

セルリー萎黄病発病危険度予測の可能性について

- IPM生産手法に役立つ的確な発生予察手法の開発に向けて -



長野県野菜花き試験場 環境部 藤永真史



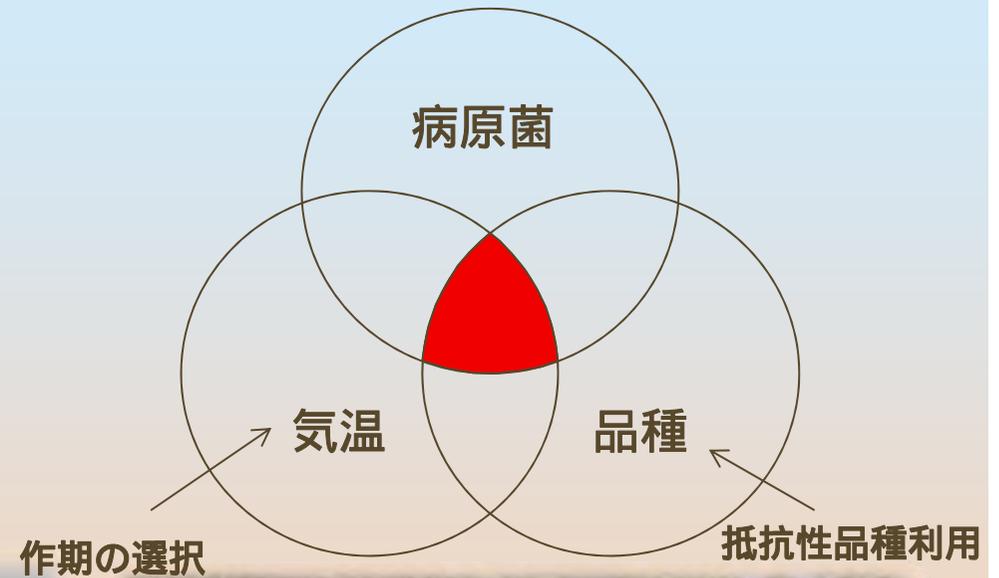
表 長野県で発生している防除困難な土壌病害(抜粋)

作物	土壌病害名
トマト	青枯病 軟腐病 根腐萎凋病 萎凋病
キュウリ	つる割病 カボチャ台木の立枯病
スイカ	つる割病 黒点根腐病 炭腐病
ハクサイ	根こぶ病 黄化病
キャベツ	根こぶ病 パーティシリウム萎凋病
レタス	根腐病
ハウレンソウ	萎凋病
イチゴ	萎黄病 萎凋病
セルリー	萎黄病
パセリ	立枯病 萎凋病 根くびれ病 黄化病



土壌伝染性病害防除の基本的な考え

1. 病原菌を持ち込まない。
2. 早期発見と素早い対応。
3. 土壌環境づくり。
4. 輪作。
5. 地域ぐるみの取り組み。



土壌消毒のいい面、困った面(長野県で見られる事例)

いい面:

土壌中という見えないところの病原菌を殺菌し、病気が発生する前と同じように作物生産ができる。

困った面:

労力がかかる、お金がかかる。作業者に対する刺激が強い。つらい。土壌中の一般微生物まで殺してしまうので、アンモニア態窒素量が多くなり、腐敗性の細菌性病害が発生しやすくなる。土壌中の有機物含量が減る。土壌中の微生物(生育の早い菌)が単純化する。

