

植物検疫重要細菌病の診断技法 に関する研究

第V報 *Corynebacterium fascians* 選択分離培地*

高山 睦雄・川合 昭・末次 哲雄**

横浜植物防疫所

Studies on the Diagnosis of Foreign Bacterial Diseases of Quarantine Significance. V. A Selective Medium for Isolation and Detection of *Corynebacterium fascians*. Mutsuo TAKAYAMA, Akira KAWAI and Tetsuo SUETSUGU. (Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 21: 33-40 (1985).

Abstract: A selective medium (CFS) was developed for isolation and detection of *Corynebacterium fascians*. This medium was made by modifying KADO & HESKETT's medium D2. The composition of the medium as follows: 5 g sorbitol, 8 g casein hydrolysate, 4 g yeast extract, 2 g K_2HPO_4 , 1 g KH_2PO_4 , 1 g NH_4Cl , 0.3 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 5 g $LiCl$, 1.2 g tris(hydroxymethyl) aminomethane, 20 mg polymyxin B sulfate (8,000 USP Units/mg), 2 mg sodium azide, 100 mg cycloheximide, 15 g agar in one liter of distilled water. On this medium, orange-colored colonies of *C. fascians* appeared after incubation 7 days at 25°C, and could be easily distinguished from other bacterial colonies. Colony growth of *C. fascians* on CFS was better than that on medium D2. Reduction percentage of soil bacteria on CFS was 92.6% of the total number of soil bacteria recovered on nutrient agar, and it was better than that on medium D2. By using CFS medium, colonies of *C. fascians* could be easily isolated and detected from diseased plant tissue of sweet pea and its rhizosphere soil.

Therefore, it is suggested that CFS medium will be successfully applied for isolation and detection of *C. fascians* on the plant quarantine inspection.

はじめに

Corynebacterium fascians (TILFORD) DOWSON はスイートピーに fasciation (帯化病) を引き起こす細菌として最初に報告された (TILFORD, 1936)。本細菌は北アメリカおよび北部ヨーロッパ諸国に分布し (C.M. I., 1967), キク, イチゴ, カーネーションなどにも寄生する宿主範囲の広い細菌で (LACEY, 1936), 主としてスイートピーなどの園芸植物に激しい被害を与えている (BRADBURY, 1967)。このため, わが国では本細菌を侵入を警戒する細菌のひとつにあげており, 植物検疫における確な検出法の開発が要望されている。

末次ら (1981) は血清学的方法を用いて本細菌の検出を試みているが, 宿主の異なる菌株の抗血清は対応

抗原とのみ反応を示し, 菌株相互間では反応を示さないことから, 種特異性の点で問題があるとしている。そこで, 特定の細菌だけを分離検出できる選択分離培地が本細菌の検出法として利用できないか検討した。

Corynebacterium 属細菌の分離検出用に開発された選択分離培地はいくつか報告されている (MARTEN *et al.*, 1943; KADO and HESKETT, 1970; GROSS and VIDAVER, 1979)。中でも Kado and Heskett の D2 培地は *Corynebacterium* 属の多くの細菌を分離検出できることから, D2 培地の改良を行い, 本細菌の分離検出に適した培地 (CFS 培地) を新たに作成した。そして, 本培地を用いて罹病植物の組織および汚染土壌から本細菌の分離検出を試みたところ, 良好な結果が得られたので報告する。

本試験を行うにあたり, *C. michiganense* pv. *rathayi* 菌株の分譲を受けた農業環境技術研究所生物部細菌分類研究室並びに有益なご助言を賜った前当所病菌課長

* 本報告の概要は, 昭和 59 年度日本植物病理学会秋季関東部会で発表した。

** 現在, 門司植物防疫所

小林敏郎博士，長尾記明病菌課長，西尾 健技官に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

1. 供試細菌

供試細菌の来歴を Table 1 に示した。 *C. fascians* 4 株は農林水産大臣の輸入特別許可（農林水産省指令 53 横植第 1369 号）を得て，イギリスの National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPBP) から導入した。供試細菌はジャガイモ半合成寒天培地（PSA 培地）を入れた試験管斜面に移植し，25℃ の定温器内で 3～5 日間培養したのち，各種の試験に供試した。

