

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

## ポインセチアの養液栽培における安全性診断手法の開発

愛知県農業総合試験場 みやけ のりゆき ながい ひろふみ  
三宅 律幸・永井 裕史

## はじめに

養液栽培で多発し、生産安定上の問題となっている高温性水媒伝染病害であるポインセチア根腐病 (*Pythium root rot*) の被害を軽減するためには、発病前の病原菌の早期検出が重要である。そこで、ポインセチア根腐病を農家施設で速やかに診断可能な簡易検出法を開発し、それを利用して安全性を診断し、その結果に基づき防除対策を実施することが重要な課題となっている。そのためには、簡易検出法を活用した施設内外の診断ポイント、最適な診断時期および発病に対する危険水準を明らかにする安全性診断手法の開発と、既存の防除技術を組合せた最適な活用方法を開発し、それらを利用した安全性診断マニュアルを策定することが必要である。そして、その安全性診断マニュアルを利用することによりポインセチア根腐病的確な防除対策を実施することができるようになる。

これまでに、トマト、ミツバ、ネギ、ホウレンソウ、切りバラについても同様に養液栽培における安全性診断マニュアルを策定したが、ここではポインセチアを例にその概要を紹介する。

なお、本成果は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業を活用して得たものである。

## I ポインセチア根腐病とは

*Pythium aphanidermatum* によるポインセチア根腐病は、1977年にカリフォルニアからカナダに輸入された苗の鉢上げ後に萎凋症状が発生し、その感染は輸入前に起きていた可能性があるとして初めて報告されている (BOLTON, 1978)。日本での初発は、2007年8月に岐阜県で *P. aphanidermatum* による同様の症状を示す病気が発生したことが報告されている (渡辺ら, 2008)。 *P. helicoides* によるポインセチア根腐病は、2010年6月に岐阜県で初めて発生し、 *P. myriotylum* によるポインセチア根腐病は、2011年7月に愛知県で初めて発生を確認

した (三宅ら, 2012)。これら3種類の高温性 *Pythium* 属菌 (*P. aphanidermatum*, *P. helicoides*, *P. myriotylum*) による病徴は、地際茎および根は水浸状に腐敗し、最初は地上部が萎凋症状を示すが、病徴が進むと枯死する (図-1, 2)。発生時期は6~10月ころで、特に7~8月の高温期は被害が多くなる。苗などに付着して施設内に

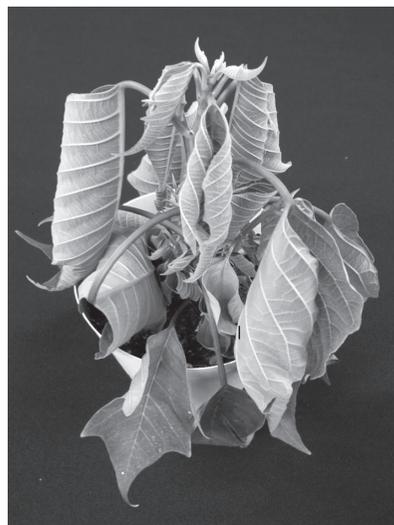


図-1 ポインセチア根腐病の萎凋症状



図-2 ポインセチア根腐病菌により水浸状に腐敗した根

Development of Safety Diagnostic Method for High-temperature-tolerant *Pythium* Species in Hydroponic Culture of Poinsettia. By Noriyuki MIYAKE and Hirofumi NAGAI

(キーワード: ポインセチア, 根腐病, 養液栽培, 高温性 *Pythium* 属菌, 安全性診断)

持ち込まれた病原菌が第一次伝染源となり、ポインセチアの根に感染して発病すると考えられている。また、ミニバラなどの前作物に感染していた病原菌も重要な伝染源である(表-1)。

## II ポインセチア根腐病の農家施設での発生病長

ポインセチア根腐病の農家施設での発生病長を知り、必要な診断ポイントと最適な診断時期を明らかにするために、培養液やポインセチア等からポインセチア根腐病菌の検出を定期的に行った。

