

サトイモ疫病対策マニュアル(2020年版) (技術員向けマニュアル)



このマニュアルは、平成29年2月に宮崎県が作成したサトイモ疫病対策マニュアルに、イノベーション創出強化研究推進事業【29018C】産地崩壊の危機！リスク軽減によるサトイモ疫病総合防除対策技術確立試験による新知見を加筆し、その内容を解説するものです。

令和2年1月サトイモ産地を救う研究開発コンソーシアム

免責事項

本マニュアルへの情報の掲載は注意を払っておりますが、本マニュアルを利用することにより生じたあらゆる損害等について、理由の如何に係わらず一切責任を負いません。

本マニュアルに掲載している情報へのご指摘、ご意見等ありましたら、下記連絡先までお知らせくださいますようお願いいたします。

サトイモ産地を救う研究開発コンソーシアム

研究代表機関

愛媛県農林水産研究所農業研究部
〒799-2405 愛媛県松山市上難波甲311
TEL : 089-993-2020 FAX : 089-993-2569

禁無断転載

本マニュアルへの著作権は「サトイモ産地を救う研究開発コンソーシアム」にあります。記載した情報の無断転用、ホームページ等への掲載を禁止します。図表等の利用を希望される場合は、上記研究代表者までお知らせください。

謝辞

本研究は生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の支援を受けて行いました。

はじめに

サトイモ疫病は、サトイモの主要産地である宮崎県、鹿児島県および愛媛県で、2015年8月の台風通過後に3県で同時に多発生し、収穫量が大幅に減少するなど甚大な被害となったことから、生産者・実需者から喫緊の問題として効果的な防除対策が強く求められました。

しかしながら、国内では過去にサトイモ疫病が大きな問題となることがなかったことから、サトイモ疫病に関する研究はほとんど行われておらず、疫病の伝染源の特定、病原菌の動態や感染メカニズムなど詳細な生態が不明であるため、有効な防除対策が確立できてない状況にありました。

このため、イノベーション創出強化研究推進事業の支援を受け、愛媛県農林水産研究所、宮崎県総合農業試験場、鹿児島県農業開発総合センター、国立大学法人岐阜大学、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構西日本農業研究センターが共同のもと、「産地崩壊の危機！リスク軽減によるサトイモ疫病総合防除対策技術確立試験(2017～2019年度)」に取り組んできました。

その中で得られた成果については農家向け「サトイモ疫病対策マニュアル」を毎年度作成し、対策技術を生産現場に周知してきたところです。今回、農家向けマニュアルの内容の解説版である「技術者向けマニュアル」を刊行することといたしました。本冊子がサトイモ疫病のリスク軽減に広く活用され、サトイモの安定生産に寄与できれば幸いです。

2020年1月

サトイモ産地を救う研究開発コンソーシアム
研究総括者 戸井 康雄

目次

第1章 サトイモ疫病とは何者か	1
第2章 さといも疫病対策としてやるべきこと	15
やるべきこと 1	
発生源の対策	16
やるべきこと 2	
疫病をまん延させない対策	24
やるべきこと 3	
薬剤防除	28
やるべきこと 4	
適正施肥による栄養改善	45
第3章 付録資料	47

このマニュアルの読み方

- 第1章は、サトイモ疫病の生態や考えられる発病条件、被害等を解説しています。
- 第2章は、サトイモ疫病の対策として、「やるべきこと」と「その根拠」についてわけて書いています。

**発生源を放置しない
種芋ほ場にも注意**



疫病菌が越冬する場所

疫病菌が越冬すると考えられるのは、植物体と一緒にあるとき。残さや種芋対策をしっかり行う必要があります。



野良生えの芋

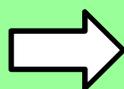


畑に放置された残さ



菌が感染した種芋

**やるべきこと・技術はオ
レンジ色の見出しに
なっています。**



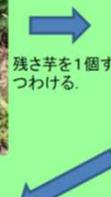
**そのあとにあるクリーム色
の見出しのページが「やる
べきこと」の解説です。**

**発生源は何か
発生源と思われる残さと種芋**

- さといも疫病の胞子や菌糸は、土壌中での生存能力は弱いとされます。
- このため、芋などの生きている組織上や組織中で越冬し、次作に伝染すると考えられます。
- まだ詳細は十分解明されていませんが、越冬している芋は重要な伝染源であると推定されています。



放置された芋の残さ



残さ芋を1個ずつ
つわける。



残さ芋をコップに入れて水を入れる

- 第3章は、本マニュアルに掲載した対策技術の根拠とした試験データおよび遺伝子による疫病検出技術法をマニュアルとして掲載しています。
- 巻末には、研究担当機関とその連絡先が記載してあります。必要なお問い合わせください。

第1章 サトイモ疫病とは何者か

さといもの疫病菌の寄主植物と分布

学名: *Phytophthora colocasiae*(フィトフトラ コロカシエ)

ジャガイモ疫病:フィトフトラ インフェスタンス (*Phytophthora infestans*)

ピーマン疫病 :フィトフトラ カプシシー (*Phytophthora capsici*)

タバコ疫病 :フィトフトラ ニコチアナ (*Phytophthora nicotianae*)

キュウリ疫病 :フィトフトラ メロニス (*Phytophthora melonis*)

他の作物の疫病と近縁だが別のものです。

分類: うどんこ病などが糸状菌であるのに対して、疫病菌は卵菌類に分類され、厳密には「カビ」ではなく、原生生物の仲間です。

卵菌類には、キュウリのべと病菌や、苗立枯病を起こすピシウム菌などがあり、他の糸状菌による病原菌に対する殺菌剤では対応できないことが多い生物です。

寄主植物: さといもやタロ芋などの仲間には感染例がありません。

分布: 日本, 中国, 台湾など東アジア
フィリピン, インドネシアなど東南アジア
インドなど南アジア
パプアニューギニアなどメラネシア
ナウル, パラオなどミクロネシア
トンガなどポリネシア
ハワイ

タロ芋などさといもの仲間は、アジア・オセアニアなどタロ芋を主食とする地域を始め、世界中で広く栽培されています。サトイモ疫病は、さといもを栽培している地域のなかで、高温・多湿な地域に広く発生しています。

日本でも昔から知られている病害でしたが、近年のように広範囲に収量低下をもたらす、海外のような爆発的な発生は知られていませんでした。

どのような被害か

環太平洋のさまざまな場所で、25～50%の球茎収量の減少が報告されています。フィリピンでは球茎収量の25～35%の損失が記録されていますが、極端な場合には、ハワイのさまざまな栽培品種で95%の損失が記録されています。

日本では昔から知られていましたが、現在のような激しい発病は平成26年ころから確認されています。例えば宮崎県は加工・業務用さといも生産日本一の産地でしたが、疫病の発生により収穫量が約3割減少しました。

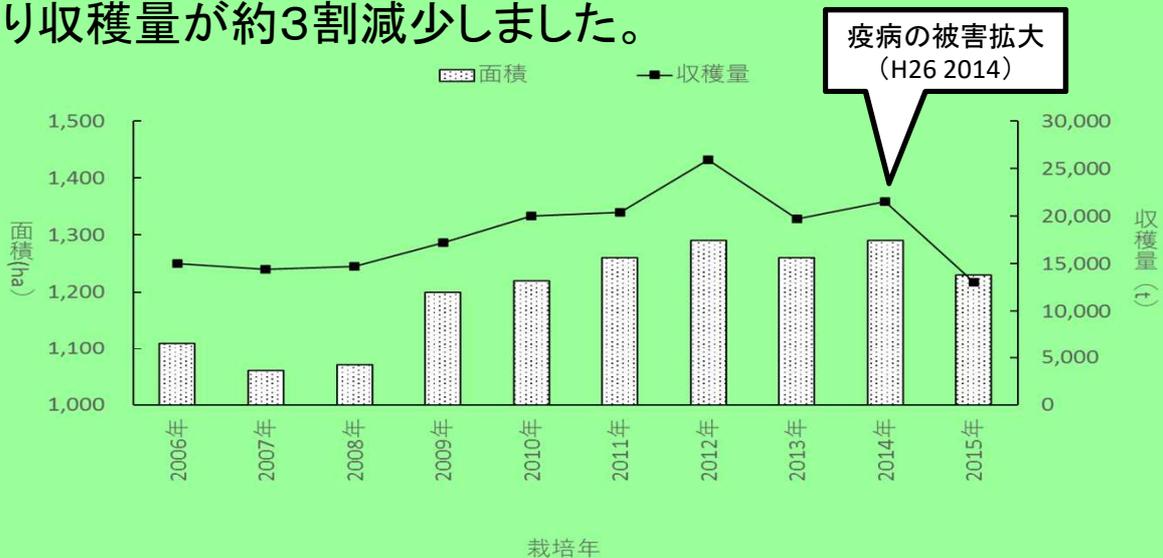
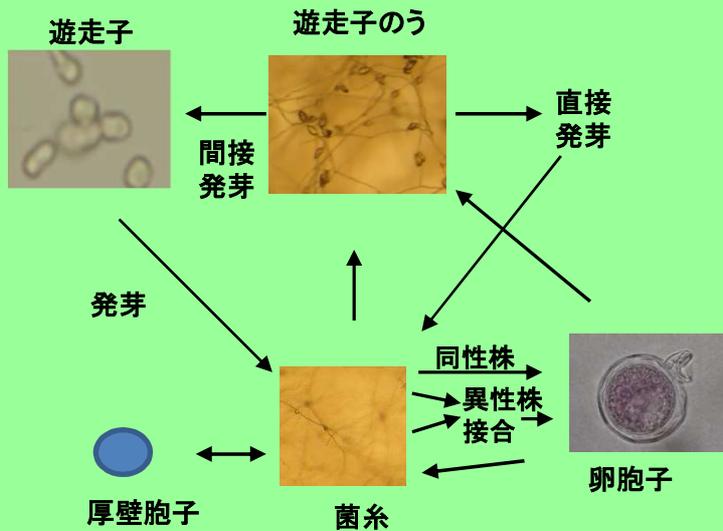


図1 宮崎県におけるさといもの栽培面積と収穫量の推移
(農林水産省作況のデータより作成)



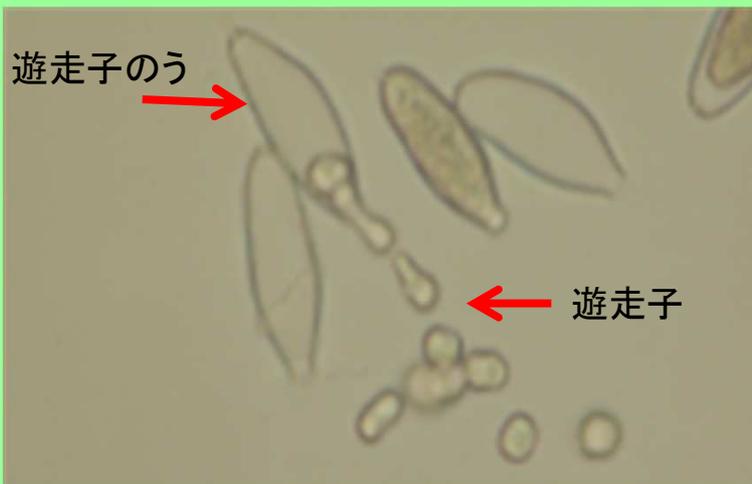
感染すると葉や葉柄に病斑が現れ、激しく発症した場合は、ほぼ全ての葉が失われます。

生活環



一般的な疫病菌の生活環

- ・ 卵菌類には、うどんこ病菌などの糸状菌(カビ)と同じく、菌糸があります。
- ・ 糸状菌のような分生胞子はなく、その代わり「遊走子」という水の中を泳ぐ鞭毛を持つ胞子のようなものが散らばり、感染が拡大します。
- ・ その遊走子の入れ物が「遊走子のう」というもので、この中に複数の遊走子が入っています。
- ・ 遊走子のうから遊走子が水の中に泳ぎ出ますが、遊走子のうが出ること無く、遊走子のうがそのまま発芽して植物に感染することがあります(直接発芽)。



サトイモ疫病の「遊走子のう」と泳ぎ出す遊走子

その他に、耐久性が高く長く生存するとされる卵孢子があります。A1型という菌の系統とA2型という系統の菌が、接合すると卵孢子を形成します。他の菌と接合しなくても卵孢子を形成する系統も存在しますが、希です。

ただし、実験的には卵孢子が形成できますが、サトイモ疫病菌の場合、自然界で卵孢子を確認した事例は、世界でも例がありませんので、実際にどれくらいの脅威になっているかは不明です。

実験的に容易に卵孢子が得られるので、どこかに存在しているのだろうと想定しています。

また、菌糸の一部が丸く胞子のような形になる厚壁孢子があるとされていますが、確認できていません。

発病までの伝染経路



野良生えの芋



放置された残さ



菌が感染した種芋

遊走子嚢(のう)



遊走子

感染・発病

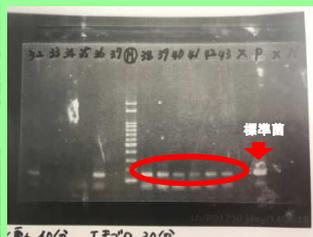


伝染源は、菌が感染した種芋，圃場に放置された残さ，圃場周辺にある野良生えのサトイモであると考えられています。

前年に作付けした圃場で，残さが発芽する前に，排水路にエゴマの入った袋を設置



ネットにエゴマが入っている



エゴマから生えた菌にサトイモ疫病菌が含まれることを遺伝子診断で確認(標準菌と同じ高さにバンドがある)

推定



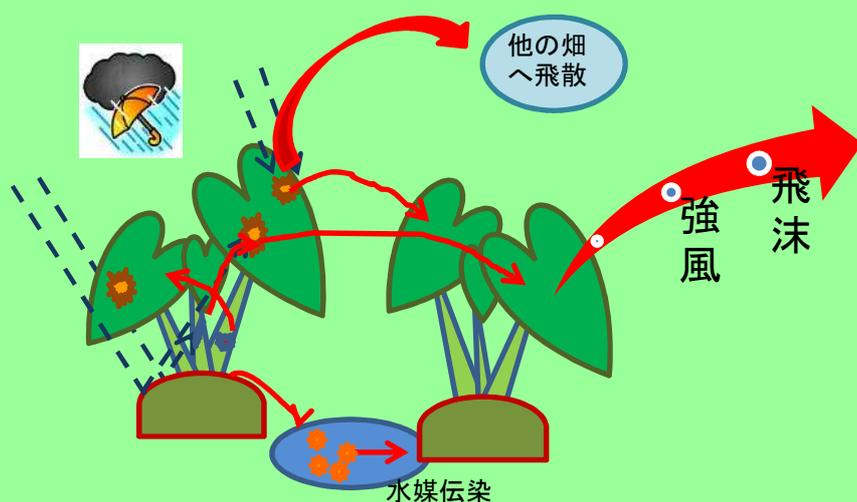
畝間に水が溜まっていると，ここに土中にある疫病菌から遊走子が泳ぎだし，水に触れている葉が感染するというような伝染環があることが推定されます。

ベイトトラップ法

エゴマの種子が疫病菌を寄せ集めることを利用して，生きた疫病菌を捕まえる方法。このエゴマを培地に乗せ，生じた菌糸をPCR法やLAMP法などの遺伝子診断法で検定する。

発病後の蔓延経路

- 一旦、発病すると、風雨により感染が拡大します。
- 特に台風の接近では、一気に発病が拡大する傾向があります。



まん延・被害拡大

「疫病」と表現されるほど、感染が始まると、あっという間に広がってしまいます。

条件が合えば、菌がついて72時間で枯れますから、台風等で強風雨が続いた場合は、台風通過後に一面に被害が見えることがあります。

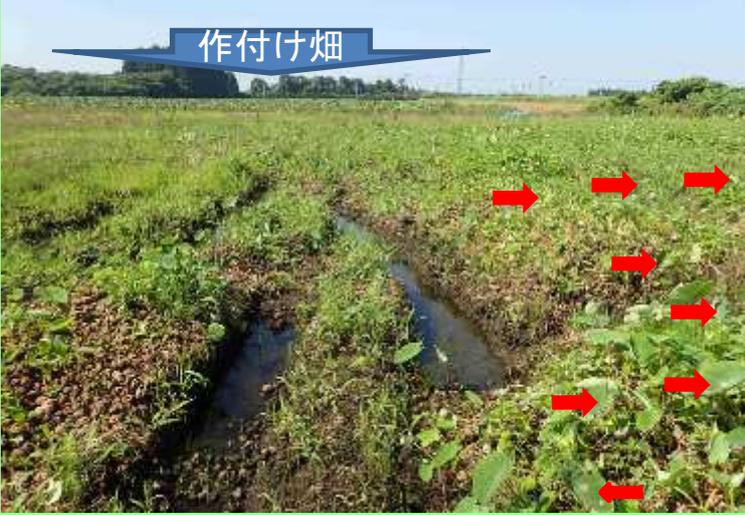


遊走子接種24時間後



遊走子接種72時間後

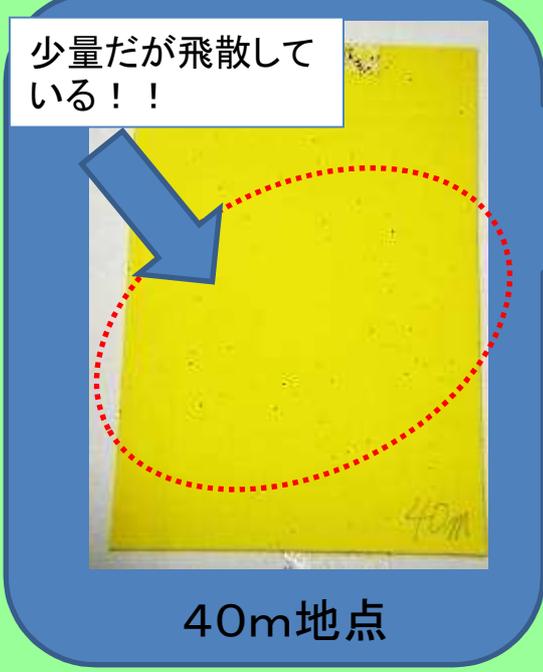
【解説】 水の飛沫は遠くまで飛ぶ！！ 畑の近くに発生株があると危険！！



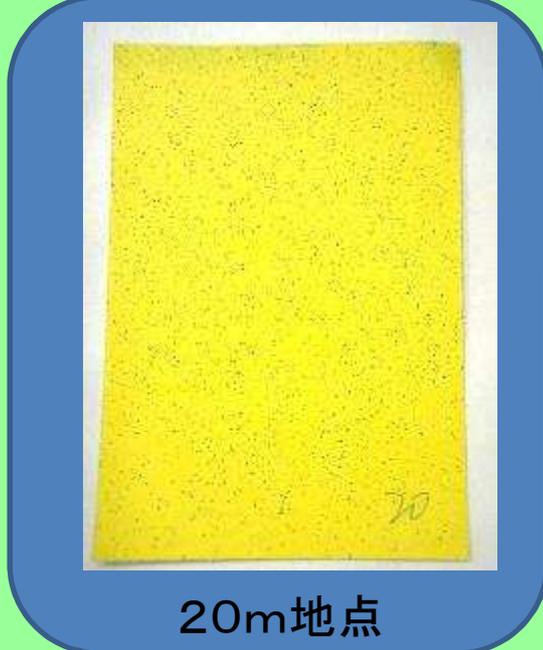
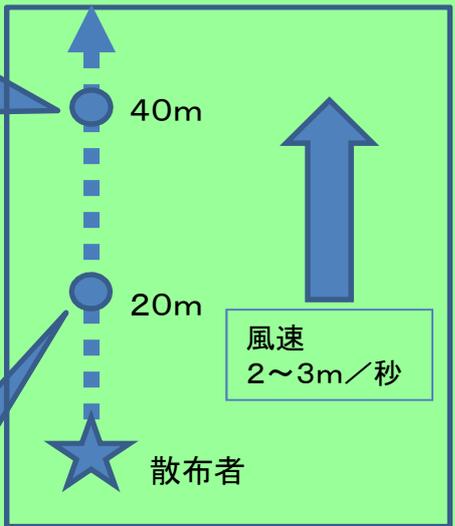
風速2～3mという微風するとき、散水すると飛沫は40mは飛んでいる。

疫病発生株の100m先の株に伝染した事例もある。

少々離れているように感じる距離でも、風雨が強い場合には疫病は伝染すると考えるべき。



※ → : 疫病発生株



～感水紙による飛散状況の調査事例～



具体的被害は

茎葉の被害

葉の病斑では、遊走子のうが多数形成されたところが白く見えます。最初は少ない病斑数は徐々に増加し、1つの病斑が拡大したり、複数の病斑がつながって、葉の面積のかなりの部分を占めるようになります。

また、葉柄部にも発病し、発病部位から折れて葉が失われます。葉の病斑よりも目立たないものの、葉柄が折損した場合は葉が失われるため、さといもの光合成に対する影響は、葉柄部の被害の方が大きいといえます。



葉の病斑



感染した葉の増加



茎葉の喪失



葉柄の病斑



葉柄の病斑からの折損



芋の被害

芋の内部にも疫病菌は侵入し、芋の腐敗を起こします。細菌が重複感染することがあり、貯蔵庫などでは一層ひどく腐敗することがあります。

芋に感染するメカニズムは不明ですが、芋に菌を接種すると腐敗が再現できますので、地上部で感染した菌がそのまま芋に侵入する場合と、収穫調整時の傷から侵入するパターンが考えられます。



芋の腐敗



芋の水浸状の腐敗



分離される細菌による腐敗

疫病菌だけでも芋を腐敗させますが、細菌の重複感染で一層ひどく腐敗します。

分離される細菌だけでも、ジャガイモを腐敗させるだけの病原力を持っています。

合併症

軟腐病 *Pectobacterium carotovorum*

疫病の病斑から細菌 (*Pectobacterium carotovorum*) に感染することがあります。



疫病の病斑



軟腐病の病斑

疫病の病斑は、乾いた茶褐色であるのに対して、細菌が感染すると黒みを帯びた水浸状の病斑になり、濡れた紙が破れるように、破れていきます。症状が進むと、葉全体が溶けるように破れ、葉柄まで溶けるように崩れていきます。



軟腐病の場合は病斑が乾かず
ボロボロと破ける



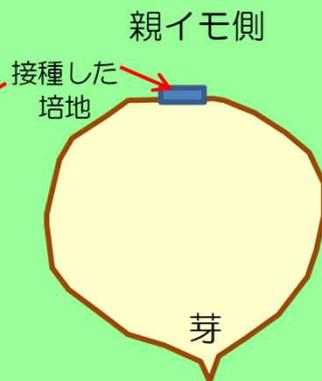
症状が進むと、葉と葉柄が
ドロドロに溶ける

この病害は、必ずしも疫病の病斑から感染するというわけではなく、ハスモンヨトウやセスジスズメなどのチョウ目害虫の食害痕や、台風などの強風による葉の破れや葉柄の折損部から感染することがあります。

前ページで紹介した芋の腐敗部からも軟腐病菌が分離できることから、葉や葉柄に感染した軟腐病菌が塊根部まで浸潤し、芋に被害を発生させている可能性が強く示唆されます。疫病との合併症と考えて対策を行うべきでしょう。

後述するジーファイン水和剤は、いも類の軟腐病に農薬登録があるので、本剤の散布は、疫病対策としてだけでなく軟腐病対策としても重要です。

【解説】 芋の傷からも疫病に感染する ～収穫調整時にできる傷に注意～



収穫調整時に、親芋から切り離した傷に、培養した菌を乗せると、感染します。



図 サトイモ疫病菌接種96時間目の種イモ断面の様子（8月21日撮影）
黄色点線は*Phytophthora*検出用イムノストリップ用としてサンプルを採取した部位

菌の浸潤は速やかで、菌の接種96時間後には、芋の深い部分まで到達します。

このため、

- ①雨の日など疫病菌が活発に分散するときには、屋内で調整すること。
- ②付着した土から感染しないようにするため、速やかに洗浄し乾燥させること。
- ③種芋用は直ちに種子消毒を行うこと

