

## 富山県における*Pythium arrhenomanes*によるイネ苗立枯病の発生と発病特性

守川 俊幸<sup>1</sup>・戸田 武<sup>2</sup>・三室 元気<sup>1\*</sup>・岩田 忠康<sup>1</sup>

Toshiyuki MORIKAWA, Takeshi TODA, Genki MIMURO and Tadayasu IWATA:

Occurrence of seedling blight of rice caused by *Pythium arrhenomanes* in Toyama prefecture,  
and disease development characteristics

2009年に富山県において発生したイネの苗立枯病（ムレ苗）は、*Pythium arrhenomanes*に起因することが明らかになった。本種は*P. graminicola*と同様に低温遭遇で発病が促され、培土pHがその発病程度に強く影響した。分離80菌株は全てメタラキシル感受性で、同剤含有剤の防除効果は高かった。

Key words: イネ苗立枯病, 低温遭遇, 培土pH, 薬剤感受性, *Pythium arrhenomanes*

### 緒言

イネ苗立枯病の一種である*Pythium*属菌による「ムレ苗」は、緑化期の低温遭遇が発病を促すことが知られている。近年では登熟期の高温を避けるため、田植え時期が繰下げられており、育苗期に極端な低温に遭遇する場面が減少しているが、依然として本病の発生が認められる。富山県における本病の原因菌は*P. graminicola* Subramanianと同定されているが<sup>9)</sup>、近年では別種の*P. arrhenomanes* Drechslerの関与が報告されている<sup>10)</sup>。さらに、本種のメタラキシル耐性菌の発生も報告されている<sup>5)</sup>。そこで、本県における苗立枯病の原因菌を再度調査するとともに、その発病要因、薬剤感受性を調査した。その結果、本県で発生している*Pythium*属菌による苗立枯病は主に*P. arrhenomanes*に起因すること、本病菌に対しては、現行の防除対策で対応できることが明らかになった<sup>7,8)</sup>。ここに取りまとめて報告する。

なお、本研究を行うにあたり大阪府立大学東條元昭先生には、終始有益なご助言を頂いた。また、県内各農林振興センター各位には、発病標本の収集にご協力頂いた。この場を借りて厚くお礼申し上げる。

### 材料および方法

#### 1) 菌の分離と同定

2009年春の育苗期に富山県内で発生した苗立枯病罹病苗を収集し、根から素寒天培地上に*Pythium*属菌を分離した。分離菌はrDNA-ITS領域をITS1およびITS4プライマーを用いて増幅し<sup>15)</sup>、PCR-RFLP解析において得られたバンドパターンからグループ分けを行った。さらに、各グループから選抜した菌株のITS領域の塩基配列を決定し、BLAST検索によって相同性を調査して種を同定した。また、分離菌の器官形成を滅菌ベントグラス葉片上で培養して観察した。

#### 2) 接種法

分離菌を麦粒培地で25℃7~10日間培養したものを接種源とし、「コシヒカリ」の催芽籾を播種したポットの中央に接種源を2~4粒置床した。その後覆土して、30℃2日間の出芽処理を行った。育苗培土は、いなほ化工社製の「くみあい加工床土」を用いた。

<sup>1</sup> 富山県農林水産総合技術センター農業研究所 Agricultural Research Institute, Toyama Prefectural Agricultural, Forestry & Fisheries Research Center, Yoshioka, Toyama 939-8153

<sup>2</sup> 秋田県立大学生物資源科学部 Department of Plant Production, Faculty of Biological Resources, Akita Prefectural University, Shimoshinjo, Akita 010-0195

\*現在: 富山県庁農林水産部 Present address: Agricultural Food Product Division, Toyama Prefecture, Shinsogawa, Toyama, 930-8501

### 3) 栽培条件と発病調査

苗の搬出後は15/30℃（夜温/昼温，各3時間，その間は温度勾配条件）のグロースキャビネットまたは無加温のガラス温室で栽培し，14～20日後に発病を調査した。灌水は随時，井戸水で行った。発病度は，発病の程度を3：枯死，2：萎凋（草丈1/3以下），1：萎凋（草丈2/3以下）とし，以下の式により算出した。発病度＝ $\Sigma$ （各発病程度×該当株数）/3/調査株数×100

### 4) 搬出後の低温遭遇と発病の関係

搬出直後あるいは搬出4日後に，5℃4日間の低温処理を行う区と行わない区を設けた。供試菌株として，富山県内のイネ苗から分離した*P. arrhenomanes* 0905株と0920株，および秋田県立大学保存菌株である*P. graminicola* P-35株を供試した。試験は径105mmポットに乾籾6g相当の催芽籾を播種し，3反復で行った。

