

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 奈良部 孝

ネコブセンチュウ (*Meloidogyne* spp.) は世界的に最も広く分布する植物寄生性線虫グループであり、わが国においては、施設園芸や露地野菜、畑作における連作障害の主因の一つとなっている。殺線虫剤主体の防除法の弊害から、化学薬剤に代わる防除法の確立が急務である。本研究では、防除の基本となるネコブセンチュウの簡便な同定法の確立と、種および系統ごとの寄生性や分布など生理生態的特性の解明を行った。また、化学薬剤に代わり得る生物的防除素材として、天敵細菌 *Pasteuria penetrans* の諸性質を解明し、実用場面での防除法の開発と効果の実証を行った。

1. 日本産ネコブセンチュウの分類学的研究および地理的分布の解明

本研究では、北海道から沖縄までの全国約 350 か所のネコブセンチュウを用いて、従来の形態観察および新手法であるアイソザイム解析による同定を行った。この結果、わが国の施設園芸や露地野菜、畑作圃場には、サツマイモネコブセンチュウ、アレナリアネコブセンチュウ、キタネコブセンチュウ、ジャワネコブセンチュウの世界的に共通する 4 種が分布することを確認した。変異の大きい形態データに代わり、エステラーゼ+リントゲナーゼのアイソザイムが正確な種の同定に利用できることを明らかにした。これら主要 4 種の他、主に木本植物に寄生するわが国固有種 6 種 (うち 3 種は新種) を検出し、全 10 種のネコブセンチュウを本手法によって明確に同定した。アイソザイム同定を行ったネコブセンチュウについて、種内・種間の形態差異を詳細に検討することによって、数多い分類形質のうち、雌成虫の会陰紋形態と雄成虫の頭部形態の 2 点の組み合わせ比較が、形態による正確な同定に有効であることを示した。

本邦産ネコブセンチュウのうち、アレナリアネコブセンチュウにはアイソザイムの差異から A 2 型と A 1 型が存在し、それぞれ形態的な差異を認めた。さらに A 2 型の中でも、形態的差異から 2 通りの分類群を見いだした。一方、ミトコンドリア DNA の特定領域を増幅するプライマー (c2f3/1108) を用いて、PCR 法で得られた DNA 断片長を比較したところ、A 2 型は 1.7kb のグループと 1.1kb のグループに分かれ、A 1 型はすべて 1.7kb であった。これら 3 通りのグループ分けは形態的特徴に基づくグループ分けとも一致したため、それぞれアレナリアネコブセンチュウの「A2-J」、「A2-O」、「A1」の 3 つの分化型とした。これら日本産分化型と海外のアレナリアネコブセンチュウ系統を比較精査した結果、A2-O 型が既報のアレナリアネコブセンチュウ基本系統と一致した。A2-J 型は形態・ゲノム構造・サツマイモに対する寄生性を有する点において既報には見られない特徴を示し、わが国独自の系統と結論づけた。さらに、A1 型については、特徴的な形態形質とアイソザイム多型を確認したことから、アレナリアネコブセンチュウから独立した新種である *M. microcephala* Cliff & Hirschmann と同定した。本種は南米および東南アジア以外の地域から

は初検出であり、ナンヨウネコブセンチュウ（新称）と命名した。

アレナリアネコブセンチュウ各分化型は分布域が異なり、A2-J型は本州～九州に広く分布し、A2-O型は沖縄のみに、A1型（*M. microcephala*）は九州南部から沖縄に分布した。わが国では、サツマイモネコブセンチュウが全国的に分布し、検出率も過半数を超える最重要種で、A2-J型がそれに次いだ。一方、従来全国的に分布するとされていたジャワネコブセンチュウは、A2-O型およびA1型と共に、沖縄を中心とした暖地のごく一部にしか分布しないことを明らかにした。

2. 天敵細菌 *Pasteuria penetrans* の特性解明とネコブセンチュウ防除の実証

わが国の各地圃場から24分離株の *P. penetrans* を探索し、ネコブセンチュウとの二者培養によって9分離株の増殖に成功した。各分離株の胞子は超音波処理や特定のプロテアーゼ処理によって付着活性が高まり、アルカリ条件下では胞子付着が阻害されることを明らかにした。各分離株はネコブセンチュウの種に対して宿主特異的な付着・寄生反応性を示した。すなわち、各分離株は寄生性によって3つのグループに分かれ、PPMIグループはサツマイモネコブセンチュウとジャワネコブセンチュウに、PPMAグループはアレナリアネコブセンチュウと *M. microcephala* に、PPMHグループはキタネコブセンチュウにそれぞれ特異的に寄生することを明らかにした。これら天敵細菌分離株の宿主特異性を利用して、野外から分離した未知種の同定に応用できることを明らかにし、簡便な手順で種を同定する手法を開発した。一方、沖縄以南のサツマイモネコブセンチュウには、いずれの天敵細菌分離株も寄生しない個体群があることが判明した。この個体群に対しては、PPMIグループから寄生性変異株を選抜し、この株で防除が可能であることを示した。

天敵細菌 *P. penetrans* の優良系統を選抜し、ネコブセンチュウ汚染土壌に胞子を混合し、作物を連作することによって、ポット試験では胞子量が土壌1g当たり 10^5 個で2作目から、同 10^4 個で3作目から殺線虫剤並みの防除効果が得られた。防除効果を得るための要因として、分離線虫に対する胞子付着率が重要であり、同付着率が80%を越えると次回作から防除効果が明瞭に現れることを示した。次に、露地トマトを6連作栽培しサツマイモネコブセンチュウの防除効果を圃場試験によって確認した。初年目1回のみ 1 m^2 当たり 5×10^9 個胞子処理区では、3作後以降、胞子付着率は80%前後を維持したものの、ポット試験並の防除効果は得られず、5作目までは無処理区の収量をわずかに上回る程度であった。顕著な効果が現れたのは6作目で、その時の収量は殺線虫剤毎作処理区を上まわった。殺線虫剤の半量併用では、3作目までの減収をある程度抑えることができたので、天敵細菌の効果が現れるまでの期間の対策として有効であった。

以上を要するに、本研究ではわが国のネコブセンチュウに対し、高精度で簡便な同定法を開発した。この手法の適用によって、わが国のネコブセンチュウの種分布を明らかにし、従来の矛盾点の多い定説を一新した。また、わが国の主要ネコブセンチュウ種にそれぞれ対応した天敵細菌系統を野外から分離し増殖することに成功し、その中から優良分離株を選抜し、圃場試験において線虫防除効果を実証した。これらの成果は、学術上また応用上きわめて価値が高い。よって審査委員一同は本論分が博士（農学）に値するものと認めた。