が必要です。

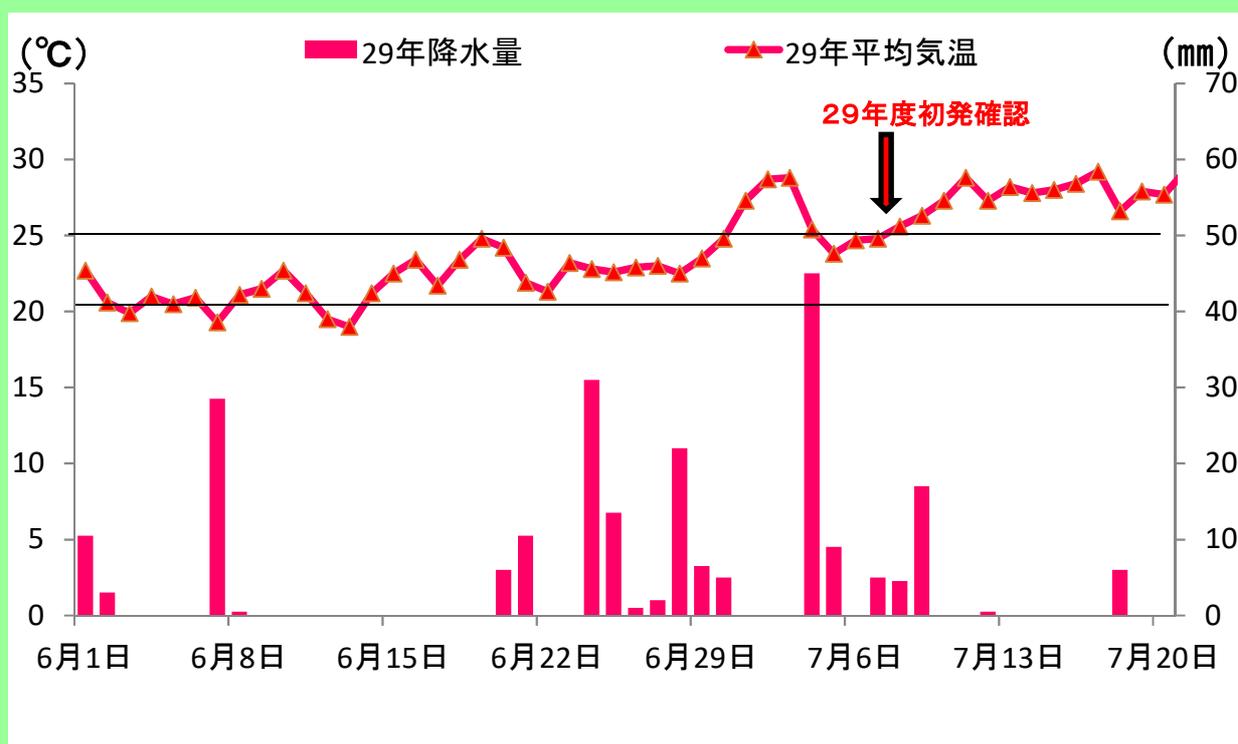
発病のタイミング

発病は、25°C程度が好適と思われるが、各県の結果からは、「気温は25°Cよりやや低く、雨を伴う日」で広く発病してくると思われます。

宮崎県(2019年)



愛媛県(2019年)



発病のタイミング(令和元年の事例)

宮崎県における令和元年の初発の確認は、各地点とも半旬降水量400mm以上のまとまった降雨があった以降、平均気温(半旬)が概ね25℃を超えた1~2半旬後でした

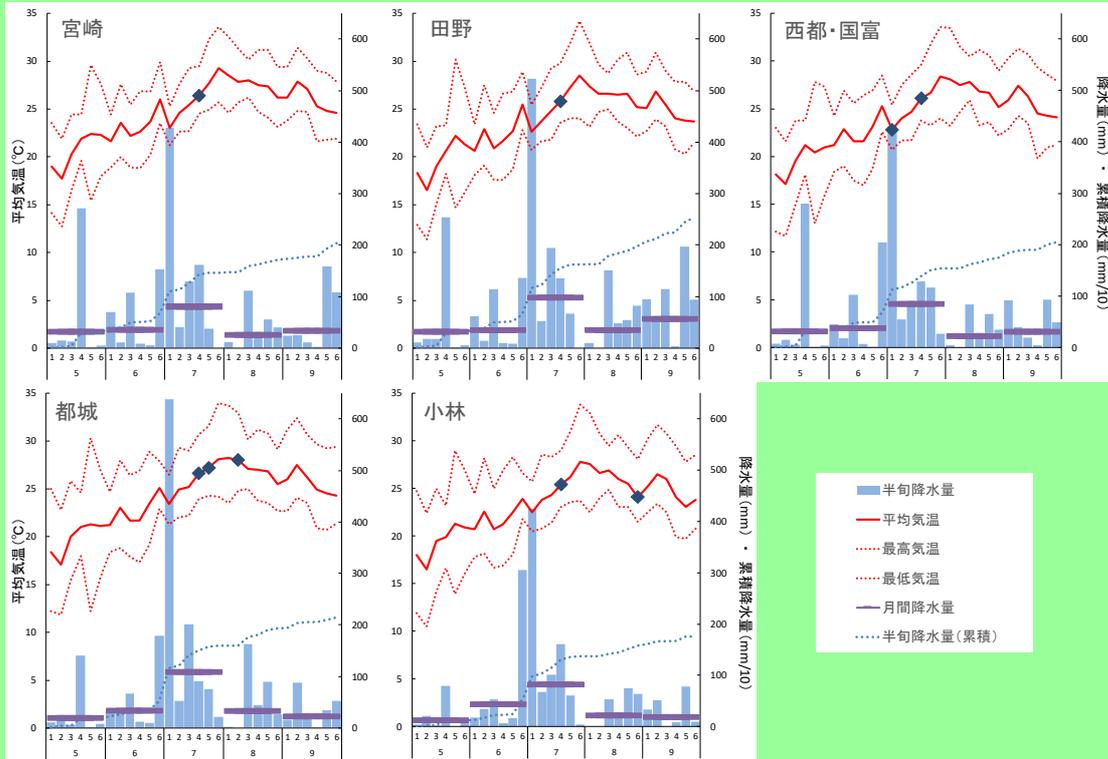


図 ほ場における疫病の初発時期および最寄りのアメダス観測所における平均気温・降水量の推移

平均気温の折れ線グラフ中の◆は疫病の初発時期を示す。

降水量の折点線は累積降水量 (mm/10)、■横バーは半旬別降水量の月平均を示す。

初発確認日前の日別の気温と降水量をみると、各地とも2~4日前に日降水量50mm以上かつ日平均気温25℃以上の日が出現していました。

初発 前日数	西 都					宮 崎					田 野					都 城					小 林				
	月/日	日降 水量 (mm)	気温(℃)			月/日	日降 水量 (mm)	気温(℃) *			月/日	日降 水量 (mm)	気温(℃)			月/日	日降 水量 (mm)	気温(℃)			月/日	日降 水量 (mm)	気温(℃)		
			平均	最高	最低			平均	最高	最低			平均	最高	最低			平均	最高	最低			平均	最高	最低
-20	6/14	72	21.0	22.6	18.9	6/27	30	26.5	29.9	24.3	6/26	29	23.1	26.2	20.5	6/26	33	23.5	26.7	20.2	6/27	30	24.6	27.6	22.3
-19	6/15	29	22.0	27.8	19.1	6/28	22	26.3	31.9	23.8	6/27	45	25.7	28.4	23.4	6/27	37	25.9	28.9	23.5	6/28	88	24.0	27.2	22.4
-18	6/16	0	22.8	28.1	16.2	6/29	16	26.8	31.4	23.7	6/28	29	25.2	30.8	23.2	6/28	64	24.9	28.7	23.1	6/29	10	24.4	27.5	21.0
-17	6/17	0	21.7	25.9	16.8	6/30	64	26.7	28.5	24.3	6/29	16	26.3	31.1	22.0	6/29	18	25.3	28.5	22.4	6/30	102	24.9	26.8	23.6
-16	6/18	3	20.4	24.9	17.8	7/1	127	23.0	24.9	21.4	6/30	18	27.1	28.2	25.1	6/30	28	25.9	26.9	25.1	7/1	175	22.5	24.6	21.1
-15	6/19	3	20.3	24.3	17.9	7/2	28	21.9	22.9	21.1	7/1	156	22.8	26.0	20.9	7/1	223	24.4	26.0	22.7	7/2	60	21.8	23.1	20.6
-14	6/20	0	22.9	28.8	16.2	7/3	271	21.6	22.3	21.0	7/2	46	21.5	23.0	20.2	7/2	42	22.8	24.8	21.6	7/3	187	20.9	22.3	20.2
-13	6/21	0	23.4	27.2	20.1	7/4	2	23.8	27.3	20.9	7/3	319	21.1	22.1	20.4	7/3	372	21.5	23.2	20.5	7/4	4	23.7	29.4	20.0
-12	6/22	0	23.5	27.7	18.3	7/5	0	24.9	29.0	21.7	7/4	3	23.6	27.2	20.4	7/4	2	23.7	29.4	20.4	7/5	0	23.8	29.2	20.6
-11	6/23	0	22.7	25.0	19.7	7/6	1	25.1	28.7	22.4	7/5	0	24.1	28.6	21.4	7/5	0	24.5	29.1	21.3	7/6	8	24.1	31.0	19.7
-10	6/24	0	22.4	26.6	17.7	7/7	0	25.3	28.5	22.2	7/6	8	23.7	28.7	21.2	7/6	0	25.2	30.8	21.9	7/7	0	25.2	31.3	20.8
-9	6/25	2	23.4	28.0	17.6	7/8	13	24.0	26.8	22.9	7/7	0	24.7	28.9	21.0	7/7	0	26.2	31.7	21.1	7/8	8	22.9	26.5	21.5
-8	6/26	16	23.5	26.4	20.9	7/9	0	24.8	28.6	22.4	7/8	14	23.2	26.0	21.7	7/8	7	24.2	28.5	22.5	7/9	0	24.2	30.3	20.3
-7	6/27	17	26.1	29.1	23.9	7/10	28	23.9	25.2	23.2	7/9	0	23.9	28.3	21.7	7/9	0	25.1	29.7	21.7	7/10	52	22.7	24.1	21.9
-6	6/28	27	25.4	29.5	23.3	7/11	3	27.1	31.1	23.5	7/10	30	23.1	24.2	22.3	7/10	46	23.8	25.7	22.8	7/11	4	25.3	29.1	22.6
-5	6/29	13	25.6	30.0	21.2	7/12	0	26.6	32.3	23.2	7/11	4	25.9	29.3	22.9	7/11	13	26.3	29.1	23.3	7/12	0	25.3	30.4	21.3
-4	6/30	50	26.0	27.3	23.9	7/13	28	22.6	24.3	20.1	7/12	0	25.9	31.5	21.2	7/12	0	25.9	31.2	22.0	7/13	45	21.6	25.3	18.5
-3	7/1	155	22.8	24.5	21.6	7/14	99	25.4	29.6	23.5	7/13	26	22.3	27.8	19.3	7/13	28	23.5	26.7	19.4	7/14	53	24.0	26.3	22.5
-2	7/2	53	21.6	22.9	20.3	7/15	0	25.5	29.1	23.3	7/14	166	25.1	28.6	23.3	7/14	161	24.9	27.6	23.4	7/15	0	25.1	30.3	22.2
-1	7/3	215	21.5	22.2	21.0	7/16	0	25.5	28.9	23.9	7/15	0	25.2	29.1	22.2	7/15	0	25.6	30.5	22.9	7/16	0	25.1	29.8	21.8
初発	7/4	0	23.7	28.1	20.3	7/17	0	26.6	30.3	24.4	7/16	0	24.8	29.0	22.8	7/16	0	25.1	29.7	22.9	7/17	0	25.7	30.6	22.9

■ 日降水量: 50mm以上、気温: 25℃以上
■ 日降水量: 30mm以上50mm未満、気温: 23℃以上25℃未満

**【解説】 平均気温25℃だけが発病スイッチではない
～目に見える前の兆しは何か～**

鹿児島県の調査では、発病前10日間の平均気温が21℃程度になると発病しています。

広く発病するのが平均気温25℃よりやや低い、24℃としても、その前に人知れず発病する条件があるはずで、そう考えると、平均気温が21℃になってきたら、そろそろ発病すると考えましょう。

そして、平均気温が24℃になって、雨をとともなうなら、「見えないけどどこかに発病がある」と考えて防除を行いましょ。

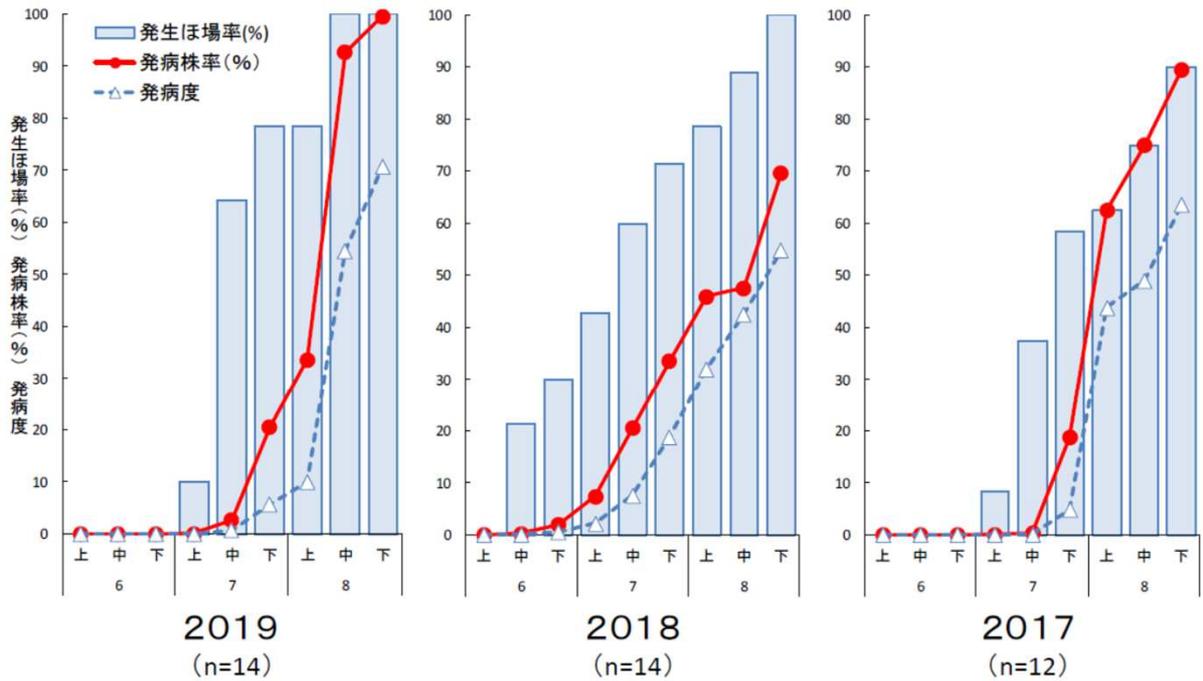
(p のいろいろな菌の項も参照してください)

表 鹿児島県におけるサトイモ疫病の初発時期と日平均気温

年	地域名	初発時期	平均気温*1 (°C)	備考
			初発前～10日間	(アメダス観測地点)
平成28年	沖永良部島	4月中旬	21.1	沖永良部
	県本土	6月上旬	21.2	大隅
平成29年	沖永良部島	5月上旬	20.8	沖永良部
	県本土	6月29日	21.7	溝辺
平成30年	沖永良部島	5月中旬	23.5	沖永良部
	県本土	6月下旬	25.6	鹿屋
令和元年	沖永良部島	5月7日	22.3	沖永良部
	県本土	6月18日	24.3	鹿屋

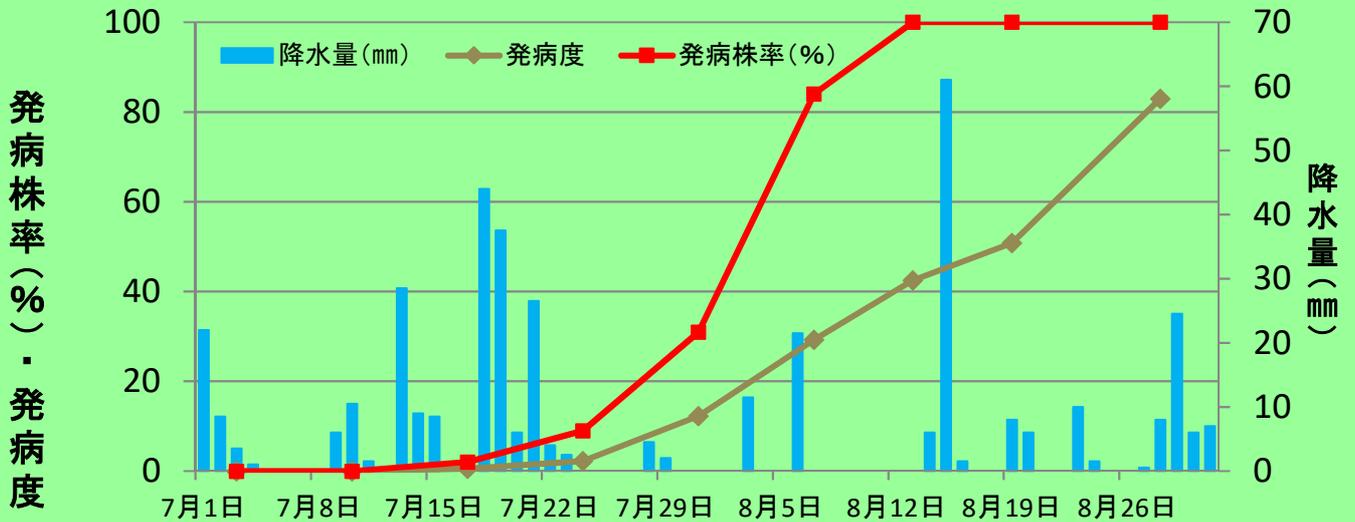
*1 平均気温は、最寄りのアメダス観測地点での日平均気温を用いている。

被害は急激に拡大する



サトイモ疫病の発病株率、発病度および発生ほ場率の推移
(n:調査ほ場数)

愛媛県四国中央市 2019年



散布月日	6月17日	6月26日	7月18日	8月9日	8月24日
薬剤	ジーファイン	ジーファイン	アミスター-20	アミスター-20	アミスター-20



8月7日



8月13日



8月28日

第2章

サトイモ疫病対策技術と その解説

サトイモ疫病に対して
「これだけで良い」
という対策技術はありません。

このため、複数の対策を組み合わせて、防除を行います。
薬剤だけでは高コスト重労働になりますので、なぜその対策が
推奨されているかを良く理解して、実施してください。

複数の技術を組み合わせることで、省力低コストで確実な効果
を得ることが出来ます。

第2章 さといも疫病対策として やるべきこと

「疫病」と名のつく病害は、発生し始めると急激に蔓延し、大きな被害を発生させます。

現在のところ、使用できる農薬は限られているので、できるだけ発生しないように、できるだけ蔓延しないように、できるだけ被害が少なくすむように、準備しておかなければいけません。

発生してからできる対策は少ないので、しっかりとした準備が必要です。

やるべきこと4箇条

1. 発生源の対策



- ①残さの適正な処分
- ②種芋の消毒

2. 疫病をまん延させない対策

- ①散布通路の確保
- ②排水対策の実施



3. 薬剤防除

- ①早い時期からの防除開始
- ②定期的な薬剤散布



4. 適正施肥による栄養改善

やるべきこと1 発生源の対策①

種芋ほ場にも注意

疫病菌が越冬する場所

疫病菌が越冬すると考えられるのは、植物体と一緒にあるときです。このため、残さや種芋対策をしっかりと行うことが必要です。



野良生えの芋



畑に放置された残さ



菌が感染した種芋

- ・特に、昨年の畑に種芋をそのまま保存した場合には、5月までに必ず残さを分解させましょう。
- ・同じ畑で連作しないが、発生源から数百mはすぐ拡散します。

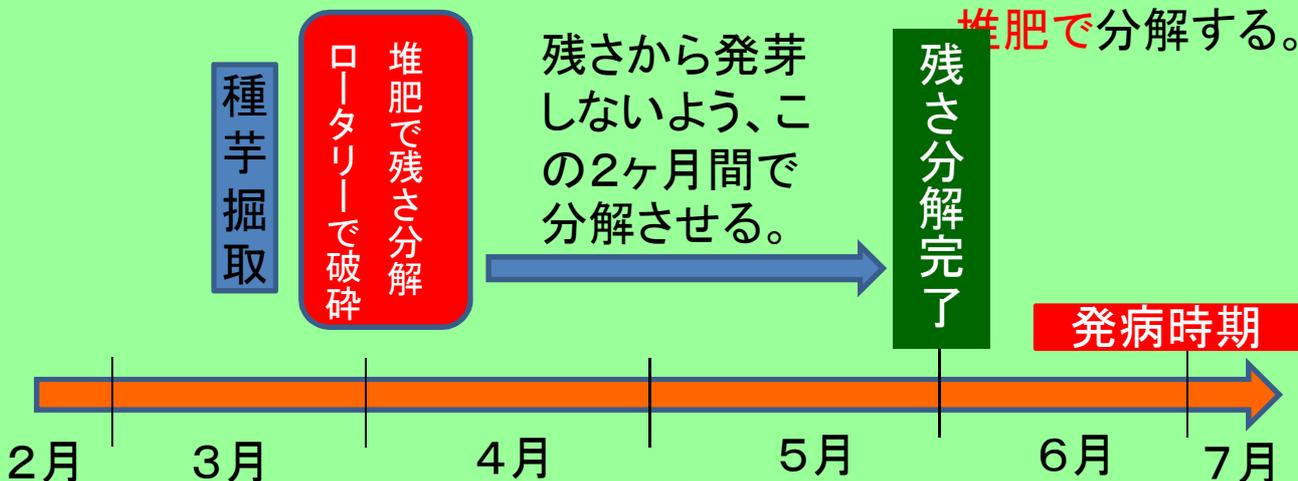


種芋畑に残さを放置してはいけない。

残さを破砕し、堆肥の微生物で分解する。残さ分解用の微生物資材を活用しても良い。



ロータリーで破砕し、堆肥で分解する。



やるべきこと1 発生源の対策②

野良生えの芋や残さを放置しない

1)ロータリーで残さを破碎し、早々に分解させる。



ロータリー1回では、なかなか破碎できない。 2～3回のロータリーでも完全ではない。

さといもは基本的に同一畑で連作しませんが、近隣に残る前年の残さが第一の発生源となります。種芋掘り取り後は、定期的にロータリーを数回かけて、残さを分解させましょう。それでも、残さの分解に1ヶ月以上はかかりますので、十分余裕をもって作業しましょう。

2)野良生えの芋を除草剤で枯らす



除草剤を用いて葉を枯らすのも有効

茎葉を短時間で枯死させるため、除草剤の利用は有効です。

ただし、下表に例示したプリグロックSLやラウンドアップマックスロードを使用して茎葉が枯れても、地下部が生き残り、その後再生してくる株があるので、再度の処理を行います。

栽培ほ場内ではなく、雑木林などの野良生え対策を行うなら、デゾレートAZ粒剤／クロレートS粒剤／クロレートSL粒剤が使用できます。使用できる条件は農薬登録内容をご確認ください。

表 除草剤の事例: のり面など栽培植栽地以外に自生するサトイモを枯らす場合のプリグロックSLの登録内容(平成29年2月22日現在)

作物	適用雑草	使用量	使用方法	使用時期	本剤の使用回数	適用場所	散布液量
樹木等	多年生雑草	1500～2000ml/10a	植栽地を除く樹木等の周辺地に雑草茎葉散布	雑草生育期	3回以内	公園、庭園、堤とう、駐車場、道路、宅地、のり面等	100～150L/10a

