

# 北海道における植物細菌病

## III. *Pseudomonas lachrymans* (SMITH et BRYAN) CARNSNER

によるキュウリの斑点細菌病

谷井昭夫† 馬場徹代†

### BACTERIAL PLANT DISEASES IN HOKKAIDO

#### III. Angular Leaf Spot of Cucumber caused by *Pseudomonas lachrymans* (SMITH et BRYAN) CARNSNER

Akio TANII & Tetushiro BABA

1969年に札幌市手稲町でキュウリの葉に一見べと病と類似した角形病斑を形成する病害が発生した。これを検したところ細菌による病害であることが認められ、病原細菌を分離し、その細菌学的性質を検討した結果、北海道では従来未発生であった *Pseudomonas lachrymans* (SMITH et BRYAN) CARNSNER によるキュウリの斑点細菌病 (Angular leaf spot) と同定された。また本病原細菌の血清学的性質について寒天二重拡散法によって検討したところ、易熱性抗原では多くの植物病原 *Pseudomonas* 属細菌と多数の共通または類似の沈降抗原を有していたが、耐熱性抗原は *Ps. tabaci* 6606 の1菌株を除いて種特異的であった。

## I 緒 言

筆者らは病害発生予察の一環として病害の同定試験および血清学的判別を実施している<sup>33)34)</sup>が、1969年札幌市手稲町でキュウリの葉にべと病と類似する病斑を形成する病害が発生し、石狩中部地区農業改良普及所より同定を依頼され、これを検したところ一種の細菌による病害であることが認められた。病原細菌の細菌学的性質を検討した結果、従来北海道では未発生であった *Pseudomonas lachrymans* (SMITH et BRYAN) CARNSNER によるキュウリの斑点細菌病であることがわかった。また本病は1970年には余市町一円に発生し、本病の本州での発生被害の拡大、種子および土壌伝染性<sup>3)10)41)</sup>などの性質と今後の本道における野菜生産地の増加などを考え合わせると、北海道の

キュウリ栽培上の重要な病害となる恐れがある。ここに本病の同定の結果を報告する。

## II 病 徴

本病は苗床で発芽時から発生する。はじめ下葉に発病し、生長に伴い次第に上葉に進展する。葉にははじめ水浸状の小斑点を生じ、次第に拡大し葉脈でしきられた大型褐色の角斑となり、病斑部は薄く、破れやすい (Plate 1. A)。病斑部は乾燥条件では褐色を呈するのみであるが、多湿時には白色の細菌液でおおわれ光沢を有する (Plate 1. B)。べと病に類似しているが、本病斑の裏面には菌叢はみられず、また細菌液を生ずるので区別できる。茎には白色の条斑を形成し (Plate 1. D)、激しく侵されると上部が萎凋することがある。また葉柄 (Plate 1. C) や果梗を褐色水浸状に侵し、幼果を腐敗させるが (Plate 1. E)、果実の病斑は明らか

† 中央農業試験場

でない。

本病は1969年に手稲町、1970年には余市町全域で発生し、その後両地域では毎年発生している。また他の地域での発生は明らかではないが、本病が種子伝染性であることと、本道で使用されている種子がすべて本州産であることを考え合わせると、さらに広汎な地域に発生している疑いがある。

### III 病原細菌の分離と接種試験

普通寒天培地で葉の病斑から細菌を分離すると、白色のコロニーを形成する細菌が高率に分離される。分離細菌をキュウリの葉に噴霧接種すると自然発病に似た病斑を形成し、この病斑から接種細菌が再分離できるので、この細菌が病原であることが明らかになった。分離2菌株は大型の自然病斑に類似した病斑を形成したが、1菌株(PL-2)は小斑点を形成した。また病原細菌はシロウリ、ヘチマ、インゲンに病原性を示さなかった。

### IV 病原細菌の細菌学的性質

病原細菌の細菌学的性質の実験には3菌株を供試し、実験法は特に記載する以外は米国細菌学者協会の実験法<sup>20)</sup>および伝染病学会の細菌学実習提要<sup>7)</sup>により、セラチンの液化能の検査を除いて25°Cで行なった。分離菌株の細菌学的性質は以下のとおりで、菌株間にはほとんど差異がなかった。

#### 1. 形態と染色性

病原細菌は両端の丸い桿状、まっすぐで1~2本の単極性の鞭毛を有する。大きさ0.7~0.8×1.5~2.8 $\mu$ である。単または連結し、胞のう、芽胞を形成せず、グラム陰性である。またゲンチアナ紫、メチレン青によく染まる。