このことを前段にお話させていただきます。

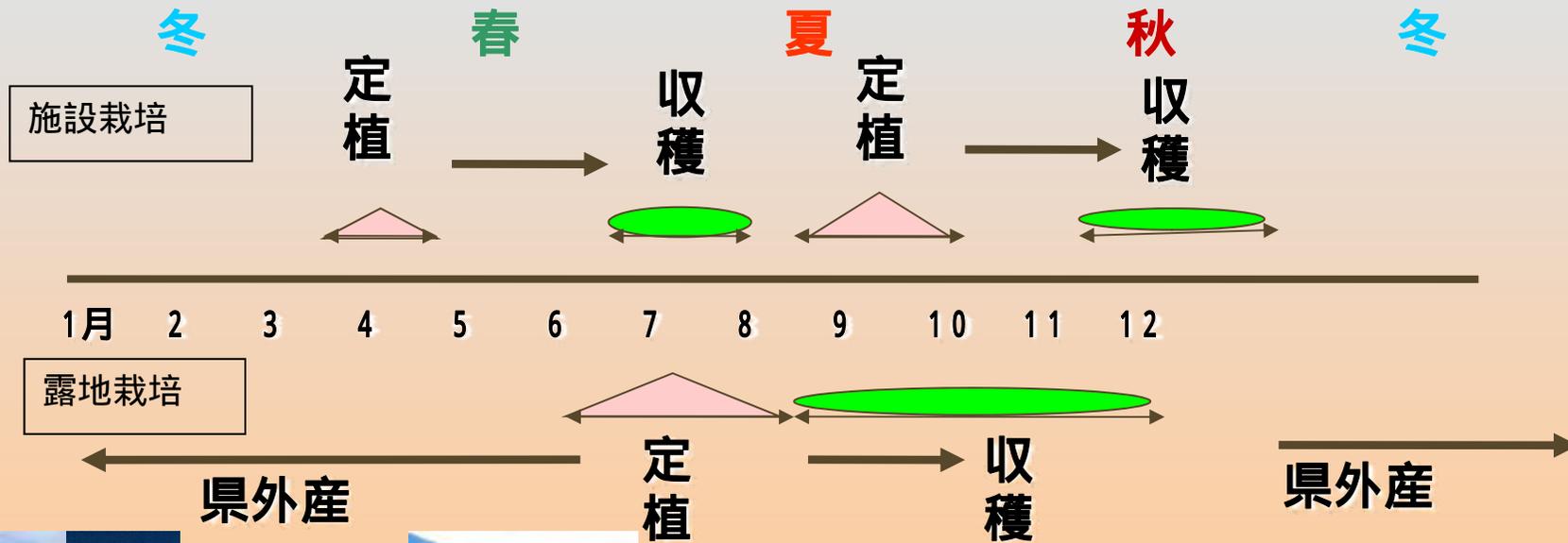
長野県におけるセルリー作付体系



施設栽培



露地栽培



19年度生産実績: 1,139千ケース(10kg)、2,574,723千円

全国作付面積(平成17年度): 678ha 長野県: 272ha、静岡県: 135ha、福岡県: 52ha、愛知県: 42ha



農家の心情_(推測...)
セルリーは高い！
1株のロスも出したくない

セルリー萎黄病



病原菌: *Fusarium oxysporum*

長野県では1986年に県内主産地で発生。

伝染: 被害植物とともに土中に残り, 厚壁胞子で越冬する。いろいろな植物の根圏で増殖するため, 土中の病原菌が長期存在する。

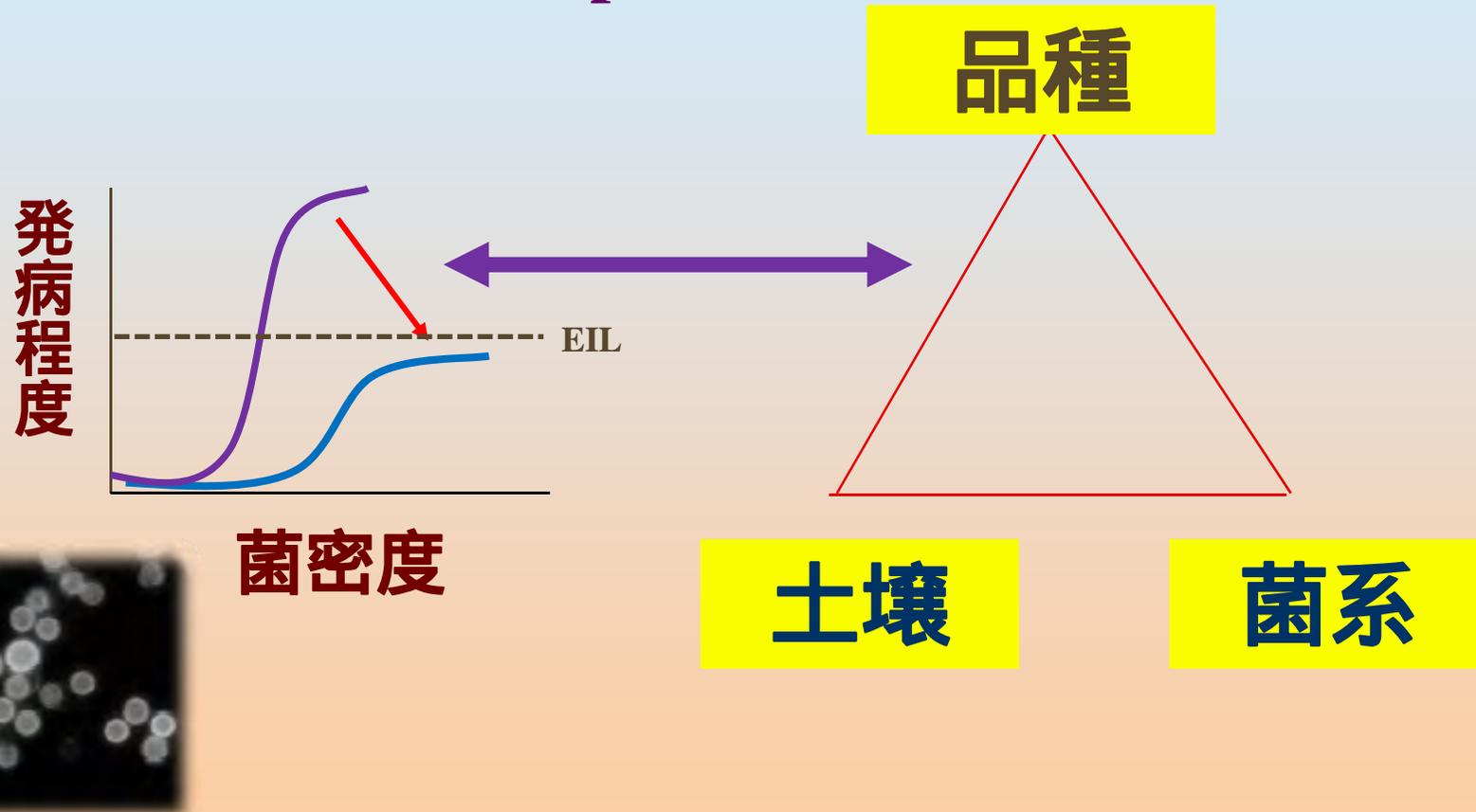
同様な体系で栽培していても....



ある程度、発病を予測できないものだろうか？

ハクサイ根こぶ病での発病危険度予測の事例

Dose response curve



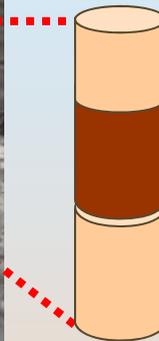
「アブラナ科野菜根こぶ病総合防除マニュアル(村上ら、2003)」より

セルリー萎黄病発病危険度予測にむけて



- ・土壌中の微生物は病害の発生や抑止に大きな影響を及ぼすと考えられる。
- ・土壌消毒処理後の病害発生は、土壌消毒による微生物相の変化が土壌のもつ病害抵抗力を低下させているのではないか？
- ・そこで、セルリー萎黄病(連作)圃場において、土壌消毒処理前後の土壌DNA情報等と土壌の発病危険度(発病しやすさ)の関係を調べ、発病危険度予測手法の開発にむけて検討を始めた。

1. 灰色低地土のセルリー連作圃場における、クホルピクリンくん蒸消毒処理、熱水土壤消毒処理前後における微生物の挙動解析(PCR-DGGE, Nit mutant detection,)



5-15cm
作土層

処理前、 処理後14日、 28日



Nit mutant
detection



PCR-DGGE

2. 土壤消毒処理前および処理後時期別土壌でのセルリー萎黄病菌接種による発病危険度調査



処理前、 処理後14日、 28日

接種菌濃度、 0、 10、 10^2 bud-cells/g. soil



Sample Registration

Physical and Chemical Properties of Soil

eDNA

Experiment

Soil Texture

- S SiCL
- LS SC
- SL LiC
- L SiC
- SiL HC
- SCL ND
- CL

Search

Origin

pH to

Please input the

Crop

Soil Group

Crop (e.g. ...)

