

Raffaelea quercivora を接種したブナ科樹木 4 種の 菌糸分布と防御反応の比較

村田 政穂*¹・山田 利博*²・松田 陽介*³・伊藤 進一郎*³

Comparison of hyphal growth and defense responses in four Fagaceae species inoculated with *Raffaelea quercivora*

Masao MURATA*¹, Toshihiro YAMADA*², Yosuke MATSUDA*³

and Shin-ichiro ITO*³

I. はじめに

近年、ブナ科樹木の枯死・衰退現象が世界各地で発生・拡大しており、森林生態系の動態や種多様性の維持に大きな影響を与えている。ヨーロッパやアメリカでは 20 世紀初頭から、気象環境、昆虫、菌類などによる複合病害と考えられるナラ類の衰退 (oak decline)、アメリカでは 1940 年以降ナラ・カシ類萎凋病 (oak wilt, 病原菌: *Ceratocystis fagacearum*) と 1995 年以降カシ類突然死 (sudden oak death, 病原菌: *Phytophthora ramorum*) が発生し、大きな問題となっている (Brasier *et al.*, 1993; Oak, 2002; Rizzo *et al.*, 2002)。

日本では、1980 年代よりミズナラ (*Quercus crispula*) やコナラ (*Q. serrata*) などを中心としたブナ科樹木が萎凋・枯死する現象が、本州の日本海側で顕在化し、被害はその後多くの地域に拡大している (伊藤・山田, 1998)。伊藤ら (1998) は、この被害がカシノナガキクイムシによって伝播される *Raffaelea quercivora* (Kubono and Ito, 2002) によって引き起こされることを明らかにした。*Raffaelea* 属菌の中では *R. quercivora* が唯一の植物病原菌であったが、近年クスノキ科の樹木が萎凋枯死する Laurel wilt の病原菌 *R. lauricola* (Fraedrich *et al.*, 2008) や韓国北部で発生したモンゴリナラの集団枯死の病原菌 *R. quercus-mongolicae* (Kim *et al.*, 2009) が相次いで報告された。

Raffaelea quercivora による枯死被害は、日本に分布するブナ科樹木 22 種中 12 種で記録されている (伊藤, 2000)。被害の発生程度は樹種によって異なり、ミズナラやコナラでは枯死被害が多く、シイ・カシ類では少ない傾向にある (伊藤, 2000)。Murata *et al.* (2005) は、ブナ科樹木 6 樹種に対する *R. quercivora* の接種試験により、感受性はミズナラやコナラで高く、シイ・カシ類では低いことを示した。また、その差異は水平方向への材変色域や非通水域の拡大と関連することを示唆した (Murata *et al.*, 2007)。

こうした感受性の差異をもたらす *R. quercivora* – 宿主樹木間の相互作用についての研究例は

-
- * 1 東京大学大学院新領域創成科学研究科自然環境学専攻, 〒277-8563 千葉県柏市柏の葉 5-1-5
Department of Natural Environmental Studies, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8563, Japan
 - * 2 東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林千葉演習林, 〒299-5503 千葉県鴨川市天津 770
The University of Tokyo Chiba Forest, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 770, Amatsu, Kamogawa, Chiba 299-5503, Japan
 - * 3 三重大学大学院生物資源学研究所森林生物循環学研究室, 〒514-8507 三重県津市栗真町屋町 1577
Laboratory of Forest Pathology and Mycology, Graduate School of Bioresources, Mie University, 1577, Kurimamachiya, Tsu, Mie 514-8507, Japan

少なく、わずかに宿主樹木における防御反応に関する研究と *R. quercivora* の組織内分布に関する研究が行われたのみである。宿主の防御反応の研究としては、カシノナガキクイムシの穿入を受けて萎凋したコナラ辺材部の大径道管内にはチロースが形成されること（黒田・山田, 1996）、さらにミズナラやコナラの被害木の辺材では、材変色部と健全部との境界部（反応障壁）において柔細胞壁やチロースのスベリン化やリグニン様物質の集積による木繊維の閉塞といった防御反応が観察されること（山田, 2008a）が明らかにされている。一方で *R. quercivora* の宿主組織内での伸展や分布パターンは樹種によって異なり、感受性の高いミズナラにおける菌糸の伸展は感受性の低いアラカシより広いこと（Torii *et al.*, 2010）が明らかにされている。そこで本研究では、宿主の防御反応と感受性との関係を明らかにすることを目的とし、感受性の高いミズナラとコナラ、感受性の低いアラカシとスダジイの枝に *R. quercivora* を接種し、非通水域の拡大時期における菌糸の動態と防御反応を比較した。

