

ジャガイモ黒あし病に関する研究

II 黒あし病の抗血清による診断*

川上 清隆**・工藤 浩平**・小林 敏郎***

横浜植物防疫所業務部調査課

はじめに

北海道で発生しているジャガイモ黒あし病の病原細菌には、*Erwinia carotovora* var. *atroseptica* (黒あし病原細菌 Ia 型菌) のほか、血清学的性質が軟腐病罹病の蔬菜類から分離される菌とは区別される *E. carotovora* var. *carotovora* の 1 系統菌 (Ib 型菌) が存在することが明らかにされている (谷井ら, 1973; 谷井・赤井, 1975; 川上ら, 1976)。黒あし病原細菌が塊茎伝染するのに対し、蔬菜類軟腐病菌のそれが否定的である (尾崎ら, 1973; ERINLE, 1975) など両者は生態的にも異なるとされている。しかし、茎への接種発病株の病徴は、高温多湿条件下では、軟腐病菌も茎の黒変をともなった病徴を生じ (GRAHAM and DOWSON, 1960; 川上ら, 1976)、黒あし病菌による病徴との判別は困難である。また、圃場における自然発生株では、とくに生育の進んだ段階で、両者の区別は困難なことも多く、黒あし病と診断した株から、黒あし病菌以外に軟腐病菌も分離されることがあり、その適正な診断法の確立が重要となる。

そこで、黒あし病の血清学的診断法の有効性について検討したのでその結果および、2 種の黒あし病原細菌

の地域的分布を抗血清反応により調査した結果を報告する。

本試験を行なうにあたり、貴重な菌株を分譲していただいた新潟大学農学部 富永時任博士、岩手大学農学部 津山博之博士、農業技術研究所 藤井溥博士・土屋行夫博士、病害試料の採集に同行された当所札幌支所 北島克己・帯田則義両技官に深謝申し上げる。

材料および方法

抗血清は第 1 表に示したものを使用した。抗血清の作製、反応のための抗原・抗血清の調整、反応法は特に記さない限り前報 (川上ら, 1976) によった。また菌株はすべて、肉汁 5% 加用した Potato semi-synthetic agar (変法 PSA) 斜面で 25°C, 24 時間培養して使用した。

各種植物病原細菌の抗血清反応

第 2 表に示した各種植物病原細菌のうち、*Erwinia* 属以外の 3 属 11 種の菌については、抗血清 As-Ia および As-Ib に対する反応を、また *Erwinia* 属の黒あし病菌 Ia 型菌 (6 菌株)、Ib 型菌 (4 菌株) および軟腐菌 (20 菌株) の計 30 菌株については、As-Ia, As-Ib および As-C に対する反応を、それぞれスライド凝集反応および

第 1 表 供試抗血清の種類

抗血清	免疫抗原	力価	作製年月
As-Ia	<i>E. carotovora</i> var. <i>atroseptica</i> D-3-1 (黒あし病菌 Ia 型)	×12,800	1974.7
As-Ib	<i>E. carotovora</i> var. <i>carotovora</i> C-2-2 (黒あし病菌 Ib 型)	×6,400	1974.7
As-C	<i>E. carotovora</i> var. <i>carotovora</i> Hy-3-1 (蔬菜類軟腐病菌)	×12,800	1974.7

