

高濃度水耕培養液中における *Pythium butleri* 遊走子の被の うとハウレンソウ苗立枯病発生への影響について

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	草刈, 眞一 田中, 寛
発行元	日本植物病理學會
巻/号	52巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-7
発行年月	1986年1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



高濃度水耕培養液中における *Pythium butleri* 遊走子の 被のうとハウレンソウ苗立枯病発生への影響について

草刈眞一*・田中 寛*

Shinichi KUSAKARI and Yutaka TANAKA: Effects of High Concentrations of a
Hydroponic Cultural Solution on the Motility of *Pythium butleri* Zoospores
and the Occurrence of Spinach Damping-off

Abstract

In hydroponics, the damping-off of spinach seedling by *Pythium butleri* was remarkably suppressed by highly concentrated nutrient solution (2-fold or 3-fold of standard solution). Zoospores of *P. butleri* encysted within a few minutes in highly concentrated nutrient solution, and they could not attach to the root surface of spinach. The zoospore encystment also occurred in the solutions of 0.02 M each of calcium nitrate and calcium chloride, 0.05 M of magnesium sulphate, and 0.2 M each of mannitol, glucose and sucrose. These results indicated that the suppression of the damping-off in high concentration of nutrient solution was due to zoospore encystment induced by osmotic pressure of the nutrient solution.

(Received June 25, 1984)

Key words: *Pythium*, zoospore, hydroponics.

緒 言

野菜の養液栽培において、*Pythium*, *Phytophthora* 属菌等の鞭毛菌類による根腐れおよび立枯性の病害が報告されている^{5-7,9)}。これらの病原菌による病害は、発生すると急速に蔓延するのが特徴で、土耕栽培において発生した場合に比べ被害が著しく大きい。養液栽培において、鞭毛菌類が大きな被害をもたらす原因として、培養液中での遊走子形成と遊走子の培養液伝播が指摘されている⁶⁾。したがって、養液栽培における病害防除では、遊走子による二次伝染を抑制することが重要と考えられる。

鞭毛菌類の遊走子形成は、生息している水の浸透圧や溶解しているイオンの種類に影響を受けることが知られている^{8,11)}。一般に、*Phytophthora* や *Saprolegnia* などの淡水性の糸状菌では、遊走子形成が浸透圧により影響を受け、海水や汽水域のように塩類濃度の高い水溶液中での増殖が困難であるといわれている^{2,11)}。

養液栽培の培養液は、数種類の塩類を含んでおり、病原菌は、増殖・伝播という生活環において培養液という環境の影響を受けることが考えられる。そこで、病害防除の観点から、水耕培養液の濃度・組成が病原菌の増殖伝播にどのような影響をおよぼすかを明らかにすることは重要と思われる。

筆者らは、*Pythium* 属菌〈ミツバ根腐病菌〉の遊走子形成が、水耕培養液の濃度が高くなるのにしたがって減少し、濃度 2.5 単位以上で全く認められなくなることを報告した⁶⁾。本論文では、水耕培養液中での *Pythium butleri* 遊走子の遊泳運動と培養液濃度との関係について調べ、ハウレンソウ立枯病の発病におよぼす影響を考察した。

実験材料および方法

供試病原菌；大阪府下の養液栽培施設（水耕栽培）で発生したハウレンソウ立枯病罹病植物より分離した *Pythium butleri* SUBRAMANIAM (IFO 31214) を供試

* 大阪府農林技術センター Osaka Agricultural Research Center, Habikino, Osaka 583, Japan

した。本菌は、水耕栽培においてホウレンソウ・キュウリ・トマトの子苗はもとより収穫期に達したトマト・キュウリにも感染し、根腐症状を引き起し作物を枯死させた。

遊走子の調製；*P. butleri* の遊走子は、Schmitthenner 合成寒天培地¹⁴⁾（ショ糖 2.5 g, アスパラギン 0.27 g, リン酸第1カリウム 0.15 g, リン酸第2カリウム 0.15 g, 硫酸マグネシウム 0.1 g, コレステロール 0.01 g, 寒天 20 g, 蒸留水 1000 ml）で、28℃、10日間培養した菌そう（内径 90 mmφ ペトリ皿中）上へ 5～15 ml の蒸留水を加え 23℃ で5時間培養することにより得た。

