

マツ生立木に対する線虫Bursaphelenchus sp.の接種試験

誌名	日本林學會誌 = Journal of the Japanese Forestry Society
ISSN	0021485X
著者名	清原,友也 徳重,陽山
発行元	日本林學會
巻/号	53巻7号
巻号補足	
掲載ページ	p. 210-218
発行年月	1971年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



論 文

マツ生立木に対する線虫 *Bursaphelenchus* sp. の接種試験*

清原友也**・徳重陽山**

Inoculation Experiments of a Nematode, *Bursaphelenchus* sp., onto Pine Trees

Tomoya Kiyohara** and Yōzan Tokushige**

Summary: Epidemic occurrence of a virulent blight of pine trees throughout the southwestern part of Japan, especially in Kyushu district, has long been noticed among Japanese foresters. A large number of pine trees in many stands declined and finally died off; for instance, about 39-million trees or 380-thousand cubic metres in volume were damaged in 1968. The cause of this damage has been attributed to the attack of bark beetles up to the present time.

In the previous paper (Tokushige & Kiyohara¹⁾) the authors reported preliminarily that a species of nematode, *Bursaphelenchus* sp., was commonly detected in the wood of dead pine trees collected from many localities in Kyushu. To determine the effect of this nematode onto healthy pine tree, several series of inoculation test were conducted in certain pine stands (Table 1). From these experiments the authors came to the conclusions that *Bursaphelenchus* sp. detected from the dead pine tree is considered as one of the causal agents for the death of pine trees and it plays an important role in the deterioration of pine forests throughout the southwestern part of Japan.

Results obtained are summarized as follows:

(1) When about 600 nematodes were injected into the heartwood at the base of stem, amounts of oleoresin exudation from the punched wound gradually reduced but the inoculated trees did not die after all; whereas almost all of pine trees inoculated with the nematodes at the rate of more than 30,000 per tree were finally killed (Table 2). Therefore, pine trees were usually inoculated with 30,000 nematodes per tree in the other inoculation series.

(2) Nematodes used as inoculum were multiplied on the colony of *Pestalotia* sp. isolated from dead pine wood. As inoculum suspension was prepared by washing the *Bursaphelenchus*-*Pestalotia* culture, it contained nematodes and conidia of the fungus. However, conidia of *Pestalotia* and filtrate from the mixed suspension proved to be harmless to healthy pine trees. Only inoculum containing nematodes, pure suspension of *Bursaphelenchus* sp. and mixed suspension of *Bursaphelenchus*-*Pestalotia*, manifested the ability to kill healthy pine trees (Table 3).

(3) Inoculation of nematodes into the xylem resulted high mortality rate of the trees, regardless the part of the tree where it was injected; primary branch, base of stem, or thick root. Negative result was obtained from the inoculation on unwounded bark, and low mortality rate was recorded in the inoculation to wounded one. Five trees, to which disks of pine wood colonized with the nematode and the fungus were placed and buried around their root without wound, were all killed (Table 5).

(4) The following results were obtained from the monthly inoculation experiments from February through October: Highest mortality resulted in the inoculation made from June to August, wherein the latent period, from the injection of inoculum nematodes to the stop of oleoresin exudation or to the appearance of wilt symptom, shortened by 15~30 days or 2~3 months. In the trees inoculated in the spring season, the latent period was lengthened and their death did not occur before summer. Mortality in this case was lower than that in the summer inoculations. No dead tree was observed up to December 20th in the case of inoculation carried out from September to October (Tables 4, 6).

* 本報告の一部を日本林学会 九州支部大会で発表した

** 農林省林業試験場九州支場 Kyushu Branch, Gov. For. Exp. Sta., Kumamoto

(5) Two inoculation series were given in the three pine stands showing different rates of natural infestation. In the inoculation series carried in March, pine trees of the highly infested stand tend to die more rapidly and in higher rate than those of the moderately or slightly infested stands. On the other hand, no such tendency was recognized among three stands in the inoculation series carried in June (Figure 1).

(6) It seems certain, from the inoculation test on the various pine species and certain other conifer genera, that *Pinus thunbergii*, *P. densiflora* and *P. luchuensis* are highly susceptible to this nematode, *Bursaphelenchus* sp., whereas *P. taeda*, *P. strobus*, *P. pungens* and *P. banksiana* are highly resistant. No harmful effect was observed in the inoculation on *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa* (Table 7).

要 旨: 九州一円のマツ枯死木から、線虫の一種 *Bursaphelenchus* sp. が普遍的に検出されることは既報¹⁾ のとおりである。本試験では、マツ生立木に *Bursaphelenchus* sp. を接種してその影響を調べたのであるが、接種木の多くが枯死し、本線虫に強い加害性のあることが明らかになった。その概要はつぎのとおりである。

