

静岡県内バラ園から分離されたバラ根頭がんしゅ病菌の生理型とagrocin 84感受性

| | |
|-------|---|
| 誌名 | 静岡県農業試験場研究報告 = Bulletin of Shizuoka Agricultural Experiment Station |
| ISSN | 0583094X |
| 著者名 | 牧野, 孝宏 森田, 儔 |
| 発行元 | 静岡県農業試験場 |
| 巻/号 | 30号 |
| 掲載ページ | p. 45-52 |
| 発行年月 | 1985年12月 |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



静岡県内バラ園から分離されたバラ根頭がんしゅ病菌の生理型と Agrocin 84 感受性

牧野孝宏*・森田 儔*

I 緒 言

根頭がんしゅ病菌は、イネ科植物を除きほとんどの植物に感染性を示す。De Cleane 及び De Ley³⁾によれば、138科、588属、1193種の植物が感受性を示すとしている。バラは特に本病原菌に感受性が高く、古くから生産者間で問題となってきた。静岡県においては最近発病が多く、太田・西山¹¹⁾によれば、1975年現在県西部の袋井、掛川、菊川地区では10~30%、伊豆地区では5~20%の発生が認められ、生産者間でも本病を重要病害として認識するようになってきた。このような状況下で本県では、1982年度から *Agrobacterium radiobacter* strain 84 (以下 st. 84 と省略する) を用いて、バラ根頭がんしゅ病の生物防除に関する研究を行なっている。st. 84 による根頭がんしゅ病の生物防除効果は、病原菌の biovar 及び、st. 84 の生産する抗菌性物質 Agrocin 84 に対する感受性と深い関係があるとされている^{5,10)}。

Agrobacterium tumefaciens の分類に関して多くの研究者は、2つの主要なグループに分けている。Keane, Kerr and New⁴⁾ は、Kerster⁷⁾らの区分した Cluster 1 及び 2, White¹³⁾ が区分した。group I 及び III を、biotype 1 及び 2 に相当させて区分している。しかし、Panagopoulos, 及び Psallidas¹²⁾ は、これらのいずれにも相当しない系統を発見した。Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol. 1)⁶⁾ によれば、*Agrobacterium* 属は、現在3つの biovar に区分されている。

筆者らは、静岡県内の主要なバラ産地から集めたバラのがんしゅ組織から、病原菌を分離し、主要な生理的性質を調べ、バラ根頭がんしゅ病菌の biovar の分布状況を明らかにした。

本研究の推進にあたり、当場病害虫部大沢高志室長、手塚信夫主任研究員には懇切なる御指導を賜った。また現地においては、各農林事務所の普及担当者の方々に御

協力を戴いた。ここに厚く御礼申し上げる。

II 材料及び方法

1. 病原細菌の分離

1982年~1983年にかけて、静岡県内の主要バラ生産地、清水市、静岡市、島田市、大井川町、掛川市、袋井市、浜松市、湖西市のほかから約300個の新鮮なバラのがんしゅ組織を順次集めた。白いきれいながんしゅ組織を3mm角程度に切り取り、アルコールに30秒間浸漬後10mlの滅菌水中に投じ、ガラス棒でわずかに組織をつぶした。本液の50 μ l~200 μ lをYM寒天培地²⁾、Schroth⁸⁾ら及び New and Kerr⁹⁾の選択培地にまいて、ガラス棒で広げ、1週間後に発育した集落をとった。これらは、再度キング培地に画線培養し、蛍光を発生しないことを確かめると同時に、純粋培養を得た。

2. 接種試験

分離した菌株をYM寒天斜面に3日間培養し、1白金耳を、2mlのペプトン水に懸濁し接種源とした。検定植物⁹⁾は、トマト(東光K)、ヒマワリ(太陽)、ベンケイソウ(*Karanchöe daigremontiana*)の小苗を用いた。各植物の茎に菌液とともに針で軽く、せん刺して接種を行なった。接種後これらはガラス室で管理し、トマト、ヒマワリは1ヶ月後、ベンケイソウは2ヶ月後に発病を観察した。病原性の判定は、せん刺部における明らかながん種形成の有無で行なった。

