

長野, 群馬, 新潟県におけるダイズシストセンチュウ並びに ネコブセンチュウの収集

中央農業総合研究センター 虫害防除部 線虫害研究室
相場 聡・水久保隆之・伊藤賢治

Collection of Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines*) and Southern Root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) in Gunma, Nagano and Niigata Prefectures in Japan

Satoshi AIBA, Takayuki MIZUKUBO and Kenji ITOU

Nematology Laboratory, Department of Entomology and Nematology,
National Agricultural Research Center
Kannondai 3-1-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8666, Japan

1. 目的

ダイズは我が国の畑地における重要な基幹作物であり、特に近年、米の生産調整が進む中、高収益水田営農の確立のための主要作物として重要な地位を占めている。このダイズに対する重要害虫として知られるダイズシストセンチュウは、世界的に見てもダイズ栽培における最も大きな障害要因となっている植物寄生性線虫である。我が国でも古くからその被害が問題となっていたが、近年のダイズ栽培の広がりに伴って、新たな被害の発生が見られるようになり、その対策が求められている。

本線虫の防除は非常に困難である。最も有効な方法は農薬を用いた化学的防除法であるが、比較的高価な殺線虫剤の利用は収益性の面で難しく、あまり普及していない。そのため、本線虫対策は輪作などの耕種的防除法が中心となっている。特に抵抗性品種の利用は極めて有効な防除法である。しかし、本線虫においては異なる寄生性を有するレースの存在が知られており、レースによって有効な抵抗性品種が異なる。そのため、その圃場で発生しているレースを把握することが抵抗性品種利用のためには必要不可欠となっている。また、抵抗性品種の連作によって、その抵抗性を打破して寄生する系統が出現することも報告されており、本線虫対策のためにその発生状況と発生している個体群の特性調査は極めて重要である。

ダイズシストセンチュウの発生状況とその特性調査については、最も被害の大きい北海道において詳細な報告があるが、それ以外の地域については綿密に調べた報告は少なく、ほとんどが発生地

の 1、2 個体群についてレースの検定が行われているに過ぎない。そのため、筆者らは関東・北陸地域を中心にダイズ圃場から土壌のサンプリングを行い、そこからダイズシストセンチュウの分離を試みており、今回長野県および群馬県についても調査を行うこととした。

一方、ネコブセンチュウは極めて寄主範囲が広く、わが国のみならず世界的にも畑作及び施設園芸で最も重要な有害線虫である。水田作が中心である日本海側の地域では、その発生はみられるものの、畑作の比重が小さいため個体群の収集と特性の評価はほとんど行われていなかった。そこで、新潟県の水田転作施設のトマトに発生しているネコブセンチュウを収集するとともにそのアイソザイム特性を評価して種を同定することとした。

2. 探索概要

1) ダイズシストセンチュウ

土壌の採集は 2002 年 10 月 21～22 日に群馬県、10 月 23～25 日に長野県で行った（表 1）。群馬県では前橋市を中心とした 13 カ所、長野県では長野市から伊那市にかけて 23 カ所のダイズ栽培圃場で土壌のサンプリングを行った（図 1）。採集は 1 圃場 6 地点約 2 kg の土壌を収集し、それを混和した。採集した土壌はポリエチレン袋にて中央農研に持ち帰った。

表 1. ダイズシストセンチュウの探索・収集日程

年月日	行 程	行動内容
H14.10.21	つくば市→前橋市	陸路 前橋市近郊圃場探索・収集
22	前橋市→長野市	前橋市近郊圃場探索・収集 陸路
23	長野市→上田市→四賀村→塩尻市	長野県北部圃場探索・収集
24	塩尻市→松本市→豊科町→穂高町→堀金村→池田町→大町市→松川町→小川村→中条町→塩尻市	長野県中部圃場探索・収集
25	塩尻市→伊那市→つくば市	長野県南部圃場探索・収集 陸路



