

令和5年度

修士論文

日本で発生したテンサイ褐斑病に関与する

Cercospora 属菌の多様性

三重大学大学院生物資源学研究科

資源循環学専攻農業生物学講座

宇田 宙生

目次

緒言	2
材料および方法	4
サンプル採集	4
菌の培養	4
DNA 抽出	4
PCR、電気泳動、DNA シーケンス解析	5
分子系統解析	6
接種試験	7
再分離	8
形態観察	8
結果	10
分子系統解析	10
接種試験	10
再分離	11
形態観察	11
考察	13
図・表	18
引用文献	40
謝辞	47

緒言

Cercospora 属菌はその生活環において多くの場合、不完全世代が観察される植物病原菌類であり、テレモルフは”*Mycosphaerella*”として知られる。本属菌は草本から木本まで様々な植物に寄生することが知られており、作物の減収および観賞植物の価値を損じる被害を与える(Braun et al., 2013)。日本国内では、200 種類以上の種と病気が報告されている(日本植物病名データベース, 2023)。本属菌は宿主特異性の種が多いとされ、これらは宿主植物(主に属)ごとに新たな種が命名されてきた(堀江, 2014)。また、近年にあっては形態的特徴および分子系統解析の結果に基づき分類・同定されている(Chen et al., 2022)。

テンサイ (*Beta vulgaris* L.) はヒユ科フダンソウ属に属する 2 年生植物である。地中海沿岸地域の野生種からの分化種で、1747 年にドイツ人が糖度の高い種を発見し、日本には 1881 年に北海道で導入された(農研機構, 2011)。テンサイは砂糖の原料や飼料として利用されており、サトウキビと並ぶ糖作物である。根部から抽出された糖分が砂糖になり、搾り取った残りの粕(ビートパルプ)が飼料となる(農林水産省, 2021)。統計によれば世界全体のテンサイの生産量は 2 億 6099 万 8614 トン、作付面積は 429 万 5160 ヘクタールであり、日本を含む世界 55 カ国で栽培されている。また、主に北半球の冷地で栽培されており、国別で見ると、ロシア、フランス、米国、ドイツ、トルコ、ポーランド、エジプト、ウクライナ、中国の順に生産量が多く、日本は 16 位である(FAOSTAT, 2022)。日本のテンサイの生産量は 354 万 5000 トン、作付面積は 5 万 5400 ヘクタールであり、これらはすべて北海道で栽培されたものである(農林水産省, 2022)。国際砂糖機関(ISO)によると、2021 年における世界全体の砂糖の生産量は 1 億 6516 万 7000 トンであり、その内てん菜糖の生産量が 3420 万 4000 トン、甘蔗糖(サトウキビを原料とする砂糖)の生産量が 1 億 3096 万 4000 トンである。また、日本における令和 4 年度(2022 年 10 月から 2023 年 9 月)の国内産糖の生産(供給)量は 70 万 2000 トンであり、その内てん菜糖が 56 万 2000 トンと約 8 割を占める(農林水産省, 2023)。このように、テンサイはサトウキビと共に世界の糖産業を支える重要な農作物の一つである。

テンサイ褐斑病はテンサイの最重要病害であり、病原菌は *Cercospora beticola* である。本病害は病原菌が感染した葉に直径 2~4 mm の斑点が生じ、多発すると葉が枯死する(図 1)。その後の新葉の再生によって根中糖分が消耗され、糖度が低下する(柏森, 2019a)。高温・多湿な条件で発生しやすく、北海道では 7 月~8 月に発生することが知られていたが、気候の変動により近年 9 月にかけても高温を維持するため、9 月以降にも褐斑病が蔓延する事例が生じている(道総研, 2023)。防除のためには、連作の回避、抵抗性品種の利用、薬剤散布が行われている(北海道病害虫防除所, 2024)。一方で、これまで防除に用いられた薬剤の内、ベンズイミダゾール剤、QoI 剤、DMI 剤、カスガマイシン剤の耐性菌の発生が北海道で報告されている(石井, 2004; 清水, 2015; 栢森・安岡, 2018; 柏森, 2019b)。本病害の発生は、世界中のテンサイ産地で確認されており、テンサイ栽培および

糖産業に多大な経済的損失を与えている (Rangel, 2020) が、北海道でも多発しており、令和 4 年の被害面積はテンサイの作付面積の 9.7% であった (北海道病害虫防除所, 2022)。

これまで、テンサイ褐斑病の病原菌として *C. beticola* が知られていたが、近年、海外で同種以外の *Cercospora* 属菌が、テンサイ褐斑病およびテンサイと同じ *Beta vulgaris* であるフダンソウおよびテーブルビートの褐斑病に関与することが報告されている。Vaghefi et al., (2018) では、英国産のテンサイおよび米国産のフダンソウの病斑上から *C. apii*、米国産のテーブルビートの病斑上から *Cercospora* sp. G, *C. cf. flagellaris*, *C. zebrina* が分離されている。Bakhshi and Zare, (2020) では、イラン産のテンサイの病斑上から *C. gamsiana* が分離され、Vaghefi et al., (2021) では、米国産のフダンソウおよびテーブルビートから *C. americana* および *C. tecta* が分離された。

しかしながら、これまで日本産のテンサイの病斑上から *C. beticola* 以外の *Cercospora* 属菌が分離されたという報告はない。ただ、日本国内でも海外の報告と同じく、複数種の *Cercospora* 属菌がテンサイ褐斑病に関与している可能性が考えられる。本病害の防除および栽培地における他の農作物栽培において、*C. beticola* 以外の *Cercospora* 属菌の関与の有無は重要であるため、日本国内でも調査を行う必要がある。本研究の目的は、日本国内で発生したテンサイ褐斑病に関与する *Cercospora* 属菌の多様性を解明し、正確な診断と適切な防除を実施するための基礎情報を得ることである。

材料および方法

サンプル採集

サンプル採集は北海道立総合研究機構の栢森美如氏によって行われた。2014 年、2015 年、2017 年、2019 年に北海道内の 4 か所で発生したテンサイ褐斑病の病斑上から *Cercospora* 属菌が 43 菌株分離された。それらの分離菌株は三重大学大学院生物資源学研究所植物医科学研究室へ提供された。

菌の培養

提供された全菌株の培養を、再度、行った。具体的には、火炎滅菌した柄付き針を使用して菌叢を培地ごと切り取り、PDA 培地に移植し、室温で培養した。得られた菌株は、三重大学大学院生物資源学研究所植物医科学研究室標本庫の保存庫に MUCC3417-3459 として保存された (表 1)。これらを以後の研究に用いた。

DNA 抽出

提供された全菌株に対して DNeasy UltraClean Microbial Kit (QIAGEN N.V., Venlo, Netherlands) を用いて、説明書に従い全ゲノム DNA 抽出を行った。まず、クリーンベンチ内で分離菌株の PDA 上の菌叢の菌糸を滅菌した爪楊枝でかき取り、PowerBeads Tube 内ですりつぶした。PowerBeads Tube に PowerBeads Solution を 300 μ l、続けて SL Solution を 50 μ l 入れ、10 分間ボルテックスを行った後、10,000 \times g で 30 秒間遠心分離を行った。上澄み 200 μ l を、新しい 2 ml チューブに移し、PowerBeads Tube を再び 10,000 \times g で 30 秒間遠心分離し、前述の上澄みと合わせて 300 μ l~350 μ l 得た。上澄みの入ったチューブに SolutionIRS を 100 μ l 加え、5 秒間ボルテックスを行い、10 分以上氷上で静置した。その後、10,000 \times g で 60 秒間遠心分離を行い、上澄み 400 μ l を新しい 2 ml チューブに移した。上澄みの入ったチューブに Solution SB を 900 μ l 加え、ボルテックスを 5 秒間行い混和した。これをフィルター付きチューブ (MB Spin Columns) に移し、10,000 \times g で 30 秒間遠心分離を行い、チューブの底部に溜まった濾液は廃棄した。このフィルター付きチューブにて濾過する作業は 2 回繰り返し、全量を濾過した。使用したフィルター付きチューブに SolutionCB を 300 μ l 加え、10,000 \times g で 30 秒遠心分離を行い濾液は廃棄した。続けて 10,000 \times g で 60 秒間遠心分離を行い、フィルターを新しい 2 ml チューブにセットし、フィルター上に SolutionEB を 50 μ l 滴下した。最後に 10,000 \times g で 30 秒間遠心分離し、フィルターを外してチューブ内に残った濾液を全 DNA 抽出液とし、使用する際まで -20°C で冷凍保存した。また、冷凍保存した DNA 抽出液を使用する際は、常温下で溶解し、十分にピペッティングしてから用いた。

PCR、電気泳動、DNA シーケンス解析

得られた DNA 抽出物から、ITS、EF1- α 、ACT、CAL、HIS の各領域を PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) によって増幅した。

ITS 領域の増幅に使用した試薬とプロトコルを次に示す。プライマーは V9G (5'-TTACGTCCCTGCCCTTTGTA-3') (Hoog and Ende, 1998) と ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990) を使用した。反応溶液は 1-10 ng DNA、2.52 mM MgCl₂、1×PCR Buffer、0.04 mM dNTP、0.16 μ M F 側プライマー (V9G)、0.16 μ M R 側プライマー (ITS4)、0.02 unit/ μ l BIOTAQ (Bioline, UK) で調製した。調製した反応溶液はサーマルサイクラー (T100, Bio-Rad, USA) で 94°C で 5 分間の初期熱変性を行ったのち、94°C で 45 秒間の熱変性、48°C で 30 秒間のアニーリング、72°C で 90 秒間の伸長反応を 40 サイクル行い、最後に 72°C で 10 分間最終伸長反応を行った。

TEF1- α 領域の増幅に使用した試薬とプロトコルを次に示す。プライマーは EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') と EF1-986R (5'-TACTTGAAGGAACCCTTACC-3') (Carbone and Kohn, 1999) を使用した。反応溶液は 1-10 ng DNA、5.6% DMSO、2 mM MgCl₂、1×PCR Buffer、0.04 mM dNTP、0.2 μ M F 側プライマー (EF1-728F)、0.2 μ M R 側プライマー (EF1-986R)、0.04 unit/ μ l BIOTAQ で調製した。調製した反応溶液はサーマルサイクラーで 94°C で 5 分間の初期熱変性を行ったのち、94°C で 30 秒間の熱変性、52°C で 30 秒間のアニーリング、72°C で 45 秒間の伸長反応を 40 サイクル行ったのち、最後に 72°C で 2 分間の最終伸長反応を行った。

ACT 領域の増幅に使用した試薬とプロトコルを次に示す。プライマーは ACT-512F (5'-ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC-3') と ACT-783R (5'-TACGAGTCCTTCTGGCCCAT-3') (Carbone and Kohn, 1999) を使用した。反応溶液は 1-10 ng DNA、2 mM MgCl₂、1×PCR Buffer、0.02 mM dNTP、0.2 μ M F 側プライマー (ACT-512F)、0.2 μ M R 側プライマー (ACT-783R)、0.02 unit/ μ l BIOTAQ で調製した。調製した反応溶液はサーマルサイクラーで 94°C で 5 分間の初期熱変性を行ったのち、94°C で 45 秒間の熱変性、48°C で 30 秒間のアニーリング、72°C で 90 秒間の伸長反応を 40 サイクル行ったのち、最後に 72°C で 10 分間の最終伸長反応を行った。

CAL 領域の増幅に使用した試薬とプロトコルを次に示す。プライマーは CAL228F (5'-GAGTTCAAGGAGGCCTTCTCCC-3') (Carbone and Kohn, 1999) と CAL2Rd (5'-TGRTCNGCCTCDCGGATCATCTC-3') (Groenewald et al., 2012) を使用した。反応溶液は 1-10 ng DNA、1.5 mM MgCl₂、1×PCR Buffer、0.02 mM dNTP、0.2 μ M F 側プライマー (CAL228F)、0.2 μ M R 側プライマー (CAL2Rd)、0.08 unit/ μ l BIOTAQ で調製した。調製した反応溶液はサーマルサイクラーで 95°C で 10 分間の初期熱変性を行ったのち、95°C で 30 秒間の熱変性、52°C で 45 秒間のアニーリング、72°C で 45 秒間の伸長反応を 35 サイクル行ったのち、最後に 72°C で 5 分間の最終伸長反応を行った。

HIS 領域の増幅に使用した試薬とプロトコルを次に示す。プライマーは CYLH3F (5'-AGGTCCACTGGTGGCAAG-3') と CYLH3R (5'-AGCTGGATGTCCTTGGACTG-3') (Crous et al., 2004) を使用した。反応溶液は 1-10 ng DNA、2.6 mM MgCl₂、1×PCR Buffer、0.02 mM dNTP、10 μM F 側プライマー (CYLH3F)、10 μM R 側プライマー (CYLH3R)、0.02 unit/ μl BIOTAQ で調製した。調製した反応溶液はサーマルサイクラーで 94°Cで 5 分間の初期熱変性を行ったのち、94°Cで 45 秒間の熱変性、48°Cで 30 秒間のアニーリング、72°Cで 90 秒間の伸長反応を 40 サイクル行ったのち、最後に 72°Cで 10 分間の最終伸長反応を行った。

PCR 終了後、PCR 産物 2 μl に GelRed (Biotium, Inc., USA) 2 μl を加え、1.2%濃度の TAE アガロースゲルを用いて、100 V で 30 分間電気泳動を行った。電気泳動終了後、ゲル撮影装置 (FAS-V, 日本ジェネティクス株式会社, Tokyo, Japan) でゲルに波長 500 nm の可視光を照射し、標的領域の増幅を確認した。得られた PCR 産物は、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, CA, USA) を用いてシーケンス反応を行い、三重大学地域イノベーション機構先端科学研究支援センターのオートシーケンサー (Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer, DNA Sequencing System) により塩基配列データを取得した。取得した塩基配列データは MEGA7.0.26 上で波形データを確認しながらアセンブルされた。

分子系統解析

本研究で得た菌株と先行研究で使用された菌株の 5 領域 (ITS, TEF1- α , ACT, CAL, HIS) の結合配列データを使用して分子系統樹を作成した。先行研究で使用された塩基配列データは NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) から取得した (表 2)。本研究で使用する塩基配列データのアライメントは AliView 1.1 (Larsson, 2014) を用いて行われた。分子系統樹は RAxML (Kozlov et al., 2019) で、最尤 (ML) 法を使用して作成された。進化モデルは Modeltest-NG (Darriba et al., 2020) より求められた AIC (Akaike, 1974) を基に決定した。500 回のブートストラップ値によって枝の信頼性を評価した。FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) にて系統樹を描画した。上記の方法で以下の系統樹を作成した。

分子系統樹 I : 提供された 43 菌株の中から下記のバックボーン系統樹および分子系統樹 II の作成に使用する菌株を選抜するために作成された。提供された 43 菌株中 41 菌株 (表 1) の塩基配列データを使用した。また、アウトグループとして *Cercospora convolvulicola* (菌株番号: CCTU 1083) の塩基配列データを使用した。この系統樹を基に提供された菌株の中から、すべての系統を含むよう、10 菌株が選抜された (表 1)。

バックボーン系統樹: 分子系統樹 I で選抜した 10 菌株、および接種試験で生じた病斑から分離された菌株が *Cercospora* 属菌のどの種なのかを大まかに推定するために作成された。選抜 10 菌株、接種試験で生じた病斑から分離された菌株、先行研究で使用された菌

株の塩基配列データを使用した（表2）。先行研究で使用された塩基配列データとして、Chen et al., (2022) で使用された *Cercospora* 属菌の種の包括的データセット 8 領域のうち上記の 5 領域、Bakhshi and Zare, (2020) でテンサイの病斑上から分離された種（*C. gamsiana*）の塩基配列データ、Vaghefi et al., (2018) でテンサイ、フダンソウ、テーブルビートの病斑上から分離された種（*C. apii*, *C. cf. flagellaris*, *Cercospora* sp. G, *C. zebrina*）の塩基配列データ、Vaghefi et al., (2021) でフダンソウおよびテーブルビートの病斑上から分離された種（*C. beticola*, *C. americana*, *C. tecta*）の塩基配列データを使用した。アウトグループとして *Septoria provencialis*（菌株番号：CPC 12226）を使用した。得られた系統樹上で本研究で得られた菌株の位置を確認した。

分子系統樹Ⅱ：本研究で得られた菌株、バックボーン系統樹上でそれらと近縁だった種に限定して再度アライメントおよび系統樹作成を行った。この系統樹は本研究で得られた菌株を同定するために作成された。アウトグループとして *Cercospora apicola*（菌株番号：CPC 10267）を使用した。

接種試験

接種試験は三重大学上浜キャンパス内にある三重大学植物医科学ガラス室で行われた。分子系統樹Ⅰにより見いだされた各系統の代表株（系統1：MUCC3417，系統2：MUCC3434，系統3：MUCC3418）を培養し、テンサイおよびフダンソウ（播種後11週）に接種した。

分生子懸濁液の作成は以下の手順で行った。まず、PDA培地で培養した代表株の菌叢表面を火炎滅菌した白金耳で削り取り、15 mlの遠沈管に5 mlの滅菌水と共に入れた。遠沈管を10回振った後、菌糸懸濁液をCMA培地（寒天濃度3%）に200 μ l垂らし、イノキュレーションプレッターで塗り広げた。その後、培地をクリーンベンチで1時間風乾し、室温散光下で培養した。10日後、培地表面に1 mlの滅菌水を垂らし、筆で培地表面をなで、分生子懸濁液を作成した。カウンティングチャウバーで分生子懸濁液の濃度を計算し、滅菌水を加えて 1.0×10^4 個/mlの濃度に調整した。濃度調整した分生子懸濁液を噴霧器に移し、接種源とした。

