チャ赤焼病細菌 *Pseudomonas syringae* pv. *theae* の分離用培地

荒井 啓^{1*}・迫田 琢也²・西 八束³・岩井 久¹

ABSTRACT

ARAI, K.^{1*}, SAKODA, T.², NISHI, Y.³ and IWAI, H.¹ (2002). A new medium for isolation of *Pseudomonas syringae* pv. *theae*, the pathogen of bacterial shoot blight of tea plants. Jpn. J. Phytopathol. 68: 141-147.

A new medium for the isolation of *Pseudomonas syringae* pv. *theae* was developed. This medium (PST-SM) contains 20 g of proteose peptone, 10 ml of glycerol, 1.5 g of disodium hydrogen phosphate, 1.5 g of magnesium sulfate, 250 mg of cephalixin, 100 mg of cycloheximide and 12 g of agar in 1000 ml of distilled water, and adjusted to pH 7.2. *P. syringae* pv. *theae* produced an opalescent colony, which was distinguishable from most bacteria tested (34 species in 4 genera) when incubated at 25°C from 2 to 4 days. The most characteristic sign of the colony of the wild type strain of *P. syringae* pv. *theae* was recognized as a fried-egg type colony with granular and fibril structures when it was irradiated with light in an oblique downward direction from a light microscope at 2 days after incubation. Plating efficiency of this medium to *P. syringae* pv. *theae* was the same as King's B medium. *P. syringae* pv. *theae* could be detected selectively from infected tea plant tissue with a selective limitation of more than 10² cfu per gram of tissue.

(Received January 21, 2002; April 9, 2002)

Key words: Isolation medium, *Pseudomonas syringae* pv. *theae*.

緒 言

チャ赤焼病は、1914年に静岡、京都、三重、奈良の府県で大発生し *Bacillus theae* Hori and Bokura による細菌病として報告されたのが最初である⁴⁾。その後、1955年に静岡県で再び発生し、病原細菌は *Pseudomonas theae* (Hori) Okabe and Goto に改められた²¹⁾。本病はときに大発生するが終息するとしばらく発生が認められなくなり、マイナーな病害と見られていた。しかし、1975年に鹿児島県薩摩半島南部の幼木園に激しい被害をもたらす細菌病が発生し、これが *Pseudomonas theae* による赤焼病と同定された²⁾。本病は、同じ頃静岡県でも発生が目立つようになり、近年では九州各地や東海地方で常発し、チャの重要細菌病に挙げられている。病原細菌の分類学的位置付けについて、若干の議論があるが^{8, 25-27)}、本稿では *Pseudomonas syringae*

pv. *theae* (Hori 1915) Young, Dye and Wilkie 1978²⁸⁾ を用いた。

本病は葉および枝梢に発生し、病葉は落葉しやすい。特に、幼木園で発生した場合は落葉が激しく、被害が大きくなる。発生時期は晩秋から早春で、一番茶の摘採が終わる頃には病葉が見られなくなる。本病の発生生態については、野中²⁰⁾、堀川^{5, 6)}、安藤¹⁾、成澤・木場¹⁰⁻¹²⁾、成澤¹³⁻¹⁵⁾、などにより報告されているが、病原細菌の動態についてはなお不明の点が多く、生態学的研究のための効率のよい検出法が求められている。本細菌の検出方法としてファージ法³⁾、抗血清法^{7, 16, 17)}、選択培地法^{16, 17)}、PCR 法¹⁸⁾ などが報告されているが、検出限界等にやや難点があり、実用的な方法とはいえない。

著者らは1994年より本細菌の選択培地の作成を試み、改良を加えてきた。その結果、作成した分離用培地 (PST-

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

² 農林水産省横浜植物防疫所 (〒231-0801 横浜市中区新山下1-16-10) The Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan, Yokohama Plant Protection Station, Shinyamashita 1-16-10, Naka-ku, Yokohama-shi 231-0801, Japan

³ 鹿児島県茶業試験場 (〒897-0303 鹿児島県知覧町永里3964) Kagoshima Prefectural Tea Experiment Station, Nagasato 3964, Chiran-cho, Kagoshima 897-0303, Japan

* Corresponding author (E-mail: araik@farm.agri.kagoshima-u.ac.jp)

