Acidovorax valerianellae によるチャ斑点細菌病（新称）の発生

富濱 毅^{1*}・野中 壽之²・中村 正幸³・岩井 久³・荒井 啓³

ABSTRACT

TOMIHAMA, T.^{1*}, NONAKA, T.², NAKAMURA, M.³, IWAI, H.³ and ARAI, K.³ (2006). Bacterial spot of tea caused by *Acidovorax valerianellae*. Jpn. J. Phytopathol. 72: 185-190

In 2003 and 2004 years, brown spot symptoms were observed on tea leaves in tea fields in Kagoshima prefecture, mainly after typhoons. A severe incidence caused leaf fall and bud blight. A bacterium that formed a white, circular colony on King's B medium, was always isolated from lesions, and leaf symptoms of tea were reproduced after inoculation with this bacterium. Based on its bacteriological characteristics, pathogenicity on tea leaves and a 16S rRNA sequence analysis, the bacterium was identified as *Acidovorax valerianellae* Gardan, Stead, Dauga and Gillis 2003. This is the first report of bacterial spot of tea caused by *Acidovorax valerianellae* in Japan.

(Received December 26, 2005; Accepted March 22, 2006)

Key words: bacterial spot, *Camellia sinensis*, *Acidovorax valerianellae*

緒 言

チャ (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) は、全国で栽培面積が約 50,000 ha にも上る重要な特用作物であり、鹿児島県は静岡県に次ぐ茶の主要産地となっている。鹿児島県では茶生産量の増産を目指し、年間約 150 ha の新植を行っているが、2003～2004年にかけて新植 2～3 年後の幼木園を中心に、葉の斑点状褐変症状が認められた。発生園は主に風当たりの強い茶園で、台風後の発生が多かった。発症葉は落葉しやすく、チャ芽や枝梢の枯死を招く激しい被害も観察された。類似の症状としてチャ赤焼病があるが、発生時期が異なること、チャ赤焼病細菌が分離されないこと等から、明らかにチャ赤焼病とは異なる症状であった。一方、本症状の葉から同一のコロニーを形成する細菌が高頻度で分離され、チャへの病原性が確認された。本細菌の各種細菌学的性質や宿主範囲について調査し、本症状が *Acidovorax valerianellae* Gardan, Stead, Dauga and Gillis 2003 による新病害であることが明らかとなったので報告する。

材料および方法

供試菌株 2003～2004年にかけて鹿児島県内の 6 ほ場から採取した病斑の小片 (5×5 mm) を滅菌水中で磨砕し、その磨砕液をキング B 培地 (ペプトン 20 g, K₂HPO₄ 1.5 g, MgSO₄・7H₂O 1.5 g, 寒天 15 g, グリセロール 10 ml, 水 1,000 ml, pH=7.2, 栄研社製) に画線法で塗布し分離した 16 菌株 (以下、分離細菌) を供試した (第 1 表)。また、対照菌株の *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* とし、瀧川らがチャ病斑から分離した 2 菌株 (瀧川ら, 1988)、イネおよびシロコシから分離したそれぞれ 1 菌株、計 4 菌株を用いた (第 1 表)。また、対照菌株の *Acidovorax valerianellae* とし、コーンサラダ (*Valerianella locusta* Pollich) からの分離株 NCPPB4283^T (Gardan *et al.* 2003) を用いた (第 1 表)。

接種試験 接種試験には、供試植物としてチャ (品種：あさつゆ)、イネ (*Oryza sativa* -L., 品種：コシヒカリ)、トウモロコシ (*Zea mays* -L., 品種：キャンベラ 86)、ソルガム (*Sorghum bicolor* -(L.) Moench, 品種：風立)、トマト (*Lycopersicon esculentum* -Mill, 品種：桃太郎)、キュ

¹ 鹿児島県農業開発総合センター茶業部 (〒897-0303 鹿児島県川辺郡知覧町永里 3964) Tea Division, Kagoshima Prefectural Institute for Agricultural Development, 3964 Nagasato, Chiran-cho, Kawanabe-gun, Kagoshima 897-0303, Japan

² 鹿児島県経済連 (〒890-8515 鹿児島市鴨池新町 15 番地) Kagoshimaken Keizairen, 15 Kamoikeshinmachi, Kagoshima 890-8515, Japan

³ 鹿児島大学農学部 (〒890-0065 鹿児島市郡元 1-21-24) Department of Agriculture, University of Kagoshima, 1-21-24, Korimoto, Kagoshima 890-0065, Japan

* Corresponding author (E-mail: tomihama-tsuyoshi@pref.kagoshima.lg.jp)

The sequence for 16S rRNA gene of No. 16 strain is available at DDBJ/EMBL/GenBank under accession number DQ338565.

