

ハエによるスミレ類根腐病菌の媒介

堀本圭一・西崎仁博・藤田圭二

Aerial Transmission of *Thielaviopsis basicola*, a Pathogen of pot flowers,
by Adult Shore Flies (*Scatella stagnalis*)

Keiichi HORIMOTO, Masahiro NISHIZAKI and Keiji FUJITA

Summary

Chlamydospores of *Thielaviopsis basicola* were observed in frass excreted by adult shore flies (*Scatella stagnalis*) that were collected in commercial greenhouses of potted flower growers. After feeding on infected plants, *S. stagnalis* acquired the pathogen by ingestion. These infested flies were capable of transmitting the pathogen to healthy seedlings, which subsequently became infected. *T. basicola* attracted *S. stagnalis* strongly. Its conidio spores were considered to play an important role in transmission.

Key words : *Thielaviopsis basicola*, insect vector, shore fly (*Scatella stagnalis*)

緒言

スミレ類根腐病菌 (*Thielaviopsis basicola* Ferraris) はハウス土壌やプラグトレイで残存し、次作の伝染源となる事が判明している。病原菌は発病株から灌水により隣接株へ二次伝染すると思われるが、近年海外においてこの病原菌がヤングコーンでハエにより媒介されることが報告された⁵⁾。本県鉢花農家の発病ハウスにおいてもしばしばハエの発生が観察され、栽培されている植物葉上に糞が観察されることから、ハエによる病原菌媒介の可能性を検討した。

本研究を行うにあたり、ハエの同定を快くお引き受けいただいた京都府立大学 笹川満廣名誉教授に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

1. 鉢花農家ハウスから採取されるハエの糞からの根腐病菌の分離とハエの同定

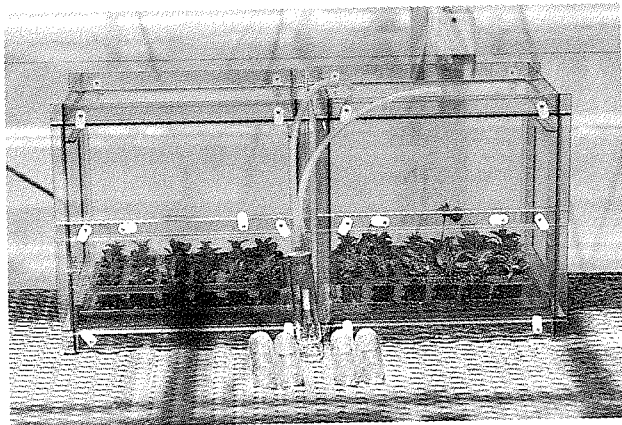
2001年11月15日、12月6日に県内の鉢花農家7戸の育苗ハウスにおいて、栽培されている花壇苗

の上で捕虫網を振り、すくい取った昆虫をガラスピン (直径2.5cm、高さ13cm) に集めた。これを持ち帰り25℃の室温に24時間放置後、胸部を軽く圧迫して殺し、PPIN培地 (三木・原ら,1993) に置床した。次にガラスピンに滅菌水5mlを加え1時間振とうし、ピン壁面に付着した糞を溶解後、同じく選択培地上に流し込んだ。10日後生育した菌糸の先端部を切り取り、PS液体培地で振とう培養し、あらかじめ育苗したパンジー (品種:リーガルレッド) に接種した。また採取したハエの一部を同定した。

2. ハエ糞の光学顕微鏡観察

228穴のプラグトレイで育苗したパンジー (品種:リーガルレッド) に、あらかじめ14日間PS液体培地で振とう培養した根腐病菌を浸根接種し、2002年3月8日、72穴プラグトレイに移植した。そのトレイを3方をゴース網 (#9000) で張った昆虫飼育箱 (内寸300×250×280mm、シゲノスタンダード商事) に入れ、温室に置いた (第1図)。3月15日、農業技術センター内の花卉温室内 (キク挿し芽床) で発生していた試験1と同種

