

圃場検査におけるジャガイモ輪腐病の 血清による診断方法

松 濤 美 文*・佐々木 邦 雄**

神戸植物防疫所

Serological Diagnosis of Potato Ring Rot Disease in Inspection of Seed Potatoes

By

Mifumi MATSUNAMI and Kunio SASAKI

Kobe Plant Protection Station

種ジャガイモの圃場検査で輪腐病を正確に診断することは困難である。特に当所の管内にある岡山、広島県の採種地帯のように青枯病の常発する地帯では、両者を肉眼で識別することは非常にむづかしい。そこで TIPOG-RAF (1941) が茎や塊茎の診断に利用したように、輪腐病菌に対する抗血清を作り、これが圃場検査に応用できるかどうかを試みた結果を、ここに報告する。

本文に入るにさきだち、種種の御援助をいただいた当所八木所長、石田大阪支所長、長尾、安田各技官、佐々木隆氏ならびに、罹病株採取にご協力いただいた宇野出張所谷田技官、広島支所弓削、野田、森上各技官に厚く感謝の意を表する。

I. 材料および方法

a. 抗血清の作製法

輪腐病菌を3日間斜面培養し、その試験管に殺菌生理食塩水 5cc を加えてよくふり、浮遊液を兔の静脈に4日ごとに 0.5cc, 1.0cc, 1.5cc, 1.5cc, 2.0cc, 3.0cc の順に注射し、6 回目の注射後1週間おいて全採血して抗血清を作製した。この血清にマーズニンを 0.01% 加え、冷蔵庫中で凍結して保存し使用のたびごとにとかした。

この実験に使用した抗血清は4回作製した。最初の抗血清は、1948 年7月に北海道農試で分離された輪腐病菌を農業技術研究所から譲りうけたものを抗原とした。採血は1958 年11月25日で、力価は1:2580である。

これを便宜上 A 抗血清と呼ぶ。第2回目も同じ菌を用い、採血は1960 年5月4日で、力価は1:1280である。これを A' 抗血清と呼ぶ。第3回は、岡山県牛窓町産の農林一号から分離した菌からのもので、採血は1960 年3月8日、力価は1:160である。これを B 抗血清と呼ぶ。第4回は岡山県牛窓町産の雲仙から分離した菌からのもので、採血は1960 年10月29日、力価は1:160である。これを C 抗血清と呼ぶ。

b. 診断方法

診断にはスライド法による凝集反応を用いた。まず調べようとするジャガイモの茎をぬきとって洗浄し、ついで茎の地際部の白い一部分をナイフで切り、切口からヤットコで汁液をしぼりだし、1枚のスライドグラス上に少量ずつ二カ所になすりつける。その1カ所に生理食塩水で5倍に希釈した抗血清をスポイトで2~3滴おとし、他の1カ所には対照として生理食塩水を同量おとした後、スライドグラスを静かに動かす。もし反応する場合は約30秒前後で抗血清の方に凝集がおこる。ジャガイモの茎の汁液は、生育の時期によっては濁っていることがあって、凝集反応と混同するおそれがあるので、対照を作っておく必要がある。なお、使用する器具は毎回新しいものとかえるように留意した。

c. 抗血清の稀釈度と凝集反応

まず、培養した菌を用いて抗血清の稀釈度と、凝集反応の程度を調査した。輪腐菌を3日間斜面培養した試験管に、生理食塩水 5cc を加えて浮遊液を作り、これをスライドグラス上に、1カ所2滴ずつおとし、その上に生理食塩水で希釈した抗血清を同量加えた。なお使用した抗血清は A 抗血清である。

* 現在 横浜植物防疫所羽田出張所

** 現在 神戸植物防疫所宇野出張所
(1962 年 6 月受領)

第1表 抗血清の稀釈倍数と凝集程度 I

抗原に輪腐病菌の浮遊液を使用した場合 (A 抗血清使用)

(1958年12月上旬室温)

稀 釈 倍 数	1	5	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
凝 集 程 度	++	++	++	++	++	+	+	+	±	—	—
凝集するまでの時間 (秒)	15	15	20	25	45	60	360	1500	2160		

