線虫捕捉菌を活用したサツマイモネコブセンチュウの 生物防除と薬剤感受性

田場 聡^{1, 3}・諸見里善一²・高江洲和子¹・大城 篤¹

Biological control of the root-knot nematode using nematode-trapping fungi and its susceptibility to agricultural chemicals. Satoshi Taba^{1,3}, Zen-ichi Moromizato², Kazuko Takaesu¹ and Atsushi Ooshiro¹.

The ability to capture *Meloidogyne incognita* was compared among 17 species of nematode-trapping fungi isolated from soil in Okinawa Island. In particular, *Monacrosporium ellipsosporum* had not only the highest trapping ability but also formed many trapping organs per unit area (1 mm²), catching nematodes more rapidly than other trapping fungi. A test for selection of the optimum medium for proliferation of *M. ellipsosporum* revealed that 1% glucose · yeast extract · malt extract (GYM) liquid medium was the most suitable. This fungus produced 5.2×10^{10} cells (hyphal bodies) in shaking culture (200 rpm/min, 25°C, 100 ml). When a mixture of culture medium including viable cell and vermiculite was mixed into soil at the rate of 10, 20, 30 or 50 g per plot, root-knot indexes of tomato roots after 3 months of cultivation were 40, 10, 15 and 10 for the 10, 20, 30 and 50 g treatment plots, respectively. The index was 50 in the control. A granular nematicide, fosthiazate had an index of 5.0. Fosthiazate, cadusafos and oxamyl had no effect on the *in vitro* hyphal growth of *M. ellipsosporum*. Jpn. J. Nematol. 34 (1), 21-29 (2004).

Key words: biological control, imperfect fungi, *M. ellipsosporum*, nematophagous fungi, *M. incognita*.

緒 言

線虫捕捉菌は栄養菌糸上に線虫を捕らえるための様々な様式の捕捉器官を形成し、これにより線虫を捕らえ消化する特殊な菌群である。本菌群はFresenius (1852) によって初めて記載されたが、線虫捕捉の現象を初めて報告したのは

Zopf (1888) であった。以後、内部寄生菌も含めると世界的には約150種が報告され (Webster, 1985)、報告例の無かった分類群においても線虫捕捉を行う種が報告されるようになった (Pfisdter, 1994)。これらの菌類は、捕捉様式により、網、粘着性ノブ、非収縮環、収縮環形成菌に分類されている (Cooke and Godfrey, 1964)。日本ではこれまでに38種の線虫捕捉菌の生息が確認されている (Mitsui, 1985; 田場・諸見里, 2001)。近年、環境負荷の小さい環境保全型農業を柱とした病害虫防除法の重要性が叫ばれており、これら多様な捕捉菌の利用法の開発が望まれる。

本研究では沖縄に分布する土着の線虫捕捉菌 (田場・諸見里, 2000; 2001) を用いてサツマイモネコブセンチュウに対する捕捉性を調査し、

¹ 沖縄県農業試験場 沖縄県那覇市首里崎山町 4 - 222

² 琉球大学農学部 沖縄県西原町千原 1 番地

³ 現琉球大学農学部

¹ Okinawa Prefectural Agricultural Experiment Station, 4-222 Shuri-Sakiyama, Naha, Okinawa 903-0814, Japan.

² Department of Agriculture, University of the Ryukyus, 1 Senbaru, Nishihara, Okinawa 903-0123, Japan.

³ Present address: Department of Agriculture, University of the Ryukyus.

選抜した有望種の増殖法、防除効果および薬剤の線虫捕捉菌の菌糸伸長に及ぼす影響について検討を行ったので報告する。

材料および方法

1. 菌の線虫捕捉性

線虫：沖縄県与那城町西原産（ナス「長者」由来）サツマイモネコブセンチュウ（*Meloidogyne incognita*）を一度ガラス室内においてトマト「ちびっ子」で増殖させ、柄付き針で卵のうを回収してシャーレ内で自然孵化させた2期幼虫を供試した。

線虫捕捉菌：沖縄本島で分離された4属17種 *Arthrobotrys brochopaga*、*A. candida*、*A. conoides*、*A. dactyloides*、*A. javanica*、*A. musiformis*、*A. oligospora*、*A. polycephala*、*A. superba*、*Dactylaria effusa*、*Dactylella leptospora*、*D. lysipagum*、*Monacrosporium bembicoides*、*M. ellipsosporum*、*M. eudermatum*、*M. gephylopagum*および*M. phymatopagum*を供試した（田場・諸見里，2001）。*Stylopage* sp.は培養困難であるため本研究では使用しなかった。菌の増殖にはコーンミール寒天培地（Difco社製CMA：2 g、寒天：12 g、蒸留水：1000 ml）を使用した。