* 本報告の 1 部は昭和 49 年度日本植物病理学会秋期関東部会 (1974) において発表した。

** 現在、農林省農蚕園芸局植物防疫課

*** 現在、横浜植物防疫所業務部国際第二課

第2表 供試菌株とその来歴

<i>Corynebacterium sepedonicum</i> 65a, <i>C. oortii</i> Y-3; 横浜植物防疫所
<i>C. michiganense</i> C-1-1-7; 農業技術研究所
<i>Pseudomonas solanacearum</i> P-1-18-2, <i>P. phaseolicola</i> P-1-14-2, <i>P. lachrymans</i> P-1-19-1; 農業技術研究所
<i>Xanthomonas citri</i> N6119, <i>X. oryzae</i> H5809, <i>X. campestris</i> X1-1-1, <i>X. vesicatoria</i> N7001; 農業技術研究所
<i>X. hyacinthi</i> PQ-1; 横浜植物防疫所
<i>Erwinia carotovora</i> var. <i>atroseptica</i> * (黒あし病菌 Ia 型): NCPPB549; National Collection of Phytopathogenic Bacteria, Harpenden, England. P-14; 道立中央農業試験場. D-3-1, D-13-3, G-3, SH-1-4; 横浜植物防疫所
<i>Erwinia carotovora</i> var. <i>carotovora</i> (黒あし病菌 Ib 型): C-2-2, D-5-1, D-25-1, F-6-3; 横浜植物防疫所
<i>Erwinia carotovora</i> var. <i>carotovora</i> * (蔬菜類軟腐病菌): 645ar, ar13, H1; 岩手大学農学部. E7117, E7127, E7154, E7169, E7182; 農業技術研究所. Sa-1-1, Al-1-1, H-4-4, H-8-1, A-4-3, D-18-2, D-19-1, D-21-1, Cr-1-3, Hy-3-1, Ca-1-1, Po-2-4; 横浜植物防疫所

* 分離者により, *E. atroseptica* とされた菌株は *E.c.* var. *atroseptica* に, *E. aroidea* および *E. carotovora* とされた菌株は *E.c.* var. *carotovora* に含めた。

び寒天ゲル内沈降反応で調べた。

接種発病株の病茎汁液の抗血清反応

第2表に示した *Erwinia* 属 30 菌株を供試し, ポット栽培のジャガイモ茎に接種発病させ, その病徴部汁液の抗血清反応を調べた。接種試験区は次の6区を設け, 混合接種した AB, AC, BC の3区はほぼ同一濃度の2種菌液をそれぞれ等量混合したものを接種源とした。

A 区… Ia 型菌単独接種, B 区… Ib 型菌単独接種, C 区… 軟腐病菌単独接種, AB 区… Ia 型菌 (D-3-1) + Ib 型菌 (C-2-2) 混合接種, AC 区… Ia 型菌 (SH-1-4) + 軟腐病菌 (Po-2-4) 混合接種, BC 区… Ib 型菌 (C-2-2) + 軟腐病菌 (Ca-1-1) 混合接種

接種は, ジャガイモ (品種: 農林1号) の茎の地際部に供試菌液 (濃度: 約 10^8 cells/ml) を, 単独接種区は菌株ごとに混合接種区は混合菌液ごとにそれぞれ5~6茎の割合で注射接種した。接種後は, 1 昼夜ビニール袋で被覆し 25°C の高温多湿条件として発病させた。発病株の血清反応は, 接種後7日, 15日, 35日目の発病株について茎の病徴部を採取し, 試料1gにつき4~5mlの割合で生理食塩水を添加して磨砕し, 汁液を1500 rpm・5分遠沈した後, その上澄を病茎汁液抗原として供試した。スライド凝集反応には未加熱汁液を, またゲル内拡散反応には 100°C ・10分加熱した汁液を使用し血清反応を調べた。

自然発病株における病徴と病株の抗血清反応との関係

1974~5年に北海道の栽培圃場で発病している黒あし病株および軟腐病株を採集し, その病徴と病茎汁液の抗

血清反応について調べた。発病株の採集は1974年は7~8月に, 士幌, 鹿追, 中標津, 弟子屈, 清里, 小清水の各町の発生圃場で行ない, 1975年は8月に, 帯広市, 士幌町, 弟子屈町, 清里町で実施した。採集試料の病徴は, 発病部位, 茎の病徴部の状態 (乾湿, 色調), 葉の黄化, 萎凋, 巻葉, 倒伏, 維管束の病変, 病徴伸展の程度を個々の被害株について調査した。抗血清反応は1974年の試験では前記の接種発病株の病茎汁液について行なったのと同様の方法で, スライド凝集反応およびゲル内拡散反応によって行なった。1975年には, 前年と同様の抗血清反応試験のほか, 一部の試料について, 採集圃場において, 病茎汁液を精製処理することなく粗汁液を直接スライドグラスに採取して凝集反応を調査し, 同時に同一試料を実験室に持帰り, その精製汁液の反応と比較した。

採集試料の抗血清反応と分離菌との関係

採集試料の抗血清反応とその試料から分離される病原細菌との関係を調べた。病原細菌の分離は変法ドリガルスキー培地を使用して常法により行ない, 分離された細菌についてはジャガイモ切片の軟腐性および黒あし病菌抗血清による寒天ゲル内沈降反応における特異反応の有無により, 黒あし病菌と軟腐病菌を選択的に拾い上げた。

