

リアルタイム PCR によるトマト萎凋病菌レースの特異識別

東京農工大学 ^{いなみ}稲見 ^{けいご}圭悟・^{よしおか}吉岡 ^{ちづ}千津・^{てらおか}寺岡 ^{とおる}徹・^{ありえ}有江 ^{つとむ}力
 埼玉県農林総合研究センター ^{ひら}平 ^の野 ^{やす}泰 ^し志
 中央農業総合研究センター ^{かわ}川 ^べ部 ^{まさ}眞 ^と登
 農業環境技術研究所 ^{つし}對 ^ま馬 ^{せい}誠 ^や也

はじめに

土壌環境中には多種多様な微生物が棲息するが、この一部は植物に病害を引き起こす病原菌である。土壌病原菌によって引き起こされる病害を回避するため、臭化メチルなどの土壌燻蒸剤で土壌消毒を行うことが一般的であったが、モニトリオール議定書に基づく臭化メチルの使用禁止や減化学農薬を求める社会的背景の下、土壌病害の防除はますます困難になりつつある。なかでも *Fusarium oxysporum* による病害は、病原菌が耐久性を有する厚膜胞子で長期間土壌中に生存するため、一度発生すると防除は極めて困難である。

F. oxysporum 種内には分化型およびレース（本稿では便宜的に併せて病原型と表現する）が分化している。*F. oxysporum* による病害は多種の植物で報告されているため、*F. oxysporum* が多犯性であるかのような印象を与えるが、実際には、各菌株の宿主範囲は極めて狭く、その宿主範囲に基づいて「分化型 *forma specialis* (f. sp.)」に分類されている。例えば、トマト萎凋病菌 f. sp. *lycopersici* はトマトのみを、イチゴ萎黄病菌 f. sp. *fragariae* はイチゴのみを宿主とし得る。さらに、一部の分化型内には感染可能な品種が異なる「レース」の分化が見られ、例えばトマト萎凋病菌では三つのレース（1～3）が報告されている。レースと品種の関係は、萎凋病菌が有する非病原力遺伝子（*AVR1*, *AVR2*, *AVR3*）と品種が有する萎凋病抵抗性遺伝子（*I*, *I-2*, *I-3*）の組み合わせに基づき、遺伝子対遺伝子説（FLOR, 1956）で説明される（表-1）。一方で、植物に対する病原性をもたないと考えられる、いわゆる非病原性 *F. oxysporum* 菌も環境

中にはあまなく棲息する。萎凋病罹病トマト組織からさえ、萎凋病菌だけでなく非病原性の菌株がしばしば分離される。

土壌病害の防除は大変困難であるため、土壌検診を行ってどのような病原菌が潜んでいるのかを知ることが栽培する植物種や品種の選定、耕種の防除措置立案等の点で農業生産者にとって重要な情報になり得る。そのためには、病原菌を非病原性菌株と区別するだけでなく、病原型をも識別する技術が必要になる。*F. oxysporum* の病原型を形態などによって識別することは不可能であるため、これまでは分離菌を判別品種に接種し、発病の有無を検定することで病原型を識別してきた。しかしこの方法による識別には約2か月を要することから、より迅速な病原型識別技術の確立が求められている。識別の迅速化を目指して、免疫学的手法の利用（ARIE et al., 1998）、アイソザイムや多型解析、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の複合利用（ATTITALA et al., 2004）等が試みられたが、病原型識別への利用には至らなかった。

本稿では、トマト萎凋病菌およびそのレースの特異識別を目的としたリアルタイム PCR の応用例を紹介する。なお、本稿は INAMI et al. (2010) の概要であるため、詳しくはそちらをご参照いただきたい。

I TaqMan プローブ法によるリアルタイム PCR の原理

詳しい原理については佐々木（2003）などをご参照いただきたい。リアルタイム PCR は、サーマルサイクラー（DNA 増幅器）と分光蛍光光度計を併せた装置を用いて行い、DNA 断片の増幅を蛍光強度によってモニタリングする。TaqMan プローブ法を用いたリアルタイム PCR による病原型識別の原理の概要を図-1 に示す。TaqMan プローブの蛍光色素（FAM）の蛍光はクエンチャーによって消光されている（図-1 A）。病原型菌株特異識別用プライマーおよびプローブと相同の配列が鋳型 DNA に存在、すなわち、標的病原型菌株がサンプル

Differential Determination of Races of Tomato Wilt Pathogen by Real-Time PCR. By Keigo INAMI, Chizu YOSHIOKA, Yasushi HIRANO, Masato KAWABE, Seiya TSUSHIMA, Tohru TERAOKA and Tsutomu ARIE