発病試験法；遊走子濃度とホウレンソウ子苗立枯病発生率の関係は、水耕培養液中に遊走子を懸濁したのちホウレンソウ苗（子葉展開前、草丈 15 mm 程度）を移植し調査した。ホウレンソウ苗を移植する時期は、遊走子の被のうと発病率の関係を調べる目的から、遊走子を培養液に懸濁した直後および懸濁1時間後の2条件下で行った。

水耕培養液中の遊走子濃度は、 $10-10^3$ 個/ml となるよう希釈調製した。遊走子は、あらかじめ発芽率を調べ、蒸留水中で90%以上の発芽率が得られたものを実験に供した。なお、発病率は、ホウレンソウ苗を培養液に移植後28℃で72時間栽培したのち調査した。

遊走子の被のう状態の調査；水耕培養液中における遊走子の被のう状態は、培養液に遊走子を懸濁し、5分および60分経過後に光学顕微鏡で調べた。水耕培養液は、礫耕用の均衡培養液¹⁵⁾〈硝酸カルシウム 910 mg, 硝酸カリウム 850 mg, リン酸第1アンモニウム 155 mg, 硫酸マグネシウム 500 mg, 蒸留水 1000 ml, 硫酸第1鉄 微量〉を用いた。濃度は、上記の組成の培養液を1単位とし、溶質を半量、倍量、および3倍量としたときの濃度を 1/2, 2, および 3 単位とした。なお、水耕培養液の pH は、5.6—6.2の範囲となるよう 1N の水酸化カリウム水溶液で補正した。

水耕培養液を構成する無機塩類が遊走子の遊泳運動におよぼす影響を調べるために、硝酸カルシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、塩化カルシウムの水溶液中に遊走子を入れその運動を調べた。これら塩類溶液中での遊走子の遊泳状態は、遊走子懸濁液（ 3×10^4 個/ml）と各濃度の供試塩類溶液を等量（1:1）混合したのち光学顕微鏡で調査した。

実験結果

1. 蒸留水中における遊走子濃度と発病率の関係

P. butleri の遊走子を懸濁した蒸留水中におけるホウレンソウ苗の発病は、遊走子濃度 8 個/ml で認めら

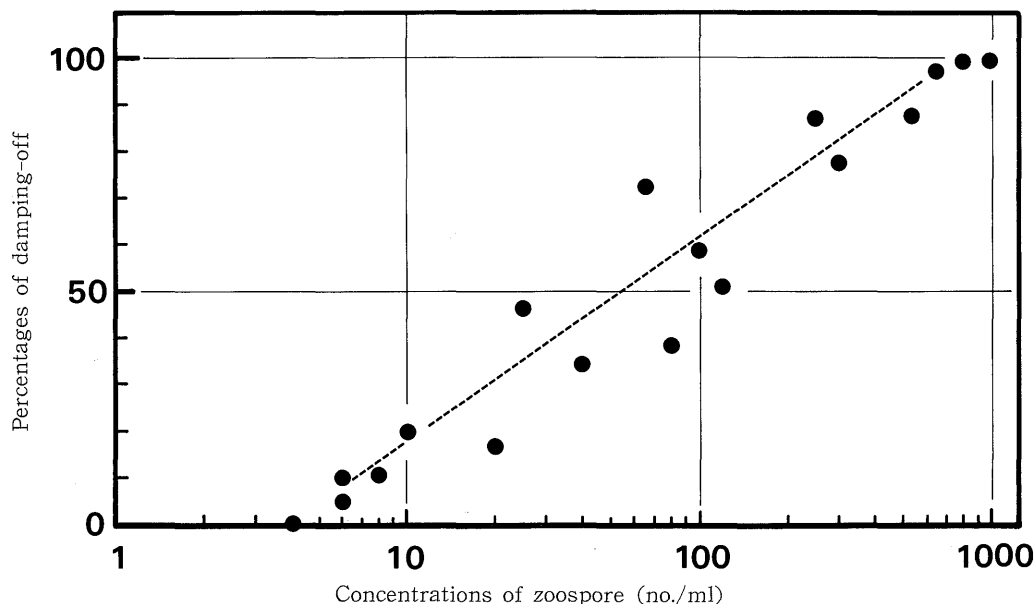


Fig. 1. The relationship between incidence of spinach damping-off and density of zoospore inoculum of *Pythium butleri* in distilled water.