この試験は第1表のとおりで、40倍までが最も凝集が強いことがわかった。

次に、実際の診断と同じように、抗原に罹病茎の汁液を使用した。1本の茎の汁液を2枚のスライドガラス上に1枚2カ所ずつ、それぞれほぼ等量になるようになすりつける。その量は1カ所につきスポイト2滴分である。それらの上に、5, 10, 15, 20の各倍数に稀釈した抗血清を2滴ずつおとして凝集の程度と、凝集をおこすまでの時間をみた。その結果は第2表の通りであった。なお、これに使用した茎は7株で、血清はA抗血清である。

この結果、5, 10倍は、15, 20倍に比較して凝集程度も強く、時間も早い。圃場検査に応用するにはできるだけ凝集度が強く、迅速であることが必要である。そのためには5倍または10倍を使用した方がより良いことになる。しかし抗血清の力価は採血の時期や個々の兔によっても異なると思われるから、以下の実験は安全度を考慮して5倍でおこなった。

後述するが、実験の途中で、岡山産の輪腐病菌を使用して抗血清を作る必要が生じたので、B抗血清を作った。その力価をみたところ意外に低かった。そこでまず、輪腐病菌の浮遊液を抗原とした時のスライドガラス上の凝集程度をみた。結果は第3表の通りである。

これによるとA抗血清の第1表に比較して、最高稀釈倍数ははるかに低い。20倍までは1分以内で凝集している。そこで、実際に罹病茎の汁液を抗原とした場合の実験を同日に行なった。これに使用した罹病茎は冷凍して保存していたもので、いずれの茎の汁液にも細菌粘塊があった。まず、5倍で7本の茎を使用した。20秒で凝集したもの1茎、25秒が4茎、35秒が1茎、55秒が1茎で、いずれも1分以内で凝集し、その程度は全部++であった。10倍は4茎使用したが40秒が3茎、1分が1茎で、その程度はいずれも++であった。汁液中に細菌粘塊があるにもかかわらず、凝集程度が++でなかった原因はおそらく冷凍した茎を使用したことにあると考えられる。以上の結果から、この抗血清も5倍で使用でき

第2表 抗血清の稀釈倍数と凝集程度 II

抗原に罹病茎の汁液を使用した

場合 (A 抗血清使用)

(1958年12月上旬室温)

稀 釈 倍 数	凝 集 程 度				凝集をおこすまでの時間		
	±	+	++	+++	秒 20~30	秒 30~45	秒 60~75
5			4	3*	7*		
10			4	3*	7*		
15		3	2⊕	2⊕	1	3*	3
20	1	3⊕	2	1⊕		4*	3

*の中には、茎の汁液中に細菌粘塊のあるもの2株あり

⊕の中には、茎の汁液中に細菌粘塊のあるもの1株あり

他の株は汁液中に細菌粘塊なし

第3表 抗血清の稀釈倍数と凝集程度 III

抗原に輪腐病菌の浮遊液を使用

した場合 (B 抗血清使用)

(1960年3月中旬室温)

稀 釈 倍 数	1	5	10	20	40	80
凝 集 程 度	++	++	++	++	+	±
凝集するまでの時間	秒 10	20	30	40	1140	1340

るものと結論した。

II. 結 果

a. 青枯病菌並びに青枯罹病茎の汁液に対する反応

念のために、青枯病菌および青枯罹病茎の汁液を抗原とした場合に凝集反応がおこるかどうかをA抗血清を用いて調べてみた。前項と同じように青枯病菌の浮遊液を作成し、スライド法で供試した結果凝集は認められなかった。次いで、北海道産男爵4株、岡山産雲仙2株およびホイラー1株計7株の青枯罹病株で、押すと細

第4表 罹病株の生育後期における診断能力（A 抗血清使用）

（1958年12月上旬）

品 種	診断数	グ ラ ム +		菌のない株		備 考
		株数	凝集株数	株数	凝集株数	
大 白	56	29	25*	27	0	* 中には細菌粘塊の出る3株を含む
雲 仙	22	3	3*	19	0	* 中には細菌粘塊の出る2株を含む
ホ イ ラ ー	55	34	15*	21	0	* 中には細菌粘塊の出る1株を含む
農 林 一 号	21	0	0	21	0	