捕捉性の検定：各種線虫捕捉菌を前培養したCMAをコルクボーラーで打ち抜いて含菌寒天盤（5 mm径）を作製し、これをCMAに接種し25℃条件下で2週間培養した後、各シャーレにネコブセンチュウ（2期幼虫）を2,170頭／1 ml接種した。線虫接種1、3、5および7日後に捕捉器官形成数（1 mm²当たり）および捕捉虫数を計数した。捕捉器官形成数は1シャーレ当たりランダムに5ヵ所選定して計数し、捕捉虫率はシャーレ当たり150頭中の比率で測定を行い、3反復平均で算出した。本実験は25℃条件下で行った。なお日別の捕捉虫数に重複が無いように分解・吸収（線虫の角皮のみが残った状態）された線虫はデータから除外した。

2. 菌の増殖および培養法

シャーレ内において最も捕捉性の高かった *Monacrosporium ellipsosporum* (Groove) Cooke and

Dickinsonを供試菌株としてその最適培地を検討した。培地組成としてグルコース（G）、コーンミール（C）、麦芽エキス（M）（Difco社製）、酵母エキス（Y）（Difco社製）、ペプトン（P）5種を組み合わせて各成分が1%（10 g／1000 ml）になるように調整し、高圧滅菌（121℃／20分間）して液体培地を作製した。組み合わせはGC、GM、GP、GY、GPC、GPM、GYCおよびGYMの8種類とした。さらにこれらの培地の中で菌体形成量の良かったGYMを用いてG、Y、M、GM、MY、GYおよびGYMの7種類を検討した。三角フラスコ（200 ml）に作製した各液体培地を100 ml入れ、これに前培養した*M. ellipsosporum*の含菌寒天盤（5 mm径）を接種し、25℃条件下で14日間振とう培養（100、200および350 rpm／min）を行った。各試験は三角フラスコ2本を使用した。

培養後、2本の三角フラスコから0.5 mlずつ計1 ml採取し、これを10～100倍に希釈して血球計算盤（Thoma型）により短菌糸を計数した。

3. ポット試験

選抜した線虫捕捉菌を用いてサツマイモネコブセンチュウに対する密度抑制効果をポット（1／5000 aワグネルポット）で検討した。土壌は国頭マージ（母材：国頭礫層 pH：4.65）、植物はトマト「ちびっ子」、菌株は*M. ellipsosporum*を供試した。土壌は堆肥（商品名：みのり）をポット当たり60 g（3 t／10 a）混和して使用した。サツマイモネコブセンチュウは前述の捕捉性試験と同法で増殖、分離後、各ポット当たり508頭／10 mlに調整後接種し、良く混和した。菌の培養は500 ml容量の三角フラスコに各1%GYM液体培地を300 ml入れ、オートクレーブで滅菌した後、これにCMAで前培養した*M. ellipsosporum*の含菌寒天盤（5 mm径）を接種し、25℃条件下で14日間振とう培養（200 rpm／min）して行った。培養混和物は上記の*M. ellipsosporum*培養物100 mlを乾熱滅菌（150℃／120 min）したバーミキュライト（TG-4：100～150 me／100 g）50 gを入れたバイオポット（SIBATA製）に加え、これを10日間培養して作製した。

試験区は、無処理区、資材のみ区（1%GYM

培地+バーミキュライト、菌を除く)、ホスチアゼート (ネマトリンエース・石原産業、成分1.5%) 区、培養物 (*M. ellipsosporum* 培養物+バーミキュライト) 10、20、30および50 g 混和区を設置した。それぞれの区は5反復で行った。サツマイモネコブセンチュウを各ポットに接種して良く混和し、同日にトマト苗 (約10 cm) を定植するとともに培養混和物を株元処理した。トマトは2003年2月11日～5月12日の3ヵ月間栽培し、同年5月12日の栽培終了時までの果実収量と栽培終了時の植物茎葉重を測定した。

1) 根こぶ指数調査

栽培終了当日に土壌から掘り起こしたトマト根のこぶ形成の状況を指数評価 (0:こぶが全く認められない、1:わずかに散見される、2:こぶは中程度でほとんど連っていない、3:こぶが多く連っている、4:こぶがほとんど連なって細根がない) し、根こぶ指数を算出した。根こぶ指数 = $\{ \sum (\text{階級値} \times \text{その植物個体数}) / \text{調査個体総数} \times 4 \} \times 100$ の式より求めた。