SM 培地と命名)を用い、チャ樹体より本細菌を選択的に分離できることが判明したのでその結果を報告する。

材料および方法

供試細菌株及び供試培地 実験に用いた *Pseudomonas syringae* pv. *theae* は著者らがチャ赤焼病病斑より分離した

もの、および静岡大学農学部より分譲していただいたものである。それらの菌株及び選択効果の比較のために用いた細菌 4 属 34 種の由来は Table 1 に示した。罹病組織より *P. syringae* pv. *theae* の分離には主として、ジャガイモ半合成培地 (ジャガイモ; 200 g, ブドウ糖; 20 g, 寒天; 15 g, 蒸留水 1,000 ml, pH 6.8, 以下 PDA 培地と略称)

Table 1. Bacterial strains used for selectivity assay on PST-SM

Bacterial strains	Sources ^{a)}
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>theae</i> 7715, 7718, 9308	KAU
" 9301, 9302, 9303, 9304, 9305, 9306, 9307	KAU
" 9501, 9526	KAU
" K93001, No. 1	KPTES
" 632	KPTES
" S-2	SU
<i>Acidovorax konjaci</i> b-1	NIAS
<i>Burkholderia caryophylli</i> NIAES1406, NIAES1192	NIAES
<i>B. gladioli</i> pv. <i>gladioli</i> NIAES1064	NIAES
<i>P. aeruginosa</i> IAM1054	NIAS
<i>P. aeruginosa</i> ATCC7700	ATCC
<i>P. aureofaciens</i> IAM1001	NIAS
<i>P. azotoformans</i> IAM1603	NIAS
<i>P. cruciviae</i> IAM1048	NIAS
<i>P. desmolytica</i> IAM1508	NIAS
<i>P. diminuta</i> IAM1513	NIAS
<i>P. fluorescence</i> p-15	NIAS
<i>P. fragi</i> IAM1650	NIAS
<i>P. iodinum</i> IFO3558	NIAS
<i>P. melanogenum</i> IAM1554	NIAS
<i>P. mildenbergii</i> IAM1505	NIAS
<i>P. ovalis</i> IAM1002	NIAS
<i>P. polycolar</i> IFO3918	NIAS
<i>P. putida</i> IAM1505	NIAS
<i>P. putrefaciens</i> IAM1509	NIAS
<i>P. saccharophila</i> IAM1504	NIAS
<i>P. schuylikillensis</i> IAM1501	NIAS
<i>P. smaragdina</i> P-35	NIAS
<i>P. sp.</i> P-47	NFTES
<i>P. syringae</i> pv. <i>aptata</i> P1-3-1	NIAS
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> P-3	NIAS
<i>P. syringae</i> pv. <i>erobotryae</i> 1	NIAS
<i>P. syringae</i> pv. <i>lachrymans</i> 1318	NIAS
<i>P. syringae</i> pv. <i>mori</i> P-23	NIAS
<i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> Ku7102, Ku7103	KU
<i>P. xanthae</i> IAM1301	NIAS
<i>Ralstonia solanacearum</i> 8109, 8224	NIVOPT

a) Abbreviations for culture collections.

ATCC: American Type Culture Collection, NFTES: Nagasaki Fruit and Tree Experiment Station, Japan, NIAS: National Institute of Agricultural Sciences, Japan, NIAES: National Institute of Agro-Environmental Sciences, Japan, NIVOPT: National Institute of Vegetable, Ornamental Plant and Tea, Japan, KAU: Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Japan, KPTES: Kagoshima Prefectural Tea Experiment Station, Japan, KU: Faculty of Agriculture, Kyushu University, Japan,; SU: Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan

を用い、その他の実験では、King's B⁹⁾ 培地を用いた。

分離用培地の選択効果の検討 Table 1 に示す *P. syringae* pv. *theae* 各菌株を PD 液体培地で 25°C, 24 時間培養し、直ちに滅菌蒸留水を加え希釈液を調製した。各希釈液に含まれる細菌数を血球計算盤で計測し、それぞれの細菌濃度の希釈液を作成した。それらを分離用培地平板に塗抹接種し、25°C で 7 日間培養した。培養 5 日目に、コロニー形成の有無およびコロニー数を測定した。また、分離用培地における *P. syringae* pv. *theae* のコロニー形成効率は、King's B 平板と比較した。あらかじめ 10^4 および 10^5 (cells/ml) に調製した細菌懸濁液の所定量 (100, 10 μ l) をそれぞれ培地に流し込み、5 日後に形成されたコロニーを数え、細菌懸濁液の生菌数として換算したものをコロニー数として記載した (Table 4)。

