日本線虫学会第21回大会講演要旨

唐津市市民交流プラザ（唐津市） 2013年9月5日 - 6日

Abstracts of papers presented at the 21st annual meeting of the Japanese Nematological Society
in Karatsu, September 5-6, 2013

特別講演

生物資源を利用した、線虫をはじめとする病害虫の防除

Special lecture

Control of nematode and soil-borne diseases by use
of biological resources

田場 聡¹（¹ 琉球大学）生物資源を利用した植物寄生性線虫類の環境配慮型防除に関する研究 Tabata, S.¹ (¹ Ryukyu Univ.) Study on the environmentally friendly control of plant-parasitic nematodes using biological resources.

化学合成農薬は防除効果に優れ、持続性が高いことから、有用な方法である一方で、生態系の攪乱、薬剤耐性生物の出現、食の安心・安全の確保等が懸念され、近年、可能な限り農薬のみに依存した栽培体系から脱却を図るため、複数の防除法を矛盾無く組み合わせることで経済的被害水準以下に病害虫密度を維持する総合的防除の試みがなされている。元来、総合的防除は、環境負荷について言及した概念ではないが、最近では、「環境負荷低減」を内包した考え方が一般的となっている。また安定した防除効果を得るためには、「地域性」が重要であり、当該地域において有利は手段を軸に対策を構築することが推奨されている。

我々の研究室では、沖縄に分布する生物由来資源を活用することで農薬使用低減あるいは有機農業の推進に寄与することを目的とし、未利用植物、天敵微生物（内生菌）および有機廃棄物を利用した植物病害防除に関する研究を展開している。今回は植物寄生性線虫に関する研究例を紹介する。

沖縄には雑草を含め1,000種を超える薬草が分布していると言われており、特に雑草は「現時点で利用法が明らかでない植物」であり、その可能性は無限大であると考えられる。県内から約40種類の植物を採取し、抽出液作製後にサツマイモネコブセンチュウに対する抗線虫活性を検討した結果、キク科雑草であるアワユキセンダングサ（*Bidens pilosa* L. var. *radiata*）が最も高い抗線虫作用（殺虫や麻痺、孵化阻害および忌避）を示すことが明らかとなった。さらに実験を進めた結果、ネコブセンチュウ類だけでなく、ダイズシストセンチュウ、ネグサレセンチュウ類およびマツ

ノザイセンチュウに対して活性が確認され、さらにハスモンヨトウやモンシロチョウ、アブラムシ類に加え、マツノマダラカミキリ（幼虫および成虫）に対しても忌避または殺虫作用を示したことから、広く農業害虫の防除に利用できる可能性があると考えられる。

天敵微生物に関しては、沖縄在来の線虫捕捉菌を分離し、サツマイモネコブセンチュウに対する捕捉性評価を行った結果、有望種が数種確認され、単独処理による効果も認められたが、農薬および植物抽出液との混合も可能であることが明らかとなった。これら混合剤処理による化学的および生物的な複合作用による防除効果の向上が期待される。特に未利用植物抽出液との混合では、菌の生育が抑制される場合が認められたが、逆に捕捉器官数および線虫捕捉率が増加する現象がみられた。これは菌の生育抑制による線虫捕捉依存の向上ではないかと推察された。これらの植物抽出液や天敵微生物を利用した製剤が開発可能であれば、総合的防除の一手段として利用可能であると考えられる。

有機廃棄物の利用では、太陽熱と米ぬか混和処理による成分浸出（抽出）型防除法が既に現場で普及し、特に甚被害圃場などで実施されている。米ぬか混和処理の防除機作について解析した結果、脂肪酸類の遊離、増殖した微生物によって生産される酢酸、抗菌物質および細菌食性線虫の排泄するアンモニアによる化学的および生物的要因の複合作用であることが示唆された。

今後も防除に関する研究を中心に行う予定であるが、「知識と技術は人々の生活に役立ってこそ素晴らしい」という言葉があるように、可能な限り「実用化」を目指して技術開発を行っていきたいと考えている。

小池正徳¹（¹ 帯広畜産大学）昆虫寄生性 *Lecanicillium* 属菌によるダイズシストセンチュウの被害抑制 Koike, M.¹ (¹ Obihiro Univ.) Biological Control of Soybean Cyst Nematode using Entomopathogenic *Lecanicillium* sp.

ダイズシストセンチュウ (Soybean Cyst Nematode 以下 SCN) はダイズ、アズキの重要病害虫であり、世界的に収量低下の被害がもたらされている。SCN防除は耕種の防除や化学的防除を中心に行われているが、現在の防除方法に生物的防除を加えることで総合的防除が期待できる。現在、生物的防除の中でも昆虫寄生性糸状菌を用いる方法が注目されており、USDAのMeyerらの一連の研究により、*Lecanicillium*

属菌はSCNに寄生し、雌成虫やシストの密度を減少させることが報告されている。また、演者らの研究室において *Lecanicillium* 属菌のプロトプラスト融合株AaF42には雌成虫の密度を減少させる能力や、卵の成熟阻害能力が高いことが報告されている (Shinya *et al.* 2008; Goettel *et al.* 2008; Koike *et al.* 2011)。本講演ではこれまでの研究と *Lecanicillium* 属菌プロトプラスト融合株AaF42のダイズ根での動態を中心に報告する。ダイズの根表面に出現する雌成虫への感染率を菌接種、培地上での胞子カウントにより測定し、根面定着能力の比較を菌接種、希釈平板法により測定した。さらにAaF42へのGFP遺伝子導入による形質転換を行い、形質転換株をダイズの根に接種し、ダイズの根表面、根内の菌の定着様式、根の表面に出現した雌成虫への定着を観察した。供試菌株はVertalec® (*L. longisporum*)、Mycotal® (*L. muscarium*) および、これら2株のプロトプラスト融合株AaF42である。ダイズはSCN感受性品種キタムスメを用いた。SCN雌成虫への感染率の測定ではAaF42処理区、Mycotal処理区で雌成虫の感染が認められ、AaF42は親株に比べて高い感染率の傾向を示した。雌成虫は *Lecanicillium* 属菌の感染により死亡する可能性が示唆された。根面定着能力はAaF42で親株に比べ高い傾向が見られた。ダイズ根の顕微鏡観察では、ダイズの根表面および、根内部で菌糸が定着していることが確認された。さらに細胞間隙や細胞内に菌が侵入していた。AaF42は根の表面に定着し、その後、細胞間隙、細胞内へと侵入し、根全体へと定着していると考えられる。さらに根表面に出現した雌成虫内に感染している様子も観察された。以上のことからAaF42は根表面または内部に定着しSCNの雌成虫と卵に寄生し、その作用により雌成虫および卵の密度を減少させることが確認できた。さらにAaF42の根内部での定着が観察されたことから、AaF42とダイズ間のより強固な親和性が明らかになったと考えられる。今後はAaF42の内部への定着についてより詳細に調査し、内生によるダイズの誘導抵抗性の有無について調べる必要がある。

横山和成¹ (¹ 農研機構) 複雑な微生物生態系が内包する動的な力を作物の土壌病害防除に生かす試み Yokoyama, K.¹ (¹ NARO) Utilization of dynamic power of complexity in the microbial ecosystems to control the soil-borne plant diseases.

「土壌微生物」というだけで、余りにも多様で膨大、加えて、見えない、培養できない、情報蓄積が無い、の三重苦から、長きにわたって科学的探究の枠外に置かれ、それと同時に進行する形で、「何でもあり」、「言ったもん勝ち」、拳句の果ては「地球を救う」疑似科学として君臨してきた時代は過ぎ去った。

ここで紹介する幾つかの例は、個としての名も体も知らない(この場合の「ない」は「無い」ではなく、敢えて誰もやっていない、つまり「未だ」という意味である)土壌微生物の集合体を生態系(システム)として捉え、複雑なシステムに働くダイナミクス(動力学)が結果として生み出す安定性、変化し続ける「動的安定性: Dynamic stability」

についてである。また、この力によって、特定の微生物の寡占状態を抑制し、土壌病害という現代農業の宿病を遠ざける技術として、現場で既に検証を受けた実例である。そして、そのための基礎として、「三重苦」を克服するために必要だった概念的、方法論的変革、その過程で開発された全く新しい土壌微生物生態系の評価指標「土壌微生物多様性・活性値」を紹介する。

土壌微生物の活性が高いと病気が出にくい

トマト青枯病の発病程度と微生物活性(新潟県農業総合研究所)

ペニバナインゲン綿腐病と土壌微生物多様性・活性値

	試験区 1	試験区 2	試験区 3
発病株率(%)	19.2	69.2	100
土壌微生物多様性・活性値	1,069,672	382,835	444,960

片倉テックライン株式会社 筑波総合研究所、茨城県農業総合センター農業研究所、有限会社ディージーシー総合研究所にて共同試験

一般講演（口頭発表）

Papers (oral presentation)

串田篤彦¹（¹ 北農研）線虫群集中のネグサレセンチュウおよびネコブセンチュウ種を一遍に把握する方法 Kushida, A.¹（¹ NARO/HARC）An Easy Method for the Simultaneous Detection and Discrimination of the main *Pratylenchus* and *Meloidogyne* species in Japan.