黒あし病菌 Ia 型菌および Ib 型菌の地域的分布

採集試料の抗血清反応の結果から, それぞれ十勝地方, 根室地方, 釧路地方, 網走地方において被害株を採集した各町別に, 黒あし病菌 Ia 型および Ib 型の分布を

調べた。

結 果

各種植物病原細菌の抗血清反応

スライド凝集反応では As-Ia および As-Ib の抗血清は供試した *Erwinia* 属以外の 3 属 11 種の植物病原細菌には全く反応しなかった。この傾向はゲル内沈降反応でもほぼ同様であったが、*Xanthomonas* 属の 5 種の菌株が、Ia 型菌および Ib 型菌に特異的な沈降帯以外の弱い反応帯を形成しただけで、他は全く反応しなかった。

Erwinia 属菌株の反応結果は第 3 表に示した。各菌株の抗血清反応は、スライド凝集反応では、黒あし病菌 Ia 型菌、Ib 型菌とも、それぞれ As-Ia および As-Ib 抗血清に強く凝集反応を示した。これに対して軟腐病菌 *E. carotovora* var. *carotovora* は、As-Ib 抗血清には全く反応しなかった。また As-Ia 抗血清には、かなりの菌株が反応したがそのほとんどの場合、反応が遅く不完全だった。ゲル内沈降反応では、Ia 型菌、Ib 型菌ともにそれぞれ As-Ia、As-Ib 抗血清に鮮明な特異的沈降

帯を生じたが、軟腐病菌は弱い不鮮明な沈降帯を生じたのみで Ia、Ib 型菌に特異的な沈降帯はいずれの菌株も生じなかった。

接種発病株の病茎汁液の抗血清反応

結果は第 4 表および第 1 図に示すとおりである。ポット栽培したジャガイモの茎に各供試菌を接種したところ、高温多湿条件のため各区とも病変進行は早く、7 日目には黒あし症状となり、茎葉の萎凋とともに病変部は黒変し倒伏してしまい以後は順次枯死し、35 日目では完全に乾固状態となった。これらの発病株の病茎汁液の抗血清反応を調べると、A 区および B 区の全株はそれぞれ As-Ia および As-Ib 抗血清によってスライド凝集反応では特異的凝集を、ゲル内拡散反応では特異的沈降帯を生じた。これに対して軟腐病菌を単独に接種した C 区は、全株が As-Ia、As-Ib 抗血清のいずれによっても凝集せず、また特異的沈降帯を生じることもなかった。さらに混合接種した AB 区は両抗血清に、AC 区は As-Ia の抗血清に、BC 区は As-Ib 抗血清にそれぞれ特異的な抗血清反応を示し、混合接種していても十分に接種源

第 3 表 黒あし病菌および軟腐病菌の抗血清反応

細菌	菌株数	スライド凝集反応			寒天ゲル内沈降反応		
		AS-Ia ^{a)}	AS-Ib	AS-C	AS-Ia	AS-Ib	AS-C
<i>E. carotovora</i> var. <i>atroseptica</i> (黒あし病菌 Ia 型)	6	+ ^{b)}	—	+	A	d	d
<i>E. carotovora</i> var. <i>carotovora</i> (黒あし病菌 Ib 型)	4	—	+	—	d	B	d
<i>E. carotovora</i> var. <i>carotovora</i> (蔬菜類軟腐病菌)	20	— (3) + (17)	— (20)	— (3) + (17)	d	d	d (9) C (11)

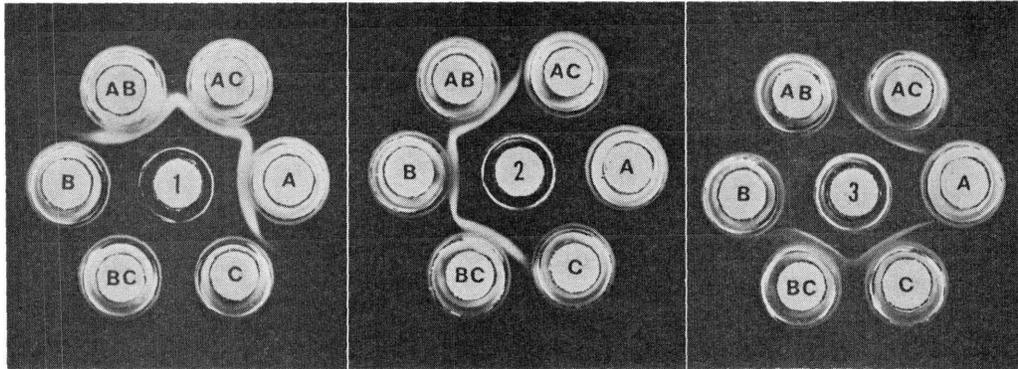
a) 抗血清, b) +: 陽性, —: 陰性, A: Ia 型菌の特異的沈降帯形成, B: Ib 型菌の特異的沈降帯形成, C: Hy-3-1 菌の特異的沈降帯形成, d: 非特異沈降帯形成あるいは反応なし, (): 菌株数。

