リンドウ褐斑病とその病原菌

小林 享夫^{1*}・粕山 新二²・那須 英夫³・小野 泰典⁴・渡辺 京子⁵

ABSTRACT

KOBAYASHI, T.¹, KASUYAMA, S.², NASU, H.³, ONO, Y.⁴ and WATANABE, K.⁵ (2009). Brown leaf spot disease of gentian, *Gentiana scabra* var. *buergeri* (Miq.) Maxim. and its causal fungus. Jpn. J. Phytopathol. 75: 1–8.

A new disease, brown leaf spot of gentian, *Gentiana scabra* var. *buergeri* (Miq.) Maxim. was first found in 1984 in Okayama Prefecture, and then in Iwate Prefecture, Japan. The spots are first pale brown, then turn to grayish white, often with a purplish brown border. Diseased leaves usually dry out without early defoliation. Often flower buds are infested. Fruiting bodies of a fungus develop on the leaf spots and have a unique morphological development. Spraying a suspension of conidia-like propagules from the fruiting bodies or placing a disc of the isolated fungal colony on the leaves resulted within 1 to 2 weeks in the appearance of the leaf spot symptoms the same as in field. The pathogen was similar to hyphomycetous genus *Mycochaetophora* Hara et Ogawa established in 1931 for the fungus that causes circular leaf spot of *Zelkova serrata* (Thunb.) Makino. But *Zelkova serrata* did not develop any disease after inoculation with the fungus isolated from gentian. Because the sizes of the sporophore and conidium of the gentian fungus also differs from the *Mycochaetophora* pathogen of *Zelkova*, the present fungus was treated as a new species of the genus *Mycochaetophora*, and named *M. gentianae* Tak. Kobay., Kasuyama et Nasu.

(Received March 3, 2008; Accepted June 19, 2008)

Key words: Gentian, brown leaf spot, *Mycochaetophora*, pathogenicity, new species

緒 言

リンドウ (*Gentiana scabra* var. *buergeri*) の褐斑病は1984年頃から岡山県下のリンドウ栽培圃場において発生が認められ (粕山・出射, 1987; 粕山ら, 1988), 近年には岩手県下での発生も記録されている (仲谷・高橋, 1991; 猫塚・勝部, 2003). 本病は当初よりその激しい症状から注目されたにも拘わらず, 病原菌の特異な形態からその学名が正式に決まらないまま今日に至っている. 筆者らは岡山産の新鮮な病葉試料とそれから分離した培養株を用いて, 病原菌の病原性を確認するとともに, その所属について考察を加え, 新学名をここに提案する. なお本稿の一部は平成16年度日本植物病理

学会大会において講演発表した (小林ら, 2004).

材料および方法

症状および病原菌の分離 2003年6月および8月に岡山県下の褐斑病発生圃場より採取した新鮮な病害標本を用いた. 病斑上にはすべて同一種と思われる糸状菌の菌糸と菌体が観察されたため, 初期病斑からの組織分離および分生子と考えられる菌体からの単孢子分離を行った. 組織分離は葉の表面に形成された菌体を含む病斑を約2 mm 角に切り取り, 30片ほどをガーゼで2重に包み, 輪ゴムでとめ, ビーカーに入れて水道の下で1時間流水洗浄し, 滅菌水で2回洗い, 滅菌濾紙上で水を吸いとったのち, PSA 平板培地に5片ずつ置い

¹ 東京農業大学国際農業開発学科 (〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1) Tokyo University of Agriculture, Department of International Agricultural Development, Sakuragaoka 1-1-1, Setagaya, Tokyo 156-8502, Japan

² 岡山市農業協同組合 (〒700-8535 岡山市大供表町1-1) Okayama-city Agricultural Cooperative, Daiku-omotemachi 1-1, Okayama, Okayama 700-8535, Japan

³ 岡山県農業総合センター農業試験場 (〒709-0801 岡山県赤磐市神田沖1174-1) Okayama Prefectural General Agriculture Center, Agricultural Experiment Station, Kouda-oki 1174-1, Akaiwa, Okayama 709-0801, Japan

