

# siViP G

## 【 20g 】

品名 植物置床用除菌剤  
 内容物 **siViP G**粉末 20g 置床操作 5～10回分程度(外植体の大きさ、形状で変わります)  
 透明小さじ(すり切り1杯 約1g)、クリップ **siViP G** 袋中に×各1。  
 次亜塩素酸カルシウム粒(10g程度)×1袋、マドラー×1、10mLさじ×1  
 保存方法 直射日光の当たらない冷暗所に保存(水ぬれ厳禁)  
 品質保証期限 内部の各容器に別途記載  
 製造者 **ウイトロプラント** 日本製  
 〒558-0032 大阪市住吉区遠里小野6丁目3-8 電話:06-6606-8099

<b>外植体置床方法</b> (裏面に図解があります)	
<b>用意するもの</b> (本製品付属物以外)	A: 100～500mL容量程度のハンドスプレー(長ノズルが便利) B: 清浄な水(水道水・蒸留水など) <sup>a</sup> C: 外植体浸漬用容器 D: 攪拌棒、滅菌固形培地、外植体、ピンセットなど適宜
1. 次亜塩素酸カルシウム粒を清浄な水で溶解(粒が完全崩壊後によく攪拌)	b
2. 浸漬液、噴霧液作成(右ページもしくは同梱の説明書参照)	c
3. 外植体を調整し、浸漬液に浸漬	d
4. 外植体を固形培地に、外植体を置床	f
5. 噴霧液を容器内に噴霧し、蓋をする。その後、培養	g
滅菌培地の作成には <b>ウイトロプラント</b> 提供の <b>mViP</b> もしくは <b>eViP</b> 培地、オートクレーブなどを用いてください。	

- a, 清浄な水が得られない場合は、1Lあたり付属の次亜塩素酸カルシウムを1～2粒溶解し、1日以上暗黒状態で静置した水をお使い下さい。
- b, 次亜塩素酸カルシウムを水に溶解後、ハウス内などでは日陰で作業し直ちに、暗めの室内程度の明るさなら3日、暗黒条件下で1週間以内にご使用下さい。
- c, **siViP G**と次亜塩素酸カルシウムの混合液を作成する場合は、bで作成した液を所定濃度になるようにさらに水で薄めてから、最後に**siViP G**を投入することを推奨します。その後、おおよそ固まりがなくなるまで攪拌して下さい。
- d, **siViP G**を含む液は水和後8時間以内に使用して下さい。なお水に溶解しません。黄白濁液として用います。また、外植体を数分～数時間程度浸漬したままにしておいても特に害が認められません。微生物汚染率も特に増加しません。
- e, 浸漬液に外植体を浸漬する場合、**外植体表面すべてが濡れるように**して下さい。外植体が水をはじく場合は、しばらく待てば馴染みます。なお、外植体全体が浸漬液に浸かっている必要は長時間浸漬の場合でもありません(乾燥は厳禁:薬害)。
- f, 微生物汚染容器の再利用や、長期放置容器など培養容器が激しく微生物汚染されている可能性がある場合は、容器全体を噴霧液に浸漬後置床して下さい。
- g, 噴霧液は培養容器全面を濡らすようにして下さい。試験管など培養器が細長いときは長ノズル付きの噴霧器が便利です。噴霧後に液が培養器内に大量に貯まるようならば、捨ててから容器を封じてください。

いかなる外植体でも置床できることを保証するものではありません。外植体の状態や微生物の種類・存在部位・高濃度によっては、微生物を取り除ききれない場合があります。詳しくは別紙『浸漬液・噴霧液の組成例』をご覧ください。

付属次亜塩素酸カルシウム粒は有効塩素濃度約70%(重量比)、0.07～0.1g/粒(割れ・欠けのないもの)です。他の次亜塩素酸系殺菌剤で置き換えても多くの場合において問題ありませんが、**ウイトロプラント**は保証いたしません。なお、イソシアヌール酸系塩素剤やクロラミン系塩素剤は効果が劣ります。

除菌データ例集は  
<http://vitroplantslab.jp/manualpdf/eliminatedata.pdf>  
 からダウンロードできます(約5MB)。参考にして下さい。

### siViP Gの成分およびその含量(原料保証成分濃度に基づく計算値)

性状	保存場所	主要成分
黄土色粉末	乾燥した冷暗所	糖・有機酸類 668g/kg タルク、界面活性剤など 239g/kg ナタマイシン 39.2g/kg 塩化リゾチーム 23.2g/kg TPN 2.6g/kg 塩化銅 1.48g/kg キャプタン 4.7g/kg 他、殺菌成分 22g/kg

