成績概要書（2009 年 1 月作成）

課題分類：

研究課題：ジャガイモシストセンチュウの簡易検出・密度推定が可能なプラスチックカップ土壌検診法

（ジャガイモ病害虫の簡易検出・高精度診断技術の開発）

担当部署：北海道農研・バレイショ栽培技術研究チーム、北見農試　生産研究部　病虫科

担当者名：

協力分担：なし

予算区分：外部資金（高度化事業）

研究期間：2005～2007 年度（平成 17～19 年度）

１．目的

道内で急速に発生拡大しているジャガイモシストセンチュウ（以下、線虫）対策のため、線虫抵抗性品種選抜法として開発されたカップ検定法を応用し、従来法より簡便かつ正確に、 線虫の有無と密度推定が可能な土壌検診法（「カップ検診法」）を開発する。

２．方法

1）カップ検診法：市販の小型蓋付き透明プラスチックカップに、検診土壌と催芽浴光処理した感受性品種の小粒いもを入れ（図１）、暗黒で培養した。一定期間後、透明カップの側面および底面越しに、根に寄生する雌成虫・シストを肉眼または実体顕微鏡で計数した。

2）従来法：検診土壌を乾燥後水道水に懸濁し、ふるい分け回収したサンプルから実体顕微鏡下でシストを回収した。シストを破砕後、卵を水に懸濁し、顕微鏡下で卵数を計数した。

3）カップ検診法条件：カップ・種いもサイズ、培養温度・日数等の最適条件を求めた。

4）現地土壌試験：2006～07 年の２か年、道央・道南の３地域 292 点および道東の２地域 368 点の線虫発生地区の土壌サンプルから約 100g ずつをカップ法検診と従来法で線虫検出を行い、検出精度および作業性等を比較・検証した。線虫検出サンプルでは、カップ検診法と従来法の密度値の関係を求めた。

３．成果の概要

1）カップ検診法では、85ml カップ内 33g 土壌（乾土換算）中に活性シストが１個以上あれば、カップ内に伸長した根に 100％線虫寄生が認められた。本法では透明カップ越しに肉眼でも容易に、他種シストと区別して本種のみを検出できた。３反復以上のカップ検診を実施することにより、検診土壌 100g を用いる従来法と同等精度が得られる。

2）16～24℃一定の恒温器および冬期暖房した室内（平均 18℃前後）とも検出線虫数に有意差はなかった（図２）。カップ観察適期は黄～褐色シストが出揃う植付 52～60 日後であった。種いもに当年収穫の線虫感受性小粒いも 10～20g およびマイクロチューバー（MT、1g 以上）が共に利用可能であった。休眠明けを秋期に調整した MT を利用すれば、年内に結果が得られ、翌春の線虫対策に反映できる。以上から図３の検診基本手順を定めた。

3）現地圃場サンプル試験では、カップ検診法の線虫検出精度は従来法と同等かやや優れた（表１）。両手法ともごく低密度時に検出できない事例があったが、従来法は死亡卵も計数しており、活性卵のみ検出するカップ検診法が実用上の検出精度に優れる。

4）カップ検診法の検出線虫数（3 反復平均値）と従来法の卵密度は、約 80 卵/g 乾土までは正の相関が認められた。サンプルの採集地・年次に関わらず、カップ検診法の結果から土壌中卵密度（無～低～中～高）が推定できた（図４）。80 卵/g 乾土を超える高密度土壌ではカップ内検出線虫数は 150 前後で頭打ちとなるが、一律「高密度」と判定できる。

5）カップ検診法は処理期間約 60 日を要するものの、途中の給水を含めた処理と調査の実作業時間は 1 点 10 分程度であり、従来法（30 分以上）に比して大幅に短縮された（表２）。