ベルマン法等で土壤中から分離した線虫群集中に含まれるネグサレセンチュウおよびネコブセンチュウを、顕微鏡を全く用いることなく、簡易かつ高感度に検出・識別できる手法を検討した。rDNA-ITS1領域にネグサレセンチュウおよびネコブセンチュウDNAを増幅させるグループ特異的プライマーを設計し、PCRによって両属線虫種DNAを増やし、増幅DNA鎖長の差を電気泳動で検出することにより種を識別する。供試種は、*Pratylenchus coffeae*, *P. crenatus*, *P. kumamotoensis*, *P. loosi*, *P. neglectus*, *P. penetrans*, *P. vulnus*, *P. zaeae*, *Meloidogyne arenaria*(Ma), *M. hapla*, *M. incognita*(Mi), *M. javanica*(Mj)である。設計したプライマーを多数の地域線虫群集に適用した結果、両属線虫種以外は検出されないことから特異性は高いと考えられた。DNA鎖長の識別は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により可能だった。Ma, Mi, MjはDNA鎖長に差が無く、お互いを識別できなかったが、これら以外はメインバンドの移動度により識別できた。ほとんどの種が多くマイナーバンドを形成したが、メインバンドは地域個体群間で安定しており、識別に問題はなかった。本法によれば、1000頭の自活性線虫に2期幼虫が1頭だけ混在している場合でも1回のPCR(30 cycle)と電気泳動でそれを検出・識別でき、複数種が混発する複雑な群集でもその状況を明確に把握できた。線虫の簡易診断に非常に有用であると考えられた。

澤村信生¹・山本 淳¹（¹ 島根農技セ）島根県におけるボタンのイチゴセンチュウの発生状況について Sawamura, N.¹（¹ Shimane Agricul. Technol. Center）

島根県では松江市などでボタン栽培が行われている。近年、抑制作型栽培を中心にイチゴセンチュウが原因と推察される被害の発生が多くなっている。そこで、ボタンおよび台木として利用されているシャクヤクのイチゴセンチュウの発生状況について調査を行った。

2011年6～8月に県下ボタンおよびシャクヤク圃場においてイチゴセンチュウによる葉枯れ症状を調査した。葉枯れ症状を呈したものについてはその後持ち帰り、セロテープ法（仮称）およびベルマン法によってイチゴセンチュウの有無を確認した。その結果、ボタン13圃場中4圃場、シャクヤクの11圃場中5圃場で葉枯れ症状が確認された。また、寄生性について調査するために2011年12月～2012年9月に毎月1度の割合で培養したイチゴセンチュウを滅菌水で調整

（216～744頭/ml）シコカインスプレーで鉢植えのボタン及びシャクヤクに噴霧した。その結果、ボタンでは5、6、8、9月に接種したものでイチゴセンチュウによるものと思われる葉枯れ症状が認められた。一方、シャクヤクでは接種したすべての月で葉枯れ症状が認められた。以上のことからイチゴセンチュウはボタン、シャクヤクの両方に寄生し、シャクヤクの方が寄生しやすいと考えられた。

武田 藍¹・加藤正広¹（¹ 千葉農林総研）輸出用植木の生育中薬剤灌注処理によるオオハリセンチュウ密度低減効果 Takeda, A.¹ and Kato, M.¹（¹ CAFRC）Effects of the Agrochemical Irrigation for Reducing *Xiphinema* sp. Populations in Nursery Soil of Japanese Ornamental Garden Trees for Exportation.

欧州向けに輸出される植木の根鉢土壌から植物寄生性線虫が検出される事例が多発している。この問題に対し、講演者らは最重要種であるオオハリセンチュウを対象にフェニトロチオン乳剤およびベノミル水和剤の根鉢浸漬処理の効果を確認した。さらに生産現場では、生育中に処理可能な防除方法も求められたことから、今回新たに上記薬剤の土壌灌注処理の効果を検証した。砂地圃場に定植されたイヌツゲ（樹高約1 m）の樹冠下（約0.5 m²）にフェニトロチオン80%乳剤の500倍希釈液を灌注する試験を行い、処理1か月後にオオハリセンチュウ密度低減効果を補正密度指数により検証した。その結果、処理量を50 L/m²とした場合には補正密度指数は78.7であり効果は低かったが、処理量を100 L/m²とした場合には4.5であり、高い効果が確認された。そこで処理量を低減するために、10 L/m²の薬剤処理後に灌水を行う効果を検証した。その結果、処理のみでは補正密度指数は93.7であったが、処理後に90 L/m²の灌水を行った場合には補正密度指数が38.0であり、効果が認められた。一方、ベノミル50%水和剤の500倍希釈液灌中処理では、10 L/m²処理のみでも補正密度指数が20.9であり、さらに灌水を行った場合には7.5と高い効果が認められた。

Toyota, K.¹, Min, Y. Y.²（¹ Tokyo Univ. Agr. & Tech., ² Yezin Agr. Univ.）Major plant parasitic nematodes in rice fields in Myanmar and possible damage to yield.

Myanmar is an agricultural country with more than 100% self-sufficiency rate of cereals and the seventh largest rice producing country. In major rice producing countries, rice yields increased from 1997 to 2007. However, those decreased in Myanmar, suggesting the presence of obstacles against rice production. The objectives of this study was to identify major plant-parasitic nematodes in rice fields in Myanmar and to estimate possible damage to yield. Soil was collected from 26 paddy fields in Myanmar and nematodes were extracted with the Baermann-funnel method. Individuals of plant-parasitic nematodes were picked up and their D2/D3 regions of 28S rDNA sequences were determined. The rice root nematode *Hirschmanniella oryzae* and the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* were identified.

H. oryzae and *M. graminicola* were detected in 23 and 3 fields, respectively. In addition, nematodes extracted from rice stems were inferred the rice stem nematode (ufra) *Ditylenchus angustus*. Nematicide was applied into two paddy fields infested with *H. oryzae* or *D. angustus* and the results showed ca. 20% increase of the grain yields by nematicide application. This study suggests that nematodes cause a significant reduction in the rice yields in certain regions of Myanmar.

Gaspard, J.¹ and Yamane, I.¹ (¹ Nematoken Co. Ltd.) A Centrifuge Sugar-flotation Method for Cysts and *Hirschmanniella* sp. Nematode Extraction from Soil. ガスパード ジェロム¹・山根 泉¹ (¹ (有)ネマテンケン) シストセンチュウとレンコンネモグリセンチュウに有効な二層遠心分離方法

This modification of the 2-layer sugar-flotation method uses a no.4 size polyethylene bag and 2 funnels to create the 2-layers for sugar-flotation with 250 ml Nalgene plastic centrifuge bottles. The open end of the bag liner is placed over the narrow end of one funnel and the closed end of the liner is passed through the narrow end of the other funnel to sandwich the liner between the 2 funnels. The closed end of the liner is then placed in the centrifuge bottle and 60% sugar solution (80 ml) is added to fill the bottle to the brim. A soil suspension (10-50 g in 100-125 ml water) is then poured into the funnel to create the soil layer. The weight of the soil suspension causes the liner to slowly fill the centrifuge bottle and then the funnels are removed. Filled bottles are centrifuged and sieved as in standard sugar flotation methods using nylon mesh (10-100 micron mesh) sheets for sieving. This method has been successful in recovering virtually all nematode cysts and *Hirschmanniella* sp. added to soil.

井関 崇¹ (¹ 横浜植防) 日本産 *Hirschmanniella* 属線虫の遺伝子調査 Iseki, T.¹ (¹ Yokohama Plant Protection) Molecular researches on *Hirschmanniella* spp. in Japan.

2010年の応動昆にて、沖縄県産タイモより検出された *Hirschmanniella* 属線虫について、分子生物学的調査及び形態調査により *H. oryzae* (イネネモグリセンチュウ) と同定したことを報告した。国内に発生している *Hirschmanniella* 属は *H. oryzae*, *H. imamuri*, *H. diversa* の3種が知られているが、それらの遺伝子調査の報告事例は少ない。そこで、国内各地域のイネおよびレンコンから当属線虫を分離し遺伝子調査を行った。材料は関東周辺4地点、中四国・九州地方7地点由来のイネ株から分離した *H. oryzae*, *H. imamuri* 及び、沖縄県産タイモより分離した *H. oryzae* を調査に用いた。また *H. diversa* については、長崎県産、佐賀県産および茨城県産のレンコンから分離したものをを用いた。調査対象の領域はリボソームRNAのITS領域およびD2/D3領域とした。調査の結果、イネ株から分離した *H. oryzae* は各地域間においてITS, D2/D3領域ともにほぼ一致した一方で、沖縄産タイモ由来の *H. oryzae* と比較すると、各領域1%未満の塩基の違いが見られ

た。 *H. imamuri* については関東周辺地域由来のサンプルと、中四国・九州地域由来のサンプル間で配列が異なっていた。 *H. diversa* については各地域間で塩基配列の違いは見られなかった。

高木素紀¹・久恒和雅¹・後藤万紀²・鹿島哲郎¹ (¹ 茨城農総セ園研・² 茨城農総セ鹿島特産) レンコンネモグリセンチュウ *Hirschmanniella diversa* に対する温湯処理法の検討 Takagi, M.¹, Hisatsune, K.¹, Goto, M.² and Kashima, T.¹ (¹ Ibaraki Hort. Res. Inst.², Ibaraki Kashima Res. Ctr.) Control of *Hirschmanniella diversa* by immersing in hot water treatment without damaging to Indian Lotus, *Nelumbo nucifera*.