II. 材料と方法

接種試験には、三重県内の3地域に生育する個体、すなわち御在所岳、旧日本カモシカセンター園内のミズナラ、三重県林業研究所内のコナラ、アラカシ (*Q. glauca*)、三重大学のキャンパス内のスダジイ (*Castanopsis cuspidata var. sieboldii*) を用いた（表-1）。個体間の遺伝的差異の影響を最小限にするため、各樹種3個体から直径約1cmの枝を4本ランダムに選定した。

表-1 接種試験に供試した樹種とその生育地の概要
Table1. Tree species used for the inoculation test and their site characteristics

樹種	調査地	北緯 (N)	東経 (E)	標高 (m)	胸高直径*1 (cm)
ミズナラ	三重県菰野町*2	35°1′	136°25′	1200	17.7
コナラ	三重県津市*3	34°38′	136°21′	220	17.5
アラカシ	三重県津市*3	34°38′	136°21′	220	4.5
スダジイ	三重県津市*4	34°44′	136°31′	3	30.8

*1：胸高直径は3個体の平均を示す。

*2：御在所岳，旧日本カモシカセンター

*3：三重県林業研究所実習林

*4：三重大学キャンパス

接種には、2003年和歌山県で採取したアラカシの枯死木から分離した *R. quercivora* (RA1052, 三重大学大学院生物資源学研究所森林生物循環学研究室保存菌株) を用いた。PDA培地上に滅菌した爪楊枝の先端部(1cm)を静置したシャーレの中央に、PDA培地で前培養した *R. quercivora* の菌そう先端部を置き、25℃で10日間培養して菌糸を蔓延させたものを接種源とした。

接種試験は2004年7月13日に行った。表面殺菌したドリルで各枝の直径1cmの部位に直径2.5mmの貫通した穴を作成し、4本の枝に接種源を接種し、パラフィルムとガムテープで固定した。樹種間の感受性に関する非通水域の拡大が接種10日目までに停止することが指摘されていることから (Murata *et al.*, 2009), 接種枝は接種後3, 7, 10, 14日目に採取した。接種枝は、

採取後クーラーボックスに入れて研究室に持ち帰り、組織解剖学的観察に用いるため -20°C で凍結保存した。

各試料の接種点から、凍結マイクロトームを用いて横断方向に約 $30\mu\text{m}$ の薄切片を作成した。NAD diaphorase 活性染色法 (Johansson and Stenlid, 1985) で切片を染色した後、光学顕微鏡下で組織内の菌糸の観察と組織の生死を観察した。また、リグニンを染色する 2% フロログルシノール塩酸溶液 (Jensen, 1962)、脂質 (スベリンを含む) を染色する 0.1% スダンブラック B 溶液 (鈴木, 1957)、フェノール性物質を染色する 0.5% ファストブルー RR 水溶液 (Barry *et al.*, 2002) と 0.05% トルイジンプルー O 水溶液 (Ling-Lee *et al.*, 1977) で切片を染色し、光学顕微鏡または蛍光顕微鏡 (U 励起, 2% フロログルシノール塩酸溶液で染色時使用) 下で材変色域と健全域の間にある反応障壁を観察した (表-2)。各染色法における呈色反応は、- (反応なし)、+ (反応が部分的にあり)、++ (反応が顕著で連続的) に大別した。各枝の接種点からの菌糸伸展は、接種点付近の 3 切片を観察し、接種点から接線方向に最も遠いところで観察された菌糸の位置によって算出した。

表-2 本研究で使用した染色法とその呈色反応

Table 2. Histochemical tests used for living cell, lignin, suberin, lipids and phenolics and specificity of color

染色法	呈色反応
NAD diaphorase 活性	生きた細胞は青紫に染色
フロログルシノール塩酸	リグニンは赤色に染色
フロログルシノール塩酸 (蛍光観察)	リグニンは上記の赤色染色部位は発光しない
ク (ク)	脂質物質 (スベリンを含む) は発光
トルイジンプルー O	フェノール性物質は青緑に染色
ファストブルー RR	フェノール性物質は赤茶色に染色
スダンブラック B	脂質物質 (スベリンを含む) は黒く染色

