

接触させたクロマツ個体間におけるマツノザイセンチュウの移動

川 口 エリ子^{**}・岡 裕 紀^{**}・曾 根 晃 一^{**}

平成10年9月24日 受理

抄 録

マツノマダラカミキリの関与しないマツノザイセンチュウの伝播の可能性を明らかにするため、線虫を接種したクロマツ苗木と接種しなかった苗木（隣接個体）の枝または幹を人工的に接触させ、個体間でのマツノザイセンチュウの移動について調査した。接触部位で個体間の癒合が生じていなくても、接触のみでマツノザイセンチュウの移動が可能であった。移動率は、接触19日後に接種を行ったペアで46.2%、接触と同時に接種を行ったペアで50.0%となり、接種57日後に接触を行ったペアでは35.3%となったが、接触と接種のタイミングによる移動率の差はなく、接触面で固まった樹脂の影響は少ないと考えられた。また、1日間の接触のペアでは移動は確認されなかったが、1～4週間接触を行った場合、50.0～57.1%とほぼ一定の割合で移動が生じた。このことは、マツノザイセンチュウのクロマツ個体間移動には少なくとも2～7日間の接触が必要であることを示唆している。

キーワード：マツノザイセンチュウ、樹間移動

はじめに

大規模なマツ枯れを引き起こすマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER *et* BUHRER) NICKLE) (以下、線虫) は、主にマツノマダラカミキリ (*Monochamus alternatus* HOPE) (以下、カミキリ) によって媒介されることが知られている (森本・岩崎 1971)。現在のマツ枯れ防除事業は、主に媒介者であるカミキリの駆除に重点が置かれているが (岸 1988, 田畑 1997), 吹上浜などのように、防除努力にもかかわらず被害を終息し得ない事例もある (山根 1996)。

ところで、線虫はカミキリ以外の手段によっても移動することが実験的に明らかにされており、寺田 (1985, 1986, 1987) は、人為的にクロマツ (*Pinus thunbergii* PARL.) およびアカマツ (*P. densiflora* SIEB. *et* ZUCC.) の苗木の根を接触させた実験において、個体間での線虫の移動を確認している。しかし、あらかじめ接触しているマツのいずれか一方に線虫が侵入する場合や、線虫が侵入・定着しているマツがそうでないマツと新たに接触する場合などの線虫の侵入とマツの接触とのタイミングや、接触期間の長さが線虫のマツ個体間移動に及ぼす影響については明

らかになっていない。

そこで、操作が容易な枝や幹の一部を人為的に接触させ、接触による線虫の移動の有無を調査し、接触および接種のタイミングや接触期間が線虫の移動に及ぼす影響について検討した。

材料と方法

1. 接触および接種のタイミングと線虫の移動 (実験 I)

実験 I は、1995年7月から12月にかけて、鹿児島大学農学部構内の苗畑に植栽されている4年生クロマツ140個体 (平均樹高97.3cm, 平均地際直径17.7mm) を用いて行った。

接触と接種のタイミングが線虫の移動に与える影響をみるため、接触後線虫を接種する場合のA、接触と接種を同時に行うB、および接種後接触させるCの3処理区を設定した。各処理区の接触日、接種日および供試ペア数を表1に示す。処理区Aでは接触の19日後に接種を行った。処理区Bでは接種と接触を同時に行い、処理区Cでは接種57日後に接触を行った。接触は、隣接する2個体を1ペアとし、ペア毎に枝または幹を幅1cm, 長さ2cm程度、形成層に達するまで剥皮し、その部分を密着させビニールテープ

*KAWAGUCHI, E., OKA, H., and SONÉ, K.: Migration of pine wood nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER *et* BUHRER) NICKLE) between two connected Japanese black pine (*Pinus thunbergii* PARL.) seedlings.

