

微生物遺伝資源利用マニュアル（6）

—イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌—

月 星 隆 雄

MAFF Microorganism Genetic Resources Manual No. 6

Graminicolous *Drechslera*, *Bipolaris* and *Exserohilum* species

平成 11 年 2 月

February, 1999

農 業 生 物 資 源 研 究 所

National Institute of Agrobiological Resources
Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan

目 次

1. はじめに	1
2. イネ科植物寄生性 <i>Drechslera</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohilum</i> 属菌について	2
1) 分類学的位置づけ	2
2) <i>Drechslera</i> 属菌 (有性世代 <i>Pyrenophora</i> 属)	2
3) <i>Bipolaris</i> 属菌 (有性世代 <i>Cochliobolus</i> 属)	6
4) <i>Exserohilum</i> 属菌 (有性世代 <i>Setosphaeria</i> 属)	6
3. MAFF ジーンバンクが保存している <i>Drechslera</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohilum</i> 属菌	7
4. MAFF ジーンバンクが保存している菌株の特性	16
1) 交配型	16
2) レース	17
3) 毒素産生性	18
5. 病害サンプルの採集および菌の分離・接種・保存法	22
1) 野外でのサンプル採集	22
2) 菌の分離	23
3) 孢子形成	24
4) 接種	25
5) 保存	25
6. 菌の同定	26
1) 種の同定基準	26
2) 種の同定を行うときの留意点	27
7. 引用文献	27

1. はじめに

月 星 隆 雄*

イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌は、イネ、ムギ類をはじめとして、イネ科飼料作物や牧草などに、激しい葉枯れ、株枯れ、斑点などのいわゆるヘルミントスポリウム病を引き起こす重要な病原糸状菌類として古くから知られている。これらの病害の中では、イネごま葉枯病など栽培慣行の変化で発生が減っている病害もある一方で、畜産・酪農産物の需要が高まる中で重視されてきているデントコーン、ソルガム、ライグラスといった牧草・飼料作物で突如として大発生し、大きな減収をもたらすことがある。また、イネ科雑草の病害としても重要で、雑草の枯死などを引き起こすこともあるため、菌体あるいは毒素などの抽出物が微生物除草剤として利用されることもある。

本菌群は植物に対する宿主特異的毒素をはじめとして、様々な抗菌性あるいは生理活性物質を産生することでも知られる。毒素の単離・構造決定に加えて、産生遺伝子の遺伝様式の解明、遺伝子のクローニングなど植物病理学上重要な研究も数多く行われている。また、植物側の抵抗性および罹病性の制御遺伝子もよく研究されており、その作用機作の解明および遺伝子の単離など先駆的な研究も多い。さらに胞子が大型で扱いやすく、培養も容易であるため、農薬の効力検定のスクリーニングなどに用いられることもある。

自然界での微生物の多様性が解明されるにつれ、微生物の様々な環境に対応した驚くべき特質が明らかになりつつある。従って、微生物の探索・保存は将来の産業への応用を考えれば、益々重要性を増してきている。ここでは MAFF ジーンバンクで多くの研究者により探索・蓄積されたイネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌について、収集された菌種の整理を行い、毒素産生を初めとした様々な特性の検定方法および結果をまとめた。この内容をもとに MAFF ジーンバンクで所蔵する本菌群が研究や産業にさらに利用・応用されることを期待したい。

* 農業環境技術研究所 微生物特性・分類研究室

2. イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌について

1) 分類学的位置づけ

イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌は不完全菌亜門(Deuteromycotina), 不完全糸状菌綱(Hyphomycetes), 暗色糸状菌科(Dematiaceae)に属し, 淡褐色から褐色に着色し, 楕円形から紡錘形のポロ型分生子(分生子柄上の小孔から形成され, 分生子外壁は分生子柄内壁により構成される)を形成する菌群である。分生子は3-12室程度の細胞からなるが, 隔壁は一部の例外を除き真性隔壁ではなく, 各室が独立しているため隔壁のように見えることから偽隔壁と呼ばれる。有性世代は子実菌門(Ascomycota), 小房子の菌綱(Loculoascomycetes), プレオスポラ科(Pleosporaceae)に属するが, 自然界で発見されることは比較的少ない。

この菌群は当初ヘルミントスポリウム(*Helminthosporium*)属として一括して扱われていたが, 研究が進むにつれ, *Drechslera*, *Bipolaris* および *Exserohilum* の3属からなるイネ科植物寄生性の菌群と *Helminthosporium* 属菌とに大別されるようになった(上山ら 1978)。上記4属はそれぞれ有性世代および分生子の形態が全く異なり, 現在ではいわゆるヘルミントスポリウム菌群の明確な分類基準として世界で受け入れられている。*Helminthosporium* 属菌は菌糸から直立した形で, 真直な分生子柄を形成し, 分生子は分生子柄上に頂生し, その下の部分に多数の孢子が輪生して形成される。病原菌としては樹木の腐朽病菌, ジャガイモの銀か病菌などに代表される(津田 1992)。これに対してイネ科植物寄生性の菌群では, 菌糸との区別がやや不明瞭な分生子柄が分生子を1個ずつ形成しながら伸びていく。このため, 分生子柄は多数の分生子痕を残して, 曲折する。

イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌群による病害としてはトウモロコシごま葉枯病, ソルガム紫斑点病など, 葉に発生する葉枯・斑点病が代表的なものである(写真1)。わが国で発生している本菌群は主に各種イネ科植物の葉枯・斑点病菌の他(表1), サボテン茎腐病菌として知られ, 海外ではゴムの木やパパイヤからも分離されている。病原菌の生活史は, 飛散した分生子が地上部につき, 発芽して付着器を形成して植物組織内に侵入し(写真2), 菌糸でまん延した後に, 病斑の分生子柄上に分生子を形成し, これが風雨により飛散し, 二次感染源となる。寄主範囲はごく狭いものから, 広い範囲の植物を侵すものまで様々である。*Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 各属菌の形態および特性は以下の通りである。

2) *Drechslera* 属菌(有性世代 *Pyrenophora* 属)

イネ科植物の中でも寒地型のC₃植物(光合成においてCO₂の受け取りがカルビン回路による植物, 形態的にもC₄植物との相違は大きい)に寄生するものが大多数を占める(表1)。分生子柄は直立あるいは湾曲する。分生子は円筒形から倒棍棒形, はば真直で, 大きさは小型の分生子で数十μm, 3-4隔壁, 大型のもので100-200μm, 10隔壁以上に達する(図1A)。孢子基端部にはへそ(分生子柄からの離脱痕)があり, 内壁に沈在する。分生子の色は *Bipolaris* 属, *Exserohilum*

