が発達し，支柱を立てて釣り上げ方式で育成されるようになると，発病箇所はほとんど地際部のみとなり，地上部ではわずかに蔓の結束部分などから発病する程度になった。したがって，発見は急激な萎ちょう症状が始まってからとなり，既に手遅れとなることが多い（口絵写真参照）。

症状は栽培方式や発病箇所にほとんど関係なく，初期は水浸状の斑点からはじまり，やがて，軟化腐敗に至る。ただ茎や地際部では褐変を伴うことが多い。果実の場合，病斑の周囲に水浸状の部分を残して，薄い灰色の菌叢を形成し，さらに，表面に小麦粉を振りまいたように真っ白の部分ができる(口絵写真参照)。これは遊走子嚢の大集塊で，このように菌体により形成される病斑を特に表徴という。表徴はさび病，うどんこ病，べと病などと同様，きわめて特徴的で，病因が本菌によることをその場でほぼ判定できる。ただし，正確には，やはり顕微鏡下で遊走子嚢（口絵写真参照）を確認すべきである。

2　病原菌の分類的問題

カボチャ疫病菌 *P. capsici*（桂，1951）は，トウガラシやナス(Katsura, 1955)を侵すものと同種で，ウリ類ではカボチャのほか，前述のように，キュウリ，スイカ，ユウガオ（カンピョウ）なども侵す。なお，スイカでは *P. drechsleri*（遊走子嚢は水中においてのみ形成され，乳頭突起がない）による疫病もよく発生するので注意を要する。また，キュウリ及びスイカ疫病菌として桂(1952)は，*P. parasitica* を挙げているが，これは誤りとみなされる。

カボチャ菌株は，菌叢(V8A 平面培養で顕著)に特徴ある放射状ないしは花弁状模様（Divergent-type）がみられるが，ナスやトウガラシ菌株よりは不明りょうである(口絵写真参照)。遊走子嚢は概して長卵形で，比較的顕著な乳頭突起を有する。厚膜胞子はみられない。有性器官は同株性菌（桂，1951）と異株性菌(Kamjaipai and Ui., 1978)がある。異株性の場合，A^2型では長期培養で培地内部に単独で形成をみるが，一般に対応する異株菌との対峙培養においてのみ形成される。蔵精器は底着性で卵胞子は蔵卵器内にほぼ充満して生ずる。

これらの特徴は近縁の *P. palmivora* 及び *P. citrophthora* と共通するところが多く，よく混同される。また，実際に分類上の問題を多く残しているが，ここでは細かいことは省略して，日本産の本種2種，カボチャ菌株(CMS784)とナス菌株(SMF651)との異同を対比するのにとどめる（表-1）。

このようにカボチャの疫病菌は，一応 *P. capsici* とされているが，分類的には異種と考えてもよい相違点がある。これらを再検討するには，非常に近縁の *P. palmivora, P. citrophthora* を含めて，総合的に行う必要がありそうである。例えば，*P. palmivora* は，近年，遊走子嚢柄の切断長を中心にその他の形態的特徴を含めて4系統(MF 1～4)に類別されるようになった(Waterhouse の分類表，1978)が，さらに，Brasier and Griffin(1977)は3系統に統一し，そのうちの一つ MF3 を染色体が大

表-1 *P. capsici* カボチャ菌株とナス菌株の比較

項　目	カボチャ菌株	ナス菌株
菌　叢	白色綿毛状 花弁模様	淡白色変扁平 放射模様
遊走子嚢	長卵形	レモン形
乳頭突起	顕著	きわめて顕著
基　部	不明りょう	明りょう
基底栓	広い	狭い
遊走子嚢柄	短く切断	胞子長径程度に切断
厚膜胞子	いずれも形成されない.	
卵胞子形成	異株性 (対応交配型菌株との対峙培養により形成. A 2 型は長期培養で単独形成することがある)	同株性
蔵精器	いずれも底着性	
生育適温	28～30°C(高温性)	
病原性	有傷接種によりナス, キュウリ, トウガラシ, インゲンマメ(いずれも果実)を侵す. カボチャ株では表面菌叢がやや綿毛状を呈する。	

カボチャ菌株(宮田保存菌CMS784, ハウス栽培カボチャ, 地際部, 京都, 1978)
ナス菌株(同SMF651, 露地栽培ナス, 果実, 京都, 1965)

型であることを理由に, 新たに *P. megakarya* として別種に格上げすることを提案している。この系統的類別は *P. capsici* にもほとんどそのまま適用できる。例えば, 先のナス疫病菌はMF1に近いし, カボチャ疫病菌はMF4に近い。なお, *P. capsici* の判断の基準は, 厚膜胞子を形成しない点であり, 同様に, 近縁の *P. citrophthora* は卵胞子を形成しないことで区別されている。このように分類において「○○を形成しないこと」を区分点に挙げるのはあまり正しい方法とはいえないだろう。形成しないこととできないことの区別が難しいからである。少なくとも疫病菌は明らかな形態のみで十分に類別できると考えている。したがって, 同定に核染色を導入すること(Brasier and Griffin,1977)には大いに異論があるし, 同様に, タンパク泳動法やその他の理化学的手段で類別しようとする試みも迅速簡易同定という意味を除いて不必要であろう。ともかく,「形態は代謝の集約」である。

付記：前述（宮田ら, 1990）の Phytophthora 選択分離液(RHIRo-90)を御希望の方に 10 m*l* びん入り(100μ*l*／10m*l* 培地)で無料提供致します。なお, 分離された疫病菌(Aphanomyces も分離可)をできれば分譲いただきたく, また同時に, 発病現場及び病徴写真などをご提供下されば有難く存じます。加えて, 非常に残念で申し訳ないことですが, 筆者が別に保存していたものを除いて, 当研究室の保存菌コレクションが壊滅状態にあったことがわかりました。お手持ちの疫病菌を分譲下されば幸いです。ご一報下されば, 簡易郵送袋（滅菌済み）をお送りさせて頂きます。よろしくお願い致します。

（宮田善雖）

引用文献

1) Brasier, C. and M. L. Griffin(1977): Trans. Br. mycol. Soc. 72: 111～143.
2) Kamjaipai, and T. Ui(1978): 日植病報 44: 440～446.
3) Kaosiri, T. and G. A. Zentmyer(1980): Mycologia72: 988～1000.
4) 桂　琦一(1951): 西京大学報・農 1: 51～76.
5) ————(1952): 植物防疫 6: 322～325.
6) Katsura, K. and R. Tokura(1955): 栃内・福士還暦記念論文集: 167～172.
7) 宮田善雄ら(1990): 植物防疫 44: 285～288.
8) ————・手塚信夫(1990): 同上 44: 383～386.

次号予告

次1月号は下記原稿を掲載する予定です。

新年を迎えて　永田　徹
平成2年の病害虫の発生と防除
農林水産省農蚕園芸局植物防疫課
岐阜県におけるヒメトビウンカの多発生とその要因
曽我京次・市橋秀幸・平　正博
Phoma sp によるスイセン葉先枯病
本多範行・川久保幸雄・横山竜夫
イネミズゾウムシの防除要否判定のための簡易な調査法　山代　千加子
くん蒸剤クロルピクリン70年の歩み　小竹一雄
植物防疫基礎講座
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(7)
——スイカ萎ちょう性病害の見分け方
米山伸吾・富永時任・野村良邦
地域特産物の病害虫(6)——ニラの病害虫
石川　成寿・伊村　務

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600円　送料51円

植物防疫基礎講座

地域特産物の病害虫 (5)

オクラの病害虫

高知県農林技術研究所　古谷 眞二・高井 幹夫

はじめに

オクラは北アフリカ原産のアオイ科の植物で，若い果実（さく果）を食用にする。果実には，カロチン，ビタミンC，カリウム，カルシウムなどを含み，栄養価の高い野菜である。

生育適温は昼 28～30°C，夜 20～23°Cで，耐暑性や耐乾性は強いが，寒さには弱く，主に高知，沖縄及び鹿児島などの暖地で栽培されている（図-1）。オクラは明治のころから栽培されていたようであるが，1960 年ころまでの栽培面積はきわめて少なく，増えてきたのは 1970 年の始めころからである。そして，現在では全国で約 600 ha 栽培されている。

高知県では，1960 年ころから一部で栽培されていたが，1971 年ころから水田転作作物として増加し始め，今では，ショウガや早掘サツマイモと共に主要な露地野菜となっている。

オクラは周年栽培されており，その作型は図-2 のようである。高知県ではトンネル栽培及び露地栽培が約 8 割を占め，残りはハウスキュウリの後作（半促成栽培）やハウス促成栽培となっている。