植付 9月10日

菌粘塊が出る茎の汁液を抗原とした場合には、いずれも凝集をおこさなかった。

b. 生育後期における診断能力

スライド法による診断能力を知るために、まず生育後期の罹病茎の汁液を用いた。すなわち北海道農試で分離された輪腐病菌を接種して一作し、グラム検定によって確実に罹病している塊茎を秋作し、発芽生育した株の茎を使用した。実験を行なったのは12月6、7日で、複葉はすでに11月28～30日に霜害を受けていたが、茎の残っていた株を154株使用した。これらの株は霜害を受けるまでは病徴は現われていなかったの、供試茎は未発病株といってもさしつかえない。また、霜害を受けなかったとしても、この病気の発病速度と、気候条件から考えて、この間に新しく発病した株はないものとみなされる。なお、スライド法に使用した茎の汁液を他のスライドグラスに塗って、グラム検定にかけて比較してみた。この実験ではA抗血清を使用した。第4表に示したように、154株中グラム検定によって菌の発見できたのが66株あった。このグラム陽性株中、スライド法によって凝集反応をおこしたのは43株、すなわち陽性株の65%であった。

なお、グラム陽性株中には茎を押すと細菌粘塊の出るのが6株あったが、いずれも凝集反応をおこした。菌の発見できなかった88株では凝集をおこしていない。

以上の結果は1958年の実験であるが、1959年春に輪腐病罹病塊茎を植えたところ、雲仙5株、大白2株に茎から細菌粘塊のでる株を生じた。これらの茎の汁ではいずれも凝集反応が認められた。この実験にもA抗血清を使用した。

c. 生育時期と診断能力

前項では生育後期の診断能力を調べたが、ここでは生育中何時からこの方法によって診断しうるかをみた。まず秋作でグラム検定と血清反応とによって罹病を確認し

た株の子いもを翌春植え、発芽後約25日経過した5月18日から、順次スライド法によって診断した。また、あわせて同じ株の汁液をグラム検定にかけ比較した。品種は大白で、病徴のない株を用い、1回に15株ずつを供試した。なお、使用した血清はA'抗血清である。結果は第5表に示す。

第5表 罹病株の生育時期と診断能力

（A'抗血清使用）

（1960年）

診 断 法	診 断 日				
	5・18	5・31	6・10	6・20	6・29
診 断 数	15	15	15	15	15
抗 血 清	0	2	4*	4	5
グ ラ ム 検 定	4	6	8*	7	9

植付 3月2日

* 中に細菌粘塊を出す茎1株あり

グラム検定で菌の発見出来ない株の汁液は凝集せず

すなわち、発芽約35日後の5月31日から抗血清によって診断可能な株を得られた。通常当所管内の岡山、広島の採種地帯の検査は5月下旬から6月上旬にかけて行なわれているので、検査時に発病していない場合でも、この方法によって診断できるものと考えられる。なお、グラム検定は、抗血清による診断に比較して、より早い時期から診断できるばかりでなく能力もすぐれていた。

また秋の検査は10月下旬から始まるので、この時期にも試みた。すなわち、春作のときにグラム検定と血清反応とによって選んだ株の子いもを9月2日に植え、9月25日前後に発芽した株を使用し、発芽約1カ月後の10月23日に、その茎の汁液をスライド法とグラム検定とにかけた。品種は大白で、株数は20、いずれも未発病株である。また使用した血清は前者と同じくA'抗血

清である。

その結果はグラム陽性が13株あり、そのうち抗血清によって凝集したものの3株であった。秋の場合でも、検査の始まる時は、たとえ病徴はなくとも、スライド法によって診断できる株があることを示している。なお、凝集した株のうち1株は押すと汁液中に細菌粘塊の出る茎であった。

d. 菌株による凝集の差

b., c. 項の試験に使用した罹病塊茎は前述のように、北海道農試で分離された輪腐病菌を接種して、殖やした塊茎から得たものである。そして、抗血清も同じ菌から作ったものである。ところが、この抗血清は岡山産、広島産の罹病茎の汁液ではたとえ細菌粘塊があっても、凝集を起させることはできなかった。

そこで、検査に利用するには現地の菌が必要ではないかと考えて、岡山県牛窓町産農林一号、および同町紺浦産雲仙から輪腐病菌を分離して、おのおの抗血清 B, C を作った。また他にも利用できる菌はないかと考えて、農枝研から新しく3菌株の分譲を受けて、それぞれの抗血清を作って比較試験をこころみた。まずスライドグラスの上に培養した輪腐病菌を一白金耳ぬり、その上に生理食塩水をスポイトで2滴おとし、この菌が浮遊するまでよくかきまわした後、稀釈した抗血清を、この上に2滴おとし、凝集の有無を調べた。

