

27消安第4907号
平成27年12月25日

北海道農政部長 各農政局消費・安全部長 内閣府沖縄総合事務局農林水産部長 各植物防疫所長 那覇植物防疫事務所長	}	殿
---	---	---

農林水産省消費・安全局植物防疫課長

キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統の防除対策マニュアル（暫定版）
について

農林水産省では、キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統の当面の防除対策として、「キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統の当面の対応について」（平成26年7月18日付け26消安第2203号消費・安全局植物防疫課長通知）及び「キウイフルーツかいよう病のPsa3系統の緊急全国調査要領」（平成26年9月19日付け26消安第3113号消費・安全局植物防疫課長通知）を定め、緊急全国調査、発生園地における防除及び本病のまん延防止に取り組んできたところです。

こうした中、本年8月3日、植物病理学の専門家の参加による「第3回キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統に関する防除対策専門家会議」において、本病の防除対策については、輸入検疫措置と国内検疫措置の組み合わせによる対策を講ずる必要があるとされ、当該国内検疫措置の一つとして、これまでの試験研究や海外調査等の結果を踏まえ、発生調査や防除対策等に関する「Psa 3 に関する防除対策マニュアル（暫定版）」を定めることとされました。

これを踏まえ、別紙のとおり、「キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統の防除対策マニュアル（暫定版）」を定めたのでお知らせします。

なお、本通知の発出に伴い、「キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統の当面の対応について」及び「キウイフルーツかいよう病のPsa3系統の緊急全国調査要領」は廃止したことを申し添えます。

キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統の防除対策マニュアル (暫定版)

(平成27年12月25日 初版)

第1 趣旨

キウイフルーツかいよう病(別紙1)のPsa 3 系統(以下「本病」という。)は、平成26年5月に国内で最初の発生が確認され、これまでの調査により計13都県(平成27年12月25日現在)で発生が確認されている。

本病の防除対策については、平成27年8月3日に開催された「第3回キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統に関する防除対策専門家会議」において、平成26年度農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の緊急対応型研究の結果、発生国で収集できた情報、これまでに国内での発生調査や被害調査で得られた情報等に基づき検討した結果を踏まえ、引き続き本病の有効な防除対策を講じるため、「キウイフルーツかいよう病のPsa 3 系統の防除対策マニュアル(暫定版)」を定めることとされた。

なお、現在実施中の平成27年度農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の実用技術開発ステージを活用した「かいよう病Psa 3 に対して、安心してキウイフルーツ生産を可能にする総合対策技術(平成27~29年度)」の結果に応じ、適宜本防除対策マニュアルの更新を行うものとする。

第2 定義

本防除対策マニュアルの対象とする病原菌及び植物の定義は、次のとおりとする。

- (1) 病原菌 *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3 ; Psa 3
- (2) 植 物 果実の生産や苗・穂木・花粉の生産を目的として国内で栽培するキウイフルーツ (*Actinidia deliciosa*, *A. chinensis*)

第3 情報の収集

1 生産者の情報

都道府県は、本病の発生状況等を把握し、必要な防除情報等を適切に提供できるように、個人情報の保護に関する法律(平成15年法律第57号)、行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律(平成15年法律第58号)及び各都道府県が定める個人情報保護条例に留意しつつ、次の情報を収集するよう努める。

- (1) 果実の生産者の情報
 - ① 生産者の氏名及び連絡先
 - ② 生産園地の場所
 - ③ 生産品種
- (2) 苗・穂木・花粉の生産者の情報
 - ① 生産者の氏名及び連絡先

② 生産園地の場所

③ 生産品種

2 疑似症状等の情報

都道府県は、平時から、果実の生産者及び苗・穂木・花粉の生産者（以下「果実等生産者」という。）に対し、本病の発生状況や防除対策等に関する情報提供に努めるとともに、本病の疑似症状や普段見慣れない症状等（別紙2及び3）が確認された場合には、都道府県に速やかに連絡するよう要請する。

第4 調査及び検定体制の整備

- 1 都道府県は、果実等生産者から本病の疑似症状や普段見慣れない症状等に関する情報の連絡があった場合、速やかに調査及び検定ができるよう体制を整備する。
- 2 植物防疫所（植物防疫事務所を含む。以下同じ。）は、必要に応じ、都道府県が実施する調査及び検定に協力する。

第5 発生調査等

1 果実等生産者による発生調査

都道府県は、果実等生産者に対し、本病の早期発見及び早期防除措置を講じるため、栽培管理等の作業に併せて、本病の発生調査を行うよう指導する。

（1）調査の実施時期・回数

① 本病の発生が確認された園地

- ・収穫後から発芽前まで（11月中旬頃～2月頃）：月2回
- ・発芽期から収穫期（3月頃～11月上旬頃）：週1回

② 本病の発生が確認されていない園地

- ・収穫後から発芽前まで（11月中旬頃～2月頃）：月1回
- ・発芽期から収穫期（3月頃～11月上旬頃）：月2回

③ 発芽期から収穫期（3月頃～11月上旬頃）において、本病感染が助長される長雨や強風等の気象条件の場合、7～10日後を目安として追加で発生調査を行うことが望ましい。

（2）調査時の留意点

園地のモニタリングによる本病の早期発見及び適切な管理により、本病の拡散や被害の拡大の防止を図る。各時期に確認される典型的な病徴写真については、別紙3を参照。

① 冬季～早春：収穫後から発芽前まで（11月中旬頃～2月頃）

感染枝では12月～1月の剪定時期に、落葉痕や剪定切り口等から菌液（菌泥）の漏出が認められる場合がある。2月以降、樹液の流動が始まるに伴って、病原菌を含む白色又は暗赤色の樹液の漏出をより明らかに確認できる。また、幹の立ち枯れが観察される場合がある。

② 春季：発芽期から開花期まで（3月頃～5月末頃）

葉での褐色斑点が一般的な病徴であり、発病葉では不整形の褐色斑点が

形成される。斑点の周囲にハロー（黄色のかさ）が認められる場合もあれば、ハローが伴わない場合や不明瞭な場合もあるので、発病葉の発生を見逃さないように注意する。発病の最盛期は、新梢の伸長が旺盛な4～6月である。

感染枝では樹液の流動が盛んになり、剪定傷や皮目、亀裂等から病原菌を含む白色又は暗赤色の樹液が漏出する場合がある。更に葉裏に樹液流出痕が確認される場合もある。樹液の流出から時間が経過すると、痕がしみとなって残っている場合があるため、注意して観察を行う。枝の樹皮下の褐変は典型的な病徴であるため、必要に応じて、樹皮下の変色を確認することも重要である。

伸長中の新梢が感染すると水浸状となり、次第に黒色となり、亀裂を生じて萎凋（しおれ）枯死する。結果母枝や枝幹では菌液や樹液の漏出が認められる場合がある。

花蕾ではガクが褐色又は暗褐色に変色し、花の腐敗落花が生じたり開花が不完全となるが、花腐細菌病と症状が類似していることから、外観での判別は難しい。

③ 夏季～秋季：開花後から収穫期まで（6月～11月上旬頃）

梅雨明け後には気温の上昇に伴い病徴の進展や新たな発病は少なくなるが、樹体内で病原菌が完全に死滅しているわけではないので、園内の観察は継続する必要がある。

主枝や新梢の樹皮下の褐変及び皮目の赤変、新梢の萎凋、葉の萎凋や葉巻等に留意して園内の観察を継続し、必要に応じて樹皮下の変色を確認する。ただし、炭疽病や角斑病等の影響や、夏から秋にかけての水分ストレスや葉の老化によっても褐色斑点症状や葉巻症状が生じることがあることに留意する。