2. 選択分離培地の作成

基礎培地（抗菌物質を除く）は，次の方法により， *C. fascians* の発育に有効な成分を取り出して作成した。すなわち，加藤ら（1979）の用いた基本培地：(NH₄)₂SO₄ 0.79 g, KH₂PO₄ 1.0 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, KCl 0.2 g, 寒天 15.0 g, 水 1.000 ml に D2 培地の個々の成分および *C. fascians* が利用可能な栄養素を別々に所定濃度添加して平板培地とし，その表面に滅菌水で希釈した *C. fascians* 469 株の細菌懸濁液（濃度：10³ 個/ml）を塗抹接種して培養した。抗菌物質は作成した基礎培地に所定濃度を添加し，前述と同様の方法により *C. fascians* の集落発育に及ぼす影響を調べた。

3. 細菌の培地表面への接種と培養

本実験においては，特にことわりのない限り培地表面への細菌の接種および培養は次の方法により行なった。直径 9 cm のペトリ皿に約 10 ml の培地を入れて平板とし，その表面に滅菌水で所定濃度に希釈した細菌液 0.1 ml をピペットで滴下し，小型ターンテーブルと L 字型ガラス棒を用いて培地全面に塗抹接種した。接種後のペトリ皿は 37℃ で 30 分間培地表面を風乾させたのち，25℃ の定温器内に移して 7 日間培養した。

4. CFS 培地の細菌発育阻止作用

Table 1 に示した細菌に対する CFS 培地の発育阻止作用を調べるため，細菌懸濁液（濃度：10⁸ 個/ml）に浸した白金耳で，培地上の指定した位置に点をうつように細菌を接種し，25℃ で 5 日間培養した。なお，培地上に出現した集落については色調もあわせて調べた。また，CFS 培地と D2 培地の細菌発育阻止作用を比較するため，滅菌水で希釈した土壌懸濁液を所定量各々の培地に塗抹接種して培養した。

5. 罹病植物の組織および根圏土壌からの *C. fascians* の分離

発芽させたスイートピー（品種：Royal salmon）種子を *C. fascians* 469 株および 1488 株の細菌懸濁液（濃度：各 10⁸ 個/ml）に 30 分間浸漬して接種し，無消毒畑土壌を入れた角型ポケット（8.5×8.5×8.5 cm）に 1 ポットにつき 5 個体植え付け，室内（平均 20℃）で 2～3 ヶ月間育苗した。組織からの分離方法は，発病した個体の地際部の組織 1 g をすり鉢に入れ，滅菌水 9 ml を加えて摩砕し，段階希釈後所定量を CFS 培地に塗抹接種して培養した。根圏土壌からの分離は，罹病植物の根を除去した土壌 3 g を三角フラスコに入れ，滅菌水 27 ml を加えて懸濁，静置し，上澄液を段階希釈後，所定量を CFS 培地に塗抹接種して培養した。なお，全細菌数は Nutrient agar 培地（NA 培地）を用いて同様の方法により調べた。

結 果

選択分離培地の組成

新しく作成した選択分離培地（CFS 培地）の組成を Table 2 に示した。D2 培地組成と異なる点は，炭素源にソルビットを用い，カゼイン加水分解物，酵母エキス，および硫酸ポリミキシン B の添加量を変更し，K₂HPO₄，KH₂PO₄ およびシクロヘキシミドを新たに加えたことである。基本培地での調査では *C. fascians* が利用可能な炭素源のうち，ソルビットが本細菌の発育に最も適していた。カゼイン加水分解物は添加量を増加することにより，集落の発育が良好になり，また集落の特徴である橙色の色調が一層明瞭になった。酵母エキスは培地に添加することにより集落の発育を促進したが，添加量の多少（4～8 g/l）は集落数，色調に変化を与えなかった。硫酸ポリミキシン B（8,000 USP Units/mg）は 20 mg/l では集落の発育に悪影響を及ぼさなかった。また，シクロヘキシミドは糸状菌の発育を抑えるために添加した。

CFS 培地と他種培地における *C. fascians* の発育比較

CFS 培地，D2 培地および NA 培地における本細菌 4 菌株の集落の発育遅速，色調，形態，形成数などについて調査した。各菌株の集落の発育は NA 培地で最も良好で，次いで CFS 培地，D2 培地の順であった。各菌株はともに培養 3 日目から各々の培地上に出現し，CFS 培地での集落は 7 日目に直径 1.5～5.0 mm に

