

植物防疫

平成六年三月二十五日
昭和二十四年九月一日
印刷
第三行
刷
種
（每
月一
回）
郵
便
物
認
可
第
四
十
八
卷
第
四
号

1994

4

VOL 48



畑のチャンピオン、 ガゼットくん。

野菜・畑作害虫をノックアウト

特 長

- 抵抗性コナガ、キスジノミハムシ、ミナミキイロアザミウマなど難防除害虫に優れた効果を示します。
- かんしょやいちごのコガネムシ類(幼虫)、さとうきびのハリガネムシなど土壌害虫にすぐれた効果を示します。
- 優れた浸透移行性により、薬剤のかかりにくい部分でも十分な効果を示します。
- 優れた残効性により防除回数を減らすことが可能です。



ガゼット® 粒剤

カルボスルフアン…3.0%

®は米国FMC社の登録商標です。

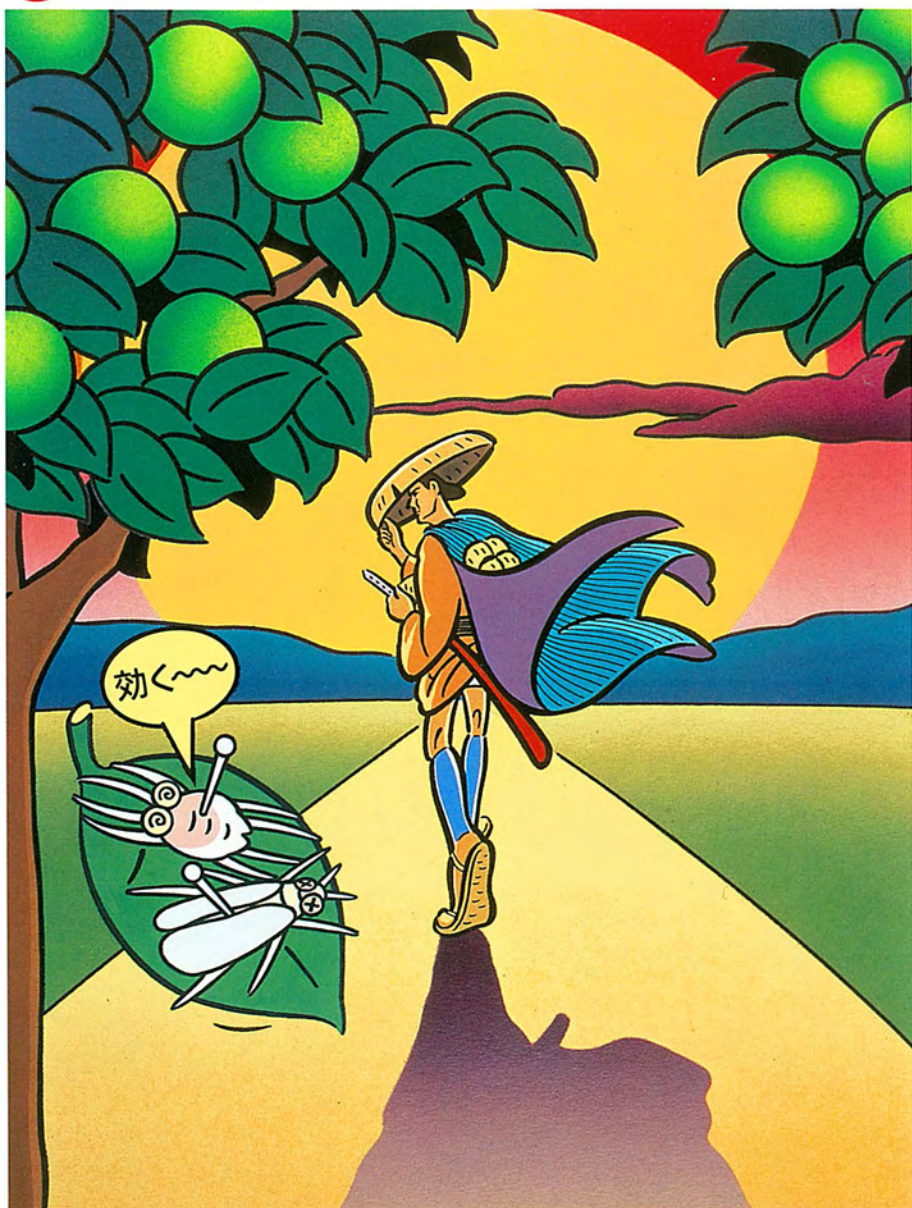


日産化学



原体供給元
FMCコーポレーション

★ 日産化学



もろばい書虫……



殺ダニ・殺虫剤

サンマイト® 水和剤
フロアブル

®は日産化学工業㈱の登録商標

- サンマイト水和剤……かんきつ、りんご、なし、もも、おうとう、ぶどう、びわ
- サンマイトフロアブル… 茶、すいか、メロン、いちご、あずき、さく、カーネーション、トマト、ポインセチア

ベトナムにおける稲作とトビイロウンカの発生

鈴木芳人氏原図(本文19ページ参照)



◀ウンカ類のふるさと(?)
——ベトナム北部紅河デルタ
の深水田で栽培される冬作
の浮稲

植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(9)

——野菜類炭そ病菌——

楠 幹生氏原図(本文33ページ参照)



①イチゴ炭そ病菌のベノミル感受性検定

培地: 左—ベノミル添加PDA (100ppm)

右—ジエトフェンカルブ添加PDA
(100ppm)

検定菌: 左上、左下—*Glomerella cingulata*
感性菌

右上、右下—*Glomerella cingulata*
耐性菌

中上、中下—*Colletotrichum*
acitatum (築尾氏より分譲)



②キュウリ炭そ病菌のベノミル感受性検定

培地: 左—ベノミル添加PDA (100ppm)

右—プロシミドン・ジエトフェンカルブ添加PDA(ジエトフェンカルブ濃度で100ppm)

検定菌: 左上、左下—*Colletotrichum*
lagenarium 感性菌

右上、右下—*Colletotrichum*
lagenarium 耐性菌

連載口絵 花の病害虫(14) シュッコンカスミソウ



- ① シュッコンカスミソウの開花状況
- ② スポット状に発生した苗腐病
- ③ 苗腐病で腐敗した苗の拡大
- ④ 激発した苗腐病
- ⑤ 疫病の発病状況(生育初期)
- ⑥ 疫病の発病状況(開花期)
- ⑦ 疫病の発病部位の特徴
- ⑧ 茎腐病の発病状況
- ⑨ 茎腐病の発病部位の特徴
- ⑩ 斑点細菌病
- ⑪ 黒斑病

新しい防除シーン：を提案します。

フェロモン製剤は
新しい防除シーンを
提案します。

害虫の発生を予察する。
交信を攪乱して交尾を阻害する。
大量に誘引して防除する。

害虫の抵抗性を
発達させることがなく、
また殺虫剤の
散布回数を軽減する。

サンケイ化学のフェロモン製剤

【交信攪乱用製剤】

- コナガコン® (コナガ用)
- ヨトウコン®-S
(シロイチモジヨトウ用)

【大量誘引用製剤】

- アリモドキコール®
(アリモドキゾウムシ用)
- オキメラノコール®
(オキナワカンジャクシコメツキ用)

【発生予察用製剤】

- コドリグコール® (コドリグ用)
- SEルアー (ニカメイガ、コナガ、
シロイチモジヨトウ、カブラヤガ、
モモハモグリガ、キンモンボソガ、
チャノボソガ、シバツトガ、
スジキリヨトウ、ヒメコガネ、
アリモドキゾウムシ用)

®は登録商標



サンケイ化学株式会社

本社：〒890 鹿児島市唐湊4-17-6

東京本社：〒110 東京都台東区東上野6-1-7(MSKビル)

☎(0992)54-1161

☎(03)3845-7951

『地球』 異星人の うらやむ星



この美しい大地と大気を
汚すことなく永遠に愛す
る人類を守りぬくこと。
そのためにいつも新しい
技術にチャレンジし続け
ること。
私たちは農業を通して、
明日の地球と社会とを会
話する企業です。



北興化学工業株式会社

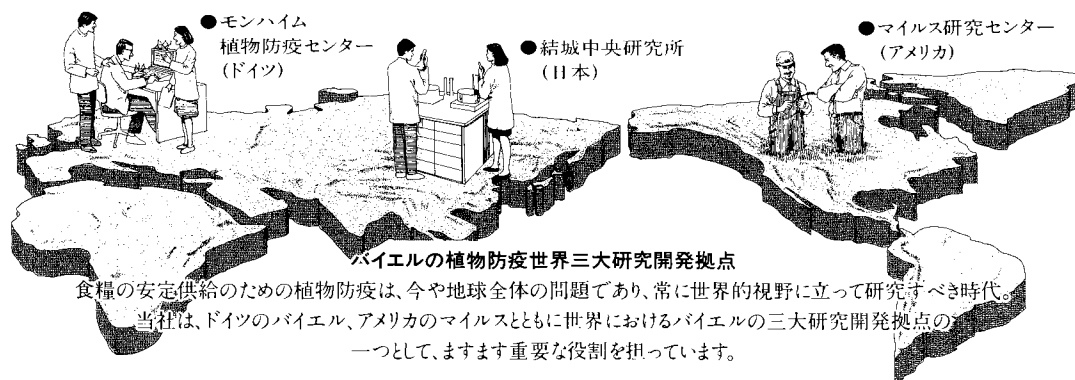
〒103 東京都中央区日本橋本石町4-4-20

農業会社は、日本農業の発展を願い、安全で効果の高い農業を創りおとどけています。

平成 6 年度の植物防疫事業の進め方について……………	吉村 正機…………	1
日本に発生するそうか病について……………	根岸 寛光…………	3
シミュレーションモデルの発生予察現場への適用		
——葉いもちシミュレーションモデル「BLASTL」を例として——……………	根本 文宏…………	7
イネいもち病菌の分子遺伝学的解析研究の現状……………	土佐幸雄・阿久津克己…………	11
ミナミキイロアザミウマのナスにおける総合的管理……………	永井 一哉…………	15
ベトナムにおける稲作とトビイロウンカの発生……………	鈴木芳人・和田 節…………	19
PCR-マイクロプレートハイブリダイゼーション法によるカンキツエキソコーティスウィ		
ロイドの検出……………	齊藤範彦・畑谷達児・四方英四郎…………	23
(口絵解説) ——花の病害虫——(14)シュッコンカスミソウ……………	吉松 慎…………	28
植物防疫基礎講座		
植物ダニ類の標本作成法		
(1)標本の固定法, 簡易スライド標本及び走査電子顕微鏡用標本作成法……………	齋藤 裕・刑部正博…………	29
植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(9)		
野菜類炭そ病菌・つる枯病菌・ラッキョウ乾腐病菌……………	楠 幹生・佐古 勇…………	33
新しく登録された農薬 (6.2.1~2.28)……………		18
中央だより……………	人事消息…………	27
主な次号予告……………	出版部より…………	27

自然の恵みをより豊かにするために。

「確かさ」を追求…バイエルの農薬

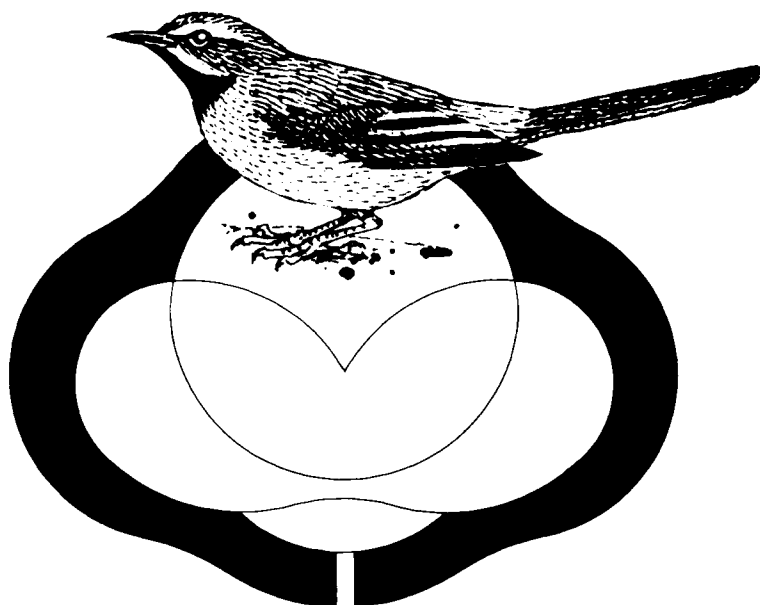


新しい時代のニーズに合った 夢の新殺虫剤

アドマイヤー®

Bayer

日本バイエルアグロケム株式会社
東京都港区高輪4-10-8 108



"Humans & Nature" First

タケダは、人と自然を大切に、
人々の健康と農作物や自然環境を
守り続けています。

●稲、そさい、茶の害虫に パダン [®]	●茶害虫、センチュウ類に ボルテージ [®]
●いもち病に ブラシン [®]	●もん枯病に バリダシン [®]

武田薬品工業株式会社

アグロ事業部

東京都中央区日本橋2丁目12番10号

平成6年度の植物防疫事業の進め方について

農林水産省農蚕園芸局植物防疫課 よし むら まさ き
吉 村 正 機

7年を超える長期に及ぶ交渉が続けられてきたガット・ウルグアイ・ラウンドであるが、昨年暮れ、農業交渉の最終合意文書の調整案について我が国もこれを受け入れたところである。この農業交渉は、各国の主張の隔たりが大きく困難を極め、特に世界最大の農産物純輸入国である我が国は、食料の安全保障や環境保全に農業が果たしてきた役割を重視すべきこと等を交渉期間を通じて主張してきた。

ラウンド後、政府は「ガット・ウルグアイ・ラウンド農業合意の実施に対処するための国内農業施策に関する基本方針」を閣議了解した。この内容は、21世紀に向けた農業構造の早期実現とともに、新たな国境措置の下での生産・流通体制の整備、農業体質強化、地域活性化等ラウンド合意の実施期間を通じた所要の対策の具体化とその推進につき、総力をあげて取り組むというものである。

今後は、このような考え方のもとにおいて諸施策が進められることとなるが、従来からの環境保全型農業の推進、平成4年6月に打ち出された新政策が目指す経営感覚に優れた効率的かつ安定的経営体の育成、国内農業生産の維持・拡大、そして今回のラウンド対策等、植物防疫分野においても諸々の施策への一層の貢献が期待されているところであり、また課せられた責務も大きいものがある。

最近の植物防疫を巡る大きな情勢のうちいくつかを紹介する。

「オゾン層破壊問題」に関して論議されている臭化メチルの取り扱いについては、その後国内法の整備が進められている。臭化メチルの土壤消毒剤としての有効性やオゾン層への悪影響に関する疑義については、今後関係の場で訴えていくが、一方で、土壤消毒の代替方法があればその普及に、可能性のある方法があればその技術確立に、早急に取り組まなければならないと考えている。

公共用水域における水質汚濁防止関係の動きに関しては、環境庁からの諮問を受け、中央環境審議会は、昨年12月に「水道利用に配慮した公共用水域等の水質保全対策のあり方」について答申を出し、その中で、水質汚濁に係る農薬の登録保留基準の拡充・強化、農薬安全使用基準等の策定、水質汚濁にかかる水質汚濁性農薬の指定とその規制等について触れられている。このような中

で、水道水源の水質保全に関し、「水道原水水質保全事業の実施の推進に関する法案」、「特定水道利水障害の防止のための水道水原水域の水質の保全に関する特別措置法案」が国会において審議され先般成立した。

奄美・沖縄の南西諸島に発生していたウリミバエは、平成5年10月に根絶が達成され、我が国全域からウリミバエの根絶が達成された。奄美・沖縄のウリミバエの根絶防除事業には、永い歳月と巨額の事業費、大変多くの関係者の労力が投入された。多くの先達のご努力に感謝と敬意を表する次第である。

また、植物防疫の分野においてもコンピュータの利用や情報の高度化が急速に進展しているが、これらは個々に開発運用されているもので必ずしも関係者に開放されていないため、情報の価値を活かせていないばかりか、全国的に同様の作業を重複して行うなど、不効率な実態も生じている。現在、発生予察の情報、病害虫の発生現況データのやり取りに、国と都道府県の病害虫防除所をオンラインでネットワークするシステムが稼働しているが、今後、発生予察以外にも農薬登録情報など、植物防疫関係のより幅広い情報を積極的に関係者に提供し、また必要なデータを関係者が共有化できる総合的なネットワークの構築を行うため、植物防疫情報研究会を組織し必要な検討を行うこととしたところである。

平成6年度の予算もこのような状況を背景としており、新規事業としては、「高度技術応用防除体系推進事業」、「農薬水質影響・総合対策事業」、「輸出果実検疫条件クリヤー実証事業」が認められている。

1 病害虫発生予察事業の拡充・強化

発生予察に基づいた病害虫防除は、適時、的確で効率的な防除の基本であり、それは環境保全型農業における病害虫防除にとっても必要不可欠のものである。今後とも従来からの発生予察の都道府県間、行政・試験研究間のネットワークを充実させ、発生予察技術の開発を図り、精度の高い発生予察情報の作成と迅速な情報伝達に努める。

このため、発生予察技術の整備されていない花き類病害虫の発生予察を実施するための「花き類病害虫発生予察実験事業」を継続するとともに、特殊調査事業として、平成6年度から新規に「薬剤抵抗性アブラムシ類の発生予察方法の改善」を実施するなど、発生予察技術の開発・確立に取り組む。

一方、一部の野菜病虫害など圃場ごとに発生実態の大きく異なる病虫害や、施設内病虫害の発生予察への取り組み、ますます要求される地域ごとのきめ細かな発生予察情報作成への対応として、農業者等と病虫害防除所との連携による地域的な発生予測を実施することとし、その体制整備として実施している「発生予察地域活用技術確立事業」については、年次計画により地区数を増加して取り組むこととしている。

2 環境保全型農業における防除の実施

環境保全型農業における病虫害・雑草防除は、①高精度できめの細かい発生予察に基づく適時適切な防除、②多様なニーズに応じた多段階の要防除水準の設定、未設定病虫害の要防除水準の策定、③天敵、拮抗微生物、性フェロモン等いわゆる化学農薬以外の農業資材（微生物農薬等）による防除の推進とともに、耕種的、物理的防除等と化学農薬による防除を有効に組み入れた総合防除体系の確立普及、等であると考えられているが、この病虫害防除の方針については既に通達されているところであり、これを推進するための事業を実施する。

従来から実施してきた防除多様化推進事業において、「環境保全型農業対応防除要否判断基準確立事業」を行うべく事業を拡充した。この事業では多様な防除要否の判断基準の設定を目指してきたが、さらに、病虫害被害の状況と収量、品質、価格との関係の解析を行った上での防除要否の判断基準の確立を図っていく。一方、環境影響にも配慮した多様な防除を推進するために、抵抗性品種の利用等の耕種的防除法や各種物理的防除法を活用した防除体系の確立のための調査を行う。

また、天敵、弱毒ウイルス等の利用による高度防除技術については、個別技術として取り組まれてきたが、複数の高度防除技術を組み合わせ、従来の一般的防除技術の中に取り込んだ高度技術応用防除体系の確立を図るために事業の拡充を行った。

なお、近年連作等により発生が増大して問題になっている土壌病虫害の防除対策においても、土壌処理剤の効率的な使用を進めるとともに、圃場に影響の少ない防除技術の選定、環境の保全にも配慮した合理的な防除技術の確立を行う「環境保全型土壌病虫害防除技術確立事業」については、年次計画どおり地区数を増加して実施することとしている。

3 水質保全に配慮した農業使用の一層の適正化等

農薬の使用に当たっては、必ず農薬取締法に基づき登録された農薬を安全使用基準等に従って使用するよう指導してきたところであるが、特に残留農薬基準値の追加設定とそれに伴う安全使用基準の改正作業が進められていることから、改正内容の周知とその遵守の指導に一層

努める。

公共用水域における水質汚濁防止に関する作業が各方面で進められていることから、農薬を使用した水田やゴルフ場等の周辺の水質に及ぼす影響を点検調査し、その結果に基づいて地域の実情に即した水質影響に配慮した農薬適正使用の指導を図るため、「農薬水質影響・総合対策事業」を新規に実施することとしている。

その他環境保全関係としては、「環境負荷の低減に資する農薬開発のための生物系農薬の機能調整技術の開発」を農林水産試験研究費補助金として計上し、バイオテクノロジーを用いた低環境負荷農薬の機能安定化のための技術開発を行う。

一方、オゾン層保護のために臭化メチルの使用に一定の制限が設けられたところであるが、この臭化メチル等畑地の土壌処理剤の気中汚染を制御するための技術を確認する「畑地土壌処理剤拡散制御技術確立調査」を委託事業として実施するとともに、植物検疫で臭化メチルを使用してもくん蒸後に大気中に放出しないための技術を開発するため、「検疫くん蒸剤揮散防止技術確立事業」を中央民間団体の補助事業として実施する。

なお、環境保全は全世界的な流れであるが、OECD 環境政策委員会における農薬作業グループのための拠出金が新たに認められている。

4 輸出入植物検疫の的確な推進

農産物の輸入量は増大する一方で、我が国からの農産物の輸出も増加している。これら、国際間を行き来する農産物による病虫害のまん延を防止するため、植物検疫の業務はますます増大するとともにその責務も大きくなっている。本年9月には国内初の24時間営業の関西国際空港が開港することになっており、植物防疫官の増員を含め万全の体制整備を進めているところである。

また、ラウンドにおいて議論されてきた衛生及び植物検疫措置の適用に関する協定についても最終合意されたが、植物検疫は各国に発生する病虫害の種類が異なることから生じる各国ごとに異なる措置について、従来から科学的、技術的に対応してきたが、今後協定が発行し、国際基準が作成されれば、病虫害の侵入を防止することにより我が国農業生産の安全を図るという植物検疫の本来の目的を堅持しつつ、国際基準との調和を図るための検討を進めることとしている。

本年度からの新規事業としては、相手国側の植物検疫上の規制により我が国の高品質な農産物の輸出が禁止されているケースにおいて、諸外国に対し輸入解禁要請を行うために必要な技術実証データ及び諸外国が問題としている病虫害の発生実態調査データを集積するための「輸出入実証検疫条件クリアー実証事業」を実施する。

我が国に発生するそうか病について

東京農業大学農学部植物病理学研究室 ねぎしひろみつ
根 岸 寛 光

はじめに

そうか病 (scab) は、別名、黒とう病 (anthracnose)、とうそう病 (spot anthracnose)、白星病 (white rash, white scab) 等とも呼ばれ、植物の地上部全体に形成されるかさぶた状の病斑 (そうか症状) やそれに伴う新葉部の変形を特徴とする病害である。本病の病徴は地上部全体に及び、非常に顕著な場合が多く、古くからミカンやブドウ等各種の作物はもとより、樹木や山野草等でも多くの観察例が報告されている。

本病の病原菌は、子のう菌の一種である *Elsinoe* (不完全時代は *Sphaceloma*) 属菌である。本属菌の子のうは一般に直径約 20~30 μm の球~亜球形で、子座状の菌糸層内に単独に散在して形成され、大きさ約 10~15 $\times$ 4~7 μm の子のう胞子 4~8 個を内部に形成する。我が国での完全時代の報告事例は、ウドそうか病 (*E. araliae*) (山本, 1956 a,b) とコウゾかさぶた病 (*E. broussonetiae*) (Kurosawa and Katsuki, 1956a) の 2 種だけであり、ミカンそうか病菌 (*E. fawcetti*) やブドウ黒とう病菌 (*E. ampelina*) などは、完全時代の種名が記されることが普通であるが、これは外国での記載例に基づいたものである。

本属菌の分生子には大型と小型の 2 種類が認められ、いずれも宿主植物のクチクラ層直下から表面に露出したマット状の分生子層上に形成される。大型の分生子は一般に長紡錘形またはこん棒状で単胞または 2 胞、大きさ約 10~20 $\times$ 3~5 μm で、長さ 10 μm 前後の分生子柄上に形成され、小型の分生子は無色、単胞、だ円形で、大きさ約 4~7 $\times$ 3~5 μm で、分生子柄は非常に短いかまたはない。小型の分生子は病斑に水滴が付着した際に非常に短時間に多量に形成され、本病のまん延は主にこれによるものといわれており、大型の分生子は比較的乾燥した場合に形成されるが、その役割はよくわかっていない (Whiteside, 1975)。ただしこれまでの記載文献等では、単に分生子として 2 種のものが一括して扱われている事例が多いため、同一病害であっても標本の扱い方によって、しばしば分生子の形状の記述に大きな差異を生じることになり、このことが本属菌の同定・分類を混乱させ

る原因の一つとなっている。このほかに直径 1 μm の microconidia の観察事例が少数あるが (Bitancourt and Jenkins, 1940)、その存在はやや疑わしいように思われる。

本属菌の形状は、完全時代及び不完全時代ともこのような範囲を大きく逸脱することがなく、いずれの菌も非常によく類似しており、形態による種の分類は困難と考えられる。また胞子形成能の高い菌株が得にくいことがあり、厳密な接種試験が行われた事例が少ない。このためこれまでの本属菌の同定・分類は、主にその原宿主の違いによって行われてきた。筆者の知る限りにおいて、現在世界には約 180 種の本属菌が記載され、我が国にはそのうち約 40 種の発生が知られている。これらの大部分は双子葉植物に発生し、単子葉植物ではサトウキビ白星病 (*E. sacchari*) 等わずかししか知られていない。本属菌による病害の中にはミカンそうか病、ブドウ黒とう病、チャ白星病 (*E. leucospila*)、ラッカセイそうか病 (*S. arac-hidis*) 等のように、農作物に大きな損害を与えるものもあるが、その他の多くはいわゆるマイナーな病害であり、あまりよく知られていない。ニンジンそうか病やシソそうか病についても、病原菌名は *Sphaceloma* sp. とされたままである。さらに、いわゆる雑草・雑木の類での発生であるものについては、日本有用植物病名目録中にも紹介されていない。そこで今回は、これらの日本有用植物病名目録未記載病害とその病原菌について簡単に紹介する。

なお病害の和名や英名については、記載文献に記されていないことがあり、このような場合には原則として和名をそうか病、英名を scab と表記した。また宿主植物の種名については、原則として原色牧野植物大図鑑 (北隆館, 1983 年発行) 及び増補改訂日本草本植物総検索誌 (井上書店, 1983 年発行) によった。

リュウキュウイチゴ及びホウロクイチゴのそうか病

リュウキュウイチゴ (*Rubus grayanus*) 及びホウロクイチゴ (*R. sieboldii*) はバラ科に属する植物で、暖地に生育するイチゴの類である。本病は Katsuki (1953 a) によって発生が報告されたもので、病原菌は *E. veneta* とされている。この報告は現地では採集した錯葉標本の観察によるものと思われ、病原菌の同定・分類は行っているが、詳しい病徴や病原菌の分離・培養、接種による病

原性の確認については触れていない。また病原菌の形態についても完全時代、不完全時代を通じて明りょうな記述が認められない。なお病原菌とされた *E. veneta* は、既に外国ではイチゴ類 (*Rubus* spp.) のそうか病 (anthracnose) の病原菌として知られており、当初 BURKHOLDER (1917) が *Plectodiscella veneta* として記載したものを、JENKINS (1932) が *Elsinoe* 属に再分類したものである。