分離用培地によるチャ葉からの細菌の分離 鹿児島県知覧町の赤焼病発病圃場のチャ葉を定期的に採集し、4°C の冷蔵庫に保存した。採集したチャ葉は 24 時間以内に実験に供試した。チャ樹の各部位より採取した葉 5 g を滅菌したはさみで細かく切り刻み、組織片を滅菌水 30 ml 中でミキサーを用いて 2 分間攪拌し、これに 20 ml 滅菌水を加えたものを試料原液とした。原液の 0.1 ml を分離用培地平板に塗抹接種し、出現したコロニーを観察した。

分離用培地で分離した細菌の病原性と ELISA による判定 分離用培地で分離された細菌分離株が *P. syringae* pv. *theae* であるかどうかを確かめるために、分離株をチャ樹へ接種し発病の有無を調べた。また、分離株に対して *P. syringae* pv. *theae* の抗血清による ELISA を行った。まず、分離用培地平板に出現した単コロニーを釣菌し、新たな PDA 培地で増殖 (25°C, 36 時間) させたものを 10 ml 滅菌水に懸濁した。この懸濁液を約 10^8 cfu/ml 濃度に調製し、接種試験と ELISA に用いた。接種試験には、葉が 10 枚程度付いた新梢を約 25 cm の長さに切り取り、その葉に懸濁液を注入する方法を用いた。懸濁液をツベルクリン用注射器に入れ、チャ葉の中肋付近の細胞間隙に注入した。注入されたかどうかは水浸斑の形成で確認した。接種した切り枝を水差しにし、13°C, 12 時間照明の恒温室に 20 日間置き、発病の有無を調べた。ELISA は既報⁷⁾ に従った。

結 果

分離用培地の組成

King's B 培地と PDA 培地における培養的性質を 25°C で比較し、King's B 培地の成分を参考に、抗生物質を添加し作製した。

炭素源として、しょ糖およびグリセロールを比較した。しょ糖 10 g/l を加えた培地では、培養初期には安定したコロニーを形成したが、日数が経つにつれてコロニーの数が増えたり、融合する頻度が高くなり、色調が薄くなるなどの変化が認められた。グリセロール 10 ml/l を加えた培地では、培養初期から後期まで比較的安定したコロニー性状を示した。

プロテオースペプトンの量を、それぞれ 20, 10, 5 g/l と減少させるとコロニーの数と大きさが減少し、濃度 20 g/l が最適であった。また、*P. syringae* pv. *theae* のコロニーを特異的な色に染色できないかと考え、ラウリル硫酸ナトリウム、フェノールレッド、メチルバイオレット、クリスタルバイオレット、ニュートラルレッド、ブロムチモルブルーなどの色素類を添加したが、他種細菌と比べ顕著な差は認められなかった。一方、他種細菌や糸状菌の生育を抑えるために数種抗生物質を比較したところ、セファロキシシンとシクロヘキシミドを用いると選択性の向上が認められた。これら 2 種の抗生物質の添加量を 1,000 mg/l から順に半減させた 11 段階の濃度におけるコロニーの数と大きさを比較し、使用濃度をそれぞれ 250, 100 mg/l とした。以上の結果より、Table 2 に示した組成の培地を作成した。約 47°C に保った基本成分 (プロテオースペプトン; 20 g, グリセリン; 10 g, リン酸水素二カリウム; 1.5 g, 硫酸マグネシウム; 1.5 g, 寒天; 12 g, 蒸留水; 900 ml, pH 7.2) 9 ml に、0.45 μ m のフィルターでろ過滅菌した所定濃度の抗生物質 (セファレキシシン 250 mg/l, シクロヘキシミド 100 mg/l) 混合液 1 ml を直径 9 cm のシャーレで混合したものを使用した。

分離用培地における供試細菌のコロニー形成の有無および形態

P. syringae pv. *theae* を分離用培地平板を用い、25°C で培養すると、そのコロニーは 2 日目で判別できるようになり、3~4 日目で濃淡のある乳白色になった (Fig. 1)。4 日目には性状が明確になり、5 日目にはコロニーの形態

Table 2. Composition of PST-SM

Protease peptone	20 g
Glycerol	10 ml
Disodium hydrogen phosphate	1.5 g
Magnesium sulfate	1.5 g
Cephalexin	250 mg
Cycloheximide	100 mg
Agar	12 g
Distilled water	1,000 ml
pH	7.2

Fig. 1. Opalescent colonies of *Pseudomonas syringae* pv. *theae* on PST-SM at 2 (left) and 4 (right) days after inoculation.