**鹿児島大学農学部森林育種・保護学研究室

Laboratory of Forest Genetics and Protection, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima 890-0065

***現九州大学大学院農学研究科

Graduate School of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812-8581

Table 1 The specification of Experiment I

Treatments	Date of connection	Date of inoculation	No. of pairs inoculated with	
			nenatodes	water
A	2 Aug. 1995	21 Aug. 1995	15	5
B	21 Aug. 1995	21 Aug. 1995	20	5
C	18 Oct. 1995	22 Aug. 1995	19	5

で固定して行った。線虫の接種にあたっては、それぞれのペアの1個体に、幹の高さ約10~20cmの部分幅0.5cm、長さ1cm程度剥皮し、その部分にクロマツ1個体当たり線虫（鹿児島県林業試験場で継代培養されていた強病原性島原系統）を約1万頭ずつ接種した。接種時および接触時に枝や幹に施す剥皮の影響をみるため、各処理区とも5ペアについては、コントロールとして線虫の接種と同様の方法で蒸留水を接種した（以下、蒸留水を接種した供試個体は水接種個体、線虫を接種した供試個体は接種個体、非接種個体は隣接個体とする）。

11月下旬~12月下旬にかけて、各処理区の全供試個体を掘り取った。掘り取った時点で、全供試個体の病徴を、健全な個体、針葉に萎凋がみられた個体および枯死した個体の3ランクに区分して記録した。掘り取った供試個体は、実験室内で個体別に地上部および地下部を含む樹体全体から約40gの試料片をランダムに採取した。その後、採取した試料片を用いてベルマン法により24時間線虫の分離を行った。接種個体から隣接個体への線虫の移動率を、接種個体で線虫が検出されたペア数のうち、隣接個体においても線虫が検出されたペア数の割合で求めた。

2. 接触期間と線虫の移動（実験Ⅱ）

実験Ⅱは、鹿児島大学農学部構内の苗畑に植栽されている5年生クロマツ140個体（平均樹高164cm、平均地際直径16.6mm）を用いて行った。

1996年7月24日に、クロマツ70個体に対し、幹の高さ約20cmの部分に線虫（島原系統）を約1万頭ずつ接種した。接種個体内での線虫の増殖を待った後、8月23日に、接種

個体1個体と隣接個体1個体を1ペアとし接触させた。接触は、実験Ⅰと同様の方法で行った。接触期間は1日間（15ペア）、1週間（15ペア）、2週間（15ペア）、3週間（15ペア）、4週間（10ペア）の5通りとした。

それぞれの接触期間終了後、ただちに接触部位をはずし、接種個体の地上部を刈り取った。刈り取った接種個体は実験室に持ちかえり、各個体毎に約20gの試料片を採取し、ベルマン法により24時間線虫の分離を行った。隣接個体は、樹体内での線虫の十分な繁殖を待った後、11月5~9日に全個体の地上部を刈り取り、接種個体と同様に線虫の分離を行った。その結果をもとに、実験Ⅰと同様の方法で、各接触期間における接種個体から隣接個体への線虫の移動率を求めた。なお、接触期間2週間のペアにおいて、実験期間中の台風により1ペアのうちの隣接個体が折れ、調査が不可能となったため、以下の解析では、このペアは除外した。

結 果

1. 接触および接種のタイミングと線虫の移動（実験Ⅰ）

全供試個体において、接触部位での癒合はみられず、接触面では滲出した樹脂が1~2mmの厚さで固まっていた。なお、コントロールでは、水接種個体および隣接個体ともに、萎凋や枯死は観察されなかった。

表-2に、接触および接種時期と線虫の移動率との関係を示す。全処理区において、接触によって接種個体から隣接個体への線虫の移動が確認された。各処理区の移動率はAでは40.0%、Bでは50.0%となり、Cでは35.3%であっ

Table 2 The migration rate of nematodes to adjacent seedlings in each treatment of Experiment I

Treatments	No. of seedling pairs with nematodes in		Migration rate
	inoculated seedlings	adjacent seedlings	
	(X)	(Y)	(Y/X)
A	13	6	0.462
B	20	10	0.500
C	17	6	0.353

Table 3 The results of the migration of nematodes in f Experiment II

Duration of connection	No. of seedling pairs with nematodes in		Migration rate
	inoculated seedlings	adjacent seedlings	
	(X)	(Y)	(Y/X)
1 day	14	0	0.000 ^a
1 week	15	8	0.533 ^b
2 weeks	14	8	0.571 ^b
3 weeks	15	8	0.533 ^b
4 weeks	10	5	0.500 ^b

Migration rates with same alphabet letter did not differ significantly at $P=0.05$ level.

