

12. ぶどう・オリーブ

16. *Xylella fastidiosa* (Wells et.al.)

ア 調査

【調査対象植物】

カンキツ類、ブドウ、ナシ、サクラ属、オリーブ

【調査時期】

調査は、対象植物の展葉期から果実の肥大期の間に年1回以上実施する。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 調査は、上記の調査対象植物の中から選定した上で、調査地点を設定する。なお、調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意する。
- 2) 設定した調査地点当たり10本を対象に、エの病徴写真を参考にしつつ、*Xylella fastidiosa*(以下[Xf]という。)に感染した植物で見られるような葉の先端や葉縁で枯死といった症状がないかどうかを目視で調査する。道管の閉塞による急激な枯死が指標となる。
- 3) 感染が疑わしい場合は、発症部位を含む枝や樹全体、周囲の様子等をデジタルカメラ等で撮影した上で、試料を採取し遺伝子診断等を実施する。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) 確認する症状は、乾燥ストレスや日光による葉焼け等と見分けることが難しい。このため、病徴写真と比較して、症状が似ている場合であっても、発生の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症状の発生時期が例年と大きく異なる、症状が見慣れない広がり方をしている等、平時よりも症状の出方が異常である場合には、Xfの感染を疑い、試料を採取し遺伝子診断等を実施する。
- 2) 発見のポイント（病徴・標徴）
 - ア) カンキツ類（ミカン属、キンカン属及びカラタチ）：葉の表面の葉脈間に不均一な退緑斑が見られ、症状が進むと葉の裏面にわずかに盛り上がった褐色の斑点が見られる。
 - イ) ブドウ：葉に退緑斑が見られ、ひどくなると周辺組織の萎ちょう、乾燥が始まる。健全部との境は、黄色又は赤色に変わり、葉柄を残したまま葉は早期に落葉する。本病に感染した樹は、翌年からの生育が遅れ、つるはわい化し、最初の4から6枚の葉では葉脈部が濃くなる症状が現れる。夏の終わり頃からは、葉枯れや萎ちょう乾燥などの症状が現れる。
 - ウ) ナシ：葉焼け症状が見られ、葉焼けの周辺部が黄色く縁どられることもある。葉焼けは葉の先端部又は周辺部から始まることが多

く、中央部まで広がっていく。感染した若枝は萎凋・枯死する。

エ) サクラ属（モモ、スモモ、セイヨウスモモ及びオウトウ）：モモの場合、枝の節間が短縮し、多くの側枝が伸長する。葉は暗緑色となり濃密に生ずる。このため、樹全体は葉が多く、緑色が濃く、樹冠は平らになり樹形はコンパクトな外観となる。モモ以外（スモモ等）の場合、葉焼け症状が見られる。

オ) オリーブ：樹の上部での葉焼けや枝枯れの散発、感染初期では枝の縮小が見られる。葉の先端と脈間がくすんだ黄色から茶色に変色し、枝の枯死を招く。時間が経つにつれ、症状は進展し、全体が白化して見える。幹、枝、小枝の断面では導管、辺材部、形成層に退変が見られる。

イ 同定診断手法

以下の手順で遺伝子診断（PCR検定）を実施する。なお、簡易同定法として市販のキットによる血清学的診断（ELISA検定）も利用可能であるが、一般的に遺伝子診断に比べ検出感度が低い点に留意する。

1) 遺伝子診断（コンベンショナル PCR 法）

ア) 採取したサンプルから DNA を抽出する。DNA 抽出は市販のキット等を用い、キット付属のプロトコルに従い実施する。

イ) 抽出した DNA を鋳型にして PCR を表 1 のプライマーセットを用いて行う。PCR は市販のキット等を用いて行う。なお、反応液の組成及び反応条件はキット付属のプロトコルを参照する。

ウ) 電気泳動によって増幅産物のサイズが Xf の予定長の増幅サイズであるか確認する。

表 1 Xf 検出用プライマー

名前	塩基配列 (5'-3')	増幅 サイズ※	アニーリング 温度	参考文献
X67S1	GGACGGCAGCACATTGGTA	604	60℃	Ito T and Chiaki Y. (2001)
XL2r	CCTCTACCACACTCTAGCTATC			

