

マツノザイセンチュウ接種クロマツ苗の根の異常

作田, 耕太郎
九州大学農学部林学科

玉泉, 幸一郎
九州大学農学部林学科

矢幡, 久
九州大学農学部林学科

齋藤, 明
九州大学農学部林学科

<https://doi.org/10.15017/10892>

出版情報 : 九州大学農学部演習林報告. 71, pp.27-34, 1994-12-20. 九州大学農学部附属演習林
バージョン :
権利関係 :

マツノザイセンチュウ接種クロマツ苗の根の異常*

作 田 耕太郎**・玉 泉 幸一郎**
矢 幡 久**・齋 藤 明**

抄 録

マツ材線虫病がマツの根に及ぼす影響を地上部の病徴の進行との関連で明確にするために、マツノザイセンチュウを接種したクロマツ苗の根の成長の実態を根箱を使用して観察した。マツノザイセンチュウを接種したクロマツ苗の根は接種3日目まで伸長を停止した。この時点での苗木の水分状態を示す明け方の針葉の水ポテンシャル (BP) および樹脂滲出には異常は見られなかった。しかし伸長停止と同時に根端部の白色根長が褐色化によって減少した。白色根が褐色化によってほとんど消失した接種12日目には樹脂滲出が停止し、BPの低下が始まった。さらに、この時期に根の含水率が異常に増大した。その後、BPの低下と針葉の変色が急激に進行し、クロマツ苗は枯死した。このようにマツノザイセンチュウを接種したクロマツ苗の根は接種後ただちに成長を停止し、白色根が褐色化によって消失し、引き続いて本病の特徴である萎凋症状が発現し、クロマツ苗は枯死した。

キーワード：マツ材線虫病、クロマツ、根の成長、水ポテンシャル

1. はじめに

マツ材線虫病によるマツの枯損に関してはこれまでに数多くの研究が行われてきた。しかしながら、マツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER et BURER) NICKLE, 以下線虫) に感染したマツの発病機構については未だに不明な点が多く残されている (河津, 1990)。これまでの発病機構に関する研究では、樹体の地上部における生理的、形態的、解剖的な内容がほとんどであって、地下部を対象とした研究は少ない。根の機能は、養水分の吸収、植物ホルモンの生産およびそれらによる地上部の生育調節、炭水化物の貯蔵など極めて多面的である (川島, 1993) ために、線虫感染後の根の成長や生理機能をモニターすることには発病機構の解明上、大きな意義がある。地下部を対象とした研究としては、根の木部の通水性の低下 (IKEDA and SUZAKI, 1984)、太根の樹液流速の低下 (佐々木, 1988)、地上部に先行した地下部での線虫密度の増加 (橋本, 1981; 橋本ら, 1983)、白色根の消失 (橋本, 1981) および組織破壊 (真宮, 1980) などの報告があるが、線虫感染から発病、枯死に至る過程での地下部の成長を観察した研究は見あたらない。本研究では、マツ材線虫病が根の成長に及ぼす影響を地上部の病徴の進行との関連で明確にするために、根箱を用いて、線虫を接種したクロマツ苗の根の成長の実態を観察

* SAKUTA, Kotaro, GYOKUSEN, Koichiro, YAHATA, Hisashi and SAITO, Akira : Abnormal symptoms in roots of *Pinus thunbergii* seedlings inoculated with *Bursaphelenchus xylophilus*.

** 九州大学農学部林学科

Department of Forestry, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812

したので、その結果について報告する。

2. 材料と方法

1992年1月に九州大学農学部附属早良地方演習林で掘り取り、九州大学農学部構内の圃場に仮植した4～6年生のクロマツ (*Pinus thunbergii* PARL.) 苗, 19本を供試した。これらの供試苗を同年4月上旬に赤玉土を充填した幅30cm×高さ50cm×厚さ5cmの根箱に、根長5cmに根切りしてから移植した。移植時の平均苗高は13.3cm, 平均根元直径は0.46cmであった。根箱の一側面は根を観察できるように透明な塩化ビニール板とし、その表面を遮光フィルムで覆った。根の伸長を観察しやすいように、観察面を下面として、鉛直方向より30度傾けて屋外に設置した。根箱の設置場所には降雨を遮断するために透明塩化ビニール板の屋根を設置し、供試苗には1日に3回(8時, 12時, 16時)の灌水を行った。なお施肥は、1000ccあたりN:0.6g, P:1.2g, K:0.6gを含む液肥を供試苗1本あたり200ccずつ、2週間の間隔で施用した。

