

# キウイフルーツかいよう病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*(Psa))に汚染された花粉からのPsaの検出方法の開発および福岡県内で採取された花粉の汚染状況調査

誌名	福岡県農林業総合試験場研究報告
ISSN	21894876
著者名	菊原,賢次
発行元	福岡県農林業総合試験場
巻/号	5号
掲載ページ	p. 5-10
発行年月	2019年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# キウイフルーツかいよう病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa)) に汚染された花粉からの Psa の検出方法の開発および福岡県内で採取された 花粉の汚染状況調査

菊原賢次\*

福岡県では 2014 年以降、*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar3 (Psa3) によるキウイフルーツかいよう病の被害が拡大している。Psa3 に汚染された花粉は感染を拡大させる可能性があるため、人工授粉には健全花粉を使用しなければならない。汚染花粉からの Psa3 の検出方法は「キウイフルーツかいよう病 Psa3 系統の防除対策マニュアル」に記載されているが、1 サンプルごとに高価な専用機器で集菌してから PCR 法で検出するため、時間と労力がかかり、大量検定には不向きである。一方、花粉から直接 DNA を抽出し、PCR 法で検出する方法が報告されているが、検出限界は明らかではない。本研究は花粉から直接 DNA を抽出し、防除マニュアルに記載されたプライマーを用いた PCR 法により、Psa3 が  $3 \times 10^4$  cfu/g 含まれる人工汚染花粉から検出が可能であった。次に、開発手法を中心として用い、2016 年に福岡県の 36 圃場で生産された花粉の汚染状況を調査した結果、本病発生圃場の雄木から採取されたすべての花粉から Psa3 が検出された。また、発生圃場に隣接した未発生圃場の雄木から採取した花粉からも Psa3 が検出された。一方、無発生地区で生産された花粉から Psa3 は検出されなかった。このことから、発生地区では健全花粉の生産は困難であることが示唆され、授粉に使用する花粉は少なくとも、無発生地区での生産が必要と考えられた。

[キーワード: キウイフルーツ, 汚染花粉, PCR 法, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3]

Detection Method of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* from Contaminated Pollen and Investigation into the Contamination of Pollen from Male Kiwifruit Vine in Fukuoka Prefecture. KIKUHARA Kenji (Fukuoka Agriculture and Forestry Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. For. Res. Cent.* 5:5-10 (2019)

In the Fukuoka Prefecture, an outbreak of bacterial canker in kiwifruit, caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3 (Psa3), has been occurring since 2014. Psa3-free pollen must be used for artificial pollination because pollen contaminated with Psa3 may spread this disease. The existing method for Psa3 detection needs expensive and specialist equipment; thus, many samples cannot be easily analyzed. In addition to this, it was reported that PCR analysis using DNA directly extracted from pollen could detect Psa3, although the degree of sensitivity needed to detect Psa3 was unclear. In this study, Psa3 was detected from artificially contaminated pollen, adjusted to  $3 \times 10^4$  cfu/g, by PCR analysis using DNA directly extracted from pollen. We investigated contamination of pollen in samples collected from male kiwifruit vines in 36 orchards in the Fukuoka Prefecture in 2016. Psa3 was detected in pollen collected from diseased orchards, as well as in pollen collected from non-diseased orchards in areas where the disease occurred. Unsurprisingly, Psa3 was not detected in pollen collected from orchards in areas where the disease did not occur. The results demonstrated that Psa3-free pollen should be produced in areas where the disease does not occur.

[Key word: contaminated pollen, detection by PCR, kiwifruit, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3]

## 緒言

キウイフルーツかいよう病は、キウイフルーツかいよう病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (以下、Psa) によって引き起こされる細菌性の病害である。Psa はキウイフルーツ (*Actinidia chinensis*, *A. deliciosa*) の葉や花蕾に褐色斑を形成し、新梢を枯死させる。さらに、枝、幹に赤褐色の樹液漏出を引き起こし、時に、樹を枯死させる。本病は風雨で飛散し、風当たりの強いところで発生が多い (牛山 1993)。Psa は多様性に富み、日本で最初に発見された biovar1 (Takikawa *et al.* 1989) の他に 4 種類の biovar が知られている (澤田ら 2014, 2016)。その中でも biovar3 (以下、Psa3) は近年、世界で流行を引き起こし、イタリア、チリ、ニュージーランド、中国、韓国等主要生产国で確認されている (Cunty *et al.* 2015, 農林水産省 2016a)。