第1表 供試菌株

	分離場所	菌株	分離年	分離源
分離細菌	鹿児島県	No. 11	2003年	チャ
	鹿児島県	No. 16, 17, 18, 19, 20	2003年	チャ
	鹿児島県	No. 22, 23, 24	2004年	チャ
	鹿児島県	U1, U2, U3, U4	2004年	チャ
	鹿児島県	E1, E2	2004年	チャ
	鹿児島県	N1	2004年	チャ
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	静岡県	512 ^{a)}	1983年	チャ
	静岡県	831w ^{a)}	1983年	チャ
	広島県	8101 ^{a)}	1981年	シコクビエ
	長野県	2B ^{a)}	1994年	イネ
<i>Acidovorax valerianellae</i>	フランス	NCPPB4283 ^{Tb)}	1992 or 1993年	コーンサラダ

a) 静岡大学より分譲.

b) Type strain.

ウリ (*Cucumis sativus* L., 品種: はやみどり), カボチャ (*Cucurbita moschata* Duchesne, 品種: あずまえびす), レタス (*Lactuca sativa* L., 品種: レッドウェーブ), ダイコン (*Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Baker, 品種: 白秋), ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L., 品種: 次郎丸), カリフラワー (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L., 品種: 白穂), コーンサラダ (品種名不明), カトレア (*Cattleya hybrids*, 品種名不明) およびコンニャク (*Amorphophallus konjac* Koch, 品種名不明) を用いた. これらの作物のうち, イネ, トウモロコシ, ソルガム, トマト, キュウリ, カボチャ, レタス, ダイコン, ホウレンソウおよびコーンサラダは温室内で育成した本葉5枚以下の植物の本葉を, カトレアは市販の鉢植えの葉を, コンニャクは種芋を露地から移植後, 展開した小葉を接種に供試した.

チャに対する病原性は, キングB培地で25°C 48時間培養した細菌を滅菌水に懸濁し, 約 10^6 cfu/ml ($OD_{620\text{ nm}} = 0.05$) の濃度に調整した供試菌液を作成し, 以下のリーフディスク接種試験およびほ場試験により確認した. リーフディスク接種は, 供試菌株として分離細菌16菌株, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* 4菌株および *Acidovorax valerianellae* 1菌株を用い, 成葉から直径10 mmのコルクボーラーで打ち抜いたリーフディスクを供試菌液に浸漬し, その後, 滅菌水で湿らせたろ紙を敷いたシャーレ内に置床し, 25°C 条件下で培養した. 培養5日後に, 各リーフディスクの病徴を, 0: 病徴なし, 1: わずかに病徴が見られる, 2: 50%程度が褐変している, 3: ほぼ全面が褐変している, の4段階で評価したものを病徴指数とし, 10枚のリーフディスクの平均病徴指数で病原性を判定した. また, ほ場試験では供試菌株として分離細菌U1株を用い,

供試菌液を2004年9月16日および2005年6月5日に, 成葉に無傷, および針もしくは竹箒で付傷した後に噴霧接種し, 自然条件下で接種後5, 8および15日の病徴および発生状況を調査した.

その他植物に対する病原性は, 供試細菌として分離細菌U1株および *Acidovorax valerianellae* NCPPB4283^T株を用い, 約 10^6 cfu/ml ($OD_{620\text{ nm}} = 0.05$) の濃度に調整した供試菌液を, 単針で付傷後噴霧接種し, 24時間多湿条件下 (ビニール袋で保湿) に置いた. その後, 室温条件下で7日後の病徴を観察した. なお, コーンサラダについては, 本葉から直径10 mmのコルクボーラーで打ち抜いたリーフディスクを約 10^6 cfu/ml ($OD_{620\text{ nm}} = 0.05$) の濃度に調整した供試菌液に浸漬し, その後, 滅菌水で湿らせたろ紙を敷いたシャーレ内に置床し, 25°C 条件下の10日後の褐変状況に基づいて病原性を判定する方法も実施した.

