抉芽・抉芽苗に対する非病原性 *Ralstonia solanacearum* によるジャガイモ青枯病の 発病抑制効果の検定

黒木達也¹・森 太郎²・小松亜璃沙¹・中原浩貴¹・松崎弘美¹・松添直隆^{1*}

¹ 熊本県立大学環境共生学研究科 862-8502 熊本市月出

² 滋賀大学教育学部 520-0862 大津市平津

Suppression of Bacterial Wilt in Potatoes by Non-pathogenic *Ralstonia solanacearum* using Bud Pieces and Plants Grown from Bud Pieces

Tatsuya Kuroki¹, Taro Mori², Arisa Komatsu¹, Hiroki Nakahara¹, Hiromi Matsusaki¹ and Naotaka Matsuzoe^{1*}

¹ Graduate School of Environmental and Symbiotic Sciences, Prefectural University of Kumamoto, Tsukide, Kumamoto 862-8502

² Faculty of Education, Shiga University, Hiratsu, Otsu 520-0862

Abstract

The phytopathogen *Ralstonia solanacearum* undergoes spontaneous phenotypic conversion (PC) from a wild-type pathogenic form to a non-pathogenic form in plants, soil, and broth culture, and after prolonged culture on agar plates. Using a bud piece and the plant grown from the bud piece, we investigated the suppression of bacterial wilt disease by the PC mutant 8266PC in potatoes that cannot be grafted. In plants inoculated with 10^8 cfu·mL⁻¹ of 8266PC, the effective suppression of bacterial wilt disease was observed. This suppression effect was reduced at high temperatures and a high pathogenic bacterial density. However, we observed a high incidence of biological control (66.7%) even under severe conditions (30°C/27°C and 10^6 cfu·g⁻¹). Bud pieces inoculated with less than 10^4 cfu·mL⁻¹ of 8266PC emerged and grew like those grown in sterile distilled water. Consequently, we inoculated bud pieces with 10^4 cfu·mL⁻¹ of 8266PC, but no suppression effect on bacterial wilt was observed.

Key Words : avirulent strain, biological control, simplified evaluation method.

キーワード : 非病原性菌株, 簡易検定法, 生物的防除

緒 言

青枯病は, *Ralstonia solanacearum* に起因する土壌伝染性病害であり, 熱帯, 亜熱帯, 温帯地域を中心に世界各地で発生している. 本菌は宿主範囲が広く, ナス, トマト, ジャガイモといった経済的に重要な作物をはじめとして 200 種以上の作物に感染し, 極めて重要性が高い病害である (堀田・土屋, 2009). 青枯病菌に感染した植物は, まず先端葉において萎凋が起こり, その後植物全体が急速に萎凋し, 最終的に枯死する (Hayward, 1991).

青枯病菌の特徴として, 植物内, 土壌中および人工培地において, 本菌の病原因子である菌体外多糖の産生能が欠損する phenotypic conversion (PC 化) が知られている (巖原ら, 2002; Kelman, 1954; Mori ら, 2007). PC 化した青枯病菌 (以下 PC 株) は, 病原性が低下したり, 非病原性となっているため, 宿主植物内では潜在感染する (Denny ら, 1988; 巖原ら, 2002; Kelman, 1954; Mori ら, 2007). また,

PC 株を青枯病感受性植物に前接種することにより, 感受性植物の青枯病発病を抑制できる (Arwiyanto ら, 1994; Hara・Ono, 1991; 巖原ら, 2002; 小川ら, 2011).

我が国において, ジャガイモ青枯病は九州西南暖地, 鹿児島県の南西諸島および沖縄県で発生が確認されており, ジャガイモ生産の阻害要因となっている (片山・木村, 1986; 大城, 2009). 本病害は地球温暖化の進行により, 全国的に被害が拡大・深刻化することが懸念されている. ジャガイモでは, トマトやナスなどで効果的な防除技術である接ぎ木栽培を行うことができないため, 土壌くん蒸剤などの農業処理や土壌加熱処理などが行われている. しかし, 青枯病菌は土壌深部においても長期間生存可能であるため, 土壌消毒では防除が不完全となる場合が多い (Enfinger ら, 1979). さらに, 食の安全・安心や環境に対する社会的意識が高まっており, 化学農薬使用量の削減が求められている. 従って, 化学農薬を使用しない安定的な新規防除技術の確立が必要であり, PC 株を利用したジャガイモ青枯病の新規防除法の開発は有効であると考えられる. そこで本研究では, PC 株を利用した青枯病発病抑制効果を検証した. 菅・宮崎 (2001) はジャガイモ品種の簡易的な青

2015 年 6 月 8 日 受付. 2015 年 8 月 10 日 受理.