菌叢磨砕液の作成は以下の手順で行った。まず、PDA培地で培養した代表株の菌叢表面を火炎滅菌した白金耳で削り取り、乳鉢に滅菌水50 mlと共に入れ、乳棒で磨砕した。ロートにガーゼを被せ、噴霧器にセットし、そこへ菌叢磨砕液および滅菌水200 mlを注ぎ、濾液を接種源とした。

接種試験は以下の手順で行った。まず、噴霧器に入った各系統の胞子懸濁液または菌叢磨砕液を健全なテンサイおよびフダンソウの葉、全体に噴霧した。対照区には滅菌水を使用した。噴霧後、植物体にビニール袋を被せ温室とし、24時間後に外した。その後2~3日おきに観察および水やりを継続した。

試験区は表3のように設定した。分生子懸濁液による接種は各試験区に植物1株、菌叢

磨砕液による接種は各試験区に植物 4 株を使用した。対照区にテンサイおよびフダンソウをそれぞれ 5 株ずつ使用した。

再分離

接種試験で生じた病斑にマイクロピペットで滅菌水 100 μ l を垂らし、ピペッティングを行った後、スライドガラス上に乗せて生物顕微鏡で分生子の有無を確認した。分生子が確認できた場合、その分生子を含んだ滅菌水を PDA 培地上に火炎滅菌した白金耳で塗り付け、*Cercospora* 属菌のコロニーが観察できるまで室温で培養した。*Cercospora* 属菌のコロニーが観察できた場合、上記の方法で分離培養および塩基配列データの取得を行った。取得した塩基配列データと接種菌株の塩基配列データの比較を行い、再分離できたか否かを確認した。また、上記のバックボーン系統樹および分子系統樹 II の作成に取得した塩基配列データを用いた。さらに、分子系統樹 II の作成に三重大学上浜キャンパス内の圃場で栽培されていたアサ (*Cannabis sativa*) から 2023 年に小西 (植物医科学研究室) によって分離された *Cercospora* 属菌の菌株 (MUCC3696) の塩基配列データも使用した。

形態観察

分子系統樹 I により見いだされた各系統の代表株 (系統 1 : MUCC3417, 系統 2 : MUCC3434, 系統 3 : MUCC3418) を用いて葉上での形態観察を行った。健全なフダンソウの葉を摘み取り、メスで 3 cm \times 3 cm 程度の大きさに切り分け、流水で 12 時間洗浄した。上記以外に、健全なフダンソウの葉を摘み取り、3 cm \times 3 cm 程度の大きさに切り分け、沸騰した蒸留水に 10 秒浸す方法も行った。処理した葉片をキムタオルにのせて 1 時間風乾させた。ガラスシャーレの底に滅菌水で湿らせたろ紙をのせ、その上に V 字のガラス管、さらに乾燥させたフダンソウの葉片をのせた。PDA 培地に 7 日間室温で培養した各系統の代表株の菌叢に滅菌水を 2 ml 垂らし、表面を筆でなでた後、乾燥させたフダンソウの葉片の表面を同じ筆でなでた。その後、ガラスシャーレでふたをし、病斑が観察できるまで 25 $^{\circ}$ C 暗黒条件で培養を行った。湿度を保つため、2~3 日おきに滅菌水 500 μ l をろ紙に垂らした。2~3 日おきに葉片の表面を実態顕微鏡で観察し、分生子を形成しているか否かを確認した。分生子を形成している可能性がある場合、デジタルカメラを搭載した実体顕微鏡を用いて観察および写真撮影を行った。また、実体顕微鏡を覗きながら火炎滅菌した柄付き針を用いて分生子形成している場所をくり抜き、プレパラートを作成して、デジタルカメラを搭載した生物顕微鏡で観察および写真撮影を行った。

走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて、葉片上の分生子形成部位の観察および写真撮影を行った。以下に走査型電子顕微鏡試料作製の手順を示す。実体顕微鏡で確認された葉片上の分生子形成部位をメスで 5 mm \times 5 mm 程度の大きさに切り分け、酸化オスミウム (VIII) (4%水溶液) で固定し、0.2 M リン酸 buf. (pH7.4) で 15 分洗浄した。洗浄した試料を 50, 70, 80, 90, 95, 99.5, 100% エタノールで脱水した (50, 70, 80, 90%は各 15 分 \times 2 回、

95, 99.5, 100%は各 15 分×1 回)。脱水した試料を専用のアルミカップへ移し、試料が浸る程度に 100% t-ブタノールを注ぎ、アルミカップを凍結乾燥装置の試料ステージに乗せた。試料ステージを冷却し、t-ブタノールを完全に凍結させた。凍結後、真空排気を行い、t-ブタノールを完全に昇華させた。その後、試料ステージを温め、試料が常温に戻ってから取り出した。乾燥したサンプルをピンセットで傷つけないようつまみ、試料台の上にカーボンテープを用いて乗せた。その後、イオンスパッタを用いて導電処理を行った。以上が試料作製方法の手順である。

結果

分子系統解析

本研究で得られた各系統樹の概要を以下に示す。

分子系統樹 I : 42 OTU、ITS=446 塩基(bp)、TEF=280 塩基、ACT=208 塩基、CAL=254 塩基、HIS=356 塩基からなる計 1544 サイト(ギャップを含む)を、ModeltestNG で AIC より提示された各モデル(ITS: JC, TEF: HKY, ACT: TPM1+G4, CAL: TPM2uf, HIS: HKY.)を各遺伝子座に適用した、RAxML 解析を行い、BS 解析で得られた各クレードの支持は 50%以上を図に示した(図 2)。

バックボーン系統樹 : 186 OTU、ITS=482 塩基(bp)、TEF=356 塩基、ACT=213 塩基、CAL=263 塩基、HIS=363 塩基からなる計 1677 サイト(ギャップを含む)を、ModeltestNG で AIC より提示された各モデル(ITS: TIM1+G4, TEF: TPM2uf+G4, ACT: TPM2uf+G4, CAL: TIM3+I+G4, HIS: TrN+I+G4.)を各遺伝子座に適用した、RAxML 解析を行い、BS 解析で得られた各クレードの支持は 50%以上を図に示した(図 3)。

分子系統樹 II : 84 OTU、ITS=474 塩基(bp)、TEF=298 塩基、ACT=197 塩基、CAL=252 塩基、HIS=360 塩基からなる計 1581 サイト(ギャップを含む)を、ModeltestNG で AIC より提示された各モデル(ITS: TIM1ef, TEF: HKY+G4, ACT: TPM3uf+G4, CAL: TIM1+G4, HIS: TrN+I+G4.)を各遺伝子座に適用した、RAxML 解析を行い、BS 解析で得られた各クレードの支持は 50%以上を図に示した(図 4)。

分子系統樹 I を作成した結果、提供された菌株は 3 つの系統に分かれた(図 2)。そこで、それぞれの系統の種を同定するために、バックボーン系統樹および分子系統樹 II を作成した。系統 1 は *C. beticola* および *C. gamsiana* とクレードを形成した(図 4)。ただ、Bakhshi and Zare, (2020) の分子系統樹では、本系統樹に用いられた *C. beticola* (CBS 116456) と *C. gamsiana* (CPC 24909) はそれぞれ明らかに異なるクレードを形成していた。また、Bakhshi et al., (2018) に記載された *C. gamsiana* と形態的特徴が異なることから(表 6, 図 6)、系統 1 は *C. beticola* と推定された。系統 2 および系統 3 は *C. beticola* とは明らかに異なるクレードを形成し、別種であると推定された(図 4)。系統 2 は近縁種である *C. apii*, *C. plantaginis*, *C. uwebraunia* と遺伝的距離が長かったことから(図 4)、*Beta vulgaris* を新宿種とする未知種と推定された。系統 3 は *C. cf. resedae* と明瞭に支持されたクレードを形成したため(図 4)、*C. cf. resedae* と推定された。

接種試験

分子系統樹 I により見いだされた各系統の代表株(系統 1 : MUCC3417, 系統 2 : MUCC3434, 系統 3 : MUCC3418) をテンサイおよびフダンソウに接種した。接種 45 日後には、テンサイに系統 3 の孢子懸濁液を接種した試験区を除く、すべての接種区で病斑が形成された(図 5, 表 4)。また、対照区においてもテンサイおよびフダンソウで、病

斑が形成された（表4）。

再分離

接種試験で生じた病斑から *Cercospora* 属菌が 17 株分離された（表5）。対照区からは *Cercospora* 属菌が分離されなかった。接種菌株と分離菌株の塩基配列データを比較した結果、系統1（MUCC3417）をフダンソウに接種した試験区から分離された菌株（R29）と接種菌株の塩基配列データが一致したため、系統1は再分離できたと判断した。一方、系統2および系統3は分離菌と異なる塩基配列データを有していることから再分離できなかったと判断した。

分子系統樹IIより、再分離の過程で病斑より分離された17菌株のうち3菌株は *C. beticola*、14菌株は今回接種した種とは異なる *C. cf. flagellaris* と示唆された（図4）。また、接種試験を行った温室と同じく三重大学構内で栽培されていたアサに形成された病斑から分離された *Cercospora* 属菌（MUCC3696）は *C. cf. flagellaris* と示唆された（図4）。また、接種試験において *C. beticola*（系統1）を接種していないテンサイから同菌が2菌株（R61, R69）分離された（表5, 図4）。

形態観察

分子系統樹Iにより見いだされた各系統の代表株（系統1：MUCC3417, 系統2：MUCC3434, 系統3：MUCC3418）を用いて葉上での形態観察を行った（表6, 図6）。各系統の形態的特徴を以下に示す。

系統1：子座は有り、褐色、小型、直径20–33 μm。分生子柄は疎生もしくは束生、真直または緩やかに湾曲、淡オリーブ色（基部）から無色（先端）、1–5 隔壁、長さ21–157 μm、幅3–5 μm、分生子形成細胞の伸長様式はシンポジオ型、屈曲、分生子離脱痕は明瞭で肥厚、先端に形成される。分生子は無色、針状、0–16 隔壁、長さ60–148 μm、幅2–4 μm、基部は截切形、先端はやや鋭尖。

系統2：子座は有り、褐色から濃褐色、小型ないし発達し、直径20–50 μm。分生子柄は束生、真直または希に湾曲、淡オリーブ色（基部）から無色（先端）、1–7 隔壁、長さ25–159 μm、幅3–5 μm、分生子形成細胞の伸長様式はシンポジオ型、屈曲するが垂直方向に伸長し、分生子離脱痕は明瞭、肥厚する。分生子は無色、針状、0–14 隔壁、長さ65–188 μm、幅2–5 μm、基部は截切形、先端はやや鋭尖。

系統3：子座は有り、褐色、直径20–43 μm。分生子柄は束生、真直または希に湾曲、淡オリーブ色（基部）から無色（先端）、1–3 隔壁、長さ27–86 μm、幅3–5 μm、伸長様式はシンポジオ型、屈曲するが垂直方向に伸長し、分生子離脱痕は明瞭、肥厚する。分生子は無色、針状、0–15 隔壁、長さ50–168 μm、幅2–5 μm、基部は截切形、先端はやや鋭尖。

上記より本研究で得られた各系統の植物基質上での形態は特徴が類似していることが明

らかになった。また、本研究で得られた各系統と Groenewald et al., (2005)で記載された *C. beticola* の形態比較を行った (表 6)。上記の先行研究で記載された *C. beticola* の形態的特徴を以下に示す。

Cercospora beticola Sacc.; emend. Groenewald et al., *Phytopathology* 95: 954. 2005.

Caespituli hypophyllous. Mycelium internal. Stromata lacking to well-developed, up to 60 μm diam, intraepidermal or substomatal, brown to dark brown. Conidiophores solitary to 2–18 in loose fascicles, slightly divergent, brown, paler towards apex, moderately thick-walled, cylindrical, almost uniform in width, simple, geniculate, 16–200(–450) \times 4–6 μm , 1–6-septate, truncate at the apex, sometimes constricted at septa. Conidiogenous cells terminal or intercalary, proliferating sympodially, with 1–2 loci; loci distinctly thickened, not protuberant, apical or formed on shoulder of conidiogenous cells caused by geniculation and lateral, 2.5–3(–4) μm . Conidia solitary, filiform to acicular, straight to mildly curved, rarely cylindro-obclavate, truncate at the base, acute to subacute at the tip, 27–250 \times 2–5 μm , 3–28-septate.

上記より、本研究で得られた各系統と Groenewald et al., (2005)で記載された *C. beticola* は形態的特徴が類似していることが明らかになった。

考察

近年、海外で *C. beticola* 以外の *Cercospora* 属菌がテンサイ褐斑病およびテンサイ (*Beta vulgaris*) と同種で亜種レベルで異なるフダンソウおよびテーブルビートの褐斑病に関与する可能性があることが報告されているが、日本では同菌以外の *Cercospora* 属菌が *Beta vulgaris* の病斑上から分離されたという報告はない。しかし、日本においても、近年の気候変動でテンサイ褐斑病のまん延期間が延長しているように (道総研, 2023)、病原菌を取り巻く栽培環境が変化している。そのため、本病害に関与する *Cercospora* 属菌も多様となる可能性がある。また、病原菌の検出技術の進化や、分子系統解析により見落とされていた隠蔽種が見いだされることや、分子系統関係に基づいた分類基準の変更により、同種とされていた菌が別種であることが新たに判明する可能性がある。これらの理由から、日本のテンサイ産地である北海道で発生しているテンサイ褐斑病も海外の報告と同様に複数種の *Cercospora* 属菌が関与することが考えられた。本研究を通じ、複数種の *Cercospora* 属菌が日本国内で発生したテンサイ褐斑病に関与することが明らかになった。

北海道のテンサイ褐斑病病斑から分離された *Cercospora* 属菌の分子系統解析を行った結果、3 系統の *Cercospora* 属菌が分離された。この結果から、日本で発生しているテンサイ褐斑病は海外の報告と同じく、複数種の *Cercospora* 属菌が関与していることが示唆された。これまで、日本国内で *C. beticola* 以外の種がテンサイの病斑上から分離されたという報告はなかった。本研究で得た 3 系統のうち最も多く分離された系統 1 は日本でこれまでテンサイ褐斑病の病原菌として報告されている *C. beticola* と推定された。また、系統 2 は *Beta vulgaris* が新宿種となる未知の別種、系統 3 は *C. cf. resedae* と推定された。これまで *C. cf. resedae* がテンサイ、テーブルビート、フダンソウの病斑上から分離されたという報告はない。また、*C. cf. resedae* が日本国内で分離されたという報告はない。ただし、*C. cf. resedae* はハンニチバナ科およびモクセイソウ科の植物から分離されていることが報告されているように多犯性であるため (Groenewald et al., 2013)、テンサイに褐斑を生じる病害にも関与する可能性がある。

病原菌の分布の把握は防除戦略を立てる上で重要な基礎情報の 1 つである。本研究で得られた *Cercospora* 属菌の分離頻度は系統 1 と他 2 系統 (系統 2 および系統 3) とで大きく異なる。系統 1 (*C. beticola*) は供試した 43 菌株中 35 菌株と最も多く、採集が実施されたすべての年および場所で得られている。また、十勝では 2014 年、2015 年、2019 年に本系統、即ち *C. beticola* が採集されており、発生地にて越冬するライフサイクルを持っていることが示唆される。これらのことから、*C. beticola* は北海道内で広く分布しており、毎年発生しているテンサイ褐斑病菌の大部分を占め、これまで北海道産のテンサイの病斑上から *C. beticola* が分離されたとする報告が多い (勝本, 2010) ことと一致する。一方、系統 2 (*B. vulgaris* を新宿主とする未知種) はサンプル採集された 43 菌株中 4 菌株と少数であった。本系統は 2015 年に十勝で 1 菌株、東オホーツク地域で 1 菌株採集されており、2017 年に上川で 2 菌株採集されている。系統 3 (*C. cf. resedae*) も 43 菌株中 2 菌株と少

数であった。本系統は 2014 年に十勝、2017 年に上川で採集された。これらのことから、系統 2 および系統 3 は少数ながらも複数の産地で分布していることが判った。また、異なる年で採集されたことから、テンサイの葉上で生息するライフサイクルを持った種、もしくは他の宿主を利用できる多犯性種だと考えられる。本研究の結果からは、系統 2 および系統 3 は分離頻度が低く、テンサイ栽培上の脅威としては系統 1 に及ばないものの、複数の地域に分布していることや、テンサイの葉上で宿主特異的にもしくは多犯性のライフサイクルを持っていることが考えられ、本病害の防除戦略を立てる上で無視できない。そのため、今後、系統 1 に加えて、北海道内のテンサイ産地での系統 2 および系統 3 の分布の調査を継続して行う必要がある。