ヘクソカズラそうか病

ヘクソカズラ (*Paederia scandens*) はアカネ科に属する性の植物で、各地の空き地等に容易に見いだされる。この植物の花はなかなか可憐なもので、ヘクソカズラという名前にはおよそ似つかわしくないが、葉をつぶしたときの悪臭によって命名された。本病は KUROSAWA and KATSUKI (1956 a) が *S. paederiae* による病害として最初に報告したが、病名、病原菌の分離・培養、病原性検定の記述はない。本病の病徴は茎葉部全体に認められる黒褐色のそうか病斑とそれに伴う茎葉部の萎縮・変形で、東京周辺ではよく目にすることができる。上記の報告によれば本菌の分生子の大きさは $7.2\sim 16.4\times 2.0\sim 4.6\mu\text{m}$ で、分生子柄は $18\sim 29\times 2.6\sim 3\mu\text{m}$ とされ、この形状から判断すると観察された分生子は大型の分生子であると思われる。

イチジクそうか病

本病は鑄方が1937年に見だし、病原菌を *S. carica* として日本語で記載した後、KUROSAWA and KATSUKI (1956 a) が *S. caricae* として正式に記載したもので、近年広島県方面で発生が報告された。本病は重要な果樹であるイチジク (*Ficus carica*) の病害であるにもかかわらず、日本有用植物病名目録に記載されていない。なおインドでは、THIRMALACHAR (1946) が *F. glomerata* 及び *F. religiosa* に *S. fici* を報告している。KUROSAWA and KATSUKI (1956 a) は両菌は形態が異なり別種であるとしたが、*S. caricae* は分生子が $4.6\sim 7.9\times 2.0\sim 3.9\mu\text{m}$ 、分生子柄が $8\sim 21\times 3.3\sim 4.6\mu\text{m}$ に対して、*S. fici* は分生子が未観察で、分生子柄が $15\times 2.4\mu\text{m}$ とされ (THIRMALACHAR, 1946)、これらの報告から両菌の形態的な差異を明確に認めることは困難ではないと思われる。記載文献が明らかではないが、インドではその後 *S. ficicaricae* という菌も記載されているらしく、今後これらの菌の異同を明らかにすることが必要であろう。

ノダケそうか病

ノダケ (*Peucedanum decursivum*) は薬用植物として知られるセリ科の多年生草本である。本病は *S. peucedani* による病害として KUROSAWA and KATSUKI

(1957) が報告したが病名の記述はない。本菌の分生子の大きさは $4\sim 8\times 2.6\sim 4\mu\text{m}$ で、小型の分生子としては普通であるが、分生子柄は $21\sim 50\times 2.6\sim 3.3\mu\text{m}$ でかなり長めである。本報告には、病徴、病原菌の分離・培養、病原性検定等の記述はない。

オオバコそうか病

オオバコ (*Plantago asiatica*) はオオバコ科に属する多年生草本で、道端等によく見かける植物である。本病は初め JENKINS and BITANCOURT (1946) によってオオバコ属植物の一種である *P. regelii* に見いだされたが、植物病理学的な詳しい報告は行われていない。我が国では KATSUKI (1953 b) が初めて報告し、宿主植物はオオバコとしているが、その際に学名を *P. major* var. *asiatica* としている。この報告には、菌の形態、病徴、病原菌の分離・培養、病原性検定等の記述はない。

ヤブマメそうか病

ヤブマメ (*Amphicarpea edgeworthii* var. *japonica*) はマメ科に属する性の1年生草本で、その種子は食べられるという。本病の病徴は植物体の地上部全体に認められる黒褐色の病斑で、葉ではしばしば小斑点状、茎や莢ではその全体を覆う大型病斑となることがある。このような病斑の特徴はそうか症状とやや異なるようであるが、葉裏の葉脈に沿ってやや隆起した病斑が生じ、それらの病斑が葉の萎縮・変形を起因する状況は、そうか病の典型的な症状といえる。本病は東京周辺によく見かけられ、かなり広い範囲に分布するものと思われる。

本病はかつて我が国の東北地方を中心に大発生したダイズ黒とう病 (*E. glycines*) の調査時に一部で取り上げられ、いずれの病害もマメ科植物体を宿主とすることから、病原性の異同が問題とされたようである。その結果、本病病原菌である *S. kurozawana* は、ヤブマメ及びウスバヤブマメ (*A. edgeworthii* var. *trisperma*) だけに病原性を示している (北日本病害虫研究会, 1957)。本菌については倉田 (1960) が、後日正式な記載を行う予定であると報告しているが、筆者はその後の記載文献の存在を確認できないままである。

本菌は分生子の大きさが約 $4\sim 7\times 3\sim 4\mu\text{m}$ で、ダイズ黒とう病菌 ($4.7\sim 13\times 2.1\sim 5.6$, 平均 $5.5\times 2.3\mu\text{m}$) に近く、肉質塊状で黒褐色～黒色の菌叢、生育の遅さ等、類似する点も多いが、炭素源及び窒素源の利用については両菌間にやや差異が認められる (倉田, 1960; 根岸・陶山, 1993 a)。ビタミンについては、これら両菌及びラッカセイそうか病菌というマメ科植物を宿主とする3種の菌に共通して、チアミン要求性が認められている (倉田, 1960; 根岸・陶山, 1993 a)。

コヤブタバコそうか病

コヤブタバコ (*Carpesium cernuum*) はキク科に属する越年草で、花のつきかたからガンクビソウともいわれる。本病は KATSUKI (1953 a) によって初めて報告されたもので、病原菌は *S. yoshiiana* と記載・命名された。本菌の分生子の大きさは $8\sim 13\times 3.8\sim 5.0\ \mu\text{m}$, 分生子柄は $10\sim 15\times 3.8\ \mu\text{m}$ で、この分生子はおそらく大型の分生子に該当するものと思われる。ちなみに本報告には分生子層、分生子柄及び分生子の手書きの図が添えられているが、この図から本菌を *Sphaceloma* 属菌と識別することは困難であるように思われる。なお、本報告には病徴、病原菌の分離・培養及び病原性検定についての記述はない。

コセンダングサそうか病

本病は全国各地の空き地や線路際等によく見かけられるキク科雑草のコセンダングサ (*Bidens pilosa*) に発生するもので、茎葉部全体に認められるきわめて激しいそうか症状が特徴である。激発時には新葉部の奇形、茎部の異常肥大や落葉が認められ、湾曲した茎だけが残されることもある。本病害はコセンダングサの分布と同様広く全国各地に認められ、いずれの場所でもかなり激しい発生状況を呈することが多い。病斑上には分生子層上にほぼ直接形成された多数の分生子が認められ、その大きさは $4\sim 7\times 3\sim 5\ \mu\text{m}$ である。本病原菌は本属菌の中では分離・培養が比較的容易であり、培地上での生育もかなり早いほうである (根岸, 1986)。

なお本菌を分離するときには、茎葉部の病斑部を滅菌水に一晩浸漬すると、小型の分生子の懸濁液ができるので、これを適宜希釈後 100 ppm 程度のクロラムフェニコール等を含む PSA 培地に画線する方法が簡単である。通常この方法で分離 3 日後には、淡黄褐色でつやのあるドーム状の小コロニーを多数得ることができる。本方法は他のそうか病菌の分離に当たっても有効である。

本菌については、分離菌株の一つに分生子形成能の非常に高いものがあったため、コセンダングサ以外のキク科植物として、キク (*Chrysanthemum morifolium*)、シュンギク (*C. coronarium*)、レタス (*Lactuca sativa*)、アメリカセンダングサ (*B. frondosa*) への接種が行われ、いずれも感染がみられていない (根岸, 1986)。また、罹病植物に隣接して生育しているシロバナセンダングサ (*B. pilosa* var. *minor*) やセンダングサ (*B. biternata*) に病徴が認められないこと (端山, 私信) から、根岸 (1986) は本病原菌の宿主範囲をかなり狭いものとした。

コセンダングサに発生するそうか病の報告は、BITAN-

COURT and JENKINS (1950) が行っており、*S. bidentis* が病原菌として記載されている。この報告には簡単な病徴と分生子層の大きさについての記述だけがあり、分生子は観察されておらず病名の記述もない。我が国で *S. bidentis* が記載されたのは KUROSAWA and KATSUKI (1956b) によるものが最初で、ここでは菌の記載だけが行われ、病徴、病原菌の形態や分離・培養、病原性検定は行われていない。また宿主をセンダングサとして *S. bidentis* の新宿主としているが、その学名にはコバノセンダングサの学名である *B. bipinnata* を用いている。その後、根岸ら (1985) はセンダングサに *Sphaceloma* sp. によるそうか病の発生を認めたとしたが、後に宿主の再同定を行い、*S. bidentis* によるコセンダングサそうか病と訂正し、本病に関する詳細な報告をしている (根岸, 1986)。

コスモスそうか病

コスモス (*Cosmos bipinnatus*) は前出のコセンダングサと同様キク科に属し、いずれも我が国への帰化植物である。本病は根岸ら (1986) によって *Sphaceloma* sp. によるそうか病として報告され、当初発生地は神奈川県川崎市多摩区に限られたが、その後東京都豊島区、茨城県取手市、埼玉県越谷市及び静岡県静岡市でも発生が認められ、我が国ではかなり広範囲に分布することが確認されている (根岸・陶山, 1993 c)。本病は茎葉部の激しいそうか症状を特徴とし、重症株では落葉が激しく、病斑に覆われて肥大・変形した茎だけが林立することもある。本病についての報告はこれまでに全く見あたらず、これが初めてのものである。なお、本病発生地付近にはしばしばコセンダングサそうか病の発生が認められる。

本病の宿主及び発生地の環境を考慮し、本病原菌とコセンダングサそうか病菌とを比較してみると、分生子の大きさ ($4\sim 7\times 3\sim 5\ \mu\text{m}$)、培地上での菌叢形状、種々の炭素源や窒素源利用能が酷似しており (根岸・陶山, 1993 a, c)、血清学的反応や可溶性タンパクの SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターンもほぼ同様であった (根岸, 未発表)。さらに両菌の分生子形成を誘導し (根岸・陶山, 1993 b)、両宿主間で交接種試験を行うと、いずれの菌も両宿主に対して同様の病徴を再現することが判明し、両菌はいずれも *S. bidentis* と見なされている (根岸・陶山, 1993 c)。*S. bidentis* の宿主範囲は、コセンダングサにきわめて近縁な植物ではなく、当初の予想を越えてやや離れたところにあることが判明したわけである。

本病は毎年ほぼ同じ場所に発生が認められ、また罹病植物体上の大きな病斑は、被害残渣上に翌春まで明瞭に

認められるため、ラッカセイそうか病と同様、被害茎葉が重要な役割を果たしていることが想像された（長井ら, 1987）。このためコスモス種子を播種した上に被害残渣を並べておいたところ、多くの発芽直後の幼植物体に本病特有の病徴を見いだすことができた。この被害残渣から完全時代は見いだせなかったが、病原菌の分離が可能であったため、本病は少なくとも一冬は被害残渣中の病斑内で菌糸体のままで生残し、翌春の第一次遺伝源となることが考えられる（根岸・陶山, 1993 c）。

お わ り に

我が国に発生の認められるそうか病については、本文でも述べたとおり、日本有用植物病名目録に記載のないものかなりある上に、そのようなものについては病名もつけられていないことが多い。またこれらの病害については、宿主植物の同定・分類が必ずしも十分とはいえず、病原菌の分離・培養や病原性検定も行われていないものが多い。今回紹介した病害のうち、実際に筆者が発生を確認できたものは、最近学会で発表のあったイチジクそうか病を含めても 5 種で、病原菌の分離・培養を行ったものは 3 種（病原菌の種数では 2 種）にすぎず、十分な解説ができない病害もあった。ここに引用した文献には古いものも多く、筆者に誤認等があった場合には御容赦願いたい。今後は、これら病害についての研究を進めるとともに、世界各地に発生する他のそうか病との比

較検討を行い、病原性検定を主体として病原菌相互の関係を明らかにしていきたい。

参 考 文 献

- 1) BITANCOURT, A. A. and JENKINS, A. E. (1940) : Arq. Inst. Biol. 11 : 45-58.
- 2) ———— (1950) : ibid. 20 : 1-28.
- 3) BURKHOLDER, W. H. (1917) : Phytopathology 7 : 83-91.
- 4) JENKINS, A. E. (1932) : J. Agric. Res. 42 : 545-558.
- 5) ———— and BITANCOURT, A. A. (1946) : Jour. Wash. Acad. Sci. 36 : 225-227.
- 6) KATSUKI, S. (1953a) : Journ. Jap. Bot. 28 : 279-288.
- 7) ———— (1953b) : Kyushu Agric. Res. 12 : 53-54.
- 8) 北日本病害虫研究会 (1957) : 北日本病害虫研究会特別報告 4 : 1-124.
- 9) 倉田 悟 (1960) : 農技研報 C 12 : 1-154.
- 10) KUROSAWA, E. and KATSUKI, S. (1956a) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 21 : 13-16.
- 11) ———— (1956b) : Bot. Mag. Tokyo 69 : 315-318.
- 12) ———— (1957) : Bot. Mag. Tokyo 70 : 131-136.
- 13) 長井雄治ら (1987) : 千葉農試研報 28 : 79-86.
- 14) 根岸寛光 (1986) : 東農大農学集報 31 : 111-118.
- 15) ————・陶山一雄 (1993a) : 同上 38 : 14-21.
- 16) ———— (1993b) : 同上 38 : 22-26.
- 17) ———— (1993c) : 同上 38 : 85-94.
- 18) ————ら (1985) : 日植病報 51 : 331-332. (講要)
- 19) ————ら (1986) : 同上 52 : 534. (講要)
- 20) THIRMALACHAR, M. J. (1946) : Arq. Inst. Biol. 17 : 55-66.
- 21) WHITESIDE, J. O. (1975) : Phytopathology 65 : 1170-1177.
- 22) 山本和太郎 (1956a) : 植物防疫 10 : 69-70.
- 23) ———— (1956b) : 日植病報 20 : 180. (講要)

本 会 発 行 図 書

『芝草病虫害・雑草防除の手引』

芝草農業研究会 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

芝草に有害な病虫害・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、付録に分けた解説書。各編ともに総論での解説と、各論ではそれぞれの学名・英名・別名を取り上げ、発生、生態、防除法までを詳しく解説し、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虫害・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）で本会へ

シミュレーションモデルの発生予察現場への適用 ——葉いもちシミュレーションモデル「BLASTL」を例として——

農林水産省農業研究センター **ねもと ふみひろ**
根 本 文 宏

はじめに

現行の病害虫発生予察事業では、定期的な巡回調査による病害虫発生の現況把握と過去の多くのデータから導かれた重回帰式を利用する統計的手法により発生時期、発生程度を予測する方法が数多く検討され、発生予察現場で利用されている。しかし、これらの手法は、調査データをそろえるのに多くの労力を必要とすること、調査場所や作付品種が変更されたり、異常気象が発生した場合などには適用しにくく、精度の高い予測が困難になるなどの問題点を抱えている。

また、病害虫発生予察の目的が病害虫の現時点での発生状況を的確に把握・解析し、将来のある時点における発生程度や発生量さらには農作物が受ける被害を予測し、それに基づいて病害虫制御のための判断の資料を提供することにあると考えると、従来の統計的手法の利用だけでは、発生の予測はできても制御のための適切な対応策の提示までに至らないことが多い。しかし、農業を一つの大きな生態系システムとみると、病害虫の発生は、宿主（農作物）×病害虫×環境×薬剤×時間×広がりなどの要因が複合した相互作用によって引き起こされると考えられる。この考え方に従えば、病害虫の発生は存在する様々な要因の相互作用の上に成り立っており、また、おのおの過程に関連する要因は実験的知見に基づいて数量化することが可能であることから、これにより実際の病害虫発生過程を模倣するシミュレーションモデルが構築できる。このような発想は、WAGGONERら（1969）のコンピュータ・シミュレーションモデル EPIDEM の発表を契機に大きく展開してきた。前述したように、病害虫の発生要因を的確に把握し、効率防除時期と防除方法を模索し、適切な対応策を提示することが発生予察の目的であるから、発生予察にシミュレーションモデルを利用することによって、有力な防除手段を得ることができると考えられる。しかし、これまで多数の病害虫についてシミュレーションモデルが発表されているにもかかわらず、それらの多くは試験研究段階の

域を脱せず、実際の発生予察現場で利用されているモデルは少ない。

シミュレーションモデルの発生予察現場での利用が遅れていることは、モデルを構築する研究者、それを発生予察に利用する現場の指導者、その情報を享受する個々の農家でそれぞれ様々な問題を抱えているので、何が悪いとは一概には判断しかねるが、それらを一つ一つ解決していくことで、病害虫発生予察の効率化と精度向上、さらに迅速かつ的確な防除対応技術策定が可能になる。

構築したシミュレーションモデルの挙動と発生予察現場への適合性の検討には、一定の手続きによる客観的な評価を行うことが重要となる。それらについては、KRAENZら（1980）や TENGら（1981）の研究が詳しい。

筆者らは、これまでイネいもち病、特に葉いもち流行を BLASTL（橋本ら、1984）と称するシミュレーションモデルとして構築し、その発生予察への実用的利用を検討してきた。

平成5年度から「発生予察地域活用技術確立事業」によって、葉いもち発生シミュレーションモデル BLASTL は各県の発生予察の現場で検討されることとなった。BLASTL はすでに福島県で発生予察に利用されているが、本事業により広くその適合性が検討されることであろう。

ここでは、福島県における BLASTL の発生予察現場への利用方法を例として、シミュレーションモデルの発生予察現場への適用と残された問題点などについて、考察したい。

I 福島県における葉いもち発生シミュレーションモデル BLASTL の発生予察現場への利用

BLASTL は、ある特定の1筆の水田を代表する平均的な生育過程と発病状況を示す1株のイネを想定してこれを対象としており、このイネ体上での葉いもち病斑増加の経時的な変化をいもち病菌の生活史に基づいて算出するものである。それら要因相互の関連を図-1に示した。モデル内の要因はそれぞれ subsystem を持ち、個々の項目ごとに1日間の変化を算出して葉いもちの発病経過をシミュレートするように構築されている。BLASTL

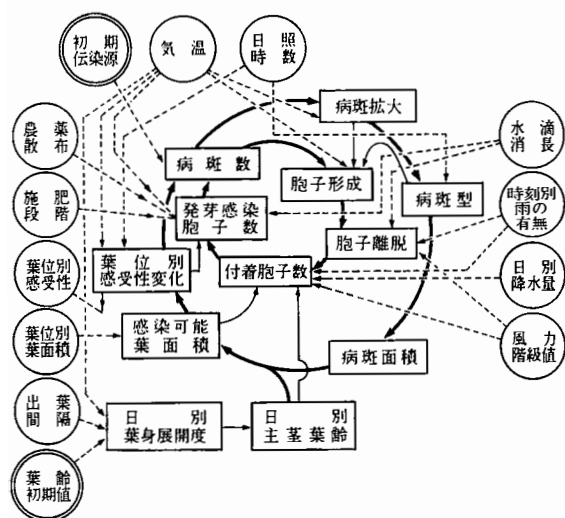


図-1 葉いもちモデル BLASTL の要因関連図 (橋本, 1984)

図中 $\square$ は演算部, $\bigcirc$ はデータまたはパラメータの項目を示す。実線矢印 (太線) は処理順序, 実線矢印 (細線), 破線は情報の流れを示す。

は当初 FORTRAN 言語で構築されたが, BASIC 言語で再構築されたことで, パーソナルコンピュータ上での処理が可能になった。また, AMEDAS システムの整備により電話回線を通じて気象データがリアルタイムで利用できるようになったことで, BLASTL は葉いもち発生 of 解析やモデルの精度検証から発生予察現場への適合性の検討へと移った。

1 BLASTL による予測の適合性

BLASTL は, 圃場の葉いもち発生経過との対比によって改良を加えられてきた。その結果, 葉いもち発生 of 年次変動をかなりの確に再現できるようになったが, 発生予察に利用する場合は, 広域的な適合性を検討する必要がある。また, 広域の葉いもち発生を的確に把握するためのモニタリング手法の確立と併せて, BLASTL による予測結果の適合範囲についてさらに研究を進めなければならない。そこで, 病害虫防除所が行っている時期別の葉いもち発生面積の調査データと BLASTL による葉いもち病勢進展を対比することで広域的な葉いもち発生に対する BLASTL の適合性の検討ができるものと考えて, 福島県における 1974~89 年の時期別葉いもち発生面積とそれぞれの年の気象データを用いて, シミュレートした葉いもち病勢進展の演算結果について検討した。

この結果, BLASTL による葉いもち病勢進展の予測値と広域的な葉いもち発生面積率との間の相関はかなり

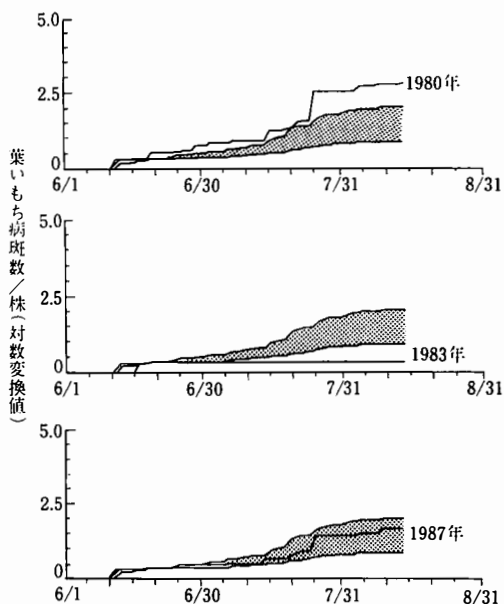


図-2 BLASTL で推定した病勢進展と平年発生幅の対比

福島県郡山の気象データ: 1980 年葉いもち多発生
1983 年葉いもち少発生
1987 年葉いもち発生平年並

点線で囲まれた範囲: BLASTL による葉いもちの平年発生幅

高く, 広域での予察にも利用できることが示唆された。

また, BLASTL による演算による病勢進展予測の情報から, その年の葉いもち発生動向に関する的確な判断を下すことができれば, その後の対応に関しても適切な指示が出せると考えられた。

そこで, シミュレーションによる年次ごとの葉いもち病勢進展の分布は, 年次を重ねると正規分布すると仮定して, 正規分布への適合性検定を行った。その結果, この仮説は 5% 水準で棄却されなかった。このことから, BLASTL による葉いもち病勢進展の平年値及び平年発生幅を設定して, 再度シミュレーションによる葉いもち病勢進展の予測を行った結果, 葉いもち多発生年は BLASTL による予測値も平年発生幅を超えて多発生傾向を示し, 逆に葉いもち少発生年は平年発生幅以下の少発生傾向を示して, 実態とほぼ合致した (図-2)。

BLASTL では, パラメータを含めモデル内でいくつかの暫定値を使用しているため, 改良の余地は残されているが, これまでの精度検証の結果から発生予察現場への利用は可能と考え, 実際に運用しながら検証と改良を加えることとした。

2 BLASTLの発生予察情報への利用

BLASTLでは、①イネ感受性指数、②いもち病菌の侵入率、③いもち病菌の動態、④発病推移を、グラフ表示できる。

イネ感受性指数のグラフからは、気象変化に伴うイネのいもち病に対する体質の変動を知ることができる。現在、品種ササニシキに関するデータをパラメータとして用いているが、任意の他の品種に再設定することも可能である。

いもち病菌の侵入率からは、日別のいもち病菌の侵入確率の推定ができる。これは、既に実用化されている葉いもち感染好適条件の判定モデルBLASTAMによる葉いもち感染好適条件の出現に関する判定結果と同義的な使い方である。

いもち病菌の動態からは、日別のいもち病菌孢子の形成、離脱、侵入を量的に推定できる。これは、予防的効果の高い薬剤あるいは治療的効果の高い薬剤を有効に使用するための対応策を検討する場合の資料とすることができる。

葉いもち発病推移からは、実測の気象データに過去の葉いもち多発生年あるいは少発生年の気象データを結合することで、予測日以降の気象条件の変動に伴う葉いもち病勢進展の予測ができる。

図-3に福島県で1991年の発生予察情報に使用した葉いもち発生のシミュレーション結果を示した(根本, 1993)。

7月6日以降に使用した気象データは、葉いもち少発生年の1990年と葉いもち多発生年となった1988年のデータである。いずれの年の気象データを結合しても7月9日ごろと7月20日ごろに病斑が急激に増加し、その程度は平年の発生幅をはるかに上回った。このことから、

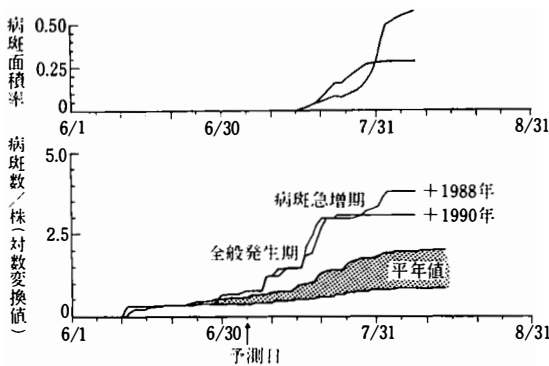


図-3 BLASTLによる葉いもち病勢進展の予測(1991年7月5日現在, 予測時点, 郡山市)

1991年は7月上旬から葉いもちが早期多発となると予想された。

また、7月5日の時点では、補植苗で葉いもちが発生した地域を除いて本田での葉いもち発生が確認されていなかったため、7月9日ごろの第1回目の病勢進展は全般発生開始期に、7月20日ごろの第2回目の病勢進展は病斑急増期にあたと予想された。この結果に基づいて、病害虫防除所から7月6日付けで「葉いもち発生に関する注意報」が発表された。また、この情報では、全般発生開始期が防除適期であるとして薬剤散布の励行を呼びかけた。

3 BLASTLの葉いもち防除意志決定への利用

BLASTLには、薬剤散布に関する subsystem が組み

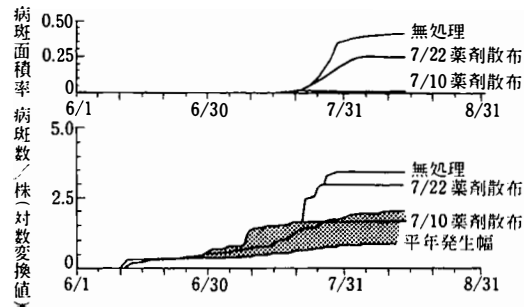


図-4 BLASTLによる葉いもち病勢進展の予測(1991年, 郡山市)

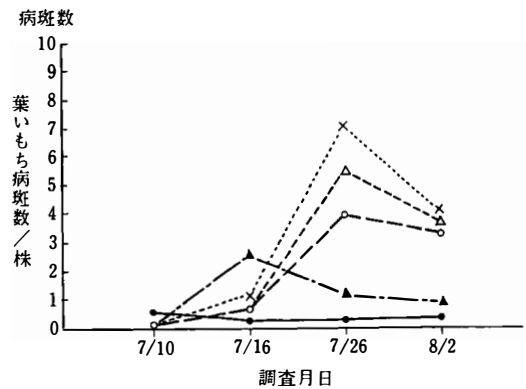


図-5 発生予察に基づく葉いもち防除試験結果(1991年, 郡山市)