細菌学的性質 細菌学的性質の調査は, 細菌同定検査用キットアピ20NE (バイオメリュー社製) を用いた西山らの簡易同定96 (西山, 1996) および後藤・瀧川の方法 (後藤・瀧川, 1984a, 1984b, 1984c) に準じて行った. 単一炭素源としての炭水化物の利用性試験には, 基礎培地としてAyer'sらの無機塩培地を使用し, 細菌同定検査用キットアピ50CHキット (バイオメリュー社製) を一部用いて行った.

16S rRNA 遺伝子解析 分離細菌としてNo. 16株およびU1株を用いた. 16S rRNA 遺伝子は, 増幅用のPCRプライマー27f および1492r (Weisburg *et al.*, 1991) を用いて, PCR増幅した. 得られた断片は, プライマーr1L, r2L, r3L, 926f (Hiraishi, 1992; Hiraishi *et al.*, 1994) を用い, ダイレクトシーケンスにより1467 bpについて塩基配列を決定した. 得られた全塩基配列を基にホモロジー検索後,

CLUSTAL W によりマルチアライメントをかけ、近隣結合法による系統樹を作成した。

結 果

病徴および発生状況

最初葉脈間や中肋、葉柄部に水浸状の濃緑褐色の小斑点が現れ、その後拡大し、暗褐色の円形または不整形の斑点を形成した（第1図A, B）。病徴は展開したばかりの葉より、やや成熟した葉に多く見られた。病徴を認めた茶園の約60%は定植3年以内の幼木園で、これらの幼木園では発生が著しい場合、落葉し芽が枯れる場合もあった。本病徴については、これまで鹿児島県知覧町、枕崎市、頤娃町、末吉町、屋久町、中種子町および大分県三重町での発生を認めた。また、発生時期については、主に2003年9月12日の台風14号、2004年8月29日の台風16号および9月6日の台風18号襲来後の発生が多かった。品種については、‘あさつゆ’での発生が多かったが、‘ゆたかみどり’や‘やぶきた’での発生も認められた。

チャに対する病原性

全ての分離細菌株は、リーフディスクへの接種によって、チャに対して病原性を有することが確認された（第1図C）。分離細菌のうちのU1株を用いて、野外噴霧接種を行っ

たところ、竹箒を用いて葉を付傷した場合に自然発生と同様な病徴が確認され（第1図D）、病斑部から同細菌が多数再分離された。一方、無傷では病徴は認められず、針による付傷では直径1 mm以下のわずかな水浸状病斑が形成されるのみであった。竹箒を用いて有傷噴霧接種した場合、接種5日後には直径3~5 mmの水浸状病斑を形成し、8日後には直径5~8 mmの水浸状病斑を形成した。また、対照菌株の *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* の4菌株ならびに *Acidovorax valerianellae* 1菌株とともに、リーフディスクへの接種によって、チャに対して病原性を有することが確認された。

細菌学的性質

分離細菌は、25°C条件下で培養した場合、キングB培地で3日後に直径1~2 mmの、6日後には4~5 mmのコロニーを形成した。培養3日後のコロニーは丘状、全縁、平滑で表面に湿光をおびた白色円形のコロニーであった。分離細菌の細菌学的性質はゼラチンの液化試験を除き齊一で、1本の極鞭毛を有するグラム陰性の好気性桿菌で、OF試験はO/-型、キングB培地上で蛍光色素を産生せず、オキシダーゼ活性が陽性で、細胞質内にポリβ-ヒドロキシ酪酸を集積した（第2表）。カタラーゼ、アンモニアの産生、Tween 20の加水分解の諸性質は陽性で、40°C下で

A)

B)

C)

D)

第1図 チャ斑点細菌病の病徴。A) 自然発生茶園（品種‘あさつゆ’）での発生状況，B) 葉裏から見た病徴，C) 分離細菌U1株（左）および *Acidovorax valerianellae* NCPPB4283^T 株（右）を‘あさつゆ’のリーフディスクに接種したときの病徴。D) 分離細菌U1株を竹箒を用いて‘あさつゆ’に有傷噴霧接種したときの病徴。