III. 結果

NAD diaphorase 活性染色法で染色した結果、すべての樹種で材変色域内では柔細胞は染色されず組織として死んでいること、その外側の未変色域では柔細胞が染色され生きている組織であることが明らかとなった。また、菌糸は変色した辺材の道管や仮道管で観察され (図-1)、生きた組織内では観察されなかった。本研究と同一時期に同一個体の別の枝に行った *R. quercivora* 接種において、3~14日目までのすべての枝の接種点付近から本菌が再分離されたため (Murata *et al.*, 2009)、本研究で観察された菌糸は *R. quercivora* の菌糸であると判断した。菌糸の接線方向への伸展はミズナラで最も大きく、アラカシで最も小さく、ミズナラ、コナラ、スダジイでは、接種7日目までは菌糸の伸展は増加傾向にあったが、それ以降は横ばい傾向であった (図-2)。一方アラカシでは、接種14日目まで伸展距離は緩やかに増加した。樹種と日数における2元配置の分散分析の結果、両者の交互作用は認められず、樹種間または日数間に有意差があった ($p < 0.01$)。

フロログルシノール塩酸による染色の結果、すべての樹種で材変色域と健全域の境界部の繊維・仮道管に集積する物質に赤色の呈色反応が観察された。蛍光観察ではそれらは発光しないものが

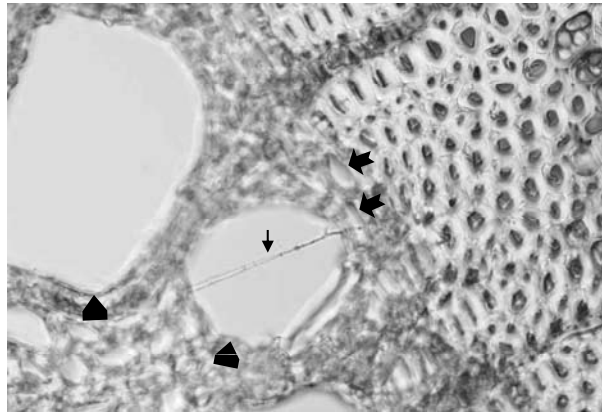


図-1 ミズナラ横断面で観察された道管内の菌糸（接種後3日目）
Figure 1. Hyphae in vessels on day 3 after inoculation in *Quercus crispula*
切片は NAD diaphorase 活性染色法で染色した

バー：100 μ m

↓ 菌糸 ◀ 道管 ↓ 仮道管

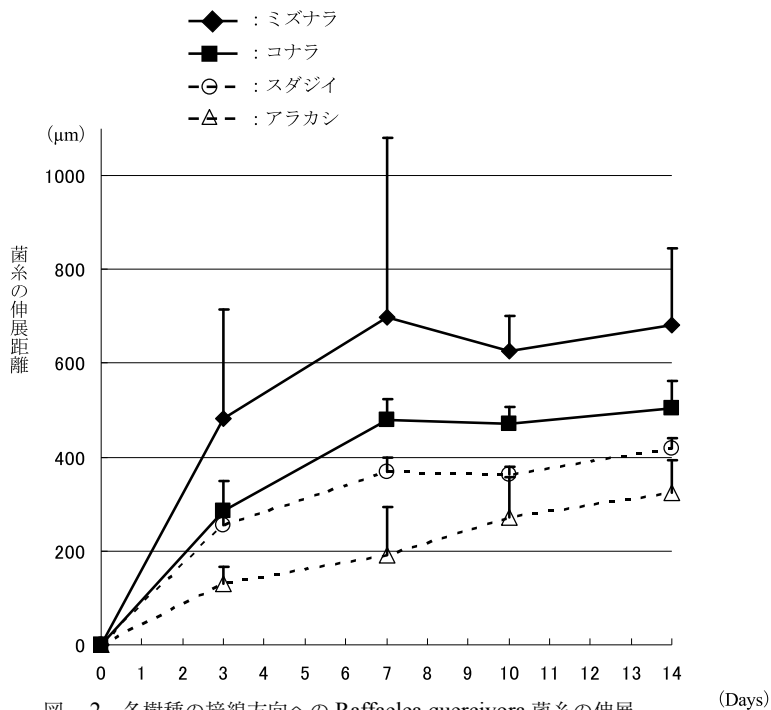


図-2 各樹種の接線方向への *Raffaelea quercivora* 菌糸の伸展
Figure 2. Tangential expansion of *Raffaelea quercivora* in four Fagaceae species after inoculation
各値は3本の枝の平均値と標準誤差

樹種と日数による2元配置の分散分析により、交互作用はなく ($p>0.05$)、樹種、日数間にそれぞれ有意差が認められた ($p<0.01$)

表-3 4 樹種の組織におけるリグニン様物質, 脂質物質, フェノール性物質に対する呈色反応
 Table 3. Responses of the xylem of four Fagaceae species inoculated with *R. quercivora* to histochemical tests for lignin-like compounds, lipid compounds and phenolics

