



三重県における薬剤耐性いもち病菌の個体群構造と動態

鈴木, 啓史

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2013-09-25

(Date of Publication)

2014-09-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第5925号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005925>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文

三重県における薬剤耐性いもち病菌の
個体群構造と動態

平成 25 年 9 月

神戸大学大学院農学研究科

鈴木啓史

目次

第一章	緒言	1
第二章	三重県における MBI-D 剤耐性 イネいもち病菌個体群構造解析	9
第三章	MBI-D 剤と遭遇していない いもち病菌の SDH 遺伝子の変異	51
第四章	MBI-D 剤の使用量減少に伴う イネいもち病菌の動態	60
第五章	総合考察	70
摘要		75
謝辞		77
引用文献		79

第一章 緒言

儲かる農業を実現するために、販売価格と生産量の安定が必須である。特に生産量を安定させる上で最も大きなリスクは、病虫害の発生による減収や品質の低下である。このリスク回避のため、殺菌剤や殺虫剤による薬剤防除を行うが、ここにも薬剤抵抗性病虫害の発生という大きなリスクが存在する。この抵抗性病虫害の発生は、農家には薬剤防除の効果低下による作物の減収や品質の低下を招き、所得の減収をもたらす。一方、農薬メーカーには、防除効果が低下した薬剤の販売減少や販売中止を招き、多大な開発費の回収ができないばかりか、新規剤開発への投資が進まないことが考えられる。これらの問題は、食料の安定供給を脅かすことにも繋がり、重大な課題である。

水稻栽培において最も重要な病害は、*Pyricularia oryzae* によるイネいもち病である。イネいもち病は、発生程度の年次変動は大きいですが、多発時の被害が大きいことや、急激に広域発生すること、また、穂いもちの発生による収量や品質低下への影響が大きいことなどから、水稻における病害防除の主目的にされてきた。このイネいもち病の防除対策の基本は、伝染源の除去と、伝染環の遮断である。

イネいもち病菌の主な伝染源は、種子であることが知られている（小林、加藤 1962、越水ら 1966、吉野 1987、武田 1996、深谷ら 2001、中島ら 2003）。したがって、いもち病菌を保菌しない種子に更新することが、いもち病の伝染源を除去し、伝染環を遮断することになる。そのため、イネの種子生産については、主要農作物種子法に定められており、この法律の中で都道府県が「圃場審査」および「生産物審査」の実施を義務づけられ、健全な種子生産に取り組んでいる。この「圃場審査」が行なわれる圃場を採種圃といい、採種圃で生産された種子が「生産物審査」され、流通種子として販売されている。

このような健全性の高い流通種子であっても、わずかに種子伝染したイネいもち病菌は、苗に発生する苗いもち、本田での葉いもち、そして穂いもちと伝染環をつなげていく。この伝染環を断つため、イネの生育ステージに応じた殺菌剤による防除が行われている。しかし、1971年には、山形県でカスガマイシン耐性いもち病菌が発生し、また、1976年には富山県で有機りん剤耐性のいもち病菌が発生するなど殺菌剤耐性菌は、いもち病の防除を行う上で大きな問題となってきた。そして、2001年、佐賀県で MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が発生した（山口ら 2002）。

メラニン合成阻害剤は、作用性による分類が行なわれている。すなわち脱水酵素阻害型（Melanin Biosynthesis Inhibitors : Dehydratase）と還元酵素阻害型（Melanin Biosynthesis Inhibitors : Reductase）の2つである。脱水酵素阻害型メラニン合成阻害剤を MBI-D 剤、還元酵素阻害型メラニン合成阻害剤を MBI-R 剤と呼んでいる。

2001年に佐賀県で初確認された MBI-D 剤耐性イネいもち病菌は、翌年、九州全域、さらに中国四国地域で確認された。続いて 2003年に関西地域、2004年には東海地域、さらに岩手県にまで確認地域が拡大した。そしてついには、2010年には関東地域を除いて北海道までほぼ全国に広がった。

山口ら（2002）は、2001年に、佐賀県西北部の MBI-D 剤であるカルプロパミド箱粒剤使用地帯において、葉いもちが多発生し、ずりこみ症状を呈している圃場を確認した。当地区での薬剤防除試験において、2000年までの過去5年間、カルプロパミド箱粒剤は葉いもちに対し防除価90以上の非常に高い効果を示していたにもかかわらず、2001年は防除価60以下とその効果が低下した。さらに、山口ら（2002）は佐賀県内の1998年分離菌4菌株と2001年分離菌4菌株を、カルプロパミド箱粒剤を施用したイネ苗に接種し、各菌株に対する防除効果を検討したところ、1998年分離菌接種苗に対してはすべて防除価90以上の高い防除効果を示したが、2001年分離菌の中には防除価が76～37に低下するものを認めた。一方、同じ

メラニン合成阻害剤の MBI-R 剤と、この MBI-D 剤耐性イネいもち病菌は、交さ耐性しないことを宗ら（2002）が確認している。

耐性菌発生の原因として、自家採種種子の使用、不十分な種子消毒、苗いもち発生苗の使用、移植後の大雨による田水のオーバーフロー、連続の曇天、多肥栽培、罹病性品種の作付けなど、いもち病が蔓延しやすい条件と病原性の強い菌の存在が複合的に作用したことが原因であると推定されている（宗 2003、梶原・高垣 2003）。このことから、育苗箱処理剤の代替だけではなく総合的な観点からの防除対策が必要であることが指摘されている（梶原・高垣 2003）。

耐性機構について、高垣ら（2002）は、MBI-D 剤耐性菌体内でのカルプロパミドの解毒代謝は問題なかったが、MBI-D 剤の作用点であるメラニン合成系のシタロン脱水酵素阻害活性の低下が認められたことを報告している。さらに、シタロン脱水酵素遺伝子を解析し、野生型のイネいもち病菌と比較した結果、mRNA を鋳型とした cDNA 上では、転写開始コドンの塩基を 1 番とすると 223 番目の塩基が G から A に変異しており、対応するゲノム DNA 上にも同じ 1 塩基置換が確認された。これはアミノ酸の配列番号へ置き換えると 75 番目のバリン（Valine）のメチオニン（Methionine）への変異（V75M）に相当していた。耐性菌では、SDH の側鎖がイソプロピル基（バリン）からメチルチオエチル基（メチオニン）へと 1 炭素分長くなっていることから、カルプロパミドは疎水結合が形成出来なくなり、SDH 阻害活性の低下が起こったと考えられた（高垣・梶原 2003）。

イネいもち病菌の MBI-D 剤に対する感受性検定方法について、ポット試験やセロファン膜上での付着器のメラニン化阻害試験などがあるが、判定するまでに要する時間や労力、結果の正確さ等で難点がある。また、薬剤添加培地上でのメラニン蓄積で判定する方法もあるが、イネいもち病菌の培地上でのメラニン蓄積は安定しない場合もあり、最適な手法とは言えない（梶原・

高垣 2003)。そこで、統一検定法として Primer- introduced Restriction Enzyme Analysis PCR (PIRA-PCR) 法が Kaku ら (2003) により提唱されている。すなわち、耐性菌は変異点で[A]が取り込まれ、その直前の 2 塩基[AG]とともに[AGA]という配列が形成される。そこで、制限酵素 *Xba*1 が [TCTAGA]という配列で DNA を切断することを利用し、[TCT]という人為的配列を導入したプライマーセットで増幅し、PCR 産物(324bp)を制限酵素 *Xba*1 で処理した結果、耐性菌のみ 25bp と 299bp に切断されることで、耐性菌と判定する。この PIRA-PCR 法が開発されたことにより、多量のサンプルを迅速に検定することが可能となった。一方、散布試験による感受性検定と PIRA-PCR 法の結果が 100%一致することが確認されている (梶原・高垣 2003)。

山口ら (2003a) は、耐性菌の発生を予測し防除対策を講じるため、いもち病の主要な伝染源である種子の耐性菌保菌状況と、2002 年の葉いもちにおける耐性菌の発生状況を調査した。その結果、2001 年に耐性菌発生を確認した地帯で採取した種子では、30 地点中 16 地点でいもち病の保菌がみられ、その 16 地点すべてで耐性菌が確認された。一方、2001 年に耐性菌の発生を確認していない地帯の種子は、28 地点中 17 地点で保菌しており、そのうち 3 地点で耐性菌を確認した。これらの 3 地点では 2002 年に発生した葉いもちからも耐性菌が検出された。これらのことから、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が種子伝染していること、耐性菌の発生が顕在化していない地帯でも低率で耐性菌が種子伝染していることを明らかにしている。また、山口ら (2004) は、2000 年に採取した種籾から耐性菌が検出されたことから、効果低下が問題化した 2001 年の前年から、耐性菌が発生していたことを明らかにしている。

山口 (2003b) は、耐性菌の種子伝染を確認したことから、耐性菌の発生地域での 2002 年の対策として他作用点の箱粒剤の使用することを、それ以外の地域において MBI-D 剤を使用する場合は発生状況に注意しながら、

効果低下が見られるときには緊急防除を行うことなどの指導を行った。しかし、翌年、ほぼ県内全域で耐性菌が認められたことから、2003 年作での MBI-D 系統薬剤の県内全域での使用の全面休止を指導した。荒井 (2004a) が指摘するように、緊急避難的に薬剤を切り替えただけでは新たな耐性菌出現が繰り返されることが予想される。そこで、現場ニーズとしては、当該薬剤の使用を中止した場合に耐性菌の頻度がどのように推移し、耐性菌の頻度がどこまで低下すれば薬剤の使用再開が可能なのかを明らかにする必要がある。

この根拠を得るために、遺伝子マーカーに着目した。近年、従来の培養的特性や形態等による識別に変わり、遺伝子マーカーを指標にして伝染環や感染ルートなど、菌の動態を追跡することが可能になってきている。

遺伝子マーカーの一つの手法である rep-PCR 法は、ゲノム中の繰り返し配列内に設定したプライマーを用い、PCR によって検出されるフィンガープリントパターンから、ゲノム構造の差異を検出する手法である (鈴木 2007)。狭義では、原核生物に広く存在する繰り返し配列から考案された 3 セットのプライマー (BOX、ERIC、REP) を用いるケースを指す。George ら (1998) は、いもち病菌のゲノム上に多コピー存在し、転移因子の一種である *Pot2* に着目し、その配列内から外向きに伸張するようにプライマーのセットを設定することによって、rep-PCR 法の原理を応用した。その結果、各菌株からフィンガープリントが得られ、かつ容易に多型が検出できることを明らかにし、従来の RFLP と同様にいもち病菌の系統解析にも有用なことを示した。本手法は、少ない DNA 量で解析が可能であり、またサザン解析を必要としないなどの利点があり、個体群構造解析や個体識別マーカーとして、国内外で広く利用されている (山田ら 2001、村松ら 2003、Javan - Nikkhah et al. 2004、岩館ら 2005、生井ら 2006、Noguchi et al. 2006、佐々木ら 2006)。

小倉ら (2000) は、いもち病菌の動態を分子マーカーの利用により解析

するため、苗いもちおよび本田初発病斑から分離されたイネいもち病菌の *Pot2* rep-PCR による DNA フィンガープリンティングを行い、本田における主要な伝染源は地域のバックグラウンドを形成する個体群由来ではなく、種子由来である可能性が高いとしている。

また、山田ら（2001）は、この手法を利用するに当たって、葉いもち病斑からの分離菌株フィンガープリントパターンの再現性を調べている。すなわち、異なるフィンガープリントパターンを持つ 2 菌株を 4 葉期の品種‘ひとめぼれに’噴霧接種し、接種 6 日後、異なる葉いもち病斑から単孢子分離した菌株のフィンガープリントパターンを比較した。その結果、2 菌株とも葉いもち病斑からの分離菌株は接種菌株と同じフィンガープリントパターンであり、いもち病菌のフィンガープリントパターンは植物体を通過した後も頻繁には変わらないことが確認されている。

そして、山田ら（2003）は、DNA フィンガープリント法を用いたイネ罹病置苗からのいもち病菌拡散の追跡により、補植用置苗で発生した葉いもちに由来するいもち病菌が主要な伝染源となり、このいもち病菌が補植用置苗周辺の移植株での葉いもち、周辺圃場での葉いもち、周辺圃場での穂いもちと広がった可能性が高いとしている。さらに、葉いもち病斑の穂いもちに対する感染源としての検討を行ない、上位 5 葉の葉いもち病斑に限らず、下位葉も穂いもちの重要な伝染源となることを示している（山田ら 2004）。

また、笹原（2004）は、DNA マーカーを用いて、いもち本田初発の主要伝染経路は、罹病種子由来の苗いもちまたは前年の被害残渣を第一次伝染源とする育苗ハウス内感染であり、これらが移植あるいは放置されることにより、地域の伝染源となる強い根拠を得たとしている。

さらに、生井ら（2006）は、病斑ごとに分布するいもち病菌の遺伝子型が異なる場合があること。組織の位置と分離菌株の遺伝子型の傾向は、下位からと上位組織からの分離菌がほぼ同一の場合も見られたが、同一でない場合が多いこと。下位の組織の病斑に分布した菌株から上位組織へ伝染したと

は考えにくい現象もかなりあることから、イネ 1 株内に分布するいもち病菌の遺伝子型はかなり多様であるとしている。

また、本病初発期でも複数の遺伝子型の菌株が分布する水田があること、イネの生育期が進むにつれ遺伝子型が多様になること、登熟期には初発期に発生した遺伝子型とは別の遺伝子型が分離される水田が多いことなどが明らかにしている（生井，平田 2007）。さらに、罹病穂内に複数の遺伝子型が分布すること、および穂全体に分布する優占的な遺伝子型が存在することを明らかにしている。野外ではイネの作期中に複数の遺伝子型のいもち病菌が飛散し、出穂中にも遺伝子型の異なる菌による飛散・感染が起こり、1 穂内で複数の遺伝子型が分布するようになった可能性が考えられている（生井・大友 2008）。

一方、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌についても、発生当初から DNA マーカーを用いた個体群構造とその動態に関する研究が取り組まれてきた。梶原ら（2002）は、MGR586 を用いた DNA フィンガープリント解析を行い、その結果、佐賀県西北部の松浦川上・中流域における低感受性菌は佐賀県内既知のリネージに属するイネ菌であり、雑草や国外由来の菌株ではないことを明らかにしている。この結果から、地域内のイネにおける伝染環を遮断すれば低感受性菌の拡大を防げると考え、同地域に限定して同剤の使用を制限する対策を現地に提案している。また、2002 年には九州から分離された耐性菌を用い、解析方法を *Pot2* rep-PCR 法に変えて調査したところ、佐賀県からは 1 つの系統しか見出されなかったが、九州全体では複数の系統が変異を有していたことから、MBI-D 耐性を持つ系統は 1 つだけではないことを報告している（梶原・高垣 2003）。

鈴木ら（2004）は、2002 年に佐賀県内 102 地点から収集した 404 菌株を、*Pot2* rep-PCR により 37 種類の遺伝子型(Sa01～Sa37)に類別した。さらに、2003 年に鹿児島を除く九州 6 県 69 地点から収集した 431 菌株を調査した結果、佐賀県で優占していた Sa4 は長崎県からも分離されたが、

その他の県からは分離されなかった。また、大分県では Sa18 が優占的に分離された。一方、Sa5 は分布域が広く 4 県から分離された。このように、耐性菌の遺伝子型とその分布が多様であることから、MBI-D 剤の使用前から耐性遺伝子変異がいもち病菌集団内に存在していた可能性が高いと考えられ、単一の耐性菌が分布域を拡大したのではなく、県や地域毎に適応した耐性菌がそれぞれ分布を拡大したと結論づけている。

2001 年に佐賀県で初確認された MBI-D 剤耐性イネいもち病菌は、徐々に発生県を拡大していった。九州からおよそ 700km 離れた三重県においても、MBI-D 剤は 1999 年から使用しており、2004 年には県内全ての JA の稲作暦に採用されていた（鈴木・黒田 2007）。三重県における MBI-D 剤耐性イネいもち病菌について、2004 年 9 地点 38 菌株を対象に行われた感受性検定では、全て感受性菌であった。しかし、2005 年にいもち病発生量が少ないなか葉いもちが多発生した 5 地点で、耐性菌が初確認された。これをうけて、2006 年に三重県内広域に MBI-D 剤の感受性調査を行ったところ、131 地点中 72 地点（55%）で MBI-D 剤耐性イネいもち病菌を確認した。そこで、上述の *Pot2* rep-PCR を用いて、いもち病菌の個体群構造を解析し、この耐性菌の起源および耐性菌の伝染環を検討した。

第二章 三重県における

MBI-D 剤耐性イネいもち病菌個体群構造解析

Pyricularia oryzae は、稲作で最も重要な病害であるイネいもち病の病原菌である。このイネいもち病菌を防除するために、シタロン脱水酵素阻害を作用点に持つメラニン合成阻害剤（MBI-D 剤）が広く使われてきた。宿主細胞に侵入を抑制するだけで、病原菌を殺菌しない MBI-D 剤は耐性菌化リスクが低いと当初考えられてきた（Sawada et al. 2004）。しかしながら、結果として MBI-D 剤販売 3 年後という速さで耐性菌が発生した。現在、3 つの MBI-D 剤（カルプロパミド、ジクロシメット、フェノキサニル）が日本で利用でき、1998 年以降、長期残効型育苗箱処理剤として主に使われてきた。効果不足は、佐賀県の限られた地域で、2001 年 7 月にカルプロパミドで初めて観察された（山口ら 2002）。この菌株を用いて、Takagaki ら（2004）は、この地域のすべての耐性菌が、シングルポイント変異（G to A）を共有することを報告した。この DNA の変異は、バリンをメチオニンに変異させ（V75M 変異）、3 つの MBI-D 剤に耐性を持つ原因となることを明らかにした。

九州地域の MBI-D 剤耐性菌を調査するため、Suzuki ら（2007）は、2002 年と 2003 年に採取した佐賀県など九州地域の 1,175 菌株の V75M 変異の有無を、Kaku ら（2003）によって確立された PCR 診断法を用いて試験した。その結果、1,175 菌株のうち、647 菌株が V75M 変異をもっていることを確認し、MBI-D 剤耐性菌がほとんどすべての九州地域に分布することを確認した。この MBI-D 剤耐性菌の分布拡大は、一見、佐賀県から拡大したように検出された。つまり、佐賀県で初確認された MBI-D 剤耐性菌は 2001 年から 2003 年に九州地域に速やかに広まったようであった。

しかし、Suzuki ら (2007)は、*Pot2*-TIR プライマーを用いた rep-PCR-DNA フィンガープリンティング (Kachroo et al.1994) によって 1,175 菌株の個体群構造を調査し、耐性菌株は複数起源を持つ、すなわちこれらの耐性菌は九州地域のイネいもち病菌個体群に複数回発生したと結論した。

一方、九州地域で耐性菌の発生以後、日本の他の地域でも MBI-D 剤の同様な効果低下が続いた。これらの効果低下は、イネいもち病菌個体群中における MBI-D 剤耐性菌の発達との関係が示唆されているが、これらの地域における耐性菌株の個体群構造はほとんど分かっていない。そこで、九州地域から少なくとも 700km 離れた東海地域にある三重県で、耐性菌の個体群構造の研究を実施した。

三重県で、MBI-D 剤は、1999 年以降イネいもち病防除に用いられる主要な殺菌剤であった。2004 年、三重県のいもち菌株を農薬メーカーが感受性検定を行ったところ、V75M 突然変異は検出されなかった (鈴木・黒田 2007)。しかし、その翌年、2005 年に、MBI-D 剤はいくつかの水田で効果を失った。そして、水田での被害発生という結果になった。これらの水田から採取した分離株には、V75M 変異があつて、MBI-D 剤に耐性であると初確認された。さらに翌年には、三重県内広域に MBI-D 剤耐性イネいもち病菌を確認した (鈴木・黒田 2007)。そこで、三重県で MBI-D 耐性菌がその最初の発見の 1 年以内に速やかに広まった原因を、分離株の個体群構造に基づき検討した。

I. 材料及び方法

1) 供試菌株

三重県内 26 市町 184 地点から、2006 と 2007 年に合計 527 のイネいもち病分離株を集めた(表 2-1、表 2-2)。これらのサンプリングの位置は、

図 2-2 と図 2-3 に示している。発病葉または発病穂は、各々の地点で病斑ごとに、ランダムに集めた。

イネいもち病菌分離株は、サンプル上のいもち病斑から単孢子分離を行い保存した(Kusaba et al. 2006)。単孢子分離株は各々の地点(表 2-2)から 1-13 菌株集め、保存した(Yamagashira et al. 2008)。

三重県で採取した 527 菌株に加えて、九州地域で分離された 3 つの菌株 (03-410801、03-410201 と 03-441901) を、供試菌系に含めた。これらのハプロタイプは、それぞれ Sa4(03-410801)、Sa5(03-410201)、Sa18(03-441901)であると報告されている (Suzuki et al. 2007)

2) MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の分析

V75M 変異は、SDH 遺伝子の PCR 増幅産物に *Xba*I 制限部位があるかどうかで検出した (Kaku et al. 2003)。供試 DNA は Suzuki ら (2007)に従い抽出した。PCR は、高垣・梶原 (2003) の方法を参考に行った。サーマルサイクラーには「Dice Gradient」(タカラバイオ株式会社)を用いた。1 回目の PCR は TaKaRa EX Taq (タカラバイオ株式会社)を使用し、最終容量が 10 μ l となるよう 鋳型 DNA 0.5 μ l、センスプライマー SCDH-3 (5'-ATGGGTTTCGCAAGTTCAAAAG-3', 10 μ mol/ μ l) 0.25 μ l、アンチセンスプライマー SCDH-4(5'-TTATTTGTGCGCCAAAGGTCTCC-3', 10 μ mol/ μ l) 0.25 μ l、TaKaRa EX Taq 0.05 μ l、10 \times EX Taq Bufer(Mg²⁺+plus) 1 μ l、dNTPs(2.5mM each)0.6 μ l、滅菌蒸留水 7.35 μ l を混合した。PCR 反応は 95 $^{\circ}$ C(2 分)の後、95 $^{\circ}$ C (30 秒)、50 $^{\circ}$ C (30 秒)、72 $^{\circ}$ C (1 分) のステップを 30 サイクル繰り返し、最終サイクルの後、72 $^{\circ}$ C (7 分) で反応を完結させた。

2 回目の PCR は、TaKaRa TaqTM (タカラバイオ株式会社)を使用し、最終容量が 10 μ l となるよう 1 回目の PCR 産物 (1/200 に希釈したもの)

1 μ l、センスプライマー SCDH-13(5'-TTCGTCGGCATGGTCTCGAGCATCTAG-3', 10 μ mol/ μ l) 0.25 μ l、アンチセンスプライマー SCDH-4 (10 μ mol/ μ l)0.25 μ l、TaKaRa TaqTM 0.1 μ l、10 \times Taq Bufer(Mg²⁺+plus) 1 μ l、dNTPs(2.5mM each)0.6 μ l、滅菌蒸留水 6.8 μ l を混合した。PCR 反応は 95 $^{\circ}$ C(2 分)、95 $^{\circ}$ C (30 秒)、60 $^{\circ}$ C (1 分)、72 $^{\circ}$ C (1 分) のステップを 25 サイクル繰り返し、最終サイクルの後、72 $^{\circ}$ C (7 分) で反応を完結させた。

2 回目の PCR 産物を *Xba*I(東洋紡)で 37 $^{\circ}$ C 1 時間消化し、Tris-borate-EDTA (TBE)バッファーを用いて 3%のアガロースゲル (シグマ アルドリッチ)で電気泳動し、臭化エチジウム(2 μ g/mL)溶液で 15 分間染色後、UV 光の下で視覚化した。324bp のバンドが切断されるか否か (耐性菌は 299bp に切断) により耐性菌の判断を行った。

3) *Pot2* rep-PCR 分析

分離株の DNA フィンガープリントは、一つのプライマー *Pot2*-TIR(5'-ACAGGGGGTACGCAACGTTA-3')を用いた *Pot2* rep-PCR 法で作成した(Suzuki et al. 2006)。供試 DNA は Suzuki ら (2007) に従って抽出した。PCR は、最終容量が 10 μ l となるよう抽出ゲノム DNA 0.5 μ l、*Pot2*-TIR プライマー (10 μ mol/ μ l) 0.5 μ l、TaKaRa EX Taq 0.1 μ l、10 \times EX Taq Bufer(Mg²⁺+plus) 1 μ l、dNTP(2.5mM each)1.6 μ l、滅菌蒸留水 6.3 μ l を混合した。サーマルサイクラーには「Dice Gradient」(タカラバイオ株式会社)を用いた。PCR 反応は、94 $^{\circ}$ C (2 分 30 秒) の後、94 $^{\circ}$ C (1 分)、62 $^{\circ}$ C (1 分)、72 $^{\circ}$ C (6 分) を 35 サイクル、そして、最後の伸長を 6 分間 72 $^{\circ}$ C で行った。

Tris-borate-EDTA (TBE)バッファーを用いて、1%のアガロースゲル (シグマ アルドリッチ)で電気泳動し、臭化エチジウム(2 μ g/mL)溶液で 15 分間染色後、UV 光の下で視覚化した。

4) 系統樹の作成

DNA フィンガープリント ハプロタイプ間の相同性は、次に示す Nei と Li (1979)の方法を用いて計算した：

$F = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$ (N_{xy} , 2つの分離株に共有のバンド数; N_x , N_y , 分離株 x と y それぞれのバンド数)