が崩れ不正円形になることが多かった。培養4日目のコロニーの特徴は以下のとおりである：円形，全体に均一または濃淡のある乳白色，凸面状，光沢，全縁，均質で流動的。また，分離株によっては高さ，表面，縁の性状に若干違いが認められた（Table 3）。*P. syringae* pv. *theae* の中でも，No. 1, 632 および S-2 は他の系統とコロニーの高さ，表面，縁の構造に若干違いが認められたが，形状，色調，透明性においては酷似し，他種細菌との識別が可能であった。以上の所見は肉眼で確認できた。*P. syringae* pv. *theae* を確実に判別する方法として，培養2日目にコロニーが形成されたシャーレを透明のガラス板に置き，斜め下方より透過光照射するとコロニーに微細な顆粒状あるいは繊維状構造物を含む目玉焼き状の形態が認められた（Fig. 2）。この形態は野生株においては必ず認められたが，培養株では稀に認められない場合もあった。

対照に用いた *Pseudomonas* 属および近縁の細菌を分離用培地で培養したところ，35分離株のうち，14分離株に生育が認められ，21分離株には生育が認められなかった。コロニーを形成した14分離株のうち，12分離株は形と色で明らかな違いが認められ，容易に区別できた。形と色が類似していた1分離株も構造に違いが認められた。すなわち，コロニー性状が最も類似していたのは *P. azotoformans* IAM1603 であったが，*P. syringae* pv. *theae* と比べると，高さが低く，透明性が劣る，生育が早く大型になる，という違いが認められ，区別が可能であった。

平板効率

赤焼病細菌6株を King's B と分離用培地で培養し，4日目に測定したコロニー数を Table 4 に示した。その結果，いずれの培地でも，希釈倍率にほぼ比例する数のコロニーが形成された。King's B に対する分離用培地の平板効率は，菌株及び菌濃度によって違いが見られたが，73%以上の値が得られた。このことより，本分離用培地の平板効率は比較的高く，検出限界は 1.0×10^2 以上であると推定された。

チャ葉からの *Pseudomonas syringae* pv. *theae* の分離

1995年10月13日，11月13日，11月28日，12月25日に，鹿

Fig. 2. Fried-egg type colonies within granular and fibril structures of *Pseudomonas syringae* pv. *theae* wild strain observed two days after inoculation.

Table 3. Colony types of grown bacteria on PST-SM

Bacterial strains	Shape	Color	Elevation	Surface	Edge	Consistency
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>theae</i>						
7715, 7718, 9301, 9302, 9303, 9304	Ci	Op	Co	Sm	En	Bu
9305, 9306, 9307, 9308, K93001	Ci	Op	Co	Sm	En	Bu
N0.1	Ci	Op	Na	Sm	De	Bu
632	Ci	Op	PC	Du	En	Bu
S-2	Ci	Op	PC	Sm	En	Bu
<i>Burkholderia caryophylli</i> NIAES1406	Ir	PY	Na	Sm	Lo	Bu
" NIAES1192	Ir	PY	Na	Sm	Lo	Bu
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM1054	Ir	PY	Fl	Sm	Un	Bu
<i>P. aeruginosa</i> ATCC7700	Ci	PY	PC	Du	De	Bu
<i>P. azotoformans</i> IAM1603	Ci	Op	PC	Sm	De	Bu
<i>P. fragi</i> IAM1650	Ci	PY	Ra	Du	En	Bu
<i>P. ovalis</i> IAM1002	Ir	PY	Fl	Sm	De	Bu
<i>P. polycolar</i> IFO3918	Ir	PY	Fl	Sm	En	Bu
<i>P. putrefaciens</i> IAM1509	Ci	PY	Fl	Du	De	Vi
<i>P. saccharophila</i> IAM1504	Ci	Op	Co	Ro	En	Vi
<i>P. syringae</i> pv. <i>atropaciens</i> P-3	Ir	Op	Um	Du	De	Vi
<i>P. syringae</i> pv. <i>erobotryae</i> I	Ir	PY	Fl	Du	De	Vi
<i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> Ku7102	Ir	PY	Fl	Du	De	Vi
" Ku7103	Ir	PY	Fl	Du	De	Vi

a) Abbreviations for features of colonies;

