

健全および赤かび病感染コムギ小穂における *Pseudomonas* 属細菌の特異的生息性
Specific Inhabitancy of *Pseudomonas* spp. on Healthy and Fusarium Head Blight-Infested Spikelets of Wheat
Heads

吉田重信*・大場淳司**・梁 英梅*・小板橋基夫*・對馬誠也***

Shigenobu Yoshida, Atsushi Ohba, Yin-Mei Liang, Motoo Koitabashi, Seiya Tsushima

1. はじめに

コムギ赤かび病は、穂が褐変枯死し、穀粒の収量を引き起こす病害として知られている。病原菌は *Fusarium graminearum* 等の複数の *Fusarium* 属糸状菌であり (O'Donnell et al., 2000・2004)、デオキシニバレノールやニバレノール等のマイコトキシンを感染組織中に生産し、食品の安全性の観点で問題となることが知られている。本邦における本病の防除には、一般に化学殺菌剤が用いられているが (Nakajima et al., 2008)、拮抗細菌等を用いた生物的防除法は開発されていない。植物病害に対する生物的防除法は、環境保全型農業の推進に貢献することから、本病に対しても新たな開発が必要となっている。

生物的防除法に用いられる細菌は、その定着性や増殖性 (Morris and Monier, 2003; Rudrappa et al., 2008) の観点から、防除の対象となる植物種あるいは部位から探索することが重要である (Weller, 1988)。このため、本病の防除に関する候補細菌についても、コムギの穂から探索することが効果的であり、この観点に基づき、実際にコムギの穂から本病に対する拮抗微生物を探索・分離した例がこれまでに知られている (Chan et al., 2003; Khan et al., 2001; Lutz et al., 2003; Nourozian et al., 2006)。一方、植物体上における拮抗細菌の働きは、他の常在している細菌によっても影響を受けることから、生息する細菌の群集構造の解明も拮抗細菌探索のための基本的情報として重要である。しかし、コムギの穂に生息する細菌群集の特徴に着目した拮抗細菌の探索は行われておらず、その特徴の解明に基づく探索で、新たな拮抗細菌が得られる可能性がある。

そこで本研究では、本病の生物的防除の基礎情報として、コムギの穂に生息する細菌群集の特徴を明らかにし、その中で特徴的に生息する細菌について本病の拮抗細菌としての有効性を明らかにすることを目的とした。具体的には、コムギ穂の健全小穂および赤かび病感染小穂に特徴的な細菌種を調べ、コムギの病原細菌や拮抗細菌として知られる *Pseudomonas* 属細菌の中に各小穂に特異的に生息する系統を見出した。そこで、それらの系統について、植物への定着に重要とされるバイオフィルム形成能、コムギ小穂組織上での定着様式および赤かび病菌 (*F. graminearum*) に対する生育抑制活性を調べた。なお、明らかにした各細菌株の分類学的情報および機能性情報については、微生物インベントリー (microForce) に蓄積し、その充実化を図った。

*生物生態機能研究領域, **宮城県農業・園芸総合研究所, ***農業環境インベントリーセンター

*Environmental Biofunction Division, **Miyagi Prefectural Institute of Agriculture and Horticulture

***Natural Resources Inventory Center

インベントリー, 第10号, p10-19 (2012)

2. 材料と方法

1) コムギ小穂の採取および生息細菌の分離

細菌の分離に用いたコムギは、2005年に宮城県古川農業試験場内の圃場で栽培された品種「ゆきちから」とした。播種237日後（開花約2週間後）に、赤かび病に感染した穂（発病小穂率10-30%）10本を任意に選定採集後、それらから感染小穂および近傍の健全小穂を一つずつ採取した（図1）。各小穂を5mlの10mMリン酸緩衝液（pH7.0）中で磨砕後、希釈平板法によりシクロヘキシミド50ppm含有のNA培地（Difco社製）平板上に塗抹した。25℃で5日間培養後、平板上に出現した細菌株コロニーを各小穂あたり24菌株単コロニー分離した。