レンコン肥大茎表皮を加害して商品価値を低下させるレンコンネモグリセンチュウ *Hirschmanniella diversa* (以下、線虫) は、主としてレンコンの吸収根内部に寄生するため、植付けに使用する種レンコン (塊茎) を介して発生地域を拡大する。そこで演者らは、種レンコンに寄生した線虫を防除する方法として、イネのイネシンガレセンチュウやコンニャクのネコブセンチュウ防除等で実用化されている温湯処理法の活用を検討してきた。これまでの試験から、47℃ 20分の温湯処理は線虫防除に有効であるものの、温湯処理による熱害が発生し、レンコン芽部の生育が進むほど熱害を受けやすい傾向にあることを明らかにした。そこで、2013年4月から5月にかけて、園芸研究所内で養成した種レンコンを約1週間間隔で掘り取り、47℃ で20分間温湯処理し、人工気象室内でその後の生育を調査した。その結果、葉芽が伸長を開始する5月初旬に温湯処理を行うと当該部分が枯死することから、温湯処理は葉芽伸長前、茨城県では4月中に処理を行う必要があると考えられた。また、2013年3月に茨城県の現地圃場において、レンコン温湯処理試作機を使用して47℃ で20分間の温湯処理条件での試験を行ったところ、温湯処理したレンコンは初期の生育が無処理と比較して劣ったものの、7月の調査ではほぼ同等の生育状況であることを確認した。よって47℃ 20分間の温湯処理は、種レンコンにおける線虫の防除法としては有効であると考えられた。しかしながら本技術の普及には根部洗浄の方法など、作業性の検討・改善が必要である。

對馬由記子¹・山下のぞみ²・内藤 誠³・山下一夫¹ (¹ 青森産技セ野菜・² 青森三八県民局・³ 青森産技セりんご) ニンニクほ場におけるイモグサレセンチュウ防除のための土壤消毒と深耕の効果 Tsushima, Y.¹, Yamashita, N.², Naitou, M.³ and Yamashita, K.¹ (¹ Aomori Vegetable Research institute., ² Aomori Sanpachi District Administration Office, ³ Aomori Apple Research institute.) Effect of the soil sterilization and deep tillage for the control of *Ditylenchus destructor* in the garlic field.

イモグサレセンチュウ発生ほ場でニンニクを栽培する場合、植付け前の土壤消毒が必須である。しかし、土壤消毒を行ってもほ場条件や年次により防除効果が不安定な場合が見られる。そこで、深耕によるくん蒸処理層の拡大で防

除効果が改善できるか検討した。本センチュウ多発ほ場において、平成22年及び23年のそれぞれ9月、プラソイラで深耕した後植え付けする畦にクロルピクリンくん蒸剤（クロピク80）を注入し、ポリフィルムで被覆してマルチ畦内処理した区（深耕区）、ロータリーで耕起した後クロピク80でマルチ畦内処理した区（普通区）及び無処理区を設けた。処理3週間後、ガス抜きをせずにニンニクを植え付けた。平成23年及び24年の6月下旬～7月上旬に収穫し、収穫後約1か月間の35℃温風テンパリング乾燥を行い、さらに1か月保管して調査した。その結果、平成23年は無処理区で本センチュウ被害鱗球率が100%、普通区では38.3%、深耕区は25.0%、平成24年は無処理区で90%、普通区で17.5～30.0%、深耕区は5.0%と深耕区で被害が少なかった。これらのことから、深耕を組み合わせた土壤消毒を行うことにより防除効果が改善できると考えられた。

荒城雅昭¹（¹ 農環研）大型ポット試験による耕起・不耕起、作物栽培など圃場管理方法が土壤線虫相に及ぼす影響の解明 - 各種カバークロップの影響 Araki, M.¹ (¹ Nat. Inst. Agro-Environm. Sci.) Experimental elucidation of effects of cultural methods such as tillage and crops on soil nematode community - comparison among cover crops.

2007年4月より農環研の野外ポット置場において実施している、カバークロップや作物栽培、耕起除草や雑草繁茂などの圃場管理が土壤線虫相に及ぼす影響解明の試験のうち、永年性で畦畔管理目的のコウライシバ、センチピードグラス、シバザクラ、アップルミント、リッピアなど一年生のナギナタガヤのカバークロップ9処理区と景観作物のワイルドフラワーミックス区について、ベルマン法で分離し多様性計数法によって得られた線虫相を比較検討した結果を報告する。カバークロップ区の土壤線虫の、Simpson指数などの多様性指数やMaturity Indexは、それらが低いオクラ・コマツナニ毛作など作物栽培区よりは明らかに高く、それらが低い雑草系の区と同程度か若干低めの位置に並んだが、区間および調査時によるばらつきが大きくその順位は判然としなかった。シバザクラ区ではネグサレセンチュウの密度が高く維持され、アップルミント区ではオオハリセンチュウの密度が高く低密度ながらネコブセンチュウが継続的に検出されるなど、植物寄生線虫の伝染源となるカバークロップが見られ、これらカバークロップを実際に利用する際には、それらの造成や管理の上での適性のほか、植物寄生性線虫との関係にも注意する必要性が認められた。

上杉謙太¹・立石 靖²・岩堀英晶¹（¹ 九州沖縄農研・² 農林水産技術会議）パリセードグラスMG5を利用したミナミネグサレセンチュウの密度抑制 Uesugi, K.¹, Tateishi, Y.² and Iwahori, H.¹ (¹ NARO/KARC, ² AFFRC) Suppression of *Pratylenchus coffeae* using Palisade grass MG5.

パリセードグラス *Brachiaria brizantha* は近年日本での放牧用牧草および1年生飼料作物としての利用が検討されている

暖地型牧草である。本草種はサツマイモネコブセンチュウおよびミナミネグサレセンチュウ（以下ミナミ）の増殖を抑制する性質を持つため、九州地域における線虫抑制作物としての利用が期待される。そこで、ポットを用いた接種試験および圃場栽培試験によりパリセードグラスMG5のミナミ密度抑制効果を検討した。その結果、接種試験では供試したミナミ4系統のいずれもMG5における増殖が認められなかった。MG5根内へのミナミの侵入・産卵を経時的に調査したところ、一定数の線虫侵入は認められたものの、産卵はほとんど認められなかった。圃場プロットにおける栽培では、調査を行った2カ年ともMG5はミナミ密度を無寄主休閑と同等かそれ以下に抑制した。MG5の栽培翌年に同プロットでサツマイモ栽培を行ったところ、MG5後作では塊根の病斑程度が他草種栽培プロットに比べ軽く、休閑後作と同程度であった。本講演では後作サトイモにおける生育データも紹介する予定である。

植原健人¹・水久保隆之¹（¹ 中央農研）ナス台木品種等に対するネコブセンチュウの寄生程度（予報） Uehara, T.¹ and Mizukubo, T.¹ (¹ Nat. Agr. Res. Ctr.) Differences in parasitism of root-knot nematode to several *Solanum rootstock* cultivars.

主要なナス台木品種（台太郎、トレロ、トナシム、トルバム・ビガー、赤ナス、ミート、アシスト、赤虎、カレヘン、耐病VF、対照：千両2号）にサツマイモネコブセンチュウ（トマトM遺伝子打破系統）とアレナリアネコブセンチュウ（本州型）を接種して、約50日栽培後の、根を観察した。その結果、サツマイモネコブセンチュウは、トレロ、トムナシ、トルバム・ビガーに、ほとんど瘤を形成せず、フロキシシンBで染色しても卵嚢も観察されない。この3台木品種はともに *Solanum torvum* であり、これらの台木品種はサツマイモネコブセンチュウに強度の抵抗性を持つと推測された。さらに、台太郎、トレロ、トナシム、トルバム・ビガー、対照として千両2号に、アレナリアネコブセンチュウ（本州型）を接種した結果を報告する。ナス台木品種の利用法としては、ナスの台木として使用する以外に、トマトの台木としても利用できる可能性が検討されている。ナス台木品種は、トマト台木品種に比較して、青枯病に抵抗性を示す台木が多いので、サツマイモネコブセンチュウ打破系統や青枯病の多発地帯では、ナス台木トマト栽培を検討する可能性が提案できる。また、複数のトマト台木にもサツマイモネコブセンチュウ（トマトM遺伝子打破系統）を接種して、約50日栽培後の根を観察したところ、明らかに瘤の形成程度に差が観察される品種がいくつか観察された。今後、さらに複数種・複数個体群のネコブセンチュウを接種して、寄生程度に確実な差が観察されるか検討したい。

渡邊貴由¹・紀岡雄三¹・野口勝憲¹（¹ 片倉チッカリン株）*Purpureocillium* 属線虫卵寄生菌の培養物施用によるピーマン栽培土壌のサツマイモネコブセンチュウ密度および根こぶ指数への影響 Watanabe, T.¹, Kioka, Y.¹ and Noguchi, K.¹

(¹ Katakura Chikkarin Co., LTD) Effect of biological control agents using nematode-egg-parasitic fungus *Purpureocillium* on densities of *Meloidogyne incognita* and gall indices of peppers' roots.

