

## 水田圃場におけるイネいもち病菌の病原性突然変異頻度の推定

高橋 真実・芦澤 武人・平八重一之・森脇 丈治

Mami TAKAHASHI, Taketo ASHIZAWA, Kazuyuki HIRAYAE and Jouji MORIWAKI :

Estimating the mutation rate of the rice blast fungus from avirulence to virulence in the paddy field

イネいもち病菌株 (OS99-G-7a, レース007.0) を抵抗性品種 (「ササニシキBL 6号」*Pita*, *Pia*) と罹病性品種 (「ササニシキ」*Pia*, 「コシヒカリ」*Pik-s*) に噴霧接種し, 各品種に生じた罹病性病斑数から突然変異胞子率を求めた。また, 抵抗性品種と罹病性品種を列混植した畑苗代と水田圃場にイネいもち病菌を蔓延させて, 各品種の罹病性病斑数から病原性変異菌の出現頻度を推定した。噴霧接種試験による突然変異胞子率は,  $5.9 \times 10^{-5} \sim 3.2 \times 10^{-4}$ であった。病原性変異菌の出現頻度は, 2007年に実施した畑晩播圃場の試験では $1.6 \times 10^{-5}$ , 2006年の水田圃場の試験では $4.7 \times 10^{-5}$ , 2007年の水田圃場の試験では $8.8 \times 10^{-5}$ と推定された。

Key words : イネいもち病, 突然変異頻度, 真性抵抗性, 病原性変異菌, rice blast, mutation rate, mutant, resistance, *Pita*, *Pyricularia grisea*

### 緒 言

1960年代に外国稲由来の真性抵抗性遺伝子を導入したイネの品種が, 一般圃場において栽培後数年で罹病化する事例が相次いで報告された<sup>6)</sup>。これは, 導入された真性抵抗性を侵害できるイネいもち病菌 (*Pyricularia grisea*) が出現し, 蔓延したためである。

1995年に異なる真性抵抗性を持つ同質遺伝子系統を混合栽培したマルチラインが実用化された<sup>13)</sup>。マルチラインでは, 抵抗性系統の混植によりいもち病の発生を抑制するだけでなく, 罹病化を遅延することが期待される<sup>8,9)</sup>。しかし, 真性抵抗性に対して病原性を示すように突然変異した菌の出現・蔓延の過程が十分に解明されていないため, 罹病化の遅延効果も明確に示されていない。

突然変異頻度は病原性変異菌の動態を予測するために必要とされる基本的な数値である。しかし, これを明らかにするために胞子をイネに注射接種あるいは噴霧接種した試験では, 突然変異頻度が $10^{-6} \sim 10^{-2}$ と著しく異なる数値が報告されている<sup>4,5)</sup>。これらはガラス室内で胞子懸濁液を直接イネに接種して求められた値であり, 圃場での突然変異菌の出現頻度とは異なる可能性がある。

辻本<sup>11)</sup>らは圃場試験により突然変異頻度を $10^{-4}$ としたが, 一度の試験で求められた値であり, 更なる検証が必要と考えられる。そこで, 水田圃場や畑晩播圃場における突然変異菌の出現頻度を推定するとともに, 噴霧接種により推定した突然変異胞子率との比較を行った。本文に先立ち, 「ササニシキBL 6号」および「ササニシキ」の種子を提供していただいた宮城県古川農業試験場の佐々木都彦氏, 葉いもちの発生予察プログラム (BLASTAM)<sup>10)</sup>の解析結果を提供していただいた新潟県農業総合研究所の石川浩司氏, 水稲冷害早期警戒システム (以下, 警戒システム)の解析データを提供していただいた東北農業研究センターの小林隆博士に感謝の意を表する。

### 材料および方法

#### 1. 病原性変異菌の出現頻度の推定法

病原性変異菌の出現頻度 (または突然変異胞子率) は, 清沢の式<sup>5)</sup>に準じる下記の式で求めた。

$$Ms = Ra/Sa$$

ここで,  $Ms$ は病原性変異菌の出現頻度 (突然変異胞子率),  $Ra$ は抵抗性品種の葉身上に生じた株 (苗) あたり罹病性病斑数,  $Sa$ は罹病性品種の葉身上に生じた株

