

異なるpHの水耕液で栽培したコムギのPolymyxa graminisの感染率の比較

誌名	北日本病害虫研究会報
ISSN	0368623X
著者名	佐山,充
発行元	北日本病害虫研究会
巻/号	61号
掲載ページ	p. 40-42
発行年月	2010年12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



異なる pH の水耕液で栽培したコムギの *Polymyxa graminis* の感染率の比較

佐山 充*

Comparison of Infection Rates of *Polymyxa graminis* among Wheat Plants Grown at Different pH Levels in Sand Culture

Mitsuru SAYAMA*

コムギ縮萎病の接種源を試験管育苗法を利用して効率的に増殖するために、石英砂に加える水耕液の pH が *Polymyxa graminis* の感染率に与える影響を検討した。水耕液の pH は、5~7 までの 3 段階を調査した。その結果、*P. graminis* の寄生率は pH6 および 7 では、出芽 8 週間後には 2.0~2.5%、10 週間後には 1.8~2.3%であったのに対して、pH5 では出芽 8 週間後には寄生は認められず、10 週間後には 0.5%であった。以上のことから砂耕栽培においては、pH を 6~7 に調製した場合に、*P. graminis* の増殖が最も良好となることが明らかとなった。

Key words: *Polymyxa graminis*, pH, sand culture

コムギ縮萎病は、発生によりコムギの収量が減少する (6) 重要病害であり、防除法の確立が求められている。コムギ縮萎病の病原は *Wheat yellow mosaic virus* (WYMV) であり、根こぶ病菌科に属する絶対寄生性の *Polymyxa graminis* が媒介する (11)。この媒介者の土壤中の密度低下法やコムギへの感染抑制方法の開発を効率的に行うためには、*P. graminis* の土壤からの分離や増殖を迅速に行う方法が必要である。著者は前報 (9) において、テンサイそう根病の病原である *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) とその媒介者の *P. betae* を増殖するために開発された試験管育苗法 (1) を本病へ応用するための条件を検討し、灌水条件、土壤と石英砂の混合割合、および栽培に用いる品種を比較した。本報では *P. betae* の感染量が土壤 pH の影響を受ける (4) ことから、試験管育苗法を用いて水耕液の pH を変えてコムギを栽培し、*P. graminis* の増殖量に及ぼす影響を調査した。

本研究を行うに当たり有益なご助言を賜った農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター中山尊登博士、貴重な土壤試料を分譲していただいた北海道立総合研究機構中央農業試験場堀田治邦博士、土壤試料の採取にご協力をいただいた農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター西尾善太博士に厚く御礼を申し上げます。

材料と方法

1. 栽培方法

テンサイそう根病の実験用に開発された試験管育苗法 (1) に準じた方法でコムギ (品種「ホクシン」) を 1 試験管あたり 1 個体栽培した。すなわち底に穴の開いた直径 25mm の試験管に 20~30 メッシュの石英砂を詰め、コムギを約 1cm の深さに試験管当たり 1 粒播種し、緩衝液で pH を調製した一部改変 Hoagland and Arnon 液 (1) を灌水した。コムギ苗は陽光定温器内で約 10℃ で栽培した。灌水および灌水条件は 7 日間を 1 サイクルとして、始めの 5 日間は底の穴をふさぐことにより 1 日 6 時間灌水状態とし、*P. graminis* の感染・増殖を促進したのち、底の穴を解放して排水した。残りの 2 日間は底の穴を解放した状態で 1 個体につき 1 日あたり 7ml 灌水した。灌水処理は出芽日の翌日から開始した。

2. 水耕液の pH の調製方法

水耕液はあらかじめ 20 倍の原液を作製し、目的の pH の緩衝液で希釈することによって調製した。緩衝液は Merz (5) の方法に準じ、pH5 と 6 は 0.005M の 2-(N-モルホリノ) エタンスルホン酸 (MES)、pH6 と 7 は 0.005M の 3-(N-モルホリノ) プロパンスルホン酸 (MOPS) を使用した。MES および MOPS の pH は、0.1N NaOH で調製した。なお、以下 MES の pH5 区などを MES5 区のように記する。

