

10. かんきつ類

7. ネモグリセンチュウ類

(1) バナナネモグリセンチュウ (*Radopholus similis*、以下「Rs」という。)

(2) カンキツネモグリセンチュウ (*Radopholus citrophilus*、以下「Rc」という。)

- ※ ネモグリセンチュウ類は調査方法が似ているため、ここではバナナネモグリセンチュウとカンキツネモグリセンチュウをまとめて記述する。

※ 本線虫をバナナネモグリセンチュウの1レース (*R. similis citrus* race) とするのが現在の主流であるが本稿では便宜上別種として扱う。

ア 調査

【調査対象植物】

1) Rs：トマト、サトイモ及びショウガ

2) Rc：トマト及びカンキツ類

(上記調査対象植物での調査が困難な場合は、オクラ、トウモロコシ、ナス、バレイショ、チャ、ラッカセイでも調査可能。また、サトイモ科(アンズリュウム属、エピプレムヌム・アウレウム、フィロデンドロン属等)、クズウコン科(カラテア属、クズウコン属)などの観葉植物でも調査可能。)

【調査時期】

調査は、対象植物の生育期間中に年1回以上実施する。

なお、栽培期間中の実施が困難な場合は、栽培終了後の植物体が残っている時期(栽培終了直後)に実施してもよい。

【調査方法及び調査内容】

1) 調査は、上記の調査対象植物の中から選定した上で、調査地点を設定する。

なお、調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意する。

2) 設定した調査地点あたり10株を対象に、被害写真を参考にしつつ、葉の黄化や倒伏などの普段見慣れない症状がないか目視で調査する。

3) 異常株があった場合は、異常を示す株の抜き取り又は周囲を掘り返して、根茎のようすを確認する。なお、基本的に植物の生育期間中株の抜き取りを行うこととするが、生育期間中の抜き取り等が難しい場合には、栽培終了直後の抜き取りでも確認可能である。根系に赤紅色の条斑、褐色ないし黒色の変色及び陥没、縦列孔などの病徴を確認した場合は、追加調査のために、すぐに根圏土壌および症状を示した根及びその周辺部を採取し、持ち帰る。また、アンズリュウム属植物では茎・葉等の地上部への寄生も報告されていることから、植物体及び根圏土壌全体をそのまま採取することも可能。

なお、採取した試料はポリエチレン袋に収納し、日射を避けて段ボール箱あるいはクーラーボックスに保存して調査地点を回る。

採取した試料は、試料の確認に必要な事項(採取月日、採取場所、写真

等)を記録した試料採取票(別記様式)を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまでクーラーボックス等(10℃)もしくは冷暗条件で保管する。採取後はなるべく1週間以内に分離作業を行う。

試料の採取部位、病徴及び採取票に記録した内容等は、調査野帳に記録する。

(参考)

- ・カンキツなど大型の地植えの植物：

根張りの多い地下10～20cmの部分から根を採取し、根張りの悪い植物は40～50cmのかなり深部の根を採取する。

- ・小型の植物：

株全体を掘り取り、根の全量またはその一部を採取する。

- ・鉢植え植物：

植木鉢から根を土壌またはミズゴケごと抜き取り、変色・壊疽などの異常部分をなるべく多く含むよう根の一部を採取する。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) 本種が寄生した植物は次第に根系が浅くなり、干ばつや風による倒伏が多く起きる。また、葉の黄化がみられる。しかし病原菌類によっても同様の症状を示すことがあるため、発生の状況が平時と同じ場合は積極的に試料を採取する必要はない。一方、通常の栽培環境下で平時よりも症状の出方が異常である場合には、*Radopholus* 属ネモグリセンチュウの寄生を疑い、試料採取、生物顕微鏡による形態観察を実施する。

なお、調査終了後、使用した道具類や靴、服等についた土等はできる限り落とし、別の調査地点へ土等を持ちこまないよう注意する。

2) 発見のポイント

主な症状は以下のとおり。

- ・地上部：葉の変色・黄化・萎凋、小形化、異常落葉、小枝の枯れ込み、果実の小形化、植物体の矮化、早期の樹勢低下、根元から引き抜かれたような倒伏
- ・地下部：根系の皮層部に褐変・壊死条斑、根系の減少、塊茎・根茎等栄養器官内部の腐敗・変色、表層の病斑・変色

また、作物ごとに以下の症状が知られている。

- ア) トマト：地上部の被害に関する情報はないが、接種試験による根茎の被害(図1)から、地上部の被害は葉の変色・黄化・萎凋、小形化、異常落葉、小枝の枯れ込み、果実の小形化、植物体の矮化、早期

の樹勢低下、根元から引き抜かれたような倒伏に準じるものと考えられる。

イ) サトイモ: 地上部の被害に関する情報はないが Murukesan et al. (2005) によると同じサトイモ科の giant swamp taro では地上部に被害は見られないとの報告がある。したがって、サトイモも顕著な被害は示さない可能性があるが、生育の悪い株を中心に調査するとよいと考えられる。根茎の被害は根系の皮層部に褐変・壊死条斑、根系の減少、塊茎・根茎等栄養器官内部の腐敗・変色、表層の病斑・変色が見られる (図 2、3)。

ウ) ショウガ: 発育不良、活力低下および分げつが起こり、最上葉において葉端に焼け症状をとともう退緑が起こる。また、寄生されていない植物よりも早熟し乾燥する傾向がある。寄生初期の根茎は、小さな浅く窪んだ水浸状の病斑が見られる。センチュウが細胞間を移動するため根茎内部に病変が拡大する。