④ 発生調査を行う際は、マタタビ属植物（サルナシ（*A. arugta*）、シマサルナシ（*A. rufa*）、ミヤママタタビ（*A. kolomikta*）等）が近隣にある場合には、併せて調査を行うこととし、病徴が見られる場合、都道府県と相談する。

2 果実等生産者からの情報収集

（1）都道府県は、果実の生産者に対し、1の（2）に留意して、可能な限り本病の発生調査を行うよう指導するほか、生産地における防除指導や営農指導等の機会を利用し、果実の生産者から本病の発生（葉の褐色斑点、新梢の萎凋、樹液の漏出等）の有無等の情報収集に努める。

（2）都道府県は、苗・穂木・花粉の生産者に対し、本病の症状がない清浄な苗・穂木及び本病の病原菌を含まない清浄な花粉を出荷するよう要請するとともに、本病の発生の有無等の情報収集に努める。

3 現地調査の実施

都道府県は、1及び2により本病の疑似症状等の情報を果実等生産者から得た場合には、現地調査を実施する。

なお、植物防疫所は、必要に応じ、都道府県が実施する現地調査に協力する。

4 疑似症状を認めた場合の対応

(1) 疑似症状確認場所における対応

① 都道府県は、疑似症状植物を認めた場合、疑似症状植物の周辺状況を更に調査し、感染のおそれがある植物を特定するとともに、サンプルを採取し、(2)の検定を行う。

② 都道府県は、当該疑似症状植物を所有又は管理する果実等生産者に対し、本病に関する説明を行うとともに、(2)による検定の結果が出るまでの暫定的な措置として次の事項を要請する。

ア 疑似症状植物及びその周辺で特定した感染のおそれのある植物（果実を除く。）並びに同一園内で採取された花粉の移動自粛

イ 発症部位の切除、植物体同士の接触の防止、接木等の作業の自粛等による園地内のまん延防止対策

③ 都道府県は、果実等生産者に対し、3により現地調査を行う前に試料の送付を依頼した場合は、(2)による検定の結果が出るまでの間、②と同様の対応を要請する。

(2) 検定の実施

① 都道府県は、別紙4-1及び4-2に基づき検定を実施する。

なお、植物防疫所は、必要に応じ、苗・穂木・花粉の検定に協力する。

② 検定の結果、陽性と判断された場合、都道府県は、発見した生産園地の場所、講じた防除措置等の情報を植物防疫課に速やかに報告する。

5 春季調査

(1) 都道府県は、本病の発生状況を確認するため、病徴を確認しやすい春季（開花期前後）において、果実の生産園地及び苗・穂木・花粉の生産園地における現地調査を実施する。

なお、現地調査は、市町村や生産者団体等の協力を得て、可能な限り多くの園地を対象とする。

(2) 都道府県は、(1)により疑似症状を認めた場合には、4に記載する対応を実施する。

第6 防除の実施

都道府県は、本病のまん延防止を図るため、次の防除措置を講ずる。

1 果実の生産園地

都道府県は、本病の発生が認められた園地について、当該園地の生産者に対し、次の防除措置を実施するよう指導する。

(1) 感染樹の切除・伐採

感染樹については、速やかに発症部位（枝や葉）の切除（骨格枝あるいは主幹側に強く切り戻し）を行うこととし、可能な場合は結果母枝の切除を行う。切除を行う前後には、登録農薬を施用し、切り口からの新たな感染を防止する。

ただし、主幹又は骨格枝の主幹付近で菌液を含む樹液の漏出が認められる場合は、主幹の伐採を行う。主幹伐採後、切り株から樹液が流出するため、切り口をビニール袋等で覆い、樹液の飛散を防止する。

なお、切除及び伐採を行った枝や葉は、園地内に埋却又は焼却することにより処分する。埋却又は焼却が難しい場合には、園地内でビニールシート等で残さを覆い、シートが風雨等で剥がれないよう留意しつつ、20週以上放置した後処分する。

(2) 農薬施用（別紙5参照）

当該園地内の樹については、発病の有無を継続して観察するとともに、適期に登録農薬を施用する。特に病原菌が増殖しやすい樹体内の菌密度が高い状態となる収穫後から発芽前まで（11月中旬頃～2月頃：主枝や枝幹部への感染防止）には、植物体への侵入口を本病菌から保護する観点から、収穫後、落葉後、剪定の前後を目安として定期的な散布を行う。発芽期から開花期まで（3月頃～5月末頃：葉や新梢、花蕾への感染防止）についても、定期散布を心がけるとともに、凍害や風雨後、樹体の損傷が懸念される場合にも散布を行うことが望ましい。

また、雨が多く気温が低い時には菌の増殖が続き、まん延リスクが高くなるおそれがあるので、開花期後であっても追加散布を行うことが望ましい。

(3) 植物の移動

当該園地から他の園地へ本病が伝搬しないよう、感染のおそれのある植物（果実を除く。）の移動は行わない。

(4) 器具等の消毒

剪定作業に用いるハサミ等の器具は園地ごとに決められたものを使用することとし、樹ごとに200 ppm以上の濃度の次亜塩素酸ナトリウム水溶液又は70%エタノールを用いて消毒する。

なお、トラクター等の大型機械を当該園地に持ち込んだ際は、他の園地へ本病が伝搬しないように、その都度植物残さやそれを含む土壌等が付着しないよう、作業終了後に洗浄を行う。

(5) 改植による園地再生

改植を行う場合には、感染樹の伐採及び抜根後に樹体残さを取り除き、抜根後少なくとも20週経過した後に改植を行う。なお、幼木では本病菌に対する感受性が高いとされていることから、改植後は防風対策や薬剤散布による感染防止措置に十分留意すること。

伐採・抜根後の樹体残さは、(1)の方法に従い処分する。

(6) その他

園地作業の際に無用な者が園地内に立ち入らないよう留意するとともに、園地間の本病の伝搬を避けるため、園地に入る前に靴底や手の消毒を行う。

収穫かご等への植物残さの混入、園地を移動する際の服や帽子、靴底等への植物残さの付着に留意し、適切に取り除く。

また、風雨、降ひょう、降霜等による菌のまん延及び樹体損傷を回避する

ため、雨よけ施設や防風ネットの設置、加温処理による防霜対策等を検討する。

2 苗・穂木・花粉の生産園地

都道府県は、本病の発生が認められた園地について、当該園地の生産者に対し、次の防除措置を実施するよう要請する。

(1) 感染樹の伐採・抜根

感染樹は、まん延防止を徹底する観点から、速やかに伐採・抜根を行う。

なお、伐採・抜根を行った樹は、園地内に埋却又は焼却することで処分する。埋却又は焼却が難しい場合には、園地内でビニールシート等で残さを覆い、シートが風雨等で剥がれないよう留意しつつ、20週以上放置した後に処分する。

(2) 農薬施用

当該園地内の樹については、発病の有無を継続して観察するとともに、適期に登録農薬を施用する。特に、病原菌が増殖しやすく樹体内の菌密度が高い状態となる収穫後から発芽前まで（11月中旬頃～2月頃：主枝や枝幹部への感染防止）、発芽期から開花期まで（3月頃～5月頃：葉や新梢、花蕾への感染防止）を中心に、定期的な散布を行うことが望ましい。