2014 年 4 月に愛媛県で Psa3 が日本で初めて発見され、

同時期に福岡県、佐賀県、岡山県、和歌山県、静岡県、茨城県でも確認された (澤田ら 2015)。その後、福岡県では本病の発生が拡大し、現在も被害が発生している (菊原ら 2016, 2017)。キウイフルーツは雌雄異株で、確実な着果や果実肥大を確保するため、人工授粉が一般的に行われている。それに使用される花粉は自家採取の他に少なくとも 2010 年からニュージーランド等から輸入されている (農林水産省 2018a)。国内の侵入経路の一つとして、海外から輸入された Psa3 に汚染された花粉 (汚染花粉) の可能性が示唆された (農林水産省 2015, 篠崎ら 2015, 大谷ら 2018)。また、接種試験により汚染花粉がかいよう病の伝染源になりうることが報告されている (Stefani・Giovanardi 2011, Tontou *et al.* 2014, 篠崎ら 2015)。Psa3 の病害リスク解析の結果、これ以上の感染拡大を防止するためには、健全花粉 (Psa3 に汚染されていない花粉) による授粉が必要である (農林水産省 2016a)。現在、輸入相手国の検査を通過した花粉が輸入されているが (農林水産省 2016b)、

\*連絡責任者 (病害虫部: kikuhara@farc.pref.fukuoka.jp)

受付 2018 年 7 月 27 日; 受理 2018 年 11 月 15 日

輸入相手国もかいよう病が発生しており、健全花粉の輸入が継続される保証はない。このため、本県産地では花粉生産が推進されているが、本県の主要産地はかいよう病が発生し、雄木の多くは本病発生地域に植栽されている。ニュージーランドにおいて、本病発生圃場にある雄木から採取された花粉の汚染状況が調査され、発病樹だけでなく、未発病樹から採取された花粉からも Psa3 が検出された (MPI 2011)。本県でも同様に発生圃場から採取された花粉が Psa で汚染されていると推定されるが、日本国内の調査事例の報告がなく、情報が不足している。このため、福岡のキウイフルーツ「甘うい」普及推進協議会 (以下、「甘うい」協議会) と共同で発生地域の生産者が採取した花粉の汚染状況を調査した。本県では、本病の発生調査のため、葉や樹体からの検出を実施してきたが (成山ら 2016)、花粉の調査は実施していなかった。花粉からの Psa3 の検定方法は「キウイフルーツかいよう病 Psa3 系統の防除対策マニュアル (以下、防除マニュアル)」(農林水産省 2018b) に掲載されているが、1 サンプルごとに高価なる過装置を用いて花粉懸濁液から集菌してから PCR 法で検定をしなければならないため、大量検定には不向きである。一方、前述のニュージーランドの調査 (MPI 2011) や Gallelli *et al.* (2011) は市販の DNA 抽出キットで汚染花粉から全 DNA を抽出し、PCR 法で検定した。しかし、検出限界には言及しておらず、寒天培地による分離で汚染濃度が  $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$  cfu/g と推定された自然汚染花粉 (MPI 2011) をどの程度検出可能か不明である。本研究では花粉から直接抽出した DNA を鋳型とする PCR 方法の検出限界を検討し、汚染花粉からの Psa3 簡易検出方法を確立した。さらに、開発された手法を中心に、本病の発生程度の異なる現地圃場から採取された花粉の汚染実態を調査し、雄木がある圃場およびその周辺圃場における本病の発生状況と花粉の汚染状況の関連性を解析した。