注)使用できる除草剤の1例である。

ジクワットを含む農薬の総使用回数は3回以内、パラコートを含む農薬の総使用回数は3回以内である。

**【解説】 放置したさといものいろいろ…
何げなく・いろんなところにある**



意識しないと気づかないくらい
の小さなさといものが、土手や木
陰に自生していることがある。

遠くからみたときには気づかな
いが、発病した葉が隠れている
ことが多い。

栽培ほ場脇の土手に自生



一見、発生が無いきれいな葉の
自生さといも

よく見ると、地面に発病葉があ
る。



次年度の種芋として畑に残し
ている株は、次年度に疫病菌を
維持してしまう可能性がある。

種芋を残していた畑の周囲で
は、特に発生対策を厳重に行う
必要がある。

種芋として畑に残している株

やるべきこと1 発生源の対策③

種芋の選別と洗浄

種芋は選別して、しっかりと水洗浄しましょう

疫病菌は種芋や芋の表面に付着している土から検出されています。また、種芋の表面に土が層をつくって付着していると、種子消毒液が芋本体に届きません。また、ひどく傷んだ種芋には、病原菌が深く侵入していて薬剤で消毒できないことがあります。

このため、まず種芋の表面を洗浄して土を落とすとともに、菌が深部まで入って劣化・腐敗した芋を選別して除去することが必要です。



①種芋をしっかり粗選別



②桶などで洗って土を落とす



③浮いた芋は棄てる



④土の塊はついていない状態



⑤シャワーで仕上げ洗浄



⑥土が落ち、種子消毒液がしっかり付着する状態まで洗浄



浮いた芋

沈んだ芋

完全ではないが、劣化・腐敗した芋を除去できる。浮いた芋に疫病菌もいる。

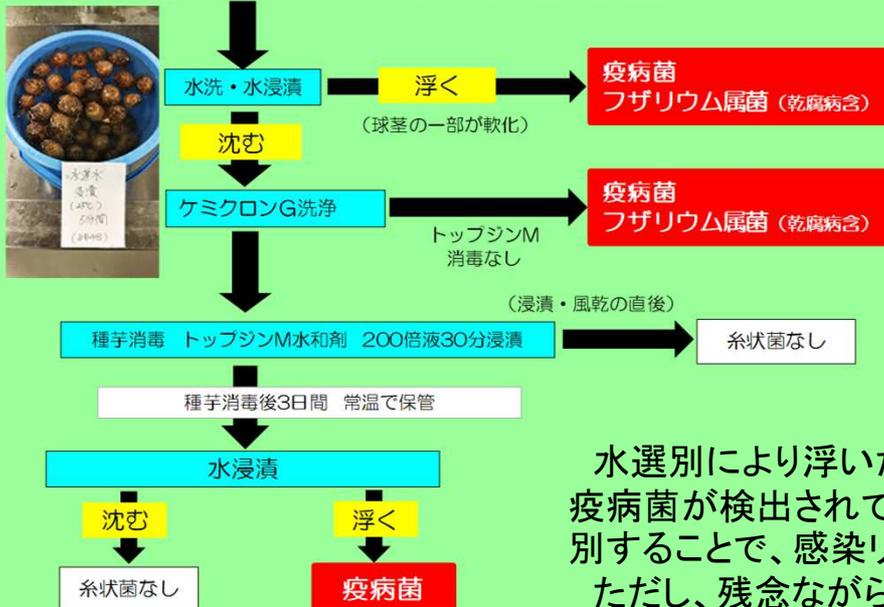
※芋の断面が黒いのはヨウ素によるデンプンの反応で、黒くならないところにはデンプンが無い。浮いた芋は内部が病原菌等で傷んでいる可能性が高い。

芋の洗浄には、ケミクロンGの5万倍液（浸種用水の濃度）を使用して、使用水から菌の再汚染が無いようにしましょう。

【解説】 なぜ種芋洗浄が必要か？

「ベイト培養－LAMP法」による生産者掘り取り後の種子用サトイモの疫病調査の結果
(沖永良部島(2018年))

種イモ (沖永良部島でサトイモ疫病の発病株から採取し3日後)



種芋を水槽に入れて、沈んだ芋を選び、使用すれば、乾腐病等で劣化した芋を排除でき、芽揃いがよくなります。

種芋が軽くなる原因には疫病菌も関係する可能性があります。

水選別により浮いた芋や水浸漬中に浮いた芋からは疫病菌が検出されています。このため、種芋を水で選別することで、感染リスクを低下させることができます。ただし、残念ながらケミクロンG水の利用だけでは、完全に疫病菌を排除することはできないようです。

【解説】 種芋の水浸漬だけで十分か？

表 沖永良部島で採取した来歴の異なる種芋を保管した後の調査結果

種芋の来歴	良 (外観・触診)		不良 (外観・触診)	
	水浸漬		水浸漬	
	沈	浮	沈	浮
本土産の種芋を栽培した株から採取				
調査種芋個数	50個	13個	9個	調査なし
うち保管後軟化した種芋個数 ¹⁾	6/50個	9/13個	9/9個	
<i>Phytophthora</i> 属で陽性反応 ²⁾	2/2個	1/1個	調査なし	
自家生産の種芋を栽培した株から採取				
調査種芋個数	50個	11個	2個	調査なし
うち保管後軟化した種芋個数 ¹⁾	1/50個	4/11個	0/2個	
<i>Phytophthora</i> 属で陽性反応 ²⁾	1/1個	1/1個	調査なし	

1) 15℃暗所で12日間保管した後に外観・触診で判断し、水浸漬選別。

2) 軟化した種芋のうち、*Phytophthora*検出用イムノストリップで陽性を示した種芋個数。

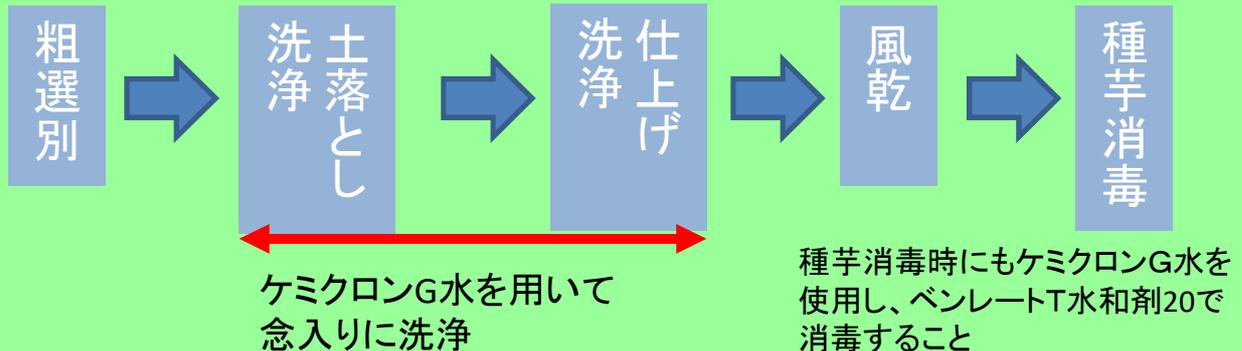
「外観・触診」と「水浸漬だけの選別」では、保菌した種芋の除去が不十分です。

やるべきこと1 発生源の対策④

種芋消毒

疫病が発生していない畑から採種した「健全種芋」を使用する場合は、例年通りの種芋消毒で良いですが、多量の菌が付着している可能性がある種芋は、徹底して洗浄した後に消毒します。疫病以外の病害虫も、しっかり防除しましょう。

1) 推奨する種芋の洗浄から消毒までの流れ



2) サイモで使用できる種芋消毒剤(疫病に登録のある農薬はありません)

薬剤	対象病害	処理濃度	処理法	混用等
ベンレートT水和剤20	黒斑病	種いも重量の0.4~0.5%	種いも粉衣	パダンSG水溶剤を使用するときは、パダンSG水溶剤を先に処理
		20倍	1分間種いも浸漬	
トップジンM水和剤	黒斑病	200~500倍	20~30分間種いも浸漬	パダンSG水溶剤を使用するときは、30分間種いも浸漬で混用可能
パダンSG水溶剤	ネグサレセンチュウ	300倍	30分間種いも浸漬	

3) 種芋消毒剤の処理

- 所定量を粉衣する方法と薬液に浸漬する方法があります。
- 使用薬剤によって、処理法、処理濃度・量、処理時間、注意事項が異なるため、必ず農薬容器のラベルを確認して、正しく使用してください。



種芋粉衣処理
シートの上で芋を転がして所定量を粉衣する。
種芋が完全に乾いていると薬剤の粉が付かないので注意。



種芋浸漬処理
所定濃度の薬液に、完全に浸漬し、所定時間置く。
浸漬後は風乾すること。

【解説】種芋の水選別と種芋消毒の効果

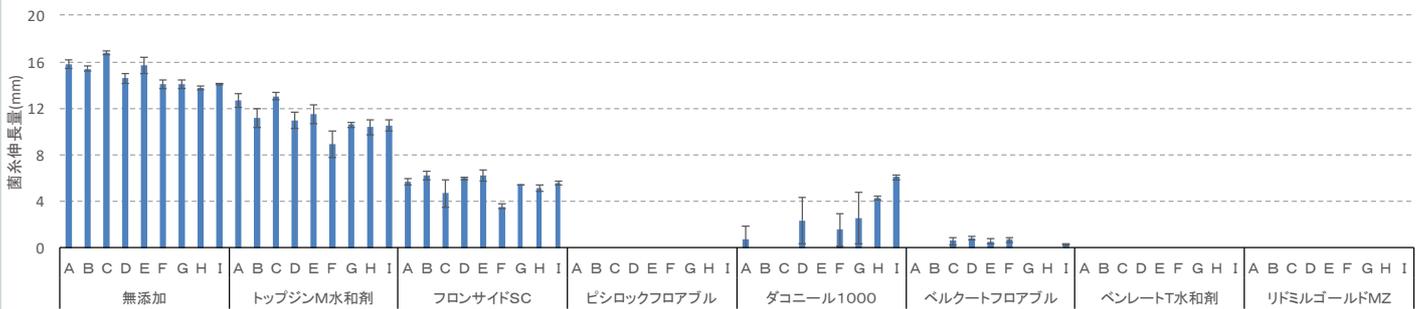


図1 2019年に鹿児島県内から採取したサトイモ疫病菌に対する薬剤感受性結果

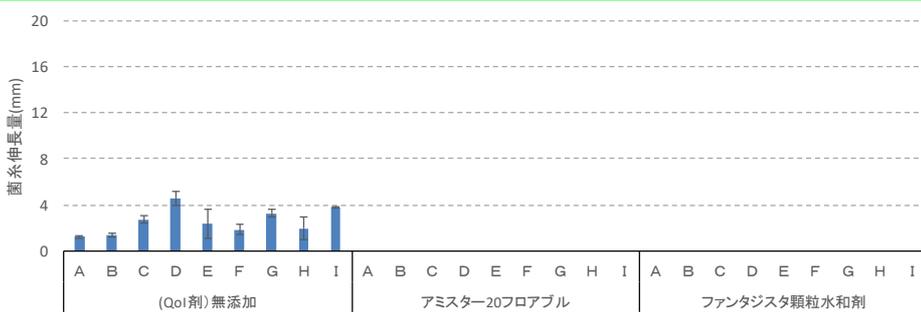


図2 2019年に鹿児島県内から採取したサトイモ疫病菌に対するQoI剤の薬剤感受性結果

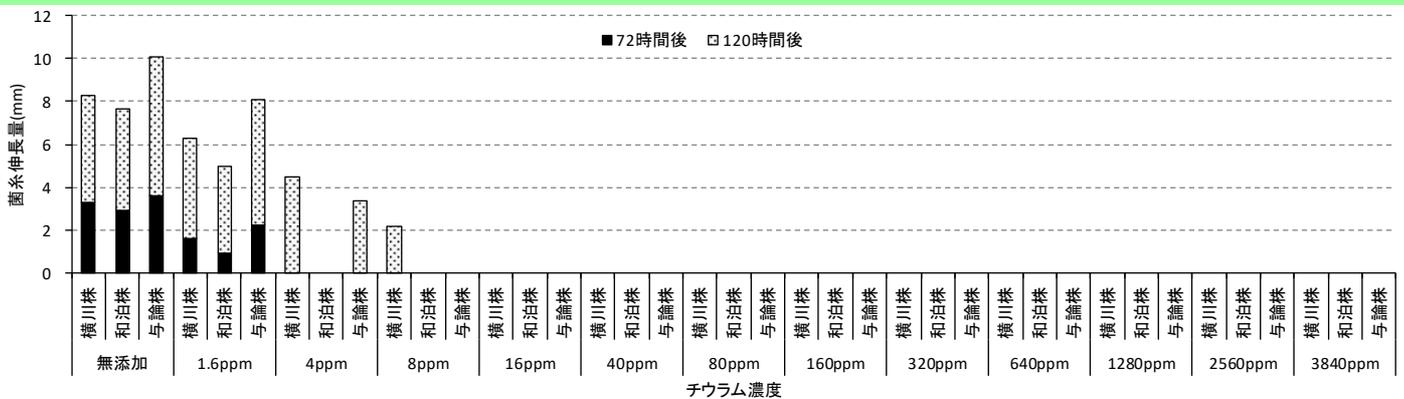


図3 鹿児島県内の産地から採取した疫病菌に対するチウラム濃度別の菌糸伸長量

ベンレートT水和剤20の成分であるチウラムには低濃度でサトイモ疫病菌の菌糸の伸張を止める効果があるようです。

ベンレートT水和剤20はサトイモ疫病に対する農薬登録はありませんが、黒斑病に対する農薬登録があり、サトイモに使用できます。このため、黒斑病との同時防除効果が期待できます。

一方、トップジンM水和剤はサトイモ疫病菌の菌糸伸長を止める効果はありません。疫病が発生した圃場から採取した種芋の消毒には用いないようにします。

【解説】 種芋の水選別と種芋消毒の効果(つづき)



←試験に用いた種芋圃場
(2018年10月5日の様子)
疫病の初発生 6月下旬
発病株率100%
発病度100
種芋の7割を廃棄(水選別)

子イモ分離・粗選別 (上記の写真圃場から採取した種芋)

種芋の洗浄・水浸漬による選別

沈んだ種イモ

浮いた種イモ

疫病菌検出

種イモ消毒
トップジンM水和剤

種イモ消毒
ベンレートT水和剤

消毒なし

種イモ 193個

種イモ 207個

種イモ 209個

種イモ 135個

疫病菌検出

保管25℃ (33日後に水浸漬)

沈 46

浮 89個

疫病菌検出

沈 130個

浮 63

沈 154個

浮 53

沈 139個

浮 70

疫病菌検出



←上記の種芋圃場から採取した種芋を
水浸漬+ベンレートT水和剤20で消毒した結果
(2019年8月5日の様子)
疫病の初発生 8月上旬
発病株率 1%未満
発病度 1以下
出芽の揃いは良好で欠株なし

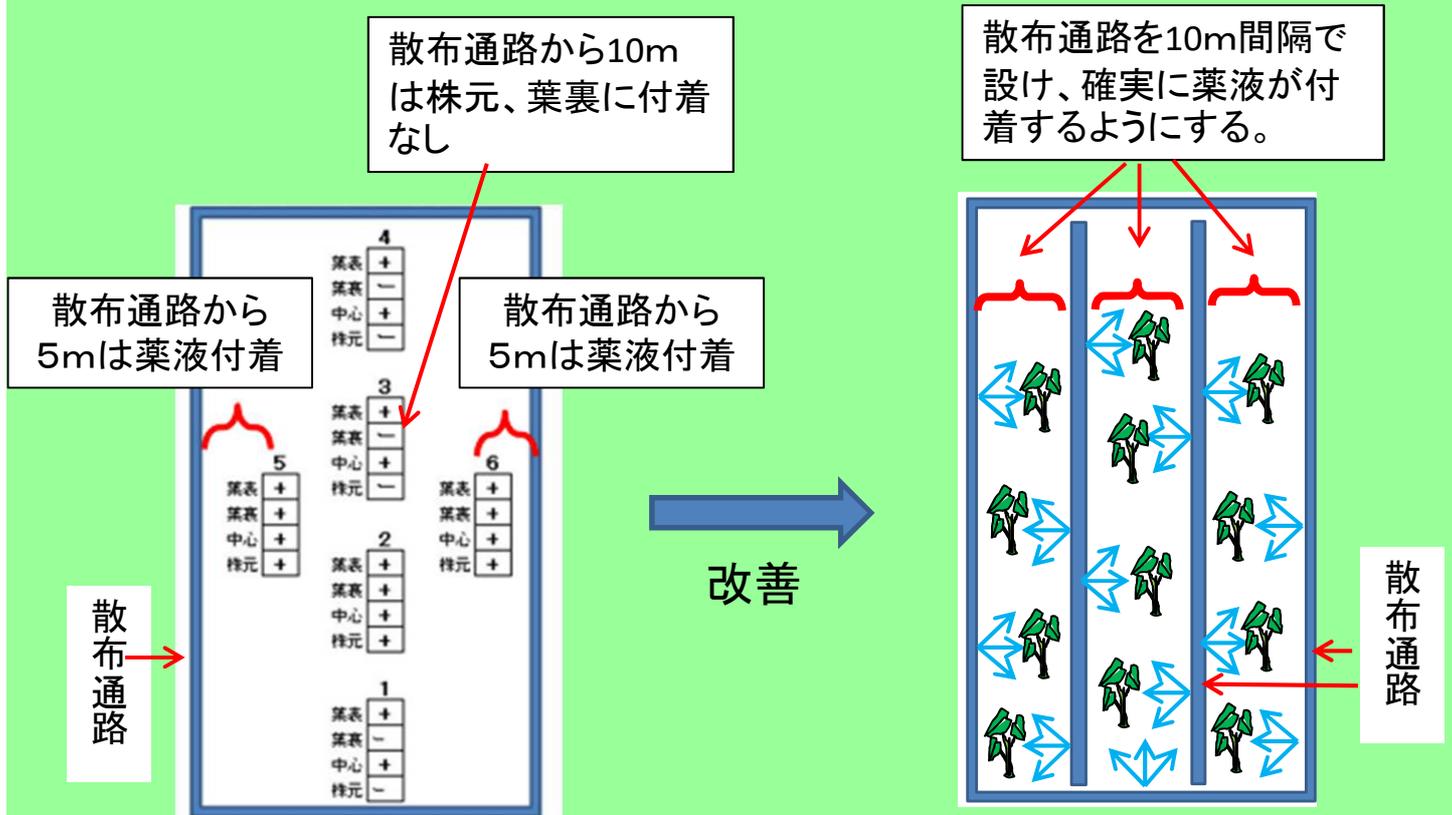
☒ 水浸漬による選別後の種イモに化学薬剤を用いた消毒効果

やるべきこと2 疫病をまん延させない対策①

散布通路の確保

散布通路の確保はとても重要です。

- どんな薬剤も、発病する部位に付着しなければ防除効果はありません。
- 鉄砲ノズルによる周囲からの散布では、10m先の株元には薬剤が付着しません。
- 鉄砲ノズルを使うとき、5m程度の距離からの散布なら株元まで散布薬液が付着するので、10mおきに散布通路を確保しましょう。



①鉄砲ノズルで畑の周囲から散布したときの薬液の付着。

②10mごとに作業管理通路を確保し、どの株にも薬剤が付着するような畝立てを行う。



【解説】 薬剤の散布と付着

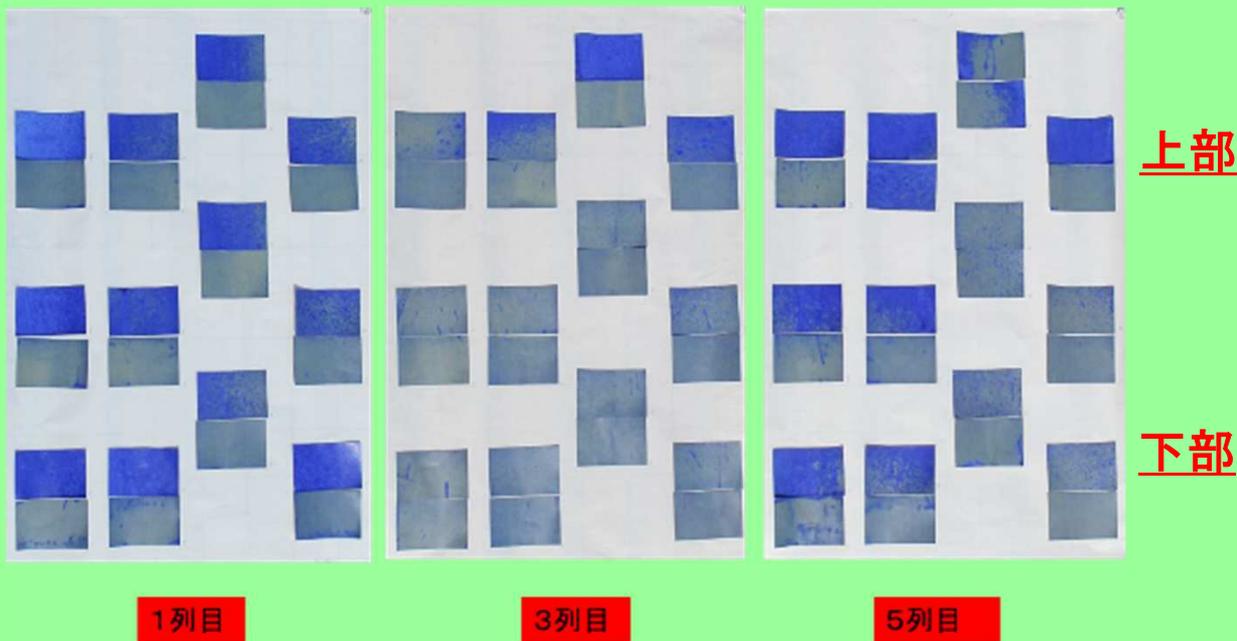
アルミズームタイプFタイプのノズルを使って、株の上部と下部への散布薬液の付着を調査しました。