NTSYSpc (Rohlf 1998) の UPGMA プログラムを使った類似性係数に基づいて、系統樹を作成した。UPGMA に基づく系統樹のクラスターの信頼性は、WINBOOT (Yap and Nelson 1996) プログラムを使って、ブートストラップ分析を 1000 回繰り返すことによって決定した。

5) 多様性の計算

ハプロタイプの多様性 (H) (Nei 1973) は、GenAlex ver.6 (Peakall and Smouse 2006) を用いて DNA フィンガープリントデータとレースの頻度分布に基づいて計算した。

$H = n / (n - 1) (1 - \sum x_i^2)$ (n , それぞれの個体群の分離数; x_i , i 番目の DNA フィンガープリントハプロタイプまたはレースの頻度)

6) 病原性検定

レースコードは、山田ら (1976) によって提案された 9 判別品種(新 2 号、愛知旭、石狩白毛、関東 51 号、ツユアケ、フクニシキ、ヤシロモチ、Pi No.4、とりで 1 号)を用いて決定した。これらの種子を、シードリーングケース(5×15×10cm)に播種し、温室で 3 週間育成した。これに、孢子懸濁液($2-5 \times 10^5$ /mL) を、エアーコンプレッサーを用いてスプレーした。接種したイネ苗は、26°C 設定の暗黒湿室に 16-20 時間置いた後温室に戻した。接種 7-9 日後、発病の程度を以下の 0 から 4 までのインデックスを用いて評価した。0、病斑無し ; 1、極小さな褐色の病斑 ; 2、小さな

褐色の病斑（直径 3mm 以下）中心部の灰色なし；3、中程度の病斑（直径 3-5mm）中心部に灰色あり；4、大きな病斑（直径 5mm 以上）中心部に灰色あり。感染タイプ 3 と 4 を、病原性ありとした。

II. 結果

1) 2006-2007 年の三重県における耐性菌株の分布

採取した 527 菌株を用いて、Kaku ら（2003）によって確立された遺伝子診断法により感受性検定を行った。その結果、SDH 遺伝子の V75M 点変異は、527 の分離株のうちの 233 で検出された（表 2-1、図 2-1）。これら 233 菌株は、MBI-D 剤に耐性であり、他の 294 菌株は感受性と判断した。年度別に見ると、2006 年は、255 菌株のうち 112 菌株の耐性菌が検出された。また、採取した 115 地点のうち 65 地点で耐性菌が検出された（表 2-1）。2007 年は、272 菌株のうち 121 菌株の耐性菌が検出された。また、採取した 99 地点のうち 49 地点で耐性菌が検出された（表 2-1）。さらに、これら耐性菌株が検出された採取地点を、三重県地図にプロットしたところ、耐性菌株の頻度は、両年とも三重県の北部に多い傾向を示しているが、両年とも三重県内に広く分布していた（図 2-2、図 2-3）。

2) *Pot2* rep-PCR 分析から推論した三重県におけるイネいもち病の個体群構造

527 菌株を *Pot2* rep-PCR 法（Suzuki et al. 2006）で分析した。rep-PCR によって得られた DNA フィンガープリントパターンの例を図 2-4 に示した。増幅断片は 0.5 から 6kb にわたり計 26 本で、それらはすべて菌株間多型を示した。その多型に基づいて、527 株は 70 の異なったハプロタイプ（Mie1-70）に分類された（図 2-5）。耐性菌株においては 21 の

ハプロタイプが検出された（表 2-1）。年度別にみると、2006 と 2007 年に集められた耐性菌株の個体群は、それぞれ 18 と 12 のハプロタイプから成っており、9 つのハプロタイプ（表 2-1、表 2-3）を共有した。一方、感受性菌株においては、53 のハプロタイプが検出された（表 2-1）。年度別にみると、2006 と 2007 年に集められた感受性菌株の個体群は、それぞれ 33 のハプロタイプから成って、12 のハプロタイプ（表 2-1、表 2-3）を共有した。

Suzuki ら（2007）によれば、九州地域の耐性菌から検出されるハプロタイプには高い多様性が認められる（ $H=0.87$ ）が、それは九州地域から同期間の間に集められた感受性菌株の個体群の多様性（ $H=0.86$ ）とほぼ等しかった。しかしながら、三重県では、耐性菌株の個体群の中でハプロタイプ多様性は、感受性分離株の多様性より低かった（表 2-1）。この低い多様性は、耐性菌中における主要ハプロタイプ Mie1 の優占に起因していた。耐性菌と感受性菌の個体群ごとにハプロタイプの分布を、表 2-3 に示した。Mie1 は、2006 年に採取した 112 の耐性菌株のうちの 61 菌株で、また、2007 年に採取した 121 の耐性菌株のうちの 84 菌株で検出された（表 2-3）。一方、Mie1 以外の耐性菌ハプロタイプは、両年で 20 ハプロタイプ検出されたが、その検出頻度は低く、多くても 2006 年の Mie21 で 15 菌株であった。耐性菌の数から Mie1 の総数を引いて、それからハプロタイプの多様性を再計算すると、2006 年が $H=0.86$ 、2007 年が $H=0.80$ と、それぞれ、Mie1 を含めた値より著しく高かった。しかしながら、Mie1 への偏りは、特定の圃場で一時に増えたクローンの複数サンプリングに、起因することも考えられる。この可能性を検討するため、三重県地図に、Mie1 のサンプリング・サイトをプロットした（図 2-6、図 2-7）。その結果、Mie1 ハプロタイプは、2006 年と 2007 年にそれぞれ、43 地点と 37 地点で採取されていることが判明した（表 2-4）。また、集められた Mie1 株の数は、これらの採取地点の間で大きく異ならなかった。すなわち、Mie1 の

採取地点のほとんどの採取数は 1~3 菌株であり、4 菌株以上分離した Mie1 採取地点（4 株から 10 株まで）は、2007 年に採取した 5 地点（採取地点 No.18、34、35、45、94）に限られた。これらの 5 地点の間で、No.34 と No.35 は比較的近く（およそ 900m）、それぞれ 10 菌株と 6 菌株の Mie1 を採取した。しかしながら、2 地点のこれらの 16 菌株は、2007 年に集められる 84 の Mie1 のわずか 15%であった。これらの結果は、耐性菌株の単純な個体群構造が、サンプリングエラーによらないことを示唆している。よって、ハプロタイプ Mie1 をもつ菌株が主に 2006 年と 2007 年の間に三重県で起こった広範囲にわたる耐性化の原因と考えられた。

三重県の地図に、それぞれ Mie18 と Mie21 ハプロタイプ（耐性菌の 2 番目と 3 番目の優占ハプロタイプ）の採取地点（図 2-8、図 2-9、図 2-10、図 2-11）をプロットし、合わせておおよびそれらの採取地点ごとの菌株数を表 2-4 に示した。Mie1 と同様に、これらの 2 つのハプロタイプは、広い地域で見出された。

耐性菌個体群で見出される 21 のハプロタイプのうち、Mie1 を含む 17 のハプロタイプは、感受性菌を含まない耐性菌のみのハプロタイプであった（表 2-3）。その他の 4 つのハプロタイプ（Mie2、Mie12、Mie17、Mie46）は、耐性菌と感受性菌の個体群の両方で検出されているが、耐性菌の個体群では少数であった。

3) 系統樹

ハプロタイプ間の近縁関係を明らかにするために、それらの DNA フィンガープリントパターンに基づいて UPGMA 系統樹を作成した（図 2-12）。系統樹の中に現れたクラスターのブートストラップ値は低かったが（50%未満）、耐性菌の 21 ハプロタイプのうち Mie1 と他の 6 つのハプロタイプ（Mie4、15、27、34、39、52）は、高い類似性レベル（89%）で密接に関連したクラスターを形成し、これら 7 つのハプロタイプが、三重県で

検出された他のハプロタイプから遺伝的に遠く離れていることが示唆された。さらに、Mie1 を含むこのクラスターは、233 菌株の耐性菌のうち 158 菌株を含み感受性菌を含まないことから（表 2-3）、三重県の耐性菌株の中で主要な個体群であることが示唆された。

一方で、耐性菌の他の 14 ハプロタイプのうち、6 つのハプロタイプ（Mie20、21、26、38、45 と 46）は 80%の類似性レベルで一つのクラスターを形成した。しかし、これらは感受性ハプロタイプの Mie8、25、58、68、70 とも近かった。残り 8 ハプロタイプは、系統樹（図 2-12）の中で感受性で検出されたハプロタイプの間ランダムに分布する傾向であった。

4) rep-PCR 分析から推論した三重県におけるイネいもち病の個体群構造

本研究で検出された 70 のハプロタイプを、九州地域の耐性菌個体群中の優占ハプロタイプ Sa4、Sa5、Sa18（Suzuki et al. 2007）と比較した。その結果、Sa18 は、Mie1 と同一のフィンガープリントを示すことが判明した（図 2-4）。同様に、Sa5 は Mie2 と一致した。一方、Sa4 は本研究において検出された 70 のハプロタイプのいずれとも一致しなかった。

5) 三重県のイネいもち病分離株における病原性変化

三重県で分離されたイネいもち病菌における MBI-D 剤耐性菌と感受性菌のレース多様性を分析するために、Yamada ら（1976）の 9 判別品種に、2006 年に採取した 255 菌株を接種した。供試した耐性菌 112 菌株のうち 8 菌株はどの品種にも何の病徴も起こさなかったことから、基本的な病原性を失ったと判断した。残りの耐性菌 104 菌株は感受性病斑を生じ、病原性パターンに基づく 5 つのレースに分類された（表 2-5）。また、供試した感受性菌 143 菌株のうち 134 菌株は 13 のレースに分類された。

このデータを基にレースの多様度（Nei 1973）を計算した結果、耐性菌

の単純な個体群構造を示した（表 2-1）。この単純さは、耐性菌個体群におけるレース 007 の優占に起因した。104 の耐性菌株のうち、95（91.3%以上）はレース 007 であった。一方、13 レースが検出された感受性菌株のレース分布は、多様でより均一な頻度で分布していた。

耐性菌の中におけるレース 007 の優占は、ハプロタイプ Mie1 との association よって説明された。すなわち、レースが決定された 104 の耐性菌株のうち、57 菌株がハプロタイプ Mie1 を持っていた。そして、レース 007 に、ほぼすべての 55 菌株が分類された（表 2-6）。ただし、レース 007 はハプロタイプ Mie1 に特有でなく、耐性菌個体群のハプロタイプに広く分布していた（表 2-6）。

III. 考察

2005 年に MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の発生を、三重県で初めて確認した（鈴木・黒田, 2007）。本研究では、2005 年に点の存在で初確認された MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が、どのような個体群構造を示し、その個体群がどのような動態を示すのか、2006 年と 2007 年に三重県の広域からイネいもち病を採取し調査した。その結果、これら採取した 527 菌株のほぼ半数が、MBI-D 剤に耐性の原因となる変異を持っていた（表 2-1）。さらに、検出された耐性菌株は、両年とも三重県に広く分布していた（図 2-2、図 2-3）。興味深いことに、2004 年に行ったモニタリングでは、耐性菌は、三重県で検出されていない（鈴木・黒田, 2007）。これらの結果から、MBI-D 剤耐性が 2005 年における初確認の後、わずか 1 年で三重県内に蔓延したと考えられた。

イネいもち病菌の MBI-D 剤に対する耐性化は、SDH 遺伝子の 1 塩基置換（V75M 変異）によって引き起こされる（Takagaki et al. 2004）。このような単純な 1 塩基置換によって耐性化を獲得する場合、イネいもち病

菌は多様な個体群で複数回耐性化すると予想される。その場合、特定の地域から集められる MBI-D 剤耐性菌は遺伝的に多様となり、さらに、サンプリング地域でハプロタイプを感受性株と共有するはずである。実際に、九州地域で、Suzuki ら (2007) は、2002 年から 2003 年の間に集めた MBI-D 剤耐性菌の中に、多数の DNA フィンガープリント ハプロタイプを認めた。耐性菌個体群のハプロタイプ多様性は、同期間の間に集められた感受性菌個体群の多様性に相当した。この DNA フィンガープリントの多様性は、九州地域における MBI-D 耐性菌の複数起源を示唆すると、Suzuki ら (2007) は結論づけている。

一方、三重県では、Mie1 と他の 6 つの耐性菌ハプロタイプが系統樹上で密接に関連し、三重県で検出された他のハプロタイプから切り離されたクラスターを形成した (図 2-12)。また、このクラスターに感受性菌は含まれなかった。これらの結果から、Mie1 耐性菌は三重県の土着のイネいもち病菌の個体群から出てきたのではなく、県外から侵入したのではないかと考えた。

また、Mie1 を含む耐性菌クラスター中の、Mie1 以外の 6 つのハプロタイプは、このクラスター中で少数であることから、DNA フィンガープリントパターンのマイナーな変更を通して発生した Mie1 の派生物と考えた。これが真実であるならば、Mie1 ハプロタイプは、三重県で MBI-D 剤に対する耐性菌として最初に発生した後、1、2 年以内に他のハプロタイプを派生したことになる。この DNA フィンガープリントパターンの急速な変化の可能性を評価するために、現在、イネの上で、単孢子分離した Mie1 菌株からクローンとして増殖させた個体群で、rep-PCR による DNA フィンガープリントの位置の変異率を推定する実験を進めている。

一方、本実験の結果は、いくつかの耐性菌株が三重県の土着の個体群から変異獲得したという可能性を排除するものではない。耐性菌を含む 21 ハプロタイプの中で、上述の Mie1 を含む 7 ハプロタイプ以外の 14 ハプロタイ

プは感受性菌の個体群にランダムに分布し、感受性菌と遺伝的に区別されなかった (図 2-12)。特に、4 つのハプロタイプ Mie2、Mie12、Mie17 と Mie46 は、耐性菌と感受性菌に共有された (表 2-3)。したがって、これらの 4 つのハプロタイプに属する耐性菌は、三重県土着の感受性株の突然変異に由来する可能性がある。一方、Mie1 耐性菌と土着の感受性菌が遭遇し、いもち病病斑内で菌糸融合を介して準有性組換えが起こり (Noguchi et al. 2006)、耐性化にかかわる遺伝子を Mie1 耐性菌から土着の感受性菌が取り込んだ可能性もある。1 つの病斑は普通、1 胞子の感染により形成され、その病斑内はクローンであると考え、今回この可能性について検討していない。しかし、耐性菌と感受性菌が混在する同一ハプロタイプのわずかな存在や (表 2-3)、マイナーな耐性菌ハプロタイプの系統樹上の散在は (図 2-12)、この可能性を否定するものではないと考える。

なぜ、ハプロタイプ Mie1 は、他のハプロタイプに対して優占的に分布できたのかという問いに答えることは難しい。Mie1 株には他の耐性菌株に勝る選択的な利点があるというのが一つの可能な説明であるが、三重県で作付けされているイネ品種の抵抗性遺伝子との関連では、Mie1 の優占は説明できない。Mie1 の菌株はほとんどレース 007 に分類されたが、このレース 007 は他の耐性菌の中にも存在する (表 2-6)。また、レース 007 は三重県で他のレースより選択的な利点にはなり得ない。なぜなら、三重県内のイネ作付面積の約 8 割が、いもち病に有効な抵抗性遺伝子がない ‘コシヒカリ’ だからである。

すでに述べたように、この県で耐性菌株の初確認後すぐに MBI-D 剤耐性菌は三重県内に拡大した。Mie1 が三重県に広く分布することから、Mie1 の蔓延が、耐性菌の蔓延の主な原因と考えられた (図 2-6、図 2-7)。また、非常に短い時間に、三重県中いたるところに Mie1 が広がったこと、さらに、イネいもち病の主な伝染源がイネ種子であることを考えると、‘コシヒカリ’ の感染種子を通じて Mie1 が広がった可能性が考えられた。Mie1

が、‘コシヒカリ’の流通種子を生産している採種圃場に侵入して、その中で繁殖した場合、感染種子は翌年に三重県中に、Mie1 を伝播することになる。MBI-D 剤耐性菌の感染種子が水田に持ち込まれたならば、Mie1 は MBI-D 殺菌剤の圧力の下で選択的に増えることになる。そして隣接した水田に伝染拡大する。このことが、三重県で Mie1 の迅速な拡大に繋がったのではないかと考えられた。三重県では、米の品質を保つため、また、種子伝染病害を抑制するために、採種圃で生産された流通種子を購入し、種子更新することを農家に奨励している。2006 年、2007 年の‘コシヒカリ’の種子更新率はおおよそ 85%であった。

耐性菌の中の Mie21 と Mie18 は、それぞれ 2 および 3 番目の優占ハプロタイプであった（表 2-3）。本研究において、Mie1 だけでなく Mie21 と Mie18 においても、三重県に広く分布していることが示された（図 2-8～図 2-11）。Mie1 と同様に、これらの 2 つのハプロタイプの広い分布も、感染種子の流通によって広がった可能性が考えられた。先に述べた様に、耐性菌 Mie21 と Mie18 を含む 14 のハプロタイプ（Mie1 を含むクラスターの 7 ハプロタイプ以外）は、三重県土着の感受性分離株の変異に由来する可能性がある。そのような変異株が流通種子を生産している採種圃で起こったとき、耐性菌は三重県内に速く広がる機会を得ることになる。

今回発生した MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の発生起源をたどることは、他の殺菌剤耐性菌対策を構築する上で重要なことである。MBI-D 剤耐性イネいもち病菌は、九州地域で初確認されたことから、三重県の耐性菌株の起源が九州の耐性菌株であるとする仮説の検証を試みた。九州地域で耐性菌として検出された 3 つの優占ハプロタイプ Sa4、Sa15、Sa18 と三重県で 2 年間優占したハプロタイプ Mie1 を比較した。その結果、Sa18 と、Mie1 が同一であることが判明した（図 2-4）。このことは、Sa18 が Mie1 の起源である可能性を示しており、三重県の耐性菌株の起源が九州の耐性菌株である仮説を支持するものである。

さらに、このハプロタイプ Sa18 は、九州地域でも感受性菌の個体群で検出されなかったことから (Suzuki et al. 2007)、九州地域においても侵入説が考えられるが、九州地域で初確認された 2002 年の当時、MBI-D 剤に対する耐性の発達が九州地域でのみ報告されただけであったことを考えると、それが他の地域から移ったとは考えにくい。したがって、最初に Sa18 ハプロタイプを持つ耐性菌が九州地域で出現したと考えることは、合理的である。おそらく、Sa18 は九州地域の土着のイネいもち病個体群のマイナーなハプロタイプとして存在していて、このハプロタイプ集団の一つが V75M 突然変異を得たあと優占して増加したと考えられる。

一方、本研究のフィンガープリント解析で、Mie2 が Sa5 と同一のハプロタイプであることが明らかとなった。九州地域と三重県の中の同じハプロタイプが検出されたことから、この Mie2 も九州地域からの侵入と考えることができるかもしれない。しかし、Mie2 は三重県の感受性菌個体群の中で優占していた。さらに、Sa5 は九州地域の耐性菌と感受性菌の個体群の両方で優占していた (Suzuki et al. 2007)。これらのことから、Sa5/Mie2 は、元々日本に広く分布するハプロタイプであると考えの方が合理的である。そして、Sa5 と Mie2 ハプロタイプによる耐性菌株が、それぞれ九州地域と三重県で土着の感受性菌から独立して出現したと考える。

このような仮説を検証するためには、日本の広い地域から多くのいもち病菌を採取し、ハプロタイプを解析することが必要と考えている。さらに、このハプロタイプの解析は、九州地域から三重県まで Sa18 の移動の地理的ルートを解明するための研究になると考える。

表 2-1 供試イネいもち病菌集団の概要と特性

採取年度	調査項目	耐性菌 ^a	感受性菌 ^a	合計
2006	分離菌数	112	143	255
	採取地点数	65	73	115
	ハプロタイプ数	18	33	48
	ハプロタイプ多様度 ^b	0.68	0.87	0.89
	レース多様度 ^c	0.16	0.86	0.72
2007	分離菌数	121	151	272
	採取地点数	49	74	99
	ハプロタイプ数	12	33	44
	ハプロタイプ多様度	0.50	0.85	0.85
	レース多様度	ND	ND	ND
合計	分離菌数	233	294	527
	採取地点数	99	135	184
	ハプロタイプ数	21	53	70
	ハプロタイプ多様度	0.59	0.86	0.87
	レース多様度	ND	ND	ND

a MBI-D 殺菌剤の感受性は、シタロン脱水酵素遺伝子に V75M の変異があれば耐性菌 (R) 無ければ感受性菌 (S) とした (Kaku et al. 2003)。