- 1) マツ生立木に対し線虫を1本あたり約 600, 30,000, 1,500,000 頭の3段階で接種すると、30,000 頭以上で枯死が起こった。
- 2) 接種懸濁液中の線虫、*Pestalotia* 菌および両者を取り除いた洗浄液を個々にマツに接種した結果、線虫を含む接種液のみが強い加害性を示した。
- 3) 線虫をマツの一次枝、主幹地際、根株などの木質部内に有傷接種すると、60~100% の異常、枯死が起こった。樹皮からの接種では、無傷区は枯れず、有傷区では10本中1本だけが枯れた。しかし、根株の周囲に線虫培養円板を埋めたものは、接種した5本すべてが枯死した。
- 4) 微害、中害、激害型の3林分で線虫を3月に接種すると、激害型林分では異常木、枯死木の発生時期が早く、枯死率が高かったが、この傾向は6月接種区では認められなかった。
- 5) 月別の接種では、2月接種区で50%、3~8月接種区で70~100%の枯死が起こり、9~10月の接種では枯死はまだ起こっていない。夏期に線虫を接種されたマツの多くは15~30日で樹脂滲出量が著しく低下し、2~3か月後に枯死した。なお、接種時期の遅速にかかわらず、マツの枯死は7月以後に起こった。
- 6) 本線虫はクロマツ、アカマツ、リュウキュウマツに対して強い加害性を示したが、テーダマツ、パンクスマツ、ブンゲンスマツおよびスギ、ヒノキにはまったく加害性を示さなかった。

は じ め に

関東地方南部より以西の日本各地において、いわゆるまつくい虫によるマツの大量枯死が起こっているが、著者ら¹⁾ は九州一円に激発している同被害地において、枯死したマツの樹体内から線虫の一種 *Bursaphelenchus* sp. を普遍的に検出した。さらに著者らの一人²⁾ はこの線虫の培養適温、マツ丸太に対する寄生性を調べるとともに、各段階の異常木から線虫の検出を試みた。しかし、線虫とマツ枯死との因果関係についてはまったく不明のままであった。そこで、本線虫のマツの生立木に対する寄生性ないし加害性を確かめるために、1970年の2月から10月にかけて、時期、場所、方法をかえた線虫接種試験を計画・実施した。その結果、線虫を接種されたマツは急速に異常となり、ついには枯死してしまうというきわめて注目すべき実験結果がえられた。線虫の伝染経路やマツへの加害機構などはまだ明らかでないが、線虫接種とマツの異常、枯死との関係を中心に、現在までにえられた試験成績をとりまとめて報告する。

本試験を行なうにあたり、ご教示と激励をいただいた

林試九州支場長 堀 隆男博士ならびに林試本場保護部長 伊藤一雄博士および同昆虫科長 小田久五氏にお礼申し上げるとともに、本稿とりまとめにあたって助言をいただいた同樹病研究室長 小林享夫博士、同研究室 真宮靖治氏に深謝する。また、実験にご協力いただいた当支場樹病研究室および昆虫研究部の各位、さらに、試験地の設定や調査にご配慮をいただいた熊本営林署の各位に感謝の意を表する。

実験材料および方法

1. 供試林分と供試木

供試林分の概況を表-1に示した。これらの供試林分から供試木を選定するにあたって、まず、立地条件の均一な場所から、外観的に健全なマツの一集団を選び、樹脂滲出量の判定³⁾ によって健全木を決定し、この健全木の中から無作為に接種木と対照木を選定した。

2. 接種用線虫の分離と培養

供試線虫は1969年7月15日、鹿児島県川内市寄田町に発生したクロマツ枯死木から分離したものである。本線虫はマツ枯死木から分離した *Pestalotia* 菌叢上でよく

表-1. 試験地の概況
Table 1. Outline of the experimental stands

試験地 Stand	所在地 Locality	樹種 Species	樹齢 Age	平均樹高 Mean height	平均胸径 Mean DBH	標高 Elevation	方位 Direction	傾斜 Inclina- tion	備考 Note
立田-1 Tatsuda-1	熊本市黒髪町下立田 Kurokami, Kumamoto City	アカマツ <i>Pinus densiflora</i>	14~20 ^{yr}	4.7 ^m	7.5 ^{cm}	120 ^m	SSE	4~7°	天然林 Natural stand
立田-2 Tatsuda-2	"	テーマツほか <i>Pinus taeda</i> , etc.	13	—	—	50	W	6°	人工林 Plantation
植木-1 Ueki-1	熊本県鹿本郡植木町 Ueki, Kumamoto Pref.	アカマツ <i>Pinus densiflora</i>	15~22	8.9	9.2	190	NNE	16°	天然林 Natural stand
植木-2 Ueki-2	"	アカマツ <i>Pinus densiflora</i>	16~24	9.0	9.8	170	ENE	5~10°	天然林 Natural stand
松生 Matsubae	熊本県芦北郡芦北町松生 Ashikita, Kumamoto Pref.	アカマツ <i>Pinus densiflora</i>	18	9.8	11.5	150	SSE	18~22°	人工林 Plantation
大矢野 Oyano	熊本県天草郡大矢野町 Oyano, Kumamoto Pref.	クロマツ <i>Pinus thunbergii</i>	20~25	7.7	8.1	40	SW	15~20°	天然林 Natural stand
湯浦 Younoura	熊本県芦北郡芦北町湯浦 Ashikita, Kumamoto Pref.	クロマツ <i>Pinus thunbergii</i>	14	8.5	8.8	60	N	18°	人工林 Plantation

増殖するので、この性質を利用して接種用線虫の培養・増殖を行なった。すなわち、ジャガイモ寒天を注入したシャーレに *Pestalotia* 菌の孢子懸濁液を流し、まず菌叢を十分発育させた後、殺菌水でよく洗った雌雄の成熟線虫を数頭ずつ接種し、25°C で 20 日間培養した。また、実験 4 の一部では寒天培地のかわりに、殺菌したマツの小円板およびマツのおがくずを用い、上記と同じ方法で菌を培養し、ついで線虫を移植して増殖させ実験に供した。