第 4 表 接種発病株の病茎汁液の抗血清反応^{a)}

接種区	スライド凝集反応			寒天ゲル内沈降反応		
	AS-Ia ^{b)}	AS-Ib	AS-C	AS-Ib	AS-Ib	AS-C
A 区	+ ^{c)}	—	—	A	d	d
B 区	—	+	—	d	B	d
C 区	—	—	— (8) + (12)	d	d	d (9) c (11)
A B 区	+	+	—	A	B	d
A C 区	+	—	+	A	d	c
B C 区	—	+	+	d	B	c

a) 接種後 7 日目の結果。接種後 15、35 日目の結果もほぼ同じであった。

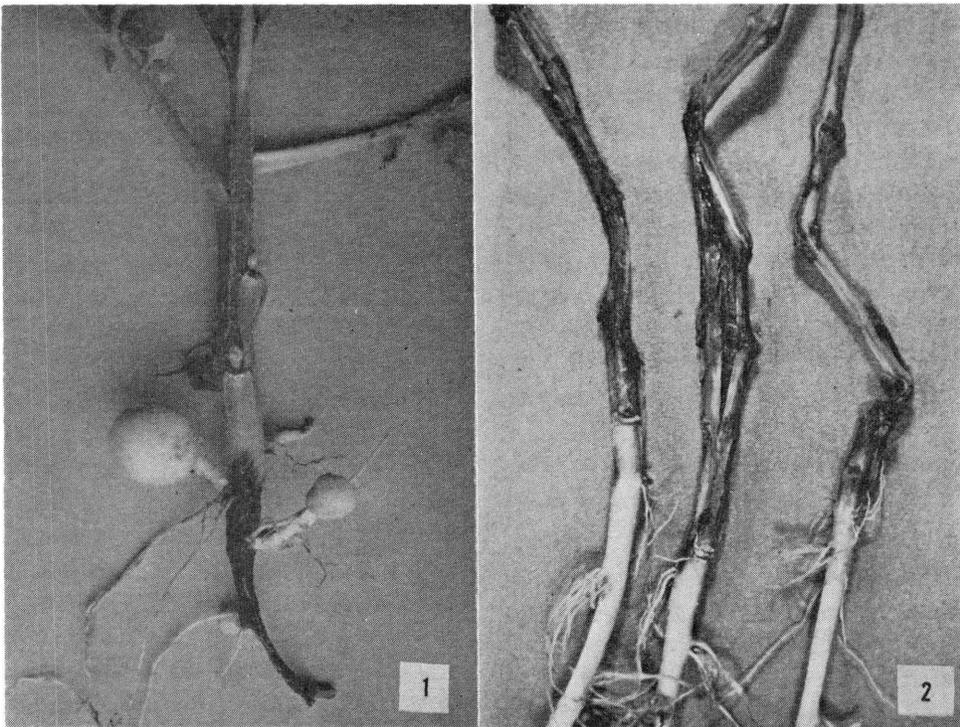
b) 抗血清, c) (): ジャガイモ株数のほか、第 3 表に同じ。



第1図 接種発病茎の汁液による寒天ゲル内沈降反応

接種区： A, B, Cはそれぞれ *E. carotovora* var. *atroseptica* (Ia型菌), *E. carotovora* var. *carotovora* (Ib型菌), *E. carotovora* var. *carotovora* (軟腐病菌) の単独接種株の加熱汁液, AB, AC, BCはそれぞれの混合接種株の加熱汁液.