(苗) あたり罹病性病斑数を表す。

## 2. 供試イネとイネいもち病菌株

いもち病菌株は、OS99-G-7a (レース007.0) を用いた。本菌株は、プライマーセット (PjF2 <sup>5'</sup>AGTTGCCTTAGGGCATAGTGT<sup>3'</sup>, PjR1 <sup>5'</sup>TGGTCGCAGATAGGTTAGAAAT<sup>3'</sup>) を使ったPCRにより増幅される約2500塩基対の菌株特異的マーカーにより、他のいもち病菌株との識別が可能である<sup>3)</sup>。上記の菌株に対して抵抗性を示す品種である「ササニシキBL6号」(真性抵抗性遺伝子*Pita*, *Pia*保有)、罹病性を示す品種である「コシヒカリ」(*Pik-s*)あるいは「ササニシキ」(*Pia*)を用いた。種籾は、イブコナゾール・銅水和剤の200倍希釈液に25℃で1日間浸漬して消毒した。

## 3. 噴霧接種試験

種籾は、15℃で5日間浸種後、28℃で1日間催芽させて、育苗培土(ホーネンス培土1号, ホーネンアグリ)を詰めたシードリングケース(長さ15cm, 幅5cm, 深さ10cm, 藤本化学)にケースあたり約50粒を散播し、植物成長調節剤(ウニコナゾールP液剤, 住友化学)の1000倍希釈液をかん注した<sup>12)</sup>。これらのイネは、北陸研究センターの温室内で6~7葉期まで生育させた。「ササニシキBL6号」は50~194ケース、「コシヒカリ」あるいは「ササニシキ」は10ケースずつ試験に用いた。OS99-G-7a菌株の孢子懸濁液(濃度 $8 \times 10^4$ 個/ml, Tween20を0.02%となるよう添加)をケースあたり30ml噴霧した。

孢子形成は、古田ら<sup>2)</sup>の方法に従いオートミール培地表面をブラシでこすり、白色蛍光灯に3日間さらして行った。接種イネは、相対湿度100%の接種箱に20時間静置後、温室で10日間管理した。接種試験は6回繰り返して行った。

*Sa*は、接種7日後に罹病性品種の苗数と罹病性病斑数を数えて算出した。*Ra*は、接種10日後に「ササニシキBL6号」に形成された罹病性病斑数と苗数から求めた。なお、「ササニシキBL6号」の苗数は、無作為に10ケース選び、それらの苗数と試験に用いたケース数から算出した。

また、「ササニシキBL6号」の病斑を採集し、常法により単孢子分離を行い、レースを判別した。これらの菌株について特異的マーカーの検出を行い、マーカーが検出された菌株をOS99-G-7a菌株由来であると判断した。

## 4. 畑晩播試験

2007年に北陸研究センター内の圃場(3a)で試験を行った。区の大きさは6.1m×14mで3反復とした。区内には0.2m間隔で0.7m×14mの大きさの畝を7本設けた。5月24日に、1, 3, 5, 7番目の畝には「ササニシキ」を、2, 4, 6番目の畝には「ササニシキBL6号」を播種した。畝内は、条間0.15mの列を3列設け、噴霧接種試験と同様に催芽させた種籾を畝あたり約250g筋播きした。施肥は、基肥として全窒素、可溶性リン酸、水溶性カリをそれぞれ13%含有した化成肥料を10aあたり115kgと過リン酸石灰を77kg、追肥として硫酸アンモニウムを窒素成分で6月21日に2.4kg、6月26日に5.5kgを施した。

いもち病の伝染源は、パンチ接種苗を用いた。ポリポット(直径9cm, サカタのタネ)60個に「ササニシキ」の催芽籾5粒ずつを播種し、前述のように植物生育調節剤を処理した。6~7葉期まで生育させ、上位2葉を対象にして苗あたり3カ所にパンチ接種<sup>14)</sup>した。孢子形成は、噴霧接種試験と同様な方法で行った。孢子懸濁液は、 $8 \times 10^4$ 個/ml以上となるよう調製後、カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)の粉末を加えて粘性を高めて接種に供した。接種したイネは接種箱に20時間静置後、16日間温室で管理した。6月21日に区あたり300病斑(20ポット)となるように、畝あたり5ポットを「ササニシキ」の畝に区内均等になるように植え込んだ。

