ツルマメに発生する細菌病

入江 沙織¹⁾・古屋 成人^{1)†}・松岡 健¹⁾・大貫 正俊²⁾

黒瀬 大介³⁾・佐藤 豊三⁴⁾・土屋 健一¹⁾

(¹⁾九州大学大学院農学研究院・²⁾九州沖縄農業研究センター・³⁾CABI Europe-UK

⁴⁾国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 遺伝資源センター)

Occurrence of bacterial diseases of *Glycine soja* in Japan. Saori Irie¹⁾, Naruto Furuya^{1)†}, Ken Matsuoka¹⁾, Masatoshi Onuki²⁾, Daisuke Kurose³⁾, Toyozo Sato⁴⁾, and Kenichi Tsuchiya¹⁾ (¹⁾Faculty of Agriculture, Kyushu University, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan. ²⁾NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, Koshi, Kumamoto 861-1192, Japan. ³⁾CABI Europe-UK, Egham, Surrey TW20 9TY, UK. ⁴⁾National Agriculture and Food Research Organization Genetic Resources Center, Kannondai 2-1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan)

Glycine soja Sieb. et Zucc., an ancestral wild species of soybean (*G. max* (L.) Merr.) has been gathering attention as a genetic resource. In addition, considering the cultivation of genetically modified soybean will be introduced to Japan in the future, crossing species might affect biological diversity. Under such a situation, bacterial diseases of *G. soja* have not yet been reported so far. Therefore, pathogenic bacteria of *G. soja* and its characteristics were investigated in this study. Occurrence of bacterial disease of *G. soja* in various parts of Japan was surveyed and 90 bacterial isolates were isolated from the infected leaves. Based on the tobacco hypersensitive reaction (HR) or hypersensitive like reaction (HLR), 17 and 35 isolates of presumably plant pathogenic bacteria were isolated. By homology analysis based on 16S rDNA sequences, 52 isolates comprising 13 genera such as *Xanthomonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Rhizobium* sp. and *Pantoea* sp were identified. After spray inoculation to *G. soja* and *G. max* with those 52 isolates, 13 isolates were pathogenic to both plants and divided into isolates with two colony colors of yellow and white. Three white colony isolates had high homology to *P. syringae* pv. *glycinea*, whereas 10 yellow ones formed the same cluster with *X. axonopodis* pv. *glycines*.

Keywords : bacterial pathogen, *Glycine max*, hypersensitive reaction, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas axonopodis*

緒 言

ツルマメ (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) はマメ科 (Fabaceae) のつる性一年生雑草で東アジアを起源としており、日本、朝鮮半島、中国、シベリア東部などに分布し、栽培種のダイズ *G. max* (L.) Merr. の原種として知られている (佐竹ら, 1982)。日本国内では北海道、本州、四国、九州に分布し、日当たりの良い平地の野原や道端に見られる。ツルマメはダイズとの交雑が可能であり、またダイズにはない子実成分や耐

病虫性が見つかっているため、様々な特性を持ったツルマメの系統が貴重な遺伝資源として注目されている (藤田・鈴木, 1986; Hajika et al., 1996; 菊池ら, 1996)。

一方、2013年度に世界で最も多く栽培された遺伝子組換え (GM: genetically modified) 作物はダイズであり、その栽培面積は毎年増加傾向にある (James, 2013)。GM ダイズの栽培が、生物多様性に与える影響として、導入遺伝子が非組換え体である近縁野生種へ遺伝子浸透することが挙げられる (Warwick et al., 2009)。現在、日本では GM ダイズを商業的には栽培していないものの、カルタヘナ議定書に基づき、第一

† nafuruya@agr.kyushu-u.ac.jp

種使用（食料や飼料としての運搬や農地での栽培などに関して生物多様性への影響が生ずるおそれがないと承認されたものが使用できる）が承認されている GM ダイズの品種を輸入しており、いくつかの品種は日本での栽培が承認されている（農林水産省, 2015）。このように、将来的に我が国でも GM ダイズの商業栽培が認められる可能性がある。これに先駆け、GM ダイズと野生ツルマメとの交雑を想定し、交雑ツルマメが生物多様性に及ぼす影響を評価するためには、ツルマメの生物学的・生態学的特性を明らかにする必要がある。実際、組換えダイズが我が国で栽培された場合、それがツルマメ群落に及ぼす影響を解明する目的での研究が既に農林水産省を中心になされている。（農林水産省, 2016）しかしながら、これまでツルマメに発生するウイルス病や糸状菌病に関する知見はあるものの、細菌病に関する情報は世界的にも皆無である（桑田ら, 1976; 西・佐藤, 1994; Tamada, 1970）。よって本研究では、我が国のツルマメ群落に発生する細菌病の探索と病原の解明ならびにその系統学的情報の蓄積を目的とした。