説明の都合上 A, A' 抗血清を作った菌を A 菌、B, C 抗血清を作った菌をそれぞれ B, C 菌と呼び、新しく農枝研から分譲をうけた菌を D (1948 年 7 月北海道農試で分離)、E (1948 年 12 月宮城県産ジャガイモから分離)、F (1949 年 1 月宮城県産ジャガイモから分離) 菌とし、それから作った抗血清をそれぞれ D, E, F 抗血清と呼ぶ。これらの抗血清を用いて行なった試験の結果は第6表のとおりである。

この結果から、岡山県産の菌で作った抗血清は、同県の菌はもとより、北海道産や宮城県産の菌をよく凝集させることがわかった。しかるに、北海道、宮城県産の菌でそれぞれ作った抗血清は、それらの菌は十分に凝集させるが、岡山県産の菌は凝集させることができないか、あるいはできても凝集力が弱かった。わずかながら凝集をおこした A, F 抗血清のうち、A 抗血清は岡山、広島産の罹病茎の汁液を凝集させないことは前述のとおりである。そこで、F 抗血清について調査したが、やはり岡山、広島産の罹病茎の汁液は凝集させることができなかった。

ゆえに、当所管内の検査に使用できる可能性のあるも

第6表 各抗血清と各菌株との関係

供試菌 の産地	抗血清に 使用した菌 の産地	岡山県 牛窓町		北海道		宮城県	
		抗血清					
		B	C	A	D	E	F
北海道	A 菌	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	D	+++	+++	+++	+++	+++	+++
宮城県	E	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	F	+++	+++	+++	+++	+++	+++
岡山県 牛窓町	B	+++	+++	+	±	±	+
	C	+++	+++	±	—	—	+
	N	+++		—			
	O	+++		±			
	U1	+++		—			
	U2	+++	+++	±	—	—	±

A, D 菌は北海道農試で分離。A, D 抗血清はこれらの菌で作成。

E, F 菌は農枝研で分離。E, F 抗血清はこれらの菌で作成。

B, C 菌は岡山県牛窓町産農林一号、雲仙から分離。B, C 抗血清はこれらの菌で作成。

N, O, U1, U2 菌は同町の農林一号、大白、雲仙、雲仙から分離。

空欄は菌の死滅により実験せず

のは B, C 抗血清のみであると結論される。そこで、この二つの抗血清を管内の各採種地帯の採種、食用圃の発病株、ならびに 1957 年来各地から採取してきて当所の圃場で作っていた罹病株に対して試みた。方法としては、前述の各試験と同様茎の汁液を抗血清にかけるとともにグラム検定を行なった。その結果は B 抗血清の場合は第7表、C 抗血清の場合は第8表に示すとおりである。発病株の中には、青枯病罹病株もあったので、陰性菌が存在して凝集しないもの、陰性菌も存在せず凝集もしないものは、青枯病または生理的なものとして除外し、グラム陽性株、または抗血清で凝集した株だけあつめた。

グラム陽性株であれば汁液中の細菌粘塊の有無にかかわらず、いずれも抗血清によって汁液中の菌の凝集を認めた。なお第 7・8 表においてグラム陽性？株と陰性株において凝集現象を認めたものが若干あるが、これはむしろグラム染色の失敗が原因であろうと思う。

岡山、広島両県の各採種圃における輪腐病発病株は非常に少なかったので、実験に供したのはほとんど同一地帯内の食用圃の発病株である。例えば第7表では岡山県西大寺産の大白1株、広島県産農林一号1株、第8表では岡山県西大寺市産大白1株、同邑久町産農林一号1

第7表 岡山県産輪腐病菌で作った抗血清 (B) と採種地帯罹病茎の汁液との関係

(1960年5月下旬, 7月上旬, 11月上旬)

