

微生物によるマツ材線虫病抵抗性の誘導

一 誘導微生物のスクリーニング法一

森林総合研究所九州支所 清原 友也・池田 武文
楠木 学

1. はじめに

マツ材線虫病に対する誘導抵抗性の試験は従来、マツノザイセンチュウの中の弱毒線虫を用いて行われてきた¹⁾。弱毒線虫による抵抗性の誘導現象は、植物病理学的にも興味ある現象であり、その誘導機構は今後解明すべき課題である。一方、弱毒線虫の前接種によってマツ樹体に抵抗性が生ずる事実は、他の微生物による抵抗性誘導の可能性も暗示している。

この観点から、細菌、糸状菌、線虫等を対象に抵抗性の誘導可能な微生物を探索する目的で研究を開始した。本報では、誘導微生物のスクリーニング法を検討した。

2. 材料および方法

A) 微生物の分離

マツ類に associate している微生物をスクリーニングの対象とした。

細菌：マツ類枯死木から分離し、継代培養を行っている *Bursaphelenchus* 属の線虫に随伴している細菌を分離し供試した。また、クロマツ健全木および枯死木から分離した細菌数種も用いた。分離および培養には常用の PDA または細菌用普通寒天培地を用いた。

糸状菌：葉枯症状を呈している 2 年生クロマツおよび斑点性病徴を示す 15 年生クロマツの針葉を採取し、これより組織分離および湿室処理により各種糸状菌を PDA で分離し、抵抗性誘導能を検定した。

線虫：上記の *Bursaphelenchus* 属の線虫 5 種を供試した。*Botrytis* 菌で培養後、テトラサイクリンおよびストレプトマイシンで虫体の表面殺菌を行い接種した。

B) 抵抗性誘導能の検定方法

鉢試験：分離した各微生物を素焼鉢（直径 24 cm）に植えた 2 年生クロマツ（平均根元直径 1.1 cm、平均苗高 52 cm、3 本植え/鉢）に前接種し、一定時間後に強毒線虫（S6-1）約 5000 頭で挑戦接種を行った。各処理に 2 鉢 6 本を供試した。細菌、線虫および培地上で胞子を形成する糸状菌については、殺菌水による懸濁液で接種し、胞子形成のない糸状菌は菌叢を接種した。前接種を苗木地際に行い、10～30 日後に約 1 cm 上部に挑戦接種を行った。対照区のマツには殺菌水を前接種した。秋期～春期の試験はコイトロン内（昼 30℃、夜 25℃）で行い、夏期には野外で試験した。いずれの場合にも灌水は十分に行った。

苗畑試験：鉢試験によって抵抗性誘導能を示した微生物については、森林総研九州支所の苗畑に植栽した 5 年生クロマツを用いて 7～8 月に再現性を調べた。前接種を供試木地際に行い、最上位の枝に挑戦接種を行った。接種密度などは鉢試験に準じた。各処理につき約 10 本用いた。誘導抵抗性の度合は、挑戦接種後のマツの樹脂浸出量、枯死にいたる時間および枯死本数で評価した。1 号畑および 2 号畑で試験した。

3. 試験結果

鉢試験：表-1 に示す細菌 14 種、糸状菌 38 種、線虫 5 種の抵抗性誘導能を鉢試験によって調べた。供試した細菌の中で、*B. mucronatus*（九州；雲仙産）ならびに *Bursaphelenchus* sp.（九州；霧島産）から分離した細菌が、鉢植えのクロマツに抵抗反応を誘導し対照区に比べ枯死本数を軽減させた。

表-1. マツ類に関連する微生物とその抵抗性誘導能

	分離種数	抵抗性誘導可能な種数	備 考
細菌	14	2	主に <i>Bursaphelenchus</i> spp. ¹⁾ より分離
糸状菌	38	4	主にクロマツ病針葉より分離
線 虫	5	1	<i>Bursaphelenchus</i> spp. ¹⁾
計	57	7	

1) マツ枯死木に由来する線虫

クロマツ病葉から分離した糸状菌の中で、胞子の形

Tomoya KIYOHARA, Takefumi IKEDA and Manabu KUSUNOKI (Kyushu Res. Center, For. & Forest Prd. Res. Inst., Kumamoto 860)