のハエ100頭を採取し、発病させたパンジーを入れた飼育箱に放した。3月25日飼育箱からハエ30頭を、スライドグラスを入れたガラスビンに移し25℃の室温で1日飼育後、スライドグラス上の糞を各100個について顕微鏡観察した(3連制)。



第1図. 根腐病発病パンジーでのハエの飼育状況 (右: 病原菌接種区, 左: 無接種区)

Fig.1. Breeding conditions of the flies by infested Pansy. (right: inoculated, left: non inoculated)

3. 発病パンジーで飼育したハエ糞からの根腐病菌の分離

同様に根腐病発病パンジーで10日間飼育したハエ30頭を、3月25日容積5mlのサンプルビンに1頭ずつ入れた。24時間室温に放置後、ハエを新たなサンプルビンに移し替え、元のサンプルビンに滅菌水1ml加え1時間振とうし、ビン壁面に付着した糞を溶解後、PPIN培地で菌の分離を行った。試験は3日間おこなった。

4. 発病条件の異なるパンジーで飼育したハエ糞からの病原菌の分離

3月8日浸根接種し発病させたパンジーのセルトレイを飼育箱に入れ、底面給水により根腐病を多発させた区と、頭上灌水により少発させた区を設けた。3月28日発病度が異なるトレイを飼育箱に入れ、ハエを20頭放し、1日後にハエをサンプルビンに1匹ずつ集め、同様に糞から菌の分離を行った。

5. スミレ類根腐病のハエ媒介による再現試験

あらかじめセルトレイで育苗した無病のパンジーを飼育箱に入れ、3月29日根腐病発病パンジーで飼育したハエを、1箱当たり30頭放した。1日後ハエを取り除き、そのまま底面給水で育苗する区と、飼育箱から出し温室内で頭上灌水する区を設けた(2連制)。

6. パンジー各部位におけるスミレ類根腐病菌生胞子の形成

セルトレイで育苗したパンジーに根腐病菌を浸根接種し、飼育箱に入れ底面給水で育苗した。その後経時的に地際部・下葉を中心に、根腐病菌の孢子形成を光学顕微鏡観察した。

7. 各種病原菌によるハエの誘引

8種類の病原菌(第1表)をあらかじめ三角フラスコ(容量50ml) P S A培地で10日間培養した後、飼育箱に入れて開封後、ハエを飼育箱当たり50頭放飼し、経時的に三角フラスコ内に入るハエの数を調査した。(2連制)。

第1表. 供試病原菌

Table 1. Tested plant pathogenic fungi.

供試病原菌名	分離植物	病名
<i>Pyricularia grisea</i>	イネ	いもち病
<i>Thielaviopsis basicola</i>	パンジー	根腐病
<i>Pythium sp.</i>	ポインセチア	根腐病
<i>Rhizoctonia solani</i>	ホウレンソウ	株腐病
<i>Verticillium dahliae</i>	キク	半身萎凋病
<i>Phytophthora capsici</i>	ナス	褐色腐敗病
<i>Fusarium oxysporum f.sp. fragariae</i>	イチゴ	萎黄病
<i>Glomerella cingulata</i>	イチゴ	炭疽病

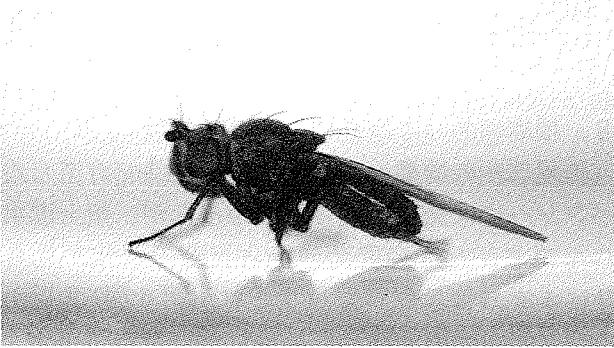
結 果

1. 鉢花農家ハウスから採取されるハエの糞からパンジー根腐病菌の分離とハエの同定

7農家の育苗ハウスから採取された昆虫はほとんどすべて、体長約1mmの小型のハエであった(第2図)。6農家から採取されたハエの糞からは根腐病菌は分離されなかったが、五條市の1農家ハ