⁴ 第一三共株式会社研究開発本部創薬基盤研究所 (〒140-8710 東京都品川区広町1-2-58) Advanced Technology Research Laboratories, R & D Center, Daiichi Sankyo Co. Ltd., Hiromachi 1-2-58, Shinagawa, Tokyo 140-8710, Japan

⁵ 玉川大学農学部 (〒194-8610 東京都町田市玉川学園6-1-1) Tamagawa University, College of Agriculture, Tamagawa-gakuen 6-1-1, Machida, Tokyo 194-8610, Japan

* Corresponding author (E-mail: takob0121@yahoo.co.jp)

て 15°C の定温器に保ち、10 日～2 週間後に伸長した菌糸を PSA 斜面培地に移植した（流水洗浄法：小林ら，1974）。また、葉面上の毛毯状～ほうき（箒状）の菌体を掻き取って得られた小分枝（以下これを分生子という）の浮遊液を WA 平板培地に画線塗布し、発芽した分生子をひとつずつ培地ごとすくって PSA 斜面培地に移植した。

病原性の確認 上記の組織分離および単孢子分離により得られた菌株はいずれも同じ特徴をもった菌叢を発達させたので、単孢子分離株を用いて健全なリンドウの株に接種を行った。分生子懸濁液の噴霧と培養菌叢の貼り付けによる接種を行い、ともに無傷区と柄付き針で葉に孔をあける有傷区を設けた。対照区では滅菌水の噴霧と PSA 培地の角片を貼り付け、同様に無傷区と有傷区を設けた。接種は 2003 年 8 月 21 日と同年 10 月 7 日の 2 回行い、接種後は 4 日間 24°C の暗温室に保ち、以後は 25°C 前後に調節したガラス室を出して観察を続けた。

次に本菌との形態的類似が認められた *Mycochaetophora japonica* Hara et Ogawa との関連性を確かめるため、2004 年 5 月 29 日に同菌の宿主ケヤキに対する接種試験を行った。上記リンドウへの接種と同じく、苗木の葉に対する分生子懸濁液噴霧あるいは菌叢貼り付けにより接種し、建物 2 階のベランダで鉢ごとビニール袋をかぶせて温室に 4 日間保ったのち、袋を外しそのままベランダに置いて給水しながら観察を続けた。

形態の観察 セロハン粘着テープで病斑表面をはぎ取り少量のシェアー液（伊藤，1959；滝元，1952）を滴下したスライドガラスに貼り付けたもの、および、子実体形成病斑の徒手切片あるいは葉面から掻き取った菌体を、それぞれシェアー液に封入してプレパラートを作成し、光学顕微鏡で観察を行った。

走査型電子顕微鏡観察用に罹病部を切り出し、4% グルタルアルデヒドで 12 時間固定し、9 段階のアルコールシリーズで 15 分間ずつ脱水した。これを酢酸イソアルミに置換し臨界点乾燥機（EIKO, DX-1）で乾燥し、イオンスパッタリング（日本電子 JFC-1100）で金コーティングして走査電顕（日本電子 JSM-5200）で観察した。

さらに本菌との比較検討のため、国立科学博物館に保管されている *Mycochaetophora japonica* のタイプ標本と *Mycochaetophora* とのみ書かれている標本 2 点の計 3 標本について実体顕微鏡と光学顕微鏡による形態観察を行った。

分子系統解析による近縁関係の探索 rDNA 部分塩基配列の決定：PSA 培地上で充分生育したリンドウ褐斑病菌分離株の菌叢を白金耳で少量掻き取り、PreMan™ Ultra Reagent（Applied Biosystems）のプロトコールに従い DNA 抽出を行った。PCR およびシーケンス反応は Assembling the Fungal Tree of Life (AFTOL) website (<http://aftol.biology.duke.edu/pub/primers/viewPrimers>) の primer を使用した (PCR: ITS1F, LR5; シーケンス: ITS1F, ITS4, LROR, LR5)。PCR 反応は TAKARA