Table 1. Description of bacteria used in this study

Species	strains	Host	Source ^{a)}
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	S ₁		ANU
<i>Corynebacterium fascians</i>	156	Chrysanthemum	NCPBP
	469	Strawberry	NCPBP
	1488	Sweet pea	NCPBP
	2210	Tulip	NCPBP
<i>C. flaccumfaciens</i>			
pv. <i>flaccumfaciens</i>	178, 390, 567, 1751	Bean	NCPBP
<i>C. flaccumfaciens</i>			
pv. <i>oortii</i>	Y-3, T-4, T-15, T-90	Tulip	YPPS
<i>C. michiganense</i>			
pv. <i>michiganense</i>	R-1	Tomato	YPPS
	K-3, K-1-1	Tomato	KHES
<i>C. michiganense</i>			
pv. <i>rathayi</i>	1003, 1004	Orchardgrass	NIAS
<i>C. michiganense</i>			
pv. <i>sepedonicum</i>	65a, 17-4, H-10-1	Potato	YPPS
<i>Erwinia carotovora</i> subsp.			
<i>atroseptica</i>	D-3-1	Potato	YPPS
<i>E. carotovora</i> subsp.			
<i>carotovora</i>	A-2-2	Potato	YPPS
	Hy-3-1	Hyacinth	
<i>E. chrysanthemi</i> pv. <i>chrysanthemi</i>	E7724	Potato	ANU
<i>Pseudomonas avenae</i>			NIAS
<i>Ps. caryophylli</i>	KY-41	Carnation	KHES
<i>Ps. cichorii</i>	1368	Lettuce	NIAS
<i>Ps. gladioli</i> pv. <i>gladioli</i>		Freesia	NIAS
<i>Ps. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>		Cucumber	NIAS
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>japonica</i>			NIAS
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>mori</i>		Japanese mulberry	NIAS
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>	1023	Kidney bean	NIAS
<i>Ps. syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	7246	Tabacco	OTES
<i>Ps. viridiflava</i>			NIAS
<i>Xanthomonas campestris</i>			
pv. <i>alfalfae</i>	1090	Alfalfa	NIAS
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	1076	Japanese radish	NIAS
<i>X. campestris</i> pv. <i>citri</i>	1077	Lemon	NIAS
<i>X. campestris</i> pv. <i>cucurbitae</i>	1081	Squash	NIAS
<i>X. campestris</i> pv. <i>hordei</i>	1035	Orchardgrass	NIAS
<i>X. campestris</i> pv. <i>hyacinthi</i>	EB-2-1	Hyacinth	YPPS
<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzae</i>	1086	Rice	NIAS
<i>X. campestris</i> pv. <i>pisi</i>		Garden pea	ASU
<i>X. campestris</i> pv. <i>pruni</i>	1092	Peach	NIAS
<i>X. campestris</i> pv. <i>vitians</i>		Lettuce	NIAS

^{a)} Stock culture of ANU: Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata Japan; NCPBP: National Collection of Plant Pathogenic Bacteria, Harpenden England; YPPS: Yokohama Plant Protection Station, Kanagawa, Japan; KHES: Kanagawa Horticultural Experiment Station, Kanagawa, Japan; NIAS: National Institute of Agricultural Sciences, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Ibaraki Japan; OTES: Okayama Tobacco Experiment Station, Okayama Japan; ASU: Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Shizuoka Japan.

Table 2. Composition of the selective (CFS) medium ^{a)} for isolation and detection of *Corynebacterium fascians*

Sorbitol	 5g
Casein hydrolysate ^{b)}	 8g
Yeast extract ^{c)}	 4g
K ₂ HPO ₄	 2g
KH ₂ PO ₄	 1g
NH ₄ Cl	 1g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	 0.3g
LiCl	 5g
Tris (hydroxymethyl) aminomethane	 1.2g
Polymyxin B sulfate (8,000 USP Units/mg) ^{b)}	 20mg
Sodium azide ^{d)}	 2mg
Cycloheximide ^{d)}	.. 100mg
Agar	 15g
Distilled water	· 1,000ml

Polymyxin B sulfate, sodium azide and cycloheximide are added to the medium after autoclaving. Final pH of the medium is ca 7.0.