茎の種類	品 種 名	産 地	診 断 株 数	凝 集			不凝集
				グラム +	グラム + ?	グラム -	
汁液中の細菌粘塊の有無	有	大 白	牛窓町 2, 西大寺***	3	4	0	0
		雲 仙	市牛窓町 3, 邑久町 2, 西大寺市	10	10	0	0
		ホイラー	牛 窓 町	1	1	0	0
		農林一号	玉 野 市*	2	2	0	0
		農一または大白	牛 窓 町	2	2	0	0
		男 爵	玉 野 市	4	4	0	0
	無	大 白	牛 窓 町	4	3	0	1
		雲 仙	牛 窓 町	4	2	2	0
		農林一号	邑久町 2, 牛窓町, 玉野市, 不明地**	5	5	0	0
		農一または大白	牛 窓 町	2	1	1	0

* 玉野市は採種地帯外

** 広島県採種圃そのほかはいずれも岡山県

*** 採取圃, ほかは食用圃

第8表 岡山県産輪腐病菌で作った抗血清 (C) と採種地帯罹病茎の汁液との関係

(1960年11月上・中旬, 12月上旬)

茎の種類	品 種 名	産 地	診 断 株 数	凝 集			不凝集
				グラム +	グラム + ?	グラム -	
汁液中の細菌粘塊の有無	有	大 白	西大寺市 4**, 牛窓町	5	5	0	0
		雲 仙	邑久町 9, 牛窓町	10	9	0	1
		ホイラー	西大寺市 9, 邑久町 3, 牛窓町 2	14	14	0	0
		農林一号	邑久町 8*, 安芸津町 2**, 吉名町**, 不明地**	12	11	1	0
		農一または大白	牛 窓 町	1	1	0	0
		アーリーローズ	邑 久 町 3	3	3	0	0
	無	雲 仙	牛 窓 町	1	1	0	0
		農林一号	邑 久 町	1	1	0	0

* 採集圃 (その他は食用圃)

** 広島県 (広島県産では以上の外, 採種圃の農林一号で, 安芸津町 3, 鷺浦町 1, 能見町 1, 吉名町 1 の茎の汁を凝集。これらのグラム検定は行わず。)

C 抗血清使用。

株, 広島県産農林一号 4 株が採種圃産である。しかも採種地は両表に記載されたほかにもある。

しかしながら, 両県の採種圃用の種いもは同一の原々種圃場から供給されており, 採種地帯にある食用圃の種いもはほとんど自給している。このことから, これらの地帯の採種圃, 食用圃には同一の菌が分布していると考えてよい。また広島県では採種用は農林一号に統一されているが, 岡山県ではそのほかに雲仙, ホイラー, 大白

の 3 品種がある。B, C 抗血清はこれらの品種ばかりでなく, 男爵, アーリーローズの罹病茎の汁液中の菌も凝集させ, また, 北海道, および宮城県産の菌をもよく凝集させるので B および C 抗血清は相当反応範囲が広いといえる。従って B, C 抗血清は岡山, 広島両県の全採種圃産の輪腐病菌を凝集させることが可能ではないかと考える。

なお, 実験では菌株によって, 凝集に差が認められた

が、その原因は菌の系統のちがいか、長期間にわたって培養をつづけたために変わったものか不明である。

e. 発病株に対する診断能力

発病株に対する B, C 抗血清による診断能力をグラム検定法による能力と比較してみた結果が第 6・10・11・12 表である。このうち第 9・11 表は採種地で検査の際発病している株について診断したものであり、第 10・12 表は検査時以後に診断したものである。なお、このうち第 10 表は採種地以外の地域のものを診断したもの

第 9 表 発病株と診断能力 I

B 抗血清使用

(1960 年 5 月下旬牛窓町)

品 種	診断数	凝 集		グラム +のみ
		グラム +	グラム +?	
大 白	2	2*		
雲 仙	12	10**	2	
農 林 一 号	2	2		
農一または大白	4	3	1	

* 2 株汁液中に輪腐病菌粘塊あり

** 8 株汁液中に輪腐病菌粘塊あり

第 10 表 発病株と診断能力 II

B 抗血清使用

(1960 年, 7 月上旬岡山県玉野市)

品 種	診断数	凝 集		グラム +のみ	菌なし
		グラム +	グラム +?		
男 爵	13	4*			9
農 林 一 号	2	2*			

* いずれも汁液中に輪腐病菌粘塊あり

第 11 表 発病株と診断能力 III

B 抗血清使用

(1960 年 11 月 5~11 日岡山県採種地)

品 種	診断数	凝 集 グラム +	グラム		菌なし
			+	のみ	
大 白	13	1*		9	3
雲 仙	22	2*		18	2
ホ イ ラ ー	52			39	13
農 林 一 号	6			6	
黄 白	1			1	

