

5. イネ

26. イネクキセンチュウ (*Ditylenchus angustus*)

ア 調査

【調査対象植物】

イネ

【調査時期】

調査は、調査対象植物（イネ）の生育期間中に年1回以上実施する。なお、出穂期から登熟期にかけて症状が確認しやすいため、必要に応じてこれらの時期に調査を実施する。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 調査地点は、都道府県内で偏りが生じないように留意して設定する。
- 2) 設定した調査地点あたり10株を対象に、病徴写真を参考にしつつ、本線虫に感染した植物で見られるような葉上の白い斑点、白くかすれた模様といった初期症状、その後に生じる葉の捻れ、穂の捻れや奇形、小穂の奇形がないかどうかを目視で調査する。
- 3) 感染が疑わしい場合は、症状部位、株全体、ほ場全体、周囲の様子等を写真撮影した上で試料を採取する。なお、感染が疑わしい株が無ければ試料は採取せず、調査を終了する。
- 4) 採取した植物体から線虫を分離し、外部形態の観察により識別を行う。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) 本線虫は主に新芽・新葉・穂などの生長点付近の組織に寄生するため、新葉や穂を中心に症状の有無を観察する。
- 2) 本線虫による症状のうち、穂の症状（穂の捻れや奇形、小穂の奇形）は特徴的で目立つため、出穂期から登熟期の調査が本線虫の発見に適している。
- 3) 植物体が枯死すると、茎や穂の内部で本線虫が多数集合して綿毛状の塊となり乾燥状態で生存するため、いねわらやいねもみの奇形・異常部位から線虫を分離することも可能である。

イ 同定診断手法

採取または送付された試料について、以下の手順で同定を実施する。イネクキセンチュウの同定は、雌成虫又は雄成虫の外部形態を生物顕微鏡で観察することにより行う。

1) 線虫の分離

感染症状が認められた部位を5mm程度切り取り、シャーレに入れて水に浸し、実体顕微鏡下でメス等を用いて植物体を繊維方向に沿って細かく裂いて解剖し、虫体の有無を確認する。乾燥植物から分離する場合は、線虫が活動を始めるま

でに時間を要するため、裂いた植物体を最長 24 時間程度水に浸した後に観察を行う。いずれの場合も線虫密度が高ければ、数百から数千の個体が観察される。

線虫密度が低い場合や、植物残渣の少ない標本を得るためにはベルマン法(参考 1) により線虫を分離する。

分離した線虫は、1 週間程度であれば水中で冷蔵保存(形態観察及び DNA 抽出可能) できるが、長期保存するには 4) の固定を行う。

分離した線虫を実体顕微鏡の透過光で観察し、雌成虫又は雄成虫を探す。通常、雌雄成虫はほぼ同数分離される。イネクキセンチュウは雌雄ともに細長く尾が尖った体形で、口針が微かに見える。雌成虫は、体前方から 80% 付近の位置に陰門の切れ込みがあること、一方、雄成虫は交接刺があることで見分けることができる。

(参考 1) ベルマン法

① 直径 9 ~ 15cm のロートの端にゴム管をつないでピンチコックでとめ、架台にセットし、ロートに水を満たす。

② 試料を 5 mm 程度の大きさに細断し、フィルター(キムワイプ等)に包み、ベルマン用篩に入れ、ロートに沈める。この際、ベルマン用篩底部の気泡を追い出す。試料全体が水に浸る程度の供試量が適量である。

③ 試料中の線虫が徐々に遊出し、フィルターを通り抜けてロートの脚部に沈降するので、室温で 24 時間静置後、ロート脚部の水のみ残し、その他の水を捨てる。

④ ピンチコックを開いて、ロート脚部の水をシャーレ等に落とす。

⑤ 実体顕微鏡で線虫の有無を確認する。

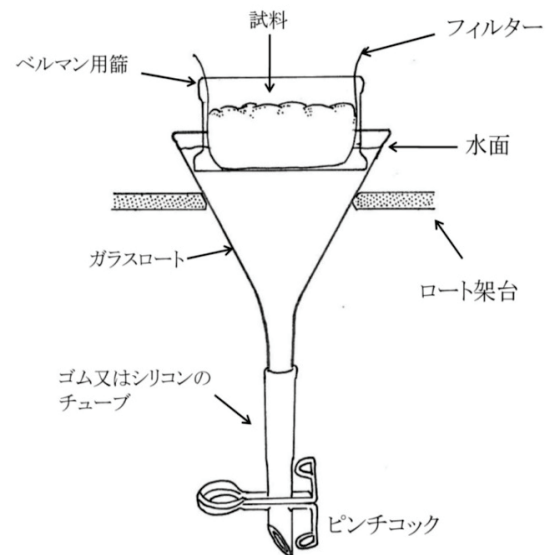


図 1 ベルマン装置 (植物防疫所原図)

2) 一時プレパラートの作製

一時的に形態を観察する場合は、以下の手順で水封入の一時プレパラートを作製して線虫を観察する。なお、一時プレパラートの観察可能な時間は一日程度である。

① 一滴の水をのせたスライドグラスを準備する。その後、実体顕微鏡の透過光下で、先端が曲がった柄付針等を使用してシャーレ内の雌成虫又は雄成虫をすくい上げ、スライドグラス上の水滴に沈める。

- ② 線虫の周囲にガラス繊維等の小片を置いて（線虫が潰れないようにするため）、カバーガラスを被せ、マニキュア等の封入液で封入する。封入の際は、虫体を真横方向から観察できるように、虫体の向きに注意すること。
- ③ 60～70 °Cに加熱したホットプレート上にスライドガラスを数秒間置いて線虫を熱殺する。

3) 外部形態による同定 (図2参照)

