

スイートピー帯化病菌 (*Rhodococcus fascians*) の 選択培地の改良とその利用

松 浦 貴 之・水 野 明 文・塚 本 貴 敬・君 島 悦 夫

横浜植物防疫所調査研究部

An improved selective medium for *Rhodococcus fascians* and its use. Takayuki MATSUURA, Akifumi MIZUNO, Takanori TSUKAMOTO and Etsuo KIMISHIMA (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10, Shin-yamashita, Yokohama 231-0801, Japan). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 40: 61-67 (2004).

Abstract: A selective medium (CFS) that had been developed for isolation and detection of *Rhodococcus fascians* was modified in this study. The composition of a modified selective medium (m-CFS) was as follows: sorbitol, 10 g; yeast extract, 50 mg; K_2HPO_4 , 2 g; KH_2PO_4 , 1 g; NH_4Cl , 1 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.3 g; $LiCl$, 5 g; tris(hydroxymethyl)aminomethane, 1.2g; thiamine, 10 mg; and agar 15 g in one liter of distilled water. *R. fascians* formed yellow to orange color, circular, convex, entire smooth colonies, generally, and some strains formed irregular, flat, rough colonies on m-CFS after 4-7 days of incubation at 26°C. Colonies of *R. fascians* strains on m-CFS were easily distinguished from colonies of other plant pathogenic bacteria. The colony-forming efficiency of *R. fascians* on m-CFS was greater than that on CFS, except regarding two strains. By using m-CFS, colonies of *R. fascians* could be easily isolated from diseased plant tissue of sweet pea.

Key words: selective medium, *Rhodococcus fascians*

緒 言

スイートピー帯化病菌 (*Rhodococcus fascians* (TILFORD, 1936); GOODFELLOW, 1984) は、1936 年にスイートピーに帯化病を引き起こすグラム陽性細菌として報告され (TILFORD, 1936)、現在まで、マメ科、ナス科、アブラナ科、キク科、ナデシコ科など 40 科 87 属の植物に帯化、てんぐ巣、leafy gall を引き起こす植物病原細菌として報告されている (Crop Protection Compendium 2002 Edition)。本細菌は北部ヨーロッパやアメリカ大陸などに分布しており (BRADBURY, 1984)、近年ではオーストラリアやニュージーランド、インド、イスラエルで発見報告がある (PENNYCOOK, 1989; PRASAD, 1997; ZUTRA, 1994)。また、感染した植物及び種子で伝播される (TILFORD, 1936; LACEY, 1939; BAKER, 1950; ODURO, 1975)。本細菌は我が国未発生であることから、当担当では植物検疫における確な検出法の開発を進めてきた。1981 年に末次らは血清学的手法を用いて本細菌を検出するために抗血清を作製したが、各菌株の抗血清は抗血清作製菌株とのみ強く反応し、検疫に直接利用することは難しかった (末次, 1981)。そこで、1985 年に高山らは、coryneform 細菌分離用選択培地である D2 培地を改良し、

CFS 培地を開発した (高山, 1985)。CFS 培地は試験に供試したグラム陰性細菌のほとんどすべての生育を抑制したが、グラム陽性細菌の生育は抑制することはできなかった。さらに、ある種のグラム陽性細菌は CFS 培地上で *R. fascians* によく似た集落を形成した。そのため、本試験では CFS 培地をもとに、他のグラム陽性細菌との判別が容易であり、CFS 培地以上に *R. fascians* が良好に生育する選択培地の作製を目的に改良を行った。また、本細菌には非病原性の菌株の存在が報告されていることから (LACEY, 1939)、改良した CFS 培地に形成された集落が病原性菌株であることを確認するため、STANGE (1996) による PCR を用いた病原性 *R. fascians* の検出方法の検疫への利用性について併せて検討した。

材料及び方法

1. 供試菌株

供試した菌株を Table 1 に示した。各菌株はジャガイモ半合成寒天培地 (PSA) (脇本, 1955) に移植後、26°C で 3～4 日間培養し、供試した。

2. 選択培地 (改良 CFS 培地) の組成の検討

高山 (1985) が提案した CFS 培地から、ガゼイン加

Table 1. Bacterial strains used in this study.