病勢進展と*Sa*を明らかにするために、区あたり4地点の「ササニシキ」20苗の罹病性病斑数を調査した。また、「ササニシキBL6号」の罹病性病斑が初めて確認された日にそれらの数の調査と病斑の採集を行った。さらに区あたり3地点を選んで0.5m間に生育した「ササニシキBL6号」の苗数を調査し、各区内の苗数を算出して*Ra*を求めた。そして、その値を同日の*Sa*の値で除して病原性変異菌の出現頻度を求めた。また、噴霧試験と同様に採集した「ササニシキBL6号」の罹病性病斑から単孢子分離を行い、菌株のレースの判別と由来を同定した。

## 5. 水田圃場試験

2006年は上越市柿崎区猿毛(5a)、2007年は上越市西横山(6a)の水田圃場で試験を実施した。2006年は5月26日に、2007年は5月10日に機械移植を行った。2006年は、「ササニシキBL6号」と「コシヒカリ」を条

間30cm株間16cmで、2007年は「ササニシキBL 6号」と「ササニシキ」を条間30cm株間18cmで、列毎に品種が異なるように移植（列混植）した。伝染源は畑晩播試験と同様の方法でパンチ接種した「コシヒカリ」あるいは「ササニシキ」の発病苗を用いた。2006年の試験では3000個の病斑（200ポット）、2007年の試験では3720個の病斑（248ポット）を用いた。いずれの年次も6月19日に圃場全体にほぼ均等に「コシヒカリ」あるいは「ササニシキ」の株間に植え込んだ。追肥は、2006年7月5日と2007年6月27日に硫酸アンモニウムを窒素成分で10aあたり1kg施用し、それ以外の管理は現地の慣行に従った。

病勢進展とSaを明らかにするために、2006年の試験では「コシヒカリ」について4地点で各50株、2007年の試験では「ササニシキ」について5地点で各50株を対象に週に一度罹病性病斑数を調査した。また、「ササニシキBL 6号」において罹病性病斑が最初に確認された日に罹病性病斑数と「ササニシキBL 6号」の全株数を調べてRaを求めた。そして、その値を同日のSaで除して突然変異菌の出現頻度を求めた。また、「ササニシキBL 6号」の病斑を採集し、他の試験と同様に菌株のレースの判別と由来の同定を行った。

## 結 果

### 1. 噴霧接種した幼苗における突然変異胞子率

2006年7月14日の試験では、「ササニシキBL 6号」に罹病性病斑が生じなかったが、その他の試験では、複数の病斑が確認された（第1表）。これらの菌株のレースは、107.0が5菌株、307.0が19菌株であり、OS99-G-7a菌株由来であることが確認された。イネいもち病菌の突然変異胞子率は、 $5.9 \times 10^{-5} \sim 3.2 \times 10^{-4}$ の範囲であった（第1表）。

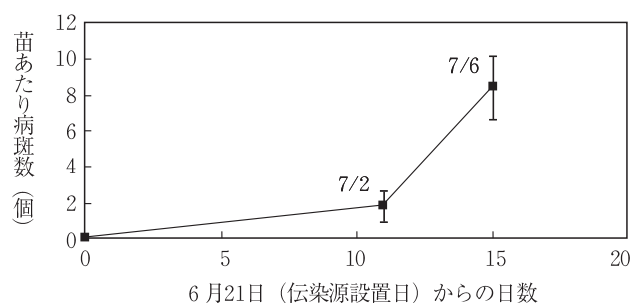
### 2. 畑晩播試験における病原性変異菌の出現頻度

伝染源設置7日後の6月28日に初発生が確認された。11日後（7月2日）の調査では、苗あたり病斑数は1.8個であった。その後降雨日が連続し、いもち病の病勢進展が早く、W型の病斑<sup>15)</sup>（白斑）が多数観察され、「ササニシキ」が枯死する可能性があったため、15日後の7月6日にも調査を行った。このときの苗あたり病斑数は8.4個であった（第1図）。この日に、初めて「ササニシキBL 6号」の葉身上に罹病性病斑を確認した。各区の病斑数は、3, 5, 2個であった（第2表）。これらの病斑は、互いに離れた地点に分布していた。病斑から分

