

VII. 総 合 考 察

北海道における黒あし病の発生記録は、伊藤 (1930) の報告が最初で、当時本病が散発していたと述べられたが、病原菌の同定が行なわれていないので確定的でない。従って、初発生は1955年道東根室地方の中標津町とみることができ。その後、本病は1965年頃から根室、釧路および網走地方に、1970年には十勝および上川地方にも発生蔓延し、大きな問題となった。これら発病圃場で使用した種塊茎は、ほとんどの場合、農家が原採種体系の種塊茎を用いないで、常発地帯であった根室地方から導入したものをを用いた点に特徴がある。

一方、1972年十勝地方各地では、十勝馬鈴しょ原々種農場産およびその系統のジャガイモ品種 (紅丸、農林1号、メークイン、タルマエ) を栽培した原採種圃場に黒あし病が発生した。また、これより以前1969年には、道南地方で中央馬鈴しょ原々種農場産の品種男しゃく薯を栽培した原種圃場で、本病とその病徴が極めて類似する病害が発生した。

これらの発病株から病原菌を分離し、その諸性質を検討した結果、北海道で黒あし病を起こしている病原菌には3種類のものがあり、中標津町を中心として発生したものは *Erwinia carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923 subspecies *atroseptica* (van Hall 1902) Dye 1969 (谷井ら1973)、十勝地方で発生したものは血清学的に特異な反応を示す *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923の一系統菌 (Tanii・Akai 1975) と、また道南地方の原種圃場で発生したものは *Erwinia chrysanthemi* Burkholder, McFadden and Dimocke 1953 (谷井・馬場1971) と同定された。すなわち、諸外国において本病の病原菌と

して一般に認められている *E. carotovora* ssp. *atroseptica* のほか、2種類のものが本病の病原菌と認められたのである。

その後、1974～'80の7年間に行なった北海道における黒あし病の発生実態調査の結果によって、本病は全道的に分布し、その病原菌は上記の3種類で、*E. chrysanthemi* による黒あし病は、十勝および釧路地方に散発的に発生していることが確認された。これに対して、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* による黒あし病は根室、釧路および網走地方に、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*) による黒あし病は十勝地方に片寄って分布していることも確認された。この傾向は年次によって変わらなかった。この様に後2者が偏在する原因は、既述 (第II章) したように種塊茎の移動によると考えられる。

北海道内のこれら3種類の黒あし病菌の侵入経路、およびその起源については明らかでないが、本道産 *E. carotovora* ssp. *atroseptica* はイギリスおよびルーマニア産の *E. carotovora* ssp. *atroseptica* と血清学的に同じ系統である (上川ら1976) ことは、本菌による黒あし病の発生初記録年の1955年以前に、何らかの方法によって国外から持ち込まれた可能性が考えられる。

一方、特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* および *E. chrysanthemi* の場合は原種圃場で突発したことから、次のことが考えられる。すなわち、両菌による黒あし病の発生当時、十勝および中央馬鈴しょ原々種農場では塊茎の水洗を行っており、これらの種塊茎の配布を受けた農家では共通して貯蔵腐敗が発生したと言われていた。塊茎の水洗は塊茎腐敗を起こし (Scholey 1968)、黒あし病の発生を招く (Jenningsら

1964)とすることを考慮すると、塊茎に表在した 1) 育種母材として汚染塊茎で諸外国から持ち込まれた病原菌,あるいは2) 血清学的に異質な軟腐性 *Erwinia* 属菌の中の偶然的に存在していた特殊な両細菌が、水洗によって塊茎に感染して腐敗を起し、そこで選択的に増殖したことが考えられる。後者の可能性は Stanghellini ら (1977) が、テンサイ根腐細菌病 Bacterial root rot がテンサイ萎黄病抵抗性品種の栽培普及に伴って発生したのは、品種によってその病原菌 < *E. carotovora* ssp. *betavasculorum* > (Thomson ら 1981) が、土壤中に存在する軟腐性 *Erwinia* 属菌の中から選択されたと考えていることと軌を一にする。この点については、今後実験的に明らかにする必要がある。

北海道で黒あし病に関与している病原菌は、いずれもグラム陰性の周毛桿菌で、その生理・生化学的性質は、各種植物に軟腐病を起こす軟腐病菌 *E. carotovora* ssp. *carotovora* (Ecc-S) に著しく類似する点が多い。このため本研究では、黒あし病菌の鑑別性質を明らかにするため、黒あし病菌と Ecc-S 菌とを対比しながら主として細菌学的性質および血清学的性質を調査した。

3種類の黒あし病菌 *E. carotovora* ssp. *atroseptica* (Eca)、特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* (Ecc-B) および *E. chrysanthemi* (Echr) は Ecc-S 菌と多くの諸性質で類似していたが、第47表に示したように、塊茎接種を行なった塊茎を播種、栽培した場合の発病の有無、すなわち病原性で3種類の黒あし病菌は Ecc-S 菌と明らかに区別できる。Eca と Ecc-B 菌とは、それぞれの生菌抗血清を用いた寒天ゲル内二重拡散法で認められる特異抗原の有無によって Ecc-S 菌と区別でき、さらに Eca 菌は Logan (1966) の培地上の生育状態によって、他の2種類の黒あし病菌および Ecc-S 菌と区別できる。また、Echr 菌はその細菌学的性質の特徴、すなわちラクトースから酸を産生せず、

インドールを産生し、マロン酸を利用するなどの性質によって、他の黒あし病菌および Ecc-S 菌と区別することができる。これら諸性質を用いれば、上記の諸菌は簡易に鑑別することができる。

しかしながら、この研究を行っている間に注目された点として、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* と軟腐病菌 *E. carotovora* ssp. *carotovora* との分類に有用な指標とされている 1) 低温 (19℃ 以下) 条件下におけるジャガイモ茎部接種による黒あし症状発現の有無 (Graham-Dowson 1960a, Graham 1964, '72) および 2) マルトース (Dowson 1941, Graham 1972), α -メチルグルコシド (Dye 1969, Graham 1972, Lelliott 1974 ら) およびエタノール (Burkholder・Smith 1949) からの酸の産生、シヨ糖からの還元物質産生 (Dye 1969, Graham 1972, Lelliott 1974 ら) の4項目の細菌学的性質は、いずれも両者を区別するに十分な性状であると認められなかった。しかし、ジャガイモ茎に接種したときの病徴以外の4項目の性状は、Eca 菌と Ecc-B 菌との区別には利用できる。また、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* と軟腐病菌 *E. carotovora* ssp. *carotovora* との区別に重視される 36℃ における生育の有無 (Dye 1969, Lelliott 1974 ら) は、Eca および Ecc-B 菌もこの温度では生育せず、Ecc-S 菌の大多数の菌株は生育したので、Eca および Ecc-B 菌と Ecc-S 菌との区別に有効であるが、同温度で生育しない Ecc-S 菌の少数の菌株が存在したので、この性質のみを指標として用いても正確さを期し難い面が残る。

次に、黒あし病の圃場での診断法を明らかにするため、本病と病徴が著しく類似する軟腐病の病徴、発病時期およびその推移を比較観察した。3種類の黒あし病菌による病徴は、Echr 菌が感染した場合には茎の空洞化を顕著に起こし、さらに Echr および Ecc-B 菌が感染した場合には Eca 菌による場合より、葉の黄化の程度が軽く、また茎の伸長を抑制する程度も軽い

第47表 北海道における3種類のジャガイモ黒あし
病菌と軟腐病菌との鑑別性状¹⁾

性 質	細 菌	黒 あ し 病 菌			軟 腐 病 菌
		<i>Erwinia</i>			<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>
		<i>carotovora</i> subsp.		<i>chrysanthemii</i>	
		<i>atroseptica</i>	<i>carotovora</i>		
シヨ糖からの還元物質産生	+	-	-	d	
インドールの産生	-	-	+	-*	
食塩耐性 (5%)	+	+	-	+	
Logan 培地上の生育状態	RS	RL	RL	RL	
36°Cにおける生育	-	-	nt	+	
青色色素の産生	-	-	+	-	
酸 の 産 生	ラクトース	+	+	-	+
	マルトース	+	-	-	d
	α-メチルグルコシド	+	-	-	d
	トレハロース	+	+	-	+
	エタノール	-	+	+	d
マロン酸ナトリウムの利用	-	-	+	-	
酒石酸ナトリウムの利用	-	-	+	-	
抗 Eca 血清	特異沈降帯の形成 (寒天ゲル内二重拡散法)	+	-	-	-
	抗加熱菌血清スライドグラス凝集反応	+	-	-	d
	吸収抗加熱菌血清スライドグラス凝集反応	+	-	-	-
抗 Ecc-B 血清	特異沈降帯の形成 (寒天ゲル内二重拡散法)	-	+	-	-
	抗加熱菌血清スライドグラス凝集反応	-	+	-	-*
塊茎接種による黒あし病状発現		+	+	+	-

1) + ; 陽性反応 (100%), - ; 陰性反応 (100%), d : 菌株によって反応が異なる (21~79%),
nt: 実験しない, RS ; 赤色小型集落 (27°C, 48時間),
RL ; 赤色大型集落 (27°C, 48時間), * : 極めて少数の例外菌株が存在する

傾向があるので、病徴によって病原菌をある程度推定できる。しかし、いずれの病原菌による場合でも共通して種塊茎の腐敗を起こし、つづいて茎部維管束部を侵害し、茎基部が黒変し、地上部茎葉に症状を現わす。

一方、ジャガイモ軟腐病の初発病部位は接地小葉である。さらに、両病害の初発病はその部位が異なるとともに、黒あし病の発病時期がジャガイモ生育前半（萌芽後から7月下旬～8月上旬）であり、軟腐病は夏期以降となる点で相違がある。従って、7月中までは種塊茎の腐敗、その腐敗部に連続する黒変腐敗茎および茎維管束部の褐変の有無を指標とすると、黒あし病を確実に診断することができる。しかし、8月以降になると、軟腐病による茎病徴は黒あし病のそれに著しく類似し、診断が困難となる。従って、黒あし病の圃場での診断は、おそくとも7月中に実施する必要がある。

