

ミニ特集：養液栽培における高温性水媒伝染病害の安全性診断

養液栽培で発生する高温性 *Pythium* 属菌の発生生態静岡県農林技術研究所 ^{すずき}鈴木 ^{みきひこ}幹彦・^{かげやま}影山 ^{ちづこ}智津子・^{いよずみ}伊代住 ^{ひろゆき}浩幸

は じ め に

近年の夏期における高温の影響により、野菜・花き類では発病環境として高温条件を好む *Pythium* 属菌 (*P. aphanidermatum*, *P. myriotylum*, *P. helicoides* : 生育適温 35～40℃) による病害の発生が目立ってきており (景山, 2011), 養液栽培においても同様な傾向が見られる (草刈, 2011)。これらの *Pythium* 属菌は遊走子を放出し、培養液を介して早期に施設全体に広がるため、発見が遅れると防除が難しくなってくる。養液栽培におけるこれら水媒伝染病害による被害を軽減するためには、早期の病害診断が極めて重要となる。

上記 3 種の高温性 *Pythium* 属菌を早期診断するため、筆者らは LAMP 法を用いた簡易診断技術の開発 (FUKUTA et al., 2013; 2014; TAKAHASHI et al., 2014) に携ってきた。これらの菌による被害軽減のためには、多発する要因、特に感染に大きな役割をはたす遊走子形成にかかわる各種条件を把握し、調査時期などの実際面での活用方法を決めることが重要となる。本稿では筆者らが行ってきた、主に遊走子の形成条件に関する調査について以下に紹介する。

なお、本成果は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業を活用して得たものである。

I 高温性 *Pythium* 属菌の生育と温度条件

今回対象とした高温性 *Pythium* 属菌である *P. aphanidermatum*, *P. myriotylum*, *P. helicoides* と、比較のため供試した高温性以外の *Pythium* 属菌の 1 種 *P. irregulare* の CMA 培地上での温度別菌糸伸長について示した (図-1)。

P. irregulare は 38℃ 以上で菌糸の伸長が止まるのに対して、高温性 *Pythium* 属菌 3 種では 38℃ 以上でも生育が可能である。このように、夏期の高温の影響により病原菌の生育が良好となっていることに加え、作物側に高

温によるストレスが生じることが、高温性 *Pythium* 属菌による病害の発生が増加している原因の一つとなっているものと考えられている (渡辺, 2011)。

3 種高温性 *Pythium* 属菌の遊走子形成に与える温度条件を図-2 に示した。各菌をコーンミール寒天培地で培養し、これに 5 mm 長の芝葉を置床、24 時間培養して菌を芝葉感染させたのち、24 穴セルウェルに調整した溶液 1 ml を分注し、感染芝葉を浮かべて 5～45℃ の温度で 24 時間培養、マイクロシリッジにて培養液 1 μ l を 1 セルごとに 10 回採取し、ラクトフェノールコットンブルー染色液で染色後、顕微鏡下で遊走子数を計測した。遊走子の形成数は *P. aphanidermatum* および *P. helicoides* が 22℃ 付近で最多となり、*P. myriotylum* では 25℃ と他と比較してやや高い温度で最多となった。これらの結果から 3 種ともに遊走子の形成は菌糸伸長の最適温度より低い温度域で盛んになっており、現地施設における病原菌の侵入は病徴が確認される盛夏期ではなく、液温 20～25℃ になる春から初夏にかけて、秋の気温が下がる時期に再度感染が拡大するものと推察される。

このことは切りバラ養液栽培において、夏期には検出される遊走子数が減少するが、秋期には増加し、冬期には再び減少してくる事実と一致する (図-3)。また、切りバラ養液栽培では一般的に収量を確保するために冬期でも高い気温が維持されていることから、1 月の厳寒期でも培養液中には遊走子が確認される。このため、冬期の液温次第では早期に感染が拡大する可能性があり、培養液や培地内の加温を行っている栽培システムではより早めの対策が必要になる。