れ、移植後24時間で苗の萎凋が観察された。萎凋枯死したハウレンソウ苗の根には、多数の被のう胞子が附着していた。

蒸留水中の遊走子濃度とハウレンソウ苗の発病率の関係を調べたところ、ハウレンソウ苗の発病率は、遊走子濃度 8 個/ml から 6.5×10^2 個/ml まで遊走子濃度の上昇に伴って直線的に増加し、 10^3 個/ml の濃度で100%となった (Fig. 1)。

2. 水耕培養液中における遊走子濃度と発病率の関係

水耕培養液中に遊走子を懸濁し (5.2×10 個/ml), 水耕培養液濃度と発病率の関係を調べたところ、発病率は培養液濃度が高くなるにしたがって減少し、2 単位の培養液で24%, 3 単位で12%まで低下した (Fig. 2)。また、発病に要する時間は、培養液濃度が 1/2 単位、1 単位のとき蒸留水中と同様24時間であったのに比較して、2 単位、3 単位の培養液中では、72時間以上を必要とした。

培養液中の遊走子濃度を変えて発病率の変化を調べたところ、遊走子濃度が 5.2×10 個/ml の場合、発病率は、1 単位で60%, 2 単位で24%, 3 単位で12%と培養液濃度の上昇に伴って減少したが、遊走子濃度が

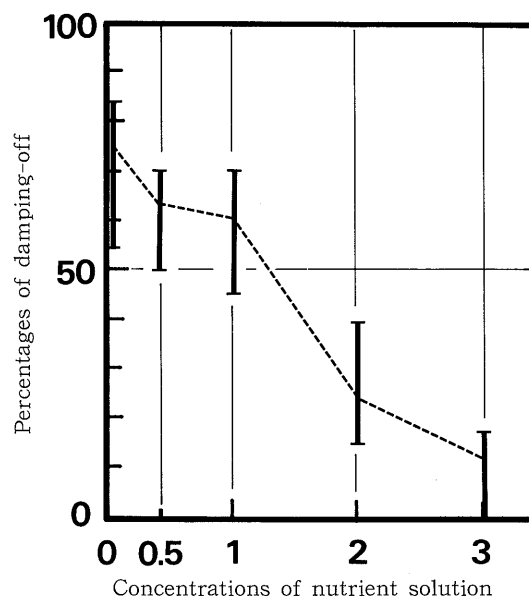


Fig. 2. Effect of concentrations of hydroponic nutrient solution on the incidence of *Pythium* damping-off.

Data were obtained 5 days after transplantation of spinach seedlings into nutrient solutions infested with zoospores (5.2×10 /ml).