このような作型で周年栽培されているオクラには種々の病害虫の発生が認められているが，マイナー作物であるため，研究例が少なく，また防除薬剤の登録もきわめて少ない状況で，防除上困難な点が多い。今回，不十分ながらオクラの主な病害虫について概説を試みたが，何かの参考になれば幸いである。

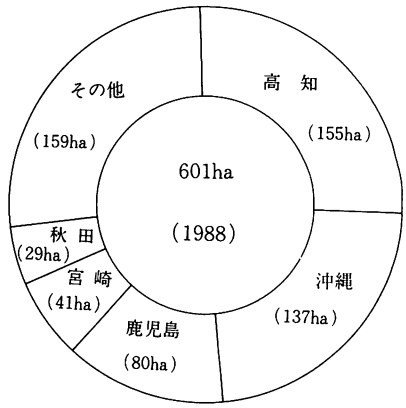
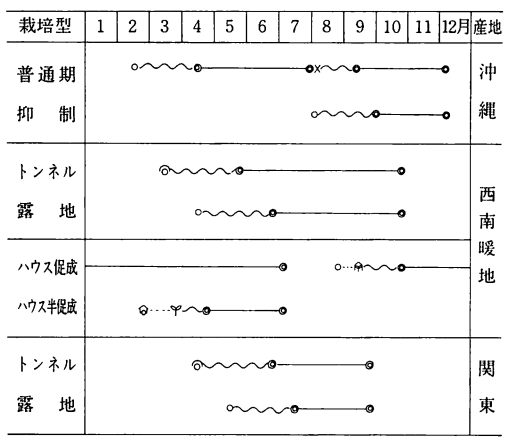


図-1　全国におけるオクラ栽培面積(昭和 63 年度野菜生産状況表式調査結果，農林水産省食品流通局野菜振興課より抜粋)



○：播種、⌒：トンネル、介：ハウス、×：切返し、◎：収穫

図-2　オクラの作型

I 病　害

1 苗立枯病

苗立枯病はオクラの主要病害の一つで，各作型で発生するが，高知県はキュウリ後の半促成栽培やトンネル栽培，沖縄県では普通期栽培など低温期に播種される作型で特に発生が多い。

病原菌としては，*Rhizoctonia solani*，*Pythium* sp. などが知られ，これらの病原菌は単独あるいは複合感染し，防除を難しくしている。

発病は，主に出芽前から本葉一枚ごろまでみられ，発芽の不ぞろいや立枯れとなる。いずれの病原菌による苗立枯病も病徴が類似し，外見で病原菌を推定することは難しく，農家段階での特定は困難であるが，出芽後地際部が水浸状に軟化腐敗するのは *Pythium* 菌，地際部の茎や主根がやや褐色に腐敗するのが *Rhizoctonia* 菌という傾向はみられる。

本病に対する特に有効な耕種的防除法は見当たらないが，圃場排水の改善，保温による発芽遅延の防止及び輪

Diseases and Pests of Okra.　By Shinji KOTANI and Mikio TAKAI

作を行うのがよいと考えられている。また，薬剤による防除については，オクラについて農薬登録はまだなされていないが，クロルピクリンなどの土壌くん蒸剤などによる土壌消毒，両菌を対象としたフルトラニル水和剤またはPCNB水和剤とキャプタン水和剤との混用が有効であるとの報告があり，早期に登録されることが望まれる。

2　黒根病

黒根病は1983年高知県でみいだされた*Thielaviopsis basicola*による土壌伝染性病害で，苗立枯病に続くオクラの重要病害となっている。現在までのところ，高知県以外の発生は認められていない。

発生は幼苗期で，苗の生育が劣り，ひどい場合は立枯れとなる。地際部の主根，側根及び細根が黒変し，進行すると側根や細根が脱落する。また，本病は前述の苗立枯病と複合感染することが多い。

本菌は内生胞子と厚膜胞子を生じ，培地上での生育適温及び内生胞子の発芽適温はいずれも25℃で，オクラ以外にササゲ，ダイズ，インゲン，ワタ，タバコなどに病原性が認められた。

薬剤防除としては，クロルピクリンによる土壌消毒が効果的であり，また，チウラム・チオファネートメチル剤の種子粉衣，土壌混和あるいは土壌かん注ならびにチウラム・ベノミル水和剤，ベノミル水和剤あるいはチオファネートメチル水和剤などの土壌かん注も効果があるとされている。

3　疫病

疫病には，生育初期にオクラの地際の茎を侵し立ち枯れを生じたり，果実を腐敗させる*Phytophthora* sp.による病害と，葉縁からオリーブ色ないし褐色の水浸状斑を生じ，のち葉腐れや葉柄が枯れる*P. nicotianae* var. *para-sitica*による病害が知られている。

また，沖縄県では普通期栽培の主に切り返し後に，主根，側根，及び細根を黒く腐敗・脱落させ，枯死または生育不良を生じさせる*Phytophthora* sp.による根腐れ症が最近報告された。

このように，オクラ*Phytophthora*菌による病害はやや混沌としたところもあるが，すべての種名が明らかにされた段階で整理されるものと思われる。

防除法に関する試験例は少ないが，根腐れ症については，エクロメゾール乳剤とPCNB水和剤の混用あるいはサトウキビとの輪作などが有効とされている。

4　半身萎ちょう病

*Verticillium dahliae*による土壌病害で，露地栽培よりもハウス栽培で多く，草丈が30 cmぐらいになってから発病する。はじめ，下葉の脈間が葉縁からしおれ，やがて太い葉脈を残して黄白色～黄褐色に変化し，激しく落葉する。発病は下葉から順次上位葉へと進み，最後には先端葉のみ残る状態となる。また，発病株の茎や葉柄の維管束が黒褐変する。症状の進み方はやや緩慢で，短期間に立枯れ状態にはならないが，生育が著しく抑制される。

病原菌の生育適温は22～25℃，ナス科，アブラナ科，ウリ科ほか，多くの作物に寄生性を持ち，菌核で土壌中に残って翌年の伝染源となる。

オクラにおける半身萎ちょう病の防除試験例はみあたらないが，ナスなどの半身萎ちょう病に準じて，イネ科作物などと輪作して連作を避けることや発病株の早期除去，クロルピクリンなどによる土壌消毒もよいと考えられる。

5　輪紋病

オクラには*Phoma okra*による斑点病と*Ascochyta abelmoschi*によるさく腐病（現在は輪紋病）が記載されていたが，これらの病害はいずれも輪紋病とし，その病原菌は*Ascochyta phaseolorum*とするのが妥当とする研究結果が報告された。問題はあるかもしれないが，ここではこの扱いに従い，斑点病とさく腐病を含めて輪紋病とした。本病は生育中期の露地オクラの主要病害で，降雨が続いたときに多発し，高知県では特に5月から6月の発病が激しい。葉のほかに果実も発病し，収量に直接影響をもたらす。

葉には輪紋のある暗褐色円形の病斑を生じ，その周縁部は明りょうで，濃褐色ないし黒色を呈する。のち，病斑の中央部は退色して表面に小黒点粒を散生する。果実では，暗緑色水浸状の斑点を生じ，表面に小黒点粒を生じる。

本菌は，オクラ以外にナス，ピーマン，トマト，キュウリ，インゲン，アズキなどにも寄生性があり，罹病組織上に形成される柄子殻で越年する。

本病に登録のある農薬はないが，マンゼブ水和剤が有効とする試験例がある。

6　葉すす病

高温，多湿条件で発病しやすく，ハウス栽培で発生が多いが，露地栽培でも発生する。病原菌は*Cercospora abelmoschi*で，葉に発生する。

はじめ葉の裏側に灰白色のかびが小さく固まって散生する。それがしだいに暗色を増し，やがて，すす状に盛り上がりいくぶん葉脈に遮られた10 mm以下程度の不正形病斑を形成する。病勢が進むと葉裏全体がすすで覆われるようになり，多湿条件では葉表にもかびを生じる。

通常，葉の表側では全般的にやや退色し，病斑部の中心付近が褐変するだけで，裏面ほどかびは生じない。病斑が古くなると，すす色からしだいに汚白色に変化することが多い。

病原菌の生育適温は 27.5℃で，オクラのほかノリアサも侵される。

耕種的防除対策としては，ハウス内の換気を十分行い高温多湿にしないことや，栽培の終わった圃場では被害葉を除去したり，ハウスの蒸込みを実施することなどが挙げられる。薬剤では，チオファネートメチル水和剤が登録されており，発病初期に散布するとよい。

7　褐斑病

病原菌は葉すす病と同属の *Cercospora malayensis* で，葉に発生する。本菌も高温多湿を好むが，褐斑病による実害例はあまりみられない。

はじめ，葉表に褐色の小斑点を生じ，しだいに黒褐色ないし褐色で，円形ないし不正形の大型病斑に拡大し，後に中央部が灰褐色となる。葉裏の病斑は葉表の病斑に比べて色が薄い。