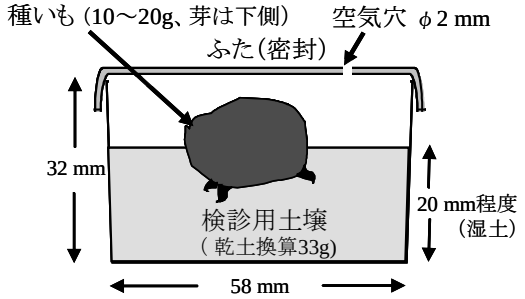

図１　検診用カップ模式図

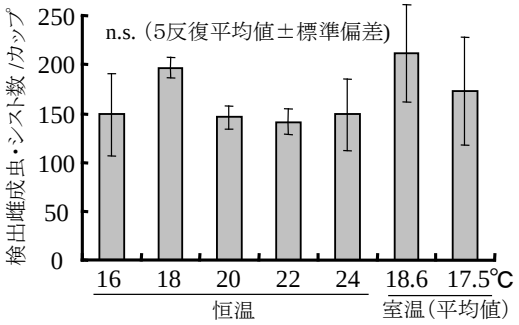

図２　温度別検出線虫数（約 200 卵/g 乾土の汚染土壌 33g、「男爵薯」使用、接種 49 日後）

1) 10～20g の線虫感受性小粒いも採取、または、マイクロチューバー発注
↓
2) 検診土壌採集（過湿土壌を避ける）
種いも催芽・浴光
↓
3) カップに検診土壌＋催芽いも
１検体４反復（３反復以上を有効に）
灌水（乾燥状態により 8, 5, 3, 0 ml）
↓
4) 16～24℃（最適 18℃）の暗所で培養
↓
5) 2, 5 週間後、土壌水分をチェック、空気穴から連続分注器を用いて 2～3ml 灌水
↓
6) 8 週間後、カップの底面および側面を肉眼やルーペで観察、寄生線虫数を調査
↓
7) 終了後、供試カップを湿熱 70℃、1 時間以上で熱殺消毒
土壌・残渣は圃場に還元せず廃棄

図３　ジャガイモシストセンチュウのカップ検診法の基本実施手順

表１　カップ検診法と従来法での線虫検出圃場サンプル数の比較（各々乾土 100g 検診）

	サンプル数	両手法で検出	両手法で非検出	カップ法のみ検出	従来法のみ検出
道央･道南Ａ,Ｃ地域：新規発生	58	43	11	2	2
道央Ｂ地域：古くから発生	234	110	87	18	19
小計（率）a)	292	153(52%)	98(34%)	20(6.9%)	21(7.2%)
道東Ｆ地域：一部圃場発生 2006 b)	113	18	84	6	5
同　2007 c)	250	3	230	17	0

a)06-07 年北農研実施、b)北見農試実施、c)カップ法は北見農試実施、従来法は道東Ｆ農協実施

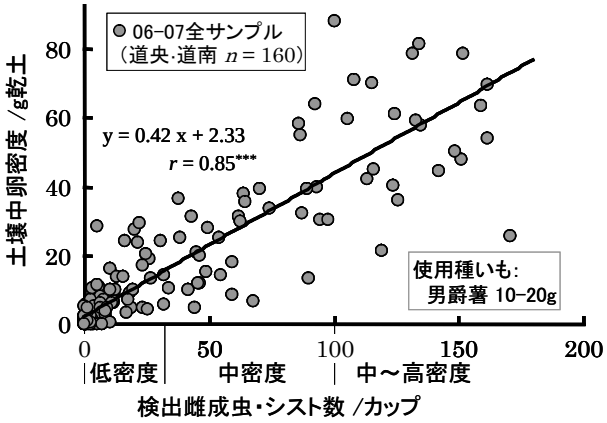

図４　現地の同一土壌サンプルでのカップ検診法と従来法の密度指標値の関係（北農研実施）

表２　カップ検診法と従来法の所要時間（土壌１サンプルあたり、北見農試実施）

カップ検診法	
土詰め・カップ設置	5.7 分
給水	0.8 分
寄生線虫数調査	2.3 分
(合計)	約 10 分
従来法	
シスト分離	10 分
シスト数調査	10～30 分
シスト破砕・卵数調査	15～20 分
(合計)	約 30～60 分

４．成果の活用面と留意点

1）従来法の補完技術としてジャガイモシストセンチュウの土壌検診に利用する。既発生圃場では密度モニタリング法として、輪作体系や防除技術導入の判断基準に活用する。

2）検診土壌の採取は「北海道ジャガイモシストセンチュウ防除対策基本方針」に準じる。

５．残された問題とその対応

「研究成果実用化促進事業」(2008-09）により、ＪＡ等の土壌検診施設においてカップ検診法を実施し、従来法との比較検証や導入可能な検診マニュアルの改良等を行う。