



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Characterization of Japanese populations of the clover cyst nematode, <i>Heterodera trifolii</i> , and the Korean cyst nematode, <i>H. koreana</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	関本, 茂行
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第7034号
Issue Date	2017-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67832
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shigeyuki_Sekimoto_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（農学） 氏名 関本 茂行

審査担当者 主査 准教授 吉澤 和徳
副査 教 授 秋元 信一
副査 教 授 大原 昌宏
副査 准教授 柁原 宏（本学大学院理学研究院）

学 位 論 文 題 名

Characterization of Japanese populations of the clover cyst nematode, *Heterodera trifolii*, and the Korean cyst nematode, *H. koreana*

（日本産クローバシストセンチュウおよびタケシストセンチュウ個体群の特徴）

本論文は4章からなり、図16、表10、引用文献116編を含む総ページ数110の英語論文であり、別に3編の参考論文が添えられている。

*Heterodera*属シストセンチュウは、シストのステージを有する植物寄生性線虫である。成熟した雌成虫が数百個の卵を体内に保持したまま死亡すると、表皮がタンニン化してシストとなる。シスト中の卵は乾燥や低温に高い耐性を有し、寄主植物が無くても数年間生存でき、発生すると防除が極めて困難である。テンサイシスト*H. schachtii*（以下種名からセンチュウを省略）、ダイズシスト*H. glycines*、ムギシスト*H. avenae*など重要な農業害虫を多く含み、世界から85種が報告されている。日本からはムギシスト、オカボシスト*H. elachista*、ダイズシスト、ホップシスト*H. humuli*、*H. latipons*、クローバシスト*H. trifolii*、マメシスト*Heterodera* sp.（ダイズ寄生未同定種）、タケシスト*Heterodera* sp.（タケ寄生未同定種）の8種が報告されている。本属の的確で迅速な種同定は、防除手段の選択や植物検疫措置の実施に必須であるが、日本産本属の生物学的情報は乏しい。

本学位論文では、日本産クローバシストおよびタケシストの生物学的特性を明らかにすることを目的としている。

第1章で、東日本でのクローバシストの分布調査を行った。北海道から中部地方で採集したシロクローバ根圏土壌195サンプルと施設栽培カーネーション根圏土壌8サンプルから線虫を分離した結果、シロクローバ57とカーネーション5サンプルからシストセンチュウの2期幼虫が検出された。各サンプルから分離した2期幼虫1頭ずつからDNAを抽出し、PCR法

によりITS領域を増幅した。3種の制限酵素を用いたPCR-RFLP法で種同定を行った結果、クローバシストと同定された。この結果、クローバシストが東日本に広く分布することが新たに明らかとなった。

第2章で、日本産クローバシストの形態学的、分子生物学的特徴を調査した。日本産クローバシスト6個体群の形態学的特徴は、微小な種内変異が確認されたが、これまでのクローバシストの報告とおおむね一致した。また、日本産クローバシストは近縁種と形態学的に識別できた。ITS塩基配列ではクローバシストと近縁種を識別することはできなかったが、28S rRNA D2-D3領域、ミトコンドリアCOI塩基配列では（*H. betae*を除き）明確に識別できた。また、*schachtii*種群における塩基配列の変異はD2-D3領域よりCOIが大きかったが、クローバシストのCOI領域の種内変異は最大でも0.3%と非常に低かった。クローバシストと*H. betae*はITS、D2-D3領域、COIいずれも塩基配列がほぼ一致しが、2期幼虫の形態と寄主範囲の違いで明確に区別できた。

第3章で、5作物とカーネーション3品種での日本産クローバシスト3個体群の増殖性を調査した。いずれの個体群もシロクローバ、アズキ、ハウレンソウ、カーネーション「バーバラ」「チェリーテッシノ」「ピーチマンボ」でシストを形成したが、テンサイ、ブロッコリーでは形成しなかった。長野産カーネーション由来個体群は、シロクローバを除くいずれの植物においても北海道産シロクローバ由来個体群、青森産シロクローバ由来個体群に比べて有意にシスト数が多かった。カーネーション「バーバラ」におけるシスト数は「チェリーテッシノ」「ピーチマンボ」に比べて有意に少なく、「バーバラ」は抵抗性型の可能性がある。ハウレンソウ、カーネーション「チェリーテッシノ」「ピーチマンボ」での3個体群のシスト数の変異は、日本産個体群の増殖性に変異が存在する可能性を示した。

第4章で、未同定だった国内のタケ類寄生性シストセンチュウを*H. koreana*と同定し、地理的分布、形態学的、分子生物学的特徴を明らかにした。本州から九州で採集した4種のタケの根圏土壌88サンプルから線虫を分離した結果、モウソウチク31、マダケ7、ハチク2、ホテイチク1の計41サンプルから*H. koreana*を検出した。これらの形態学的特徴は、微小な種内変異が確認されたものの、海外産本種と概ね一致した。また、ITSと28S rRNA D2-D3領域の塩基配列も形態同定を支持した。*H. koreana*のCOI塩基配列が初めて得られ、検出された3つのハプロタイプは、タケの種類に関わらず特徴的な地理的分布を示した。タイプAは関東以西の本州、四国、九州南部に、タイプBは東北地方太平洋側、関東地方、九州北部に分布し、タイプCは三重県の1地点からのみ検出された。しかし、タイプAの分布域である石川県金沢市でタイプBが検出されたことから、本種の遺伝構造はより複雑な可能性がある。

以上の結果は、重要害虫であるシストセンチュウの防除や検疫を的確かつ効率的に行うために重要な形態学的、分子生物学的情報を提供するものであり、学術上高く評価される。よって審査員一同は、関本茂行が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。