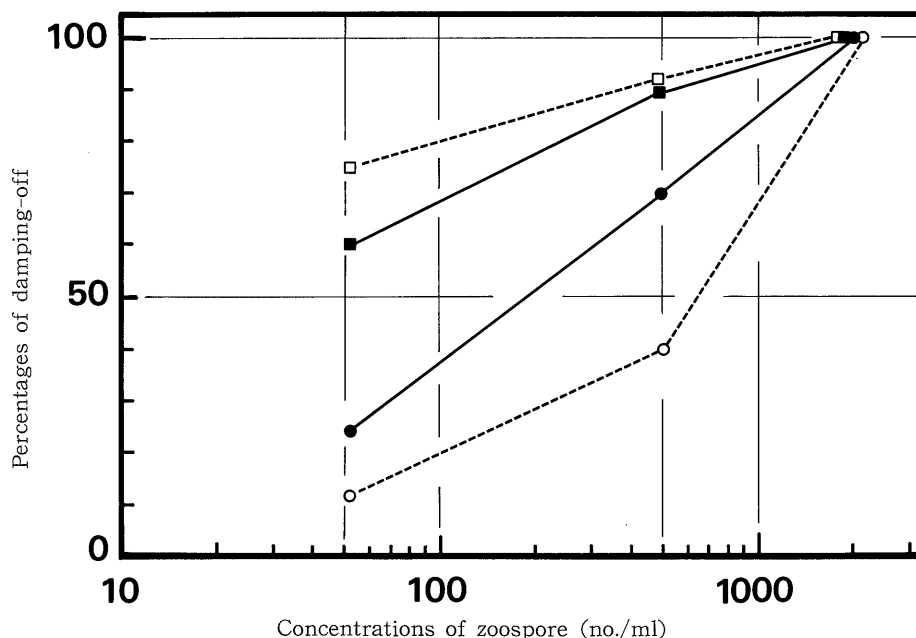


Fig. 3. The relationship between incidence of spinach damping-off and density of zoospores of *Pythium butleri* in various concentrations of the nutrient solution.

-----□-----; distilled water —■—; standard solution
—●—; 2-fold of standard solution -----○-----; 3-fold of standard solution

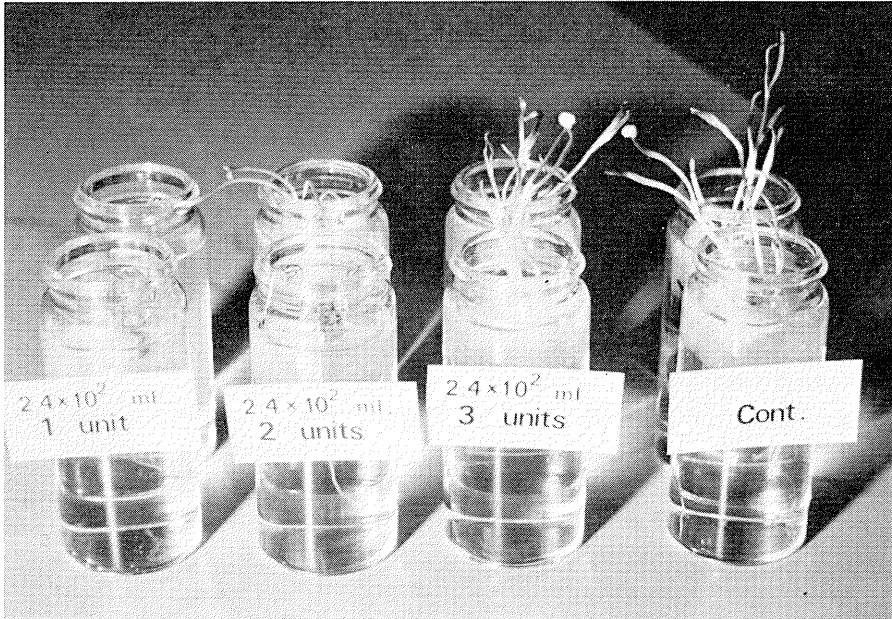


Fig. 4. Damping-off of spinach seedling caused by *Pythium butleri* in relation to various concentrations of the nutrient solution. Note that severe and partial damping-off occurred in standard solution and 2-fold of standard solution respectively, but no symptom appeared in 3-fold of standard solution even at high inoculum density of zoospores (2.4×10^2 /ml).

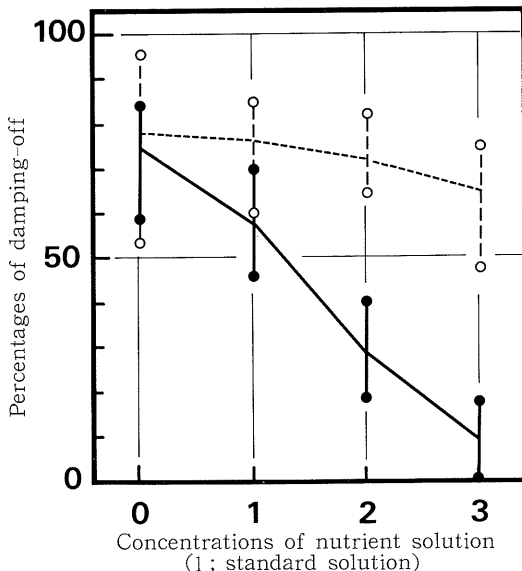


Fig. 5. Disease incidence of spinach seedlings transplanted immediately or 60 min after zoospore inoculation.