b 遺伝的多様性 (Nei 1973) は rep-PCR のフィンガープリントのハプロタイプの頻度から推定した。

c レース多様性 (Nei 1973) はレースの頻度から推定した。

表 2-2. 供試菌株とその MBI-D 剤感受性・ハプロタイプ・レース

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie06001	R	Mie01	007	2006/6/15	四日市	44	コシヒカリ	葉
Mie06002	R	Mie01	007	2006/6/15	四日市	44	コシヒカリ	葉
Mie06003	R	Mie01	107	2006/6/15	四日市	44	コシヒカリ	葉
Mie06004	R	Mie01	007	2006/6/19	熊野	184	コシヒカリ	葉
Mie06006	S	Mie02	003	2006/6/21	志摩	149	コシヒカリ	葉
Mie06007	S	Mie02	ND	2006/6/21	志摩	149	コシヒカリ	葉
Mie06008	S	Mie02	003	2006/6/21	志摩	149	コシヒカリ	葉
Mie06009	S	Mie02	003	2006/6/21	志摩	148	コシヒカリ	葉
Mie06010	S	Mie02	003	2006/6/21	志摩	148	コシヒカリ	葉
Mie06011	S	Mie02	003	2006/6/21	志摩	148	コシヒカリ	葉
Mie06012	S	Mie03	003	2006/6/21	玉城	136	コシヒカリ	葉
Mie06013	S	Mie03	003	2006/6/21	玉城	136	コシヒカリ	葉
Mie06014	S	Mie03	103	2006/6/21	玉城	136	コシヒカリ	葉
Mie06015	S	Mie02	001	2006/6/21	明和	123	コシヒカリ	葉
Mie06016	S	Mie02	001	2006/6/21	明和	123	コシヒカリ	葉
Mie06017	S	Mie02	001	2006/6/21	明和	123	コシヒカリ	葉
Mie06018	R	Mie04	007	2006/6/21	明和	125	コシヒカリ	葉
Mie06019	R	Mie01	007	2006/6/21	明和	125	コシヒカリ	葉
Mie06020	R	Mie04	007	2006/6/21	明和	125	コシヒカリ	葉
Mie06021	S	Mie02	005	2006/6/26	津	81	コシヒカリ	葉
Mie06022	S	Mie05	003	2006/6/26	津	81	コシヒカリ	葉
Mie06023	S	Mie05	003	2006/6/26	津	81	コシヒカリ	葉
Mie06024	S	Mie02	001	2006/6/26	津	90	コシヒカリ	葉
Mie06025	S	Mie02	005	2006/6/26	津	90	コシヒカリ	葉
Mie06026	S	Mie02	005	2006/6/26	津	90	コシヒカリ	葉
Mie06027	S	Mie05	003	2006/6/26	伊賀	173	コシヒカリ	葉
Mie06028	S	Mie06	003	2006/6/26	伊賀	179	山田錦	葉
Mie06029	S	Mie07	007	2006/6/26	伊賀	179	山田錦	葉
Mie06030	S	Mie08	001	2006/6/27	松阪	117	コシヒカリ	葉
Mie06031	S	Mie08	001	2006/6/27	松阪	117	コシヒカリ	葉
Mie06032	S	Mie08	001	2006/6/27	松阪	117	コシヒカリ	葉
Mie06033	S	Mie05	003	2006/6/26	伊賀	173	コシヒカリ	葉
Mie06034	S	Mie09	007	2006/6/28	桑名	2	コシヒカリ	葉
Mie06035	S	Mie02	307	2006/6/28	桑名	10	コシヒカリ	葉
Mie06036	S	Mie10	103	2006/6/28	いなべ	19	コシヒカリ	葉
Mie06037	S	Mie11	103	2006/6/28	いなべ	19	コシヒカリ	葉
Mie06038	S	Mie12	005	2006/6/28	いなべ	17	コシヒカリ	葉
Mie06039	S	Mie02	005	2006/6/28	いなべ	17	コシヒカリ	葉
Mie06040	S	Mie02	307	2006/6/28	いなべ	17	コシヒカリ	葉
Mie06041	R	Mie01	007	2006/6/28	いなべ	30	コシヒカリ	葉
Mie06042	R	Mie01	007	2006/6/28	いなべ	30	コシヒカリ	葉
Mie06044	R	Mie01	007	2006/6/28	菰野	71	コシヒカリ	葉
Mie06045	R	Mie01	007	2006/6/28	菰野	71	コシヒカリ	葉
Mie06046	S	Mie13	107	2006/6/28	菰野	67	コシヒカリ	葉
Mie06047	S	Mie02	007	2006/6/28	菰野	67	コシヒカリ	葉
Mie06048	R	Mie01	007	2006/6/28	菰野	68	コシヒカリ	葉
Mie06049	S	Mie14	005	2006/6/28	菰野	68	コシヒカリ	葉
Mie06050	S	Mie02	005	2006/6/28	菰野	69	コシヒカリ	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie06051	S	Mie02	005	2006/6/28	菰野	69	コシヒカリ	葉
Mie06052	R	Mie15	047	2006/6/28	四日市	38	キヌヒカリ	葉
Mie06053	R	Mie16	007	2006/6/28	四日市	38	キヌヒカリ	葉
Mie06054	R	Mie17	007	2006/6/28	四日市	43	コシヒカリ	葉
Mie06055	R	Mie01	007	2006/6/28	四日市	43	コシヒカリ	葉
Mie06056	R	Mie18	007	2006/6/28	四日市	46	コシヒカリ	葉
Mie06057	R	Mie18	007	2006/6/28	四日市	46	コシヒカリ	葉
Mie06058	R	Mie01	007	2006/6/28	鈴鹿	58	コシヒカリ	葉
Mie06059	R	Mie01	007	2006/6/28	鈴鹿	58	コシヒカリ	葉
Mie06060	R	Mie18	007	2006/6/28	鈴鹿	51	コシヒカリ	葉
Mie06061	R	Mie01	007	2006/6/28	鈴鹿	51	コシヒカリ	葉
Mie06062	S	Mie19	037	2006/6/28	鈴鹿	47	コシヒカリ	葉
Mie06063	S	Mie19	037	2006/6/28	鈴鹿	47	コシヒカリ	葉
Mie06064	R	Mie01	007	2006/6/29	伊賀	168	コシヒカリ	葉
Mie06065	R	Mie01	007	2006/6/29	伊賀	168	コシヒカリ	葉
Mie06066	R	Mie02	ND	2006/6/29	伊賀	166	コシヒカリ	葉
Mie06067	R	Mie02	007	2006/6/29	伊賀	166	コシヒカリ	葉
Mie06068	R	Mie20	007	2006/6/29	伊賀	156	コシヒカリ	葉
Mie06069	R	Mie21	007	2006/6/29	伊賀	156	コシヒカリ	葉
Mie06070	R	Mie01	007	2006/6/29	伊賀	175	コシヒカリ	葉
Mie06071	R	Mie01	007	2006/6/29	伊賀	175	コシヒカリ	葉
Mie06072	R	Mie01	007	2006/6/27	津	98	コシヒカリ	葉
Mie06073	R	Mie01	007	2006/6/27	津	98	コシヒカリ	葉
Mie06074	S	Mie03	003	2006/6/27	玉城	136	コシヒカリ	葉
Mie06075	S	Mie03	103	2006/6/27	玉城	136	コシヒカリ	葉
Mie06076	S	Mie02	007	2006/6/29	松阪	118	コシヒカリ	葉
Mie06077	S	Mie02	ND	2006/6/29	松阪	118	コシヒカリ	葉
Mie06078	S	Mie22	005	2006/6/29	多気	127	コシヒカリ	葉
Mie06079	S	Mie03	103	2006/6/29	多気	127	コシヒカリ	葉
Mie06080	S	Mie23	001	2006/6/30	松阪	111	コシヒカリ	葉
Mie06081	R	Mie01	007	2006/6/30	松阪	111	コシヒカリ	葉
Mie06082	S	Mie03	003	2006/6/30	松阪	116	コシヒカリ	葉
Mie06083	S	Mie24	005	2006/6/30	松阪	116	コシヒカリ	葉
Mie06084	S	Mie25	001	2006/6/30	多気	121	コシヒカリ	葉
Mie06085	S	Mie25	101	2006/7/3	鈴鹿	56	コシヒカリ	葉
Mie06086	S	Mie11	003	2006/7/3	鈴鹿	56	コシヒカリ	葉
Mie06087	S	Mie10	103	2006/7/3	鈴鹿	56	コシヒカリ	葉
Mie06088	R	Mie21	007	2006/7/3	鈴鹿	56	コシヒカリ	葉
Mie06089	R	Mie26	007	2006/7/6	尾鷲	181	-	葉
Mie06090	R	Mie26	007	2006/7/6	尾鷲	181	-	葉
Mie06091	R	Mie21	007	2006/7/6	尾鷲	181	-	葉
Mie06092	R	Mie21	107	2006/7/6	尾鷲	181	-	葉
Mie06093	R	Mie27	007	2006/7/6	四日市	42	コシヒカリ	葉
Mie06094	R	Mie01	007	2006/7/6	四日市	42	コシヒカリ	葉
Mie06095	R	Mie01	007	2006/7/6	四日市	41	ヒノヒカリ	葉
Mie06096	R	Mie21	007	2006/7/6	四日市	41	ヒノヒカリ	葉
Mie06097	S	Mie02	107	2006/7/7	津	85	-	葉
Mie06098	S	Mie12	007	2006/7/7	津	85	-	葉
Mie06099	R	Mie18	007	2006/7/7	龜山	64	-	葉
Mie06100	R	Mie01	007	2006/7/7	龜山	64	-	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie06101	S	Mie10	003	2006/7/7	亀山	74	-	葉
Mie06102	S	Mie10	007	2006/7/7	亀山	74	-	葉
Mie06103	R	Mie01	007	2006/7/7	鈴鹿	52	-	葉
Mie06104	R	Mie01	007	2006/7/7	鈴鹿	52	-	葉
Mie06105	S	Mie10	003	2006/7/7	鈴鹿	48	-	葉
Mie06106	S	Mie10	103	2006/7/7	鈴鹿	48	-	葉
Mie06107	S	Mie28	005	2006/7/7	鈴鹿	54	-	葉
Mie06108	S	Mie10	107	2006/7/7	鈴鹿	54	-	葉
Mie06109	S	Mie29	003	2006/7/7	鈴鹿	61	-	葉
Mie06110	S	Mie02	005	2006/7/7	鈴鹿	61	-	葉
Mie06111	S	Mie02	107	2006/7/10	津	93	コシヒカリ	葉
Mie06112	S	Mie30	ND	2006/7/10	津	93	コシヒカリ	葉
Mie06113	S	Mie02	003	2006/7/10	津	94	コシヒカリ	葉
Mie06114	R	Mie18	007	2006/7/10	津	94	コシヒカリ	葉
Mie06115	S	Mie08	001	2006/7/10	伊勢	141	コシヒカリ	葉
Mie06116	S	Mie24	101	2006/7/10	伊勢	141	コシヒカリ	葉
Mie06117	S	Mie31	107	2006/7/10	伊勢	140	コシヒカリ	葉
Mie06118	S	Mie03	003	2006/7/10	伊勢	140	コシヒカリ	葉
Mie06119	S	Mie12	007	2006/7/10	明和	122	コシヒカリ	葉
Mie06120	S	Mie32	001	2006/7/10	明和	122	コシヒカリ	葉
Mie06121	S	Mie33	005	2006/7/11	玉城	136	コシヒカリ	葉
Mie06122	R	Mie18	007	2006/7/11	玉城	136	コシヒカリ	葉
Mie06123	S	Mie02	033	2006/7/11	伊勢	142	カグラモチ	葉
Mie06124	S	Mie02	033	2006/7/11	伊勢	142	カグラモチ	葉
Mie06125	S	Mie02	301	2006/7/12	松阪	105	-	葉
Mie06126	S	Mie02	001	2006/7/12	松阪	105	-	葉
Mie06127	S	Mie22	007	2006/7/12	松阪	120	-	葉
Mie06128	R	Mie01	007	2006/7/12	松阪	120	-	葉
Mie06129	S	Mie47	103	2006/7/12	大紀	143	-	葉
Mie06130	R	Mie34	007	2006/7/12	大紀	143	-	葉
Mie06131	S	Mie12	007	2006/7/12	度会	147	-	葉
Mie06132	S	Mie02	107	2006/7/12	度会	147	-	葉
Mie06133	S	Mie35	007	2006/7/12	大台	126	-	葉
Mie06134	S	Mie35	007	2006/7/12	大台	126	-	葉
Mie06135	R	Mie21	007	2006/7/12	伊勢	132	-	葉
Mie06136	S	Mie36	003	2006/7/12	伊勢	131	-	葉
Mie06137	S	Mie36	003	2006/7/12	伊勢	131	-	葉
Mie06138	S	Mie03	003	2006/7/12	伊勢	129	-	葉
Mie06139	S	Mie24	001	2006/7/12	伊勢	129	-	葉
Mie06140	S	Mie02	033	2006/7/12	伊勢	133	-	葉
Mie06141	S	Mie12	107	2006/7/12	伊勢	133	-	葉
Mie06142	S	Mie12	007	2006/7/13	津	109	-	葉
Mie06143	R	Mie01	007	2006/7/13	津	109	-	葉
Mie06144	S	Mie28	007	2006/7/13	津	99	-	葉
Mie06145	S	Mie28	105	2006/7/13	津	99	-	葉
Mie06146	S	Mie28	005	2006/7/13	津	97	-	葉
Mie06147	R	Mie18	007	2006/7/13	伊賀	178	-	葉
Mie06148	S	Mie28	105	2006/7/13	伊賀	178	-	葉
Mie06149	S	Mie12	ND	2006/7/13	名張	159	-	葉
Mie06150	R	Mie01	007	2006/7/13	名張	159	-	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie06151	S	Mie03	003	2006/7/13	名張	160	-	葉
Mie06152	R	Mie01	007	2006/7/13	名張	160	-	葉
Mie06153	S	Mie03	003	2006/7/13	名張	161	-	葉
Mie06154	S	Mie03	003	2006/7/13	名張	161	-	葉
Mie06155	S	Mie02	005	2006/7/13	名張	158	-	葉
Mie06156	S	Mie07	007	2006/7/13	名張	158	-	葉
Mie06157	S	Mie24	101	2006/7/14	松阪	115	-	葉
Mie06158	R	Mie01	007	2006/7/14	松阪	115	-	葉
Mie06159	R	Mie15	047	2006/7/16	菟野	67	コシヒカリ	葉
Mie06160	R	Mie01	007	2006/7/16	菟野	67	コシヒカリ	葉
Mie06161	R	Mie04	ND	2006/7/14	いなべ	24	コシヒカリ	葉
Mie06162	R	Mie01	007	2006/7/14	いなべ	24	コシヒカリ	葉
Mie06163	R	Mie01	007	2006/7/14	東員	28	コシヒカリ	葉
Mie06164	R	Mie01	007	2006/7/14	東員	28	コシヒカリ	葉
Mie06165	R	Mie01	007	2006/7/13	津	80	コシヒカリ	葉
Mie06166	R	Mie01	007	2006/7/13	津	80	コシヒカリ	葉
Mie06167	R	Mie21	007	2006/7/13	津	79	コシヒカリ	葉
Mie06168	S	Mie48	005	2006/7/13	津	79	コシヒカリ	葉
Mie06169	S	Mie03	003	2006/7/13	津	92	コシヒカリ	葉
Mie06170	S	Mie37	003	2006/7/13	津	92	コシヒカリ	葉
Mie06171	R	Mie21	007	2006/7/13	伊賀	157	コシヒカリ	葉
Mie06172	R	Mie38	007	2006/7/13	伊賀	151	コシヒカリ	葉
Mie06173	R	Mie18	007	2006/7/13	伊賀	151	コシヒカリ	葉
Mie06174	R	Mie21	007	2006/7/13	伊賀	153	コシヒカリ	葉
Mie06175	S	Mie25	005	2006/7/13	伊賀	153	コシヒカリ	葉
Mie06176	S	Mie02	005	2006/7/19	亀山	64	-	葉
Mie06177	R	Mie39	007	2006/7/19	亀山	64	-	葉
Mie06178	R	Mie01	007	2006/7/19	亀山	64	-	葉
Mie06179	S	Mie40	007	2006/7/19	亀山	64	-	葉
Mie06180	R	Mie01	007	2006/7/19	鈴鹿	57	コシヒカリ	葉
Mie06181	R	Mie21	007	2006/7/13	伊賀	164	コシヒカリ	葉
Mie06182	R	Mie01	007	2006/7/13	伊賀	164	コシヒカリ	葉
Mie06183	S	Mie12	007	2006/7/14	木曾岬	13	コシヒカリ	葉
Mie06184	S	Mie12	007	2006/7/14	木曾岬	13	コシヒカリ	葉
Mie06185	R	Mie01	007	2006/7/13	津	87	コシヒカリ	葉
Mie06186	S	Mie02	ND	2006/7/13	津	87	コシヒカリ	葉
Mie06187	R	Mie21	001	2006/7/10	紀北	182	-	葉
Mie06188	S	Mie02	007	2006/7/14	桑名	4	コシヒカリ	葉
Mie06189	R	Mie21	007	2006/7/13	伊賀	167	コシヒカリ	葉
Mie06190	R	Mie21	007	2006/7/13	伊賀	167	コシヒカリ	葉
Mie06191	S	Mie10	003	2006/7/12	鈴鹿	54	うこん錦	葉
Mie06192	S	Mie10	003	2006/7/12	鈴鹿	54	うこん錦	葉
Mie06193	R	Mie01	007	2006/7/14	いなべ	14	あゆみもち	葉
Mie06194	R	Mie01	007	2006/7/14	いなべ	31	コシヒカリ	葉
Mie06195	R	Mie01	007	2006/7/14	四日市	39	みえのえみ	葉
Mie06196	S	Mie02	007	2006/7/12	鈴鹿	62	みえのえみ	葉
Mie06197	R	Mie01	007	2006/7/12	松阪	120	コシヒカリ	葉
Mie06198	R	Mie01	ND	2006/7/12	明和	124	コシヒカリ	葉
Mie06199	S	Mie03	103	2006/7/11	伊勢	141	コシヒカリ	葉
Mie06200	S	Mie03	001	2006/7/11	伊勢	141	コシヒカリ	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie06201	S	Mie24	001	2006/7/11	玉城	137	コシヒカリ	葉
Mie06202	S	Mie48	033	2006/7/13	伊賀	174	コシヒカリ	葉
Mie06203	R	Mie01	007	2006/7/13	伊賀	174	コシヒカリ	葉
Mie06204	S	Mie02	007	2006/7/20	伊賀	165	コシヒカリ	葉
Mie06205	S	Mie41	007	2006/7/20	伊賀	165	コシヒカリ	葉
Mie06206	R	Mie01	ND	2006/7/20	伊賀	171	コシヒカリ	葉
Mie06207	R	Mie21	ND	2006/7/20	津	91	コシヒカリ	葉
Mie06208	R	Mie01	007	2006/7/21	桑名	11	コシヒカリ	葉
Mie06209	R	Mie01	107	2006/7/21	桑名	11	コシヒカリ	葉
Mie06210	S	Mie42	105	2006/7/21	川越	73	コシヒカリ	葉
Mie06211	R	Mie01	007	2006/7/21	朝日	72	コシヒカリ	葉
Mie06212	R	Mie18	007	2006/7/20	鈴鹿	58	キヌヒカリ	葉
Mie06213	R	Mie01	007	2006/7/20	鈴鹿	58	キヌヒカリ	葉
Mie06214	R	Mie21	007	2006/7/21	津	89	コシヒカリ	葉
Mie06215	S	Mie03	003	2006/7/21	津	89	コシヒカリ	葉
Mie06216	S	Mie02	107	2006/7/21	松阪	110	コシヒカリ	葉
Mie06217	S	Mie24	105	2006/7/21	松阪	114	コシヒカリ	葉
Mie06218	S	Mie43	ND	2006/7/24	松阪	119	-	葉
Mie06219	S	Mie24	001	2006/7/11	玉城	138	コシヒカリ	葉
Mie06220	S	Mie03	303	2006/7/11	玉城	138	コシヒカリ	葉
Mie06221	R	Mie18	007	2006/7/13	伊賀	172	コシヒカリ	葉
Mie06222	R	Mie12	ND	2006/7/13	伊賀	172	コシヒカリ	葉
Mie06223	R	Mie01	007	2006/7/13	名張	159	コシヒカリ	葉
Mie06224	R	Mie02	107	2006/7/13	名張	159	コシヒカリ	葉
Mie06225	R	Mie44	307	2006/7/13	名張	158	コシヒカリ	葉
Mie06226	R	Mie44	107	2006/7/13	名張	158	コシヒカリ	葉
Mie06227	R	Mie44	007	2006/7/13	名張	158	コシヒカリ	葉
Mie06228	R	Mie01	007	2006/7/25	伊賀	162	コシヒカリ	葉
Mie06229	R	Mie45	007	2006/7/25	伊賀	162	コシヒカリ	葉
Mie06230	R	Mie46	007	2006/7/25	伊賀	162	コシヒカリ	葉
Mie06231	R	Mie01	ND	2006/7/25	伊賀	162	コシヒカリ	葉
Mie06232	S	Mie25	005	2006/7/25	伊賀	155	コシヒカリ	葉
Mie06233	S	Mie25	005	2006/7/25	伊賀	155	コシヒカリ	葉
Mie06234	S	Mie02	ND	2006/7/25	伊賀	155	-	葉
Mie06235	S	Mie02	005	2006/7/25	松阪	102	コシヒカリ	葉
Mie06236	R	Mie01	007	2006/7/25	松阪	102	コシヒカリ	葉
Mie06237	S	Mie02	107	2006/7/25	松阪	102	新2号	葉
Mie06238	S	Mie02	001	2006/7/25	松阪	102	新2号	葉
Mie06239	R	Mie01	ND	2006/7/25	松阪	102	愛知旭	葉
Mie06240	S	Mie30	ND	2006/7/25	松阪	102	愛知旭	葉
Mie06241	S	Mie46	005	2006/7/25	松阪	102	石狩白毛	葉
Mie06242	R	Mie17	007	2006/7/14	四日市	37	キヌヒカリ	葉
Mie06243	R	Mie01	007	2006/7/14	四日市	46	キヌヒカリ	葉
Mie06244	R	Mie01	007	2006/7/14	菟野	70	コシヒカリ	葉
Mie06245	S	Mie10	303	2006/7/12	鈴鹿	50	-	葉
Mie06246	S	Mie10	303	2006/7/12	鈴鹿	50	-	葉
Mie06247	S	Mie24	001	2006/7/12	亀山	63	-	葉
Mie06248	R	Mie01	007	2006/7/12	亀山	63	-	葉
Mie06249	R	Mie18	007	2006/7/12	鈴鹿	49	-	葉
Mie06250	R	Mie18	007	2006/7/12	鈴鹿	49	-	葉
Mie06251	S	Mie12	007	2006/7/12	鈴鹿	60	-	葉
Mie06252	S	Mie24	001	2006/7/12	鈴鹿	60	-	葉
Mie06253	S	Mie03	003	2006/7/13	明和	122	コシヒカリ	葉
Mie06254	S	Mie03	ND	2006/7/13	明和	122	コシヒカリ	葉
Mie06255	S	Mie02	107	2006/7/31	松阪	117	-	穂
Mie06256	R	Mie01	007	2006/7/31	松阪	117	-	穂
Mie06257	S	Mie02	007	2006/7/31	松阪	117	-	穂