(3) 苗・穂木・花粉の移動

当該園地からの苗・穂木・花粉は、園地内の全ての感染のおそれのある植物に感染がないことが2年間以上継続して確認されるまで移動しない。

既に当該園地から移動した苗・穂木・花粉がある場合には、都道府県は、その移動先についても調査を行う。

なお、その際に、都道府県境を越えた移動がある場合には、植物防疫課に報告の上で、移動先の都道府県及び植物防疫所の協力を得るものとする。

(4) 器具の消毒

剪定作業に用いるハサミ等の器具は、園地ごとに決められたものを使用することとし、樹ごとに消毒する。（消毒に用いる資材は、1の（4）に同じ。）

(5) その他

園地作業の際に無用な者が園地内に立ち入らないよう留意するとともに、園地間の本病の伝搬を避けるため、園地に入る前に靴底や手の消毒を行う。

収穫かご等への植物残さの混入、園地を移動する際の服や帽子、靴底等への植物残さの付着に留意し、適切に取り除く。

また、風雨、降ひょう、降霜等による菌のまん延及び樹体損傷を回避するため、雨よけ施設や防風ネットの設置、加温処理による防霜対策等を検討する。

第7 清浄な苗・穂木・花粉の確保

都道府県は、苗・穂木・花粉の生産者に対し、本病の症状がない清浄な苗・穂木及び本病の病原菌を含まない清浄な花粉を出荷するよう指導するとともに、そ

の出荷先を記帳することを要請する。

なお、果実の生産園地から苗・穂木・花粉を採取し、他の生産園地に移動しようとする場合も、同様とする。

都道府県は、果実の生産者に対し、清浄な苗・穂木・花粉のみを導入するよう指導するとともに、導入元や導入年月日等を記帳することを要請する。

第8 栽培用の苗・穂木及び授粉用の花粉の移動

植物防疫所は、苗・穂木・花粉の生産者から、それらの植物を他に移動して栽培の用又は授粉の用に供するため、検定依頼があった場合には、可能な限り検定を実施する。

なお、都道府県は、必要に応じ、植物防疫所が実施する検定に協力する。

第9 無発生園地への侵入防止

都道府県は、感染のない無発生園地の果実等生産者に対し、次の事項について周知する。その際、研究成果として暫定的に作成されたパンフレット（参考1）及びリーフレット（参考2）を啓発資料として指導等に活用する。

- （1）所有・管理する園地に本病を持ち込まないよう、感染のおそれがない清浄な苗・穂木・花粉を使用すること。
- （2）剪定作業に用いるハサミ等の器具、靴等の持込みの際には、消毒するよう努めること。
- （3）所有・管理する園地の関係者以外の者が必要以上に園地に立ち入らないようにすること。

- 細菌が、枝、新梢、葉、花蕾に感染して発生するキウイフルーツの病気。
- 日本国内では既にPsa1系統が発生していたが、平成26年に新たにPsa3系統の発生を確認。
- 既発生国ではPsa3系統は病原性が強い系統とされているが、Psa1系統との感染力の差等については現時点では明確な知見はない。

【系統及び発生状況】

- 1 病原菌 *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, Psa(細菌)
- 2 本病原菌は、病原性の異なる5系統が存在し、各国での発生が見られている。
Psa1系統 日本、イタリア
Psa2系統 韓国
Psa3系統 中国、イタリア、フランス、ポルトガル、ニュージーランド、チリ、スペイン、スイス、韓国、日本、スロベニア、ギリシャ
Psa4系統(※) オーストラリア、ニュージーランド、フランス
Psa5系統 日本
(※Psa4系統は異なるpathovarとして、新たにpv. *actinidifoliorum*と命名する報告がある。)
- 3 日本では、昭和59年に静岡県でPsa1系統の発生を確認。Psa3系統はこれまでに13都県で発生したと公表(平成27年12月25日現在)。

【特徴】

- (Psa1～4に共通)
- 1 本病は、風雨や作業器具、接ぎ木等で伝染すると報告されている。
 - 2 生育に好適な温度は10～20℃程度であり、32℃以上の高温で多くの菌が死滅すると報告されている。
 - 3 剪定作業や風雨などにより葉や枝の傷口等から細菌が浸出し、葉の褐色斑点(写真1)、新梢の萎れ、枝幹部からの菌液や樹液の漏出(写真2)などの被害が生じる。
 - 4 果実を食べても、人への影響はない。

(Psa3系統)

既発生国では病原性が強い系統とされ、緑色果実品種より黄色果実品種に被害が大きく、適切な防除を講じないと樹木が枯死する場合がありますと報告されている。他のPsa系統同様に、葉の褐色斑点(写真3)、新梢の萎れ、枝幹部の菌液や樹液の漏出などの被害が生じる。

【これまでの日本におけるPsa1系統の防除方法】

- 1 感染した枝や葉は本病の伝染源となるため除去し、埋却又は焼却処分。また、病徴が著しい感染樹は伐採。
- 2 傷口から感染するため、防風垣や防風ネットによる風対策を行い、剪定後は傷口に癒合促進剤を塗布。
- 3 薬剤防除は、細菌性病害に効果の高い銅水和剤や抗生物質(カスガマイシン、ストレプトマイシン等)を使用。



写真1 葉の病徴(Psa1系統)
(褐色斑点と黄色いハロー)



写真2 枝幹部の病徴
(褐変した樹液の漏出)



写真3 葉の病徴(Psa3系統)
(品種等によってはハローを生じる場合もある)

キウイフルーツかいよう病のPsa3系統の発生調査のポイント

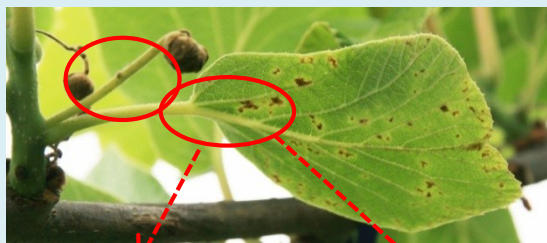
1. 早期発見のポイント

(写真提供: 愛媛県)

① 葉及び花蕾

花蕾の枯死、葉の斑点

※Psa3では葉の斑点が大きくなり、花腐細菌病に類似している場合がある



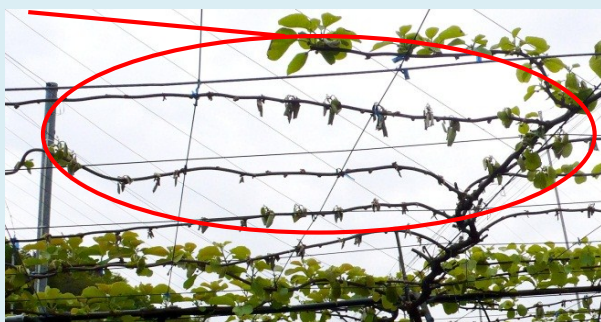
品種等によっては、ハロー(黄色のかさ)が生じる場合もある。



従来の系統(Psa1)ではハローが見られる場合が多い。

② 芽枯れ、枝枯れ

枝枯れ、芽枯れ



新梢の枯死



2. 早期発見を逃した場合

主枝や主幹部からの樹液漏出



樹液の漏出



キウイフルーツかいよう病のPsa3系統の典型的病徴写真

1. 春季

(1) 葉の症状

4月頃から、ハローを伴った不整形の褐色病斑が生じる。Psa3系統ではハローを伴わない場合やハローが不明瞭な場合もあるため、小さな褐色病斑も見逃さないよう注意して観察する(図1～4)。

類似した症状に花腐細菌病があり、ハローを伴った褐色病斑を形成するなど外観上の見分けは難しいため、疑似症状植物として扱う(図5)。



図1 Hort16A(佐賀県、平成 26 年5月)



図2 レインボーレッド(福岡県、平成 26 年4月)



図3 ヘイワード(愛媛県、平成 26 年5月)



図4 レインボーレッド(岡山県、平成 26 年5月)

(参考)