圃場における発病茎など種々の検体を同時に大量に扱う場合、それらから分離した菌株を同定するに当って、正確性だけでなく、迅速・簡易性が要求される。そのためには抗血清によるスライドグラス凝集反応は著しく有効である。

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抗血清のうち、前者の凝集反応域はジャガイモ軟腐病菌のかなりの数の菌株におよんだ。しかしながら、抗加熱 Eca 血清を、これと凝集反応を起こす軟腐病菌株で吸収すると、すべての軟腐病菌株と凝集反応を示さなくなる。従って、吸収抗血清の使用だけで Eca 菌を同定することが可能である。抗加熱 Ecc-B 血清の場合、その反応特異性はかなり高いが、極めて少数の軟腐病菌の菌株と凝集反応を起こす。しかし、両菌の抗加熱菌血清による凝集反応と36℃における生育試験とを組合せると、Eca および Ecc-B を簡易・迅速かつ正確に同定することができる。

北海道で黒あし病を起こしている3種類の黒あし病菌が土壤中で越冬・生存して、次年度の伝染源となるか否かは、本病の防除対策を考え

る上で最も重要な点の一つである。この点を明らかにするため、本研究では病原菌の検出精度の高い Meneley・Stanghellini (1967) の方法に準じた方法で病原菌の越冬・生存の可能性を検討した。

しかし、前年あるいは、それ以前に発病歴を持ついずれの土壤中からも、3種類の黒あし病菌は検出されなかった。従って、黒あし病菌が土壤中で越冬・生存し、伝染源となる可能性は認められなかった。このことから、北海道で最も多い澱粉原料用をはじめとするジャガイモ栽培では、本病による被害の防止対策を樹立する際に、土壤汚染を考慮する必要がないと言える。しかし、土壤中に残存した病原菌による汚・感染が皆無であるとは断言できず、土壤中に掘り残した塊茎の感染腐敗部中で病原菌が越冬 (De Boerら1979) する可能性も考えられるので、少なくとも種塊茎を生産する場合には、塊茎汚染の防止のため、連作を避ける必要がある。

土壤中での越冬・生存がないとすれば、次に3種の病原菌の伝染源として考えられるものとして塊茎がある。本病の多発圃場およびその発病株から採取した塊茎を、収穫直後に塊茎洗浄液増菌法で検出すると、高率に病原菌によってその表面が汚染されていた。また、ストロンを経由して、塊茎内部に保菌していた塊茎、皮目内部に潜在していた塊茎は低率であるが認められた。従って、これらの表面および皮目汚染塊茎と内部保菌塊茎が次年度の伝染源になると言える。

塊茎の表面汚染は、種塊茎の播種後に起こる感染腐敗部あるいはそこに生育した黒あし病発病株から土壤中に放出された病原菌が、株元の土壤を通過して、塊茎表面に到達し、汚染して起こると考えられる。この事は、ジャガイモの生育後期（8月～9月下旬）に、連続的に多量の降雨があった1980年の場合、黒あし病菌 *E. carotovora* ssp. *atroseptica* が発病畦から隣接した4畦の土壤にまで移動し、新生塊茎を汚染した事実によって証明できる。ただし、塊茎を

汚染している病原菌は、43日間の塊茎風乾処理によって急速に死滅した。

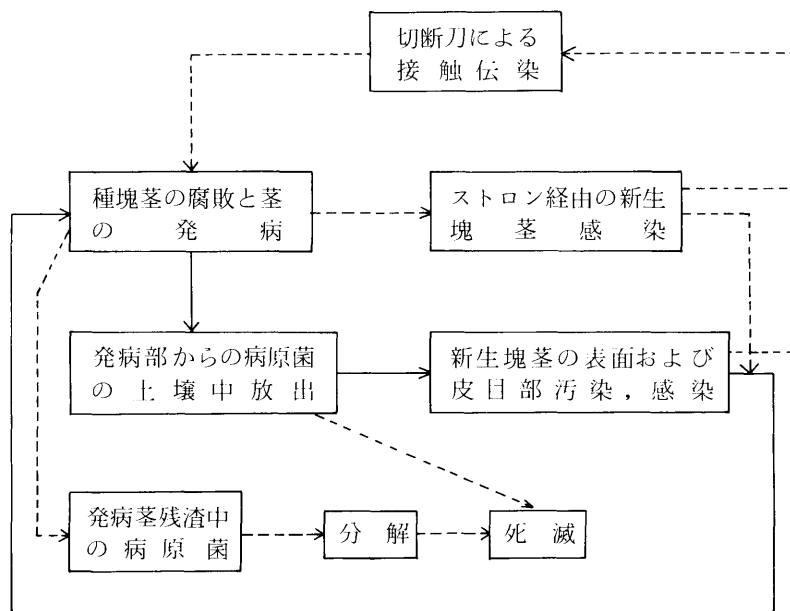
従って、圃場で表面が汚染された塊茎が、直ちに感染、発病に結びつくとは限らない。このことは、本病の多発圃場から収穫した塊茎から、むろ貯蔵後に病原菌が検出されず、この塊茎母集団の塊茎を栽培しても、黒あし病の発生がみられないか低率であったことから明らかである。

しかしながら、土壤中に放出された病原菌は、過湿な状態の土壤中で収穫前に塊茎皮目部に感染 (Davidson 1948) を起こす可能性、塊茎表面を汚染している病原菌が、収穫後貯蔵までの間に塊茎皮目部を汚染、感染する可能性、および塊茎の表面と皮目部を汚染している病原菌によって貯蔵中に感染、発病が起こり、これによって健全塊茎の広汎な汚染、感染が起こる可能性は充分ある。このことは、発病株率が6.6%の圃場から採取した塊茎でも、その21.4%から上中貯蔵後に病原菌が検出され、この塊茎母集団の塊茎を栽培して、13.8%の発病株率を示した事例のあったことから明らかである。

なお、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* は塊

茎伝染のほか、昆虫による伝搬、感染 (Leach 1926, '31, Bonde 1939a, Grahamら1976, Harrisonら1977) および細菌エーロゾル (Graham・Harrison 1975, Grahamら1977) による伝染があると言われる。この点については未検討なため、北海道で *E. carotovora* ssp. *atroseptica* をはじめ、特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* および *E. chrysanthemi* にこの経路による伝搬、伝染が存在するか否か、また存在しているとすれば黒あし病の発生に、どの程度影響を与えているかについては今後の検討問題である。

黒あし病菌の土壤中における越冬・生存、塊茎における病原菌の存在部位、発病株の株元土壤中における病原菌の存在と新生塊茎汚染および切断刀による病原菌の接触伝搬の実験結果から、この病原菌の生活伝染環を、暫定的に第14図のようにまとめることができる。特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* および *E. chrysanthemi* については充分な検討をしていなかったが、両者は土壤中で越冬・生存せず、塊茎伝染性であり、収穫直後では塊茎に表在していた。



第14図 ジャガイモ黒あし病菌の生活伝染環

注) ← ; 主要伝染経路

また、特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* はその発病株の株元土壌中から検出された。従って、両細菌も *E. carotovora* ssp. *atroseptica* の場合と同じ生活伝染環を有するものと推定される。

以上のことから、本病の防除に当って発病株の早期発見とその抜き取り処分、収穫した塊茎を貯蔵前に充分風乾および適正な貯蔵管理することが本病の防除対策の基本となるが、汚染した塊茎を薬剤を用いて殺菌し、圃場での発病と被害を防止することが重要である。

汚染塊茎の薬剤殺菌について実験した結果、切断前の未出芽塊茎に、ストレプトマイシン15%・オキシテトラサイクリン1.5%水和剤（SM・OTC剤）の100倍液、あるいはチオファネートメチル50%・ストレプトマイシン15%水和剤（TM・SM剤）の40倍液を200kg当り5～6l散布あるいは噴霧処理すると、黒あし病菌の種塊茎感染による発病を防止する上で有効であり、同時にそうか病の塊茎伝染をも防止できた。さらに、SM・OTC剤に黒あざ病防除剤を混用すると、黒あざ病の塊茎伝染に対しても安定した防止効果を示した。また、TM・SM剤は黒あざ病に対しても有効であることが明らかになった。

3種類の黒あし病菌はいずれも汚染された切断刀によって、かなり高率に健全塊茎に接触伝搬される。また、汚染された容器を塊茎の貯蔵・運搬に使用すると、その間に生じた傷口から塊茎に感染する可能性があるため、切断刀および塊茎収納容器を殺菌しておく必要がある。この目的で使用する殺菌剤について実験した結果、切断刀殺菌剤としては、既往の昇汞水に代り、中性次亜塩素酸カルシウム（ $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ ）70%粒剤の10倍液に切断刀を5秒間浸漬したもので

切断すると、黒あし病菌のみならず、輪腐病菌の切断刀による接触伝染を完全に防止できる。また、容器の殺菌剤として、中性次亜塩素酸カルシウム剤の1,000倍液あるいは塩化ベンザルコニウム20%溶剤の250倍液を噴霧すると容器に付着した黒あし病菌のみならず、そうか病菌および乾腐病菌をも48時間以内に完全に死滅させることができ、汚染容器に付着した諸病原菌による塊茎の感染を防止する上で有効である。

以上のことから、次のような防除対策の実施によって、本病の発生とその被害を防止することができると考えられる。すなわち、原採種体系における種塊茎の生産に当って、ジャガイモ栽培圃場では連作を避け、増殖に用いる種塊茎の消毒と、これを切断する刃物の殺菌を行なう。ジャガイモの栽培期間中には発生する軟腐病と黒あし病の別を確実に診断し、黒あし病発病株の早期発見に努め、その抜き取り処分を徹底する。さらに、収穫塊茎は消毒した容器に納めて貯蔵前に十分に風乾処理を行ない、適正な管理を行なって貯蔵する。

一般農家圃場においては、原採種体系内生産の無病塊茎を使用し、本病の発生・被害を防止するのを基本とするが、使用する種塊茎が病原菌によって汚染されている恐れがあり、発病が予想される場合に種塊茎の殺菌を実施する。