---○---; the range of disease incidence of spinach seedlings transplanted immediately zoospore inoculation.
—●—; the range of disease incidence of spinach seedlings transplanted 60 min after zoospore inoculation.

2.0×10^3 個/ml の場合、培養液濃度に関係なく高い発病率を示した (Fig. 3, 4)。

高濃度の水耕培養液による発病率の減少は、培養液中に遊走子を懸濁後1時間経過したのちに植物を移植した場合顕著に認められ、遊走子を懸濁した直後に移植した場合には高い発病率となった (Fig. 5)。

実験に供したハウレンソウ苗の根部を顕微鏡により調べた結果、立枯れや萎凋症状を呈した苗の根には、被のうした遊走子塊や発芽した遊走子が認められた。

3. 水耕培養液および無機塩類溶液中における遊走子の行動

P. butleri の遊走子の行動を知るために、形成された直後の遊走子を濃度の異なる水耕培養液中に懸濁したところ、水耕培養液の濃度が高い場合、遊走子が短時間で被のうするのが観察された。この水耕培養液中での遊走子の被のうは、2単位以上の培養液濃度において認められ、3単位以上の濃度の水耕培養液中では5分以内に全ての遊走子が被のうした (Table 1)。遊走子の遊泳運動は、培養液濃度が高くなるのに従って緩慢となり、2単位の濃度条件下では直線的な運動が少なくなり、円運動が認められた。

Table 1. The motility of zoospores of *Pythium butleri* in various concentrations of hydroponic nutrient solution^{a)}

Concentrations	Motility of zoospores incubated after	
	5 minutes	60 minutes
standard	+ ^{b)}	+
2-fold	±	—
3-fold	—	—
distilled water	+	+

a) Observed 5-60 min. after zoospore inoculation.

b) Symbols: +; moved, ±; slightly moved, —; encysted.

Table 2. The motility of zoospores of *Pythium butleri* in various concentrations of salt solution^{a)}

Salts	min	Motility of zoospores in concentrations of				
		0.01M	0.015M	0.02M	0.05M	0.1M
Ca(NO ₃) ₂	5	+ ^{b)}	±	—	—	—
	60	+	—	—	—	—
MgSO ₄	5	+	+	+	+	+
	60	+	+	+	—	—
NaCl	5	+	+	+	±	—
	60	+	+	+	—	—
CaCl ₂	5	+	+	±	—	—
	60	+	+	—	—	—

a) Observed 5-60 min after zoospore inoculation.

b) Symbols: +; moved, ±; slightly moved, —; encysted.

Table 3. The motility of zoospores of *Pythium butleri* in various concentrations of sugar solutions^{a)}

Sugar	Time	Motility of zoospores in sugar solutions of				
		0.05M	0.1M	0.15M	0.2M	0.25M
Sucrose	5	+ ^{b)}	+	±	—	—
	60	+	+	±	—	—
Glucose	5	+	+	+	—	—
	60	+	+	±	—	—
Mannitol	5	+	+	±	—	—
	60	+	+	—	—	—

a) Observed 5-60 min after zoospore inoculation.

b) Symbols: +; moved, ±; slightly moved, —; encysted.

