

# 植物防疫

平成六年七月二十五日  
昭和二十四年八月二十九日  
印刷  
第三種郵便物認可  
(第四十八卷)  
(毎月一回発行)  
第八号

特集 昆虫バイオ  
イチゴ炭そ病

1994  
8

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<sup>®</sup>粒剤

カルボスルフアン…3.0%

®は米国FMC社の登録商標です。

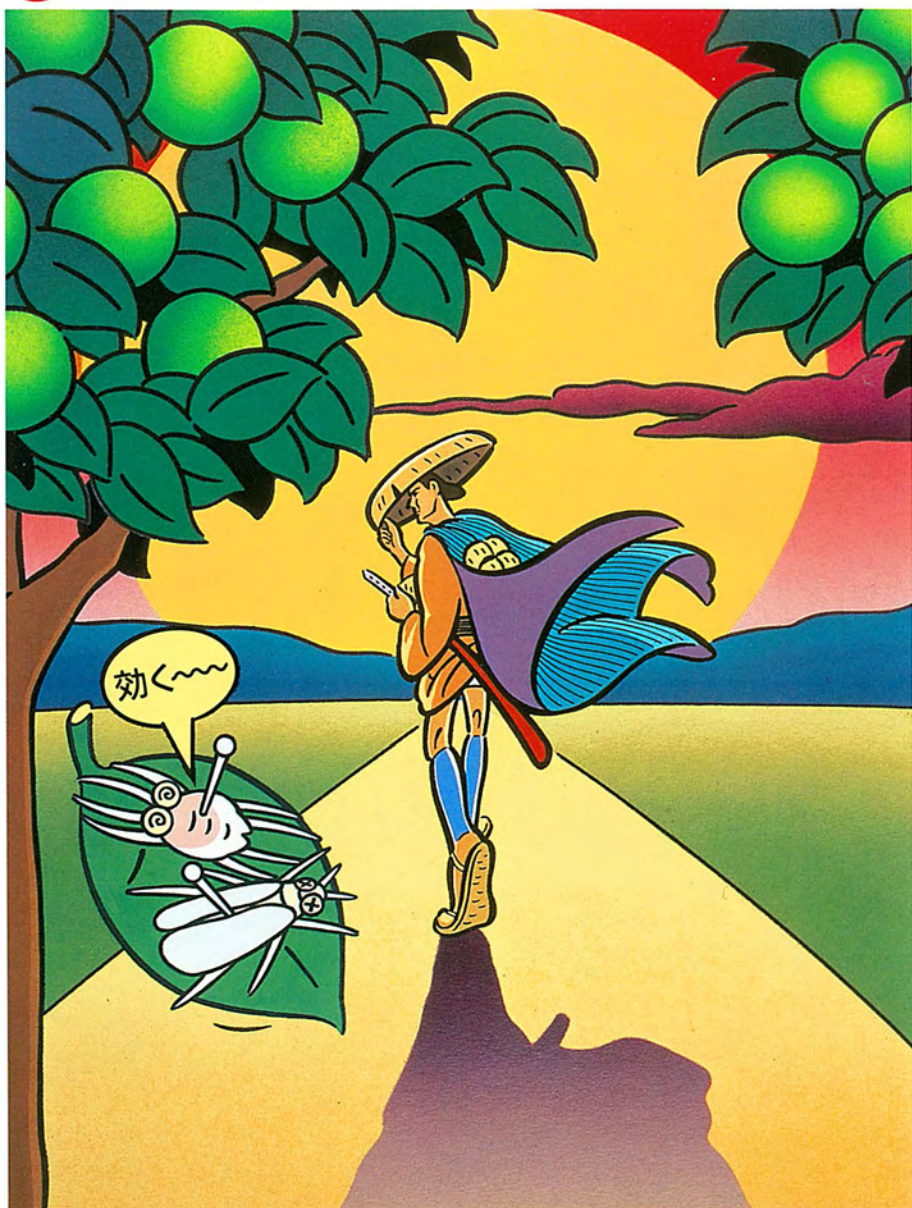


日産化学



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

# イチゴ炭そ病に対する底面給水法による 伝染抑制効果と潜在感染株の簡易診断法

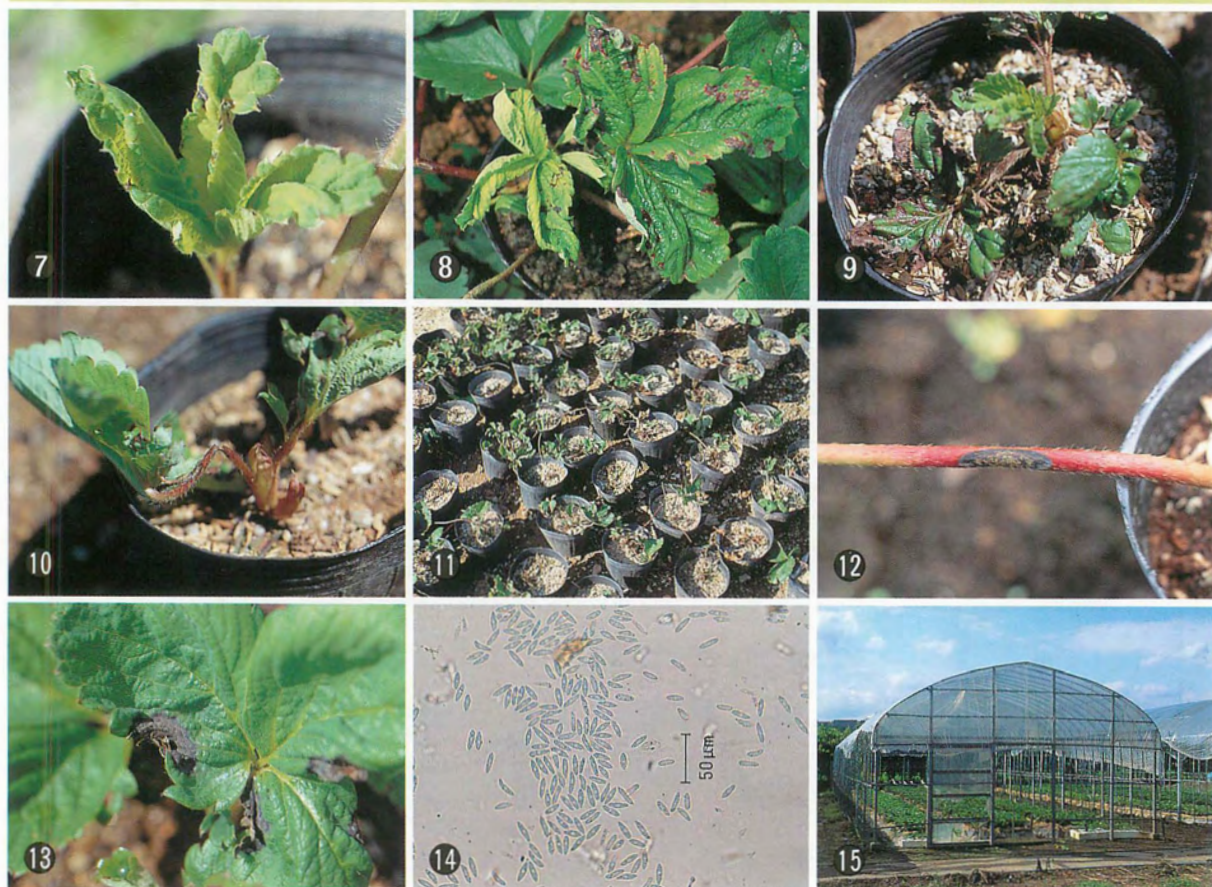
石川成寿氏原図(本文23ページ参照)



- ①簡易判別処理4日後に生じた誘導病斑
- ②簡易判別処理10日後、誘導病斑上に形成された分生子層
- ③簡易判別処理によって越冬葉(感染6か月後)に形成された分生子層
- ④, ⑤イチゴ輪斑病菌の誘導された分生子殻と淡黄色の胞子塊
- ⑥*C. acutatum* の誘導病斑上に形成された分生子層

## *Colletotrichum acutatum*による イチゴ炭そ病の発生生態と防除

松尾和敏氏原図(本文29ページ参照)



- ⑦小葉の葉縁に発生した初期病斑
- ⑧小葉の中期病斑
- ⑨縮れて破れやすい小葉の古い病斑
- ⑩乾腐で折れやすい葉柄の病斑
- ⑪甚発して衰弱枯死した子苗
- ⑫ランナーの病斑と鮭肉色の胞子堆
- ⑬多湿時に形成された小葉病斑上の鮭肉色の胞子堆
- ⑭本病原菌(*Colletotrichum acutatum*)の分生子
- ⑮防除効果が高い雨よけ育苗

# 連載口絵 花の病害虫 (18) ベゴニア



◀ベゴニア・エラチオールの栽培状況



▲木立ベゴニアの栽培状況



▲斑点細菌病の初期病徴



▲斑点細菌病の末期病徴



▲葉の裏面から見た斑点細菌病の病徴

木立ベゴニアに発生した茎腐病▶



▲茎腐病の拡大



▲苗に発生したさび病



▲さび病の病徴(左：表側、右：裏側)

# 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)

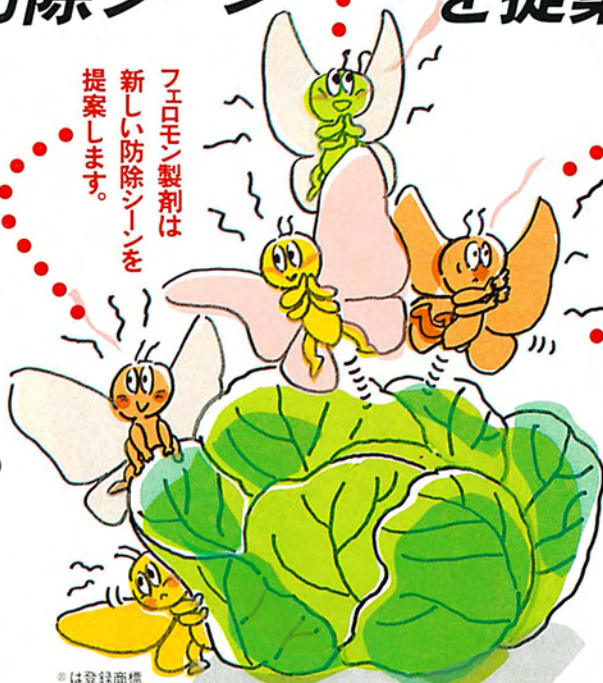
### 【大量誘殺用製剤】

- アリモドキコール®  
(アリモドキソウムシ用)
- オキメラノコール®  
(オキナワカンシャクシコメツキ用)

### 【発生予察用製剤】

- コドリングコール®(コドリンガ用)
- 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、キンモンホノガ、  
チャノホノガ、シバツツガ、  
スジキリヨトウ、ヒメコガネ、  
アリモドキソウムシ用)

®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

## 地球の仲間

# ホクコー

# 仮面



《ベルからの手紙》  
広い広い宇宙の彼方に、  
地球という小さな星が  
ありました。

ある日、ホクコー  
仮面が一通  
の手紙が届き  
ました。それは、  
遠い遠い宇宙  
の彼方にある  
地球という小  
さな星に住む、  
女の子からのものでした。  
「私はベル。ホクコー仮面さんにお願いがあ  
るの。私たちの星、地球が病気になるて  
みたいなの。あんなに青かった空も、澄み  
きつた海も、鮮やかだった緑も、みんな  
元気がなくなっていくみたい。お願い、

急いで……」  
手紙を読んだホクコー仮面は、ゾットをひ  
るがえしてひらひら飛び、地球のみえると  
ころまでやって来ました。するとどうて  
しよう。宇宙の数ある星の中でも、ひと  
きわ美しい星として知られていた地球は、  
アチコチ傷だらけ。モヤがかかって、ブル  
ブルと震えているように見えませんでした。  
ホクコー仮面は魔法のジョウロを取り出  
すと、特製のリフレッシュシャワーを3日  
3晩の間、休むことなく地球の上に注い  
てあげました。すると1  
週間目には震えが止ま  
り、2週間目には鮮やか  
な色彩がよみがえり、3  
週間目には、人々の  
笑い声と  
鳥たちの



歌がホクコー仮面のいる星にまで  
聞こえるほどになりました。  
もちろん4週間目にはベルからの  
お礼の手紙が届いたことは言う  
までもありません。そこにはベルだ  
けでなく、花たち、動物たち、地球  
上のすべての生命あるものたちの  
メッセージがこめられていたと  
いうことです。



北興化学工業株式会社  
〒103 東京都中央区日本橋本町4-4-20

農薬会社は「農家」「農産物」「環境」の安全を第一に心がけています。

## 特集：昆虫バイオ

|                   |            |    |
|-------------------|------------|----|
| バイオテクノロジーの進展と害虫防除 | 野田 博明      | 1  |
| 昆虫の分子系統樹作成の実際     | 嶋田 透       | 5  |
| 昆虫の食細胞と生体防御       | 和合 治久      | 9  |
| 昆虫の抗菌タンパク質とその利用   | 谷合幹代子・山川 稔 | 15 |

## 特集：イチゴ炭そ病

|                                                  |       |    |
|--------------------------------------------------|-------|----|
| イチゴ炭そ病の発生動向と品種の変遷                                | 小林 紀彦 | 19 |
| イチゴ炭そ病に対する底面給水法による伝染抑制効果と潜在感染株の簡易診断法             | 石川 成寿 | 23 |
| イチゴ炭そ病の伝染環と発病制御技術                                | 岡山 健夫 | 26 |
| <i>Colletotrichum acutatum</i> によるイチゴ炭そ病の発生生態と防除 | 松尾 和敏 | 29 |
| (海外ニュース) ネパール王国における果樹研究機関とその活動の現況                | 佐久間 勉 | 33 |
| (リレー随筆) 植物検疫の現場から(2)——頑張る米国向け鳥取県産二十世紀ナシ——        | 西俣 攻  | 34 |
| (口絵解説) ——花の病害虫——(18)ペゴニア                         | 木嶋 利男 | 35 |

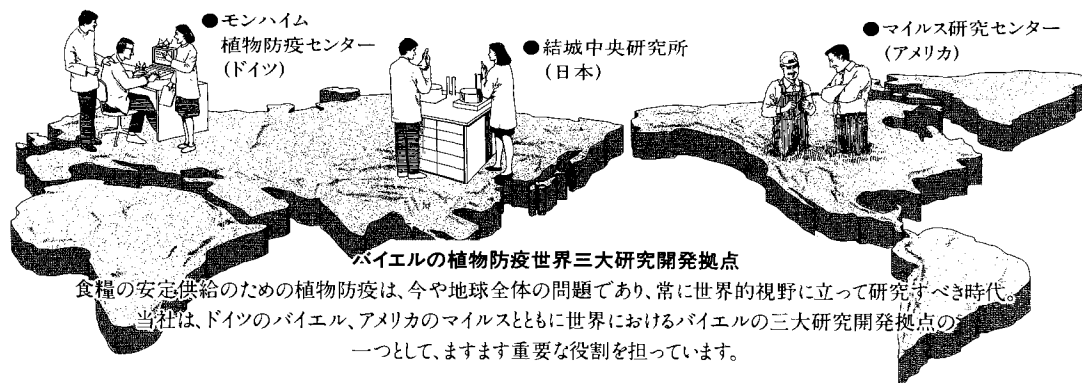
## 植物防疫基礎講座

### 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(12)

|                                    |           |       |
|------------------------------------|-----------|-------|
| モモせん孔細菌病菌・カンキツかいよう病菌・キウイフルーツかいよう病菌 | 尾形 正・小泉銘册 | 36    |
| 新しく登録された農薬 (6.6.1~6.30)            |           | 41    |
| 学会だより                              | 協会だより     | 40    |
| 新刊紹介                               | 主な次号予告    | 41 42 |
| 出版部より                              |           | 42    |

## 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



# いもち防除の 決め手を生かす

## ブラシン®

●農業は正しく使いましょう！

# BLASIN

アメダスの恋人

- いもち病・こま葉枯病・穂枯れ・変色米防除に
- いもち病・もん枯病・こま葉枯病防除に

**ブラシン® 粉剤DL・水和剤**    **ブラシンバリタ® 粉剤DL**

- いもち病と稲害虫防除に

**ブラシントレパダン® 粉剤DL**

- いもち病・もん枯病と稲害虫防除に

**ブラシンパダンバリタ® 粉剤DL**

**ブラシントレルバン® 粉剤DL**

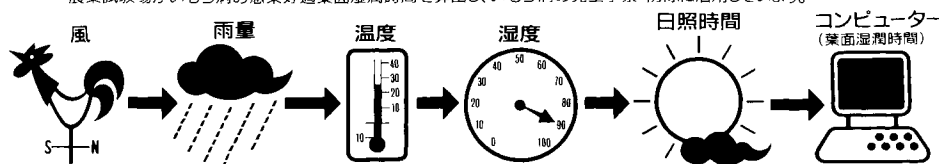
**ブラシントレルバンバリタ® 粉剤DL**

**ブラシントレボン® 粉剤DL・水和剤**

**ブラシントレバリタ® 粉剤DL・水和剤**

- コンピューター発生予察システムに適合する初めてのいもち防除剤です。
- 稲自身がかもつ防御反応を刺激していもち病菌の広がりをストップさせます。
- 速やかに稲体内にゆきわたり、散布後の雨による影響を受けにくい。
- こま葉枯病、穂枯れ、変色米など他の病害にも有効で、稲の仕上げ防除剤として最適です。

アメダスを利用した発生予察は全国840カ所(日本全土直径18km地点に1カ所あり)から送られたデータをもとに、農業試験場がいもち病の感染好適葉面湿潤時間を算出し、いもち病の発生予察・防除に活用しています。



## 特集：昆虫バイオ〔1〕

## バイオテクノロジーの進展と害虫防除

農林水産省蚕糸・昆虫農業技術研究所の 野 田 博 明

## はじめに

10年以上も前から、新しい作物の育種などをめざしてバイオテクノロジーの研究が始められた。当初の期待に比べて困難な部分もわかってきたが、ここ10年の間に着実に進展し成熟してきている。応用昆虫学の分野ではどうであったであろうか。当初、バイオテクノロジーをどのように利用し、展開していくのかについては明確な方向性はほとんどなかったように思われる。そしてこれまで、昆虫微生物関係を除くと、応用昆虫学分野とバイオテクノロジーとのかかわりについてまとめられたものは少ない。害虫防除の分野でも近年のテクノロジーの発展の影響を受けつつあり、ここで、進展しつつあるバイオテクノロジーと害虫防除とのかかわりを概観しておくことも、重要であろうと思う。

戦後、優れた化学農薬の開発によって作物は害虫による被害から守られてきた。現在でも化学農薬の有用性は、なんら変わることはない。しかし、化学農薬といえども万能ではない。カメムシのように畑の外から飛来して長期にわたって加害するものでは、何度も薬剤を散布しなければならない。また、果樹の枝の中を食害するような昆虫に対しては、あまり有効ではない。また、薬剤の散布は労力のかかる作業であり、できれば簡便にすませたいところであろう。さらに、薬剤防除は、薬剤に対する害虫の抵抗性を発達させたり、環境汚染の一因にもなることもある。最近、生物農薬が商品化され、天敵による防除がより身近になってきたとはいえ、いまのところ限られた害虫にしか適用できない。また、有機農法なども試みられているが、現在の収量・品質を維持するにはやはり化学農薬に頼らざるを得ないのが現状である。これまでの防除技術を大きく飛躍させることはできないであろうか。バイオテクノロジーがその一翼を担ってくれないか、というのが関係者の期待であろう。

バイオテクノロジーということばはかなりあいまいに使われているが、従来から、農業分野ではかなり広い範囲を包含してきた。この特集でも、幅広くとらえ、他の著者によって、昆虫の分子系統解析、昆虫の生体防御、

抗菌性タンパク質など、現在盛んに研究が行われつつある分野について、紹介されている。そこで、本稿では主に害虫防除の観点から、現在行われている研究や、将来的な目標などについて紹介したい。個々の内容の詳細については、個別に文献を参照していただきたい。

## I 耐虫性植物の作出—遺伝子組換え技術

今日、バイオテクノロジーによって、特定の害虫の発育を阻害する物質を産生する遺伝子を植物の中に入れることができるようになってきた。そして、当初双子葉植物でしかできなかった組換えが、単子葉植物でも簡単にできるようになってきた (LEEMANS, 1993)。耐虫性の作物の作出は1987年に、昆虫病原菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt 菌) の殺虫性タンパク質 (Bt 毒素,  $\delta$ -トキシシン) 遺伝子をトマトやタバコに組み込んだのが最初である (BARTON et al., 1987; FISCHHOFF et al., 1987; VAECK et al., 1987)。この殺虫性タンパク質は、世界的にみれば殺虫剤として既に30年間使われてきている。また、その作用機作もよく研究されており (堀, 1991; HONEE and VISSER, 1993)、単一の遺伝子を組み込むだけでよいというのは、有利な素材である (表-1)。最近、イネにもこの殺虫性タンパク質が組み込まれ、ニカメイチュウとコブノメイガに対して耐虫性を示している (FUJIMOTO et al., 1993)。そのほかの素材としては、プロテアーゼインヒター、植物のレクチン、昆虫の抗菌性タンパク質 (本特集参照) などが有望視されている。プロテアーゼインヒ

表-1 *Bacillus thuringiensis* の殺虫性タンパク質を用いたトランスジェニック植物

| 年次   | 植 物      | 文 献              |
|------|----------|------------------|
| 1987 | タバコ      | VAECK et al.     |
|      | トマト      | FISCHHOFF et al. |
|      | タバコ      | BARTON et al.    |
| 1989 | イネ       | YANG et al.      |
| 1990 | ワタ       | PERLAK et al.    |
| 1991 | タバコ・カラシナ | BASU et al.      |
| 1992 | ジャガイモ    | CAROZZI et al.   |
| 1993 | トマト      | PERLAK et al.    |
|      | トウモロコシ   | KOZIEL et al.    |
|      | イネ       | FUJIMOTO et al.  |

Biosis の検索等による

ピターは、多くの昆虫に代謝阻害を引き起こし、Bt 菌の殺虫タンパク質では防除できない昆虫種にも使える可能性がある。しかし、Bt 菌の殺虫タンパク質に比べて、多量に発現しないと害虫に対する防除効果は低いと考えられている。また、顆粒病ウイルスがもっている核多角体病ウイルスの感染を増進する因子であるエンハンシンの遺伝子をタバコの葉に入れることにより、アワヨトウの幼虫の生育を遅らせたという報告もある (HASHIMOTO et al., 1993)。

遺伝子組換えによってつくられた耐虫性作物は、これまでの薬剤散布に比較して、薬剤が土壌や水系を汚染することもなく、また薬剤が到達しない部位 (根や植物体内) への適用も可能である。組換え植物は、除草剤耐性やウイルスの耐病性の付与を中心に増えてきており、アメリカ合衆国では、1992 年には 161 件の野外試験が認可されている (KAREIVA, 1993)。しかし、それに伴って、組換え植物が圃場外に進出し、自然の生態系に影響を及ぼしはしないかと懸念されている。また、Bt 菌の殺虫性タンパク質を組み込んだ植物についても、その植物が栽培されているところには絶えずこのタンパク質が存在するわけで、必要以上に自然界に残留することになる。このことは、絶えず殺虫性タンパク質による淘汰圧がかかるわけであり、抵抗性の獲得を早めることになるかもしれない。また、殺虫性タンパク質単独で害虫を防除することも抵抗性発達を早める (VAN RIE, 1991)。また、既に Bt 剤そのものに対する害虫の抵抗性が発達してきており (浜, 1991)、対策が必要とされている。

現在、殺虫性タンパク質に対する抵抗性害虫の発達を遅らせるために、以下のような対抗策が考えられている (BRUNKE and MEEUSE, 1991)。

- ①昆虫で徐々に抵抗性が発達したりしないように非常に高いレベルで殺虫性タンパク質を発現させる。
- ②低いレベルで殺虫性タンパク質を発現させ、昆虫の发育を遅らせ、活動をにぶくして捕食者に捕食されやすくする。
- ③薬剤防除と併用する。
- ④殺虫性タンパク質だけでなく、プロテアーゼインヒビターなどのほかの素材も植物に組み込む。
- ⑤交差抵抗性の程度にもよるが、他の Bt 菌の異なる殺虫性タンパク質の遺伝子の入った植物を替わりに栽培する。
- ⑥殺虫性タンパク質を組み込んだ植物を圃場全体に作付けせず、組み込まれていない植物を一部植えて、野外個体群の抵抗性のレベルが一気に上がらないようにする。

## II 形質転換昆虫の作出の可能性

天敵などの益虫にはよい形質を入れ、害虫には害作用を減らすように形質転換することができれば、昆虫の利

用あるいは害虫の制御にとって、飛躍的な発展が望める。生物に遺伝子を導入するには、一般にベクターと呼ばれる DNA に目的の遺伝子をつなげて、生物の中に入れてやる。微生物では、プラスミドと呼ばれ細胞質内で自律的に増殖する DNA をベクターに用いており、植物では病原細菌に由来する Ti プラスミドなどを利用して、ベクターを用いることなく、直接目的の遺伝子を細胞や卵の中に入れて染色体に取り込ませることもある。カイコでは卵に遺伝子を注入し、その遺伝子を発現させることに成功している (TAMURA et al., 1990)。しかし、形質転換昆虫をつくるのには、その遺伝子が生殖細胞の染色体に組み込まれ、次世代に伝わる必要がある。そのためには、よいベクターを作ることが重要ということになる。

昆虫に遺伝子を導入することは、ショウジョウバエを除いて進展が遅れており、今のところ、農業害虫や衛生害虫に遺伝子を導入することには成功していない (HANDLER and O' BROCHTA, 1991)。ショウジョウバエでは、交雑発生異常を引き起こす P 因子をベクターとして自由に形質転換できる。ショウジョウバエでは、その他に *hobo* 因子を使っても形質転換できる (BLACKMAN et al., 1989)。これらの因子は、もともと遺伝子の間を動き回ることができる性質をもっており、トランスポゾンと呼ばれるものである。残念ながらこれらの因子は他の昆虫体内では働かず、したがって、ショウジョウバエ以外の昆虫でも働くベクターを探すことが先決である。現在、このベクター候補として研究されているのがマリナーと呼ばれるトランスポゾンである (ROBERTSON, 1993; ROBERTSON and MACLEOD, 1993)。このトランスポゾンは広い範囲の昆虫にみつかっており、多くの昆虫で遺伝子を導入するベクターとして使えるのではないかと期待される (LIDHOLM et al., 1991)。

昆虫のウイルスも昆虫体内に遺伝子を導入するベクターとして使える可能性がある (前田, 1993)。しかし、ウイルスに関してはまだこれといった候補がない。その中であって、昆虫の共生微生物を利用して昆虫に遺伝子を導入しようとする研究もある。共生微生物は宿主昆虫との親和性が高く、昆虫体外へ取り出し、目的の遺伝子を微生物に導入し、昆虫の体内に戻してやれば、昆虫の体内で目的の遺伝子を発現することができる。昆虫を直接形質転換することは難しいが、微生物ならば比較的容易に形質転換させられるという背景がある。オオサシガメの消化管内の共生微生物に遺伝子を入れることも成功している (BEARD et al., 1992)。これを利用して、人間に病原を媒介する蚊に対して遺伝子を導入し、病原を媒介で

きない蚊を作りだし、これまでの蚊の個体群と置き換えようという計画もある (ALDHOUS, 1993; BEARD et al., 1993 a, b)。

### III 天敵生物の利用と改変

昆虫の病原微生物のなかでも、研究が進んでいるのは、*Bacillus thuringiensis* と核多角体病ウイルスである。前者は既に耐虫性植物をつくる素材として述べた。それ自身微生物防除に用いることができるばかりでなく、産生する殺虫性タンパク質も農薬として使われている。100 種類以上知られている昆虫病原細菌のなかで、防除剤として商品化されているのは、*Bacillus* 属菌だけである (STARNES et al., 1993)。現在でも新しい菌株が分離されており、宿主域の異なるものや、より優れた毒素を産生する菌株が探索されている。殺虫性タンパク質は、その殺虫スペクトラムによって今のところ数種類に分けられており、さらにその中で細かく分類されている。殺虫性タンパク質の検出には、これまでは抗体を用いていた。最近では PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) によって、殺虫性タンパク質の遺伝子を増やし、その増えた DNA を制限酵素で切断することによって、その Bt 菌がどのような殺虫性タンパク質をつくるかが判定できるようになってきた (浅野ら, 1993 a, b)。

後者の核多角体病ウイルスも既に防除に利用されている。このウイルスは外来遺伝子を組み込んで発現させるのに優れた系として使われており、毒素や昆虫の发育を阻害するような物質をつくる遺伝子を組み込んで、より効率のよい微生物農薬を作り出す努力が積み重ねられている (POSSEE et al., 1990; 前田, 1993)。利用されている遺伝子は、昆虫のホルモン・酵素、神経毒ペプチド、Bt 菌の殺虫性タンパク質などである。

前述のように、我が国でも生物農薬を使った防除が真剣に考えられている。そこでは、天敵生物を農薬のように使うので、その天敵の大量増殖と品質の管理が重要になっている。さらに、その天敵を育種したり、改変しようとする研究が行われている (Hox, 1991)。寄生蜂や捕食性のダニなどが殺虫剤で淘汰され、殺虫剤に強い系統が選抜されている。これによって、これまで薬剤に弱く、薬剤防除とは併用し難かった天敵の利用を容易にすることができる。また、さらに薬剤抵抗性の遺伝子などを天敵に導入しようと考えられている。既に述べたように、昆虫の形質転換はいまだ容易ではないが、将来的に可能になれば、より有用な天敵を作り出せる。