た。これらの移動率について処理区間での有意差は認められなかった (A 対 B : $\chi^2=0.020$, B 対 C : $\chi^2=0.321$, C 対 A : $\chi^2=0.051$, いずれも $P>0.05$)。

2. 接触期間と線虫の移動 (実験 II)

全供試個体において、接触部位での癒合はみられなかった。

接触期間と線虫の移動率との関係を表-3 に示す。接触1日間では、隣接個体から線虫は検出されなかったが、接触1週間以上のペアでは、各接触期間での移動率は50.0~57.1%となった。接触1週間以上のペアでの移動率は接触1日間での移動率に比べ有意に高かったが、接触1週間以上の場合、接触期間の違いによる移動率に有意差は認められなかった。

考 察

水接種を行ったペアでは、接種個体および隣接個体ともに萎凋や枯死はみられなかったことから、今回の実験では、接触や接種の際に施した剥皮が萎凋や枯死をもたらすような影響を及ぼすことはなかったと考えられる。

今回の実験で、枝または幹の人為的な接触により接種個体と隣接個体の間での線虫の移動が生じることが明らかになった (表-2, 3)。また、両実験の全供試個体において接触部位での癒合はみられなかったことから、癒合していなくても、枝や幹を接触させるだけで線虫の移動が可能であることが確認された。これらの結果は、根を接触させた実験において、癒合がみられなくても接触のみで線虫が移動するという寺田 (1985, 1986) の指摘と一致する。

接触および接種のタイミングを変えて実験を行ったところ、接触後接種、接種と同時に接触、接種後接触のいずれの処理区においても線虫の移動が確認された (表-2)。接種よりも接触を先に行った場合、接触面に滲出した樹脂が固まって線虫の移動を妨げると予想されたが、線虫の移動率は処理区間で有意差が認められなかったことから、接

種と接触のタイミングや接触面で固まった厚さ1~2mmの樹脂の層が線虫の移動に及ぼす影響は少なかったと考えられる。

接触期間が1日のペアでは、隣接個体から線虫は検出されなかった (表-3)。クロマツ樹体内での線虫の移動速度は平均50cm/日 (鈴木 1996)、最大150cm/日 (黒田・伊藤 1992) であることが報告されており、1日間の接触でも線虫の個体間移動は可能であると推察される。しかし、侵入線虫の頭数が少ない場合、線虫は侵入後しばらくは増殖するが、その後密度が低下し、消失することがある (橋本・清原 1973)。したがって、接触1日間の隣接個体では線虫が検出されなかった要因として、接触1日間では線虫の移動は生じなかったことに加え、線虫の移動が生じていたとしても個体数が少なかったため隣接個体内で繁殖できなかったことが考えられる。

接触期間が1週間~4週間のペアでは、線虫の移動率は接触期間の長短に関わらず50.0%~57.1%とほぼ一定であった (表-3)。これらのことは、線虫が隣接木に移動し十分な繁殖を行うには、少なくとも2日~7週の接触が必要であることを意味する。また、根を1年間接触させたペアにおいて、移動率は100%であったことが報告されている (寺田 1985)。したがって、今回行った1週間間隔の最長4週間という接触期間の設定では、移動率は寺田 (1985) の報告よりも低く、接触期間による差はみられなかったが、接触期間をさらに延長すれば隣接個体への線虫の移動率は高まり、接触期間による移動率の差が生じる可能性もある。

本実験の結果から、寄主植物間の接触を利用した線虫の樹間移動は、線虫の侵入・定着と寄主植物間の接触とのタイミングに左右されることなく、接触開始時から短期間のうちから生じることが明らかになった。このことから、寄主植物間での接触および癒合が生じれば、線虫の樹間移動

