

I. 緒 言

わが国のジャガイモ作付面積は、昭和54～55年北海道農林水産統計年報（総合編）（農水省北海道統計情報事務所 1981）によると1980年に118,800ha、その生産量は3,298,000 tonである。北海道では普通畑の約16%を占め、栽培面積63,600haで、生産量は全国生産量の約70%に及んでいる。このように、ジャガイモは寒冷地北海道の農業経営上テンサイに並ぶ基幹作物で、各都府県に食用として供給されている。また、種塊茎用としてもかなりの数量が移出されており、北海道産の種ジャガイモの品質が、各都府県におけるジャガイモの安定生産に大きな影響を与えている。

ジャガイモには細菌をはじめとして、糸状菌およびウイルスにより起こる多くの病害が発生する。そのうち、北海道で発生するジャガイモの細菌病は、輪腐病、青枯病、黒あし病、軟腐病およびそうか病であるが、いずれの病原菌も種塊茎によって伝搬される。従って、無病種塊茎の生産は、各種病害防除を行なうための重要な前提となる。

ジャガイモ黒あし病は、世界のジャガイモ栽培地帯に広く発生分布する（Dowson 1957b）重要病害の一つで（Fredricks・Metcalf 1970）、諸外国での本病に関する研究の歴史は古い。わが国では1947年長野、群馬および栃木県で栽培した米国産ジャガイモに、黒あし病類似の症状がみられたことがある（向ら1950）が、その後発生は報告されていない。

北海道では、本病は古くから散発的に発生していたと言われる（伊藤1930）が、病原菌は記載されなかった。1955年に成田（1958）は、根室地方の中標津町俵橋の農家圃場に、黒あし病と思われる病株を発見した。しかし、黒あし病類似症として扱い、その病原菌について検討しなかった。その後、本病の発生は同地域の澁粉

原料用ジャガイモの栽培圃場に限られ、発病株も極めて少なかったので、重視されなかった。

しかし、本病の発生地域は1967年頃から急速に拡大し、その当時発生の多かった中標津町と弟子屈町では、作付面積2,000 haのうち発生面積が、1968年は47%、その後増加して1972年には95%に拡がり、発病圃場の平均発病株率は0.1～2%程度であったが、例年20～30%の発病株率を示す圃場がみられている（尾崎ら1973、北海道立根釧農試・病虫予察科1973）。

1972年には十勝地方の原採種圃場のみならず、その体系内生産の種塊茎を使用した圃場にも黒あし病が発生した。原採種圃場での発病品種はメークイン、農林1号、紅丸およびタルマエで、発病株率は通常0.2～10%を示し、80%を示した圃場もみられている。また、一般農家圃場を含め当時普及されてまもないタルマエに発生被害が多かった。さらに、昭和47年度農作物有害動植物発生予察事業年報（北海道立中央農試1972）によると、この年の本病の発生面積は2,610 haで、被害面積110 haに及んだ。

このため、北海道内農業試験機関と横浜植物防疫所において本病の研究が行われ、病原菌の諸性質（尾崎ら1968、谷井ら1973、Tanii・Akai 1975、上川ら1976）、フェージ（小林・川上1977）、本病の診断（柳田1974、上川ら1977、木村・柳田1980a、谷井1980）、生態（木村・柳田1980b）および防除（谷井・赤井1977、'78）などに関する諸知見が報告された。

筆者は本病の診断検定技術と防除対策を確立するため、病原菌の諸性質、発生実態と被害、生態および防除法について研究を行なった。ここにその結果をとりまとめて報告する。

本研究を遂行するに当たり、筆者に本研究課題を与えられ、有益な御指導、御助言ならびに絶えない御激励を賜った北海道立中央農業試験

場長馬場徹代博士（元北海道立中央農業試験場病虫部長）に深甚なる感謝の意を表す。

本論文を草するに当り、北海道大学農学部教授宇井格生博士，同教授四方英四郎博士，同教授岡沢養三博士，岩手大学農学部教授津山博之博士に御指導を賜わり，御校閲の労を戴いた。ここに衷心より深く感謝の意を表す。

本研究を行なうに当っては，前帯広畜産大学教授成田武四博士，北海道立道南農業試験場長高桑 亮博士（元北海道立中央農業試験場病理科長），北海道立中央農業試験場病理科長赤井

純博士（元北海道立十勝農業試験場病虫予察科長）には絶大なる御指導と御援助を戴き，また北海道立中央農業試験場発生予察科尾崎政春氏（元北海道立根釧農業試験場病虫予察科），北海道立上川農業試験場病虫予察科土屋貞夫科長（元北海道立十勝農業試験場病虫予察科），北海道立十勝農業試験場病虫予察科坪木和男科長，青田盾彦氏，花田 勉氏，臨時職員橋本和子氏，太田光子氏には多大なる御協力を戴いた。各位に対して心から感謝の意を表す。

II. 黒あし病の北海道における発生実態と被害

北海道では後述するように、3種類の細菌が黒あし病の病原菌となっているが、本病の発生実態と被害については、充分な調査研究が行なわれていない。そこで、1974～80年の7年間にわたって北海道のジャガイモ主要栽培地帯、特に道東地域における本病の発生状況とその病原菌について調査するとともに、本病の被害解析を行なった。

なお、本稿では黒あし病菌のうち *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica* を Eca 菌、血清学的に特異な反応を示す *E. carotovora* ssp. *carotovora* の一系統菌を Ecc-B 菌、*E. chrysanthemi* は Echr 菌とそれぞれ略記し、黒あし病菌以外の軟腐病菌 (*E. carotovora* ssp. *carotovora*) を Ecc-S 菌と略記する。また、Eca、Ecc-B、Echr および Ecc-S 菌の4者を区別しない場合は軟腐性 *Erwinia* 菌と記す。

1. 黒あし病の発生状況とその病原菌

1). 調査方法

各年次7月上旬～8月中旬に、各地方10a以上の作付面積を有する圃場について、各圃場500株の発病株率を調査するとともに、各圃場から1～14発病茎(1株当り1茎)を採取した。採取発病茎はアイスボックスに入れて持ち帰り、直ちに病原菌の分離を行なった。

2) 病原菌の分離および同定方法

発病茎の比較的新鮮な病斑を約5mmの長さの横断切片とし、十分に水道水で洗ったのち、乳鉢内で少量の殺菌水とともにすりつぶし、その懸濁液1白金耳量を変法ドリガルスキー培地(津山1962)上に画線培養(25℃, 2日間)した。

培地上で軟腐性 *Erwinia* 菌の特徴を示す集落は、Eca および Ecc-B 菌の加熱(100℃, 30分

間)菌を抗原として作製したそれぞれの抗血清を用いて、スライドグラス凝集反応を行なうとともに、1集落を純粋培養して後述(第三章)の方法に従って、7項目の細菌学的性質(ジャガイモ塊茎切片の腐敗、O-F, ラクトース, マルトースおよび α -メチルグルコシドからの酸産生、ショ糖からの還元物質産生、36℃における生育)を検査し、分離菌が Eca, Ecc-B および Ecc-S 菌のいずれに属するかを判定した。

なお、培地上にラクトース分解菌(Eca, Ecc-B および Ecc-S 菌)の出現しなかったときには、3～4個の Echr 菌に類似する集落をジャガイモ塊茎切片に接種し、軟化腐敗力のある集落の存否を確かめ、腐敗試験陽性の場合その腐敗部を殺菌水中に懸濁し、その1白金耳量をキングB培地(Kingら1954)に画線培養(25℃, 2日間)し、純粋培養とした。この場合、分離菌株は上記7項目性質の36℃における生育試験に代えて、インドール産生試験により Echr 菌に属するか否かを簡易同定した。

3). 調査結果

1974～80年の7年間における黒あし病の発生状況と分離された病原菌についての調査結果(第1表)によると、本病は北海道東部地域のジャガイモ栽培地帯に広く分布するが、1974年には上川地方の士別市3圃場(品種農林1号)で Eca 菌、西士別町(品種タルマエ)および美瑛町(品種紅丸)で Ecc-B 菌による黒あし病が、1977年には後志地方の真狩村(品種農林1号)と留寿都村(品種紅丸)、胆振地方の虻田町(品種紅丸)と豊浦町(品種紅丸)で Ecc-B 菌による黒あし病の発生が認められた。

黒あし病菌の一つである Echr 菌は、1976年に十勝地方の帯広市(品種マークイン)および釧路地方の弟子屈町(品種紅丸)で、1977年と'78

年には十勝地方の幕別町(品種 エニワ)の発病茎から分離された。

本病は7年間にわたる総調査713圃場のうち約31%に発生が認められ、発病圃場の発病株率は最低0.0%から最高33.2%、平均2.3%であった。しかしながら、10%以上の発生株率を示した圃場は1975~'80年の6年間に16圃場存在した(第2表)。

第1図および第2図に示したように、道東部地域での年次別発病圃場率および発病圃場の平均発病株率の推移は年次間で変動があるが、いずれも減少傾向を示している。また、道東部地域の各地方における病原菌別の黒あし病発生圃場の分布(第3図)をみると、十勝地方はEcc-B菌が、釧路、根室および網走地方はEca菌が主で、これは年によって変りがなかった。

第1表 北海道におけるジャガイモ黒あし病の発生状況とその病原菌

調査 年次	1) 調査 地方	調査 圃場数	発病 圃場率	発病圃場の 平均発病株率 (範囲)	分離病原菌 ²⁾ 別圃場数					
					Eca	Ecc-B	Eca + Ecc-B	Eca + Echr	Echr	?
1974	十 釧	40 ^筆	75%	%	6 ^筆	18 ^筆	3 ^筆	0 ^筆	0 ^筆	3 ^筆
	根	3	67		2	0	0	0	0	0
	網	7	86		5	0	1	0	0	0
	上	20	45		6	2	0	0	0	1
	小計	13	38		2	3	0	0	0	0
	小計	83	63		21	23	4	0	0	4
1975	十 釧	53	53	1.7 (0.0 ~ 5.4)	4	19	3	0	0	2
	根	7	43	9.3 (5.4 ~ 14.2)	3	0	0	0	0	0
	網	6	67	4.1 (0.0 ~ 11.6)	1	2	1	0	0	0
	小計	37	41	5.7 (0.2 ~ 33.2)	12	1	2	0	0	0
	小計	103	49	3.5 (0.0 ~ 33.2)	20	22	6	0	0	2
1976	十 釧	49	22	0.5 (0.2 ~ 1.4)	2	7	1	0	1	0
	根	8	98	3.3 (0.0 ~ 11.6)	6	0	0	1	0	0
	網	4	100	2.5 (0.2 ~ 6.6)	4	0	0	0	0	0
	小計	28	46	3.6 (0.2 ~ 21.4)	11	2	0	0	0	0
	小計	89	39	2.4 (0.0 ~ 21.4)	23	9	1	1	1	0
1977	十 釧	53	4	1.2 (1.0, 1.4)	1	0	0	0	1	0
	根	7	86	3.2 (1.0 ~ 7.0)	5	1	0	0	0	0
	網	4	50	7.2 (2.8, 11.6)	2	0	0	0	0	0
	後 胆	37	35	7.2 (0.4 ~ 21.0)	10	0	3	0	0	0
		22	9	0.3 (0.2, 0.4)	0	2	0	0	0	0
	小計	8	25	0.2 (0.2, 0.2)	0	2	0	0	0	0
	小計	131	21	4.8 (0.2 ~ 21.0)	18	5	3	0	1	0
1978	十 釧	52	15	1.8 (0.2 ~ 11.0)	0	6	1	0	1	0
	根	8	38	0.7 (0.2 ~ 1.4)	2	1	0	0	0	0
	網	3	0							
	小計	40	23	4.2 (0.2 ~ 16.0)	8	1	0	0	0	0
	小計	103	19	2.7 (0.2 ~ 16.0)	10	8	1	0	1	0
1979	十 釧	50	10	0.4 (0.2 ~ 0.8)	1	4	0	0	0	0
	根	9	44	1.1 (0.0 ~ 4.0)	2	0	0	0	0	2
	網	3	0							
	小計	36	31	2.5 (0.2 ~ 10.0)	6	1	3	0	0	1
	小計	98	20	1.6 (0.0 ~ 10.0)	8	5	4	0	0	3

