

## 日本産 *Verticillium lecanii* 分離株の *Lecanicillium* 属菌への再分類

小池 正徳<sup>1\*</sup>・杉本 みどり<sup>2</sup>・相内 大吾<sup>1,3</sup>・  
長尾 英幸<sup>4</sup>・新屋 良治<sup>5</sup>・谷 昌幸<sup>1</sup>・倉持 勝久<sup>1</sup>

<sup>1</sup>帯広畜産大学環境総合科学講座

<sup>2</sup>メルシャン(株)医薬・化学品事業部

バイオ技術開発センター

<sup>3</sup>岩手大学大学院連合農学研究所

<sup>4</sup>日本大学生産工学部

<sup>5</sup>京都大学農学部微生物環境制御学研究室

Reclassification of Japanese Isolates of *Verticillium lecanii* to *Lecanicillium* spp. Masanori KOIKE,<sup>1\*</sup> Midori SUGIMOTO,<sup>2</sup> Daigo AIUCHI,<sup>1,3</sup> Hideyuki NAGAO,<sup>4</sup> Ryoji SHINYA,<sup>5</sup> Masayuki TANI<sup>1</sup> and Katsuhisa KURAMOCHI<sup>1</sup> <sup>1</sup>Department of Agro-Environmental Science, Obihiro University of Agriculture & Veterinary Medicine; Inada-cho, Obihiro, Hokkaido 080-8555, Japan. <sup>2</sup>Bio-technical Development Center Pharmaceuticals & Chemicals Div., Mercian Corporation; 3-1 Sanraku, Yatsushiro, Kumamoto 866-0017, Japan. <sup>3</sup>The United Graduate School of Agricultural Science, Iwate University; Morioka 020-8550, Japan. <sup>4</sup>College of Industrial Technology, Nihon University; 1-2-1 Izumicho, Narashino, Chiba 275-8575, Japan. <sup>5</sup>Department of Environmental Science and Technology, Kyoto University; Kyoto 606-8502, Japan. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 51: 234-237 (2007)

**Abstract:** Recently, *Verticillium lecanii* was transferred and subdivided into mainly *Lecanicillium lecanii*, *L. muscarium*, and *L. longisporum* according to morphological observations and PCR-RFLPs of ITS, mtDNA and  $\beta$ -tubulin. To clarify whether 65 isolates of *V. lecanii* of mainly Japanese isolates were identified as *Lecanicillium* spp., conidia size and the formation of secondary phialide formation were investigated under a light microscope, and DNA polymorphism in the  $\beta$ -tubulin gene of *V. lecanii* was analyzed by PCR-RFLP. These results indicated that the examined isolates belonged to *L. muscarium* (60 isolates) and *L. longisporum* (4 isolates), except for one isolate which alone did not belong to both *Lecanicillium* spp.

**Key words:** Conidia size; *Lecanicillium* spp.; PCR-RFLP; secondary phialide formation; *Verticillium lecanii*

不完全菌類(栄養胞子形成菌類, アナモルフ菌類)の *Verticillium* 属菌には, 植物に病気を引き起こす *Verticillium albo-atrum* や *V. dahliae*, 菌類に寄生性を示す *V. fungicola* と *V. lamellicola*, 線虫類に寄生性を示す *V. chlamydosporium*, *V. suchlasporium* などが含まれており, 基本的には腐生性の種が多いが, そのうちいくつかの種が何らかの生物に寄生性を示し, 農業だけではなく生態学的に重要な属である(Heale, 2000). このうち昆虫病理学上重要な昆虫寄生菌 *V. lecanii* は, 昆虫はもとより, 線虫類, 植物病原菌類にも寄生性を示すことが知られている(Heale, 2000). *Verticillium* 属菌は, 最近まで, 多様な寄生性を示すヘテロな集団の属と考えられ

ており, 形態学的に直立した分生子柄の上にフィアライドが輪生(verticillate)し, 完全世代が確認されていない属を便宜上一まとまりにしていた. しかし, 最近, 分子生物学的な技術が進歩し, 本菌をはじめ他の菌類や他の微生物においても種・属レベルの分類群が, 遺伝子の解析結果を踏まえて再構成され始めてきている(杉山, 2005).