#### 2. 培養的性質

普通寒天平面培養；生育は中庸で表生コロニーは灰白色、円形、全縁、中高で表面は平滑、湿光を帯び、半透明、牛酪質である。内生コロニーはレンズ状で、培地は変色せず、悪臭はない。

普通寒天斜面培養；生育は中庸で、菌苔は灰白色、糸状、丘状、表面は平滑、湿光を帯び半透明

で牛酪質である。培地は変色せず、悪臭はない。

普通寒天せん刺培養；糸状に発育するが、せん刺溝の上部は下部に比べて発育良好である。

ブイヨン培養；24時間培養では混濁は中庸～やや不良、一様に生育し液面発育はない。沈澱は少量でやや粘稠である。古くなれば(4日)、粘性のある被膜を形成する。

ペプトン水・ブドウ糖リン酸塩ペプトン水培養；ブイヨン培養の場合とほとんど変わりがない。

牛乳培養；培養20日目ころより徐々に消化し、液は蛍光性黄色に着色してくる。

リトマス牛乳；リトマスを青変し、底部より次第に還元する。

メチレン青の還元；メチレン青を還元する。

ウンスキー氏液培養；わずかに生育するが液は変色しない。

フェルミ氏液培養；ウンスキー氏液培養の場合と同様である。

コーン氏液培養；中庸の生育で、液は次第に黄緑色に着色する。

#### 3. 生理的性質

色素の産生；キングA培地<sup>16)</sup>にピオシアニンを産生しないが、キングB培地<sup>16)</sup>に黄緑色の蛍光色素を産生する。

酸素との関係；好気性である。

セラチンの液化；1菌株は皿状より屑状に液化するが、2菌株はわずかに皿状に液化する。

硝酸塩の還元；1, 2および4日培養で硝酸塩を還元しない。

インドールの産生；1および2日培養では陰性であるが、4日培養でわずかにインドールの産生を認める。

硫化水素の産生；酢酸鉛寒天の高層にせん刺培養したが、硫化水素を産生しない。

アンモニアの産生；ペプトン水4日培養でアンモニアを産生する。

糖類、アルコールおよび有機酸塩の分解作用；AYERSらの合成培地とBARSIEKOW培地に1%寒天を添加し、ブロムチモールブルーを用いてその分解作用を3週間にわたって調査した。その結果、グリセロール、L-アラビノース、D-キシロ

ース、グルコース、D-マンノース、ガラクトース、D-フルクトース、サッカロース、マンニトール、D-ソルビトールからは培養1~2日で両基礎培地とも酸の産生を認めたが、ラクトース、マルトース、ラフィノース、ラムノース、エリトリトールでは合成培地で12~20日目に酸を産生(遅分解性)する。しかしラクトース、マルトースでは酸の産生は極めて弱い。ペプトンを基礎培地とした場合ではラフィノース(良好に酸を産生)を除いて酸を産生しない。澱粉、デキストリン、サリシン、イヌリン、ズルチトール、エチルアルコールからは両基礎培地とも酸の産生は認められない。またいずれの糖類からもガスの産生は認められない。

マロン酸ナトリウム、コハク酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、酒石酸ナトリウムを利用するが、馬尿酸ナトリウム、尿酸ナトリウムは利用されない。

澱粉の糖化作用；0.2%可溶性澱粉加用ブイオン水に7日間培養したが、弱い糖化作用を認める。

ブドウ糖の分解形式；ヒュー・レイフソン培地<sup>12)</sup>でブドウ糖を好氣的条件下でのみ分解する。

耐塩性；5%食塩加用ペプトン水にわずかに生育するが、6%では全く生育しない。

37°Cでの生育；生育しない。

硝酸塩存在下での嫌氣的発育<sup>13)</sup>；飯塚らの方法によったが硝酸呼吸をしない。

レバンの産生<sup>19)</sup>；5%蔗糖加用普通寒天培地に培養したが、レバンを産生する。

Voges-Proskauer 試験とメチール赤試験；両者とも陰性である。

グルコン酸の酸化；GRAHAM らの方法<sup>11)</sup>(グルコン酸ナトリウムを代用)によって、4および7日間培養し、Benedict 試薬によって検したが、陰性である。