図5 ヘイワードの葉に発症した花腐細菌病

(2)花蕾の症状

がくが褐色～暗褐色に変色し、症状が進行した場合は落下する。花弁は淡褐色に変色して開かないか、開花が不完全になることが多い(図6、7)。花蕾の一部に発病していることもあるため、注意して観察する(図8、9)。

類似した症状として花腐細菌病があり、外観上の見分けは難しいが、花腐細菌病ではがくや花弁に加え、花器が黒褐色に変色するなど特徴がある。判断に迷う場合は疑似症状植物として取り扱う(図10)。



図6 Hort16A(佐賀県、平成 26 年5月)



図7 レインボーレッド(福岡県、平成 26 年4月)



図8 レインボーレッド(愛媛県、平成 26 年4月)



図9 レインボーレッド(愛媛県、平成 26 年4月)

(参考)



図 10 ヘイワードの花蕾に発症した花腐細菌病

(3)新梢の変色・枯れ込み

罹病枝は発芽しないか、発芽しても4～5月に萎凋して枯れ込む。伸長中の新梢に感染すると黒色に変色して萎凋し、枯れ込む(図11～16)。しばしば枝に亀裂を伴うことがあるため注意して観察する。



図 11 Hort16A(佐賀県、平成 26 年5月)



図 12 Hort16A(佐賀県、平成 26 年5月)



図 13 レインボーレッド(佐賀県、平成 26 年4月)



図 14 レインボーレッド(佐賀県、平成 26 年4月)



図 15 レインボーレッド(岡山県、平成 26 年5月)



図 16 レインボーレッド(岡山県、平成 26 年5月)

(4) 枝幹部からの樹液の漏出

罹病樹の枝や幹において、皮目、亀裂及び切り口から病原細菌を含む白色あるいは暗赤色の樹液が流れ出すことがある(図17、18、19)。また、樹液が流れ出た痕がしみとして残っている場合があるため、注意して観察する(図20、21)。



図 17 白色の樹液の漏出
Hort16A(愛媛県、平成 26 年6月)



図 18 暗赤色の樹液の漏出
Hort16A(佐賀県、平成 26 年5月)

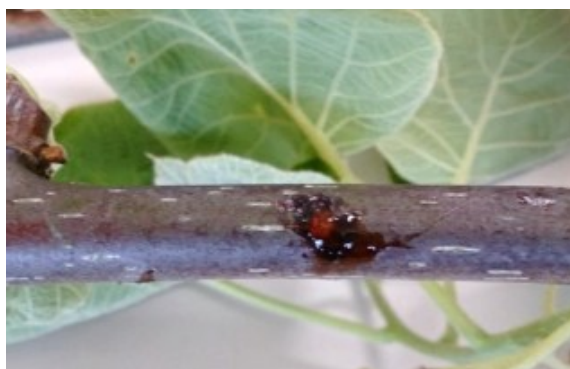


図 19 暗赤色の樹液の漏出
レインボーレッド(福岡県、平成 26 年5月)



図 20 暗赤色の樹液の漏出痕
Hort16A(愛媛県、平成 26 年4月)



図 21 暗赤色の樹液の漏出痕
Hort16A(愛媛県、平成 26 年4月)

2. 秋季

秋季は、葉の褐色斑点の有無を調査することが最も重要である。

その他、枝の枯れ込み並びに枝、主幹及び収穫後の果柄先端からの樹液の漏出（あるいは漏出痕）の有無等を確認する。

(1) 葉の症状

日本の秋季における病徴は明らかにされていないため、イタリアにおける病徴（図22～26）、日本の夏以降の病徴（図27、28）やPsa1系統の病徴（図29、30）を参考に、角斑状（葉脈で区切られた多角形または不整形）の褐色斑点の有無を調査する。特に夏季に伸長した葉に注目する。その他、葉の萎凋や葉巻を生じることがあるため、これらの有無も併せて観察する。なお、調査に当たっては以下の点を参考とすること。

ア 葉の裏側から観察する方が病徴を確認しやすい（図24、25：同一葉での比較）。

イ 炭疽病又は角斑病の影響等に起因する類似症状により、判別が困難になる場合があるため注意する（図31～33）。

ウ 夏から秋にかけての水分ストレスや葉の老化によっても、葉巻症状や褐色斑点症状を生じることがある点に留意する（図34、35）。



図 22 褐色斑点症状（葉裏）※1
（イタリア、平成 26 年 10 月下旬）



図 23 褐色斑点症状（葉裏）※1
（イタリア、平成 26 年 10 月下旬）



図 24 褐色斑点症状（葉裏）※1
（イタリア、平成 26 年 10 月下旬）



図 25 褐色斑点症状（葉表）※1
（イタリア、平成 26 年 10 月下旬）
図 24 と同一の葉



図 26 褐色斑点症状(葉裏)※1
(イタリア、平成 26 年 10 月下旬)

(注意) イタリアでは、ほ場調査においてPsa1及びPsa3系統を区別していない。図22～26に示した病徴は、Psaによる症状の可能性のあるものとして説明を受けたものである。



図 27 褐色斑点症状
Hort16A(佐賀県、平成 26 年 7 月下旬)



図 28 褐色斑点症状
Hort16A(佐賀県、平成 26 年 7 月下旬)



図 29 褐色斑点症状(Psa1)※2
Hort16A(愛媛県、平成 26 年 11 月上旬)

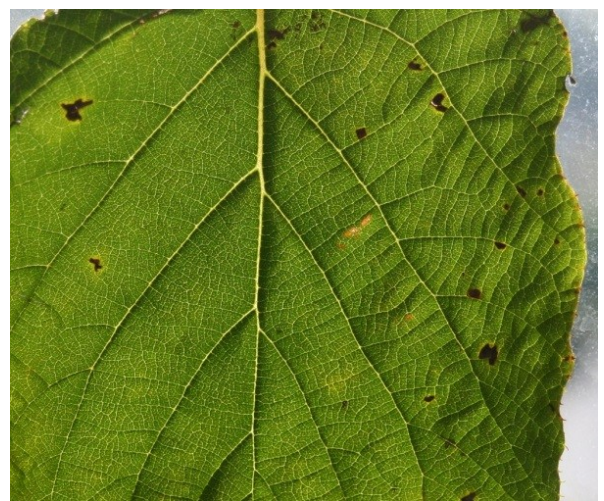


図 30 褐色斑点症状(Psa1)※2
ヘイワード(愛媛県、平成 26 年 11 月上旬)



図 31 炭疽病による褐色斑点症状
ヘイワード(福岡県、平成 26 年 8 月)



図 32 炭疽病による褐色斑点症状※2
ヘイワード(平成 26 年 10 月)



図 33 炭疽病あるいは角斑病による褐色斑点症状
ヘイワード(福岡県、平成 26 年 8 月)



図 34 水分ストレスによる症状※2
(イタリア、平成 26 年 10 月下旬)



図 35 老化による褐色斑点症状※1
(イタリア、平成 26 年 10 月下旬)