防除方法についての試験は見当たらないが，おおむね葉すす病に準じた方法でよいと考えられる。

8　うどんこ病

病原菌には 2 種類あり，一つはウリ類のうどんこ病菌である *Sphaerotheca fuliginea*，いま一つはピーマンのうどんこ病菌の *Leveillula taurica* である。両菌ともハウス栽培で発生が多く，比較的乾燥条件でまん延しやすい。

S. fuliginea による場合は，葉面に薄く白粉を振りかけたような症状となり，*L. taurica* による場合は，葉表にいくぶん黄化した部分を生じ，その裏側に薄白い霜状のかびが粗く生じる特徴がある。

本病に対する登録農薬はないが，*L. taurica* によるうどんこ病の場合には葉すす病の防除とかねて，チオファネートメチル水和剤を散布するとよい。*S. fuliginea* によるうどんこ病に対しても登録薬剤はないが，ウリ類の防除薬剤が有効とする例がある。

9　灰色かび病・菌核病

両病害の病原菌名についての報告は見当たらないが，それぞれ，*Botrytis* 属菌，*Sclerotinia* 属菌と考えられる。主に施設栽培の無加温期に多く発生するが，トンネル栽培の生育初期にも発生する低温性の病害である。

両病害とも咲き終わった花弁が感染・発病し，その病花の付着によって，果実や茎葉が発病する。灰色かび病の場合は病斑部が淡褐色になり，そこにねずみ色のかびが生える。また，菌核病の場合は，灰色かび病の場合よりも病斑の色がやや薄く，主に茎の地際に近いところや枝の分かれめが発病し，そこから上が枯死する。

菌核病に対しては，チオファネートメチル水和剤による葉すす病との同時防除でよいが，灰色かび病に対しては使用できる農薬がなく，発病部の除去や多湿条件を避ける耕種的防除が大切となる。

II 害　　虫

1　アブラムシ類

ワタアブラムシとモモアカアブラムシが寄生するが，通常ワタアブラムシの発生が多い。ハウス栽培での発生は冬期比較的少なく，秋期と春～初夏に多い。露地栽培では 5～10 月にかけて発生が多い。葉，果実，花蕾などを吸汁加害するが，少発生の場合はほとんど実害はない。しかし，多発すると生育が阻害されるだけでなく，排せつ物にすす病が発生し，果実が汚れ商品価値を著しく損う。

オクラでの登録はないが，DDVP，MEP，ペルメトリンなどが有効であるとされている。

2　ハスモンヨトウ

本種は南方系害虫であり，休眠をしないため，露地での越冬はかなり厳しく，ビニルハウスが本種の生活環維持に重要な役割を果たしている。したがって，発生は西日本の施設栽培地帯で多い。いずれの作型でも発生するが，露地栽培で最も多い。発生経過は地域や年によって異なるが，梅雨明けから多くなり始め，9～10 月に最も多くなるのが一般的である。

産卵は主に葉裏に卵塊で行う。ふ化幼虫は集団で表皮を残して食害するため，産卵された葉は白く透けてみえる。この白斑葉が早期発見の目安となる。幼虫は葉，花蕾，果実などを食害して発育し，通常 6 齢を経て土中で蛹化する。夏期であれば約 1 か月で 1 世代を経過する。

オクラでの登録はないが，DEP，アセフェート，メソミル，シペルメトリンなどが有効であるとされている。

3　ネコブセンチュウ

オクラでは，ネコブセンチュウ（主にサツマイモネコブセンチュウ）の発生が多く，連作障害の最大の要因となっている。露地では卵で越冬し，地温が高くなり始める春先にふ化し，第 2 期幼虫が土壌中を移動して根冠部から侵入する。侵入後，維管束から養分を摂取して発育し，成熟すると卵嚢を形成し，この中に数百の卵を産む。適温下では約 1 か月間で 1 世代を経過する。

オクラの栽培は露地，施設ともに長期に及ぶ。しかも露地栽培はネコブセンチュウの活動期に当たり，施設栽培は冬期の管理温度が高い。したがって，いずれの作型においても増殖は激しく，初期密度がきわめて低い場合

でもいずれ被害が現れてくる。特に，連作圃場や畑地では注意を要する。

寄生が少ないと被害症状はほとんどみられないが，多くなるにつれて生育が緩慢になり，ついには停止する。さらにひどくなると日中萎ちょうし始め，枯死に至る。

防除は，播種前のD-D剤あるいは臭化メチルくん蒸剤での土壌消毒が有効とされている。施設の場合は1か月間以上の湛水蒸し込み処理も有効である。湛水処理だけでも土壌中密度を低下さすことは可能であるが，これだけでは不十分である。発生が認められた場合は圃場を変えるか，本種の寄生しない作物を栽培するほうが無難である。

4　ミナミキイロアザミウマ

オクラを加害するアザミウマ類としては，ミナミキイロアザミウマとヒラズハナアザミウマが知られている。ヒラズハナアザミウマの被害は果実の白ぶくれ症として現われる。ミナミキイロアザミウマの場合は，成・幼虫が萼の下や果面を加害するため，加害部が暗褐色に変色し，商品価値を著しく損う。通常，葉の食害は問題にならないが，施設果菜類の後作では生育初期に集中的に加害され，葉が萎縮し，一時生育が止まることがある。

ミナミキイロアザミウマは露地での越冬ができず，ビニルハウスなどの施設が重要な越冬場所になっている。

したがって，一般的に施設栽培地帯での発生が多い。本種は主に葉の組織内に産卵する。ふ化幼虫は葉や果実の表面を食害して発育し，2齢の後半に地上へ落下して土中で蛹化する。適温下であれば，約14日で1世代を経過する。

本種に対してはマラソン・BPMC，スルプロホス，シペルメトリンなどが有効であるとされている。本種には白色あるいは青色に誘引される性質があるので，同色の粘着トラップを圃場内に2～3か所に設置することで発生状況を把握することができる。

5　その他の害虫

生育初期にオカボノアカアブラムシ，ネキリムシ類が発生することがある。オカボノアカアブラムシはイネ科雑草の多い水田跡の栽培で発生しやすい。また生育期に時としてフタトガリコヤガやワタノメイガが多発することがある。フタトガリコヤガは6～7月と9～10月，ワタノメイガは6～7月に発生がみられる。果実を吸汁する害虫としてはカメムシ類（ミナミアオカメムシ，アオクサカメムシ，ブチヒゲカメムシ）がある。カメムシ類の発生は主に9～10月に多い。

人事消息

(10月1日付)

大門輝男氏（横浜植防業務部国内課防疫管理官）は横浜植防横須賀出張所長に

中野満夫氏（横浜植防新潟支所酒田出張所長）は横浜植防塩釜支所釜石出張所長に

遠藤寛一郎氏(横浜植防成田支所業務第一課防疫管理官)は横浜植防新潟支所酒田出張所長に

千葉隆雄氏（横浜植防横須賀出張所長）は横浜植防成田支所業務第一課防疫管理官に

武藤眞二氏（横浜植防東京支所大井出張所）は横浜植防塩釜支所釜石出張所へ

横田範昭氏（横浜植防業務部国際第一課）は横浜植防東京支所へ

平田隆司氏（横浜植防東京支所）は横浜植防東京支所大井出張所へ

赤川敏幸氏（横浜植防業務部国際第一課）は横浜植防横須賀出張所へ

岸野秀昭氏（横浜植防業務部国際第一課）は横浜植防横須賀出張所併任解除に

古畑　徹氏（横浜植防業務部国際第一課）は植物防疫課併任に

小笠原　寛氏（横浜植防塩釜支所宮古出張所）は横浜植防塩釜支所釜石出張所併任に

清水憲治氏（神戸植防広島支所岩国出張所長）は神戸植防調整指導官に

土井一良氏（神戸植防広島支所防疫管理官）は神戸植防広島支所岩国出張所長に

内海一雄氏（神戸植防業務部国内課防除係長）は神戸植防広島支所防疫管理官に

内藤浩光氏（神戸植防業務部国際第一課）は神戸植防尼崎出張所併任に

井上政志氏（神戸植防業務部国際第一課）は神戸植防尼崎出張所併任解除に

北川昌幸氏（神戸植防業務部国内課防疫管理官）は神戸植防業務部国内課防除係長事務取扱に

谷林俊明氏（神戸植防業務部国際第三課）は退職

(10月15日付)

石川浩一氏（農研センター病害虫防除部ウイルス病防除研兼熱研センター研究第一部）は併任解除に

(10月16日付)