第1表 つづき

調査年次	調査 ¹⁾ 地方	調査圃場数	発病圃場率	発病圃場の平均発病株率(範囲)	分離病原菌 ²⁾ 別圃場数					
					Eca	Ecc-B	Eca + Ecc-B	Eca + Echr	Echr	?
1980	十	52筆	6%	1.7 (0.2 ~ 4.2)%	1筆	2筆	0筆	0筆	0筆	0筆
	釧	9	33	1.7 (0.2 ~ 2.8)	2	1	0	0	0	0
	根	3	67	0.4 (0.2, 0.6)	0	1	1	0	0	0
	網	42	17	1.9 (0.2 ~ 4.0)	5	2	0	0	0	0
	小計	106	14	1.6 (0.2 ~ 4.2)	8	6	1	0	0	0
合	計	713	31	2.3 (0.0 ~ 33.2)	109	78	19	1	3	9

1) 十;十勝地方, 釧;釧路地方, 根;根室地方, 網;網走地方, 上;上川地方, 後;後志地方, 胆;胆振地方,
2) Eca; *E. carotovora* ssp. *atroseptica*, Ecc-B;血清学的に特異な反応を示す *E. carotovora* ssp. *carotovora* の一系統菌, Echr; *E. chrysanthemi*, ?;病原菌の種類不明

この調査でEcaとEcc-B菌の両者が病原菌となっている圃場は発病219圃場のうち8.7% (19圃場) あったが、分離に供した106病茎からはそれぞれいずれか一方の病原菌が分離される場合が多く、両者が同時に分離されたものは約6%にすぎなかった(第4図)。また、EcaとEchr菌の両者が病原菌として存在している圃場から採取した発病茎も、供試5茎中4茎からEca菌が分離され、1茎からはEchr菌が分離された。

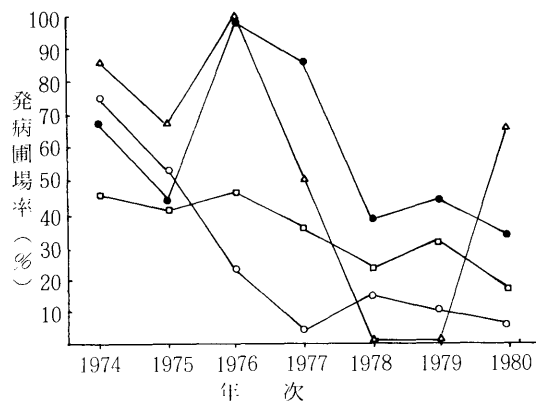
第2表 ジャガイモ黒あし病発病株率10%以上の発生圃場と分離病原菌

調査年次	調査地名 ¹⁾	発病品種	発病株率	発病菌の種類 ²⁾
1975	中標津町	エニワ	11.6%	Ecc-B
	弟子屈町	紅丸	14.2	Eca
	清里町	農林1号	33.2	Eca
	嘉多山	紅丸	15.4	Eca
1976	弟子屈町	紅丸	11.6	Eca
	嘉多山	529-1	21.4	Eca
1977	中標津町	紅丸	11.6	Eca
	東藻琴村	紅丸	17.0	Eca
	小清水町	紅丸	12.0	Eca
	小清水町	紅丸	10.0	Eca, Ecc-B
	斜里町	紅丸	13.4	Eca
	清里町	紅丸	21.0	Eca
1978	幕別町	エニワ	11.0	Echr
	常呂町	農林1号	16.0	Eca
	嘉多山	529-1	10.0	Eca
1979	美幌町	紅丸	10.0	Eca

1) 弟子屈町;釧路地方, 清里町, 嘉多山, 東藻琴村, 小清水町, 斜里町, 常呂町, 美幌町;網走地方, 中標津町;根室地方, 幕別町;十勝地方,
2) Eca, Ecc-B, Echr;第1表に同じ

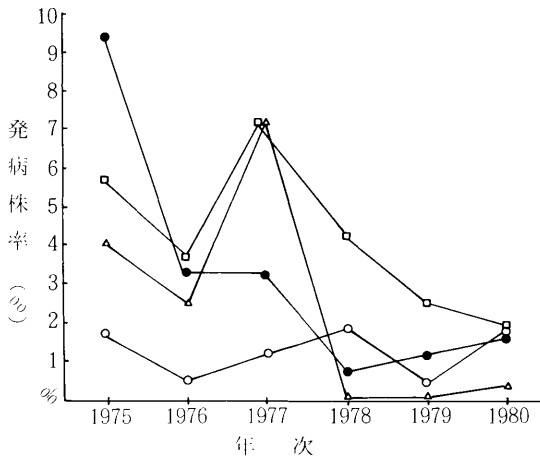
Eca, Ecc-BあるいはEchr菌とともに軟腐病菌Ecc-S菌が随伴して分離されたものは、27圃場で採取した132茎のうち42茎であった。このような例は採取時期がおくれるか、ジャガイモ軟腐病の発生の多い年次に認められる傾向があった。

なお、道東部地域の調査圃場における栽培品種と発病の関係を示した第3表に示したが、発病の認められなかった品種ワセシロを除き、紅丸、農林1号、エニワおよび529-1で高い発病株率を示す圃場があったが、各品種の平均発病株率は0.7~6.5%で、品種間の発病差異は明らかでなかった。



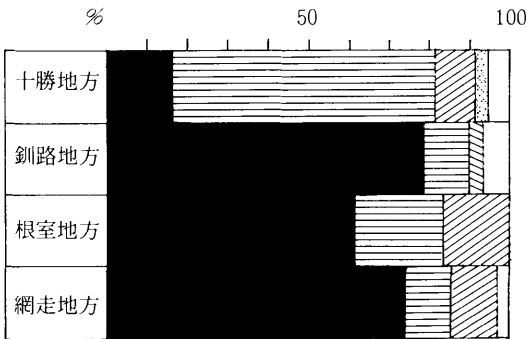
第1図 北海道東部各地方におけるジャガイモ黒あし病の発病圃場率の年次推移

注) ○○;十勝地方, ●●;釧路地方, ▲▲;根室地方, ◻◻;網走地方



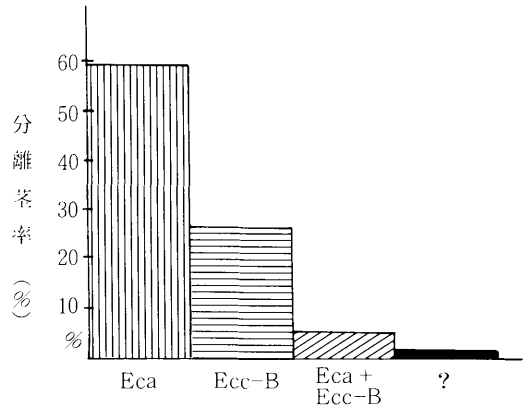
第2図 北海道東部各地方におけるジャガイモ黒あし病発病圃場の平均発病株率の年次推移

注) ○○ ; 十勝地方, ●● ; 釧路地方, △△ ; 根室地方, □□ ; 網走地方



第3図 北海道東部各地方のジャガイモ黒あし病発生圃場における病原菌別分布割合 (1974~'80)

注) ■ ; *E. carotovora* ssp. *atroseptica* (Eca),
 □ ; 血清学的に特異な反応を示す *E. carotovora* ssp. *carotovora* の一系統菌 (Ecc-B),
 ▨ ; *E. chrysanthemi* (Echr),
 ▩ ; Eca および Ecc-B,
 ▪ ; Eca および Echr,
 □ ; 病原菌の種類不明



第4図 複数の病原菌 (Eca, Ecc-B) 検出圃場における発病茎からの病原菌の分離

注) Eca, Ecc-B, ? ; 第3図に同じ

第3表 北海道東部地域におけるジャガイモ栽培品種と黒あし病の発生 (1975~'80)

栽培品種	調査圃場数	発病圃場数	発病圃場率	発病圃場の平均発病株率(範囲)
紅丸	241筆	91筆	38%	2.9(0.0~21.0)%
農林1号	161	41	25	2.7(0.0~33.2)
エニワ	29	8	28	4.5(0.2~11.6)
メークイン	45	4	9	2.6(0.4~4.8)
男しゃく薯	70	3	4	1.4(0.4~2.4)
ワセシロ	5	0	0	
トヨシロ	7	2	29	0.7(0.4, 1.0)
529-1	17	6	35	6.5(0.2~21.4)
未祥	25	8	32	2.1(0.4~4.4)
総平均				2.9

2. 被害解析

黒あし病による被害で、種塊茎としての価値減少は言うまでもないが、実質的な減収に関しては十分に明らかにされていない。ここではEcaおよびEcc-B菌による本病のジャガイモ収量に与える被害について検討を加えた。試験は1975, '77および'78年の3年間十勝農試圃場(褐色火山性土)で実施した。

1). 供試材料および方法

1975年にはEcc-B菌による黒あし病発生圃場の60.4㎡、252株(栽培品種は農林1号で欠株率8.3%, 7月30日の発病株率55.2%)を選定し, 1977年にはEca菌による本病発生圃場の19.4㎡, 81株(栽培品種はエニワで欠株率2.5%, 7月27日の発病株率15.2%)を選定し, 1980年にはEca菌による本病発生圃場の41.0㎡, 171株(栽培品種はタルマエで欠株率0.6%, 7月20日の発病株率42.4%)を選定し, 調査区とした。

発病時期の異なる株の減収量については, 調査時期別発病株の圃場分布図を作製し, 収穫時(9月中旬~下旬)にそれぞれの総塊茎数, 40g以上の塊茎数および総塊茎重量を調査し, 算出した。

発病株率に対応する減収率は, 各畦の移動平均値(農林1号1~6畦, エニワ1~7畦, タルマエ1~10畦)から算出した種々の発病株率に対応する1株当りの総塊茎重量, 総塊茎数あ

るいは40g以上の塊茎数を, 健全株1株当りのそれらと対比して算定した。なお, 6月19日~7月31日までに発病した株を病株とし, それ以降に発病した株はすべて健全株とみなした。

各年次とも調査圃場でのジャガイモ播種時期は5月中旬(10~13日)で, 半切塊茎を畦幅60cm×株間40cmに点播し, 施肥量はN7, P₂O₅11, K₂O9, MgO3kg/10aであり, 栽培管理と一般病害虫防除を農試標準耕種法に準じて実施した。

2). 調査結果

発病時期の異なる株の収量調査結果を第4, 5および6表に示した。それによると, 3品種ともEcaあるいはEcc-B菌のいずれによって発病した場合でも, 発病時期の早いほど総塊茎重量が減少し, 全発病株平均の総塊茎重量は品種エニワ151g, 品種農林1号340g, 品種タルマエ431gで, それぞれの健全株の18, 38および51%にすぎなかった。

第4表 ジャガイモ黒あし病の発病時期と減収量*

(品種農林1号, 1975)

発病時期	調査株数	1株当り総塊茎重量	同左健全株比	1株当り総塊茎数	同左健全株比
6月20日	73株	195g	22	5.1個	36
6月27日	28	422	47	9.0	64
7月4日	27	526	59	9.6	69
7月19~30日	11	641	72	12.8	91
健全株	92	891	100	14.0	100

注) * 掘取り調査時期; 9月17~18日

第5表 ジャガイモ黒あし病の発病時期と減収量*

(品種エニワ, 1977)