## 材料および方法

### 試験 1 花粉からの Psa3 検出方法の検討

検出限界を検討するためには、汚染濃度が明らかな花粉が必要である。発生樹から採取した花粉では汚染程度が不明なため、人工的に汚染花粉を作製した。

#### 1) 汚染花粉の作製

汚染花粉の作製には 2016 年にニュージーランドから輸

入されたキウイフルーツの花粉および 2016 年に福岡県の未発生地域で採取された健全花粉を用いた。福岡県で 2014 年に分離された Psa3 菌株 MAFF212111 を前培養した後、普通寒天培地 (ニッスイ、東京) で 1 日間培養後、菌体を採取し、滅菌水で  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  cfu/mL に調整した。なお、調製した細菌懸濁液を普通寒天培地に塗布し、2 日後にコロニー数を計測して細菌濃度を確認した。花粉 0.03 g を 1.5 mL のチューブに入れ、各濃度の細菌懸濁液を 10  $\mu$ L 加え、 $3 \times 10^2$ ,  $3 \times 10^3$ ,  $3 \times 10^4$  cfu/g 相当の汚染花粉を作製した。1 回の試験に 2 反復作製し、実験を 2 回繰り返した。

#### 2) DNA の抽出

成山ら (2016) の方法と同様に、DNA の抽出は磁性ビーズを用いた MagExtractor-Plant genome- (TOYOBO, 大阪) を使用し、手順は添付のマニュアルに従った。なお、花粉は粉末であるため、液体窒素を用いた凍結破砕を省略した。

#### 3) PCR 反応の条件

PCR 反応には AmpliTaq Gold 360 Master Mix (applied biosystems, フォスター) を使用した。添付の説明書を参考に全反応液を 20  $\mu$ L に調製した。人工汚染花粉から抽出した DNA および  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  cfu/mL に調整した細菌懸濁液それぞれ 1  $\mu$ L を鋳型として用いた。防除マニュアルに掲載されているプライマーセット、PSA F1/PSA R2 (Rees-George *et al.* 2010) (以下、ユニバーサルプライマー、第 1 表)、P0(hopA)-F1/P3(hopA)-R2 (清水ら 2015) (以下、hopA プライマー、第 1 表) および hopZ5-F2/hopZ5-R2 (澤田ら 2015) (以下、hopZ プライマー、第 1 表) を用いた。ユニバーサルプライマーと hopA プライマーを用いた PCR 条件は、95°C 5 分、(95°C 30 秒、64°C 30 秒、72°C 30 秒) を 40 回繰り返す、72°C 5 分とした。hopZ プライマーを用いた PCR 条件は、95°C 5 分、(95°C 30 秒、60°C 30 秒、72°C 60 秒) を 40 回繰り返す、72°C 5 分とした。増幅 DNA 断片を 2% のアガロースゲル電気泳動で確認した。

### 試験 2 現地で採取された花粉における Psa3 の汚染状況

本調査は「甘うい」協議会と分担して実施された。

#### 1) 花粉の収集と検出方法

2016 年に福岡県 A 市の生産者 36 人が採取した 36 検体の花粉を 2017 年 2 月に収集し、試験に用いた。これ

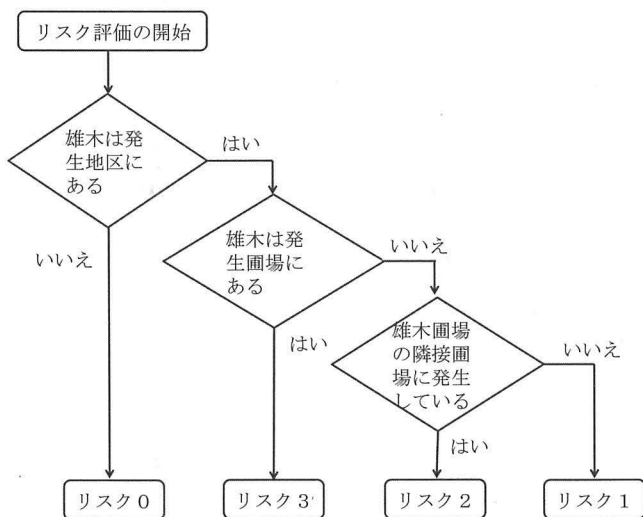
第 1 表 本研究で使用したプライマー配列

プライマー名	プライマー配列 (5'→3')	サイズ(bp)	出典
ユニバーサルプライマー			
PsaF1	TTTTGCTTTGACACCCCGATTTT	280	Rees-George <i>et al.</i> (2010)
PsaR2	CACGCACCCCTCAATCAGGATG		
hopA プライマー			
P0(hopA)-F1	GCAGAGGCGATGCAAAACCCG	186	清水ら (2015)
P3(hopA)-R2	ACGCGACAACCTTGA AAAACG		
hopZ プライマー			
hopZ5-F2	CAGGAATTCATGACTTCTCA	630	澤田ら (2015)
hopZ5-R2	TAGTCTCGAAGATTCAATGG		

