

資料

兵庫県内で採集したマツノザイセンチュウの病原力の比較の一例

塩見晋一

Shinichi SHIOMI

A study on virulence of pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) collected in Hyogo prefecture

キーワード：マツノザイセンチュウ、アイソレート、病原力

I はじめに

マツノザイセンチュウ病の病原菌であるマツノザイセンチュウ（以下線虫と記す）は生息する産地別アイソレート（分離系統）集団によりマツノザイセンチュウ病における病原力に差があることが知られている(1)。よって、抵抗性マツの育種過程で選抜に次いで実施される線虫の人工接種検定では、できるだけ共通の線虫アイソレートをを用いることが望ましい。

当所においても、永年にわたり線虫の人工接種検定試験に際しては、島原個体群である線虫（林木育種センター関西育種場から提供）を使用してきた。

しかし、筆者が実施した露地植え苗木を対象とした人工接種試験の結果では、接種する島原個体群である線虫の反応は極めて緩慢で、枯死に至る苗木が発生しない状況が継続した。この現象は対照に用いた非抵抗性の精英樹由来の実生苗でも認められ、抵抗性アカマツの系統別抵抗性強度を評価する上で、明確な結果が得られないまま推移してきた経緯がある。

この状況を打開するため、線虫接種対象苗木をポット苗に切り替え、温室内で接種試験を実施したところ、島原個体群線虫で苗木の枯死が発生し、接種試験にはある程度水ストレスをかけた苗木を用いる必要があると考えられた。しかし、温室内で大量の接種試験を実施するにはスペースに限界があり、露地の苗畑で実施することが望まれる。

そこで、注目したのが使用する線虫の病原力についてであり、これまで統一的に使用されてきた島原個体群線虫よりも病原力が強く、兵庫県内に分布する線虫アイソレートをを使用して接種試験を実施してはどうかと考えた。

自然界では県内全域でマツノザイセンチュウ病によるマツ枯れが発生している。そこで、県下各地から生息している線虫を集め、産地アイソレート別にその病原力がどの程度異なるのか、あるいは島原個体群線虫と比較して、病原力に差があるのかどうかを確認するため、実験を行ったので、その結果について報告する。

II 材料および方法

1. 線虫の採取・分離

2006年11、12月に県内を踏査し、県下10カ所で当年度マツノザイセンチュウ病によって枯損したアカマツ、クロマツの胸高部位に径10mmの錐をつけた電動ドリルで穴をあけ、その時排出される材片をビニール袋に回収した。材片の採取地点および個体は表1、図1のとおりである。

採取した材片は（独）森林総合研究所九州支所へ送付し、無菌的分離した上、採取箇所別に無菌アイソレート株を提供してもらった。

表1 線虫採取地点と採取個体

採取箇所 No.	採取地	樹種	胸高直径 (cm)	樹高 (m)
①	加西市	アカマツ	50.3	18.0
②	福崎町	クロマツ	14.0	7.5
③	三木市	アカマツ	16.0	11.3
④	多可町（加美区）	アカマツ	16.5	12.1
⑤	淡路市（北淡町）	アカマツ	18.0	7.7
⑥	豊岡市（但東町）	アカマツ	32.4	15.0
⑦	豊岡市（城崎町）	アカマツ	25.5	12.5
⑧	新温泉町（浜坂町）	クロマツ	35.2	16.3
⑨	上郡町	アカマツ	18.8	15.0
⑩	上郡町	アカマツ	15.4	11.5

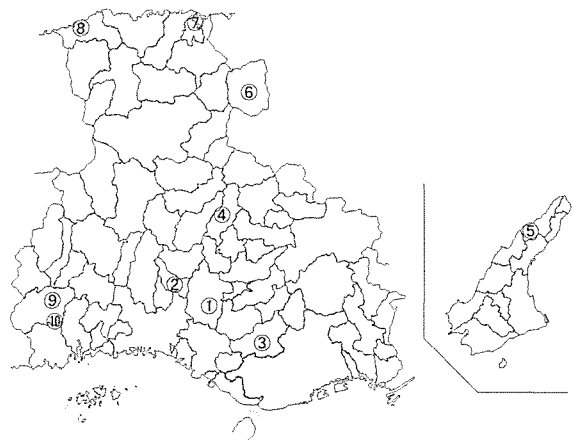


図1 線虫採取箇所 (番号は表1の採取箇所No.に準ずる)