### 1 高温性 *Pythium* 属菌の培養液からの検出

メンブレンフィルター(ポアサイズ:5 $\mu$ m)とエゴマ種子を用いたベイト法(WATANABE et al., 2008)により、愛知県内のポインセチア栽培農家施設内の培養液から6~12月まで定期的にサンプリングを行い3種類の高温性 *Pythium* 属菌検出を行った。培養液1lをメンブレンフィルターでろ過し、そのメンブレンフィルターを、または培養液タンク内に7日間設置したエゴマ種子を *Pythium* 属菌選択培地(MORITA and TOJO, 2007)に置いて38 $^{\circ}$ C、24時間培養した。そして伸長してきた高温性 *Pythium* 属菌を単菌糸分離し、形態観察によって同定した。その結果、両方法とも6月上旬~9月中旬まで高温性 *Pythium* 属菌を培養液から検出することができたが(MIYAKE et al., 2014)、フィルター法と比較してベイト法がより簡便であると考えられた。そして、調査したポインセチア農家では *P. aphanidermatum* と *P. helicoides* は複数回検出されたが、*P. myriotylum* は1回検出されたのみであった。

### 2 ポインセチア根腐病の発生病長

愛知県内のポインセチア栽培農家における発病状況を、6~11月の出荷終了まで定期的に調査した。そして、萎凋した発病株の根から病原菌を分離して同定した。その結果3種類の高温性 *Pythium* 属菌によるポインセチア根腐病が、6月下旬~10月中旬まで発生していることを確認し、7~8月までの高温期に発生が多いことを明らかにした(MIYAKE et al., 2014)。しかし、調査したポ

インセチア栽培農家では、*P. aphanidermatum* と *P. helicoides* による発病が多く、*P. myriotylum* は1例のみであった。

### 3 ミニバラからのポインセチア根腐病菌の分離

ポインセチア栽培農家の多くは、ポインセチア以外の様々な鉢花をポインセチアと同時期またはポインセチア出荷前後に同一施設で栽培している。それらの鉢花には、3種類の高温性 *Pythium* 属菌による病害が数多く報告されている(景山, 2011)。そこでポインセチア出荷後に栽培されていたミニバラの鉢土から、エゴマ種子を用いたベイト法により高温性 *Pythium* 属菌の分離を行った。その結果は、表-1の通り *P. helicoides* が高率に分離された。また、ミニバラの根からも *P. helicoides* が分離された。

なお、ポインセチア栽培農家の育苗培土と Ebb & Flow ベッド下の床土から、ベイト法を用いて高温性 *Pythium* 属菌の検出を実施したが、検出することはできなかった。これらから、同一施設の別の栽培植物が伝染源になりうると考えられた。

## III ポインセチア根腐病の発病条件

ポインセチア根腐病の発病に対する危険水準を明らかにするために、3種類のポインセチア根腐病菌接種後のポインセチア(品種‘イタリアンレッド’)管理温度の違い、管理温度と遊走子濃度の組合せまたは肥培管理の違いによる発病条件を調査した。

### 1 管理温度の違いによるポインセチア根腐病の発病

3種類の根腐病菌を接種したシバ種子培地摩砕液(東條ら, 1993)を、灌注処理(25 ml/株)により接種し、20, 25, 30, 35 $^{\circ}$ Cの陽光恒温器(16L, 8D)に入れ管理した。接種7日後に発病株率と根の発病度を調査した。3種類ともに20~35 $^{\circ}$ Cで発病したが、温度が高くなるほど発病株率と根の発病度は高くなった(三宅ら, 2014; MIYAKE et al., 2014)。

### 2 遊走子濃度の違いによるポインセチア根腐病の発病

遊走子濃度と温度の組合せによる影響を調べるため、50 ml 当たり 5, 50, 500, 5,000 個に調整した3種類の根腐病菌の遊走子懸濁液を灌注処理(50 ml/株)により接種し、30 $^{\circ}$ Cまたは35 $^{\circ}$ Cの陽光恒温器(16L, 8D)に入れ管理した。接種7日後に発病株率と根の発病度を調査した。接種濃度が遊走子5個/株では、3種類の根腐病菌ともに30 $^{\circ}$ Cでは発病しなかったが、35 $^{\circ}$ Cでは発病した。一方、遊走子濃度が高くなると30 $^{\circ}$ Cおよび35 $^{\circ}$ Cでは、発病株率と根の発病度が高くなった(三宅ら, 2014; MIYAKE et al., 2014)。

