

ミカンネセンチュウ (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb) の寄生度の調査と表示¹⁾

宮川 経 邦 ・ 賀 川 実 ・ 大 和 浩 国
(徳島県果樹試験場)

緒 言

一般に慢性的な被害様相を呈する土壌病害虫の被害解析は土壌中の諸要因の複雑さと関連して極めて困難な問題とされている。とくに永年作物である柑橘の土壌病害虫については、そのいずれをとりあげても被害解析が十分になされていない。

わが国の柑橘園にはミカンネセンチュウがひろく分布し、寄生がみとめられているが、この線虫についても明確な被害解析を行なった報告はほとんどない。その理由の一つには、この線虫の加害そのものが温和な形でなされるため、地下部、地上部ともにとくに変わった外見的症状を示さないことがあげられる。

筆者らは1963年以来温州ミカンにおけるミカンネセンチュウの被害査定に関する調査を行ってきたが、その間に調査の進展を妨げた一つの問題点は被害解析の第1段階として能率的で安定した寄生度の調査方法が確立できていなかったことである。

したがって、ここではミカンネセンチュウの寄生度の調査方法と表示について、これまでに試みられてきた2, 3の方法を比較検討し、筆者らの経験からこの線虫の被害解析あるいは生態的な研究への応用について考察してみたいと考える。

ミカンネセンチュウの寄生度の調査に用いられてきた方法

a) ベールマン法(一戸, 1959) この方法は土壌中に生息している移動可能な線虫を抽出する方法としてもっとも簡便で、多くの土壌線虫の分離に試みられている方法である。

土壌試料を採取するにあたっては、柑橘園内の根群分布が不均一な場合が多いので、細根の分布しているところから採土し、際や有機物を含むときは5mm程度の金網でふるい、土壌をよく混合して10~20gをベールマンロートにかける。処理後はゴム管の下方にたまった10ml程度の水を取り、底面に分画線を付したシラキウム皿を用いる。倍位の実体顕微鏡で検鏡し、幼虫数をかぞえる。

b) 細根に寄生した雌虫を直接顕微鏡観察によって算定する方法 ミカンネセンチュウの雌虫は細根に定着寄生するのでベールマン法では分離できないが、細根を水中に保持して40~60倍の実体顕微鏡で観察すると細根表面に寄生した雌虫体を容易にみつけることができる。この場合、試料をあらかじめ酸性フクシン・ラクトフェノール液(一戸, 1959)によって赤紫色に染色しておくことと検鏡時の観察が容易である。しかし、一般にミカンネセンチュウの雌虫は細根組織に群居して寄生し、その外側はゼラチン状の被膜および卵塊で覆われていることも多く、雌虫体が十分染色されないこともあるので検鏡に際しては解剖針を用いてゼラチン状の被

1) Methods of assessing the abundance of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, in citrus orchard. By T. Miyakawa, M. Kagawa, and H. Yamato. Proc. Assoc. Pl. Prot. Sikkoku, No. 2 : 83 - 87 (1967)

被膜と卵塊を除去しながらかぞえないと埋没した雌虫を見逃がしてしまうこともある。通常1試料より任意に1cmの細根片を20片以上抽出して数え、1cm当りの平均雌虫数で表示する。この方法では検鏡にかなり時間を要するので多くの試料を処理できない欠点があり、また試料の中から極めて少量の細根片を抽出するだけであるから定量値が不安定になりやすい。少ない試料からおおよその寄生程度をしらべるときには都合がよい。Baines et al.(1960)は雌虫の寄生量にしたがって slight(細根1cm当りの雌虫数1~10), moderate(11~20) および severe(21以上) という寄生度の段階を分類した。

c) ミキサー・ふるい分け法(Bains法;宮川, 1967) この方法は細根を直接検鏡観察せず、染色後にミキサーで磨砕して細根組織より雌虫を離脱させ、100および325メッシュのふるいを用いて回収して検鏡算定する方法である。

まず採取した細根を水洗して土粒を落とし、生乾きの状態で5mm程度に切断したのち、よく混合してそのなかから0.5~1mlを100mlのビーカーにとって酸性フクシン・ラクトフェノール液を加えて弱く煮沸染色する。染色液を捨て200ml程度の水を加えてミキサー(家庭用小型)で15~30秒間磨砕する。これを100と325メッシュのふるいを重ねた中へ通す。100メッシュに残った分はさらに200mlの水で洗い落してミキサーで磨砕し、ふたたびふるいを通す。この操作を3~4回繰返して325メッシュに集まった部分を200mlに攪拌しながら10mlをシラキウス皿にとり、30~40倍の実体顕微鏡で検鏡する。ミカンネセンチュウの雌虫体は赤紫色に染って細根組織片のなかで見出される。10mlずつ数回反覆検鏡し、200ml分の雌虫数に換算すれば最初に供試した試料中の寄生量が得られる。

