

特集：疫病

疫病菌の選択培地

大阪府立大学 大学院 生命環境科学研究科 ^{とう}東 ^{じょう}條 ^{もと}元 ^{あき}昭
 元 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所 ^{ちく}築 ^お尾 ^{よし}嘉 ^{あき}章

はじめに

疫病菌は元来土壌生息性菌であること、生育速度が他の土壌生息雑菌よりも遅いことが多く、特にピシウム菌が混在すると、疫病菌が存在しても分離できないことがしばしば起こる。これを克服するため多くの研究者が分離方法に工夫を凝らしてきた。ここでは疫病菌やピシウム菌を罹病組織や汚染土壌から分離する場合に使用する選択培地について解説し、読者の使用の便に供することとした。

なお土壌から分離する場合は選択培地とともに捕捉法(宿主となる植物の果実、枝、葉等を使用; 鈴井, 1995)が用いられることが多い。罹病組織からの分離にあたっては、できるだけ新鮮な患部と外観健全部の境界領域を切り出すなどは言うまでもない。

I 培地組成

歴代の疫病菌とピシウム菌用選択培地の組成を表-1に示した。

選択培地の考え方は、KOMADA (1975) が *Fusarium* 属菌の選択分離培地開発で示した選択的増高、選択的阻害、選択的識別の考えが基本となる。

基本となる培地は合成培地の場合もあるが、両菌ともに特別な栄養要求性はないので作製の簡便な CMA 培地や V8 ジュース寒天培地等の天然培地が使われることが多い。罹病部位には雑細菌が多数存在するので、まず抗細菌性の抗生物質が用いられる。広範囲の細菌に有効なバンコマイシンなどがその例であるが、かつて入手が困難だったことや高価だったため、様々な代替剤が探索された。また疫病およびピシウム菌が属する卵菌類と高等糸状菌の細胞壁構成の違いから、広範囲の高等糸状菌に有効だが卵菌類にはあまり効果のないペノミル剤などの殺菌剤や、ポリエン系の抗糸状菌用抗生物質が多用される。これらを基本としてさらに種々の殺菌剤が試みられ

た。次に疫病菌とピシウム菌との区別であるが、殺菌剤ヒドロキシソキサゾール (ハイメキサゾール=タチガレン®) が比較的ピシウム菌に抑制的に働き、疫病菌に弱く働くことからよく利用される。ただし、菌種により通常の濃度では生育が大きく抑制される場合もあるので個別に調整する必要がある。PCNB 水和剤も出現するコロニーの大きさを全体的に抑制して分離を楽にするので、よく利用されたが、入手困難 (現在でも試薬としては入手可能、試薬の場合はアセトンなどに溶かす必要あり) となり、その代替案が提案されている。これら歴代の選択培地のうち、薬品の入手しやすさや研究実績から疫病菌用として BNPR-HMI 培地が、またピシウム菌用に NARM 培地が推奨される。植物体地上部など、ピシウム菌の混入が少ない疫罹病試料では、ピシウム菌選択培地が用いられることも多い。ピシウム菌選択培地は一般に作製が容易で疫病菌の生育が良好なため、ピシウム菌の混入が少ないときには疫病菌培地としても使いやすい。

なお、選択培地と言っても完全に他の糸状菌、雑菌を除外できるわけではないので、置床後はこまめにペトリ皿裏面から低倍の顕微鏡で観察し、分離しやすい時期を見失わないようにする。また、選択性が悪いと感じたなら自ら添加薬剤の種類や濃度を検討する必要がある。菌の種類に検討がつかない場合は培養温度を低温 (20℃) と高温 (25℃) の 2 種類で行うことも必要となる。培地の pH 調整も必要になる場合がある。

最後に使用頻度の高い BNPR-HMI 培地 (藤沢・正子, 1975) と NARM 培地 (MORITA and TOJO, 2007) の実際の作製法を引用しておく (図-1, 図-2)。

Selective Media for *Phytophthora* and *Pythium*. By Motoaki Tojo and Yoshiaki CHIKUO

(キーワード: ハイメキサゾール, ポリエン系抗生物質, PCNB)

表-1 歴代の疫病菌選択培地 (前頁からの続き)