遊走子の形成を温度別に観察すると、32℃ 以上の高温時には *Pythium* 属菌の胞子のうから形成される球のう内で、遊走子が外部に放出されずに被のう化して発芽する現象が確認されている (図-4)。このことが高温時にいったん遊走子数形成数が減少する一因と考えられる。

II 高温性 *Pythium* 属菌の遊走子形成と培養液 EC の関係

培養液の肥料濃度の指標として EC (電気伝導度) が使用されるが、肥料濃度を高めて EC を上げることで、浸透圧が上がり *Pythium* 属菌の遊走子形成が抑制される

Ecology of Three High-temperature-growing *Pythium* Species in Hydroponics Culture. By Mikihiro SUZUKI, Chizuko KAGEYAMA and Hiroyuki IYOZUMI

(キーワード：高温性 *Pythium* 属菌, 診断, 養液栽培, 液温, 発生生態)

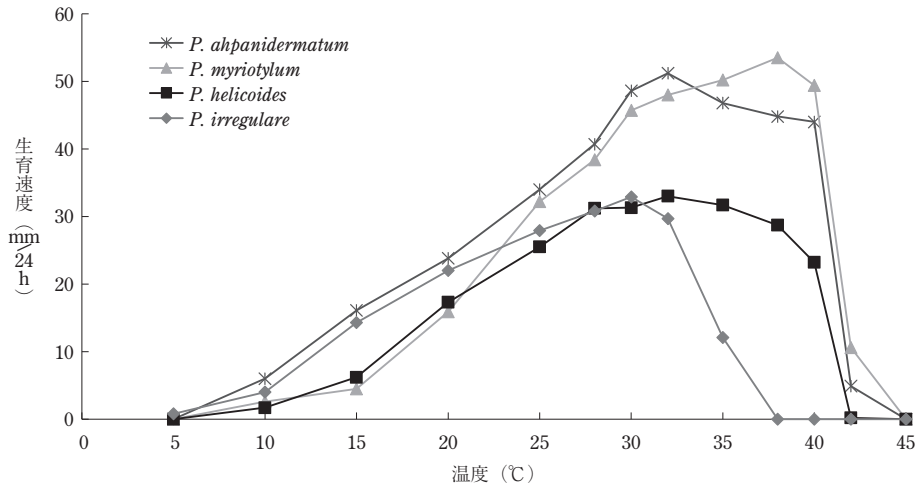


図-1 培養温度と *Pythium* 属菌の菌糸伸長との関係

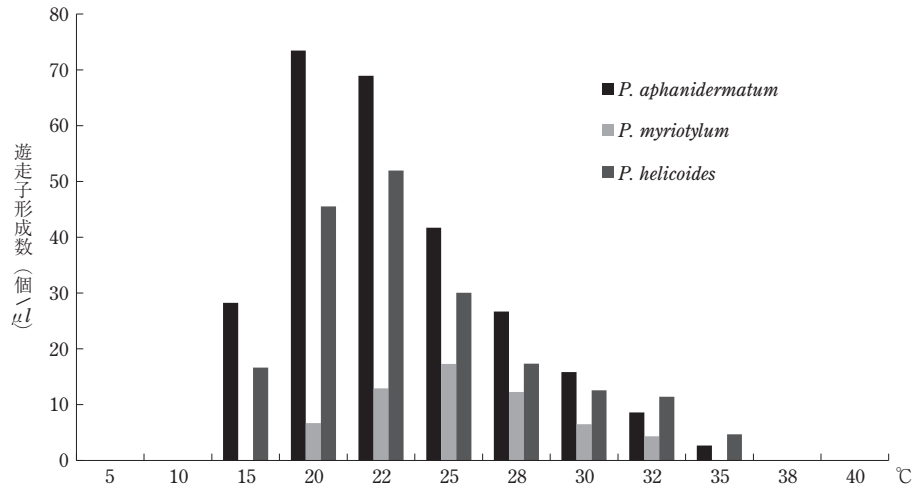


図-2 培養液の温度と *Pythium* 属菌の遊走子形成との関係

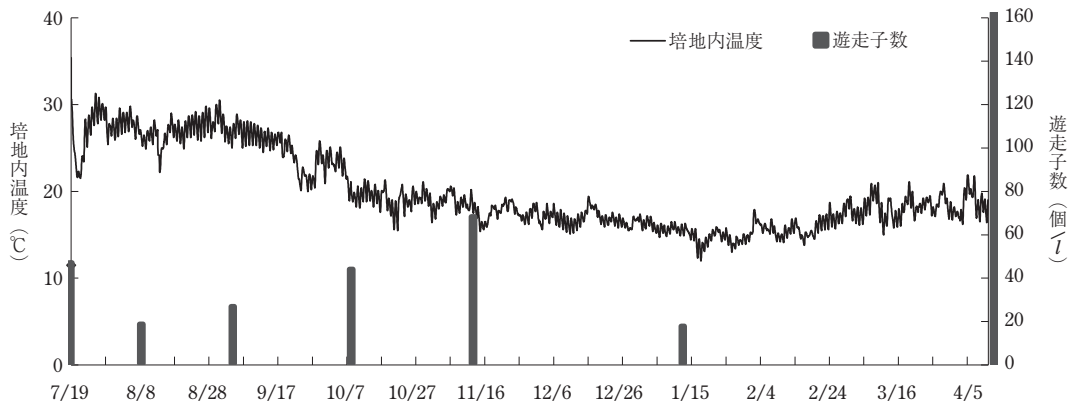


図-3 バラ養液栽培（ロックウール栽培）での培地内温度と培養液中のバラ根腐病菌の遊走子数

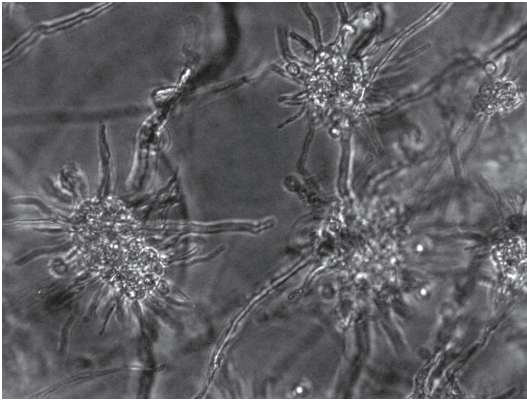


図-4 球のう内で放出前に発芽した遊走子 (*P. aphanidermatum*, 32°C)