### 5) 培土の特性と発病の関係

培土pHと発病との関係を調べるため，0.1または0.2%（w/w）量のCaCO<sub>3</sub>を育苗培土（いなほ化工）と混和した培土を用いて発病の程度を比較した。供試菌株は，県内分離の70菌株を供試し，径60mmポットを用い，催芽籾はポットあたり2.4g（乾籾重）を播種した。反復は設けなかった。搬出後の低温処理は行わなかった。

また，4社13銘柄の育苗培土（第1表）を用い，各培土のpHおよび発病程度の差を調査した。試験には*P. arrhenomanes* 0920株を用い，径105mmポットに催芽籾6g（乾籾重）を播種した（3反復）。なお，出芽後は5℃2日間の低温処理を行った後に搬出した。

### 6) 薬剤感受性

メタラキシル（和光134-11681）をジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解し，10% V8ジュース寒天培地（V8JA）および1/2コーンミール寒天培地（CMA）に0，0.01，0.1，1，10，100ppmとなるように添加し，分離菌（80菌株）を23℃で培養した。対照として，メタラキシル低感受性*Pythium* sp. AP-P36株（秋田県立大保存菌株）を用いた。培養2日後に菌叢直径を測定し，EC<sub>50</sub>を算出した。

### 7) 薬剤防除試験

育苗培土にメタラキシル粒剤0.4g/l，ヒドロキシイソキサゾール液剤0.2ml/l，ヒドロキシイソキサゾール・メタラキシル液剤0.2ml/l，ヒドロキシイソキサゾール・メタラキシル粉剤1.6g/lとなるように灌注あるいは混和し，防除効果を調査した。なお，試験には径105mmポットを用い，催芽籾6g（乾籾重）を播種した（3反復）。接種には*P. arrhenomanes* 0905株と0920株を用いた。出芽処理後，5℃2日間の低温処理を行った後に搬出した。

## 結果

### 1) 病原菌

富山県内の17地点の育苗施設で採集された罹病苗から81菌株の*Pythium*属菌を分離し，病原性を調査した結果，いずれも接種により根腐れや立枯れを引き起こした（データ略）。これら分離菌のrDNA-ITS領域の解析を行ったところ，制限酵素*Sau3AI*を用いたPCR-RFLPによ

第1表 市販の各種育苗培土における*P. arrhenomanes*による苗立枯病の発生

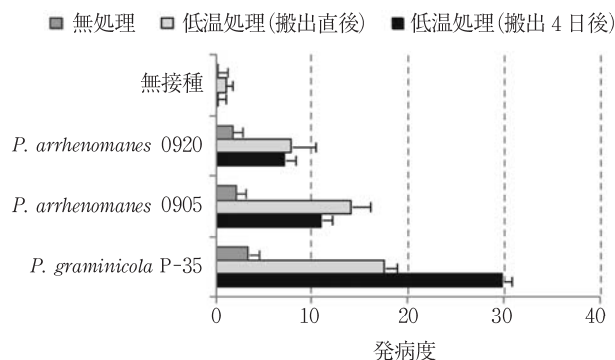
製造会社	銘柄	形状	副資材	培土pH	調査苗数	発病苗率%	発病度 <sup>a)</sup>
A社	A-1	粉状		4.7	215.3	91.0	68.7 abcd
	A-2	粉状	ゼオライト	5.0	213.0	99.4	88.8 a
	A-3	粉状	くん炭	5.3	210.0	93.4	72.6 abc
	A-4	粉状	RBライト	5.3	217.0	99.5	87.1 a
	A-5	粒状		4.4	216.3	72.1	46.6 e
	A-6	半粒状		4.5	210.0	70.4	50.1 de
	A-7	半粒状	木炭	4.6	198.0	82.4	55.1 cde
B社	B-1	粉状		4.5	219.3	89.5	60.2 bcde
	B-2	ピート		5.1	212.7	100.0	78.2 ab
C社	C-1	粗粒状	籾殻堆肥	4.8	200.7	26.0	12.3 f
	C-2	粉状		5.0	198.7	93.3	65.6 bcde
	C-3	粗粒状		4.8	222.3	97.3	58.9 bcde
D社	D-1	粉状		4.7	215.3	80.3	47.6 de

a) 同一アルファベット間には5%水準の有意差（Tukey検定）がない。

り6つのグループに分けられた。ただし、各グループに属する菌株のrDNA-ITS領域の相同性検索を行った結果、いずれも既往の*P. arrhenomanes*と99.5~100%の相同性が認められたことから、*P. arrhenomanes*と同定された<sup>11)</sup>。全ての分離菌株は滅菌ベントガラス葉片上で膨状の遊走子嚢を形成したが、40%の菌株は卵胞子の形成を認めなかった。