（キーワード：*Fusarium oxysporum*, 分化型, レース, リアルタイム PCR, TaqMan プローブ, 非病原力遺伝子）

表-1 遺伝子対遺伝子説 (FLOr, 1956) に基づくトマト萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) レースとトマト品種の関係

トマト品種 ^{a)} (抵抗性遺伝子 ^{b)})	トマト萎凋病菌 (非病原力遺伝子 ^{b)})		
	レース 1	レース 2	レース 3
	(<i>AVR1 AVR2 AVR3</i>)	(<i>avr1 AVR2 AVR3</i>)	(<i>avr1 avr2 AVR3</i>)
ボンデローザ (<i>i i-2 i-3</i>)	S	S	S
桃太郎 (<i>I i-2 i-3</i>)	R	S	S
Walter (<i>II-2 i-3</i>)	R	R	S
ブロック (<i>II-2 I-3</i>)	R	R	R

S: 親和性 (萎凋病が起こる), R: 非親和性 (萎凋病が起こらない). ^{a)} ボンデローザ (タカヤマシード, 京都), 桃太郎 (タキイ種苗, 京都), Walter (野菜茶業研究所, 津より分譲), ブロック (サカタのタネ, 横浜). ^{b)} 大文字: 機能を有する遺伝子を保持, 小文字: 遺伝子を保持しないか遺伝子が機能を失っている.

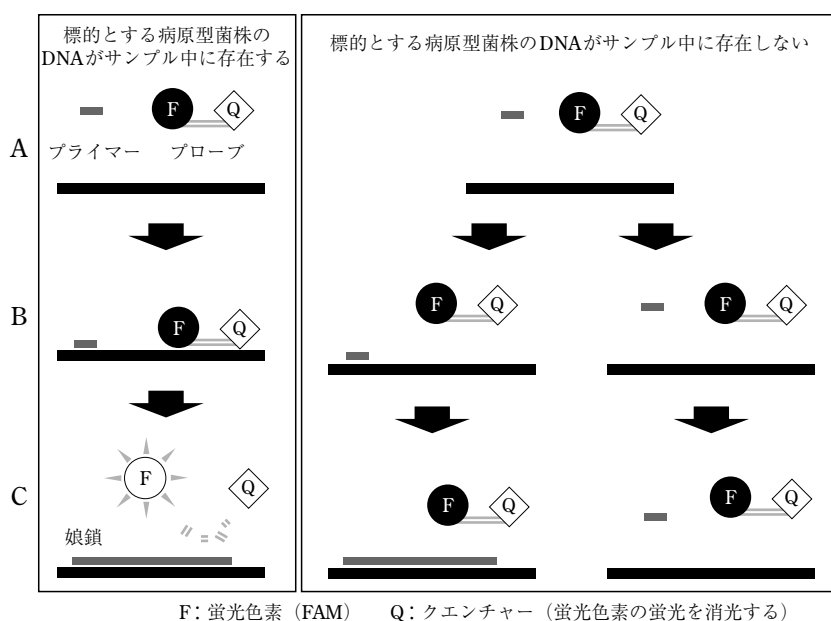


図-1 本研究における, TaqMan プローブ法を用いたリアルタイム PCR による病原型特異識別の原理

A: 蛍光 (F) はクエンチャー (Q) によって消光されている。B: プライマー/プローブが標的とする病原型株が存在する場合は相同性に基づいてプライマーおよびプローブが鋳型 DNA にハイブリダイズする (左) が、存在しない場合はハイブリダイズしない (中央および右)。C: プライマー、プローブともハイブリダイズした場合 (左) は、娘鎖の伸長に伴ってプローブが分解され、クエンチャーが外れるため蛍光を発する (左)。

中に存在している場合 (図-1 B 左), プライマーおよびプローブがハイブリダイズする。PCR 反応によって娘鎖が伸長し, 鋳型 DNA に結合していたプローブが DNA ポリメラーゼの 5' → 3' エキソヌクレアーゼ活性によって分解されるのに伴い, クエンチャーが外れて蛍光を発する (図-1 C 左)。蛍光強度の変化を常時モニタリングすることで特異的な配列の DNA の検出や定量が可能になる。リアルタイム PCR 法は現在, 病原体の同定など様々な場面で利用されている。土壌病原菌や植物寄生性線虫を対象にしたリアルタイム PCR の有効性も既に, *Phytophthora infestans*, *Pythium ultimum*, *Verticillium longisporum*, *Globodera rostochiensis* 等で報告されている (OKUBARA et al., 2005; LIEVENS et al., 2006; WANG et al., 2006; 斉藤ら, 2007; BERRY et al., 2008; 豊田ら, 2008; HUANG et al., 2009)。

