

重要線虫種群 *Xiphinema americanum*-group の 日本産個体群の特徴

農林水産省横浜植物防疫所業務部 ^さ酒 ^い井 ^{ひろ}啓 ^{みち}充

はじめに

植物寄生性線虫は農業生産に損害をもたらす重要な要因の一つである。広範囲の植物種の根に外部寄生することが知られているオオハリセンチュウ (*Xiphinema* spp.) は、植物ウイルス媒介種を含むため植物寄生性線虫の中で重要な属の一つと考えられている。欧州諸国の植物検疫においては、*Tobacco ringspot virus* などのネポウイルスを媒介するとして数種のオオハリセンチュウが規制対象線虫種として指定されているが、これらはいずれも種群 *X. americanum*-group に属する種である。本種群は植物検疫上重要な種群であるにもかかわらず、その種の同定・分類はいまだ確立されていない。近年、日本から欧州諸国向けに輸出された植木・盆栽類において、輸入国での検査で *X. americanum*-group が検出され、輸入が認められなかった事例があり、日本の生産者および輸出業者にとって大きな問題となっている。本種群の植物検疫における課題の一つは、ウイルスを媒介する種と媒介しない種が種群内に混在していることである。このため、日本産個体群のウイルス媒介能に関する情報が重要となる。こうした情報を得るためには線虫種の正確な同定が欠かせないため、我が国に生息する *X. americanum*-group の分類学的状況を明らかにすることが重要である。本稿では、本種群の分類について経緯と現状を紹介するとともに、日本産個体群の特徴について述べる。なお、オオハリセンチュウの一般的な形態および本種群を除く日本既知種については、平田 (2003) による概説を参照願いたい。

I *Xiphinema americanum*-group の分類

米国線虫学の父と呼ばれる COBB は、*Xiphinema americanum* (アメリカオオハリセンチュウ) を新種記載し、本種をタイプ種として *Xiphinema* 属を提唱した (COBB, 1913)。そのおよそ半世紀後に、*X. americanum* と同定された 75 個体群の形態を精査した TARJAN (1969) は、

Japanese Populations of the Dagger Nematode, *Xiphinema americanum*-group. By Hiromichi SAKAI

(キーワード: オオハリセンチュウ, ウイルス媒介, 植物検疫, 輸出)

これらが形態学的に異なる部分があるものの基本的な同質性のために別種にわけることができない地理的変異個体群と考え、すでに記載されていた近縁3種とともに“*X. americanum* group”を構成する、と初めて種群に言及した。この時期においては、*X. americanum* に似ている個体群の多くが同種として同定されており、日本国内も例外ではなかった。その後、LAMBERTI and BLEVE-ZACHEO (1979) は *X. americanum* と同定すべき範囲を限定し (= 狭義の *X. americanum*)、これまで同種とされた地理的変異個体群を細分化して 15 種もの新種を記載した。その結果、*X. americanum*-group には 23 種が含まれるとされた。LAMBERTI らはその後も新種記載を重ねたが、Luc et al. (1998) はこうした種の細分化を厳しく批判し、大胆なシノニムの整理を行って *X. americanum*-group の再定義を行い、本種群に 34 種が含まれるとした。この定義において強調された種群の特徴は、雌の生殖器官の特異的な構造と卵巣内における共生微生物の存在であった (図-1)。これらの特徴は、*Xiphinema* 属内において