Bacteria	Strain	Host	Origin
<i>Rhodococcus fascians</i>	NCPPB156 ^{*a} NCPPB469 NCPPB1488 NCPPB2210 ^{*a} NCPPB1675 ^{*a} NCPPB1733 NCPPB188 NCPPB2551 NCPPB3067 NCPPB3263	<i>Chrysanthemum morifolium</i> <i>Fragaria chiloensis</i> var. <i>ananassa</i> <i>Lathyrus odoratus</i> <i>Tulipa gesneriana</i> <i>Chrysanthemum morifolium</i> <i>Beloperone guttata</i> <i>Chrysanthemum morifolium</i> <i>Lathyrus odoratus</i> <i>Lathyrus odoratus</i> <i>Pelargonium</i> sp.	UK
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>oortii</i>	YPPS [*] 16, YPPS30, YPPS31, YPPS32	<i>Tulipa</i> spp.	Japan
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	NCPPB [*] 2178 NCPPB390 NCPPB567 NCPPB1751 NCPPB558, NCPPB2344	<i>Phaseolus vulgaris</i>	USA Hungary Germany Romania
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	ATCC [*] 33802 YPPS33, YPPS34, YPPS35	<i>Glycine max</i> <i>Lycopersicon esculentum</i>	USA Japan
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i>	ICMP [*] 43294, ICMP3295, ICMP3296, ICMP3299, ICMP3300, ICMP3301, ICMP5367, ICMP5368, ICMP5369, ICMP9112, ATCC27794, ATCC27795	<i>Zea mays</i>	USA
<i>Rathaybacter rathayi</i>	MAFF [*] 5301003, MAFF301004	<i>Dactylis glomerata</i>	Japan
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	MAFF301045, MAFF301046, MAFF301047	<i>Solanum tuberosum</i>	Japan
<i>Pseudomonas viridiflava</i>	MAFF301157, MAFF301325	<i>Cucumis sativus</i>	Japan
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	MAFF301290 MAFF301315	<i>Cucumis melo</i> <i>Cucumis sativus</i>	Japan
<i>Pseudomonas marginalis</i>	MAFF301173 MAFF301449	<i>Solanum tuberosum</i> , <i>Cyclamen persicum</i>	Japan
<i>Pseudomonas cichorii</i>	MAFF301757	<i>Lactuca sativa</i>	Japan
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>cucurbitae</i>	MAFF302654, MAFF301081	<i>Cucurbita moschata</i>	Japan
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	YPPS288 MAFF301285	<i>Brassica oleracea</i>	Japan
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>hyacinthi</i>	YPPS361, YPPS362	<i>Hyacinthus orientalis</i>	Japan

水分解物、酵母エキス、ソルビトールを除いたものを基礎培地とし、炭素源としてのソルビトールの添加量の再調査と増殖因子としてのチアミン及び酵母エキスの添加の必要量及び添加量を調査した。作製した平板培地に *R. fascians* 4 菌株 (NCPPB156, NCPPB469,

NCPPB1488, NCPPB2210) の $10^{3\sim5}$ cfu/ml に調製した菌液を 0.1 ml ずつ滴下し、コンラージ棒で広げ、形成される集落の性状および平板効率を調べた。各要素の添加量が定まった改良 CFS 培地は pH 7.0 に調整し、高圧滅菌 (115°C, 10 分間) を行った後、シャー

Table 1. Continued.

Bacteria	Strain	Host	Origin
<i>Burkholderia gladioli</i>	MAFF302515, MAFF302516	<i>Tulipa gesneriana</i>	Japan
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	MAFF301297 MAFF301645 MAFF301938	<i>Solanum melongena</i> <i>Amorphophallus konjac</i> <i>Solanum tuberosum</i>	Japan
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	MAFF301660 MAFF301677	<i>Allium fistulosum</i> <i>Solanum tuberosum</i>	Japan
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	MAFF301001 MAFF302376 MAFF302354 MAFF302561	<i>Prunus</i> sp. <i>Chrysanthemum morifolium</i> <i>Prunus avium</i> <i>Rosa</i> sp.	Japan
<i>Agrobacterium vitis</i>	MAFF302147, MAFF302148	<i>Vitis</i> sp.	Japan

*¹ YPPS: Yokohama Plant Protection Station. *² NCPPB: National Collection of Plant Pathogenic Bacteria.

*³ ATCC: American Type Culture Collection. *⁴ ICMP: International Collection of Micro-organisms from Plants. *⁵ MAFF: Ministry Agriculture, Fisher and Forest. *^a Avirulence strain.