表-1 ミニバラ鉢土からエゴマ種子を用いたベイト法により分離されたポインセチア根腐病菌 (*Pythium helicoides*)

植物名	分離年	分離率(%) <sup>a)</sup>
ミニバラ	2012	45.0
ミニバラ	2013	16.7

分離は、2012年2月と2013年2月にミニバラ鉢土から採土し、各2回実施。

<sup>a)</sup> 1回当たりエゴマ種子30粒から分離し、分離率は2回の平均。

これらの結果から、ポインセチア根腐病は、温度が低くても菌量が十分であれば発病し、温度が高くなると菌量が低くても発病の危険性が高まることが示唆された。そこで、高温性 *Pythium* 属菌による発病を抑えるためには、25℃以下では発病株率と根の発病度が低く抑えられることから、おおよそ25℃以下の水温に保つことが防除技術として有効であることが示唆された。

### 3 肥培管理の違いによるポインセチア根腐病の発病

3種類の根腐病菌による発病に肥培管理の違いが与える影響を調査した。液肥の施用量の違いによる病原性は、30℃でその差は見られなかった。しかし、35℃では液肥量が多くなると発病株率が高く、根の発病度も高くなった。液肥と緩効性固形肥料の組合せによる病原性は、液肥のみよりも液肥に緩効性固形肥料を施用すると発病株率が高く、根の発病度も高くなった(図-3)。そこで、施肥量が多くなると高温では低温よりも被害が多くなることが示唆され、さらに緩効性固形肥料の追加施用によって被害が助長されると考えられた。

## IV 簡易検出法の現地適応性調査

この事業で新たに開発された簡易検出法である「植物体-LAMP法」と「ベイト-LAMP法」の現地適応性調査を、ポインセチア栽培農家施設で行った。LAMP法は日本国内で開発された新しい遺伝子診断法で、反応液を60～68℃の一定温度、1時間保温することで目的とするDNAの有無を調べることができる。「植物体-LAMP法」は、植物体から高温性 *Pythium* 属菌を直接検定する方法である。「ベイト-LAMP法」は、培養液や土壌中の高温性 *Pythium* 属菌をエゴマ種子を使っておびき寄せ、トラップに使ったエゴマ種子から検出する間接的な診断法である。萎凋株の腐敗根からは、「植物体-LAMP法」により高温性 *Pythium* 属菌を検出することができ、養液中の高温性 *Pythium* 属菌をトラップしたエゴマ種子からも「ベイト-LAMP法」により高温性 *Pythium* 属菌を検出することができた。そして、その結果は、簡易検出法と同一のサンプルを用いて行った選択培地での分離同定の結果と一致した(表-2)。