No.	略称	抗生物質 (細菌)	抗生物質 (細菌)	抗生物質 (細菌)	9-amino- crdline	セフアロ チン	色素・ 指示薬	防腐剤	生育抑制 剤	色素		用途	出典	特徴
										ローズベ ンガル	ローズベ ンガル			
1	3-P	ポリミキ シン	50 mg				BTB	アジ化 ナトリ ウム				植物根から (主に <i>Py.</i>)	Phytopathology 59:725 ~ 731.	三つの P 使用・ポリエン系 抗生物質の導入
2	Kerr'Agar, modified		50 mg							60 mg		土壌から (<i>Ph. cinnamomi</i>)	Phytopathology 55:1183 ~ 1187.	
3	P10VP											土壌、植物から (<i>Ph.</i>)	Nature 223:636 ~ 638.	
4	PVP											土壌、植物から (<i>Ph.</i>)	Phytopathology 56:883.	
5	FH								400 mg			土壌から (<i>Ph. niconitanae</i> と <i>Py.</i>)	Phytopathology 59:725 ~ 731.	没食子酸、ペノミルの使用
6	PB												日植病報 36:352.	
7	MPVM									10 mg		土壌 (for <i>Py.</i> & <i>Ph.</i>)	Mycopathol. Mycol. Appl. 50:151 ~ 161.	
8						400 mg		1 mg				罹病組織より	Fitopatologia 9:1 ~ 7.	
9	PV											土壌 (for <i>Py.</i> & <i>Ph.</i>)	Phytopathology 65:570 ~ 575.	
10	PVPH											<i>Pythium</i> や <i>Mortierella</i> との区別が可能	Phytopathology 67:796 ~ 801.	タチガレンの使用
11	BNPRA-HMI											土壌、植物	Phytopathology 67:425 ~ 428.	
12	P5 VPP											土壌 (for <i>Ph. capsici</i>)	Phytopathology 71:129 ~ 133	
13	BHMPVPR											for <i>Ph. eadsleri</i>	International Pegeonpa Newsletters 8:12 ~ 13.	
14	VP3									2.5 mg		土壌、植物 (for <i>Py.</i> & <i>Ph.</i>)	Trans. Br. Mycol. Soc. 86:39 ~ 47.	
15	BHMPVPR											<i>Ph. cactorum</i> from リンゴ樹園	Plant Pathol. 35:565 ~ 574.	
16	P5ARP											土壌から <i>Ph.</i> と <i>Py.</i>	Plant Dis. 70:1038 ~ 1043.	
17	V10 agar											土壌から	Agronomia Lusitana 44:67 ~ 78.	
18	PARPH											土壌	Plant Dis. 83:1129 ~ 1136.	
19	PAR (PH)-V8											土壌から	日植病報 41:267 (講要).	
20	名称なし											土壌から	日植病報 42:78 (講要).	
21	改良BNPRV											植物、土壌から	宇都宮たほこ試特報 1:99 ~ 109.	
22	MH (FH を改良)								400 mg			タバコ疫病菌を土壌から	日植病報 46:542 ~ 544.	
23	名称なし			100 mg								土壌から	日植病報 55:499 (講要).	
24	ARITH				50 ppm							ジャガイモ疫病菌専用	Ann. Phytopath. Soc. Japan 59:568 ~ 571.	
25	名称なし											アズキ茎疫病菌罹病組織から	道立農試報 115:1 ~ 55.	
26	名称なし			0.03 g								土壌から (<i>Pythium</i> & <i>Phytophthora</i>)	Plant Dis. 91:1591 ~ 1599.	
27	PARF (PARP 改良)											土壌から (<i>Pythium</i> & <i>Phytophthora</i>)	Plant Dis. 91:1591 ~ 1599.	
28	NARF (PARP 改良)											土壌から (<i>Pythium</i> & <i>Phytophthora</i>)	Plant Dis. 91:1591 ~ 1599.	
29	NARM (PARP 改良)											土壌から (<i>Pythium</i> & <i>Phytophthora</i>)	Plant Dis. 91:1591 ~ 1599.	