しかし、微生物の改変も含めて、天敵生物を改変して野外に放飼するには人や有用動物に対する影響や、生態

系に与える影響を十分検討する必要がある、既にこの点からも論議が起こっている (GOODMAN, 1993)。我が国でも天敵導入の生態系へ与える問題点 (広瀬, 1994) や、生物農薬の安全性評価 (岡田, 1993; 鈴井, 1994) に関して注意が払われている。

### IV 昆虫の系統分類

昆虫は主として外部形態によって分類同定されている。しかし、微生物の分類では、既に DNA がタイプ要素として機能することが認められている (杉山, 1994)。また、リボソーム RNA 遺伝子の配列から推定した系統関係が、従来の分類体系とよく合っているといわれている。昆虫は複雑な構造をしており、外部形態で十分分類が可能であろうが、そのような表現型 (Phenotype) の比較に加えて、遺伝子型 (Genotype) の検討も行えば、分類の複雑な系統群では役立つと思われる (馬渡, 1993)。

また、農業害虫は地域や寄主植物ごとに分化していることがある。例えばワタアブラムシやハダニのように外見では区別できないが、寄生している植物によって、生理的性質が異なると思えるものがある (刑部, 1993)。

また、寄生蜂の種の判別においても、より客観的な判断基準があるとよい。さらに、薬剤抵抗性を示す個体群の把握も重要である。これまでの飼育による生理的特徴の比較や、アイソザイムの分析などに加えて、タンパク質のアミノ酸配列や DNA の塩基配列の決定が有用になりつつある。

最も盛んに研究されているのがリボソーム RNA 遺伝子である。リボソーム RNA とは、リボソームの中に入っている RNA で、その RNA を作り出す鋳型となるゲノムの遺伝子がリボソーム RNA 遺伝子である。リボソームはタンパク合成にかかわる大切な分子で、細菌のような原核生物から真核生物であるカビ、昆虫、ほ乳類に至るまでほとんどの生物に存在している。大切な分子であるので、大きな変異は致命的となる。そのため、これまで分子の進化が非常にゆっくりであったと考えられる。したがって、分子の保存性が高く、塩基配列の変異が少ないので、遠く離れた生物同士でも系統関係を比較することができる。この特徴を使ってウнка類の脂肪体の細胞内の酵母様共生微生物のリボソーム RNA 遺伝子を分析したところ、この共生微生物は子囊菌類の核菌類に属すると推定できた (NODA et al., 1994)。

昆虫の種類や系統、個体群の間で区別や比較をする場合には、リボソーム RNA のように保存性のきわめて高い分子を用いるとあまり違いが見いだせない。それぞれ

の目的にあった分子種または手法を用いる必要がある (BRUNS et al., 1991)。細胞内小器官のミトコンドリア遺伝子は、進化速度が速く、より近い生物を比較できると言われている。RFLP (制限酵素断片長多型) 解析は、種や亜種のレベルでの比較に都合がよい。本誌でも以前に植物、植物病原菌及び昆虫での利用について特集が組まれている (第 46 巻第 9 号: 1992, 河瀬; 柘植ら; 平八重ら; 村路; 野村)。さらに PCR を用いた検出法も簡便で迅速である (矢野, 1993 a, b)。最近、新系統のタバココナジラミが世界的に被害を起こしているが、これが新種ではないかという報告が出た (PERRING et al., 1993)。この両者を区別するのに、RAPD-PCR が有効であった (GAWEL and BARTLETT, 1993)。また、アブラムシのバイオタイプの検出にも使われている (BLACK et al., 1992)。この方法では、10 塩基程度の短いプライマーを用いて PCR を行いアガロースゲル電気泳動によって、増幅された DNA の数と大きさを比較する。装置が比較的安価でそろえやすいことや、操作が簡単で速く分析できるので、昆虫分野にも急速に普及している。

### お わ り に

近年、DNA やタンパク質の分析手法が発達し、上記以外にも関連分野での研究が進展している。昆虫のホルモンでは、ホルモン・レセプターの遺伝子が解析されており (KOELLE, 1991)、薬剤抵抗性の機作についても分子レベルでの理解が深まっている (MULLIN and SCOTT, 1992)。また、バイオテクノロジーとは直接かかわっていないが、近年のコンピュータ・ネットワークの充実と発展は、応用昆虫学・植物防疫の分野でも、深くかかわっていくと思われる。ソフトの面でもハードの面でも、積極的にネットワークが広がることを期待したい。

### 引 用 文 献

- 1) ALDHOUS, P. (1993): *Science* 261: 546~548.
- 2) 浅野真一郎ら (1993 a): 蚕糸学雑誌 62: 210~215.
- 3) ——— (1993 b): *ibid.* 62: 223~227.
- 4) BARTON, K. A. et al. (1987): *Plant Physiol.* 85: 1103~1109.
- 5) BASU, D. et al. (1991): *Indian J. Exp. Biol.* 29: 1002~1009.
- 6) BEARD, C. B. et al. (1992): *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 46: 195~200.
- 7) ——— et al. (1993 a): *Insect Mol. Biol.* 1: 123~131.
- 8) ——— et al. (1993 b): *Parasitology Today* 9: 179~183.
- 9) BLACK IV, W. C. et al. (1992): *Bull. Entomol. Res.* 82: 151~159.
- 10) BLACKMAN, R. K. et al. (1989): *EMBO. J.* 8: 211~

- 217.
- 11) BURNKE, K. J. and R. L. MEEUSE (1991): *TIBTECH* 9: 197~200.
- 12) BRUNS, T. D. et al. (1991): *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22: 525~564.
- 13) CARROZZI, N. B. et al. (1992): *Plant Molec. Biol.* 20: 539~548.
- 14) FISCHHOFF, D. A. et al. (1987): *Bio/Technology* 5: 807~813.
- 15) FIJIMOTO, H. et al. (1993): *ibid.* 11: 1151~1155.
- 16) GAWEL, N. J. and A. C. BARTLETT (1993): *Insect Mol. Biol.* 2: 33~38.
- 17) GOODMAN, B. (1993): *Science* 262: 1507.
- 18) 浜 弘司 (1991): 植物防疫 45: 502~505.
- 19) HANDLER A. F. and D. A. O'BROCHTA (1991): *Annu. Rev. Entomol.* 36: 159~183.
- 20) HASHIMOTO et al. (1993): 2nd International Symposium on Molecular Insect Science Abstracts p.75.
- 21) 平八重一之ら (1992): 植物防疫 46: 320~325.
- 22) 広瀬義躬 (1994): 農業技術 49: 145~149.
- 23) HONEE, G. and B. VISSER (1993): *Entomol. exp. appl.* 69: 145~155.
- 24) 堀 秀隆 (1991): 植物防疫 45: 493~497.
- 25) HOY, M. (1991): *Resistance '91: Achievement and Development in Combating Pesticide Resistance.* Elsevier Science Publishers, London. pp 307~324.
- 26) KAREIVA, P. (1993): *Nature* 363: 580~581.
- 27) 河瀬眞琴 (1992): 植物防疫 46: 307~314.
- 28) KOELLE, M. R. et al. (1991): *Cell* 67: 59~77.
- 29) KOZIEL, M. G. et al. (1993): *Bio/Technology* 11: 194~200.
- 30) LEEMANS, J. (1993): *ibid.* 11: S 22~26.
- 31) LIDHOLM, D-A. et al. (1991): *J. Biol. Chem.* 266: 11518~11521.
- 32) 前田 進 (1993): 昆虫ウイルスとバイオテクノロジー, サイエンスハウス.
- 33) 馬渡峻輔 (1993): 遺伝 47: 43~47.
- 34) MULLIN, C. A. and J. G. SCOTT (1992): *Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance.* American Chemical Society symposium series 505, pp 1~13.
- 35) 村路雅彦 (1992): 植物防疫 46: 326~329.
- 36) NODA, H. et al. (1994): submitted.
- 37) 野村昌史 (1992): 植物防疫 46: 330~333.
- 38) 岡田斉夫 (1993): 関東東山病虫研報 40: 1~5.
- 39) 刑部正博 (1993): 果樹試報特別報告 4 号
- 40) PERLAK, F. J. et al. (1990): *Bio/Technology* 8: 939~943.
- 41) ——— et al. (1993): *Plant Mol. Biol.* 22: 313~321.
- 42) PERRING, T. M. et al. (1993): *Science* 259: 74~77.
- 43) POSSEE, R. D. et al. (1990): *Molecular Insect Science.* Plenum Press, New York, pp 113~123.
- 44) ROBERTSON, H. M. (1993): *Nature* 362: 241~245.
- 45) ——— and E. G. MACLEOD (1993): *Insect Mol. Biol.* 2: 125~139.
- 46) STARNES, R. L. et al. (1993): *American Entomol.* 39: 83~91.
- 47) 杉山純多 (1994): 日本農芸化学会誌 68: 48~53.
- 48) 鈴井孝仁 (1994): 農業技術 49: 21~26.
- 49) TAMURA, T. et al. (1990): *Jpn. J. Genet.* 65: 401~410.
- 50) 柘植尚志ら (1992): 植物防疫 46: 315~319.
- 51) VAECK, M. et al. (1987): *Nature* 328: 33~37.
- 52) VAN RIE, J. (1991): *TIBTECH* 9: 177~179.
- 53) YANG, H. et al. (1989): *Sci. Agric. Sin.* 22: 1~5.
- 54) 矢野 博 (1993 a): 農及園 68: 25~31.
- 55) ——— (1993 b): 農業技術 48: 544~549.

特集：昆虫バイオ〔2〕

## 昆虫の分子系統樹作成の実際

東京大学農学部養蚕学研究室

しま  
嶋だ  
田とおる  
透

昆虫の系統解析は、分類や進化などの基礎的分野でも、害虫や益虫の同定などの応用的分野でも、重要な研究である。最近、分子データを用いて作成した昆虫の系統樹、すなわち分子系統樹が作成されることが多くなってきた。系統樹作成に用いられる分子マーカーには、アロザイム (PUTERKA et al., 1993) などのタンパク質多型、制限酵素切断断片長多型 (RFLP) (KAMBHAMPATI and RAI, 1991), ランダム増幅多型 DNA (RAPD) (PUTERKA et al., 1993; CHAPCO et al., 1992, 全 DNA ハイブリダイゼーション (SIBLEY and AHLQUIST, 1984) など多数あるが、なかでも、DNA の塩基配列データが、得られる情報の量と質において勝るため、最も広く用いられている。特に、ポリメラーゼ連鎖反応 (以下、PCR) を利用して特定の遺伝子を増幅し、その配列を決定する方法が、迅速・簡便であるため、KOCHER et al. (1989) をはじめ多くの研究者に用いられ、昆虫でも LIU and BECKENBACH (1992), CARMEAN et al. (1992), HEY and KLIMAN (1993) らによって採用されている。昆虫は、他の動植物に比べて体が小さく、得られる DNA が少ないため、PCR 以外の方法では個体別の分析が困難な場合がある。本稿では、筆者らの研究室で進行中の研究内容を中心に、PCR に基づく配列決定と系統樹作成の方法を実例に即して紹介したい。RFLP などの他の方法については、既に本誌 (第 46 巻第 9 号, 1992) で村路や野村が紹介しているので参照されたい。また、分子進化学の手法に関する良い成書 (根井, 1990; 五条堀ら, 1993) もあり、一読の価値がある。

## I PCR による塩基配列比較の方法

PCR を用いて遺伝子を増幅する場合には、プライマー DNA が必要であり、その設計が実験の鍵を握る場合が多い。プライマーの条件としては、次のようなことが挙げられる。

① 左右のプライマーがかならず目的の遺伝子にアニールすること。少なくともプライマーの 3' 末端の数塩基は一致しないとアニールできない。したがって、プライマーの配列は種を超えてよく保存されている場所から選ぶべきである。必要に応じて混合塩基を導入する。

② 増幅する領域には、適度な変異が存在すること。配列が似すぎていても、違いすぎても正しい系統関係を導けなくなる。

③ 増幅する領域のサイズが適度であること。通常の

シーケンシング技術で一回に解読できるのは 500 塩基程度であるので、完全に両方向のシーケンスを決定したい場合は 500 塩基対くらいの PCR 産物が望ましい。それ以上に長い配列では、完全な配列を得るために、サブクローニングや別のプライマーが必要となる。一方、短い PCR 産物では、得られる情報が減少し、系統樹の樹形や樹長の精度が下がることになる。

しかし、多くの昆虫群では、これらの条件を満たす配列を見いだすことが簡単ではない。ショウジョウバエやタバコスズメガなどの限られた材料では、DNA の塩基配列が多数決定されているが、他の多くの分類群では、DNA の情報はあまり多く得られていない。そのような昆虫を対象として分子系統学を始める場合には、進化上よく保存されている配列を用いざるを得ない。ただし、進化の遅い遺伝子を用いると、増幅領域の変化が乏しくなり、得られる情報が少なくなる。既に昆虫で用いられた PCR プライマーのリストがあるので参照するとよいだろう (DeSALLE et al., 1993; HEWITT et al., 1991)。

どのような塩基配列がすでに決定されているかを調べるために、既存の DNA データベースが利用できる (五条堀ら, 1993)。DDBJ (日本 DNA データバンク) やアメリカの GenBank などに登録されている既知の配列から、自分の興味のある生物種または近縁種の情報を検索し、その配列を元にしてプライマーをデザインする。塩基配列上の保守的部位の特定には、複数の配列を比較して Dotty Plot (開発者 DON GILBERT, Biology Dept., Indiana University, Bloomington, IN, USA) のようなプログラムでホモロジープロットを調べたり、CLUSTAL V (HIGGINS, 1992) などアラインメントを行うことが必要になる。プライマーの候補が PCR プライマーとして適切であるかどうかの検定は、Amplify (中村, 1993) などのプログラムを用いて行うことができる。

PCR 反応の条件、特にアニーリング温度と反復回数が結果に大きく影響するが、条件を何段階か設定して比較してみるとよい。実際に目的の配列が増幅されたかどうかは、PCR 産物のサイズ、制限酵素切断パターン、サザンプロット解析などで判断できる。PCR 産物を、直接塩基配列の決定に用いることもできるが、混合プライマーによる PCR の場合は、クローニングを行ったほうがよい。筆者らは、T4 DNA ポリメラーゼを用いて PCR 産物の末端を平滑化した後、pBluescript II などのベクターの *Sma* I (または他の平滑末端生成酵素) 切断点に挿入し、自動蛍光シーケンサーを用いて配列決定している。

How to Draw Molecular Phylogenetic Trees of Insects.

By Toru SHIMADA

PCR 産物から得られた配列を比較するためには、多重アラインメントを行わねばならない。筆者らは CLUSTAL V (前出) を用いている。整列させた配列から、PHYLP (FELSENSTEIN, 1989) や PAUP などの系統解析ソフトによって系統樹を得ることができる。系統樹の作成法には多数ある (根井, 1990) が、代表的なものは近隣結合法 (SAITOU and NEI, 1987), 最大節約法 (FITCH, 1977), 最尤法 (FELSENSTEIN, 1981) などであろう。それぞれ基礎となる仮定が異なり、どの方法が最適であるかは一概にいえない。分類学者は最大節約法を好む傾向があるが、計算機シミュレーションでは、近隣結合法も良い結果を与えるらしい (SAITOU and IMANISHI, 1989)。最尤法は最も複雑な計算を行うので計算時間がかかるが、進化速度の一定性を仮定しなくてもよいという利点がある (FELSENSTEIN, 1981; 長谷川, 1989)。PHYLP は、DNA 塩基配列とタンパク質のアミノ酸配列のおおのについて、各作成法によって系統樹を作成するが、アミノ酸配列の最尤法だけは行うことができない。アミノ酸配列の最尤法については、PROTML プログラム (ADACHI and HASEGAWA, 1992) が利用できる。

以下に、筆者らの分子系統樹作成の実例を二つ紹介する。

## II アリルフォリン遺伝子からみたヤママユガ科・カイコガ科の系統関係

ヤママユガ科とカイコガ科は近縁の科であり、絹糸昆虫として重要である。筆者らは、この 2 科に属する昆虫を材料に体液タンパク質の種間比較を続けている (嶋田ら, 1992)。アリルフォリンは、幼虫の体液中に多量に含まれるタンパク質で、脱皮や変態の時期に必要なアミノ酸の貯蔵体と考えられている (TELFER et al., 1983)。アリルフォリンの遺伝子は、核に存在し、カイコではハプロイドゲノム当たり 1 コピーと推定されている (FUJII et al., 1989)。ここでは、アリルフォリン遺伝子の配列に基づいて、上記 2 科の昆虫の系統関係を検討した結果 (SHIMADA et al., 投稿中) を述べる。

既知のカイコとタバコスズメガのアリルフォリン遺伝子の塩基配列をもとに、PCR プライマーを設計した。第 3 エクソンと第 4 エクソンのおおのから、塩基配列がよく保存されており、しかもコドンの縮退度が低いアミノ酸の配列をコードしている部分を選択し、2 種類のプライマーとした。コドンの縮退を考慮して、一方は 16 通りの混合物、もう一方は 8 通りの混合物とした。11 種類の野蚕からゲノム DNA を調製し、PCR を実行した結果、期待通り約 500 塩基対からなる PCR 産物が得られた。前述の方法で PCR 産物をクローン化し、塩基配列を決定した。

決定した配列からイントロンと推定される配列を除外した後、データを PHYLP に入力し、近隣結合法を用いて系統樹を作成した。外群としてタバコスズメガの配列

を用いた。遺伝的距離の計算には KIMURA (1980) の 2 パラメーター法を用い、トランジションはトランスバージョンの 2 倍の頻度で起きるものと仮定した。その結果、図 1a に示す系統樹が得られた。100 回のブートストラップ (FELSENSTEIN, 1985) の後に再度近隣結合法を適用し、合意系統樹 (consensus tree) を求めたところ、樹形は同一であり、各分岐の支持される割合は 57~100% であった。一方、エクソンの塩基配列からアミノ酸配列を推定し、近隣結合法で系統樹を作成したところ、図 1b のようになった。ブートストラップによる合意系統樹も同じ樹形であり、各分岐の支持率は 15~100% であった。

得られた系統樹を過去の分類学的研究 (MICHENER, 1952; 井上, 1982; 宮田, 1970) に照らして考察すると、同属とされているすべての種が近縁であることが裏付けられ、別属だが近縁種とみなされているクスサンとヒメヤママユの類縁性も支持された。アリルフォリン遺伝子の配列が、野蚕種間の近縁性の検定に有力な手段となることが示された。カイコガ科とヤママユガ科の両科の単系統性も支持された。しかし、ヤママユガ科の属間の関係は、DNA からの系統樹とアミノ酸配列からの系統樹で差異があり、図には示さないが、最大節約法ではさらに異なる結果が得られた。ブートストラップ検定の結果も属間関係のあいまいさを示している。また、カイコとクワコの関係についても、配列の差異が少なすぎるためあつて、明確な結論を示すことができなかった。今のところ、これらの不確実な分岐関係を無理に表現するよりは、多分岐を許す樹形で系統樹を描くほうがよいかもしれない。今後、進化速度の異なる他の遺伝子でも塩基配列を比較できれば、さらに精度の高い系統樹が描けるはずである。

イントロン内部やコドンの第 3 塩基のみの比較を行ったところ、同属の種やクスサン/ヒメヤママユの間では相同性が高かったが、別属間では著しく低かったので、これらのサイトでは塩基置換が飽和している可能性も考えられる。また、トランジション/トランスバージョンの比が、同属内では 1.8 であるのに対し、属間では 1.2、科間では 1.0 となったので、属以上のレベルの進化では複数回の塩基置換が起きていることがわかる (DeSALLE et al., 1987)。属間関係の分析にはアミノ酸配列の系統樹のほうが適しているかもしれないが、得られた配列は 121 アミノ酸残基と短いので、より長い配列を比較する必要がある。

## III ミトコンドリア DNA からみたアゲハチョウの系統関係

アゲハチョウ科は、成虫の美麗な姿に惹かれる愛好家が多く、鱗翅目昆虫の中では比較的分類上の知見の豊富な科である。最近、海外では DNA レベルからも系統解析が試みられ始めている (SPERLING, 1993 a, b; MARTIN and PASHLEY, 1992) が、本邦産の種ではまだ行われていない。

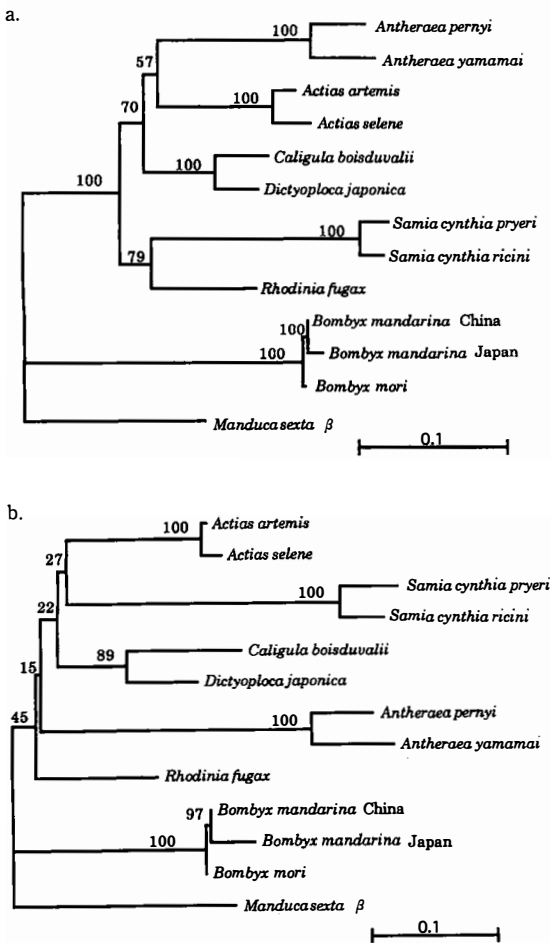


図-1 アリルフォリン遺伝子の塩基配列から推定したヤマモミガ科・カイコガ科の系統樹

枝の長さは進化的距離に相当する。各枝の上の数字はブートストラップによる支持率(%)。a: 塩基配列から近隣結合法で作成した系統樹。b: アミノ酸配列から近隣結合法で作成した系統樹。

学名は、*Bombyx mandarina* Japan 本邦産クワコ、*Bombyx mandarina* China 中国産クワコ、*Samia cynthia ricini* エリサン、*Samia cynthia pryeri* シンジュサン、*Antheraea yamamai* ヤマモミガ、*Antheraea pernyi* サクサン、*Dictyoploca japonica* クスサン、*Caligula boisduvalii* ヒメヤマモミ、*Actias artemis* オオミズアオ、*Actias selene* 台湾産オナガミズアオ、*Rhodinia fugax* ウスタビガ、*Bombyx mori* カイコ、*Manduca sexta* タバコスズメガ。

アゲハチョウ科の昆虫では、従来、分子生物学的研究があまり行われておらず、既知の遺伝子配列がほとんど存在しない。このような状況の下で分子系統学的研究を開始する場合、ミトコンドリアDNAは扱いやすい対象である。ミトコンドリアはすべての真核生物に存在し、コ

ピー数も多く、そのゲノムに含まれる遺伝子の種類もおよそ同じだからである。哺乳動物ではミトコンドリアDNAが核の遺伝子よりも速く進化するといわれているが、昆虫にはあてはまらない(PASHLEY and KE, 1992)。筆者らはミトコンドリアDNAの16SリボソームRNAコード領域に着目し、系統分析に着手した(嶋田ら、未発表)。この領域は、ミトコンドリアゲノムの中でも比較的進化速度の遅い領域であり、ショウジョウバエ、ヨコバイおよびブユの系統分析でも利用されている(DeSALLE et al., 1987; DeSALLE et al., 1992; FANG et al., 1993; XIONG and KOCHER, 1991)。筆者らは16S RNAの後半部分約580塩基対をPCRで増幅した。ショウジョウバエ、ヒトスジシマカ、マウスの配列を比較し、よく保存されている部分を用いてプライマーを設計した。3種で異なる部分は混合サイトとした。

4種のアゲハチョウで配列決定された塩基数は、524ないし529塩基対であった。AとTが非常に多く、あわせて約77%であった。AT含量が多いのは昆虫のミトコンドリアゲノムに共通に見られる特徴である。配列の整理は、以後の系統樹作成において外群として用いたヤガ科の*Spodoptera frugiperda*の配列と一緒にを行った。また、塩基の欠失や挿入を考慮しながら整理させた。その結果をPHYLIPに入力して、各種系統樹の作成を行った。遺伝的距離の計算では、アリルフォリン遺伝子と同様に、トランジションがトランスバージョンの2倍の頻度で起きるものとした。

図-2の系統樹は、最尤法で描いた。枝の長さは、進化的距離に比例する。*Spodoptera*を外群とみなすと、ルートの位置は系統樹の左端になる。つまり、アゲハチョウ科の共通祖先から、まずウスバシロチョウが、次にアオスジアゲハが、そして最後にナミアゲハとクロアゲハが分化したという分岐プロセスが推定される。100回のブートストラップの結果は、アオスジアゲハの分岐を78%の信頼性で、ナミアゲハとクロアゲハの分岐を98%の信頼性で支持した。この推定は、従来の分類学的知見(阿江, 1986)と一致する。最大節約法や近隣結合法による系統樹も、おおむね最尤法の結果に一致した。

## おわりに

以上、二つの昆虫群での分子系統樹作成例を述べ、アリルフォリン遺伝子やミトコンドリアDNAが鱗翅目昆虫の近縁種間の系統解析に有用であることを指摘した。前者は核にコードされており、後者は細胞質に存在する。前者はタンパク質をコードしているが、後者はRNAをコードする。これらの差異が、系統解析の結果に違いを生ずる可能性があり、できれば同一の材料で複数の核の遺伝子、ミトコンドリアDNAを調べることが望ましい。現在のところ、核の遺伝子を用いた系統解析は、昆虫ではあまり多くなく、特に単一コピーの遺伝子は例が少ない。今後アリルフォリン遺伝子以外にも多くの遺伝

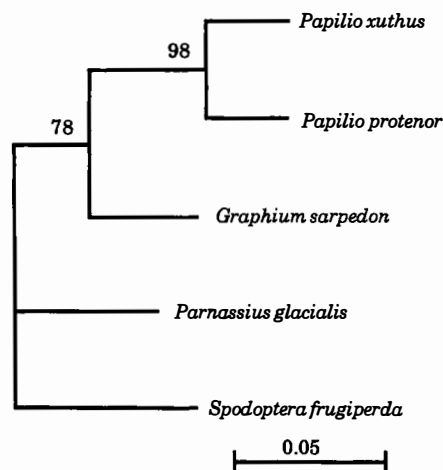


図-2 ミトコンドリア DNA の塩基配列から最尤法で推定したアゲハチョウ科の系統樹

枝の長さは進化的距離に比例する。各枝の上の数字はブートストラップによる支持率 (%)。

学名は, *Papilio xuthus* ナミアゲハ, *Papilio protenor* クロアゲハ, *Graphium sarpedon* アオスジアゲハ, *Parnassius glacialis* ウスバシロチョウ, *Spodoptera frugiperda* ヤガ科の一種。

子で進化速度の推定がなされるようになれば、どのような遺伝子がどのような分類階級の系統解析に適しているのか、わかってくるだろう。ただし、DNA の系統樹は、あくまで遺伝子の系図であり、種や集団の系図ではない。特に近縁種においては、種内変異と種間差異の関係に注意しなければならない (HARRISON, 1991)。遺伝子にはコピー数が複数ある場合があり、コピー間に変異が見られる場合があること (TROSTER et al., 1990) も知っておく必要がある。

昆虫の分子系統学は、これからさらに盛んになると思うが、分子系統樹の作成は昆虫の進化と分化の機構を知るための第一歩にすぎない。系統樹を軸として、遺伝子の機能を追求する分子生物学と集団における遺伝子の動態を解析する集団遺伝学が連携し、適応進化や分岐進化などの未解決の問題を解明してゆくことになる。本稿では、害虫管理や環境保護など応用面での分子系統学の役割を述べなかったが、関心のある方は PASKEWITZ and COLLINS (1990) や VOGLER et al. (1993) などを参照されたい。

なお、本稿で述べた研究結果は、栗本康行、笹部哲郎、望月淳、小林正彦の各位との共同研究の成果である。星崎杉彦氏からは貴重なコメントをいただいた。

## 引用文献

- ADACHI, J. and M. HASEGAWA (1992) : Computer Science Monographs—A Publication of the Institute of Statistical Mathematics, No. 27 : 1~77.
- 阿江 茂 (1986) : アゲハチョウの生物学, 勝美印刷, 118 pp.
- CARMEAN, D. et al. (1992) : Mol. Phylogenet. Evol. 1 : 270~278.