防御反応物質	樹種	接種後日数			
		3 日	7 日	10 日	14 日
リグニン様物質	ミズナラ	-	+	+	+
	コナラ	-	+	+	++
	アラカシ	-	-	+	+
	スダジイ	-	-	+	+
脂質物質	ミズナラ	-	+	+	+
	コナラ	-	+	++	++
	アラカシ	+	+	++	++
	スダジイ	-	+	++	++
フェノール性物質	ミズナラ	+	++	++	++
	コナラ	-	++	++	++
	アラカシ	+	+	++	++
	スダジイ	-	+	++	++

- : 反応なし, + : 反応が部分的にあり, ++ : 反応が顕著で連続的 (図-3 を参照)

多かった。これらの物質は細胞壁を構成するリグニンとは集積様式が異なるため、リグニン様物質と定義した (Hawkins and Boudet, 2003)。フロログルシノール塩酸処理後に蛍光観察で発光していた部位とスタンブラック B によって呈色反応を示した部位はほぼ一致し、すべての樹種で材変色域と健全域の境界の繊維・仮道管や柔細胞の集積物質や細胞壁、道管内のチロースに呈色反応が見られた。これらの反応はリグニン様物質の集積していた部位よりも接種点に近い反応障壁内で観察された。ファストブルーRR とトルイジンブルーO による染色では、ともに材変色域内の繊維・仮道管や柔細胞の集積物質で呈色反応が観察されたが、材変色域と健全域との境界では呈色反応は観察されなかった。

呈色反応の観察から、各樹種の組織内におけるリグニン様物質、脂質物質、フェノール性物質の集積状況の経時変化を表-3 に示した。脂質物質の集積はアラカシで接種後3日目に観察され、10日目に顕著になったが、ミズナラでは接種後7日目に部分的に観察されたものの、14日目でも顕著ではなかった (図-3)。一方リグニン様物質やフェノール性物質の集積は、ミズナラとコナラではアラカシとスダジイよりも早い傾向にあった。また、菌糸の伸展が横ばいになった接種後14日目、すべての樹種において菌糸はフェノール性物質の呈色反応域では観察されたが、脂質物質やリグニン様物質の呈色反応域やその外側の健全域では観察されなかった (図-4)。

IV. 考察

接種後14日目の *R. quercivora* の接線方向への伸展は、ミズナラで最も大きく、アラカシで最も小さく、菌糸伸長はアラカシを除いて、接種7日目までに停止する傾向にあった。樹種間の菌糸伸長の違いは *R. quercivora* に対するブナ科樹木の感受性の差異と一致していた (Murata

