

IV. 黒あし病とその病原菌の診断検定

黒あし病とその病原菌の診断検定法を確立することは、原採種体系における無病種塊茎の生産にとって重要である。本章では圃場における診断の方法、その実施時期ならびに病原菌の簡易同定法を確立するため、本病の病徴について記述し、黒あし病と茎病徴が本病と著しく類似する軟腐病の発病時期およびその推移を比較観察し、また新たに分離した黒あし病菌とジャガイモ軟腐病菌を用い、ジャガイモ茎に接種したときの病徴、塊茎接種による病原性、凝集反応および主要細菌学的性質について検討を加えた結果を述べる。

1. 病徴 (図版VI, VII)

本病の病徴はジャガイモの全生育期間にわたって認められる。Eca, Ecc-BおよびEchr菌の3病原菌はいずれも種塊茎の腐敗を起こすとともに、茎部維管束を侵害する。それぞれの病原菌によって生ずる病徴を、病原菌別に正確に区別することは困難である。従って、以下にその病徴を総括的に記述するが、症状が異なる場合には病原菌をあげて記述する。

ジャガイモの黒あし病はその病原菌の種類にかかわらず、汚染および感染塊茎を播種すると、はじめ種塊茎の腐敗が進行する。それが激しい場合には、播種塊茎は萌芽前に土壤中で腐敗するため欠株となる。しかし、多くの場合病勢は徐々に進行し、続いて茎部を侵害して黒あし症状を呈する。

Echr菌による発病株の種塊茎はやや褐色を帯びゼリー状に、EcaとEcc-B菌による場合はクリーム状に軟化腐敗していることが多い。黒あし症状を呈している茎の基部は種塊茎の腐敗部と連続しており、同一種塊茎の腐敗していない部分から伸長した茎には発病がみられない。

地上部茎葉の外観的症狀は萌芽後約1～2週間で現われる。はじめ上葉がやや退色して萎凋する。重症株ではまもなく草丈の増加が停止して株全体が黄化し、ジャガイモ葉巻病に類似した症状を呈する。発病茎はその地際部の黒変腐敗部から倒伏することが多く、容易に引き抜くことができる。軽症株はその後症状が回復すると、その頂部の複葉にジャガイモ黒あざ病による発病株でみられるような紫色を帯びる着色症状の現われることがある。

Ecc-BおよびEchr菌の感染による茎葉部の症状は、Eca菌による場合と比較して葉の黄化の程度が軽く、また茎の伸長抑制の程度も軽い傾向がある。

多湿時には茎の黒変腐敗部が伸びて葉柄に達することがあり、また黒変腐敗部が地際部から離れて飛火状に地上部に現われることもある。この場合、茎の内部では維管束部の褐変が上部にまで達している。しかし、通常茎部柔組織の軟化腐敗部の進展は遅く、茎基部の軟化のみで終るものが多い。また、外観上は健全と判定される株でも、地際あるいは地下部の茎維管束の褐変が高率に認められる。

Echr菌による感染株では茎髓部の腐敗による空洞化が顕著にみられるが、EcaおよびEcc-B菌によって感染発病した場合でも、7月が高温に経過した年には、この様な症状が多く認められる。

一般に、早期に発病した株は枯死するが、発病の遅れたものでは、ジャガイモ輪腐病でみられるような1本枯れ症状を示す場合が多い。症状の軽い株では塊茎肥大期になると、氣中塊茎を生ずるものがある。

発病株の根に明瞭な病変は認められない。塊茎形成初期に病株の塊茎には病徴がみられないが、塊茎の肥大と地上茎部の病斑の進展に伴っ

て、茎部からストロン維管束部にかけて褐変が進行し、やがてこれは塊茎内の維管束部に達する。

さらに病勢が進むと、塊茎はそのストロン基部から塊茎中心部の柔組織に褐変が拡大し、僅かに空洞化する。甚しい場合には塊茎が腐敗消失することもあるが、その発生頻度は低い。

塊茎における軟化腐敗部は、空気にふれると次第に黒変する。上記のいずれの腐敗部にも悪臭は認められない。

2. 圃場における発生時期とその推移

圃場における黒あし病の適確な検診時期を明らかにするため、1975～80年の6年間十勝農試圃場（褐色火山性土）で栽培したジャガイモについて、黒あし病ならびに本病に病徴が類似する軟腐病の発生時期とその推移を比較調査した。

1). 供試材料および調査方法

供試品種は年次によって異なるが、黒あし病の観察には農林1号、タルマエ、エニワおよび紅丸、軟腐病には各年次とも軟腐病に極めて罹病性のタルマエである。

播種期は1976年の場合4月26日、その他の年は5月中旬（10～13日）で、半切塊茎を畦巾60cm×株間40cmとし、29.3～234㎡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。

ジャガイモの萌芽始期、黒あし病および軟腐病の初発病期と発病株率を所定の時期に調査した。また、黒あし病の場合調査時期別に発病株の圃場分布図を作製し、それから算定した発病

株率を観察によるそれと比較した。

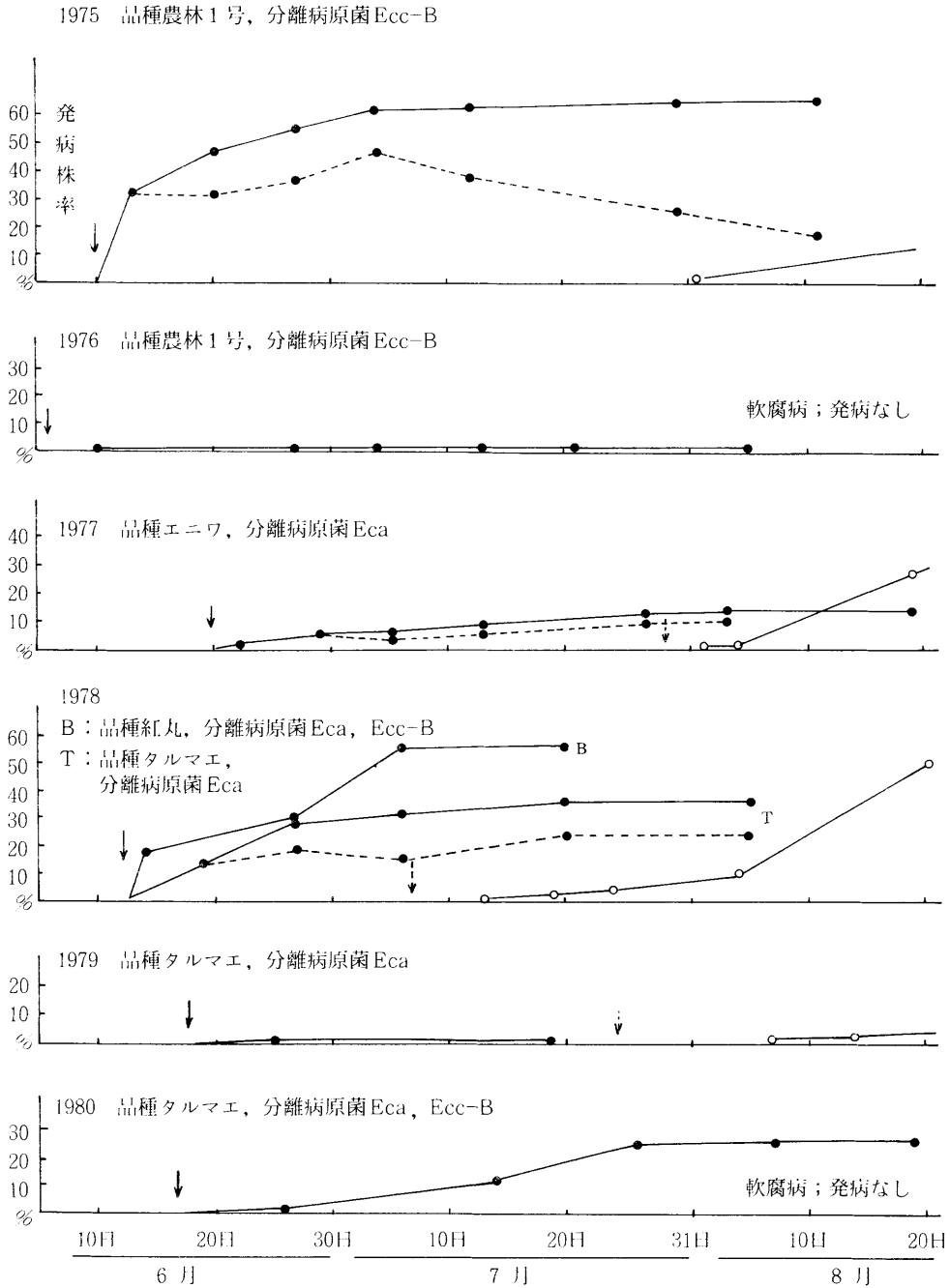
2). 調査結果

黒あし病および軟腐病の発生時期とその推移の調査結果を第9図に示した。黒あし病は調査期間1975～80年のうち、1976および'79年にはその発生が全く認められなかった。その他の年には、黒あし病は萌芽始期の9～18日後にはじめて認められた。病原菌がEcaあるいはEcc-B菌のいずれの場合でも、初発病後急激に発病株率は増加するが、7月下旬～8月上旬になると、地上部に黒あし症状が新しく発生することはほとんどなかった。

一方、軟腐病(図版Ⅷ)の発生は、1976および'80年に全く認められなかった。その他の年には、1979年は極めて少なかったが、軟腐病はジャガイモ茎の最下葉の接地した小葉に、7月上旬～下旬にはじめて認められた。その後、接地小葉の病斑は葉柄に進展し、ジャガイモ主茎の発病は7月中旬～8月上旬に起こった。その後、次第に発病株率が増加し、さらに主茎の病斑は上下に伸びて、黒あし病の病徴に著しく類似する株が増加した。

このことから、黒あし病の病徴による圃場検診は、主茎における軟腐病の発病がはじまる7月中～下旬までに実施するのが適当である。

なお、1975年、'77年および'78年の調査でみられるように、外見上から判定した黒あし病発病株率は発病株の圃場分布図から算定したそれより低い。このことは早期発病株が枯死欠株となることと、軽症株が回復するため、圃場検診と発病株の抜き取りの際に十分に注意を払う必要があることを示唆している。



第9図 ジャガイモ黒あし病および軟腐病の発病時期とその推移比較

注) Eca, Ecc-B；第3図に同じ, ●-●; 黒あし病発病株率の推移, ●-●; 黒あし病の見かけ上の発病株率の推移, ○-○; 軟腐病発病株率の推移 (品種タルマエ), ↓; 黒あし病の初発病日, ↓; 軟腐病の接地小葉の初発病日

3. 黒あし病菌の簡易同定

圃場における黒あし病は前述したように、7月中旬～下旬までは容易に診断できるが、この時期以降になると軟腐病が併発するため困難となる。従って、黒あし病を適確に診断するため発病部から病原菌を分離し、同定する必要がある。

しかしながら、多数の標本を診断する場合には、これまで行なってきた同定法では長期間を要するため、正確で迅速な同定法が必要となる。前章では塊茎接種、寒天ゲル内二重拡散法による抗原抗体反応、36℃における生育試験が黒あし病菌(EcaおよびEcc-B)と軟腐病菌(Ecc-S)との鑑別に最も信頼できる方法であると結論された。

ここでは黒あし病菌と軟腐病の発病組織から新たに分離した菌株を用い、抗血清によるスライドグラス凝集反応、主要細菌学的性質および病原性を調べ、簡便な同定法について検討した結果について述べる。

1). 黒あし病および軟腐病発生畑における圃場分離菌株の凝集反応、主要細菌学的性質および病原性

(1). 実験材料および方法

供試菌株：1978～80年に十勝、釧路、根室および網走地方各地の農家圃場から採取した黒あ

し病発病茎、および軟腐病発病茎あるいは接地小葉から変法ドリガルスキー培地を用いた画線培養法により病原菌を分離し、通常1病斑から純粋培養とした1菌株を選び、都合275菌株を供試した。

血清反応：第13表に示した抗加熱Eca血清(抗血清番号③)と抗加熱Ecc-B血清(抗血清番号⑧)とを用い、それぞれの10倍希釈液によるスライドグラス凝集反応を観察した。