### 浸漬液、噴霧液の例

	適用例	浸漬液 (浸漬時間)	噴霧液
Aセット	花茎、枝先端、地下部からの萌芽、地下部など汚染の激しい植物	<b>siViP G</b> 10倍液 ※ (数時間～数日浸漬)	次亜塩素酸カルシウム 2粒/100mL
Bセット	<b>標準:</b> 特にわからない場合は、 <b>まずこれをお選びください</b>	<b>siViP G</b> 10倍液 (一瞬～数時間浸漬)	次亜塩素酸カルシウム 1粒/100mL
Cセット	Bセットでは薬害が、dセットでは微生物汚染が激しい場合	<b>siViP G</b> 10倍液 (一瞬～数時間浸漬)	次亜塩素酸カルシウム 1粒/1L + <b>siViP G</b> 200倍の混合液 ※
dセット	<b>無菌→無菌の継代培養時はこちらが標準</b> ハイパーハイドリシティ時などにはまずこちらを。	次亜塩素酸カルシウム 1粒/1L + <b>siViP G</b> 200倍の混合液 (一瞬～数時間浸漬)	左記の浸漬液と同組成の液 ※

他のセットや、より詳しい説明は別紙『浸漬液・噴霧液の組成例』をご覧ください。

※ 付属透明小さじすり切り1杯(約1g)の**siViP G**に、  
 ・水道水10mL(付属10mLさじ1杯)を加えると、『**siViP G** 10倍液』になります。  
 ・次亜塩素酸カルシウム 1粒を1Lの水道水に溶かした液を200mL加えると、『次亜塩素酸カルシウム 1粒/1L + **siViP G** 200倍の混合液』になります。  
 次亜塩素酸カルシウム 粒は1粒あたり0.07～0.1g(割れ・欠けのないもの)として想定しています。

器内培養は作業条件や原水の品質、外植体の状態などによって結果が異なります。結果不良の責は当該製品の代金の範囲とさせていただきます。  
 本製品は植物培養用です。食品・飼料・微生物培地等には使用しないでください。目的外使用における結果の責は**ウイトロプラント**は負いません。またお子様やペットが触れないようにご注意ください。  
 独自に改変したもの、および保管不良(高温・高湿場所での保管・直射日光への長時間暴露など)により変質したものの責は負いかねます。  
 仕様は予告なく変更される場合があります。  
 製造日: 2023/4/11  
 保証期限やロットナンバー等は各内袋に記載  
 お問い合わせ先: 06-6606-8099またはinquiry@vitroplantslab.com  
**ウイトロプラント**他製品のお求め先: <http://www.vitroplantslab.com>  
 (組合わせ/ご提案などはお気軽にお申し付けください)

