

表1 プライマーセット

Psa系統等	プライマー名	プライマー配列	サイズ	参考情報
共通	PSA F PSA R	CAGAGGCGCTAACGAGGAAA CGAGCATACATCAACAGGTCA	311	Psa共通プライマーセット：日本で発生が確認されているPsa全系統を検出。花粉懸濁液からのPCRには不向き
共通	PsaF1 PsaR2	TTTTGCTTTGCACACCGATTTT CAGGCACCGTTCAATCAGGATG	280	Psa共通プライマーセット：日本で発生が確認されているPsa全系統を検出。花粉懸濁液からのPCRにて推奨
Psa3	hopH1-F hopH1-R	CGTCTCGATATCCAGGCATC TTCAGCTCGGATGGAGTTCT	605	Psa3用プライマーセット：日本で発生が確認されているPsa3系統の全分離株を検出
Psa3	hopZ5-F2 hopZ5-R2	CAGGAATTCATGACTTCTCA TAGTCTCGAAGATTCATGG	630	Psa3用プライマーセット：日本で発生が確認されているPsa3系統の全分離株を検出

※プライマー根拠文献：

Balestra et al. (2013) Plant Disease 97: 472-478 (PSA F/PSA R)

Ferrante and Scortichini (2011) Journal of Plant Pathology 93: 659-666 (hopH1-F / hopH1-R)

Rees-George et al. (2010) Plant Pathology 59: 453-464 (PsaF1/PsaR2)

澤田ら (2015) 日本植物病理学会報 81: 111-126 (hopZ5-F2 / hopZ5-R2)

3 花粉懸濁液からの PCR

(1) PCR 反応液の組成は、以下のとおり。最終反応液量は 25 μ l とする。

1 $\times$ Ampdirect® Plus (島津製作所)、0.2 μ M each primer、
0.5U Taq DNA polymerase (Takara EX Taq Hot start Version)、
鋳型 2 μ l

(2) PCR 反応条件は、以下のとおり。

反応条件 (PsaF1/PsaR2, hopH1-F/hopH1-R)			反応条件 (hopZ5-F2/hopZ5-R2)		
95°C	5分	40サイクル	95°C	5分	40サイクル
95°C	30秒		95°C	30秒	
64°C	30秒		60°C	30秒	
72°C	60秒		72°C	60秒	
72°C	5分	Hold	72°C	5分	Hold
4°C	Hold		4°C	Hold	

(3) 2%アガロースで電気泳動を行い、判定する。陽性対照と同じ位置に明瞭なバンドが認めた場合は、陽性とする。全ての Psa 系統を検出するプライマーセットでは 280 bp (PsaF1 / PsaR2) のサイズの DNA 断片が増幅される。Psa3 を検出するプライマーセットでは 605 bp (hopH1-F / hopH1-R) 又は 630 bp (hopZ5-F2 / hopZ5-R2) のサイズの DNA 断片が増幅される。

4 生菌分離

(1) 事前に以下のものを用意する。

- KBC 平板培地 (19 枚) ○ NA 平板培地
- 滅菌水 (30 ml、50 ml 三角フラスコで作製) ○ 2.0 ml チューブ
- 滅菌爪楊枝 ○ コンラージュ棒

(2) 花粉を 2.0 ml チューブに 5 ~ 10 mg 量り取り、1 ml の生理食塩水を加え、振とう機で 150 rpm で 60 分間振とうする。

(3) (2) の花粉懸濁液 (懸濁原液) 100 μ l を滅菌水 900 μ l に加えて希釈する。しっかりと混和させる。

(4) 懸濁原液及び希釈液 100 μ l を KBC 平板培地に塗布する (各 9 又は 10 枚)。27 $^{\circ}$ C の定温器で 4 日間培養を行う。