このことから、簡易検出法である「植物体-LAMP法」

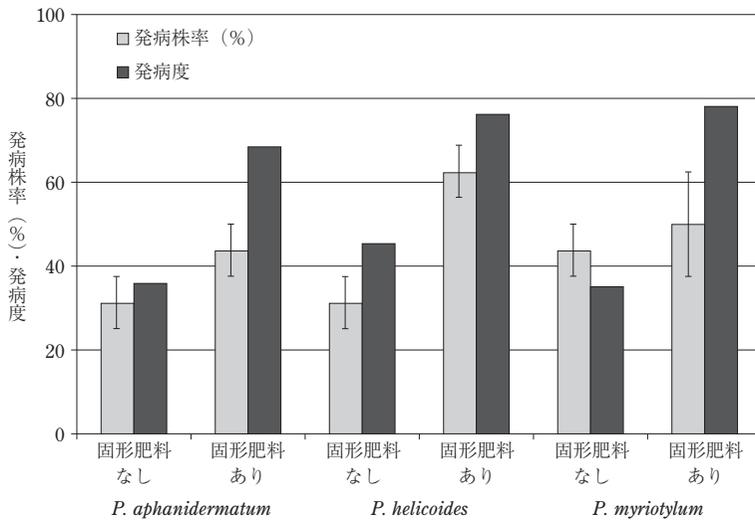


図-3 緩効性固形肥料施用によるポインセチア根腐病の発病株率と発病度への影響

試験は2回実施、1回に8株を供試、数値は2回の平均。

リン肥料 (Hoagland 溶液×2と同量のリン酸 (pH6.0に調製) を施用) は、20 ml/株を、鉢上げ7日後から7日間間隔で4回実施し、最終施肥から3日後に遊走子を接種。

緩効性固形肥料は、IB化成 (N:P:K = 10:10:10) 2 g/株を鉢上げ7日後に1回施用。

ポインセチア鉢に遊走子 25,000 個/株を灌注接種し、接種7日後に調査。

根の発病度は、発病指数を用いて計算。

0:健全, 1:少し根が腐敗, 2:中間, 3:根が激しく腐敗, 4:枯死。

発病度 =  $\Sigma(\text{発病指数} \times \text{株数}) / (4 \times \text{総株数})$ 。

表-2 ポインセチア根腐病菌簡易検出法の現地適応性調査 (2012年)

調査月日	調査農家	検出の対象	簡易検出技術による 検出結果	簡易検出技術に用いた 同一サンプルからの 分離・同定結果
8月8日	D農家	エゴマ種子	<i>P. helicoides</i>	<i>P. helicoides</i>
8月8日	D農家	ポインセチアの腐敗根①	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>P. aphanidermatum</i>
8月8日	D農家	ポインセチアの腐敗根②	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>P. aphanidermatum</i>
9月12日	B農家	エゴマ種子	N.D.	N.D.
9月12日	A農家	エゴマ種子	N.D.	N.D.
9月12日	D農家	エゴマ種子	<i>P. helicoides</i>	<i>P. helicoides</i>
9月12日	A農家	ポインセチアの腐敗根①	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>P. aphanidermatum</i>
9月12日	A農家	ポインセチアの腐敗根②	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>P. aphanidermatum</i>
9月12日	A農家	ポインセチアの腐敗根③	<i>P. aphanidermatum</i>	<i>P. aphanidermatum</i>
10月24日	4農家	エゴマ種子	N.D.	N.D.
12月12日	4農家	エゴマ種子	N.D.	N.D.

注) N.D.: 非検出.

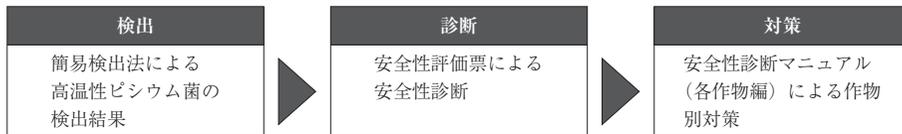


図-4 簡易検出法を利用した安全性診断と対策の概念

表-3 ポインセチア栽培前の安全診断票

調査項目	調査方法	調査時期・間隔	結果	発病リスク	対策
【本圃】 前作物	(鉢土) バイト-LAMP 法 (根) 植物体-LAMP 法	栽培前	未検出	低	特になし (通常の管理)
			検出	高	培養液タンク・栽培ベッドの洗浄・殺菌 バイト-LAMP 法による殺菌の確認
【本圃】 循環培養液 (洗浄殺菌直後)	バイト-LAMP 法	栽培前	未検出	低	バイト-LAMP 法による定期的なモニタリング
			検出	高	培養液タンク・栽培ベッドの洗浄・殺菌 バイト-LAMP 法による殺菌の確認