ウスから採取されたハエ50頭の糞から根腐病菌が6コロニー分離された。ハエの体から菌は分離されなかった(第2表)。分離された菌を培養しパンジーに接種すると、約20日後下葉の黄化等の根腐病の病徴が現れ、根部に根腐病菌の厚膜胞子が多数形成されるのが観察された。

病原菌が検出された農家のハエは、笹川満廣教授によりミギワバエ科の *Scatella stagnalis* と同定された。



第2図. 鉢花農家ハウスから採取されたハエ

Fig.2. The Fly collected from a nursery greenhouse of a potted flower grower.

第2表. 花壇苗生産農家ハウスから採取されるハエとその糞から分離される根腐病菌

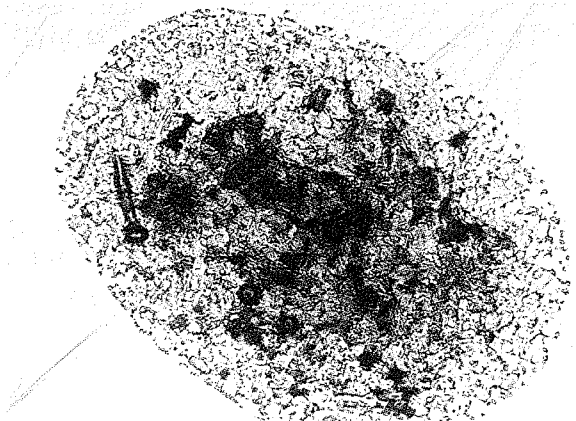
Table 2. A number of flies collected from nursery greenhouses of potted flower growers and *Thielaviopsis basicola* in its frass.

採取地域	採取植物	採取ハエ数 分離病原菌数		
		(匹)	ハエ	糞
五條市野原※	パンジー	50	0	6
橿原市太田市	パンジー	37	0	0
〃 新口	パンジー	12	0	0
〃 中町	パンジー	54	0	0
桜井市大福	パンジー	40	0	0
田原本町多	プリムラ	42	0	0
〃 阪手	パンジー	21	0	0

※採取日11月15日、その他は12月6日

2. ハエの糞の光学顕微鏡観察

根腐病発病パンジーで飼育したハエの糞の中に、根腐病菌の厚膜胞子が観察された(第3図)。しかし厚膜胞子が観察された糞は、1.3%(4/300)と少なかった。



第3図. ハエ糞中の厚膜胞子

Fig.3. Chlamydospores of *Thielaviopsis basicola* in frass excreted by adult shore flies.

3. 発病パンジーで飼育したハエ糞から根腐病菌の分離

根腐病発病パンジーでハエを飼育した結果、糞から病原菌が分離されたハエは、1日目は50%で、2日目は3.3%となり、3日目は0となった。1日目に検出された平均菌密度は5.5cfu/頭で、2日目は1cfu/頭となった(第3表)。また1日目のハエ1頭当たりから分離された最高菌量は、34cfuであった(第4図)。

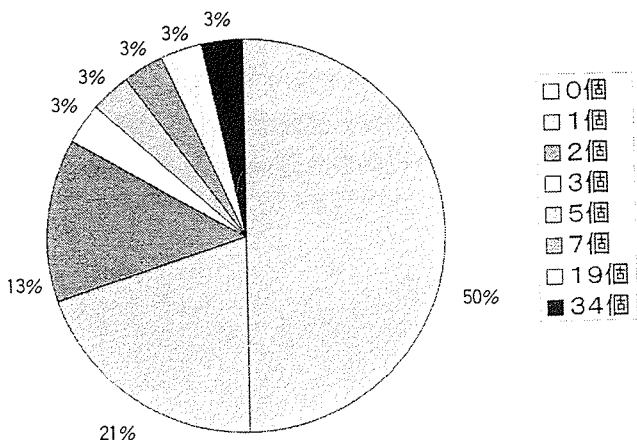
第3表. ハエの糞から分離される根腐病菌

Table 3. Isolation of *Thielaviopsis basicola* in frass by adult shore flies after feeding on infested Pansy.