抗血清： 1, 2, 3はそれぞれ var. *atroseptica* (Ia型), var. *carotovora* (Ib型), var. *carotovora* (軟腐病菌) の生菌抗血清



第2図 採集した被害株の病徴

1：黒あし病型症状株 2：軟腐病型症状株

の特異的反応を生じた。これらの病茎汁液の抗血清反応は、接種後7日目、15日目、35日目の日数を経た試料について、いずれもほぼ同一の結果を得た。

自然発病株における病徴と病株の抗血清反応
被害株は採集時の病徴を観察したが、発病部位の相違を除けば、茎の病徴部の状態、葉の黄化、萎凋、巻葉、

第5表 自然発病株の病徴型と茎汁液^{a)}の抗血清反応^{b)}

病徴型	試料数	抗血清反応 (%)			
		AS-Ia (+) AS-Ib (-)	AS-Ia (-) AS-Ib (+)	AS-Ia (+) AS-Ib (+)	AS-Ia (-) AS-Ib (-)
黒あし病型症状	113	62	26	7	5
軟腐病型症状	35	9	29	0	63

a) 精製汁液 b) スライド凝集反応および寒天ゲル内沈降反応のいずれかで、特異的反応を示したものは陽性とした。

倒伏、維管束の褐変病徴伸展の程度などの状態は試料により若干の程度の差があるだけで、いずれも共通した性状だった。そこで、被害株が汚染塊茎からの発病によると思われるものと、被害株が生育途中に感染発病したと思われるものとの2種類の病状によって大別した。すなわち、前者は茎が植付塊茎の着生部から地際部にかけて連続的に黒褐変していわゆる黒あし症状を呈しているもの(黒あし病型症状)であり、後者は茎の地下部は健全だが地際部から地上部にかけて黒褐変しているかあるいは地上部のみ全体的に黒褐色水浸状のいわゆる軟腐病型症状を呈しているもの(軟腐病型症状)である(第2図)。採集試料148株のうち、黒あし病型症状のものが113株、軟腐病型症状のものが35株で、一般的に軟腐病株と思われるものは少なかった。これらの試料の病茎汁液の抗血清反応の結果は、第5表に示したように、黒あし病型症状を示す113株のうち、As-Ia および As-Ib 抗血清のいずれかに対し、精製汁液または粗汁液が反応陽性を示した株は95%あり、うちわけは As-Ia のみに反応するものが62%と多く、As-Ib に陽性の株は26%で比較的少なかったほか、両抗血清に反応した株が7%あった。

一方、軟腐病型症状の35株は、その63%はいずれの抗血清にも反応を示さなかったが、9%の株が As-Ia に、29%が As-Ib に反応し、As-Ib に反応する株の割合が高く、黒あし病型症状株の傾向とは異なった。

スライド凝集反応とゲル内沈降反応の結果を比較した結果は第6表に示したように、As-Ia 抗血清の場合、両反応が一致した結果となる場合がほとんどであったが、As-Ib 抗血清については、スライド凝集反応が陽性でもゲル内沈降反応で特異的沈降帯の出現しない場合がみられた。

また病茎汁液の精製汁液と粗汁液とでその反応を比較した結果は第7表に示したように、いずれの抗血清とも、汁液処置の方法による反応に大きな差異はなかった。

第6表 スライド凝集反応と寒天ゲル内沈降反応の比較

抗血清	ジャガイモ株数 ^{a)}	抗血清反応陽性株 (%)	
		スライド凝集反応	寒天ゲル内沈降反応
AS-Ia	81	98	98
AS-Ib	47	100	64

a) 両反応のいずれかに陽性となった株数

第7表 茎汁液の粗汁液と精製汁液の比較

抗血清	ジャガイモ株数 ^{a)}	抗血清反応陽性株 (%)	
		粗汁液	精製汁液
AS-Ia	12	92	100
AS-Ib	22	91	86

a) 両汁液のいずれかに陽性となった株数

採集試料の抗血清反応と分離菌との関係

採集した被害株から病原細菌の分離は、供試材料中30株から58菌株が分離された。分離できた試料の病茎汁液の抗血清反応と分離菌との関連は、As-Ia 抗血清に特異的反応を生じた株からは、Ia型菌か軟腐病菌が、As-Ib 抗血清に特異的反応を示した株からは、Ib型か軟腐病菌が分離され、両抗血清どちらにも反応しなかった株からは軟腐病菌のみ分離され、黒あし病菌は分離されなかった。また両抗血清に反応した株からは、Ia型菌、Ib型菌および軟腐菌のうちいずれかが分離された。