第2表 供試細菌の細菌学的性質

細菌学的性質	分離細菌 (n=16)	<i>A.a.</i> ^{a)} (n=4)	<i>A.v.</i> ^{b)} (n=1)
グラム反応	—	—	—
PHBの蓄積	+	+	+
蛍光色素	—	—	—
40°C下での生育	—	+	—
オキシダーゼ	+	+	+
カタラーゼ	+	+	+
鞭毛	極毛1	極毛1	極毛1
OF試験	O/—	O/—	O/—
硝酸還元	—	+	—
硝酸呼吸	—	—	—
アンモニアの産生	+	+	+
デンプンの加水分解	—	—	—
ゼラチンの加水分解	V(+11/—5)	—	+
Tween80の加水分解	+	+	+
VP試験	—	—	—
MR試験	—	—	—
レシチナーゼ	—	—	—
チロシナーゼ	—	V(+2/—2)	—
レバンの産生	—	—	—
ジャガイモの腐敗	—	—	—
タバコ過敏反応	—	+	—

+: 陽性, —: 陰性, V: 菌株により反応が異なる

a) *A.a.*: *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*

b) *A.v.*: *Acidovorax valerianellae*

の生育, 硝酸塩の還元, 硝酸呼吸, デンプンの加水分解, VP試験, MR試験, レシチナーゼ活性, チロシナーゼ活性, レバンの産生, ジャガイモ腐敗およびタバコ過敏反応の諸性質は陰性であった(第2表)。

単一炭素源としてグリセロール, フルクトース, グルコン酸, 乳酸, ペタイン, β -アラニン, L-トリプトファンを利用したが, エリスリトール, D-アラビノース, L-アラビノース, リボース, D-キシロース, L-キシロース, アドニトール, β -メチル-D-キシロサイド, ガラクトース, グルコース, マンノース, ソボース, ラムノース, ダルシトール, イノシトール, マンニトール, ソルビトール, α -メチル-D-マンノサイド, α -メチル-D-グルコシド, N-アセチルグルコサミン, アミグダリン, アルブチン, エスクリン, サリシン, セロビオース, マルトース, ラクトース, メリビオース, スクロース, トレハロース, イヌリン, メレジトース, ラフィノース, スターチ, グリコーゲン, キシリトール, ゲンチオビオース, D-ツラノース, D-リキソース, D-タガトース, D-フコース, L-フコース, D-アラビトール, L-アラビトール, 2-ケト-グルコン酸, 5-ケト-グルコン酸, L-酒石酸, L-アルギニン, テアニン, DL-5-アミノブチルは利用しなかった(第3表)。

第3表 供試細菌の単一炭素源としての炭水化物, 糖アルコール, 有機酸およびアミノ酸の利用性

単一炭素源	分離細菌 (n=16)	<i>A.a.</i> ^{a)} (n=4)	<i>A.v.</i> ^{b)} (n=1)
グリセロール	+	+	+
L-アラビノース	—	+	—
リボース	—	+	—
ガラクトース	—	+	—
D-グルコース	—	+	—
フルクトース	+	+	+
マンニトール	—	+	—
ソルビトール	—	+	—
D-リキソース	—	+	—
D-アラビトール	—	+	—
グルコン酸	+	+	+
乳酸	+	+	+
ペタイン	+	+	+
β -アラニン	+	+	+
L-アルギニン	—	+	+
L-トリプトファン	+	+	+

+: 陽性, —: 陰性

a) *A.a.*: *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*

b) *A.v.*: *Acidovorax valerianellae*

一方, 対照菌株として供試した *Acidovorax valerianellae* NCPPB4283^T 株とはL-アルギニンの利用性を除き全ての調査項目で性状が一致した(第2, 3表)。また, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* の4菌株は40°C下での生育, 硝酸塩の還元, タバコ過敏反応, L-アラビノース, リボース, ガラクトース, グルコース, マンニトール, ソルビトール, D-リキソース, D-アラビトールの利用性で分離細菌と異なった(第2, 3表)。