主要細菌学的性質：O-F、ジャガイモ塊茎切片の腐敗、Na-ポリペクチン(Stewart培地)の液化、ショ糖からの還元物質産生、糖類(ラクトース、マルトースおよびα-メチルグルコシド)からの酸産生および36℃における生育の8項目の試験を前章の方法に従って検査した。

ジャガイモの塊茎および茎に対する接種：接種および調査方法、接種材料、栽培管理および一般病虫害防除は既述(第Ⅲ章)の「塊茎および茎接種による病原性」の項と同じ方法を用い、1979年に実施した。

(2). 実験結果

血清反応：供試した2種類の抗血清は、前章の実験でそれぞれEcaおよびEcc-B菌群の菌株に対してかなり高い特異反応性を示したが、そ

第16表 抗加熱Eca血清の軟腐病菌(Ecc-S)による吸収試験

| 供試血清 | 吸収に供試した菌株 | 供試菌株 | | Ecc-S 菌群 | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------|--------|----|----------|------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Eca 菌群 | | P-1 | P-14 | A | B | C | D | E | F | G | H |
| 抗加熱 P-1 菌株 血清 | - | ++* | ++ | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | A | ++ | ++ | - | - | ± | - | ± | - | - | - | ± | |
| | B | ++ | ++ | - | - | - | | | | | | | |
| | C | ++ | ++ | ± | - | - | | | | | | | |
| | P-1 | - | - | | | | | | | | | | |

* : 表中の++, +, ±, -はそれぞれ完全, 不完全, 微弱, 無凝集反応を示す

第17表 各地方の圃場に発生したジャガイモ黒あし病発病茎からの分離菌株の抗加熱 Eca, 吸収抗加熱 Eca 血清および抗加熱 Ecc-B 血清に対する凝集反応

| 採集年次 | 採集地方 ¹⁾ (圃場数) | 採集月日 | 品 種 (供試茎数) | 分離供試 菌 株 数 | 供試抗血清の種類と凝集反応 陽性菌株数 (凝集反応程度 ²⁾) | | |
|------|-----------------------------|--------------|---------------|---------------|--|-----------|-----------|
| | | | | | 抗加熱 Eca | 吸収抗加熱 Eca | 抗加熱 Ecc-B |
| 1978 | 釧路(1) | 7月25 ~26日 | 紅 丸(1) | 2 | 0 | 0 | 2(++) |
| | 網走(4) | | 紅 丸(21) | 27 | 27(++)* | 27(++) | 0 |
| | | | 529-1(3) | | | | |
| 1980 | 十勝(2) | 8月1 ~12日 | 紅 丸(1) | 6 | 3(++) | 3(++) | 3(++) |
| | | | メークイン(3) | | | | |
| | 釧路(3) | | 紅 丸(4) | 4 | 2(++) | 2(++) | 2(++) |
| | 網走(6) | | 紅 丸(11) | 12 | 9(++) | 9(++) | 3(++) |
| | | | 529-1(1) | | | | |
| | 根室(2) | | 紅 丸(4) | 4 | 3(++) | 3(++) | 1(++) |
| 合 計 | | | | 55 | 44(++) | 44(++) | 11(++) |

1) 釧路地方；弟子屈町，網走地方；常呂町，能取，卵原内，嘉多山，斜里町，女満別町，十勝地方；幕別町，帯広市，根室地方；中標津町，

2) *；() 内の記号は第16表に同じ

のうち抗加熱 Eca 血清は後述するように，新たに軟腐病発病組織から分離したかなりの数の菌株と不完全な凝集反応を起こした。そこで，この抗血清を反応陽性の軟腐病菌株を用いて吸収した結果，第16表に示すように不完全な凝集反応が認められなくなり，Eca 菌株と特異的に反応した。

1978および'80年に北海道東部地域で発生した黒あし病発病茎から分離した55菌株を，吸収抗加熱 Eca 血清を含めた3種類の抗血清に対し凝集反応実験を行なった結果(第17表)，供試した55菌株のうち44菌株は抗加熱 Eca 血清と，11菌株は抗加熱 Ecc-B 血清と顕著な凝集反応を示した。さらに，抗加熱 Eca 血清に反応陽性の44菌株は，吸収抗加熱 Eca 血清にも顕著な反応を示した。

次に，1978~'80年に北海道東部地域で発生した軟腐病発病茎および接地小葉から分離した220菌株を，上記3種類の抗血清に対し凝集反応実験を行った結果(第18表)，供試220菌株のうち155菌株は3種類の抗血清に対して陰性の反応を示したが，62菌株(28.2%)は抗加熱 Eca 血清に対し不完全凝集反応を示し，残り3

菌株(1.4%)は抗加熱 Ecc-B 血清に対し顕著な凝集反応を示した。しかしながら，抗加熱 Eca 血清と反応陽性の62菌株のうち4菌株が，吸収抗加熱 Eca 血清と微弱な凝集反応を示したにすぎなかった。

主要細菌学的性質：黒あし病発病茎から分離した55菌株の主要細菌学的性質(第19表)をみると，すべての供試菌株はジャガイモ塊茎切片を軟化腐敗し，Na-ポリペクチンを液化し，グルコースを酵素的に分解し，ラクトースから酸を産生した。

また，抗加熱 Eca 血清と吸収抗加熱 Eca 血清に対し顕著な凝集反応を示した44菌株は，マルトースおよび α -メチルグルコシドから酸を産生し，ショ糖からの還元物質産生が陽性で，36°Cで生育しなかった。

一方，抗加熱 Ecc-B 血清に対し反応陽性の11菌株は，マルトースおよび α -メチルグルコシドから酸を産生せず，ショ糖からの還元物質産生も陰性で，36°Cで生育しなかった。

軟腐病発病茎および接地小葉から分離した220菌株の主要細菌学的性質(第20表)をみる

第18表 各地方の圃場に発生したジャガイモ軟腐病発生組織からの分離菌株の抗加熱 Eca, 吸収抗加熱 Eca血清および抗加熱 Ecc-B血清に対する凝集反応

| 採集年次 | 採集地方 ¹⁾ (圃場数) | 採集月日 | 品 種 (供試発病) ²⁾ 組 織 数 | 分離供試 菌 株 数 | 供試抗血清の種類と凝集反応 陽性菌株数 (凝集反応程度 ³⁾) | | |
|----------|-----------------------------|--------------|--------------------------------------|---------------|--|-----------|-----------|
| | | | | | 抗加熱 Eca | 吸収抗加熱 Eca | 抗加熱 Ecc-B |
| 1978 | 釧路(2) | 7月25 ~26日 | 紅 丸(2) | 5 | 0 | 0 | 0 |
| | 網走(6) | | 紅 丸(3) | 18 | 3(+)* | 0 | 0 |
| | | | 農林1号(1) | | | | |
| | | | 男しゃく薯(2) | | | | |
| 根室(1) | 紅 丸(1) | 4 | 1(+) | 0 | 0 | | |
| 1979 | 釧路(9) | 8月1 ~12日 | 紅 丸(9) | 15 | 10(+) | 0 | 0 |
| | 網走(24) | | 紅 丸(10) | 38 | 17(+) | 0 | 0 |
| | | | メークイン(1) | | | | |
| | | | 農林1号(2) | | | | |
| | | | 男しゃく薯(9) | | | | |
| | | | 529-1(2) | | | | |
| | 根室(3) | | 紅 丸(3) | 3 | 2(+) | 0 | 0 |
| | 十勝(34) | | 紅 丸(6) | 79 | 14(+) | 1(±) | 2(++) |
| | | | メークイン(3) | | | | |
| | | | 農林1号(13) | | | | |
| 男しゃく薯(6) | | | | | | | |
| エニワ(6) | | | | | | | |
| 1980 | 十勝(32) | 8月1 ~6日 | 紅 丸(6) | 58 | 15(+)* | 3(±) | 1(++) |
| | | | メークイン(7) | | | | |
| | | | 農林1号(9) | | | | |
| | | | 男しゃく薯(5) | | | | |
| | | | トヨシロ(3) | | | | |
| | | | ワセシロ(2) | | | | |
| 合 計 | | | | 220 | 62(+) | 4(±) | 3(++) |

- 1) 釧路地方; 弟子屈町, 釧路市, 標茶町, 網走地方; 訓子府町, 仁頃, 常呂町, 清里町, 小清水町, 斜里町, 美幌町, 置戸町, 端野町, 能取, 卵原内, 嘉多山, 女満別町, 東藻琴村, 根室地方; 中標津町, 十勝地方; 新得町, 清水町, 鹿追町, 士幌町, 音更町, 広尾町, 大樹町, 忠類村, 更別村, 中札内村, 帯広市, 幕別町, 豊頃町, 池田町, 本別町, 足寄町, 陸別町, 上士幌町, 芽室町,
2) 発病茶および発病小葉, 3) *: () 内の記号は第16表と同じ

と, すべての供試菌株はジャガイモ塊茎切片を軟化腐敗し, Na-ポリペクチンを液化し, グルコースを酵酵的に分解し, ラクトースから酸を産生した。

さらに, 供試220菌株のうち216菌株(98%)はマルトースおよび α -メチルグルコシドからの酸産生とショ糖からの還元物質産生の3項目の性質がともに陽性あるいは陰性を示し, 変異菌株は4菌株存在したにすぎなかった。

また, 36°Cにおける生育をみると, 供試220菌株のうち216菌株は36°Cで生育したが, 抗加熱Ecc-B血清に対し顕著に凝集反応を示した3菌株とこれに反応陰性の3菌株の計6菌株が36°Cで生育しなかった。

なお, 第20表から明らかのように, 抗加熱Eca血清に対して不完全な凝集反応を示した62菌株について, 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

第19表 各地方の圃場に発生したジャガイモ黒あし病
発病茎からの分離菌株の主要細菌学的性質

| 性 質 | 菌 株 数 | 抗加熱 Eca, 吸収抗加熱 Eca 血清 に対して凝集反応が陽性(+)菌株 | 抗加熱 Ecc-B血清に対して凝 集反応が陽性(+)の菌株 |
|------------------|------------|---|----------------------------------|
| | | 44 | 11 |
| ジャガイモ塊茎切片の腐敗 | | + ¹⁾ | + |
| O-F | | F | F |
| 酸 の 産 生 | ラクトース | + | + |
| | マルトース | + | - |
| | α-メチルグルコシド | + | - |
| ショ糖からの還元物質産生 | | + | - |
| 36°Cにおける生育 | | - | - |

1) +; 陽性反応, -; 陰性反応, F; 醗酵

第20表 各地方の圃場に発生したジャガイモ軟腐病発病
組織*からの分離菌株の主要細菌学的性質

| 性 質 | 菌 株 数 | 抗加熱 Eca 血清に 対して凝集反応が 陽性(+)の菌株 | | 抗加熱 Ecc-B血清 に対して凝集反応 が陽性(+)の菌株 | 両抗加熱菌血清に對して 凝集反応が陰性の菌株 | | | | | |
|------------------|------------|-------------------------------------|---|--------------------------------------|---------------------------|----|---|---|---|---|
| | | 53 | 9 | 3 | 113 | 35 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| ジャガイモ塊茎切片の腐敗 | | + ¹⁾ | + | + | + | + | + | + | + | + |
| O-F | | F | F | F | F | F | F | F | F | F |
| 酸 の 産 生 | ラクトース | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | マルトース | - | + | - | + | - | - | + | + | - |
| | α-メチルグルコシド | - | + | - | + | - | - | + | - | + |
| ショ糖からの還元物質産生 | | - | + | - | + | - | - | - | + | + |
| 36°Cにおける生育 | | + | + | - | + | + | - | + | + | + |

* ; 発病茎および発病小葉,

1) +, F, -; 第19表に同じ

の3項目の性質をみると、黒あし病発病茎からの分離菌株における結果と逆の関係が認められ、抗加熱Eca血清に対し凝集反応陽性の菌株の大多数は陰性であった。

ジャガイモ塊茎および茎に対する接種：1978年に北海道東部地域で発生した黒あし病の発病茎および軟腐病の発病茎と接地小葉から分離したそれぞれ5および9菌株(第21表)を、ジャガイモ塊茎と茎に接種したときの発病状況(第22表)をみると、黒あし病発病茎から分離した

5菌株は、それらを接種した塊茎を栽培した場合、いずれも地上茎部に黒あし症状を起こし、また茎に接種した3菌株は18.5～24.5℃の条件で、いずれも黒あし症状を現わした。