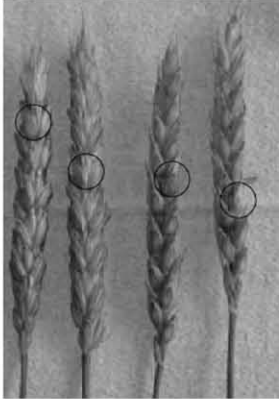


図1. 細菌の分離に供した各コムギ穂。
丸印は赤かび病感染小穂を表す。

2) 分離菌株の分類学的位置の解明および系統解析

分離菌株の分類学的位置の解明は、Shinohara et al. (2011)の方法に従い、16SrRNA遺伝子の塩基配列の解析に基づいて行い、各菌株の分類学的情報を微生物インベントリー（microForce）に蓄積した。また、主要な構成細菌属であった *Pseudomonas*（計93菌株）および *Sphingomonas*（計120菌株）等の系統解析を行うため、これら各菌株の塩基配列を、Shinohara et al. (2011)の方法に従い Clustal X 1.83によりアライメント後、同解析ソフトのNJ法により系統樹を作成した。作成の際には *Acetobacter acetii* (X74066)および *Pseudomonas agarici* (Z76652)の同配列を系統樹のアウトグループとして用いた。

3) バイオフィルムの形成能の評価

Pseudomonas 属細菌の系統樹の各クラスターから任意に4-6菌株を選定し、ポリ塩化ビニル（PVC）製96ウェルプレート上でのバイオフィルム形成能の評価を既報（Yoshida et al., 2009）に準じて行った。すなわち、圃場より採取したコムギ穂を蒸留水に入れ（生重40g/L）、オートクレーブ煮沸して作成した穂抽出液（WE）で振とう培養して作成した細菌懸濁液（OD₅₉₅ 約0.4）5ulを100ulのWEを入れた各ウェルに接種し、1日培養後のバイオフィルムの形成程度をクリスタルバイオレット染色により評価した。

4) コムギ小穂組織上での定着様式の評価

Pseudomonas 属細菌の系統樹の各クラスターの代表菌株（P-26, P-94, P-292, P-340）を nutrient broth（Difco）で25℃で1日振とう（120 rpm）培養後、遠心洗浄（9000 x g, 5分間）して細菌懸濁液（OD₅₉₅ 約0.2の100倍希釈液）を調製した。3ulの各細菌懸濁液を、温室内で育成し採取したコムギ（品種「農林61号」）小穂の外穎裏面に滴下した。さらに、赤かび病菌の存在の影響を見るために、オートミール培地上の菌叢から常法に基づき調製した *F. graminearum* H3株の分生子懸濁液（約6 x 10⁵ 個/ml）を等量共接種した外穎も用意した。接種後は、25℃の湿室内に3日間保持し、接種外穎上に

における各細菌細胞の定着様式を、既報 (Yoshida et al., 2009) の手順に従い、走査型電子顕微鏡 (JEOL JSM-5610LV) で観察した。

5) *F. graminearum* の菌糸生育に対する抑制活性の評価

上述の3) で用いた *Pseudomonas* 属細菌の菌株を供試し、PPGA (200 g potato, 5 g peptone, 5 g glucose, 3 g Na₂HPO₄·12H₂O, 0.5 g KH₂PO₄·6H₂O, 3 g NaCl, 15 g agar, distilled water 1 liter) 平板培地で培養して得られた菌体を遠心洗浄後、細菌懸濁液 (OD₅₉₅ = 約 4.0) を調製した。調製した各細菌懸濁液 1ml を約 55°C に冷ました 10ml の PPGA 培地に混濁し平板に流し込み、固化後に直径 5mm のコルクボーラーで培地ごと打ち抜いた *F. graminearum* H3 株の菌叢先端部を置床した。置床後は 25°C 暗黒下で 5 日間培養し、PPGA 平板上に生育した H3 株の菌叢半径を計測した。生育抑制活性は、細菌懸濁液を混濁しない PPGA 平板培地上の菌叢半径に対する相対半径長で評価した。

3. 結果

1) 分離菌株の分類学的位置の解明

10 本のコムギ穂由来の健全および赤かび病罹病小穂から、生息細菌を合計 457 菌株を分離した。16SrRNA 遺伝子の塩基配列に基づく分類学的解析の結果、これらの菌株は、11 属のグラム陰性菌、5 属のグラム陽性菌で構成されることが明らかとなった (表 1)。また、その属数を健全小穂と感染小穂で比較すると、穂によって変動は見られるものの、感染小穂で菌の属数および多様性指数が一般に減少する傾向が認められた。健全および感染小穂共通の優占菌としては、*Sphingomonas*、*Pseudomonas*、*Arthrobacter* が分離され、感染小穂ではさらに *Curtobacterium* が優占的に分離された。