旧 *V. lecanii* の属する菌株は, 形態学的, 分子生物学的な解析により, 基本的に *Lecanicillium lecanii*, *L. muscarium* および *L. longisporum* に再分類されることとなった(Zare and Gams, 2001a). また, *L. nodulosum* および *Simplicillium lanosonive* の2種も旧 *V. lecanii* から再分類されているが, 形態学的に容易に識別可能であるので分類上支障はない. 後述するが, 特に *L. lecanii*, *L. muscarium* および *L. longisporum* においては, それぞれの種の分生子の長さ・短径の長さの範囲が重なっているため, そのサイズが境界領域にある系統では新種への識別が困難である(Sugimoto et al., 2003a). さらに, 最近の国際学会などでは, 菌株の特性を調査せず, 今まで *V. lecanii* だった株がすべて *L. lecanii* に変更したと誤解している研究者が多く, 問題となっていた. 現に, 2000年以前にNIAS(農業生物資源データベース)に登録されている *V. lecanii* 株(MAFF)はすべて新種名 *L. lecanii* と登録されていることからも理解されよう.

著者らは, すでに日本の昆虫寄生性 *V. lecanii* 分離株のNIAS(農業生物資源データベース)分譲株, ATCC(American Type Culture Collection)分譲株および帯広市分離株を用いて, 分生子の特性, DNA多型, 栄養体親和性群の解析を報告した(Sugimoto et al., 2001, 2003a, b).

そこで本論文では, 旧 *Verticillium* 属を *Lecanicillium* 属菌やその他に細分するZareとGamsらの提案(Zare and Gams, 2001a; Gams and Zare, 2002)に基づき, 以前に解析した分離株に加え, 茨城県, 千葉県, 沖縄県で新たにアブラムシ類, オンシツコナジラミより分離した旧 *V. lecanii* を含め, 分生子の形態, DNA多型の調査を実施し, 従来の国内で登録されている *V. lecanii* 菌株に対応する *Lecanicillium* 属内の種の識別を実施した.

### 材料および方法

#### 1. 供試菌株

NIAS分譲菌株(著者らの分離株を含む)30株, ATCC(American Type Culture Collection)8株, 茨城県分離株4株, 千葉県分離株8株, 沖縄県分離株13株および, ZareとGamsにより *L. muscarium* と同定された製剤のMycotal®(マイコタール)と同じく *L. longisporum* と同定されたVertalec®(バータレック)の計65株を用いた(第1表). 残念ながら, 標準種としての *L. lecanii* は入手できなかったため, 文献データ(Gams and Zare, 2001)のみで比

日本応用動物昆虫学会誌(応動昆)第51巻 第3号: 234-237(2007)

http://odokon.org/

\*E-mail: koike@obihiro.ac.jp

2007年 1月22日受領(Received 22 January 2007)

2007年 5月16日登載決定(Accepted 16 May 2007)

DOI: 10.1303/jjaez.2007.234

較した。MAFF登録株も含め、*V. lecanii*の同定は青木（2003）の検索表に従い再度*V. lecanii*と同定した。いずれの株も実験に供する時は、斜面保存培地（Potato Dextrose Agar, Difco; 以下PDAと略）より単孢子分離して使用した。

## 2. 分生子およびフィアライドの形態観察

すべての菌株のコロニーをかき取りPDA培地上で $25 \pm 1^\circ\text{C}$ で2週間、前培養し、生育したコロニーの外側周辺部より、直径9mmのコルクボーラーでコロニー片を抜き取り、PDA培地を含んだ直径90mmシャーレ中央部に置床し、同条件で培養した。培養後、殺菌水10mlをコロニー上に滴下し、筆で表面を優しく撫ぜたあと回収し、光学顕微鏡下で、100個以上の分生子の長径および短径を計測した。フィアライドの形態（2次フィアライドの有無）は上記と同様にコルクボーラーで抜き取ったコロニー片を薄めのPDAプレート（直径90mm）上の中央に置床し、倒立顕微鏡により直接観察した。

