

# 養液栽培におけるネギ疫病の発生と 培養液管理による被害軽減

竹内妙子・鈴木 健

キーワード：ネギ、疫病、*Phytophthora nicotianae*、養液栽培、培養液管理

## I 緒言

ネギ疫病は *Phytophthora nicotianae* van Breda de Haan によるネギ (*Allium fistulosum* L.) の病害で、その主な症状は、幼苗若葉に発生し、葉では黄白色の不整形病斑を生じ、葉枯れ症状を示す。幼苗では地際に黄白色の病斑を生じ、また、頸部が軟化し根腐れを起こし、立枯れ状になることがある (田中, 1998)。露地栽培では比較的一般的な病害であるが、養液栽培での報告はない。

千葉県の養液栽培の作付延べ面積は 345ha(2005 年) で全国第 1 位である。養液栽培では様々な作物が作付けされているが、ネギも養液栽培に適した品目の一つとして、58ha で栽培されている。しかし、2005 年の夏頃から一部の地域で生育不良と、それにともなう生産量の低下が見られ、とくに 2005 年 7～9 月の出荷量は前年比 53～64% と大幅に減少した。

そこで、この生育不良の原因を究明し、ネギ疫病によることを明らかにした。また、養液栽培では薬剤による病害防除は困難であるが、培養液の管理によって様々な病害を制御することができるので(草刈, 2009; 竹内, 1993; 竹内ら, 2008; 竹内・宇田川, 1994)、培養液の温度と培養液の濃度を変えてネギを栽培し、本病の発病に及ぼす影響を明らかにした。

本研究を遂行するに当たり、長生農林振興センター町山和夫氏には多大なる御協力をいただいた。ここに記して感謝の意を表する。

## II 材料及び方法

### 1. 発生状況、病原菌の分離及び接種試験

長生郡白子町の現地施設圃場 3 か所で発生状況を調査した。

現地から罹病ネギ苗を採取し、葉鞘部の新鮮な病斑部

から常法に従って菌を分離した。得られた菌株 No.0628-1 及び No.0628-2 を病徴の再現試験に用いた。50mL の遠沈管に園試処方に準じた組成の培養液を EC2.0dS/m, pH5.8 に調製して注入し、ウレタンブロック(2.4cm×2.4cm×2.8cm) に 1 ブロック当たり 10～20 粒播種した播種 10～15 日後の苗 (品種「アクアグリーン」) を 1 ブロックずつ差し込んで定植した。PSA 平板培地で 25℃ 3 日間培養した供試菌を寒天ごと 1cm 角に切り取って、ウレタンブロックの表面に置いて接種した。その後は 25℃ で 12 時間照明の陽光定温器内で栽培した。千葉県農林総合研究センターの地下水を原水として EC2.0dS/m, pH5.8 に調製した培養液を毎日補充した。1 区 8 ブロックとした。

接種 8 日後に萎凋・枯死株数を調査した。また、萎凋症状を示した株を疫病菌選択培地である PVPH 培地 (Tsao and Guy, 1977) に置床し、25℃ で 7 日間培養して病原菌の再分離を行った。

### 2. 病原菌の同定

罹病ネギから分離された供試菌 No.0628-1 及び No.0628-2 を用い V8 ジュース寒天培地に置床し、25℃ で 10 日間培養した。光学顕微鏡で形態を観察した。

供試菌 No.0628-1 及び No.0628-2 を V8 ジュース寒天培地で 4 日間前培養した。得られた菌そうの先端部を直径 4mm のコルクボーラーで打ち抜き、V8 ジュース寒天培地に移植した。5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40℃ に設定したインキュベータで 6 日間培養後に菌そうの直径を測定した。

供試菌 No.0628-1, No.0628-2 及び *Phytophthora nicotianae* MAFF305941 の Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) 解析を行った。PCR-RFLP 解析は、PhyTID のホームページ (<http://www.phytid.org/>) 及び Cooke and Duncan (1997) の方法に従い実施した。菌体からのゲノム DNA 抽出はガラスビーズ法 (水野, 2003) を用いた。すなわち、採取した菌体に、直径 0.6mm のガラスビーズ、破碎バッファー (100mM NaCl, 10mM