以上、本病の防除対策について述べたが、3種類の黒あし病菌はいずれも塊茎によって伝搬され、また一般農家圃場では採種圃場産種塊茎への更新率が極めて高い現状にある。従って、原採種体系においては、無病種塊茎の生産を維持し、体系内で生産された種塊茎による本病の蔓延に対して、十分な注意を払うことが肝要である。

VIII. 摘 要

北海道におけるジャガイモ黒あし病の診断検定技術とその防除法を確立するために行なった研究結果をとりまとめた。

黒あし病の発生実態と被害

1). 1974～'80年にわたって、黒あし病の発生実態調査を行なった。本病は北海道の主要ジャガイモ栽培地帯の全域に発生していた。北海道東部地域を主とする6年間の発病圃場における平均発病株率は1.6～4.8%の範囲にあり、総平均で2.3%にすぎなかった。発病圃場率は、1974年には調査した83圃場の63%を示したが、その後次第に低下し、1980年には106圃場のうち、その14%に減少した。

2). 発生実態調査の結果、*Erwinia chrysanthemi* による黒あし病の発生は十勝と釧路地方に散発的に認められたにすぎなかったが、*E. carotovora* subsp. *atroseptica* による黒あし病の発生は主として根室、釧路および網走地方に分布していた。一方、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*) による黒あし病は十勝地方に主として分布していた。黒あし病菌のうち、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* の偏在は初発病地の中標津町の、*E. carotovora* ssp. *carotovora* の偏在は十勝地方の原採種圃場からの保菌種塊茎の移動に原因すると推察される。

3). 黒あし病に対する品種間の発病差異は、発生実態調査の結果から明らかにできなかった。

4). 2種類の黒あし病菌が分布している圃場で採取した一本の発病茎から、同時に複数の病原菌が分離されることは希であった。

5). *E. carotovora* ssp. *atroseptica* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* による黒

あし病の被害は、早期に発病したもののほど減収が著しく、発病株から収穫された平均総塊茎重量は、健全株のその18～51%にすぎなかった。しかし、圃場における発病株率と総塊茎重量の減少率との関係を見ると、品種エニワの場合、5%の発病株率に対して約4%の減収率であったが、品種タルマエでは15%以下の発病株率の場合には、減収が認められなかった。収量に対する被害には品種間差異があるように思われる。

黒あし病菌の同定と軟腐病菌との比較

6). 1968～'77年にわたって、北海道内で発生した黒あし病の発病茎および塊茎から127菌株を分離し、これらの菌株の病原性、細菌学的性質および血清学的性質について、各種そ菜類の軟腐病菌(*Ecc-S*)と比較し、それぞれの簡易鑑別法について検討した。

7). 分離127菌株のうち、56菌株は *Erwinia carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923 subspecies *atroseptica* (van Hall 1902) Dye 1969 (*Eca*)、38菌株は *Ecc-S* 菌と細菌学的性質が一致するが、血清学的に特異な反応を示す *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923の一系統菌(*Ecc-B*)、また他の33菌株は *Erwinia chrysanthemi* Burkholder, McFadden and Dimocke 1953 (*Echr*)と同定された。北海道におけるジャガイモ黒あし病菌は、これら3種類の病原菌によって起こされていることが明らかとなった。

8). 3種類の黒あし病菌は、*Ecc-S* 菌と同じようにジャガイモ塊茎、ニンジン、ダイコン、タマネギおよびハクサイの柔組織を4日以内に軟化腐敗したが、*Echr* 菌のうちにはタマネギとハクサイと

に病原性を示さない菌株が存在した。また、接種試験に供した Echr 菌 8 菌株は、キク、カーネーションおよびトウモロコシに病原性を示さなかった。

9) 3 種類の黒あし病菌は、それを接種したジャガイモ塊茎を播種、栽培すると黒あし病を起こしたが、Ecc-S 菌は塊茎接種した場合にも地上茎部に黒あし病を起こさない。従って、塊茎接種による黒あし病の発生の有無によって、黒あし病菌と Ecc-S 菌は区別できる。

10) Eca および Ecc-B 菌をジャガイモ幼茎に接種し、低温 (18.5℃) で生育させると黒あし病状を起こしたが、Ecc-S 菌のうちにも、この条件下で黒あし症状を起こす菌株が存在する。従って、低温下で茎接種実験で発生する病徴では、2 種類の黒あし病菌と Ecc-S 菌とは区別できなかつた。

11) Ecc-S 菌菌株は 36℃ で生育したが、2 種類の黒あし病菌 (Eca および Ecc-B) は、その温度で生育できず、最高生育温度が低い点に特徴がある。

12) 黒あし病菌の Eca 菌と Ecc-B 菌とは、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の有無によって区別できる。しかしながら、供試 Ecc-S 菌のうち、46% の菌株が Eca 菌と同じ反応を示すため、Eca 菌と Ecc-S 菌との区別には役立たなかつた。Logan (1966) の培地上における生育状態は、Eca 菌を Ecc-B, Echr および Ecc-S 菌から区別するため有用な形質として認められた。

13) Echr 菌はインドール産生、食塩耐性 (5%)、ラクトースおよびトレハロースからの酸産生、マロン酸および酒石酸の利用能などの諸性質が、他の 2 種類の黒あし病菌および Ecc-S 菌と異なるので、容易に鑑別できる。

14) Eca および Ecc-B 菌のそれぞれの生菌を抗原として作製した抗血清を用い、寒天ゲル内二重拡散法によって両菌の抗原分析を行なつた。Eca および Ecc-B 菌は、Ecc-S 菌といずれも共通な抗原を有するが、またそれぞれに特異な

抗原を所有しており、同法によって確実に同定できる。Echr 菌は両細菌と血清学的に類縁関係が薄い。

15) Eca および Ecc-B 菌の加熱菌を抗原として作製した抗血清を用いたスライドグラス凝集反応では、それぞれの抗血清は Eca および Ecc-B 菌と特異的に凝集反応を示した。Echr 菌および植物病原 *Pseudomonas* 属菌を含む 5 属 13 種 38 菌株とは反応しなかつたが、一部の Ecc-S 菌菌株とは反応した。

黒あし病の圃場診断

16) 黒あし病の圃場診断法を明らかにするため、本病および本病と茎病徴が著しく類似するジャガイモ軟腐病の病徴、発病時期およびその推移を比較観察した。

17) *E. chrysanthemi* による感染発病株では、茎髓部の腐敗による空洞化が顕著に起こり、また *E. chrysanthemi* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* の感染をうけた場合にみられる茎葉部の症状は、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* による場合に比較して葉の黄化および茎の伸長抑制が著しくない傾向がみられるが、3 種類の黒あし病菌はともに種塊茎の腐敗を起こし、次に茎維管束部へ侵入し、萎凋を起こす。

18) *E. carotovora* ssp. *atroseptica* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* による黒あし病は、ジャガイモの萌芽開始日から 9~18 日までの間に発病し、その後急激に発病株率が高まる。しかし、7 月下旬~8 月上旬になると黒あし症状を呈する株が新しく発生することはほとんどなかつた。これに対してジャガイモ軟腐病は、まず 7 月上旬~中旬にジャガイモの接地小葉に初発生し、次いで主茎に軟腐病斑が 7 月中旬~8 月上旬に出現し、その後次第に発病株が増加する。従って、7 月中に種塊茎の腐敗、その腐敗部に連続する黒変腐敗茎および茎維管束部の褐変の有無を指標すると、黒あし病を確実に診断することができる。

黒あし病菌の簡易同定

19). 黒あし病およびジャガイモ軟腐病の発病株から、新たに分離した菌株を供試して簡易同定法について検討した。

20). 新たに分離した軟腐病菌 (217 菌株) のうち、約29%の菌株は抗加熱 Eca 血清と凝集反応を起こし、また36°Cで生育しない軟腐病菌3菌株の存在が認められた。従って、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora* の同定に当て、それぞれの抗加熱菌血清によるスライドグラス凝集反応あるいは36°Cにおける生育試験単独では不十分で、両性質を組合せると上記2種類の黒あし病菌を正確かつ迅速・簡易に同定することができる。

21). 供試した抗加熱 Eca 血清は、この抗血清によって凝集反応を起こした軟腐病菌株で吸収すると、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* に対して特異的に反応する血清が得られ、その同定に用いることができる。

22). 抗加熱 Eca 血清に対して凝集反応が陽性を示した軟腐病菌62菌株は、マルトースおよび α -メチルグルコシドからの酸産生、シヨ糖からの還元物質産生の細菌学的性質が陰性を示した菌株がその85%を占め、*E. carotovora* ssp. *atroseptica* の示す性質とは逆の関係にあった。

黒あし病菌の生態と伝搬

23). 黒あし病菌の土壤中における越冬・生存を明らかにするため、Meneley・Stanghellini (1976) 法に準じた土壤増菌法と塊茎洗浄液増菌法とによって検討した。

24). Eca および Ecc-B 菌接種土壌からの土壤増菌法による検出は、0.4 ~ 2.0 CFU / 乾土 1 g のとき極めて高く、その限界は 0.1 ~ 0.2 CFU / 乾土 1 g であった。

25). 塊茎洗浄液増菌法は Perombelom (1972 b) の方法に準じた塊茎を腐敗させて検出する

方法に比較して、塊茎からの軟腐病菌の検出率が高かった。

26). 前年あるいは過去に黒あし病の発生歴を持つすべての供試畑および柵圃場の土壌中から、上記2方法を用いても、5月中旬~6月上旬に黒あし病菌は全く検出されなかった。

27). 黒あし病 (*E. carotovora* ssp. *atroseptica*) の発生程度の異なる圃場で収穫された塊茎の表面から病原菌の検出を行い、また検出に用いた塊茎母集団の塊茎を圃場に栽培し、発病を観察した。前年の発病圃場 (発病株率 0.0 ~ 35.6%) から収穫した塊茎を栽培すると、圃場での発病株率は 0 ~ 1.8% であった。前年の発病株率は、病原菌の検出塊茎率および当年の発病株率と相関しなかった。しかしながら、播種期頃の病原菌検出塊茎率と当年の発病株率との間には相関が認められた。病原菌による汚染塊茎が発病に関係していることを示唆している。