病原性の有無の確認は防除戦略を立てる上で最も重要な基礎情報の 1 つと言える。そこで、本研究では分子系統樹 I で見いだされた各系統の病原性の有無を確認するために接種試験を行った。各系統の代表株による接種試験を行った結果、すべての系統で病徴が発現したが、接種菌が再分離され、病原性が確認できたのは系統 1 (*C. beticola*) のみであった。系統 2 および系統 3 は再分離できなかったため、病原性が確認されなかった。Vaghefi et al., (2018) では、米国産のフダンソウから分離された *C. apii*、米国産のテーブルビートから分離された *C. cf. flagellaris*、*Cercospora* sp. G、および *C. zebrina* をテーブルビートに接種した結果、*C. apii* および *C. cf. flagellaris* は病原性があり、*Cercospora* sp. G および *C. zebrina* は病原性がないことを報告している。これらのことから、*Beta vulgaris* の褐斑病において、病斑上に生息する *Cercospora* 属菌が本病害の病原菌とは限らないことが示されている。イラン産のテンサイの病斑上から *C. gamsiana* が分離されること (Bakhshi and Zare, 2020)、米国産のテーブルビートおよびフダンソウの病斑上から *C. americana* および *C. tecta* が分離されること (Vaghefi et al., 2021) が報告されている。しかしながら、これらの種を *Beta vulgaris* に接種して病原性の有無を調査したという報告はない。これらの多様な *Cercospora* 属菌が病害に関与していることは明らかであることから、今後、正確な診断と適切な防除を実施するために、これらの種を *Beta vulgaris* に接種して病原性の有無、被害の軽重、発生消長、伝搬方法を調査する必要がある。

病原菌の伝播方法は病害の予防および防除戦略を立てる上で最も重要な基礎情報の 1 つであり、テンサイ褐斑病菌である *C. beticola* においても調査されている。本病害は、罹病葉の残渣で越冬した偽子座 (Pseudostromata) で形成された分生子が雨や風によって飛来し、葉および葉柄に付着することで感染が拡大することが知られている (Rangel et al., 2020)。また、*C. beticola* が感染したテンサイの種子から本病害が発生し、種子伝染することが報告されている (Spanner et al., 2022)。本実験では、褐斑病の感受性品種のテンサイ品種「ゆきまる」(佐藤ほか, 2011) を接種に用いたが、*C. beticola* を接種していないテンサイから同菌が分離されたことから種子伝染が示唆される。「ゆきまる」はドイツの KWS 種子株式会社で育成された輸入品種で (斎藤ほか, 2010)、先行研究では *C. beticola* の大陸間移動が間接的に証明されたため (Vaghefi et al., 2017; Knight et al., 2019)、種子

伝染によって欧州由来の同菌が北海道へ渡ってきている可能性がある。本病害の防除のために、日本産 *C. beticola* と海外産同菌の比較を行い、遺伝的関係を調査する必要がある。

接種試験で生じた病斑からは *C. beticola* とともに接種に用いていない *Cercospora cf. flagellaris* が分離された。*C. cf. flagellaris* は多犯性であり (Doyle et al., 2019)、アカザ科、アジサイ科、イネ科、キキョウ科、キク科、ヒユ科、ミカン科、ミズアオイ科、ヤナギ科、ヤマゴボウ科植物に対して病原性を有している (Groenewald et al., 2013)。また、テーブルビートに病原性があることが海外で報告されている (Vaghefi et al., 2018)。さらに、接種試験を行った温室と同じ三重大学構内で栽培されていたアサ (アサ科) から分離された *Cercospora* 属菌 (MUCC3696) が接種試験で生じた病斑から得られた菌株 (R21, R30) と同じクレードを形成したため (図4)、同種であることが明らかになった。なお、本構内でのアサの栽培は 2023 年から開始されており、栽培履歴が短いことから、本属菌がアサから持ち込まれたことは考え難い。これらのことから、三重大学上浜キャンパスにはアサの栽培前から多犯性の *C. cf. flagellaris* が生息しており、本実験においても、野外の他の宿主から感染、発病したと考えられる。*C. cf. flagellaris* が日本産のテンサイの病斑上から分離されたことは報告されていないが、日本国内でも、愛媛県産のキバナコスモス (キク科)、和歌山県産および東京都産のヤマアジサイ (アジサイ科) から *C. cf. flagellaris* が分離されているため (Groenewald et al., 2013)、北海道でもテンサイに褐斑を生じる病原菌として分布している可能性がある。また、本研究の接種試験で *C. cf. flagellaris* の分離頻度が接種した種と比較して高かったことから、同菌は北海道のテンサイ栽培において新たな脅威に成り得る。そのため、北海道内のテンサイおよび他宿主における *C. cf. flagellaris* の分布および発生病害の調査を行う必要がある。

本研究の接種試験は三重大学上浜キャンパス内にある三重大学植物医科学ガラス室で行われた。ガラス室は雨をしのげるが、密閉されておらず野外環境に近い。一方、先行研究では人工的に気温、湿度が調節できる密閉された施設内で接種試験が行われている (Vaghefi et al., 2018; Knight et al., 2019)。そのため、本研究と先行研究では接種試験を行う環境が異なる。両者には接種試験を行う上で、それぞれ長所と短所がある。本研究の接種試験では、系統2および系統3を接種した試験区で病斑が形成されたが、接種菌が再分離できなかったことや、無接種の対照区であるのにも関わらず病斑が形成されるなど予想外の結果が得られた。接種試験で生じた病斑から接種菌とは異なる *C. cf. flagellaris* が分離されたが、野外の他の宿主に生息していた同菌の分生子が飛来し、感染、発病したことが考えられる。一方、一部の無接種の対照区とした植物であるのにも関わらず病斑が形成されたため、接種区と無接種区の接種試験で生じた病斑に滅菌水を垂らし、ピペッティングを行った後、スライドガラス上にのせて生物顕微鏡で *Cercospora* 属菌の分生子の有無を確認した。結果、接種区で生じた病斑では分生子が観察されたが、対照区で生じた病斑では分生子が観察されないものがあった。これは *Cercospora* 属菌が産生する毒素であるサーコスポリン (Daub and Ehrenschaft, 2000) が分生子懸濁液および菌叢磨砕液に含まれ、供

試した植物の葉が毒素によって細胞が破壊され病原性のある *C. cf. flagellaris* が感染できたが、対照区では、何らかの病原の毒素により過敏感反応が正常に働いたことで、斑点が生じたが、病原菌は侵入・感染できなかつたと考えられる。本研究の接種試験では野外から飛来した *C. cf. flagellaris* の影響を大きく受けた。そのため、野外環境に近い条件で行う接種試験の短所が強調される結果となった。今回の接種試験の結果からは系統 1 と比較して、系統 2 および系統 3 の感染の機会は少ないとは言えるものの、病原性の有無、侵害力の強弱は議論できない。そのため、今後は、野外からの菌の影響を受けない施設で接種試験を行い、系統 2 および系統 3 の病原性の有無を確認する必要がある。

形態的特徴は病原菌の分類およびライフサイクルの理解する上で重要な要素の一つであり、これらの蓄積が正確な診断および適切な防除に繋がる。本研究では分子系統樹 II により見いだされた各系統の形態的特徴を調査するために、形態観察を行った。子座、分生子柄、分生子の形態観察を行ったところ、各系統は形態的特徴が類似していることが明らかになった。また、各系統と Groenewald et al., (2005) で記載された *C. beticola* は形態的特徴が類似していることも明らかになった。*Cercospora* 属菌の種の形態は類似しており、互いに区別するのは難しい (Crous and Braun, 2003) ことが知られている。そのため、形態的特徴の違いから各系統を分けることは困難であり、本病害の適切な診断を行うためには、分子系統解析に基づく同定を行う必要がある。ただ、北海道内で発生しているテンサイ褐斑病の薬剤耐性菌の調査では、病原菌が *C. beticola* であることを前提に実施されており、分子系統解析に基づく病原菌の同定は行われておらず (柏森ら, 2021)、*C. beticola* 以外の種も同菌とみなして薬剤耐性菌の議論が展開されている可能性が高い。そのため、今後、分子系統解析に基づく病原菌の同定を行った上で、種ごとに薬剤耐性菌の有無および分布の調査を実施することが求められる。

Cercospora 属菌の形態観察では、病斑が生じた葉を採集し、病斑部の切片を作成して検鏡することが一般的である。ただ、本研究では、系統 2 および系統 3 は病原性を確認できなかったため、上記の方法で形態観察を行えなかつた。また、病原性が確認できた系統 1 に関しても、同系統を接種した試験区から *C. cf. flagellaris* が分離されたことから、目的以外の菌の形態観察を行う恐れがあるため、上記の方法で形態観察を行えなかつた。ただ、各系統の形態的特徴を調査するためには、葉上で形成された子座、分生子柄、分生子を観察する必要があった。そのため、本研究では各系統の形態的観察を行うために、フダンソウの葉を摘み取り、菌糸を塗り付けて温室培養する方法を検討し実施した。感受性品種のテンサイの種子は種子伝染している可能性が本研究で示唆されたため、形態観察には市販で入手しやすいフダンソウを用いた。今回実施した方法で培養した結果、培養 7 日目以降にすべての系統が葉上で分生子を形成し、形態観察を行うことができた。葉上での *Cercospora* 属菌の分生子形成を誘導するために、今回と同様の方法を試した研究は見つからなかつた。そのため、本研究は *Cercospora* 属菌の形態観察を行う新たな方法を提供したと考えられる。今回実施した方法は、宿主植物の葉と菌株が入手できれば、野外採集でき

ない状況でも *Cercospora* 属菌の形態観察を行うことが可能である。本研究では、接種試験で病原性を確認できなかった系統 2 および系統 3 の形態観察を行えた。これは、摘み取った葉では、植物側の防衛反応が継続せず、分生子を形成しやすかったことが考えられる。また、フダンソウに関しては、通年栽培が可能のため、季節に関係なく新鮮なサンプルを観察できることが可能であった。一方で、課題も見つかった。最も大きな課題は、目的以外の菌も培養されてしまうことである。本研究では、*Alternaria* 属菌や *Colletotrichum* 属菌を含む複数種の菌が葉上を覆い、*Cercospora* 属菌が埋もれてしまうことが起きた。これは葉内に生息していた菌によって起こると考えられたため、これらの菌の影響を受けないよう、葉を沸騰した蒸留水に 10 秒間浸す方法を実施した。その結果、培養 4 日目を以降にすべての系統が葉上で分生子を形成し、形態観察を行うことができた。そのため、分生子の形成を速めたい場合に有効である。しかし、種数は減ったものの、目的以外の菌が培養され、成長速度が速くなった。さらに、バクテリアによるコンタミが発生しやすいという新たな課題が発生した。そのため、沸騰した蒸留水を用いる方法では、目的以外の菌の影響を回避することはできなかった。今後、目的以外の菌の影響を受けない培養法に改善され、*Cercospora* 属菌の知見の蓄積に役立つことが期待される。

本研究は、日本国内で発生したテンサイ褐斑病に関与する *Cercospora* 属菌の多様性を解明し、正確な診断と適切な防除を実施するための基礎情報を得ることを目的に行われた。病原菌の種数は病害の診断および防除において最も基礎的な情報であり、本研究によって日本でこれまでテンサイ褐斑病の病原菌として報告されている *C. beticola* に加えて、新たに 2 種が本病害に関与することが示唆された。また、本研究にて、国内で本病害に関与すると示唆された 3 種の宿主範囲、分離頻度、病原性の有無、形態的特徴を統合的に用いた結果、新たに関与するとされた 2 種も病原菌として無視できない存在であることが明らかになった。さらに、国内における本病害の種子伝染および *C. cf. flagellaris* の危険性も示唆されたため、今後、これらの基礎情報を踏まえた診断および防除を行う必要がある。

本研究の接種試験では、実験における課題が見いだされたものの、季節的な理由で再試行できず、得られた 3 系統の病原性の有無および重症度の違いを正確に確認できなかった。本病害の防除において、上記の情報は最も重要な要素の一つであるため、得られた課題を踏まえた接種試験が再試行される必要がある。また、薬剤使用は本病害の防除の要であるが、本研究では各系統の薬剤抵抗性の有無および分布の調査は行われなかった。これまで本病害の病原菌として報告された菌株が保管されている場合、系統ごとの薬剤抵抗性の有無および分布の変遷を遡ることができる。そのため、今後分離される菌株に過去に得られた菌株を加えて、系統ごとの薬剤抵抗性の有無および分布が調査される必要がある。これらに加え、被害の軽重および感染経路の調査等を行うことで、本病害の詳細な基礎情報が蓄積され、防除戦略の確立に寄与できると考えられる。本研究で得られた知見が正確な診断と適切な防除を実施するための基礎情報として利用されることで、日本の砂糖の安定供給に貢献できると考える。

図・表

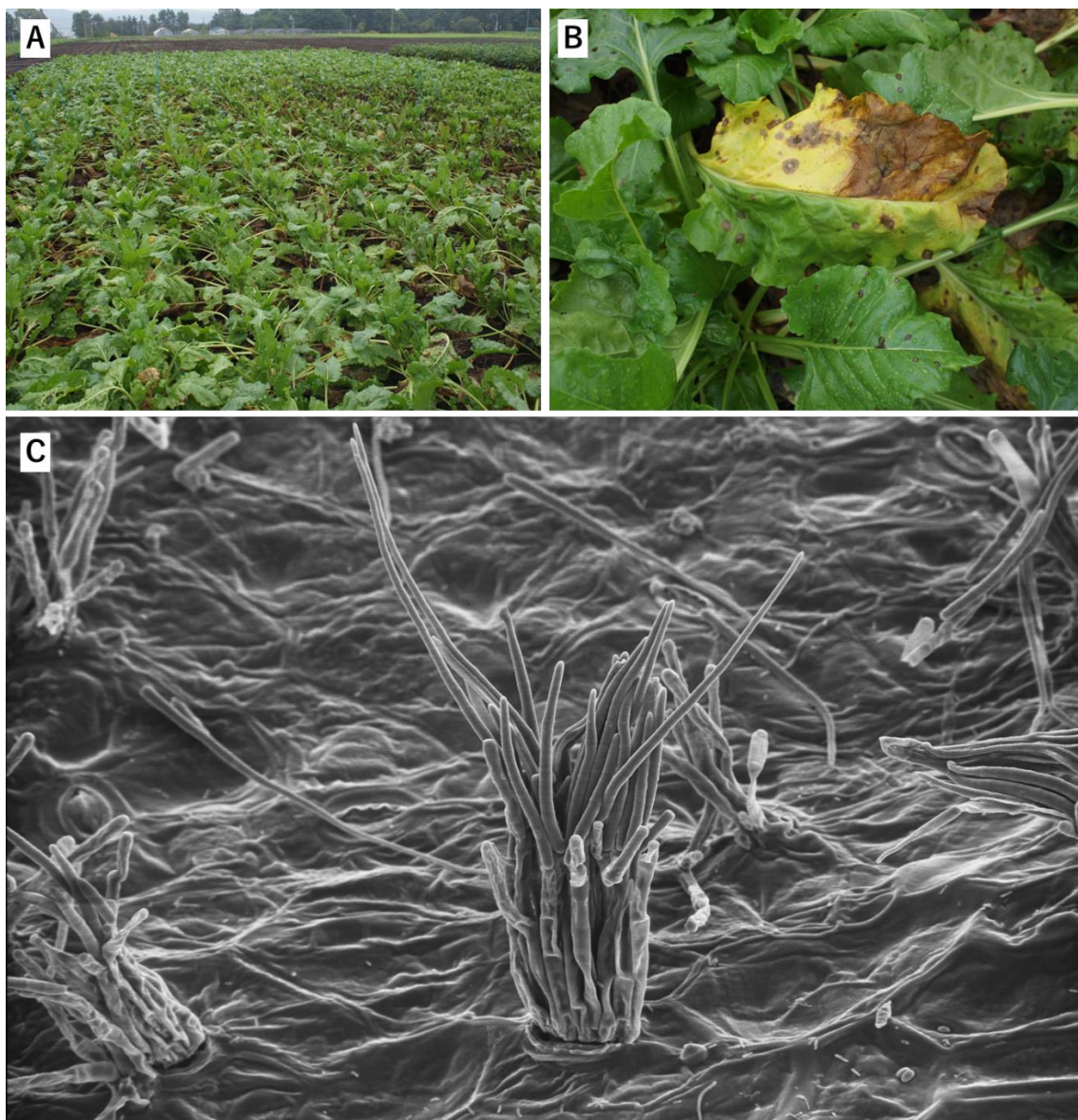


図1. 北海道におけるテンサイ褐斑病および *C. beticola*

A: 北海道におけるテンサイ褐斑病の激発圃場

B: テンサイ褐斑病の病斑

C: テンサイの病斑上で観察された *C. beticola* (走査型電子顕微鏡像)

表1. 提供された菌株

菌株番号	採集年	採集場所	系統 ^{※1}	選抜された菌株 ^{※2}	接種試験に用いた菌株
MUCC3417	2014	十勝	1	○	○
MUCC3418	2014	十勝	3	○	○
MUCC3419	2014	十勝	1	○	—
MUCC3420	2015	上川	1	○	—
MUCC3421	2015	西オホーツク地域	1	○	—
MUCC3422	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3423	2015	西オホーツク地域	1	—	—
MUCC3424	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3425	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3426	2015	十勝	1	—	—
MUCC3427	2015	十勝	1	—	—
MUCC3428	2015	十勝	2	○	—
MUCC3429	2017	上川	1	—	—
MUCC3430	2019	十勝	—	—	—
MUCC3431	2019	十勝	1	—	—
MUCC3432	2019	十勝	1	—	—
MUCC3433	2017	上川	3	○	—
MUCC3434	2017	上川	2	○	○
MUCC3435	2017	上川	2	○	—
MUCC3436	2017	上川	1	—	—
MUCC3437	2017	上川	1	—	—
MUCC3438	2017	上川	1	—	—
MUCC3439	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3440	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3441	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3442	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3443	2015	東オホーツク地域	1	—	—