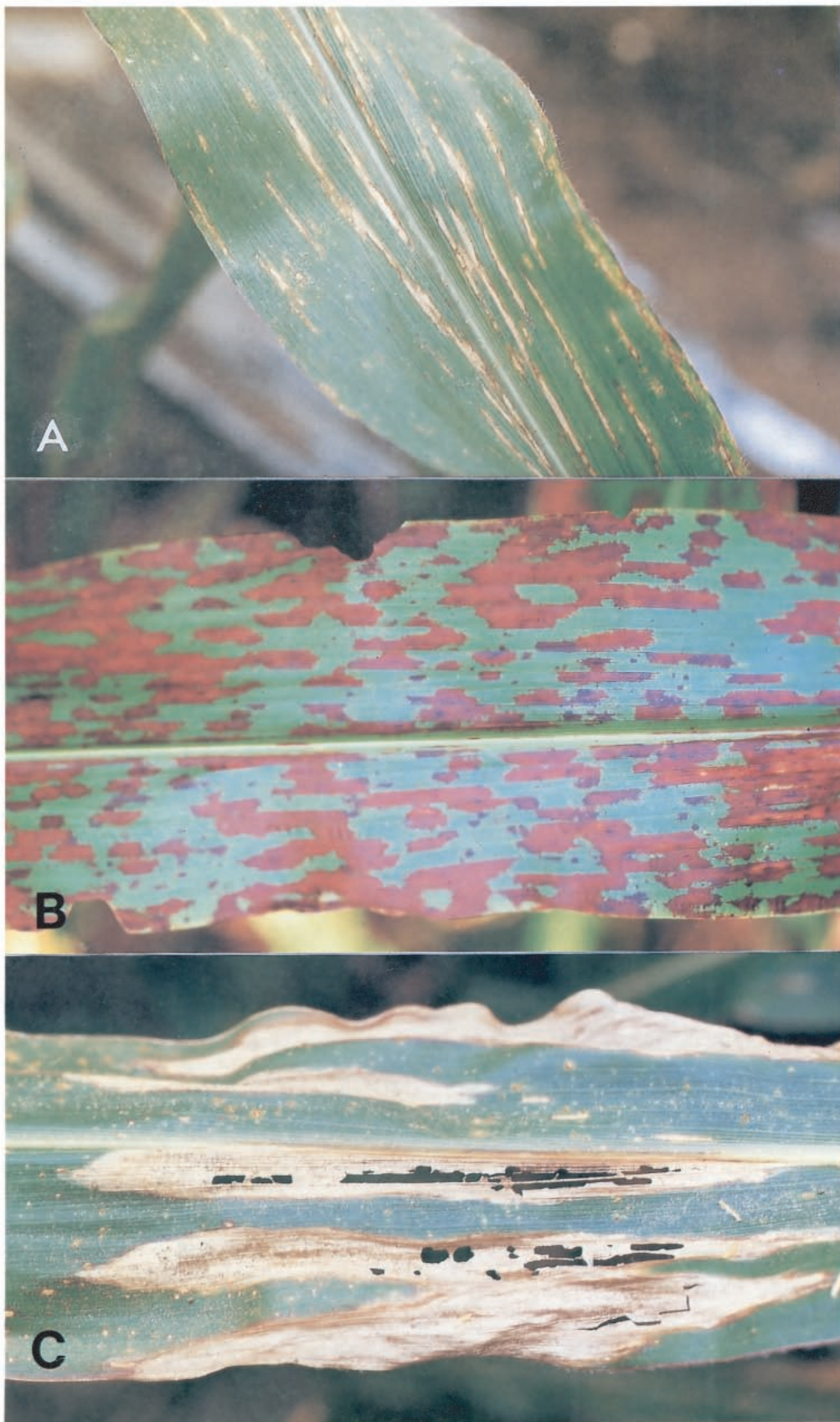


写真1. 代表的なヘルミントスポリウム病の病徴

A: トウモロコシ北方斑点病 (レース3), B: ソルガム紫斑点病, C: トウモロコシすす紋病

表1. 日本で発生しているイネ科植物寄生性ヘルミントスポリウム病*

病原菌 (学名)	病 名
<i>Drechslera avenacea</i> (Curt. : Cke.) Shoem.	エンバク葉枯病
<i>Drechslera bromi</i> (Died.) Shoem.	ブロムグラス褐斑病
<i>Drechslera dactylidis</i> Shoem.	オーチャードグラス夏葉枯病
<i>Drechslera dematioidea</i> (Bub. & Wrob.) Subram. & Jain	スイートバーナルグラス葉かび病
<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechs.) Shoem.	フェスク, ライグラス網斑病
<i>Drechslera erythrospila</i> (Drechs.) Shoem.	レッドトップ斑点病
<i>Drechslera fugax</i> (Wallr.) Shoem.	レッドトップ長葉枯病
<i>Drechslera gigantea</i> (Heald & Wolf) Ito	ノシバ環紋病
<i>Drechslera graminea</i> (Rab. : Schlecht.) Shoem.	オオムギ斑葉病
<i>Drechslera noblea</i> Mckenzie & Matthews	フェスク, ライグラス縁枯病
<i>Drechslera phlei</i> (Graham) Shoem.	チモシー葉枯病
<i>Drechslera poae</i> (Baudys) Shoem.	ブルーグラス褐斑病
<i>Drechslera siccans</i> (Drechs.) Shoem.	フェスク, ライグラス斑点病
<i>Drechslera teres</i> (Sacc.) Shoem.	オオムギ網斑病
<i>Drechslera tritici-repentis</i> (Died.) Shoem.	コムギ黄斑病
<i>Drechslera tuberosa</i> (Atk.) Shoem.	オオムギすす紋病
<i>Bipolaris australiensis</i> (Ellis) Tsuda & Ueyama	ローズグラス毛すじ病
<i>Bipolaris buchloe</i> (Lefeb. & Johnson) Shoem.	バッファログラスすす葉枯病
<i>Bipolaris chloridis</i> (Alcorn) Alcorn	ローズグラスすす葉枯病
<i>Bipolaris coicis</i> (Nisik.) Shoem.	ハトムギ, ジュズダマ葉枯病
<i>Bipolaris cynodontis</i> (Marig.) Shoem.	バミューダグラス白枯病
<i>Bipolaris maydis</i> (Nisik. & Miyake) Shoem.	トウモロコシごま葉枯病
<i>Bipolaris nodulosa</i> (Berk. & Curt.) Shoem.	シコクビエすす葉枯病
<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoem.	イネごま葉枯病
<i>Bipolaris panici-miliacei</i> (Nisik.) Shoem	キビ長斑点病
<i>Bipolaris sacchari</i> (Butl.) Shoem.	サトウキビ眼点病, パールミレットごま葉枯病
<i>Bipolaris setariae</i> (Saw.) Shoem.	アワごま葉枯病
<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sherw.) Alcorn	ソルガム紫斑点病
<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc. : Sorok.) Shoem.	オオムギ, コムギ, ライムギ, トールオー トグラス, フェスク, ブロムグラス, ベル ベットグラス斑点病, ホイートグラス褐斑 病, ライグラス夏斑点病
<i>Bipolaris stenospila</i> (Drechs.) Shoem.	サトウキビ褐条病
<i>Bipolaris yamadai</i> (Nisik.) Shoem	キビ円斑病
<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoem.	トウモロコシ北方斑点病
<i>Exserohilum frumentacei</i> (Mitra) Leonard & Suggs	テフグラスすす葉枯病
<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leonard & Suggs	ヒエ, シコクビエ葉枯病
<i>Exserohilum rostratum</i> (Drechs.) Leonard & Suggs	パニカムごま葉枯病
<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ, ソルガムすす紋病

* : 野草類の病害および未同定種は除く。

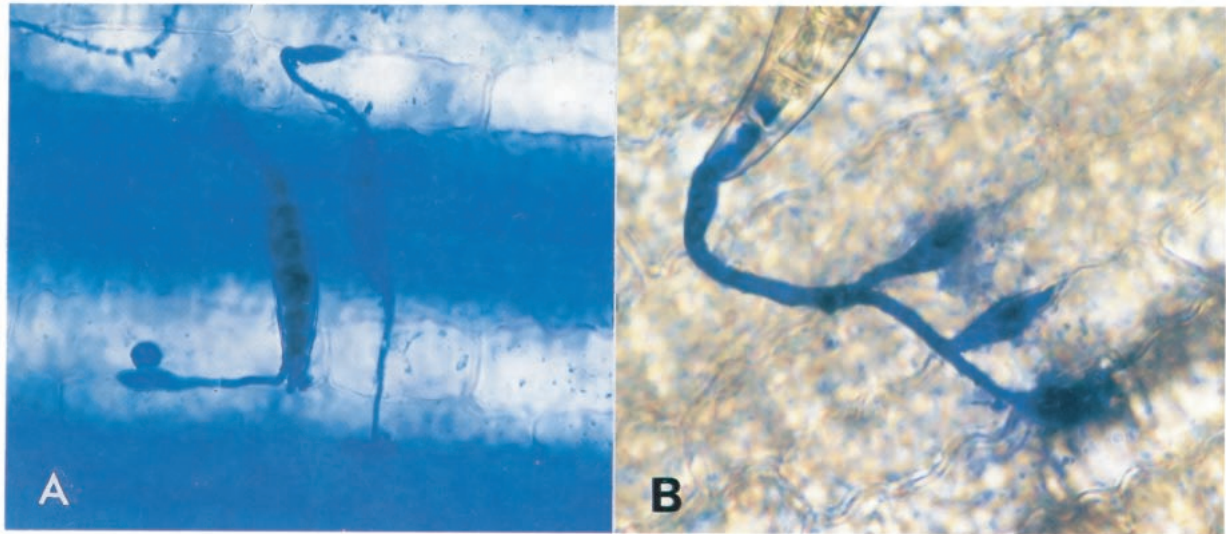


写真2. *Bipolaris* 属菌の分生子発芽と付着器形成

A: 発芽し、付着器を形成した分生子, B: 付着器からの菌糸侵入

属に比べて薄く、淡黄褐色から淡褐色である。分生子の発芽が、両端の細胞だけでなく中間細胞からも生じるのが特徴で、発芽管は孢子長軸方向とほぼ直角あるいは斜めに出ることが多い。基端細胞での発芽位置はへそ付近とは限らず、どの位置からでも発芽する。分生子形成は *Bipolaris* 属, *Exserohilum* 属に比べて困難なものが多い。

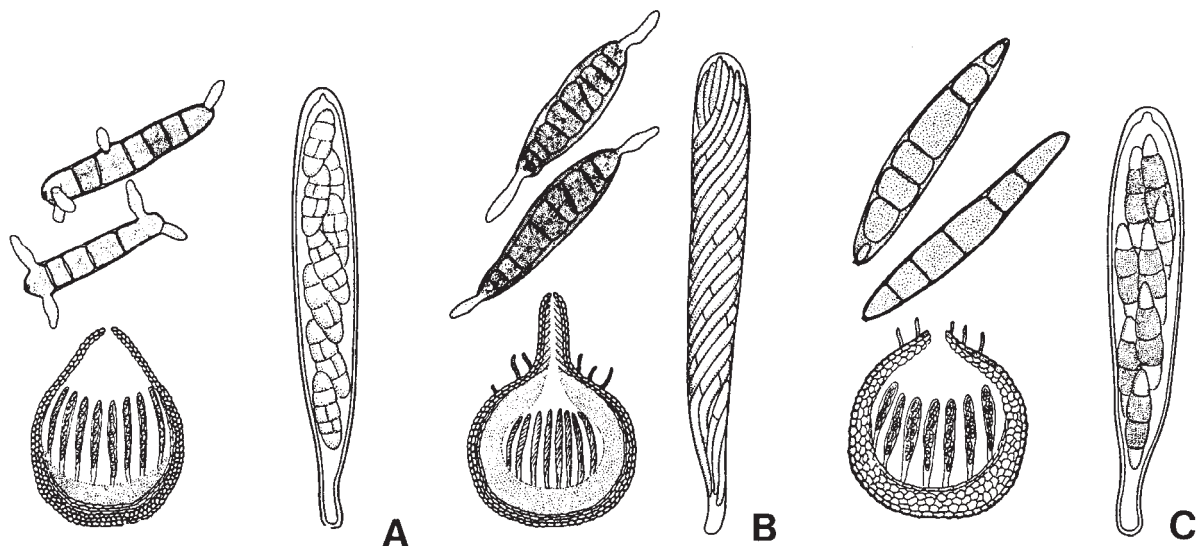


図1. イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌の無性世代および有性世代の形態

A: *Drechslera* (分生子) および *Pyrenophora* (偽子のう殻および子のう胞子)

B: *Bipolaris* (分生子) および *Cochliobolus* (偽子のう殻および子のう胞子)

C: *Exserohilum* (分生子) および *Setosphaeria* (偽子のう殻および子のう胞子) (Hanlin 1990)

有性世代は *Pyrenophora* 属で植物組織中に埋没した形で、偽子のう殻を形成する。偽子のう殻は黒色、垂球形で、殻口はあまり突出せず、殻口周辺に黒褐色の剛毛を形成することがある(図 1 A)。子のうは長紡錘形、二重壁で、内部に 1-8 個の子のう胞子を形成する。子のう胞子は無色から淡黄褐色、長楕円形、長さ $50\mu\text{m}$ 程度で、3-4 隔壁および 1-2 縦隔壁である。オオムギ斑葉病菌などのように自然界で有性世代が普通に見られることもあるが、無性世代しか観察されないことも多い。

3) *Bipolaris* 属菌 (有性世代 *Cochliobolus* 属および *Pseudocochliobolus* 属)

一部の例外を除き暖地型の C_4 イネ科植物 (光合成において CO_2 の受け取りが C_4 ジカルボン酸回路による植物) に寄生する (表 1)。分生子柄は直立あるいは湾曲し、先端部に分生子を形成した後、さらに伸長して分生子を形成するため、ジグザグ状を呈することが多い。分生子は淡褐色から濃褐色、長楕円形から長紡錘形でやや曲がることが多く、大きさは $30\text{-}150\mu\text{m}$ 、小型の分生子で 3-4 隔壁、大型のもので 10 隔壁以上に達する (図 1 B)。胞子基端部のへそは内壁に沈在する。分生子の発芽は両端の細胞から生じ、発芽管は胞子長軸方向に対しやや斜めに出ることが多い。基端細胞ではへそ付近から発芽する。分生子形成は比較的容易だが、菌種によっては困難なものもある。

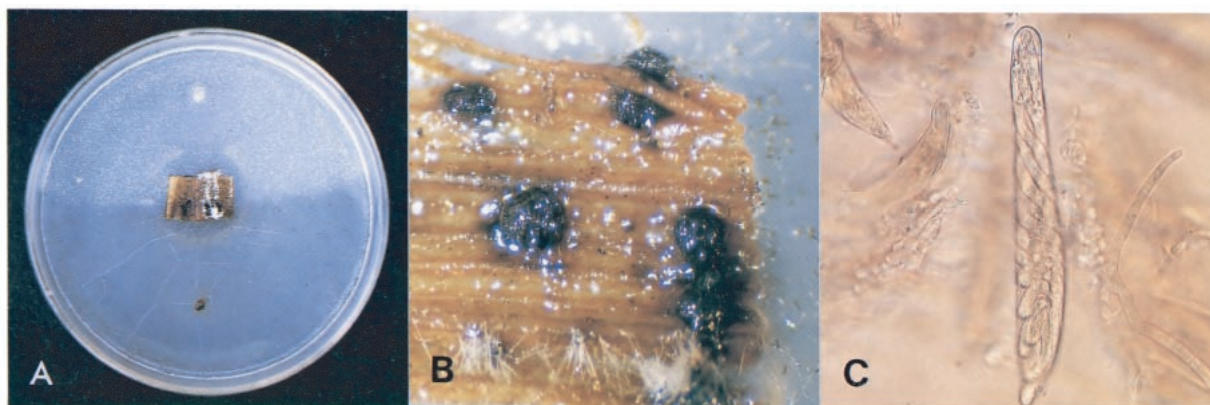


写真 3. *Cochliobolus* 世代の形態 (*C. carbonum*)

- A: Sach's 培地上での交配試験の様子 (上: アルビノ菌株, 下: 野生株)
B: イネわら上に埋没して形成された偽子のう殻
C: 子のう内にらせん形に巻いて形成された子のう胞子