全供試苗について芽が伸長を開始した6月2日から1週間の間隔で根長の測定を行った。塩化ビニール板上で観察される根をサラン樹脂製の透明フィルムに油性ペンでトレースし、このフィルムをコピーした上でデジタイザーを用いて根長を測定した。トレースの際には、可視的な色調によって根の白色部分を識別し、全根長と白色根長の測定を行った。

7月16日に全供試苗の地際上部3cmの幹に幅0.3cm, 長さ1.0cmの形成層に達するまでの剥皮を行い、この剥皮部位にさらに縦横の細かい傷を施し、線虫接種苗16本に対して1本あたり8000頭の線虫(S6-1系統)を線虫懸濁液を用いて接種し、残り3本の対照苗には線虫懸濁液の代わりに蒸留水による処理(蒸留水処理)を行った。接種後は全供試苗について、根のトレースとともに針葉の水分状態を表す指標とされる針葉の明け方の木部圧ポテンシャル(BP)(玉泉・須崎, 1983)をプレッシャーチャンバー法で測定し、また病徴の進行を表す指標として樹脂滲出と針葉の色調(真宮, 1990)を接種前日を含めて接種後3日間隔で観察した。樹脂滲出の程度は、BP測定に使用した針葉の切除痕の樹脂流出量で調べた。これらの観察結果より病徴の進行を、I:樹脂滲出の低下, II:樹脂滲出の停止, III:2～3年生針葉の変色, および、IV:当年枝の退色の4つのステージに区分し、地上部の病徴を観察しながら各ステージごとに3～6本の供試苗を掘りあげた。掘りあげた供試苗は地上部と地下部に分断し、地上部はさらに針葉と幹に分け、それぞれの含水率と線虫密度を測定した。含水率については一部の試料の生重を、採取後ただちに測定し、さらに85°Cで1日以上乾燥させて重量を測定した。線虫密度については、含水率測定に用いなかった試料から針葉を除き、ベールマン法で線虫を分離して計数し、線虫分離後の試料を85°Cで1日以上乾燥させて重量を測定し、乾重1gあたりの線虫密度を求めた。

3. 結 果

対照苗2個体(C-1, 2)の根長とBPの変化を図1(a, b)に示した。いずれの個体の根長もほぼ一定の伸長速度を示したが、蒸留水処理直後は伸長速度が小さくなった。白色根長は、一定もしくは増加したが、処理後はC-1個体では減少し、C-2個体では

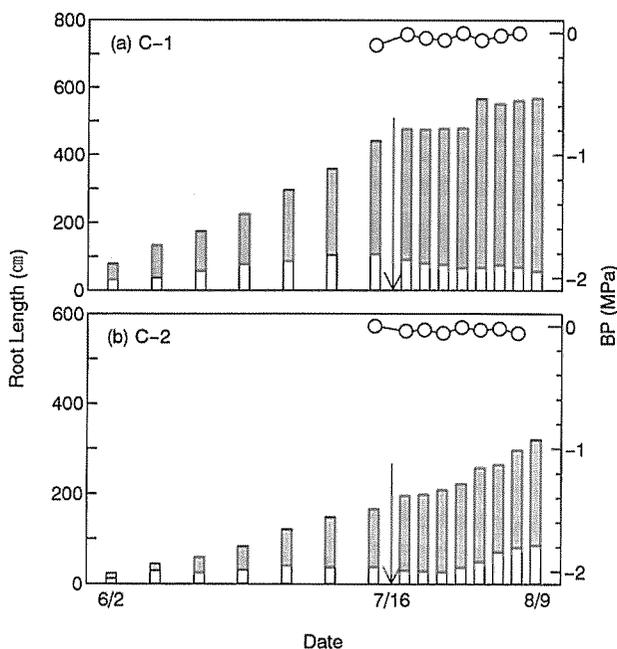


Fig. 1 Changes of root length and base xylem pressure potential (BP) of needles in two *P. thumbergii* seedlings (C-1, 2) treated with distilled water.

Notes : White circles (○) represent BP. Bars represent the root length. Gray and blank parts in bars show the brown and white colored roots, respectively. Arrows indicate the day of treatment with distilled water. (a) : C-1 seedling, (b) : C-2 seedling.