28). 黒あし病発病株、それに隣接する外観健全株および発病圃場からの新生塊茎は、その表面が病原菌によって汚染されており、ストロンを経由して感染しているもの、あるいは皮目内部が汚染されていたものは低率 (5%以下) に認められた。塊茎表面を汚染している病原菌は、収穫後43日間風乾処理を行なうと検出されなくなった。

29). 黒あし病発病株の株元土壌中に病原菌が存在するか否か、また、それによって新生塊茎が汚染されているか否かについて検討した。

30). 黒あし病菌 (*E. carotovora* ssp. *atroseptica* および特異な *E. carotovora* ssp. *carotovora*) は、種塊茎腐敗部およびその発病茎から株元土壌中に放出され、その菌量はジャガイモ生育初期に多雨のとき、 10^5 CFU / 乾土 1 g に達する場合があった。しかし、一般には土壤増菌法で検出される程度の菌量が存在していた。これも時間の経過とともに、土壌中では急速に活性を失った。

31). 黒あし病菌 (*E. carotovora* ssp. *atroseptica*) は、発病畦から少なくとも4畦 (2.4

m) の距離まで移動して、健全株の新生塊茎表面を汚染していた。この場合、8月から9月のジャガイモ掘取り日までの間に連続的に多量の降雨があった。

32). 発病株の株元土壌中では、ジャガイモ生育初期には黒あし病菌が検出されたが、その後、軟腐病菌はジャガイモの生育中期（7月下旬）から以降にその活動が高まった。このような遷移現象は、黒あし病および軟腐病の発病時期とその推移に符合している。

33). 3種類の黒あし病菌は、汚染された切断刀を用いて切断した塊茎に接触伝染し、播種後に黒あし病を起こした。切断刀による接触伝染は、黒あし病の最も確実な伝染方法であるとみられる。

黒あし病の防除

34). 切断前の未発芽塊茎をストレプトマイシン15%・オキシテトラサイクリン1.5%水和剤の100倍液、あるいはチオファネートメチル50%・ストレプトマイシン15%水和剤の40倍液で塊茎200kg当り5~6l如露散布あるいは噴霧処理すると、黒あし病菌の種塊茎感染による発病阻止効果が高く、さらにそうか病塊茎伝染

防止にも効果があった。また、後者の薬剤は種塊茎に由来する黒あし病菌による感染発病防止に有効であった。

35). 切断刀を中性次亜塩素酸カルシウム70%粒剤の10倍液に5秒間浸漬すると、黒あし病菌および輪腐病菌の切断刀による接触伝染は完全に防止できた。また、同剤液1lは2,000回以上の切断刀浸漬を行っても、感染阻止効果が低下しなかった。

36). ミニコンテナ切片に付着させた黒あし病菌は、中性次亜塩素酸カルシウム剤の1,000倍液および塩化ベンザルコニウム20%液剤の250倍液で処理すると、48時間以内に死滅し、また同剤は同濃度でそうか病菌および乾腐病菌の殺菌にも有効であった。

37). 以上の研究結果、ジャガイモ黒あし病の発生実態と被害を明らかにし、病原菌を同定してその簡易鑑別同定法を確立した。土壌増菌法および塊茎洗浄液増菌法を用いて、土壌中および塊茎における病原菌の生態を明らかにした。また、種塊茎、切断刀および容器の殺菌剤とその殺菌効果を明らかにし、本病の防除対策について述べた。

引用文献

- 1) Aleck, J. R. and M.D. Harrison. 1978. The influence of inoculum density and environment on the development of potato blackleg. *Am. Potato J.* 55 : 479 - 494.
- 2) Allan, E. and A. Kelman. 1977. Immunofluorescent stain procedures for detection and identification of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. *Phytopathology* 67 : 1305 - 1312.
- 3) Appel, O. 1902. Zur Kenntnis der Bacterienfaule der Kartoffeln. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 20 : 128 - 129. (Morse, W. J. 1917. より引用)
- 4) Artschwager, E.R. 1920. Pathological anatomy of potato blackleg. *Jour. Agric. Res.* 20 : 325 - 330.
- 5) Bergey, D.H. *et al.* 1923. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Williams and Wilkins Co. Baltimore. 442pp.
- 6) Bonde, R. 1939 a. The role of insects in the dissemination of potato blackleg and seed piece decay. *Jour. Agric. Res.* 59 : 889 - 917.
- 7) Bonde, R. 1939 b. Comparative studies of the bacteria associated with potato blackleg and seed-piece decay. *Phytopathology* 29 : 831 - 851.
- 8) Bonde, R. 1950. Factors affecting potato blackleg and seed-piece decay. *Main Agric. Exp. Stn. Bull.* 482 : 1 - 31.
- 9) Bonde, R. 1953. Preliminary studies on the control of bacterial decay of the potato with antibiotics. *Am. Potato J.* 30 : 143 - 147.
- 10) Bonde, R. 1955. Antibiotic treatment of seed potatoes in relation to seed-piece decay, blackleg, and yield rate. *Plant Dis. Repr.* 39 : 120 - 123.
- 11) Bonde, R. and P. Souza. 1954. Studies on the control of potato bacterial seed-piece decay and blackleg with antibiotics. *Am. Potato J.* 31 : 311 - 316.
- 12) Brazda, G. and B. Pett. 1976. Einfluss von Chloramphenicol und Streptomycinsulfat auf das Wachstum von *Pectobacterium carotovorum* var. *atrosepticum* (van Hall) Dowson. *Zent. Bakt. Pars. Inf.-kran. Hyg. II.* 131 : 751 - 756. (in *Rev. Plant Pathol.* 56 : 623, 1977)
- 13) Brenner, D.J., G.R. Fanning, and A. G. Steigerwalt. 1977. Deoxyribonucleic acid relatedness among *Erwiniae* and other Enterobacteria. II. Corn stalk rot bacterium and *Pectobacterium chrysanthemi*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 27 : 211 - 221.
- 14) Brenner, D.J., A. G. Steigerwalt, G. V. Miklos and G. R. Fanning. 1973. Deoxyribonucleic acid relatedness among *Erwiniae* and other Enterobacteriaceae : The soft rot organisms (genus *Pectobacterium* Waldee). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23 : 205 - 216.
- 15) Burkholder, W. H. 1948. Genus I. *Erwinia* Winslow *et al.* In *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 6th ed. (Breed, R.S. *et al.* eds.). Williams and Wilkins Co. Baltimore. pp. 463 - 478.
- 16) Burkholder, W. H. 1957. Genus *Erwinia*. In *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 7th ed. (Breed, R.S. *et al.* eds.) Williams and Wilkins Co. Balti-

- more. pp. 349 - 359.
- 17) Burkholder, W. H., L. A. McFadden and A. W. Dimock. 1953. A bacterial blight of chrysanthemums. *Phytopathology* 43 : 522 - 526.
 - 18) Burkholder, W. H. and W. L. Smith. 1949. *Erwinia atroseptica* (van Hall) Jennison and *Erwinia carotovora* (Jones) Holland. *Phytopathology* 39 : 887 - 897.
 - 19) Burr, T. J. and M. N. Schroth. 1977. Occurrence of soft rot *Erwinia* spp. in soil and plant material. *Phytopathology* 67 : 1382 - 1387.
 - 20) Cother, E. J. 1979. Bacterial seed tuber decay in irrigated sandy soils of New South Wales. *Potato Res.* 23 : 75 - 84.
 - 21) Davidson, R. S. 1948. Factors affecting the development of bacterial soft rot of potato initials. *Phytopathology* 38 : 673 - 687.
 - 22) De Boer, S. H., E. Allan and A. Kelman. 1979. Survival of *Erwinia carotovora* in Wisconsin soils. *Am. Potato J.* 56 : 245 - 252.
 - 23) De Boer, S. H. and A. Kelman. 1975. Evaluation of procedures for detection of pectolytic *Erwinia* ssp. on potato tubers. *Am. Potato J.* 52 : 117 - 123.
 - 24) De Boer, S. H., R. J. Copeman and H. Vrugink. 1979. Serogroups of *Erwinia carotovora* potato strains determined with diffusible somatic antigen. *Phytopathology* 69 : 316 - 319.
 - 25) de Lindo, L., E. R. French and A. Kelman. 1978. *Erwinia* ssp. pathogenic to potatoes in Peru. *Am. Potato J.* 55 : 383. (Abstr.).
 - 26) de Mendonca, M. and M. E. Stanghellini. 1979. Endemic and soilborne nature of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, a pathogen of mature sugar beets. *Phytopathology* 69 : 1096 - 1099.
 - 27) Dickey, R. S. 1979. *Erwinia chrysanthemi* : A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. *Phytopathology* 69 : 324 - 329.
 - 28) Dowson, W. J. 1941. The identification of bacteria causing soft rot in plants. *Ann. Appl. Biol.* 28 : 102 - 106.
 - 29) Dowson, W. J. 1957a. Isolation of soft rot bacteria on Wieringa's pectate gel. *Nature (Lond.)* 197 : 682.
 - 30) Dowson, W. J. 1957b. Plant diseases due to bacteria. 2nd ed. Cambridge Univ. Press. 232 pp.
 - 31) Dye, D. W. 1968. A taxonomic study of the genus *Erwinia* I. The Amylovora group. *N. Z. J. Sci.* 11 : 590 - 607.
 - 32) Dye, D. W. 1969. A taxonomic study of the genus *Erwinia* II. The Carotovora group. *N. Z. J. Sci.* 12 : 81 - 97.
 - 33) Dye, D. W. *et al.* 1980. International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype strains. *Rev. Plant Pathol.* 59 : 139 - 172.
 - 34) Dykstra, T. P. 1941. Results of experiments in control of bacterial ring rot of potatoes in 1940. *Am. Potato J.* 18 : 27 - 55.
 - 35) Elrod, R. P. 1941. Serological studies of the Erwinieae. II. Softrot group ; with some biochemical consideration. *Bot. Gas.* 103 : 266 - 279.
 - 36) Epps, W. M. 1957. Control of potato seed piece decay in South Carolina 1952 - 1956. *Plant Dis. Repr.* 41 : 148 - 150.
 - 37) Ficke, W. *et al.* 1973. Lebensdauer von *Pectobacterium carotovorum* var. *atrosep-*