有性世代は *Cochliobolus* 属 (図 1 B, 写真 3) および *Pseudocochliobolus* 属で前者は植物組織中に半分埋没した形で、後者は子座上に偽子のう殻を形成する (Tsuda *et al.* 1977)。偽子のう殻はいずれも黒色、垂球形で、殻口は突出する。子のうは長紡錘形、二重壁で、内部に 1-8 個の子のう胞子を形成する。子のう胞子は無色、糸状、長さ $100\text{-}300\mu\text{m}$ 程度で、*Cochliobolus* 属では子のう内で固くらせん形に巻いて形成されるが、*Pseudocochliobolus* 属では平行あるいはゆ

るく巻いて形成される。菌種に関わらず自然界で有性世代が観察されることはほとんどない。*Pseudocochliobolus*属は*B. hawaiiensis*, *B. australiensis*, *B. specifera*などカーブラリア (*Curvularia*) 型の小型分生子を持つ菌種の有性世代として知られる。

4) *Exserohilum* 属菌 (有性世代 *Setosphaeria* 属)

すべて暖地型の C₄ イネ科植物に寄生する (表 1)。分生子柄の形態は *Bipolaris* 属と類似する。分生子は淡褐色から褐色、長楕円形から長紡錘形でやや曲がることがある。大きさは 60-150 μm , 5-11 隔壁程度で、胞子基端部のへそは顕著に突出するのが特徴である (図 1 C)。分生子の発芽は両端の細胞から生じ、発芽管は胞子長軸方向に対しやや斜めに出ることが多い。基端細胞ではへそ付近から発芽する。分生子形成は比較的容易だが、菌種によっては困難なものもある。

有性世代は *Setosphaeria* 属で植物組織中に埋没した形で、偽子のう殻を形成する。偽子のう殻は暗褐色から黒色、垂球形で、殻口はあまり突出せず、殻口周辺に黒褐色の剛毛を形成することがある (図 1 C)。子のうは長紡錘形、二重壁で、内部に 1-8 個の子のう胞子を形成する。子のう胞子は無色、紡錘形から長楕円形、長さ 60 μm 程度、2-4 隔壁で、隔壁部で若干くびれることが多い。菌種に関わらず自然界で有性世代が観察されることはほとんどない。

3. MAFF ジーンバンクが保存している *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌

表 2 に MAFF ジーンバンクが保存しているイネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌群を示した。内訳は *Drechslera* 属菌が 12 種 50 菌株, *Bipolaris* 属菌が 19 種 153 菌株, *Exserohilum* 属菌が 6 種 31 菌株である。分離植物はすべてイネ科で 46 種に及び、採集地域も様々である。また、海外で採集した菌株も保存されており、MAFF236618~236622 (*B. hawaiiensis*) および MAFF236613, 236614 (*B. oryzae*) はインドで採集されたものである。また、MAFF511446 および 511450 (*E. turcicum*) はアメリカ合衆国からの輸入乾草スーダングラスから分離された菌株である。植物以外では MAFF235500 (*B. sorokiniana*) が水田土壌から、MAFF235508 (*B. specifera*) がアカマツ林土壌から腐生的に分離・保存されている。

表 2. MAFF ジーンバンクが保存しているイネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌

MAFF 番号	菌 種 名	分離源	採集地	採集年	同定者	寄託者	登録時株名	レース	交配型	毒素 ^a
305105	<i>Drechslera avenacea</i> (Curtis : Cooke) Shoem.	エンバク		1921	西門義一	西門義一	145			
305434	<i>Drechslera avenacea</i> (Curtis : Cooke) Shoem.	エンバク	栃木	1977/7	西原夏樹	西原夏樹	1132			
511132	<i>Drechslera avenacea</i> (Curtis : Cooke) Shoem.	エンバク	栃木	1977	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
235543	<i>Drechslera bisetata</i> (Sacc. & Roum.) Richard.	コムギ	茨城	1991/2	青木孝之	青木孝之	AR0125			
305394	<i>Drechslera dactylidis</i> Shoemaker	オーチャードグラス	北海道	1975/7	西原夏樹	西原夏樹	940			
510940	<i>Drechslera dactylidis</i> Shoemaker	オーチャードグラス	北海道	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305435	<i>Drechslera dematioidea</i> (Bub. & Wrob.) Subram.	ハルガヤ	栃木	1977/7	西原夏樹	西原夏樹	1135			
305457	<i>Drechslera dematioidea</i> (Bub. & Wrob.) Subram.	ハルガヤ	栃木	1980/7	西原夏樹	西原夏樹	1319			
511135	<i>Drechslera dematioidea</i> (Bub. & Wrob.) Subram.	ハルガヤ	栃木	1977	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511319	<i>Drechslera dematioidea</i> (Bub. & Wrob.) Subram.	ハルガヤ	栃木	1980	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305106	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	トールフェスク	千葉	1960	西原夏樹	西原夏樹	190			
305395	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	メドウフェスク	北海道	1975/7	西原夏樹	西原夏樹	952			
305398	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	ペレニアライグラス	北海道	1975/8	西原夏樹	西原夏樹	963			
305407	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	トールフェスク	熊本	不明	西原夏樹	西原夏樹	1031			
305424	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	トールフェスク	栃木	1977/4	西原夏樹	西原夏樹	1103			
305438	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	ペレニアライグラス	栃木	1977/7	西原夏樹	西原夏樹	1142			
510952	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	メドウフェスク	北海道	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
510963	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	ペレニアライグラス	北海道	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511031	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	トールフェスク	熊本		西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511103	<i>Drechslera dictyoides</i> (Drechsler) Shoemaker	トールフェスク	栃木	1977	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305378	<i>Drechslera erythrospila</i> (Drechsler) Shoemaker	レッドトップ	栃木	1967/8	西原夏樹	西原夏樹	638			
305433	<i>Drechslera erythrospila</i> (Drechsler) Shoemaker	レッドトップ	栃木	1977/6	西原夏樹	西原夏樹	1131			
510638	<i>Drechslera erythrospila</i> (Drechsler) Shoemaker	レッドトップ	栃木	1967	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511131	<i>Drechslera erythrospila</i> (Drechsler) Shoemaker	レッドトップ	栃木	1977	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305582	<i>Drechslera gigantea</i> (Heald & Wolf) Ito	<i>Zoysia</i> sp.	千葉	1985	西原夏樹	西原夏樹				
305583	<i>Drechslera gigantea</i> (Heald & Wolf) Ito	イネ	宮城	1987	佐藤豊三	佐藤豊三	油田イネ 3			
305584	<i>Drechslera gigantea</i> (Heald & Wolf) Ito	ヒメウキガヤ	宮城	1987	佐藤豊三	佐藤豊三	油田ヒメウキガヤ 1			
305585	<i>Drechslera gigantea</i> (Heald & Wolf) Ito	ヒメウキガヤ	宮城	1987	佐藤豊三	佐藤豊三	仙台 6			
305197	<i>Drechslera graminea</i> (Raben. : Schlecht.) Shoem.	オオムギ	大阪	1932	西門義一	西門義一	446			

MAFF 番号	菌 種 名	分離源	採集地	採集年	同定者	寄託者	登録時株名	レース	交配型	毒素 ^a
305410	<i>Drechslera graminea</i> (Raben.: Schlecht.) Shoem.	オオムギ	栃木	1976/5	西原夏樹	西原夏樹	1036			
305411	<i>Drechslera graminea</i> (Raben.: Schlecht.) Shoem.	オオムギ	栃木	1976/5	西原夏樹	西原夏樹	1037			
511036	<i>Drechslera graminea</i> (Raben.: Schlecht.) Shoem.	オオムギ	栃木	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511037	<i>Drechslera graminea</i> (Raben.: Schlecht.) Shoem.	オオムギ	栃木	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305414	<i>Drechslera nobleae</i> McKenzie & Matthews	イタリアンライグラス	栃木	1976/6	西原夏樹	西原夏樹	1052			
305437	<i>Drechslera nobleae</i> McKenzie & Matthews	イタリアンライグラス	栃木	1977/6	西原夏樹	西原夏樹	1141			
305455	<i>Drechslera nobleae</i> McKenzie & Matthews	メドウフェスク	栃木	1980/6	西原夏樹	西原夏樹	1315			
511315	<i>Drechslera nobleae</i> McKenzie & Matthews	メドウフェスク	栃木	1980	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305374	<i>Drechslera siccans</i> (Drechsler) Shoemaker	イタリアンライグラス	茨城	1966/6	西原夏樹	西原夏樹	549			
305393	<i>Drechslera siccans</i> (Drechsler) Shoemaker	イタリアンライグラス	栃木	1975/6	西原夏樹	西原夏樹	927			
305397	<i>Drechslera siccans</i> (Drechsler) Shoemaker	イタリアンライグラス	北海道	1975/8	西原夏樹	西原夏樹	962			
305413	<i>Drechslera siccans</i> (Drechsler) Shoemaker	イタリアンライグラス	千葉	1976/5	西原夏樹	西原夏樹	1042			
510549	<i>Drechslera siccans</i> (Drechsler) Shoemaker	イタリアンライグラス	茨城	1966	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511042	<i>Drechslera siccans</i> (Drechsler) Shoemaker	イタリアンライグラス	千葉	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305408	<i>Drechslera teres</i> (Saccardo) Shoemaker	オオムギ	千葉	1976/4	西原夏樹	西原夏樹	1033			
511033	<i>Drechslera teres</i> (Saccardo) Shoemaker	オオムギ	千葉	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305107	<i>Drechslera tritici-repentis</i> (Diedicke) Shoemaker	コムギ	千葉	1962	西原夏樹	西原夏樹	A-98			
305430	<i>Drechslera tritici-repentis</i> (Diedicke) Shoemaker	コムギ	佐賀	1977/5	西原夏樹	西原夏樹	1122			
306088	<i>Drechslera tritici-repentis</i> (Diedicke) Shoemaker	コムギ	茨城	1990	佐藤豊三	佐藤豊三	コムギ conidial			
306089	<i>Drechslera tritici-repentis</i> (Diedicke) Shoemaker	コムギ	三重	1990	佐藤豊三	佐藤豊三	コムギ黄斑I			
511122	<i>Drechslera tritici-repentis</i> (Diedicke) Shoemaker	コムギ	佐賀	1977	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
306001	<i>Bipolaris australiensis</i> (Ellis) Tsuda & Ueyama	クダモノトケイソウ	東京	1988	佐藤豊三	佐藤豊三	果父2			—
306013	<i>Bipolaris australiensis</i> (Ellis) Tsuda & Ueyama	ジョンソングラス	東京	1988	佐藤豊三	佐藤豊三	二子1			—
306269	<i>Bipolaris australiensis</i> (Ellis) Tsuda & Ueyama	ローズグラス	千葉	1966	西原夏樹	君ヶ袋尚志	576			—
305153	<i>Bipolaris brizae</i> (Nisikado) Shoemaker	ヒメコバンソウ	岡山	1921	西門義一	西門義一	146			
305697	<i>Bipolaris brizae</i> (Nisikado) Shoemaker	ヒメコバンソウ	佐賀	1977/5	西原夏樹	君ヶ袋尚志	1117			
305698	<i>Bipolaris brizae</i> (Nisikado) Shoemaker	コバンソウ	佐賀	1977/5	西原夏樹	君ヶ袋尚志	1118			
305401	<i>Bipolaris chloridis</i> (Alcorn) Alcorn	ローズグラス	熊本	1975/9	西原夏樹	西原夏樹	984			—
305406	<i>Bipolaris coicis</i> (Nisikado) Shoemaker	ジュズダマ	福岡	1975/10	西原夏樹	西原夏樹	1021			—
305449	<i>Bipolaris coicis</i> (Nisikado) Shoemaker	ジュズダマ	宮崎	1979/9	西原夏樹	西原夏樹	1277			—