図1 対照苗2個体(C-1, 2)の根長と明け方の針葉の
木部圧ポテンシャル(BP)の変化

いったん減少した後に12日目からは増加した。一般的に土壤の水分状態と等しくなる(玉泉・須崎, 1983)とされるBPの値は、測定期間を通じてC-1, 2の両個体ともに0~-0.06MPaの範囲にあり、変化は小さかった。

線虫接種苗の根長とBPの変化および病徴の進行を図2(a, b, c)に示した。すべての線虫接種苗には同様な変化が認められたので、図には地上部サイズの大きな個体、中庸な個体および小さな個体、1個体ずつ(I-1, 2, 3)を示した。線虫接種前の根長は対照苗と同様に増加したが、いずれの個体も接種6日目には伸長を停止した。白色根長は接種前までは一定もしくは増加していたが、接種後はいずれの個体も褐色化によって減少に転じ接種12日目には白色根はほぼ消失した。BPは白色根の消失時期にやや遅れて低下し始め、その後は急激に低下した。このような根の成長異常と病徴の進行を対応させると、いずれの個体についても伸長が停止した後の、白色根が褐色化によって消失していく過程で第Iステージとなり、白色根がほとんど消失した時期に第IIステージへ移行した。第IIステージではいずれの個体についても、BPが若干の低下を示した。第IIIおよび第IVステージは白色根が完全に消失し、根長の増加も無くBPはこの期間中、低下を続けた。

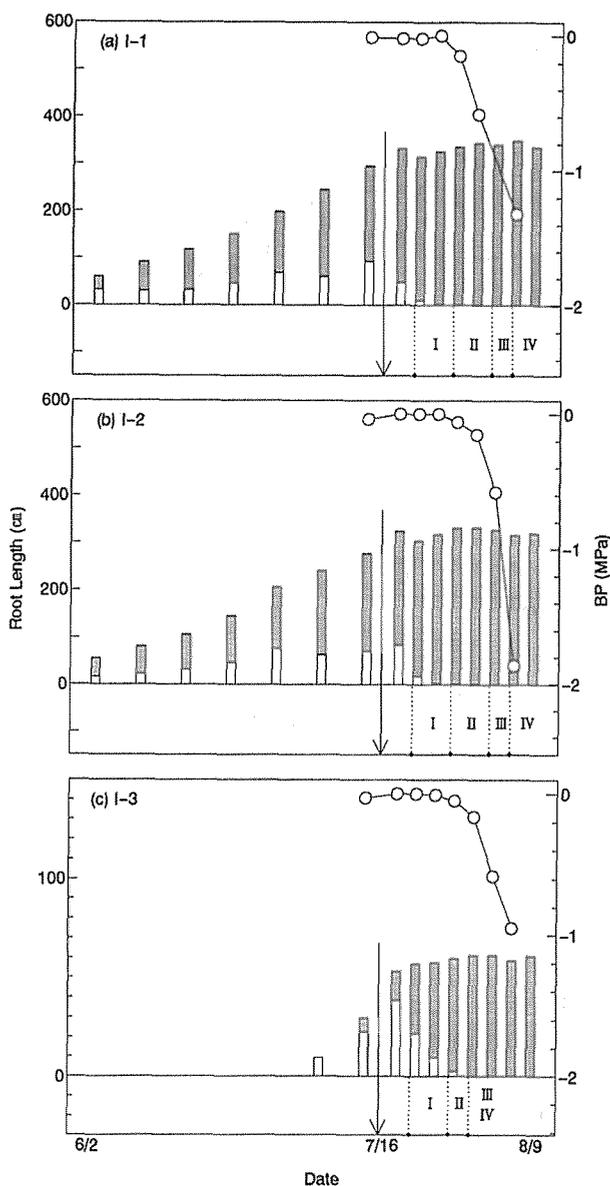


Fig. 2 Changes of root length and base xylem pressure potential (BP) in three *P. thunbergii* seedlings inoculated with *B. xylophilus* (I-1, 2 and 3).

Notes : White circles (○) and bars are same as in Fig. 1. I, II, III and IV represent stages of disease symptom. I, reduction of oleoresin flow ; II, cessation of oleoresin flow ; III, previous year needles change in color and IV, current year needles change in color. Arrows indicate the day of inoculation. (a) : I-1 seedling, (b) : I-2 seedling and (c) : I-3 seedling.