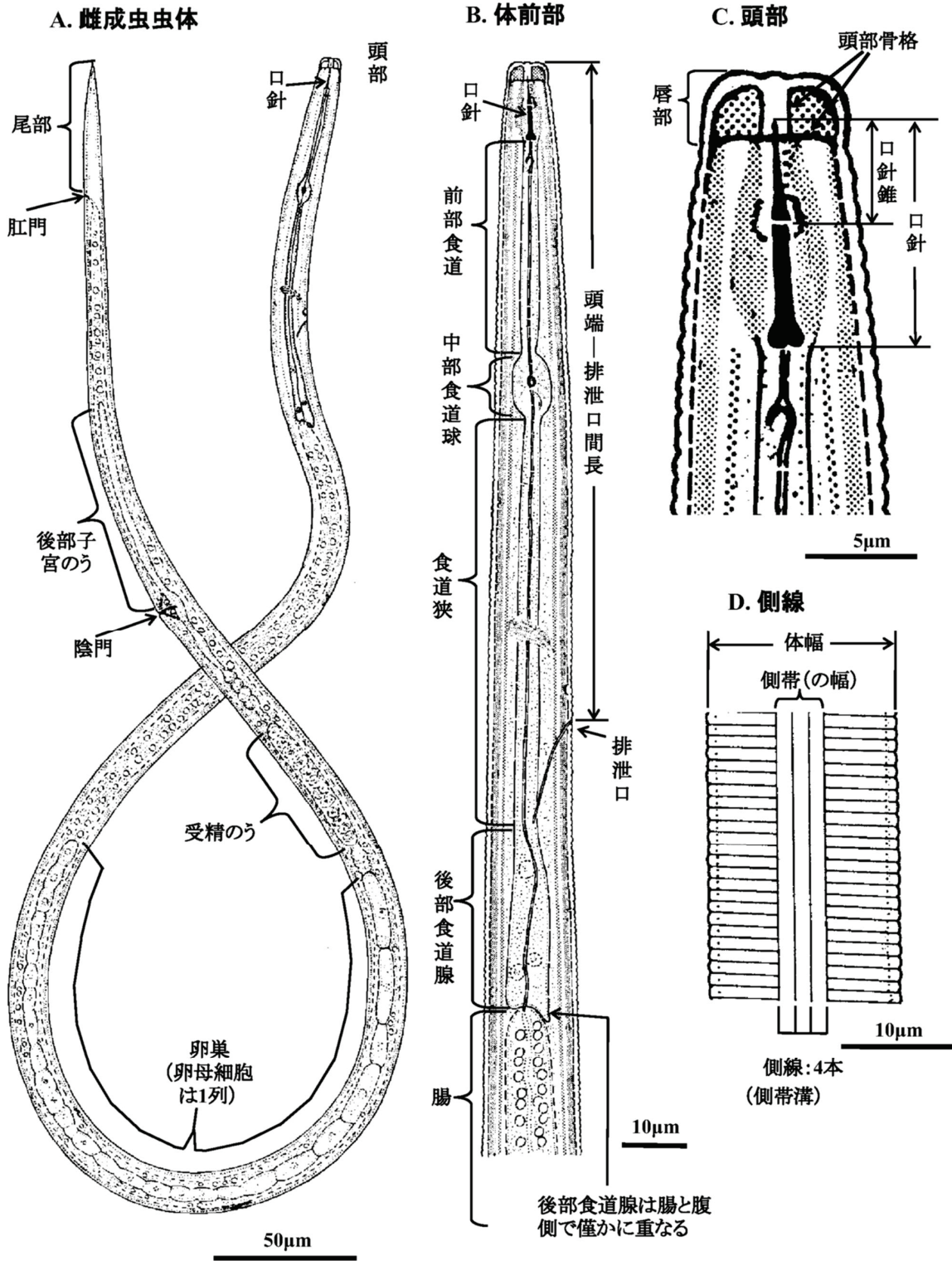
生物顕微鏡で形態の観察及び計測を行う。種の同定に必要な識別点は40倍対物レンズで概ね観察可能だが、側線（側帯溝）の観察には油浸100倍対物レンズを使用する。

ア) 雌成虫

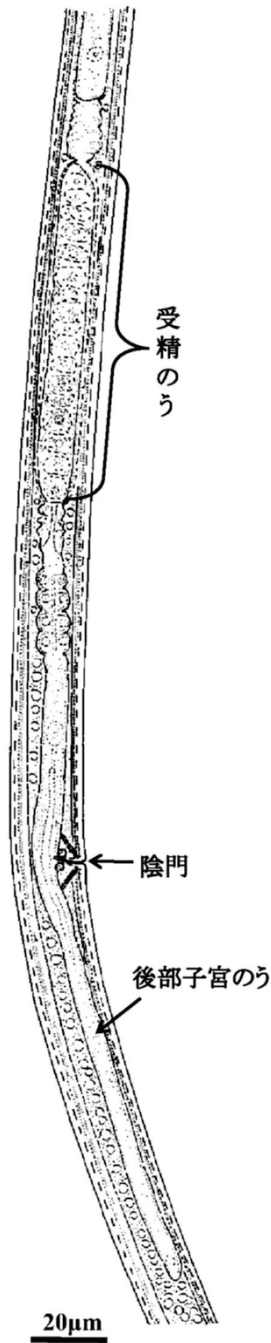
- i) 体形は細長い糸状。熱殺時の体形は、ほぼ直線状か、やや腹側に曲がる。体長は800-1,200 μm 。(図2A)
- ii) 食道腺は、中部食道球がだ円形、後部食道腺はこん棒状で27-34 μm 。食道狭は細長く、前部食道の1.5-1.9倍の長さがある。後部食道腺は腸と腹側でわずかに重なる。(図2B)
- iii) 頭端から排泄口までの長さは、90-110 μm 。(図2B)
- iv) 唇部は低く、平坦で、横条溝がない。頭部骨格は発達しない。(図2C)
- v) 口針長は10-11 μm 、口針錐長は口針長の45%。(図2C)
- vi) 体表面にある側線（側帯溝）は4本。側帯の幅は体幅の約1/4。(図2D)
- vii) 発達した生殖腺は、陰門から前方（頭部方向）に1本伸びる。卵巣内の卵母細胞は1列に並ぶ。受精のうは細長い。後方（尾部方向）の生殖腺は退化し、枝状の後部子宮のう（枝）となる。後部子宮のうは陰門と肛門の間の1/2-2/3を占める。(図2E、F)
- viii) 尾部は細長い円錐状で、尾端には微突起がある。(図2G)
- ix) a 値=50-62, b 値=6-9, c 値=18-24, V 値=78-80。
a 値：体長÷最大体幅
b 値：体長÷頭端から食道と腸の接続部分までの長さ
c 値：体長÷尾長（肛門、または総排出腔から体の最後端までの長さ）
V 値：(頭端から陰門までの長さ÷体長) ×100 (%)

