

## A Report on the Investigation into Control Methods for Potato Cyst Nematodes in European Countries

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-09-08 キーワード (Ja): キーワード (En): potato cyst nematode, Globodera pallida, control method, resistant variety, soil testing 作成者: 浅野, 賢治, 串田, 篤彦, 奈良部, 孝 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24514/00000121">https://doi.org/10.24514/00000121</a>

## ジャガイモシロシストセンチュウ対策に係る海外先進地事例調査報告

浅野賢治<sup>1)</sup>・串田篤彦<sup>2)</sup>・奈良部孝<sup>2)</sup>

### 摘要

2015年8月に北海道内の一部の圃場において、国内未発生だったジャガイモシロシストセンチュウ *Globodera pallida* が初めて確認され、その蔓延防止および根絶対策を早急に実施することが求められた。しかし、国内では本線虫に対する研究蓄積が少なく、その対策は極めて困難であることが予想された。そこで本線虫に関する研究、防除対策、抵抗性品種育成等において先進的な知識や技術の蓄積があるヨーロッパの研究機関等（5機関）を訪問し、情報収集を行った。

今回訪問した3カ国（オランダ、フランス、スコットランド）とも防除対策に対する基本的な考えに大きな違いはなく、現在日本でも実施しているジャガイモシロシストセンチュウ *G. rostochiensis* に対するものと同様の対策が取られていた。具体的には、土壤検診によるリスクの把握、適切な輪作体系の維持、化学農薬による密度低減、抵抗性品種の作付け、捕獲植物の利用である。また、検査を受けた正規の種イモ利用の徹底、野良ばえの除去、耕作機械や運搬車両の洗浄などの侵入・分散防止対策も重要である。しかしながら土壤検診の実施体制や防除プログラムの実施義務化などの制度面などにおいては日本とは異なる点が認められた。

土壤検診は、訪問した3カ国とも2007年のEU指令に準じた方法により、公的機関によって実施されていたが、その手法は日本よりも遙かに洗練され、特にSASAでは半自動シスト分離装置（carousel）やPCRなどを駆使し、多検体を効率的に検査できるよう工夫されていた。また、検診でシストセンチュウが発見された場合には、防除計画の策定・実施が求められるが、一定の要件を満たすことにより発生圃場の指定が解除されるderecordingの制度が設けられていた。日本においてはまず既存の検診システムに応用できるシストの種判定法を早急に開発することが必要とされているが、将来的には多検体を効率的に調査できるシステムの導入が極めて重要と考えられた。

抵抗性品種の育成については、各国とも抵抗性遺伝子を集積することによってより強い抵抗性を付与することを基本としており、2~3の抵抗性遺伝子を主に利用していた。また、抵抗性の打破を防ぐために多様な抵抗性遺伝子を利用することも重要である。抵抗性の検定は、ヨーロッパの標準法が定められていたが、育種選抜には効率化のために各育種機関で独自の簡易検定法が開発され、用いられていた。日本でも独自の抵抗性の選抜及び評価方法を開発する必要があると考えられた。

**キーワード：**ジャガイモシロシストセンチュウ、防除対策、抵抗性品種、検診手法

### I. 緒言

2015年8月に北海道網走市の一部圃場において、それまで国内未発生だったジャガイモシロシストセンチュウ *Globodera pallida*（以下本種またはGp, 第1図）が初めて確認された（Narabuら, 2016）。本種は、バレイショ、トマト、ナスを主要寄主とし、こ

れらの根に侵入、寄生し、根の発達や養水分吸収を阻害することにより、重大な減収被害を引き起こす。また本種は、耐久性のある「シスト」を形成し、土壤中で長期間にわたって生存できるため、農薬や輪作による防除効果を得られにくい。本種に対する抵抗性は量的遺伝をするために抵抗性品種育成も難しいとされる。このため日本では、主要各国同様に本種を植物防疫法に定める検疫有害動植物に指定し、その侵入・発生に対して最大限の警戒を

平成29年5月30日 原稿受理

1) 北海道農業研究センター畑作物開発利用研究領域

2) 北海道農業研究センター生産環境研究領域

1



2



第1図 ジャガイモシロシストセンチュウのシスト

1. シスト(茶褐色)。白色は雌成虫のステージのもの。
2. 根に寄生するジャガイモシロシストセンチュウ(雌成虫)。

行ってきた。

本種発生に伴い、今後、国内のバレイショ生産に対して甚大な被害が及ぶことが予想されたことから、本種の蔓延を防止し、根絶させるための対策実施が求められている。しかしながら、国内では本種に関する研究蓄積がほとんどなく、研究の推進には多大な困難が予想された。特に、今回の発生地はジャガイモシロシストセンチュウ *G. rostochiensis* (以下, Gr) の発生地と重なることから、両種を識別しつつGpを高感度に検出する検診システムが必要とされるが、国内ではその技術は確立されていない。また抵抗性品種は、本種に対する最も重要な防除手段として位置づけられるが、導入すべき遺伝子が複数であるうえ、抵抗性を量的に評価する必要があるため、これまでのGrに対する抵抗性品種育成とは異なる手法を要することが予想された。そこでGpに関する研究、防除対策、抵抗性品種育成等において先進的な知識や技術の蓄積があるヨーロッパの研究機関等を訪問し、情報収集を行うこととし、2015年11月下旬から12月初旬にかけて下記5機関を訪問した。

訪問先は、世界的なバレイショの育種、種苗販売企業であるオランダのHZPC社とフランスのGermicopa社、そして病害虫の検診、種苗認証・供給を担うオランダのNAK (Nederlandse Algemene Keuringsdienst, Dutch General Inspection service for Agricultural Seeds and Seed Potatoes : オランダ農作物種子及び種子バレイショ検査協会) およびスコットランドのSASA (Science

and Advice for Scottish Agriculture : スコットランド農業支援機構), そして農業研究、とりわけ線虫研究では世界をリードしているスコットランドのJames Hutton Institute (JHI) であり、以下の項目を中心に調査を行った。

◆主要な調査項目

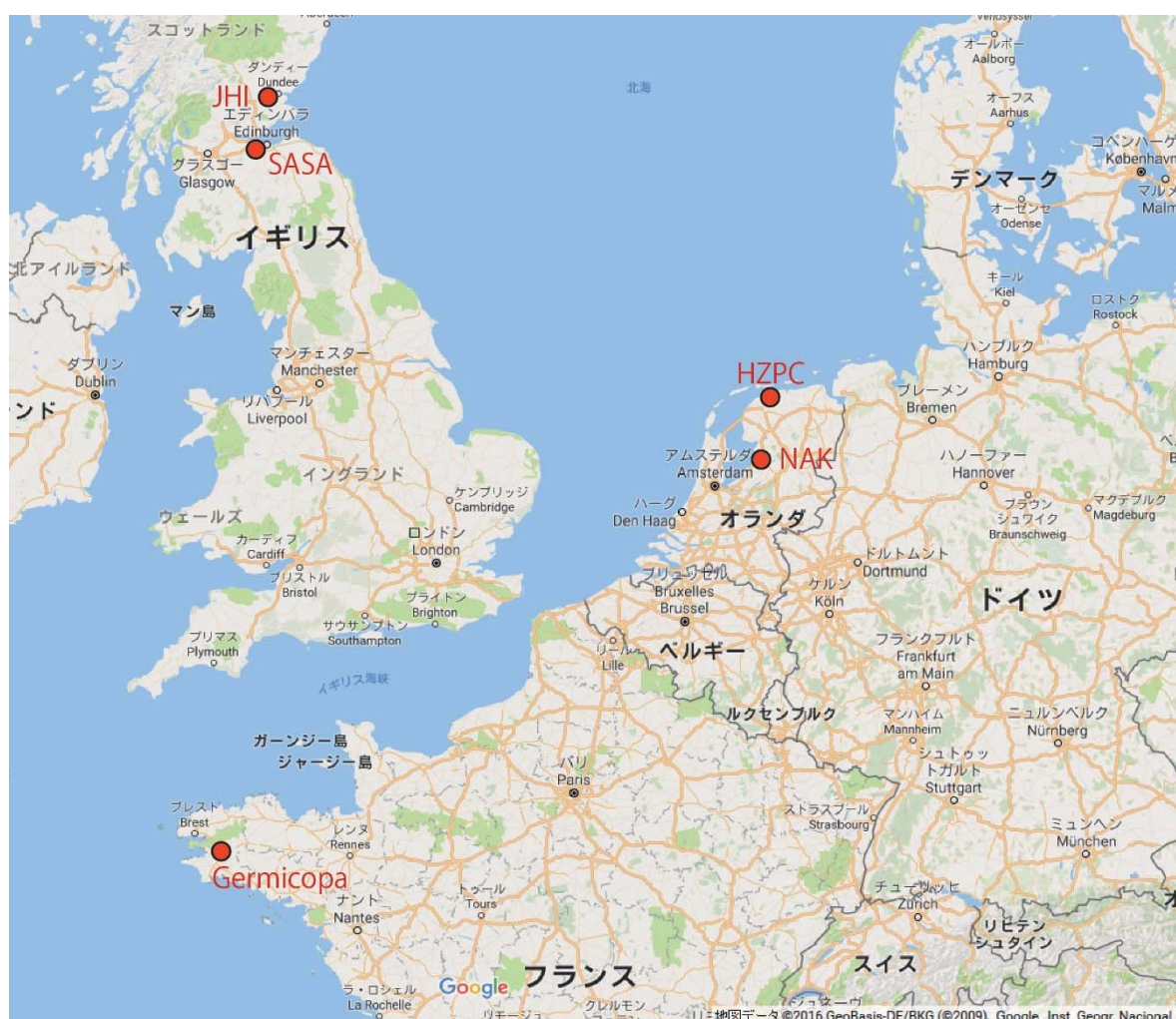
- ・各地におけるGpおよびそのパソタイプの発生事情と近年の分布
- ・防除対策およびその効果、蔓延防止対策
- ・検診手法
- ・抵抗性品種育種に関する基本的考え方および育成方法
- ・有用な抵抗性遺伝資源および抵抗性遺伝子
- ・抵抗性に関わるDNAマーカーの開発事情
- ・抵抗性の評価方法

HZPC, Germicopa, JHIでは日本のGp研究に関する現状を説明したのち、各機関における品種育成や防除に対する取り組みについて説明を受け、意見交換を行った。NAKおよびSASAでは、地域におけるGpの発生および分布状況、検診手法などについて説明を受けた後、検診施設等を見学し調査を行った。調査日程を第1表に、訪問先の位置概要を第2図に示した。

以下に調査結果をまとめ、今後、国内で必要と考えられる対策や技術開発、育種の方向性等について考察する。

第1表 調査日程

年月日	業務内容
2015年11月28日（土）	移動（道内～東京～パリ）
2015年11月29日（日）	移動（パリ～アムステルダム～ドックム）
2015年11月30日（月）	HZPC（午前）， NAK（午後）訪問
2015年12月1日（火）	移動（エメロールト～アムステルダム～パリ～ブレスト）
2015年12月2日（水）	Germicopa訪問 移動（シャトヌフ＝デュ＝ファー～ブレスト～パリ）
2015年12月3日（木）	移動（パリ～エジンバラ） SASA訪問
2015年12月4日（金）	James Hutton Institute訪問
2015年12月5-6日（土-日）	移動（エジンバラ～パリ～東京～道内）



第2図 訪問先位置概要

赤丸が各訪問先の位置を示す。

## II. 調査概要

### 1. HZPC Research & Development (第3図)

所在：Roptawei 4, 9123 JB Metslawier, The Netherlands（アムステルダムの北東約140kmのメトスラウィール市内に立地）

組織概要：HZPCは世界各国に10以上の支社を持ち、バレイシヨの品種開発と種イモの生産販売を手掛ける世界最大手のバレイシヨ種苗会社である。オランダでの種イモ圃場は40,000haあり、その内の11,800haでHZPCの種イモ生産が行われ

1



2



第3図 HZPC Research &amp; Development

1. HZPC Research & Developmentの外観。
2. 日本のバレイショおよびPCN に関する現状，研究内容の紹介を行った。

ており，80品種を450の生産者が生産している。世界中では800の生産者が400,000tの種イモを生産しており，これらの種イモはヨーロッパ，アフリカ北部，中東を中心に輸出されている。

応対者：Robert Graveland氏 (R & D Director)，Klaas Pieter Zuideveld氏 (project manager production and logistics)，Ing. Wichard Sanders氏 (potato breeder)