一方、軟腐病発病茎と接地小葉から分離した9菌株は、塊茎に接種を行っても、いずれも地上茎部に黒あし症状を起こさなかったが、茎に接種を行った場合、18.5℃で黒あし症状を起こす菌株があった。なお、茎接種に供試した5菌株はいずれも高温(21～24.5℃)で発病程度が強く、病斑は褐色を呈した。

第21表 ジャガイモ塊茎および茎接種に用いた圃場分離菌株の来歴、血清反応および主要細菌学的性質

| 分離組織 ¹⁾ | 供試菌株番号 ²⁾ | 採集場所 | 供試抗血清の種類と凝集反応程度 ³⁾ | | | 36℃における生育 ⁴⁾ |
|--------------------|----------------------|------|-------------------------------|----------|----------|-------------------------|
| | | | 抗加熱Eca | 吸収抗加熱Eca | 抗加熱Ecc-B | |
| 黒あし病発病組織 | SR 78-2* | 弟子屈町 | — | — | ++ | — |
| | SR 78-14-10** | 常呂町 | ++ | ++ | — | — |
| | SR 78-17-3** | 能取 | ++ | ++ | — | — |
| | SR 78-18-3** | 卵原内 | ++ | ++ | — | — |
| | SR 78-23-7-1** | 嘉多山 | ++ | ++ | — | — |
| 軟腐病発病組織 | SR 78-5-2** | 弟子屈町 | — | — | — | + |
| | SR 78-7-1** | 訓子府町 | — | — | — | + |
| | SR 78-11-2* | 常呂町 | — | — | — | + |
| | SR 78-15-1** | 常呂町 | — | — | — | + |
| | SR 78-35-1* | 清里町 | + | — | — | + |
| | SR 78-36-3* | 斜里町 | + | — | — | + |
| | SR 78-40-2** | 清里町 | — | — | — | + |
| | SR 78-49-4* | 中標津町 | + | — | — | + |
| SR 78-50-2** | 釧路市 | — | — | — | + | |

1) 黒あし病は発病茎を、軟腐病は発病茎と発病接地小葉(SR 78-5-2菌株)を供試した、

2) *, ** ; 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がそれぞれ (*), —, — (**), +, +, +,

3) —, +, ++ ; 第16表に同じ,

4) —, + ; 第19表に同じ

第22表 ジャガイモ黒あし病および軟腐病圃場分離菌株の病原性

| 1) 分離組織 | 2) 供試菌株番号 | 3) 茎 接 種 | | | 4) 塊 茎 接 種 | | |
|-------------|---------------|----------|---------|---------|------------|---------|------------|
| | | 18.5 °C | 21.0 °C | 24.5 °C | 供試塊茎数 | 萌 芽 率 % | 黒あし病発病株率 % |
| 黒あし病発病組織 | SR78-2* | | | | 46 | 100 % | 8.7 % |
| | SR78-14-10** | BL, †† | BL, †† | BL, †† | 46 | 41.3 | 63.2 |
| | SR78-17-3** | BL, †† | BL, †† | BL, †† | 46 | 63.0 | 75.9 |
| | SR78-18-3** | | | | 46 | 69.6 | 68.8 |
| | SR78-23-7-1** | BL, †† | BL, †† | BL, †† | 46 | 63.0 | 55.2 |
| 軟腐病発病組織 | SR78-5-2** | | | | 46 | 100 | 0 |
| | SR78-7-1** | | | | 46 | 100 | 0 |
| | SR78-11-2* | BL, †† | BL, †† | BR, †† | 46 | 100 | 0 |
| | SR78-15-1** | ± | BL, †† | BR, †† | 46 | 100 | 0 |
| | SR78-35-1* | BL, †† | BR, †† | BR, †† | 46 | 100 | 0 |
| | SR78-36-3* | | | | 46 | 100 | 0 |
| | SR78-40-2** | | | | 46 | 100 | 0 |
| | SR78-49-4* | ± | BL, †† | BL, †† | 46 | 100 | 0 |
| SR78-50-2** | BR, †† | BR, †† | BR, †† | 46 | 100 | 0 | |
| 対 照 無 接 種 | | - | - | - | 46 | 100 | 0 |

1), 2) 第21表参照, 3), 4) 第10表に同じ

以上のように、黒あし病の発病茎から分離した菌株の血清反応、主要細菌学的性質および病原性は前章の結果とよく一致したが、軟腐病の発病組織から分離した菌株のうち、かなりの数の菌株が抗加熱 Eca 血清と凝集反応を示し、36 °C で生育しない菌株が存在した点で前章の結果と異なった。

4. 小 結

黒あし病の無病種塊茎を生産する場合、本病の病徴から発病株の正確な診断法と、発病時期とその推移を細かく観察し、それによって圃場検診の時期を明らかにする必要がある。

北海道では、諸外国で黒あし病の主要な病原菌となっている *E. carotovora* ssp. *atroseptica*

のほかに、血清学的に特異な反応を示す *E. carotovora* ssp. *carotovora* の一系統菌(特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora*) および *E. chrysanthemi* が本病の病原菌となっている。

それぞれの病原菌による病徴は細部で異なる点があるが、基本的に変りは認め難い。すなわち、Leach (1931), Bonde (1950) が *E. carotovora* ssp. *atroseptica* による発病で詳細に観察しているように、本病は種塊茎の腐敗に始まり、次いでその腐敗部上に生じた茎の基部と維管束とが侵害されて黒あし症状を呈する。

塊茎の腐敗状態は *E. carotovora* ssp. *atroseptica* による発病で Jones (1907), Leach (1927, '31), あるいは木村・柳田 (1980a) が *E. carotovora* ssp. *atroseptica* による接種塊茎で観察しているように *E. carotovora* ssp. *atroseptica*

だけでなく、特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* の場合でもクリーム状に軟化腐敗し、*E. chrysanthemi* ではやや褐色を帯びたゼリー状であった。

3種類の病原菌で異なる病徴は *E. chrysanthemi* の場合、茎の空洞化を顕著に起こし、さらに *E. chrysanthemi* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* は *E. carotovora* ssp. *atroseptica* の場合に比較して、葉の黄化の程度が軽く、茎の伸長抑制の程度が軽い点であった。

E. carotovora ssp. *atroseptica* と特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* による発病推移については、Morse (1917)、Paine (1917)、Artschwager (1920) らが *E. carotovora* ssp. *atroseptica* による黒あし病について指摘しているように、北海道においても7月下旬になると新しく地上部に黒あし症状が発生することはほとんどない。この時期以降になると軟腐病が混発してくるが、軟腐病の侵入部位は接地小葉である(瀧元1927, 成田1958, 谷井1981)から、黒あし病のそれとは明らかに異なり、発病初期には両病害を容易に区別することができる。しかし、軟腐病の茎病斑が上下に伸長した末期症状では茎部維管束が褐変し、病斑も黒褐色に変化するため、診断は極めて困難となる。従って、圃場検診はこの時期までに実施する必要がある。

また、外見的な黒あし病発病株のほかに、軽症株が回復して外観上健全化した株があるので、圃場での発病株の診断と抜き取りに当たっては注意する必要がある。木村・柳田(1980a)も発病株の約8%はみかけ上健全化していたことを明らかにしている。

発病茎および塊茎など種々の検体から分離した多数の菌株を扱う場合、正確性だけでなく簡易・迅速性が要求される。*E. carotovora* ssp. *atroseptica* の同定に、加熱死菌を抗原とした抗血清によるスライドガラス凝集反応が有効である(Novakova 1957)と述べられている。本章の実験では抗加熱 Eca 血清による凝集反応は、

黒あし病発病茎からの分離菌株に関して前章の結果と一致し、有効であった。しかし、抗加熱 Eca 血清は前章の結果とは異なり、ジャガイモ軟腐病の発病茎および接地小葉から新たに分離した220菌株のうち、約28%のものと凝集反応を起こした(第18表)。このことはGraham (1972)も指摘しており、凝集反応は細菌学的性質(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)と組合せると、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* の定常的同定に使うことができるとしている。

そこで、凝集反応と36°Cにおける生育を含めて上記の3細菌学的性質との関係を第20表からみると、抗加熱 Eca 血清に対し反応陽性を示す軟腐病菌の大多数はマルトースおよび α -メチルグルコシドから酸を産生せず、ショ糖からの還元物質産生は陰性であったが、これら3性質が陽性で *E. carotovora* ssp. *atroseptica* とみなされる9菌株の軟腐病菌が存在するため、この組合せでは正確性を期し難い。しかし、凝集反応と36°Cにおける生育との関係をみると、反応陽性の軟腐病はすべて36°Cで生育し、例外菌株は存在しない。従って、抗加熱 Eca 血清による凝集反応にこの性質を組合せると *E. carotovora* ssp. *atroseptica* の同定に有効である。

なお、抗加熱 Eca 血清はこれと凝集反応を起こす軟腐病菌で吸収処理すると、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* だけと反応するようになるので、同菌の同定に用いることができる。

一方、抗加熱 Ecc-B 血清はジャガイモ軟腐病の発病茎および接地小葉から分離した220菌株のうち、発病茎から分離した3菌株と顕著な凝集反応を起こした(第20表)が、これらは36°Cで生育しないので、黒あし病菌である *E. carotovora* ssp. *carotovora* と判定できる。これら3菌株を分離した発病茎は、病徴の項で述べたように特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* が茎維管束を經由して、地上茎部の葉柄付着部柔組織に飛火的に形成されたものとみられる。木村柳田(1980a)は *E. carotovora* ssp. *atroseptica*

で、この症状が6～7月が多湿に経過した1975年に多く観察され、また通常年でも同時期に散水すると、多発したと報告している。

このように、抗加熱Ecc-B血清の反応特異性は抗加熱Eca血清のそれより高いが、前章の実験で抗加熱Ecc-B血清に対し顕著に反応し、36℃で生育する軟腐病菌(Ecc-S)5菌株が存在したので、抗加熱Ecc-B血清による凝集反応だけでは特異な*E. carotovora* ssp. *carotovora*を同定する上で正確さを期し難い。

さらに、本章の実験では、前章の結果と異なり、36℃で生育しない軟腐病菌が3菌株存在したので、この性質だけで*E. carotovora* ssp. *atroseptica*および特異な*E. carotovora* ssp. *carotovora*と軟腐病菌*E. carotovora* ssp. *carotovora*とを正確に鑑別することはできない。

以上のことから、*E. carotovora* ssp. *atroseptica*および特異な*E. carotovora* ssp. *carotovora*の同定に際し、それぞれの抗加熱菌血清による凝集反応あるいは36℃における生育試験では不十分であるが、両性質を組合せると正確な同定が可能である。その場合、最初に凝集反応で被

検菌株を篩いにかけて、次いで反応陽性のものについて36℃における生育試験を行なうと効率的である。

なお、本章では黒あし病菌の一つである*E. chrysanthemi*の鑑別診断については検討できなかった。しかし、この細菌は特徴ある多くの細菌学的性質を有するので、その同定は容易である。

発病部から病原菌を分離せず、直接発病茎あるいは塊茎を用いて*E. carotovora* ssp. *atroseptica*による本病の診断に、抗血清によるゲル内沈降反応(柳田1974, Vrugink・Mass Geeteranus1975, 上川ら1977)、凝集反応(Graham 1969, 上川ら1977)、蛍光抗体法(Allan・Kelman 1977, Vrugink・De Boer 1978)、ELISA法(Vrugink 1978)は有効であるとされ、また特異な*E. carotovora* ssp. *carotovora*による本病の診断に、ゲル内沈降反応および凝集反応が有効である(上川ら1977)と報告されている。本病の診断を迅速に行うため、これらの方法について*E. chrysanthemi*を含めて今後検討する必要がある。

V. 黒あし病菌の生態と伝搬

黒あし病の防除対策を確立するために、病原菌の生態を究明することが前提となる。本病はわが国で北海道に特異的に発生し、被害を与えているにもかかわらず、生態に関する研究は少なく、不明な点が多く残されている。

この章では本病の主要な伝染源とみられる土壌中での病原菌の越冬と生存の問題、塊茎からの病原菌の検出と発病との関係、発病株の株元土壌中における病原菌の存在および消長とそれによる新生塊茎汚染、最後に塊茎切断刀による接触伝搬等について検討した。