このノズルは、

- ・サトイモの上段から下段への薬剤付着効果が期待できる。
- ・噴霧パターンを狭角から広角に変えられる。
- ・長さが伸縮し、サトイモの草丈に対応できる。

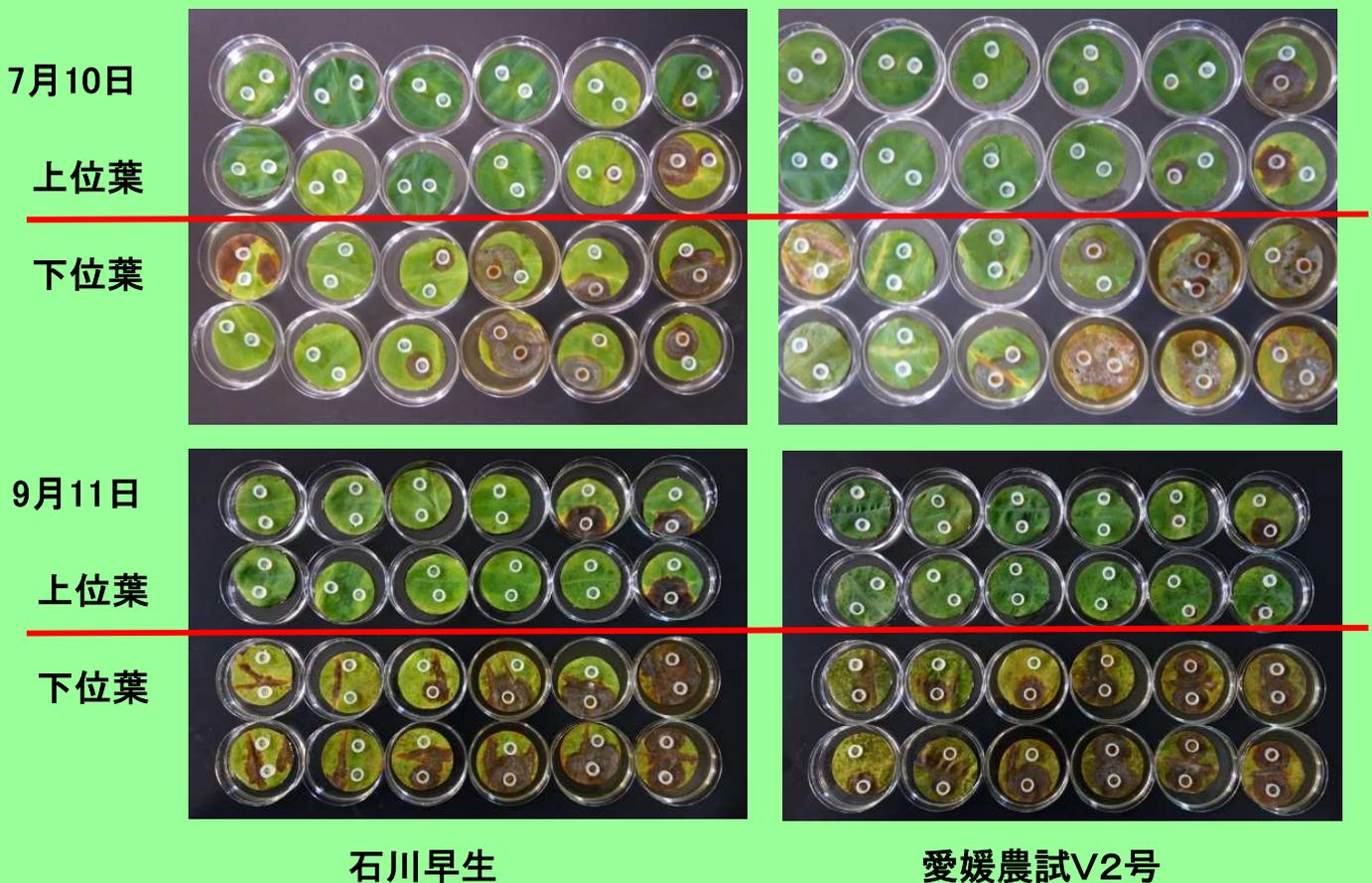
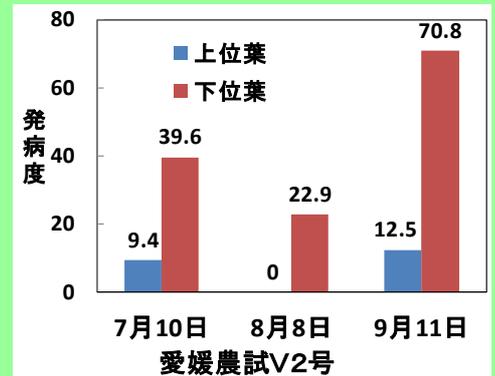
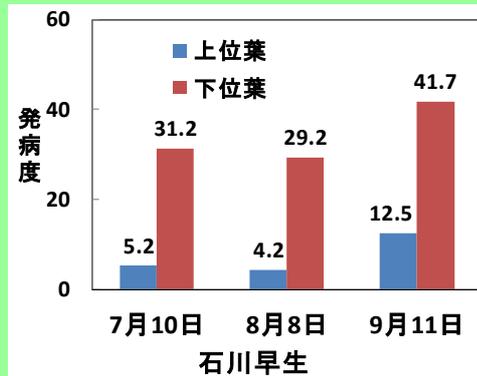
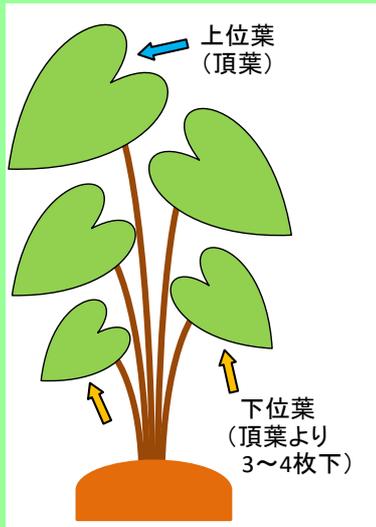
という特徴があります。



薬液は、株の上部には付着します(写真で青くなっている)が、やはり下部への付着は少なくなります。

このため、株の小さいときから、将来下葉になる葉に、しっかり薬液をかけておく必要があります。

【解説】 疫病が発病しやすい下の葉



子芋肥大・孫芋着生期(7月10日、疫病初発期)、孫芋肥大・地上部最大生育期(8月8日)、孫芋肥大後期(9月11日、疫病増大期)に、上位葉と下位葉を採取し、リーフディスク法により疫病の発病しやすさを検定した結果、いずれの時期も、上位葉に比べて、下位葉の発病度が高い

⇒ サトイモの生育期全般において、下位葉の方が発病しやすい

やるべきこと2 疫病をまん延させない対策② 排水路の確保と適切な植え付けと雑草対策

明渠など排水路の確保



高湿度で発生しやすいので、排水路をしっかり確保する。



植え付けは深くしっかり



栽培基準に従って、地表下15cmに植え付けることで、土壌の表面に菌が容易に出てこれないようにする。

雑草対策をしっかり



雑草が多いほ場では、疫病の発生が多い傾向が伺われます。おそらく、雑草の繁茂により湿度が高くなることが原因と推定されます。

やるべきこと3 薬剤防除 地上部の防除とタイミング

アミスター20フロアブルの散布は、疫病の発生開始時に行うことで、最も高い効果が得られています。

①宮崎県総合農業試験場における試験成績

アミスター20フロアブル 2,000倍 300ℓ/10a散布の事例

散布時期	防除価	備考
初発11日前	71.5	
// 9日前	70.3	菌接種
// 5日前	70.4	
初発時	89.5	

②鹿児島県農業開発センターによる試験成績

アミスター20フロアブル 2,000倍 300ℓ/10a散布の事例

散布時期	防除価	備考
初発16日前	36.4	
// 13日前	67.7	菌接種
// 8日前	53.9	
初発時	90.8	

この結果から、発病開始まではジーファイン水和剤散布で予防を行い、発病を確認したら、直ちにアミスター20フロアブルを散布することで、高い効果が得られるとされます。

本データは、九州病害虫防除推進協議会の平成29年度連絡試験により得られたものです。

防除体系の事例 早生種の場合

治療効果がある程度は期待できるアミスター20フロアブルとダイナモ顆粒水和剤は、総使用回数3回です。

同じ剤を連続して使用すると、耐性菌が発生しやすくなるので、できるだけ使用回数は少なく、交互に使用する必要があります。

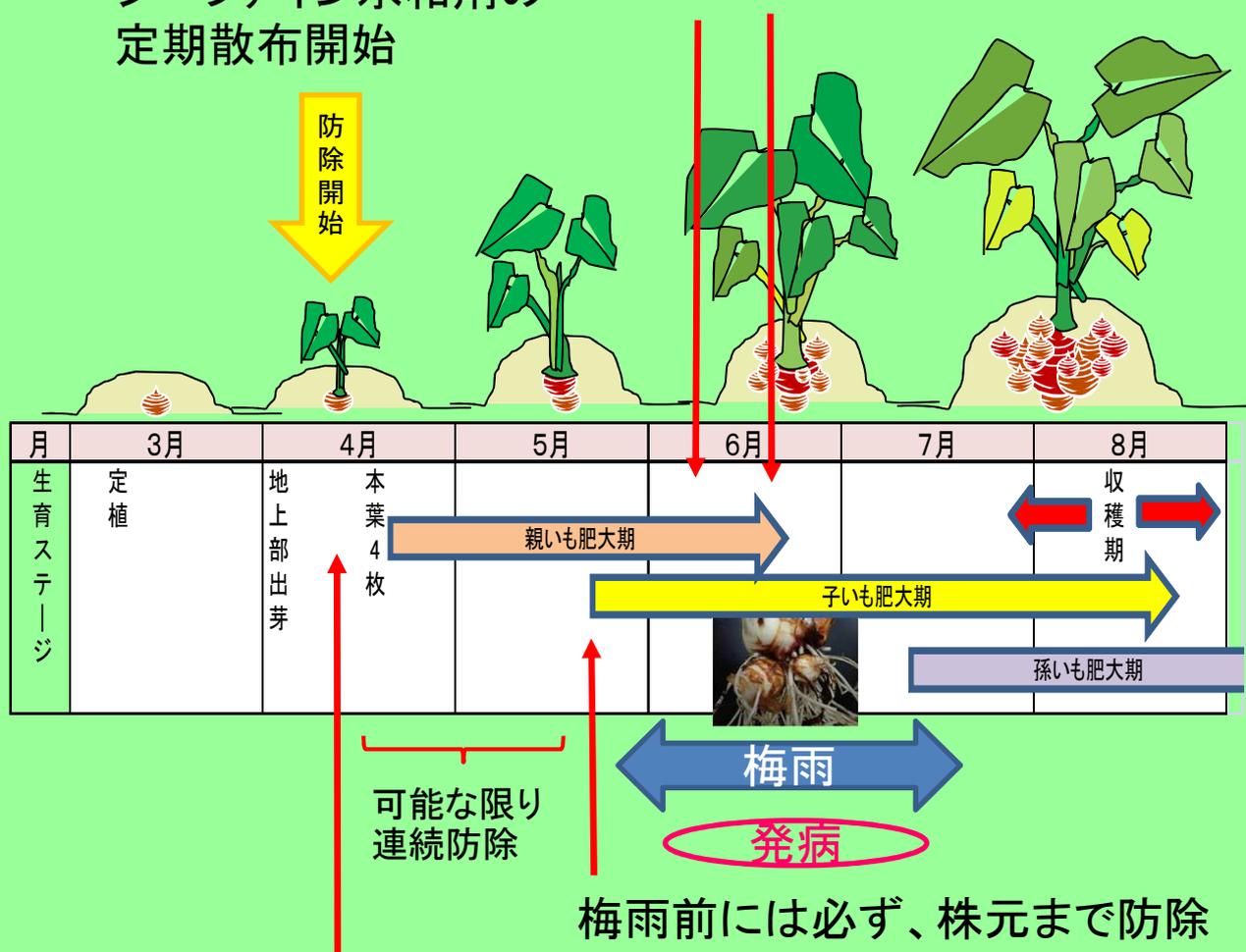
ジーファイン水和剤で、発病をできるだけ遅らせることが重要です。

芽が揃ったら防除・5月中旬以降は定期的に散布

早生種の生育ステージ

発病したらアミスター20フロアブルとダイナモ顆粒水和剤の一週間間隔で2回散布

ジーファイン水和剤の
定期散布開始



梅雨前には必ず、株元まで防除

芽が出そろったら、一度は株元まで防除

防除体系の事例 中生・晩生種の場合

治療効果がある程度は期待できるアミスター20フロアブルとダイナモ顆粒水和剤は、総使用回数3回です。同じ剤を連続して使用すると、耐性菌が発生しやすくなるので、できるだけ使用回数は少なく、交互に使用する必要があります。中・晩生種は、疫病の発病好適条件が出現してから収穫するまでの期間が長く、治療効果のある剤も複数回散布することになります。

やはりジーファイン水和剤で、発病をできるだけ遅らせることが重要です。

早生種と同様に、芽が揃ったら防除開始・子芋肥大期からは連続防除

中生種の生育ステージ

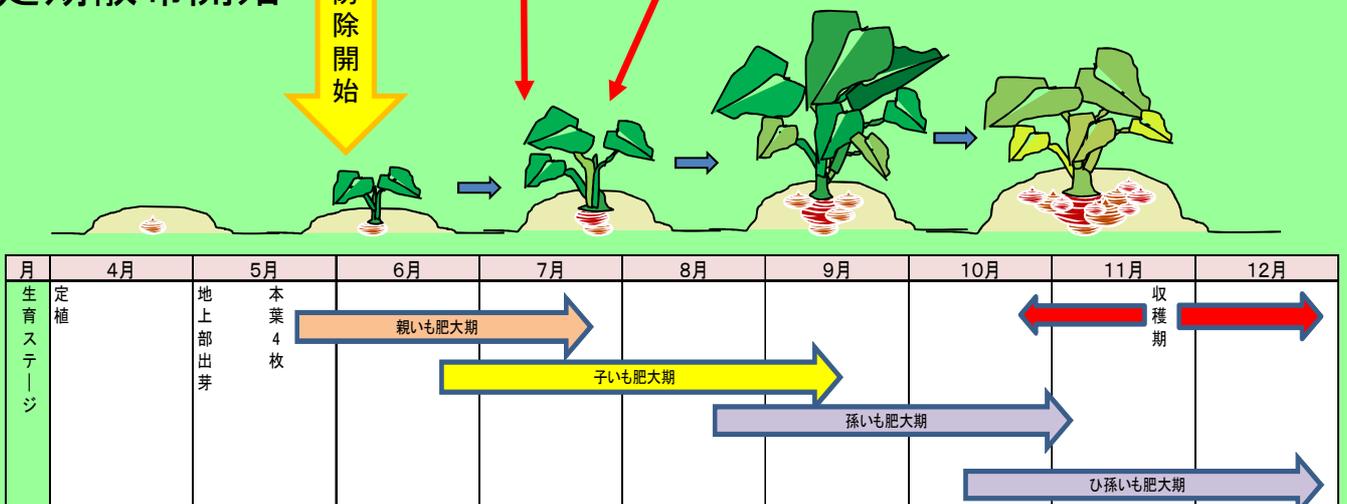
このあたりで発病があるはず
治療効果のある剤の散布

治療効果のある剤の散布は
一週間間隔で2回実施

その後、天候や発病を見ながら追加防除

ジーファイン水和剤の
定期散布開始

防除開始



梅雨

台風

発病

ジーファインで仕上げ

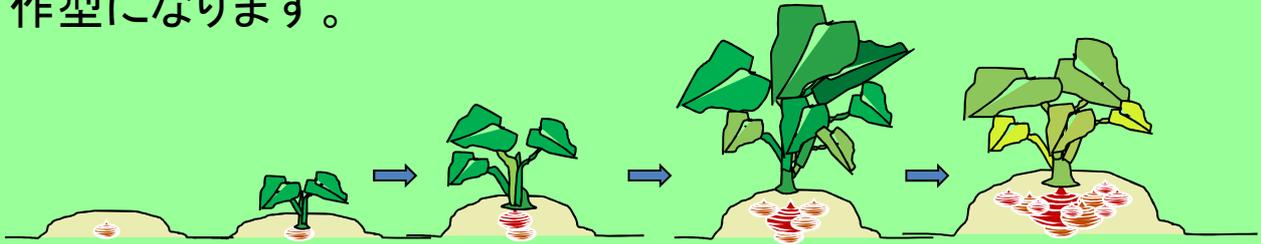
梅雨前には必ず、
株元まで防除

台風が来たなら
ジーファインで予防
アミスターとダイナ
モで治療

芽が出そろったら、一度は株元まで防除

愛媛県V2号の場合

愛媛県のV2号は女早生の培養変異なので、早生品種ではありませんが、石川早生よりは遅い作型になり、前述の早生と中生の間中間的な作型になります。



月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月
生育ステージ	定植	地上部出芽	本葉4枚	親も肥大期	子も肥大期	孫も肥大期		収穫期	

初発時期について(過去3か年)

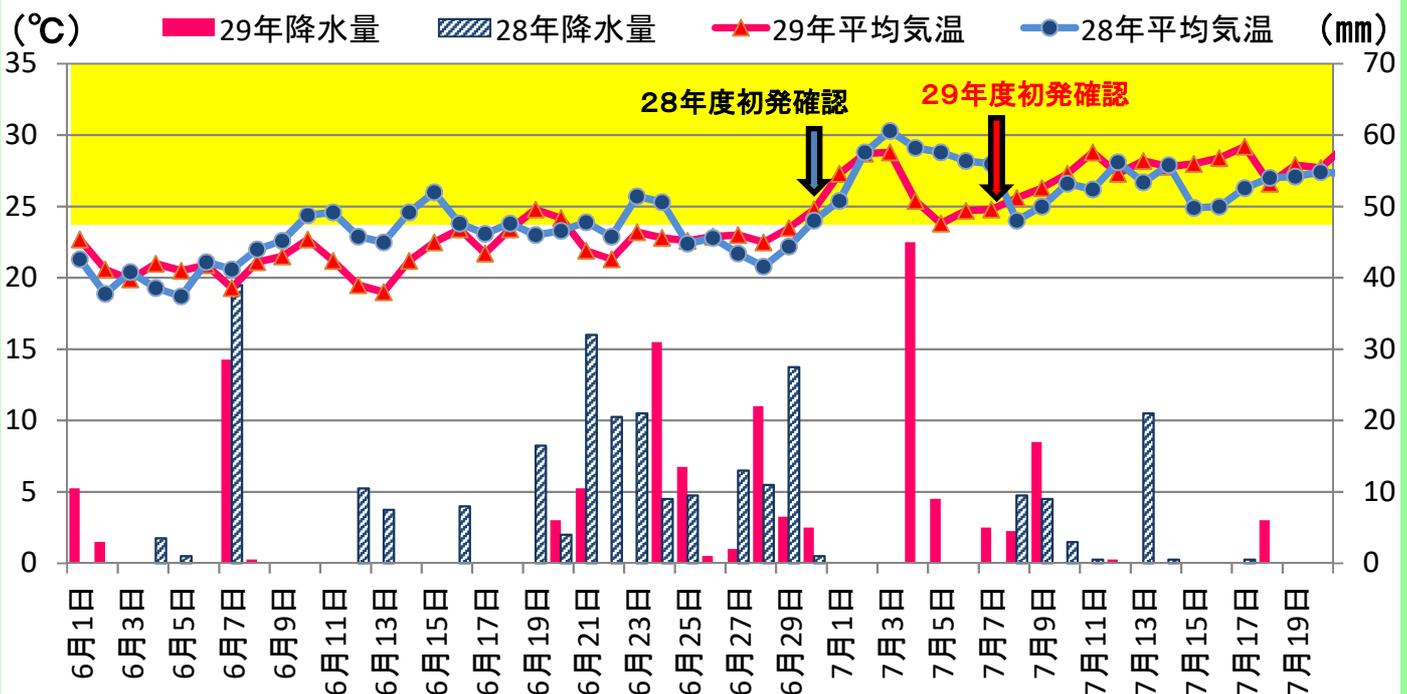
H27: 7月24日

(発生初年度で詳細な調査をしていないので実際はもっと早く出ている可能性があります)

H28: 6月30日

H29: 7月7日

初発は28・29年ともに宮崎、鹿児島と同じように、連続した「平均気温24℃以上+降雨」の条件があった後に確認しています。(下グラフ参照)



ジーファイン水和剤の効果

重要なジーファイン水和剤の散布

平成28年6月2日, 同15日, 7月1日にジーファインを散布した事例では、明らかに発病を遅らせています。

1. 試験成績

供試薬剤	処理濃度 処理量	反 調査 7月1日		7月7日					業 害 —				
		株数	発病 株率(%)程度	発病程度				発病 株率(%)程度		防除値			
				0	1	3	5						
45) ジーファイン水和剤 (プラテン80の3000倍加用) 炭酸水素ナトリウム 46.0% 無水硫酸銅 30.0% lot. 7A017K	1000倍 170ℓ/10a	I	8	0	0	58	2	0	0	12.5	0.7	— —	
		II	8	0	0	39	15	12	1	62.5	16.7		80.6
		III	8	0	0	61	3	0	0	25.0	0.9		
		平均		0	0					33.3	6.1		
無処理(水) (プラテン80の3000倍加用)	500ℓ/10a	I	8	0	0	51	1	3	0	25.0	3.6		
		II	8	25.0	2.8	59	33	3	0	100	24.6		
		III	8	87.5	13.6	0	17	51	7	100	66.1		
		平均		37.5	5.5					75.0	31.4		

表 被害程度の推移

計測深度	調査日						
	7/7	7/15	7/22	8/3	8/10	8/23	9/9
体系防除区	0	0	0	0	0	0	0
無防除区	0	0	0	0	11.5	19.8	43.6
							生育遅延

6/8, 6/14, 6/29, 7/1, 7/15, 7/22, 7/27, 8/3, 8/10, 8/18, 8/23, 9/1, 9/8, 9/16とほぼ毎週散布するようであれば、発生を完全に抑制できます。毎週散布するのは極端な事例としても、ジーファイン水和剤を有効に活用して、大事なポイントで治療剤を散布することで、防除できます。

**強力な治療
剤散布区**



無防除石川早生

試験事例

将来さらに強力な治療剤が使用できたとしても、近くに発生源があれば、防除しきれません。

防除はしっかり行って、畑に発生源となる株を残してはいけません。

【解説】 必ず予防散布を実施 ジーファイン水和剤の効果と活用

重要なジーファイン水和剤の散布

ジーファイン水和剤は、銅を成分とする予防剤なので、発病後の散布開始では効果は高くない。

しかし、発病前からの散布では明確な防除効果があります。

将来、治療効果が高い剤が農薬登録されたときでも、散布回数は限られるので、予防剤で使用回数制限が無いジーファイン水和剤を上手に使えるかどうかで被害が変わってきます。

散布区



無散布区

白ラベルの手前は無散布区、奥が散布区。ラベル手前の茎には疫病が発生し始めているが、ラベルの奥には病斑が無く、防除効果が現れている。



茎に発病すると、茎が折れ、発病していない葉だけのこる。

ジーファインを散布していると、茎が折れないので、葉の病斑が残っているように見える。

【解説】 適期で使用する治療剤その1 アミスター20フロアブルの効果と活用

アミスター20フロアブルの2,000倍液散布が、サトイモ疫病に農薬登録されました。

予防効果しか期待できないジーファイン水和剤に対して、発病後の散布でも、ある程度の防除効果が期待できます。

ただし、重症化した後に、劇的に治療効果を発揮する剤ではありませんので、発生が見られたら、2回連続散布しましょう。

表 アミスター20フロアブルの効果

薬剤	散布回数	被害葉率	被害程度	防除価
アミスター20フロアブル	菌接種後から2回	27.1	10.7	79.4
ジーファイン水和剤	菌接種前から3回	56.2	28.4	45.3
ジーファイン水和剤	菌接種後から2回	64.1	49.5	37.6
無防除	なし	75.6	79.4	0

注)3回散布は、平成28年7月7日、同15日、同22日、2回散布は同15日、同22日に展着剤スカッシュ2,000倍加用し、300ℓ/10a相当量を散布した。

アミスター20フロアブルは、発病を確認し、早い段階から散布を開始すれば、発病を無防除の1/8程度に抑えることができた事例です。

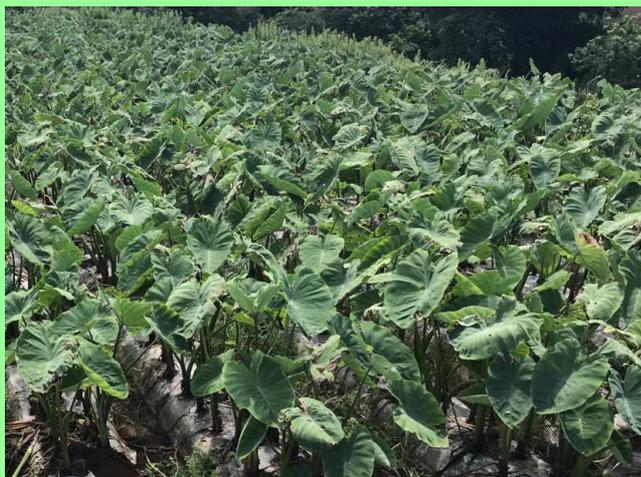
しかし、防除価100というような完全な防除価では無いので、防除効果を過信したり、防除開始が遅れてはいけません。

農薬散布時には、必ず農薬容器のラベルを見て、使用基準を確認しましょう。

新規登録剤で、まだラベルに記載がないときには、関係機関や農薬販売店で、かならず使用基準を確認して使用しましょう。

【解説】 ジーファイン水和剤と アミスター20フロアブルを使用したときの効果

作付け時に農薬登録があったジーファイン水和剤とアミスター20フロアブルを組み合わせで防除した現地の事例です。



防除したほ場



無防除ほ場

7月上旬に初発を確認したほ場の7月末の状況を示しました。
防除ほ場(写真左)は6月からジーファイン水和剤を予防的に散布し、7月上旬に隣接ほ場で初発を確認してから2回のアミスター20フロアブルの散布を行っています。無防除ほ場は一切の防除がありません。