* 農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター National Agricultural Research Center for Hokkaido Region, 1-Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, Hokkaido 062-8555, Japan

3. 接種方法

P. graminis の寄生率を調査するための接種源は、北海道伊達市のコムギ萎縮病発生圃場から採取した土壌にコムギを栽培し、根に寄生した *P. graminis* を使用した。コムギの根で増殖した *P. graminis* は、Fujisawa and Sugimoto (2) の方法に準じて、*P. graminis* の寄生しているコムギ根を磨碎し、ふるいによる濾過、遠心分離による洗浄、濃縮を行った。コムギ苗 1 個体に対して、約 3×10^3 個の休眠孢子塊を播種時に種子の真下に接種した。

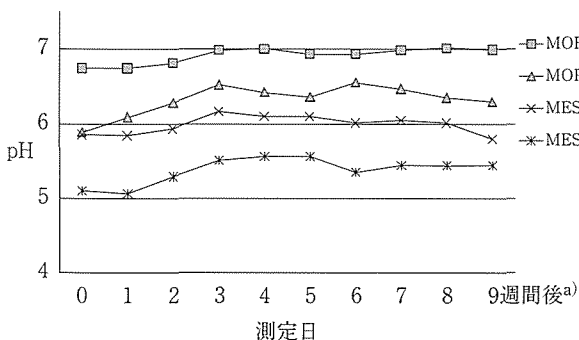
4. 調査方法

水耕液の pH が *P. graminis* の感染に及ぼす影響の調査は、出芽 4~10 週間後に根の *P. graminis* の寄生率によって調査した。根の寄生率の調査は、前報 (9) と同じ方法で行った。すなわち、水洗したコムギの根のすべてを 1~2mm に切り、水中でよく攪拌した。この根の一部を取り、ラクトグリセロールで固定したのちに検鏡し、休眠孢子塊、変形体、遊走子のう形成を指標に *P. graminis* の寄生の有無を調べた。供試 4 個体についてそれぞれ 100 切片調査し、寄生率を算出した。水耕液は栽培中に pH が変動することが予想されるため (10)、寄生率を調査するための試験区の 6 時間湛水後の水耕液の pH を、湛水処理開始日から約 1 週間毎にガラス電極法 pH メーター (堀場 F-22) により測定した。

結果および考察

1 週間ごとに測定したコムギの水耕液の pH は、生育が進むにつれてやや上昇する傾向にあった (図 1) が、概ね想定した pH の範囲内であったことから、pH が *P. graminis* の増殖に与える影響を評価できると判断した。

P. graminis の感染は、出芽 4 週間後は MOPS7 区のみで認められ 0.5% の感染率であった。6 週間後は、MES5 区では検出されず、MES6 区 1.0%、MOPS6 区 1.8%、MOPS7 区が 3.8% の寄生率であった (表 1)。MES7 区は、MES5 区と MES6 区より高い寄生率であった。8 週間後も MES5 区では検出されず、他の処理区は 2.0~2.5% の



第 1 図 コムギ栽培時の水耕液の pH

a) pH は湛水処理開始日から 1 週間毎に測定

第 1 表 異なる pH の水耕液で栽培したコムギの *Polymyxa graminis* 感染率^{a)}

	出芽 4 週間後 寄生率 (%)	出芽 6 週間後 寄生率 (%)	出芽 8 週間後 寄生率 (%)	出芽 10 週間後 寄生率 (%)
MES 5	0.0 ± 0.00 ^{b)c)}	0.0 ± 0.00 a	0.0 ± 0.00 a	0.5 ± 0.29 a
MES 6	0.0 ± 0.00 a	1.0 ± 0.58 a	2.3 ± 0.63 a	2.0 ± 0.91 a
MOPS 6	0.0 ± 0.00 a	1.8 ± 0.75 ab	2.0 ± 0.71 a	1.8 ± 0.48 a
MOPS 7	0.5 ± 0.50 a	3.8 ± 0.95 b	2.5 ± 0.87 a	2.3 ± 1.25 a

a) 1 処理区に試験管を 4 本供試した。1 本の試験管には 1 本のコムギを栽培した。

b) 1~2mm に切った根 100 片のうち、休眠孢子塊、変形体、遊走子のうのいずれかがある根の断片の割合。寄生率の右の数値は標準誤差。

c) 同一文字を付した数値は Tukey の多重検定法で有意差 (5%) がない。

寄生率となった。10 週間後に MES5 区で初めて検出され、0.5% の寄生率となり、他の処理区は 1.8~2.3% の寄生率であった。また、各 pH 処理区の生育状況および生重を測定した結果、枯死や極端な生育不良は認められなかった (データ省略)。