なお本研究は、平成26年度農林水産省委託プロジェクト研究「ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発－新たな遺伝子組換え生物にも対応できる生物多様性影響評価・管理技術：ツルマメの病害に関する調査・解析」の助成を受けたものである。

材料および方法

1. ツルマメ群落における細菌性罹病植物の採集と細菌の分離

2014年6月から11月にかけて、日本各地17箇所のツルマメ群落から、既報の糸状菌病あるいはウイルス病による病斑とは明らかに異なり（桑田ら, 1976; 西・佐藤, 1994; Tamada, 1970）、細菌感染が疑われる罹病植物を探索した（Fig. 1）。罹病葉試料は、地域ごとにポリ袋または紙袋に入れて持ち帰り、5℃の低温で保存した。

罹病葉の病変部と健全部との境界組織を約5 mm四方に切り取り、葉切片とした。葉切片に70% エタノールを吹きかけ、続いて2% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液に3分間浸して表面殺菌した。滅菌蒸留水で3回洗浄後、乳棒と乳鉢を用いて摩砕し、1 ml の滅菌蒸留水を加えて摩砕液とした。摩砕液から PSA 培地〔ジャガイモ (300 g) 煎汁 1 L, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 2 g, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0.5 g, ペプトン 5 g, ショ糖 15 g, 寒天 15 g, pH7.0〕を用いて希釈平板法により細菌を分離した。

培養は30℃で2～4日間行った。培養後、出現した細菌集落は色調、大きさ、形状を目視によって区別し、それぞれを代表する集落を鉤菌後、純化を行った。純化した菌株は保存用分散媒（スキムミルク10 g, グルタミン酸ナトリウム 1 g, 蒸留水 1 L）に懸濁し、-20℃で凍結保存した。

2. 分離細菌のタバコ過敏反応誘起能およびツルマメへの噴霧接種試験

分離細菌について、植物病原性の簡易判定を行う目的でタバコ過敏反応（Hypersensitive reaction: HR）試験を行った。吸光度（ OD_{610} ）を1.0に調整した細菌懸濁液（約 10^9 CFU/ml）約100 μl を無針注射器を用いて、タバコ（*Nicotiana tabacum* L. 品種「ブライトイエロー」）の展開しきった本葉3もしくは4枚目の葉を選び、裏面から気孔を通して、葉脈間組織の細胞間隙に注入後（Klement, 1963）、10日間観察した。注入部組織が48時間以内にえ死した場合を典型的な HR 陽性、48時間以降にえ死した場合を過敏様反応（Hypersensitive-like reaction: HLR）陽性と評価し、それぞれ HR, HLR と表記した。

HR あるいは HLR を示した計52菌株について、ダイズとツルマメに対する病原性を調べた。ダイズは品種「鶴の子大豆」を用い、播種後約20日間、20～25℃の空調温室内で生育させた個体を供試した。ツルマメは熊本県合志市野々島で採集した種子をダイズと同条件で生育させた個体を用いた。HR あるいは HLR 陽性菌株は約 10^6 CFU/ml の細菌懸濁液を調製し、植物個体あたり約7 ml を無傷噴霧接種した。接種個体は35℃で湿度100%の接種箱に24時間保持した後、20～25℃のガラス温室で、2週間、病徴の発現を観察した。また、対照無接種区についても、滅菌蒸留水を噴霧後同様の処理を行った。さらに、病徴を呈した罹病葉からは接種菌の再分離を行った。

また、ダイズの病原細菌として既報（日本植物病理学会, 2015）の葉焼病菌 *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* S-4（1986年、福岡県で分離）および斑点細菌病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* KN 168（1981年、岩手県で分離）を用いて、上記と同様にそれぞれダイズとツルマメに対する接種試験を行った。

3. 病原細菌の属および種の推定

接種試験の結果、ダイズおよびツルマメに対して病原性を有する菌株については、16S rDNA の塩基配列に基づいた相同性解析により、属および種の推定を行った。供試菌株は、95℃、10分間の熱処理か、または DNeasy Blood and Tissue Kit（QIAGEN, Germany）

Fig. 1. Map of the field survey sites of bacterial diseases of *Glycine soja* in Japan.