2) ネコブセンチュウ密度調査

各処理区の生土30 g からベルマン法48時間によりネコブセンチュウ2期幼虫を分離 (ポット当たり2反復) し、個体数を計数した。

3) *M. ellipsosporum* の検出率 (%)

トマトの抜き取り時に各ポットから根圏土壌100 gを採取し、予めサツマイモネコブセンチュウ2期幼虫205.6頭/0.2 mlを接種したCMA培地上に0.1 g添加した。土壌添加後、25℃条件下で5～7日後まで線虫捕捉の有無を観察した。なおポット当たりシャーレ3枚 (区当たり15枚) で行った。

4. 線虫捕捉菌の薬剤感受性

供試菌株は *A. oligospora*、*A. dactyloides*、*A. polycephala*、*M. eudermatum*、*M. ellipsosporum* を用い、薬剤はホスチアゼート (ネマトリンエース粒剤・石原産業、成分1.5%)、カズサホス (ラグビーMC粒剤・エフ・エム・シー、成分3.0%) およびオキサミル (バイデート粒剤・デュボン、成分0.8%) を供試した。*M. ellipsosporum* ではこ

れら薬剤を乳鉢で磨砕して良くすり潰し、添加量がそれぞれ0.01 g および0.001 g になるように滅菌プラスチックシャーレ (9 cm径) に加え、溶解した約48℃のCMA (Difco社製CMA: 17 g、ブドウ糖: 2 g、ショ糖: 3 g、酵母エキス: 1 g、寒天: 20 g、再蒸留水: 1000 ml) 10 mlを分注した。培地が凝固した後、培地中央にCMAで前培養した *M. ellipsosporum* の含菌寒天盤 (5 mm径) を置床した。25℃暗黒条件で7日間培養後、菌叢の直径を測定した。その他の種に関しては、添加量が0.01 g の場合のみ行った。なお実験は5反復で行った。

また同濃度でサツマイモネコブセンチュウの運動に及ぼす影響を調べるため同様に作製した素寒天培地 (寒天: 20 g、蒸留水: 1000 ml) にシャーレ当たり2期幼虫260頭/2 mlを接種し、3日後まで不動化線虫率を計測した。計測は3反復行い1区当たりランダムに選んだ50頭中の不動化より求めた。以上の実験は全て25℃条件下で行った。

結 果

1. 菌の線虫捕捉性

Arthrobotrys candida、*A. conoides*、*A. superba*、*Dactylaria effusa* および *M. bembicodes* の5種において期間 (5日間) 中に測定した単位面積 (1 mm²) 当たりでは、捕捉器官は形成されなかった。*A. brochopaga*、*A. dactyloides*、*A. javanica*、*A. musiformis*、*A. polycephala*、*D. leptospora*、*M. gephylopagum*、*M. lysipagum* および *M. phymatopagum* では形成された捕捉器官数はわずかであった。*A. oligospora*、*M. ellipsosporum* および *M. eudermatum* では多く形成された。特に *M. ellipsosporum* では線虫接種1日後から1 mm²あたり42.8個と他種に比べて迅速かつ多数の粘着ノブが形成された。線虫捕捉率に関しては *A. superba*、*D. effusa* および *M. gephylopagum* では測定期間中の線虫捕捉は認められなかった。*A. candida*、*A. conoides*、*A. javanica*、*M. phymatopagum* では非常にわずかであった。*A. brochopaga*、*A. dactyloides*、*A. musiformis*、*A. oligospora*、*A. polycephala*、*Dactylella leptospora*、*M. bembicodes*、*M. ellip-*

Table 1. Trapping ability of nematode-trapping fungi against *M. incognita*.