レに適量分注し平板培地とし、後の試験に供試した。

3. 選択培地の調査

R. fascians 10 菌株 (NCPPB 156, NCPPB 469, NCPPB 1488, NCPPB 2210, NCPPB 1675, NCPPB 1733, NCPPB 188, NCPPB 2551, NCPPB 3067, NCPPB 3263) を用いて、普通寒天培地 (Nutrient Agar: NA) に対する CFS 培地と改良 CFS 培地の平板効率を調査した。また、Table 1 に示した *R. fascians* 10 菌株を含む 4 属 7 種 42 菌株のグラム陽性細菌と 6 属 10 種 26 菌株のグラム陰性細菌の生育の有無を調査した。各菌株の懸濁液を 10^8 cfu/ml に調製し、画線接種した培地は、26℃で培養後 4 日、7 日、11 日後に観察を行った。

4. 罹病植物からの検出

10^8 cfu/ml に調製した *R. fascians* の菌懸濁液 100 μ l を芽出したスイートピー（品種 スーパーミックス）の発芽部に滴下後、滅菌土壌に植え、バイオトン内（昼 25℃ 12 時間、夜 20℃ 各 12 時間）で生育させた。1～2 カ月の後、典型的な帯化症状を示した植物体を分離に供試した。分離は罹病部の約 0.5 g（生重量）をカミソリで細かく刻み、5 ml の滅菌水に入れ、よく懸濁した後、段階希釈したものを 0.1 ml ずつ NA, CFS, 改良 CFS 培地に希釈平板接種した。

5. 分離菌株の PCR による検出と再接種

CFS, 改良 CFS 培地を用いて、接種植物より分離された *R. fascians* と思われる集落を鉤菌し、PCR と再

接種を行った。

PCR は、STANGE の方法 (1996) に従った。PCR 反応液は Takara Taq キット（タカラバイオ）を用いて調製し、煮沸処理（約 10 分間）した細菌懸濁液（ 10^8 cfu/ml）を 2.5 μ l 添加し、総量を 25 μ l とした。反応終了後 1.5% アガロース (SIGMA medium EEO) で 100 V 45 分間電気泳動 (Mupid-2 コスモバイオ) した後、エチジウムブロマイドで染色し、目的とする DNA 断片の増幅の有無を調べた。

再接種は、上記と同様の方法でスイートピーに接種し、接種時と同じ生育条件下における典型的な帯化症状の有無により病原性を調査した。

結 果

1. 選択培地の組成

(1) ソルビトール

基礎培地に添加する濃度を CFS と同様 (5 g/l) と 2 倍にしたもので比較してみたところ、2 倍の方が集落の生育が良好であったので、添加する量を 10 g/l とした。これ以降の試験では、基礎培地にソルビトールを加えて試験を行った。

(2) チアミン

添加する濃度を 0 mg/l, 10 mg/l, 100 mg/l, 1,000 mg/l に設定し、調査したところ、0 mg/l では、集落の色が白色に近くなり、生育も悪かった。さらに、各濃度差による生育の変化は見られなかったことから、添加する量は 10 mg/l とした。

(3) 酵母エキス

添加する濃度を 10 mg/l, 25 mg/l, 50 mg/l, 100

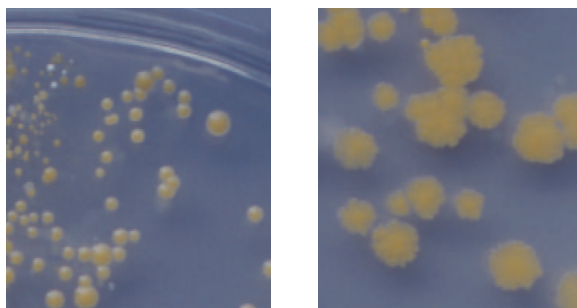


Fig. 1 *Rhodococcus fascians* NCPPB3263 smooth colonies (left) and NCPPB3067 rough colonies (right) on modified CFS after 7 days at 26°C.