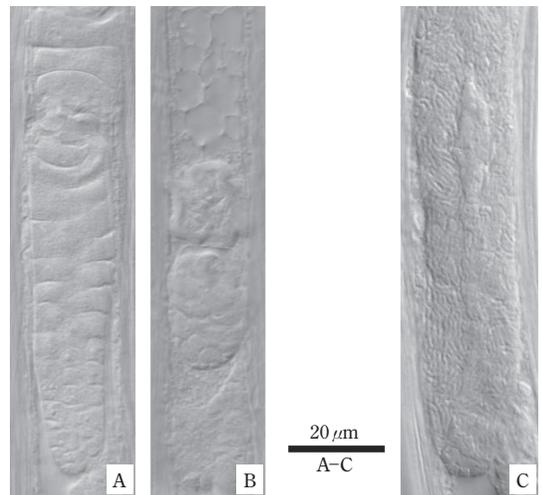


図-1 卵巣内共生微生物の有無

Xiphinema americanum-group ではないオオハリセンチュウ (A, B) では卵巣に異常はなく卵母細胞も明瞭であるが、*X. americanum*-group の構成種 (C) では卵巣内に桿状の微生物が充満し卵母細胞も不明瞭である。

A: キイチゴオオハリセンチュウ, B: ヤマユリオオハリセンチュウ, C: 未記載種。

て本種群以外には見られない特異的な特徴である。本種群の構成種は基本的に単為生殖で雄が知られていないか極めてまれであり、共生微生物の関与が疑われている。LAMBERTI et al. (2000) は、卵巣内共生微生物という生物学的特性ではなく、あくまで形態学的特徴のみによって本種群を定義すべきとして 51 種を構成種とし、これらを識別するための検索表を提示した。しかし、この検索表では正確な種同定ができないことなどが指摘されたため、LAMBERTI et al. (2004) は指摘事項に対応する検索表を作成したが、この検索表にも誤りが見られるため正確に同定できない種が存在するなど問題が残っている。これ以後においては、本種群として 2 種の追加が見られたものの、種群を包括的に扱った論文は現在まで出されていない。この分類学的論争を先導してきた LAMBERTI と Luc はすでに亡くなっており、本種群の分類学的課題はいまなお未解決のままとなっている。

このように、本種群の定義ははまだ確立されたとは言いがたいが、Luc et al. (1998) の定義の通り、卵巣内に共生微生物が存在するオオハリセンチュウ、と考えておおむね差し支えない（ただし、中間的な種もいくつかあり、これらを種群に含めるかどうかは論争に含まれている）。近年、塩基配列解析が盛んに行われてきており、種の細分化を支持する傾向にあるが、供試サンプルの種同定や分子系統解析手法などにおいて問題が多いと筆者は考えている。

II 日本産個体群

1 ボンサイオオハリセンチュウ

日本国内においても種群 *X. americanum*-group が 1930 年代からすでに検出されていたが、これらは *X. americanum* と同定されていた。しかし、本種群の細分化を促した LAMBERTI and BLEVE-ZACHEO (1979) は、日本から欧州向けに輸出された盆栽（樹種は不明）から検出された本種群の標本に基づいてボンサイオオハリセンチュウ (*X. incognitum*) を新種記載した。明治神宮境内林から検出されたオオハリセンチュウを調査した宍田は、様々な樹種から本種を検出したうえ、それまで日本国内で記録された *X. americanum* は明らかに狭義の *X. americanum* と異なり、すべて本種のことを指しているとした (SHISHIDA, 1983)。以来、本種群のうちボンサイオオハリセンチュウのみが日本記録種とされてきた。

2 千葉県内植木生産圃場から検出された個体群

筆者らは、千葉県内の植木生産圃場に植栽されている主要樹種から検出される線虫相を調査した。このうち、オオハリセンチュウの好適寄主であるイヌツゲ苗の根圏

土壌から検出された *X. americanum*-group 個体群について精査した結果、2 種が寄生していることを明らかにし、形態学的特徴からコーヒーオオハリセンチュウ (*X. brevicolle*) および未記載種 (*Xiphinema* sp.) と同定した (図-2: SAKAI et al., 2011)。コーヒーオオハリセンチュウと同定したサンプルの形態計測値は、本種のタイプ標本およびタイプ産地標本の値と概して一致した。一方、未記載種としたサンプルの形態計測値の多くは *X. paramonovi* の値と一致したが、尾長が明らかに異なったため一致する既知種はないと判断した。これら 2 種は形態的に極めて近似しているが、体長や歯針長などは未記載種のほうが大きく、コーヒーオオハリセンチュウの熱殺時の体形は C 形であるのに対して未記載種のそれはらせん状となる。ただし、形態計測値のみによっては識別が困難である中間的な個体も存在し、こうした個体は頭端や尾部の形態を精査する必要がある。一方、ミトコンドリア DNA COI 領域および核リボソーム RNA 遺伝子 2 領域 (18S rDNA 領域および 28S rDNA D2/D3 領域) の