第1表 ササニシキBL 6号に噴霧したイネいもち病菌株OS99-G-7aの突然変異胞子率

接種日 (年/月/日)	罹病性イネ品種	ササニシキBL 6号 の総病斑数	ササニシキBL 6号 の苗の調査本数	罹病イネ品種 苗あたり病斑数	突然変異胞子率
2006/5/29	コシヒカリ	2	2,322 (54)	14.5	$5.9 \times 10^{-5}$
2002/6/23	コシヒカリ	3	1,985 (50)	4.7	$3.2 \times 10^{-4}$
2002/7/14	コシヒカリ	0	4,355 (107)	5.8	$< 4.0 \times 10^{-5}$
2002/8/29	ササニシキ	10	4,811 (194)	27.3	$7.6 \times 10^{-5}$
2003/8/13	ササニシキ	3	5,591 (116)	4.7	$1.1 \times 10^{-4}$
2003/9/11	ササニシキ	6	5,238 (102)	7.5	$1.5 \times 10^{-4}$

注) ( )内はシードリングケースの数を表す。



第1図 畑晩播試験におけるササニシキの苗あたり罹病性病斑数の推移

注) 図中のバーは標準偏差を示す。

離された菌株は、レース107.0が4菌株、307.0が6菌株であり、OS99-G-7a菌株由来であることが確認された。畑晩播試験による病原性変異菌の出現頻度は、 $1.6 \times 10^{-5}$ と推定された(第2表)。

3. 水田圃場試験における病原性変異菌の出現頻度

2006年の試験では、初発生は伝染源設置16日後(7月5日)に認められ、罹病性品種の株あたり病斑数は0.1個であった。23日後(7月12日)には、1.3個となり、30日後(7月19日)には病斑数が著しく増加して20.8個となった。37日後(7月26日)では下位葉が枯死して病斑数が減少し、15.8個となった(第2図)。

7月26日に「ササニシキBL6号」に2地点で合計4個の病斑が認められた。1地点では、1病斑だけが認められたが、もう1地点では0.8m以内の距離にある隣接した3株に3病斑が分布していた。これらの「ササニシキBL6号」の病斑から分離された菌株のレースは、

107.0であり、OS99-G-7a由来であることが確認された。2006年の試験における病原性変異菌の出現頻度は、 $4.7 \times 10^{-5}$ と推定された(第3表)。

2007年の試験では非常に少数の病斑であったが、初発生が伝染源設置6日後の6月25日に認められ、その後の病勢進展が急速であった。10日後(6月29日)には、調査した「ササニシキ」の59%の株に罹病性病斑が認められ、株あたり病斑数は1.2個であった。17日後(7月6日)には、病斑数が著しく増加し、株あたり病斑数は、21.1個となった(第2図)。

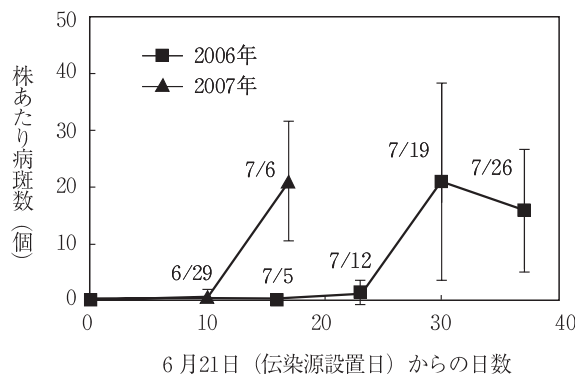
17日後(7月6日)に水田内10地点で合計13個の罹病性病斑が「ササニシキBL6号」上に初めて認められた。これらのうち7個は、それぞれが離れて分布していたが、6個の病斑は、2個ずつ互いが0.7m以内の距離の隣接株や近接株上に分布していた。これらの10地点の病斑から分離された菌株のうち、8地点の11個の病斑から分離された菌株ではOS99-G-7aの菌株特異的のマーカ