2. 線虫の増殖・接種

線虫アイソレート株を材料に、採取箇所ごとに麦培地を用い、増殖を行った後、1ml当たり100,000頭に調整し、接種用の線虫懸濁液を用意した。詳細は戸田の方法(2)に従った。

線虫接種は2007年8月17日に行った。接種対象苗木

は抵抗性アカマツを母樹とする3年生実生苗で、その系統は大分166、大分142、大分203、大分204、佐賀関117の5系統を供試した。いずれも当所構内（兵庫県宍粟市山崎町）の苗畑に植栽した露地植え苗で実施した。

接種する線虫は前述の県内各地から分離した10アイソレートと島原個体群を使用した。ただし、10アイソレートのうち、表1の採取箇所No.⑤、⑩は増殖過程で雑菌汚染により所定の線虫頭数が得られなかったため、今回の接種試験から除外した。したがって、接種に使用した線虫は県内8カ所の分離線虫と島原個体群の計9アイソレートである。

接種本数は、線虫1アイソレートにつき10本の苗木に接種し、それを5系統の苗木で5回繰り返しを行い、合計450本に実施した。

線虫接種後3ヵ月が経過した時点(2007年11月14日)で苗木の状況を毎木調査し、次の基準で苗木の状態を指数化した。1:健全、2:葉の黄変、3:部分枯れ、4:枯死。そして、接種苗木系統による繰り返しを込みにした指数値の総和を累積指数値とした。

Ⅲ 結果および考察

線虫接種後の苗木の反応は極めて緩慢で、接種後1ヵ月半が経過して、はじめて一部の個体で葉のしおれや黄変が観察され、枯死が発生するまでには接種後2ヵ月が経過していた。線虫接種後3ヵ月が経過し、接種苗木の状態に新たな変化が認められなくなり、苗木の反応状態は安定したと判断した。

線虫アイソレート別接種苗木の各指数値は表2のとおりであった。線虫アイソレート別の累積指数値を図2に示す。また、各線虫アイソレート別の枯死本数を図3に示す。図2と図3を見れば、同じ傾向を示すものであると考えられることから、接種後3ヵ月後の枯死本数値を用いて、線虫9アイソレートと接種苗木5系統の2要因で分散分析を行った結果、線虫アイソレート間および苗木系統間ともに1%水準で有意差が認められたため、Fisherの最小有意差法により解析した。その結果、線虫No.④アイソレートは他の線虫アイソレートに比べて有意に多く、最も病原力が強いものと考えられた。また、線虫No.③、⑨、⑥、⑦のアイソレートグループと線虫No.⑤、①、島、②のアイソレートグループ間にも5%水準で有意差が認められた。つまり、今回比較した線虫9アイソレートは病原力において、強・中・弱の3グループに分類できた。

表2 線虫アイソレート別指数値一覧

抵抗性アカマツ系統	④	③	⑨	⑥	⑦	⑤	①	島	②
大分166	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	3	4	2
	4	4	4	1	4	1	3	1	1
	4	1	4	1	4	1	2	1	1
	4	1	1	1	4	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
大分142	4	4	4	4	4	3	1	4	1
	4	4	4	1	4	1	1	1	1
	4	1	4	1	1	1	1	1	1
	3	1	4	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
大分203	4	4	4	4	1	1	4	4	4
	4	4	4	4	1	1	4	1	2
	4	4	4	4	1	1	1	1	1
	4	4	3	1	1	1	1	1	1
	1	1	2	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
大分204	4	4	4	4	4	4	1	4	2
	4	4	1	4	4	1	1	1	1
	4	1	1	4	4	1	1	1	1
	4	1	1	4	1	1	1	1	1
	1	1	1	4	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
佐賀関117	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	1	4
	4	4	4	4	4	4	1	1	1
	4	4	1	1	3	2	1	1	1
	4	4	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1