※1：分子系統樹 I より見いだされた系統。—の付いた菌株はPCRで増幅が確認できない遺伝子領域があったため、分子系統樹 I の作成には用られなかった。

※2：○の付いた菌株はバックボーン系統樹および分子系統樹 II の作成に用いられた。

表1. 提供された菌株

菌株番号	採集年	採集場所	系統 ^{※1}	選抜された菌株 ^{※2}	接種試験に用いた菌株
MUCC3444	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3445	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3446	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3447	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3448	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3449	2015	東オホーツク地域	2	○	—
MUCC3450	2015	東オホーツク地域	—	—	—
MUCC3451	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3452	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3453	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3454	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3455	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3456	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3457	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3458	2015	東オホーツク地域	1	—	—
MUCC3459	2015	東オホーツク地域	1	—	—

※1：分子系統樹 I より見いだされた系統。—の付いた菌株はPCRで増幅が確認できない遺伝子領域があったため、分子系統樹 I の作成には用られなかった。

※2：○の付いた菌株はバックボーン系統樹および分子系統樹 II の作成に用いられた。

表2 本研究で用いた先行研究の菌株

Species	Isolates*	Host name	Country	GenBank accession numbers						References
				ITS	TEF	ACT	CAL	HIS		
<i>C. agavicola</i>	CBS 117292 = CPC 11774 ^T	<i>Agave tequilana</i>	Mexico	AY647237	AY966897	AY966898	AY966899	AY966900	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. alchemillicola</i>	CPC 5259 ^{ET}	<i>Alchemilla mollis</i>	New Zealand	JX143525	JX143279	JX143033	JX142787	JX142541	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. althaeina</i>	CBS 248.67 = CPC 5117 ^{ET}	<i>Althaea rosea</i>	Romania	JX143530	JX143284	JX143038	JX142792	JX142546	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. althaeina</i>	CCTU 1194 = IRAN 2674C	<i>Malva sylvestris</i>	Iran	KJ886397	KJ886236	KJ885914	KJ885753	KJ886075	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. alyssopsidis</i>	IRAN 3739C ^T	<i>Alyssopsis mollis</i>	Iran	MT338042	MT334643	MT334647	MT334651	MT334645	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. alyssopsidis</i>	IRAN 3740C	<i>Alyssopsis mollis</i>	Iran	MT338043	MT334644	MT334648	MT334652	MT334646	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. americana</i>	HI-Ch-040	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MK210521	MK210404	MK210301	MK210334	MK210366	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. americana</i>	HI-Ch-106	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MK210523	MK210406	MK210302	MK210335	MK210368	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. americana</i>	ICMP 21693 ^T ;Tb14-140	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681098	MF681200	MF680894	MF681406	MF680996	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. americana</i>	Tb15-207	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681139	MF681241	MF680935	MF681447	MF681037	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. apii</i>	CBS 116455 = CPC 11556 ^T	<i>Apium graveolens</i>	Germany	AY840519	AY840486	AY840450	AY840417	AY840384	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. apii</i>	CCTU 1086 = CBS 136037 = IRAN 2655C	<i>Cynanchum acutum</i>	Iran	KJ886411	KJ886250	KJ885928	KJ885767	KJ886089	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. apii</i>	Ch15-001	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681072	MF681174	MF680868	MF681380	MF680970	Vaghefi et al. (2021)	
<i>C. apii</i>	Ch15-002; ICMP 21684	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681073	MF681175	MF680869	MF681381	MF680971	Bakhshi and Zare (2020)	
<i>C. apicola</i>	CBS 116457 = CPC 10267 ^T	<i>Apium</i> sp.	Venezuela	AY840536	AY840503	AY840467	AY840434	AY840401	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. armoraciae</i>	CBS 250.67 = CPC 5088 ^{ET}	<i>Armoracia rusticana</i>	Romania	JX143545	JX143299	JX143053	JX142807	JX142561	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. beticola</i>	CBS 116456 = CPC 11557 ^{ET}	<i>Beta vulgaris</i>	Italy	AY840527	AY840494	AY840458	AY840425	AY840392	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. beticola</i>	HI-Ch-072	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MK210522	MK210405	MK210301	MK210334	MK210367	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. beticola</i>	HI-Tb-070	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MK210534	MK210417	MK210313	MK210347	MK210379	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. beticola</i>	Tb14-047	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681088	MF681190	MF680884	MF681396	MF680986	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. bizozeriana</i>	CBS 258.67 = CPC 5061 ^{ET}	<i>Cardaria draba</i>	Romania	JX143546	JX143300	JX143054	JX142808	JX142562	Bakhshi et al. (2015, 2018)	
<i>C. bizozeriana</i>	CBS 540.71 = IMI 161110 = CPC 5060	<i>Cardaria draba</i>	Romania;	JX143548	JX143302	JX143056	JX142810	JX142564	Bakhshi et al. (2015, 2018)	
<i>C. bizozeriana</i>	CCTU 1013	—	Iran	KJ886414	KJ886253	KJ885931	KJ885770	KJ886092	Vaghefi et al. (2018)	
<i>C. bizozeriana</i>	CCTU 1022 = CBS 136028	—	Iran	KJ886415	KJ886254	KJ885932	KJ885771	KJ886093	Bakhshi (2019)	
<i>C. bizozeriana</i>	CCTU 1040 = CBS 136131	<i>Tanacetum balsamita</i>	Iran	KJ886416	KJ886255	KJ885933	KJ885772	KJ886094	Bakhshi et al. (2015, 2018)	
<i>C. bizozeriana</i>	CCTU 1107	—	Iran	KJ886417	KJ886256	KJ885934	KJ885773	KJ886095	Bakhshi et al. (2015, 2018)	
<i>C. bizozeriana</i>	CCTU 1117 = CBS 136132	<i>Cardaria draba</i>	Iran	KJ886418	KJ886257	KJ885935	KJ885774	KJ886096	Bakhshi et al. (2015, 2018)	
<i>C. bizozeriana</i>	CCTU 1127 = CBS 136133	<i>Capparis spinosa</i>	Iran	KJ886420	KJ886259	KJ885937	KJ885776	KJ886098	Bakhshi et al. (2015, 2018)	
<i>C. bizozeriana</i>	CCTU 1234	<i>Cardaria draba</i>	Iran	KJ886419	KJ886258	KJ885936	KJ885775	KJ886097	Bakhshi et al. (2015, 2018)	

*: T, ET, IsoT, NT, はそれぞれ、ex-isotype, ex-epitype, ex-isotype, ex-neotypeの菌株を示す。

表2 本研究で用いた先行研究の菌株

Species	Isolates*	Host name	Country	GenBank accession numbers					References
				ITS	TEF	ACT	CAL	HIS	
<i>C. campii-silii</i>	CBS 132625 = CPC 14585	<i>Impatiens noli-tangere</i>	South Korea	JX143561	JX143315	JX143069	JX142823	JX142577	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. canescens complex</i>	CBS 111133 = CPC 1137	<i>Vigna</i> sp.	South Africa	AY260065	DQ835084	DQ835103	DQ835130	DQ835157	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. canescens complex</i>	CPC 11640 = IMI 186563	<i>Apium</i> sp.	USA	JX143566	JX143320	JX143074	JX142828	JX142582	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. capsici</i>	CBS 132622 = CPC 14520	<i>Capsicum annuum</i>	South Korea	JX143568	JX143323	JX143077	JX142831	JX142585	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. celastiae</i>	CBS 132600 = CPC 10660	<i>Celastia argentea</i>	South Korea	JX143570	JX143326	JX143080	JX142834	JX142588	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. alchemillicola</i>	CPC 5126	<i>Oenothera fruticosa</i>	New Zealand	JX143526	JX143280	JX143034	JX142788	JX142542	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. brunkii</i>	CBS 132657 = CPC 11598	<i>Geranium thunbergii</i>	South Korea	JX143559	JX143313	JX143067	JX142821	JX142575	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. citrulina</i>	CBS 132669 = CPC 12683	<i>Musa</i> sp.	Bangladesh	EU514223	JX143336	JX143090	JX142844	JX142598	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. coreopsidis</i>	CBS 132598 = CPC 10648	<i>Coreopsis lanceolata</i>	South Korea	JX143585	JX143343	JX143097	JX142851	JX142605	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. erysimi</i>	CBS 115059 = CPC 5361	<i>Erysimum mutabile</i>	New Zealand	JX143592	JX143350	JX143104	JX142858	JX142612	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris</i>	Tb15-039	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681108	MF681210	MF680904	MF681416	MF681006	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris</i>	Tb15-045	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681112	MF681214	MF680908	MF681420	MF681010	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris</i>	Tb15-530	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681154	MF681256	MF680950	MF681462	MF681052	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris clade 1</i>	CCTU 1128 = CBS 136141 = IRAN 2661C	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Iran	KJ886476	KJ886315	KJ885993	KJ885832	KJ886154	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris clade 1</i>	CPC 1051	<i>Populus deltoides</i>	South Africa	AY260069	JX143367	JX143121	JX142875	JX142629	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris clade 1</i>	CPC 5441	<i>Amaranthus</i> sp.	Fiji	JX143611	JX143370	JX143124	JX142878	JX142632	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris clade 2</i>	CCTU 1115 = CBS 136139 = IRAN 2659C	<i>Cercis siliquastrum</i>	Iran	KJ886473	KJ886312	KJ885990	KJ885829	KJ886151	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris clade 2</i>	CCTU 1223 = CBS 136154	<i>Eclipta prostrata</i>	Iran	KJ886512	KJ886351	KJ886029	KJ885868	KJ886190	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris clade 3</i>	CBS 115482 = A207 Bs+ = CPC 4410	<i>Citrus</i> sp.	South Africa	AY260070	DQ835095	DQ835114	DQ835141	DQ835168	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris clade 3</i>	CBS 143.51 = CPC 5055	<i>Bromus</i> sp.	—	JX143607	JX143365	JX143119	JX142873	JX142627	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. flagellaris clade 3</i>	CCTU 1140 = CBS 136143 = IRAN 2666C	<i>Calendula officinalis</i>	Iran	KJ886481	KJ886320	KJ885998	KJ885837	KJ886159	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. gossypii</i>	CCTU 1070 = CBS 136137	<i>Gossypium herbaceum</i>	Iran	KJ886467	KJ886306	KJ885984	KJ885823	KJ886145	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. helianthicola</i>	MUCC 716	<i>Helianthus tuberosus</i>	Japan	JX143615	JX143374	JX143128	JX142882	JX142636	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. ipomoeae</i>	CBS 132639 = CPC 10102	<i>Persicaria thunbergii</i>	South Korea	JX143616	JX143375	JX143129	JX142883	JX142637	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. malloii</i>	MUCC 575 = MUCNS 582 = MAFF 237872	<i>Cucumis melo</i>	Japan	JX143625	JX143384	JX143138	JX142892	JX142646	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. mikaniticola</i>	CPC 20741	<i>Mikania cordata</i>	Thailand	KT193693	—	—	KT193753	—	Bakhshi et al. (2015, 2018)

※: T, ET, IsoT, NT はそれぞれ、ex-type, ex-epitype, ex-isotype, ex-neotypeの菌株を示す。

表2 本研究で用いた先行研究の菌株

Species	Isolates*	Host name	Country	GenBank accession numbers				References	
				ITS	TEF	ACT	CAL		HIS
<i>C. cf. modiolae</i>	CPC 5115	<i>Modiola caroliniana</i>	New Zealand	JX143630	JX143389	JX143143	JX142897	JX142651	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. physalidis</i>	CBS 765.79	<i>Solanum tuberosum</i>	Peru	JX143633	JX143392	JX143146	JX142900	JX142654	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. reseedae</i>	CBS 257.67 = CPC 5057	<i>Helianthemum</i> sp.	Romania	DQ233319	DQ233343	DQ233369	DQ233395	DQ233421	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. richardicola</i>	CBS 132627 = CPC 14680	<i>Ayuga multiflora</i>	South Korea	JX143640	JX143399	JX143153	JX142907	JX142661	Crous et al. (2011)
<i>C. cf. richardicola</i>	CCTU 1004	<i>Bidens tripartita</i>	Iran	KJ886519	KJ886358	KJ886036	KJ885875	KJ886197	Bakhshi et al. (2015, 2018)
<i>C. cf. sigesbeckiae</i>	CBS 132601 = CPC 10664	<i>Sigesbeckia glabrescens</i>	South Korea	JX143650	JX143409	JX143163	JX142917	JX142671	Crous et al. (2012)
<i>C. cf. zinniae</i>	CBS 132676 = CPC 15075	<i>Zinnia elegans</i>	South Korea	JX143757	JX143519	JX143273	JX143027	JX142781	Crous et al. (2017)
<i>C. cf. zinniae</i>	CCTU 1003	<i>Zinnia elegans</i>	Iran	KJ886552	KJ886391	KJ886069	KJ885908	KJ886230	Crous et al. (2013)
<i>C. cf. nicotianae</i>	CBS 132632 = CPC 15918	<i>Glycine max</i>	Mexico	JX143631	JX143390	JX143144	JX142898	JX142652	Crous et al. (2018)
<i>C. chenopodii</i>	CBS 132620 = CPC 14237	<i>Chenopodium cf. album</i>	France	JX143571	JX143327	JX143081	JX142835	JX142589	Dianese et al. (2014)
<i>C. chenopodii</i>	CCTU 1060 = IRAN 2652C	<i>Chenopodium album</i>	Iran	KJ886438	KJ886277	KJ885955	KJ885794	KJ886116	Crous et al. (2019)
<i>C. chinensis</i>	CBS 132612 = CPC 10831	<i>Polygonatum humile</i>	South Korea	JX143578	JX143334	JX143088	JX142842	JX142596	Dianese et al. (2014)
<i>C. chysanthemoidis</i>	CBS 133582 = CPC 20529 ^T	<i>Chysanthemoides monilifera</i>	South Africa	KC005779	KC005813	KC005764	KC005767	—	Groenewald et al. (2013)
<i>C. coniogrammes</i>	CBS 132634 = CPC 17017 ^T	<i>Coniogramme japonica</i>	Australia	JX143583	JX143341	JX143095	JX142849	JX142603	Groenewald et al. (2013)
<i>C. convolvulicola</i>	CCTU 1083 = CBS 136126 ^T	<i>Convolvulus arvensis</i>	Iran	KJ886441	KJ886280	KJ885958	KJ885797	KJ886119	Groenewald et al. (2013)
<i>C. conyzae-canadensis</i>	CCTU 1119 = CBS 135978 ^T	<i>Conyza canadensis</i>	Iran	KJ886445	KJ886284	KJ885962	KJ885801	KJ886123	Groenewald et al. (2013)
<i>C. corchori</i>	MUCC 585 = MUCNS 72	<i>Corchorus olitorius</i>	Japan	JX143584	JX143342	JX143096	JX142850	JX142604	Groenewald et al. (2013)
<i>C. cylindracea</i>	MAFF238191 ^{ET}	<i>Lactuca serriola</i>	Iran	KJ886449	KJ886288	KJ885966	KJ885805	KJ886127	Groenewald et al. (2013)
<i>C. cyperacearum</i>	CCTU 1081 = CBS 138580	<i>Cyperus alternifolius</i>	Iran	KJ886449	KJ886288	KJ885966	KJ885805	KJ886127	Groenewald et al. (2013)
<i>C. cyperina</i>	= IRAN2654C ^T	<i>Cyperus alternifolius</i>	Thailand	KT193667	—	—	KT193727	—	Groenewald et al. (2013)
<i>C. delaireae</i>	CPC 23918 ^T	<i>Cyperus alternifolius</i>	Thailand	KT193669	—	—	KT193729	—	Groenewald et al. (2013)
	CPC 23919 ^T	<i>Delairea odorata</i>	South Africa	JX143587	JX143345	JX143099	JX142853	JX142607	Groenewald et al. (2013)
	CBS 132595 = CPC 10455								
	= GV2 PPRI number: C558 ^T								
<i>C. dianellicola</i>	CBS 143453 = CPC 32597 ^T	<i>Acacia falciformis</i>	Australia	MG386075	—	MG674152	MG674153	—	Groenewald et al. (2013)
<i>C. dispersi</i>	CBS 132608 = CPC 10773	<i>Disporum viridescens</i>	South Korea	JX143591	JX143349	JX143103	JX142857	JX142611	Groenewald et al. (2013)
<i>C. eremochloae</i>	IMI 321201 ^{isoT}	<i>Eremochloa bimaculata</i>	Australia	HM235405	—	—	—	—	Groenewald et al. (2013)
<i>C. eucommiae</i>	CBS 131932 = CPC 10802 ^T	<i>Eucommia ulmoides</i>	South Korea	GU269851	GU384563	GU320555	—	—	Groenewald et al. (2013)
<i>C. euphorbiae-sieboldiana</i>	CBS 113306 ^T	<i>Euphorbia sieboldiana</i>	South Korea	JX143593	JX143351	JX143105	JX142859	JX142613	Groenewald et al. (2013)
<i>C. fagopyri</i>	CBS 132623 = CPC 14541 ^{NT}	<i>Fagopyrum esculentum</i>	South Korea:	JX143594	JX143352	JX143106	JX142860	JX142614	Groenewald et al. (2013)
<i>C. gamsiana</i>	CCTU 1074 = CPC 24909 ^T	<i>Malva neglecta</i>	Iran	KJ886426	KJ886265	KJ885943	KJ885782	KJ886104	Groenewald et al. (2013)