- CHAPCO, W. et al. (1992) : Genome 35 : 569~574.
- DESALLE, R. et al. (1987) : J. Mol. Evol. 26 : 157~164.
- et al. (1992) : Mol. Phylogenet. Evol. 1 : 31~40.
- , R. et al. (1993) : Methods in Enzymology 224 : 176~204.
- FANG, Q. et al. (1993) : Mol. Phylogenet. Evol. 2 : 119~131.
- FELSENSTEIN, J. (1981) : J. Mol. Evol. 17 : 368~376.
- (1985) : Evolution 39 : 783~791.
- (1989) : Cladistics 5 : 164~166.
- FITCH, W. M. (1977) : Amer. Natur. 111 : 223~257.
- Fujii, T. et al. (1989) : J. Biol. Chem. 264 : 11020~11025.
- 五条堀孝ら (1993) : 新生化学実験講座 16, 分子進化実験法, 日本生化学会編, 東京化学同人, 511 pp.
- 長谷川政美 (1989) : DNA からみた人類の起源と進化 [増補版], 海鳴社, 282 pp.
- HEWITT, G. M. et al. (1991) : Molecular Techniques in Taxonomy (NATO ASI series; ser. H. Cell biology; v. 57), Springer-Verlag, Berlin, 410 pp.
- HEY, J. and R. M. KLIMAN (1993) : Mol. Biol. Evol. 10 : 804~822.
- HARRISON, R. G. (1991) : Ann. Rev. Ecol. Syst. 22 : 281~308.
- HIGGINS, D. G. et al. (1992) : Comput. Appl. Biosci. 8 : 189~191.
- Hsu CHEN, C. C. et al. (1984) : Nucleic Acids Res. 12 : 7771~7785.
- 井上 寛 (1982) 「Saturniidae ヤママユガ科」, 日本産蛾類大図鑑 (井上寛ら編, 第1巻 (解説編), 講談社, pp. 587~590.
- KAMBHAMPATI, S. and K. S. RAI (1991) : Evoluiton 45 : 120~129.
- Kimura, M. (1980) : J. Mol. Evol. 16 : 110~120.
- KOCHER, T. D. et al. (1989) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86 : 6196~6200.
- LIU, H. and A. T. BECKENBACH (1992) : Mol. Phylogenet. Evol. 1 : 41~52.
- MARTIN, J. A. and D. P. PASHLEY (1992) : Ann. Entomol. Soc. Am. 85 : 127~139.
- MICHENER, C. D. (1952) : Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 98 : 333~501.
- 宮田 保 (1970) : Tinea 8 : 190~199.
- 村路雅彦 (1992) : 植物防疫 46 : 20~23.
- 中村史雄 (1993) : 細胞工学 12 : 225~228.
- 根井正利 (五条堀孝・斎藤成也訳) (1990) : 分子進化遺伝学, 培風館, 434 pp.
- 野村昌史 (1992) : 植物防疫 46 : 24~27.
- PASHLEY, D. P. and L. D. KE (1992) : Mol. Biol. Evol. 9 : 1061~1075.
- PASKEWITZ, S. M. and F. H. COLLINS (1990) : Med. Vet. Entomol. 41 : 367~374.
- Puterka, G. J. et al. (1993) : Heredity 70 : 604~618.
- SAITOU, N. and M. NEI (1987) : Mol. Biol. Evol. 4 : 406~425.
- SAITOU, N. and T. IMANISHI (1989) : Mol. Biol. Evol. 6 : 514~525.
- 嶋田透ら (1992) : 応動昆. 36(2) : 119~126.
- SIBLEY, C. G. and J. E. AHLQUIST (1984) : J. Mol. Evol. 20 : 2~15.
- SPEERLING, F. A. H. (1993 a) : Mem. Ent. Soc. Can. 165 : 233~242.
- (1993 b) : Heredity 71 : 227~233.
- TELFER, W. H. et al. (1983) : Insect Biochem. 13 : 601~613.
- TROSTER, H. et al. (1990) : J. Mol. Biol. 216 : 533~543.
- VOGLER, A. P. et al. (1993) : Ann. Entomol. Soc. Am. 86 : 142~152.
- XIONG, B. and T. D. KOCHER (1991) : Genome 34 : 306~311.

# 昆虫の食細胞と生体防御

埼玉医科大学短期大学臨床検査学科免疫学 **わ とう はる ひさ**  
**和 合 治 久**

## はじめに

食細胞 (phagocyte) は、動物すべてに基本的に備わった生体防御担当細胞であり、非自己 (nonself) の物体が粒子状の場合に文字どおりそれを貪食して細胞質内で消化・殺菌する細胞である。この意味で食細胞は系統発生的に最も古い起源を持ち、アメーバのような原生動物から人間のマクロファージに至るまで、非特異的な細胞性防御応答 (cellular defense reaction) に関与している (和合, 1986)。人間のような哺乳動物の場合、マクロファージは異物の貪食ばかりではなく、T リンパ球への抗原提示能、インターロイキン・I や腫瘍壊死因子などモノカイン分泌能、ガン細胞を攻撃する抗腫瘍活性など、数多くの防御機能を持ち、生命維持に不可欠な細胞として位置づけられている。昆虫類も例外ではなく、体腔中を流れる体液に食細胞が含まれ、侵入する外来性異物を貪食 (phagocytosis) によって処理している。

昆虫類の中には、ハエの幼虫のように微生物が増殖して食物が腐敗している環境下で立派に発育できる種類が数多く存在している。なぜハエ幼虫は微生物感染を免れることができるのだろうか。この問いに対する答えは生体防御の観点で重要であり、新たな知見は医学分野でのエイズを起こす HIV や MRSA (抗生物質耐性の黄色ブドウ球菌) などによる治りにくい感染症の克服、農学分野での植物病原体の駆除などにも応用できる可能性がある。その理由は、今日のバイオテクノロジーの技術を駆使すれば、ある昆虫由来の防御物質の遺伝子を組み込んだ形質転換動物や、形質転換植物を作出することができるし、細菌によって有用な防御物質を医薬品として得られるからである。

本稿では、昆虫の食細胞が関与する生体防御反応を、フェノール酸化酵素前駆体活性化系、レクチンの産生、抗菌物質の産生など、液性の防御反応 (humoral defense reaction) と関連づけながら、その重要性に論点を当てると同時に、今後必ず注目を集めるであろう昆虫の生体防御による害虫防除についても考察してみたい。

## I 昆虫の食細胞とは何か

昆虫の体液 (hemolymph) は、背脈管のポンプの力で

頭部側の出口より全身に分配され、再び後部の入口より背脈管に入ってくる。カイコ幼虫を材料にどんな血液細胞 (blood cell) あるいは血球 (hemocyte) が存在するかを調べると、5 種類の血球種が存在していることがわかる。それらは原白血球 (prohemocyte) という球状で表面が滑らかな血球、小球 (spherule) という大型顆粒を数多く持つため表面がゴツゴツした小球細胞 (spherulocyte)、アメーバのように伸展して唯一運動能を示すプラズマ細胞 (plasmatocyte)、細胞質に大小の顆粒を持ち付着すると糸状突起 (filopodia) を伸長させる顆粒細胞 (granulocyte)、そして一番大きく細胞質内に三ヶ月型構造を持つエノシトイド (oenocytoid) である (AKAI and SATO, 1971)。これらの血球種の割合と形態は、個体発生の中で、特に変態と関連して変化し、顆粒細胞とプラズマ細胞の変動は著しい (和合, 1985)。これらの血球に加え、シストサイト (cystocyte) と呼ばれる哺乳動物の肥満細胞 (mast cell) に類似する血球を持つ昆虫も知られている (PRICE and RATCLIFFE, 1974)。

カイコの場合、これらの血球は胸部の翅芽 (wing disc) に近接する部位にある造血器官 (hematopoietic organ) で作られ、成熟分化後に体液中に放出されていることが、オートラジオグラフィによる研究で判明している (AKAI and SATO, 1971)。また、体液中の原白血球や顆粒細胞は細胞分裂する能力があり、分裂中の血球をしばしば観察することができる。

一般的に、昆虫の血球による細胞性防御反応は、①小型の侵入異物を貪食によって処理する貪食作用、②細菌感染の際に細菌を貪食した食細胞同士が集合してノジュール（小節）を形成するノジュール形成 (nodule formation)、③貪食できない大型の異物を複数の血球が反応し、包囲して生体内隔離する包囲化（被包化）作用 (encapsulation)、の三つのタイプがある (SALT, 1970)。

カイコ体腔内に動物の赤血球や大小のラテックス粒子を注入して、経時的に血球を採取した後、細胞性防御反応を観察すると、顆粒細胞が貪食能や包囲化初期反応を示し、プラズマ細胞は包囲化過程に関与するにすぎなかった (WAGO, 1980 a, b)。多くの昆虫種で同様の実験を行ってみた結果、顆粒細胞が異物を食作用により積極的に排除する食細胞であることが判明した。この食作用は異物への付着、糸状突起の伸長およびペール状膜突起の伸展による細胞質内への取り込みという三つの過程から成

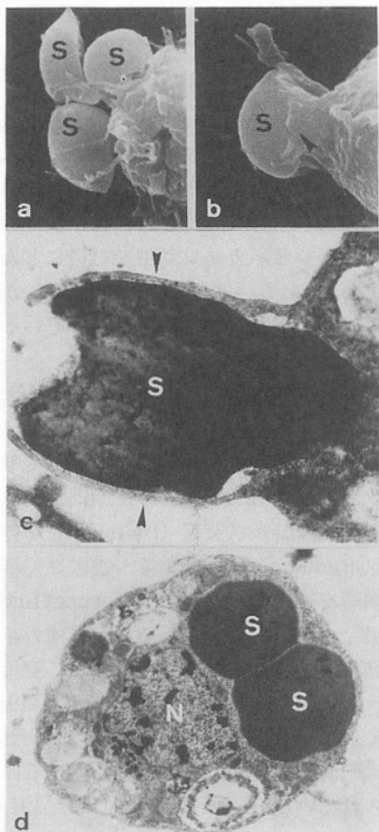


図-1 カイコ幼虫の顆粒細胞による食作用を示す電子顕微鏡写真

食作用は付着したヒツジ赤血球(s)に対する糸状突起の伸長(a)、ペール状膜突起(矢印)の伸展(b, c)そして細胞質内への完全な取り込み(d)から成り立っている。

り立っていた。一方、包囲化の初期反応にも顆粒細胞は関与し、臍顆粒化によりプラズマ細胞に反応する走化性因子が放出され、この2種の血球が連携プレーをとって大型異物に反応することも示された(WAGO, 1992 a)。

## II 昆虫の食細胞機能をどのように発現させるか

カイコの血球を生体外で培養すると、顆粒細胞は糸状突起を放射状に伸長させて付着する。一方、プラズマ細胞も膜状突起(lamellipodia)と糸状突起を組み合わせながら伸展させてアメーバ状に付着する性質を持っている。生体内でみられた顆粒細胞の食作用が生体外でも発現できれば、生体防御機能をより深く研究することができるだろう。そこで温度と細胞質突起の機能阻害剤を組み合わせ、機能発現法を検討した。

その結果、顆粒細胞とプラズマ細胞の糸状突起機能は低温とサイトカラシンBという微小線維阻害剤で抑制

されること(WAGO, 1982)、プラズマ細胞の膜突起機能は低温と微小管阻害剤のビンブラスチンとかコルヒチンで抑制されることが判明した(WAGO, 1990)。この知見を基礎に、顆粒細胞を低温下で付着のみ引き起こしておき、そこに異物を加えてから適温下に温度をシフトさせると、付着した異物に糸状突起が伸長して生体内と同様の食作用が発現した(WAGO, 1984)。したがって、顆粒細胞の突起が異物に対して連続的に伸長し、その過程で何らかの異物シグナルを量的に獲得することが、食作用という細胞行動を引き起こす上で重要であると思われる。この局面は哺乳類と鳥類の腹腔マクロファージの非特異的食作用の発現様式と類似していた。

## III フェノール酸化酵素前駆体活性化系は食細胞機能に影響するか

昆虫類や甲殻類には、黒色のメラニン色素が生体外の体液や傷口にすぐに形成される現象が観察される。この色素はドーパとかチロシンのようなフェノール性物質がフェノール酸化酵素(PO)によって酸化され、ドーパキノンやドーパクロームを経て形成される。この系は細菌細胞壁のペプチドグリカンや酵母、真菌の細胞壁に存在する $\beta$ -1,3-グルカンなどによって活性化されるので、生体防御と深く関係していると考えられていた。

ペプチドグリカンや $\beta$ -1,3-グルカンを持つ微生物が昆虫の体内に侵入すると、これらの成分(エリシター)を特異的に認識するタンパク質が結合する。その結果、セリン型プロテアーゼが活性化され、次に、POの前駆体(proPO)が活性化されてPOが生じ、前述の反応が進行してメラニン色素ができると解釈されている(芦田, 1988)。

この生化学的反応(POの存否)が顆粒細胞の食作用に影響するか否かを、プロテアーゼ阻害剤と酸化酵素阻害剤を使うことによって調べた結果、顆粒細胞の付着反応はプロテアーゼ阻害剤の存在下で完全に抑制されることが判明した(WAGO and ICHIKAWA, 1988)。しかし、酸化酵素阻害剤は付着反応にほとんど影響しなかった。したがって、POが生成する系ほど、顆粒細胞の付着は促進することになる。このことは、 $\beta$ -1,3-グルカンを前処理しておく食作用が促進すること、キタラーゼ( $\beta$ -1,3-グルカンナーゼ)で $\beta$ -1,3-グルカンを除去した酵母プロトプラストに対する食作用は遅れることなどの実験からも裏づけられた(和合, 1994)。

なお、プラズマ細胞の付着反応はセリン型プロテアーゼの阻害剤に影響を受けることはなく、POの存在には左右されなかった。しかし、EDTAなど $\text{Ca}^{2+}$ キレート剤の存在下では付着反応は阻害されたので、プラズマ細胞の付着には $\text{Ca}^{2+}$ が不可欠である(WAGO, 1990)。

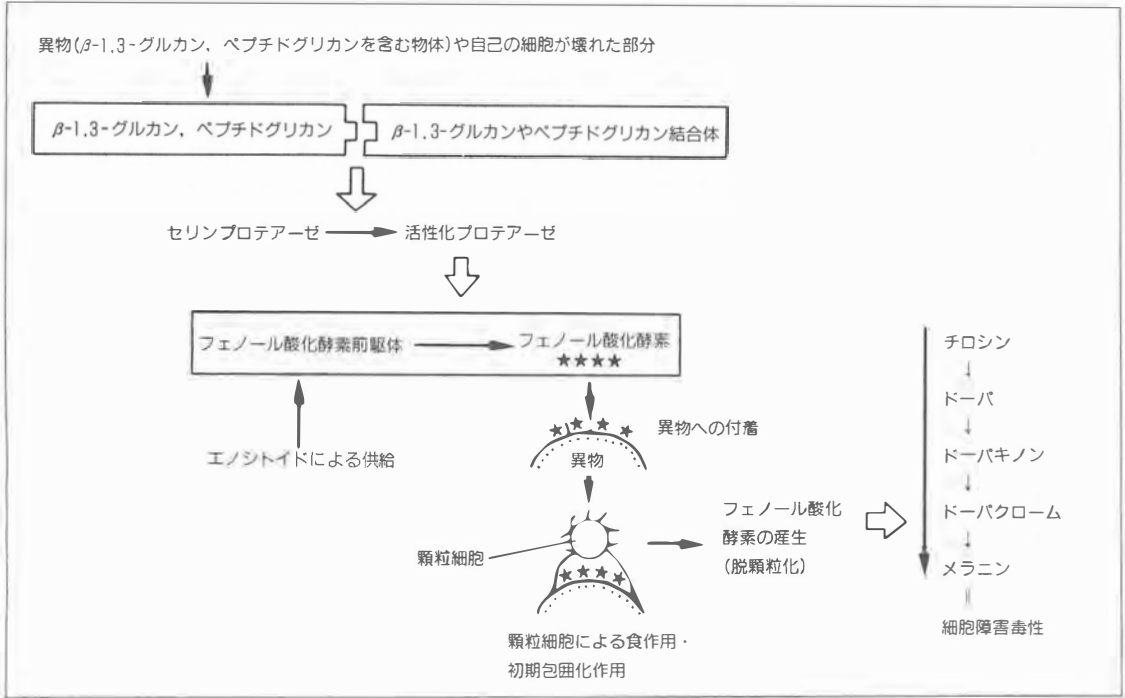


図-2 フェノール酸化酵素前駆体活性化系と顆粒細胞の初期付着反応の相互作用を示す重要な生体防御機構の模式図

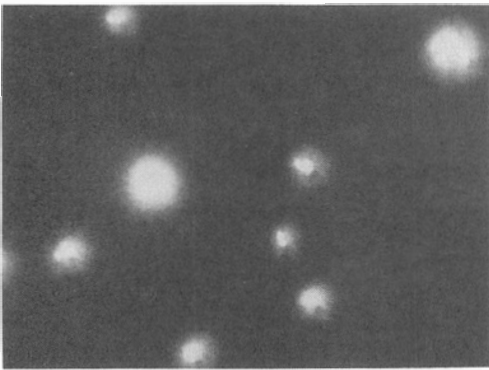


図-3 フェノール酸化酵素を含む体液で処理した蛍光色素 (FITC) 標識ラテックス粒子はカイコ顆粒細胞に早く捕食される (光っている部位は捕食された粒子)

最近, proPO 活性化系に存在する顆粒細胞の付着を促進する因子を検討した結果, 限外濾過と SDS-PAGE による解析から分子量が約 70K のタンパク質に付着活性のあることを見出した。カイコの proPO は分子量 80 K の約 0.15% の Cu を含むタンパク質で, セリンプロテアーゼによって分子量が 70 K の PO へと転換する (芦田, 1988)。この意味で, PO 自体が付着促進因子であると考えられる。

昆虫には脊椎動物の抗体や補体は存在しないので, 異物と食細胞を橋渡しする分子は存在しないと考えられていたが, proPO 系が異物への付着を促すと考ええると, 昆虫の生体防御にとってその系は非常に重要な意義を持っていると思われる。

#### IV 食細胞機能はレクチン分子と関係があるか

レクチン (lectin) は動植物に広く存在する細胞凝集性の糖タンパク質で, 結合部位が多価であるためにレクチンを介して細胞同士が凝集する。このレクチンが昆虫においても生体防御系の物質として役割を果たしている。

カイコを材料にレクチンの存否を調べると, ヒツジ赤血球やヒト O 型赤血球を強く凝集する活性が脱皮や変態のステージに出現することがわかった (和合, 1993)。この個体発生での出現はエクジステロンなど変態ホルモンの制御下にあり, 興味深いことに食細胞である顆粒細胞によって作られている (和合, 1992)。この知見は結紮実験やホルモン注入実験, あるいは分画した顆粒細胞を用いた培養実験などから明らかになった。さらに, モンシロチョウやスジグロシロチョウの場合, 顆粒細胞自身にもレクチン活性の出現と平行してレクチン反応性のレセプターが強く誘導されることを見いだした (和合, 1982)。これらの事実から, レクチンが凝集した異種細胞は効率よく食細胞にトラップされ, 異物排除が

促進されている。

カイコのレクチンは分子量が約 260 K の糖タンパク質で、低濃度のヘパリンやグルクロン酸によって活性が阻害される (SUZUKI and NATORI, 1985)。一般に、昆虫レクチンは各種の糖類によって抑制される性質を持つので、糖存在下で異物の凝集は阻害される。例えばセンチニクバエのレクチンはガラクトースに親和性があり、体表に傷をつけてレクチンを誘導した後にこの糖を注入すると、異物排除が抑制される (KOMANO and NATORI, 1985)。この観察からもレクチンの防御機能を知ることができる。

さてカイコの場合、レクチン活性が見られないステージに異物を注入してレクチンが誘導されるか否かを調べると、食作用の生じやすい異物粒子ほど早くレクチン活性が一過性に誘導されることが判明した (和合, 1992)。したがって、食作用を引き起こした顆粒細胞は、レクチンを合成できると考えられる。しかし、誘導されたレクチン活性は 72 時間後には消失したので、活性が長く維持されるような性質はみられない。

以上より、レクチンは個体発生の中で組織構築が生じるときに出現するばかりではなく、異物の侵入によって顆粒細胞の食作用が発動するときにも生合成されと考えられる。なお鱗翅目昆虫の顆粒細胞は幼虫期の発育に伴い、その数が増加するが、蛹化すると数は著減する。しかし、そのとき大きさが増大してレクチンに反応するレセプターも獲得するので、この生物現象は生体防御反応のスイッチングと考えられる (WAGO, 1992 b)。

## V 食細胞機能は抗菌物質の誘導と関係があるか

細菌、ウイルス、カビなど、微生物の大部分を占める病原体をいかに攻撃できるかが、生命の維持に重要である。昆虫においても病原体の感染を阻止する作用をもつ防御因子が存在し、液性の防御反応に関与している。

一般的に、昆虫にみられる感染防御物質による液性反応は非特異的であり、その產生に二次の既往反応は観察されていない。しかし、昆虫に記憶を伴う特異的液性反応が存在することを証明する結果も、溶血性や呼吸酵素系に関与するホスホリパーゼ A<sub>2</sub> をトキシイドとして注入したワモンゴキブリの実験から得られている (RHEINS and KARP, 1984)。したがって、異物の質的相違が二次液性反応の特異性や効率性に影響しているように思われる。

さて、カイコの場合、抗菌性を示す 3~4 種類の物質が体液中に存在し、その中でも塩基性物質の活性が高く細菌の細胞膜に機能障害を与えることが知られていた (菊地, 1980)。最近、カイコにもセクロピア蚕で見いだされたと同じセクロピンやアタシンという抗菌タンパクが存在していることが判明している (谷合ら, 1993)。セクロピア蚕には分子量 4 K のセクロピンと分子量 20~30 K のアタシンという抗菌物質が単離されており (BOMAN et al., 1985)、この遺伝子はセンチニクバエの抗菌タンパク質であるザルコトキシンの遺伝子に類似している。一連の昆虫で発見された抗菌物質は共通する構造的特徴をも

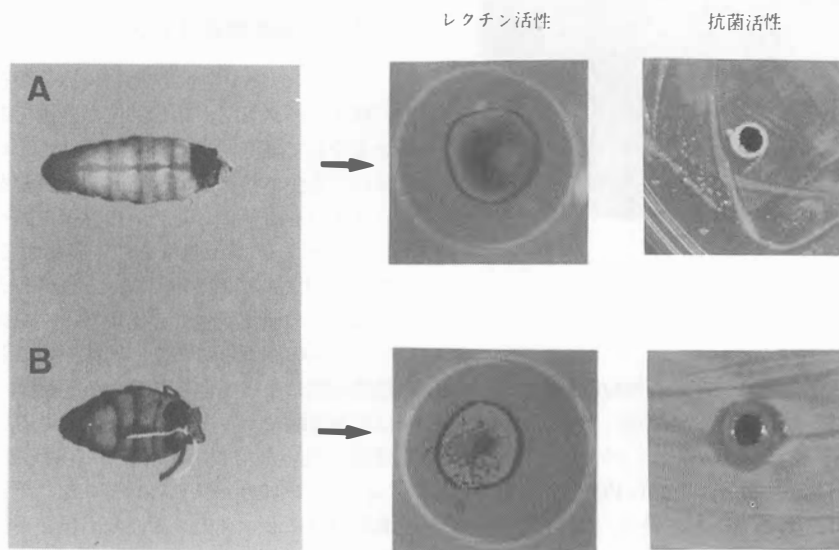


図-4 カイコの終齢幼虫を結紮後、永続幼虫 (A) と永続蛹 (B) を作り、ヒト O 型赤血球に対するレクチン活性と抗菌活性を調べると、永続蛹において両活性が出現する。

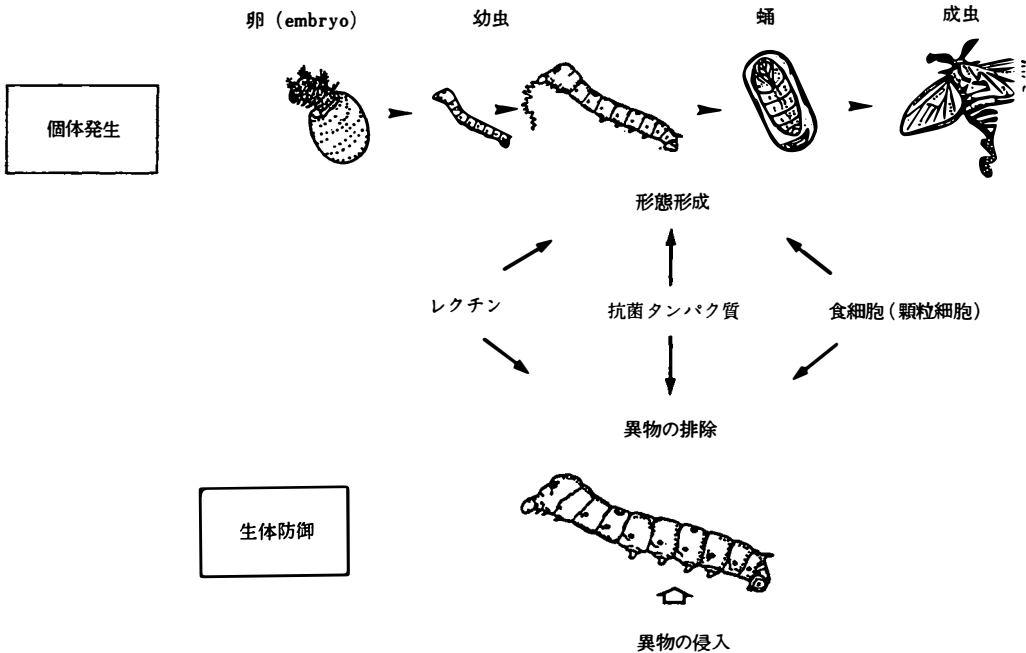


図-5 カイコのレクチンと抗菌タンパク質は個体発生の中で脱皮、変態に関連して出現するばかりでなく、異物の侵入で食細胞による貪食作用が生じた後にも誘導されてくる。

つので、普遍的に多くの昆虫に存在する可能性がある。

カイコで見いだされる抗菌物質は個体発生の中ではレクチンの出現と一致して脱皮や変態時に誘導されてくる(和合, 1993)。大腸菌に対する増殖阻止効果を指標に、カイコの抗菌物質が顆粒細胞による食作用と関連して誘導されるか否かを調べた結果、レクチンの誘導と同じように食作用を引き起こす異物粒子ほどより早く抗菌物質を誘導することがわかった。このことは生体防御の観点で細胞性防御反応と液性防御反応が連動していることを示していた。抗菌物質はレクチンの誘導に引き続いて産生され、レクチンよりも長く活性が維持されていた。

大腸菌などグラム陰性菌の細胞壁には内毒素としてリポ多糖体 (LPS) が存在している。この LPS を注入すると、同時に抗菌物質が誘導される。もし LPS が顆粒細胞に貪食された大腸菌から遊離し、それがエクソサイトーシスで顆粒細胞から体液中に放出されるのであれば、食作用による抗菌物質産生もうまく説明がつくと思われる。事実、その予想どおりに大腸菌を取り込んだカイコ顆粒細胞は LPS を放出し、この LPS で脂肪体から抗菌物質が産生されることが判明した (TANIAI et al., 1991)。なお、グラム陽性菌の細胞壁に多く存在するペプチドグリカンも同様の誘導効果を持っているので (山田ら, 1992)、顆粒細胞による細菌の貪食→消化→LPS やペプチドグリカンの放出→脂肪体→抗菌物質の遺伝子活性化

とその産生という生体防御の流れが、昆虫の体内で生じていると考えられる。

## VI エノシトノドや小球細胞も生体防御に関与するか

カイコのエノシトイドや小球細胞は顆粒細胞やプラズマ細胞とは異なり付着能はなく (WAGO, 1981)、これらの血球が生体防御機能を持っているなどとは以前は考えられていなかった。

既述したように、proPO 活性化系は顆粒細胞の初期防御反応である付着反応を促進するが、この proPO そのものをエノシトイドが主として生合成していることが金コロイド粒子を標識した抗 proPO 抗体を用いて証明された (IWAMA and ASHIDA, 1986)。カイコのエノシトイドは細胞内で合成した proPO を血漿中に分泌しているので、採血した体液はメラニン色素形成によってすぐに黒化するのである。一方、エノシトイドが異物侵入ですぐに細胞崩壊して proPO を放出するような反応系を持つ昆虫も存在することが判明した (KURIHARA et al., 1992)。ハスモンヨトウのエノシトイドがこのタイプで、生体外に取り出しても同様の崩壊が1分間以内に生じる。この細胞崩壊反応はこの種にとって重要であり、崩壊によって proPO 活性化系が作動し、顆粒細胞の細胞性反応が発動するようになっている。

さらに、小球細胞は顆粒細胞と同じく、血漿中にペプチドグリカンや $\beta$ -1,3-グルカンを認識する認識タンパク質を合成している(ASHIDA et al., 1988)。これらの認識タンパク質が細菌のペプチドグリカンやカビの $\beta$ -1,3-グルカンと結合して proPO 活性化系が動くので、小球細胞も生体防御に深く関係していると考えられる。

## VII 昆虫の生体防御機構の制御は可能か

### ——おわりに——

顆粒細胞による細胞性防御反応と proPO 活性化系、レクチンあるいは抗菌物質などによる液性防御反応は個々に独立して異物に対抗していくと考えられていたが、実は密接に両者が連動して、特に顆粒細胞の細胞行動が液性防御反応を効率的に誘導する上で重要であることが判明した。今後こうした知見を基礎に昆虫の生体防御機構を制御して、害虫の効率的防除や家畜化によって弱体化した有益昆虫の積極的保護を実行することが望まれる。

筆者は以前、害虫防除に当たり、①昆虫の皮膚に存在する低級脂肪酸を除いて糸状菌による感染を高めること、②正常な消化管内の微生物が作るマイクロフローラを変化させて感染性を高めること、③体液中のレクチンや感染防御物質の産生を抑制して防御能を低下させること、④proPO 活性化系を抑制して食細胞反応を低下させること、などがきわめて重要であることを指摘した(和合, 1984)。今後これらを考慮しつつ、さらに顆粒細胞機能を抑制する方法をみいだせば、自然界で害虫の生体防御機能を抑制することができ、農薬を使うことなく、単なる土壌微生物による日和見感染症で害虫を死に追いやることのできるであろう。この実現が筆者の夢であり、近い将来可能になるものと期待している。

この観点で今後検討すべき重要な昆虫の生体防御抑制因子として、寄生蜂の雌に由来する DNA を持つポリドナウイルスと毒液がある。さらにテラトサイト由来の proPO 活性化抑制因子も注目される一候補である。これらの因子の精製と遺伝子解析が進めば、今日あるバイオテクノロジーの技術で抑制因子の大量生産が可能になると思われる。ポリドナウイルスは最近、昆虫の顆粒細胞に侵入し、付着能を低下させて DNA 断片化を伴うアポトーシス(プログラム細胞死)を誘導することが報告されているので(PECH and STRAND, 1993)、益々注目に値する抑制因子になるだろう。また、昆虫に病原性を示す糸状菌に由来する生理活性物質の中にも、顆粒細胞の異物

認識や包囲化作用を阻害したり、proPO 活性化系を抑制する物質が存在するので(HUXHAM et al., 1989)、この方面の研究も重要になるだろう。

## 引 用 文 献

- AKAI, H. and S. SATO (1971): J. Insect Physiol. 17: 1665~1676.
- 芦田正明 (1988): 化学と生物 26: 425~435.
- ASHIDA, M. et al. (1988): Tissue & Cell 20: 599~610.
- BOMAN, H. G. et al. (1985): Dev. Comp. Immunol. 9: 551~558.
- HUXHAM, I. M. et al. (1989): J. Insect Physiol. 35: 97~101.
- IWAMA, R. and M. ASHIDA (1986): Insect Biochem. 16: 547~555.
- 菊地幹雄 (1980): 生体防御の機構, 東京大学出版会, 東京, pp 19~39.
- KOMANO, H. and S. NATORI (1985): Dev. Comp. Immunol. 9: 31~40.
- KURIHARA, Y. et al. (1992): Appl. Ent. Zool. 27: 237~242.
- PECH, L. L. and M. R. STRAND (1993): Insect Science Symposium, Arizona, p.124.
- PRICE, C. P. and N. A. RATCLIFFE (1974): Z. Zellforsch. 147: 537~549.
- RHEINS, L. A. and R. D. KARP (1984): ibid. 8: 791~801.
- SALT, G. (1970): The Cellular Defence Reactions of Insects, Cambridge University Press.
- SUZUKI, T. and S. NATORI (1983): J. Biochem. 93: 583~590.
- 谷合幹代子ら (1993): 第 5 回日本比較免疫学会大会講演要旨集, p.23.
- TANIAL, K. et al. (1991): 第 3 回日本比較免疫学会大会講演要旨集, p.19.
- 和合治久 (1982): 動物学雑誌 91: 607.
- (1984): 植物防疫 38: 27~32.
- (1985): 日経サイエンス 15: 22~33.
- (1986): 蛋白質・核酸・酵素 31: 886~903.
- (1992): 第 4 回日本比較免疫学会大会講演要旨集, p.27.
- (1993): 生物情報の解明と制御による新農林水産技術の開発に関する総合研究(報告書), p.80~81, 農林省.
- (1994): 第 38 回日本応用動物昆虫学会大会抄録集, p. 243.
- WAGO, H. (1980 a): Cell. Immunol. 54: 155~169.
- (1980b): Appl. Ent. Zool. 15: 489~491.
- (1981): Dev. Comp. Immunol. 5: 217~227.
- (1982): ibid. 6: 655~664.
- (1984): Dev. Comp. Immunol. 8: 7~14.
- (1990): Bull. Saitama Med. School Junior Coll. 1: 3~13.
- (1992a): Dev. Comp. Immunol. 16: VI (abstract).
- (1992 b): ibid. 16: II (abstract).
- and Y. ICHIKAWA (1988): Invertebrate and Fish Tissue Culture, 185~188, Springer.
- 山田和寿ら (1992): 第 3 回日本生体防御学会大会抄録集, p.72~73.