## 1) HZPCでの育種について

### (1) 育種の概要

品種育成は120haの圃場で行われており，育成までに約10年かかっている。この内，最初の7年はオランダ国内の圃場で評価選抜が行われ，その後気象条件の異なる10地帯にある32の試験圃場での評価を経て品種となる。育成している品種のうち7割がチップ及びフライ用の加工用品種である。HZPCでは実生選抜の半数程度をDNAマーカーによって選抜を行っており，選抜後の実生移植数は約140,000個体（第2表）で育種規模は日本よりも格段に大きい。1.6haの温室では，ミニチューバーの生産や実生選抜のほか，冬期には野生種利用のための2倍体レベルでの選抜も実施している（第4-1図）。

DNAマーカー選抜については，ジャガイモシストセンチュウ（以下PCN，Potato Cyst Nematodeの略。GrとGp両種を含む総称）抵抗性，疫病抵抗性，品質，収量性，早晩性などを対象に86のマーカーを用いているが，これらのマーカーの多くは論文等で公開されている情報を元に自社で改良したものや自社で新たに開発したマーカーであり，一般

には公開されていない。かなり多くの形質についてマーカー選抜を実施しており，1つの形質に対して複数のマーカーを用いている場合もあるとのことだった。実生選抜段階でマーカー選抜を実施するかどうかは交配組合せによるが，Gp抵抗性に対しては実生段階でマーカー選抜を行っており（第2表），特に複数の抵抗性遺伝子を組み合わせる際には，マーカー選抜が必須の手段となっている。マーカー選抜は，DNA抽出は96ウェルプレートでの自動抽出機（KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processors）4台で行い，PCRは1,536ウェルへの分注を40秒以内に行える高速自動分注機（Meridian，LGC）と14枚分の384ウェルプレートの反応が一度に行えるHydrocyclor（LGC）を用いて行っていた。検出についてはLight Scannerで一塩基多型を検出しており，本機器を用いることで遺伝子のdosage（遺伝子量，同一の抵抗性遺伝子をいくつ持っているか）も検定していた（第5図）。DNA自動抽出機は低収量であれば10分，高収量であっても30分で完了するもので，現在の4台からさらに増やしていきたいとのことであった。サンプルの管理はバーコードで行われており，体系的かつ大規模にマーカー選抜が実施されていた。

調理検定については見学時にはチップ検定が実施されていたが，加工の手順は農研機構北海道農業研究センター（北農研）と同様であった。しかし，その評価については目視評価ではなくカメラシステムを用いた評価が行われていた。この他，調理した塊茎の揮発物をGC-MSを用いて分析し，食味と関連のある化合物などを同定し，分析結果を選抜に利用し

第2表 各育種機関の育種規模とGp抵抗性選抜の時期

年数	試験名	北農研	Germicopa	JHI	HZPC
1年目	交配	200組合せ 15万粒			
	↓				
2年目	実生選抜	20,000	60,000	30,000 Gp選抜 (カップ 2反復)	140,000 Gp選抜(マーカー)
	↓				
3年目	個体選抜	15,000	35,000		
	↓				
4年目	系統選抜	3,000	2,000	Gp選抜 (カップ 4反復)	
	↓				
5年目	生産力検定予備	300	700	100	
	↓				
6年目	生産力検定及び特性検定 疫病・そうか病検定など	50	350 Gr・Gp選抜 (カップ 4-10反復)		Gp選抜(カップ)
	↓				
7年目	同上及び適応性試験	10	100		
	↓				
8年目	繰り返し	2~3	25		
	↓				
		道内5試験場+ 7現地圃場			世界各地の試験圃場 (10以上の異なる気象 条件下の 32圃場)で評価
9年目	繰り返し	2~3	10		
	↓				
10年目	繰り返し	2~3			
	↓				
11年目	品種登録	1			

育種規模については調査できた数字のみ記載。

1



2



第4図 HZPCおよびJHIでの野生種利用

1. HZPCの温室内での世代促進。野生種を利用する際には冬期にも温室で世代促進を行い2倍体での選抜も実施している。
2. JHIでは80種1,500アクセシオンからなるCPCコレクションを保存しており、それらを利用した育種も進めている。

ていた。

#### (2) Gp抵抗性品種の育成について

Gpに対する抵抗性はGrに対する抵抗性とは異なり、1つで実用的な抵抗性を付与できる抵抗性遺伝子は報告されておらず、複数の抵抗性遺伝子を集積

させる必要があるため、育種が困難である。HZPCでは主に3つの抵抗性遺伝子を利用しており、その内2つは*Solanum vernei*に由来するGpa5とGpa6であった。もう一つについては確認できなかったが、*S. tuberosum* L. ssp. *andigena*に由来するGpaIV<sup>s</sup><sub>adg</sub>と



第5図 HZPCでのDNAマーカー選抜

1. DNA自動抽出機。4台を使用しDNAを抽出している。
2. 高速自動分注機。40秒で1,536ウェルに1 $\mu$ lの溶液を分注できる。
3. 384ウェルプレート14枚分のPCR反応を一回で行えるHydrocycler。
4. PCR反応後のサンプルを解析するLight Scanner。遺伝子量の判定も可能な定量性を持つ。

推測された。いずれの遺伝子もマーカー選抜を実施しているとのことであり、複数の抵抗性遺伝子を集積することによって、より強い抵抗性を付与することができるため、2つ以上の抵抗性遺伝子を組み合わせて利用している。抵抗性の選抜は、実生選抜段階でDNAマーカーにより複数の抵抗性遺伝子を併せ持つものを選抜し、生産力検定試験の1年目（交配を1年目とすると6年目）に接種検定（カップ検定）を実施していた（第2表）。通常の育種選抜はカップ検定による評価が可能であるが、マーカー開発や品種の特性評価等、正確な定量的データが必要な場合にはポットでの検定を別に実施しているとの

ことであった。また、遺伝子の量的効果（同じ抵抗性遺伝子を複数持つ場合に抵抗性が強くなる効果）が存在するかについては不明とのことであった。また、*Gpa6*は劣悪形質である「調理後黒変」と遺伝的に連鎖しており、その連鎖を切るのは難しいとのことであった。さらには、抵抗性の遺伝資源として野生種を利用しているため、「目が深い」など野生種由来の多くの劣悪形質を除くことが難しく、でん粉原料用の育成は進んでいるが、生食、加工用の育成はまだあまり進んでいないとのことであった。1999年にHZPCで育成された生食・加工用品種の「Innovator」は、*Gpa5*と*Gpa6*を持っており、Gpに

対して強い抵抗性を持っている（抵抗性レベル7）だけでなく、「調理後黒変」との連鎖も切れており調理加工適性も優れているため近年普及が進んでいるが、本品種の育成には、抵抗性の起源である*S. vernei*との交配から7世代50年がかかったとのことであった。オランダでは育種素材を育成するための様々な基金（Foundation, 帯広畜産大学の寄付講座のようなものと推測される）が設立されており、そこで育成された素材を元に多くのGp抵抗性品種が育成されていた（第3表）。これらの育種素材は大学等の基金のメンバーが保有しており、試料提供契約を交わせば使用できる可能性があるとのことであった。

育成品種についてはPCNに対する抵抗性(resistance)のほか、耐性 (tolerance) も評価されていた。抵抗性品種はシストが形成されない、または形成数が少ないため、PCNの増殖を抑制し、密度を減少させるが、耐性品種は寄生を受けても減収被害を受けにくいものであり、感受性品種の中にも耐性が高い品

種が存在する。抵抗性の評価はEPP0（ヨーロッパおよび地中海地域植物防疫機関）の定める方法（以下標準法）に基づき行われており、標準品種と比較してシストがどの程度増減するかによって1~9（弱~強）の9段階に分類されている（第4, 5表, EPP0, 2006）。耐性はポット試験においてPCNの接種の有無による収量差や、PCN汚染圃場において殺線虫剤の処理区と無処理区での収量差に基づき評価されていた。

オランダ国内ではGr, Gpとも全ての寄生型(Ro1~5, Pa1~3)の発生が確認されている。また、隣国ドイツではオランダとの国境に位置するエムスラント地方において、2014年にでん粉原料用の圃場から既存のGp抵抗性品種に対して高い寄生性を示す新しいGp個体群が見出された。また、抵抗性品種でPCNの増殖を繰り返した場合、10-15作で抵抗性を打破するようなPCNが出現することが実験的にも確認されており、打破系統の出現は大きな脅威とのことで

第3表 オランダの基金で開発された育種素材とそれを元に開発された抵抗性品種

育種素材名	育成された品種	品種の用途	品種のGp抵抗性/耐性
AM78-3704	Averia, Seresta	でん粉用	抵抗性/耐性
AM78-3736	Aveka	でん粉用	抵抗性/耐性
AM78-3778	Innovator	フレンチフライ、生食用	抵抗性
AM78-3848	Axion, Stablio	でん粉用	抵抗性/耐性
AM78-4102	Goya, Plasinka	でん粉用	抵抗性/耐性

第4表 EPP0の標準法によるジャガイモシストセンチュウに対する抵抗性評価基準

Relative susceptibility (%)	Score
<1	9
1.1-3	8
3.1-5	7
5.1-10	6
10.1-15	5
15.1-25	4
25.1-50	3
50.1-100	2
>100	1

Relative susceptibilityによる抵抗性の分類。スコア1が最も弱く、9が最も強い。

第5表 EPP0の標準法によるジャガイモシストセンチュウに対する抵抗性スコアの計算例

	品種A	デジレー
Pf反復①	11	240
Pf反復②	50	1120
Pf反復③	29	352
Pf反復④	22	360
Pf平均	28	518
Relative susceptibility (%)	5.4	
Official Score (1-9)	6	1
% of Resistance (Germicopa)	95	

品種AのRelative susceptibilityは(品種AのPf)/(デジレーのPf)で求められ $28/518 \times 100 = 5.4$ となり (Pfは栽培後密度), 抵抗性のスコアは6となる。感受性標準品種であるデジレーのRelative susceptibilityは100となるため、抵抗性スコアは1となる。Germicopaで用いられている評価法の「% of Resistance」は $(1-28/518) \times 100 = 95$ となる。



あった。

## 2) オランダにおけるPCN防除対策について

防除対策としては「リスクの把握」「侵入防止」「適切な輪作体系の維持」「根絶に向けた取り組み」の4つが挙げられた。「リスクの把握」は、生産者が自分の圃場について自主的に土壌検診を行い、PCNの有無、種類、密度等を把握することであり、これにより取るべき対策を適切に選択できる。「侵入防止」のためには、病害虫に汚染していない正規の種イモを使用すること、作業機械等の洗浄などの衛生的手段を講じること、PCNの寄主となり得る雑草や野良ばえを制御することが重要である。「輪作」はPCNの侵入や増殖を防止するのに有効であり、非寄主作物や抵抗性品種の栽培、捕獲植物（バレイショと同様にPCNのふ化を促す物質を産生し、根に幼虫の侵入を受けるが、侵入した幼虫の生育を妨げ、根内で死滅させる作用を持つ植物のこと。ハリナスビ*S. sisymbriifolium*が最も活用されている）の利用などが行われている。抵抗性品種の作付けは汚染圃場での減収防止やPCNの増殖抑制だけでなく、侵入防止策としても有効である。「根絶に向けた取り組み」としては化学的防除、捕獲植物の利用、湛水による防除、バイオくん蒸（アブラナ科作物のようなくん蒸植物を利用した土壌消毒）がある。化学的防除ではバイデートやネマトリン等の土壌施用粒剤、またはD-Dやクロルピクリンといったくん蒸剤を使用する。土壌施用粒剤はPCNの根への侵入を阻害するものであり、減収は防げるが密度低減効果は期待できない。くん蒸剤については安定し

た効果を発揮させるにはビニール被覆が必要であり、労力とコストがかかる。また、環境への配慮からくん蒸剤の利用は抑制される方向にある。捕獲植物としてはハリナスビ（ロケットリーフ）のほか、通常のパレイショも利用している。これは感受性品種を通常通り栽培しPCNをふ化させ、シストが形成される前にラウンドアップを散布して地上部を枯死させることにより、PCNを減少させるというものである。湛水による防除は、圃場を3ヶ月間湛水状態にすることでPCNを防除する方法である。バイオくん蒸はアブラナ科作物をすき込んでビニール被覆することによって線虫類を駆除する方法である。湛水及び土壌還元消毒はある程度の気温が必要であり、夏期に実施する必要がある。

またオランダでは生産者の作付け計画の策定支援ソフトウェアNemadecide (<http://www.nemadecide.com/english/home>) が開発、活用されているとのことだった。Nemadecideはワーヘニンゲン大学の研究成果を元に開発され、最適な防除素材やその組み合わせ等を利用者に提案するものである。