Table 1. Fungal isolates compared in the phylogenetic tree using the neighbor-joining method

Species	Isolate Accession ^{a)}	Remarks, Reference ^{b)}	DDBJ Accession
<i>Cadophora fastigiata</i>	CBS 307.49	H & M	AY249073
<i>C. finlandica</i>	CBS 444.86	Ex-type of <i>Phialophora finlandica</i>	AY249074
<i>C. gregata</i>	P19	H & M	AY249070
	P21	H & M	AY249071
<i>C. luteo-olivacea</i>	CBS 141.41	Ex-type, H & M	AY249066
	CBS 357.51	Ex-type of <i>Phialophora goidanichii</i>	AY249068
		H & M	
<i>C. malorum</i>	CBS 165.42	Ex-type of <i>Phialophora atra</i> , H & M	AY249059
	CBS 259.32	Ex-type of <i>Cadophora heteroderae</i>	AY249060
		H & M	
<i>C. melinii</i>	CBS 268.33	Ex-type, H & M	AY249072
<i>Phialocephala dimorphospora</i>	CBS 300.62	H & M	AY249075
<i>P. fortinii</i>	CBS 443.62	Ex-type, H & M	AY249076
<i>Phialophora brunnescens</i>	CBS 295.39	Ex-type, H & M	AY249079
<i>P. calyciformis</i>	CBS 302.62	Ex-type, H & M	AY249077
<i>P. richardsiae</i>	CBS 270.33	Ex-type, H & M	AY249078
<i>Mycochaetophora gentianae</i>	MAFF 239231	Ex-type, ps ^{b)}	AB434661
	MAFF 239284	ps	AB434662

a) CBS=Centraalbureau voor Schimmelcultures, Netherlands; P=Culture collection of T. C. Harrington, Iowa State University, USA.; MAFF=NIAS Genebank, Japan

b) H & M, Harrington and McNew 2003; ps, present study

Ex Taq hot start version (TAKARA, 東京)を使用し、プロトコールに従い行った。PCRの増幅はGeneAmp 9700を用い、以下の条件で行った: E Taq, 94°C, 2分→(94°C, 0.5分→55°C, 0.5分→72°C, 2分)30回繰り返して72°C, 10分→4°C。PCR産物はアガロース電気泳動で増幅断片を確認した後、ExoSAP-IT (Amersham Biosciences Crop, Piscataway, New Jersey, USA)を使用し、同マニュアルに従い精製を行った。精製したPCR産物は、BioDye Terminator ver. 3.1 (Applied Biosystems, USA)でシーケンス反応を行い、キャピラリーシーケンサー (ABI PRISM 3700 DNA Analyzer) で解析した。

配列のアラインメントおよび分子系統解析 本菌の形態が既知の菌種のなかでは、原 (1931) によるケヤキ円星病菌 *Mycochaetophora japonica* 以外に類似するものがないことと、ケヤキの菌の培養株は現存していないので、NCBIでBlast検索を行い (Table 1)、リンドウ褐斑病菌の近縁種の推定を行った。その結果、リンドウ由来株 (MAFF239231) のITS領域の塩基配列は *Cadophora luteo-olivacea* CBS357.51 (AY249068) と95%の相同性を示した。そこで、Harrington and McNew (2003) のITS領域を用いた系統樹を参考に系統解析を行った。系統解析のためのマルチプルアラインメントは、MAFFT ver. 5.8 (Katoh *et al.*, 2005) を用いて、Strategy はFFT-NS-iに、ParameterはScoring matrix: BLOSUM62, Gap opening penalty: 1.5, Offset value: 0.14に設定して行った。アラインメントの微調整はBioEdit version 7.0.5.2 (Hall 1999) を用いてマニュアルにて行った。系統樹はMEGA4 (Tamura *et al.*, 2007) を用いて、近隣結合法 (NJ法) (Saitou and Nei, 1987) により作成した。距離推定にはKimura 2-parameter モデル (Kimura, 1980) を用い、挿入・欠損を除外した414塩基を利用した。系統樹の信頼性の評価にはブートストラップ法 (Felsenstein, 1985) を用い、1000回反復による70%以上の値を分岐点上に示した (Fig. 4)。