発病時期	調査株数	1株当り総塊茎重量	同左健全株比
6月22~7月5日	6	77g	9
7月13~7月27日	6	225	25
健全株	67	850	100

注) * 掘取り調査時期; 10月20日

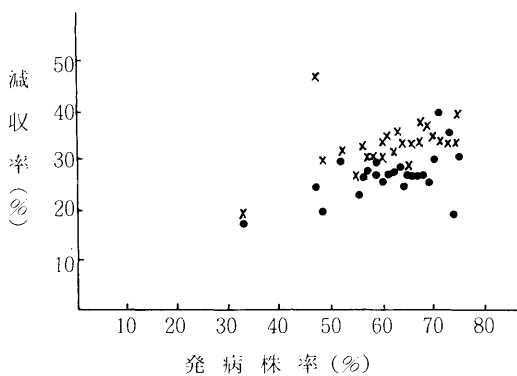
第6表 ジャガイモ黒あし病の発病時期と減収量*

(品種タルマエ, 1978)

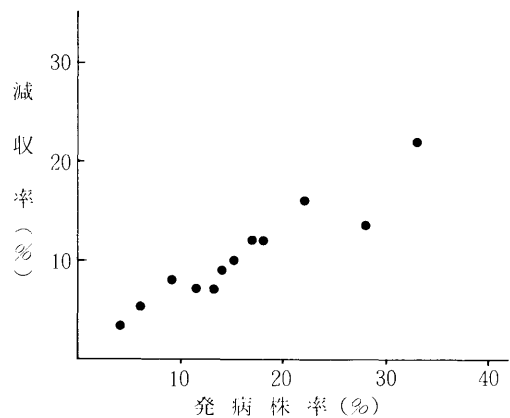
発病時期	調査株数	1株当り総塊茎重量	同左健全株比	1株当り40 以上塊茎数	同左健全株比
6月19日	29 株	29 g	3	0.2 個	2
6月27日	19	141	17	1.3	16
7月6日	8	216	25	2.0	24
7月20日	16	702	83	6.4	77
健全株	94	851	100	8.3	100

注) * 掘取り調査時期; 9月12日

発病株率に対応する減収率を第5, 6および7図に示した。Eca菌によって発病したタルマエでは、発病株率が約15%を超えるところから総塊茎重量と40g以上の塊茎数の減少が認められ、総塊茎重量において発病株率60%で約25%の減収率を示した(第7図)。Ecc-B菌によって発病した農林1号も、供試圃場の発病株率が高かったため、発病株率30%以下の場合に対応する減収率は明らかにできなかったが、60%の発病株率のときの総塊茎重量はタルマエの場合とほぼ同じ減収率を示した(第5図)。一方、Eca菌によって発病したエニワでは、発病株率に対応する減収率が一次関数の関係を示し、10%以下の発病株率でもかなりの減収率を示した(第6図)。

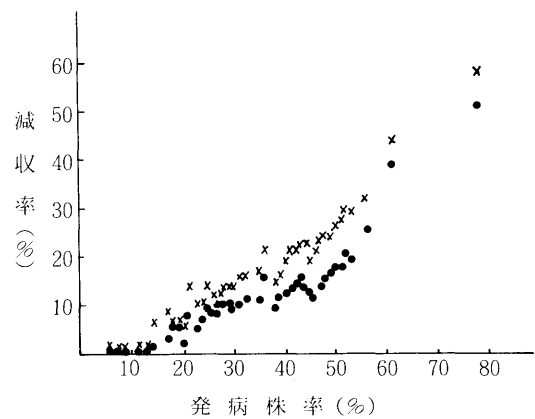


第5図 ジャガイモ黒あし病の発病株率と減収率(品種農林1号, 1975)

注) •; 1株当り総塊茎重量,
x; 1株当り総塊茎数

第6図 ジャガイモ黒あし病の発病株率と減収率(品種エニワ, 1977)

注) •; 1株当り総塊茎重量



第7図 ジャガイモ黒あし病の発病株率と減収率(品種タルマエ, 1978)

注) •; 1株当り総塊茎重量,
x; 1株当り40g以上薯数

3. 小 結

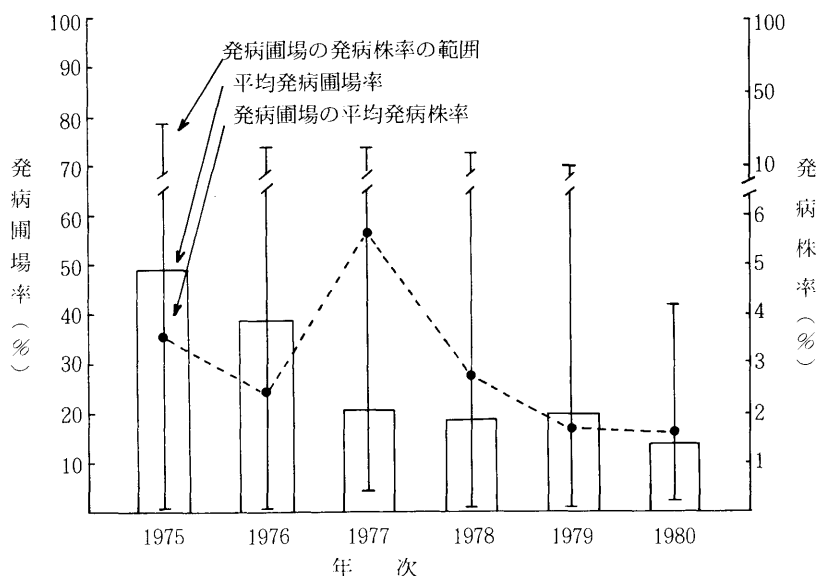
1974～'80年にわたる7年間の黒あし病の発生分布調査では病原菌として、後述(第三章)する3種類以外の病原菌の存在は認められなかった。その分布をみると、十勝地方は主にEcc-B菌が、釧路、根室および網走地方は主にEca菌が本病の主要病原菌となっており、Echr菌は現在のところ散発していることが明らかとなった。上川ら(1977)は1974、'75年の調査では、十勝地方はEcc-B菌が、釧路、根室および網走地方はEca菌が主として分布し、被害を起していると報告している。

このような両菌が異なる地理的分布を招来した原因をEca菌についてみると、釧路、根室および網走地方への本病の蔓延は中標津町から供給された更新用の種塊茎によっている(横浜植防1966)が、十勝地方への蔓延も同様に原採種体系以外の中標津町の汚染あるいは感染種塊茎を直接移入し、栽培したことによるとみられる。特に、十勝地方では1973、'74年にジャガイモ葉巻病が多発生したため、従来から同病の発生が

少なかった中標津町から、かなりの数量の種塊茎が導入されたと言われる。その後、十勝地方では葉巻病の発生が低下し、またEca菌による黒あし病発生のため導入が中止された。しかし、釧路、根室および網走地方では中標津町との間で引き続き流通があり、これによってEca菌が道東3地方に蔓延し、偏在したと推察される。

一方、Ecc-B菌についてみると、Ecc-B菌による本病は1972年十勝地方各地の原採種圃場で突発した(Tanii・Akai 1975)が、発病畑では発病株のみの抜き取りによって合格とされ、生産された種塊茎が同地方に配布されたため、原採種体系内の汚染および感染種塊茎の移動によってEcc-B菌が十勝地方に蔓延し、偏在するようになったとみられる。

本調査によって道東部地域における発病圃場率および発病圃場の平均発病株率は、地方および年次で異なるが、第8図にみられるように確実に低下している。このような変動と低下の原因は明らかでないが、気象条件、栽培する品種、種塊茎の管理貯蔵条件など種々の要因が複雑に



第8図 北海道東部地域におけるジャガイモ黒あし病の発生状況

作用し合って起こったと考えられる。

本病の発生が収量に与える影響について、尾崎ら(1973)は、Eca菌による品種紅丸の被害解析から、発病株率30%のとき塊茎重量は約20%減少すると推定した。本章で行なった試験では、発病株率に対応する減収率は供試3品種のうちエニワは異なった傾向を示したが、タルマエおよび農林1号では発病株率60%で約25%の減収に相当することが推定され、発病株率15%以下の場合、実質的な減収はないとみられた。

このことは、黒あし病の発生がジャガイモ生育初期に多く、発病株は早期に枯死あるいは生育が停止するため、残存する肥料を吸収した隣接株によって、発病株の減収量が補償されることによるとみられる。このことと、本調査で10%以上の発病株率を示した圃場が全調査圃場の

約2%にすぎなかった(第2表)ことを考え合せると、本病は現在まで澱粉原料用ジャガイモの栽培上、ほとんど実害を与えていなかったとみることができる。

しかし、品種エニワでは発病株率に対応する減収率は一次関数の関係にあり、発病株率が低い場合でも実被害が認められ、また発病時期によって株当りの減収率が大きく異なることが明らかになった。被害解析に当たっては、今後さらに品種および発病時期別に詳細な検討が必要である。

なお、昭和55年度農作物有害動植物発生予察事業年報(北海道立中央農試1980)によると、北海道における発生面積は6,000 haに及んでおり、今後も本病に対する種塊茎対策は重要な問題である。

Ⅲ．黒あし病の病原菌

諸外国ではジャガイモ黒あし病発生の歴史は古いが、その研究の主流は病原菌の分類に関するものである。本章では病原菌の研究史と、北海道で黒あし病を起こしている病原菌について、その分類学的所属と鑑別性質を明らかにするため、本病原菌と細菌学的性状が著しく類似する軟腐病菌を対照として比較検討した結果について述べる。

1. 黒あし病の病原菌に関する研究史

黒あし病の病原菌は、はじめドイツでFrank (1899)により*Micrococcus phytophthorus*とされたが、Appel (1902)は*Bacillus atrosepticus*とした。また、オランダではvan Hall (1902)が*Bacillus phytophthorus*と命名している。その後、カナダで黒あし病に類似する病害を研究したHarrison (1907)はその病原菌を*Bs. solanisaprus*とし、またアイルランドではPet-hybridge・Murphy (1912)が*Bs. melanogenes*と命名している。

Morse (1917)は*Bs. atrosepticus*と*Bs. solanisaprus*とは同種であるとし、Paine (1917)、Jennison (1923)は*Bs. atrosepticus*、*Bs. phytophthorus*、*Bs. solanisaprus*および*Bs. melanogenes*は同一種で、先命権によって*Bs. atrosepticus*を本病の病原菌名にすることを提案した。

しかし、Paine・Chaudhuri (1923)、Lacy (1926)らは*Bs. atrosepticus*と*Bs. solanisaprus*とは別種であるとしている。Bergeyら (1923)はErwin F. Smithを記念して創設した周毛の*Erwinia*属に黒あし病菌を編入し、*Erwinia phytophthora*としたが、*E. solanisapra*も記載している。

Waldee (1945)は*Erwinia*属のなかで軟腐群

を*Pectobacterium*属として、黒あし病菌を*P. phytophthorum*、*Bs. atrosepticus*と*Bs. melanogenes*をその異名として整理したが、*E. solanisapra*を*P. carotovorum*の異名とした。Burkholder (1948)はBergey's manualの6版において、黒あし病菌名に先命権により*E. atroseptica*を採用し、*E. phytophthora*および*E. solanisapra*を異名として整理している。これにより、黒あし病菌には*E. atroseptica*をあて、*E. phytophthora*と*Bs. melanogenes*は異名とされるようになった。しかし、Dye (1969)は*E. solanisapra*を*E. carotovora*の異名としている。

なお、これより以前1936年ロンドンの第2回国際微生物会議で、すべてのグラム陰性の周毛あるいは非動性桿菌に対して*Bacterium*の属名を採用することが決定された。このため、黒あし病菌名として*Bact. phytophthorum*が一時イギリスとヨーロッパで広く用いられたことがあった。