※: ^T, ^{isoT}, ^{NT} はそれぞれ、 ex-type, ex-epitype, ex-isotype の菌株を示す。

表2 本研究で用いた先行研究の菌株

Species	Isolates*	Host name	Country	GenBank accession numbers						References
				ITS	TEF	ACT	CAL	HIS		
<i>C. gamsiana</i>	IRAN 3946C	<i>Beta vulgaris</i>	Iran	—	—	MT843617	MT843645	MT843670	Bakhshi and Zare (2020)	
<i>C. glycinicola</i>	CPC 23911 ^T	<i>Glycine max</i>	Thailand	KT193670	—	—	KT193730	—	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. gomphrenigena</i>	CBS 144613 = CPC 32470 ^T	<i>Gomphrena globosa</i>	South Africa	MK442573	MK442690	—	MK442650	MK442658	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. iranica</i>	CCTU 1137 = CBS 136124 ^T	<i>Vicia faba</i>	Iran	KJ886513	KJ886352	KJ886030	KJ885869	KJ886191	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. ischaemi</i>	BRIP 56010 ^T	<i>Ischaemum australe</i>	Australia	KM055428	—	—	—	—	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. jansena</i>	CBS 145.37; IMI 303642	—	USA	KF251314	—	—	—	—	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. jatrophiophila</i>	CMHUB 21035 Strain 2225	<i>Jatropha curcas</i>	Brazil	KJ186790	—	—	KJ186792	KJ186794	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. jatrophiophila</i>	CMHUB 21035 Strain 2229	<i>Jatropha curcas</i>	Brazil	KJ186791	—	—	KJ186793	KJ186795	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. kikuchii</i>	CBS 128.27 = CPC 5068 ^T	<i>Glycine soja</i>	Japan	DQ835070	DQ835088	DQ835107	DQ835134	DQ835161	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. lactucae-sativae</i>	CBS 132604 = CPC 10728	<i>Iveris chinensis</i>	South Korea	JX143621	JX143380	JX143134	JX142888	JX142642	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. mercurialis</i>	CBS 550.71 ^{ET}	<i>Mercurialis perennis</i>	Romania	JX143628	JX143387	JX143141	JX142895	JX142649	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. musigena</i>	CPC 24809 ^T	<i>Musa</i> sp.	Thailand	KT193698	—	—	KT193758	—	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. olivascens</i>	CBS 253.67 = IMI 124975 = CPC 5085 ^T	<i>Aristolochia clematidis</i>	Romania	JX143632	JX143391	JX143145	JX142899	JX142653	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. piticola</i>	CBS 132607 = CPC 10749 ^T	<i>Pilea pumila</i>	South Korea	JX143634	JX143393	JX143147	JX142901	JX142655	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. plantaginis</i>	CBS 252.67 = CPC 5084 ^{ET}	<i>Plantago lanceolata</i>	Romania	DQ233318	DQ233342	DQ233368	DQ233394	DQ233420	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. plantaginis</i>	CCTU 1082 = CBS 138728	<i>Plantago lanceolata</i>	Iran	KJ886402	KJ886241	KJ885919	KJ885758	KJ886080	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. polygonacea</i>	CBS 132614 = CPC 11318	<i>Persicaria longisetata</i>	South Korea	JX143637	JX143396	JX143150	JX142904	JX142658	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. pseudochenopodii</i>	CCTU 1038 = CBS 136022 = IRAN 2649C ^T	<i>Chenopodium</i> sp.	Iran	KJ886516	KJ886355	KJ886033	KJ885872	KJ886194	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. punctiformis</i>	CBS 132626 = CPC 14606	<i>Cynanachum wilfordii</i>	South Korea	JX143638	JX143397	JX143151	JX142905	JX142659	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. rautensis</i>	CBS 555.71 = IMI 161117 = CPC 5082E ^T	<i>Coronilla varia</i>	Romania	JX143550	JX143304	JX143058	JX142812	JX142566	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. rautensis</i>	CCTU 1190 = CBS 136134	<i>Securigera varia</i>	Iran	KJ886422	KJ886261	KJ885939	KJ885778	KJ886100	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. ricinella</i>	CBS 132605 = CPC 10734	<i>Ricinus communis</i>	South Korea	JX143646	JX143405	JX143159	JX142913	JX142667	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. rodmanii</i>	CBS 113129 = RC397 = WH9-BR	<i>Eichhornia crassipes</i>	USA	DQ835081	AF146143	DQ835127	DQ835154	DQ835181	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. rumicis</i>	CCTU 1129 = IRAN 2662C	<i>Rumex crispus</i>	Iran	KJ886522	KJ886361	KJ886039	KJ885878	KJ886200	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. rumicis</i>	CPC 5439	<i>Rumex sanguineus</i>	New Zealand	JX143648	JX143407	JX143161	JX142915	JX142669	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. samambaiae</i>	CPC 24673 = COAD 1090 ^T	<i>Thelypteris dentata</i>	Brazil	KT037508	KT037468	KT037590	KT037457	—	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. senecionis-walkeri</i>	CBS 132636 = CPC 19196	<i>Senecio walkeri</i>	Laos	JX143649	JX143408	JX143162	JX142916	JX142670	Groenewald et al. (2013)	

※: ^T, ^{ET}, ^{isoT}, ^{NT} はそれぞれ、 ex-type, ex-epitype, ex-isotype, ex-neotypeの菌株を示す。

表2 本研究で用いた先行研究の菌株

Species	Isolates*	Host name	Country	GenBank accession numbers						References
				ITS	TEF	ACT	CAL	HIS		
<i>C. sojae</i>	CBS 132615 = CPC 11353 ^T	<i>Glycine soja</i>	South Korea	JX143659	JX143419	JX143173	JX142927	JX142681	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. sojae</i>	CCTU 1043 = CBS 136038	<i>Solanum nigrum</i>	Iran	KJ886523	KJ886362	KJ886040	KJ885879	KJ886201	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. solani-betacei</i>	COAD 2293T	<i>Solanum betaceum</i>	Brazil	MH223464	—	MH445457	MH428037	—	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. sorghicola</i>	CCTU 1173 = CBS 136448 = IRAN 2672C ^T	<i>Sorghum halepense</i>	Iran	KJ886525	KJ886364	KJ886042	KJ885881	KJ886203	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. tecta</i>	C11-10	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681071	MF681173	MF680867	MF681379	MF680969	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. tecta</i>	HI-Tb-021	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MK210530	MK210413	MK210309	MK210343	MK210375	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. tecta</i>	ICMP 21689;Ch15-029	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681075	MF681177	MF680871	MF681383	MF680973	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. tecta</i>	ICMP 21691 ^T ;Tb14-081	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681093	MF681195	MF680889	MF681401	MF680991	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. tezipurensis</i>	CS2012 ^T	<i>Capsicum.assamicum</i>	India	KC351743	KC513746	KC355808	KC513745	KC355807	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. uwebrauniana</i>	CCTU 1200 = CBS 138581 ^T	<i>Heliotropium europaeum</i>	Iran	KJ886408	KJ886247	KJ885925	KJ885764	KJ886086	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. vignigena</i>	CBS 132611 = CPC 10812 ^T	<i>Vigna unguiculata</i>	South Korea	JX143734	JX143493	JX143247	JX143001	JX142755	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. violae</i>	CBS 251.67 = CPC 5079 ^{ET}	<i>Viola tricolor</i>	Romania	JX143737	JX143496	JX143250	JX143004	JX142758	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. violae</i>	CCTU 1025 = IRAN 2646C	<i>Viola sp.</i>	Iran	KJ886543	KJ886382	KJ886060	KJ885899	KJ886221	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. zeae-maydis</i>	CBS 117757 = JW-WI-02 = A360 ^{ET}	<i>Zea mays</i>	USA	DQ185074	DQ185086	DQ185098	DQ185110	DQ185122	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. zebrina</i>	CBS 108.22 = CPC 5091	<i>Medicago arabica</i>	—	JX143744	JX143503	JX143257	JX143011	JX142765	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. zebrina</i>	CCTU 1239 = CBS 135977	<i>Vitis vinifera</i>	Iran	KJ886551	KJ886390	KJ886068	KJ885907	KJ886229	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. zebrina</i>	Tb15-151; ICMP 21685	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681127	MF681229	MF680923	MF681435	MF681025	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. zebrina</i>	Tb16-177	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681163	MF681265	MF680959	MF681471	MF681061	Groenewald et al. (2013)	
<i>C. zeina</i>	CBS 118820 = CPC 11995 ^T	<i>Zea mays</i>	South Africa	DQ185081	DQ185093	DQ185105	DQ185117	DQ185129	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora achyranthis</i>	CBS 132613 = CPC 10879	<i>Achyranthes japonica</i>	South Korea	JX143523	JX143277	JX143031	JX142785	JX142539	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora achyranthis</i>	CPC 10091	<i>Achyranthes japonica</i>	South Korea	JX143524	JX143278	JX143032	JX142786	JX142540	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora sp. A</i>	CBS 132631 = CPC 15872	<i>Chenopodium sp.</i>	Mexico	JX143675	JX143435	JX143189	JX142943	JX142697	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora sp. B</i>	CBS 132602 = CPC 10687	<i>Ipomoea purpurea</i>	South Korea	JX143676	JX143436	JX143190	JX142944	JX142698	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora sp. C</i>	CBS 132629 = CPC 15841	—	Mexico	JX143677	JX143437	JX143191	JX142945	JX142699	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora sp. D</i>	CBS 132630 = CPC 15856	—	Mexico	JX143678	JX143438	JX143192	JX142946	JX142700	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora sp. E</i>	CBS 132628 = CPC 15632	—	Mexico	JX143679	JX143439	JX143193	JX142947	JX142701	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora sp. F</i>	CBS 132618 = CPC 12062	<i>Zea mays</i>	South Africa	DQ185071	DQ185083	DQ185095	DQ185107	DQ185119	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora sp. G</i>	Tb15-004; ICMP 21688	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681101	MF681203	MF680897	MF681409	MF680999	Groenewald et al. (2013)	
<i>Cercospora sp. G</i>	Tb15-005	<i>Beta vulgaris</i>	USA	MF681102	MF681204	MF680898	MF681410	MF681000	Groenewald et al. (2013)	

※: ^T, ^{ET}, ^{isoT}, ^{NT} はそれぞれ、 ex-type, ex-epitype, ex-isotype, ex-neotype の菌株を示す。

表2 本研究で用いた先行研究の菌株

Species	Isolates*	Host name	Country	GenBank accession numbers					References
				ITS	TEF	ACT	CAL	HIS	
<i>Cercospora</i> sp. G clade 1	CCTU 1015 = CBS 136024 = IRAN 2645C	<i>Plantago major</i>	Iran	KJ886528	KJ886367	KJ886045	KJ885884	KJ886206	Groenewald et al. (2013)
<i>Cercospora</i> sp. G clade 1	CPC 5438	<i>Salvia viscosa</i>	New Zealand	JX143682	JX143442	JX143196	JX142950	JX142704	Groenewald et al. (2013)
<i>Cercospora</i> sp. G clade 2	CBS 115518 = CPC 5360	<i>Bidens frondosa</i>	New Zealand	JX143681	JX143441	JX143195	JX142949	JX142703	Groenewald et al. (2013)
<i>Cercospora</i> sp. G clade 2	CCTU 1030 = CBS 136026	<i>Bidens tripartita</i>	Iran	KJ886530	KJ886369	KJ886047	KJ885886	KJ886208	Groenewald et al. (2013)
<i>Cercospora</i> sp. H	CBS 115205 = CPC 5116	<i>Dichondra repens</i>	New Zealand	JX143683	JX143443	JX143197	JX142951	JX142705	Groenewald et al. (2013)
<i>Cercospora</i> sp. I	CBS 114815 = CPC 5364	<i>Deutzia purpurascens</i>	New Zealand	JX143685	JX143445	JX143199	JX142953	JX142707	Groenewald et al. (2013)
<i>Cercospora</i> sp. J	MUCC 541	<i>Antirrhinum majus</i>	Japan	JX143695	JX143455	JX143209	JX142963	JX142717	Groenewald et al. (2013)
<i>Cercospora</i> sp. K	CBS 132603 = CPC 10719	<i>Ipomoea cocinea</i>	South Korea	JX143696	JX143456	JX143210	JX142964	JX142718	Guatimosim et al. (2016)
<i>Cercospora</i> sp. L	CBS 115477 = CPC 5114	<i>Crepis capillaris</i>	New Zealand	JX143699	JX143459	JX143213	JX142967	JX142721	Meghvansi et al. (2013)
<i>Cercospora</i> sp. M	CBS 132596 = CPC 10553	<i>Acaia mangium</i>	Thailand	JX143700	AY752175	AY752203	AY752234	AY752265	Nguanhom et al. (2016)
<i>Cercospora</i> sp. N	CBS 132619 = CPC 12684	<i>Musa</i> sp.	Bangladesh	EU514224	JX143460	JX143214	JX142968	JX142722	Nguanhom et al. (2016)
<i>Cercospora</i> sp. O	CBS 132635 = CPC 18636	<i>Musa</i> sp.	Thailand	JX143701	JX143461	JX143215	JX142969	JX142723	Nguanhom et al. (2016)
<i>Cercospora</i> sp. P	CBS 116365 = CPC 10526	<i>Acaia mangium</i>	Thailand	AY752141	AY752176	AY752204	AY752235	AY752266	Nguanhom et al. (2016)
<i>Cercospora</i> sp. Q	CBS 113997 = CPC 5325	<i>Cajanus cajan</i>	South Africa	JX143717	JX143476	JX143230	JX142984	JX142738	Nguanhom et al. (2016)
<i>Cercospora</i> sp. Q	CPC 10550	<i>Acaia mangium</i>	Thailand	AY752139	AY752172	AY752200	AY752231	AY752262	Chen et al. (2022)
<i>Cercospora</i> sp. R	CBS 114644	<i>Myoporum laetum</i>	New Zealand	JX143732	JX143491	JX143245	JX142999	JX142753	Chen et al. (2022)
<i>Cercospora</i> sp. S	CBS 132599 = CPC 10656	<i>Crepidiastrum denticulatum</i>	South Korea	JX143733	JX143492	JX143246	JX143000	JX142754	Shivas et al. (2015)
<i>Cercospora</i> sp. T	CCTU 1148 = CBS 136125	<i>Coreopsis</i> sp.	Iran	KJ886541	KJ886380	KJ886058	KJ885897	KJ886219	Videira et al. (2017)

*: T, ET, IsoT, NT, はそれぞれ、ex-isotype, ex-epitype, ex-neotypeの菌株を示す。

表3. 接種試験の試験区

MUCC3417 (系統1) 分生子懸濁液 テンサイ	MUCC3417 (系統1) 分生子懸濁液 フダンソウ	MUCC3417 (系統1) 菌叢磨砕液 テンサイ	MUCC3417 (系統1) 菌叢磨砕液 フダンソウ
MUCC3434 (系統2) 分生子懸濁液 テンサイ	MUCC3434 (系統2) 分生子懸濁液 フダンソウ	MUCC3434 (系統2) 菌叢磨砕液 テンサイ	MUCC3434 (系統2) 菌叢磨砕液 フダンソウ
MUCC3418 (系統3) 分生子懸濁液 テンサイ	MUCC3418 (系統3) 分生子懸濁液 フダンソウ	MUCC3418 (系統3) 菌叢磨砕液 テンサイ	MUCC3418 (系統3) 菌叢磨砕液 フダンソウ
対照区(水) テンサイ	対照区(水) フダンソウ		

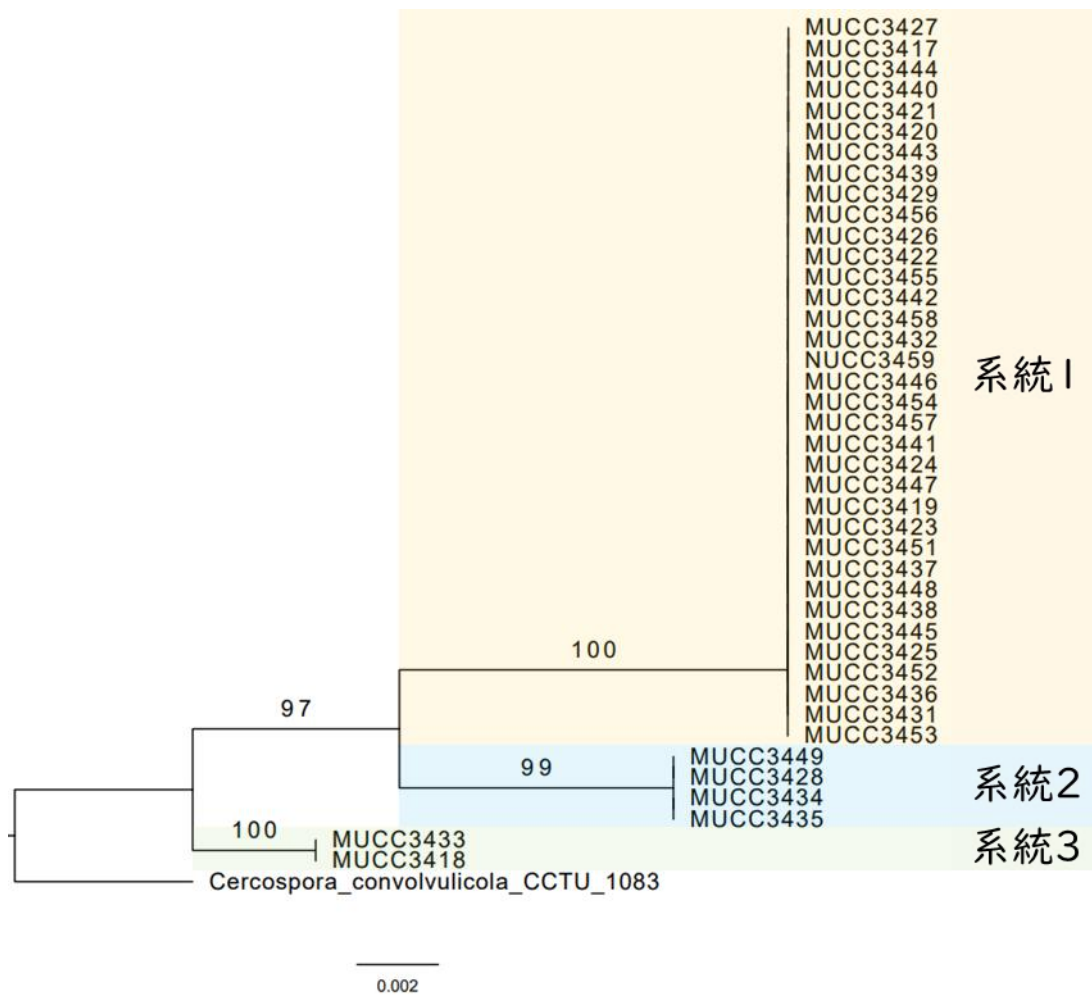


図2. 分子系統樹 I (最尤系統樹)