ことが知られている (RASMUSSEN and STANGHELLINI, 1988)。このことは高塩類濃度の培養液を使用しても生育に影響の少ないミツバなどの作物で耕種的な防除技術として利用されている (草刈, 2009)。

培養液 EC および液温と遊走子形成の関係について 3 種高温性 *Pythium* 属菌について調べた (図-5)。滅菌した池の水を用いて、大塚ハウス A 処方 (OAT アグロ株式会社製) により 0～7.0 dS/m の各 EC に調整した培養液に、感染芝葉を浸漬し、20～35°C で 24 時間培養後の遊走子数を計測した。その結果、培養液 EC が上昇することで 3 種ともに遊走子の形成抑制が確認された。*P. aphanidermatum* では 5.0 dS/m でも遊走子が確認され、低い液温ほど培養液 EC の影響が低かった。*P. myriotylum* は 4.0 dS/m でほとんど遊走子形成が確認されず、培養液 EC の影響が高く、低い液温ほど培養液 EC の影響が見られた。*P. helicoides* は 2.0 dS/m で最も遊走子形成数が増加し、5.0 dS/m でも遊走子が確認された。液温の差による培養液 EC の影響は見られなかった。

本試験では、草刈 (2009) より高く設定した培養液 EC でも遊走子形成が確認されている。これは、草刈の試験 (2009) では遊走子形成時に蒸留水を使用しているのに対し、本試験では滅菌した池の水 (蒸留水 2 : 池水 1) を用いたことが差を生じた原因 (東條, 2012) と考えられた。実際に高 EC 管理を行っているミツバ栽培装置においても *Pythium* 属菌が検出されることから、培養液中に *Pythium* 属菌の栄養源となる有機質などが存在している場合には、高 EC の培養液中でも遊走子形成が行われ、感染が拡大していると考えられる。