線虫害を抑制する有用菌の検索を行った結果、スイカの根から採取したサツマイモネコブセンチュウ卵塊から線虫卵寄生菌である*Purpureocillium*属を単離した。単離菌のITS-5.8S rDNA塩基配列が*Purpureocillium lilacinum*の複数の塩基配列と相同率94.4~99.4%であったことから、単離菌は、*P. lilacinum*あるいは*P. lilacinum*に近縁な*Purpureocillium* sp.と特定された。次に、生産者圃場においてピーマンを栽培したときに*Purpureocillium*属線虫卵寄生菌の培養物がサツマイモネコブセンチュウおよび根こぶ指数に与える影響を調査した。土壌燻蒸剤を用いて土壌消毒をした生産者圃場（ビニールハウス）に*Purpureocillium*属線虫卵寄生菌を有機物に固体培養した培養物を100 kg/10 a相当量を施用した。施用してから約2週間後にピーマン苗を植え、約8ヶ月間栽培した。栽培終了時に根を掘り取り、ネコブ指数を調査し、土壌中のサツマイモネコブセンチュウ密度および*Purpureocillium*属線虫卵寄生菌の生菌数を調査した。その結果、*Purpureocillium*属線虫卵寄生菌培養物を施用した区は、菌培養物を施用しなかった対照区に比べて根こぶ指数および栽培後土壌のサツマイモネコブセンチュウ密度の低下が観察され、栽培後土壌への*Purpureocillium*属線虫卵寄生菌の定着を確認した。

宮下奈緒^{1,2}・中永里美²・畑森 望²・柴田涼子²・藪 哲男¹・能登洋樹²・古賀博則² (¹ 石川農林総研・² 石川県立大) エンドファイト共生トールフェスクとの混植によるトマトのネコブセンチュウ防除 Miyashita, N.^{1,2}, Nakae, S.², Hatamori, N.², Shibata, R.², Yabu, T.¹, Noto, H.² and Koga, H.² (¹ Ishikawa Agri. Forest. Res. Ctr., ² Ishikawa Pref. Univ.) Control of root-knot nematode of tomato by intercropping of tall fescue infected with *Neotyphodium endophyte*.

石川県ではトマト、スイカ、サツマイモ等の様々な作物にネコブセンチュウの被害が発生し、防除は化学合成農薬による土壌消毒が主体となっている。しかし、作業の煩雑さや環境への影響などの問題から、代替防除技術の開発が求められている。一方で、ネグサレセンチュウに対して、エンドファイトの共生したトールフェスクが耐線虫性をもつことが報告されている。そこで、エンドファイト共生トールフェスクとの混植によるトマトのネコブセンチュウ防除効果を検討した。試験は石川県野々市市にある石川県立大学内農場のネコブセンチュウ汚染圃場において実施した。検定植物としてトマト（品種：強力米寿）を供試し、エンドファイト共生トールフェスク（以下E+）混植区、エンドファイト非共生トールフェスク（以下E-）混植区、トマト単独区を設け、トマトを98日間栽培した。ネコブセンチュウに対する抑制効果は0~4段階評価に基づくトマトの根こぶ指数によって判定した。その結果、根こぶ指数はE混植区で3.4、トマト単独区で4.0であったのに対してE+混

植区では1.2と低かった。このことからE+の混植によりトマトの根こぶを防除できる可能性が示唆された。

東岱孝司¹・田澤暁子² (¹ 道総研中央農試・² 道総研十勝農試) ダイズシストセンチュウ抵抗性アズキ遺伝資源栽培による密度低減効果（予報） Todai, T.¹ and Tazawa, A.² (¹ HRO Agr. Res. Dep. Chuo Agr. Exp. Stn, ² HRO Agr. Res. Dep. Tokachi Agr. Exp. Stn) Reduction Effect of Resistant Azuki Bean germplasm cultivation on Population Density of the Soybean Cyst Nematode (Forecast).

ダイズシストセンチュウ（以下、SCN）レース1およびレース3に対して抵抗性を示したアズキ遺伝資源32点に対して、レース6あるいは9のSCN個体群を接種したところ、すべてが抵抗性を示し、これらの遺伝資源は幅広いSCNレースに抵抗性を示すことが示唆された。これらの中から、2010年はAcc2747およびAcc2766を、2012年はAcc2195およびAcc2766を供試し、SCN汚染土壌（2010年はレース3優占、2012年はレース3（「下田不知」抵抗性打破系統）優占）を用いたポット試験によって、栽培前後の土壌中のSCN密度の変化を調査した。その結果、SCN密度は、感受性の「しゅまり」栽培で3.3倍(2010年)、14.4倍(2012年)に増加したのに対して、Acc2747では93%、Acc2766では94%(2010年)、92%(2012年)、Acc2195では85%低下した。同時に栽培したSCN抵抗性“極強”のダイズ品種「スズヒメ」ではSCN密度が95~96%低下したことから、SCN抵抗性アズキ遺伝資源の栽培による土壌中のSCN密度低減効果はSCN抵抗性極強ダイズ品種と同等であると考えられた。

奈良部 孝¹・谷野圭持²・副島 洋³ (¹ 北海道農研・² 北大院理・³ 雪印種苗) ジャガイモシストセンチュウ卵の生死判別ツールとしてのふ化促進物質の利用 Narabu, T.¹, Tanino, K.² and Soejima, H.³ (¹ NARO Hokkaido Agr. Res. Ctr., ² Hokkaido Univ., ³ Snow Brand Seed Co., Ltd) Hatching factors, as useful tools for distinguishing between live and dead eggs of *Globodera rostochiensis*.

各種防除試験によるシストセンチュウ低減程度を判定する際など、シスト内卵の生死を判別する必要がある。簡易的には顕微鏡観察による卵内部の充実度から、正確には各種染色液を用いた卵の活性染色結果から判定を行うが、正確さや簡便性に欠ける面がある。そこで演者らは、人工合成したふ化促進物質solanoeclepin Aおよび天然のふ化促進物質であるトマト水耕廃液を用いて、卵からのふ化幼虫の出現を以て生死判別を行った。試験には抵抗性品種を1作または2作して密度低減を図った圃場等から採集したジャガイモシストセンチュウを供試した。土壌から分離したシストを破砕して蒸留水に懸濁し、この卵懸濁液10 mlに対しsolanoeclepin A: 5×10^{-10} g/ml、またはトマト水耕廃液: 20%濃度を添加し、22℃で1~2週間培養後、動く幼虫を顕微鏡観察するか、ベルマン法（48時間）によって卵懸濁液から幼虫を分離することで、寄生能力のある線虫数を定量できた。

両方化液による分離幼虫数に有意差はなかった。同じ土壌を用いてジャガイモを栽培し、根に寄生する次世代シスト数を簡易的に検出できる「カップ検診法」による定量結果ともほぼ一致した。本法は、土壌から分離した大量のシストサンプルから生存卵のみを簡便に検出できるため、根絶の確認等に応用できる可能性がある。以上は農林水産省のレギュラトリーサイエンス新技術開発事業により実施した。

大胡聖嗣¹・菊地泰生²・小倉信夫³ (¹ 住化グリーン(株)・² 宮崎大・³ 明大) 日本産ヨモギツブセンチュウのITS1 - 5.8S rDNA - ITS2領域の塩基配列に基づく個体群解析 Daigo, K.¹, Kikuchi, T.² and Ogura, N.³ (¹ Sumika green Co. LTD, ² Miyazaki Univ., ³ Meiji Univ.) The base sequence of ITS1-5.8S rDNA-ITS2 region of *Subanguina moxae* collected in Japan.

本邦の7地点(つくば、大月、安曇、島々、梓川、遊佐、富士川)で採集したヨモギツブセンチュウ *Subanguina moxae* (Yokoo and Choi, 1968) Brzeski, 1981のITS1 - 5.8S rDNA - ITS2領域の塩基配列を調べ、各地点の個体群間の差違を調査した。また、本邦産とロシア産 (GenBank accession No. AF396314) および中国産 (No. JN865234) の同部位の塩基配列を比較した。その結果、本邦の各地点の個体群間では塩基配列の同一性は99.7~100% (672~674/674塩基) であり、3地点(つくば・遊佐・富士川)の個体群の塩基配列が完全に一致した。本邦産とロシア産との比較では、99.7~100% (672~674/674塩基) の同一性であった。本邦の3地点(つくば・遊佐・富士川)の個体群はロシア産と完全に一致し、本邦の他の地域の個体群よりもロシア産に、より近縁であることが示唆された。本邦産と中国産との比較では、同一性は99.1~99.4% (668~670/674塩基) であり、完全に一致したものはなかった。1地点(安曇)の個体群と中国産との間では、今回の調査での最大の差違(6塩基の置換)が見られた。

Kanzaki, N.¹ (¹ FFPRI) Phylogenetic and taxonomic relationship among the genera belonging to subfamily Parasitaphelenchinae (Aphelenchoididae).