Induction of pine wilt resistance by prior inoculation with microorganism

状などから属の段階まで同定した菌として *Alternaria*, *Cercospora*, *Dothiostroma*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Lophodermium*, *Phoma*, *Macrophoma*, *Pestalotia*, *Phomopsis*, *phyllosticta*, *Septoria* 等があげられる。これら菌類の中で、*Phomopsis* および *Septoria* の前接種によってクロマツに抵抗反応が生じた。上記の他に未同定の菌約 26 種が分離されたが、その中の 2~3 種は抵抗性を誘導した。

供試した *Bursaphelenchus* 属線虫 5 種の中で、沖縄県のリュウキウマツ枯死木から分離した線虫が他種に比べ強い抵抗性誘導能を示した。

苗畑試験：鉢試験によってクロマツに抵抗反応を誘導した微生物については、苗畑において再試験をした。上記の鉢植えマツに抵抗性を誘導した 2 種の細菌を 5 年生クロマツに前接種した結果、雲仙産の細菌で 9 本中 7 本 (78%)、霧島産の細菌で 11 本中 10 本 (91%) が生存した。対照区における生存率は 44% (16 本中 7 本) であった。なお、これは 2 号畑での試験成績である。

糸状菌 *Phomopsis* および *Septoria* の再試験は 1 号畑で行った。両者の接種によるマツ生存本数はともに 10 本中 1 本 (対照区, 0/10) でほとんど誘導効果は認められなかった。しかし、枯死に至るまでの時間は対照区に比べ遅延された。なお、*Phomopsis* については 2 号畑でも併行して試験したが、この場合の生存率は 58% (5/9) であった。

沖縄県産の線虫 *Bursaphelenchus* sp. については、苗畑での試験は行わなかった。

4. 考 察

本試験では、マツ樹体から分離した微生物を対象に抵抗性誘導者のスクリーニングを行った。これを対象にした理由の一つは、マツと何等かの親和性をもつものが有効ではないかと考えたためである。今回は分離の対象を主としてクロマツに限定したが、さらに分離対象をマツ属の各樹種に広げてみる必要がある。

供試した微生物のうち、最も強い抵抗性誘導能を示したのは細菌類であった。これらはいずれも、マツ枯死木に生息している *Bursaphelenchus* 属の線虫に密着している細菌類である。細菌の分類学的所属については未検討であり、マツに対する病原性も含めて細菌

学的性状を明らかにする必要がある。マツ枯死木や健全木からは、かなりの頻度で細菌類が検出される²⁾ ので、これらの菌群についても抵抗性誘導の可否を検定すべきと考える。

糸状菌については、鉢試験でかなり強い抵抗性を誘導したにもかかわらず、苗畑の前接種では必ずしも強い抵抗性をもたらさなかった。これは成育環境を反映したマツの生理条件が抵抗性の誘導に微妙に影響することを示唆する。*Phomopsis* 菌における 1 号畑と 2 号畑での試験結果の差異がこれを暗示している。ちなみに、1 号畑は 2 号畑に比べ土壌が乾燥しやすく、苗木の植栽密度が高い。

今回供試した糸状菌の大部分は、クロマツ苗木の病針葉から分離したもので、マツ類に associate している糸状菌群のごく一部にすぎない。各種マツの糸状菌についてさらに広範な検索を必要とする。なお、ある種の糸状菌を前接種すると、マツ材線虫病の進展が助長される場合も見受けられた。これは、誘導感受性³⁾ という観点から興味ある問題を提起する。

Bursaphelenchus 属の一種に、抵抗性誘導能をそなえた線虫がみいだされた。本種は、雄性器や雌陰門部の形状がマツノザイセンチュウとは大きく異なるので両者の識別は容易である。また、両者間にはまったく交雑は起こらない (清原：未発表)。これらの条件は、識別が困難である弱毒線虫に比べ、誘導者と挑戦者の相互関係の解析に有利な条件を提起するものといえる。

本試験では、誘導微生物のスクリーニングに一鉢 3 本植えの苗木を用いた。これは、マツの生育環境からみるとかなり過酷な条件ではあるが、検索のための時間と経費の節減につながる。鉢植えの苗木を用いることによって、グロースチャンパー内での周年にわたる試験が可能になり、灌水等の環境制御が容易となる。

引用文献

- (1) Kiyohara, T.: Proceedings of the United State-Japan Seminar., 178 ~ 185, 1984
- (2) 小林亨夫ら：日林誌, 56, 136 ~ 145, 1974
- (3) 大内成志：植物病理化学最近の進歩, 51 ~ 61, 1978