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie07002	S	Mie02	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07003	S	Mie02	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07004	S	Mie02	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07005	S	Mie03	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07006	S	Mie03	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07007	S	Mie02	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07008	S	Mie03	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07009	S	Mie49	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07010	S	Mie03	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07011	S	Mie03	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07012	S	Mie03	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07013	S	Mie03	NT	2007/6/26	津	101	コシヒカリ	葉
Mie07016	R	Mie01	NT	2007/6/28	鈴鹿	51	コシヒカリ	葉
Mie07017	R	Mie01	NT	2007/6/28	鈴鹿	51	コシヒカリ	葉
Mie07018	R	Mie18	NT	2007/6/28	鈴鹿	51	コシヒカリ	葉
Mie07019	R	Mie01	NT	2007/6/28	鈴鹿	54	コシヒカリ	葉
Mie07020	R	Mie01	NT	2007/6/28	鈴鹿	54	コシヒカリ	葉
Mie07021	R	Mie01	NT	2007/6/28	鈴鹿	54	コシヒカリ	葉
Mie07022	R	Mie01	NT	2007/6/28	亀山	65	コシヒカリ	葉
Mie07023	R	Mie01	NT	2007/6/28	亀山	65	コシヒカリ	葉
Mie07024	R	Mie01	NT	2007/6/28	亀山	65	コシヒカリ	葉
Mie07025	S	Mie10	NT	2007/6/28	亀山	77	コシヒカリ	葉
Mie07026	S	Mie10	NT	2007/6/28	亀山	77	コシヒカリ	葉
Mie07027	S	Mie10	NT	2007/6/28	亀山	77	コシヒカリ	葉
Mie07028	S	Mie49	NT	2007/6/28	津	93	コシヒカリ	葉
Mie07029	S	Mie49	NT	2007/6/28	津	96	-	葉
Mie07030	S	Mie02	NT	2007/6/28	津	96	-	葉
Mie07031	S	Mie02	NT	2007/6/28	津	96	-	葉
Mie07032	S	Mie03	NT	2007/7/3	東員	25	-	葉
Mie07033	S	Mie12	NT	2007/7/3	東員	25	-	葉
Mie07034	S	Mie12	NT	2007/7/3	東員	25	-	葉
Mie07035	S	Mie50	NT	2007/7/3	四日市	38	-	葉
Mie07036	R	Mie18	NT	2007/7/3	四日市	45	-	葉
Mie07037	R	Mie01	NT	2007/7/3	四日市	45	-	葉
Mie07038	R	Mie01	NT	2007/7/3	四日市	45	-	葉
Mie07039	R	Mie16	NT	2007/7/13	四日市	35	三重17号	葉
Mie07040	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	35	三重17号	葉
Mie07041	R	Mie01	NT	2007/7/19	四日市	35	三重17号	葉
Mie07042	R	Mie01	NT	2007/7/19	四日市	35	三重17号	葉
Mie07043	S	Mie02	NT	2007/7/18	桑名	1	-	葉
Mie07044	S	Mie02	NT	2007/7/18	桑名	1	-	葉
Mie07045	R	Mie01	NT	2007/7/18	桑名	1	-	葉
Mie07046	S	Mie51	NT	2007/7/18	東員	27	コシヒカリ	葉
Mie07047	S	Mie51	NT	2007/7/18	東員	27	コシヒカリ	葉
Mie07048	S	Mie12	NT	2007/7/18	東員	27	コシヒカリ	葉
Mie07049	S	Mie13	NT	2007/7/18	桑名	6	コシヒカリ	葉
Mie07050	R	Mie01	NT	2007/7/18	桑名	6	コシヒカリ	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie07051	S	Mie12	NT	2007/7/18	桑名	6	コシヒカリ	葉
Mie07052	R	Mie01	NT	2007/7/19	伊賀	169	-	葉
Mie07053	R	Mie01	NT	2007/7/19	伊賀	169	-	葉
Mie07054	R	Mie01	NT	2007/7/19	伊賀	169	-	葉
Mie07055	R	Mie21	NT	2007/7/19	伊賀	176	-	葉
Mie07056	R	Mie21	NT	2007/7/19	伊賀	176	-	葉
Mie07057	R	Mie21	NT	2007/7/19	伊賀	176	-	葉
Mie07058	R	Mie18	NT	2007/7/3	四日市	45	-	葉
Mie07059	R	Mie18	NT	2007/7/3	四日市	45	-	葉
Mie07060	R	Mie01	NT	2007/7/3	四日市	45	-	葉
Mie07061	R	Mie01	NT	2007/7/3	四日市	45	-	葉
Mie07062	R	Mie18	NT	2007/7/3	四日市	45	-	葉
Mie07063	R	Mie01	NT	2007/7/3	亀山	64	-	葉
Mie07064	S	Mie24	NT	2007/7/3	桑名	7	-	葉
Mie07065	S	Mie29	NT	2007/7/3	桑名	7	-	葉
Mie07066	S	Mie24	NT	2007/6/29	玉城	139	-	葉
Mie07067	S	Mie24	NT	2007/7/3	玉城	135	コシヒカリ	葉
Mie07068	S	Mie12	NT	2007/7/3	玉城	135	コシヒカリ	葉
Mie07069	S	Mie24	NT	2007/7/3	玉城	135	コシヒカリ	葉
Mie07070	R	Mie01	NT	2007/7/5	四日市	35	-	葉
Mie07071	R	Mie01	NT	2007/7/5	四日市	35	-	葉
Mie07072	R	Mie01	NT	2007/7/5	四日市	35	-	葉
Mie07073	S	Mie02	NT	2007/7/6	津	84	黄金晴	葉
Mie07074	S	Mie17	NT	2007/7/6	津	108	コシヒカリ	葉
Mie07075	S	Mie17	NT	2007/7/6	津	108	コシヒカリ	葉
Mie07076	S	Mie17	NT	2007/7/6	津	108	コシヒカリ	葉
Mie07077	S	Mie12	NT	2007/7/3	鈴鹿	53	コシヒカリ	葉
Mie07078	R	Mie52	NT	2007/7/3	鈴鹿	53	コシヒカリ	葉
Mie07079	R	Mie27	NT	2007/7/3	鈴鹿	55	コシヒカリ	葉
Mie07080	R	Mie01	NT	2007/7/3	鈴鹿	55	コシヒカリ	葉
Mie07081	R	Mie01	NT	2007/7/3	鈴鹿	55	コシヒカリ	葉
Mie07082	R	Mie01	NT	2007/7/3	鈴鹿	59	コシヒカリ	葉
Mie07083	S	Mie02	NT	2007/7/3	鈴鹿	59	コシヒカリ	葉
Mie07084	S	Mie53	NT	2007/7/3	亀山	65	キヌヒカリ	葉
Mie07085	S	Mie53	NT	2007/7/3	亀山	65	キヌヒカリ	葉
Mie07086	R	Mie18	NT	2007/7/3	亀山	65	キヌヒカリ	葉
Mie07087	S	Mie12	NT	2007/7/3	鈴鹿	53	コシヒカリ	葉
Mie07088	R	Mie01	NT	2007/7/3	鈴鹿	58	コシヒカリ	葉
Mie07089	S	Mie10	NT	2007/7/9	桑名	12	コシヒカリ	葉
Mie07090	R	Mie20	NT	2007/7/10	玉城	136	-	葉
Mie07091	R	Mie20	NT	2007/7/10	玉城	136	-	葉
Mie07092	R	Mie01	NT	2007/7/12	いなべ	19	コシヒカリ	葉
Mie07093	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	36	コシヒカリ	葉
Mie07094	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	36	コシヒカリ	葉
Mie07095	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	36	コシヒカリ	葉
Mie07096	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	46	キヌヒカリ	葉
Mie07097	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	46	キヌヒカリ	葉
Mie07098	S	Mie51	NT	2007/7/13	四日市	38	キヌヒカリ	葉
Mie07099	S	Mie54	NT	2007/7/13	亀山	66	コシヒカリ	葉
Mie07100	S	Mie51	NT	2007/7/18	桑名	6	コシヒカリ	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie07101	S	Mie02	NT	2007/7/18	桑名	6	コシヒカリ	葉
Mie07102	R	Mie01	NT	2007/7/26	津	96	ヒヨクモチ	葉
Mie07103	R	Mie01	NT	2007/7/26	津	83	ヒヨクモチ	葉
Mie07104	R	Mie01	NT	2007/7/26	津	83	ヒヨクモチ	葉
Mie07105	R	Mie01	NT	2007/7/26	津	94	ヒヨクモチ	葉
Mie07106	R	Mie01	NT	2007/7/26	津	94	ヒヨクモチ	葉
Mie07107	R	Mie01	NT	2007/7/26	津	94	ヒヨクモチ	葉
Mie07108	R	Mie01	NT	2007/7/26	津	94	ヒヨクモチ	葉
Mie07109	S	Mie19	NT	2007/7/31	熊野	183	あきたこまち	葉
Mie07110	S	Mie19	NT	2007/7/31	熊野	183	あきたこまち	葉
Mie07111	S	Mie55	NT	2007/7/11	松阪	116	-	葉
Mie07112	S	Mie42	NT	2007/7/11	松阪	116	-	葉
Mie07113	S	Mie55	NT	2007/7/11	松阪	116	-	葉
Mie07114	S	Mie56	NT	2007/7/11	松阪	116	-	葉
Mie07116	S	Mie02	NT	2007/7/11	津	98	-	葉
Mie07117	S	Mie02	NT	2007/7/11	津	100	-	葉
Mie07118	S	Mie02	NT	2007/7/11	津	100	-	葉
Mie07119	S	Mie02	NT	2007/7/11	津	100	-	葉
Mie07120	R	Mie21	NT	2007/7/12	紀北	182	-	葉
Mie07121	R	Mie21	NT	2007/7/12	紀北	182	-	葉
Mie07122	R	Mie21	NT	2007/7/12	紀北	182	-	葉
Mie07123	R	Mie21	NT	2007/7/12	紀北	182	-	葉
Mie07124	R	Mie21	NT	2007/7/12	紀北	182	-	葉
Mie07125	R	Mie01	NT	2007/7/13	桑名	11	-	葉
Mie07126	S	Mie30	NT	2007/7/13	いなべ	14	-	葉
Mie07127	R	Mie01	NT	2007/7/13	東員	28	-	葉
Mie07128	R	Mie01	NT	2007/7/13	いなべ	24	-	葉
Mie07129	S	Mie57	NT	2007/7/13	桑名	9	-	葉
Mie07130	R	Mie01	NT	2007/7/13	桑名	9	-	葉
Mie07131	S	Mie47	NT	2007/7/13	桑名	9	-	葉
Mie07132	S	Mie02	NT	2007/7/13	桑名	8	-	葉
Mie07133	S	Mie02	NT	2007/7/13	桑名	8	-	葉
Mie07134	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	37	-	葉
Mie07135	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	37	-	葉
Mie07136	R	Mie01	NT	2007/7/13	四日市	46	-	葉
Mie07137	S	Mie12	NT	2007/7/13	四日市	40	-	葉
Mie07138	R	Mie04	NT	2007/7/13	菰野	70	-	葉
Mie07139	S	Mie24	NT	2007/7/18	伊勢	134	-	葉
Mie07140	S	Mie24	NT	2007/7/18	伊勢	141	-	葉
Mie07141	S	Mie02	NT	2007/7/18	志摩	150	-	葉
Mie07142	S	Mie02	NT	2007/7/18	志摩	150	-	葉
Mie07143	R	Mie21	NT	2007/7/13	四日市	40	-	葉
Mie07144	S	Mie02	NT	2007/7/18	志摩	150	-	葉
Mie07145	S	Mie12	NT	2007/7/23	津	82	コシヒカリ	葉
Mie07146	S	Mie02	NT	2007/7/23	津	82	コシヒカリ	葉
Mie07147	S	Mie58	NT	2007/7/23	津	82	-	葉
Mie07148	S	Mie10	NT	2007/7/23	度会	147	コシヒカリ	葉
Mie07149	S	Mie10	NT	2007/7/23	度会	147	コシヒカリ	葉
Mie07150	S	Mie03	NT	2007/7/23	伊勢	130	コシヒカリ	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie07151	R	Mie01	NT	2007/7/23	いなべ	20	コシヒカリ	葉
Mie07152	R	Mie01	NT	2007/7/23	いなべ	20	コシヒカリ	葉
Mie07153	S	Mie13	NT	2007/7/23	いなべ	20	コシヒカリ	葉
Mie07154	S	Mie12	NT	2007/7/23	いなべ	21	コシヒカリ	葉
Mie07155	R	Mie27	NT	2007/7/23	いなべ	21	コシヒカリ	葉
Mie07156	R	Mie52	NT	2007/7/23	いなべ	21	コシヒカリ	葉
Mie07157	S	Mie59	NT	2007/7/23	いなべ	18	コシヒカリ	葉
Mie07158	R	Mie01	NT	2007/7/23	いなべ	18	コシヒカリ	葉
Mie07159	R	Mie01	NT	2007/7/23	いなべ	18	コシヒカリ	葉
Mie07160	R	Mie01	NT	2007/7/23	いなべ	18	コシヒカリ	葉
Mie07161	R	Mie01	NT	2007/7/23	いなべ	18	コシヒカリ	葉
Mie07162	S	Mie09	NT	2007/7/23	いなべ	18	コシヒカリ	葉
Mie07163	R	Mie01	NT	2007/7/23	いなべ	14	コシヒカリ	葉
Mie07164	S	Mie02	NT	2007/7/24	伊賀	155	三系584	葉
Mie07165	S	Mie56	NT	2007/7/25	明和	122	コシヒカリ	葉
Mie07166	S	Mie24	NT	2007/7/25	明和	122	コシヒカリ	葉
Mie07167	S	Mie49	NT	2007/7/25	松阪	102	-	葉
Mie07168	R	Mie60	NT	2007/7/25	松阪	120	-	葉
Mie07169	S	Mie12	NT	2007/7/25	松阪	120	-	葉
Mie07170	S	Mie61	NT	2007/7/25	玉城	136	-	葉
Mie07171	S	Mie02	NT	2007/7/25	玉城	136	-	葉
Mie07172	S	Mie62	NT	2007/7/25	津	90	-	葉
Mie07173	S	Mie02	NT	2007/7/26	大台	128	-	葉
Mie07174	S	Mie02	NT	2007/7/26	大台	128	-	葉
Mie07175	S	Mie02	NT	2007/7/26	伊賀	157	-	葉
Mie07176	S	Mie02	NT	2007/7/26	伊賀	157	-	葉
Mie07177	S	Mie02	NT	2007/7/26	名張	158	-	葉
Mie07178	S	Mie63	NT	2007/7/26	名張	158	-	葉
Mie07179	S	Mie02	NT	2007/7/26	名張	158	-	葉
Mie07180	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	三重17号	葉
Mie07181	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07182	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07183	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07184	S	Mie64	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07185	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07186	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07187	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07188	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07189	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉
Mie07190	R	Mie01	NT	2007/7/25	南伊勢	144	コシヒカリ	葉
Mie07191	S	Mie02	NT	2007/7/25	大紀	145	コシヒカリ	葉
Mie07192	S	Mie12	NT	2007/7/25	大紀	146	コシヒカリ	葉
Mie07193	R	Mie01	NT	2007/7/26	いなべ	32	コシヒカリ	葉
Mie07194	R	Mie01	NT	2007/7/26	いなべ	32	コシヒカリ	葉
Mie07195	R	Mie01	NT	2007/7/26	いなべ	16	コシヒカリ	葉
Mie07196	S	Mie25	NT	2007/7/26	いなべ	16	コシヒカリ	葉
Mie07197	R	Mie38	NT	2007/7/26	伊賀	152	コシヒカリ	葉
Mie07198	S	Mie02	NT	2007/7/26	伊賀	152	コシヒカリ	葉
Mie07199	S	Mie25	NT	2007/7/26	松阪	104	コシヒカリ	葉
Mie07200	S	Mie02	NT	2007/7/26	松阪	103	コシヒカリ	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie07201	S	Mie50	NT	2007/7/26	松阪	103	コシヒカリ	葉
Mie07202	S	Mie12	NT	2007/7/26	松阪	107	コシヒカリ	葉
Mie07203	S	Mie12	NT	2007/7/26	松阪	107	コシヒカリ	葉
Mie07204	S	Mie03	NT	2007/7/27	松阪	106	-	葉
Mie07205	S	Mie49	NT	2007/7/27	松阪	112	コシヒカリ	葉
Mie07206	S	Mie02	NT	2007/7/27	松阪	112	コシヒカリ	葉
Mie07207	R	Mie66	NT	2007/7/27	松阪	113	コシヒカリ	葉
Mie07208	S	Mie12	NT	2007/7/27	松阪	113	コシヒカリ	葉
Mie07210	S	Mie02	NT	2007/7/30	津	78	コシヒカリ	葉
Mie07211	S	Mie02	NT	2007/7/30	津	88	コシヒカリ	葉
Mie07212	S	Mie67	NT	2007/7/30	津	86	-	葉
Mie07213	S	Mie49	NT	2007/7/30	津	96	コシヒカリ	葉
Mie07214	S	Mie49	NT	2007/7/30	津	96	コシヒカリ	葉
Mie07215	S	Mie02	NT	2007/7/30	津	95	コシヒカリ	葉
Mie07216	R	Mie01	NT	2007/7/30	津	95	コシヒカリ	葉
Mie07217	S	Mie68	NT	2007/7/31	津	84	三重17号	葉
Mie07218	S	Mie68	NT	2007/7/31	津	84	みえのゆめ	葉
Mie07219	S	Mie68	NT	2007/7/31	津	84	みえのゆめ	葉
Mie07220	S	Mie02	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07221	R	Mie01	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07222	R	Mie21	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07223	R	Mie21	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07224	R	Mie18	NT	2007/7/31	伊賀	163	-	葉
Mie07225	R	Mie18	NT	2007/7/31	伊賀	163	-	葉
Mie07227	S	Mie02	NT	2007/7/31	伊賀	154	-	葉
Mie07229	S	Mie02	NT	2007/7/31	伊賀	180	-	葉
Mie07231	R	Mie01	NT	2007/7/31	伊賀	177	-	葉
Mie07232	R	Mie01	NT	2007/7/31	伊賀	177	-	葉
Mie07233	R	Mie18	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07234	R	Mie01	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07235	R	Mie21	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07236	R	Mie21	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07237	R	Mie21	NT	2007/7/31	伊賀	168	-	葉
Mie07238	S	Mie64	NT	2007/7/31	伊賀	170	-	葉
Mie07239	R	Mie01	NT	2007/8/1	亀山	75	-	葉
Mie07240	S	Mie10	NT	2007/8/1	亀山	76	-	葉
Mie07241	R	Mie01	NT	2007/8/1	亀山	76	-	葉
Mie07242	R	Mie01	NT	2007/8/1	鈴鹿	50	あきたこまち	葉
Mie07243	S	Mie69	NT	2007/8/1	鈴鹿	50	あきたこまち	葉
Mie07244	S	Mie02	NT	2007/8/7	いなべ	29	キヌヒカリ	葉
Mie07245	S	Mie02	NT	2007/8/7	いなべ	29	キヌヒカリ	葉
Mie07246	S	Mie70	NT	2007/8/7	桑名	5	あいちのかおり	葉
Mie07247	R	Mie01	NT	2007/8/6	いなべ	18	コシヒカリ	葉
Mie07248	R	Mie01	NT	2007/8/6	いなべ	18	コシヒカリ	葉
Mie07249	S	Mie02	NT	2007/8/6	桑名	3	コシヒカリ	葉
Mie07250	S	Mie02	NT	2007/8/6	桑名	3	コシヒカリ	葉

分離菌株名	MBI-D 感受性 ^a	rep-PCR ハプロタイプ	レース番号 ^b	採取日	採取市町	採取地点No ^c	品種 ^d	分離部位
Mie07252	S	Mie09	NT	2007/8/6	東員	26	コシヒカリ	葉
Mie07253	S	Mie02	NT	2007/8/6	桑名	1	コシヒカリ	葉
Mie07254	S	Mie02	NT	2007/8/6	桑名	1	コシヒカリ	葉
Mie07255	S	Mie03	NT	2007/7/31	津	82	-	葉
Mie07256	S	Mie12	NT	2007/7/31	伊賀	180	-	葉
Mie07258	S	Mie02	NT	2007/7/31	伊賀	170	-	葉
Mie07259	S	Mie02	NT	2007/8/10	いなべ	14	コシヒカリ	葉
Mie07260	S	Mie12	NT	2007/8/10	いなべ	14	コシヒカリ	葉
Mie07261	S	Mie09	NT	2007/8/10	いなべ	33	コシヒカリ	葉
Mie07262	R	Mie01	NT	2007/8/10	いなべ	33	コシヒカリ	葉
Mie07263	S	Mie12	NT	2007/8/16	桑名	6	コシヒカリ	葉
Mie07264	S	Mie02	NT	2007/8/16	桑名	6	コシヒカリ	葉
Mie07265	S	Mie65	NT	2007/8/16	桑名	6	コシヒカリ	穂
Mie07266	S	Mie02	NT	2007/8/16	いなべ	15	コシヒカリ	穂
Mie07267	S	Mie02	NT	2007/8/16	いなべ	15	コシヒカリ	穂
Mie07268	R	Mie01	NT	2007/8/23	いなべ	32	-	葉
Mie07269	S	Mie24	NT	2007/8/23	いなべ	21	-	穂
Mie07270	R	Mie02	NT	2007/8/23	いなべ	21	-	穂
Mie07271	R	Mie02	NT	2007/8/23	いなべ	21	-	穂
Mie07272	R	Mie01	NT	2007/8/23	いなべ	18	-	穂
Mie07273	R	Mie01	NT	2007/8/23	いなべ	18	-	穂
Mie07274	S	Mie65	NT	2007/8/23	いなべ	18	-	穂
Mie07275	S	Mie65	NT	2007/8/23	いなべ	18	-	穂
Mie07276	R	Mie01	NT	2007/8/23	いなべ	18	-	穂
Mie07277	S	Mie02	NT	2007/9/5	いなべ	23	-	穂
Mie07278	S	Mie02	NT	2007/9/5	いなべ	23	-	穂
Mie07279	R	Mie16	NT	2007/9/5	いなべ	22	-	穂
Mie07280	S	Mie12	NT	2007/9/5	いなべ	22	-	穂
Mie07281	S	Mie02	NT	2007/9/5	いなべ	22	-	穂
Mie07284	R	Mie01	NT	2007/7/26	四日市	34	-	葉

- a MBI-D 殺菌剤の感受性は、PIRA-PCR 法 (Kaku et al.2003) を用いてシタロン脱水酵素の遺伝子型から推論した。R は耐性菌。S は感受性菌。
- b レースは Yamada et al. (1976) のレース判別品種を用いて決定した。
- c 位置は、図 2-2、図 2-3 参照。
- d - : 不明

表 2-3 MBI-D 剤耐性菌・感受性菌集団におけるハプロタイプの分布

ハプロタイプ	採取菌株数				ハプロタイプ	採取菌株数			
	2006		2007			2006		2007	
	R ^a	S ^a	R	S		R	S	R	S
Mie1	61		84		Mie37		1		
Mie2	3	44	2	53	Mie38	1		1	
Mie3		19		11	Mie39	1			
Mie4	3		1		Mie40		1		
Mie5		4			Mie41		1		
Mie6		1			Mie42		1		1
Mie7		2			Mie43		1		
Mie8		4			Mie44	3			
Mie9		1		3	Mie45	1			
Mie10		11		7	Mie46	1	1		
Mie11		2			Mie47		1		1
Mie12	1	10		19	Mie48		2		
Mie13		1		2	Mie49				7
Mie14		1			Mie50				2
Mie15	2				Mie51				4
Mie16	1		2		Mie52			2	
Mie17	2			3	Mie53				2
Mie18	12		9		Mie54				1
Mie19		2		2	Mie55				2
Mie20	1		2		Mie56				2
Mie21	15		14		Mie57				1
Mie22		2			Mie58				1
Mie23		1			Mie59				1
Mie24		9		8	Mie60			1	
Mie25		5		2	Mie61				1
Mie26	2				Mie62				1
Mie27	1		2		Mie63				1
Mie28		5			Mie64				2
Mie29		1		1	Mie65				3
Mie30		2		1	Mie66			1	
Mie31		1			Mie67				1
Mie32		1			Mie68				3
Mie33		1			Mie69				1
Mie34	1				Mie70				1
Mie35		2							
Mie36		2			合計	112	143	121	151

a MBI-D 殺菌剤の感受性は、シタロン脱水酵素遺伝子に V75M の変異があれば耐性菌 (R) 無ければ感受性菌 (S) とした (Kaku et al. 2003)。

表 2-4 MBI-D 剤耐性菌における優占ハプロタイプ、Mie1、Mie18、Mie21 の採取地点別菌株数

採取地点 ^a	菌株数						採取地点	菌株数					
	2006			2007				2006			2007		
	Mie1	Mie18	Mie21	Mie1	Mie18	Mie21		Mie1	Mie18	Mie21	Mie1	Mie18	Mie21
1				1			76				1		
6				1			79			1			
9				1			80	2					
11	2			1			83				2		
14	1			1			87	1					
16				1			89			1			
18				9			91			1			
19				1			94		1		4		
20				2			95				1		
24	1			1			96				1		
28	2			1			98	2					
30	2						102	2					
31	1						109	1					
32				3			111	1					
33				1			115	1					
34				10			117	1					
35				6			120	2					
36				3			124	1					
37				2			125	1					
39	1						132			1			
40						1	136		1				
41	1		1				144				1		
42	1						151		1				
43	1						153			1			
44	3						156			1			
45				4	4		157			1			
46	1	2		3			159	2					
49		2					160	1					
50				1			162	2					
51	1	1		2	1		163					2	
52	2						164	1		1			
54				3			167			2			
55				2			168	2			2	1	5
56			1				169				3		
57	1						171	1					
58	3	1		1			172		1				
59				1			174	1					
63	1						175	2					
64	2	1		1	1		176						3
65				3			177				2		
67	1						178		1				
68	1						181			2			
70	1						182			1			5
71	2						184	1					
72	1												
75				1			合計	61	12	15	84	9	14

a 採取地点の番号は、表 2-2 採取地点 No、位置は図 2-2、図 2-3 参照。

表 2-5 MBI-D 耐性菌 (R) と感受性菌 (S) におけるレース分布
(2006 年)

レース番号 ^a	菌株数	
	R	S
001	1	19
003		32
005		22
007	95	23
033		4
037		2
047	2	
101		3
103		9
105		4
107	5	10
301		1
303		3
307	1	2
合計	104	134

a Yamada et al. (1976) の方法に基づき検定した。

(注) MBI-D 殺菌剤の感受性は、シタロン脱水酵素遺伝子に V75M の変異があれば耐性菌 (R) 無ければ感受性菌 (S) とした (Kaku et al. 2003)。

表 2-6 MBI-D 剤耐性菌と感受性菌のハプロタイプとレースの分布 (2006 年)

ハプロタイプ	菌株数														合計
	レース番号 ^a														
	001	003	005	007	033	037	047	101	103	105	107	301	303	307	
耐性菌^b															
Mie1				55							2				57
Mie2				1							1				2
Mie4				2											2
Mie15							2								2
Mie16				1											1
Mie17				2											2
Mie18				12											12
Mie20				1											1
Mie21	1			12							1				14
Mie26				2											2
Mie27				1											1
Mie34				1											1
Mie38				1											1
Mie39				1											1
Mie44				1							1			1	3
Mie45				1											1
Mie46				1											1
合計	1			95			2				5			1	104
感受性菌^b															
Mie2	6	6	10	6	3						6	1		2	40
Mie3	1	12						4					1		18
Mie5		4													4
Mie6		1													1
Mie7				2											2
Mie8	4														4
Mie9				1											1
Mie10		4		1				3			1		2		11
Mie11		1						1							2
Mie12			1	7							1				9
Mie13											1				1
Mie14				1											1
Mie19						2									2
Mie22			1	1											2
Mie23	1														1
Mie24	5		1				2		1						9
Mie25	1		3				1								5
Mie28			2	1						2					5
Mie29		1													1
Mie31											1				1
Mie32	1														1
Mie33			1												1
Mie35				2											2
Mie36		2													2
Mie37		1													1
Mie40				1											1
Mie41				1											1
Mie42									1						1
Mie46			1												1
Mie47								1							1
Mie48			1		1										2
合計	19	32	22	23	4	2	3	9	4	10	1	3	2		134

a Yamada et al. (1976) の方法に基づき検定した。

b MBI-D 殺菌剤の感受性は、シタロン脱水酵素遺伝子に V75M の変異があれば耐性菌、無ければ感受性菌とした (Kaku et al. 2003)。

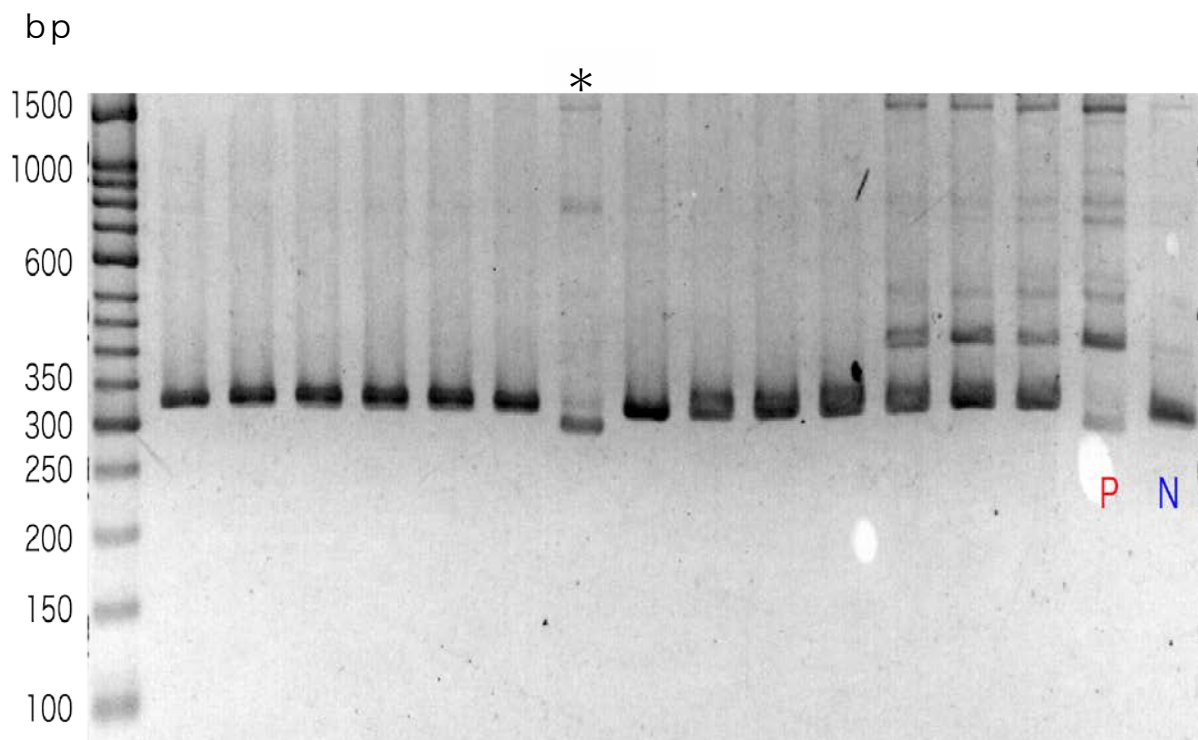


図 2-1 PIRA-PCR 法によるイネいもち病菌の MBI-D 剤耐性検定。

※ プライマーセット (SCDH-13 と SCDH4) で増幅された PCR 産物 (324bp) を制限酵素 *Xba*1 で処理すると、耐性菌 (*) のみ 25bp と 299bp に切断される。