菅野紘男氏（北陸農試水田利用部虫害研主研）は東北農試水田利用部水田虫害研究室長に

田中幸一氏（九州農試地域基盤研究部害虫制御研）は熱研センター研究第一部併任に

新しく登録された農薬 (2.10.1～2.10.31)

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。但し，除草剤については適用雑草：使用方法を記載(…日…回は収穫何日前まで何回以内散布の略。)(登録番号 17660～17682 までの 23 件)

なお，アンダーラインのついた種類名は新規化合物で〔 〕内は試験段階時の薬剤名である。

『殺虫剤』

ピリダフェンチオン・CVMP 粉剤
ピリダフェンチオン 2.0%，CVMP 1.5%
オフナガード粉剤 DL (2.10.31)
17669 (サンケイ化学)，17670 (シェル化学)
稲：コブノメイガ：21 日 3 回，いぐさ：イグサシンムシガ：発蛾最盛期：3 回

『殺虫殺菌剤』

エトフェンプロックス・プロベナゾール粒剤
エトフェンプロックス 1.0%，プロベナゾール 8.0%
オリゼメートトレボン粒剤 L (2.10.31)
17679(三井東圧化学)，17680(明治製菓)，17681(日産化学)，17682(北興化学)
稲：いもち病・ウンカ類・イネミズゾウムシ：出穂 3～4 週間前まで：2 回

『除草剤』

ブタミホス乳剤
ブタミホス 50.0%
フレマート乳剤 (2.10.31)
17660(住友化学)，17661(北興化学)，17662(アグロス)，17663(日本農薬)，17664(サンケイ化学)
いちご(本圃)：畑地一年生雑草：定植後又はマルチ前(雑草発生前)：1 回，露地メロン・すいか・レタス・なす：畑地一年生雑草：定植前又は定植，マルチ前(雑草発生前)：1 回，キャベツ・はくさい：畑地一年生雑草：定植前(雑草発生前)：1 回，ねぎ・たまねぎ：畑地一年生雑草：定植活着後(雑草発生前)：1 回，ばれいしょ：畑地一年生雑草：植付後萌芽前(雑草発生前)：1 回，らっかせい：畑地一年生雑草：播種後発芽前(雑草発生前)：1 回，こんにゃく：畑地一年生雑草：植付後又は培土後(雑草発生前)：1 回，グラジオラス・きく(ポットマム)：畑地一年生雑草：定植後(雑草発生前)：1 回，きく(ポットマム)：アメリカネナシカズラ：定植後(雑草発生前揃期まで)：1 回

ブタミホス粒剤
ブタミホス 5.0%
クレマート粒剤 5 (2.10.31)
17665(住友化学)，17666(日本農薬)
移植水稲：水田一年生雑草：マツバイ：移植直後～移植後 6 日(ノビエ 1 葉期まで)：1 回

アトラジン・DCMU・MDBA 粉粒剤
アトラジン 2.0%，DCMV 3.0%，MDBA 1.0%
ロニー微粒剤，クサノン GT 微粒剤 (2.10.31)
17667(保土谷化学)，17668(武田薬品工業)
公園・庭園・堤とう・駐車場・道路・運動場・宅地等：一年生雑草及び多年生広葉雑草：雑草生育初期(草丈 15 cm 以下)：2 回

イマザキンアンモニウム塩液剤〔AC-214〕
イマザキンアンモニウム塩 20.0%
トーンナップ液剤 (2.10.31)
17678(日本サイアナミッド)
日本芝(こうらいしば)：ヒメクグ：春期～夏期芝生育期(雑草生育期)：2 回

『殺菌植物成長調整剤』

プロベナゾール・イナベンフィド粒剤
プロベナゾール 8.0%，イナベンフィド 5.0%
オリゼメートセリタード粒剤 5 (2.10.31)
17671(明治製菓)，17672(アグロス)
稲：いもち病防除及び下位節間短縮による倒伏軽減：出穂 40～50 日前：1 回

ピロキロン・イナベンフィド粒剤
ピロキロン 5.0%，イナベンフィド 5.0%
コラトップセリタード粒剤 5
17673(中外製薬)，17674(日本チバガイギー)，17675(三共)，17676(九州三共)，17677(アグロス)
水稲：いもち病及び下位節間短縮による倒伏軽減：出穂 40～50 日前：1 回

植 物 防 疫
平 成 2 年
12 月 号
(毎月 1 回 1 日発行)
禁 転 載

第 44 巻　平成 2 年 11 月 25 日印刷
第 12 号　平成 2 年 12 月 1 日発行
編 集 人　植物防疫編集委員会
発 行 人　岩 本 毅
印 刷 所　三 美 印 刷 (株)
東京都荒川区西日暮里5-9-8

定価600円 送料51円 (本体583円)
平成 2 年分
前金購読料 6,720円
後払購読料 7,240円
(共に〒サービス，消費税込み)

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 － 1 7 7 8 6 7 番

「植物防疫」第44巻
月別総目次

1990年（平成2年）1〜12月号

1月号

新年を迎えて……関口洋一… 1
水田用大型防除機の散布性能……深澤秀夫… 2
ムギ類褐色雪腐病菌のすみわけと防除……高松　進… 7
クリイガアグラムシの発生動態と防除
……中垣至郎・柳橋　泰…11
土壌消毒剤の新しい使用方法によるタバコ菌核病の防除法……小野邦明…15
施設栽培ブドウにおけるカンザワハダニの生態と防除上の問題点……近藤　章…19
果樹アザミウマ類の発生予察のために開発された黄色平板粘着トラップ……村岡　実…24
農薬の環境中分布の数式モデルによる予測
……金沢　純…27
平成元年の病害虫の発生と防除
……農林水産省農蚕園芸局植物防疫課…33
植物防疫基礎講座
ナス科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(1)　トマト萎ちょう性病害(1)……国安克人…41
新しく登録された農薬（元・11.1〜11.30）……47

2月号

カキノキカキカイガラムシの発生と分布拡大
……行成正昭… 1
中国雲南省におけるイネいもち病菌レースと品種抵抗性……岩野正敬… 7
農薬の微生物分解の高まりとその制御……山田忠男…12
コマツナ炭そ病の発生生態と防除……堀江博道…17
徳之島，沖永良太島及び与論島におけるウリミバエの根絶の経過と駆除確認調査……浜砂武久・永吉正昭…21
海外ニュース：バングラデシュ農業大学院計画における昆虫部門の活動……大野和朗…24
植物防疫基礎講座
ナス科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(2)　トマト萎ちょう性病害(2)
……萩原　廣・神納浄・片山克己・植松　勉…25
平成元年度に試験された病害虫防除薬剤
イネ・ムギ……藤村俊彦・吉野嶺一…30
野菜・花きなど田中　清・手塚信夫・荒木隆男…34
カンキツ……是永龍二・小泉銘冊…37
落葉果樹（リンゴ・オウトウを除く）
……井上晃一・佐久間勉…39
リンゴ・オウトウ……奥　俊夫・工藤　晟…42
茶樹……本間健平・成澤信吉…44
クワ……宮崎昌久・白田　昭…45
シバ……吉田正義・米山伸吾…46
紹介　新登録農薬 ……49
新しく登録された農薬（元 12.1〜12.31）……48

3月号

特集：アリモドキゾウムシとイモゾウムシ
アリモドキゾウムシの生物学……杉本　毅… 1
奄美群島におけるアリモドキゾウムシの発生生態と防除対策……瀬戸口脩… 5
沖縄におけるアリモドキゾウムシ及びイモゾウムシの侵入の経過と現状……小濱継雄… 9
イモゾウムシの発生生態……安田慶次…12
アリモドキゾウムシの合成性フェロモンの野外での誘引性……安田慶次・杉江　元…15
ガンマ線照射によるアリモドキゾウムシの不妊化
……岩元順二・荒巻弥弘…18
スモモにおける新しいウイロイド病“スモモ斑入果病”の発生……寺井康夫…21
リンゴにおける新しいウイロイド様病害“リンゴゆず果病”の発生……飯島章彦…24
東南アジアにおけるミナミキイロアザミウマの天敵——その発見とわが国への導入の可能性——
……広瀬義躬・梶田泰司・高木正見…27
植物防疫基礎講座
ナス科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(3)　ナス萎ちょう性病害
……萩原　廣・国安克人・伊達寛敬・片山克己…31
紹介　新登録農薬 ……35
新しく登録された農薬（2.1.1〜1.31）……20