(5) 培養 2 日までに出現したコロニーは、目的外の細菌であることから以後の試験の対象から除外する。

(6) 培養 3 日目以降に出現する 0.5 mm 以下のコロニーで、培養 4 日目以降に、

- ① やや青白色で半透明がかっている
- ② 不規則形~円形
- ③ 周縁が全縁~波状
- ④ わずかに粘性で湿光を帯び、直径が 1 mm 程度

になったコロニーを、以下の方法で、滅菌爪楊枝を用いて釣菌を行う。

(7) (6) で出現したコロニーに裏側からマジックで印を付け、番号を振る (写真 4)。キウイフルーツかいよう病菌と思われるコロニーにはすべて印を付ける。

(8) NA 平板培地の裏面にマジックで格子を書き、(7) と同じ番号を振る (1 マスに 1 コロニーの釣菌を行う)。(写真 6 参照)

(9) (7) で番号を振ったコロニーに滅菌爪楊枝 (チップでも可) で軽く触れ、NA 平板培地の同じ番号の 1 マス内に軽く突く (写真 5)。

(10) 27 $^{\circ}$ C で 2 日間培養する (写真 6)。黄色のコロニーは除外し、白色のコロニーを全て選抜する。



写真 4



写真 5

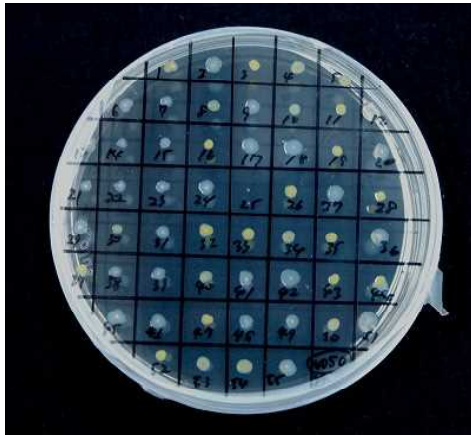


写真 6

(11) PCR

ア 選抜したコロニーは、滅菌爪楊枝で軽く突き、事前に作製した PCR 反応液に懸濁する。

イ PCR 反応液の組成は、以下のとおり。反応液の量は 25 μ l とする。

1 $\times$ PCR buffer、0.2 mM each dNTP、0.2 μ M each primer、0.5 U Taq DNA polymerase (TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version)、(参考情報の (12) または (13) を実施した場合は鋳型 2 μ l)

ウ PCR 反応条件

PCR 反応条件は、以下のとおり

反応条件 (PSA F/PSA R, hopZ5-F2/hopZ5-R2)		反応条件 (PsaF1/PsaR2, hopH1-F/hopH1-R)	
95°C	5分	95°C	5分
95°C	30秒	95°C	30秒
60°C	30秒	64°C	30秒
72°C	60秒	72°C	60秒
30サイクル		30サイクル	
72°C	5分	72°C	5分
4°C	Hold	4°C	Hold

エ 2%アガロースゲルで電気泳動を行い、判定する。陽性コントロールと同じ位置に明瞭なバンドが認められた場合は、陽性とする。全ての系統を検出するプライマーセットでは 311 bp (PSA F / PSA R) 又は 280 bp (PsaF1 / PsaR2) のサイズの DNA 断片が増幅される。Psa3 を検出するプライマーセットでは 605 bp (hopH1-F / hopH1-R) 又は 630 bp (hopZ5-F2 / hopZ5-R2) のサイズの DNA 断片が増幅される。

[効率的に検定するために次の方法も実施可能]

(12) 対象コロニーが多数の場合、1 試料に複数コロニーをまとめる方法 (バルク法) が可能。500 μ l の滅菌水に複数のコロニーを 1 コロニーずつ軽く突いて懸濁する方法で 20 コロニー分を PCR の鋳型 1 試料とする。なお、陽性となった場

合は、改めて1コロニー分ずつPCRを実施する。

- (13) 対象コロニーがさらに多数の場合、分離培地上の対象コロニーを移植する(8)のNA平板培地を2組作成し、そのうち1組の培地表面に1 mlの滅菌水を加え、全てのコロニーを懸濁しながらかきとり、PCRの鋳型とする方法が可能。なお、陽性となった場合は、改めて1コロニー分ずつPCRを実施する。

<参考>

1. KBC 平板

Mohan, SK and Schaad, NW, 1987. *Phytopathology* 77: 1390-1395.

