青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* の分類の現状と日本産株の遺伝的多様性

堀田 光生^{1†}・土屋 健一^{2*,†}・菅 康弘³・矢野 和孝⁴・和氣 貴光⁵・黒瀬 大介¹・古屋 成人²

HORITA, M.^{1†}, TSUCHIYA, K.^{2*,†}, SUGA, Y.³, YANO, K.⁴, WAKI, T.⁵, KUROSE, D.¹ and FURUYA, N.² (2014). Current classification of *Ralstonia solanacearum* and genetic diversity of the strains in Japan.

Key words: *Ralstonia solanacearum*, Genetic diversity, Japan, Zingiberaceae strain, Phylotype, Sequevar

I. はじめに

植物病原細菌の一種 *Ralstonia solanacearum* (Smith) (Yabuuchi *et al.*, 1996) に起因する青枯病は、ジャガイモ、トマト、ナス、ピーマン、ショウガ、バナナなど経済的に重要な作物を含む 50 科 200 種以上の植物でその発生が報告されている難防除病害である (Hayward, 1991, 1994a)。また、青枯病は日本および他のアジア地域を含む、熱帯、亜熱帯、温帯地域の広範囲で発生し、世界的に重要視されている。

青枯病菌は遺伝的に多様であり、宿主範囲、地理的分布、病原性、疫学的特徴、生理的性質などを異にする多くの系統が存在する。このような種内変異を明らかにするため、様々な分類方法が提案されてきた (Buddenhagen and Kelman, 1964; Denny and Hayward, 2001; 岡部, 1965)。青枯病菌はこれまで約 50 年間以上、宿主範囲の違いに基づくレース (race)、および生理的性質の違いに基づく biovar (生理型) の二つの基準による分類が世界的に頻用されてきた (Denny and Hayward 2001; Hayward 1964, 1994b)。

最近 30 年間は青枯病菌の分類・同定のほか、種内変異や遺伝的多様性の解析に分子生物学的な手法が導入されてきている (Cook *et al.*, 1989; Cook and Sequeira, 1994; Fegan *et al.*, 1998; Gillings and Fahy, 1993, 1994; Horita and Tsuchiya, 2001; Poussier *et al.*, 1999, 2000a, b; Taghavi *et al.*, 1996; Villa *et al.*, 2005)。これらの解析結果から、従来のレース、biovar による表現形質に基づく分類法は青枯病菌の多様性を十分反映できないことが明らかになり、Fegan and Prior (2005) および

Remenant *et al.* (2011) は、これらの遺伝子情報解析に基づき、青枯病菌を種の複合体 (species complex) と定義し、新しい分類体系を提案した (Table 1)。

この総説では、日本産および外国産青枯病菌の分類の現状について、従来の生物学的な観点 (病原性、生理・生化学的性質など) および近年の分子生物学的な観点から論じるとともに、近年、日本国内で継続的または新たに発生して問題となっている、ジャガイモおよびショウガ青枯病菌の遺伝的、生理的および病原学的特徴について述べる。

II. 病原学および生理的性質に基づく青枯病菌の分類

過去 50 年以上、青枯病菌の分類には主に、病原性 (宿主範囲および分離宿主) の違いに基づくレース、および生理的性質 (数種類の炭素源の代謝) の違いに基づく biovar という 2 つの異なるアプローチが用いられてきた (Hayward, 1991)。これまでに 5 つのレース (Buddenhagen and Kelman, 1964; Denny and Hayward, 2001; He *et al.*, 1983) と 6 つの biovar (Hayward, 1964; Hayward, 1994b; He *et al.*, 1983) が報告されている。

レース 1 はタバコ、トマトなど多くのナス科植物、雑草類、2 倍体バナナを犯し、レース 2 は 3 倍体バナナ、ヘリコニアを、レース 3 はジャガイモ、トマトを、レース 4 はショウガを、レース 5 はクワをそれぞれ犯す。一方、6 つの biovar (1, 2, N2, 3, 4 および 5) は 6 種類の糖 (マルトース、ラクトース、セロビオース、トレハロース、m-イノシトール、D-リボース) および 3 種類の糖アルコール (マンニトール、ソ

¹ 独立行政法人農業環境技術研究所 (〒 305-8604 茨城県つくば市観音台) National Institute for Agro-Environmental Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

² 九州大学大学院農学研究院 (〒 812-8581 福岡県福岡市東区) Graduate School of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812-8581, Japan

³ 長崎県病害虫防除所 (〒 854-0062 長崎県諫早市) Nagasaki Pest Control Station, Isahaya, Nagasaki 854-0062, Japan

⁴ 高知県農業研究センター (〒 783-0023 高知県南国市) Kochi Agricultural Research Center, Nankoku, Kochi 783-0023, Japan

⁵ 栃木県農業試験場 (〒 320-0002 栃木県宇都宮市) Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station, Utsunomiya, Tochigi 320-0002, Japan

* Corresponding author (E-mail: kentsuch@agr.kyushu-u.ac.jp)

† 論文作成において同等の貢献を行った

この総説は先に Journal of General Plant Pathology の 80 巻 6 号の pp. 455 ~ 465 に掲載された総説 (<http://dx.doi.org/10.1007/s10327-014-0537-z>) の抄訳です。報文としてのプライオリティーは JGPP 掲載の総説にありますので、引用の際には本総説ではなく JGPP の総説を用いるようにご注意ください。

ルビトール、ズルシトール)からの酸の産生能の違いに基づき、それぞれ類別されている。

たとえ上記の分類システムが地理的分布や病原性の異なる青枯病菌を調査するのに有効であるとしても、世界中に分布する各系統を区別する手段としては必ずしも充分ではなく、例えば、biovar 2に類別される系統はその後更に複数のグループに細分された (Gillings and Fahy, 1993; Hayward, 1994b)。その結果、地球上の多様な環境に存在する本菌の分布や動態を把握するためには、様々な手法を用いた調査が必要である。

III. 日本およびアジア地域における青枯病菌の地理的分布とその多様性

日本国内においては、これまでに24科46種の植物で青枯病の発生が報告され、年々新しい宿主植物が発見されている (堀田・土屋, 2009, 2012)。また、これまでにレース1, 3, 4 (Horita and Tsuchiya, 2001; 片山・木村, 1986; 森田ら, 1996; 土屋ら, 1999; 土屋, 2008; 矢野ら, 2005) および biovar N2, 3, 4 (Horita and Tsuchiya, 2001; Horita *et al.*, 2005, 2010) にそれぞれ属する系統が報告されている。レース1はトマト、タバコ、ナス、ピーマン等のナス科作物から主に分離されている。レース3はジャガイモから、レース4はショウガ科作物 (ショウガ, ミョウガ, クルクマ) からそれぞれ分離されている。尾崎・木村 (1992) は、ナス科作物を犯す日本産青枯病菌は、ナス台木として用いられる数種のナス属植物に対する病原性の違いから、5つのグループ (菌群) に類別できることを報告している。

アジア各国においては、トマトの主産地において青枯病の発生が大きな問題となっている。トマト以外にも、ナス、ピーマン、トウガラシなどのナス科作物において青枯病が主要な病害の一つとしてランク付けされている (Elphinstone, 2005)。ラッカセイ青枯病は主にベトナム、フィリピン、インドネシア、インドなどの国で発生し、問題となっている (Elphinstone, 2005)。バナナ青枯病は、その疑いのあるものも含めて、フィリピンなど数カ国で報告されている (Elphinstone, 2005)。とくにフィリピンではバナナの主要病害として上位ランク付けされ、その発生地域は現在も拡大を続けている (Elphinstone, 2005)。生食用バナナでは植物全体が萎凋、枯死する症状 (Moko 病) が、また調理用バナナでは果実内部が褐色に変色する症状 (Bugtok 病) がそれぞれ報告されているが、これら2つの病害に関係する青枯病菌はいずれもレース2に属し、遺伝的に区別することができない。インドネシアでは、青枯病菌と近縁種の細菌 (Blood disease bacterium of banana, BDB) による blood 病 (果