を用いて、プロトコールに従い培養菌体からDNAを抽出した後、16S rDNAのユニバーサルプライマーである63f (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3')および1387r (5'-GGGCGGWGTGTACAAGGC-3') (Marchesi et al., 1998) を用いてPCRを行った。決定した増幅DNAの塩基配列は、日本DNAデータベース (DDBJ) よりBLASTを用いて相同性解析を行った。さらに、参照菌の塩基配列として、GenBank / National Center for Biotechnology Information (NCBI) に登録されている配列を使用し、木村2変数法 (Kimura 2-parameter model: Kimura, 1980) による遺伝的距離を求め、近隣結合法 (Saitou and Nei, 1987) により系統樹を作成した。

結果および考察

日本各地のツルマメ群落のうち、Fig. 1に示す17箇所において細菌性病害の発生調査を行ったところ、全地点で葉に大小様々の黄色または黒褐色の斑点や葉焼症状などを呈する罹病個体が多数観察され (Figs. 2, 4 A), 罹病葉75枚を採取した。そして、F, L及びO地点からの採取罹病葉を除く被験試料から合計90菌株の細菌を分離した。分離細菌のうち17菌株がタバコ葉にHR陽性、35菌株がHLR陽性であった (Table 1)。

一方、P地点 (Fig. 1) からの細菌分離株はタバコ葉に対する反応はいずれも陰性であった。またHR陰性を示した38菌株は、Fig. 1のC, G, K及びM地点以外の全ての調査地点で分離された。しかしながら、今回の罹病葉の採取においては、調査地点毎にサンプル数が異なっており、統計的な分離頻度などの解析は行っておらず、細菌病の発生と地理的な関係については今後の課題であるが、ツルマメ群落には全国的に細菌病が発生しているものと推察される。

16S rDNAの塩基配列に基づいた解析の結果、HRあるいはHLR陽性の分離菌株は、主に *Xanthomonas* 属, *Pseudomonas* 属, *Rhizobium* 属, *Pantoea* 属など、合計13属の菌株と99%以上の高い相同性を示した (Table 1, Fig. 3)。また、これらのうち13菌株が無傷噴霧接種によりツルマメの葉に病斑を形成し、原病徴が再現された。それらの病斑部からは接種細菌と同じ細菌が再分離され、コッホの原則を満たした。さらに、同13菌株は、無傷噴霧接種によりダイズにも同様の病徴を示した。これらツルマメ由来の病原細菌は、黄色集落を形成するものと白色集落を形成するものに大別された (Fig. 4B)。黄色集落形成菌の接種葉は、初期症状として黄色の小斑点を形成後、拡大が進行するとともに、中心部が褐色の壊死斑となった (Fig. 4C)。

Table 1. Estimation of genera and species of HR and/or HLR positive isolates derived from diseased *Glycine soja*