カタラーゼ試験；陽性である。

チトクローム・オキソダーゼ試験；GABY らの方法<sup>9)</sup>によったが陰性である。

オキソダーゼ反応；KOVACS の方法<sup>18)</sup>によったが陰性である。

チロシナーゼ活性；LELLIOTT らの方法<sup>19)</sup>で弱陽性である。

アルギニン・デヒドロラーゼ；THORNELLY の方法<sup>20)</sup>によったが陰性である。

レシチナーゼ活性<sup>19)</sup>；卵黄寒天に培養したが陰性である。

リパーゼ試験(ツーイン80)<sup>24)</sup>；陽性である。

尿素の分解作用；4日目より分解するが、菌株間に強弱がみられる。

ペクチンナトリウムの液化；WIERINGA's pectate gel (Dowson's modification)<sup>9)</sup>で培養したが、その作用を認めない。

ジャガイモスライスの腐敗<sup>19)</sup>；ジャガイモスライス上で25°C、4日間培養したが腐敗させない。

フェニールアラニン脱アミノ酵素活性<sup>30)</sup>；陰性である。

#### 4. 血清学的性質

寒天二重拡散法<sup>15)</sup>によって本病原細菌と他の *Pseudomonas* 属菌との沈降抗原を比較した。抗血清は家兎を供試し、分離株(PL-3)の超音波処理菌(28 KC, 15~30分)を FREUND の adjuvant (incomplete) 法によって作製した。抗原は約  $10^8$  cells/ml とし生菌および加熱処理菌(100°C, 1時間)を用い、室温で反応させた。供試細菌は本病原細菌3菌株(PL-1, 2, 3)と Table 1. に示した菌種27株を用いた。

その結果、生菌ではオキソダーゼ、アルギニン・デヒドロラーゼなどの細菌学的性質が陰性グループ(LELLIOTT らの Ia, b group)に属する植物病原細菌と多くの共通または類似の沈降抗原を有し、*Ps. marginalis* など上記性質の陽性グループ(LELLIOTT らの IV a, b, V group)に属する細菌とは共通または類似の沈降抗原は少なく、*Ps. xantho E. aroideae C. michiganense* などの細菌では全く沈降帯を形成しなかった(Plate 2, A~D)また加熱処理することによって他の細菌にはみられない本病原細菌特有の2本の沈降帯を認めたが、*Ps. tabaci* 6606 は本病原細菌と共通な耐熱性抗原を有していることがわかった(Plate 2, E~H)。

Table 1. Isolates used of agar gel diffusion tests.

Species	No. of isolates used	Isolates	Group (LELLIOTT et al.)
<i>Pseudomonas aptata</i>	1	PA-1	Ia
<i>Ps. coronafaciens</i>	1	IFO 3310	
<i>Ps. glycinea</i>	2	PG-2, 3	
<i>Ps. mori</i> <sup>b)</sup>	1	S 6807	
<i>Ps. striafaciens</i>	1	IFO 3309	
<i>Ps. tabaci</i> <sup>c)</sup>	2	6602, 6606	
<i>Ps. phaseolicola</i>	5	509 <sup>d)</sup> , 421 <sup>d)</sup> , PH-2, 6, 9	
<i>Ps. sp</i>	1	PQ-1 (isolated from Quack grass)	
<i>Ps. sp</i>	1	PQ-2 (isolated from Canary-Reed)	
<i>Ps. syringae</i>	1	PS-2	Ib
<i>Ps. cichorii</i> <sup>a)</sup>	1	(PC)	III
<i>Ps. sp</i>	1	PQ-3 (isolated from Tomato)	IV a
<i>Ps. marginalis</i>	1	IFO 3925	IV b
<i>Ps. fluorescens</i> <sup>a)</sup>	1	(PF)	V
<i>Ps. sp</i>	2	PQ-6, 7 (isolated from Adzuki bean)	?
<i>Ps. reptilivora</i>	1	IFO 3461	
<i>Ps. segnis</i>	1	IMA 1311	
<i>Ps. xanthe</i>	1	IMA 1310	
<i>E. ardoideae</i>	1	1-2-3	
<i>C. michiganense</i>	1	CM-2	

Received from IFO ; Inst. for Fermentation, Osaka.

IMA ; Inst. of Appl. Microbiol. Tokyo Univ.

a) ; Inst. Agr. Res. Tohoku Univ.

b) ; Sericultural Exp. Sta., Tokyo.

c) ; Morioka Tobacco Exp. Sta., Morioka.

d) ; National Inst. Agr. Sci., Tokyo.