7月末の段階では、防除の効果は明らかです。

このほ場は8月中旬には収穫しましたので、問題はありませんでしたが、中・晩生品種のほ場では、数回の追加防除が必要となります。

【解説】 適期で使用する治療剤その2 ダイナモ顆粒水和剤の効果と活用

ダイナモ顆粒水和剤の2,000倍液散布が、サトイモ疫病に農薬登録されました。

発病後の散布でも、ある程度の防除効果が期待できます。

ただし、アミスター20フロアブルと同様に、重症化した後の散布でも劇的に治療効果を発揮するような剤ではありませんので、発生が見られたら、アミスター20フロアブルと交互に2回連続散布しましょう。

表 ダイナモ顆粒水和剤の効果(平成28年宮崎県)

薬剤	倍率	被害株率 (%)	被害葉率 (%)	被害程度	防除価
ダイナモ顆粒水和剤	2000倍	50.0	15.3	5.2	90.0
アミスター20フロアブル	2000倍	73.3	27.1	10.7	79.4
無処理	—	100	75.6	51.9	0

注)散布は、平成28年7月15日、同22日に展着剤スカッシュ2,000倍加用し、300ℓ/10a相当量を散布した。

疫病の発病を確認し、早い段階から散布を開始すれば、発病を無防除の1/10程度に抑えることができた事例です。

しかし、防除価100というような完全な防除価では無いので、防除効果を過信したり、防除開始が遅れてはいけません。

また、耐性菌の発生対策として、アミスター20フロアブルやジーファイン水和剤との体系的な使用が必要です。

農薬散布時には、必ず農薬容器のラベルを見て、使用基準を確認しましょう。

新規登録剤で、まだラベルに記載がないときには、関係機関や農薬販売店で、かならず使用基準を確認して使用しましょう。

体系防除の事例

令和元年作の事例

宮崎県総合農業試験場で5月7日に植え付けた「石川早生」を用いた防除試験の事例。

6月27日に試験区外に菌を接種し、7月25日に近隣株で発病が始まったほ場に、更に8月2日に菌を接種した。

表 薬剤の散布と菌の接種・台風の接近

試験区	6月20日	6/27 接種 ↓	7/18 台風	7月29日	8/2 接種 ↓	8月5日	8/6 台風	8月13日	8月21日	8月27日	9月3日 台風	9月10日
①試験区1	ジーファイン			ジーファイン		ダイナモ		アミスター	ダイナモ	アミスター	ジーファイン	ジーファイン
②試験区2	ジーファイン			ジーファイン		ダイナモ		アミスター	ダイナモ	-	アミスター	-
③試験区③	ジーファイン			ジーファイン		アミスター		アミスター	ジーファイン	ジーファイン	ジーファイン	ジーファイン
無処理区	-			-		-		-	-	-	-	-

※ジーファインはジーファイン水和剤1,000倍散布を、ダイナモはダイナモ顆粒水和剤2,000倍散布を、アミスターはアミスター20フロアブル2,000倍散布を示す。



図 各試験区の被害度の推移

発病指数ごとに調査し、次式により発病度を算出。グラフ右端の数値は防除価

$$\text{発病度} = (\sum(\text{指数別葉数} \times \text{指数}) \times 100) / (\text{総調査葉数} \times 4)$$

発病を見逃さず治療効果のある剤で防除することで、被害を低く抑えることができます。

治療効果がある剤が増えたことで、防除できる回数が増えましたので、作付け期間の長い中・晩生品種でも高い防除効果が期待できます。

【解説】 薬剤の散布と開始と散布間隔



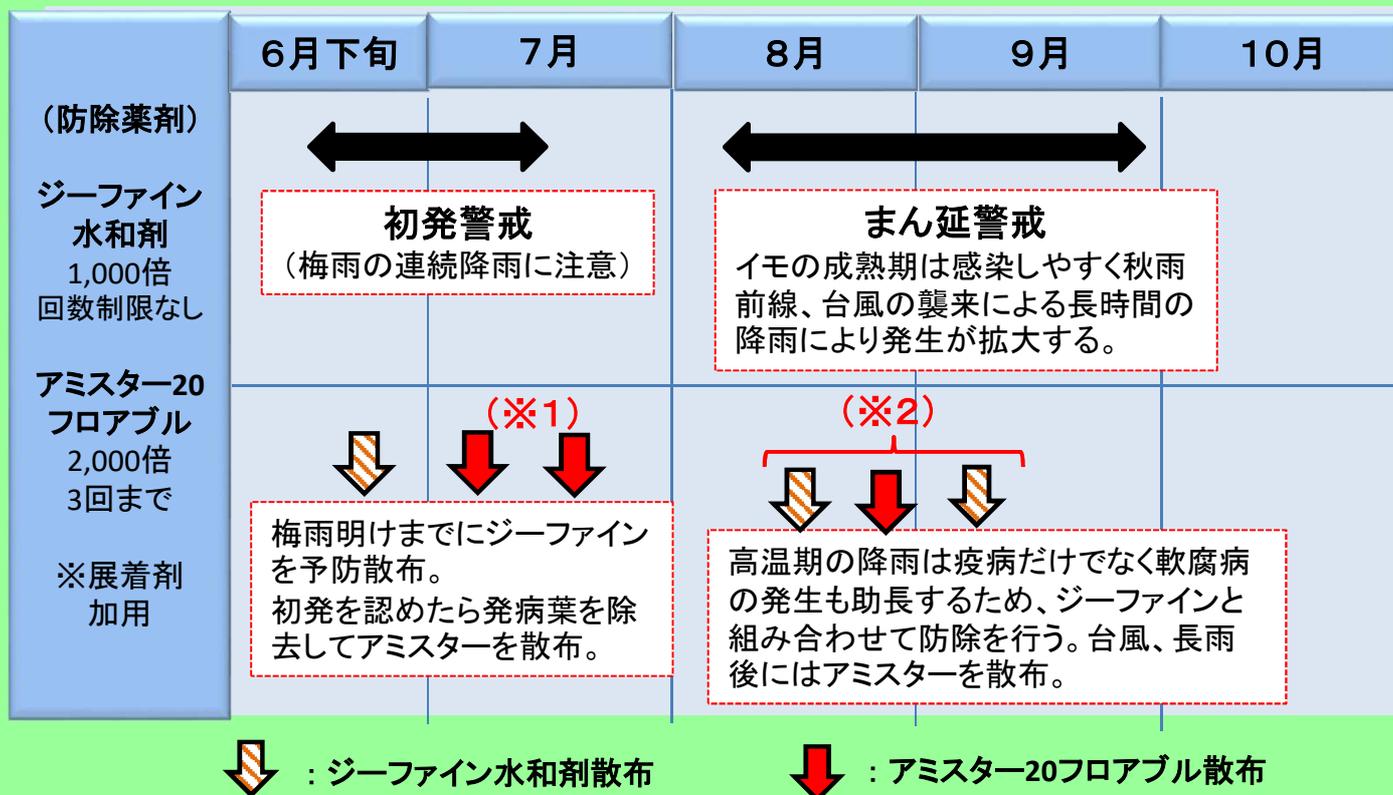
散布月日	6月17日	6月26日	7月18日	8月9日	8月24日
薬剤	ジーファイン	ジーファイン	アミスター-20	アミスター-20	アミスター-20



散布月日	6月10日	6月22日	7月12日	7月25日	8月10日
薬剤	ジーファイン	ジーファイン	アミスター-20	アミスター-20	ジーファイン

散布間隔が広いと、同じ薬剤でも防除効果が大きく低下した。
発病始めには、連続した防除が必要。

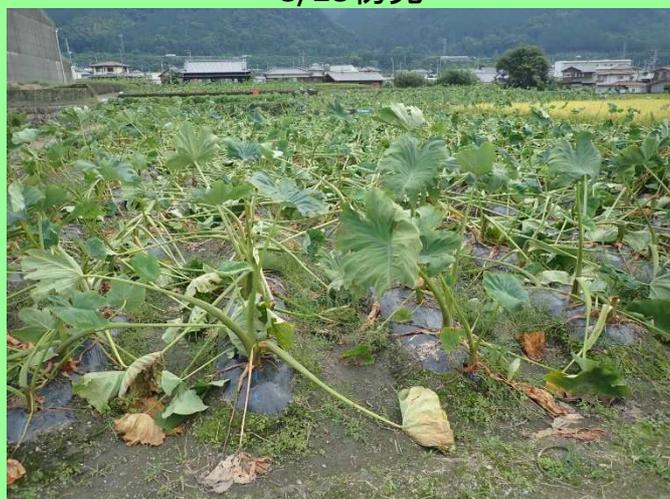
【参考】愛媛県のサトイモ疫病防除体系モデル



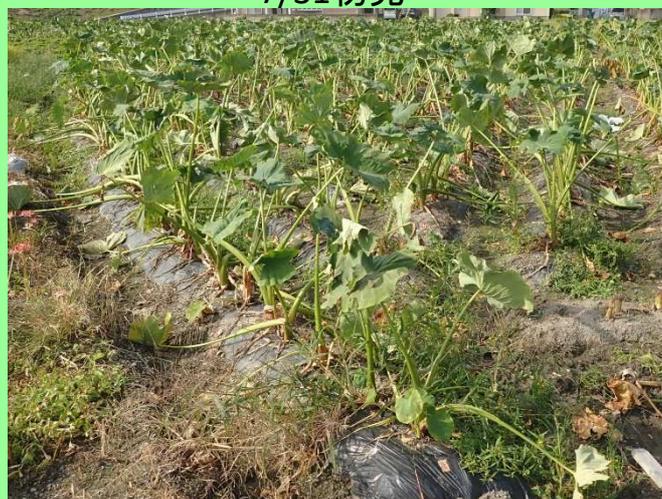
- (※1) 発生圃場においては発病葉を除去してからアミスターを7日間隔で2回散布する。
 (※2) イモの肥大期に蔓延すると収量が大きく減少する。台風やまとまった降雨があった場合はアミスターを散布。9月以降も台風や長雨が予想される場合は事前にジーファインで予防する。

防除実績からみた9月下旬のサトイモ疫病の状況

8/28初発



7/31初発



6/29	7/12	7/26	8/8	8/17
ジーファイン	ジーファイン	アミスター-10	アミスター-10	アミスター-10

7/16	7/27	8/20
アミスター-10	アミスター-10	アミスター-10

【付録解説】 葉が傷つくと発病しやすい



昆虫針で葉に傷をつける
(穴をあける)



遊走子のう懸濁液を噴霧接種し、
頭上散水

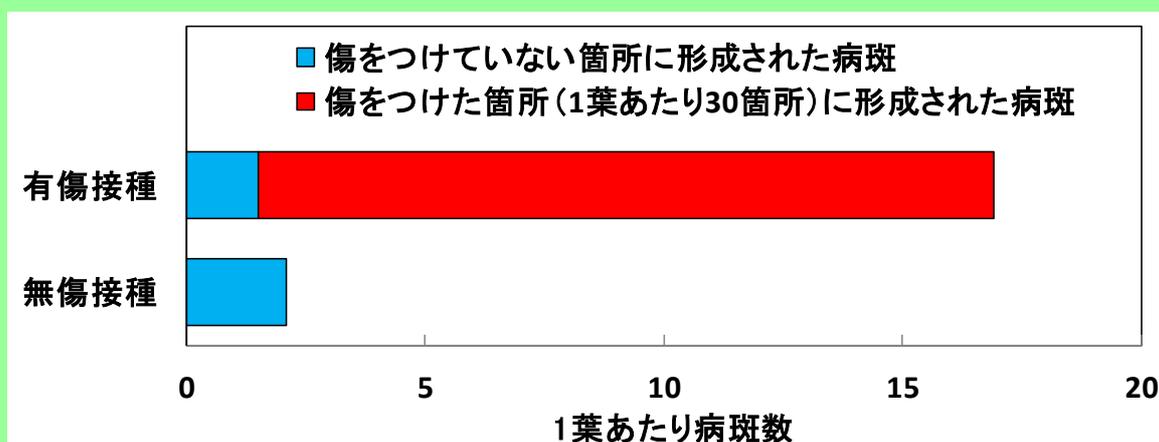
3日後



有傷接種の葉



無傷接種の葉



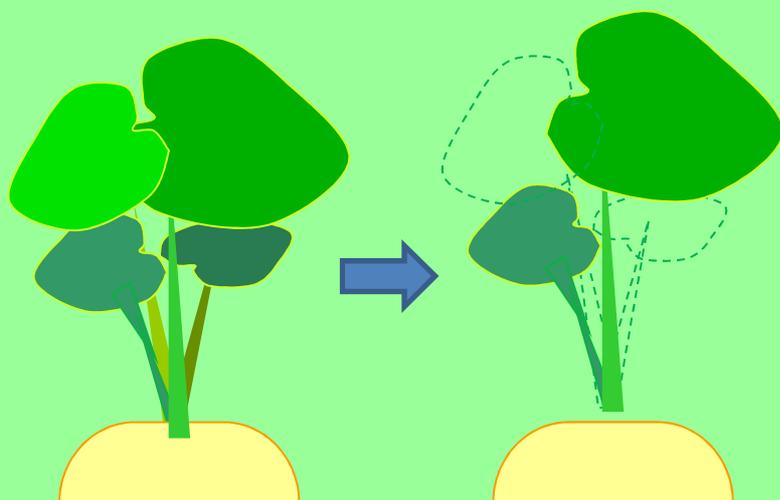
「昆虫針で傷をつけた(穴をあけた)葉」および「無傷の葉」に、遊走子のう懸濁液(10⁴個/mL)を噴霧接種し、頭上散水すると、3日後には明確な病斑が現れる。傷をつけた葉は、無傷の葉に比べて、形成される病斑数が明らかに多い。

⇒ 葉が傷つくと発病しやすくなる

⇒ 強風雨や台風などに遭遇して葉が損傷した直後は、発病に注意！！

【付録解説】 9月まで発病を抑えて収量維持

疫病被害の再現試験



7、8、9月から茎葉を減らし、それぞれの時期で疫病の被害にあった状態をつくり、芋の収量への影響を調査しました。



茎葉の除去時期が1株当たり芋収量に及ぼす影響

※7/19、8/21、9/20に親及び子茎葉を半数除去、その後茎葉が2枚になるよう約2週間おきに除去し、10/15に収量調査。(愛媛県、品種:愛媛農試V2号)

7月や8月に疫病の被害にあう(茎葉を除去する)と、無処理と比べて約3~4割減収するのに対して、9月からの被害ではあまり収量には影響がありません。適切な対策により、**疫病の被害を遅らせることで収量への影響を抑える**ことができると考えられます。

【付録解説】 品種間で疫病抵抗性に差がある

リーフディスク法による疫病抵抗性試験

【2017年の調査】

49品種・系統について、リーフディスク法により発病度を調査したところ、全く発病しなかったものから発病度が最大値のものまで幅広い品種間差が認められました。子芋用の品種は発病度が低い傾向があり、また、三倍体は発病度が低く、二倍体は高い傾向でした。

用途別にみた発病度と品種数

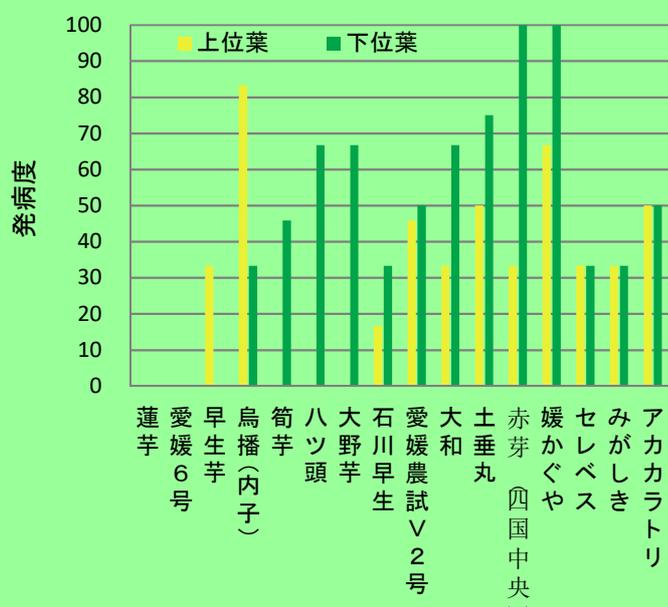
		子芋用	親子兼用	親芋用	葉柄用	不明	計
発病度	低	10	1		1	2	14
	中	6	4	5		4	19
	高		3	5	1	7	16

倍数性別にみた発病度と品種数

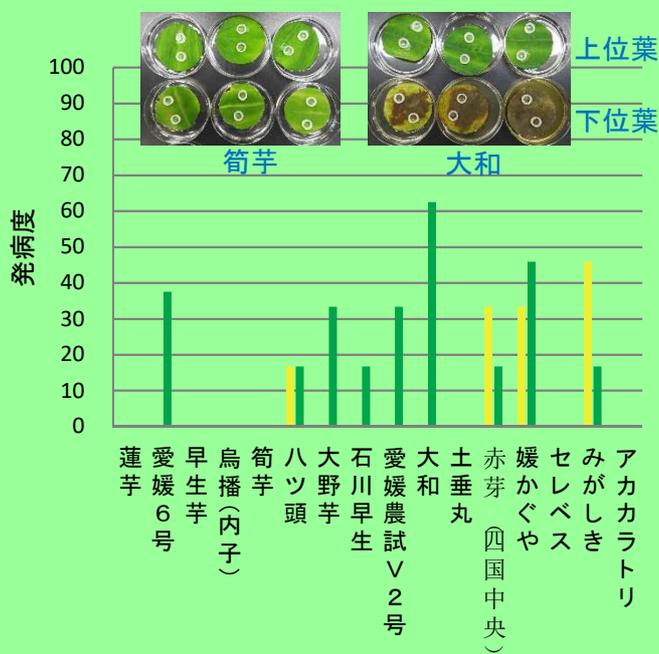
		2n	3n	不明	計
発病度	低	1	9	4	14
	中	4	7	8	19
	高	7	2	7	16

【2018年の調査】

16品種・系統を上位葉、下位葉別にリーフディスク法により発病度を調査したところ、品種間に差がみられ、上位葉と下位葉の発病度の強弱や進展は品種間で異なり、葉の採取時期が変わればその傾向は異なりました。



(7月)



(9月)

サトイモ疫病の葉位別発病度

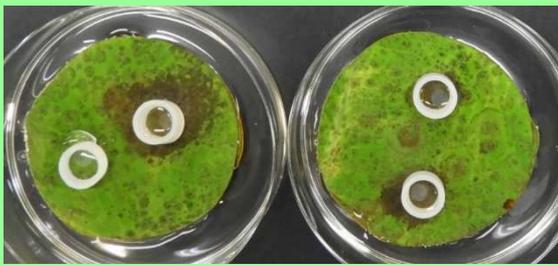
○サトイモ**品種間で疫病抵抗性に差がある**と思われませんが、実際の栽培条件においては、品種の違いのほかに、葉位や管理方法や周辺環境の違いも発病度に影響すると思われま

疫病感染の品種間の違い

蓮芋



愛媛農試V2号



石川早生



大和



低
↑
発病度
↓
高

品種が違う場合の被害



異なる品種を並べて栽培したときの疫病の発生

写真奥(赤矢印)の列と手前(青矢印)では品種が異なります。この写真の事例では、手前の品種は疫病による被害が激しく、奥の品種では発病はあるものの、葉を失う程度は手前に比べて軽くなっています。
前ページに示したとおり、品種により疫病の被害には大きな差があります。



この写真は、複数の品種を数株ずつ並べて栽培し、品種ごとの発病の違いを調査したときのものです。

赤矢印の品種は葉に大きな病斑が見えます。しかし、青矢印の品種は、葉には病斑が見えないものの、葉柄には激しい病斑があります。

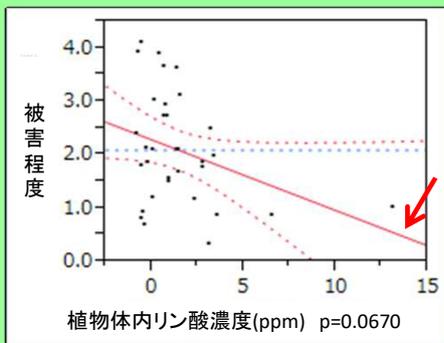
このように、葉には病斑が少なくても、葉柄に出た病斑部から折れて葉を失うことがあります。葉の病斑だけに気をとられてはいけません。

やるべきこと4 適正施肥による栄養改善

- 病害の発生には、病原菌(主因)の他に、温湿度などの環境(誘因)、植物の体質(素因)がそろうことが必要です。
- 土壌や施肥の状態あるいは根の病害虫の存在によって、さといもが吸肥できなければ、病気になりやすく、発病後は回復しにくくなります。
- **土壌診断と適正施肥**は、健全な作物作りの基礎ですから、必ず実施しましょう。

1) 発生が多い畑では作物体内の肥料成分が少ない傾向

- 植物体内のリン酸など肥料成分が少ない株で、疫病の被害が大きい傾向があります。
- 土壌診断に基づく適正な基肥施用と追肥は、被害を軽減します。



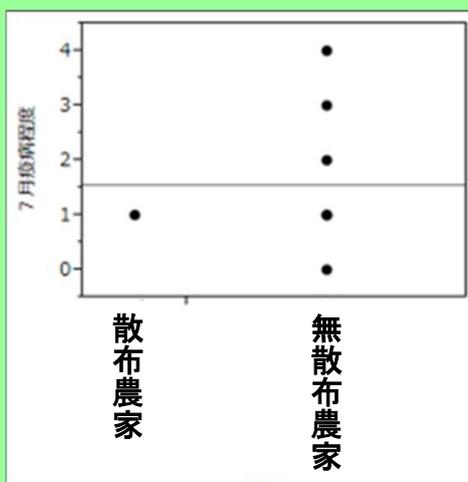
被害程度と植物体内リン酸の関係。リン酸濃度が上がるほど、被害程度が少ない。

表 宮崎県のさといも施肥基準 (kg/10a)

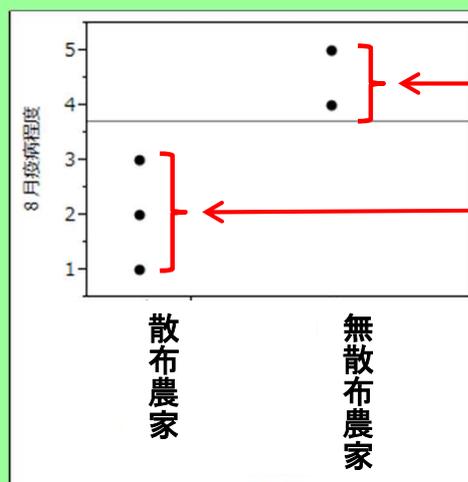
作型	基肥					追肥		
	堆肥	苦土石灰	N	P	K	N	P	K
早生	2,000	100	13	21	14	-	-	-
中生	2,000	100	14	23	12	6	0	8
晩生	3,000	100	8	25	10	15	5	10
京芋	3,000	100	10	25	10	14	0	17

※県の基準の他、地区の栽培基準を参考にすること。

2) 亜リン酸肥料の施用は発根を促し、疫病に強くなる。



散布開始前(7月)



散布開始後(8月)

無散布農家全体の被害度が上がっている。

散布農家の被害度もやや上がるが、無散布農家よりも程度が低い。

- 亜リン酸肥料は農薬ではないので、農薬のような効果はありませんが、散布すると被害の拡大程度が無散布よりも小さくなります。
- 過剰な施用は逆に害があるので、活着後2~3週間間隔で数回散布し、使用商品の指定に従って、1作6回以内、収穫1ヶ月前までの使用としてください。

