

植物検疫重要細菌病の診断技法に関する研究

第 IV 報 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*
(Fang, Ren, Chen, Chu, Faan & Wu 1957)
Dye 1978 の検出について*

末次 哲雄・高山 睦雄
西尾 健・川口 嘉久**
横浜植物防疫所

Studies on the Diagnosis of Foreign Bacterial Plant Diseases of Quarantine Significance. IV. Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola* in Rice. Tetsuo SUETSUGU, Mutsuo TAKAYAMA, Takeshi NISHIO and Yoshihisa KAWAGUCHI (Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 19: 39-45 (1983).

Abstract: To develop the plant quarantine inspection, 3 strains (NCPBP 1585, NCPBP 1632 and Philippine) of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola* were imported by the permission of the Minister of Agriculture, Forestry and Fisheries, and the authors prepared antisera with living immunoantigen. The antigen-antibody reaction was examined by both the slide agglutination test and gel-diffusion test between the antisera and strains. Each antiserum of *X. campestris* pv. *oryzicola* showed reaction with homologous antigen, and antiserum of Malaysia strain (NCPBP 1585) could agglutinate other strains (NCPBP 1632 and Philippine) and *X. campestris* pv. *oryzae*, but not reacted to 42 strains of other plant-pathogenic bacteria. On the other hand, antiserum of *X. campestris* pv. *oryzae* did not react to 3 strains of *X. campestris* pv. *oryzicola* by the gel-diffusion test.

Then, the isolation methods of *X. campestris* pv. *oryzicola* were examined by means of the standard media and a selective medium reported previously. Consequently, potato-dextrose agar (PDA) and potato semi-synthetic agar (PSA) were good growth for *X. campestris* pv. *oryzicola*, but growth very poorly on Kado and Heskett (1970)'s selective medium (D5) for the isolation of *Xanthomonas* spp. Accordingly, a new selective medium was developed for the isolation of *X. campestris* pv. *oryzicola* as follows: pepton 10 g, NaCl 5g, esculin 1g, Iron (II) Citrate 0.5 g, agar 20 g and distilled water 1,000 ml. *X. campestris* pv. *oryzicola* was differentiated by the black-violet colored reactions on this medium after incubation for 24 hr at 25 C. Therefore, the black-violet colored colonies on this medium were reisolated on PSA medium, and showed pale yellow color on PSA medium. These colonies showed reaction with antisera of *X. campestris* pv. *oryzicola*.

The symptoms on the leaves were water-soaked lesions, later turn yellow streaks, and scattered in between the leaf veins. Minute yellowish droplets of bacterial exudates were found on these lesions under humid conditions. Later the lesions extended and coalesced to form yellowish-brown patches. In the late stages symptoms were difficult to distinguish from bacterial leaf blight (*X. campestris* pv. *oryzae*). *X. campestris* pv. *oryzae* invaded the vascular tissues, on the other hand, *X. campestris* pv. *oryzicola* affected only the parenchyma tissues of the leaf.

The combination of the isolation with selective medium and the confirmation with antiserum, and further, infected plants are observed with microscope in the parenchyma tissues of the leaf, are more useful for the correct detection of *X. campestris* pv. *oryzicola*.

* 本報告の概要は昭和 56 年度日本植物病理学会大会 (1981 年 4 月) において発表した。

** 現在, 農林水産省農蚕園芸局植物防疫課

はじめに

Xanthomonas campestris pv. *oryzicola* (FANG *et al.*, 1957) DYE 1978 によって引きおこされるイネ条斑細菌病はイネ白葉枯病に類似したイネの細菌病で、古くは 1918 年 REINKING がフィリピンで本病に類似した脈間に条斑を生じるイネの病害を報告している。しかし、REINKING はその病原細菌を確認するに至らなかった (SRIVASTAVA ら, 1967; OU, 1972)。その後、1957 年中国で FANG らは、本病をイネ白葉枯病と区別し、病原細菌を *X. oryzicola* として報告した (FANG ら, 1957)。以降、その発生は、フィリピン、インド、タイ、マレーシア、インドネシアなど東南アジア諸国のイネ栽培地帯に広く分布をみている (KING, 1968; SINGH, 1969; CMI Map 463, 1970; OU, 1972)。イネ条斑細菌病は、イネ白葉枯病と並んで最も重要なイネの細菌病で、また未発生地への侵入は、罹病したイネから採種されたイネもみによる種子伝染が要因する (SHEKHAWAT ら, 1969; BRADBURY, 1970) といわれており、未発生地のヨーロッパ、地中海諸国では、その侵入を警戒している (EPPO BULLETIN, 1979)。