実内部が血液のように赤褐色に変色するとともに、軟化または脱水症状を示し、最終的に地上部全体が黒褐色に変色) が広範囲に発生し、東南アジアでのバナナ栽培の脅威となってきた (Elphinstone, 2005)。

Biovar 3 および 4 に属する青枯病菌は、アジアおよび中東地域の少なくとも20カ国以上で報告され、広範囲の経済的に重要な作物に被害を与えている。一方、biovar 2 および N2 に属する青枯病菌は、大半のアジア地域のジャガイモ栽培に大きな影響を及ぼしている (Elphinstone, 2005; Hayward *et al.*, 1998; Horita *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2009)。

IV. 分子生物学的手法を用いた青枯病菌の分類

近年、植物病原体の同定、特性解析および病害防除対策の開発に分子生物学的手法が応用されてきている (Schaad *et al.*, 2003)。とくに最も一般的かつ正確な手法は核酸情報を用いた解析である。

Palleroni and Doudoroff (1971) は、biovar の異なる青枯病菌株間の DNA-DNA 相同性が同一種レベル以下 (< 70%) であることを明らかにし、本菌は元々複数の種から構成されている可能性を示した。Cook *et al.* (1989) および Cook and Sequeira (1994) は、病原性関連遺伝子 (*hrp*) などをプローブに用いた制限酵素断片長多型解析 (RFLP) により、本菌が地理的分布の異なる二つの系統 (division) に大別可能であることを報告した。Division I にはアジア、オーストラリア産の多数の菌株が、division II には中米、中南米に由来する菌株がそれぞれ含まれた。上記 division は biovar と密接に関連し、biovar 3, 4, 5 の株は division I に、biovar 1, 2, N2 の株は division II にそれぞれ含まれた。上記 division は、その後、16S リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列情報に基づく系統解析 (Taghavi *et al.*, 1996) や *hrp* 遺伝子の PCR-RFLP 解析 (Poussier *et al.*, 1999) によっても確認された。

その後、細菌ゲノム上の反復配列をプライマーに用いて PCR を行い、増幅領域の多型を解析する方法 (rep-PCR DNA フィンガープリント法) や、制限酵素で処理したゲノム断片の各切断部位に特異的なプライマーを用いて PCR を行い、増幅領域の多型を解析する方法 (AFLP 法) などが開発され、青枯病菌の遺伝的多様性や菌株間の遺伝的類縁関係の調査に用いられた (Fegan and Prior, 2005; Horita and Tsuchiya, 2001; Horita *et al.*, 2005; Jaunet and Wang, 1999; Lewis Ivey *et al.*, 2007; Norman *et al.*, 2009; Nouri *et al.*, 2009; Thwaites *et al.*, 1999; Xue *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2003)。近年、青枯病菌のゲノム配列情報が解読、蓄積され、個々の菌株 (系統) の識別・同定の有効な手段となってきた (Castillo and Greenberg, 2007; Fegan *et al.*, 1998; Horita and Tsuchiya, 2000; Lewis Ivey

Table 1. Classification of *Ralstonia solanacearum* species complex based on the DNA information

current name ^{a)}	<i>Ralstonia solanacearum</i>				<i>R. syzygii</i>	BDB
proposal name ^{b)}	<i>R. sequeirae</i>	<i>R. solanacearum</i>	<i>R. sequeirae</i>	<i>R. haywardii</i> subsp. <i>solanacearum</i>	<i>R. haywardii</i> subsp. <i>syzygii</i>	<i>R. haywardii</i> subsp. <i>celebensis</i>
phylogtype ^{c)} (originated area)	I (Asia)	II (America)	III (Africa)	IV (Indonesia and other)		
sequevar ^{d)}	12–18, 31, 34, 44–48, uk ^{e)}	1–7, 24–28, 35, 36, 38–41, 50–52, uk	19–23, 29, 42, 43, 49	8–11, uk	9	10
biovar	3, 4, 5, N2	1, 2, N2	1, N2	1, 2, N2		
race	1, 4, 5	1, 2, 3	— ^{f)}	3, —		

a) Based on the reports of Eden-Green and Sasraatmadja (1990), Vanechoutte *et al.* (2004) and Yabuuchi *et al.* (1996) b) Based on the report of Remenant *et al.* (2011) c) Based on the report of Fegan and Prior (2005) d) Based on the reports of Fegan and Prior (2005), Hong *et al.* (2012), Horita and Tsuchiya (2012), Waki *et al.* (2013) and Wicker *et al.* (2012) e) uk: unknown f) —: not determined

et al., 2007; Liu *et al.*, 2009; Poussier *et al.*, 2000a, b; Prior and Fegan, 2005; Villa *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2009). これらの解析結果を基に, Fegan and Prior (2005) は本菌を種の複合体と定義し, ゲノム配列情報に基づく新しい分類体系 (phylogroup, sequevar) を提案した (Table 1).

1. Phylogroup

近年, 世界中の青枯病菌および近縁種 [*Ralstonia syzygii* (チョウジのスマート病の病原菌), BDB] について, それらのゲノム配列情報に基づいた遺伝的類縁関係の解析が行われている. 病原性関連遺伝子 (*hrpB*, *egl*, *peh*, *fliC*), ハウスkeeping遺伝子 (細菌の生存に必須の遺伝子, *mutS*, *gyrB*, *gdhA* など), 細菌種の系統分類に用いられるリボソーム RNA 遺伝子 (16S, ITS) などがその解析に用いられている (Castillo and Greenberg, 2007; Fegan *et al.*, 1998; Fegan and Prior, 2005; Poussier *et al.*, 2000a, b; Prior and Fegan, 2005; Villa *et al.*, 2005; Wicker *et al.*, 2012). Fig. 1 は *egl* (病原性因子エンドグルカナーゼの遺伝子をコードする領域) の塩基配列情報に基づく系統解析の結果を示しているが, 上記のいずれの遺伝子情報を用いても青枯病菌および近縁種は4つの主要クレードに区別された.

Fegan and Prior (2005) はこれらの主要なクレードを phylogroup (I–IV) と命名し, それぞれを別個の種または亜種に相当する分類群として扱うことを提案した. この分類体系は, 以前, RFLP 解析 (Cook *et al.*, 1989; Cook and Sequeira, 1994) や 16S リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列情報に基づく系統解析 (Poussier *et al.*, 2000a; Taghavi *et al.*, 1996) により提案されていた概念 (division, subdivision) を再編したものである.

各 phylogroup に属する青枯病菌はそれぞれ地理的分布に違いがみられる (Fegan and Prior, 2005). Phylogroup I 系統はアジア地域に由来し, phylogroup II 系統は主としてアメリカ大陸で分離される. また, phylogroup III 系統はアフリカ大陸およびその周辺諸島に由来し, phylogroup IV 系統は主にインド

ネシア, 日本を含むアジア数か国およびオーストラリアで分離されている. Phylogroup IV には青枯病菌の近縁種 (*R. syzygii*, BDB) も含まれる.