Bacterial isolate	Reaction of tobacco leaf tissue ^{a)}	Survey site ^{b)}	Closest match according to the 16S rDNA gene sequence	No. of base (bp)	Max. score	% match	Gen Bank accession number
Kul409-1-10	HR	A	<i>Xanthomonas campestris</i> strain CP81	1216	2411	100	LC114091
Kul409-1-11	HLR		<i>Pseudomonas</i> sp. DP165A	1224	2426	100	LC114092
Kul409-1-12	HR		<i>Ewingella americana</i>	1220	2418	100	LC114093
Kul409-1-13	HLR		<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1256	2490	100	LC074958
Kul409-1-16	HR		<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1263	2504	100	LC074959
Kul409-1-17	HR		<i>Methylobacterium komagatae</i>	1187	2323	99	LC114094
Kul409-1-18	HLR	B	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1237	2452	100	LC074960
Kul409-2-9	HLR		<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1244	2458	99	LC074961
Kul407-3-1	HR	C	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i> strain EM1	1220	2411	99	LC074962
Kul407-3-2	HLR		<i>Xanthomonas campestris</i> strain CP81	1221	2420	100	LC114095
Kul407-3-3	HR		<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i> strain EM1	1236	2434	99	LC074963
Kul407-3-4	HLR		<i>Pantoea ananatis</i> LMG 20103	723	1433	100	LC114096
Kul408-4-1	HLR	D	<i>Rhizobium</i> sp. DR 7-06	1191	2253	99	LC114097
Kul408-4-2	HLR		<i>Xanthomonas campestris</i> strain CP81	1217	2423	100	LC114098
Kul408-4-3	HLR		<i>Xanthomonas campestris</i> strain CP81	1262	2520	100	LC114099
Kul408-4-4	HLR		<i>Rhizobium</i> sp. WPCB164	1180	2339	100	LC114100
Kul408-4-5	HLR		<i>Stenotrophomonas</i> sp. 3C_5	1237	2452	100	LC114101
Kul408-4-6	HLR		<i>Pseudomonas</i> sp. M15	1236	2450	100	LC114102
Kul408-4-7	HLR		<i>Pseudomonas fulva</i> strain S29	1219	2416	100	LC114103
Kul408-4-8	HLR		<i>Acidovorax</i> sp. CT 6-07	1219	2416	100	LC114104
Kul408-4-13	HLR		<i>Pseudomonas</i> sp. ZQW-110	1236	2450	100	LC114105
Kul408-4-14	HLR		<i>Agrobacterium</i> sp. NA-Z-SYM-1	1191	2361	100	LC114106
Kul408-5-1	HR	E	<i>Acidovorax valerianellae</i> strain KACC 16998	1239	2440	99	LC114107
Kul408-5-5	HR		<i>Pseudomonas cichorii</i> strain BC3310	1213	2405	100	LC114108
Kul408-5-8	HR		<i>Pantoea agglomerans</i> strain LB80	726	1439	100	LC114109
Kul408-5-9	HR		<i>Pantoea ananatis</i> LMG 20103	687	1362	100	LC114110
Kul409-7-1	HR	G	<i>Pseudomonas syringae</i> strain RM291a	1236	2450	100	LC114111
Kul409-7-2	HLR		<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1256	2490	100	LC074964
Kul409-7-3	HLR		<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1226	2415	99	LC074965
Kul409-7-5	HLR		<i>Bacillus altitudinis</i> strain BMSedII	1229	2436	100	LC114112
Kul409-7-6	HLR	H	<i>Pantoea agglomerans</i> strain SXG	1214	2407	100	LC114113
Kul409-8-2	HLR		<i>Xanthomonas campestris</i> strain CP81	1220	2418	100	LC114114
Kul409-8-3	HR		<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1234	2446	100	LC074966
Kul409-8-6	HLR		<i>Rhizobium</i> sp. DR 7-06	1174	2311	99	LC114115
Kul409-8-7	HR		<i>Pseudomonas cichorii</i>	1213	2405	100	LC114116
Kul409-8-8	HLR		<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> strain 5	1214	2407	100	LC114117
Kul409-8-9	HR	I	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1221	2420	100	LC074967
Kul409-9-4	HLR		<i>Agrobacterium larrymoorei</i> strain IARI-PC4-102	1183	2345	100	LC114118
Kul409-10-1	HR		<i>Pseudomonas cichorii</i>	1236	2450	100	LC114120
Kul409-10-2	HR		<i>Pseudomonas cichorii</i>	1220	2418	100	LC114121
Kul409-10-3	HLR		<i>Rhizobium</i> sp. S3-160	1171	2321	100	LC114122
Kul409-10-4	HR		<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1245	2468	100	LC074968
Kul409-10-6	HR	J	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i>	1236	2450	100	LC074969
Kul409-10-8	HLR		<i>Rhizobium</i> sp. S3-160	1167	2313	100	LC114123
Kul409-10-9	HLR		<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> strain C12	1244	2466	100	LC074970
Kul409-10-10	HLR		<i>Enterobacter cloacae</i> strain Z972	773	1532	100	LC114124
Kul409-10-11	HLR	K	<i>Cronobacter sakazakii</i> strain BDSV3	1215	2393	99	LC114125
Kul409-11-2	HLR		<i>Agrobacterium</i> sp. 81K	1191	2361	100	LC114126
Kul409-11-3	HLR		<i>Xanthomonas campestris</i> strain CP81	1244	2466	100	LC114127
Kul409-13-1	HLR	M	<i>Agrobacterium larrymoorei</i> strain IARI-PC4-102	1198	2367	99	LC114128
Kul410-14-2	HLR	N	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> strain PDD-41b-5	1198	2375	100	LC114129
Kul408-17-1	HLR	Q	<i>Pseudomonas</i> sp. CC13E	1229	2460	99	LC114130

a) Tobacco hypersensitive reaction. HR ; necrosis in 48 h, HLR ; necrosis in 3~10 days. b) Survey site alphabets correspond to Fig. 1..