我が国でも、本病は侵入が最も警戒される病害のひとつで、本病のほか、我が国未発生地のイネの重要病害虫の侵入を防ぐため、宿主のイネ、イネわら、イネもみなどを朝鮮半島及び台湾を除く諸外国からの輸入を禁止しているが、もし、本病が侵入すれば大きな被害をもたらすことが予想される。そこで、本病の診断技法の確立を図るため、農林水産大臣の輸入特別許可を受けて本病菌を導入し、抗血清による診断技法の開発、分離培地の検討、また、本病と類似するイネ白葉枯病との病徴の相違、特徴などについての試験を行った。

本試験を行うにあたり、フィリピン産 *X. campestris* pv. *oryzicola* の Philippine 菌株の導入にご尽力を頂いた International Rice Research Institute (IRRI) の Dr. T. W. MEW および神戸植物防疫所国際第二課長松原芳久氏また、終始ご指導を頂いた前横浜植物防疫所調査研究部松濤美文博士に感謝の意を表する。

材料および方法

供試菌

供試した条斑細菌病菌は 3 菌株で、いずれもイネから分離されたもので、IRRI からフィリピン産 Philippine 菌、英国の National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPBP) からマレーシア産 1585 菌株、フィリピン産 1632 菌株の分譲を受けた。本病菌との血清学的

類属性、病徴等の比較検討のためイネ白葉枯病菌農研株 H5809 菌株を供試した。また、血清学的試験の対照菌として植物病原細菌 *Agrobacterium* 属 1 種、*Corynebacterium* 属 5 種、*Erwinia* 属 6 種、*Pseudomonas* 属 19 種および *Xanthomonas* 属 11 種の 5 属 42 種と健全イネもみの表皮から分離されるジャガイモ寒天培地 (PDA 培地)、ジャガイモ半合成培地 (PSA 培地) に本菌と類似した黄色コロニーを形成する細菌 5 菌株を用いた。供試菌は、PSA 培地の斜面培養菌を用いた。

血清試験法

抗血清の作製は、イネ条斑細菌病菌 *X. campestris* pv. *oryzicola* 3 菌株およびイネ白葉枯病との比較検討のためイネ白葉枯病菌 H5809 菌株を PSA 培地で 25°C、2 日間培養したものに、生理食塩水 10 ml を加えて懸濁し、 10^{8-9} cells/ml の生菌液を家兎に 0.5~1 ml 宛 3~4 日間隔で 4~7 回耳静脈注射で免疫し、最終回の注射から 1 週間後に全採血を行い抗血清を得た。抗血清の力価はスライド凝集法で条斑細菌病マレーシア産 1585 菌株 320 倍、フィリピン産 1632 菌株、philippine 菌株各 640 倍、白葉枯病 H5809 菌株 640 倍であった。

血清反応法は、技法が簡便で、かつ植物検疫で十分対応しうる技法と考えられるスライド凝集法および寒天ゲル内拡散法により行った。血清試験に供した細菌は、抗血清を作製するにあたり実用性を加味して生菌抗原を用いて抗血清を作製したため、本試験も生菌抗原を用いた。

分離用培地の検討

本病菌の生育適温は 25~28°C で PDA 培地、PSA 培地で生育は良好で、はじめ白っぽい、のちに青味があった黄色のコロニーを形成するが、形態上は他の黄色コロニーを形成する細菌と明瞭な区別をすることは困難であった。また、KADO & HESKETT (1970) の *Xanthomonas* 属菌の選択培地 D5 培地上ではほとんど生育しなかった。このため、本病菌の分離用培地の検討を必要とし、また、本病菌は種子伝染することから保菌イネもみを作り、これより本病菌を検出・診断する技法について検討した。保菌イネもみは、マレーシア産 1585 菌株の懸濁液 10^{8-9} cells/ml にイネもみ (品種：日本晴) を浸漬し、室内で一昼夜風乾して作製し、供試した。