イ) 雄成虫

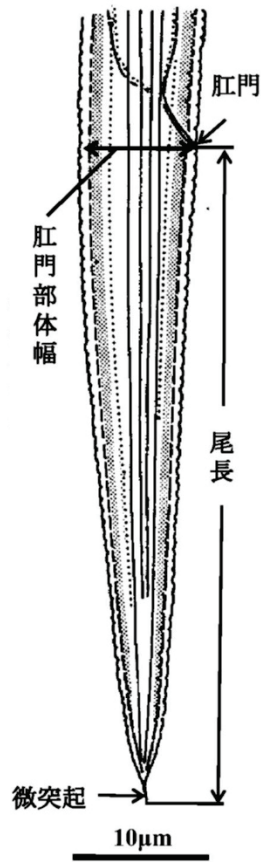
- i) 体形は糸状。体長は700-1,200 μm 。
- ii) 体前部は雌成虫とほぼ同じ形態である。
- iii) 尾部には、尾翼（交接のう）があり、尾（部）のほとんど（100%）を占める。交接刺は小型（16-21 μm ）で湾曲は小さい。(図2H)
- iv) a 値=40-55, b 値=6-8, c 値=19-26, T 値=60-73。
T 値：(精巣の先端から総排出腔までの長さ÷体長) ×100 (%)



E. 陰門



F. 雌の尾部



G. 雄の尾部

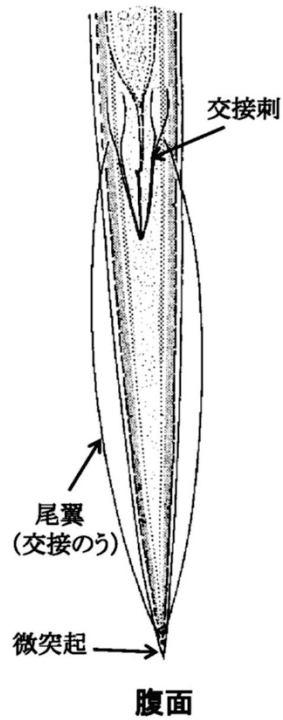
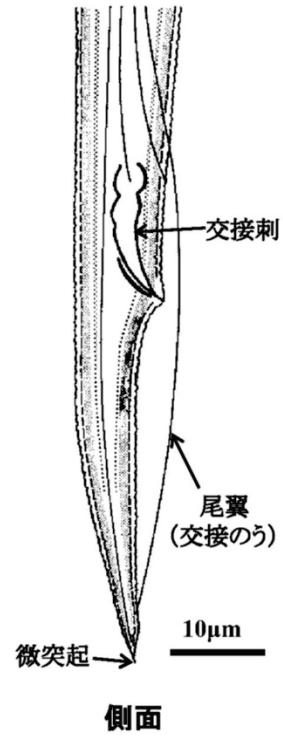


図2 イネクキセンチュウ (Seshadri and Dasgupta, 1975 を一部改変)
 この他、Manual of agricultural nematology の写真の転載の許諾が得られ
 なかったことから文献情報を記載する。

・Nickle, W. R. (Ed.). (1991). Manual of agricultural nematology. Marcel Dekker. Inc. 1035pp.

4) 線虫の固定 (分離した線虫の一時保管方法 ※必要に応じて実施)

- ① 分離した線虫を含む水溶液を管びん (5 mL 程度) に入れる。
- ② 約 1 時間静置し、線虫を沈降させてから、上澄みをパスツールピペット等で除いて、管びんの半分程度まで水量を減らす (可能なら 1.0 mL 程度まで減らす)。
- ③ 容器に蓋をして、65°C の温湯に 1 分間浸漬して線虫を熱殺する。
- ④ 線虫懸濁液に参考 2 の固定液を等量加えて混和する。
- ⑤ 容器を密封して保管する (6 カ月間程度であれば観察可能な状態に留めておくことができるが、年単位の長期保存はできない)。

(参考 2) イネクキセンチュウの固定液について

TAF 固定液 (2 倍濃度) 又は 10%ホルムアルデヒド水溶液が使用できるが、後者は TAF 固定液に比べて虫体の劣化が早いとされているので、可能な限り TAF 固定液を使用することが望ましい。

また、固定液に含まれるホルムアルデヒドは遺伝子診断時に影響する可能性があるため、遺伝子診断を行う際には注意すること。

【TAF 固定液 (2 倍濃度)】

- ・ 37%ホルムアルデヒド 7.5mL
- ・ トリエタノールアミン 2.0mL
- ・ 蒸留水 45.25mL

【参考文献】

相原孝雄 (2003) 植物防疫基礎講座 線虫の見分け方 (7) クキセンチュウ類. 植物防疫, 57(4):188-193.

水久保隆之・二井一禎編 (2014) 線虫学実験. 京都大学学術出版会. 324pp.

Seshadri, A. R., and Dasgupta, D. R. (1975) *Ditylenchus angustus*. CIH Description of Plant Parasitic Nematodes Set 5.

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 試料を採取する植物体には、本線虫が検出された場合を想定し、試料採取前に目印をつける。なお、株全体を採取する場合は、採取場所が分かるよう、ほ場に目印を残す。
- 2) 試料の採取に当たっては、症状を示す部位及び生長点付近を中心になるべく広い範囲で採取できるよう、葉や穂又は植物体ごと採取する。
- 3) 採取した試料はビニール袋に入れ冷蔵庫や保冷容器で保管する。
- 4) 試料の確認に必要な事項 (採取月日、採取場所等) を調査野帳及び試料採

取票（別記様式）に記録し、試料に添付する。

5) 試料の送付

試料は採取票を添付して送付する。写真、地図は別途電子メールで送信する。

ア) 植物体の送付

線虫未分離の新鮮な植物体は、採取時の水分含量をできるだけ減少させないようにする。採取した株の茎の切断面を湿らせたティッシュペーパーや新聞紙で包んでから、ポリエチレン袋等に入れて送付する。夏季は植物体が腐敗しないよう保冷容器等を使用することが望ましい。