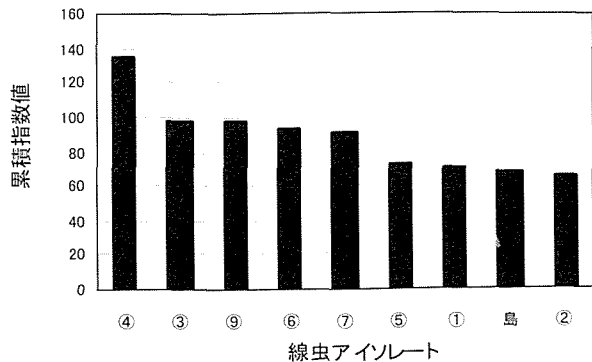


図2 線虫アイソレート別累積指数
* 線虫アイソレートの数字は表1に準ずる
島は島原個体群を示す

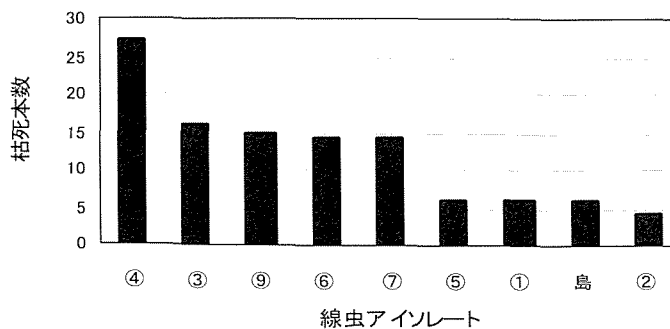


図3 線虫アイソレート別枯死本数
* 線虫アイソレートの数字は表1に準ずる
島は島原個体群を示す

かねてから、永年使用してきた島原個体群は兵庫県内の線虫アイソレートと比較して、病原力：弱のレベルに属しており、これまで経験してきた接種後の苗木の反応の低さの一因であるものと考えられた。

接種検定に用いられる線虫アイソレートの条件としては、安定した加害性と増殖性や数日間の保存や継代培養を繰り返しても活性が高く低下しないことなどがあげられ、線虫アイソレート島原は極めて強い加害性を持ったものとして、特に増殖性に優れている点で選抜されたとされている。(3)しかし、今回の結果から見れば、線虫アイソレート島原は当初の強い病原力は認められなかった。

ただし、今回実施した実験結果は一事例に過ぎず、更なるデータの蓄積が必要であると考えられる。

摘要

(1) 兵庫県内の10カ所からマツノザイセンチュウ病で枯死したアカマツ、クロマツから線虫を採取し、10アイソレートの線虫無菌株を分離した。

(2) 5系統抵抗性アカマツ母樹由来の3年生実生苗を対象に分離した線虫および島原個体群の計9アイソレートの線虫を接種し、苗木の反応状況に基づいて線虫の病原力を比較した。

(3) 分離された線虫アイソレートの病原力は強・中・弱の3段階にグループ分けされた。

(4) 線虫島原個体群は兵庫県内の線虫で病原力弱のグループに属していた。

謝辞

このたび、(独)森林総合研究所九州支所の秋庭満輝氏には、線虫の無菌株を提供していただきました。ここに、深く御礼申し上げます。

引用文献

- (1) 間宮靖治(1992) 樹木・森林とかかわる線虫。(森林保護学. 間宮靖治編, 262pp, 文永堂出版, 東京) . 158-160
- (2) 戸田忠雄(2000) 抵抗性マツを生産するための材線虫の培養技術と接種技術. 林木育種センター九州育種場年報 28:50-55
- (3) 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二・山手廣太・冬野劭一(1989) マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業—技術開発と事業実施 10か年の成果—. 林木育種場研究報告 7 : 31-39