病徴

イネ条斑細菌病は、以前にはイネ白葉枯病と誤認されたこともある (OU, 1973) くらい、病徴は類似したところがある。イネ白葉枯病の病斑は主として葉縁に水浸状の病斑が生じ、次第に黄色病斑を形成し、病斑上に黄色の細菌粘塊がみられる。一方、イネ条斑細菌病は、はじめ

脈間に細長い水浸状の暗緑色条斑を形成する (FANG ら, 1957) ことから白葉枯病との区別は容易であるが, 本病の病斑上にも黄色の細菌粘塊を生じ, 後に, 病斑部は拡大融合して褐色病斑となるため白葉枯病との区別はしにくくなる (BRADBURY, 1970; LAPIS ら, 1975) との報告もあり, 両細菌病の比較検討を行った。また, イネ白葉枯病が維管束を侵すのに対し, 条斑細菌病は柔組織を侵す (SRIVASTAVA ら, 1967; 田部井, 1976) が, このことは病徴の特徴とも併せて本病を診断するうえでの重要な特徴となるものと考えられる。

これらのことから, イネ条斑細菌病とイネ白葉枯病をイネ (品種: 日本晴) の幼苗に接種し, 病徴および病斑部の解剖学的観察による両細菌病の特徴を検討した。イネ苗への接種の方法は, PSA 斜面培地で培養したイネ条斑細菌病菌 philippine 菌株およびイネ白葉枯病菌 H5809 菌株の 10^8-9 cells/ml 濃度の菌液をペトリ皿に入れ, イネの幼苗を菌液にひたし, 堅い豚毛の筆で葉の表面を軽くこすって接種した。接種後は試験管の中に入れ, $18-25^{\circ}\text{C}$ の温度下で発病を観察した。発病後, 病斑部の切片を作り顕微鏡で組織の変化を調査した。

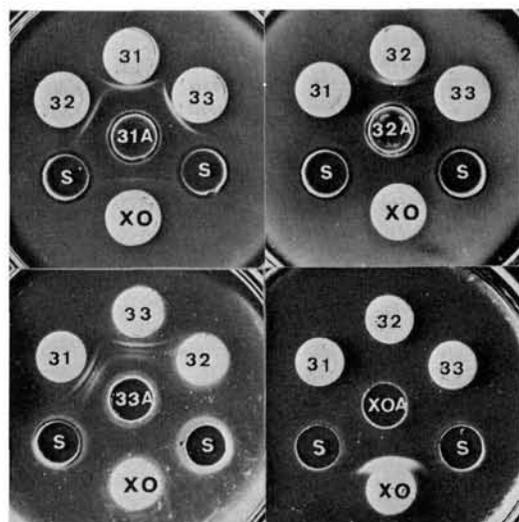
結 果

血清試験

イネ条斑細菌病菌の3菌株抗血清およびイネ白葉枯病菌 H5809 菌株抗血清による各菌株間の相互的反応試験の結果は第1表に示した。

それぞれの抗血清は, 対応抗原との間で, スライド凝集法で凝集反応を, また, ゲル内拡散法では沈降反応を示した。マレーシア産 1585 菌株抗血清は, フィリピン産 1632 菌株, philippine 菌株, また白葉枯病菌 H5809 菌株とも両血清反応法で凝集反応または沈降反応を示した。フィリピン産 1632 菌株抗血清は, スライド凝集法

では 1585 菌株, philippine 菌株および白葉枯病菌 H5809 菌株との間で凝集反応を示したが, ゲル内拡散法では沈降反応は示さず対応抗原とのみ沈降反応を示した。フィリピン産 philippine 菌株抗血清はマレーシア産 1589 菌株との間で, 両血清反応法で凝集反応や沈降反応を示したが, 1632 菌株およびイネ白葉枯病菌 H5809 菌株との間では沈降反応を示さなかった。また, 白葉枯病菌