は比較的容易なことだといえる。本実験では接触や取り外しなどの操作がしやすいうように地上部での接触を行ったが、根においても同様の結果が得られると考えられる。また、根の接触および癒合に関しては、多い林分では、癒合している個体が0.2%、癒合はみられないが両根の表皮が損傷を受け接触している個体が36.9%であったと報告されている(寺田 1985)。したがって、自然条件下の林分において、寄主植物間の接触および癒合を利用した線虫の伝播の可能性は高いであろう。マツ枯れの進行により上木の大部分が枯死した林分、ならびに薬剤散布などが行われた林分では、カミキリの密度が低くなると考えられる。このような林分では、寄主植物間の接触および癒合を利用した、カミキリの関与しない移動は、線虫の生き残り戦略として有効な手段となっているであろう。

謝 辞

本研究を行うにあたり、調査地を提供してくださった鹿児島大学農学部附属演習林、線虫を提供してくださった鹿児島県林業試験場の村本正博氏、ならびに調査に協力してくださった鹿児島大学農学部森林育種・保護学研究室の皆様深く感謝します。

引 用 文 献

- 1) 橋本平一・清原友也：マツノザイセンチュウの樹体内移動(Ⅲ)．84回日林講，330-332 (1973)
- 2) 岸 洋一：マツ材線虫病—マツくい虫—精説．292pp，トーマスカンパニー，東京 (1988)
- 3) 黒田慶子・伊藤進一郎：クロマツに侵入後のマツノザイセンチュウの動きとその他の微生物相の変遷．日林誌 74，383-389 (1992)
- 4) 森本 桂・岩崎 厚：マツノマダラカミキリによるマツノザイセンチュウの伝播．日林九支研論 25，165-166 (1971)
- 5) 鈴木和夫：マツ枯れの正体—マツ枯れの疑問と萎凋枯死の仕組み—．林業技術 652，8-11 (1996)
- 6) 田畑勝洋：被害の推移と行政の対応．田村忠弘編 松くい虫(マツ材線虫病)—沿革と最近の研究—．P. 1-18 全国森林病虫獣害防除協会，東京，(1997)
- 7) 寺田正男：根系の接触・ゆ合とマツノザイセンチュウの移動に関する研究．昭和59年度松くい虫防除試験研究報告書．57-81，(株)ゴルファーの緑化促進協力会 (1985)
- 8) 寺田正男：根系の接触・ゆ合とマツノザイセンチュウの移動に関する研究．昭和60年度松くい虫防除試験研究報告書．53-93，(株)ゴルファーの緑化促進協力会 (1986)
- 9) 寺田正男：根系の接触・ゆ合とマツノザイセンチュウの移動に関する研究．昭和61年度松くい虫防除試験研究報告書．59-91，(株)ゴルファーの緑化促進協力会 (1987)
- 10) 山根明臣：松くい虫被害の現状，対策とその効果．林業技術 652，16-19 (1996)

Summary

We conducted two experiments to examine the migration of pine wood nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER *et* BUHRER) NICKLE) from seedlings of Japanese black pine (*Pinus thunbergii* PARL.) to adjacent seedlings through an artificial connecting point on shoots or trunks. In the first experiment, we examined the migration of nematodes in three different sequences of host plant connection and nematode inoculation. In the first case, the seedlings were connected 19 days after the inoculation of nematodes; in the second case, the connection was made just after inoculation; and in the third case, inoculation was carried out 57 days after connection. In these three cases, although fusion was not caused at the connecting points, nematodes can migrate between the seedlings, suggesting few effects of dried resin on the migration of nematodes. The migration rates in the first, second, and third cases were 46.2, 50.0 and 35.3%, respectively. There was no significant difference among them. In the second experiment, we connected pairs of seedlings for one day, and one, two, three, and four weeks after the inoculation of nematodes. One-day connection did not cause the migration of nematodes. When seedlings were connected for 1-4 weeks, the migration of nematodes was observed in 50.0-57.1% pairs of seedlings. These results suggest that the connection of shoots or trunks for at least 2-7 days is necessary for nematodes to migrate between host plants.

Keywords: pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, between-tree migration