## V 病原細菌の分類学的考察

分離細菌はグラム陰性の極毛を有する桿菌で、白色コロニーを形成する植物病原細菌なので *Pseudomonas* 属細菌<sup>1)</sup> である。キュウリに自然発病する *Pseudomonas* 属菌としては *Pseudomonas lachrymans* (SMITH et BRYAN) CARSONER<sup>2)</sup> のみが知られている。本菌と *Ps. lachrymans* に関する記載<sup>5)31)37)</sup> を比較すると Table 2. に示すとおりである。

それによるとウシンスキー氏液およびフェルミ氏液における緑色蛍光色素の産生、コーン氏液における生育と色素産生、および2, 3の糖の分解能などを除いて *Ps. lachrymans* にほとんど一致

している。

ウシンスキー氏液などの合成培地での緑色蛍光色素の産生は緑色蛍光色素産生 *Pseudomonas* 属菌の同一種に属する細菌でも産生するものと非産生の両者が存在し、コーン氏液培養は原記載<sup>31)</sup> では良好に発育するとされており、他の記載<sup>37)38)</sup> では生育しないとされているので *Ps. lachrymans* には生育する系統と生育しない系統があることがわかる。またインドールについても原記載<sup>31)</sup> では弱陽性とされ、他の記載<sup>5)37)38)</sup> では陰性とされているが、筆者らの菌株は1, 2日培養では陰性で、4日培養で弱陽性なので、培養期間によっては正否の結果となる。

糖の分解能についてみると、グリセロールから

Table 2. Comparative characters of *Ps. lachrymans* and writer's isolates.

Organisms	<i>Ps. lachrymans</i>			Writer's isolates
	Authors	SMITH et al.	CLARA	
Characters				
Flagella and size		polar, 0.8×1-2μ	polar, 0.75-1.5×1.5-3.0μ	polar, 0.7-0.8×1.5-2.8μ
Capsul		+	+	-
Spore		-	-	-
Gram stain		negative	negative	negative
Ushinsky's solution		+	+	+
Fermi's solution		+	+	+
Cohn's solution		+	+	+
Action on milk		alkaline, digested	alkaline, no peptonized	alkaline, digested
Reduction of litmus milk		reduced		reduced
Production of fluorescin		+	+	+
Oxygen reration		aerobic	facultative anaerobic	aerobic
Liquefaction of gelatin		+	+	+
Nitrate reduction		-	-	-
Indole production		+	-	-
Hydrogen sulfide test		-	-	-
Ammonia production		+	+	+
Acid from (organic media)		glucose saccharose		glucose d-fructose galactose d-mannose l-arabinose d-xylose saccharose raffinose mannitol glycerol d-sorbitol
Acid or alkaline from (synthetic media)			glucose galactose levulose mannose arabinose xylose saccharose mannitol citric, malic, succinic acids.	rhamnose glucose d-fructose galactose d-mannose l-arabinose d-xylose saccharose lactose maltose raffinose mannitol glycerol d-sorbitol erythritol sodium salts of citric, malonic, succinic, tartaric acids.
No acid or alkaline from (organic or synthetic media)		lactose maltose mannitol glycerol	rhamnose maltose lactose raffinose glycerol arbutin salicin starch cellulose lactic, formic, tartaric, acetic acids.	lactose maltose raffinose salicin starch inulin
Hydrolysis of starch		+		+
Toleration to NaCl		3%		5%
Growth at 37 °C		-		-

原記載<sup>31)</sup>では酸を産生していないが、*Ps. lachrymans* にはグリセロールより酸を産生するものと<sup>24)37)38)</sup>、産生しない<sup>3)</sup>とする両方の報告があるので分解能を異にする系統が存在していることがわかる。またラムノースについても同様に酸を産生<sup>37)</sup>、非産生<sup>5)38)</sup>の両系統が存在している。原記載<sup>31)</sup>でグリセロール、マンニトールから酸を産生していないのは系統の差異の他に基礎培地(ペプトン培地)も関係していると思われる。またラクトース、マルトース、ラフィノースについては多くの記載<sup>3)37)38)</sup>で非分解性とされているが、筆者らは寒天培地を用い、他の研究者は液体培地を用いており、LELLIOTT ら<sup>19)</sup>によれば、好気性細菌の液体培地における糖の分解能は寒天培地に比較すると不安定な結果となることを示しており、ペプトンを基礎培地とした場合、筆者らの菌株もラクトース、マルトースより酸を産生せず(20日間)、原記載<sup>31)</sup>と一致しているが、ラフィノースからはペプトンを基礎培地とした方が良好に酸を産生し、エリトリットールは合成培地では酸を産生するが<sup>24)</sup>、ペプトンを基礎培地とした場合は酸を産生しないことがわかった。また CROUSE ら<sup>9)</sup>によれば *Ps. lachrymans* が Perple-lactose agar での長期間(30日)培養で酸を産生することを示している。このように糖の分解能については細菌の系統の他、基礎培地、寒天の有無、培養期間などが複雑に関係していると考えられる。