II トマト萎凋病菌レース特異識別用プライマー/プローブセット

1 分子系統に基づくプライマー/プローブセット

近年一般的になってきた生物種の分子生物学的な分類・同定は, 基本的には分子系統に基づいて行われている。種内に非病原性株が存在しない土壌病原菌 (*V. dahliae* や *Pyrenochaeta lycopersici* 等) の場合, 分子系統に基づく種の同定が可能になれば病害診断も比較的容易に達成可能になると考えられる。ところが *F. oxysporum* の場合, 分子系統樹中で植物病原性の菌株と非病原性菌株が近縁に位置していたり, 一つの分化型の菌株が複数クレードにまたがって含まれたりしており (KISTLER, 1997; KAWABE et al., 2005), 病原型と分子系統の相関が認められない。したがって, リボソーム DNA の転写領域内部スペーサー (rDNA-ITS) や遺伝子間領域 (rDNA-IGS) 等の塩基配列の差異に基づく系統関係を基準にした識別技術は, *F. oxysporum* 種内の病原型の識別には不都合であると考えられていた。

ただし, 各レースの我が国への侵入の経緯に起因すると想定されているが, 日本産トマト萎凋病菌に限れば, 分子系統樹中で 1 ~ 3 の各レースがそれぞれ独立のクレードを形成する (KAWABE et al., 2005)。これに基づき, HIRANO and ARIE (2006) はポリガラクトツロナーゼ遺伝子上に設計した複数の特異プライマーセットを用いた PCR によって日本産トマト萎凋病菌のレース判別が可能であることを示した (平野, 2009)。報告されたプライマーセットのうちレースを識別するものは, レース 1 および 3 識別用セット sp13 とレース 2 および 3 識別用セット sp23 である。すなわち, 前者のみで検出される

場合はレース 1, 後者のみで検出される場合はレース 2, 両方で検出される場合はレース 3 と判別される。このプライマーセットは分離菌株や植物組織内の *F. oxysporum* のレース識別には適しているが, レース混在の可能性のある土壌中の *F. oxysporum* レース識別に際しては, 例えば, レース 1 と 2 の混在をレース 3 と判別してしまうような問題があった (HIRANO and ARIE, 2006)。

本稿で紹介するリアルタイム PCR 用特異プライマー/プローブセット P1, P2, P3 (表-2) は, KAWABE et al. (2005) および HIRANO and ARIE (2006) を参考に, 日本産トマト萎凋病菌レース間に認められる rDNA-IGS 領域の塩基多型を特異認識し, その結果日本産のレース 1, 2, 3 をそれぞれ識別できるように設計したものである。そのため, レースが混在している場合でも使用可能である特長をもつ。

2 非病原力遺伝子に基づくプライマー/プローブセット

上述の分子系統に基づくプライマー/プローブセットが, 現時点で日本産トマト萎凋病菌のレース識別に有効であることは間違いない。しかし, 各系統内でレース変異が生じた場合や, 従来日本に存在しなかった系統のレースが海外から侵入した場合には対応できない懸念がある。

この問題を回避するには, 病原型決定因子を基準にした識別法の確立が望まれる。近年, アムステルダム大学 (オランダ) の研究グループによって, トマト萎凋病菌の非病原力遺伝子 *SIX1* (*AVR3* に相当) および *SIX4* (*AVR1* に相当) が相次いで発見された (REP et al., 2004; HOUTERMAN et al., 2008) (表-1 参照)。*SIX1* はトマト萎凋病菌の全レース (1 ~ 3) に保持されるが他分化型や非病原性菌株には認められない (van der DOES et al., 2008; LIEVENS et al., 2009) ので, トマト萎凋病菌の識別に利用可能である。一方, *SIX4* はトマト萎凋病菌レース 1 のみに保持され, 他レースや他分化型および非病原性菌株には認められない (HOUTERMAN et al., 2008; LIEVENS et al., 2009) ため, レース 1 の特異識別に利用可能である。そこで筆者らは, *SIX1*, *SIX4* 上にそれぞれ特異プライマー/プローブセット L1, R1 (表-2) を設計した。

III 設計した特異プライマー/プローブセットの有効性

菌体由来のゲノム DNA (gDNA) を鋳型にしたリアルタイム PCR を 7300 Real-time PCR System を用いて実施した。菌体 gDNA は ARIE et al. (1997) に従って抽出した。使用した菌株は表-3 に示すとおりである。プライマー/プローブセットの配列情報は表-2 に示した。

