マツ材線虫病における誘導抵抗性†

清 原 友 也

(森林総合研究所九州支所)

植物における誘導抵抗性の現象は古くより知られており、近年、ウイルス、細菌および糸状菌に起因する多くの作物病害において盛んに研究が行われている⁽¹⁾。一方、線虫病では、線虫異種間での誘導抵抗性に関する報告は散見されるが、種内での研究例はきわめて少ない。

マツ材線虫病の病原線虫であるマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) の病原性を調べる過程で、本種の病原性に著しい種内変異のあることが知られ、マツ類に対してほとんど病原性を示さないいくつかの個体群 (以下、弱毒線虫と呼ぶ) が検出された⁽²⁾。これらから培養個体群を作成して本病に対する誘導抵抗性の試験を行った結果、興味ある知見が得られたので試験結果の概要を紹介したい。

1. 試験方法

寄主植物にはマツ材線虫病に対して感受性であるクロマツ (*Pinus thunbergii*) 苗木または幼齢木 (以下、マツと呼ぶ) を用いた。マツ地際に弱毒線虫を前接種し、一定時間後に病原力の強い線虫 (以下、強毒線虫と呼ぶ) を後接種し、マツ生存率を対照区 (前接種せず後接種のみ) と比較することで誘導抵抗性の度合を評価した。

2. 前・後接種の時間間隔と抵抗性の誘導

抵抗性が誘導されるためには、前接種して一定の時間経過が必要と予測されたので、前・後接種の間に種々の時間設定をし試験をした (表1)。

弱・強の線虫を同時に接種してもマツ生存率は高まらなかった。前接種5日後からマツに抵抗性が発現し始め、この試験では30日後に最も高い生存率を示した。生じた抵抗性は、時間とともに漸減する傾向を示したが、少なくとも4カ月間は持続した。

3. 前接種の線虫密度と抵抗性の誘導

抵抗性の誘導に及ぼす前接種の線虫密度の影響を見るため、16年生のマツを用いて試験した (図1)。30頭から3万頭までの4段階で前接種し、2カ月後に同一条件で後接種を行いマツ生存率を比較した。30頭接種では抵抗性が生じず、300頭以上の前接種で抵抗性が発現した。しかし、翌年夏の調査では3万頭区のみが前年と同じ生存率を示し、他の密度では翌年になって枯死する個体があった。

4. 抵抗性の誘導要因

弱毒線虫の培養濾液や線虫摩砕液をマツに注入しても抵抗性は発現せず、生きた線虫を前接種したときのみ抵抗性の誘導が認められた。また、ナイフでマツに付傷しても抵抗性は生じなかった (表2)。

5. 抵抗性の誘導機構

抵抗性の誘導機構についてはいまだ十分明らかでないが、試験の結果、抵抗性は前接種の部位を問わず全身的に誘導されることが判明した⁽⁴⁾。また、前接種木の樹体内においては強毒線虫の増殖が著しく抑制されることがわかった (図2)。弱・強線虫を同時に接種してもマツ生存率は向上しない事実 (表1) から、弱毒線虫が強毒線虫の増殖を直接阻害するとは考えられない。弱毒線虫に反応したマツに代謝の変化が起こり、これに伴って化学的あるいは物理的障壁が構築され、これが強毒線虫の増殖阻害要因として働くことが推測される。

植物線虫病では、感染に伴う宿主におけるフェノール性物質の集積が多く知られ、同物質がネグサレセンチュウの一種 (*Pratylenchus penetrans*) を忌避したとする報告もある⁽⁵⁾。また、ある種の線虫は、宿主植物の成長調整物質、アミノ酸、蛋白、核酸等の量的変化をもたらす可能性がある⁽⁶⁾。

ところで強毒線虫の接種では、抵抗性要因は発現しないのであろうか。これは推論であるが、強毒線虫はマツに対する作用が強くて早いので宿主は抵抗性を構築する

† Induced Resistance in Pine Wilt Disease.
Tomoya KIYOHARA (Kyushu Research Center,
Forestry and Forest Products Research Institute,
Kurokami, Kumamoto 860).