(http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1987Articles/Phyto77n10_1390.PDF)

2. NA 平板培地

Nutrient broth (Difco) 8g, 寒天 18g、蒸留水 1000 ml、pH6.8 ~ 7.2、121 °C 15 分高圧滅菌後、クリーンベンチ内でシャーレに分注して固める。

3. 生理食塩水 (0.85 % NaCl)

400 ml の蒸留水に 4.25g を溶かし、500 ml にメスアップし、オートクレーブ (121 °C 15 分)

4. 滅菌爪楊枝

100 ml ビーカーに入れアルミホイルでふたをして 121 °C 15 分高圧滅菌後、乾燥機で乾燥 (ない場合は 10 µl 用の滅菌済チップ等で代用可能)

5. リューザブルボトルトップフィルター

Nalgene DS0320-2545 (容量 250 ml、適合口径 45 mm)

<http://www.thermosci.jp/lab-products/plasticware/product.php?id=207>

6. ガラス繊維フィルター

ADVANTEC GA-100 (47 mm 径)

7. メンブレンフィルター

Merck Millipore SMWP04700 (ポアサイズ 5.0 µm、47 径)

Merck Millipore HAWP04700 (ポアサイズ 0.45 µm、47 径)

キウイフルーツかいよう病に対する農薬施用

1 収穫後から発芽前まで（11 月中旬頃～2 月頃）

（1）防除の観点

冬季には落葉痕や、剪定時の切り口を介して感染リスクが高まるため、銅剤では剪定前後の散布により、その他の剤では剪定後の散布により主枝や枝幹部への感染の防止を図る。抗生物質の樹幹注入により菌密度の上昇を抑制する。

（2）使用できる薬剤

- ① 銅水和剤 コサイド 3000
2000 倍散布（収穫後～果実肥大期）
本剤の使用回数「ー」
- ② 銅水和剤 IC ボルドー 66D
25 ～ 50 倍散布（収穫後～発芽前）
本剤の使用回数「ー」
- ③ 銅・ストレプトマイシン水和剤（銅ストマイ水和剤）
600 ～ 800 倍散布（休眠期～蕾出現前）
本剤の使用回数「4 回以内」
- ④ カスガマイシン・銅水和剤（カスミンボルドー等）
500 倍散布（休眠期）
本剤の使用回数「4 回以内」
- ⑤ ストレプトマイシン水和剤（アグレプト水和剤等）
1000 倍散布（収穫 90 日前まで）
本剤の使用回数「4 回以内」
- ⑥ ストレプトマイシン液剤（アグレプト液剤）
1000 倍樹幹注入（収穫後～落葉前まで）
本剤の使用回数「1 回」
- ⑦ カスガマイシン液剤（カスミン液剤）
400 倍散布（収穫 90 日前まで）、200 倍樹幹注入（収穫後～落葉前まで）
本剤の使用回数「4 回以内（樹幹注入は 1 回）」
- ⑧ オキシテトラサイクリン・ストレプトマイシン水和剤（アグリマイシンー 100）
1000 倍散布（落花期まで）
本剤の使用回数「3 回以内」

（3）留意点

- ・抗生物質を樹幹注入に使用する場合、樹体内へ十分浸透させるために、収穫後早い時点で施用することが望ましい。

2 病原菌が増殖しやすい発芽期から開花期まで（3月頃～5月頃）

（1）防除の観点

春先までは銅剤を主体として感染を徹底予防する。4月以降に葉や新梢、花蕾で症状が見られる場合は、抗生物質等の散布による防除及び感染拡大の防止を図る。

（2）使用できる薬剤

- ① 銅水和剤（コサイド 3000）
2000 倍散布（収穫後～果実肥大期）
本剤の使用回数「ー」
- ② カスガマイシン・銅水和剤（カスミンボルドー等）
1000 倍散布（発芽後叢生期（新梢長約 10cm）まで）
本剤の使用回数「4 回以内」
- ③ 銅・ストレプトマイシン水和剤（銅ストマイ水和剤）
600 ～ 800 倍散布（休眠期～蕾出現前）
本剤の使用回数「4 回以内」
- ④ ストレプトマイシン水和剤（アグレプト水和剤等）
1000 倍散布（収穫 90 日前まで）
本剤の使用回数「4 回以内」
- ⑤ カスガマイシン液剤（カスミン液剤）
400 倍散布（収穫 90 日前まで）
本剤の使用回数「4 回以内」
- ⑥ オキシテトラサイクリン・ストレプトマイシン水和剤（アグリマイシンー 100）
1000 倍散布（落花期まで）
本剤の使用回数「3 回以内」