図 1. 長野県塩尻市のダイズシストセンチュウ発生圃場

2) ネコブセンチュウ

新潟県における土壌採集は2002年11月13日に行った(表2)。北蒲原郡加治川村の水田転作施設トマト栽培跡地で土壌及びネコブセンチュウ被害根を採集した。

表2. ネコブセンチュウの探索・収集日程

年月日	行 程	行 動 内 容
H14.11.12	つくば市→新潟県中之島町	陸路 中之島町大口のレンコン圃場の線虫探索・収集
	中之島町大口→新潟市	滞在
13	新潟市→北蒲原郡加治川村	北蒲原郡加治川村のトマト栽培農家のハウスで探索・収集
	北蒲原郡加治川村→つくば市	陸路

3. 収集の成果

1) 方法

(1) シストの分離

採集した土壌は室内で1週間風乾した後、乾土50gを3リットルのプラスチックビーカーに入れ、水道水を注いで浮遊したシストを残渣と共に篩で集めてろ紙に取り、それを実体顕微鏡下で直接観察してシストを採集した。その後、シストを磨砕して内部の卵を取り出し計数した。1サンプルにつき3反復行った。

(2) ダイズシストセンチュウのレース検定

レースの検定は国際判別法に基づいて行った²⁾。感受性品種「Lee68」と4種類の抵抗性品種、すなわち「Pickett」、「Peking」、「PI88788」および「PI90763」を温室内の直径9cmのポリエチレンポットで栽培し、それぞれにダイズシストセンチュウを卵幼虫懸濁液で接種した。接種60日後にポット内の全シストを分離・計数した。ポット内のシスト数を感受性品種を100とした指数で表して、10未満を一、10以上を+と判定し、レース判別表よりレースを求めた。

(3) ネコブセンチュウの分離とタンパク質の泳動

被害根を実体顕微鏡(×10)で観察しながら新鮮な卵囊が着いた根瘤を目安に若い雌成虫を探し、ピンセットで摘出した。摘出された雌線虫10頭はマイクロ遠心チューブの抽出液(20% sucrose, 2% Triton X-100) 60 µl 中に移した。ヒスコトロン(回転ホモジナイザー)によって雌を破砕したのち、4℃で遠心(15,000rpm、15分間)し、脂質と沈殿を除去した。上清は泳動するまでの期間-20℃に保存した。泳動には濃度7%に調整されたの既製ポリアクリルアミドゲル(ATTO PAGEL)を用い、泳動緩衝液は0.05M Tris-0.38M glycine buffer pH 8.3とした。検出するアイソザイムはエステラーゼとリンゴ酸脱水素酵素の2種類とし、それぞれの染色液を用いて活性染色を行った¹⁾。

2) 結果

(1) ダイズシストセンチュウの発生状況

群馬県では調査した13サンプル中7サンプルから、長野県では23サンプル中11サンプルから、それぞれダイズシストセンチュウが検出された。そのうち乾土1g当たりの卵密度が100を超えた高密度圃場は長野県塩尻市の2地点、10以上100未満の中程度の密度圃場は長野県7地点、群馬県2地点であり、それ以外の圃場は10未満の低密度であった(表3)。なお、今回得られた18個体群中、この段階で増殖し、系統を維持するのに必要十分な個体数があると判断された3個体群をジーンバンクに登録した。残りの系統は現在増殖中のため、十分な個体数が得られた段階で登録する予定である。