ら 36 検体のうち 16 検体の検査をヒル・ラボラトリーズ (ニュージーランド) に委託した。ヒル・ラボラトリーズでは、磁性ビーズを用いて DNA を抽出し、リアルタイム PCR 法で検定した。1 サンプルあたり 10cfu が検出限界である。なお、PCR プライマーは公表されていない。残りの 20 検体を以下の方法で検査した。1 サンプルあたり 0.03g を 1.5mL のチューブに入れ、前述の方法で、DNA を抽出し、PCR 法を実施した。プライマーは後述の結果より、人工汚染花粉および細菌懸濁液からの検出限界を考慮し、ユニバーサルプライマーと hopA プライマーを用いた。ユニバーサルプライマーが近縁種のチャ赤焼病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *theae*) に反応する (Rees-George *et al.* 2010) ように、PCR 検定には偽陽性反応の危険性を伴うため、複数のプライマーセットを用い、両プライマーセットの反応結果が一致したときに陽性とした。1 検体あたり 2 反復実施した。Psa3 が混入した花粉であっても、偶然 Psa3 が存在しない部分を抽出する可能性があるため、陽性が 1 反復でも確認された場合、その検体を陽性とした。

2) 自家採取花粉の来歴調査

現地の雄木がある圃場およびその周辺圃場のかいよう病発生状況と花粉の汚染状況の関連性を調査するため、雄木がある圃場およびその隣接圃場における本病の発生の有無について、2016 年産の生産終了後に生産者への聞き取り調査を実施した。さらに、雄木がある圃場の地区を大字単位 (数 km<sup>2</sup>程度) で 5 地区にわけ、地区ごとの本病発生面積率を 2016 年の春季調査 (農林水産省, 2018b) 結果から取りまとめた。これらの情報を基に、雄木と本病発生圃場の関係に応じて、汚染リスクを 4 段階に区分した (第 1 図)。すなわち、雄木が無発生地区にある場合をリスク 0、本病発生地区で、雄木のある圃場に発病樹がある場合をリスク 3、雄木がある圃場に発病樹は無いが隣接圃場に発病樹がある場合をリスク 2、雄木がある圃場とその隣接圃場で発病樹がない場合をリスク 1 とした。なお、春季調査は県内全地域を対象に



第 1 図 雄木がある圃場のリスク評価のフローチャート

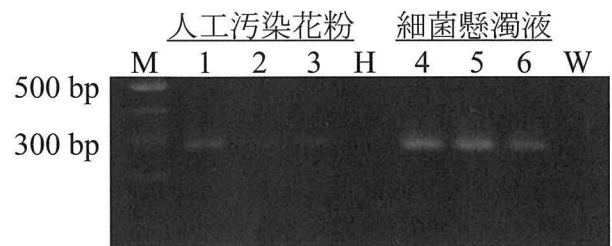
生産者、普及指導員および JA 営農指導員からの診断依頼を元を実施されている。

結果

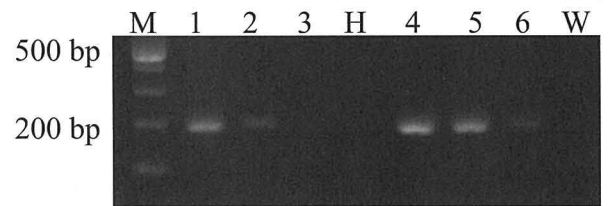
試験 1 Psa3 検出方法の検討

細菌懸濁液を鋳型にして検出した結果、ユニバーサルプライマーおよび hopA プライマーは  $1 \times 10^3$  cfu/mL (1 サンプルあたり 1cfu) まで、hopZ プライマーは  $10^4$  cfu/mL (1 サンプルあたり 10cfu) まで検出された (第 2 図)。人工汚染花粉から抽出した DNA を鋳型にして検出した結果、ユニバーサルプライマーは  $3 \times 10^2$  cfu/g (1 サンプルあたり 10cfu) まで検出され、hopA プライマーおよび hopZ プライマーは  $3 \times 10^3$  cfu/g (1 サンプルあたり 100cfu) まで検出された。試験を 2 回実施したが、いずれのサンプルも結果は同じで、再現性

