

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

養液栽培における高温性水媒伝染病害の 安全性診断マニュアル

岐阜大学流域圏科学研究センター かげやま こうじ いしぐろ やすし
景山 幸二・石黒 泰

はじめに

農林水産・食品産業科学技術推進事業（実用技術開発ステージ）の助成を受けて「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策定」について愛知県農業総合試験場、岐阜県農業技術センター、三重県農業研究所、静岡県農林技術研究所および岐阜大学流域圏科学研究センターの5研究機関で研究を進めた。本特集ではその成果を各研究機関から発表する。本稿ではマニュアルの全体を総括する。

I 研究の背景

野菜・花き類の養液栽培では、地球温暖化による夏期の高温、高温耐性のない新規作目の導入、あるいは高温期の苗生産等により高温性水媒伝染病害が発生するようになった。これらの病原菌は培養液を介して瞬間に施設全体に広がるため、発見が遅れるとその作は生産をあきらめるしかない。したがって、病害の被害軽減のためには、発病前の早期診断が極めて重要となる。しかし、植物病原菌の検出には、土や水・植物からの病原菌の分離培養・同定といった熟練や労力および時間が必要なことから、農業生産現場ですぐに利用することはできない。そのため、病徴発現の観察などによる経験的な診断に頼る以外にないのが現状である。

II 高温性 *Pythium* 属菌の特徴

本研究では特に問題となっている3種の *Pythium* 属菌 *Pythium aphanidermatum*, *P. helicoides*, *P. myriotylum* を対象としている。これらの病原菌は、他の病原菌では生育限界である35℃が生育最適温度であり、植物にストレスのかかる30℃以上のときに発病が助長される。すなわち、高温による菌の活性の増大、植物の活力の低下が発病の重要な要因である。また、これらの種は水分

が十分にあると遊走子を放出し、拡散する。遊走子は25℃付近で最もよく放出されることから、発病が見られる前に菌は既に広がっている。

いずれの高温性の *Pythium* 属菌も、耐久生存をするために卵胞子を形成する。この卵胞子は土壌中で長期間生存できる。したがって、これらの菌は作物に感染して菌糸で根の中で増殖したり、根から遊走子を放出して広がったり、活発に活動しているが、作物がないときには卵胞子として生産環境にとどまるといった環境の変化に伴い生存様式を変えて対応しながら一生を過ごしている（口絵①）。

III 安全性診断マニュアル

これまでの防除は、病害の原因を診断して化学薬剤を散布するといった「まず発病ありき」の方針であった。しかし、上記のように病原菌は一生の間に様々な形態および生息場所を変えて生きている。したがって、病原菌がどのように生産現場に侵入するのか（第一次伝染経路）、侵入した病原菌がどのように施設内で伝搬するのか、どのように越冬するか（第二次伝染経路）といった発病前の圃場・施設診断、発病後の病原菌の侵入経路診断、病原菌の二次伝染経路診断の情報が重要である。これにより、対処療法ではなく、伝染経路を断つ確実な防除が可能となる。

本研究では、作目として近年養液栽培が進んでいるトマト、ハウレンソウ、ミツバ、ネギ、バラ、ポインセチアを対象とし、病原菌は先の3種の *Pythium* 属菌を対象とした。分子生物学的手法を応用した簡易診断法により施設内外の時空間的な病原菌のモニタリングを行い、発病株の推移や被害程度および環境要因を比較検討し、「いつ」、「どこで」病原菌が検出されれば「どの程度」の被害を受けるかを予測することのできる安全性評価法を確立した。このような安全性評価に、既存の病害防除技術や培養液の殺菌技術を組合せた「安全性診断マニュアル」を策定した。これにより、病害に対する対処療法ではなく、発症前の早期診断と被害予測から最適な防除法を選択することができる科学的根拠に基づいた病害管理を可能にする（図-1）。

Safety Diagnostic Manual for the Management of High-temperature Water-borne Diseases in Hydroponic Culture. By Koji KAGEYAMA and Yasushi ISHIGURO

