

材線虫病、罹病マツの木部柔細胞に見られる呈色反応について

林業試験場九州支場 橋本平一

はじめに

マツの材線虫病に罹病したマツの樹体内では究極において線虫の爆発的な増殖がみられる。また、マツは各種病態生理反応を経て萎凋する。これら発病経過に對応した樹体の木部柔細胞に現われる組織化学的変化を検討しているが、本報告は放射柔細胞にみられる澱粉、脂質、細胞のえ死およびファストグリーンの染色性について若干の知見を述べる。

材料および方法

径30cmの素焼鉢に植えた健全な4年生クロマツ、20鉢を空調した温室(25~30°C)に運び1週間おきに灌水を行った。8月2日に15鉢について、常法で培養した線虫の懸濁液(3万頭/苗木当たり)を枝に接種した。残り5鉢は無接種対照苗とした。

解剖を行う苗木の病状を適確に把握するために、経時に全供試苗について蒸散量と水ボテンシャルを常法¹⁾により2日間隔で測定し、それぞれ、該当した生理反応の現われた時点の苗木を選んで切り倒し、解剖に供した。なお、樹脂滲出量の判定は切株断面で確めた。

解剖用試片は苗木主幹の3年生節間の中央部から長さ1cmの試片を2個とり固定液、FAAと10% formalinで固定した。前者はセロイジン法により包埋後切片を作成してサフラン・ファストグリーンの二重染色後、永久プレパラートを作成した。

表-1 材線虫病の発病経過に伴う木部柔細胞の呈色反応(供試苗1~2本)

経過日数	マツの生理反応	線虫の個体数	マツの柔細胞の之死と呈色反応			
			細胞のえ死	ファストグリーン	ヨード・ヨードカリ	スタン-IV
接種前日	樹脂正常①	0.	正常	++	-	++
△3日後	△△	0.2	△	++	-	+
△7△	△△異常②	2.0	褐色変	++	-	+
△10△	蒸散停止③	22.0	△	+	-G.	-G.
△14△	X・W・P④	1530.0	△	-	-G.	-G.

註 ①: 根株断面の樹脂滲出量が正常、 ②: 樹脂滲出停止、 ③: 蒸散量 1mg/g/min 以下に低下、 ④: 水ボテンシャル-20bar以上(a.m 5時)、 ++: 呈色反応正常、 +: 反応がやや低下、 -: 反応がわるい、 G: 顆粒形成。

後者は凍結ミクロトームにより15~20μmの切片を作製し、スライドグラス上で、ヨード・ヨードカリ液による澱粉反応とスタン-IVによる脂質の呈色反応を観察した。

線虫の分離は主幹と根系に分けて、木片を20~30g採取してベルマン氏法により分離し、計数した。

結果と考察

病態生理反応および線虫の増殖経過と対応した罹病マツの木部柔細胞の変化を表-1および写真-A~Hに示した。

ファストグリーンの染色性と細胞のえ死: 写真-Aは接種前日の無接種対照苗における仮道管(T)と放射柔細胞(RP)のファストグリーン染色性を示しており、正常な柔細胞と正常な核が観察される。

写真-Bは接種後7日目の放射柔細胞中に見られるえ死細胞(NE)である。このえ死細胞は接種後10日目頃まで進行がみられるが、その後はあまり進行をみなかった。14日目のファストグリーンの染色性はかなり低下しており、細胞の死を意味しているものとみなされる。

柔細胞の脂質の変化: 写真-Cは無接種対照苗に共通してみられるスタン-IVの脂質の呈色反応である。

接種3日後には呈色反応に低下がみられ、7日後には写真-Dに示されるように著しい変化が見られる。

10日後には写真-Eに示されるように脂質はほとんど認められず、変って新たに顆粒(G)が認められる

ようになる。このように柔細胞内の脂質は線虫の感染により速やかに変化を来たし、垂直樹脂道(RC)放射柔細胞(RP)共に共通した変化が認められることから、樹脂滲出の低下と細胞中の脂質の変化とは関連が予想される。