黒あし病菌 Ia型および Ib型の地域的分布

結果は第8表に示すとおりである。黒あし病菌 Ia型および Ib型は、帯広市において Ia型が認められなかったほかは、いずれの地域からも検出された。両型菌の検出頻度を地域別にみると、十勝地方(帯広、士幌、鹿追)は Ib型菌が多かったのに対し、根釧(中標津、弟

第8表 茎汁液の抗血清反応による黒あし病菌 Ia 型, Ib 型の地域的分布 (1974, 1975)

黒あし病菌	茎汁液抗血清反応		地域内の菌検出割合 (%)		
	AS-Ia	AS-Ib	十勝 ^{a)} (42) ^{b)}	根釧(41)	網走(39)
Ia 型	+	-	24	85	69
Ib 型	-	+	74	15	13
Ia+Ib型	+	+	2	0	18

a) 十勝：士幌町，帯広市，鹿追町，根釧：中標津町，弟子屈町，網走：清里町，斜里町，小清水町。

b) () 内は採集試料数

子屈)，網走(斜里，清里，小清水)地方は Ia 型が主であった。また，Ia 型，Ib 型菌の混合感染株は網走地方において，比較的多く検出された。

考 察

ジャガイモ黒あし病の同定・診断に抗血清を利用する試みは，NOVAKOVA (1957) が *E. atroseptica* の抗血清を使用し，培地上の菌の簡易同定法として，また GRAHAM (1963) は *E. carotovora* var. *atroseptica* (*Pectovacterium carotovora* var. *atrosepticum*) の抗血清を使用しジャガイモ茎及び塊茎の汁液の反応による罹病植物の診断法として有効であることをすでに報告している。北海道で発生している黒あし病の病原細菌の2菌種についても，それらの抗血清は凝集反応の場合，蔬菜類軟腐病菌 *E. carotovora* var. *carotovora* の1部の菌株が反応するが，寒天ゲル内沈降反応によった場合，軟腐病菌は黒あし病菌に特異的な沈降帯を形成しない(谷井ら，1973；川上ら，1976)。今回供試した軟腐病菌株については，凝集反応では AS-Ib 抗血清に反応するものではなく，*E. carotovora* var. *carotovora* であって黒あし病原となる菌系の抗血清は特異性が高いと考えられたが，AS-Ia 抗血清に対しては軟腐病菌のかなりの菌株が遅く不完全ながら反応し，この点は GRAHAM (1972) も報告しており少なくとも培養菌株を AS-Ia により選別しようとする場合，慎重を期す必要がある。しかし，耐熱性菌体抗原を利用したゲル内沈降反応では軟腐菌が黒あし菌抗血清に特異的な沈降反応することはなく，その反応は特異性が高いと考えられる。また，AS-Ia 抗血清に遅く不完全ながら凝集反応した軟腐菌株のすべてが，それらを接種した茎の汁液を抗原とした場合，原因は解明しえなかったが，全く凝集反応を示さなくなり，かつそれ以外の菌の接種汁液は菌液を直接反応させた場合と同様の結果を得たことから，茎汁液を使用して診断する場合，スライド凝集反応によっても軟腐病菌が黒あ

し病菌抗血清に反応する恐れは少ないといえる。このことは，第6表に示した自然発病株汁液において，AS-Ia 抗血清に対する凝集反応とゲル内沈降反応で陽性になる株が両者で差がないことによっても示されていると考えられる。

茎汁液の抗血清反応を調べる場合，SAALTINK ら (1972) は，ジャガイモ以外の植物で搾汁液を低速遠心分離し，粗大な夾雑物を除いた精製汁液を使用している。ジャガイモ黒あし病についてみる限り，粗汁液と精製汁液との間に明確な差は認められず，粗汁液の使用で十分であると結論した。

茎汁液の抗血清反応と分離される菌種との関係については，AS-Ia および AS-Ib 抗血清に反応した株から軟腐菌のみ分離された例があったが，これらは混合感染株で，Ia 型菌あるいは Ib 型菌の分離ができなかったためによると考えられる。