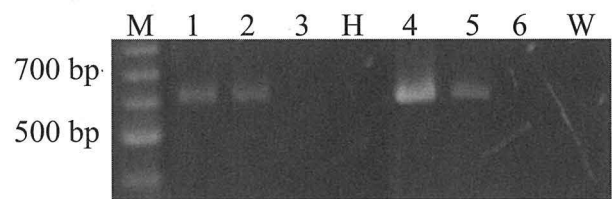
a) ユニバーサルプライマー



b) hopA プライマー



c) hopZ プライマー



第 2 図 各種プライマーを用いた PCR 法による増幅産物の電気泳動像

a) ユニバーサルプライマー (Rees-George *et al.* 2010) ; b) hopA プライマー (清水ら 2015) ; c) hopZ プライマー (澤田ら 2015)  
 M : 100bp ラダーマーカー, 1~3 : 人工汚染花粉, 1 :  $3 \times 10^4$  cfu/g, 2 :  $3 \times 10^3$  cfu/g, 3 :  $3 \times 10^2$  cfu/g,  
 H : 健全花粉, 4~6 : 細菌懸濁液, 4 :  $1 \times 10^5$  cfu/mL, 5 :  $1 \times 10^4$  cfu/mL, 6 :  $1 \times 10^3$  cfu/mL, W : 滅菌水

が高かった。

## 試験2 現地で採取された花粉における Psa3 の汚染状況

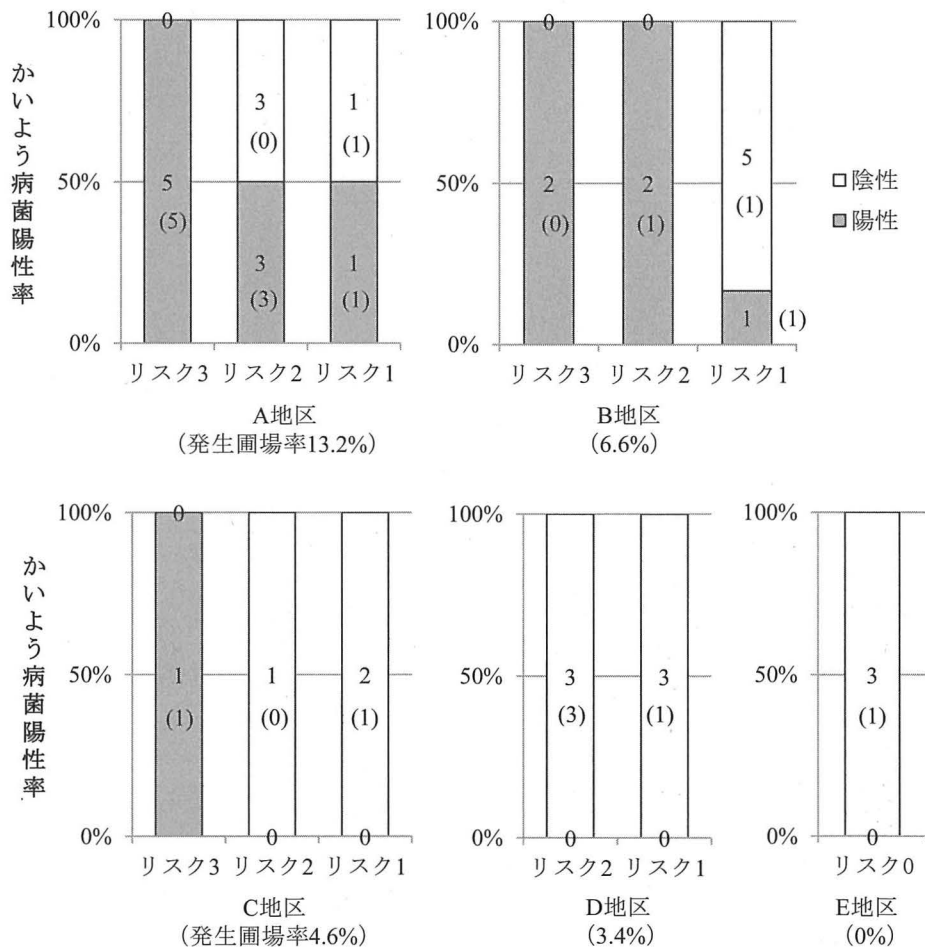
2016年における各地区の発生圃場面積率はA地区で13.2%、B地区で6.6%、C地区で4.6%、D地区で3.4%、E地区で0%であった(第3図)。