表-2 本研究で設計したトマト萎凋病菌の病原型特異識別用プライマー/プローブセット

プライマー/プローブセットおよび各塩基配列 ^{a)}		データベース上の 設計位置 (nt.)
トマト萎凋病菌特異識別用		
SIX1 を検出するプライマー/プローブセット L1 (#AJ608703)		
プライマー		
SIX1f	5'-GGGAGCCCCAGATATTTTCA-3'	10095 ~ 10115
SIX1r	5'-GGATGCTGCCACCTTATCCA-3'	10156 ~ 10137
プローブ		
SIX1pr	5'-TTGACCTACACGGAATAT-3'	10118 ~ 10135
レース 1 特異識別用		
rDNA-IGS 領域のレース 1 多型を検出するプライマー/プローブセット P1 (#AB106019)		
プライマー		
sp1-2f	5'-GCTGGCGGATCTGACACTGT-3'	367 ~ 386
sp1-2r	5'-CCTAAACCACATATCTCGTCCAAA-3'	466 ~ 443
プローブ		
sp1-2pr	5'-TTTCGTACTTGCCAGGTTG-3'	421 ~ 439
SIX4 を検出するプライマー/プローブセット R1 (#AM234064)		
プライマー		
SIX4f	5'-TGTCACGCGTGCAGGAAA-3'	1519 ~ 1536
SIX4r	5'-TGGGCCTTGAGTCGAATGA-3'	1557 ~ 1575
プローブ		
SIX4pr	5'-CCAGGAATAGGACGAAAG-3'	1538 ~ 1555
レース 2 特異識別用		
rDNA-IGS 領域のレース 2 多型を検出するプライマー/プローブセット P2 (#AB106027)		
プライマー		
sp2-2f	5'-CGGTGCAGGGTAGTAGTCGAGTTA-3'	78 ~ 98
sp2-2r	5'-CAACACACAGCCGACCAGACT-3'	139 ~ 119
プローブ		
sp2-2pr	5'-ACTTGGTGGAGTTCCGTC-3'	100 ~ 117
レース 3 特異識別用		
rDNA-IGS 領域のレース 3 多型を検出するプライマー/プローブセット P3 (#AB106044)		
プライマー		
sp3f	5'-GTCGGTTCGAGGATCGATTC-3'	184 ~ 203
sp3r	5'-AAGACAAACCAGCCTAGGGTAGAC-3'	262 ~ 239
プローブ		
sp3pr	5'-CCGTCGATGATATGTGATGTA-3'	214 ~ 234

INAMI et al. (2010) を改変. ^{a)} () 内は, GenBank のアクセス番号を示す.

反応溶液および反応条件の詳細は INAMI et al. (2010) をご参照いただきたい。すべての特異プライマー/プローブセットで予定どおり各レースの特異識別が可能であり, 非病原性 *F. oxysporum* 菌株 1 株 (Fo304) を除き, 他分化型および非病原性菌株, 他種, 他属菌株を誤認することはなかった (図-2 A, 表-3)。Fo304 の rDNA-IGS 領域の塩基配列は日本産トマト萎凋病菌レース 2 と相同であるため, 分子系統に基づく P2 セットで検出さ

れた (図-2 A, 表-3) ことは想定内である。ただし, 病原性決定因子 (*SIX1*) に基づくトマト萎凋病菌株特異識別用セット L1 で Fo304 は検出されない (表-3) ことから, P1 ~ P3, L1, R1 を併せて使用することで誤診の危険性が低減される。

次に, 現場への応用という視点から, 土壌抽出 DNA を鋳型として使用した。トマト萎凋病菌各レースの人工汚染土を調製し, 農業環境技術研究所 eDNA プロジェ