## 2. Germicopa Breeding Station (第6図)

所 在 : Kerguivarc'h, 29520 Châteauneuf-du-Faou, France (パリの西南西約460kmのシャトーフ＝デュ＝フー郊外に立地)

組織概要 : Germicopaはバレイショの育種及び種子生産を行っている企業であり、ヨーロッパで第6位の規模である。生食用、フライ用、チップ用、でん粉原料用の育種を行っており現在38品種に育成者権を持っている。フランス国内の

1



2



第6図 Germicopa Breeding Station

1. Germicopa Breeding Station の外観。
2. 種イモ出荷に向けた準備作業。種イモはヨーロッパ以外の国にも輸出される。

3,000haで70,000トンの種イモ生産を行っており、この内70%はヨーロッパ、30%がヨーロッパ以外の国へ出荷される。また、30以上の国で品種の許諾を行っており、日本でもシンシア、サッシー、コロールなどが販売されている。

応対者：Eric Bonnel氏 (R & D Manager), Catherine Chatot氏 (Phytopathologist), Sylvain Fournet氏 (Research Engineer, INRA所属)

## 1) Germicopaでの育種について

### (1) 育種の概要

品種育成の流れは日本と同様であるが、一作当たりの播種数が60,000-65,000粒(第2表)であり、北農研より育種の規模は大きい。また、この実用育種とは別に年間10,000~15,000粒程度を育種素材の開発のために展開している。

交配は春に温室内で行うとのこと、これは暑さを避けるためと作業分散のためである。交配時に塊茎やストロンを除去し開花を促す点などは日本での交配と同様であった。育種については二倍体と四倍体の両方で実施しているとのこと、野生種の抵抗性を利用する際には、野生種に由来する不良形質を除去し実用性を高めるために、二倍体レベルで効率的に選抜を進め育種素材を育成し、その後倍加して実用品種を育成していた。

Grに対する抵抗性は必須の形質となっており、少なくとも片親はGr抵抗性のものを用いた交配を行っている。Grに対する抵抗性の選抜は北農研における生産力検定試験の1年目(交配を1年目とすると6年目)の段階で実施している。育種場が種イモ生産地に立地しており、PCNを扱うことができないため、抵抗性の選抜はオランダの企業に委託し、カップ検定によって行われている。また、Gr抵抗性遺伝子HIに関しては近年DNAマーカーによる選抜も取り入れており、Schultzら(2012)のマーカーを利用して選抜をしている。Grに対する抵抗性評価の結果、感受性だったものは淘汰される。なお、Gr抵抗性以外の形質に関するマーカー選抜は実施していなかった。日本では、「低温難糖化性」はポテトチップス用やフライドポテト用など油加工用途向け品種で重要な形質であるが、Germicopaでは生食用でも低温難糖化性が重要な形質となっていた。これはフランス人が糖化したバレイショを好まないためとのことである。また、日本にはない評価基準として

“Rusticity”というものがあつた。これは芽の伸びやすい温度条件で貯蔵し、芽の伸びてきたところで芽を切ることを3回繰り返して、それでも問題無く生育するものを選抜するもので、条件の悪い環境下でも生育できる品種の育成を行っているとのことだった。フランスで普及しているバレイショ品種は、30年前は「ビンチェ」が8割以上を占めていたが、その後マーケットからの多様な要望に応じて品種が育成され、現在の「ビンチェ」のシェアは1割以下になっているとのことである。Germicopaが育成した塊茎が小粒で長い「シャルロット」という品種は、小粒である点を活かしてサラダ用品種としてヨーロッパで広く普及しているとのことである。

### (2) Gp抵抗性品種の育成について

Germicopaでは*S. tuberosum* L. ssp. *andigena*, *S. vernei*, *S. spegazzinii*, *S. sparsipillum*, *S. gourlay*等の近縁種に由来するPCN抵抗性遺伝子を利用していた。後述するように、不良形質と連鎖している抵抗性遺伝子もあるため、これらの全ての抵抗性遺伝子が品種として実用的に利用可能な水準には達しているわけではない様だが、かなり多くの遺伝資源を利用した抵抗性育種を進めている。この中でGermicopaにおいて、Gp抵抗性品種の育成に最も利用されているのは*S. vernei*とのことである。Germicopaの抵抗性遺伝資源は、主にフランス国立農学研究所(INRA)から導入しているが、それ以外にも各国のジーンバンクからも材料を導入し、利用が図られていた。これは多様な抵抗性遺伝子を利用することにより抵抗性の崩壊を防ぐということ、より強い水準の抵抗性(独自の評価基準で90%以上。評価基準については後述)を探索することを目的としている。*S. sparsipillum*の抵抗性についてはCaromelら(2005)が報告しているように、2つの抵抗性遺伝子を持つことでかなり強い抵抗性を付与することができ、選抜にDNAマーカーも利用できるため、その抵抗性の導入を進めているが、不良形質との連鎖があるため複数回の戻し交雑を行わなければならない、まだ実用品種には利用できていないとのことだった。また、*S. vernei*の抵抗性はペルー南部の個体群には効果があるが、ペルー中北部の個体群には効果が無いのに対し、*S. sparsipillum*の抵抗性はヨーロッパ全土の個体群だけでなく、ペルー中北部の個体群にも効果があるなど、幅広い個体群に有効であるとのことだった。

GermicopaではGp抵抗性については、DNAマーカーは利用しておらず、表現型による選抜が実施されていた。Gp抵抗性は育種選抜段階ではカップ検定により評価し、育種の最終段階で公的機関でのポット試験による評価を行っている。カップ検定はGr抵抗性の選抜と同じ育種段階（交配から6年目）において4～10反復で実施しており（第2表）、10個のシストを接種、栽培しシストが平均15個以上形成されたものを感受性と判定しているとのことだった。ただしGr抵抗性は必須であるが、Gp抵抗性は必須ではないとのことだった。フランスに発生しているGpのパソタイプはPa3であるため、接種にはPa3の中で最も減収被害の大きいChavornayという個体群が用いられていた。ポット試験では、ヨーロッパ標準法と同様の方法であるが、結果をRelative Susceptibilityではなく独自の基準である以下の式によって導かれる「% of Resistance」によって評価していた。

$$\% \text{ of Resistance} = (1 - T_{\text{HY}} / T_{\text{control}}) \times 100$$

$T_{\text{HY}}$ および $T_{\text{control}}$ は検定系統および感受性対照品種上でのGpの栽培後密度Pfを示す（計算例を第5表に示す）。この値が80%以上を抵抗性の目標としているとのことであった。これはヨーロッパ標準法での4以上の抵抗性に相当するものである。

## 2) フランスにおけるGp防除対策について

フランスでは1960年代後半にPCNが確認され、Gr抵抗性品種の普及とともにGpが広く確認されるようになってきている。以前は1969年に発出されたEEC指令69/465/EECに基づく種イモ生産管理を実施していたが、現在ではEU指令2007/33/EC（後述）に基づいて様々な対策が行われている。Gp拡大防止策はGr拡大防止策と同様であり、総合的な取り組みが重要であるとのことであった。発生拡大を防ぐには、バレイショ以外の作物についても保証された種子を使うこと、3-4年輪作を維持すること、PCNの寄主となり得る全ての作物の植え付け前に土壌検診を行う体制を確立すること、農地交換や農機具の移動の前にPCNの発生の有無を厳重に確認することが重要である。またフランスではパリの北部で食用を生産し、種イモは今回訪問したGermicopa breeding stationを含む南西部で生産されているとのことであり、食用の産地と種イモの産地を厳格に分けることがPCNの拡大防止に最も重要であるとのことであった。圃場でPCNの発生が確認された場合には、まず発生種

がGpなのかGrなのかそれとも両種が混在しているのか、また発生密度を確実に見極めることが防除対策の方針を決める上で重要な情報になるとのことである。その上で適切な輪作体系を維持し、ハリナスビ等の捕獲植物の栽培、殺線虫剤の施用等を実施している。発生している種に合わせた抵抗性品種の栽培が最も有効な手段であるが、抵抗性品種を連続的に作付けすると、それらを打破する集団の出現を誘発しやすいため、感受性品種との交互作付けが望ましいとのことであった。

## 3. NAK (de Nederlandse Algemene Keuringsdienst : The Dutch General Inspection Service) およびSASA (Science and Advice for Scottish Agriculture)

NAK (オランダ) およびSASA (スコットランド) は、ともに種苗の検査・認証や病害虫の検診、対策指導などを行う公的機関である。両機関での視察内容は同様であったことから、一括してとりまとめる。

### NAK (第7図)

所 在 : Randweg 14, Postbus 1115, 8300 BC Emmeloord, The Netherlands (アムステルダム の北東約80kmのエメロルト市内に立地)

組織概要 : 種苗法、植物防疫法に基づき、域内の種苗検査・認証、病害虫の検診、防疫対策を行う公益法人である。役員9名、常勤職員219名に加え、主として圃場検査・植物検診や土壌採取を実施する非常勤職員約100名が勤務する。経産省管轄だが、独立採算によって運営されている。バレイショの種イモ生産管理は主要業務となっている。

応対者 : Jaap Haak氏 (Technische coordinator keuringen, 検査技術コーディネーター)

### SASA (第8図)

所 在 : Roddinglaw Road, Edinburgh EH12 9FJ, UK (エジンバラ駅から西方約10kmの郊外に立地)

組織概要 : スコットランド政府の1機関であり、植物防疫、種苗生産管理、食品の安全性管理(農薬の残留性)などを担う。NAK同様に種イモ病害虫検診は主要業務となっている。

応対者 : Jon Pickup氏 (Head of Virology & Zoology), David Kenyon氏 (Head of

Diagnostics, Wildlife & Molecular Biology), Kim Davie氏 (Nematologist)

### 1) 種イモ生産を巡る概況

両国の農業において、その収益性の高さから種イモ生産の重要性は非常に大きい。オランダはバレイショ生産面積61,300haのうち、40,000haが種イモ生産圃場であり、スコットランドではバレイショ生産面積25,800haのうち、12,100haが種イモ生産圃場である。また、両地域ともウイルスを媒介するアブラムシの発生が少ないため健全性が求められる種イモ生産に適している。生産された種イモのほとんどは、EU各国や諸外国へ輸出され、重要な収益源となっている。そのため、種イモの高い品質を維持・

保証することが重要視され、それをNAKおよびSASAが担っている。

種イモは、圃場での栽培履歴やウイルス感染率等によって等級分けされている。オランダでは元株（組織培養）から圃場栽培に移して4年目までをS、その後1年を経るごとにSE, E, A, Cと区分され、スコットランドではほぼ同様に、圃場栽培4世代目まででウイルスを全く保菌していないものをPB、5世代目まででウイルス保菌率が一定以内（ウイルスの種類によって基準が異なる）のものをS、その後1世代多くなるごとにSE, Eとランク分けされている。ウイルス等の感染率の設定は、高いクラスほど厳しく、例えばジャガイモYウイルスではSクラスが0.02%, SEクラスが0.1%, Eクラスは0.4%となってい

1



2



第7図 NAK

1. NAKの外観。
2. NAKの概要やオランダの種イモ事情に関するレクチャー風景

1



2



第8図 SASA

1. SASAの外観。
2. SASA訪問時の集合写真。左から北海道立総合研究機構（道総研）北見農業試験場の小野寺鶴将主査，奈良部孝，帯広畜産大学保坂和良教授，SASAのJohn Pickup氏，道総研中央農業試験場の山下陽子研究主任，浅野賢治，串田篤彦，SASAのKim Davie氏

る。収穫された種イモは、これらの区分にしたがって等級付けされ、等級と検査済みであることを示す認証ラベル（第9図）を付されてEU内外へ出荷される。

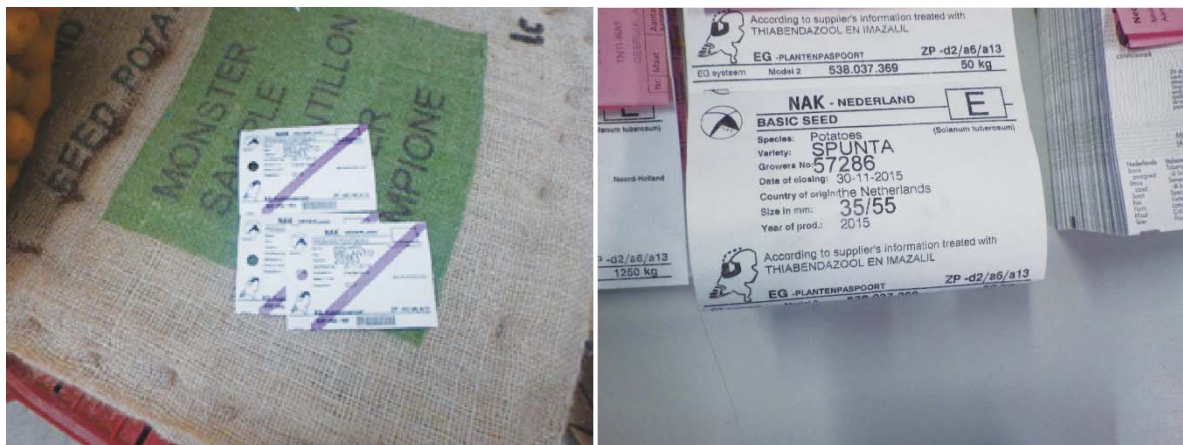
NAKおよびSASAは、種イモ生産工程において様々な検査（土壌検診：PCNなど、圃場検査：異形株、*Erwinia*やウイルス罹病株の抜き取り、生産物検査：ウイルスや*Ralstonia*）を行い、種苗の健全性をチェックし維持している。NAKでは所属のスタッフがこれら全てを行っておりSASAでは土壌検診や生産物検査は自機関で行っているが、圃場検査（抜き取り調査）や土壌採取などはスコットランド政府の職員が行い、SASAはこれに対して研修を実施している。