アビ20NEキットを用いた簡易同定において, 分離細菌16菌株の細菌学的性質はゼラチンの液化試験以外全て一致し, そのプロファイルインデックスは0210464 (No. 11, 16, 17, 18, 19, 20, U1, U2, U3, U4, E1, E2, N1株)もしくは0200464 (No. 22, 23, 24株)となり, 西山らのデータベースで本邦既知植物病原細菌と一致するものはなかった。*Acidovorax valerianellae* NCPPB4283^T 株のプロファイルインデックスは0210464となり, 分離細菌のそれと一致した。また, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* 4菌株のプロファイルインデックスは1005464 (512株), 1005474 (831w株), 1205444 (8101株), 1205464 (2B株)となり分離細菌とは一致しなかった。

16S rRNA 遺伝子解析

PCRによって増幅された分離細菌No. 16株およびU1株の16S rRNA遺伝子断片の塩基配列(DBJ/EMBL/GenBankのAccession number DQ338565)は全く同じで

あった。ホモロジー検索の結果、最も相同性が高かったのは *Acidovorax valerianellae* (相同性99.3%) で、次いで *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (同 98.1%), *Acidovorax avenae* subsp. *cattleya* (同98.0%) と *Acidovorax* 属菌との相同性が高かった。

16S rRNA 遺伝子断片の塩基配列を基に CLUSTAL W による有根系統樹を作成すると、分離細菌 No. 16 および U1 株は *Acidovorax valerianellae* と非常に近い距離に位置した (第2図)。

宿主範囲

分離細菌 U1 株は、チャ以外に供試した全ての植物に対して病原性を示さなかった (第4表)。 *Acidovorax valerianellae* NCPPB4283^T 株は、チャおよびコーンサラダに病原性を示したが、その他の植物には病原性を示さなかった (第4表)。

考 察

分離細菌は、1本の極鞭毛を持つグラム陰性の好気性桿菌で、蛍光色素を産生せず、オキシダーゼ活性が陽性であることから *Acidovorax* 属細菌に分類される (Willems *et al.*, 1992)。また、細菌学的性質および 16S rRNA 遺伝子解析から、分離細菌は *Acidovorax valerianellae* に分類されることが考えられる (Gardan *et al.*, 2003)。瀧川らは、梅雨期に発生した淡褐色壊死状のチャ病斑から *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* を分離し、チャへの病原性も確認しているが (瀧川ら, 1983)、分離細菌とは硝酸塩の還元、40℃ 下での生育、タバコ過敏反応および 16S rRNA 遺伝子の塩

第2図 16S rRNA 遺伝子配列から得られた有根系統樹。分岐点の数値はブートストラップ確率を示す。DDBJ/EMBL/GenBank の accession number を菌名の後に示してある。

基配列を基にした系統樹分析において異なる菌であることが示された。以上のことから、分離細菌を *Acidovorax valerianellae* Gardan, Stead, Dauga and Gillis 2003 と同定

第4表 分離細菌および *Acidovorax valerianellae* の各種植物への病原性

供試植物	品種 ^{a)}	分離細菌 (U1)	<i>Acidovorax valerianellae</i> (NCPPB4283 ^T)
チャ	あさつゆ	+	+
コーンサラダ		—	+
イネ	コシヒカリ	—	—
トウモロコシ	キャンベラ86	—	—
ソルガム	風立	—	—
トマト	桃太郎	—	—
キュウリ	はやみどり	—	—
カボチャ	あずまえびす	—	—
レタス	レッドウェーブ	—	—
ダイコン	白秋	—	—
ハウレンソウ	次郎丸	—	—
カリフラワー	白穂	—	—
カトレア		—	—
コンニャク		—	—

+: 病原性あり, —: 病原性なし

a) 空欄は品種名が不明。

し、本病を *Acidovorax valerianellae* によるチャ斑点細菌病 (Bacterial spot) としたい。

鹿児島県茶業試験場内‘あさつゆ’における本病の発生は1990年代から認められており、鹿児島県の屋久島や種子島などの離島では台風が襲来する時期に同様の病害が恒常的に発生していたが、これまで原因菌の特定には至っていなかった。今回、病原細菌を分離し、*Acidovorax valerianellae* と同定したが、これまで *Acidovorax valerianellae* による病害としては、コーンサラダの Bacterial spot が報告されているのみである (Gardan *et al.*, 2000, Gardan *et al.*, 2003)。コーンサラダはフランスにおいて秋から冬にかけてのサラダ用植物として伝統的に栽培されてきたが、近年の栽培技術の進歩により大量栽培が可能となるとともに、これまで発生のみられなかったいくつかの病害が報告され、Bacterial spot も1991年に初発生が確認されている (Gardan *et al.*, 2003)。コーンサラダは別名ノジシャとよばれ日本でも帰化植物として自生しているが、チャおよびコーンサラダを含めて *Acidovorax valerianellae* による病害の発生は我が国で初めてである。