さらに, 各 phylogroup は特定のレース, biovar と関連がみられる (Fegan and Prior, 2005). Phylogroup II には, レース 2, 3 および biovar 1, 2 の株が, また phylogroup I には, レース 4, 5 および biovar 3, 4, 5 の株が含まれる (Table 1).

Fegan and Prior (2005) は, リボソーム RNA 遺伝子の ITS 領域の塩基配列の違いに基づき, マルチプレックス PCR 法による各 phylogroup の簡易同定について報告しており, 日本を含む世界各国の菌株に利用可能である. しかしながら, 同 PCR 法では, 青枯病菌, *R. syzygii* および BDB に加えて, 近縁の土壌細菌である *Ralstonia pickettii* から特定のパンドが増幅されるため, 試験に当たっては注意が必要である (堀田・土屋, 2009).

近年, Remenant *et al.* (2011) は, phylogroup IV を構成する3つの種 (*R. solanacearum*, *R. syzygii*, BDB) の全ゲノム配列を決定し, 既報 (Remenant *et al.*, 2010) の phylogroup I, II および III に属する青枯病菌5株のゲノムとの比較解析を行った. その結果, この種の複合体は3つの異なるゲノム種に分けられることが明らかとなった. Phylogroup I の株は phylogroup III の株と平均 96% 以上の相同性を示し, 同じゲノム種に含まれると考えられたのに対し, phylogroup II の株は phylogroup I および III の株と平均 92% 以下の低い相同性しか示さず, phylogroup I, III と異なるゲノム種に相当すると考えられた (Goris *et al.*, 2007). これに対して, phylogroup IV の3株 (3種) は, それぞれが表現形質 (細菌学的性質) で明らかに異なるにも関わらず (Denny and Hayward, 2001), 平均 98% 以上の高い相同性を示し, 単一のゲノム種であると考えられた.

以上の結果を基に, Remenant *et al.* (2011) は, 各 phylogroup に属する青枯病菌および近縁種 (*R. syzygii*, BDB) の学

Fig. 1 Phylogenetic relationships of *Ralstonia solanacearum*, *R. syzygii*, and blood disease bacterium of banana strains based on the partial endoglucanase gene sequences. The phylogenetic tree was constructed by the neighbor-joining method. Numbers in parentheses near the strain names indicate sequevars previously reported (Fegan and Prior, 2005; Wicker *et al.*, 2012). Phylotype (Fegan and Prior, 2005) and proposal names (in parentheses) (Remenant *et al.*, 2011) of the strains were shown in the right side. Values on the branches represent the results of bootstrap analysis with 1000 iterations. The bar represents one nucleotide change per 100-nucleotide position.

名の再編を提案した (Table 1). すなわち phylotype II 系統については、現行の学名 (*R. solanacearum*) が維持され、phylotype I および III 系統については、新しい種 (*R. sequeirae*) への移行、そして phylotype IV 系統については、1つの新種 (*R. haywardii*) とその下位分類である3つの新亜種 (subsp. *solanacearum*, *syzygii*, *celebensis*) (それぞれ現行の *R. solanacearum*, *R. syzygii*, BDB に相当) への再編が提案された。

2. Sequevar

各 phylotype は複数の sequevar から構成される (Fegan and Prior, 2005; Wicker *et al.*, 2012) (Table 1). Sequevar は *egl* 遺伝子の保存領域の塩基配列の違いに基づき決定される。同じ sequevar に属する菌株は、同遺伝子の塩基配列が 99% 以上の相同性を示し、ブーツストラップ解析により 50% 以上の高い確率で同じクラスターを構成すると定義されている (Wicker *et al.*, 2012). 現在までに 52 の sequevar が提案さ

れている (Fegan and Prior, 2005; Mahbou Somo Toukam *et al.*, 2009; Wicker *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2009) (Table 1, Fig. 1). いくつかの sequevar については、特定のレースとの関連がみられる。例えば、phylotype II 内の sequevar 3, 4, 6, 24 に属する菌株はレース 2 に、sequevar 1 に属する菌株はレース 3 にそれぞれ相当する。さらに、phylotype I 内の sequevar 16 はレース 4 の株であり、sequevar 12, 48 はいずれもレース 5 の株から構成される。

3. Multi locus sequence analysis/typing (MLSA/MLST)

上記の phylotype および sequevar とは別に、複数の遺伝子領域の塩基配列情報を用いた解析および型別 (multi locus sequence analysis/typing, MLSA/MLST) の青枯病菌株の識別や類別への利用が報告されている (Castillo and Greenberg, 2007; Lewis Ivey *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2009; Poussier *et al.*, 2000b; Villa *et al.*, 2005; Wicker *et al.*, 2012). Almeida *et al.* (2010) は、これまでの解析結果を基に、青枯病菌およびその他の植物病原細菌 (*Pseudomonas syringae* の各病原型, *Xanthomonas* 属細菌および *Acidovorax citrulli*) の MLSA/MLST データベース (<http://www.pamdb.org/>) を構築・公開している。上記のように、sequevar は単一遺伝子 (*egl*) の塩基配列情報によって決定されるため、解析結果に偏りがみられる場合がある (Wicker *et al.*, 2012). そこで複数の遺伝子領域 (主にハウスキーピング遺伝子) を解析に用いることにより、共通の基準で個々の菌株を識別することが可能になると考えられる (Maiden, 2006). また、MLSA/MLST は細菌種の進化における変異や遺伝子組換えの役割を調べることに利用されているが (Castillo and Greenberg, 2007; Pérez-Losada *et al.*, 2006; Wicker *et al.*, 2012), その分類への体系的利用については検討段階である。

4. DNA 情報に基づく日本産青枯病菌の分類

日本産青枯病菌について phylotype [Remenant *et al.* (2011) による提案学名], sequevar とそれらの分離宿主、地理的分布、レース、biovar との関係性を Table 2 に示した。日本産株はこれまでに 2 つの phylotype (I, IV) および 11 の sequevar [8, 13-17, 34, 44, 既報のいずれの sequevar にも属さない不明なもの (unknown 1-3) を含む] に類別されることが明らかになっている (堀田・土屋, 2012; Waki *et al.*, 2013). Phylotype I は 9 つ (13-17, 34, 44, unknown 1, 2) の、phylotype IV は 2 つ (8, unknown 3) の sequevar からそれぞれ構成される。Phylotype II および III の株はこれまで日本国内では分離されていない。

日本産菌株の phylotype は biovar および分離宿主との関連がみられる (堀田・土屋, 2009). ジャガイモから分離される biovar N2 の菌株のみが phylotype IV に属し、biovar 3, 4

のジャガイモ分離株、およびそれ以外の植物からの分離株は全て phylotype I に属する。Phylotype I の菌株は広範囲の作物および地域（北海道から沖縄まで）において分離されているのに対し、phylotype IV の株は特定のジャガイモ栽培地域でのみ分離されている。

また、いくつかの sequevar は特定のレース、分離宿主または地理的分布との間に関連性がみられる（堀田・土屋, 2009, 2012; Horita *et al.*, 2010; Waki *et al.*, 2013）。例えば、レース 3（ジャガイモを犯す）の菌株は特定の 2 つの sequevar (8, unknown 3) に属する。同様にレース 4（ショウガを犯す）の菌株は特定の 3 つの sequevar (14, 16, unknown 2) に属し、これらのうち 2 つ（16, unknown 2）はショウガまたはショウガ科植物からの分離株のみで構成される。一方、大半のナス科作物および（ショウガ科作物を除く）それ以外の植物分離株は sequevar 13-15, 17, 34, 44 または unknown 1 のいずれかに属し、これらのうち、sequevar 13, 17 の菌株はそれぞれ沖縄、九州地域においてのみ分離されている。