特集：昆虫バイオ〔4〕

## 昆虫の抗菌タンパク質とその利用

農林水産省 蚕糸・昆虫農業技術研究所 <sup>たにあい き よ こ</sup> 谷合幹代子・<sup>やまかわ</sup> 山川 <sup>みのる</sup> 稔

## はじめに

無脊椎動物の進化の頂点に位置する昆虫は、脊椎動物における免疫系で主役を演ずる抗原・抗体反応を持たない。その代わりに、細菌に対して非特異的に働く抗菌物質のうち、特に抗菌タンパク質類を発達させてきた。これらのタンパク質は、細菌の侵入に伴い一過的に体液中に分泌される主要な液性防御反応因子として注目され、その研究が世界各地で急速に進んでいる。これらのタンパク質の構造や遺伝子解析、さらにタンパク質の改変などの分子的研究成果は、産業面への利用からも大きく期待されている。本稿では、これまでに分離された、主な抗菌タンパク質とその作用メカニズムについて紹介し、それらの活用面での可能性と基礎研究の将来を展望する。

## I 昆虫抗菌タンパク質の発見

昆虫のクチクラに抗カビ物質としてリビドが存在することや、体液中にリゾチームが存在することは、古くから知られていた。その他、ミツバチのメリチン、スズメバチやアシナガバチのマストラパン類など、複数のハチが毒ペプチドを持っていることはよく知られている。最近ではミバエの一種の雌成虫の生殖器付属腺に抗菌ペプチドが存在することが報告された。これらの抗菌物質は生体防御機構の一つとはいえ、いずれも常在性のものである。それに対し、細菌の侵入に対し誘導される積極的な防御因子として、リゾチーム以外のタンパク質性の抗菌物質が発見されたのはごく最近で、HULTMARKらが1980年にセクロピアサンの蛹から分離したセクロピンが最初である。以後、様々な昆虫種から次々と異なるタイプの抗菌タンパク質が発見された。これらは細菌の侵入後きわめて早く誘導されるため、哺乳類の急性期タンパク質に相当する反応といえる。これまでの例では、昆虫は一種類だけではなく、抗菌作用や標的細菌の異なるいくつかの抗菌タンパク質を組み合わせさせて使っている。現在までに、アミノ酸配列まで明らかになった抗菌タンパク質が分離された昆虫種は、チョウの仲間である鱗翅目から

4種、ハエの仲間である双翅目から4種、コガネムシなどの仲間である鞘翅目から2種、ハチの仲間の膜翅目から1種、トンボの仲間である蜻蛉目から1種報告されている。これら以外の目から新しいタイプの抗菌タンパク質が発見される可能性が高いことから、今後もさらに多くの種類が付け加わっていくと思われる。これまで報告されたものを以下に紹介する。

## II 抗菌タンパク質の種類と活性範囲

## 1 セクロピン

セクロピアサンのセクロピンに類似する抗菌タンパク質が、多くの昆虫種からみつかった。カイコ幼虫 (SHIBA et al., 1983)、タバコスズメガ幼虫 (DICKENSON et al., 1988)、サクサン蛹 (QU et al., 1982) やセンチニクバエ幼虫 (KANAI and NATORI, 1989)、ショウジョウバエ幼虫 (KYLSTEN et al., 1990)、ツエツエバエ蛹 (KAAYA et al., 1987) などからである。これらは分子量が4 kDaの前後の耐熱性ペプチドで、通常一種類の虫から複数種のセクロピンが分離されており、アミノ酸配列の特徴からA, B, C, Dに分けられたり、また分離昆虫種や発現特異性から、ザルコトキシシン、バクテリシジン、アンドロピンなどと命名されている。これらの抗菌スペクトルはそれぞれ異なるが、カイコとセクロピアサンのセクロピンBやザルコトキシシンIなどは、昆虫の抗菌タンパク質の中で最もスペクトルが広く、グラム陽性菌及びグラム陰性菌の両者に幅広く殺菌活性がある。セクロピン類は発見当初は昆虫特異的な生体防御因子であると考えられていたが、最近ブタの小腸からもセクロピファミリーに属するペプチドがみつかったため、動物界に広く分布することがわかった。

## 2 ディフェンシン

最初ヒトやマウス、ウサギなどの哺乳類の白血球やマクロファージ及び小腸から発見され、その後昆虫にも存在することがわかった抗菌タンパク質に、ディフェンシン類がある。ディフェンシンは、ニクバエの一種 (*Phormia terranova*) の幼虫体液やセイヨウミツバチのロイヤルゼリーからも分離された。ニクバエから分離されたものはホルミシン (LAMBERT et al., 1991)、センチニクバエからのものはザーペシン (MATSUYAMA and

NATORI, 1988), セイヨウミツバチのものはそれぞれロイヤリシン (FUJIWARA et al., 1990) と呼ばれている。その他, ゴミムシダマシの一種 (*Zophobas atratus*) の幼虫 (BULET et al., 1991) やマダラヤンマ幼虫 (BULET et al., 1992) から報告された。これらの分子量はセクロピンと同様約 4 kDa でやはり耐熱性であるが, 抗菌活性はグラム陽性菌に対して高く, グラム陰性菌に対しては低い。

**3 アタシン及びその他の高グリシン含有タンパク質**  
分子量の大きいものでは, セクロピアサン蛹のアタシン (20 k~23 kDa) (HULTMARK et al., 1983) があり, 類似のものにセンチニクバエ幼虫のザルコトキシン II (24 kDa) (ANDO et al., 1987) がある。その他, ニクバエ幼虫のディプテリシン (9 kDa), セイヨウミツバチ成虫のヒメノブタエシン (CASTEELS et al., 1993; DIMARCO et al., 1988) は, グリシン残基に富むドメインがあることがアタシン類と共通である。ヒメノブタエシンはグラム陽性・陰性両菌に活性があるが, アタシンやザルコトキシン II は一部のグラム陰性菌にのみ活性があり, その作用は静菌的である。アタシンはグラム陰性細菌の外膜タンパク質の合成阻害であることが証明されており (CARLSSON et al., 1991), ザルコトキシン II はペプチドグリカン合成阻害であると考えられている。

#### 4 高プロリン含有タンパク質

セイヨウミツバチ成虫から分離されたアピダエシン (2.0 kDa) (CASTEELS et al., 1989) とアバエシン (4.0 kDa) (CASTEELS et al., 1990), ショウジョウバエ幼虫から分離されたドロソシン (2.4 kDa) (BULET et al., 1993) の共通点は, プロリン残基に富むことである。ドロソシンは以上に紹介した中で唯一糖鎖を持ち, 糖鎖を除くと抗菌活性が減少する。最近我々の研究室で, カイコからもドロソシンと同様にプロリンに富み, 糖鎖を有するタンパク質が分離されており, やはり糖鎖が活性発現に必要なことがわかっている (未発表)。

### III 昆虫の抗菌タンパク質の作用機作と応用的利用

上記の様々な抗菌タンパク質の中で, 現在最も実用化の候補とされているのは, セクロピン類とディフェンシン類だろう。

#### 1 セクロピンの作用と利用

図-1にセクロピン類のアミノ酸配列とそれらの共通部位を示した。セクロピン類は, 2個の $\alpha$ -ヘリックスを持つ両親媒性の陽イオンタンパク質で, N末端側は親水性かつ塩基性のアミノ酸が, C末端側には疎水性のアミ

ノ酸が並んでおり, C末端はアミド化されていることが多い。この構造から, おそらく塩基性部位で細菌細胞膜のリン脂質に親和性を示し, 疎水部位で膜を貫通して細菌を殺すのであろうと予想されている。また, ザルコトキシン IA において, アミド化された合成標品と非アミド化標品との比較がなされ, アミド化が抗菌活性に重要であることが明らかになった (NAKAJIMA et al., 1987)。

セクロピンはアミノ酸残基 31~39 の短いペプチドであるため, 合成が容易であり, 抗菌スペクトルをより拡大するため, ミツバチ毒であるメリチンとのハイブリッドの合成が試みられた (ANDREU et al., 1992)。また, 真核生物の培養細胞に対して損傷を与えないこと (STEINER et al., 1988; CHRISTENSEN et al., 1988), すべてのアミノ酸を D 型に置き換えて合成しても天然型と同様の抗菌活性を有していたこと (WADE et al., 1990) が確かめられている。そこで, 人体に安全かつ自然界のプロテアーゼによって分解されにくい新規抗生物質として注目されている。

天然型セクロピンの大量生産のために, バキュロウイルスベクターを用いたタンパク質発現実験が行われ, 既に 3 例が成功している。ザルコトキシン I (YAMADA et al., 1990) 並びにセクロピアサンセクロピン A (ANDERSONS et al., 1991) とカイコセクロピン B (KADONO-Okuda et al., 未発表) である。

また, セクロピン遺伝子を植物へ導入することによる耐病性植物の育種が試みられている。表-1にカイコのセクロピン B の植物病原菌に対する抗菌活性を示した。バラ科, キク科など多犯性重要病原の一つである, 根頭がんしゅ病菌をはじめ, 腐敗病菌やイネ白葉枯病菌に対し

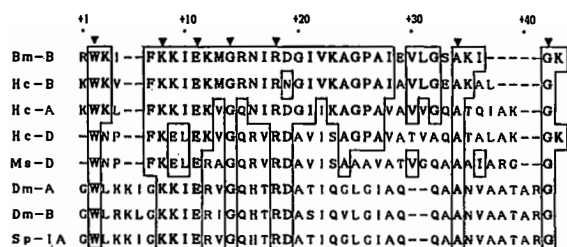


図-1 セクロピン類のアミノ酸配列

Bm-B: カイコセクロピン B, Hc-B: セクロピアサンセクロピン B, Hc-A: セクロピアサンセクロピン A, Hc-D: セクロピアサンセクロピン D, Ms-D: タバコズメガセクロピン D, Dm-A: ショウジョウバエセクロピン A, Dm-B: ショウジョウバエセクロピン B, Sp-IA: センチニクバエザルコトキシン IA

で有効であった。ここでは、*Pseudomonas solanacearum* (青枯病菌) に対する活性は低いが、既にセクロピアサンのセクロピン B を組み込んだトランスジェニック (形質転換) タバコがアメリカで成功しており、この報告によると、同菌による立枯病に対して抵抗性を示した (JAYNES et al., 1993)。したがって、セクロピンの中でもそれぞれの植物に適したタイプを選んだり、アミノ酸置換などの改変ペプチドとして導入することにより、各種病原菌に抵抗性の植物が作出できると期待される。

## 2 ディフェンシンの作用と利用

哺乳類や昆虫から分離されたすべてのディフェンシン類の共通構造は、システイン残基を 6 個持ち、分子内に 3 個のジスルフィド結合を持つことである。ヒトやマウスのディフェンシンは大腸菌の膜透過性を変化させ、おそらくイオンチャンネルを形成するものと考えられている。その作用は殺菌的である。センチニクバエのザーペシンは、セクロピンと同様に細菌細胞膜に傷害を与えて殺菌することが報告されている (MATSUYAMA and NATORI, 1990)。ザーペシンが結合する部位は酸性脂質のカルジオリピンである。センチニクバエの胚由来培養細胞の培養上清から精製されたザーペシン B のアミノ酸配列をもとに数種の部分ペプチドが作製され、抗菌活性が調べられた (YAMADA and NATORI, 1994)。天然のザーペシン (アミノ酸 34 残基) がグラム陽性菌のみに効果が高いのに対し、部分配列の一つは、グラム陰性菌や真菌にも高い活性を示すことがわかった。この部分配列はわずか 11 アミノ酸から成り、C 末端はアミド化されていることが

活性発現に重要であった。さらにいくつかのアミノ酸置換によって疎水性を高めたペプチドでは、より活性が増大した。

哺乳類のディフェンシンは細菌や真菌だけでなく、ヘルペスウイルスや水疱性口内炎ウイルスなどのエンベロープウイルスにも効果がある。したがって、今後タンパク質工学の手法により、既知のディフェンシンを改変して、植物ウイルスや昆虫ウイルスにまで標的範囲を広げた抗菌ペプチドの開発が考えられる。

## 3 昆虫抗菌タンパク質の利点

これまでに開発された抗生物質は、栄養競合的に働いたり、細菌の細胞壁やタンパク質の合成を阻害する作用を持ち、その欠点として、耐性細菌がしやすいことがあげられる。特に臨床で深刻な問題となっている抗生物質耐性の黄色ブドウ球菌 (MRSA) や緑膿菌は、ほとんどの抗生物質に抵抗性である。ところが、昆虫の抗菌タンパク質の中には、上記 2 種の耐性細菌に効果を示すものがある。ザーペシンは MRSA によく効くし、セクロピアサンのセクロピン B は緑膿菌を低濃度で殺す。これらの抗菌タンパク質は細胞膜に直接作用することから、耐性が獲得されにくいのではないと思われる。

## IV 抗菌タンパク質の基礎研究の成果

昆虫の抗菌タンパク質遺伝子を解析するうちに、生体防御機構において脊椎動物と共通性があることが明らかになってきた。昆虫のセクロピン類や生体防御レクチンは、グラム陰性菌の外膜リポ多糖 (LPS) によって誘導されるが、哺乳類でも、LPS によって TNF (tumor necrosis factor) やインターロイキン 1 などが誘導される。LPS によって活性化される、哺乳類の免疫グロブリン L 鎖の遺伝子の 5' 上流にある転写調節配列 (NF- $\kappa$ B 結合配列) や、急性期タンパク質遺伝子類の 5' 上流にあ

表-1 カイコセクロピン B の植物病原菌に対する活性

| 細菌の種類                                                                      | 50%生育阻止<br>濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <i>Agrobacterium tumefaciens</i> N 1001<br>(根頭がんしゅ病菌)                      | 0.4 $\pm$ 0.0                      |
| <i>Clavibacter michiganense</i> pv. <i>michiganense</i><br>(トマトかいよう病)      | 3.1 $\pm$ 0.3                      |
| <i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> (軟腐病菌)                  | 4.2 $\pm$ 0.7                      |
| <i>Pseudomonas cichorii</i> NL 7630 (腐敗病菌)                                 | 1.7 $\pm$ 0.5                      |
| <i>Pseudomonas glumae</i> N 1169<br>(イネもみ枯細菌病菌)                            | >50                                |
| <i>Pseudomonas solanacearum</i> N 1023 (青枯病菌)                              | >50                                |
| <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>mori</i> S 6804<br>(クワ縮葉細菌病菌)           | 2.1 $\pm$ 0.7                      |
| <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>japonica</i><br>(ムギ黒節病菌)                | 0.5 $\pm$ 0.0                      |
| <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> N1076<br>(アブラナ科野菜黒腐病菌) | 1.8 $\pm$ 0.5                      |
| <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>oryzae</i> N 1086<br>(イネ白葉枯病菌)        | 1.8 $\pm$ 0.2                      |

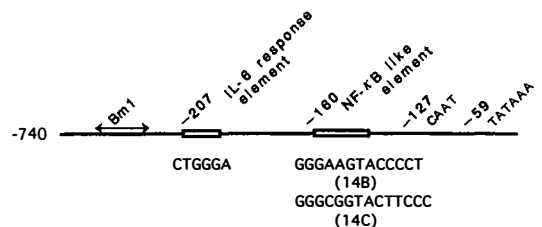


図-2 カイコセクロピン B 遺伝子の 5' 上流域模式図

転写開始点からそれぞれ -160, -207 bp 上流に NF- $\kappa$ B 結合配列に似た配列 (NF- $\kappa$ B), インターロイキン 6 応答配列 (IL-6RE) が存在する。14 B, 14 C は二つのセクロピン B 遺伝子の名前である。Bm 1 はさらに上流に位置するカイコの高頻度反復配列。

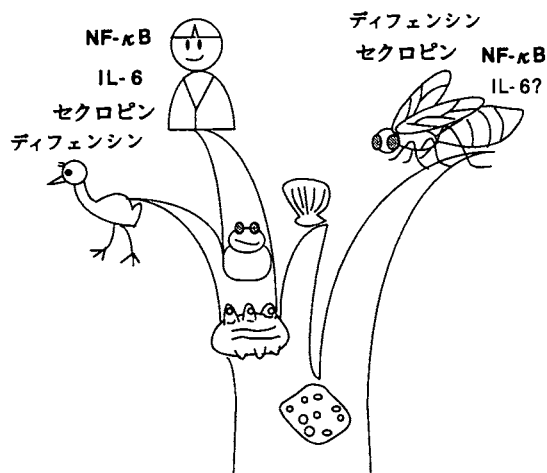


図-3 生体防御機構の系統進化

るインターロイキン6 (IL6) 応答配列などが、昆虫の抗菌タンパク質遺伝子上流にもあることがわかった (谷合, 1993) (図-2 参照)。また, LPS の活性部位もリポド A 部分にあることや, 血液細胞が大腸菌を捕食した結果, 免疫活性を持つ LPS が遊離することなどは, 哺乳類とカイコに共通の現象である (谷合, 1993)。昆虫の生体防御関連遺伝子の発現調節機構や, それに至るまでの情報伝達機構については, まだ明らかにすべき部分が多く残されている。例えば, 脊椎動物のようにサイトカインを介する免疫機構のネットワーク系が存在するかどうか, また異物認識のしくみについては, 今後の研究課題である。

## 引用文献

- 1) ANDO, K. et al. (1987) : Biochemistry 26 : 226~230.
- 2) ANDERSONS, D. et al. (1991) : Biochem. J. 280 : 219~224.
- 3) ANDREU, D. et al. (1992) : FEBS Lett. 296 : 190 ~ 194.
- 4) BULET, P. et al. (1991) : J. Biol. Chem. 266 : 24520~24525.
- 5) ——— et al. (1993) : ibid. 268 : 14893~14897.
- 6) CARLSSON, A. et al. (1991) : Infect. Immun. 59 : 3040~3045.
- 7) CASTEELS, P. et al. (1989) : EMBO J. 8 : 2387~2391.
- 8) ——— et al. (1990) : Eur. J. Biochem. 187 : 381~386.
- 9) ——— et al. (1993) : J. Biol. Chem. 268 : 7044~7054.
- 10) CHRISTENSEN, B. (1988) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 : 5072~5076.
- 11) DICKENSON, L. et al. (1988) : J. Biol. Chem. 263 : 19424~19429.
- 12) DIMARCQ, J. L. et al. (1988) : Eur. J. Biochem. 171 : 17~22.
- 13) FUJIWARA, S. et al. (1990) : J. Biol. Chem. 265 : 11333~11337.
- 14) ——— et al. (1992) : Eur. J. Biochem. 209 : 977~984.
- 15) HULTMARK, D. et al. (1980) : ibid. 106 : 7~16.
- 16) ——— et al. (1983) : EMBO J. 2 : 571~576.
- 17) JAYNES, J. M. et al. (1993) : Plant Sci. 89 : 43~53.
- 18) KAAVA, G. P. et al. (1987) : Insect Biochem. 17 : 309~315.
- 19) KANAI, A. and S. NATORI (1989) : FEBS Lett. 258 : 199~202.
- 20) KYLSTEN, P. et al. (1990) EMBO J. 9 : 217~224.
- 21) LAMBERT, J. (1989) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 : 262~266.
- 22) MATSUYAMA, K. and S. NATORI (1990) : J. Biochem. 108 : 128~132.
- 23) ——— (1988) : J. Biol. Chem. 263 : 17117~17121.
- 24) NAKAJIMA, Y. et al. (1987) : ibid. 262 : 1665~1669.
- 25) QU, X.-m. et al. (1982) : Comp. Biochem. Physiol. 45B : 669~681.
- 26) SHIBA, T. et al. (1983) : Peptide Chem. (E. Muneakata. ed.) . pp.209~214.
- 27) STEINER, H. (1988) : Biochim. Biophys. Acta. 939 : 260~266.
- 28) 谷合幹代子 (1993) : 九州大学農学部学位論文
- 29) YAMADA, K. and S. NATORI (1994) : Biochem. J. 291 : 275~279.
- 30) ——— et al. (1990) : ibid. 272 : 633~636.
- 31) WADE, D. et al. (1990) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 : 4761~4765.

## 日本植物防疫協会の生物農薬関連図書

## 「生物農薬開発の手引き」

B5判 111頁 定価 2,000円 送料 310円

生物農薬の実用化促進に社会的な期待が寄せられており, 行政面でも農薬登録のガイドライン (微生物農薬検査基準) の検討が進められている。当協会でも「生物農薬検討委員会」を設置し, 適切な試験研究をすすめるための諸問題の検討を始めた。本書はその事業の一環として作成されたもので, これまでの知見や議論を集約し, 開発や試験研究の参考とすべく資料を集成し, 解説を加えたものである。

雑誌「植物防疫」特別増刊号 No.2

## 「天敵微生物の研究手法」

B5判 222頁 定価 3,000円 送料 140円

生物農薬の中で一番研究開発の進んだ天敵微生物について, その採集から各種実験法までを詳しく解説。

## 「天敵農薬」

—チリカブリダニその生態と応用—

森 樊須 (北海道大学名誉教授) 編

A5判 130頁 定価 2,400円 送料 310円



多発し、著しい苗不足と本圃での急激な萎ちょう、枯死を招き深刻な問題となった(岡山, 1990)。

### 5) 福岡県

炭そ病の初発生に関する正確な記録はないが、1974 年ごろ「芳玉」で発生したようである。その後、「麗紅」、「はるのか」で発生し、1984 年の「とよのか」の普及とともに大発生した。その他、「ひみこ」、「紅宝満」や炭そ病に抵抗性であるといわれていた「宝交早生」でも発生した(池田, 1990)。

### 6) 長崎県

1991 年 8 月「とよのか」の栽培地帯において、従来のものとは病徴が異なる炭そ病、すなわち、葉に汚斑状の斑点病斑が形成されず、葉縁が枯れ込む葉枯れ症状が確認された(松尾, 1992)。

このように、各産地の主要な栽培品種の変遷をみると、イチゴ産地での品種が「女峰」と「とよのか」に固定され、集約的に普及されるのにつれて本病の発生が増加してきたことがうかがえる。

## 2 これらの病害発生に関与する病原菌

イチゴ炭そ病が最初に報告されたのは Brooks (1931) によるアメリカでの発生であり、我が国では山本及び福西 (1970) によって徳島県のイチゴ品種「芳玉」で発生が初めて確認された。イチゴ炭そ病の病原菌について、Brooks は *Colletotrichum fragariae* と同定し、我が国の炭そ病菌についても山本(1971)によって *C. fragariae* と同定された。その後、岡山 (1988) は発病株に子のう殻の形成を認め、イチゴ炭そ病菌の完全時代を *Glomerella cingulata* とし、分生胞子時代を *Colletotrichum gloeosporioides* と改めた。本菌の子のう殻の確認はその後石川ら (1989a)、築尾・小林ら (1991)、秋田 (1993) によっても報告されている。また、1991 年 8 月、長崎県で発生したイチゴ葉枯れ炭そ症状は、築尾ら (1992) によって新しい種の病原菌 *Colletotrichum acutatum* によるものと同定された。本症状はその後日本植物病理学会病名調査委員会が炭そ病と命名された。また、これらの症状を伴う炭そ病は、現在までに岩手、栃木、静岡、佐賀各県でも確認されている。

以上のように、イチゴ炭そ病を引き起こす病原菌は 2 種類存在していることとなる。長崎県のイチゴ産地における炭そ病の発生が *C. acutatum* に起因し、その菌が優先化した理由についてはいまだ不明であるが、*C. acutatum* は *C. gloeosporioides* と異なって胞子形成量が多く、野菜、花き、果樹、茶樹、鉢物や街路樹、樹木等の罹病部から分離されることが多い。これらの事実、イチゴの栽培環境の周囲に常住する *C. acutatum* が

集中的な農薬散布等の栽培環境の変化によって優先化する可能性のあることを示唆している。

## 3 イチゴの耐病性の品種間差

本病に対する耐病性の検定方法として、ポット育苗株全体あるいは切断葉柄への病原菌噴霧接種法、葉柄切断面の菌液浸漬接種法、クラウンへの胞子懸濁液注入法及び圃場における自然発病調査等が試みられている。それらの評価は発病小葉率、発病葉柄率、萎ちょう枯死株率、病斑長、葉柄、葉身の発病程度や発病面積等で行わ

表-1 イチゴ炭そ病に対する抵抗性の品種間差異

| 検定条件                                                                            | 山本<br>1971 | 小玉<br>1978 | 池田<br>1987 | 岡山<br>1990           | 岡山<br>1994            | 石川<br>ら<br>1989a     | 山川<br>ら<br>1990      | 山口<br>1990             | 松尾<br>1990           | 斉藤<br>桜井<br>植木<br>1994 |
|---------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| 胞子の<br>接種×10 <sup>5</sup><br>濃度×10 <sup>6</sup>                                 | ?          | ?          | 2.6        | 1.0                  | 1.0                   | 2.5-5                |                      | 10 <sup>3</sup><br>1.0 | 2.0                  | ?                      |
| 接種部位                                                                            | 全身         | 全身         | 全身         | 全身                   | 全身                    | 全身                   | 全身                   | 葉柄                     | 全身                   | ?                      |
| 検定部位                                                                            | 葉身<br>葉柄   | 小葉<br>葉柄   | 葉身<br>葉柄   | 葉柄<br>萎ち<br>よう<br>枯死 | 小葉<br>発病<br>面積<br>率   | 葉柄<br>萎ち<br>よう<br>枯死 | 葉柄<br>萎ち<br>よう<br>枯死 | 病斑<br>進展               | 葉柄<br>萎ち<br>よう<br>枯死 | ?                      |
| 明宝<br>はつくに<br>宝交早生<br>媛育<br>ドーバー<br>83118-41<br>ひみこ<br>ひのみね                     | ◎          | ◎          | ◎          | ◎<br>◎<br>◎<br>◎     | ◎                     | ◎                    | ◎                    | ◎                      | ◎                    |                        |
| うずしお<br>タホー<br>とよのか<br>ダナー<br>久留米 48<br>福羽<br>はるのか<br>堀田ワン<br>ダー<br>麗紅<br>アイベリー |            |            | ○          | ×                    | ○<br>○<br>○<br>○<br>× | ×                    | ○<br>○<br>○          | ×                      | ○                    |                        |
| 女峰<br>新女峰<br>芳玉<br>紅宝満<br>久留米 103<br>久留米 36<br>章姫<br>あかねっ娘<br>栃の峰               | ×          | ×          | ×          | ×                    | ×                     | △<br>△               | ×                    | ×                      | ×                    | ×                      |