既往の調査例と表示方法についての考察

ミカンネセンチュウの寄生度を表わす場合、細根に定着する雌虫数を寄生率の基準として表示すれば、この線虫の寄生量の絶対数を表わすものといえるから土壌中の幼虫密度で表わす方法よりも安定している。この場合、定量の方法に問題があり、直接検鏡によって少量の試料を抽出して寄生率を算出すれば、概して不均一な寄生分布をしていることが多いため、試料の抽出量不足に基づく誤差が大きくなる危険性がある。筆者らの調査結果をみると(第1表)、雌虫数、幼虫数ともに同一園内の調査樹間、調査年度間に変動が大きかった。この原因は試料の抽出方法、抽出量とともに寄生量の調査方法にも問題があったようである。しかし、これらの操作上の誤差についてはミキサー・ふるい分け法を採用することによってかなり改善された。すなわち、1gの柑橘細根の延長は大凡300cm程度にも達するので定量に際してできるだけ多くの細根を均一に混合して、そのなかから0.5~1gを供試すれば試料の抽出量としてはほぼ十分であろう。

第2表-(1)に1966~7年に実施した被害査定調査の一部としてミキサー・ふるい分け法による雌虫数、およびべールマン法による幼虫数を調査した例を示した。この結果をみると同一試料についてミキサー・ふるい分け法によって得られた数値には変動が小さく、かなり安定した定量法であることがうかがわれる。しかし、べールマン法による幼虫密度の調査結果は同一試料内でのべールマン法の反復誤差の変動が小さいにもかかわらず雌虫数との相関が必ずしも高くはない。これは根群内における雌虫寄生および幼虫密度の不均一さよりも土壌中における根群分布の不均一さに起因している。すなわち採取した土壌中において細根の分布量が不均一であったことが幼虫数の変動を大きくした理由の一つと考えられる。西野(1964)は静岡県下における調査から収量の高い優良園ほどミカンネセンチュウの幼虫密度が高いという結果を得た。これはべールマン法によって得られた幼虫密度が試料とした土壌中の細根量によって、より大きな影響を受けているためと思われる。この現象は第2表-(2)にもみられるように、それぞれの供試園内において試料ごとの雌虫数と幼虫数の分離比が異なり、相関程度がちがってくることによって明らかである。したがって、この方法を用いる場合、試料採取の点数を多くするか、採取した土壌中の細根含有量を考慮しないと調査結果は意外に変動が多く不安定なものになるようである。しかし一方ではべールマン法による幼虫密度の調査は雌虫を検出する方法よりも能率的であるから、調査の目的によってはその利用価値を無視できない。

第1表 徳島県内の温州ミカン園におけるミカンネセンチュウの寄生状況の調査例
(徳島県試, 1964)

調査園	年次 項目	1963年		1964年	
		雌虫寄生率 ¹⁾	幼虫数 ²⁾	雌虫寄生率	幼虫数
1		7.1 (1.4-17.4)	256 (225-277)	5.4 (1.7-8.0)	958 (220-1893)
2		15.4 (4.8-24.7)	539 (430-721)	8.3 (6.0-9.5)	765 (585-961)
3		12.9 (5.1-25.7)	542 (54-1231)	5.2 (0.6-8.3)	642 (65-1477)
4		1.5	361 (30-882)	4.9 (3.2-7.3)	802 (256-1097)
5		20.6 (12.8-32.1)	360 (75-780)	11.2 (7.5-14.4)	1162 (861-1470)
6		14.7 (9.2-22.8)	1427 (1030-1682)	3.9 (2.0-5.6)	349 (267-409)
7		4.1 (2.2-6.5)	142 (42-252)	3.4 (1.0-5.4)	376 (126-758)
8		3.3 (0.3-9.0)	465 (50-1260)	7.2 (5.6-9.2)	627 (365-962)
9		1.0	184 (61-338)	10.1 (2.9-18.2)	1475 (346-2453)
10		6.4 (1.5-14.8)	200 (38-456)	9.4 (4.8-15.2)	899 (596-1505)
11		7.4 (3.7-10.7)	670 (106-1112)	2.7 (1.2-3.8)	648 (313-1266)
12		10.7 (1.1-22.9)	217 (188-255)	3.9 (1.8-7.0)	455 (242-686)
13		6.6 (3.2-9.0)	282 (95-556)	8.0 (2.9-12.6)	735 (103-1398)
14		5.1 (3.1-9.6)	454 (278-563)	5.8 (4.7-7.6)	1072 (597-1780)
15		9.5 (5.6-12.0)	614 (185-1180)	0.9 (0.2-1.1)	132 (6-377)
16		3.4 (0.8-7.5)	49 (25-67)	0.7 (0.2-1.9)	151 (65-234)
17		0.7 (0.6-1.6)	65 (27-126)	2.8 (1.4-5.5)	321 (293-348)
18		1.3 (0.3-2.6)	119 (70-155)	4.1 (0.4-6.9)	505 (199-724)
19		4.7 (2.9-5.6)	164 (111-220)	5.4 (4.5-6.2)	443 (152-852)

註 1) 直接検鏡による細根1cm当り雌虫数平均(最小-最大)。
試料は同一園内の3~4ヶ所より、各々3点ずつ採取。
2) 20gの土壌よりベールマン法によって分離した幼虫数平均(最小-最大)。