## 3. DNA多型

DNA抽出、PCR反応、制限酵素処理については前報（Glass and Donaldson, 1995; Sugimoto et al., 2003a）に従った。PCR反応で増幅した遺伝子領域はイントロンを含む $\beta$ -チューブリン遺伝子（プライマーBt1a, Bt1b）で、増幅産物は540bpもしくは560bpであった（Glass and Donaldson, 1995）。これらのアンプリコンを制限酵素Alu I, Cfo I, Hinf IおよびHae IIIで処理し、消化したDNA断片のアガロース電気泳動を実施、EtBrにより染色、UV照射下DNA断片のサイズを測定した。

## 結果および考察

第1表に分生子の長径および短径を示した。表に掲載してある菌株は分生子の長径の長い順に並べた。長径の最大値はVertalec®で $6.84 \mu\text{m}$ 、最小値はATCC60540の $3.55 \mu\text{m}$ で各株の長径は連続的であった。短径の最大値はVertalec®で $2.96 \mu\text{m}$ 、最小値はOKNW-1（沖縄分離株）の $1.81 \mu\text{m}$ であった。長径と短径の測定値間に有意な相関はなかった（ $r=0.33$ ）。Zare and Gams（2001a）の論文では、*L. lecanii*、*L. muscarium*および*L. longisporum*の分生子のサイズ（長径×短径）はそれぞれ、 $2.5\text{--}3.5 \times 1.0\text{--}1.5 \mu\text{m}$ 、 $2.5\text{--}5.5(-6) \times 1.0\text{--}1.5(-1.8) \mu\text{m}$ および $5.0\text{--}10.5 \times 1.5\text{--}2.5 \mu\text{m}$ と記述されている。今回供試した菌株で、彼らの検索表における分生子のサイズが*L. lecanii*に該当する菌株は存在しなかった。また数値データでは表していないが、同じく上記の論文では、*L. lecanii*においては二次フィアライド（フィアライドからフィアライドが分岐する）の存在が普通（common）であるとされているが、今回の顕微鏡観察で、通常に二次フィアライドが観察された株は存在しなかった。

Gams and van Zaayen（1982）は植物、昆虫、線虫および菌類寄生を含むVerticillium属菌を形態的特徴により、暫定的なグループを行い、Verticillium節、Nigrescentia節、Prostrata節、Albo-erecta節とこれらの4節に含まれない節の計5つの節に分けた。その後、Gamsらのグループが、Verticillium属菌のProstrata節を中心に、従来の形態学的特徴に加え、リボゾームRNA遺伝子領域のITS（internal transcribed spacer）領域の解析（Zare et al., 2000）、

同じくリボゾームRNA遺伝子のSSU（small subunit）とLSU（large subunit）の系統関係の解析（Sung et al., 2001）、属の分類（Gams and Zare, 2001）、Prostrata節の旧*V. lecanii*を含む新属Lecanicillium属およびSimplicillium属の設立（Zare and Gams, 2001a）、旧*V. chlamyosporium*、*V. suchlasporium*などが含まれているPochonia属の検討（Zare et al., 2001）、Haptocillium属関係の検討（Zare and Gams, 2001b）し、Verticillium属菌Prostrata節の再分類を提案した（Gams and Zare, 2002; 徳増, 2003）。それ以降、世界的に昆虫寄生菌、線虫寄生菌に関しては、新属名が使用されはじめてきている。

彼らの論文（Zare and Gams, 2001a）では、旧*V. lecanii*に属している*L. lecanii*、*L. muscarium*および*L. longisporum*のDNA多型において、リボゾームRNA遺伝子のITS領域のRFLPではこの3種は識別できず、ミトコンドリアDNAの多型では新種間よりも新種内の多型が多く判別の基準がつきにくい。さらに、*L. lecanii*（11株）、*L. muscarium*（22株）および*L. longisporum*（5株）のプライマーBt1a, Bt1bによるPCR増幅産物は540bpである。制限酵素Alu I, Cfo I, Hinf IおよびHae III処理によるDNA断片長（bp）はそれぞれ*L. lecanii*では450・90, 280・200, 540または360・180, 540, *L. muscarium*は450・90, 280・200, 540または360・180, 360・180, *L. longisporum*においては、450・90, 280・200, 540または360・180, 400・140であり、これら3種はほぼ同じ多型を示しているが、Hae III断片のみが本研究の対象となるLecanicillium属3種間で判別が可能である。