3. 接種源と接種方法

この実験で常用した接種方法（常法）は次のとおりである。供試木の地際の 3 方向から、ハンドドリル（径 12 mm、回転刃）で、ほぼ幹の中心に達する穴をあけた。なお、穴は互いに交わらないよう注意した。次に、線虫懸濁液を攪拌しながら、1 穴に 2cc ずつ計 6cc を注入した。線虫懸濁液は培養中の線虫を殺菌水で洗いだし、希釈して 1cc あたり約 5,000 頭に調製しておいた液を使用した。したがって、1 本あたりの線虫接種頭数はほぼ 30,000 頭であった。対照木には同じ方法で等容量の殺菌水を注入し、いずれも接種後はスチロール栓で穴を封じた。なお、線虫懸濁液の中には *Pestalotia* 菌の孢子が混入していたが、実験 2 以外は分離せずそのまま接種した。

実験 1 は立田-1 試験地で 1970 年 5 月 21 日に行なったが、上記 30,000 頭区のほかに 600, 1,500, 000 頭区を加え、3 段階の濃度で常法により接種した。

実験 2 は同年 7 月 14 日、植木-2 試験地で行ない、接種源を次の 5 種類とした。a) 線虫だけの接種源：線虫を繁殖させた *Pestalotia* の菌叢を切りとって、新しいジャガイモ寒天上に移すと、菌叢はあまり発育しないまま線虫は増殖を続け、一部の線虫は培地上に遊出してくる。この時期に *Pestalotia* の菌叢を除去し、さらに、培

地から線虫を分離して線虫だけの懸濁液をつくった。なお、この懸濁液を新しい培地に混入して培養検定した結果、*Pestalotia* 菌は発育してこなかった。接種頭数は 1 本あたり約 30,000 頭とした。b) *Pestalotia* 菌の孢子だけの接種源：*Pestalotia* sp. をジャガイモ寒天上で純粋培養し、菌叢上に形成された孢子を使って 1cc あたり約 20,000 個の孢子懸濁液をつくった。c) 線虫と *Pestalotia* の混合接種源：実験 1 の 30,000 頭区に準じた。d) 混合接種源の洗浄済過液：線虫と *Pestalotia* 菌孢子との混合懸濁液（実験 1 の方法による）を東洋濾紙 No. 131 で濾過した。この洗浄済液には線虫と孢子の混入していないことを確認した。e) 殺菌水：対照として殺菌水を使用した。各区とも接種容量、接種方法は上記常法にしたがった。

実験 3 は同年 6 月 27 日、植木-2 試験地で行ない、マツ 20 本に線虫を常法で接種し、対照木 10 本には殺菌水を注入した。

実験 4 は同年 7 月 9 日に湯浦試験地で行ない、接種方法を次のとおりとした。a) 一次枝有傷接種：各供試木から生きた一次枝 3 本を選び、主幹から 20 cm の位置で切断し、断面に深さ 3 cm の穴をあけ、1 枝に約 10,000 頭の線虫を懸濁液にして接種した。b) 樹皮無傷接種：線虫を接種したマツおがくずを地際の樹皮に密着させてビニールで包み込み、水分が散逸しないようによくしばった。おがくずの量は約 500 g とし、1 g あたりの線虫数はほぼ 200 頭であった。c) 樹皮有傷接種：供試木の地際の 3 方向からナイフでたてに長さ 5 cm、深さ形成層に達する切傷をつけ b) と同じ方法で接種した。d) 辺材接種：供試木の地際部に 3 方向から辺材に達する深さ約 2 cm の穴をあけ、常法で接種した。e) 心材接種：同様に心材に達する約 10 cm の穴をあけて接種した。

f) 根株無傷接種: 供試木の根株および根をなるべく傷つけないように掘りだし、線虫を培養したマツの小板を根株付近の根系に密着させて覆土した。供試円板量はマツ1本に1kg、円板1gあたりの線虫数はほぼ100頭であった。g) 根株有傷接種: 地際より約15cm下の根株部に3方向から、深さ約5cmの穴をあけ、1穴に約10,000頭ずつの線虫を常法で接種した。a), c), e), g)の対照区には殺菌水を使い、d)の対照区には殺菌おがくずを使用し、それぞれ接種区と同じ要領で処理した。

実験5は植木-1, 植木-2, 松生, 大矢野の各試験地で3月と6月に50本ずつ常法で接種した。

実験6は植木-2試験地で行ない、2月から10月まで毎月下旬に常法で接種した。

実験7は九州支場構内にある樹木見本園を使い、マツ9品種とスギ、ヒノキの2樹種に対し8月14日に常法で接種した。

実験8は8月10日に行ない、九州支場苗畑に植栽されている3年生クロマツ苗に対して線虫を接種した。供試苗の地際に錐で木質部に達する穴を1個あけ、穴に径3mm、長さ5cmのビニールパイプをさし込み、穴の周囲を白色ワセリンで封じた。このビニールパイプから苗木1本につき約30,000頭の線虫を懸濁液にして接種した。対照苗には同様の方法で殺菌水を注入した。