# 浸漬液・噴霧液の組成例



植物材料を外植体（容器に植える形状）に調整

外植体を  
浸漬液に浸漬

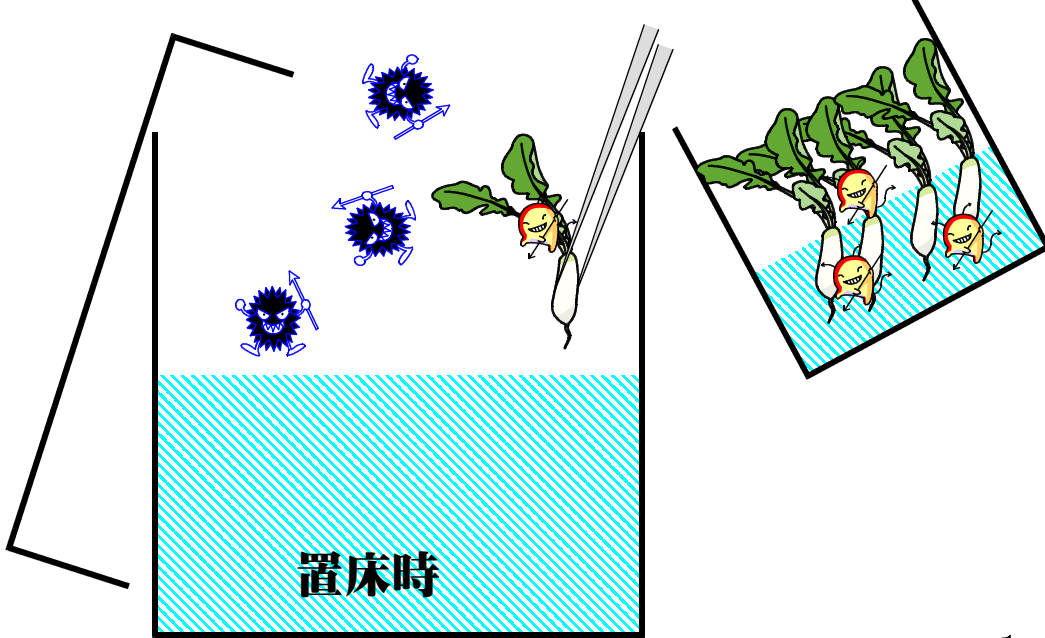
外植体を  
培養容器に置床

培養容器に  
噴霧液を噴霧

培養容器を  
封じて培養

対象外植体例		浸漬液 (浸漬時間)	噴霧液	
容器外植物 (初代培養)	容器内植物 (継代培養)			
<b>Aセット</b> <small>Bセットでは微生物汚染が激しい時に</small>	地下茎や球根、 花茎や枝など	容器内汚微生物除菌 (含: 赤色細菌・ティラミス様カビ)	<b>浸漬液</b> 10~25倍 (推奨10倍) (数時間~数日浸漬)	容器内全面を濡らすことが重要。 容器内の余剰液は噴霧後に捨てても良い。 容器が深いときは長い噴霧ノズルが便利。
<b>Bセット</b> <small>まず最初は、Bセットで!</small>	無菌播種 (ランを含む) 健康な葉や茎、 成長中の花茎や萌芽	通常の継代および容器内汚 染微生物除菌 (除: 赤色細菌・ティラミス様カビ)	<b>浸漬液</b> 10~50倍 (推奨10倍) (一瞬~数時間浸漬)	塩素1000~1500mg/L (次亜塩素酸カルシウム 2粒/100mL) 液を噴霧
<b>Cセット</b>	Bセットでは薬害が強い時、dセットでは微生物汚染が多い時に (初代では非推奨。継代培養では長期培養母本など隠れ汚染の可能性が高く植物が弱っている時や、夏場などに推奨)	通常の継代培養 ハイパーハイドロシチ植物、 カルス、シダ類前葉体	<b>浸漬液</b> 10~50倍 (推奨10倍) (一瞬~数時間浸漬)	塩素500~700mg/L (次亜塩素酸カルシウム 1粒/100mL) 液を噴霧
<b>dセット</b> <small>継代培養時の標準除菌&amp;置床方法</small>	切り出した形成層など 植物内部組織や未開朔 内の未熟種子など	通常の継代培養 ハイパーハイドロシチ植物、 カルス、シダ類前葉体	<b>浸漬液</b> 10~50倍 (推奨10倍) (一瞬~数時間浸漬)	塩素50~70mg/L (次亜塩素酸カルシウム 1粒/1 L程度) + <b>じりViP G</b> 100~200倍の混合液を噴霧
<b>eセット</b> <small>dセットでは薬害が強い時に</small>	切り出した形成層など 植物内部組織や未開朔 内の未熟種子など	通常の継代培養 ハイパーハイドロシチ植物、 カルス、シダ類前葉体	右記載の噴霧液と同じ組成 (一瞬~数時間浸漬)	塩素10~20mg/L (次亜塩素酸カルシウム 1粒/2~4 L程度) + <b>じりViP G</b> 100~200倍の混合液を噴霧
<b>fセット</b> <small>作業場や手指の70%エタノール除菌励行</small>	茎頂、蒴、胚珠など無菌 とみなせる微細な組織	カルス、シダ類前葉体 (非推奨)	なし、もしくは 右記載の噴霧液と同じ組成 (一瞬浸漬もしくは切り出し前に噴霧)	塩素5~10mg/L (次亜塩素酸カルシウム 1粒/7~10L程度) + <b>じりViP G</b> 100~200倍の混合液を噴霧 (余剰液は可能な限り捨てる)

# 植物培養における微生物汚染経路の概略 (あなたはどれだけ認知していますか?)



置床時

## 1, 作業時飛び込み (意外に少ない)

Aセット、Bセットではまず起きません



## 2, 継代母本の隠れ汚染

A、B、Cセットでは多くが防げます



## 3, 初代培養での滅菌不良

(一番重要で植物ごとにスキルのいるところです。ここが、**siViP G**により、大幅に楽に！)

Aセットでダメなら、他法ではまず無理。あきらめましょう)

## 2は見逃しがち。継代前の母本はよく観察しよう！

枯れたところが僅かに黴びていないか？ (特に容器蓋付近)

