

ナラ類の萎凋枯死と通水阻害

大和万里子*・山田利博*・鈴木和夫*

Wilt of Oaks—Blockage of Xylem Sap Ascent

Mariko YAMATO*, Toshihiro YAMADA* and Kazuo SUZUKI*

1. はじめに

近年, 日本海側の各地域でコナラ (*Quercus serrata*) とミズナラ (*Quercus crispula*) の集団的な枯死が発生しており, 1980年代以降被害地域は拡大傾向にある(伊藤・山田, 1998)。被害は夏から秋にかけて発生し, 被害木は葉が急激に萎凋, 褐変して枯死に至る(石山, 1993)。

枯死木には例外なくカシノナガキクイムシ (*Platypus quercivorus*) が高密度で穿孔しており, 坑道付近の材には広範囲にわたり薄灰色から黒色の通水の停止した変色域が見られる。この変色域からは, ナラ菌と仮称される特定の菌類が高頻度で分離される(伊藤ら, 1998)。ナラ菌をミズナラやコナラに接種すると, 野外の被害木と同様の通水の停止した変色域が形成されて, 枯死に至ることが明らかにされている(伊藤ら, 1998; 斉藤ら, 2001)。ナラ菌はカシノナガキクイムシの体表, 孢子貯蔵器官からも高率で分離されており, カシノナガキクイムシによって運搬されたと考えられている(伊藤ら, 1998)。

カシノナガキクイムシは樹幹下部に集中して穿孔するため, 変色域は樹幹下部で大きく, 上部に行くほど小さい。ナラ菌は樹幹下部からおもに検出され, 樹冠全体が萎凋している場合でも, 樹幹上部からナラ菌が検出されることはまれである(伊藤ら, 1998; 三河ら, 1995)。これらのことから, カシノナガキクイムシの穿入およびナラ菌の感染にあったコナラ, ミズナラが萎凋に至る条件は, 「通水の停止した変色域の拡大により, 樹幹のある高さで通水が全面停止すること」であるとされる(黒田・山田, 1996)。

具体的には次のような機序でナラ類は枯死に至ると考えられる。

1) カシノナガキクイムシの集中加害により, 主として樹幹下部に高密度の坑道が作られる。2) 坑道に持ち込まれたナラ菌が材内に伸長拡大する。3) ナラ菌の拡大によって坑道付近より上下に長い変色域(変色域とその周辺では通水が停止している)が形成される。4) 変色域の形成拡大によって通水が停止し萎凋枯死する。5) 加害部より下部はしばらく生存しているが最終的には枯死に至る。

ナラ菌はカシノナガキクイムシの坑道形成と同時に材内に拡大し, 菌の侵入に反応して変色域が形成される。被害木は変色域を広範囲にわたって形成し, 変色域およびその付近の通水停止により萎凋枯死に至ると考えられる。この仮説を検証するためには, ナラ菌感染と変色域の形成および通水阻害発生の関係, 特に, 樹体内のナラ菌感染範囲と通水阻害発生部位との関係を明らか

* 東京大学大学院農学生命科学研究科森林植物学研究室

* Laboratory of Forest Botany, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo.

にすることが必要である。本研究では、ナラ菌を人工的に接種したミズナラとコナラの苗木を用いて、樹体内におけるナラ菌の感染範囲及び通水機能の変化を調べた。

2. 材料と方法

供試木には森林総合研究所の苗畑（茨城県茎崎町）に植栽された4年生のミズナラとコナラの苗木（高さ50～60 cm）を用いた。一部の実験には、同じく5年生のコナラ苗木の枝を用いた。また、供試菌には、森林総合研究所東北支所で分離されたナラ菌菌株（NA9810-1）を継代培養して用いた。

接種木の病徴観察及びナラ菌の感染範囲測定

4年生ミズナラ、コナラ苗木各5本ずつにナラ菌の接種を行った。接種源には、米ヌカ・フスマ培地を用いて、20℃の恒温器内で培養したものをを用いた。地上10 cmの樹幹を4 mm幅で木部を少し削る程度まで半周程度剥皮し、上下の剥皮部が5 mm離れるようにして反対側の上部をさらに半周剥皮した。剥皮部に接種源を埋め込み、パラフィルムで巻いて固定した。接種部から樹冠部までは20 cm以上離れていた。対照として、4年生ミズナラ、コナラ苗木各3本ずつに滅菌した米ヌカ・フスマ培地を接種した。

接種は2000年6月1日に行い、接種1カ月後に菌の分離を行った。接種部位から下に3 cm、上に3, 6, 9, 12 cmの位置でそれぞれ木部を採取し、材片をアンチホルミン5倍液で3分間殺菌後、PDA培地を用いて20℃暗黒下で培養し2週間後に出現菌を調査した。

接種時期の違いによって接種木の反応にどのような違いがあるのかを観察するため、2000年7月14日にコナラ苗木43本とミズナラ苗木19本に上記と同様の方法でナラ菌を接種し、対照としてミズナラ苗木3本を用いた。ナラ菌を接種したミズナラ苗木のうち7本は、ナラ菌の伸長速度を生立木と比較するため接種後、地際で切断して苗畑に放置した。