Species	Number of trapping organs (1 mm ²) ¹			Trapped nematodes (%) ²			
	1	3	5 (day)	1	3	5	7 (day)
<i>Arthrobotrys</i>							
<i>brochopaga</i> (CR) ³	0.0 ± 0.0 a ⁴	0.6 ± 0.8 a	1.6 ± 2.1 a	0.0	0.0	2.0	80.0
<i>A. candida</i> (NCR, AK)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0	2.0	0.0	1.3
<i>A. conoides</i> (N)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0	0.0	0.0	3.3
<i>A. dactyloides</i> (CR)	0.8 ± 0.8 a	3.2 ± 1.7 a	6.4 ± 1.2 a	0.0	53.3	85.3	96.7
<i>A. javanica</i> (N)	0.0 ± 0.0 a	0.6 ± 0.8 a	1.6 ± 3.2 a	0.0	0.0	4.7	10.7
<i>A. musiformis</i> (N)	0.0 ± 0.0 a	3.0 ± 2.8 a	7.2 ± 3.1 ab	0.0	6.7	63.3	63.3
<i>A. oligospora</i> (N)	3.0 ± 2.6 a	3.2 ± 2.3 a	25.8 ± 11.6 bc	8.0	7.3	80.7	100.0
<i>A. polycephala</i> (N)	0.0 ± 0.0 a	4.2 ± 3.3 a	5.0 ± 4.2 a	0.0	38.7	85.3	100.0
<i>A. superba</i> (N)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Dactylaria</i>							
<i>effusa</i> (CR)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Dactylella</i>							
<i>leptospira</i> (NCR,AK)	0.8 ± 0.8 a	3.0 ± 2.8 a	9.4 ± 2.2 a	30.7	30.0	56.7	86.0
<i>Monacrosporium</i>							
<i>bembicodes</i> (CR)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0	0.0	4.6	82.0
<i>M. ellipsosporum</i> (AK)	42.8 ± 7.0 b	41.6 ± 7.2 b	40.2 ± 8.0 d	84.0	84.6	92.0	100.0
<i>M. eudermatum</i> (N)	0.6 ± 0.8 a	3.4 ± 2.4 a	18.8 ± 7.9 ab	1.3	8.0	86.0	100.0
<i>M. gephylopagum</i> (N)	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	5.0 ± 7.8 a	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>M. lysipagum</i> (NCR,AK)	0.0 ± 0.0 a	0.8 ± 1.2 a	4.3 ± 1.7 a	0.0	0.7	13.3	55.3
<i>M. phymatopagum</i> (AK)	1.6 ± 0.0 a	0.4 ± 0.0 a	1.2 ± 0.0 a	0.6	0.0	0.6	3.3

¹ Five plots (plot: 1 mm²) were selected randomly in a plate culture of fungus (petri dish) and number of trapping organs in each plot was counted (5 repetitions). This experiment was carried out at 25°C. Number of trapping organs (loops) was counted in the net formation species. Number of trapping organs at day 7 could not be counted since organs (loops) interwound complexly.

² Second stage juveniles (J2s) of *M.i.* (2,170 / 1ml) were inoculated on a petri dish and 150 J2s were observed (5 repetitions).

³ Type of trapping organ. AK : Adhesive knob, CR : Constricting ring, NCR : Nonconstricting ring, N : Network.

⁴ Mean ± S.D. Different letters in the same vertical column show a significant difference (Tukey's HSD multiple comparison test, $p < 0.05$).

Table 2. Effect of liquid medium-composition and shaking speed on hyphal body formation of *M. ellipsosporum*.

Shaking speed (rpm / min)	Number of hyphal bodies per 1 ml							
	GC ¹	GM	GP	GY	GPC	GPM	GYC	GYM
100	0	0	0 ⁶	1.7×10	2.8×10^8	2.8×10^7	2.5×10^8	2.8×10^8
200	2.8×10^5	2.8×10^5	8.6×10^9	5.6×10^{10}	3.3×10^9	2.8×10^{10}	4.7×10^{10}	5.8×10^{10}
300	0	2.8×10^6	8.6×10	0	1.6×10^8	3.9×10^{10}	6.9×10^{10}	6.9×10^{10}

¹ C: Corn meal, G: Glucose, M: Malt extract, P: Peptone, Y: Yeast extract. Concentration of each nutrient was 1 %. Colony disk (dia. 5 mm) of pre-cultured *M. ellipsosporum* was inoculated into each medium (100 ml) and shaking culture was carried out for 14 days at 25°C.

Table 3. Effect of yeast extract on hyphal body formation of *M. ellipsosporum*.

Shaking speed	Number of hyphal bodies per 1 ml							
	G ¹	M	Y	GM	GY	YM	GYM	GYM
200 rpm/min	0	0	1.1×10^8	5.6×10^7	2.7×10^7	3.0×10^9	4.2×10^{10}	4.2×10^{10}

¹ See Table 1. Culture condition was the same as Table 1.

sosporum、*M. eudermatum*および*M. lysipagum*では日数が経過するにつれ捕捉虫率は増加した。最も捕捉率が高かった種は*M. ellipsosporum*であり、本種は線虫接種1日後から84.0%と他種に比べて高い捕捉率を示した (Table 1)。

2. 菌の増殖および増殖法

*M. ellipsosporum*は振とう速度350 rpm/minにおいて、GC、GYでは絡み合った菌糸体となり測定が不可能であったが、他の培地では $10^5 \sim 10^{10}$ 個の短菌糸が形成された。200 rpm/min以上の振とう速度においてGPM、GYCおよびGYMの3培地では 10^{10} レベルの短菌糸が形成され、生育が良好であった (Table 2)。