V. 日本産ジャガイモ青枯病菌の遺伝的、生理的および病原学的特徴

日本国内においてジャガイモ青枯病は第二次世界大戦以降に突発的に多発し、その後も発生地域が拡大しているジャガイモ重要病害の 1 つである（Horita and Ooshiro, 2002; Horita *et al.*, 2010; 片山・木村, 1986; 成田, 1958; 大城, 2008; 菅, 2000; Suga *et al.*, 2013）。同病原菌については、その地理的分布、遺伝的、生理的および病原学的性質について広範囲に調査が行われている（Horita *et al.*, 2010; 片山・木村, 1986; 菅, 2000; Suga *et al.*, 2013）。ジャガイモ青枯病は、まず第二次世界大戦直後、北海道の上川・空知地域で多発し問題となった（成田, 1958）。しかし、その後、同地域では大きな問題にはなっていない。一方、片山・木村（1986）は、西南暖地（九州の長崎県など）のジャガイモ栽培地域において、1960 年代よりジャガイモ連作に伴い青枯病の発生が問題となっていることを報告し、1982–1983 年の圃場調査により、のべ 17 市町村から 200 以上の菌株を分離している。Horita *et al.* (2010) は、1993–1999 年に、同様に西南暖地の圃場調査を行い、25 の地域から 100 株以上の青枯病菌を分離している。この結果は、40 年以上にわたり、西南暖地において同青枯病が断続的かつ広範囲に発生していることを意味している。1999 年以降、沖縄本島においてもジャガイモ青枯病の発生がみられるようになり、同地域のジャガイモ栽培に深刻な被害をもたらしている（大城, 2008）。一方、上記以外の国内のジャガイモ栽培地域では、青枯病はほとんど発生せず、大きな問題とはなっていない。

Horita *et al.* (2010) は、日本各地から分離・収集したジャガイモ青枯病菌の biovar および phylotype について調査し、これらは 3 つの biovar (N2, 3, 4) および 2 つの phylotype (I, IV) にそれぞれ類別されることを報告した。また、biovar 4 (phylotype I) および biovar N2 (phylotype IV) に属する菌株が北海道から沖縄まで広く分布するのに対し、biovar 3 (phylotype I) の菌株は限定された地域（長崎、沖縄県）にのみ分布した。海外では日本と異なり、biovar 2 (phylotype II) に属する青枯病菌系統が、南北アメリカ、ヨーロッパ大陸のほか、アフリカ、アジア各国のジャガイモ栽培地域で分離されており、これらは同系統の青枯病菌に潜在感染した種イモなどを介して世界中に広く伝播したと考えられている（Elphinstone, 2005; Hayward, 1991; Hayward *et al.*, 1998; Nouri *et al.*, 2009; Swanson *et al.*, 2005）。

日本産ジャガイモ青枯病菌の病原学的特徴と phylotype との関係について調査が行われ（Suga *et al.*, 2013）、これらはナス、ヒラナス（青枯病抵抗性ナス属台木品種）、トマトなどの植物に対する病原性の違いにより 17 の病原型に類別できることが報告された。とくに、phylotype I に属する大半の菌株がナスに病原性を示すのに対し、phylotype IV に属する全ての菌株はナスには病原性を示さず、逆にヒラナスに対して強い病原性を示すものがあつた。結果として、phylotype IV の菌株は、尾崎・木村（1992）が報告したいずれの菌群にも類別されなかった。

Phylotype の異なる菌株間では、トマト品種に対する病原性においても違いがみられた。Phylotype IV に属する菌株は、これまで日本国内でジャガイモのみから分離されているが、韓国、インドネシア、オーストラリアではトマトからも分離されることが報告されており（Jeong *et al.*, 2007; Wicker *et al.*, 2012）、今後、日本国内においてもトマトへの感染について注意する必要がある。

Suga *et al.* (2013) はまた、phylotype I および IV に属する日本産ジャガイモ青枯病菌について、国産ジャガイモ品種および育成系統に対する病原性を調査した結果、ジャガイモ野生種 *Solanum phureja* 由来の青枯病抵抗性を保持する育成系統は phylotype I の菌株に高い抵抗性を示すが、phylotype IV の菌株に対しては感受性であることを明らかにした。*S. phureja*, *S. stenostomum* および *S. commersonii* などのジャガイモ野生種は、青枯病に対して抵抗性を有する育種素材として世界的に利用され、これまでに多くの高度抵抗性品種が育成されてきた（Boshou, 2005）。しかしながら、これら新品種の抵抗性は phylotype I または phylotype II に属する菌株に対してのみ確認がなされ、phylotype IV の菌株に対しては行われてこなかった。その理由として、phylotype IV は近年

Table 2. Phylotype, proposal name, sequevar, host, geographic origin, race and biovar of Japanese strains of *Ralstonia solanacearum* species complex

phylotype ^{a)} (proposal name) ^{b)}	sequevar ^{a)}	host	geographic origin	race ^{c)}	biovar ^{c)}
I (<i>R. sequeirae</i>)	13	balsam pear, potato	Okinawa	1	3
	14	tomato, eggplant, sweet pepper, hot pepper, potato, russel prairie gentian, statice, bird-of-paradice flower, bellflower, udo, <i>Portulaca</i> spp., <i>Angelica keiskei</i> , <i>Impatiens sultani</i>	Honshu, Shikoku, Kyushu	1	3
		ginger	Honshu, Shikoku	4	4
		tomato, eggplant, sweet pepper, hot pepper, tobacco, potato, cucumber, pumpkin, balsam pear, peanut, zinnia, portulaca, geranium, kidney bean, udo	Hokkaido, Honshu, Shikoku, Kyushu, Okinawa	1	3, 4, N2
	15				
	16	ginger	Shikoku, Kyushu	4	4
	17	eggplant, potato	Kyushu		
	34	tomato, eggplant, sweet pepper, tobacco	Honshu, Shikoku, Kyushu		
	44	tobacco, potato, strawberry, russel prairie gentian, <i>Kalanchoe</i> spp.	Honshu, Shikoku, Kyushu	1	3
	unknown 1	delphinium, potato	Honshu, Kyushu		
IV (<i>R. haywardii</i> subsp. <i>solanacearum</i>)	unknown 2	ginger, mioga, curcuma	Honshu, Shikoku, Kyushu	4	3, 4
	8	potato	Hokkaido, Honshu, Kyushu, Okinawa	3	N2
	unknown 3	potato	Kyushu		

a) Based on the reports of Fegan and Prior (2005), Horita and Tsuchiya (2009, 2012), Horita *et al.* (2010, unpublished), Liu *et al.* (2009), Villa *et al.* (2005), Waki *et al.* (2013) and Wicker *et al.* (2012) b) Based on the report of Remenant *et al.* (2011) c) Based on the reports of Horita and Tsuchiya (2001, 2009, 2012), Horita and Ooshiro (2002), Horita *et al.* (2010, unpublished), Katayama and Kimura (1986), Morita *et al.* (1996), Suga *et al.* (2013), Tsuchiya *et al.* (1999, 2005), Waki *et al.* (2013) and Yano *et al.* (2005, 2011)