またレバン、オキシダーゼ、アルギニン・デヒドロラーゼなどの最近実施されている新しい細菌学的性質についてもリパーゼ(ツイン80)を除いて *Ps. lachrymans* に一致している。LELLIOTT ら<sup>19)</sup>によれば ツイン80の分解は緑色蛍光色素産生群 *Pseudomonas* 属菌の類別には価値がなく、同一種に陽性、陰性の両者が存在することを認めている。

以上のように分離細菌は培養的性質などでわずかに異なるが、重要な細菌学的性質ではほとんど差異がなく、寄主がキュウリであることから、培養的性質などでわずかに異なる *Ps. lachrymans* の一系統と考えられる。

本分離菌株はシロウリ、ヘチマ、インゲンには

寄生せず、キュウリ以外での寄主は明らかでないが、*Ps. lachrymans* はマスクメロン、フクベ、ヘチマ、カボチャなどに寄生し、スイカなどには寄生しないとされている<sup>40)</sup>。また CARSNER<sup>3)</sup>によればフクベなどを侵すが、スイカ、マスクメロン、カボチャなどには寄生しないとし、富永ら<sup>39)</sup>はスイカに自然発病することを報告しており、*Ps. lachrymans* には寄生性の異なる多くの系統が存在していると考えられるので、こんご本道分離菌株について、その寄生性を明らかにしていく予定である。

また本菌は果実も侵すが<sup>23)31)</sup>、発生は場での果実の病斑は明らかでなく、さらに観察を要する。

本分離菌株と他の *Pseudomonas* 属菌との血清学的関係は易熱性抗原では、多くの植物病原 *Pseudomonas* 属菌、特に LELLIOTT らの I グループと多数の共通または類似の沈降抗原を有していたが、*Ps. marginalis* *Ps. fluorescens* など LELLIOTT らの IV a, b, V グループの細菌とは共通な沈降抗原は少なく *Ps. seignis*, *Ps. xanthe*, *E. aroideae* などの細菌とは共通沈降抗原を有しておらず、最近の植物病原細菌の grouping の試み<sup>19)24)29)</sup>と一致する傾向があったが、さらに多くの菌種、株を用いて明らかにしていく予定である。また Lucus ら<sup>22)</sup>によればこのような非特異的沈降抗原は非特異的な凝集反応に関係があるという。さらに Lucus ら<sup>22)23)</sup>は *Ps. lachrymans* に3血清型が存在し、耐熱性抗原は種特異的で、100°C、1時間の加熱で易熱性抗原が壊れ、耐熱性抗原が明瞭になることを明らかにしている。筆者らの場合も100°C、1時間の加熱で他の *Pseudomonas* 属菌にはみられない本病原細菌特有の2個の耐熱性抗原を認めたが、*Ps. tabaci* 6606、1菌株が共通の耐熱性抗原を有していた。またこの耐熱性抗原は加熱処理なしに認められることがわかった。

LOVERKOVICH ら<sup>20)</sup>によれば *Ps. tabaci* の生菌抗血清による凝集反応では *Ps. tabaci* は *Ps. lachrymans*, *Ps. mors-prunorum*, *Ps. mori* と区別できず、抗原を加熱(100°C、1時間)することによって区別されるが、凝集反応に比べて寒天拡

散法はさらに明瞭に区別できる有効な方法であるとしている。また 富永ら<sup>39)</sup>によれば凝集反応で *Ps. tabaci* と *Ps. aptata* の両者は相互に共通な耐熱性抗原を有することを認めており、OTTA ら<sup>28)</sup>によれば *Ps. aptata*, *Ps. mors-prunorum* は *Ps. syringae* の 1 血清型としており、さらに *Ps. anti-rhizini*, *Ps. savastanoi*, *Ps. tomato* *Ps. mori* は OTTA らの *Ps. syringae* serotype III b と共通な耐熱性沈降抗原を有することを明らかにしている。また *Ps. phaseolicola* では易熱性抗原ではあるが継代培養で変化することを示している<sup>33)</sup>。このように *Ps. lachrymans* の耐熱性抗原については *Ps. lachrymans* にも血清型が存在し<sup>22)23)</sup>, *Ps. tabaci*, *Ps. syringae* などにもいくつかの血清型が存在している<sup>21)27)28)</sup>, 多くの系統菌と継代培養による抗原の変化などを考慮した詳細な検討が望まれる。