第2表 ササニシキBL6号およびササニシキを使用した畑晩播試験におけるイネいもち病菌株OS99-G-7aの病原性変異菌の出現頻度

試験区	ササニシキBL6号の病斑数	ササニシキBL6号の苗本数	ササニシキの苗あたり病斑数	病原性変異菌出現頻度
1	3	22,932	9.0	$1.5 \times 10^{-5}$
2	5	26,107	9.9	$1.9 \times 10^{-5}$
3	2	24,948	6.4	$1.3 \times 10^{-5}$
平均	3.3	24,662.3	8.4	$1.6 \times 10^{-5}$

第3表 ササニシキBL6号と罹病性品種(コシヒカリ, ササニシキ)を使用した水田圃場試験におけるイネいもち病菌株OS99-G-7aの病原性変異菌の出現頻度

年	圃場面積(a)	ササニシキBL6号の総病斑数	ササニシキBL6号の総株数	罹病品種の株あたり病斑数	突然変異菌の出現頻度
2006	5	4	5,427	15.8	$4.7 \times 10^{-5}$
2007	6	11	5,904	21.1	$8.8 \times 10^{-5}$



第2図 水田圃場試験における罹病性品種の株あたり罹病性病斑数の推移

注) 2006年はコシヒカリ, 2007年はササニシキを用いた。図中のバーは標準偏差を示す。



が検出されたが、2地点の2個の病斑からの分離菌株では認められなかった。菌株特異的マーカーが検出された分離菌株のレースは6地点の9菌株が107.0であり、2地点の2菌株が307.0であった。菌株特異的マーカーが検出されない菌株のレースは、307.0と337.1であった。以上の結果から、病原性変異菌の病斑はOS99-G-7a菌株の特異的マーカーを持つ11個とした。2007年における病原性変異菌の出現頻度は、 $8.8 \times 10^{-5}$ と推定された(第3表)。

## 考 察

「コシヒカリ」を用いた3回の噴霧接種試験のうち、「ササニシキBL6号」に罹病性病斑が認められた2回の試験での突然変異孢子率の平均は $1.9 \times 10^{-4}$ であった。「ササニシキ」を用いた3回の試験の平均は、 $1.1 \times 10^{-4}$ であった。品種が異なっても突然変異孢子率には、差がほとんど見られなかった。

岩野<sup>4)</sup>は、レース001.0のいもち病菌をレース判別品種に噴霧接種して求めた突然変異孢子率は、 $3.7 \times 10^{-6} \sim 4.3 \times 10^{-5}$ と報告している。清沢<sup>5)</sup>は、注射接種による突然変異孢子率は $2.2 \times 10^{-3} \sim 2.6 \times 10^{-1}$ の範囲であることを示した。このように、突然変異孢子率の値にばらつきがあるが、これには、接種方法の違いが影響している可能性がある。本試験で噴霧接種によって求められた突然変異孢子率は、同じ噴霧接種で試験を行った岩野の結果に近く、注射接種による清沢の結果より低かった。

本噴霧接種試験による突然変異孢子率は畑晩播試験や水田圃場試験における頻度よりも高い傾向があった。この理由は不明であるが、噴霧接種では、温室で育てた軟弱な幼苗で試験を行うため、圃場では感染できないような病原力の弱い突然変異菌が抵抗性品種に病斑を形成した可能性がある。また、濃度が高い孢子懸濁液を接種したため、罹病性品種上に生じる病斑数が限られてSaの値が小さくなり、突然変異孢子率が高くなった等の可能性も考えられた。

辻本ら<sup>11)</sup>は、病原性変異菌の出現頻度の値を畑晩播試験では $2.6 \times 10^{-4}$ とし、水田圃場での試験では $1 \times 10^{-4}$ として本試験結果より高い値を報告した。これは、伝染源として噴霧接種した幼苗を用いたため、試験圃場に持ち込まれた多数の病斑の中に病原性変異菌が形成した病斑が含まれていた可能性が考えられる。本試験は、畑晩播試験では900個、水田圃場試験では3000個あるいは3720個のパンチ接種による限られた数の病斑を伝染源と