表3. 探索収集したサンプル土壌からのダイズシストセンチュウ分離結果

サンプル番号	採集地	卵密度	レース	MAFF番号
G-1	群馬県前橋市	27.9		
G-2	群馬県前橋市	9.2		
G-3	群馬県前橋市	11.6		
G-4	群馬県前橋市	5.5		
G-5	群馬県前橋市	0		
G-6	群馬県前橋市	5		
G-7	群馬県前橋市	0		
G-8	群馬県前橋市	0.5		
G-9	群馬県前橋市	0		
G-10	群馬県前橋市	1.6		
G-11	群馬県富士見村	0		
G-12	群馬県渋川市	0		
G-13	群馬県渋川市	0		
N-1	長野県長野市	0		
N-2	長野県長野市	52		
N-3	長野県長野市	44.8		
N-4	長野県上田市	0		
N-5	長野県上田市	16.3		
N-6	長野県上田市	0		
N-7	長野県四賀村	0		
N-8	長野県塩尻市	0		
N-9	長野県塩尻市	367.2	3	108265
N-10	長野県塩尻市	46.4	3	108266
N-11	長野県塩尻市	232.8	3	108267
N-12	長野県塩尻市	16.5		
N-13	長野県松本市	0		
N-14	長野県松本市	0		
N-15	長野県豊科町	0		
N-16	長野県穂高町	13.2		
N-17	長野県堀金村	0		
N-18	長野県池田町	0		
N-19	長野県松川町	0		
N-20	長野県大町市	0.1		
N-21	長野県小川市	0		
N-22	長野県中条村	0.1		
N-23	長野県伊那市	20.5		

* 分離源はいずれもダイズ根
卵密度は乾土1gあたりの卵数

(2) ダイズシストセンチュウのレース

長野県の高密度圃場 2 地点についてレース検定を行った結果、いずれも抵抗性品種への寄生力は弱く、レース 3 と判定された (表 2)。なお、これ以外のサンプルについては、検定に十分な個体数が得られなかったため、今回レースの判別は行わなかった。温室内で 2~3 世代の増殖後に検定を行う予定である。

(3) ネコブセンチュウの種の同定

検出されたエステラーゼとリンゴ酸脱水素酵素のアイソザイム型は、エステラーゼのバンドが 2 番、リンゴ酸脱水素酵素のバンドが 1 番であった (図 2)。このことから、本株のアイソザイム型はサツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*) の I1 型と判定された。採集地のトマトは線虫抵抗性を有する台木用品種「がんばる根」に接ぎ木されたものであったことから、本株がトマトの線虫抵抗性遺伝子 Mi を打破する系統であることは自明であった。なお、本株の登録 MAFF 番号は 108258 である。

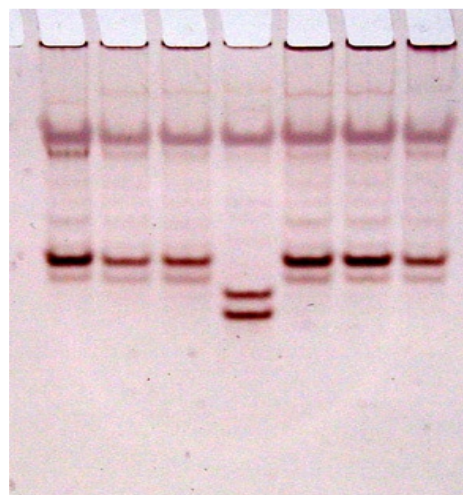


図 2. ネコブセンチュウのエステラーゼとリンゴ酸脱水素酵素のアイソザイム型
右端が新潟がんばる根

4. 所感

今回の探索では群馬県で過半数、長野県でも半数近くの圃場からダイズシストセンチュウが検出され、近年のダイズ栽培の拡大に伴って本線虫の分布も拡大していると考えられた。それらの線虫について比較的広範囲にわたって個体群の採集ができ、今後の抵抗性ダイズ品種導入のためにも有益であった。

個体数が多く、レース検定が可能だった 3 サンプルについては、いずれもレース 3 と判別された。これはかつての報告結果と合致している⁴⁾。他のサンプルについては、現在増殖中である。群馬県の個体群についてもレース 3 という報告があるが³⁾、既に北海道においては従来の抵抗性品種に寄生可能な個体群の発生が報告されており⁵⁾、今後、レース 3 とは異なる新たな寄生性を持った個体群の発生に着目した調査が重要であると考えられる。