^{a)} This medium was made by modifying Kado & Heskett's medium D2.

^{b)} Sigma Chemical Company, Louis MO USA

^{c)} Difco Laboratories, Detroit Michigan USA

^{d)} Wako Pure Chemical Industries LTD, Oosaka Japan

Table 3. Comparison of colony formation of four *Corynebacterium fascians* strains on selective and nonselective media

Strain	Colonies per plate ^{a)}			Colony efficiency (%) ^{b)}
	CFS	D2	NA	
156	169	177	134	126
469	188	498	233	81
1488	109	— ^{c)}	107	102
2210	148	— ^{c)}	228	65

^{a)} Average number of colonies per plate from five plates. Colonies were counted after incubation for 7 days at 25°C.

CFS = *C. fascians* selective medium, D2 = Kado & Heskett's medium D2, NA = Nutrient agar (Difco Laboratories).

^{b)} Colony efficiency = $\frac{\text{Ave. number of colonies on CFS}}{\text{Ave. number of colonies on NA}} \times 100$

^{c)} Not tested.

なった。集落の色調は菌株間で相違がみられなかったが、培地によって違いがみられ、CFS 培地、D2 培地では培養 7 日目では橙色であったのに対し、NA 培地では淡黄色であった。集落形態は CFS 培地において菌株間に違いがみられ、469 株、1488 株および 2210 株では円形、平滑、中高、全緑集落であり、156 株では不規則形、粗、平坦、波状集落であった。これらの性質は他の培地においても同様であった。また、CFS 培地、NA 培地では集落の大きさはほぼ均一であったが、D2 培地ではかなりのばらつきが見られた。集落数を比較した結果を Table 3 に示した。469 株は D2 培地で最も多くの集落を形成し、CFS 培地の 2.6 倍の値を示した。各菌株の NA 培地に対する CFS 培地の平板効率は 65~126% であった。

CFS 培地の細菌発育阻止作用

対照として用いた NA 培地では供試した 5 属 45 株の細菌はいずれも発育したが、CFS 培地では *Corynebacterium* 属細菌のすべてと *Pseudomonas* 属細菌の *Ps. avenae*, *Ps. syringae* pv. *phaseolicola* の 2 菌株に発育がみられ、その他の細菌の発育は完全に抑えられた (Fig. 1)。CFS 培地は本細菌の集落のみを特異的に培地に出現させることはできなかったが、他の *Corynebacterium* 属あるいは *Pseudomonas* 属細菌の集落の色調が白色~黄色であったことから、本細菌の集落とは容易に区別することができた。

土壌中の細菌に対する CFS 培地と D2 培地の発育阻害率は、前者で平均 92.6%、後者で平均 67.5% であり、CFS 培地の方が D2 培地よりも細菌発育阻害が優れていた。なお、土壌中からは *C. fascians* の色調に類似した集落は検出されなかった。

罹病植物の組織および根圏土壌からの *C. fascians* の分離

C. fascians を接種し、発病したスイートピー (Fig. 2) の組織およびその根圏土壌から、CFS 培地を用いて本細菌を分離検出した結果を Table 4 に示した。供試したいずれの植物組織および根圏土壌からも *C. fascians* が分離された (Fig. 3)。細菌濃度は組織では生重 1 g 当たり約 10^{5-7} 個、根圏土壌では乾土重 1 g 当たり約 10^{3-5} 個であった。

特徴ある橙色の色調から *C. fascians* と判断された集落は、PSA 斜面培地に分離培養後、滅菌水で懸濁 (濃度: 10^{8-9} 個/ml) し、それに発芽させたスイートピー (品種: Royal mixed) 種子を 30 分間浸漬接種し、ベトリ皿内の湿潤ろ紙上に置床して、25°C で 10 日間生