◎：抵抗性、○：中程度抵抗性、△：やや弱い、×：感受性

れている。各研究者による試験の結果を総括して表-1に示した。また、図-2(野口, 1991)も参考にすると、各品種の抵抗性は連続的であり、菌の接種条件、作物の生育ステージ及び評価法によって微妙な差が研究者間でみられ、品種間の差を明瞭に区別できるものではないようである。現在、高度抵抗性といわれる品種としては

「Dover」, 「Sequia」, 「Florida Belle」, 「宝交早生」等がある。表-1, 図-2で示した品種を遺伝的な相関から眺めてみると、タホ—宝交早生—ひみこの系統は抵抗性であり、芳玉—はるのか系統内の麗紅, 女峰は感受性のようである。現在のところ、真性抵抗性品種はまだ見つかっていない。筆者も耐病性検定を行った経験があるが、

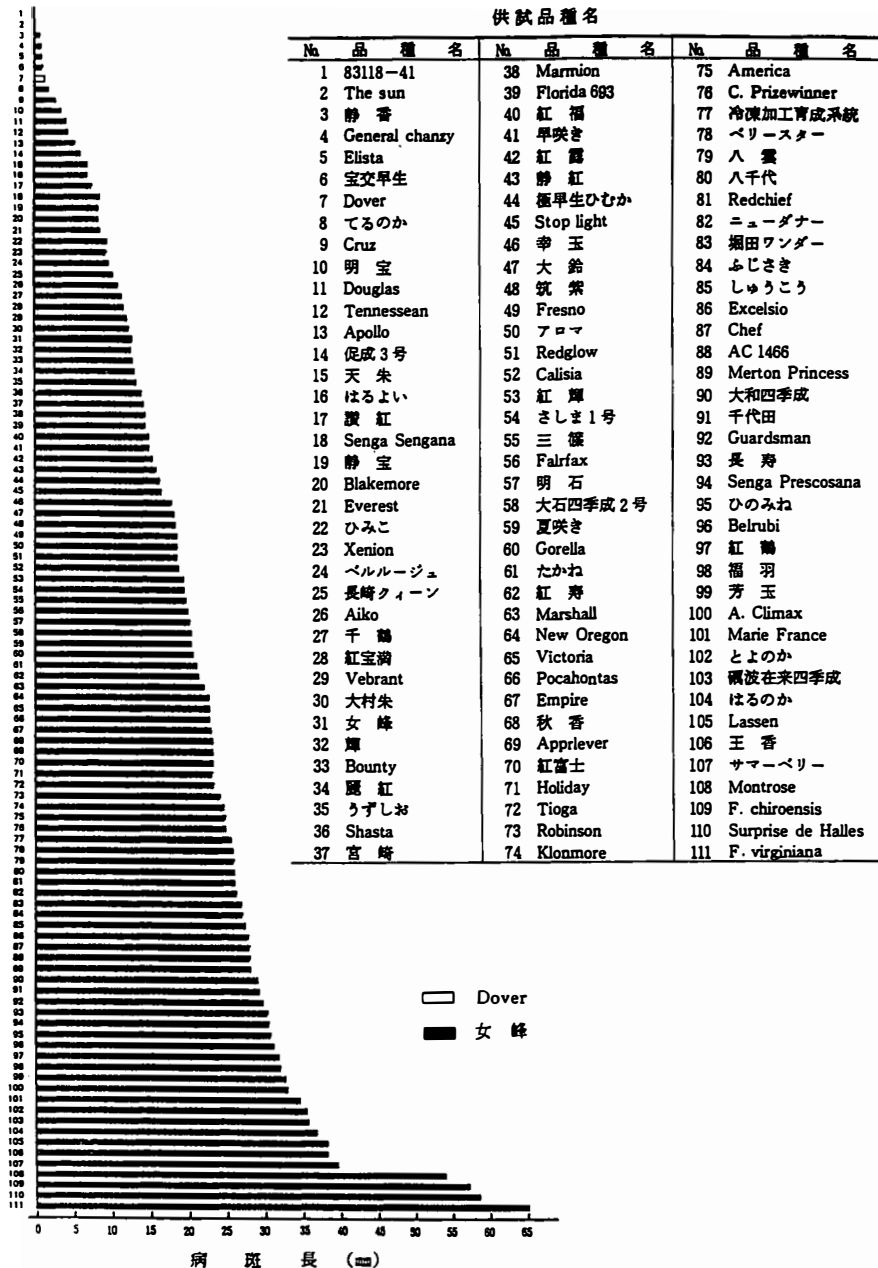


図-2 炭そ病病斑長による抵抗性の品種間差異(野口, 1991)

供試個体の生育ステージによって接種後の発病の様相が大きく変わることから、検定における供試個体の生育ステージ、菌系、菌の接種後の温度等についてさらに検討する必要がある。

#### 4 最近育成された新品種の炭そ病抵抗性

最近、静岡県から久能早生を母親、女峰を父親にした「草姫」が新品種として育成されたが、本病には弱いようである(斉藤, 1994)。また、愛知県で育成された「あかね娘」(アイペリー×宝交早生の交雑種×とよのか)×(アイペリー×宝交早生)も本病に対する感受性は女峰と同等かやや高いとされており、耐病性は低い(桜井, 1994)。さらに、栃木県で育成された「栃の峰」も女峰と同程度の発病と報告されている(植木, 1994)。これらの例も、品質優先の育種の結果であり、育成段階から本病に対する耐病性については重要視されていなかったのであろう。

#### 5 今後の課題

以上述べてきたように、イチゴの品種育成は耐病性を目標に掲げながらも、炭そ病においては、病理屋が感服するトマトの育種のような耐病性育種の段階には到達していないようである。高品質で高収量の品種といえども、高収益を得るために栽培期間中の病害虫防除にかかる費用と労力は膨大なものである。耐病性品種の育成が高品質品種の育成と相反するとしても、せめて防除のしやすい草型や栽培様式に十分配慮した品種の育成を希望する次第である。また、最近、栽培の省力化や病害虫防

除の容易な栽培体系も検討されつつあり、今後の発展に期待したい。

#### 引 用 文 献

- 1) 秋田 滋 (1993): 日植病報 59: 286 (講要).
- 2) Brooks, A. N. (1931): Phytopathology 21: 739~744.
- 3) 築尾嘉章・小林紀彦 (1991): 九病虫研会報 37: 23~26.
- 4) ————ら (1992): 日植病報 58: 554 (講要).
- 5) 橋田弘一ら (1988): 関東東山病虫研報 35: 83~84.
- 6) 広田恵介・加々美好信 (1990): 今月の農業 34 (11): 72~76.
- 7) 池田 弘 (1987): 九病虫研会報 33: 73~75.
- 8) ———— (1990): 最近多発生して問題となっているイチゴ炭そ病とうどんこ病の防除対策, 野菜茶試・日植防共催講要, 42~54.
- 9) 伊奈健宏 (1990): イチゴ炭そ病をめぐる諸問題, 園芸学会小集会資料.
- 10) 石川成寿ら (1989 a): 栃木農試研報 36: 25~36.
- 11) ————ら (1989 b): 関東東山病虫研報 36: 85~86.
- 12) ———— (1991): 今月の農業 35 (4): 92~96.
- 13) 小玉孝司 (1978): 関西病虫研報 20: 89.
- 14) 熊倉裕史 (1993): 寒・冷地におけるイチゴ生産上の問題点と今後の方向, 野菜茶試主催講要, 23~30.
- 15) 松尾和敏 (1990): 九病虫研会報 36: 41~45.
- 16) ———— (1992): 今月の農業 36 (11): 42~45.
- 17) 野口裕司 (1991): 同上 35 (6): 58~62.
- 18) 岡山健夫 (1988): 植物防疫 42: 559~563.
- 19) ———— (1990): 最近多発生して問題となっているイチゴ炭そ病とうどんこ病の防除対策, 野菜茶試・日植防共催講要, 33~41.
- 20) ———— (1994): 未発表
- 21) 斉藤明彦 (1994): 今月の農業 38 (2): 20~23.
- 22) 桜井擁三 (1994): 同上 38 (2): 24~30.
- 23) 植木正明 (1994): 同上 38 (2): 31~33.
- 24) 山本 勉 (1971): 植物防疫 25: 61~64.
- 25) ————・福西 勉 (1970): 日植病報 36: 165~166 (講要).
- 26) 山川 理ら (1990): 平2日園学会講要, 426~427.

#### 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。

特集：イチゴ炭そ病〔2〕

# イチゴ炭そ病に対する底面給水法による伝染抑制効果 と潜在感染株の簡易診断法

 いし かわ せい じゅ  
 栃木県農業試験場 石 川 成 寿

## はじめに

イチゴ炭そ病 (*Glomerella cingulate*) は、親株床、仮植床で萎ちよう枯死を起こすイチゴの最重要病害の一つである。本病の発生により打撃をうけ、イチゴ栽培を断念する栽培者さえ出現している。そこで、本病菌の発生生態に着目した底面給水法による伝染抑制と潜在感染株の簡易な診断法について紹介する。

## I イチゴ炭そ病に対する底面給水法による伝染抑制効果

本病に対する有効な耕種的防除方法として、雨除け栽培による伝染抑制効果は報告されている（石川ら，1989；手塚・牧野，1989）。これは、ウリ類（河合・鈴木，1956；岸，1954；渡辺・若井田，1956），モモ（北島，1952），テンサイ（築尾，1990）及びイチゴ（YANG et al., 1990. *C. acutatum* による）の炭そ病などで明らかにされたように、炭そ病菌分生胞子の飛散が、風のみでは起こらず水滴に伴って飛散するからである。ところで、花き鉢物栽培で普及している底面給水法（青木，1987）は、鉢の底部から給水する方法で、通常のノズル散水で生ずる水跳ねがないため、シクラメン炭そ病の伝染を抑制することが明らかになっている（石川ら，1991）。一方、イチゴ栽培でもポット育苗は普及し、本給水法が栽培体系に組み込まれる条件が整いつつある。そこで、本病菌分生胞子の飛散方法と本給水法の本病に対する適用について検討したので紹介する（石川ら，1993 a, b）。

### 1 分生胞子の飛散に及ぼす水と風の影響

まず、本病菌分生胞子の飛散に及ぼす水と風の影響をみた。風をヘアードライヤー、霧をペーパークロマトグラフ用噴霧器から発生させた。伝染源である発病イチゴ株に対して、霧と風を同時に作用させた場合にのみ、風下においたグリセリンゼリー塗布スライドグラスに分生胞子が捕そくされた。しかし、霧及び風をそれぞれ単独に作用させると、捕そくされなかった。一方、スライド

グラスに固定した発病葉柄片、PDA 培地上の分生子層及び菌叢先端部の分生胞子に霧と風を作用させた場合には捕そくされなかった。これは発病イチゴ株に風と水を作用させた場合には、茎葉が揺れて風下に分生胞子を懸濁した水滴が離脱飛散するが、スライドグラス上に固定した伝染源からは、水滴が離脱しなかったからである（表-1）。また、発病葉柄に対する水滴滴下実験、発病株に対する風洞及び野外での実験でも水（雨）が作用しない条件では分生胞子の飛散は観察されなかった。

以上から、伝染源からの分生胞子の飛散には、水の存在が必須であり、分生胞子を懸濁させた水滴の離脱に伴

表-1 イチゴ炭そ病菌分生胞子の飛散と水及び風速との関係

| 供試材料                       | 霧の作用の有無 | 風速 <sup>b)</sup><br>(m/秒) | 捕そく分生胞子<br>数(個/8.8 cm <sup>2</sup> ) |
|----------------------------|---------|---------------------------|--------------------------------------|
| 発病<br>イチゴ株                 | 無       | 0                         | 0                                    |
|                            |         | 4                         | 0                                    |
|                            |         | 8                         | 0                                    |
|                            | 有       | 0                         | 0                                    |
|                            |         | 4                         | 155                                  |
|                            |         | 8                         | 327                                  |
| 発病葉柄 <sup>a)</sup>         | 無       | 0                         | 0                                    |
|                            |         | 4                         | 0                                    |
|                            |         | 8                         | 0                                    |
|                            | 有       | 0                         | 0                                    |
|                            |         | 4                         | 0                                    |
|                            |         | 8                         | 0                                    |
| 培地上の<br>分生子層 <sup>a)</sup> | 無       | 0                         | 0                                    |
|                            |         | 4                         | 0                                    |
|                            |         | 8                         | 0                                    |
|                            | 有       | 0                         | 0                                    |
|                            |         | 4                         | 0                                    |
|                            |         | 8                         | 0                                    |
| 培地上の<br>分生胞子 <sup>a)</sup> | 無       | 0                         | 0                                    |
|                            |         | 4                         | 0                                    |
|                            |         | 8                         | 0                                    |
|                            | 有       | 0                         | 0                                    |
|                            |         | 4                         | 0                                    |
|                            |         | 8                         | 0                                    |

<sup>a)</sup>：供試材料はスライドグラス上に固定した

<sup>b)</sup>：風はヘアードライヤーで送風した

Control of Strawberry Anthracnose by Capillary Watering  
System Raising Nursery in Pot and Diagnostics of the Latent  
Infection. By Seiju ISHIKAWA

って生ずることが明らかになった。すなわち、第1段階として分生孢子が水中に懸濁し、第2段階として分生孢子懸濁液が振動や自重及び水跳ねにより伝染源から離脱する過程をとると考えられた。

## 2 底面給水法による伝染抑制効果

本病菌分生孢子の飛散メカニズムが解明されたことにより、底面給水法が孢子飛散防止に有効であることが推察された。そこで、慣行のノズル散水法と底面給水法との水管理の差異による本病の伝染について、無病株の中央に伝染源を置き検討した。底面給水法は、ベンチに敷いたビニルフィルムの上に3mm厚のポリエステル不織布マットを敷いてその上にイチゴ鉢を配置し、ポリエステル不織布マットに通水することによって鉢底部から給水させた。ノズル散水法は、ポリエステル不織布マットのみを敷き、同様に配置したイチゴ鉢の頭上から散水した。

ノズル散水法の発病株率は、実験開始7日後に20.8%、14日後には29.2%に達した。また、実験開始14日後には、灌水時に伝染源の下手にあたるイチゴ株の葉柄病斑に分生子層が形成され、新たな伝染源となった。これに対し、底面給水法では、伝染源イチゴ株の発病はノズル散水法と同様に進行したが、それ以外の株は発病せず、本病の伝染が防止できた(図-1)。

底面給水法は、慣行のノズル散水法で起きる分生孢子的飛散を防止でき、伝染防止にきわめて有効であり、シクラメン炭そ病(石川ら, 1991)の報告と一致した。また、底面給水法と雨除け栽培との組み合わせによって本病の伝染抑制に有効であることが明らかになっている(岡山, 1993; 秋田, 1993)。なお、現在のところイチゴ

栽培での底面給水法による水管理技術は未確立である。

## II イチゴ炭そ病潜在感染株の簡易診断法

本病を難防除病害としている最大の要因は、本病菌が潜在感染し、無病株との判別が困難だからである。それら潜在感染株は、無病の原苗や親株として使用され伝染源になり大きな被害を与える。現在、潜在感染株の検定方法としては、検定株をビニル袋に収め、28°Cの陽光定温器に2週間以上静置し、発病の有無を観察する加温加湿によって発病を促進させる方法(岡山ら, 1991)、本病菌の抗体を作製し、IFA, DIBA 及び ELISA 法によりイチゴ罹病部位から検出する方法がある(有江ら, 1992; 加藤ら, 1992)。しかし、前者は株に対する悪影響や、本病以外の原因で萎ちょう枯死する可能性もあり難点が多い。後者は血清学的に検出する方法で、迅速ではあるが、圃場条件での潜在感染株への適用については検討中である。ここでは、検定葉をエタノール液に浸漬し、病斑形成を誘導促進して簡易に診断する方法(石川ら, 1992)について述べる。

### 1 検定材料

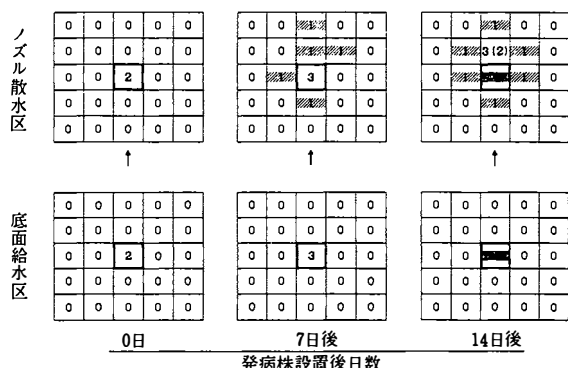
検定材料は、本病の第二次伝染方法(石川ら, 1993 a, b)から、パラボラアンテナのように飛散孢子を受け止める葉が最も適している。葉位は、飛散孢子を受ける期間が長く、栽培上不用で生育に悪影響を与えない下位葉が最適である。検定葉数は、下葉から3葉(9小葉)を供試すると診断精度が高くなる。

### 2 潜在感染菌の診断方法

本病潜在感染菌の誘導方法について述べる。潜在感染菌に対して競合する葉面微生物を除去するため70%エタノール液に浸漬処理し、潜在する炭そ病菌を優占種にさせる。その後、本病菌の最適生育条件である28°C、多湿条件を人工的に付与する。潜在感染菌の発病条件が整うので、イチゴ葉を培地にして生育する。最終的には、本病菌の標徴の一つであるサーモンピンク色の分生子層を形成する。分生子層は、肉眼でも容易に識別でき、潜在感染の有無を診断する有力なマーカーになる(口絵写真参照)。

### 3 簡易診断法の現場での適用

イチゴ原苗や親株の選抜を想定した簡易診断法の手順を述べる。まず、斑点型病斑発生株を見落とさないように注意し、発病株を除去する。→検定葉を1株当たり、下葉から3枚程度採葉する。→検定葉は、水洗いして土やほりを洗い流す。→ここから無菌操作を行う。70%エタノール液に葉身全体を30秒間浸漬する。→殺菌水で水洗し、エタノールを洗い流す。→殺菌水で湿した汚紙



↑: 散水方向 □: 伝染源  
0: 無発病 1: 斑点型病斑 2: 分生子層形成 3: 萎ちょう 4: 枯死

図-1 灌水方法の違いによるイチゴ炭そ病の発病の差

を敷いたペトリ皿に検定葉を取める。ペトリ皿は、ビニル袋に入れ乾燥を防ぐ。→28℃の恒温器に検定葉を約10日間収め、分生子層の形成を観察する。

潜在感染葉は、誘導病斑上にサーモンピンク色の分生子層を形成する。また、イチゴ輪斑病の病斑も誘導され、分生子殻から淡黄色の孢子塊を噴出し、紛らわしいので混同しないよう留意する（口絵写真参照）。

## おわりに

ここに紹介した底面給水法の伝染抑制効果は、本病菌分生孢子の伝搬方法に着目した孢子飛散を遮断する「病原菌をばらまかせない」防除方法である。また、潜在感染株の簡易診断法は、「伝染源を持ち込ませない」防除方法である。栽培体系にあわせて、原苗や親株に対して実施すると効率的に潜在感染株を除去できる。なお、本法は適用範囲が広く、*C. acutatum* によるイチゴ炭そ病、シクラメン炭そ病などの潜在感染葉からも病斑を誘導させ

ることができる。

## 引用文献

- 1) 秋田 滋 (1993): 関東病虫研報 40: 55~57.
- 2) 青木正孝 (1987): 農と園 62: 215~222, 285~294.
- 3) 有江 力ら (1992): 日植病報 50: 102.
- 4) 築尾嘉章 (1990): 北海道農試研報 154: 1~52.
- 5) 石川成寿ら (1989): 関東病虫研報 36: 87.
- 6) ———ら (1991): 日植病報 57: 423.
- 7) ———ら (1992): 同上 58: 580.
- 8) ———ら (1993 a): 関東病虫研報 40: 63~68.
- 9) ———ら (1993 b): 日植病報 59: 41.
- 10) 加藤公彦ら (1992): 同上 58: 587.
- 11) 河合一郎・鈴木春夫 (1956): 静岡農試特別報告 5: 1~48.
- 12) 岸 国平 (1954): 東海近畿農試研園芸部 2: 124~136.
- 13) 北島 博 (1950): 日植病報 15: 19~23.
- 14) 岡山健夫ら (1991): 同上 57: 97.
- 15) ——— (1993): 同上 59: 514~519.
- 16) 手塚信夫・牧野孝弘 (1989): 関東病虫研報 36: 92~94.
- 17) 渡辺龍男・若井田正義 (1956): 日植病報 21: 112.
- 18) YANG, X. et al. (1990): Phytopathology 80: 590~595.

農業に関する唯一の統計資料集！ 登録のある全ての農業名を掲載！

# 農 薬 要 覧

農林水産省農蚕園芸局植物防疫課 監修

## —— 1993 年版 ——

B 6 判 675 ページ

定価 5,200 円 送料 サービス  
(本体 5,049 円)

### —— 主 な 目 次 ——

- I 農業の生産、出荷  
種類別生産出荷数量・金額 製剤形態別生産数量・金額  
主要農薬原体生産数量 種類別会社別農薬生産・出荷数量など
- II 農薬の流通、消費  
県別農薬出荷金額 農薬の農家購入価格の推移 など
- III 農薬の輸出、輸入  
種類別輸出数量 種類別輸入数量 仕向地別輸出金額など
- IV 登録農薬  
4年9月末現在の登録農薬一覧 農薬登録のしくみなど
- V 新農薬解説
- VI 関連資料  
農作物作付（栽培）面積 空中散布実施状況など
- VII 付 録  
農薬の毒性及び魚毒性一覧表 名簿 登録農薬索引など

- 1992年版—5,200円 送料380円
- 1991年版—5,000円 送料380円
- 1990年版—4,600円 送料380円
- 1989年版—4,400円 送料380円
- 1988年版—4,429円 送料380円
- 1987年版—4,223円 送料380円
- 1986年版—4,223円 送料380円
- 1985年版—4,017円 送料380円
- 1983年版—3,296円 送料310円
- 1963~82, 84年版—品切れ絶版

※定価は税込価格です。

お申込みは前金（現金・小為替・振替）で本会へ

特集：イチゴ炭そ病〔3〕

## イチゴ炭そ病の伝染環と発病制御技術

奈良県農業試験場 <sup>おか</sup>岡 <sup>やま</sup>山 <sup>けん</sup>健 <sup>お</sup>夫

1987 年、奈良県大和郡山市のイチゴ育苗圃で炭そ病が突発的に大発生し、ほぼ全株が枯死する惨状を呈した。その後、本圃でも急性萎ちょう症状を伴う発病が確認され、本病に対する緊急な防除対策が要望された。

イチゴ炭そ病の発生は、既に徳島県において「芳玉」に *Colletotrichum fragariae* による炭そ病 (山本, 1971) が発生し、その後奈良県でもその発生が記録された (小玉, 1978)。しかし、1987 年に育苗圃で発生した病害の病原は、発病株上及び培養中に子のう殻を形成し、VON ARX の分類にしたがって、*Glomerella cingulata* であることを明らかにした (岡山, 1988)。本菌の分生子は形態的特徴及び完全時代が *G. cingulata* であることから、VON ARX (1957) 及び SUTTON (1980, 1992) の検索表に従って、*C. gloeosporioides* (Penz.) Sacc. と同定した。本菌はフロリダでは果実被害を起し、*C. fragariae* に比べて分生子の大きさがわずかに異なるとされている (HOWARD et al., 1984)。

筆者は既報において、本病の病原菌および発生生態について報告した (岡山, 1988)。ここではその後の研究成果を加え、本病の伝染環並びに発病制御技術を中心に述べる。

## I 伝 染 環

*G. cingulata* は集合種で、宿主範囲が広いとされ (SUTTON, 1980; 徳永, 1984)、イチゴ炭そ病菌はマメ科雑草の一種である *Cassia obtusifolia* に寄生して伝染源となる可能性がある (HOWARD et al., 1973)。接種試験の結果、本菌は無傷でイチゴのほかに、ソラマメ、エンドウ、シクラメン、ノゲシ、アボカド果実に寄生性があり、有傷ではこのほかに、ササゲ、リンゴ果実に寄生性が認められた。しかし、チャ、ツバキ、アオキ、アジサイ、ヒイラギナンテン、カキ、ウリ科及びナス科野菜には寄生性が認められず、寄生範囲が限られていた。また、育苗圃近辺に生育するマメ科雑草、ノゲシから本菌は検出されていない。

促成イチゴの育苗は、採苗圃で増殖された苗が 7 月に仮植圃に植えられ、9 月中旬に本圃に定植される。病原菌

は圃場に残された罹病枯死株の葉柄や根冠部で越冬し、残渣内の病原菌は感染能力を 8 か月以上保持している。したがって、同一育苗圃でイチゴを連作すれば第一次伝染源になる。イチゴ炭そ病菌は当初土壤中では越冬できないとされたが (HORN et al., 1968), *C. acutatum* による炭そ病菌は土壤中から回収され (EASTBURN et al., 1990), 生存温度が明らかにされている。

本病は高温期の降雨で発生しやすく、発病適温は 25°C 以上である。28°C 以上になると枯死株が現れ、高温になるほど急性萎ちょう症状が発生しやすくなる。本病の感染には湿度が重要であり、過湿状態におくと感染株は 20°C 以下の気温でも萎ちょう枯死株が発生し、発病には温度よりも湿度の影響が強い。イチゴ炭そ病菌は外見上健全な株の根冠内部で越冬し、潜在感染する。潜在感染株は低温期には病徴が現れないが、翌春に発病し、親株に使うと 6 月上旬に親株の葉柄から発病し始め、その後ランナー、子苗と伝染していく。病斑は最初親苗の葉柄に現れ、次いでランナーに現れる。高湿度下ではこれらの病斑上に分生孢子堆が形成され、雨水や灌水によって小葉や隣接株へと伝染する。

潜在感染株は現地にある原種苗増殖施設においても発生しており、冬期に配布あるいは購入された親苗によって広域的に運ばれた可能性が高い。このような広域的な伝搬は海外でも示唆されており、フロリダで果実に発病したのはカリフォルニアで養成した苗が原因と指摘されている (HOWARD et al., 1992)。したがって、栄養繁殖性のイチゴでは苗汚染対策がきわめて重要である。

感染株は高温期でも乾燥状態では潜在感染することがあり、本圃へ定植した後あるいはビニル被覆後に急性萎ちょう症状を起こす。急性萎ちょう株は根冠が褐変しており、特に高温に経過したときに発生しやすい。本圃での発病は育苗圃で感染した株を植え付けたことが原因と考えられる。

本状の伝染環は図-1 のようになる。発病要因は、主因である病原菌、宿主として感受性品種や特定の雑草及び作物、環境要因として高温及び降雨が挙げられる。このうち主要な第一次伝染源は、潜在感染株と汚染土壌であり、風雨によって急速に二次伝染する。イチゴを侵す炭そ病菌には *C. gloeosporioides* のほかに 3 種が報告され

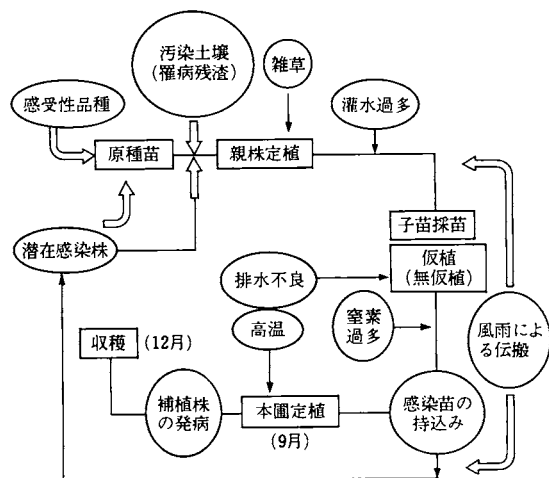


図-1 イチゴ炭そ病の伝染経路と発病助長要因

- ⇒：主要な伝染経路，  
○→：発病助長要因。

ており (MAAS, 1984 ; SMITH et al., 1990), 病原菌の類縁関係を明らかにするとともに、他の種についても生態研究を深める必要がある。

1987年に採苗圃や本圃で大発生した原因には、①新しく栽培された品種が本病に罹病性であったこと、②潜在感染株が親株として用いられたこと、③有効な登録薬剤や使用方法がなく、防除が後手にまわったこと、④発生生態や伝染環が明らかでなく、抵抗性品種であった「宝交早生」と同様の灌水方法を用いたこと、⑤潜在感染株を判別する方法がなく、感染株を本圃に植え付けたこと、が考えられ、これらの条件が重なって激発に結び付いたものと推論される。

## II 発病制御技術

本病の防除対策は図-2に示したように、伝染環の遮断を目的とした耕種的防除法と薬剤による防除が有効である。健全株を確保するためには、発病圃場から採苗しないことが重要である。しかし、第一次伝染源として重要なものは潜在感染株であり、その発見には加温による検定が有効である。被検株をビニル袋に入れて過湿状態とし、28℃の陽光定温器に2週間保つと無病微感染株は発病する。この検定法は潜在感染親株や増殖網室における原種株の検定だけでなく、子苗の抽出検査にも利用することができる (岡山, 1993)。