※増幅サイズは、分離株により数塩基の差が生じる。

2) 遺伝子診断（リアルタイム PCR 法）

ア) 1) のア) と同様に核酸抽出を行う。

イ) 抽出したDNAを鋳型にして、表 2 のプライマー・プローブセットを使用したTaq Man法により検定する。反応は市販のキット等を用いて行う。なお、反応液の組成及び反応条件はキット付属のプロトコルを参照する。

表 2 Xf 検出用プライマー・プローブ

名前	塩基配列 (5'-3')	参考文献
XrDf1	GGCTCATCCAATCGCACAA	Ito & Chiaki (2021)
XLr4	CGGACGGCAGCACRKTGGT	
XrD-Pf	FAM-CCTAAGGTCCCCTGCTT-MGB	

・結果の判定

Ito & Chiaki (2021) の方法で実施した場合、Threshold line をオートに設定し、Ct 値が 40 以下の検体を陽性とし、それ以外の場合は全て陰性とする。なお、他メーカーの反応試薬を使用した場合、判定法に変更を要する場合がある。

(参考) 血清学的診断

疑似症状植物を用いて、Xfに特異的な抗体を用いたELISA検定等により同定を行う。ELISA法のキットが市販されている。使用にあたっては、本キットを添付のプロトコルに従って実施する。

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、試料採取前に目印を付ける。
- 2) 試料の採取に当たっては、症状部を中心になるべく広い範囲で採取ができるよう、1 樹あたり10～25枚の葉が付いた枝ごと採取する。検定には葉柄又は中肋（葉の中央の主脈）が適していることから、その部分を確実に採取できるよう留意する。
- 3) 調査を実施した園地内に病徴を示す樹木が複数ある場合は、樹木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、樹木ごとに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、写真等）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、保冷剤を入れて低温に保っ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) 宿主植物における病徴

ア) ブドウ



図1 ブドウ葉の黄化したハローとその周辺の壊死

(©M. Scortichini, Istituto Sperimentale per la Frutticoltura, Rome (IT) and EPPO)



図2 ブドウ葉の壊死と萎凋

(©M. Scortichini, Istituto Sperimentale per la Frutticoltura, Rome (IT) and EPPO)



Xylella fastidiosa (XYLEFA) - <https://gd.eppo.int>

図3 ブドウ葉の春病徴（左：健全 中央・右：発病）
（©A.H. Purcell, University of California, Berkeley (US) and EPPO）



Xylella fastidiosa (XYLEFA) - <https://gd.eppo.int>

図4 ブドウの枝の症状。緑枝部分がまだらに残る。
（© J. Clark, University of California, Berkeley (US) and EPPO）