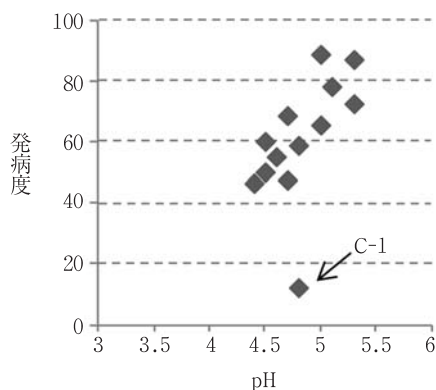
## 2) 発病特性

搬出直後または搬出4日後に低温処理(5℃)を行うと、発病が明らかに助長された(第1図)。さらに、育苗培土にCaCO<sub>3</sub>を添加してpHを調整したところ、pHが酸性(pH4.8)よりも中性(pH7.3)で発病程度が高かった(第2図)。



第1図 搬出後の低温遭遇が発病に及ぼす影響<sup>a)</sup>

a) 低温処理(5℃)は、搬出直後または搬出4日後に4日間実施、培土pHは4.8、図のエラーバーは標準誤差。



第3図 市販の育苗培土のpHと発病との関係<sup>a)</sup>

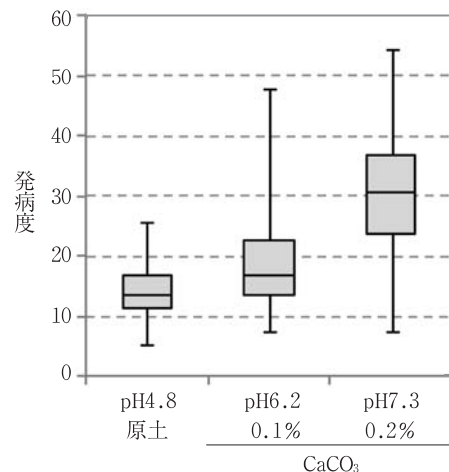
a) 育苗培土の種類は第1表を参照。

## 3) 育苗培土の種類と発病

市販の育苗培土での発病を比較した結果、培土C-1が発病度12と明らかに低く、その他の12銘柄は47~89の範囲であった(第1表)。これら育苗培土のpHは4.4~5.3の間にあり、培土C-1を除きpHと発病度の間に高い正の相関( $r=0.659$ )が認められた(第3図)。なお、培土C-1を高圧滅菌すると発病が明らかに増加した(第4図)。

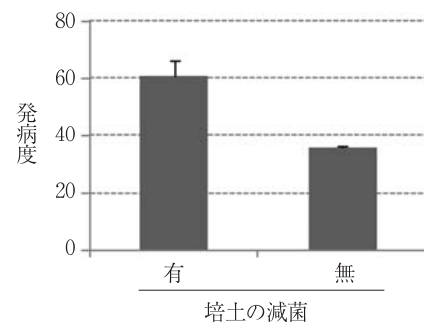
## 4) 薬剤感受性と薬剤の防除効果

供試した80菌株のメタラキシル感受性(EC<sub>50</sub>)は10% V8JA上で0.6~7.7ppm(平均2.9ppm)、1/2CMA上で0.02~0.8ppm(平均0.2ppm)であり、対照のメタラキシル低感受性*Pythium* sp. AP-P36株(秋田県立大保存



第2図 育苗培土のpHが発病に及ぼす影響(箱ひげ図)<sup>a)</sup>

a) CaCO<sub>3</sub>を混和しpHを調整、県内分離株計70菌株の数値。



第4図 培土C-1の滅菌の有無が本病の発生に及ぼす影響<sup>a)</sup>

a) 滅菌は121℃5分間の高圧滅菌処理、エラーバーは標準誤差。

菌株)に比べて、低い数値となった(第5図)。また、2菌株を用いた薬剤防除試験において、メタラキシル含有製剤の播種時施用に防除効果が認められた(第2表)。以上から、今回分離された菌株はいずれもメタラキシル感受性であると判断された。