※ P は耐性菌、N は感受性菌コントロール。

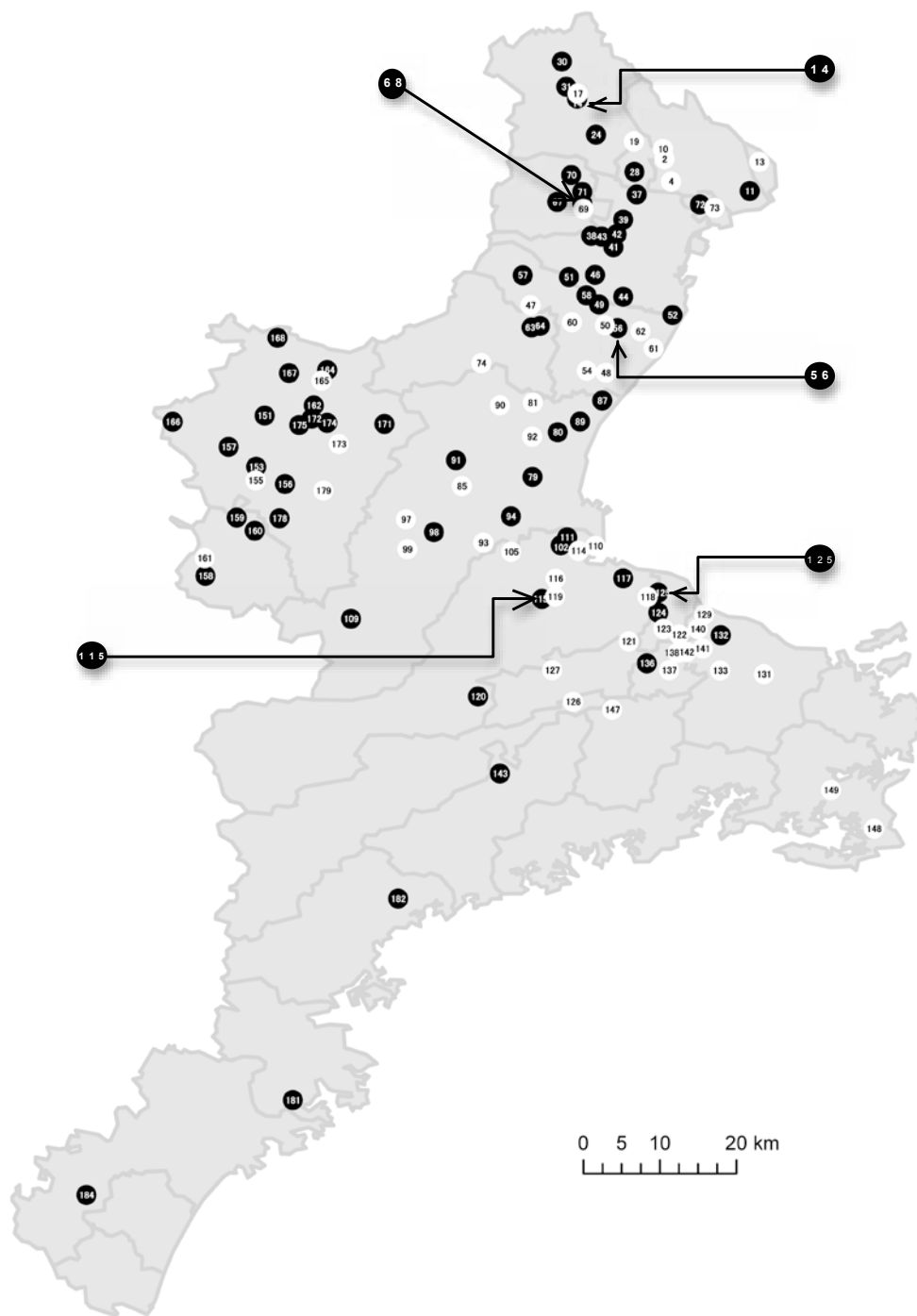


図 2-2 菌株採取地点の分布 (2006)

2006年に三重県でイネいもち病菌を採取した地点を示した。○の中の数字は表 2-2 採取地点 No、●は MIB-D 剤耐性菌株が少なくとも 1 株採取された地点、○は感受性菌株だけが採取された地点を示す。

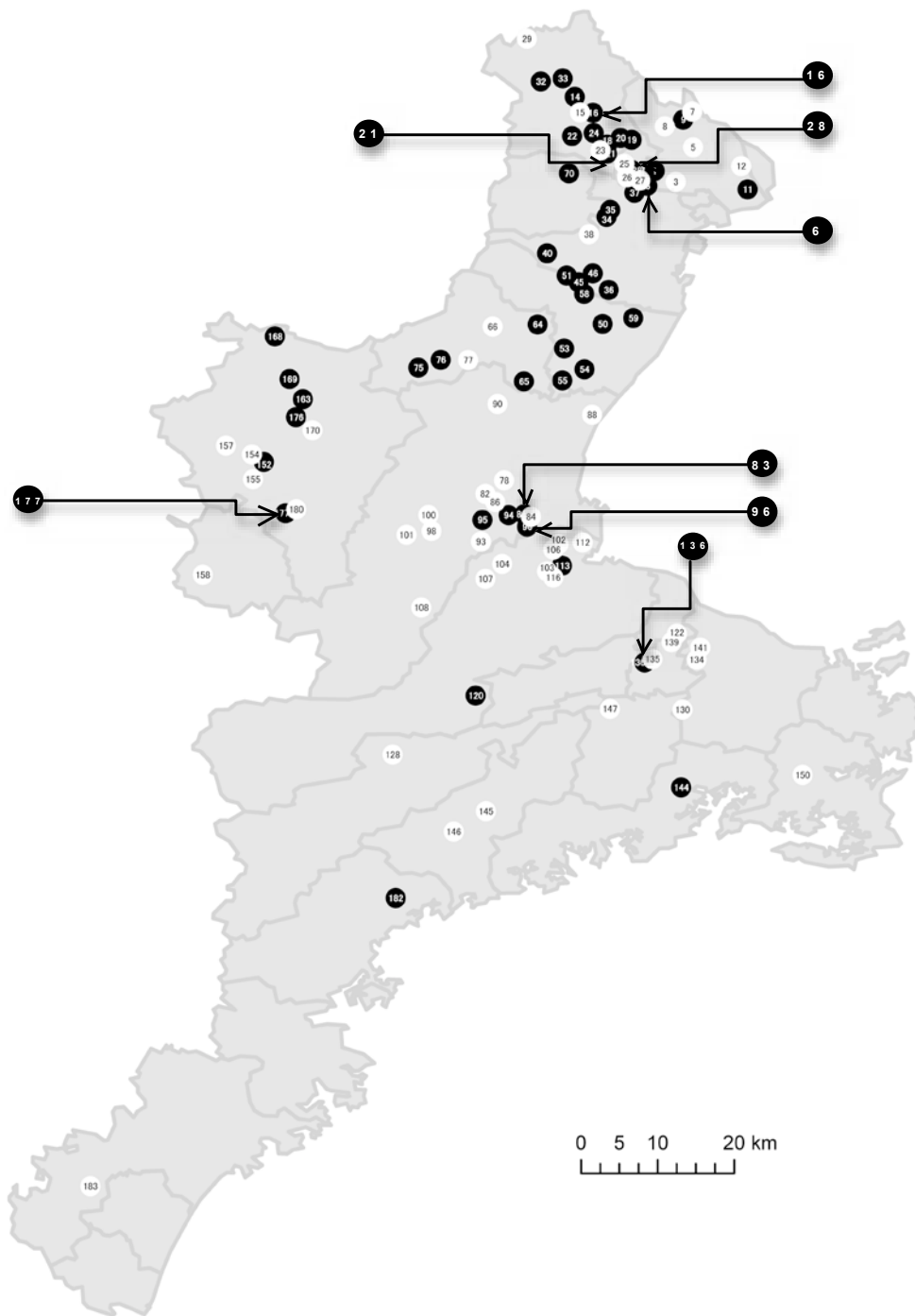


図 2-3 菌株採取地点の分布 (2007)

2007年に三重県でイネいもち病菌を採取した地点を示した。○の中の数字は表2-2採取地No、●はMIB-D剤耐性菌株が少なくとも1株採取された地点、○は感受性菌株だけが採取された地点を示す。

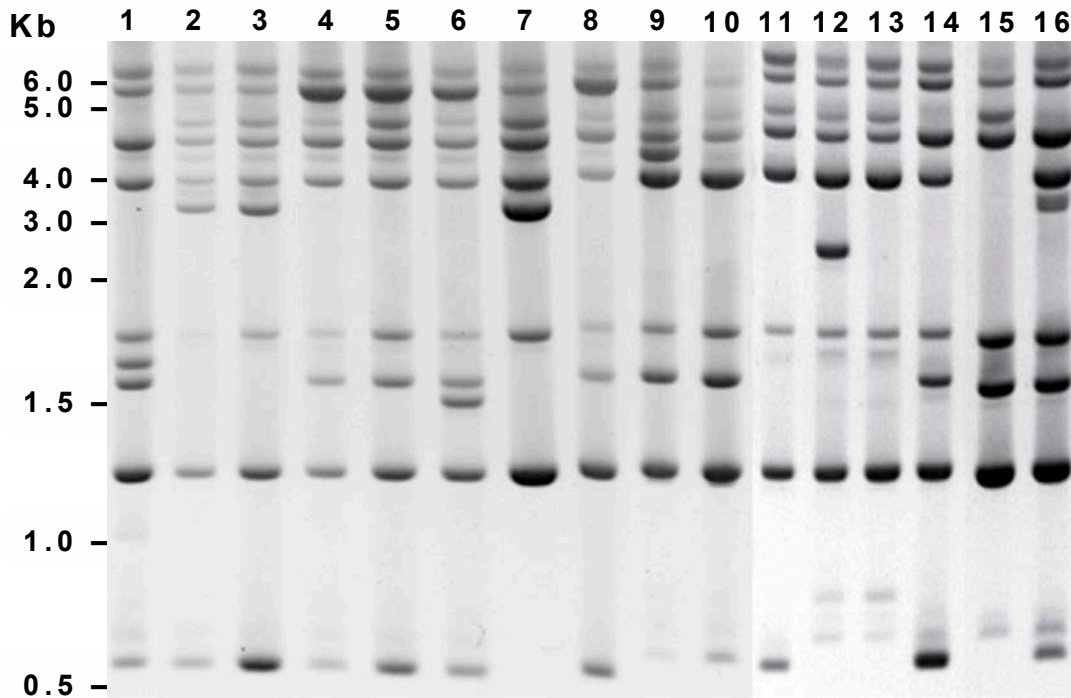


図 2-4 *Pot2*-TIR プライマーを用いた rep-PCR によるイネいもち病菌株の DNA フィンガープリント

三重県と九州地域で検出された代表的なハプロタイプを示した。

1 Sa4, 2 Mie1, 3 Sa18, 4 Mie2, 5 Sa5, 6 Mie3, 7 Mie4, 8 Mie10, 9 Mie16, 10 Mie17, 11 Mie18, 12 Mie20, 13 Mie21, 14 Mie24, 15 Mie49, 16 Mie51.

