

輸入検疫において中国産種子用玄米から発見された病原菌（I）

迫田琢也・本蔵洋一・塚本貴敬*・野田二美代*・松浦貴之¹⁾・上田幸史・
木村 茂*

横浜植物防疫所調査研究部・*横浜植物防疫所

Plant Pathogens Intercepted at Plant Quarantine Inspection of Chinese Hulled Rice Seeds (I). Takuya SAKODA, Yoichi MOTOKURA, Takanori TSUKAMOTO*, Fumiyo NODA*, Takayuki MATSUURA, Koshi UEDA and Shigeru KIMURA* (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10 Shin-yamashita, Naka-ku, Yokohama, 231-0801, Japan and *Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* **41**: 99-102 (2005).

Abstract: Eighteen genera of fungi and a plant pathogenic bacterium (*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*) were detected from hulled rice seeds (*Oryza sativa* L.) imported from China in April 2001, at import quarantine inspection in Japan, and listed. Only six species, which belonged to six fungal genera (*Ascochyta miurai*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia senegalensis*, *Microdochium oryzae*, *Phomopsis oryzae*, *Sarocladium oryzae*), were pathogenic to rice plant.

Key words: hulled rice seeds, intercepted, list, plant quarantine

緒 言

近年、植物防疫法に定めるイネ籾の輸入禁止地域から、種子用玄米を試験研究や育種の目的で少量輸入している事例があるが、このような規模・目的に留まらない種子用玄米の輸入計画もある。このため、輸入種子用玄米に対する適切な輸入検疫措置を再構築する目的で、そこに付着・感染する病原菌の種類等の調査を開始した。

以下に、2001年4月に横浜港に輸入された中国産種子用玄米を供試した調査における病原菌の検出及びその同定方法の概要を報告する。なお、本報告の一部は、平成13年度日本植物病理学会大会で発表した(迫田ら, 2002)。

材料及び方法

材料

中華人民共和国（2000年産）のイネ（*Oryza sativa* L.）から種子用として調整された玄米（以下、玄米と略称する）で、薬剤粉衣がなされていない1ロットを供試した。

直接観察

実体顕微鏡下で玄米表面を観察し、標徴あるいは変色等を呈する異常玄米がないか調査した。柄子殻、子のう殻を認めた場合には、直接、単孢子分離を行った。

培養法

玄米からの糸状菌の検出には、プロッター法及びSNA培地（NIRENBERG, 1976）への置床法を用いた。直接観察で認められた異常玄米及び無作為に選んだ玄米をプロッター法では、無処理のまま500粒を供試し、SNA培地への置床では、無処理玄米及び常法による表面殺菌処理を行った玄米の各100粒を供試した。培養条件は暗黒下・25℃、あるいは、室内散光下・24～28℃とし、約1ヶ月間観察し、生育した糸状菌は随時、単孢子（菌糸）分離した。

栽培試験

2001年5月、無作為に抽出した玄米（約20,000粒）を滅菌土壌を詰めたバットに約1,000粒ずつ播種し、隔離温室内（25～35℃）で栽培した。さらに、播種から約1ヶ月後、これらの中から任意に抽出した120本の幼苗をワグネルポットに移植し、登熟後期まで約5ヶ月間同環境下で栽培した。栽培期間中、病害の発生が疑われた場合には、随時、常法により糸状菌及び細菌の分離を行った。

同定のための培養条件

SNA及びPDA培地を用い、室内（24～28℃）・散光下で培養した菌株を同定に供した。なお、孢子形成が認められない菌株は、高圧滅菌した玄米を置床した同培地を用い、20℃・連続近紫外光下で培養し、孢子形成を試みた。

¹⁾ 現在、(独) 農業・生物系特定産業技術研究機構中央農業研究センター

Table 1. List of species detected from the hulled rice seeds*¹ (*Oryza sativa* L.) and their pathogenicity.

