

Pythium aphanidermatum による土耕栽培トマトの育苗中に発生した根腐症状

中山喜一・渡辺秀樹*・福田 充・景山幸二**

(栃木県農業試験場・*岐阜県農業技術センター・**岐阜大学流域圏科学研究センター)

Occurrence of Root Rot of Tomato Seedlings Caused by *Pythium aphanidermatum* in a Soil Cultivation System

Kiichi NAKAYAMA¹, Hideki WATANABE, Takashi FUKUDA and Koji KAGEYAMA

摘 要

2006年6月、栃木県内で土耕栽培トマトの育苗中に根腐症状を伴う生育不良が発生した。発病株の根部罹病組織から、*Pythium*属菌が高率に分離された。分離菌の接種により、原病徴が再現され、接種菌が再分離された。分離菌は、形態的な特徴、種特異的プライマーによるPCR検定等により、*Pythium aphanidermatum*と同定した。*P. aphanidermatum*による土耕栽培トマトでの根腐症状の発生報告は今回が初めてである。

栃木県での主要な農産物の一つであるトマトは、栽培面積398ha、産出額86億円(2005年)であり、園芸作物の中でイチゴに次ぐ重要な位置を占めている。2006年6月、土耕栽培トマトの育苗中に根腐症状を伴う生育不良が発生した。地上部の主な症状は葉の黄化や生育の停滞であった。また、発病株をほ場に定植しても多くは生育が停滞したままであった。

発病株は、接木苗で穂木品種は「麗夏」、台木品種は「ブロック」であった。また、その根部罹病組織から*Pythium*属菌が高率に分離された。

そこで、今後の防除対策を講じるため、病原菌の分離、接種による病徴の再現性の確認および病原菌の同定を行った。

材料および方法

1. 病原菌の分離

2006年6月、那須塩原市のトマトで葉の黄化や生育の停滞を呈する発病株(ポット苗)を採取し、台木品種「ブロック」の根部罹病組織から常法により素寒天平板培地で病原菌を分離したのち、単菌糸分離して供

試菌株を得た。以下の試験では、分離菌株TO-01およびTO-02を供試した。

2. 接種試験

分離菌を東條ら(1993)の方法に準じて、ペントグラス種子3gで25 10日間前後培養した後、500mLの殺菌蒸留水を入れ、ホモジナイザーで30秒間粉碎し、約2Lの殺菌土と混合して汚染土壌を作製した。トマトの品種は「麗夏」および「ブロック」の2品種を供試した。接種は、殺菌土壌へ播種し、育苗した約2.5葉期のトマト苗を上記の汚染土壌に移植して行った。その後は、ガラス温室で管理し、発病の有無を調査した。また、トマトの種子を直接、汚染土壌に播種する区も設定した。

3. 病原菌の同定

分離菌をCorn Meal Agar (CMA) 平板培地上のシバ葉で培養後、殺菌した雨水にシバ葉を入れて胞子のうおよび有性器官の形態を調査した。

また、供試菌株をCMA平板培地で25℃、暗黒下で5日間培養し、PrepMan Ultra Reagent (Applied

1 Address : Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station, 1080 Kawaraya-cho, Utsunomiya, Tochigi 320-0002, Japan
2007年5月7日受領
2007年6月20日登載決定

Biosystems社製)を用いて全DNAを抽出後、松本ら(1999)の方法に準じて*Pythium aphanidermatum*に種特異的なプライマーAPH1/APH2を用いてPCR検定を行った。

4. 菌糸の生育温度

分離菌をCMA平板培地で25℃, 暗黒下で前培養した後、コルクボーラー(直径5mm)で打ち抜いた菌叢片をCMA平板培地上に置床し、5℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃, 35℃, 38℃, 40℃, 42℃ および45℃の各温度で暗黒下、24時間培養後の菌叢直径を調査した。1処理あたりペトリ皿は3枚供試した。