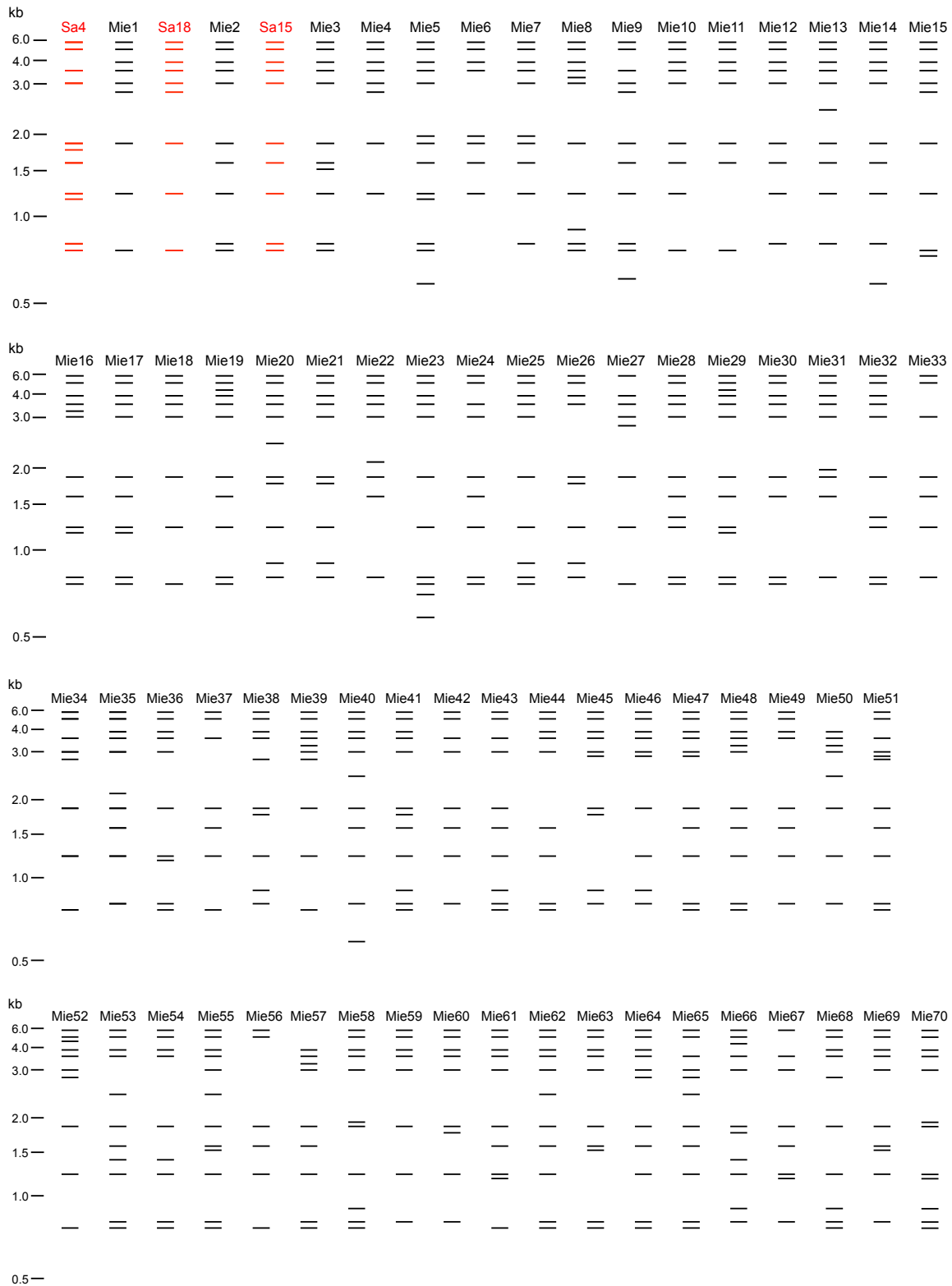


図 2-5 *Pot2*-TIR プライマーを用いた rep-PCR によって検出された
いもち病菌 DNA フィンガープリントプロフィール

「Mie」、「Sa」はそれぞれ三重県、九州地域で見出されたハプロタイプ。

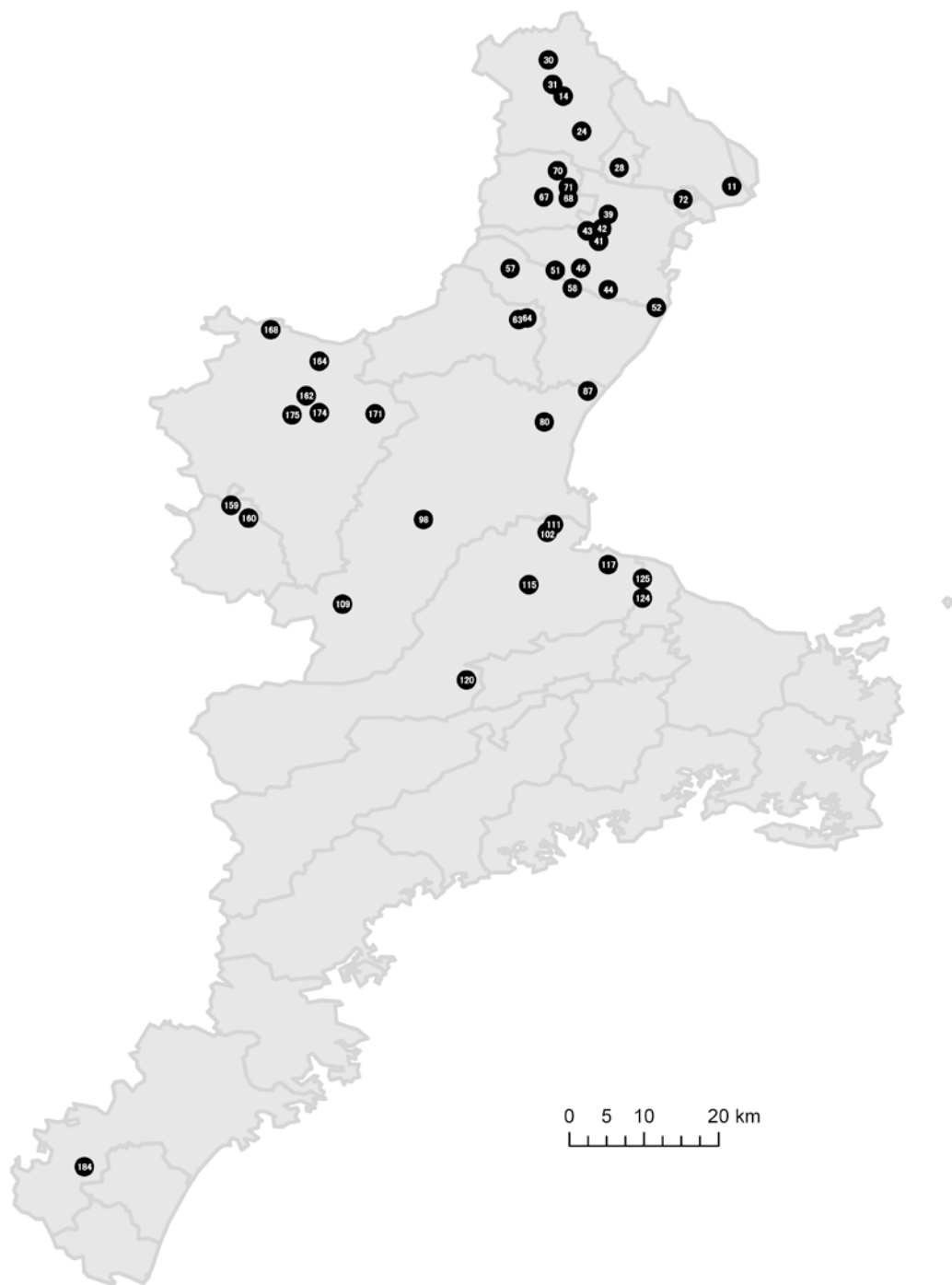


図 2-6 MBI-D 剤耐性イネいもち病菌「Mie1」を採取した地点（2006）
 ●の中の数字は表 2-2 採取地点 No

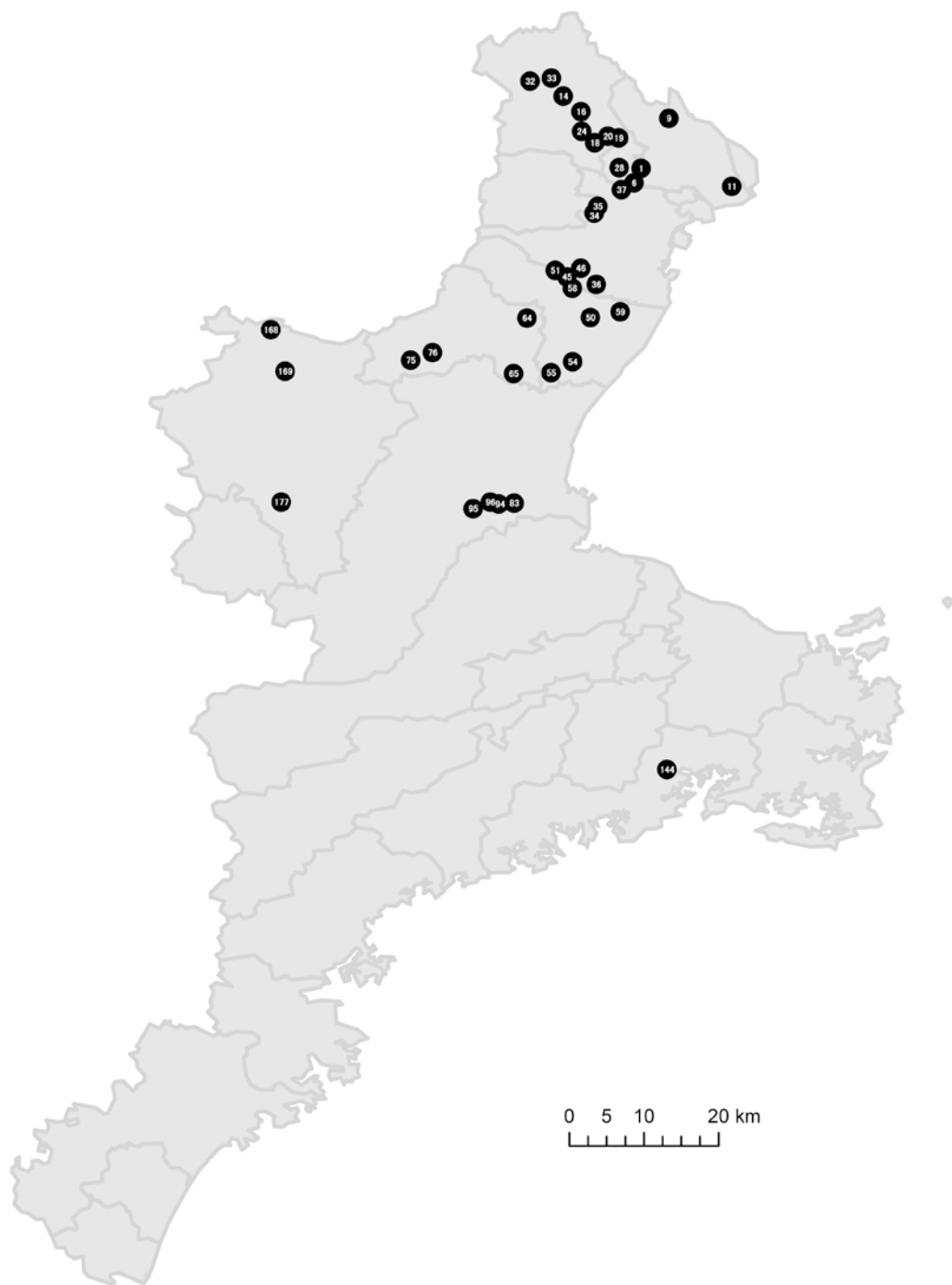


図 2-7 MBI-D 剤耐性イネいもち病菌「Mie1」を採取した地点 (2007)
 ●の中の数字は表 2-2 採取地点 No

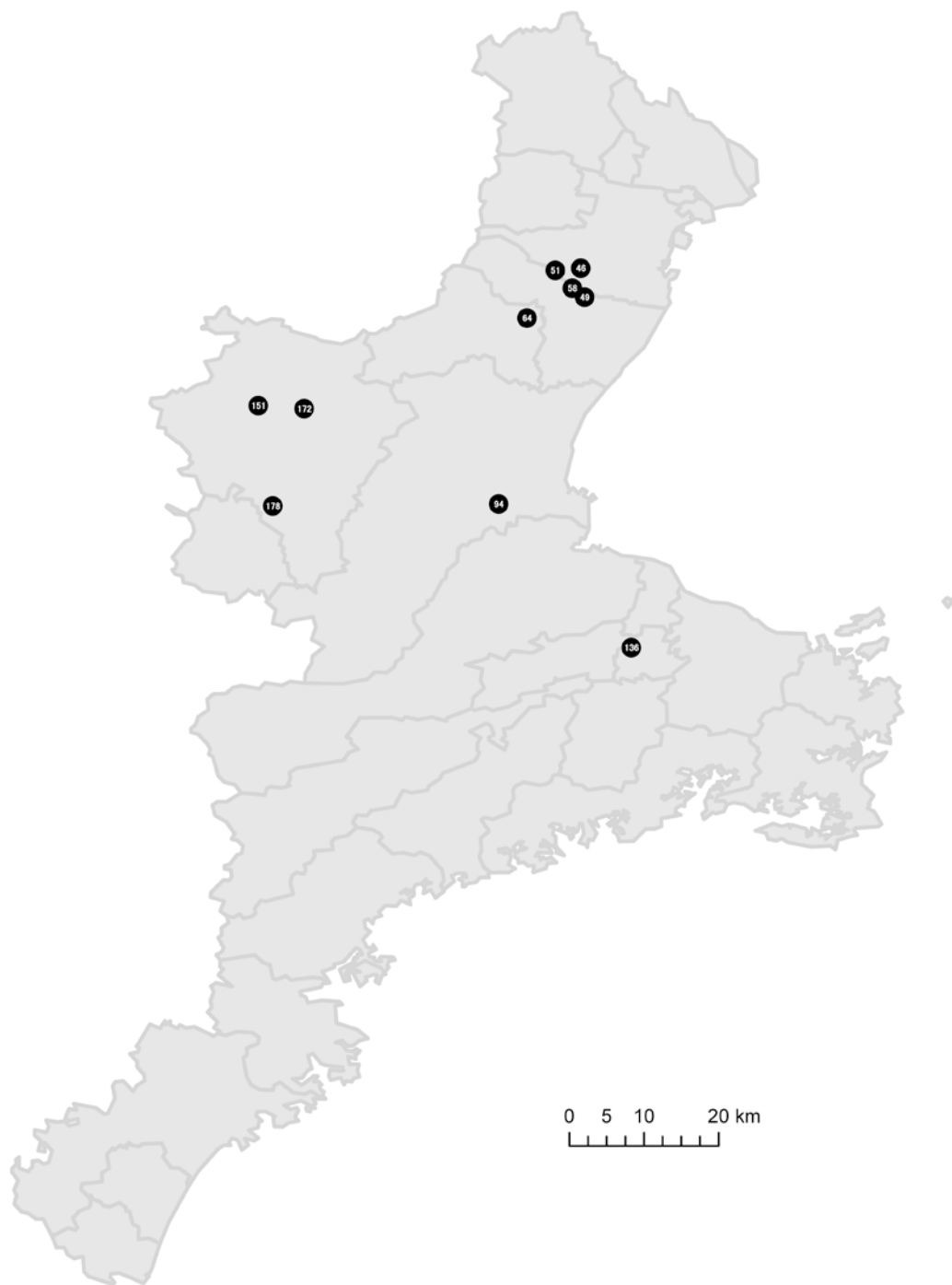


図 2-8 MBI-D 剤耐性イネいもち病菌「Mie18」を採取した地点
(2006) ●の中の数字は表 2-2 採取地点 No

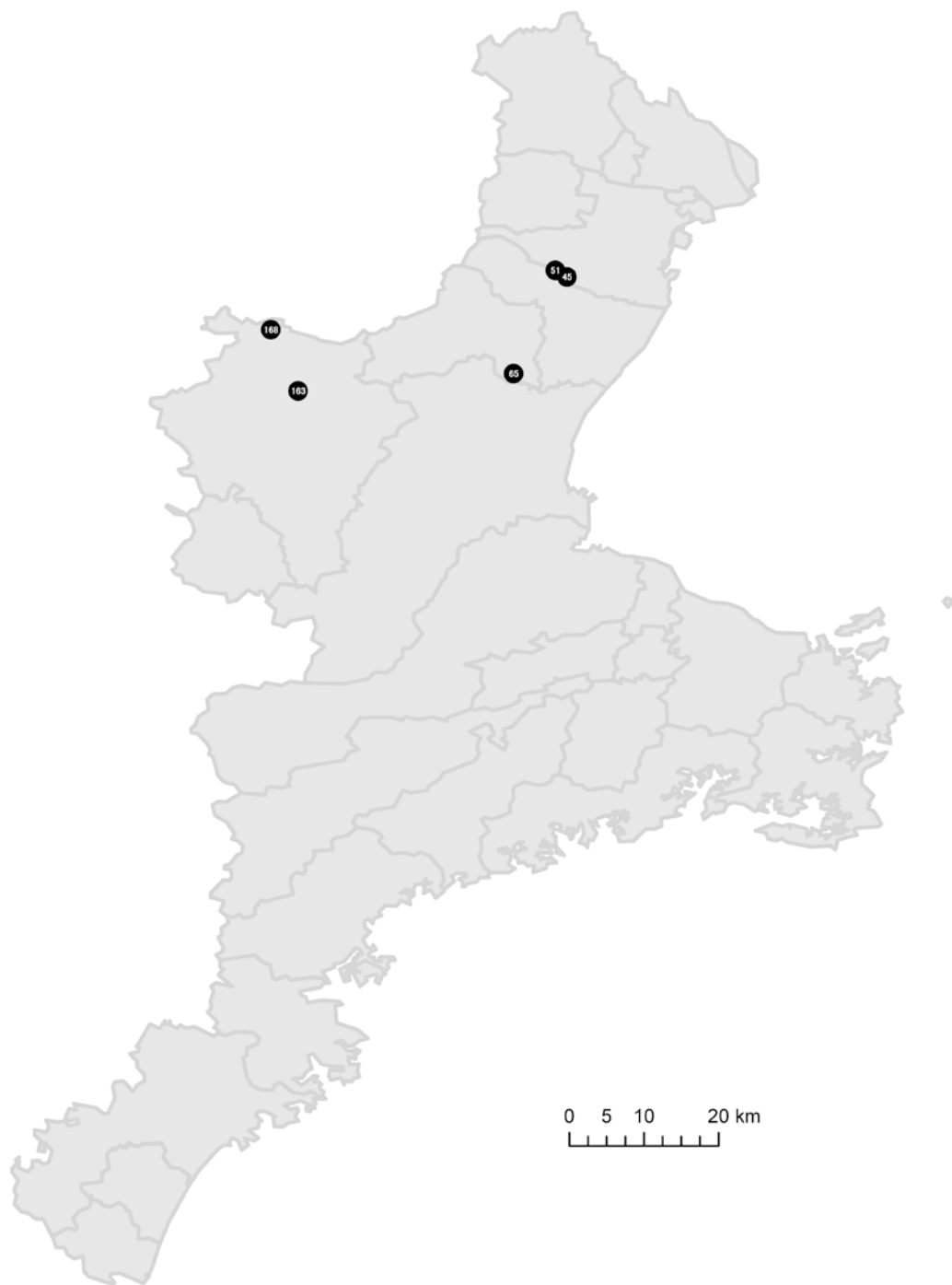


図 2-9 MBI-D 剤耐性イネいもち病菌「Mie18」を採取した地点
(2007) ●の中の数字は表 2-2 採取地点 No

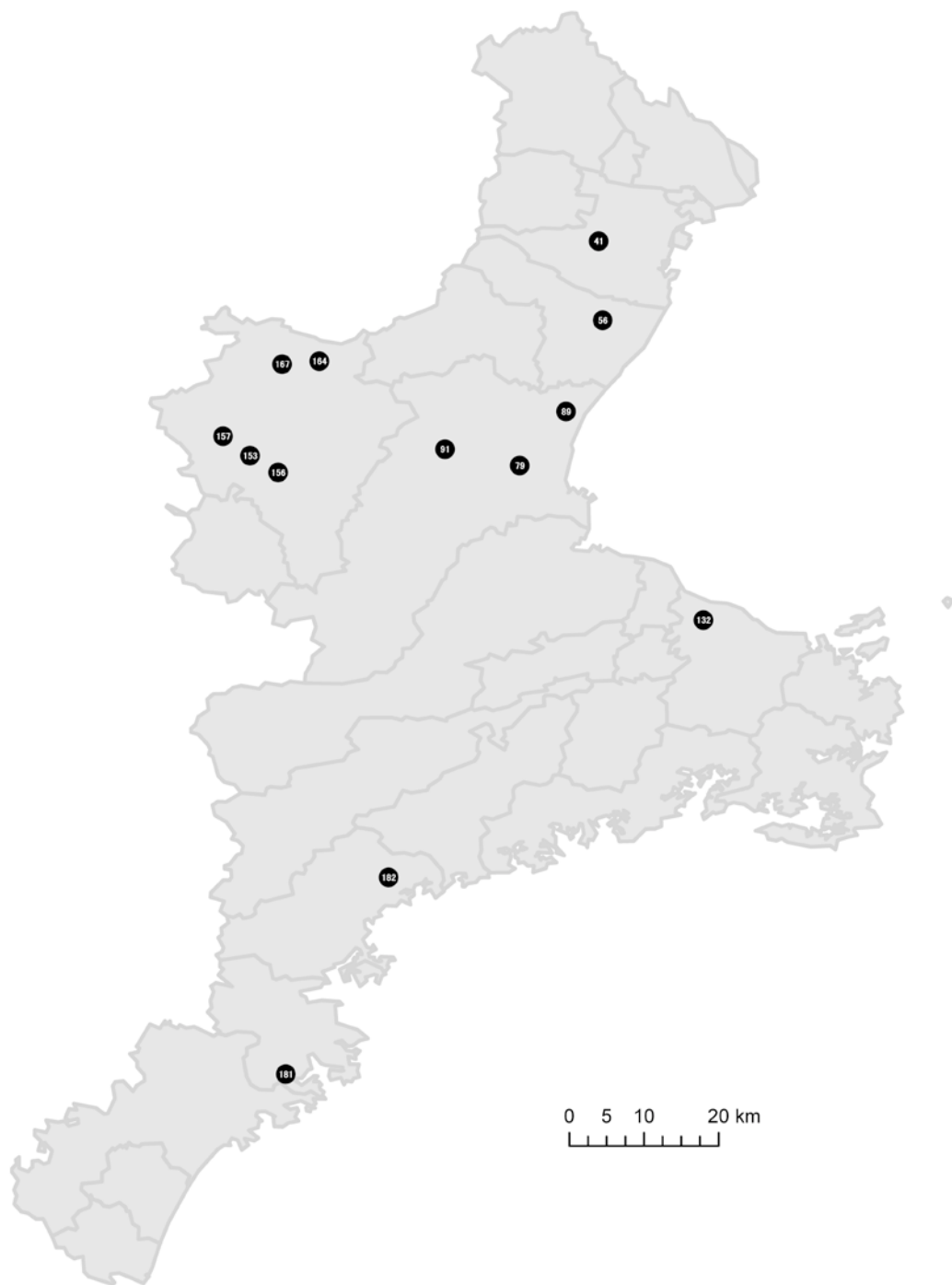


図 2-10 MBI-D 剤耐性イネいもち病菌「Mie21」を採取した地点
(2006) ●の中の数字は表 2-2 採取地点 No

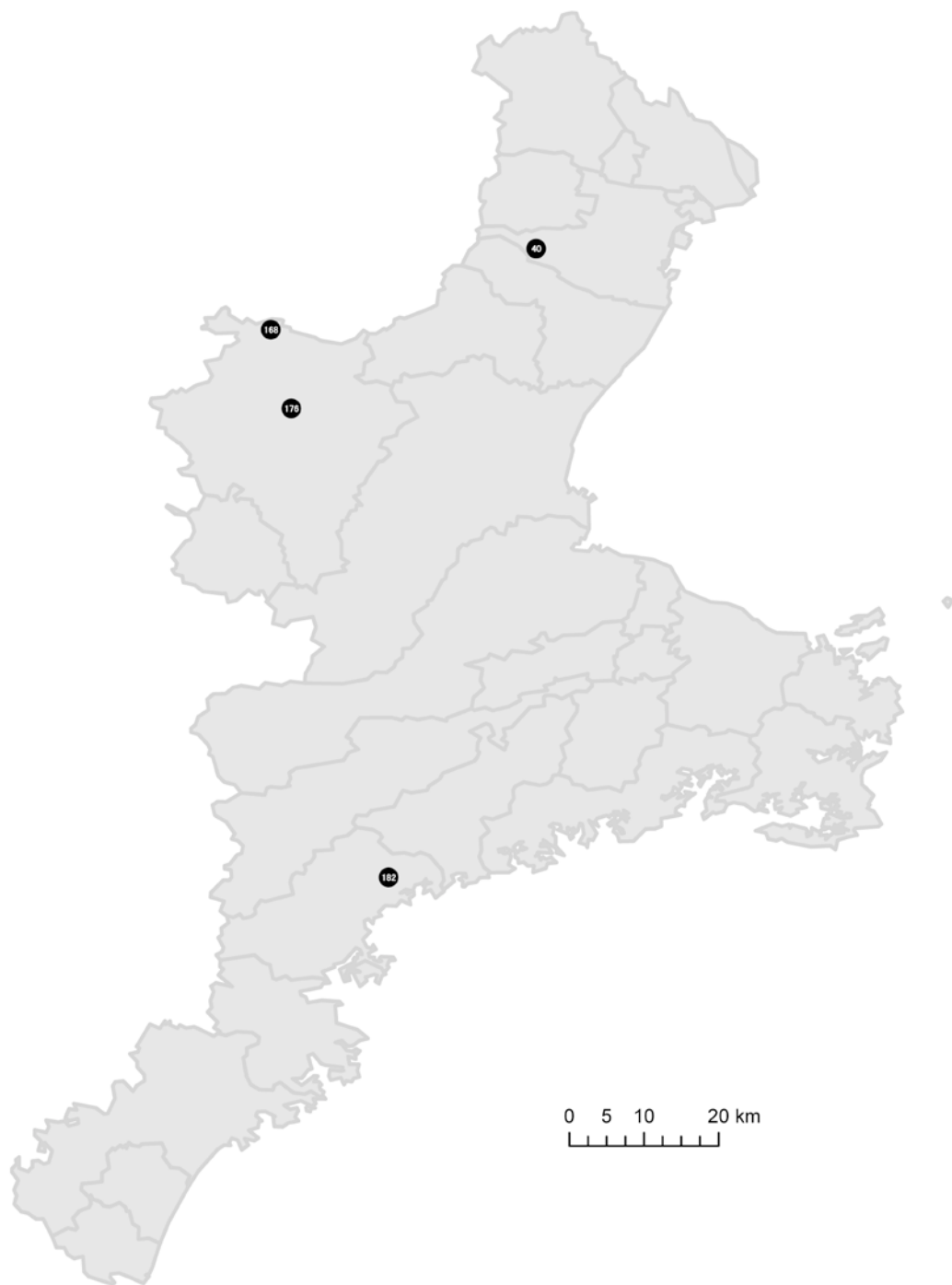


図 2-11 MBI-D 剤耐性イネいもち病菌「Mie21」を採取した地点
(2007) ●の中の数字は表 2-2 採取地点 No



図 2-12 イネもち病菌の DNA フィンガープリントに基づいた UPGMA 系統樹

耐性菌のみのハプロタイプは黒、感受性菌のみのハプロタイプは白、両者混在するハプロタイプは斜線で示した。

第三章 MBI-D 剤と遭遇していない

いもち病菌の SDH 遺伝子の変異

いもち病は、日本におけるイネの最重要病害である。その病原菌 *Pyricularia oryzae* の中には、イネを宿主とするイネ菌のほか、アワ・エノコログサに感染するアワ菌、キビに感染するキビ菌、シコクビエ・オヒシバに感染するシコクビエ菌、エンバクに感染するエンバク菌、コムギに感染するコムギ菌などがある。*Pyricularia oryzae* と近縁の別種の中には、メヒシバや、シンクリノイガ、ミヨウガ、ショウガ、タケ、ササ、ヒメクグ、カヤツリグサ、エゾノサヤヌカグサ、マコモを宿主とするいもち病菌も存在する。これらいもち病菌は、植物に感染する際に植物細胞上に付着器を形成し、そこから侵入菌糸をイネの細胞壁内に押し出し感染する。この押し出す力は付着器内の膨圧によるものであるが、この膨圧を生み出すのに必要なのが付着器内のメラニン層である。このメラニン層によって 8MPa という高い膨圧に耐え、侵入が可能になるので、メラニンはいもち病菌が植物に感染する上で必要不可欠な物質である。このメラニン合成経路中に SDH (シタロン脱水酵素) が関与する。今回、この SDH 遺伝子の特定の 1 塩基に変異が起こり、それに伴い V75M 変異が生じることで MBI-D 剤耐性菌が発生した (Takagaki et al. 2004)。このような単純な一塩基置換によって耐性化するならば、イネ菌に限らず、アワ菌、キビ菌などのいもち病菌においても SDH 遺伝子の変異が起こっている可能性が考えられた。そこで、本章では、MBI-D 剤の影響を受けていないと考えられる上記イネ以外のいもち病菌について、SDH 遺伝子の変異の有無について検討した。

I. 材料及び方法

1) 供試菌株

MBI-D 剤の影響を受けていない場合の SDH 遺伝子の変異性を検討するために、MBI-D 剤が発売された 1998 年以前に採取した 61 菌株のイネ菌、アワ菌、キビ菌、シコクビエ菌、エンバク菌、コムギ菌、ペレニアルライグラス菌、レーマンラブグラス菌、別種のエゾノサヤヌカグサ菌とメヒシバ菌を用いて、SDH 遺伝子の塩基配列を解析した (表 3-1)。

2) SDH 遺伝子のシーケンス解析

PCR は、最終容量が 20 μ l となるよう 鋳型 DNA 1ng/ μ l、Forward プライマー SDH_F_2 (5'-TTGTTGGGAATAGGGACGAG-3')0.5 μ M、Reverse プライマー SDH_R_2(5'-ACCTAGCCTTCCCAGGACAT-3')0.5 μ M、rTaq DNA Polymerase (東洋紡) 2U、1 \times PCR Buffer(Mg²⁺+plus)、dNTP Mixture(各 2.5mM)200 μ M、滅菌蒸留水を混合した。PCR 反応は 95 $^{\circ}$ C(1 分)の後、94 $^{\circ}$ C (1 分)、60 $^{\circ}$ C (1 分)、70 $^{\circ}$ C (1 分) のステップを 30 サイクル繰り返し、最終サイクルの後、72 $^{\circ}$ Cで 5 分反応させた。PCR 産物の精製は、PCR 産物 5 μ L に対し USB ExoSAP-IT (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA)2 μ L を混合し、37C 15min, 80C 15min で反応させた。

サイクルシーケンスには、10ng(1 μ L)の精製した PCR 産物、1x Ready Reaction Premix (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA))、1x BigDye Sequencing Buffer、0.16 μ M プライマー(Forward プライマー : SDH_F_2、Reverse プライマー : SDH_R_2)、滅菌蒸留水を用いた。反応は 96 $^{\circ}$ C(2 分)の後、96 $^{\circ}$ C (30 秒)、50 $^{\circ}$ C (15 秒)、60 $^{\circ}$ C (4 分) のステップを 25 サイクル繰り返し、最終サイクルの後、4 $^{\circ}$ Cで反応を停止させた。サイクルシーケンスによって得られた DNA をエタノール沈殿し乾

乾燥させ、20 μ L の H-Di Formamide に溶解させた後、ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)でシーケンス解析を行った。得られた塩基配列は SeqManII (DNASTAR) を用いて assemble を行った。

3) アミノ酸配列の解析および系統樹の作成

MEGA5 (Tamura et al. 2011)内の CLUSTAL W (Thompson et al. 1994) でアラインメントを行った後、MEGA5 でアミノ酸に翻訳した。さらに、MEGA5 で Neighbor-joining 系統樹を作成した。系統樹のクラスタの信頼性は、ブートストラップ分析を 1000 回繰り返すことによって決定した。

II. 結果

1) SDH 遺伝子のアミノ酸配列

61 菌株の SDH 遺伝子の塩基配列を解析した結果、1998 年以前に採取された日本産、中国産、ベトナム産のイネ菌、実験室系統 70-15、アワ菌、コムギ菌、エンバク菌、シコクビエ菌（以上 *Pyricularia. oryzae*）、別種のメヒシバ菌（*Pyricularia. grisea*）、エゾノサヤヌカグサ菌の全ての菌株において、75 番目のアミノ酸は全て V であり、変異は認められなかった（図 3-1）。

2) SDH 遺伝子の系統樹

SDH 遺伝子のエキソン 519 塩基より系統樹を作成した結果、6 種類の配列（ホモログ）が見いだされた（図 3-2）。各配列で MBI-D 剤耐性イネいもち病菌と比較すると (i) 1 塩基異なるイネ菌 27 菌株、(ii) 2 塩基異なるイネ菌 1 菌株、アワ菌 8 菌株、キビ菌 7 菌株、(iii) 4 塩基異なるシ

コクビエ菌 2 菌株、エンバク菌 1 菌株、ペレニアルライグラス菌 3 菌株、レーマンラブグラス菌 1 菌株、コムギ菌 1 菌株、(iv) 3 塩基異なるコムギ菌 2 菌株、(v) 51 塩基異なるメヒシバ菌 (*Pyricularia. grisea*) 6 菌株、(vi) 30 塩基異なるエゾノサヤマカグサ菌 (*Pyricularia sp. (LS)*) 1 菌株であった。

III. 考察

MBI-D 剤耐性イネいもち病菌は、SDH 遺伝子の特定の 1 塩基に変異が起こり、それに伴い V75M 変異が生じることで耐性化したことがわかっている (高垣ら, 2004)。このような単純な 1 塩基置換によって耐性を獲得する場合、イネ菌に限らず、アワ菌、キビ菌などのいもち病菌においても SDH 遺伝子の変異が起こっていると考えられたので、MBI-D 剤の影響がないイネ菌以外のいもち病菌についても、SDH 遺伝子の変異の有無について検討した。その結果、MBI-D 剤耐性に関わる 75 番目のアミノ酸には変異はみられなかった (図 3-1、図 3-2)。検出されなかった理由として、たとえば、1 塩基置換が起っていたとしても、その V75M 変異により適応度が低くなり、MBI-D 剤を使用しない環境下にあっては残存できないことが示唆された。

一方、SDH 遺伝子のイントロンを除いた塩基配列は、菌株によって 1 塩基から 51 塩基の変異があり、いもち病菌集団の統合系統樹と parallel な関係となっていた (図 3-2)。このことから、SDH 遺伝子は基本的には極めて保存的な遺伝子であると考えられた。また、イネ菌から遠縁のメヒシバ菌やエゾノサヤマカグサ菌は 30 塩基以上の変異があるにも拘わらず、耐性に関わる塩基は変異していない。これらのことから、イネ菌において耐性菌が出現しその分布域を拡大したのは、MBI-D 剤という強力な選択圧が存在したためであると考えられた。イネ以外を宿主とするいもち病菌にも、

MBI-D 剤による選択圧をかければ、イネ菌で起ったような変異菌系の検出を再現することができるかもしれない。

表 3-1 供試菌株リスト

種	菌株名	宿主	採取地	採集年
<i>Pyricularia oryzae</i>	Guy11	<i>Oryza sativa</i>	フランス領ギアナ (Combi)	1978
	Ken54-04 (MAFF235006)	<i>Oryza sativa</i>	日本 (岐阜)	1954
	Ken54-20 (MAFF235005)	<i>Oryza sativa</i>	日本 (山口)	1954
	Hoku1	<i>Oryza sativa</i>	日本 (北海道)	1948
	Ina72 (MAFF235003)	<i>Oryza sativa</i>	日本 (長野)	1957
	Ina168	<i>Oryza sativa</i>	日本 (愛知)	1958
	Ken53-33	<i>Oryza sativa</i>	日本 (愛知)	1953
	P-2b	<i>Oryza sativa</i>	日本 (新潟)	1948
	0903-4	<i>Oryza sativa</i>	日本 (栃木)	1976
	2012-1	<i>Oryza sativa</i>	日本 (石川)	1976
	2403-1	<i>Oryza sativa</i>	日本 (三重)	1976
	1836-3	<i>Oryza sativa</i>	日本 (新潟)	1976
	88A	<i>Oryza sativa</i>	日本 (茨城)	1976
	CHNOS 59-6-1	<i>Oryza sativa</i>	中国 (雲南)	1989
	CHNOS 60-8-1	<i>Oryza sativa</i>	中国 (雲南)	1989
	Br10	<i>Oryza sativa</i>	ブラジル (Parana)	1990
	Br13	<i>Oryza sativa</i>	ブラジル (Parana)	1990
	Br15	<i>Oryza sativa</i>	ブラジル (Parana)	1990
	Br18	<i>Oryza sativa</i>	ブラジル (Parana)	1990
	PO-02-7306	<i>Oryza sativa</i>	インドネシア (Jawa Barat)	1973
	PO-02-7501	<i>Oryza sativa</i>	インドネシア (Jawa Barat)	1975
	PO-04-7501	<i>Oryza sativa</i>	インドネシア (Jawa Timur)	1975
	PO-12-7301-2	<i>Oryza sativa</i>	インドネシア (Lampung)	1973
	PO-12-7301	<i>Oryza sativa</i>	インドネシア (Lampung)	1973
	VHT6.1	<i>Oryza sativa</i>	ベトナム (Ha Tay)	1998
	VTB6.1	<i>Oryza sativa</i>	ベトナム (Thai Binh)	1998
	VHG4.5	<i>Oryza sativa</i>	ベトナム (Hau Giang)	1996
	VHT3.3	<i>Oryza sativa</i>	ベトナム (Ha Tay)	1998
	GFSI1-7-2	<i>Setaria italica</i>	日本 (岐阜)	1977
	NRSI2-2-2	<i>Setaria italica</i>	日本 (奈良)	1977
	NRSI3-1-1	<i>Setaria italica</i>	日本 (奈良)	1977
	NNSI3-2-1	<i>Setaria italica</i>	日本 (長野)	1984
	IN77-16-1-1	<i>Setaria italica</i>	インド (Mysore)	1977
	IN77-20-1-1	<i>Setaria italica</i>	インド (Mysore)	1977
	KANSV1-4-1	<i>Setaria viridis</i>	日本 (神奈川)	1975
	NI913	<i>Setaria viridis</i>	日本 (千葉)	1974

種	菌株名	宿主	採取地	採集年
	NNPM1-2-1	<i>Panicum miliaceum</i>	日本 (長野)	1984
	NRPM1-1-1	<i>Panicum miliaceum</i>	日本 (奈良)	1990
	STPM1-3-2	<i>Panicum miliaceum</i>	日本 (埼玉)	1981
	STPM4-2-2	<i>Panicum miliaceum</i>	日本 (埼玉)	1981
	SZPM1-1-1	<i>Panicum miliaceum</i>	日本 (静岡)	1978
	YNPM4-1-1	<i>Panicum miliaceum</i>	日本 (山梨)	1983
	NI922	<i>Panicum bisulcatum</i>	日本 (栃木)	1974
	Z2-1	<i>Eleusine coracana</i>	日本 (香川)	1977
	MZ5-1-6	<i>Eleusine coracana</i>	日本 (宮崎)	1976
	Ken15-15-1	<i>Eleusine coracana</i>	日本 (東京)	1976
	Br58	<i>Avena sativa</i>	ブラジル (Parana)	1990
	Br3	<i>Triticum aestivum</i>	ブラジル (Parana)	1990
	Br48 (IMI368172)	<i>Triticum aestivum</i>	ブラジル (Mato Grosso do Sul)	1990
	Br116.5	<i>Triticum aestivum</i>	ブラジル (Parana)	1992
	TP1	<i>Lolium perenne</i>	日本 (栃木)	1997
	TP2	<i>Lolium perenne</i>	日本 (栃木)	1997
	WK3-1	<i>Lolium perenne</i>	日本 (山口)	1996
	NI986	<i>Eragrostis lehmanniana</i>	日本 (熊本)	1975
<i>Pyricularia</i> sp. (LS) ^o	NI919 (MAFF305509)	<i>Leersia oryzoides</i>	日本 (千葉)	1974
<i>Pyricularia grisea</i>	Dig41	<i>Digitaria sanguinalis</i>	日本 (兵庫)	1990
	NI907	<i>Digitaria sanguinalis</i>	日本 (栃木)	1974
	IBDS4-1-1	<i>Digitaria sanguinalis</i>	日本 (茨城)	1985
	NI980	<i>Digitaria smutsii</i>	日本 (熊本)	1975
	Br29 (IMI368175)	<i>Digitaria horizontalis</i>	ブラジル (Sao Paulo)	1990
	Br33	<i>Digitaria horizontalis</i>	ブラジル (Parana)	1990