1. 黒あし病菌の土壌中における越冬と生存

黒あし病菌の土壌中での越冬と生存の可能性を明らかにするためには精度の高い方法によって、そこに存在する少数の病原菌を検出する必要がある。その方法として Meneley・Stanghellini (1967) はすぐれた増菌法を発表している。著者はこの方法を改変し、室内で土壌に接種した病原菌の検出を試み、改変法の精度を確認した上で、圃場における病原菌の越冬と生存について検討した。

1). 土壌に人工接種した病原菌の検出とその精度

段階希釈した病原菌懸濁液を、人工的に接種した土壌から土壌増菌法を用い病原菌を回収し、その検出・精度を検討した。

(1). 実験材料および方法

供試土壌は十勝農試圃場の褐色火山性土(土壌 pH 5.6, 土壌水分 25.6%)で、殺菌せずに用いた。供試病原菌は第7表に示した Eca 菌 (P-14 菌株) および Ecc-B 菌 (BNS-2-

2 菌株である。

各菌株は普通寒天斜面培地で培養(25°C, 48時間)し、殺菌水で2回遠心洗浄した菌体の懸濁液を調整し、これを25gの土壌に種々の菌量となるように接種した。

病原菌を検出するため、Meneley・Stanghellini (1967) の方法を次の様に改変した。すなわち、300 ml 容三角フラスコに接種土壌25gと殺菌水225mlを加えたのち、振とうしながら Na-ポリペクチト (Sigma 社製, Lot No. 117C-3878) 0.7 g, 10% (NH₄)₂SO₄ 溶液 2.5 ml, 10% K₂HPO₄ 溶液 2.5 ml および 5% MgSO₄・7H₂O 溶液 1.5 ml を順次加えた。最後に流動パラフィンを液面上に5~10mmの高さに重層し、ゴム栓で密封し、20°C 暗黒下で2~3日間静置し、増菌した。

この増菌液を軽く振り、その1,000倍希釈液0.1mlを表面の乾燥した Stewart 培地上の全面にL字型ガラス棒で塗布し、またその10倍稀釈液の1白金耳量を変法ドリガルスキー培地に画線し、25°Cで24~48時間培養した。

出現した細菌集落が接種細菌と同一のものが否かは、両培地上で病原菌と同一の集落性状を示した菌体を吸収抗加熱 Eca 血清および抗加熱 Ecc-B 血清とを用いてスライドグラス凝集反応を行ない、その結果によって判定した。

(2). 実験結果

第23表に示した結果によると、20°Cで3日間の土壌増菌をしたのち Stewart 培地を用いた場合、100%の検出率の認められた限界は Eca 菌で0.5~0.8 CFU/乾土1g, Ecc-B 菌で1.4~1.4 CFU/乾土1g, すなわち乾土1g 当り約1個の菌が存在したときである。従って、この土壌増菌法の検出限界は著しく高いと言える。

なお、20°Cで増菌した場合2日間の培養期間

第23表 接種土壌からの病原菌の検出（土壌増菌法）

| 区 分 ¹⁾ | 接種菌量 (CFU/乾土1g) | 接種病原菌の検出率 | | | | | |
|-------------------|--------------------|-----------|--------------------|-------|-----|--------------------|------|
| | | 増菌2日間 | | 増菌3日間 | | | |
| | | 反復数 | 供試培地 ²⁾ | | 反復数 | 供試培地 ²⁾ | |
| | | | S培地 | | | S培地 | MD培地 |
| Eca 接種 土 壌 | 0.1 | 20 | 0 | 10 | 90 | 90 | |
| | 0.5 ~ 0.8 | 20 | 0 | 10 | 100 | 90 | |
| | 1.5 ~ 1.7 | — | — | 10 | 100 | 100 | |
| | 14.6 ~ 18.1 | 20 | 0 | 10 | 100 | 100 | |
| | 68.4 ~ 80.2 | 10 | 100 | — | — | — | |
| Ecc-B接種 土 壌 | 0.1 ~ 0.2 | 10 | 0 | 10 | 80 | 65 | |
| | 0.4 ~ 1.4 | 20 | 0 | 20 | 100 | 95 | |
| | 11.0 ~ 15.2 | 20 | 0 | 10 | 100 | 100 | |
| | 41.4 ~ 48.4 | 10 | 100 | — | — | — | |
| 非接種標準土壌 | | 10 | 0 | 20 | 0 | 0 | |

1) 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,

2) S培地; Stewart培地, MD培地; 変法ドリガルスキー培地

では、3日間に比べて両供試菌（Eca および Ecc-B 菌）の検出限界は劣ったが、その場合でも 1 g の土壌中の菌数が 10^2 個以下のときでも検出できた。また、増菌液中の病原菌検出分離培地として変法ドリガルスキー培地を用いた場合には、Stewart 培地に比べて両者の検出率が劣った。これは他のグラム陰性細菌の増殖が著しいためであるが、その識別に充分な注意を払えば高価な Stewart 培地に代えることもできる。

2) 畑土壌からの病原菌の検出と土

壤中での越冬と生存の可能性

本病発生歴の異なる畑土壌中において病原菌が生存・越冬し、本病の伝染源となるか否かを明らかにするため、土壌増菌法を用いて病原菌の検出を行った。

(1) 実験材料および方法

試験圃場は十勝および網走地方の畑圃場と十勝農試圃場に設置した柵圃場（0.8 × 0.8 m）である。畑圃場では 1 筆当り 60 ~ 294 個所から、

柵圃場では 1 柵当り 6 ~ 9 個所から、それぞれ深さ約 5 cm の部位の土壌を採取し、実験に供した。

土壌はその圃場における作物の播種前から直後までの間（5月中旬～6月上旬）に採取し、充分に混合したのち、25g づつについて増菌処理を行ない、Stewart 培地あるいは変法ドリガルスキー培地を用いて病原菌を検出分離した。検出は各 1 ~ 20 反復した。病原菌の同定は既述（第二章）の方法により、2 ~ 8 菌株について行なった。また、畑圃場の土壌試料の場合には、変法ドリガルスキー培地を用いた希釈平板法によっても、その菌数を測定した。

なお、1976 および 77 年の調査では、畑および柵圃場の土壌の増菌処理を 25℃、2 日間行なった増菌液を、予め 500 倍昇水で 1 ~ 2 時間殺菌後半切した塊茎断面にあけた小穴（直径 5 mm × 深さ約 5 mm）に 0.2 ml づつ接種し、これを温室としたポリエチレン製バット中に 7 ~ 10 日間室温に保った。発生した腐敗部の一部を殺菌水中に懸濁し、変法ドリガルスキー培地上に画線培

養し、病原菌の分離を行なった。

また、1980年に行なった柁圃場の実験では、予め1,000倍昇汞水で1~2時間殺菌した塊茎(十勝馬鈴しょ原々種農場産の品種紅丸)を5月12日に1柁圃場当り8個を播種し、9月下旬に収穫した新生塊茎を用いて、後述の塊茎洗浄液増菌法によっても病原菌の検出を行なった。この場合、1柁圃場当り20個の塊茎を用い、1塊茎当り2~3菌株の分離菌株を簡易同定した。

(2). 実験結果

柁圃場の土壌からの病原菌の検出を試みた結果を第24, 25および26表に示した。

第24表で明らかのように、供試柁圃場では、1975年には *E. carotovora* ssp. *atroseptica* および血清学的に特異な反応を示す *E. carotovora* ssp. *carotovora* の一系統菌(特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora*)による黒あし病の発生が認められたが、その翌年の6月上旬に採取し

第24表 ジャガイモ黒あし病発生柁圃場の越冬後の土壌からの病原菌の検出(1976)

| 地名 | 供試柁圃場の黒あし病発生歴 | | 反復数 ²⁾ | 接種塊茎 ³⁾ 穴数合計 | 廃敗穴率 | 病原菌検出率 |
|---------------|-----------------------|-------|-------------------|----------------------------|------|--------|
| | 病原菌の種類 ¹⁾ | 発病株率 | | | | |
| 芽室町 (十勝農試) | 1975年 Ecc-B による黒あし病発生 | 64.9% | 3 | 48 | 0% | 0% |
| | 1975年 Eca による黒あし病発生 | 10.1 | 3 | 48 | 0 | 0 |
| 標準区(殺菌水添加) | | | | 48 | 0 | 0 |

1) Eca, Ecc-B; 第23表に同じ,

2) 1反復当り土壌25g,

3) 土壌増菌液を1反復当り半切したジャガイモ塊茎断面の16小穴に0.2mlづつ接種

た土壌の増菌液を塊茎接種した場合に、病原菌は全く検出されなかった。

また、第25表に示すように、前年に *E. carotovora* ssp. *atroseptica*、過去に特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* による黒あし病の発生

が認められた圃場でも、その翌年には土壌から病原菌は検出されず、さらに黒あし病の常発地帯である網走地方の5柁圃場の土壌からも、黒あし病に関係しない軟腐病菌が2柁圃場の土壌から検出されたのみで、病原菌は全く検出され

第25表 ジャガイモ黒あし病発生歴と栽培歴の異なる柁圃場の土壌からの病原菌の検出(1979)

| 地名 ¹⁾ | 供試柁圃場の黒あし病発生歴と栽培歴 ²⁾ | | | | 反復数 ³⁾ | 病原菌 ⁴⁾ 検出率 |
|------------------|---------------------------------|-------|-------|----------------|-------------------|--------------------------|
| | 1975年 | 1976年 | 1977年 | 1978年 | | |
| 小清水町* | | | | | 1 | 0% |
| 小清水町* | | | | | 1 | 0** |
| 清里町* | | | | | 1 | 0 |
| 嘉多町* | | | | | 1 | 0** |
| 斜里町* | | | | | 1 | 0 |
| 芽室町 (十勝農試) | ジャガイモ (Ecc-B) | インゲン | ジャガイモ | ジャガイモ (Eca) | 1 | 0 |

1) * : 網走地方, 2) Eca, Ecc-B; 第23表に同じ, 空欄は黒あし病発生歴と栽培歴が不明,

3) 1反復当り土壌25g, 4) **: 軟腐病菌のみが検出される

なかった。

1980年には、過去に3種類の病原菌による黒あし病の発生が認められた圃場を供試したが、

それらの土壌からも病原菌は全く検出されず、わずかに1圃場の土壌から、黒あし病に関係のない軟腐病菌が検出された(第26表)。

第26表 ジャガイモ黒あし病発生歴と栽培歴の異なる畑圃場の土壌からの病原菌の検出(1980)

| 地名 | 供試畑圃場の黒あし病発生歴と栽培歴 ¹⁾ | | | | | 反復数 ²⁾ | 病原菌検出率 ³⁾ |
|---------------|---------------------------------|----------------|------------|---------------------------------|-------|-------------------|----------------------|
| | 1975年 | 1976年 | 1977年 | 1978年 | 1979年 | | |
| 芽室町 (十勝農試) | インゲン | ジャガイモ | ダイズ アズキ | ジャガイモ (Eca) | ダイズ | 20 | 0 [*] |
| 芽室町 (十勝農試) | アズキ | ジャガイモ (Eca) | インゲン | ジャガイモ (Eca Ecc-B Echr) | インゲン | 20 | 0 |
| 芽室町 (十勝農試) | ダイズ | ジャガイモ (Eca) | アズキ | ジャガイモ | ジャガイモ | 20 | 0 |
| 芽室町 (十勝農試) | ジャガイモ (Eca Ecc-B) | インゲン | ジャガイモ | ジャガイモ | ジャガイモ | 20 | 0 [*] |

- 1) Eca, Ecc-B ; 第23表に同じ, Echr ; *E. chrysanthemi*,
- 2) 1反復当り土壌25g,
- 3) * ; 軟腐病菌のみが検出される

なお、変法ドリガルスキー培地を用いた希釈平板法(土壌希釈倍数、 $\times 10^3$)では、上記のすべての畑圃場の土壌から病原菌および軟腐病菌は検出されなかった。

畑圃場の土壌からの病原菌の検出を試みた結果を第27、28および29表に示した。

第27表で明らかなように、1975年に *E. carotovora* ssp. *atroseptica* による発病茎を多量に混入した畑圃場の土壌を供試したが、翌年(1976)年には軟腐病菌が検出されたが、黒あ

し病菌は全く検出されなかった。また、1975年に *E. carotovora* ssp. *carotovora* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* による発病茎を多量に混入した畑圃場の土壌、両病原菌による発病畑の土壌を混入した畑圃場の土壌、および1975および'76年に特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* による黒あし病の発生が認められた畑圃場の土壌からも、1977年の春には黒あし病菌は全く検出されなかった(第28表)。