第1図 寒天ゲル内拡散法による沈降反応
 31 マレーシア産 NCPPB 1585 菌株
 31A 同菌株抗血清
 32 フィリピン産 NCPPB 1632 菌株
 32A 同菌株抗血清
 33 フィリピン産 philippine 菌株
 33A 同菌株抗血清
 XO 白葉枯病 H5809 菌株
 XO A 同菌株抗血清
 S 生理的食塩水

第1表 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola* および
X. campestris pv. *oryzae* 抗血清の類属性

抗血清	<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzicola</i>			<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzae</i>
	(NCPPB 1585)	(NCPPB 1632)	(Philippine)	H 5809
<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzicola</i>				
マレーシア (NCPPB 1585)	+●	+×	+●	+×
フィリピン (NCPPB 1632)	+●	+●	-×	+×
フィリピン (Philippine)	+●	+×	+●	+×
<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzae</i> (H 5809)	+●	+×	+×	+●

+はスライド凝集法による陽性, 陰性反応を示す。

●×は寒天ゲル内拡散法による陽性, 陰性反応を示す。

第 2 表 *X. campestris* pv. *oryzicola* および *X. campestris* pv. *oryzae* 抗血清の血清学的性質

供試細菌	抗血清			<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzae</i> (H5809)
	<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzicola</i> (NCPBP1585)	マレーシア産 フィリピン産 (NCPBP1632)	フィリピン産 (Philippine)	
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Corynebacterium fascians</i>	-×	-×	-×	-×
<i>C. flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	-×	-×	-×	-×
<i>C. flaccumfaciens</i> pv. <i>oortii</i>	-×	-×	-×	-×
<i>C. michiganense</i> pv. <i>michiganense</i>	-×	-×	-×	-×
<i>C. michiganense</i> pv. <i>sepedonicum</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Erwinia amylovora</i>	-×	-×	-×	-×
<i>E. bulbicola</i>	-×	-×	-×	-×
<i>E. carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>	-×	-×	-×	-×
<i>E. carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	-×	-×	-×	-×
<i>E. chrysanthemi</i> pv. <i>chrysanthemi</i>	-×	-×	-×	-×
<i>E. herbicola</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Pseudomonas avenae</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. caryophylli</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. cichorii</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. fluorescens</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. gladioli</i> pv. <i>gladioli</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. glumae</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. solanacearum</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>aptata</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>atropurpurea</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>erobotryae</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>japonica</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>mori</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	-×	-×	-×	+
<i>Ps. viridiflava</i>	-×	-×	-×	+○
<i>Ps. woodsii</i>	-×	-×	-×	-×
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>alfalfae</i>	-×	-×	-×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	-×	-×	-×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>citri</i>	-×	-×	-×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>cucurbitae</i>	-×	-×	-×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>hordei</i>	-×	-×	-×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>hyacinthi</i>	-×	-×	-×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>physalidicola</i>	-×	-×	-×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>pisi</i>	+×	-×	+×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>pruni</i>	+×	-×	+×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	-×	-×	-×	-×
<i>X. campestris</i> pv. <i>vitians</i>	-×	-×	-×	-×
イネモミ 分離菌 イネ-1	-×	-×	-×	-×
イネ-2	-×	-×	-×	-×
イネ-3	-×	-×	-×	-×
イネ-4	-×	-×	-×	-×
イネ-5	-×	-×	-×	-×

＋はスライド凝集法による陽性、陰性反応を示す。

○×は寒天ゲル内拡散法による陽性、陰性反応を示す。

H5809 菌株抗血清は、スライド凝集法ではイネ条斑細菌病菌の 3 菌株と凝集反応を示したが、ゲル内拡散法では沈降反応は示さなかった (第 1 図)。

次に、これら抗血清と 5 属 42 種の植物病原細菌およ

びイネもみから分離された 5 菌株の細菌との血清反応を調査した。結果は第 2 表に示した。イネ条斑細菌病菌の 3 菌株で作製した抗血清は、これらの植物病原細菌やイネもみから分離された細菌とは一部の細菌を除き反応を

示さなかった。イネ白葉枯病菌抗血清は *Ps. viridiflava* との間で両血清反応法で凝集反応や沈降反応を示し、*Ps. syringae* pv. *tabaci* との間でスライド凝集反応を示した。