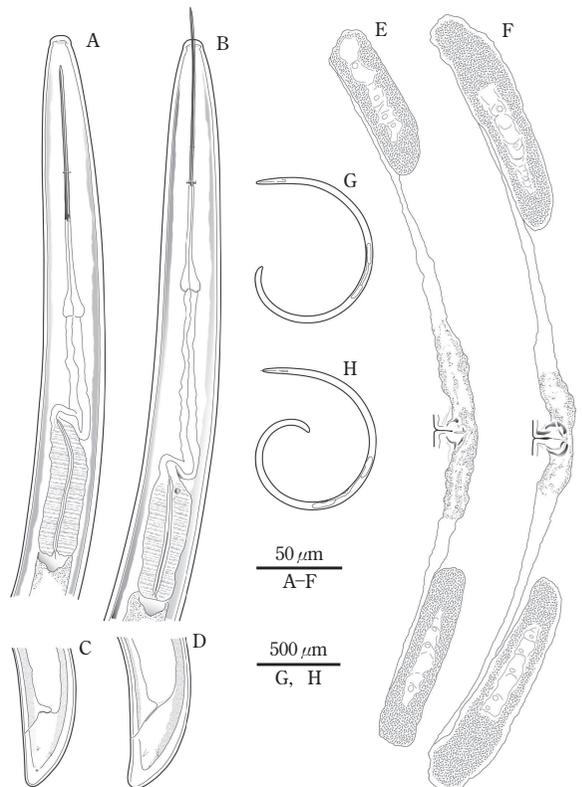


図-2 コーヒーオオハリセンチュウ (A, C, E, G) および未記載種 (B, D, F, H) の雌成虫の形態 (SAKAI et al., 2011)

A, B: 体前部, C, D: 尾部, E, F: 生殖器官, G, H: 全体像。

塩基配列を比較した結果、これら2種の間における塩基配列の一致率はそれぞれ84.1%, 99.9%, 98.1~98.2%であった。得られた塩基配列とデータベース上の*X. americanum*-groupの配列データを用いて最尤法により分子系統解析を行った結果、これら2種が他のコーヒーオオハリセンチュウやその近縁種と同じ群にまとまること示された。コーヒーオオハリセンチュウについては、COI領域の塩基配列が約7%異なる系統が存在することも明らかとなったが、形態計測値を含めて変異程度は種内レベルと判断した(SAKAI et al., 2012)。さらに、これら2系統が混発しているサンプルも見られた。

3 日本既知種の同定・識別

筆者らの調査結果を加えると、種群*X. americanum*-groupの日本既知種はコーヒーオオハリセンチュウ、ボンサイオオハリセンチュウおよび未記載種の3種となる。Luc et al. (1998)は6種をコーヒーオオハリセンチュウのシノニムとすることを提唱したが、この中にはボンサイオオハリセンチュウが含まれている。この是非については結論が得られていないが、コーヒーオオハリセンチュウとボンサイオオハリセンチュウが極めて近縁な関係であることは間違いない。また、上述の通り千葉県で検出された未記載種もコーヒーオオハリセンチュウと極めて近縁である。すなわち、日本既知種はこれまでのところコーヒーオオハリセンチュウとその近縁種ということになり、その同定・識別が問題となる。そこで、主要な形態計測値について、千葉県内で検出されたコーヒーオオハリセンチュウと未記載種の計測データならびにボンサイオオハリセンチュウの文献上のデータを比較した(表-1)。その結果、形態計測値の多くがオーバーラップしている一方、歯針長の平均値を用いることでこれら3種が識別できると考えられた。すなわち、平均歯針長について90 μ m未満はボンサイオオハリセンチュウ、90~100 μ mはコーヒーオオハリセンチュウ、105 μ mを超えるものは未記載種として識別できる。なお、歯針長の種内変異は20 μ m以下と思われるため、この値を超える幅の歯針長が記録されるサンプルについては、2種以上が混発している可能性を考慮し塩基配列による個体群構成の確認を行うなどの注意が必要である。

