

論文の内容の要旨

論文題目 日本におけるマツノザイセンチュウの病原力と遺伝的多様性およびヤクタネゴヨウの保全に関する研究

氏 名 秋庭 満輝

マツ材線虫病は北米原産のマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer) Nickle) を病原体とするマツ類の伝染病であり、ヒガナガカミキリ属 (*Monochamus*) の成虫によって伝搬される。マツノザイセンチュウは 20 世紀初頭に日本に侵入し、現在でもマツ林に激しい被害を引き起こしている。本病は日本以外に中国、台湾、韓国、ポルトガルおよびスペインに侵入し、世界的に重要な病害となっている。

原産地の北米では、マツノザイセンチュウの種内に形態的に異なる系統が存在し、これらに病原性の分化が生じている可能性がある。日本に本病が侵入して 100 年以上経つが、その間に、原産地から複数回の侵入があった可能性があるが、現在どのような性質のマツノザイセンチュウが日本国内に存在しているかは明らかにされていない。また、絶滅危惧種であるヤクタネゴヨウの自生地では本種の枯死被害が顕在化し、保全対策の構築のために枯死原因の特定が求められた。そこで、本論文では、日本に存在するマツノザイセンチュウの病原性および病原力の現状を把握するとともに、ヤクタネゴヨウの保全のための知見を得ることを目的とした。

第 2 章では、九州各地のマツ林で枯死したマツまたはマツノマダラカミキリから確立されたマツノザイセンチュウのアイソレイトを抵抗性グレードの異なる抵抗性クロマツ 5 家系の苗木に対して接種し、その病原力を調べた。その結果、マツの枯死率に関して、マツノザイセンチュウのアイソレイト間と抵抗性マツの家系間で有意な差が認められたのに対し、線虫アイソレイトとクロマツ家系の間に交互作用は認められなかった。マツノザイセンチュウの種内にクロマツ家系に対する病原性の分化が認められないことを意味することから、マツノザイセンチュウの 1 つのアイソレイトを用いた従来の抵抗生育種の方法が妥当であることを示した。また、抵抗性育種の検定用として使用されているアイソレイト「島原」の病原力は、強病原力アイソレイトとして知られる Ka4 などの病原力と同等であった。一方で、新しく確立されたマツノザイセンチュウの中に「島原」よりも強い病原力を持つアイソレイトが存在した。そのことから、島原以上の病原力を持つアイソレイトを用いた育種の必要性について指摘した。

第3章では、宮崎県椎葉村の新たに材線虫病が侵入したアカマツ林（標高約 600 m）に試験地を設定し、マツ林の被害動態と林内の枯死木から分離され確立されたマツノザイセンチュウのアイソレイトの病原力を調べた。調査当初は多数の枯死木が発生したが、徐々に枯死数が減少した。抵抗性クロマツに対する接種試験により、林内の枯死木から確立されたマツノザイセンチュウは全て強病原力であることが明らかになった。強病原力のマツノザイセンチュウが存在しても被害が激害化しなかったことから、マツノザイセンチュウの病原力は被害動態に影響せず、マツの密度または温度などの要因が影響していることが示唆された。また、初めて材線虫病が発生するマツ林では強病原力のマツノザイセンチュウが優占する可能性が考えられた。

第4章では、日本全国のマツノザイセンチュウの遺伝的多様性を調査することを目的に、マツ枯死木から確立されたマツノザイセンチュウの 223 アイソレイトのリボゾーム遺伝子の ITS 領域とミトコンドリアのシトクローム c オキシダーゼサブユニット I 遺伝子 (COI) の DNA 配列からハプロタイプを決定した。その結果、ITS で 6 つ、COI で 13 のハプロタイプが見つかった。ITS については、ハプロタイプ R1 と R2 で全体の 85%を占めた。COI については、全体で 4 つのグループにわけられた。異なるグループのハプロタイプはそれぞれ異なる原産地に由来すると考えられることから、これまでに複数回の侵入イベントがあった可能性が示唆された。ITS ではマツノザイセンチュウ侵入後の期間が長い近畿と九州の塩基多様度が高く、1970 年代以降にマツノザイセンチュウが侵入した東北と北陸の塩基多様度が低かった。また、東北と北陸などの東日本でハプロタイプ数が少なく、東日本に存在するハプロタイプは西日本にも存在した。ITS と COI の対応関係には決まったパターンは認められず、それぞれの ITS と COI のハプロタイプの頻度に応じて組み合わせが出来る傾向があった。それらのことから、これまで西日本に複数回のマツノザイセンチュウが侵入し、それらが交配し、その一部が東日本に拡大したことが推察された。国外の公共データベースに登録されているアイソレイトとの系統解析の結果、中国、韓国およびポルトガルのアイソレイトの中で一つのアイソレイトから ITS と COI の両方の配列がわかっている例では全てハプロタイプ R2 と C1a または C1d の組み合わせであった。日本のアイソレイトの 1/4 が同じ組み合わせであることから、海外に侵入したマツノザイセンチュウの起源が日本由来である可能性が示唆された。また、日本のアイソレイトについてマイクロサテライトマーカーによる解析を実施して Structure 解析を行ったところ、クラスター数 $K=3$ が示唆された。東北から北陸にかけての東日本のアイソレイトが 2 つのクラスターから構成される傾向であるのに対し、近畿以西の西日本ではそれらに加えてもう一つのクラスターが混ざっていた。そのことから、ハプロタイプの結果と同様に、西日本から東日本にマツノザイセンチュウが拡大したことが示唆された。

第5章では、ヤクタネゴヨウの材線虫病に対する感受性の程度を把握するために、ヤクタネゴヨウ成木に対して10万頭または1000頭のマツノザイセンチュウを接種した。10万頭を接種されたヤクタネゴヨウでは、接種後2週目に最初の病徴が認められ、接種後29週目までに全てが枯死した。1000頭を接種されたヤクタネゴヨウでは、10万頭を接種された場合よりも病徴進展が遅れる傾向があったが、最終的には接種後33週目までに全てが枯死した。比較のために1000頭のマツノザイセンチュウを接種されたクロマツは、接種後6週目までに全て枯死した。ヤクタネゴヨウの最初の病徴は、線虫を接種された枝の枯死であり、これはマツノザイセンチュウを接種された抵抗性樹種に見られる反応と同一であった。これらのことから、ヤクタネゴヨウは材線虫病に感受性であるが、クロマツよりも抵抗性を持つことが示唆された。次に、接種試験により発生したマツノマダラカミキリが産卵しているヤクタネゴヨウの丸太を屋内網室に設置し、マツノマダラカミキリの脱出消長とマツノザイセンチュウ保持数を調査した。6月から7月にかけて、オス68頭、メス45頭の合計113頭のマツノマダラカミキリ成虫が脱出した。成虫全体の7.1%がマツノザイセンチュウを保持しており、最高保持数は103頭であった。ヤクタネゴヨウがマツノザイセンチュウの感染によって枯死すること、枯死木がマツノマダラカミキリの産卵対象木となり枯死木から脱出したマツノマダラカミキリ成虫がマツノザイセンチュウを保持することが明らかになったことから、自生地で枯死したヤクタネゴヨウの防除の必要性を指摘した。

第6章では、第2章から第5章までに得られた情報をもとに、日本のマツノザイセンチュウの病原力と遺伝的多様性について考察した。また、ヤクタネゴヨウの保全について言及した。さらに、冷涼な地域では材線虫病防除の強度を下げる可能性があるが、そのためには新たなモデルの構築とさらなる被害動態のデータの取得が必要であることを指摘した。