黒あし病菌を独立種として扱うか、Jones (1901)によってニンジン軟腐病菌として命名された*E. carotovora* (*Bs. carotovorus*)の変種あるいは異名とするかについて対立する見解のため、その種名の取り扱いについては多くの論議が展開された(後藤1956)。すなわち、黒あし病菌が*E. carotovora*の異名であるとするMorse (1917)、Stapp (1929)、Leach (1931)、Bonde (1939b)らの見解に対して、Burkholder・Smith (1949)、Smith (1950)、Hingorani・Addy (1952)らは、両種が生理的性質および病原性の相違することを根拠にして*E. atroseptica*と*E. carotovora*は別種として取り扱うことを主張した。この見解はBergey's manualの7版(Burkholder 1957)に採用されている。

このような見解の対立は1950年以降も継続している。Hellmers・Dowson (1953)は米国を

はじめ世界各国から *E. carotovora*, *E. atroseptica*, *E. aroideae*, および *E. phytophthora* を蒐集し、病原性をはじめ細菌学的性質を比較研究した。その結果、細菌学的性質に多少の相違はあるが、Burkholder・Smith (1949) により黒あし病の病徴を起こさないと認められた菌株をはじめ、いずれの種もジャガイモ茎の維管束部に注入すると黒あし症状を生ずるので、*E. atroseptica* を *E. carotovora* の変種あるいは系統とすべきであると主張した。

Graham・Dowson (1960 a, b), Graham (1964) は7ヶ国より集めた25菌株の軟腐性 *Erwinia* 属菌を接種したジャガイモ茎の病徴と、細菌学的性質を検討した。その結果、黒あし症状の発現には、Rudd Jones (1950), Hellmers・Dowson (1953) が明らかにした接種部位のほか、接種後の温度条件が重要な役割を果していることを明らかにした。すなわち、24.5°C またはそれ以上の温度で黒あし症状を起こす菌株(高温群)と、19°C またはそれ以下で起こす菌株(低温群)とが存在し、高温菌群には熱帯、亜熱帯産の *E. carotovora*, *E. aroideae* および *E. chrysanthemi* の3種が、低温菌群には温帯産の菌株で *E. atroseptica* がこれに含まれるとした。さらに、マルトースおよびエタノールの利用能、MR反応、VP反応などの細菌学的性質が相違することを明らかにし、Waldee (1945) が創設した新属名 *Pectobacterium* の属名を採用し、上記の種を *P. carotovorum* に統合するとともに、黒あし病菌名をその変種 *P. carotovorum* var. *atrosepticum* とした。

Dye (1969), Graham (1972) は *Carotovora* 群に関する広汎な分類学的研究によって、多くの軟腐性 *Erwinia* 属菌を *E. carotovora* に統合し、黒あし病菌を *E. carotovora* の変種とし、*E. carotovora* var. *atroseptica* として取り扱うことを提案した。この見解は *Bergey's manual* の8版 (Lelliott 1974) でも採用されている。

以上のように、黒あし病は *E. carotovora* var. *atroseptica* によって起こされるとみなされてい

た。しかし、最近になって血清学的に特異な反応を示す *E. carotovora* var. *carotovora* の一系統菌 (Tanii・Akai 1975, 上川ら 1976), *E. chrysanthemi* (谷井・馬場 1971, 富永・小笠原 1979, 谷井 1980) および *E. carotovora* var. *carotovora* (Stanghellini・Meneley 1975, Molina・Harrison 1977, '80) も黒あし病の病原菌となることが明らかにされた。

現行の国際細菌命名規約が1976年1月1日に発効したことに伴う Approved lists of bacterial names (Skermanら 1980) によると、*E. carotovora* var. *atroseptica* および var. *carotovora* はそれぞれ *E. carotovora* subspecies *atroseptica* および subsp. *carotovora* と命名され、*E. chrysanthemi* は Pathovar list (Dyeら 1980) によって病原型として分類されることになった。

なお、本論文で使用する学名は上記の2リストに従って記すこととし、これに未記載の学名は < > 書きとする。

2. 北海道において黒あし病を起こす病原菌の同定と軟腐病菌との比較

北海道で黒あし病を起こす病原菌の病原性、細菌学および血清学的性質について、ジャガイモをはじめ各種野菜類の軟腐病菌 (Ecc-S) を対照菌として比較検討することにより、黒あし病菌の分類学的所属を明らかにし、その識別方法の確立を試みた。

1). 病原菌の分離と病原性

黒あし病の発病茎および発病塊茎から病原菌を分離し、それらの寄主範囲、塊茎および茎接種による病原性を Ecc-S 菌と対比して検討した。

(1). 実験材料および方法

病原菌の分離方法と供試菌株：黒あし病による発病茎および発病塊茎の比較的新鮮な病斑部の一部を採り、肉エキス・ペプトン寒天 (普通寒天) あるいは変法ドリガルスキー培地 (津山

1962) を用い、希釈平板法または画線培養法によって病原菌を培養 (25~27°C) ・分離した。

分離した細菌集落は普通寒天あるいはキング B 培地 (King ら 1954) 平板に数回画線培養を繰返し、純粋培養の菌株を得た。それらの中から、

第 7 表に示す 127 菌株を以下の実験に供試した。このほか、対照として第 8 表に示す 76 菌株の軟腐病菌 (Ecc-S) を用いた。供試菌株はいずれも普通寒天斜面培地上で保存 (2~20°C) し、3~4 月ごとに継代培養した。

第 7 表 供試ジャガイモ黒あし病菌の来歴

菌群略号	供試菌株番号 ¹⁾	菌株数	分離品種 (部位)	採取場所 ²⁾	分離年月
Eca	P-1*~3*, -14*, -19*, -30*	6	農林 1 号 (茎)	標津郡中標津町	1968. 7
	TB-3*, -5*, -6*, -9*	4	紅丸 (茎)	標津郡中標津町	1969. 7
	MN-3*, -5*, -6*	3	農林 1 号 (茎)	河西郡芽室町	1969. 7
	PB (T) -3	1	不明 (塊茎)	不明	1970
	P-1-1, -1-2, -3-1, -3-2, -4-1, -4-2, -5-1, -5-2	8	紅丸 (茎)	中川郡幕別町	1971. 7
	P-2-1, -2-2	2	紅丸 (茎)	河東郡土幌町	1971. 7
	Er 1**~3**, Er 10**	4	不明 (不明)	士別市	1971. 8
	D 1*, D 2*, D 8*	3	農林 1 号 (茎)	河東郡鹿追町	1971. 8
	K 1*, K 3*, K 4*, K 5*	4	農林 1 号 (塊茎)	河東郡鹿追町	1971. 8
	L 1*, L 2*, L 8*	3	農林 1 号 (塊茎)	河東郡土幌町	1971. 8
	PSK-2-1, -2-2, -3-1	3	農林 1 号 (茎)	河東郡鹿追町	1971
	BT-3	1	紅丸 (茎)	中川郡豊頃町	1972. 6
	RQ-1-1	1	不明 (茎)	足寄郡陸別町	1972. 6
	KN-1-2, -2-1, -2-2	3	農林 1 号 (茎)	夕張郡長沼町***	1972. 7
	BF-1-1, -1-2, -1-3, -2-2, -3-1, -3-2	6	農林 1 号 (茎)	空知郡中富良野町	1972. 7
	BC 7471, BC 7472	2	根育 12 号 (茎)	広尾郡忠類村	1974. 7
	EA 7751	1	エニワ (塊茎)	標津郡中標津町	1977. 5
EA 36	1	紅丸 (茎)	中川郡豊頃町	1977. 7	
Ecc-B	BT-1-1, -1-2, -1-4, -1-5, -2-1, -2-2, -2-3, -2-4	8	タルマエ (茎)	中川郡幕別町****	1972. 6
	BMS-1-1, -1-2, -2-1, -2-2	4	メークイン (茎)	中川郡池田町*****	1972. 6
	BNS-1-1, -1-2, -1-3, -2-1, -2-2	5	農林 1 号 (茎)	帯広市川西****	1972. 6
	RQ-2-1, -2-2	2	農林 1 号 (茎)	足寄郡陸別町	1972. 6
	BSN-1-1, -1-2, -2-1, -2-2	4	農林 1 号 (茎)	河東郡土幌町	1972. 6
	BH-1-1, -1-2, -2-1, -2-2	4	紅丸 (茎)	広尾郡広尾町****	1972. 6
	NT-1-1, -1-2, -2-1, -2-2	4	タルマエ (茎)	河西郡芽室町*****	1972. 6
	B 744	1	タルマエ (茎)	上川郡美瑛町	1973. 7
	PTP-2-10, PTH-1-18	2	タルマエ (塊茎)	不明	1973.10
	DS 7494	1	男しゃく薯 (塊茎)	河東郡鹿追町*****	1974. 9
	ASK 7778	1	紅丸 (茎)	虻田郡虻田町	1977. 7
	MSR 7774	1	農林 1 号 (茎)	虻田郡真狩村	1977. 7
	E. c. 1-3	1	紅丸 (茎)	川上郡弟子屈町	1977. 7
Echr	PT-1~-6	6	男しゃく薯 (塊茎)	山越郡八雲町*****	1970
	PS-2, PS-3	2	男しゃく薯 (塊茎)	山越郡八雲町*****	1970
	A3R, A4S, B2R, B4R, B5S, B6S, B7S, C1R, C4S, D3S, E2R, E5R	12	メークイン (茎)	上川郡新得町****	1976. 7
	Echr 7671~7677	7	メークイン (茎)	帯広市稲田	1976. 7
	Echr 7771~7776	6	エニワ (茎)	中川郡幕別町	1977. 7
	合 計	127			

1) * ; 根釧農試 (現中央農試) 尾崎政春氏より分譲, ** ; 上川農試 (現北見農試) 宮島邦之氏より分譲,

2) *** ; 中央農試特検圃場 (根釧農試産塊茎), **** ; 採種圃場, ***** ; 原種圃場

第8表 供試軟腐病菌 (Ecc-S) の来歴

供試菌株番号 ¹⁾	菌株数	分離寄生(品種、部位)	採集場所	分離年月
PS-4~6	3	ジャガイモ(男しゃく薯, 茎)	山越郡八雲町	1970
T-1, T-2	2	ジャガイモ(タルマエ, 茎)	夕張郡長沼町(中央農試)	1972. 7
PBP-1-5, PTH-2-2	2	ジャガイモ(タルマエ, 塊茎)	不明	1973. 10
PM7452, PM7455	2	ジャガイモ(不明, 塊茎)	河西郡芽室町	1974. 5
PM7475	1	ジャガイモ(不明, 茎)	不明	1974. 7
SD7492	1	ジャガイモ(男しゃく薯, 塊茎)	河東郡鹿追町	1974. 9
SN7491	1	ジャガイモ(農林1号, 塊茎)	河東郡鹿追町	1974. 9
SRN7581	1	ジャガイモ(農林1号, 茎)	河西郡芽室町(十勝農試)	1975. 8
SRT7582	1	ジャガイモ(タルマエ, 茎)	河西郡芽室町(十勝農試)	1975. 8
SRH7581, SRH7582	2	ジャガイモ(農林1号, 茎)	網走郡東藻琴村	1975. 8
SR7784	1	ジャガイモ(男しゃく薯, 茎)	河西郡芽室町	1977. 8
CKS-16*, CKS-21*	2	ハクサイ	釧路郡釧路村	1969. 8
CTS-12*, CTS-26*	2	ハクサイ	不明	1969. 8
RKS-21*, RKS-23*, RKS-32*, RKS-33*	4	ダイコン	釧路郡釧路村	1969. 8
SR-1*, SR-15*	2	ルタバガ	標津郡中標津町	1969. 8
F4, F6	2	タマネギ	富良野市	1971
ON4-1, ON4-3	2	タマネギ	河東郡音更町	1971
1-2-3, 1-2-4	2	タマネギ	夕張郡長沼町(中央農試)	1971
CS-2-1, -2-2, -2-3, -2-4	4	ハクサイ	夕張郡栗山町	1972. 8
EMS-1, EMF-1	2	メロン	夕張郡長沼町(中央農試)	1972
Ca-1~3	3	ハクサイ	河西郡芽室町(十勝農試)	1974
S-1, S-11, S-20, S-83	4	土壌	河西郡芽室町(十勝農試)	1974
L(M)4-1, L(M)6-3, L(M)8-1	3	レタス	阿寒郡鶴居村	1976. 8
Ar, Ar5, Ar13, Ar1T, 645ar, 1, 310, P14, Ec6, Ec7	10	ハクサイ		
103	1	ニンジン	岩手大学農学部	
Ec3, Ec39	2	タマネギ		
CPT, CRR, 3830, 203	4	不明		
Cp	1	ニンジン		
P7	1	ハクサイ	静岡大学農学部	
C21	1	不明		
Eo1	1	タバコ	専売公社盛岡タバコ試験場	
Ec2, Ea11	2	ハクサイ		
Ea10	1	コンニャク	農水省農業技術研究所	
3057	1	不明	財団法人醱酵研究所	
C-1, 1068	2	不明	東北大学農学研究所	
合計	76			