3. 主要な細菌学的性質の検査

biovarを決定するための、主要な細菌学的性質は、Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria⁹⁾に準じて行なった。

4. agrocin 84 に対する感受性の検定

YM液体培地に培養した各菌株の1白金耳を、炭酸カルシウムを除いたYM寒天培地とともに流しこみ、固ったところで、st. 84の斜面培養から1白金耳とり、シャーレの中央部に接種し、25°Cで1週間観察し、その間の阻

* 病害虫部

止円の有無を調査した。

5. トマト苗による st. 84 の分離菌株に対する生物的 防除効果の検定

分離した菌株の中から、agrocin 84 感受性菌株 (R6, R10, R75, R78, R177, R257, R288) 7 菌株、及び抵抗性又はわずかに感受性を示す菌株 (R73, R77, R88, R202, R223) 6 菌株を選んでそれぞれ 1×10^8 cell/ml となるように希釈した。これに st. 84 の 1×10^9 cell/ml を等量混合し、は種1ヶ月後のトマトの茎に単針接種し、対照として病原菌のみ接種したものを設置した。接種4週間後、接種部とその上下部分の茎の直径をノギスで測定した。トマト苗は各菌株それぞれ2株づつ調査した。

III 実験結果

1. 病原細菌の分離と接種試験

バラのがんしゅより、217 菌株の非蛍光白色細菌を分離し、トマト、ヒマワリ、ベンケイソウへの接種の結果、清水市、静岡市、島田市、大井川町、掛川市、湖西市から得た59 菌株が病原性を示し、病原菌株の検出率は、27.3%であった。このなかから、Table 1. に示した50 菌株を選んで、細菌学的検査に供した。

2. 細菌学的性質

主要な細菌学的性質について、Table 2. に示した。県内の各地から分離した菌株は、その場所と関係なく、1部の菌株を除いて極めて均一な性質を示した。すなわち、供試した50 菌株中 New and KERR の選択培地における生育 (48 菌株)、リトマスミルクの酸性反応 (49 菌株)、エリスリトールから酸の産生 (48 菌株)、コハク酸 (50 菌株)、マロン酸 (42 菌株)、粘液酸 (50 菌株)、クエン酸 (46 菌株) からアルカリの産生及びピロシンの利用 (49 菌株) がそれぞれ陽性であった。また3-ケトラクトース産生 (50 菌株)、SCHROTH らの選択培地における生育 (43 菌株)、KADO の D I M 選択培地における生育 (49 菌株)、3% NaCl 耐性 (47 菌株)、35°C における生育 (44 菌株)、オキシダーゼ反応 (42 菌株)、クエン酸鉄アンモニウム培地の反応 (48 菌株)、メレジトース (49 菌株)、エタノール (44 菌株) から酸の産生及びプロピオン酸からアルカリの産生がそれぞれ陰性であった。これらの試験に対する大部分の菌株の反応は、同時に供試した st. 84 のそれとよく一致した。

わずかに3 菌株 (R101, R202, R292) は、他の多くの菌株とは選択培地での生育、NaCl 耐性、リトマスミルクの反応、35°C の生育、オキシダーゼ反応、クエン酸鉄アンモニウムの反応、エリスリトール、メレジトース、エ