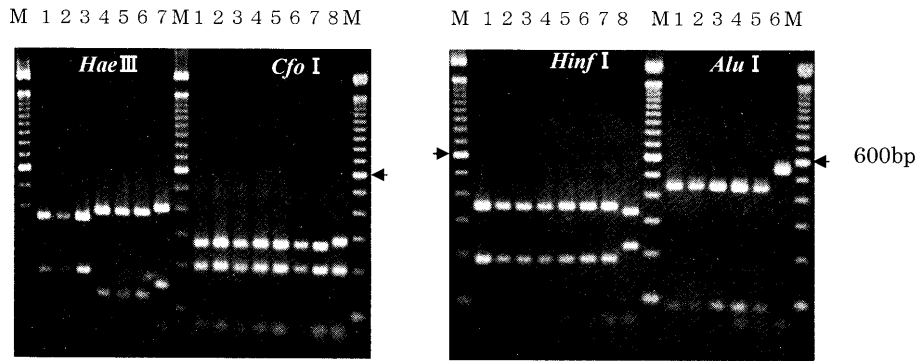
そこで、供試した65株のDNA多型を調べたところ、65株のうち64株の $\beta$ -チューブリン遺伝子領域の増幅産物のサイズは540bpで論文（Zare and Gams, 2001a）の報告と一致しており、1菌株（ATCC58712）のみ560bpであった。この1菌株以外の制限酵素処理断片長について、Alu Iは450・90bpの1パターン、Cfo Iは280・200bpの1パターン、Hinf Iは360・180bpの1パターンであったが、Hae IIIについては、360・180bp（*L. muscarium*のパターン）と400・140bp（*L. longisporum*のパターン）に分かれ、それぞれ61株と4株であった（第1図）。ATCC58712の制限酵素処理断片長は、Alu I：560bp（認識部位なし）、Cfo I：300・180bp、Hinf I：340・210bpおよび400・160bpであり（第1図）、このパターンはZare and Gams（2001a）の論文には未記載である。

以上の、分生子の形態とフィアライド形成の様式、 $\beta$ -チューブリン遺伝子の多型の結果から、現在国内で登録されている菌株にはZare and Gams（2001a）の*L. lecanii*に相当する菌株はなく、3株（MAFF235694, MAFF235690およびMAFF235696）を*L. longisporum*、3株以外およびATCC58712以外の60株を*L. muscarium*に分類させることを提案する（第1表）。また既存の報告に一致しなかったATCC58712（Lecanicillium sp.）について、本研究では種の決定に至らなかったが、この菌株の所属については別途新種記載を検討したい。今後、新たに旧*V. lecanii*の分類を行う時は、青木（2003）の検索表に加え、分生子のサイズ、二次フィアライドの頻度および $\beta$ -チューブリン遺伝子のHae III処理断片長によりLecanicillium属内での分類が可能である。