1) * ; 根釧農試(現中央農試)尾崎政春氏より分譲

寄生範囲: 第7および8表に掲げた全菌株を用いた。それぞれ普通寒天斜面培地に25℃, 48時間培養した菌体を, 湿室ペトリ皿中に置いた

ジャガイモ塊茎, ニンジンおよびダイコン根部切片, タマネギりん片, ハクサイ中肋切片に殺菌ニコロム線でせん刺接種し, 25~27℃,

2～4日間培養後、軟化腐敗の有無を調査した。

Echr 菌群の8菌株（PT-1～PT-6, PS-2, PS-3）はさらに温室で育成した鉢植えハクサイ、キャベツ、ダイコン、セルリー、トマト、キク、カーネーションおよびトウモロコシの幼植物の葉、中肋あるいは茎の数個所に単針付傷接種し、4～7日後に発病の有無を調査した。

ジャガイモ茎にはEca菌群（P-3, P-14, P-30, TB-9, MN-6, P-1-1, P-2-2, D8）、Ecc-B菌群（BT-1-4, BMS-1-2, BNS-2-2, RQ-2-1, BSN-2-1, BH-1-1, NT-2-1）およびEchr菌群（PT-1～PT-6, PS-2, PS-3）の計23菌株を用い、接種実験を行なった。そのうちEcaおよびEcc-B菌群は夏期に網室内で、45～60日栽培した鉢植えジャガイモ（品種農林1号または紅丸）の茎に維管束部に達する付傷あるいは注射接種し、Echr菌群は柵圃場に栽培したジャガイモ（品種農林1号）の茎に、夏期と秋期の2回同様に注射接種し、発病の有無と病徴を観察調査した。

塊茎接種による病原性：供試菌株は第7および8表のうちEca菌群37菌株、Ecc-B菌群13菌株、Echr菌群2菌株およびEcc-S菌群37菌株で、これらを接種した塊茎を圃場で栽培し、その発病から供試菌株の病原性を調べた。

塊茎接種は20～60個の塊茎にコルクボーラ法（尾崎ら1973）で行ない、5～6日間、20℃の恒温下に保ち、腐敗させた。塊茎は接種部位を含めて切断刀により半切し、播種した。なお、切断刀は各菌株の接種塊茎を切断することに充分水洗するか、熱水殺菌した。

実験は1972および74年の2年間実施し、1972年は長沼町（中央農試圃場）で男じゃく薯またはエニワを、1974年は長沼町（中央農試圃場）と芽室町（十勝農試圃場）で農林1号を用いた。

各年次とも5月上旬～中旬に播種し、栽培管理と一般病害虫防除は農試標準耕種法に準じた。6月中旬～7月中旬に萌芽状況と発病を調査した。

塊茎および茎接種による病原性：供試菌株は第7および8表のうちEca菌群15菌株、Ecc-B菌群8菌株およびEcc-S菌群39菌株である。

塊茎接種は1,000倍昇求水で1～2時間殺菌して十分に水洗した十勝馬鈴しょ原々種農場産の品種紅丸（1個重量約40～60g）に、 10^9 CFU/ml菌液に浸した4本束竹串で、塊茎1個に3箇所づつ5mmの深さにせん刺した。1菌株当り40個の塊茎を用いた。

接種1～2日後、塊茎は切断せず5月12日に畦巾60cm×株間40cmに点播した。肥培管理と一般病害虫防除は農試標準耕種法に準じた。播種44日後（6月25日）に萌芽状況を、6月25日、7月4日および19日の3回発病状況を調査し、萌芽率と発病株率を算定した。なお、この実験では塊茎切断から播種までの間における接種菌株間の汚染を防止するため、接種塊茎を切断しなかったほか、播種の際にポリエチレン袋を用い、各菌株の接種塊茎単位でこれを交換し、手による汚染防止に努めた。

茎接種は15cm径の鉢に植えた播種45～60日後の紅丸3個体の茎2～4本に行ない、25℃、48時間培養した菌体を1本の竹串に付着させて茎維管束に達するようにせん刺した。接種後18.5、21.0および24.5℃のホルムクス照明の恒温条件に7～10日間置き、病徴と発病程度を観察調査した。実験は1979年に実施した。

2). 実験結果

寄主範囲：供試したEca, Ecc-BおよびEcc-S菌群の170菌株は、病原力に強弱が認められたが、いずれもジャガイモ塊茎、ニンジンおよびダイコン根部の切片、タマネギりん片、ハクサイ中肋部の切片を4日以内に軟化腐敗させた。Echr菌群の各菌株はジャガイモ、ニンジンおよ

びダイコンを4日以内に軟化腐敗させたが、そのうち4菌株 (PT-4, PT-5, PS-2, PS-3) はタマネギを、また2菌株 (PT-3, PS-2) はハクサイを腐敗させなかった。

また、鉢植えの幼植物に接種したEchr菌群8菌株はハクサイ、ダイコン、トマト、キク、カーネーションおよびトウモロコシに全く病原性を示さなかったが、セルリーに対して5菌株 (PT-1~PT-4, PT-6) が病原性を示し、残り3菌株は陰性であった。

次にジャガイモ茎に対する病原性をみると、EcaおよびEcc-B菌群の15菌株は接種48時間後から黒変水浸状の病斑を生じ、ジャガイモ草丈の生育が停止し、葉は萎凋するとともに病斑は次第に上下に伸長し、6~10日後には典型的な黒あし症状を示した。

Echr菌群は夏期に行った接種実験では、EcaおよびEcc-B菌群の場合と同様の発病経過で発病し、症状を現わし、茎の空洞化が顕著に起こったが、秋期に接種したときは茎維管束部の褐変に止まった。

塊茎接種による病原性：圃場に播種栽培した接種塊茎における地上茎部の発病は第9表および図版I 1~5に示した。供試したEca菌群37菌株のうち21菌株、Ecc-BおよびEchr菌群の全菌株は黒あし症状を起こした。これら発病茎から病原菌の再分離を行った結果、ほぼ接種細菌が得られたが、Eca菌群の菌株を接種した場合はEcc-B菌群が、また逆にEcc-B菌群による発病茎からEca菌群が分離される例があった。

Eca菌群の16菌株は黒あし症状を起こさなかったが、そのうち4菌株は播種した接種塊茎のすべてが萌芽前に土壤中で腐敗したためで、残り12菌株は保存中に病原性 (発病力) をそう失したとみられる。

一方、Ecc-S菌群では供試37菌株のうち15菌株が黒あし症状を起こした。しかし、平均発病率は9.2%と低く、発病茎からは接種菌と異なるEcaあるいはEcc-B菌群が再分離された。この原因は生育中に感染したとみるより、後述の塊茎接種の実験から、塊茎の切断から播種までの過程で汚染が起こったと考えられる。

第9表 Eca, Ecc-B, Echrおよび軟腐病菌群 (Ecc-S) の病原性*

(1972, '74)

菌群略号	供試菌株番号	菌株数	萌芽率	黒あし病発病株率
Eca	P-14, P-19, TB-6, TB-9, MN-3, MN-6, P-1-1, P-2-2, Er10, D8, K1, K3, K5, L1, PSK-2-1, PSK-2-2, BTT-3, KN-2-1, BF-1-1, BF-3-1	21	0 ~ 100 (平均 60.6)	0 ~ 100 (平均 31.3)
	P-2, TB-3, MN-5, PB(T)-3, P-3-1, P-4-1, P-5-1, Er1, Er2, Er3, D1, D2	12	85.0 ~ 100 (平均 95.0)	0
	P-1-2, P-4-2, L2, L8	4	0	0
Ecc-B	BT-1-1, BT-2-3, BMS-1-1, BMS-1-2, BNS-1-1, BNS-2-2, RQ-2-1, BSN-1-1, BH-1-1, BH-2-2, NT-1-1, NT-2-1	13	2.5 ~ 100 (平均 53.7)	2.6 ~ 100 (平均 39.3)
Echr	PT-4, PS-2	2	72.5 ~ 100 (平均 90.1)	4.7 ~ 17.1 (平均 11.1)
Ecc-S	T-1, CKS-16, CTS-12, ON4-3, CS-2-3, EMF-1, Ar5, Ar13, Ar1T, 645ar, P14, CRR, P7, Cp, Eo1	15	13.8 ~ 100 (平均 77.4)	0 ~ 100 (平均 9.2)
	PS-4, PS-5, CKS-21, CTS-12, CTS-26, RKS-21, RKS-33, SR-15, F6, ON4-1, 1-2-3, EMS-1, Ar, 1, Ec7, 3830, C21, Ea11, 3057, C-1, 1068	22	5.0 ~ 100 (平均 76.0)	0

注) * ; 塊茎接種 (コルクボーラ法)

塊茎接種および茎接種による病原性：圃場に播種栽培した接種塊茎における地上茎部の発病（第10表）をみると、EcaおよびEcc-B菌群はそれぞれ供試15および8菌株のうち、塊茎接種によって9および5菌株が黒あし症状を生じたのに対して、Ecc-S菌群39菌株はいずれも黒あし症状の発生を起こさなかった。

EcaおよびEcc-B菌群の供試菌株のうち、黒あし症状を起こさなかったEca菌群のMN-6をはじめとする6菌株およびEcc-B菌群のBH-2-2菌株を含む3菌株は、いずれの分離当初には病原性（発病力）を有していた。これらは

継代培養中に病原性をそう失したものと考えられる。

茎接種した場合の発病（第10表）をみると、供試したEcaおよびEcc-B菌群はEca菌群の2菌株（P-2, K3）を除き、いずれも18.5℃で黒あし症状を発現した。また、塊茎に接種したとき黒あし症状を起こさなかったEcc-S菌群のうち、12菌株もこの条件では黒あし症状を起こした。従って、黒あし症状の発現に塊茎接種で黒あし症状を起こす菌株だけが、茎接種でも同症状を起こすという厳格な関係は認められなかった。しかし、Eca菌群に限ってみれば、塊茎

第10表 Eca, Ecc-Bおよび軟腐病菌群（Ecc-S）の病原性

(1979)