4月号

平成2年度の植物防疫関係事業の進め方について
……関口　洋… 1
特集号：花と緑の病害虫
「花と緑」と植物防疫 ……関口　洋一… 3
花の万博と植物検疫……木村伸司・井上忠行… 5
輸入切花の害虫……伊藤久也… 9
花き種苗類の輸入と植物検疫……加藤　宏…13
鉢物の病害……木嶋利男…17
花木と庭木の病害……堀江博道…21
球根類の病害……山本孝猪…25
ランの病害……井上成信…29

問題となっている切花の害虫……吉松英明…34
鉢花の害虫……木村　裕…38
ナミイシュクセンチュウによるツツジ類の被害と防除対策……山本敏夫…43
緑化樹の害虫――ゴマダラカミキリの被害……阿久津喜作…48
紹介　新登録農薬……53
新しく登録された農薬（2.2.1～2.28）……33

5月号

特集：ムギの病害
植物防疫研究課題の概要……矢野栄二… 1
特集：ムギの病害
ムギ類病害の発生動向……高橋廣治… 4
北海道におけるコムギ眼紋病の発生の現状と当面の対策……尾崎政春… 8
オオムギ雲形病の発生生態と防除……鈴木穂積・荒井治喜…12
鳥のディストレスコールの機能と鳥害防除への利用……松岡　茂…18
キュウリ褐斑病の発生動向及び研究の現状と防除対策……挟間　渉…22
アザミウマ類のアイソザイムによる識別法……村井　保…27
性フェロモンによる果樹害虫の発生予察……田中福三郎…31
農薬の作物残留分析試料の調製をめぐって……米山伸吾・皆川保雄…37
植物防疫基礎講座
ナス科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(4)　ピーマン萎ちょう性病害…萩原　廣・神納　淨・片山克己…41
新しく登録された農薬（2.3.1～3.31）……44

6月号

特集：果樹コナカイガラムシ類
果樹に寄生するコナカイガラムシ類の見分け方……河合省三… 1
カンキツに寄生するコナカイガラムシ類の防除対策……大政義久… 6
ナシに寄生するクワコナカイガラムシの防除対策……伊澤宏毅…10
タバココナジラミの発生とその見分け方…大戸謙二…14
流水殺菌灯による養液栽培の病害防除……草刈眞一…17
アブラナ科野菜根こぶ病菌休眠胞子の活性評価法……髙橋賢司…22
シュッツコンカスミソウの病害……吉松英明…26
移動性ウンカ類の着陸地……野田隆志・桐谷圭治…31
植物防疫基礎講座
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(1)　キュウリ萎ちょう性病害の見分け方(1)……宮田善雄・手塚信夫・飯干浩美…35
新しく登録された農薬（2.4.1～4.30）……39

7月号

特集：病原菌の病原性の分化
ナス科野菜の青枯病菌の病原性の分化…尾崎克己… 1
アブラナ科野菜根こぶ病菌の病原性の分化……吉川宏昭… 5
日本産バーティシリウム病菌 *Verticilliwm dahliae* の病原性の分化……萩原　廣… 9
野菜・花きうどんこ病菌の寄生性の分化……我孫子和雄…14
カメムシ類成虫による同種成虫の誘引……沼田英治…18
カブリダニ類の合成ピレスロイド剤に対する抵抗性……望月雅俊…22
イネ疑似紋枯病とその発生生態……野中福次・相川宏史・門脇義行・磯田淳一…26
害虫管理における個体群発育モデル……矢野栄二…30
輸出果実の病害虫対策……吉澤　治…36
植物防疫基礎講座
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(2)　キュウリ萎ちょう性病害の見分け方(2)……木曽　皓・岩崎　真人…41
地域特産物の病害虫(1)　アスパラガスの病害虫……赤沼　礼一・小林荘一…45
新しく登録された農薬（2.5.1～5.31）……48

8月号

特集：施設野菜栽培における害虫管理
施設野菜栽培における害虫管理：ミナミキイロアザミウマの管理……河合　章… 1
施設野菜栽培における害虫管理：オンシツコナジラミの管理……矢野栄二… 5
施設野菜栽培における害虫管理：施設栽培イチゴのアブラムシの管理……根本　久…10
施設野菜栽培における害虫管理：ハダニの管理……井上雅央…14
施設野菜栽培における害虫管理：合成性フェロモンの利用……河名利幸・清水喜一…18
ジャガイモ疫病研究の現状と問題点……佐藤章夫…22
感染特異的タンパク質の分子生物学……大橋祐子・大島正弘…26
植物病原細菌の病原遺伝子に関する最近の研究動向……露無慎二…32
微生物の利用による害虫防除の現状と展望……国見裕久…37

植物防疫基礎講座
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(3)　メロンの萎ちょう性病害の見分け方(1)
……宮田善雄・手塚信夫…43
地域特産物の病害虫(2)　ショウガの病害虫
……千葉恒夫…47
新しく登録された農薬（2.6.1～6.30）……36

9月号

特集：薬剤抵抗性
EBI剤に対するキュウリうどんこ病菌の感受性低下
……大塚範夫・宗　和弘… 1
野菜害虫の薬剤抵抗性……浜　弘司… 4
灰色かび病菌の薬剤耐性出現機構……阿久津克己… 8
殺虫剤抵抗性対策としての協力剤――ニカメイガの場合――……宍戸　孝・昆野安彦…12
線虫の薬剤抵抗性……大林延夫…17
海外ニュース：イネ白葉枯病に関する国際稲研究所（IRRI）との共同研究　…山本　剛・小川紹文…20
日本産昆虫のウイルス病総目録……国見裕久…21
九州におけるチュウゴクアナゴコバチの放飼と定着
……村上陽三…29
静岡県におけるチャ病害虫防除の現状と問題点
……伊藤善文…33
植物防疫基礎講座
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(4)　メロン萎ちょう性病害の見分け方(2)
……牧野孝宏・和泉勝一・小林研三・吉田政博…37
地域特産物の病害虫(3)　コマツナの病害
……堀江博道…37
新しく登録された農薬（2.7.1～7.31）……45

10月号

ヒメトビウンカの休眠とその地理的変異…野田博明… 1
ダイコン苗立枯病を抑制する *Pseudomonas cepacia* の拮抗機構……本間善久… 6
九州地域におけるゴボウ病害虫の発生と防除
……挾間　渉…10
宿主特異的毒素についての最近の研究成果
……尾谷　浩・甲元啓介…14
イチジクを加害する害虫の防除と問題点
……山下賢一・藤本　清…19
海外ニュース：マレーシア・ムダ地区におけるイネ害虫対策共同研究……和田　節・伊藤清光…24
植物防疫基礎講座
イネもみ枯細菌病菌（*Pseudomonas glumae*）の迅速検出方法……松田　泉…25
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(5)　メロン萎ちょう性病害の見分け方(3)
……木曽　皓・飯干浩美…29
地域特産物の病害虫(4)　ソラマメの病害虫
……和泉勝一…32
紹介　新登録農薬　……18，23
新しく登録された農薬（2.8.1～8.31）……36

11月号

特集号：農薬の環境動態
農薬の環境動態とリスクアセスメント……後藤真康… 1
農薬の土壌中における挙動……南部健二… 3
農薬の光分解……中川昌之… 9
農薬の水系環境における動態……小林邦男…14
農薬の水生生物に及ぼす影響……瀧本善之…20
農薬の有用昆虫に対する影響―ミツバチの場合―
……松浦　誠…24
農薬の非標的生物に対する影響―微生物，特に土壌中の微生物―……佐藤　匡…27
農薬の非標的生物に対する影響―植物の薬害―
……行本峰子…32
農薬の環境動態評価モデル……吉田喜久雄…35
農薬の環境動態における理論的予測とモデル化―物理化学的性質と環境挙動―……内田又左衛門…38
農薬の環境影響の極小化のために……宮本純之…41
紹介　新登録農薬　……42
新しく登録された農薬（2.9.1～9.30）……31

12月号

特集：線虫学
線虫の分子生物学の現状……奈良部孝… 1
線虫の天敵細菌……西澤　務… 6
対抗植物による線虫防除……佐野善一…13
有機物施用と線虫被害……中園和年…17
マツノザイセンチュウ感染によるマツの枯損機構
……黒田慶子…21
ストック立枯病（新称）の発生……清水時哉…25
インゲンマメのアファノミセス根腐病の発生
……堀田治邦・谷井昭夫…27
非放射性核酸プローブによる植物病害の遺伝子診断法
……兼松誠司・夏秋知英・日比忠明…31
PCRによる植物病害の遺伝子診断法　……佐野輝男…39
海外ニュース：タイ国における線虫による作物の被害解析と防除……樋田幸夫…44
植物防疫基礎講座
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(6)　カボチャ萎ちょう性病害の見分け方
……下長根　鴻・宮田善雄…45
地域特産物の病害虫(5)　オクラの病害虫
……古谷眞二・高井幹夫…48
新しく登録された農薬（2.10.1～10.31）……52