結 果

病徴および病原菌の分離

葉に初め小さな褪緑斑や、中心部に白点を伴った赤紫色の斑点を生ずるが、しだいに淡桃色～淡褐色に変わり、のちに直径5mm前後の輪郭の明瞭な淡褐色～灰褐色の輪紋になる。あるいは灰白色の円状で5～10mm大、周囲褐色～紫褐色帯に囲まれた病斑を生じ、しだいに上方に広がり、拡大した古い病斑はしばしば不規則に破れ、また葉全体が乾枯する (Fig. 1a～c)。多発時には初めうどんこ病に似た白いかびに被われた直径数mmの斑点を葉の両面に多数生じ (Fig. 1b)、その部分がしだいに黄化または褪緑化し、ついで上記と同様な病状となる。病状の進展は急速で発病圃場は約1ヵ月後に

は切り花として出荷出来るものがなくなり、被害は甚大である。葉の病斑上には灰白色～灰色の微小粉塊 (sporophore, 繁殖体) を多量に生じ (Fig. 1d, f)、ルーペあるいは実体顕微鏡下では葉表面に多数の菌糸が迷走し薄い膜をつくっているのが観察される。この粉塊を滅菌水にとり攪拌して分生子 (conidium, branchlet) の懸濁液をつくり、素寒天平板に画線して発芽したもの (Fig. 1g) を一つずつPSA斜面培地に移して菌株を得た。得られた菌株はすべて淡灰緑色の菌糸と粉状物の混った菌叢をもち多量の分生子を形成した。

病原性の確認

鉢植えの健全リンドウに対する8月接種では、分生子懸濁液の噴霧接種と菌叢貼り付け接種のいずれにおいても、4日後に針穿孔部より病斑が形成され、無傷葉でも5日後から病斑が形成された。10月の菌叢貼り付け接種では、有傷・無傷とも5日目に病斑形成が認められ、分生子懸濁液噴霧接種ではいずれも7日後から病斑の形成が確認された (Fig. 2b, c)。2回の接種試験のそれぞれ14日後の結果をTable 2に示した。接種区では10日後に葉全体が枯れるものもあったが、対照区では全く発病は認められなかった (Fig. 2a)。接種10日後ころから発病病斑の葉面は白色～灰白色の胞子体に覆われた。

鉢植えの健全ケヤキ苗に対する接種では、分生子懸濁液噴霧接種・菌叢貼り付け接種ともに対照区と同様に全く発病は認められず、リンドウ褐斑病菌はケヤキに対しては病原性を示さなかった。

形態の観察

病斑内の葉組織の空隙に無色の菌糸が多数存在し、それが1～3本束になって気孔からあるいは角皮を破って葉面に出る (Fig. 3b)。葉面に出た菌糸はすぐに分岐し、中心の菌糸は直立し、短く分枝を反復してそれぞれの枝に多数の小分枝 (分生子) をつくり、全体として毛鞠状からのち開いた箒状の塊になる (Fig. 1f; Fig. 3c)。側部の菌糸はそのまま葉面を伸長し (Fig. 1e)、次々に直立菌糸を立ち上げては同じような胞子塊を形成する。このため病斑両面上には多量の胞子塊が形成され、病斑葉面は白色～灰白色粉状を呈する。胞子塊の大きさは直径70～130μm、個々の小分枝 (分生子) は無色、円筒状ないしゆるく湾曲し、2～5個の横隔壁を有し、基部の分離痕は薄壁、大きさ(15)19–43(55)×2–3.5μm (Figs. 1f; 3d, e; Table 3)。