第1表 *Verticillium lecanii* 供試菌株の特徴と提案新属 (*Lecanicillium*)・種名

系統名	胞子長径 ±SD	胞子短径 ±SD	β-チューブリン 遺伝子多型 (Hae III 処理, bp)		提案種名	分離源 (分離地), 他
Vertalec	6.84±1.17	2.96±0.33	400	140	<i>L. longisporum</i>	コパート社 (オランダ)
MAFF235694	6.61±1.30	2.62±0.39	400	140	<i>L. longisporum</i>	モモアカアブラムシ (札幌)
MAFF235690	6.32±0.81	2.74±0.28	400	140	<i>L. longisporum</i>	モモアカアブラムシ (札幌)
MAFF235696	6.06±0.89	2.57±0.32	400	140	<i>L. longisporum</i>	モモアカアブラムシ (札幌)
MAFF235681	5.23±0.96	2.47±0.33	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (札幌)
MAFF235684	5.05±0.82	2.21±0.25	360	180	<i>L. muscarium</i>	ダイコンアブラムシ (札幌)
TVL-3	4.93±0.91	2.26±0.30	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (筑波)
MAFF238431	4.91±0.90	2.23±0.29	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (帯広)
MAFF235682	4.86±0.75	2.41±0.27	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (札幌)
MAFF235692	4.81±0.86	2.54±0.33	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (札幌)
ATCC22612	4.76±0.85	1.95±0.25	360	180	<i>L. muscarium</i>	コムギ黒さび病菌 (ドイツ)
MAFF235142	4.76±0.85	2.19±0.29	360	180	<i>L. muscarium</i>	ダイコンアブラムシ (札幌)
MAFF235144	4.69±0.77	2.21±0.26	360	180	<i>L. muscarium</i>	ダニ類 (札幌)
MAFF235688	4.65±0.90	1.84±0.29	360	180	<i>L. muscarium</i>	ダイコンアブラムシ (札幌)
MAFF235689	4.64±0.86	2.30±0.30	360	180	<i>L. muscarium</i>	ダイコンアブラムシ (札幌)
MAFF235700	4.63±0.81	2.48±0.33	360	180	<i>L. muscarium</i>	ワタアブラムシ (札幌)
ATCC22611	4.63±0.82	1.87±0.20	360	180	<i>L. muscarium</i>	冠さび病菌 (ドイツ)
MAFF235686	4.60±0.83	2.19±0.28	360	180	<i>L. muscarium</i>	ダイコンアブラムシ (札幌)
MAFF235691	4.59±0.77	1.93±0.22	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (札幌)
MAFF235687	4.56±0.89	2.19±0.28	360	180	<i>L. muscarium</i>	ダイコンアブラムシ (札幌)
MAFF238428	4.54±0.89	2.15±0.27	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (帯広)
MAFF238430	4.52±0.75	2.36±0.29	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (帯広)
TVL-6	4.47±0.90	2.34±0.28	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (筑波)
ATCC58907	4.47±0.82	1.95±0.26	360	180	<i>L. muscarium</i>	土壌 (アメリカ)
ATCC58909	4.43±0.88	2.11±0.31	360	180	<i>L. muscarium</i>	トウカエデ (アメリカ)
MAFF235680	4.41±0.84	2.21±0.27	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (札幌)
OKNW-7	4.37±0.81	2.02±0.23	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
MAFF238429	4.37±0.82	2.26±0.28	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (帯広)
ATCC58712	4.37±0.71	1.93±0.27	410	150	<i>Lecanicillium</i> sp.	黄さび病菌 (西ドイツ)
ATCC46578	4.36±0.64	2.02±0.23	360	180	<i>L. muscarium</i>	未記載
MAFF235685	4.36±0.79	1.84±0.24	360	180	<i>L. muscarium</i>	ダイコンアブラムシ (札幌)
MAFF425193	4.35±0.87	2.26±0.34	360	180	<i>L. muscarium</i>	クロマツ (香川)
Mycotal	4.32±0.82	2.04±0.22	360	180	<i>L. muscarium</i>	コパート社 (オランダ)
MAFF238427	4.30±0.74	2.42±0.34	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (帯広)
MAFF235679	4.28±0.71	2.31±0.30	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (札幌)
OKNW-12	4.25±0.78	2.04±0.21	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
MAFF238426	4.24±0.77	2.26±0.28	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (帯広)
OKNW-5	4.22±0.68	2.05±0.22	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
ATCC26854	4.20±0.66	1.92±0.21	360	180	<i>L. muscarium</i>	カイガラムシ類 (チェコ)
MAFF235697	4.19±0.79	2.34±0.27	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (札幌)
MAFF235698	4.15±0.56	2.00±0.25	360	180	<i>L. muscarium</i>	ワタアブラムシ (札幌)
TTVL-8	4.13±0.59	2.19±0.27	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (館山)
OKNW-10	4.12±0.75	2.00±0.21	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
TVL-2	4.12±0.72	2.15±0.25	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (筑波)
OKNW-13	4.10±0.63	2.17±0.26	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
MAFF235140	4.08±0.73	2.11±0.31	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (札幌)
OKNW-2	4.06±0.75	1.89±0.26	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
ATCC58908	4.05±0.65	1.99±0.22	360	180	<i>L. muscarium</i>	トウモロコシ (アメリカ)
OKNW-3	4.04±0.68	1.88±0.22	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
OKNW-1	3.99±0.59	1.81±0.19	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
OKNW-8	3.98±0.62	2.10±0.25	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
OKNW-9	3.97±0.69	2.11±0.25	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
TTVL-3	3.97±0.73	2.10±0.20	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (館山)
TTVL-4	3.96±0.58	2.33±0.27	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (館山)
TTVL-7	3.95±0.67	2.23±0.22	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (館山)
OKNW-6	3.94±0.57	2.04±0.19	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
MAFF238425	3.93±0.79	1.54±0.21	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (帯広)
TTVL-1	3.92±0.66	2.19±0.19	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (館山)
OKNW-11	3.91±0.62	2.00±0.21	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
TTVL-9	3.86±0.58	2.18±0.28	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (館山)
TVL-1	3.86±0.79	2.24±0.56	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (筑波)
TTVL-6	3.84±0.40	2.29±0.19	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (館山)
MAFF235141	3.82±0.74	2.18±0.25	360	180	<i>L. muscarium</i>	モモアカアブラムシ (札幌)
TTVL-5	3.75±0.55	2.47±0.32	360	180	<i>L. muscarium</i>	オンシツコナジラミ (館山)
OKNW-4	3.74±0.63	2.03±0.23	360	180	<i>L. muscarium</i>	アブラムシ類 (沖縄)
ATCC60540	3.55±0.72	1.98±0.30	360	180	<i>L. muscarium</i>	カ類 (アメリカ)