4. 接種木の樹脂調査と肉眼観察

接種後におけるマツの樹勢変化を知るため、樹脂滲出量と針葉の垂下、変色の状態を毎月1回調査した。樹脂滲出量の判定基準は統一された方法³⁾を若干かえて使用

した。すなわち、径15mmの打抜器により、供試木の胸高付近に木質部に達する丸い穴をあけ、一昼夜後にその穴から滲出した樹脂の状態によって次の5段階に分けた。(卅): 滲出量が多く、樹脂は穴から流下する。(卅): 樹脂は穴から流下するが卅よりやや少ない。(十): 樹脂は穴から流下せず、穴の下縁にたまる程度。(土): 丸い穴の面に樹脂がにじみでる程度。(一): 樹脂は穴の面ににじまず乾燥ぎみの状態。樹脂量が(卅), (卅)のものを健全木, (十), (土), (一)のものを異常木とした。

5. 接種木からの線虫再分離

実験2, 3, 4において、線虫接種によって枯死したマツから線虫の再分離を行なったが、その方法は径15mmのドリルで主幹の胸高付近から、髓に達する深さの木質部を抜きとり、これをよく混ぜて1gを秤量し、これから線虫を分離、計数した。

表-2. 接種線虫密度とマツの異常および枯死 (立田-1)

Table 2. Inoculation test of the nematode with different inoculum densities onto pine trees (Tatsuda-1)

接種頭数 Number of nematode per tree	接種本数 Number of inoculated trees	異常 (枯死) 木の発生経過 Number of weakened (dead) trees					
		May 21 ^{a)}	June 22	July 21	Aug. 25	Sept. 26	
600	5	0	0	1	4	2	
30,000	5	0	4	5	3 (2)	2 (3)	
1500,000	5	0	4	5	4 (1)	2 (2)	
殺菌水 Sterilized water	5	0	0	0	2	0	

a): 調査月日 Date of examination; inoculation was made on May 21, 1970

表-3. 各接種源の検定 (植木-2)

Table 3. Effect of several inoculum obtained from nematode-*Pestalotia* culture onto pine trees (Ueki-2)

接種源 Inoculum	接種本数 Number of inoculated trees	異常および枯死木の発生経過 Number of weakened and dead trees									
		June 14 ^{a)}		July 29		Aug. 22		Sept. 25		Oct. 22	
		異常木 Weakened trees ^{b)}	枯死木 Dead trees	異常木 Weakened trees	枯死木 Dead trees	異常木 Weakened trees	枯死木 Dead trees	異常木 Weakened trees	枯死木 Dead trees	異常木 Weakened trees	枯死木 Dead trees
線虫単独 Nematode	10	0	0	10	0	7	3	0	10	0	10
ベスタロチア単独 <i>Pestalotia</i> sp.	10	0	0	2	0	3	0	0	1 ^{c)}	0	1
線虫+ベスタロチア Nematode+ <i>Pestalotia</i>	10	0	0	10	0	6	4	2	8	0	10
培養洗浄液 Filtrate of mixed suspension (nematode+ <i>Pestalotia</i>)	10	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
殺菌水 Sterilized water	10	0	0	1	0	2	0	1	0	1	0

a): 調査月日 Date of examination; inoculation was made on June 14, 1970 b): Oleoresin exudation reduced

c): Abundant nematodes (*Bursaphelenchus* sp.) were detected from this tree

実験結果

実験 1. 接種線虫数とマツの異常および枯死の発生

結果を表-2 に示した。接種 1 か月後の 6 月 22 日の調査では、30,000 頭、1,500,000 頭区にそれぞれ (+) 木 1 本、(±) 木 3 本、計 4 本ずつの異常木が発生し、7 月 21 日には両区とも全数の 5 本が異常木となり、最終調査の 9 月 26 日には 30,000 頭区で 3 本、1,500,000 頭区で 2 本の枯死木が発生した。なお、1,500,000 頭区の異常木のうち 8 月まで (+) のまま異常状態を続けていた 1 本が 9 月 26 日には樹脂量 (卅) に回復した。600 頭区にあっては、8 月に 4 本が異常になったが、9 月にはこの中の 2 本が回復し、他の 2 本は異常のまま枯死はしなかった。対照区においては、1, 2 異常木が発生したが、あとで回復して 9 月 26 日の最終調査時には 1 本の異常木もみられなかった。

実験 2. 接種源の種類とマツの異常および枯死

実験 1 に用いた線虫懸濁液中には線虫増殖に供した *Pestalotia* 菌の胞子が混入しているため、線虫、*Pestalotia* 菌および両者を除いた汙液を個々に接種してマツに対する影響を調べた。その結果を表-3 に示した。線虫単独接種区と線虫と *Pestalotia* の混合接種区では、接種後 15 日目に供試木のすべてが樹脂滲出量に異常をきたし、枯死の時期には若干の遅延はあったが、10 月 22 日までにすべて枯死し、線虫の加害性を明白に示した。

Pestalotia 単独区では、7 月 29 日に 2 本、8 月 22 日の調査で 3 本の異常木が発生し、9 月 25 日の調査でこの中の 1 本が枯死したが、他の 2 本は回復して樹脂量は (卅) になっていた。なお、枯死木からは *Bursaphelenchus* sp. が多数検出された。汙液注入区では、8 月の調査で 3 本の異常木が認められたが、9 月には回復した。対照区にも 1, 2 異常木が発生したが枯死には至らなかった。