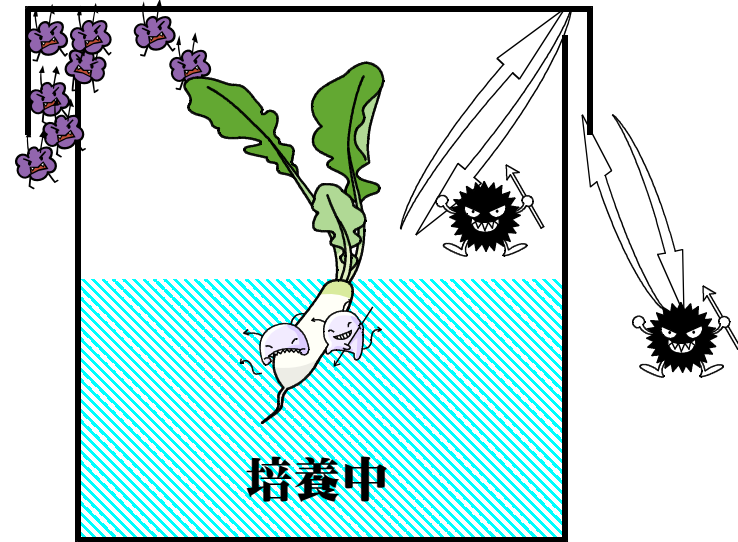
培地の離水が濁ってないか？ 着色してないか？

培地中に伸びた根の周りが僅かに濁ってないか？

嫌な臭いがしないか？

(納豆～傷んだシチュー臭、堆肥や枯れ草臭、カビ臭など)

特に初代の次の初回継代と長期培養容器は要注意。臭いや濁りでは判らない事も多々(隠れ汚染。別紙『代表的 汚染微生物 と その対処方法 1, 2』参照)。クリーンベンチ作業だと**複数の母本容器をまとめて継代すると全部汚染されてしまうことがある。面倒くさくても母本容器1つ1つ片付けて器具は消毒**しよう。



培養中

## 1, 気温変化による、容器内外圧差での気流による飛び込み

(例: *Aspergillus niger*)



## 2, 結露部分など高湿部分に繁殖してそこを足場に侵入

(特に突沸や分注で容器壁に培地付着があると多い。例: 好稠菌)



## 3, 培地・容器滅菌不良などの残存損傷菌の長期培養後の復活

(隠れオートクレーブミス。例: 耐熱芽胞菌)



どれも認識している培養者は少ないが、実際には極めて多い！ 得意とする場面は菌種によって違う(詳しくは別紙『代表的 汚染微生物 と その対処方法1, 2』を参照)。

- ・培養室の温度が急変していないか？(気流+結露)
- ・パラフィルムや熱シール、ネジ部分の重なり部分などが黒ずんでいないか？
- ・大量の培地や容器を一気にオートクレーブ滅菌していないか？

(容器上面の検温シールが変色しても容器内の培地中温は上がってません！ 水蒸気は熱伝導悪。検温シールは培地の入った部分に。より確実なのは生物学的インジケータの培地内投入です。

**m/ViP hot**なら煮沸でOK。煮沸は目に見えるのでより確実！ 大量滅菌は特に自信あり)

大学や研究施設などで**培養室の温度と湿度を厳密にコントロールしている場合は、3以外ほとんど起きない**。培養室の湿度コントロールできないなら、熱シール、蝋封など容器の密封を心がけよう(内外気圧差ができないよう通気フィルタ+密封やポリ袋+密封が効果的)。湿度が上がればねじ蓋やモルトン栓などは菌にとってはスッカスカと心得よう。気温のみの制御で湿度制御が甘いと夏冬の内外温度差の大きい時期に高湿度になっていることがあるので要注意！ 人が常時住んでいる部屋は意外に湿度が低く制御され温度の急変も少ないので結構安心。窓際で培養するなら居間が良い？ 温室や物置部屋の窓際ならばモルトン栓の試験管だと100本が1か月で全滅するのは普通。



# 代表的 汚染微生物 と その対処方法 1

## 『ティラミス様カビ』



黒〜焦げ茶の大量の胞子の周辺に白い菌糸の緑取りが特徴。



大量の胞子をばらまく。  
傷口に付着した胞子が薬剤の影響を受けにくい。  
+植物を犯す力があるので、傷口から初発することが多い。

*Aspergillus niger* と思われる。よく似た形態の緑色に白縁取は*A. clavatus*。傾向は同じ

植物に対する害: 短期間で植物を殺す。  
汚染発生箇所: 薬剤除菌時の代表的強害カビ。

置床作業時飛び込み: 多く(屋内の空中に大量の胞子があり、カビ胞子の中では紫外線や長期浮遊によく耐えます)  
植物随伴: 少(見かけ健全な植物内部に侵入していることは稀です)  
培養中の培養器隙間から侵入: 有り(気温変動が大きい時>高温時)  
培地滅菌不良: 無し(耐熱性はありません)