受理日 2009 年 9 月 30 日

Tris-HCl, 1mM EDTA, 2% TritonX-100) 及びフェノール・クロロホルムを加え激しく攪拌後、遠心分離を行い、水層を回収しエタノール沈殿により DNA を抽出精製した。抽出した菌体 DNA は、Polymerase Chain Reaction-Restriction (PCR) 法により ITS 領域を増幅した。PCR は、ITS 領域を増幅するユニバーサルプライマーである ITS 6 (5'GAAGGTGAAGTTCGTAACAAGG 3') と ITS 4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') を用い、94℃ 30 秒間 - 55℃ 30 秒間 - 72℃ 30 秒間のサイクルを 40 サイクル行った。増幅された PCR 産物は、制限酵素 *Msp* I 及び *Alu* I を用いて、37℃ 12 時間処理した。酵素処理した PCR 産物は、5% ポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行い、200bp ラダー分子量マーカーと比較して、処理した PCR 産物のバンドのサイズを計測した。このバンドパターンから菌株の種を推定した。

### 3. ネギの部位別発病程度

収穫期の土耕栽培ネギ「石倉一本太」を水洗し、葉身部と葉鞘及び根部に切断して吸湿紙を敷いたトレイ (30cm×40cm) に並べた。供試菌 No.0628-1 をしょ糖加用ジャガイモ寒天平板培地に置床し、25℃で4日間培養して得られた菌そうの先端を直径6mmのコルクボーラーで打ち抜き、針による有傷又は無傷で、トレイに並べたネギの葉身部、葉鞘部、根部に接種した。トレイをラップフィルムで被覆して25℃の定温室(12時間照明)に置いた。接種4日後に病斑長を測定した。1区3反復とした。

### 4. 培養液の温度、ECとネギ疫病の発病との関係

ガラス室内に設置した恒温槽を15℃、20℃、25℃に設定し、直径16cm、高さ20cmのステンレスポットを用いて試験を行った。ポットに培養液(pH:6.0, EC:2.0dS/m及び4.0dS/m)を入れ、支持体として3穴の発砲スチロールを設置した。ウレタンブロックに播種した播種15日後の苗(品種:「アクアグリーン」)を2007年1月13日に発砲スチロールに定植した。しょ糖加用ジャガイモ煎汁液体培地(100mLの三角フラスコに40mL

の培地を分注、フラスコ10本使用)に供試菌 No.0628-1の菌糸片を入れて4日間静置培養し、菌体を回収して滅菌水を加え、ホモジナイザーで磨砕した。定植直後に菌体磨砕液を1ポット当たり70mLずつ注入した。試験は2反復で行った。培養液は適宜追加した。

経時的に発病を観察し、1月29日に全株の生重量を調査した。

## III 結果

### 1. 症状及び発生状況

現地ではいずれも湛液栽培により周年で年6~7作、ネギを栽培していた。1作の栽培期間は、育苗期間7~14日を含めて70~90日であった。培養液管理は個々の圃場で異なったが、pHは5.2~6.1, ECは3.8~4.6dS/mであった。

現地圃場で発生している症状は、はじめ、外側の葉身1枚が生気を失って萎れる(写真1-A)。このような葉身の葉鞘部は淡褐色に腐敗している(写真1-B)。葉身はやがて白色~淡褐色になって枯死する。葉の枯死は外側から次第に増加するとともに根の腐敗も激しくなり(写真1-C)、幼苗時に発病すると株全体が枯死する(写真1-D)。しかし、生育中~後期の発病では生育は抑制されるが、株全体が枯死することはない(写真1-E)。葉身にはほとんど病斑を生じない。

これらの症状は、いずれの圃場でも1年間を通じて慢性的に発生していたが、被害が顕著なのは7~9月であった。夏季に曇雨天が続いた後、急に晴天になると萎れ症状が顕著に現れた。

### 2. 病原菌の分離及び病徴の再現

常法に従って病原菌を分離したところ、葉鞘部の病斑から、*Phytophthora* 属菌と思われる白色菌そうの菌が分離された。

分離菌をネギ株元に接種し、培養液で栽培したところ、明らかな病原性を示し、現地の幼苗における症状と同様の萎凋・枯死株が多発した(第1表)。接種区の萎凋株からは接種菌と同様の菌が分離できたが、無接種区からは分離されなかった。