現地で採取された花粉を検定した結果、A地区13検体のうち9検体(うち、本開発手法では10検体のうち9検体)、B地区10検体のうち5検体(うち、本開発手法では3検体のうち2検体)、C地区4検体のうち1検体(うち、本開発手法では2検体のうち1検体)からPsa3が検出された。一方、D地区6検体(うち、本開発手法では4検体)およびE地区3検体(うち、本開発手法では1検体)からはすべて検出されなかった。地区における本病発生圃場率が高いほど検出率が高い傾向があった(第3図)。また、本開発手法による検出割合(12検体/20検体)はヒル・ラボラトリーズによる検出割合(3検体/16検体)より大きかった。また、リスク3は地区に関わらずすべての検体からPsa3が検出された。リスク2およびリスク1はA地区およびB地区

区の検体からPsa3が検出されたが、両地区より発生面積が少ないC地区およびD地区の検体からは検出されなかった。発生地区ではないリスク0からは検出されなかった。

## 考察

人工汚染花粉におけるユニバーサルプライマーのPsa3の検出限界( $3 \times 10^3$ cfu/g, 1サンプルあたり1cfu)はhopAプライマーおよびhopZプライマー( $3 \times 10^4$ cfu/g, 1サンプルあたり10cfu)より優れた。細菌懸濁液におけるユニバーサルプライマーおよびhopAプライマーの検出限界( $1 \times 10^3$ cfu/mL, 1サンプルあたり1cfu)はhopZプライマー( $1 \times 10^4$ cfu/mL, 1サンプルあたり10cfu)より優れた。以上の結果、ユニバーサルプライマー、hopAプライマー、hopZプライマーの順に検出力が高いと推定された。さらに、人工汚染花粉および細菌懸濁液ともに検出力が一番高かったユニバーサルプライマーと次いで高かったhopAプライマーの検出限界は、ヒル・ラボラトリーの手法(1サンプルあたり10cfu)と比較して同等から優れていた。上記の結果を基に、現地花粉の汚染状況調査ではユニバーサ



第3図 雄木がある圃場の各リスク別のかいよう病菌検出率

1) グラフ内の数値は検定数で、( )内は、そのうち本検出方法で実施した数

ルプライマーおよび hopA プライマーを用いた。その結果、本開発手法はヒル・ラボラトリーズの手法より検出割合が高い傾向があった。特に、A 地区のリスク 2 と B 地区のリスク 1 の陰性の多くはヒル・ラボラトリーズに委託しており、A 地区と B 地区の検出割合はさらに高い可能性があった。また、本開発手法（検出限界は  $3 \times 10^4$  cfu/g）は自然発病樹から採取された汚染花粉（汚染濃度  $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$  cfu/g (MPI 2011)）をほぼ検出可能と考えられたため、花粉検定に有効な検出方法であると推察された。加えて、防除マニュアルに掲載されている汚染花粉の検定方法の検出限界は不明であるが、本手法は高価な機器を必要としないため、大量検定に適すると考えられた。