容器内汚染時の除去難易度: 高

容器内汚染除去方法

見かけカビに接触した部分は、菌糸が内部まで入り込んでいます。  
接触していない部分も大量の胞子に汚染されています。  
なるべく早期に見つけ出し、カビに接触していない部分を切り出して、**Aセットで除菌して下さい。**  
継代外植体の数パーセントで取り除けます。

クリーンベンチ内など清浄作業場所の汚染時の対処

70%エタノール製剤の噴霧と蒸気で容易に取り除けます。  
内部全体に噴霧し、数時間燻蒸。  
胞子は水を弾くため、塩素系や過酸化水素系より70%エタノールの方が効果的です。

Tips  
和名はクロコウジカビで、洗濯水槽の中や、風呂の隅などを黒くするカビです。  
パンや餅に生える黒カビも多くは本種(正確には複合種)です。  
植物培養時の成長はかなり早く、植物を好んで犯しますので、早期発見が除去の肝要です。  
置床後2週間程度から目視できるようになることが多いです(下写真ぐらいの状況。23°C)。  
カビの中では高温好きで、30°Cを越えても生育旺盛です。

捨てるときは、容器ごと捨てるか、蓋を開けた直後にエタノールを流し込むなど、胞子を撒き散らさないように気をつけるのと良いかもしれません。

継代母本の持ち込み時に気がつかずに随伴します。  
特に長期培養したものは目立たずに枯死植物上で(蓋の付近であることが多い)繁殖していることがあり、要注意です。

## 『赤色細菌』



**鮮やかな赤色コロニー。**目立つコロニーを作らず培地全体が赤くなることも。

*Serratia marcescens* を中心とする近縁属細菌と思われる。

植物に対する害: 多くの場合、植物への害は少ない。  
汚染発生箇所: 薬剤除菌時の代表的汚染細菌。

置床作業時飛び込み: 有り  
植物随伴: 多  
培養中の培養器隙間から侵入: 有り(高温高湿時)  
培地滅菌不良: 無し(耐熱性はありません)

容器内汚染時の除去難易度: ヴイトロプランツを把握している限り、最高。

容器内汚染除去方法

植物内部まで入り込むことはないようですが、0.2μm前後の最小クラスの細菌であり、微細な構造に入り込み、広範囲の薬剤に比較的高い抵抗性を持つこともあいて、非常に除去困難です。  
みかけコロニーに接触していない部分を切り出して、**Aセットで除菌して下さい。**  
他のセットや他の薬剤ではまず取り除けません。  
Aセットでも系統によっては全く取り除けません。

その場合は、培地に第3世代・第4世代セフェム系、カルバペネム系抗生物質を添加して増殖を抑え、頻繁に継代すると確率論で取り除けることがあります。  
アミノグリコチド系、キノロン系は抑えられるほど投入した場合、植物に害が多いです。

クリーンベンチ内など清浄作業場所の汚染時の対処

70%エタノール製剤の噴霧と蒸気で容易に取り除けます。  
内部全体に噴霧し、数時間燻蒸。  
塩素系や過酸化水素系では、直接菌体にかかる必要があり多少除菌程度が劣ります。  
逆性石炭系や四級アンモニウム塩系、ピグアナイド系には多くの場合、耐性を持ちます。

Tips  
風呂の赤い水垢など、どこでもいる細菌で、病院などで日和見感染を起こします。  
比較的低栄養・低水分活性にも強く、梅雨時などは、あらゆるところから検出されます。

植物培養時汚染細菌の中では成長はかなり遅いため、置床時に菌接種した場合でも、目視できるのに1か月以上かかることがあります。

侵入経路が多岐にわたり、しかも特徴的赤色色素は菌密度が上がらないと合成せず、特徴的な匂いもないため、『隠れ汚染』が多々発生し、継代時に一気に全容器が、という事態がまま起こります。

目立つコロニー色ですが、植物への害は意外なほど少ないことが多いため、諦めて共存させてしまう培養者は多いです。

## 『灰色カビ(培養中再侵入)』



*Wallemia* 属 を中心とした好腐性カビと思われる。培養中に容器表面繁殖→隙間から侵入する。

植物に対する害: 多くの場合、植物への害は少ないが放置すると殺すこともある。  
汚染発生箇所: 培養室温度の変化時や高湿度時に発生。  
ねじ蓋の合わせやパラフィルム重なり、熱シール部のシール不良部などが足場になることが多い。