（3）留意点

発芽期以降の銅水和剤散布については、薬害軽減のために炭酸カルシウム水和剤を 200 倍となるよう混用すること。

3 雨が多く気温が低い時の開花期後から果実肥大期（5月下旬～9月末頃）

（1）防除の観点

樹体内での菌密度が低下する時期である。まん延リスクも低くなるが、気象条件によっては追加的に抗生物質や銅剤を散布してまん延を防止する。

（2）使用できる薬剤

- ① ストレプトマイシン水和剤（アグレプト水和剤等）
1000 倍散布（収穫 90 日前まで）
本剤の使用回数「4 回以内」
- ② カスガマイシン液剤（カスミン液剤）
400 倍散布（収穫 90 日前まで）

本剤の使用回数「4回以内」

- ③ 銅水和剤 コサイド 3000
2000 倍散布（収穫後～果実肥大期）
本剤の使用回数「一」

（3）留意点

抗生物質の使用時期は収穫 90 日前までである。

4 剪定整枝時及び発病枝切除後

（1）防除の観点

発病枝切除による切り口等からの病原菌の漏出や飛散を防止するとともに、剪定整枝時の切り口及び傷口からの病原菌の感染を防止する。

（2）使用できる薬剤

トップジンMペースト（チオファネートメチル剤）
原液塗布
本剤の使用回数「3回以内」

※農薬の登録内容は、平成 30 年 5 月 22 日時点のもの

※有効成分ごとの総使用回数は、銅「一（制限なし）」、カスガマイシン「4回以内（樹幹注入は1回以内）」、ストレプトマイシン「4回以内（樹幹注入は1回以内）」、オキシテトラサイクリン「3回以内」であるので、1作期で各総使用回数以内での施用となるよう、注意すること。