第27表 ジャガイモ黒あし病発病茎を混入した畑圃場の越冬後の土壌からの病原菌の検出(1976)

| 供試畑圃場の前年の処理 ¹⁾ | 反復数 ²⁾ | 接種塊茎穴数合計 ³⁾ | 腐敗穴率 | 病原菌検出率 ⁴⁾ |
|---------------------------|-------------------|------------------------|-----------------|-----------------------------|
| 1975年秋期にEcaによる発病茎を多量に混入 | 3 | 48 | 17 [%] | 0 [*] [%] |
| 標準区(殺菌水添加) | | 48 | 0 | 0 |

- 1) Eca ; 第23表に同じ,
- 2) 1反復当り土壌25g,
- 3) 土壌増菌液を1反復当り半切したジャガイモ塊茎断面の16小穴に0.2 mlづつ接種,
- 4) * ; 軟腐病菌のみが検出される

第28表 ジャガイモ黒あし病発生歴および処理の異なる柵圃場の
の土壌からの病原菌の検出 (1977)

| 供試柵圃場の黒あし病 発生歴と処理 ¹⁾ | 反復数 ²⁾ | 接種塊茎穴数合計 ³⁾ | 腐敗穴率 | 病原菌検出率 ⁴⁾ |
|------------------------------------|-------------------|------------------------|------|----------------------|
| 1975, '76年Ecc-Bによる 黒あし病発生 | 2 | 14 | 0 % | 0 % |
| 1975年Ecc-Bによる発病 茎を多量に混入 | 2 | 14 | 0 | 0 |
| 1975年Ecc-B発病畑の上 壤を混入 | 2 | 14 | 0 | 0 |
| 1975年Ecaによる発病 茎を多量に混入 | 2 | 14 | 36 | 0* |
| 1975年Eca発病畑の上 壤を混入 | 2 | 16 | 0 | 0 |
| 標準区 (殺菌水添加) | | 90 | 0 | 0 |

- 1) Eca, Ecc-B; 第23表に同じ,
 2) 1反復当り土壌25g,
 3) 土壌増菌液を1反復当り半切したジャガイモ塊茎断面の7~8小穴に0.2mlづつ接種,
 4) * ; *Pseudomonas* 属細菌のみが検出される

1980年には、過去に3種類の病原菌による黒あし病の発生が認められた柵圃場の土壌およびその柵圃場に殺菌塊茎を栽培して収穫した新生塊茎からも、病原菌は全く検出されなかった。

わずかに2つの柵圃場産の新生塊茎から、黒あし病には関係のない軟腐病菌が検出された(第29表)。

第29表 ジャガイモ黒あし病発生歴、処理の異なる柵圃場の土壌
および柵圃場産新生塊茎からの病原菌の検出 (1980)

| 供試柵圃場の黒あし 病発生歴と処理 ¹⁾ | 土壌増菌法による検出 ²⁾ | | 新生塊茎の塊茎洗浄液増菌法による検出 ⁴⁾ | |
|------------------------------------|--------------------------|--------|----------------------------------|------------------------|
| | 反復数 ³⁾ | 病原菌検出率 | 供試塊茎数 | 病原菌検出塊茎率 ⁵⁾ |
| 1977年Eca, Ecc-B, Echr による黒あし病発生 | 4 | 0 % | 20 個 | 0 % |
| 1977年Ecaによる黒あし 病発生 | 4 | 0 | 20 | 0 |
| 1975, '76, '77年Ecc-Bによ る黒あし病発生 | 4 | 0 | 20 | 0 |
| 1977年Echrによる黒あし 病発生 | 4 | 0 | 20 | 0* |
| 1975年Ecc-Bによる発病 茎を多量に混入 | 4 | 0 | 20 | 0* |
| 1975年Ecc-B発病畑の上 壤を混入 | 4 | 0 | 20 | 0 |
| 1975年Ecaによる発病 茎を多量に混入 | 4 | 0 | 20 | 0 |
| 1975年Eca発病畑の上 壤を混入 | 4 | 0 | 20 | 0 |

- 1) Eca, Ecc-B, Echr; 第23, 26表に同じ,
 2) 土壌を5月31日に採取, 3) 1反復当り土壌25g,
 4) 新生塊茎を9月下旬に採取,
 5) * ; 軟腐病菌のみが検出される

以上のように、4年間に畑および柵圃場の土壌を用いて行なった黒あし病菌の検出実験では、軟腐病菌が検出されることはあったが、すべての畑および柵圃場の供試土壌からは、前項で述べた土壌増菌法の検出精度にもかかわらず、いずれの黒あし病菌も検出されなかった。このことから、黒あし病菌が土壌中で越冬し、生存している可能性は殆んどないと言える。

2. 塊茎からの病原菌検出と発病

前項の結果から、前年の発病畑土壌中で病原菌が越冬・生存している可能性は殆んど考えられない。次に考えられる伝染源は塊茎である。ここでは、塊茎伝染の実態を明らかにするため、前述の土壌増菌法を応用した方法によって、病原菌検出と発病との関係および塊茎における病原菌の存在部位とその生存について検討した。

1). 塊茎からの病原菌の検出方法の比較

塊茎の表面を汚染および塊茎感染している黒あし病菌の存否を明らかにするため用いる病原菌の検出方法として、塊茎の洗浄液を増菌する方法と Perombelom (1972 b) 法に準じた方法とを用いて、病原菌の検出精度の比較を行なった。

(1). 実験材料および方法

供試塊茎は芽室町十勝農試で収穫された品種メークイン、農林1号、男しゃく薯およびタルマエである。各品種の塊茎のうちから任意に選んだ50個について、次の2方法で病原菌の検出を試みた。

① 塊茎洗浄液増菌法：1個の塊茎(40~80g)の表面を10mlの殺菌水中で殺菌した刷毛で十分に洗浄し、洗浄液の全量を100mlの殺菌水を容れた200ml容三角フラスコに加えた。これに既述のNa-ポリペクチト0.3g、10%(NH₄)₂SO₄溶液1ml、10%K₂HPO₄溶液1mlおよび5%MgSO₄・7H₂O溶液0.5mlを振とうしながら順次加え、土壌増菌法と同じように増

菌を図った。

② 塊茎腐敗増菌法：Perombelom (1972 b)の方法に準じ、純水で湿めさせたティッシュペーパーで塊茎(非殺菌)を包み、1個ずつポリエチレン製の袋にいれ輪ゴムで密封する。密封塊茎はさらに検定塊茎集団ごとに大型のポリエチレン製の袋にいれ輪ゴムで密封した。これを17~20℃の暗所に6~7日間静置し、塊茎の腐敗を起こさせた。腐敗塊茎は直ちに、あるいは輪ゴムをはずして24時間室温に静置した後その腐敗部を殺菌水中に懸濁した。懸濁液の1白金耳量を変法ドリガルスキー培地に画線するか、その0.1mlを表面を乾燥させたStewart培地上の全面にL字型ガラス棒を用いて塗布した。これらの培地上で病原菌特有の性状を示す集落をジャガイモ塊茎切片に接種し、病原性を確認するとともに、1塊茎から分離された1~2菌株の純粋培養菌株を選び、既述(第II章)の方法に従って簡易同定した。

(2). 実験結果

供試塊茎からは黒あし病菌が全く検出されなかったため、黒あし病菌の検出方法として両法の精度は比較できなかった。

ただし、黒あし病には関与しない軟腐病菌の検出状態には差が認められた。軟腐病菌は、塊茎腐敗増菌法によっては供試4品種のいずれの塊茎からも検出されなかった。しかし、同菌は塊茎洗浄増菌法ではメークインおよび農林1号2品種のそれぞれ10および4%の塊茎から検出された。

従って、塊茎洗浄液増菌法は塊茎腐敗増菌法に比べて、少なくとも軟腐病菌の場合に検出精度がすぐれていると思われる。黒あし病菌は軟腐病菌と生物学的諸性質が著しく類似する点があるので、塊茎洗浄液増菌法は黒あし病菌の検出にも利用できるものと判断される。

2). 黒あし病の発生圃場産の塊茎からの病原菌検出と発病

この実験は前年の黒あし病の発生程度と、その畑で生産された塊茎からの病原菌検出率と、検定塊茎母集団の塊茎を栽培した場合の当年の発病状況に相関が認められるか否かについて検討し、黒あし病の伝染源として塊茎が果している役割を明らかにする目的で行なった。実験は1977～'79年の3年間実施した。

(1). 実験材料および方法

実験Ⅰは中標津町産の品種エニワを供試して1977年に、実験Ⅱは芽室町(十勝農試)産の品種エニワを用いて1978年に、実験Ⅲは芽室町(十勝農試)産の品種タルマエおよび紅丸を用いて1979年に行なった。

病原菌の検出は、前年に発病程度の異なる畑で生産された塊茎を、土中(実験Ⅰ)あるいは、むろ(実験Ⅱ、Ⅲ)から搬出後、播種直前から直後までの期間に行なった。

病原菌の検出方法は、実験Ⅲでは前述の塊茎洗浄液増菌法を用い、実験ⅠおよびⅡでは塊茎洗浄液増菌法の増菌処理を25℃、2日間とし、いずれの場合にも増菌液0.2 mlを殺菌(昇永水1,000倍液、1～2時間)したジャガイモ塊茎の切片に接種し、その腐敗部を殺菌水中に懸濁し、これを変法ドリガルスキー培地に画線培養(25℃、48時間)することによって病原菌の検出分離を行なった。病原菌の同定は既述(第Ⅱ章)の方法

により、1塊茎当り2～3菌株について行なった。

さらに、病原菌の検出に用いた塊茎母集団の塊茎を半切し、十勝農試(褐色火山性土)で栽培した。実験区は各区16.7～41.8 m²(66～165株)、畦巾60cm×株間40cmとし、肥培管理および一般病害虫防除は農試標準耕種法に準じ、7月上旬～8月上旬に発病状況を調査した。

(2). 実験結果

第30表に実験Ⅰの結果を示した。供試塊茎を採取した圃場の前年(1976年)の発病株率は6.6%であったが、病原菌(Eca)は土中貯蔵後に21.4%の供試塊茎から検出され、この塊茎母集団の塊茎を栽培した圃場での発病株率は13.8%であった。

第31表には実験Ⅱの結果を示した。供試塊茎は、1977年の発病株率がそれぞれ4.6および21.7%の畑で収穫されたものであるが、そのいずれからもむろ貯蔵後に病原菌が検出されなかった。また、同一母集団の塊茎を播種したところ、発病は全く認められなかった。

第32表には実験Ⅲの結果を示した。発病株率0、0.0、13.6および35.6%を示した圃場産塊茎を供試したが、それらからむろ貯蔵後に病原菌は全く検出されず、またそれらの母集団塊茎を播種した圃場における同年の発病株率は、0、1.8、0.8および0.4%にすぎなかった。

以上のように、発病圃場産の塊茎からの病原菌検出率は前年の圃場での発病株率とは相関が

第30表 塊茎洗浄液増菌法による塊茎からの病原菌検出状況と検定塊茎母集団の塊茎を播種した圃場におけるジャガイモ黒あし病発生状況(実験Ⅰ, 1977)

| 供試品種 ¹⁾ | 塊茎採取圃場の前年の黒あし病発病株率(分離病原菌) | 検定塊茎数 | 病原菌検出率 | | | | 検定塊茎母集団の塊茎の圃場における黒あし病発病株率(分離病原菌) |
|--------------------|---------------------------|-------|---------------------|-------|------|--------|----------------------------------|
| | | | 病原菌の種類 | | | | |
| | | | 黒あし病菌 ²⁾ | | 軟腐病菌 | | |
| | | | Eca | Ecc-B | Echr | Ecc-S | |
| エニワ | 6.6 (Eca) % | 28 個 | 21.4 % | 0 % | 0 % | 25.0 % | 13.8 % (Eca) |

1) 中標津町産塊茎, 2) Eca, Ecc-B, Echr: 第23, 26表に同じ

認められなかったが、播種期に病原菌検出率のことは、発病地で病原菌による塊茎汚染また高い塊茎を栽培した場合、発病も多かった。こは感染が起きているか、あるいは土中貯蔵中