Table 1. Sources of *Agrobacterium tumefaciens* isolates

| Isolate ^{a)} | Location | Year |
|-----------------------|----------|------|
| R 5 | Shimada | 1983 |
| R 6 | Shimizu | 1982 |
| R 7 | do | 1982 |
| R 8 | do | 1982 |
| R 10 | Shimada | 1982 |
| R 11 | do | 1982 |
| R 28 | do | 1982 |
| R 30 | Shizuoka | 1982 |
| R 48 | do | 1982 |
| R 65 | Kosai | 1982 |
| R 66 | Shimada | 1982 |
| R 73 | do | 1982 |
| R 74 | Kosai | 1983 |
| R 75 | do | 1983 |
| R 77 | Shimada | 1982 |
| R 78 | do | 1982 |
| R 80 | do | 1982 |
| R 88 | Kosai | 1982 |
| R 97 | Shimada | 1983 |
| R 99 | do | 1982 |
| R 101 | do | 1982 |
| R 110 | do | 1982 |
| R 173 | Takegawa | 1983 |
| R 177 | do | 1983 |
| R 183 | do | 1983 |
| R 184 | do | 1983 |
| R 192 | do | 1983 |
| R 196 | do | 1982 |
| R 202 | Kosai | 1982 |
| R 206 | do | 1982 |
| R 223 | Shimada | 1982 |
| R 224 | do | 1983 |
| R 225 | do | 1983 |
| R 243 | Shimada | 1983 |
| R 257 | do | 1982 |
| R 278 | Shimizu | 1982 |
| R 279 | do | 1982 |
| R 280 | do | 1982 |
| R 281 | do | 1982 |
| R 282 | do | 1982 |
| R 285 | Shimada | 1982 |
| R 288 | Shimizu | 1982 |
| R 289 | do | 1982 |
| R 291 | Ooigawa | 1982 |
| R 292 | do | 1982 |
| R 294 | Shimada | 1983 |
| R 297 | Shimizu | 1982 |
| R 300 | do | 1982 |
| R 305 | Shimada | 1983 |
| R 306 | do | 1983 |

a) Non selective (YM agar) and selective (Schroth *et al.* and New and kerr) media were used for isolation.

Table 2. Characteristics of Pathogenic strains of *Agrobacterium tumefaciens* isolated from rose in Shizuoka Prefecture

| Isolate | Test | | | | | | | | | | | | | |
|---------|--------------------------|--|--------------------------------|--------------------------|----------------|--------------|--|---|--|-----------------------|-------------------------|---------------------------|--|--|
| | 3-ketolactose production | Growth on selective media : NEW and KERR SCHROTH <i>et al.</i> KADO's DIM | NaCl tolerance : 2 % 3 % | Reaction in Litomus milk | Growth at 35°C | Oxidase test | Formation on pellicle in ferric ammonium citrate | Acid from: Erythritol Melezitose Ethanol | Alkali from: L-tartrate Propionate Maronate | Mucic acid Citrate | Utilization of tyrosine | Sensitivity to agrocin 84 | | |
| R 5 | - a) | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 6 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 7 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 8 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 10 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 11 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 28 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 30 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 48 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 65 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 66 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 73 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | - | | |
| R 74 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 75 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 77 | - | + | + | Acid | - | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 78 | - | + | ± | Acid | - | + | + | + | + | + | + | + | | |
| R 80 | - | + | - | Acid | + | - | + | + | + | + | + | - | | |
| R 88 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 97 | - | + | ± | Acid | - | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 99 | - | + | + | Acid | + | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 101 | - | + | ± | Alkali | + | + | + | + | + | + | + | - | | |
| R 110 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | - | | |
| R 173 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 177 | - | + | + | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 183 | - | + | ± | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 184 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 192 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 196 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 202 | - | + | + | Acid | + | + | - | + | + | - | + | ± | | |
| R 206 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 223 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 224 | - | + | + | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 225 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 243 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 257 | - | + | - | Acid | + | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 278 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |
| R 279 | - | + | - | Acid | - | - | + | + | + | + | + | ± | | |
| R 280 | - | + | + | Acid | - | - | + | + | + | + | + | + | | |

