

論文の内容の要旨

森林科学 専攻

平成 13 年度博士課程 入学

氏 名：王 鈺

指導教員名：鈴木 和夫

論文題目 Life history and virulence of *Bursaphelenchus xylophilus*
(和訳：マツノザイセンチュウの生活史と病原力)

マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhner) Nickle によるマツ材線虫病は日本、中国、韓国を含む北東アジアにおいてマツ類に激甚な被害を与えるに至った。マツ樹体内におけるマツノザイセンチュウ PWNs の活動性（初期の分散、増殖）は時間的、空間的な本病の進展と coincide している。マツノザイセンチュウ各アイソレートの病原力の変異とマツの抵抗性はニセマツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus mucronatus* を含むマツノザイセンチュウ類（以下線虫とする）のマツ樹体内における活動性に影響を与える主要な要因であると考えられる。線虫の活動性に影響する要因を明らかにするために、線虫の異なるアイソレートの *Botrytis cinerea* 培養上、クロマツ切枝、およびクロマツ苗木における増殖を調べるとともに、線虫の生活史、多産性、菌類の役割、クロマツの抵抗性と防御反応を含め増殖と分散に影響すると考えられるいくつかの要因を検討した。

***B. xylophilus* および *B. mucronatus* の *B. cinerea* 培養上での内的自然増加率と病原力との関係**

内的自然増加率と病原力との間の関係を明らかにするため、*B. xylophilus* と *B. mucronatus* の 6 アイソレートを用い *B. cinerea* 培養上での内的自然増加率を調べた。6 アイソレート中、*B. xylophilus* の強病原力 3 アイソレートが最も速く増殖し、*B. xylophilus* の弱病原力 2 アイソレートが次で、*B. mucronatus* の 1 アイソレートの増殖が最も遅かった。内的自然増加率と病原力との関連が示された。温度は個体数の増加に大きな影響を与えた。殆どのアイソレートで内的自然増加率は 30℃で最も高かったが、25℃が飽和個体数にとって最適温度であった。

***B. xylophilus* および *B. mucronatus* の生活史、多産性から理論的に導かれた内的自然増加率**

線虫アイソレートの生活史、多産性、内的自然増加率の間の関係を明らかにするため、*B. xylophilus* の強病原力 2 アイソレート、弱病原力 2 アイソレート、および *B. mucronatus* の 1 アイソレートをを用いて *B. cinerea* 培養上で培養実験を行った。

強病原力アイソレート S-10 および T4 では 25℃での孵化率は培養 32 時間でピークに達した。*B. cinerea* 培養上では 1 世代 4-5 日であった。それに対して弱病原力アイソレートでは孵化率がピークに達するのに 42-44 時間かかり、1 世代は 6-7 日であった。これは高い内的自然増加率をもつ強病原力アイソレートは弱病原力アイソレートより早く生活史を完了することを示す。

多産性と内的自然増加率との関係を明らかにするために、多産性と成虫の生存期間を調べた。1 対の成虫を雌が死亡するまで 25℃で 2-3 日間隔で新たな *B. cinerea* 菌叢上に移植し続けた。S-10, T4, OKD-1, C14-5, *B. mucronatus* の雌はそれぞれ平均 84.8, 40.8, 21.1, 36.9, 13.5 個の卵を 27, 21, 15, 15, 7 日に渡って産卵した。雌 1 頭当たりの最大産卵数はそれぞれ 177, 95, 32, 77, 43 個であった。産卵のピークはそれぞれ産卵開始後 6-9, 4-6, 4-6, 2-4, 0-2 日後で、日毎の最大産卵数はそれぞれ平均 9.4, 7.3, 2.7, 5.3, 2.6 個であった。雌成虫の生存期間はそれぞれ平均 15.1, 11, 12.8, 11.5, 6.7 日、最大 30, 21, 27, 21, 13 日であった。すなわち、病原力が強

いアイソレートほど、産卵数が多く、産卵期間が長く、生存期間が長かった。雌の生存率の低下は *B. mucronatus* で最も急速で、次に T4, OKD-1, C14-5 であり、S-10 で最も遅かった。