### 3. 病原菌の同定

病原菌の形態を観察したところ、菌糸には隔壁が観察されず、両菌株とも培地上に遊走子のうを形成した(写真1-F)。遊走子のうは乳頭突起を有し、卵形~倒洋梨型、非脱落性で大きさは平均48µm×32µmであった。

第1表 分離菌の病原性と再分離

接種菌株 (No.)	調査株数	萎凋・枯死株率 (%)	再分離
0628-1	96	71.2	+
0628-2	91	59.2	+
無接種	121	6.1	-

注1) 28℃日光定温器内で管理。

2) 接種8日後に萎凋・枯死株率を調査。

3) 再分離の+は萎凋・枯死株から接種菌が分離できたことを、-はできなかったことを示す。

第2表 分離菌の接種によるネギの部位別発病程度

接種方法	接種部位	病斑直径(mm)
有傷	葉身	44.7
	葉鞘	40.3
	根	5.3
無傷	葉身	30.7
	葉鞘	0
	根	0

注1) 収穫期のネギ「石倉一本太」を使用。  
2) 有傷は針で付傷。

遊走子は遊走子の中で分化し、遊走子の先端から放出された。卵胞子の形成は認められなかった。

病原菌の生育は 10 ~ 35 °C で認められ、生育最適温度は 25 ~ 30 °C であった。

供試菌 No.0628-1, No.0628-2 と *Phytophthora nicotianae* MAFF305941 の制限酵素処理断片のバンドパターンは完全に一致した。Alu I 処理では 77bp, 115bp, 889bp の断片が確認された。Msp I 処理では、115bp, 420bp の断片が確認された。これらのバンドパターンは、Cooke and Duncan (1997) の報告及び PhytID のホームページに記載されている *Phytophthora nicotianae* のフラグメントパターンとよく一致していた。

以上から、本菌を *Phytophthora nicotianae* van Breda de Haan と同定した。本病はネギ疫病であることが明らかとなった。

#### 4. ネギの部位別発病

現地における症状とネギ疫病の典型的な症状がやや異なるため、ネギの各部位における分離菌の病原性を調査した。その結果、有傷接種ではネギの葉身部及び葉鞘部に強い病原性を示し、根部にも弱い病原性を示したが、無傷接種では葉身部のみに病原性を示したことから(第2表)、葉身に対する病原性が最も強く、葉鞘がこれに次ぎ、根に対する病原性は弱いと判断された。

#### 5. 培養液の温度、ECとネギ疫病の発病との関係

培養液の温度、EC を変えてネギを栽培し、培養液管理による発生抑制効果を明らかにした。病原菌を接種した場合、25 °C 区は最も発病が激しく、1月18日頃から下葉のしおれが顕著となり、1月23日には EC2.0dS/m 区では 100% が枯死し、1月29日には EC4.0dS/m 区でも 82.4 % の株が萎凋・枯死した(第1図)。20 °C 区では発病はやや緩慢であったが、1月29日には EC2.0dS/m 区で 93.3 % が、EC4.0dS/m 区では 39.7% が萎凋・枯死した。15 °C 区での萎凋、枯死株率は EC2.0dS/m 区、EC4.0dS/m 区とも低かった。

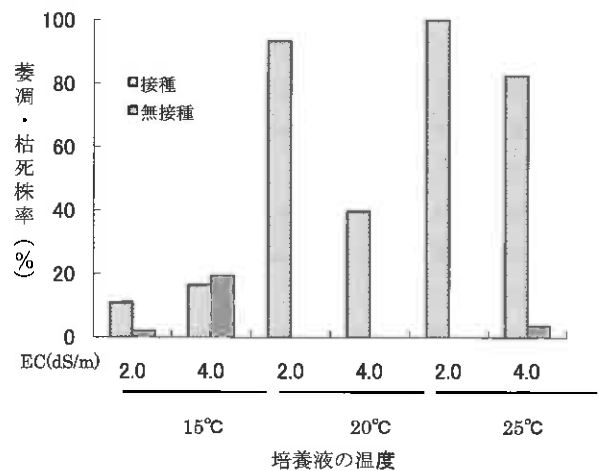
病原菌無接種区では、25 °C EC4.0dS/m 区、15 °C

EC2.0dS/m 区でわずかに、15 °C EC4.0dS/m では接種区と同程度の萎凋・枯死株が発生した。

1月29日に残ったネギの生重量を調査をしたところ、無接種区では 20 及び 25 °C で EC が 2.0dS/m の区が最も生育が良好であった(第2図)。一方、接種区では 15 °C で 2.0dS/m 区が最も良好で、15 °C の 4.0dS/m 区、20 °C の 4.0dS/m 区がこれに次いだ。その他の区での生育は極めて悪かった。