## 2) ジャガイモシストセンチュウ（PCN）対策について

### (1) EU Directive 2007/33/EC (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX:32007L0033>)

2007年6月11日にEUが発出し、域内におけるPCNの蔓延防止対策について具体的に指示した指令書で、加盟各国のPCN対策の基本となっている。訪問した各機関においても等しく説明を受け、PCN対策の基礎になっていることから、以下にその概略をまとめる。本指令書では、公的機関による土壌検診の徹底とPCNの分散防止を求めている。その柱は、PCNがない畑での種イモ生産を担保することであり、その裏付けとなる線虫診断手法についても基準を明確に規定している。主要な指示を列記すると

- 種イモ栽培圃場については、公的機関の調査によってPCNが発生していないことを確認することを義務づける。
- 種イモ以外のバレイショ栽培畑についても全体の0.5%を対象に公的機関による定期的な土壌検診を実施する。
- 1haあたり少なくとも100地点以上から計1500mlの土壌を採取して調査するなど、高感度なPCN検出を担保できる土壌検診基準を規定。（後段の「土壌サンプリング」で詳述）。
- PCNが検出された圃場では種イモ生産は禁止。さらに球根類などの土壌の移動を伴う作物の栽培またはその移出についても規制する。
- PCNが検出された圃場で青果・加工用バレイショを栽培する場合は公的機関に認可された防除プログラム実施を義務づける。
- 新たな病原型（パソタイプ、virulence Groupなど）が発生した場合や抵抗性の有効性に変化が生じた場合は、EUおよび加盟各国に通報。（※パソタイプ、virulence Group：抵抗性遺伝子の構成が異なる様々なナス科植物に対する寄生性の差異に基づいた区分のこと。パソタイプとvirulence Groupは、区分の基準が異なる）
- 輪作に抵抗性品種を位置づけ、新規に育成された抵抗性品種は毎年度加盟各国で情報共有する。
- 防除対策が実施され、その後の検診でPCNが確認されなければ、「発生圃場」の指定を取り消す（derecording；後述）。



第9図 種イモに貼付される認証ラベル

品種名、等級、生産者番号等の情報が記されている。

## (2) PCNの土壤検診について

全種イモ圃場およびそれ以外のバレイショ栽培圃場の0.5%に対してPCN土壤検診が行われ、それぞれNAKおよびSASAが担っている。調査手順やその手法は日本と大きく変わらないが、個々の工程はよりシステム化され、多量サンプルを効率的に処理するための工夫が多くなされている。両機関の検診手法にも大きな違いはないが、SASAではより進んだ技術が導入されていたので、SASAで行われている土壤検診を中心に報告し、NAKだけで行われ、参考となる技術については付加的に記載する。SASAでの土壤検診の詳細は<https://www.sasa.gov.uk/seed-ware-potatoes/nematology/soil-testing>にも掲載されている。

### ①土壤サンプリング

土壤検診は、農家からの申し込みに基づいて実施される。土壤サンプリングは、SASAによる研修を受けたスコットランド政府機関職員によって行われる。採取者が土壤採取器（オーガー）と袋（第10図）を持ち、圃場内を歩きながらEPP0の基準（100地点以上/haの地点から計1500ml/ha以上）に基づいて採取する。土壤を入れる袋は捕虫網状の枠にセットされ、その枠の手元にオーガー中の土壤をこそぎ落とす「へら」が付属され土壤採取が行いやすいように工夫されている。一方、NAKでは所属のスタッフが土壤サンプリングを行う。サンプリングには歩きながら採取する方法とQuadと呼ばれるサンプリング用バギー（第11図）により採取する方法がある。Quadは広大な圃場の効率的なサンプリングには有効

とのことで、利用をさらに図りたいとのことだった。

サンプリングする土壤量は、1haあたり1,500mlが基本であるが、EU指令に基づき、様々な軽減措置がある。例えば7年以上の輪作を行っている圃場や前回の土壤検診でシストが検出されなかった場合は、1haあたり400mlにサンプル量を減らすことができる。また、この場合4ha以上の圃場については、4haを超える部分は200ml/haに減らすことができる（6haの畑の場合、 $400 \times 4 + 200 \times 2 = 2,000$ ml取ることになり、この場合は6haを5等分し、400mlの土壤サンプルを5つ採取する）。また、8ha以上の大面積圃場では8haを超える分については400ml/haに減らすことができる。スコットランドでは、調査対象の約97%がこの軽減措置に該当している。

また、1筆の圃場を分割して検診することもでき、もし一部でPCNが確認されても、分割した他の区画で検出されなければその区画は発生圃場指定を免れることができる。SASAの場合、分割できる最小単位は4haであり、10haの圃場の場合には4haと6haまたは5ha×2などに分けて検診実施を申請できる。分割せずに検診を行うこともできるが、もしPCNが検出された場合は圃場全面が発生圃場に指定される。PCNの初期発生は圃場の一部に偏ることが多いことから、大規模圃場ではごく一部に発生しても全面が汚染圃場に指定されてしまい、生産者が抱えるリスクが非常に高いことを緩和するための措置である。

### ②調査コスト

調査コストはすべて農家負担である。400mlの土壤が基本の調査単位となっており、それに係る費



第10図 オーガーとサンプル袋

二つを持ち圃場内を歩きながら土壤を採取する。



第11図 土壤採取用バギーQuad

Quadで圃場を走行することにより広大な圃場でも効率的に土壤サンプリングできる。

用は13.81ポンド(約1,750円)/400mlとなっている。したがって、1500ml/ha調査の場合、実際には1600ml採取されて調査するので、 $13.81 \times 4$ 単位=55.24ポンド(約7,000円)かかる。

※計算レートは1ポンド=126.7円(2016年11月3日時点)

### ③土壤検診の手順(第12図)

- i) 土壤を37°Cで2日間乾燥(第12-1図)
- ii) 土壤塊がある場合、棒状の器具で砕く(第12-2図、NAKではプレス機が使用されていた)。シストをフェニック法により分離する。本工程ではNAKもSASAも半自動シスト分離装置(carousel)を用いており(第12-3~11図)、短時間に多サンプルの処理を可能にしていた。2010年以前は手作業で分離しており、時間と労力、コストがかかったが、carouselの導入で大幅な効率化が可能になったとのことだった。本装置では、土壤を機械に投入する係と分離されたシストを篩からろ紙へ移す係の最少二人でシスト分離が行える。浮遊させたシストを篩へ流し込む方法としては、フェニック缶の底がせり上がり、内部の水がオーバーフローするようになっており、シストを確実に分離するための工夫が随所に施されていた。
- iii) NAKではろ紙上に集めた分離物を顕微鏡観察することによって、PCNシストの有無を調査していた。根や植物体残渣などの夾雑物が多い場合は、アセトン抽出によって夾雑物を取り除く工程が顕微鏡調査前に組み込まれていた(第12-12図)。シストが見つかった場合は、PCRによって種を判別する。

一方、SASAでは大部分のサンプルについては顕微鏡観察することなく、以下のようにDNAを抽出し、リアルタイムPCRによってGrとGpを別々に検出し、おおよその密度レベルも評価している。ただし、初めて公的機関による検査を受ける場合やderecordingのための検査の場合には、PCRによる診断の前に顕微鏡検査を行うことが求められている。まず、ろ紙に集めた分離物を乾燥し、二次元コードが貼付された2mlチューブ2本に分け入れる(第12-13~15図)。この際には、チューブの蓋に記載された二次元コードを読み込み、リンクさせることにより、サンプルが追跡管理されている。筆記録を排除し、電子化することによりサンプル取り違えの防止や効率化が図られている(第

12-14~16図)。次にタングステンカーバイトビーズ(第12-17図)を用いて破砕する(Retschの破砕機使用。2mlチューブ96本2セットを同時に処理できる。第12-18, 19図)。QiagenのキットとMagMax自動化システム(第12-20図)でDNAを自動抽出・精製し(24分で精製可能)、リアルタイムPCRによって検出する(第12-21~23図)。このシステムによって、1週間に1,000サンプルの調査が可能である。

- iv) 検診結果は、自動的にデータベースに蓄積され、圃場マップとともにデータが整理され、地域の発生状況なども俯瞰的に把握できるようになっていた。

### ④EU指令および新しい土壤検診システム(carousel, DNA診断)導入の効果

EU指令は2007年に出されたが、スコットランドがEU指令に準じた検査に対応できるようになったのは新しい土壤検診システムを導入した2010年以降である。EU指令に即した新検診システム導入により、調査サンプル数は約3倍に、サンプル量は約2倍になった。この結果、PCNが検出される圃場数は大きく増加し、発生圃場面積は現在も年々増加している。このことはSASAではポジティブに受け止められており、これにより線虫防除のレベルをより高くすることができ、derecordingの判定精度も高くできたと考えられていた。

また、EU指令により種イモ以外のバレイショ栽培圃場についても検診を行っている。スコットランドでは栽培面積(15,000ha)の0.5%(4ha程度の圃場であれば約20筆)をランダムに選び(1圃場/1農家)、調査している。これまで調査圃場の33%でPCNが見つかり、Gpが優占種であった。

### ⑤土壤検診結果から見るGr-Gp発生推移

スコットランドでは、GrはパソタイプRo1だけが発生しており、HIを持つ抵抗性品種の栽培によって防除が可能である。この抵抗性品種の普及に伴い、Grの発生面積率は近年低下しているが、Gpの発生面積率は徐々に上昇しており、土壤検診で確認される種の割合は両種がほぼ同等になってきている。これはHI抵抗性品種の利用によりGpが選抜されてしまうことや、Gpに対する抵抗性品種がほとんど栽培されていないことが大きな要因と考えられている。