- ticum* (van Hall) Dowson auf Pflanzgut und im Boden. Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz 9 : 281-293.
- 38) Frank, A. B. 1899. Die Bakterienkrankheiten der Kartoffeln. Centralbl. f. Bakt. II. 5 : 98-102, 134-139. (Morse, W. J. 1917. より引用).
- 39) Fredricks, A. L. and H. N. Metcalf. 1970. Potato blackleg disease. Am. Potato J. 47 : 337-343.
- 40) 後藤正夫. 1956. 最近における植物病原細菌の分類について. I. 周毛性植物腐敗病菌. 日植病報 21 : 92-96.
- 41) 後藤正夫・岡部徳夫. 1958. 軟腐病菌 (*Erwinia carotovora*) の系統に関する研究. V. 菌体抗原構造, 抗原構造と生化学的性質との関係及び免疫抗体の熱による不活性化について. 静岡大農研究報告 8 : 1-32.
- 42) Graham, D. C. 1958. Overwintering of soft rot bacteria in Scottish soils. Nature (Lond.) 181 : 61.
- 43) Graham, D. C. 1962. Blackleg disease of potatoes. Scott. Agric. 41 : 211-215.
- 44) Graham, D. C. 1963. Serological diagnosis of potato blackleg and tuber soft rot. Plant Pathol. 12 : 142-144.
- 45) Graham, D. C. 1964. Taxonomy of the soft rot coliform bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 2 : 13-42.
- 46) Graham, D. C. 1972. Identification of soft rot coliform bacteria. In Proc. Third Int. Conf. Plant Path. Bact. April 1971. (Mass Geesteranus, H. P. ed.). Wageningen. The Netherlands. pp. 273-279.
- 47) Graham, D. C. and W. J. Dowson. 1960a. The coliform bacteria associated with potato black-leg and other soft rots I. Their pathogenicity in relation to temperature. Ann. Appl. Biol. 48 : 51-57.
- 48) Graham, D. C. and W. J. Dowson. 1960b. The coliform bacteria associated with potato black-leg and other soft rots. II. Biochemical characteristics of low and high-temperature strains. Ann. Appl. Biol. 48 : 58-64.
- 49) Graham, D. C. and J. L. Hardie. 1971. Prospects for control of potato blackleg disease by the use of stem cuttings. Proc. 6th Brit. Insectic. Fungic. Conf. I. 219-224.
- 50) Graham, D. C. and P. C. Harper. 1967. Potato blackleg and tuber soft rot. Scott. Agric. 46 : 68-74.
- 51) Graham, D. C. and P. C. Harper. 1966. Effect of inorganic fertilizers on the incidence of potato blackleg disease. Eur. Potato J. 9 : 141-145.
- 52) Graham, D. C. and M. D. Harrison. 1975. Potential spread of *Erwinia* spp. in aerosols. Phytopathology 65 : 739-741.
- 53) Graham, D. C., C. E. Quinn and M. D. Harrison. 1976. Recurrence of soft rot coliform bacterial infections in potato stem cuttings : An epidemiological study on the central nuclear stock production farm in Scotland 1967-1974. Potato Res. 19 : 3-20.
- 54) Graham, D. C., C. E. Quinn and L. F. Bradley. 1977. Quantitative studies on the generation of aerosols of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* by simulated raindrop impaction on blackleg-infected potato strains. J. appl. Bact. 43 : 412-424.
- 55) Harrison, R. C. 1907. A bacterial rot of potato caused by *Bacillus solanisaprus*. Cent. fur. Bakteriolog. Parasitenk. und Infect. Abt. II 17 : 34-39, 120-128, 166-174, 384-395. (Morse, W. J. 1917. より引用).

- 56) Harrison, M. D., C. E. Quinn, A. Sells and D. C. Graham. 1977. Waste potato dumps as sources of insects contaminated with soft rot coliform bacteria in relation to recontamination of pathogen-free potato stocks. *Potato Res.* 20 : 37-52.
- 57) Hellmers, E. and W. J. Dowsom. 1953. Further investigations of potato blackleg. *Acta Agric. Scand.* III. 1 : 103-112.
- 58) Hingorani, M. K. and S. K. Addy. 1952. A comparative study of *Erwinia carotovora*, *Erwinia aroideae* and *Erwinia atroseptica*. *Indian Phytopathol.* 5 : 40-43.
- 59) Hugh, R. and E. Leifson. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram negative bacteria. *J. Bact.* 66 : 24-26.
- 60) 飯塚 広・駒形和男. 1962. *Pseudomonas* 属を3群に大別する試み. *日農化誌.* 36 : 663-668.
- 61) 伊藤誠哉. 1930. 馬鈴薯の病害, 特に萎縮病に就きて. 北海道庁産業部.
- 62) Jennings, J. W., E. L. Calvert and N. E. Morrison. 1964. Experimental work on the washing and disinfection of seed potatoes. *Eur. Potato J.* 7 : 21-32.
- 63) Jennison, H. M. 1923. Potato blackleg with special reference to the etiological agent. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 10 : 1-70.
- 64) Jones, L. R. 1902. A soft rot of carrot and other vegetable caused by *Bacillus carotovorus* Jones. *Vermont Agr. Exp. St. Rept.* 13 : 299-332.
- 65) Jones, L. R. 1907. Blackleg disease of the potato. *Vermont Agr. Exp. St. 19th Ann. Rep.* 257-275.
- 66) 川上清隆・小林敏郎・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.
- 67) 川上清隆・工藤浩平・小林敏郎. 1977. 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. *植防研報.* 14 : 24-31.
- 68) 菊本敏雄・坂本正幸. 1969. そ菜類軟腐病菌の生態的研究. 第7報 作物および雑草根圏における軟腐病菌の増殖. *日植病報.* 35 : 36-40.
- 69) 木村一郎. 1964. 血清学実験法. 蛋白質・核酸・酵素. 9 : 296-302.
- 70) 木村伸司・柳田駿策. 1980a. 種いも接種によるジャガイモ黒あし病発生経過. *北海道農試研報.* 125 : 9-16.
- 71) 木村伸司・柳田駿策. 1980b. 罹病ジャガイモ上の黒あし病菌の推移. *北海道農試研報.* 125 : 17-22.
- 72) King, E. O., M. K. Ward and D. E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44 : 301-307.
- 73) 小林敏郎・川上清隆. 1977. ジャガイモ黒あし病に関する研究. III. 黒あし病菌に寄主特異的なフェージ. *植防研報.* 14 : 32-37.
- 74) 近藤正一・河島俊一. 1963. 獣医衛生細菌学実習. 東京プレス出版部. p. 108.
- 75) Koser, S. A. 1924. Correlation of citrate utilization by members of the Colon-Aerogenes group with other differential characteristics and with habitat. *J. Bact.* 9 : 59-77.
- 76) Kotila, J. and G. H. Coons. 1925. Investigations on the blackleg disease of potato. *Michi. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull.* 67 : 1-29.
- 77) Kovacs, N. 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature (Lond.).* 178 : 703.

- 78) Lacy, M.S. 1926. Studies in bacteriosis XIII. A soft rot of potato tubers due to *Bacillus carotovorus* and a comparison of the cultural, pathological, and serological behavior of various organisms causing soft rots. Ann. appl. Biol. 13 : 1 - 11.
- 79) Lazar, I. 1972. Serological relationships between the amylovora, carotovora and herbicola groups of the genus *Erwinia*. In Proc. Third Int. Conf. Plant. Path. Bact. April 1971. (Mass Geesteranus, H. P. ed.). Wageningen. The Netherlands. pp. 131 - 141.
- 80) Lazar, I. and E. Bucur. 1964. Recent research in Roumania on blackleg and bacterial soft rot of potato. Eur. Potato J. 7 : 102 - 111.
- 81) Leach, J. G. 1926. The relation of the seed-corn maggot (*Phorbia fusciceps* Zett.) to the spread and development of potato blackleg in Minnesota. Phytopathology 16 : 149 - 176.
- 82) Leach, J. G. 1927. The nature of seed-piece transmission of potato blackleg. Phytopathology 17 : 155 - 160.
- 83) Leach, J. G. 1930. Potato blackleg : The survival of the pathogen in the soil and some factors influencing infection. Phytopathology 20 : 215 - 228.
- 84) Leach, J. G. 1931. Blackleg diseases in Minnesota. Minn. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull. 76 : 1 - 36.
- 85) Leifson, E. 1933. The fermentation of sodium malonate as a means of differentiating *Aerobacter* and *Escherichia*. J. Bact. 26 : 329 - 330.
- 86) Lelliott, R. A. 1956. Slow wilt of carnations caused by a species of *Erwinia*. Plant Path. 5 : 19 - 23.
- 87) Lelliott, R. A. 1974. Genus XII *Erwinia*. In Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. (Buchanan, R. E. et al eds.). pp. 332 - 340.
- 88) Lelliott, R. A., E. Billing and A. C. Hayward. 1966. A determinative scheme for fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. appl. Bact. 29 : 470 - 489.
- 89) Logan, C. 1966. Simple method of differentiating *Erwinia carotovora* Variety *Atroseptica* from *E. carotovora* and *E. carotovora* Variety *Aroideae*. Nature (Lond.) 212 : 1584 - 1585.
- 90) Logan, C. 1968. The survival of the potato blackleg pathogen overwinter. Rec. Agric. Res. Minist. Agric. North Irel. 17 : 115 - 121.
- 91) Malcolmson, J. F. and R. Bonde. 1956. Studies on the control of bacterial and fungus decay of potato seed piece. Plant Dis. Repr. 40 : 708 - 713.
- 92) Martinec, T. and M. Kocur. 1963. Taxonomicka studie rodu *Erwinia*. Folia Publ. Fac. nat. Sci. J. E. Purkynne Univ. (Biol.) 4 : 1 - 163.
- 93) Meneley, J. C. and M. E. Stanghellini. 1976. Isolation of soft rot *Erwinia* spp. from agricultural soils using an enrichment technique. Phytopathology 66 : 367 - 370.
- 94) Molina, J. J. and M. D. Harrison. 1977. The role of *Erwinia* in the epidemiology of potato blackleg. I. Relationship of *E. carotovora* var. *carotovora* and *E. carotovora* var. *atroseptica* to blackleg in Colorado. Am. Potato J. 54 : 587 - 591.
- 95) Molina, J. J. and M. D. Harrison. 1980. The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato blackleg.