表-4 ポインセチア栽培中の安全診断票

調査項目	調査方法	調査時期・間隔	結果	発病リスク	対策
【本圃】 循環培養液	バイト-LAMP 法	5~9月 栽培開始時 から随時 (栽培開始時から 8月までは 最低月2回)	未検出 ・萎凋株なし	低	特になし (通常の管理)
			検出 ・萎凋株なし	高	培養液タンクの洗浄・殺菌 バイト-LAMP 法による殺菌の確認 萎凋株の早期発見 萎凋株の植物体-LAMP 法による診断
			検出 ・萎凋株あり または 未検出 ・萎凋株あり	極めて高い	萎凋株の植物体-LAMP 法による診断 高温性ピシウム属菌が検出された場合は、 発病株 (萎凋株) を直ちに廃棄 手灌水への変更 培養液タンクの洗浄・殺菌 バイト-LAMP 法による殺菌の確認

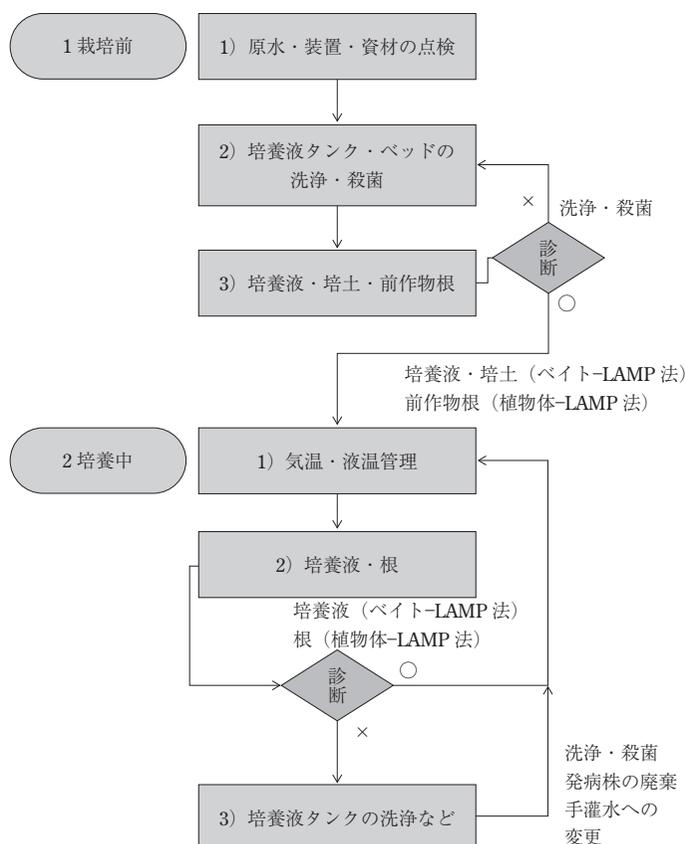


図-5 病害管理ポイントと診断フロー

と「ベイト-LAMP法」の現地適応性を確認でき、現地施設で診断に利用できることが明らかになった。

## V 安全性診断

ポインセチアでは、栽培前と栽培中の二つに分け安全性診断に基づく発病リスクとそれに対応した対策を、安全性評価票として取りまとめた(表-3, 4)。つまり、高温性 *Pythium* 属菌が栽培前に栽培施設内外のどこに潜んでいるかを調べ、栽培中には、高温性 *Pythium* 属菌が培養液やポインセチアに進入または感染しているか否かをモニタリングして、安全性評価票による安全性診断を行うことが可能になった。もし、対策が必要であると判断されれば、次に紹介する安全性診断マニュアルのポインセチア編に基づいて対策を講じることができる(図-4)。

## VI 養液栽培における高温性水媒伝染性病害の安全性診断マニュアル ポインセチア編

ここでは、今回作成した安全性診断マニュアル <http://www.green.gifu-u.ac.jp/~kageyamalab/index>

[php?page=manual](#) のポインセチア編について簡単に説明する。

### 1 ポインセチア養液栽培における病害管理のポイント

ポインセチアに病原性がある高温性 *Pythium* 属菌の種類と病害管理の重要ポイントを3点(栽培前の培養液タンクや前作物の診断、施設内の気温や培養液タンクの液温の適正管理、病原菌を増加させない対策)を説明している。