海外

国内

抗菌成分重量は培地 1 l 当たりの添加量を示す。*1 MBC として。*2 基本培地は CMA, V8 ジュース寒天のほうがりよりよい。

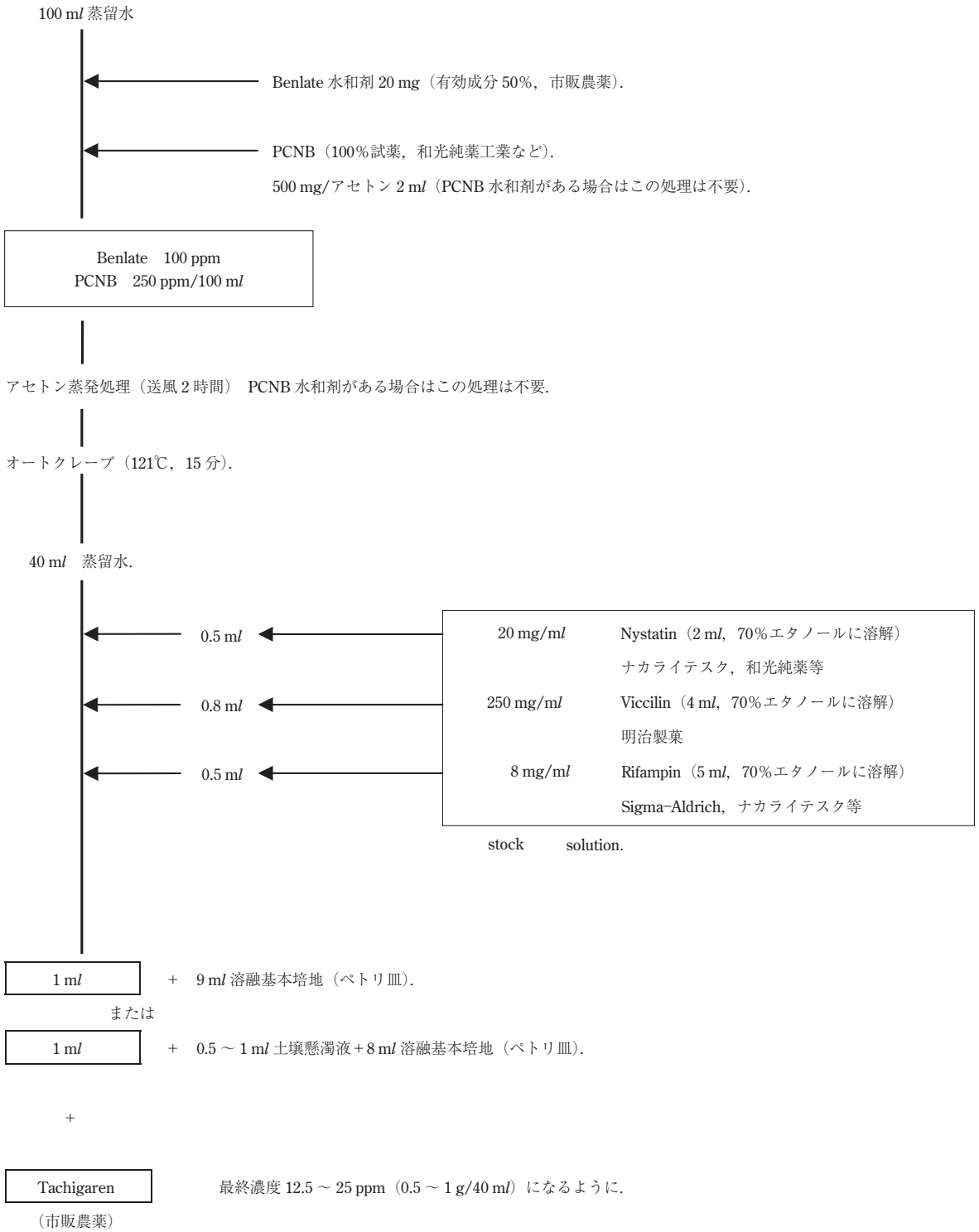


図-1 疫病菌選択培地 (BNPRA-HMI) の作製法 (京都府大原図)
 ペンレート 100 ppm, PCNB 250 ppm, Nystatin 250 ppm, Viccillin 5,000 ppm, Rifampin 100 ppm

