

キュウリ幼苗検定法によるスイカホモプシス根腐病菌汚染土壌の診断

牛尾進吾・町田剛史・竹内妙子

キーワード：スイカ、急性萎凋症、キュウリ幼苗検定、ホモプシス根腐病、診断

I 緒言

千葉県のスイカは、産出額が全国第2位の97億円(平成19年度)で主要な作物となっている。しかし、主な産地では、収穫間近のスイカが急激に萎凋し、やがては株全体が枯死する急性萎凋症が多発して、生産上の大きな問題となっている。急性萎凋症の主要な原因は、*Phomopsis sclerotioides* によるホモプシス根腐病であり(宍戸・竹内, 2005)、ウリ科作物を宿主として、本県ではスイカの他に、メロンやカボチャでも発生がみられる。

ホモプシス根腐病は土壌伝染性病害であり、その防除対策を確立するためには、土壌中の病原菌の密度を把握することが重要である。藤ら(2007)は Time Release PCR と Genetic Analyzer を組み合わせた方法により、ウリ類ホモプシス根腐病菌を超高感度で検出できることを報告した。古屋ら(2007)は藤らの方法を使って、培養菌体を磨砕して接種したモデル土壌から、直接的に病原菌の密度を定量する方法を報告している。しかし、この方法は高度な遺伝子工学的技術や高価な測定機器を必要とするため、このような技術や設備を持たない施設では実施できない。一方、草野ら(2001)は、病原菌によるカボチャ圃場の土壌汚染状況を、メロン幼苗を用いた生物検定で診断した。この方法は、特別な装置を必要とせず、農家でも簡単に行うことができる。しかし、草野らは土壌汚染程度とメロン幼苗の発病度との関係を明らかにしていないため、この方法では、検定結果から土壌汚染程度を推定できない。また、検定温度により病原菌の検出感度が異なると思われるが、草野らは、高温期の実施は避け10月以降行うと述べるにとどまり、具体的な検定温度は示していない。そこで、本研究では、土壌汚染程度を把握できる生物検定法を確立するため、土壌汚染程度と幼苗の発病度との関係及び検出感度の高

い検定温度を明らかにした。また、今回確立した検定法を用いて、発生圃場の土壌汚染程度を診断したので報告する。

なお、今回の検定にはメロンではなくキュウリの苗を用いた。キュウリはメロンに比べて種子の価格が安いこと、本病に対してメロンと同等の罹病性を示すこと(橋本ら, 1985)、非常に汚染程度の低い土壌(1 cfu/g 乾土)でも発病すること(村上ら, 2006; 古屋ら, 2006)から、検定植物として優れていると判断した。

本研究を実施するにあたり、印旛農林振興センター及び富里市農業協同組合の皆様、多大なご協力をいただいた。ここに記して深く感謝の意を表する。

II 材料及び方法

1. ホモプシス根腐病菌の密度と発病との関係 実験装置

(1) 人工汚染土の調整方法

園芸用培養土(げんきくん果菜 200 コープケミカル(株)) 1 kg に対して、ホモプシス根腐病菌(*P. sclerotioides* No990528)を25℃で21日間培養した土壌ふすま培地(以下菌培養培地とする)を、それぞれ0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16g 混和して人工汚染土とした。

(2) キュウリ幼苗検定方法

前述の人工汚染土を約140mLのプラスチックポットにそれぞれ16ポットずつ充填し、各ポットに発芽後3~4日目のキュウリ(「南極1号」)幼苗を1株ずつ移植した。なお、キュウリ幼苗には、立枯病予防のために殺菌剤TPN水和剤1,000倍液を移植前日に散布した。キュウリ幼苗を移植した各ポットを25℃、12時間日長に設定した人工気象装置内に設置して、移植後4週目までの萎凋・枯死状況を調査した。さらに、4週目に根における褐変の有無を調査し、次式により発病度を算出した。なお、発病度の算出にあたり、移植後1週目までに萎凋・枯死した株は、他の菌による立枯病の可能性が高いため調査対象外とした。

発病度 = $\Sigma(\text{各指数} \times \text{株数}) / (\text{調査株数} \times 4) \times 100$
但し、指数0：発病なし、指数1：移植後4週目に萎

受理日 2009年9月30日

本論文の一部は2007年度土壌微生物学会大会で発表した。

凋はみられないが根に褐変がみられる株, 指数2:3~4週目までに萎凋・枯死した株, 指数3:2~3週目までに萎凋・枯死した株, 指数4:1~2週目までに萎凋・枯死した株.