系統樹の各枝の上部にブートストラップ値 (50%以上のもの) を示した。

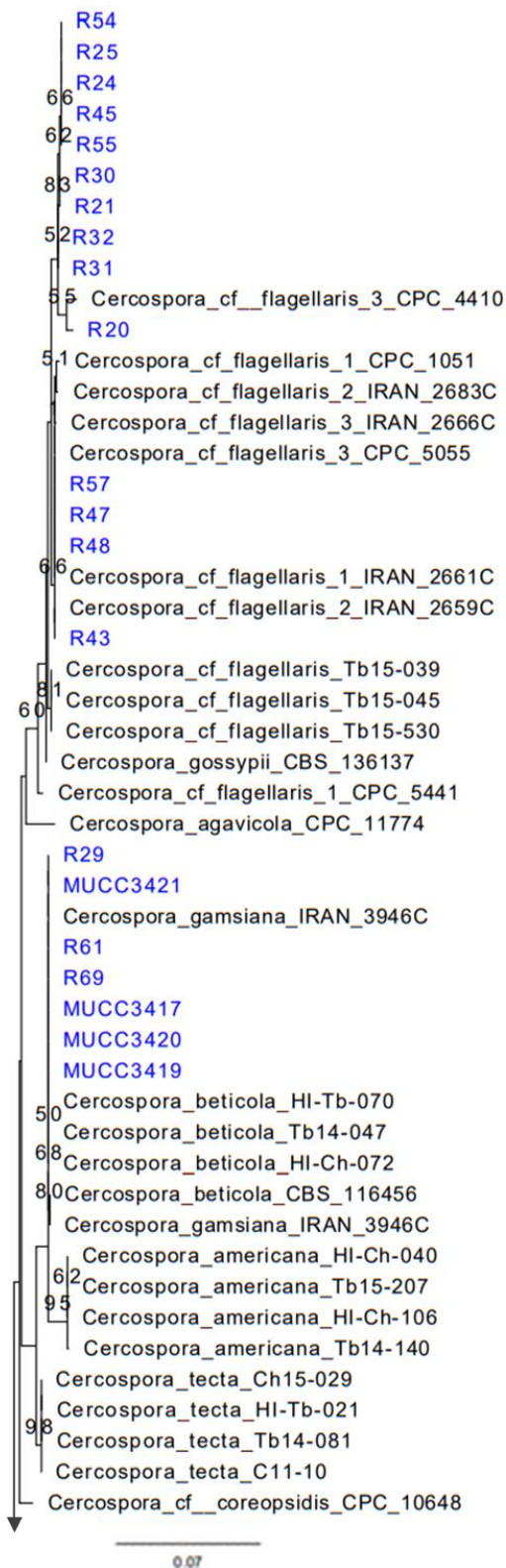


図3. バックボーン系統樹（最尤系統樹）

系統樹の各枝の上部にブートストラップ値（50%以上のもの）を示した。

本研究で得られた菌株を青色で示した。

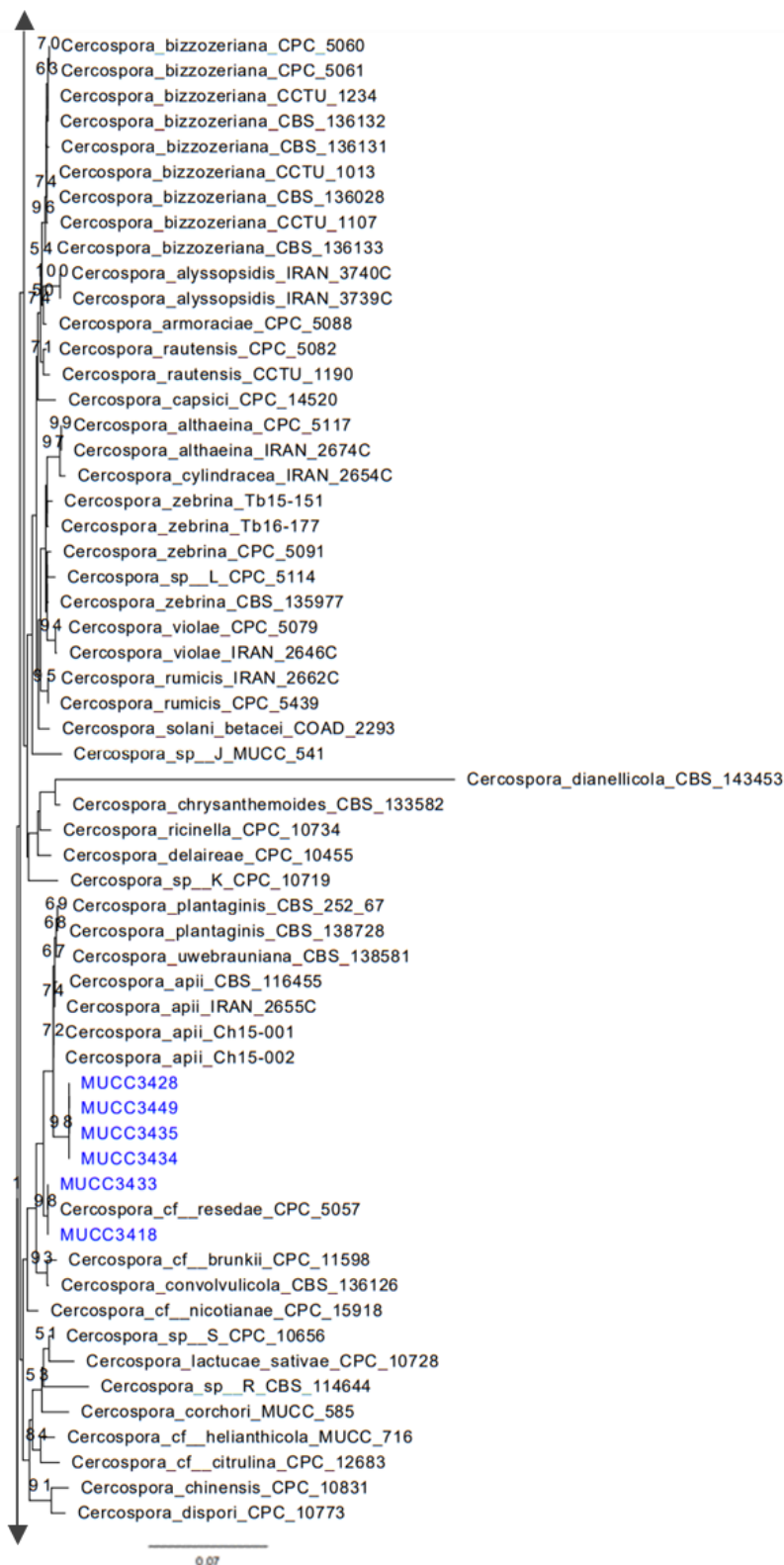


図3. バックボーン系統樹（最尤系統樹）

系統樹の各枝の上部にブートストラップ値（50%以上のもの）を示した。

本研究で得られた菌株を青色で示した。

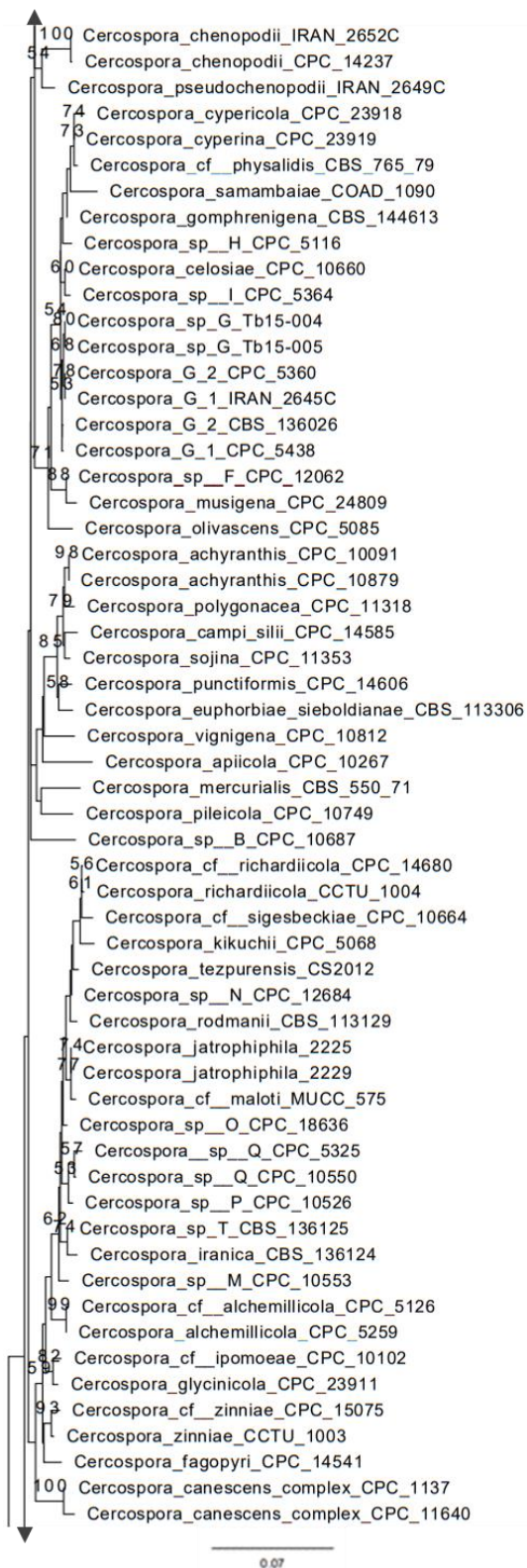


図3. バックボーン系統樹（最尤系統樹）

系統樹の各枝の上部にブートストラップ値（50%以上のもの）を示した。

本研究で得られた菌株を青色で示した。

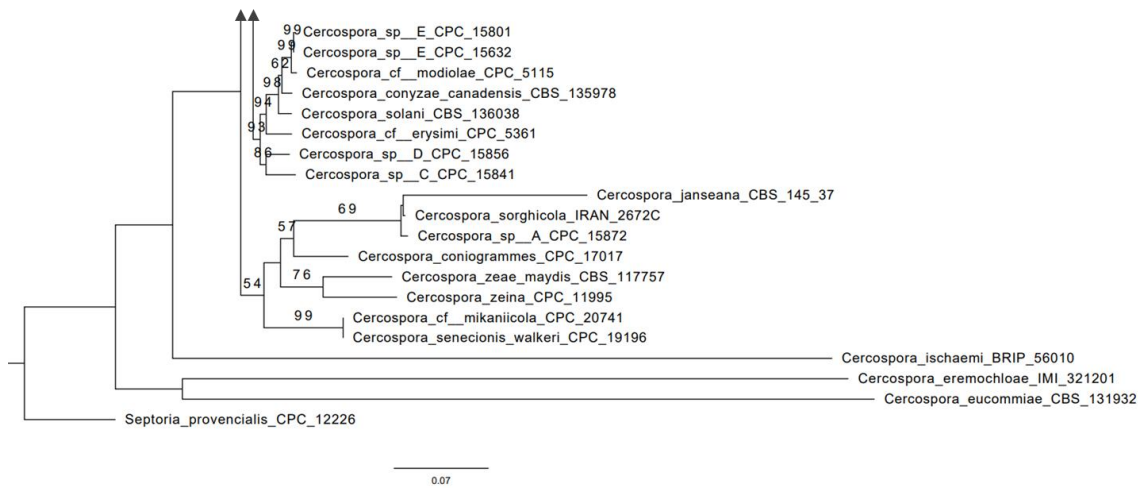


図 3. バックボーン系統樹（最尤系統樹）

系統樹の各枝の上部にブートストラップ値（50%以上のもの）を示した。

本研究で得られた菌株を青色で示した。

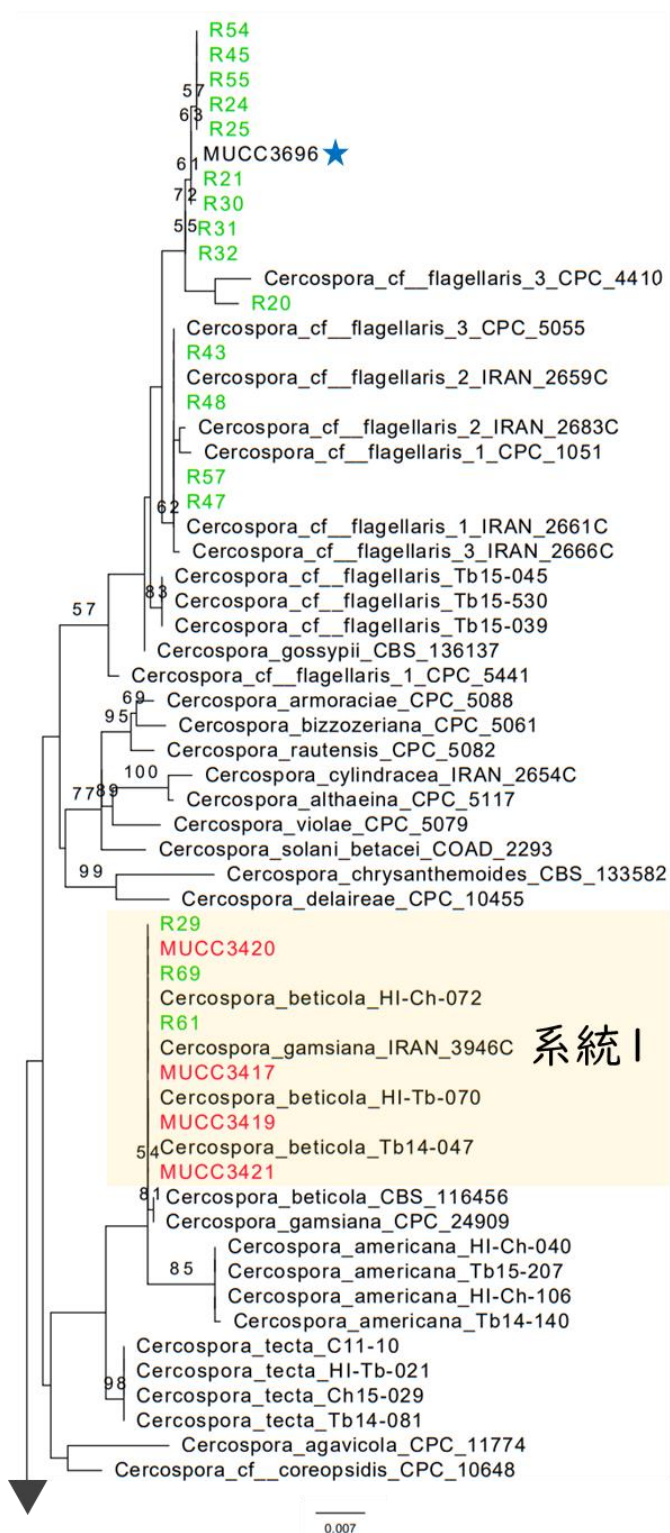


図 4. 分子系統樹 II (最尤系統樹)

系統樹の各枝の上部にブートストラップ値 (50%以上のもの) を示した。

本研究の選抜菌株を赤色、接種試験で得られた菌株を緑色で示し、三重大学上浜キャンパス内の圃場で栽培されていたアサから分離された菌株 (MUCC3696) を星で示した。