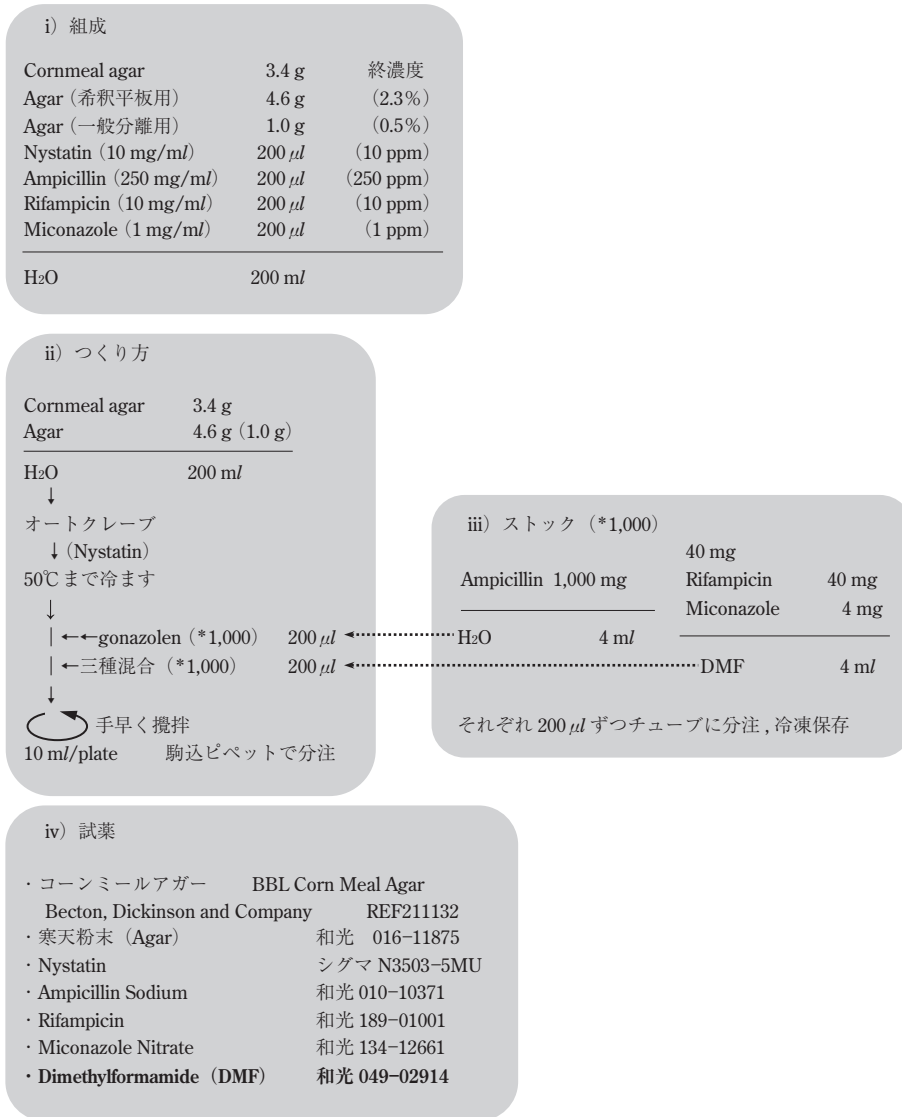


図-2 NARM 培地の作製法 (景山原図)

引用文献

- 1) ALI-SHTAYEH, M. S. et al. (1986): Trans. Br. Mycol. Soc. **86**: 39 ~ 47.
- 2) FERGUSON, A. J. and S. N. JEFFERS (1999): Plant Dis. **83**: 1129 ~ 1136.
- 3) 藤沢友二・正子 朔 (1975): 日植病報 **41**: 267 (講要).
- 4) 藤田正平 (2007): 北海道立農試報 **115**: 1 ~ 54.
- 5) JEFFERS, S. N. and S. B. MARTIN (1986): Plant Dis. **70**: 1038 ~ 1043.
- 6) 景山幸二・宇井裕生 (1980): 日植病報 **46**: 542 ~ 544.
- 7) KOMADA, H. (1975): Proc. Amer. Phytopathol. Soc. **3**: 221.
- 8) 正子 朔ら (1976): 日植病報 **42**: 78.
- 9) MIRCETICH, S. M. and J. M. KRAFT (1973): Mycopathol. Mycol. Appl. **50**: 151 ~ 161.
- 10) MITCHELL, D. J. (1975): Phytopathology **65**: 570 ~ 575.
- 11) MORITA, Y. and M. TOJO (2007): Plant Dis. **91**: 1591 ~ 1599.
- 12) SATO, N. and M. KATO (1993): Ann. Phytopath. Soc. Japan **59**: 568 ~ 571.
- 13) 鈴木孝仁 (1995): 作物病原菌研究技法の基礎, 日本植物防疫協会, 東京, p. 284 ~ 288.
- 14) 多川 閃ら (1979): 宇都宮たばこ試特報 **1**: 99 ~ 109.
- 15) 渡部光朗・宮田善雄 (1989): 日植病報 **55**: 499.