species	Detection method * ²			Pathogenicity * ³ to	
	direct observation	blotter and SNA plating	grow-out test in greenhouse	leaf blade or leaf sheath	panicle
Fungi					
<i>Alternaria alternata</i>	-	+	-	-	NT
<i>A. padwickii</i>	-	+	+ * ⁴	-	NT
<i>Aspergillus</i> spp.	-	+	-	NT	NT
<i>Ascochyta miurai</i>	+	-	-	+	NT
<i>Bipolaris australiensis</i>	-	-	+ * ⁴	-	NT
<i>B. oryzae</i>	-	+	-	+	NT
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	+	-	-	NT
<i>Curvularia intermedia</i>	-	+	-	-	NT
<i>C. lunata</i>	-	+	-	-	NT
<i>C. pallescens</i>	-	+	-	-	NT
<i>C. senegalensis</i>	-	+	-	+	NT
<i>Chaetomium</i> sp.	-	+	-	-	NT
<i>Fusarium</i> cf. <i>scirpi</i>	-	+	-	-	NT
<i>F. semitectum</i>	-	+	-	-	NT
<i>F. solani</i>	-	-	+ * ⁴	-	NT
<i>Leptosphaeria oryzaecola</i>	+	-	-	-	NT
<i>Microdochium oryzae</i>	-	+	-	+	NT
<i>Nigrospora oryzae</i>	-	+	-	-	NT
<i>Rhizopus</i> sp.	-	+	-	NT	NT
<i>Penicillium</i> spp.	-	+	-	NT	NT
<i>Phomopsis oryzae</i>	+	-	-	+	NT
<i>Pyrenochaeta</i> sp.	-	+	-	-	NT
<i>Sarocladium oryzae</i>	-	+	+ * ⁵	-	+
<i>Septoria oryzae</i>	+	-	-	-	NT
<i>Tilletia barclayana</i>	+ * ⁶	-	-	NT	NT
Bacteria					
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	-	-	+ * ⁴	+	NT

*¹ The hulled rice seeds imported from China on April, 2001 were used in this study.

*² Three methods were used for detection of fungi and bacteria. + : detected, - : not detected.

*³ Pathogenicity to each part of rice (*Oryza sativa* L.) were tested.
+ : pathogenic, - : non pathogenic, NT : Not Tested.

*⁴ Detected at the stage from seedling emergence to 3rd leaf.

*⁵ Detected from panicles at the grain filling stage.

*⁶ Germination tests on water agar media were positive.

接種試験

直接観察及び各培養法で検出・分離された糸状菌については、3~5葉期のイネ苗（品種：ひとめぼれ）の葉身、葉鞘に対し、含菌寒天法あるいは孢子懸濁液（濃度：10⁵⁻⁶個/ml）の噴霧によって接種し、隔離温室内（25~35℃）で約1ヶ月間病原性の有無を観察した。栽培試験で検出・分離された細菌、糸状菌については、それぞれイネ（品種：同上）の葉鞘基部（3~5葉期）、穂（出穂期~登熟初期）に対し、穿刺、噴霧接種して同様に隔離温室内で観察した。

結果及び考察

玄米表面の直接観察では、*Leptosphaeria oryzaecola*の子のう殻及び*Septoria oryzae*の柄子殻が並んで観察される事例があったのに対し（Plate I-1, 2）、*Ascochyta miurai*及び我が国のイネで未記録の*Phomopsis oryzae*（Plate I-3）の柄子殻が他菌の子のう殻や柄子殻と同一粒上に混在する事例は認められなかった。この他、*Tilletia bar-*

clayana（イネ墨黒穂病菌）の黒穂胞子が玄米の内外に充満・付着したのも観察された。

培養法では、任意に分離した47菌株を同定した結果、*Curvularia senegalensis*（8菌株）、*Alternaria padwickii*（7菌株）、*Fusarium* cf. *scirpi*（6菌株）、*Sarocladium oryzae*（5菌株）、*F. semitectum*（5菌株）、*C. lunata*（3菌株）、*C. pallescens*（3菌株）で合計37菌株を占め、この他は*Bipolaris oryzae*、*Microdochium oryzae*、*Nigrospora oryzae*などであった。

栽培試験では、発芽直後に糸状菌に覆われた発芽不良玄米から、*A. padwickii*、*Bipolaris australiensis*、*Fusarium solani*、*F. cf. scirpi*が分離された。また、播種から約1ヶ月後、一部の苗の葉鞘、葉身基部、葉先及び葉縁部に暗緑色水浸状の条斑が認められ（Plate I-10~12）、被害組織を磨砕し、NA培地（Nutrient agar）に画線培養したところ、白色コロニーを形成する細菌が高率に分離された。分離した数菌株のイネへの病原性と細菌学的性質から*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*（イネ褐条病菌）と同定

した。さらに、登熟期の穂において籾殻や玄米に褐変症状が認められ（Plate I-7~9）、そこから*Sa. oryzae*（イネ葉鞘腐敗病菌）が高率に分離された。本菌は、前述したとおり培養法でも検出され、同法による分離株の穂に対する病原性も追加的に行った接種試験により確認されたことから、栽培検定で認められたこの病害は、播種時の汚染玄米に起因したものと考えられた。

接種試験においては、*A. miurai*、*B. oryzae*、*C. senegalensis*、*M. oryzae*及び*P. oryzae*にイネ葉身（鞘）への病原性が認められたが、褐変程度は*B. oryzae*及び*M. oryzae*によるものが大きかった（Plate I-4~6）。*Sa. oryzae*は、イネ葉身（鞘）に病原性は認められなかったが、穂に対して、接種約3週間で原病徴を再現し、再分離された。