Continued

| Isoalte | Test | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--------------------------|---|---|---|--------------------------------|--------------------------|----------------|--------------|---|------------|------------|---------|---|-------------------------|---------------------------|---|---|---|---|---|
| | 3-ketolactose production | Growth on selective media : New and KERR, SCHROTH <i>et al.</i> , KADO's DIM | | | NaCl tolerance : 2 % 3 % | Reaction in Litomus milk | Growth at 35°C | Oxidase test | Formation on pellicle in ferric ammonium citrate Acid from: | Erythritol | Melezitose | Ethanol | Alkali from: L-tartrate Propionate Maronate Mucic acid Citrate | Utilization of tyrosine | Sensitivity to agrocin 84 | | | | | |
| R 281 | - | + | - | - | - | - | Acid | - | - | - | + | - | - | + | - | - | + | + | + | + |
| R 282 | - | + | - | - | - | - | Acid | - | - | - | + | - | - | + | - | - | + | + | + | + |
| R 285 | - | + | ± | - | - | - | Acid | - | - | - | + | - | - | + | - | - | + | + | + | + |
| R 288 | - | + | - | - | - | - | Acid | - | - | - | + | - | - | + | - | - | + | + | + | + |
| R 289 | - | + | - | - | - | - | Acid | - | - | - | + | - | - | + | - | - | + | + | + | + |
| R 291 | - | - | - | - | + | - | Acid | - | - | - | + | - | - | + | + | + | + | + | + | ± |
| R 292 | - | - | + | - | + | + | Acid | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| R 294 | - | + | - | - | - | - | Acid | - | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | - | ± |
| R 297 | - | + | - | - | - | - | Acid | - | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + |
| R 300 | - | + | - | - | - | - | Acid | - | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - |
| R 305 | - | + | - | - | + | - | Acid | - | - | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - |
| R 306 | - | + | - | - | - | - | Acid | - | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + |
| K 84 ^{b)} | - | + | - | - | - | - | Acid | - | - | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - |

a) + : positive reaction. - : negative reaction. ± : slightly positive reaction.
 + ⊕ : delayed positive reaction.
 b) The bacterium was kindly supplied by Dr. KERR in Australia.

タノールからの酸の産生, プロピオン酸, クエン酸からのアルカリの産生等の諸性質のいくつかで明らかに異なった。

3. agrocin 84 に対する感受性

agrocin 84 に対する感受性を同時接種法により, Fig 1. のように寒天平板上で検定した結果を Table 2 に示した。明瞭な阻止円の形成されたもの 31 菌株, わずかに阻止円の形成の認められるもの 13 菌株, 阻止円の形成の認められないもの 6 菌株で, 大部分は感受性が認められた。

4. 分離菌株に対する st. 84 の防除効果検定

トマト菌を用いた分離菌株に対する st. 84 の防除効果の検定結果は, Table 3 に示した。agrocin 84 に対する反応とは関係なくいずれの菌株にも発病抑制効果が認められた。

IV 考察及び論議

Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria 及び Bergey's Manual of

Systematic Bacteriology (vol. 1) によれば, *A. tumefaciens* は現在 3 つの biovar に分類されている。

biovar 1 は, 3-ケトラクトース反応, SCHROTH らの選択培地における生育, 2% NaCl 耐性, リトマスミルクのアルカリ化, 35°C における生育, オキダーゼ反応, クエン酸鉄アンモニウムの反応, 及びメレジットース, エタノールから酸の産生がそれぞれ陽性, New and KERR の選択培地における生育, エリスリトールからの酸の産生, コハク酸*, マロン酸*, 粘液酸, クエン酸から, アルカリの産生及びチロシンの利用がそれぞれ陰性である。大井川町より分離した R292 は, 3-ケトラクトース反応等が biovar 1 とは異なるものの, その他多くの性質でよく一致し, R292 を biovar 1 と判断した。

biovar 2 は, New and KERR の選択培地における生育, リトマスミルクの酸性化, エリスリトールから酸の産生, コハク酸, マロン酸* 粘液酸, クエン酸からアルカリの産生, 及びチロシンの利用がそれぞれ陽性, 3-ケトラクトース, SCHROTH らの選択培地における生育,