Ci: circle, Ir: irregular,

Op: opalescent, PY: pale-yellow,

Co: convex, PC: plano-convex, Na: navel, Fl: flat, Ra: raised, Um: umbonate,

Sm: smooth, Du: dull, Ro: rough, De: dentate, En: entire, Lo: lobate, Un: undulate,

Bu: butyrous, Vi: viscid.

Table 4. Recovery of *Pseudomonas syringae* pv. *theae* and plating efficiency on King's B and PST-SM media

Strains	Concentration (cells/ml)	No. of colonies		Plating efficiency (%)
		King's B (a)	PST-SM (b)	
9301	10 ⁵	30133	26240	87.1
	10 ⁴	3377	3310	98.0
7715	10 ⁵	15733	11627	73.9
	10 ⁴	1133	970	85.6
K93001	10 ⁵	21760	23367	107.4
	10 ⁴	2247	2290	101.9
No. 1	10 ⁵	35520	30933	87.1
	10 ⁴	4747	4640	97.7
632	10 ⁵	13227	11467	86.7
	10 ⁴	873	937	107.3
S-2	10 ⁵	40907	39413	96.3
	10 ⁴	4160	4000	96.2

Number of colonies was calculated as a real number occurring on each media. Detailed procedure is described in the text. The number is an average of three replications.

Plating efficiency (%) = $b \div a \times 100$

児島県知覧町の赤焼病発生チャ園で任意に採集したチャ葉の懸濁液を作成し、分離用培地平板に塗抹し、25°Cで4日間培養後、培地上に形成された細菌コロニーを調査し

た。調査した400個のコロニーはA, B, C (A: 赤焼病細菌の性状を示したコロニー, B: 赤焼病細菌類似の白色系コロニー, C: 黄色系のコロニー) の3つに大別された

Table 5. Recovery of *Pseudomonas syringae* pv. *theae* from infected tea plant leaves on PST-SM

Experiments (Date of sampling)	Type and number of colonies			
	A	B	C	Total
1-1 ('95, 10, 13)	2	30	0	32
1-2 ('95, 10, 13)	1	53	3	57
2-1 ('95, 11, 13)	10	16	0	26
2-2 ('95, 11, 13)	13	38	0	51
3-1 ('95, 11, 28)	62	22	1	85
3-2 ('95, 11, 28)	48	11	1	60
4-1 ('95, 12, 25)	8	39	0	47
4-2 ('95, 12, 25)	11	31	0	42
(Total no. of colonies)	155	240	5	400

A: Opalescent colony resembled *P. syringae* pv. *theae*.

B: Opalescent or milky white colony.

C: Yellowish colony.

(Table 5). A型コロニーは培養2日目、乳白色、円形、中高、平滑、光沢、透明感があった。B型コロニーは白色あるいは乳白色を呈したが、光沢が弱く、透明感に欠けていた。A型に識別し難いものはB型に分類した。C型は色調が異なり、A・B型とは明らかに異なった。A型およびB型コロニーを示した菌株から任意にそれぞれ46菌株を抽出し、接種による病原性とELISAによる血清反応により赤焼病細菌であるかどうかを調べた。その結果、A型コロニーを示した46菌株では、いずれも病原性が認められELISAでも陽性であった。B型コロニーを示した46菌株では、5菌株が病原性とELISAで陽性を示し、残り41菌株は病原性とELISAで陰性を示した。さらに、B型コロニーを示した残り194菌株についてELISAを行ったところいずれも陰性であった。なお、本培地では罹病組織1gあたり 10^2 cfu以上の*P. syringae* pv. *theae*が分離された。