これらの形態的特徴は原 (1931) が小川とともに1属1種の新属としたケヤキ円星病菌 *Mycochaetophora japonica* に類似する。国立科学博物館に保存されているタイプ標本には3枚の病葉が含まれていた。実体顕微鏡観察および一部徒手切片プレパラートによる光学顕微鏡検査を行ったが、いずれも菌体が認められず、直接の形態比較は出来なかった。Table 3

Fig. 1. Brown leaf spot of gentian caused by *Mycochaetophora gentianae*.

a: Serious damage of the disease. b: Diseased leaf with white powdery spots. c: Diseased leaf with grayish brown spots surrounded by purplish zone. d: Surface view of a magnified leaf spot showing white powdery sporophores. e: Scanning electron micrograph of surface of leaf spot showing superficial hyphae and an immature sporophore (SEM: bar=10 μ m). f, g: Light micrographs. f: Surface view of leaf spot showing superficial hyphae and mature sporophores (conidial masses) (bar=15 μ m). g: Germinating conidium (single branchlet detached from a sporophore) (bar=7 μ m).

Fig. 2. Results of inoculation experiment, 10 days after inoculation on October 7, 2003.

a: Control: sprayed with sterilized water. No diseases symptom developed. b: Leaf spots on wounded and intact leaves of gentian 10 days after being sprayed with conidial suspension. c: Leaf spots on wounded and intact leaves of gentian 10 days after inoculation with mycelial disc. Wounds were made with a needle.

Table 2. Number of intact and wounded leaves with symptoms on potted seedlings of gentian at 14 d after inoculation with conidia or mycelia of *Mycochaetophora gentianae*

Method of inoculation	Inoculation				Control			
	Intact ^{a)}		Wounded ^{b)}		Intact		Wounded	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Spray with conidial suspension	7/16	22/37	18/20	11/16	0/14	0/32	0/20	0/16
Mycelial disc on leaves	18/24	16/16	20/20	16/16	0/24	0/16	0/20	0/16

a) Intact: Number of diseased leaves/Number of inoculated leaves.

b) Wounded: Number of diseased wounds/Number of wounds (4 holes/leaf, made by needle).

Date of inoculation : I=August 21, 2003; II=October 7, 2003.

Fig. 3. Leaf spot on gentian (a) caused by *Mycochaetophora gentianae* (b–e) and sporophore of *M. japonica*. (f: redrawn from sketch by T. Ogawa in Hara [1931]).

a: Spots on a leaf. b: Overview of young sporophore. c: Side view of young sporophore. d: Growing hypha that has formed branchlets (conidia). e: Detached branchlets (conidia) (Scale: 10 μ m). f: Cross section of a matured sporophore in *Mycochaetophora japonica*.

Table 3. Comparison of morphological characteristics between two species of *Mycochaetophora*

Species	Fungal bodies	Sporophore	Conidium
<i>M. gentianae</i>	Internal hyphae and through stoma	70~130 μm in diam. hyaline	15~43 $\times$ 2~3.5 μm 2~5 septate Hyaline
<i>M. japonica</i> ^{a)}	Internal hyphae and external hyphae emerging through stoma	— hyaline	88~144 $\times$ 6~11 μm 3~9 septate Hyaline

a) Hara (1931)

Fig. 4. Phylogenetic tree based on analyses of sequences of ITS1, ITS2 and the 5.8S gene of the rDNA for *Mycochaetophora gentianae* and related species using the neighbor joining method. T: Ex-type strain.

にリンドウ菌と *M. japonica* の原記載による形態を示したが、これに見られるように、リンドウ菌の分生子（小分枝）はケヤキの菌よりかなり小さく、隔壁数も少なく、別種と考えてよいものと思われた。他の2点の標本はナシの病葉で、ここにも *Mycochaetophora* 属菌と考えられる菌体は認められなかった。

分子系統解析による近縁関係の探索

供試したリンドウ褐斑病菌 MAFF 239231 および MAFF 239284 株の ITS 領域は完全に一致した。リンドウ由来菌株の分類学的位置を、Harrington and McNew (2003) の ITS 領域に基づく系統樹を参考に作成した NJ 法による系統樹に示した (Fig. 4)。これによると、本菌は盤菌類のビョウタケ目 (Helotiales, 大谷, 1989) に属する *Mollisia* 属のアナモルフである *Cadophora* 属のクレードに含まれた。*Cadophora* 属は *Phialophora* 属を外群として高いブートストラップ値で支持された。

