

**Plant Species** ジャガイモ粉状そうか病菌 (*Spongospora subterranea*, 以下 Ss) ならびにジャガイモモップトップウイルス (PMTV) の宿主範囲に関する知見を得るため、塊茎褐色輪紋病発生現地圃場土を用いた水耕培養試験に 14 科 35 属 46 種の植物を供試し、最長 16 日間、18°C で培養後、それらの根部から PCR 法または RT-PCR 法により Ss または PMTV の検出を行った。Ss は供試したナス科植物 13 種類の全てから検出されたほか、アカザ科 1 種 (シロザ)、アブラナ科 6 種 (カラシナ等)、イネ科 4 種 (エンバク等)、キク科 1 種 (ゴボウ)、シナノキ科 1 種 (モロヘイヤ)、タデ科 3 種 (ソバカズラ等)、ヒユ科 2 種 (イヌビユ等) ならびにユリ科 1 種 (タマネギ) から検出された。一方、PMTV はイヌホオズキ類を含む供試したナス科植物 13 種類の全てから検出されたほか、モロヘイヤからも検出された。北海道の畑地に生育する主な雑草 8 科 14 属 17 種のうちでは、ナス科のイヌホオズキ、ヨウシュチョウセンアサガオから PMTV が検出された。

(北農研・\* 中央農研)

(13) 三澤知央・栢森美如\*・堀田治邦\*\* *Colletotrichum acutatum* による萎凋性のイチゴ炭疽病の発生  
Misawa, T., Kayamori, M. and Horita, H.: Occurrence of Anthracnose Crown Rot of Strawberry Caused by *Colletotrichum acutatum* 2006 年 6 月、北海道松山支庁管内上ノ国町のイチゴ苗「けんたろう」でクラウンが外側から褐変し、株が萎凋する症状が発生した。病変部からは単一の糸状菌が分離され、分離菌を接種したところ病徴が再現され、接種菌が再分離された。分離菌の菌叢は、PDA 培地上ではじめ白色のち赤みを帯び、分生子層に剛毛を形成しなかった。菌糸の生育適温は 20–30°C で、25°C・5 日間培養した菌叢直径は 31.3 mm と菌糸の生育速度は遅かった。分生子は両端が尖った紡錘形で、大きさは平均  $11.6 \times 4.0 \mu\text{m}$ 。附着器は楕円形・棍棒状で凹凸はなく、大きさは平均  $9.6 \times 5.7 \mu\text{m}$  であった。*Colletotrichum acutatum* の特異プライマー (Sreenivasaprasad, S. *et al.*, 1996) を用いて分離菌を PCR 法で検定したところ、目的とする約 490 bp の増幅断片が得られた。以上の結果より本菌を *C. acutatum* と同定した。国内では、これまで、*C. acutatum* はイチゴに葉枯性の炭疽病を起こし、*Glomerella cingulata* が萎凋性の炭疽病を起こすことが報告されているが、*C. acutatum* による萎凋性の炭疽病の発生は本事例が初めてである。

(道立道南農試・\* 松山農改セ・\*\* 道立中央農試)

(14) 三澤知央 *Stemphylium vesicarium* によるネギの黄色斑紋症状  
Misawa, T.: Yellow Mottle Symptom of Welsh Onion Caused by *Stemphylium vesicarium* ネギ葉枯

病は *Stemphylium* 属菌によっておこる病害で、葉身部に楕円形～紡錘形の褐色病斑 (以下、褐色楕円形病斑) を形成する。近年、北海道内のネギ栽培地帯では、葉枯病発病株の中心葉に黄色斑紋症状が発生する事例が多発している。そこで黄色斑紋症状の原因について検討した。2005 年 9 月、北斗市内で発生した黄色斑紋症状および褐色楕円形病斑より各 1 菌株を分離した。分離菌の分生子はいずれも分生子柄先端に単生し、淡褐色～褐色、長楕円形または長方形で表面にいぼ状突起を有し、大きさは平均  $38.6 \times 19.5 \mu\text{m}$ 、縦横比は 2.0 であった。また、縦横に隔壁を有し、1～3 個の横隔壁でくびれていた。分生子柄は、淡褐色～褐色、大きさは平均  $58.8 \times 5.1 \mu\text{m}$  で、先端部が膨らんでいた。以上のことから両菌株を *Stemphylium vesicarium* と同定した。接種試験の結果、両菌株ともネギの中心葉に黄色斑紋症状を、外葉には褐色楕円形病斑を形成し、病斑部からは接種菌が再分離された。以上のことから、黄色斑紋症状がネギ葉枯病の一病徴であることが明らかとなった。