本県では、秋冬期にこの方法によって原種苗の感染状況を調べ、夏期には発生状況調査と除去処分を続けた結果、年々発病株率が減少し、増殖網室での発生がみられ

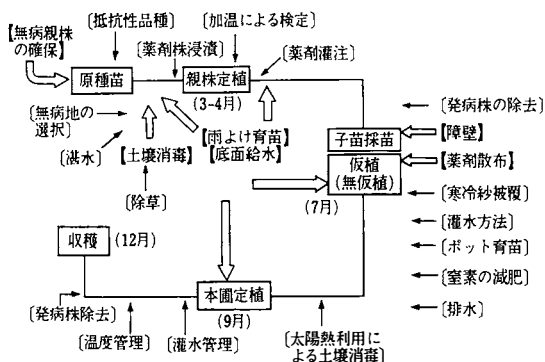


図-2 イチゴ炭そ病の発病制御技術

⇒：【主要な制御技術】，→：【制御技術】

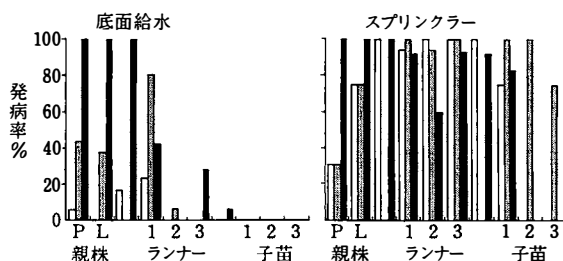


図-3 イチゴ炭そ病の発病に及ぼす底面給水及びスプリンクラーの影響

P：葉柄，L：小葉 1, 2, 3：ランナー及び子苗の発生順位，□越冬潜在感染株 ■潜在感染株 ■接種株

なくなった。同様の成果は香川県においても認められ、本病の発病抑制に著しい効果が現れている (楠, 1994)。

育苗圃のまん延防止対策としては、垂直方向への分生子の分散距離をもとに設置した40cm以上のビニル障壁が有効であり、隣接株への伝搬防止のための緊急避難的な回避策として実用性が高い。また、この方法は現地の発生圃場はもとより、農業試験圃において無処理区からの飛散を防ぎ、効果試験の精度向上に役立っている (岡山, 1994)。

雨よけ育苗は露地育苗に比べて発病を顕著に抑制し、前年の汚染圃場においても高い防除効果を発揮した。特に「女峰」は汚染圃場の露地栽培では育苗が不可能であり、雨よけ育苗は本品種の必須技術である。しかし、雨よけ栽培では灌水法が発病に影響し、従来の灌水法であるスプリンクラーは発病を助長した。これに対して図-3に示したように、底面給水は潜在感染株の発病だけでなく、発病親株から子苗への伝染を抑え、健全な子苗の育苗技術として最も有効な方法である (OKAYAMA, 1993)。こ

の方法は現地の育苗圃場のみならず、親苗増殖施設への利用や品種育成圃場に利用することにより、潜在感染株による本病の伝搬を完全に防ぐことができると考えられる。

本病に対する薬剤防除法としては、土壤消毒、感染株の薬剤処理や薬剤散布が有効である。育苗圃のくん蒸処理は臭化メチルが有効であり (HORN et al., 1963), クロロピクリンやメチルイソチオシアネートも有効であった (岡山, 1989)。本圃では、多数の病原菌に有効である太陽熱利用による施設内の土壤消毒 (小玉ら, 1982) が本病に対しても有効である。育苗圃及び本圃の土壤消毒は、萎黄病防除のために既に毎年行われており、圃場に残った炭そ病菌は同時に防除され则认为られる。

薬剤散布による防除は多数の薬剤が有効であるが、効果の持続期間はベノミル剤が3週間、他の薬剤は1週間程度であった。ベノミル剤は感染株に対する株浸漬や灌注が高い防除効果を示し、潜在感染株にも有効である (岡山ら, 1989, 1990)。しかし、耐性菌が出現しており、これにはジェトフェンカルブ剤が有効であることが知られている (楠ら, 1992)。

県内では、最近「とよのか」の栽培面積が増加し、これに伴ってうどんこ病の被害が大きくなり、その防除対策が課題になっている。炭そ病に罹病性品種である「女峰」、「アイベリー」もうどんこ病の果実被害が著しく、我が国における最近の主要品種は、両病害に対する防除対策が必要になっている。

うどんこ病に対してはDMI 剤が卓効を示し、炭そ病にもベノミル剤と同等の効果が現れる薬剤が見いだされた。すなわち、フェナリモル、ピテルタノール、ミクロブタニルは発病初期からの防除で両病害に有効であり、これらの薬剤の株浸漬や散布は耐性菌に対しても効果が期待できる (岡山ら, 1992)。

## お わ り に

イチゴ炭そ病は1987年に大発生した地域では、上述のような防除対策を立てるようになって、被害が著しく減

少した。本病はイチゴ新品種の育成に伴い、数種の優良品種に大発生したものである。イチゴの品種は果実の色、形、濃厚な味、硬さ、芳香など高品質性が要求され、施設栽培が主な我が国のようなイチゴ栽培では、抵抗性品種の育成は優先されにくい。このような優良形質を備えた品種の栽培には病害対策が必須の技術であり、農薬のみに偏らない伝染環の遮断を重視した生態的防除法がますます肝要なものとなる。本病は世界のイチゴ生産にとって最も重要な病害であり、これらの発病制御技術が国内だけでなく、世界のイチゴ生産の安定化に貢献することが期待される。

## 引 用 文 献

- 1) ARX, J. A. VON (1957) : *Phytopath. Zeitschr.* 29 : 413~429.
- 2) EASTBURN, D. M. and W. D. GUBLER (1990) : *Plant Dis.* 74 : 161~163.
- 3) HORN, N. I. and R. G. CARVER (1963) : *Phytopathology* 53 : 768~770.
- 4) ——— (1968) : *ibid.* 58 : 540~541.
- 5) HOWARD, C. M. and E. E. ALBRECHTS (1973) : *ibid.* 63 : 533~534.
- 6) ——— (1984) : *Plant Dis.* 68 : 824~825.
- 7) ——— et al. (1992) : *ibid.* 76 : 976~981.
- 8) 小玉孝司 (1978) : 関西病虫研報 20 : 89.
- 9) ———・福井俊男 (1982) : 日植病報 48 : 570~577.
- 10) 楠 幹生ら (1992) : 香川県農試研報 43 : 29~35.
- 11) ——— (1994) : 全農委託農薬試験成績書 14pp.
- 12) MAAS, J. L. (1984) : *Compendium of Strawberry Disease*, APS Press, St. Paul, pp. 57~62, 85~87.
- 13) 岡山健夫 (1988) : 植物防疫 42 : 559~563.
- 14) ——— (1989) : 関西病虫研報 31 : 59.
- 15) ———・西崎仁博 (1990) : 同上 32 : 77.
- 16) ———ら (1992) : 同上 34 : 71~72.
- 17) ——— (1993) : 奈良農試研報 24 : 41~46.
- 18) ——— (1993) : *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 59 : 514~519.
- 19) ——— (1994) : 同上 60 : 113~118.
- 20) SMITH, B. J. and L. L. BLACK (1990) : *Plant Dis.* 74 : 69~76.
- 21) SUTTON, B. C. (1980) : *The Coelomycetes* CMI, Kew, England. pp. 523~537.
- 22) ——— (1992) : *Colletorichum* : Biology, Pathology and Control (BAILEY, J. M. et al. eds.). C. A. B. International, Wallingford. pp. 1~26.
- 23) 徳永芳雄 (1984) : 植物病原菌学, 博友社, 東京, 397 pp.
- 24) 山本 勉 (1971) : 植物防疫 25 : 61~64.

特集：イチゴ炭そ病〔4〕

## Colletotrichum acutatum によるイチゴ炭そ病の発生生態と防除

長崎県病害虫防除所 <sup>まつ</sup>松 <sup>お</sup>尾 <sup>かず</sup>和 <sup>とし</sup>敏

## はじめに

現在、我が国で発生するイチゴ炭そ病には、2種の菌が関与することが知られている。

その一つ、*Glomerella cingulata* (岡山 (1988) によって完全時代が発見されるまでは *Colletotrichum fragariae* とされていた) は、1969年徳島県で初めて発生が確認された (山本・福西, 1970; 山本, 1971)。当初その被害は比較的軽微で、あまり重要な病害ではなかったが、1980年代半ばごろから品種「とよのか」や「女峰」の普及とともに全国的に被害が増大し、最重要病害となった。そのため、各地で本病の発生生態や防除対策について試験研究が取り組みられ、これまで多くの成果が得られている (池田, 1987; 岡山, 1988; 築尾・小林, 1991; 石川, 1991; OKAYAMA, 1993; 岡山, 1994)。

ところがこうした中、1991年夏季、長崎県内の数産地で育苗中の「とよのか」に、炭そ病に酷似するが激しい葉枯症状を起こす病害が多発した (松尾・太田, 1992)。本病原菌は、築尾ら (1992) により欧米のイチゴで発生している *C. acutatum* (SIMMONDS, 1965) と同定され、病名は日本有用植物病名目録追録 (15) (1994) で「炭そ病」となった。すなわち、イチゴ炭そ病の病原菌として *C. acutatum* が新たに追加され、本病には2種の菌が関与することとなった。

この新たな *C. acutatum* による炭そ病は、これまで長崎県以外に岩手 (河野・木曾, 1990)、栃木 (石川ら, 1992)、静岡 (秋田, 1992) 及び佐賀県 (築尾・小林, 1992) でも発生が確認されており、今後他地域への発生拡大が懸念される。そこで、本稿では *C. acutatum* による炭そ病 (以下、本病と記す) の発生生態と防除について、従来の *G. cingulata* による炭そ病 (以下、従来の炭そ病と記す) と比較しながら、これまで得られた知見を紹介し、参考に供したい。

## I 発生様相と被害

## 1 病徴

本病は葉、葉柄及びランナーに発生し、従来の炭そ病に比べ葉枯症状が激しいことと、多湿条件下で各病斑上に鮭肉色の胞子堆をきわめて容易に、多量に形成することが特徴である。

葉では、従来の炭そ病のような汚斑状の斑点は形成せず、はじめ新葉の主として葉縁に黒い不整形の病斑を形成する。その後、成葉になっても病斑はあまり拡大せず、他の健全部にも新たな病斑はほとんど形成しない。また、病斑の色はしだいに黒褐色になり、縮れて破れやすくなる。多湿条件下では、比較的新しい病斑は灰色を帯び、鮭肉色の胞子堆をきわめて容易に形成する。

葉柄では、従来の炭そ病と同様に長さ3~5mm、紡錘形〜円形の黒褐色〜黒色のくぼんだ病斑を形成する。この病斑は葉柄を大きく取り巻くようにはあまり伸展せず、乾腐状で古くなるとその部分から外側に曲がり、風や作業中軽く触れただけで折れやすい。また、多湿条件下では、病斑部に鮭肉色の胞子堆を容易に形成する。

ランナーでは、葉柄と同様な5~10mmの病斑を形成し、ランナーを取り巻くように拡大するとその先は黒変枯死する。多湿条件下では、病斑部に鮭肉色の胞子堆を容易に形成する。

根には異常は認められず、また、葉や葉柄に病斑が多量形成されてもクラウン部は健全で、従来の炭そ病のような急激な萎ちょう症状は認められない。しかし、発病期間が長くなると、新葉に次々と病斑が形成され、葉柄は折損するなどしてしだいに株の生長が止まり、衰弱して枯死する (松尾, 1992; 松尾・太田, 1992)。

## 2 発生時期

長崎県では、イチゴの子苗は一般に親株から発生したランナーを直接鉢 (ビニルポット) 受けする方式で採苗されるが、本病の初発生は5月中旬ごろ親株の葉柄やランナーに認められ、しだいに子苗にも発生するようになる。初発生が従来の炭そ病に比べ1~2週間ほど早い。その後、本病は気温の上昇と入梅とともにまん延して病状も激化する。このまん延や伸展は8月中旬ごろまで続き、8月下旬以降気温が低下し始めると緩慢になる。

また、その後本圃に定植されハウスビニルで被覆されて以降は、病徴の伸展や新たな株へのまん延は認められない (松尾, 1992)。

## 3 被害

従来の炭そ病はイチゴのクラウン部を侵し、急性的な萎ちょう枯死を引き起こすため、大量の苗不足や本圃での欠株を招き大きな問題となる。

一方、本病は前述のようにクラウン部はほぼ健全で、急激な萎ちょう症状は苗床でも本圃でも認められない。しかし、初発生の時期が5月中旬と早く、ランナーの発

生や伸長が最も盛んな時期から発病するため、病斑がランナーを取り巻くように拡大するとその先は黒変枯死し、ポットに受けた子苗が発根・活着していない場合、その苗は萎ちよう枯死する。また、活着した子苗でも新葉に次々と病斑が形成され、葉柄は折損するなどしてしだいに株の生長が止まり、衰弱して枯死する。そのため、苗不足をきたしたり、生産性の低い貧弱な苗しか確保できなくなる。

また、本病は、本圃では発病や被害の伸展は認められていない。しかし最近、欧米やオーストラリアなどでは、葉や葉柄、ランナーなどの被害だけでなく、収穫期の果実腐敗が最も大きな問題となっている (WILSON et al., 1990; WASHINGTON et al., 1992)。これは、後述するように本菌の伝搬方法や生育適温などと強く関係すると思われる、欧米では収穫期も露地栽培であるのに対し、本県の促成栽培では開花、着果期以降はビニルハウス内において雨に当たらず、しかも低温で本菌の生育には適していない。そのため、現在の栽培方法では果実腐敗は生じていないと思われる (松尾, 1992)。

## II 病原菌の性状

### 1 形態

各病斑部から分生孢子が容易に検出される。これらは無色、単胞、紡錘形であり、中には舟型もある。大きさは、従来の炭そ病菌に比べてやや小さく (築尾ら, 1992; 石川ら, 1992; 松尾・太田, 1992)、松尾・太田 (1992) の測定では、長さが平均  $12.5\ \mu\text{m}$  ( $8.5\sim 16.9\ \mu\text{m}$ )、幅が平均  $4.4\ \mu\text{m}$  ( $2.7\sim 5.8\ \mu\text{m}$ ) であった。

また、付着器は褐色、こん棒状である (築尾, 1992; 石川ら, 1992)。

### 2 培養性状

本菌の PSA 及び PDA 培地上の菌叢は、桃色～暗赤色を呈し、後に中央部分が灰色になる。また、培地上に鮭肉色の分生孢子的粘塊をよく形成するが、剛毛、菌核及び子のう殻の形成は認められない。

培地上における菌糸の生育は、従来の炭そ病菌に比べて遅く、 $10\sim 32^\circ\text{C}$  の範囲で生育するが、最適生育温度も  $25\sim 26^\circ\text{C}$  とやや低い (築尾, 1992; 石川ら, 1992)。

なお、長崎県での発病株からは、分生孢子的形態は基準菌とほぼ同じであるが、PSA 培地上で赤色色素を生産せず、菌糸の生育最適温度や生育速度及び病原性などがやや異なる菌が多く分離されている (築尾ら, 1992)。この色素生産菌と色素非生産菌の異同については、今後、分類学的に詳細な検討が必要と思われる。

### 3 発病条件

本菌の分生孢子は広範囲の温度 ( $12\sim 28^\circ\text{C}$ ) で 90% 以上の発芽をし、この際外部からの栄養物は必要としない。発芽最適温度は  $24^\circ\text{C}$  付近にあり、従来の炭そ病菌の

最適温度  $28^\circ\text{C}$  に比べてやや低い。

また、本病の発病にはおおむね  $20^\circ\text{C}$  以上の温度と 48 時間以上の加湿期間が必要であるが、発病適温は  $25^\circ\text{C}$  付近である (築尾, 1992)。

### 4 品種間差異

「とよのか」と「女峰」は罹病性が高く、「宝交早生」はやや低い。また、「アポロ」、「セコイア」及び「ドーバー」は本病に対して抵抗性であり、これらの品種間差異は従来の炭そ病に対するものとほぼ同様である。ただし、葉枯れの病徴は「女峰」に比べて「とよのか」でより顕著になる傾向にある (築尾, 1992)。

### 5 宿主範囲

表-1, 2 のとおり、本菌は接種試験によると野菜ではイチゴ以外にトマト、花き類ではアネモネ、ヒナゲシ、デルフィニウム、リナンサス、ルピナス、スターチス及びシクラメンに病原性があり、トマト、アネモネ、ヒナゲシ、リナンサスなどで従来の炭そ病菌と寄生性に違いがある。このことから、これらの植物、特にトマトは入手や育苗の容易さから、両菌の判別植物として適当である (築尾ら, 1993; 築尾, 1994 a)。

### 6 伝搬方法及び伝染環

本菌の伝染環は、従来の炭そ病菌とほぼ同じであり、潜在感染した親株の苗床への持ち込みや、親株床や仮植床の土壌中に残った発病茎葉などの残渣が第一次伝染源となる (築尾, 1994 b)。アメリカ・カリフォルニア州では、本菌は土壌中に埋没したイチゴ組織とともに 9 か月間は生存できる (EASTBURN and GUBLER, 1990)。

また、本病はこれらを第一次伝染源として高温多湿条件下で発生し、各病斑上に形成された分生孢子が雨滴などによって飛散し、新たな部位や新たな株へ第二次伝染する (築尾, 1994 b)。

なお、最近、本菌、*C. acutatum* は各種の植物から分離されているが、カキ、アジサイ、トルコギキョウ及びプロテアからの分離菌はイチゴの小葉に微小な斑点を形成するだけで、葉枯症状は示さない。また、ソラマメ、クリ、アーティチョーク、アネモネからの分離菌はイチゴには病原性がない。このことから、*C. acutatum* は多犯性の菌として知られる (SIMMONDS, 1965) が、寄生性に分化がみられ、圃場周辺の他作物に発生する *C. acutatum* は本病に関与せず、本菌はイチゴでのみ生存している可能性が高い (築尾ら, 1993)。

## III 防除対策

### 1 耕種的防除

本病の伝搬方法並びに伝染環は、従来の炭そ病とほぼ同じであるため、耕種的防除の方法も基本的に同じでよいと考えられる。すなわち、まず第一次伝染源からの伝搬遮断のため、健全な親株床や仮植床を使用すること

表-1 2種のイチゴ炭そ病菌の各種野菜に対する病原性  
(築尾, 1994 a を一部改変)

| 植 物 名          | 病 原 菌 の 種 類                    |                             |
|----------------|--------------------------------|-----------------------------|
|                | <i>Colletotrichum acutatum</i> | <i>Gromerella cingulata</i> |
| アブラナ科 キャベツ     | —                              | —                           |
| コールラビー         | —                              | —                           |
| ブロッコリー         | —                              | —                           |
| ハクサイ           | —                              | —                           |
| コマツナ           | —                              | —                           |
| カ        ブ     | —                              | —                           |
| キョウナ           | —                              | —                           |
| タイサイ           | —                              | —                           |
| ダイコン           | —                              | ± <sup>a)</sup>             |
| ウリ科 キュウリ       | —                              | —                           |
| ナス科 ナ        ス | —                              | —                           |
| トマト            | + <sup>a)</sup>                | —                           |
| セリ科 ニンジン       | —                              | —                           |
| パセリ            | ± <sup>b)</sup>                | —                           |
| キク科 レ        タ | —                              | —                           |
| シソ科 ローザマリー     | —                              | —                           |
| スイートバジル        | —                              | —                           |
| ペパーミント         | —                              | —                           |
| アカザ科 テンサイ      | ± <sup>c)</sup>                | —                           |
| ユリ科 ネ        ギ | —                              | —                           |
| アスパラガス         | —                              | —                           |

<sup>a)</sup>: 茎に紡錘形褐色斑点, <sup>b)</sup>: 縮葉 (一部), <sup>c)</sup>: 微小斑点

と、健全な親株を用いて病原菌を持ち込まないことが肝要である。次いで、第二次伝染防止には従来の炭そ病でも明らかにされている (石川ら, 1989; OKAYAMA, 1993) ように、雨よけ育苗 (図-1) (松尾・菅, 1993) や育苗時の底面給水 (築尾, 1994 b) がきわめて効果が高い。また、親株や子苗への窒素肥料の過剰施用は発病を助長する (松尾, 未発表) ので、適正な施用に留意する。

さらに、本菌の土壤中における罹病残渣での生存期間は、25℃ならびに 40℃で湿潤ならびに湛水条件下で数週間であり、低温や乾燥条件下に比べて短い (EASTBURN and GUBLER, 1992)。そのため、物理的な防除方法として、汚染圃場の湛水化や太陽熱利用による土壤消毒は有効と考えられ、今後の検討が必要である。

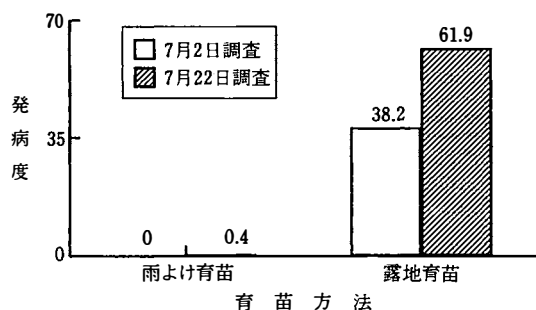
## 2 薬剤防除

親株床や仮植床における土壤中の罹病残渣からの伝搬防止、すなわち、土壤消毒剤としてはクロルピクリンくん蒸剤やダゾメット粉粒剤が薬害もなく、高い防除効果がある (図-2) (松尾ら, 1994)。また、アメリカでは臭化メチル・クロルピクリンくん蒸剤の効果も認められている (EASTBURN and GUBLER, 1990)。

育苗期の散布薬剤では、圃場試験の結果、表-3, 4 のようにプロピネブ水和剤、ペフラゾエート水和剤及びジチアノンフロアブル剤は防除効果がきわめて優れる。次の

表-2 2種のイチゴ炭そ病菌の各種花き類に対する病原性  
(築尾, 1994 a を一部改変)

| 植 物 名              | 病 原 菌 の 種 類                    |                             |
|--------------------|--------------------------------|-----------------------------|
|                    | <i>Colletotrichum acutatum</i> | <i>Gromerella cingulata</i> |
| キンポウゲ科 アネモネ        | ++葉縁からの葉枯                      | ±汚斑状斑点                      |
| デルフィニウム            | + 葉, 茎に褐色斑点                    | + 葉, 茎に褐色斑点                 |
| ゴマノハグサ科 キンギョソウ     | —                              | ±葉に白色斑点                     |
| アカバナ科 ツキミソウ        | —                              | —                           |
| アブラナ科 ストック         | —                              | + 茎葉に褐色斑点                   |
| ナ        ス 科 ペチュニア | —                              | —                           |
| イソマツ科 スターチス        | + 葉縁に褐色斑点                      | ±褐色斑点                       |
| ナデシコ科 ビジョナデシコ      | —                              | —                           |
| ケ        シ 科 ヒナゲシ  | ++ 葉に斑点, 葉脈も                   | ±微小斑点                       |
| マ        メ 科 ルピナス  | + 葉枯と斑点                        | + 葉に斑点, 葉柄に紡錘形の斑点           |
| スミレ科 パンジー          | —                              | —                           |
| ハナシノブ科 リナンサス       | ++ 節がくびれる, 折れる                 | ±汚斑状斑点 (一部)                 |
| リンドウ科 トルコギキョウ      | —                              | —                           |
| マツムシソウ科 スカビオーサ     | —                              | —                           |
| キ        ク 科 アスター  | —                              | —                           |
| ヒマワリ               | —                              | —                           |
| サクラソウ科 シクラメン       | + 花茎に紡錘形的大型病斑                  | + 花茎に紡錘形の斑点                 |

図-1 *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭そ病に対する雨よけ育苗の防除効果

で、マンゼブ水和剤、チウラム水和剤及びジチアノン水和剤が高い効果を示し、薬害もなく実用性が高い。ペノミル水和剤と有機銅水和剤はやや防除効果が低い、輪番で使用する薬剤としての実用性はあると思われる。一方、従来の炭そ病に対して効果が高い (石川ら, 1989) ビテルタノール水和剤は、本病には防除効果が低いので、薬剤防除に当たっては本病と従来の炭そ病との診断を的確に行い、薬剤の選択に注意が必要である。

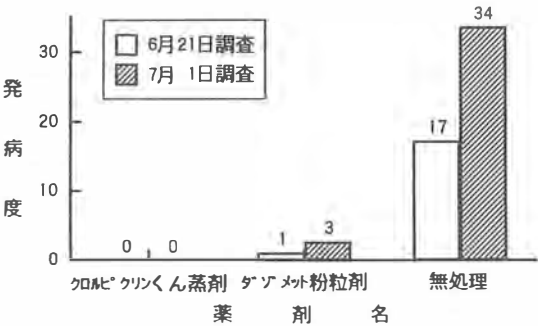


図-2 *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭そ病に対する親株床の土壌消毒による防除効果

また、育苗期における薬剤防除では、初発期からの散布が大事であるが、本病は5月中旬ごろからランナーに発生し始めることが多いので、これらをよく観察して早期発見に努める。さらに、本菌は葉などの若くて柔らかい組織から感染しやすいので、薬剤の散布間隔はその時期のイチゴの展葉間隔に合わせて行うことが肝要と思われる(松尾ら, 1994)。

おわりに

以上のように、本病の発生生態や防除対策についてかなり解明されてきた。しかし今後、生態面では、欧米同様我が国で近年 *C. acutatum* がなぜ台頭してきたのか、その原因を追究する必要があると思われる。また、防除面では、有効な登録農薬が少ないことから、マンゼブ水和剤やチウラム水和剤などの有効薬剤の登録促進を図るとともに、新たに有効な薬剤や農薬によらない病害の制御技術についても、さらに模索していく必要がある。

引用文献

1) 秋田 滋 (1992) : 関東病虫研報 39 : 135~136.  
2) 築尾嘉章 (1992) : 日本植物病理学会九州部会第17回シンポジウム講要, 17~35.  
3) ——— (1994 a) : 今月の農業 38 : 94~98.  
4) ——— (1994 b) : 九病虫研会報 40 : (投稿中).  
5) ———・小林紀彦 (1991) : 同上 37 : 23~26.  
6) ———・————— (1992) : 日植病報 58 : 114 (講要).  
7) ———ら (1992) : 同上 58 : 554 (講要).  
8) ———ら (1993) : 九病虫研会報 39 : 32~35.  
9) EASTBURN, D. M. and W. D. GUBLER (1990) : Plant Dis. 74 : 161~163.  
10) ———・————— (1992) : ibid. 76 : 841~842.  
11) 池田 弘 (1987) : 九病虫研会報 33 : 73~75.  
12) 石川成寿 (1991) : 今月の農業 35 : 92~96.  
13) ———ら (1989) : 栃木農試研報 36 : 49~58.  
14) ———ら (1992) : 関東病虫研報 37 : 129~133.  
15) 河野敏郎・木曾 皓 (1990) : 同上 37 : 115~116.  
16) 松尾和敏 (1992) : 今月の農業 36 : 42~45.  
17) ———・太田孝彦 (1992) : 日植病報 58 : 544 (講要).  
18) ———・菅 康弘 (1993) : 同上 59 : 301 (講要).  
19) ———ら (1994) : 九病虫研会報 40 : (投稿中).  
20) 岡山健夫 (1988) : 植物防疫 42 : 559~563.

表-3 *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭そ病に対する育苗期における各種薬剤散布の防除効果と薬害 (1992年)

| 供試薬剤                    | 希釈倍数  | 7月2日調査 |      | 7月22日調査 |      | 薬害 |
|-------------------------|-------|--------|------|---------|------|----|
|                         |       | 発病株率   | 発病度  | 発病株率    | 発病度  |    |
| プロピネブ水和剤                | 500 倍 | 17.1%  | 5.3  | 7.1%    | 2.3  | —  |
| ビテルタノール水和剤              | 2,500 | 93.2   | 52.4 | 91.3    | 59.3 | —  |
| ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤 | 1,000 | 86.4   | 40.8 | 93.1    | 55.3 | —  |
| マンゼブ水和剤                 | 600   | 34.0   | 13.5 | 23.1    | 8.4  | —  |
| ベノミル水和剤                 | 500   | 73.8   | 29.0 | 53.2    | 26.3 | —  |
| 有機銅水和剤                  | 800   | 47.2   | 16.8 | 43.2    | 15.6 | —  |
| ジチアノン水和剤                | 1,000 | 34.1   | 12.6 | 31.1    | 12.2 | —  |
| チウラム水和剤                 | 400   | 43.3   | 15.9 | 24.6    | 11.0 | —  |
| ペフラゾエート水和剤              | 200   | 35.2   | 9.7  | 5.7     | 1.7  | ±  |
| 無 散 布                   | —     | 97.5   | 58.1 | 100     | 74.4 | —  |

表-4 *Colletotrichum acutatum* によるイチゴ炭そ病に対する育苗期の各種薬剤散布の防除効果と薬害 (1993年)

| 供試薬剤        | 希釈倍数    | 6月17日調査 |      | 7月8日調査 |      | 薬害 |
|-------------|---------|---------|------|--------|------|----|
|             |         | 発病株率    | 発病度  | 発病株率   | 発病度  |    |
| トリフルミゾール水和剤 | 3,000 倍 | 7.6%    | 2.5  | 44.1%  | 17.0 | —  |
| ビリフェノックス水和剤 | 1,000   | 93.9    | 58.3 | 100    | 79.3 | —  |
| ジチアノンフロアブル剤 | 1,000   | 4.6     | 1.2  | 12.0   | 3.5  | —  |
| 有機銅フロアブル剤   | 500     | 39.7    | 13.1 | 42.4   | 18.6 | —  |
| SSF-129SC10 | 1,000   | 17.2    | 4.6  | 56.1   | 21.6 | —  |
| プロピネブ水和剤    | 500     | 10.1    | 2.8  | 14.1   | 4.3  | —  |
| ビテルタノール水和剤  | 2,500   | 20.4    | 7.8  | 51.2   | 24.8 | —  |
| 無 散 布       | —       | 44.4    | 20.0 | 60.8   | 32.1 | —  |

21) OKAYAMA, K. (1993) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 59 : 514~519.  
22) 岡山健夫 (1994) : 日植病報 60 : 113~118.  
23) SIMMONDS, J. H. (1965) : Queensl. J. Agric. Anim. Sci. 22 : 437~459.  
24) WASHINGTON, W. S. et al. (1992) : Crop protection 11 : 355~360.  
25) WILSON, L. L. et al. (1990) : Phytopathology 80 : 111~116.  
26) 山本 勉 (1971) : 植物防疫 25 : 61~64.  
27) ———・福西 務 (1970) : 日植病報 36 : 165~166 (講要).