飼育日数	保菌ハエ率 (%)	菌 密 度	
		cfu/調査ハエ	cfu/保菌ハエ
1日目	50.0	2.7	5.5
2日目	3.3	0.03	1.0
3日目	0	0	0

※1区15匹 2連制

対照区(病原菌無接種で飼育したハエ)から全て検出なし。
3日目のハエの体から根腐病菌は検出されなかった。



第4図. ハエの根腐病菌保菌率と保菌数
 Fig.4. *T. basicola* carrier Percentage of adult shore flies and a number of pathogens.

4. 発病条件の異なるパンジーで飼育したハエ糞からの根腐病菌の分離

発病度の異なるパンジーでハエを飼育した結果、1頭当たりから分離される病原菌量は少発・多発区とも4~5cfuでありあまり差は見られなかったが、病原菌を保菌していたハエは多発区で65%、少発区で20%となり、多発条件では保菌率が高くなると思われた(第4表)。

ハエ1頭当たりから分離された最高菌量は、少発区で6cfu、多発区で25cfuであった(第5図)。

第4表. 発病条件が異なるパンジーで飼育したハエから分離される根腐病菌

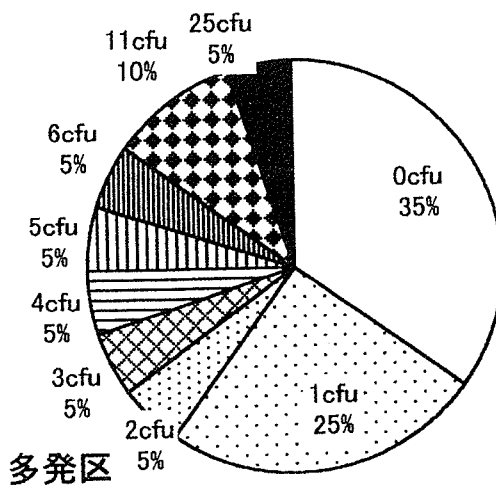
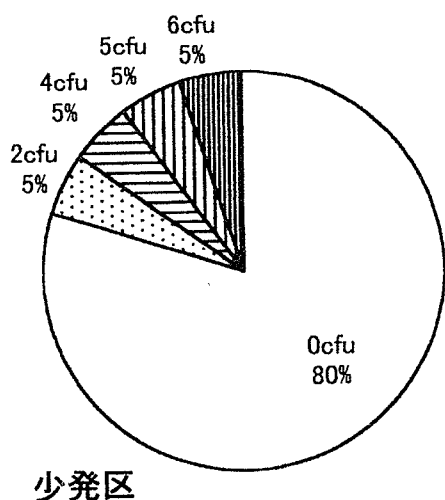
Table 4. Isolation of *Thielaviopsis basicola* in frass by adult shore flies after feeding on different infested Pansy.

試験区	保菌ハエ率 (%)	菌 密 度	
		cfu/全調査ハエ	cfu/保菌ハエ
少発区	20	0.85	4.25
多発区	65	3.6	5.38

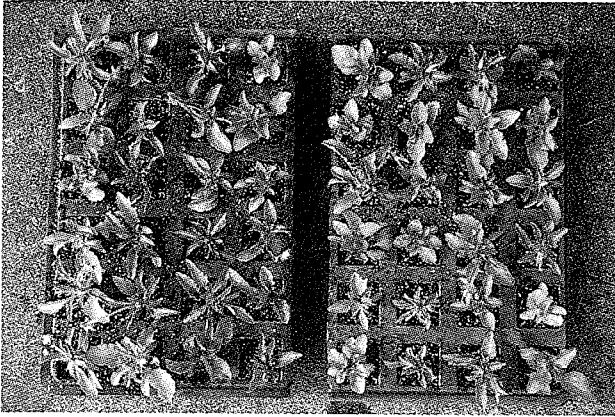
※ 1区10匹 2連制
 対照区(病原菌無接種パンジーで飼育したハエ)から全て検出なし。
 ハエの体からも病原菌は検出されなかった。