実験 3. 線虫を接種したマツの個別経過

線虫を接種した 20 本のマツと殺菌水を注入した対照木 10 本とを対比して、毎月下旬、単木ごとに樹脂滲出量と病徴の推移を調べ、その結果を表-4 に示した。接種後約 1 か月目の調査において、20 本の接種木はすべて樹脂滲出量が減退し、いわゆる異常木になっていた。しかし、まだこの時期では針葉には外見上なんらの異常もなく、穿孔虫類の産卵や加害も認められなかった。約 2 か月後の 8 月 22 日の調査では、接種木 20 本のうち 6 本が黄褐色ないし赤褐色となって枯れ、7 本には針葉の初期退色と垂下が認められ、3 本は旧葉が変色して垂下していた。残りの 4 本は針葉が緑色を保ち外見上には健全と思われた。しかし、この 4 本も含めて、3 か月後の 9

表-4. 線虫を接種したマツの個別経過 (植木-2)

Table 4. Oleoresin exudation and symptoms of each test tree inoculated with the nematode, *Bursaphelenchus* sp. (Ueki-2)

区	Plot	種木 No. of trees	調査月日 Date of examination ^{a)}				線虫草分離 Resolation of <i>Bursaphelen- chus</i> sp.
			June 27	July 29	Aug. 22	Sept. 25	
線虫接種区 Inoculated with 30,000 nematodes		(#) ^{b)}	(±) Ha ^{c)}	(-) 外見健全 Ha ^{c)}	枯死 Dead	+	
	1	(#)	(±) Ha	枯死 Dead	枯死 Dead	+	
	2	(#)	(±) Ha	(±) 外見健全 Ha	枯死 Dead	+	
	3	(#)	(±) Ha	(-) 初期萎凋 Wn	枯死 Dead	+	
	4	(#)	(±) Ha	枯死 Dead	枯死 Dead	+	
	5	(#)	(±) Ha	(-) 初期萎凋 Wn	枯死 Dead	+	
	6	(#)	(±) Ha	(-) 初期萎凋 Wn	枯死 Dead	+	
	7	(#)	(±) Ha	(-) 初期萎凋 Wn	枯死 Dead	+	
	8	(#)	(±) Ha	(-) 旧葉変色 Dn	枯死 Dead	+	
	9	(#)	(±) Ha	枯死 Dead	枯死 Dead	+	
	10	(#)	(±) Ha	(-) 旧葉変色 Dn	枯死 Dead	+	
	11	(#)	(±) Ha	(-) 外見健全 Ha	枯死 Dead	+	
	12	(#)	(±) Ha	(-) 初期萎凋 Wn	枯死 Dead	+	
	13	(#)	(±) Ha	(-) 初期萎凋 Wn	枯死 Dead	+	
	14	(#)	(+) Ha	(-) 旧葉変色 Dn	枯死 Dead	+	
	15	(#)	(±) Ha	(-) 初期萎凋 Wn	枯死 Dead	+	
	16	(#)	(±) Ha	枯死 Dead	枯死 Dead	+	
	17	(#)	(±) Ha	枯死 Dead	枯死 Dead	+	
	18	(#)	(-) Ha	(-) 初期萎凋 Wn	枯死 Dead	+	
	19	(#)	(±) Ha	(±) 外見健全 Ha	枯死 Dead	+	
20	(#)	(±) Ha	枯死 Dead	枯死 Dead	+		
対照区 (殺菌水注入) Control (sterilized water)	1	(#)	(#)	(#)	(#)		
	2	(#)	(+)	(#)	(+)		
	3	(#)	(#)	(#)	(#)		
	4	(#)	(#)	(#)	(#)		
	5	(#)	(#)	(#)	(#)		
	6	(#)	(#)	(#)	(#)		
	7	(#)	(#)	(#)	(#)		
	8	(#)	(#)	(#)	(#)		
	9	(#)	(#)	(+)	(#)		
	10	(#)	(#)	(#)	(#)		

a): Inoculation was made on June 27, 1970

b): 樹脂区分 Grade of oleoresin exudation from punch wound (卅) abundant, (+) slight flow, (+) gathering in the bottom of wound, (±) granular, (-) resinless

c): 病徴 Symptom Ha: healthy in appearance Wn: slight wilting of needles Dn: discoloration of older needles

月 25 日までには、接種木のすべてが枯死した。さらに、表-4 に示されているとおり、これら枯死木のすべてから接種したものと同種の線虫が分離された。一方、殺菌水を注入した対照木では 2 本に異常が認められたが、いずれも樹脂量 (+) の異常木にとどまり、枯死したものはなかった。

実験 4. 線虫の接種部位とマツの異常および枯死の発生

線虫が自然状態でマツ立木に侵入する部位を探る目的で、枝、幹、根に対する接種を行なったところ、表-5 に示す結果をえた。

一次枝に接種した場合、約 1 か月後に供試木 10 本の

表-5. 線虫の接種部位とマツの異常および枯死 (湯浦)

Table 5. Incidence of damage on pine trees inoculated with *Bursaphelenchus* sp. from various portions (Yunoura)