Search

Experimental Result

Experimental Result

Sort by :
Number of

Access

DNA Sequence

Target DNA 16S 18S

Sample

Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

Quality Standard Not Standard

DNA Marker Information Marker For Fungus Marker For Bacteria

農耕地eDNAデータベース (eDDASs)

eDNA Database System

mkjadm-d<admin> | [Search](#) | [Registrations](#) | [Menu](#)

Search Results

Sample Detail[000279(Bacterium,standardized)]

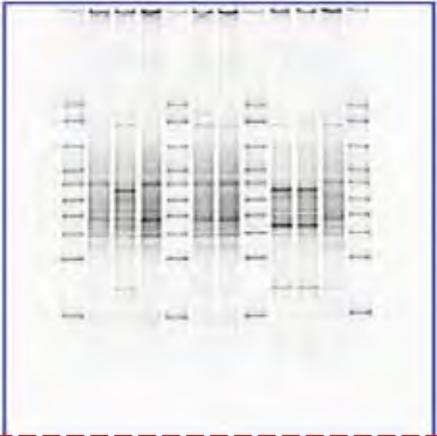
All items are displayed.

[Returns to Search Result.](#)

DGGE Gel Image

[< Previous](#) / [Next >](#)

This sample information described below is about **Lane 2**



Associated Data
Another Methods [bacterium, not-standardized](#)
Repeat Data

Diversity Index

Richness (R)	17
Shannon index (H')	2.595080
Simpson index (1-D)	0.913080

M | [2](#) | [3](#) | [4](#) | M | [6](#) | [7](#) | M | [9](#) | [10](#) | [11](#) | M

Accession Number **Organic Fertilizer**

Accession Number: 000279 Kind of Organic Material

Sample Registration Rate of Application

Year of Continuous

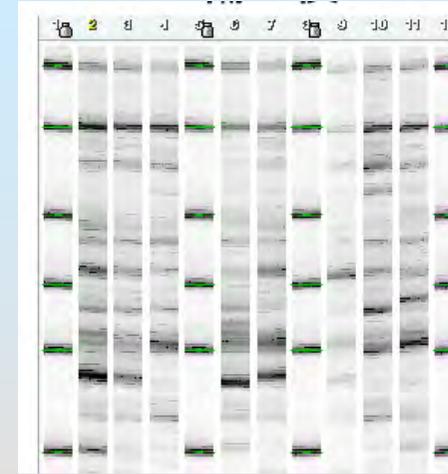
補正後データのデジタル画像

Rで計算した多様性指数 (Diversity Index)。
・Richness (R)
・Shannon Index (H')
・Simpson Index(1-D)
を表示