2. 検定温度と発病との関係

前述の菌培養培地を園芸用培養土1 kg に対して16g 混和した人工汚染土を用いて, 15℃, 20℃, 25℃及び30℃に設定した人工気象装置内で, キュウリ幼苗検定を行った.

3. ホモブシス根腐病発生圃場の土壌汚染程度

(1) 調査圃場の概要

富里市内のトンネルスイカ栽培圃場(約50a)を調査した. なお, 本圃場における2005年作のスイカトンネル栽培での急性萎凋症の発生株率は約40%であった. 2006年はカボチャが栽培されたが, カボチャでは急性萎凋症は観察されなかった.

(2) 供試土壌の採取方法

供試土壌の採取は, 2007年作スイカ栽培のためのクロルピクリン燻蒸剤による土壌消毒実施前の2007年1月19日に行った. すなわち, 調査圃場の一画, 約11aの範囲において, 畦の向きに沿って2~4m間隔で4列, 各列20m間隔で5地点, 合計20地点の採土地点を設定した(第4図). 各地点において, 半径約50cmの範囲の4カ所から深さ5~20cmの作土を採取し, よく混合してそれぞれの地点の供試土壌とした.

(3) キュウリ幼苗検定方法

約140mLのプラスチックポットを用いて, 各供試土壌を1月24日にそれぞれ8ポットずつ充填した後, 前述の方法に準じて, キュウリ幼苗を移植して発病度を調査した. 幼苗を移植した各ポットは, 最低温度が15℃以下にならないように加温したガラスハウスに設置した. なお, ハウス内の気温が日中30℃以上に上がらないよう遮光等を行い, 日平均気温が20~25℃になるように管理した.

III 結果

1. ホモブシス根腐病菌の密度と発病との関係

菌培養培地の混合量が異なる各人工汚染土ごとに, 4週目までのキュウリ幼苗の萎凋・枯死した株の割合(以下萎凋株率とする)の推移を第1図に示した.

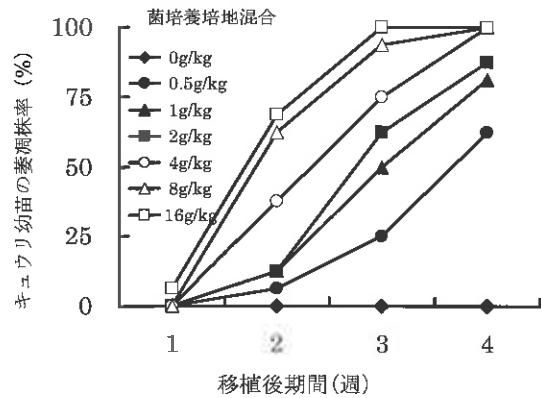
菌培養培地を混和しなかった培養土では, 幼苗の萎凋はみられず, また根の褐変もみられなかった.

各人工汚染土における移植後1週目の幼苗の萎凋株率

は, 8 g/kg以下の人工汚染土ではみられなかったが, 16g/kgの人工汚染土では, 16株中1株(萎凋株率6.3%)で萎凋がみられた.

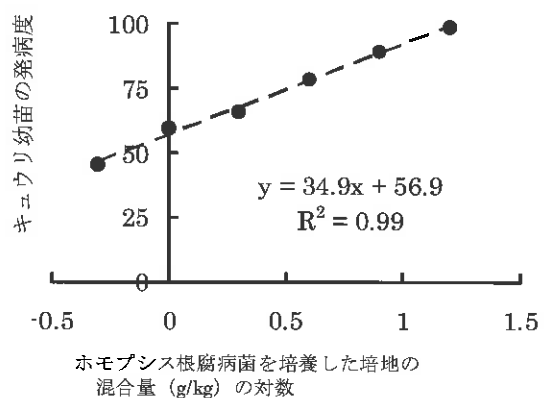
2週目の各人工汚染土の萎凋株率は6~69%, 3週目の萎凋株率は26~100%, 4週目の萎凋株率は63~100%であり, いずれの人工汚染土においても経時的に萎凋株率は増加し, 菌培養培地の混合量が多い人工汚染土ほど, 移植されたキュウリ幼苗は早期に萎凋・枯死した.