ミズナラ苗木では接種後定期的にMINI-PAM（WALZ社製）を用いてクロロフィル蛍光の測定を行った。測定は1日おきに夜9時以降に行い、一本につき3箇所ずつ測定してパラメーターFv/Fmを求めた。Fv/Fmは光化学系IIにおける光利用効率の指標となり、植物にストレスがかかると低下するとされている（森，1990；ROHACEK and BATAK，1999）。本試験では、通道障害にともなう強度の水ストレスの一指標として、症状の進行をFv/Fmを用いて把握を試みた。すなわち、樹幹断面の広い範囲での通道障害により通道抵抗が著しく増大することで樹体は極度の水ストレス下におかれる。これによってFv/Fmの大幅な低下が生ずると推測される。

ミズナラ接種木は、接種の1, 2, 4週間後に2本ずつ採取し、菌の分離、通水機能の評価、組織観察を行った。また、接種後直ちに切断し放置した接種木では、接種の3, 7, 14日後に菌の分離を行った。菌の分離は上記と同様の方法で行い、通水機能は、地際から切り取った接種木に0.5%酸性フクシン水溶液を2時間吸収させた後、樹幹横断面を観察して評価した。組織観察には走査型電子顕微鏡（日立S-4000）を用い、試料はグルタルアルデヒドで前固定、四酸化オスミウムで後固定を行い、アセトンで脱水後、酢酸イソアミルに置換し、臨界点乾燥の後、白金パラジウムを蒸着した（日本電子顕微鏡学会関東支部，1970）。さらに、ナラ菌接種木と比較するため、前年夏にカシノナガキクイムシの穿孔を受けその後生存していたミズナラ被害木（山形県朝日村：胸高直径20 cm）を採取し、カシノナガキクイムシの坑道と変色域を含んだ地上6 m部分を観

察した。

萎凋後の水分供給と樹体の生理状態

ナラ菌接種による萎凋症状は水分供給によって回復可能かどうかを調べるため以下の実験を行った。7月14日に接種したコナラ苗木で、7月27日から8月5日にかけて萎凋症状があらわれた7本のうち4本の上部を切り取り、それぞれ1本の側枝に酸性フクシン水溶液を吸収させて通水機能を調べ、残った樹幹は水挿しにして外観上の変化を観察した。残り3本は水挿しにしない対照木として立木のまま置いた。また、非接種の切断木として、健全な5年生コナラ苗木の枝を10本、40cm程度の長さに切断し、4時間以上苗畑に放置して乾燥させた後に、1本の側枝に酸性フクシン水溶液を吸収させて通水機能を評価し残りの部分を水挿しにした。切断木の水挿しにしない対照として、苗木4本を地際から切断して苗畑に放置した。それぞれについてクロロフィル蛍光の測定を定期的に行った。

3. 結果と考察

病徴の進展

接種後1週間から1ヶ月のあいだに枯死する個体が現れた。接種による影響は接種部より上部にのみ現れ、接種部より下部の地際の枝や萌芽枝には変化が認められず生残した。本論文では、自然の被害木との対比から上部が枯死したものを枯死木として扱った。外観の変化はまず葉のわずかな乾燥と退色に現れ、その後葉はさらに退色していき、枝についたまま褐変した。この症状は野外における被害木の病徴と類似していた。葉の萎凋から褐変までにかかる時間は1~4日程度で、一旦萎凋症状を示した葉が回復することはなかった。また、萎凋開始時の内樹皮は接種部周辺のみで褐色に壊死しており、接種部から離れた部位では緑色を保っていたが、新しい葉が出ることはなかった。対照木にはいずれも外観上変化がなかった。

接種時期による枯死率の違いを表-1に示した。6月1日接種ではミズナラがすべて枯死し、コナラの枯死率が低かったのに対し、7月14日接種ではミズナラがまったく枯れずコナラの枯死率が高かった。両接種試験において接種方法は同一であったため、枯死率は接種時期に左右されることが示唆された。ミズナラについては接種時期が遅くなると枯死しないことは成木でも報告されているが(齊藤ら, 2001)、その理由は明らかでなく、今後検討する必要がある。

枯死しなかった7月14日接種のミズナラ苗木におけるFv/Fm値の推移を図-1に示した。ナラ菌接種木のFv/Fm値は、滅菌培地接種木とほとんど変わらなかった。しかし、ナラ菌接種木および滅菌培地接種木におけるFv/Fmは無処理木のFv/Fmより常に低く(供試本数が多かった接種13日後までのナラ菌接種木と無処理木との間の有意水準は1~6%であった)、接種時の剥皮に起因する通水障害部形成のストレスは大きいと推察された。3処理とも外観では常に健全に見える、差異は認められなかったことから、Fv/Fm値は植物の受けたストレスを肉眼より敏感に検知したと言える。

表-1 ナラ菌接種木の枯死率
Table 1. Mortality of seedlings inoculated with the fungus

	ミズナラ	コナラ
6月1日接種	100% (5/5)	20% (1/5)
7月14日接種	0% (0/6)	53% (23/43)