MAFF 番号	菌 種 名	分離源	採集地	採集年	同定者	寄託者	登録時株名	レース	交配型	毒素 ^a
511021	<i>Bipolaris coicis</i> (Nisikado) Shoemaker	ジュズダマ	福岡	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511277	<i>Bipolaris coicis</i> (Nisikado) Shoemaker	ジュズダマ	宮崎	1979	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
235496	<i>Bipolaris cynodontis</i> (Marig.) Shoemaker	コムギ	沖縄	1991/6	青木孝之	青木孝之	AR0091			
305369	<i>Bipolaris cynodontis</i> (Marig.) Shoemaker	バミューダグラス	千葉	1965/9	西原夏樹	西原夏樹	495			—
510495	<i>Bipolaris cynodontis</i> (Marig.) Shoemaker	バミューダグラス	千葉	1965	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
235497	<i>Bipolaris hawaiiensis</i> (Ellis) Uchida & Aragaki	コムギ	沖縄	1991/6	青木孝之	青木孝之	AR0080			
235498	<i>Bipolaris hawaiiensis</i> (Ellis) Uchida & Aragaki	コムギ	沖縄	1991/6	青木孝之	青木孝之	AR0092			
236618	<i>Bipolaris hawaiiensis</i> (Ellis) Uchida & Aragaki	<i>Oryza rufipogon</i>	インド	1992/12	喜多孝一	喜多孝一	K92-154			
236619	<i>Bipolaris hawaiiensis</i> (Ellis) Uchida & Aragaki	<i>Oryza rufipogon</i>	インド	1992/12	喜多孝一	喜多孝一	K92-155			
236620	<i>Bipolaris hawaiiensis</i> (Ellis) Uchida & Aragaki	<i>Oryza rufipogon</i>	インド	1992/12	喜多孝一	喜多孝一	K92-156			
236621	<i>Bipolaris hawaiiensis</i> (Ellis) Uchida & Aragaki	<i>Oryza rufipogon</i>	インド	1992/12	喜多孝一	喜多孝一	K92-157			
236622	<i>Bipolaris hawaiiensis</i> (Ellis) Uchida & Aragaki	<i>Oryza rufipogon</i>	インド	1992/12	喜多孝一	喜多孝一	K92-158			
305062	<i>Bipolaris kusanoi</i> (Nisikado) Shoemaker	<i>Eragrostis</i> sp.	岡山	1924	西門義一	西門義一	221			—
305154	<i>Bipolaris leersiae</i> (Atkinson) Shoemaker	<i>Leersia hexandra</i>	岡山	1923	西門義一	西門義一	214			—
305370	<i>Bipolaris leersiae</i> (Atkinson) Shoemaker	アシカキ	千葉	1965/10	西原夏樹	西原夏樹	506			+
305392	<i>Bipolaris leersiae</i> (Atkinson) Shoemaker	アシカキ	千葉	1974/9	西原夏樹	西原夏樹	920			+
305453	<i>Bipolaris leersiae</i> (Atkinson) Shoemaker	マコモ	宮崎	1979/9	西原夏樹	西原夏樹	1297			+
235499	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	イネ	沖縄	1991/7	青木孝之	青木孝之	AR0126			
305060	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	岡山	1923	西門義一	西門義一	206			
305061	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	千葉	1957	西原夏樹	西原夏樹	40			
305419	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	栃木	1976/8	西原夏樹	西原夏樹	1061			
306169	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	沖縄	1991	佐藤豊三	佐藤豊三	スィートコーン3			
511340	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	鳥取	1981	但見明俊	君ヶ袋尚志				
511389	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	北海道	1983/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8310	O	a	—
511390	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	北海道	1983/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8313	O	A	
511391	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	山梨	1985/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8315	O	a	+
511392	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	神奈川	1985/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8318	O	a	+
511393	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	福島	1985/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8320	O	A	+
511394	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	宮城	1985/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8321	O	A	+
511395	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	静岡	1985/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8323	O	A	+

MAFF 番号	菌 種 名	分離源	採集地	採集年	同定者	寄託者	登録時株名	レース	交配型	毒素 ^a
511396	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	滋賀	1985/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8324	O	A	+
511397	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	長野	1985/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8327	O	A	+
511398	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	山口	1986/7	月星隆雄	大久保博人	BMZM8334	O	A	
511399	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	熊本	1986/7	月星隆雄	大久保博人	BMZM8335	O	A	+
511400	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	宮崎	1986/7	月星隆雄	大久保博人	BMZM8343	O	a	
511401	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	鹿児島	1986/7	月星隆雄	大久保博人	BMZM8344	O	A	+
511402	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	栃木	1986/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8355	O	A	+
511403	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	山形	1987/8	月星隆雄	大久保博人	BMZM8358	O	a	
511404	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	栃木	1988/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8360	O	a	
511405	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	愛媛	1988/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8364	O	A	
511406	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	長崎	1989/1	月星隆雄	大久保博人	BMZM8365	O	a	
511407	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	宮崎	1990/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8367	O	a	
511408	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	鹿児島	1990/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8376	O	a	+
511409	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	鹿児島	1990/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8377	O	a	
511410	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	鹿児島	1990/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8380	O	A	
511411	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	熊本	1990/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8381	O	A	
511412	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	群馬	1990/9	月星隆雄	大久保博人	BMZM8385	O	A	
511413	<i>Bipolaris maydis</i> (Nisikado & Miyake) Shoem.	トウモロコシ	熊本	1991/11	月星隆雄	大久保博人	BMZM8393	O		
305402	<i>Bipolaris nodulosa</i> (Berkeley & Curtis) Shoem.	オヒシバ	福岡	1975/9	西原夏樹	西原夏樹	989			—
305421	<i>Bipolaris nodulosa</i> (Berkeley & Curtis) Shoem.	シコクビエ	栃木	1976/8	西原夏樹	西原夏樹	1065			—
305442	<i>Bipolaris nodulosa</i> (Berkeley & Curtis) Shoem.	シコクビエ	栃木	1978/8	西原夏樹	西原夏樹	1188			
510989	<i>Bipolaris nodulosa</i> (Berkeley & Curtis) Shoem.	シコクビエ	熊本	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511065	<i>Bipolaris nodulosa</i> (Berkeley & Curtis) Shoem.	シコクビエ	栃木	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511188	<i>Bipolaris nodulosa</i> (Berkeley & Curtis) Shoem.	シコクビエ	栃木	1978	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
236613	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	<i>Oryza rufipogon</i>	インド	1992	喜多孝一	喜多孝一	K92-149			
236614	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	<i>Oryza rufipogon</i>	インド	1992	喜多孝一	喜多孝一	K92-150			
305065	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	イネ	岡山	1925	西門義一	京都大学	58			—
305066	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	イネ	北海道	1929	栗林数衛	京都大学	13			
305067	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	イネ	愛媛	1947	吉井 甫	吉井 甫	F-1			+
305382	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	イネ	千葉	1969	西原夏樹	西原夏樹	752			+

MAFF 番号	菌 種 名	分離源	採集地	採集年	同定者	寄託者	登録時株名	レース	交配型	毒素 ^a
305425	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	イネ	秋田	1976/8	西原夏樹	西原夏樹	1109			+
510752	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	イネ	千葉	1969	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511109	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	イネ	秋田	1976	八重樫博志	君ヶ袋尚志				
511168	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	イネ	栃木	1977	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305156	<i>Bipolaris sacchari</i> (E. Butler) Shoemaker	パパールミレット	宮崎	1960	西原夏樹	西原夏樹	228			
305366	<i>Bipolaris sacchari</i> (E. Butler) Shoemaker	パパールミレット	宮崎	1960/10	西原夏樹	西原夏樹	228			
305367	<i>Bipolaris sacchari</i> (E. Butler) Shoemaker	パパールミレット	宮崎	1960/10	西原夏樹	西原夏樹	229			
305368	<i>Bipolaris sacchari</i> (E. Butler) Shoemaker	ネピアグラス	鹿児島	1964/10	西原夏樹	西原夏樹	428			+
510428	<i>Bipolaris sacchari</i> (E. Butler) Shoemaker	ネピアグラス	鹿児島	1964	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
305071	<i>Bipolaris setariae</i> (Sawada) Shoemaker	アワ				東京大学				
305443	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	栃木	1978/8	西原夏樹	西原夏樹	1191			
511191	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	栃木	1978	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511377	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	宮崎	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-12			
511378	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	スーダングラス	宮崎	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-20		a	+
511379	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	宮崎	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-24			+
511380	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	鹿児島	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-30			
511381	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	熊本	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-34			
511382	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	熊本	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-37			
511383	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	群馬	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-38			
511384	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	新潟	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-40			
511385	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	栃木	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-41			
511386	<i>Bipolaris sorghicola</i> (Lefeb. & Sher.) Alcorn	ソルガム	長野	1990/10	月星隆雄	植松 勉	BC-43			
102018	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	茨城	1986	高橋広治	高橋広治				
235500	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	水田土壌	茨城	1990/11	青木孝之	青木孝之	AR0034			
235501	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	沖縄	1991/6	青木孝之	青木孝之	AR0089			
235502	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	茨城	1991/6	青木孝之	青木孝之	AR0093			
235503	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	沖縄	1991/6	青木孝之	青木孝之	AR0094			
235504	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	沖縄	1991/6	青木孝之	青木孝之	AR0095			
235505	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	茨城	1991/7	青木孝之	青木孝之	AR0096			
235506	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	沖縄	1991/7	青木孝之	青木孝之	AR0129			

MAFF 番号	菌 種 名	分離源	採集地	採集年	同定者	寄託者	登録時株名	レース	交配型	毒素 ^a
236448	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	北海道	1991/10	青木孝之	青木孝之	SOFS-1			
305068	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker			1922	西門義一	西門義一	175			
305069	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	オオムギ	兵庫	1943	池田正幸	池田正幸				—
305070	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	レスクグラス	千葉	1957	西原夏樹	西原夏樹	35			—
305396	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	オオムギ	北海道	1975/8	西原夏樹	西原夏樹	957			
305400	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	ヤマカモジグサ	栃木	1975/8	西原夏樹	西原夏樹	977			—
305415	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	栃木	1976/6	西原夏樹	西原夏樹	1053			
305416	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	オオムギ	栃木	1976/7	西原夏樹	西原夏樹	1054			—
305420	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	レスクグラス	茨城	1976/8	西原夏樹	西原夏樹	1063			
305445	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	レスクグラス	千葉	1979/5	西原夏樹	西原夏樹	1235			
305458	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	シラゲガヤ	栃木	1980/7	西原夏樹	西原夏樹	1320			
305459	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	シラゲガヤ	栃木	1980/9	西原夏樹	西原夏樹	1321			—
305461	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	オオムギ	栃木	1980/9	西原夏樹	西原夏樹	1334			
305703	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	<i>Oryzopsis cristatus</i>	栃木	1980/6	西原夏樹	君ヶ袋尚志	1314			
510630	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	<i>Hordeum murinum</i>	千葉	1967	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
510977	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	ヤマカモジグサ	栃木	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511053	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	コムギ	栃木	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511054	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	ライムギ	栃木	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511063	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	レスクグラス	茨城	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511085	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	トウモロコシ	栃木	1976	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511217	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	イタリアンライイグラス	栃木	1978	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511235	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	レスクグラス	千葉	1979	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511320	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	シラゲガヤ	栃木	1980	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511334	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Saccardo) Shoemaker	オオムギ	栃木	1980	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
235508	<i>Bipolaris specifera</i> (Bainier) Subramanian	アカマツ林土壌	茨城	1990/11	青木孝之	青木孝之	AR0087			
235507	<i>Bipolaris victoriae</i> (Meeh. & Murphy) Shoem.	イネ	沖縄	1991/7	青木孝之	青木孝之	AR0128			
511341	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	栃木	1985	月星隆雄	君ヶ袋尚志				
511342	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	長野	1984	月星隆雄	月星隆雄				
511414	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	青森	1979/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1001	3		A
511415	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	青森	1979/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1004	3		A