- : トリシクラゾールゾル・全般発生期散布 (7/10)
- : トリシクラゾールゾル・病斑急増期散布 (7/22)
- ▲—▲: フサライドゾル・全般発生期散布 (7/10)
- △---△: フサライドゾル・病斑急増期散布 (7/22)
- ×.....×: 無散布

込まれているが、いもち病菌の侵入抑制効果についてのみに運用可能である。孢子形成阻害、病斑形成阻害など、薬剤が有する多くの機能は組み込んでいないので改良の余地が多いが、いもち病菌の侵入阻害効果のある薬剤散布の意志決定支援が可能である。

薬剤散布意志決定支援の例として、図-4 に 1991 年の気象データを利用したシミュレーションによる薬剤防除効果を、図-5 に実際の圃場での薬剤散布による防除効果を示した。

前節で述べたように、シミュレーションでは、全般発生開始期の薬剤散布の効果が強く、遅れると防除効果が劣ると予想されたが、同一時期に実際の圃場で行った薬剤散布結果とほぼ合致し、シミュレーションの発生予察への利用の有効性を示した (根本, 1993)。

II シミュレーションモデルの発生予察への利用上の問題点

構築されたシミュレーションモデルを実際に利用するに当たっては、モデルの挙動を理解した上で常に精度検証を行っていくことが重要となる。

BLASTL についても過去の気象データがそろっていない場合は、各種の典型的な気象経過のパターンをデータ化して準備しておき、これに基づく発病経過を長期予察に利用し、さらに天気予報に基づいて具体的気象データを推定する場合は、できるだけ多数の種類の予想パターンを想定して設定し、演算結果の予測誤差を評価できるようにするとよい。

また、BLASTL による葉いもち病勢進展の予測が当たっているのかどうかについては、必ず実態との照合を行う必要がある。このためには、まず、実測気象データに基づく発病経過と水田での発病実態との対比検証を行う。さらに、初発生時期、進展まん延の速度、発病程度、発病程度別の分布地域、品種別発病差異、局地的発生、株当たり病斑数、葉位別病斑数、病斑型別病斑数、分生孢子形成と離脱、抵抗力検定及び栽培品種の生育特性など、圃場での実態をできるだけ詳細に調査して、シミュレーションによる演算結果と対比検討する。これにより圃場から得られたデータとシミュレーションによる

予測値が大幅にかけ離れたものとなった場合は、パラメータに使用したイネの生育条件や栽培条件に関するデータ等の見直しを行い、再度、対比検討する。このような作業を繰り返し、実際の発病進展をほぼ矛盾なくシミュレートできるように検証を続けることが重要である。

また、広域の発生予察にシミュレーションモデルを利用するには、広域の発生実態と対比して適合性を検討する必要があるが、広域の発生実態を的確に把握するためのモニタリング手法の開発も、発生予察の精度向上には重要なことと考えられる。

お わ り に

以上のように、BLASTL はまだ多くの改良点を有しており、加えて福島県以外での実証例が少ないので、前述した発生予察地域活用技術確立事業を通じて、多くの地域でモデルの有効性が評価されることを期待している。

これまで、葉いもち発生予察は、現況の把握や定性的な予測が中心であり、葉いもち発生による被害量の解析と防除意志決定の支援などに関する情報の提供が少なかった。このため、情報の流れが一元的であり、情報の送り手と受益者 (農家・防除実施団体等) との綿密なコミュニケーションが図れず、情報無視の過剰防除や過小防除による被害増に陥る場合があった。

既存の統計的モデルとシミュレーションモデルを有機的に結合し、面的・量的予察の精度を向上させること (高精度発生予察エキスパートシステムの構築) で、いもち病に対する適正な対応策を指示できるとともに、環境に対する影響を最小限に抑え、稲作管理技術の省力化、効率化、低コスト化を支援する情報の提供が可能になると考えられる。

引 用 文 献

- 1) 橋本 晃ら (1984): 福島農試特研報 2: 1~104.
- 2) 石黒 潔 (1992): 植物防疫 46: 295~299.
- 3) 根本文宏 (1993): 東北地域における平成3年気象災害の記録: 215~218.
- 4) 松本和夫 (1981): 植物防疫 35: 545~549.

イネいもち病菌の分子遺伝学的解析研究の現状

高知大学農学部生物資源科学科 ^と土 ^さ佐 ^{ゆき}幸 ^お雄
茨城大学農学部生物生産学科 ^あ阿 ^く久 ^つ津 ^{かつ}克 ^み己

イネいもち病は、日本を含むイネ栽培地域で最も重要な病害の一つであるが、近年、植物病理学におけるモデル実験系としても世界的に注目されるようになった (VALENT, 1990)。特に 1980 年代より DNA 解析技術が糸状菌に適用できるようになると、多くの研究者が本菌を材料として用いるようになり、現在では植物病原糸状菌の中で最も DNA 解析の進んだ菌の一つとなっている (VALENT and CHUMLEY, 1991)。本稿では、いもち病菌における DNA 解析の現状を、この新しい技術が植物病理学の諸分野に及ぼした波及効果を考えながら概観したい。

I RFLP 分析

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism: 制限酵素断片長多型) は、近年、糸状菌ゲノム解析の有用なマーカーとして利用されるようになったが (MICHELMORE and HULBERT, 1987)、いもち病菌の解析にも多方面で応用され、大きな成果を上げている。

1 類縁関係の解析への応用

いもち病菌は、イネ菌のほかに、メヒシバ菌、シコクビエ菌など多くの菌群が存在する (加藤・山口, 1980; 八重樫, 1981)。多賀 (1989) は、種々の宿主由来のいもち病菌からミトコンドリア DNA を抽出し、その制限酵素切断パターンを比較した。その結果、イネ菌、シコクビエ菌、オヒシバ菌、シナグレスズメガヤ菌は相互に近縁であるが、メヒシバ菌はこれらと遠縁であることを示唆する結果を得た。これは、rDNA をプローブとして用いた核 DNA の RFLP 分析によっても支持された。最近、より広範な宿主から分離された菌株を用いて分析が進められ (森ら, 1993; 林ら, 1993)、単一コピープローブを用いた核 DNA の RFLP 分析の結果をもとに、いくつかの表型的樹状図 (phenogram) が描かれている (BORROMEO et al., 1993; LEBRUN et al., 1991)。

2 RFLP 地図の作成

核 DNA の RFLP は、それを示す 2 個体を交雑してその子孫における分離を調べると、通常、単純なメンデル遺伝を示す。そこで、多くの RFLP について分離分析を行えば、それらの連鎖地図を作成することができる。この場合のプローブとしては、通常ゲノム上の単一コピー

を検出できるものを用いる。したがって、地図上にはプローブの位置がプロットされる。LEONG とその共同研究者 (BUDDE et al., 1993; SKINNER et al., 1993) はこの方法を用いて、いもち病菌の RFLP 地図を作成した。いもち病菌の染色体数は $n=6$ であるとされている (YAEGASHI and HEBERT, 1976; TANAKA et al., 1979; LEUNG and WILLIAMS, 1987)。従来、このような細胞学的知見と遺伝解析より得られた連鎖群を対応づけることは、菌類においてはきわめて困難であった。しかし、近年電気泳動法の改良により、染色体をゲル上で分離し、“electrophoretic karyotype” を分析することが可能となった (SKINNER et al., 1991)。特に、CHEF (Contour-clamped homogeneous electric field) 電気泳動法の開発は、これをさらに容易にした (CHU et al., 1986)。LEONG のグループは、本法を用いて、いもち病菌の各染色体を分離することにほぼ成功し、 $n=7$ であると結論した (BUDDE et al., 1993; SKINNER et al., 1991, 1993)。さらに、このゲルをサザンブロットティングし、各連鎖群の代表的な RFLP マーカーをプローブとしてハイブリダイゼーションを行い、RFLP 連鎖群と染色体との対応関係を明らかにした。同様の試みは VALENT のグループによっても報告されているが (HAMER et al., 1989; VALENT and CHUMLEY, 1991; SWEIGARD et al., 1993)、両グループの報告に共通して興味深い点は、ゲル上で分離された各染色体のサイズが菌株間でかなり異なる (多型が認められる) こと、さらに転座が確認されたことである。これは、いもち病菌が染色体レベルにおいてかなりダイナミックな変異を起こしていることを示唆しており、本菌の生殖的隔離、病原性変異等との関連において興味深い。

3 MGR と Parallel RFLP マッピング

HAMER et al. (1989) は、イネいもち病菌の核ゲノム中に高頻度に存在する繰り返しの配列のファミリーを見いだし、これを MGR (Magnaporthe grisea repeat) と命名した。その特徴は次のとおりである。①すべての染色体上に散在する。②ファミリーのメンバーの間でかなりの多型を示す。③イネ菌にはゲノム当たり 40~50 コピー存在するが、イネ科雑草菌のゲノム中には非常にわずかしかな存在しない。この配列は、いもち病菌のゲノム解析、さらに系統関係の解析、生態学へと多方面に利用されている (HAMER, 1991)。

彼らはまず、MGR を RFLP 地図の作成に応用した。すでに述べたように、RFLP 地図作成のためにプローブとして通常ゲノム上に単一コピー存在するものを用いるが、これは多コピー存在するものを用いると多数のバンドが現れ、解析が困難になるためである。しかし、多コピー存在するものであっても、MGR のようにゲノム上に散在し、しかも個体 (菌株) 間にコピー数の極端に差があるものであれば、逆に有用なプローブとなる。すなわち、多コピーを持つイネ菌とほとんど持たない雑草菌を交雑し、その F_1 集団においてイネ菌の各サイズの MGR バンドが現れるか否かを調べてゆけば、一つのプローブで一度に多くの遺伝子座の解析ができることになる。この方法で、地図上にはゲル上のバンド名がプロットされる。このような散在繰り返し配列を用いた RFLP マッピングは、Parallel RFLP マッピングと呼ばれている (RUVKUN et al., 1989)。HAMER ら (HAMER and GIVAN, 1990; ROMAO and HAMER, 1992) は本法を用いて、いもち病菌の RFLP 地図を作成し、表現型形質に関与するいくつかの遺伝子をその上にプロットした。

4 MGR と DNA フィンガープリント

MGR は菌群の起源、系統関係の推定にも応用された。HAMER et al. (1989) は、世界中から集めたイネ菌が MGR を有しているのに対して、イネ科雑草菌がそれをほとんど持たない事実から、世界各地のイネ菌は共通の祖先集団から一元的に由来したものであり、イネ菌とその他の菌群は遺伝的に隔離されたまま独自に進化してきたと考えた。さらに、1980 年代初頭にブラジルで発生したコムギいもち病菌は MGR をほとんど持たないことから、本菌はイネ菌由来ではなく、イネ科雑草菌に由来すると考えた (HAMER, 1991)。

ところで、ゲノム DNA を適切な制限酵素で切断し、電気泳動後ゲノム中に多コピー散在する配列をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行うと、バーコード様のバンドが得られるが、これが個体 (菌系)、あるいは系統に特有のパターンを示し、それらの識別に利用できることがある。このような遺伝子型特異的 RFLP パターンを広義に DNA フィンガープリントという (狭義には JEFFREYS et al., 1985 参照)。LEVY et al. (1991) は MGR をいもち病菌のフィンガープリンティングのプローブとして利用し、アメリカ合衆国で 30 年間にわたって採集されたイネ菌株について、それらの pathotype とフィンガープリントが示す系統関係の間に関連があるかどうかを検討した。その結果、同じ pathotype に属する菌株はほぼ同じフィンガープリントを示すことが明らかとなった。このことから、彼らは pathotype は比較的安定なものであり、そのおのおのはほぼ同一系統群に属する菌系から構成されていると考えた。イネの栽培の歴史

の長いアジアにおいて同様なことが成り立つかどうかは今後の検討を待たなければならないが、上記の報告はいもち病菌の生態学、系統進化学に新局面を開いた価値ある成果といえよう。

II 遺伝子操作系の確立

遺伝子のクローニング、クローニングした遺伝子の機能・発現の解析には形質転換系の確立が不可欠である (LEONG and HOLDEN, 1989)。いもち病菌においては、①栄養要求性突然変異体を *Aspergillus* の野生型遺伝子をマーカーに持つプラスミドベクターで形質転換して原栄養体を選抜する系 (PARSONS et al., 1987; DABOUSSI et al., 1989)、②hygromycin B 抵抗性遺伝子をマーカーに持つベクターで形質転換する系 (LEUNG et al., 1990) が確立された。これらの系を利用して、ある遺伝子が感染成立に不可欠か否かを検討した事例が報告されているので、紹介したい。

SWEIGARD et al. (1992 a) は、いもち病菌のクチナーゼ遺伝子をクローニングし、*CUT1* と名づけた。次に SWEIGARD et al. (1992 b) は *CUT1* の中間領域に形質転換の際の選択マーカーを挿入したベクターを構築した。これらを用いていもち病菌野生株の形質転換を行い、破壊された *CUT1* が相同組換えによって正常 *CUT1* と置換された形質転換体を得た。これらは予想どおり *CUT1* を発現していなかったにもかかわらず、宿主に対し親株と同程度の病原性を示した。このことから、彼らは *CUT1* は病原性に不可欠ではないと結論した。

III 非病原力遺伝子のクローニング

FLOR (1956) は、アマとアマのさび病菌の間の特異性を遺伝学的に研究し、「宿主の抵抗性遺伝子それぞれに対し、特異的に対応する (非) 病原性 (力) 遺伝子が寄生者に存在する」という Gene-for-gene theory (遺伝子対遺伝子説) を提唱した。この理論はいもち病 (SILUE et al., 1992) を含む多くの宿主-病原菌系で成り立つことが証明されている (DAY, 1974; VANDERPLANK, 1984)。この非病原力遺伝子の実体がどのようなものかは、病原菌の病原性機構、レース-品種間特異性の成立機構にかかわる重要な問題である。糸状菌の非病原力遺伝子のクローニングに成功した最初の例は、トマト葉かび病菌 (*Cladosporium fulvum*) の *avr9* であるが (VAN KAN et al., 1991)、この場合には非病原力遺伝子は抵抗性遺伝子に認識される特異的エリシターの産生を直接コードし、それに対立する病原力遺伝子をもつとされていたレースは *avr9* のコード領域を全く欠失していた。

非病原力遺伝子のクローニング戦略としては、一般に次の三つが考えられる。①遺伝子産物からさかのぼる。

遺伝子産物が判明しているか、あるいは推測されている系においてはこの方法が最も簡単であろう。先に述べた *avr9* の例はこの方法を用いている。すなわち、*avr9* の産物と推測される特異的エリシターのアミノ酸配列がわかっていたので、これを参考にオリゴヌクレオチドプローブを合成し、cDNA ライブラリーをスクリーニングしてポジティブクローンに到達した。しかし、いもち病菌の場合はそのような産物はまだ知られていない。②機能の相補。非親和性レースのゲノム DNA ライブラリーで親和性レースを形質転換し、非親和性に形質転換したものをスクリーニングする。いもち病菌においては形質転換系が確立しているので、本法は原理的には可能であるが、非親和性形質転換体のスクリーニングに多大な労力を要する。③連鎖したマーカーからのクロモソームウォーキング。いもち病菌においてはすでにかなり詳細な RFLP 地図が作成されているので、利用可能である。VALENT et al. (1991) は *Avr1-CO39* (イネ品種 CO39 に対する非病原力遺伝子) に連鎖した MGR マーカーを報告している。VALENT のグループは、②と③の手法を用いていもち病菌の非病原力遺伝子のクローニングを試みた (CHUMLEY and VALENT, 1991)。その結果、いくつかの非病原力遺伝子のクローニングに成功したようである (VALENT et al., 1993)。

IV 転移因子

染色体上の位置を変える DNA 配列、転移因子 (transposable element) は、現在では原核、真核を問わず、広く生物界に存在することが知られている (FINNEGAN, 1989)。最近、植物病原糸状菌においても、転移因子が次々と発見されるようになった。

転移因子は、大きく二つのグループに分けることができる (FINNEGAN, 1989)。一つは、DNA から DNA へと直接転移するものである。植物病原糸状菌において最初に報告された転移因子は、*Fusarium oxysporum* に見いだされた *Fot1* (DABOUSSI et al., 1992) であるが、これはこのグループに属するものである。もう一つのグループは、RNA 中間体を介して転移するもので (DNA→RNA→DNA)、レトロトランスポゾンと呼ばれている。その転移機構の性質上、逆転写酵素を持つことが特徴となる。レトロトランスポゾンは、その構造からさらに LTR レトロトランスポゾンとポリ A タイプ (あるいは non-LTR, LINE1 様) レトロトランスポゾンに大別される。前者はレトロウイルスと非常によく似た構造を持つもので、その特徴は両端にある LTR (Long Terminal Repeat) と呼ばれる同方向反復配列である。後者は LTR をもたず、一方の鎖の 3' 末端に特徴的なポリ A 配列を持つ。VALENT and CHUMLEY (1991)、HAMER (1991) は、

MGR がポリ A タイプレトロトランスポゾンである可能性を示唆している。

最近特に注目を集めているのは、LTR レトロトランスポゾンである。MCHALE et al. (1992) はトマト葉かび病菌に LTR レトロトランスポゾン (約 7000bp) を見いだし、*CfT-1* と命名した。これは、植物病原糸状菌における LTR レトロトランスポゾンの最初の報告であった。続いて、DOBINSON et al. (1993) は、シコクビエいもち病菌 (*Eleusine* 属に寄生する菌) から LTR レトロトランスポゾンを分離し、*Grasshopper* と名づけた。さらに LEONG のグループ (土佐ら, 1993; LEONG et al., 1993) は、イネいもち病菌に LTR レトロトランスポゾン (約 5500bp) を見いだし、*Maggy* と命名した。これらの報告で、見いだした因子をレトロトランスポゾンとした根拠は構造上の類似性、及び状況証拠によるもので、転移することの証明はされていなかった。ところが、LEBRUN et al. (1993) は、いもち病菌に導入した *miaD* (*Aspergillus nidulans* の硝酸還元酵素遺伝子) でレトロトランスポゾンをトラップすることに成功した。この因子は塩基配列レベルで *Maggy* とほぼ同じものであった。このことから、*Maggy* が転移能力を持つことが間接的に証明された。

このように、最近になっていもち病菌を中心にレトロトランスポゾンの報告が相次いでいるが、DOBINSON et al. (1993) の *Grasshopper* の報告は系統進化的にも興味深い知見をもたらした。本因子は、日本、ネパール、インド、西アフリカ由来のシコクビエ菌には存在するが、他の地域由来のシコクビエ菌、及び他の単子葉植物由来の菌には存在しなかった。このことから彼らは、*Grasshopper* は、いもち病菌の宿主特異的分化型が形成された後、比較的最近、水平移動によってシコクビエ菌群の一部に入りこんだと考えた。さらに、現在 *Grasshopper* を持っている菌系は、シコクビエの伝播に伴って上記の国々に分散していったクローン集団であるとした。この報告は、レトロトランスポゾンがいもち病菌とその宿主の共進化 (KATO, 1978) の研究の有用なマーカーとなることを示しているように思われる。ところで、水平移動が起こったとすれば、どのような機構が働いたのだろうか。LTR レトロトランスポゾンは構造的にレトロウイルスと非常によく似ており、細胞外に出る相を欠いたレトロウイルスと考えることもできる (BALTIMORE, 1985)。レトロウイルスが感染性を失って LTR レトロトランスポゾンになったのかどうかは議論の余地のあるところであるが (GRANDBASTIEN, 1992)、もしそうだとすれば水平移動を説明しやすい。*CfT-1* が見いだされたトマト葉かび病菌の菌体内には、逆転写酵素活性をもつウイルス様粒子が認められている (MCHALE et al., 1992)。

以上のほかに、さらに別のタイプのトランスポゾン様因子が、いもち病菌に見いだされている (SONE et al., 1993)。これから、植物病原糸状菌からの転移因子発見の報告はさらに増えるであろう。転移因子はゲノムに様々な変異を引き起こし、またゲノムのダイナミックな再構成にも関与する (FINNEGAN, 1989)。これまでフィールドで観察されてきた植物病原菌の変異に、転移因子がどのようにかかわっているのかは興味深い問題である。

おわりに

以上のように、いもち病菌のDNA解析に関する報告は最近急激に増加しているが、その成果をまとめると次のようになる。第一に、DNAを分類学、生態学、系統進化化学における有効なマーカーとして利用できることが明らかになった。第二に、種々の遺伝子をクローニング、解析するための準備段階が終わった。すなわち、遺伝子操作系を確立し、一方で詳細なRFLP地図を作成し、その上に表現型にかかわる遺伝子をプロットできた。この二つを両輪として、今後多くの遺伝子のクローニング、その機能の解明が加速的に進んでいくであろう。いもち病菌の病原性機構、その変異機構がDNAレベルで明らかにされるのも、そう遠い将来ではないように思われる。

本稿を終えるにあたり、最近のいもち病研究の動向について有益なご示唆を賜った神戸大学農学部 加藤 肇博士、岡山大学教養部 多賀正節博士に心から感謝の意を表す。

引用文献

- BALTIMORE, D. (1985) : Cell 40 : 481~482.
- BORROMEO, E.S. et al. (1993) : Phytopathology 83 : 393~399.
- BUDDE, A.D. et al. (1993) : In Genetic maps. —Locus maps of complex genomes—. Six edition Ed. by S.J. O'Brien. Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp. 3.110~3.111.
- CHU, G. et al. (1986) : Science 234 : 1582~1585.
- CHUMLEY, F. G. and B. VALENT. (1991) : In Molecular Strategies of Pathogens and Host Plants. Ed. by S. S. Patil et al. Springer-Verlag. pp.131~138.
- DABOUSSI, M. J. et al. (1989) : Curr. Genet. 15 : 453~456.
- et al. (1992) : Mol. Gen. Genet. 232 : 12~16.
- DAY, P. R. (1974) : Genetics of host-parasite interaction. Freeman, San Francisco.
- DOBSON, K. F. et al. (1993) : Mol. Plant-Microbe Interact. 6 : 114~126.
- FINNEGAN, D. J. (1989) : Trends Genet. 5 : 103~107.
- FLOR, H. H. (1956) : Adv. Genet. 8 : 29~54.
- GRANDBASTIEN, M. (1992) : Trends Genet. 8 : 103~108.
- HAMER, J. E. (1991) : Science 252 : 632~633.
- and GIVAN, S. (1990) : Mol. Gen. Genet. 223 : 487~495.
- et al. (1989) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 : 9981~9985.
- 林 長生ら (1993) : 日植病報 59 : 270 (講要).
- JEFFREYS, A. J. (1985) : Nature 316 : 76~79.
- 加藤 肇・山口富夫 (1980) : 関東病虫研報 27 : 14~15.
- KATO, H. (1978) : Gamma Field Symposia. 17 : 1~22.
- LEBRUN, M. H. et al. (1991) : In Rice Genetics II : Proceedings of the Second International Rice Genetics Symposium, 1990, IRRI, Philippines.
- et al. (1993) : In the Abstracts of an International Symposium on Rice Blast Disease. Univ. of Wisconsin-Madison, 1993, USA.
- LEONG, S. A. and HOLDEN, D. W. (1989) : Annu. Rev. Phytopathol. 27 : 463~481.
- et al. (1993) : In the Abstracts of an International Symposium on Rice Blast Disease. Univ. of Wisconsin-Madison, 1993, USA.
- LEUNG, H. and WILLIAMS, P. H. (1987) : Can. J. Bot. 65 : 112~123.
- et al. (1990) : Curr. Genet. 17 : 409~411.
- LEVY, M. et al. (1991) : Plant Cell 3 : 95~102.
- MCHALE, M. T. et al. (1992) : Mol. Gen. Genet. 233 : 337~347.
- MICHELMORE, R. W. and HULBERT, S. H. (1987) : Annu. Rev. Phytopathol. 25 : 383~404.
- 森 直樹ら (1993) : 日植病報 59 : 270 (講要).
- PARSONS, K. A. et al. (1987) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 : 4161~4165.
- ROMAO, J. and HAMER, J. E. (1992) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 : 5316~5320.
- RUVKUN, G. et al. (1989) : Genetics 121 : 501~516.
- SKINNER, D. Z. et al. (1991) : In More gene manipulations in fungi. Academic Press, Inc., NY. pp. 86~103.
- et al. (1993) : Theor. Appl. Genet. 87 : 545~557.
- SONE, T. et al. (1993) : Biosci. Biotech. Biochem. 57 : 1228~1230.
- SWEIGARD, J. A. et al. (1992a) : Mol. Gen. Genet. 232 : 174~182.
- et al. (1992b) : Mol. Gen. Genet. 232 : 183~190.
- et al. (1993) : In Genetic maps. —Locus maps of complex genomes—. Six edition. Ed. by S.J. O'Brien. Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp. 3.112~3.117.
- SILUE, D. et al. (1992) : Phytopathology 82 : 577~580.
- 多賀正節 (1989) : In 植物病害と遺伝子工学. 大内成志・豊田秀吉編. 朝日出版社. pp.135~147.
- TANAKA, Y. et al. (1979) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 45 : 182~191.
- 土佐幸雄ら (1993) : 日植病報 59 : 272 (講要).
- VALENT, B. (1990) : Phytopathology 80 : 33~36.
- and CHUMLEY, F. G. (1991) : Annu. Rev. Phytopathol. 29 : 443~467.
- et al. (1991) : Genetics 127 : 87~101.
- et al. (1993) : In the Abstracts of an International Symposium on Rice Blast Disease. Univ. of Wisconsin-Madison, 1993, USA.
- VANKAN, J. A. L. et al. (1991) : Mol. Plant-Microbe Interact. 4 : 52~59.
- VANDERPLANK, J. E. (1984) : Disease Resistance in Plants. 2nd ed. Academic Press, Inc., London.
- 八重樫博志 (1981) : 東北農試研報 63 : 49~125.
- YAEHASHI, H. and HEBERT, T. T. (1976) : Phytopathology 66 : 122~126.

