

Pythium spp.の選択分離培地

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
巻/号	464
掲載ページ	p. 542-544
発行年月	1980年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Pythium spp. の選択分離培地

景山幸二*・宇井格生*

Koji KAGEYAMA* and Tadao UI*: A Selective
Medium for Isolation of *Pythium* spp.

Abstract

A modified Pieczarka's medium in which vancomycin was substituted by agrimycin was used for the isolation of *Pythium* spp. from soils and roots. Using this medium *Pythium* spp. were effectively isolated from soils in 9 fields by the soil plate method, and also from infected tissues of 3 crop species collected from 6 fields.

Pythium spp. の選択培地の多くには抗糸状菌性抗生物質として polyene の一種 pimaricin が多く用いられている¹⁾。その代表的な Pieczarka²⁾, Singh³⁾, Vaartaja⁴⁾ の用いた各培地について土壌からの *Pythium* spp. の分離を土壌平板法と希釈平板法により比較した。

抗生物質は、いずれもあらかじめ蒸留水に懸濁して

おき加圧殺菌した培地に所定量添加した。pimaricin は光により不活化するため培養はすべて暗所で行い、25Cで2日間培養し出現する菌そうの数を数えた。各区シャーレ5枚を用い土壌平板法の1mg区を除き2回実験をくり返した。なお、対照として菌類の定量に一般に使用されている Martin 培地⁵⁾を用いた。

その結果 Table 1 に示すように *Pythium* spp. の

Table 1. Comparison of media and isolation techniques for the isolation of *Pythium* spp. from soil

Media ^{a)}	Number of colonies per plate ^{b)}							
	mg soil per plate							
	1				10			
	Soil plate		Dilution plate ^{c)}		Soil plate		Dilution plate ^{d)}	
	<i>Pythium</i> spp.	Total	<i>Pythium</i> spp.	Total	<i>Pythium</i> spp.	Total	<i>Pythium</i> spp.	Total
A	0.0	27.8	0.7	58.2	— ^{e)}	—	—	—
B	0.6	0.8	0.0	21.0	1.1	7.8	3.8	8.4
C	0.0	2.0	0.3	9.8	0.6	42.2	2.9	103.1
D	0.0	231.4	0.0	179.9	0.0	66.0	0.0	40.4

a) A = Martin's medium⁵⁾, B = Pieczarka's medium²⁾, C = Singh's medium³⁾, D = Vaartaja's medium⁴⁾

b) Data are means of two replications, five plates per replication.

c) One mg soil per plate means 10⁸ dilution.

d) Ten mg soil per plate means 10² dilution.

e) Counting was not made on these plates because of too many colony development.

* 北海道大学農学部 Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan.

1) Taso, P. H. (1970). Ann. Rev. Phytopath. 8: 157-186. 2) Pieczarka, D. J. and Abawi, G. S. (1978). Phytopathology 68: 409-416. 3) Singh, R. S. and Mitchell, J. E. (1961). Phytopathology 51: 440-444.

4) Vaartaja, O. (1968). Can. J. Microbiol. 14: 265-269. 5) Tuit, J. (1969). Plant Pathological Methods, Fungi and Bacteria. Burgess Publishing Company, Minneapolis. p 46.

菌そう数が最も多く、他の微生物の菌そうの発達の少ない Pieczarka の培地を最もよいと認めた。また、分離方法としては *Pythium* spp. の菌そう数は若干少ないが他の微生物とくに細菌の菌そうが少なく、また必要とする土壌が少ない土壌平板法がよいと考えられる。

ところで、Pieczarka の培地に抗細菌性物質として加える vancomycin は、我が国では入手困難で高価なため、これに代わるものとして streptomycin と agrimycin を検討した。

シャーレ当たり 10 mg の土壌を用いた土壌平板法により 25°C で 2 日後出現する細菌の集落数は、agrimycin を加えたとき vancomycin や strepto-

mycin に比較し著しく少なかった。また、*Pythium* spp. の菌そう数は agrimycin 300ppm でやや少ない傾向にあったが、100, 200ppm では vancomycin とほぼ同じであった (Table 2)。以上の結果から、*Pythium* spp. の分離用選択培地として蒸留水 1,000 ml に Difco cornmeal agar 17 g, pimarinic (ピマフシン腔錠、鳥居薬品株式会社) 5 mg, agrimycin (アグリマイシン100, 台糖ファイザー株式会社) 100 mg, PCNB (WP 75%) (ペンタゲン水和剤75, 北海三共株式会社) 130mg を含む培地を最良と認めた。