1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12



13



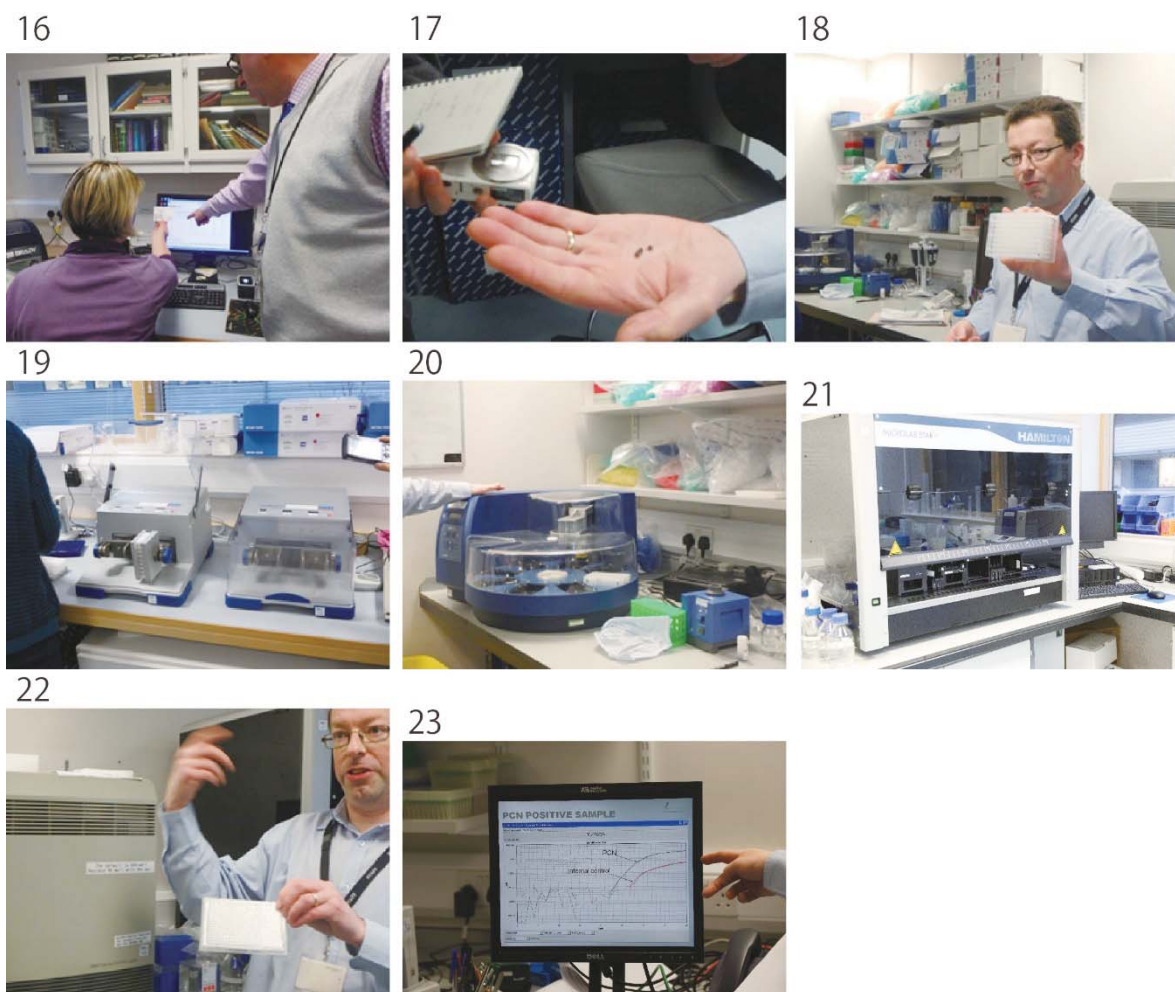
14



15







第12図 土壌検診の手順

1. 土壌の乾燥 (37°C, 2日間)。 2. 土壌をビニル袋に入れ, 土塊を木の棒で破碎する。 3. 半自動型シスト分離装置carrousel。 4. サンプル袋からバーコードラベルを剥がし, 受け皿 (篩) に添付する。 5. サンプル袋内の土壌をcarrouselに投入する。 6. 土壌に水が勢いよく注入される。 7. 土壌と水を攪拌棒でかき混ぜる。 8. 再度水を注入し攪拌棒を洗浄する。 9. フェニック缶の底面がせり上がり, 内部の水をオーバーフローさせ, 浮遊物を篩に流し込む。 10. 器具全体に散水し器具を洗浄する。 11. 篩をcarrouselから取り外し, 人手によって分離物がろ紙上に流し込まれる。 12. 分離物中に夾雑物が多い場合はアセトンによりシストを再分離する。 13. 分離物を乾燥させ, 2mlチューブ2本へ分注する。 14. チューブへ入れられた状態のサンプル。 15. チューブの蓋に添付されたサンプル識別用の二次元コード。 16. 土壌の二次元コードとチューブの二次元コードを読み取り, リンクさせる。コンピューター右下の円い窓が着いた小さな箱が二次元コード読み取り装置。 17. チューブ内にはタングステンビーズが入っている。 18. チューブをこのケースに収める。 19. 破碎装置にセットして破碎する。 20. MagmaxによりDNAを自動抽出する。 21. PCRサンプル自動調整機。自動でサンプルをランダムに再配置し, ウェルの位置による実験誤差を軽減できる。 22. サンプル自動調整機で調整したサンプルをリアルタイムPCR装置で解析する。 23. 結果の出力画面。土壌中にPCNがいた場合PCR産物が検出される。

### ⑥PCNが発見された場合の措置

PCNが発見された圃場では種イモの生産は禁止される。青果・加工用バレイショの栽培は可能だが、PCN防除計画を作成し、公的機関（SG-AFRCD：Scottish Government Agriculture, Food and Rural Communities Directorate）の認可を受け、それを実施することが求められる。

### ⑦ 発生圃場指定解除（derecording）

土壌検診によってPCNが見つかり発生圃場（infested）として登録されるが、PCNが発見されてから、または前回のバレイショ栽培以降少なくとも6年間経過し、土壌検診（1500ml/haのサンプリング基準）においてPCNが見つからなければ、発生圃場の指定が解除される。これによって毎年多くの圃場が指定解除（derecording）されている。ただし近年は指定解除される圃場は減少傾向にある。

### （3）PCN防除技術

適切な輪作の維持や野良ばえの除去を徹底することが基本的な防除対策とされ、スコットランドでは6年、オランダでは8年の輪作を推奨している。また、抵抗性品種の利用については、Gr抵抗性品種は多くあり、スコットランドではおよそ半数の圃場で栽培されているが、Gp抵抗性品種は少なく10%程度でしか栽培されていない。オランダではでんぷん原料用バレイショの多くはGp抵抗性品種に切り替わっているが、生食・加工用については普及が進んでいない。捕獲植物についてはオランダではハリナスビが利用されているが、コスト面や栽培特性上の問題

からあまり利用されていない。スコットランドでは、ハリナスビは栽培に適さず効果が確認されていないことから利用は推奨されていなかった。また、そのほかにも感受性のバレイショを植え付けて40日間程度栽培し、PCNがふ化して根内に侵入した頃にラウンドアップを散布するか、機械的にすき込むことによりバレイショを枯らし、根内のPCNを死滅させる方法（Trap cropping）も紹介された。しかしながらこの方法はオランダでもスコットランドでもほとんど利用されていないようであった（これはバレイショを枯死させる時期を誤るとPCNの密度低減効果が不十分だったり、逆に増加させたりしてしまい、利用が難しいためであると考えられる）。また、両地とも殺線虫粒剤やくん蒸剤を用いた化学的防除も行われているが、殺線虫粒剤の場合は減収を回避できるものの、線虫剤の効果を免れた線虫が次世代を残すため、密度低減には効果を期待できないとのことだった。くん蒸剤は、地温や土壌水分条件等によって効果が不安定であるとされ、さらに高い効果を得るにはビニールマルチが必要とのことだった。

### 4. James Hutton Institute（第13図）

所 在：Invergowrie, Dundee, DD2 5DA, UK（エジンバラから北方約60kmのダンディー市郊外に立地）

組織概要：農業、食料、エネルギー、生物多様性、気候変動などを研究する国際研究機関である。2011年にScottish Crop Research Instituteと

1



2



第13図 JHI

1. JHIの外観。
2. JHIの育種プログラムに関する説明。青字で書かれた企業からの出資を受けて、それぞれの企業の求める品種の育成を行っている。

Macaulay Land Use Research Instituteが合併して設立された。研究者500名、Ph. Dの学生138名の他、多数の訪問研究者が在籍している。バレイショ関係では、バレイショ及びジャガイモシストセンチュウのゲノム解読、バレイショ抵抗性遺伝子の遺伝解析、育種、生理学、バレイショ遺伝資源の保存（CPCコレクション）など多岐にわたる研究を実施している。

対応者：Vivian Blok氏（Molecular Nematologist）、Xinwei Chen氏（potato prebreeder / Geneticist）、John Jones氏（Nematologist / genomics）、Drummond Todd氏（Potato breeder）

## 1) バレイショ育種について

### (1) 育種の概要

James Hutton Instituteでは、イギリスで最も栽培面積の多い「Maris Piper」や、「さやか」の親である「Pentland Dell」、日本にもGp抵抗性の親として導入されている「Eden」など、これまでに100を超える品種を育成しており、イギリスのバレイショ栽培面積の75%は本研究所で育成された品種が栽培されている。また育成品種はイギリス国内だけでなく、海外にも品種の許諾を行っている。育種は国内や海外（トルコや南アフリカなど）のポテトチップメーカーや青果会社等の企業からの出資を受けて共同で実施しており、現在10のプログラムが進行している。それぞれのプログラムでは出資する企業の研究員も受入れ、それぞれの企業の求める特性の品種を育成している（第13-2図）。

品種育成の流れは日本と同様であり、育種規模は一作当たりの播種数が30,000粒と日本とほぼ同程度のものであった。しかしながら品種の用途は非常に細分化されており、生食用と加工用で全体の6割を占めるものの、それ以外にもLoose（箱に入れて販売）、Pre-pack（洗って袋に入れて販売）、サラダ用、チップ用、ロースト用、Jacket（皮を剥いてパックして販売）などがあり興味深かった。

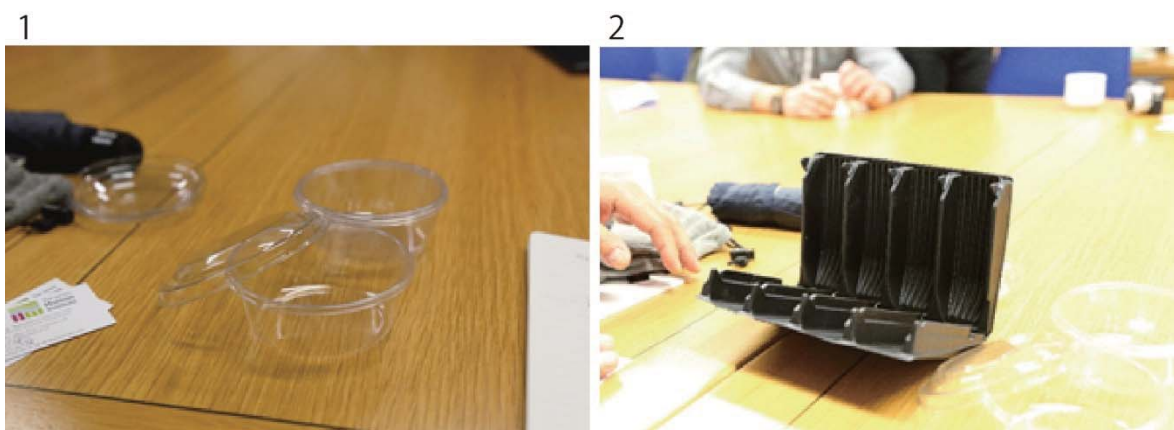
### (2) Gp抵抗性品種育成について

James Hutton Instituteでは80種1,500アクセスンからなるCPCコレクションを保存しており、Gp抵抗性の育成においてもそれら遺伝資源を利用している（第4-2図）。主なGp抵抗性遺伝資源としては*S. vernei*、*S. tarijense*、*S. spegazzinii*、*S. tuberosum* L. ssp. *andigena*、*S. multidissectum*が利用されて

いる。抵抗性遺伝子*Gpa5*や*GpaIV<sup>s</sup><sub>adg</sub>*を利用した抵抗性育種を行っている点はHZPCやGermicopaと同様であったが、James Hutton Instituteでは*S. multidissectum*に由来する抵抗性遺伝子*H2*も利用しており、オランダやフランスとは状況が異なっていた。*H2*はパソタイプPa1に対して、強い抵抗性を示すと報告されている遺伝子であり、当地域ではPa1が分布するためにその導入が図られている。そのためJames Hutton Instituteでは後述の次世代シーケンス（NGS）を用いた方法により、*H2*に対するDNAマーカーの開発も進めている。しかし、実際のGp抵抗性育種にDNAマーカーは使用していない。*Gpa5*と*GpaIV<sup>s</sup><sub>adg</sub>*を集積させた際の効果については現在確認が行われている。

Gpに対する抵抗性の選抜は、交配から2年目（北農研における実生選抜）および4年目（同系統選抜）にカップ検定法を利用して実施しており、北農研でのGr抵抗性の検定実施状況とよく似ている。実生選抜の段階では利用可能な塊茎が少なく、また塊茎も小さいことから小さめのカップ（第14-1図）を用い、1カップあたり3,000卵を接種し、2反復で行っている。系統選抜段階では複数の大きな塊茎が利用可能なため、大きめのカップを用いシストを接種源とし4反復で行っている。抵抗性の判定は、一定のシスト数を基準として抵抗性を判定しているGermicopa（10シスト接種して15シスト以上形成したら感受性）とは異なり、「Innovator」や「Lady Balfour」等の抵抗性品種や「Maris Piper」などの感受性品種を対照として供試し、それらとの比較で判定を行っている。また、正確な抵抗性評価が必要となるPCN抵抗性等の遺伝解析には4連のプラスチックポット（第14-2図）が用いられており、ポット栽培よりも省スペースでカップ検定より詳細な評価が可能であるとのことだった。