短菌糸の状態を比較すると、GPM、GYCは短菌糸以外に多くの絡み合った菌糸体を形成した。これに対しGYMでは絡み合った短菌糸の形成はごくわずかで、細かい短菌糸を豊富に形成し、懸濁液の状態として特に生育が良好であった。短菌糸形成の状態が良いGYM培地を振とう速度200 rpm/minにおいて、さらに培地組成を区分して培養した結果、酵母エキスを含まる培地で短菌糸形成が良かったが、懸濁液の状態としてはやはりGYMが良好であった (Table 3)。これら培地においてサツマイモネコブセンチュウ2期幼虫に対する捕捉性を検討した結果では全ての試験区で捕捉性が確認された (データ未記載)。

3. ポット試験

植物体の茎葉重はホスチアゼート区が最も高かった。果実収量は捕捉菌30 g以上の処理区で薬剤に比べて高くなる傾向が認められた (Table 4)。

根こぶ指数は無処理区、資材のみ (バーミキュライト、GYM培地) 区で最も高く、次いで*M. ellipsosporum*培養混和物10 g処理区、30 g処理区、20 g処理区、50 g処理区の順であった。ただし20~30 g処理区はホスチアゼート区に比べ同程度に低かった。土壌中のネコブセンチュウ数はホスチアゼート区が最も低く、次いで*M. ellipsosporum*培養混和物20 g以上の処理区であった (Fig. 1)。栽培終了後の*M. ellipsosporum*の検出率

を調査した結果では、全*M. ellipsosporum*培養混和物処理区で80%以上の高い割合で検出された (Fig. 2)。無処理区においても別種の捕捉菌 (網形成菌) が検出されたが、これは汚染によるものであると考えられた。

Table 4. Effect of nematicides on movement of 2nd stage juvenile of *M. incognita* ¹.

Treatment	Top weight (g)	Amount of harvest
Fosthiazate granule	23.4 ± 11.8 b ¹	51 (146.7) ²
Medium and vermiculite	10.2 ± 5.2 a	25 (134.1)
<i>M. ellipsosporum</i> (10 g) ³	8.3 ± 3.0 a	36 (125.0)
<i>M. ellipsosporum</i> (20 g)	11.4 ± 3.8 a	48 (188.4)
<i>M. ellipsosporum</i> (30 g)	14.6 ± 5.3 a	66 (225.9)
<i>M. ellipsosporum</i> (50 g)	15.5 ± 6.3 a	71 (249.8)
Control	8.4 ± 1.1 a	20 (101.0)

¹ Mean ± S.D. Different letters in figure show a significant difference (Tukey's HSD multiple comparison test, $p < 0.05$)

² Parentheses show total weight (g) of fruits.

³ *M. ellipsosporum* culture was added to a container where 50 g of heat sterilized (150 °C / 120 min) vermiculite (TG-4: 100~150 me / 100 g) had been put. The proportion of culture to vermiculite was 2:1. It was cultured for 10 days and then used.

Fig. 1. Root-knot index of the tomato roots and the number of nematodes in soil of each treatment. A: fosthiazate, B: medium and vermiculite, C: *M. ellipsosporum* culture mixture (M. e.) 10 g, D: M. e. 20 g, E: M. e. 30 g, F: M. e. 50 g, G: control. Bars: standard deviations. Different letters in figure show a significant difference (Tukey's HSD multiple comparison test, $p < 0.05$).

Fig. 2. Detection rate of *M. ellipsosporum* on corn meal agar (CMA) where *M. incognita* and treatment soil 3 months after inoculation (A-G) were cocultured. Treatments are the same as in Fig. 1. Bars: standard deviations. Different letters in figure show a significant difference (Tukey's HSD multiple comparison test, $p < 0.05$).

4. 線虫捕捉菌の薬剤感受性

線虫捕捉菌の菌糸伸長に及ぼす薬剤の影響を検討した結果、*A. dactyloides*、*A. oligospora*では、ほとんど阻害効果は認められなかったが、*D. eudermatum*ではホスチアゼート、オキサミルでやや認められ、カズサホスにおいて高い阻害効果が認められた。*D. polycephala*ではカズサホスのみ菌糸伸長阻害効果が認められた (Table 5)、*M. ellipsosporum*ではホスチアゼートでは差は認められず、カズサホスおよびオキサミルでは促進効果が認められた (Table 6)。一方、サツマイモネコブセンチュウに対してはホスチアゼートおよびカズサホス0.01g混和では接種1日後でそれぞれ98.0%、99.3%、3日後では100%不動化した。一方0.001 g区では3日後で、不動化率がそれぞれ74.7%、66.7%であった。これに対しオキサミルは3日後で10.0%と低い不動化率であった (Table 7)。

Table 5. Effect of nematicides on hyphal growth of several nematode-trapping fungi.