菌群略号	供試菌株番号	塊 茎 接 種 ¹⁾		茎 接 種 ²⁾		
		萌 芽 率	黒あし病発病株率	18.5℃	21.0℃	24.0℃
Eca	P-14, L8, BC7472, EA7751	95.7 ~ 100 % (平均 98.4)	19.6 ~ 28.3 % (平均 24.4)	BL, Ⅱ~Ⅲ	BL, Ⅱ~Ⅲ	BL, Ⅰ~Ⅱ
	P-5-1, BF-1-2, EA36	97.8 ~ 100 (平均 99.3)	10.9 ~ 40.0 (平均 24.9)	BL, Ⅱ~Ⅲ	BL, Ⅱ	±
	TB-9, P-1-1	97.8 ~ 100 (平均 98.9)	2.2	BL, Ⅰ	BL, Ⅰ	Ⅰ
	MN-6, Er2, PB(T)-3, KN-2-1	100	0	BL, Ⅰ	BL, Ⅰ	±
	P-1, K3	100	0	±	±	±
Ecc-B	BT-2-4, BNS-2-2, BH-1-1, E.c. 1-3, SD7479	71.7 ~ 100 (平均 90.2)	6.1 ~ 22.0 (平均 13.5)	BL, Ⅱ~Ⅲ	BL, Ⅲ	BL, Ⅱ~Ⅲ
	RQ-2-1, BSN-2-1, BH-2-2	97.8 ~ 100 (平均 99.3)	0	BL, Ⅱ~Ⅲ	BL, Ⅲ	BL, Ⅲ
Ecc-S	PBP-1-5, PTH-2-2, SN7491, CKS-16, RKS-32, F6, ON4-3, EMF-1, 3830, Eo1	95.6 ~ 100 (平均 99.4)	0	BL, Ⅰ~Ⅱ	BR, Ⅰ~Ⅲ	BR, Ⅰ~Ⅲ
	CTS-26, F4, 1-2-4, LM)8-1, 645ar, P14, 1068	100	0	±	BR, Ⅰ~Ⅲ	BR, Ⅰ~Ⅲ
	SR-15, Ar, Ca-2	100	0	±	BR, Ⅰ~Ⅲ	±
	CS-2-1, Ar, EMS-1	100	0	±	±	BR, Ⅱ~Ⅲ
	ON4-1	97.8	0	±	SR, Ⅱ	SR, Ⅱ
	ArIT	100	0	±	±	SR, Ⅱ
	RKS-23, SR-15, Ec7, Ar13, Ec3, 1, CRR, P7, Cp, C21, Eal1.3057, C-1	100	0	±	±	±

1) 竹串接種法。

2) BL, BR, SR ; それぞれ黒色, 黒褐色および淡褐色の病斑型を示す, ±; 接種部位の病斑は局部的で, その後治癒する, Ⅰ; 病斑は接種部位を中心にやや伸展する, Ⅱ; 病斑は接種部位から上下にかなり伸展する, Ⅲ; 病斑は接種部位から上下に伸展し, 茎は倒伏する

接種で高い発病株率を示した菌株が茎接種でも高い発病程度を示した。

以上のように、Eca, Ecc-BおよびEchr菌群はEcc-S菌群の場合と同様に各種植物の柔組織を軟化腐敗し、また茎接種による病徴も18.5℃の条件下でEca, Ecc-B菌群だけでなくEcc-S菌群にも黒あし症状を起こす菌株が存在したが、塊茎接種によると、Eca, Ecc-BおよびEchr菌群だけが地上茎部に黒あし症状を起こし、Ecc-S菌群にはその能力を有する菌株の存在は認められなかった。

2). 細菌学的性質

(1). 供試菌株および検査法

細菌細胞の形態、鞭毛、グラム染色性、包のうおよび芽胞の有無については、第7表に示したEca, Ecc-BおよびEchr菌群の一部の菌株を使用した。それ以外の諸性質については第7および8表に示した全菌株を供試した。

細菌学的諸性質に関する実験は細菌学実習提要(伝染病研究所学友会1958), Manual of Microbiological Methods (Soc. Am. Bacteriol. 1957)の方法によって行ない、温度試験、Logan (1966)の培地における培養所見(27℃)およびゼラチンの液化試験(20℃)以外のすべては25℃で所定の期間培養した。

また、それ以外の諸性質は次の方法によった。すなわち、グラム反応は劉氏グラム変法(近藤・河島1963)、O-F(酸化-醗酵)試験はHugh・Leifson (1953)、硝酸塩存在下の嫌氣的発育は飯塚・駒形(1962)の方法によった。

グルコン酸の酸化はGraham・Dowson (1960b), アルギニン・デヒドロラアーゼ活性はThornley (1960), オキシダーゼ活性はKovacs (1956)の方法にそれぞれよった。ペクチナーゼ活性はDowson (1957a)の変法培地とStewart (1962)の培地を用いて観察し、フェニールアラニン・デアミナーゼ活性はSkerman (1967)記載の方法によった。ショ糖からの還元物質産生とジャガイモ塊茎の腐敗試験はそれぞれDye

(1968)とLelliottら(1966)によった。

蛍光色素の産生はキングB培地(Kingら1954)を用いて紫外線(2537Å)下で観察した。36℃における生育はペプトン水を用い、温度の変動が少ない電子恒温水槽(±0.1℃以内)で培養した。

単一炭素源としての糖類の利用試験は0.4～1.0%の寒天を含むAyersらの無機合成培地(Soc. Am. Bacteriol. 1957)とBalsiekow培地を基礎培地とし、基質を1%の濃度とし、115℃、15分間殺菌したのち、半斜面培地に画線およびせん刺し、培地上の生育とブロムチモールブルー(BTB)の変色によって判定し、寒天の亀裂の有無によって糖類利用によるガス産生を判定した。なお、アラビノース、キシロースおよびエタノールは基質溶液をろ過滅菌し、殺菌した基礎培地に加えた。エタノールは5%濃度で液体培養とした。

有機酸の利用試験は1%寒天を含むKoser (1924), Simons (Skerman記載1967)および岡部・後藤(1956)の無機合成基礎培地に基質(ナトリウム塩)を0.2%の濃度で添加した斜面培地に画線培養し、菌苔の生育とBTBの変色(アルカリ化)によって検査した。なお、マロン酸の利用試験についてはLeifson (1933)の変法培地も利用した。

運動性についてはO-F試験、アルギニン・デヒドロラアーゼ試験および糖類の利用試験の際の培地におけるせん刺部分の生育状態によって判定した。

(2). 実験結果

形態と染色性：Eca, Ecc-BおよびEchr菌群の菌はいずれも短桿～桿状、孤立するか対をなし、希に連鎖することもあった。Echr菌群の菌体には糸状体の存在も認められた。単個菌体の大きさはEca菌群0.3～1.3×0.5～1.4μm, Ecc-B菌群0.4～1.0×0.6～1.8μm, Echr菌群は0.5～0.7×1.1～5.9μmである。

EcaおよびEcc-B菌群は2～7本、Echr菌群

は多数の周毛を有する。グラム染色性、包のう染色および芽胞染色の結果、いずれの菌群も陰性であった。

培養的性質：EcaおよびEcc-B菌群の各菌株は普通寒天平面培養で中庸の生育を示し、その表生集落は全円、中高、平滑で湿光を帯びた灰白色を呈し、半透明、牛酪質であった。Echr菌群は生育が遅く、周縁がやや不規則で扁平～やや丘状を呈する以外はEcaおよびEcc-B菌群と変りがなかった。3菌群とも培地中の集落は白色、レンズ状で培地の変色はなく、悪臭を伴わない。

EcaおよびEcc-B菌群は普通寒天斜面培養で糸状、丘状、平滑で湿光を帯びた灰白色、半透明の集落を形成し、培地の変色、悪臭を伴わない。Echr菌群は扁平～やや丘状の集落を形成したが、それ以外の点ではEcaおよびEcc-B菌群と変わりがない。

普通寒天せん刺培養で3菌群はすべてせん刺溝に沿って糸状に生育するが、EcaおよびEcc-B菌群では下部に比し上部での生育が良好であったのに対し、Echr菌群は上下一様に生育する。

ブイヨン水およびペプトン水培養で3菌群は被膜あるいは輪を形成することなく生育し、EcaおよびEcc-B菌群は培地内で上下一様に混濁するが、Echr菌群はEcaおよびEcc-B菌群に比して生育が劣り、培養液の上部に比して下部の濁りが強い。

ウンスキー氏およびフェルミ氏培養液で3菌群は培養液を変色することなく生育した。コーン氏培養液では3菌群とも生育しない。リトマス牛乳を3菌群は赤変凝固したのちにわずかに消化し、リトマスを脱色した。

Logan培地上では3菌群はすべて培養48時間後赤色の集落を形成したが、集落の大きさが異なり、Eca菌群は小型であるのに対し、Ecc-BおよびEchr菌群は大型であった。また、比較に用いたEcc-S菌群の76菌株はEcc-BおよびEchr菌群と同様の集落を形成した。

生理・生化学的性質：3菌群およびEcc-S菌群の全菌株は通性嫌気性で、キングB培地中に蛍光色素を産生しないが、Echr菌群は同培地で非水溶性の暗緑色色素を形成する。また、3菌群およびEcc-S菌群の全菌株はカタラーゼ活性陽性であったが、Echr菌群はその活性が弱い。なお、各糖類からのガス産生は菌群あるいは菌株間で差異があったが、再現性が乏しいほか、同一菌株でも用いた基礎培地によって異なる場合が多かった。

その他の諸性質を第11表に示した。供試したすべての菌株は多数の性質で一致しているが、運動性、36℃における生育、VP試験、MR反応、インドール産生、ショ糖からの還元物質産生、食塩耐性、糖類と有機酸類の利用性の諸項目について菌群あるいは菌株間に差異が認められた。

単一炭素源として添加した各糖類の利用は、無機合成培地を基礎培地とした場合、4～7日以内に陽性あるいは陰性の結果が得られ、14日以降も変化がなかった。しかし、Balsiekow培地を基礎培地にすると、無機合成培地では陰性を示した菌株でも培養の初期に、培地の下部のみがやや酸性となる場合、あるいは生じた弱い酸性がその後アルカリ性に変化するので判定が困難となることがあった。

炭素源としてのエタノールの利用は、無機合成培地で陰性を示した菌株でも、ペプトン水中では2～3週間後に陽性を示したものが多かった。Echr菌群はラクトースまたはマルトースを炭素源とした場合、7日以降に陽性を示す菌株も認められたが、再現性が乏しかった。

有機酸の利用については3種類の基礎培地で同一の結果を示し、マロン酸の場合、Leifson変法培地を用いた場合にも同一の結果が得られた。

3). 血清学的性質

黒あし病菌のEca, Ecc-B菌群内およびEca, Ecc-BとEchr菌群ならびにEcc-S菌群との間の血清学的な関係を明らかにするため、次の方法

第11表 Eca, Ecc-B, Echrおよび軟腐病菌群(Ecc-S)の生理・生化学的性質

性 質	培養 日数	供 試 菌 群			
		Eca (56菌株)	Ecc-B (38菌株)	Echr (33菌株)	Ecc-S (76菌株)
〇-F	4 ¹⁾	F	F	F	F
運 動 性	4	100*	97	100	91
36℃における生育	2	0	0	(0)**	100
硝酸塩存在下での嫌氣的発育	1	100	100	100	100
硝酸塩の還元	4	100	100	100	100
ゼラチンの液化	21	100	100	100	100
V P 反 応	2	0	100	100	21
MR 反 応	2	100	100	0	100
インドールの産生	2	0	0	100	4
グルコン酸の酸化	2	0	0	0	0
アルギニン・デヒドロラーゼ活性	7	0	0	0	0
オキシダーゼ活性	2	0	0	0	0
ペクチナーゼ活性	4	100	100	100	100
フェニールアラニン・デアミナーゼ活性	2	0	0	0	0
ショ糖からの還元物質産生	2	95	0	0	46
食塩耐性 (5%)	2	100	100	0	100
単 一 炭 素 源 と し て の 利 用					
グリセロール	14	100	100	100	100
アラビノース	14	100	100	100	100
キシロース	14	100	100	100	100
ラムノース	14	100	100	100	100
グルコース	14	100	100	100	100
マンノース	14	100	100	100	100
フラクトース	14	100	100	100	100
ガラクトース	14	100	100	100	100
サツカロース	14	100	100	100	100
トレハロース	14	100	100	0	100
マルトース	7	100	0	0	46
ラクトース	7	100	100	0	100
ラフィノース	14	100	100	100	100
スターチ	14	0	0	0	0
デキストリン	14	0	0	0	0
イヌリン	14	0	0	0	0
サリシン	14	100	100	100	100
エリスロール	14	0	0	0	5
ズルチトール	14	0	0	0	0
マンニトール	14	100	100	100	100
α-メチルグルコシド	14	100	0	0	46
エタノール***	30	0	100	100	47
マロン酸ナトリウム	14	0	0	100	0
酒石酸ナトリウム	14	0	0	100	0
尿酸ナトリウム	14	0	0	0	0
馬尿酸ナトリウム	14	0	0	0	0
クエン酸ナトリウム	7	100	100	100	100