表-3 本研究で使用した菌株とリアルタイム PCR の結果

菌株	宿主植物	菌株の由来 ^{a)}	分子系統樹 における クレード ^{b)}	非病原力遺伝子 ^{c)}		各プライマー/ プローブセットによる 検出結果 ^{d)}					
				SIX4 (AVR1)	SIX1 (AVR3)	P1	P2	P3	L1	R1	
<i>Fusarium oxysporum</i>											
f. sp. <i>lycopersici</i>											
レース 1											
103036	トマト	MAFF	A2	+	+	+	—	—	+	+	
305121	トマト	MAFF	A2	+	+	+	—	—	+	+	
レース 2											
103043	トマト	MAFF	A1	—	+	—	+	—	+	—	
12575 ^{e)}	トマト	JCM	A1	—	+	—	+	—	+	—	
レース 3											
H-1-4	トマト	細淵勇治氏 (サカタのタネ)	A3	—	+	—	—	+	+	—	
Chz1-A	トマト	本研究室	A3	—	+	—	—	+	+	—	
f. sp. <i>cucumerinum</i>											
Rif-1	キュウリ	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>fragariae</i>											
31984	イチゴ	NBRC	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>apii</i>											
1017	ミツバ	SUF	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>melongenae</i>											
103051	ナス	MAFF	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>matthioli</i>											
880116a	ストック	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>niveum</i>											
305608	スイカ	MAFF	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>lilii</i>											
851209k	ユリ	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>glycines</i>											
851209m	ダイズ	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>spinaciae</i>											
880803e-2	ホウレンソウ	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>asparagi</i>											
FokF233	アスパラガス	児玉不二雄氏 (元北海道中央農試)	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>nicotianae</i>											
15645	タバコ	ATCC	—	—	—	—	—	—	—	—	
f. sp. <i>batatas</i>											
103070	サツマイモ	MAFF	—	—	—	—	—	—	—	—	
非病原性菌											
T-2A		渡辺 健氏 (茨城県)	—	—	—	—	—	—	—	—	
T-2C		渡辺 健氏 (茨城県)	—	—	—	—	—	—	—	—	
9901		渡辺 健氏 (茨城県)	—	—	—	—	—	—	—	—	
101-2		渡辺 健氏 (茨城県)	—	—	—	—	—	—	—	—	
F-4		諏訪澄長氏 (群馬県)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Fo304		雨宮良幹氏 (千葉大学)	A2	—	—	—	+	—	—	—	
<i>F. roseum</i>											
0016-2	不明	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>F. moniliforme</i>											
N-68	イネ	堅石秀明氏, 三宅泰司氏 (クレハ)	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Verticillium dahliae</i>											
060714-2	ナス	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—	

表-3 (つづき)

菌株	宿主植物	菌株の由来 ^{a)}	分子系統樹 における クレード ^{b)}	非病原力遺伝子 ^{c)}		各プライマー/ プローブセットによる 検出結果 ^{d)}				
				<i>SIX4</i> (<i>AVR1</i>)	<i>SIX1</i> (<i>AVR3</i>)	P1	P2	P3	L1	R1
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>										
060328a-1	キャベツ	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Mucor</i> sp.										
0016 2-2	不明	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Rhizopus</i> sp.										
0046 2-1	不明	本研究室	—	—	—	—	—	—	—	—

INAMI et al. (2010) を改変。^{a)} MAFF：農林水産省農業生物資源研究所ジーンバンク（つくば市），JCM：理化学研究所バイオリソースセンター微生物系統保存施設（和光市），NBRC：製品評価技術基盤機構生物資源部門（木更津市），SUF：信州大学繊維学部（上田市），ATCC：American Type Culture Collection（マナッサス，バージニア，アメリカ）。^{b)} KAWABE et al. (2005) 中のトマト萎凋病菌クレード A1, A2, A3 に対応する。—はこれらのクレードに入らないことを示す。^{c)} +：*SIX4* もしくは *SIX1* を保持する，—：*SIX4* もしくは *SIX1* を保持しない。^{d)} +：検出，—：非検出。^{e)} KAWABE et al. (2005) および HIRANO and ARIE (2006) で示した 880621a-1 菌株と同一。

クトの標準プロトコール（森本・星野(高田)，2008；http://www.niaes.affrc.go.jp/project/edna/edna_jp/manual_bacterium.pdf）に従って土壌 DNA（eDNA）を抽出した。この DNA を鋳型にリアルタイム PCR を行ったところ，菌体 gDNA を鋳型にした場合と同様にレース識別が可能であった（図-2 B）。データは示さないが，実際に萎凋病が発生しているトマト圃場の土壌から DNA を抽出，リアルタイム PCR による識別を試みた場合も，萎凋病菌の存在およびレースを特異的に識別することができている。本法は識別に要する時間が土壌 DNA の抽出も含めて 2 時間半程度と迅速であり，本技術の実用性が示唆された。

お わ り に

近年，トマト萎凋病菌において非病原力遺伝子 *SIX1* (*AVR3*)，*SIX4* (*AVR1*) に加え，新たな非病原力遺伝子 *SIX3* (*AVR2* に相当，表-1 参照) が報告された (HOUTERMAN et al., 2009)。*SIX4* がレース 1 菌株のみに保持され，レース 2, 3 菌株には認められないのに対し，*SIX3* はいずれのレースにも保持される。しかし，*SIX3* 遺伝子内に点変異が生じてタンパク質のアミノ酸変異が誘導されることによって，*I-2* に対応する非病原力が失われてレース 3 が出現したことが示されている。そこで，レース 1 および 2 菌株と，レース 3 菌株間の塩基の点変異を認識するリアルタイム PCR 用特異プライマー/プローブセットを *SIX3* 上に設計し，その有効性について現在検討を行っている。なお，最近，LIEVENS et al. (2009) は *SIX1*，*SIX4*，*SIX3* をターゲットにしたトマ