- II. The effect of soil temperature on disease severity. *Am. Potato J.* 57 : 351 - 363.
- 96) Morse, W. J. 1917. Studies upon the blackleg disease of the potato with special reference to the relationship of the causal organisms. *Jour. Agric. Res.* 8 : 79 - 126.
- 97) 向 秀夫・金野太郎・土屋行夫. 1950. 米 国から輸入された馬鈴薯に発生した黒腐性の細菌病について. 農技研病理科研究中間報告 3 : 1 - 12.
- 98) Murata, N. and M. P. Starr. 1974. Intra-generic clustering and divergence of *Erwinia* strains from plants and man in the light of deoxyribonucleic acid segmental homology. *Can. J. Microbiol.* 20 : 1545 - 1565.
- 99) 成田武四. 1958. 北海道における馬鈴薯の細菌病に関する研究. 北海道立農試報告. 8 : 1 - 80.
- 100) 成田武四・田中一郎. 1954. 北海道に於ける馬鈴薯輪腐病に関する調査研究. 北海道立農試報告. 6 : 1 - 116.
- 101) Nielsen, L. W. 1978. *Erwinia* species in the lenticels of certified seed potatoes. *Am. Potato J.* 55 : 671 - 676.
- 102) Noble, M. and M. Marshall. 1952. A note on blackleg of potato. *Plant Pathol.* 1 : 143.
- 103) Novakova, J. 1957. A new method of isolation of blackleg pathogen from diseased plants. *Phytopathol. Z.* 29 : 72 - 74.
- 104) 岡部徳夫・後藤正夫. 1956. 軟腐病菌(*Erwinia carotovora*)の系統に関する研究. I. 鞭毛の抗原構造並びにそれらの病原性及び麦芽糖分解能に対する関係. 静岡大農研究報告. 6 : 16 - 32.
- 105) 尾崎政春・谷井昭夫・馬場徹代・土屋貞夫. 1968. ジャガイモ黒脚病とその病原細菌. 日植病報. 34 : 362. (講要)
- 106) 尾崎政春・谷井昭夫・馬場徹代・土屋貞夫. 1973. ジャガイモ黒脚病の伝播様式. 北海道立農試集報. 28 : 62 - 69.
- 107) Paine, S. G. 1917. Studies in bacteriosis. I. Blackleg of potato. *J. Agric. Sci.* 8 : 480 - 494.
- 108) Paine, S. G. and H. Chaudhuri. 1923. The blackleg disease of potato, on the relationship of *Bacillus atrosepticus* and *Bacillus solanisaprus*. *Phytopathology* 13 : 359 - 361.
- 109) Patel, M. K. 1929. Viability of certain plant pathogens in soils. *Phytopathology* 19 : 295 - 300.
- 110) Perombelom, M. C. M. 1972a. The extent and survival of contamination of potato stocks in Scotland by *Erwinia carotovora* var. *carotovora* and *E. carotovora* var. *atroseptica*. *Ann. Appl. Biol.* 71 : 111 - 117.
- 111) Perombelom, M. C. M. 1972b. A reliable and rapid method for detecting contamination of potato tubers by *Erwinia carotovora*. *Plant Dis. Repr.* 56 : 552 - 554.
- 112) Perombelom, M. C. M. 1973. Sites of contamination and numbers of *Erwinia carotovora* present in stored seed potato stocks in Scotland. *Ann. Appl. Biol.* 74 : 59 - 65.
- 113) Perombelom, M. C. M. 1974. The role of seed tuber in the contamination by *Erwinia carotovora* of potato crops in Scotland. *Potato Res.* 17 : 187 - 199.
- 114) Perombelom, M. C. M. 1976. Effects of environmental factors during the growing season on the level of potato tuber contamination. *Phytopathol. Z.* 85 : 97 - 116.
- 115) Pethybridge, G. H. 1912. Investigations

- on potato diseases. J. Dept. Agric. Tech. Instr. Ireland 12 : 334 - 360.
- 116) Racicot, H. N., D. B. O. Savile and I. L. Connors. 1938. Bacterial wilt and rot of potatoes - some suggestions for its detection, verification, and control. Am. Potato J. 15 : 312 - 318.
- 117) Ramsey, G. B. 1919. Studies on the viability of the potato blackleg organism. Phytopathology 9 : 285 - 288.
- 118) Robinson, D. B. and R. R. Hurst. 1956. Control of potato blackleg with antibiotics. Am. Potato J. 33 : 56 - 59.
- 119) Rosenbaum, J. and G. B. Ramsey. 1918. Influence of temperature and precipitation on the blackleg of potato. Jour. Agric. Res. 13 : 507 - 513.
- 120) Rudd Jons, D. 1950. On the nomenclature and identity of the coliform soft rot bacteria. Trans. Br. mycol. Soc. 33 : 73 - 81.
- 121) Sampson, P. J. and A. C. Hayward. 1971. Some characteristics of pectolytic bacteria associated with potato in Tasmania. Aust. J. biol. Sci. 24 : 917 - 923.
- 122) Schaad, N. W. 1979. Serological identification of plant pathogenic bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 17 : 123 - 147.
- 123) Scholey, J., C. Marshall and R. Whibread. 1968. A pathological problem associated with pre-packaging of potato tubers. Plant Pathol. 17 : 135 - 139.
- 124) Skerman, V. B. D. 1967. A guid to the identification of the genera of bacteria. 2nd ed. Williams and Wilkins Co. Baltimore. pp. 213 - 286.
- 125) Skerman, V. B. D., V. McGowan and P. H. A. Sneath. 1980. Approved lists of bacterial names. Int. J. Syst. Bacteriol. 30 : 225 - 420.
- 126) Smith, M. A. and G. B. Ramsey 1947. Bacterial lenticel infection of early potatoes. Phytopathology 37 : 225 - 242.
- 127) Smith, W. L. 1950. Pathogenic differences manifested by *Erwinia atroseptica* and *Erwinia carotovora*. Phytopathology 40 : 1011 - 1017.
- 128) Stanghellini, M. E. *et al.* 1977. Serological differentiation among isolates of *Erwinia carotovora* from potato and sugar beet. Phytopathology 67 : 1178 - 1182.
- 129) Stanghellini, M. E. and J. C. Meneley. 1975. Identification of soft rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. Phytopathology 65 : 86 - 87.
- 130) Starr, M. P. and M. Mandel. 1969. DNA base composition and taxonomy of phytopathogenic and other enterobacteria. J. Gen. Microbiol. 56 : 113 - 123.
- 131) Stapp, C. 1929. Die Schwarzbeinigkeit und Knollennassfäule der Kartoffel. Arb. Biol. Reichsanst. Land-u.-Forstw. 16 : 643 - 703.
- 132) Stewart, D. J. 1962. A selective - diagnostic medium for the isolation of pectolytic organisms in the Enterobacteriaceae. Nature (Lond.) 195 : 1023.
- 133) 瀧元清透. 1927. 馬鈴薯・蕃茄・甘藍・蒟蒻其の他野菜及び花芦類の腐敗病に関する研究. 農及園. 2 : 843 - 852, 967 - 976.
- 134) 谷井昭夫. 1980. ジャガイモの黒脚病を起因する細菌と簡易同定法. 日植病報. 46 : 401. (講要).
- 135) 谷井昭夫. 1981. ジャガイモ軟腐病菌および黒脚病菌の生態と分類に関する一考察. 日植病報. 47 : 393. (講要).
- 136) 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 : 513 - 517.

- 137) 谷井昭夫・赤井 純. 1977. 種薯消毒によるジャガイモ黒脚病の防除. 日植病報. 43 : 357. (講要).
- 138) 谷井昭夫・赤井 純. 1978. 切断刀およびコンテナ消毒剤のジャガイモ病害類に対する効果. 日植病報. 44 : 72. (講要).
- 139) 谷井昭夫・馬場徹代. 1971. 北海道における植物細菌病. II. *Erwinia chrysanthemi* Burkholder *et al.* (*Pectobacterium carotovorum* var. *chrysanthemi*) によるジャガイモの萎凋細菌病. 北海道立農試報告 24 : 1 - 10.
- 140) 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 : 351 - 360.
- 141) Thomson, S. V., D. C. Hildebrand and M. N. Schroth. 1981. Identification and nutritional differentiation of the *Erwinia* sugar beet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology* 71 : 1037 - 1042.
- 142) Thornley, M. J. 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other Gram-negative bacteria on the basis of arginine metabolism. *J. appl. Bact.* 23 : 37 - 52.
- 143) 富永時任・小笠原賢亮. 1979. ジャガイモ萎ちょう細菌病の新潟における発生. 日植病報. 45 : 474 - 477.
- 144) 津山博之. 1962. 白菜軟腐病に関する研究. 東北大農研彙. 13 : 221 - 345.
- 145) 津山博之. 1980. ハクサイ軟腐病の発生生態. 植物防疫. 34 : 294 - 298.
- 146) Van den Boom, T. 1967. Untersuchungen über die Voraussetzungen für das Auftreten der Schwarzbeinigkeit der Kartoffel. *Phytopathol. Z.* 58 : 239 - 276.
- 147) van Hall, C. J. J. 1902. Bijdragen tot de Kennis der Bakteriële Planzenziekten. Inaug. Diss. Univ. Amsterdam. (Morse, W. J. 1917. より引用).
- 148) Vrugink, H. 1978. Enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) in the serodiagnosis of plant pathogenic bacteria. *In Proc. 4th Int. Conf. Plant Path. Bact. I.* Anger 1978 : 307 - 310.
- 149) Vrugink, H. and S. H. De Boer. 1978. Detection of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* in potato tubers with immunofluorescence following induction of decay. *Potato Res.* 21 : 225 - 229.
- 150) Vrugink, H. and H. P. Mass Geesteranus. 1975. Serological recognition of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, the causal organism of potato blackleg. *Potato Res.* 18 : 546 - 555.
- 151) Waldee, E. L. 1945. Comparative studies of some peritrichous phytopathogenic bacteria. *Iowa St. Coll. J. Sci.* 19 : 435 - 484.
- 152) 柳田騏策. 1974. ジャガイモ黒脚病菌の熱水可溶性抗原について. 日植病報. 40 : 119 - 120. (講要)
- 153) 柳田騏策・木村伸司. 1980. ジャガイモ種薯の黒あし病菌による汚染調査. 北海道農試研報. 128 : 7 - 11.
- 154) Zielke, R. 1976. Der Schwellenwert von Infektionen mit *Pectobacterium carotovorum* var. *atrosepticum* (van Hall) Dawson zur Erzeugung eines Latenten und akuten Nassfäulebefalls an Kartoffelsprossen und knollen. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* 12 : 27 - 41.
- 155) Zilke, R. *et al.* 1974. Einfluß vom Boden und Klima auf das Auftreten der Schwarzbeinigkeit und Knollennassfäule der Kartoffel. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* 10 : 245 - 253.
- 156) 伝染病研究所学友会. 1958. 細菌学実習提要. 第2版. 丸善 478 pp.