(2) 枝幹部の症状

① 枝の枯れ込み

枝が黒く変色して枯れ込む症状が観察される(図36～40)。ただし、枝折れにより枯れる場合もあるため、枝の基部等を観察して、枝折れの有無を調べることも必要である。



図 36 新梢の枯れ込み※1



図 37 枝の枯れ込み※3

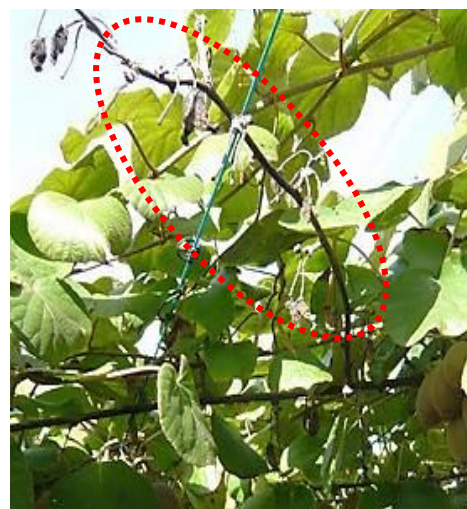


図 38 枝の枯れ込み※2



図 39 枝の枯れ込み※2



図 40 新梢の枯れ込み※4

②樹液の漏出

ア 10～12月頃は、前年の冬季から春季にかけて樹液の漏出があった場合、漏出痕が残っていることがあるので、注意深く確認する(図41～43)。

イ 12月以降の冬季では、罹病樹の枝、主幹、収穫後の果柄先端等から病原細菌を含む白色や暗赤色の樹液が漏出することがあるため、樹液漏出の有無を注意して観察する(図47～54、参考:図45、46:夏に見られる症状)。

樹液の漏出あるいは漏出痕を見逃さず、必要に応じて表皮を剥いで確認する(図44、枝の樹皮下の赤色化はPsaの典型的な病徴)。

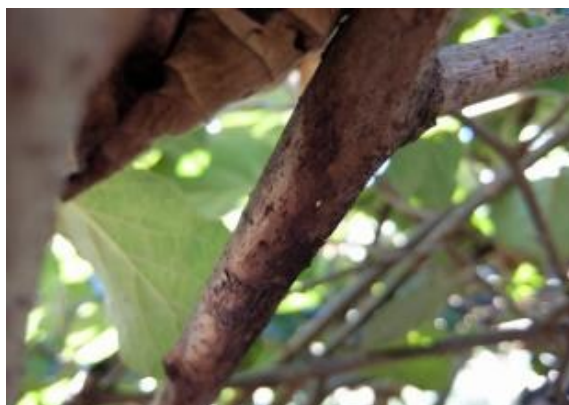


図 41 暗赤色の樹液の漏出痕※1
(イタリア、平成 26 年 10 月下旬)



図 42 暗赤色の樹液の漏出痕※1
(イタリア、平成 26 年 10 月下旬)



図 43 暗赤色の樹液の漏出痕※4
(イタリア、秋季)



図 44 樹皮下の赤色化※4
(イタリア、秋季)



図 45 暗赤色の樹液の漏出
Hort16A(佐賀県、平成 26 年7月下旬)



図 46 暗赤色の樹液の漏出
Hort16A(佐賀県、平成 26 年7月下旬)



図 47 収穫後の果柄先端からの樹液漏出※6



図 48 白色の樹液の漏出※5



図 49 剪定切り口からの樹液の漏出※5



図 50 落葉痕からの樹液漏出※4

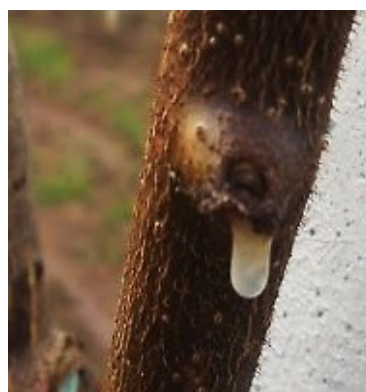


図 51 樹液漏出※4



図 52 樹液漏出※4



図 53 剪定痕からの樹液漏出
(表面が乾いて膜状となっているが、
内部には粘性のある液が含まれる)
(平成 27 年2月)



図 54 落葉痕からの樹液漏出※1
(品種・紅妃)
(平成 27 年3月)

(3) その他

葉や枝にPsaによる病徴が現れていない場合でも、果実がしぼむ(しなびる)ことがあるため、収穫前から注意して観察する(図55、56)。



図 55 果実のしぼみ※6



図 56 果実のしぼみ※3

※1 中畝 良二氏 原図

※2 篠崎 毅氏 原図

※3 KVVH; Kiwifruit Vine Health(ニュージーランド)より許可を得て転載

<http://www.kvh.org.nz/>

※4 Marco Scortichini氏 原図

※5 芹澤 拙夫氏 原図

※6 Giorgio.M.Balestra氏 原図

キウイフルーツかいよう病菌 Psa3 系統の検出方法 (1)

(葉及び枝からの生菌分離を行う検定法)

本法は、現地で確認された病徴のある葉及び枝を対象として、確実にキウイフルーツかいよう病菌 (Psa) を分離し、ほ場に Psa が存在することを証明する必要がある場合や分離株を得る必要がある場合に適した方法である。

1 診断

- (1) 園地で別紙 2 及び 3 の病徴写真のような症状があるか否かを確認。
- (2) 症状を確認した場合、「2 擬似症状の採取法」で試料を採取し、以下の方法で細菌泥の漏出を確認する。
 - ア 症状のある葉及び枝から、症状部と健全部の境界部分を中心に 3 ~ 4 mm 四方の小片を切り取る。
 - イ スライドガラス上に切り取った試料を置き、パスツールピペットで 1 滴の水 (50 μ l ~ 100 μ l 程度) を垂らし、カバーグラスを乗せる。なお、カバーグラスは軽く乗せ、試料を潰してはならない。
- (3) 生物顕微鏡下 (100 ~ 400 倍) で観察し、カミソリによる切断部分から細菌泥の漏出を確認する (写真 1)。細菌泥の漏出が観察された場合には、キウイフルーツかいよう病を想定し、次のステップに進む。

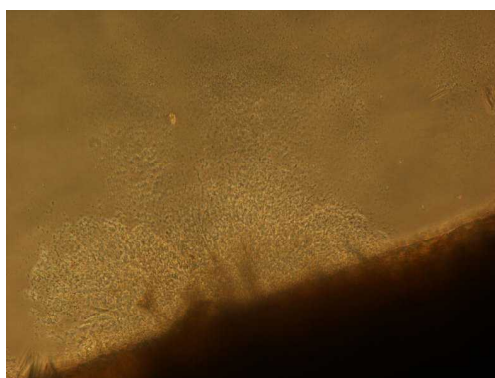


写真 1

2 擬似症状の採取法

- (1) 試料採取に当たっては、症状部を中心に健全部分を含めて広い範囲で採取する。試料採取に使用した剪定鋏等の器具類は、その都度、200ppm 以上の濃度の次亜塩素酸ナトリウム水溶液又は 70 % エタノールを用いて消毒する。
- (2) 試料を採取した植物にその旨を標示する。標示は脱落したり、不鮮明になら

ないように十分に配慮する。

- (3) 試料を採取した植物の位置が分かる見取り図を作成する。
- (4) 採取した試料は、ビニール袋に入れ、散逸しないよう厳重に梱包し、輸送するまでクーラーボックス等によりできる限り低温（0～10℃とする。ただし、かいよう病菌の死滅を避けるため、凍結させてはならない。）で保管する。
- (5) 採取した試料に、個別に試料番号を付し、試料の確認に必要な事項（採取月日、採取場所、採取者名及び試料の詳細）を記録した試料採取票を添付する。
- (6) 採取した試料の送付には、冷蔵指定（4℃）の郵便又は宅配便を利用する。
分離した菌株を送付するときは、斜面培地（普通寒天培地（NA））に移植・培養し、冷蔵指定（4℃）で送付する。