* Corresponding author. E-mail: matsuzoe@pu-kumamoto.ac.jp

枯病抵抗性検定として、抉芽を青枯病汚染土壌に植え付け、出芽状況および青枯病の発病を調査することで、抵抗性の強弱を判定することが可能であると報告している。そこで、抉芽を利用した検定として、抉芽を培養土に埋め込み生育させた抉芽苗、および抉芽に対して、PC 株を接種し、その後病原菌を感染させることにより、青枯病発病抑制効果の検証を行った。

材料および方法

供試細菌

ジャガイモより分離された青枯病菌 8266 (race 1, biovar 4) を $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ リファンピシンを添加した選択培地 (原・小野, 1984) 上で培養し、コロニーを形成した株をリファンピシン自然耐性菌 (8266rif) とした。また、8266 由来の PC 株を 8266PC とした (小川ら, 2012a)。これらの菌は、15% グリセロールを含んだ BG 液体培地 (Saile ら, 1997) 中に -80°C で保存し、実験に供試した。接種源調製は、小川ら (2011) に従って行った。

供試植物

青枯病に対して感受性のジャガイモ ‘デジマ’ を供試した。種芋を保管し、3 mm 程度萌芽した芽を中心に、1 辺約 1.5 cm の四角錐状にメスでくりぬいたものを抉芽とした。抉芽を、バーミキュライトを詰めた 55 穴セル成形トレーに植え付け、ガラス温室で 3-5 葉齢まで育苗した苗を抉芽苗として供試した。なお、大塚ハウス B 処方 1 単位 (大塚化学 (株)) を液肥として適宜与えた。

温度および病原菌の濃度が PC 株を接種した抉芽苗の青枯病発病抑制効果に及ぼす影響

3-5 葉齢の抉芽苗 12 個体を 10^8 cfu (colony forming units) $\cdot \text{mL}^{-1}$ に調製した 8266PC の菌液に浸漬接種した。浸漬接種は小川ら (2012a) の方法に従い、抉芽苗の根部の 3 分の 1 を切除し、8266PC の菌液 60 mL に 30 分間浸漬させた。浸漬接種後、培養土 (タキイたねまき培土, タキイ種苗 (株)) に 8266rif の菌液を混合した汚染土壌 ($10^5 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ および $10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$) を詰めた直径 7.5 cm ビニルポットに移植した。対照として、滅菌水に浸漬させた抉芽苗 12 個体を、同様に 8266rif の汚染土壌に移植した。移植後は、人工気象器内で、明期 12 時間 25°C 、暗期 12 時間 22°C ($25^{\circ}\text{C}/22^{\circ}\text{C}$ 区) および明期 12 時間 30°C 、暗期 12 時間 27°C ($30^{\circ}\text{C}/27^{\circ}\text{C}$ 区) で管理し、14 日間の病徴を調査した。病徴は、全葉数における萎凋葉数の割合により、0-4 の病徴指数 (0: 萎凋なし, 1: 1-25% 萎凋, 2: 26-50% 萎凋, 3: 51-75% 萎凋, 4: 76-100% 萎凋または枯死) で評価した。また、菌接種後 14 日目の病徴指数から防除価 [防除価 (%) = {(対照区 - 処理区) / 対照区} $\times 100$] を算出した。なお、試験は 2 反復行った。

抉芽への PC 株の接種が青枯病発病抑制に及ぼす影響

1. 抉芽への PC 株接種後の温度が出芽に及ぼす影響

抉芽への PC 株の接種は菅・宮崎 (2001) の抉芽浸漬法

により行った。抉芽を $10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ に調製した 8266PC の菌液に 30 分間浸漬させた後、10 分間風乾させ、培養土を詰めた 55 穴のセル成形トレーに植え付けた。なお、対照として抉芽を滅菌水に浸漬させたものを同様に植え付けた。植え付け後は、人工気象器内において、 $25^{\circ}\text{C}/22^{\circ}\text{C}$ 区および $30^{\circ}\text{C}/27^{\circ}\text{C}$ 区で管理し、出芽状況を継続的に調査した。各処理区 12 個体の抉芽を供試し、試験は 2-3 反復行った。

