

トマト種
サツマイモネコブセンチュウ抵抗性
特性調査マニュアル



(第3版)

令和6年3月22日 改正

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

種苗管理センター

トマト種 サツマイモネコブセンチュウ抵抗性 特性調査マニュアル

サツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*) は、ナス科やウリ科野菜の重要病害の一つであり、生育の減退、黄化、枯れ上がりをもたらす。収量を著しく損なうことから、防除の必要性が極めて大きい土壌病原生物である (水久保ら, 2001)。

農作物のネコブセンチュウ被害は根こぶの量・大きさなどに関連がある。このため、根こぶの形成量・程度を数量評価するために、各種作物ごとに根こぶ形成程度別基準 (根こぶ指数) が設定され、利用されている (水久保ら, 2014)。

1. 準備する器具及び試薬等

植物の育成：セルトレイ、9 cm ポリポット、培養土、60L プラスチック製用土調整箱

接種源の調製：サツマイモネコブセンチュウ感受性トマト (接種源増殖用)、電子天秤、ベルマン法器具一式、ビニールフィルム、パスツールピペット、滅菌水、インキュベーター、界線スライドグラス、実体顕微鏡、数取機

廃棄及び清掃：オートクレーブ、エタノール又は次亜塩素酸、乾熱滅菌器、紙ワイパー

2. 供試病原線虫

サツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*) 普通 (非打破) 系統を供試する。

なお、調査を行う前に供試病原線虫の寄生性を確認する。

3. 供試品種等及び供試個体数

(1) 供試品種

標準品種：Anahu (抵抗性：有)

基準品種：TTM011 (商品名：桃太郎サニー (登 18774)) (抵抗性：有)

基準品種：強力米寿 (抵抗性：無)、大型福寿 (抵抗性：無)

(2) 最低供試個体数

接種区：20 個体、無接種区：20 個体

(3) 反復

なし

4. 調査方法

(1) 接種源の増殖

本葉が2～3枚程度展開しているサツマイモネコブセンチュウ感受性品種を病原線虫汚染土壌あるいは病原線虫を接種した培養土に定植し、病原線虫を増殖させる。

有効積算温度 600～800 日度 (サツマイモネコブセンチュウの発育零点 13.3℃) (室温 25～30℃で栽培した場合 50 日程度に相当) を目安に栽培する。線虫の流出を防ぐため、かん水は

鉢底から水が流れ出ない程度に行い、乾燥気味に管理し線虫を増殖させる。この汚染土を接種源とする。

(2) 土壌中の線虫密度の測定

線虫増殖後の汚染土をよく混和して土壌試料を採取し、ベルマン法によって線虫密度を3反復測定する(図)。

ア. ガラス漏斗(直径10cm程度)、シリコンチューブ、サンプル管を隙間がないようにそれぞれ取り付ける。線虫の落下を妨げないように、漏斗、チューブ、サンプル管の順に外側になるように取り付ける。取り付け後、漏斗のくびれ近くまで水を満たす。この時、チューブや漏斗の内壁に気泡が付かないようにする。

イ. 二重にした紙ワイパー等を敷いたふるいに土壌試料20gを入れて均等に広げる。

ウ. 土壌を入れたふるいを漏斗にのせ、土壌表面と水面がほぼ同じ高さになるようにふるいの外側から漏斗に水を注ぐ。

エ. 漏斗をビニールフィルムで覆い、約25°Cで3日間静置する。水面が土壌の高さよりも下がったら、水を加える。なお、20°Cよりも低温で静置すると、線虫の運動性が低下し分離が困難となるため、20~26°Cの室温を保つこと。