エ) アンスリウム: 根腐れと倒伏が典型的な症状。本種によって引き起こされる根腐れ症状は褐変または黒褐変から黒変で、比較的ゆっくりと進行する。初期は古い根から寄生し根腐れを起こすが、新たな根が生育するため、植物体はしばしば良好に生育を続ける。しかし健全な植物と比較すると、罹病した植物の機能する根の量は大きく減少する。時間とともに、新たな根の発生は少なくなり、徐々に進行する根系の崩壊は、2～4年目に倒伏を起こす。葉は黄化し、他の養分欠乏症を引き起こす。植物体は矮化し、発育の低下、着花が減少し、花が小さくなる (図 5)。

オ) カンキツ: 本種の活動は砂質土壤中で助長され、根は、センチュウの摂食による細根の減少、根の空洞化により大きな被害を受ける。地上部の被害には、やけ症状・黄化、発育障害・矮化、枝枯れ、葉・果実の小型化、樹冠の葉の減少が見られる。このようなカンキツの症状は拡大性衰弱病 Spreading decline Disease と呼ばれ、カンキツ園内で樹勢低下、樹冠の葉の減少、葉や果実の小型化を示し始めた数本から被害が周辺へ拡大する。本種の地上部の被害の進行は土壤水分が低くなる時期 (フロリダでは冬季から春季) に急速に進む (図 4)。

イ 同定診断手法

1) 形態観察

分離した虫体は生物顕微鏡下で観察する。当該センチュウの同定は主に雌成虫及び雄成虫で行う。(プレパラートの作成方法は参考情報の 2 を参照)

Rs と Rc の形態的な差は無い。また、現時点では分子生物学的手法による両種

の識別も不可能である。Rcはカンキツ類に寄生するが、Rsはカンキツ類に寄生しない。以下に本2種と他のセンチュウ類との形態的な識別法を記す。

・形態的特徴（簡易）

同じくネモグリセンチュウと称される *Hirschmanniella* 属とは、体長、食道（厳密には食道腺葉）と腸が重なる位置、および雌雄間における形態的特徴の差により識別可。体長については、*Hirschmanniella* 属の成虫が1 mm 以上となるのに対して *Radopholus* 属の成虫では0.7mm程度にとどまる。そのため *Radopholus* 属は一見同科（Pratylenchidae）のネグサレセンチュウ類（*Pratylenchus* 属）のように見えるが、*Radopholus* 属の尾端部には特徴的な先細りが見られる。*Hirschmanniella* 属及び *Pratylenchus* 属は食道と腸が腹部側で重なり、*Radopholus* 属は食道（B-g）と腸（B-f）は背部側で重なる。雄では雌に比して唇部が顕著に発達する（E）。

・形態的特徴（詳細）

①雌成虫

- 1) 体長は0.5～0.9mmで、糸状である（A）。
- 2) 唇部骨格（頭部骨格）は発達し（E-g）、唇部は低い（B-a, E-a）。
- 3) 口針長（B-b, E-c）は16～20 μm （平均17～18 μm 程）で、口針節球は丸～横長である（B, E-e）。
- 4) 食道の後端は、背側で腸と重なる（B-g）。
- 5) 陰門から前後に一对の生殖器官が伸びる（A-c, C）。V値は通常52-61%。
受精のうは2個で、受精雌はひも状の精子を持つ※1（C, F）。
- 6) 尾は円錐形で（D）、尾長（D-e）は50～100 μm （多くは60～80 μm ）である。
- 7) 尾端透明部（D-d）は3.6～23.0 μm （平均6～10 μm ）である。
- 8) 幻器は尾の前部に位置する（D-c）。
- 9) 側線（側帯溝）は4本（D-b, J）。側帯の中央の帯は顕著に幅が狭くならない（J）。
- 10) a値=17-36, b値=4.7-9.3, b' 値= 3.2-5.2, c値=6.8-13, c' 値=2.4-6.3※2

②雄成虫

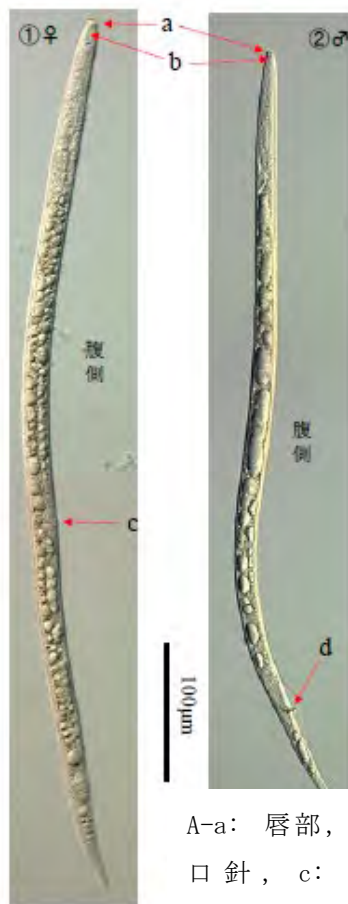
- 1) 体長は0.5～0.7 mmで、糸状である（A）。
- 2) 唇部は高く突き出し、ドアのノブ状であり、明瞭なくびれがある（E-b, G-a）。唇部骨格は発達しない（E-b, G-a）。
- 3) 口針は細く、口針節球は微小で、長さは10.2～17 μm （平均11～13） μm である（E-d, G-b）。中部食道球や食道腺は退化して不明瞭である（G-c, e）。