また、基礎研究としてNGSを活用した病害虫抵抗性遺伝子のマーカー開発等を実施していた。これは分離集団の各個体を感受性と抵抗性に分類し、抽出したDNAを抵抗性または感受性ごとに混合（バルクDNA）、病害虫抵抗性遺伝子などのプローブで選抜をした後にNGSで解析を行う。抵抗性バルクDNAに特異的な塩基配列を選抜することによって、抵抗性に関係のある領域を見出すという方法で行われ、2週間程度で抵抗性遺伝子の遺伝子座を特定できる。本方法は、今後新たなGp抵抗性遺伝子等の抵抗性のマー



第14図 JHIでPCNの接種検定に用いるカップとプラスチックポット

1. 実生選抜用の小型カップ。系統選抜段階ではより大きなカップを用いる。
2. 4連になったプラスチックポット。栽培後、図のように分解することで容易に根鉢を観察できる。

カーを作成する際に有効な技術となり得る。

## 2) Gpの個体群間解析研究 (Germicopaにおいて INRA所属研究者からも同様の研究紹介があり、本項に一括記載した)

INRA およびJames Hutton Institute で行われている分子生物学的手法に基づく個体群間関係解析研究について紹介があった。ミトコンドリアDNAのシトクローム*b* (*cytb*) 遺伝子領域には配列多型が比較的豊富にあり、個体群間関係を解析するのに適している。Gpの当領域(一部)を特異的に増幅するプライマー(INRAcytbL-INRAcytbR)を作製し、原産地である南米ペルーのアンデス地域に分布する個体群や西ヨーロッパ、北米などに分布する個体群について増幅DNA(872bp)の配列を決定して系統解析した結果、ペルーの個体群は極めて多様性が高く、地域ごとに異なるクレードを構成するが、ヨーロッパやカナダ、アメリカに分布する個体群は同源性が高く、ペルー南部に分布する地域個体群と高い類縁関係を示した(Plantardら 2008, Hocklandら 2011)。このことから、ペルー南部を起源とする特定のGp個体群が、ヨーロッパや北米などへ拡散し、世界的に分布を広げていると推察されている。個体群間の系統解析は、リボソームDNAのITS領域を用いても行われ、*cytb*遺伝子領域解析に基づく系統間関係と同様の結果が得られるが、*cytb*遺伝子領域の方がより詳細な解析が可能とのことだった。

また、*cytb*遺伝子領域の配列多型に基づき、スコットランドに分布する個体群は概ね3つにグルーピングできる (Eves-van den Akkerら 2015)。これ

を解析することにより、より詳細な個体群間関係解析や分散経路の推定、種内変異の把握などができると推察されている。そこで、SASAの土壤検診と連携し、スコットランド国内に分布するGpのタイプ解析を大々的に展開した結果、type 3が最も広く分布し、一部の圃場では複数のタイプが混在していることが判明した。今後、このタイプの違いについて抵抗性品種に対する寄生性などとの相関を調査し、例えば最適な抵抗性品種の選定基準にできるかといったタイプ判別の活用法を探っていく予定とのことである。

## Ⅲ. 考 察

今回の調査では、最新の分析機器を豊富に駆使して行われる品種育成や土壤検診事業を目の当たりにし、国内の育種環境や土壤検診システムとの違いを実感した。具体的な防除対策や検診手法などの技術的な部分は、日本と基本的には大きく違わなかったが、対策の考え方やその実効性確保の面では参考になる部分が多かった。日本で実施されている検診や対策における不十分な点をより明確にすることができ、大変有用だった。以下に今後のPCN対策にとって参考にすべき点や改善点を中心に視察結果を考察する。Gpの根絶対策に直接関連しないものも含まれるが、今後の国内のバレイショ生産にとって重要性が高いとして記録する。

### 1. PCN対策に関する制度の比較

訪問した各国におけるPCN対策の主眼は、早期発見と早期の密度低減に置かれていた。特にGpに対し

ては、効果的な密度低減策が少ないことから、この方向性は合理的と思われる。そのため、土壌検診に供試する土壌の標準量は1,500ml/haと日本の400g/ha（植物防疫所標準）に比べて遙かに多く、高感度なモニタリングを実施していた。また、PCNの発生が確認された圃場では、公的機関の認可を受けた防除プログラム実施が義務づけられていた。PCNのまん延防止には、発生圃場の線虫密度を早期に低減化させることが重要であるため、これを確実に実施することが重要視されていた。一方、日本ではPCN発生圃場に対して推奨されている防除プログラムはあるものの、強制力はなく、宿主作物の栽培についても規制はない。国内で今後、PCNの拡散防止や根絶を目指すうえで、発生地での積極的な密度低減策は不可欠であることから、国内においてもPCN対策として新たな制度設計が必要と考えられる。

しかしながら、高感度なモニタリングや防除プログラムの義務化などの対策は、生産者にとって検出リスクの上昇、防除コストや労力の増加、収益の低下に繋がる点も考慮する必要がある。オランダやスコットランドでこのような対策が生産者に受け入れられるのは、両地域とも種イモ生産・販売が重要な収益源となっている背景があるためと考えられる。一方、日本では地域の農業生産に占める種イモ生産の割合は低いうえ、収益性も高くない。また、derecording（発生圃場指定解除）の制度もないため、発生地では積極的な対策に取り組むメリットが比して低い実状にある。このように、これらの視察地と国内の事情は異なる部分も多く、ヨーロッパでの対策がそのまま日本にも適用できるものではないと考えられるが、これらの地域における諸対策やその考え方を参考に、国内の実状に即した対策を検討していく必要があるだろう。

## 2. PCNの土壌検診およびGp診断について

オランダやスコットランドでの土壌検診は、NAKやSASAといった公的な1機関によって体系的に実施され、高感度かつ均質な検査水準の確保が図られていた。日本でも種イモ圃場に対しては植物防疫所が体系的に検診を実施しているが、全圃場で土壌検診を行うことは難しく、現在は発生リスクの高い既発生地域内の種イモ圃場については土壌検診を実施し、それ以外の種イモ圃場については植物検診（抽出調査）などにより行われている。PCNの発生調査

は、圃場をまんべんなく調査できることが重要であるため、それが可能な土壌検診を全てのサンプルについて実施できることが望ましい。それには、サンプルを効率的に処理・調査できるシステムの導入が不可欠である。NAKやSASAではcarouselやリアルタイムPCRによるPCN検出・定量システム、バーコード等によるサンプル自動管理システムなどの導入により多検体の処理を可能にしており、国内で多検体処理を実現する場合にもこれら技術が大変参考になると考えられる。

また、日本では上記の植物防疫所による種イモ圃場検査のほかに、一般圃を対象とした「自主検査」が行われている。これは、各地域のジャガイモシストセンチュウ対策協議会または営農改善推進協議会が実施しており、PCNの早期発見、早期対策の実施において極めて重要な役割を果たしていると考えられる。しかしながら、実施主体によって調査手法に違いがあり、感度等が一律でない懸念がある。NAKやSASAのように大規模にサンプル処理可能な機関に調査を集約し、一律かつ高感度な調査が可能になれば、その有効性をさらに高められると期待できる。

特に、種イモ圃場と一般圃場の検査を一体的に実施することは、今後の国内におけるPCN対策において極めて重要と考えられる。日本の多くの地域では、種イモ圃場と一般圃場が混在しているが、両者の検診は別々に行われ、それぞれでの発生情報が地域での対策に活用されることはほとんどない。地域の種イモ圃場を守るには、周辺の一般圃へのPCN侵入を防ぎ、発生圃場での早期密度低下を図ることが最重要である。今後、防除対策の有効性をさらに図るには、種イモ圃場や一般圃にかかわらず地域での発生状況を一元的に調査・把握し、対策に活用できる組織またはシステムの構築が必要と考えられる。また、検診データを対策に活用するには、密度情報の取得が不可欠である。SASAではリアルタイムPCR法による密度推定が行われており、参考にできると考えられる。

一方、国内では今回のGp発生に伴い、Gpを対象とした診断体制を早急に確立する必要がある。まずは既存システムでも適用可能な手法を構築することが重要であるが、これにはNAKのシステムが参考になると考えられた。NAKでは土壌から篩い分けによる紙上に分離したシストを顕微鏡観察し、シストが見つかった場合のみ、分子生物学的調査によって

種判別を行っていた。顕微鏡観察によってシストを検出するところまでは既存のシステムで対応可能であり、シストが見つかった後の種判別工程だけを新たに対応するだけでよい。1つのシストの種判別は、既報のPCR-RFLP法の利用により可能であり、高度な技術や特殊な設備を要さないことから、対応は難しくないと考えられる。また、植物検診で検出されたシストの種判定にも上記工程が活用できると考えられ、今後実施される各種検診事業に対応できるよう、早期に確立させる必要がある。

また、より高感度な検診や上記のPCRによる多検体調査を行うには、多数のシストからのDNA抽出や、Grと混在するGpを高感度に検出する方法などを確立する必要がある。SASAの技術が参考になると考えられるが、日本の土壌への適用性などを評価しつつ、その最適化を図る必要があるだろう。

### 3. 発生圃場指定解除 (derecording) について

前述したように、オランダやスコットランドでは一旦指定された「発生圃場」としての指定が解除されるという「発生圃場指定解除」の制度が整備されており、これがPCN防除対策の実効性を高める一つの重要要因になっていると考えられた。すなわち、発生圃場としての指定が解除されれば収益性の高い種イモを再び栽培できるようになり、生産者にとって大きなメリットとなるため、PCN防除にも積極的に取り組む好環境が形成されていると考えられる。一方、日本では一度発生圃場として指定されるとPCN防除の努力をしてもその指定が解除されることはない。このことは防除意欲の低下につながり、発生地での積極的な密度低減を難しくしている一因になっている可能性がある。根絶を証明することは非常に難しいことなどから、現時点で国内において「発生圃場指定解除」を実現することは現実的ではないと思われる。しかし、国内の一部地域では、徹底した防除対策の実施により生きた線虫 (Gr) が検出できなくなった圃場が認められており (奈良部, 未発表), 根絶が不可能ではない感触も得られつつある。このような事例を積み重ねながら、生産者が積極的なPCN密度低減を目指せる新たな制度等を模索し、提示していくことも、今後の国内のPCN対策にとって極めて重要と考えられる。

### 4. 防除技術および拡散防止対策について

今回の海外調査における重要な目的の1つは、Gpに対して有効な密度低減手段の探索であったが、卓効が期待できる防除手段は無く、Gr同様に様々な手段を組み合わせつつ密度低減や拡散防止を徹底することが重要であることが確認された。各国とも日本のGr対策と同じように輪作を基本とし、化学農薬と抵抗性品種を組み合わせた手法がメインであり、場合によって捕獲植物が利用されるというものだった。拡散防止としては、野良ばえの除去や耕作機械の洗浄の徹底、圃場履歴の適切な管理なども重要である。

「輪作」が基本の防除対策に位置づけられることは、日本も諸外国も同じであったが、Gpについては輪作1年で期待できる密度低下率は約20%と低いため、本法だけで十分な防除効果を期待することは難しいと考えられる。また、日本の生産現場ではオランダやスコットランドの種イモ圃場で推奨されているような長期の輪作 (それぞれ8年および6年) は現実的ではないことから、高い効果を期待できる防除手段ではないことが伺える。しかし、特別な負担を負うことなく確実な密度低減が図れる数少ない手段であることから、その活用は重要である。また、一般的に輪作下での密度低下率は温度や水分条件、土壌条件などによって異なることから、北海道において期待できる低下率を改めて調査する必要があると考えられる。

「化学農薬 (くん蒸剤および殺線虫粒剤)」は、視察地のいずれでも主要な防除手段に位置づけられていた。特に利用できる抵抗性品種がまだない国内においてGpの密度低減を図るには、D-Dなどのくん蒸剤の活用は欠かせないと考えられる。しかしながら、今回の視察ではくん蒸剤の効果は土壌条件 (地温, 水分条件) で不安定になりやすいことが留意点として確認された。今後、発生現地においてもその効果を検証し、不安定な場合には安定した効果を得られる施用条件等を検討する必要があるだろう。一方、殺線虫粒剤については密度低下があまり期待できないことが確認された。殺線虫粒剤は一般的に感受性のバレイショ栽培時に処理され、ふ化した幼虫に対して殺虫作用を発揮するが、薬剤の効果は1ヶ月程度しか持続しないため、遅れてふ化した線虫はその効果を免れて寄生でき、次世代を産生してしまうためであり、日本のGr防除においても栽培後には

密度が回復または増加してしまう場合が多いことが分かっている。特にGpの場合は遅れてふ化する個体も多いため、薬剤の効果を免れる個体がGrより多く、密度抑制効果はより低くなることである。国内では当面、根絶を目指した防除が行われることから、殺線虫剤の利用は想定されない。しかし、抵抗性品種が利用できるようになった際には、その栽培による密度低減効果を補完・向上させ、抵抗性打破系統の出現、密度増加リスクを抑制する手段などとして利用できる可能性がある。そのためにもまず、各種薬剤の効果について検討しておくことが必要と考えられる。