イ) 分離した線虫の送付

イの1) で分離した線虫を送付する場合は、虫体を損傷しないように、ピペット等を用いてシャーレの水ごと線虫を管瓶（5 mL程度）に移して冷蔵で保管し、1週間以内の到着を目途に冷蔵便で送付する（線虫を植物体から分離後、1週間程度は水中で冷蔵保存が可能）。

エ 線虫及び症状写真等

1) イネクキセンチュウ



図3 雌成虫（防疫指針委託事業成果、勝田あかね氏及びYu Yu Min氏提供）



図4 雄成虫の尾部（防疫指針委託事業成果、勝田あかね氏及びYu Yu Min氏提供）

2) イネにおける症状



図5 葉の捻れ（防疫指針委託事業成果、勝田あかね氏及びYu Yu Min氏提供）

（その他写真）※転載の許諾が得られなかったことから文献情報を示す。

- Bridge, J., and Starr, J. L. (2007) Plant nematodes of agricultural importance: a color handbook. Academic Press. 152pp.
- Webster, R. K., and Gunnell, P. S. (1992) Compendium of rice diseases. APS Press. 62pp.

【参考文献】

- Bridge, J., and Starr, J. L. (2007) Plant nematodes of agricultural importance: a color handbook. Academic Press. 152pp.
- Fortuner R. The Hoplolaiminae. In: Nickle William R., editor. *Manual of agricultural nematology*. Chapter 15. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1991. pp. 669-719.
- Webster, R. K., and Gunnell, P. S. (1992) Compendium of rice diseases. APS Press. 62pp.

オ 対象線虫の解説

学名：*Ditylenchus angustus* (Butler, 1913) Filipjev, 1936

分類：Tylenchida (ティレンクス目) Anguinidae (アングイナ科)

英名：rice stem nematode

和名：イネクキセンチュウ

分布：インド、タイ、バングラデシュ、フィリピン、ベトナム、マレーシア、ミャンマーなど (CABI, 2022 ; EPP0, 2022)

寄主植物：イネ属 (*Oryza* spp.)、その他イネ科 (*Echinochloa colona* (コヒメビエ)、*Leersia hexandra*、*Sacciolepis interrupta*) (Nickle, 1991; CABI, 2022; EPP0, 2022)

形態：イネクキセンチュウは雌雄ともに細長く尾が尖った体形で、実体顕微鏡下で口針が微かに見える。雌成虫は体長800-1,200 μ m、体前方から80%付近の位置に陰門の切れ込みがある。雄成虫は体長700-1,200 μ m、雌成虫よりやや細く小型で、尾がより細く尖っており、交接刺がある (相原, 2004; CABI, 2022)。

生態：

イネクキセンチュウは、主に南・東南アジアの河川デルタ地帯に分布し、イネ属の栽培種及び野生種に寄生し、深水栽培水田における重要な線虫である (Bridge and Starr, 2007; CABI, 2022)。

本線虫は、植物体の地上部に外部寄生し、新芽・新葉・穂などの生長点付近の組織間に寄生して葉や穂の変色・捻れ・奇形を起こし、植物体を枯死させることもある。イネ生育中の初期症状として、若い葉の基部に白い斑点や白くかすれた模様が生じる。葉の症状が進行すると、褐色のえそ斑が葉身や葉鞘に生じることがある。イネの生育が進むと、葉の捻れ、穂の症状 (穂が葉鞘に囲まれたまま展開しない、穂の捻れや奇形、小穂の奇形等)、節の膨れ、分岐異常、不稔籾 (奇形籾・空籾) が生じる (Nickle, 1991; 相原, 2004; Bridge and Starr, 2007; CABI, 2022;)。

感染株が枯死すると、主に4齢幼虫が多数集合して綿毛状の塊となり、茎葉や籾内部において乾燥状態で生存し、いねわらやいねもみは形態異常を示す (Nickle, 1991; 相原, 2004; CABI, 2022)。

本線虫の1世代期間は、27-30°Cの温度条件下で最短10-20日であり、感染効率も最も高くなる (Bridge and Starr, 2007)。

分散：

1) 自然分散

本線虫は、主に雨水や灌漑水等の水を介して感染株や植物残渣から健全株へ伝搬する。水を介した長距離伝搬が可能であるが、水中では数日しか生存できない。高湿下では茎葉間の接触感染、土壌中の植物残渣から発芽種子への感染が生じる。また、本線虫は植物残渣や籾内部において、乾燥状態で数

カ月生存し次期作の感染源となる (Bridge and Starr, 2007; CABI, 2022)。

2) 人為分散

本線虫は種子伝搬するため、感染種子の播種によりほ場に感染が広がる。感染種子又は感染植物残渣の土壌等への混入、衣服、靴、コンテナ、こん包資材等への付着により長距離伝搬が起こりうる (CABI, 2022)。

防除：

収穫後にはほ場に残る植物残渣の除去や焼却は非常に効果的である。植物残渣の鋤き込み、ほ場周辺の野生寄主の除去、非寄主作物の輪作、抵抗性品種の導入等の耕種的防除方法がある (Bridge and Starr, 2007; CABI, 2022)。いねもみ内部に乾燥状態で生存する本線虫に対しては、天日乾燥や薬剤浸漬が効果的である (CABI, 2022)。

生育中の薬剤防除について、ベノミルの施用により本線虫を接種した植物の症状が回復したとの試験報告 (Miah and Bakr, 1977) があるほか、石灰等の施用により防除効果が認められたとの試験報告がある (Min and Toyota, 2018)。

参考文献

- 相原孝雄 (2003) 植物防疫基礎講座 線虫の見分け方 (7) クキセンチュウ類. 植物防疫, 57(4):188-193.
- Bridge, J., and Starr, J. L. (2007) Plant nematodes of agricultural importance: a color handbook. Academic Press. 152pp.
- CABI (2022) *Ditylenchus angustus*. Crop protection compendium. (online), available from <<https://www.cabi.org/cpc/datasheet/19285>>, (last modified 2021-11-16).
- EPPO (2022) *Ditylenchus angustus*. EPPO Global Database. (online), available from <<https://gd.eppo.int/taxon/DITYAN>>
- Miah, S. A., and Bakr, M. A. (1977) Chemical control of ufra disease of rice. Pans, 23(4):412-413.
- Min, Y. Y., and Toyota, K. (2018) Plant-parasitic nematodes in some economically important crops in Myanmar - species, possible damage and control measures. Nematology, 20(1):1-13.
- Nickle, W. R. (Ed.). (1991). Manual of agricultural nematology. Marcel Dekker. Inc. 1035pp.
- Webster, R. K., and Gunnell, P. S. (1992) Compendium of rice diseases. APS Press. 62pp.