「植物防疫」　第44巻
項目別総目次

1990年（平成2年）1～12月号

植物防疫行政

平成2年度の植物防疫関係事業の進め方について
……関口洋一… 4-149
「花と緑」と植物防疫 ……関口洋一… 4 151
花の万博と植物検疫……木村伸司・井上忠行… 4-153
花き種苗類の輸入と植物検疫……加藤　宏… 4-161
植物防疫研究課題の概要……矢野栄二… 5-203

病害虫全般

平成元年の病害虫の発生と防除
……農林水産省農蚕園芸局植物防疫課…… 1- 33

病　　理

ムギ類褐色雪腐病菌のすみわけとその要因
……高松　進… 1- 7
土壌消毒剤の新しい使用方法によるタバコ菌の防除法
……小野邦明… 1- 15
中国雲南省におけるイネいもち病菌レースと品種抵抗性……岩野正敬… 2- 57
コマツナ炭そ病の発生態と防除……堀江博道… 2- 67
スモモにおける新しいウイロイド病“スモモ斑入果病”の発生……寺井康夫… 3-127
リンゴにおける新しいウイロイド様病害“リンゴゆず果病”の発生……飯島章彦… 3-130
鉢物の病害……木嶋利男… 4-165
花木と庭木の病害……堀江博道… 4-169
球根類の病害……山本孝絎… 4-173
ランの病害……井上成信… 4-177
ムギ類病害の発生動向……高橋廣治… 5-206
北海道におけるコムギ眼紋病の発生の現状と当面の対策……尾崎政春… 5-210
オオムギ雲形病の発生生態と防除
……鈴木穂積・荒井治喜… 5-214
キュウリ褐斑病の発生動向及び研究の現状と防除対策
……挾間　渉… 5-224
流水殺菌灯による養液栽培の病害防除
……草刈眞一… 6-267
アブラナ科野菜根こぶ病菌休眠胞子の活性評価法
……高橋賢司… 6-272
シュッコンカスミソウの病害……吉松英明… 6-276
ナス科野菜の青枯病菌の病原性の分化
……尾崎克己… 7-291
アブラナ科野菜根こぶ病菌の分化……吉川宏昭… 7-295
日本産バーティシリウム病菌 *Verticillium dahliae* の病原性の分化……萩原　廣… 7-299
野菜・花きのうどんこ病菌の寄生性の分化
……我孫子　和雄… 7-304
イネ疑似紋枯病とその発生生態
…野中福次・相川宏史・門脇義行・磯田淳一… 7-316
ジャガイモ疫病研究の現状と問題点…佐藤章夫… 8-362
感染特異的タンパク質の分子生物学
……大橋祐子・大島正弘… 8-366
植物病原細菌の病原性遺伝子に関する最近の研究動向
……露無慎二… 8-372
EBI剤に対するキュウリうどんこ病菌の感受性低下
……大塚範夫・宗　和弘… 9-391
灰色かび病菌の薬剤耐性出現機構
……阿久津　克己… 9-398
ダイコン苗立枯病を抑制する *Pseudomonas cepacia* の拮抗機構……本間善久…10-442
宿主特異的毒素についての最近の研究成果
……尾谷　浩・甲元啓介…10-450
ストック立枯病（新称）の発生……清水時哉…12-543
インゲンマメのアファノミセス根腐病の発生
……堀田治邦・谷井昭夫…12-545
非放射性核酸プローブによる植物病害の遺伝子診断法
……兼松誠司・夏秋知英・日比忠明…12-549
PCRによる植物病害の遺伝子診断法　佐野輝男…12-557

昆　　虫

クリイガアブラムシの発生動態と防除
……中垣至郎・柳橋　泰… 1- 11
施設栽培ブドウにおけるカンザワハダニの生態と防除上の問題点……近藤　章… 1- 19
果樹アザミウマ類の発生予察のために開発された黄色平板粘着トラップ……村岡　実… 1- 24
カキノキカキカイガラムシの発生と分布拡大
……行成正昭… 2- 51
徳之島，沖永良部島及び与論島におけるウリミバエの根絶の経過と駆除確認調査
……浜砂武久・永吉正昭… 2- 71
アリモドキゾウムシの生物学……杉本　毅… 3-107
奄美群島におけるアリモドキゾウムシの発生生態と防除対策……瀬戸口　脩… 3-111
沖縄におけるアリモドキゾウムシ及びイモゾウムシの侵入の経過と現状……小濱継雄… 3-115

イモゾウムシの発生生態……安田慶次… 3-118
アリモドキゾウムシの合成性フェロモンの野外での誘引性……安田慶次・杉江　元… 3-121
ガンマ線照射によるアリモドキゾウムシの不妊化……岩元順二・荒巻弥弘… 3-124
東南アジアにおけるミナミキイロアザミウマの天敵—その発見とわが国への導入の可能性—……広瀬義躬・梶田泰司・高木正見… 3-133
輸入切花の害虫……伊藤久也… 4-157
問題となっている切花の害虫……吉松英明… 4-182
ナミイシュクセンチュウによるツツジ類の被害と防除対策……山本敏夫… 4-191
緑化樹の害虫——ゴマダラカミキリの被害……阿久津喜作… 4-196
アザミウマ類のアイソザイムによる識別法……村井　保… 5-229
性フェロモンによる果樹害虫の発生予察……田中福三郎… 5-233
果樹に寄生するコナカイガラムシ類の見分け方……河合省三… 6-251
カンキツに寄生するコナカイガラムシ類の防除対策……大政義久… 6-256
ナシに寄生するクワコナカイガラムシの防除対策……伊澤宏毅… 6-260
タバココナジラミの発生とその見分け方……大戸謙二… 6-264
移動性ウンカ類の着陸地…野田隆志・桐谷圭治… 6-281
カメムシ類成虫による同種成虫の誘引……沼田英治… 7-308
カブリダニ類の合成ピレスロイド剤に対する抵抗性……望月雅俊… 7-312
害虫管理における個体群発育モデル…矢野栄二… 7-320
輸出果実の病害虫対策……吉澤　治… 7-326
施設野菜栽培における害虫管理：ミナミキイロアザミウマの管理……河合　章… 8-341
施設野菜栽培における害虫管理：オンシツコナジラミの管理……矢野栄二… 8-345
施設野菜栽培における害虫管理：施設栽培イチゴのアブラムシの管理……根本　久… 8-350
施設野菜栽培における害虫管理：ハダニの管理……井上雅央… 8-354
施設野菜栽培における害虫管理：合成フェロモンの利用……河名利幸・清水喜一… 8-358
微生物の利用による害虫防除の現状と展望……国見裕久… 8-377
殺虫剤抵抗性対策としての協力剤——ニカメイガの場合——……宍戸　孝・昆野安彦… 9-402
線虫の薬剤抵抗性……大林延夫… 9-407
日本産昆虫のウイルス病総目録……国見裕久… 9-411
九州におけるチュウゴクオナガコバチの放飼と定着……村上陽三… 9-419
静岡県におけるチャ病害虫防除の現状と問題点……伊藤善文… 9-423
ヒメトビウンカの休眠とその地理的変異……野田博明…10-437
九州地域におけるゴボウ病害虫の発生と防除……挾間　渉…10-446
イチジクを加害する害虫の防除と問題点……山下賢一・藤本　清…10-455
線虫の分子生物学の現状……奈良部孝…12-519
線虫の天敵細菌……西澤　務…12-524
対抗植物による線虫防除……佐野善一…12-531
有機物施用と線虫被害……中園和年…12-535
マツノザイセンチュウ感染によるマツの枯損機構……黒田慶子…12-539

鳥　獣　類

鳥のディストレスコールの機能と鳥害防除への利用……松岡　茂… 5-220

農　　薬

水田用大型防除機の散布性能……深澤秀夫… 1-　2
農薬の環境中分布の数式モデルによる予測……金沢　純… 1- 27
農薬の微生物分解の高まりとその制御……山田忠男… 2- 62
農薬の作物残留分析試料の調整をめぐって……米山伸吾・皆川保雄… 5-239
農薬の環境動態とリスクアセスメント……後藤真康…11-475
農薬の土壌中における挙動……南部健二…11-477
農薬の光分解……中川昌之…11-483
農薬の水系環境における動態……小林邦男…11-488
農薬の水生生物に及ぼす影響……瀧本善之…11-494
農薬の有用昆虫に対する影響—ミツバチの場合——……松浦　誠…11-498
農薬の非標的生物に対する影響——微生物，特に土壌中の微生物——……佐藤　匡…11-501
農薬の非標的生物に対する影響——植物の薬害——……行本峰子…11-506
農薬の環境動態評価モデル……吉田喜久雄…11-509
農薬の環境動態における理論的予測とモデル化——物理化学的性質と環境挙動——内田又左衛門…11-512
農薬の環境影響の極小化のために……宮本純之…11-515