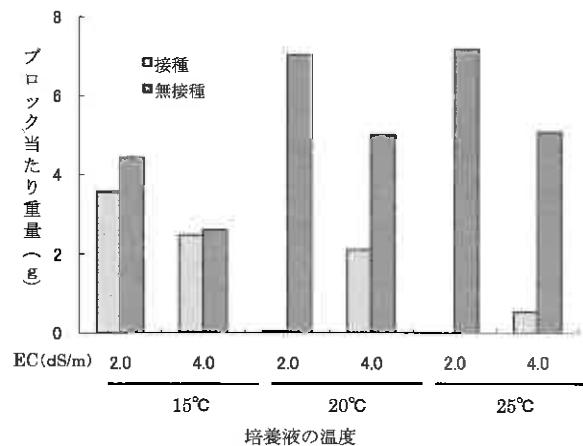
#### IV 考察

養液栽培で発生した慢性的な生育不良はネギ疫病によることが明らかとなった。本病は露地の土耕栽培では比較的一般的な病害であるが、養液栽培での発生はこれまで報告されていない。養液栽培における疫病の特徴は、土耕栽培で一般的に見られる葉身の大型病斑をほとんど形成せず、根腐れが顕著なことであった。一方、ネギの部



第1図 培養液の温度、ECとネギ疫病等による萎凋・枯死との関係

注) 定植、疫病菌の接種:2007年1月13日, 調査:1月29日。



第2図 培養液温、ECを異にした栽培条件下におけるネギ疫病菌の接種がネギの生育に及ぼす影響

注) 定植、疫病菌の接種:2007年1月13日, 調査:1月29日。

位別接種では葉身で最も病原性が強く、根に対する病原性は弱かった。施設内で栽培される養液栽培では、降雨などによる土壌の跳ね返りや地上部の濡れがないことが葉身が発病しない要因であると考えられる。また、疫病菌が培養液中に蔓延した場合、根に感染、発病する機会は葉身に比べて圧倒的に多く、結果として根腐れが顕著となったと考えられる。当初、根腐れ症状部位から菌を分離すると *Pythium* 属菌が高率に分離されたため、*Pythium* 属菌が病原菌であることを疑ったが、接種試験によって病原性はほとんど認められなかった（データ省略）。

周年でネギが栽培されている養液栽培ではネギに病原性のある疫病菌は養液栽培装置内で優位に生存でき、一年を通して発病を繰り返していると考えられた。本菌は生育適温が 25 ~ 30 °C であり、とくに夏季の高温期は発病に好適であるため、この時期に被害が顕著となったと考えられる。

*Pythium butleri* によるハウレンソウ苗立枯病や *Pythium* sp. によるミツバ立枯病は高濃度の培養液で栽培を行うことにより発病を抑制することができる（草刈ら、1980. 草刈・田中、1986）。その理由として、高濃度の培養液中では遊走子が被のうし、遊走子による蔓延が回避されるためとしている。本菌も遊走子のうから遊走子が放出され培養液中を遊泳して蔓延することから、高濃度の培養液中では *Pythium* 属菌同様の現象が起きていると考えられる。

ネギの養液栽培では培養液温は 17 ~ 24 °C、EC は 1.8 ~ 2.0dS/m が適していると言われている（板木ら、2001）。本試験でも病原菌を接種しない場合は培養液温が 20 ~ 25 °C で EC が 2.0dS/m の区で生育が良好であった。しかし、この条件は本病の発生しやすい条件とも一致した。この条件を超える EC 4.0dS/m 区や培養液温 15 °C 区では無接種でも生理的な障害と見られる萎凋・枯死株が発生した。しかし、栽培期間中に本病の発生を制御しようとする場合、ネギの生育は抑制されても培養液の濃度を高めに管理し、温度を低めに設定することが次善の策となる。実際には圃場における発病と生育のバランスを見ながら、それぞれの圃場や時期ごとに最適の培養液温度、培養液濃度を設定する必要がある。