オ. シリコンチューブをピンチコック等で遮断し、サンプル管を取り外す。

サンプル管の底に沈殿した線虫を時計皿等に移して検鏡する。この時、計数された線虫数が試料20g当たりの線虫数となる。

線虫の懸濁液を取り扱う際にプラスチック製の器具を使用すると、器具内壁に線虫が張り付いてしまうため、ガラス製の器具を用いる。

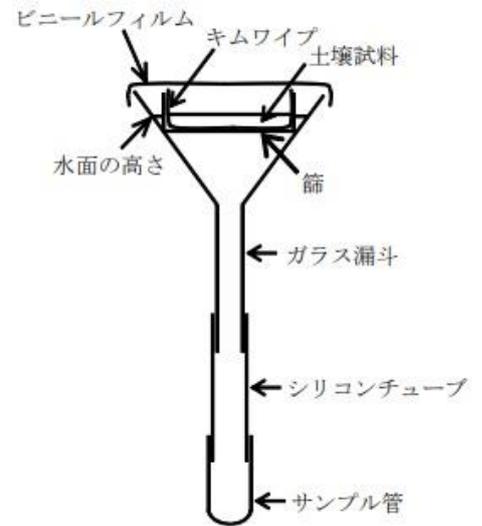


図 1. ベルマン法

(3) 供試品種等の準備

培養土を敷き詰めたセルトレイに種子をは種し(催芽した種子でも可)、軽く覆土する。接種には本葉が2~3枚程度展開している苗を供試する。

培養土は病原線虫等に汚染されていないものを使用する。

試験を実施する時期及び供試する培養土の種類により、接種適期に至るまでの日数が異なるので注意する。

(4) 接種方法

接種源と培養土を混合して、線虫密度が土20g当たり10頭程度となるよう汚染土を作製する。汚染土を9cm(土の量は約0.3Lと仮定)程度のポリポットに充填し、供試植物を定植す

る。(1鉢当たりの線虫頭数は、汚染土の比重が0.9の場合、およそ150頭となる。)

無接種区は接種区に用いたものと同じ培養土に定植する。

(5) 接種後の管理

室温を20～28℃に調整した温室内（自然光下または明期12時間以上の照明下）等で管理する。

高温条件下で抵抗性が打破される事例が報告されており、土壌温度が28℃を超すことがないように注意する（奈良部ら，1992、Wang et al., 2013）。

土壌水分について、特に接種後1週間は感染を左右する時期のため線虫の感染を妨げないように鉢底から水が流れ出ない程度に、乾燥気味に管理する。その後の管理は、通常のトマトの水管理と同様とする。肥切れに注意して、葉色等に応じて適宜液肥等を施用する。

(6) 調査

接種日から40～50日後、有効積算温度300～600日度を目安（サツマイモネコブセンチュウの発育零点13.3℃）に掘りあげ、根こぶ着生程度を調査する。

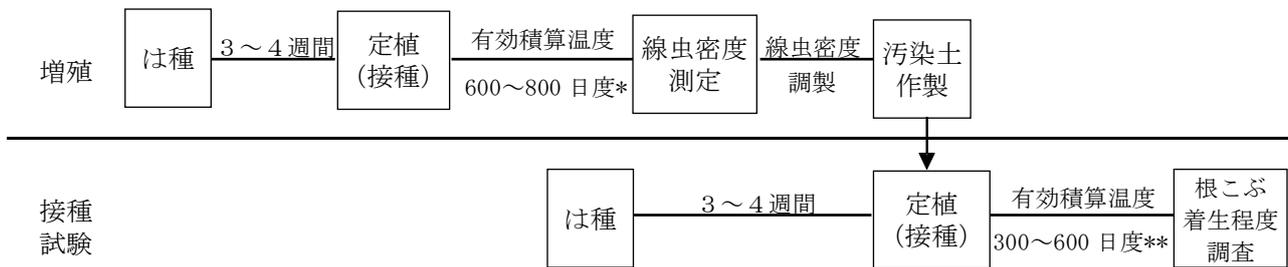


図 2. 接種試験の流れ

*発育零点は13.3℃。室温25～30℃で栽培した場合50日程度に相当。

**発育零点は13.3℃。室温20～28℃で40～50日を目安に栽培。

5. 評価方法

(1) 調査結果の整理

以下の算出式により根こぶ着生個体率*及び根こぶ指数**を算出し、調査結果を表1のように取りまとめる。

$$* \text{ 根こぶ着生個体率} = \frac{\text{着生個体数}}{\text{調査個体数}} \times 100$$

注) 着生個体数：調査個体数の内、下記の根こぶ評点が1～4と判定された個体を合計した数。

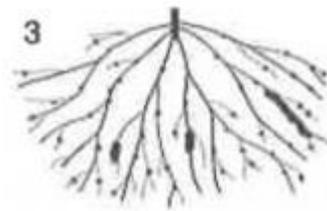
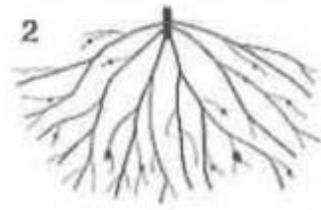
$$** \text{根こぶ指数} = \frac{\sum (\text{根こぶ評点} \times \text{根こぶ評点別の個体数})}{\text{調査個体数} \times 4} \times 100$$