1) * ; 数値は各性質について、供試菌株が陽性反応を示した菌株率、%

2) ** ; () 内は37℃における生育、

3) *** ; 基礎培地はBalsiekow培地

で実験を行なった。

(1). 実験材料および方法

供試菌株：黒あし病菌の抗血清の作製には Eca 菌群から P-1 および P-14 菌株, Ecc-B 菌群から BNS-2-2 菌株を選び供試した。血清実験の被検菌株として第 7 および 8 表に示した全菌株を用いた。なお, Eca および Ecc-B 菌群抗血清の凝

集反応域の検査には比較のため, 植物病原 *Pseudomonas* 属菌を含む 5 属 13 種 38 菌株を用いた。

Ecc-B 菌群抗血清を用いた寒天ゲル内二重拡散法には上記菌株のほか, 黒あし病診断依頼のため送付された発病茎および発病塊茎から分離し, Ecc-B 菌群と同定された 9 菌株および発病茎から Ecc-B 菌群菌とともに分離された随伴 Ecc-S 菌群の 1 菌株 (第 12 表) も供試した。

第 12 表 Ecc-B 抗血清による寒天ゲル内二重拡散法に
用いた発病茎, 塊茎よりの分離菌株の来歴

菌群略号	供試菌株番号	分離品種(部位)	採集場所 ¹⁾	分離年月
Ecc-B	NAY-1	タルマエ(茎)	名寄市	1973. 7
	BB-7	紅丸(茎)	上川郡美瑛町	1973. 7
	B7461	紅丸(茎)	河西郡芽室町(十勝農試)*	1974. 6
	BS 7472~BS 7474	タルマエ(茎)	士別市	1974. 7
	B-8	紅丸(茎)	上川郡美瑛町	1974. 7
	BA 7474	紅丸(茎)	足寄郡足寄町	1974. 7
	DS 7493	男しゃく薯(塊茎)	河東郡鹿追町**	1974. 9
Ecc-S	BT-1-7	タルマエ(茎)	中川郡幕別町	1972. 6

1) * ; 原々種産塊茎使用, ** ; 原種圃場

抗血清の作製方法：肉エキス・ペプトン水で 25℃, 24 時間振とう培養した菌体を遠心集菌 (3,000 r. p. m. 30 分間) し, 生理食塩水で 2 回遠心洗浄したのち, 10^{8-11} CFU/ml の菌懸濁液を調整し, 抗原とした。

抗原は, (1) 超音波 (28 kc) で 10~30 分間処理したもの, (2) 100℃, 30 分あるいは 120℃, 10 分間加熱したもの, (3) 上記の処理を施さない生菌の 3 種類とした。

これらの抗原は家兎の耳静脈から注射, あるいは Freund's incomplete adjuvant と等量混合して皮下に反復注射し, 最終注射の 7~10 日後に全採血し, 常法 (木村 1964) に従って抗血清を得た。

抗血清は 56℃, 30 分間加熱で非動化したのち, 1~2 ml づつ小試験に分注し, -20℃ で凍結保存した。各抗血清の抗原に用いた菌株に対する力価と注射回数, 方法, 量, 間隔を第 13 表に示した。

血清反応：スライドガラス凝集反応法と寒天ゲル内二重拡散法 (木村 1964) とを用いた。スライドガラス凝集反応には第 13 表に示した加熱した Eca 菌によって免疫した血清 (抗加熱 Eca 血清; 抗血清番号②, ④, ⑥) および加熱した Ecc-B 菌によって免疫した血清 (抗加熱 Ecc-B 血清; 抗血清番号⑧, ⑨) を供試した。それぞれの抗血清は 0.1% アジ化ナトリウムを含む生理食塩水で 10 倍に希釈し, その 1 滴 (約 0.05 ml) 中に 25℃, 48 時間培養した普通寒天斜面培地上の菌苔 1 白金耳量をスライドガラス上でよく混合し, 30 秒以内に生じた反応を観察した。

寒天ゲル内二重拡散法は 9 cm 径ペトリ皿中の寒天ゲルに, 中央穴の周囲に 5~6 個の穴を等間隔に配列し, 中央穴には抗血清, 周囲穴には各抗原を注入し, 1~7 日間室温に置き, 沈降帯の出現とその異同を観察した。穴径は 3 種類とし, 7 および 15 mm 径穴の場合は中央穴から 10 mm, 3 mm 径穴を用いたときは 4 mm 間隔とした。

第13表 供試抗血清の力価と作製方法

菌 群 号	供試抗原菌株	抗 血 清		注 射 経 過				
		番 号 ¹⁾	力 価	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 4 回	第 5 回
Eca	P-1 菌株	①	OH: 12,800 O: 800	皮下 ²⁾ 2 ml (0日)	皮下 2 ml (23日) ⁴⁾	皮下 3 ml (36日)	皮下 2 ml (125日)	静脈 0.5 ml (14日)
		②	O: 1,600	皮下 2 ml (0日)	皮下 2 ml (23日)	皮下 3 ml (36日)	皮下 2 ml (125日)	静脈 0.5 ml (14日)
		③	—	静脈 ³⁾ 0.5 ml (0日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)	静脈 0.5 ml (7日)
		④	O: 1,600	皮下 1.5 ml (0日)	皮下 2 ml (10日)	皮下 2 ml (12日)	皮下 2 ml (7日)	静脈 0.5 ml (7日)
	P-14 菌株	⑤	OH: 12,800 O: —	静脈 ⁵⁾ 0.3 ml* (0日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)
		⑥	O: 1,600	静脈 0.3 ml (0日)	皮下 2 ml (10日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)	静脈 0.5 ml (7日)
Ecc-B	BNS -2-2 菌株	⑦	OH: 12,800 O: 400	静脈* 1 ml (0日)	皮下 2 ml (9日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)	
		⑧	O: 1,600	静脈 1 ml (0日)	皮下 3 ml (12日)	皮下 3 ml (12日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)
		⑨	O: 1,600	静脈 0.3 ml (0日)	皮下 2 ml (10日)	皮下 2 ml (7日)	皮下 2 ml (7日)	静脈 0.5 ml (7日)

- 1) 抗血清番号①, ⑤および⑦は生菌, ②, ⑥および⑧は100℃, 30分間加熱処理菌, ④および⑨は120℃, 30分間加熱処理菌, ③は超音皮処理(28KC, 10~30分間)菌をそれぞれ抗原として使用,
 2) 皮下; incomplete adjuvantと抗原の等量混合液による皮下注射,
 3) 静脈; 静脈注射, 4) ()内は注射間隔日数,
 5) *; 100℃, 30分間加熱処理菌を抗原として使用

抗血清は第13表に示した抗血清番号①, ③, ⑤および⑦で, 原液のまま使用し, 対応抗原は $10^9 \sim 10^{10}$ CFU/ml濃度の菌液を100℃, 30分間加熱処理したものである。

(2). 実験結果

スライドガラス凝集実験の結果を第14表に示した。抗加熱Eca(P-1菌株)血清(抗血清番号②, ④)および抗加熱Eca(P-14菌株)血清(抗血清番号⑥)は, いずれも供試したEca菌群の全菌株との間で明瞭な凝集反応を示したが, Ecc-B菌群の全菌株に対しては全く反応を示さなかった。

一方, 抗加熱Ecc-B(BNS-2-2菌株)血清(抗血清番号⑧, ⑨)は, 供試したEcc-B菌群

の全菌株と凝集反応を起こしたが, Eca菌群との間の反応は陰性であった。

抗加熱Ecaおよび加熱Ecc-B血清(それぞれ上記の3および2種類)とEcc-S菌群76菌株との凝集反応した菌株は, それぞれ5菌株であったが, 1菌株は両菌群の抗血清のいずれとも凝集反応を示した。これらの菌株と抗加熱Ecc-B血清との凝集性は, Ecc-B菌群と抗加熱Ecc-B血清との間で認められたものと同程度であった。しかしながら, 抗加熱Eca血清との間では反応速度も遅く, 凝集程度も不完全であった。

なお, 両菌群の抗血清はEchr菌群をはじめ他種の植物病原*Pseudomonas*属菌を含む5属13種38菌株との間では全く反応を示さなかった。

寒天ゲル内二重拡散法によると, Ecaおよび

表14表 抗加熱Ecaおよび加熱Ecc-B血清によるスライドグラス凝集反応

供 試 細 菌	供試菌株数	凝 集 反 応 陽 性 菌 株 数	
		抗加熱Eca血清 ¹⁾	抗加熱Ecc-B血清 ²⁾
Eca菌群	56	56	0
Ecc-B菌群	38	0	38
Echr菌群	33	0	0
Ecc-S菌群	76	5 ³⁾	5 ⁴⁾
<i>Erwinia herbicola</i>	10	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	0	0
<i>Escherichia coli</i>	2	0	0
<i>Proteus</i> spp.	2	0	0
<i>Pseudomonas</i> spp. ⁵⁾	20	0	0

1) 抗血清番号②, ④および⑥, 2) 抗血清番号⑧および⑨, 3) 菌株番号CPT, C-1, C21, CS-2-3およびLM8-1, 4) 菌株番号CS-2-1, CS-2-3, RKS-23, RKS-32およびCa-1, 5) *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* (1菌株), pv. *coronafaciens* (1菌株), pv. *glycinea* (2菌株), pv. *lachrymans* (2菌株), pv. *mori* (2菌株), pv. *phaseolicola* (2菌株), pv. *tabaci* (1菌株), *P. cichorii* (1菌株), *P. marginalis* pv. *marginalis* (2菌株), *P. fluorescens* (1菌株), *P. gelidicola* (1菌株), <*P. septentrivora* (1菌株)>, <*P. riboflavina* (1菌株)>, <*P. segnis* (1菌株)>, <*P. xanthe* (1菌株)>

Ecc-B菌群は各菌群のいずれの抗血清に対しても、抗原穴側にそれぞれの菌群に共通する特異沈降帯を生じた。この沈降帯はEchrおよびEcc-S菌群との間には認められなかった。

図版II, IIIおよびIV 1~4には超音波処理したEca菌群P-1菌株で作成した抗血清(抗血清番号③)を用い、穴径15mm, 穴間隔10mm, 図版IV 5~8およびVにはEcc-B菌群BNS-2-2菌株の抗血清(抗血清番号⑦)を用い、穴径7mm, 穴間隔10mmとした場合の抗原抗体反応の状態を示した。

同図版では上述したEcaおよびEcc-B菌群のそれぞれに特異的である沈降帯のほか、Ecc-S菌群にも共通な沈降帯が抗血清側にみられる。しかし、この共通沈降帯は穴径を3mmとした場合、あるいは供試した抗血清によっては認められなかった場合があった。また、Echr菌群の場合図版II 6に示されている薄い沈降帯は、穴径が3あるいは7mmのときは全く認められなかった。

なお、Eca菌群のうちMN系統菌は、Eca菌群に特異的な沈降帯とEcc-S菌群に共通する沈降帯以外の沈降帯形成状態(図版II 3, 5)が、他のEca菌群の菌株の場合とやや異なっていた。