24. イネミイラ穂病菌 (*Balansia oryzae-sativae*)

ア 調査

【調査対象植物】

イネ

【調査時期】

調査は、対象植物の出穂前後の穂を対象に、年1回以上実施する。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 調査地点の設定に当たっては、都道府県内で偏りが生じないように留意する。
- 2) 設定した調査地点あたり10株を対象に、病徴写真を参考にしつつ、本菌に感染した植物で見られるような穂の暗色化やミイラ化症状等がないかを目視で調査する。
- 3) 感染が疑わしい場合は、診断の一助として関係機関に送付できるよう、発症部位や植物体全体をデジタルカメラ等で撮影した上で、試料を採取、顕微鏡による観察を実施する。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) 病徴写真と症状が類似する場合であっても、発生の状況が平時と同じ場合は積極的に試料を採取する必要はない。一方、通常の栽培環境下で平時よりも症状の出方が異常である場合には、本菌の感染を疑い、試料を採取し、顕微鏡による観察等を実施する。
- 2) 発見のポイント（イネにおける病徴）
出穂前後の穂と葉に標徴が現れる。
葉鞘内は白色の菌叢に被われ、枝梗（しこう）が相互に接合した状態で出穂する。やがて罹病穂が偽菌核（菌核様の病粒）に置き換わるにつれ、穂は暗色化、ミイラ化する。
また、出穂前の最上位葉（剣葉）の表面には、葉脈に沿って条状に白色の菌叢が認められることがある。

イ 同定診断手法

- 1) 分生子や菌核上の子座等の形態が本菌の形態情報と一致するかを顕微鏡にて確認する。なお、本菌の形態写真は非常に少ないが、本菌の形態は *Ephelis japonica* とほぼ同じとされているため、同定にあたっては、Tsukiboshi *et al.* (2008) の報告も参考とすること。
- 2) サンプルに分生子等が認められない場合は、以下の方法を参考に分生子形成の促進、分離を行う等して同定する。

(参考) 分生子の形成及び分離手順

- ① 感染部位を、多湿、25℃、近紫外光照射下（12時間周期）に置き、分生子を形成させる。
- ② ①で形成された分生子を回収し、1.5%素寒天培地に置床する。
- ③ 発芽した分生子（孢子）を、PDA培地（pH5.0）に分離する。

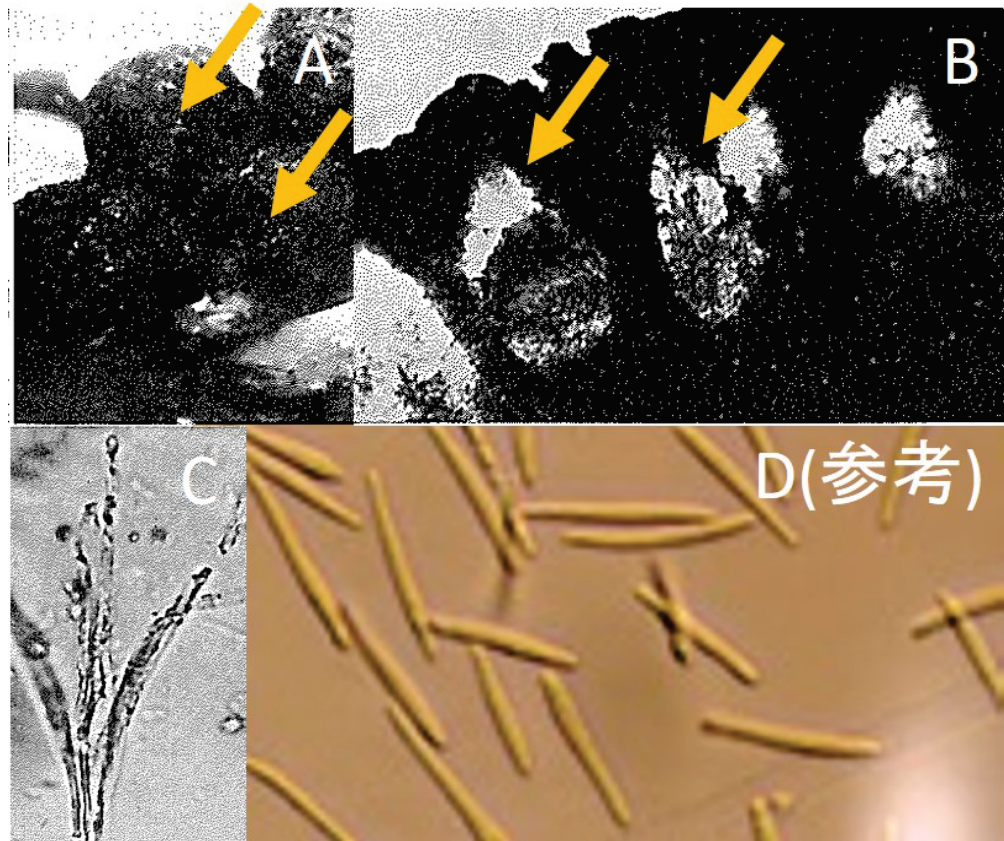


図1 イネミイラ穂病菌

(A~C: 菌類図鑑 (上)、橋岡良夫氏提供、D: Tsukiboshi ら(2008))

A: 偽菌核上に形成された子座 (矢印)

B: 子座断面の子のう殻 (矢印)

C: 子のう

D (参考): 形態が本菌とほぼ同じとされる *E. japonica* の分生子

(本菌の形態)