考 察

本実験で作成したPST-SMにおける*Pseudomonas syringae* pv. *theae*のコロニー性状をヴィヨン・ペプトン寒天培地²⁾と比較すると多くの形状は類似していたが、コロニーが不透明になるという大きな違いがあった。また、*P. syringae* pv. *theae*のなかでも、No. 1, 632およびS-2は他の多くの系統とコロニー性状が異なった。632およびS-2は静岡県で分離された系統で、菌株は若干異なるものが含まれるが、静岡株はファージ感受性³⁾、血清反応^{7,17)}、菌体に含まれるプラスミド¹⁶⁾などが鹿児島株とは異なることが知られ、*P. syringae* pv. *theae*は2つのグループに分け

られる。これらの違いが本培地でのコロニー性状に反映されたかどうかは、さらに検討する必要がある。しかしながら、本培地において、比較対照に用いた4属34系統の細菌のうち2属14系統で生育が認められ、20系統では生育が認められなかった。コロニーが形成された14系統のうち、13系統はチャ赤焼病細菌*P. syringae* pv. *theae*が形成するコロニーとは明らかに性状が異なった。唯一コロニー性状が類似した*P. azotoformans*においても、*P. syringae* pv. *theae*と比較すると透明性と生育の速さに違いが認められた。これらの結果から、本培地は供試した*Acidovorax*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*属細菌との識別が可能であった。また、赤焼病罹病葉から分離された細菌のうち、*P. syringae* pv. *theae*はコロニー内部の目玉焼き状と特徴を確認することによって、他種細菌とを区別できることも確かめられた。*P. syringae* pv. *theae*野生株におけるこの特徴は、継代培養を続けた場合に消失することがあった。この理由として、本菌を栄養培地で継代培養した場合に形成されるコロニー性状のうち高さや縁の形状が若干異なるものが時に出現することが認められたことと関係するのではないかと推定される。

P. syringae pv. *theae*の検出に関する研究として、著者および共同研究者はファージ、ELISAおよび特異的プライマーを用いた方法について報告したが^{3,7,16)}、いずれも精度および実用上の問題を解決していない。すなわち、ファージ法では、2種のファージのいずれかが*P. syringae* pv. *erobotryae*, *P. syringae* pv. *lachrymans*および*P. syringae* pv. *mori*にも寄生性が認められ、ELISAでは、*P. aeruginosa*および*P. polycolor*と若干の反応が見られた。PST-SMを用いた場合は、上記5種のうち、*P. syringae* pv. *lachrymans*および*P. syringae* pv. *mori*の2種は生育せず、*P. aeruginosa*, *P. polycolor*, *P. syringae* pv. *erobotryae*の3種は生育したがコロニー性状が異なった。また、西¹⁸⁾は本細菌の16S-23S rRNA遺伝子間のスペーサー領域を基に設計したプライマーを用いて得たPCR産物を、比較した結果、60菌株のうち59菌株で特異的バンドの検出を行ない、自然界からの本細菌の検出の可能性を示唆したが、実用化に至っていない。

一方、著者らは本細菌の分離用培地を作成し、改良を加えてきた²²⁻²⁴⁾。本実験で開発したPST-SMを用いると、*P. syringae* pv. *theae*では生育初期(培養2日目)のコロニーに透過光を照射することにより特異的な構造が認められ、これが他種細菌との識別に極めて有効であった。本実験では、Table 5に示した全てのコロニーについて顕微鏡で目玉焼き状の構造を確認しなかったために、B型コロ

ニーと判定したにもかかわらず、病原性と ELISA で陽性を示した株が存在したものと考えられる。その後、この構造を決め手に、本培地を用いてチャ樹体より本細菌の選択的分離がなされている¹⁹⁾。また、本細菌の培養懸濁液をチャ園土壌と混ぜ、分離を試みたところ少数ではあるが特異的コロニーが検出され、このコロニーを形成した細菌は血清反応陽性で病原性も確かめられた (未発表)。

以上の結果より、本実験で作成した PST-SM は *P. syringae* pv. *theae* をチャ樹体より選択的に分離でき、実用的にも使用できるものと考えられる。