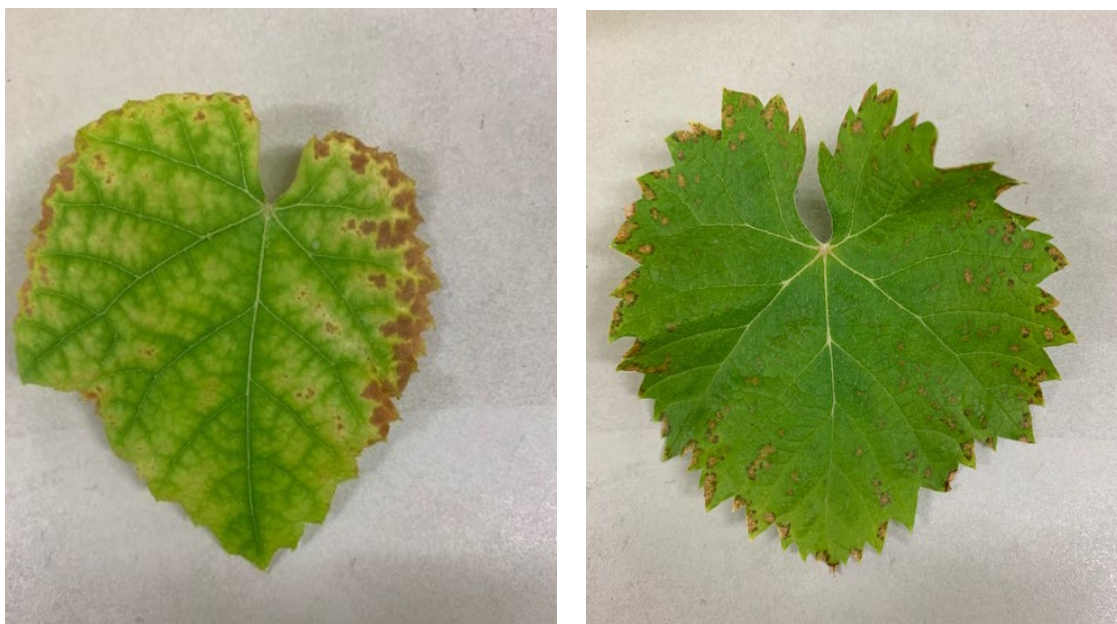


図5 人工接種によるシャインマスカットの病徴
(レギュラトリーサイエンス事業成果)



図6 人工接種によるピオーネ病徴（左）（退緑症状）
(レギュラトリーサイエンス事業成果)

イ) カンキツ類



図7 スウィートオレンジの症状。典型的なスポット病斑がみられる。
(© M. Scortichini, Istituto Sperimentale per la Frutticoltura, Rome (IT) and EPPO)



図8 オレンジの症状。枝の枯死や果実の不着果等が起こる。
(© M. Scortichini, Istituto Sperimentale per la Frutticoltura, Rome (IT) and EPPO)



図9 オレンジ葉の症状（左）及びオレンジ果実の不良症状（右）
 (© María M. López and EPPO)



図10 人工接種によるラフレモン病徴（レギュラトリーサイエンス事業成果）

ウ) モモ



図 11 枝の葉が先端を除いて落葉している様子
(© M. Scortichini, Istituto Sperimentale per la Frutticoltura, Rome (IT) and EPPO)

エ) オリーブ



図 12 オリーブの病徴 (© NAK, NL and EPPO)

オ) 参考 (その他写真)

Xylella fastidiosa (XYLEFA) [Photos] | EPPO Global Database
(URL : <https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos>)

オ 対象病害の解説

学名：*Xylella fastidiosa* (Wells et al., 1987)

英名、和名等：Pierce's disease of grapevines（ピアス病）、alfalfa dwarf、almond leaf scorch、citrus variegated chlorosis、dwarf lucerne、oleander leaf scorch、pear leaf scorch、pecan leaf scorch、periwinkle wilt、phony disease of peach、plum leaf scald

分布：台湾、イスラエル、イラン、イタリア、スペイン、フランス、アメリカ合衆国、カナダ、アルゼンチン、エクアドル、コスタリカ、パラグアイ、ブラジル、ベネズエラ、メキシコ

宿主植物：ミカン属、キンカン属、カラタチ属、サクラ属、ナシ属、キイチゴ属、ブドウ属、カエデ属、コナラ属、スズカケノキ属及びニレ属など

生態：Xfは根、茎及び葉の道管内で増殖する。細菌の凝集並びに感染に伴って植物がチロース（道管を閉塞させる「填充体」。植物が傷害、病原菌の感染等によってストレスを受けると、チロースが生成され、体液の流出や病原菌の侵入を防ぐ。）や粘着物質を生成することで、道管が詰まる。

分散：

1) 自然分散

Xfは道管部局在細菌（xylem-limited bacterium）であり、道管部を吸汁加害する昆虫類（ヨコバイ科（*Cicadellinae*）、アワフキムシ科（*Cercopidae*）、セミ科（*Cicadidae*））により媒介される。これら媒介昆虫（以下、「ベクター」という。）によるXfの伝搬に潜伏期はなく、また、永続的に伝搬されとの報告がある（EFSA, 2015）。なお、経卵伝搬は確認されていない。