各人工汚染土における幼苗の発病度は45~93であ



第1図 ホモブシス根腐病菌汚染土壌におけるキュウリ幼苗の萎凋株率の推移

注) 供試土壌: ホモブシス根腐病菌を培養した土壌ふすま培地を園芸用培養土に0.5~16g/kg混合した人工汚染土.

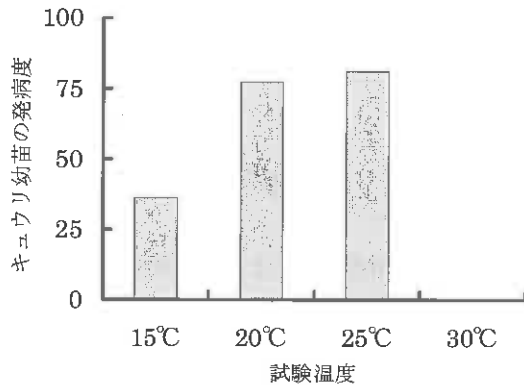


第2図 ホモブシス根腐病菌汚染土壌の汚染程度とキュウリ幼苗の発病度との関係

注1) 供試土壌: ホモブシス根腐病菌を培養した土壌ふすま培地を園芸用培養土に0.5~16g/kg混合した人工汚染土.

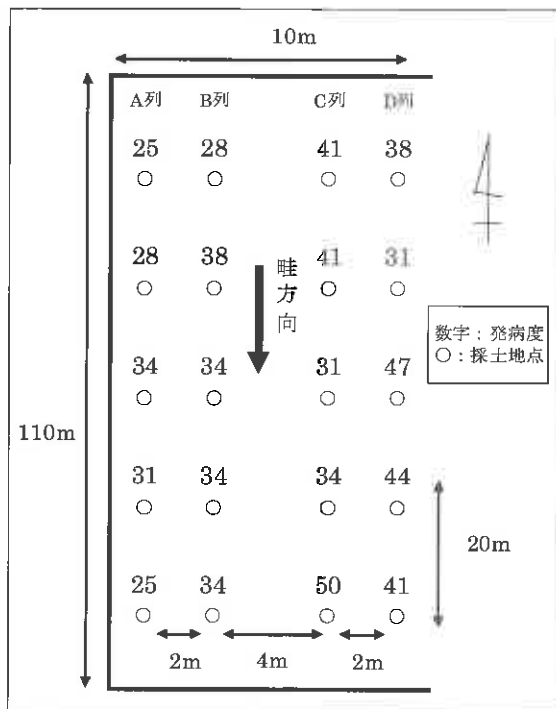
2) 発病度: 移植後4週目までの萎凋株数及び4週目の根の褐変の有無を指数化して算出した.

った(第2図)。さらに、菌培養培地の混合量が多いほど発病度は高くなる傾向があり、菌培養培地の混合量の対数と発病度との間には正の直線関係がみられた($R^2=0.99$)。



第3図 キュウリ幼苗検定における試験温度とキュウリ幼苗の発病度との関係

- 注1) 供試土壌：ホモブシス根腐病菌を培養した土壌ふすま培地を園芸用培養土に 16g/kg混合した人工汚染土。
 2) 発病度：移植後4週目までの萎凋株数及び4週目の根の褐変の有無を指数化して算出した。



第4図 スイカホモブシス根腐病の発生圃場における作土の採取地点と各作土のキュウリ幼苗の発病度

2. 検定温度と発病との関係

各検定温度におけるキュウリ幼苗の発病度は、20℃

及び25℃においては、78～80で大きな差はみられなかった(第3図)。15℃における発病度は、20℃及び25℃に比べて低く、36であった。一方、30℃では幼苗の萎凋・枯死及び根の褐変はみられず、発病度は0であった。

3. ホモブシス根腐病発生圃場土壌の病原菌汚染状況

調査圃場の各採土地点とそれらの地点の作土におけるキュウリ幼苗の発病度を第4図に示した。各地点の発病度は25～50、平均35であった。最も西側のA列の各地点の発病度は25～31、平均29、以下、B列は28～38、平均34、C列は31～50、平均39、D列は31～47、平均40であり、東側の列ほど発病度が高い傾向がみられた。