サツマイモネコブセンチュウの被害 (生育阻害、大幅な減収、急性萎ちょう、枯死) は施設園芸のウリ科、ナス科作物を中心に広く認められている。果菜類中最も生産量が多く、産地化による栽培地の固定が著しい施設トマトではその被害は特に深刻である。トマトの線虫抵抗性品種は全て同一の遺伝子 Mi を持っているが、本遺伝子を打破する系統が大産地を中心に蔓延し、産地ではトマトの線虫抵抗性品種 (抵抗性台木) はほぼ無効化している。今回の調査により新潟県の施設トマトでも線虫抵抗性を打破するサツマイモネコブセンチュウの系統が発生していることが明らかになった。今後もこの線虫抵抗性打破系統の分布実態の解明を進める必要がある。

5. 謝辞

本調査の調査地点の選考並びに探索地へのご同行には群馬県農業技術センターの千本木市夫氏、宍田幸男氏、藍沢亨氏、長野県中信農業試験場の山田直弘氏、新潟県農業総合研究所園芸研究センターの松澤清二郎主任研究員、新潟県北蒲原農業改良普及センターの松枝直実技師に多大なご支援とご協力をいただいた。ここに記して深く感謝の意を表する。

6. 参考文献

- 1) Esbenshade, P.R. and Triantaphyllou, A. C. (1985). Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). *J. Nematol.* 17: 6-20.
- 2) Golden, A.M., Epps, R.D., Duclos, L.A., Fox, J.A. and Bernard, R.L. (1970). Terminology and indentivity of infraspecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). *Plant Dis. Repr.* 54: 544-546.
- 3) 稲垣春郎・百田洋二・清水啓 (1981). 埼玉、茨城、群馬、千葉のダイズシストセンチュウのレース. 関東東山病害虫研究会年報 28: 130.
- 4) 百田洋二・後藤昭・大島康臣 (1985). 秋田、岩手、長野、山梨、静岡、岡山のダイズシストセンチュウのレース. 関東東山病害虫研究会年報 32: 226.
- 5) 清水啓・三井康 (1985). 十勝地方におけるダイズシストセンチュウのレースと分布. 北海道農業試験場研報 141: 65-72.

Summary

In order to sample soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*), 13 and 24 soybean fields were surveyed in Gunma and Nagano Prefectures, respectively in October 2002. Soybean cyst nematode was detected from 18 fields (seven fields in Gunma and 11 fields in Nagano). The densities of cyst nematode were generally moderate or low, excepting two fields in Nagano, where the egg-densities per 1 g dried-soil were as high as 100 or more. Three isolates from Nagano that successfully established were examined to be race 3 according to the international race differentiation method for soybean cyst nematode. A root-knot nematode (*Meloidogyne* sp.) isolate was collected from tomato-roots at Kajikawa village, Kitakanbara, Niigata Prefecture in November 2002. The esterase and malate dehydrogenase bands after electrophoresis showed the characteristic of isozyme phenotype 'I1' of *Meloidogyne incognita* for the Niigata isolate. Isolates were deposited at the Genebank, National Institute of Agrobiological Sciences, Japan (Accession No.: MAFF 108265, MAFF 108266, MAFF 108267 and MAFF 108258).

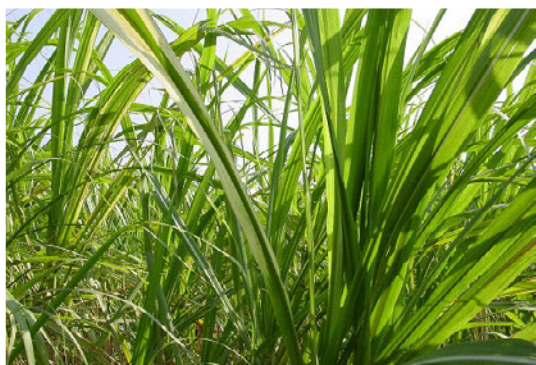
微生物の探索収集プロフィール



キクの立枯症状 (築尾)



長野県塩尻市のダイズシストセンチュウ発生圃場
(相場・水久保・伊藤)



沖縄本島で見られた葉白症状を呈する
サトウキビ (對馬)



箱入り麴 (柏木)



麴製品 (柏木)



サトウキビ白すじ病 (ペンシルライン)
(對馬)



漬物の路上販売 (稲津)