The family Aphelenchoididae is taxonomically separated into seven subfamilies (and several "genera insertae sedis"), and while, the family is molecular phylogenetically separated into four (or five) clades. One of these subfamilies, Parasitaphelenchinae which consists of four genera (*Bursaphelenchus*, *Ruehmaphelenchus*, *Parasitaphelenchus* and *Sheraphelenchus*) forms a well-supported molecular phylogenetic clade, i.e., the subfamily is considered to be a well-defined natural taxon. However, recent molecular and morphological studies revealed that these four parasitaphelenchid genera are not equally separated monophyletic clades, and three of them (*Ruehmaphelenchus*, *Parasitaphelenchus* and *Sheraphelenchus*) become inner clades (subclades) of *Bursaphelenchus*. Therefore, based upon the concept of "natural taxon", if these three

"subclade" genera are treated as valid ones, the genus *Bursaphelenchus* should be separated into several different genera, otherwise, all four genera should be lumped into a large single genus (= *Parasitaphelenchus*, the oldest genus within these four genera). In the present study, 1) a newly-isolated *Sheraphelenchus* species is characterized by its morphological and molecular phylogenetic characters, i.e., the species is considered as a new species because its stylet morphology is different from the other congeners, and then, 2) the current situation of the taxonomy of subfamily Parasitaphelenchinae is introduced and discussed.

真宮靖治 マツノザイセンチュウ分散型4期幼虫のモノテルペン類に対する反応 Mamiya, Y. The effects of monoterpenes on behaviors of *Bursaphelenchus xylophilus* dispersal fourth stage juveniles

松脂(まつやに)の主要成分であるモノテルペン類はマツノザイセンチュウ分散型4期幼虫(以下、DJ4)のマツ樹体への侵入・定着に大きくかかわっている。その実態を明らかにするため、DJ4のモノテルペン類に対する反応を*in vitro*の実験系で検証した。T型コネクションチューブ(5 cm×3、内径5 mm)にキムワイプによる紙の棒を挿入して、1.5 mlの水を注入した。縦チューブ(A)にDJ4を接種、左側横チューブ(B)を無処理対照として、右側横チューブ(C)の開口部分に各種モノテルペン類を配置した。マツ枝切片、松脂、マツノマダラカミキリ成虫なども供試した。被害マツ丸太から羽化脱出したマツノマダラカミキリ成虫が保持していたDJ4を各T型チューブに1000~2000頭接種した。線虫接種24時間後における各チューブ内線虫を計数した。DJ4は供試したすべてのモノテルペン類(-ピネン、-ピネン、ミルセン、テレピン油)、またマツ枝、松脂、マツノマダラカミキリ成虫に対し強く反応した。いずれも、Cチューブに集積した線虫数はBチューブの線虫数を有意に上回った。マツ枝への反応がもっとも顕著であった。これらの処理区では、培養によるマツノザイセンチュウ個体群においても同様な反応が観察されたが、DJ4の反応がより強かった。本実験の結果は、マツ枝組織の成分をなすモノテルペン類がDJ4の生態に大きくかかわっていることを明確に示した。

相川拓也¹・神崎菜摘²・前原紀敏¹ (¹ 森林総研東北・² 森林総研) マツノザイセンチュウの病原力とITS-RFLPパターンとの関係 Aikawa, T.¹, Kanzaki, N.² and Maehara, N.¹ (¹ Tohoku Res. Ctr., FFPRI, ² FFPRI) Relationship between virulence and ITS-RFLP pattern of *Bursaphelenchus xylophilus*

リボソームDNAのITS領域を使ったPCR-RFLP解析(ITS-RFLP)は、*Bursaphelenchus*属線虫を種あるいはそれ以下のレベルで同定する際に有効である。マツノザイセンチュウ *B. xylophilus* (以後線虫)では、病原力の弱いアイソレイトのITS-RFLPパターンは、病原力の強いアイソレイトのパターンとは異なっていることが示されている。線虫の病原

力とITS-RFLPパターンとの関係を明らかにするため、線虫の接種試験を行った。2つのタイプの線虫培養株、すなわち、強病原力アイソレートと同じITS-RFLPパターンを示す株と弱病原力アイソレートと同じパターンを示す株を、野外で新しく得られた線虫個体群から作成し、健全なクロマツの苗木に接種した。その結果、ITS-RFLPのパターンが強病原力タイプか弱病原力タイプにかかわらず、線虫培養株を接種した苗木は接種から6カ月以内にすべて枯死した。これは線虫の病原力はITS-RFLPパターンとは無関係であることを意味している。本研究により、ITS-RFLPパターンでは線虫の強病原力個体群と弱病原力個体群を区別できないことが示された。

加藤徹朗¹・二井一禎¹・竹内祐子¹ (¹ 京都大農) マツ材線虫病における細菌相の種構成とその局在 Kato, T.¹, Futai, K.¹ and Takeuchi, Y.¹ (¹ Kyoto Univ.) Construction and localization of bacteria in Pine wilt disease.

アジアを中心として世界各国のマツ林に深刻な枯損被害を与えているマツ材線虫病は、宿主であるマツ、病原体マツノザイセンチュウ (以下、線虫)、媒介者であるマツノマダラカミキリ (以下、カミキリ) と系統上の門を跨った複数生物の複雑な相互関係の上に成り立つ伝染性森林病害である。これまでの研究から線虫体表に随伴細菌が存在することが確認されているが、本病発生との関係はまだ明らかになっておらず、病原性の有無も議論的となっている。そこで今回、線虫及びカミキリにおける細菌相の種構成とその局在を調査し、本病伝染環における細菌の生態的意味を考察した。まず、線虫体表にどのような細菌が随伴しているかを調査するため、野外マツ枯れ被害木からの線虫随伴細菌の分離・同定を行った。次に線虫が体表随伴細菌をどのように獲得し、細菌相がどのように変化するかを調べるために、2年生クロマツ実生に無菌線虫を接種し、体表随伴細菌相の経時的な変化をT-RFLP法により解析した。この結果、いずれの条件でも *Serratia proteamaculans* が線虫体表から特異的に検出された。本細菌は既報より昆虫と密接な関係を持つと考えられることから、カミキリ体における共生細菌相の解析を行い、線虫体表随伴細菌相と比較した。その結果、本細菌はカミキリ消化管内において優占していることが明らかになり、本病において重要な生物2種、すなわち線虫とカミキリ両方との共生関係を持つことが示唆された。

Cláudia Vicente^{1,2}・幾代以子¹・Manuel Mota²・長谷川浩一¹ (¹ 中部大学・² エボラ大学) 酸化ストレス条件下におけるマツノザイセンチュウと随伴細菌との関係 Vicente, C.^{1,2}, Ikuyo, Y.¹, Mota, M.² and Hasegawa, K.¹ (¹ Chubu Univ., ² Univ. Évora) *Bursaphelenchus xylophilus* and associated bacteria under oxidative stress conditions.

植物病原体の侵入を受けると、宿主植物は活性酸素やヒドロキシラジカル、過酸化水素水といった酸化ストレス性

化学物質を生産する過敏感反応によって対抗する。我々はマツ枯れ病の病原体であるマツノザイセンチュウが病原性を発揮するうえで、宿主植物のこういった反応に打ち勝つことが重要ではないかと考えている。今回、過酸化水素水を利用し、酸化ストレス条件下におけるマツノザイセンチュウとその随伴細菌との相互作用を調べた。酸化ストレス処理したばあい、随伴細菌と共存したマツノザイセンチュウの死亡率とマツノザイセンチュウカタラーゼ遺伝子の相対的発現レベルは、無菌マツノザイセンチュウを用いた場合に比べてはるかに低くなっていた。さらに、強病原性マツノザイセンチュウ系統は弱病原性系統よりも、酸化ストレスに抵抗性を有することもわかった。マツノザイセンチュウ表面に対する随伴細菌の強い付着性を認めることができなかったことから、マツノザイセンチュウが病原性を発揮する際、随伴細菌は日和見的に補助しているのではないかと考えた。

Vicente, C.^{1,2}, Ikuyo, Y.¹, Shinya, R.^{1,3}, Mota, M.² and Hasegawa, K.¹ (¹ Chubu Univ., ² Univ. Évora, ³ Caltech) Correlation between virulence and oxidative stress response of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus*.

After pathogen invasion, host plant cells counterattack with a massive production of oxidative stress (OS) agents such as hydrogen peroxide, superoxide anions and hydroxyl radicals, as first line of defences. We are hypothesizing that OS resistance is an important factor influencing the pathogenicity of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. Here we show the OS tolerance of virulent and avirulent *B. xylophilus* isolates and avirulent *B. mucronatus*, and the relation with their pathogenicity to the pine trees. Tolerance of the virulent *B. xylophilus* isolates against main OS agent hydrogen peroxide is higher than that of the avirulent isolates. In *B. xylophilus* genome, there are many antioxidant enzymes such as catalases, glutathione peroxidases and superoxide dismutases and 12 of them were secreted. Of these antioxidant enzymes, two catalase genes in the virulent *B. xylophilus* isolates are expressed more when treated with H₂O₂ than those in the avirulent isolate. From these results, there is a strong correlation between *B. xylophilus* virulence and OS resistance.