Fig. 2. Natural symptoms of *Glycine soja*. A. Itsuki, Kumamoto Pref., B. Morokuzu River, Iwate Pref.

一方、白色集落形成菌を接種した葉では、大小様々な褐色あるいは黒褐色の斑点が形成され、周囲に黄色のハローを生じた (Fig. 4C)。黄色集落形成菌株は *X. axonopodis* と、白色集落形成菌株は *P. syringae* と、16S rDNA の塩基配列においてそれぞれ99%以上の相関性が示され、同一種内における菌株間での塩基数の違いは1または2塩基であった (Table 1)。なお、対照無接種区において発病は確認されなかった。

今回の病害調査の結果、*X. axonopodis* と推定された菌株は岩手県、栃木県、熊本県、宮崎県から、一方、*P. syringae* と推定された菌株は宮城県と熊本県から、それぞれ分離されたことから、これら2種の細菌によるツルマメの病害は日本各地に分布しているものと考えられる。また、ダイズの病原細菌として知られる *X. axonopodis* pv. *glycines* および *P. syringae* pv. *glycinea* はツルマメにも病原性を示し、それらの病徴はダイズにおけるものと同様であった (Fig. 5)。これらの結果から、本実験においてツルマメに病原性を有した分離菌株は *X. axonopodis* pv. *glycines* あるいは *P. syringae* pv. *glycinea* であると推察される。一般的に植物病原体が宿主範囲を拡大する過程において、原宿主と近縁な植物種に感染する傾向が知られている (Gilbert and Webb, 2007; Parker et al., 2015; Streicker et al., 2010)。ツルマメとダイズは近縁であることから、上記2種の病原細菌は両植物種に相互感染する可能性が推察される。今後はこれら2種の分離細菌について、細菌学的諸性質や病原性関連遺伝子の解析および各種植物に対する接種試験などに基づいた種あるいは pathovar レベルでの同定を行う必要がある。

一方、罹病ツルマメから分離した HR あるいは

HLR 陽性菌株の中には、無傷噴霧接種によってツルマメに病原性を示さなかった *Rhizobium* 属、*Pantoea* 属、*Acidovorax* 属などの菌株が多数認められた (Table 1, Fig. 3)。Klement (1963) による植物病原細菌による HR の発見以来、HR 誘起能と病原性との間には高い相関関係が存在することが知られている。さらにグラム陰性の病原細菌において *hrp* 遺伝子の構造と機能を分子基盤にした、HR 誘起能と病原性発現との密接な関連性が論じられている (Hutcherson, 2001)。本実験において HR あるいは HLR 陽性を示す菌株は植物病原細菌である可能性が高いので、接種法を変えることによりツルマメにも病原性を示す可能性がある。また、病斑からは HR/HLR 陰性の細菌も分離されているので、それらの中にもツルマメに病原性を示す細菌が含まれる可能性がある。本研究で *X. axonopodis* pv. *glycines* および *P. syringae* pv. *glycinea* と推察される細菌によって野外のツルマメが発病していることが明らかにされたが、これら以外にも、日本各地のツルマメ群落にはツルマメに病原性を示す細菌が多種類存在する可能性があるものと推察される。日本国内でこれらの属の細菌によるダイズにおける自然発病は報告されていない。なお、今回の調査により *P. cicholii* と推定される菌株が分離されたが、西山ら (1986) によれば、本病原細菌種は有傷噴霧接種によりダイズに病原性を示す場合があると報告されている。そのため、無傷噴霧接種で病原性を示さなかった HR/HLR 陽性菌株ならびに陰性菌株については、今後、付傷接種などによってツルマメに対する病原性を確認し、その分類学的位置付けの検討を行う必要がある。

Fig. 3. Neighbour joining tree based on 16S rDNA sequence data for 52 HR and/or HLR positive bacterial isolates from diseased *Glycine soja*. The sequence of *Methanobacterium formicicum* strain MF (NR 115168) was used as the outgroup. Bacterial isolates from *G. soja* in this study are indicated in bold font. Underlined strains had pathogenicity to *G. soja* by spray inoculation. Numbers on the branches represent bootstrap values ($\geq 50\%$) obtained from 1,000 replications. Bars indicate 0.05 substitutions per nucleotide position.