- 157) 北海道立中央農業試験場. 1972. 昭和47年度農作物有害動植物発生予察事業年報. 169pp.
- 158) 北海道立中央農業試験場. 1980. 昭和55年度農作物有害動植物発生予察事業年報. 181 pp.
- 159) 北海道立根釧農業試験場・病虫予察科. 1973. 昭和47年度病虫害試験成績書. pp.1-30.
- 160) 農林水産省北海道統計情報事務所. 1981. 昭和54~55年北海道農林水産統計年報 (総合編). 140 pp.
- 161) Society of American Bacteriologists. 1957. Manual of micorbiological methods. McGraw-Hill Book Co. New York. 315 pp.
- 162) 横浜植物防疫所. 1966. 北海道で馬鈴しょ黒脚病類似症発生. 植防ニュース. 314号.

Studies on the blackleg disease of potato in Hokkaido

Akio TANII

Summary

The blackleg disease of potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the major bacterial diseases that are widely distributed in the areas where potatoes are grown in the world. In Japan, the disease has been found only in Hokkaido prefecture, leading to the considerable loss in potato yield.

The incidence of the disease in Japan was first found by Narita at Nakashibetsu town in Kosen district of Hokkaido in 1955, where the potatoes for the production of starch were cultivated, but at that time the number of diseased plants was very few. Since 1967, the disease was rapidly spread to other districts. In 1972, the disease was prevalent not only in the original seed and propagation farms, but also in the farmer's fields where the system supplied seed tubers were used at Tokachi district.

Thus, the disease became into a serious problem in terms of the production of seed tubers and the cultivation of commercial potatoes. The establishment of control methods for the disease was, therefore, needed. Besides, the symptom and causal bacteria of the disease were very similar to those of the soft rot disease, bringing about confusion on the diagnosis of the disease on the spot.

The present paper describes the results on the incidence, damage, diagnosis, ecology and chemical control of the disease, together with the bacteriological and serological characters of the pathogens concerned.

I. Geographical distribution and appearance of the blackleg disease in Hokkaido, and its damage to potato yield

To clarify the geographical distribution and appearance of the disease, the incidence of the disease was investigated on the selected fields more than 10 a in major potato cultivating areas in Hokkaido, especially in eastern parts during 1974–1980. The identification of the bacteria was made using the cultures from the diseased stems collected from various localities. Analyses of damage due to *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and a serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* were also done using three potato varieties under the field condition.

1. Geographical distribution and appearance of the blackleg disease, and its causal pathogen

The disease was found to distribute in almost all of major potato cultivating areas in Hokkaido. However, annual average percentage of the diseased plants in the diseased fields during 1975–1980 in the eastern part of Hokkaido ranged within 1.6 to 4.8 per cent, and total average percentage was only 2.3 per cent. On the other hand, percentage of the diseased fields was 63 per cent of 83 fields investigated in 1974, and then gradually decreased and became only 14 per cent of 106 fields investigated in 1980.

Participation of three kinds of causal pathogens in this disease was demonstrated. The incidence of the disease by *E. chrysanthemi* was localized in part of Tokachi and Kushiro districts. While the disease by *E. carotovora* ssp. *atroseptica* was widely distributed in Nemuro, Kushiro and Abashiri districts. The incidence of the disease by the serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* was mainly found in Tokachi district. In 1977, the incidence of the blackleg disease by the latter pathogen was found in Shiribeshi and Iburi districts.

Among three kinds of the pathogens, geographical distribution of *E. carotovora* ssp. *atroseptica* and a serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* was considered to be caused by the movement of infected or infested seed tubers introduced from Kosen district, and by their movement from original and propagation farms of Tokachi district, respectively.

2. Analyses of damage

The earlier the outbreak time of the disease was, severer the tuber yield reduced, regardless of potato variety and a kind of causal pathogen. Average total weight of new tubers per diseased plant was 151, 340 and 431g on potato varieties, Eniwa, Norin No.1 and Tarumae, respectively, corresponding to only 18, 38 and 51 per cent of that per healthy plant. Viewing the relationship between percentage of the diseased plants and total weight decrease of new tubers on potato variety, Tarumae, tuber yield decrease was not observed below 15 per cent of the diseased plants, while in the case of potato variety, Eniwa, 5 per cent of the diseased plants corresponded to about 4 per cent of tuber yield decrease. It was, therefore, considered that damage to tuber yield differed among potato varieties.

II. Causal pathogens of the blackleg disease

Pathogenicity, and bacteriological and serological characters of the cultures of pathogenic bacteria isolated from either the blackleg diseased stems or tubers in Hokkaido during 1968–1977 were examined to clarify the taxonomic position and to establish the simple discrimination method, in comparison with those of the cultures of the soft rot pathogens of vegetables and potato.

1. Identification of the blackleg pathogens

Out of 127 cultures of pathogenic bacteria examined, 56 were identified as *Erwinia carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923 subspecies *atroseptica* (van Hall 1902) Dye 1969 (Eca), 38 as a serologically specific strain of *E. carotovora* subsp. *carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923 (Ecc-B), and the remainders as *E. chrysanthemi* Burkholder, McFadden and Dimoke 1953 (Echr), respectively. Thus, it became clear that the blackleg disease of potato was caused by three kinds of the pathogens in Hokkaido.

2. Pathogenicity of the blackleg pathogens

Host range: Three kinds of the causal pathogens, Eca, Ecc-B and Echr caused the soft rot symptom on the parenchymatous tissues of potato tuber, carrot, radish, onion and chinese cabbage within 4 days after puncture inoculation as was the case for soft rot pathogen, *E. carotovora* ssp. *carotovora* (Ecc-S). Among Echr cultures, however, some culture did not show the pathogenicity against onion and chinese cabbage. Eight cultures of Echr used for the inoculation experiment did not show the pathogenicity against chrysanthemum, carnation and corn.

Inoculation test to potato tubers: Eca, Ecc-B and Echr induced blackleg symptom on the stems grown from the tubers inoculated with each pathogen which were sowed and cultivated in the field. However, Ecc-S showed no symptom on the stems grown from the inoculated tubers. The inoculation test to potato tubers was, therefore, considered to be a reliable method for differentiating the blackleg pathogens such as Eca, Ecc-B and Echr from the soft rot pathogen, Ecc-S.

Inoculation test to potato stems: Although blackleg symptom was induced on the young stems maintained at low temperature of 18.5°C after being inoculated with Eca and Ecc-B, the inoculation test to potato stems was considered not to be a useful method for differentiating Eca and Ecc-B from Ecc-S, because some of Ecc-S cultures showed the blackleg symptom on the inoculated stems when maintained at the same temperature.

3. Bacteriological characteristics of the blackleg pathogens

Eca could not be distinguished from Ecc-S by such characters as acid production from maltose and α -methylglucoside, and production of reducing substance from sucrose, because among Ecc-S cultures examined, 46 per cent of them had same characteristics as those of Eca. However, the properties just mentioned above were useful for differentiating Eca from Ecc-B. Growth appearance on Logan's medium was recognized as a useful characteristic for distinguishing Eca from Ecc-B, Ecc-S and Echr. Eca and Ecc-B could be characterized to have lower maximum growth temperature than Ecc-S, because all of Eca and Ecc-B cultures examined could not grow at 36°C, while all of Ecc-S cultures could grow at the same temperature. Moreover, Echr could be easily differentiated from Eca, Ecc-B and Ecc-S, on the basis of following properties; indole production, tolerance to NaCl (5 per cent), acid

production from lactose and trehalose, and utilization of malonate and tartrate.

4. Serological characters of the blackleg pathogens

Both tests of agar gel-diffusion and slide agglutination were carried out by the use of antisera against Eca and Ecc-B that were obtained from rabbits injected subcutaneously and intravenously with living whole bacterial cells (ca. 10^{9-11} CFU/ml), and antisera against Eca and Ecc-B that were made by the same manner as mentioned above except for the use of heat-killed (100°C, 30 min) whole cells, respectively.

Agar gel-diffusion test: Eca and Ecc-B possessed not only common antigens as well as Ecc-S, but also specific antigens in each, so that it was recognized that agar gel-diffusion test was quite useful for identifying Eca and Ecc-B. Moreover, serological relations between Eca or Ecc-B and Echr was also found to be weak.

Slide agglutination test: each antiserum of Eca and Ecc-B reacted specifically with Eca and Ecc-B cultures, respectively, and did not react with Echr cultures and 38 cultures of 13 species in 5 genera including phytopathogenic pseudomonads except several Ecc-S cultures which reacted with antiserum of either Eca or Ecc-B.

III. Diagnosis of the blackleg disease in the field, and simple identification method of the causal pathogens

To establish the diagnosis method and its application time in the field, symptom, outbreak time and fluctuation of the blackleg disease were observed in comparison with those of the soft rot disease of potato. To establish the simple identification of the causal pathogens, especially *E. carotovora* ssp. *atroseptica* and a serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora*, pathogenicity to stems and tubers, and serological (slide agglutination test) and main bacteriological characters using bacterial cultures which were newly isolated from the blackleg diseased stems and soft rot diseased tissues of potato, were also investigated.