- ・子座: 偽菌核上に群生する。黒色 (内部: 黄褐色~白色)、半球形で、直径 0.67-1.2mm。表面に小乳頭突起をもち、子のう殻が開口する。
- ・子のう殻: 子座頭部の外皮直下に埋没する。卵形~洋梨型で、125-200×85-100 μ m。孔口は直径 50 μ m、長さ約 15 μ m、わずかに乳頭状となる。
- ・子のう: 無色、円筒形で、92-120×6 μ m。頂部は丸く肥厚し基部は細まる。8個の子のう胞子を持つ。
- ・分生子果: 子座に潜在、のち露出。黒色、杯状。分生子柄が柵状に並ぶ。

- ・分生子柄：無色、細長く、分枝する。57-85×0.8-1.4 μm。
- ・分生子：無色、糸状～針状、無隔壁、20-35×1 μm (12-22(-40)×1.2-1.5 μm との報告もあり)。

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 試料を採取する宿主植物には、本菌が検出された場合を想定し、試料採取前に目印を付ける。
- 2) 試料の採取に当たっては、病斑を中心になるべく広い範囲で採取ができるよう、穂や葉ごと採取する。
- 3) 採取した試料は、試料の確認に必要な事項（採取月日、採取場所等）を記録した試料採取票（別記様式）を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまで暗所で保管する。
- 4) 試料の採取部位、病徴、採取票に記録した内容等は、調査野帳に記録する。
- 5) 採取した試料は、散逸しないように厳重に梱包し、保冷剤を入れた保冷箱等に収容して冷温のまま送付する。

エ 病徴写真(イネにおける病徴)

※転載の許諾が得られなかったことから URL 等を示す。

- ・ Lee, F. N. and Gunnell, P. S. (1992). Udbatta. *In* Compendium of Rice Diseases (Webster, R. K. and Gunnell, P. S., eds.). pp. 29-30, APS Press, Minnesota.
- ・ Balansia oryzae-sativae Hashioka 1971 by Phalee Biodiversity Management Committee (accessed_2024-12-02)
[<https://indiabiodiversity.org/observation/show/15856446>]

オ 対象病害の解説

学名：*Balansia oryzae-sativae* Hashioka
(無性世代：*Ephelis oryzae* Syd.)

英名：Udbatta, Black choke, False ergot

和名：イネミイラ穂病

分布：インド、インドネシア、中華人民共和国、シエラレオネ、アメリカ合衆国、ニューカレドニア、バヌアツ等

宿主植物：イネ、モロコシ、イヌビエ等

生態：本菌の生態については良く分かっていない。

分散：種子伝染が考えられている。

防除：健全種子または温湯消毒(54℃、10 分間)した種子を用いる。

<参考文献>

- CABI. (2021). *Balansia oryzae-sativae*. In Crop Protection Compendium. Commonwealth Agricultural Bureau International (CABI).
[<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.8346>] (accessed 2026-1-6)
- Lee, F. N. and Gunnell, P. S. (1992). Udbatta. In Compendium of Rice Diseases (Webster, R. K. and Gunnell, P. S., eds.). pp. 29-30, APS Press, Minnesota.
- Ou, S. H. (1985). Udbatta Disease. In Rice Diseases second ed. pp. 315-317, C. M. I.
- 月星隆雄・吉田重信 (2003). 日本産糸状菌類図鑑, 農業環境技術研究所.
[<https://www.naro.affrc.go.jp/archive/niaes/inventory/microorg/mokuroku/zukan.html>] (Accessed 2011-02-03)
- Tsukiboshi, T. et al. (2008). Black choke Disease of warm season grasses caused by *Ephelis Japonica* in Japan and its Epiphytic Features. JARQ 42(3): 173-179.
- 横山竜夫 (1977). *Balansia oryzae-sativae* Hashioka. 菌類図鑑 (上) (宇田川俊一ら) pp.627-628. 講談社, 東京

【更新履歴】

2026年3月31日 参考文献のリンク先を更新

25. イネ条斑細菌病菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*、以下「Xoc」という。)

ア 調査

【調査対象植物】

イネ

【調査時期】

調査は、対象植物の生育期間中に年1回以上実施する。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意して設定する。
- 2) 設定した調査地点あたり10株を対象に、病徴写真を参考にしつつ、葉脈間に水浸状の細長い暗緑色条斑を形成するといった症状がないかを目視で調査する。
- 3) 感染が疑わしい場合は、診断の一助として関係機関へ送付できるよう、発症部位や発症部位のある植物体全体、周囲の様子等をデジタルカメラ等で撮影した上で、試料を採取し検定を実施する。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) 確認する症状は、生理障害や他の病害と見分けることが難しいため、病徴写真と比較して症状が似ている場合であっても、発生状況が平時と同じ場合は積極的に試料を採取し遺伝子診断等を実施する必要はない。一方、通常の栽培環境下で平時よりも症状の出方が異常である場合には、Xocの感染を疑い、試料採取、遺伝子診断等を実施する。
- 2) 発見のポイント（病徴・標徴）
 - ア) 病徴：初期症状は葉脈間に水浸状の細長い暗緑色条斑を生じる。病気が進むにつれ、条斑が次第に拡大、癒合して黄橙色～褐色となる。
 - イ) 標徴（細菌の塊など病原体が肉眼で観察されるもの。）：
病斑上に黄色の非常に小さな細菌粘塊の漏出が認められることがある。
- 3) 類似症状を示す *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*（イネ白葉枯病菌）は葉先や葉縁部の水孔から侵入し葉脈に沿って病斑を生じさせるのに対し、Xocは葉の気孔や傷口から侵入し、葉脈間に病斑を生じさせる点がポイントとなる。

イ 同定診断手法

採取または送付された試料について、以下の手順で検定を実施する。なお、簡易同定法としてはPCR検定を用いる。

1) 顕微鏡観察（参考1参照）

疑似症状植物の病斑部を顕微鏡で観察し、病斑組織からの菌泥の漏出を確認

する。ただし、病徴が顕著であっても植物によっては菌泥の漏出が見られない場合があるため、菌泥の漏出が見られない場合も2)以降の作業を実施すること。

2) 細菌の分離 (参考2参照)

疑似症状植物から細菌を分離し、分離菌株とする。なお、3)では、必ずしも分離された細菌は必要ないものの、再検定や調査研究等に使用する観点から細菌の分離は必ず実施する。