結果および考察

土耕栽培トマトの育苗中の発病株から分離した*Pythium* sp. は、供試菌株TO-01, TO-02ともトマトの品種「麗夏」および「ブロック」に萎凋、枯死を引き起こし、トマトに対する病原性が確認された。また、接種株では、地上部が無病徴であっても全株に根腐症状が認められた(第1表)。第2回目の接種試験では、

接種45日後まで地上部は無病徴であったが、株を掘り上げて観察すると、接種株の全株とも根腐症状が認められ、原病徴が再現された(第2表)。いずれの試験もその根部罹病組織からは接種菌が再分離された。

汚染土壤にトマトの種子を播種したところ、無接種区に比較して発芽率が大きく低下し、発芽前立ち枯れが確認された(第3表)。さらに、汚染土壤での発芽苗をポットへ移植し、約1か月後に掘り上げたところ、根部が淡褐色に変色し、罹病組織から接種菌が再分離された。

分離菌株TO-01は、膨状の胞子のうを形成した。有性器官は単一菌株で形成され、蔵卵器の大きさは22~28(平均25.7)μmで、表面は平滑であった。蔵精子は主に間生で頂生も認められ、側着で、同菌糸性または異菌糸性であった。また、蔵卵器柄は蔵精子に傾いていなかった。卵胞子の大きさは18~24(平均20.7)μmで、非充満性であった(第4表)。

*Pythium aphanidermatum*に特異的なプライマー

第1表 トマトに対する分離菌の病原性

供試菌株	供試品種	9月6日 (5日後)	9月13日 (12日後)	9月20日 (19日後)	9月27日 (26日後)	10月5日 (34日後)
TO-01	麗夏	2/7 ^{a)}	2/7	2/7	3/7	3/7(7/7) ^{b)}
	ブロック	1/7	1/7	1/7	1/7	1/7(7/7)
TO-02	麗夏	3/7	3/7	3/7	3/7	3/7(7/7)
	ブロック	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7(7/7)
無接種	麗夏	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7(0/7)
	ブロック	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7(0/7)

播種日: 2006年8月13日

接種日: 2006年9月1日

a)発病株数/供試株数

b)かっこ内は根部病徴から判断

第2表 トマトに対する分離菌の病原性

供試菌株	供試品種	10月31日 (7日後)	11月7日 (14日後)	11月13日 (20日後)	11月21日 (28日後)	11月28日 (35日後)	12月5日 (42日後)	12月8日 (45日後)
TO-01	麗夏	0/10 ^{a)}	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10(10/10) ^{b)}
	ブロック	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10(10/10)
TO-02	麗夏	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10(10/10)
	ブロック	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10(10/10)
無接種	麗夏	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3(0/3)
	ブロック	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3(0/3)

播種日: 2006年9月1日

接種日: 2006年10月24日

a)発病株数/供試株数

b)かっこ内は根部病徴から判断

(APH1, APH2) を用いたPCR検定の結果, 対照とした菌株TOc159 (NBRC 100101) と同様, 733bp付近に本菌に特異的な増幅断片が認められた (第1図)。

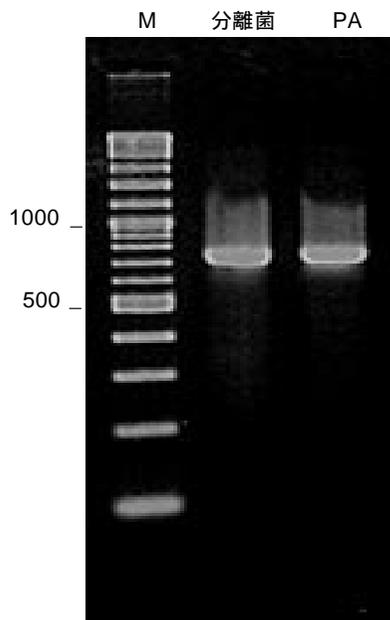
菌糸の生育は, CMA培地上では10~42 で認められ, 適温は35~38 付近であった。なお, 24時間あたりの菌糸伸長量は, 38 では40.0mmであった (第2図)。