委　託　試　験

平成元年度に試験された病害虫防除薬剤
イネ・ムギ殺虫剤……藤村俊彦… 2- 80
殺菌剤……吉野嶺一… 2- 81
野菜・花きなど殺虫剤……田中　清… 2- 84
殺菌剤……手塚信夫… 2- 85
土壌殺菌剤……荒木隆男… 2- 86
カンキツ殺虫剤……是永龍二… 2- 87
殺菌剤……小泉銘冊… 2- 88
落葉果樹（リンゴ・オウトウを除く）
殺虫剤……井上晃一… 2- 89
殺菌剤……佐久間勉… 2- 90
リンゴ・オウトウ殺虫剤……奥　俊夫… 2- 92
殺菌剤……工藤　晟… 2- 93
茶樹殺虫剤……本間健平… 2- 94
殺菌剤……成澤信吉… 2- 95
クワ殺虫剤……宮崎昌久… 2- 95
殺菌剤……白田　昭… 2- 96
シバ殺虫剤……吉田正義… 2- 96
殺菌剤……米山伸吾… 2- 97

植物防疫基礎講座

病害の見分け方
ナス科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(1)
トマト萎ちょう性病害(1)……国安克人… 1- 41
ナス科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(2)
トマト萎ちょう性病害(2)……萩原　廣・神納　浄・片山克己・植松　勉…… 2- 75
ナス科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(3)
ナス萎ちょう性病害……萩原　廣・国安克人・伊達寛敬・片山克己…… 3-137
ナス科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(4)
ピーマン萎ちょう性病害……萩原　廣・神納　浄・片山克己…… 5-243
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(1)
キュウリ萎ちょう性病害の見分け方(1)
……宮田善雄・手塚信夫・飯干浩美… 6-285
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(2)
キュウリ萎ちょう性病害の見分け方(2)
……木曽　皓・岩崎真人… 7-331
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(3)
メロン萎ちょう性病害の見分け方(1)
……宮田善雄・手塚信夫… 8-383
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(4)
メロン萎ちょう性病害の見分け方(2)……牧野　宏・和泉勝一・小林研三・吉田政博…… 9-427
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(5)
メロン萎ちょう性病害の見分け方(3)
……木曽　皓・飯干浩美…10-465
ウリ科野菜の萎ちょう性病害の見分け方(6)
カボチャ萎ちょう性病害の見分け方
……下長根鴻・宮田善雄…12-563
試験方法の解説
イネもみ枯細菌病（*Pseudomonas glumae*）の迅速検出方法……松田　泉…10-461
病害虫全般
地域特産物の病害虫(1)アスパラガスの病害虫
……赤沼礼一・小林荘一… 7-335
地域特産物の病害虫(2)ショウガの病害虫
……千葉恒夫… 8-387
地域特産物の病害虫(3)コマツナの病害
……堀江博道… 9-431
地域特産物の病害虫(4)ソラマメの病害虫
……和泉勝一…10-468
地域特産物の病害虫(5)オクラの病害虫
……古谷眞二・高井幹夫…12-566

海外ニュース

バングラデシュ農業大学院計画における昆虫部門の活動……大野和朗… 2- 74
イネ白葉枯病に関する国際稲研究所(IRRI)との共同研究……山本　剛・小川紹文… 9-410
マレーシア・ムダ地区におけるイネ害虫対策共同研究
……和田　節・伊藤清光…10-460
タイ国における線虫による作物の被害解析と防除
……樋田幸夫…12-562

新しく登録された農薬

元年11.1～11.31 …… 1- 47
元年12.1～12.31 …… 2- 98
2年1.1～1.31 …… 3-146
2年2.1～2.28 …… 4-181
2年3.1～3.31 …… 5-246
2年4.1～4.30 …… 6-289
2年5.1～5.31 …… 7-338
2年6.1～6.30 …… 8-376
2年8.1～8.31 ……10-471
2年9.1～9.30 ……11-505
2年10.1～10.31 ……12-570

新登録農薬の紹介

紹介 新登録農薬
2-99, 3-141, 4-201, 10-454, 459, 11-516

随想その他

新年を迎えて……関口洋一… 1- 1

広範囲の作物の病害虫防除に　農作物を守る！　日曹の農薬

新発売

●広範囲の病害防除に
日曹フロンサイド®

●水稲用新種子消毒剤
トリフミン®乳剤

●べと病・疫病・細菌病の防除に
日曹アリエッティボルドー®

●芝・たばこ・花の病害防除に
日曹プレビクールN®

●落葉果樹の病害総合防除に
ルミライト®

●ハダニ・アブラムシ防除に
日曹プロカーブ®

●ハダニ・スリップス防除に
日曹ノンマイト®

好評発売中！

○果樹・野菜の病害防除に
トリフミン®

○病害防除の基幹薬剤
トップジンM®

○桃・おうとう・すももの灰星病、
野菜・豆類の菌核病・灰色かび病の防除に
日曹ロニラン®

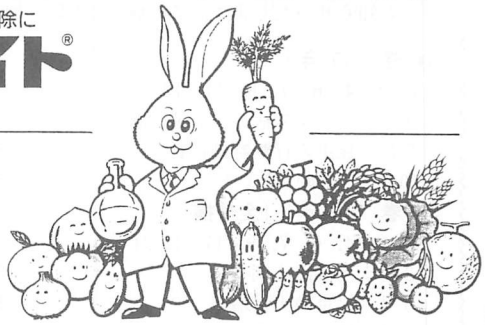
○べと病・疫病の専門薬！
日曹アリエッティ®

○きゅうりのべと病防除に、
ぶどう・りんご・なしの病害防除に
日曹アリエッティC®

○広範囲の害虫防除に
－合成ピレスロイド剤－
日曹スカウト®

○果樹・野菜のハダニ防除に
ニッソラン®

○畑作イネ科雑草の除草に
生育期処理除草剤
ナブ®



農薬は、適期・適量・安全使用

ツバキ印　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 大阪市中央区北浜2－1－11
営業所　札幌・仙台・信越・新潟・東京・名古屋・福岡・四国・高岡

“箱でたたこう！イネミズゾウムシ”

イネミズゾウムシをはじめ、イネドロオイムシ・イネヒメハモグリバエ・ウンカ、
ヨコバイ類などの水稲初期害虫の同時防除が出来ます。

〈育苗箱専用〉

オンコル®粒剤5

特長

1　浸透移行性：速やかに浸透移行し、植物全体を害虫から守ります。
2　残効性：残効期間が長いので、薬剤散布回数を減らすことが出来ます。
3　広い殺虫スペクトル：広範囲の害虫に効果を示し、一剤で同時防除が出来ます。

JAPAN OTSUKA CHEMICALS　大塚化学株式会社

大阪市中央区大手通3-2-27
農薬部／Tel.06(946)6241

雑誌「植物防疫」バックナンバーのお知らせ

月の後は特集号の題名，（ ）内は特集の題名，価格は各1部（送料・消費税込）の値段

購読者各位よりたびたびバックナンバーのお問い合わせがありますので，現在在庫しております巻号をお知らせいたします。この機会にお取り揃え下さい。

34 巻（55 年）

1，2，4，6，7，9，11，12 月	463 円
3 月：ウイルス病の抗血清診断	515 円
5 月：昆虫の行動制御物質	515 円
10 月：天敵ウイルス	515 円

35 巻（56 年）〔全号揃〕

1，2，4，6，7，9，11，12 月	463 円
3 月：土壌伝染病	515 円
5 月：昆虫の大量増殖	515 円
8 月：捕食性天敵	515 円
10 月：疫病	515 円

36 巻（57 年）〔全号揃〕

1，2，4，5，6，7，8，9，11，12 月	566 円
3 月：変色米	618 円
5 月：（遺伝子工学）	566 円
7 月：（侵入が警戒される害虫）	566 円
8 月：（侵入が警戒される病害）	566 円
10 月：物理的防除法	618 円

37 巻（58 年）〔全号揃〕

1，2，4，5，6，7，8，9，11，12 月	566 円
3 月：作物のバーティシリウム病	618 円
6 月：（リンゴ腐らん病）	566 円
7 月：（ミナミキイロアザミウマ）	566 円
8 月：（野菜類の根こぶ病）	566 円
10 月：発生予察の新技術	618 円

38 巻（59 年）

1，2，6，7，8，10，12 月	566 円
3 月：線虫	618 円
5 月：ピシウム菌による病害	618 円
6 月：（導入天敵）	566 円
8 月：（弱毒ウイルス）	566 円