(道立道南農試)

(15) 水野はるか・近藤則夫・平井久雄\* *Fusarium* sp. によるクロタリヤ萎凋病 (新称)  
Mizuno, H., Kondo, N. and Hirai, H.: Wilt of Crotalaria Caused by *Fusarium* sp. 2003 年、千葉県のクロタリヤに道管褐変を伴う萎凋症状が発生し、発症個体から *Fusarium* sp. が分離された。分離した 10 菌株をクロタリヤ幼苗に浸根接種したところ、8 菌株で病徴が再現され、接種菌が再分離された。分離菌は PDA 上でオレンジ色の色素を産出し、生育適温は 25°C 前後であった。大型分生子の大きさは平均  $38.7 \times 3.1 \mu\text{m}$ 、3～5 隔壁で、先端細胞は尖り、やや湾曲していた。小型分生子は楕円形または腎臓形で擬頭状に形成され、連鎖状の厚膜胞子も確認された。また、クロタリヤに対して病原性があると報告されている *F. udum* と分離菌の *nit* (硝酸塩利用能欠損) 変異株を作成し、体細胞和合性群 (VCG) に分類した。全ての分離菌株が同一の VCG に属していたが、*F. udum* は別の VCG に属していた。そこで、translation elongation factor (*tef* 1- $\alpha$ ) の塩基配列に基づいて同定を試みたところ、分離菌の配列は *Gibberella fujikuroi* 種複合体に属する複数の種と 97～98% 一致していた。本病は、本邦で未報告の病害であることから、病名をクロタリヤ萎凋病 (新称) と提案したい。

(北大院農・\* 雪印種苗)

(16) 小松 勉・景山幸二\* *Klebsiella oxytoca* によるユーカリに発生した小粒こぶ症状について  
Komatsu, T. and Kageyama, K.: Small Gall of Gum Caused by *Klebsiella oxytoca* 2006 年 8 月、石狩管内恵庭市の雨よけ栽培にお

ける切り枝用ユーカリ（品種：銀世界）で、葉に小粒のこぶが発生した。発生株は黄化や萎凋などの収量低下にいたる症状は示さないが、観賞用商品であるため品質低下をまねき収穫物が出荷できない状態となっていた。この小粒のこぶを顕鏡したところ、内部から細菌が流出してきたところから本症状は細菌によるものと考えられた。分離した菌株を培養し、健全ユーカリに噴霧接種を行ったところ同様のこぶ症状が再現され、接種菌株が再分離された。分離菌株はグラム陰性、発酵試験、硝酸塩の還元、アルギニンデヒドロラーゼ活性、インドール産生が陽性、オキシダーゼ活性、ゼラチン液化が陰性であった。簡易同定の検索を行ったところ植物病原細菌の性状に合致しなかったため、16SrDNA 部分配列の分析によりデータベースにおいて検索した結果、*Klebsiella oxytoca* と一致し、先の細菌学的性質もこれと一致していたことから本菌を *Klebsiella oxytoca* と同定した。（道立花野菜セ・\* 岐阜大学流域研セ）