## V 摘要

養液栽培のネギで発生した萎凋、根腐れによる生育不良の原因を究明し、培養液の温度、EC と発病との関係を明らかにした。

1. 生育不良の原因は *Phytophthora nicotianae* による

ネギ疫病であることが明らかとなった。

2. 病原菌は葉身に対して最も病原性が強く、葉鞘がこれにつぎ、根に対する病原性は弱かった。しかし、施設内の養液栽培では葉身の発病はほとんど認められず、葉身の萎凋、葉鞘の腐敗と根腐れが主な症状であった。
3. 病原菌を接種し、培養液の温度と EC を変えて管理したところ、培養液の温度は 25 °C で最も症状が多発し、20 °C がこれに次ぎ、15 °C での発生は少なかった。培養液の EC は 2.0dS/m に比べて 4.0dS/m で発生が少なかった。

## VI 引用文献

- Cooke D. E. L. and Duncan J. M. (1997). Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on the ITS1 and ITS2 sequences of ribosomal DNA. *Myc. Res.* 101:667-677.
- 板木利隆・佐々木皓二・宇田川雄二(2001). 新しい野菜作りに向けて 養液栽培の実用技術 pp.109-116. 農業電化協会. 東京.
- 草刈眞一(2009). 養液栽培の病害と対策 出たときの対処法と出さない工夫. pp.63-69. 農山漁村文化協会. 東京.
- 草刈眞一・田中 寛(1986). 高濃度水耕培養液中における *Pythium butleri* 遊走子の被のうとハウレンソウ苗立枯病発生への影響について. 日植病報. 52:1-7.
- 草刈眞一・田中 寛・山田貴義(1980). 水耕栽培におけるミツバ立枯病の発生と遊走子形成におよぼす水耕養液濃度の影響について. 関西病虫研報. 22:12-16.
- 水野貴之(2003). パイオ実験イラストレイテッド7巻. 116pp. 秀潤社. 東京.
- 竹内妙子(1993). 養液栽培の培養液管理による根部病害の防除. 植物防疫. 47:442-444.
- 竹内妙子・金子洋平・鈴木 健(2008). 養液栽培におけるトマトかいよう病の発生と培養液による蔓延. 関東病虫研報. 55:21-24.
- 竹内妙子・宇田川雄二(1994). 養液栽培におけるトマト青枯病の発生生態と防除. 千葉農試研報. 35:89-99.
- 田中澄人(1998). 日本植物病害大辞典. pp.512-513. 全国農村教育協会. 東京.
- Taso, P. H., and S. O. Guy (1977). Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in *Phytophthora*-isolation Medium Containing Hymexazol. *Phytopathology* 67:796-801.

