

養液栽培における 高温性水媒伝染病害の安全性診断 マニュアル

ポインセチア・ホウレンソウ・トマト
ミツバ・ネギ・切りバラ

水媒伝染病害を引き起こす高温性ピシウム菌は生育が早く、伝染能力も高いことから発病してからの対策では手遅れです。本マニュアルを使って安全性診断を実施することにより的確な病害対策ができ、安全・安心な養液栽培が可能になります。

- ・ 岐阜大学流域圏科学研究センター
- ・ 愛知県農業総合試験場
- ・ 岐阜県農業技術センター
- ・ 三重県農業研究所
- ・ 静岡県農林技術研究所

本マニュアルは農林水産省「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」により作成しました。

高温性ピシウム菌の簡易検出法を利用した 安全性診断

LAMP法を使った簡易検出法は、野菜・花き類の養液栽培に被害を与える高温性ピシウム菌を、植物体、水（原水や培養液）、土壌（培土、鉢土等）からピペットや保温容器などの簡易な機器を使って簡単に1時間で検出することができます（本編第3章）。



ポインセチア



ネギ

簡易 検出法

植物体 -
LAMP法

植物体に感染した高温性ピシウム菌を検出

ベイト -
LAMP法

培養液や土壌中の高温性ピシウム菌を検出

ベイト培養 -
LAMP法

培養液や土壌中の高温性ピシウム菌を精度よく検出

メンブレン培養 -
LAMP法

培養液中などから精度よく高温性ピシウム菌を検出

病原菌が栽培施設内外のどこに潜んでいるかを調べたり、培養液中に病原菌が侵入しているか否かをモニタリングして安全性評価票による安全性診断を行います。もし、対策が必要であると判断されれば安全性診断マニュアルに基づいて対策を講ずることができます（本編 第5章 各作物編）。

検出

簡易検出法による
高温性ピシウム菌の
検出結果

診断

安全性評価票による
安全性診断

対策

安全性診断マニュアル
(各作物編)による
作物別対策

LAMP法による高温性ピシウム菌の簡易検出法（本編第3章）

1 LAMP法とは

LAMP法は日本国内で開発された新しい遺伝子診断法です。LAMP法では、反応液を60～68℃の一定温度で1時間保温することで、目的とするDNAの有無を調べることができます。

2 具体的な手法

ア) 植物体-LAMP法

手順 現地での診断が可能

植物体から、高温性ピシウム菌を直接検出する方法です。



診断したい植物の根や茎などをピンセットで採ります。



水を入れたチューブに植物片を入れ、振り混ぜます。

LAMP反応液に加えます。
3 LAMP反応 参照

イ) ベイト-LAMP法

手順 現地での診断が可能

培養液や土の中にいる高温性ピシウム菌を、エゴマ種子を使っておびき寄せ、トラップに使ったエゴマ種子から高温性ピシウム菌を検出する間接的な診断法です。



エゴマ種子をお茶パックに入れます。



施設の培養液タンクやベッド、などにセットします。

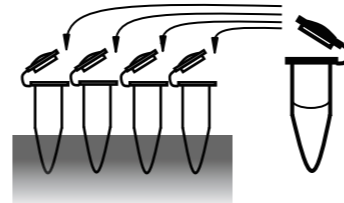


水を入れたチューブにエゴマ種子を入れ、振り混ぜます。

LAMP反応液に加えます。
3 LAMP反応 参照

3 LAMP反応

ア)～エ)の方法で調整した高温性ピシウム菌懸濁液を使ってLAMP反応を行います。LAMP反応には、LAMP反应用的DNA増幅試薬キットを用います。



LAMP反応試薬を調整します。

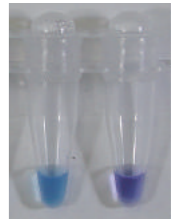


コントロールを実験室で作成し、現地に行きます。



現地で調整した検体を添加した後、65℃の湯が入った保温器に1時間入れます。

(+) (-)

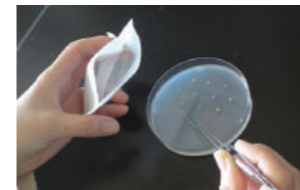


目視で判定します。反応液が、紫色から空色に変わっているものが陽性(+)です。

ウ) ベイト培養-LAMP法

手順

イ)で用いたエゴマ種子を培養し、得られた菌糸を使って検出する診断法です。菌濃度の低い養液や土壌からの高温性ピシウム菌検出に適しています。



取り出したエゴマを培地に置き、培養します。



生育旺盛な菌糸を培地と一緒に切り出し、水を入れたチューブに入れて攪拌します。

LAMP反応液に加えます。
3 LAMP反応 参照

エ) メンブレン培養-LAMP法

手順

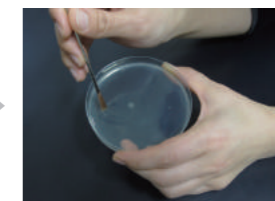
培養液中の低密度の高温性ピシウム菌を検出する高感度の手法です。採水した培養液をメンブレンフィルターでろ過し、これを培養し、生育した菌糸を使って診断する手法です。



