

《短 報》

盆栽土壌線虫の採土サンプリング数が検出精度に及ぼす影響

新井利行\*・Jerome T. Gaspard\*\*・原口雅人\*

Effect of sampling number on detection accuracy of  
soil nematode in Bonsai

Toshiyuki ARAI, Jerome T. Gaspard and Masato HARAGUCHI

埼玉県は、EU 向けの盆栽輸出量が全国 1 位であり、国内需要が縮小する中で輸出は県内の盆栽産地では重要な市場となっている。植物の輸出には厳しい検疫が実施されているが、EU 統一規則により盆栽では登録盆栽園の棚上での 2 年間の栽培と年 6 回の栽培地検査等を条件に、鉢植え状態での輸出が可能となっている(農林水産省 2009)。

しかし、近年 EU では植木の輸入検査で植物寄生性線虫が検出される事例が増加しており、特に *Xiphinema americanum* グループは植物ウィルスを伝搬するとして、発見された荷口は廃棄や返送など厳格な措置が適用される(農林水産省 2009)。

ところが、植木・盆栽類の検疫上問題となる植物寄生性線虫は国内の生産現場では栽培上影響が少ないので大きな問題となっていない。しかし、輸出時の植物防疫上の問題となったことから、植木では千葉県で組織的な調査が行われた(片瀬ら, 2009)。また、近年、千葉県と埼玉県内の植木・盆栽の植物寄生性線虫の実態調査が実施され、公表された(千葉県農林総合研究センター, 2012)。

盆栽の場合、鉢内には幹下中心部の古い土壌(芯土)と植え換え後の新しい土が共存し土性が大きく異なり、また木質化した根が充

満して土壌採取が困難であるなど、盆栽土壌内の線虫相調査の障害となっている。このため、盆栽に適した新たな採土器を用いてサンプリング法を検討したので報告する。

なお、本報告は新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業の課題 21044「植木・盆栽類の輸出促進に向けた線虫対策及び生産・輸送技術の開発(2009-2011)」による成果の一部であることを付記する。

材料および方法

モミジ盆栽「獅子頭」の赤玉土・7号鉢の10鉢を2012年1月に供試した。これらの盆栽は、チアクロプリド水和剤、TPN水和剤、DMTP乳剤、ホセチル水和剤、MEP乳剤、イミダクロプリド水和剤トリアジメホン水和剤、イソキサチオン乳剤およびシアゾファミド水和剤の散布により国内流通向けに管理されていた。

土壌線虫は鉢土の表土・周辺・中心及び底土のいずれにも存在すること(千葉県農林総合研究センター, 2012)から、すべての部位から盆栽に適し効率的に採土するため、以下の新採土器(図1A)を用いた。植物防疫所で用いている採土器(図1B)は、①先端が斜め

で底土の採取に適していない盆栽の根が切りにくい、②桶型であるため表土から底土までを垂直に採土し難い、③先端が斜めのため鉢底を確実に採土できないなどから、盆栽鉢の採土に使いづらかった。このため、新たに作成した採土器は、内径 1cm・全長 20cm のステンレス管に、①管先端にグラインダーで刃を付け、②管側面 2 カ所に 15cm 程の切れ込み（スリット）を施し、③先端の形状は管側面と直角とした。

採土方法は、上記の新採で幹周からおよそ

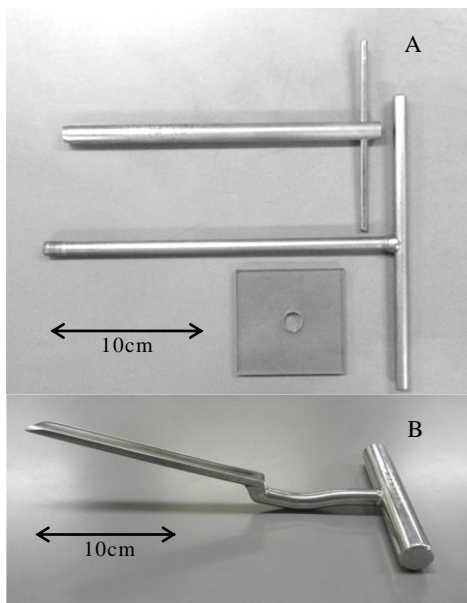


図 1

- A 作成した新採土器  
 上：採土器本体で左が先端、右は柄  
 中：採取した土壌を採土器から押し出す棒  
 下：土壌に垂直に採土器を貫入させる支持盤  
 B 植物防疫所で使用している採土器