Test chemical	Diameter of colony (mm)			
	<i>D. dactyloides</i>	<i>A. oligospora</i>	<i>D. eudermatum</i>	<i>D. polycephala</i>
Cadusafos ¹	18.1 ± 1.5 a ²	66.8 ± 0.2 a	56.9 ± 0.7 c	41.9 ± 0.8 b
Fosthiazate	17.9 ± 0.4 a	65.8 ± 0.8 a	74.0 ± 0.8 b	46.6 ± 0.4 a
Oxamyl	17.0 ± 0.4 a	67.3 ± 1.0 a	74.4 ± 0.5 b	47.6 ± 0.4 a
Control ³	18.7 ± 0.5 a	66.5 ± 0.4 a	76.2 ± 0.3 a	48.7 ± 0.4 a

¹ All chemicals were added at the rate of 0.01g per 10 ml corn meal agar (CMA).

² Mean (mm) ± S.D. Different letters in the same vertical column show a significant difference (Tukey's HSD multiple comparison test, $p < 0.05$). Colony disk (5 mm) of fungus pre-cultured on CMA was inoculated on CMA with chemical and cultured for 7 days at 25 °C under dark condition. Diameter of colony was measured.

³ CMA without nematicide.

Table 6. Effect of nematicides on hyphal growth of *M. ellipsosporum*.

Treatment	Diameter of colony (mm)		
	Fosthiazate	Cadusafos	Oxamyl
0.01g ¹	21.9 ± 0.1 a ²	21.5 ± 0.7 b	18.1 ± 0.5 a
0.001g	20.5 ± 1.5 a	21.7 ± 0.5 b	21.8 ± 0.3 b
Control ³	20.5 ± 1.5 a	18.8 ± 1.3 a	19.7 ± 0.7 a

¹ Amount of chemical added to 10 ml CMA.

² Mean (mm) ± S.D. Different letters in the same vertical column show a significant difference (Tukey's HSD multiple comparison test, $p < 0.05$). Culture condition and measurement were the same as Table 5.

³ CMA without nematicide.

Table 7. Effect of nematicides on movement of 2nd stage juvenile of *M. incognita*¹.

Test chemical	Amount of chemical added (g) ²	Immobile nematodes (%) ³	
		1	3 (day)
Fosthiazate	0.01	98.0 ⁴ b	100.0 b
	0.001	28.0 ab	74.7 b
Cadusafos	0.01	99.3 b	100.0 b
	0.001	36.7 b	66.7 b
Oxamyl	0.01	8.0 a	10.0 a
	0.001	4.6 a	5.3 a
Control ⁵		5.3 a	6.7 a

¹ Second stage juveniles (260 / 2 ml) were added to a petri dish.² Chemical was added to 10 ml water agar (WA).³ Proportion (%) of immobile nematodes in 50 nematodes counted at 1 and 3 days (3 repetitions).⁴ Mean. Different letters in the same vertical column show a significant difference (Tukey's HSD multiple comparison test, $p < 0.05$).⁵ WA without nematicide.

考 察

Kojima and Saikawa (2002) はビデオ撮影機を利用して本種の捕捉様式を観察した結果、捕捉から約 2 時間で線虫体内に侵入菌糸を侵入させることを明らかにしている。また Jaffee and Muldoon (1995) も線虫接種後、12 時間以内にほぼ 100% の線虫が捕捉され、24 時間後には、ほとんどの線虫が分解される（感染菌糸で体内を埋め尽くされる）ことを報告している。本研究では 17 種の捕捉様式の異なる種の捕捉性を比較した結果、*M. ellipsosporum* は捕捉速度が速いだけでなく、単位面積当たりの捕捉器官形成数も他種に比べて特に多いことが明らかになった。植物は生育初期に多数のネコブセンチュウによる寄生を受けた場合、特に被害が大きくなるため、初期線虫密度を低下させることが重要である。したがって、防除に使用する線虫捕捉菌は捕捉性が高い種を用いることが望ましいと考えられ、実験結果から *M. ellipsosporum* が最も有望であると考えられる。

選抜された有望菌株は一般的に米ぬか、もみがらまたはふすまなどの有機物に接種し、増殖させて使用する（日本植物防疫協会, 1993）。しかし *M. ellipsosporum* をこれら複数有機物に接種