謝 辞

本研究を行なうに当り、供試細菌を分譲いただいた静岡大学名誉教授後藤正夫博士、九州大学大学院助教授古屋成人博士に感謝いたします。

引用文献

1. 安藤康雄・浜屋悦次・瀧川雄一・後藤正夫 (1986). チャ赤焼病の病徴の変異. 日植病報 52: 478-483.
2. 荒井 啓・野中寿之・三木洋二・植原一雄 (1979). 薩摩半島南部に発生した茶の細菌性病害について. 鹿大農学報 29: 55-61.
3. 荒井 啓・野中寿之・三木洋二・植原一雄 (1982). チャ赤焼病病原細菌のファージについて. 鹿大農学報 32: 63-68.
4. 堀正太郎 (1914). 細菌の寄生に基づく茶樹の一大病害 (赤焼病). 病虫雑 1: 247-252.
5. 堀川知廣 (1983). チャ赤焼病の発病適温について. 茶研報 57: 69 (講要).
6. 堀川知廣 (1985). 静岡県におけるチャ赤焼病の分布, 病徴, 発生時期および品種間差異. 関西病虫研報 27: 7-14.
7. 岩井 久・迫田琢也・西 八束・荒井 啓 (1997). ELISA によるチャ赤焼病細菌の検出. 鹿大農学報 47: 15-22.
8. 加藤光弘・瀧川雄一 (1997). 各種毒素産生遺伝子および氷核活性遺伝子の *Pseudomonas syringae* 群細菌における分布. 日植病報 63: 501 (講要).
9. King, E.O., Ward, W.K. and Raney, D.E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med. 44: 301-307.
10. 成澤信吉・木場隆廣 (1991). 茶園の立地条件と赤焼病の発生. 茶研報 74 (別冊): 70 (講要).
11. 成澤信吉・木場隆廣 (1991). 幼木茶園における赤焼病の発生が成木園の発病に及ぼす影響. 茶研報 74 (別冊): 72 (講要).
12. 成澤信吉・木場隆廣 (1991). チャ赤焼病の発生が一番茶, 二番茶収量に及ぼす影響. 茶研報 76 (別): 68 (講要).
13. 成澤信吉 (1993). チャ赤焼病の発生生態. ①診断・発生時期などについて. 茶 46(3): 4-8.
14. 成澤信吉 (1993). チャ赤焼病の発生生態. ②発生に及ぼす諸要因, 特に光の影響について. 茶 46(4): 4-12.
15. 成澤信吉 (1993). チャ赤焼病の発生生態. ③防除法について. 茶 46(5): 4-9.
16. 西 八束 (1993). 赤焼病菌の検出. 平成 5 年度病害虫に関する試験成績書. pp. 16-36 鹿児島県茶業試験場, 鹿児島.
17. 西 八束・長友 繁・松田 泉 (1994). チャ赤焼病細菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *theae*) の血清学的検出. 日植病報 60: 366 (講要).
18. 西 八束 (1996). PCR による赤焼病菌の検出. 平成 8 年度病害虫に関する試験成績書. pp. 1-4 鹿児島県茶業試験場, 鹿児島.
19. 西 八束・澤田広之・岩井 久・松田 泉・荒井 啓 (1998). 圃場での茶樹体における赤焼病菌の動静について. 日植病報 64: 378 (講要).
20. 野中寿之 (1983). 赤焼病の発生生態に関する二, 三の知見と薬剤防除法について. 茶研報 57: 69 (講要).
21. 岡部徳夫・後藤正夫 (1955). 日本に於ける植物細菌病害. IV. 茶樹の赤焼病について. 静大農研報 5: 96-99.
22. 迫田琢也・荒井 啓 (1994). チャ赤焼病細菌の選択培地作成の試み. 九病虫研報 40: 150 (講要).
23. 迫田琢也・岩井 久・荒井 啓 (1995). チャ赤焼病細菌の選択培地の改良とその特性. 九病虫研報 41: 128 (講要).
24. 迫田琢也・永江美也子・江口武志・岩井 久・荒井 啓 (1999). チャ赤焼病細菌の選択培地における *Pseudomonas* 属細菌の生育について. 九病虫研報 45: 137 (講要).
25. 菅 康弘・落合弘和・加来久敏 (1996). チャ赤焼病細菌 *Pseudomonas syringae* pv. *theae* の RFLP 解析. 日植病報 62: 306 (講要).
26. 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.
27. Takikawa, Y., Tsuyumu, S. and Goto, M. (1991). Occurrence of bacterial leaf spot of maple incited by *Pseudomonas syringae* pv. *aceris* in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 57: 724-728.
28. Young, J.M., Dye, D.W., Bradbury, J.F., Panagopoulos, C.G. and Robbs, C.F. (1978). A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. N. Z. J. Agric. Res. 21: 153-177.