本病の防除法として種子消毒<sup>3)10)14)</sup>, および生育期の銅剤, 抗生物質剤の茎葉散布<sup>3)4)10)17)25)25)</sup>があるが, 本病が種子および土壌伝染性である点から無発病地生産種子の使用, 種子検定<sup>42)</sup>と苗床での完全防除などによって未発病地帯では本ほに発病苗を持ち込まないことが重要で, 発病までは輪作を行なうなど, 農薬による防除を求める以前に, このような古くて新しいほ場衛生の概念の実践が必要であろう。また抵抗性品種の育成についても検討されるべきである。

## VI 摘 要

1. 1969 年夏, 札幌市手稲町で, キュウリの葉に, 角形病斑を形成する細菌性病害が発生した。
2. この病斑部から常法によって分離培養される細菌は灰白色, 円形コロニーを形成し, キュウリに接種すると, 自然発病と同じ病徴を生じ, 再分離された。
3. この細菌は細菌学的諸性質および病原性から *Pseudomonas lachrymans* (SMITH et BRYAN) CARNSNER と同定され, 本病は北海道で未記録のキュウリ斑点細菌病 (Angular leaf spot) であることが判明した。
4. 本細菌抗血清の寒天ゲル内沈降反応による

抗原分析の結果, 易熱性抗原は *Pseudomonas* 属の他の植物病原細菌と共通または類似の抗原を有するが, 耐熱性抗原では, 2 個の性沈降抗原を有し, これは *Pseudomonas tabaci* 6606 菌株を除いて, 種特異的であった。

## 引用文献

1. BREED, R. S., E. G. D. MURRAY and N. R. SMITH, 1957; BERGEY'S manual of determinative bacteriology, 7th ed. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
2. BURGER, O. F. 1914; Cucumber rot. Fla. Agr. Exp. Sta. Bul., 121; 97-109.
3. CARNSNER, E. 1918; Angular leaf spot of cucumber, dissemination, overwintering and control. Journ. Agr. Res., 15; 210-220.
4. CHAND, J. N., E. K. WADE and J. C. WALKER, 1963; Sprays for control of angular leaf spot of cucumber in Wisconsin. Plant Disease Repr., 47; 94-95.
5. CLARA, F. M. 1934; A comparative study of the green-fluorescent bacterial plant pathogens. Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Mem., 159; 14-29.
6. CROSSE, J. E. and C. M. E. GARRETT, 1963; Studies on the bacteriophagy of *Pseudomonas mors-prunorum*, *Ps. syringae* and related organisms. J. appl. Bact., 26; 159-177.
7. 伝染病研究所学会, 1958; 細菌学実習提要, 2版, 丸善, 東京.
8. DOWSON, W. J. 1957; Isolation of soft rot bacteria on WIERINGA'S pectate gel. Nature, Lond., 179; 682.
9. GABY, W. L. and C. C. HADLEY, 1957; Practical laboratory test for the identification of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bact., 74; 356-358.
10. GILBERT, W. W. and M. W. GARDNER, 1918; Seed treatment, control and overwintering of cucumber angular leafspot. phytopath., 8; 229-233.
11. GRAHAM, D. C. and W. J. DOWSON, 1960; The coliform bacteria associated with potato blackleg and other soft rots. II. Biochemical characteristics of low and high-temperature strains. Ann. appl. Biol., 48; 59.