各系統を長径の平均値の大きい順に並べた。



第1図  $\beta$ -チューブリン遺伝子増幅領域のPCR-RFLP

*Hae* III, 1: Mycotol, 2: MAFF238431, 3: MAFF235684, 4: Vertalec, 5: MAFF235694, 6: MAFF235690, 7: ATCC58712.  
*Cfo* Iと *Hinf* I, 1: Mycotol, 2: MAFF238431, 3: MAFF235684, 4: ATCC22612, 5: Vertalec, 6: MAFF235694, 7: MAFF235690, 8: ATCC58712. *Alu* I, 1: Mycotol, 2: MAFF238431, 3: MAFF235684, 4: Vertalec, 5: MAFF235694, 6: ATCC58712. Mは100 bp ラダーマーカ、矢印は600 bpを示す。

### 引用文献

- 青木襄児 (2003) 改訂昆虫病原菌の検索. 全国農村教育協会, 東京. 323 pp. [Aoki, J. (2003) *Keys to the Taxa of Entomopathogenic Fungi*. Zenkoku Nouson Kyouiku Kyoukai, Tokyo. 323 pp.]
- Gams, W. and A. van Zaayen (1982) *Nether. J. Plant Pathol.* 94: 123-148.
- Gams, W. and R. Zare (2001) *Nova Hedwigia* 72: 329-337.
- Gams, W. and R. Zare (2002) *Mycol. Res.* 106: 129-131.
- Glass, N. L. and G. C. Donaldson (1995) *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1323-1330.
- Heale, J. B. (2000) In *Advances in Verticillium Research and Disease Management* (E. C. Tjamos, R. C. Rowe, J. B. Heale and D. R. Fravel eds.). APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 1-14.
- Sugimoto, M., M. Koike and H. Nagao (2001) *Phytoparasitica* 29: 413-420.
- Sugimoto, M., M. Koike, N. Hiyama and H. Nagao (2003a) *J. Invertebr. Pathol.* 82: 176-187.
- Sugimoto, M., M. Koike, H. Nagao, K. Okumura, M. Tani and K. Kutamochi (2003b) *Phytoparasitica* 31: 450-457.
- 杉山純多 (編) (2005) 菌類・細菌・ウイルスの多様性と系統. 裳華房, 東京. 528 pp. [Sugiyama J. (ed.) (2005) *Diversity and Evolution of Fungi, Bacteria and Viruses*. Shokabo Publishing Co., Ltd., Tokyo. 528 pp.]
- Sung, G. H., J. W. Spatafora, R. Zare, K. T. Hodge and W. Gams (2001) *Nova Hedwigia* 72: 311-328.
- 徳増征二 (2003) 日菌報 44: 22-24. [Tokumasu, S. (2003) *Nippon Kingakkai Kaiho* 44: 22-24.]
- Zare, R. and W. Gams (2001a) *Nova Hedwigia* 73: 1-50.
- Zare, R. and W. Gams (2001b) *Nova Hedwigia* 73: 271-292.
- Zare, R., W. Gams and A. Culham (2000) *Nova Hedwigia* 71: 465-480.
- Zare, R., W. Gams and H. C. Evans (2001) *Nova Hedwigia* 73: 51-86.