2. 抉芽への PC 株接種濃度が出芽および生育に及ぼす影響

抉芽を 10^2 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 および $10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ に調製した 8266PC の菌液に 30 分間浸漬させた後、10 分間風乾させ、培養土を詰めた 55 穴のセル成形トレーに植え付けた。なお、対照として供試植物を滅菌水に浸漬させたものを対照区とした。植え付け後は、人工気象器内において、 $25^{\circ}\text{C}/22^{\circ}\text{C}$ 区で栽培した。菌接種後 21 日目に芽率、出芽した個体の草丈および全葉数および地上部の新鮮重を調査した。各処理区 12 個体の抉芽を供試し、試験は 2 反復行った。

3. 抉芽への PC 株接種による青枯病発病抑制効果

抉芽を $10^4 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ に調製した 8266PC の菌液に 30 分間浸漬させた後、10 分間風乾させた。風乾後、培養土に 8266rif の菌液を混合した汚染土壌 ($10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$) を詰めた 55 穴のセル成形トレーに移植した。なお、対照として滅菌水に浸漬させた抉芽を同様に 8266rif の汚染土壌に移植した区、PC 株に浸漬させた抉芽に滅菌水を灌注した土壌に移植した区を設けた。移植後は、人工気象器内において、 $25^{\circ}\text{C}/22^{\circ}\text{C}$ 区で 21 日間病徴と芽率を調査した。各処理区 12 個体の抉芽を供試し、試験は 2 反復行った。

結 果

温度および病原菌濃度が PC 株を接種した抉芽苗の青枯病発病抑制効果に及ぼす影響

抉芽苗に PC 株を接種し、滅菌水を混合した土壌に移植したところ、 $30^{\circ}\text{C}/27^{\circ}\text{C}$ 区において 24 個体中 1 個体のみで茎の一部褐変が見られたが、それ以外の個体では萎凋や褐変は確認されなかった (データ略)。PC 株を接種し青枯病菌汚染土壌に移植した抉芽苗は、滅菌水を接種し青枯病菌汚染土壌に移植した抉芽苗に比べて、菌接種後の温度 ($25^{\circ}\text{C}/22^{\circ}\text{C}$ 区および $30^{\circ}\text{C}/27^{\circ}\text{C}$ 区) および病原菌濃度 ($10^5 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ および $10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$) に依らず、発病株率および発病程度が低下した (第 1 図, 第 1 表)。

また、菌接種後 14 日目の各処理区における防除価は、温度および病原菌濃度が高くなるにつれて、低下した (第 1 表)。

抉芽への PC 株の接種が青枯病発病抑制に及ぼす影響

1. 抉芽への PC 株接種後の温度が出芽に及ぼす影響

滅菌水に抉芽を浸漬した場合、温度に関わらず、全個体で出芽が確認された (第 2 表)。一方で $10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ の PC 株に抉芽を浸漬すると芽率が低下し、 $25^{\circ}\text{C}/22^{\circ}\text{C}$ 区で 83%, $30^{\circ}\text{C}/27^{\circ}\text{C}$ 区で 17% の芽率となった。

Fig. 1. Influence of the inoculum concentrations of *R. solanacearum* 8266rif wild-type pathogen and temperature control of plants after inoculation with 10^8 cfu · mL⁻¹ of *R. solanacearum* 8266PC mutant on the suppression of bacterial wilt in the 'Dezima' potato. A: 25°C/22°C – 10^5 cfu · g⁻¹ (temperature – bacterial concentration of 8266rif in soil); B: 25°C/22°C – 10^6 cfu · g⁻¹; C: 30°C/27°C – 10^5 cfu · g⁻¹; D: 30°C/27°C – 10^6 cfu · g⁻¹. The graph shows the results of two replicates using 24 plants for each treatment. *Significantly different ($P < 0.05$) at day 14 according to Mann-Whitney U tests. Bars indicate standard errors.