3 分離

- (1) 細菌泥の漏出が観察された症状部を5 mm 四方程度の小片として切り取り、滅菌水で2回程度洗浄する。
- (2) 洗浄した試料は滅菌スライドガラス上に置き、滅菌水(100 µl 程度)を滴下し、滅菌したカミソリで細かく切り刻む。
- (3) ガラス製ホモジナイザーを用いる場合は、試料を滅菌水 200 µl とともに磨碎する。
- (4) 上記で調製した懸濁液を普通寒天培地(NA 平板)に白金耳を用いて画線分離する。
- (5) シャーレを裏返し、27℃の定温器で3日間培養する。
- (6) 培養2日目以降に出現する0.5 mm 以下の均一な集落で、培養3日目以降に白色、円形、中高で周縁が全縁～波状、わずかに粘性で湿光を帯びた1 mm 程度の集落になったものについて、4 (2) のコロニー PCR による同定を実施する。

4 同定

使用するプライマーセットについては「表1 プライマーセット」から、以下の目的に合わせて選択する。

- ・ かいよう病菌であるかどうかの検定が必要な場合は、日本で発生が確認されている全系統を検出するプライマーセット（PSA F / PSA R 又は PsaF1 / PsaR2）を用いる。
- ・ かいよう病菌と同定された場合には、日本で発生が確認されている系統の Psa3 を検出するプライマーセット（China-F / China-R 又は hopH1-F / hopH1-R）を用いる。

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
共通	PsaF1 PsaR2	TTTTGCTTTGCACACCCGATTTT CACGCACCGTTCAATCAGGATG	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
Psa3	China-F China-R	GGAGTTCAGCAACTGACG CGCTCAAGATCCTTTTCCAT	609	Psa3（China群）用プライマーセット：Psa3系統のうち、NZ、中国及び日本で発生が確認されている分離株を検出
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

※プライマー根拠文献：

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

（１）釣菌

ア 3（６）の集落のうち、検定に供試するものにマジックで丸を付ける（写真２）。

イ 丸を付けた集落は、斜面培地に釣菌培養しておく。



写真 2

(2) PCR

ア (1) イにおいて釣菌した集落の残り（丸を付けた集落）は、クリーンベンチ内で、滅菌した爪楊枝を用いて軽く突き（写真3）、事前に作成したPCR反応液に懸濁する（写真4）。

イ PCR反応液の組成は、以下のとおり。反応液の量は25 µlとする。

1 × PCRbuffer、0.2 mM each dNTP, 0.2 µM each primer,

0.5 U Taq DNA polymerase (TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version)

ウ PCR反応条件は、以下のとおり。

反応条件 (PSA F/PSA R, China-F/ChinaR)				反応条件 (PsaF1/PsaR2, hopH1-F/hopH1-R)			
95°C	5分			95°C	5分		
95°C	30秒	30サイクル		95°C	30秒	30サイクル	
60°C	30秒			64°C	30秒		
72°C	60秒			72°C	60秒		
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609 bp (China-F / China-R) 又は605 bp (hopH1-F / hopH1-R) のサイズのDNA断片が増幅される。

オ 陽性コントロールが必要な場合には、横浜植物防疫所調査研究部病菌担当に相談する。



写真3



写真4

5 その他参考

(1) NA 平板培地：

Nutrient broth(Difco) 8g, 寒天 15g ~ 18g、蒸留水 1000 ml、 pH6.8 ~ 7.2
(通常はこの範囲に入る。)、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。

(2) NA 斜面培地：

- ・ ビーカー内で各試薬を溶かす。その際、ラップ等でふたをして、湯煎を行い、全体的に透明になるまで完全に溶かす。
- ・ 分注器で試験管に分注する（直径 18 mm の試験管 1 本につき約 8 ml）。
- ・ 分注終了後シリコ栓で栓をし、121 °C 15 分高圧滅菌し、枕木に寝かせて固める。

キウイフルーツかいよう病菌 Psa3 系統の検出方法（２）

（多量検体を迅速に診断できる検定法）

本法は、現地で確認された新葉の病斑（４～６月頃）を対象として、県の研究機関や防除指導機関等におけるかいよう病菌（Psa）の迅速・多量診断に適した方法である。なお、精密な診断を目的とした場合には、葉から全 DNA 抽出することが望ましい。

供試した病斑が Psa 以外の原因による可能性もあるため、複数の採取断片を用いて反復をとる（2014 年の実施例では、１試料当たり 4～8 断片を使用した。必要に応じ、供試断片を追加して診断を行うことが望ましい。）。

- 1 先端径が約 5 mm になるよう切断したピペットチップを用いて、診断に供する新葉の病斑部分を打ち抜き、断片を採取する。ピペットチップの継続使用は行わない。
- 2 採取した断片を 30 μ l の滅菌水を添加した 200 μ l の PCR チューブに入れ、滅菌水に浸漬する。
- 3 断片が入った PCR チューブを軽くボルテックス（10～20 秒程度）する。抽出液が着色するほど激しくボルテックスすると、植物由来の PCR 阻害物質が多量に抽出され、DNA 断片の増幅が困難となる場合がある。
- 4 PCR 阻害物質の PCR への影響を低下させるため、滅菌水で抽出液を 10 倍（抽出液が着色しているときは、100 倍）に希釈する。
- 5 4 で希釈した抽出液についてサーマルサイクラーを使用して 95 $^{\circ}$ C で 10 分間処理し、急冷する（これを全 DNA 液とする。）。
- 6 5 の抽出液および表のプライマー等を用いて、PCR で共通プライマーによる Psa 診断及び Psa3 系統の特定を行う。PCR はマルチプレックス法での実施（「PsaF1・PsaR2」及び「P0(hopA)-F1・P3(hopA)-R2」の組み合わせ）も可能ではあるが、供試試料によっては電気泳動時に明瞭なバンドが得られない場合もある。
- 7 アガロース電気泳動を行い、判定する。

8 4の希釈液を普通寒天培地(NA 平板)等に画線して培養する。

9 8について3日間程度培養した後、Psa様コロニーの有無を確認するとともに、コロニーダイレクトPCRによりPsaであるか確認する。新鮮な新葉試料であればPsaのコロニーが優先的に分離される。なお、8及び9の行程は、あくまで再確認のため行うものであり、判定までに数日を要するため、必要に応じて行うものとする。

表 Psa 系統特異的および共通検出用プライマーの塩基配列

Psa 系統等	プライマー名	プライマー配列(5'→3')	サイズ (bp)	参考
共通	PsaF1	TTTTGCTTTGCACACCCGATTTT	280	Rees-George <i>et al.</i> (2010)
	PsaR2	CACGCACCCTTCAATCAGGATG		
Psa3	P0(hopA)-F1	GCAGAGGCGATGCAAAACCCG	186	Psa3系統を幅広く検出できるプライマー 清水ら(2015)
	P3(hopA)-R2	ACGCGACAACCTACCTTGAAAAACG		
Psa3	China・F	GGAGTTCCAGCAACTGACG	609	Psa3系統の中国、NZタイプを検出できるプライマー Balestra <i>et al.</i> (2013)
	China・R	CGCTCAAGATCCTTTTCCAT		
Psa3	Europe・F	TGGTGATCGTCTGGATGTGT	733	Psa3系統のヨーロッパタイプを検出できるプライマー Balestra <i>et al.</i> (2013)
	Europe・R	ATTATGCTCCTGGCTCATGG		

〈反応液組成〉		〈反応条件〉	
AmpliTaq Gold® 360 Master Mix	6.0 μ l	95℃	10分
プライマー混合液※	1.0 μ l		
滅菌水	3.8 μ l	95℃	30秒
全DNA液	1.2 μ l	60℃	30秒
計	12.0 μ l	72℃	45秒
※各供試プライマーとも最終濃度が0.3 μ M にとなるように添加		72℃	7分