ミナミキイロアザミウマのナスにおける総合的管理

岡山県立農業試験場 ^{なが}永 ^い井 ^{かず}一 ^や哉

1978年、ミナミキイロアザミウマ (*Thrips palmi* KARNY) が我が国に侵入した後、本種は西日本における果菜類の最重要害虫となり、特に、露地栽培のナスでの被害が大きい。防除は主に殺虫剤で行われているが、本種は多くの殺虫剤に抵抗性を獲得しており、また殺虫剤の掛かりにくい場所に生息するので、多発生すると殺虫剤だけでは防除できない。

梶田 (1985) は、ミナミキイロアザミウマの捕食性天敵として、ハナカメムシ科ヒメハナカメムシ属からナミヒメハナカメムシ (*Orius sauteri*) 他1種を確認し、筆者ら (1985) は、ヒメハナカメムシ属の一種がナスに発生するミナミキイロアザミウマの密度を抑制できることを明らかにした。そして、本種をミナミキイロアザミウマの防除に利用するための研究を実施してきた。

本稿では、これまでの研究の経過 (永井ら, 1988 a, b; 永井, 1989 a, b; 永井, 1990 a, b; NAGAI, 1990; 永井, 1991 a, b; 永井, 1993) の概要を紹介し、さらに1989~90年にナスで実施したミナミキイロアザミウマの総合的管理についての試験 (永井, 1991 c; 永井, 1993; NAGAI, 1993 など) について述べる。

I ミナミキイロアザミウマの天敵としてのナミヒメハナカメムシの有効性

ナミヒメハナカメムシは、ミナミキイロアザミウマ以外にダイズウスイロアザミウマ、チャノホコリダニ、カンザワハダニ、ワタアブラムシ、モモアカアブラムシなどを捕食するが、露地栽培ナスでは、アザミウマ類幼虫の捕食を目撃することが最も多い (永井, 1991 a; 永井, 1993)。ミナミキイロアザミウマとナミヒメハナカメムシが発生するポット栽培のナスに、ミナミキイロアザミウマをあまり殺さないがナミヒメハナカメムシをよく殺す殺虫剤MPPを散布し、ナミヒメハナカメムシの密度を低下させると、ミナミキイロアザミウマの密度は高まった。逆に、殺虫剤を散布せずナミヒメハナカメムシを放飼すると、ミナミキイロアザミウマの密度は低下した (永井ら, 1988 b)。また、露地栽培ナスではナミヒメハナカメムシが自然発生するとミナミキイロアザミウマの密度は低下したが、ナミヒメハナカメムシだけでは被害を

十分防げなかった (永井ら, 1990 a)。

II ナミヒメハナカメムシの生態的特性

ミナミキイロアザミウマ幼虫でナミヒメハナカメムシを飼育する (16時間照明8時間暗、以下の各試験とも日長条件は同じ) と、发育零点、发育有効積算温度は、卵期では11.6°C, 57.8日度、全幼虫期間では、11.9°C, 158.7日度で、一世代平均期間は23.8日、純繁殖率は3.99、1日当たり内的自然増加率は0.0577/雌、1か月当たり増殖倍率は5.65倍であった (永井, 1989 b; 永井, 1993)。

ナミヒメハナカメムシの1齢幼虫, 3齢幼虫, 5齢幼虫及び雌成虫は、ミナミキイロアザミウマ2齢幼虫をそれぞれ約3, 11, 13及び22頭捕食した (25°Cで24時間当たり、以下の各試験とも温度、時間の条件は同じ) (永井, 1991 b)。また、雌成虫はカンザワハダニ雌成虫を約26頭、ワタアブラムシ1齢幼虫, 4齢幼虫をそれぞれ12頭, 6頭捕食した。これらの害虫に対する機能の反応は、いずれもHOLLING (1965) のII型に類似しており、餌動物の密度が高まるにつれナミヒメハナカメムシによる密度抑制から開放され急激な密度上昇が起こると予想される。また、ナミヒメハナカメムシ雌成虫を用いた餌選択実験では、ワタアブラムシやカンザワハダニに比較して、ミナミキイロアザミウマをより強く選択して捕食する習性がみられた (永井, 1991 b)。

III 選択的殺虫剤

前述のとおり、ナミヒメハナカメムシだけではミナミキイロアザミウマの被害を十分防除できない。そこで、ナミヒメハナカメムシの密度を低下させず、ミナミキイロアザミウマを殺すことが可能な選択的殺虫剤を補完的に用い、両者の作用でミナミキイロアザミウマの防除を行うことを考えた。

昆虫の发育・変態制御剤 (以下、IGR) は有機リン、カーバメート及び合成ピレスロイド剤などに比較して殺虫スペクトラムの狭い薬剤が多く (安井, 1991)、天敵に悪影響が少ない選択的殺虫剤が見いだされる確率が高い (GREATHEAD, 1990)。そこで、各種IGR剤のミナミキイロアザミウマに対する殺虫効果を調べると、数種がミナミキイロアザミウマに対し殺虫作用を示した (永井ら,

1988a; 永井, 1989a; NAGAI, 1990)。これらの中でピリプロキシフェンはナミキイロアザミウマに対して悪影響がみられなかった (NAGAI, 1990)。この殺虫剤は、ミナミキイロアザミウマの主に蛹期に殺虫作用があることなどから、単独では効果がやや不十分であるが、ナミヒメハナカメムシが発生するナスに散布すると両者の作用で、ミナミキイロアザミウマに対し、高い防除効果が認められた (NAGAI, 1990; 永井, 1991a)。

また、露地栽培ナスでのミナミキイロアザミウマ以外の主要な害虫の防除にも、ナミヒメハナカメムシの密度低下を招く殺虫剤の散布は好ましくない。そこで、主要な害虫防除が可能な殺虫剤で、ナミヒメハナカメムシに悪影響が少ない殺虫剤を選びだした (永井, 1990b; 永井, 1991a)。

IV ミナミキイロアザミウマの総合的管理

1989年は農業試験場 (岡山県山陽町) 内圃場, 1990年は県中部山間地の農家圃場 (岡山県赤坂町) にミナミキイロアザミウマの総合的管理区 (以下、総合区とする) と慣行防除区 (以下、慣行区とする) とを設け、組立て試験を行った。総合区ではミナミキイロアザミウマを含むすべての害虫防除に使用する殺虫剤はナミヒメハナカメムシに悪影響が少ない殺虫剤だけとした。ミナミキイロアザミウマに対する殺虫剤の散布は、総合区、慣行区ともに原則としてミナミキイロアザミウマの被害により秀品果率が90%以下になった日に実施し、その他の害虫には防除が必要と判断した時に適宜実施した。

1 農業試験場内での体系化試験

総合区では、ニジュウヤホシテントウの防除にプロフェジン水和剤を1回散布し、ミナミキイロアザミウマの防除にピリプロキシフェン乳剤を2回散布する必要がある。一方、慣行区では定植直前に植え穴にカルボスルファン粒剤を処理し、ニジュウヤホシテントウとカンザワハダニの防除にそれぞれ1回殺虫剤を散布した後、ミナミキイロアザミウマ防除のため7種類の殺虫剤を14回散布した。

図-1には、ミナミキイロアザミウマ成虫とナミヒメハナカメムシ成虫及び幼虫の密度変動を示した。ミナミキイロアザミウマ成虫は両区ともに7月下旬まで密度に差がなかった。しかし、慣行区では8月上旬から9月上旬に密度が上昇したが、総合区ではこの期間も低密度で推移した。ナミヒメハナカメムシの発生は総合区では7月中旬から10月上旬にほぼ連続してみられたが、慣行区ではミナミキイロアザミウマに対する防除を開始した8月2日以後には全くみられなくなった。

収穫可能な果実をすべて収穫し、収穫果数と加害種類の被害程度を調査した。図-2に示したように、収穫果数に区間差はほとんどなかった。ミナミキイロアザミウマの加害により秀品にならなかった果実、すなわち被害果は総合区、慣行区ともに7月29日から収穫終了時まで認められた。総合区での秀品果率は8月8日まで90%以上あったが、8月14日に83%に低下したのでピリプロキシフェン乳剤を散布した。その結果、8月28日から9月9日まで秀品果率は94~99%に回復した。その後、秀品果率は9月20日に77%に低下したため、再びピリプロキシフェン乳剤を散布したところ、10月上旬から中旬には86~95%に回復した。慣行区では8月2日から9月5日にかけて8回の防除を実施したが、秀品果率は徐々に低下を続け、9月上旬には約50%まで低下した。害虫に

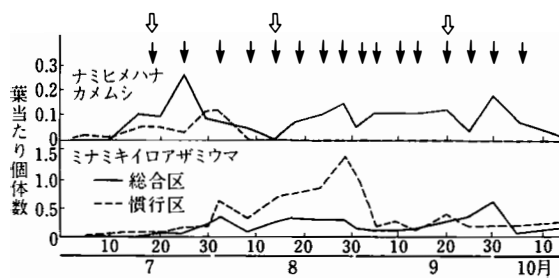


図-1 総合的管理区及び慣行区でのナミヒメハナカメムシとミナミキイロアザミウマの密度変動 (NAGAI, 1993)

↓は総合的管理区, ↓は慣行区での殺虫剤散布日を示す

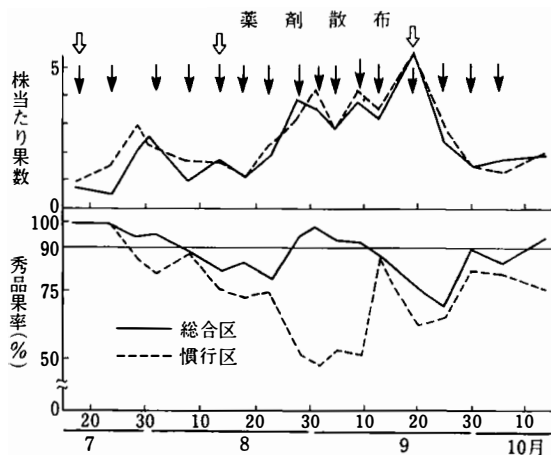


図-2 総合的管理区及び慣行区での収穫果数とミナミキイロアザミウマの加害による秀品果率の変動 (NAGAI, 1993)

↓は総合的管理区, ↓は慣行区での殺虫剤散布日を示す

表-1 総合的管理の収益性 (10 a 当たり) (NAGAI, 1993)

	粗収益(千円)	防除経費(千円)	粗収益－ 防除経費(千円)
総合的管理 慣行防除	1,119 1,054	14 60	1,105 994
総合的管理 による利益	65	46	111

よる被害程度で等級を区分したナス果実の月別、等級別収穫個数に市場での価格を月別、等級別を掛け算し、粗収益を求めて示した。この試算での10 a 当たりの生産量は、総合区が慣行区に比較して370 kg 少なかったが、粗収益は総合区が慣行区より65,000 円多かった(表-1)。これは、慣行区では総合区に比較し、ミナミキイロアザミウマによる被害が多く、優～良品や出荷不能果が多かったため、粗収益が減少したためである。防除経費を試算すると、総合区が14,000 円、慣行区が60,000 円となり、総合的管理により防除経費は46,000 円削減できた。以上に示したように、総合的管理では慣行防除に比較し粗収益が10 a 当たり65,000 円増加し、防除経費が46,000 円減少した結果、10 a 当たり111,000 円の利益が見込まれた(表-1)。

2 現地実証試験

ナミメハナカメムシの生息場所となるシロツメクサなどの雑草が周辺にある露地栽培ナスの圃場を選定し、同一圃場内に総合区と慣行区を設けた。

総合区では、ワタアブラムシが一部の株に集中して多発生したので、多発株だけにDDVP 乳剤を散布した。そして、ニジュウヤシシントウ防除のためのブプロフェジン水和剤を、カンザワハダニ防除のためフェニソプロレート乳剤をそれぞれ1 回ずつ散布した。なお、殺菌剤の散布は総合区、慣行区を区別せず適宜同時に散布した。

総合区のナスには、ヒメハナカメムシ類の餌になるダイズスイロアザミウマなどの在来のアザミウマ類の発生がきわめて多く、ヒメハナカメムシ類の発生もきわめて多かった。このため、ミナミキイロアザミウマの密度はほとんど高まらず、被害果もほとんど発生しなかった。一方、慣行区では定植時にベンフラカルブ粒剤を処理した後、カンザワハダニの防除に4 回、ミナミキイロアザミウマの防除に12 回の殺虫剤を散布したが、ミナミキイロアザミウマ密度は高まり、9 月中旬以後には半数以上の果実が被害果になった。

総合区と慣行区とでは、ミナミキイロアザミウマ以外の害虫の発生が異なっていた。ハスモンヨトウによる被害は総合区で9 月下旬から多発生した。しかし、本種の

防除が可能でヒメハナカメムシ類に悪影響が少ない殺虫剤は見つかっておらず、防除できなかった。今後、本種の薬剤を検索する必要がある。また、総合区ではフキノメイガ、ウスミドリメクラガメ及びコウモリガによる被害が慣行区に比較してやや多く発生したが、被害は少なかった。

以上のように、露地栽培で自然発生のヒメハナカメムシ類を活用する場合、圃場周辺のヒメハナカメムシ類の発生源の有無や圃場の面積などが、圃場内のヒメハナカメムシ類の発生に影響すると考えられる。また一方では、慣行の防除の体系下では、潜在化している害虫が顕在化し、被害を生ずるおそれもあり、今後これら害虫の発生動態の注意も必要である。

お わ り に

化学的防除(殺虫剤)の問題点として、安全性や環境汚染に対する危惧、抵抗性害虫の出現、リサージェンス(誘導多発生)などが指摘されている。

これらの問題の解決には、殺虫剤に過度に依存した害虫防除からの脱却が必要で、天敵による自然制御力を活用して殺虫剤の使用量を極力減らし、農家所得を向上させる害虫の管理システム、すなわち総合的害虫管理の確立が重要である。

実証試験の結果から、露地栽培のナスでは、ミナミキイロアザミウマ密度が低い時期からの殺虫剤散布は、殺虫剤に抵抗性を持つミナミキイロアザミウマよりも有効な天敵であるヒメハナカメムシ類をより多く殺し、加えて餌になる在来のアザミウマ類などの微小動物も除かれて、ヒメハナカメムシ類の密度が低下し、かえってミナミキイロアザミウマの密度が高まってしまうことも懸念される。さらに、ミナミキイロアザミウマの防除を目的とする頻繁な殺虫剤散布は、同じ生息場所にいるアブラムシ類やハダニ類にも殺虫剤の淘汰圧がかかる。その結果、ミナミキイロアザミウマの薬剤抵抗性を高める(森下, 1993)ばかりでなく、モモアカアブラムシの薬剤感受性の低下を助長する(森下・東, 1991)。この対策として、ミナミキイロアザミウマの防除には土着天敵のヒメハナカメムシ類による自然制御力を活用するため、ヒメハナカメムシ類に悪影響が少なく、またミナミキイロアザミウマに殺虫力がある選択的殺虫剤を利用して、殺虫剤の散布回数を極力少なくすることが有効な対策になると考えられる。

引 用 文 献

- 1) GRETHEAD, D. J. (1990) : FFTC Book Series 40 : pp. 1~7.

- 2) HOLLING, C. S. (1965) : Mem. Entomol. Soc. Can. 45 : 1~60.
- 3) 梶田泰司 (1985) : 応動昆第 29 回大会講要 (府中) 43.
- 4) 森下正彦 (1993) : 応動昆 37 : 153~157.
- 5) ———・東勝千代 (1990) : 同上 34 : 163~165.
- 6) 永井一哉 (1989a) : 植物防疫 43 : 535~537.
- 7) ——— (1989b) : 応動昆 33 : 260~262.
- 8) ——— (1990a) : 同上 34 : 109~114.
- 9) ——— (1990b) : 同上 34 : 321~324.
- 10) NAGAI, K. (1990) : Appl. Ent. Zool. 25 : 199~204.
- 11) 永井一哉 (1991a) : 植物防疫 45 : 423~426.
- 12) ——— (1991b) : 応動昆 35 : 269~274.
- 13) ——— (1991c) : 同上 35 : 283~289.
- 14) ——— (1993) : 岡山県立農試臨時報告 82 : 55p.
- 15) NAGAI, K. (1993) : Proc. Int. Nat. Sympo. on the "Use of Biological Control Agent under Integrated Pest Management." 384~404.
- 16) 永井一哉ら (1985) : 応動昆第 29 回大会講要 (府中) 49.
- 17) ———ら (1988a) : 応動昆 32 : 297~299.
- 18) ———ら (1988b) : 同上 32 : 300~304.
- 19) 安井通宏 (1991) : 昆虫成長制御剤アプロフェジンの作用特性と害虫防除剤開発に関する研究, 京都大学農学博士学位論文, 170 p.

新しく登録された農薬 (6.2.1~6.2.28)

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 (製造業者又は輸入業者名)、対象作物 : 対象病害虫 : 使用時期及び使用回数など (…日…回は、収穫何日前何回以内散布の略)。(登録番号 18625~18635 までの 11 件、有効登録件数は 5849 件)

「殺虫剤」

PAP 粉剤

PAP 3.0%

パプチオン粉剤 3 (6.2.7)

18625 (アグロス)

稲 : ニカメイチュウ第一世代・ニカメイチュウ第二世代 : ツマグロヨコバイ・ヒメトビウンカ : 7 日 4 回, キャベツ : ハスモンヨトウ : 14 日 4 回, カリフラワー : ハスモンヨトウ : 14 日 2 回, ブロッコリー : ハスモンヨトウ : 21 日 2 回, はくさい : ハスモンヨトウ : 21 日 3 回, だいこん・かぶ : ハスモンヨトウ : 30 日 2 回, ほうれんそう : ハスモンヨトウ : 21 日 3 回, レタス : ハスモンヨトウ : 21 日 4 回, ばれいしょ : ハスモンヨトウ : 14 日 3 回, だいず : シロイチモジマダラメイガ : 30 日 2 回, くり : モモノゴマダラノメイガ : 14 日 4 回, 茶 (覆下栽培を除く) : チャドクガ : 摘採 21 日前まで : 2 回以内, 桑 : クワヒメゾウムシ・クワノメイガ・ヒシモンヨコバイ・カサハラハムシ : 摘採 15 日前まで : 4 回以内

ケルセン水和剤

ケルセン 33.0%

ケルセン水和剤 33 (6.2.7)

18626 (アグロス)

なつみかん : ミカンハダニ・ミカンサビダニ・コウノシロハダニ・ミヤケハダニ : 21 日 2 回, みかん : ミカンハダニ・ミカンサビダニ・コウノシロハダニ・ミヤケハダニ : 7 日 2 回, りんご : リンゴハダニ・オウトウハダニ・ナミハダニ : 7 日 2 回, なし : ハダニ類 : 7 日 2 回, もも : ハダニ類 : 前日 2 回, おうとう : ハダニ類 : 7 日 2 回, いちご : ハ

ダニ類 : 3 日 2 回, きゅうり・トマト : ハダニ類 : 前日 2 回, メロン・スイカ : ハダニ類 : 3 日 2 回, さやいんげん・さやえんどう : ハダニ類 : 7 日 2 回, 茶 (覆下栽培を除く) : ハダニ類 : 摘採 20 日前まで : 2 回以内, 花き : ハダニ類 : 発生初期 : 2 回以内

MEP 水和剤

MEP 5.0%

スミチオンゾル (6.2.7)

18627 (アグロス)

きく・ばら : アブラムシ類 : 6 回以内

「殺菌剤」

フサライド水和剤

フサライド 20.0%

ラブサイドフロアブル (6.2.7)

18629 (呉羽化学), 18630 (武田薬品), 18631 (日本農薬), 18632 (北興化学), 18633 (八洲化学), 18634 (三共), 18635 (北海三共)

稲 : いもち病 : 1000~1500 倍 : 収穫 21 日前まで : 穂ばらみ期以降 4 回以内 : 散布, 空中散布, 無人ヘリコプターによる散布

「その他」

クロロファシノン粒剤

クロロファシノン 0.010%

ネズコ粒剤 L (6.2.7)

18628 (塩野義製薬)

農耕地・草地・林地 : 野そ

新しい「植物防疫」専用合本ファイル

本誌名金文字入・美麗装幀

本誌 B5 判 12 冊 1 年分が簡単にご自分で製本できる。

①貴方の書棚を飾る美しい外観。 ②穴もあけず糊も使わず合本できる。

③冊誌を傷めず保存できる。 ④中のいずれでも取外しが簡単にできる。

⑤製本費がはぶける。 ⑥表紙がビニールクロスになり丈夫になった。

改訂定価 1 部 720 円 送料 390 円

ご希望の方は現金・振替で直接本会へお申込み下さい。



ベトナムにおける稲作とトビイロウンカの発生

農林水産省九州農業試験場 ^{すずき} 鈴木 ^{よしと} 芳人・^{わだ} 和田 ^{たかし} 節

はじめに

ベトナムは、労働人口の約70%が農業に従事している農業国であり、経済に占める農業の割合はきわめて高い。農産物のなかでも米はとびぬけて重要であり、家畜と商品作物を除く食糧生産の約90%を占め、同国の貴重な輸出品の一つとなっている。

ベトナムには南部のメコンデルタと北部の紅河デルタの2大穀倉地帯がある。トビイロウンカは気候もイネの栽培方法も異なる両地帯に共通の最重要害虫であり、特に近年の多発が問題になっている。さらに、本種の周年発生が可能な北限に位置する紅河デルタ一帯は、梅雨期に日本に飛来侵入するトビイロウンカの一次飛来源としても近年にわかに注目を集めている地域である。しかし、ベトナムにおける稲作やトビイロウンカの発生は、その重要性にもかかわらずこれまであまり知られていなかった。筆者らは、熱帯農業研究プロジェクト「東アジアモンスーン地域における移動性水稻害虫の広域発生実態の解明」の一環として、それぞれ1993年3~4月と1992年4月にベトナムのトビイロウンカ問題を調査する機会に恵まれた。きわめて短期間の、かつ情報収集主体の調査であったために得られた知見は限られているが、今後の研究の参考までに、北部ベトナムに関する調査結果を中心に報告する。

調査に際しては多くの方々にご助力いただいた。とりわけベトナム農業食糧省作物生産保護局と作物保護研究所の方々は休日もいとわず調査にご協力くださったばかりでなく、資料の発表を快諾してくださった。また、当試験場地域基盤研究部の寒川一成・鶴町昌市両室長からは本稿のまとめに際し有益な助言をいただいた。厚くお礼を申し上げる。

I メコンデルタの稲作とトビイロウンカの発生

熱帯に位置するメコンデルタの月平均気温は周年25~28.5度の範囲内にあり安定しているが、降雨量の変化は大きく5~10月が雨季、11~4月が乾季である(図-1)。メコンデルタの灌漑地帯では2~3期作が営まれている。栽培時期により主として11~3月に栽培される春作(82万ha)、4~8月の夏秋作(105万ha)、8~1月の夏作

(93万ha)に分けられるが、多かれ少なかれ年中様々な成育段階のイネが存在する。春作と夏秋作では直播栽培が広く普及している。トビイロウンカ抵抗性遺伝子をもつMTL 58, IR 64, IR 36等の品種が栽培されているが、後述するように抵抗性品種の感受性化が問題化しており栽培品種は速やかに変化している。乾季に栽培される春作の最大の作付け制限要因は、水不足とそれがもたらす塩害である。一方、雨季に作付けされる夏作では感受性のローカル品種が約60%栽培されており、直播率は約50%に低下する。

メコンデルタでは、1969年にトビイロウンカの最初の大発生があり、1973年ごろからトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *Bph 1* を持つ IR 1561, IR 26, IR 30 等の品種の栽培面積が増大した。しかし、1976年にこれらの品種を加害するバイオタイプ2が出現し、1997~78年には大規模なトビイロウンカの発生が起こった。この発生による米の減収は100万トンに達したと推定されている(THUAT, 1991)。これを機に抵抗性遺伝子 *bph 2* を持つ品種群(IR 36, IR 38, IR 42等)が導入され、以後1987年までウンカ類の発生は軽微にとどまった(図-2)。しかし、1988年にミンハイ県でIR42が感受性化したのを発端に、新し

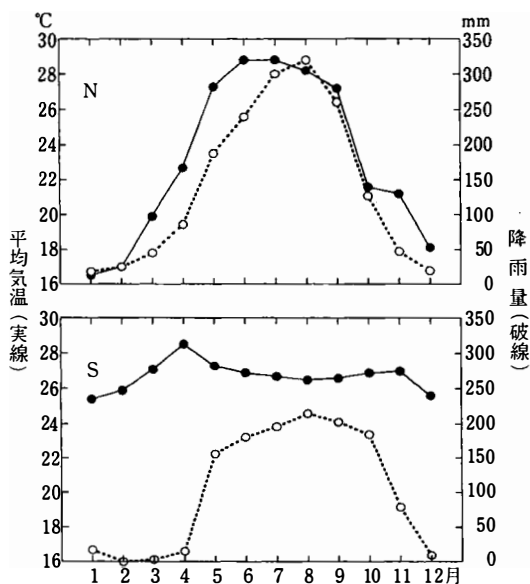


図-1 紅河デルタ(ハノイ: N)とメコンデルタ(カン トー: S)の月平均気温と月間降雨量。
数値は1961~90年の平均値。

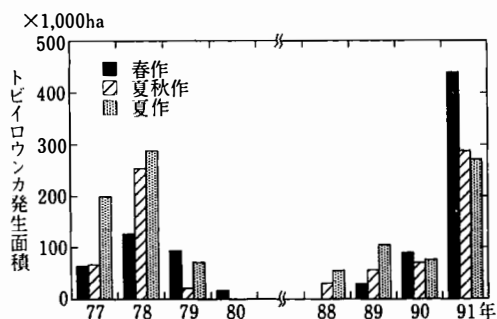


図-2 メコンデルタにおけるトビイロウンカ発生面積の年次変動

発生面積は要防除と診断された面積であり、被害面積はこれより少ない。1981～87年についてはデータを手に入らなかったが、発生はきわめて少なかったといわれる。

いバイオタイプがまたたく間にメコンデルター帯に広がった。このバイオタイプの特徴は、*Bph 1*, *bph 2*, *bph 4* のいずれを持つ品種に対しても加害性を示すことである (CHAU, 1990, 1992, 1993; THUAT et al., 1992)。1990 年以後メコンデルタでは毎年 10～15 万 ha の水田に被害が発生しており、ベトナム政府はその対策に苦慮している。新たな抵抗性品種の導入とリサージェンスを誘起する水田初期の不要な農薬散布の抑制が現在試みられている。

II 紅河デルタの稲作とトビイロウンカの発生

1 作期と品種構成

メコンデルタと異なり、紅河デルタの気候には高温多雨の 5～9 月 (夏) と低温小雨の 12～2 月 (冬) 及び季節の移行期からなる四季が認められる (図-1)。紅河デルタは典型的な水稻二期作地帯であり、主に 12～6 月に冬春作 (第一期作: 52 万 ha), 7～11 月に夏作 (第二期作: 56 万 ha) が栽培される。直播はほとんど行われていない。

トビイロウンカ以外の主要な減収要因は、冬春作ではいもち病の発生、冷害、酸性土壌による生理障害であり、夏作では洪水や台風による風水害である。したがって、各作期の栽培品種と栽培時期の選択にはこれらの生産阻害要因対策が重きをなしている。1992 年の紅河デルタ 6 県における冬春作の作付品種をみると、CR 203 が最も多く 44% を占めている。この品種は抵抗性遺伝子 *bph 2* をもちトビイロウンカ抵抗性である (ちなみに CR はトビイロウンカ抵抗性を意味するベトナム語のイニシャルに由来する) が、いもち病に対して感受性であるために夏作に比べ作付け率は低い。次いで栽培面積が多いの