1. Symptom

Although in the case of the diseased plants infected with *E. chrysanthemi*, a hollow occurred markedly of stem-pith, and symptom on foliage infected with *E. chrysanthemi* and a serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* had a tendency not to be so remarkable in the degree of yellowing of leaves and repression of stem elongation in comparison with the case of *E. carotovora* ssp. *atroseptica*, three kinds of the blackleg pathogens caused basically and commonly rotting of seed pieces, and entered the vascular bundle of stems grown from the rotting parts of seed pieces, and then caused the browning of vascular bundle of stems and wilting of foliage.

2. Outbreak time and fluctuation of the blackleg disease in the field

The incidence of the blackleg disease caused by *E. carotovora* ssp. *atroseptica* and a

serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* was first found during the period of 9–18 days after the beginning of emergence in the field, and then percentage of the diseased plants increased rapidly. However, the potato plants showing newly blackleg symptom appeared scarcely after from early August to late July. The potato soft rot disease was first found on the leaflets which contacted with soil at the time from early to middle July, and soft rot lesions on the leaflets developed to main stems via leaf–stalk at the time from middle July to early August, and then percentage of the diseased stems increased gradually.

From above results, the blackleg disease can be diagnosed fairly well in the field by the investigation of the items such as rotting seed pieces, black rotting stems connected to the rotting parts of seed pieces, and vascular bundle discolouration of affected stems as indices by the end of July.

3. Simple identification method of the blackleg pathogens

The results of studies on pathogenicity, and serological and main bacteriological characters of newly isolated cultures were in close agreement with those previously described in many respects except for the followings ; about 29 per cent of 217 Ecc–S cultures showed the positive reaction against antiserum of heat–killed Eca cells in slide agglutination test, in addition to the presence of three Ecc–S cultures which could not grow at 36 °C. Consequently, *E. carotovora* ssp. *atroseptica* and a serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* can be identified exactly, promptly and simply in combination with both tests of slide agglutination using antisera prepared against heat–killed Eca and Ecc–B cells, and growth at 36 °C. Single use of the above properties is not sufficient to identify both blackleg pathogens. However, antiserum prepared against heat–killed Eca cells which were absorbed with Ecc–S cultures showing positive agglutination, reacted specifically with Eca cultures, suggesting that this method can be used to identify *E. carotovora* ssp. *atroseptica*.

Moreover, 85 per cent of 62 Ecc–S cultures having positive agglutination against antiserum of heat–killed Eca cells, showed negative reactions in the following properties ; acid production from maltose and α -methylglucoside, and production of reducing substance from sucrose, as was not the case for *E. carotovora* ssp. *atroseptica*.

IV. Ecology and transmission of the blackleg pathogens

The ecological studies on the pathogens were conducted using enrichment techniques, followed by the determination of the pathogens using both serological and main bacteriological characters. Examinations were carried out on overwintering and surviving of the pathogens in the soil, relation between detection of the pathogens from tubers and disease incidence, and existence and fluctuation of the pathogens in the surrounding soil near the diseased plants and infestation to new tubers by them, in addition to the contact transmission through the cutting knife.

1. Overwintering and surviving of the pathogens in the soil

Possibility of overwintering and surviving of the pathogens in the soil were examined by two enrichment techniques ; modified method by Meneley • Stanghellini (1976), and tuber washed water enrichment method.

Detection of the pathogens artificially inoculated into soil and its accuracy: The detection accuracy of soil enrichment method was 100 per cent for the pathogens of Eca and Ecc-B from inoculated soils containing population of 0.5 - 0.8 and 0.4 - 1.4 CFU/g of dry soil, respectively. Population level of detectable limit for both pathogens was 0.1 - 0.2 CFU/g of dry soil.

Detection of the pathogens from field soil, and possibility of overwintering and surviving in the soil : Three kinds of the blackleg pathogens were not detected from all the soils of ordinary and framed fields examined, that had history of blackleg incidence in either previous or past year, and all the tubers which were harvested from framed fields, having history of blackleg incidence in past year, when the detection was carried out at sowing period of middle May to early June in every year, and in a short time after harvesting, respectively.

2. Detection of the pathogens from tubers, and disease incidence

The detection of the pathogens was done on the tuber groups harvested from the fields varied with the degree of blackleg incidence by *E. carotovora* ssp. *atroseptica* using the tuber washed water enrichment method, and part of each tuber group was sowed and cultivated in the fields in order to investigate the incidence of the blackleg disease.

Comparison of detection methods of the pathogens from tubers : Comparison of detection accuracy could not be evaluated, because no blackleg pathogens were detected from 4 tuber groups used. However, detection accuracy of the soft rot pathogen, *E. carotovora* ssp. *carotovora*, by tuber washed water enrichment method was higher than that by the method described by Perombelom (1972 b).

Detection of the pathogen from tuber groups obtained from blackleg diseased fields, and disease incidence : Tuber groups obtained from the fields indicating 0.0, 4.6, 13.6, 21.7 and 35.6 per cent of diseased plants in previous year, showed 1.8, 0, 0.8, 0 and 0.4 per cent of diseased plants, respectively, in the field experiments, and percentage of infested tubers was 0 per cent in all the tuber groups tested, when detection was carried out by the time of sowing after being brought out from storehouse. On the other hand, in the case of tuber group obtained from the field indicating 6.6 per cent of diseased plants in previous year, percentage of infested tubers by the pathogen and blackleg diseased plants were 21.6 and 13.8 per cent, respectively, in the present year.

These facts suggest that percentage of diseased plants in previous year is not correlated with that of both infested tubers and diseased plants in the present year, but that of tubers infested with the pathogen is related to the disease incidence.

Existing parts of the pathogens in the tubers, and its survival: The detection of the pathogens from surface, lenticel and stolon attached site of new tubers, which were harvested from diseased plants, healthy plants adjacent to diseased plants, and diseased field, was carried out.

The blackleg pathogens, *E. carotovora* ssp. *atroseptica*, a serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* and *E. chrysanthemi*, were detected at high percentage from the surface of new tubers tested immediately after digging, and the tubers infected through stolon and infested inside of lenticel were found to be below 5 per cent. The pathogens infested on the surface of tubers could not be detected after drying treatment of 43 days in the outhouse.

3. Existence of the blackleg pathogens in the surrounding soil just near the diseased plants, and infestation to new tubers by them

It was found that the blackleg pathogens, *E. carotovora* ssp. *atroseptica* and a serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora*, were released to the surrounding soil near the diseased plants both rotting seed pieces and stems, and population level of *E. carotovora* ssp. *atroseptica* reached 10^5 CFU/g of dry soil at early stage of potato growth and at heavy rainfall. However, the pathogens usually existed at population level detected only by soil enrichment method, and lost rapidly its activity in the soil with the lapse of time.

It was also found that *E. carotovora* ssp. *atroseptica* moved within the distance of 2.4 m (4 hills) from the diseased hill, and infested the surface of tubers obtained from healthy plants. In this case, there was consecutively large amount of precipitation during period from middle August to harvest (late September).

In the surrounding soil just near the blackleg diseased plants, the blackleg pathogens were detected at the early stage of potato growth, and then soft rot pathogen enhanced its activity after the middle stage of potato growth (middle July). Such a phenomenon as differed in the stage of activity between the blackleg pathogens and soft rot pathogen corresponded to the differences of the outbreak time and fluctuation of blackleg and soft rot diseases of potato as previously described.

4. Contact transmission of the blackleg pathogens through cutting knife, and disease incidence

A serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* and *E. chrysanthemi* were transmitted to seed pieces through infested cutting knife, and induced blackleg symptom on the stems after sowing of cut seed tubers as was the case for *E. carotovora* ssp. *atroseptica*. The contact with cutting knife was considered to be the most probable means for transmission of the blackleg pathogens.

V. Chemical control methods of the blackleg disease

As previously described, the source of primary infection of the blackleg disease was mainly infested tubers. It is, therefore, the most important to use the pathogen free tubers for the control of the blackleg disease. For this purpose, it is essential to apply the chemicals for disinfecting the tubers, cutting knife and potato containers.

1. Treatment with chemicals for disinfecting the seed tubers

When 1 per cent aqueous suspension of streptomycin-oxytetracycline (15-1.5 per cent active ingredient (a.i.)) Wettable Powder (W.P.) or 2.5 per cent aqueous suspension of thiophanate methyl-streptomycin (50-15 per cent a.i.) W.P. (5-6 liters per 200 kg tubers) was applied to whole tubers in spring before sprouting using water can or atomizer, each chemical was quite effective in controlling the incidence of the blackleg and scab (caused by *Streptomyces* spp.) diseases which transmitted through seed tubers. Thiophanate methyl-streptomycin W.P. was also effective in preventing the infection by black scurf (caused by *Rhizoctonia solani*) disease, transmitted through seed tubers, to stems and stolons of potatoes.

2. Chemicals for disinfecting cutting knife

When a cutting knife was soaked in 10 per cent aqueous suspension of calcium hypochlorite ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$, 70 per cent a.i.) Granule (G.) for 5 sec., transmission of three kinds of blackleg and ring rot (*Corynebacterium michiganense* pv. *sepedonicum*) pathogens through a cutting knife was completely protected as was the case for 0.2 per cent aqueous solution of mercuric chloride (HgCl_2 , 99 per cent a.i.) for 5 sec.

One liter of 10 per cent aqueous suspension of calcium hypochlorite G. did not last out the effectiveness of disinfection even after a cutting knife was soaked about 2000 times, although in this case, the volume of suspension decreased to about 1/4 of its initial volume, and it became considerably dirty.

3. Disinfection of potato containers

The blackleg pathogens, *E. carotovora* ssp. *atroseptica*, a serologically specific strain of *E. carotovora* ssp. *carotovora* and *E. chrysanthemi*, adhering on the mini-plastic containers, were sterilized by 48 hr treatment with 0.1 per cent aqueous suspension of calcium hypochlorite G. or 0.4 per cent aqueous solution of benzalkonium chloride (20 per cent a.i.) Liquid Formulation. The above two chemicals were also effective in disinfecting the pathogens of scab (*Streptomyces* sp.) and dry rot (*Fusarium solani* f. sp. *eumartii*) at the same concentration.