

Selective Agar Medium and BIO-PCR 選択培地と BIO-PCR とを組み合わせた土壌中からの低密度タバコ立枯病菌の定量法を開発した. 原・小野および改変 SMSA 培地を用いて福島県タバコ圃場の土壌から立枯病菌を検出した結果, 約  $10^3$  cfu/g 乾土以上レベルの立枯病菌を安定して定量することができた. 供試土壌によっては片方の培地のみに立枯病菌が検出され選択性の違いが認められた. 次に  $10^3$  cfu/g 乾土未満の汚染土壌については青枯病菌 *hrp* レギュロン遺伝子 *hpx2* の配列を基に作製した *hpx2*-A, -B と *hpx2*-C, -D のプライマーセットを用いて BIO-PCR で検出を試みた.  $2.3 \times 10^1$  cfu/g 乾土に調整した汚染土壌を直接 SMSA 液体培地に加え 0-24 時間の培養液に対して nested PCR を行ったところ, 12 時間培養で立枯病菌が検出できた. 両選択培地で立枯病菌が検出できなかった土壌の中にも BIO-PCR により立枯病菌の存在が確認されたものもあった. 以上の結果, 土壌中の立枯病菌を汚染程度が約  $10^3$  cfu/g 乾土以上の場合には 2 種の選択培地で, また同未満の低レベルの場合は BIO-PCR により検出・定量することが可能となった.

(福島県たばこ試・\*近中四農研, 現中央農研・\*\*岡山県生科総研)

(20) 小室幸子・土屋健一\*・Mulya, K.\*\*・堀田光生\*\*\*・百町満朗 インドネシア産青枯病菌の多様性 Komuro, S., Tsuchiya, K., Mulya, K., Horita, M. and Hyakumachi, M.: Diversity of *Ralstonia solanacearum* Strains Isolated from Indonesia インドネシアでは, ナス科植物ほか多数の植物種に青枯病の存在が知られており, ジャガイモ系統 (レース 3) については, 日本産系統との類似性が示唆されている (Horita & Tsuchiya, 2000). 今回, ジャワ島の中・西部地域から新たに収集した菌株を含むジャガイモおよびショウガ科植物由来の 80 菌株について, 生理型 (biovar) および病原性を比較, 検討した. その結果, 22 菌株が biovar 2, 44 菌株が同 3, および 14 菌株が同 4 に類別された. クルクマ属およびショウガ属に由来する菌株は biovar 3 または 4 に類別されたが, 同種植物でも収集時期や場所によって異なった. これらの菌株は, トマト, ナス等に対する病原力は概して弱かった. 一方, 海拔 1,100 m-1,450 m の地域で収集したジャガイモ由来 50 菌株は, 16 菌株が biovar 2 に, 34 菌株が同 3 に判別されたが, 高度と biovar 分布の関係は明確でなかった. 前者はジャガイモに強病原力, トマトおよびナスには弱病原力でありレース 3 と, 後者はタバコ, ナスに強病原力で, ジャガイモには弱病原力であったことから, レース 1 と判定された.

(岐阜大農・\*農環研・\*\*RISMC・\*\*\*生物研)

(21) Villa, J. E.・Tsuchiya, K.\*・Horita, M.\*\*・Opina, N. L.\*\*\*・Natural, M. P.\*\*\* and Hyakumachi, M. **Phylogenetic Analysis of *Ralstonia solanacearum* Based on the PCR-Amplified 282 bp Fragment** Strains of *Ralstonia solanacearum* isolated from different host crops in the Philippines were characterized according to biovar classification and phylogenetic analysis based on the nucleotide sequence alignment of the 282 bp fragment (Opina *et al.*, 1997). Phylogenetic tree showed that the strains were divided into three groups: group 1 consisting of strains belonging to biovars 3 and 4, group 2 consisting of strains belonging to biovars 1 and 2, and group 3 consisting of strains belonging only to biovar 2. The grouping of the strains corresponded to that described by Taghavi *et al.* (1997) using the sequence of the 16S rRNA. Restriction analysis using a restriction enzyme *Nla* III for the PCR-amplified 282 bp fragment of 160 strains revealed that all strains belonging to biovars 3 and 4 (group 1) showed restriction fragments of 115 and 167 bp size, strains belonging to biovars 1 and 2 (group 2) showed no restriction, and strains belonging to biovar 2 (group 3) showed restriction fragments of 55 and 227 bp size, respectively, suggesting that RFLP should be useful for quick differentiation of the strains. (Gifu Univ.・\*NIAES・\*\*NIAS・\*\*\*UPLB)

(22) 鄭 熙英\*・茵 美智\*\*・宇垣正志\*\*\*・李 準卓\*\*\*\*・日比忠明\*・難波成任\*,\*\*\* 韓国産 porcelain vine witches' broom 病 (新称) の phytoplasma の系統解析とその rRNA オペロンの遺伝子構成 Jung, H.-Y., Yae, M.-C., Ugaki, M., Lee, J.-T., Hibi, T. and Namba, S.: Phylogenetic and Genomic Analysis of Phytoplasma Causing Porcelain Vine Witches' Broom Disease in South Korea Based on the Gene Organization of Its Ribosomal RNA Operons 2001 年, 韓国の鬱陵島で新梢に激しい小葉及びてんぐ巢症状を呈するノブドウ (*Ampelopsis brevipedunculata* var. *heterophylla*) が多数認められた. この罹病組織より全 DNA を抽出し, ファイトプラズマの 2 つの rRNA オペロン (*rrnA*, *rrnB*) を LA-PCR により区別して増幅する primer set (鄭ら, 本年度大会) を用いて PCR を行い, それぞれより増幅された約 4.8 kbp と 5.7 kbp の DNA 断片の全塩基配列を決定した結果, 本病害の病原はファイトプラズマであることが判明した. *rrnA* の 16S rRNA 遺伝子の全塩基配列を用いて系統解析を行った結果, 16S-group I の AY-subgroup (sg.) (Jung *et al.*, 2002) に分類された. また両オペロン間で 16S rRNA 遺伝子,