は、いもち病抵抗性でかつ耐寒性・耐酸性を兼ね備えた VT 10, DT 10 であり、合わせて約 25% である。これら 2 品種はともにトビイロウンカに対し感受性であるが、DT 10 はある程度圃場抵抗性を示すとされる。このほかにトビイロウンカに対して CR 203 並みの圃場抵抗性を示し (抵抗性遺伝子は不明)、高収、耐寒性、いもち抵抗性の条件をみたす IR 17494 の作付けが近年増加している。かつて最大の栽培面積を占めていた IR 8 は 1980 年以後しだいに減少しているが、なお 6% 程度栽培されている。一方、1981 年以來トビイロウンカがしばしば多発した夏作では CR 203 の作付け割合が高く、1992 年には 54%、1990～91 年にはそれ以上であったといわれる。また夏期には台風が稲作の最大の脅威であるので、トビイロウンカに対しては感受性であるが光周期感受性で台風シーズンの後に開花し、深水・低肥条件に適している Moc Tuyen, Bao Thai 等の品種が約 27% 栽培されている。

2 冬春作上のトビイロウンカの越冬と発生

冬春作は栽培時期・期間によって冬作、早春作、春作、晩春作に細分される (表-1)。このうち、トビイロウンカの発生が問題になるのは冬作と早春作に限られる。冬作と早春作で栽培されるのは、酸性度の高い深水田に適した栽培期間の長い品種である。なかでも、トビイロウンカの越冬と発生にとってとりわけ重要と考えられるのは冬作である。冬春作に占める冬作の割合は内陸側の 3 県では 5% 以下であり、湿地帯の広がる海側の 3 県でも約 10% と低いが、トビイロウンカの発生量は最も多いといわれる。1993 年 4 月上旬に行った野外調査においてもそれが確認された。

冬作を代表する品種は Ngoi と総称されている長稈のローカル品種群であり、浮稲とされている。Ngoi はトビイロウンカに対して非常に感受性であるばかりでなく、晩生の夏作が収穫される約 1 か月前に当たる 10 月中下旬に播種されるために、夏作で羽化した長翅型成虫が苗代に容易に侵入できる。苗代期間は約 50 日と長く、苗が 7 葉期に達してから移植される。これに対して、夏作収穫後の寒冷な 12～1 月に播種される春作の苗代に、夏作から直接成虫が侵入することはまずないといえる。とりわけ春作の主体を占める CR 203 の播種のピークは 1 月下旬であり、トビイロウンカがこの品種上で越冬する可能性は無視できる。

トビイロウンカの越冬はおもに成虫態で、苗代の外にひこばえでも行われるとされる。作物保護研究所の THUAT 博士の説明によれば、越冬成虫の産卵期はおもに 2 月で、3 月上旬～下旬に幼虫が発生し、3 月下旬～4 月上旬に次世代成虫が出現する。また、暖冬年には発生ピークが早まり、冬期にも幼虫がみられるという。休眠性は

表-1 紅河デルタのビンフーム県における冬春作

作期 (割合)	土壌条件	主要品種	播種適期	苗移植期	収穫盛期
冬作 (10%)	深水田	ローカル品種, C180 C37, 268	10月下旬 10月下旬	7葉期 7葉期	5月中旬 5月中旬
早春作 (25%)	深水田	D'T10, VN10, NN75-1 Xuan so 6, IR17494	11月下旬 11月下旬	6~6.5葉期 6~6.5葉期	5月下旬~6月上旬 5月下旬~6月上旬
春作 (50%)	不完全灌漑田	V14, 1548, IR8, CR203, N9	12月上旬 1月中旬	6葉期 3.5葉期*	5月下旬~6月上旬 5月下旬~6月上旬
晩春作 (15%)	完全灌漑田	Lua lai, Tap giao 5, CN2, Que Tieu	1月下旬 2月上旬	3.5~4葉期* 3.0~4葉期*	6月中旬 6月中旬

*: 一種の保温苗代で育苗される。

どの发育段階についても知られていない。越冬場所としてのひこばえと苗代の相対的重要性については、質問したすべての関係者が一致して苗代がより重要であると考えており、その理由として、乾季にあたる冬期にはひこばえの発生自体がきわめて少ないことを指摘した。トビイロウンカの発生が問題になるのは冬作と一部の早春作に限られている事実も、苗代が主要な越冬場所であることを示唆している。

Ngoi に代表される冬作は、中国南部へ長距離移動するトビイロウンカの発生源としても重視される。冬作は夏期に入り洪水が発生する前に収穫するため収穫期は5月中旬であり、主要な春作の収穫期より約2~5週間早い。紅河デルタ起源のトビイロウンカが中国南部で2世代増殖したのちに梅雨期の日本に飛来すると仮定すれば、遅くとも5月上旬に紅河デルタから移出する必要があるが、この時期までにトビイロウンカの長翅型成虫密度が十分高まるのは冬作と一部の早春作に限られる。

3 トビイロウンカ発生面積の年次変動

紅河デルタでは1981年に夏作上でトビイロウンカが初めて大発生した。発生面積は1984年まで冬春作より夏作で多かったが、1985年に逆転し、以後は一貫して冬春作上の発生が上回っている(図-3)。その原因として指摘されているのは、1985年以後CR203の作付け割合が夏作で増加したことである(Ich, 1991)。しかし、夏作上のトビイロウンカ発生面積には最近12年間に明瞭な減少傾向が認められず、発生面積の逆転は1985年以後の冬春作上の発生急増に求められよう。最近8年間の冬春作における発生面積の年変動幅は4倍以内であり、発生は高水準に安定する傾向を示している。(図-3)。

冬春作上のトビイロウンカの発生面積の変動要因として、冬期の気温の変動が考えられている(THO and THUAT, 私信)。入手できた1986~92年のデータを用いて、最寒月(1月)の平均気温、前年夏作上の発生面積及び冬期の降雨量を説明変数として段階的回帰分析を

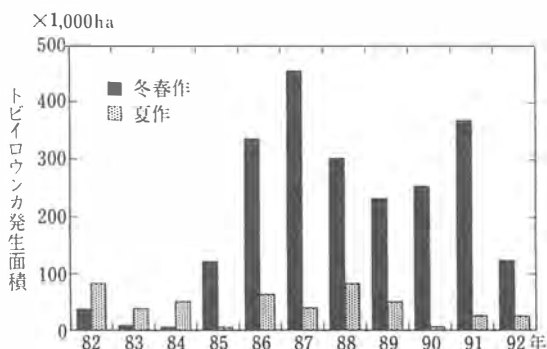


図-3 紅河デルタにおけるトビイロウンカ発生面積の年次変動
発生面積の説明は図-2 参照。

行った結果もそれを支持しており、冬春作上のトビイロウンカ発生面積は1月の平均気温と高い正の相関があり(図-4)、他の2変数の影響は有意でなかった。トビイロウンカの多発を招く暖冬は、この季節としては例外的な南風の頻度が高い結果もたらされる。しかし、トビイロウンカの発生が1985年以後に冬春作上で急増した原因については不明である。

4 バイオタイプの発達

紅河デルタのトビイロウンカは1987年ごろにバイオタイプ1から抵抗性遺伝子 *Bph 1* を持つ品種を加害するバイオタイプ2に変化した。作物保護研究所で毎年実施されている検定結果によれば、紅河デルタのトビイロウンカは1992年もおおバイオタイプ2のままであり、1993年4月上旬に実施した野外調査においても抵抗性遺伝子 *bph 2* をもつCR203からはトビイロウンカを全く発見できなかった。これに対して、メコンデルタではすでに1988年ごろから抵抗性遺伝子 *bph 2* を持つ品種を加害できるバイオタイプに個体群が変化している。これは、ベトナムの南部と北部の間ではトビイロウンカの

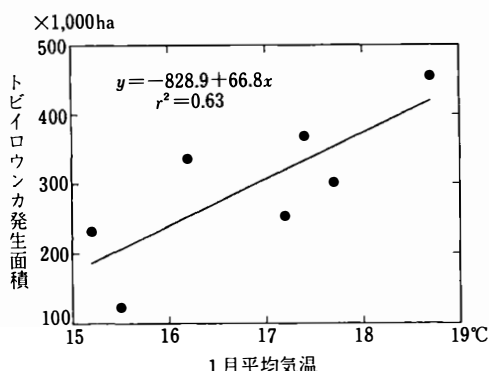


図-4 紅河デルタにおける最寒月(1月)の平均気温と冬
春作上のトビイロウンカ発生面積の関係
気温はハイフン県における測定値。

遺伝的交流がきわめて限られていることを示している。将来バイオタイプ3が出現した場合にはIR 50401などの品種を導入することが検討されている。

紅河デルタでは1985年以来CR 203が高い作付け率を維持しているが、すでに述べたように**bph 2** 遺伝子を持つ品種のブレイクダウンの兆しはまだみられない。その理由の一つとして、冬春作期にトビイロウンカがおもに侵入し発生するのは抵抗性遺伝子を持たない品種主体の冬作と早春作であること、すなわち冬春作期には品種加害性に関して淘汰がほとんど働かないことをあげられよう。

5 日本への一次飛来源としての可能性

日本、中国及び紅河デルタではバイオタイプ1から2への変化がほぼ同時に起こったばかりでなく、現在もバイオタイプ2にとどまっているのに対して、ベトナム南部を含む他の東南アジア地域では遅くとも1987年以前に、抵抗性遺伝子**bph 2**を持つ品種を加害するバイオタイプが出現している(寒川, 1992)。実際に、紅河デルタと日本のトビイロウンカ個体群のバイオタイプ検定品種に対する加害特性はよく似ており、インドシナ半島南部の熱帯個体群とは明らかに異なっていた(和田, 未発表)。インドシナ半島では3~7月、とりわけ5~7月には南西モンスーンが卓越するので、中国南部の稲作地帯へのトビイロウンカの飛来が観察されている時期には、紅河デルタからの移動を可能にする気流が存在する。さらに8~2月に卓越する北東モンスーンが中国南部からの戻り移動を可能にする(Cheng, 1979)。これらの状況証拠に基づいて、紅河デルタや海南島、ベトナムとの国境に近い中国南岸部など、トビイロウンカの周年発生が可能な北限地帯が日本に飛来する本種の一次飛来源であるとする見方が最近有力になっている。胡ら(1992)の解説

にあるように、中国に飛来するセジロウンカについてもインドシナ半島がその主要な飛来源と目されている。

トビイロウンカの海外飛來說が確立して以来、精力的かつ多角的な研究によって本種の広域移動の実態がしだいに解明されつつある。バイオタイプの研究が示唆するように、北ベトナムから極東地域にかけて分布するトビイロウンカは、モンスーンを利用して長距離移動を繰り返しつつ維持されている独自の個体群であり、熱帯のトビイロウンカとの遺伝的交流はきわめて限定されている可能性が高い。紅河デルタ一帯が一次飛来源であることを実証するためにはさらに検討が必要であるが、この地帯のトビイロウンカの研究が、ベトナムばかりでなく中国、さらに日本、韓国のトビイロウンカ問題にとって大変重要であることは疑いないであろう。

おわりに

ベトナムではペレストロイカのベトナム版といわれるドイモイ政策の進展に伴い、農業協同組合と個人農家は行政的計画組織から除外され、強制的な生産システムの適用を外されている(筒井, 1991)。農地も実質的に個人所有となり、作付け品種、病虫害防除を含む肥培管理は個々の農家の自由意志にゆだねられるようになった。この大きな農政の転換にどう対応していくかが、農家ばかりでなく研究者の緊急かつ重要な課題であるという話を繰り返す耳にした。実際に同一地域内に作付けされる品種はきわめて多様化しており、発生予察や防除が困難になったといわれる。市場の自由化と生産手段の私有化に伴い、十分な知識がないままに農業機械、農薬、新品種の導入が進行していることに対する危惧の声も多かった。情報、予算、研究資機材、研究者数のいずれも限られているなかで研究者のレベルアップが一層必要になっており、この面での日本の協力に対する要望と期待はきわめて高く、かつ真剣であった。ベトナムの研究者との実質的な共同研究の実現を期待したい。

引用文献

- 1) CHAU, L. M. (1990): IRRN 15 (5): 12.
- 2) ——— (1992): Ibid. 17 (1): 14~15.
- 3) ——— (1993): Ibid. 18 (1): 26~27.
- 4) CHENG Shia-Ninen (1979): 昆虫学報 22: 1~21.
- 5) 胡 国文ら (1992): 植物防疫 46: 219~222.
- 6) Ich, B. V. (1991): Proc. Int. Seminar on Migration and Dispersal of Agricultural Insects, 183~204, Tsukuba, Japan, September 1991.
- 7) 寒川一成 (1992): 植物防疫 46: 184~186.
- 8) THUAT, N. C. (1991): 1st Nat. Conf. Entomol., Hanoi, Vietnam. 講演要旨.
- 9) ——— et al. (1992): IRRN 17 (2): 11.
- 10) 筒井 暉 (1991): ヴェトナムの農業. 国際農林業協会, 96 pp.

PCR-マイクロプレートハイブリダイゼーション法による カンキツエキソコーティスウィロイドの検定

農林水産省横浜植物防疫所 ^{さい} 齊 ^{とう} 藤 ^{のり} 範 ^{ひこ} 彦

北海道大学農学部植物ウイルス病学・菌学講座 ^{はた} 畑谷 ^{たつじ} 達児・^{しかた} 四方 ^{えいしろう} 英四郎

は じ め に

農林水産省植物防疫所では、海外から輸入される果樹類、いも類、花き球根類については隔離検疫により、また、国内で栽培されている優良な果樹母樹については果樹母樹ウイルス病検査により、ウイルスやウィロイドの検定を行っている。

近年、海外からの遺伝資源導入や国内における果樹生産の増加、多様化に伴い、植物防疫所におけるこれらの検定は増加の一途をたどっている。このため、短時間に大量の試料を精密に検定できる技術が必要となった。

ウイルスの検定では、汁液接種等の生物検定、電子顕微鏡による検定等従来の方法に加え、ELISA 法が多くのウイルスで実用化されたため迅速、精密な検定が可能となった。しかし、ウィロイドは外被タンパク質を持たない裸の RNA のため、ELISA 法等の血清学的検定を使えない、電子顕微鏡による検定が事実上不可能、などの制約があった。このため、ウィロイドの検定は生物検定や被検植物から抽出した核酸の電気泳動により行われてきた。しかし、これらの方法は検定期間が長い、ウィロイドの種類を特定できない、等の短所があった。

近年、分子生物学等の発達により、多くのウィロイドの塩基配列が決定された。また、数時間の内に目的とする遺伝子を大量に増幅する PCR (polymerase chain reaction) 法や、非放射性プローブを用いたハイブリダイゼーションによる検出法が考案された。

これら PCR 法やハイブリダイゼーション法を用いた遺伝子診断法により、ウィロイドの検定を精密かつ短時間に実施することが可能となった。

PCR 法やハイブリダイゼーション法については、本誌第 44 巻第 12 号 (1990) で兼松ら及び佐野が詳しく解説しているので参照されたい。

PCR-マイクロプレートハイブリダイゼーション法は、INOUE and HONDO (1990) によって医学分野で開発された新しいハイブリダイゼーションの技術である。ハイ

ブリダイゼーションは現在、ドットプロットハイブリダイゼーション等のように、核酸をニトロセルロースやナイロン膜に固定して行われているが、本法は ELISA 検定で用いられているポリスチレン製のマイクロプレートに PCR 法によって増幅した DNA を直接固定して行うものである。PCR 産物のアガロースゲル電気泳動では非特異的増幅によるバンドの混在や増幅バンドが不明瞭のためその判定が難しい試料でも、マイクロプレートハイブリダイゼーションを行い吸光度を測定することにより容易に判定できる。

HATAYA et al. (1993) は本法を植物ウイルス (ジャガイモ Y ウイルス) の検出に応用し良好な結果を得、その検出感度は ELISA 法の 10,000 倍であったと報告している。また、筆者らはホップ潜在ウィロイド (HLVd)、ホップわい化ウィロイド (HSVd)、キクわい化ウィロイド (CSVd)、ジャガイモやせいも病ウィロイド (PSTVd) についても本法を応用し良好な結果を得ている (畑谷ら, 1992; 李ら, 1992)。

本稿では、カンキツエキソコーティスウィロイド (CEVd) を対象とした PCR-マイクロプレートハイブリダイゼーション法の実際について解説する。

I PCR-マイクロプレートハイブリダイ ゼーション法によるカンキツエキソ コーティスウィロイド (CEVd) の検出

CEVd は、我が国でカンキツ類の台木として多く用いられているカラタチ等に樹皮の亀裂や剝皮を生じさせるウィロイドである。本ウィロイドは接ぎ木伝染し、また、罹病樹を切断した刃物等によっても容易に伝染する (GARNSEY and BARKLEY, 1988)。

現在、植物防疫所における本ウィロイドの検定は、木本指標植物であるエトログシトロン-アリゾナ 861-SI を用いた接ぎ木検定 (ROISTACHER et al., 1977)、草本指標植物であるラトガストマトを用いた汁液接種検定 (長尾・脇本, 1981) 及び抽出核酸のリターンゲル電気泳動法 (SCHUMACHER et al., 1986) によって行っているが、本ウィロイドのさらに迅速かつ精密な検定のため、遺伝子診断法の導入について検討を行った。この研究は、農林水産

業特別試験研究補助金により、有機合成薬品工業株式会社、北海道大学、横浜植物防疫所で行われたものである。

本法の概要は、①カンキツ試料からの全核酸の抽出、②逆転写反応による cDNA の合成及び PCR 法による増幅、③マイクロプレートハイブリダイゼーション法による検出、の三つの過程から成る。

1 カンキツからの核酸試料の抽出

本法は被検試料から抽出した核酸を PCR 法によって増幅するため、核酸抽出用の試料は極微量でよい。また、試料は生のものでもよいが、シリカゲルで乾燥保存した試料からも十分検出可能である。

下記に抽出方法の例を示した。

- ① 試料 (0.1~0.2 g) を 1.5 ml/ エッペンドルフチューブに入れ 30 μ l の 2-メルカプトエタノールを加えた後、かくはんベッセル (図-1) で磨砕する。0.5 ml の磨砕緩衝液 (0.13 M Tris-HCl (pH 8.9), 0.017 M EDTA (pH 7.0), 1 M LiCl, 0.83 % SDS, 5% PVP) を加えさらにを磨砕する。さらに

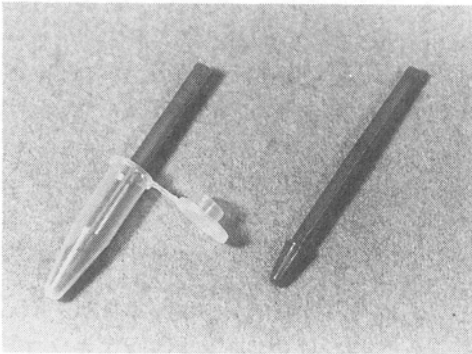


図-1 かくはんベッセル

エッペンドルフチューブ内で微量な試料を磨砕する。

0.5 ml の磨砕緩衝液を加え振とうする。

- ② 12,000 rpm で 1 分間遠心する。上清に 0.5 ml の水飽和フェノール:クロロホルム (1:1) を加え 5 分間振とうする。
- ③ 12,000 rpm で 3 分間遠心する。上清に 1/10 倍容の 3 M 酢酸ナトリウム (pH 5.2), 6/10 倍容のイソプロパノールを加え転倒混和する。-30°C で 30 分間静置する。
- ④ 15,000 rpm で 5 分間遠心する。沈殿を 0.45 ml の蒸留水に溶解する。0.45 ml の水飽和フェノール:クロロホルム (1:1) を加え 5 分間振とうする。
- ⑤ 12,000 rpm で 3 分間遠心する。上清に 1/10 倍容の 3 M 酢酸ナトリウム (pH 5.2), 2.5 倍容のエタノールを加え、転倒混和する。-80 度で 30 分間静置する。
- ⑥ 15,000 rpm で 5 分間遠心する。沈殿を 5 分間減圧乾燥させた後、0.2 ml の蒸留水に溶解する。0.05 ml の 10 M LiCl を加え氷中で 1 晩静置する。
- ⑦ 15,000 rpm, 4°C で 10 分間遠心する。上清に 2.5 倍容のエタノールを加え -80 度で 1 時間静置する。
- ⑧ 15,000 rpm で 10 分間遠心する。沈殿を 5 分間減圧乾燥させた後、0.2 ml の蒸留水に溶解する。1/10 倍容の 3 M 酢酸ナトリウム (pH 5.2), 2.5 倍容のエタノールを加え、-80 度で 30 分間静置する。
- ⑨ 15,000 rpm で 1 分間遠心する。沈殿を 5 分間減圧乾燥させた後、0.4 ml の蒸留水に溶解し全核酸抽出試料とする。

2 RT-PCR 法による増幅及びプローブの作成

ウイロイドは RNA のため、まず逆転写反応により cDNA を合成した後、これを鋳型とし PCR 法によって増幅する (RT-PCR 法)。

筆者らは逆転写反応用のプライマーとして PCR 用のマイナスプライマーを用いているが、市販のランダムプライマーを用いてもよい。プライマーの塩基配列及び

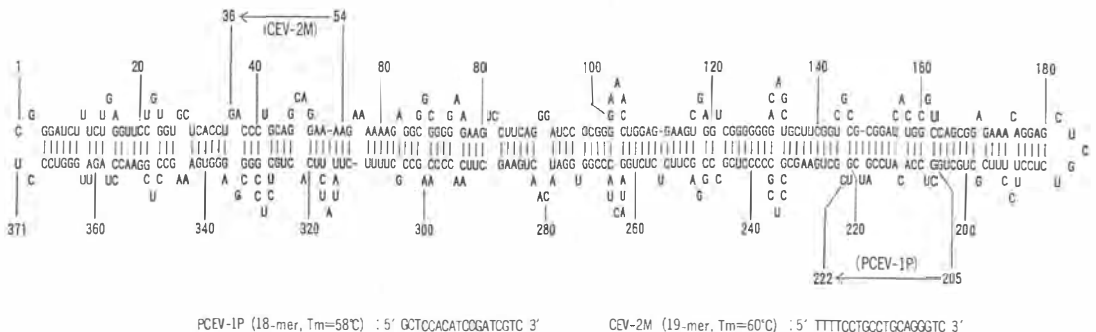


図-2 PCR 増幅用プライマーの位置

CEVd に対する結合部位は図-2 に示したとおりで、CEVd の全塩基数 371 の内約 60% に当たる 221 塩基を増幅するものである。

なお、PCR 法はたいへん鋭敏な方法のため、極微量の汚染でも増幅され疑陽性になってしまう。このため、使用する器具類や緩衝液等はオートクレーブや乾熱滅菌し、試薬類は小分けして保存するようにする。

① 逆転写反応

(1 検体当たり)

プライマー (CEV-2 M, 25 pmol/μl)	1 μl
5 倍逆転写酵素用緩衝液 (GIBCO BRL 社、酵素に添付)	4 μl
蒸留水	6.5 μl
各 5 mM (dGTP, dATP, dTTP, dCTP) 混合液	2 μl
0.1M DTT (GIBCO BRL 社、酵素に添付)	2 μl
M-MLV 逆転写酵素 (GIBCO BRL 社, 200 U/μl)	0. μl
	16 μl

混合 (0.5 ml チューブ)

抽出全核酸試料 4 μl を加える

37°C, 60 分

10 倍 Tth DNA ポリメラーゼ用緩衝液 (東洋紡、酵素に添付)	3 μl
0.17 M KCl	5 μl
各 5 mM (dGTP, dATP, dTTP, dCTP) 混合液	1.5 μl
蒸留水	27.5 μl
Tth DNA ホリメラーゼ (東洋紡, 1 U/μl に希釈)	1 μl
プライマー (CEV-2 M, PCEV-1P 各 25 pmol/μl)	2 μl

40 μl

混合

ミネラルオイル (シグマ) を 1 滴重層する

逆転写反応産物 10 μl を加える

ショートスピンの

逆転写反応産物 (cDNA)

② PCR 法による増幅

(1 検体当たり)

PCR 25 サイクル

1 サイクル	94°C, 5 分→53°C, 1 分→72°C, 2 分
2~25 サイクル	94°C, 30 秒→53°C, 1 分→72°C, 2 分
ラストサイクル	72°C, 8 分→20°C

プライマーとのアニーリングは (Tm-5)°C の条件で行った。

PCR 増幅終了後、0.5 ml の水飽和フェノール：クロロホルム (1:1) を加え 5 分間振とうする。12,000 rpm

で 3 分間遠心した後、1/4 倍容の 10 M 酢酸アンモニウム、2.5 倍容のエタノールを加える。-80°C で 30 分間静置した後、15,000 rpm, 4°C で 5 分間遠心する。沈殿を 5 分間減圧乾燥し、50 μl の TE 緩衝液 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) に溶解し PCR 産物とする。

③ プローブの作成

ハイブリダイゼーションに用いるプローブの標識は、従来、アイソトープ (RI, 主に ³²P) が用いられてきた。しかし、RI は検出感度は高いが、限られた実験室内でしか用いることができない、廃棄物の処理、実験者に対する放射線の影響等の問題があり、一般的な診断法としては適当ではない。

このため、最近様々な非 RI 核酸標識法が開発され、その感度も RI 標識に匹敵するものがある。

本法では dUTP にジゴキシゲニン (DIG) を結合させた DIG-11-dUTP を標識に使い、PCR 法でプローブの合成を行った。PCR 法の鋳型は逆転写反応によって作成した CEVd の cDNA を用いた。プライマーは上記の PCR 増幅と同じものを用いた。

(1 検体当たり)

10 倍 Tth DNA ポリメラーゼ用緩衝液	5 μl
蒸留水	34.25 μl
各 1 mM (dGTP, dATP, dCTP)	} 混合液 5 μl
0.65 mM dTTP	
DIG-11-dUTP (ベリンガー社, 1 mM)	1.75 μl
プライマー (CEV-2 M, PCEV-1P 各 25 pmol/μl)	2 μl
Tth DNA ポリメラーゼ (1 U/μl)	1 μl

49 μl

混合

ミネラルオイル (シグマ) を 1 滴重層する

逆転写反応産物 10 μl を加える

ショートスピンの

PCR 30 サイクル

1 サイクル	94°C, 5 分→53°C, 1 分→72°C, 2 分
2~30 サイクル	94°C, 30 秒→53°C, 1 分→72°C, 2 分
ラストサイクル	72°C, 8 分→20°C

DIG はステロイドであるため有機溶媒に可溶である。したがってフェノール抽出やクロロホルム処理を行うことができない。このため以下の操作により合成したプローブを精製する。

上層のミネラルオイルをできるだけ除く。限外ろ過フィルター付きスパンカラム (ミリポア, Ultrafree C3-TTK 等) に分注し 6,500 rpm で 8 分間遠心する。上部フィルターに TE 緩衝液を加え 400 μl にメスアップ

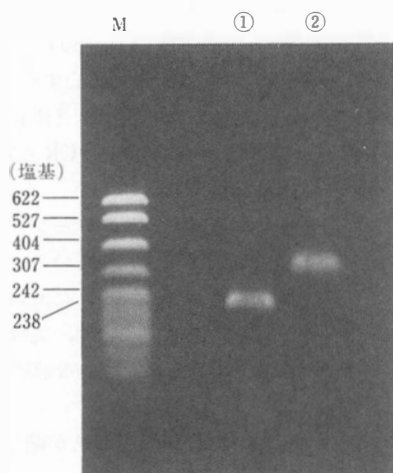


図-3 CEVd DIG-プローブの2% アガロース電気泳動
①は無標識のCEVd PCR産物、②はDIGを取り込ませたCEVd PCR産物 (DIG-プローブ)、DIGを取り込んだ分だけ泳動速度が遅くなっているのがわかる。Mは分子量マーカー。