P. graminis の感染に及ぼす pH の影響について、岩田ら (3) は、pH5.2~6.8 のコムギ萎縮病の発病土壌を用いた試験において、発病差が無いとしている。著者はコムギの砂耕栽培における pH の影響を調査した。その結果、砂耕栽培においては *P. graminis* のコムギへの感染率は、pH が 5 以下で少なく 6 以上で多くなることが明らかとなった。

前報 (9) の結果と合わせて、試験管育苗法を利用したコムギによる *P. graminis* の増殖は、栽培温度 8~15°C (7)、出芽後 6~8 週間毎日 6 時間程度の湛水、水耕液の pH が 6~7 程度で、「ホクシン」などの萎縮病感受性品種 (8) を用いることが適していると考えられた。なお、*P. graminis* の感染に影響を与える可能性がある塩素を除去した水道水を用いて調製した一部改変 Hoagland and Arnon 液 (1) の pH は、コムギの根からの分泌物によって上昇し、pH7 以上になることもあるが、前報の実験の結果十分な感染が確認されているため、増殖の際は pH 調製の必要はなく、前報 (9) で報告した水耕液を使用できると判断した。また、本報告では増殖法について検討したが、土壌からの分離法への適用については、用いる土壌の pH が水耕液の pH に影響を与えるため、今後の検討が必要である。

引用文献

- 1) 阿部秀夫・玉田哲男 (1987) *Polymyxa betae* Keskin (テンサイそう根病のウイルス媒介者) の簡易接種・増殖法。てん菜研究会報 29: 34-38.
- 2) Fujisawa, I and Sugimoto, T. (1976) Transmission of beet necrotic yellow vein virus by *Polymyxa*

- betae*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 43 : 583-586.
- 3) 岩田吉人・斎藤康夫・高梨和雄(1961)土壤伝染性ムギウイルス病に関する研究. 農技研病理科研究中間報告 14 : 72-86.
 - 4) 神沢克一(1974)てん菜のそう根病について 第5報育苗中のPHと発病について. 第13回てん菜技術連絡研究会発表論文集 : 27-35.
 - 5) Merz, U. (1989) Infectivity, inoculum density and germination of *Spongospora subterranea* resting spores: a solution - culture test system. EPPO Bulletin 19 : 585-592.
 - 6) 御子柴義郎・藤澤一郎・赤坂安盛・田野崎真吾(1988)岩手県内におけるコムギ萎縮病及びコムギ縞萎縮病の発生. 東北農業研究 41 : 143-144.
 - 7) 大籾泰雄・石黒 潔(2004)コムギ縞萎縮ウイルス(WYMV)を保毒する *Polymyxa graminis* 休眠胞子が圃場で増加する時期の推定. 北日本病害虫研報 55 : 59-63.
 - 8) 大藤泰雄・八田 浩一・石黒 潔(2006)日本産コムギ縞萎縮ウイルス(WYMV)株の病原性を類別するコムギ判別品種. 日本植物病理学会報 72 : 93-100.
 - 9) 佐山 充(2009)試験管育苗法のコムギ縞萎縮病ベクター *Polymyxa graminis* への応用. 北日本病害虫研報 60 : 30-34.
 - 10) 田中啓文・大竹和平・加藤 理(1990)水耕液リン酸濃度とコムギ葉中の二価鉄. 名城大農学報 26 : 1-6.
 - 11) Usugi, T., Kashiwazaki, S., Omura, T. and Tsuchizaki, T. (1989) Some properties of nucleic acids and coat proteins of soil-borne filamentous viruses. Ann. Phytopath. Soc. Japan 55 : 26-31.