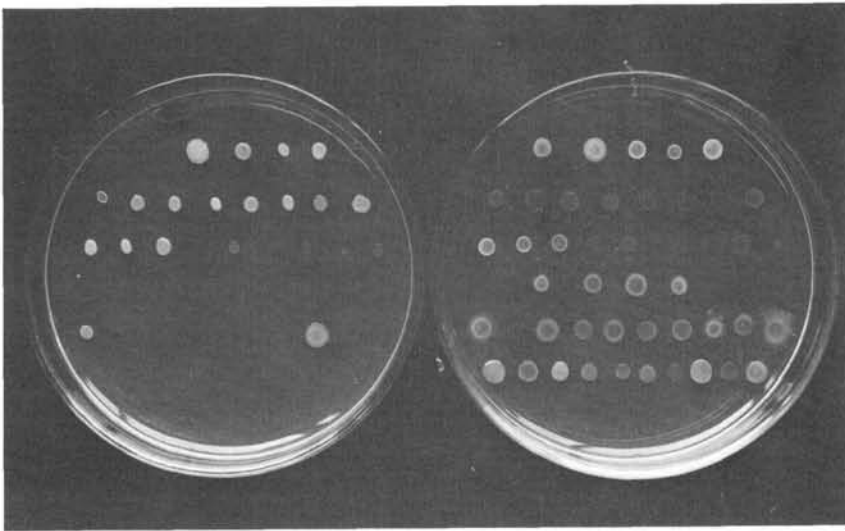


Fig. 1. Replicate plates of bacterial strains listed in Table 1. Plates show colony growth after incubation for 5 days at 25°C. The selective medium (left) supported the growth of all *Corynebacterium* strains, *Pseudomonas avenae* and *Ps. syringae* pv. *phaseolicola*. Nutrient agar (right) supported the growth of all strains.

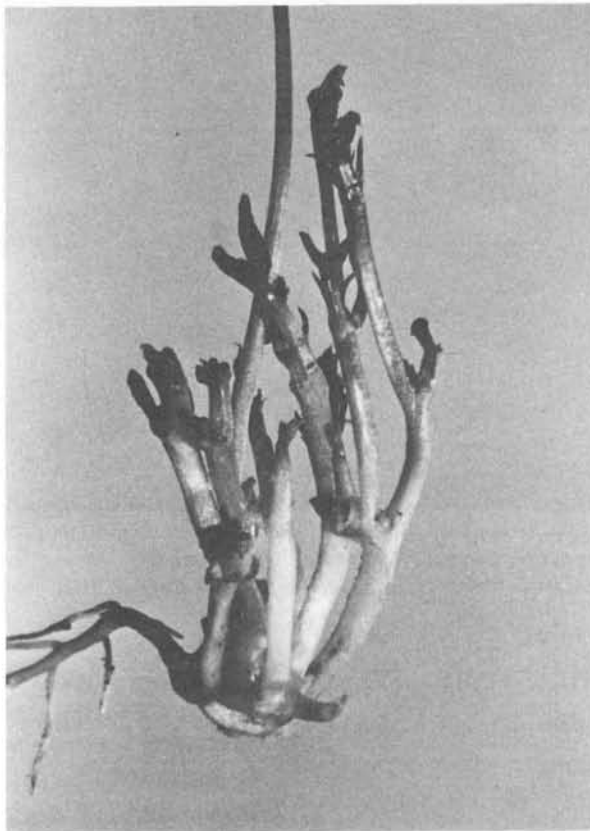


Fig. 2. Fasciated sweet pea seedling 7 weeks after inoculation with *Corynebacterium fascians*.

Table 4. Isolation of *Corynebacterium fascians* from diseased plant tissue of sweet pea and its rhizosphere soil with the selective (CFS) medium

Strain ^{a)}	Recovery ^{b)}		Total bacterial population ^{c)}	
	Plant tissue (cells/g fresh wt)	Rhizosphere soil (cells/g dry wt)	Plant tissue (cells/g fresh wt)	Rhizosphere soil (cells/g dry wt)
469	7.4×10^5	1.4×10^5	2.4×10^6	3.2×10^5
469	4.5×10^5	5.7×10^4	5.5×10^6	1.1×10^7
469	7.0×10^5	1.6×10^4	1.4×10^7	2.1×10^7
469	3.3×10^6	4.6×10^3	5.5×10^7	4.3×10^6
469	3.9×10^5	6.3×10^5	1.6×10^7	4.2×10^6
1488	2.4×10^5	1.1×10^4	1.2×10^7	1.1×10^7
1488	9.4×10^6	9.5×10^3	6.4×10^7	3.6×10^6
1488	3.0×10^6	6.0×10^5	1.3×10^8	6.0×10^6
noninoculated	0	0	5.3×10^5	3.4×10^6

^{a)} Strains were used for inoculum to sweet pea.