以上の結果、イネ条斑細菌病菌3菌株の抗血清のうち、マレーシア産1585菌株抗血清はスライド凝集法、ゲル内拡散法で他の2菌株のイネ条斑細菌病菌およびイネ白葉枯病菌H5809菌株とも凝集反応や沈降反応を示したが、他の植物病原細菌およびイネもみの表皮に付着し、PSA培地、PDA培地で黄色コロニーを形成する5種の細菌とはゲル内拡散法では反応しなかった。この結果、血清反応法のスライド凝集法とゲル内拡散法の間で若干の差異がみられるが、マレーシア産1585菌株は種特異性が強いことが判明した。

分離用培地の検討

イネ条斑細菌病菌がエスクリンを加水分解することから、ペプトン10g、NaCl5g、エスクリン1g、クエン酸第二鉄0.5g、寒天20g、蒸留水1lの培地を作製した。このエスクリン培地で本菌を25°C1昼夜培養すると培地を黒変させたが、この性質は、本菌を分離するのに有効な性質であった。しかしながら、この培地では本菌の生育は悪く、健全イネもみの表面に付着する細菌の中でも培地を黒変させるものもあり、分離培地としては不十分であった。このため、培地を黒変させた細菌を白金耳で採り、更にPSAの平板培地に再分離し、生じた黄色のコロニーを本菌抗血清で反応させることで、検出は容易となった。

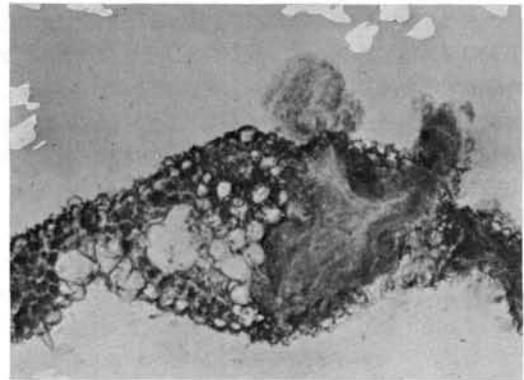
これらの試験結果をもとに、保菌イネもみからの本菌の検出を行った。保菌イネもみ30粒を試験管にとり、10mlの殺菌水を加えて強く振とうし、洗浄液を作った。この液をPSA培地およびエスクリン培地で25°C一昼夜培養した。また、同様に無処理のイネもみを殺菌水で洗浄し両培地で培養し比較した。

この結果、PSA培地は、保菌イネもみ、無処理イネもみともに多数の黄色コロニーを形成し、本菌と他の細菌を区別することは困難であった。エスクリン培地は、本菌の保菌イネもみでは10~数10個の小さなコロニーが生じ培地は黒変した。無処理イネもみの洗浄液で培地を黒変する細菌もみられたが、その数は非常に少なかった。培地を黒変させたコロニーをPSA平板培地で再分離し、生じた黒色のコロニーを本菌抗血清で反応させることにより、保菌イネもみからの本菌の検出は容易であった。

病徴

条斑細菌病菌 philippine 菌株のイネ幼苗の病徴は、接

種4~5日後に葉の脈間に水浸状の小さな細長い条斑が生じ、間もなく暗緑色斑から黄褐色の細長い条斑となり、病斑上には黄色の細菌粘塊がみられた。条斑は、はじめのうちは脈間に形成され葉脈に異常は認められなかったが、病勢の進行に伴い病斑は拡大融合し、次第に褐色になり、更に、葉先から枯れあがった。白葉枯病菌H5809菌株の病徴は、主として葉緑部の葉脈に沿って水浸状~淡黄色の斑点を生じ、次第に黄色にかわり、病斑上に黄色の細菌粘塊が見られた。後には、病斑は拡大融合して灰白色の病斑となり、葉の先端から枯死した。これら両細菌病の病徴は、初期病徴では、条斑細菌病の病斑部が脈間に限られており、両者の識別は容易であった。



第2図 イネ葉組織内の細菌粘塊

更に、病斑部の切片を作り、顕微鏡で観察すると、条斑細菌病菌は柔組織中で増殖し、組織中に細菌塊がみられたが維管束部に異常は認められなかった(第2図)。同様に白葉枯病の病斑部の切片を作り観察した。白葉枯病は維管束を褐変させていたが、柔組織に異常は認められなかった。