表 1. 健全および赤かび病感染小穂から分離された細菌株の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく分類学的位置及びその分離割合

Head number	Healthy spikelet				Infested spikelet			
	Number of bacterial isolates obtained	Genus ^a	Homology (%)	Proportion (%)	Number of bacterial isolates obtained	Genus	Homology (%)	Proportion (%)
1	24	<i>Pseudomonas</i>	97-100	79.1	24	<i>Arthrobacter</i>	88-100	62.5
		<i>Arthrobacter</i>	99-100	12.5		<i>Burkholderia</i>	96-100	20.8
		<i>Bur / Pse^b</i>	99	0.8		<i>Bur / Pse</i>	93-97	12.5
						<i>Pseudomonas</i>	99	4.1
2	24	<i>Pseudomonas</i>	97-100	58.3	24	<i>Arthrobacter</i>	89-100	54.1
		<i>Sphingomonas</i>	97-99	37.5		<i>Burkholderia</i>	96-99	29.1
		<i>Bacillus</i>	90	4.1		<i>Bur / Pse</i>	98-99	12.5
						<i>Bacillus</i>	99	4.1
3	24	<i>Sphingomonas</i>	97-99	87.5	24	<i>Curtobacterium</i>	99-100	45.8
		<i>Arthrobacter</i>	98-99	12.5		<i>Arthrobacter</i>	98-100	33.3
						<i>Methylobacterium</i>	97	4.1
						<i>Burkholderia</i>	90	4.1
						<i>Frigoribacterium</i>	96	4.1
						<i>Sphingomonas</i>	97	4.1
						<i>Friedmanniella</i>	98	4.1
4	24	<i>Sphingomonas</i>	98-100	41.6	24	<i>Pseudomonas</i>	99-100	91.6
		<i>Dyella</i>	96	25.0		<i>Erwinia</i>	97-98	8.3
		<i>Pseudomonas</i>	98-100	16.6				
		<i>Curtobacterium</i>	98-99	8.3				
		<i>Luteibacter</i>	97	4.1				
		<i>Rhodanobacter</i>	99	4.1				
5	24	<i>Sphingomonas</i>	96-99	25.0	24	<i>Curtobacterium</i>	98-99	75.0
		<i>Arthrobacter</i>	99	25.0		<i>Bacillus</i>	95-100	8.3
		<i>Curtobacterium</i>	97-98	25.0		<i>Methylobacterium</i>	97	8.3
		<i>Bur / Pse</i>	99-100	12.5		NI		8.3
		<i>Pse / Sph^c</i>	99	4.1				
		<i>Bacillus</i>	98	4.1				
		<i>Methylobacterium</i>	96	4.1				
6	8	<i>Arthrobacter</i>	99-100	62.5	24	<i>Pseudomonas</i>	98-100	95.8
		<i>Sphingomonas</i>	96-99	37.5		<i>Hafnia</i>	99	41.6
7	24	<i>Arthrobacter</i>	89-100	50.0	24	<i>Arthrobacter</i>	90-100	79.1
		<i>Bur / Pse</i>	95-99	25.0		<i>Sphingomonas</i>	97-99	8.3
		<i>Burkholderia</i>	98-99	12.5		<i>Moraxella</i>	93	4.1
		<i>Sphingomonas</i>	89-94	8.3		<i>Paenibacillus</i>	93	4.1
		<i>Curtobacterium</i>	98	4.1		NI		4.1
8	24	<i>Sphingomonas</i>	97-99	37.5	24	<i>Sphingomonas</i>	94-99	58.3
		<i>Arthrobacter</i>	99-100	25.0		<i>Arthrobacter</i>	94-100	29.1
		<i>Bur / Pse</i>	96-100	12.5		<i>Bur / Pse</i>	98	4.1
		<i>Burkholderia</i>	99	8.3		<i>Rhodococcus</i>	100	4.1
		<i>Staphylococcus</i>	99-100	8.3		<i>Staphylococcus</i>	99	4.1
		<i>Dyella</i>	98	4.1				
		<i>Pantoea</i>	99	4.1				
9	17	<i>Sphingomonas</i>	98-100	52.9	24	<i>Sphingomonas</i>	92-100	79.1
		<i>Arthrobacter</i>	83-100	29.4		<i>Arthrobacter</i>	98-100	20.8
		<i>Burkholderia</i>	96-98	11.7				
		<i>Bacillus</i>	98	5.8				
10	24	<i>Sphingomonas</i>	98-99	54.1	24	<i>Pseudomonas</i>	99-100	50.0
		<i>Bur / Pse</i>	96-99	16.6		<i>Sphingomonas</i>	99-100	29.1
		<i>Burkholderia</i>	96-98	12.5		<i>Arthrobacter</i>	87-99	12.5
		<i>Curtobacterium</i>	89-99	8.3		<i>Curtobacterium</i>	100	4.1
		<i>Arthrobacter</i>	85	4.1		NI		4.1
		<i>Methylobacterium</i>	99	4.1				