2. 抉芽への PC 株接種濃度が出芽および生育に及ぼす影響

異なる濃度の PC 株の菌液に抉芽を浸漬し、25°C/22°C で栽培すると、21 日目の出芽率は、 10^2 , 10^4 cfu · mL⁻¹ では対照の滅菌水と同様に 100%であった(第3表)。しかし、

Table 2. Influence of temperature control of plants after inoculating plants emerging from a bud piece with the PC mutant.

Temperature	Inoculum	Emergence rate (%) ^z
25°C/22°C	Sterile distilled water	100 (36/36)
	PC	83 (30/36)
30°C/27°C	Sterile distilled water	100 (24/24)
	PC	17 (4/24)

^z Emergence rates (number of emerging plants/number of bud pieces) were screened up to 21 days after inoculation with 10^8 cfu · mL⁻¹ of 8266PC.

10^5 cfu · mL⁻¹ 以上では、高濃度になるにつれて、出芽率が低下した。また、対照の滅菌水と比較して、新鮮重は 10^6 cfu · mL⁻¹、草丈は 10^5 cfu · mL⁻¹、全葉数は 10^7 cfu · mL⁻¹ 以上では、高濃度になるにつれて有意に減少した。

3. 抉芽への PC 株接種による青枯病発病抑制効果

PC 株を接種後、滅菌水を灌注した培養土に移植した抉芽はすべて出芽し、その後、枯死する個体はなかった(データ省略)。PC 株を接種後、汚染土壌に移植した処理区では、滅菌水を接種した対照区に比べ、出芽率および出芽した個体の枯死率に有意な差はなく、抉芽への PC 株接種によるジャガイモ青枯病発病抑制効果は認められなかった(第4表)。

考 察

青枯病の生物的防除として、PC 化した非病原性および弱病原性の *R. solanacearum* を利用する研究が行われており、トマト、タバコおよびナスにおいて、PC 株の前接種によって青枯病の発病抑制効果が報告されている(Arwiyanto ら, 1994; 小川ら, 2011; Tanaka, 1983)。

本研究では、PC 株の利用によるジャガイモ青枯病の発病抑制効果について、抉芽苗および抉芽を用いた簡易的な検定法により検討した。ナスにおいて、高濃度 (10^8 cfu ·

Table 1. Influence of inoculum concentrations of wild-type *R. solanacearum* and temperature control of plants after inoculating them with bacteria on the effect of biological control in the 'Dezima' potato.

Temperature	Bacterial concentration of pathogen in soil (cfu · g ⁻¹)	Plants with wilting (%) ^z		Disease index ^y		Effect of biological control (%) ^x
		Control	Treated	Control	Treated	
25°C/22°C	10^5	75.0 (18/24)	0.0 (0/24)	3.0 ± 0.4b	0.0 ± 0.0e	100.0
	10^6	95.8 (23/24)	4.2 (1/24)	3.8 ± 0.2a	0.2 ± 0.2de	95.6
30°C/27°C	10^5	83.3 (20/24)	10.4 (4/24)	3.3 ± 0.3ab	0.4 ± 0.2cd	87.5
	10^6	100.0 (24/24)	33.3 (8/24)	4.0 ± 0.0a	1.3 ± 0.4c	66.7

Values were screened up to 14 days after inoculation.

^z As the primary inoculation, seedlings were inoculated with 10^8 cfu · mL⁻¹ of 8266PC (treated) and sterile distilled water (control). After inoculation, seedlings were transplanted in soil contaminated with 8266rif. Values of plants with wilting (number of plants with wilting/number of analyzed plants) represent the mean from two replicates using 24 plants for each treatment.

^y The disease index for each plant was scored on a scale ranging from 0 (no symptoms) to 4 (76–100% leaves wilted) 14 days after inoculation. Values represent the mean and standard error from two replicates using 24 plants for each treatment. Different letters are significantly different ($P < 0.05$) according to using Kruskal-Wallis tests.

^x The effect of biological control was measured using the following formula: Biological control effect (%) = {(A - B)/A} × 100, where: A = Disease index of a control plant, B = Disease index of an 8266PC inoculated plant.

Table 3. Influence of inoculum concentrations of PC mutants on the growth of potato plants at 21 days after inoculation.