※植物病原細菌では、ストレプトマイシン等への抵抗性が発達する可能性があるため、同一系統の薬剤の連用は避けること。

キウイフルーツかいよう病に適用のある農薬一覧

平成30年5月22日現在

登録番号	登録種類名	商品名	希釈倍数・ 使用量	散布液量	使用方法 名称	使用時期	本剤の 使用回数	総使用回数
22533	銅水和剤	コサイド3000	2000倍	200～700 リットル/10a	散布	収穫後～果実 肥大期	－	－
22534	銅水和剤	クミアイコサイド3000	2000倍	200～700 リットル/10a	散布	収穫後～果実 肥大期	－	－
22535	銅水和剤	MICコサイド3000	2000倍	200～700 リットル/10a	散布	収穫後～果実 肥大期	－	－
22536	銅水和剤	丸和コサイド3000	2000倍	200～700 リットル/10a	散布	収穫後～果実 肥大期	－	－
22537	銅水和剤	ホクサンコサイド3000	2000倍	200～700 リットル/10a	散布	収穫後～果実 肥大期	－	－
15557	銅水和剤	クミアイコサイドボルドー	500倍		散布	収穫後～発芽 前	－	－
22572	銅水和剤	MICコサイドボルドー	500倍		散布	収穫後～発芽 前	－	－
18645	銅水和剤	ICボルドー66D	25～50倍	200～700 リットル/10a	散布	収穫後～発芽 前	－	－
3316	オキシテトラサイ クリン・ストレプト マイシン水和剤	アグリマイシンー100	1000倍	200～700 リットル/10a	散布	落花期まで	3回以内	3回以内
7290	カスガマイシン 液剤	ホクコーカスミン液剤	400倍		散布	収穫90日前ま で	4回以内	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
7290	カスガマイシン 液剤	ホクコーカスミン液剤	200倍		樹幹注入	収穫後～落葉 前まで	1回	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
5655	ストレプトマイシ ン水和剤	アグレプト水和剤	1000倍		散布	収穫90日前ま で	4回以内	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
13823	ストレプトマイシ ン液剤	アグレプト液剤	1000倍 (200ppm)		樹幹注入	収穫後～落葉 前まで	1回	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
8088	ストレプトマイシ ン水和剤	サンケイマイシン20水 和剤	1000倍		散布	収穫90日前ま で	4回以内	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
14625	カスガマイシン・ 銅水和剤	カスミンボルドー	1000倍	200～700 リットル/10a	散布	発芽後叢生期 (新梢長約 10cm)まで	4回以内	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
14625	カスガマイシン・ 銅水和剤	カスミンボルドー	500倍	200～700 リットル/10a	散布	休眠期	4回以内	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
15744	カスガマイシン・ 銅水和剤	カッパーシン水和剤	500倍	200～700 リットル/10a	散布	休眠期	4回以内	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
15744	カスガマイシン・ 銅水和剤	カッパーシン水和剤	1000倍	200～700 リットル/10a	散布	発芽後叢生期 (新梢長約 10cm)まで	4回以内	4回以内(ただ し、樹幹注入は 1回以内)
14470	銅・ストレプトマ イシン水和剤	日農銅ストマイ水和剤	600～800 倍		散布	休眠期～蕾出 現前	4回以内	－
14471	銅・ストレプトマ イシン水和剤	明治銅ストマイ水和剤	600～800 倍		散布	休眠期～蕾出 現前	4回以内	－

※使用回数の「－」は「制限なし」を意味する。

キウイフルーツかいよう病3系統の見分け方（葉）

かいよう病 Psa3

Point!!

葉脈に囲まれた小褐斑

元から10葉までの葉に多い

4月の症状はかいよう病の可能性が大



病斑に品種間差はない

多発すると融合して大病斑になる



赤褐色の樹液が漏出すること

硬化後の葉の病斑は分かりづらい

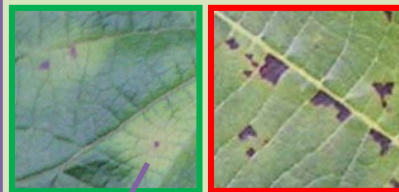


硬化葉に新たな病斑は出来ません



赤枠は中国系品種、緑枠はハイワードを撮影。必ずしも、品種特有の症状ではない

かいよう病 Psa1



ハイワードでは大きなハローができることもある

除草剤の薬害



明褐色で滴の跡のような円形斑

原因不明



葉脈上の斑紋。葉脈に囲まれていない

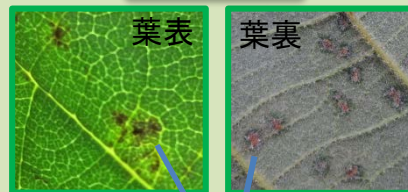
炭そ病



梅雨頃～灰色病斑融合して大病斑になる

かいよう病 Psa3類似症状

原因不明



透過光でハローが見える。
葉裏に樹液の漏出

識別困難な症状は関係機関で検査を受けてください



銅剤の薬害

開花期頃からの散布で生じやすい



葉脈に黒～茶褐色斑点
葉裏めだつ

ハロー様の黄色斑

角斑類似症

識別困難。
様々な菌が原因

花腐細菌病



5月頃～

角斑病等



5月頃～秋病斑はやや大きい。
多雨により広まる。
融合して大病斑になる

すれ等の傷



夏～暗褐色斑大きくつやがある

キウイフルーツかいよう病の見分け方

枝・蕾の見分け方

かいよう病 Psa3

Point!!