した。いずれの圃場試験においても、第1世代の病斑が形成されたと考えられる調査日には、「ササニシキBL6号」上に病斑が認められず、病原性変異菌の病斑を伝染源として持ち込んだ可能性は低いと考えられた。

畑晩播試験や水田圃場試験のように試験期間中にいもち病菌が世代を重ねる場合、1回の突然変異に起因する病原性変異菌が抵抗性品種上に複数の病斑を形成する可能性がある。すなわち、罹病性品種上で病斑を形成する途中で突然変異が起こり、これに由来する突然変異孢子が多数形成される場合や、突然変異した孢子が一旦罹病性品種上で病斑を形成した後に、抵抗性品種に感染する場合が考えられる。2006年の試験では、2地点で「ササニシキBL6号」上に病斑が認められたが、1地点では、互いの距離が0.8m以内の近接した株に3病斑が存在していた。2007年の試験では、3地点で互いの距離が0.7m以内に2病斑がみられた。圃場内で1～2個の病斑を伝染源として形成される次の世代の病斑の多くは約 $1 \text{ m}^2$ の範囲内に分布するとされている<sup>7)</sup>。また、噴霧接種による突然変異孢子率は既報では $10^{-6} \sim 10^{-5}$ <sup>4)</sup>、本試験では $10^{-5} \sim 10^{-4}$ の低い値であり、別の突然変異が圃場内で近接して起こった可能性は極めて低いと考えられた。これらの理由から、本試験で1地点に近接して存在した複数の病斑は、1回の突然変異によって生じた病原性変異株である可能性が高いと考えられた。

本試験で得られた病原性変異菌の出現頻度は、その推定方法からみて圃場内に発生した病斑数に対応した値と言える。一般圃場内の病斑数は、本試験のように一部のイネの株あたり病斑数を調査することにより比較的簡単に推定値を得ることができる。よって本試験の出現頻度は、一般圃場での病原性変異菌の出現予測を行う上で十分活用できる値と考えている。しかし、生物学一般では、突然変異率は世代あたりで求められており、いもち病菌においても同様な数値が求められることが理想的である。圃場試験では、生じた病斑の世代を区別することが難しく、世代をコントロールしながらいもち病菌を増殖させることも不可能なので、通常は1世代分の試験結果から病原性変異菌の出現頻度を求めることができない。しかし、試験条件に恵まれた場合には病斑数の調査結果と感染好適日の推定から、各試験における世代を推察し、世代あたりの突然変異頻度を求めることができると考え、これを試みた。

2007年の畑晩播試験では、病勢進展が急激であった。いもち病の潜伏期間は6～11日間<sup>1)</sup>とされていることが

ら、伝染源から感染して圃場内で生育した株にはじめて認められた病斑を第1世代とすると、病原性変異菌の出現頻度を求めた伝染源設置15日後（7月6日）の病斑は第2世代までに限られる。BLASTAM<sup>10)</sup> (Ver.6.1.0.0)のAMeDAS観測地点の高田のデータによる判定結果と、警戒システムによる稲田（北緯37°6′59″，東経138°16′13″）の判定結果を病勢進展の調査結果と照らし合わせ、いもち病の潜伏期間を考慮して考察した結果、伝染源を設置した6月21日と6月29日に感染が起こったと推察される。6月29日は感染好適日と判定されていないが、前5日間平均気温が22.1℃，連続湿潤時間が8時間と推定されており感染が起こりうる条件であった。

2006年の水田圃場試験では、病勢進展が緩慢で、初発生から病原性変異菌の出現頻度を予測した日まで21日間を要した。上越市柿崎区猿毛に近接するAMeDASの観測地点である大潟と柏崎のBLASTAMによる判定結果、警戒システムによる柿崎（北緯37°15′13″，東経138°28′11″）の判定結果と病勢進展の調査の結果から、6月27日，7月6日，7月10日，7月13日，7月17日，7月18日に感染が起こり，病斑が形成された可能性がある。