以上，要するに多量の試料の検定や，あるいは野外での検査においては，操作の比較的簡単な粗汁液を用い，スライド上の凝集反応で迅速な診断が可能であるといえる。

病徴と抗血清反応との関係については，本調査で黒あし型病徴とした特徴としての，茎の地際部以下が黒褐変している病徴株は，そのほとんどが，AS-Ia または AS-Ib のいずれかに反応したことから，この病徴は塊茎伝染する黒あし病を，軟腐病から区別する病徴による1つの判別点になると認められる。一方，軟腐病徴型とした，地上部のみに病変を示す株のうち38%が AS-Ia か AS-Ib に反応し，それらは黒あし菌が生育中に隣接して感染発病した病徴か，あるいは軟腐菌との混合感染によるものと考えられる。とくにこれらの診断が問題となるジャガイモの生育中～後期は，病徴による診断以外に抗血清による診断を併用するのが望ましい。また，軟腐病型病徴としたジャガイモの株のうち，AS-Ib 抗血清に反応した株数が AS-Ia 抗血清に反応した株数の約3倍も

多かったことは、Ib型菌が圃場において2次的に地上部に感染し、軟腐病型病徴を引き起しやすいたことがうかがわれ、Ib型菌の分類学的位置との関連からみても、興味ある傾向であると同時に、同菌がジャガイモ茎に2次的に感染した場合、それに産生する塊茎の感染の有無が今後の課題となるであろう。

被害株の抗血清反応によって調べた。Ia型菌とIb型菌の採集地別の分布状況は、調査の時期、地域、採集株数などによっても差異があると思われるが、本調査から、両菌種は、いずれの地域にも分布し、十勝地方はIb型菌が主流を占めているのに対し、根釧・網走地方ではIa型菌が多いことが確認された。

摘 要

1. 2種のジャガイモ黒あし病菌、Ia型菌 (*E. carotovora* var. *atroseptica*) およびIb型菌 (*E. carotovora* var. *carotovora* の1系統) のそれぞれの抗血清 As-Ia および As-Ib を使用して、本病の診断法を検討した。

2. スライド凝集反応および寒天ゲル内沈降反応で、*Pseudomonas* 属3種、*Xanthomonas* 属5種および *Corynebacterium* 属3種の植物病原細菌は、両抗血清に対し特異的な反応を示さなかった。黒あし病菌および軟腐病菌 (*E. carotovora* var. *carotovora*) については、軟腐病菌の1部の菌株が凝集反応で、As-Ia 抗血清にそのほとんどが弱く不完全に反応したほか、両抗血清はそれぞれ作製した抗原菌の属する菌系に共通な特異反応のみ示した。

3. Ia型菌、Ib型菌を接種した茎汁液は、それぞれ As-Ia、As-Ib に特異的に反応し、軟腐病菌を接種した茎汁液は両抗血清に対し、凝集反応、ゲル内沈降反応とも全く陰性だった。

4. 自然発病株の茎汁液による抗血清反応は、地際部以下が黒褐変した黒あし病型症状株は供試113株の95%が、両抗血清のいずれかに特異的な反応を示したのに対し、地上部茎のみが黒褐変・軟腐した軟腐病型症状株35株中63%は両抗血清に特異的な反応は示さなかった。また、黒あし病型症状株ではAs-Ibに比し、As-Iaに反応する株が多かったのに対し、軟腐病型症状株では、逆にAs-IaよりもAs-Ibに反応する株が多い傾向があった。

5. 茎汁液の粗汁液と精製汁液とでは、その抗血清反応に大きな差はみられず、また反応法としてスライド凝集反応と寒天ゲル内沈降反応とを比較した結果は、両者に大きな相違はなかった。