【付録解説】 亜リン酸資材を散布すれば 大丈夫というわけではない。

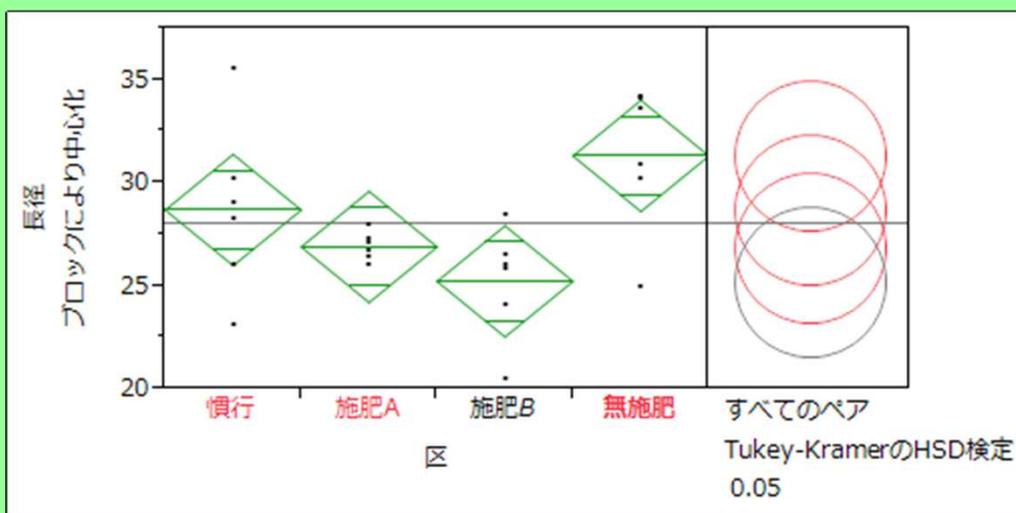
区	資材名	希釈倍数 (倍)	処理間隔	調査 株数	6月5日		6月17日		7月5日		7月24日		8月7日		8月20日	
					発病株 率(%)	発病度	発病株 率(%)	発病度	発病株 率(%)	発病度	発病株 率(%)	発病度	発病株 率(%)	発病度	発病株 率(%)	発病度
1-①	ホスプラス	1000	月2回	30	0.0	0.0	0.0	0.0	20.8	5.2	92.0	26.0	100.0	51.0	100.0	51.0
1-②	ホスプラス	1000	月1回	30	0.0	0.0	0.0	0.0	17.2	4.3	100.0	43.8	100.0	52.1	100.0	62.5
2-①	Ele MAX (4-30-20)	1000	月2回	30	0.0	0.0	0.0	0.0	12.5	3.1	91.7	26.0	100.0	52.0	100.0	51.0
2-②	Ele MAX (4-30-20)	1000	月1回	30	0.0	0.0	0.0	0.0	14.3	3.6	100.0	45.8	100.0	54.2	100.0	64.6
3-①	Ele MAX (0-28-26)	1000	月2回	30	0.0	0.0	0.0	0.0	16.7	4.2	100.0	28.1	100.0	51.0	100.0	52.1
3-②	Ele MAX (0-28-26)	1000	月1回	30	0.0	0.0	0.0	0.0	14.3	3.6	100.0	45.8	100.0	52.1	100.0	57.3
4	無処理	—	—	30	0.0	0.0	0.0	0.0	26.5	6.6	100.0	40.1	100.0	52.1	100.0	55.6

散布履歴

6/3: ジーファイン、6/18: ジーファイン、7/4: アミスター、7/12: アミスター

7/18: ジーファイン、8/7: ジーファイン

適正な施肥こそ大事



施肥を変えると、疫病斑の大きさが変わることがあります。
このことから、施肥が発病に関係することが推定されます。
何を散布したというより、適正な施肥が必要です。

第3章

付録資料

1)いろいろな菌

サトイモ疫病菌は、同じ種でも性質が異なる系統があるようです。また、「卵胞子」という耐久性の高い胞子が作成できますので、自然界では発見できていませんが、卵胞子は普通にいると思った方が良いでしょう。

2)薬害の事例

サトイモの葉は、薬剤の付着などにより障害が生じることがあります(薬害)。この傷は、疫病菌が葉に侵入する入り口になるため、障害はできるだけ発生しないようにしなければいけません。

サトイモの葉は撥水性が強いため、展着剤を加用しないと、薬剤が付着しません。展着剤の加用だけでも薬害が発生することがあり、それも品種によって症状が異なることがあります。

また、マルチに反射した熱でも、薬害様の症状になることがあるため、品種と薬剤(展着剤を含む)の相性、薬剤を散布する時間(日焼け)などに、十分注意しなければいけません。

3)DNAを調査して、サトイモ疫病菌を検出する方法

サトイモ疫病菌のDNAを検出する方法により、そこに疫病菌がいるのか、いるならどれくらいの量なのかを把握する方法を開発しました。

ここでは、LAMP法により水や植物体などから菌を検出する方法と、特異的プライマーを用いたリアルタイムPCR法による土壌中の菌量の推定法を掲載します。

【付録解説】 病原菌の解説①

サトイモ疫病菌は、系統(採取した場所)により性質が異なります。気温により遊走子のうを形成温度は、系統により違います。

培養温度	供試菌株					
	MS28101	KS16TaOki5	KS16TaYo2	EPC201527	EPC201534	EPC201522
20°C						
	+ Z+	+ Z-	+++ Z++++	++ Z+	++ Z-	+ Z-
25°C						
	+++ Z++++	++ Z-	+++ Z++++	++ Z++	+++ Z+	++ Z++
30°C						
	+++ Z+	+ Z-	++ Z+	- Z-	- Z-	+ Z-

A1とA2という型が接合すると、卵胞子を形成します。希に、A1にもA2にもなる雌雄同株性も存在します。

交配型	雌雄異株性	雌雄同株性
A1型 (A2に反応)		
A2型 (A1に反応)		
? (両方に反応)		



反応・有性器官
形成の有無判定

【付録解説】 病原菌の解説②

A1とA2型や、雌雄同性株は各地で確認されています。

分離菌株の交配型

分離県	圃場	圃場数	菌株数	雌雄異株性		雌雄同株性 ^a		
				A1	A2	A1	A2	A1/A2
鹿児島	沖永良部島	1	5	0	2	0	2	1
	与論島与論町	2	3	0	2	0	0	1
	霧島市	2	14	0	5	0	9	0
	始良市	1	6	1	2	0	2	1
	曾於市	3	31	0	11	0	20	0
	合計	9	59	1	22	0	33	2
宮崎	川南町	2	3	0	3	0	0	0
	高鍋町	1	1	0	1	0	0	0
	小林市	6	9	0	5	1	3	0
	都城市	14	24	1	12	0	10	1
	西都市	1	1	0	1	0	0	0
	えびの市	2	3	0	1	0	2	0
	佐土原町	1	1	0	1	0	0	0
	宮崎市	1	1	0	1	0	0	0
	川南町	2	6	0	3	0	3	0
	合計	30	49	1	28	1	18	1
愛媛	四国中央市	14	41	6	24	0	9	2
	新居浜市	1	1	0	1	0	0	0
	合計	15	42	6	25	11	9	2

1圃場から分離された交配型

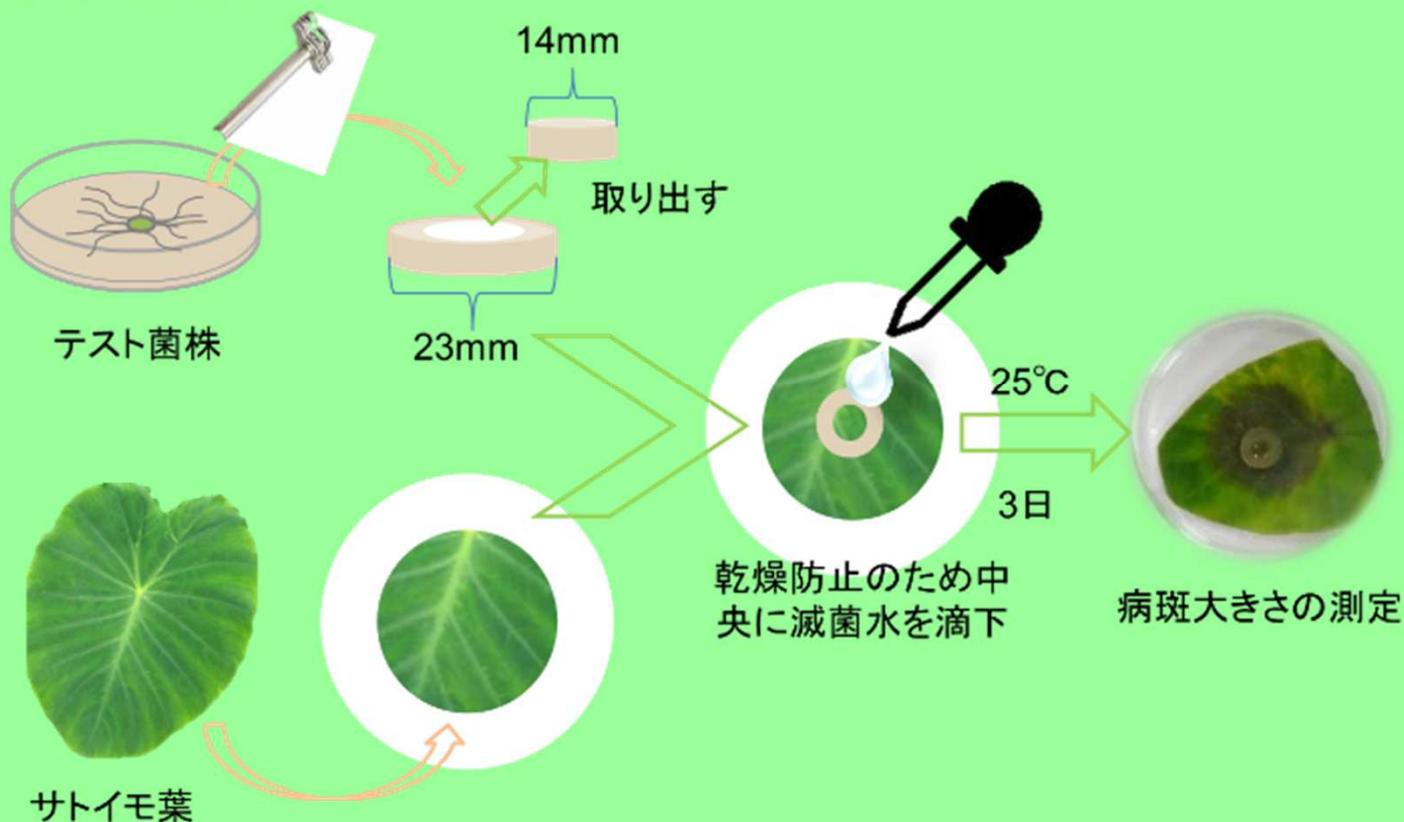
圃場数^a

A1交配型のみ	0 (0)
A2交配型のみ	8 (25.0)
雌雄同株性のみ	1 (3.1)
A1交配型+A2交配型混在	2 (6.3)
A2交配型+雌雄同株性混在	16 (50.0)
A1交配型+A2交配型+雌雄同株性混在	5 (15.6)
合計	32

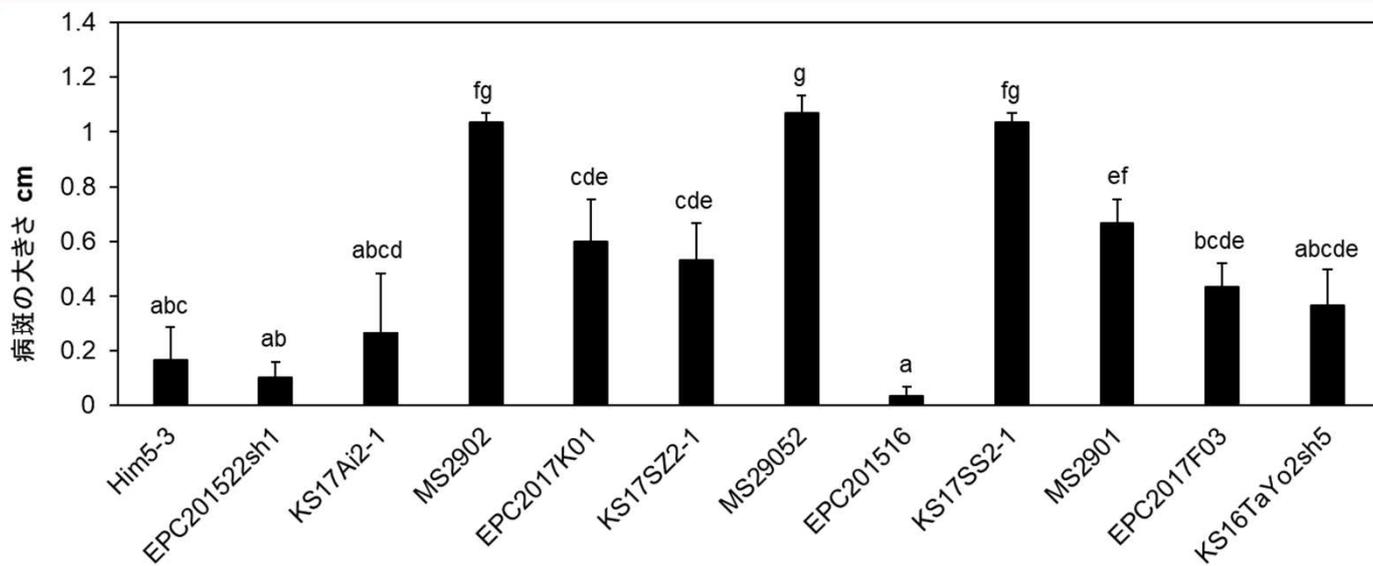
^a 1菌株のみの圃場を除く。カッコ内割合

【付録解説】 病原菌の解説③

病原性試験法



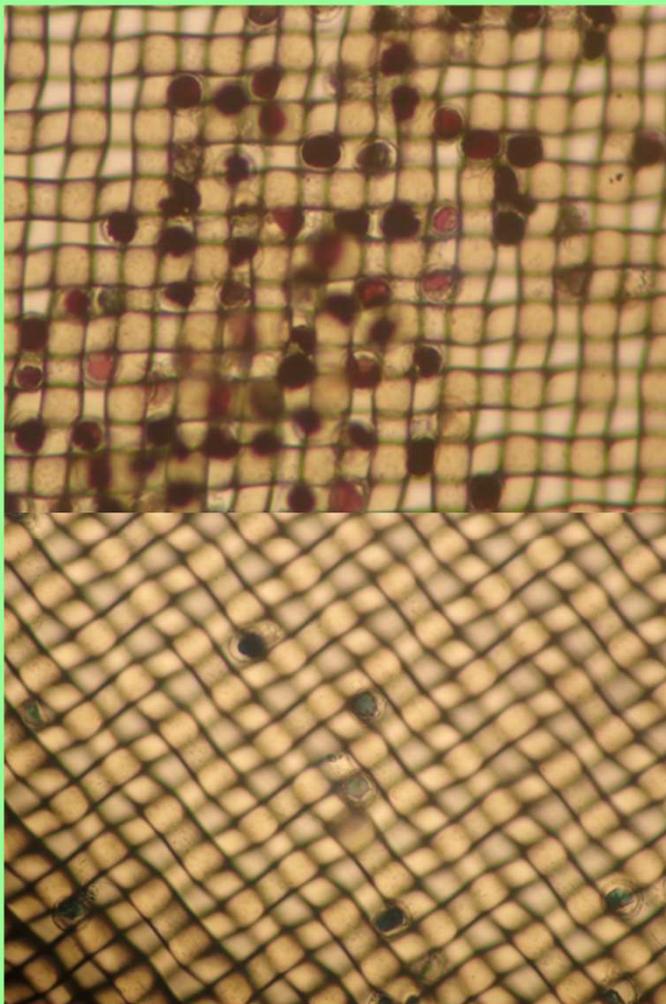
各地で採集された各系統の菌の病原性は同じではなく、感染してできる病斑の大きさも変わってきます。A1型やA2型だから病原性が強いということではなく、自家稔性(接合しなくても卵胞子をつくる)株でも同じです。



A1型

A2型

自家稔性



オートクレーブでは青くなる

卵胞子の生死判別

Etxeberria A, Mendarte S, Larregla S (2011) に従い, tetrazolium bromide (MTT)により卵胞子を染色

生きているものは赤く, その他は黒, 青, 透明に染色される。

Etxeberriaらは, この他に4M NaCl溶液に卵胞子を浸漬することでおきる原形質分離も卵胞子の生死判別法としている。



クロルピクリンでは透明になる

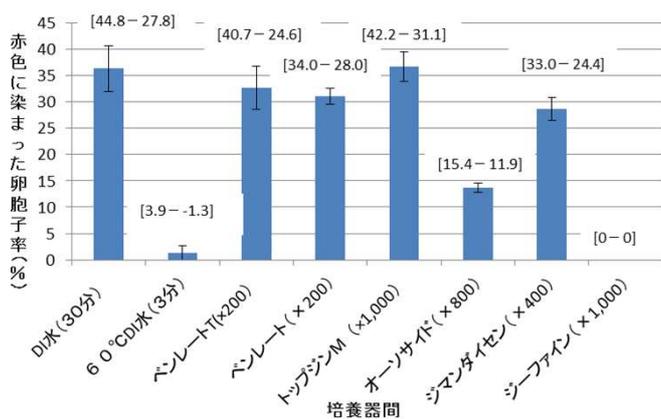


図 各薬剤に浸漬して生存した卵胞子数

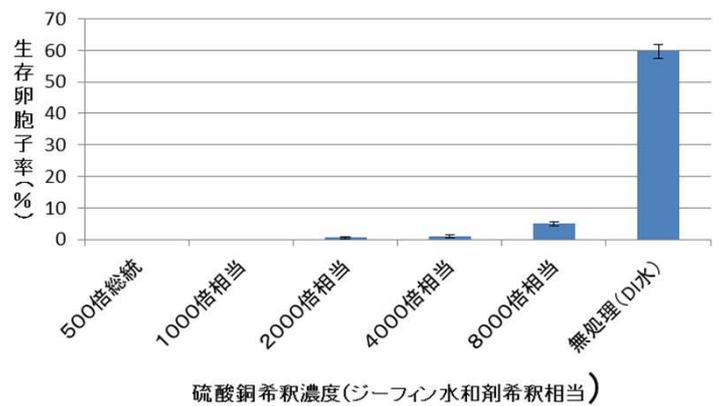
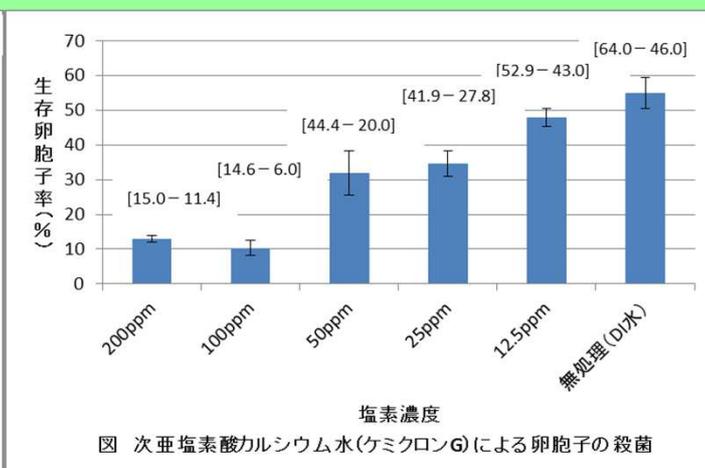
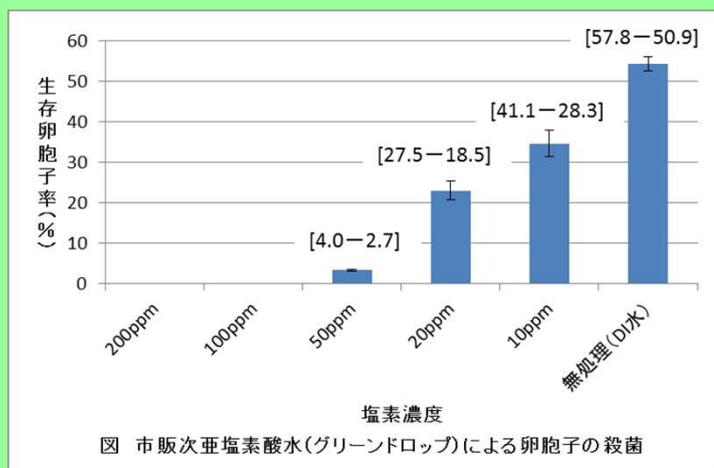


図 硫酸銅による卵胞子の殺菌

- ①種子消毒剤(登録があるものは登録濃度)に30分浸漬した場合に, 卵胞子を防除できそうな剤は無い。
- ②ただし, 60°Cの温湯3分浸漬では生存胞子は大幅に減少し, 処理時間次第では防除できそう。
- ③ジーファイブの殺胞子効果は高い

その他の卵胞子に効果があるもの



- ①市販の次亜塩素酸水(商品名 グリーンドロップ:pH5)の効果は高く、100ppmあれば完全に防除できる(10分浸漬)。※この製品は農薬として市販されていません。次亜塩素酸水の塩素濃度と防除効果の関係をj知るために、試験に使用したものですのでご注意ください。
- ②ケミクロンGを使う場合には、用水消毒(50,000倍:塩素14ppm)では効果は低い(30分浸漬)。

特定防除資材

特定防除資材(特定農薬)とは、「その原材料に照らして、農作物等、人畜及び水産動植物に害をおよぼすおそれがないことが明らかなもの」として農林水産大臣および環境大臣が指定しているものです。

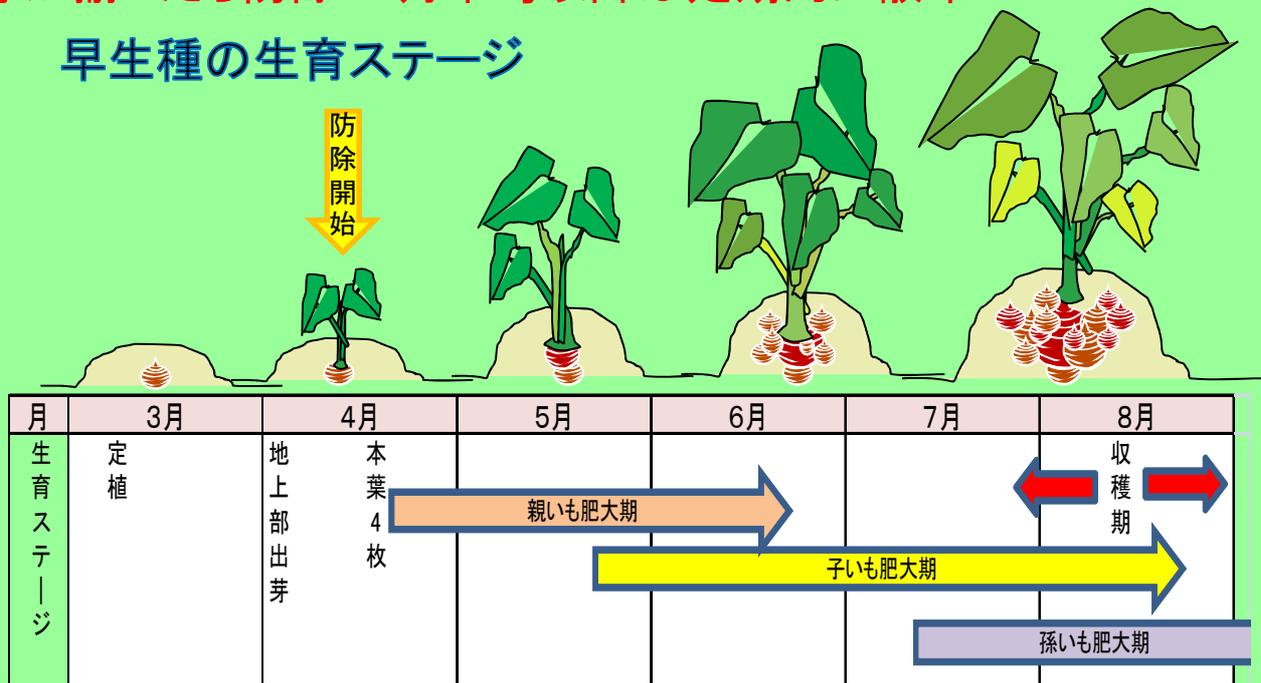
その中には、重曹や次亜塩素酸水が含まれますが、次亜塩素酸水は塩酸か塩化カリウムを電気分解して得たものという条件があります。