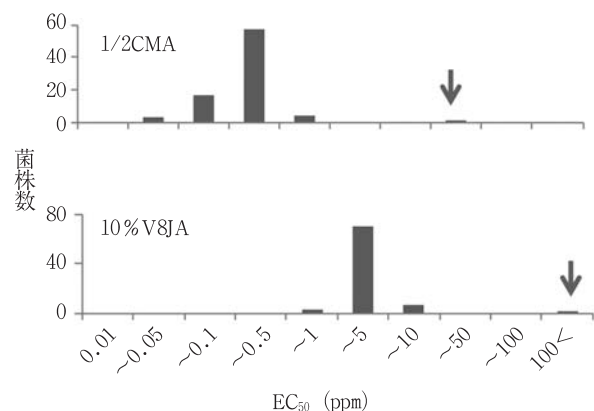
### 考 察

これまで、富山県の育苗施設で発生している*Pythium*属菌による苗立枯病(ムレ苗)は、主に*P. graminicola*に起因するとされてきたが<sup>9)</sup>、2009年の調査では、そのほとんどが*P. arrhenomanes*に起因することが明らかになった。イネの育苗期における*Pythium*属菌による苗立枯病は、東北地域においても*P. arrhenomanes*が主要種であり、*P. graminicola*の発生は少ないとされている<sup>12)</sup>。主要な構成種が時代とともに変わったようにも見えるが、両菌は遺伝的に近縁であり<sup>6)</sup>、造精器の付着数に差がある程度で、その他の形態的特徴は極めて似ており<sup>2)</sup>、識別が容易ではないとされている。このため、従来*P. graminicola*と同定された菌の多くが*P. arrhenomanes*であった可能性も否定できない。いずれにせよ過去にイネ苗から分離された菌株の再同定が必要であろう。なお、本種はホモタリクとされているが、分離された*P. arrhenomanes*の40%が有性世代を形成しなかった。発病イネにおいても卵孢子が形成されていない個体が多く認められたことから、顕微鏡観察で本病の診断を行う際にはこの点に留意する必要があると考えられた。

本研究の結果、*P. arrhenomanes*による苗立枯病は、低温遭遇によって発病が促され、さらにpHが中性の育苗培土で発生が多くなるなど、過去に*P. graminicola*で明らかになっている発病特性<sup>13)</sup>と一致した。さらに、分離

菌株はすべてメタラキシル剤に感受性で、既存の登録農薬に防除効果が認められることから、従前の防除対策で対応できると考えられた。

市販のイネ用育苗培土は、ムレ苗の発生を防ぐためにpH4.5~5.5の間に調整されている。本研究では、4社13銘柄の市販の育苗培土における本病の発生とpHとの関係を調査したところ、そのpHは4.4~5.3の範囲にあり、この狭いpHの範囲で発病との間に正の相関が認められた。このことから、本病による被害を防ぐには育苗培土のpHを厳密に管理する必要があると考えられた。また、堆肥を含有する1銘柄のみ、極端に発病が少なかったが、本培土を高圧滅菌することにより発病が明らかに増加したことから、本培土においては微生物の活動が本病の発生に抑制的に働いていることが示唆された。もみ枯細菌病においても有機育苗培土で発生が少ないことが報告されており、内生細菌の関与が示唆されている<sup>1)</sup>。市販の育苗培土は、一般に熱滅菌処理が行われて



第5図 イネ苗から分離された*P. arrhenomanes*のメタラキシル感受性(EC<sub>50</sub>)<sup>a)</sup>

a) 矢印：メタラキシル低感受性*Pythium* sp.を示す。

第2表 各種薬剤の防除効果

菌株	薬剤 <sup>a)</sup>	処理	調査苗数	発病苗率(%)	発病度 <sup>b)</sup>
<i>P. arrhenomanes</i> 0905	H・M粉剤	8g/箱(±5ℓ)	218.7	4.0	2.2 c
	H・M液剤	1000倍・1ℓ/箱(±5ℓ)	224.0	8.2	4.7 c
	H液剤	1000倍・1ℓ/箱(±5ℓ)	209.7	35.9	22.7 b
	M粒剤	2g/箱(±5ℓ)	218.7	4.9	2.7 c
	無処理		209.3	69.0	48.2 a
<i>P. arrhenomanes</i> 0920	H・M粉剤	8g/箱(±5ℓ)	231.3	6.1	4.1 b
	H・M液剤	1000倍・1ℓ/箱(±5ℓ)	227.7	8.8	5.5 b
	H液剤	1000倍・1ℓ/箱(±5ℓ)	222.3	11.3	6.5 b
	M粒剤	2g/箱(±5ℓ)	218.3	4.1	2.7 b
	無処理		212.0	29.4	18.5 a

a) H：ヒドロキシイソキサゾール、M：メタラキシル。

b) 同一アルファベット間には5%水準の有意差(Tukey検定)がない。

おり、母材からの有害な病害の持ち込みを防止している。ただし、このような育苗培土では、一旦病害が発生すると病原菌が優先種となりかえって被害が甚大となるケースが想定される。今後、有用な土壤微生物相を増強した育苗培土を選定あるいは開発することにより、各種育苗期病害の被害が防げるものと期待される。

