

5) 畑に潜むジャガイモシストセンチュウが一目瞭然！ 誰でもできる新検診法

(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)

北海道農業研究センター バレイショ栽培技術研究チーム

北海道立北見農業試験場 生産研究部 病虫科

1. 試験のねらい

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¹⁾ (以下、線虫と略) 対策のためには、線虫侵入をいち早く発見し、発生程度を正確に把握することが重要です。本線虫は多数の卵が詰まったシストと呼ばれる0.5mmほどの微小な褐色の殻の状態で土壌中に生存しています。このシストを土壌から見つけ出すのは難しく、専用設備と熟練を要します。このため、これまで対象圃場の線虫検診を迅速かつ正確に実施することは困難でした。そこで、誰でも一目瞭然に線虫の有無が検出でき、線虫の発生程度(密度)も推定可能な土壌検診法の開発をめざしました。

2. 試験の方法

市販の小型透明蓋付きプラスチックカップに、サンプル土壌と十分に芽出し処理を行った小粒ばれいしょを種いもとして入れ(図1)、暗黒で培養し、根を伸長させました。一定期間後、透明カップの側面及び底面越しに、根に寄生する雌成虫数を肉眼で確認し、実体顕微鏡で計数しました(図4)。同時に、同じ土壌サンプルを水に懸濁しふるい分け回収後実体顕微鏡下でシストを1個ずつ拾う従来法を実施しました。道央・道南・道東の5地域642点の線虫発生地区の土壌サンプルを用いて、新検診法の検証を行いました。

3. 試験結果

1) カップ検診法の培養条件

カップ検診法を実施する培養適温は16~24℃内であり、その範囲内なら検出線虫数に大きな差はありません(図2)。植付52~60日後が観察適期でした。種いもには「男爵薯」などの線虫感受性品種の小粒いも10~20gまたはマイクロチューバー²⁾ (MT) 1g以上が適します。当年収穫のいもは休眠明けの12月頃から、休眠明けを調整した

MT利用ならいつでも検診ができます。85mlカップ内の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の表面に、肉眼でも雌成虫の寄生が100%確認できました。

2) 従来法との精度・労力の比較

線虫発生圃場のサンプル試験では、カップ検診法(土壌33gの3反復)の線虫検出精度は従来法(土壌100g)と同等かやや優れていました(表1)。両手法ともごく低密度時に検出できない事例がありましたが、従来法は死亡個体も計数してしまうため、活性個体のみ検出するカップ検診法が、実用上の検出精度に優れているといえます。

カップ検診法の検出線虫数(3反復平均値)と従来法の線虫密度(卵数)は、約80卵/g乾土までは正の直線関係が認められました。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の線虫密度(無、低、中、中~高)が推定できました(図3)。なお、80卵/g乾土を超える高密度土壌では検出線虫数は頭打ちとなり、一律「高密度」と判定できました。

カップ検診法は処理期間約8週間を要するものの、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)と比較して大幅に時間が短縮されました(表2)。

カップ検診法は煩雑な従来法に代わり、未発生地域での線虫侵入対策や、発生地域での線虫密度低減対策等に活用が期待されます。

用語解説

1) **ジャガイモシストセンチュウ**：1972年道内に侵入が確認された、ばれいしょの大幅減収を引き起こす土壌害虫。道内発生面積は約1万ha。

2) **マイクロチューバー**：茎頂培養などで得られた無菌植物体から培養容器内に生産された、1g程度の小さな塊茎(いも)。

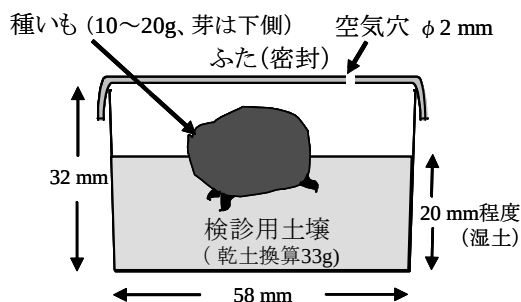


図1 検診用カップ模式図
(丸型V式容器 V-7)

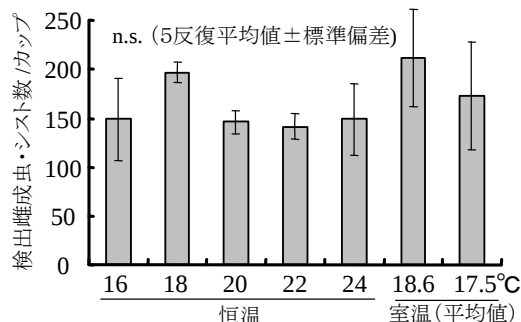


図2 温度別検出線虫数 (約200卵/g乾土の汚染土壌33g、「男爵薯」使用、接種49日後)

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)	100	15	78	3	4
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

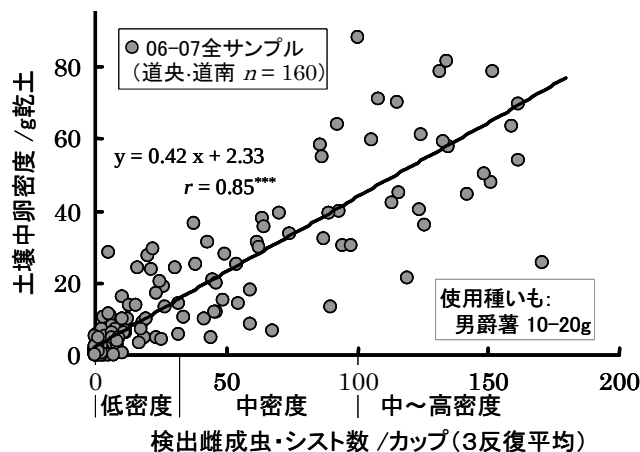


図3 現地の同一土壌サンプルでのカップ検診法と従来法の密度指標値の関係 (北農研実施)

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
シスト破碎・卵数調査	15~20分
(合計)	約30~60分

- 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・浴光処理
- 3) カップに検診土壌を詰め、催芽いもを植付、1検体4反復実施 (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°C (最適 18°C) 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、カップの底面及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°C、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4 ジャガイモシストセンチュウのカップ検診法の実施手順