置床作業時飛び込み: 少(クリーンベンチ時は多くなることも)  
植物随伴: 極小  
培養中の培養器隙間から侵入: 有り(高湿時>気温変動が大きい時)  
培地滅菌不良: 無し(耐熱性はありません)

容器内汚染時の除去難易度: 容易。

容器内汚染除去方法

植物全体がカビに覆われていても、多くの場合はA、Bセットで容易に取り除けます。  
系統によっては、dセットで継代するだけで取り除けます。

多くの場合、植物から離れた位置に初発し、植物を避けるように成長することも多いです。  
健全な植物内に侵入することはほとんどないと思われるです。  
このため菌コロニーに覆われた部位でも高確率で除菌できます。

クリーンベンチ内など清浄作業場所の汚染時の対処

セパフィルタ(除菌フィルタ)を掃除・70%エタノール製剤で消毒。  
除菌フィルタや空調配管など圧がかかる所は比較的高湿度になり、そこで繁殖します。  
70%エタノール製剤の噴霧と蒸気で容易に取り除けます。

Tips  
壁の黒カビや植物のすす病などを引き起こすタイプのカビです。多くは薬剤には弱く、植物内部へ侵入することも稀です。  
低水分活性に強いので、容器の表面繁殖してから、隙間を探して入ってきます。  
*Wallemia* 属は其中でも特に低水分活性に強くジャムや餡などに生えることができます。  
ただし、好腐性カビは多系統にわたり*Wallemia* 属だけでは決してありません。  
(左記の『ティラミス様カビ』*Aspergillus niger*も比較的低水分活性に強く、好腐性に分類されることがあります)

低栄養には強い種が多いため、丁寧な分注やオートクレープ時の突沸の防止などで容器上部や外側、蓋の培地飛沫汚染を減らすとある程度防げます。  
気温が厳密に定温コントロールされた培養装置では微細な結露が起きにくい+温度変化による空気圧変化が少なく、容器内外の空気出入量が少ないため、さほど見られません。  
(昼夜温を変えている場合は、厳密な温度制御下でも起こる)  
培養装置に水耕・土耕植物をうかつに持ち込むと湿度が上がり一気に広がる可能性があります。  
培養中に、植物から離れたところから初発するカビは多くの場合好腐性カビです。成長速度は遅い事が多いです。

入るときは複数容器に連続で同じカビが入るため、汚染容器を汚染源に容器越しに広がるのを見えます。  
しかし、真の汚染源はパラフィルムや蓋の間など(とそのカビの発生にに適した各種条件)ですので、汚染源誤認定された容器を取り除いてもあまり意味はありません。  
**再侵入を抑えるのは除湿器導入が効果的。常時湿度40%以下**  
まで押さえれば培養室が土埃だらけでも、蓋が板一枚かぶつてただけでも入りません。  
温度制御が荒いもしくは自然温培養で、除湿もできない場合は、熱シールや蟻封などで厳密な密封をしましょう。  
やっかいな、『ティラミス様カビ』赤色細菌(やや要求水分活性が高いため、再侵入能力は劣る)が再侵入する前にこのカビを指標に手を打ちましょう。

培養器に微生物が生えると、ついつい『置床時作業不良』と思いがちだが、ある程度熟練した後では、原因としては比較的低い。

培養棚の掃除は意外に無効(ほとんど効果はない)。ほこりまみれでもピカピカでも落下菌密度も空中菌密度もほとんど変わらない。

培養室に除湿機・湿度計を入れたほうが有効。もしくは容器を丁寧に密封(通気フィルタ・フィルムでの通気は無問題)。

長期培養容器は隠れ汚染の巣。要注意。特に培地が溶けたり、植物が枯れてきているような容器は貧栄養化してるため菌も目立って繁殖しない。

オートクレープ不良は非常に多い。不良は植物を植えてから出るのでやっかい(耐熱菌は裏面)。

(滅菌後、しばらく置いておいてから使用してもダメ。多くの場合、植物を植えないと顕在化しない)

滅菌の指標は温度変化テープなどより、生物的インジケータ(耐熱芽胞菌と培地を封入した小型容器)を中心部の培養器中に投入する方が正確です。直線的にリーズナブルかつ数日で結果が判定するので、オートクレープ滅菌を使用する方は導入をおすすめします。