になって分類・設定された系統であり、これまで日本、韓国、フィリピン、インドネシアなどアジア数カ国とオーストラリアでしか報告されていないことなどが挙げられる (Fegan and Prior, 2005; Horita *et al.*, 2010; Jeong *et al.*, 2007). そのため、日本国内での新品種の導入に際しては、phylotype IV に属する菌株を用いた青枯病抵抗性検定を行うこと、および将来的に phylotype IV の菌株に対して抵抗性を有する育種素材の探索・開発などを行う必要があると考えられる。

植物検疫の観点からみると、日本国内では、これまでアメリカ大陸に由来すると考えられる phylotype II 系統の菌株が分離・報告されていない点で海外と異なっている。この理由として、我が国の植物防疫法に基づき、これまで国内産の種イモだけが流通し、海外からの種イモの輸入が厳密に制限されてきたことに起因すると考えられる (Horita *et al.*, 2010). 以上のことから、ジャガイモ青枯病の予防ならびに防除においては、汚染圃場からの病原菌の除去と同様に、健全な種イモの供給が重要なポイントとなる。上記のように、日本国内では phylotype I および IV に属する菌株が感染を拡大させていると考えられることから、これらの蔓延を防止するため、国内産種イモの管理においても、簡便かつ正確な青枯病菌の診断システムの開発が進められている (堀田ら, 2009).

VI. 日本国内におけるショウガ科植物青枯病の発生と伝播

ショウガ科植物 (ショウガを含む) は、アフリカ、アジアおよびアメリカ地域において栽培され、薬味、薬用、観賞用、調理用として伝統的に利用されてきた。ショウガ科植物青枯病は、これまでハワイを含むアジア太平洋地域、モーリシャス諸島、およびアジア数カ国で発生し、問題となってきた (Elphinstone, 2005; Hayward, 1991; He, 1986; Kumar *et al.*, 2005; Lum, 1973; Quinon *et al.*, 1964; Titatarn, 1986; Uematsu *et al.*, 1983; Xu *et al.*, 2009; Zehr, 1969). オーストラリアでは、1955 年以降にショウガ青枯病が発生し、一時的に問題となったが、1970 年以降は深刻な再発はみられていない (Hayward *et al.*, 1967; Hayward, 1991; Hayward and Pegg, 2013).

日本国内において、ショウガ科植物青枯病は 1995 年に高知県内のクルクマ (*Curcuma alismatifolia*) の栽培圃場 (1989 年に切り花用にタイから導入) で初めて報告された (森田ら, 1996). 1997 年以降、同じ県内のショウガ、ミョウガ栽培圃場において、青枯病の発生が相次いで報告された (土屋ら, 1999; Tsuchiya *et al.*, 2005; 矢野ら, 2005). その後も、県内各地で発生していたが、2005 年以降には高知県以外の他県 [栃木 (Waki *et al.*, 2013), 和歌山, 島根および九州地域の 4 県] でも同青枯病の発生がみられるようになった (一部未発表) (Fig. 2). ほとんどの場合、高知県またはタイなどのアジア地域から導入または輸入されたショウガ根茎を利用

後に、その発生が報告されている (Tsuchiya *et al.*, 2005).

これら青枯病菌はショウガおよびショウガ科植物に対する病原性に基づきレース 4 と同定された (森田ら, 1996; 土屋ら, 1999; Tsuchiya *et al.*, 2005; 矢野ら, 2005, 2011). また, 同高知県産菌株は全て biovar 4 に類別された (土屋ら, 1999; Tsuchiya *et al.*, 2005). その後, Waki *et al.* (2013) は, 栃木県産ショウガ分離株が biovar 3 と 4 に類別されることを報告した. Biovar 3 および 4 の菌株は, 日本のほか, 世界各国でショウガ科植物より分離されている (Hayward, 1994a) が, biovar 3 の菌株は病原性において biovar 4 の菌株との間に違いがみられることが報告されている (Hayward *et al.*, 1967).

rep-PCR DNA フィンガープリント法を用いた多様性解析の結果, 日本 (高知県) 産 レース 4 系統は, 主に 2 つの DNA タイプ (I, II) に類別され, タイプ I の菌株はタイ産株と, タイプ II の菌株は中国・オーストラリア産株とそれぞれ高い相同性を示した (Tsuchiya *et al.*, 2005). 上記フィンガープリント解析の結果に基づいて, それぞれの DNA タイプを識別する PCR プライマーが開発され (Horita *et al.*, 2004), これらのプライマーを用いた PCR 法を利用して解析が進められた結果, 大半の日本産株 (高知県, 栃木県, 九州 4 県分離株) はタイ産株と同じタイプ I に, 残りの日本産株 (高知県, 鹿児島県の一部の菌株) は中国・オーストラリア産株と同じタイプ II にそれぞれ判別された (Tsuchiya *et al.*, 2005, 一部未発表; Waki *et al.*, 2013; 矢野ら, 2011).

egl 遺伝子の塩基配列情報に基づく日本産および外国産ショウガ科青枯病菌の系統解析の結果, これらは phylotype I 内の 6 つの sequevar (14, 16-18, 47, unknown 2) にそれぞれ相当するグループに類別された (Waki *et al.*, 2013) (Tables 1 and 2). 各グループは分離宿主または地理的分布との関連がみられ, 日本産の大半のショウガ科植物分離株は, タイ産株とともに 1 つの sequevar (unknown 2) に属し, これは上記のタイプ I に相当した. 残りの日本産ショウガ分離株は中国・オーストラリア産株とともに sequevar 16 に属し, これは上記のタイプ II に相当した. 少数の例外的な日本産ショウガ分離株は, 中国・フィリピン・インドネシア産の一部のショウガ分離株と一緒に sequevar 14 に属した. これらの結果から, 遺伝的にそれぞれ異なるショウガ科植物青枯病菌が, 潜在感染した根茎などを介して, 複数の経路から日本国内に伝播した可能性が示唆された.

日本産ショウガ科植物青枯病菌の病原学的特徴について解析が行われた結果 (Tsuchiya *et al.*, 2005; 矢野ら, 2011), タイプ I の分離菌株はショウガ, ミョウガおよびクルマに強い病原性を示した. 一方, タイプ II のショウガ分離株はショウガに強い病原性を示したが, ミョウガおよびクル

Fig. 2. Distribution and presumable invasion routes of bacterial wilt pathogen of Zingiberaceae plants in Japan.

Black arrowheads indicate presumable invasion routes of the pathogen representing DNA type I (gray circle) and type II (white circle) fingerprints, which were suggested to originate from Thailand and China, respectively (Tsuchiya *et al.*, 2005; Tsuchiya, 2008). These strains had been firstly disseminated into Kochi prefecture through latently infected seed rhizomes and the first outbreak of the disease occurred in curcuma cultivation field in 1995 (type I) and subsequently in ginger field in 1997 (type II). Thereafter the disease has been occurred continuously in several prefectures since 2005. The black dotted arrowheads indicate suspected spread routes of the pathogen. The number in parentheses near the prefecture name indicates the year when the disease occurred there.

マには弱病原性または非病原性であった. さらに, ショウガ科以外の植物に対する接種試験の結果, タイプ I のショウガ科分離株はジャガイモに強い病原性を示すが, それ以外のナス科作物 (トマト, ナス, タバコ, ピーマン) およびピーナッツには弱病原性または非病原性であった (矢野ら, 2011). これに対して, タイプ II のショウガ分離株は, ピーナッツおよびタバコに弱病原性であるが, それ以外のナス科作物に強い病原性を示し, 同じタイプ II の中国, オーストラリア産株の病原性試験でも同様の結果が得られている (Hayward *et al.*, 1967; He, 1986; Pegg and Moffett, 1971). 以上の結果は, DNA タイプと病原学的特徴が密接に関連していることを示唆しているが, 今後更に多くの菌株を用いた接種試験が必要と考えられる.