35
サイクル

図1 PCR の条件

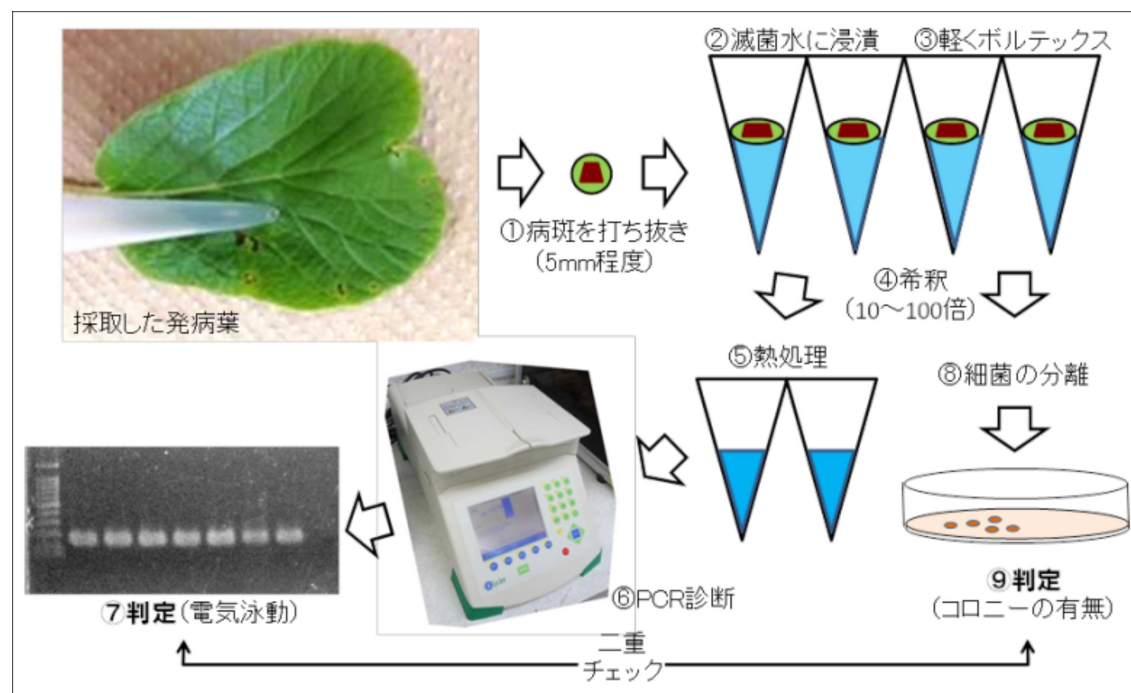


図2 PCRによるかいよう病の迅速・多量診断のフローチャート

本検出方法の開発は、平成26年度農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「課題番号26010C：キウイフルーツの新系統かいよう病に対応した診断技術，対処方法の開発」で実施した。

花粉からのキウイフルーツかいよう病菌の検定方法

本法は、農林水産省横浜植物防疫所において開発された。

1 準備

(1) 器具器材 (1 試料分)

リユーザブルボトルトップフィルターシステム (1 基)、ガラス繊維フィルター (1 枚)、メンブレンフィルター (ポアサイズ $5.0\ \mu\text{m}$ (1 枚)、ポアサイズ $0.45\ \mu\text{m}$ (1 枚))、50 ml チューブ (2 本)、振とう機、ボルテックスミキサー、アスピレーター、遠心機、ピンセット (2 本: うち 1 本は新しいメンブレンフィルターを扱う)、100 ml ねじ口瓶 (2 個)

(2) 事前準備

検定に際して、以下の準備を行う。

- ・ 生理食塩水の調製 (0.85 % NaCl、要オートクレーブ)
- ・ 1 試料あたり、1.5 ml チューブ (2 本)、50 ml チューブ (2 本)、100 ml ねじ口瓶 (1 個) に試料番号等を記入する。

2 花粉の処理

(1) 花粉 1.5g を量り取り、50 ml チューブに入れる。

(2) (1) のチューブに 20 ml の生理食塩水を入れ、室温、150 rpm、60 分間振とうする (写真 1)。

(3) リユーザブルボトルトップフィルターシステム (以下「ろ過装置」という。) を組み立てる (図 1)。ポアサイズ $5.0\ \mu\text{m}$ のメンブレンフィルターの上にガラス繊維フィルターを重ねた状態でセットし、100 ml ねじ口瓶に取り付ける (写真 2)。なお、メンブレンフィルター及びガラス繊維フィルターはピンセットで取り扱う。

(4) (2) の花粉懸濁液をろ過装置上部に入れ、アスピレーターで吸引ろ過し、ろ液を採取する。

(5) 新しい 100 ml ねじ口瓶をろ過装置に付け替える。また、ガラス繊維フィルターとポアサイズ



写真 1



写真 2

5.0 μm のメンブレンフィルターをピンセットで取り外し、廃棄する。新たにポアサイズ 0.45 μm のメンブレンフィルターに付け替える。

(6) セットしたろ過装置上部に (4) で採取したろ液に入れ、アスピレーターで吸引ろ過する。この工程によってメンブレンフィルター上に細菌が捕捉される。

(7) (6) の細菌を捕捉したメンブレンフィルターを、滅菌水 1 ml を入れた 50 ml チューブに移す。ろ過時の上面が 50 ml チューブの内側を向くように入れる。

(8) 50 ml チューブをボルテックスミキサーで約 1 分間攪拌し、メンブレンフィルター上の細菌を滅菌水中に懸濁する (写真 3)。

(9) 懸濁液を 1.5 ml チューブに移し、遠心分離 (9,000 $\times g$ 、5 分間、室温) を行う。

(10) 遠心分離後、上清を約 100 μl 残して除去する。このとき、チューブ底面付近の沈殿物を吸わないように注意する。

(11) ボルテックスミキサーで沈殿物を懸濁し、滅菌水で 10 倍に希釈する。希釈液の 25 μl を新しいチューブに移し、95 $^{\circ}\text{C}$ 、5 分間熱処理した後、氷中で急冷し、PCR の鋳型とする。残りの希釈液は冷凍保管する。

(12) PCR は「4 花粉懸濁液からの PCR」で行う。

表 1 のプライマーセットを使用する。

まず、Psa 系統全てを検出するプライマーセット (PsaF1 / PsaR2) を用いて PCR を行い、反応が陰性であった場合は、当該花粉はキウイフルーツかいよう病に感染していないものと判断する。なお、花粉懸濁液からの PCR においては、プライマーセット (PSA F / PSA R) の使用は、感度が低いと推奨しない。

PCR が陽性で、生菌分離が必要な場合は、「5 生菌分離」へ進む。

生菌分離をせず系統を確認する場合は、同じ鋳型で、Psa3 を検出するプライマーセット (China-F / China-R または hopH1-F / hopH1-R) を用いて PCR を実施し、Psa3 系統であるかを確認する。

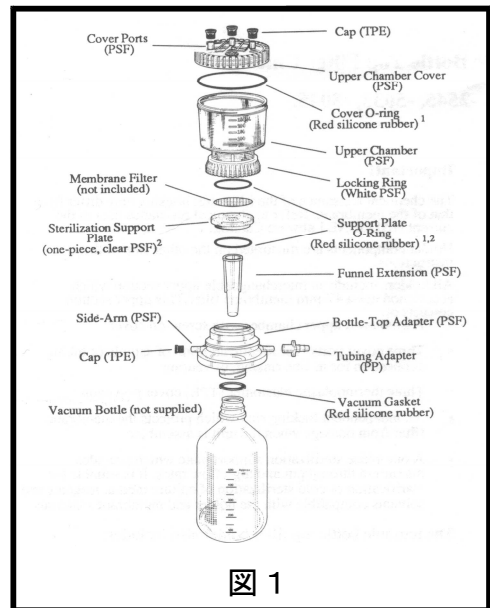


図 1



写真 3

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	China-F China-R	GGAGTTCCAGCAACTGACG CGCTCAAGATCCTTTTCCAT	609	Psa3（China群）用プライマーセット：Psa3系統のうち、NZ、中国及び日本で発生が確認されている分離株を検出
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