考察

リンドウ褐斑病は 1984 年に岡山県下のリンドウ栽培圃場で初めて発見され、最近では岩手県下でもその発生が問題になっている。病原菌が特徴的な形態を持っているため、その分類学的所属について当初は *Taeniolina* 属類似菌とされ (粕山, 1987; 横山, 1987), 次いで新属 *Thallosporiella gentianae* Yokoyama et Kasuyama (粕山ら, 1988; 横山, 1987) が提案されたが、横山氏の急逝により正式の記載はなされず、非合法名のままとなっていた。

2003 年の激発を契機に新鮮な罹病試料により本病菌の病原性再確認と、病原菌の所属の検討を行った。本病菌は 8 月の高温期の接種では無傷噴霧接種でも 5 日後から病徴を再現し、病斑上に多量の胞子体を形成した。3 週間後にはほとんど枯死にいたった。やや低温期の 10 月の接種でも、分生子噴霧接種 10 日後から発病し、その強い病原性が再確認された (Fig. 2)。

分子系統解析の結果、本病菌は *Cadophora* 属菌に関連が認められた。この属はビョウタケ目の中でハイロチャワンタケ科 (Dermateaceae, 大谷, 1989) の小型の子のう盤を形成する *Mollisia* 属, *Pyrenopeziza* 属のアナモルフである。しかし、形態的にはリンドウ菌とは明らかに異なり区別できる。

本病菌の形態を再検討した結果、病斑内部から 1~3 本の菌糸が気孔からあるいは角皮を破って表面に出て、直立菌糸から分枝を生じ、多数の小分枝が分生子として多量に形成され、毛鞠状から箒状の胞子体を形成すること、表生菌糸からも直立菌糸が立ち上がり、同様に胞子体を形成すること、脱落した小分枝が容易に発芽して分生子として伝染源となることなどから、本菌は新属あるいは *Cadophora* 属ではなく、原・小川により創設された *Mycochaetophora* 属 (原, 1931) に所属させるのが妥当と判断した。さらに分生子の大きさ、および隔壁数の違いなどにより、本菌を以下の通り新種として記載することとした。

***Mycochaetophora gentianae* Tak. Kobay., Kasuyama et Nasu, sp. nov.**

Synonym: *Thallosporiella gentianae* Yokoyama et Kasuyama, Proc. Ann. Meet. MSJ 31: 32, 1987 (nom. inval., only Japanese without Latin description).

Hyphis primo innatus, dein erumpens ex stoma, stans fasciculatus ad 1~3 hyphis, et ramificatio formae conidia successive. Sporophoris globosis vel flavellatus, hyalinis, 70~130 µm diam. Conidia hyalinis, cylindricis vel subcurvatis, ad apicis attenuatus, ad basis truncatus, 2~5-septatis, (15)19~43(55)×2~3.5 µm, laevis.

Holotypus: Maculis in foliis vivis *Gentiana scabra* var. *buergeri* (Miq.) Maxim (Japanese name: Rindo), Sanyocho, Akawa-gun, Okayama Pref., Sept. 8, 2003; by Nasu, H. (TFM: FPH-7969) (Ex-type culture MAFF 239231)

Hyphae at first within leaf tissue, then erumpent through stoma or epidermis, standing erectly as a strand composed of 1~3 hyphae, with numerous short branches, finally forming a ball-like or broom-shaped mass of hyphae and conidia, hyaline or white powdery, 70~130 µm in diam. Conidia (branchlets) hyaline, cylindrical or slightly curved, gradually tapered off, truncate at the base, 2~5-septated, (15)19~43(55)×2~3.5 µm, smooth.