以上のように, ショウガ科植物青枯病菌は遺伝的に異なる複数のグループに分けられ, それぞれ地理的分布, 病原

性（宿主範囲，特定の作物に対する病原力），biovarなどで違いがみられ，これらの系統が根茎などを介して，各地域内や国境を越えて広範囲に伝播してきたことが推察された．その結果，これら作物の栽培状況や被害状況（病原菌の定着状況，同作物の経済的重要性や被害の程度，病原菌の病原学的特徴など）に応じて，地域ごとに同青枯病に対する独自の防除対策を取る必要があると考えられた．また，種子・根茎を新たに導入または輸入する場合は，原産地の状況（過去の青枯病発生の有無など）についての事前調査が必要と考えられた．

VII. まとめ

DNA情報を用いた青枯病菌の分類や系統解析は，1) 既報の病原性試験や生理的性質の調査に基づく方法に比べ，より正確かつ詳細に菌株間の類縁関係を明らかにできるとともに，菌株間の相互識別が可能である，2) 分離宿主，地理的由来，生理的性質などがそれぞれ異なったり，収集が困難であったり，同じ実験室内での取扱いが困難である菌株について，公的なデータベースに寄託されたDNA情報を用いることで，共通の基準で比較，区別が可能である，3) これまでの報告では，従来の分類方法（レース，biovar）と矛盾するような結果は得られておらず（例えば，従来のレース3，biovar2に分類されていた菌株は phylotype II，sequevar 1に相当することが明らかにされている），むしろ補足的，付加的な意味がある，などの利点があるため，世界的に受け入れられつつある．

しかし，このシステムは，1) 従来のレース，biovarと同様に種，亜種レベル以下の非公式なものであること（前述のように，将来的に各 phylotype を種，亜種レベルに再編する提案がされている），2) 解析菌株数の増加にともない，既報の sequevar とは異なる塩基配列を有する系統が報告されてきている（Hong *et al.*, 2012; 堀田・土屋, 2012; Waki *et al.*, 2013）が，新しい sequevar を設定するための明確な基準が設けられていないこと，3) 一部の例外を除き，sequevar と他の表現形質（宿主範囲，病原力，biovar など）との関係が明らかにされていないこと，などの問題がある．これらの点については，今後，詳細かつ継続的な調査が必要となろう．

Remenant *et al.* (2011) によって提案された，phylotype I と III の株を *R. sequevar* に，phylotype IV の株を *R. haywardii* にそれぞれ移行させる再編案については，国際細菌命名規約（International Code of Nomenclature of Bacteria）（Lapage *et al.*, 1992）に基づく国際誌 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 上での正式な学名提案ではな

く，また，従来の細菌学的性質に基づく分類体系について考慮されていないことから，現時点では受け入れがたいと考えられる．しかし，いくつかの関係学術誌では，これらの提案学名を用いた論文が掲載されてきており（Genin and Denny, 2012; Hayward and Pegg, 2013; Kumar *et al.*, 2013），今後の動向に注意する必要がある．

ショウガ青枯病のような外来性系統による新病害の発生は，無病徴感染した植物の国内外での流通が主な原因と考えられる．栽培用に用いられる種苗については，とくに病原体への感染の有無を確認するための正確な診断方法の確立が重要であると考えられ，肉眼による観察から実験室での抜き取りサンプルの検査，輸入後の検疫対策など様々な方策について今後とも検討する必要がある．

引用文献

- Almeida, N.F., Yan, S., Cai, R., Clarke, C.R., Morris, C.E., Schaad, N.W., Schuenzel, E.L., Lacy, G.H., Sun, X., Jones, J.B., Castillo, J.A., Bull, C.T., Leman, S., Guttman, D.S., Setubal, J.C. and Vinatzer, B.A. (2010). PAMDB, a multilocus sequence typing and analysis database and website for plant-associated microbes. *Phytopathology* 100: 208–215.
- Boshou, L. (2005). A broad review and perspective on breeding for resistance to bacterial wilt. *In* Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex (Allen, C., Prior, P. and Hayward, A.C., eds.), pp. 225–238, APS Press, St. Paul.
- Buddenhagen, I. and Kelman, A. (1964). Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2: 203–230.
- Castillo, J.A. and Greenberg, J.T. (2007). Evolutionary dynamics of *Ralstonia solanacearum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 1225–1238.
- Cook, D., Barlow, E. and Sequeira, L. (1989). Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum*: Detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and the hypersensitive response. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2: 113–121.
- Cook, D. and Sequeira, L. (1994). Strain differentiation of *Pseudomonas solanacearum* by molecular genetic methods. *In* Bacterial Wilt: the Disease and Its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum* (Hayward, A.C. and Hartman, G.L., eds.), pp. 77–93, CAB International, Wallingford.
- Denny, T.P. and Hayward, A.C. (2001). Gram-negative bacteria: *Ralstonia*. *In* Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd ed. (Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W., eds.), pp. 151–174, APS Press, St. Paul.
- Eden-Green, S.J. and Sastraatmadja, H. (1990). Blood disease of banana present in Java. *FAO Plant Protect. Bull.* 38: 49–50.
- Elphinstone, J.G. (2005). The current bacterial wilt situation: a global overview. *In* Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex (Allen, C., Prior, P. and Hayward, A.C., eds.), pp. 9–28, APS Press, St. Paul.
- Fegan, M., Taghavi, M., Sly, L.I. and Hayward, A.C. (1998). Phylogeny, diversity and molecular diagnostics of *Ralstonia solanacearum*. *In* Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects (Prior, P., Allen, C. and Elphinstone, J., eds.), pp. 19–33, Springer, Berlin, Heidelberg.
- Fegan, M. and Prior, P. (2005). How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”? *In* Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex (Allen, C., Prior, P. and Hayward, A.C., eds.), pp. 449–461, APS Press, St. Paul.
- Genin, S. and Denny, T.P. (2012). Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Annu. Rev. Phytopathol.* 50: 67–89.
- Gillings, M.R. and Fahy, P. (1993). Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum* biovar 2 and N2 assessed using restriction endonuclease analysis of total genomic DNA. *Plant Pathol.* 42: 744–753.
- Gillings, M.R. and Fahy, P. (1994). Genomic fingerprinting: Towards a united view of the *Pseudomonas solanacearum* species complex. *In* Bacterial Wilt: the Disease and Its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum* (Hayward, A.C. and Hartman, G.L., eds.), pp. 95–112, CAB International, Wallingford.
- Goris, J., Konstantinidis, K.T., Klappenbach, J.A., Coenye, T., Vandamme, P. and Tiedje, J.M. (2007). DNA-DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 81–91.
- Hayward, A.C. (1964). Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl.*