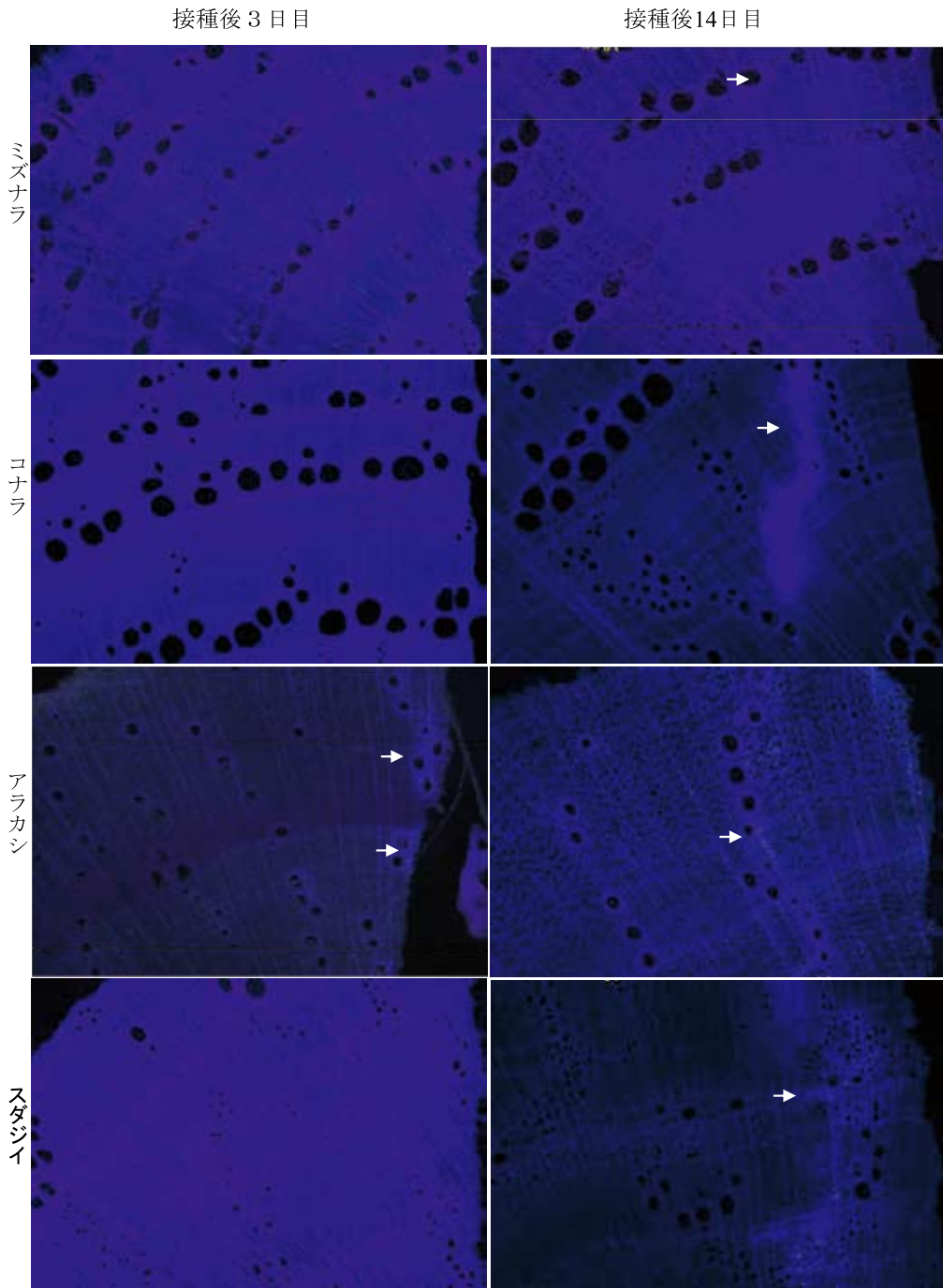


図-3 4樹種の脂質物質の呈色反応

Figure 3. Responses of the xylem in four Fagaceae species to histochemical tests for lipid compounds

切片はフロログルシノール塩酸で染色し、蛍光観察した

右側の空間は接種孔 矢印：蛍光を発していた部位 バー：1mm

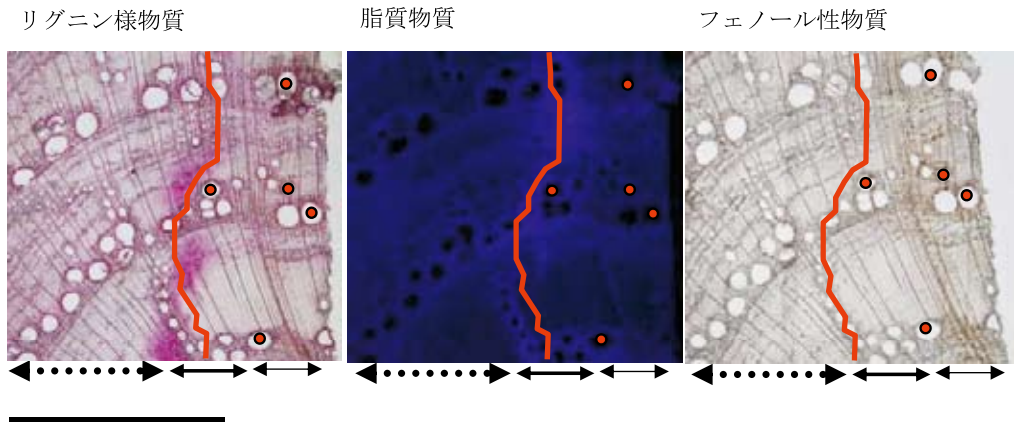


図-4 コナラ横断面で観察された防御反応と菌糸の観察部位（接種後 14 日目）

Figure 4. Responses of the xylem in *Quercus serrata* to histochemical tests for lignin-like compounds, lipid compounds and phenolics and position of observed hyphae on day 14 after inoculation

リグニン様物質：フロログルシノール塩酸で染色した切片
 脂質物質：フロログルシノール塩酸で染色し、蛍光観察した切片
 フェノール物質：ファストブルーRR 水溶液で染色した切片
 右側の空間は接種孔
 バー：1mm