第2表-1) ミキサ-ふるい分けおよびベールマン法によるミカンネセンチュウ寄生度の調査例(試料内での雌虫定量数値の変動と幼虫数との関係を示す)¹⁾

供試樹 採取反覆	1			2			3			4		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	400 ²⁾	370	380	170	360	210	150	220	500	500	300	220
2	410	260	490	120	260	160	100	250	340	250	100	270
3	380	320	320	150	170	180	90	140	440	240	180	310
平均	396	316	396	146	263	183	113	203	426	330	193	266
幼虫数 ³⁾	767	498	1426	1122	1077	290	553	949	848	1352	431	965

註 1) 同一園内の4樹について各樹下の3ヶ所より細根および土壌採取。
2) 1gの細根より分離した雌虫数。
3) 20gの土壌より分離した幼虫数、各々試料について3反覆の平均。相関係数 $r = 0.377$ 。

第2表-(2) ミキサ-ふるい分けおよびベールマン法によるミカンネセンチュウ寄生度の調査例 (徳島果試, 1967)

供試園	試料採取	調査樹数	雌虫数 ¹⁾	幼虫数 ²⁾	相関係数 ³⁾
1	1966年 11月	10	1019	2808	0.389
2	"	10	687	768	0.578
3	"	10	722	891	0.812
4	1966年 12月	10	186	242	0.750
5	"	10	307	794	0.125
6	"	10	314	629	0.827
7	"	10	88	317	0.625
8	"	10	236	408	0.459
9	1967年 2月	4	323	343	0.377

註 1) 細根 1g 当り。
 2) 土壌 20g 当り。
 3) 各調査園における雌虫数と幼虫数との相関。

例えば同一圃場内の同じ条件下で殺線虫剤の効果を概略的に判定するような場合にはこの方法がすこぶる便利である。Baines et al.(1959)は D-D 処理後の土壌中における拡散状況をミカンネセンチュウの幼虫密度の変化から推定し、Yolo loam において D-D の注入点から 2 フィートの範囲で 100% の殺虫効果をみとめた。また、第3表に筆者らが実施した殺線虫剤処理後の幼虫密度の変化についての調査例を示したが、ベールマン法によって分離される幼虫数は殺線虫剤処理後に急速に低下し、このような目的ではベールマン法の利用価値が高いことを示している。

第3表 幼虫密度の推移による殺線虫剤処理効果の表示 (徳島果試, 1966)

調査時期	処 理 処理量/m ²	DBCP 剤 乳 剤		無 処 理	
		5 g ¹⁾	10 g		
処 理 前		183 ²⁾	274 (100)	201 (100)	
2 カ 月 後		61 (33)	12 (4)	225 (112)	
9 カ 月 後		49 (27)	6 (2)	291 (145)	

註 1) 成分量, 2) 20g 土壌から分離した幼虫数。 3) 処理前を 100 とした比。

以上考察してきたように、ミカンネセンチュウの寄生度の調査と表示には 2 つの方法を併用することにより被害解析のための調査、あるいは殺線虫剤の効果判定に応用できるものと考えている。しかし、これらのいずれの方法を用いる際にも同一園内、樹内におけるこの線虫の分布がかなり不均一なことで、これは細根の生育段階にも関連するようであるが、このような点も考慮して試料を採取することが望ましい。筆者らの調査例から考えると、1 調査点(例えば同一環境の園内)について 5 樹以上、各樹から 3 ヶ所以上の試料(細根あるいは土壌)をとれば概して安定した寄生 推定ができるものと考えている。さらに前述の細根の生育段階を考えると、5~7 月の新根発生時期は根の生育期のちがいがから寄生度が不安定になることが予想されるので、この時期を避けることが必要であろう。

摘 要

1) ミカンネセンチュウの寄生度の調査法としては、一定量の細根についてミキサー・ふるい分け法を用いて雌虫を定量するのがもっとも安定している。

2) 土壌中の幼虫密度を寄生度の表示の基準とするときは試料の採取時期、方法とくに根群の分布から土壌中の細根量を考慮する必要がある。

3) 殺線虫剤の効果判定など一定条件下で相対的な線虫密度の推移を知るためには、ペールマン法によって土壌の単位重量についての幼虫密度を表示するのが都合がよい。

引 用 文 献

Baines, R. C. et al. (1959) : Hilgardia, 29:359-381.

Baines, R. C. et al. (1960) : Plant Disease Reporter, 44:281-285.

一戸稔 (1959) : 線虫実験法・昆虫実験法, 日本植物防疫協会, pp. 491-520,

宮川経邦 (1967) : 植物防疫 (投稿中).

西野操 (1964) : 線虫に関する特殊委託試験成績, 日本植物防疫協会, pp. 81-93.

徳島県果樹試験場 (1964) : 線虫に関する特殊委託試験成績, 日本植物防疫協会, pp. 94-99.

徳島県果樹試験場 (1966) : 線虫に関する特殊委託試験成績, 日本植物防疫協会, pp. 139-144.

(1967年4月22日 受領)