

(論文内容の要旨)

マツ材線虫病は、約1世紀にわたり、日本をはじめとする東アジア各国、および西ヨーロッパで深刻なマツ枯損被害を引き起こしてきた劇症型森林病害である。本病は、病原体マツノザイセンチュウ (PWN, *Bursaphelenchus xylophilus*) がその媒介昆虫マツノマダラカミキリによって宿主であるマツ樹体内に持ち込まれることで、宿主樹木の急速な萎凋枯死を引き起こす伝染病である。これまで本病に対して、罹病木の伐倒駆除、樹幹注入剤による単木保護、ならびに薬剤散布による被害拡大抑制等の防除対策が講じられてきたが、いまだ被害は国内外で拡大傾向にあり、また同所的な被害の再発が問題となっていることから、病原機構の解明ならびに有効な防除策の確立が急務である。

病原線虫PWNは、宿主マツに感染して深刻な生理異常を引き起こすが、両者の親和性および環境要因等の影響により、必ずしも宿主を枯死に至らしめるわけではない。本論文では、PWNに感染後も生存し続ける宿主に着目し、本病伝染環におけるそのような宿主の生態学的意味を検討した。本研究の主な内容は、下記の通りである。

第1章では、宿主樹体内におけるPWNの生残性を試験した。宿主樹木に対するPWNの病原力は種内で変異しており、宿主を枯死に至らしめる能力の低い弱病原力系統のPWNは、強病原力系統のPWNに比べて生存能力、繁殖能力ともに劣るとされる。そのように生態的劣勢にある弱病原力系統のPWNであっても、外見上無病徴な潜在感染宿主樹体内で長期間生存可能であった。このことから、宿主マツがPWN感染後に発病を免れた場合でも、樹体内では病原線虫PWNが生存し続けている可能性が高いことが示唆された。

第2章では、外部病徴を伴わない潜在的なPWN感染が宿主にとって正の効果を及ぼす事例として、誘導抵抗性を再現し、その効果を検証した。弱病原力系統のPWNの事前接種は、その後の本病感染による病徴進展を遅延させたが、永続的な宿主保護には不十分であった。

第3章では、分子生物学的手法に基づく高感度のPWN検出法を開発し、本病被害林分における潜在感染木の存在を実証した。従来の本病診断法は、線虫の運動性を利用したBaermann法による線虫抽出に依存しており、検出感度の低さが難点であった。そこで、マツ材組織試料から直接抽出したDNAを鋳型として、nested PCRによるPWN検出を行うことで、検出感度と再現性を向上させた。この手法を、本病による枯損被害が報告されているクロマツ (*Pinus thunbergii*) 林分ならびにアカマツ (*P. densiflora*) 林分での感染診断に応用したところ、いずれの林分においても多数のマツ個体がPWN特異的なDNA断片を有することが明らかになり、そのうちの複数の個体については針葉の退色および樹脂分泌異常等、本病の典型的な病徴を欠いていた。このような潜在感染木の一部はやがて発病、枯死しており、媒介昆虫の産卵に好適な場所を提供することで、林分内で長期間PWNの供給源となる可能性が強く示唆された。

第4章では、PWNに感染後のマツより放出される揮発性物質を捕集し、GC-MS分析により精査した。本病の被害林分においてPWNに自然感染したマツ個体、ならびにPWNを人工接種したマツ個体を対象として、樹幹部からの揮発性物質の放出を継続的に観察、比較した。その結果、PWNの媒介昆虫マツノマダラカミキリを誘引するとされるテルペン類

を主とした特徴的な揮発性物質の大量放出を検出し、またその大量放出が病徴発現に先立って起こる事例を見出した。

以上の結果から、潜在感染木の放置が本病再発の一因となり、防除徹底の妨げとなる可能性が示唆された。本論文は、従来の診断法では検出されなかった潜在感染木が本病被害林分内に相当数存在しており、またそのような潜在感染木は揮発性物質の放出を通して媒介昆虫を誘引する可能性があることを提示した。さらに以上の点を総括し、潜在感染木は本病の伝染環および再発過程に深く関与していると結論付け、潜在感染木の生態学的、疫病的な重要性を考慮した防除対策の必要性を提唱した。

