

[成果情報名] 現場で迅速にできる LAMP 法を使ったバラ根腐病の診断

[要 約] バラ根腐病を 1 時間程度で診断できる遺伝子診断手法（LAMP 法）を開発した。県内養液栽培ほ場を検査したところ 68.9%で根腐病菌が確認できた。しかし、そのうちの 9 割のほ場では地上部病徴はなく、生産者が汚染に気づいていないことから検査の重要性が明らかになった。

[キーワード] バラ、根腐病、LAMP 法

[担 当] 静岡農林技研・植物保護科

[連絡先] 電話 0538-36-1556、電子メール agrihogo@pref.shizuoka.lg.jp

[区 分] 生産環境（病害虫）

[分類] 技術・普及

[背景・ねらい]

近年、県内バラ生産ほ場で「根腐病」が発生し、培養液を伝って感染が広がるため、対策に苦慮している。本病は発生後に防除する手段がないため、同病原菌の感染を早期に診断することが重要になる。このため遺伝子診断手法の LAMP 法を用いた現場でできる迅速な検査手法を開発した。

[成果の内容・特徴]

- 1 検査の方法は、エゴマ種子を用いた菌の捕捉トラップと LAMP 法を組み合わせた「ベイト-LAMP 法」で実施する。なお、従来のピシウム菌選択培地と捕捉トラップを用いた「ベイト-培養法（渡辺ら 2011）」と本法の検出感度は同等であり、病原菌に関する専門知識がなくても菌の検出が可能である。
- 2 本法はまず滅菌エゴマ種子を栽培ベンチ等の培養液中に 3 日間沈めて、菌を捕捉してサンプルを採取する。次にサンプルを 2ml チューブ内で水に攪拌、懸濁させ、上澄みを根腐病菌である *Pythium helicoides* 検出用プライマー（Fukuta et al. 2014）を加えた LAMP 法の試薬に添加する。これを 65℃、1 時間維持すると、試薬の色の変化で菌の有無を診断することができる。
- 3 本法は特殊な機器は不要で、試薬と保温容器、マイクロピペットがあれば行える。手法の詳細は「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」（<http://www.green.gifu-u.ac.jp/~kageyamalab/index.php?page=manual>）として公開しており、本検査キットは株式会社ニッポンジーンより販売されている。
- 4 県内バラ養液栽培 135 ほ場の汚染状況を調査したところ、68.9%で根腐病菌が確認された（表 1）。そのうち静岡市清水区の農協生産部会内で同年 9 月に発病調査を行ったところ、菌が検出されたほ場のうち 90.3%で地上部病徴が見られず、感染に気付かずに栽培が行われていた（表 2）。

[成果の活用面・留意点]

- 1 本手法を用いて栽培前に定植苗や栽培資材内の根腐病菌の有無を、現地で調査できる。
- 2 LAMP 法は感度が高いため、現地で実施する場合はなるべく清浄な環境下で実施し、また反応後の試薬入りチューブは開けたりせずにそのまま廃棄する。
- 3 地上部の発病が見られなくても、感染が広がっている場合がある。特に発病に品種間差（Li ら 2007）があり、樹勢の強い品種で病徴が確認できない傾向にある。このため改植時には次作に菌を残さないため、本手法により感染の有無を確認することが重要である。検出ほ場では、栽培ベッドの交換や消毒を実施し、なるべく樹勢の強い品種を選定することに留意する。

[具体的データ]

表 1 静岡県内のバラ生産ほ場からの根腐病菌の検出※（2012年）

調査地区	調査対象ほ場数	検出ほ場数 (検出ほ場率%)	調査生産者数	検出生産者数 (検出生産者率%)
静岡市清水区	47	31	15	13
静岡市葵区	27	15	7	6
掛川市	24	18	6	5
菊川市	9	9	4	3
藤枝、焼津、島田市	12	9	5	5
三島市	6	3	1	1
袋井市、森町	10	8	2	2
合計	135	93 (68.9%)	40	35 (87.5%)

※ベイト培養法（エゴマによるトラップと選択培地を用いて検出する手法）により実施した。

表 2 バラ根腐病菌の検出結果とその後の地上部発病状況（2012年）

	調査対象ほ場数 ¹⁾ (ほ場率%)		うち地上部発病ほ場数 ²⁾	
			有 (ほ場率%)	無 (ほ場率%)
検出有	31	(66.0%)	3 (9.7%)	28 (90.3%)
検出無	16	(34.0%)	0 (0%)	16 (100%)
計	47		3 (9.7%)	44 (93.6%)

1) 調査対象：表1の静岡市清水区のほ場、ベイト培養法による検出の有無別ほ場数

2) 根腐病菌検出を行ったほ場における発病調査結果（2012年9月）。ほ場率=発病有無別ほ場数/調査対象ほ場数×100

[その他]

研究課題名：微生物防除資材等を活用した養液栽培で発生する病害の防除

予算区分：県単(2009-2013)、国庫(2011-2013)

研究期間：2009～2013年度

研究担当者：鈴木幹彦、影山智津子、伊代住浩幸

発表論文等：鈴木ら(2013)関西病虫研報(55)：142

鈴木ら(2013)植物防疫 68(6)：26-32