- Bacteriol. 27: 265–277.
- Hayward, A.C., Moffet, M.L. and Pegg, K.G. (1967). Bacterial wilt of ginger in Queensland. Queensland J. Agric. Anim. Sci. 24: 1–5.
- Hayward, A.C. (1991). Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annu. Rev. Phytopathol. 29: 65–87.
- Hayward, A.C. (1994a). The host of *Pseudomonas solanacearum*. In Bacterial Wilt: the Disease and Its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum* (Hayward, A.C. and Hartman, G.L., eds.), pp. 9–24, CAB International, Wallingford.
- Hayward, A.C. (1994b). Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In Bacterial Wilt: the Disease and its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum* (Hayward, A.C. and Hartman, G.L., eds.), pp. 123–135, CAB International, Wallingford.
- Hayward, A.C., Elphinstone, J.G., Caffier, D., Janse, J., Stefani, E., French, E.R. and Wright, A.J. (1998). Round table on bacterial wilt (brown rot) of potato. In Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects (Prior, P., Allen, C. and Elphinstone, J., eds.), pp. 420–430, Springer, Berlin, Heidelberg.
- Hayward, A.C. and Pegg, K.G. (2013). Bacterial wilt of ginger in Queensland: reappraisal of a disease outbreak. Australasian Plant Pathol. 42: 235–239.
- He, L.Y., Sequeira, L. and Kelman, A. (1983). Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. Plant Dis. 67: 1357–1361.
- He, L.Y. (1986). Bacterial wilt in the People's Republic of China. In Bacterial Wilt Disease in Asia and the South Pacific (Persley, G.J., ed.), pp. 40–48, ACIAR Proc. No. 13, Canberra.
- Hong, J.C., Norman, D.J., Reed, D.L., Momol, M.T. and Jones, J.B. (2012). Diversity among *Ralstonia solanacearum* strains isolated from the southeastern United States. Phytopathology 102: 924–936.
- Horita, M. and Tsuchiya, K. (2000). Comparative analysis of Japanese and foreign strains of *Ralstonia solanacearum* based on 16S ribosomal RNA gene sequences. J. Gen. Plant Pathol. 66: 132–137.
- Horita, M. and Tsuchiya, K. (2001). Genetic diversity of Japanese strains of *Ralstonia solanacearum*. Phytopathology 91: 399–407.
- Horita, M. and Ooshiro, A. (2002). Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains isolated from potato and balsam pear in Okinawa Island. Bacterial Wilt Newsl. 17: 23.
- Horita, M., Yano, K. and Tsuchiya, K. (2004). PCR-based specific detection of *Ralstonia solanacearum* race 4 strains. J. Gen. Plant Pathol. 70: 278–283.
- Horita, M., Tsuchiya, K. and Ooshiro, A. (2005). Characteristics of *Ralstonia solanacearum* biovar N2 strains in Asia. J. Phytopathol. 153: 209–213.
- 堀田光生・田中文夫・不破秀明 (2009). ジャガイモの種にも伝染性細菌病の特徴と簡易保菌検定法. 植物防疫 63: 98–103.
- 堀田光生・土屋健一 (2009). 青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* の分類の現状と課題. 日植病報 75: 297–306.
- Horita, M., Suga, Y., Ooshiro, A. and Tsuchiya, K. (2010). Analysis of genetic and biological characters of Japanese potato strains of *Ralstonia solanacearum*. J. Gen. Plant Pathol. 76: 196–207.
- 堀田光生・土屋健一 (2012). 微生物遺伝資源利用マニュアル No. 12 (改訂第2版) 青枯病菌 *Ralstonia solanacearum*. pp. 1–32, 農業生物資源研究所, つくば.
- Jaunet, T.X. and Wang, J.F. (1999). Variation in genotype and aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* race 1 isolated from tomato in Taiwan. Phytopathology 89: 320–327.
- Jeong, Y., Kim, J., Kang, Y., Lee, S. and Hwang, I. (2007). Genetic diversity and distribution of Korean isolates of *Ralstonia solanacearum*. Plant Dis. 91: 1277–1287.
- 片山克己・木村貞夫 (1986). ジャガイモ青枯病の発生生態と防除に関する研究. 第1報 発生生態と病原細菌の系統. 長崎総農林試研報 14: 1–30.
- Kumar, A., Anandaraj, M. and Sarma, Y.R. (2005). Rhizome solarization and microwave treatment: ecofriendly methods for disinfecting ginger seed rhizomes. In Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex (Allen, C., Prior, P. and Hayward, A.C., eds.), pp. 185–195, APS Press, St. Paul.
- Kumar, A., Prameela, T.P. and Suseelabhai, R. (2013). A unique DNA repair and recombination gene (*recN*) sequence for identification and intraspecific molecular typing of bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* and its comparative analysis with ribosomal DNA sequences. J. Biosci. 38: 1–12.
- Lapage, S.P., Sneath, P.H.A., Lessel, E.F., Skerman, V.B.D., Seeliger, H.P.R. and Clark W.A. (eds.) (1992). International Code of Nomenclature of Bacteria. ASM Press, Washington, D.C.
- Lewis Ivey, M.L., McSpadden Gardener, B.B., Opina, N. and Miller, S.A. (2007). Diversity of *Ralstonia solanacearum* infecting eggplant in the Philippines. Phytopathology 97: 1467–1475.
- Liu, Y., Kanda, A., Yano, K., Kiba, A., Hikichi, Y., Aino, M., Kawaguchi, A., Mizoguchi, S., Nakaho, K., Shiomi, H., Takikawa, Y. and Ohnishi, K. (2009). Molecular typing of Japanese strains of *Ralstonia solanacearum* in relation to the ability to induce a hypersensitive reaction in tobacco. J. Gen. Plant Pathol. 75: 369–380.
- Lum, K.Y. (1973). Cross inoculation studies of *Pseudomonas solanacearum* from ginger. MARDI Res. Bull. 1: 15–21.
- Mahbou Somo Toukam, G., Cellier, G., Wicker, E., Guilhaud, C., Kahane, R., Allen, C. and Prior, P. (2009). Broad diversity of *Ralstonia solanacearum* strains in Cameroon. Plant Dis. 93: 1123–1130.
- Maiden, M.C. (2006). Multilocus sequence typing of bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 60: 561–588.
- 森田泰彰・矢野和孝・土屋健一・川田洋一 (1996). *Curcuma alismatifolia* に発生した青枯病. 四国植防 31: 1–6.
- 成田武四 (1958). 北海道における馬鈴薯細菌病に関する研究. 北海道立農試研報 8: 1–80.
- Norman, D.J., Zapata, M., Gabriel, D.W., Duan, Y.P., Yuen, J.M.F., Mangravita-Novo, A. and Donahoo, R.S. (2009). Genetic diversity and host range variation of *Ralstonia solanacearum* strains entering North America. Phytopathology 99: 1070–1077.
- Nouri, S., Bahar, M. and Fegan, M. (2009). Diversity of *Ralstonia solanacearum* causing potato bacterial wilt in Iran and the first record of phylotype II/ biovar 2T strains outside South America. Plant Pathol. 58: 243–249.
- 岡部徳夫 (1965). ナス科作物青枯病菌の系統. 日植病報 31: 152–158.
- 大城 篤 (2008). アメリカフウロを利用した青枯病の防除. 植物防疫 62: 90–95.
- 尾崎克己・木村俊彦 (1992). 病原性に基づくナス科野菜青枯病細菌の類別. 中国農試研報 10: 49–58.
- Palleroni, N.J. and Doudoroff, M. (1971). Phenotypic characterization and deoxyribonucleic acid homologies of *Pseudomonas solanacearum*. J. Bacteriol. 107: 690–696.
- Pegg, K.G. and Moffett, M.L. (1971). Host range of the ginger strain of *Pseudomonas solanacearum* in Queensland. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Hus. 11: 696–698.
- Pérez-Losada, M., Browne, E.B., Madsen, A., Wirth, T., Viscidi, R.P. and Crandall, K.A. (2006). Population genetics of microbial pathogens estimated from multilocus sequence typing (MLST) data. Infect. Genet. Evol. 6: 97–112.
- Poussier, S., Vandewalle, P. and Luisetti, J. (1999). Genetic diversity of African and worldwide strains of *Ralstonia solanacearum* as determined by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the *hrp* gene region. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2184–2194.
- Poussier, S., Prior, P., Luisetti, J., Hayward, C. and Fegan, M. (2000a). Partial sequencing of the *hrpB* and endoglucanase genes confirms and expands the known diversity within the *Ralstonia solanacearum* species complex. Syst. Appl. Microbiol. 23: 479–486.
- Poussier, S., Trigalet-Demery, D., Vandewalle, P., Goffinet, B., Luisetti, J. and Trigalet, A. (2000b). Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* as assessed by PCR-RFLP of the *hrp* gene region, AFLP and 16S rRNA sequence analysis, and identification of an African subdivision. Microbiology 146: 1679–1692.
- Prior, P. and Fegan, M. (2005). Recent developments in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*. Acta Hort. 695: 127–136.
- Quinon, V.L., Aragaki, M. and Ishii, M. (1964). Pathogenicity and serological relationship of three strains of *Pseudomonas solanacearum* in Hawaii. Phytopathology 54: 1096–1099.
- Remenant, B., Coupât-Goutaland, B., Guidot, A., Cellier, G., Wicker, E., Allen, C., Fegan, M., Pruvost, O., Elbaz, M., Calteau, A., Salvignol, G., Mornico, D., Mangenot, S., Barbe, V., Medigue, C. and Prior, P. (2010). Genomes of three tomato pathogens within the *Ralstonia solanacearum* species complex reveal significant evolutionary divergence. BMC Genomics 11: 379.
- Remenant, B., de Cambiaire, J.-C., Cellier, G., Jacobs, J.M., Mangenot, S., Barbe, V., Lajus, A., Vallenet, D., Medigue, C., Fegan, M., Allen, C. and Prior, P. (2011). *Ralstonia syzygii*, the blood disease bacterium and some Asian *R. solanacearum* strains form a single genomic species despite divergent lifestyles. PLoS ONE 6: e24356.
- Schaad, N.W., Frederick, R.D., Shaw, J., Schneider, W.L., Hickson, R., Petrillo, M.D. and Luster, D.G. (2003). Advances in molecular-based diagnostics in meeting crop biosecurity and phytosanitary issues. Annu. Rev. Phytopathol. 41: 305–324.
- 菅 康弘 (2000). ジャガイモ青枯病の発生生態と防除. 日本植物病理学会土壌伝染病談話会レポート 20: 174–179.
- Suga, Y., Horita, M., Umekita, M., Furuya, N. and Tsuchiya, K. (2013). Pathogenic characters of Japanese potato strains of *Ralstonia solanacearum*. J. Gen. Plant Pathol. 79: 110–114.
- Swanson, J.K., Yao, J., Tans-Kersten, J. and Allen, C. (2005). Behavior of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 during latent and active infection of geranium. Phytopathology 95: 136–143.
- Taghavi, M., Hayward, C., Sly, L.L. and Fegan, M. (1996). Analysis of the phylogenetic relationships of strains of *Burkholderia solanacearum*, *Pseudomonas syzygii*, and the Blood disease bacterium of banana based on 16S rRNA sequences. Int. J. Syst. Bacteriol. 46: 10–15.
- Thwaites, R., Mansfield, J., Eden-Green, S. and Seal, S. (1999). RAPD and rep-PCR-based fingerprinting of vascular bacterial pathogens of *Musa* spp. Plant Pathol. 48: 121–128.
- Titatarn, V. (1986). Bacterial wilt in Thailand. In Bacterial Wilt Disease in Asia and the South Pacific (Persley, G.J., ed.), pp. 65–67, ACIAR Proc. No. 13, Canberra.