道管部吸汁性の昆虫は、ベクターとなる可能性があると考えられているが、伝搬の有効性は、昆虫の種、寄主植物及びXfの遺伝子型により差異があると考えられている（EFSA, 2015）。Xfの保持は腸管に限定されるため、昆虫あたりの細菌濃度は低いことから、Xfの保毒を調べるためにはPCRのような感度の高い手法が必要となる（EFSA, 2015）。

なお、Xfに感染しているオリーブ園の地上部から集められたホソアワフキ（*Philaenus spumarius*：日本既発生）をPCR法により調べたところ、Xfが確認できたとの報告がある（Saponari et al., 2014）。なお、海外で媒介報告のある昆虫のうち、国内にはホソアワフキの他、オオヨコバイ（*Cicadella viridis*）が分布している。他の吸汁性昆虫についても媒介の可能性はある。

媒介報告がある昆虫の一例（すべてヨコバイ科・日本未発生）

国	宿主植物	属	種
アメリカ	ブドウ	<i>Carneocephala</i>	<i>fulgida</i>
		<i>Draeculacephala</i>	<i>minerva</i>
		<i>Graphocephala</i>	<i>atropunctata</i>
	モモ	<i>Homalodisca</i>	<i>coagulata</i>
		<i>Homalodisca</i>	<i>insolita</i>
		<i>Oncometopia</i>	<i>orbona</i>
		<i>Graphocephala</i>	<i>versuta</i>
		<i>Cuerna</i>	<i>costalis</i>
	カンキツ、ブドウ	<i>Homalodisca</i>	<i>vitripennis</i>
ブラジル	カンキツ	<i>Acrogonia</i>	<i>terminalis</i>
		<i>Acrogonia</i>	<i>citrina</i>

2) 人為分散

接ぎ木により伝搬する（CABI, 2020; EPP0, 2014）。

防除：健全な穂木の生産が実用的な防除方法である。ベクターの防除は、分散を防ぐ有効な方法である。病原体自体への農薬散布等の化学的防除は野外では有効ではない。（CABI, 2020）。

<参考文献>

- CABI (2020) *Xylella fastidiosa* In: Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CABInternational. ._(online),_available_from <<http://www.cabi.org/cpc/>> , (Last modified, 19 March 2020).
- EFSA (European Food Safety Authority) (2015) Scientific opinion on the risk to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options, European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. (online), available from <http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/maindocuments/3989.pdf> , _(accessed_2022-08-01).
- EPP0 2013 PM 7/24(4) *Xylella fastidiosa* Bulletin OEPP/EPP0 Bulletin 49: 175-227
- EPP0 (2014) First report of *Xylella fastidiosa* in the EPP0 region (Accessed_2016-3-16). (online), available from

- https://www.eppo.int/QUARANTINE/special_topics/Xylella_fastidiosa/Xylella_fastidiosa.htm , _ (accessed_2022-08-01).
- EPPO (2016) Data Sheets on Quarantine Pests *Xylella fastidiosa*. (online), available from
https://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/bacteria/XYLEFA_ds.pdf , _ (accessed_2022-08-01).
- Fatami et al., (2017) Detection of plant-pathogenic bacteria in seed and other planting Material second edition. APS Press, USA: 271-277.
- Ito, T. and Chiaki, Y. (2021) Two new superior primer pairs for universal detection of *Xylella* spp. in conventional PCR and TaqMan quantitative real-time PCR、Journal of Microbiological Methods、189:106321
- Li, W. B., W. D. Pria Jr., P. M. Lacava, X. Qin , and J. S. Hartung (2003) Presence of *Xylella fastidiosa* in Sweet Orange Fruit and Seeds and Its Transmission to Seedlings, Phytopathology:93: 953-958, 2003. (online), available from
<http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO.2003.93.8.953> , _ (accessed_2022-08-01).
- 農林水産省 (2021) *Xylella fastidiosa* に関する病害虫リスクアナリシス報告 書 Rodrigues et al 2003 Applied Environmental Microbiology 69:4249-4255
- Saponari, M., G. Loconsole, D. cornara, R. K. Yokomi, A. D. Stradis, D.
- Boscia, D. Bosco, G. P. Martelli, R. Krugner and F. Porcelli. (2014) Infectivity and Transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. Journal of Economic Entomology 107: 1316-1319.