IV 考察

生物検定において、検定植物の選択は重要である。草野ら(2001)は、ホモブシス根腐病菌によるカボチャ圃場の土壌汚染状況を、メロン幼苗を用いた生物検定で診断した。一方、本報告では種子価格がメロンに比べ安価なキュウリを検定植物として用いた。ホモブシス根腐病菌は、多くのウリ科作物を宿主とする。橋本ら(1985)は、ホモブシス根腐病菌を接種した人工汚染土にウリ科13作物を移植して、発病状況を調査した結果、キュウリ、メロン、スイカ、カボチャ、シロウリ、マクワウリは、発病株率が100%で枯死株の割合も高いと報告している。また、村上ら(2006)は1～1,000cfu/g(乾土)となるように菌体懸濁液を混合した人工汚染土にキュウリを移植して、7週目までの発病状況を調査した結果、1cfu/g(乾土)の非常に低い汚染程度でもキュウリは発病したと報告している。同様なことを古屋(2006)も報告している。以上のことから、キュウリはメロンと罹病性が同程度と考えられ、さらに、非常に低い汚染程度の土壌でも病原菌を検出できると考えられることから検定植物として優れていると判断し、今回の試験ではキュウリを検定植物として用いた。

ホモブシス根腐病菌による人工汚染土に移植されたキュウリ幼苗は、菌培養培地の混合量が多い人工汚染土ほど早期に萎凋・枯死した。同様な傾向は、人工汚染土に移植したカボチャ台キュウリ苗の発病を調査した結果においても報告されている(村上ら, 2008)。さらに、移植後4週目までのキュウリ幼苗の萎凋・枯死の状況と、4週目における根の褐変状況を指数化して求めた発病度は、菌培養培地の混合量の対数と正の直線関係がみられ

た。これらのことから、キュウリ幼苗検定により、ホモブシ根腐病菌による土壌汚染程度を診断できると考えられた。

一方、生物検定の結果は、検定温度に影響されることが多い。草野ら(2001)も、前述のメロンの幼苗を用いた検定で、ホモブシ根腐病菌は高温に弱いため、検定は10月以降に行うと述べている。しかし、検定温度が検定結果に及ぼす影響や具体的な検定温度は示していない。そこで、キュウリ幼苗検定において、検定温度の違いが幼苗の発病に及ぼす影響を調査したところ、汚染程度が同等な土壌においても、検定温度が異なるとキュウリ幼苗の発病度には差がみられ、20℃及び25℃で発病度は最も高くなった。また、15℃における発病度は、20℃及び25℃の発病度に比べて低く、30℃では移植された幼苗に萎凋・枯死及び根の褐変はみられず、発病度は0であった。ホモブシ根腐病菌の生育適温は24～28℃、最低生育温度は8℃、最高生育温度は32℃付近といわれている(橋本・吉野, 1985)。本報告において、30℃の検定温度で発病がみられなかった原因は、検定温度が最高生育温度近くであり、菌の活性が低下したためと考えられた。以上のことから、キュウリ幼苗検定はキュウリの生育も考慮して、最低気温が15℃以上、最高気温が30℃以下、平均気温が20～25℃になるような条件で実施する必要があると考えられた。

なお、土壌によっては、移植後1週目までにホモブシ根腐病以外の菌による立枯病が発生することがある。このため、今回の試験では移植前日にキュウリ幼苗に殺菌剤を散布するとともに、移植後1週目までに萎凋・枯死した株は発病調査の対象外とした。これにより立枯病の影響を最小限にし、検定精度を向上させることができた。

ホモブシ根腐病が発生したカボチャ圃場の土壌汚染程度をメロン幼苗検定で調査した結果では、同一圃場の異なる3カ所の土壌汚染程度は、ほとんど差がみられなかったと報告されている(草野ら, 2001)。本報告においても、スイカ急性萎凋症発生圃場の作土は、全体的にホモブシ根腐病菌により汚染されていた。しかし、検定結果から場所によって汚染の程度に差がみられることも明らかとなった。

本報告では、ホモブシ根腐病菌を培養した培地を混合して作成した人工汚染土におけるキュウリ幼苗の発病度が、培地混合量と正の直線関係があることから、キュウリ幼苗検定により、ホモブシ根腐病菌による土壌汚染程度の高低を、定性的に診断できることを明らかにした。今後は、菌量とキュウリ幼苗の発病度との関係を明