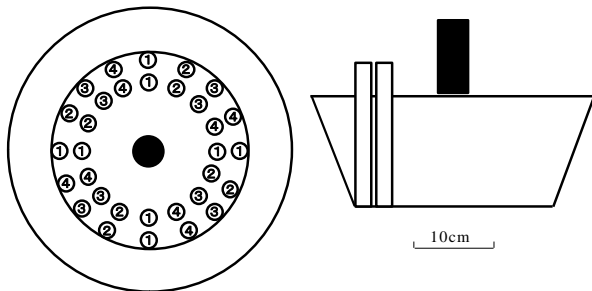


図 2 採土方法の概念図

- 外円：鉢内側周，内円：鉢底周  
 ●：幹，①～④：採土各回の貫入位置

3cm の間隔をあけて鉢土に対して垂直に鉢底まで 4 箇所を貫入し、さらに鉢底外周に垂直またはやや傾斜をつけて鉢底に達するよう（7号鉢では幹周からおよそ 5cm の間隔をあけた位置）に新採土器を貫入した。この採土方法を 4 回繰り返した（図 2）。各回で採取した土壌は全量を 10g 程度ずつに分け 2・3 本の 50ml 遠心管に計り入れた。その後、32 カ所から採取した残りの鉢土は、全量をトレイに広げ、鉢土中の主な根を取り除いた後、四分法により 100g の土壌を計量し、10g ずつ 10 本の 50ml 遠心管に計り入れた。

以降は二層遠心浮遊法（線虫学実験法編集委員会，2004）の一部を改変し実施した。いずれの遠心管にも水約 20ml を加え、ガラス棒で強く混ぜて土塊や団粒を崩した後、ガラス棒で攪拌した。さらにガラス棒でよく懸濁させ、直後に比重 1.2 のショ糖液（水：ショ糖＝100：80）約 15ml を遠心管の底に静かに注入した。2500rpm で 5 分間遠心分離した後、同鉢・同回の 2・3 本あるいは残鉢土の 10 本の遠心管の上澄液全てを、それぞれ 45 度前後に傾斜させた 390 メッシュ（38μm）のふるいに通した。水ですすいだ後、水で線虫を集め 100ml ビーカーに洗い移した。この懸濁液はダラム管を取り付けたロートに移し、約 4 時間静置して線虫を沈殿させた後、上部液を除去しダラム管に残った約 2ml をサンプルとした。サンプルはプランクトン格子枠付スライドに移し生物顕微鏡で検鏡した。なお、線虫は植物寄生性線虫のオオハリセンチュウ・ユミハリセンチュウ・ネグサレセンチュウおよびワセンチュウ、非植物寄生性線虫のラブリチス目他・ドリライムス目、チレンクス目およびアフェレンクス+アフェレンコイデセの分類区分で計数した。

新採土器により 1 回目に採取した内外各 4 カ所の土壌 100g 中の線虫数 ( $NN_{4+4}$  (頭/100g)) は、 $NN_{4+4} = SNN1 \times 100 / SSW1$  で求めた。ここで、 $SNN1$  は 1 回目の分類区分ごとの合計線虫数、 $SSW1$  は 1 回目の土壌重量 (g) である。内外各 8 カ所の土壌 100g 中の線虫数以降は、 $NN_{8+8} = \sum_1^2 SNN_n \times 100 / \sum_1^2 SSW_n$