（キーワード：水媒伝染病害、養液栽培、高温性 *Pythium* 属菌、検出、診断）

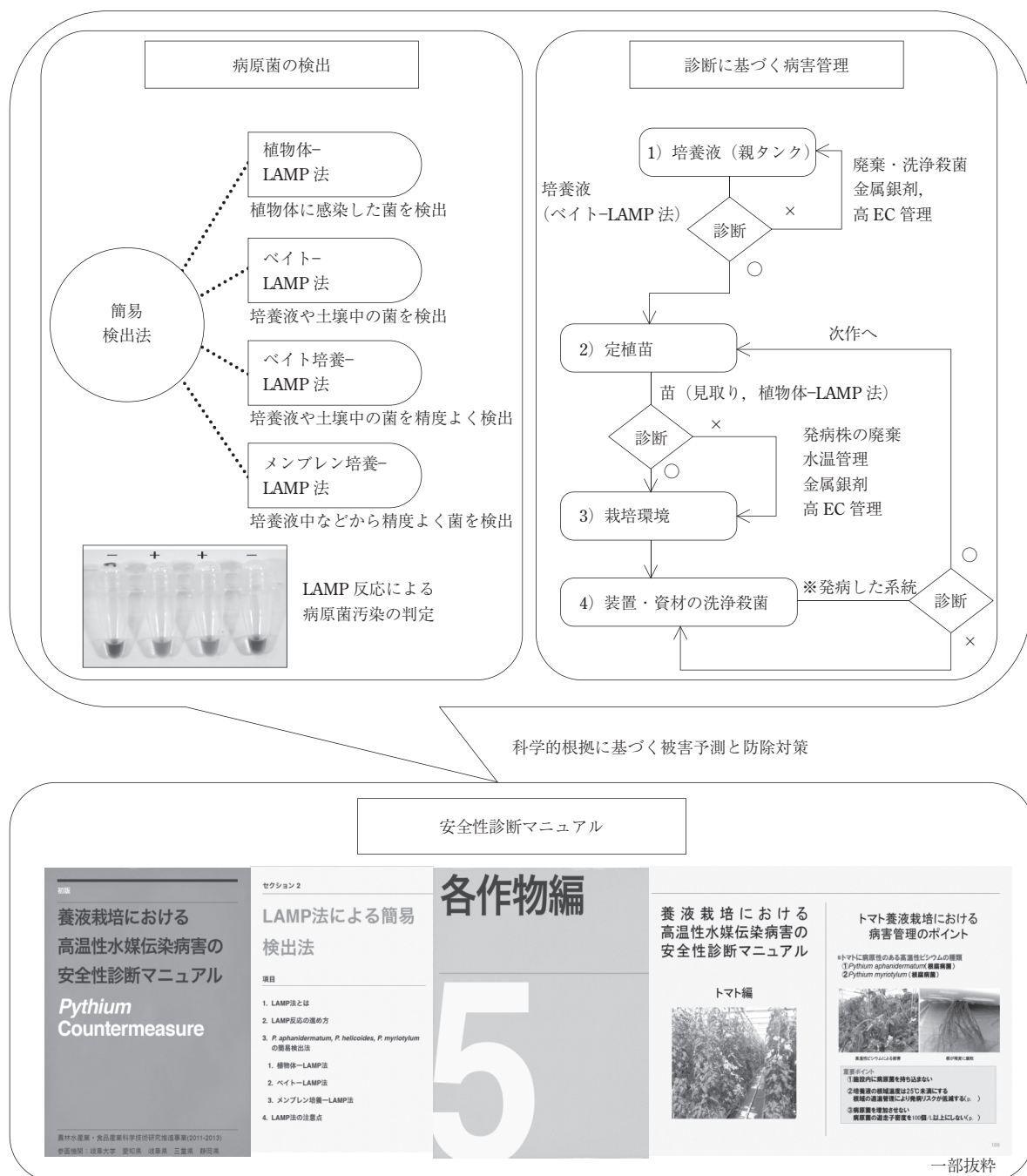


図-1 安全性診断マニュアル

1 簡易検出法の開発

安全性診断で最も重要な技術の一つは検出法の開発である。できれば生産現場で判定できる簡易な検出技術が望まれる。しかし、先に述べたように養液栽培の圃場衛生管理においても、病原菌の検出は病徴発現の観察など

による経験的な診断に頼る以外になかった。近年、分子生物学的手法が病原菌検出にも応用され始めており、高感度でありながら短時間で簡易に診断を行うことが可能となった。

PCR法は、病原菌の検出で一般になってきているが、

試料から純度の高い DNA が必要であり、抽出に遠心機等また PCR 装置が必要となる。そこで、近年開発された特別な装置が必要でなく、結果も 1 時間以内に得られる loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法に注目した (NOTOMI et al., 2000)。対象とした 3 種 *Pythium* 属菌の検出で利用できるように、LAMP 法のための種特異的なプライマーの設計、反応条件の設定等を行った (FUKUTA et al., 2013; 2014; TAKAHASHI et al., 2014; 詳細は本ミニ特集「LAMP 法による培養液中の病原菌検出技術の開発」を参照)。