本試験を総括すると、直接観察、培養法及び栽培検定の各方法によって合計18属の糸状菌及び植物病原細菌1種（*A. a. subsp. avenae*）を認めた（Table 1）。主な糸状菌の内訳は*Alternaria*属菌2種、*Ascochyta*属菌1種、*Bipolaris*属菌2種、*Cladosporium*属菌1種、*Curvularia*属菌4種、*Fusarium*属菌3種、*Microdochium*属菌1種、*Nigrospora*属菌1種、*Phomopsis*属菌1種、*Sarocladium*属菌1種、*Septoria*属菌1種、*Tilletia*属菌1種であった。このうち6属6種の糸状菌に接種試験により病原性を認め、また、*Tilletia*属菌についても発芽試験により生菌であることを確認し、病原菌と判断した。

今回、検出・分離された糸状菌の種類は、宇田川（1962）、寺中ら（1967）、KURATA *et al.*（1968）、内藤（2000）、本多ら（2002）の報告した我が国のイネの葉及び穂（籾、玄米、精米を含む）の糸状菌フロアと属レベルではほぼ共通であったが、イネ種子から分離された糸状菌種を記載したリスト（MEW & GONZALES, 2002）と比較すると極めて少なかった。他方、*Sa. oryzae*及び*A. a. subsp. avenae*の事例からは、玄米由来の病原菌が育成中のイネに病害を引き起しうることが実証された。今後はさらに多くのロットを調査し、データの集積及び解析を行っていく必要があると思われる。

摘 要

2001年4月、横浜港に輸入された中国産種子用玄米の輸入検疫で、直接観察、培養法及び栽培試験により糸状菌18属、植物病原細菌1種を検出し、それらの一覧表を作成した。イネに対する接種試験の結果、6属6種の糸状菌に病原性を認めた。

謝 辞

本試験を行うに当たり、分離菌の同定に際し、ご指導をいただいた（独）農業生物資源研究所青木孝之博士及び現・農林水産省植物防疫課君島悦夫博士に心から感謝申し上げます。

参 考 文 献

- 本多範行・木子博文・岡本 博（2002）1977年に福井県で発生した変色籾と褐色米から分離された糸状菌，北陸病虫研報51: 1-5.
- KURATA, H., S. UDAGAWA, M. ICHINOE, Y. KAWASAKI, M. TAKADA, M. TAZAWA, A. KOIZUMI, H. TANABE (1968) Studies on the Population of Toxigenic Fungi in Foodstuffs III. Mycoflora of Milled Rice Harvested in 1965, 食衛誌9(1): 23-28.
- MEW, T. W. and P. GONZALES (2002) A Handbook of Rice Seedborne Fungi, Sci. Publishers, Inc., Enfield, NH: 4.
- 内藤秀樹（2000）日本における水稻・麦類・ダイズ種子伝染性病害の流行と防除対策，種子伝染性病害の管理・研究・制御（農林水産省 野菜・茶業試験場 編），全農協，東京：41-48.
- NIRENBERG, H. I. (1976) Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft. Berl.-Dahlem 169:1-117.
- 迫田琢也・本蔵洋一・君島悦夫・木村 茂・青木孝之（2002）中国産栽培用玄米種子から分離される糸状菌，日植病報68(2): 190（講要）.
- 寺中理明・宮下真一・明日山秀文（1967）イネの葉および穂の微生物フロア，日植病報33(2): 83（講要）.
- 宇田川俊一（1962）貯蔵穀類の変質と菌類，発酵協会誌 20: 127-133.

Explanation of Plate

Plate I

- 1 : Pycnidia of *Septoria oryzae* formed on the surface of hulled rice seeds.
- 2 : Magnification of Pycnidia of *S. oryzae* and Perithecia of *Leptosphaeria oryzaecola* formed on the surface of hulled rice seeds. L: Perithecia of *L. oryzaecola*; S: Pycnidia of *S. oryzae*.
- 3 : α -conidia and β -conidia of *Phomopsis oryzae* (Scale: 8 μ m).
- 4 : Symptom on leaf blade 14 days after inoculation with *Phomopsis oryzae*.
- 5 : Symptom on leaf blade 6 days after inoculation with *Bipolaris oryzae*.
- 6 : Symptom on sheath 5 days after inoculation with *Microdochium oryzae*.
- 7, 8 : Naturally discolored panicles caused by *Sarocladium oryzae* observed during the grow-out test in the greenhouse.
- 9 : Browning hulled rice seeds from discolored panicles of Plate I-7, 8.
- 10 : Bacterial brown stripe caused by *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* observed during the grow-out test in the greenhouse.
- 11, 12 : Symptom of bacterial brown stripe observed at the top, edge and base of leaf blade.

Plate I.