(論文審査の結果の要旨)

クロマツ、アカマツをはじめとするマツ属樹は、白砂青松の言葉通り、古来より日本の景観に欠くことのできない重要樹種である。しかし、1905年に国内最初のマツ材線虫病被害が報告されて以降、現在までに国内のマツ林は同病の蔓延により壊滅的な状態にある。様々な防除対策が講じられてきた中で常に問題となるのは、防除対象林内における同所的な被害再発である。目視および樹脂分泌量調査に基づき罹病木と診断されたマツ樹個体の伐倒駆除を完全に行った直後の年に、すぐ隣接する個体から被害が再発する場合、防除意欲の減退を招くのみならず、マツ材線虫病の原因を病原線虫に帰する学説そのものにも疑問を投げかけた。このような背景の中で、本論文は、病原線虫感染後も病徴を発現しない、いわゆる潜在感染木 (asymptomatic carrier tree) に注目し、特にその生態学的意味について調査している。病原線虫の潜在感染が宿主樹木のその後の生存にどのような影響を及ぼすのか、想定される正負の影響を個々の事例研究の結果から考察するとともに、さらに本病再発メカニズムへの関与にも踏み込んでおり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. 萎凋症状は、マツ材線虫病に特有の病徴である。このような症状を発症していない宿主樹体内における、病原線虫の生残性を立証した。本来糸状菌食性である病原線虫マツノザイセンチュウは、宿主樹枯死後、枯死木内に繁殖する青変菌を食餌源とするが、そのような青変菌が蔓延しておらず、また宿主の活発な防御反応の誘導が想定される生体組織内でも長期間生存可能であることを証明した。
2. 病原力の弱い線虫の潜在感染が宿主に耐病性を付与する「誘導抵抗性」が、マツ材線虫病に対しては一時的な効果しか期待できないことを実験的に示した。
3. 病原線虫感染に伴う特徴的な揮発性物質の放出が、典型的な病徴発現に先立って起こる事例を初めて報告した。また、各病徴段階における宿主マツの放出する揮発性物質のGC-MS分析により得られたプロファイリング結果は、これまで研究の遅れていた野外林分における揮発性物質の動態に関する重要な情報を提供するものである。
4. CTAB法による植物組織からのDNA抽出と、nested PCRによる病原線虫の検出を組み合わせることで、病原線虫の潜在感染を高感度に検出する簡便な診断法を開発した。この方法を用いることにより、既往の抽出効率の悪いBaermann法や高度の専門知識や経験を要する形態分類学的手法に頼らない、再現性の高い診断を可能にした。
5. 4.で開発した手法をマツ材線虫病被害林での感染診断に適用し、外部病徴、樹脂分泌異常のいずれも認められない潜在感染個体の存在を明らかにした。ま

たその後の観察結果から、発病時期に顕著な個体差があることを確認し、潜在感染個体が病原線虫の供給源となり、あるいは媒介昆虫の誘引源となることで、被害枯死木を完全に除去した林分や、被害拡大の最前線において本病の感染拠点となる可能性を示した。

以上のように、本論文はマツ材線虫病における潜在感染木について、その後の生存可能性に対する否定的な見解を示すとともに、これら潜在感染木が被害再発に関与する生態学的、疫学的な危険性を科学的に検証したものであり、林学、樹病学、微生物環境制御学、生態情報開発学などに寄与するところが多い。また、新たな本病の診断法を開発し、実際の被害林分に適用したことは、より応用的な研究例として、森林保全上大きな意義があるものと考えられる。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成20年3月19日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。