培養液の EC は 7.0 dS/m に高めると遊走子形成は認められないものの、胞子のうの形成は確認される。前述と同様に 3 種高温性 *Pythium* 属菌を感染させた芝を、

5.0 dS/m の培養液に 24 時間浸漬したのちに 0～7.0 dS/m の各濃度に調整した培養液中に移し、その 24 時間後に遊走子数を前述と同様の方法で計測したところ、EC 3.0 dS/m 以下の培養液に移植した場合に遊走子が形成された。同様にミツバを用いた養液栽培試験で、*P. aphanidermatum* による立枯病を対象に、培養液の EC の低下と遊走子形成の抑制が生じる濃度にまで EC 上昇させた場合の培養液内の遊走子数の変動を調査した。この結果、培養液 EC を根腐病菌接種後に 1.0 ds/m から 5.0 dS/m に上昇させると、遊走子数は減少し、その後 5.0 dS/m から 1.0 ds/m に低下させると再び遊走子数が増加することが確認された (図-6)。

次いで、培養液 EC 管理による発病の抑制について、培養液 EC を 1.0, 2.0, 5.0 dS/m に設定した各栽培装置を用いて、*P. aphanidermatum* によるミツバ立枯病を対象に発病程度を比較したところ、高い EC ほど発病の抑制が生じた (図-7)。

このように、培養液 EC の管理により高温性 *Pythium* 属菌でも発病の抑制が可能であるが、この場合、培養液 EC が低下することで遊走子数が増加し、感染が拡大することに注意が必要である。特に湛水式水耕装置を使用する葉物野菜などでは、培養液の入替時に原水をシステム内に満たしたのち、高濃度の液肥を添加して培養液 EC を調整するため、このときに遊走子が放出されて感染が拡大することが考えられる。

III 高温性 *Pythium* 属菌の遊走子形成と培養液 pH の関係

高温性 *Pythium* 属菌の遊走子形成に対する培養液 pH の影響を明らかにするため、感染芝葉と滅菌池水を用いた試験において、1N HCl, 1N NaOH を使って pH 調整を行い遊走子の形成数を計測した。遊走子形成数は高温性 *Pythium* 属菌 3 菌種ともに pH4.5 で減少し、pH4.0 ではほぼ形成が抑えられた (図-8)。培養液の pH を低く維持することで、*Pythium* 属菌による根腐病の防除が可能と考えられるが、作物によっては低 pH により微量要素などの吸収が阻害されるために生育に悪影響を及ぼすことも考えられる。また、ハウレンソウ萎凋病、ネギ萎凋病やミツバ株枯病等の病原菌である *Fusarium* 菌は酸性土壌で生息しやすい (小倉, 1984) ことから、発生を助長することも想定される。このため、培養液の pH を低くすることによる *Pythium* 属菌の発病抑制はその作物に発生する他病害との関係を考慮しながら行う必要がある。栽培作物における適正な pH を維持し、健全に作物が育つように管理をしていくことが重要になる。