図2 線虫接種苗3個体 (I-1, 2, 3) の根長と明け方の針葉の木部圧ポテンシャル (BP) の変化

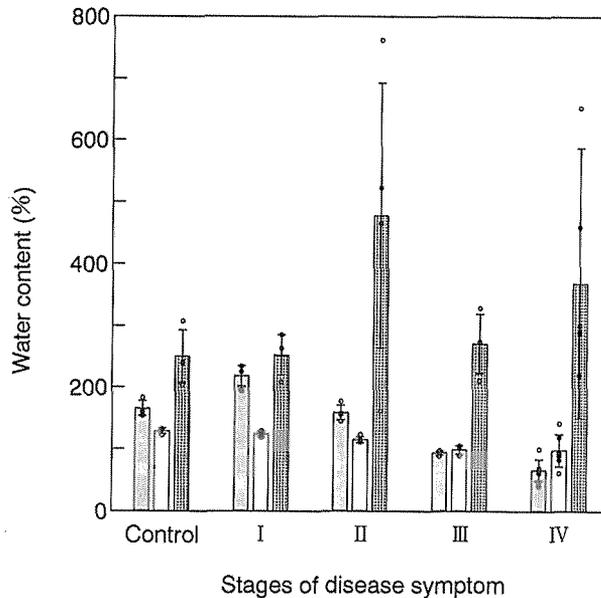


Fig. 3 Water contents in control and inoculated *P. thunbergii* seedlings in each stages of disease symptom.

Notes : Screened, blank and meshed bars represent the mean values of water contents in needles, stems and roots, respectively. Blank circles show water content in each segment of seedlings. Vertical lines represent S. D. And I ~IV are same as in Fig. 2.

図3 対照苗と病徴進展の各段階における線虫接種苗の含水率

図3に全供試苗の針葉、幹および根の含水率の平均値を病徴のステージごとに示した。病徴の進行にともない針葉と幹の含水率は徐々に低下したが、根の含水率にはやや増加の傾向が認められ、特に枯死にいたる途中で含水率が異常に高い個体が見られた。針葉の含水率は、病徴が進むにつれて徐々に低下し、第IVステージでは対照苗の3分の1程度の値であった。幹の含水率も針葉と同様に病徴の進行とともに低下して、第IVステージでは100%を下回った。根の含水率は変動が大きく、第Iステージでは対照苗とほぼ同じ値であったが、第IIステージでは対照苗の2倍の値を示した。第IIIステージでは対照苗とほぼ同じ値であり、第IVステージでは対照苗の1.5倍の値となった。しかし、根含水率の増大した第IIステージと第IVステージについては個体間差が大きく、同じステージにあっても、対照苗と同程度の値を示した個体と2倍以上の値を示した個体があった。

図4に線虫接種苗の地上部と地下部の線虫密度の平均値を病徴のステージごとに示した。線虫密度は地上部、地下部ともに病徴の進行にともない高くなり、全体的に地下部の方が高い値を示した。しかし、すべてのステージで個体間差が大きく、特に第IIステージ移行の地下部では、異常に高い値を示す個体と地上部と変わらない個体のあることが見られた。第Iステージでは、すでに線虫は地下部へも移動していたが地上部よりも低密度であった。第IIステージでは、地上部、地下部ともに急激に密度が上昇したが、地下部での密度の上昇が高かった。第IIIステージの地上部の密度は第IIステージよりも上昇したが、逆に地下

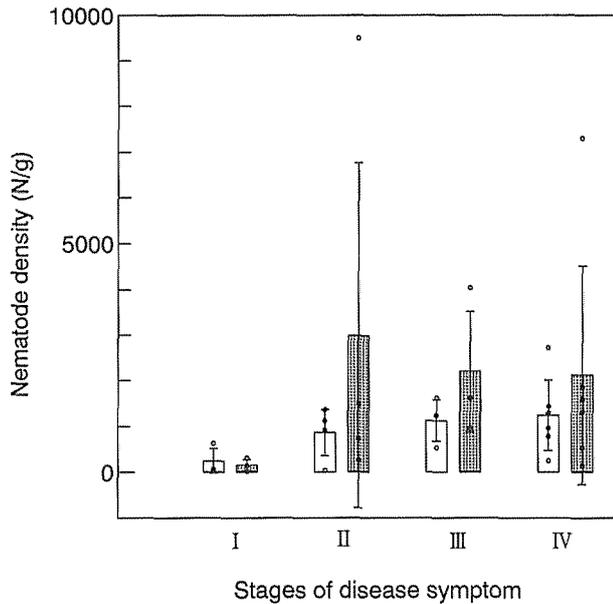


Fig. 4 Nematode densities per unit dry weight in inoculated *P. thunbergii* seedlings in each stages of disease symptom.