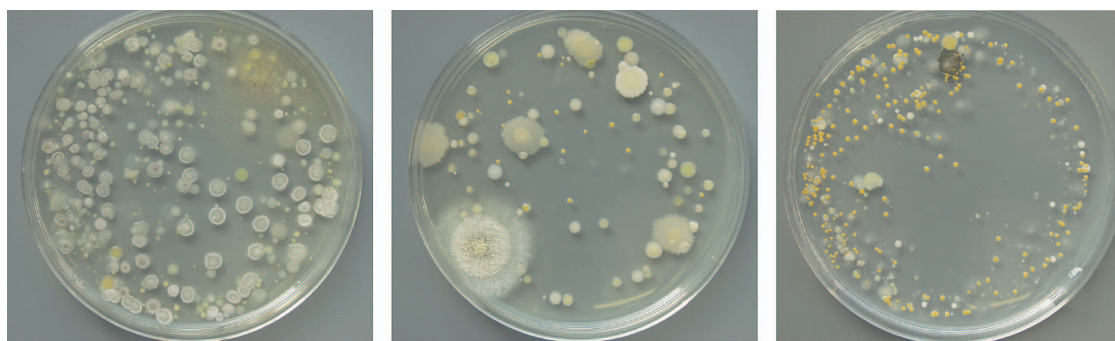


Fig. 2. Comparison of nutrient agar (left) and the CFS medium (center) and the modified CFS medium (right) for recovery of *Rhodococcus fascians* from inoculated plants. Yellow colored colonies of *Rhodococcus fascians* were on the CFS medium and the modified CFS medium after 7 days at 25°C.

mg/l, 200 mg/l に設定し、調査したところ、集落形成率は添加濃度が高くなるほど低くなったが、25 mg/l 以下の濃度で加えた場合では、集落が小さく、7日間培養しても直径が1 mm 以下であった。このことから添加する量は50 mg/l とした。

以上により、改良 CFS 培地の組成はソルビトール 10 g, 酵母エキス 50 mg, K_2HPO_4 2 g, KH_2PO_4 1 g, NH_4Cl 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3 g, LiCl 5 g, トリス 1.2 g, チアミン 10 mg, 寒天 15 g, 蒸留水 1,000 ml とした。

2. 改良 CFS 培地における生育調査

本培地上で *R. fascians* は菌株間で差はあるものの、培養7日目までにおよそ直径2~4 mm の黄色~橙色で、円形、中高、全縁、平滑な集落を形成した (Fig. 1, left)。しかし、NCPPB 156, NCPPB 188, NCPPB2551, NCPPB3067 については、黄色~橙色で、不規則、へん平、波状、粗面の集落を形成した (Fig. 1, right)。さらに、NA に対する平板効率は2菌

株 (NCPPB156, NCPPB1733) を除き、改良 CFS 培地の方が高かった (Table 2)。また、同時に供試した他の細菌株で、本培地上に集落形成が認められたものは9種あったが、各集落はいずれも白色であり、*R. fascians* との区別は容易であった (Table 3)。

3. 罹病植物からの検出

スイートピーに接種した10菌株のうち、病原性が確認された7菌株 NCPPB469, NCPPB1488, NCPPB 1733, NCPPB 188, NCPPB 2551, NCPPB 3067, NCPPB3263 について調査を行った。改良 CFS 培地、CFS 培地はともに NA に比べて効率よく *R. fascians* 以外のスイートピーに付随する細菌の生育を抑制した。また、両培地を比較した場合、改良 CFS 培地の方が回収率が高かった (Fig. 2)。さらに、改良 CFS 培地では判別しづらい集落も出現しなかった。これらの黄色~橙色細菌集落を API20NE (日本バイオメリュー) と Biolog MicrologTM System (Biolog) で調査したところ、すべて *R. fascians* と同定され、上記の方法で

Table 2. Colony forming efficiency of *Rhodococcus fascians* on a selective medium.

Strains	Medium		
	CFS	m-CFS	NA
NCPB156	43.9 ^{a)}	18.4	100.0
NCPB469	54.5	87.6	100.0
NCPB1488	48.5	78.4	100.0
NCPB2210	22.2	58.8	100.0
NCPB1675	96.2	96.6	100.0
NCPB1733	68.6	51.4	100.0
NCPB188	59.7	100	100.0
NCPB2551	49.4	89.7	100.0
NCPB3067	38.6	72.6	100.0
NCPB3263	55.8	86.1	100.0

^{a)} Colony forming efficiency = (No. of colonies on selective medium / No. of colonies on NA medium) × 100.

Table 3. Colony formation and color of used bacterial strains on the m-CFS.