分離菌は, これらの特徴をvan der Plaats-Niterink (1981) の検索表および形態数値と比較するとともに, PCR検定の結果と併せて, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick と同定した。

トマトでの*P. aphanidermatum*による病害としては, 楠元 (1950) が地面に近接した果実が白色綿状の菌糸で覆われ, その軟化腐敗した部位から本菌を分離しており, 病名は「トマト綿腐病」となっている。また, 草刈・田中 (1982, 1987) は, 水耕栽培での根腐性病害の原因を究明し, 病原として*P. aphanidermatum*, *P. myriotylum*, *P. dissotocum*を報告しており, 日本植物病名目録 (2000) ではトマト根腐病の病原として*P.*

myriotylum, *P. dissotocum* が記載されている。

今回の本県での発生は, 土耕栽培トマトの育苗中に発生した根腐症状であり, *P. aphanidermatum*による土耕栽培トマトでの根腐症状の発生報告は初めてである。



第1図 種特異的なプライマーによる分離菌のPCR増幅
M: 100bpラダー
分離菌: TO-01
PA: *Pythium aphanidermatum* TOc159菌株

第3表 トマトに対する分離菌の病原性

供試菌株	供試品種	発芽率 (%)
TO-01	麗夏	25.0 (3/12) ^{a)}
	ブロック	50.0 (6/12)
無接種	麗夏	66.7 (8/12)
	ブロック	91.7 (11/12)

接種日(播種日): 2006年9月25日

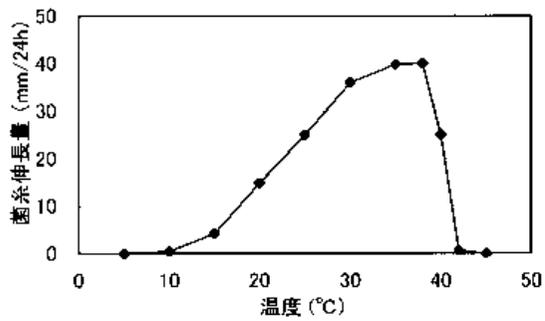
調査日: 2006年10月5日

a) 発芽苗数 / 播種粒数

第4表 分離菌と*Pythium aphanidermatum* との形態比較

	分離菌	<i>P. aphanidermatum</i> ^{a)}
胞子のう		
形態	膨状	膨状
有性器官	単一菌株で形成	単一菌株で形成
蔵卵器		
形態	表面平滑	表面平滑
大きさ(μm)	22-28 (25.7)	22-24 (23.0)
蔵精器		
形態	主に間生, 頂生も認められる	主に間生, 頂生も認められる
蔵卵器への付着	側着	側着
	同菌糸性, 異菌糸性	同菌糸性, 異菌糸性
	蔵卵器柄は蔵精器に傾かない	蔵卵器柄は蔵精器に傾かない
卵胞子		
充満性	非充満性	非充満性
大きさ(μm)	18-24 (20.7)	20-22 (20.2)

a) van der Plaats-Niterink (1981)



第2図 分離菌の菌糸生育と温度との関係

引用文献

草刈真一・田中 寛 (1982) 日植病報 48 : 349.

草刈真一・田中 寛 (1987) 関西病虫研報 29 : 31 - 34.

楠元 司 (1950) 日植病報 15 : 17 - 20.

松本智恵子ら (1999) 日植病報 65 : 414 - 415.

日本植物病理学会 (2000) 日本植物病名目録. 日本植物防疫協会, 東京. 253pp.

東條元昭ら (1993) 関西病虫研報 35 : 1 - 5.

van der Plaats-Niterink, A. J. (1981) Stud. Mycol. 21 : 1 - 242.