※プライマー根拠文献：

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

4 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 $\times$ PCR buffer、0.2 mM each dNTP、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 (China-F/ChinaR)		
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 609 bp（China-F / China-R）又は 605 bp（hopH1-F / hopH1-R）のサイズの DNA 断片が増幅される。

5 生菌分離

(1) 事前に以下のものを用意する。

- | | |
|-------------------------------|-------------------|
| ○ KBC 平板培地 (40 枚～150 枚) | ○ NA 平板培地 (3～5 枚) |
| ○ 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 (100～500 本) | ○ 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) 花粉懸濁液全量を滅菌水 30 ml に加えて希釈する。しっかりと混和させる。

(4) 希釈液 200 μ l を KBC 平板培地に塗布する (40 枚～150 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 以下の集落で、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) で出現した集落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 集落の釣菌を行う)。(写真 6 参照)

(9) (8) で番号を振った集落は、クリーンベンチ内で滅菌爪楊枝 (チップでも可) で軽く集落に触れ、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

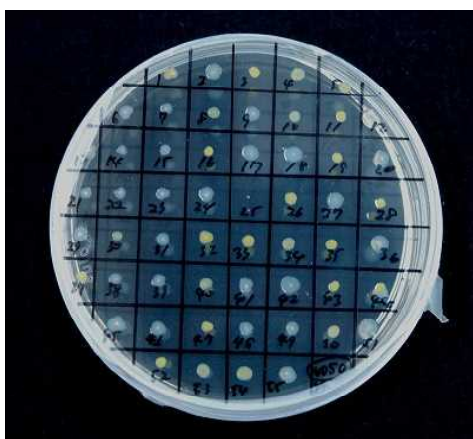


写真 6

(11) P C R

ア 選抜したコロニーは、滅菌爪楊枝で軽く突き（写真 7）、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)

ウ PCR 反応条件

PCR 反応条件は、以下のとおり

反応条件		反応条件	
(PSA F/PSA R, China-F/ChinaR)		(PsaF1/PsaR2, hopH1-F/hopH1-R)	
95℃	5分	95℃	5分
95℃	30秒	95℃	30秒
60℃	30秒	64℃	30秒
72℃	60秒	72℃	60秒
		30サイクル	
72℃	5分	72℃	5分
4℃	Hold	4℃	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 609 bp (China-F / China-R) 又は 605 bp (hopH1-F / hopH1-R) のサイズの DNA 断片が増幅される。

<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

- ・コサイドボルドー（銅水和剤）は「500 倍散布（収穫後～発芽前）」で登録を有しているが、コサイド 3000 へ製造切換え予定であり、既に製造を中

- 止しているメーカーもあることから、上記薬剤リストからは除外している。
- ・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「一」
- 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「－」
- （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27年12月25日時点のもの

※有効成分ごとの総使用回数は、銅「－（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27年12月25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	－	－
15552	銅水和剤	コサイドボルドー	500倍		散布	収穫後～発芽 前	－	－
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。

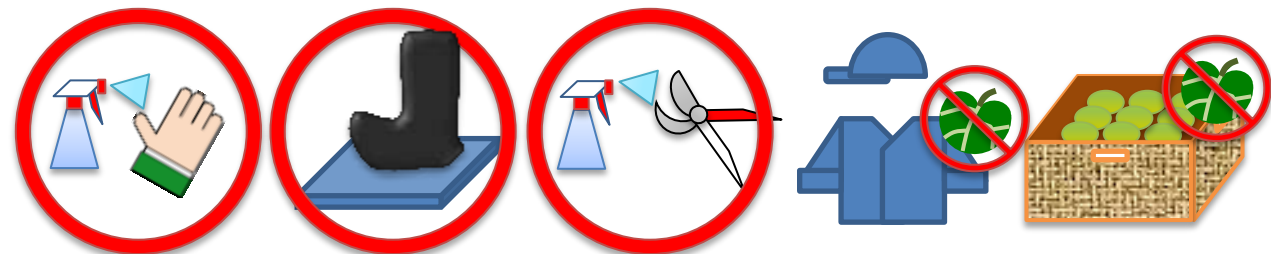
発病前からの予防が重要

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

参考1

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！

かいよう病とは？

- ◆ かいよう病は、樹が枯れることもある非常に被害が大きな病気です。
- ◆ 従来から発生していましたが、近年、海外から侵入してきたと思われる新系統が発生しています。
- ◆ この病気は、人畜等への影響はありません。（果実を食べても問題ありません）

大切なほ場を守るために

早期発見が重要

- ◆ 春（発芽期～開花後、最も発病が激しい）
枝幹からの樹液の流出・葉の斑点・新梢や枝の枯死等
- ◆ 夏 新梢や枝の枯死
- ◆ 秋 葉の斑点・枝の枯死
- ◆ 冬 枝幹からの樹液の流出

Point!



下のような写真のような症状を見つけたら、最寄の関係機関に連絡してください。

キウイフルーツかいよう病の発生生態と病徴



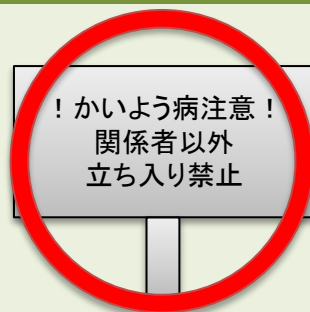
果樹園管理ガイド

地域の発病を防ぐためには皆様の協力が必要です。
未発生園でも予防的に行ってください。



平成26年度農食事業(キウイフルーツかいよう病)研究プロジェクトチーム編

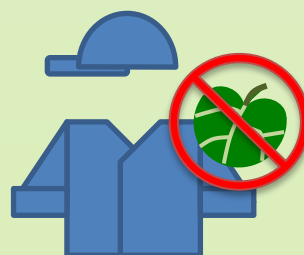
参考2



かいよう病発生園では、看板を設置し、関係者以外の立ち入りを禁止する。



園地に出入の際には、手を消毒液(70%エタノール)で消毒する。



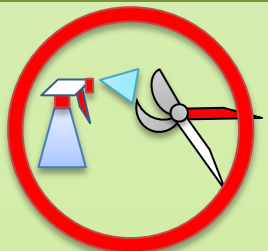
果樹園から出る前に、体に付いた植物残さや泥を落とす。



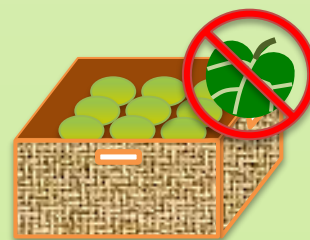
園地に出入りの際には靴底を、消毒液(200ppm以上(5%で250倍)の次亜塩素酸ナトリウム等)で消毒する。



発生園で作業した場合、そのままの服装で他の園には行かない。(発生園での作業は最後に)



ハサミやノコギリ等の管理器具は、園地ごとに専用のものを用意し、樹ごとに消毒液で消毒する。



収穫かごに植物残さを持ち込まない。使用後は清潔に保つ。

病徴ガイド

このような病徴を見つけたら、関係機関に連絡を。



ガクの褐変



ハローを伴った斑点と葉裏の樹液
流出痕(Hort16A)



新梢枯れと樹液の流出
(Hort16A)



ハローが無い斑点(ヘイワード)



枝枯れ(レインボーレッド)



従来のかいよう病菌による、ハ
ローが大きな斑点(ヘイワード)



白色の樹液の流出と暗赤色の痕