Notes : Blank and meshed bars show the mean values of nematode density in above and below ground, respectively. Blank circles show nematode density in each segment of seedlings. Vertical lines and I~IV are same as in Fig. 3.

図4 病徴進展の各段階における線虫接種苗の乾重あたりの線虫密度

部の密度は第IIステージよりも低下した。第IVステージでは、地上部においては他のどのステージよりも高密度であり、地下部の密度は第IIIステージとほぼ同じであった。

4. 考 察

線虫を接種したクロマツ苗の根は速やかに伸長を停止し、続いて白色根長が褐色化によって減少し、消失した(図2)。根の伸長量の減少や白色根長の褐色化による減少は対照苗でも見られた(図1)が、これは一時的なもので再び伸長が認められたことから、接種後の根の伸長停止、白色根の消失は明らかに線虫感染による効果と考えられる。根端には生長点と呼ばれる細胞分裂帯および伸長帯と呼ばれる細胞が急速に伸長する部位が存在し(荻住, 1979)、根の伸長には多量の光合成産物が使用されること(KRAMER P. J., 1983)から、根の伸長停止の原因としては、1)光合成産物の減少、2)根端細胞の壊死、3)光合成産物の転流阻害などが考えられる。本病による光合成の阻害は針葉の水ストレスが増大しはじめてから発現すると考えられており(FUKUDA et al., 1985; 森・井上, 1983)、本報の結果では水ストレスの指標としたBPの低下が観察される以前に根の伸長が停止したことから、光合成産物の減少によって根の伸長が停止した可能性は小さい。また、根の伸長が停止しても白色根は完全に消失していなかった。MELAKAKEBERHAN H. and WEBSTER J. M. (1990)は *Pinus sylvestris* の線虫接種部位での光合成産物の転流量が接種

3日後には減少することを報告している。これらを総合すると、根の伸長停止は光合成産物の篩部転流が阻害されたために生じた可能性が大きい。特に根端の細胞分裂帯先端部では、篩部が生長点まで分化していないために、養分は拡散によって多くの細胞層を通過して移動しなければならず、光合成産物の供給量によって成長速度が大きく制限される(KRAMER P. J., 1983) ため、光合成産物の根への供給量の減少は根の伸長に大きく影響すると考えられる。

根の伸長停止は白色根長の減少をともなっており、白色根長の減少は線虫接種直後から始まり、樹脂滲出が停止する頃には白色根はほぼ完全に褐色化によって消失した。白色根の消失に関する橋本(1981)の3年生クロマツ苗を用いた報告では、白色根が消失したのは接種10日目以降で、この時期に地上部の樹脂滲出が停止していた。本研究における白色根の褐色化による消失の結果は、橋本の報告とそれと同じ現象であった。須川(1982)は4年生クロマツ苗を用いて、樹脂滲出が低下から停止に至る過程で認められる幹の変性木部柔細胞では、タンニン系の物質がまず細胞全体を充填し、変性が進行すると粒状となり細胞壁に付着することを報告している。この現象が根においても生じるならば、柔細胞の変性が白色根の消失の大きな要因と考えられる。

本研究では地上部の樹脂滲出と針葉の色調変化から病徴を4つの段階に分け、各段階での根長、針葉のBPと樹体の含水率、線虫密度について分析した。その結果、幹の樹脂滲出が低下し始めた時期以前にすでに根の伸長が停止していること、樹脂滲出の低下から停止の間に白色根がほぼ完全に消失していること、および樹脂滲出の停止と白色根の消失に引き続いてBPの低下、すなわち樹体の水分状態が悪化することが明らかとなった。さらにこの時期には根の含水率が異常に増大する個体が見られた。鈴木(1992)によれば、これまでの研究によって明らかにされた毒素、セルラーゼおよびキャビテーションはいずれも線虫個体数に依存し、線虫個体数の少ない段階でのマツの生理状態に与える影響には限界がある。しかしながら、本研究では線虫密度の低い時期に、根の伸長停止というマツの生理異常が発現した。したがって、今後は根の伸長停止、および白色根の褐色化による消失の原因を明らかにすること、ならびに根の成長異常と樹体全体の生理異常との関連性を明確にすることによって、本病の発病機構がより明確になるものと考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、接種用の線虫をご提供いただいた福岡県林業試験場の小河誠司氏ならびに同試験場の職員の方々、また供試苗の調達にご協力頂いた九州大学農学部附属演習林の井上晋博士、中島栄子氏に深く感謝いたします。