柔細胞の澱粉粒の変化: 写真-Fは試験開始以前の6月中旬にみられる苗木の放射柔細胞中の貯蔵澱粉粒(SG)を示す。8月2日の

接種時には写真-Gに示されるように接種、無接種苗共に放射柔細胞には貯蔵澱粉は認められない。さらに、病状が進行しても澱粉粒については変化が認められない。ただし、接種後10日目頃より写真-Hに示されるような褐色に染まる顆粒や楕円形の新たな物質(G・G)が認められるようになる。

表-1より柔細胞内の組織化学的变化を見ると線虫の感染する時期には細胞内の貯蔵澱粉が季節的に減少している時期である。一方、線虫の感染により最も速やかに変化がおこるのは脂質である。さらに、感染後10日目の蒸散量の停止がおこる頃までには脂質は消失

して、代って柔細胞内に顆粒が認められるようになる。この顆粒は細胞内の代謝産物とみなされ、今後検討を加えなければならないが、これが形成される時期には苗木の水ストレスが未期的状態に達した時期である。また、この頃から線虫の爆発的な増殖がみられる。これまでの報告³⁾で線虫の爆発的な増殖はマツ材中の含水量の減少と関連することが暗示される。さらに、罹病したマツでは形成層活動の低下がみられる²⁾が、これらの現象は柔細胞の病的な変質に基くものと考えられる。

引用文献

- (1) 橋本平一: 87回日林論, 223~235, 1979,
- (2) 橋本平一: 日林九支研論, 32, 263~264, 1979.
- (3) 徳重陽山ほか: 日林九支研論, 31, 213~214, 1978

写真説明

A~B: サフラニン・ファストグリーンによる染色
 C~E: スダンIVによる脂質の染色
 F~H: ヨード・ヨードカリによる澱粉の染色
 T: 仮道管, RP: 放射柔細胞, NE: 細胞のえ死
 RC: 垂直樹脂道, G: 顆粒, SG: 淀粉粒
 GG: 小判形物質(顆粒)

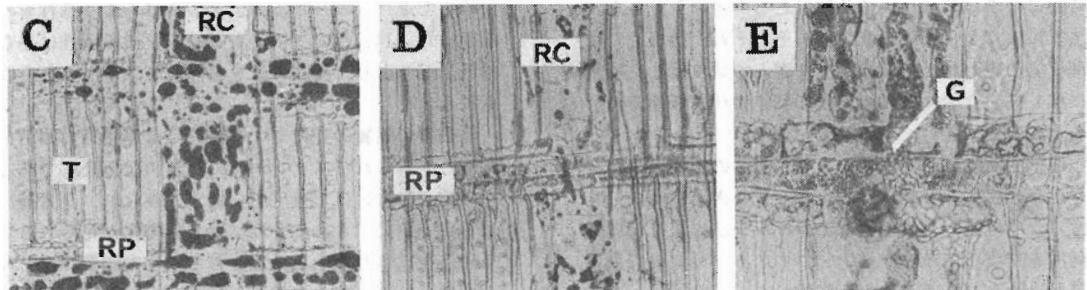
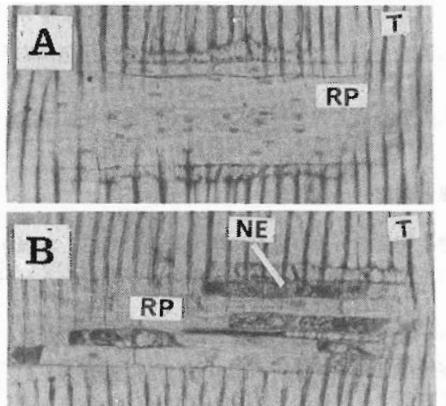


写真-1 (A~H) 木部柔細胞の呈色反応