以上の結果を考慮し、本病の発生状況と花粉からの Psa3 検出割合について考察した。現地で採取された花粉の汚染状況調査の結果、本病無発生地区の汚染リスクは非常に低く、地区の発生面積率が高いほど、汚染リスクが高い傾向があった。本病発生地区では、雄木がある圃場の近くに発生圃場があるほど汚染リスクが高く、周辺圃場に発生が確認されなくても汚染リスクが存在していた。一方、C 地区および D 地区では隣接圃場に発生していても Psa3 が検出されなかった。これらの地区は Psa3 が検出された B 地区よりも発生面積率が少ないものの数%の差しかなく、今回のリスク評価基準ではこれらを区別できなかった。汚染リスクを詳細に評価するには、本病の発生拡大を抑制する防風林の存在や圃場周辺の地形等のさらなる周辺情報の収集と調査事例が必要と考えられた。本研究では発病していない雄木から Psa3 が検出された。また、本調査に先行して実施した花粉検定では、雄木の初発を確認した前年に採取した花粉から Psa3 が検出された（データ略）。本研究で調査された雄木 (*A. deliciosa*) は Psa3 による葉や枝の発病に対して比較的強い品種である（農林水産省 2018b）。花粉の汚染と本病による症状や発病を指標とした抵抗性は関連性が低い可能性がある。本検査結果から、雄木の周辺圃場の発生状況と花粉の汚染リスクに一定の関連性が確認された。しかし、発生地区で汚染リスクがない花粉を区別することはできなかったため、発生地区では汚染リスクのない花粉を生産することは困難であることが示唆された。このことから、授粉用の花粉は、少なくとも、リスク 0 すなわち、本病無発生地区で生産することが必要とされる。

本県では 2014 年以降、Psa3 に抵抗性が弱いレインボーレッド（農食事業 27008C コンソーシアム, 2018）を中心に本病の被害が拡大している（菊原ら 2016, 2017）。一方、未発生圃場も存在しており、これ以上の発生拡大を防ぐため、健全花粉の使用は重要である。輸入花粉に依存した花粉の供給体制には、2015 年度に輸入花粉から Psa3 が検出され、輸入できない事例が発生する（農林水産省, 2018b）など、不測のリスクがある。このため、一定量の自給は必要であるが、県内の主な産地は本病が発生しており、健全花粉の生産が困難である。今後の研究は、本病未発生の新植地で短期間に花粉を生産できる

栽培法や花粉生産に適する品種開発・選抜が必要である。さらに、本病無発生地区でも、突発的な病原菌の侵入により、花粉を汚染させてしまうリスクがあるため、そのリスクを低減させる花粉の消毒法の検討が必要であろう。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、現地の JA および生産者、ならびに普及指導センターには花粉の収集および発生状況調査に協力していただいた。また、福岡のキウイフルーツ「甘うい」普及推進協議会には検査の外部委託に協力していただいた。病害虫部長松本幸子氏およびチーム長清水信孝氏には助言を頂いた。深謝の意を表する。

## 引用文献

- Cunty A, Poliakoff F, Rivoal C, Cesbron S, Saux MFL, Lemaire C, Jacques MA, Manceau C, Vanneste JL (2015) Characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) isolated from France and assignment of Psa biovar 4 to a de novo pathovar: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidifoliorum* pv. nov. Plant Pathol. 64 : 582–596.
- Gallelli A, Talocci S, L'AURORA A, Loreti S (2011) Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, causal agent of bacterial canker of kiwifruit, from symptomless fruits and twigs, and from pollen. Phytopathol. Medoterr 50 : 462–472.
- 菊原賢次・成山秀樹・國丸謙二・石井貴明 (2016) 福岡県における 2015 年のキウイフルーツかいよう病 biovar3 (Psa3) の発生状況. 日植病報 82 : 285–286.
- 菊原賢次・成山秀樹・石井貴明 (2017) 福岡県における 2016 年のキウイフルーツかいよう病 biovar3 (Psa3) の発生状況. 日植病報 83 : 236–237.
- MPI (Ministry for primary industries) (2011) Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* from leaves and pollen collected from symptomatic and asymptomatic *Actinidia chinensis* in Te Puke, Bay of Plenty. MPI, Auckland, <http://www.kvh.org.nz/vdb/document/91512> (Cited 31 July 2018)
- 成山秀樹・菊原賢次・國丸謙二・清田真二 (2016) 2015 年春～夏季におけるキウイフルーツからの *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar3 (Psa3) の検出. 九病虫研報 60 : 141. (講要)
- 農林水産省 (2015) 第 3 回キウイフルーツかいよう病の Psa3 系統に関する防除対策専門家会議の概要. [http://www.maff.go.jp/j/syouan/syokubo/gaicyu/siryuu2/other/pdf/h270803\\_gaiyou.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/syokubo/gaicyu/siryuu2/other/pdf/h270803_gaiyou.pdf) (2018 年 7 月 31 日閲覧)
- 農林水産省 (2016a) *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3 (キウイフルーツかいよう病菌 Psa3) に関