6. As-Ia または As-Ib に特異的な反応を示した株か

らは、それぞれIa型菌、Ib型菌が分離されたほか、混合感染していると思われる軟腐病菌が分離される場合があった。

7. 以上の結果から、茎粗汁液の抗血清反応により、迅速な黒あし病の診断が可能であると結論した。

8. 茎汁液の抗血清反応調査から、十勝地方ではIb型菌が多いのに対し、根釧、網走地方ではIa型菌が多い傾向があった。

引用文献

- ERINLE, I.D. (1975) Blackleg of potatoes: Introduction through tuber inoculation. *Pl. Path.* **24**: 172-175.
- GRAHAM, D.C. & W.J. DOWSON (1960) The coliform bacteria associated with potato black-leg and other soft rot. *Ann. Appl. Biol.* **48**: 51-57.
- GRAHAM, D.C. (1972) Identification of soft rot coliform bacteria. *Proc. Third Int. Conf. Pl. Path. Bact.*, Wageningen, 1971 pp. 273-279.
- GRAHAM, D.C. (1963) Serological diagnosis of potato blackleg and tuber soft rot. *Pl. Path.* **12**: 142-144.
- 川上清隆・小村敏郎 (1975) ジャガイモ黒脚病の抗血清による診断 (講要) *日植病報* **41** (1): 120.
- 川上清隆・小村敏郎・小畑琢志・富永時任 (1976) ジャガイモ黒あし病に関する研究 I. 病原細菌の細菌学的性質 *植防研報* **13**: 19-30.
- NOVAKOVA, J. (1957) A new method of isolation of blackleg-pathogens from diseased plants. *Phytopath. Z.* **29**: 72-74.
- 尾崎政春・谷井昭夫・馬場徹代・土尾貞夫 (1973) ジャガイモ黒脚病の伝播様式 *道立農試集報* **28**: 62-69.
- SAALTINK, G.J., D.H.M. van SLOGTEREN & W. KAMERMAN (1972) Serological identification of bacteria in bulbs. *Proc. Third Int. Conf. Pl. Path. Bact.*, Wageningen, 1971, pp. 153-156.
- 谷井昭夫・尾崎政春・馬場徹代 (1973) ジャガイモの黒脚病 *日植病報* **39** (4): 351-360.
- TANII, A. and J. AKAI (1975) Blackleg of potato plant caused by a serologically specific strain of *Erwinia carotovora* var. *carotovora* (JONES) DYE. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **41** (5): 513-517.

SUMMARY

Studies on Potato Blackleg Disease
II Serological Diagnosis of the Causal OrganismsKiyotaka KAWAKAMI, Kohei KUDO and Toshiro KOBAYASHI
Research Division, Yokohama Plant Protection Station

Studies are described on the serological diagnosis of potato blackleg disease caused by *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* (blackleg organism Ia) and a strain of *E. carotovora* var. *carotovora* (blackleg organism Ib). Two antisera AS-Ia and AS-Ib which were prepared against blackleg organisms Ia and Ib respectively were used in slide agglutination test with living cell antigens and in gel-diffusion test with thermostable antigens.

Antisera AS-Ia and AS-Ib did not react in both tests with 3 species of *Pseudomonas*, 3 species of *Corynebacterium* and 5 species of *Xanthomonas*, although reactions of antiserum AS-Ia with some *Xanthomonas* species were given slightly but not specifically.

All isolates of blackleg organism Ia including NCPPB 549 and NCPPB 1449, and those of Ib tested showed specific reactions with AS-Ia and AS-Ib respectively in both tests. Antiserum AS-Ia reacted slightly and slowly in slide agglutination test to some extent with 20 soft rot organism (*E. carotovora* var. *carotovora*) isolates originating from different localities and hosts. But such reactions of antiserum AS-Ib with soft rot organism were not given.

Sap of potato stems inoculated with 6 isolates of Ia, 4 isolates of Ib and 20 isolates of soft rot organism were investigated in both tests, 7, 15 and 35 days after inoculation. All sap of potato stems inoculated with Ia and Ib reacted with AS-Ia and AS-Ib respectively in both tests, but that of potato stems inoculated with soft rot organism did not give any reactions with both antisera and in both tests.

Potato stems naturally infected with blackleg or soft rot organism in the field were collected from Hokkaido. Ninety-five per cent of 113 potato stems, which were thought to be infected with blackleg disease because of blackened symptoms on their basal part under the soil level, gave positive reactions with antiserum AS-Ia or AS-Ib in both tests. On the other hand 63% of 35 potato stems, which were thought to be infected with soft rot disease because of soft rot symptoms only on them above the soil level, did not react with both sera and in both tests. This fact showed that some of potato stems showing soft rot symptoms were caused by secondary infection with blackleg organisms.

Blackleg pathogen Ia or Ib could be isolated from some potato stems which reacted with AS-Ia or AS-Ib respectively. At the same time soft rot organisms were isolated sporadically from these stems, which seemed to be mixed infection.

The use of potato stem sap proved suitable for both tests, particularly the slide agglutination reaction, in rapid diagnosing of potato blackleg disease.

Survey on potato blackleg disease with serological reactions of the potato stems collected from Hokkaido in 1974 and 1975 revealed that blackleg organism Ia was the main causal organism in Nemuro, Kushiro and Abashiri districts, while Ib was dominant in Tokachi district.