3) 遺伝子診断 (参考3参照)

2)の培地上に形成された細菌コロニーまたは、疑似症状植物よりDNAを調整・抽出し、Xocに特異的なプライマーを用いたPCRにより同定を行う。

(参考1) 顕微鏡観察

3～4mm程度の小片を病斑と健全の境界部分から切り取り、1滴の水を落とし、100倍から400倍の顕微鏡で観察する。乾燥していない新鮮な病斑の場合は、切口から直ちに多量の菌泥の漏出が観察され、古い病斑や乾燥した病斑の場合は、菌泥の漏出が新鮮な病斑の場合より多少遅れて観察される。

(参考2) 細菌の分離

表面殺菌(例:70%エタノール 数秒→2%次亜塩素酸ナトリウム 30秒程度→滅菌水×3)した切片を3mm角に切り、PSA培地に置床し、25℃で4日間培養する。黄色の菌泥が置床組織片周辺に観察されたら、菌泥を滅菌水に懸濁し、YNA培地上で画線分離を行い25℃で培養する。

認められるコロニーのうち、黄色のコロニーについて遺伝子診断を行い、陽性と確認されたものを分離株とする。

【引用文献】

末次哲雄・高山睦雄・西尾健・川口嘉久(1983) 植物検疫重要細菌病の診断技法に関する研究-4- *Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola* (Fang, Ren, Chen, Chu, Faan & Wu 1957) Dye 1978の検出について. 植防研報 19: 39-45

(参考3) 遺伝子診断

ア) 核酸抽出

- ・植物組織からの抽出

市販の抽出キット等を用いて核酸を抽出し、遺伝子診断の鋳型とする。

- ・分離したコロニーからの調整・抽出

市販の抽出キットを用いるか、培地上のコロニーを滅菌チップ等でつつき、滅菌水100μLに懸濁し、95℃で10分間加熱後、上清を遺伝子診断の鋳型

とする。

イ) 遺伝子診断

本細菌 (Xoc) とイネ白葉枯病菌 (Xoo) の同時検出及び識別が可能な Multiplex-PCR 法が有効と考えられることから、表 1 にプライマーを示す。

PCR を実施するにあたっては、Lang ら (2010) の論文に記載されているプライマー濃度、反応条件を参考に、使用する PCR キットの説明書に沿って実施すること。

(表 1) Multiplex-PCR 用プライマー (Lang JM et al., 2010)

対象種又は病原型	プライマー名	配列 (5' - 3')
<i>X. oryzae</i> (種特異的)	Xo3756F	CAT CGT TAG GAC TGC CAG AAG
	Xo3756R	GTG AGA ACC ACC GCC ATC T
Xoo (白葉枯病菌特異的)	Xoo80F	GCC GCT AGG AAT GAG CAA T
	Xoo80R	GCG TCC TCG TCT AAG CGA TA
Xoc (条斑細菌病菌特異的)	Xoc3866F	ATC TCC CAG CAT GTT GAT CG
	Xoc3866R	GCG TTC AAT CTC CTC CAT GT
	Xoc3864F	GTG CGT GAA AAT GTC GGT TA
	Xoc3864R	GGG ATG GAT GAA TAC GGA TG

【引用文献】

Lang, J. M., Hamilton, J. P., Diaz, M. G. Q., Van Sluys, M. A., Burgos, M. R. G., Vera Cruz, C. M., Buell, C. R., Tisserat, N. A., and Leach, J. E. (2010) Genomics-based diagnostic marker development for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *oryzicola*. Plant Dis. 94:311-319

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 試料の採取にあたっては、病斑を中心になるべく広い範囲で、5～10枚の葉を根元から採取する。可能であれば、3～5株について根ごと採取する。
- 3) 調査を実施した園地内に病徴を示す植物体が複数ある場合は、植物体ごとに手袋を交換し、せん定ばさみ等の器具類についても、70%エタノール又は有効塩素濃度1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液等により消毒して使用する。
- 4) 採取した試料は、試料の確認に必要な事項(採取月日、採取場所等)を記録した試料採取票(別記様式)を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまでクーラーボックス等(4℃)に保管する。
- 5) 試料の採取部位、病徴及び採取票に記録した内容等は、調査野帳に記録する。