2007年の水田圃場試験では，6月19日に伝染源を設置後「ササニシキ」にいもち病が急速に蔓延し，7月6日に「ササニシキBL6号」上で病斑が認められた。いもち病菌の潜伏期間を考慮すると7月6日までに形成された病斑は第2世代までに限られる。また，6月29日から7月6日までに著しく病斑数が増加したことから，第2世代の病斑が生じた可能性が高いと考えられる。試験を行った上越市西横山を挟むAMeDASの観測地点である能生と高田のBLASTAMの判定結果と，警戒システムによる西横山（北緯37°7′44″東経138°8′8″）の判定結果から，6月21日に伝染源から飛散，感染が起こり，形成された第1世代の病斑の胞子が湿潤7時間と推定された6月29日に感染した可能性が高いと考えられた。

以上のように2006年の試験では世代の推定が困難であったが，2007年の畑晩播試験と水田圃場試験では，突然変異頻度を推定した日の病斑が第2世代までに限られており，気象条件から各調査日に形成されていた病斑の世代を推察できた。このため世代あたりの突然変異菌の出現頻度が推定可能であった。2007年の畑晩播試験では，*Ra*を「ササニシキ」に生じた第1世代および第2世代の株あたり罹病性病斑数（7月6日の株あたり罹病性病斑数）から第1世代の株あたり罹病性病斑数（7月

2日の株あたり罹病性病斑数）を差し引いた数で除して世代あたりの突然変異頻度（突然変異数/世代）を求めた。各区の突然変異頻度は， $2.0 \times 10^{-5}$ ， $2.4 \times 10^{-5}$ ， $1.5 \times 10^{-5}$ であり，突然変異頻度は $2.0 \times 10^{-5}$ と推察された。また，2007年の水田圃場試験では，突然変異数8を「ササニシキBL6号」の総株数で除した値を，「ササニシキ」に生じた第1世代および第2世代の株あたり罹病性病斑数（7月6日の株あたり罹病性病斑数）から第1世代の株あたり罹病性病斑数（6月29日の株あたり罹病性病斑数）を差し引いた値で除して求めた。これによって世代あたり突然変異頻度は， $6.8 \times 10^{-5}$ と推察された。2007年の畑晩播試験，水田圃場試験の世代あたり突然変異頻度はいずれも $10^{-5}$ のオーダーであった。これらの試験では抵抗性品種に生じた株あたり病斑数を罹病性品種に生じた病斑で除して求めた出現頻度も $10^{-5}$ のオーダーであり違いがなかった。

本試験では，供試菌株としてOS99-G-7aを使用した。この菌株は，日本の一般水稻栽培圃場から分離されたものである。また，ろ紙法により保存されており長期間にわたる継代を行っていないことから，保存中に性状が変化した可能性は低い。著者らは，日本各地の分離株の非病原性遺伝子の一つである*AVR-Pita*遺伝子を解析中であるが，各菌株の*AVR-Pita*の塩基配列はOS99-G-7aとほとんど違いがなく，*Pita*に対して病原性を獲得した菌の多くはOS99-G-7aの突然変異菌株と同様に遺伝子欠失を起こしているという結果を得ている。このことから，日本の水田圃場では，ほぼ同様なメカニズムでいもち病菌の病原性獲得が起こると推察され，病原性変異菌の出現頻度は他の日本産菌株においてもOS99-G-7aを供試菌とした場合とほとんど違いはないと考えている。本試験では，圃場における病原性変異菌の出現頻度を可能な限り高精度に推察することを試みた。さらに解析を進め病原性変異菌に関する情報を得るために，対象として非病原性遺伝子が単離されている真性抵抗性*Pita*を選んだ。他の真性抵抗性遺伝子に対する病原性変異菌の出現頻度が本試験の値と異なる可能性を否定はできないが，岩野ら<sup>4)</sup>の噴霧接種の結果では，各判別品種に対する病原性変異菌の出現頻度の値は $3.7 \times 10^{-6} \sim 4.3 \times 10^{-5}$ とほぼ10倍の範囲内であり，大きな差がない可能性が高いと考えられた。