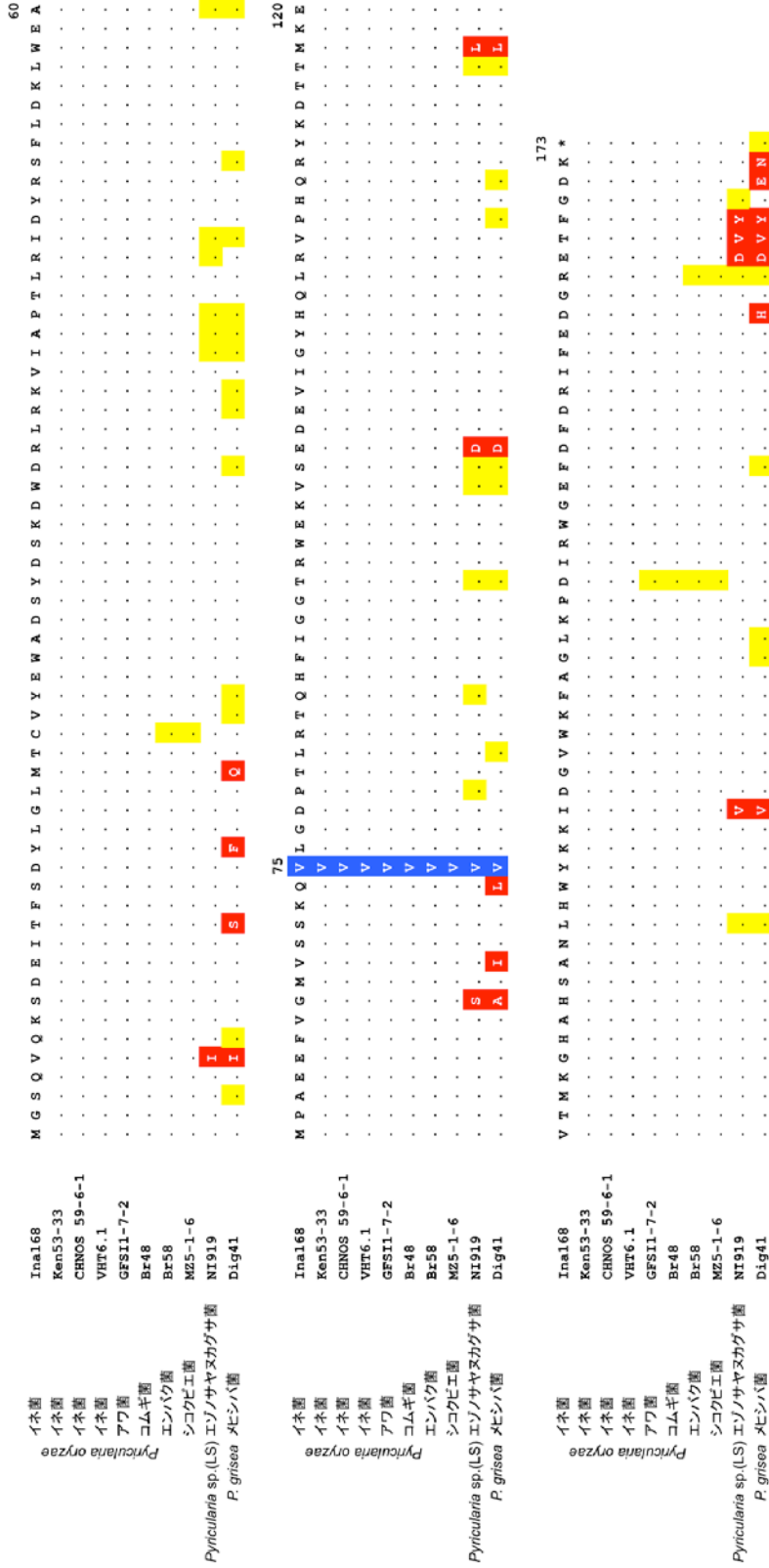


図 3-1 各種いもち病菌 SDH 遺伝子のアミノ酸配列

. : イネ菌Inal168と比較して塩基置換のなかったもの
 黄色 : イネ菌Inal168と比較して塩基置換があったが、アミノ酸の変異はなかったもの
 赤色 : イネ菌Inal168と比較してアミノ酸の変異があったもの
 青色 : 耐性菌において変異が起こったアミノ酸

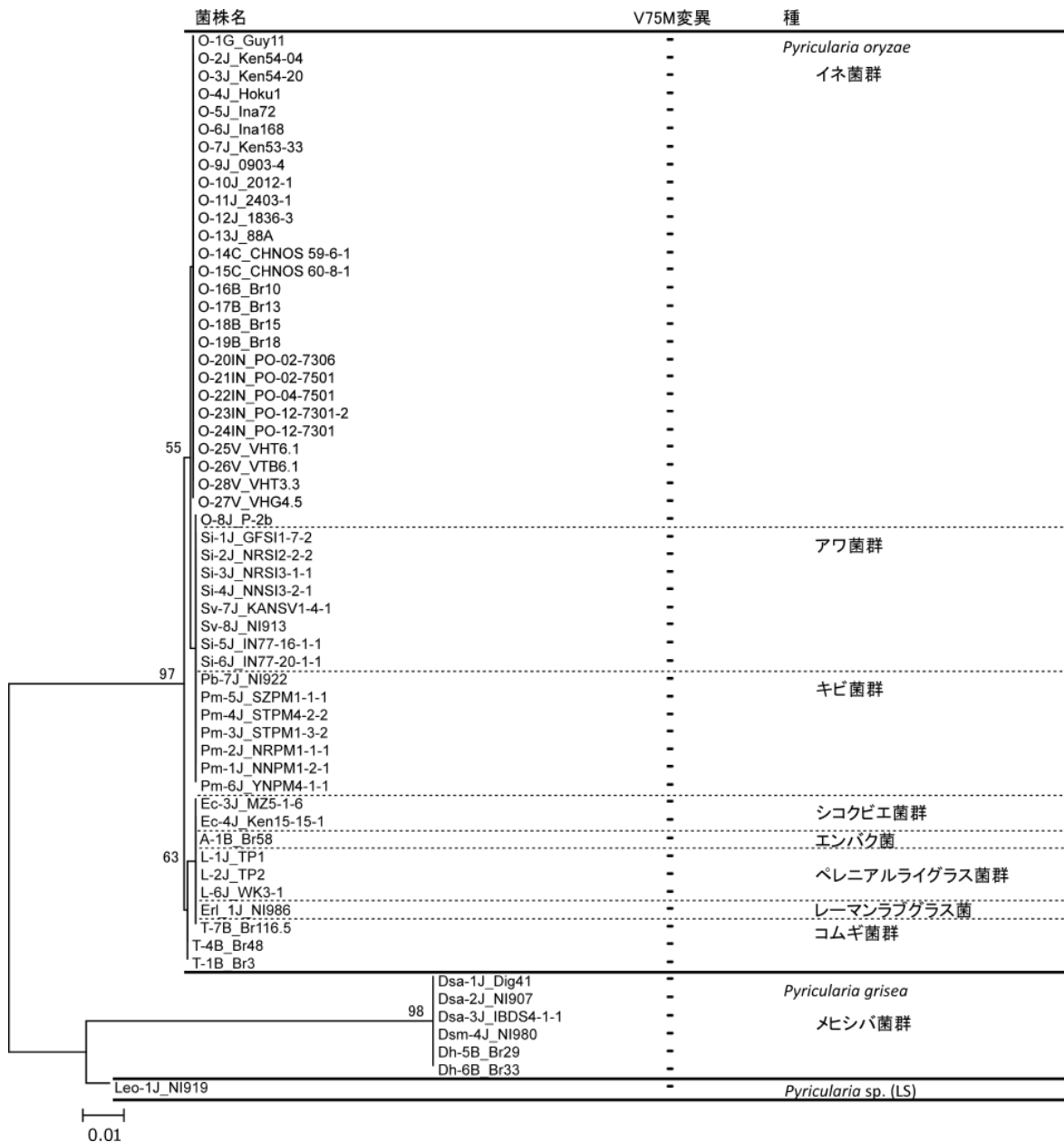


図 3-2 エキソン配列に基づいた SDH 遺伝子の系統樹

V75M 変異の有無を + (変異あり)、- (変異なし) で表した。

第四章 MBI-D 剤の使用量減少に伴う

イネいもち病菌の動態

三重県で初めて MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が確認されたのは、少ない菌株数ながら、2005 年の 5 菌株であった。その後、前章で明らかにしてきたように、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌率は、2006 年に 43.9%、2007 年に 44.5%と、採取したイネいもち病菌の半数近くが耐性菌であった。この結果を受けて、三重県では、MBI-D 剤の使用を避け、作用性の異なる殺菌剤を使用する対応を技術情報として示した（2006 年 9 月 7 日 病害虫防除技術情報 8 号）。

本章では、2007 年以降の MBI-D 剤使用中止後の MBI-D 剤耐性イネいもち病菌率の推移を明らかにし、さらに三重県内の発生拡大要因として考えられた流通種子のいもち病感染程度を調査し、その耐性菌率を明らかにすることを目的とした。

I. 材料および方法

1) 供試菌株

2006 年の MBI-D 剤使用中止後の MBI-D 剤耐性イネいもち病菌率の推移を明らかにするため、2007 年採取いもち病菌株に加え 2008 年および 2009 年に新たに菌株を採取した。菌株は、6 月下旬から 7 月にかけて発病初期の病斑から単孢子分離を行った（Kusaba et al. 2006）。発病初期の病斑から菌株を採取することは、同一菌株のクローンの採取をできるだけ避けるねらいがある。採取地点は、三重県病害虫防除所が三重県内のいもち病発生予察を行うために巡回調査している 80 地点 320 圃場とし三重県内広

域に採取した。その調査圃場で発病した葉いもち病斑を圃場毎に紙封筒に入れ持ち帰り、単孢子分離を行い分離した菌株を乾燥ろ紙で冷凍保存した (Yamagashira et al. 2006)。2008 年と 2009 年の合計 95 菌株のイネいもち病菌分離株は、三重県の 12 市町のなかの 42 地点から集められた。

2) 三重県内における MBI-D 剤使用量の推移

三重県病虫害防除所において、毎年、JA やホームセンター等農薬を取り扱っている業者を対象に販売量調査を行っている。その調査結果から MBI-D 剤を抽出することで、2004 年以降 6 年間の使用面積を算出した。

3) MBI-D 剤耐性イネいもち病菌検定

前章と同様に、Suzuki ら (2007) の方法で抽出した DNA を用いて、V75M 変異があるかどうかを、SDH 遺伝子の PCR 増幅産物における *Xba*I 制限部位の有無で検出した (Kaku et al 2003)。

4) 流通種子のいもち病感染地点率の調査

三重県内で流通種子を生産している採種圃場から生産もみを採取し、ブロッター法により保菌種子を検出した。すなわち、採種圃場 1 地点あたりもみ 250 粒を流水で洗浄後、素寒天培地に並べ、25°C の定温器に 2-3 日静置し、実体顕微鏡 (×60) で分生子形成の有無を観察した。調査地点数は、2010 年産が 88 地点、2011 年産が 109 地点で、合計 197 地点を行った (表 4-1)。

II. 結果

1) 三重県内における MBI-D 剤使用量の推移

MBI-D 剤は 1999 年から使用が始まり、2004 年および 2005 年にはそ

れぞれ 8,560ha、8,010ha と三重県の水田の約 1/3 で利用されていた (図 4-1)。2005 年に MBI-D 剤イネいもち病耐性菌が、三重県で初検出されると、2006 年には MBI-D 剤の利用面積は半減した。2006 年に三重県内広域な菌株採集により、採取菌株のほぼ半数が MBI-D 剤イネいもち病耐性菌であり、広範囲に分布していることが明らかとなった。これを受けて三重県では技術情報 (2006 年 9 月 7 日 病害虫防除技術情報 8 号) に、MBI-D 剤の使用中止を掲載し発表した。このため、MBI-D 剤の使用は、2007 年に 849ha と、2004 年の 1 割程度まで減少した。さらに、2008 年には 222ha、2009 年には 60ha と、MBI-D 剤の使用量が激少していることが明らかとなった。

2) MBI-D 剤耐性イネいもち病菌検定

前章でも述べた通り、2004 年に採取した 9 地点 38 菌株を MBI-D 剤耐性イネいもち病菌検定したところ、すべて感受性菌であった (図 4-2)。しかし、2005 年にわずかに採取した 5 地点ですべて耐性菌であった。それを受け 2006 年に行った広域調査で 43.9% と高率で検出されたことから、2007 年から MBI-D 剤が使用中止となった。その後の耐性菌率の推移は、2007 年は 44.5%、2008 年は 46.8% と採取したほぼ半数の菌株が耐性菌であり、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌率の減少は見られなかった。しかし、2009 年、使用中止 3 年目で耐性菌率 18.8% と MBI-D 剤耐性イネいもち病菌率の減少が認められた。

3) 流通種子のいもち病感染地点率の調査

三重県内で流通種子を生産している採種圃場から生産もみを採取し、ブロッター法により保菌種子を検出したところ (図 4-3)、2010 年、2011 年ともに原種圃からは、イネいもち病保菌種子は認められなかった (表 4-1)。しかし、採種圃からは検出地点率で 4% 前後、検出もみ率で 0.02-0.06%

が検出された。そのうち 2010 年産の 1 地点の採種圃場で、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌を確認した。

III. 考察

殺菌剤耐性菌が発生した場合、その殺菌剤の使用により選択的にその耐性菌が顕在化することは容易に理解できる。問題は、その殺菌剤の使用を中止した場合に、その耐性菌が減るのかどうかである。つまり、殺菌剤の使用条件下のみで、感受性菌株に優位であったのか、殺菌剤の使用の有無にかかわらず優位性が保たれるのかということである。一般にこのことは、適応度が高いあるいは低いといい、先の説明では、前者で適応度が低く、後者は適応度が高いことになる。ここで、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の適応度を知りたいところであるが、鈴木（2006）は、病原力や増殖能力などのバックグラウンドが同じ条件で比較しない限り MBI-D 剤耐性の適応度コストを知ることが困難であるとしている。菌株としての適応度を調べるのが困難であることから、MBI-D 剤使用中止後のイネいもち病菌集団の耐性菌率を調査することで、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の適応度を知ろうと試みた。

まず、三重県内における MBI-D 剤の使用面積について、病害虫防除の資料から抽出してまとめた（図 4-1）。三重県では 1999 年から使用が始まり、7 年目で MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が初確認された。さらに耐性菌が検出される前年と当年には、8,000ha 超える使用面積があり、県内広域で MBI-D 剤が使用されていたことになる。このような広域での連用が MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の顕在化を招いたと考えられた。そして MBI-D 剤の使用量は、2005 年の MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の発生を機に、2006 年には半減、2007 年には 1 割程度使用と激減した。

このように MBI-D 剤の使用が減少した中で、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の検出率も減少するかどうか調査した。第三章で述べた通り、MBI-D

剤に遭遇していない場合、V75M 変異が残ったいもち病菌は認められなかった。このことから MBI-D 剤使用中止後は耐性菌率が下がることが期待された。調査の結果、使用中止後 2 年間は耐性菌率の低下は認められなかったが、2 年間使用中止を続けた 3 年目に耐性菌率の減少が認められた。このことから、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌は野生株と比較し、適応度がいくらか低く、使用しないことで耐性菌率が下がることが明らかとなった。このことは、2001 年に MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が初確認された佐賀県においても同様の傾向であった（山口ら 2005）。すなわち、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が検出された翌年は 70%の耐性菌率と効率であったが、使用中止して 2 年目の 2004 年の葉いもちで約 30%程度までに低下した。また、愛媛県では 2002 年の耐性菌初確認後、2003 年には MBI-D 剤の使用を中止し、2 年目の 2004 年には耐性菌率は 7.1%まで低下している（安永 2006）。これらのことから、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌は、野生株と比較すると適応度が低く、MBI-D 剤の使用を避けることで、いもち病菌の感受性の回復が期待できると考えられた。逆に、連用することで耐性菌率を高めてしまうことから、同一作用点の連用は避けることが耐性菌対策として重要であることが示唆された。

いもち病の主な伝染環が種子伝染であるため、MBI-D 剤耐性菌率を下げるためには流通種子の保菌率を下げる必要がある。この流通種子は、種子伝染病害を蔓延させないために特別に選定された採種農家によって、徹底した防除対策により生産されている。よって、採種圃場での発病は認められない。しかし、前章でも述べた通り流通種子によって耐性菌が拡大しない限り、短期間で同じ遺伝子型の菌株が拡大したことが説明できない。この疑問に答えるため、見た目健全のもみに対して、その保菌率を調査し、さらにその耐性菌率を調査した。その結果、検出もみ率で 0.02-0.06%とわずかではあるが、確かに流通種子にいもち病菌が感染していることを確認できた。そのうちの 2010 年の採種もみからは MBI-D 剤耐性イネいもち病菌も検出された。

このことから、流通種子によって MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が伝搬されていることが明らかとなった。この様な低率ないもち病菌の感染率で、広域に同型の遺伝子型が分布することは難しい様に感じるが、実際に 1ha に播種されるもみの量は約 100 万粒であり、保菌率が 0.02% とすると約 200 粒は存在することになる。これらわずかな感染もみ数ではあるが、1 病斑でも形成できれば多量の胞子を形成できる本病であれば、感染拡大が可能と考えられた。

表 4-1. 流通種子のいもち病検出地点率および検出もみ率

生産年度	項目	調査 地点数	検出地点数 (内耐性菌地点数)	検出地点率 (耐性菌地点率)	検出もみ数 (内耐性菌もみ数)	検出もみ率 (耐性菌もみ率)
2010	原種圃	30	0	0.00%	0	0.00%
	採種圃	58	2 (1)	3.45% (1.72%)	3 (2)	0.02% (0.01%)
2011	原種圃	12	0	0.00%	0	0.00%
	採種圃	97	4 (0)	4.12% (0.00%)	15 (0)	0.06% (0.00%)

※ 1 地点当たり 250 粒調査

※ 2011 年採種圃の検出 4 地点のうち 1 地点 2 もみについて、保存菌が死滅したことにより未確認

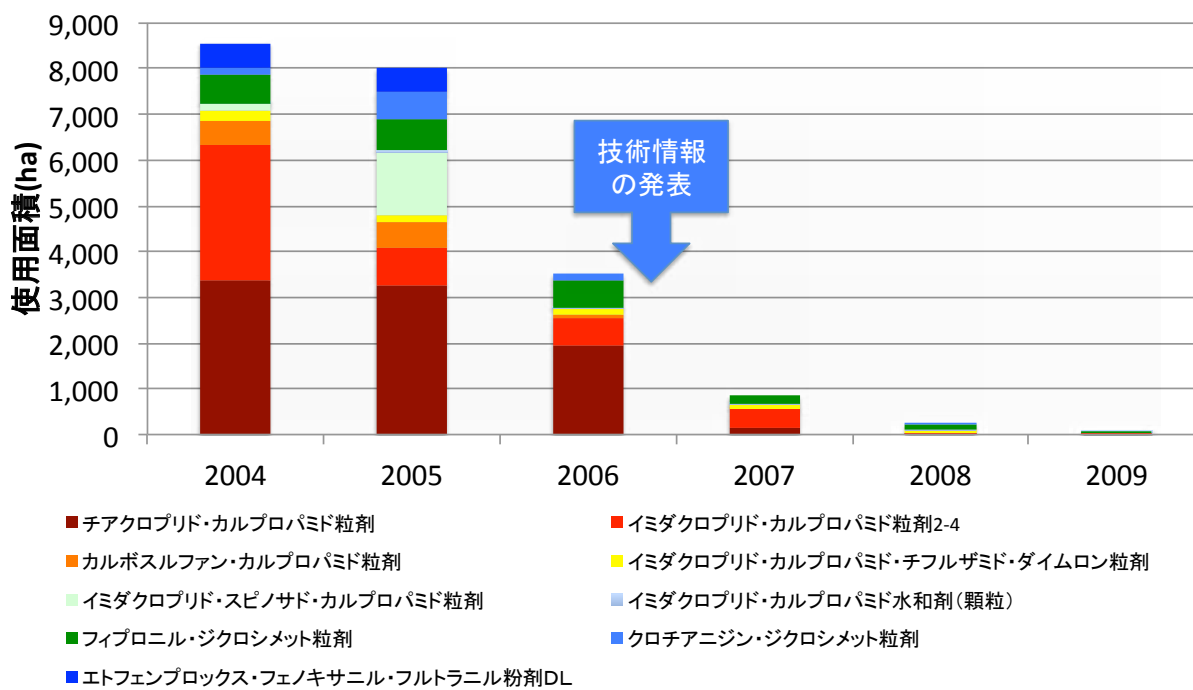


図 4-1. 三重県における MBI-D 剤の使用面積の推移

※ 三重県病害虫防除所調べ

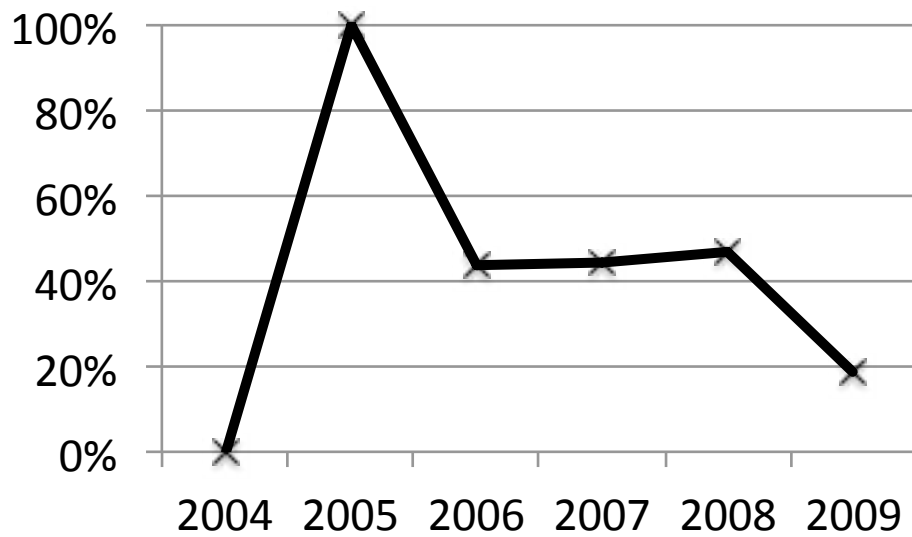


図 4-2. 三重県における MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の検出率の推移



図 4-3. もみからのイネいもち病菌の検出

左図：素寒天培地に並べたもみ

右図：左図の赤矢印のもみを実体顕微鏡（×60）で観察
赤丸内にいもち病菌の分生子

第五章 総合考察

ある殺菌剤に耐性菌が発生しても既存の代替剤や新剤により解決した事例が多く、耐性菌の根本的な解決策には至っていない。今後、新剤の開発が厳しくなれば、今まで以上に薬剤抵抗性の発現リスクを小さくしていくことが必要となる。このような状況のなか、2001年、佐賀県で MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が発生した（山口ら 2002）。すぐに対応策の研究がなされ、MBI-D 剤 3 剤が交さ耐性することが確認され、さらに、MBI-R 剤や、抵抗性誘導剤とは交さ耐性を示さないことが示され代替剤が提案された（宗ら 2002、宗ら 2003）。さらに、種子消毒で、イプロナゾール・銅水和剤にベノミル水和剤を混用して 24 時間種子浸漬する種子消毒法の有効性も報告された（山口ら 2009）。このような対策が示されたにもかかわらず、2010 年には北海道にまで全国のほとんどで MBI-D 剤耐性菌が確認された。このことは、防除効果が低下することによる実害が代替剤により顕在化しなかっただけで、耐性菌の撲滅にはいたっていないことを示唆した。

耐性菌をコントロールし、耐性菌発生のために使用中止した殺菌剤を再利用するためには、伝染源や伝染環などの発生生態を解明することが重要である。過去に、イネいもち病菌については、多くの研究者の努力によってその生態が解明されている。近年、遺伝子型を利用した生態解明の研究が行われ、過去の報告の根拠をより強めている（小倉ら 2000、村松ら 2003、山田ら 2003、笹原ら 2004）。今回、MBI-D 剤耐性菌が発生したことで、遺伝子型だけでなく、MBI-D 剤耐性菌の変異部位をマーカーとして加えることにより、いもち病菌の個体群構造とその動態を追跡することが可能となった。