Bacteria	Growth ^{a)}	Colony color
<i>Rhodococcus fascians</i>	+	Yellow to orange
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>oortii</i>	+	White
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	—	
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	—	
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i>	+	White
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	+	White
<i>Rathaybacter rathayi</i>	—	
<i>Pseudomonas viridiflava</i>	+	White
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	+	White
<i>Pseudomonas marginalis</i>	+	White
<i>Pseudomonas cichorii</i>	—	
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>cucurbitae</i>	—	
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	—	
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>hyacinthi</i>	—	
<i>Burkholderia gladioli</i>	+	White
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	—	
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>	—	
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	—	
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (bv. 1, bv. 2)	+	White
<i>Agrobacterium vitis</i>	+	White

^{a)} +: formed, —: not grown.

スイートピーに接種した結果、帯化症状が再現された (Fig. 3)。また、それら黄色～橙色細菌集落を PCR に供試したところすべての菌株で、特徴的な 225 bp の PCR 産物が確認された (Fig. 4)。

考 察

R. fascians は水野の報告により栄養要求性がないことが示されたことから (水野, 1998)、改良 CFS 培地においては、ガゼイン加水分解物を除き、酵母エキスの量を微量にする一方、集落形成を促進するためにソルビトールを 2 倍にした。また、MOHANTY の報告

でチアミンを要求すること (MOHANTY, 1951)、水野の報告でチアミンが *R. fascians* の増殖を促進するということ (水野, 1998) から、チアミンを 10 mg/l 加えたところ、2 菌株 (NCPB 156, 1733) を除き、*R. fascians* は CFS 培地と同等か、それ以上の良好な生育を示した。更に、チアミンの添加により、*R. fascians* の集落は特徴的な黄色～橙色となり、改良 CFS 培地で生育が可能な他の供試した植物病原細菌の集落との判別が容易になった。

検疫現場で特定の病原細菌を分離する場合、その培地はできるだけ組成が簡便で、作製が容易なものが望



Fig. 3. Fasciated sweet pea seedling on 1 month after inoculation with *Rhodococcus fascians*.

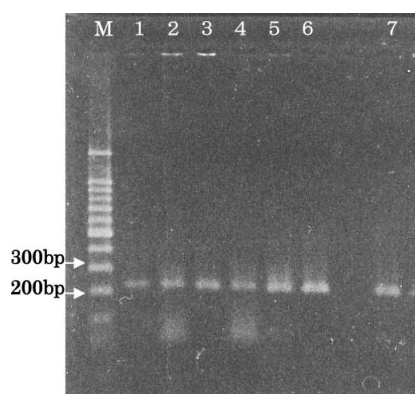


Fig. 4. Detection of *fas-1* gene of *R. fascians* by PCR.

Lane 1 to 6, products of PCR from colonies of *R. fascians* on modified CFS. Lane 7, NCPPB469 (virulence strain). M, 100 bp ladder molecular weight standard.

まれる。CFS 培地に添加されているアジ化ナトリウム、シクロヘキシミド、ポリミキシン B は、高圧滅菌後、50～55℃に冷やしてから加える必要があり、やや作業が繁雑になる上、保存が困難になる。改良 CFS 培地では、これらの抗菌物質を加えなくとも、十分選択性が高いと考えられ、検査時における利便性が高いと考えられる。

供試した 10 菌株の *R. fascians* のうち、NCPPB 156, NCPPB1675, NCPPB2210 に関しては、接種試験と EASON (1995), STANGE (1996) の報告から、非病原性の菌株であると考えられ、STANGE (1996) の PCR でも特異的 DNA 断片の増幅が確認されなかった。ま

た、残りの 7 菌株では、特異的 DNA 断片の増幅が確認され、病原性も確認された。

通常、病原性の確認に関しては、接種して約 1～2 カ月間病徴を観察しなければならないが、この PCR 法を用いることにより、迅速に病原性、非病原性を判断することが可能となる。このことから、罹病植物から CFS 改良培地により分離を行い、培地上に出現した黄色～橙色細菌集落を PCR 法で検出することにより、病原性の *R. fascians* の検出が可能であると考えられる。