考 察

イネ条斑細菌病は、東南アジア諸国のイネ栽培地帯に広く分布し、イネ白葉枯病と並んで重要な細菌病であるにもかかわらず、その研究は比較的少ない。イネ条斑細菌病に対し、japonica型品種は一般に強い抵抗性を有し、indica型品種はほとんど罹病性といわれている(Goto, 1965)が、本試験に供した日本晴品種はjaponica型で九州地方で栽培されている代表的品種のひとつであるが、試験管内の接種試験では、イネ白葉枯病と同程度の激しい病害を生じ、我が国へ侵入するとその被害は大きいものと考えられる。

イネ条斑細菌病の血清学的な研究報告はなく、ELROD & BRAUN(1947, 1948)が *Xanthomonas* 属を血清学的に 5 グループと 6 種類の独立種に分類した研究があるが、本病菌はその分類後に発見されたもので、血清学的にどのグループに属するか明らかでない。本試験に供試した条斑細菌病 3 菌株の抗血清は、スライド凝集法、ゲル内拡散法ともに、他の 5 属 42 種の植物病原細菌とイネもみ表皮から分離された 5 菌株の細菌とは、一部の細菌を除き、凝集反応や沈降反応を示さなかった。また、本病菌 3 菌株の抗血清と白葉枯病菌 H5809 菌株の抗血清の血清学的性質をみると、血清反応法のスライド凝集法とゲル内拡散法の間には若干の差異がみられるが、条斑細菌病の抗血清、とくにマレーシア産 1585 菌株抗血清は、イネ白葉枯病菌とも反応するが、種特異性が高く、また、イネ白葉枯病菌 H5809 菌株抗血清は 3 菌株のイネ条斑細菌病とスライド凝集法で凝集反応を示すが、ゲル内拡散法で沈降反応を示さなかった。このことから、両抗血清を用いてゲル内拡散法による沈降反応の有無を調査することにより、イネ条斑細菌病の診断に十分使用出来るものと考えられる。

分離培地は、イネ条斑細菌病がエスクリンを加水分解して培地を黒変する性質を利用したものである。この培地で 25°C 1 昼夜培養すると、小さなコロニーが形成され、培地を黒変する。この培地を黒変させた細菌を白金耳で採り、更に PSA 培地に再分離し、生じた黄色のコロニーをイネ条斑細菌病の抗血清を利用することで検出は容易となる。

病徴によるイネ条斑細菌病とイネ白葉枯病との診断は、はじめイネ白葉枯病が葉脈に沿って淡黄色の病斑が生じるのに対し、イネ条斑細菌病は脈間に黄褐色の細長い条斑が生じることから両者の識別は比較的容易であったが、病勢の進行に伴い病斑は拡大融合して拡がり、病斑の色も灰色～褐色になり、識別は困難となった。

病斑部の切片を作り、顕微鏡で観察すると、イネ条斑細菌病は柔組織で増殖するのにに対し、白葉枯病菌が維管束を侵していることが判明した。このことは、SRIVASTAVA ら (1967) の報告とも一致し、病徴の比較と組み合わせることで、条斑細菌病とイネ白葉枯病の簡易な識別法として十分利用できるものと考えられる。

摘 要

我が国未発生のイネ条斑細菌病(病原菌 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) の植物検疫に利用し得る診断技法を確立するため、農林水産大臣の特別許可を受け、マレーシア及びフィリピン産の条斑細菌病を輸入して

抗血清を作製し、また分離培地による分離法の検討や本病に類似しているイネ白葉枯病菌との比較検討を行った。

イネ条斑細菌病で作製した抗血清、とくにマレーシア産 1585 菌株抗血清はイネ白葉枯病菌 H5809 菌株と凝集反応、沈降反応を示したが、種特異性が高く、白葉枯病菌 H5809 菌株抗血清と併せてゲル内拡散法で沈降帯の形成を調査することで診断は可能であった。