* いずれも汁液中に輪腐病菌粘塊あり

第 12 表 発病株と診断能力 IV

C 抗血清使用

(1960 年 12 月 6~8 日岡山採種地)

品 種	診断数	凝 集 グラム +	凝 集 グラム +?	凝 集 グラム -	グラム +のみ	グラム -のみ	菌なし
大 白	11	8*				6	2
雲 仙	7	6*		1*			
ホ イ ラ ー	20	12*	1*			5	3
農林一号	17	8*				3	5
アーリー	3	3*					

* いずれも汁液中に輪腐病菌粘塊あり

** 汁液中に青枯病菌粘塊あるもの 5 株

である。

ここでとりあげた発病株とは、輪腐病、青枯病の両病徴を示すものである。輪腐病徴とは 1 複葉でも萎れて、かつ青緑、または青白に変色するか、あるいは葉縁が捲き上がるか、エソを作っているものをいい、青枯病徴とは萎れている以外に、ほかの病徴を全く示さないものということにした。

岡山県牛窓町の採種地における試験成績は第 9 表に示す通りで、20 株全部が抗血清によって輪腐病と診断することができた。しかしグラム検定法によって確認したのは 17 株で、残りの 3 株は明確には診断できなかった。この場合は抗血清の方が精度が高かった。この 20 株の輪腐病罹病株のうち、輪腐病徴株は 18 株、青枯病徴株は雲仙の 2 株であった。

岡山県玉野市の食用圃場における成績は第 10 表の通りであるが、実験を行なったのが生育の後期であったため、枯死した株が多く、病徴の判定は困難であったが、病徴を現わしている 15 株のうち、グラム検定法によって輪腐病であると診断しえた 6 株は、スライド法でも診断することができた。その他の 9 株はおそらく前記の理由で、高温障害株を発病株と誤認したものと思われる。この 6 株のうち農林一号の 1 株が青枯病徴で、あとは輪腐病徴であった。

岡山県の採種地の秋作における成績は第 11 表の通りであるが、抗血清反応でもグラム検定でも輪腐病であることが診断しえた株数は 94 株中 3 株であった。

両者の精度はこの場合もほぼ同じである。この 3 株のうち雲仙の 1 株が青枯病徴で、ほかの 2 株は輪腐病徴であった。

この表の、グラム陰性菌の検出された 73 株は青枯病

であったというよいと思う。これらの株はすべてC抗血清と反応していない。しかもこの中には茎を押すと青枯病菌の粘塊のでるものが 50 株もあった。

なお、グラム陰性および菌のない茎 91 株のうち輪腐病徴は 53 株、青枯病徴は 38 株であった。この結果からも肉眼による診断がいかに困難であるかがわかる。

岡山県の採種地で検査時期をすぎてから行なった試験では 58 株のうち、同じ株を血清反応法とグラム検定法とによって診断したところ、32 株が輪腐病であることを確認することができた。前の 3 表と同じようにグラム検定のみで診断しえた株はない。しかし、抗血清では診断できたが、グラム検定でできなかったものが雲仙と農林一号に 1 株づつある。いずれも染色の失敗によるものであると思われる。

なお、輪腐病にかかっていた 34 株のうち、14 株は青枯病徴で、他は輪腐病徴であった。また輪腐病に罹病していなかった 24 株は、6 株が輪腐病徴で、18 株が青枯病徴であった。

以上の結果を総合すると、発病株の場合の抗血清による診断の精度は、グラム検定とほとんど同じ程度であるということが出来る。これは発病株の茎の中には菌が多量に存在するため、スライド法で凝集しやすいためではないかと思われる。グラム検定による染色の失敗を考えると、発病している場合はスライド法の方がすぐれているとさえいえる。

III. 考 察

圃場検査の際、肉眼で輪腐病と青枯病を区別することは非常に困難であり、また白絹病による萎凋や、生理的な萎凋も青枯病について識別しにくい。これらを判別するために従来はグラム検定法がおこなわれているがわずかな株数であれば、合否の決定を保留し、あらためて検定の上、結果を通知することもできるが、実際問題として合否を保留することはできない。もし、その場で輪腐病を確実に診断することができれば、検査を能率化することがいじめるしい。