MAFF 番号	菌 種 名	分離源	採集地	採集年	同定者	寄託者	登録時株名	レース	交配型	毒素 ^a
511416	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	青森	1990/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1011	3		
511417	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	北海道	1983/8	月星隆雄	大久保博人	BZ-1101	2	A	—
511418	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	北海道	1983/8	月星隆雄	大久保博人	BZ-1103	3	A	
511419	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	北海道	1983/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1106	2		
511420	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	北海道	1983/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1109	2		—
511421	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	北海道	1983/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1113	3	A	
511422	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	栃木	1983/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1204	3	a	
511423	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	栃木	1983/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1205	3	A	
511424	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	栃木	1984/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1208	3		
511425	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	栃木	1988/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1209	3	A	—
511426	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	栃木	1988/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1213	3		
511427	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	長野	1984/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1301	3		
511428	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	長野	1984/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1304	2	A	—
511429	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	長野	1984/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1306	3	A	
511430	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	熊本	1986/7	月星隆雄	大久保博人	BZ-1401	3	A	
511431	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	宮崎	1986/7	月星隆雄	大久保博人	BZ-1403	3	A	
511432	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	静岡	1985/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1501	3	A	
511433	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	千葉	1985/6	月星隆雄	大久保博人	BZ-1601	3	A	—
511434	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	福島	1985/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1701	3	A	
511435	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	福島	1987/8	月星隆雄	大久保博人	BZ-1703	3		
511436	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	宮城	1985/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1801	3	A	
511437	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	山梨	1985/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-1902	3	A	
511438	<i>Bipolaris zeicola</i> (Stout) Shoemaker	トウモロコシ	岩手	1979/9	月星隆雄	大久保博人	BZ-2001	3	A	
305157	<i>Bipolaris zizaniae</i> (Nisikado) Shoemaker	マコモ	岡山	1919	西門義一	西門義一	66			+
305448	<i>Exserohilum frumentacei</i> (Mitra) Leon. & Sug.	テフ	栃木	1979/9	西原夏樹	西原夏樹	1274			
305155	<i>Exserohilum micropus</i> (Drechsler) Alcorn	アゼガヤ	岡山	1919	西門義一	西門義一	75			—
305385	<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	栽培ヒエ	秋田	1972/9	西原夏樹	西原夏樹	858			
305405	<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	<i>Echinochloa</i> sp.	福岡	1975/10	西原夏樹	西原夏樹	1016			
305450	<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	栽培ヒエ	宮崎	1979/9	西原夏樹	西原夏樹	1283			
305452	<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	イヌビエ	栃木	1979/9	西原夏樹	西原夏樹	1296			

MAFF 番号	菌 種 名	分離源	採集地	採集年	同定者	寄託者	登録時株名	レース	交配型	毒素 ^a
510858	<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	栽培ヒエ	秋田	1972		君ヶ袋尚志				
511016	<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	インドビエ	熊本	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511283	<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	栽培ヒエ	宮崎	1979	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511296	<i>Exserohilum monoceras</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	イヌビエ	栃木	1979	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511164	<i>Exserohilum prolatum</i> Leonard & Suggs	グリーンプニック	熊本	1977	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
510999	<i>Exserohilum rostratum</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	グリーンプニック	熊本	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511001	<i>Exserohilum rostratum</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	バヒアグラス	熊本	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511017	<i>Exserohilum rostratum</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	グリーンプニック	熊本	1975	西原夏樹	君ヶ袋尚志				
511358	<i>Exserohilum rostratum</i> (Drechs.) Leon. & Sug.	トウモロコシ	熊本	1985	月星隆雄	月星隆雄				—
306163	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	沖縄	1991	佐藤豊三	佐藤豊三	石垣コン1			
511439	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	宮崎	1986/9	月星隆雄	大久保博人	ET-2			
511440	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	長野	1988/9	月星隆雄	大久保博人	ET-9			
511441	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	宮崎	1990/9	月星隆雄	大久保博人	ET-13			
511442	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	宮崎	1990/9	月星隆雄	大久保博人	ET-16			—
511443	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	宮崎	1990/9	月星隆雄	大久保博人	ET-18			
511444	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	長野	1990/9	月星隆雄	大久保博人	ET-20			—
511445	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	ソルガム	栃木	1990/9	月星隆雄	大久保博人	ET-22			—
511446	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	スーダングラス	USA	1990/9	月星隆雄	大久保博人	ET-23			
511447	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	ソルガム	熊本	1991/11	月星隆雄	大久保博人	ET-24			—
511448	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	ソルガム	宮崎	1991/11	月星隆雄	大久保博人	ET-25			
511449	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	沖縄	1993/6	月星隆雄	大久保博人	ET-27			
511450	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	スーダングラス	USA	1993/8	月星隆雄	大久保博人	ET-28			—
511451	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	宮崎	1993/8	月星隆雄	大久保博人	ET-29			
511452	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	トウモロコシ	宮崎	1993/8	月星隆雄	大久保博人	ET-33			
305422	<i>Exserohilum</i> sp.	テフ	栃木	1976/8	西原夏樹	西原夏樹	1071			

a : オフイオボリン類 (宿主非特異的毒素) 産生性

4. MAFF ジーンバンクが保存している菌株の特性

1) 交配型

本菌群の中で、*Bipolaris* および *Exserohilum* 属菌の多くは有性世代の形成に際して、ヘテロタリズム（性的異質接合性）およびモノエシズム（雌雄同株性）を示し、交配型の異なる菌株同士が会合しないと有性世代（*Cochliobolus* および *Setosphaeria* 世代）を形成しない。トウモロコシごま葉枯病菌（*Bipolaris maydis*）の場合、交配型（A および a）は同一遺伝子座の 2 遺伝子（*MAT1-1* および *MAT1-2*）にそれぞれ支配される。他の *Bipolaris* および *Exserohilum* 属でも同様に、その交配型遺伝子は多くの場合 *Bipolaris maydis* との相同性が高い。ごく一部の *Bipolaris* 属菌（*B. kusanoi*, *B. homomorphus* など）はホモタリズム（性的同質接合性）を示し、単一の菌株で有性世代を形成するが、これは交配型遺伝子座に *MAT1-1* および *MAT1-2* 遺伝子がタンデムに並んでいるためであることが明らかになっている（Turgeon 1998）。*Drechslera* 属菌では植物体上で有性世代（*Pyrenophora* 属）を形成することも多く、交配型についてはほとんど知られていない。

交配型を決定するためには、子のう世代を形成する *Bipolaris* 属菌（*B. maydis*, *B. oryzae*, *B. setariae*, *B. zeicola* など）の場合、交配型標準株と供試菌株を対峙培養して、有性世代（子のう胞子）の有無を観察して決定する。交配型 A 標準株と交配して子のう胞子を形成した場合には、供試菌株の交配型は a、逆の場合は A となる。交配は貧栄養培地である Sach's 培地（表 3）を用い、2 度オートクレーブした滅菌稲わらあるいは麦わら片を偽子のう殻の支持体とし、これを挟んで対峙培養する（写真 3）。培養は 25℃、暗黒下（あるいは光照射下）で約 1 ヶ月行い、支持体上の偽子のう殻を検査する。アルビノ標準株と交配すれば、供試菌株の雌性能（＝偽子のう殻形成性）を知ることができる（黒色子のう殻は供試菌由来となり、供試菌の偽子のう殻形成性が証明される）。子のう世代を形成しない *Bipolaris* 属菌（*B. sacchari*, *B. sorghicola* など）の場合、交配不能のため *MAT1-2* 遺伝子に特異的に存在する HMG-box 配列をもとに作成したプライマーを用いて、PCR 反応による約 300bp の特異的産物を確認することにより、交配型 a であることが判定できる（Turgeon *et al.* 1993）。また、交配型 A についても同様に判定できるプライマーが作成されている（Gafur *et al.* 1997）。*Exserohilum* 属菌については同様の方法で決定可能であるが、わが国で偽子のう殻を形成させた例は知られていない。

MAFF 登録株では、*B. maydis* で交配型 A と a がほぼ同数存在し、両交配型はわが国全土に均一に分布していた（表 2）。一方、*B. zeicola* では日本産菌株はほとんどが交配型 A で、a は MAFF511422 しか見つかっていない。このことから、*B. maydis* はわが国で古くから発生し、自然条件下で交配や準有性的組換えが進んだため、交配型が 1 : 1 に近いが、*B. zeicola* はわが国に侵入して間もないため、交配型に偏りがあると推察されている。特異的プライマーによる判定では MAFF511378（*B. sorghicola* BC-20）が交配型 a と判定されている。

2) レース

本菌群では、宿主植物の抵抗性に対するレースを分化させている場合がある。これまでにレース分化の報告のある菌種を表2に示す。これまでわが国で行われてきたレース検定の結果は以下の通りである。

① トウモロコシごま葉枯病

病原菌 *Bipolaris maydis* (有性世代 *Cochliobolus heterostrophus*) は宿主の細胞質のタイプによりレースが分化しており、HMT 毒素 (後述) を産生して T 型雄性不稔細胞質トウモロコシ系統を特異的に強く侵すレース T, C 型雄性不稔細胞質を侵すレース C および通常の N 型可稔細胞質を T, C 型と同等に侵すレース O がある。わが国でのこれまでの MAFF 保存菌株は検定された限りレース O であり、レース T は1970年代に各地で発生が報告されているが収集はされていない (月星ら 1995)。レース C の発生は現在のところ中国に限られている。

レース検定の方法は核ゲノムが同一で細胞質 (T, C, N) のみが異なるトウモロコシ自殖系統を温室内で4-5葉まで育苗し、これに対し分生子の噴霧接種を各レースの標準菌とともに行う。接種後5-7日で評価を行い、標準菌株と同程度に T および C 型細胞質系統に対して特異的に強い病原性を示した菌株を、それぞれレース T およびレース C と判定する。

また、単一劣性の抵抗性遺伝子 *rh*m をもつトウモロコシ系統はほとんどすべての菌株に対して、高度抵抗性を示すが、鹿児島県産の1菌株 (MAFF511408) だけはこの系統上でも大型病斑を形成する (Tsukiboshi *et al.* 1996)。しかし、*rh*m 系統に対する特異的毒素の産生等が確認されておらず、現在のところ新レースと見なすことはできない。

② トウモロコシ北方斑点病

病原菌 *Bipolaris zeicola* (有性世代 *Cochliobolus carbonum*) には4レースが知られている。レース1はHC毒素を産生し、感受性のトウモロコシ系統 (遺伝子型 *hm/hm*) を特異的に侵す。レース2-4は病斑型によって判別され、レース2はいずれの系統上でも短線型 (fleck type) 病斑を、レース3は条斑型病斑を、レース4は円型病斑を形成する。日本産菌株のレース判別の結果、わが国で発生している菌の多くはレース3 (MAFF511430など) で、少数のレース2 (MAFF511428など) が混発していることが明らかになっている。レース1, 4の発生は認められていない (Tsukiboshi *et al.* 1987)。