根こぶ指数

根こぶ評点	根こぶ着生程度
4	非常に多く、こぶが連なる
3	根こぶが散見～多い
2	比較的少ない(6～20個を目安)
1	非常に少ない(5個以下を目安)
0	根こぶなし

(参考・評点別根こぶ着生程度)





※写真右のイラストは、「線虫学実験 (2014 京都大学学術出版会)」P228 図 12-1 トマトの5段階根こぶ形成程度別基準から引用

表 1. 調査結果

	供試 個体数	根こぶ評点別個体数					根こぶ 着生個体率	根こぶ 指数
		0	1	2	3	4		
出願品種								
対照品種								
標準品種等								

(2) 抵抗性有無の判定

標準品種等の根こぶ指数と比較して評価する。

抵抗性「有」の標準品種等の根こぶ指数の数値が低く発現したときも、既報の抵抗性品種に許容される根こぶ指数を参考にして、判定基準を厳しくしすぎないように留意する。

なお、標準品種等の根こぶ指数が以下の結果となった場合は、試験成立の妥当性が疑われるため、再試験を検討する。

1. 抵抗性「有」の標準品種等の根こぶ指数が、26.7 を超えた場合。
2. 抵抗性「無」の基準品種の根こぶ指数が、50.0 を下回った場合。

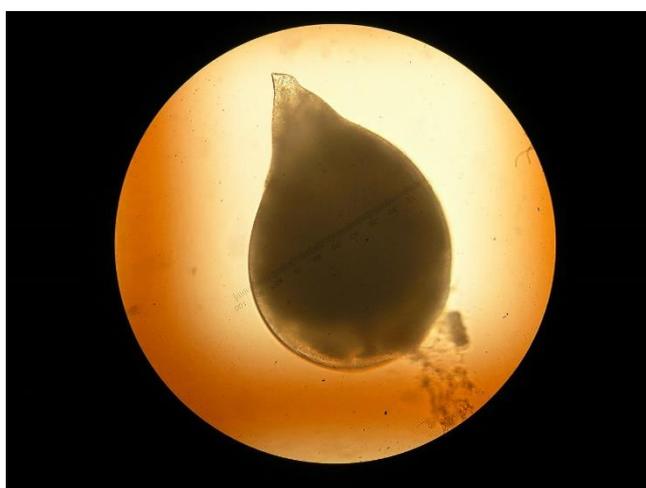
※試験の成立を検討する場合、接種試験がマニュアル記載の(4)接種方法、(5)接種後の管理と異なる条件となっていなかったかを点検し、再試験時には十分注意する。

抵抗性「無」の基準品種の根こぶ指数を高く発現させることができれば判定が容易となる。

※※試験が成立した場合でも、抵抗性「有」の標準品種等と、抵抗性「無」の基準品種の根こぶ指数が共に低く、供試品種が両者の中間的な根こぶ指数を示すと判定が困難な場合があるため、その場合は再試験を検討する。

(3) 病原体の確認

調査終了後、顕微鏡下で根こぶ表皮を剥ぎ、内部の線虫を確認する。



(参考) 根こぶ内センチウ写真

6. 注意事項

線虫の取り扱いについては、飛散防止に留意する。

接種後及び調査終了後は、線虫の付着した器具、植物体、使用済み培養土等はオートクレーブで殺虫処理する。調査に用いた大型の器具やプラスチック製品等オートクレーブ不可なものは、有効塩素を1%含有する溶液（ケミクロンGなどで調整）に24時間以上浸漬する。もしくは乾熱滅菌器を使用し80℃で1～2時間、または65℃で24時間以上加熱して殺虫処理を行う。

7. 参考文献

水久保ら（2001）トマトのサツマイモネコブセンチュウとトマト萎凋病菌の防除に及ぼすアミノ酸メチオニンと菌食性線虫 *Aphelenchus avenae* 処理の効果. 関東東山病害虫研究会報 第48集

水久保ら（2014）京都大学学術出版会 線虫学実験 P227

奈良部ら（1992）抵抗性トマト品種に寄生するサツマイモネコブセンチュウ系統の出現とその解析. 関東東山病害虫研究会年報 第39集 P297-299

農研機構九州沖縄農業研究センター（2013）線虫抵抗性ピーマン台木品種育成素材選抜のための接種検定手法マニュアル

農研機構九州沖縄農業研究センター（2013）有害線虫総合防除技術マニュアル

Wang et al. (2013) Mapping of a Heat-Stable Gene for Resistance to Southern

Root-Knot Nematode in *Solanum lycopersicum*. *Plant Mol Biol Rep* (2013) 31:352-362