

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 孫 貞阿

マツ材線虫病は、マツノマダラカミキリ *Monochamus alternatus* の後食によってマツ樹体内に持ち込まれる病原線虫マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* が引き起こす萎凋病である。空中散布等、様々な防除対策がとられてきたが、依然として我が国で最大の樹木病害であることに変わりはない。本病のより効果的な防除方法を確立するには、今後も病原線虫の樹体内における行動をさらに詳しく理解する必要がある。本研究は、このマツ材線虫病における線虫の樹体内行動のうち移動に着目して、その特性を明らかにしたものである。また、線虫のマツ細胞に対する加害力についても、新たなアッセイ系を考案し検定している。

第一章では、マツ材線虫病の歴史とこれまでの研究を総括している。

第二章では、病原線虫一頭一頭の分布を調べることによって、線虫の移動の特徴を推定している。病原線虫を切り枝の上端に接種した後、経時的にサンプリングしてパラフィン切片を作製し、F-WGA 染色により線虫のみを染色して落射型蛍光顕微鏡で線虫の分布を組織ごとに調べている。その結果、樹体内に侵入した線虫は、まず皮層樹脂道内に分布すること、時間とともに分布は他の組織へも広がることが分かった。また、接種後上端を切除して、皮層樹脂道あるいは木部樹脂道にのみ線虫が存在する状態を作ると、それらの線虫が時間とともに他の組織に広がって分布することも示している。これは、樹脂道内の線虫が周辺の組織へ移動することを示す新たな直接的証拠である。

第三章では、抵抗性マツ内での病原線虫分布の経時的变化を、同様の方法で組織ごとに調べている。その結果、抵抗性マツでは共通して木部への分布が阻害されること、また皮層樹脂道では樹種によっては阻害されないことを新たに明らかにしている。従来の研究では、ベールマン法により枝断片といった組織複合体内の線虫数を調べたり、切り枝全体を通過する線虫数を数えたりして移動を推定していたため、線虫移動を組織ごとに把握することはできなかった。例えば、本研究では抵抗性マツの木部での移動阻害を明らかにしているが、皮層樹脂道での移動が阻害されない場合には、枝全体での移動を見ている限り、このような移動阻害は検出されない。本研究は、個々の線虫の移動を組織ごとに調べることの重要性、必要性を示した点でも意義深い。

第四章では、非病原性線虫ニセマツノザイセンチュウ *B. mucronatus* の分布の経時的变化を組織ごとに調べている。その結果非病原性線虫が病原性線虫と同様の分布変化を示し、同様の移動をし得ることを明らかにしている。一方、線虫による細胞加害力を評価する方法を新たに確立し、非病原性線虫が細胞加害力を持つことも明らかにしている。この方法では、線虫接種後の枝断片をそぎ切りして皮層樹脂道のエピセリウムを露出させる等、独

創的な工夫をしており、加害され死んだ個々のエピセリウム細胞を明確に検出することに成功している。今後この新たな実験系は、マツ材線虫病の病理学的研究に様々な応用されることが期待される。

第五章では、以上の結果をもとに、病原線虫移動について総合考察を行っている。

以上のように本研究では、線虫一頭一頭の樹体内分布を調べることにより、マツ材線虫病病原線虫の樹体内移動に関する新知見を得ている。とりわけ、線虫が樹脂道内から周辺組織へ移動すること、抵抗性マツでは木部の線虫移動が共通して阻害されていること、非病原性線虫の移動様式、細胞加害力が病原性線虫と差がないこと等の新知見は、発病過程を理解し防除法を考える上での重要な手がかりを与えるものである。また、病原線虫によるマツ柔細胞への加害を細胞単位で直接検出できる実験系を確立したことも、今後本病の病理を研究する上で大きな貢献が期待できる重要な研究成果である。以上のように、得られた知見は独創的、先駆的でありかつ応用的意義も大きい。従って、本研究は応用上、学術上の貢献が極めて大きく、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。