- 4) 側線（側帯溝）は4本（D-b, J）。
- 5) 尾長は52.0～86.3 μm （平均70～80） μm で（If）、尾端透明部長は2.5～13.5 μm である（I-e）。
- 6) 交接刺は長さ15.3～24 μm で、先端は鋭く尖る（I-b, K-a）。交接のう（尾翼）（I-a, I-③）及び副刺（I-d, K-b）がある。
- 7) 精巣内の精子はひも状※1（H）。
- 8) a値=25.3-48.6, b値=5.5-10.3, b' 値= 3.7-6.8, c値=7.2-10.8, c' 値=3.9-8.5※2

※1. 見慣れない場合、粒子状に見えるので要注意。

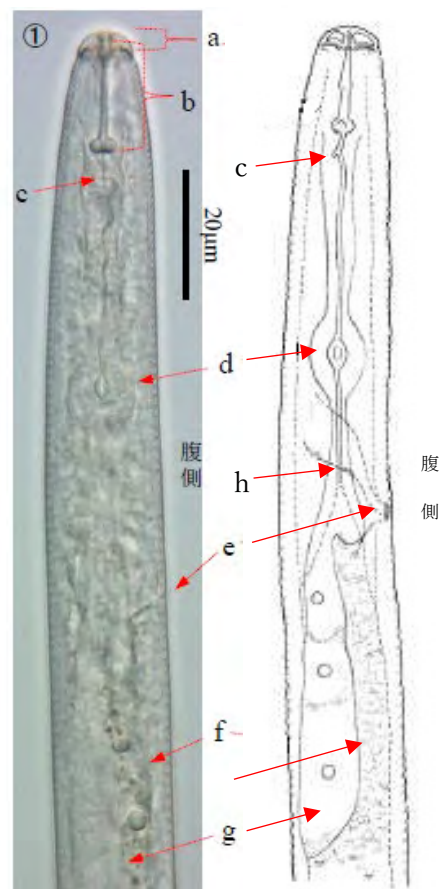
※2. a値：体長÷最大体幅、b値：体長÷食道長（頭端から食道と腸の接合部分（図B-h）までの長さ）、b' 値：体長÷頭端から食道延長部分の端までの長さ、c値：体長÷尾長（肛門又は総排出腔から尾端までの長さ）、c' 値：尾長÷肛門又は総排出腔部分の体幅