^{b)} Number of bacteria was counted from the orange-colored colonies formed on CFS. Colonies were counted after incubation for 7 days at 25°C.

^{c)} Number of bacteria was counted from the colonies formed on nutrient agar.

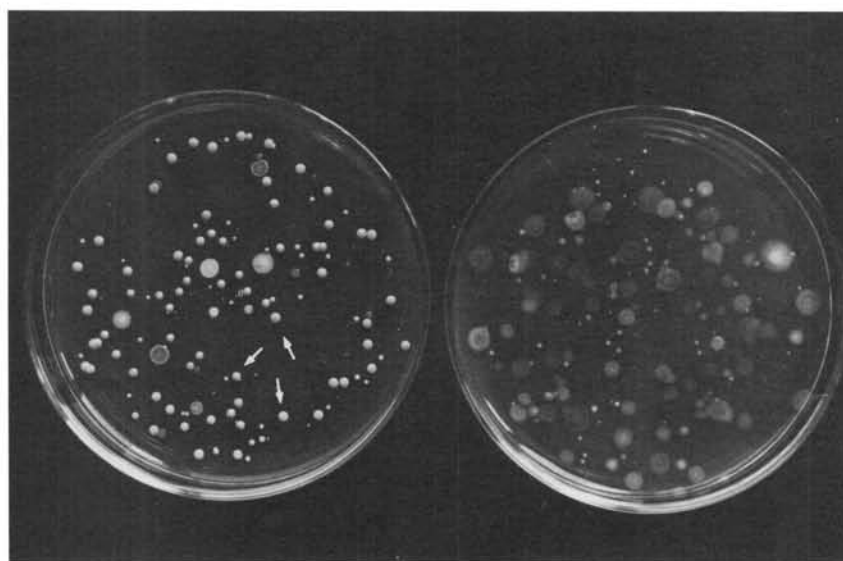


Fig. 3. Comparison of nutrient agar (right) and the selective medium (left) for isolation of *Corynebacterium fascians* from infested rhizosphere soil. Orange-colored colonies of *C. fascians* were visible (arrows) on the selective medium after incubation for 7 days at 25°C.

育させたところ、典型的な帯化症状を生じ、病原性を有していた。

考 察

D2 培地を改良して作成した CFS 培地上では、供試した *C. fascians* 4 菌株はすべて発育し、25°C で培養 7

日目にはいずれの菌株も特徴ある橙色の集落を形成した。これは CFS 培地上に出現する別種細菌と区別できる重要な特徴と考えられた。

本細菌の集落形態は菌株間で違いが見られたが、TILFORD (1936) は本細菌の集落に S (スムーズ) 型と R (ラフ) 型があることを報告しており、469 株、1488 株および 2210 株が前者の、156 株が後者の特徴をそれ

ぞれ有していると思われる。

CFS 培地と D2 培地における *C. fascians* の集落発育を比較した場合、集落数で D2 培地の方が CFS 培地よりもかなり高い値を示す菌株がみられた (Table 3) が、集落の発育は概して CFS 培地の方が良好であり、また、集落の大きさも D2 培地に比べて均一であった。

CFS 培地は本試験で供試した *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* (*Ps. avenae*, *Ps. syringae* pv. *phaseolicola* を除く) および *Xanthomonas* 属の細菌の発育を阻止したが、*Corynebacterium* 属細菌に対してはまったく発育阻止作用を示さなかった (Fig. 1)。このことは、D2 培地の選択性の域を出ていないが、土壌菌に対する発育阻止作用を比較した場合、CFS 培地の方が D 培地よりもかなり優れていた。

CFS 培地を用いて、*C. fascians* に侵されたスイートピーの組織および根圏土壌から容易に病原菌を分離検出することができた。このことは、土壌伝染を行う (Bradbury, 1967) *C. fascians* の分離検出にも本培地が利用できると考えられる。

また、本試験では CFS 培地を用いて分離される細菌は集落の色調から *C. fascians* と確認可能であったが、正確な同定を行うには、分離細菌について病原性の検定を行うことが望ましい。検定植物には発芽させたエンドウ種子を用いる方法も報告されている (ODURO, 1975; ODURO *et al.* 1975) が、本試験においては、*C. fascians* 細菌懸濁液 (濃度: 10^{8-9} 個/ml) に発芽させた種子を 30 分間浸漬接種することにより、ペトリ皿内でも 10 日以内に病原性の有無を確認することができた。しかし、*C. fascians* については接種植物の選定に注意する必要がある、スイートピーに病原性があるものとなないものが報告されている (NCPPB, 1977) ことからして、細菌が分離された元の宿主に接種する必要がある。