した結果では、菌糸のみが有機物表面に繁茂し、増殖効率が悪い場合や、全く生育しない場合など好ましくない結果であった（データ未記載）。そこで、ブドウ糖と入手が容易な数種抽出物を組み合わせ、振とう培養した結果、GYM 培地（200 rpm/min）で良好な培養物が得られた。本培養物とパーミキュライトを 2 : 1 混合した場合、湿りすぎず水分も適量で塊にならず最も操作しやすい状態であった。

本方法により作製した混和物を用いてサツマイモネコブセンチュウに対する防除効果試験を行った結果、植物体の重量はホスチアゼート処理区が最も良かったが、収量は *M. ellipsosporum* 培養混和物を 20 g 以上処理した区が多くなった。資材区（パーミキュライト、GYM 培地）の収量が無処理とほとんど差が無いことから、培地の影響ではないと考えられる。根こぶ指数はホスチアゼート区に比べ *M. ellipsosporum* 培養混和物処理区では若干高い傾向が見受けられるが、わずかにこぶが認められる程度であった。栽培終了時に根圏土壌から *M. ellipsosporum* が高率に検出されたことから、定着性が良く、ネコブセンチュウが低密度に抑制されたと考えられた。

線虫捕捉菌を利用したネコブセンチュウ防除に関する報告は、ハワイにおいて Linford and Yap (1939) によって初めて行われ、*M. ellipsosporum* を土壌接種した結果、根重の増加が認められたが根こぶ指数を比較した場合、差は認められなかった。その後、多くの研究者によって複数種を用いた防除効果試験が行われ、結果が判然としない場合や効果を示した例まで様々であった（Jaffee and Muldoon, 1995 ; Linford and Yap, 1939 ; Oka et al., 1997 ; Stirling and Mani, 1995 ; Stirling and Smith, 1998 ; Stirling et al., 1998 ; Gasperd and Mankau, 1987 ; 萩谷, 1983）。効果が高くなかった原因として、処理量および方法、栽培期間、特に土壌の化学、物理、生物学的および静菌的作用（Cooke, 1968 ; Cooke and Satchuthananthavale, 1968 ; Mankau, 1961）など環境要因が関与している可能性が考えられる。本試験で用いた種に関しても同様な要因が影響すると考えられるため、今後検討する必要がある。

Jaffee and Muldoon (1995) は25 mlのバイアルポットにおいて *M. ellipsosporum* および *M. cionopagum* 2種を使用しジャワネコブセンチュウ防除試験を行い、高い防除効果を得ている。しかしこの報告は判定に用いた植物の栽培期間が短いため、効果の持続性が判断できない。本研究では、トマトを用いて収穫終了時（3ヵ月間）まで栽培し、土壌における本菌の効果の安定性と定着性を検討することにより *M. ellipsosporum* 20 g処理以上で高い防除効果が得られることを明らかにした。しかし本研究はあくまでも *in vitro*での実験とポット試験であるため、今後圃場での効果についても検討が必要である。さらに実際に圃場で使用することを念頭に入れた生物防除剤の作製についても同様に検討する必要がある。

今回の結果では高い防除効果が得られたが、生物的防除法は文字通り、生物を活用した防除法であるため様々な環境要因に影響を受けると考えられ複数の制限要因が防除効果や菌の定着性に関与し、効果が不安定な場合があると考えられるため、これを補完する方法の検討が必要である。今回は、化学的防除との併用処理が可能であるかを検討するため、一般的に使用される殺線虫剤の *M. ellipsosporum* の菌糸伸長に及ぼす影響を検討した。その結果、今回供試した薬剤には阻害効果は認められなかった。この結果は併用が可能であることを示しており、総合防除 (IPM) における防除資材として期待される。今後は、サツマイモネコブセンチュウの生物防除における農薬低減を目的とした化学農薬あるいは耕種および物理的防除法との併用によるネコブセンチュウの防除を実践するとともに土壌の種類や栽培体系などの地域性を重視し、Jacobsen (1997) の唱える状況に応じた「地域特異的」防除法を実践していく必要があると考えられる。