- : 菌糸の観察部位
- : 組織の生死の境界
- ◀●●●▶ : 健全辺材
- ↔ : 反応障壁
- ◀—▶ : 変色辺材

et al., 2005, 2007; Torii *et al.*, 2010)。菌糸の伸展距離は接種 3 日目に樹種間で大きく異なる傾向が見られたが、組織内の防御反応は樹種間で大きな違いは見られなかった。これまでの研究によって、樹種間の道管配列の違いが *R. quercivora* に対する樹種間の感受性の差異に関与していることが指摘されており (Murata *et al.*, 2007; Torii *et al.*, 2010)、接種後早い時期の菌糸の伸展距離には、道管配列の違いが影響している可能性が考えられた。本研究と同様のブナ科樹木 4 樹種への接種試験では、非通水域はいずれの樹種でも接種 3 日目までに急速に拡大し、非通水域の拡大が停止するのは接種後 3 ~ 10 日目であった (Murata *et al.*, 2009)。樹種毎に比較すると、ミズナラやコナラ、スダジイの菌糸の伸展停止時期は、非通水域の拡大停止とほぼ同じであるが、アラカシの菌糸の伸展は非通水域の拡大停止後も緩やかに続けていることが推測された。Torii *et al.* (2010) は *R. quercivora* を接種したミズナラとアラカシにおいて、検出された菌糸のほとんどは非通水域内で観察されるが、一部の菌糸は通水域でも観察されたことを示していることから、菌糸の伸展と非通水域の拡大との関係については今後より詳細な検討が必要であると考えられた。

接種後 14 日目、菌糸はフェノール性物質の集積している部位では観察されたが、脂質物質やリグニン様物質の集積している部位やその外側では観察されなかった。また、脂質物質やリグニ

ン様物質の集積している部位は、材変色域と健全域との境界にある反応障壁であった。本研究による菌糸の観察法では、菌糸が観察されなかった部位に菌糸が存在していないとは断定できないが、組織内に脂質物質やリグニン様物質が集積することによって菌糸の伸展に影響を与えている可能性が示唆された。一方、ミズナラでは脂質物質やリグニン様物質の集積が部分的であっても菌糸の伸展は止まる傾向が示されたことから、菌糸の伸展はこれらの防御反応以外の要因によっても阻害されている可能性が考えられた。アラカシでは脂質物質の集積が顕著になった後も菌糸の伸長が続いたのは、連続した脂質物質の集積が非通水域の境界で起こったため、その境界までは菌糸の伸長が完全に阻害されることがなかったためと考えられる。

スダンブラック B やフロログルシノール塩酸（蛍光観察）の呈色反応は、繊維・仮道管における集積物質の他に、スベリン化したと推定される道管内のチロースや柔細胞壁においても観察された。しかし、感受性の高いミズナラでは接種後 14 日目でもそれらの集積は顕著ではなかった。一方感受性の低いアラカシでは、接種後 3 日目に反応が認められ、10 日目には顕著になった。木部の傷害に対する反応帯におけるスベリン化は、多くの被子植物で観察されおり (Biggs, 1987; Pearce, 1990)、腐朽菌の侵入に対して細胞壁に抵抗性を付与するなど、菌の感染や傷害によって誘導される防御反応である (Pearce and Rutherford, 1981)。また、障壁帯 (barrier zone) におけるスベリン化やリグニン様物質はニレ立枯病の抵抗性機構に関与している (Rioux and Oullette, 1991)。したがって、本研究で観察された脂質物質の集積の違いは、*R. quercivora* に対するブナ科樹種間の感受性の差異の要因であるかもしれない。一方、脂質物質と同様に反応障壁で観察されたリグニン様物質の集積は、ミズナラやコナラではアラカシやスダジイよりも早く、接種後 14 日目にコナラのみで顕著になった。したがって、リグニン様物質の集積が感受性の差異に深く関わる可能性は低いと考えられた。

本研究により、反応障壁に集積される脂質物質や柔細胞の細胞壁、道管内のチロースのスベリン化の速度は、ブナ科樹種間の感受性の差異に影響している可能性が示唆された。また、反応障壁に脂質物質やリグニン様物質が集積されることによって、組織内での菌糸の伸展が阻害されると推測された。しかしながら、*R. quercivora* の伸展を阻害するこれら物質の量については今後明らかにすべき課題である。Yamada and Ichihara (2003) は、傷害を与えたコナラの枝の繊維・仮道管でリグニン様物質の集積や道管内のチロースのスベリン化、フェノール性物質の集積を観察した。本研究においても、すべての樹種でこれらの物質の集積が観察され *R. quercivora* を接種したコナラでは、リグニン様物質やフェノール性物質の集積状況の経時変化は Yamada and Ichihara (2003) が示した結果と類似していた。このことから、山田 (2008b) が述べているように、菌類の感染に対するコナラの防御反応は物理的な傷害に対する反応と基本的に同じである可能性があり、*R. quercivora* に対する反応と物理的な傷害に対する反応の遅速を各樹種間で比較することで、感受性の差異の要因解明ができるかもしれない。