No.	接種部位と方法 Inoculated portion and treatment	接種本数 Number of inoculated trees	異常木と枯死木の発生経過 Number of weakened and dead trees					
			July 9 ^{a)}		Aug. 3		Oct. 4	
			異常木 Weakened trees ^{b)}	枯死木 Dead trees	異常木 Weakened trees	枯死木 Dead trees	異常木 Weakened trees	枯死木 Dead trees
1	一次枝注入 Injection into branch	10	0	0	9	0	4	6
2	樹皮無傷 Stem cortex without wound	10	0	0	0	0	1	0
3	樹皮有傷 Stem cortex with wound	10	0	0	0	0	2	1
4	地際辺材注入 Injection into sapwood at base of stem	10	0	0	10	0	0	10
5	地際心材注入 Injection into heartwood at base of stem	10	0	0	10	0	2	8
6	根株無傷 Setting infested disks around stump	5	0	0	5	0	0	5
7	根株注入 Injection into stump	10	0	0	10	0	0	10
8	1の対照 Cont. against 1	5	0	0	0	0	0	0
9	3の対照 Cont. against 3	5	0	0	0	0	0	0
10	4の対照 Cont. against 4	5	0	0	0	0	0	0
11	5の対照 Cont. against 5	5	0	0	0	0	0	0
12	7の対照 Cont. against 7	5	0	0	0	0	0	0

a): 調査月日 Date of examination; inoculation was made on July 9, 1970

b): Oleoresin exudation reduced

うち2本が(+)、7本が(±)の異常木となったが、残りの1本は(++)の健全木であった。2か月後の調査は行なわなかったが、3か月後の10月4日には(±)木の中の5本と(++)木の1本が枯れ、他は異常状態が継続した。樹皮無傷区では10月4日に1本異常木が発生したが、枯死は起こらなかった。樹皮有傷区では2本の異常木と1本の枯死木が発生した。一方、線虫が主幹地際の本質部内に接種された場合は心材、辺材に関係なく高い枯死率を示した。根株に接種した場合には有傷接種ばかりでなく無傷接種においても100%の枯死が起こった。これに反して、いずれの対照区にも異常および枯死木は発生しなかった。

実験 5. 試験地別の線虫接種

被害程度の異なるマツ林について線虫接種を行なえば、異常、枯死木の発生状態が異なるであろうと想定し、微害林(前年枯死率約1%)の植木、中害林(約5%)の松生、激害林(約35%)の大矢野の3試験地で3月と6月に同じ方法で線虫を接種した。図-1に結果を示した。

3月接種区では植木、松生両試験地の異常木発生状態はほぼ類似の傾向を示し、4月以降徐々に増加したのに対し、大矢野では5月から7月の間に急激に増加した。

枯死率は微害林、中害林、激害林の順に高くなったが、植木、松生の枯死率が45%以下であるのに対し、大矢野では90%以上の高率を示した。枯死時期については大矢野は松生、植木より1~2か月早く枯死が始まっているのが特徴としてあげられる。

6月接種区においては、3月接種区にみられたように微害、中害、激害林分の順に異常、枯死の発生率が高くなる傾向は認められず、微害林分の植木でも100%の枯死率を示した。しかし、枯死時期についてみれば、松生試験地の枯死時期が他の2試験地に比べかなり遅れたのが特徴で、自然下で松生試験地が秋枯型の枯損を示すのによく一致した。なお、3試験地を通じて3月接種より6月接種の方が異常、枯死ともに高いことがわかった。

実験 6. 時期別の線虫接種

接種時期の違いによるマツの枯死発生の違いを調べ、表-6の結果をえた。

2, 3月に接種した場合の枯死率はそれぞれ50%, 70%であったが、4月から8月の間に接種した場合は5月の80%を除いて100%の枯死率を示した。9月接種区には5本の異常木が発生したが、10月接種区は気温低下のため12月の樹脂調査は不可能であった。しかし、9, 10月接種区とも12月20日現在枯死は発生していない。