2) 優占菌群の系統解析

これら優占菌に属する菌株の、16S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく系統解析を各属ごとに行った結果、グラム陰性菌の *Sphingomonas* および *Pseudomonas* 属菌では、健全小穂由来の菌株および感染小穂由来の菌株にそれぞれ特異的なクラスターが形成された。すなわち、*Pseudomonas* 属菌では、穂番号 1、2 から分離された菌株はほとんど健全小穂由来であったが、これらはクラスターAに属する一方で、感染小穂由来の菌株の多くはクラスターBおよびCに属し、クラスターBは穂番号6、クラスターCは穂番号4から分離された菌株で構成されていた(図2)。また、穂番号10か

ら分離された菌株は、小穂の由来に関係なく一つのクラスター(D)を形成した。塩基配列の相同性から、クラスターAに属する菌株は *Pseudomonas avellanae*、*P. cannabina* および *P. syringae* に関連し、クラスターBでは *P. savastanoi*、クラスターCでは *P. poae* および *P. trivialis*、クラスターDでは *P. graminis* に関連していた。

また、*Sphingomonas* 属菌においても、穂番号10から分離された菌株では明確ではなかったものの、穂番号1~9の健全小穂由来の菌株群と感染小穂由来の菌株群では明確に異なるクラスターを形成していた。一方、グラム陽性の優占菌群であった *Arthrobacter* および *Curtobacterium* では、健全小穂由来の菌株群と感染小穂由来の菌株群とで異なるクラスターの形成は認められなかった。