樹液が**赤褐色**に変色 ➡

枝の発症は

樹液の流動開始(2月)から5月に多い
一般的に中国系の症状は激しい

まれに白濁

普通は赤褐色



凍害の裂傷



皮目や枝基部から



冬

樹液漏出

凍害の裂傷



かいよう病類似症状

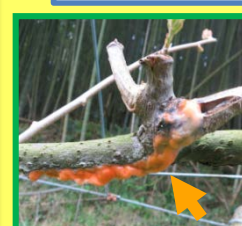
識別困難な症状は関係機関
で検査を受けてください

透明な樹液。
赤褐色にならない



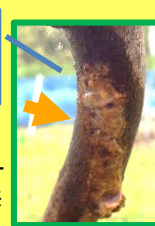
傷から漏出したゼリー状の樹液
が白色～黄色～**橙色**に変色 ➡

捻枝や枝折れの傷



キクイムシ
の食入孔

奈良県農業研
究開発センター
提供



早春

樹液漏出

激発すると、

しおれ

芽枯れ症状

霜害

キクビスカシバの被害



春

新梢枯死



枝病斑ではPsa3
かPsa1かは区
別できません。

周辺に**赤褐色**の
樹液や葉の褐点

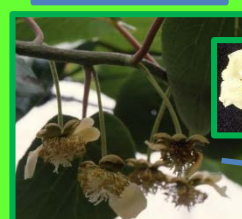
ガクの褐変

花腐細菌病

健全芽と混在
赤褐色の樹液なし

原因不明

開花前か
ら、ガクや
花卉が褐
変



太い枝だけ
に樹液の跡

やくの黒変に特徴が
あるが、識別困難



春

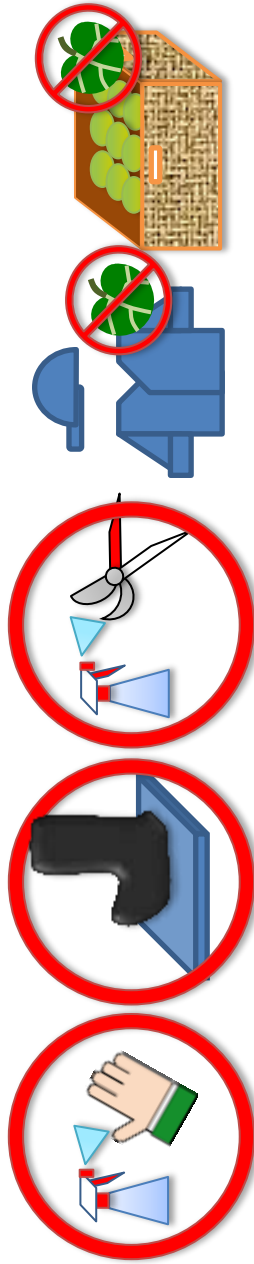
花蕾枯死

赤枠は中国系品種、緑枠は
ヘイワードを撮影。必ずしも、
品種特有の症状ではない

発病前からの予防が重要

Point!

園地の衛生管理
器具や人への病原菌の付着による伝染を防止。



- ◆ 園地に入りの際は、**手***と**泥を落とした靴底****を消毒。
- ◆ **ハサミやのこぎり****は園地ごとに用意し、樹ごとに消毒。
- ◆ 園地外に出るときには、**体や収穫かご**などに付いた**植物残さ**を除去。
- ◆ 発生園で作業したときは、そのままの服装で他の園には行かない。
- ◆ 園地に看板を設置し、関係者以外の立ち入りを禁止。

* 手は70%エタノールで消毒。手袋を使用している場合は、園地ごとに交換。
**靴底や管理器具は200ppm（有効成分5%で250倍）以上の次亜塩素酸ナトリウムあるいは70%エタノールで消毒。

症状等が無い清浄な苗木・穂木・花粉等の使用
購入先や購入日、量を必ず記帳。

薬剤防除（予防）
低温を好む病原菌のため、秋～春の防除が重要。*

* 詳しくは最寄の指導機関（普及指導センター・JA等）にお尋ねください。

発病等に関する問い合わせは最寄の指導機関に



キウイフルーツ かいよう病緊急対策

全国の産地で強病原性のかいよう病が発生しています。被害が大きく、広がる速度が速く、防除が難しい病気です。

樹液の流出



新梢の枯死



葉の斑点

枝枯れ



疑わしい症状を見つけたら、連絡を！

参考2