39 巻（60 年）〔全号揃〕

1，2，3，4，8，9，10，12 月	566 円
5 月：植物検疫	618 円
11 月：イネ縞葉枯病	618 円

40 巻（61 年）〔全号揃〕

1，2，3，4，6，7，8，9，10，12 月	566 円
5 月：昆虫の神経制御	618 円
11 月：先端技術と病害防除	618 円

41 巻（62 年）〔全号揃〕

1，2，3，4，6，7，8，9，10，12 月	566 円
5 月：微生物の分類と保存	618 円
11 月：害虫の長距離移動	618 円

42 巻（63 年）〔全号揃〕

1，2，4，7，10，12 月	566 円
3 月：（ネズミ）	566 円
5 月：微生物による病害防除	618 円
6 月：（寄生昆虫の生物学）	566 円
8 月：（動物のモニタリング）	566 円
9 月：（害虫・線虫と病害）	566 円
11 月：害虫管理	618 円

43 巻（平成元年）〔全号揃〕

2，3，10，12 月	648 円
1 月：（植物病理学最近の進歩（ICPP シンポジウムより））	648 円
4 月：（熱帯の害虫獣）	648 円
5 月：植物ウイルス研究の進歩	669 円
6 月：（イネいもち病の多発生）	648 円
7 月：（ハダニ類）	648 円
8 月：（熱帯作物の病害(1)）	648 円
9 月：（熱帯作物の病害(2)）	648 円
11 月：新農薬の開発をめぐって	669 円

44 巻（平成 2 年）

1～12 月（年間前納）	**6,720 円**

在庫僅少のものもありますので，御希望の方は早めに郵便振替・小為替・現金など（切手でも結構です）で直接本会へお申し込み下さい。33 巻（51 年）以前のものについては出版部までお問い合わせ下さい。

上記の定価，送料については消費税導入以前の料金が印刷されておりますのでお含みおき下さい。

送料は1部につき 51 円です。2部以上は実費となります。

チョットつけるだけ。
タップリかける時代の終りです。

小沢昭一

ラウンドアップ®の特徴を活かした新しい除草法です。(少量散布技術)

これまでの除草の散布は、雑草にタップリと丹念にかける。10アール(1反歩)当り100リットルあるいは200リットルの散布水量が常識でした。

ところが、この常識をやぶり、10アール当り25リットルの水量で雑草にポツポツとチョットつくだけで雑草全体をしっかり枯らす新しい除草法が出現しました。

これは、雑草の一部につくだけで雑草の体内のすみずみにまで行き渡る特性と、同じ薬量なら濃度が高い(少ない水で希釈する)ほど効果が増すという性質を持つラウンドアップだからできる新しい除草法です。

水量が少なければ、散布がらくなだけでなく、水の運搬、薬剤の調合の回数を少なくできます。多量散布から少量散布へ。時代は、資源節減、省力化に向っています。ぜひ、試して、効果と労力の差を実感してください。

●薬量が250mℓと少なく経済的。

通常の散布方法で10アール当り500mℓの薬量が必要な場面でも、250mℓで同じ効果を出すことができ経済的です。

●散布水量が25ℓ(今までの$\frac{1}{8}$〜$\frac{1}{4}$)と少なく省力的。

除草剤の散布は薬剤によって10アール当り100ℓあるいは200ℓの散布水量が必要でしたが、専用ノズルを取り替えるだけでわずか25ℓで済み散布、準備、水の運搬、薬剤の調合が楽になり省力的です。

●ノズルは、ラウンドノズル25を必ず使用。

少水量散布専用ノズルを必ずご使用ください。このノズルは、

- 従来の散布歩行スピード、散布要領を変えることなく10アールに25ℓの水量を散布できます。
- 散布した所が白く見え重複やかけ残しがなく確実です。
- 飛散が極めて少ないので大切な作物にも安心です。

ラウンドアップ®は、安全性が高いので取扱いが容易です。

- 大切な作物の根からは、吸収されません。
- 土の活力を守ります。
- アミノ酸系の除草剤です。 人畜毒性/普通物 | 魚毒性/A類

しっかり枯らす。長〜く抑える。

ラウンドアップ® 除草剤

®米国モンサント社登録商標

●ラウンドアップを詳しく説明したパンフレットを差しあげております。右記の住所までお申し込みください。

ラウンドアップ普及会
クミアイ化学工業㈱・三共㈱

事務局 日本モンサント株式会社 アグロサイエンス事業部
〒100 東京都千代田区丸の内3-1-1国際ビル Tel.(03)287-1251

紋枯病に効きめが長く、使いやすい

モンカット®粒剤

特長

1 粒剤なので手軽で省力的です。
2 残効性が長く、散布回数が軽減できます。
3 天候に左右されず、余裕をもって使えます。
4 ドリフトがなく、安全性の高い薬剤です。

●使用量：10アール当り4kg ●使用適期：出穂20日前中心に使用

姉妹品＝
いもち・紋枯病の同時防除に フジワン®モンカット®粒剤
ウンカ・ヨコバイと紋枯病の同時防除に アプロード®モンカット®粒剤

㊟：「モンカット」は日本農薬㈱の登録商標

日本農薬株式会社
〒103 東京都中央区日本橋1-2-5 栄太楼ビル

Hoechst High Chem
ヘキスト ハイ・ケム――――化学の新しい道

総合化学品メーカーとして世界で活躍するヘキストは、農業場面においても、今日、そして明日へと、つねに経験豊富な技術力で、時代の要請にお応えいたします。

除草剤、選ぶなら。
バスタ®液剤

除草剤：フローレ®
殺菌剤：アフガン®・水和硫黄 コーサン
殺虫剤：マリックス

ヘキストジャパン株式会社
農薬本部
〒107 東京都港区赤坂4-10-33 ヘキストビル6F
☎03(584)7521(代)

"殺虫剤の概念を変えた
注目の脱皮阻害剤"

●1ヵ月以上の長い効き目。他の殺虫剤に抵抗性の害虫にも効く。人畜・有益昆虫に安全。薬害の心配がない。殆どの薬剤と混用出来る。(ボルドーにも混ぜられます。)

今、話題の
メロンのミナミキイロアザミウマにも適用拡大
デミリン®水和剤

●ウキクサ・アオミドロ・表層ハクリの防除に最適の専用剤です。初期・中期・一発剤との混合散布は大好評!!
モゲトン®粒剤

●花・タバコ・桑の土壌消毒剤。刺激臭がなく安心して使えます。
®バスアミド微粒剤

●各種ハダニの卵・幼虫・成虫に有効でボルドー液にも混用できるシャープな効きめのダニ剤。
バイデン乳剤

●ボルドー液の幅広い効果に安全性がプラスされた果樹・野菜の殺菌剤。
キノンドー®水和剤 80・40

●晩柑類のへた落ち防止剤。速効的に効く、りんご・梨の落果防止剤。
マデック乳剤

●ヨモギ・ギシギシ・スギナには特によく効きます。粒剤タイプで果樹園、空地、駐車地、墓地等に最適です。
カソロン粒剤 6.7 4.5

アグロ・カネショウ株式会社
東京都千代田区丸の内3－1－1 国際ビル4階

力（チカラ）のウルフ

頑固な雑草に必殺一発パンチ！

大好評!!

東北向中心の 水田一発処理除草の決め手
力（ちから）と技（わざ）の ウルフエース粒剤25
も新登場！

話題の低コスト除草
水田一発処理除草剤

水田除草 新時代

農協・経済連・全農

自然に学び 自然を守る
クミアイ化学工業株式会社

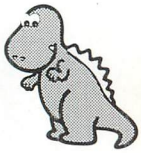
新登場

箱で余裕、イネミズ防除。

水稲初期害虫を同時防除

★高い浸透移行作用により、イネミズゾウムシ成虫・幼虫を強力に防除します。
★残効が長いので薬剤の使用回数を減らすことができるので経済的です。
★初期害虫であるイネドロオイムシ、ツマグロヨコバイを同時に防除できます。
★箱施用なので省力的です。薬害が出にくいので田植3日前から直前まで使用できます。

作物名	適用害虫名	10アール当り使用量	使用時期	本剤及びカルボスルファンを含む農薬の総使用回数	使用方法
水稲（箱育苗）	イネミズゾウムシ イネドロオイムシ ツマグロヨコバイ	育苗箱（30×60×3cm）使用土壌 約5ℓ 1箱当り 50～70g	移植前3日～移植当日	1回	本剤の所定量を育苗箱の苗の上から均一に散布する



ガゼット® 粒剤

カルボスルファン…3.0%

®は米国FMC社の登録商標です。

日産化学 FMC 原体供給元 FMCコーポレーション