HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Characterization of Japanese populations of the clover cyst nematode, Heterodera trifolii, and the Korean cyst nematode, H. koreana [an abstract of entire text]
Author(s)	関本, 茂行
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
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/2115/67833
Type	doctoral thesis
File Information	Shigeyuki_Sekimoto_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

博 士 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称： 博　士（農学）　　氏名　　関　本　　茂　行

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）

Heterodera 属シストセンチュウは、その生活環の中にシストのステージを有する半内部定着性の植物寄生性線虫である。根の中で肥大・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褐色のレモン型シストとなり、根から脱落して土壌中に残存する。シスト内に保護された卵は乾燥や低温に高い耐性を有し、寄主植物が存在しない環境下においても数年間生存することができるため、一度発生すると防除が極めて困難な害虫である。テンサイシストセンチュウ *H. schachtii* Schmidt, 1871、ダイズシストセンチュウ *H. glycine*s Ichinohe, 1952、ムギシストセンチュウ *H. avenae* Wollenweber, 1924 などの世界的に重要な農業害虫を多く含み、これまでに世界から 85 種が報告されている。日本からはこれまでにムギシストセンチュウ、オカボシストセンチュウ *H. elachista* Ohshima, 1974、ダイズシストセンチュウ、ホップシストセンチュウ *H. humuli* Filipjev, 1934、*H. latipons* Franklin, 1969、クローバシストセンチュウ *H. trifolii* Goffart, 1932、マメシストセンチュウ *Heterodera* sp.（ダイズ寄生未同定種）、タケシストセンチュウ *Heterodera* sp.（タケ寄生未同定

種）の 8 種が報告されている。*Heterodera* 属シストセンチュウの的確で迅速な種同定は、適切な防除手段の選択および効果的な植物検疫措置の実施において非常に重要である。しかし、ダイズシストセンチュウなど一部の種を除き、日本産 *Heterodera* 属シストセンチュウのほとんどの種の地理的分布、形態学的、分子生物学的特徴および生物学的特性に関する情報は乏しい。そこで本研究は、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地理的分布、形態学的、分子生物学的特徴および生物学的特性を明らかにすることを目的とした。

第 1 章：東日本におけるクローバシストセンチュウの地理的分布

東日本においてクローバシストセンチュウの分布調査を行った。2012 年に北海道から中部地方にかけての東日本各地で採集したシロクローバ根圏土壌 195 サンプルおよび施設栽培カーネーション根圏土壌 8 サンプルからそれぞれベルマン法を用いて線虫を分離した結果、シロクローバ根圏土壌 57 サンプルおよび施設栽培カーネーション根圏土壌 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。各土壌サンプルから分離された 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（*Alu*I、*Mse*I、*Rsa*I）を用いた PCR-RFLP 法による種同定を行った結果、シロクローバ根圏土壌 56 サンプルおよび施設栽培カーネーション根圏土壌 5 サンプルからクローバシストセンチュウが検出された。本調査の結果、クローバシストセンチュウが北海道から中部地方にかけての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：日本産クローバシストセンチュウ個体群の特徴および近縁種との系統関係

日本産クローバシストセンチュウの形態学的および分子生物学的特徴を調査した。

日本産クローバシストセンチュウ 6 個体群の形態学的特徴および形態計測値は、微小な種内変異が確認されたものの、これまでに報告のある日本産および海外産（アメリカ、オランダ、ニュージーランド、イギリス、ドイツ、イタリア）クローバシストセンチュウ個体群の計測値とおおむね一致した。また、日本産クローバシストセンチュウ個体群は *schachtii* グループに属する近縁種（*H. betae* Wouts, Rumpenhorst & Sturhan, 2001、*H. daverti* Wouts & Sturhan, 1978、ダイズシストセンチュウ、テンサイシストセンチュウ）と形態学的に識別することができた。ITS 領域塩基配列ではクローバシストセンチュウとその近縁種を識別することはできなかったが、核 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2-D3 領域およびミトコンドリア DNA *COI* 領域塩基配列ではクローバシストセンチュウとその近縁種（*H. betae* を除く）を明確に識別することができた。また、*schachtii* グループにおける塩基配列の種内変異は D2-D3 領域よりも *COI* 領域において大きかったが、クローバシストセンチュウの *COI* 領域における種内変異は最大でも 0.3%と非常に低かった。クローバシストセンチュウと *H. betae* は ITS 領域、D2-D3 領域および *COI* 領域のいずれの領域においても塩基配列がほぼ一致したため、分子生物学的に区別することはできなかった。しかし、両種は 2 期幼虫における形態学的差異および寄主範囲の違いで明確に区別することができた。

第 3 章 : 5 作物およびカーネーション 3 品種における日本産クローバシストセンチュウ 3 個体群の増殖性

5 作物およびカーネーション 3 品種における日本産クローバシストセンチュウ 3 個体群（北海道産シロクローバ由来個体群、青森県産シロクローバ由来個体群、長野県産カーネーション由来個体群）の増殖性をポット試験により調査した。その結果、い

ずれの個体群もシロクローバ、アズキ、ホウレンソウ、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」においてシストを形成したが、テンサイ、ブロッコリーではシストを形成しなかった。長野県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供試植物においても北海道産シロクローバ由来個体群、青森県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。また、3 個体群のカーネーション「バーバラ」におけるシスト数は、カーネーション「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」が抵抗性型である可能性が示唆された。ホウレンソウ、カーネーション「チェリーテッシノ」「ピーチマンボ」における 3 個体群のシスト数の変異は、日本産クローバシストセンチュウ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：日本産タケシストセンチュウ個体群の形態学的および分子生物学的特徴

これまで未同定種であった日本国内のタケ類に寄生するタケシストセンチュウを *Heterodera koreana* (Vovlas, Lamberti & Choo, 1992) Mundo-Ocampo, Troccoli, Subbotin, Del Cid, Baldwin & Inserra, 2008 と同定し、地理的分布、形態学的および分子生物学的特徴を明らかにした。本州から九州にかけての日本各地で採集した 4 種のタケ類の根圏土壌 88 サンプルからベルマン法を用いて線虫を分離した結果、モウソウチク根圏土壌 31 サンプル、マダケ根圏土壌 7 サンプル、ハチク根圏土壌 2 サンプルおよびホテイチク根圏土壌 1 サンプルの計 41 サンプルから *H. koreana* の 2 期幼虫が検出された。日本産 *H. koreana* の形態学的特徴および形態計測値は、微小な種内変異が確認されたものの、韓国、中国およびイラン産 *H. koreana* 個体群の計測値と概ね一致した。また、ITS 領域および核 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2-D3 領域の塩基配列および系

統解析の結果も、形態学的種同定を支持した。本研究において *H. koreana* の *COI* 領域塩基配列が初めて得られた。日本産 *H. koreana* 41 個体群から検出された 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。ハプロタイプ A は関東以西の本州、四国および九州南部に、ハプロタイプ B は東北地方太平洋側、関東地方および九州北部に分布し、ハプロタイプ C は三重県いなべ市の 1 地点からのみ検出された。しかし、ハプロタイプ A の分布域である石川県金沢市においてハプロタイプ B が検出されたことから、日本国内におけるハプロタイプの分布はより複雑である可能性が示唆された。