摘 要

高山 (1985) が開発した *Rhodococcus fascians* の選択培地 (CFS 培地) の改良を試みた。培地組成は、ソルビトール 10 g, 酵母エキス 50 mg, K_2HPO_4 2 g, KH_2PO_4 1 g, NH_4Cl 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3 g, $LiCl$ 5 g, トリス 1.2 g, チアミン 10 mg, 寒天 15 g, 蒸留水 1,000 ml, pH 7.0 である。*R. fascians* を本培地上で培養 (25℃、7 日間) すると黄色～橙色で円形、中高、全縁、平滑な集落及び一部の菌株は不規則形集落を形成し、CFS 培地と比較して他の植物病原細菌集落との識別がより容易であった。普通寒天培地に対する本培地の平板効率は、2 菌株を除き CFS 培地に比べて高かった。接種したスイートピーから *R. fascians* の分離を試みたところ、本培地は効率よくスイートピーに付随する細菌を抑制し、*R. fascians* の特徴的な集落を多数形成した。これら集落について STANGE (1996) のプライマーを用いて PCR を行ったら、病原性のある *R. fascians* のみ特異的な DNA 断片の増幅が確認された。このことから、本選択培地と PCR を併用することで効率的な *R. fascians* の検出が可能と考えられた。

引 用 文 献

- BAKER, K. F. (1950) Bacterial fasciation disease of ornamental plants in California. *Plant Disease Reporter* 34: 121-126.
- BRADBURY, J. F. (1984) Guide to Plant Pathogenic Bacteria. Slough, UK: CAB International Mycological Institute.
- Crop Protection Compendium 2002 Edition CAB International.
- EASON, J. R., P. E. JAMESON and P. BANNISTER (1995) Virulence assessment of *Rhodococcus fascians* strains on pea cultivars. *Plant Pathology* 44: 141-147.
- GOODFELLOW, M. and G. ANDERSON (1984) Reclassification of *Corynebacterium fascians* (TILFORD) DOWSON in the genus *Rhodococcus fascians* comb.

- nov. *Systematic and Applied Microbiology* **5**: 225–229.
- LACEY, M. S. (1939) Studies on a bacterium associated with leafy galls, fasciations and 'califlower' disease of various plants. Part III. Further isolations, inoculation experiments and cultural studies. *Annals of Applied Biology* **26**: 262–278.
- 水野明文 (1998) *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* および *Burkholderia gladioli* の特異的検出法. 農業環境技術研究所報告 第 15 号: 67–140.
- MOHANTY, U. (1951) *Corynebacterium fascians* (TILFORD) DOWSON; its morphology, physiology, nutrition and taxonomic position. *Transactions British Mycological Society* **34**: 23–34.
- ODURO, K. A. (1975) Factors affecting epidemiology of bacterial fasciation of *Chrysanthemum maximum*. *Phytopathology* **65**, 719–721.
- PENNYCOOK, S. R., J. M. YOUNG, and M. J. FLETCHER (1989) Bacterial plant diseases recorded in New Zealand. In PENNYCOOK, S. R. (ed.). *Plant Diseases Recorded in New Zealand*, Vol. 3. Auckland, New Zealand: Plant Disease Division DSIR, 23–83.
- PRASAD, N. S., A. R., RAO, and G. M. RAO (1997) Fasciation of *Casuarina equisetifolia*. *Indian Forester* **123**(8): 773–774.
- STANGE, JR, R. R., D. JEFFARES, C. YOUNG, D. B. SCOTT, J. R. EASON and P. E. JAMESON (1996) PCR amplification of the *fas-1* gene for the detection of virulent strains of *Rhodococcus fascians*. *Plant Pathology* **45**: 407–417.
- STARR, M. P. (1949) The nutrition of phytopathogenic bacteria III. The gram positive phytopathogenic *Corynebacterium* species. *Journal of Bacteriology* **57**: 253–258.
- 末次哲雄・高山睦雄・佐藤成良・山本淳司 (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. 植防研報 **17**: 71–76.
- 高山睦雄・川合 昭・末次哲雄 (1985) 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. 植防研報 **21**: 33–40.
- TILFORD, P. E. (1936) Fasciation of sweet peas caused by *Phytomonas fascians* n. sp. *Journal of Agricultural Research* **53**, 383–394.
- 脇本 哲 (1955) OP1 phage (*Xanthomonas oryzae* bacteriophage) の増殖に関する研究. I. 種々の条件下の一段増殖実験. 九州帝国大学農学部芸雑誌 **15**: 151–160.
- ZUTRA, D., J. COHEN, A. GERA and G. LOEBENSTEIN (1994) Association of *Rhodococcus* (*Corynebacterium*) *fascians* with the stunting-fasciation syndrome of carnation in Israel. *Acta Horticulturae* No. 337: 319–323; 8 ref.