第31表 塊茎洗浄液増菌法による塊茎からの病原菌検出状況
と検定塊茎母集団の塊茎を播種した圃場におけるジャガイモ黒あし病発生状況（実験Ⅱ，1978）

| 供試品種 ¹⁾ | 塊茎採取圃場の前年の黒あし病発病株率 (分離病原菌) | 検定塊茎数 | 病原菌検出率 | | | | 検定塊茎母集団の塊茎の圃場における黒あし病発病株率 (分離病原菌) |
|--------------------|-------------------------------|-------|---------------------|-------|------|-------|--------------------------------------|
| | | | 病原菌の種類 | | | | |
| | | | 黒あし病菌 ²⁾ | | | 軟腐病菌 | |
| | | | Eca | Ecc-B | Echr | Ecc-S | |
| エニワ | 4.6 (Eca) | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 (-) |
| エニワ | 21.7 (Eca) | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 (-) |

- 1) 芽室町(十勝農試)産塊茎,
2) Eca, Ecc-B, Echr; 第23, 26表に同じ

第32表 塊茎洗浄液増菌法による塊茎からの病原菌検出状況
と検定塊茎母集団の塊茎を播種した圃場におけるジャガイモ黒あし病の発生状況（実験Ⅲ，1979）

| 供試品種 ¹⁾ | 塊茎採取圃場の前年の黒あし病発病株率 (分離病原菌) | 検定塊茎数 | 病原菌検出率 | | | | 検定塊茎母集団の塊茎の圃場における黒あし病発病株率 (分離病原菌) |
|--------------------|-------------------------------|-------|---------------------|-------|------|-------|--------------------------------------|
| | | | 病原菌の種類 | | | | |
| | | | 黒あし病菌 ²⁾ | | | 軟腐病菌 | |
| | | | Eca | Ecc-B | Echr | Ecc-S | |
| タルマエ | 0.0 (Eca) | 50 | 0 | 0 | 0 | 4.0 | 1.8 (Eca) |
| タルマエ | 13.6 (Eca) | 50 | 0 | 0 | 0 | 60.0 | 0.8 (Eca) |
| タルマエ | 35.6 (Eca) | 50 | 0 | 0 | 0 | 14.0 | 0.4 (Eca) |
| 紅丸 | 0 (-) | 50 | 0 | 0 | 0 | 2.0 | 0 (-) |

- 1) 芽室町(十勝農試)産塊茎,
2) Eca, Ecc-B, Echr; 第23, 26表に同じ

に汚染が起こったものと考えることができる。

3). 塊茎における病原菌の存在

部位とその生存

前項の結果では黒あし病の発病圃場から収穫

した塊茎でも、翌年の播種期前後に病原菌は全く検出されない場合が多かった。この原因を明らかにするため、発病株、それに隣接した外観健全株および発病圃場産の塊茎を供試し、塊茎の表面、皮目およびストロン付着部の各部位毎

に、収穫後と風乾処理後(43日後)に病原菌の検出を行なった。この実験は1982年に実施した。

(1). 実験材料および方法

供試塊茎は Eca および Ecc-B 菌を既述(第Ⅲ章)の竹串法によって接種した塊茎を十勝農試圃場で栽培し、これから各発病株および外観健全株から収穫した品種男しゃく薯、および帯広市川西の *E. chrysanthemi* による発病圃場(採種圃場、7月14日での発病株率は約16%)から収穫した品種トヨシロである。

十勝農試圃場塊茎は8月27日に収穫し、2区分し、その一方からは直ちに、他方は作業室内で43日間の風乾処理後に病原菌の検出を行なった。帯広市川西の圃場産の塊茎は、8月26日に畦に沿って連続的に1株当り2個ずつ収穫して2区分し、その一方を4℃に7日間保管後に、他方は作業室内で43日間風乾した後に病原菌の検出を行なった。

病原菌の検出には塊茎洗浄液増菌法を用いたが、皮目部の汚染およびストロン付着部の感染の有無を明らかにするため、塊茎洗浄液増菌法に供した同一塊茎を Burr・Schroth (1977)の方法によって検出した。すなわち、塊茎のストロン付着部位および皮目部(塊茎1個当り10皮目)を殺菌楊枝で約3mmの深さに突き刺し、これを Stewart 培地上になすりつけ、24~48時間培養し、病原菌の検出分離を試みた。

培地上に生じた病原菌特有の集落は、吸収抗加熱 Eca 血清および抗加熱 Ecc-B 血清を用いてスライドグラス凝集反応を行ない、その結果から Eca および Ecc-B 菌を判定した。

また、*E. chrysanthemi* は発病茎から分離し、同種と簡易同定した菌株の加熱(100℃, 30分間)菌を抗原として新たに作製した抗血清によるスライドグラス凝集反応とラクトースからの酸産生試験の結果から判定した。

第33表 ジャガイモ黒あし病発病株、その隣接外観健全株および発病圃場産塊茎からの収穫直後および風乾後における病原菌の検出状況(1982)

| 1) 供試品種 | 2) 病原菌の種類 | 塊茎採取産別 | 4) 病原菌検出率 | | | | | | | |
|---------|-----------|------------|-------------|-----------------|-----------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | | | 塊茎風乾前(収穫直後) | | | | 塊茎風乾43日後 | | | |
| | | | 検定塊茎数 | 3) 病原菌検出部位 | | | 検定塊茎数 | 病原菌検出部位 | | |
| 表面 | 皮目 | ストロン | | 表面 | 皮目 | ストロン | | | | |
| * 男しゃく薯 | Eca | 発病株 | 15 個 | 60% (100)*** | 0% (0) | 0% (0) | 20% (20) | 5% (0) | 5% (0) | 5% (0) |
| | | 発病株隣接外観健全株 | 15 | 73 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 20 | 0 (5) | 0 (0) | 0 (0) |
| | Ecc-B | 発病株 | 15 | 67 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 20 | 0 (0) | 0 (0) | 5 (0) |
| | | 発病株隣接外観健全株 | 15 | 73 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 20 | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| ** トヨシロ | Echr | 発病圃場 | 15 | 15 (100) | 0 (0) | 5 (0) | 20 | 0 (5) | 0 (5) | 0 (0) |

1) * : 芽室町(十勝農試)産塊茎, ** : 帯広市川西産塊茎,
 2) Eca, Ecc-B, Echr : 第23, 26表に同じ,
 3) ストロン : 塊茎のストロン付着部位,
 4) *** : ()内の数値は軟腐病菌の検出率

(2). 実験結果

第33表で明らかのように、収穫直後の塊茎を対象とした場合、塊茎洗浄液増菌法によるEca菌の検出塊茎率はEca発病株および隣接外観健全株産の塊茎で、それぞれ60および73%であった。また、Ecc-B菌の検出塊茎率はEcc-B発病株および隣接外観健全株産の塊茎で、それぞれ67および73%を示し、極めて高率であった。しかし、43日間の風乾処理後には、Eca菌はEca発病株産の塊茎の5%から検出されたが、隣接外観健全株産の塊茎から検出されず、またEcc-B菌はその発病株および隣接外観健全株の塊茎からも検出されなくなった。さらに、*E. chrysanthemi*発病圃場産塊茎の場合も、同菌は収穫直後にその15%の塊茎から検出されたが、43日間の風乾処理後には全く検出されなくなった。

一方、皮目部からは収穫直後には供試したいずれの塊茎からも、病原菌は検出されなかった。また、風乾処理後の場合、Eca発病株産塊茎ではその5%からEca菌が検出されたが、他の塊茎では皮目部から病原菌が検出されなかった。

ストロン付着部位からは、収穫直後の塊茎の場合EcaおよびEcc-B菌は、いずれの供試塊茎からも検出されなかったが、*E. chrysanthemi*は同菌による発病圃場産塊茎の5%から検出された。しかし、風乾処理後の塊茎でEcaおよびEcc-B菌は、各菌による発病株産塊茎からそれぞれ5%検出された。

以上のことから、3種類の黒あし病菌は収穫直後においては塊茎に表在し、汚染しているが、それらは収穫後に塊茎を風乾すると急速に死滅すると言える。しかしながら、風乾後の塊茎のストロン付着部位および皮目部から低率であるが、病原菌が検出されたことは注目される。なお、第33表に付記したようにこれらの塊茎はすべて収穫後に軟腐病菌が検出されたが、43日間の風乾処理によって、黒あし病菌と同じように検出されなくなった。

3. 黒あし病発病株の株元土壌における病原菌の存在と新生塊茎の汚染

黒あし病菌を接種した塊茎から発生した発病株の株元土壌における病原菌の存在を明らかにするとともに、それによる新生塊茎の汚染状態について検討した。実験は1980年、十勝農試圃場（褐色火山性土）で実施した。

1). 実験材料および方法

供試塊茎は十勝馬鈴しょ原々種農場産の品種紅丸で、1,000倍昇汞水で1~2時間表面殺菌し、十分に水洗したものである。供試病原菌はEcaおよびEcc-B菌の2種類の黒あし病菌である。

各病原菌の懸濁液（約 10^9 CFU/ml）を6本束の竹串で約5mmの深さに、供試塊茎1個当り3個所にせん刺した。接種塊茎は4℃に2~3日保存後の5月12日に切断せず、殺菌健全塊茎を播種した12畦の両端に、それぞれ2畦（1畦当り23株）づつ点播した。実験圃場の栽植密度は畦巾60cm×株間40cmとし、肥培管理および一般病害虫防除は農試標準耕種法に準じた。

土壌は発病株（12株）の株元の深さ約5cmの部分から、5月中旬~9月中旬の間、所定の時期に採取した。採取土壌は十分に混合し、土壌増菌法によって病原菌の検出を行ない、検出は3反復した。病原菌の同定は既述（第II章）の方法により、増菌土壌1反復当り約10個の病原菌特有の集落を分離して純粋培養し、黒あし病菌と軟腐病菌を判定した。また、供試土壌中の軟腐性*Erwinia*菌の菌数を、変法ドリガルスキー培地を用いた希釈平板法によって測定した。なお、Ecc-B接種塊茎の播種区では、黒あし病の発生が認められなかったので、外観健全株の株元土壌を採取した。

新生塊茎の汚染状態は9月29日に、各畦番号別に任意に採取した21個の塊茎について調査した。EcaおよびEcc-B接種塊茎播種区では、それぞれの畦から任意に採取した17および21個の塊茎について行なった。採取した塊茎は4℃に

保存し、11月13日までに塊茎洗浄液増菌法で病原菌の検出を行ない、1塊茎1～4菌株を上記と同じように簡易同定した。

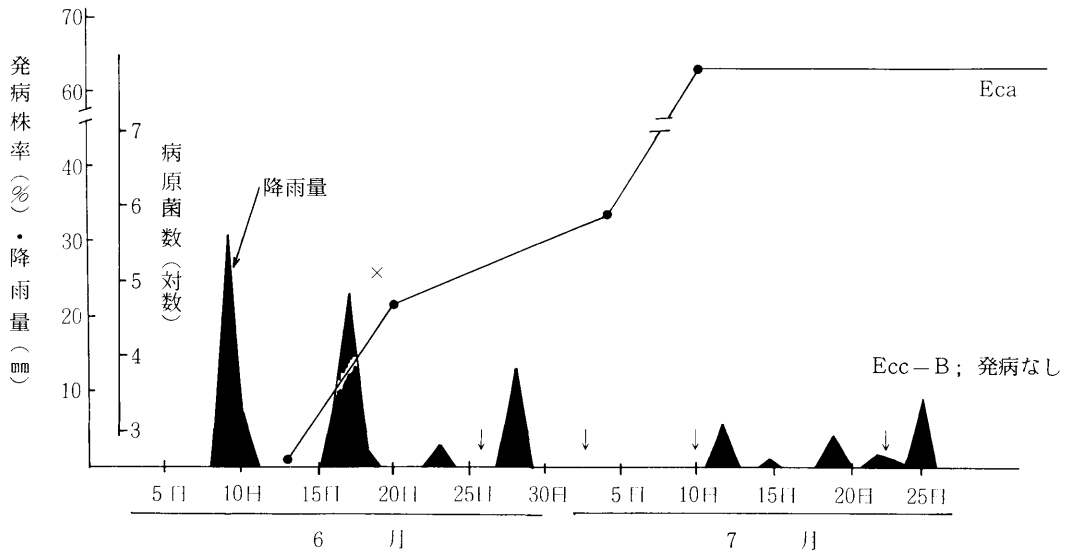
なお、実験期間の毎日の降雨量は芽室地域気象観測地点の測定値を使用した。

2). 実験結果

実験結果を第10図および第34表に示した。第

10図に示されているように、Eca 接種塊茎の播種区では6月13日に黒あし病の初発生が認められ、その後急激に発病株率が増加した。

しかし、Ecc-B 接種塊茎の播種区では黒あし病の発生は全く認められなかった。これは接種に供試した菌株が1972年に分離したもので、継代培養によって病原性を失ったためとみられる。