遊走子の被のう現象は、水耕培養液を構成している無機塩類およびサッカロース、マンニット、グルコースなどの糖類の溶液中においても同様に認められた。遊走子の被のうと無機塩類および糖類溶液の濃度について調べたところ、硝酸カルシウムで 0.02 M, 硫酸マグネシウムで 0.05 M, シュクロース、マンニット、グルコースでいずれも 0.2 M 以上の濃度で遊走子が被のうする現象が認められた (Table 2, 3)。また、水耕培養液構成成分以外の無機塩類では、塩化ナトリウムで 0.05 M, 塩化カルシウムで 0.02 M 以上の濃

度で遊走子が被のうするのを認めた。これらの溶液中での遊走子の被のうは、遊走子を溶液中に注入してから 5 分以内に起った。

考 察

養液栽培で発生するミツバ根腐れ病をはじめ、*Pythium* 属菌による病害は、水耕培養液濃度が高い場合に発病率が低くなる傾向がある。この現象は、*Pythium* 属菌の遊走子形成が濃度の高い培養液中において抑制

されることに起因することを報告した⁶⁾が、形成された遊走子も培養液濃度により影響を受けることが考えられる。

P. butleri の遊走子を用いて水耕培養液中における遊走子濃度とハウレンソウの発病の関係を調べたところ、蒸留水中では、1 ml 当り 6 個という低い遊走子濃度で発病が認められた。ハウレンソウ罹病苗の根部には、多数の被のうした遊走子が付着しており、遊走子密度の低い条件下においても感染が能率よく起っていることが示唆された。しかし、水耕培養液の濃度が高くなるのにしたがって発病率が減少し、3 単位の水耕培養液中では、遊走子濃度が 5.2×10 個/ml にもかかわらず発病が著しく低下した。この結果は、形成された遊走子に対しても水耕培養液の濃度が影響し、発病率低下をもたらしていることを示している。

遊走子は、水中において植物根など宿主に対して、正の走性を示すことが知られており^{3,12,13)}、短時間で植物根表面に達し、付着、被のうし感染源となる⁴⁾。すなわち、遊走子の遊泳運動は、感染・発病に際し、宿主根への到達という目的において重要な役割を果たしている。しかし、水耕培養液中では、培養液濃度が高くなるのにしたがって遊走子の被のう化が速くなり、2 単位以上の培養液濃度中においては、ほとんどの遊走子が 5 分以内に被のうし遊泳運動を停止していた。高濃度の水耕培養液中にハウレンソウを移植し遊走子を接種した場合、ほとんどの遊走子は被のうした状態で培養液中に浮遊しているのが観察され、根への付着は認められなかった。

以上のことから、高濃度の水耕培養液中に遊走子を懸濁した場合に認められる発病率の低下は、遊走子のすみやかな被のうに関係があり、被のうにより宿主根への付着がさまたげられることに起因するものと推察される。

本菌遊走子の被のうと塩類溶液の濃度の関係について調べたところ、水耕培養液を構成している無機塩類の種類に関係なく 0.02~0.05 M 以上の濃度で被のう化が認められた。また、0.2 M 以上のサッカロース、マンニット、グルコースの溶液中でも被のうが認められ、溶質の種類に関係なく濃度の高い溶液中において被のうが起ることがわかり、溶液の浸透圧が遊走子の被のうに関係していることがわかる。

水耕栽培に用いられている培養液は、無機塩類の混合液であり、遊走子の被のうが起る 2 単位の培養液では、主要塩類濃度が 0.03 M (48 me/l) になる。供試した *P. butleri* 遊走子は 0.02~0.05 M 以上の塩濃

度において被のうすることから、2 単位以上の水耕培養液中における遊走子の被のうは、無機塩類の濃度上昇に伴う浸透圧に起因するものと考ええる。したがって、高濃度の水耕培養液中では、遊走子が形成された場合においても培養液の浸透圧により被のうがすみやかに起り、植物体への走性が妨げられる結果、発病率が低下するものと思われる。

土壌中において遊走子は、伝播、感染に重要ではないとする報告もあるが¹³⁾、水耕栽培においては、遊泳し寄主根に付着、感染する点で重要な器官と考えられる¹⁾。しかし、遊走子は、被のうすると移動、集積する能力を失うが、感染能力は保持しているものと思われる。それは、遊走子濃度が 10³ 個/ml と高い密度の場合、被のうした遊走子による感染、発病が起ること、また NFT (培養液薄膜法: Nutrient film technique) などの水耕栽培で、マット状の根に被のう遊走子がトラップされ発病が起るという報告¹⁰⁾ からも推察される。

