

## 試験研究成果普及情報

部門	病害虫	対象	研究
課題名：カーネーション等の萎凋細菌病菌 <i>Burkholderia caryophylli</i> の新選択培地			
[要約]カーネーション、トルコギキョウ及びスターチスの萎凋細菌病菌 <i>Burkholderia caryophylli</i> を土壌から分離する新選択培地は、従来の選択培地に比べて選択性が高く、かつ、判別が容易である。			
キーワード 萎凋細菌病、 <i>Burkholderia caryophylli</i> 、選択培地、カーネーション			
実施機関名 主 査 農業総合研究センター・暖地園芸研究所・環境研究室 協力機関 東京大学			
実施期間 2006年度～2007年度			

### [ 目的及び背景 ]

*Burkholderia caryophylli* によるカーネーション、トルコギキョウ及びスターチス萎凋細菌病は、我が国の重要細菌性病害である。土壌中における本菌の密度を調査するための選択培地として、青野・加藤の培地(青野・加藤 1979)が知られているが、沈澱物が析出することや、糸状菌や細菌の生育を十分抑えきれず、本菌のコロニーと判別がしにくいことから、改良する必要がある。そこで、新たに選択培地を開発する。

### [ 成果内容 ]

- 1 *B. caryophylli* の新しい選択培地を作成した(表1)。*B. caryophylli* は、本培地上で30℃で5日間培養すると、直径1mm、中心部が青～紫色で、円形、中高、平滑な特徴的なコロニーを形成する。
- 2 多様な微生物が生息する土壌でも、*B. caryophylli* で汚染されていれば、上述と同様の *B. caryophylli* のみのコロニーが培地上に形成される(図1)。青野・加藤の培地に比べ選択性が高く、かつ、判別が容易である。

### [ 留意事項 ]

- 1 培地の作成方法：最初に、基本組成を作成し、高圧滅菌後、50℃程度に培地が冷却したときに、抗生物質等を添加、攪拌し、ペトリ皿に分注する。培地の分注作業はクリーンベンチを必要としない。
- 2 土壌からの分離法：50ml フアルコンチューブ中で1gの土を10mlの水に懸濁し、10分間振とう後、約800×gで3分間遠心する。上清を滅菌水で原液～1000倍に希釈し、100μlを培地上に滴下し、ただちにコンラージ棒を用いてまんべんなく培地上に広げ、30℃暗条件で、5日間培養する。

### [ 普及対象地域 ]

### [ 行政上の措置 ]

### [ 普及状況 ]

[ 成果の概要 ]

表 1 *Burkholderia caryophylli*の新選択培地の組成

【基本組成】		
蒸留水	1000ml	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.79g	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 g	
MgSO <sub>4</sub> /7H <sub>2</sub> O	0.5 g	
KCl	0.2 g	
D-アラビノース	2.0 g	
寒天	15.0 g	
【抗生物質他】		
クリスタルバイオレット (1mg/mlエタノール)	5.0ml	( 5ppm)
シクロヘキシミド (10mg/ml蒸留水)	5.0ml	(50ppm)
アンピシリン(100mg/ml蒸留水)	0.5ml	(50ppm)
ポリミキシンB硫酸塩 (50mg/ml蒸留水)	1.0ml	(50ppm)
クロラムフェニコール (10mg/mlエタノール)	1.0ml	(10ppm)
テトラゾリウムクロライド (10mg/ml蒸留水)	2.5ml	(25ppm)

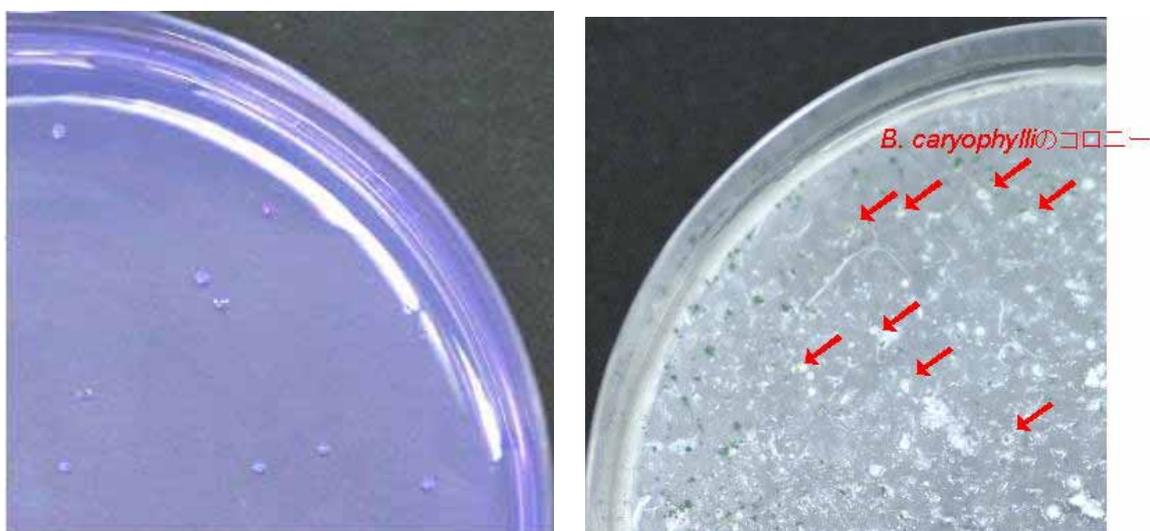


図 1 新選択培地(左)と青野・加藤の培地 (右)を用いた土壌からの *B. caryophylli* の分離。

後者では、糸状菌の生育抑制剤であるデオキシコーレート酸が沈澱物を生成するため、観察しづらい上に、他の細菌や糸状菌を十分に抑えることができない。

< 参考：青野・加藤の培地の組成 >

蒸留水 1000ml、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.79g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0g、MgSO<sub>4</sub>/7H<sub>2</sub>O 0.5g、KCl 0.2g、デオキシコーレート酸 2.0g、D-アラビノース 2.0g、寒天 15.0g

[ 発表及び関連文献 ]

- ・カーネーション萎凋細菌病菌 *Burkholderia caryophylli* の新選択培地の開発、平成 19 年度日本植物病理学会大会
- ・平成 18 年度暖地園芸試験成績書

[ その他 ]

本課題は、先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「花き類病害の双方向型総合診断・防除システムの開発及び公開(平成 18～20 年度)」で実施した。