

## マツノザイセンチュウの生存および病原性におよぼすγ線の影響

鹿児島大学農学部 寺下隆喜代  
鹿児島県林務水産部 中屋 雅喜  
中央損害鑑定事務所 坂口誠一郎  
中国・西北林学院 張 星耀

### 1. はじめに

γ線は波長が短く透過性が強い。そのため生物学的重要分子に損傷を与えること、非破壊検査に利用されたりする。筆者らはマツノザイセンチュウに対するγ線の作用の程度を知る目的で表題の実験を行った。ここに述べる生存とは試験管中の培地に培養したこの線虫にγ線を照射した場合、どの程度生き残るかを指す。また、病原性とは上記のγ線照射線虫をクロマツに接種した場合、どの程度クロマツが枯れるかを指す。

この実験を行うにあたり、鹿児島大学R1実験施設の西山安夫氏から多くのご指導、ご助言を頂いた。ここに同氏に対して厚くお礼を申し上げる。

### 2. 実験材料

マツノザイセンチュウは森林総合研究所九州支所の清原友也博士から分譲されたS6-1という系統である。この系統は病原性が強い。試験管中の寒天培地に *Botrytis cinerea* 菌をひろがらせ、この菌を餌として何代も培養を続けてきた系統である。

γ線発生装置はカナダ原子力会社から輸入されたガンマーセル220という機種でCo<sup>60</sup>を発生源としている。

病原性調査に用いたクロマツは3年生および7~8年生の苗木および若木で、いずれも鹿児島大学農学部構内に植えられていたものである。それぞれの生育場所において接種した。

### 3. 実験方法

長さ18cm、内径1.4cmのガラス試験管中のジャガイモせん汁寒天斜面培地に *B. cinerea* をほぼ5日間、25°Cで培養し、そこに別の試験管に培養していたマツノザイセンチュウの1部を移した。10日間25°Cでこの試験管をおき、マツノザイセンチュウを増殖させた。

試験管に増殖したマツノザイセンチュウにγ線を50

~1000Gy (グレイ: 吸収線量の単位) 照射した。照射時間にすれば1分30秒~10分30秒程度であった。

生存および病原性調査はそれぞれ次の方法によった。

#### (1) 生存におよぼす影響調査

照射後25°Cで置いた線虫を5日ごとに異なる照射線量(吸収線量)の1試験管中の生存線虫をペールマン氏法により蒸留水中に集めそれらの数と無照射線虫の同時期における生存線虫数(図-1)と比較した。

照射区分は250, 500, 1000, 2500, 5000, 10000および20000Gyであった。各照射区ごとに3本の試験管培養線虫を用い、それらの平均値を生存数とした。

#### (2) 病原性におよぼす影響調査

γ線照射の翌日、試験管中の線虫を照射区ごとにペールマン氏法で蒸留水中に集め、5cc容量のガラス製注射針から出る1滴中に線虫が7000~10000匹入るように濃度を調節した。

接種法は幹の樹皮を木質部に届くように縦に1.5cm程度切り下げる、切られた樹皮と木質部の間に上記の線虫液を滴下し、切り下げた樹皮をゆっくり元にもどした。この実験は1988年および1989年、2回行った。γ線照射量および使用木数は年により多少異なった。それらは図-3のとおりである。接種後の最終結果は2ヶ月後に調査した。

### 4. 実験結果

#### (1) 生存におよぼす影響調査結果

この実験は1986年の初夏から初冬まで行った。

10000Gy以上のγ線照射ではマツノザイセンチュウは照射直後または照射後短時間の間にすべて死滅した(図-2A)。5000Gyの照射では線虫は10日前後まで無照射線虫にくらべ1割前後生存していたが、15日目頃からはほとんどが死滅した(同上)。2500Gyおよび1000Gy照射では20日目頃まで生存を続けていたが、増殖はされなかったようで30日目頃にはほとんどが死滅

Takakiyo TERASHITA (Fac. of Agric., Kagoshima Univ., Kagoshima 890), Masaki NAKAYA (Forestry & Fishery Dep., Kagoshima Pref., Kagoshima 892), Seiichiro SAKAGUCHI (Chuo Damage Estimation Co.Ltd., Ginza, Tokyo 104) and Shin-Ziao CHAN (Northwest Forestry College, Shian, People's Rep. China)

Effect of γ-ray on survival and pathogenicity of the pine wilting nematode (*Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER et BUERER) NICKLE

した(図-2B)。500Gyおよび250Gy照射では生存するマツノザイセンチュウは活発に運動しており増殖も行われていると考えられた(同上)。

## (2) 病原性におよぼす影響調査結果

1988年および1989年の実験とも7月から9月までの間に実験を行った。1988年の若木に対する接種では、200Gy以上の照射量で、苗木に対する接種では100Gy以上の照射量で枯死はおこらなかった(図-3左)。苗木に対する接種で1000Gy区に1本枯死木があらわれた。しかし、この木からはマツノザイセンチュウは検出されなかった。