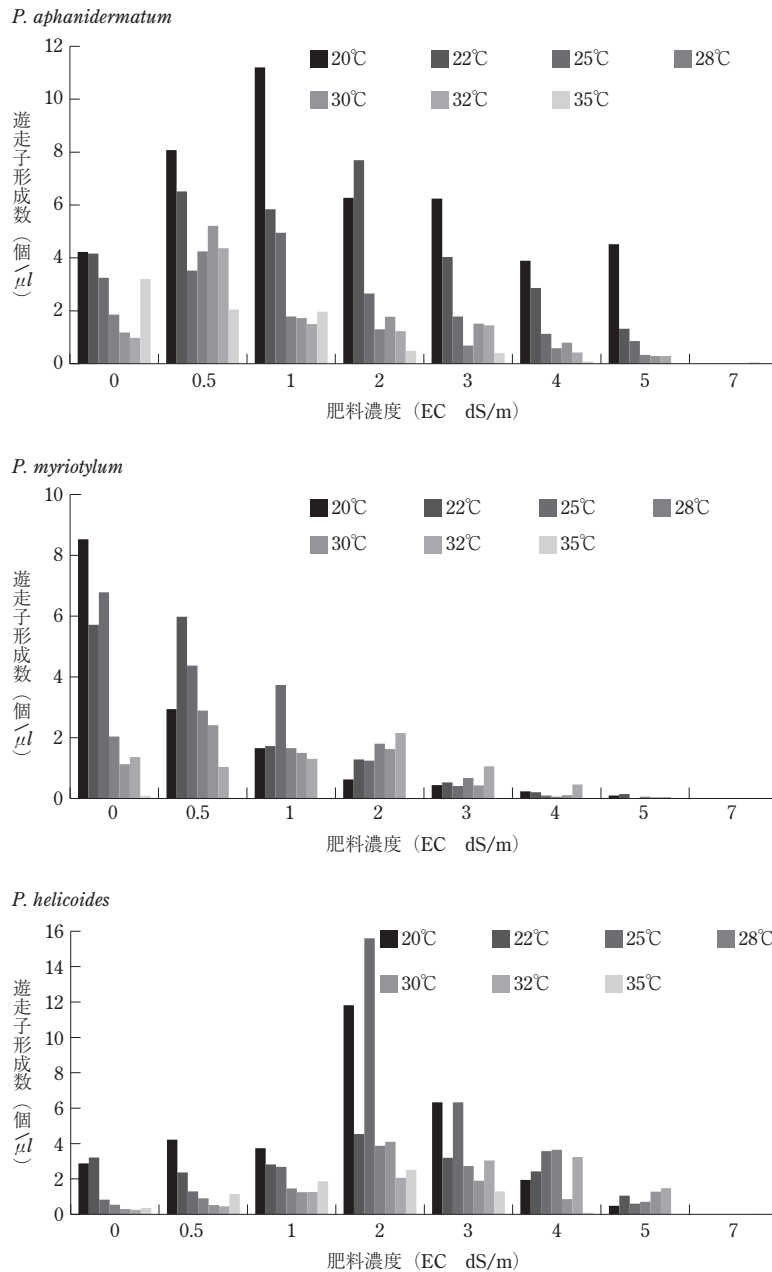


図-5 培養温度と EC の組合せが *Pythium* 属菌の遊走子形成との関係
 滅菌した池の水を用いて、大塚処方 A により 0～7.0 dS/m の各 EC に調整
 した培養液に、感染芝葉を浸漬し、24 時間後の遊走子数を計測した。

IV 発病と菌密度の関係

ミツバ立枯病菌 (*P. aphanidermatum*) を対象に、水温を 28℃ に設定し、遊走子を 1×10^3 , 10^4 , 10^5 個/l の濃度で添加した場合の培養液中の遊走子数と発病の推移を調べた。この結果、5 月期 (2012 年 5 月 3 日～6 月 1 日)

の試験では各処理区とも菌密度があまり上昇せず、病徴も根の褐変のみで、地上部の発病は確認されなかったが、6 月期 (6 月 5 日～7 月 13 日) の試験では接種菌量が高いほど萎凋症状が早く確認され、罹病株が増加し発病程度も高くなった (図-9)。また、培養液中の遊走子数が $1 \times 10^4 \sim 10^5$ 個/l に達し、顕著な増加が確認され