Rina Sriwati¹, Jauharlina, J.¹, Afriyani¹, Takeuchi, Y.², Tanaka, R.³, Kanzaki, N.³ (¹ Syiah Kuala Univ., Indonesia, ² Kyoto Univ., ³ FFPRI) Nematodes associated with syconia of *Ficus racemosa*.

Nematodes associated with *Ficus racemosa* syconia were surveyed in Lhoong and Leupung District, Aceh Besar, Indonesia. Collected syconia were dissected at laboratory, and the isolated nematodes were observed with a light microscope for morphological identification from March until June 2012. Morphologically there are at least six species of nematodes associated with the figs: (1) *Teratodiplogaster fignewmani* (2) *Teratodiplogaster* sp., (3) *Parasitodiplogaster* sp., (4) *Mononchoides* sp., (5) an unidentified

"Umbrella like" sp., and (6) *Schistonchus* sp. The first five species of nematodes belong to family Diplogastridae, while the last species belongs to Aphelenchoididae. All nematodes are transferred into figs by pollinating wasps (*Ceratosolen* sp. -Agaonidae) when they enter the fig through *ostiole* to lay eggs as well as pollinate the flowers inside the fig. Further molecular identification is needed to learn the nematodes species found on figs of *F. racemosa*.

西山英孝¹・肥田博隆²・戸高晃彦¹・江島千佳¹・相良知実¹・Bui Thi Ngan¹・澤 進一郎¹ (¹ 熊本大学・² 神戸大学) サツマイモネコブセンチュウに対する誘引忌避物質探索
Nishiyama, H.¹, Hida, H.², Todaka, A.¹, Ejima, C.¹, Sagara, T.¹, Bui Thi Ngan¹ and Sawa, S.¹ (¹ Kumamoto Univ., ² Kobe Univ.) Screening of attractants and repellents for *Meloidogyne incognita*.

植物は根からタンパク質や糖、アミノ酸、有機酸、フラボノイドなどの化合物を分泌しており、これらの化合物は根分泌物と総称される。根分泌物は植物が自身の生息する土壤環境を改善する働きや土壤微生物の相互作用において最も重要なものの一つである。サツマイモネコブセンチュウはこのような根分泌物を認識し行動していると考えられている。事実、サリチル酸の誘因殺傷作用、フラボノールの忌避作用など先行研究においていくつか報告がある。本研究では、新規の誘引忌避物質を単離し、その作用機構を解析することを目的としている。誘引、忌避物質の発見は線虫の防除に応用でき、また根の周りの微生物コミュニティの解明、新規植物ホルモンの発見につながると考えている。

最初に、線虫の行動を定量化するためにマイクロ流体デバイスを開発し、利用可能であることを示した。また、様々な化合物を試験した結果、単糖および二糖が誘引物質であり、硝酸カリウムが忌避物質であることが明らかとなった。また単糖および二糖は口針の動きを活性化させた。糖が根から分泌されるとは考えにくいため、根に侵入したのち前形成層へ向かい、ジャイアントセルを形成するために感知していると想定し、研究を進めている。

豊島主峰¹・相良知実¹・光増可奈子¹・江島千佳¹・Bui Thi Ngan¹・澤 進一郎¹ (¹ 熊本大学) サツマイモネコブ線虫のエフェクタータンパク質の解析
Toyoshima, Y.¹, Sagara, T.¹, Mitsumasu, K.¹, Ejima, C.¹, Bui Thi Ngan¹ and Sawa, S.¹ (¹ Kumamoto Univ.) Analyzing effector protein of *Meloidogyne incognita*.

植物寄生性線虫は植物の根から侵入し、口針を通して植物細胞に様々な植物細胞再分化因子等、線虫感染成立に不可欠なエフェクタータンパク質を注入することが知られている。しかし、このエフェクタータンパク質の詳細は明らかとなっていない。本研究では線虫の植物感染過程における線虫のエフェクター遺伝子の単離、解析を行い、形質転換体植物の作成や、植物への感染実験を行った。

まず、エフェクタータンパク質を線虫の唾液腺の内容物を回収し、プロテオーム解析を行った。その結果から、タンパク質のN末端に分泌シグナルを持つMJD15, MSP7, Akの3つのタンパク質に注目した。MJD15とMSP7は機能未知のタンパク質でAkはキナーゼをコードしている。MSP7は、シロイヌナズナの病害抵抗性受容体の細胞内ドメインの一部と相同性を示す配列を持っており、線虫感染に影響を及ぼすと考えられる。この受容体の細胞外ドメインは植物病原細菌のキチンオリゴ糖と結合して、細胞内のシグナル因子が活性化し、細胞内ドメインと結合することで、シロイヌナズナの防御応答に働いていると報告されている。植物に線虫が感染する際にも同様の防御応答が機能すると考えられるが、MSP7が植物内の活性化したシグナル因子に結合することで防御応答を阻害し、自身の感染をサポートしていると考えられる。この受容体の機能損失型突然変異体に感染過剰が見られた。さらに、MSP7を用いて酵母ツーハイブリッドスクリーニングを行い、MSP7と相互作用する因子としてB3型転写因子が候補として取れた。本発表では、このMSP7の植物での機能解析について紹介する。

藤本岳人¹・安部 洋²・水久保隆之³・瀬尾茂美¹ (¹ 生物研・² 理研BRC・³ 中央農研) スクラレオールを処理された植物におけるサツマイモネコブセンチュウ感染抑制メカニズムの解明
Fujimoto, T.¹, Abe, H.², Mizukubo, T.³ and Seo, S.¹ (¹ NIAS, ² RIKEN BRC, ³ NARC) Identification of *Meloidogyne incognita* infection suppression mechanism in the sclareol treated plants.

サツマイモネコブセンチュウ (RKN) は植物地下部に寄生し、農作物に深刻な被害を及ぼす。RKNは根に傷をつけて侵入するため、植物は防御反応を発動させることでRKNの感染に抵抗すると考えられている。しかしながら、植物のRKNに対する防御機構はいまだ全容が解明されているわけではない。我々はこれまでにトマトとシロイヌナズナにおいて植物ホルモンの1種であるジャスモン酸が各種防御遺伝子の発現誘導を介してRKNの感染抑制に重要な役割を果たすことを明らかにした。それとともに、ジャスモン酸誘導性代謝産物のなかに含まれる天然テルペノイド物質の1種であるスクラレオールが植物にRKN感染抑制効果を付与することを見出した。本研究では、スクラレオールを施与された植物がどのようなメカニズムでRKNに対する感染抑制効果を示すのか、解明を試みた。その結果、本物質の施与により、特異的に発現が誘導される遺伝子群を突き止め、さらに、RKNの侵入部位においてリグニンの蓄積が生じていることが明らかとなった。

吉田睦浩¹・小長谷達郎² (¹ 九州沖縄農研・² 筑波大学) モンシロチョウ幼虫のシヘンチュウの寄生状況 (2012年秋・2013年春、つくば市西部) および飼育下での感染様式
Yoshida, M.¹ and Konagaya, T.² (¹ KONARC, ² Tsukuba Univ.) Parasitism of mermithids against larvae of *Pieris rapae crucivora*

Boisduval at western part of Tsukuba, in fall 2012 and spring 2013, and its infection style.

演者らは2010年秋以来、つくば市西部にある芝畑に囲まれたアブラナ畑でモンシロチョウ幼虫（以下幼虫）のシヘンチュウ（以下線虫）寄生を秋季中心に調査している。本講演では2012年秋から2013年春の寄生状況および室内飼育で得られた本種の感染様式に関する知見を報告する。2012/9/19-20および10/31-11/1、2013/5/24-25に幼虫採集による寄生調査を行った。その結果、9月にはアブラナ畑から41頭、畦脇のカラシナ群落4区から16頭の幼虫を採集し、畦脇から採集した1頭に寄生が見られた。10-11月はアブラナ畑から10頭、畦脇カラシナ群落8区から132頭、ハクサイ/ダイコン畑2区から31頭の幼虫を採集し、すべての区で線虫寄生が認められた。翌年春季は4-5月に予備的に外見からの寄生調査後、採集調査を行った。採集調査では畦脇カラシナ群落5区から24頭、ダイコン畑2区から3頭の幼虫を採集し、ダイコン畑から採集した1頭に寄生が見られた。調査地に生息する線虫の種数は不明であるが、これまでの約3年間の調査の結果、線虫寄生は9月中旬には既に始まっており、12月の幼虫が存在する頃まで続き、さらに翌春も起っていることが判明した。また、飼育下で卵および孵化線虫を得ることに成功し、幼虫に対する感染試験を行った。その結果、本種の感染様式は雌成虫が地中で産卵し、孵化した線虫が地上部に上り、寄主に感染するタイプであると判明した。

田中龍聖^{1,2,3}・高梨琢磨¹・菊地泰生^{1,2}・神崎菜摘¹（¹ 森林総研・² 宮崎大・³ 日本学術振興会）振動に対する線虫の反応性 Tanaka, R.^{1,2,3}, Takanashi, T.¹, Kikuchi, T.^{1,2} and Kanzaki, N.¹ (¹ FFPRI, ² Miyazaki Univ, ³ JSPS) Responses of nematodes to the vibration.