この点、血清による診断はあらかじめ抗血清が用意できれば、わずかな用具の携帯によって、その場で診断することができる。しかし、その精度は未発病株の場合はグラム検定に劣っているが、発病株の場合は優劣がない。また、グラム検定法では時々染色を失敗することがあるので、むしろすぐれている方法といえる。また未発病株についても、少なくともその一部は診断しうる。以上の点から、抗血清による輪腐病の診断は圃場検査に十

分利用できると思われる。

ただし、使用する抗原菌の選定には注意しなければならない。この試験においては、菌株により、反応に差異があったが、これは菌の系統によるものか、抗血清を作製するために用いた菌が長期間培養されていたことによるものか、今のところわからないが、KATZNELSON, SUTTON (1956) が述べているように輪腐病菌の菌株に注意して抗血清を作る必要がある。

IV. 摘 要

種ジャガイモの圃場検査の際、輪腐病をその場で適確に診断しうる方法を確認するため TIPOGRAE (1941) が行なった抗血清法を応用する試験を行なった。すなわち輪腐病菌を兔の静脈に注射して抗血清を作り、その抗血清の 5 倍液をスライドグラス上にとったジャガイモの茎の地際部の汁液の上に滴下し、凝集反応の有無により、輪腐病菌の有無を診断する方法である。

1. 春秋ともに、罹病塊茎が発芽して約 1 ヶ月、検査開始の頃になると、病徴未発現株でも、この方法によって診断することができた。ただし、この場合はグラム検定の方が診断精度が高かった。

2. 罹病しているが病徴が現われていない生育後期の株の診断の精度は、グラム検定の約 65 % であった。

3. 病徴発現株の場合、グラム検定で診断できた株は、すべてこのスライド法でも診断することができた。

4. 茎を押すと汁液中に輪腐病菌の粘塊を出す株は全株診断することができた。

5. 罹病してはいるが、グラム検定でも菌を発見できなかった株は、このスライド法によっても診断不能であった。

6. 菌株のことなる輪腐病菌で作製した抗血清のなかには、スライド法によって他の菌株を凝集させることができないものがあったが、いずれの菌株をも凝集させる抗血清もあった。この原因については、まだ明らかでない。

7. 抗血清を利用したスライド法による輪腐病の診断は、抗原となる菌株に注意しさえすれば、種馬鈴薯の圃場検査に十分使用しうるものと考えられる。

V. 文 献

KATZNELSON, H. and M. D. SUTTON (1956) Laboratory detection of *Corynebacterium sepedonicum* causal agent of bacterial ring rot of potatoes. Canad. J. Bot., 34: 48-53.

TIPOGRAF, D. Y. (1941) A rapid method of diagnosing ring rot of Potato. C. R. Pan-Sov. V. I. Lenin Acad. Agr. Sci., 5: 35-38.

Summary

Potato ring rot disease is regarded as most important at the seed potato inspection in the field. However, it is very difficult to distinguish the symptoms of ring rot and those of bacterial wilt on that occasion. Therefore, this disease needs to be identified accurately in the field. For this reason antisera of *Corynebacterium sepedonicum* were prepared to establish the method of diagnosis. It was to observe agglutination by dropping on the slide the quintuple antiserum in the sap expressed out of the base of the stem.

1. Both in spring and in autumn, some infected plants, though no symptoms appeared, could be diagnosed as ring rot disease one month after they sprouted, that is, when an inspection was begun. But in this case the sensitivity of the same sap to the Gram stain technique was higher than to this method.

2. The sensitivity to the slide method was lower by

about 35 % than to the Gram stain in the late period of their growth when the plants have shown no symptoms yet, though they have been infected.

3. The plants Which had already shown the symptoms had as much sensitivity to agglutination as to Gram stain.

4. All the plants that had bacterial ooze in the sap of the stems could be diagnosed as ring rot disease by this method.

5. Serological reaction did not occur with the sap of the infected stems in which bacteria could not be found by Gram stain.

6. Different kinds of antisera were made from different stock cultures of *C. sepedonicum*. Some antisera could not agglutinate other cultures by the slide method. On the other hand a certain antiserum could agglutinate all cultures. The cause of this phenomenon has not been determined yet.

7. It is concluded that the method of slide agglutination can be adopted with regard to the diagnosis of this disease at the field inspection, if only the proper culture of bacterium is chosen for the antigen.