ご注意ください。

薬害事例：マルチの照り返しによる焼け

芽が揃ったら防除・5月中旬以降は定期的に散布

早生種の生育ステージ



ジーファイン水和剤の1000倍散布は、発病前からの散布が必要ですが、マルチの照り返しにより葉焼けが助長されることがあります。



ジーファイン散布区



無散布区

ジーファイン水和剤の散布で薬害が出たという報告が各地からあり調査したところ、散布していないところでも、マルチの照り返しにより葉焼けが生じていました。

このときのマルチ表面温度は50℃を、葉温は40℃を超えることがあり、株が小さいときの晴天時には、薬害の発生を助長することがあります。薬剤散布時には注意してください。

重要な薬剤の『被覆率』

さといもの葉は濡れにくいので、展着剤の利用が必要



展着剤加用



展着剤なし

散布時には必ず展着剤を加用する。
(薬液の付着が大きく変わる)

さといもの茎は、地際には水が溜まりやすい。
ここまでしっかり薬液が届く必要がある(p10も参照)



さといもの株元は水が溜まりやすい。
降雨があると長期間湿度が高くなる
ため、ここに予防剤が付着していない
と危険。



もし、種芋から伝染するなら、葉より
先に地際に発病するはず。ここに薬
剤が付着しないのは危険。

展着剤で発生する薬害と発生条件



さといもは、展着剤だけでも薬害が発生することがある。この項では展着剤のみの使用による薬害を記すが、展着剤と農薬を混用した場合には、薬害の発生程度が変わることがあるので、注意する。

また、梅雨の中休みなど強日射で葉温が高い場合には、薬害が発生しやすいので、散布時間にも注意する必要がある。

表1 各展着剤による薬害の発生状況と散布液の付着

展着剤の商品名	濃度	薬害判定	剤の付着	いも類に対する農薬登録
アピオンE	500	-	×	いも類
	1,000	-	×	いも類
アプローチB I	1,000	-	○	野菜類等
	2,000	-	○	いも類
グイックタッチ	5,000	-	○	いも類
	10,000	-	○	いも類
グミテン	3,300	+	○	作物一般
	10,000	+	○	作物一般
グラミン	3,300	+	○	薬液のつきにくい作物
	10,000	+	○	薬液のつきにくい作物
グラミンS	3,300	+	○	薬液のつきにくい作物
	10,000	+	○	薬液のつきにくい作物
KKステッカー	2,500	-	×	薬液のつきにくい農作物等
	3,000	-	×	薬液のつきにくい農作物等
ササラ	2,000	+	○	いも類
	3,000	+	○	いも類
シンダイン	2,500	+	○	展着しにくい作物
	5,000	+	○	展着しにくい作物
スカッシュ	1,000	-	○	いも類
	2,000	-	○	いも類
ダイコート	2,000	++	○	薬液のつきにくい作物
ニーズ	1,000	++	○	×：野菜類
	2,000	++	○	×：野菜類
ブラテン80	3,000	+	○	薬液のつきにくい作物
	5,000	+	○	薬液のつきにくい作物
まくびか	3,000	++	○	いも類
	10,000	++	○	いも類
ミックスパワー	1,000	++	○	×
ワイドコート	3,000	++	○	キャベツ、きゅうり等
	10,000	++	○	いも類
水	-	-	×	-

注) 薬害の発生程度および判定は、-：発生なし、±：わずかな部分的な薬害、+：薬害がある、++：著しい明確な薬害。剤の付着は、肉眼観察で○：面的に付着する、×：面的に付着しないとしたが、薬剤の付着量ではない。
農薬登録が×の剤は芋を食するサトイモには使用できないか、作物登録が無い。

表2 「まくびか」の5,000倍液を使用したときの気温と薬害の発生時間

気温	反復	15分	30分	45分	1時間	2時間	3時間	24時間
35℃	I	±	+	++				
	II	-	-		+			
30℃	I	-	-	±	+			
	II	-	-	±	+			
25℃	I	-	-	-	+			
	II	-	-	-	+			
20℃	I	-	-	-	-	+		
	II	-	-	-	+			
15℃	I	-	-	-	-	-	-	-
	II	-	-	-	-	-	-	-

注) 表中の記号は薬害の発生程度。評価は表1に準じる。

薬害事例:石川早生を用い、30℃条件において試験したものです。
いずれも、スカッシュ2,000倍加用

殺虫剤	殺菌剤	薬害
アクセルフロアブル 1,000倍	ジーファイン水和剤	－
	アミスター20フロアブル	－
アディオン乳剤 3,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	＋
アドマイヤー顆粒水和剤 10,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	－
アニキ乳剤 2,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	＋
ウララDF 2,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	＋
エルサン乳剤 1,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	＋
コテツフロアブル 2,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	－
コロマイト乳剤 1,000倍	ジーファイン水和剤	±
	アミスター20フロアブル	＋
サンマイトフロアブル 1,000倍	ジーファイン水和剤	－
	アミスター20フロアブル	－
トルネードエースDF 2,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	±
トレボン乳剤 1,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	＋
マイトコーネフロアブル 1,000倍	ジーファイン水和剤	±
	アミスター20フロアブル	±～＋
フェニックス顆粒水和剤 2,000倍	ジーファイン水和剤	＋
	アミスター20フロアブル	－
プレオ 1,000倍	ジーファイン水和剤	－
	アミスター20フロアブル	－
プレバソフロアブル5 2,000倍	ジーファイン水和剤	±
	アミスター20フロアブル	＋
ラービフロアブル 750倍	ジーファイン水和剤	－
	アミスター20フロアブル	±
ロムダンフロアブル 2,000倍	ジーファイン水和剤	－
	アミスター20フロアブル	－

薬害事例：愛媛農試V2号を用い、全期マルチ栽培条件で試験

植付：2018年3月29日 栽培様式：全期マルチ栽培

展着剤：まくぴか 10,000倍加用、 散布量：100mL/株 (200～300L/10a相当量)

薬害程度：－薬害の発生なし ±わずかな部分的な薬害 ＋明確な(著しい)薬害

散布日	殺菌剤	殺虫剤	葉位別薬害程度		
			上位	中位	下位
6月28日	ジーファイン水和剤	－	－	±	±
	ジーファイン水和剤	サンマイルフロアブル 1,000倍	－	±	±
	アミスター20フロアブル	－	－	－～±	－～±
	アミスター20フロアブル	サンマイルフロアブル 1,000倍	－～±	±～+	±～+
7月19日	ジーファイン水和剤	－	－	±	±
	ジーファイン水和剤	マイルコーネフロアブル 1,000倍	±	±	±
	ジーファイン水和剤	コテツフロアブル 2,000倍	±	±	±
	アミスター20フロアブル	－	－	±	±
	アミスター20フロアブル	マイルコーネフロアブル 1,000倍	±	±	±
	アミスター20フロアブル	コテツフロアブル 2,000倍	±	±	±
8月14日	ジーファイン水和剤	－	－	±	±
	ジーファイン水和剤	フェニックス顆粒水和剤 2,000倍	±	±	±
	ジーファイン水和剤	プレバソンフロアブル 2,000倍	±	±	±
	アミスター20フロアブル	－	－	±	±
	アミスター20フロアブル	フェニックス顆粒水和剤 2,000倍	±	±	±
	アミスター20フロアブル	プレバソンフロアブル 2,000倍	±	±	±

薬剤散布前後5日間の気象(2018年、愛媛県農林水産研究所気象観測データ)

日付	6/21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	7/1
平均気温(°C)	20.9	22.0	19.0	21.7	22.0	22.7	24.8	27.6	26.2	23.2	25.5
降水量(mm)	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	2.5	0.0	0.0	0.5	41.5	0.0
備考	散布										
日付	7/14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
平均気温(°C)	26.3	26.9	27.2	26.9	27.1	27.5	27.7	27.5	27.9	27.6	28.4
降水量(mm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
備考	散布										
日付	8/9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
平均気温(°C)	27.3	27.6	28.0	28.4	27.9	28.9	27.2	26.2	25.8	24.4	24.4
降水量(mm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.5	7.0	0.0	0.0	0.0
備考	散布										

【付録解説】

展着剤の混用による防除効果の低下事例

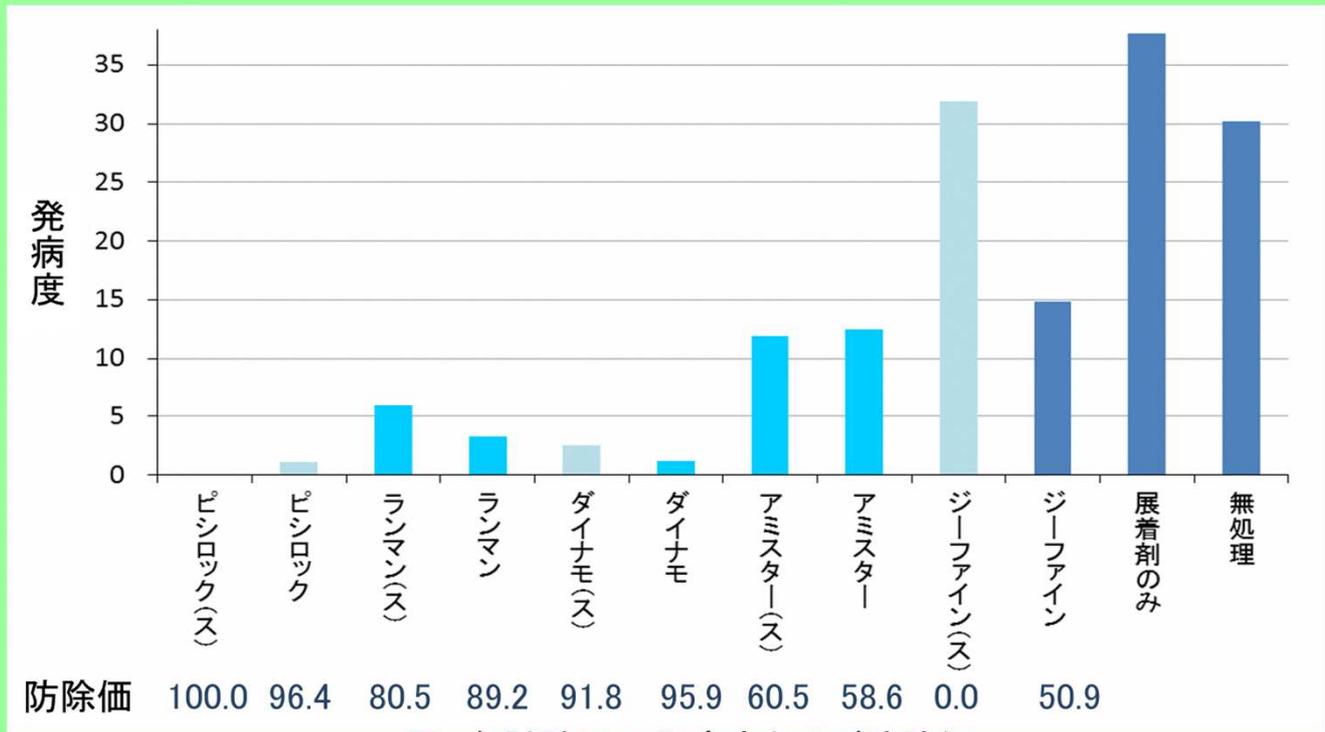


図 各試験区の発病度および防除価

注) (ス)はスカッシュを加用した試験区を示す

表 各防除体系の防除効果(令和元年8月23日調査)

試験区	供試薬剤	令和元年8月23日(最終散布7日後)			
		発病株率 (%)	発病葉率 (%)	発病度	防除価
体系1	ジダアダアジジ(スカッシュ)	97.0	64.6	35.1	46.6
体系2	ジダアダーアー(スカッシュ)	100.0	81.6	45.1	31.4
体系3	ラダアダアジジ(スカッシュ)	100.0	66.9	36.0	45.3
体系4	ラダアダーアー(スカッシュ)	100.0	81.3	43.6	33.7
体系5	ーダアダーアー(スカッシュ)	100.0	80.4	44.0	33.1
体系6	ジダアダアジジ	88.9	56.7	28.2	57.1
体系7	ラダアダアジジ	100.0	69.4	38.9	40.9
体系8(慣行)	ジアアジジジジ(スカッシュ)	100.0	76.1	41.5	37.0
無処理	ー	100.0	91.6	65.8	ー
無処理(スカッシュ)	スカッシュのみ	100.0	91.1	67.3	ー

鹿児島県では、展着剤(スカッシュ)の混用により、薬剤の効果が低下した事例が見られている。詳しい原因は不明であるが、①肉眼で確認できない薬害が発生している、②優れた展着剤を使用することで、葉の濡れが継続して発病する、などの原因が考えられる。

少なくとも、薬害の発生は、気象や品種で異なるので、薬害が発生するような場合には、展着剤の使用は十分注意する。

Phytophthora colocasiae の LAMP 法による検出

- ◆ LAMP プライマーMix・2×Reaction mixture (2×R) の組成
- ◆ LAMP 反応液の組成・SYBR Green® I を用いた発色による検出
- ◆ LAMP 試薬リスト・試薬作成法
- ◆ NARM+タチガレン培地作製法
- ◆ 検出法
- ◆ 菌体からの DNA 抽出法
- ◆ 土壌からの DNA 抽出法

◆ LAMP プライマーMIX の組成

F3 (100 μM)	1.25 μL	2.5 μL
B3 (100 μM)	1.25 μL	2.5 μL
FIP (100 μM)	10 μL	20 μL
BIP (100 μM)	10 μL	20 μL
FLoop (100 μM)	5 μL	10 μL
BLoop (100 μM)	5 μL	10 μL
SDW	67.5 μL	135 μL
Total	100 μL	200 μL

表1. *P. colocasiae* LAMP プライマーセット

プライマー配列		塩基数	検出感度	反応温度
Col-F3	5'-GGACTTTGTGAGTTTCAG-3'	18	100 fg	65°C
Col-FIP	5'-CTAGAGAATACCAAGTCATGAAGAGGTCCTGTGAGGT3'	40		
Col-B3	5'-CCACGGTAGTAGCTGCTAGT3'	20		
Col-BIP	5'-GTTGTGCCAACTCCCTTGTGAATCGTGCGGAAACGCTC-3'	38		
Col-LB	5'-CTCCTGTAGTGGGACACGG-3'	19		
Col-LF	5'-GCAATCCTGATAGA3'	14		

◆ 2×Reaction mixture (2×R)

滅菌水	260 μL
1M Tris-HCl (pH 9.0)	40 μL
1M KCl	20 μL
10% Tween20	20 μL
5M betaine	368 μL
100 mM MgSO ₄	160 μL
1M (NH ₄) ₂ SO ₄	20 μL
100 mM dNTPs	28 μL×4
Total	1000 μL

◆ LAMP 反応液の組成 (1 サンプルあたり)

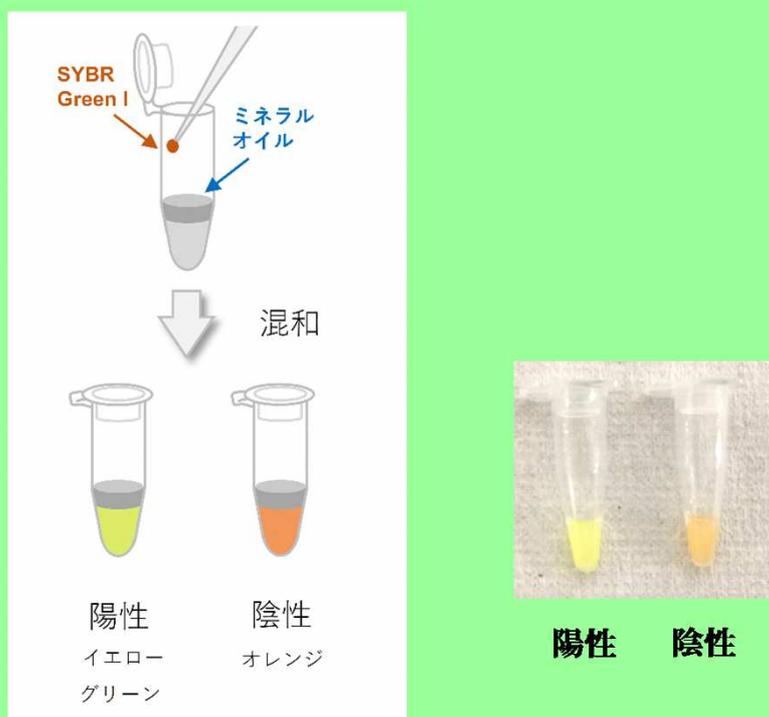
鋳型 DNA	2 μ L
2 \times R	12.5 μ L
Primer Mixture	4 μ L
<i>Bst</i> DNA Polymerase	1 μ L
滅菌水	5.5 μ L
<hr/>	
Total	25 μL

ミネラルオイル 20 μ L (発色による検出を行う場合)

- ✓ 発色による検出を行う場合、反応液分注後各チューブに 20 μ L のミネラルオイルを反応液上に重層する。その後、鋳型 DNA を添加する。
- ✓ ポジティブコントロールとして菌体抽出 DNA 100 pg を用いる。
- ✓ 反応液はコンタミを防ぐためクリーンベンチ内で調整する。
- ✓ 酵素の失活を防ぐため低温下で調整する。

◆ SYBR Green[®] I を用いた発色による検出

65°C で 60 分間反応後、80°C で 5 分間インキュベートし、酵素を失活させる。蓋を開け、2 μ L の SYBR Green[®] I ($\times 10,000$ の試薬を滅菌水で 10 倍希釈し $\times 1,000$ に調整) を壁面に滴下し、蓋を閉めてスピンドウン後、タッピングで混和する。



◆ LAMP 試薬リスト

Bst DNA Polymerase (1,600 unit)

ニッポンジーン: 311-07481 (冷凍保存) ￥11,000

dNTP Set, 100 mM Solutions(dATP, dCTP, dGTP, dTTP)4×25 μmol

GE ヘルスケアライフサイエンス: 28406551 (冷凍保存) ￥22,400

ベタイン溶液 (Betaine solution 5 M, PCR Reagent)

Merck: B0300-5VL (冷蔵保存) ￥19,800

ミネラルオイル (Mineral oil for molecular biology, BioReagent, light oil)

Merck: M5904-5ML (室温保存) ￥ 2,750

SYBR Green I Nucleic Acid Gel Stain (50 μl×10)

タカラバイオ: 5761A (遮光、冷凍保存) ￥46,000

◆ 試薬作成法

1M Tris-HCl (pH 9.0)

Tris(hydroxymethyl) aminomethane (M.W.=121.14; 丸石化学薬品工業株式会社) 12.11g を蒸留水 80 mL に溶解し、5 N 塩酸で pH 9.0 に調整後、蒸留水で 100 mL とし、120°C で 20 分間オートクレーブ滅菌する (4°C 保存)。

10% Tween20

天秤上でスターラーバーをあらかじめ入れておいた 200 mL ビーカーにマイクロピペットを使って Tween20 を 10g 入れ、100g になるまで超純水を添加しよく攪拌する。均一に溶けたことを確認して 0.2 μm フィルターでろ過滅菌する (4°C 保存)。

◆ 捕捉法用のエゴマトラップの作成法

エゴマ種子: 小鳥用の餌 (ホームセンターで購入)

お茶パック: 95×70 mm 程度のもの

エゴマ種子は電子レンジまたはオートクレーブで滅菌する。 ※ 電子レンジの場合 600W で 5 分くらい

お茶パックに滅菌したエゴマ種子を 30~50 粒入れる。



◆ NARM+タチガレン培地作製法

i) 組成

Cornmeal agar	3.4 g	終濃度
Agar (希釈平板用)	2.0 g	(1.0%)
Agar (一般分離用)	1.0 g	(0.5%)
Nystatin (10mg / mL)	200 μL	(10 ppm)
Ampicillin (250mg / mL)	200 μL	(250 ppm)
Rifampicin (10mg / mL)	200 μL	(10 ppm)
Miconazole (1mg / mL)	200 μL	(1 ppm)
Hydroxyisoxazole (タチガレン 41.5%)	120 μL	(250 ppm)
<hr/>		
H ₂ O	200mL	

ii) つくり方

Cornmeal agar	3.4 g
Agar	1.0 g
<hr/>	

H₂O 200 mL

↓

オートクレーブ

↓

50℃まで冷ます

↓

←Ampicillin (*1000) 200 μL

←三種混合 (*1000) 200 μL

←タチガレン 166 μL



手早く攪拌

10mL / plate 駒込ピペットで分注

iii) ストック (*1000)

	Nystatin	40 mg
Ampicillin 1000 mg	Rifampicin	40 mg
	Miconazole	4 mg
<hr/>		
H ₂ O 4 mL	DMFA	4 mL

それぞれ 200μl ずつチューブに分注、冷凍保存

iv) 試薬

・コーンミールアガー (BBL Corn Meal Agar)	Becton, Dickinson and Company REF 211132 (500g)	23,520 円
・寒天 (Bacto Agar)	Becton, Dickinson and Company REF 214010 (450g)	31,900 円
・Nystatin	シグマ N3503-5MU	12,000 円
・Ampicillin Sodium	和光 012-23303 (10g)	5,600 円
・Rifampicin	和光 189-01001 (1g)	4,900 円
・Miconazole Nitrate	和光 134-12661 (1g)	3,000 円
・Dimethylformamide	和光 049-02914 (100 mL)	1,500 円

◆ 検出法

1. 植物体-LAMP (病斑から直接水抽出)

罹病植物体からビーズ破碎処理および熱処理によって DNA を抽出し、LAMP 反応に用いる。

(準備)

1/4 インチステンレスビーズを 2 mL チューブに 1 個入れ、蓋をゆるく締めてオートクレーブ滅菌する。

[手順]

1. 適量の罹病植物組織(葉 約 5 mm 角、茎 約 5 mm×2 本)をステンレスビーズ入り 2 mL チューブに回収する。
2. 滅菌水を 300 μ L 加え、約 1 分間ヴォルテックスする。
3. ヒートブロックなどにて 98°C、8 分間処理する。
4. 2 mL チューブが冷めた後 4°C、15,000 rpm で 5 分間遠心し、上清を新しい 1.5 mL チューブに回収する。再度 15,000 rpm で 5 分間遠心し、上清を新しい 1.5 mL チューブに回収する。
5. 2 μ L を鋳型 DNA として LAMP に供試する。

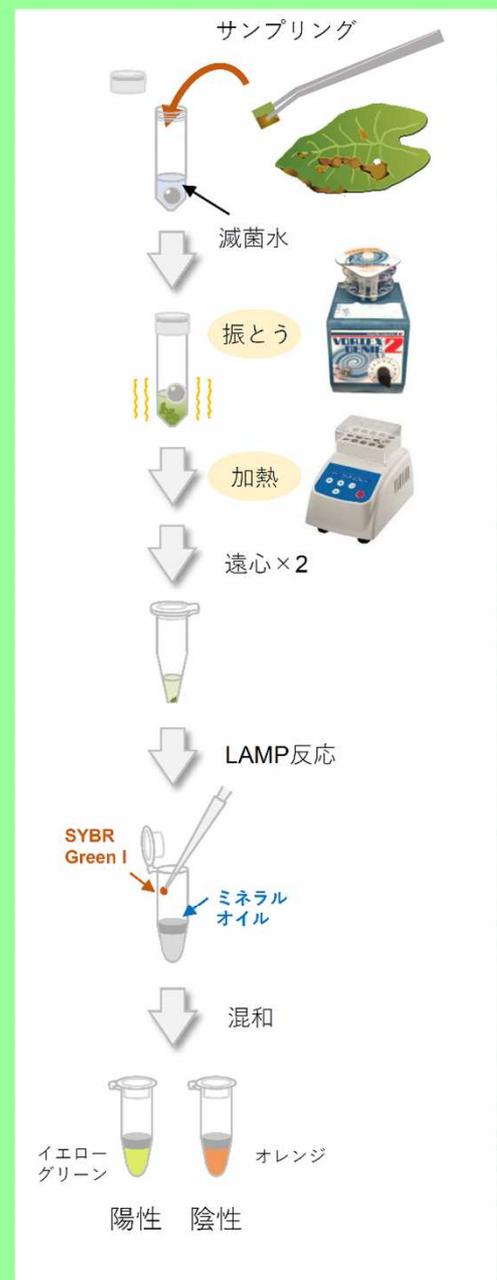


図 1. 植物体-LAMP による検出

2. 植物体－培養－LAMP（分離培養し含菌寒天から水抽出）

選択培地で分離培養した菌体（含菌寒天）からビーズ破碎処理および熱処理によってDNAを抽出し、LAMP反応に用いる。

（準備）

1/4 インチステンレスビーズを2 mL チューブに1個入れ、蓋をゆるく締めてオートクレーブ滅菌する。

〔手順〕

1. 病斑を NARM+タチガレン培地に置床し、25°Cで1～5日間培養する。
2. 伸びてきた菌糸を含む培地約2 mm 角×6 個をステンレスビーズ入り2 mL チューブに回収する。
3. 滅菌水を300 μL 加え、約1 分間ヴォルテックスする。
4. ヒートブロックなどにて98°C、8 分間処理する。
5. チューブが冷めた後4°C、15,000 rpm で5 分間遠心し、上清を新しい1.5 mL チューブに回収する。
6. 2 μL を鋳型 DNA として LAMP に供試する。