訪問各国において主力の防除手段として位置づけられていたのは、「抵抗性品種」であった。高品質で抵抗性の強度も高い品種の育成は難しいことから、これらの国においても育成された品種数はまだ少なかったが、積極的な密度低減が可能な高い抵抗性強度の品種（抵抗性スコアが8や9）も育成されていた。しかしながら、ドイツにおいて、既存の抵抗性品種が十分な抵抗性を示さないGpがすでに出現したことや、実験上では抵抗性品種で数世代増殖を繰り返すと寄生性が徐々に上昇し、抵抗性品種で増加できるようになることが報告されていることから（Fournetら、2013）、品種の選定や抵抗性品種の連作には注意が必要である。また、抵抗性品種の栽培によって期待できるGpの密度低下率は、90%程度との話もあったが、品種の抵抗性強度や栽培環境等によっても異なることから、国内においても改めて評価・確認する必要があると考えられる。

「捕獲植物（ハリナスビ）」も防除手段の1つとして紹介されたものの、あまり利用されていない印象だった。これは、種子が高価であることやその栽培には休閑する必要があること、初期生育が悪く雑草に負けやすいことや捕獲植物自体が雑草化する場合があるなどの難点があることが影響していると考えられる。しかしながら期待できる密度低減手段が不足する現状では捕獲植物の有効活用は欠かせないと考えられる。また、Grに対してであるが、北農研の試験により国内の農家圃場でも十分な密度低減効果が得られることが実証されていることから、Gpに対しても相応の効果が期待される。特にハリナスビはGpに対しても完全な抵抗性を示すため、その寄生型にかかわらず安定した密度低減効果を期待できる重要なメリットがある。一方、ハリナスビには上記の

ような取り扱い上の欠点があることは事実であり、北海道においても実用化する際には大きな障害となるかもしれない。また、当センターでは同様の効果を期待できる植物としてトマト野生種*S. peruvianum*「ポテモン」（雪印種苗(株)）を見出しているが、どちらも安定した播種法や栽培技術などが未確立であることから、実用化に向けた研究や現地での低減効果の確認が今後必要と考えられる。

また、これまでのGr対策と同様に、検査を受けた正規の種イモ利用の徹底、野良ばえの除去、耕作機械や運搬車両の洗浄などの侵入・分散防止対策は必須であることが改めて確認された。

ヨーロッパと日本とでは、気候や栽培作物、栽培体系、保有設備等の事情が異なる部分も多いことから、ヨーロッパでの対策技術がそのまま日本に導入できるわけではないと考えられる。視察結果を参考にしつつ、国内の実情に即した手法への改良を重ねていくことが重要と考えられる。

## 5. 育種の概要について

今回訪問した3箇所の育種機関と北農研の育種規模を比較すると、いずれの機関も展開する実生集団数が多いことがわかる（第2表）。最も少ないJHIでも1作あたり30,000粒と当センターの1.5倍である。Gr抵抗性やGp抵抗性、高でん粉価など目的とする形質が多くなるほど、それらの形質をすべて併せ持つ優良な系統が出現する確率は低くなり、より多くの初期集団を展開する必要がある。各機関によって普及対象となる地域数が異なることや目的とする用途が異なることから、単純な比較はできないが初期集団の大きさは優良品種の育成のために重要な要素となっているようである。北農研でも圃場や網室等育成スペースや人員が限られる中で、如何に初期集団を大きくするかが検討課題となる。そのためのひとつの方策としてはDNAマーカーの活用が考えられる。当センターでは初期世代でのDNAマーカーでの選抜は実施しておらず、選抜後期にDNAマーカーを利用しているのみである。例えば実生集団でDNAマーカー選抜を実施することによって、現状の育成スペースのまま初期集団を拡大することが可能となるため、今後利用するマーカーや具体的な実施時期について検討したい。また、実生選抜の段階でも育種目的に応じて選抜を実施することによって、圃場に展開する個体数を減らすことが期待できる。

その他今回の訪問では、日本とは異なる選抜方法や育種目標、用途等について情報を収集することができた。例えば日本では低温難糖化性についてはポテトチップス用やフレンチフライ用では重要な育種目標となるが、生食用では特に重視されておらず、むしろ低温によって糖化し甘くなる方が好まれる傾向にある。一方フランスでは生食用であっても貯蔵後甘くなる形質は好まれないため、Germicopaでは生食用でも貯蔵後の食味によって選抜を実施していた。北農研では貯蔵後の食味評価はポテトチップス用しか行っていないが、生食用品種やサラダ加工用品種であっても貯蔵後の味や食感の変化は重要な形質であるため、生食加工用品種の育種過程でも貯蔵後の食味評価を実施する必要があると考えられる。用途に関してはJHIでは洗って袋に入れて販売するPre-packや皮を剥いてパックして販売するJacket向けの品種開発、Germicopaでは小粒のサラダ用品種の育成など日本にはない用途の品種開発も行っていた。これらの用途の品種開発は新事業の創出が期待でき、特にPre-packやJacketは今後日本でも需要が増えていくと予想されることから、日本でも取り組むべき品種育成と考えられた。

これまでに日本でも多様な品種が育成され、「男爵薯」の栽培シェアは下がってきているものの、未だ「男爵薯」や「メイクイン」を越えるような品種の育成には至っていない。今回はGpに対する対策を主目的とした視察であったため深い議論はできなかったが、ヨーロッパ各国の育種会社がどのような戦略で既存品種を越える品種を育成し普及させていったかという点も、今後の新品種育成と普及の参考になるのではないかと思われた。

## 6. Gp抵抗性品種の育成について

前述のように抵抗性品種は、いずれの国でも総合防除の中心となる要素として認識しており、抵抗性品種無くしてGpの発生拡大を防止するのは困難であると考えられる。そのためにも早急に実用レベルの抵抗性を有する抵抗性品種の開発を行う必要がある。今回訪問したいずれの育種機関でも、抵抗性遺伝子として*S. vernei*に由来する*Gpa5*、*Gpa6*、*S. tuberosum* L. ssp. *andigena*に由来する*GpaIV<sup>s<sub>adg</sub></sup>*を中心に利用しており、これらを集積する（ピラミディング）ことによって抵抗性の強い品種育成を目指していた。DNAマーカーを利用したピラミディン

グは、強い抵抗性が期待される個体を効率よく選抜できるため、抵抗性品種の早急な育成が求められている現状では非常に有効な手段である。これらの抵抗性遺伝子は日本でも実用性の高い抵抗性遺伝子となり得ると期待されるため、日本でもDNAマーカーによる遺伝資源の評価を実施した。その結果*Gpa5*及び*GpaIV<sup>s<sub>adg</sub></sup>*を有する可能性のある品種・系統が複数見出された。しかしながらこれらDNAマーカーの有効性はまだ十分に評価されていないことから、今後、DNAマーカーで選定した品種・系統について、国内で発生したGpに対する抵抗性の確認や、DNAマーカーと抵抗性の相関の確認を早急に行う必要がある。DNAマーカーの有効性が確認できれば、日本でも同様に抵抗性遺伝子をピラミディングさせ抵抗性品種の育成を進める。また、Germicopaで利用を進めている*S. sparsipillum*についても、強い抵抗性を付与できる材料として期待できることから日本でも利用を進めていくべきと考えられる。

抵抗性遺伝子をピラミディングさせた品種を育成する場合、利用する抵抗性遺伝資源の農業形質が低く、抵抗性遺伝資源間の交配では効率的な優良品種の育成が行えない懸念がある。例えば*Gpa5*及び*GpaIV<sup>s<sub>adg</sub></sup>*を有するでん粉原料用品種を育成したい場合、現在国内で保有しているそれぞれの抵抗性遺伝子を持つ抵抗性遺伝資源の中には、高でん粉価を示すものがないため、それらの交配によってそれぞれの遺伝子を取り込んだ系統の作出に成功しても、でん粉原料用としてはでん粉価が低いものがほとんどになってしまう。そのためまず目的とする農業形質の特性を改良した育種素材の開発が必要となる。そこで、一旦それぞれの遺伝資源を高でん粉価の材料と交配し、その後代からそれぞれの抵抗性遺伝子を単独に有する高でん粉価の育種素材を育成し、その後両育種素材間の交配によって、高でん粉かつ2つの抵抗性遺伝子を有する品種を育成するという2段階の品種育成が必要である。ポテトチップ加工適性や食味等にも同様のケースが想定され、各用途の品種開発を進めるのに並行して、それぞれの抵抗性遺伝子を導入した抵抗性育種素材を育成するといった長期的な視点での育種にも取り組んでいく必要がある。

特定の抵抗性遺伝子への依存は抵抗性の打破を誘発する危険性が高いため、多様な抵抗性遺伝子を活用した品種育成を進めることが重要である。今



回訪問した各育種機関ではそれぞれの状況に応じて様々な野生種を利用し、多様な抵抗性の利用を図っていた。日本のジーンバンクにも*S. vernei*や*S. multidissectum*等様々な野生種に由来するGp抵抗性が期待される遺伝資源も保存されており、それらの利用も図っていく必要がある。複数の抵抗性遺伝子を集積させるピラミディングは多くの育種会社で実施している方法であり、より強く、崩壊しにくい抵抗性品種を育成するためには重要な戦略と言える。また、利用可能な抵抗性遺伝資源は多様であるほうが望ましく、海外のジーンバンクや育種会社からも抵抗性の遺伝資源を導入することが重要である。オランダの基金で育成した多数の育種素材からは多くの抵抗性品種が育成されていることから、日本でも有益な育種素材となり得るため、これらを日本で利用できるかどうかの確認が必要である。しかしながら近年は遺伝資源の導入やその育種利用に制約が多いため、国内の個々の育種機関がそれぞれ導入を進めるよりも、国内の機関が協力し合って新たな抵抗性遺伝資源の導入や利活用を図るほうが効率的であると考えられる。

Gp抵抗性育種では、育成系統の抵抗性評価は量的な評価が必要となる。今回の視察ではその方法を見聞することも重要な目的であった。標準法による抵抗性の評価は、広大なスペースと長期間を要し手順も繁雑であることから、各機関において様々な工夫がなされていた。一般的には、EPPOが定めた標準法はある程度絞り込んだ有望系統に対して実施され、その前段ではカップ検定などの簡易法により抵抗性が評価されていた。James Hutton Instituteでは、カップに加えてワンタッチで分解でき、根鉢を観察できるようにしたプラスチックポットが用いられていた(第14-2図)。カップ法、ポットなどによる評価にはそれぞれ一長一短があるため、限られた検定スペースや育種の段階に応じて評価法を使い分ける必要があると考えられる。また、カップ検定での抵抗性の判定については、フランスとスコットランドでは異なる基準で判定を行っていた。シストの休眠状態や種イモの状態によって、シストの着生状況は変化する可能性が高いため、日本でも常に複数の標準品種を同時に供試し、それらとの比較によって抵抗性の判定を行うJames Hutton Instituteの方法を参考にすべきと考えられる。

一方、EPPOが定めたヨーロッパの標準法には改善

の余地があると考えられた。特に抵抗性評価の基準となる栽培後密度(Pf)が大きく振れがちであることが問題であり、これは接種源がシストであることからふ化幼虫数(=初期密度)が振れやすいことが大きな要因と推察される。また、Gpのふ化は長期にわたるため、正確なPfを判定するにはバレイショを1作する必要があり、検定に長期間が必要なことも大きな欠点である。これらの問題は、接種源を幼虫にすることで解決できる可能性がある。北農研はPCNのふ化促進物質ソラノエクレピンAを所有しているため、これを利用すれば幼虫を多量に準備することは難しくない。幼虫接種であれば、初期密度を均一にできるためデータの振れを抑え、より正確に抵抗性を評価できる可能性がある。また、根内への侵入・寄生日もほぼ同じになるため、その後の発育を同期させることが期待できる。その場合、雌成虫の段階でも調査可能と考えられ、より短期間での判定が期待できる。今後、接種源を幼虫とした場合の検定精度や安定性についても調査し、必要な改善を施していく必要がある。一方、前述したようにGpでは抵抗性品種を連作すると寄生性が徐々に発達し、やがて抵抗性が打破される問題がある。抵抗性の育種に際しては、上述のように抵抗性の積み上げを図る必要があるとともに、その抵抗性品種に対する打破リスクを早期に評価し、そのリスクを低減化させる手法についても検討しておく必要があると考えられる。