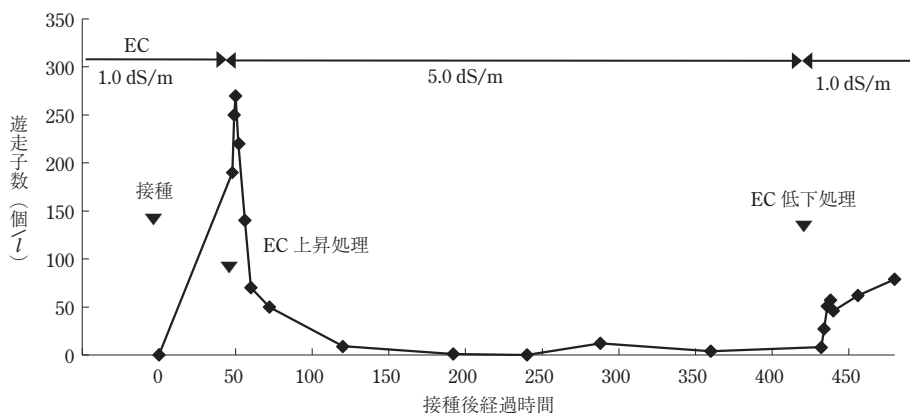


図-6 ECの変動と培養液中の *P. aphanidermatum* の遊走子数の関係

試験条件：液温 25℃，M 式水耕装置（3.24 m²），320 株定植。

試験期間：2013 年 5 月 10 日～30 日。

5 月 27 日（EC 低下処理前）時点の発病状況：発病度 4.2，根褐変程度 6.3。

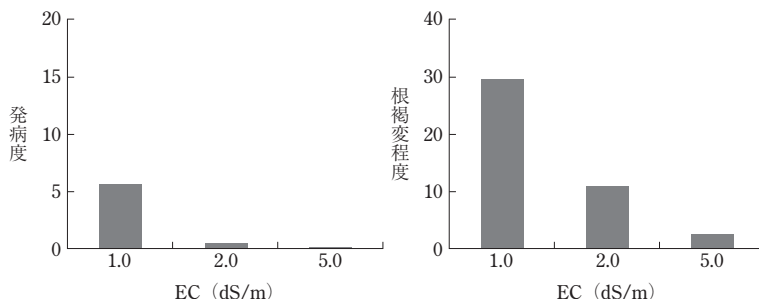


図-7 培養液の EC とミツバ根腐病の発病との関係

試験条件：液温 25℃，M 式水耕装置（3.24 m²），320 株定植。

試験期間：2013 年 5 月 10 日～30 日。

発病指数程度 0：発病なし，1：葉の萎れ，2：株の萎凋（軽）

3：株の萎凋（甚），4：株の黄化，枯死。

発病度 = $(\sum (\text{発病指数} \times \text{指数別株数}) / (4 \times \text{調査株数})) \times 100$ 。

根褐変指数 0：なし，1：わずか，2：～1/4，3：1/4～1/2，

4：1/2～3/4，5：すべての根。

根褐変度 = $(\sum (\text{根褐変指数} \times \text{指数別株数}) / (5 \times \text{調査株数})) \times 100$ 。

た（図-10）。このことから，6 月期栽培のように高温でミツバの生育が低下する時期には，特に菌密度を高めない管理が重要になる。初期の菌密度を低位に保つことで発病を遅らせることが可能になると考えられ，定植時の菌量の把握が重要となってくる。

一方，地上部病徴が確認できなくても，感染が広がっている事例として切りバラでの養液栽培での例がある。2012 年度に養液栽培での切りバラの根腐病について，静岡県全域のバラ養液栽培施設での感染状況を調査した。調査には捕捉基質として誘引力が強く取扱が容易なエゴマを用いたバイト法（WATANABE et al., 2008）により，

栽培ベッドから菌の捕捉を行い，*Pythium* 選択培地である NARM 培地（MORITA and TOJO, 2007）および *P. helicoides* 特異的プライマーを用いた LAMP 法（TAKAHASHI et al., 2014）により根腐病菌の検出を行った。この結果，バラ養液栽培施設 135 箇所のうち 68.8% の施設から本病菌が検出された。特に 1 農協の生産部会の施設において発病状況を詳細に調査すると，調査 47 箇所のうち 31 箇所で本病菌が検出され，そのうち実際に地上部の病徴が確認されたのは 3 施設のみで，残りの 27 箇所の施設では地上部の萎れなどの明確な病徴は確認できなかった。バラの場合には品種による発病の差がある