* 菌株により反応が異なるものがある。

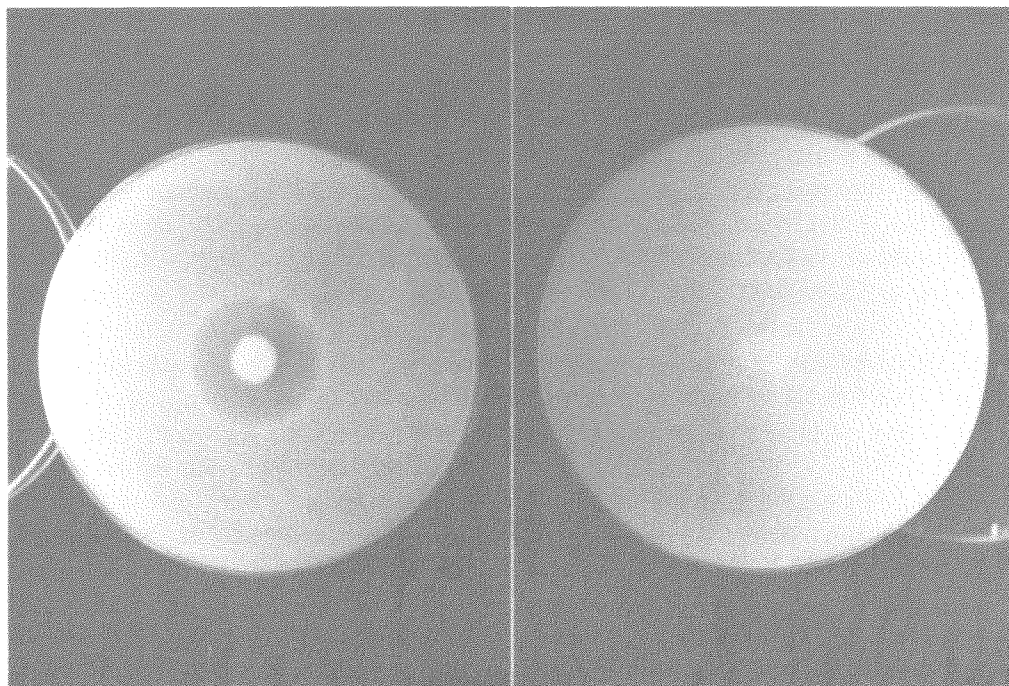


Fig. 1 Agrocin 84 sensitivity test of *A. tumefaciens* by spot-on-lawn method. left: sensitive, right: resistant.

Table 3. Effectiveness of *Agrobacterium radiobacter* strain 84 in preventing gall formation on tomato stem inoculated with pathogenic (agrocin 84-sensitive and resistant) strains of *A. tumefaciens*

| Bacterial Strains | Sensitivity to agrocin 84 | Gall diameter (mm) ^{a)} | |
|-------------------|---------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| | | Pathogen ^{b)} | Pathogen+st.84 ^{c)} |
| R 6 | + | 4.0 | 0.9 |
| R 10 | + | 3.0 | 1.7 |
| R 73 | - | 5.7 | 1.6 |
| R 75 | + | 5.1 | 1.3 |
| R 77 | ± | 4.6 | 2.1 |
| R 78 | + | 5.2 | 2.5 |
| R 88 | ± | 4.5 | 2.0 |
| R 177 | + | 3.8 | 1.6 |
| R 202 | ± | 9.1 | 3.3 |
| R 206 | ± | 4.7 | 1.4 |
| R 223 | ± | 6.8 | 2.1 |
| R 257 | + | 7.6 | 1.8 |
| R 288 | + | 5.2 | 1.9 |

a) Diameter of stem at inoculation site minus average diameter of stem above and below site.

b) Bacterial concentration : 1×10^8 cells/ml.

c) Bacterial concentration : Pathogen, 1×10^8 cells/ml and strain 84, 1×10^9 cells/ml.