図1 前接種の線虫頭数と誘導抵抗性

図2 抵抗性誘導木および非誘導木内における強毒線虫の個体数推移

時間がないものと考えられる。強毒線虫の場合でも、低密度接種ではマツに抵抗性の誘導を認めたとする試験結果⁽⁶⁾は示唆に富んでいる。

6. 弱毒線虫の問題点と対策

上述のように、弱毒線虫の前接種によって本来感受性であるクロマツに、マツ材線虫病に対する抵抗性を誘導できることが実験的に示された。しかし、弱毒線虫にも病原性は備わっており、マツの生育条件によっては高率の枯死を引き起こす。また、弱・強毒線虫の形態的識別は容易でなく、しかも両者間には自由に交配が起こる⁽²⁾。したがって、同一木における両線虫の個体数推移の把握はほとんど不可能である。

一層の弱毒化と弱毒性の安定をはかるための一手段として、同胞交配の反復により個体群を純系に近付ける方

表1 前・後接種の日数間隔と誘導抵抗性の関係

日数間隔	接種本数	生存本数	生存率(%)
0 ^a	10	0	0
5	10	6	60
10	20	15	75
21	10	9	90
30	20	19	95
60	20	12	60
90	20	15	75
120	20	12	60
強毒のみ	20	1	5

前接種, 3万頭; 後接種, 1万頭; ^a, 同時接種。

表2 抵抗性の誘導に働いている要因

前処理	接種本数	生存本数	生存率(%)
熱殺弱毒	20	2	10
破砕弱毒	20	1	5
培養濾液	20	2	10
傷のみ	20	2	10
無処理	20	2	10
生存弱毒	20	18	90

弱毒, 弱毒線虫; 30日後に強毒線虫(1万頭)で後接種

法がある。また、本線虫とは形態を異にし、しかも抵抗性誘導能を有する他種の線虫の探索が必要である。

7. 微生物による抵抗性の誘導

弱毒線虫にとどまらず、抵抗性を誘導できる微生物が存在するのではないかと考え、細菌、糸状菌および線虫類を対象に探索している。鉢植えにした1年生アカマツ (*Pinus densiflora*) およびクロマツ苗木を寄主植物とし、マツ類に由来する上記微生物につきスクリーニングを行った。

その結果、弱毒線虫に匹敵する抵抗性誘導能を備えた数種の細菌、糸状菌および線虫が検出された⁽⁷⁾。細菌はマツ枯死木から分離された *Bursaphelenchus* 属の線虫に随伴している種群で大部分のものが *Pseudomonadaceae* 科に属している (滝川, 私信)。糸状菌では、クロマツ病針葉から分離された *Rhizosphaera* sp. や炭疽病菌 *Colletotrichum* sp. の抵抗性誘導能が高く、注目された。細菌や糸状菌には、線虫と違ってマツ樹体内を能動的に移動しない利点があり、抵抗性の誘導範囲を調べたり、抵抗反応を細胞レベルで観察するのに好都合である。

Bursaphelenchus 属の線虫のなかから、弱毒線虫と同

等かそれ以上の抵抗性誘導能を持つ種が検出された。これは *B. xylophilus* とは著しく形態が異なり、生殖的隔離も完全（清原，未発表）であるので、マツ樹体内における両線虫の行動および消長を容易に追跡できる。

上記微生物はいずれも、鉢試験ではクロマツよりもアカマツにおいて強い抵抗性を誘導した。これら微生物の誘導能の再現性と寄主選好性を圃場においてさらに確認する必要がある。

おわりに

弱毒線虫を中心に、マツ材線虫病における誘導抵抗性の試験の概要を述べたが、得られた結果は現象論に終始し理論的な考察を行える段階に達していない。本線虫は宿主内を移動する病原体だけに、病原と宿主細胞の接触の場を捉えにくい。このことは、病理学的な解析を困難にしているだけでなく抵抗性の誘導機構を解明するうえでも一障害になっている。検出された細菌や糸状菌を併用し、細胞および分子レベルの抵抗性誘導の比較研究を行うことで抵抗性発現の理解が深まると思われる。

抵抗性の誘導は、光、温度等に依存することが知られ

ている。この試験でも、マツの生育条件を反映して実験結果に大きな変動が認められた。とりわけ、土壌水分が抵抗性の誘導に強く影響することが示唆された。抵抗性の誘導に及ぼす環境要因の解析も今後の重要な研究課題となろう。

- (1) J. G. Horsfall and E. B. Cowling: "Plant Disease, an Advanced Treatise," Vol. V, Academic Press, 1980, p. 534.
- (2) 清原友也: 林試研報, **353**, 127 (1989).
- (3) R. A. Rohde: *Annu. Rev. Phytopathol.*, **10**, 233 (1972).
- (4) T. Kiyohara: "Proc. US-Japan Seminar. The Resistance Mechanisms of Pines against Pine Wilt Disease," ed. by V. Dropkin, 1984.
- (5) 長濱三千治: 林業試験場時報, **34**, 23 (1987).
- (6) L. Sequeira: "Recognition and Specificity in Plant Host-Parasite Interactions," ed. by J. M. Daly and I. Uritani, Japan Scientific Soc. Press, Tokyo, 1979.
- (7) 清原友也: 投稿中.