後、6,500 rpm で8分間遠心する。この操作を3~4回繰り返す。最後に、TE緩衝液を50 μ l 加えプローブ液とする。これを2% アガロースゲル電気泳動によりチェックを行う。通常のPCR産物に比べ、DIGを取り込ませたものはその分だけ泳動速度が遅くなる (図-3)。プローブは-20°Cで最低1年間は安定である。

3 マイクロプレートハイブリダイゼーションによる検出

マイクロプレートハイブリダイゼーションの概要は図-4に示したとおりで、従来行われているELISA法とたいへんよく似ている。ELISA法はタンパク質、マイクロプレートハイブリダイゼーションは核酸を基本としているが、抗原抗体反応に用いる酵素や基質は同じものである。

なお、現在、多くのマイクロプレートが市販されているが、いくつかのプレートについてDNAの吸着について比較したところ、Nunc社製Immunoplate II-MaxisorpがDNAを最もよく吸着したため、本法ではこのプレートを用いている。

① PCR産物のマイクロプレートへの固定化: PCR産物15 μ lにDNA固定化液 (10倍SSC, 10 mM EDTA (pH 7.0)) 285 μ l (20倍希釈)を加え、100°C、5分間熱変性した後、水中急冷する。このうち100 μ lをマイクロプレートに分注する。プレートをシールした後、37°Cの恒温槽に沈め、2時間インキュベートする (恒温器中でも可)。

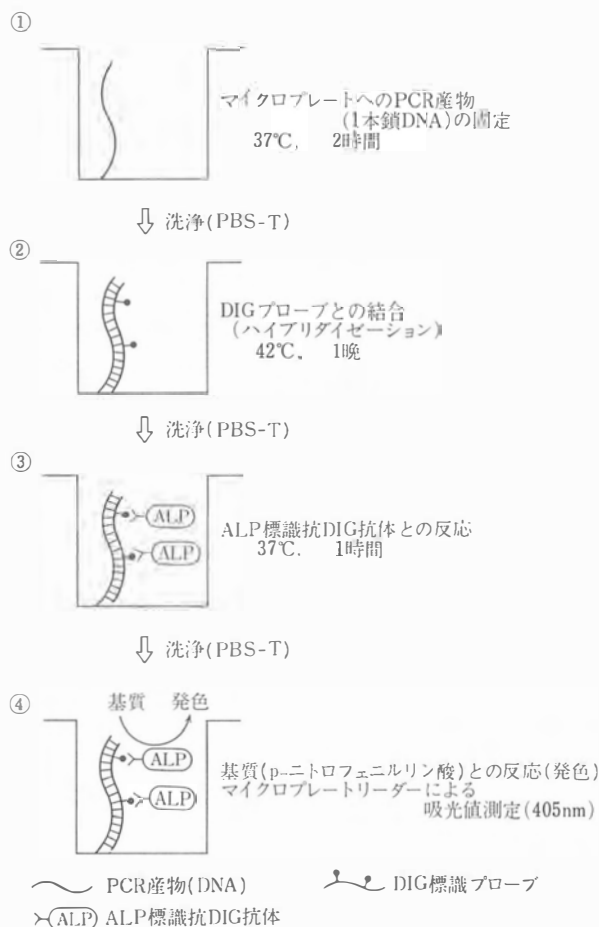


図-4 マイクロプレートハイブリダイゼーション法の概要

② 洗浄: PBS-Tween (137 mM NaCl, 8.1 mM Na₂HP₂O₄, 1.47 mM KH₂P₂O₄, 2.7 mM KCl, pH 7.4, 0.05 % Tween-20) を各穴 300 μ l ずつ分注し、3分間静置する。この操作を3回繰り返す。以下同じ。

③ ハイブリダイゼーション: 熱変性プローブを加えたハイブリダイゼーション液 (5倍SSC (pH 7.0), 10 mM EDTA (pH 7.0), 50%ホルムアミド, 0.1% Tween-20, 50 μ g/ml サケ精子DNA, DIG標識プローブ (100°Cで5分間熱変性後、水中急冷し500倍希釈で用いる)) を各穴 100 μ l ずつ分注する。プレートをシールした後、42°Cの恒温槽に沈め1晩インキュベートする (恒温器中でも可)。

④ 洗浄

⑤ 抗原抗体反応: アルカリフォスファターゼ標識抗DIG抗体 (BMY社: ポリクローナル抗体, 750 U/ml) をPBS-Tweenで5,000倍に希釈したものを各穴100

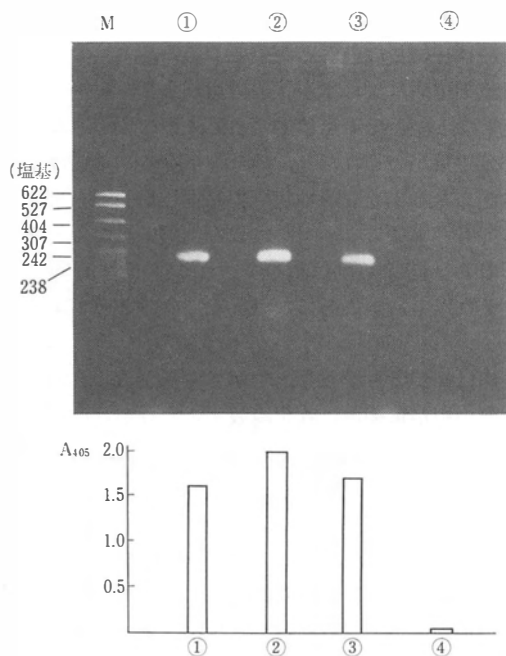


図-5 PCR-マイクロプレートハイブリダイゼーションによるCEVdの検出

①～③はCEVd罹病カンキツ試料，④は健全カンキツ試料，Mは分子量マーカー，写真はPCR産物の2%アガロースゲル電気泳動。グラフは基質投入2時間後における波長405 nmの吸光度。

μlずつ分注する。37℃の恒温器中で1時間静置する。

⑥ 洗浄

⑦ 発色反応：1 mg/ml のp-ニトロフェニルリン酸2ナトリウム(10% ジェタノールアミン緩衝液(pH9.8)に溶解)を各穴200 μlずつ分注する。

⑧ 室温に静置し，マイクロプレートリーダーにより波長405 nmの吸光度を測定する(図-5)。

おわりに

PCR法は最近開発された技術であるが，急速に普及し，現在では，遺伝子研究になくてもはならない技術となっている。

PCR-マイクロプレートハイブリダイゼーション法は，上記のとおりELISA法とたいへんよく似ている。しかし，ELISA法は試料として粗汁液を直接用いることができるが，PCR-マイクロプレートハイブリダイゼーション法は核酸を抽出，精製しなくてはならない。このため大量の検体を処理する場合，多くの労力を要する。抽出方法は簡素化できると思われるが，ある程度精製しないとPCR法において増幅されない場合がある。このため，今後抽出方法の簡素化についてさらに検討する必要がある。

引用文献

- 1) GARNSEY, S. N. and P. BARKLEY (1988) : *Exocortis in Compendium of Citrus Diseases*, Ed. by WHITESIDE, J. O. et al., APS Press, Minnesota, pp. 40-41.
- 2) 畑谷達見ら (1992) : 日植病報 58 : 624 (講要)。
- 3) HATAYA, T. et al. (1993) : *J. Virol. Methods* (印刷中)
- 4) INOUE, S. and R. HONDO (1990) : *J. Clin. Microbiol.* 28 : 1469~1472.
- 5) 兼松誠司ら (1990) : 植物防疫 44 : 549~556.
- 6) 長尾記明・脇本 哲 (1981) : 日植病報 47 : 416 (講要)。
- 7) 李世訪ら (1992) : 日植病報 58 : 624~625 (講要)。
- 8) ROISTACHER, C. N. et al. (1977) : *Plant Dis. Repr.* 61 : 135~139.
- 9) 佐野輝男 (1990) : 植物防疫 44 : 557~561.
- 10) SCHUMACHER, J. et al. (1986) : *J. Phytopathology* 115 : 332-343.

人事消息

(3月1日付)

西山岩男氏(東北農試水田利用部長)は東北農試次長に
大野芳和氏(国際研究センター海外情報部長)は国際研究センター総合研究官に

中川原捷洋氏(生物研遺伝資源第一部長)は生物研遺伝資源調整官に

美濃部侑三氏(生物研企画調整部ゲノム研究チーム長)

は生物研遺伝資源第一部長に

千葉和彦(果樹試盛岡支場栽培研究室長)は果樹試栽培部長に

浅野次郎氏(野菜・茶試企画連絡室企画科長)は野菜・茶試盛岡支場長に

成河智明氏(野菜・茶試茶栽培部長)は野菜・茶試茶業研究官に

八戸三千男氏(技会事務局研究開発官)は野菜・茶試茶栽培部長に

赤間芳洋氏(九州農試企画連絡室企画科長)は東北農試

水田利用部長

大賀圭治氏(国際研究センター海外情報部国際研究情報官)は国際研究センター海外情報部長に

北村實彬氏(生物研企画調整部研究技術情報官)は技会事務局研究開発官に

棟方 研氏(東北農試次長)は退職

松本省平氏(農研センター総合研究官)は退職

鈴木孝仁氏(生物研遺伝資源調整官)は退職

長谷嘉臣氏(果樹試栽培部長)は退職

高田勝也氏(野菜・茶試盛岡支場長)は退職

築瀬好充氏(野菜・茶試茶業研究官)は退職

佐々木卓治氏(生物研企画調整部主研(ゲノム研究チーム)は同ゲノム研究チーム長に

○出版部より

前号の次号予告でご案内いたしました「植物防疫研究課題の概要」につきましては，都合により次号に掲載させていただきます。

(口絵解説)

花の病害虫(14)——シュッコンカスミソウ——

シュッコンカスミソウの生産状況

シュッコンカスミソウの1991年産の作付面積は590 haでキク、リンドウ、カーネーションに次いで、4番目に多く栽培されている品目である。生産額は111.5億円で、キク、カーネーション、バラ、ユリ類に次いで5番目に多く、切り花の中では主要な品目となっている。

主な栽培地は夏秋切り栽培では、北海道、長野県、福島県等であり、冬春切り栽培では熊本県、和歌山県等である。夏秋切り栽培は温暖な地域では奇形花が発生するため不可能であり、作型が地域によりはっきりと区別されている。

シュッコンカスミソウは節間がつまり、硬いということが品質の中で最も重要視されるが、そのために最近では隔離床を利用した栽培も行われている。

現在最も多く栽培されている品種はプリストルフェアリーであるが、最近、硬くてしまった品質を備えたダイアモンド、ニューフェイス、ゴラン等の品種が導入されつつある。しかし、これらの品種は作りにくいことや、市場での評価の違いもあり、急激な広がりは見られていない。

シュッコンカスミソウに発生する病害虫と

その防除

発生する病害は、根頭がんしゅ病、こぶ病、萎ちょう細菌病、斑点細菌病、疫病、茎腐病、黒斑病、苗腐病の8種類である。また、最近、*Fusarium moniliforme* による立枯病の報告もある。

根頭がんしゅ病の症状は挿し芽床では、切断面にゴールが形成され、発根量は減少し根の生育が阻害される。生育中の株では直根の部分に形成されやすく、支根の発生が減少し、生育遅延となったり、生育不良となる。土壌伝染するので、土壌消毒が必要である。

こぶ病は挿し芽時に発生する。切断面が異常に肥大し、癌腫状となり、挿し穂の活着が悪い。

萎ちょう細菌病は、株に萎ちょうがみられ、導管部に

褐変がみられる。親株でこのような症状を示す株からは挿し穂は採穂しないことが重要である。

斑点細菌病は葉に水浸状の斑点が生じ、やがて褐色の斑点となる。この斑点は融合して大型の斑点となり、斑点部分で葉がよじれたり、いびつになる。本病は高温時に雨があたると露地栽培で発生しやすい。また、ハウスでも台風でビニールを除去し、雨に当たると発生がみられる。防除薬剤は銅剤やマイシン剤が有効であるが、それ以上に雨にあてないようにすることが重要である。

疫病は株が萎ちょうし、やがて枯死する。萎ちょう株の地際の根が黄褐色に軟化腐敗する。夏から秋にかけて発生がみられる。土壌伝染をするので土壌消毒が必要である。生育中にはメタラキシル剤の効果が高い。

茎腐病も疫病同様、株が萎ちょうし、やがて枯死する。萎ちょう株の地際の茎及び根が濃茶褐色に腐敗する。疫病同様土壌消毒が必要であるが、生育中にはメプロニル水和剤、ペンシクロン水和剤、フルトラニル水和剤、トルクロホスメチル水和剤が有効である。

黒斑病は葉、茎、花梗部に円形ないしは楕円形の斑点が生じる。TPN 水和剤、マンネブ水和剤等の散布が有効である。

苗腐病は初め育苗中の苗がスポット状に腐敗し、やがて周囲へと拡大していく。夏季高温時に発生しやすく、進展が速い。薬剤としては、マンゼブ・メタラキシル水和剤が有効である。

シュッコンカスミソウに寄生する害虫は、アブラムシ類、ヨトウムシ類、ハダニ類、ハモグリバエ類等がある。発生は春先から秋口まで多くみられ、特にヨトウムシ類による被害が大きい。防除薬剤としては、有機リン剤、合成ピレスロイド剤、IGR 剤等を輪番使用し、抵抗性を獲得させないように注意する必要がある。また薬害の発生には注意する必要がある。殺虫剤で薬害の発生が確認されているものは、アセフェート粒剤、アセフェート水和剤、エチルチオメトン粒剤、メソミル水和剤、チオジカルブ水和剤があり、これらの薬剤は使用しない。

今後、新しい薬剤の登場とともに、薬害の発生の有無については、慎重に検討していく必要がある。

(大分県高田農業改良普及所 吉松英明)

植物防疫基礎講座

植物ダニ類の標本作成法

——(1) 標本の固定法, 簡易スライド標本及び走査電子顕微鏡用標本作成法——

北海道大学農学部応用動物学講座

農林水産省果樹試験場安芸津支場

さい
齋
おさ
刑とう
藤
かべ
部まさ
正ゆたか
裕
ひろ
博

はじめに

ハダニやカブリダニ類など、一般に植物ダニ類と呼ばれるダニのスライド標本作成のために、従来いくつかの方法が提案されてきたが、標本の保存性の面からみればいずれも不十分といわざるを得ない。現在は、ホイヤー氏液（ガムクロラル液：蒸留水 25 g + アラビヤゴム 15 g + 抱水クロラル 100 g + グリセリン 10 g を乳鉢でよく混合して、重ねたガーゼでろ過する）を封入液としたスライド標本を十分乾燥したうえで、カバーガラスの周囲をプラスチックで封じるという方法が一般に採用されている（江原・真梶, 1975）。しかし、この方法で作った標本は、数年で気泡が侵入して検鏡に耐えない状態になってしまうことが多い。ガムクロラル液は、昆虫分類学においては永久標本封入液としては不適当とされ、現在は一時的な標本にのみ使用されている（WILEKEY, 1990）。しかし、ダニ類においては、その虫体の微小さ、外皮の軟弱さのために体液の除去と外皮の乾燥が難しく、カナダバルサムやユパラルなどの安定性の高いマウント液を使用することが困難とされ、やむを得ずこの封入液を使用してきたという経緯があった。

ところで、ホイヤー氏液によってハダニのスライド標本を作る際にも、虫体を 70% エタノールで固定し、そのまま一定期間液浸標本として保存する場合が多い。これは、生体を逐一スライド標本にすることが手間や時間の関係で実際には困難なことが多いことによっている。しかし、70% エタノール（一般に少量のグリセリンを加えるが、これはアルコールがすべて蒸発してしまったときに標本を乾燥させないための処置である）で固定して保存された液浸標本からは、ホイヤー氏液でも必ずしもよいスライド標本を作ることはできない。特にダニの脚を十分に伸展させるのが難しく、脚毛を分類同定のメルクマルとすることの多いハダニ類では問題が多かった。

さらに、ハダニをはじめとする植物ダニ類の外皮の軟

弱性は、微細形態を走査電子顕微鏡（以後、SEM と略す）で観察するための標本作成過程でも問題となっており、一般に使われている臨界点乾燥法が適用できず、クライオシステムもしくは凍結乾燥法に頼らざるを得ないのが現実である（CROOKER ら, 1985）。

こうした諸点が植物ダニ類の研究進展を阻む一因ともなっていた。例えばハダニ類の形態の地域変異を調べるといった大量の標本を供試しなければならない研究の発展を停滞させ、また半永久的に標本を残すことが要求される分類学においては、タイプ標本の維持・管理上の重大な障害になっていた（JEPSON ら, 1975; GUTIERREZ, 1985）。

筆者らは、従来の標本作成手順を再検討することで、新しいダニの固定法の開発を試みた結果、比較的簡便な方法を確立することができたので 2 回にわたってその方法を紹介する。

I 標本の固定法

生きたダニを液中で殺して固定する場合、その固定液内において虫体ができるだけ萎縮しないことが望ましい。これは、胴体部ばかりではなく、脚や触肢についても同様である。新たに開発した固定液は、酢酸 (99.5%) とメタノール (99.5%) を 1:1 に混合したものをその原液とする（これを MA 液と呼ぶことにする）。この混合原液を蒸留水で 80% に希釈した液（MA 80 = 酢酸：メタノール：蒸留水 = 2:2:1）が現在のところ最も良く標本を固定することができる。

表-1 は、ナミハダニをこれまで使われてきた 70% エタノールによって固定した場合と、上記の MA 80 液で固定した場合の、液中における虫体の時間的変化を示している。生きたダニを固定液中に投入した直後には、いずれの液においても虫体の萎縮や脚の屈曲は少ないが、24 時間以上経過した段階では両者には明らかな違いがあった。すなわち、70% エタノール中では平均で 61.5% の脚が内側に強く屈曲した状態となったが（この状態では非常に標本を作りにくい）、MA 80 中では脚が屈曲した例は全くなかった。つまり、MA 80 がハダニを良好な状態

表-1 ナミハダニ雌成虫を2種類の固定液でそれぞれ処理した場合の脚の屈曲の程度 (SAITO and OSAKABE, 1992 より)

固定液	個体数	脚の屈曲した割合 (I~IV脚平均)	
		投入後 1 時間	投入後 24 時間
70%エタノール	20	6.7%	61.5%
MA 80 液	20	0%	0%

で固定することが明らかになった (SAITO and OSAKABE, 1992)。

ただし、ここで注意が必要なのは、エチルアルコールの場合には虫体が投入後直ちに液中に沈むが、MA 80 液中ではむしろ液の表面に浮かぶ傾向が強い点である。この違いは、実際にダニを液浸する過程とそのまま保存する場合の双方で問題になってくる。それは、多くの標本を一度に同じ管ビン中で液浸すると、表面に浮かんだ虫体を次の標本を入れる際に破損する恐れがあること、また長期間液浸状態に保存したときに、液の蒸発とともにガラス壁面に取り残された一部の虫体が乾燥破損することである。これらを防ぐために、液浸固定処理の間によく管ビンを振るなどして虫体を底へ沈める努力をすることや、MA 液中で長時間保存しないことを心がけるべきであろう。

II 液浸標本の保存

既書に書いたように、MA 液による長期保存はできれば避けたほうがよい。耐酸性の管ビン及びキャップであれば、液の完全蒸発に注意さえすれば問題は生じないが、一般によく使われている管ビンは、MA 液によってキャップのパッキン (例えば Wheaton 社製の黒キャップのパイアル) やそのパッキンをキャップに付着させている接着剤 (例えば NE 社製のシリコンパッキンパイアル) が腐食変質して、固定液中に浸潤し、虫体を覆ってしまうことがある。これを避けるために、固定後数週間以内に、保存液を 70%エタノールに置換しておくことをすすめる。なお、はじめに MA 液で固定されていれば、この置換によって標本が変化することはない (SAITO and OSAKABE, 1992)。なお、この処理は比較的短期間にスライド標本を作るのであれば特に必要ない。

III ホイヤー氏液による一時的スライド標本作成法

さて、I 及び II の手続きで固定保存されたダニを、従来使われているホイヤー氏液でスライド標本にする方法について紹介しよう。ただし、既に述べたように、これ

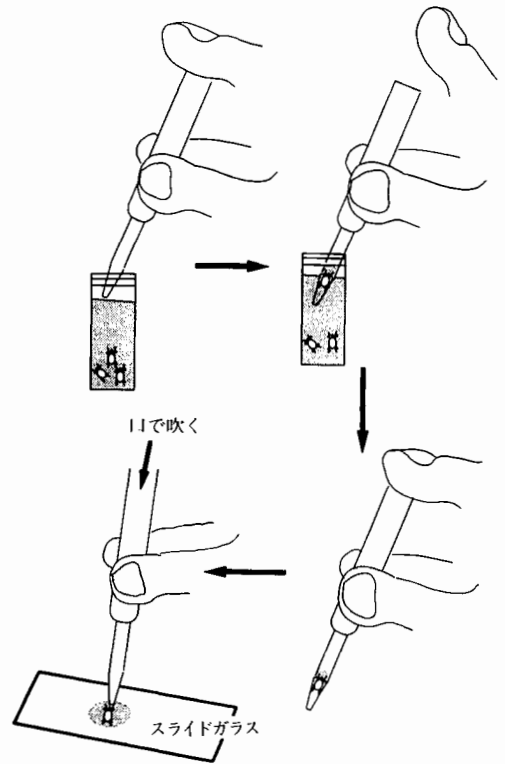


図-1 ダニをピペットを用いて移動する手順

は一時的に大量のスライド標本を作成する場合の簡便法であって、標本を長期間維持する場合には、次の (2) 永久標本作成法を参照されたい。

スライドガラス上の封入液にダニを入れる場合、MA 液中で保存されていたものと MA 液で固定後 70%エタノール中に保存されたものでは、ホイヤー氏液中での虫体の萎縮の程度に多少の違いがある。しかし、後に述べるようにあまり重要ではないので、両者を同等に扱うことにしたい。

図-1 のように、虫体は特に微小なものについては実体顕微鏡下で、ピペットによって管ビンの液中から少量の保存液 (MA 80 あるいは 70%エタノール) とともに吸い上げてスライドガラス上に移す。このとき、ピペットの一方の開口部を指で閉じて、そのまま先端を液の中に入れ、取り出したい虫体のところへもって行ってから指を放す。このようにすると、ピペット内がほんの少し減圧されて、虫体がピペット内に吸い込まれる。吸い込まれたのを確認したら、再びピペットの上方開口部を指で押さえて、その状態でスライドガラスまでピペットを移動し、ピペット全体を手で暖めるか、あるいは上部を口で吹くことで虫体をピペットから押し出す。このようなこ

とは専門家には既知のことであろうが、意外に普及していないテクニックなので紹介しておく。

さて、スライドガラス上に保存液と一緒に取り出したダニが乾燥する前に、ホイヤー氏液を2〜3滴ほど標本上に滴下し（あるいは先にホイヤー氏液をスライドガラスに滴下しておいて、そこに標本をおいてもよい）、次に実体顕微鏡下で微針あるいは腰の強い毛（例えば人間のまつ毛やブタのまつ毛など）を使って速やかにダニの姿勢を整える。この時に虫体を完全にホイヤー氏液に沈めることが肝要である（これは生体から標本を作る場合も同様に重要）。ダニの姿勢が整ったら、カバーガラスをかける。なお、虫体をあまり押しつぶしたくない場合には、よりをほどこいた絹繊維片等をホイヤー氏液中に入れておく。

上記の手続きによって、ダニはそのまま脚の伸びた良好な標本になることもままあるが、多くの場合虫体がホイヤー氏液中で急激に萎縮してしまう。しかし、これは図-2に示すように、スライドガラスの裏面から先端の細いハンダゴテ（30〜40 W）で虫体付近を加熱（実体顕微鏡下で慎重に）することで伸展させることができる。なお、同じように加熱しても、70%エタノールで固定された標本では萎縮した体や脚を伸展させることは困難である。この化学的な理由は明らかではないが、MA液で処理したダニの体がエタノール固定に比べて柔軟性を保っていることと、虫体内に微小な気泡が含まれているためではないかと考えられる。

こうしてできあがった簡易標本は、40〜50°Cぐらいの乾燥器中に3〜4日維持した後に、カバーガラスのまわり

をカナダバルサム（あるいはマニキュア、江原・真梶、1975）で封じることによって標本を数年間維持できる。ただし、より長期保存のためには本講座（2）に紹介する方法によらねたい。

IV SEM 標本作成法

従来、走査型電子顕微鏡（SEM）観察のための標本作成には、70%エタノールによる固定が行われてきた。しかし、図-3（上）にみるように、この固定法では萎縮のない標本を作成することはかなり難しい。ところが、今回開発したMA液によって固定されたダニは、図-3（下）のように生きた状態とほとんど変わらない良好な標本とすることができる。次にその方法について紹介する。

まず、ダニの固定をMA80によって行い、SEM用標本の場合には固定後速やかに、70%エタノールに置換する。さらに、時間をおかずに、虫体を10分間隔程度で75→80→85→90→95→99.5%エタノールに次々に入れかえて体内の水分を除く。この場合、虫体の入った管ビンからその前の濃度の液をピペットで排出し、次にあらか

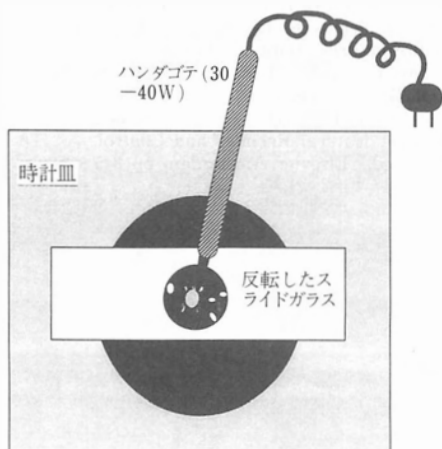


図-2 カバーガラスをかけた後で時計皿の上でスライドガラスを反転させ、ハンダゴテでダニの入っている部分を加熱して脚と体を伸展させる

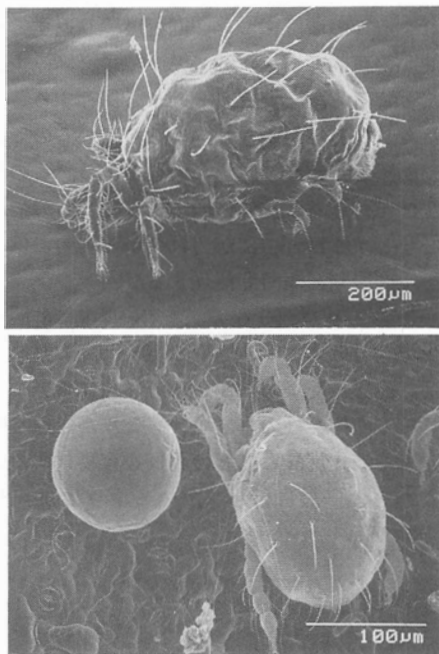


図-3 上段は70%エタノールで固定保存したナミハダニ雌を乾燥、金蒸着した標本の走査型電子顕微鏡（SEM）写真。下段はMA80で固定し、本文に記された手順で作製したナミハダニの卵と幼虫標本のSEM写真。なお、後者は固定→乾燥を寄生葉ごと行った。