雌の齢別産卵数および生存率から求めた固有の自然増加率 r 、すなわち理論上の増殖率は基本的に増殖曲線から求めた内的自然増加率と一致し、内的自然増加率は *B. cinerea* 菌叢上での雌の 1 世代の長さ、多産性、成虫の生存期間によって決まることが示された。菌叢上での内的自然増加率は病原力と密接に関係していることが示された。

線虫の増殖における菌類の役割

1. クロマツ高圧滅菌／生切枝における滅菌／非滅菌線虫の増殖

高圧滅菌／生切枝における滅菌／非滅菌線虫の増殖を調べた。滅菌線虫－高圧滅菌切枝の無菌条件下では線虫個体数はわずかに増加した後、減少した。高圧滅菌切枝は線虫にとって不適な餌資源であった。菌類の生育は線虫の増殖を著しく促進した。菌類は病気の進展期における線虫の増殖に関わっている可能性がある。

2. 高圧滅菌切枝における滅菌線虫の増殖・分散と菌類との関係

滅菌線虫とクロマツから分離された 2 種の菌類を高圧滅菌切枝に同時に接種し、線虫の増殖・分散と菌類の進展とを調べた。菌類の成長・分布と線虫の増殖・分散との間に密接な関係がみられ、菌類が存在する場合に線虫が顕著に増殖し、また菌類の存在する部位で線虫の分布が多かった。マツに侵入した初期の線虫の分布が接種部付近に偏っている一要因として菌類の分布が考えられる。

クロマツ樹体内における線虫の増殖と宿主の防御反応との関係

1. 抵抗性および感受性クロマツ切枝における病原力の異なる *B. xylophilus* アイソレートと *B. mucronatus* の増殖

線虫の増殖と宿主の抵抗性や線虫アイソレートの病原力との関連を明らかにするために、*B. xylophilus* の強病原力アイソレート、弱病原力アイソレート、および *B. mucronatus* を

感受性、抵抗性クロマツの切枝に接種した。抵抗性クロマツの切枝ではすべてのアイソレートが増殖しなかったが、感受性クロマツの切枝では強病原力アイソレートのみが増殖する傾向がみられた。強病原力アイソレートの増殖は抵抗性マツでのみ抑制され、弱病原力アイソレートは感受性および抵抗性マツの両者で増殖が抑制されることが示された。

2. クロマツ苗木における *B. xylophilus* および *B. mucronatus* の増殖と病気の進展、防御反応との関係

線虫の増殖と病気の進展やいくつかの防御反応との関連を調べるため、感受性クロマツ苗木に *B. xylophilus* の強病原力アイソレート、弱病原力アイソレート、および *B. mucronatus* を、抵抗性クロマツ苗木に強病原力アイソレートを接種した。接種後、線虫の増殖と病気の進展、およびいくつかの防御反応の進展を追跡した。組織学的変化と電解質の漏出を病気の進展の指標として調べた。総フェノール物質の変化、リグニン、ポリフェノール、スベリンの集積を防御反応の指標として調べた。

感受性苗木に強病原力アイソレートを接種したときにのみ線虫は増殖し、激しい組織学的変化および顕著な電解質の漏出を引き起こした。感受性苗木に弱病原力アイソレートを接種、あるいは抵抗性苗木に強病原力アイソレートを接種した場合は、線虫は増殖しなかった。こうした場合、組織の損傷はごくわずかで、電解質の漏出も対照と同程度であり、線虫の増殖と病気の進展が対応することが示された。皮層樹脂道周囲の柔細胞の増生とリグニン化は抵抗性苗木のみでみられ、防御反応に関連していると考えられる。リグニンとポリフェノールは強病原力アイソレートを接種した感受性苗木および抵抗性苗木の両者で集積したが、弱病原力アイソレートを接種した感受性苗木では集積が確認されなかった。総フェノール物質は感受性苗木より抵抗性苗木で集積が顕著であり、その後の病気の進展の差異をもたらした一要因と考えられる。