養液栽培では、キュウリ疫病をはじめ *Phytophthora*, *Pythium* 属菌等のような鞭毛菌類による根腐れおよび立枯性病害の発生が多く、防除対策が望まれている^{5,7,9)}。本実験において、培養液濃度が高くなると遊走子の被のうが短時間で起り、その結果、宿主根への走性が失われ発病が低下することが明らかとなった。このことは、遊走子密度が低い場合、濃度の高い培養液を用いることにより遊走子による伝染を抑制することが可能で、被害を軽減できることを示している。

養液栽培における水媒伝染性病害 (water-borne disease) 防除には、農薬投与にたよることが多いが、病原菌の生態的特性を利用し、養液栽培の特徴を生かした防除方法について今後検討していく必要がある。

摘 要

蒸留水中において *Pythium butleri* の遊走子をハウレンソウ苗に接種し立枯病の発病率を調べたところ、遊走子濃度 6 個/ml より発病が認められ、 6.5×10^2 個/ml の濃度まで遊走子濃度と発病率に相関が認められた。

水耕培養液を用いて、遊走子接種によるハウレンソウ苗立枯病発病率を調べたところ、水耕培養液中では蒸留水中に比較して発病率が低くなる傾向があった。

水耕培養液中でハウレンソウに遊走子を接種した場合、培養液濃度が 2 単位以上となると発病率が低くな

り、3 単位の培養液濃度では、遊走子濃度が 5.2×10 個/ml にもかかわらず、立枯病の発生が著しく低下した。2 単位以上の培養液濃度中では、ほとんどの遊走子が被のうし、培養液中に浮遊した状態にあり、ホウレンソウ子苗の根に対する付着が認められなかった。

遊走子の被のう現象は、水耕培養液を構成している無機塩類それぞれの 0.02~0.05 M 以上の濃度の溶液

中で認められた。また、サッカロース、マンニット、グルコースの 0.2 M 以上の溶液中においても認められた。

以上のことから、高濃度の水耕培養液中における発病抑制現象は、遊走子が形成された場合においても培養液の浸透圧により遊走子が短時間で被のうし、根部侵入感染が抑制される結果によって起るものと推察される。

引用文献

- 1) Gold, S. E. and Stanghellini, M. E. (1985). *Phytopathology* 75: 333-337.
- 2) Harrison, J. L. and Jones, E. B. G. (1975). *Trans. Br. mycol. Soc.* 65: 398-394.
- 3) Ho, Y. C. (1970). *Can. J. Bot.* 48: 1501-1514.
- 4) Kraft, J. M., Endo, R. M. and Erwin, D. C. (1967). *Phytopathology* 57: 89-90.
- 5) 草刈真一・田中 寛・山田貴義 (1978). *農及園* 53: 1053-1054.
- 6) 草刈真一・田中 寛・山田貴義 (1980). *関西病虫研報* 22: 12-16.
- 7) 宮田善雄・長田龍太郎・正子朔 (1977). *日植病報* 43: 338.
- 8) 森田 儔 (1967). *静岡農試報告* 12: 97-103.
- 9) 長江春季 (1974). *農及園* 49: 1374-1378.
- 10) Pegg, G. F. and Hoderness, M. (1983). *The third international Mycological Congress Abstracts*, p. 236. Tokyo, Japan.
- 11) Pirozynsky, K. A. (1968). *The Fungi*, Vol. 3, Academic Press, New York, San Francisco, London. pp. 483-504.
- 12) Royle, D. J. and Hickman, C. J. (1964). *Can. J. Microbiol.* 10: 151-162.
- 13) Stanghellini, M. E. (1974). *Proc. Am. Phytopathol. Soc.* 1: 211-214.
- 14) Waterhouse, G. M. (1967). *Mycological Papers*, No. 109: p. 1.
- 15) 山崎肯哉 (1973). *野菜の養液栽培* (農耕と園芸編集部編) pp. 22-26, 誠文堂新光社, 東京.