引用文献

- Cooke, R. C. (1968) Relationship between nematode-destroying fungi and soil-borne phytonematode. *Phytopathology* 58, 909-913.
- Cooke, R. C. and Godfrey, B. E. S. (1964) A key to the nematode-destroying fungi. *Transactions British Mycological Society* 47, 61-74.
- Cooke, R. C. and Satchuthanavale, V. (1968) Sensitivity to mycostasis of nematode-trapping hyphomycetes. *Transactions British Mycological Society* 51, 555-561.
- Fresenius, G. (1852) *Beitrage zur Mykologie*. Heft 1-2. pp.1-80.
- Gaspard, J. T. and Mankau, R. (1987) Density-dependence and host-specificity of the nematode-trapping fungus *Monacrosporium ellipsosporum*. *Revue de Nématologie* 10, 241-246.
- 萩谷俊一 (1983) 線虫捕食菌 (*Monacrosporium ellipsosporum*) 培養土の施用がキュウリの収量及び土壌中のネコブセンチュウ密度に及ぼす影響. 関東東山病害虫研究会年報30, 180-182.
- Jacobsen, B. J. (1997) Role of plant pathology in integrated pest management. *Annual Review of Phytopathology* 35, 373-391.
- Jaffee, B. A. and Muldoon, A. E. (1995) Susceptibility of root knot and cyst nematodes to the nematode-trapping fungi *Monacrosporium ellipsosporum* and *M. cionopagum*. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 1083-1090.
- Kojima, E. and Saikawa, M. (2002) Time-lapse photomicrography and electron microscopy on initiation of infection of nematodes by *Dactylella ellipsospora*. *Mycoscience* 43, 299-305.
- Linford, M. B. and Yap, F. (1939) Root-knot nematode injury restricted by a fungus. *Phytopathology* 29, 596-609.
- Mankau, R. (1961) Antagonisms to nematode-trapping fungi in soil. *Phytopathology* 51, 66.
- Mitsui, Y. (1985) Distribution and ecology of nematode-trapping fungi in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly* 18, 182-193.
- 日本植物防疫協会 (1993) 天敵微生物の研究手法. 天敵微生物の大量増殖法. 東京, 118p.
- Oka, Y., Chet, I., Mor, M. and Spiegel, Y. (1997) A fungal parasite of *Meloidogyne javanica* eggs:

- evaluation of its use to control the root-knot nematode. *Biocontrol Science and Technology* 7, 489-497.
- Pfister, D. H. (1994) *Orbilia fimicola*, a nematophagous discomycete and its *Arthrobotrys* anamorph. *Mycologia* 86, 451-453.
- Stirling, G. R. and Mani, A. (1995) The activity of nematode-trapping fungi following their encapsulation encapsulation in alginate. *Nematologica* 41, 240-250.
- Stirling, G. R. and Smith, L. J. (1998) Field tests of formulated products containing either *Verticillium chlamydosporium* or *Arthrobotrys dactyloides* for biological control of root-knot nematode. *Biological Control* 11, 231-239.
- Stirling, G. R., Smith, L. J., Licastro, K. A. and Eden, L. M. (1998) Control of root-knot nematode with formulations of the nematode trapping fungus *Arthrobotrys dactyloides*. *Biological Control* 11, 224-230.
- 田場聡・諸見里善一 (2000) *Monacrosporium phymatopagum*の感染菌糸による線虫捕捉. 日本線虫学会誌 30, 30-34.
- 田場聡・諸見里善一 (2001) 沖縄本島の土壌における線虫捕捉菌の分布および要因解析. 日本菌学会報 42, 87-96.
- Webster, J. (1985) *Introduction of Fungi*, Second Edition. Cambridge University Press, Cambridge. 649 pp.
- Zopf, W. (1888) *Zur Kenntnis der Infektionskrankheiten neiderer thiere und Pflanzen*. Nova Acta Academiae Leopoldino Carolinae Germanicae Naturae Curiosorum 52, 314-376.
- (受領：2003年9月30日)

和文摘要

線虫捕捉菌を活用したサツマイモ ネコブセンチュウの生物防除と薬剤感受性

田場 聡・諸見里善一・高江洲和子・
大城 篤

沖縄本島から分離された線虫捕捉菌17種を用いてサツマイモネコブセンチュウに対する捕捉性を比較した結果、特に*M. ellipsosporum*は捕捉性が高いだけでなく、単位面積（1 mm²）あたりに形成する捕捉器官数が多く、他種に比較して迅速に線虫を捕捉した。本菌の最適培地は、

1 % グルコース・酵母エキス・麦芽エキス (GYM) 液体培地であった。本菌は振とう培養（200 rpm/min、25℃100 ml）において 5.2×10^{10} 個の短菌糸を形成した。各量に調整したパーミキュライトに本菌の短菌糸を添加して作製した培養物（10、20、30および50 g）を土壌に混和した場合、3ヵ月後のトマトの根こぶ指数は、対照区が50、ホスチアゼート区が0、培養物10、20、30および50 g 区がそれぞれ40、10、15および10であった。また*M. ellipsosporum*の菌糸伸長に及ぼすカズサホス、オキサミルおよびチオファネートメチルの影響はほとんど認められなかった。