分離培地は、イネ条斑細菌病がエスクリンを加水分解して培地を黒色に変色することから、次の分離培地を作製した。ペプトン 10g, NaCl 5g, エスクリン 1g, クエン酸第二鉄 0.5g, 寒天 20g, 蒸留水 1l. この培地で 25°C, 1 昼夜培養すると培地を黒変させた。この培地を黒変させた細菌を白金耳でとり、更に PSA 培地に再分離し、生じた黄色のコロニーをイネ条斑細菌病で作製した抗血清をゲル内拡散法で反応させ沈降反応をみることにより、本細菌の検出、診断は有効であると考えられた。

病徴による診断は、イネ条斑細菌病は、葉脈と葉脈の間にはじめ水浸状で後に黄褐色の細長い条斑を生じ、イネ白葉枯病の葉脈に沿って水浸状から淡黄色の病斑とは異なり、初期病徴では両細菌の識別は比較的容易であったが、病勢の進行に伴い識別は困難となった。一方、白葉枯病が維管束を侵すのに対し、条斑細菌病は柔組織を侵すことから、病斑部の切片を作製し、顕微鏡で観察することも簡易な識別法と考えられた。

条斑細菌病は、分離培地により分離し、抗血清を用いて確認し、病斑部は、切片を作成し、柔組織を顕微鏡で観察することにより、本病菌の検出及び診断が期待できるものとする。

引用文献

- BRADBURY, J.F. (1970) *Xanthomonas oryzae* Fang et al. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No. 240.
- COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE (1970) *Xanthomonas oryzae* Fang et al. Distribution Maps of Plant Diseases. No. 463.
- ELROD, R.P., and A.C. BRAUN (1947) Serological studies of the genus *Xanthomonas*. I. Cross-agglutination relationships. II. *Xanthomonas translucens* group. Jour. Bact. **53**: 509-524.
- ELROD, R.P., and A.C. BRAUN (1948) Serological studies of the genus *Xanthomonas*. III. The *Xanthomonas vasculorum* and *Xanthomonas phaseoli* groups; the intermediate position of *Xanthomonas campestris*. Jour. Bact. **54**: 349-557.

- FANG, C.T., H.C. REN, T.Y. CHEN, Y.K. CHU, H.C. FAAN & S.C. WU (1957) A comparison of Rice bacterial leaf blight organism with the bacterial leaf streak organisms of Rice and *Leersia hexandra* Swartz. *Acta Phytopath. Sinica* **3**: 99-124 (Rev. App. Mycol. **37**: 475, 1958).
- GOTO, M. (1965) Resistance of Rice varieties and species of wild Rice to bacterial leaf blight and bacterial leaf streaks disease. *Philipp. Agric.* **48**: 329-338. (Rev. App. Mycol., **45**, 1966).
- LAPIS, D.B., and O.S. OPINA (1957) Common rice diseases and their control. Technical Bulletin, Univ. Philipp. No. 35, 8p.
- KADO, C.I., and M.G. HESKETT (1970) Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* **60**: 969-976.
- KING, T.H. (1968) Occurrence and distribution of diseases and pests of rice and their control in Thailand. *Pl. Prot. Bull. FAO* **16**: 41-44.
- OU, S.H. (1972) Rice diseases. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England 84-91pp.
- OU, S.H. (1973) A handbook of rice diseases in the tropics. IRRI. 15-17pp.
- REINKING, O.A. (1918) Philippine economic plant diseases. *Philipp. J. Sci. Ser. A.* **13**: 165-274. (Cited from Ou, S.H. (1972) Rice diseases. CMI, 84.).
- SHEKHAWAT, G.S., D.N. SRIVASTAVA and Y.P. RAO (1969) Seed infection and transmission of bacterial leaf streak of rice. *Pl. Dis. Reprtr.* **53**: 115-116.
- SINGH, K.G. (1969) Bacterial leaf streak in West Malaysia. *Pl. Prot. Bull. FAO* **17**: 64-66.
- SRIVASTAVA, D.N., Y.P. RAO, J.C., DURGAPAL and J.K. JINDOL (1967) Bacterial leaf streak of rice in India. *Pl. Dis. Reprtr.* **51**: 928-929.
- 田部井英夫 (1976) 熱帯稲作病害虫図説 農林省熱帯農業研究センター(編), 東京, 24-25pp.