Inoculum concentrations (cfu · mL ⁻¹)	Emergence rate (%)	Fresh weight (g)	Plant length (cm)	Number of leaves
0	100.0 (24/24)	1.14 ± 0.08a	7.37 ± 0.30ab	7.21 ± 0.24ab
10 ²	100.0 (24/24)	1.19 ± 0.08a	7.70 ± 0.21a	7.54 ± 0.17a
10 ⁴	100.0 (24/24)	0.90 ± 0.09ab	6.37 ± 0.18bc	7.04 ± 0.16ab
10 ⁵	91.7 (22/24)	1.06 ± 0.13a	5.78 ± 0.30c	7.05 ± 0.16ab
10 ⁶	87.5 (21/24)	0.54 ± 0.09bc	5.53 ± 0.37c	6.33 ± 0.23bc
10 ⁷	83.3 (20/24)	0.55 ± 0.13bc	4.10 ± 0.42d	5.75 ± 0.37c
10 ⁸	70.8 (17/24)	0.40 ± 0.10c	3.79 ± 0.43d	5.82 ± 0.45c

Values of the plant length and number of leaves represent the mean and standard error using 17–24 plants for each treatment. Values of fresh weight represent the mean and standard error using 8–12 plants for each treatment. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) according to Tukey-Kramer tests.

Table 4. Influence of the infection of bud pieces by PC mutants on the emergence and pathogenesis of plants in soil contaminated with wild-type *R. solanacearum*².

Treatment	Emergence rate (%) ^y	Plants with wilting (%) ^x
Sterile distilled water	67 (16/24)	100 (16/16)
PC	75 (18/24)	94 (17/18)

² Bud pieces were soaked with a bacterial suspension of 8266PC (10⁴ cfu · mL⁻¹) or sterile distilled water, and then they were transplanted into 8266rif contaminated soil (10⁶ cfu · g⁻¹).

^y Emergence rates (number of emergence plants/number of bud pieces) were screened up to 21 days after inoculation.

^x Rates of wilted plants (number of plants with wilting/number of emerging plants) were screened up to 21 days after inoculation.

mL⁻¹) の PC 株を前接種すると高い青枯病発病抑制効果が得られることから (小川ら, 2011), ジャガイモ挿芽苗への高濃度の PC 株を前接種したところ, トマト, タバコ, ナスと同様に発病抑制効果が認められた. その効果は, 栽培温度および病原菌の密度に影響され, 高温 (30°C/27°C) および高密度 (10⁶ cfu · g⁻¹) になると低下した. Arwiyanto ら (1994) や岩本・相野 (2008) は, 微生物を利用した病害防除において, 病原菌の密度が高い土壌や高温などの環境では, 抑制効果がなくなることを報告しており, 本研究の結果に整合する. トマトにおいて青枯病の発病は高温で病原菌密度が高くなるほど増加する (Nakaho ら, 1996). また, 我が国において, ジャガイモでは, 平均気温が 20°C 以上の日が続く時に青枯病が発生することが報告されている (成田, 1958). これらのことから, 本研究では, 温度や病原菌の密度が高くなると, 病原菌の病原力が高まり, PC 株による発病抑制効果が低下したと考えられる. しかしながら, 本研究において最も病原菌の病原力が高まる (発病株率 100%) 条件下においても, PC 株の接種により発病株率を 33.3% にまで抑えることができ, ジャガイモ挿芽苗では PC 株を利用した発病抑制は効果的であると考えられた.