ヴィトロプランツのmVIP hotの使用(オートクレープ併用含む)は、より効果的で、手間もかかりません。

## 代表的 汚染微生物 と その対処方法 2

### 『耐熱芽胞菌(培地滅菌不良)』



**納豆～腐ったシチュー系の嫌な匂い。** 白～クリーム色の粘り気の多い、流れるようなコロニー。

*Bacillus subtilis* を中心とする近縁属 耐熱芽胞菌と思われる。

植物に対する害: 短時間で植物を殺すことはないが、放置すると枯れることはままある。  
汚染発生箇所: **培地滅菌不良時の代表的(ほぼ唯一)汚染菌**

置床作業時飛び込み: sirViPシリーズ使用時はほぼ無し。  
クリーンベンチ使用時は起こる(後述)

植物随伴: 有り  
培養中の培養器隙間から侵入: 事実上無し(低水分活性時の増殖不能。空中浮遊はほぼ無し)  
培地滅菌不良: 多(後述)

容器内汚染時の除去難易度: 中

容器内汚染除去方法

植物を流水で洗った後、Bセットで除菌することで高率で取り除けます。  
塩素やエタノール、CMIT、逆性石鹼を含む既存薬剤ではほとんど取り除けません。

ほとんどが培地の滅菌不良が原因だが、初代培養の場合は植物随伴も起こります。  
ただし、**airViP**、**airViP G**を使用して除菌した場合は植物随伴は稀です。

**培地滅菌不良時でも、多くは植物周辺からまず発生するため、植物随伴と誤認します。→**  
これは、損傷菌(後段 囲み参照)の復活という現象で、オートクレープや薬剤で傷つき損傷した菌が植物の成長に伴い培地環境の変化(主に有機系の富栄養化)により時間差で増殖開始する現象。  
ウイトプランツでの観察では置床6ヶ月後に開始した例もあります。  
**植物を植えないと復活しません。**従って、滅菌操作後の貯蔵チェックの効果は限定的です。

クリーンベンチ内など清浄作業場所の汚染時の対処

**塩素系以外ほぼは無効です。塩素系でもシアヌール酸系やクロラミン系は効果が劣ります。**  
クリーンベンチ内の道具はすべてオートクレープ滅菌の方が無難です。  
次亜塩素酸系製剤を有効塩素200mg/L以上(1000mg/L以上推奨)を十分に全面噴霧し、  
乾かないうちに、数時間紫外線灯点灯(紫外線灯・塩素単独では一晩放置)。

その後、汚れは拭き取ります。  
クリーンベンチ内汚染されると容易に取り除けず、作業汚染の原因となります。  
継代母本の持ち込み時に気がつかずに随伴します。  
特に長期培養したものは要注意です。  
開封時に匂いを嗅いでみるとわかります。

Tips

特にオートクレープ滅菌で起こりやすいです(培地温121°C15分が達成できていない)。

通常のオートクレープでは培地温度は測定していません。少量づつ小さな培養容器で滅菌しましょう。

研究室などにある通常のオートクレープ(小型圧力容器)では、培地を1L以上入れた容器や培地合計5L以上の場合は安全に滅菌できません。

滅菌可能な程度に長く121°Cを保つと培地の変質が激しく、植物の成長が著しく悪化します。

これは熱媒体である水蒸気が比熱と熱伝導率が小さく効果的に熱を容器に伝ずるに培地温度上昇が遅いため、水蒸気温の問題ではありません。

大量の培地が入った大型容器を滅菌したい場合は、オートクレープ下部の水量を増やし、そこに培養容器が浸かるようにすると滅菌できます。

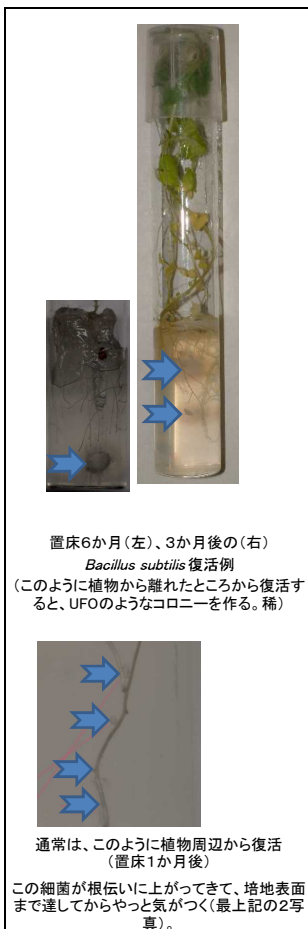
(ポリカーボネート容器において、20L容器まで121°C45分設定で滅菌できることを確認。ただし培地は煮沸してから、直ちにオートクレープ内に導入)

