

樹木病原菌の侵入機構と宿主防御機構の解明

東北支所□□ 窪野 高德

□□□□□□□□市原 優 □

植物は、病原菌の侵入や組織内の蔓延を阻止する多様な防御機構を持っている。例えば、ファイトアレキシンを代表とする抗菌性物質の生産や、癒傷組織を構築するコルク組織の形成は良く知られた現象である。特に、樹木病害の場合、病原菌の侵入に対し、その伸展を阻止する防御壁の構築は、重要な抵抗性反応である。コルク層の防御壁を乗り越えた病原菌糸のみが、宿主組織内に定着し、細胞破壊を繰り返すのである。このように防御壁の形成は、病原菌に対する宿主の抵抗力として重要な機能である。しかし、樹木では、病原菌の侵入・伸展に対する宿主の防御組織の発現メカニズムは依然明らかにされていない。そこで、本研究では、樹木の持つ抵抗性機構を解明するため、病斑形成過程及び感染機構が明らかにされている「スギ黒点枝枯病」に着目し、接種試験及び組織解剖学的観察によって、防御組織（コルク組織）の形成過程を明らかにすることを主要目的とした。

これまでのスギ黒点枝枯病に関する一連の研究の結果、本菌の気孔及びクチクラ貫入による侵入機構が明らかにされた。また、本病の病斑形成期間は短く、夏季の僅か1か月間に限定されており、壊死斑の拡大がコルク組織によって阻止されている現象も認められた。（写真1）。そこで、この現象に着目し、人工接種試験によって、コルク組織の形成過程を把握することを試みた。隔離温室内に生育させたボカスギ苗木（感受性）より小枝を採取し、殺菌水を入れた培養管に挿し、接種用水挿し若枝（二又枝に調整）とした。米糠・ふすま培地に2週間培養した病原菌（*Stromatinia cryptomeriae* Kubono et Hosoya）を接種源とした。同一若枝において二又の一方には、「有傷接種」を行い、他方は「有傷のみ」の対照区とした。処理枝は20℃、5,000 Lux（14時間長日条件）の接種室に静置した。接種後、時間を迫って経時的に処理若枝を採取し、5%グルタルアルデヒド液で前固定した後、凍結ミクロトームで約20µmの厚さで切片を作成し、サフラン・ファーストグリーンで2重染色を行った。その後、光学顕微鏡を用いて病原菌の動態及び宿主細胞の変化を観察した。

接種後の細胞壊死班長と、それに伴うコルク組織の形成結果を表1に示す。「有傷のみ」の対照区では、処理後20日目において初めて、連続的なコルク組織の形成が確認された。一方、「有傷接種区」では、接種後7日目に死滅した細胞内に病原菌の菌糸体が見られ、宿主組織内における定着が確認された。そして、接種後70日目において初めて連続的なコルク組織（写真2）の形成が認められた。コルク組織を境として内側の健全組織内にはまったく菌糸体は確認されず、コルク組織が形成された後は壊死斑の拡大は生じなかった。

この実験結果から、細胞壊死部と健全組織の境界部に、コルク組織が連続的に形成されることが判明し、病原菌の伸展を抑える防壁（バリアー）の形成が示唆された。また、「有傷接種区」では、コルク組織の形成時期が「有傷のみ」の対照区よりも約50日以上遅れることが判明した。このコルク組織形成時間の遅延が、病斑の拡大程度に強く影響を与える要因と考えられ、何らかの化学物質の生産が予想された。今後は、病原菌の伸展に伴い、コルク組織がどのように形成されるのか、その形成メカニズムの解明を行い、スギ黒点枝枯病における防衛反応及び抵抗性反応としてのコルク組織の形成意義について究明する。

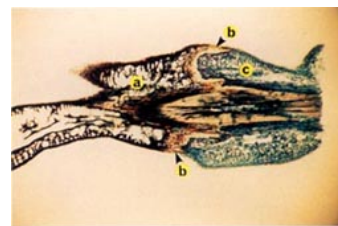


写真1. 被害地に発生した罹病枝内に形成されたコルク組織
a : 細胞壊死部, b : コルク組織, c : 健全組織部

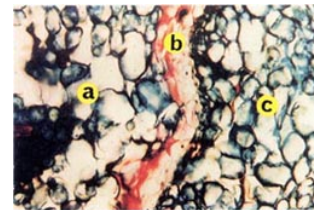


写真2. 病原菌接種後、70日目に形成された連続的なコルク組織
a : 細胞壊死部, b : コルク組織, c : 健全組織部

表1. 接種後の壊死斑の伸長とコルク層の形成有無

処理方法		〔接種後の日数〕										(日)
		1	3	7	10	20	30	40	50	60	70	
有傷接種区	壊死班長	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	4.0	5.0	5.0	7.0	7.0	7.0
	コルク層形成有無	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
対照区	壊死班長	0.0	0.2	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4
	コルク層形成有無	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+