3. 黒あし病菌の分類学的考察

供試したEca, Ecc-BおよびEchr菌群の各菌株はグラム染色性が陰性、桿状の形態を有し、糖の分解形式が醗酵型、集落は半透明の植物病原菌である。従って、*Erwinia*属に所属する細菌である。各菌群の菌株はいずれもNa-ポリペクチンを液化し、多くの植物柔組織を軟化腐敗させるのでCarotovora群に属する。

この属の*Erwinia*属細菌でジャガイモに自然条件下で感染するものには*Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* (Lacey 1926, 瀧元1927), *E. carotovora* subsp. *atroseptica* (Appel 1902, van Hall 1902) および *E. chrysanthemi* (谷井・馬場1971) がある。

これら3種類の細菌の分類はGraham・Dowson (1960a, b), Dye (1969), Graham (1972)らによって比較検討され、それらの同定に必要な諸性質が明らかにされ、Bergey's manualの8版(Lilliot 1974)に採用されている。それらの性質について、北海道で発見されたジャガイモ黒あし病菌Eca, Ecc-BおよびEchr菌群と、対照としたEcc-S菌群とを比較すると第15表に示す通りである。

第15表 ジャガイモ黒あし病菌Eca, Ecc-BおよびEchr 菌群
と軟腐性 *Erwinia* 菌の主要細菌学的性質の比較

細菌 性質 ¹⁾	黒あし病菌			対照軟腐病菌	<i>Erwinia</i> ²⁾		
	Eca菌株	Ecc-B菌株	Echr菌株	Ecc-S 菌群	<i>carotovora</i> subspecies		<i>chrysanthemi</i>
	(56菌株)	(38菌株)	(33菌株)	(76菌株)	<i>atroseptica</i>	<i>carotovora</i>	
36℃における生育	—	—	NT	+	—	+	+
インドールの産生	—	—	+	—	—	—	+
ショ糖からの還元物質産生	+	—	—	d	+	—	—, d
食塩耐性 (5%)	+	+	—	+	+	+	—, d
青色々素産生	—	—	+	—	—	—	+
酸 の 産 生	マルトース	—	—	d	—, d	—, d	—
	ラクトース	+	+	—	+	+	—, ×
	α-メチルグルコシド	+	—	—	d	+	—, d
	トレハロース	+	+	—	+	+	—
マロン酸ナトリウムの利用	—	—	+	—	—	—	+
酒石酸ナトリウムの利用	—	—	+	—	—	—	+

1) + ; 80-100%の菌株は陽性, — ; 0-20%の菌株は陽性, d ; 21-79%の菌株は陽性, × ; 遅陽性, NT ; 実験しない,

2) Dye (1969), Graham (1972), Lelliott (1974) および Dickey (1979) の記載による

Eca菌群は *E. carotovora* ssp. *atroseptica*, Ecc-B菌群は36℃における生育以外の性質が *E. carotovora* ssp. *carotovora* に一致し, Echr菌群は *E. chrysanthemi* と一致した性質を示した。さらに第15表に示した以外の細菌学的諸性質についてもEcaおよびEcc-B菌群はMorse (1917), Elrod (1941), Martinec・Kocur (1963), Dye (1969), Graham (1972) らの記載にほとんど一致している。従って, Eca菌群は *Erwinia carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923 subspecies *atroseptica* (van Hall 1902) Dye 1969, Ecc-B菌群は最高生育温度の低い性質をもつ *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923 と同定される。Echr菌群も第15表に示した以外の諸性質はBurkholderら(1953), Lelliott(1956), Dye(1969), Graham (1972), Dickey (1979) らの記載にほとんど一致しており, *Erwinia*

chrysanthemi Burkholder, McFadden and Dimocke 1953と同定される。

なお, *E. carotovora* ssp. *atroseptica* と *E. carotovora* ssp. *carotovora* とはLogan培地での生育状態によって識別できないとする報告(Sampson・Hayward 1971)もあるが, 本実験の結果はLogan (1966) の報告と一致している。

次に, 黒あし病菌 *E. carotovora* ssp. *atroseptica*, *E. carotovora* ssp. *carotovora* および *E. chrysanthemi* の分類学的位置についての考察を行なう。*E. chrysanthemi* が *E. carotovora* とは異なる種 (species) と考えられる根拠は, 多くの細菌学的性質が異なること, また両者のDNA相同性の低さ (Brennerら1977) から支持されており, 大きな問題はない。

E. carotovora ssp. *atroseptica* と軟腐病菌 *E. carotovora* ssp. *carotovora* とは細菌学的性質の相違が少なく, また両者のDNAの塩基組成 (Starr・Mandel 1969), DNA相同性も高いことから類似性

が高いと判断されている (Brennerら1973, Murata-Starr 1974)。両者間で相違する細菌学的性質はマルトースおよび α -メチルグルコシドの利用能、ショ糖からの還元物質産生、生育温度である。本研究で対照として用いた本邦産軟腐病菌 (Ecc-S菌群) は第15表に示すように、36°Cにおける生育を除く3項目の性質が明瞭に異なり、これに基づき陽性あるいは陰性群に2分される。

従って、3項目の性質が陽性の菌株も *E. carotovora* ssp. *atroseptica* と同定できるか否かの問題が残る。しかしながら、血清反応と塊茎接種による病原性の点からは、すべての本邦産軟腐病菌は *E. carotovora* ssp. *carotovora* と同定できる。このように、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* は、細菌学的性質の観点からも *E. carotovora* ssp. *carotovora* とは36°Cで生育できない点を除くと区別できない。さらに、血清学的類似性、後述 (第V章) する生態の相違を考え合せると、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* は *E. carotovora* の亜種 (subspecies) とするより、軟腐病菌 *E. carotovora* の一生態型とみるのが妥当である。

これまで、黒あし病は世界各国において *E. carotovora* ssp. *atroseptica* のみによって起こされるとみなされてきた (Smith・Ramsey 1947, Burkholder・Smith 1949, Smith 1950, Hingorani・Addy 1952, Noble・Marshall 1952, Graham・Dowson 1960a, b, Lazar・Bucur 1964, Logan 1968, Graham・Hardie 1971, Perombelom 1972 a, 尾崎ら1973, 谷井ら1973ら) が、北海道ではそのほか *E. carotovora* ssp. *carotovora* と *E. chrysanthemi* も本病の病原となっていることが明らかになった。なお、北海道における黒あし病菌の一つとして、Ecc-B菌群が存在することは上川ら (1976) によっても認められている。

諸外国において、*E. carotovora* ssp. *carotovora* が本病を起こすことは Stanghellini・Meneley (1975), Molina・Harrison (1977, '80) によっても報告されている。しかし、北海道産菌と同一の性質をもつ系統か否かについては、直

接比較していないので明らかでない。

E. chrysanthemi については、富永・小笠原 (1979) によっても黒あし病類似症のジャガイモ株から分離、同定され、同症状を起こす病原菌であることが報告された。また、ブラジル (Graham 1972), ペルー (de Lindoら1978) でも同症状のジャガイモから *E. chrysanthemi* が分離されており、Cothier (1979) はオーストラリアで種塊茎の腐敗を起こす主要病原菌として、*E. chrysanthemi* を報告している。

なお、本研究では *E. chrysanthemi* の鑑別に有効であるとされているレシチナーゼ活性、ホスファターゼ活性、エリスロマイシン感受性などの諸性質 (Dye 1969, Graham 1972, Dickey 1979) については未検討である。また、本種には6病原型 (pathovar) の存在が報告されている (Dickey 1979, Dyeら1980) が、本道産菌についても上記の諸性質を検討するとともに、いずれの病原型に相当するかについて同定する必要がある。

E. carotovora ssp. *atroseptica* と軟腐病菌 *E. carotovora* ssp. *carotovora* を区別する方法として、塊茎接種 (Smith 1950, 尾崎ら1973) と低温 (19°C以下) 下の茎接種による病徴 (Graham・Dowson 1960 a, Graham 1964) がある。本研究ではEca菌群のほか、黒あし病菌であるEcc-BおよびEchr菌群も接種塊茎を播種、栽培すると、その地上茎部に黒あし症状を起こし、軟腐病菌Ecc-S菌群は同症状を起こす能力が認められなかったため、塊茎接種法は黒あし病と軟腐病の病原菌を確実に区別しうる方法であると推察された。しかし、18.5°Cで茎接種したときの病徴は、EcaおよびEcc-B菌群では黒あし症状を発現したが、Ecc-S菌群の一部の菌株も同症状を起こしたので、この方法のみでは両病害の病原菌の鑑別を行なうことはできない。

植物病原細菌の迅速な診断、同定、諸系統の類縁関係の解析のため、凝集反応、ゲル内沈降反応、蛍光抗体法などの血清学的手法が広く用いられている (Schaad 1979)。軟腐性 *Erwinia*

菌については、凝集反応によってその抗原構造や系統間の類縁関係の解析が古くから行なわれてきた (Lacy 1926, Stapp 1929, Elrod 1942, 岡部・後藤 1956, 後藤・岡部 1958 ら)。

本研究では、黒あし病菌 Eca および Ecc-B 菌の加熱菌体を抗原として作製した抗血清を用いてスライドグラス凝集反応を行なうと、Eca および Ecc-B 菌群の菌株はそれぞれの抗血清と例外なく特異的に反応し、またそれぞれ均一性の高い菌群であることが明らかとなったが、両菌の抗加熱菌血清はそれぞれ供試した軟腐病菌 Ecc-S 菌群の 57 菌株のうち数菌株と反応した。

このことは *E. carotovora* ssp. *atroseptica* について、加熱 (60℃, 1 時間) 菌を用いて作製した抗血清による凝集反応によって、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* は血清学的にかなり均一な群であるが、同抗血清の凝集反応域が軟腐病菌の一部に及ぶと述べた Graham (1963, '64) の報告に一致する。また、上川ら (1976, '77) は *E. carotovora* ssp. *atroseptica* および黒あし病菌である *E. carotovora* ssp. *carotovora* の生菌を抗原とした抗血清を用い、凝集反応を行なうた場合、前者の抗血清はかなりの数の軟腐病菌 *E. carotovora* ssp. *carotovora* 菌株と不完全な凝集反応を示すが、両細菌の抗血清はそれぞれの黒あし病菌に特異的に反応し、また均一性の高い反応を示すとしている。

寒天ゲル内二重拡散法 (図版 II, III, IV, V) によると、Eca および Ecc-B 菌群菌株の加熱菌を抗原とした場合、それぞれの抗生菌血清に対してほぼ均一な反応を示した。この結果は、*E.*

carotovora ssp. *atroseptica* は同法による抗原分析から、血清学的にかなり均一な群であることを明らかにした Lazar (1972) の結果に一致する。さらに、両菌群菌株の菌体抗原には、凝集反応で陽性であった菌株を含む供試したすべての軟腐病菌に存在しないそれぞれ特異的なものが存在した。

このような特異抗原の存在は、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* については谷井ら (1973), Vrugink・Mass Geeteranus (1975), 川上ら (1976, '77), De Boer ら (1979) によって明らかにされている。また、黒あし病菌である *E. carotovora* ssp. *carotovora* については、Tanii・Akai (1975), 上川ら (1976, '77) によって認められている。

以上から、北海道で黒あし病を起こしている *E. carotovora* ssp. *atroseptica* および *E. carotovora* ssp. *carotovora* はそれぞれ血清学的に均一な群を構成し、両細菌と軟腐病菌 (Ecc-S) とは塊茎接種による地上茎部の黒あし症状発現の有無、寒天ゲル内二重拡散法による抗原抗体反応および 36℃ における生育試験によって確実に区別することが可能で、抗加熱 Eca および Ecc-B 血清によるスライドグラス凝集反応は、両細菌を迅速に区別するのに有効であるが、その凝集反応域が軟腐病菌の一部の菌株にも及ぶので、黒あし病菌と軟腐病菌の区別に用いるにはさらに検討すべき点がある。なお、*E. chrysanthemi* は細菌学的性質の差異によって、ほかの 2 種類の黒あし病菌および軟腐病菌と確実に区別できる。