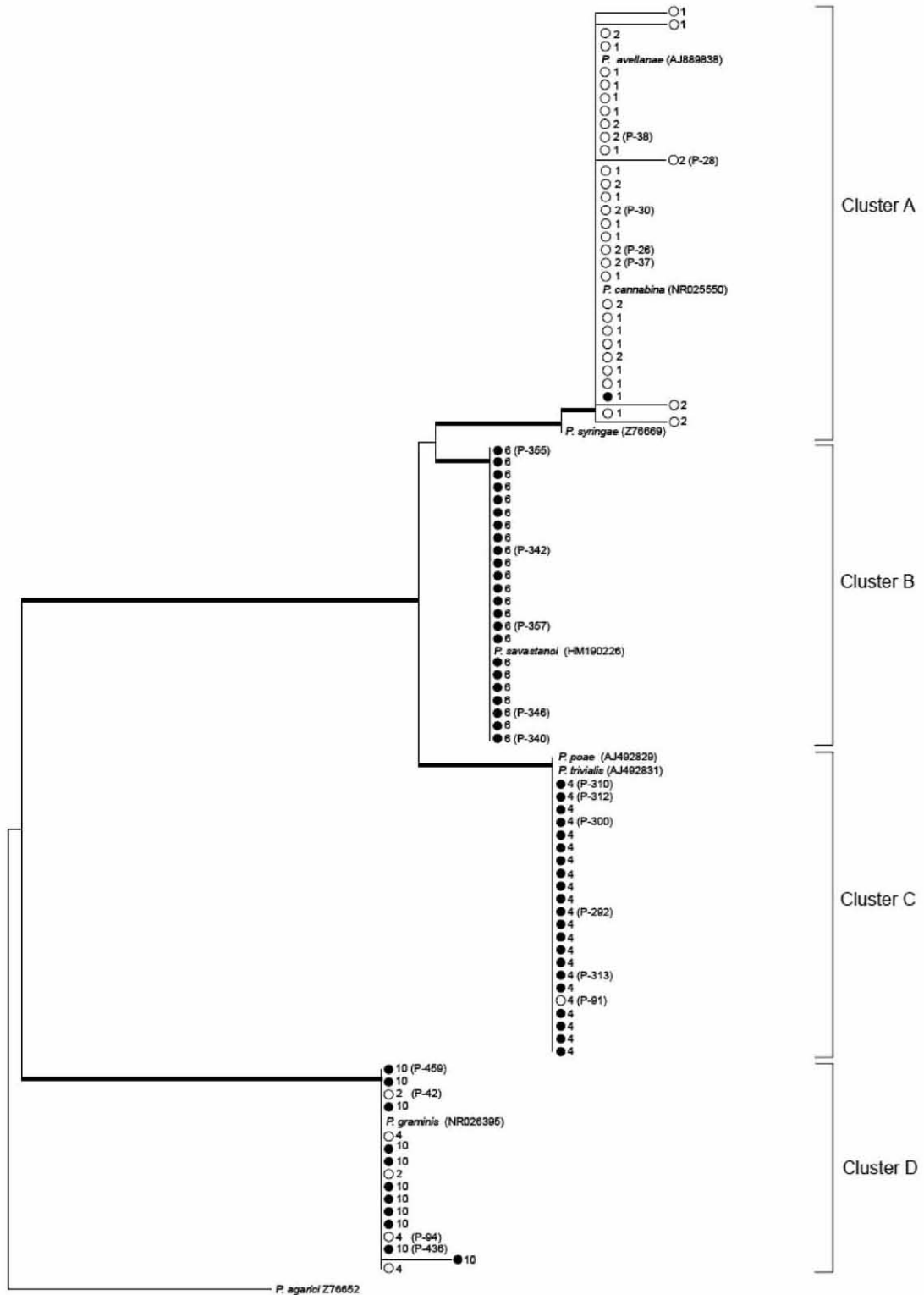


図2. 健全および感染コムギ小穂から分離された *Pseudomonas* 属細菌の 16S rDNA 遺伝子の塩基配列に基づく系統樹 (NJ 法)。○および●はそれぞれ健全な小穂および赤かび病に感染した小穂由来の菌株 NJ を表し、数字はその菌株が分離源となった穂の番号を表す。以降の試験に供試した代表菌株の菌株番号は括弧内に記した。

3) バイオフィルムの形成能の評価

Pseudomonas 属細菌の各クラスターに属する菌株のバイオフィルム形成程度を調べた結果、クラスターA に属する健全小穂由来の菌株では、バイオフィルムの形成が認められたのに対し、クラスターB およびC に属する感染小穂由来の菌株では、形成はほとんど認められなかった (図3)。一方、クラスターD に属する菌株群のバイオフィルム形成は、中程度で認められた。

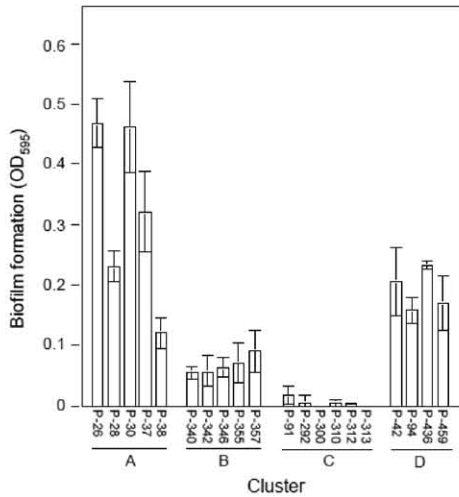


図3. 各クラスター (A~D) に属する *Pseudomonas* 属菌株の PVC ウェル表面上に形成されるバイオフィルム量。バイオフィルム量はクリスタルバイオレット染色による比色定量により求めた。バーは3回の試験の標準誤差を表す。