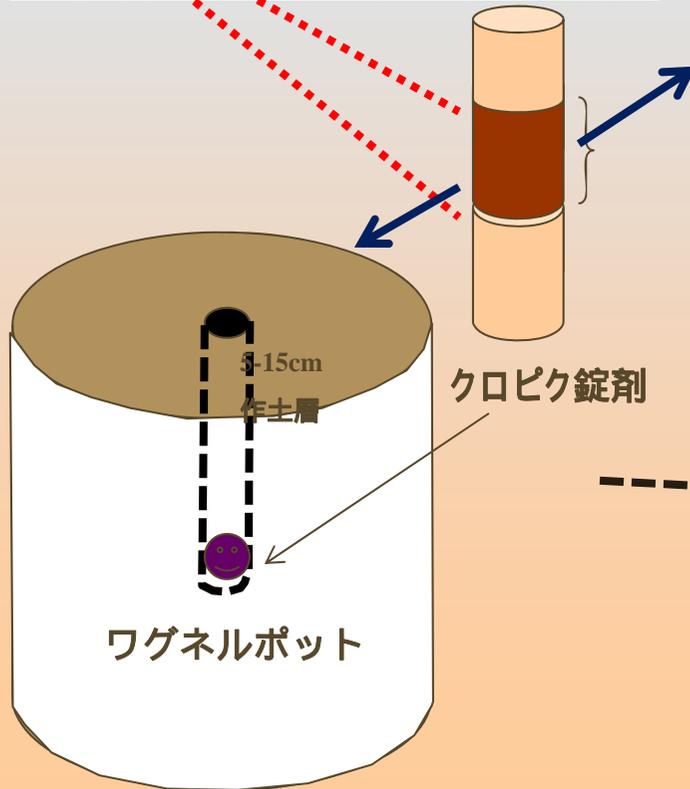
同一ゲル内の他のレーン情報へのリンク



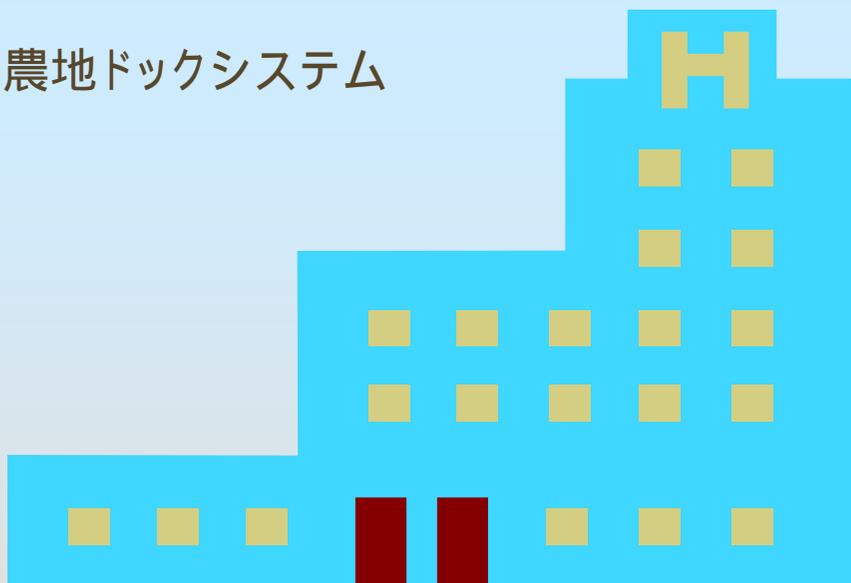
処理前、28日



PCR-DGGE



農地ドックシステム



・土壌診断

「理化学性分析に基づく土づくり」

処方箋・治療

地力回復

「生物性分析に基づく土づくり」

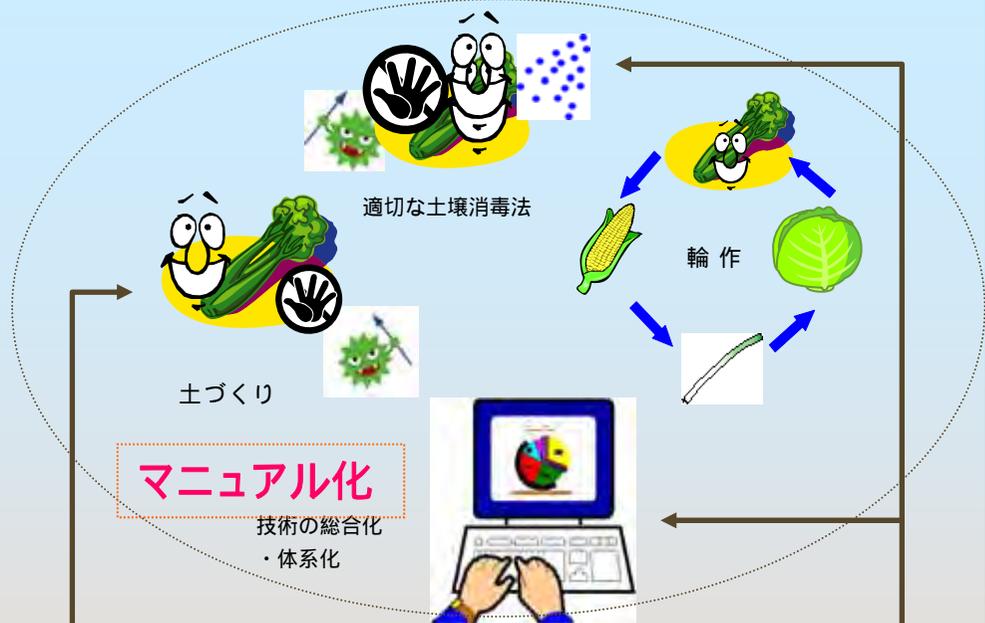
処方箋

抑止力回復

・農地保全管理

・農家の作業支援

相談してみようかしら？



マニュアル化

技術の総合化
・体系化

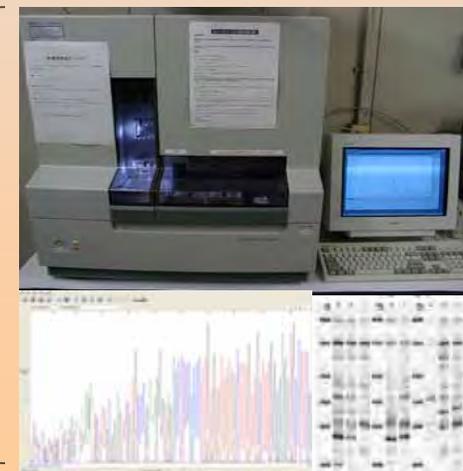


これで安心
地域農業環境と
地域社会！

本研究成果による
技術支援

eDNA プロ

土壌病害抑止のため
対処法を処方する
技術の開発に向けて



PCR-DGGE解析

>1. 作業工程はどれくらいの時間を要するのか？