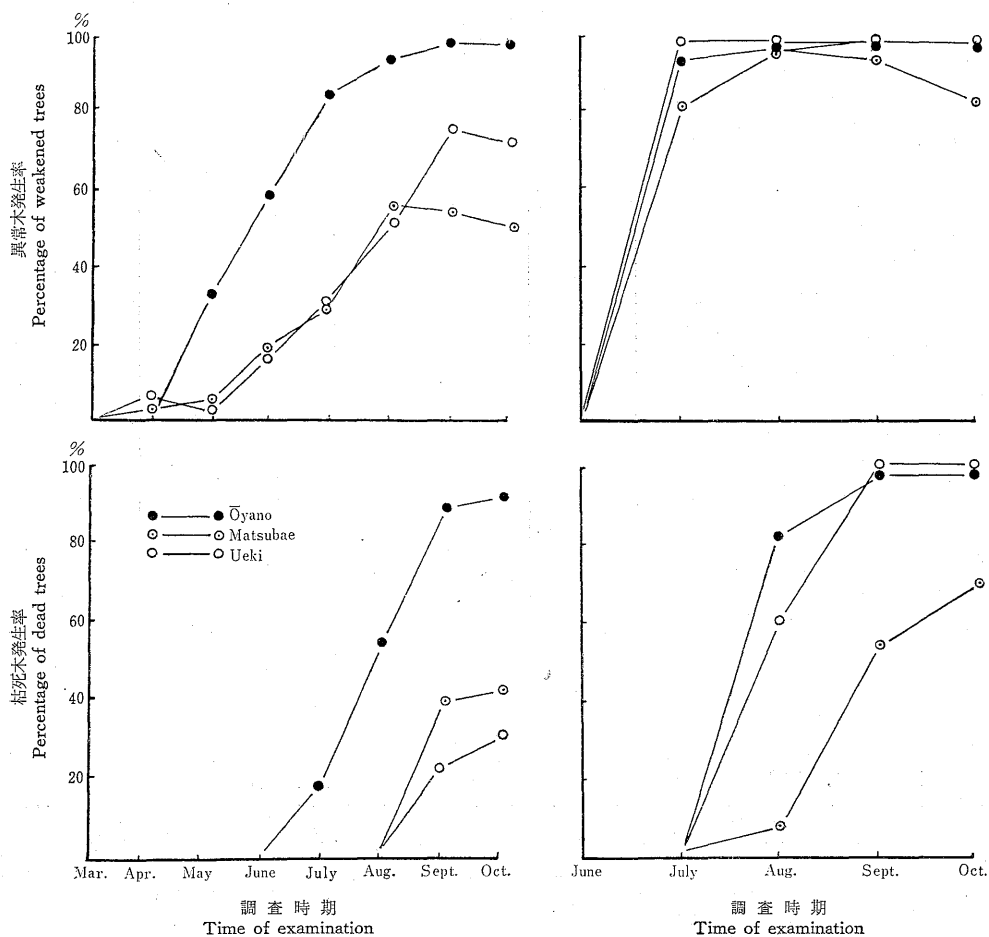


図-1. 試験地別線虫接種 (左: 3月接種, 右: 6月接種)

Fig. 1. Incidence of damage on pine trees inoculated with *Bursaphelenchus* sp. in the different stands (Left: inoculated in March, Right: inoculated in June)

表-6. 線虫の時期別接種 (植木-2)

Table 6. Monthly inoculation tests of *Bursaphelenchus* sp. onto pine trees (Ueki-2)

接種月日 Date of inoculation	接種本数 Number of inoculated trees	異常木と枯死木の発生経過 Number of weakened and dead trees											
		Feb. 15 ^{a)}		Apr. 30		June 27		Aug. 22		Oct. 22		Dec. 20	
		異常木 Weak- ened trees ^{b)}	枯死木 Dead trees	異常木 Weak- ened trees	枯死木 Dead trees	異常木 Weak- ened trees	枯死木 Dead trees	異常木 Weak- ened trees	枯死木 Dead trees	異常木 Weak- ened trees	枯死木 Dead trees	異常木 Weak- ened trees	枯死木 Dead trees
Feb. 15	10	0	0	0	0	1	0	4	0	1	5	— ^{a)}	5
Mar. 27	10			1	0	2	0	5	3	1	7	—	7
Apr. 30	10			0	0	4	0	5	5	0	10	0	10
May 26	10					8	0	4	5	2	7	—	8
June 27	10					0	0	4	6	0	10	0	10
July 29	10							10	0	1	9	0	10
Aug. 22	10							0	0	4	6	0	10
Sept. 27	10									5	0	—	0
Oct. 22	10									0	0	—	0

a): 未調査 No examination

b): Oleoresin exudation reduced

c): 調査月日 Date of examination

表-7. 線虫に対する樹種、品種の感受性 (立田-2)

Table 7. Susceptibility of several pine species and certain coniferous genera to *Bursaphelenchus* sp. (Tatsuda-2)a)

樹 種 Coniferous species inoculated	接種本数 Number of inoculated trees	枯死本数 Number of dead trees
<i>Pinus taeda</i>	5	0
<i>Pinus caribaea</i>	5	2
<i>Pinus rigida</i>	5	2
<i>Pinus banksiana</i>	5	0
<i>Pinus strobus</i>	5	0
<i>Pinus luchuensis</i>	5	5
<i>Pinus thunbergii</i>	3	3
<i>Pinus densiflora</i>	5	5
<i>Pinus pungens</i>	5	0
<i>Cryptomeria japonica</i>	5	0
<i>Chamaecyparis obtusa</i>	5	0

a): Inoculation was made on Aug. 14, 1970

早い時期に接種したマツは異常の現われるのがおそく、また異常の状態が長く続き、枯死するまでの期間が長かったが、夏期に接種した場合、マツは急激に樹脂滲出が低下し、枯死した。要するに、早い時期に接種されたマツも6月下旬までは枯れが進まず、枯死は7月以降にいっせいに起こることがわかった。

実験 7. 樹種、品種別の線虫接種

供試したマツ属9品種のうち、クロマツ、アカマツおよびリュウキュウマツは線虫の激しい加害を受け、接種木のすべてが枯死した。スラッシュマツ、リギダマツでは5本中の2本がそれぞれ枯れたが、スラッシュマツの枯死木2本は被圧木であった。テードマツ、バンクスマツ、ストロブマツ、ブンゲンマツの各品種では異常木も枯死木も発生しなかった。スギとヒノキにもまったく影響が認められなかった。

実験 8. 3年生クロマツ苗に対する線虫接種

線虫を接種した10本の苗木について約2か月後の10月3日に調査したところ、全身枯れ1本、上半身枯れ1本、梢頭や枝先に枯れを起こしている苗3本、計5本の被害を認めたが、対照の苗木5本にはなんら異常は認められなかった。なお、被害苗を調べた結果、しんくい虫やまつくい虫類の寄生加害は認められなかった。さらに、被害苗木から線虫の再分離を試みた結果、全身枯れを起こした苗木では枝、幹、根のすべてから線虫が分離され、部分枯れを起こした苗木では、枯死部から共通に分離された。しかし、枯死部以外の生きている部分からは分離されなかった。