基質を伝わる振動は生物にとって重要な情報のひとつであり、捕食者の感知や同種とのコミュニケーションなどに利用されている。線虫において、培養容器に機械的に与えられる振動刺激（タッピング）に反応することが知られているものの、線虫が反応を示す振動の周波数や強度は特定されておらず、また反応性の生物学的意義も明らかになっていない。そこで、自由生活性線虫の*Caenorhabditis elegans*と昆虫便乗性線虫のマツノザイセンチュウ及び*Fictor* sp.の振動に対する反応性を調べた。*C. elegans*の1~4期と耐久型の幼虫、雌雄同体と雄の成虫に500~5000 Hzの振動を培地上で与えたところ、全てのステージが1000 Hzの振動に最も敏感に反応した。振動に対して*C. elegans*は後退するか、素早く前進する反応を見せた。一方、マツノザイセンチュウの増殖型ステージは振動への反応を全く示さなかった。*Fictor* sp.の耐久型幼虫は、タッピングによって宿主探索行動（ニクテイション）を示した。さらに、ニクテイションを示す個体が集合し数十個体で柱状になるスウォーミングの形成も、タッピングの数秒後に観察された。これらのことから、線虫種によって振動への反応性は異なり、振動情報の利用様式も異なると考えられる。

小澤壮太¹・吉賀豊司²・神崎菜摘³・長谷川浩一¹（¹ 中部大・² 佐賀大・³ 森林総研）外来種クロゴキブリ*Periplaneta fuliginosa*に寄生するThelastomatida科線虫の調査 Ozawa, S.¹, Yoshiga, T.², Kanzaki, N.³ and Hasegawa, K.¹ (¹ Chubu Univ., ² Saga Univ., ³ FFPRI) Surveys of the thelastomatid nematodes parasite in the invasive alien cockroach *Periplaneta fuliginosa*.

日本には現在52種類のゴキブリが生息しているといわれ、その中でも外来種のクロゴキブリ*Periplaneta fuliginosa*やワモンゴキブリ*P. americana*といった数種のみが衛生害虫として問題を引き起こし、また世界中でも忌み嫌われる存在である。ゴキブリにはふつうThelastomatida科線虫に感染していることから、これら外来種ゴキブリは寄生虫とともに世界中を移動していると考えられる。今回、日本で最も広範囲に定着するクロゴキブリに注目し、その寄生性線虫を調査した。5つの異なるクロゴキブリ株（日本産4株およびフロリダ産1株）を調べたところ、すべての個体に*Leidynema appendiculata*の1種のみが100%の確率で寄生していることを確認した。本線虫は宿主の糞とともに排泄される卵によって垂直感染し、後腸内で雄1頭に対して雌2-3頭と決まった割合で個体数が維持されていた。*P. americana*を含めいくつかのBlattaria目宿主からも、広く*L. appendiculata*の分離報告例があるが、今回国内外のクロゴキブリはすべて本種1種類のみの寄生であったことから、特にこの2種間の関係は堅強であるように思われる。

佐藤一輝¹・吉賀豊司²・長谷川浩一³（¹ 京都大学・² 佐賀大学・³ 中部大学）線虫*Caenorhabditis elegans*に備わる免疫機構には*Photobacterium luminescens* TT01に対して誘導されるものとされないものがある Sato, K.¹, Yoshiga, T.² and Hasegawa, K.³ (¹ Kyoto Univ., ² Saga Univ., ³ Chubu Univ.) Activated and inactivated immune responses in *Caenorhabditis elegans* against *Photobacterium luminescens* TT01.

細菌食性自活性線虫*Caenorhabditis elegans*は病原体との相互作用を解析するためのモデル宿主として、病原性メカニズムの解析や宿主側の自然免疫応答の研究に用いられてきた。演者らは昆虫病原性線虫の共生細菌である*Photobacterium luminescens* TT01の病原性解析において、昆虫宿主を用いた場合の手法的難点を克服するため、モデル宿主として*C. elegans*を用いた基礎研究をおこなっている。p38 MAPK pathwayやInsulin/IGF-1 like signaling pathwayという、ヒトから線虫まで生物間で広く保存されている、自然免疫応答に関与するシグナル経路を逆遺伝学的に操作することで、*P. luminescens* TT01の病原性に対する抵抗性を付与することがわかった。ところが、実際に*C. elegans*が*P. luminescens* TT01と接触（摂食）した際に、p38 MAPK pathway下流の抗菌性遺伝子の発現は軒並み誘導されていたが、Insulin/IGF-1 like signaling pathway下流の遺伝子は発現が抑制されているものがあった。*daf-16::gfp*融合遺伝子が組み込まれた線虫を*P. luminescens* TT01に接触（摂食）させても、GFP::DAF-16の核移行が見られなかったことから、本来免疫応答として機能

が期待されるInsulin/IGF-1 like signaling pathwayが*P. luminescens* TT01によって不活性化されているのではないかと考えた。

一般講演 (ポスター発表)

Papers (poster presentation)

岡田浩明¹・酒井英光¹・常田岳志¹・臼井靖浩¹・中村浩史²・長谷川利弘¹ (¹ 農環研・² 太陽計器) CO₂濃度と窒素肥料が水田の線虫群集に及ぼす影響 Okada, H.¹, Sakai, H.¹, Tokida, T.¹, Usui, Y.¹, Nakamura, H.² and Hasegawa, T.¹ (¹ NIAES, ² Taiyokeiki Co. LTD) Effects of atmospheric CO₂ concentration and nitrogen fertilizer on nematode community dynamics in paddy field soil.

地球温暖化が水田土壌の生物群集や食物連鎖に及ぼす影響を解明するため、FACE (開放系大気CO₂増加) 実験施設の水田で調査を行っている。CO₂の影響は水稻バイオマスを増やす一方、窒素含有率を相対的に低下させるため、植食性の昆虫や線虫にとっては餌としての品質が低下し、密度が低下するなどの報告がある。そこで、CO₂濃度の違う主区 (現行濃度区(Amb)と200 ppm高濃度区(FACE)) の中に、窒素肥料を全く使用しない無肥区と基準施肥量(8 gN/m²)の1.5倍使用した多肥区とを副区として設置し、水稻根と線虫群集の動態を調査している。今回は2011年の結果について報告する。水田湛水期の7, 8月の水稻根バイオマスはCO₂濃度と窒素肥料の増加に応じて増加した。ただし、CO₂濃度の影響は有意でなかった。また、主要な線虫6群の7, 8月の土壌中密度についてCO₂濃度と窒素肥料の影響を検討した結果、ネモグリセンチュウ(*Hirschmanniella* spp.)についてはいずれの要因も主効果が有意で、CO₂濃度と窒素肥料の増加によって密度が高まることがわかった。以上の結果から、線虫に及ぼす温暖化の影響について考えたい。

中里 岳¹・長田恭一¹・小倉信夫¹ (¹ 明治大学) マツノザイセンチュウ分散型4期幼虫の生起に関わる物質の探索 Nakazato, G.¹, Osada, K.¹ and Ogura, N.¹ (¹ Meiji Univ.) Factor(s) responsible for the formation of dispersal fourth-stage juveniles in *Bursaphelenchus xylophilus*

グリセロールを添加した5倍希釈パールコア®PDA培地でのマツノザイセンチュウと灰色かび病菌の2者培養で生じた分散型3期幼虫、Tween80水溶液に溶かしたマツノマダラカミキリ成虫抽出物、ホールスライドガラス (25 mm × 20 mm) およびプラスチックシャーレ (径40 mm) を用いた分散型4期幼虫 (DSJ₄) 生起のアッセイ系を開発した。

羽化直後のマツノマダラカミキリ成虫のヘキササン抽出物1頭分をアッセイしたところ、6日後までに全てのプラスチックシャーレでDSJ₄が生じた。次に、このヘキササン抽出物をフ

ラッシュクラマトシステムによって炭化水素、ワックス、脂肪酸とステロールおよびリン脂質を含む画分に分け、各々をアッセイした。ワックスを含む画分でのみDSJ₄が生じた。この場合、カミキリ成虫1頭分に相当する抽出物でDSJ₄が生じた。

Tanaka, S. E.^{1,2}, Tanaka, R.², Akiba, M.², Takeuchi, Y.¹ and Kanzaki, N.² (¹ Kyoto Univ., ² FFPRI) Amensalistic Relationship Between *Bursaphelenchus* sp. and A Japanese Native Weevil, *Niphadodes variegates*.