もう一つの検出に重要な要素は病原菌の集菌方法である。土壌からの検出では休眠している耐久生存器官を賦活化し誘引する。培養液からの検出では遊走子を誘引あるいは単純にろ過で集菌する。それぞれの方法として、ペイト法とメンブレン法を開発した。ペイト法は、いわゆる捕捉法で捕捉基質から浸出するアミノ酸や糖類等により病原菌の賦活・誘引を行う。捕捉基質としては、誘引力が強く取扱が容易なエゴマを用いた (WATANABE et al., 2008)。メンブレン法は、培養液をフィルターでろ過して病原菌を集菌する (渡辺ら, 2013; 詳細は本ミニ特集「養液栽培におけるペイト法およびメンブレン法による高温性 *Pythium* 属菌の検出手法」を参照)。これらの方法と LAMP 法を組合せることで病原菌を精度高く簡易に検出が可能となった。組合せは、対象とする検体の種類、必要とする検定期間、検出精度によって使い分ける (図-1)。

また、植物体からの検出では植物体を水に浸漬し、振とうした液を鋳型にするだけで LAMP 法により検定ができる。ただし、病気が進みすぎて完全に枯死した植物体からは検出精度が低くなるので注意が必要である。

2 安全性診断のポイント

安全性診断では、「いつ」、「何を」診断したらよいのが重要なポイントである。最初に、「いつ」診断したらよいのかであるが、調査頻度を上げれば、安全性は高まるが、毎週、毎月行うことは現実的ではない。まず、育苗前、定植前に資材を殺菌し、殺菌効果を確認する必要がある。特に前作で発病があった場合、殺菌効果の確認調査が必要である。この場合、施設内に伝染源が残存しているかどうかを検出する。一方、伝染源は原水から入ることも想定される。原水に存在するようでは、施設を殺菌した苦勞が報われないので、原水の殺菌装置を導

入するか、水道水を用いる等の対策が必要になる。また、検出されなくても安全ではなく、川の水などでは降雨時に汚染水が流れ込むことも考えられるので注意が必要である。さらに、苗での持ち込みも考えられ、定植後に培養液を調査することで感染拡大リスクを早期に知ることができる。栽培中は、闇雲に診断を行うより、液温を参考に行うことが効率的で、液温が 20～25℃ のときに診断することが重要である。発病がなかった場合にも、栽培終了時に病原菌の有無を調べるとさらに的確な防除対策が行える。

次に、「何を」調査したらよいかである。これまでの調査では、苗、原水、土壌、農業資材、培養液、植物体残渣等が汚染源になっていることが明らかになっている。したがって、作物が栽培されている施設内の培養液だけを注視しているのでは不十分である。

3 安全性評価と対策

診断をいつ、何を、どんな方法で行うか、診断結果から推定される発病リスクやその防除対策は、作目によって異なる。安全性診断マニュアルの各作物編では今回対象としたトマト、ホウレンソウ、ネギ、ミツバ、バラ、ポインセチアの各作目について栽培前と栽培中での安全診断に基づく発病リスクとそれに対応した対策をまとめ、詳細な診断フローと病害管理ポイントを記載した (図-1)。

おわりに

これまで病原菌の検出は、種によっては不可能であり、可能であっても労力・時間・熟練が必要であった。本研究では、簡単・短時間・汎用的に病原菌の検出が可能な方法を開発し、研究者でなくても利用できるものにした。これらの手法を診断に活用して、科学的根拠に基づく防除対策を講じることで、養液栽培のより一層の安定生産に寄与できることを願っている。マニュアルは、以下のホームページからダウンロードできる。

<http://www.green.gifu-u.ac.jp/~kageyamalab/index.php?page=manual>

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) NOTOMI, T. et al. (2000): Nucleic Acids Res. 28: e63.
- 4) TAKAHASHI, R. et al. (2014): FEMS Microbiol. Let. (in press)
- 5) WATANABE, H. et al. (2008): J. Gen. Plant Pathol. 74: 417～424.
- 6) 渡辺秀樹ら (2013): 関西病虫研報 55: 65～66.