6) 採取した試料は、散逸しないように厳重に梱包し、保冷剤を入れた保冷箱等に収容して冷温のまま送付する。

エ 病徴写真等

1) イネにおける病徴

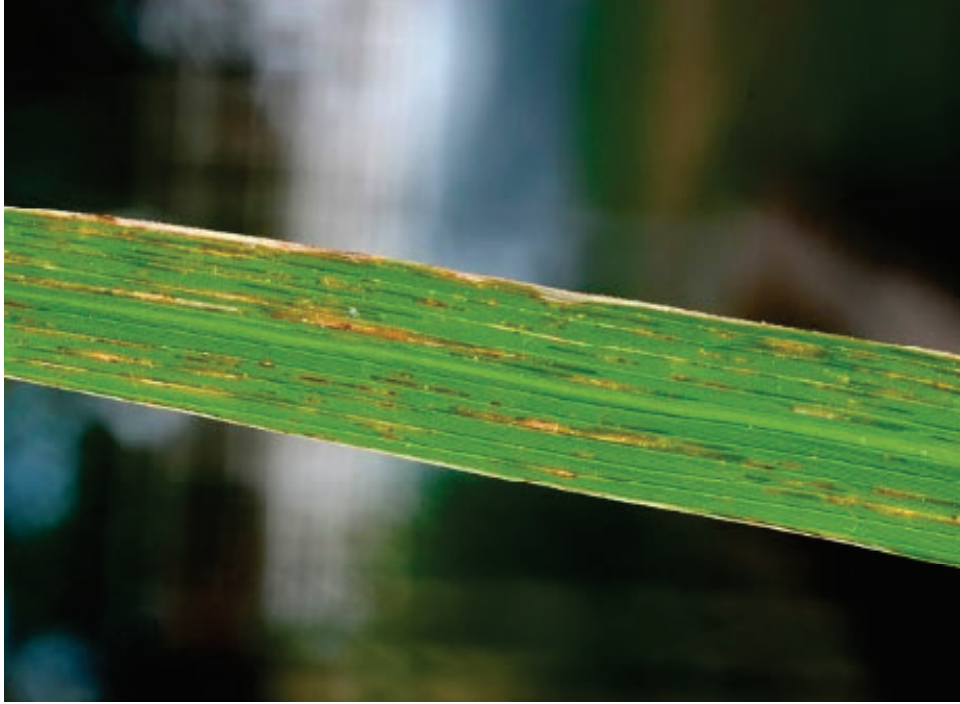


図1 初期症状 (IRRI Rice Knowledge Bank)
葉脈間に水浸状の細長い暗緑色条斑が認められる。



図2 後期症状 (IRRI Rice Knowledge Bank)
条斑が拡大、癒合して黄橙色～褐色となる。



図3 ほ場における症状（防疫指針委託事業成果 上：EPP0（2007）、
下：元 JIRCAS 野田氏より提供）



図4 葉における症状（防疫指針委託事業成果 左：JICA 加来氏
右：元 JIRCAS 野田氏より提供）

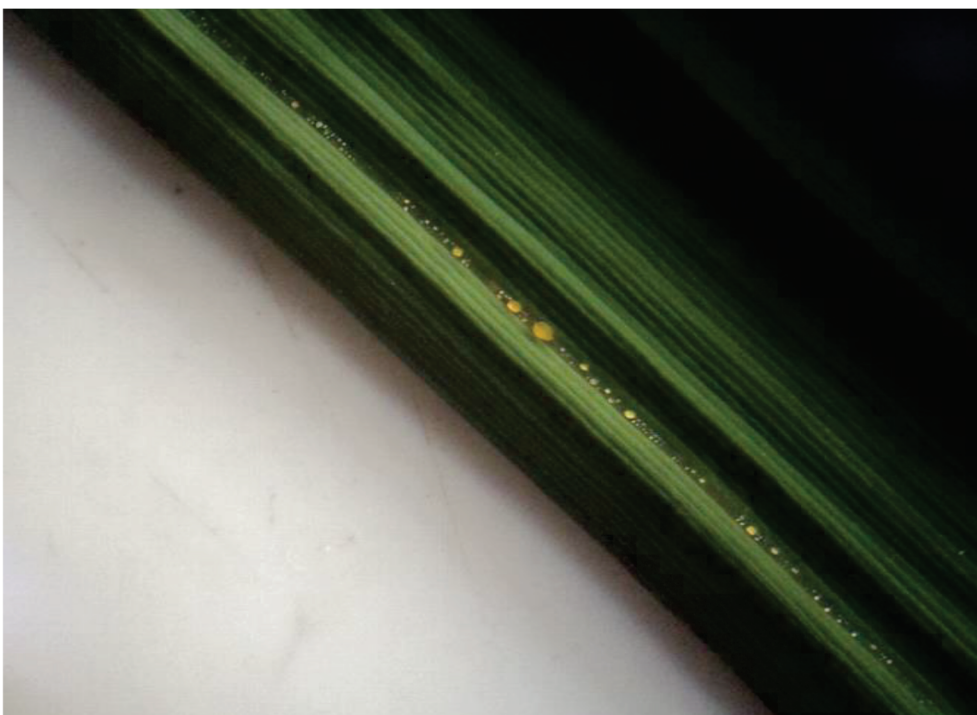


図5 病斑上に形成された黄色の細菌粘塊（防疫指針委託事業成果
JICA 加来氏より提供）

(参考) 本細菌病と症状が類似する病害について

本細菌病と症状が類似する病害に、同種で病原型が異なるイネ白葉枯病がある。本細菌が葉の気孔や傷口から侵入するのに対し、白葉枯病菌は葉先や葉縁部の水孔から侵入するとされるが、病徴のみで両者を識別することは困難と考えられるため、両者の識別はPCR等で確認すること。



図6 イネ白葉枯病菌の病徴(Invasive.org.)

葉先や葉縁部から症状を示し、葉脈に沿って病斑を生じる。

【引用文献】

Invasive.org. [<https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x>] (accessed 2023-1-27)

IRRI Rice Knowledge Bank Bacterial Leaf Streak, available_from
<<http://www.knowledgebank.irri.org/training/fact-sheets/pest-management/diseases/item/bacterial-leaf-streak>>, (accessed 2022-9-29)

OEPP/EPP0 (2013) *Xanthomonas oryzae*. Bulletin OEPP/EPP0 Bulletin. 37:543-553

オ 対象病害の解説

学名：*Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzicola* (Fang et al. 1957) Swings et al. 1990 (シノニム：*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola* (Fang et al. 1957) Dye 1978)

英名、和名等：bacterial leaf streak of rice (イネ条斑細菌病)

分布：インド、タイ、中華人民共和国、ベトナム、バングラデシュ、ブルキナファソ、ケニア、ナイジェリア、スロベニア、ロシア、オーストラリアなど

宿主植物：イネ、スズメノコビエ、アメリカマコモ、シバなど

生態：気孔や傷口（特に虫害による傷口）から葉に侵入し、気孔下腔や柔細胞の細胞間隙で増殖する。やがて、柔細胞は細菌の塊に置き換わる。病斑が形成された後、夜間に湿潤条件下で細菌性滲出液が葉面に形成される。

本病は涼しく乾燥した条件下では発病しないため、夏に採取した種子を冬に播種すると病気のサイクルが断たれるとの報告もある（CABI, 2021）。

分散：

1) 自然分散

灌漑水中での感染が考えられ、雨や高湿度下で感染が助長される。作物残渣上では季節をまたいで生存するが、土壌中では生存しない（CABI, 2021）。

2) 人為分散

種子伝染の報告がある（EPP0, 2007）。

防除：感染した種子を流通させないことが最も重要である。イネのジャポニカ種はインディカ種に比べて相対的に抵抗性が強いことが知られている（CABI, 2021）。

参考文献

CABI (2021) *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* In. Crop Protection Compendium. (online),_available_from <<http://www.cabi.org/cpc/>> , (accessed 2022-9-21).

OEPP/EPP0 (2013) *Xanthomonas oryzae*. Bulletin OEPP/EPP0 Bulletin. 37:543-553