第10図 ジャガイモ黒あし病の発病推移、株元土壌における病原菌の変動および日別降雨状況 (1980)

注) Eca, Ecc-B; 第3図に同じ, ●-●; Ecaによる黒あし病の発病株率推移, ↓; 希釈平板法によってEcaおよびEcc-Bは検出されない, ×; Eca菌数(CFU/乾土1g)

希釈平板法を用いた検出結果(第10図)によると、Eca発病株の株元土壌中から6月19日に 10^5 CFU/乾土1gの軟腐性 *Erwinia* 菌が検出されたが、それ以降には検出されなかった。また、Ecc-B 接種塊茎播種区における外観健全株の株元土壌中からは、各採取時期で軟腐性 *Erwinia* 菌は全く検出されなかった。

土壌増菌法を用いた検出結果(第34表)によると、Eca発病株の株元土壌中から6月19日および6月26日にEca菌が検出されている。このことから、希釈平板法で6月19日に 10^5 CFU/乾

土1g台で検出された軟腐性 *Erwinia* 菌は、そのほとんどがEca菌であると言える。これらの病原菌は、播種翌日(5月13日)に採取した土壌からは全く検出されていないので、その接種塊茎の感染腐敗部あるいはその発病茎に由来したものと言える。6月19日に多量に検出されたEca菌は、6月16～18日の3日間におよんだ降雨(34mm)によって、土壌中に放出されたものとみられる。しかし、病原菌は6月26日には土壌増菌法によってのみ検出し得る菌量にまで低下している。土壌中でEca菌は急速にその活

性を失ったとみられる。

第34表 Eca 発病株の株元土壌および Ecc-B 接種塊茎の外観健全株の株元土壌からの病原菌の検出（土壌増菌法¹⁾，1980）

| 土壌採取月日 (播種後日数) | Eca 発病株の株元土壌 | | Ecc-B, 外観健全株の株元土壌 ³⁾ | |
|---------------------|-------------------|-----------------------|---------------------------------|-------------------------|
| | 土壌水分 | Eca の検出 ¹⁾ | 土壌水分 | Ecc-B の検出 ²⁾ |
| 5 月 13 日 (1 日) | 28.7 [*] | — | 28.7 [*] | — |
| 6 月 19 日 (38 日) | 30.3 | + | 30.9 | + [*] |
| 6 月 29 日 (45 日) | 27.5 | + | 28.1 | — |
| 7 月 3 日 (52 日) | 25.3 | (—) | 27.3 | — |
| 7 月 10 日 (59 日) | 27.3 | — | 26.9 | — |
| 7 月 23 日 (72 日) | 29.3 | (—) | 29.5 | (—) |
| 9 月 2 日 (113 日) | 30.5 | (—) | 30.9 | (—) |
| 9 月 18 日 (129 日) | 23.7 | (—) | 20.0 | (—) |

1) 供試増菌土壌25g, 3反復,

2) Eca, Ecc-B; 第23表に同じ,

—; 検出されない, +; 検出される, *; 1反復で検出,

(—); 軟腐病菌のみ検出される,

3) 接種塊茎の播種区に発病がみられない

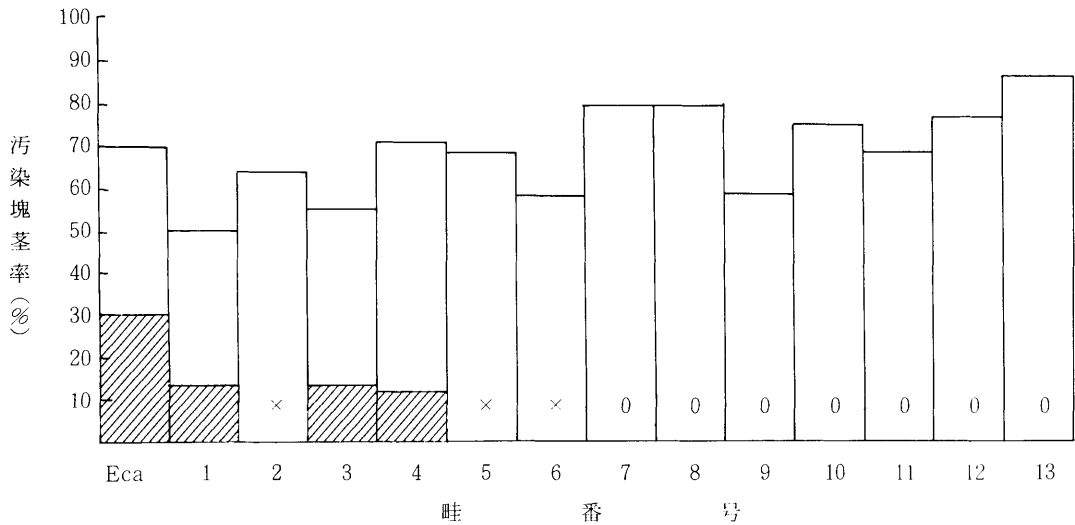
Ecc-B 接種塊茎の播種区では、外観健全株の株元土壌中から、土壌増菌法によって6月19日に Ecc-B 菌が検出された。この病原菌も播種1日後に採取した土壌からは全く検出されないの、接種塊茎に由来したものと言える。特に、この区では黒あし病の発生が全く認められなかったの、接種塊茎は土壌中で腐敗が停止し、6月26日には検出されなくなったと推察される。また、このことから、6月19日に検出された Ecc-B 菌も Eca 菌の場合と同じように、土壌中では急速に活性を失い死滅したものと考

えられる。

なお、Eca 発病株の株元土壌中では7月23日以降に、また Ecc-B 接種塊茎の外観健全株の株元土壌中でも、7月23日以降には軟腐病菌のみが検出されるようになった。初期の黒あし病菌から後期には軟腐病菌への交代遷移現象が認められた。

Eca および Ecc-B 接種塊茎播種畦の間の12畦から収穫した新生塊茎は、第11図に示すように、Eca 菌による発病畦から4畦にまで供試塊茎の9.5～14.3%がEca菌によって汚染され

ていた。



第11図 新生塊茎の病原菌による汚染状況

注) Eca: *E. carotovora* ssp. *atroseptica*

接種塊茎を播種し、発病した畦,

Ecc-B: 血清学的に特異な反応を示す

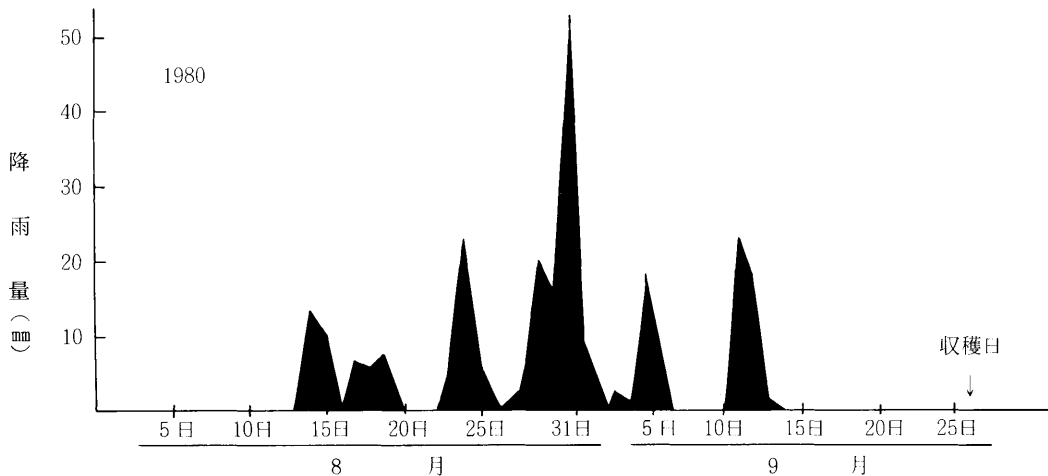
E. carotovora ssp. *carotovora* の一系統菌接種塊茎を播種した畦 (発病なし),

▨ ; Eca 菌による汚染塊茎率,

□ ; 軟腐病菌による汚染塊茎率,

0 ; Eca および Ecc-B は検出されない,

× ; 調査しなかった畦



第12図 8月から塊茎収穫日までの期間の日別降雨状況

これは、この年の8月から9月の収穫日までの間に連続して多量の降雨があり（第12図）、これによって発病株からEca菌が土壤中を移動し、新生塊茎を汚染したと推察される。また、Eca接種塊茎播種区の新生塊茎は、その29.4%がEca菌によって汚染されていた。一方、Ecc-B接種塊茎播種区では同菌による発病が認められず、従ってこの区から収穫した新生塊茎からEcc-B菌は検出されなかった。

以上の結果から、病原菌はそれを接種した塊茎の感染腐敗部あるいはその発病茎から土壤中に放出される。しかし、土壤中では急速に活性を失ったが、Eca菌は近接した畦の健全株の新生塊茎を汚染した。また、病原菌接種塊茎の播種区では、その発病株および外観健全株の株元土壤中において黒あし病菌から軟腐病菌への交代遷移現象が認められ、軟腐病菌はジャガイモの生育中期以降（7月中旬）にその活動が高まった。

4. 黒あし病菌の切断刀による接触伝搬と発病

黒あし病菌 *E. carotovora* ssp. *atroseptica* によって汚染された切断刀を用いると、健全塊茎に接触伝搬が起こり、発病が起こることは既に報告されている（Smith 1950, 尾崎ら1973）しかし、特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* および *E. chrysanthemi* については明らかにされていない。ここでは *E. carotovora* ssp. *atroseptica* を対照菌として、他の2種類の黒あし病菌が切断刀によって接触伝搬するか否かについて検討した。

1). 実験材料および方法

実験は1955年（実験-I）および'77年（実験-II）に実施したが、供試病原菌はEca, Ecc-B および Echr 菌から選んだ代表菌株である。切断刀はステンレス製の包丁、供試塊茎（十勝馬鈴しょ原々種農場産の品種紅丸）は昇

汞1,000倍液で約1時間殺菌し、十分に水洗したものである。

実験-IではEcaおよびEcc-B菌を接種して腐敗させた塊茎を切断刀で切断し、これを用いて連続的に7個の塊茎を切断した。実験は各菌について3反復した。

実験-IIでは健全塊茎をすりつぶして得られた汁液に各病原菌Eca, Ecc-B および Echr 菌を混入し、この混入液を刷毛で塗布した切断刀を用いて切断した。各菌当り10~20個の塊茎を用い、無処理標準区では40個とした。

両実験ともに、半切塊茎を切断後直ちに直径15cmのポットに播種（6月上~中旬）し、ビニールハウス内で栽培管理し、9月上~中旬に地上茎部での発病と地際茎部の維管束褐変を調査した。発病茎および地際茎部の維管束褐変茎からは、変法ドリガルスキー培地を用いた画線培養法によって再分離を行ない、培地上に生育した軟腐性 *Erwinia* 菌特有の集落を抗加熱Eca血清および抗加熱Ecc-B血清によるスライドグラス凝集反応を行ない、その結果から接種菌か否かを判定した。

2). 実験結果

実験-I（1975年）の結果を第35表に示した。Eca および Ecc-B 菌は汚染切断刀によって健全塊茎に接触伝染し、発病を起こしていることが明らかである。1回の汚染による伝染は、塊茎を切断した順序に必ずしも連続してみられなかったが、7回目でも起こっているので、7回以上切断した場合でも起こるものと判断できる。しかし、地上茎部の発病をみると、Eca菌の場合には切断1, 3および5回目に、Ecc-Bでは1および5回目に起こったにすぎなかった。なお、この実験では無処理を設けなかったが、供試した塊茎母集団は、その栽培圃場（ジャガイモ疫病の発生予察圃場）の506株のジャガイモには黒あし病の発生が全く認められていなかったため、黒あし病菌に汚染されていなかったと判断される。