12. 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.
13. 飯塚 広, 駒形和男, 1962 ; *Pseudomonas* 属を3群に大別する試み, 農芸化誌, 36 ; 663-668.
14. KHRISTOV, A. 1968 ; Obezraznyavane na semenata na Krastavitsite ot prichinitelya na bakterialniya prigor. Gradinarstvo, 10 ; 25. (R. A. M., 48 ; 179, 1969.)
15. 木村一郎, 1964 ; 血清学実験法, 蛋白質核酸酵素, 9 ; 46-52, 296-302.
16. 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.
17. KNÖSEL, D. 1967 ; Zur Eignung emulgierter Öle als Beistoff zu gepufferten Antibiotika-Lösungen bei der Bekämpfung bakterieller Infektionen. Nachr Bl. dt. Pflanzschutzdienst., Stuttg., 19 ; 164-166. (R. A. M., 47 ; 184, 1967.)
18. KOVACS, N. 1956 ; Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. Nature, Lond. 178 ; 703.
19. LELLIOTT, R. A., E. BILLING and A. C. HAYWARD, 1966 ; A determinative scheme for fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. appl. Bact., 29 ; 470-489.
20. LEVREKOVICH, L. and Z. KLEMENT, 1961 ; Species specific antigens of *Pseudomonas tabaci*. Acta microbiol. Hung., 8 ; 303-310.
21. ———, ———, 1963 ; Serological investigation of *Pseudomonas syringae* and *Pseudomonas morsprunorum* strains. Phytopathol. Z., 47 ; 19-24.
22. LUCAS, L. T. and R. G. GROGAN, 1969 ; Serological variation and identification of *Pseudomonas lachrymans* and other phytopathogenic pseudomonas nomenspecies. Phytopath., 59 ; 1908-1912.
23. ———, ———, 1969 ; Some properties of specific antigens of *Pseudomonas lachrymans* and other pseudomonas nomenspecies. Phytopath., 59 ; 1913-1917.
24. MISAGHI, I. and R. G. GROGAN, 1969 ; Nutritional and biochemical comparisons of plant-pathogenic and saprophytic fluorescent pseudomonads. J. appl. Bact., 29 ; 470-489.
25. Naumann, K. 1968 ; Mehrjährige Untersuchungen zur Bekämpfung von *Pseudomonas lachrymans* (SM. et BR.) CARSNER in Freiland-beständen. Arch. Gartenb., 16 ; 203-214. (R. A. M., 48 ; 179, 1969.)
26. ———, 1969 ; Die Bekämpfung von *Pseudomonas lachrymans* (SM. et BR.) CARSNER in grösseren Feldbeständen. Nachr Bl. dt. Pflanzschutzdienst, Berl., N. F., 23 ; 81-83. (Review of Plant pathology, 49 ; 613, 1970.)
27. 小野邦明, 1969 ; タバコ野火病の発生生態に関する研究 (第2報) 蛍光標識抗体による検出, 日植病報, 35 ; 111 (講要).
28. OTTA, J. D. and H. ENGLISH, 1971 ; Serology and pathology of *Pseudomonas syringae*. Phytopath., 61 ; 443-452.
29. SANDS, D. C., M. N. SCHROTH and D. C. HILDEBRAND, 1970 ; Taxonomy of phytopathogenic pseudomonads. J. Bact., 101 ; 9-23.
30. SKERMAN, V. B. D., 1967 ; A guide to the identification of the genera of bacteria. 2th ed. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
31. SMITH, E. F. and M. K. BRYAN, 1915 ; Angular leaf-spot of cucumbers. Journ. Agr. Res., 5 ; 465-475.
32. Society of American Bacteriologists, 1957 ; Manual of microbiological methods. McGraw-Hill book Co., New York.
33. 谷井昭夫, 1970 ; インゲンかき枯病に関する研究 (第5報) 寒天ゲル内沈降反応, 日植病報, 36 ; 364-365 (講要).
34. ———, 馬場徹代, 1971 ; 北海道における細菌病, I. *Pseudomonas syringae* van HALL によるアズキの褐斑細菌病, 道農試集, 23 ; 90-97.
35. ———, ———, 1971 ; 北海道における細菌病, II. *Erwinia chrysanthemi* BURKHOLDER et al. (*Pectobacterium carotovorum* var *chrysanthemi*) によるジャガイモの萎凋細菌病, 道農試集, 24 ; 1-10.
36. THORNERY, M. J., 1960 ; The differentiation of *Pseudomonas* from other gram-negative bacteria on the basis of arginin metabolism. J. appl. Bact., 23 ; 37-52.
37. 富永時任, 土屋行夫, 1958 ; キュウリの斑点細菌病



- について, 日植病報, 23 ; 25-26 (講要).
38. ———, ———, 1958 ; スイカの萎凋性細菌病, 日植病報, 23 ; 42 (講要).
39. ———, 西山幸司, 1970 ; *Pseudomonas* 属植物病原細菌の血清学的類縁関係, 日植病報, 36 ; 171 (講要).
40. U. S. D. A., 1960 ; Index of plant diseases in the United States, Agriculture Handbook no. 165.
41. WALKER, J. C., J. N. CHAND and E. K. WADE, 1963 ; Relation of seed and soil borne inoculum to epidemiology of angular leaf spot of cucumber in Wisconsin. Plant Disease Repr., 47 ; 15.
42. ZAFRIRA, V., 1966 ; A quantitative method for assessing cucumber seed infection caused by *Pseudomonas lachrymans*. Israel Jnl Bot., 15 ; 192-197. (R. A. M., 46 ; 664, 1967.)