Note: Morphological characteristics of the gentian brown spot fungus seem to be similar to the genus *Mycochaetophora* Hara et Ogawa (Hara, 1931); as shown in Figs. 1d, 1e and 3. However, as shown in Table 3, the sizes of the conidial mass and conidia clearly differentiate it from *Mycochaetophora japonica* Hara et

Ogawa. Moreover, *Zelkova serrata*, the host of *M. japonica*, was not susceptible to the gentian fungus. Hence, the gentian brown spot fungus is treated as a new species of the genus *Mycochaetophora*.

摘 要

リンドウの褐斑病は 1984 年に岡山県で発生し、葉に多数の病斑を形成し、激しい場合には全体を褐変枯死させ、その被害の激しさから問題となっている。病原菌は病葉内部から病斑上に立ち上がった菌糸より毛鞠状ないし箒状の胞子塊を形成し、その所属は未決定であった。分生子懸濁液の噴霧接種により無傷でも潜伏期間が短く、発病後の進展も速やかであることが再確認された。病原菌の形態および分生子塊形成過程は、1931 年に原・小川によって設立されたケヤキ円星病菌 *Mycochaetophora japonica* に酷似したが、分生子の大きさ、隔壁の数などが異なり、ケヤキには病原性を示さなかったことから、同属の新種として *M. gentianae* Tak. Kobay., Kasuyama et Nasu と命名記載した。

謝 辞

本病菌との形態比較のため国立科学博物館所蔵標本 3 点を調べさせて戴いた植物研究部細矢剛博士および、ラテン文記載のご高閲を戴いた勝本謙元山口大学教授に厚くお礼申し上げます。また本論文の図版作成にあたりご援助を戴いた東京農業大学森林総合科学科宮坂裕美氏および国際農業開発学科佐野真知子氏に心から感謝の意を表します。

引用文献

- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98NT. *Nucl Acids Symp Ser* 41: 95-98.
- 原 撰祐 (1931). 日本菌類志料 三. 菌類 1(3): 103-113.
- Harrington, T. C. and McNew, D. L. (2003). Phylogenetic analysis places the *Phialophora*-like anamorph genus *Cadophora* in the Helotiales. *Mycotaxon* 87: 141-151.
- 伊藤一雄 (1959). 図説苗畑病害診断法 (前編). p. 9, 林野共済会, 東京.
- 粕山新二・出射 立 (1987). 岡山県で発生したアジサイ褐斑病 (新称) と切花用リンドウ (オヤマリンドウ) 褐斑病 (新称) について. *日植病報* 53(3): 377-378 (講要).
- 粕山新二・出射 立・横山竜夫 (1988). リンドウ褐斑病とオモト褐色円斑病の病原菌と防除薬剤について. *日植病報* 54: 354 (講要).
- Katoh, K., Kuma, K., Toh, H. and Miyata, T. (2005). MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment (describes the G-INS-i, L-INS-i and E-INS-i strategies). *Nucleic Acids Res* 3: 511-518.

- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111–120.
- 小林享夫・佐々木克彦・真宮靖治 (1974). マツノザイセンチュウの生活環に関連する糸状菌 (I). *日林誌* 56(4): 136–145.
- 小林享夫・那須英夫・渡辺京子・小野泰典・粕山新二 (2004). リンドウ褐斑病と病原菌の所属. *日植病報* 70(3): 225 (講要).
- 仲谷房治・高橋 哲 (1991). リンドウ褐斑病の発生と防除. *北日本病虫研報* 42: 66–68.
- 猫塚修一・勝部和則 (2003). リンドウ褐斑病の感染時期と防除適期. *北日本病虫研報* 54: 208 (講要).
- 大谷吉雄 (1989). 日本産盤菌綱菌類目録と文献. 横須賀市博研報 (自然) 37: 61–81.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406–425.
- 滝元清透 (1952). 改編微生物学及植物病理学実験法. p. 197, 養賢堂, 東京.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molec. Biol. Evol.* 10:1093/molbev/msm092.
- 横山竜夫 (1987). 日本産不完全菌類の 3 新種について. 31 回日菌講: 32 (講要).