## 新井ら：盆栽土壌線虫の採土サンプリング数と検出精度

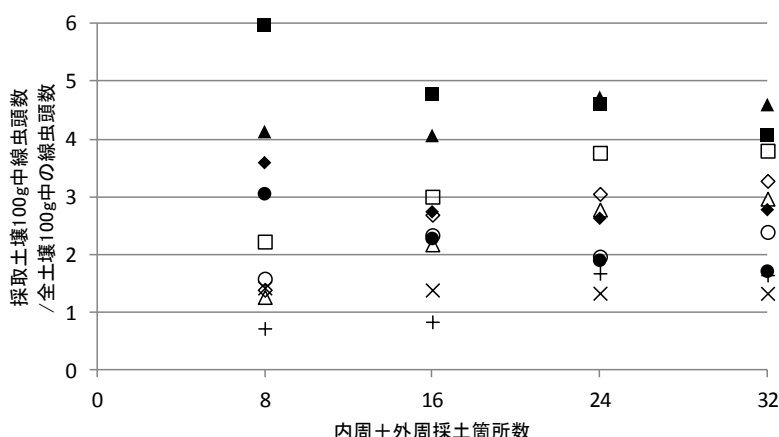


図3 採土箇所数が土壌線虫頭数精度（鉢内全土壌線虫頭数に対する各採土箇所数での土壌線虫頭数の割合）に及ぼす影響

注 グラフ内の符号は盆栽 10 鉢の各調査鉢を示す

$$NN_{12+12} = \sum_1^3 SNN_n \times 100 / \sum_1^3 SSW_n$$

$$NN_{16+16} = \sum_1^4 SNN_n \times 100 / \sum_1^4 SSW_n$$

とした。また、鉢土全体の土壌の 100g 中の線虫数 ( $NN_T$ (頭/100g)) は、

$$NN_T = (\sum_1^4 SNN_n + SNNR) \times 100 / (\sum_1^4 SSW_n + SSWR)$$

で求めた。ここで、 $SNNR$  は新採土器での採土後に残った鉢土壌分類区分ごとの合計線虫数、 $SSWR$  は  $SNNR$  での土壌の重量 (g) である。

### 結果および考察

新採土器は既存採土器より、①鉢土壌内への挿入と根の切断が容易であり、刃はグラインダー等での再研磨が容易である。②新採土器は筒状であるため、採土した土壌の脱落はほとんどなく、さらにスリットと押し出し棒で土壌の回収が容易であった。なお、新採土器および植物防疫所で用いている採土器はともに受注生産となるが、今回の購入では前者は後者の 1/2 程度の価格であった。

検出された線虫は自活性線虫のみで、植物寄生性線虫は確認できなかった。このため、新採土器による垂直貫入採土法の精度の検討は、自活性線虫のみにより、鉢土壌全量調査と新採土器による採土サンプル数での検出線虫数による。

1 回目（内外各 4 カ所）および 2 回目（同各 8 カ所）の採取では、土壌全量からの線虫検出頭数に比べ新採土器による採取の検出頭

数は 10 鉢中 9 鉢で多かった。また、3 回目（同各 12 カ所）以降の採取では、10 鉢中全てで鉢内線虫頭数より多くの検出頭数が得られたことになった（図 3）。このことから、採土による盆栽への傷害を勘案し最小限とすると、新採土器による表土から鉢底までの垂直方向の内外 4 カ所ずつの盆栽土壌を採取することが適当と考えられた。

水平方向の採取部位は、鉢の形状大きさや形状により変る。また、植物寄生性線虫の鉢土内の分布は樹種・栽培条件あるいはそれぞれの鉢で線虫種や量に差があるものの、鉢土全体で検出される。このため、表土から鉢底まで垂直に採土できる幹近くと鉢底外周部付近の部位が適当と推測する。なお、実際の採取した土壌からの植物寄生性線虫の分離には、分散剤、超音波槽および 50% ショ糖液を使用し（片瀬雅彦ら, 2009）、500 メッシュ (25 $\mu$ m) ふるい（線虫学実験法編集委員会, 2004）を用いる必要がある。

### 引用文献

千葉県農林総合研究センター(2012)：植木盆栽類の輸出マニュアル。pp.18, 千葉県, 千葉。

片瀬雅彦・柴田忠裕・Jerome T. Gaspard・水久保隆之(2009)：千葉県の植木に寄生する土壌線虫の種類。日本線虫学会誌 39(1),

埼玉農総研研報(12)43-46, 2013

45-47.

農林水産省(2009)：盆栽・植木の輸出検疫の  
現状．植物防疫所病害虫情報 88, 1-2.

線虫学実験法編集委員会(2004)：線虫学実験  
法．88-90, 日本線虫学会, 茨城