A. 成虫全体（左：雌成虫、右：雄成虫）



A-a: 唇部, b: 口針, c: 陰門, d: 総排出腔

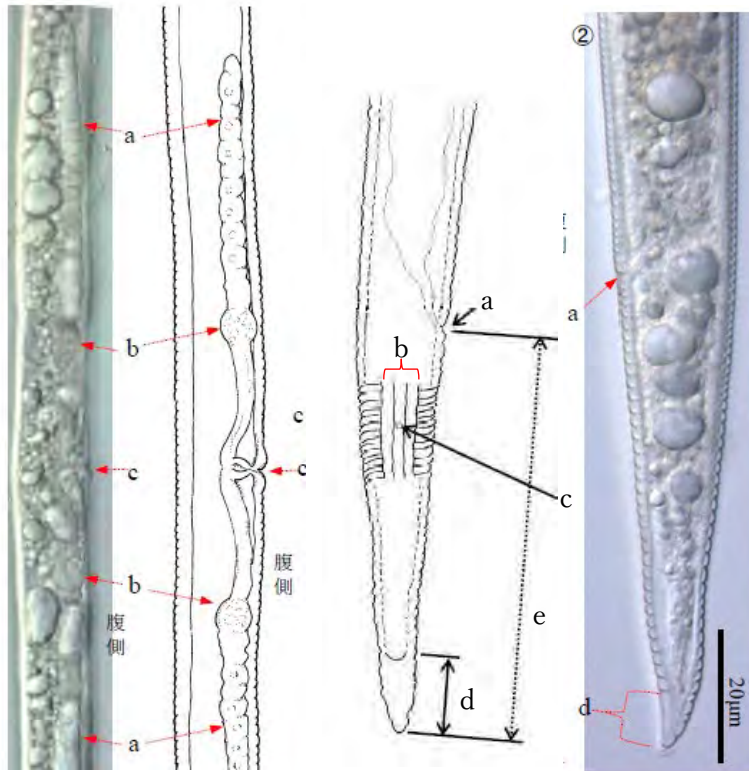
B. 雌成虫体前部



B-a: 唇部, b: 口針, c: 背部食道腺開口部, d: 中部食道球, e: 排泄口, f: 腸, g: 食道腺, h: 食道と腸の接合部分

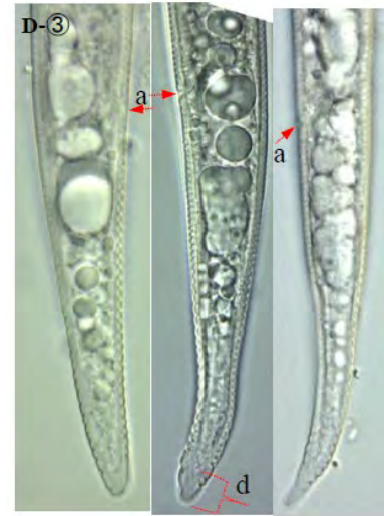
C. 雌成虫生殖器

D. 雌成虫尾部

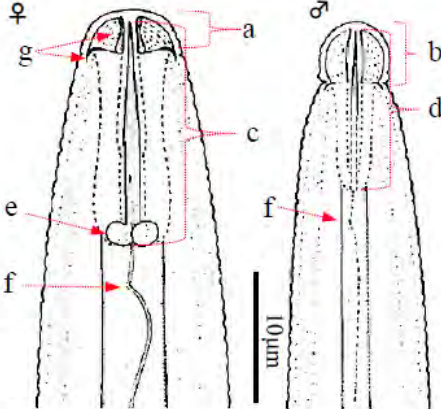


C-a: 卵巣, b: 受精のう, c: 陰門

D-a: 肛門, b: 側線, c: 幻器, d: 尾端透明部, e: 尾 (長)

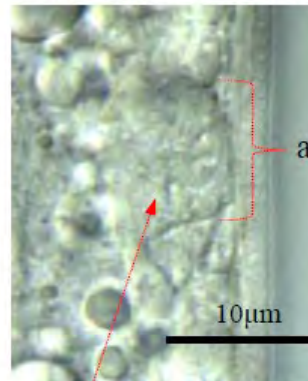


E. 雌雄成虫頭部



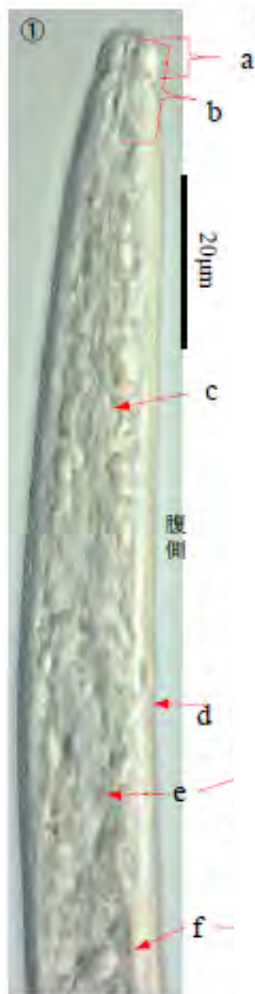
E-a, b: 唇部, c, d: 口針, e: 口針節球
f: 背部食道腺開口部, g: 唇部骨格

F. 受精のう (♀)



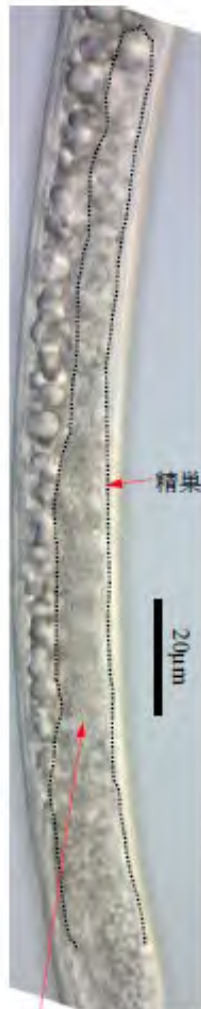
F-a: 受精のう
※ひも状の精子を保持する

G. 雄成虫体前部



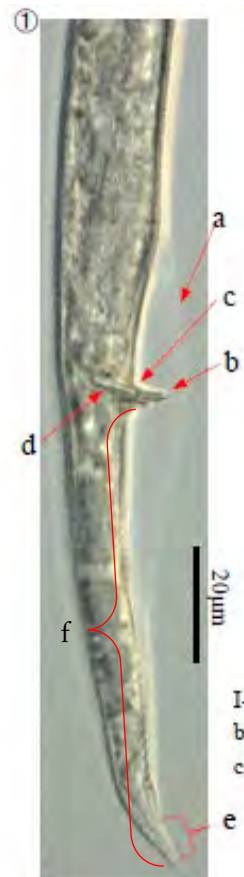
G-a: 唇部, b: 口針, c: 中部食道球,
d: 排泄口, e: 食道腺, f: 腸

H. 精巢 (♂)



※精巣内の精子
はひも状

I. 雄成虫尾部



I-a: 交接のう(尾翼),
b: 交接刺,
c: 総排出腔

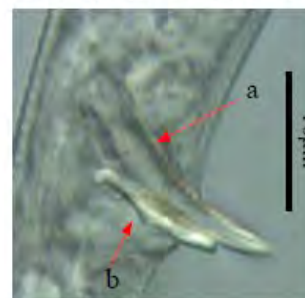
I-d: 副刺(導体),
e: 尾端透明部
f: 尾(長)



J. 側線 (♀)



K. 交接刺及び副刺 (♂)



図K-a: 交接刺、b: 副刺

(図A—K: 植物防疫所原図)