1989年の苗木に対する接種試験では、50Gy照射で無照射の場合とほぼ同等の枯死が、100Gy照射で1本の枯死木と3本の半枯れ木(両方あわせて全体の50%)がみられた。165Gy以上の照射では枯死はおこらなかった(同上右)。

以上両年の結果からみて、100~200Gy程度の照射が枯死をおこすかおこさないかの境界ではないかと認められた。

## 5. 考 察

この実験の当初の目的はどの程度のγ線の照射でマツノザイセンチュウは死ぬか、また生存を続けるとしてもその形態や病原性にどのような変化が現れるなどを知ることであった。文献によればベーコンの完全殺菌とその後の室温保存には、4~6Mrad(40000~60000Gy), 家畜飼料中のサルモネラ菌, 腐敗菌, 寄虫

の殺滅などには0.1~1.0Mrad(1000~10000Gy)の照射線量が必要とされ<sup>3</sup>, また線量が100KR(キロ伦トゲン=100Krad=1000Gy)以上あると動物は即死する<sup>4</sup>と報告されている。

本実験の場合、10000Gy以上の照射でマツノザイセンチュウがほぼ即死を、2500~5000Gyの照射で増殖不可能な死滅をおこしたのは当然のことと考えられる。

一方、与えられた総線量が5KR(約50Gy)では、魚に致死効果はない<sup>5</sup>, 1粒コムギに対するγ線の10Krad(100Gy)照射で、このコムギの発芽率は16%, 稳性は47.36%, 葉緑素突然変異率は28.75%などであったと報告されている<sup>6</sup>。つまり、生物に生存を続けながら突然変異をおこさせる線量は50~100Gy程度であると考えられる。

本実験においてこの程度の照射量がマツノザイセンチュウを生かし続けかつマツを枯らすことが示された。

当初の目的からすれば得られた結果は僅かであるが、今後のマツノザイセンチュウに対するγ線照射の影響を調べる上で1つの目安となるであろう。

## 引用文献

- (1) 江上信雄: 放射線生物学, pp.128, pp.149, 岩波書店, 東京, 1985
- (2) 村松清二・田島弥太郎(編): 放射線遺伝学, pp.505, 蔦華房, 東京, 1964
- (3) 日本アイソトープ協会(編): アイソトープ便覧, pp.763, 丸善, 東京, 1970

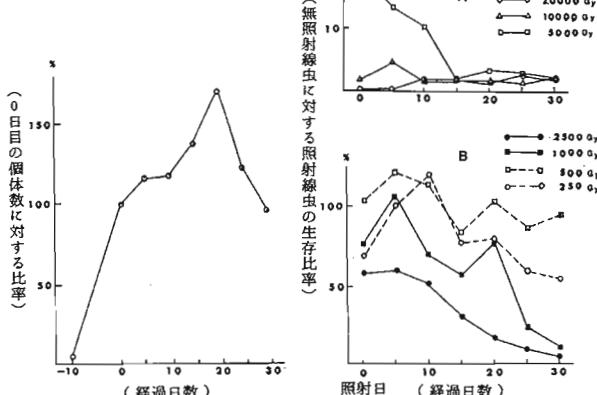


図-1 無照射マツノザイセンチュウの試験管における増殖率(0は照射したものの照射日, -10はその10日前)

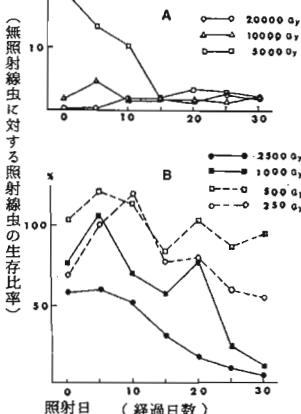


図-2 γ線照射マツノザイセンチュウの無照射線虫との生存比較

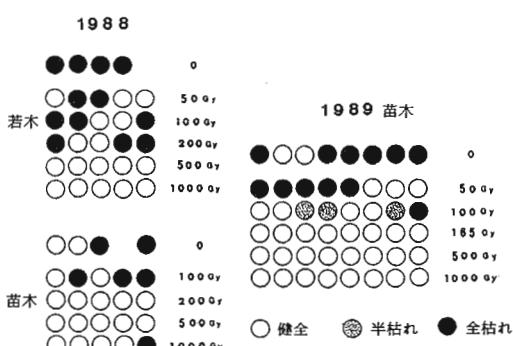


図-3 γ線照射マツノザイセンチュウのクロマツに対する病原性(0は無照射)