5. 根腐病のハエ媒介による再現試験

再現試験の結果、そのまま湛水条件で育苗したパンジーには発病が見られなかったが、頭上灌水したパンジーは2週間後から下葉の黄化が見られ、1ヶ月後に症状が再現され(第6図)、根から病原菌が検出された。



第5図. 発病条件の異なるパンジーで飼育したハエの糞から分離される病原菌量
 Fig.5. A number of pathogens in frass of adult shore flies grown by different disease symptom levels of Pansy.



第6図. ハエ媒介によるパンジー根腐病の発病状況
(右：頭上灌水 左：底面給水)

Fig.6. The representance of disease symptoms by transmitted pathogen of shore flies.
(right: top irrigation, left: bottom irrigation)

6. パンジー各部位における根腐病菌分生胞子の形成

浸根接種15日後(発病初期)から、パンジーの地際部及び下葉から分生胞子が直鎖状に形成されるのが観察された(第7図)。また接種20日以降、下葉の中肋部に厚膜胞子も形成されるのが観察されたが、その数は少なかった。

7. 各種病原菌によるハエの誘引

ハエが誘引される程度は病原菌により異なり、イネいもち病(*Pyricularia grisea*)、パンジー根腐病(*Thielaviopsis basicola*)で多く、ポインセチア根腐病(*Pythium sp.*)、キク半身萎凋病(*Verticillium dahliae*)、ナス褐色腐敗病(*Phytophthora capsici*)が続き、ホウレンソウ株

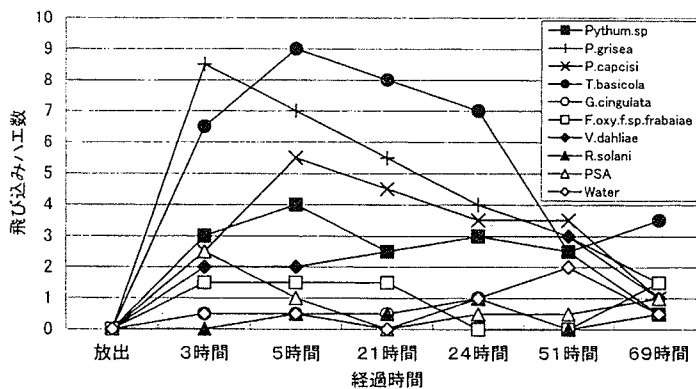


第7図. パンジー葉上に形成された根腐病菌の分生胞子
Fig.7. Conidiospores of *Thielaviopsis basicola* produced on leaves of Pansy.

腐病(*Rhizoctonia solani*)、イチゴ萎黄病(*Fusarium oxysporum f.sp. fragariae*)、イチゴ炭疽病(*Glomerella cingulata*)で少なかった(第8図)。

考 察

昆虫による植物病原菌の媒介事例は、ウイルス・マイコプラズマ・細菌では多数あるが³⁾糸状菌では少ない^{1, 2, 5)}。今回鉢花農家の育苗ハウスにおけるハエと根腐病の調査をおこなったところ、花壇苗の育苗ハウスで発生しているハエは、糸状菌であるスミレ類根腐病菌を媒介することが判明した。発病は底面給水ではおこらず、頭上灌水で発病したところから、頭上灌水により茎葉から洗い流された病原菌が根に到達し、発病を引き



第8図. 各種病原菌によるハエの誘引

Fig.8. A digree of shore flies gathered by several plant pathogenic fungi.