CFS 培地を用いての *C. fascians* の分離検出は、技法の簡便さ、確実性などの点から、植物検疫において、十分利用価値がある。スイートピー、シザンサスなどでは *C. fascians* が種子伝染することが報告されており (RICHARDSON, 1979)、また、スイートピー種子では土壌が混入した状態で輸入される実態もあり、今後これらのものからの本細菌の分離検出を CFS 培地を用いて試みたい。

摘 要

Corynebacterium fascians の分離検出に Kado & Hes-

kett の D2 培地を改良した選択分離培地 (CFS 培地) を作成した。培地組成はソルビット 5 g, カゼイン加水分解物 8 g, 酵母エキス 4 g, K_2HPO_4 2 g, KH_2PO_4 1 g, NH_4Cl 1 g, $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0.3 g, $LiCl$ 5 g, トリスヒドロキシメチルアミノメタン 1.2 g, 硫酸ポリミキシン B (8,000 USP Units/mg) 20 mg, アジ化ナトリウム 2 mg, シクロヘキシミド 100 mg, 寒天 15 g, 蒸留水 1,000 ml である。*C. fascians* の集落は、CFS 培地上において 25℃ で培養 7 日目には別種細菌と容易に区別できる橙色の色調を示した。CFS 培地と D2 培地とを比較した場合、*C. fascians* の集落発育は CFS 培地の方が良好であり、また、CFS 培地での土壌菌発育阻害率は 92.6% で、D2 培地のそれよりも優れていた。*C. fascians* に侵されたスイートピーの組織および根圏土壌からの病原菌の分離検出は、CFS 培地を用いることにより容易に行うことができた。

これらの結果から、植物検疫における *C. fascians* の分離検出に CFS 培地が利用できることが明らかになった。

引用文献

- BRADBURY, J.F. (1967) *Corynebacterium fascians*. C.M.I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria No. 121.
- Commonwealth Mycological Institute (C.M.I.) (1967) Distribution maps of plant diseases. No. 426 edition 1.
- GROSS, D.C. and A.K. VIDAVER (1979) A selective medium for isolation of *Corynebacterium nebraskense* from soil and plant parts. *Phytopathology* **69**: 82-87.
- KADO, C.I. and M.G. HESKETT (1970) Selective media for isolating *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* **60**: 969-976.
- 加藤邦彦・鈴木道彦 (1979) 家畜ふん尿施用土壌における微生物フロアの研究. 農業技術研究所報告 B **30**: 73-135.
- LACEY, M.S. (1936) Studies in bacteriosis XXII. The isolation of a bacterium associated with "fasciation" of sweet peas, "cauliflower" strawberry plants and "leafy gall" of various plants. *Ann. Appl. Biol.* **23**: 302-310.
- MARTEN, E.A., C.V. LOWTHER and J.G. LEACH (1943) A differential medium for the isolation of *Phytophthora sepedonica*. *Phytopathology* **33**: 406-407.
- National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPPB) (1977) Catalogue of culture in the

- National Collection of Plant Pathogenic bacteria. 1st edition. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food p 3.
- ODURO, K.A. (1975) Factors affecting epidemiology of bacterial fasciation of *Chrysanthemum maxmum*. *Phytopathology* **65**: 719-721.
- ODURO, K.A. and DONALD E. MUNNECKE (1975) Persistance of pea cotyledons induced by *Corynebacterium fascians*. *Phytopathology* **65**: 1114-1116.
- RHICHARDSON, M.J. (1979) Annotated list of seed-borne diseases. third edition. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surry, England. p. 123, 204, 245.
- 末次哲雄・高山陸雄・佐藤成良・山内淳司(1981) 植物検疫重要細菌病の診断技法に関する研究. 第I報 数種細菌の菌株間における血清学的類属性. 植物防疫所調査研究報告, **17**: 71-76.
- TILFORD, P.E. (1936) Fasciation of sweet peas caused by *Phytomonas fascians* n. sp. *J. Agric. Res.* **53**: 383-394.