謝辞

本研究の接種試験を遂行するにあたって、試験調査地の選定に対するアドバイスと多大な助力をいただいた三重県林業研究所の佐野 明博士（現、伊勢農林水産商工環境事務所）、財団法人日本カモシカセンターの山野直也氏に心から感謝いたします。また本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金 (No.16380096, 16380103, 18380092) に基づいて行なわれました。

要旨

Raffaelea quercivora に対し感受性の高いミズナラとコナラ, 感受性の低いアラカシとスダジイの防御反応の差異を明らかにするため, 接種後 14 日目まで組織化学的観察を行なった。その結果, 防御反応として, 材変色域や材変色域と健全域との境界部 (反応障壁) にフェノール性物質, 脂質物質, リグニン様物質が集積されることが明らかになった。脂質物質の呈色反応は, アラカシで接種後 3 日目に観察され 10 日目に顕著になったが, ミズナラでは接種後 7 日目に観察され, 14 日目でも部分的であった。一方, フェノール性物質とリグニン様物質の呈色反応は感受性の高い樹種のほうが低い樹種よりも早く観察された。さらに, 脂質物質とリグニン様物質が集積した組織より外側の組織では, 菌糸は観察されなかった。これらのことから, 菌糸の伸展は組織内にフェノール性物質や脂質物質, リグニン様物質が集積することによって停止し, 特に脂質物質が組織内に集積する速さが *R. quercivora* に対する宿主樹木の感受性に関与していることが推察された。

キーワード: ブナ科樹木萎凋病, *Raffaelea quercivora*, 感受性, 反応障壁

引用文献

- BARRY, K.M., DAVIES, N.W., and MOHAMMED, C.L. (2002) Effect of season and different fungi on phenolics in response to xylem wounding and inoculation in *Eucalyptus nitens*. For. Path. 32: 163-178.
- BIGGS, A.R. (1987) Occurrence and location of suberin in wound reaction zones in xylem of 17 trees species. Phytopathology 77: 718-725.
- BRASIER, C.M., ROBREDO, F., and FERRAZ, J.F.P. (1993) Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in Iberian oak decline. Plant Pathol. 42: 140-145.
- FRAEDRICH, S.W., HARRINGTON, T.C., RABAGLIA, R.J., ULYSHEN, M.D., MAYFIELD, A.E. III, HANULA, J.L., EICKWORT, J.M., and MILLER, D.R. (2008) A Fungal Symbiont of the Redbay Ambrosia Beetle Causes a Lethal Wilt in Redbay and Other Lauraceae in the Southeastern United States. Plant Dis. 92:215-224.
- HAWKINS, S., and BOUDET, A. (2003) Defence lignin and hydroxycinnamyl alcohol dehydrogenase activities in wounded *Eucalyptus gunnii*. For. Path. 33, 339-352.
- HILLIS, W.E. (1987) Heartwood and tree exudates. 268pp, Springer-Verlag, Berlin.
- KUBONO, T., and ITO, S. (2002) *Raffaelea quercivora* sp. nov. associated with mass mortality of Japanese oak and the ambrosia beetle (*Platypus quercivorus*). Mycoscience 43: 255-260.
- 黒田慶子・山田利博 (1996) ナラ類の集団枯損にみられる辺材の変色と通水機能の低下. 日林誌 78 : 84-88.
- 伊藤進一郎 (2000) ブナ科樹木の集団枯死 - 菌類と昆虫の共生関係のなぞ. 日菌西日本支報 10 : 16-22.
- 伊藤進一郎・山田利博 (1998) ナラ類集団枯損被害の分布と拡大. 日林誌 80 : 229-232.