- する病害虫リスクアナリシス報告書. 横浜植物防疫所調査研究部, 横浜, [http://www.maff.go.jp/j/syouan/keneki/kikaku/pdf/2\\_2\\_21\\_pseudom\\_syringa\\_pv\\_actinid\\_biovar3\\_pra.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/keneki/kikaku/pdf/2_2_21_pseudom_syringa_pv_actinid_biovar3_pra.pdf) (2018年7月31日閲覧)
- 農林水産省(2016b)植物防疫法施行規則(省令)の新旧対照条文. <http://www.maff.go.jp/j/syouan/keneki/kikaku/pdf/syourei.pdf> (2018年7月31日閲覧)
- 農林水産省(2018a)植物検疫統計情報. <http://www.pps.go.jp/TokeiWWW/Pages/toukeiList/toukeiInfoList.xhtml> (2018年7月31日閲覧)
- 農林水産省(2018b)キウイフルーツかいよう病のPsa3系統の防除マニュアル(第3版). <http://www.maff.go.jp/j/syouan/syokubo/gaicyu/siryuu2/attach/pdf/index-14.pdf> (2018年7月31日閲覧)
- 農食事業 27008C コンソーシアム (2018) Psa3 系統によるキウイフルーツかいよう病に対する防除対策技術. 農研機構, 東広島市, p. 37-38.
- 大谷 衛・片岡郁雄・秋光和也(2018)香川県内で分離されたキウイかいよう病菌のゲノム解析. 平成 30 年度日本植物病理学会大会プログラム・講演要旨予稿集 p. 141.
- Rees-George J, Vanneste JL, Cornish DA, Pushparajah IPS, Yu J, Templeton MD, Everett KR (2010) Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* using polymerase chain reaction (PCR) primers based on the 16S-23S rDNA intertranscribed spacer region and comparison with PCR primers based on other gene regions. *Plant Pathol.* 59 : 453-464.
- 澤田宏之・三好孝典・井手洋一(2014) *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* の新規 MLSA グループ (Psa5 系統) によって *Actinidia chinensis* に発生したかいよう病. *日植病報* 80 : 171-184.
- 澤田宏之・清水伸一・三好孝典・篠崎 毅・楠元智子・野口真弓・成富毅誌・菊原賢次・間佐古将則・藤川貴史・中畝良二(2015)わが国で分離された *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar3 の特徴. *日植病報* 81 : 111-126.
- 澤田宏之・近藤賢一・中畝良二(2016)キウイフルーツかいよう病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*) の新規 biovar (biovar6) の特徴. *日植病報* 82 : 101-115.
- 清水伸一・澤田宏之・篠崎 毅・楠元智子・野口真弓・菊原賢次・三好孝典(2015)キウイフルーツかいよう病菌の biovar3 を検出する新しいプライマーの作製. *日植病報* 81 : 296.
- 篠崎 毅・楠元智子・清水伸一・中川雅之(2015)授粉によるキウイフルーツかいよう病菌の感染の可能性. *日植病報* 81 : 296.
- Stefani E, Giovanardi D (2011) Dissemination of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* through pollen and its epiphytic life on leaves and fruits. *Phytopathol. Mediterr.* 50 : 489-496.
- Takikawa Y, Serizawa S, Ichikawa T, Tsuyumu S, Goto M (1989) *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* pv. nov.: the causal bacterium of canker of kiwifruit in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 55 : 437-444.
- Tontou R, Giovanardi D, Stefani E (2014) Pollen as a possible pathway for the dissemination of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and bacterial canker of kiwifruit. *Phytopathologia Mediterranea* 53 : 333-339.
- 牛山欽司(1993)キウイフルーツかいよう病の生態と防除に関する研究. 神奈川県園芸試験場研究報告 43 : 1-76.