第35表 ジャガイモ黒あし病菌の切断刀による接触
伝染と切断回数 (実験-I, 1975)

| 病原菌の種類 ¹⁾ | 反 復 | 切 断 回 数 ²⁾ | | | | | | |
|----------------------|-----|-----------------------|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Ecc-B | I | ⊕ | ⊕ | = | + | ⊕ | = | + |
| | II | ⊕ | + | + | = | + | = | + |
| | III | ⊕ | = | + | ⊕ | ⊕ | + | + |
| Eca | I | = | + | ⊕ | + | - | ⊕ | = |
| | II | ⊕ | = | ⊕ | = | - | = | ⊕ |
| | III | + | ⊕ | = | = | + | = | = |

1) Eca, Ecc-B; 第23表に同じ,

2) = ; 半切した塊茎の両方が萌芽し, 両者から生育した茎の地際維管束部に褐変がみられないもの

+ ; 半切した塊茎の両方が萌芽し, 片方から生育した茎の地際維管束部に褐変がみられるもの,

⊕ ; 半切した塊茎の両方が萌芽し, 両者から生育した茎の地際維管束部に褐変がみられるもの,

⊕ ; 半切した塊茎の両方が萌芽し, 一方から生育した茎の地際維管束部に褐変がみられ, 他方が地上茎部に黒あし症状を現わしたもの,

⊕ ; 半切した塊茎の一方が土中腐敗し, 他方が地上茎部に黒あし症状を現わしたもの,

- ; 半切した塊茎の一方が土中腐敗し, 他方から生育した茎の地際維管束部に褐変がみられないもの

第36表 ジャガイモ黒あし病菌の切断刀による
接触伝染 (実験-II, 1977)

| 病原菌の種類 ¹⁾ | 供試塊茎数 (半切) | 萌 芽 率 | 発病株率 | 地際茎部の維管束 褐変株率 |
|----------------------|---------------|-------|------|------------------|
| Ecc-B | 40 個 | 0 % | -* % | - % |
| Echr | 20 | 70.5 | 71.4 | 28.6 |
| Eca | 20 | 95.0 | 21.1 | 0 |
| 無 処 理 | 80 | 100 | 0 | 0 |

1) Eca, Ecc-B, Echr ; 第23, 26表に同じ,

2) * ; 播種塊茎のすべてが土中腐敗

実験-II (1977年) の結果を第36表に示した。病原菌混入汁液を刷毛で切断刀に塗布切断した場合, Ecc-B 接種区では供試塊茎のすべてが萌芽せず, 土壌中で腐敗しており, 著しく強い病原性を示した。Eca および Echr 接種区では萌芽率および地際茎部の維管束褐変株率に差があるが, いずれも地上茎部の発病が認められた。

実験-I と実験-II の結果は, 実験実施年が

異なるので単純に比較できない面がある。しかし, 実験-I では一度汚染した切断刀をそのまま7回切断に使用していたため, 1回ごとに汚染度が減少していると考えられる。実験-II では切断のたびに刷毛で汚染している。従って, 実験-II では萌芽率が低く, 発病株率が高くなったものと思われる。

以上の結果から, 発病塊茎を切断して汚染し

た切断刀を用いた場合、および人為的に汚染した切断刀によって切断した場合、かなり高い確率で病原菌の伝搬が起こり、感染と発病を起こすことが明らかとなった。

5. 小 結

黒あし病菌 *E. carotovora* ssp. *atroseptica* の生態研究においては、同菌が土壤中で越冬できず土壌は翌年の伝染源にならないとする報告 (Pethybridge 1912, Morse 1917, Rosembaum-Ramsey 1918, Ramsey 1919, Kotila-Coons 1925, Graham 1958, '62, Lazar-Bucur 1964, Logan 1968 ら)と、土壌中で越冬が可能とする報告 (Patel 1929, Leach 1930, '31, Bonde 1939 b, Davidson 1948, Van den Boom 1967, Fickeら 1973, De Boerら 1979 ら)があり定説がない。

この研究では、北海道で黒あし病を起こしている3種類の黒あし病菌を土壌中から検出するため、病原菌の検出精度の極めて高い土壌増菌法と、殺菌塊茎の栽培後に形成された新生塊茎の表面洗浄液を増菌する方法とを用いた。

しかしながら、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* が土壌中で越冬している事実は認められなかった。また、3種類の黒あし病菌が土壌中で生存している事実も認められなかった。さらに、塊茎の感染腐敗部あるいはその発病茎から土壌中に放出され、一時的に高い活性を示した *E. carotovora* ssp. *atroseptica* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* も、時間の経過とともに急速に活性を失った。従って、両細菌は十勝地方の気象条件および褐色火山性土のもとでは、土壌中で生存できないと判断できる。尾崎ら (1973) は *E. carotovora* ssp. *atroseptica* による黒あし病多発圃場に、健全塊茎を栽培し、そこに形成された新生塊茎を翌年に栽培しても黒あし病が発生しない事実から、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* が土壌伝染することを否定し

ている。

E. carotovora ssp. *atroseptica* は土壌中の被害茎維管束中で越冬し得る (Logan 1968)と報告されている。土壌増菌法は25 gの土壌を検出単位として用いているので、供試土壌中には当然被害茎等の残渣を含有しているとみられるが、全く病原菌が検出されなかった。罹病組織が分解されたため組織内の病原菌は死滅したものと推定される。

以上の事実から、黒あし病菌は土壌中で越冬・生存し、次年の伝染源となる可能性は否定できる。しかし、黒あし病菌と生物学的諸性質が著しく類似する軟腐病菌は、多くの雑草植物根圏から検出されている事実がある (津山1962, '80, 菊本1969, Burr-Schroth 1977, de Mendonca-Stanghellini 1979 ら)。従って、黒あし病菌が土壌中で同じ様な方法で越冬し、伝染源となる可能性も考えられる。今後、各種の土壌条件および気象条件、各種植物の根圏における増殖等についても詳細な検討が必要である。

E. carotovora ssp. *atroseptica* は塊茎によって伝搬され、種塊茎が重要な伝染源であることは、諸外国でも古くから知られている (Pethybridge 1912, Morse 1917, Kotila-Coons 1925, Leach 1927 ら)。北海道で黒あし病を起こしている3種類の黒あし病菌も塊茎によって伝搬されることは、谷井・馬場 (1971)、尾崎ら (1973) の報告および第II章に述べた発生実態調査の結果からも明らかである。

E. carotovora ssp. *atroseptica* の場合、発病株率が21.7および35.6%を示した圃場産の塊茎でも、貯蔵後には病原菌が検出されず、これらの塊茎母集団の塊茎を栽培した場合、発病はそれぞれ0および0.4%と低率であった。さらに、黒あし病の発生株の新生塊茎、それに隣接する外観健全株および発病圃場産の塊茎を調査した結果、収穫直後では病原菌による汚染塊茎率は高いが、それらを43日間風乾処理すると、汚染塊茎率は減少した。これらのことは収穫後貯蔵するまでの期間に、塊茎を十分に風乾

すると、貯蔵中に汚染病原菌による感染を防止する上で有効な方法となることを示唆している。

しかし、前年に6.6%の発病株率を示した圃場産の塊茎で、貯蔵後に21.4%の塊茎から病原菌が検出され、この塊茎母集団の塊茎を栽培した場合、高い発病株率(13.8%)を示した事例があった。貯蔵前の処理、貯蔵中の管理が不適当であったため、汚染～感染が起こったものと言えよう。これらのことから、圃場における黒あし病の発生量は、土壌温湿度(Morse 1917, Rosenbaum・Ramsey 1918, Leach 1931, Bonde 1950, Graham 1962, Graham・Harper 1967ら)、接種菌量(Zielke 1976)と土壌温湿度との相互影響(Aleck・Harrison 1978)、施肥量(Graham・Harper 1966)、貯蔵状態(Van den Boom 1967, Logan 1968, 道立根鉋農試・病虫予察科1973)、土質(Van den Boom 1967, Zielkeら1974)など、多くの要因が関係すると報告されているほか、Perombelom (1972a, '74)は、スコットランドでは種塊茎が病原菌(*E. carotovora* ssp. *atroseptica*)によって高率に汚染されているにもかかわらず、黒あし病の発生は極めて低率であると述べているが、前年の圃場での発病株率より、播種期にどの位の塊茎が病原菌を保有しているかに影響されていると考えられる。

Morse (1917), Jennison (1923), Leach (1930, '31)は、*E. carotovora* ssp. *atroseptica*による塊茎の感染は、発病株に着生する新生塊茎にストロンを経由して侵入感染すると指摘している。木村・柳田(1980b)はストロンを経由した同菌の新生塊茎への移行は、茎の発病が旺盛な6月～8月上旬にのみ認められ、それ以降はストロン付着部位から病原菌は検出されないことから、この経路による病原菌の新生塊茎への保菌は重要でないと報告している。本章の実験においては、発病株に形成された塊茎および発病圃場産の塊茎のストロン付着部から*E. carotovora* ssp. *atroseptica*、特異な*E. carotovora* ssp. *carotovora*および*E. chrysan-*

*themi*は低率(5%以下)で検出された、従ってストロンを経由して感染した新生塊茎は、翌年の主伝染源となる可能性は少ないとみられるが、この塊茎の腐敗にともなって放出される病原菌が他塊茎を汚染・感染する可能性および切断刀による接触伝染によって感染が増巾される可能性もあり、軽視することはできない。

一方、塊茎の汚染経路について、Perombelom (1974)は種塊茎の感染腐敗部から土壤中に放出された病原菌(*E. carotovora* ssp. *atroseptica*)による皮目汚染を重視している。また、木村・柳田(1980b)は種塊茎の感染腐敗部の*E. carotovora* ssp. *atroseptica*は、7月下旬以降に急激に減少するが、発病茎を地上に放置し、その上に散水すると塊茎汚染が起こることから、秋期に再進展する茎病斑からの病原菌による皮目汚染を重視している。本章の実験では、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* および特異な*E. carotovora* ssp. *carotovora*は接種塊茎の感染腐敗部あるいはその発病茎から、その周囲の株元土壤中に放出され、さらに8月から9月の収穫までの間に連続的に多量の降雨があった1980年の結果では、*E. carotovora* ssp. *atroseptica*は発病畦から2.4m離れた範囲にある隣接4畦の新生塊茎を汚染した。

E. carotovora ssp. *atroseptica*の塊茎における存在部位は皮目部(Perombelom 1972b, '73, De Boer・Kelman 1975, Nielsen 1978ら)で、汚染病原菌は貯蔵期間中に皮目内部で生存している(Perombelom 1973)と報告されている。この章の結果では、塊茎表面が病原菌によって汚染されている場合にも、皮目部が汚染されていたものは少なかった。皮目部の汚染の程度は、降雨などによる土壌水分含量によって異なる(Perombelom 1976)という。従って、皮目部汚染の少なかった原因は、塊茎採取圃場における土壌水分含量が少なかったことによるものと推察される。

これらのことから、種塊茎の感染腐敗部あるいは発病茎から放出された病原菌によって塊茎

が汚染され、皮目部の汚染・感染される塊茎が伝染源として重要であると推察される。また、このことは発病株率の低い圃場においても、発病株を中心にして、その周囲のかなりの範囲にある新生塊茎に汚染が生ずる可能性を示唆している。それ故、発病株の早期発見と抜き取り処分が、本病の無病種塊茎を生産する上で有効な防除対策になると言える。

E. carotovora ssp. *atroseptica* は刃物による切断によって健全塊茎に伝染する (Smith 1950, 尾崎ら1973) とされるが、特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* および *E. chrysanthemi* も同様に刃物によって伝染した。*E. carotovora* ssp. *atroseptica* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* の切断刀による接触伝染は、切断した順序に起こらず、また地上茎部に発病が生じた株は少なかった。しか

し、1回の汚染刃物による伝染が少なくとも7回の切断塊茎で認められることから、刃物による接触伝搬は本病の重要な伝染方法であると推察される。

以上のことから、3種類の黒あし病菌は土壤中で生存・越冬できず、従って塊茎が主要な本病の伝染源となる。病原菌はストロンを経由して新生塊茎に移行することは少なく、塊茎の収穫直後には皮目部から検出されるものは低率で、大部分は塊茎表面を汚染していた。この塊茎を汚染する病原菌は、発病株から土壤中に放出されたものによって起こり、これによる表面および皮目部の汚染塊茎と、ストロンを経由して感染した塊茎が翌年の伝染源になるとみられる。また、3種類の黒あし病菌はそれらによって汚染された切断刀によって、健全塊茎に伝搬され、感染と発病を起こすことが明らかとなった。