2% NaCl耐性, 35°Cにおける生育, オキシダーゼ反応クエン酸鉄アンモニウムの反応, メレジトース, エタノールから酸の産生, 及びプロピオン酸からのアルカリの産生がそれぞれ陰性である。各地から分離された菌株の大部分は, biovar 2と完全に一致した。

しかし, R101, R202は前2者のbiovarの中間的性質を示した。biovar 3は, PANAGOPOULOSら¹²⁾によってブドウから分離され, 両者の中間的性質を示すが, R101は, biovar 3とは選択培地での生育, エリストールから酸の産生, プロピオン酸からアルカリの産生で異なっていた。またR202は選択培地での生育, リトマスミルクの反応, エタノールから酸の産生, 粘液酸からアルカリの産生で異なり, 両者ともbiovar 3とは異なると考えられた。

以上の結果をTable 4に示した。清水市, 静岡市, 島田市, 大井川町, 掛川市, 湖西市の各産地から分離された菌株は, 50菌株中, 47菌株はbiovar2, わずかに1菌株が, biovar1に該当し, biovar3は検出されなかった。

静岡県のバラ生産者は, 大部分県外から苗木を購入している。購入先は, 千葉県, 神奈川県, 愛知県, 岐阜県, 兵庫県等の業者が多い。バラは3~5年ごとに改植が行なわれ, 苗木の購入先も一定していない。従ってバラ産地は他県から購入した株が, 入乱れて定植されモザイク状となっている。これらの苗木は, 昭和59年度の調査では, 高度に汚染している場合が多く(未発表), 病原菌を持込んでいることが十分考えられ, 得られた病原菌も静岡県産だけでなく, 他県産のものも相当含まれていると推定される。

このような状況下で得られた菌株であるにもかかわらず, 極めて均一な性質を示したことは, バラに関するかぎり, 全国的にbiovar 2系統の分布が多いと考えてよいと思われる。世界各国で調べられた根頭がんしゅ病菌

のbiovarは, オランダ, ニュージーランドでbiovar1の比率が高い他は, オーストラリア, カナダ, ギリシア, ハンガリー, 米国ではbiovar2の比率が高い。biovar 1の多いオランダでは, st.84の防除効果がないといわれる。一方オーストラリアでは, 全てbiovar 2であるのでst.84の防除効果は高いとされている¹⁰⁾。本県のバラ根頭がんしゅ病菌13菌株を選んで, st.84の防除効果をトマト苗で検定した結果は, 供試した全菌株において, 発病抑止効果が認められた。KERR and PANAGOPOULOS⁵⁾の報告によれば, agrocin 84の感受性と生物防除効果は完全に一致している。しかし, 本試験で供試した13菌株のうち6菌株はagrocin84に対し, 抵抗性あるいは弱い感受性しか示さないにもかかわらず, Table 3に示すように防除効果は感受性菌と差がなく, よくがんしゅ形成を抑えた。続報において検討した, バラ苗に対する防除効果は, トマト苗におけると同様に高い防除効果が認められた。このことは, MOOREら⁸⁾が, agrocin84に抵抗性で, トマト苗におけるst.84の防除効果のなかった菌株でも, Mazzard cherryにおいては有効であるとした報告とは異なる。以上のように, agrocin84に対する感受性と, 防除効果については対象とした病原菌, 植物及び研究者により結果が異なり, 原因について明らかにする必要がある。

V 摘 要

県内に発生しているバラ根頭がんしゅ病について, 病原菌を分離し, biovar(生理型)を明らかにした。50菌株について調べた結果, 47菌株はbiovar 2に, 1菌株はbiovar1に該当し, 他の2菌株は, これらの中間的性質を示した。しかしbiovar3とは, 生理的性質が異なっていた。agrocin 84に対する感受性を同時接種法により検定した結果, 大部分は感受性菌であった。agrocin84抵抗性株

Table 4. Biovars of *Agrobacterium tumefaciens* according to geographical locations in Shizuoka Prefecture

| Location | Number of strains | Biovar | | |
|----------|-------------------|--------|----|--------------|
| | | 1 | 2 | Intermediate |
| Shimizu | 12 | 0 | 12 | 0 |
| Shizuoka | 2 | 0 | 2 | 0 |
| Shimada | 22 | 0 | 21 | 1 |
| Ooigawa | 2 | 1 | 1 | 0 |
| Kakegawa | 6 | 0 | 6 | 0 |
| Kosai | 6 | 0 | 5 | 1 |
| Total | 50 | 1 | 47 | 2 |