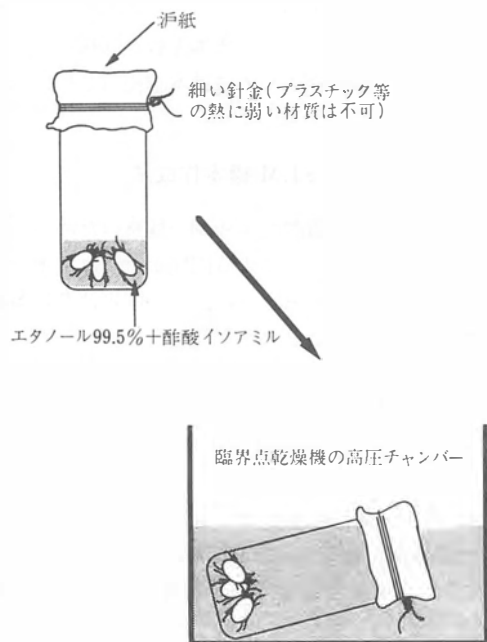


図-4 SEM 用標本作成における臨界点乾燥処理の手順

じめ準備した各濃度のエチルアルコールを徐々に注入して、これを一つの濃度につき2回程度繰り返すという手順が簡便かつ有効である。99.5%までエタノールの濃度を上げたところで、必要ならそのまま保存することができる。ただし、虫体がかかなり固くなっているため、管ビンに強い衝撃を与えない注意が必要である。この段階で超音波洗浄をかけると虫体は簡単に破損するので、もしそれを必要とするほど虫体が汚れている場合には、70%エタノールの段階で短時間処理する。

次に、虫体の入った99.5%エタノール中に酢酸イソアミルを少量(エタノールの体積の10%以下)加える。この処理は、臨界点乾燥器にかける際に虫体のアルコールが蒸発しても非揮発性の酢酸イソアミルが急速な乾燥から守り、また液化炭酸ガスとの置換を容易にする効果がある。ただし、一般に行われているように99.5%エタ

ノールを酢酸イソアミルで完全に置換してしまうと虫体がひどく萎縮する。次に、以下の手順で臨界点乾燥器にかけてダニを完全に乾燥させる。既存の乾燥用のカゴは使わず、ダニをピペットで小さな管ビンに移し変えて、エタノール(+酢酸イソアミル)をできるだけ排出し、開口部をゴム紙で図-4のように閉じる。この管ビンをも十分に冷却した(-10°C以下)臨界点乾燥器の高圧チャンバーに入れて乾燥器のマニュアルに従ってガス置換・乾燥処理を行えばよい。

最後に、乾燥した虫体を試料台にのせ、通常の手続きにしたがって金を蒸着すればできあがりである。なお、試料台に虫体を接着する際には実体顕微鏡下で注意深く行うこと。接着には両面テープが簡便だが、なかでも市販品ではスコッチ社製の裏紙のないタイプが、接着面の平たんを保ちやすく適している。また、接着後に脚の位置などを観察しやすいように微細な毛や針で変えることもできるが、あまり大きく動かすと脚の折損を起こすことがあるので注意したい。なお、70%エタノール固定標本に比べて、MA液固定標本のほうがこの操作が容易であり、それは乾燥後にも何らかの理由で虫体に多少の柔軟性が残されていることによると思われる。

引用文献

- 1) CROOKER, A. R. et al. (1985) : Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. vol. 1A (W. HELE and M. W. SABELIS, eds). Elsevier, Amsterdam, pp. 359~381.
- 2) 江原昭三・真梶徳純 (1975) : 農業ダニ学, 全国農村教育協会, 東京, 328 pp.
- 3) GUTIERREZ, J. (1985) : Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. vol. 1A (W. HELE and M. W. SABELIS, eds). Elsevier, Amsterdam, pp. 351~353.
- 4) JEPSON, L. R., H. H. KEIFER and E. W. BAKER (1975) : Mites Injurious to Economic Plants. University of California Press, Berkeley, 614 pp.
- 5) SAITO, Y. and M. OSAKABE (1992) : Appl. Entomol. Zool. 27 : 427~436.
- 6) WILEY, R. F. (1990) : Armored Scale Insects, Their Biology, Natural Enemies and Control. vol. 1A (D. ROSEN, ed.). Elsevier, Amsterdam, pp. 345~352.

植物防疫基礎講座

植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル（9）

野菜類炭そ病菌・つる枯病菌・ラッキョウ乾腐病菌

香川県農業試験場 ^{くすのき} 楠 ^{みき} 幹 ^お 生
鳥取県園芸試験場 ^さ 佐 ^こ 古 ^{いきむ} 勇

——野菜類炭そ病菌——

はじめに

イチゴやウリ類の炭そ病の防除には、ベンゾイミダゾール系薬剤の効果が高く、常用されている。しかし、イチゴ炭そ病菌 (*Glomerella cingulata*) では静岡県 (手塚・牧野, 1989), 香川県 (楠ら, 1991), 奈良県 (岡山ら, 1991), 北九州地域 (築尾・小林, 1991) でベンゾイミダゾール系薬剤耐性菌の発生が確認されている。また、ウリ類の炭そ病菌 (*Colletotrichum lagenarium*) においても、スイカ (高松ら, 1989), キュウリ (三浦ら, 1993) でベンゾイミダゾール系薬剤耐性菌の発生が確認され、本剤の防除効果の減退が問題となっている。一方、ベンゾイミダゾール系薬剤耐性菌に対してジエトフェンカルブ剤の効果が高いことがイチゴ炭そ病 (楠ら, 1991), キュウリ炭そ病 (三浦ら, 1993) で報告されている。ここでは筆者が行っているイチゴ及びウリ類炭そ病菌のベンゾイミダゾール系薬剤感受性の検定法を解説するとともに、両菌の耐性菌に対するジエトフェンカルブ剤の効果についても説明する。

1 菌の分離方法

イチゴ炭そ病菌は、発病株のクラウン、葉柄及び葉から、ウリ類炭そ病菌は発病葉から分離する。なお、ウリ類炭そ病菌は培地上での菌糸の伸長が遅くて雑菌に汚染されやすいため、できるだけ新しい病斑から分離する。それぞれの分離材料は2%次亜塩素酸ナトリウム溶液に2、3分間浸漬して表面消毒し、滅菌水で2回洗浄して200 ppm クロラムフェニコールを添加した PDA 培地に置床する。28℃で数日間培養し、PDA 斜面培地に移して保存する。できれば2~4週間培養して形成した分生孢子塊を希釈して単孢子分離をする。

Methods for Monitoring Fungicide Resistance—Vegetable Anthracnose (*Glomerella cingulata*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum lagenarium*), Gummy stem blight of Vegetables and Fusarium basal rot of Rakkyo (*Allium chinense* G. Don).
By Mikio KUSUNOKI and Isamu SAKO

2 検定方法

(1) ペノミルの MIC (最小生育阻止濃度) 値の求め方

① 分離菌の前培養：PDA 培地でイチゴ炭そ病菌は7日間、ウリ類炭そ病菌は14日間いずれも28℃で培養して形成された菌そうの周縁部を直径4 mm のコルクボーラーで打ち抜き、これを菌そう面を下にして薬剤含有培地に置床する。

② 検定培地の調製：PDA 培地に市販のペノミル50%水和剤を有効成分で0.2, 0.4, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 ppm になるように添加し、オートクレーブで15分間滅菌する。

③ 検定培地での培養と判定：培養は28℃で行い、イ

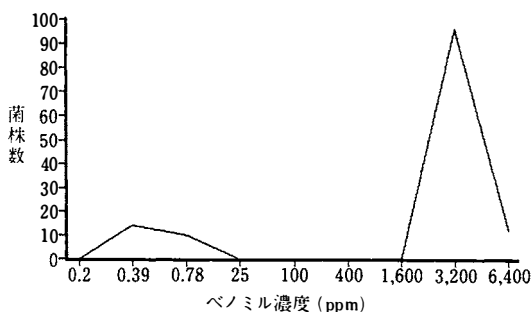


図-1 ペノミルに対するイチゴ炭そ病菌の MIC 値別菌株数

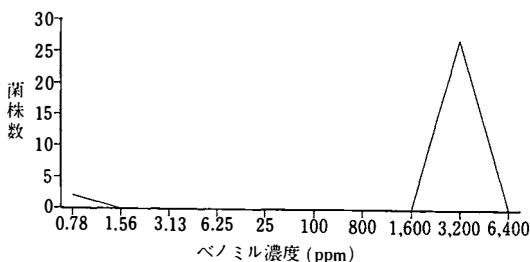


図-2 ペノミルに対するキュウリ炭そ病菌の MIC 値別菌株数

表-1 ペノミル耐性及び感性のイチゴ炭そ病菌に対する各種薬剤浸漬の防除効果

薬 剤	濃 度	耐 性 菌					感 性 菌				
		2週 間後	3週 間後	4週 間後	5週 間後	6週 間後	2週 間後	3週 間後	4週 間後	5週 間後	6週 間後
ベ ノ ミ ル	500 倍	30	60	95	100	100	0	0	0	0	100
ジ エ ト フ ェ ン カ ル プ	200	0	0	0	0	0	0	55	80	85	0
ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル	200	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	10	20	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	15	35	0	0	0	0	0
無 処 理	—	15	25	85	95	100	5	55	60	85	100
無 接 種	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*数字は萎ちょう枯死株率(%)を表す。品種は女峰で行った。

チゴ炭そ病菌は3日間、ウリ類炭そ病菌は5日間培養する。それぞれの濃度での菌糸伸長の有無を調べてMIC値を決定する。

④ 検定結果：香川県の各地域から分離したイチゴ炭そ病菌、キュウリ炭そ病菌を用い、ペノミル剤のMIC値を求めた。両炭そ病菌ともMIC値3,200ppm以上の菌群とMIC値0.78ppm以下の菌群に分かれた。両菌群のMIC値の差はきわめて大きく、明瞭な2峰型を示し、前者が耐性菌群、後者は感性菌群と判断された(図-1, 2) 耐性菌株率はイチゴ炭そ病菌で81%, キュウリ炭そ病菌では93%であった(楠ら, 1992; 三浦ら, 1993)。

(2) ジエトフェンカルブ剤を用いた簡易検定法

1) ジエトフェンカルブ剤に対する感受性

ジエトフェンカルブ剤はイチゴ炭そ病菌及びキュウリ炭そ病菌のベンゾイミダゾール系薬剤耐性菌に対し、きわめて高い菌糸伸長の抑制を示したが、ベンゾイミダゾール感性菌に対しては、菌糸伸長の抑制を示さなかった。このことは、加藤ら(1984)がキュウリ灰色かび病菌やテンサイ褐斑病菌で示したように、両炭そ病菌においてもジエトフェンカルブ剤はベンゾイミダゾール耐性菌に対し、感性菌と比べて高い抗菌力を有し、ベンゾイミダゾール系薬剤との間に負相関交差耐性を示すことが判明した(楠ら, 1991; 三浦ら, 1993)。

2) *Colletotrichum acutatum* によるイチゴの炭そ病
石川ら(1992), 松尾(1992)により, *G. cingulata* によるイチゴ炭そ病とは病徴発現のしかた(クラウンに侵入して萎ちょうさせず, 葉のみに病徴を示す)が異なった *C. acutatum* によるイチゴの炭そ病が報告された。さらに, 本菌はイチゴ炭そ病菌 *G. cingulata* とは異なり, ペノミル及びジエトフェンカルブの両剤に低感受性を示すことが中澤ら(1993)により報告されている。現在のところ, *C. acutatum* によるイチゴの炭そ病は限られた

地域でのみ発生しているが, イチゴ炭そ病菌の感受性検定を行う場合, *C. acutatum* の存在も念頭に置く必要がある。

3) 簡易検定法

ペノミル及びジエトフェンカルブを, 100ppm になるように添加したPDA培地(ジエトフェンカルブはオートクレーブ後に添加する)に検定する菌株を置床して, 28°Cでイチゴ炭そ病菌は3日間, ウリ類炭そ病菌は5日間培養し, 両培地での菌糸伸長の有無により耐性を判定する。ジエトフェンカルブ単剤は市販されていないため, メーカーから入手するが, プロシミドン・ジエトフェンカルブ混合剤を用いてもよい(プロシミドンは両炭そ病菌に対して菌糸伸長抑制効果が低い)。ペノミル100ppm添加培地で菌糸が伸長したものを高度耐性菌とし, 伸長しないものを感性菌とする。また, ペノミル及びジエトフェンカルブを添加した培地で菌糸伸長するものは中度耐性菌など未知の感受性をもつ菌株(現在のところ確認されていない)または *C. acutatum* の可能性があるので, 菌の形態などをチェックする(口絵写真)。

3 検定結果と薬剤の防除効果

イチゴ炭そ病菌について, ペノミルの苗浸漬処理は感性菌に対して非常に高い防除効果を示し, 耐性菌では全く効果を示さなかった。一方, ジエトフェンカルブの苗浸漬処理はベンゾイミダゾール耐性菌に対して非常に高い防除効果を示し, 感性菌にはまったく効果を示さなかった。ところが, ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル混合剤の苗浸漬処理はベンゾイミダゾール感性菌と耐性菌の両者に対して非常に高い防除効果を示した(表-1, 楠ら, 1992)。また, キュウリ炭そ病菌においても同様の結果が三浦ら(1993)により報告されている。現地圃場では, ベンゾイミダゾール系薬剤に対する感性菌と耐性菌が混在する場合が多いため, 感性・耐性両菌

に効果があるジエトフェンカルブ・チオファネートメチル混合剤が防除薬剤として有望である。

引用文献

- 1) 築尾嘉章・小林紀彦 (1991) : 九病虫研会報 37 : 23~26.
- 2) 石川成寿ら (1992) : 関東病虫研報 39 : 129~133.
- 3) 加藤寿郎ら (1984) : 日農薬誌 9 : 489~496.
- 4) 楠 幹生 (1992) : 香川農試研報 43 : 29~35.
- 5) ———ら (1991) : 日植病報 57 : 431.
- 6) 松尾和彦 (1992) : 今月の農業 36 (11) : 42~45.
- 7) 三浦 靖ら (1993) : 日植病報 59 : 77~78.
- 8) 中澤靖彦ら (1993) : 同上 59 : 102~103.
- 9) 岡山健夫ら (1991) : 関西病虫研報 33 : 15~19.
- 10) 高松 進ら (1989) : 日植病報 55 : 524.
- 11) 手塚信夫・牧野孝宏 (1989) : 関東病虫研報 36 : 92~94.

(楠 幹生)

——野菜つる枯病菌——

はじめに

つる枯病はキュウリ、メロン、スイカなどのウリ類の主要病害の一つである。つる枯病菌 (*Didymella bryoniae* (AUERSWALD) REHM [不完全世代は *Ascochyta cucumis* FAUTREY et ROUMEGUERE]) は茎葉、果梗及び果実に発生し、すべての生育期間で発病がみられる。特に接木栽培では台木または穂木の種子伝染により育苗時から多発しやすい。また育苗期に感染した苗が本圃へ持ち込まれるため、育苗期の薬剤防除が不可欠な病害である。スイカなどでは防除薬剤として、1973 年ごろからチオファネートメチル剤が育苗床で広く使用されるようになった。

しかし、1978 年に鳥取県内のスイカ育苗施設においてチオファネートメチル剤の効果が劣る事例が発生し、同剤耐性菌の出現が確認された (谷口ら, 1979)。また、福井県下のメロン及びキュウリでも発生が報告され (杉本・川久保, 1980)、その後 1982 年までに三重、神奈川、千葉、福岡などでもウリ類の同剤耐性菌が確認され、広範囲に発生している。

国外でもウリ類のベンゾイミダゾール剤耐性菌の発生が確認されているが (MALATHRAKIS and VAKALOUNAKIS, 1983; STEEKELENBURG, 1987)、ジカルボキシイミド耐性菌の発生は認められていない (MALATHRAKIS and VAKALOUNAKIS, 1983)。

一方、我が国ではジカルボキシイミド耐性菌の培地上での確認がなされているが (谷口, 1983)、薬剤の防除効果の低下の実例はないので、ここではベンゾイミダゾール剤の感受性検定についてのみ述べる。

1 菌の分離方法

(1) 検定用材料の採集

1 株から 1 病斑を採集し、小黒点を形成している病斑部から柄子殻が 1 個となるよう、メスでできるだけ小さく切り取った組織を 70% エタノールで数秒、その後ただちに 5% アンチホルミンで 2 分間表面殺菌する。続いて殺菌水で十分洗浄し、ストレプトマイシン硫酸塩 100 ppm 含有素寒天培地に置床する。25°C で数日間培養すると病原菌の菌糸の伸長が認められるので、その先端をかき取り PSA 斜面培地に移植して保存する。標徴部分から分離する方法では雑菌の汚染が少なく、ほぼ確実に病原菌が分離できる。菌糸は帯白色であるが、しだいに濃緑色の色素が沈着して黒色の菌叢となる。つる枯病と類似の病斑を形成する炭そ病菌は黒色菌糸であるが、鮭肉色の色素を産生するので判別できる。

なお、病斑部と健全部の境界部分をメスで切り取る組織分離法では、雑菌の混入が甚だしいので適さない。ただし、種子からの分離には、種子をメスで縦に割り、上記素寒天培地に種皮を下にして少し押しながら置床し、25°C で 5~7 日間培養後に菌を移植する。

(2) 菌の調製法

単孢子分離法あるいは単菌糸分離法によって菌を分離する。単孢子分離のための柄孢子形成には、PSA で保存した菌株を PSA 平板培地で 24°C で培養する。菌糸先端がペトリ皿の壁近くになった時点で、ペトリ皿のふたをしたまま 20 cm の高さから BLB ランプで紫外線を照射、15 日間培養する。大量の柄孢子の形成にはプラスチック製・硬質ガラス製のペトリ皿を用いる (岸ら, 1975)。単菌糸分離は灰色かび病について本誌に記載の方法 (木曾, 1994) など常法で行う。純粋分離した菌株は PSA 斜面培地、20°C で 6 か月間は保存できる。

2 感受性検定の方法と判定基準

(1) 前培養及び検定用培地

つる枯病菌のベンゾイミダゾール剤に対する感受性検定は、薬剤添加培地で 25°C、48 時間培養後に最小生育阻止濃度 (MIC) を求める方法が使われている。本法は供試菌株の前培養での菌糸の生育程度に影響されない。

PSA 平板培地に純粋分離した菌株の菌糸片を置床し、25°C で 7 日間前培養する。新鮮な菌叢ディスクをコルクボーラー (直径 4 mm) を用いて打ち抜く。ディスクは菌糸面が直接検定培地に接触するように置床する。

なお、培養後の菌叢直径を測定する方法では、置床する菌ディスクを得るための前培養日数が異なると、薬剤による生育阻止程度が異なる。例えば、感性菌 (感受性菌) の同一菌株であっても前培養培地上に薄く菌糸が生

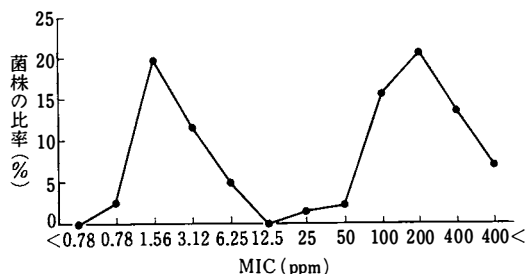


図-3 スイカつの枯病菌のベノミル感受性の頻度分布

育し、緑色色素を産生し始めた時期の菌糸は1.56 ppmの濃度で強く生育阻止を受けるのに対し、培養が経過して菌糸が黒色を呈するころのものを置床すると、菌糸は褐変しながらも25~50 ppmの濃度でもかなり生育する。このため、つる枯病菌について EC_{50} 値を求める場合には、前培養の期間に注意する必要がある。ただし、MIC値を求める方法では前培養の期間に影響されない。

所定濃度の10倍になるようにベノミル50%水和剤を段階希釈した液を、V-8ジュース培地9に対して1の割合で分注直前に加えて混和する。培地中のベノミル濃度は0, 0.39, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 ppmとなるようにする。径9 cmのペトリ皿にこの薬剤添加培地を20 mlずつ分注する。

検定培地についての具体的な比較データはないが、V-8ジュース培地のほうがPSA培地より透明であり、菌糸の生育の確認に適している。また、検定用薬剤として、ベンゾイミダゾール剤の中でもベノミル水和剤はチオファネートメチル水和剤及びMBC水和剤に比べてMIC値が低くなるので、ベノミル水和剤が耐性程度を明らかにするのに適している(谷口, 1983)。

(2) 判定基準

1978年に鳥取県内のスイカ圃場39地点から分離された257菌株の薬剤感受性値頻度分布を調査した結果を図-3に示した。それによると感性菌はMIC値1.56 ppm、耐性菌は200 ppmにピークがみられ、MIC値12.5 ppmに谷をもつ2峰性の頻度曲線が描かれた。

本病原菌の中にはMIC値25~50 ppmの菌が10菌株存在したが、これらの菌株は耐性菌側に入り、耐性菌群の中に連続的に耐性程度の異なる菌株が存在することが認められた。

3 圃場における薬剤の防除効果

苗からの耐性菌の持ち込みが考えられるスイカ圃場において、各種薬剤の防除効果と耐性菌の密度の調査を行った結果を表-2に示した。チオファネートメチル剤散

表-2 チオファネートメチル耐性のスイカつる枯病菌が発生した圃場における薬剤の防除効果と耐性菌の分離率^{a)}

供試薬剤	使用濃度(倍)	7月17日		7月29日		耐性菌分離率(%)
		発病葉率(%)	発病度 ^{b)}	発病葉率(%)	発病度 ^{b)}	
チオファネートメチル70%水和剤	1,500	65.0	24.5	95.5	55.8	90.6
キャプタン80%水和剤	600	33.5	13.6	69.5	34.3	46.4
TPN75%水和剤	600	17.0	7.3	40.4	18.9	— ^{c)}
無処理		67.5	32.8	98.0	65.4	52.9

^{a)}：調査葉数は100葉、表中の数字は2区の平均値。薬剤は6月21日から7日間隔で5回散布した。

^{b)}：発病程度は葉の病斑面積率で判別した。A：1~20%、B：21~40%、C：41~70%、D：71%以上。

^{c)}：未調査。

布区では、無処理区と大差なく発病し、耐性菌株が90%以上の高率で検出された。一方、TPN剤散布区次いでキャプタン剤散布区では、防除効果が高かった。また、キャプタン剤区と無処理区の耐性菌株率は約50%であったことから、チオファネートメチル剤散布は感性菌に対して淘汰圧として作用したと考えられた(谷口ら, 1979)。なお、分離菌株の宿主植物に対する接種によって薬剤効果の減退が再現されたので(谷口, 1983; MALATHRAKIS and VAKALOUNAKIS, 1983)、耐性菌出現を薬剤の効力低下の原因とするための3条件(NISHIMURA et al., 1973)が満たされている。

引用文献

- 1) 岸 国平ら (1975)：日植病報 41：264 (講要)。
- 2) 木曾 皓 (1994)：植物防疫 48：42~46。
- 3) MALATHRAKIS, N. E. and D. J. VAKALOUNAKIS (1983)：Plant Pathology 32：395~399。
- 4) NISHIMURA, S. et al. (1973)：Tottori Mycol. Inst. (Japan) 10：677~686。
- 5) STEEKELENBURG, N. A. M. Van (1987)：Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 52：875~880。
- 6) 杉本義則・川久保幸雄 (1980)：日植病報 46：409 (講要)。
- 7) 谷口達雄ら (1979)：同上 45：550 (講要)。
- 8) ——— (1983)：鳥取野試研報 4：18~36。

(佐古 勇)

——ラッキョウ乾腐病菌——

はじめに

ラッキョウ乾腐病は病原菌が種床期間中に感染し、種球が保菌するために植付け後に急激な立枯れと鱗茎の乾腐が起こる致命的な病害となる。1972年に本病に対する

ベノミルの種球消毒効果が明らかとなつて以来、ラッキョウ産地では種球消毒が急速に普及し、1973 年以降はほとんどの農家で実施されるようになった。

鳥取県内では、1980 年代前半まで全般にベノミルによる高い防除が得られていた。しかし、以前本病の発生が多かった地区から 1978 年に病株を採取して病原菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *allii*) を分離・培養し、ベノミル耐性を検定したところ、耐性菌と判定される菌株がすでに確認されていた (遠山, 1980)。

F. oxysporum における薬剤耐性菌の発生は、グラジオラス (MAGIE and WILFRET, 1974)、カーネーション (TRAMIER and BETTACHIMI, 1974) などでも報告されていたので、今後注意を要する問題と考えられていたが、その後 1980 年代後半から、ベノミルによる種球消毒を行ったにもかかわらず、多くの圃場で病株が多発する深刻な事態となった。

そこで、1993 年に病原菌を分離してベノミル感受性の検定を実施したところ、高度耐性菌が高率に分離された (未発表)。ここでは鳥取県内のラッキョウ産地でのベノミル耐性菌の発生について記載する。

1 菌の分離方法

病株を採集して罹病鱗茎 1 球について 1 菌株ずつを新鮮な内部鱗葉から分離する。分離には水浸状の変色部分と健全部を含む 3~5 mm に切り取った小片を 70% エタノールで数秒、その後ただちに 5% アンチホルミンで 2 分間表面殺菌し、続いて殺菌水で十分洗浄し、PSA 培地に置床する。25°C で数日間培養すると病原菌の菌糸の伸長が認められるので、その先端をかき取り PSA 斜面培地に移植して保存する。また、駒田培地を用いてコロニーを釣菌・培養して直接分離する方法も容易である。

得られた菌株を直接検定に用いても実用上問題ないと思われるが、できれば単菌糸分離を行う。

2 感受性検定の方法と判定基準

(1) 前培養及び検定用培地

PSA 平板培地に純粋培養した菌株の菌糸片を置床し、25°C で 7 日間前培養後、コルクローラー (直径 4 mm) を用いて打ち抜いた菌叢ディスクを、菌糸面が直接検定用培地に接触するように置床する。次いで、25°C、48 時間培養後の菌叢発育の有無により、最小生育阻止濃度 (MIC) を求めてベノミル剤に対する感受性を検定する。

検定用培地は所定濃度の 10 倍になるようにベノミル 50% 水和剤を段階希釈した液を 3% ショ糖加用素寒天培地 9 に対して 1 の割合で分注直前に加えて混和する。培地中のベノミル濃度は 0, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25,

50, 100, 200, 400, 800 ppm となるようにする。なお、径 9 cm のペトリ皿にこの培地を 20 ml/ ずつ分注する。

鳥取園試では標準菌株として、1974 年以前に分離した感性菌 5 菌株 (TSF-1, TSF-2, TSF-11, TSF-16, TSF-21) と 1978 年に分離した耐性菌 5 菌株 (F1-2, F6-1, F6-3, F6-15, F6-20) を継代保存し、利用している。

(2) 判定基準

1980 年、ラッキョウ産地の乾腐病発生地の 27 圃場から病株を採集し、230 菌株を得てベノミル感受性に関して MIC 値を求めた結果を図-1 に示した。MIC の頻度分布は明確な 2 峰性を示したことから、MIC 値 100 ppm 以上のものを耐性菌株と判定した。

検定菌株のうち 31.3% (72 菌株) は MIC 値 6.25 ppm 以下の感性菌 (感受性菌) であったが、残りの 68.7% (158 菌株) は MIC 値 100 ppm 以上の耐性菌であった。また、1980 年には MIC 値 400 ppm 以上の高度耐性菌が多数を占めて 66.5% (153 菌株) であった。

3 その他の留意事項

(1) ベノミル耐性菌の発生推移

1978 年の鳥取県におけるラッキョウ乾腐病の発生は全般的にはきわめて少なく、約 20 ha の調査地域中 6 筆に認められたのみであった。その分離菌株の MIC による検定では、発病株率 0.1% 以下の 5 圃場の 16 菌株中 1 菌株のみ MIC 値 200 ppm 以上の耐性菌株であったが、発病株率 9.8% の 1 圃場では 22 菌株中 18 菌株が MIC 値 400~800 ppm の高度耐性菌株であった。この時点ではきわめて限られた圃場からではあったが、罹病鱗茎にベノミル耐性菌が存在することが確認された (遠山, 1980)。

その後 1979 年の耐性菌比率は 48.2%, 1980 年には 68.7% であったが、1993 年には 97.1% となった。しかも 1993 年は 12 圃場の発病株率が 1.5~29.0% となり、多発圃場が多く見られた。その圃場のいずれからも高度耐

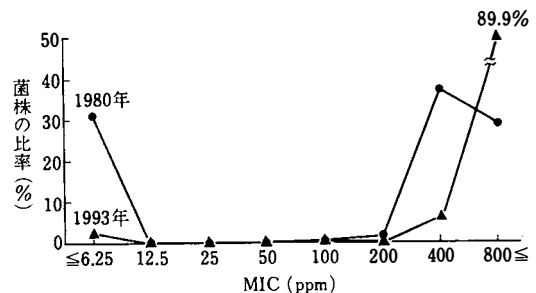


図-4 ラッキョウ乾腐病菌のベノミル感受性の頻度分布

性菌株が 1980 年に比べてさらに高率に分離され、138 菌株のうち MIC 値 800 ppm 以上の高度耐性菌の比率が 89.9% (124 菌株) を占めていた (図-4, 未発表)。

以上のように、ベノミル剤による種球消毒は年 1 回だけ行われたにもかかわらず、年を経過するにつれて菌のベノミル耐性化が進行していく実態が明らかとなった。

(2) ベノミル耐性菌保菌種球に対する薬剤の効果

ベノミル感性菌を保菌する種球をベノミル希釈液に浸漬消毒した場合には、明らかに防除効果が認められたが、耐性菌 (MIC 値 200 ppm) を保菌する種球では防除効果が著しく劣り、さらに高度耐性菌 (MIC 値 800 ppm) にはまったく防除効果が認められなかった。また、ベノミル濃度の違いによる発病の差異も全く認められなかった (遠山, 1980)。

このことから、近年の乾腐病の多発は高度耐性菌の高率での出現が大きな要因と考えられる。しかし、各圃場の発病株率と耐性菌株の検出率との間に明瞭な関係は認められず、菌の耐性化の程度ばかりでなく、各圃場の耕種条件なども発病の多少に影響していると考えられる (未発表)。今後の防除対策には代替薬剤の検討のほか、それらの要因の解明が必要と思われる。

引 用 文 献

- 1) MAGIE, R. O. and G. J. WILFRET (1974): Pl. Dis. Repr. 58: 256~259.
- 2) 遠山 明 (1980): 鳥取野試特報 1: 1~56.
- 3) TRAMIER, R. and A. BETTACHIMI (1974): Annales de Phytopathologie 6: 231~236.