**eViP**培地シリーズや**mViP hot**使用時で起こったときは、作成～分注時の温度低下が原因です。  
使用湯温度(98°C以上確保)。作成容器(ガラス容器や金属容器では再加熱必須)を見直しましょう。  
作成後の再沸騰してからの分注、保温・煮沸しながらの分注も効果的です。

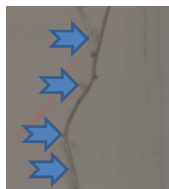
なお、**eViP**培地シリーズや**mViP hot**に添加されている薬剤は、油脂とデンプンの存在で、効果が弱まります。  
油脂とデンプンの多い天然有機物を大量に添加しないで下さい(コナツツミルクとジャガイモの併用など。単独では問題はありません)。

損傷菌とは何か? (日本損傷菌研究会のサイトから抜粋。2018年08月24日現在)

1. 外的な物理ストレス、化学ストレスに曝された微生物細胞
2. タンパク質変性・凝集、DNA損傷(それによる突然変異)、膜損傷などで正常な代謝状態とは異なる損傷を受けた細胞集団
3. 殺菌処理後の生菌数測定法により、生菌か死菌かの判定が大きく変動する細胞集団
5. 復活可能な損傷菌は亜致死の損傷菌(最適な方法では生菌と判定)、不能な損傷菌は致死の損傷菌(死菌と判定)



置床6か月(左)、3か月後の(右)  
*Bacillus subtilis*復活例  
(このように植物から離れたところから復活すると、UFOのようなコロニーを作る。稀)



通常は、このように植物周辺から復活(置床1か月後)

この細菌が根伝いに上がってきて、培地表面まで達してからやっとな気がつく(最上記の2写真)。

### 『初代培養(とその次代継代時)のみに出現する微生物』



灰色～緑色カビ～ピンク色カビ(植物随伴型)

(*Aspergillus*属、*Penicillium*属、*Alternaria*属、*Fusarium*属など多岐にわたるとされる。  
初代培養時に植物から初発する)

置床作業時飛び込み: ほぼ無し。  
植物随伴: 有り  
培養中の培養器隙間から侵入: 事実上無し(低水分活性時の増殖不能)  
培地滅菌不良: 無し(耐熱性はありません)

基本的に植物病原菌で植物内に侵入しているため取り除きにくいですが、菌そのものは薬剤に弱い。  
コロニーに接触していない培養後成長部位を分離すれば、A,Bセットで大抵は取り除ける  
その時は、見かけ健全部位に侵入していることも多いため、菌コロニーに接触した部位は大きめに切り捨てたほうが良い。



黄色～白色細菌(植物随伴型)

*Pseudomonas* 属や*Xanthomonas* 属など多岐にわたるとされる。

置床作業時飛び込み: ほぼ無し。  
植物随伴: 有り  
培養中の培養器隙間から侵入: 事実上無し(低水分活性時の増殖不能)  
培地滅菌不良: 無し(耐熱性はありません)

基本的に広義の植物病原菌(いわゆる内生菌)で植物内(表面微細構造含む)に侵入している事が多いため取り除きにくい、菌そのものは薬剤に弱い。初代培養時または初代の次の初回継代時に顕在化する。

(これも損傷菌復活の可能性が高い。初代除菌で損傷ある程度以上の培養期間経過後に回復  
→植物が無機塩などを吸収+対微生物抑制物質を出すためほど増えられない(下記囲み参照)。  
→継代で培地更新され増殖・顕在化)

初代及びその次の初回継代以外ではまず出ない。顕在化したときは、植物が生長する前に植物を殺すことが多い。  
初代汚染で棄ててしまうのが一番手取り早い対処法。除去したいときはAセット。

Tips

初代で細菌汚染が多発した場合は、みかけ汚染されていない容器の植物でもBセットで継代すると予防になります。  
ただし、葉害枯死の危険と考え合わせて下さい。

最初の救回継代までは、第3世代・第4世代セフェム系、カルバペネム系抗生物質入り培地を用いるのも効果的です。

培養容器内でも、植物と微生物は争っています。

見かけ汚染のない培養容器内を滅菌水ですすぎ、その液を調べると細菌が少数(10～1000CFU/mL程度)認められることがあります。  
面白いことに、そのような培養容器を継続的に調べると、検出されない、されるが繰り返され、  
最後は検出されないことが続くか、汚染が顕在化します(植物が勝つほうが圧倒的に多い)。だが、細菌が死滅しているわけではない。  
ウイトプランツで調査した限り、この現象はカビでは認められません。みかけカビが生えてない容器からはカビは検出されません。  
(未発表データ・類似現象はおそらく論文等では発表されていない)