おわりに

近年、形態学的特徴を精査する従来の線虫分類学において、専門家の数は世界的に減少してきている。一

表-1 日本既知種の主な形態計測値(平均値 \pm 標準偏差(最小~最大))

	コーヒー オオハリ センチュウ	未記載種	ボンサイオオハリ センチュウ	
n	107	13	20 ^{a)}	25 ^{b)}
体長 (mm)	1.84 \pm 0.12 (1.57 ~ 2.22)	2.30 \pm 0.12 (2.08 ~ 2.47)	1.9 (1.7 ~ 2.1)	1.71 \pm 0.10 (1.52 ~ 1.98)
歯針長 (μ m)	93.1 \pm 3.4 (86 ~ 102)	107.3 \pm 2.7 (103 ~ 111)	87 (82 ~ 93)	89.5 \pm 2.4 (83 ~ 94)
尾長 (μ m)	26.7 \pm 2.4 (19 ~ 33)	29.2 \pm 2.8 (24 ~ 34)	30 (25 ~ 38)	28.3 \pm 1.3 (27 ~ 31)
最大体幅 (μ m)	39.6 \pm 2.6 (34 ~ 46)	47.2 \pm 2.5 (44 ~ 52)	42 (36 ~ 45)	—

^{a)} LAMBERTI and BLEVE-ZACHEO (1979).

^{b)} SHISHIDA (1983).

方、リスクに応じてより適切に実施される植物検疫が求められる中、線虫種の同定識別の重要性はますます高まっている。植物検疫上の重要性にもかかわらず、種群*X. americanum*-groupの種同定は、*Xiphinema*属に詳しい専門家にとっても困難な作業である。このような状況の中、塩基配列情報の蓄積が進んできており、本種群の分類の進展に大きく寄与していくものと期待される。しかし、塩基配列情報は形態情報や生物学的情報に取って代わるものではなく、両者が補完的に用いられることが重要である。なぜなら、塩基配列情報は個体群を分けるのには有用だが、種の境界線が自動的に決まるわけではないからである。

本稿で紹介した筆者らによる成果は、筆者が農研機構・中央農業総合研究センター在籍時に参加した「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業(21043)」によるものである。共同研究者の水久保隆之博士(中央農業総合研究センター)ならびに武田 藍氏(千葉県農林総合研究センター)に感謝申し上げる。

引用文献

- 1) COBB, N. (1913): J. Wash. Acad. Sci. 3: 432 ~ 444.
- 2) 平田賢司 (2003): 植物防疫 57: 84 ~ 88.
- 3) LAMBERTI, F. and T. BLEVE-ZACHEO (1979): Nematol. Medit. 7: 51 ~ 106.
- 4) ——— et al. (2000): Russ. J. Nematol. 8: 65 ~ 84.
- 5) ——— et al. (2004): Nematol. Medit. 32: 53 ~ 56.
- 6) LUC, M. et al. (1998): Fundam. Appl. Nematol. 21: 475 ~ 490.
- 7) SAKAI, H. et al. (2011): ZooKeys 135: 21 ~ 40.
- 8) ——— (2012): Nematol. Res. 42: in press.
- 9) SHISHIDA, Y. (1983): Jpn. J. Nematol. 12: 1 ~ 14.
- 10) TARIAN, A.C. (1969): Nematologica 15: 241 ~ 252.