4) コムギ小穂組織上での定着様式の評価

系統樹上の各クラスターに属する *Pseudomonas* 属菌株の、コムギ小穂組織上での定着様式を観察した結果、クラスターA に属する P-26 株では、細胞が高密度で小穂組織上に定着していた (図4a) のに対し、クラスターB およびC に属する P-340 および P-292 では、細胞数は少なく観察され、低密度で定着していた (図4b,c)。クラスターD に属する P-94 では、両者の中間程度の密度で定着していた (図4d)。

一方、赤かび病菌と共接種された小穂上では、P-26 株では単独接種と同様に高密度で細菌細胞の定着が確認され (図4e)、P-94 でも単独接種と同程度の定着様式が観察された (図4h) が、P-340 および P-292 では、細菌の単独接種とは異なり赤かび病菌の菌糸上あるいはそれに沿う状態で細菌細胞が高密度に定着していた (図4f,g)。特に P-340 が定着した菌糸では、細胞質の漏出によると考えられる菌糸の崩壊現象も観察された (図4f)。

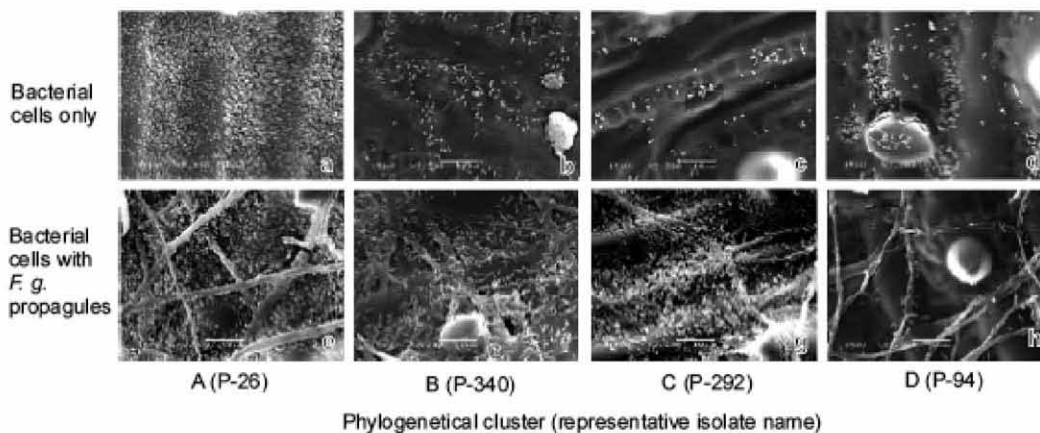


図4. 各クラスター (A~D) に属する *Pseudomonas* 菌株の単独接種 (上段) および赤かび病菌との共接種 (下段) によるコムギ小穂上での定着様式。

5) *F. graminearum* の菌糸生育に対する抑制活性の評価

系統樹上の各クラスターに属する *Pseudomonas* 属菌株の、*F. graminearum* の菌糸生育に対する抑制活性を調べた結果、抑制程度はクラスター毎に異なる傾向が見られた (図5)。すなわち、クラスターBに属する菌株では、他のクラスターに属する菌株よりも抑制活性が高い傾向を示し、対照の20-40%程度まで赤かび病菌の生育を抑制した。また、クラスターCに属する菌株でも、約50%程度まで生育抑制を示したのに対し、クラスターAおよびDに属する菌株では、高い抑制活性は認められなかった。

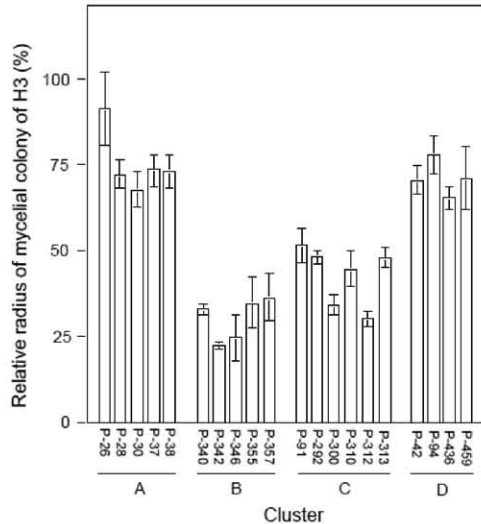


図5. 各クラスター (A~D) に属する *Pseudomonas* 属菌株の赤かび病菌に対する生育抑制活性。各細菌懸濁液を混濁した培地上での菌叢半径を測定し、未混濁培地上での生育半径に対する相対値を算出。バーは3回の試験の標準誤差を表す。