つぎに、土壌および組織からの分離における本培地の実用性を検討した。土壌からの分離は土壌平板法によったが、組織からの分離は組織をくり返し十分に水

Table 2. Effect of antibacterial agents on the isolation of *Pythium* spp. from soil

Agents	Concentration ppm	Number of colonies per plate ^{a)}		
		<i>Pythium</i> spp.	Other fungi	Bacteria
Vancomycin	100	6.2 ab	15.7 ab	>400
	200	7.5 a	14.9 ab	>400
	300	6.2 ab	14.5 ab	>300
Streptomycin	100	5.4 abc	14.2 ab	>400
	200	3.9 bc	15.5 ab	>400
	300	3.1 c	14.0 ab	>300
Agrimycin	100	5.1 abc	14.1 ab	23.5
	200	5.6 abc	12.7 b	13.5
	300	3.8 bc	17.7 a	3.0

a) Isolation was made by the soil plate method. Each plate contained 10 mg air-dry soil. Data are means of three replications, three plates per replication. Numbers followed by the same letter do not differ significantly ($P = 0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 3. Isolation of *Pythium* spp. from soils and roots of plants in various fields

Fields	No. of propagules/g soil ^{a)}	Frequency of isolation from tissues (%)
Bean monocultured field in Kitami ^{b)}	100	6.3
Bean 6-years-rotated field in Kitami ^{b)}	80	18.8
Soybean monocultured field in Kitami ^{b)}	110	28.1
Soybean 4-years-rotated field in Kitami ^{b)}	300	15.6
Wheat monocultured field in Kitami ^{b)}	260	37.5
Wheat 6-years-rotated field in Kitami ^{b)}	340	43.8
Bean field in Memuro ^{c)}	30	—
Bean field in Otofuke ^{c)}	70	—
Bean field in Nakasatsunai ^{c)}	330	—

a) Rhizosphere soil.

b) Experimental fields of Kitami Agricultural Experiment Station.

c) Grower's fields.

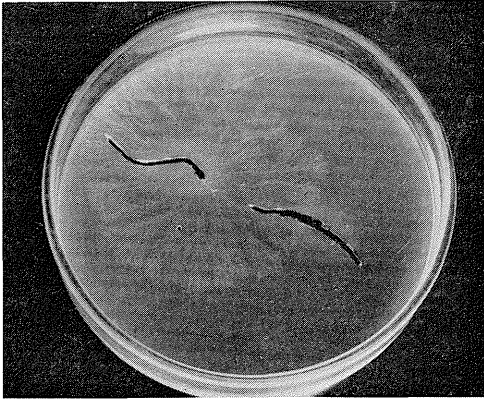


Fig. 1. A *Pythium* sp. colony developed from bean root on the selective medium.

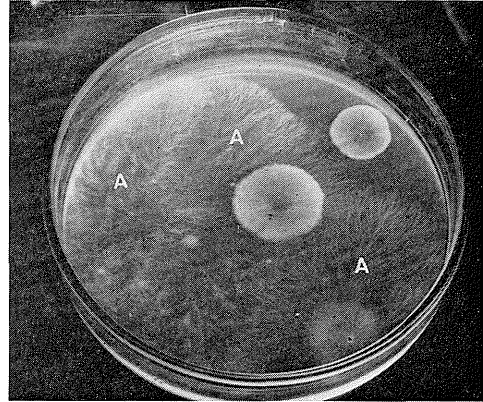


Fig. 2. *Pythium* spp. colonies (A) from soil on the selective medium.

洗し、表面殺菌をせず表面の水分をろ紙で吸い取り、それを培地上に置いて培養後行った。

Table 3 に示した材料について根および土壌から分離を試みたところ、すべてのものから *Pythium* spp. が分離された (Fig. 1, 2)。 *Pythium* spp. 以外の菌類もわずかに本培地上に出現するが、*Pythium* の菌そ

うは粗で速やかに生長するのに対し、他の菌そうは密で生育が遅いことから容易に区別できた (Fig. 2)。

以上の結果から、本培地は根あるいは土壌からの *Pythium* spp. の分離に有効な培地であると考えられる。

(1980年3月28日受理)