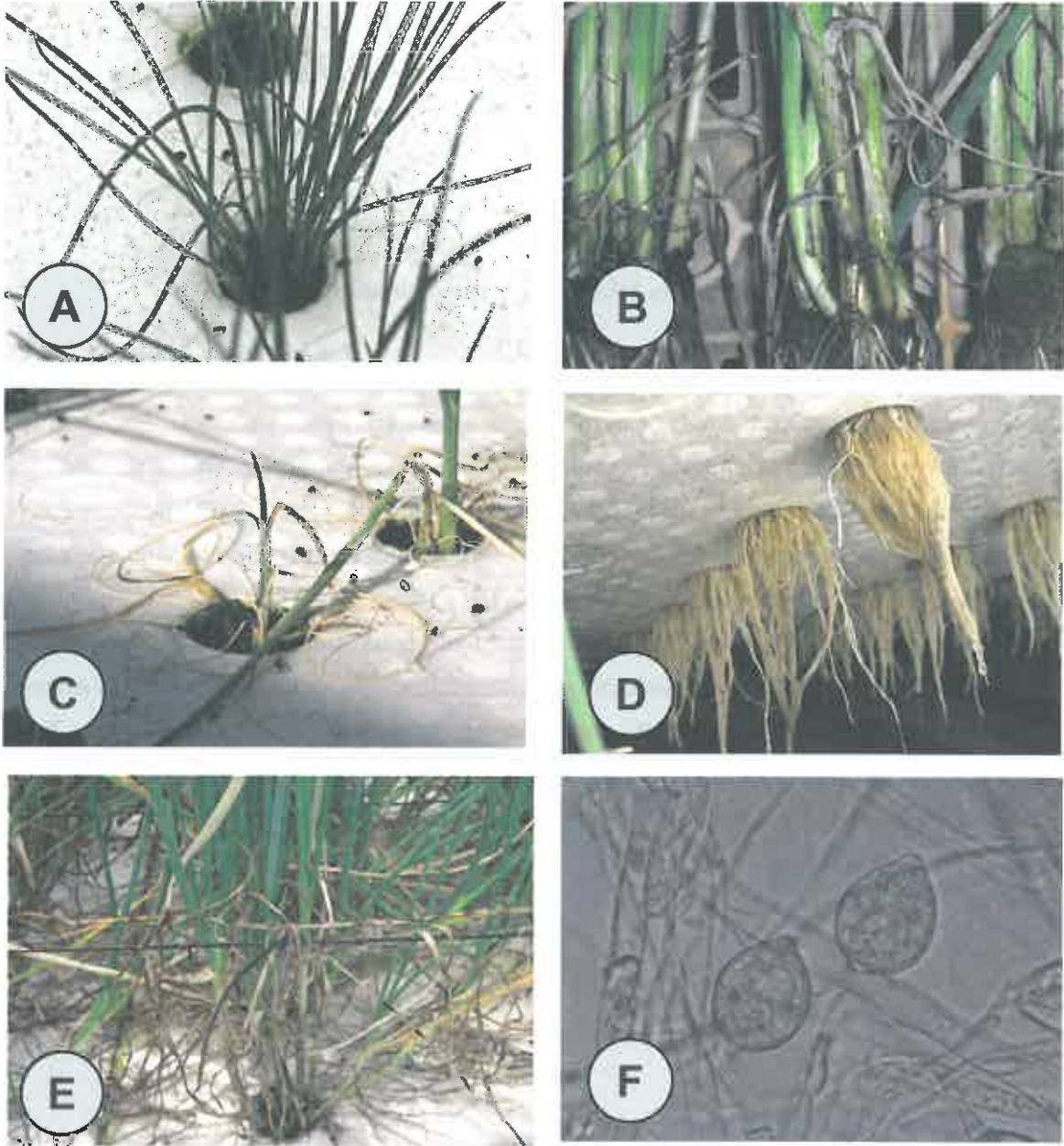


写真1 養液栽培で発生したネギ疫病の各種症状と病原菌

- A 初期症状（葉身が萎れる）
- B 大苗葉鞘部の腐敗症状
- C 幼苗の立枯れ症状
- D 根の腐敗症状
- E 大苗の地上部症状（下葉から枯死）
- F 病原菌の遊走子のう

# Phytophthora Blight (*Phytophthora nicotianae*) on Hydroponically Grown Welsh Onion (*Allium fistulosum* L.) and Controlling Damage with the Nutrient Solution

Taeko TAKEUCHI and Takeshi SUZUKI

Key words : Phytophthora blight, *phytophthora nicotianae*, welsh onion, hydroponics

## Summary

*Phytophthora nicotianae* causes phytophthora blight on welsh onions hydroponically grown under greenhouse conditions in Chiba Prefecture. The main symptoms of the disease are wilt, leaf sheath blight, and root rot. Leaf blade lesions appear rarely. The pathogenicity of the fungus was very high for leaf blades, moderately high for leaf sheaths, and weak for roots when each plant organ was inoculated with the pathogen.

When the pathogen was poured directly into the hydroponic nutrient solution, the disease appeared to be most severe in a nutrient solution at 25°C; the symptoms were less severe when the nutrient solution was 20°C and relatively weak in 15°C nutrient solution. The disease appeared to be less severe when plants were grown in a nutrient solution with an electrical conductivity of 4.0 dS/m compared with 2.0dS/m when the pathogen was poured into the nutrient solution.