(17) 井門由佳理・厚見 剛・中原健二・上田一郎 シロクローバモザイクウイルス RC 株のベクター化のための感染性 cDNA の構築とサブゲノム RNA の解析 Ido, Y., Atsumi, G., Nakahara, K. and Uyeda, I.: Construction of a cDNA Infectious Clone of *White clover mosaic virus*-RC and Analyses of its Subgenomic RNA Developing a Viral Vector シロクローバモザイクウイルス (WCIMV) RC 株 (Nakabayashi *et al.*, 2002) の感染性全長 cDNA クローン (pWCIMV) を構築し、ベクター化を試みた。pWCIMV をソラマメ、エンドウに接種したところ共に全身感染した。プロモーター配列を決定するために、Gene Racer Kit (invitrogen) で外被タンパク質 (CP) サブゲノム RNA の転写開始点を決定した。CP とトリプルジーンブロックの間に GFP と長さの異なるプロモーター配列 (50 bp, 75 bp, 100 bp) を導入し、GFP 発現を比較した。ソラマメにパーティクルボンバードメント接種したところ、100 bp では 3/3 個体、75 bp では 2/3 個体、50 bp では 1/3 個体で GFP の発現を確認した。さらにソラマメから回収したウイルスをソラマメ、エンドウ、タルウマゴヤシに機械接種した。GFP 蛍光は全ての感染植物の接種葉と上葉で安定して観察でき、プロモーター配列の長さによる差はなかった。また、RT-PCR により導入した GFP のコード領域全長が保持されていることを確認した。（北大院農）

(18) 寺見文宏 ムギ斑葉モザイクウイルスによる小麦の雪腐病抵抗性極強系統 PI173438 へのジーンサイレンシングの誘導 Terami, F.: Induction of Gene Silencing by Barley Stripe Mosaic Virus in a Wheat Strain, PI173438, Highly Resistant to Snow Mold Diseases 小麦 PI173438 系統は極強

の雪腐病抵抗性を示す数少ない系統の一つで、雪腐病抵抗性に関連すると推定される遺伝子が多数単離されている。しかし小麦は形質転換が困難なため、組換え植物による単離遺伝子の雪腐病抵抗性機能の解析は進んでいない。そこで、近年、遺伝子機能の有力な解析手法となりつつあるウイルス誘導性ジーンサイレンシングが PI173438 に適用できるかどうかを検討した。カルフォルニア大学より分譲を受けたムギ斑葉モザイクウイルス (BSMV) の感染性クローンに、CP 遺伝子の欠失変異を導入して低病原性クローンを構築し、ウイルスベクターとした。フィトエン不飽和化酵素 (PDS) 遺伝子をサイレンシングの標的として、大麦の PDS 遺伝子の塩基配列を基に 270 bp の 2 本鎖 DNA 合成して同ベクターに挿入した。試験管内で合成した PDS 配列を含む BSMV RNA を PI173438 に接種したところ、PDS 遺伝子のサイレンシングで生じるとされる退色は、一部の株で一過的に見られるのみだった。RT-PCR の結果から緑葉でも同遺伝子がサイレンシングを受けていることが確認された。（北農研）

(19) 稲場純一・塚原小百合・金澤 章・増田 税 キュウリモザイクウイルスベクターを用いたペチュニアの内在性遺伝子プロモーターへのメチル化誘導 Inaba, J., Tukahara, S., Kanazawa, A. and Masuta, C.: Induction of Methylation on the Promoter of an Endogene in *Petunia* Infected with *Cucumber mosaic virus* Vector キュウリモザイクウイルスベクターにペチュニアのアントシアニン合成に関わる CHS-A 遺伝子のプロモーター領域を挿入したコンストラクトを作成した。そのコンストラクトからの *in vitro* 転写産物をペチュニアに接種し、感染植物の花の表現型を観察した。花の色に変化が生じた個体では、ウイルスベクターによって CHS-A 遺伝子の short interfering RNA (siRNA) が生成されることを確認した。さらにその花では CHS-A 遺伝子の mRNA 蓄積量が減少していた。その同じ組織から DNA を抽出し CHS 遺伝子のプロモーター領域にあるシトシンのメチル化を sodium bisulfite 法により解析した結果、プロモーター領域の全体にわたってシトシンがメチル化されていることが判明した。（北大院農）