*P. arrhenomanes*は直播栽培の苗腐敗病の主要種としても記録されており<sup>3)</sup>、本菌は水田土壌に広く生息していると考えられる<sup>12)</sup>。そして、雑草を含む多くのイネ科植物に病原性を有する<sup>4,14)</sup>ことから、本菌の生息域は極めて広いと想定され、農業用水を含め様々な経路で本病が伝染すると考えられる。また、低温遭遇によって初めて顕在化する性質を有していることから、実際には多くの育苗施設で本病菌の侵入を許していると考えられる。育苗施設によって主要な伝染源は異なることから、病原菌が潜在していることを理解した上で、伝染環を断つための栽培管理や薬剤防除を行う必要があると考える。

### 引用文献

- 1) 安藤杉尋・對馬誠也・吉田重信・長谷川浩・小林隆・伊藤豊彰・高橋英樹 (2012) 有機栽培育苗土によるもみ枯細菌病抑制効果の解析. 日植病報78: 68~69 (講要).
- 2) Chen, W. H. and Jeffrey, W. (1993) Molecular and morphological comparison of *Pythium arrhenomanes* and *P. graminicola*. Mycol. Res. 97: 1371~1378.
- 3) Chun, S. C. and Schneider, R. W. (1998) Sites of infection by *Pythium* species in rice seedlings and effects of plant age and water depth on disease development. Phytopathology 88: 1255~1261.
- 4) Dissanayake, N., Hoy, J. W. and Griffin, J. L. (1997) Weed hosts of the sugarcane root rot pathogen, *Pythium arrhenomanes*. Plant Dis. 81: 587~591.
- 5) 糟谷正広・野田沙緒里・八尾暢也・福井 糧・東條元昭 (2009) イネに苗立枯れを起こすメタラキシル剤耐性*Pythium arrhenomanes*の発生. 日植病報75: 248~249 (講要).
- 6) Lévesque, C. A. and De Cock, A. W. A. M. (2004) Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. Mycol. Res. 108: 1363~1383.
- 7) 守川俊幸・戸田 武・三室元気・岩田忠康 (2010) 富山県における*Pythium arrhenomanes*によるイネ苗立枯病の発生と発病要因. 北陸病虫研報59: 21 (講要).
- 8) 守川俊幸・三室元気・岩田忠康 (2011) 育苗培土の種類が*Pythium arrhenomanes*によるイネ苗立枯病の発生に及ぼす影響. 日植病報77: 199 (講要).
- 9) 作井英人・梅原吉広 (1985) *Pythium graminicola*の接種時期とイネ苗の病徴について. 日植病報51: 320 (講要).
- 10) 戸田 武・殿岡慎太郎・皆川博孝・堀越紀夫・藤晋一・古屋寛光 (2009) イネ苗立枯病の発生における*Pythium arrhenomanes*の関与. 日植病報75: 236~237 (講要).
- 11) 戸田 武・守川俊幸・藤 晋一・古屋寛光 (2010) 富山県で採取されたイネ苗立枯病罹病苗から分離された*Pythium*属菌の種の同定. 日植病報76: 44 (講要).
- 12) 戸田 武・岩佐昭紀・藤 晋一・古屋寛光 (2011) イネ苗立枯病を発生させる*Pythium*属菌の種とその分布. 土と微生物65: 154 (講要).
- 13) 梅原吉広・作井英人・中川俊昭 (1983) *Pythium* spp.によるイネ苗萎凋病(仮称)の発生条件について. 日植病報49: 389 (講要).
- 14) Vanterpool, T. C. and Sprague, R. (1942) *Pythium arrhenomanes* on cereals and grasses in the northern great plains. Phytopathology 32: 327~328.
- 15) White, T. J., Bruns, S., Lee, S. and Taylor, J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR protocol (Innis, M. A. et al. eds.). Academic Press, New York. pp.315-322.

(2013年12月16日受理)