まず、耐性菌がなぜ発生したかについて、鈴木（2006）は、上市後わずか 3 年ほどで効力低下を引き起こしたことから、新たに耐性遺伝子を獲得

して耐性化したとは考えにくく、本剤の使用前から耐性遺伝子変異がいもち病菌集団内に存在しており、殺菌剤の使用により顕在化した可能性が高いと報告している。その根拠に、*Pot2* rep-PCR によるハプロタイプの多様度を解析したところ、九州地域の耐性菌が、感受性菌の多様度と同程度であることを上げている。しかし、第二章の結果から、三重県菌株の *Pot2* rep-PCR によるハプロタイプの多様度は、耐性菌 Miel の占有により多様度が感受性に比べて低かった。また、九州沖縄地域ではレース 007 が 94% と優占しているため（荒井・中島 2003）、九州地域での病原性レースについての議論はできないが、三重県では 2001 年の全国レース調査においてレース 001：28%、レース 003：21%、レース 005：28%、レース 007：21%、レース 101：3%（小泉ら，2007）と病原性レースが多様であった。その 4 年後のレース構成は、感受性菌で概ね同様な構成なのに対して、耐性菌は約 91% がレース 007 と多様度がかなり低かった。このように九州地域とは異なり、感受性菌に比べ耐性菌の多様度が低いことから、他地域からの侵入の可能性が示唆された。このことは、各地で同時並行的な発生だけでなく、各地で発生した耐性菌が侵入した地域もあると考えられた。安永（2007）は、他県産種子のいもち病菌保菌率が 0.2% で、しかも、MBI-D 剤耐性菌であったことを確認しており、このことから、種子移動による外部からの流入の危険性は十分にあると考えられた。

MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が土着菌の 1 塩基置換で発生したのかあるいは他の地域から侵入したのか、いずれにしても、極低頻度で存在している耐性菌がいかに広がったかについては、流通種子による拡散が考えられた。村松ら（2003）は、秋田県は種子更新が行われている頻度が高いことなどから、これらの過程で少数の遺伝子型のいもち病菌を保菌した汚染種子が種子更新によって県内に広く配布され、それらのいもち病菌が蔓延した可能性が考えられ、これが少数の遺伝子型が県内に広く優占して発生している原因の一つであるとしている。また、荒井ら（2004b）は、流通種子を用いた

圃場での耐性菌発生を確認している。さらに、佐々木ら（2006）は、一部の圃場では同じ遺伝子型の耐性菌が 2 年間にわたり分離され、これらの圃場では種子更新を行っていることを確認している。

前述した通り、流通種子は都道府県による審査が行われており、少なくとも採種圃場での発病は確認されていない。そのような徹底管理された種子により伝染環が維持されているとは、とても信じがたく、本研究を始めた動機でもある。しかし、第二章の試験は、同一遺伝子型による県内広域への拡散を示唆する結果となった。このことを説明するためには上述の村松、荒井、佐々木のように流通種子の保菌を考えるしかない。

MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が検出された都道府県におけるイネいもち病の防除対策は、MBI-D 剤の使用を中止し、他作用点の殺菌剤を使用することを指導している。MBI-D 剤の使用を中止することで、その作用点の感受性が回復するののかについて、木村（2006）は、感受性菌と耐性菌の胞子を所定の割合で混合した後、イネ体に噴霧接種し、罹病イネに隣接するように健全イネを設置し、空気感染による発病を促した(第 2 世代)。これを繰り返すことで世代を重ね、各世代の耐性菌と感受性菌の比率を求めた。その結果、供試したいずれの菌株の組み合わせにおいても 6~7 世代経過後には、採取した病班はすべて感受性菌由来の病斑となることを報告している。また、安永（2006）は、愛媛県において使用中止 2 年目で葉いもちでの検出率が 5% まで激減し、4 年目には検出限界以下になったことを報告している（安永 2007）。さらに、山口ら（2005）は、佐賀県で全県使用中止 2-3 年目に葉いもちでの検出率が約 30% に減少したことを報告している。三重県においても第四章の結果から、使用中止を指導してから 3 年目には 18.8% まで減少した。これらの耐性菌率低下の報告は、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が感受性イネいもち病菌と比較して適応度が低いことを示唆している。よって、MBI-D 剤の使用中止によって、耐性菌率を低下させることが可能であると考えられた。

さらに、どのくらいの耐性菌率になれば再使用可能かについて、山口ら（2005）は、MBI-D 剤(箱粒剤)は、耐性菌が存在しないか、無施用での耐性菌率が数%の低い条件でなければ、実用的な防除効果を示さないとしている。また、本田に耐性菌が存在する条件下で、MBI-D 剤系統の箱粒剤を用いると無施用と比較して葉いもちの耐性菌率が無施用区 4.5%に対して31.6%まで高まったことを報告している。安永（2007）は、前年に MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の検出率が 5%まで低下した愛媛県において、MBI-D 剤を再使用しても、再び高い防除効果を発揮することを確認している。さらに、第三章の結果より、アワ菌、キビ菌などの MBI-D 剤の影響がないいもち病菌について、SDH 遺伝子の変異がないことを確認した。よって、イネいもち病菌において耐性菌が出現しその分布域を拡大したのは、MBI-D 剤という強力な選択圧が存在したためであることが示唆された。このことから、MBI-D 剤の使用を中止することで耐性菌が減少すると考えられた。これらの報告から、モニタリング調査によって前年の耐性菌率が約5%以下で、本年使用種子の耐性菌保菌率が検出限界以下の場合に、再使用可能と考えられる。ただし、耐性菌が検出限界以下であっても存在した場合、MBI-D 剤を使用することで耐性菌率を高めるため、連年使用は避けた方がよいと考えられる。また、MBI-D 剤を使用しなかった場合の耐性菌率の減少を考慮すると、年間ではなく年次で作用点の異なる箱粒剤を使用する防除体系は技術的に有効であると思われる（木村 2006）。

耐性菌が発生したから使用しないでは、いずれ使える殺菌剤が無くなってしまう。耐性菌が発生しても使用できる条件を探索することが望まれる。また、再使用することによって、防除体系次第では耐性菌の再発生も想定される。しかし、簡便化・高度化した検定法が開発され、また高い監視意識と検定体制が整っていれば、苗いもち、葉いもちの段階で検出し、穂いもちの防除で対応することも可能と考えられる。

現在イネいもち病の箱処理剤には、作用点の違いで MBI-D 剤、MBI-R

剤、抵抗性誘導剤および QoI 剤と 4 系統がある。これらを年次の体系防除で使用するが、少なくとも MBI-D 剤を再利用するためには必要と考えられる。

このように、年間や年次での体系防除が有効であるのは、作用点の異なる実用的な殺菌剤が複数ある場合である。しかし、2012 年に山口県を初め、島根県、愛媛県、福岡県、大分県で、QoI 剤に対して耐性菌発生の報告が相次いだ。2001 年に発生した MBI-D 剤耐性菌問題は、収束したというより代替剤によって顕在化しなかっただけで、その分使用頻度の増加した代替剤において新たな耐性菌発生へと、耐性菌問題は拡大している。

本研究において、耐性菌の発生・拡大は、点の存在である耐性菌を、特定の作用点の連用防除により顕在化させ、それを流通種子が拡散させている可能性が示唆された。今回の研究から導きだされた結論は、潜在している耐性菌を顕在化させないため、年間および年次での作用点の異なる殺菌剤による体系防除を行うこと、また、耐性菌を拡散させないため、効果の高い種子消毒を行うことである。

イネいもち病菌が種子伝染であることは古くから報告されているが、未だにその伝染環を止めることができない。流通種子生産体制にかかわる者として責任を感じる一方、今以上の対策があるのかという思いもある。また、種子消毒についても同様の考えを持っている。仮に、流通種子生産および種子消毒が十分であるなら、それでも発生するいもち病は、流通種子以外の伝染環（マイナーな品種、流通種子でない種子の使用、採種もみの貯蔵タンク内感染、漏水もみ、ヒコバエ、乾燥稲藁、中間宿主など）がどこかに存在するのではないかと。新たな伝染環の探索が今後の研究に期待される。それでも、流通種子伝染であるとするならば、採種圃もみを種子消毒してから乾燥貯蔵するとか、種子消毒を浸種前だけでなく、催芽時にも複数回行うとか、更なる防除行程を追加すべきなのか、今後、費用対効果の検証が期待される。

摘要

水稲栽培において最も重要な病害は、*Pyricularia oryzae* によるイネいもち病である。このいもち病菌の殺菌剤として、1998 年、MBI-D 剤による長期残効型箱処理剤が上市され、その防除効果と効果の持続性から全国的に普及が進んだ。しかし、2001 年佐賀県で MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が初確認され、その後西日本を中心に拡大していった。

三重県においても、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌が、2005 年に初確認された。耐性菌の個体群構造と動態を分析するため、2006-2007 年に三重県内の 527 菌株を採取した。集めた菌株のほぼ半分は (233/527 菌株) SDH 遺伝子に薬剤耐性の点突然変異をともなっていた。耐性菌と感受性菌の個体群構造を比較するため、*Pot2* rep-PCR による DNA フィンガープリントを用いて、菌株を分析した。大多数の耐性菌は、一つの DNA ハプロタイプ (Mie1) に分類された。このハプロタイプ Mie1 が三重県内に広く分布しているにもかかわらず、同じハプロタイプの感受性菌は検出されなかった。さらに、DNA フィンガープリントパターンから作成した系統樹の中で、Mie1 と他の 6 つハプロタイプのグループは、耐性菌だけのクラスターを形成した。これらの結果は、ハプロタイプ Mie1 を含むクラスターに属した耐性菌株は、三重県外から移入し、三重県内で短い期間に選択的に増殖したことが示唆された。

次に、MBI-D 剤と遭遇していない菌株において、MBI-D 剤耐性に関わる SDH 遺伝子の変異を調べたところ、V75M 変異を持つものは検出されなかった。すなわち MBI-D 剤耐性を持つ菌株は検出されなかった。MBI-D 剤に遭遇する前のいもち病菌、および遭遇した後のいもち病菌両方の解析結果から、MBI-D 剤耐性を引き起こす SDH 遺伝子の変異は MBI-D 剤がない状況では淘汰されること、すなわち、最近イネ菌において耐性菌が出現し

その分布域を拡大したのは、MBI-D 剤という強力な選択圧が存在したためであることが示唆された。このことから、MBI-D 剤の使用を中止することでいもち病菌に対する選択圧無くなれば、感受性の回復が期待された。

MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の発生した都道府県では、MBI-D 剤の使用中止を指導している。三重県においても、2006 年の広域な発生を確認して 2007 年から使用中止を指導している。その結果、使用中止 3 年目の 2009 年に 18.8%まで低下した。これらのことから、MBI-D 剤耐性イネいもち病菌は、野生株と比較すると適応度が低く、MBI-D 剤の使用を中止することで、いもち病菌の感受性の回復が期待できると考えられた。逆に、連用することで耐性菌率を高めてしまうことから、箱処理剤の場合、年次体系防除を行うことが耐性菌対策として重要である。

謝辞

本論文をまとめるにあたり、懇切、丁寧なるご指導、ご助言と校閲の労を賜った神戸大学大学院農学研究科植物病理学研究室 土佐幸雄教授、佐賀大学農学部植物病制御学分野 草場基章准教授、神戸大学大学院農学研究科植物病理学研究室 中馬いづみ助教に対し深く感謝の意を表す。また、終始懇切、丁寧なるご指導、ご助言を賜った神戸大学大学院農学研究科細胞機能構造研究室 中屋敷均教授、池田健一准教授、さまざまないもち病菌の遺伝子のシーケンス解析とその系統解析において多大なるご支援を賜った神戸大学大学院農学研究科博士課程前期過程 村田暢明氏に深く感謝の意を表す。

試験を進める上で、rep-PCR 法について研修いただき、貴重ないもち病菌 DNA を分譲賜った中央農研 病害虫研究領域 水稻病害抵抗性 PT 主研 鈴木文彦博士に深く感謝の意を表す。また、いもち病のレース検定法を懇切丁寧にご指導いただいた元三重県農業研究所 研究顧問 東正昭博士、新潟県農業総合研究所 作物研究センター 石川浩司氏、堀 武志氏に深く感謝の意を表す。その判別品種を分譲賜った中央農研 企画管理部業務推進室 企画チーム長 安田伸子氏に深く感謝の意を表す。さらに MBI-D 剤耐性菌検定法について研修いただき、貴重ないもち病菌を分譲賜った愛知県農業総合試験場 環境基盤研究部 病害虫研究室 三宅律幸氏、藤田智美氏に深く感謝の意を表す。イネ種子のブロッター法について、丁寧なるご指導、ご助言いただいた佐賀県農業技術防除センター病害虫防除部 山口純一郎氏に深く感謝の意を表す。

また、殺菌剤耐性菌対策の必要性をご教授いただき、殺菌剤耐性菌研究会など耐性菌に関する有益な情報収集の場を提供いただいた農業環境研究所 石井英夫博士に深く感謝の意を表す。

職場では、平素より多くの助言と援助を頂いた三重県農業研究所 黒田克

利主幹研究員兼課長、田口裕美氏、辻朋子氏に深く感謝の意を表す。また、いもち病菌株採取に大変お世話になった三重県病害虫防除所、三重県中央農業改良普及センターおよび各地域普及センター、三重県農業研究所の方々に深く感謝の意を表す。PCR 等の研究手法について、丁寧なるご指導、ご助言を頂いた三重県庁 山本有子氏、三重県農業研究所 橋爪不二夫博士に深く感謝の意を表す。菌株採取地点の分布を GPS データに基づき地図に記載する作業をご支援いただいた三重県農業研究所 山端直人氏、川窪千代氏に深く感謝の意を表す。さらに、試験をサポートしていただいた野内大策氏、小林知佐子氏、井本曜子氏、森田美恵子氏、前田博紀氏に深く感謝の意を表す。

最後に、社会人入学を快く了承し、また、仕事と学業の多忙な生活を支え、応援してくれた最愛の妻と子供たちに深く感謝の意を表す。

引用文献

荒井治喜, 中島 隆. 2003. 2001年に中四国および九州沖縄地域に分布したイネいもち病菌のレース. 九病虫研会報 49:1-4.

荒井治喜. 2004a. MBI-D 剤耐性イネいもち病の発生経過と防除対策. 植物防疫. 58:20-23.

荒井治喜, 鈴木文彦, 中島 隆. 2004b. 九州地域における MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の発生動向と種子来歴や防除薬剤との関係. 九州病害虫研究会. 50:96-97 (講演要旨)

深谷富夫, 保坂 学, 飯富暁康, 若畑昌邦, 小田島誠悟, 柴田 智, 杓沢朋広, 米沢 悟, 庄内玲子. 2001. 秋田県における箱苗のいもち病の発生とその原因. 北日本病虫研報 52:11-13

George, M. L. C., Nelson, R. J., Zeigler, R. S. and Leung, H. 1998. Rapid population analysis of *Magnaporthe grisea* by using rep-PCR and endogenous repetitive DNA sequences. *Phytopathology*. 88:223-229

岩館康哉, 酒井淳一, 石黒 潔. 2005. DNA マーカーを用いたイネいもち病菌個体群の動態解析. 北日本病虫研報 56:19-23

Javan-Nikkhah, M., McDonald, B. A., Banke, S., and Hedjaroude, G. A. 2004. Genetic structure of Iranian

Pyricularia grisea populations based on rep-PCR fingerprinting. Eur. J. Plant Pathol. 110:909-919.

Julie D. Thompson, Desmond G. Higgins and Toby J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucl. Acids Res. 22 (22): 4673-4680.

Kachroo P, Leong SA, Chattoo BB. 1994. *Pot2*, an inverted repeat transposon from the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. Mol. Gen. Genet. 245:339-348

Kaku, K. Takagaki, M. Shimizu, T. Nagayama, K. 2003. Diagnosis of dehydratase inhibitors in melanin biosynthesis inhibitor (MBI-D) resistance by primer-introduced restriction enzyme analysis in scytalone dehydratase gene of *Magnaporthe grisea*. Pest Manag. Sci. 59:843-846

木村教男. 2006. MBI-D 剤耐性イネいもち病菌と感受性菌の諸性質の比較. 第 16 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム. 41-50.

小泉信三, 岩野正敬, 善林 薫, フェ デラ ペーニャ, 園田亮一, 中島敏彦, 荒井治喜, 中島 隆, 宮坂 篤, 芦澤武人, 安田伸子, 野口(辻本)雅子. 2007. 2001 年に日本に分布したイネいもち病菌のレース. 中央農研 研究資料 7:1-63

小林 裕，加藤好光．1962．ビニール被覆畑苗代といもち病に関する試験
(2)本田における罹病苗の葉いもち伝染の状態について．北日本病虫研報
17：39

越水幸男，太田義雄，渡辺 茂，栗林久雄．1966．昭和40年豪雪地帯にお
けるいもち病の実態調査．北日本病虫研報 17:39

Kusaba M, Hirata K, Sumida Y, Yamagashira A, Konagai-Urata
H, Yaegashi H. 2006 Molecule genetic characterization and
host specificity of *Pyricularia* isolates from annual ryegrass in
Japan. Plant Pathol J 5:72-79

村松佳央里，藤 晋一，古屋廣光，内藤秀樹．2003．2000年および
2002年に秋田県に分布したイネいもち病菌の個体群構造．北日本病虫研報．
54:18-22

中島 隆，平八重一之，荒井治喜．2003．種子更新に伴うイネいもち病菌
個体群の交替．九州病害虫研究会報．49:127-128（講要）

生井恒雄，上林千裕，芦澤武人．2006．いもち病罹病イネ株内におけるい
もち病菌の *Pot2* 遺伝子型およびレースの垂直分布．日植病報．72:101-
108

生井恒雄，平田一樹．2007．山形県庄内地方の水田におけるイネいもち病
菌 *Pot2* 遺伝子型とレースの季節的遷移．日植病報．73:188-189（講要）

生井恒雄，大友宏輔．2008．1穂内のいもち病罹病全イネ籾から分離され

た *Pyricularia grisea* の *Pot2* 遺伝子型. 日植病報. 74:340-342

Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70:3321-3323

Noguchi, M. T., Yasuda, N., and Fujita, Y. 2006. Evidence of genetic exchange by parasexual recombination and genetic analysis of pathogenicity and mating type of parasexual recombinants in rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. Phytopathology 96:746-750.

小倉玲奈, 竹内 徹, 白井佳代. 2000. 苗いもちおよび本田初発病斑から分離されたイネいもち病菌の *Pot2* rep-PCR による DNA フィンガープリント. 北日本病虫研報. 51:291

Peakall R, Smouse PE. 2006 GenAlex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Mol. Ecol. Notes 6:288-295

Rohlf FJ. 1998 NTSYS-pc, version 2.0. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Publishing, New York

笹原剛志. 2004. イネいもち病の DNA マーカーを用いた伝染源の解明. 植物防疫. 58 : 511-514.

佐々木直子, 荒井治喜, 鈴木文彦. 2006. 岩手県における MBI-D 耐性イネいもち病菌の rep-PCR 法によるフィンガープリント解析とそれらのレー

ス. 北日本病虫研報 57:10-13.

Sawada H, Sugihara M, Takagaki M, Nagayama K (2004) Monitoring and characterization of *Magnaporthe grisea* isolates with decreased sensitivity to scytalone dehydratase inhibitors. Pest Manag. Sci. 60:777-785

宗 和弘, 富士 真, 岩淵博己, 金山正人, 山口純一郎. 2002. 佐賀県西
北部地区において発生したカルプロパミド低感受性イネいもち病菌に対する
各種薬剤の防除効果. 日植病報. 68:262 (講要)

宗 和弘. 2003. イネいもち病菌の MBI-D 耐性 2. 薬剤感受性検定と防
除対策. 第 13 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム. 37-47

梶原 穂, 田中桂子, 執行拓宇, 久池井豊, 新木康夫, 草場基章, 高垣真喜
一, 永山孝三, 沢田治子. 2002. 佐賀県におけるカルプロパミド低感受性
イネいもち病菌の分布とその対策. 日植病報. 68:262 (講要)

梶原 穂, 高垣真喜一. 2003. イネいもち病菌の MBI-D 耐性 3. 耐性菌
の性質および拡大防止策. 第 13 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム. 59-
68.

鈴木文彦, 荒井治喜, 山口純一郎, 中島 隆. 2004. 九州におけるイネい
もち病菌の MBI-D 耐性と *Pot 2* rep-PCR によるフィンガープリント解析.
九州病害虫研究会. 50:96 (講演要旨)

鈴木文彦. 2006. イネいもち病菌の MBI-D 耐性菌は less-fit (低環境適

応) か? 耐性菌の遺伝的多様性と個体群動態. 第 16 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム. 51-60.

Suzuki F, Arai M, Yamaguchi J. 2006 DNA fingerprinting of *Pyricularia grisea* by rep-PCR using a single primer based on the terminal inverted repeat from either of the transposable elements *Pot2* and MGR586. J. Gen. Plant Pathol. 72:314-317

Suzuki F, Arai M, Yamaguchi J . 2007. Genetic analysis of *Pyricularia grisea* population by rep-PCR during development of resistance to scytalone dehydratase inhibitors of melanin biosynthesis. Plant Dis. 91:176-184

鈴木文彦. 2007. イネいもち病菌の個体群構造解析および検出・定量法の構築. 第 32 回九州部会シンポジウム. 13-34.

鈴木啓史, 黒田克利. 2007. 三重県における MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の発生状況. 関西病虫研報 49:15-16 短報

高垣真喜一, 清水 力, 三浦一郎, 新木康夫, 沢田治子, 宗 和弘, 永山孝三. 2002. イネいもち病菌のカルプロパミド低感受性メカニズムと感受性検定方法. 日植病報. 68:262 (講要)

高垣真喜一, 梶原 穂. 2003. イネいもち病菌の MBI-D 耐性 3.耐性機構と遺伝子診断法. 第 13 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム. 49-57.

Takagaki M, Kaku K, Watanabe S, Kawai K, Shimizu T, Sawada

H, Kumakura K, Nagayama K. 2004 Mechanism of resistance to carpropamid in *Magnaporthe grisea*. Pest Manag. Sci. 60:921-926

武田真一, 1996, 育苗中のイネ葉いもちの伝染源に関する 2、3 の知見. 北日本病虫研報 47:11-14

Tamura, K. Daniel Peterson, Nicholas Peterson, Glen Stecher, Masatoshi Nei, and Sudhir Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Mol. Biol. Evol. 28(10):2731-2739.

山田真孝, 寺内英貴, 石黒 潔, 根本文宏. 2001. *Pot2* rep-PCR DNA フィンガープリントを用いたイネいもち病菌の個体識別法. 北日本病虫研報. 52:250

山田真孝, 根本文宏. 2003. DNA フィンガープリント法を用いたイネ罹病置苗からのいもち病菌拡散の追跡. 北日本病虫研報. 54:15-17

山田真孝, 根本文宏, 石黒 潔. 2004. *pot2* rep-PCR DNA フィンガープリント法を用いた葉いもち病斑の穂いもちに対する感染源としての有効水平的拡散距離の検討. 日植病報. 70:229 (講要)

Yamada M, Kiyosawa S, Yamaguchi T, Hirano T, Kobayashi T, Kushibuchi K, Watanabe S. 1976 Proposal of a new method for differentiating races of *Pyricularia oryzae* Cavara in Japan.

Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 42:216-219

Yamagashira A, Iwai C, Misaka M, Hirata K, Fujita Y, Tosa Y, Kusaba M. 2008 Taxonomic characterization of *Pyricularia* isolates from green foxtail and giant foxtail, wild foxtails in Japan. J. Gen. Plant Pathol. 74:230-241

山口純一郎, 口本文孝, 平八重一之, 宗 和弘. 2002. 佐賀県西北部地区におけるイネいもち病に対するカルプロパミド箱粒剤の防除効果の低下. 日植病報. 68:261 (講要)

山口純一郎, 古田明子, 口本文孝, 宗 和弘. 2003a. MBI-D 系統薬剤耐性イネいもち病菌の種子伝染と佐賀県における耐性菌の発生分布. 日植病報. 69:298 (講要)

山口純一郎. 2003b. イネいもち病菌の MBI-D 耐性 1. 佐賀県における耐性菌の発生経過. 第 13 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム. 29-36.

山口純一郎, 稲田 穂, 古田明子, 口本文孝, 宗 和弘. 2004. 自家採取種籾と本田における MBI-D 系統薬剤耐性イネいもち病菌の発生推移. 日植病報. 70:252 (講要)

山口純一郎, 稲田 穂, 古田明子. 2005. 佐賀県における MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の同剤使用中止下での発生推移と防除効果. 佐賀県研究成果情報.

山口純一郎, 稲田 穂, 古田明子, 鈴木文彦, 荒井治喜, 武田敏幸. 2009.

ベノミル剤と DMI 剤を混用したイネ種子消毒による本田のいもち病発病抑制効果. 九病虫研会報. 55 : 1-6

Yap IV, Nelson RJ. 1996 Winboot: A program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA-based dendrograms. IRRI discussion paper series no. 14. IRRI, Los Ban ~os

安永忠道. 2006. 愛媛県における MBI-D 剤耐性イネいもち病菌の発生と防除対策. 今月の農業. (4) 84-89.

安永忠道. 2007. MBI-D 剤耐性イネいもち病菌 発生変動と薬剤再利用. 今月の農業. (4) 88-92.

吉野嶺一. 1987. 発生生態. 山中 達, 山口富夫編著, 稲いもち病 養賢堂. 東京 191-194