本病が本県においてかなり以前から発生していたこと、コーンサラダから分離された *Acidovorax valerianellae* はチャに対して病原性を有しているものの、分離細菌はコーンサラダを含めたチャ以外の植物に対して病原性を示さないこと、などから考えると、分離細菌の侵入経路ははっきりしないが、近年フランス等から輸入したコーンサラダに由来するものではなく、かなり以前よりチャに寄生していた可能性があり、*Acidovorax valerianellae* の病原型の異なる系統とも考えられる。この点については今後さらに多くの *Acidovorax valerianellae* 菌株との病原性や細菌学的性質を比較調査し結論する必要がある。

本病は台風等の雨を伴った強風後に発生が多いが、野外接種試験において無傷や針による付傷後の噴霧接種では病徴を再現できず、竹箒を用いて付傷を行った場合に病徴を再現できたことから、本病の発生に強風による付傷が重要な要因となることが示唆された。本病の発生による被害が今後懸念されることから、発生生態の解明や防除法の確立等を検討する必要がある。

摘 要

2003年～2004年にかけて、鹿児島県の茶園で葉の斑点状褐変症状が発生した。発生は主に風当たりの強い茶園で台風後に見られ、病徴は最初中肋に沿った葉身に水浸状の濃緑褐色の小斑点が現れ、その後拡大し、暗褐色の円形または不整形の斑点を形成し、発生が著しい場合は落葉し芽が

枯れる場合もあった。病斑組織よりキングB培地上で白色、平滑、円形で湿光をおびた集落を形成する細菌が優先的に分離され、本細菌をチャに有傷噴霧接種したところ病徴が再現でき、菌の再分離も確認された。本細菌は、チャへの病原性、細菌学的性質および16S rRNA 遺伝子解析から *Acidovorax valerianellae* と同定された。以上の結果から、本病を *Acidovorax valerianellae* によるチャ斑点細菌病 (Bacterial spot) としたい。

謝 辞

本研究を行うにあたり、対照菌株をご分譲いただき、細菌学的性質の調査や同定方法について数多くのご助言をいただいた静岡大学農学部瀧川雄一教授に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Gardan, L., Dauga, C., Prior, P., Gillis, M. and Saddler, G. S. (2000). *Acidovorax anthurii* sp. nov., a new phytopathogenic bacterium which causes bacterial leaf-spot of anthurium. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 235–246.
- Gardan, L., Stead, D. E., Dauga, C. and Gillis, M. (2003). *Acidovorax valerianellae* sp. nov., a novel pathogen of lamb's lettuce [*Valerianella locusta* (L.) Laterr.]. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53: 795–800.
- 後藤正夫・瀧川雄一 (1984a). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (2). 植物防疫 38: 385–389.
- 後藤正夫・瀧川雄一 (1984b). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (3). 植物防疫 38: 432–437.
- 後藤正夫・瀧川雄一 (1984c). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (4). 植物防疫 38: 479–484.
- Hiraishi, A. (1992). Direct automated sequencing of 16S rDNA amplified by polymerase chain reaction from bacterial cultures without DNA purification. Lett. Appl. Microbiol. 15: 210–213.
- Hiraishi, A., Shin, Y. K., Ueda, Y. and Sugiyama, J. (1994). Automated sequencing of PCR-amplified 16S rDNA on Hydrolink gels. J. Microbiol. Methods 19: 145–154.
- 西山幸司 (1996). パソコンを用いた植物病原細菌同定システム「簡易同定96」の使い方. 農環研資 19: 1–24.
- 瀧川雄一・安藤康雄・浜屋悦次・露無慎二・後藤正夫 (1988). 1983年、チャに発生した細菌病の病原細菌の同定. 日植病報 54: 224–228.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A. and Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. J. Bacteriol. 173: 697–703.
- Willems, A., Goor, M., Thiemans, S., Gillis, M., Kersters, K. and De Lay, J. (1992). Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. Int. J. Syst. Bacteriol. 42: 107–119.