## 海外ニュース

## ネパール王国における果樹研究機関とその活動の現況

1992年11月から始まったJICAが行うプロジェクト「ネパール園芸開発計画」に参加し、主に日本からナシ、カキ、ブドウなど落葉果樹の導入・普及及びネパール原産のオレンジの一種“ジュナール”，ポンカン的一种“スタラ”の優良系統の選抜とそれらの普及に携わっている。

赴任以来、1年数か月のかいまた、この国の果樹農業及び関連試験研究機関の現状を紹介しよう。

## 1 ネパール王国における果樹産業

プロジェクトが関係する地域の農家1戸当たりの平均土地保有面積は、首都カトマンズ近郊で50a以下が全体の83%を占め、プロジェクトから最も離れたラメチャップ地区では1ha以下が全体の65%を占める。一方、全人口の農業関連産業にかかわる割合は90%以上といわれており、典型的な農業国ではあるが、一戸当たり所有面積が非常に少ない、いびつな農業国である。

この国の果樹産業は今のところ前近代的で、流通を例にとっても、果物をグレード分けして売っていない。落葉果樹栽培ではまれに集団栽培があるが、それでも一戸で10数本のナシ樹（ネパール梨）を持ち、それを青田売りしている。青田売りはこの国の一般的風習である。バナナなど熱帯果樹栽培は歴史があるので、50本ぐらい栽植している農家が目につく。

果実は年中豊富に出回っているが、貯蔵施設がないため、一時を除いてインド産果実が市場を占有する。

こんな中、プロジェクトでは台木を使った苗木作り、普及員の再教育などを通じて、近代的果樹産業形成を手助けしている。

## 2 試験研究機関

この国においては、1960年代まで、農業試験研究が組織立てて行われた形跡はなく、果樹では王家が王宮内に世界各国より果樹の苗木を輸入して試作した例はある。なかでも、マンゴーの試作には成功し、普及させた。

1960年にインドとネパール政府の間で農業開発に関する協力関係が持たれたのが、組織だった試験研究の始まりである。この協定では、園芸関係では14か所に試作農場が設立された。協定は11年間継続され、世界各地から果樹を導入してそれらの評価、苗木生産配布、農家の短期研修などが実施され効果を上げた。その後、幾多の変遷があり現在は以下のようにになっているが、まだ形ばかりが整い中身が入っていない状況である。

\* 農業、園芸、畜産部門がある。

## ① NARC (National agriculture research center)

ここでは、農業関連の試験研究のうち基礎的なものが行われるようになっており、園芸関係では6場所に支場を設けている。所長の位置づけは農業局長待遇。

## ② 農業普及センター (Agriculture development center)\*

ここでは試験研究というタイトルを使うことは御法度。果樹の場合なら品種の保存、苗の配布、地域に苗木商の育成、加えて農家研修を行うことを主に行っている。いわゆる官営農場の一種である。現在は12場所に支場を設けている。所長の位置づけは、本省の課長配下になっている。

さて果樹の試験研究を例にとると、NARCの本場では研究がなされておらず、NARC所属の地域の試験場では沢山の品種を維持管理しているのみで、研究のための予算はあるように思えない。我々のプロジェクトは後者に属している。

## 3 果樹の病害虫

我々が持ち込んだ落葉果樹では、幸いなことに開花期が乾季に当たるために発生病害は少ない。休眠期の防除をしっかりと行えば問題は少ないように思われる。今のところブドウでは黒とう病、輪紋病、ナシでは褐斑病、ミバエが主なものである。春先の乾燥が激しいためにスリップスの害が出る。柑橘ではすそ腐れ、グリーンング病がある。

いまネパールでは、病害虫防除はIPMで、との風潮が高まっている。試験研究機関があまり機能していない中、この語が一人歩きするとどうなるかというと、散布は病気をみてからとなり、赴任間もない頃ブドウの黒とう病防除では大変な目にあった。先進国から科学者が発展途上国に乗り込んで、自分の持論を披露するのはよいが、色々なケースのあることを知らせる等、最後まで責任を持って欲しいものだ。

## おわりに

この国でのムギの脱穀は、家畜に踏ませる、舗装道路に並べて車に踏ませる、石盤を斜めに立てかけてそれに打ちつける、などの方法がとられている。これは首都カトマンズ近郊で見られる光景だ。この例一つからみても、果樹産業を我々と肩を並べられるまでにするには、まだまだ時間が必要に思われる。

(ネパール園芸開発計画リーダー 佐久間 勉)

## リレー随筆

## 植物検疫の現場から(2)

## 頑張る米国向け鳥取県産二十世紀ナシ

## 輸出検疫とは

輸出ナシの検疫を述べる前に、多少固くなるが輸出検疫の目的に触れておきたい。

国外からの病虫害の侵入・まん延を防止することが国際植物検疫の目的とするならば、各国とも輸入検疫のみで事足り、相手国のためにことさら輸出検査に精出すこともないようなものであるが、事柄はそう簡単ではない。国際植物防疫条約で、輸入国は輸出国に対し植物検疫に関する要求を行う権利が与えられており、一方、輸出国はこれを履行する義務がある。また、我が国の植物防疫法は、条約の精神を受けて相手国の検疫要求に適合しているかどうかの検査を受け、これに合格したあとでなければ輸出してはならない、と規定している。輸入植物検疫を厳格に実施する以上、国際信義のうえからも輸出検疫は的確に実施する責務がある。植物検疫に関する要求は国によって異なり、同じ植物でも輸出検査の不要の国から、輸入を禁止している国まである。

## 果実の輸出

前置きはこれくらいにして、ナシ果実の輸出検疫の話にはいる。ナシ果実は以前から東南アジアを中心に輸出され、近年では米国本土、豪州にも輸出されている。我が国の生果実の輸出量を平成4年で見ると24千tで、種類別ではウンシュウミカン12千t、ナシ7千t、リンゴ1.5千t、カキ4千t、その他0.2千tで、ナシ果実は2番目の輸出量となっている。年間150万t前後の生果実輸入数量には比べるべくもないが、コスト高のなかでしかも異常なほどの円高・ドル安の現状からみれば、よく頑張って輸出しているといえるのではないだろうか。

## 厳しい検疫条件

鳥取県産二十世紀ナシが米国に輸入許可を得てはじめて輸出されたのは、昭和59年で、あれから10年、円高・ドル安、生産者の高齢化に伴う労力不足、黒斑病など病虫害対策などを克服しながら輸出が続けられている。

ナシ果実の対米輸出については、かつてはアラスカ及びハワイ州のみに認められ米国本土への輸入は認められていなかった。このため、鳥取県産二十世紀ナシの輸入

許可を得るため、鳥取県、同県果実農業協同組合連合会(現同県農業協同組合連合会)等からの米国植物検疫当局に対する解禁要請や、農水省の技術的見地に立った解禁への働きかけが行われ、これを受けて米国側は同県下の生産地域での実態調査を行い、病虫害の侵入防止上基本的に問題はないと判断し、一定の検疫条件を付して輸入を許可した。

輸入許可は取得したものの、輸出圃場には授粉樹を含めて無袋果が全くないこと、病虫害防除の徹底、日・米検査官合同の生産地及び輸出検査の実施、輸出検査で黒斑病、コナカイガラムシ等の指定病虫害が認められないこと、などの検疫条件が課されていた。これをクリアするため、国は検疫システムの設定に、また生産者側は受検体制の整備等に取り組んだ。受検体制の確立にあたっては、幸いにもと言うべきか、ナシの大産地としては当然のことと言うべきか、もともと二十世紀ナシは黒斑病に弱いため、栽培・病虫害管理を徹底しなければ高品質の果実は期待できないことから、生産者の技術水準は高く、比較的短期間で体制が確立された。もちろん受検体制確立のため県、農協関係者と生産者がいろいろの問題点を克服するため奮闘努力されたことは想像に難くない。

## 現状と今後

鳥取県産二十世紀ナシの米国本土向け輸出は、昭和59年の271tを皮切りに、以後年々増加して同県内の輸出生産地域もこれとともに拡大した。昭和62年には15市町村から2,765tが輸出された。しかしながらこれをピークに、急激な円高・ドル安と生産者の高齢化に伴う労力不足等の要因が重なり、生産地域、輸出量ともに減少傾向をたどってきており、平成5年は更なる円高・ドル安のため450tの輸出にとどまった。

このような輸出の伸び悩みについて、生産者側には国の検疫条件が厳しすぎるとの声もある。確かに他の一部の国に比べれば厳しい検疫条件であるが、植物検疫はそれぞれの国が農業事情、立地条件、環境等を考慮して独自に実施しているものであり、それが検疫技術上の要求であればクリアせざるを得ないことは、冒頭に述べたとおりである。

鳥取県産二十世紀ナシに限れば、ナシの出荷調整、品質保持等の観点から、今後とも内部努力をしながら輸出を推進すると聞いている。我々も植物検疫の基本的事項は動かせないが、合理的、かつ円滑な輸出検疫の実施に向けて可能な限り協力しなければならないと考えている。

(神戸植物防疫所 西俣 攻)

## (口絵解説)

## 花の病害虫 (18) ——ペゴニア——

日本では、シュウカイドウというより、ペゴニアの名で親しまれている植物であり、花壇や鉢花としてよく栽培されている。シュウカイドウ科 (Begoniaceae) はこれまでに約900種が知られており、シュウカイドウ属 (*Begonia*)、ヒルブランディア属 (*Hillebrandia*)、シンペゴニア属 (*Symbegonia*)、ペゴニエラ属 (*Begoniella*)、セミペゴニエラ属 (*Semibegoniella*) の5属からなる。しかし、シュウカイドウ属が主な属であり、他の4属は1属1種から数種の小さな属である。

花の美しさを主に楽しむ種類として、球根ペゴニア、ペゴニア・センパフローレンス、ペゴニア・エラチオールがあり、葉型や葉紋を主に観賞する種類として木立性ペゴニア、葉ペゴニア (レックス・ペゴニアともいう)、シュウカイドウが栽培されている。

病害としてはウイルス病、斑点細菌病、灰色かび病、茎腐病、さび病、白星病、炭そ病、うどんこ病、葉枯線虫病、茎線虫病、根腐線虫病、根こぶ線虫病などが知られているが、栽培上問題となっている病害は斑点細菌病、茎腐病、さび病、うどんこ病などである。

## 1 斑点細菌病

本病は *Xanthomonas campestris* pv. *begoniae* によって生じ、栽培されているほとんどのペゴニア類に発生するが、エラチオール種で被害が大きい傾向がある。病原菌は好気性で、大きさ  $1.0\sim 2.0\times 0.5\sim 0.6\ \mu\text{m}$  のグラム陰性、桿状細菌で、単極1本の鞭毛を有し、スライムや黄色色素を産生する。

初め葉縁や葉身に水浸状の小斑点を生じ、これは葉脈に沿って拡大し、葉脈間に囲まれた褐色の病斑となる。病斑部は黄色の鮮明なハローを伴い、裏面には菌泥の噴出がみられる。病勢が激しい場合には病徴は葉身から葉柄に進展し、やがて株全体が腐敗枯死する。病勢が軽い場合には病徴は斑点で停止するが、病原細菌が維管束内部に残存するため、挿し木繁殖する場合は、次年度の重要な伝染源となる。

第一次伝染は、用土、ベンチ、鉢、穂木などによって容易に行われる。また、発病株からは灌水や接触によって次々と伝染する。このため、本病が一度発生すると、毎年発生するようになり、完全に防除することは難しい。

防除は発病が認められない温室から穂木を導入し、病原菌を温室に持ち込まないことが最も重要である。発病が見られた場合には、病葉をよく取り除き、通風をよくするとともに薬剤を散布する。薬剤としてはストレプトマイシン・銅水和剤、オキシテトラサイクリン・ストレプトマイシン (アグリマイシン 100) 水和剤、ポリカーバメート水和剤などが有効との試験例がある。

## 2 茎腐病

本病は *Rhizoctonia solani* によって生じ、ほとんどのペゴニアに発生するが、木立性ペゴニアに発生すると被害が大きい傾向がある。病原菌は不完全菌類に属し、通常、胞子は作らず、菌糸と菌核で繁殖する。完全世代は担子菌類の *Thanatephorus cucumeris* である。きわめて多犯性の菌であり、多くの植物に病原性を示す。

初め地上部の茎に黒～黒褐色のややくぼんだ病斑を生ずるが、これはやがて拡大し茎を取り巻くように、乾腐状に表皮から内部に向かって腐敗する。このため、発病株は病斑部から折れやすくなる。また、葉や茎の分岐部に発生すると落葉や落花しやすくなる。

第一次伝染は用土、穂木などによって容易に行われるため、発病園では毎年決まって発生する。しかし、発病株からの伝染はほとんど行われない。

防除は無病穂を用いることは当然であるが、発病した場合、発病茎を病斑部の2～3 cm 上部から切り取り、その切り口にベノミル剤ペーストを塗布すると、ほとんどの場合病徴の進展は停止する。

## 3 さび病

本病は *Pucciniastrum boehmeriae* によって生じ、エラチオール種にのみ5～7月に発生する。病原菌は担子菌類の層生さび菌科に属し、ペゴニアの葉の裏面に夏胞子を形成する。

初め葉の表面に水浸状の赤褐色の小斑点を生ずるが、これは輪紋を描いて拡大し、黄色のハローを伴ったややくぼんだ円形褐色の病斑となる。やがて、病葉の裏面には赤褐色の夏胞子を多数形成する。病勢が軽い場合には円形の斑点で病徴は停止するが、病勢が激しい場合には病斑同士が融合し、病斑が葉全体を覆うようになると落葉するか枯死する。

本菌はイラクサ科カラムシ属のコアカソを中間宿主としてペゴニアに伝染するため、山沿いや山上げ栽培などで発生する。

(栃木県農業試験場 木嶋利男)

## 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(12)

# モモせん孔細菌病菌・カンキツかいよう病菌・ キウイフルーツかいよう病菌

福島県果樹試験場 お 尾 小  
農林水産省果樹試験場興津支場  
がた 形 いずみ 泉  
めい 銘  
ただし 正 さく 冊

## ——モモせん孔細菌病菌——

## は じ め に

モモでは、リングやナシなど他の果樹とは異なり、病害に対する品種の感受性に違いが認められないことが多い。ため、耐病性品種によって被害軽減を図ることは現状では難しい。モモに発生するせん孔細菌病は、産地を形成する上できわめて影響の大きい病害であり、本病を克服できなければ産地化は困難であるといってもよい。

モモせん孔細菌病の病原菌は *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* (SMITH) DYE であるとされていたが、高梨 (1985) はこのほかに *Erwinia nigrifluense* WILSON, STARR and BERGER と *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* VAN HALL の 2 種も病原性を有しており、区別し難い病徴を呈するとし、これら 3 種の病原細菌が関与すると報告している。また本病原細菌はモモだけではなく、他の核果類にも寄生し、モモ、ニホンスモモ、アンズが共通宿主になりうる。

本病は難防除病害であるといわれているが、この最大の理由は、本病に対して有効な防除薬剤がないことによる。本病の防除には開花前または収穫後にボルドー液や無機銅剤が使用されるが、これらは生育期には銅による薬害を生ずるため使用できない。このため生育期には硫酸亜鉛石灰液、ジチアノン剤、ジラム・チウラム剤、ストレプトマイシン剤 (SM)、テラマイシン剤 (TM) または SM と TM の混合剤に農薬登録があり使用される。なかでも本病原細菌に対する殺菌効果は、抗生物質である SM や TM が優れている。しかし、SM についてはモモせん孔細菌病で 1970 年代後半にはすでに耐性菌の存在が報告されており (1979)、福島果試の調査では、TM についても耐性菌と考えられる菌株の存在が認められている (1987) (図-1)。

Methods for Monitoring Fungicide Resistance—Peach bacterial shot-hole (*Xanthomonas campestris* pv. *pruni*), Citrus canker (*Xanthomonas campestris* pv. *citri*) and Bacterial canker of Kiwifruit (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*).  
By Tadashi OGATA and Meisaku KOIZUMI

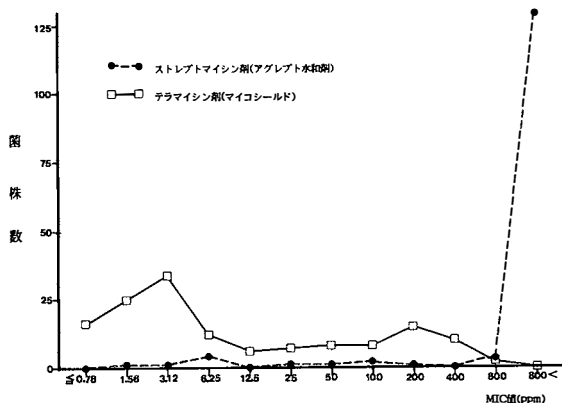


図-1 モモせん孔細菌病菌に対する抗生物質剤の MIC 値の頻度分布 (福島果試, 1987)

福島県においては SM による防除効果の低下が指摘されるとともに、1987 年、高頻度に耐性菌出現の実態が明らかになったため、その後、同薬剤を県の病害虫防除基準から削除した経緯がある。本病原細菌の抗生物質に対する感受性についてモニタリングした例は非常に少ないが、本稿では *in vitro* における抗生物質感受性の検定法について解説したい。

## I 検定用材料の調整

## 1 病原細菌のサンプリング法

モモせん孔細菌病は枝、葉及び果実に発生する。枝では春先から前年生育した越年枝上に形成される春型枝病斑と、生育中の新梢上に形成される夏型枝病斑がある。いずれからも病原細菌の分離は可能であるが、耐性菌分布のモニタリングのためには、新梢における罹病葉から採取するのが容易で、必要な菌株数も得られやすい。

## 2 病原細菌の分離方法

採取した罹病葉から分離する場合、材料はできるだけ被害初期の新鮮なものを供試する。また 1 葉から 1 病斑を原則として病斑部を切り取り、切片を 70% エタノールで数秒、2% アンチホルミン液で 2、3 分間表面殺菌、続いて殺菌水で十分洗浄し、ブドウ糖加用ジャガイモ寒天

培地 (PDA) 平板上に置き、25℃で培養して発育した菌叢の一部を PDA 斜面培地に移植する。

## II 薬剤感受性の検定方法

本病原細菌の薬剤に対する感受性を検定する方法としては、細菌の増殖を測定する方法は行われず、もっぱら対象薬剤の濃度を変えて、菌叢の生育状況によって最小生育阻止濃度 (MIC) を求める方法が用いられる。ここでは、固体培地希釈法 (画線塗抹法) と水平拡散法 (阻止円法) について解説したい。

### 1 検定培地と作製上の留意点

培地の組成と pH が薬剤感受性に及ぼす影響は大きいと考えられる。本病のように細菌が対象となる場合には pH 7 で薬剤感受性が高くなるので、特殊な場合を除いて pH 6.8~7.2 に調整する必要がある。モモセン孔細菌病菌の SM に対する耐性菌検定において、落合ら (1979) は PDA 培地を用い、高梨ら (1979) はトリプトソイブイオン (栄研) に寒天 2% を加用したものを用いている。このほか、日本化学療法学会では MIC 測定用として、Mueller-Hinton broth (Difco) が採用されている (1981)。一連の実験を継続している間は同一材料が使用可能である必要があり、試験時期を隔てて反復する場合には、同一製品の同一ロットの感受性検定用培地を使用することが、実験誤差を少なくする意味から重要である。

#### (1) 画線塗抹法

寒天平板の作製に当たって、供試薬剤を検定培地に加える場合は、培地の温度が 45~50℃前後のなるべく有効成分の分解等のない条件下で、最終濃度の 10 倍濃度の液を 9 倍量の培地に添加し、十分かくはんしてシャーレに流し込む。

#### (2) 阻止円法

この方法を用いる場合、平板は常に水平に保ち、種層の菌数を均一に保つ必要がある。検定用平板の厚さも 2 mm 程度になるよう一定にする。

### 2 供試薬剤と濃度

薬剤に対する感受性のみを検定する場合には、その薬剤の純品を殺菌水で所定濃度に溶解、希釈して用いるが、対象とする薬剤が水溶性とは限らないので、水中で懸濁が容易な製剤を用いたほうがよい場合もある。この場合には目的とする主成分だけでなく、副成分の影響も同時にみることになるので、成績書には供試薬剤の剤型について記載する必要がある。

供試濃度は有効成分で 100 ppm ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を最高として、2 倍段階希釈法により殺菌水で希釈して調整する。すなわち 100, 50, 25, 12.5, 6.25, ……と希釈し、対照と

して 0 ppm も必ず用意する。また 100 ppm 以上の濃度を使用する場合は、200, 400, 800, 1600 ppm とする。抗生物質のように力価として unit を用いる場合でも ppm を使用する。

### 3 検定方法

画線塗抹法と阻止円法のいずれを用いた場合にも、薬剤感受性に関する結果に違いがないが、3 回以上の反復試験が必要である。また、菌を分離培養後、長期間保存してある場合には、少なくとも 1 回以上継代培養し、培養直後の菌を使用する。

#### (1) 画線塗抹法

供試薬剤を所定の濃度に調整した検定用培地に、分離した菌株を白金耳にて画線塗抹するが、菌の突然変異の影響を少なくするために菌液は  $10^6/\text{ml}$  程度に調整するのが望ましい。細菌数の定量にはいろいろな方法が開発されているが、これに関する記述はここでは割愛させていただく。

標準のニクロム線ループ (内径 1 mm 前後) は市販されているが、 $10^6/\text{ml}$  の菌液をこの標準ループで 1 スポット接種した場合、約 2,000 個の細菌が接種されることになる。この場合 mutant の出現は極めて低い確率である。1 白金耳ずつ約 2 cm の長さに画線塗抹するが、1 枚のシャーレで 10 菌株程度は同時に画線塗抹が可能である。その後 25℃で 24~48 時間インキュベートし、菌叢の発育状況により MIC 値を求める。

#### (2) 阻止円法

本法は薬剤の抗菌力を定量化することに優れている。本法ではステンレス製円筒 (日本抗生物質学術協議会規格、外径 8 mm、内径 6 mm、高さ 10 mm) を用いるカップ法や、汙紙円盤 (市販の抗生物質検定用ペーパーディスク、直径 8 mm または 6 mm、厚さ 1.5 mm または 0.7 mm) を用いるペーパーディスク法などがある。いずれも同一平板内で薬剤間の比較を行うには便利な方法といえるが、1 シャーレで 1 菌株しか検定できない欠点がある。この中では後者のほうが実験操作が簡便であり、試料水溶液中の有機溶媒の高い濃度にも耐え得る利点がある (梅澤, 1955) ので、以後、ペーパーディスク法について説明する。

検定用培地に細菌浮遊液 ( $10^6/\text{ml}$ ) を 9:1 の割合で加えて、泡のできないように軽く振りながら均一に混ぜてシャーレに流し込み、厚さ 2 mm 程度の平板を作製する。一方、所定濃度になるように調整した各供試薬剤の液に数分間浸漬したペーパーディスクは、別の殺菌汙紙で余分な薬液を吸い取り、あらかじめ作製した検定用平板上に適当な間隔で置床し、25℃で 24~48 時間インキュ

ベートする。なお大量の試料を同時に検定する場合には、シャーレの代わりにバットなどを利用する場合もある。また SM について検定する場合には問題はないが、薬剤によっては検定用平板の寒天中における拡散が悪いために、阻止円形成に影響する場合がある。このような場合には平板を薄くしたり、場合によってはペーパーディスクを検定用平板に置床する直前に、メタノールあるいはジメチルスルホキシドとの 1:1 混合溶媒を 30~40  $\mu$ l シリンジで加えて、あらかじめ濾紙に吸着した試料を溶解させると感度が高まる (小林・小清水, 1981)。

#### 4 検定結果の判定と留意点

##### (1) 画線塗抹法

菌の発育が完全に阻止された最低濃度をもって MIC 値とする。シャーレ 1 枚当たりの集落が 5 個以内の場合、それらは変異菌 (Variant) であって、全体としては発育が阻止されたとみなしてもよい。しかし、小さな集落が多数認められる場合には、これらを耐性菌と判断する。

##### (2) 阻止円法

阻止円の形成の有無及び阻止円の大小や鮮明さによって薬剤感受性を判定する。阻止円は縦横 2 方向の直径を測定して平均値を求める。対象とする薬剤に対して感受性の菌であれば、感受性の程度に比例して大きな阻止円が形成され、耐性菌であれば阻止円は形成されない。

#### 引 用 文 献

- 1) Chemotherapy (1981): 29 (1): 76~79.
- 2) 小林昭雄, 小清水弘一 (1981): 農薬実験法 (殺菌剤編) ソフトサイエンス社: 394.
- 3) 落合政文ら (1979): 昭和 53 年度落葉果樹に関する試験研究打ち合わせ会議資料: 176~177.
- 4) 桜井 寿 (1975): 植物防疫 29 (5): 206~212.
- 5) 昭和 62 年度福島県果樹試験場業務報告 (1987): 150~151.
- 6) 高梨和雄 (1985): 植物防疫 39 (2): 57~60.
- 7) ———ら (1979): 昭和 53 年度落葉果樹に関する試験研究打ち合わせ会議資料: 180~181.
- 8) 梅澤純夫 (1955): 抗菌性物質, 培風館: 178.