PC 株によるジャガイモ青枯病発病抑制効果をさらに簡

易的に検定するために, 挿芽へ PC 株を感染させる方法を検討した. 本研究において, 高濃度 (10⁸ cfu · mL⁻¹) の PC 株を挿芽苗に感染させても全く病徴を示さなかったが (データ略), 挿芽へ感染させると出芽に影響を及ぼすことが明らかになった. PC 株は, 病原因子である菌体外多糖類産生能, ペクチンメチルエステラーゼおよびエンドグルカナーゼ活性が低下し, 一方でポリガラクトロナーゼ活性および運動性が増加する (Brumbley・Denny, 1990; Denny ら, 1988; Kelman, 1954). その結果, PC 株は病原性が低下または失活する (Denny ら, 1988; Denny・Baek, 1991; Husain・Kelman, 1958; Kelman, 1954). また, トマトやナスにおいて, 苗齢は植物の青枯病抵抗性に大きな影響を与える (森ら, 2011; Nakaho ら, 1996; 尾崎・木村, 1989). 以上より, PC 株は完全に病原性が失活しているのではなく, 低下している変異菌であり, 高濃度で植物に感染させると, 抵抗性が強い挿芽苗だと影響を及ぼさないが, 抵抗性が弱い挿芽苗だと出芽に影響を及ぼすと考えられた. また, 高濃度の PC 株が挿芽の出芽率の低下に及ぼす影響は高温 (30°C/27°C) で大きく, これは高温で PC 株の病原力が高まったためであると考えられる. そこで, 挿芽の出芽率の低下が比較的小さく抑えられた栽培温度 (25°C/22°C) において異なる濃度の PC 株を挿芽に感染させて栽培すると, 10⁴ cfu · mL⁻¹ より低い濃度で, 挿芽の出芽率および出芽した個体の生育に影響を及ぼさないことが明らかになった. 小川ら (2011) は, ナスにおいて, 高濃度の PC 株の処理により青枯病発病抑制効果が高くなることを報告しており, 挿芽を 10⁴ cfu · mL⁻¹ の PC 株へ接種すると, 挿芽の出芽とその後の生育に影響を及ぼさず, 発病抑制効果が得られると示唆された. そこで, 挿芽に 10⁴ cfu · mL⁻¹ の PC 株を感染させ, 青枯病汚染土壌に植え付けたが, 発病抑制効果を得ることができなかった. PC 株によるナス青枯病発病抑制効果において, 植物への PC 株の定着が重要であることから (小川ら, 2012b), 本研究では, 挿芽に感染させる PC 株が低濃度 (10⁴ cfu · mL⁻¹) であったために, 発病抑制効果を発揮できなかったと示唆される. 以上より, 簡易的な検定方法と考えられる挿芽への PC 株の接種によ

り、挿芽の出芽やその後の生育に影響を及ぼさず、青枯病発病抑制効果を付与することは困難であると考えられる。

本研究では、挿芽苗への PC 株を接種することにより、ジャガイモ青枯病の発病が抑制できることが明らかとなった。この挿芽苗を用いた検定法は、多くの個体を供試できる、短期間で検定ができる、人工気象器で全行程を行えるため灌水などの管理も省力的で生育も均一であるという利点がある。今後、PC 株による発病抑制効果について、ジャガイモ品種間差異の解明や効果が高い PC 株の選抜など大量のサンプルをスクリーニングする予定であり、本検定法は効果的であると考えられる。一方で、ジャガイモの栽培体系を考えた場合、種芋や種芋から栽培した苗においても研究を行っていく必要があり、今後、PC 株による青枯病発病抑制効果や PC 株の感染による植物の生育や収量への影響を明らかにする予定である。

摘 要

接ぎ木栽培が栽培体系上でできないジャガイモにおいて、非病原性 *Ralstonia solanacearum* (PC 株) を利用したジャガイモ青枯病の発病抑制効果をジャガイモ挿芽苗および挿芽を用いて検討した。挿芽苗に高濃度の PC 株を接種すると、青枯病発病抑制効果を得ることができた。その効果は、高温 (30°C/27°C)、高病原菌密度 (10^6 cfu $\cdot$ g $^{-1}$) において低下したが、その条件下においても、発病株率を 33.3% に抑えることができた。一方で、挿芽に高濃度の PC 株を接種すると出芽率が低下したため、影響が出ない程度の温度条件 (25°C/22°C) および接種密度 (10^4 cfu $\cdot$ mL $^{-1}$) で接種すると発病抑制効果は認められなかった。

引用文献

Arwiyanto, T., M. Goto, S. Tsuyumu and Y. Takikawa. 1994. Biological control of bacterial wilt of tomato by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* isolated from *Strelitzia reginae*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 60: 421–430.

Brumbley, S. M. and T. P. Denny. 1990. Cloning of wild-type *Pseudomonas solanacearum* *phcA*, a gene that when mutated alters expression of multiple traits that contribute to virulence. J. Bacteriol. 172: 5677–5685.