Fig. 4. Different symptoms of *Glycine soja* and isolated bacterial colonies. A. Natural symptoms on the leaves of *G. soja*. B. Colonies on PSA medium. C. Lesion appearance on spray inoculated leaves of *G. soja*.

引用文献

- 藤田佳克・鈴木穂積 (1986) ダイズ紫斑病に対する野生ダイズ (ツルマメ) 系統の抵抗性 北日本病虫研報 37: 56-59.
- Gilbert, G. S. and C. O. Webb (2007) Phylogenetic signal in plant pathogen-host range. Proc. Natl Acad. Sci. USA 104: 4979-4983.
- Hajika, M., M. Takahashi, S. Sakai and K. Igita (1996) A new genotype of 7S globulin (β -conglycinin) detected in wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et

- Zucc.) Breed. Sci. 46 (4) : 385-386.
- Hutcheson, S.W. (2001) The molecular biology of hypersensitivity to bacterial pathogens. J. Plant Pathol. 83: 151-172.
- James, C. (2013) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops : 2013. ISAAA Brief No. 46. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (Ithaca), NY.
- 菊池彰夫・田淵公清・足立大山 (1996) 雄物川流域河川で収集したツルマメの蛋白質サブユニット組成の変異日作東北支部報 39: 95-96.

Fig. 5. Symptoms on the leaves of *Glycine soja* (left) and *G. max* (right) by spray inoculation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* S-4 (A) and *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* KN 168 (B).

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.

Klement, Z. (1963) Rapid detection of pathogenicity of phytopathogenic pseudomonads. Nature 199: 299-300.

桑田 茂・大木 理・山下修一・土居養二・与良 清 (1976) 野外の、オオバコから見出された potato

virus X (PVX) ならびにツルマメから見出された southern bean mosaic virus (SBMV) について 日植病報 42: 104-105. (講要)

Marchesi, J. R., T. Sato, A. J. Weightman, T. A. Martin, J. C. Fry, S. J. Hiom, and W. G. Wade (1998) Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. Appl. Environ. Microbiol. 64: 795-799.

- 日本植物病理学会 (2015) 日本植物病名目録. 日本植物病理学会, (東京), pp.1585.
- 西 和文・佐藤 剛 (1994) *Calonectria crotalariae* によるツルマメの自然発病 関東東山病虫研報 41: 47-49.
- 西山幸司・畦上耕児・長田 茂・中曾根 渡・江塚昭典・渡辺康正 (1986) ダイズ細菌病の種類と病原細菌の同定. 農環研報 1: 83-94.
- 農林水産省 (2015) カタルヘナ法の概要 http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/about/pdf/law_summary.pdf (2016年7月26日アクセス確認).
- 農林水産省 (2016) 遺伝子組換え植物等の実態調査, 次世代ゲノム基盤プロジェクト
<http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/index.html#2> (2016年7月26日アクセス確認).
<http://cropgenome.project.affrc.go.jp/kenkyu/koubo/gra.html#gaiyou> (2016年7月26日アクセス確認).
- Parker, I. M., M. Saunders, M. Bontrager, A. P. Weitz, R. Hendricks, R. Magarey, K. Suiter and G.S. Gilbert. (2015) Phylogenetic structure and host abundance drive disease pressure in communities. *Nature* 520: 542-544.
- Saitou, N. and M. Nei (1987) The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- 佐竹義輔・大井次三郎・北村四朗・亘理俊次・富成忠夫 (1982) 日本の野生植物 草本Ⅱ 離弁花類. 平凡社 (東京), pp. 318.
- Streicker, D. G., A. S. Turmelle, M. J. Vonhof, I. V. Kuzmin, G. F. McCracken and C. E. Rupprecht (2010) Host phylogeny constrains cross-species emergence and establishment of rabies virus in bats. *Science* 329: 676-679.
- Tamada, T. (1970) Aphid transmission and host range of soybean dwarf virus. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.* 36: 266-274.
- Warwick, S. I., H. J. Beckie and L. M. Hall (2009) Gene flow, invasiveness, and ecological impact of genetically modified crops. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1168: 72-99.
- (2016年4月24日受領, 8月2日受理)