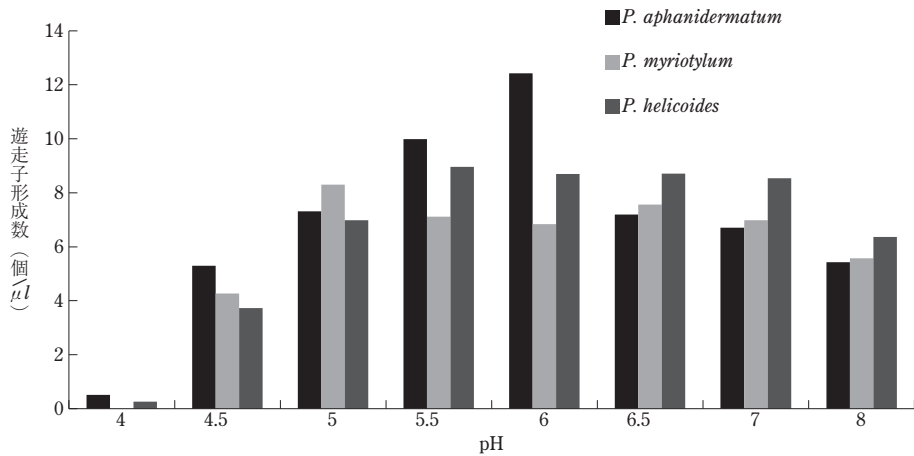


図-8 培養液の pH と *Pythium* 属菌の遊走子形成との関係

感染芝葉を 1N HCl, 1N NaOH を用いて pH を調整した滅菌池水に浸漬し、24 時間培養後に、遊走子の形成数を計測した。

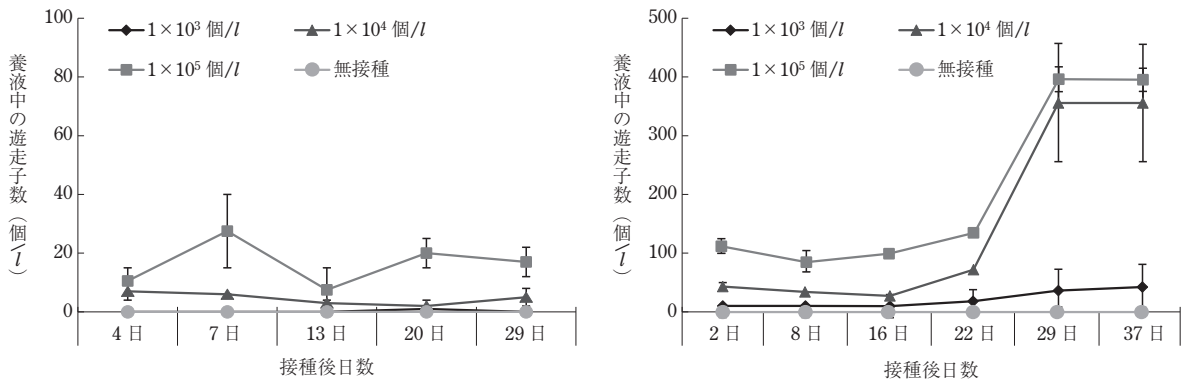


図-9 *Pythium aphanidermatum* の遊走子を $1 \times 10^3 \sim 10^5$ 個/l 添加した場合の培養液中の遊走子数の推移 (左: 2013 年 5 月 3 日～6 月 1 日, 右: 6 月 5 日～7 月 13 日)

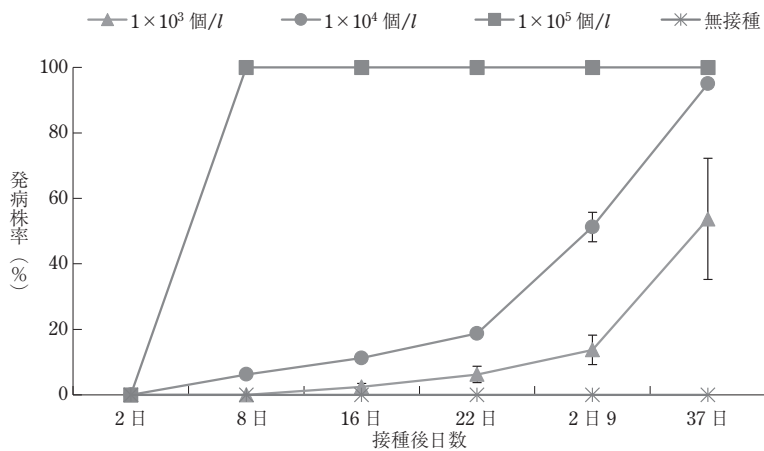


図-10 遊走子を $1 \times 10^3 \sim 10^5$ 個/l 添加した場合のミツバ立枯病 (*P. aphanidermatum*) の発病株率の推移 (2013 年 6 月 5 日～7 月 13 日)