図2. 植物体－培養－LAMP による検出

3. 植物体抽出 DNA からの検出 (DNA 抽出キット利用) (推奨)

カネカ簡易 DNA 抽出キット version 2 で罹病植物体から DNA を抽出し、LAMP 反応に用いる。

(準備)

1/4 インチステンレスビーズを 2 mL チューブに 1 個入れ、蓋をゆるく締めてオートクレーブ滅菌する。

カネカ簡易 DNA 抽出キット version 2



[手順]

1. 適量の罹病植物組織(葉 約 5 mm 角、茎 約 5 mm×2 本)をステンレスビーズ入り 2 mL チューブに回収し、Solution A を 100 μ L 添加する。1 分間ヴォルテックスし、よく攪拌する。
2. ヒートブロックなどにて 98°C、8 分間処理する。
3. チューブが冷めた後、Solution B を 14 μ L 添加し、ヴォルテックスでよく攪拌する。
4. 15,000 rpm で 5 分間遠心し、上清を新しい 1.5 mL チューブに回収する。再度 15,000 rpm で 5 分間遠心し、上清を新しい 1.5 mL チューブに回収する。
5. TE buffer で 20 倍に希釈する。
6. 2 μ L を鋳型 DNA として LAMP に供試する。



図 3. 植物体抽出 DNA からの検出

4. 水からの検出 (メンブレン-培養-LAMP による検出)

水をメンブレンフィルターによってろ過し、選択培地によって分離培養した菌体 (含菌寒天) からビーズ破碎処理および熱処理によって DNA を抽出し、LAMP 反応に用いる。

(準備)

1/4 インチステンレスビーズを 2 mL チューブに 1 個入れ、蓋をゆるく締めてオートクレーブ滅菌する。メンブレンフィルターをオートクレーブ滅菌する。

[手順]

1. 約 4 L の水をメンブレン (Durapore® Membrane Filter、親水性 PVDF、ポアサイズ 5 μm) を通して吸引ろ過する。
2. メンブレンを裏返して NARM+タチガレン培地に置床し、25°C で 1~5 日間培養する。
3. 伸びてきた菌糸を含む培地約 2 mm 角×6 個をステンレスビーズ入り 2 mL チューブに回収する。
4. 滅菌水を 300 μL 加え、約 1 分間ヴォルテックスする。
5. ヒートブロックなどにて 98°C、8 分間処理する。
6. チューブが冷めた後 4°C、15,000 rpm で 5 分間遠心し、上清を新しい 1.5 mL チューブに回収する。
7. 2 μL を鑄型 DNA として LAMP に供試する。



図 4. メンブレン-培養-LAMP による水からの検出

5. 捕捉法による土壌からの検出（サトイモ葉およびエゴマ種子で捕捉して検出）

サトイモ葉およびエゴマ種子を用いた捕捉法によって土壌より分離培養した菌体（含菌寒天）からビーズ破碎処理および熱処理によってDNAを抽出し、LAMP反応に用いる。

〔準備〕

1/4 インチステンレスビーズを2 mL チューブに1個入れ、蓋をゆるく締めてオートクレーブ滅菌する。エゴマ種子を電子レンジまたはオートクレーブで滅菌する（電子レンジの場合600Wで約5分）。

〔手順〕

1. 3 L 容のタッパーウェアに土壌 200g を入れ、その上から蒸留水を加える。浮いてくる残渣をペーパータオルで取り除き、一晩静置しておく。翌日、浮いてきた残渣を再度取り除く（※）。

サトイモ葉の場合：葉の表面が水につくように裏返して浮かべる。病斑ができてきたら約5 mm 角に切り出し、NARM + タチガレン培地に置床する。25℃で1～5日間培養する。

エゴマ種子の場合：滅菌した種（30～50粒）をお茶パックに入れて浮かべる。1週間後に取り出し、NARM+タチガレン培地に置床する。25℃で1～5日間培養する。

2. 伸びてきた菌糸を含む培地約2 mm 角×6個をステンレスビーズ入り2 mL チューブに回収し、滅菌水を300 μL 加え、約1分間ヴォルテックスする。
3. ヒートブロックなどにて98℃、8分間処理する。
4. チューブが冷めた後4℃、15,000 rpm で5分間遠心し、上清を新しい1.5 mL チューブに回収する。
5. 2 μL を鋳型DNAとしてLAMPに供試する。

※ 残渣を丁寧に取り除かないとNARM+タチガレン培地を使っても *Pythium* が分離されてしまいます。



図5. 捕捉法とLAMPを組み合わせた土壌からの検出

◆ 菌体からの DNA 抽出法

PrepMan® Ultra Sample Preparation Reagent (Thermo Fisher Scientific)

※DNase free のチューブを使用すること

※チップがペレットに触れないように注意



50 μ L (／サンプル)の PrepMan® Ultra Sample Preparation Reagent に
等量の滅菌水を混ぜて 1/2 希釈する



100 μ L の 1/2 希釈液を 1.5 mL チューブに分注する



白金線でシャーレから菌糸を掻き取り、約 10 mg (耳かき 1 杯の半分ほど)の菌糸塊を 50 μ L の 1/2 希釈液に懸濁する



95~100 °Cで 10 分間インキュベートする (インキュベート中に 2~3 回タッピングで混和する)



2 分間室温で放熱し、遠心器の最大速度 (~15,000 rpm) で 2 分間遠心分離する



80 μ L 程度の上清を新しい 1.5 mL チューブに回収する



濃度を測定し、100 pg/ μ L に調整して 1 μ L (100 pg) を LAMP 反応に供試する

◆ 土壌からの DNA 抽出法

Extrap Soil Kit Plus ver.2 (日鉄環境(株))

※DNase free のチューブを使用すること

※チップがベレットに触れないように注意

▶ 用意するもの(主なもの)

Extrap Soil Kit Plus ver.2	日鉄住金環境(株)
70%エタノール	
TE buffer (溶出液)	
1.5 / 2ml チューブ	
マグネティックスタンド	Magical Trapper, TOYOBO
細胞粉碎装置	Micro Smash MS-100, トミーメディコ
ヒートブロック	
真空乾燥機	

細胞破碎

- ① Bead Tubes に、土試料 0.5 g, Extraction Buffer 950 μ L, Lysis Solution 50 μ L を添加する。
- ② ボルテックスミキサーで 5 秒間攪拌する。
- ③ ビーズビーター(4,200 rpm, 30 秒間) 後、遠心 (14,000 \times g, 5 分, 4 $^{\circ}$ C)

タンパク質除去

- ④ 上清 600 μ L を 1.5 mL チューブに移し、PP Solution 300 μ L を添加する。
- ⑤ ④のチューブを 10 回程度転倒混和し、攪拌する。
- ⑥ 遠心(14,000 \times g, 5 分, 4 $^{\circ}$ C)
- ⑦ 上清 800 μ L を 2 mL チューブに移す。

磁性ビーズによる精製

- ⑧ ⑦ のチューブに MBs Solution 50 μ L, Binding Solution 890 μ L を添加する。
- ⑨ ⑧のチューブを 2 分間程度転倒混和し、よく攪拌する。
- ⑩ ⑨のチューブをスピンドウンし、マグネティックスタンドにセットする。
- ⑪ 1 分以上集磁したのち、マイクロピペットを使用して上清を除去する。
- ⑫ ⑪のチューブに Washing Solution 800 μ L を添加し、ボルテックスミキサー(低速)で十分に攪拌する。
- ⑬ ⑫ のチューブをスピンドウンし、マグネティックスタンドにセットして 1 分以上集磁したのち、マイクロピペットを使用して上清を除去する。
- ⑭ 70%エタノール溶液 1 mL を添加し、ボルテックスミキサー(低速)で十分に攪拌する。
- ⑮ ⑭ のチューブをスピンドウンし、マグネティックスタンドで 1 分以上集磁したのち、マイクロピペット を使用してエタノールを除去する。
- ⑯ ⑭～⑮ の工程を再度繰り返す。

DNA 溶出

- ⑰ 10 分間真空乾燥後 100 μ L TE バッファーを添加し、ボルテックスミキサー(低速)で十分に攪拌する。65 $^{\circ}$ Cで途中攪拌しながら 10 分加温。
- ⑱ ⑰ のチューブをスピンドウンし、マグネティックスタンドにチューブをセットして集磁したのち、磁性ビーズをとらないように注意しながら、すべての溶出液を新しいチューブに移す。

【付録解説】 サトイモ土壌からのDNA抽出と *Phytophthora colocasiae*の検出

Extrap Soil Kit Plus ver.2による土壌からのDNA抽出

*Ph. colocasiae*特異的primerを用いたPCRによる検出

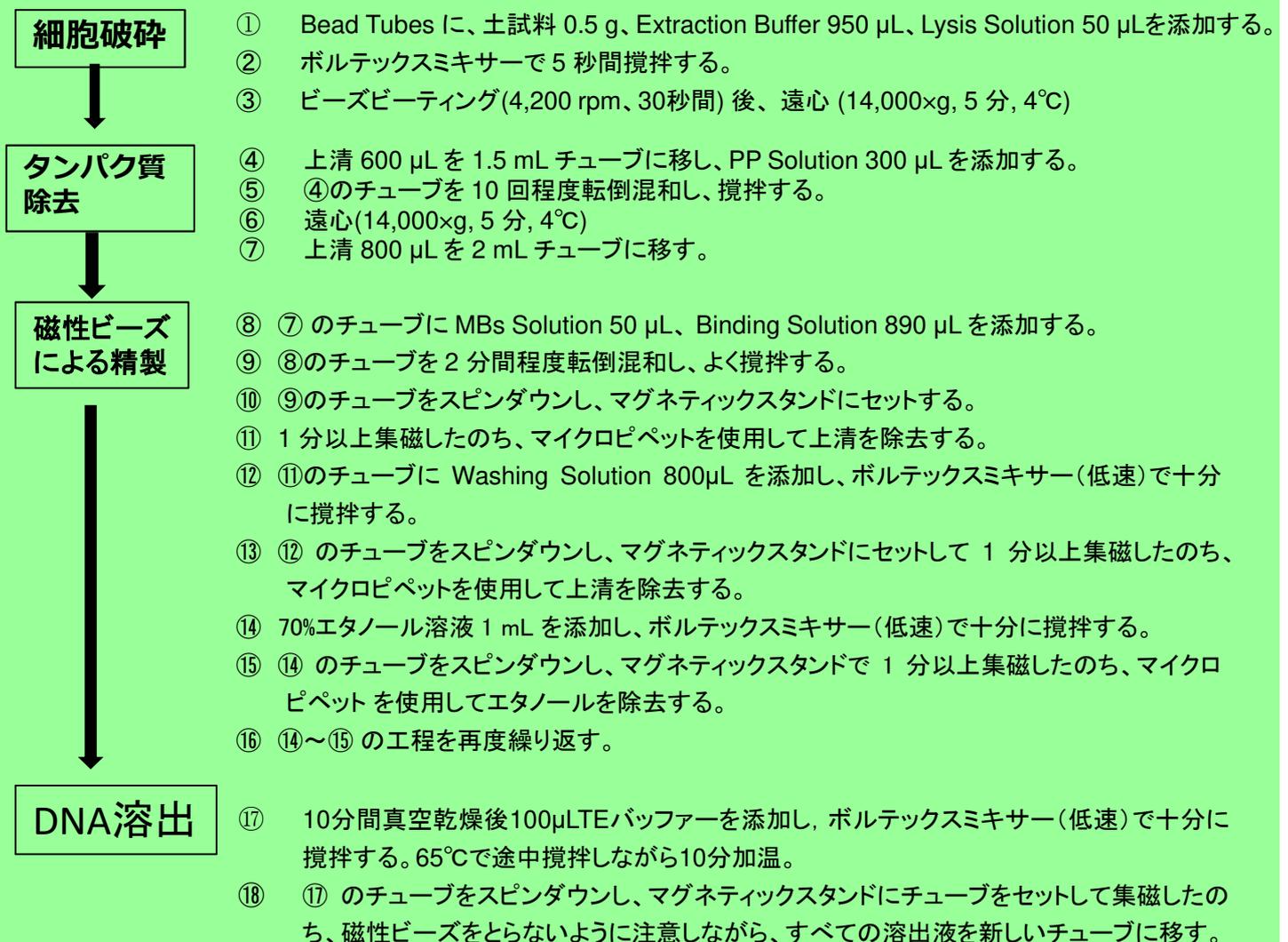
*Ph. colocasiae*特異的primerを用いたリアルタイムPCRによる定量

1. Extrap Soil Kit Plus ver.2による土壌からのDNA抽出

1) 用意するもの(主なもの)

抽出キット	Extrap Soil Kit Plus ver.2 (日鉄住金環境(株))	
抽出キット以外に必要な 試薬・機材	70%エタノール	
	TE buffer (溶出液)	
	1.5 / 2mlチューブ	
	マグネチックスタンド	Magical Trapper, TOYOBO
	細胞粉碎装置	Micro Smash MS-100, トミーメディコ
	ヒートブロック	
	真空乾燥機	

2) プロトコル



2. *Ph. colocasiae* 特異的primerを用いたPCRによる検出

Ph. colocasiae 特異的primer

PhyCol_For(1-2-2) 5'-GCTGACTTGGTGGTATTCTCTAG-3'

PhyCol_Rev(1-2-2) 5'-CACAAAGGGAGTTGGCACAAC-3'

PCR reaction Mix

	1反応あたり	Final conc.
DNA	5 µL	
SDW	11.875 µL	
BSA (4mg/ml)*1	2.5 µL	0.4mg/ml
x10 Buffer Mag+ *2	2.5 µL	1 ×
dNTP (2.5 mM) *2	2 µL	0.2mM
Phy Col Pre(1-2-2) (25µM)	0.5 µL	0.5µM
Phy Col Rev(1-2-2) (25µM)	0.5 µL	0.5µM
Takara Taq HS	0.125 µL	0.625U
Total	25 µL	

*1；自家調製。下記のリアルタイムPCRマニュアルの調製方法を参照。

*2；試薬Takara Taq HSに添付されている。

Thermal condition

95°C	2 min	40 cycle
94°C	30sec	
64°C	30sec	
72°C	30sec	
72°C	10min	

反応後、Agarose S 3%ゲルで電気泳動してバンドを確認する。

3. *Ph. colocasiae* 特異的primerを用いたリアルタイムPCRによる定量

1) 用意するもの(主なもの)

リアルタイム PCR 装置	StepOne Plus, Thermo Fisher Scientific 社
専用プレート	
TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)	Takara 長期保存する場合は、-20°Cで保存。いったん融解したものは4°C、6ヵ月保存。いずれも遮光下。
BSA (4mg/ml)	SIGMA牛血清アルブミン(A-2153)を滅菌蒸留水で調製
Ph. colocasiae 特異的primer	PhyCol_For(1-2-2) PhyCol_Rev(1-2-2)
標準菌株DNA(検量線用)	Ph. colocasiae P6317 (1fg~100pg)の希釈系列。
土壌抽出DNA(サンプル)	サトイモ土壌 (記載サンプルは千葉県CB18Yas)

2) プロトコル

- ① ソフトウェアの起動と実験条件を設定入力する。
 StepOne Plus の場合、Quantitation Standard Curve
 SYBER Green
 Standard mode

Thermal condition

初期変性	95°C	30 秒	
2 Step PCR	95°C	5 秒	↕40 cycle
	64°C	1min	
Melting Curve	95°C	15sec	
	60°C	1min	
	95°C	15sec	

例示のサンプル配置図

	5	6	7	8
A	100pg	100pg	CB18Yas1-1	CB18Yas4-3
B	10 pg	10 pg	CB18Yas1-2	CB18Yas6-1
C	1 pg	1 pg	CB18Yas1-3	CB18Yas6-2
D	100 fg	100 fg	CB18Yas2-1	CB18Yas6-3
E	10 fg	10 fg	CB18Yas2-2	CB18Yas7-1
F	1 fg	1 fg	CB18Yas2-3	CB18Yas7-2
G	NC	NC	CB18Yas4-1	CB18Yas7-3
H			CB18Yas4-2	

- ② 下記の反応液の調製をする。配置図とおりに分注を行う。

すべてクリーンベンチ内で、必ずディスポーザブルチップを用い、サンプル間のコンタミネーションを極力防止する。また、反応液調製時は、酵素失活防止のため試薬を氷上(アイストラック)に置く

PCR reaction Mix

	1反応あたり	Final conc.
SYBR Premix Ex Taq II	12.5µl	1 ×
BSA (4mg/ml)	2.5µl	0.4mg
ROX Reference Dye (50 ×) ^{*3}	0.5µl	1 ×
Forward Primer (25µM)	0.5µl	0.5µM
Reverse Primer (25µM)	0.5µl	0.5µM
SDW (滅菌蒸留水) / 標準DNAの場合	3.5µl / 7.5µl	
土壌抽出DNA / 標準DNA ^{*4}	5µl / 1µl	
Total	25µl	

*3; ウェル間の蛍光シグナルの補正を行う装置で解析する場合に使用する。機種によって添加するものが違うので要確認。

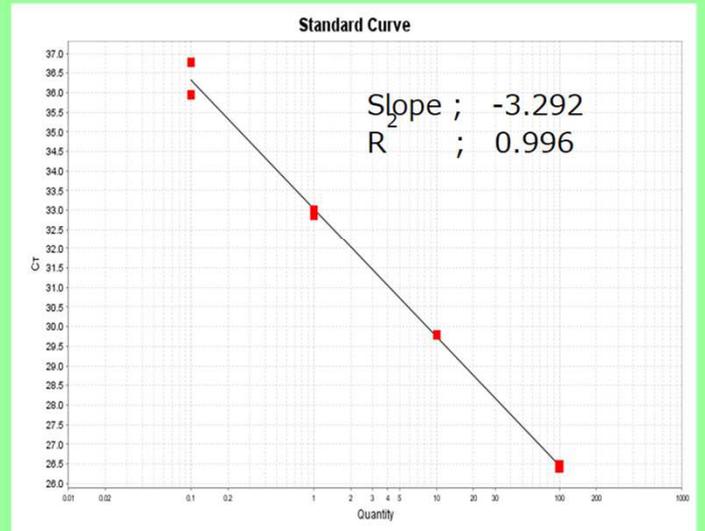
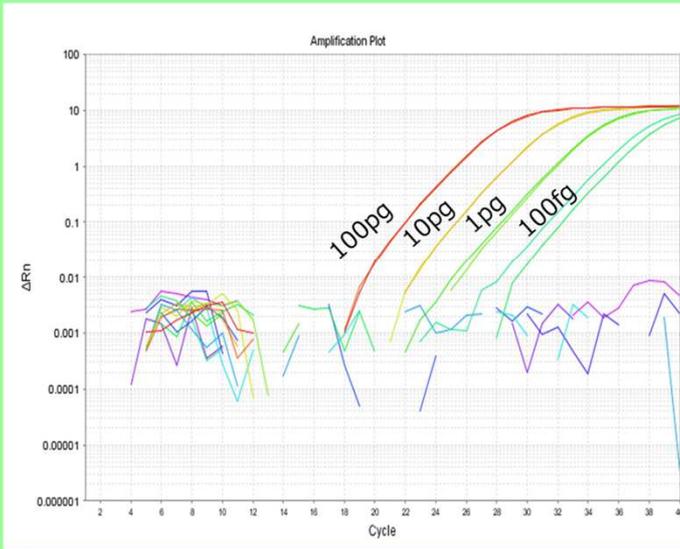
*4; 検量線は2反復で測定し、毎回作成する。

- ③ 分注後キャップをして反応プレートの準備完了。軽く遠心後、リアルタイムPCR 装置にセットし、反応を開始する。

4. データの解析・定量方法について

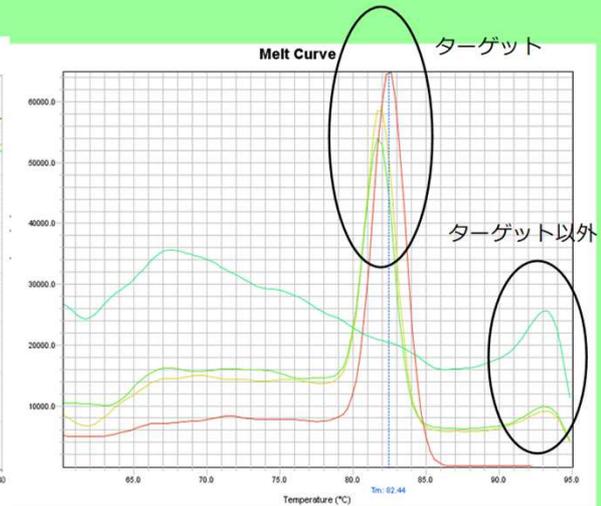
① 標準菌株の蛍光強度から検量線を作成する

傾き(参考として、100%の増幅効率の時-3.32)と相関係数(0.990以上であることが望ましい)を確認する。はずれたポイントはソフト上で外す(omit)ことができる。



② 解離曲線からターゲットのPCR産物が増幅したことを確認する

SYBER Greenアッセイでは存在するすべての2本鎖DNAが蛍光値に反映するため、土壌DNAのようなクローンのDNAの場合は特に注意する必要がある。解離温度が異なる増幅産物はcolocasiae由来ではない。



±1gあたりのcolocasiae DNA量 pg = 土壌抽出DNA5μlあたりのcolocasiae DNA量 pg × 20 / 0.5

±1gあたりのcolocasiae遊走子の個数

= ±1gあたりのcolocasiae DNA量 pg / 0.086

* colocasiae遊走子 1個あたりのDNA量 0.086pg

サトイモ産地を救う研究開発コンソーシアム

宮崎県総合農業試験場(生物環境部・病虫害防除肥料検査課)

〒880-0212 宮崎市佐土原町下那珂5805

TEL:0985-73-6448(生物環境部) FAX:0985-73-2127

宮崎県農政水産部農業経営支援課

〒880-8501 宮崎市橘通東2丁目10番1号

TEL:0985-26-7134 FAX:0985-26-7325

鹿児島県農業開発総合センター普及情報課

〒899-3401 鹿児島県南さつま市金峰町大野2200

TEL:099-245-1118 FAX:099-245-1116

鹿児島県農業開発総合センター生産環境部

〒899-3401 鹿児島県南さつま市金峰町大野2200

TEL:099-245-1081(代) FAX:099-245-1102

(国)岐阜大学 流域圏科学研究センター

〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸1-1

TEL:058-293-2061 FAX:058-293-2062

(国研)農研機構西日本農業研究センター

〒721-8514 広島県福山市西深津町6-12-1

TEL:084-923-4100(代表) FAX:084-924-7893

愛媛県県東予地方局産業経済部産業振興課地域農業室

〒799-0422 愛媛県四国中央市中之庄1684-4

TEL:0996-23-2394 FAX:0986-24-3697

(協力機関)

千葉県農林総合研究センター暖地園芸研究所

〒266-0006 千葉県千葉市緑区大膳野町808

TEL:043-291-0151 FAX:043-291-5319

【研究総括】

愛媛県農林水産研究所農業研究部

〒790-8570 愛媛県松山市一番町4丁目4-2

TEL:089-912-2565 FAX:089-912-2464

サトイモ疫病対策マニュアル(2020年版)



令和2年1月サトイモ産地を救う研究開発コンソーシアム