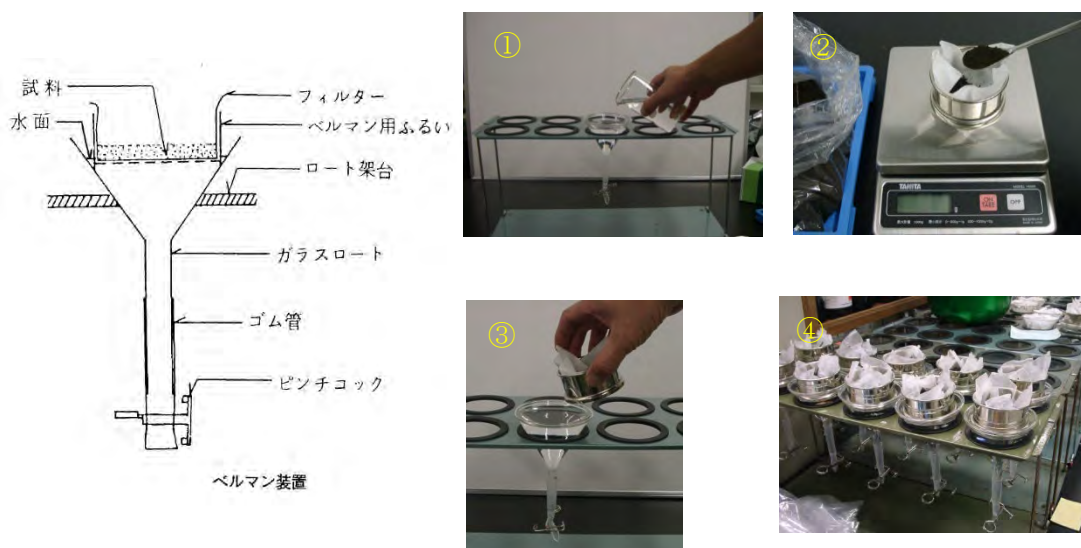
2) センチュウの分離法

採取した根等の植物体は小片に細断のうえ、ベルマン法又はミキサー・ふるい分け法で分離する。土壌についてはベルマン法又は篩い分け法で分離する。

より簡易的な検出方法としては、植物体を1～2 cmに細断し、シャーレに入れて水に浸す。これを20～25℃で72時間静置することで試料中のセンチュウが遊出する。

ア) ベルマン法

ベルマン法は簡便な方法であるため、最も広く利用されている分離法である。センチュウ自身の活動性及び重力を利用して、水に浸した土壌等のサンプルからセンチュウを分離する方法である。



手順

- ① 直径9～15 cm程のロートの端にゴム管をつないでピンチコックで止め、ロート架台にセットし、ロートに水を満たす。
- ② 実験用ティッシュペーパーをベルマン用ふるいに敷き、その中に混合した土壌などの試料(土壌の場合は1反復当たり20gまで)ずつ入れる。
- ③ ベルマン用ふるいの底に気泡ができないように注意しながら、ロートの中に置く。
- ④ 試料中のセンチュウが徐々に遊出し、フィルターの目を通り抜けてロートの管の底まで沈降する。24～48時間静置した後、ベルマン用ふるいを取り外し、ロートの管の部分の水を残して、その他の水を捨てる。

なお、静置中は乾燥を防ぐため上側をラップ等で覆い、ベルマン用ふるいの下部が常に浸るよう、不足した水は適宜補給する。

- ⑤ ピンチコックを開いてシラキース時計皿にセンチュウを集め、実体顕微鏡下で検鏡する。

イ) (2) ミキサー・ふるい分け・ベルマン法

家庭用ミキサーを用いて根を砕き、網目の大きさの違うふるい（目開き 1 ～ 2 mm、目開き 25 μ m）を使用するかベルマン法を用いて根から線虫を分離する方法である。ベルマン法は線虫自身の活動性及び重力を利用して線虫を分離する方法であるが、ミキサーによる破碎作業を追加すると根内部に侵入した線虫の分離に有効である。以下にその手順を示す。

手順

- ① 植物体をよく水洗し、ハサミ等で 1 cm ぐらいの小片に切断した後、2 ～ 3 g をミキサーに入れ、植物体が浸る程度の水を加えて低速で 10 秒間植物体を破碎する。
- ② 目開き 1 ～ 2 mm のふるい、又はベルマン用ふるいに実験用ティッシュペーパーを敷き、破碎物をこしとり、ろ液は捨てる。ミキサー内に残さが残らないよう洗淨瓶ですべて洗い出す。
- ③ ベルマン用ふるいを用いた場合は、そのままベルマン法により線虫を回収する（前頁「ベルマン法」の手順③から始める）。
ふるいを用いる場合には、ふるいが収まる大きさのボールに水を張り、目開き 1 ～ 2 mm のふるいをセットする。水位は破碎物が浸る高さに調整する。
- ④ 水の蒸発を防ぐためラップ等でふるいを覆い、24 ～ 48 時間静置する。
- ⑤ ふるいを使用した場合、静置が終了したらボールの水を 25 μ m の目のふるいに注ぐ。ふるいに線虫が回収されるので、洗淨瓶でビーカーに洗い落とす。ベルマン装置を利用した場合はピンチコックを開いてシラキューズ時計皿に線虫を集める。

3) センチュウの標本作製

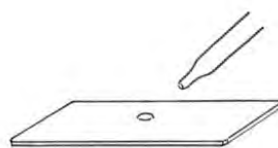
分離されたセンチュウをすぐに観察するには、水封入による一時プレパラートを作製することとなる。一時プレパラートは、カバーガラスの周りをマニキュア等でシールしても水分が蒸発するため、観察が可能な期間は一日程度である。