- 土屋健一・矢野和孝・堀田光生・森田泰彰・川田洋一・d'Ursel, C.M. (1999). 我が国におけるショウガ青枯病 (Bacterial wilt: 新称) の初発生. 日植病報 65: 363 (講要).
- Tsuchiya, K., Yano, K., Horita, M., Morita, Y., Kawada, Y. and d'Ursel, C.M. (2005). Occurrence and epidemic adaptation of new strains of *Ralstonia solanacearum* associated with *Zingiberaceae* plants under agro-ecosystem in Japan. In Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex (Allen, C., Prior, P. and Hayward, A.C., eds.). pp. 463–469, APS Press, St. Paul.
- 土屋健一 (2008). 外来性レース系統におけるショウガ科植物青枯病の発生と伝播. 植物防疫 62: 72–75.
- Uematsu, T., Chutenchitt, S., Karnjanarat, S., Vivithajinda, S., Nabheerong, N., Benjathikul, S., Nilmanee, S., Dhirabhava, W. and Buangsuwon, D. (1983). Bacterial Diseases on Economic Crops in Thailand. pp. 1–266, Tropical Agricultural Research Center, Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand.
- Vanechoutte, M., Kämpfer, P., De Baere, T., Falsen, E. and Verschraegen, G. (2004). *Wautersia* gen. nov., a novel genus accommodating the phylogenetic lineage including *Ralstonia eutropha* and related species, and proposal of *Ralstonia* [*Pseudomonas*] *syzygii* (Roberts *et al.*, 1990) comb. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54: 317–327.
- Villa, J.E., Tsuchiya, K., Horita, M., Natural, M., Opina, N. and Hyakumachi, M. (2005). Phylogenetic relationships of *Ralstonia solanacearum* species complex strains from Asia and other continents based on 16S rDNA, endoglucanase, and *hrpB* sequences. J. Gen. Plant Pathol. 71: 39–46.
- Waki, T., Horita, M., Kurose, D., Mulya, K. and Tsuchiya, K. (2013). Genetic diversity of *Zingiberaceae* plant isolates of *Ralstonia solanacearum* in the Asia-Pacific Region. JARQ 47: 283–294.
- Wicker, E., Lefeuvre, P., de Cambiaire, J.-C., Lemaire, C., Poussier, S. and Prior, P. (2012). Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA. ISME J. 6: 961–974.
- Xu, J., Pan, Z.C., Prior, P., Xu, J.S., Zhang, Z., Zhang, H., Zhang, L.Q., He, L.Y. and Feng, J. (2009). Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China. Eur. J. Plant Pathol. 125: 641–653.
- Xue, Q.-Y., Yin, Y.-N., Yang, W., Heuer, H., Prior, P., Guo, J.-H. and Smalla, K. (2011). Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China assessed by PCR-based fingerprints to unravel host plant- and site-dependent distribution patterns. FEMS Microbiol. Ecol. 75: 507–519.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H. and Nishiuchi, Y. (1996). Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. Microbiol. Immunol. 39: 897–904.
- 矢野和孝・川田洋一・土屋健一・堀田光生 (2005). *Ralstonia solanacearum* によるショウガ青枯病 (新称). 日植病報 71: 179–182.
- 矢野和孝・川田洋一・堀田光生・曳地康史・土屋健一 (2011). ショウガ科植物から分離された青枯病菌の系統とそれらの宿主範囲. 日植病報 77: 88–95.
- Yu, Q., Alvarez, A.M., Moore, P.H., Zee, F., Kim, M.S., de Silva, A., Hepperly, P.R. and Ming, R. (2003). Molecular diversity of *Ralstonia solanacearum* isolated from ginger in Hawaii. Phytopathology 93: 1124–1130.
- Zehr, E.I. (1969). Bacterial wilt of ginger in the Philippines. Philipp. Agricultur. 53: 224–227.