ト萎凋病菌レース識別用の PCR 用プライマーセットを報告している。

プライマー/プローブセット P1, P2, P3 は分子系統に基づいており，病原型決定因子に基づくプライマー/プローブセット L1, R1 のほうがレース識別には優位であるとの印象を受けられたかもしれない。しかし，上述の *SIX3* で例示されるように，病原型決定遺伝子の点変異などによる新レース出現に対して，短い DNA 断片を認識する TaqMan プローブが無効化する危険性が高い。したがって，本稿で紹介したように，分子系統に基づくプライマー/プローブセットと病原型決定遺伝子に基づくプライマー/プローブセットを併せて使用することが，病原型の確実な特異識別につながると考えている。

リアルタイム PCR の特長として，定量性を挙げることができる。筆者らが作成した五つのプライマー/プローブセットについて，反応液中の鋳型 DNA の検出限界はすでに明らかになっている (INAMI et al., 2010)。現在は，土壌中のトマト萎凋病菌や各レースの定量を試みている。しかし，萎凋病の発病程度と土壌中の病原菌密度との関連には，菌の休眠状態，土性やその他の環境要因が大きく影響を及ぼすと考えられるため，発病診断を目的とした定量については慎重に検討する必要があると考えている。さらに，今後は特異プローブをマイクロアレイに搭載し，多様な土壌病原菌や病原型の同時特異識別技術の確立にも発展させていきたい。