論議および結論

以上述べてきた各種の実験結果から、マツ材から検出分離された線虫の一種 *Bursaphelenchus* sp. をマツ生立木1本あたり 30,000 頭の密度で材中に穴をあけて接種すると、きわめて高い比率で樹脂の滲出停止・枯死が起こることが明らかとなった。

Bursaphelenchus 属には現在まで約 20 種が知られているが、林木に寄生して枯死を起こさせる種についての報告は見当らない。同科の中には *timber nema* と称せられる *Aphelenchoides xilophilus* がマツに関連して報告⁴⁾ されているが、これもマツに直接病害を起こす線虫とは考えられていない。*Bursaphelenchus* ときわめて近縁の属である *Rhadinaphelenchus cocophilus* はココヤシの Red ring 病の病原体⁵⁾ としてカリブ海沿岸地域では著名である。いずれにせよ、マツ材中から分離された *Bursaphelenchus* sp. の接種がマツの急速な枯死を導いたことは明らかであり、従来の知見にはみられない興味ある事例といえよう。

一般にまつくい虫の被害と呼ばれているマツの激しい枯死現象は、症状として急激な樹脂滲出量の低下ないしは停止に始まり、水分欠乏状態から枯死に向かうのが特徴である。また、枯死の時期としては7~8月の盛夏に集中する傾向がある。さらに、九州ではクロマツ、アカマツが全滅するほどの激害地において、テードマツはほとんど無被害で生長を続けているという多くの実例がある。以上の諸現象は本線虫の各種接種試験によってえられた諸事実と非常によく一致している。すなわち、本線虫を接種することにより、自然に起こっているマツの急性枯死現象にきわめて類似した現象を起こすことができたこととみてよいであろう。したがって、本線虫は自然に発生している急性のマツ枯死現象に関与する重要な要因の一つである可能性が濃い。

本線虫の自然における伝染経路はまだまったく不明であるが、本線虫を樹皮から無傷接種した場合には枯死を生じないこと、有傷でも10本中1本のみであったこと、材部に接種すると例外なく高率の枯死を生ずることなどから、本線虫は自然においてなんらかの方法で枯れたマツから生きているマツの枝、幹あるいは根の木質部に運ばれるものと思われる。このことは穿孔虫など昆虫類による伝播の可能性を示唆するが、一方、根株の周囲に線虫培養円板を埋没したときにやはり枯死が起こったことはまた土壌伝染の可能性をも示唆する。昆虫伝播あるいは土壌伝染いずれにせよ、本線虫の伝播の問題は、マツへの侵入、加害機構などとともに今後究明されるべき課

題である。同じマツ属樹木の中に本線虫の接種によって枯死を生ずる種とまったく生じない種のあることも、本線虫に対する抵抗性の問題として興味ある課題であろう。

引用文献

- 1) 徳重陽山・清原友也：マツ枯死木中に生息する線虫 *Bursaphelenchus* sp. 日林誌 51: 193~195, 1969
- 2) 清原友也：マツ材線虫の侵入と繁殖 81 回日林講, 1970

(投稿中)

- 3) 小田久五：松くい虫の加害対象木とその判定法について。森林防疫, 16: 263~266, 1967
- 4) STEINER, G and Edna M. BÜHRER: *Aphelenchoides xilophilus*, n. sp. A nematode associated with blue-stain and other fungi in timber. J. Agr. Res. 48: 949~951, 1934
- 5) G. P. BLAIR and H. M. DARLING: Red ring disease of the coconut palm, inoculation studies and histopathology. Nematologica 14: 395~403, 1968
(1971 年 2 月 5 日受理)

抄 録

○アメリカのクロベツツガ林の植生

KORNAŚ, J.: *Thuja-plicata-Tsuga heterophylla* forest of Lake McDonald Glacier National Park, U.S.A. and its phytogeography, Flagm. Flor. Geobot. 16 (1): 123~136, 1970

アメリカ、モンタナ州のマクドナルド湖畔にある氷河国立公園にはロッキー山脈の東斜面に太平洋の海洋性気流の影響が半島状に内陸におよび、山地性のクロベツツガ林が発達している。この森林を Br.-Bl. の方法で植物社会学的に調査し、その組成を地理分布の面から考察した。

この森林はカラマツとマツの森林地帯の中に海岸地方から突出してきた太平洋沿岸針葉樹林の一部である。火で焼けるとカラマツ、マツの林ができて、これがしだいに耐陰性のクロベツツガの林にかわっていったことが第

1 高木層 (70~90% 35m) にカラマツ、マツが高く立って残っていること、立木の大部分はクロベの 1 種 *Thuja plicata* とツガの 1 種 *Tsuga heterophylla* でできており、低木層 (5~30%) には 2 種の低木 *Lonicera utahensis*, *Rosa gymnocarpa* が林縁と林空にしげり、クロベ、ツガの幼樹はみるが、カラマツ、オレゴンパイン、マツ、カンパの幼樹がないことから明白である。草本層は繁茂しているが種数少なく 133 種/100m²、こけ層はかえって豊富で 8.7 種/100m²、におよぶ。

地理分布スペクトルを、種数と総合優占度からつくてみると、高木層は全くアメリカ西部的であるが林床は量質ともに全北的性格が強く、周北方要素 86.2% におよぶ。しかし、この価は LA Roi (1967) が研究した低地のトウヒ=モミ帯よりは低い。階層が下にさがるほど全北的性格が強く、こけ層ではトウヒ=コケモモ・クラスと全く共通の分層社会 Union と認めてよい。

(鈴木時夫)