起こしたものである。

本病原菌は代表的な土壌伝染性病害であり、その伝染方法として、プラグトレイに付着した前年の発病残さ⁴⁾、や、灌水によるハウス内汚染土壌のはね上がりと考えられていたが、新たにハエによる媒介が判明した。鉢花農家のハウスでは、鉢土に各種の有機質資材を用い、頻繁に灌水を行うためハエの発生がよく見られる。聞き取り調査によれば、鉢花に使用する殺虫剤はハエに対しては効果が低いということから、ハウス内外の排水に努め、ハエが発生しやすい多湿条件は避けるべきである。また本県の鉢花農家では、育苗ハウス周辺に栽培植物の残さや使用済みの鉢土が放置されているが、これらが伝染源となることが考えられるので、育苗ハウス内ばかりでなく周辺の圃場衛生にも注意する必要がある。

スミレ類根腐病を媒介したハエはミギワバエ科に属する *Scatella stagnalis* で、このハエは日本全国はもとより、広く太平洋地域やアフリカにも分布する普通種である (笹川氏 私信)。このハエを誘引する病原菌を調査したところ、水稻いもち病菌とスミレ類根腐病菌に誘引され、また疫病菌・ピシウム属菌にも誘引されるのが観察された。*S.stagnalis*は、湿地・水田・池等に生息する種であるところから、水稻の病原菌や水媒伝染性の疫病菌・ピシウム属菌に誘引されたものと考えられた。しかし、なぜスミレ類の根腐病菌が *S.stagnalis* を誘引するかは不明である。

試験 2 及び 3 の結果から、光学顕微鏡では糞の中に根腐病菌の厚膜胞子がほとんど観察されないにも関わらず、50%以上のハエが根腐病菌を保菌しており、1匹当たり最高34cfuの根腐病菌が検出された。このことからハエによる根腐病菌の伝搬には分生胞子が関与しているものと考えられた。自然状態において、根腐病に感染したパンジーの地上部から分生胞子が観察されることは少ないが、頭上灌水しない条件下では、地際部・下葉に多数の分生胞子が直鎖状に形成されるのが認められた。したがって自然状態でも地上部発病部に分生胞子が形成されているものと推察され、降雨等で洗い流されたり、他の微生物により速やかに溶菌しているため、観察される事例が少ないものと思われる。*T. basicola* の厚膜胞子は耐久器官で

土壌中で長期間生存できるが、分生胞子は土壌中では数日間で活性を失うと考えられている。分生胞子は病原菌の周辺への拡散に関与していると考えられるが、その土壌中での生存期間の短さから、これまでその役割は不明であった。本報告により分生胞子は土壌を経由せず昆虫等によって媒介されている事が判明したところから、*T. basicola* は厚膜胞子による土壌中での長期残存、また分生胞子のハエ媒介による広域拡散という2つの生き残り戦略をとっているものと推察された。

摘 要

鉢花栽培農家の育苗ハウスで発生しているハエは、ミギワバエ科の *Scatella stagnalis* で、その糞からスミレ類根腐病菌が分離された。*S.stagnalis* を根腐病発病パンジーで飼育し、無病のパンジーに放飼したところ、発病が見られた。顕微鏡観察から糞の中の病原菌は分生胞子が主と考えられ、またスミレ類根腐病菌は *S.stagnalis* を強く誘引したところから、分生胞子は昆虫媒介に主要な役割を果たしているものと推察された。

引用文献

1. Goldberg.N.P.,Stanghellini.M.E.1990. Ingestion-Egestion and Aerial Transmission of *Pythium aphanidermatum* by Shore Flies (Ephydrinae:*Scatella stagnalis*) Phytopathology 80:1244-1246
2. Kalb.D.W.,Millar.R.L.1986. Dispersal of *Verticillium albo-atrum* by the Fungus Gnat (*Bradysia impatiens*) Plant Disease 70:752-753
3. 三井康. 1988. 土壌害虫および線虫が媒介する病害. 植物防疫 42:425-428
4. 西崎仁博・杉村輝彦・岡山健夫. 1998. プラグ育苗におけるパンジー根腐病の伝染源および防除対策 奈良県農業試験場報告 29:15-20
5. Stanghellini.M.E.,Rasmussen,S.L.1999.Aerial Transmission of *Thielaviopsis basicola*, a Pathogen of Corn-Salad, by Adult Shore Flies Phytopathology 89:476-479