抵抗性の選抜を行う段階については、各育種機関で異なっていたが、James Hutton Instituteの評価段階(実生選抜及び系統選抜)が、北農研でのGrに対する選抜時期と同じであるため、その段階での選抜が導入しやすいと考えられる。しかしながら、結果が比較的安定しているGr抵抗性では単年度の結果に基づく選抜でも偽陰性が生じる可能性は低いが、Gp抵抗性の場合試験時の条件によって結果が振れる可能性があり、複数年次の結果に基づき選抜を行う必要があるだろう。効率的かつ確実に抵抗性系統を選抜できるように、Gp抵抗性検定の方法や実施時期、反復等の詳細を今後検討しなければならない。さらにはヨーロッパでは抵抗性だけでなく、耐性という視点からの評価も実施しており、抵抗性だけでなく耐性も併せ持つ品種の育成が進められていた。現在日本ではGr抵抗性に対しても耐性という概念は一般的ではなく、耐性の評価は実施していない。当面は抵抗性を重視して品種開発を進めるが、抵抗性

品種であっても耐性が低い場合は高密度汚染圃場では減収が起これると考えられるため、将来的には抵抗性と耐性を併せ持つ品種を育成することが必要と考えられる。

## 7. Gpのパソタイプ分類等について

Gpにはパソタイプと呼ばれる病原型が3つ (Pa1~3) 存在することが知られていることから、国内での抵抗性品種の育成には、発生Gpのパソタイプを明らかにすることが重要と考えられた。しかしながら、パソタイプはその判定結果の流動性や不明確さなどから、分類の意義が以前より問われており、近年の論文ではほとんど採用されない傾向にあった。今回の訪問の結果、同じパソタイプであっても個体群によって抵抗性品種への寄生程度が異なるため (Phillips M. S. and Trudgill D. L. 1998) パソタイプの判別については育種的な意義は少ないことを諸研究者から直に聞くことができ、大変意義深かった。また、発生個体群のパソタイプを判定することは、伝搬源や侵入経路を推定するうえでも重要と考えられたが、現在はミトコンドリアDNAのシトクロームb遺伝子領域やリボゾームDNAのITS領域の塩基配列比較により詳細な系統間解析が可能になっていることから、この目的においてもパソタイプ判定の必要性は低いと判断される。国内の発生個体群については今後、これらのDNA領域の配列を解析することにより、原産地や諸外国に分布する個体群との類縁性が評価できる可能性が高い。これはより詳細な侵入源の推定だけでなく、国内に発生したGpの多様性把握や圃場間の分散経路解明にも役立つかもしれない。一方、今後の抵抗性品種育成では、品種や育種素材が国内のGpに対してどの程度の抵抗性を示すかが重要であり、まずその評価を行うべきと考えられる。また現時点では、発生地域が局所的であるため、国内で発生したGpの遺伝的背景は均質なものと推察されるが、DNA多型解析と合わせて導入抵抗性品種に対する寄生性に地域個体群間で変異がないかも確認しておく必要があるだろう。

## 8. その他の参考事項

今回の視察先のなかでオランダやフランスでは、種苗会社が契約する種イモ生産農家をきめ細かく指導し、健全種苗生産を維持している体制が非常に印象的だった。種苗会社間で競争が行われており、優

位性を確保するために種苗の健全性には力が入れているとのことだった。そのため特に、種イモ生産を特定の地域に集約し、食用、加工用などを生産する一般圃場から隔離することが行われており、この対策は日本でも参考になるかもしれない。日本でも種イモ生産に特化した圃場 (種イモ生産団地) を整備している地域はあるが、多くのPCN発生地域を含め、ほとんどの地域では種イモ生産圃場と一般圃場は混在している。前述したように日本の場合にはPCNに対する防除義務がないこともあり、PCN発生地内に立地する種イモ圃場ではPCNの侵入・発生リスクが相対的に高く、健全性維持のハードルは高い。現在、PCN発生地拡大に伴い、種イモ生産が可能な圃場の減少が大きな問題となりつつある。種イモ生産圃場を特定地域に集約し、徹底した防疫管理を行うことができれば、種イモ生産の維持がより効率的かつ厳格に図れることが期待される。

視察の結果、本線虫に対しては根絶に必要な「積極的な密度低減対策」が極めて少ないことが明らかになった。この中で根絶を図っていくには、発生圃場および発生密度の正確な把握が必須であり、それに対応できる検診体制の早期構築が求められる。そのうえで「増殖の回避 (宿主を栽培しない)」と「密度低減 (化学農薬利用や抵抗性品種、捕獲植物栽培)」を図る必要がある。なかでも抵抗性品種の活用は不可欠と考えられ、当面の手当として海外品種を導入し現地での適応性のあるものの選定・普及は急務である。また、捕獲植物利用による防除技術の実用化も重要なカギになると予想される。今回の視察を踏まえ、各技術をより早期に適切なものにしていきたい。

## 謝 辞

今回の海外視察は、平成27年度北海道農業研究センター所特定研究事業の海外調査において実施された。資金の獲得および出張手続き等において多くの関係方々に多大なご協力を頂いた。また訪問に際しては株式会社ジャパポテトの青木隆雄社長 (現株式会社ジェーピーシー社長) 及び帯広畜産大学の保坂和良教授には多大なご尽力を頂いた。ここに記して厚く御礼申し上げる。

## 引用文献

- 1) Caromel B., Mugniéry D., Kerlan M. C., Andrzejewski S., Palloix A., Ellissèche D., Rouselle-Bourgeois F., Lefebvre V. (2005) Resistance quantitative trait loci originating from *Solanum sparsipilum* act independently on the sex ratio of *Globodera pallida* and together for developing a necrotic reaction. *Mol Plant Microbe Interact.* 18 (11) 1186-1194
- 2) Council of the European Union (2007) Directive 2007/33/EC (2016年8月30日引用) <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX:32007L0033>
- 3) Eves-van den Akker S., Lilley C. J., Reid A., Pickup J., Anderson E., Cock P. J. A., Blaxter M., Urwin P. E., Jones J. T., Blok V. C. (2015) A metagenetic approach to determine the diversity and distribution of cyst nematodes at the level of the country, the field and the individual. *Molecular Ecology* 24, 5842-5851
- 4) Fournet S., Kerlan M. C., Renault L., Dantec J. P., Rouaux C., Montarry J. (2013) Selection of nematodes by resistant plants has implications for local adaptation and cross-virulence. *Plant Pathol.* 62 (1) 184-193
- 5) Hockland S., Niere B., Grenier E., Blok V., Phillips M., Den Nijs L., Anthoine GPickup J., Viaene N. (2012) An evaluation of the implications of virulence in non-European populations of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* for potato cultivation in Europe. *Nematology* 14 (supplement) 1-13
- 6) Narabu T., Ohki T., Onodera K., Fujimoto T., Itou K., Maoka T. (2016) First report of pale potato cyst nematode, *Globodera pallida*, on potato in Japan. *Plant disease* 100 (8) 1794
- 7) Nemapdecide (2016年8月30日引用) <http://www.nemapdecide.com/english/home>
- 8) OEPP/EPPO (2006) Testing of potato varieties to assess resistance to *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *EPP0 Bulletin* 36 (3) 419-420
- 9) Phillips M. S. and Trudgill D. L. (1998) Variation of virulence, in terms of quantitative reproduction of *Globodera pallida* populations, from Europe and South America, in relation to resistance from *Solanum vernei* and *S. Tuberosum* ssp. *andigena* CPC 2802. *Nematologica* 44 (4) 409-423
- 10) Plantard O., Picard D., Valette S., Scurrah M., Grenier E., Mugniery D. (2008) Origin and genetic diversity of Western European populations of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite loci. *Mol Ecol.* 17 (9) 2208-2218
- 11) Schultz L., Cogan N. O. I., McLean K., Dale M. F. B., Bryan G. J., Forster J. W., Slater A. T. (2012) Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for *H1*-conferred potato cyst nematode resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.) *Plant Breed.* 131 (2) 315-321
- 12) Science and Advice for Scottish Agriculture (SASA) (2016年8月30日引用) <https://www.sasa.gov.uk/seed-ware-potatoes/nematology/soil-testing>

## A Report on the Investigation into Control Methods for Potato Cyst Nematodes in European Countries

Kenji ASANO<sup>1)</sup>, Atsuhiko KUSHIDA<sup>2)</sup>, Takashi NARABU<sup>2)</sup>

### Summary

In August 2015, the pale potato cyst nematode (*Globodera pallida*) was found for the first time in several fields in Hokkaido Prefecture, Japan. Potato cyst nematodes (PCNs, *G. pallida* and *G. rostochiensis*) are pests under quarantine control worldwide because PCN infection causes considerable yield losses by inhibiting potato growth. In addition, the tough cuticular wall of the cyst stage of the PCN lifecycle enables the nematode eggs inside the cyst to survive for more than ten years, even in conditions of flooding, extreme drought, and low temperatures.

Although urgent control measures should be put in place to eradicate *G. pallida* in Japan, we had a poor understanding of infestation control measures, efficient soil testing methods for detection of PCNs, and breeding programs for potato varieties resistant to *G. pallida*. Therefore, we visited the potato breeding companies, the inspection service centers for seed potatoes, and the research institution in European countries that had vast experience with *G. pallida*. These institutions were namely HZPC and the NAK (Dutch General Inspection Service) in the Netherlands, Germicopa in France, and the Science & Advice for Scottish Agriculture (SASA) and the James Hutton Institute in Scotland. HZPC and Germicopa are the world-leading potato breeding companies. NAK and SASA are general inspection services that conduct PCN testing, seed production, and certification. The James Hutton Institute is a research institute for agriculture and land use. As a result of interviews with key personnel from each company and institute, integrated management was considered the fundamental measure to control PCNs. Integrated control includes methods such as crop rotation, use of fumigants and nematicides, and the cultivation of resistant varieties and trap crops. In addition, to prevent the introduction and spread of PCNs, practices such as PCN monitoring by appropriate soil testing, use of certified seed, control of volunteer potatoes, and washing of cultivating machinery and transporter vehicles have been strictly adhered to in these countries. These integrated management measures are already commonly employed in Japan for the management of *G. rostochiensis*. However, we found several differences in the soil testing method and control system of PCNs.

In the three countries we visited, official organizations conducted soil testing based on Directive 2007/33/EC. At NAK and SASA, an efficient and systematic cyst extraction method has been established using a “carousel,” a machine that enables automated separation of cysts from soil samples. Extractions produced by the carousel were visually inspected and if cysts were observed, the nematode species present were identified by PCR-based methods. At SASA, the majority of soil samples were directly tested by PCR based methods without prior visual observation of nematode presence. This resulted in high-throughput, rapid PCN diagnosis. If PCN was found following soil testing, the field was recorded as ‘infested’ and no seed potatoes were allowed to be grown in the field until the field was no longer considered infested. Ware potatoes were allowed to be grown on the infested field only if a control program that was officially approved was carried out. If no live PCN was detected following strict soil testing and officials approved the field as free from PCNs, the field was no longer considered infested and farmers were allowed to grow seed potatoes

---

1) Division of Field Crop Research and Development, Hokkaido Agricultural Research Center, NARO

2) Division of Agro-environmental Research, Hokkaido Agricultural Research Center, NARO

once more. In Japan, a system for the identification of cysts detected during conventional soil testing must be urgently established. In addition, it is necessary to introduce a high-throughput soil testing system in Japan in the future. Furthermore, it may be important to consider creating a new regulatory system that supports the efforts of the farmer to control PCNs, such as official approval once a field is no longer considered infested.

In each of the countries visited, resistant potato varieties were considered as the most important component of an integrated control system for PCNs. Resistance genes conferring complete resistance against *G. pallida* are not yet reported, and therefore breeding of *G. pallida*-resistant varieties is more difficult than breeding *G. rostochiensis*-resistant varieties. To develop resistant varieties, the introduction of strong resistance by the pyramiding of several resistance genes was considered as a basic policy in breeding companies and institute. As a breakdown of PCN resistance had been reported in Germany, the use of multiple resistance genes derived from a wide range of closely related species was considered as a means to prevent the breakdown of PCN resistance. Variety PCN resistance strength is scored as 1-9 based on a standard method described in the 2006 EPPO Bulletin; however, the standard method is space-consuming and labor-intensive. Therefore, experimental genotypes were selected for PCN resistance at each breeding company or institute using a simplified method that employed transparent plastic cups and plastic pots that could easily be partitioned. It is important to establish a similar framework for the efficient scoring of PCN resistance and the selection of PCN resistant genotypes in Japan.

**Key word:** potato cyst nematode, *Globodera pallida*, control method, resistant variety, soil testing