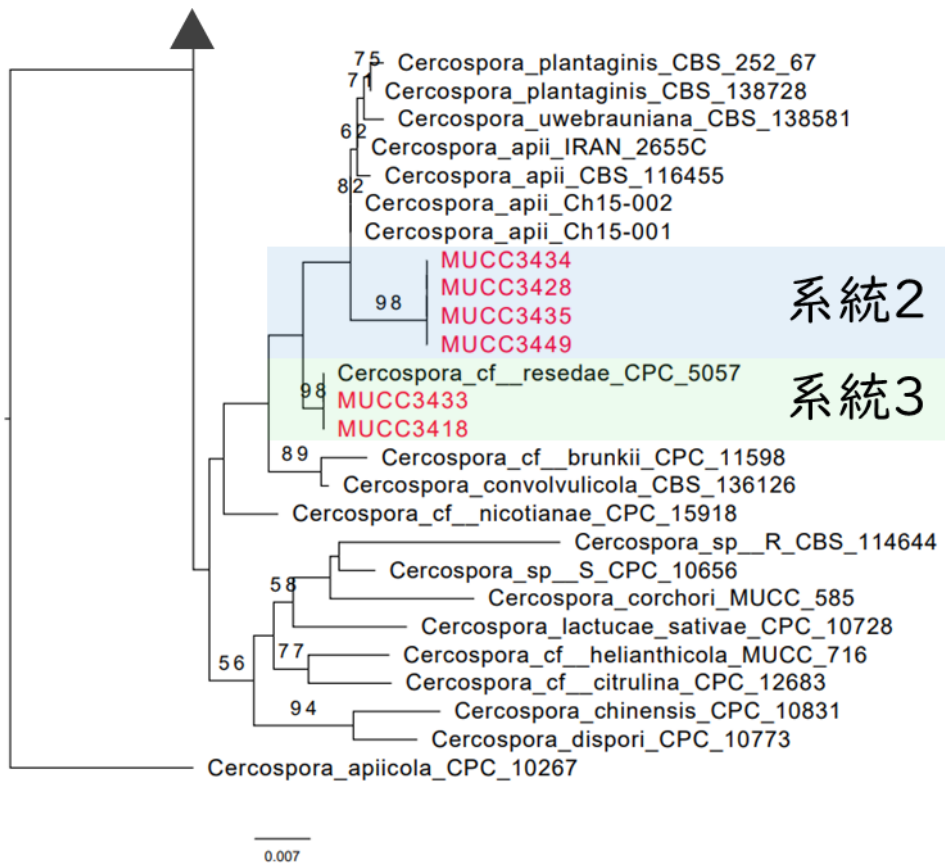


図4. 分子系統樹II（最尤系統樹）

系統樹の各枝の上部にブートストラップ値（50%以上のもの）を示した。

本研究の選抜菌株を赤色、接種試験で得られた菌株を緑色で示し、三重大学上浜キャンパス内の圃場で栽培されていたアサから分離された菌株（MUCC3696）を星で示した。

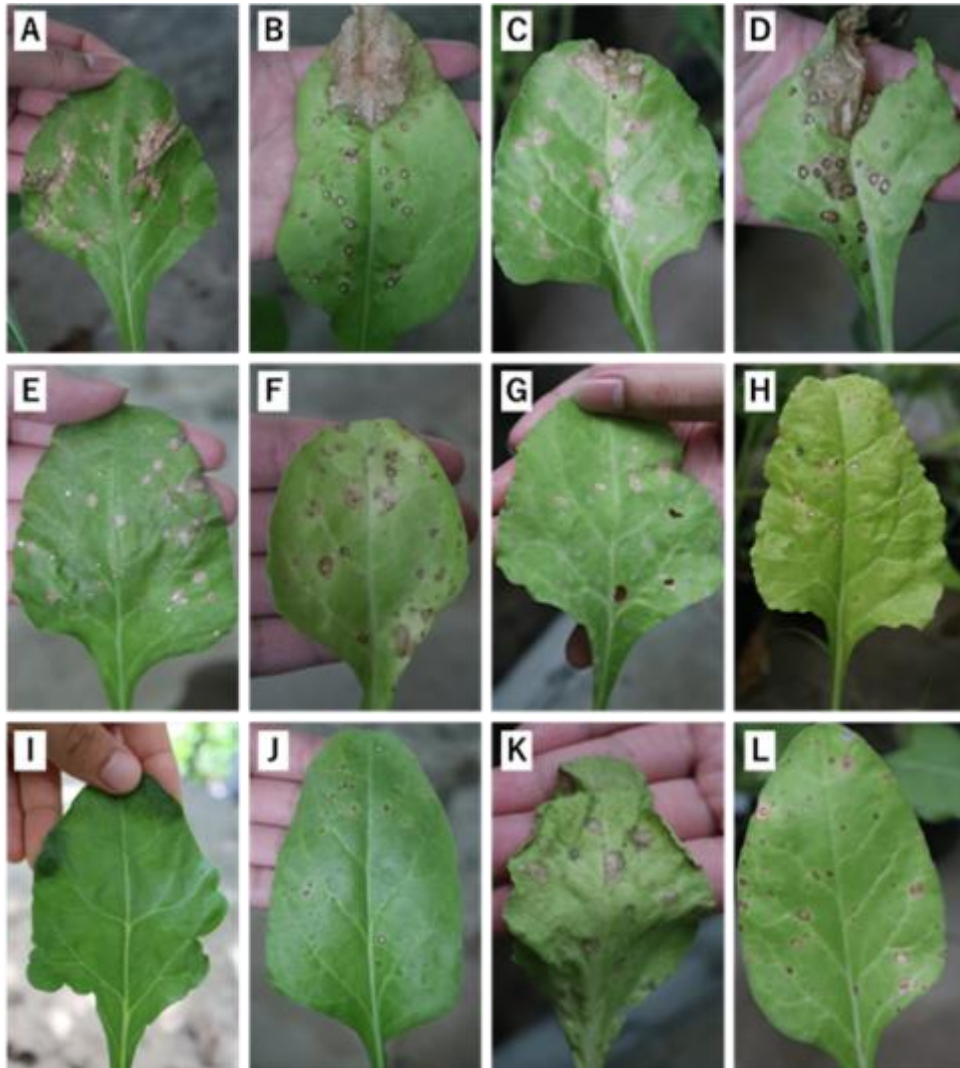


図 5. 接種 45 日後の接種試験結果

- A : MUCC3417 (系統 1) の分生子懸濁液を接種したテンサイ
 B : MUCC3417 (系統 1) の分生子懸濁液を接種したフダンソウ
 C : MUCC3417 (系統 1) の菌叢磨砕液を接種したテンサイ
 D : MUCC3417 (系統 1) の菌叢磨砕液を接種したフダンソウ
 E : MUCC3434 (系統 2) の分生子懸濁液を接種したテンサイ
 F : MUCC3434 (系統 2) の分生子懸濁液を接種したフダンソウ
 G : MUCC3434 (系統 2) の菌叢磨砕液を接種したテンサイ
 H : MUCC3434 (系統 2) の菌叢磨砕液を接種したフダンソウ
 I : MUCC3418 (系統 3) の分生子懸濁液を接種したテンサイ
 J : MUCC3418 (系統 3) の分生子懸濁液を接種したフダンソウ
 K : MUCC3418 (系統 3) の菌叢磨砕液を接種したテンサイ
 L : MUCC3418 (系統 3) の菌叢磨砕液を接種したフダンソウ

表4. 接種45日後の接種試験結果（病徴を確認した株数／試験区の株数）

接種菌株	接種液	接種植物	
		テンサイ	フダンソウ
MUCC3417 (系統1)	分生子懸濁液	1/1	1/1
	菌叢磨砕液	4/4	4/4
MUCC3434 (系統2)	分生子懸濁液	1/1	1/1
	菌叢磨砕液	2/4	3/4
MUCC3418 (系統3)	分生子懸濁液	0/1	1/1
	菌叢磨砕液	1/4	2/4
対照区	水	2/5	4/5

表5. 接種試験で生じた病斑から分離された *Cercospora* 属菌

菌株番号	接種菌株	接種植物	種名 ^{※1}	再分離 ^{※2}
R20	MUCC3417 (系統1)	テンサイ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R21	MUCC3434 (系統2)	テンサイ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R24	MUCC3434 (系統2)	テンサイ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R25	MUCC3434 (系統2)	テンサイ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R29	MUCC3417 (系統1)	フダンソウ	<i>C. beticola</i>	○
R30	MUCC3434 (系統2)	テンサイ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R31	MUCC3434 (系統2)	テンサイ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R32	MUCC3434 (系統2)	テンサイ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R43	MUCC3418 (系統3)	フダンソウ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R45	MUCC3418 (系統3)	フダンソウ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R47	MUCC3418 (系統3)	フダンソウ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R48	MUCC3418 (系統3)	フダンソウ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R54	MUCC3418 (系統3)	フダンソウ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R55	MUCC3418 (系統3)	フダンソウ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R57	MUCC3417 (系統1)	テンサイ	<i>Cercospora</i> cf. <i>flagellaris</i>	—
R61	MUCC3418 (系統3)	テンサイ	<i>C. beticola</i>	—
R69	MUCC3418 (系統3)	テンサイ	<i>C. beticola</i>	—

※1：種名は分子系統樹IIより推定された。

※2：○が付いた菌株は接種菌株と塩基配列が一致したものの。

表6. 本研究で得られた各系統の代表株および先行研究の形態的特徴

	先行研究※			本研究	
	<i>C. beticola</i> (MUCC3417)	<i>Beta vulgaris</i> を新宿種とする未知種 (MUCC3434)	<i>C. cf. resedae</i> (MUCC3418)		
子座	直径(μm)	60以下	20-33	20-50	20-43
分生子柄	形成量	緩い束生	疎生もしくは束生	束生	束生
	分枝等	円筒形	真直または緩やかに湾曲	真直または希に湾曲	真直または希に湾曲
分生子	色	褐色	淡オリブ色(基部)~無色(先端)	淡オリブ色(基部)~無色(先端)	淡オリブ色(基部)~無色(先端)
	隔壁数	1-6	1-5	1-7	1-3
分生子	長さ(μm)	16-200(-450)	21-157	25-159	27-86
	幅(μm)	4-6	3-4	3-5	3-5
分生子	伸長様式	シンポジオ型	シンポジオ型	シンポジオ型	シンポジオ型
	離脱痕	明瞭, 肥厚	明瞭, 肥厚	明瞭, 肥厚	明瞭, 肥厚
分生子	色	-	無色	無色	無色
	形	糸状~針状	針状	針状	針状
分生子	隔壁数	3-28	0-16	0-14	0-15
	長さ(μm)	27-250	60-148	65-188	50-168
分生子	幅(μm)	2.5-3(-4)	2-4	2-5	2-5
	基部	截切形	截切形	截切形	截切形
分生子	先端	鋭形~垂鋭形	やや鋭尖	やや鋭尖	やや鋭尖

※Groenewald et al., (2005)に記載されていたもの

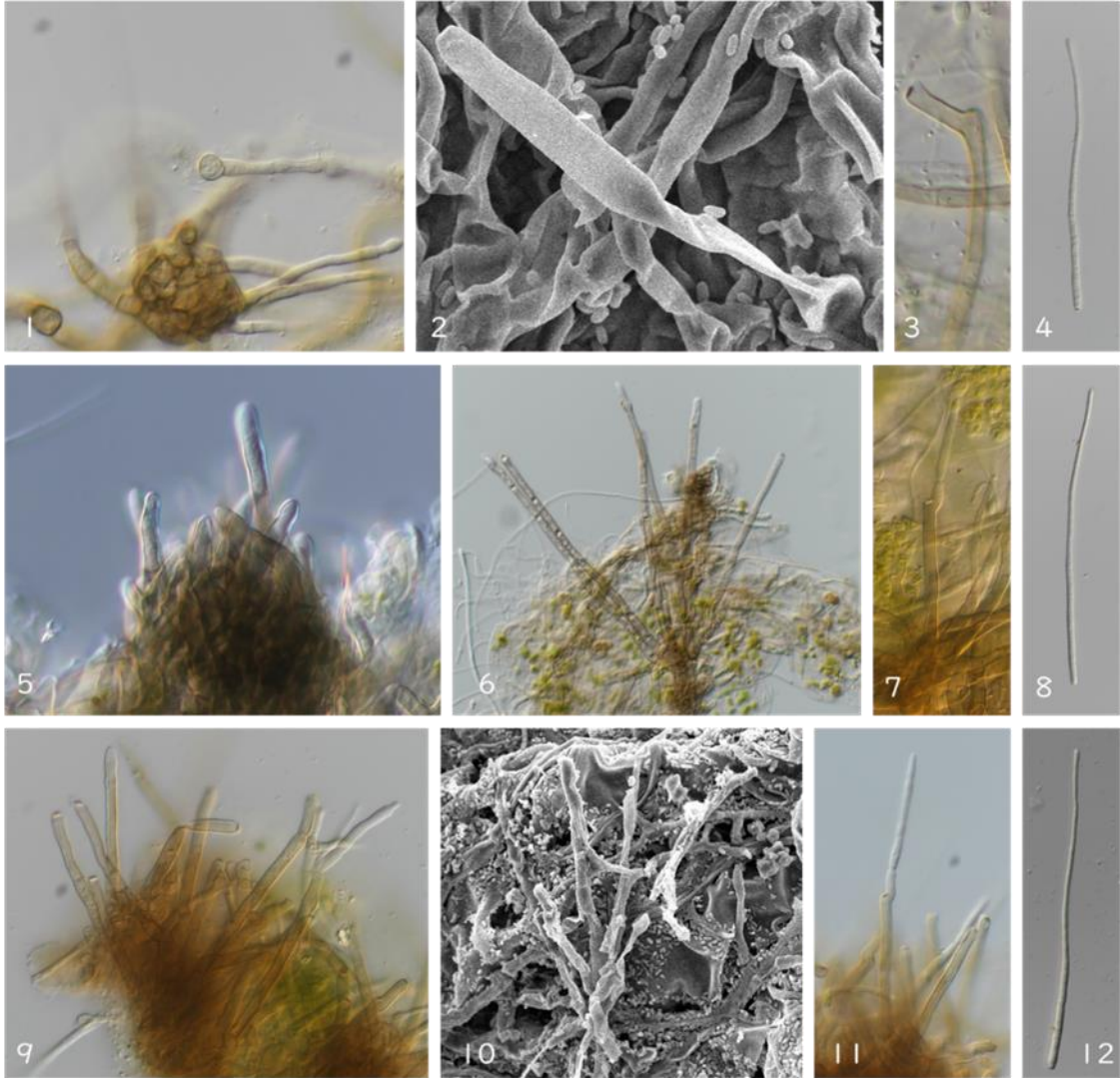


図 6. 各系統の代表株の形態

C. beticola (MUCC3417) 1 : 子座および分生子柄, 2, 3 : 分生子柄, 4 : 分生子

Beta vulgaris を新宿種とする未知種 (MUCC3434) 5 : 子座および分生子柄, 6, 7 : 分生子柄, 8 : 分生子

C. cf. resedae (MUCC3418) 9 : 子座および分生子柄, 10, 11 : 分生子柄, 12 : 分生子

引用文献

- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*. 19(6): 716-723.
- Bakhshi, M. & Zare, R. (2020). Development of new primers based on *gapdh* gene for *Cercospora* species and new host and fungus records for Iran. *Mycologia Iranica*. 7(1): 63-82
- Bakhshi, M. & Zare, R. (2022). Development of new primers based on *gapdh* gene for *Cercospora* species and new host and fungus records for Iran. *Mycologia Iranica*. 7(1): 63–82
- Bakhshi, M. (2019). Epitypification of *Cercospora Rautensis*, the Causal Agent of Leaf Spot Disease on *Securigera Varia*, and Its First Report from Iran. *Fungal Systematics and Evolution*. 3(8): 157-164
- Bakhshi, M.; Arzanlou, M.; Babai-ahari, A.; Groenewald, J.Z. & Crous, P.W. (2018). Novel primers improve species delimitation in *Cercospora*. *IMA Fungus*. 9: 299–332
- Bakhshi, M.; Arzanlou, M.; Babai-Ahari, A.; Groenewald, J.Z.; Braun, U. & Crous, P.W. (2015). Application of the consolidated species concept to *Cercospora* spp. from Iran. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 34(22): 65-86
- Braun, U.; Chiharu, N.; Crous, P.W. (2013). Cercosporoid fungi (*Mycosphaerellaceae*) 1. Species on other fungi, *Pteridophyta* and *Gymnospermae*. *IMA Fungus*. 4(2): 265–345
- Carbone, I. & Kohn, L.M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes (Article). *Mycologia*. 91(3): 553-556.
- Chen, Q.; Bakhshi, M.; Balci, Y.; Broders, K.D.; Cheewangkoon, R.; Chen, S.F.; Fan, X.L.; Gramaje, D.; Halleen, F.; Horta Jung, M.; Jiang, N.; Jung, T.; Májek, T.; Marinowitz, S.; Milenković, I.; Mostert, L.; Nakashima, C.; Nurul Fazihah, I.; Pan, M.; Raza, M.; Scanu, B.; Spies, C.F.J.; Suhaizan, L.; Suzuki, H.; Tian, C.M.; Tomšovský, M.; Úrbez-Torres, J.R.; Wang, W.; Wingfield, B.D.; Wingfield, M.J.; Yang, Q.; Yang, X.; Zare, R.; Zhao, P.; Groenewald, J.Z.; Cai, L. & Crous, P.W. (2022). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 4. *Studies in Mycology*. 101: 417–564.
- Crous, P.W & Braun, U. (2003). *Mycosphaerella* and allied anamorphs: 1. Names published in *Cercospora* and *Passalora*. CBS, Utrecht, The Netherlands, Fungal Biodiversity
- Crous, P.W.; Braun, U.; Hunter, G.C.; Wingfield, M.J.; Verkley, G.J.M.; Shin, H.-D.;