Most *Bursaphelenchus* species are insect-phoretic mycophagous nematodes. However, some insect-parasitic nematodes have been reported, e.g., *B. hylobianum* was isolated from a weevil as a parasitic juvenile. An undescribed *Bursaphelenchus* species was isolated from five areas, Tama, Happo, Sugadaira, Tsukuba, and Kofu, in Japan. The nematode was associated with wood or bark of Pinaceae trees as propagative stages, or the tracheal system of a Japanese native weevil species, *Niphadodes variegates*, as third stage dispersal (dauer) juveniles, i.e., not parasitic juveniles. Interestingly, the dauer juveniles associated with the weevil caused an abnormal expansion to the tracheae. This seemingly inhibits weevil's respiration, and therefore, the relationship was hypothesized as amensalism. The general morphology and molecular barcodes of this species suggest that it is close to *B. antoniae*, *B. chengii*, and *B. hylobianum* in the same clade. Except for *B. chengii*, which was isolated from wood, these species are associated with weevils. Thus, this phylogenetic clade is hypothesized as a weevil-associated clade with variable types of association with insects, including simple phoresy, parasitism, and amensalistic phoresy.

Takeuchi, Y.^{1,2}, McGawley, E.C.², Overstreet, C.², Plaisance, A.R.² and Fellner, F.J.³ (¹ Kyoto Univ., ² AgCenter, LSU, ³ Office of Facility Service, LSU) Nematode Fauna Associated with Aerial Part of Trees Grown in South Louisiana.

Although nematode communities in underground part of trees are generally studied in relation to root diseases, there have been few reports that documented those in aerial part. Considering the case of pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, which was first described as a general mycophagous species inhabiting trees in Louisiana and later caused a serious forest disease in introduced countries worldwide, it is important to accumulate knowledge of nematode fauna associated with trees, possibly including potential pests. A survey was conducted to document the nematode fauna associated with trees in southern Louisiana, stretching from Louisiana State University campus, East Baton Rouge Parish, LA.

We took samples of woody tissues from symptomatic and declining trees mainly of coniferous trees, including *Cedrus*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Pinus* and *Quercus* trees and extracted

nematodes from them by Baermann funnel method. To date, we have obtained some *Aphelenchoides*, *Bursaphelenchus*, and *Laimaphelenchus* species besides free-living species. In the presentation we will show a profile of nematode fauna associated with trees and discuss its properties.

Anna Filipiak¹ and Marek Tomalak¹ (¹ Department of Biological Pest Control, Institute of Plant Protection - National Research Institute) Detection of the Quarantine Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* with the PCR-HRM Technique

High Resolution Melting Analysis (PCR-HRM) is a recently developed technique for fast, high-throughput post-PCR analysis of genetic mutations or variance in nucleic acid sequences. It enables researchers to rapidly detect and categorize genetic mutations, identify new genetic variants without sequencing, or determine the genetic variation in a population prior to sequencing.

PCR-HRM technique was also used to detect and distinguish *B. xylophilus* from morphologically and genetically similar nematode species *B. mucronatus*. In the research reported here PCR-HRM was conducted on the rDNA of *B. xylophilus* (China) and Polish isolate of *B. mucronatus* (Wro-01), with the use of primers specifically designed from the ITS-1 region of *B. mucronatus*.

The conducted study revealed that PCR-HRM allowed for easy distinguishing of *B. xylophilus* from *B. mucronatus*. This technique is very sensitive and enables detection of differences even in single nucleotides. PCR-HRM technique is also much cheaper when compared to commonly used PCR-RFLP.

Palomares-Rius, J.E.¹, Kaneko, A.², Tanaka, R.^{1,3}, Akiba, M.³, Takeuchi, Y.² and Kikuchi, T.^{1,3} (¹ Miyazaki Univ., ² Kyoto Univ., ³ FFPRI) Whole genome resequencing and SNP detection toward understanding population structure and parasitism of *Bursaphelenchus xylophilus*.

Six populations/lines of *Bursaphelenchus xylophilus* were resequenced using Illumina HiSeq. The sequence data and the reference genome v1.2 were used to call SNPs and indels throughout the genome. The populations/lines used in this study include Ka4C1 line (the reference), T4 (high virulent), C14-5 (low virulent) populations, and F7 line derived from OKD1 (low virulent) population. The other two lines P3 and P9 were derived from S10 population (high virulent), but they have different levels in virulence to pine trees. The results suggested a high variability of the genome among the populations: 3.1M variants (2.8M SNPs, 0.18M insertions and 0.18M deletions). A phylogenetic tree made with all the SNP data provided a clear insight about relationships between populations. The comparison between P3 and P9 variants is of great interest in order to discover new markers for pathogenicity in this species.

Jason Isheng Tsai^{1,2}, Maruyama, H.¹, Mathew Berriman² and

Kikuchi, T.^{1,2} (¹Miyazaki Univ., ²Wellcome Trust Sanger Inst) Comparison of the genome assemblies of four *Strongyloides* species revealed high rearrangement rates in *Strongyloides* nematodes.

The genus *Strongyloides* comprises over 40 species of nematodes that parasitise mostly mammals as well as amphibian, reptile, and birds. *Strongyloides* nematodes have complex and interesting lifecycles: while parasitic stages of *Strongyloides* are all female and reproduce parthenogenetically, they can also form a facultative free-living generation with males and females. The *Strongyloides* genome project led by Wellcome Trust Sanger Institute is currently underway in hope to understand the molecular mechanisms underlying parasitism and their unique life cycles. We compared genome assemblies of four *Strongyloides* species to each other (*S. stercoralis*: a parasite of human/dogs, *S. ratti* and *S. venezuelensis* both parasitise of rats and *S. papillosus*: a parasite of ruminants) and observed unusual genome rearrangements among the species.

山口茉都香¹・田中龍聖^{2,3}・Juan Emilio Palomares-Rius^{2,3}・菊地泰生^{2,3}・小倉信夫¹ (¹ 明治大・² 宮崎大・³ 森林総研) ヨモギツブセンチュウ *Subanguina moxae* のミトコンドリアゲノムシーケンスに基づく進化系統解析 Yamaguchi, M.¹, Tanaka, R.^{2,3}, Palomares-Rius, J.E.^{2,3}, Kikuchi, T.^{2,3} and Ogura, N.¹ (¹ Meiji Univ., ² Miyazaki Univ., ³ FFPRI) Phylogenetic analysis of *Subanguina moxae* based on the nearly complete mitochondria genome sequence.

*Anguina*科に属するヨモギツブセンチュウ *Subanguina moxae* (Yokoo and Choi, 1968) Brzeski, 1981のミトコンドリアゲノム全長のPCR増幅とシーケンス解析を試み、10,112 bpの塩基配列の解読に成功した。塩基配列上にはCox3、CytB、Nad2、Nad3、Nad4、Nad5のタンパク質および4つのtRNAがコードされていることが確認され、各遺伝子について作成したすべての系統樹で、*S. moxae*はChromadoreaの比較的basalな分岐に位置した。Nad3、Nad5、Nad2、およびCox3の系統樹は、*S. moxae*が*Heterodera glycines*および*Globodera pallida*と近縁であることを示し、この結果は*S. radicola*の18SrRNA遺伝子を用いた系統解析結果と一致した。CytB、Cox3、Nad2、Nad3、Nad4、Nad5を使用した合体系統樹においても*S. moxae*は*G. pallida*、*H. glycines*と同クラスターを形成した。一方、今回ゲノム全長の増幅・解読に至らなかった理由として、*S. moxae*のミトコンドリアゲノムが既存の線虫のものとは構造的な違いを持つ可能性が示唆された。

奥村悦子¹・小澤理香²・吉賀豊司³・竹内祐子¹ (¹ 京大院農、² 京大生態研、³ 佐大農) ベニツチカメムシ親子間での *Caenorhabditis japonica* 耐久型幼虫の選好性 Okumura, E.¹, Ozawa, R.², Yoshiga, T.³ and Takeuchi, Y.¹ (¹ Grad. Agric. Kyoto Univ., ² CER. Kyoto Univ., ³ Saga Univ.) Chemoattraction of *Caenorhabditis japonica* to parent and child of *Parastrachia japo-*

nensis.

*Caenorhabditis japonica*は亜社会性昆虫ベニツチカメムシ *Parastrachia japonensis* (以下ベニツチ) と密接した生活史をもつ。本種はベニツチの巣周辺で増殖し、耐久型幼虫がベニツチ幼虫に便乗して樹上へ移動する。これまでの研究から、*C. japonica*耐久型幼虫の便乗行動はベニツチ特異的であり、ベニツチ体表面のヘキササン抽出物に対して誘引・定着反応を示すことが明らかとなってきた。さらに、*C. japonica*耐久型幼虫がベニツチの成長ステージ、性比に関わらず、宿主と認識して行動選択を行うことが分かってきたが、実際の野外では、*C. japonica*耐久型幼虫の選択肢は子育て中のベニ

ツチ雌親とその子供たちである幼虫の二択である。本研究では実際に抱卵中の雌親を準備し、幼虫の孵化・成長を待って、*C. japonica*耐久型幼虫に雌成虫と幼虫を選択させる実験を行った。まず、両者を同じシャーレに置いた便乗実験、次に両者のヘキササン抽出液をNGM培地に添加してのdual-choiceアッセイを行うと共に、抽出物の化学組成をGC-MS分析により比較した。その結果、やや幼虫に対する選好性が認められたものの、親子いずれにも便乗し誘引されることが明らかになった。現在経過観察中であり、講演で結果報告を行う。