4. 考察

16SrRNA 遺伝子の塩基配列に基づく属レベルの解析により、コムギ穂の健全および赤かび病感染小穂に生息する細菌群集は、培養可能な種類に限って見た場合でも異なっていることが明らかになった。葉圏細菌において、植物病原菌の感染インパクトによる群集構造の相違については、キュウリ葉やマサキ葉等で知られている (Suda et al., 2009) が、コムギの赤かび病に感染した状態での知見は初めてである。しかし、それらの相違のパターンは、一般には感染小穂では属数が減少する傾向はあったものの、その内訳は供試した10本の穂によって異なっていた。これは、細菌の群集構造の変遷の形態が穂ごとに異なっていることに起因していると考えられる (Kinkel et al., 1997)。

このように属レベルの群集構造の相違のパターンには、一定の規則性や特徴を見いだせなかったが、優占菌であった *Pseudomonas* および *Sphingomonas* 属細菌の菌株の系統解析を行った結果では、健全小穂あるいは感染小穂のみに特異的に生息しうる系統の存在が明らかとなった。このことは、少なくとも *Pseudomonas* および *Sphingomonas* 属細菌の生息性の観点でみると、属レベルよりさらに細かい細菌の区分がその特徴付けには必要であることを示唆している。こうした葉圏細菌の特性と rRNA 遺伝子に基づく系統解析によるグルーピングとの関連は他でも知られており、Enya et al. (2007a, b) は、トマト葉圏に生息する *Bacillus* および *Pseudomonas* 属細菌の系統樹上の特定のグループが、各種トマト病害に対して発病抑制効果を持つことを見出している。

これら健全および感染小穂にそれぞれ生息する *Pseudomonas* 属菌株の特異性の要因を解明するため、各クラスターに属する菌株の PVC ウェル上でのバイオフィーム形成能および小穂外穎部での定着様式を評価した。その結果、健全小穂由来の菌株 (クラスターA) では、高いバイオフィーム形成能および外穎における高密度の定着が確認され、一方で、感染小穂由来の菌株 (クラスター

BおよびC)では、バイオフィーム形成能が低く、外穎での定着程度も低かった。このことから、バイオフィーム形成能と小穂外穎での定着程度は関連しており、健全小穂由来の菌株の生息性は健全コムギ組織上での高い定着能に起因していることが考えられる。また、今回供試した穂の健全小穂では、赤かび病菌の感染が起きていないという観点に立つと、これらの健全小穂由来の菌株は、赤かび病の発生に抑止的に機能している可能性も考えられる。今回の試験では、これらの菌株の実際の赤かび病菌に対する生育抑制活性はあまり高くなかったことから、健全小穂由来の菌株は、それらの高い定着性に基づく栄養競合等により病原菌の定着を防いで発病を抑止する可能性が考えられる。Morris and Monier (2003)は、葉圏における微生物の集合体は、異種微生物との競合等に重要であると論じている。本病についても、小穂組織に高い定着能を有するこれらの菌株による実際の発病抑制活性を更に検討していく必要がある。

また、クラスターBおよびCに属する感染小穂由来の菌株は、単独では小穂外穎上での定着程度が低かったものの、赤かび病菌と共接種することで定着程度が高まることが明らかとなった。このことは、これらの菌株は赤かび病菌と高い親和性があり、その結果定着が促進されることを示唆している。さらに、特にクラスターBの菌株を共接種された赤かび病菌の菌糸では、菌糸が崩壊していることが観察されたこと、また、これらの菌株が実際に赤かび病菌の菌糸生育を強く抑制したことから、この親和性は病原菌にとっては阻害的であると考えられる。菌糸に定着する細菌を利用した生物的防除は、Cuong et al. (2011)によっても報告されているが、本細菌もこうした防除法に役立つ特性を持っている可能性がある。さらに、クラスターBおよびCに属する菌株は、*P. savastanoi*、*P. poae* および *P. trivialis* などに関連する種であることが明らかとなったが、これらの種はいずれも蛍光性 *Pseudomonas* であることが知られている。蛍光性 *Pseudomonas* の幾つかは、植物病害の発病抑制効果を持つことが知られており、赤かび病に対しても同様な発病抑制効果を示す可能性がある。具体的には、これらの菌株の赤かび病菌に対する親和性を活用して、本病の初期感染時期である開花期に穂へ処理することで、病原菌の2次伝搬を抑制し、発病を軽減できる可能性がある。今後は、発病小穂あるいは健全小穂に特異的に生息するこれらの *Pseudomonas* 属菌株の実際の発病抑制効果を圃場レベルで評価し、本病に対する生物的防除の実現可能性について検討する必要がある。