レース検定の方法は、レース1判別には *hm/hm* 型の自殖系統 (N31など) を、レース2, 3, 4判別には病斑型の違いがより明瞭になる系統 (H93など) を供試して、トウモロコシごま葉枯病の方法に準じて接種・判別する。

③ トウモロコシすす紋病

病原菌 *Exserohilum turcicum* (有性世代 *Setosphaeria turcica*) の場合、単一優性の抵抗性遺

伝子 *Ht*, *Ht2*, *Ht3*, *HtN* に対して、それぞれの遺伝子をもつ系統を侵すレース 1, 12, 23N などの分化が海外で報告されているが、わが国でのレース分布はまだ明らかにされていない。しかし、*Ht* 遺伝子を持ったトウモロコシ系統が各地でおおむね抵抗性を示すことから、わが国での収集菌株 (MAFF306163, MAFF511439~511452) ではレース 0 が優占しているものと推定される。

④ ソルガム紫斑点病

病原菌 *Bipolaris sorghicola* に対する単一劣性の抵抗性遺伝子が報告されており (Tsukiboshi *et al.* 1990), この遺伝子を持つ系統を侵す菌株は収集されていないことから (MAFF305443, MAFF511191~511386), レースは未分化であると推定される。

3) 毒素産生性

本菌群は種によって様々な宿主特異的および非特異的毒素を産生する。これらの毒素の特徴、検定法および MAFF 登録株の産生性を以下に示す。

① HMT 毒素

トウモロコシごま葉枯病菌 (*Bipolaris maydis*) レース T が産生する HMT 毒素は、分子量約 700-800 のポリケトール型の宿主特異的毒素で、C35 以上の長さで強い活性を示す特徴を持つ (河野 1997)。T 型雄性不稔細胞質を持つトウモロコシ系統だけがこの毒素に感受性で、細胞の膜機能が阻害されて壊死斑形成などが生じる。病原菌の毒素産生性は *Tox1A* 遺伝子座上の *PKS* (polyketide synthase) 遺伝子および *Tox1B* 遺伝子座上の *DEC* (decarboxylase) 遺伝子によって支配されている (Yoder *et al.* 1998)。毒素産生検定法は、病原菌の CM 培地 (表 3) 等での静置培養ろ液を 10 倍程度に希釈したものに T 型および N 型細胞質のトウモロコシ葉を挿し、1 日後に T 型細胞質のみが萎凋したものを HMT 毒素産生株 (レース T) と判別する (写真 4)。HMT 毒素はガラスに付着しやすいので、ガラス器具は超音波洗浄あるいは重クロム酸カリウム溶液につけて洗浄する必要がある。最近では、T 型細胞質の感受性を支配するミトコンドリア遺伝子 (*T-urf13*) が単離され (Levings 1990), これプラスミドを組み込んだ大腸菌を用いて判別されることも多い。この場合、感受性遺伝子を導入した大腸菌を CM 寒天培地等に塗り広げ、その上に検定対象となる菌株を移植し、1-2 日後に移植片周辺の溶菌プラークの有無で毒素産生を判定する。この方法では、一度に多数の菌株を判定することが可能で、REMI (Restricted Enzyme Mediated Insertion) などのトランスポゾン法で作出した突然変異株の毒素産生判定に最適である。*T-urf13* を組み込んだプラスミドは農環研微生物・特性分類研究室および草地試作物病害研究室で保存している。*Bipolaris maydis* の MAFF 保存菌株のうち、レース O 菌株はすべて HMT 毒素非産生株である。

表 3. *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌の培養に必要な各種培地組成

Minimal medium (MM, Yoder 1988)

Solution A ^a	10 ml
Solution B ^b	10 ml
Glucose	10 g
Agar (optional)	15 g
Micronutrient solution (optional) ^c	500 μ l
Distilled water	1 litre

a: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 10g を蒸留水に溶かし, 100ml にする。

b: KH_2PO_4 2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.5g, NaCl 1.5g を蒸留水に溶かし, 100ml にする。

c: H_3BO_3 9 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 58.5mg, KI 1.95mg, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 9 mg, NaMoO_4 7.6mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 822mg, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 139.8mg を蒸留水に溶かし, 300ml にする。

Complete Medium (CM, Yoder 1988)

Minimal medium	1 litre
Yeast extract	1 g
Casein hydrolysate (acid)	0.5 g
Casein hydrolysate (enzymatic)	0.5 g

Fries Medium (modified)

$(\text{NH}_4)_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5 g
NH_4NO_3	1 g
KH_2PO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 g
NaCl	0.1 g
CaCl_2	0.1 g
Sucrose	10 g
d-Biotin	4 mg

蒸留水で1 litre とする。

V 8 ジュース寒天培地

V8 juice (Campbell Co., ltd.)	200 ml
CaCO_3	3 g
Agar	15 g

蒸留水で1 litre とする。

Sach's medium

KNO_3	1.0 g
NaCl	0.5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.5 g
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	0.5 g
$\text{FeCl}_3(0.3\%)$	1 ml
Agar	10 g

蒸留水で1 litre とする。

土壌浸出液寒天培地 (津田 1992)

KH_2PO_4	2 g
Glucose	0.5 g
Yeast extract	1.0 g
和菓子用糸寒天	13-15g
土壌浸出液 ^a	100 ml

イオン交換水で1 litre とする。

a: 肥沃な土壌80g にイオン交換水200ml, Na_2CO_3 0.2g を加え, 121℃, 45分間オートクレーブ。濁りのある上澄みを直ちに使用する。

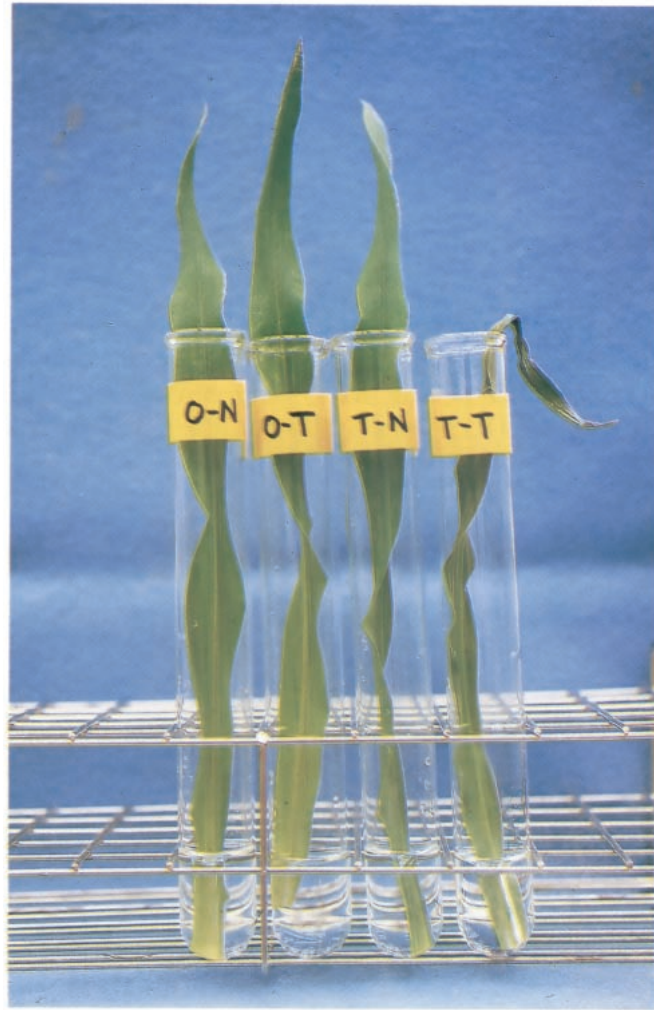


写真4. トウモロコシ切離葉による HMT 毒素検定

O-N：レース O 培養ろ液で N 型細胞質トウモロコシ系統を処理
 O-T：レース O 培養ろ液で T 型細胞質トウモロコシ系統を処理
 T-N：レース T 培養ろ液で N 型細胞質トウモロコシ系統を処理
 T-T：レース T 培養ろ液で T 型細胞質トウモロコシ系統を処理

② BZR 毒素

トウモロコシ北方斑点病菌レース 3 が産生する BZR (*Bipolaris zeicola*-Rice) 毒素は、分子量950-980の環状ペプチド構造をもつ宿主特異的毒素である (Ueda *et al.* 1992)。このレースはトウモロコシの他にイネにも病原性を持つことが特徴で、特に関口朝日など外部ストレスに敏感なイネ品種上で明瞭な病斑を形成する。BZR 毒素は病原性決定因子として作用し、非病原性の *Alternaria alternata* をこの毒素の存在下で接種すると病原性を誘導し、病斑を形成するようになる。この毒素は4種の co-toxin により構成されており、このうち2種以上が同時に存在するときに作用することが分かっている (Xiao *et al.* 1991)。

毒素は振とう培養等のろ液中にも産生されるが、胞子発芽時に最も産生が多いため、検定には胞子発芽液を用いる。10⁵ 個/ml 程度の胞子懸濁液を調製し、これを前もってアセトンで十分に

洗浄したペーパータオルに噴霧する。約16時間後に胞子発芽を確認後これを絞り、ろ過して胞子発芽液を得、10-20倍程度に濃縮して供試する。これを *A. alternata* 胞子とともに関口朝日あるいはコシヒカリなどのイネ品種に接種し、病斑を形成した場合 BZR 毒素産生と判定する。簡易法としては検定菌の胞子懸濁液に展着剤を加え、これを直接イネ切離葉に塗布する方法があるが(月星, 未発表), この場合非産生菌でも時間がたつと病斑を形成するため注意が必要である。MAFF 登録株では MAFF511425 (=BZ1209, レース 3) が BZR 毒素産生株であり, MAFF 511417 (=BZ1101, レース 2) が BZR 毒素非産生株である。

③ オフィオボリン類

本菌群のうち, *Bipolaris* 属菌の幾つかは宿主非特異的毒素であるオフィオボリン類を産生する。この毒素は現在までに11種程度が知られ, 分子量約400-500のセスキテルペン類である(中島 1997)。作用する植物の範囲は広く, イネ, レタスなどで根の伸長を阻害する。また, 植物の暗呼吸を阻害し, カルモデュリン阻害剤としても作用し, 細胞からのイオン漏出等を引き起こす。トウモロコシごま葉枯病ではこの毒素単独で, 付傷したトウモロコシ葉上に類似病斑を形成する。

検定法は, CM 液体培地あるいは Fries 液体培地(表 3) などオフィオボリン類の産生が良好な培地を用い, 検定菌を暗黒下25℃で約 2 週間静置培養し, 培養ろ液から抽出を行う。抽出は通常酢酸エチルで行うが, この時エキストレルーダなどの抽出カラムを用いると, 分液ロートで振る手間を省くことができる。抽出物を濃縮乾固し, これを TLC プレートにスポッティングして, 酢エチ:ベンゼン=1:1などの溶媒で展開する。これに硫酸バニリン試薬を噴霧後, 60-70℃下で数分処理すると, オフィオボリン類は青紫色を呈する(写真 5)。定量は高速液体クロマトグラフィーで行い, フィルター処理したサンプルを ODS 逆相カラムなどにチャージ後, アセトニトリル:水=1:1などの溶媒で溶出し, 250nm の吸収波長で定量する。一般的にオフィオボリン A の産生量が最も高い。