を含む13菌株を選んで、*Agrobacterium radiobacter* strain 84の防除効果をトマト苗で検定した結果、全ての菌株について発病抑止効果が認められ、続報のバラにおける結果と一致した。このことは、KERR及びPNAGOPOULOS、MOORE及びSCHROTHらの報告とも異なり、agrocin 84の感受性と、生物防除効果については更に両者の関係を明らかにする必要がある。

引用文献

- ALCONERO, R. (1980). Crown gall of peaches from Maryland, South Carolina, and Tennessee and Problems with biological control. *Plant Dis.* 64 : 835 ~ 838.
- 微生物研究法懇談会編 (1975). 微生物学実験法 pp426.
- DE CLEENE, M. and DE LEY, J. (1976). The host range of crown gall. *The Botanical Review.* 42 : 389 ~ 466.
- KEANE, P. J., KERR A. and NEW, P.B. (1970). Crown gall of stone fruit. II. Identification and nomenclature of *Agrobacterium* isolates. *Aust. J. Biol. Sci.* 23 : 585 ~ 595.
- KERR, A. and PNAGOPOULOS, C. G. (1977). Biotypes of *Agrobacterium radiobacter* var. *tumefaciens* and their biological control. *Phytopath. Z.*, 90 : 172 ~ 179 (1977).
- KERSTERS, K. and DE LEY, J. (1984). Genus III. *Agrobacterium* Conn 1942 *In* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol. 1), Krieg ed., Williams & Wilkins: pp244 ~ 254.
- KERSTERS, K., DE LEY, J., SNEATH, P. H. A. and SACKIN, M. (1973). Numerical taxonomic analysis of *Agrobacterium*. *J. gen. Microbiol.* 78 : 227 ~ 239.
- MOORE, L. W. (1977). Prevention of crown gall on prunus roots by bacterial antagonists. *Phytopathology* 67 : 139 ~ 144.
- MOORE, L. W., ANDERSON, A. and KADO, C. I. (1980). *Agrobacterium* *In* Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS : pp17 ~ 25.
- MOORE, L. W. and COOKSEY, D. A. (1981). Biology of *Agrobacterium tumefaciens* : Plant interactions. *In* International Review of Cytology, Supplement 13. Academic Press : 15 ~ 42.
- 太田光輝・西山幸司 (1984). 花き類の根頭がんしゅ病に関する研究 I, 病害の発生ならびに病原細菌の細菌学的性質. *日植病報* 50 : 197 ~ 204.
- PANAGOPOULOS, C. G., and PSALLIDAS, P. G. (1973). Characteristics of Greek isolates of *Agrobacterium tumefaciens* (E. F. SMITH and TOWNSEND) *Conn. J. appl. Bact.* 36 : 233 ~ 240.
- WHITE, L. O. (1972). The taxonomy of the crown gall organism *Agrobacterium tumefaciens* and its relation ship to rizobia and other agrobacteria. *J. gen. Microbiol.* 72 : 565 ~ 574.

Biovars and sensitivity to Agrocin 84 of *Agrobacterium tumefaciens* isolated from roses in Shizuoka prefecture

Takahiro MAKINO* and Hitoshi MORITA*

Summary

Fifty strains of *Agrobacterium tumefaciens* were isolated from roses in different places of Shizuoka Prefecture (Table 1). Major biochemical characteristics of the isolates were tested and biovars were determined (Table 2). Forty seven isolates (96%) belonged to biovar 2, and only one isolate belonged to biovar 1 (Table 4). But two isolates were not identical with biovars 1, 2 and 3. Sensitivity to agrocin 84 of the isolates were tested by spot-on-lawn method (Fig. 1). Thirty one isolates (64%) were sensitive, 13 isolates (26%) were slightly sensitive and 6 isolates (12%) were resistant. Selected pathogenic strains (agrocin 84-sensitive and resistant) were prevented on gall formation of tomato seedlings by the treatment of strain 84 (Table 3).