

Studies on the soil fungus *Metarhizium* spp. in Japan: molecular species identifications and characterizations by habitat preference, thermal growth preference and virulence against insects

西, 大海

<https://hdl.handle.net/2324/1441296>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名 : 西 大海

論文題目 : Studies on the soil fungus *Metarhizium* spp. in Japan: molecular species identifications and characterizations by habitat preference, thermal growth preference and virulence against insects

(日本の土壌生息菌 *Metarhizium* spp.に関する研究: 分子分析による種の同定
および生息環境選好性、温度選好性、および昆虫病原性による特性評価)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

Metarhizium 属糸状菌は 200 種以上の昆虫から分離されており、昆虫に対して病原性を示す分離株が多く報告されている。そのため、本属糸状菌は様々な害虫の防除に利用されている。また、本属糸状菌は汎世界的に分布し、様々な環境の土壌から分離されており、昆虫病原性だけでなく、温度特性やストレス耐性においても幅広い変異が報告されている。本属は DNA の塩基配列から分子系統学的に推定された系統関係を基に分類・同定されており、12 種が認められている。しかし、従来 *M. anisopliae* とされてきた多数派の群も含めて、多くの単系統群においてその病原性や温度特性などの特徴は明らかにされていなかった。また、本属の日本株においては、最新の分類に基づく種同定は少数の菌株について行われているのみであった。本属糸状菌においてその分類群ごとの特徴が解明されることは、分類学のみならず、害虫防除のための有用系統の選抜においても重要である。そこで本研究では、*Metarhizium* 属糸状菌において、単系統群ごとの特徴を明らかにするとともに、日本株の多様性を解明することを目的として研究を行った。

まず、日本各地より採取した土壌より本属糸状菌を分離し、分離株を現在の分類に基づいて分子系統学的手法により種を同定した。日本各地から採取した土壌サンプルより *Metarhizium* 属糸状菌を 300 株以上分離し、新たに作製した PCR-RFLP マーカーにより 29 の遺伝子型に分類した。各遺伝子型の代表株の塩基配列の解析により、これらが既報の 8 種のクレードに所属することを明らかにした。

次に、系統解析により見いだされた単系統群ごとの特性評価（生態分布、異なる温度下における生育特性および昆虫病原性）を行った。生息環境と遺伝子型および単系統群との対応関係を比較した結果、*M. pingshaense* (*Mp*) に所属する分離株 (*Mp* 株、以下他種も同様) は多様な環境から分離されており、分離株の約半数を占める最多数派種であった。一方で、*M. brunneum* (*Mb*) と *M. flavoviride* var. *pemphigi* (*Mfp*) に属する分離株は森林環境に偏った分布を示した。また、高温および低温条件における分生子の発芽率を 8 種に属する分離株間で比較した結果、*Mb* および *Mfp* 株は低温により適応した性状を示した。外国株も含めて同様の比較を行った結果、日本株と同様の発芽特性を示した。さらに、高温および低温条件における 4 種 (*Mb*, *Mfp*, *Mp* および *M. robersii* (*Mr*)) の単系統群に属する分離株のカイコガとイエシロアリに対する病原力を半数致死時間 (LT₅₀ 値) で評価して比較を行った結果、*Mfp* 株はどの条件でも弱い病原力を示したが、他の種では温度依存的な差異を示した。25°C においては病原力に差異は認められなかったが、30°C 以上の高温条件においては、*Mb* 株は *Mp* および *Mr* 株よりも弱い病原力を示した。

以上の結果より、*Metarhizium* 属糸状菌の日本株の単系統群と特性において有意な関係性が見いだされた。日本の *Mb* および *Mfp* 株は、その分布状況と低温に適応した生育特性から、他の種と比較

して森林環境に適応していると推察され、それに対応して *Mb* は高温条件で昆虫に対して比較的弱い病原力を示した。これらの種間差異は害虫防除資材としての効果にも影響し得ると考えられ、系統選抜において考慮すべき性質であると判断された。日本株の多様性においては、日本に 8 種が存在することを初めて明らかにした。九州を中心とした調査では明らかに *Mp* が優占種であったが、同種は幅広い環境に分布していたことから、定着能力に関して幅広い変異を有していると考えられた。*Mp* の多様性および特性の詳細な解明は、日本における微生物的防除に有用であると推察された。