準備：透過可能な実体顕微鏡、スライドガラス、カバーガラス、水、ピンセット、柄付き針（先端を曲げたもの）、ガラス繊維、ろ紙片、マニキュアなどを準備する。

手順

- ① スライドガラスの上にスポイトで水を一滴置き、実体顕微鏡の傍に置いておく。

（水滴の径が3～4 mm 程度になるのが目安。しかし、水の広がり具合で量は違うので、ちょうど良い水の量を置くには練習が必要。）



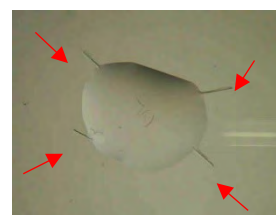
- ② 実体顕微鏡で透過照明（下からの光）を当てながらシラキウス時計皿のセンチュウを観察する。以下の点に注意しながら、生物顕微鏡で観察すべきセンチュウを見つける。

a) 口針の有無（口腔の形態）、b) 雌雄の確認 c) 食道部、d) 生殖器官（陰門の位置）等を観察する。（雌成虫での同定が主体となる）



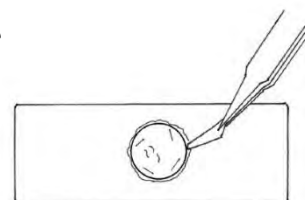
- ③ 上記②で見つけたセンチュウを、柄付き針で釣り上げ、スライドガラスの上に置いた水滴の中に沈める。

- ④ 水滴の周りにガラス繊維を4本程度置く（右写真）。

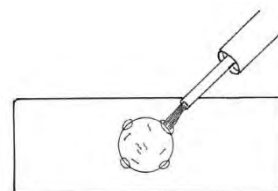


矢印はガラス繊維

- ⑤ カバーガラスを静かに被せる。カバーガラスから水が余分にはみ出すような場合は、ろ紙片で水を吸い取る。（このときセンチュウも一緒に吸い取られることがあるので、センチュウの位置を確かめ、センチュウから遠い位置で水を吸い取る。）



- ⑥ カバーガラスの周りをマニキュアでシールする。
まず4点にマニキュアを置き(右図)、固まってから
周囲に塗ると、カバーガラスがずれない。



- ⑦ ホットプレート(約70℃)上に数秒置き、熱殺して動きを止める。
ライターで炙るとセンチュウの内部構造が変形したり、体が破裂するの
で、ライターは使わない。

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 採取した試料(植物体及び土壌)を送付する場合、散逸しないように厳重に
梱包し、試料採取票(別記様式)を添付し、夏季の場合は保冷剤を入れて低温
に保った保冷箱等に収容して冷蔵のまま送付する。

また、植物体は、採取時の水分含量を極力、減少させないように、地下部に
土壌が付着している場合は土壌を落とさずそのままポリエチレン袋に入れる。

土壌のみを送付する場合は、表面が軽く乾いていて、手で握っても手が濡れ
ず、土壌が固まらない程度の含水状態が望ましい。余裕があれば、霧吹き等
による加湿や、室温風乾により水分含量を調節する。

- 2) ベルマン法等で分離したセンチュウを送付する場合、分離後2、3日中に送
付先で検鏡・同定ができるようにする。分離したセンチュウ懸濁液を容量3～
5ml程度のパッキング付きの硬質ガラス製ねじ口管瓶に入れて送付する。ただ
し、夏季の高温時には、新鮮な状態を保つために保冷容器等を使用することが
望ましい。

なお、ラベルは管瓶内に入れず、管瓶の表面に貼付するか、管瓶に整理番号を付し
て別紙一覧用を添付する。

エ 被害写真等

- 1) 寄主植物における症状
ア) トマト



図1. バナナネモグリセンチュウ
1,000頭接種2か月後のトマト
の根の状況。CK:線虫無接種;
WT:線虫接種

【引用文献】

Ke Wang, Yu Li, Xin Huang, Dong-Wei Wang, Chun-Ling Xu, Hui Xie (2016)
The cathepsin S cysteine proteinase of the burrowing nematode
Radopholus similis is essential for the reproduction and invasion
Cell Biosci. 2016 Jun 10;6:39. doi: 10.1186/s13578-016-0107-5.
eCollection 2016.