表-1 高温性 *Pythium* 属菌による病害の培養液の安全性評価のために最適な調査時期とサンプル量

植物名	作型	感染拡大期		発病期		要検出菌量*	サンプル量のめやす
		時期	液温	時期	液温		
トマト	周年	5～10月		7～9月		100 個/l	10 個/l
	抑制	5～7月	20℃～	8～9月		100 個/l	10 個/l
ホウレンソウ		5～8月				50 個/l	5 個/l
ミツバ	周年	5～10月	25℃～	5～9月	25℃～	100 個/l	10 個/l
ネギ		3～11月	20℃～	5～9月		100 個/l	10 個/l
切りバラ		3～11月	20℃～	5～9月		100 個/l	10 個/l
ポインセチア	春～秋	5～9月	25℃～	5～9月 (7～8月が多い)		1 個/l	—

*要検出密度：発病を早期に抑制するために、検出に必要な最低密度を発病菌量の 1/10 とした。

ことが報告されており (Li, 2007), 前作で発病が見られなくても、施設に菌が存在し、次作で感受性の品種を植栽した場合に多発する可能性が考えられる。このことから定植前の菌量の検査が重要である。

上記を含めて本事業で対象とした 6 作物について、培養液中の発病菌密度、調査時期を接種試験、現地調査の結果よりまとめたものを表-1 に示した。詳細は「養液栽培における高温性水媒伝染病害の安全性診断マニュアル」の各作物編を参考にしてほしい。

お わ り に

本稿では高温性 *Pythium* 属菌の遊走子形成の条件について紹介してきた。高温性ピシウム菌への対策としては、最も重要なことは清浄な環境である養液栽培のシステム内にいかに病原菌を持ち込まないかである。したがって、種苗や栽培資材、原水および圃場周辺の汚染状況をモニタリングし、どこから病原菌が侵入してくるのかを把握して、一次伝染源を断つことが寛容である。

また、たとえ菌の侵入を許しても、資材の洗浄、消毒により栽培施設を清浄にし、本稿で示した遊走子の増加

条件を回避するために、施設内の温度を上げない温度環境と肥培条件を適切に管理することで、低菌密度を維持し、病害の発生を遅らせることが重要である。

施設の安全性診断、培養液中の遊走子の検出には本事業で作成した「養液栽培における高温性水媒伝染病害の安全性診断マニュアル」(<http://www.green.gifu-u.ac.jp/~kageyamalab/index.php?page=manual>) を活用していただきたい。

引 用 文 献

- 1) FUKUTA, S. et al. (2013): Eur. J. Plant Pathol. **136**: 689～701.
- 2) ——— et al. (2014): Let. Appl. Microbiol. (in press)
- 3) 景山幸二 (2011): 植物防疫 **65**: 102～106.
- 4) 草刈真一 (2009): 養液栽培の病害と対策, 農山漁村文化協会, 東京, p. 63～65.
- 5) ——— (2011): 植物防疫 **65**: 82～87.
- 6) Li, L. et al. (2007): Acta. Horticulture **751**: 207～211.
- 7) MORITA, Y. and M. Tojo (2007): Plant Disease. **91**: 1591～1599.
- 8) 小倉寛典 (1984): 新版土壌病害の手引, 日本植物防疫協会, 東京, p. 155～156.
- 9) RASMUSSEN, S. L. and M. E. Stanghellini (1988): Phytopathology **78**: 1495～1497.
- 10) TAKAHASHI, R. et al. (2014): FEMS Microbiol. Let. (in press)
- 11) 東條元昭 (2012): 土壌病害の見分け方, 日本植物防疫協会, 東京, p. 110～116.
- 12) WATANABE, H. et al. (2008): J. Gen. Plant Pathol. **74**: 417～424.
- 13) 渡辺秀樹 (2011): 植物防疫 **65**: 77～81.