圃場における病原性変異菌の出現頻度を推定する場合，圃場内に出現した突然変異菌による病斑数を精確に評価することが重要である。しかし，試験圃場の抵抗性

品種を侵害できる菌の周辺圃場からの飛び込みや、病原性変異菌が世代を重ねることによって病原性変異菌の病斑数が多く評価される危険性がある。本試験では、特異的マーカーにより菌株の識別が可能なイネいもち病菌株を用いて本菌由来の病原性変異菌であるか確かめた。実際に2007年の水田圃場試験では、「ササニシキBL 6号」の病斑から分離された2菌株が、OS99-G-7a菌株に特異的なマーカーを保有しておらず、周辺圃場からの飛び込みによる可能性が高いと推察された。また、圃場の罹病性品種での葉いもちの病勢進展を調べ、くまなく圃場を歩きながら観察して病原性変異菌が認められた最初の日の病斑数をもとに出現頻度を推定した。特に、2007年の畑晩播と水田圃場の試験では、第2世代までの病斑で出現頻度を推定しており、突然変異菌が世代を重ねて増殖した可能性は低いと考えられた。このように今回の試験では、病原性変異菌の出現頻度に影響を及ぼす要因をできるだけ排除しており、その結果は既報より精度が高いと考えられる。今後、この病原性変異菌の出現頻度の推定値がマルチラインにおけるいもち病の病勢進展の予測や抵抗性品種の罹病化の予測等に利用されることを期待している。

### 引用文献

- 1) 藤田佳克・鈴木穂積 (1983) イネいもち病の伝染源としての胞子形成に対する温度、遮光、人工降雨の影響. 北日本病虫研報 34:81~83.
- 2) 古田 力・関口義兼 (1967) いもち病菌の胞子形成法. 植物防疫 21:160~162.
- 3) 平八重一之・藤本知子・山口純一郎・中島 隆・藤田佳克 (2008) イネいもち病菌株Kyu9439013およびOS99-G-7aを個体識別するDNAマーカー. 九病虫研究会報 54:1~6.
- 4) 岩野正敬 (1987) イネいもち病菌の病原性変異と病原性変異菌の病原力. 北日本病虫研報 38:5~9.
- 5) 清沢茂久 (1966) いもち病菌の病原性の自然突然変異について. 植物防疫 20:159~162.
- 6) 清沢茂久・榎淵欽也・渡辺進二 (1975) いもち病抵抗性育種および育種研究の現状と問題点[1]. 農および園 50:25~30.
- 7) 小林次郎 (1984) 発生初期における葉いもちの疫学的研究. 秋田農試研報 26:1~84.
- 8) 小泉信三 (1983) イネいもち病菌のレース対策としての多系品種利用の可能性と問題点 (1). 植物防疫 37:477~480.
- 9) 小泉信三 (1983) イネいもち病菌のレース対策としての多系品種利用の可能性と問題点 (2). 植物防疫 37:548~551.
- 10) 越水幸男 (1988) アメダス資料による葉いもち発生予察法. 東北農試研報 78:67~121.
- 11) 辻本雅子・安田伸子・藤田佳克・平八重一之 (2002) イネいもち病菌の野外における病原性変異菌出現率. 日植病報 68:172.
- 12) 大場淳司 (2002) 植物成長調整剤(矮化剤)で処理したイネいもち病菌レース判別品種の宮城県における適応性. 北日本病虫研報 53:37~40.
- 13) 笹原剛志・長田 茂・内藤秀樹 (1998) 1996年に宮城県のササニシキBL作付け地域に分布したイネいもち病菌レース. 北日本病虫研報 49:8~11.
- 14) 山口富夫 (1980) イネのいもち病と抵抗性育種(山崎義人・高坂淖爾編), 140~174, 博友社, 東京.
- 15) 鎧谷大節 (1955) 葉稲熱病の感染に就いて. 枋内吉彦・福士貞吉両教授還暦記念論文集, 197~201, 枋内・福士両教授還暦記念論文集刊行会, 札幌.  
(2008年11月21日受理)