### Summary

The angular leaf spot disease of cucum-

ber found out at Teine-Cho, Sapporo in 1969 is the first record in Hokkaido of that disease.

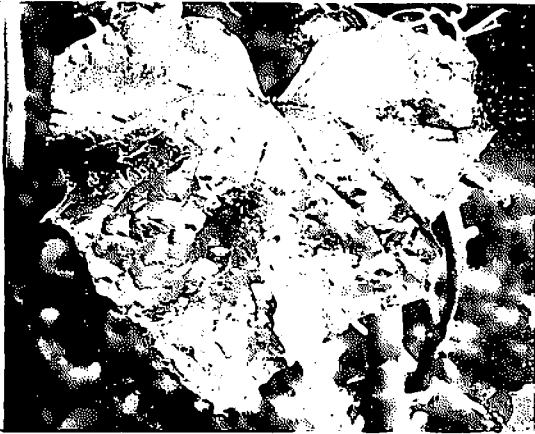
As the results of experiments on bacteriological characters, the pathogen was identified as *Pseudomonas lachrymans* (SMITH et BRYAN) CARSENT.

The precipitation reaction between heat-stable antigen of the pathogenic bacterium and antibody of *Pseudomonas lachrymans* in agar gel formed species-specific precipitation bands that were not formed with the antibody of another *Pseudomonas* spp. bacteria, except *Pseudomonas tabaci* 6606

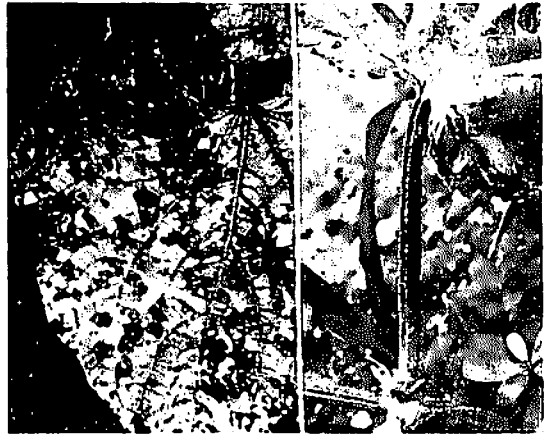
Its heat-labile antigens formed the common or spur precipitation bands with another *Pseudomonas* spp. bacteria.

Explanation of plates

Plate 1 Angular leaf spot of cucumber.



A. Typical lesions on the leaf.



B. Bacterial ooze produced on the lesions.

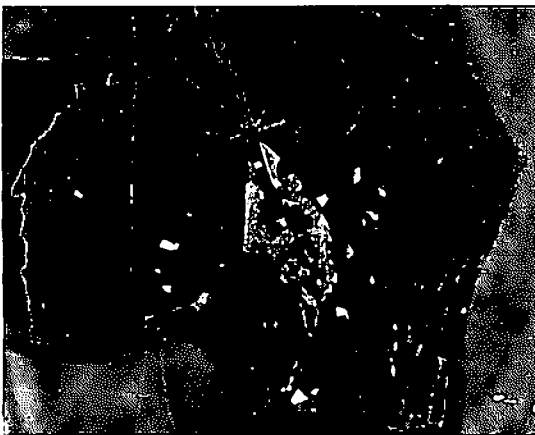
C. Lesions on the petiole.



D. Lesions on the stem.



E. Lesions on the young fruits.



F. Lesions on the leaf produced by artificial inoculation (*Ps. lachrymans* PL 3).



G. Small necrotic lesions on the leaf produced by artificial inoculation (*Ps. lachrymans* PL 2).

**Plate 2** Agar diffusion precipitation patterns of *Ps. lachrymans* and other plant pathogenic and saprophytic pseudomonads. Central well contain ultra-sonic treated *Ps. lachrymans* PL 3 antiserum, and surrounding 60 untreated (A~D) and heated (E~H) antigen