(佐古 勇)

主 な 次 号 予 告

次 5 月号は、『農業の新施用技術』の特集号です。予定されている原稿は、下記のとおりです。

1. 最近の農業の新剤型・新施用技術をめぐって

百 弘

2. 最近の農業の散布法・新施用技術をめぐって

薬丸 薫

3. 新製剤水田用除草剤の 1 kg 粒剤の実用化について

竹下孝史

4. 水面展開剤の現状と今後の展望

高橋 巖

5. マイクロカプセル化農業の現状と今後の展望

6. 乗用田植機装着式ブームスプレーヤ (パンクル

スプレーヤ) の研究・開発 徳能恒八

7. 水田用大型送風散布機 (スーパースタウター) による散布

木内 渥

8. オートスプレーカ (ハウス内自動走行散布機)

による散布 本島 修

9. 静電散布の開発の現状と今後の展望

小野盾男

10. 産業用無人ヘリコプターによる薬剤散布の現状

と今後の展望 長谷川邦一

定期購読者以外のお申込みは至急前金にて本会へ

定価 1 部 800 円 送料 76 円

本 会 発 行 図 書

『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 B6 判 506 ページ

定価 4,800 円 (本体 4,660 円) 送料 380 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、農業、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。

中央だより

○平成6年度植物防疫関係予算について

平成6年度予算の政府案は、2月15日閣議決定され

平成6年度植物防疫関係予算要求一覧表

区 分	5年度 予算額	平成6年度 要求額
	千円	千円
(組織)農林水産本省	2,164,425	2,146,945
(項)農林水産本省	6,957	6,981
植物防疫事務費	3,754	3,764
農蚕園芸対策特別事務処理費	2,215	2,215
農業資材審議会農薬部会費	988	1,002
(項)農業振興費	2,157,468	2,139,964
植物防疫対策事務費	22,768	27,447
(目)植物防疫事業交付金	1,029,500	1,029,500
(目)農業振興事業推進費補助金	1,071,579	1,051,829
(目細)植物防疫対策費補助金	1,071,579	1,051,829
1. 植物防疫総合推進事業費	833,571	812,544
(1)病害虫防除等都道府県推進費	645,736	642,475
①高度技術応用防除体系推進事業費	67,605	68,701
(前年度:高度防除技術推進特別対策事業費,病害虫広域型防除推進特別対策事業費を組替)		
ア. 高度防疫技術確立費	27,456	24,710
イ. 高度技術応用防除体系確立実証費	0	37,854
ウ. 高度技術応用防除体系広域実証費	0	6,137
エ. 高度防除技術利用促進事業費	31,774	0
オ. 病害虫広域型防除推進特別対策事業費	8,375	0
②指定外病害虫発生予察事業費	24,241	20,017
③病害虫診断技術調査等特別事業費	51,792	46,613
ア. 農業耐性菌検定費	5,459	4,913
イ. ウイルス病診断対策費	2,344	2,110
ウ. 防除適期決定ほ設置運営費	9,926	8,933
ニ. 特殊調査費	3,425	3,083
オ. 病害虫発生調査効率化特別対策事業費	30,638	27,574
④農薬安全指導等特別対策事業費	11,993	10,794
⑤病害虫総合制御技術推進特別対策事業費	57,054	51,349
⑥農薬安全使用推進・啓発事業	92,125	85,149
ア. 農薬安全使用基準遵守特別推進事業費	0	18,377
イ. 農薬安全使用等啓発体制整備事業費	81,054	66,772
ウ. 農薬適性使用遵守体	11,071	0

た。このうち、植物防疫関係予算は102億4千5百万円で、4%の増加となった。これは、都道府県及び植物防疫関係団体への助成額が干減少したものの、植物防疫所や農薬検査所の経費が増加したこと等による。

区 分	5年度 予算額	平成6年度 要求額
制確立事業費		
⑦輸出果実検疫条件クリアー実証事業費	32,396	32,396
(前年度:検疫対象重要病害虫特別対策事業費を組替)		
ア. うんしゅうみかん検疫条件クリアー技術実証事業費	0	8,677
イ. りんご等重要病害虫クリアー実証調査事業費	0	23,719
ウ. 検疫対象重要病害虫特別対策事業費	32,396	0
⑧発生予察地域活用技術確立事業費	124,130	153,984
ア. 地域発生予測改良・実証費	52,958	65,465
イ. 地域発生予測データバンク構築費	32,365	41,949
ウ. 地域発生モニタリング手法確立費	38,807	46,570
⑨環境保全型土壌病害虫防除技術確立事業費	30,648	37,944
ア. 土壌病害虫発生マップ作成技術確立費	16,632	20,282
イ. 適性防除技術推進管理体制確立費	14,016	17,662
⑩農薬水質影響総合対策事業費	43,068	43,068
(前年度:農薬適性使用緊急対策事業費,農薬水質影響特別対策事業費を組替)		
ア. 農薬水質影響対策費	0	34,290
イ. 非農耕地等適性使用対策費	0	8,778
ウ. 農薬適性使用緊急対策事業費	16,058	0
エ. 農薬水質影響特別対策事業費	27,010	0
⑪花き類病害虫発生予察実験事業費	26,083	19,661
ア. 発生予察技法開発事業費	13,892	12,503
イ. 発生予察実証・高度システム確立事業費	12,191	7,158
⑫防除多様化推進事業費	45,174	41,387
ア. 多様化ニーズ対応型防除推進事業費	45,174	20,844
ア)多段階式要防除水準確立費	32,959	15,210

区 分	5 年 度 予 算 額	平成 6 年度 要 求 額	区 分	5 年 度 予 算 額	平成 6 年度 要 求 額
(イ)効果的防除法実証費	12,215	5,634	(2)移動規制害虫特別防除事業費	18,436	44,367
イ. 環境保全型農業対応防除要否判断基準確立事業費	0	11,934	3. 特殊病害虫緊急防除事業費	35,559	35,559
ウ. 耕種の物理的防除技術導入調査事業費	0	8,609	4. 農業慢性毒性試験事業費	139,921	139,921
⑬航空防除安全推進緊急対策事業費	41,427	31,412	(目)農業振興対策調査等委託費	33,621	31,188
(2)病害虫防除等農業者団体推進費	34,452	23,201	(目細)農作業安全推進等委託費	33,621	31,188
(前年度:病害虫広域型防除推進特別対策事業費を組替)			1. 水田除草剤流出抑制技術確立調査委託費	2,572	2,572
高度技術応用防除体系推進事業費	34,452	23,201	2. 農業使用実態分析システム開発委託費	6,114	6,114
ア. 応用防除体系広域実証費	0	23,201	3. くん蒸残留軽減技術緊急開発委託費	14,678	13,211
イ. 広域低コスト防除体制整備事業費	34,452	0	4. 植物検疫情報処理事業委託費	7,546	6,791
(3)病害虫防除等中央民間団体推進費	153,383	146,868	5. 畑地土壌処理剤拡散制御技術確立調査委託費	0	2,500
①農林水産航空技術安全・効率化対策推進事業費	75,627	71,086	6. 大型防除機散布農業影響調査技術確立委託費	2,710	0
②農薬水質影響総合対策事業費	4,002	4,002	(項)農蚕園芸振興費		
ア. 非農耕地等安全啓蒙費	0	4,002	(目)農蚕園芸振興事業推進費補助金		
イ. 農業安全啓蒙対策事業費	4,002	0	鳥獣害防止新技術確立実証事業	16,483	16,483
③環境保全型土壌病害虫防除技術確立事業費	6,244	6,244	(組織)農林水産技術会議	47,531	47,887
④防除多様化推進事業費	14,971	13,474	(項)農林水産技術振興費	47,531	47,887
天敵生物利用円滑化推進事業費	14,971	13,474	(目)農林水産試験研究費補助金	47,531	47,887
⑤リエントリー影響調査技術確立事業費	5,575	5,575	環境負荷の低減に資する農薬開発のための生物系農薬の機能調整技術の開発	0	47,887
⑥検疫くん蒸剤揮散防止技術確立事業費	4,766	4,289	農業生産の効率化のための高度生合成系利用技術の開発	47,531	0
(前年度:くん蒸ガス除毒技術確立事業費を組替)			(組織)沖縄開発庁	915,378	817,123
⑦農業安全使用推進・啓発事業費	42,198	42,198	(項)沖縄農業振興費	915,378	817,123
2. 奄美群島等特殊病害虫特別防除事業費	62,528	63,805	(目)職員旅費	143	143
(1)ミノバエ類等侵入防止事業費	44,092	19,438	(目)特殊病害虫特別防除費補助金	915,235	816,980
			(組織)農林水産本省検査指導機関	6,708,661	7,216,590
			(項)農林水産本省検査指導所	6,579,606	7,121,312
			(項)農林水産本省検査指導所施設費	129,055	95,278
			農業検査所	647,559	664,328
			植物防疫所	6,061,102	6,552,262
			(組織)地方農政局	206	206
			(項)地方農政局	206	206
			植物防疫事務費	206	206
			総計	9,852,684	10,245,234

植 物 防 疫

第 48 卷

平成 6 年 3 月 25 日印刷

第 4 号

平成 6 年 4 月 1 日発行

平成 6 年

4 月 号

(毎月 1 回 1 日発行)

編 集 人 植物防疫編集委員会

発 行 人 岩 本 毅

印 刷 所 三 美 印 刷 (株)

東京都荒川区西日暮里 5-9-8

＝ 禁 転 載 ＝

定価 800 円 送料 76 円
(本体 777 円)平成 6 年分
前金購読料 9,000 円
後払購読料 9,600 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 日 本 植 物 防 疫 協 会

電 話 ・ 東 京 (03) 3944-1561 ~ 6 番

FAX (03) 3944-2103 番

振 替 東 京 1 - 1 7 7 8 6 7 番

広範囲の作物の病害虫防除に… 農作物を守る! **日曹の農業**

新発売!

○落葉果樹の病害防除に

ブルーク

●ハダニ類の防除に

ピラニカ

○灰色かび病などに卓効!

ゲッター

●ハダニ・スリップス防除に

ノンマイト

★巨峰の着粒増加に

フラスター

—植物成長調整剤—

★かんきつ園・桑園・家まわり・駐車場等の除草に

クサカットゾル

—茎葉兼土壌処理除草剤—

好評発売中!

○広範囲の病害防除に

フロンサイド

○果樹・野菜の病害防除に
種もみ消毒に

トリフミン

○病害防除の基幹薬剤

トップジンM

○果樹の休眠期防除に

ホーマイコート

○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

ロニラン

○落葉果樹の病害総合防除に

ルミライト

○べと病・疫病・細菌病の防除に

アリエッティゴールド

○べと病・疫病の専門薬/

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

アリエッティC

※ハウスの省力防除に
日曹のくん煙剤

トリフミンシエツト

ロニランシエツト

マブリックシエツト

ニッソランVシエツト

○芝・たばこ・花の病害防除に

プレビクルN

●果樹・野菜のハダニ防除に

ニッソラン

●茶・メロン・すいか・さといも・花の
ハダニ・アブラムシ類防除に

ニッソランV

●ハダニ・アブラムシ防除に

プロカーブ

●広範囲の害虫防除に
合成ピレスロイド剤

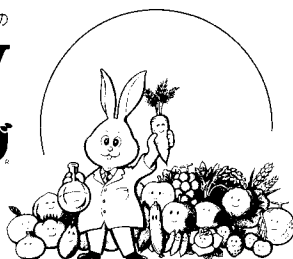
スカウト

★イネ科雑草の除草に

ナブ

★広葉雑草の除草に

アクチノール



日本曹達株式会社

農業は、適期・適量・安全使用

本社 〒100 東京都千代田区大手町2-2-1

支店 〒541 大阪府中央区北浜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

備えあれば、憂い……。
予防にまさる防除なし!!



いのちの輝きを見つめる **Meiji**

抵抗性誘導型殺菌剤

オリゼメート粒剤

■ '93いもち病警報発令府県
☒ '93いもち病注意報発令都県



明治製菓株式会社
104 東京都中央区京橋2-4-16

ウンカ・ヨコバイからカメムシまで。害虫防除はまかせて！

トレボン[®] 粉剤DL

(エトフェンプロックス 0.5%)

イネミズ防除をはじめ幅広い害虫防除に

トレボン[®] 粒剤

(エトフェンプロックス 1.5%)

水稻をはじめ幅広い作物の害虫防除に

トレボン[®] 乳剤

(エトフェンプロックス 20%)

柿をはじめ果樹の害虫防除に

トレボン[®] 水和剤

(エトフェンプロックス 20%)

ウンカ・カメムシ防除に空散用殺虫剤

トレボン[®] エアー

(エトフェンプロックス 10%)

水稻害虫防除に省力的な滴下式殺虫剤

トレボン[®] ガーフ

(エトフェンプロックス 4.0%)



自然にやさしい殺虫剤

人畜および鳥類にきわめて毒性が低く、環境に対する影響の少ないトレボンは、広範囲の害虫に優れた効果を発揮します。抵抗性害虫にも低薬量で優れた効果、しかも作物に薬害がありません。

トレボン普及会
事務局

三井東圧化学株式会社
東京都千代田区霞が関3-2-5
☎03(3592)4917

☎は三井東圧化学株式会社の登録商標です。



Hoechst



速くて、
しっかり

ダブル W効果の除草剤

- 速く効く、長く効くバスタ
- 人、作物、土、環境に優しいバスタ
- なんでも枯らすバスタ ●使いやすいバスタ

バスタ[®] 液剤

☎：ドイツ・ヘキスト社の登録商標

バスタ普及会 石原産業／日本農薬／日産化学

〈事務局〉ヘキストジャパン株式会社 〒107 東京都港区赤坂8-10-16 ☎03(3479)4382

資料請求券
植防

“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稻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。



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

ciba

化学の開発が未来を語りはじめる



水稻殺菌剤

- コラトップ®粒剤5
- フジトップ®粒剤

園芸殺菌剤

- スコア®水和剤
- リドミル®MZ水和剤
- リドミル®銅水和剤
- リドミル®粒剤2
- リミドル®モンカッパ®粉剤

畑作殺菌剤

- チルト®乳剤25
- ブランドム®乳剤25

水稻除草剤

- ソルネット®粒剤
- バレージ®粒剤
- エリジャン®乳剤
- センテ®粒剤
- クサホープ®D粒剤
- ワンオール®粒剤
- ゴルボ®粒剤
- ライザー®粒剤
- スパークスター®粒剤
- アピロサン®粒剤
- ワイダー®粒剤
- クサノック®粒剤
- シメトリン混合剤

畑作除草剤

- デュアル®乳剤
- ゲザノン®フロアブル
- コダール®水和剤・細粒剤F
- シマジン®水和剤・粒剤
- ゲザプリム®水和剤・フロアブル
- ゲザバックス®乳剤・粒剤
- ゲザガード®粒剤・水和剤

殺虫剤

- エンセダン®乳剤
- スプラサイド®乳剤・水和剤
- エイカロール®乳剤
- ダイアジノン®乳剤・粒剤・水和剤

日本チバガイギー株式会社
アグロテック事業部

東京都港区浜松町2-4-1 世界貿易センタービル34F 〒105 TEL03(3435)5252

®=登録商標

収穫を支える力。



農作物の
安定多収に貢献する
ゼネカ農薬。

除 草 剤

- 水稲用
エスドラム粒剤／オードラム粒剤／コントラクト粒剤
スパークスター粒剤／フジガラス粒剤／ペルーフ粒剤
マメット粒剤／マメットSM粒剤
- 果樹・野菜・非農耕地用
タッチダウン／プリグロックスL／マイゼット／レグロックス
- 芝用
クサレス水和剤／ローンベスト水和剤

殺 虫 剤

- 果樹・野菜用
フォース粒剤／アクトリック乳剤／サイハロン水和剤
サイハロン乳剤／ビリープ水和剤／ピリマー水和剤
ピリマーナック水和剤

殺 菌 剤

- 水稲用
ケス水和剤
- 果樹・野菜用
アリエッティC水和剤／アンビルフロアブル／キャプタン水和剤
ミルカーブ液剤／ロブキャプタン水和剤

植物成長調整剤

- 水稲用
スマレクト粒剤／イネナビタン粒剤
- 非農耕地用
トリミッドフロアブル
- 果樹・緑花木用
バウンティフロアブル
- 花き・花木用
ボンザイフロアブル

ZENECA Agrochemicals

ゼネカ株式会社 農薬事業部
〒107 東京都港区赤坂8-1-22 赤坂王子ビル

1kg剤
対応

時代の先取り
1kg除草剤対応機!

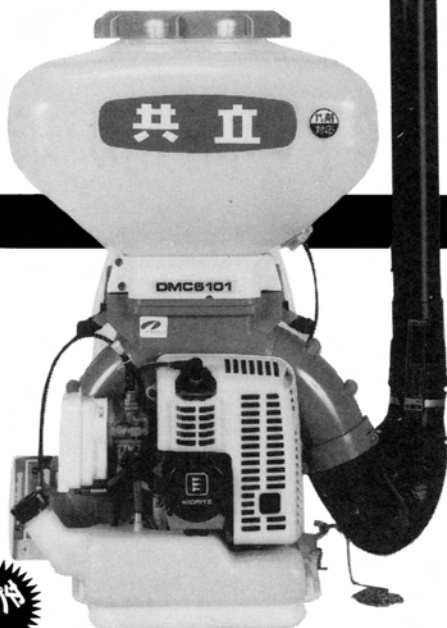
ハイパワー58.2cc 軽量11.5kg

共立背負動力散布機DMC6101はセレクトシャッターの採用で、1キロ除草剤の少量散布から粉剤・粒剤・肥料等の散布まで安定した吐出量が得られます。またリコイル引き力が従来機の半分以下に低減された「オートデコンプ機構」によりケッチンがなく、らくらくエンジン始動ができます。効率と作業性で選ぶなら共立背負動散です。是非、使い比べてください。

共立背負動力散布機

DMC6101-F26S

仕様 ●エンジン排気量:58.2cc ●薬剤タンク容量:26ℓ ●重量:11.5kg



株式
会社

共 立



共立エコー物産株式会社

〒198 東京都青梅市末広町1-7-2
☎0428-32-6181代

「ラウンドアップは、
いい薬だけどチョッと高い…」とは
もう云わせません。



ラウンドアップ1本(500ml)で20アールまける
少量散布をお試ください。
経済的であることが実感いただけます。



少量散布を可能にした
ラウンドノズル25

- 量散布は100倍液が基本
- 量散布の噴角の目安は100度
- 量散布は葉にボツボツと付けばOK
- 量散布でも効きめは抜群

葉から入って根まで枯らすので60日以上防除。



® 米田モンサント社登録商標

お問い合わせは最寄の農協(JA)、または農薬販売店へ。
ラウンドアップ普及会 事務局 日本モンサント株式会社 〒107 東京都港区赤坂1-12-32 アーク森ビル31階

詳しい資料ご希望の方は
資料請求券貼付の上、左記へ

資料請求券
R-1000

ボトルでまく。アゼからまく。



ボトル散布で省力化。

水田除草の省力化を実現します。
カンタン、ラクラク、スピーディー…
もちろん、効きめは、“一発除草”。

新登場

ボトル散布の水田初期一発除草剤

クサメッツ® フロアブル
Lフロアブル

カルショット® フロアブル
Lフロアブル



デュポン農薬



1キロの省力。

出ました! 軽くなって、ラクになって、効果同じ。
10アール1キロ(1袋)散布で一発除草するDPX-84^{*} 剤です。

新登場

ウルフエース1^キロ 粒剤

ザーワ[®]1^キロ 粒剤

ゴルボ[®]1^キロ 粒剤

フジワラス[®]1^キロ 粒剤

※DPX-84の一般名はベンスルフロメチル。



デュポン農薬

★ 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。
- 種粒への吸着（浸透）に優れているので、消毒後は風乾せずに浸種できます。

適用病害と使用方法

作物名	適用病害虫	希釈倍数	使用時期	本剤及びブクロラズを含む農薬の総使用回数	使用方法
稲	いもち病	1,000倍	浸種前	1回	24時間 種子浸漬
	ばか苗病	100倍			10分間 種子浸漬
	ごま葉枯病	40倍 乾燥種粒1kg当り希釈液30ml			吹付け処理（種子消毒機使用）又は塗抹処理

実りのプレリュード・種子消毒剤



スポルタック® 乳剤

●ブクロラズ-25% SPOR-TAK®

R はシェーリングアングロモカバズリとデット(英国)の登録商標

植物病害診断キット アラート

アラート[®]は、色素標識抗原体反応を用いた新しいタイプの診断キットです。
 特別の施設、資材、技術は必要でなく、事務室、温室、圃場等で、簡単に操作できます。
 疫病菌、ピシウム病菌、リゾクトニア病菌によって起こる各種病害を、発病初期の段階で
 簡単に診断ができるようになることから、発生予想事業や合理的な防除に役立ちます。



輸入元 株式会社 トーメン 生物産業部
 東京都港区赤坂二丁目14番27号

* ご注文・お問い合わせは

社団法人 日本植物防疫協会 出版部

東京都豊島区駒込一丁目43番11号

TEL: (03)3944-1561~6(内線27~28) FAX: (03)3944-2103

これより三役

日本のみのりに



日本農薬株式会社
東京都中央区日本橋1丁目2番5号



おいしい笑顔の応援団
人と畑と安心農薬。アグロ・カネショウがお手伝い。



連作障害を

シャット・アウト!!

刺激が少なく、安心して使用できる
土壌消毒剤



バスアミド **微粒剤**

®ドイツ国BASF社の登録商標で、
本剤は同社で製造されたものです。

バスアミドはオゾン層にやさしい土壌消毒剤です。



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

平成六年三月二十五日	印刷	第四十八卷第四号
平成六年四月一日	發行(每月一回)	發行
昭和二十四年九月九日	第三種郵便物認可	

定価 八〇〇円(本体七七円)(送料七六円)

長い効きめ、高い効果

クミアイ

アドマイアー®

箱 粒劑 水和劑

①粒剂 粉剂DL



アドマイヤーは、まったく新しい系統の殺虫剤で、水稻の初期害虫～ウンカ類まで、長期間防除効果を持続します。野菜・果樹ではアブラムシ類やスリップス類などの難防除害虫にも高い効果を発揮します。



JAグループ



经济通

② 1. 空行換行

自然に学び 自然を守る



クミアイ化学工業株式会社

本社：東京都台東区池之端1-4-26 墨110-91 TEL 03-3822-5131

田んぼに
入らず
うくらく
散布。



イネミズゾウムシ・
イネドロオイムシの防除に優れた効果

シクロサルU 粒剤2
バック剤

粒剤2
バック剤

シクロパック

(愛称)

粒剤

(愛称)

粒剂



手のひらサイズの
パックを1アールに1個
投げ入れるだけ!

- あぜからポイツの省力散布
- 本面積でも散布ムラなく

- 大面積でも散布ムラなし
- すぐにわかる

●すぐにわかる

●養蚕地帯でも安心使用

シクロサルU粒剤2普及会

三共(株)・塩野義製薬(株)・日本農薬(株)・
北興化学工業(株)・三笠化学工業(株)・
全農・長瀬産業(株)

〈事務局〉 日本化薬(株)

東京都千代田区丸の内1-2-1
〒100 電話 03(3212)4360