引用文献

- 1) Chan YK, McCormick WA, Seifert KA (2003) Characterization of an antifungal soil bacterium and its antagonistic activities against *Fusarium* species. *Can J Microbiol* 49: 253-262.
- 2) Cuong ND, Nicolaisen MH, Sorensen J, Olsson S (2011) Hyphae-colonizing *Burkholderia* sp. - a new source of biological control agents against sheath blight disease (*Rhizoctonia solani* AG1-IA) in rice. *Microbial Ecol* 62: 425-434.
- 3) Enya J, Shinohara H, Yoshida S, Tsukiboshi T, Negishi H, Suyama K, Tsushima S (2007a) Culturable leaf-associated bacteria on tomato plants and their potential as biological control agents. *Microbial Ecol* 53: 524-536.
- 4) Enya J, Koitabashi M, Shinohara H, Yoshida S, Tsukiboshi T, Negishi H, Suyama K, Tsushima S (2007b) Phylogenetic diversity of dominant culturable *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Pantoea* species on tomato leaves and their possibility as biological control. *J Phytopathol* 155:446-453.
- 5) Khan NI, Schisler DA, Boehm MJ, Bothast RJ (2001) Selection and evaluation of microorganisms for biocontrol of

- Fusarium head blight of wheat incited by *Gibberella zeae*. Plant Dis 85: 1253-1258.
- 6) Kinkel LL (1997) Microbial population dynamics on leaves. Annu Rev Phytopathol 35: 327-347.
 - 7) Lutz MP, Feichtinger G, Defago G, Duffy B (2003) Mycotoxigenic *Fusarium* and deoxynivalenol production repress chitinase gene expression in the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* P1. Appl Environ Microbiol 69: 3077-3084.
 - 8) Morris CE, Monier JM (2003) The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. Annu Rev Phytopathol 41: 429-453.
 - 9) Nakajima T, Yoshida M, Kawada N (2008) Fungicide application timing on Fusarium head blight and mycotoxin accumulation in barley in Japan. Cereal Res Comm 36: Suppl. 6.
 - 10) Nourozian J, Etebarian HR, Khodakaramian G (2006) Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. Songklanakarin J Sci Technol 28(Suppl. 1): 29-38.
 - 11) O'Donnell K, Kistler HC, Tacke BK, Casper HH (2000) Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. Proc Natl Acad Sci USA 97: 7905-7910.
 - 12) O'Donnell K, Ward TJ, Geiser DM, Kistler HC, Aoki T (2004) Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. Fungal Genet Biol 41: 600-623.
 - 13) Rudrappa T, Biedrzycki ML, Bais HP (2008) Causes and consequences of plant-associated biofilms. FEMS Microbiol Ecol 64: 153-166.
 - 14) Shinohara H, Yoshida S, Enya J, Watanabe Y, Tsukiboshi T, Negishi H, Tsushima S. (2011) Culturable bacterial communities on leaf sheaths and panicles of rice plants in Japan. Folia Microbiol. 56: 505-17.
 - 15) Suda W, Nagasaki A, Shishido M (2009) Powdery mildew-infection changes bacterial community composition in the phyllosphere. Microbes Environ 24: 217-223.
 - 16) Weller DM (1988) Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Annu Rev Phytopathol 26: 379-407
 - 17) Yoshida S, Ogawa N, Fujii T, Tsushima S (2009) Enhanced biofilm formation and 3-chlorobenzoate degrading activity by the bacterial consortium of *Burkholderia* sp. NK8 and *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. J Appl Microbiol 106: 790-800.

問い合わせ先

生物生態機能研究領域 吉田 重信

電話：029-838-8355 e-mail：yoshige@affrc.go.jp