### 2 病害管理ポイントと診断フロー

図-5のように病害管理ポイントと診断フローについて説明している。栽培前は、「1) 原水・装置・資材の点検」を実施する。その後は、「2) 培養液タンク・ベッドの洗浄・殺菌」を必ず実施する。そして、「3) 培養液・培土・前作物根」等を診断対象として、「ベイト-LAMP法」を用いた培養液・培土の診断や前作物根の「植物体-LAMP法」診断を実施する。そして、高温性 *Pythium* 属菌が検出されない場合は、ポインセチアの栽培を開始する。もし、高温性 *Pythium* 属菌が検出されれば安全性診断票に基づき、培養液タンク・ベッドの洗

浄・殺菌を実施する。

栽培中は、気温や培養液温が上昇しないように、「1) 気温・培養液温管理」を実施する。その後は、「2) 培養液・根」などを診断対象として、「ベイト-LAMP法」を用いた定期的な培養液の診断やポインセチアの生育不良時の「植物体-LAMP法」を用いた根の診断を実施する。そして、病原菌が検出されなければ、「1) 気温・培養液温管理」と、定期的な培養液の診断を継続する。もし、高温性 *Pythium* 属菌が検出されれば安全性診断票に基づき、「3) 培養液タンクの洗浄などの対策」(培養液タンクの洗浄・殺菌, 発病株の廃棄, 手灌水への変更)を実施する。

### 3 安全性診断票

安全診断票には、栽培前と栽培中の安全診断に基づく調査項目、調査方法、調査時期・間隔、発病リスクとその結果に対応した対策をとりまとめた(表-3, 4)。

### 4 栽培前の管理ポイント

原水・装置・指示の点検、培養液タンク・ベッドの洗浄・殺菌、病原菌検出について詳しく説明している。

### 5 栽培中の管理ポイント

気温・液温管理、定期的な培養液タンク・根からの病原菌検出、培養液タンクの洗浄等について詳しく説明している。

### 6 データ集

今までの調査から得られた結果を、「前作のミニバラ

から高温性 *Pythium* 属菌は検出されます」, 「発病と温度は関係があります」, 「発病と遊走子濃度には関係があります」, 「培養液中から高温性 *Pythium* 属菌は検出されます」の項目でグラフ化し、その内容を説明している。

## VII 今後の課題

今回の研究では、ポインセチアを始めとした各作物の安全性診断マニュアルを策定し、簡易検出法による早期診断に基づいた耕種の防除法を中心に各種の防除方法を実施することが可能になった。しかし、防除対策の技術は限られており、今後は培養液処理技術、栽培システムの改善・殺菌方法の検討等新たな予防・防除技術の開発と評価が必要である。さらに、生物農薬・化学農薬・亜リン酸等の新たな防除資材の実用性評価が重要になってくる。

本試験の実施には、生産者および農業改良普及員の方々に協力を賜ったのでお礼申し上げる。

### 引用文献

- 1) BOLTON, A. T. (1978): Can. J. Plant Sci. 58: 569 ~ 570.
- 2) 景山幸二 (2011): 植物防疫 65: 102 ~ 106.
- 3) MIYAKE, N. et al. (2014): J. Gen. Plant Pathol. 80: in press.
- 4) MORITA, Y. and M. Tojo (2007): Plant Dis. 91: 1591 ~ 1599.
- 5) 三宅律幸ら (2012): 日植病報 78: 183 (講要).
- 6) ————ら (2014): 同上 80: 35 (講要).
- 7) 東條元昭ら (1993): 関西病虫研報 35: 1 ~ 5.
- 8) 渡辺秀樹ら (2008): 同上 74: 178 (講要).
- 9) WATANABE, H. et al. (2008): J. Gen. Plant Pathol. 74: 417 ~ 424.

## 発生予察情報・特殊報 (26.4.1 ~ 4.30)

各都道府県から発表された病害虫発生予察情報のうち、特殊報のみ紹介。発生作物：発生病害虫(発表都道府県)発表月日。都道府県名の後の「初」は当該都道府県で初発生の病害虫。

※詳しくは各県病害虫防除所のホームページまたはJPP-NET (<http://www.jpnp.net/jp/>)でご確認下さい。

■チャ：チャトゲコナジラミ (佐賀県：初) 4/9

■ピーマン：炭疽病 (熊本県：初) 4/28