DGGE自体は 1日半, 朝から準備をはじめて, 次の日の朝までです。土からですと, 土壌抽出, PCRにそれぞれ半日から1日かかりますので, 3~4日かかります。

>2. 一番神経質になるのはどの工程か？

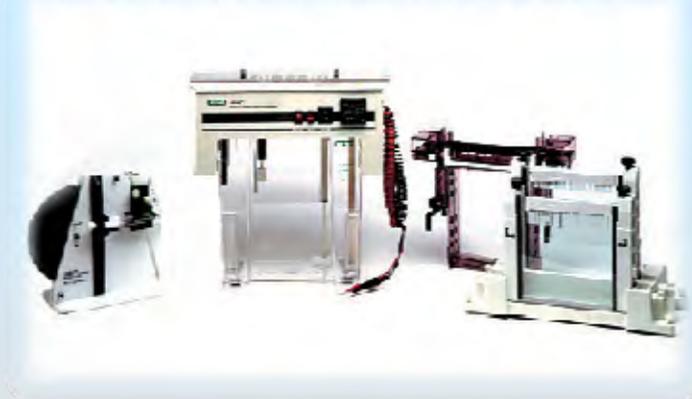
濃度の違う2つの変性ゲルストック溶液を, 専用装置を使って, 時間差で流して, 濃度勾配変性ゲルを作るところです。

DGGE画像のバンドパターンは振れやすいので, この工程を毎回同じようにやるのが肝要と思います。

>3. 素人でもできるようになるのか？

最初に講習を受けたり, 熟練者から習うことでできるようになると思います。

>4. 必要不可欠な備品は何で、幾らくらい費用が必要か？



DCode微生物群集解析システム

BIO-RADホームページより

<http://www.bio-rad.co.jp>

初期費用 約130万円 (+ DGGEゲルを読み込めるスキャナーが必要です)

- ・DCode微生物群集解析システム 105万円
- ・パワーサプライ 15万円
- ・試薬一式 8万4千円

消耗品(試薬, システムでセットになっている備品)が随時かかってきます。