- 伊藤進一郎・窪野高德・佐橋憲生・山田利博 (1998) ナラ類集団枯損被害に関連する菌類. 日林誌 80 : 170-175.
- JENSEN, W.A. (1962) Botanical histochemistry. Principles and Practice. 408pp, W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- JOHANSSON, M., and STENLID, J. (1985) Infection of roots of Norway spruce (*Picea abies*) by *Heterobasidion annosum*. 1. Initial reactions in sapwood by wounding and infection. Eur. J. For. Path. 15: 32-45.
- KIM, K.H., CHOI, Y.J., SEO, S.T., and SHIN, H.D. (2009) *Raffaelea quercus-mongolicae* sp. nov. associated with *Platytypus koryoensis* on oak in Korea. Mycotaxon 110:189-197.
- LING-LEE, M., CHILVERS, G.A., and ASHFORD, A.E. (1977) A histochemical study of phenolic materials in mycorrhizal and uninfected roots of *Eucalyptus fastigata* Deane and Maiden. New Phytol. 78: 313-328.
- MURATA, M., YAMADA, T., and ITO, S. (2005) Changes in water status in seedlings of six species in the Fagaceae after inoculation with *Raffaelea quercivora* Kubono et Shin-Ito. J. For. Res. 10: 251-255.
- MURATA, M., YAMADA, T., MATSUDA, Y., and ITO, S. (2007) Discolored and non-conductive sapwood among six Fagaceae species inoculated with *Raffaelea quercivora*. For. Path. 37: 73-79.
- MURATA, M., MATSUDA, Y., YAMADA, T., and ITO, S. (2009) Differential spread of discoloured and non-conductive sapwood among four Fagaceae species inoculated with *Raffaelea quercivora*. For. Path. 39: 192-199.
- OAK, S.W. (2002) Native diseases and insects that impact oaks. In Oak forest ecosystems. William, J.M. and William, M.H., 448 pp, The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 80-99.
- 岡本泰治 (1985) 現生ブナの概観. (ブナ帯文化. 梅原 猛, 市川健夫, 四手井綱英編, 291pp, 思索社, 東京都). 65-69.
- PEARCE, R.B. (1990) Occurrence of decay-associated xylem suberization in a range of woody species. Eur. J. For. Path. 20: 275-289.
- PEARCE, R.B., and RUTHERFORD, J. (1981) A wound-associated suberized barrier to the spread of decay in the sapwood of oak (*Quercus robur* L.). Physiol. Plant Path. 19: 359-369.
- RIOUX, D., and OUELLETTE, G.B. (1991) Barrier zone formation in host and nonhost trees inoculated with *Ophiostoma ulmi*. I. Anatomy and histochemistry. Can. J. Bot. 69: 2055-2073.
- RIZZO, D.M., GARBELOTTO, M., DAVIDSON, J.M., SLAUGHTER, G.W., and KOIKE, S.T. (2002) *Phytophthora ramorum* as the cause of extensive mortality of *Quercus* spp. and *Lithocarpus densiflorus* in California. Plant Dis. 86: 205-214.
- 鈴木直治 (1957) 甘藷紫紋羽病に関する研究 IV. 感染部位の組織化学的研究 - 感染組織の化学的变化. 農業技術研究所報告 C 8 : 69-171.
- TORII, M., MATSUDA, Y., MURATA, M., and ITO, S. (2010) Spatial distribution of *Raffaelea*

quercivora hyphae in transverse sections of seedlings of two Japanese oak species. For. Path. doi: 10.1111/j.1439-0329.2010.00672.x

山田利博 (2008a) 病原菌からみたブナ科樹木萎凋枯死被害 (ナラ枯れ) 研究の最前線. 樹木医学研究 12 : 67-72.

山田利博 (2008b) 保全講座 2 : 微生物の感染と樹木の反応. 樹木医学研究 12 : 91-97.

YAMADA, T., and ICHIHARA, Y. (2003) Defense responses of oak sapwood in relation to wilt of oak trees in Japan. In 8th international congress of plant pathology of Christchurch, New Zealand 2-7.02.03. Abstracts of offered paper:155.

(2010 年 6 月 29 日受付)

(2011 年 4 月 19 日受理)

Summary

To examine the differences of defense responses to *R. quercivora* in four Fagaceae species; two susceptible *Quercus crispula* and *Q. serrata* and two resistant *Q. glauca* and *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii*, branches inoculated with the fungus were examined histochemically until 14th day after the inoculation. As defense responses, phenolics, lipid compounds and lignin-like compounds were observed either in the discolored sapwood or in the boundary between discolored and sound sapwood. The lipid compounds were observed on the 3rd day and were very noticeable on the 10th day for *Q. glauca*, while their presence was confirmed on the 7th day but they were still a localized reaction on the 14th day for *Q. crispula*. On the other hand, both phenolic and lignin-like compound accumulations in the susceptible species were observed earlier than those in the resistant species. Moreover, hyphae were not observed in sound xylem which was outside the xylem where lipid and lignin-like compounds accumulated. These results indicate that hyphae growth of *R. quercivora* might be prevented by the accumulation of phenolic, lipid and lignin-like compounds in the xylem, and the speed of lipid compound accumulation might be mostly related to the susceptibility of the four Fagaceae species examined to *R. quercivora*.

Key word: Japanese oak wilt, *Raffaelea quercivora*, susceptibility, reaction zone barrier