採水した培養液を吸引ろ過します。



メンブレンフィルターを取り出し、表面を下にして培地に置き、培養します。

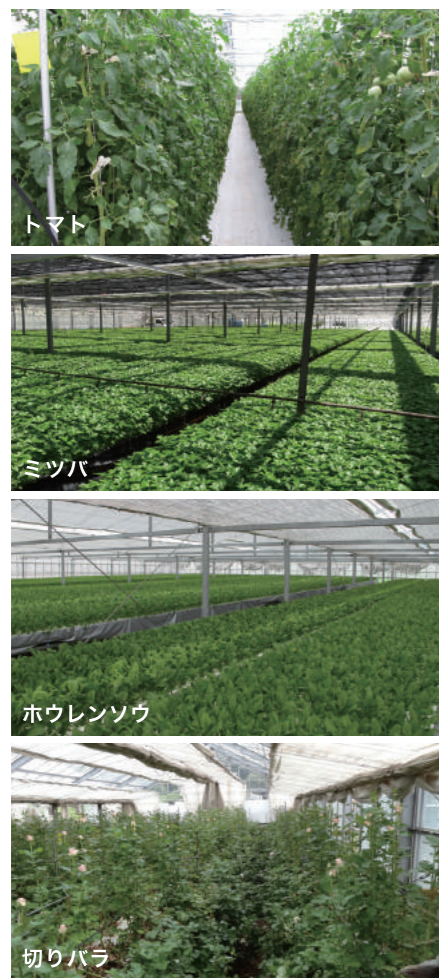


生育旺盛な菌糸を培地と一緒に切り出し、水を入れたチューブに入れて攪拌します。

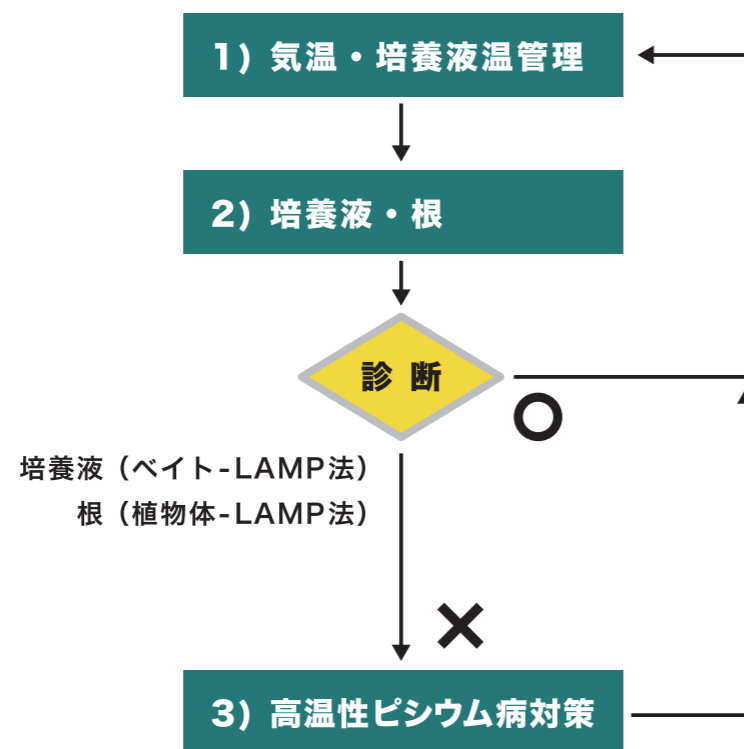
LAMP反応液に加えます。
3 LAMP反応 参照

病害管理ポイントと診断フロー

簡易検出法を利用して高温性ピシウム菌を検出し、安全性診断を行うことでの確な高温性ピシウム病対策を行うことができるようになります。安全性診断マニュアルの各作物編には、トマト、ミツバ、ネギ、ホウレンソウ、切りバラ、ポインセチア編があります(本編 第5章)。それぞれの作物について「いつ」「どこで」「どのように」簡易検出法を利用して安全性診断を行うかが記載されています。



《病害管理と診断フローの例》



例えば、上図の病害管理ポイントと診断のフローでは、各作物編(本編 第5章)にもとづき **1) 気温・培養液温管理** を実施します。そして **2) 培養液・根** などを診断対象として、「ベイト-LAMP法」を用いた定期的な培養液の診断(各作物編に具体的な診断時期が示されています)や植物の生育不良時の「植物体-LAMP法」を用いた根の診断を行います。病原菌が検出されなければ各作物編にもとづき **1) 気温・培養液温管理** と定期的な培養液の診断を継続します。もし、病原菌が検出されれば各作物編の安全性診断票にもとづき **3) 高温性ピシウム病対策(培養液タンクの洗浄、洗浄消毒、発病株の廃棄、手かん水への変更など)** を実施することになります。

マニュアル本編

マニュアル本編はこちらからダウンロードできます
<http://www.green.gifu-u.ac.jp/~kageyamalab/index.html>

養液栽培における高温性水媒伝染病害の安全性診断マニュアル(全162頁)

- 第1章 養液栽培で発生する水媒伝染病害
- 第2章 ピシウム菌について
- 第3章 高温性ピシウム菌の簡易検出法
- 第4章 安全性評価法
- 第5章 各作物編
 - トマト編
 - ミツバ編
 - ネギ編
 - ホウレンソウ編
 - 切りバラ編
 - ポインセチア編



本マニュアルの著作権は著作権者に帰属します。「私的使用」または「引用」など著作権法上認められた場合を除き、著作者に無断で転載、複製、放送、販売などの利用をすることはできません。