イ) サトイモ

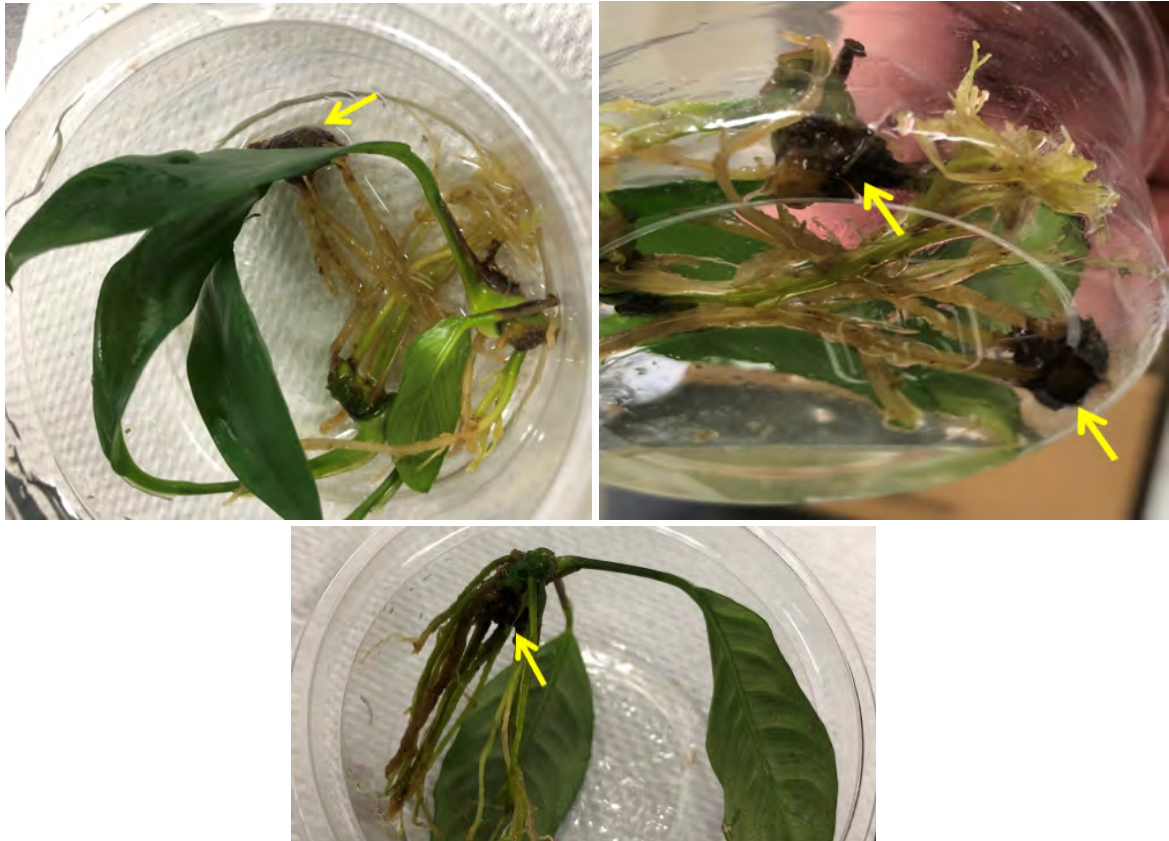


図2. サトイモ

Radopholus similis による被害（黄色矢印、根系中の
褐色根、褐色塊茎）（防除指針委託事業成果）

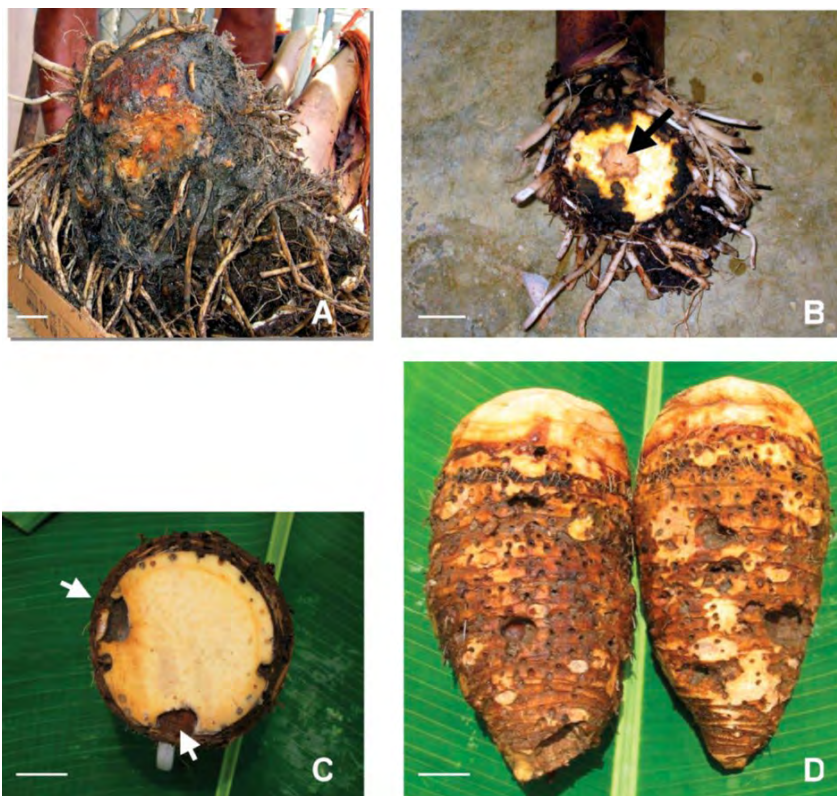


図3. *Radopholus similis* の寄生を受けたタロイモの1種 *Cyrtosperma merkusii*.
 A: 9年生の球茎、褐色に壊死した組織の腐敗部；B: 表層を斜めに切断した2年生の球茎、内部に黒褐色の壊死部；C: 半分に切断した8年生の球茎、組織が壊死、空洞化し、症状が内部に向かって進行する；D: 全体に寄生した球茎、表面に点刻のような穴が見られる。

【引用文献】

Murukesan, V. K., E. van Den Berg, L. R. Tiedt, P. C. Josekutty and D. de Waele (2005) Corm rot of giant swamp taro (*Cyrtosperma merkusii*) caused by the burrowing nematode *Radopholus similis* (Nematoda: Pratylenchidae) in the Pacific. *Nematology*, 7(4), 631-636

ウ) ショウガ ※転載の許諾が得られなかったことから URL 等を示す。

J. A. Cobon, A. B. Pattison, L. D. J. Penrose, K. A. Chandra, W. T. O' Neill and M. K. Smith (2019). Comparison of the reproduction and pathogenicity of isolates of *Radopholus similis* (burrowing nematode) from Australia and Fiji on ginger (*Zingiber officinale*) and banana (*Musa* spp.) Australasian Plant Pathology 48:529-539. <https://doi.org/10.1007/s13313-019-00656-w>