本稿で紹介した研究は農林水産省による「土壌微生物相の解明による土壌生物性の解析技術の開発（eDNA プロジェクト），農業環境技術研究所」の一環で行ったも

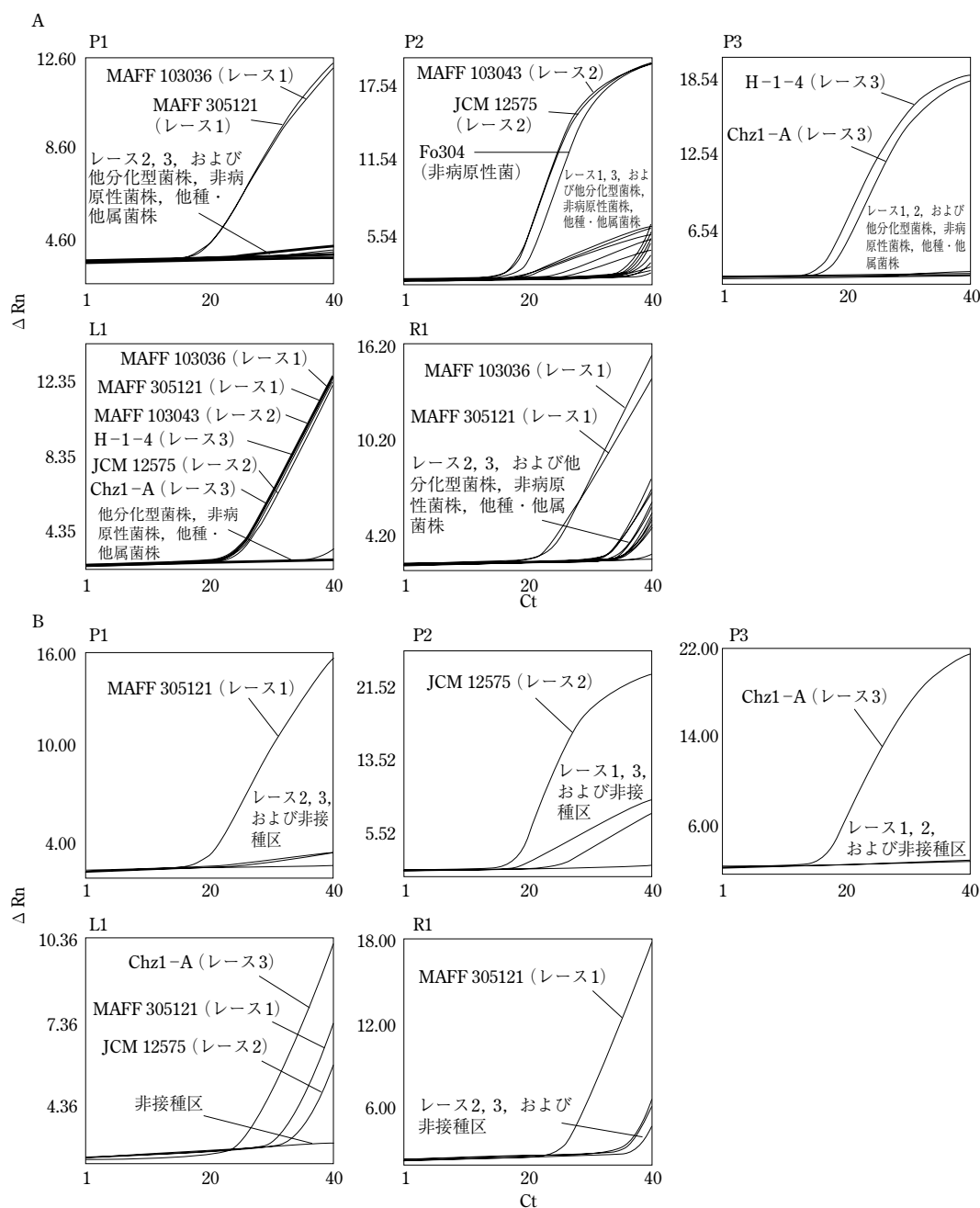


図-2 特異プライマー/プローブセット (P1～P3, L1, R1) を用いたリアルタイム PCR によるトマト萎凋病菌およびレースの特異識別 (INAMI et al., 2010 を改変)

A: 菌体 gDNA を鋳型にして行った検出。供試菌株は表-2 に示すとおりである。B: 土壌抽出 DNA を鋳型にして行った検出。供試サンプルには, MAFF 305121 (レース 1), JCM 12575 (レース 2), Chz1-A (レース 3) に汚染された土壌抽出 DNA を用いた。縦軸は蛍光強度 (ΔRn), 横軸はサイクル数 (Ct) を表す。

のであり、また一部は日本学術振興会科学研究費補助金によるものである。

引用文献

- 1) ARIE, T. et al. (1997): Fungal Genet. Biol. **21**: 118 ~ 130.
- 2) ——— et al. (1998): Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. **64**: 7 ~ 15.
- 3) ATTITALIA, I. H. et al. (2004): Mycol. Res. **108**: 787 ~ 794.
- 4) BERRY, S. D. et al. (2008): Mol. Cell Probes **22**: 168 ~ 176.
- 5) FLOR, H. H. (1956): Adv. Genet. **8**: 29 ~ 54.
- 6) HIRANO, Y. and T. ARIE (2006): J. Gen. Plant Pathol. **72**: 273 ~ 283.
- 7) 平野泰志 (2009): 今月の農業 **53**(2): 50 ~ 54.
- 8) HOUTERMAN, P. M. et al. (2008): PLoS Pathog. **4**: e1000061.
- 9) ——— et al. (2009): Plant J. **58**: 970 ~ 978.
- 10) HUANG, J. et al. (2009): J. Appl. Microbiol. **107**: 1729 ~ 1739.
- 11) INAMI, K. et al. (2010): J. Gen. Plant Pathol. DOI 10.1007/s10327-010-0224-7.

- 12) KAWABE, M. et al. (2005): ibid. **71**: 263 ~ 272.
- 13) KISTLER, H. C. (1997): Phytopathology **87**: 474 ~ 479.
- 14) LIEVENS, B. et al. (2006): Plant Sci. **171**: 155 ~ 165.
- 15) ——— et al. (2009): FEMS Microbiol. Lett. **300**: 201 ~ 215.
- 16) 森本 晶・星野(高田)裕子 (2008): 土と微生物 **62**: 63 ~ 68.
- 17) OKUBARA, P. A. et al. (2005): Can. J. Plant Pathol. **27**: 300 ~ 313.
- 18) REP, M. et al. (2004): Mol. Microbiol. **53**: 1373 ~ 1383.
- 19) 齊藤秀成ら (2007): 日植病報 **73**: 213.
- 20) 佐々木博己 (2003): こここまでできる PCR 最新活用マニュアル, 羊土社, 東京, p. 154 ~ 159.
- 21) 豊田剛己ら (2008): 植物防疫 **62**: 571 ~ 575.
- 22) van der DOES, H. C. et al. (2008): Environ. Microbiol. **10**: 1475 ~ 1485.
- 23) WANG, Y. et al. (2006): Phytopathology **96**: 1315 ~ 1321.