- Nakashima, C. & Groenewald, J.Z. (2013). Phylogenetic lineages in *Pseudocercospora*. *Studies in Mycology*. 75(79): 37-114
- Crous, P.W.; Groenewald, J.Z.; Risède, Jean-Michel, Simoneau, P. & Hywel-Jones, N.L. (2004). *Calonectria* species and their *Cylindrocladium* anamorphs: species with sphaeropedunculate vesicles. *Studies in Mycology*. 50: 415–430.
- Crous, P.W.; Groenewald, J.Z.; Shivas, R.G.; Edwards, J.; Seifert, K.A.; Alfenas, A.C.; Alfenas, R.F.; Burgess, T.I.; Carnegie, A.J.; Hardy, G.E. St. J.; Hiscock, N.; Hüberli, D.; Jung, T.; Louis-Seize, G.; Okada, G.; Pereira, O.L.; Stukely, M.J.C.; Wang, W.; White, G.P.; Young, A.J.; McTaggart, A.R.; Pascoe, I.G.; Porter, I.J. & Quaedvlieg, W. (2011). *Fungal Planet* description sheets: 69–91. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 26(49): 108-156
- Crous, P.W.; Luangsa-ard, J.J.; Wingfield, M.J.; Carnegie, A.J.; Hernández-Restrepo, M.; Lombard, L.; Roux, J.; Barreto, R.W.; Baseia, I.G.; Cano-Lira, J.F.; Martín, M.P.; Morozova, O.V.; Stchigel, A.M.; Summerell, B.A.; Brandrud, T.E.; Dima, B.; García, D.; Giraldo, A.; Guarro, J.; Gusmão, L.F.P.; Khamsuntorn, P.; Noordeloos, M.E.; Nuankaew, S.; Pinruan, U.; Rodríguez-Andrade, E.; Souza-Motta, C.M.; Thangavel, R.; van Iperen, A.L.; Abreu, V.P.; Accioly, T.; Alves, J.L.; Andrade, J.P.; Bahram, M.; Baral, H.-O.; Barbier, E.; Barnes, C.W.; Bendiksen, E.; Bernard, E.; Bezerra, J.D.P.; Bezerra, J.L.; Bizio, E.; Blair, J.E.; Bulyonkova, T.M.; Cabral, T.S.; Caiafa, M.V.; Cantillo, T.; Colmán, A.A.; Conceição, L.B.; Cruz, S.; Cunha, A.O.B.; Darveaux, B.A.; da Silva, A.L.; da Silva, G.A.; da Silva, G.M.; da Silva, R.M.F.; de Oliveira, R.J.V.; Oliveira, R.L.; De Souza, J.T.; Dueñas, M.; Evans, H.C.; Epifani, F.; Felipe, M.T.C.; Fernández-López, J.; Ferreira, B.W.; Figueiredo, C.N.; Filippova, N.V.; Flores, J.A.; Gené, J.; Ghorbani, G.; Gibertoni, T.B.; Glushakova, A.M.; Healy, R.; Huhndorf, S.M.; Iturrieta-González, I.; Javan-Nikkhah, M.; Juciano, R.F.; Jurjević, Ž; Kachalkin, A.V.; Keochanpheng, K.; Krisai-Greilhuber, I.; Li, Y.-C.; Lima, A.A.; Machado, A.R.; Madrid, H.; Magalhães, O.M.C.; Marbach, P.A.S.; Melanda, G.C.S.; Miller, A.N.; Mongkolsamrit, S.; Nascimento, R.P.; Oliveira, T.G.L.; Ordoñez, M.E.; Orzes, R.; Palma, M.A.; Pearce, C.J.; Pereira, O.L.; Perrone, G.; Peterson, S.W.; Pham, T.H.G.; Piontelli, E.; Pordel, A.; Quijada, L.; Raja, H.A.; Rosas de Paz, E.; Ryvarden, L.; Saitta, A.; Salcedo, S.S.; Sandoval-Denis, M.; Santos, T.A.B.; Seifert, K.A.; Silva, B.D.B.; Smith, M.E.; Soares, A.M.; Sommai, S.; Sousa, J.O.; Suetrong, S.; Susca, A.; Tedersoo, L.; Telleria, M.T.; Thanakitpipattana, D.; Valenzuela-Lopez, N.; Visagie, C.M.; Zapata, M. & Groenewald, J.Z. (2018). *Fungal Planet* description sheets: 785–

867. *Persoonia* - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi. 41(180): 238-417

- Crous, P.W.; Schumacher, R.K.; Akulov, A.; Thangavel, R.; Hernández-Restrepo, M.; Carnegie, A.J.; Cheewangkoon, R.; Wingfield, M.J.; Summerell, B.A.; Quaedvlieg, W.; Coutinho, T.A.; Roux, J.; Wood, A.R.; Giraldo, A. & Groenewald, J.Z. (2019). New and Interesting Fungi. 2. *Fungal Systematics and Evolution*. 3(78): 57-134
- Crous, P.W.; Shivas, R.G.; Wingfield, M.J.; Summerell, B.A.; Rossman, A.Y.; Alves, J.L.; Adams, G.C.; Barreto, R.W.; Bell, A.; Coutinho, M.L.; Flory, S.L.; Gates, G.; Grice, K.R.; Hardy, G.E.St.J.; Kleczewski, N.M.; Lombard, L.; Longa, C.M.O.; Louis-Seize, G.; Macedo, F.; Mahoney, D.P.; Maresi, G.; Martin-Sanchez, P.M.; Marvanová, L.; Minnis, A.M.; Morgado, L.N.; Noordeloos, M.E.; Phillips, A.J.L.; Quaedvlieg, W.; Ryan, P.G.; Saiz-Jimenez, C.; Seifert, K.A.; Swart, W.J.; Tan, Y.P.; Tanney, J.B.; Thu, P.Q.; Videira, S.I.R.; Walker, D.M. & Groenewald, J.Z. (2012). Fungal Planet description sheets: 128–153. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 29(56): 146-201
- Crous, P.W.; Wingfield, M.J.; Burgess, T.I.; Carnegie, A.J.; St.J. Hardy, G.E.; Smith, D.; Summerell, B.A.; Cano-Lira, J.F.; Guarro, J.; Houbroken, J.; Lombard, L.; Martín, M.P.; Sandoval-Denis, M.; Alexandrova, A.V.; Barnes, C.W.; Baseia, I.G.; Bezerra, J.D.P.; Guarnaccia, V.; May, T.W.; Hernández-Restrepo, M.; Stchigel, A.M.; Miller, A.N.; Ordoñez, M.E.; Abreu, V.P.; Accioly, T.; Agnello, C.; Agustincolmán, A.; Albuquerque, C.C.; Alfredo, D.S.; Alvarado, P.; Araújo-Magalhães, G.R.; Arauzo, S.; Atkinson, T.; Barili, A.; Barreto, R.W.; Bezerra, J.L.; Cabral, T.S.; Rodríguez, F. Camello; Cruz, R.H.S.F.; Daniëls, P.P.; da silva, B.D.B.; de Almeida, D.A.C.; de Carvalhojúnior, A.A.; Decock, C.A.; Delgat, L.; Denman, S.; Dimitrov, R.A.; Edwards, J.; Fedosova, A.G.; Ferreira, R.J.; Firmino, A.L.; Flores, J.A.; García, D.; Gené, J.; Giraldo, A.; Góis, J.S.; Gomes, A.A.M.; Gonçalves, C.M.; Gouliamova, D.E.; Groenewald, M.; Guéorguiev, B.V.; Guevara-Suarez, M.; Gusmão, L.F.P.; Hosaka, K.; Hubka, V.; Huhndorf, S.M.; Jadan, M.; Jurjevi; Kraak, B.; Kuera, V.; Kumar, T.K.A.; Kušan, I.; Lacerda, S.R.; Lamlertthon, S.; Lisboa, W.S.; Loizides, M.; Luangsa-Ard, J.J.; Lysková, P.; Maccormack, W.P.; Macedo, D.M.; Machado, A.R.; Malysheva, E.F.; Marinho, P.; Matoec, N.; Meijer, M.; Meši, A.; Mongkolsamrit, S.; Moreira, K.A.; Morozova, O.V.; Nair, K.U.; Nakamura, N.; Noisripoom, W.; Olariaga, I.; Oliveira, R.J.V.; Paiva, L.M.; Pawar, P.; Pereira, O.L.; Peterson, S.W.; Prieto, M.; Rodríguez-Andrade, E.; Rojodeblas, C.; Roy, M.; Santos, E.S.; Sharma, R.;

- Silva, G.A.; Souza-Motta, C.M.; Takeuchi-Kaneko, Y.; Tanaka, C.; Thakur, A.; Smith, M.T.H.; Tkalec, Z.; Valenzuela-Lopez, N.; Vanderkleij, P.; Verbeken, A.; Viana, M.G.; Wang, X.W. & Groenewald, J.Z. (2017). Fungal Planet description sheets: 625–715. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 39: 270–467
- Darriba, D.; Posada, D.; Kozlov, A.M.; Stamatakis, A.; Morel, B. & Flouri, T. (2020). ModelTest-NG: A New and Scalable Tool for the Selection of DNA and Protein Evolutionary Models. *Molecular Biology and Evolution*. 37(1): 291–294.
- Daub, M.E. & Ehrenshaft, M. (2000). The Photoactivated *Cercospora* Toxin Cercosporin: Contributions to Plant Disease and Fundamental Biology. *Annual Review of Phytopathology*. 38: 461-490
- de Hoog, G.S. & Gerrits van den Ende, A.H.G. (1998). Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous Basidiomycetes. *Mycoses*. 41: 183-189.
- Dianese, A.C.; Vale, H.M.M.; Souza, É.S.C.; Pereira-Carvalho, R.C.; Chaves, Z.M.; Câmara, P.E.A.S. & Dianese, J.C. (2014). New *Cercospora* species on *Jatropha curcas* in central Brazil. *Mycological Progress*. 13: 1069–1073
- Doyle, V. P.; Tonry, H. T.; Amsden, B.; Beale, J.; Dixon, E.; Li, H.; Szarka, D.; & Gauthier, N.W. (2019). First Report of *Cercospora* cf. *flagellaris* on Industrial Hemp (*Cannabis sativa*) in Kentucky. *Plant Disease*. 103(7): 1784.
- FAOSTAT. (2022). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Groenewald, J.Z.; Nakashima, C.; Nishikawa, J.; Shin, H.-D.; Park, J.-H.; Jama, A.N.; Groenewald, M.; Braun, U. & Crous, P.W. (2013). Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. *Studies in Mycology*. 75: 115-170.
- Groenewald, J.Z.; Nakashima, C.; Nishikawa, J.; Shin, H.-D.; Park, J.-H.; Jama, A.N.; Groenewald, M.; Braun, U. & Crous, P.W. (2013). Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. *Studies in Mycology*. 75: 115-170.
- Groenewald, M.; Groenewald, J.Z. & Crous, P.W. (2005) Distinct Species Exist Within the *Cercospora* *apii* morphotype. *Phytopathology*. 95(8): 951–959.
- Groenewald, M.; Groenewald, J.Z. & Crous, P.W. (2005). Distinct species exist within the *Guatimosim*, E.; Schwartsburd, P.B.; Barreto, R.W.; Crous, P.W. (2016). Novel fungi from an ancient niche: cercosporoid and related sexual morphs on ferns. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 37(36): 106-141
- Knight, N.L.; Vaghefi, N.; Kikkert, J.R.; Bolton, M.D.; Secor, G.A.; Rivera, V.V.; Hanson, L.E.; Nelson, S.C. & Pethybridge, S.J. (2019). Genetic Diversity and Structure

- in Regional *Cercospora beticola* Populations from *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* Suggest Two Clusters of Separate Origin. *Phytopathology*. 109(7): 1092-1101.
- Kozlov, A.M.; Darriba, D.; Flouri, T.; Morel, B. & Stamatakis, A. (2019). RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics*. 35(21): 4453–4455.
- Larsson, A. (2014). AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*. 30(22): 3276–3278.
- Lorena, I.R.; Rebecca, E.S.; Malaika, K.E.; Sarah, J.P.; Eva, H.S.; Ronnie de Jonge, Gary, A. S. & Melvin, D.B. (2020). *Cercospora beticola*: The intoxicating lifestyle of the leaf spot pathogen of sugar beet. *Molecular Plant Pathology*. 21(8): 1020-1041
- Margaret, E.D. & Marilyn, E. (2000). The Photoactivated *Cercospora* Toxin Cercosporin: Contributions to Plant Disease and Fundamental Biology. *Annual Review of Phytopathology*. 38: 461-490
- Meghvansi, M.K.; Khan, M.H, Gupta, R. & Veer, V. (2013). Identification of a new species of *Cercospora* causing leaf spot disease in *Capsicum assamicum* in northeastern India. 164(9): 894-902
- Miyuki, K.; Alisa, Z.; Hiroki, S. & Ken, K. (2021). Resistance to demethylation inhibitors in *Cercospora beticola*, a pathogen of sugar beet in Japan, and development of unique cross-resistance patterns. *European Journal of Plant Pathology*. 160: 39-52
- Nguanhom, J.; Cheewangkoon, R.; Groenewald, J.Z.; Braun, U.; To-Anun, C. & Crous P.W. (2015). Taxonomy and phylogeny of *Cercospora* spp. from Northern Thailand. *Phytotaxa*. 233 (1): 027–048
- Shivas, R.G.; Marney, T.S.; Tan, Y.P. & McTaggart, A.R. (2016). Novel species of *Cercospora* and *Pseudocercospora* (Capnodiales, Mycosphaerellaceae) from Australia. *Fungal Biology*. 119(5): 362-369
- Spanner, R.; Neubauer, J.; Heick, T.M.; Grusak, M.A.; Hamilton, O.; Rivera-Varas, V.; Ronnie de Jonge, Pethybridge, S.; Webb, K.M.; Leubner-Metzger, G.; Secor, G.A. & Bolton, M.D. (2022). Seedborne *Cercospora beticola* Can Initiate *Cercospora* Leaf Spot from Sugar Beet (*Beta vulgaris*) Fruit Tissue. *Phytopathology*. 112(5): 1016-1028.
- Vaghefi, N.; Kikkert, J.R.; Bolton, M.D.; Hanson, L.E.; Secor, G.A.; Nelson, S.C. & Pethybridge, S.J. (2017). Global genotype flow in *Cercospora beticola* populations confirmed through genotyping-by-sequencing. *PLoS ONE*. 12(10)
- Vaghefi, N.; Kikkert, J.R.; Bolton, M.D.; Hanson, L.E.; Secor, G.A.; Nelson, S.C. & Pethybridge, S.J. (2017). Global genotype flow in *Cercospora beticola*

- populations confirmed through genotyping-by-sequencing. PLoS ONE. 12(10): e0186488.
- Vaghefi, N.; Kikkert, J.R.; Hay, F.S.; Carver, G.D.; Koenick, L.B.; Bolton, M.D.; Hanson, L.E.; Secor, G.A. & Pethybridge, S.J. (2018). Cryptic diversity, pathogenicity, and evolutionary species boundaries in *Cercospora* populations associated with *Cercospora* leaf spot of *Beta vulgaris*. 122(4): 264-282
- Vaghefi, N.; Shivas, R.G.; Sharma, S.; Nelson, S.C. & Pethybridge, S.J. (2021). Phylogeny of cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae, Mycosphaerellales) from Hawaii and New York reveals novel species within the *Cercospora beticola* complex. *Mycological Progress*. 20: 261–287
- White, T.J.; Bruns, T.; Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR protocols: A Guide to Methods and Applications*. (Michael A. Innis, David H. Gelfand, John J. Sninsky, Thomas J. White, eds). Academic Press. U. S. A. :315-322
- 栢森 美如, 安岡 眞二. (2018). テンサイ褐斑病菌 (*Cercospora beticola*) における DMI 剤耐性菌の発生. *日本植物病理学会報*. 84(3): 173-264
- 栢森 美如. (2019). テンサイ褐斑病ー近年の薬剤耐性菌事情ー. *てん菜研究会報*. 59: 18-24
- 栢森 美如. (2019). 北海道における薬剤耐性テンサイ褐斑病菌について. *植物防疫*. 73(8): 478-485
- 国際砂糖機関(ISO). (2021). *About Sugar*
- 佐藤 三佳子, 山田 誠司, 山崎 敬之, 田中 静幸. テンサイ新品種「ゆきまる (KWS 5R16)」の特性. (2011). *北海道立農試集報*. 95: 56–60
- 斎藤 英俊, 安達 時雄, 内藤 浩克, 大竹 勝. (2010). テンサイ新品種「ゆきまる」の特性. *てん菜研究会報*. 51: 1–5.
- 勝本 謙. (2010). *日本産菌類集覧*. 日本菌学会関東支部
- 清水 基滋, 山名 利一, 野津 あゆみ, 池谷 美奈子, 栢森 美如, 小澤 徹, 安岡 眞二. (2015). テンサイ褐斑病菌 (*Cercospora beticola*) における QoI 剤耐性菌の発生. *日本植物病理学会報*. 81(3): 204-309
- 石井 英夫. (2004). 植物病原糸状菌の薬剤耐性に関する研究. *日本植物病理学会報*. 70(3): 149-151
- 道総研. (2023). 近年のてん菜品種の動向
- 日本植物病名データベース. (2023). https://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_pl_diseases.php
- 農研機構. (2011). 作物研究所:作物見本園 テンサイ | 農研機構 – NARO
- 農水省. (2022). 令和 4 年産てんさいの作付面積及び収穫量 (北海道)
- 農水省. (2023). 令和 5 砂糖年度における砂糖及び異性化糖の需給見通し (第 2 回)

北海道病害虫防除所. (2022). 病害虫発生現況調査

北海道病害虫防除所. (2024). 特に注意を要する病害虫

謝辞

本研究を行うにあたり、ご指導いただいた中島千晴教授に感謝いたします。また、貴重なサンプルを提供して頂いた北海道立総合研究機構の栢森美如氏に厚く御礼申し上げます。また、研究に関する知識や技術を教えて頂きました白水貴准教授に厚く御礼申し上げます。そして、日頃から相談にのって頂きました先輩、同期、後輩の方々に厚く御礼申し上げます。最後になりますが、研究に協力して頂きました皆様へ心から感謝の気持ちを申し上げます。たく、謝辞に代えさせていただきます。