エ) カンキツ

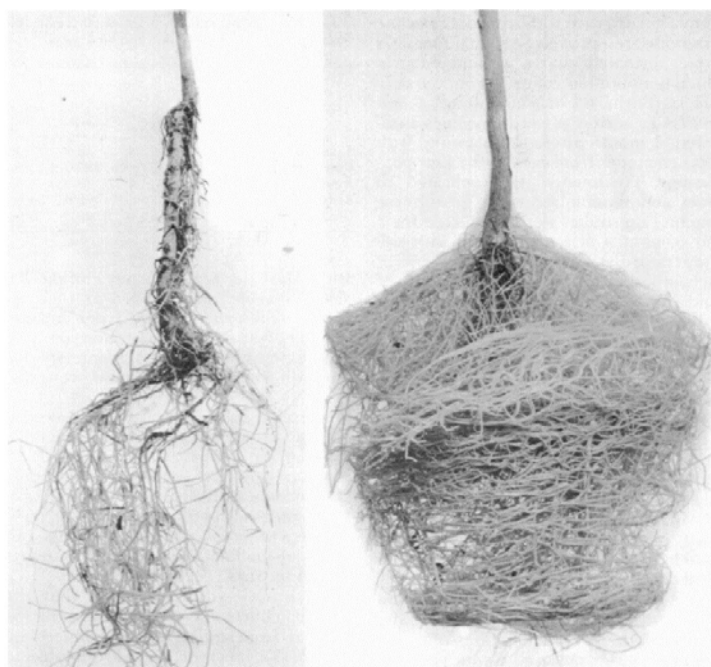


図4. *Radopholus citrophilus* 接種後5カ月のダイダイ *Citrus aurantium* の根系
左：フロリダ産 *R. citrophilus* 接種；右：オアフ産アンスリュームから分離された *R. citrophilus* 接種

【引用文献】 Huettel R. N., D. T. Kaplan and D. W. Dickson (1986)

Characterization of a New Burrowing Nematode Population, *Radopholus citrophilus*, from Hawaii. Journal of Nematology 18(1):50-54.

PMCID: PMC2618493



(その他写真) ※転載の許諾が得られなかったことからURL等を示す。

・カンキツの拡大性衰弱症状の写真

Sekora N. and Crow W. (2012). “Burrowing Nematode *Radopholus Similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 (Nematoda: Secernentea: Tylenchida: Pratylenchidae: Pratylenchinae)” . EDIS 2012 (11).
<https://journals.flvc.org/edis/article/view/120297>.

オ) アンスリウム



図5. *Radopholus similis* による被害根（黄色矢印、根系下部の褐色根）
（防除指針委託事業成果、龍谷大学岩堀教授写真提供）

（その他写真）※転載の許諾が得られなかったことからURL等を示す。

Uchida J.Y, Sipes B.S. and Kadooka C.Y. (2003) Burrowing nematode on Anthurium: recognizing symptoms, understanding the pathogen, and preventing disease. College of Tropical Agriculture and Human Resources, PD-24.

カ) トウモロコシ

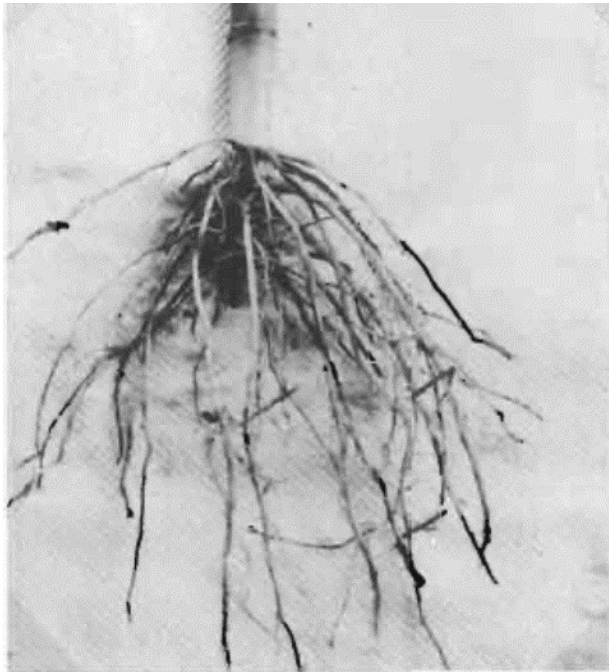


図6. *Radopholus similis* 接種 111 日後のトウモロコシの根の被害。暗褐色部が被害部

【引用文献】

Keetch D.P. (1972) Some host plants of the burrowing eel worm, *Radopholus similis* (Cobb) in Natal. *Phytophylactica* 4, 51-58.

キ) ラッカセイ



図7. *Radopholus similis* 接種 90 日後のラッカセイの根の被害。根と莢の暗褐色部が被害部

【引用文献】

Keetch D.P. (1972) Some host plants of the burrowing eel worm, *Radopholus similis* (Cobb) in Natal. *Phytophylactica* 4, 51-58.

ク) クズウコン属



図8. 右が健全株、左が被害株

【引用文献】

CABI (2021) *Radopholus similis*. In: Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK. (Online) available from <<https://www.cabdigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.46685>> (Last modified: 2021-11-16)