らかにし、圃場における菌密度の推定ができるようにする必要があり。また、幼苗検定による診断結果とスイカホモブシ根腐病の発生との関係を明らかにするとともに、ホモブシ根腐病の防除対策を確立するため、キュウリ幼苗検定により、各種防除対策による土壌汚染程度の変化等を診断し、その効果を明らかにしたいと考えている。

V 摘要

ホモブシ根腐病菌による土壌汚染程度を、キュウリ幼苗検定により診断することを目的として、土壌汚染程度及び検定温度とキュウリ幼苗検定結果との関係を明らかにした。

- 1) 本法では発芽後3～4日目のキュウリ幼苗を供試土壌に移植して、幼苗の4週目までの萎凋・枯死の状況と、4週目の根の褐変の有無を指数化して求めたキュウリ幼苗の発病度により土壌汚染程度を診断する。
- 2) キュウリ幼苗の発病度は、ホモブシ根腐病菌による土壌汚染程度と正の直線関係にあるので、キュウリ幼苗の発病度でホモブシ根腐病菌による土壌汚染程度を診断できると考えられた。ただし、幼苗の発病度は検定温度に影響されるため、平均気温が20～25℃の条件で実施する必要がある。
- 3) スイカホモブシ根腐病による急性萎凋症多発生圃場の作土は、圃場全体にわたり汚染されていることがキュウリ幼苗検定結果から推定された。

VI 引用文献

- 藤 晋一・佐藤恵美子・村上洋之・鈴木倫子・鈴木英治・内藤秀樹・古屋廣光(2007). Time Release Fluorescent PCRによるキュウリホモブシ根腐病菌の高感度検出. 日植病報. 73:49-50 (講要).
- 古屋廣光・村上洋之・藤 晋一・内藤秀樹(2006). キュウリホモブシ根腐病における土壌伝染減密度と発病株率の関係(予報)北日本病虫研報. 57:219 (講要).
- 古屋廣光・藤 晋一・佐藤恵美子・村上洋之・鈴木倫子・鈴木英治・内藤秀樹(2007). Time Release Fluorescent PCRによるキュウリホモブシ根腐病菌の土壌からの検出. 日植病報. 73:211-212 (講要).
- 橋本光司・吉野正義(1985). カボチャ台キュウリの新病害, ホモブシ根腐病. 植物防疫. 39:570-574.

- 草野一敬・植草秀敏・笹倉茂美 (2001). カボチャホモプシス根腐病による土壌汚染状況の生物検定法. 平成 12 年度 研究成果情報 畜産-草地・生産環境 (関東東海農業) (研究情報部情報資料課 編). pp.266-267. 農林水産省農業研究センター. つくば市.
- 村上洋之・藤 晋一・内藤秀樹・古屋廣光 (2006). キュウリホモプシス根腐病における土壌伝染源密度と発病の関係. 日植病報. 72:213 (講要).
- 村上洋之・藤 晋一・内藤秀樹・古屋廣光 (2008). キュウリホモプシス根腐病 (接木栽培) における病原菌の土壌伝染源密度と発病株率の関係. 日植病報. 74:50 (講要).
- 大戸雅宏・竹内妙子 (2005). スイカ急性萎凋症に対するアンケート調査の分析と防除対策. 植物防疫. 59:66-68.

Diagnosis of Soil Contaminated with the Pathogen for Black Root Rot of Watermelon by a Cucumber Seedling Test

Shingo USHIO, Takeshi MACHIDA and Taeko TAKEUCHI

Key words : watermelon, acute wilting, cucumber seedling test, black root rot

Summary

The level of soil contamination with the pathogen for black root rot of watermelon can be diagnosed by using a cucumber seedling test at selected temperatures.

Cucumber seedlings planted in soil artificially contaminated with the pathogen wilted sooner in soil contaminated with higher levels of the inoculum.

Degrees of wilting at four weeks after planting and root browning in the fourth week were expressed in indices to find a positive relationship between disease occurrence in cucumber seedlings and inoculum level.

Disease occurrence tended to be less frequent in cucumber seedlings at 15°C than at 20-25°C in soils of close contamination levels. In addition, there was no disease occurrence at 30°C, with seedlings showing neither wilting nor root browning.

Soils taken from 20 sites in a field where the disease caused acute wilting in many cucumber seedlings were evaluated by the test. The results showed that the whole field was contaminated with the pathogen.