(尾形 正)

### ——カンキツかいよう病菌・ キウイフルーツかいよう病菌——

#### は じ め に

カンキツかいよう病は *Xanthomonas campestris* pv. *citri* によって起こり、その防除には無機銅剤が使われている。我が国ではストレプトマイシン剤及びカスガマイシン銅製剤も使われる。無機銅剤については現在まで、効果の減退は認められていない。ストレプトマイシンの

場合、1 年に 3 回ずつ連用した園で、2 年目、通算 6 回散布後に耐性菌の比率が増加した。しかし、3 年目でも防除効果の減退は明らかではなかった (小泉・山田, 1972)。1979 年、長崎県下 3 か所から病原菌を分離してストレプトマイシン及びオキシテトラサイクリン感受性を調べた結果、ストレプトマイシン常用地区から同薬剤に強い耐性を示す分離株が見いだされた (小泉, 未発表)。

キウイフルーツかいよう病は *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* によって起こる。防除にはカンキツかいよう病とほぼ同様な薬剤が用いられているが、主な被害部位が枝幹部であることから、抗生物質の主幹部注入も行われた。ストレプトマイシン及びカスガマイシン処理区から採取した菌株の中には、それぞれに対する耐性菌が認められた (牛山, 1993)。一方、本菌には銅剤に対して耐性を示す系統もあり、その性質はプラスミド依存性であることが明らかにされた (後藤・藤田, 1992)。

植物病原細菌の中では、アメリカやメキシコでトウガラシやトマトの斑点病を起こす *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* が、銅剤及びストレプトマイシン剤に対して耐性を発達させ、問題になっている (RICHIE and DITTAPONGPITCH, 1991)。また、これら耐性に関する遺伝子はプラスミドにコードされている。したがって、わが国においても銅剤の連用によって圃場において耐性の発達する可能性がある。

#### I 病原細菌の分離、培養、保存

##### 1 カンキツかいよう病菌

培地: *Xanthomonas* 属細菌の培養には GYCA 培地 (1% (W/V) D-glucose, 0.5% 酵母エキス, 3% CaCO<sub>3</sub>, 2% 寒天) が最も広く使われている。ほかに、GPPYA 培地 (1% D-glucose, 0.5% proteose peptone, 0.5% 酵母エキス, 2% 寒天) や、SPA 培地 (2% sucrose, 0.5% proteose peptone, 0.05% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.025% MgSO<sub>4</sub>, 1.5% 寒天) 等も用いられる。いずれも pH は 7.0 に調整する。

分離法: 分離に用いる組織は、できるだけ新鮮な病斑が望ましい。古い病斑には雑菌が多いため、病原細菌を分離するのは難しい。古い病組織を使う場合、少量の滅菌水とともに磨砕後、ナツミカンの新葉などに穿刺接種し、あるいは懸濁液の上清を取って着生葉に葉肉注射接種し、1~2 週間後に形成された新しい病組織から分離するほうがよい。

このような病斑の水浸状部分を切り取り、少量の滅菌水とともに乳鉢で磨砕、滅菌水で段階希釈する。ペトリ皿中の GYCA 平面培地に 1 滴置き、滅菌したガラス棒

で拡げた後、28°Cに保つ。培養3日後に観察し、小型、単生のコロニーで黄色色素を産生、多糖質で表面が平滑・凸面、周縁も平滑なものを選び、白金線でかき取って斜面培地に画線する。1試料から少なくとも3コロニーを選び分離株を得る。

**病原性の確認：**斜面培地より1白金耳かき取り、生理食塩水またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）に懸濁する。ナツミカン（オレンジでもよい、ただしウンシュウミカンは不可）の新葉（発芽後約1か月）を葉柄を付けて切り取り、針で穿刺した後に先の懸濁液を脱脂綿で塗り、温室中で葉柄を水に漬け、全体をポリエチレン袋で覆って28°Cの暗黒条件に保つ。病原菌の場合には5～6日目ごろから接種部が白く盛り上がり、透過光でみると傷の周辺部に鮮明な輪郭を持った病変組織が認められる。

**保存：**常時使う場合には、斜面培地を5°Cの冷蔵庫に保ち、月1回、新しい培地に移植すればよい。長期保存には、真空凍結乾燥か乾燥がよい。流動パラフィンで封入したものは、病原性の変異が起こりやすい。

## 2 キウイフルーツかいよう病菌

**培地：***Pseudomonas* 属細菌の分離には緑色蛍光色素の産生を調べるためにキングB培地が用いられるが、キウイフルーツかいよう病菌には本色色素を産生しないものがあるため、普通寒天培地（0.5%肉エキス、1%proteose peptone、0.25%NaCl、1%glucose、1.5%寒天、pH7.0）でよい。牛山（1993）はPPGA（ジャガイモ・ペプトン・グルコース・寒天）培地を用いた。

**分離法：**春先、2月ごろに枝幹部の皮目、枝分岐部あるいは切り口から溢出する白濁菌液を直接採取し、滅菌水で段階希釈して平板培地に塗り付け、培養する。溢液が褐色になった場合には雑菌が多く、分離は難しい。枝幹部から直接分離するには、病組織の皮層部を切り取り、ベトリ皿中で軽くエタノールで表面消毒する。葉の病斑は、径2～3mmで不整形、褐色斑点で周囲に黄色のかさを持った新鮮な病斑を選び、エタノールで軽く表面消毒する。これらの小片を少量の滅菌水中で磨砕、その1白金耳を取って前記と同様、平板培地に塗り付け、培養する。培養温度は15～25°Cとし、24～48時間後にコロニーを観察、単生、白色で多糖質、表面が凸面で平滑、周縁が丸く平滑なものを選び、白金耳でかき取って斜面培地取る。1試料から少なくとも3集落ずつ分離株を得る。病原細菌の長期保存は真空凍結乾燥か乾燥で行う。

**病原性の確認：**培養24～48時間の新鮮な細菌を生理食塩水またはリン酸緩衝生理食塩水に懸濁（コロニー形成数（cfu）で $10^8$ /ml）、あらかじめ用意したキウイフルーツ実生苗の若葉に針で穿刺し、懸濁液を滴下、2個のゴ

ム栓で滴下部分を軽く圧迫して接種後、48時間、ポリエチレン袋で覆い、ガラス室内に保つ。発病適温は15°C、発病限界温度は28°Cである。適温では7日後に発病する。

## II 感受性検定法

### 1 生育阻止円法

滅菌ベトリ皿中にそれぞれ前記の寒天培地10mlを流し込み、固化させる。次いで培養24～48時間の新鮮な病原細菌懸濁液（滅菌水で $1 \times 10^8$ cfu/mlに調整：分光光度計を用い波長540nm光の透過率70%がほぼ、これにあたる）0.1mlを平面培地に滴下、滅菌ガラス棒で培地一面に拡げ、表面を乾かす。

供試薬剤はあらかじめ滅菌水で1,000ないし1,500mg/lに溶解する。完全に溶けない場合には適当な溶媒を用いて溶かす。銅剤ではpHを7.0以下にすれば溶ける。完全に溶けたら滅菌水で段階希釈する。検定用汚紙円板（直径1.27cm）に希釈液0.1mlを吸収させ、風乾する。1枚の平板培地に3枚ずつ、先に用意した薬剤吸着汚紙円板を置き、ガラス棒で表面をよく押さえる。そして、培養適温に2日間保ち、円板の周囲に現れた阻止円の直径を測定する。対照には薬剤を含まない滅菌水を用いる。

### 2 殺菌率調査法

滅菌試験管中に供試薬剤の滅菌水による段階希釈液を作る。一方、培養24～48時間の病原細菌懸濁液（ $1 \times 10^8$ cfu/ml）を用意する。滅菌試験管に薬剤希釈液を1ml、細菌懸濁液を1ml取り、混合する。対照には滅菌水を用いる。室温で2時間保った後、あらかじめ用意したベトリ皿中の平板培地に前記混合液0.1mlを滴下し、培地全面に拡げて培養適温に保つ。各区少なくとも3反復とする。2日後、培地に形成されたコロニー数を計数する。この方法では耐性菌と感受性菌の比率がわかる。

カンキツかいよう病菌の場合、この混合液をナツミカン切り取り葉に穿刺接種し、その発病率から生存している病原細菌数を算出して耐性菌の濃度を推定した（小泉、1972）。

### 3 留意点

薬剤耐性を示した菌株は、再度、病原性を調べておく。

## 参 考 文 献

- 1) 後藤正夫・藤田陽子（1992）：日植病報 58：103～104（講要）。
- 2) 小泉銘冊・山田峻一（1972）：園試報 B 12：245～256。
- 3) RITCHIE, D. F. and V. DITTAPONGPITCH（1991）：Plant Dis. 75：733～736。
- 4) 牛山欽司（1993）：神奈川県園試報 43：1～73。

（小泉銘冊）

## 学 界 だ よ り

### ○第 11 回農業環境動態研究会の開催について

(テーマ：環境における農薬の分解と微生物の活用)

日 時：平成 6 年 9 月 8 日(木) 10:00～17:00

場 所：農業環境技術研究所大会議室 (2F)

(プログラム)

- 1) 農薬の環境動態研究の展望  
(日本農薬)内田又左衛門氏
- 2) 農薬に係わる環境基準等の設定の考え方と動向  
(環境庁水質保全局)早川泰弘氏
- 3) 土壌中における農薬分解 (農環研)上路雅子氏
- 4) 土壌微生物による合成有機化合物の分解  
(農環研)木村龍介氏
- 5) 微生物における農薬分解遺伝子利用  
(草地試)早津雅仁氏
- 6) 分解微生物の集積と土壌中での挙動  
(東大農)妹尾啓史氏  
(山口大農)西山雅也氏
- 7) 環境負荷物質の除去技術の現状と展望

(東洋電化工業)熊谷有美子氏・(東大農)松本 聡氏

問い合わせ先：

農業環境技術研究所資材動態部農薬動態科 浜 弘司氏

〒305 つくば市観音台 3-1-1

Tel 0298-38-8323 Fax 0298-38-8199

### ○第 14 回日本農薬学会農薬製剤・施用法研究会の開催

日 時：平成 6 年 10 月 27 日(木)～28 日(金)

場 所：ホテルレークビワ

〒524-01 滋賀県守山市琵琶湖大橋東畔

Tel 0775-85-2522 JR 琵琶湖線 守山駅より

近江バス(20分)

プログラム

10月27日(木) 13:00～17:30

[特別講演]

「Chemistry, Model Formulations, Mode of Action and Applications of Surfactants — Fatty amine based surfactants —」

Robert J. Butselaar (AKZO)

[パネルディスカッション]

防除作業を主とした農業の実態

・農業実務者の立場から

(南桜農業生産組合)南井 潔氏

・滋賀県における防除作業の現状と問題点

(滋賀県農業試験場栽培部)山下勝男氏

・今後の水田機械防除の展望

(生研機構農業機械化研究所)戸崎紘一氏

[フォーラム]

外国関係学会等についての報告

10月28日(金) 8:30～16:00

[研究技術発表]

講演時間 15～20分, 討論 10分

[見学会]

滋賀県農業試験場

## 協 会 だ よ り

### ○生物農薬の開発・利用に関するシンポジウムの開催

日 時：平成 6 年 9 月 6 日(火)～7 日(水)

場 所：東京「農協ホール」(農協ビル内)

主 催：日本植物防疫協会

(1日目)

○開会(10:00～)

1. 基調講演 (10:15～11:00) (農環研)岡田斉夫氏

2. 総論

1) 国際動向 (座長：梶原敏宏氏) (11:00～)

生物農薬の開発・利用に関する国際動向

(SDS バイオテック)二口欣也氏

2) 国内行政 (座長：岡田斉夫氏) (13:00～)

わが国における生物農薬の開発・利用促進の方向

農林水産省植物防疫課

3) 安全性評価 (座長：八重樫博志氏) (13:40～)

ア) 生物農薬の安全性評価の考え方

(東京農工大)岩花秀典氏

イ) 日和見感染について

(国立衛生試験所)三瀬勝利氏

4) わが国で生物農薬の開発が期待される病害虫防除場

面(座長：稲葉忠興氏) (15:00～17:00)

a) 普通作物

ア) 病害防除分野 (北農試)本間善久氏

イ) 虫害防除分野 (農研センター)平井一男氏

b) 野菜

ア) 病害防除分野 (野茶試久留米)小林紀彦氏

イ) 虫害防除分野

(野茶試)浜村徹三氏

c) 果樹

ア) 病害防除分野

(果樹試)工藤 晟氏

イ) 虫害防除分野

(果樹試)高木一夫氏

(2日目)

3. 各論

1) 天敵昆虫製剤の開発と利用 (9:30～)

○パネルディスカッション(座長：松井正春・志賀正和氏)

○パネラー(話題提供)

①和田哲夫氏(トーマン), ②西野 操氏(トモノアグリカ), ③中尾弘志氏(道立上川農試), ④田中 寛氏(大阪農技セ), ⑤根本 久氏(埼玉園試), ⑥広瀬義躬氏(九州大学), ⑦矢野栄二氏(農環研)

2) 微生物製剤の開発と利用 (座長：岡田斉夫・小川

奎氏) (14:00～)

ア) バイオセーフ等の開発と利用, 今後の可能性等

(SDS バイオテック)木下正次氏

イ) 非病原性 *Erwinia carotovora* の開発

(セントラル硝子)高原吉幸氏

ウ) 非病原性 *Pseudomonas graminis* の開発

(日本たばこ)相澤 正氏

エ) *Verticillium Lecanii* の開発

(トーマン)脇田鎮夫氏

総合討論(16:30～16:55)

○閉会(16:55～17:00)

○参加費：一般 2,000 円

○問い合わせ先：社団法人日本植物防疫協会試験事業部

## 新しく登録された農薬 (6.6.1~6.6.30)

掲載は、種類名、有効成分及び含有量、商品名(登録年月日)、登録番号(製造業者又は輸入業者名)、対象作物：対象病害虫：使用時期及び回数など(…日…回は、収穫何日前何回以内散布の略)。(登録番号 18740~18756 までの 17 件、有効登録件数は 5822 件)

## 「殺虫剤」

## デリス粉剤

デリス 0.50%

散粉デリス (6.6.22)

18742 (アグロス)

野菜：ウリハムシ・ヨトウムシ・サルハムシ類・アブラムシ類・スリップス類：散布、あぶらな科野菜・花卉類：アオムシ・キスジノミハムシ・アブラムシ類：散布、水稻(苗代期)：ユリミミズ：散布

## BT 水和剤

BT10.0%

ダイポール水和剤 (6.6.22)

18743 (日本農薬), 18744 (アグロス), 18745 (ダイナボット)

あぶらな科野菜：アオムシ・コナガ：発生初期(ただし、収穫 7 日前まで)：4 回以内：散布、さくら・プラタナス：アメリカシロヒトリ：発生初期：6 回以内：散布、りんご：ヒメシロモドキガ：発生初期(ただし、収穫 7 日前まで)：4 回以内：散布

## 除虫菊乳剤

除虫菊 0.1%

バラギクパニック (6.6.22)

18746 (トモノアグリカ)

きく・ばら：アブラムシ類：散布

## アセフェート・MEP 乳剤

アセフェート 5.0%, MEP 5.0%

オルチオン乳剤 (6.6.22)

18747 (北興化学)

きく・ばら：アブラムシ類：発生初期：5 回以内：散布、さくら：アメリカシロヒトリ：発生初期：5 回以内：散布、つばき：チャドクガ：発生初期：5 回以内：散布

## エトフェンブロックス・チオジカルブ水和剤

エトフェンブロックス 10.0%, チオジカルブ 25.0%

デタピラー水和剤 (6.6.22)

18748 (トモノアグリカ), 18749 (ローヌ・プーランアグロ)

てんさい：ヨトウムシ：30 日 3 回

## ビフェントリンくん煙剤

ビフェントリン 2.0%

テルスターくん煙剤 (6.6.28)

18753 (日産化学), 18754 (アグロ・カネショウ)

メロン：アブラムシ類・ハダニ類：収穫前日まで：4 回以内：くん煙

## 「殺菌剤」

ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル・マンネブ水和剤

ジエトフェンカルブ 5.0%, チオファネートメチル 20.0%, マンネブ 50.0%

ベルヒット水和剤 (6.6.22)

18740 (日本曹達), 18741 (クミアイ化学)

みかん：灰色かび病・黒点病・そうか病・小黒点病・ミカンサビダニ：60 日 2 回

## フルアジナム水和剤

フルアジナム 39.5%

フロンサイド SC (6.6.28)

18750 (石原産業), 18751 (日本曹達), 18752 (北海三共)

かんきつ：そうか病・灰色かび病・ミカンハダニ：30 日 2 回、りんご：斑点落葉病：45 日 5 回、なし：黒斑病・黒星病・輪紋病：30 日 5 回、もも：灰星病：7 日 4 回、ぶどう：晩腐病・黒とう病・べと病・灰色かび病・枝膨病：開花直前~落弁期：3 回以内：散布

## フェリムゾン・フサライド水和剤

フェリムゾン 20.0%, フサライド 15.0%

ブラシンゾル (6.6.28)

18755 (北興化学), 18756 (武田薬品)

稲：いもち病：収穫 21 日前まで：2 回以内：空中散布

## 新刊紹介

## 「農業科学用語辞典」

尖戸 孝・武田明治・戸部満寿夫・丸茂晋吾・  
丸山正生 編集

A 5 版, 374 頁, 定価 7,500 円 (〒380 円)

日本植物防疫協会 1994 年発行

農業科学は正に境界領域の科学ということができよう。このため、農業に関連する分野の科学・技術は極めて多岐にわたっている。しかも、近年における科学・技術の発展には目をみはるものがあり、農業の分野においても、新農薬の創製・開発、バイオテクノロジーの導入、環境問題への対応など、関連する科学・技術の進歩は日進月歩の状況にある。したがって、農薬の関係者には、関連用語に対する幅広い、しかも正しい知識と理解がますます必要となってきた。

「農業科学用語辞典」は、このようなニーズに応じて刊行さ

れたものということができよう。前身である「農業用語辞典」の初版が出版されたのが 1974 年である。その後、1984 年に改訂されたが、それから既に 10 年が経過している。掲載用語数も初版では 600 弱、改訂版では 700 語余りであったが、「農業科学用語辞典」では 2500 語余りが掲載されるなど、大幅に拡充されている。また、用語の解説も前版までに比べはるかに詳しく充実したものになっている。

内容的には、農薬の特性、製剤、施用法、安全性、病害虫・雑草防除などに関連する重要用語が選択され、適切な解説とこれに対応する英語が記載され活用の幅を広げている。さらに、付録として、農薬の形態分類・規格、農薬開発のプロセス及び基準値、農薬使用に係わる各種単位とその換算表、国内外の主な農薬関係機関の名称など、また、巻末には英語索引が掲載されているなど実用性、利便性の面にも充分配慮されている。

農薬の研究者をはじめ作物保護の関係者、環境分野の関係者とはもとより、これから農業を学ぶ人にとっても、必携・座右の書ということができよう。

(村井敏信)

## ○出版部より

## 発生調査用フェロモン剤の幹旋品目追加について

当協会出版部が行っております発生予察用性フェロモン剤の幹旋は、利用者の便を考え順次取り扱い品目の増加を図っているところですが、このたび、株式会社ジェイティアグリリスのご協力により、貯蔵食品害虫の発生源調査用フェロモントラップにつきましても取り扱うこととなりましたので、お知らせいたします。

今回の追加品目を加えて 27 種類の害虫（類）の誘引

剤（フェロモン剤以外を含む）と 15 種類のトラップ器材を幹旋することとなりましたので、ご活用下さい。

なお、今回追加したものの資料が必要な方は、下記出版部までご一報下さい。

〒170 東京都豊島区駒込 1-43-11 TEL (03) 3944-1561

社団法人 日本植物防疫協会 FAX (03) 3944-2103

## 貯蔵食品害虫の発生調査用資材の追加品目・販売価格・内容一覧

| 対象害虫名                                             | 販売価格     | 商品名    | 1 箱 の 内 容                              |
|---------------------------------------------------|----------|--------|----------------------------------------|
| タバコシバンムシ                                          | 7,600 円  | ニューセリコ | フェロモン 10 個 (5 週間), 食誘剤 10 個, トラップ 10 枚 |
| ジンサンシバンムシ                                         | 9,000 円  | フジ 87  | フェロモン 10 個 (5 週間), 壁掛型トラップ 10 枚        |
| コクヌストモドキ<br>ヒラタコクヌストモドキ                           | 15,000 円 | トリボ    | 集合フェロモン 10 個 (6 週間), 床置型トラップ 10 枚      |
| ノシメダグラメイガ<br>スジマダグラメイガ<br>スジコナダグラメイガ<br>チャマダグラメイガ | 9,200 円  | ガチョン   | フェロモン 10 個 (7 週間), 壁掛型トラップ 10 枚        |

## 主 な 次 号 予 告

次 9 月号は、下記原稿を掲載する予定です。

## 特集：発生予察とシミュレーション

発生予察のためのシミュレーションモデルをめぐる

鈴木芳人

虫媒性ウイルス病の疫学におけるシミュレーション

宮井俊一

シミュレーションモデルの発生予察への利用と今

後の展望

宮下武則

水稻生育モデルの害虫被害予測への応用

渡邊朋也

## 防除技術・農薬登録データベースの構築と用語管理

松尾一穂

いもち病菌の生成する感染誘導因子

荒瀬 栄

いもち病の大発生年のはどの年なのか

小野小三郎

低魚毒性含ケイ素ピレスロイドの殺虫活性

大塚俊一

(リレー随筆) 植物検疫の現場から (3)

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 (13)

——ナシ黒斑病菌・リンゴ斑点落葉病菌——

渡辺博行・浅利正義・石井英夫

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

## 植 物 防 疫

第 48 卷 平成 6 年 7 月 25 日印刷

第 8 号 平成 6 年 8 月 1 日発行

平成 6 年

8 月 号

(毎月 1 回 1 日発行)

＝ 禁 転 載 ＝

編 集 人 植物防疫編集委員会

発 行 人 岩 本 毅

印 刷 所 三 美 印 刷 (株)

東京都荒川区西日暮里 5-9-8

定価 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  
社団法人 日本植物防疫協会

電 話・東京 (03) 3944-1561～6 番  
FAX (03) 3944-2103 番  
振 替 0 0 1 1 0 - 7 - 1 7 7 8 6 7

# 広範囲の作物の病害虫防除に… 農作物を守る! 日曹の農薬

○落葉果樹の病害防除に  
**ブルーグ**  
●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  
**クサカットソル**  
—茎葉兼土壌処理除草剤—

○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  
**ホマイコト**  
○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  
**アリエッティボルドー**  
○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**

○芝・たばこ・花の病害防除に  
**プレピクル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**

※ハウスの省力防除に  
日曹のくん煙剤  
—殺菌剤—  
**トリフミンジェット**  
—殺虫剤—  
**ロニランジェット**  
—殺菌剤—  
**マブリックジェット**  
**ニッソランVジェット**

★イネ科雑草の除草に  
**ナブ**  
—生育期処理  
除草剤—  
★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

## 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<br>スパークスター粒剤/フジガラス粒剤/ペルーフ粒剤<br>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/ブリグロックス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/アクテリック乳剤/サイハロン水和剤<br>サイハロン乳剤/ビリーブ水和剤/ピリマー水和剤<br>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<br>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/イネピタン粒剤                                                         |
| ■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

ciba

# 化学の開発が未来を語りはじめる



## 水稲殺菌剤

- 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®モンカット®粉剤

## 畑作殺菌剤

- チルト®乳剤25
- ブランドム®乳剤25

## 水稲除草剤

- 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

- デュアール®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

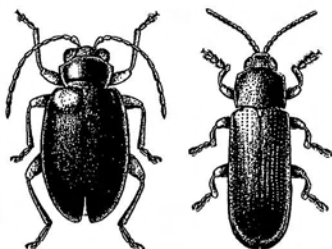
- エンセダン®乳剤
- スプラサイド®乳剤・水和剤
- エイカロール®乳剤
- ダイアジノン®乳剤・粒剤・水和剤

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

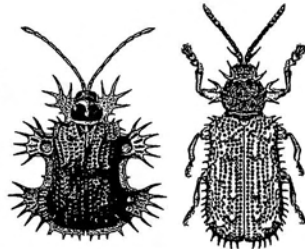
®=登録商標

# 日本産ハムシ類<sup>幼虫</sup><sub>成虫</sub>分類図説



木元新作・滝沢春雄著

世界各地におよそ5万種が分布するといわれるハムシ科は、幼虫・成虫ともすべて食植性で、植物の葉・茎・根を外部から、または内部に侵入し食害する害虫として知られている。本書は、日本に生息するハムシ科、成虫163属・562種、幼虫96属・187種を検索・分類し解説。B5判/556頁/定価22,660円



## 日本産カミキリムシ検索図説

大林延夫・佐藤正孝・小島圭三編 898種(含亜種)の図解検索。解説は各専門家による分担執筆。 ●定価18540円

## 日本産トンボ<sup>幼虫</sup><sub>成虫</sub>検索図説

石田昇三・石田勝義・小島圭三・杉村光俊著 はじめての絵とき検索図鑑。カラー生態写真390枚。 ●定価13390円

## 日本産土壌動物検索図説

青木淳一編 7門14綱164目604科におよぶ日本産の土壌動物を初めて収録。分類研究者32名他執筆。 ●定価15450円

東海大学出版会

東京都渋谷区富ヶ谷2-28-4 〒151 ☆内容見本呈 Tel.03(5478)0891 Fax.03(5478)0870

# “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

正確・迅速をモットーに  
時代のニーズにお応えします。

## 業 務 内 容

### ●依頼分析

植栽地、緑地-----植栽地土壌、客土の物理性、化学性分析  
考古学分野-----遺跡土壌などの化学分析  
農耕地・その他の土壌---土壌の物理性、化学性分析  
植物体分析-----植物体の無機成分分析  
肥料分析-----植物質、動物質、無機質肥料の分析  
土壌汚染-----土壌汚染物質の分析  
その他、水質、産業廃棄物の分析は、その都度ご相談に応じます。

### ●土壌調査および植生テスト

依頼分析のための土壌調査、採取、および活性汚泥、産業廃棄物に係わる植生テストなどもご相談に応じます。

バリノ・サーヴェイ株式会社

地質調査業者 質 80-982  
計量証明事業 群馬県 環 第17号

本 社 〒103 東京都中央区日本橋室町2-1-1三井ビル  
TEL 03(3241)4566 FAX 03(3241)4597  
研究所 〒375 群馬県藤岡市岡之郷戸崎559-3  
TEL 0274(42)8129 FAX 0274(42)7950

# 天敵微生物の研究手法

岡田斉夫 編者代表

B5判 222 ページ

定価 3000 円(本体 2,913 円)(送料 140 円)

近年、環境保全型農業の推進が謳われ、環境に対し負荷の少ない病害虫の防除技術がもてめられている。とりわけ、生態系がもつ病害虫の制御力を活用した病害虫管理技術の開発の重要性が指摘されている。このような病害虫管理技術の中で、天敵微生物を利用した防除法は、BT 剤の開発、実用化の成功以来、特に注目を浴びている。すでに農林水産省植物防疫課では、病害虫総合制御技術推進特別対策事業、ならびに防除多様化推進事業の一環として「天敵生物利用円滑化推進事業」を開始し、天敵生物の大量生産、製剤化などのための技術開発を推進しつつある。

このような情勢に鑑み、天敵生物のうち、将来とくに重要な役割を演ずると期待されている「天敵微生物」について実用化のための試験研究手法について、これまで研究に携わってきた第一線の研究者に依頼して解説していただき、雑誌「植物防疫」の特別増刊号として刊行することとした。

本書によって天敵微生物の実用化試験が推進され、環境負荷の少ないすぐれた多くの防除剤の開発に役立てば幸いである。

(本書「刊行によせて」より)

## も く じ

### I 基本操作

1. 天敵微生物実験上の基本的注意
2. 微生物実験室及び設備
3. 実験室内汚染の予防と対策
4. 天敵微生物実験安全対策

### II 病因診断・天敵微生物の採集

1. 昆虫病の原因と分類
2. 病因診断
3. 天敵微生物の採集

### III 天敵微生物の分離・培養・保存法

1. 天敵ウイルス
2. 天敵細菌
3. 天敵糸状菌
4. 天敵原虫

### IV 天敵微生物の同定法

1. 天敵ウイルス
2. 天敵細菌
3. 天敵糸状菌
4. 天敵微胞子虫

### V 天敵微生物の力価検定試験法

1. 天敵微生物の濃度決定法
2. 生物検定法
3. 生物検定に影響を及ぼす要因
4. データの解析

### VI 天敵微生物の安全性試験法

1. 欧米各国における安全性の評価法
2. 安全性試験の実際

### VII 天敵微生物の大量増殖方法

1. 天敵ウイルス
2. 天敵糸状菌
3. 天敵微胞子虫

### VIII 天敵微生物の野外試験方法

1. 試験設計
2. ポット試験方法
3. 圃場網箱及び枠試験方法
4. 圃場試験方法
5. 個別試験例

### IX 共通基礎実験手法

1. 天敵細菌 *Bacillus thuringiensis*
2. 天敵ウイルス
3. 天敵糸状菌
4. *Bacillus thuringiensis* の血清学的手法によるタイピング

### X 日本産昆虫の天敵微生物目録

1. 日本産昆虫のウイルス病
2. 日本産昆虫の細菌病
3. 日本産昆虫の糸状菌病
4. 日本産昆虫の原生動物病

上記図書のお申し込みは、直接本会（下記）までお申し付け下さい。

社団法人 日本植物防疫協会 出版部

〒170 東京都豊島区駒込 1-43-11

TEL (03) 3944-1561 FAX (03) 3944-2103 00110-7-177867

振替



除草剤は  
長く効くのがいい

除草剤は  
速く効くのがいい

両方  
のいいところ  
が  
ある




**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・シェーリング・アグレボ社の登録商標

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・シェーリング・アグレボ株式会社 〒107 東京都港区赤坂4-10-33 ☎03(3585)9539

日本植物防疫協会 発行

# 性フェロモン剤等使用の手引



性フェロモン剤等  
使用の手引

1993

**内容 ◆性フェロモンとその利用法**

**◆発生予察 ◆交信かく乱**

**◆大量誘殺**

害虫の発生予察用に広く利用されている性フェロモン剤を、初めて使用される方を対象に編集した手引書です。性フェロモン剤の基礎的知識を得る参考書として、現場におけるマニュアルとして平易に解説されております。また、旧版では取り上げていなかった防除用の性フェロモン剤についても、交信かく乱・大量誘殺に分けて各製剤ごとに解説してあります。

B5判 86ページ(カラー4ページ)  
定価 1,800円(本体1,748円) 送料 310円

〈お申し込みは前金(現金書留・郵便振替・小為替など)で本会まで〉

★ 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ルバリデット(英国)の登録商標

「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

- 少量散布は100倍液が基本
- 少量散布の噴角の目安は100度
- 少量散布は葉にボツボツと付けばOK
- 少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

豊かさかなえて、10周年。

10  
MONCUT



自然と、



安心。

紋枯病に浸透移行…… 確かな効果。

**モンカット®**



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<br>六年<br>七月<br>二十五<br>日 | 印刷<br>（植物<br>防疫<br>第四<br>十八<br>卷第<br>八号<br>） | 印<br>刷<br>（每<br>月一<br>回一<br>日發<br>行） | 第三<br>種郵<br>便物<br>認可 | 昭和<br>二十四<br>年九月<br>九日 |
|----------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|------------------------|

## ■ 野菜・果樹・花・花木の灰色かび病やうどんこ病、つる枯病に

**ポリベリン®水和剤**

- 新複合殺菌剤。
- 耐性菌の灰色かび病  
つる枯病、うどんこ病  
に卓効。
- 安定した防除効果。
- よごれや、薬害も  
ほとんどない。
- 人畜・魚類に毒性低く  
安心使用。



◎資料御請求は、下記のところに御連絡ください。



JAグループ

農



## 經濟連

それは、私に教えた



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 電話：03-3822-5131

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**

(エトフェンブロックス 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**

(エトフェンブロックス 1.5%)

水稻をはじめ幅広い作物の害虫防除に

**トレボン<sup>®</sup> 乳剤**

(エトフェンブロックス 20%)

柿をはじめ果樹の害虫防除に

**トレボン®** 水和剤

(エトフェンブロックス 20%)

## ウンカ・カメムシ防除に空散用殺虫剤

**トレボンエアー**

(エトフェンブロックス 10%)

## 水稻害虫防除に省力的な滴下式殺虫剤

**トレボンサーフ**

(エトフェンブロックス 4.0%)

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<sup>®</sup>は、広範囲の害虫に優れた効き目を發揮します。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。

自然にやさしい殺虫剤

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。

定価 八〇〇円(本体七七七円)(送料七六円)