オフィオボリン類の産生が確認されている種は, 現在のところ *Bipolaris* 属の 6 種(*B. leersiae*, *B. maydis*, *B. oryzae*, *B. sacchari*, *B. sorghicola*, *B. zizaniae*) であり, その他の *Bipolaris* 属, *Drechslera* 属および *Exserohilum* 属菌では産生が確認されていない。MAFF 登録株で産生が確認されているものおよび検定の結果非産生であった菌株を表 2 に示す。

④ その他の毒素

宿主特異的毒素としては, 他に HC 毒素および HV 毒素がある。HC 毒素は分子量約700の環状ペプチドで, *Bipolaris zeicola* (トウモロコシ北方斑点病菌) レース 1 により産生され, この菌の特異的な病原性の発現に直接関わるが(児玉 1997), わが国ではレース 1 が発見されていないため, 未確認である。HV 毒素は *B. victoriae* によって産生されるエンバクに対する環状ペプチド毒素であるが, 保存菌株(MAFF235507, イネから分離)の産生については不明である。

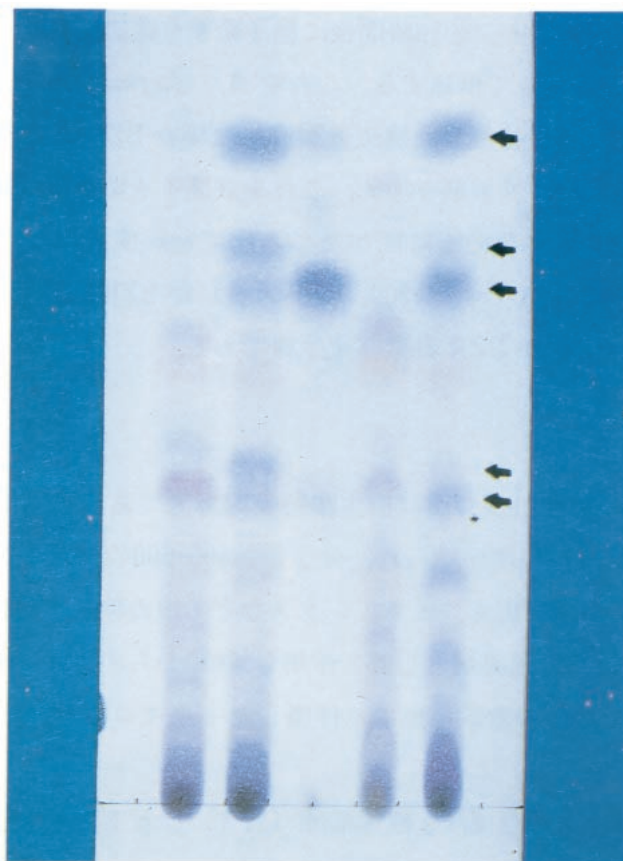


写真5. TLC上に展開した *Bipolaris maydis* 産生オフイオボリン類 (矢印)

(中央：オフイオボリン A 標品，左：MAFF511389 (オフイオボリン類非産生株)，
右：MAFF511395 (通常株)，左2レーンは反復，酢エチ：ベンゼン = 1 : 1で展開)

宿主非特異的毒素としては，*Drechslera gigantea* の産生するギガンテノン (殺草活性高い，菅原 1997)，*D. siccans* の産生するシッカニン (水虫薬として有名)，*B. sorokiniana* の産生するプレヘルミントスポロールの他，数多くの毒素が知られるが，MAFF 保存菌株の産生性については調べられていない。

5. 病害サンプルの採集および菌の分離・接種・保存法

1) 野外でのサンプル採集

イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌の場合，イネ・ムギ類などの作物に加え，路傍に自生するイネ科雑草からでも菌の採集が可能である。採集適期はおおむね梅雨明けから秋にかけてであるが，菌種によっては春先から発生が認められる。採集部位は葉が最も適しており，それぞれの菌種に応じた特徴のある病斑を見分けて採集する。葉鞘や茎にも病斑を形成することがあり，同様に採集できる。根からも分離されることがあるが，この場合は病斑は形成せず，菌は腐生的に分離されることが多い。本菌群に典型的な病斑があるわけではないが，病

斑は円形から楕円形ないしは紡錘形で中央部は灰白色に変色し、周縁部は褐色から黒褐色に変色することが多い。

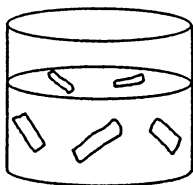
サンプル採集時は病斑が形成された葉や茎をナンバリングしながら、紙封筒あるいは古雑誌の間などに挟んでできるだけ水分を取るようにして収集していく。ビニール袋などを用いる場合には、長く置くと腐生菌が発生し、病原菌の生存にも悪影響があるので、採集日の終わりには紙封筒に移し、室温で風乾させて持ち帰る。サンプルは十分乾燥していれば、そのまま常温のデシケーター内（湿度30%以下）で保存でき、いつでも菌分離が可能である。

2) 菌の分離

菌は病斑を含んだ5×5mm程度の大きさの細片から分離できる。サンプルから菌糸の活性が高い病斑の周縁部を含むように細片を切り取り、これを図2の方法で表面殺菌後、BLB蛍光管による近紫外光照射下で孢子形成を誘導し、分生子を単孢子分離する。単孢子分離は40～60倍程度の実体顕微鏡下で、針を使って孢子を1個ピックアップして行う。針は通常の有柄針でもよいが、特に長さ50 μ m以下の小型孢子を拾う場合は、直径7mm程度のガラス棒からガスバーナーで先端部の直径が10 μ m程度のガラス針を自作して用いると作業しやすい。ガラス針は70%エタノールにつけた後、炎のそばで軽く振って滅菌する。

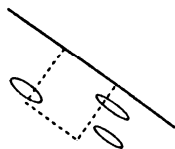
① 組織を洗う。

(特に汚れた組織の場合には一晩流水で洗う。)



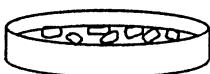
② 組織を切り取る。

(病変周縁部を含むように)

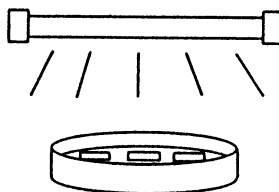


③ 表面殺菌する。

70%エタノール 20秒
10%次亜塩素酸ソーダ 1分
滅菌水で2回洗う



④ 湿ったろ紙を敷いたシャーレに並べ、蓋をして30cmぐらいの距離からBLB蛍光管（または普通の蛍光管、場合によっては窓際に置いてもよい。）で12時間照射、12時間暗黒下に置く。



⑤ 2～3日後に検査。

(形成された孢子の形を顕微鏡でチェック)

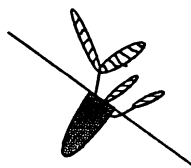


図2. 罹病組織からの孢子形成法

針に孢子が1個付着したのを確認後、孢子を素寒天培地(寒天含量1.5-2%)に移す。この時、シャーレの底面部をマーキングしておき、この部分に孢子を置くようにすれば、後の分離が容易になる。針に孢子が複数個付着した場合には、素寒天培地シャーレの中央部に孢子をすべて乗せ、ここから実体顕微鏡下でマーキング部に孢子を1個ずつ移していくとよい。マーキング部に孢子が1個乗っていることを顕微鏡下で必ず確認する。

単胞後、シャーレを暗黒下で培養する。温度は多くの菌種で25~28℃が最適である。培養2-3日後、発芽菌糸が孢子全長の4-5倍の長さまで伸びたことを確認後、菌糸の先端部を栄養培地に移植する。この作業は実体顕微鏡下でガラス針を使って行うが、光学顕微鏡下で菌糸をマーキングし、その部分を切り取って移植してもよい。栄養培地は表3に示したものがよく用いられるが、特にV8ジュース寒天培地が多くの菌種の生育に適している。移植後、3-4日で明瞭なコロニーが形成される。コロニーは初め気中菌糸が少ない白色の菌叢であるが、後に灰褐色の気中菌糸を生じ、コロニー全体が灰褐色から灰黒色になることが多い。菌種によってはこの時点で、大量に孢子を形成する。

また、孢子形成が困難など単孢子分離が難しい場合には、常法に従って組織分離を行うこともできる。しかし、この場合には分離後孢子を形成させて、目的とする菌であることを確認することが不可欠である。

3) 孢子形成

菌を接種するためには、菌糸を含む寒天片で接種する方法もあるが、多くの場合孢子形成が必要不可欠である。イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌群では暗黒下で十分量の孢子を形成する菌種も多いが (*B. carbonum*, *B. maydis*, *E. turcicum* など)、暗黒下では形成しない菌種・菌株も多く、その場合光照射による孢子形成誘導が必要になる。本菌群では近紫外光-青色光によるマイコクローム系(仮説)により孢子形成が制御されており(本田 1969), *B. oryzae* などで近紫外光照射下では分生子柄の形成が、引き続く暗黒下で分生子の形成が誘導されることが明らかになっている。また、*B. maydis* で近紫外光照射により孢子が大型化する現象も報告され、病原力も孢子の大型化に伴い増大するとされている(月星ら 1986)。また、*B. oryzae* では孢子形成性の光反応の相違により、種内でgDNAのRAPDパターンと一致する幾つかの菌群に分けられることも報告されている(Kihara *et al.* 1997)。

孢子形成を誘導する場合、V8ジュース寒天培地がほとんどの菌種で最適である。暗黒下25℃で前培養後(3-4日間)、気中菌糸を除去し、光照射処理を行う。近紫外光照射はBLB蛍光管あるいは通常の蛍光管を用いて行い、12時間照射および12時間暗黒下の間欠照射を行って孢子を形成させる。*Bipolaris* および *Exserohilum* 属菌ではこの方法でほとんどの菌種・菌株が孢子を形成するが、*Drechslera* 属菌ではさらに培地の水分含量の低下、低温などの処理を必要とすることもある。

4) 接種

噴霧接種法：胞子を形成した平板培地上の菌叢に滅菌水を注ぎ、滅菌した絵筆で表面の分生子を掻き取り、これを脱脂綿などでろ過して孢子懸濁液とする。孢子濃度は 10^4 個/ml 程度とし、約0.01%濃度で展着剤 (Tween 20など) を加えた後に、一定量を植物体に噴霧する。発病度は主に病斑面積率 (病斑面積/葉面積) で判定する。

パンチ接種法：同様に約 10^6 個/ml 濃度の孢子懸濁液を作製し、展着剤を加えずに病菌移植パンチを用いて、孢子懸濁液とともに葉身をパンチして接種する。発病度は病斑長および病斑幅を測定して判定するが、同時に抵抗性および罹病性の品種を対照として加えておくと、安定した判定ができる (但見 1984)。

その他、含菌寒天片を葉に乗せる方法などがある。いずれの場合も接種後16-24時間程度は25℃、暗黒下の温室に保ち、20-30℃の温室に移した後、7-10日後に発病度を判定することが多い。

5) 保存

本菌群は他の菌群と同様に、純粋培養を継代的に続けると、孢子形成能、交配能や病原性の低下など変異を生じることが多い。このため、斜面培地で保存する場合は、10倍希釈 V 8 ジューズ寒天培地あるいは土壌浸出液寒天培地 (表 3) など低栄養の培地で培養し、培養菌株は15-20℃程度の低温に保つことが重要である。また、分離した菌を長期にわたり安定的に保存することはこれらの菌株を用いた実験等を行う上で重要である。代表的な保存方法は以下の通りである。