(新しく登録された農薬 14 ページからの続き)

「殺虫殺菌剤」

●クロチアニジン・バリダマイシン・フェリムゾン・フサライド水和剤 ※新剤型

22625: ブラシンバリダダントツフロアブル (住友化学) 10/03/03

クロチアニジン: 6.6%, バリダマイシン A: 5.0%, フェリムゾン: 15.0%, フサライド: 15.0%

稲: ウンカ類, カメムシ類, いもち病, 紋枯病: 収穫 21 日前まで (無人ヘリコプターによる散布)

●エトフェンプロックス・カスガマイシン・トリシクラゾール水和剤 ※新剤型

22636: ダブルカットトレボンフロアブル (北興化学工業) 10/03/17

エトフェンプロックス: 10.0%, カスガマイシン: 1.37%, トリシクラゾール: 8.0%

稲: いもち病, ウンカ類, ツマグロヨコバイ, カメムシ類, コブノメイガ: 穂揃期まで

稲: いもち病, ウンカ類, ツマグロヨコバイ: 穂揃期まで (無人ヘリコプターによる散布)

稲: いもち病, ウンカ類, ツマグロヨコバイ: 穂揃期まで空中散布

●カルタップ・クロチアニジン・バリダマイシン・フェリムゾン・フサライド粉剤 ※新製剤

22638: ハスラー H 粉剤 DL (住友化学) 10/03/17

カルタップ: 2.0%, クロチアニジン: 0.50%, バリダマイシン A: 0.30%, フェリムゾン: 2.0%, フサライド: 1.5%

稲: いもち病, 紋枯病, 穂枯れ (ごま葉枯病菌), ウンカ類, ツマグロヨコバイ, カメムシ類, コブノメイガ, ニカメイチュウ, イネツトムシ: 収穫 21 日前まで

●ジノテフラン・チオファネートメチル粉剤 ※新混合剤

22642: ホクコートツジンスタークル粉剤 DL (北興化学工業) 10/03/17

ジノテフラン: 0.35%, チオファネートメチル: 2.0%

稲: いもち病, ウンカ類, ツマグロヨコバイ, カメムシ類: 収穫 14 日前まで

「殺菌剤」

●脂肪酸グリセリド乳剤 ※新製剤

22623: アーリーセーフスプレー (富士グリーン) 10/03/03

脂肪酸グリセリド: 0.15%

野菜類: うどんこ病: 収穫前日まで

●バチルスズブチリス・ポリオキシシン水和剤 ※新混合剤

22624: クリーンサポート (クミアイ化学工業) 10/03/03
バチルスズブチリス D747 株の生芽胞: 2.0×10^{10} CFU/g, ポリオキシシン複合体: 20.0%

きゅうり: 灰色かび病, うどんこ病: 収穫前日まで

なす: すすかび病, 灰色かび病: 収穫前日まで

トマト: 葉かび病, 灰色かび病: 収穫前日まで

●オキスポコナゾールフマル酸塩水和剤 ※新剤型

22627: オーシャインフロアブル (大塚化学) 10/03/03

オキスポコナゾールフマル酸塩: 20.0%

おうとう: 灰星病, 幼果菌核病: 収穫前日まで

すもも: 灰星病: 収穫前日まで

もも: 灰星病: 収穫前日まで

ネクタリン: 灰星病: 収穫前日まで

ぶどう: うどんこ病: 収穫 7 日前まで

●フルアジナム水和剤 ※名称変更

22629: ホクサンフロンスайд水和剤 (北海三共) 10/03/03

フルアジナム: 50.0%

三共フロンスайд水和剤 (No. 17558) から商品名のみ変更

22631: ホクサンフロンスайд SC (北海三共) 10/03/03

フルアジナム: 39.5%

三共フロンスайд SC (No. 18752) から商品名のみ変更

●フルアジナム粉剤 ※名称変更

22632: ホクサンフロンスайд粉剤 (北海三共) 10/03/03

フルアジナム: 0.50%

三共フロンスайд粉剤 (No. 17561) から商品名のみ変更

●カスガマイシン・トリシクラゾール水和剤 ※新剤型

22635: ダブルカットフロアブル (北興化学工業) 10/03/17

カスガマイシン: 1.37%, トリシクラゾール: 8.0%

稲: いもち病: 穂揃期まで (散布, 無人ヘリコプターによる散布, 空中散布)

●アミスルプロム・シモキサニル水和剤 ※新混合剤

22637: ダイナモ顆粒水和剤 (日産化学工業) 10/03/17

アミスルプロム: 17.0%, シモキサニル: 30.0%

ばれいしょ: 疫病: 収穫 7 日前まで

トマト: 疫病: 収穫前日まで

ミニトマト: 疫病: 収穫前日まで

きゅうり: べと病: 収穫前日まで

(38 ページに続く)