Denny, T. P., F. W. Makini and S. Brumbley. 1988. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum* Tn5 mutants defective in extracellular polysaccharide. Mol. Plant-Microbe Interact. 1: 215–223.

Denny, T. P. and S. R. Baek. 1991. Genetic evidence that extracellular polysaccharide is a virulence factor of *Pseudomonas solanacearum*. Mol. Plant-Microbe Interact. 4: 198–206.

Enfinger, J. M., S. M. McCarter and C. A. Jaworski. 1979. Evaluation of chemicals and application methods for control of bacterial wilt of tomato transplants. Phytopathology 69: 637–640.

原 秀紀・小野邦明. 1984. タバコ立枯病菌の新しい選択培地による検出定量法. 植物防疫. 38: 76–79.

Hara, H. and K. Ono. 1991. Effect of weakly-virulent bacteriocin-producing strain of *Pseudomonas solanacearum* on the protection of tobacco plant from bacterial wilt. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 57: 24–31.

Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annu. Rev. Phytopathol. 29: 65–87.

堀田光生・土屋健一. 2009. 青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* の分類の現状と課題. 日植病報. 75: 297–306.

Husain, A. and A. Kelman. 1958. Relation of slime production to mechanism of wilting and pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum*. Phytopathology 48: 155–165.

巖原美穂・高木滋樹・横山和平・丸本卓哉. 2002. 土壌中における *Ralstonia solanacearum* の菌体外多糖非生産株の誘発と同変異株の発病抑制効果. 土と微生物. 56: 11–22.

岩本 豊・相野公孝. 2008. *Pseudomonas fluorescens* FPH9601 菌株によるトマト根腐萎凋病発病抑制効果. 土と微生物. 62: 3–8.

片山克己・木村貞夫. 1986. ジャガイモ青枯病の発生生態と防除に関する研究 第 1 報 発生生態と病原菌細菌の系統. 長崎総農林試研報 (農). 14: 1–30.

Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on tetrazolium medium. Phytopathology 44: 693–695.

森 太郎・藤吉智裕・稲田達則・松崎弘美・和島孝浩・松添直隆. 2011. *Ralstonia solanacearum* の無病徴感染による感受性ナスの青枯病発病抑制. 農業生産技術管理学会誌. 18: 23–28.

Mori, T., K. Ozaki, H. Matsusaki and N. Matsuzoe. 2007. Behavior and mutation of *Ralstonia solanacearum* in *Solanum toxicarium* grown in aseptic culture. J. Gen. Plant Pathol. 73: 142–146.

Nakaho, K., S. Takaya and Y. Sumida. 1996. Conditions that increase latent infection of grafted or non-grafted tomatoes with *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62: 234–239.

成田武四. 1958. 北海道における馬鈴薯の細菌病に関する研究. 北海道農試報. 8: 38–63.

小川晃一郎・森 太郎・松崎弘美・松添直隆. 2011. 非病原性 *Ralstonia solanacearum* によるナス青枯病発病抑制効果. 園学研. 10: 581–587.

小川晃一郎・森 太郎・松崎弘美・松添直隆. 2012a. 非病原性 *Ralstonia solanacearum* によるナス青枯病発病抑制効果の簡易検定法. 園学研. 11: 393–398.

小川晃一郎・森 太郎・松崎弘美・松添直隆. 2012b. 非病原性 *Ralstonia solanacearum* の定着がナス青枯病発

- 病抑制効果に及ぼす影響. 園学研. 11: 399–403.
- 大城 篤. 2009. 植物と微生物の生物機能を利用した土壌病害防除技術に関する研究. 沖縄県農業研究センター研究報告. 2: 30–80.
- 尾崎克己・木村俊彦. 1989. ナス属植物の青枯病抵抗性検定法. 中国農研報. 4: 103–117.
- Saile, E., J. A. McGarvey, M. A. Schell and T. P. Denny. 1997. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. Phytopathology 87: 1264–1271.
- 菅 康弘・宮崎 孝. 2001. 抉芽浸漬法を用いたジャガイモ品種の青枯病抵抗性検定. 九州病虫研報. 47: 6–8.
- Tanaka, H. 1983. Protection of tobacco and tomato against root infection of *Pseudomonas solanacearum* by heat-killed bacterial cells. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 49: 66–68.