引用文献

- FUKUDA K., HOGETSU T. and SUZUKI K. (1985) : Photosynthesis and water status of pine-wood nematode infected pine seedlings, *J. Jpn. For. Soc.* **67** (9) : 1~8.
- 玉泉幸一郎・須崎民雄(1983) : 土壤水分環境が植物の群落に及ぼす影響について (VII) 斜面位置による水分状態の比較. *日林九支研論* **36** : 81~83.

- 橋本平一 (1981) : マツの材線虫病に罹病したクロマツ苗の生理反応の変化とくに根系の機能について, 日林九支研論 34 : 187~188.
- 橋本平一・堂園安生・河辺祐嗣 (1983) : マツ材線虫病の萎凋生理に関する研究 (I) 樹体内における線虫の増殖について, 94回日林論 : 469~470.
- IKEDA, T. and SUZAKI, T. (1984) : Influence of Pine-wood nematodes on hydraulic conductivity and water status in *Pinus thunbergii*, J. Jpn. For. Soc. 66(10) : 412~420.
- 荻住 昇 (1979) : 樹木根系図説, 1121pp, 誠文堂新光社, 東京.
- 河津一儀 (1990) : マツノザイセンチュウによるマツ枯れについて, 日本農芸化学会誌 64(7) : 1241~1242.
- 川島長治 (1993) : 作物の根に関する諸問題 [4] 作物における根の「量」について (1), 農業および園芸 68(10) : 1133~1139
- KRAMER P. J. (1983) : Water relations of plants. 489pp, Academic press, New York.
- 真宮靖治 (1980) : マツノザイセンチュウの接種による当年生アカマツ苗の発病とその病態解剖, 日林誌 62(5) : 176~183.
- 真宮靖治 (1990) : マツノザイセンチュウの樹体内動態とマツの発病経過, 日本農芸化学会誌 64 : 1243~1246.
- MELAKAKEBERHAN, H. and WEBSTER, J. M. (1990) : Effect of *Bursaphelenchus xylophilus* on the assimilation and transpiration of ^{14}C in *Pinus sylvestris*. J. of Nem. 22(4) : 506~512.
- 森 徳典・井上敏雄 (1983) : マツノザイセンチュウ接種苗の幹の呼吸, 94回日林論 : 307~308.
- 佐々木重行 (1988) : マツノザイセンチュウを接種されたマツの水分動態, 福岡県林業試験場時報 第35報 : 1~16.
- 須川豊伸 (1982) : マツノザイセンチュウ被害による障害樹脂道の発生と柔細胞の変性, 日林誌 64(3) : 112~116.
- 鈴木和夫 (1992) : マツ枯損に関する萎凋枯死機構, 森林防疫 481 : 59~64.

(1994年2月21日受付; 1994年9月12日受理)

Summary

Root growth of *Pinus thunbergii* PARL. seedlings inoculated with *Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER et BURER) NICKLE were investigated using root system observing boxes. The roots of seedlings inoculated with *Bursaphelenchus xylophilus* stopped growing on the 3rd day after inoculation. At this point, abnormalities in oleoresin flow and base xylem pressure potential (BP) which indicates the water status of seedlings, were not observed. However, decreasing the length of white colored roots at the extremity of the roots coincided with the cessation of root growth. On the 12th day after inoculation, white colored roots disappeared, oleoresin flow ceased and the decline of BP began. Moreover, abnormal increment of water content in the roots observed. Subsequently, decline in BP and discoloration of needles advanced dramatically, and seedlings inoculated with *Bursaphelenchus xylophilus* died. *Pinus thunbergii* seedlings inoculated with *Bursaphelenchus xylophilus*, wilting symptoms which constitute a characteristic feature of the disease appeared after cessation of roots growth. It was therefore we concluded that the wilting symptoms of *Pinus thunbergii* seedlings inoculated with *Bursaphelenchus xylophilus* have greatly been under the influence of physiological damage to the roots.

Key words : Pine wilt disease, *Pinus thunbergii* PARL., root growth, water potential