① 凍結保存法

シャーレ培養上に十分量の孢子形成を確認後、滅菌した25%グリセロールを2-3 ml 流し込み、白金耳でコロニー表面から孢子を掻き落とす。これを先端部を少し切り取ったピペットチップで回収し、2 ml のスクリュウキャップ式のマイクロチューブに入れる。30分程度室温に放置して孢子とグリセロールをなじませた後に、少し振とうして孢子を分散させ-80℃の超低温槽に入れ、凍結させる。この状態で長期にわたり保存可能で、再培養したいときにはここから一部を掻き取って栄養培地に乗せ、そのまま培養する。非常に簡便な方法であり、ほぼすべての菌種で応用可能だが、超低温槽が必要となり、停電時に氷が溶け菌が死滅する危険がある。

② シリカゲル粒乾燥保存法

事前に十分に吸湿させた白色シリカゲル粒 (中粒) 3-4 g を小型試験管に充填し、これに液体栄養培地 1-2 ml を加えてオートクレーブする。液体栄養培地は表 3 に示した MM 培地などが適している。他の液体培地を用いる場合でも、孢子形成を良くするため糖分は5-10g/l に抑える。栄養培地はシリカゲル粒全体が適度に湿る程度が望ましく、あまり多量に入れすぎないようにする。これに菌を移植し、25℃暗黒下で1-2週間、数日ごとに振り混ぜながら培養する。

菌糸が全体に行き渡ったところで、通風恒温器などで風乾させ、完全に乾燥した状態で常温のデシケーター内（湿度30%以下）で保存する。この状態（写真6）ではシリカゲル粒の表面に孢子が乾燥して付着しており、*Bipolaris maydis*, *B. zeicola*, *B. sorghicola* などが少なくとも7-8年間は生存することを確認している。多くの菌種で応用可能であるが、分生子が乾燥にやや弱い *Exserohilum turcicum* などの菌種では、菌株によっては保存中に死滅することがある。

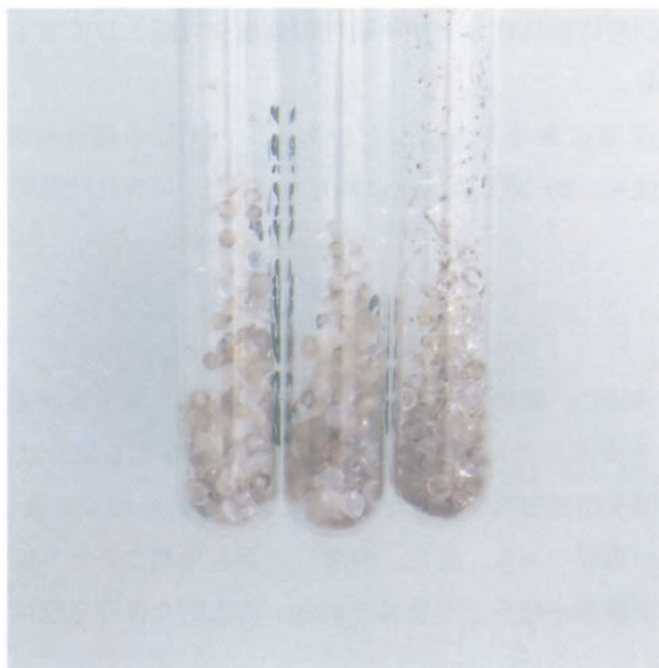


写真6. シリカゲル粒上に乾燥保存した *Bipolaris maydis* 菌株

③ その他の保存法

他の菌種と同様にL-乾燥法による保存も可能である。また、生存程度の確認は不十分ではあるが、オートミール培地など浸透圧の高い培地に培養し、菌叢を大まかに破碎して25%グリセロールに一晩浸漬し、これを-80℃の超低温槽で保存することもできる。この場合、クライオフリージングコンテナ（ナルゲン社）などを用いて温度をゆっくりと低下させれば、生存率は上がると考えられる。また宿主植物に接種し、これを風乾して乾燥保存することもできる。

6. 菌の同定

1) 種の同定基準

へその有無など孢子の形態および発芽様式が明らかになれば属が決まり、種の同定に移る。種の分類基準は *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属それぞれにより若干異なるが、おおむね分

生子の分生子柄への着生の仕方、色、形、大きさ、隔壁数、先端および基端細胞の形態・色・隔壁の特徴等により分類される(西原 1991)。実際の同定に当たっては、Ellis (1971, 1976), Sivanesan (1987) らの詳細な検索表を利用する。また、交配が可能な *Bipolaris* 属菌については、異種間で交配することはほとんどないため、標準菌株と交配し、有性世代(子のう胞子)を形成した場合は、標準菌株と同種と判定できる。

また、最近では核ゲノムの rDNA 領域やメラニン合成遺伝子の保存性の高い領域の塩基配列から、菌種を決定しようとする試みがなされている (Shimizu *et al.* Mycoscience, 印刷中)。この場合、当該領域をシーケンスする、あるいはこれをターゲットにした PCR 産物のバンドパターン、特定の制限酵素で切断した RFLP パターンなどが菌種の分類・同定に利用されている。

2) 種の同定を行うときの留意点

分生子の形態で種の同定を行うとき、その大きさが決め手となることが多いが、実際の分生子の大きさは菌株、培養条件により大きく異なってくる。そのため、種同定に使うデータを取るときは、罹病組織上に形成された分生子を直接使用することが重要である。単離した菌株の同定を行うときは、PDA や V 8 などでは胞子は小型化する傾向があるため、培地はできるだけ富栄養のものを避け、素寒天あるいは 5-10 倍程度に希釈した V 8 ジュース培地を用いて分生子を形成させる。また、光条件も胞子の大きさに影響し、連続暗黒下では胞子は小型化するため、BLB あるいは白色蛍光灯の間欠照射、照射下高温(25℃程度)および暗黒下低温(20℃程度)を保つと、自然条件下と近い形態の分生子が得られる。菌株による変異については、できるだけ多くのサンプルを入手して数多くの菌株を分離し、変異の範囲を確認した上で、同定作業を進めることが重要である。

7. 引用文献

- Ellis, M. B. (1971): Dematiaceous Hyphomycetes. 608p. CAB Kew, Surrey, England
- Ellis, M. B. (1976): More Dematiaceous Hyphomycetes. 507p. CAB Kew, Surrey, England
- Gafur, A. *et al.* (1997): A PCR-based method for mating type determination in *Cochliobolus heterostrophus*. Mycoscience 38: 455-458.
- Hanlin, R. T. (1990): Illustrated genera of Ascomycetes. 263p. APS Press
- 本田雄一 (1969) : *Helminthosporium oryzae* の胞子形成に及ぼす光の影響に関する研究. 東北大学農学研究所報告21: 63-132.
- Kihara, J. *et al.* (1997): Distribution of photo-induced and non-photo-induced sporulator phenotypes of *Bipolaris oryzae* in Japan. Mycoscience 38: 147-153.
- 児玉基一郎ら (1997) : 宿主特異的毒素～その生物学的側面. 植物病害の化学 (市原耿民・上野民夫編) 学会出版センター 39-48.

- 河野芳樹 (1997) : 宿主特異的毒素～その化学的側面から. 植物病害の化学 (市原耿民・上野民夫編) 学会出版センター 33-38.
- Levings, C. S. (1990): The Texas cytoplasm of maize: Cytoplasmic male sterility and disease sensitivity. *Science* 250 : 942-947.
- 中島廣光 (1997) : イネ科植物病原菌の植物毒素～化学構造, 生理活性, 生合成. 植物病害の化学 (市原耿民・上野民夫編) 学会出版センター 101-110.
- 西原夏樹 (1991) : 日本産イネ科牧草のヘルミントスポリウム病. 草地試研究資料第2号124p.
- Shimizu, K. *et al.* (1998): Phylogeny of *Bipolaris* inferred from nucleotide sequences of *Brn1*, a reductase gene involved in melanin biosynthesis. *Mycoscience* (printing).
- Sivanesan, A. (1987): Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. *Mycological Papers* 158, 261p.
- 菅原二三男 (1997) : 植物寄生菌が産生する生理物質とその利用. 植物病害の化学 (市原耿民・上野民夫編) 学会出版センター 215-229.
- 但見明俊 (1984) : トウモロコシごま葉枯病抵抗性の温室内検定. I. パンチ接種による評価法. 草地試研報27 : 17-24.
- Tsuda, M. *et al.* (1977): *Pseudocochliobolus nisikadoi*, the perfect state of *Helminthosporium coicis*. *Mycologia* 69 : 1109-1120.
- 津田盛也 (1992) : 講座／真菌の分離と分類・同定. いわゆるイネ科植物寄生性 *Helminthosporium* 属菌と *Curvularia* 属菌 1. *Helminthosporium* 属菌とその近縁菌. 防菌防黴20 : 265-273.
- 月星隆雄・佐藤徹 (1986) : トウモロコシごま葉枯病菌 *Bipolaris maydis* Shoem. の分生胞子の形態および病原力に及ぼす光の影響. 草地試研報33 : 50-56.
- Tsukiboshi, T. *et al.* (1987): Identification of races of *Bipolaris zeicola*, the causal fungus of *Helminthosporium* leaf spot on corn in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 53 : 647-649.
- Tsukiboshi, T. *et al.* (1990): Inheritance of resistance to target leaf spot caused by *Bipolaris cookei* (Saccardo) Shoemaker in sorghum (*Sorghum bicolor* Moench). *J. Japan. Grassl. Sci.* 35 : 302-308.
- 月星隆雄ら (1995) : トウモロコシごま葉枯病菌 (*Bipolaris maydis*) のレース判別と病原力差異. 草地試研報51 : 12-22.
- Tsukiboshi, T. *et al.* (1996): Races of *Bipolaris maydis* occurring in Japan and their pathogenicity to the *rhm* resistant corn line. *JARQ* 30 : 91-96.
- Turgeon, B. G. *et al.* (1993): Cloning and analysis of the mating-type gene from *Cochliobolus heterostrophus*. *Mol. Gen. Genet.* 238 : 270-284.
- Turgeon, B. G. (1998): Application of mating type gene technology to problems in fungal biology. *Ann. Rev. Phytopathol.* 36 : 115-137.
- Ueda, K. *et al.* (1992): Structure of BZR-cotoxin II produced by *Bipolaris zeicola* race 3, the

cause of leaf spot disease in corn. Tetrahedron Lett. 33 : 5377-5380.

上山昭則ら (1978) : いわゆるヘルミントスポリウム病菌群の学名. 植物防疫32 : 361-368.

Xiao, J. Z. *et al.* (1991) : Rice-specific toxins produced by *Bipolaris zeicola*, race 3 ; evidence for role as pathogenicity factors for rice and maize plants. Physiol. Mol. Plant Pathol. 36 : 67-82.

Yoder, O. C. (1988) : *Cochliobolus heterostrophus*, cause of southern corn leaf blight. Advances of Plant Pathology. 93-112. Academic Press

Yoder, O. C. (1998) : A mechanistic view of the fungal/plant interaction based on host-specific toxin studies. Molecular Genetics of Host-specific Toxins in Plant Disease. 3-15. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht

生物研資料 10－(1)

1999年2月

微生物遺伝資源利用マニュアル(6)

1999年2月1日 印刷

1999年2月5日 発行

茨城県つくば市観音台2-1-2

編集兼
発行者

農林水産省農業生物資源研究所

印刷所

佐藤印刷株式会社

〒310-0043 茨城県水戸市松ヶ丘2-3-23

電話 029(251)1212代