それぞれ接種1ヶ月後の枯死率(枯死木/供試木)

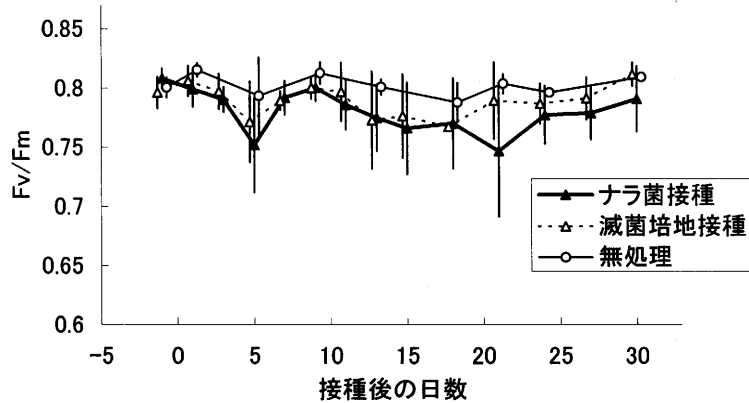


図-1 ナラ菌接種木（ミズナラ）における Fv/Fm の推移
縦棒は標準偏差を表す。

Fig. 1. Changes in Fv/Fm of *Q. crispula* seedlings survived from the inoculation
Vertical bars indicate standard deviations.

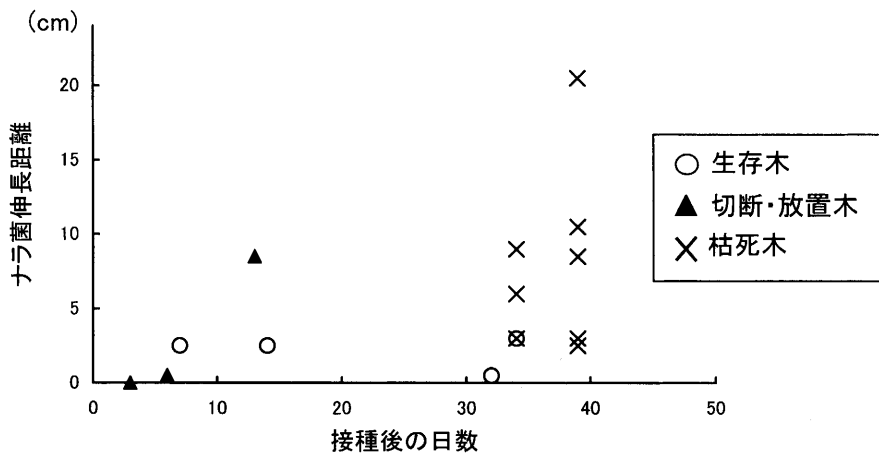


図-2 接種木におけるナラ菌伸長距離

Fig. 2. Extention of the fungus after inoculation

ナラ菌の蔓延

菌を分離したすべてのナラ菌接種木におけるナラ菌の伸長距離について、枯死木、生存木、接種後切断木の3つに分けて図-2に示した。枯死木では接種部位から20 cmの範囲内でナラ菌が検出された。生存木では接種後の経過時間に関わらず、接種部位から上下に3 cmまでしかナラ菌は検出されなかった。また、接種後切断した木では菌の伸長が速く、2週間後に接種部から上に9 cmまで菌が拡大した。

実験に用いた苗木では、接種部から樹冠部分までは20 cm以上の距離があるため、菌が樹冠部に達しなくても葉の枯死を引き起こすことができると考えられた。

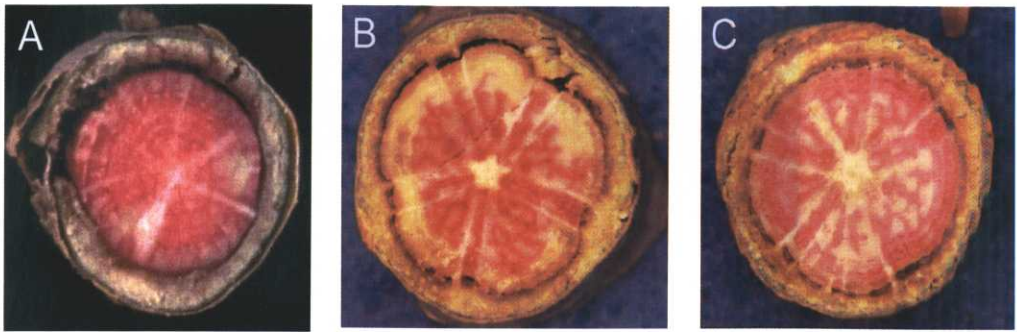


図-3 ナラ菌接種ミズナラにおける通道状況

- A) 非接種木の横断面,
 B) ナラ菌接種生存木 接種部より 1 cm 上の横断面,
 C) ナラ菌接種生存木 接種部より 10 cm 上の横断面

Fig. 3. Xylem sap conducting area of *Q. crispula* seedlings inoculated with the fungus.

- A) Cross section of non-inoculated healthy seedling.
 B) Cross section 1 cm above the inoculation point.
 C) Cross section 10 cm above the inoculation point.

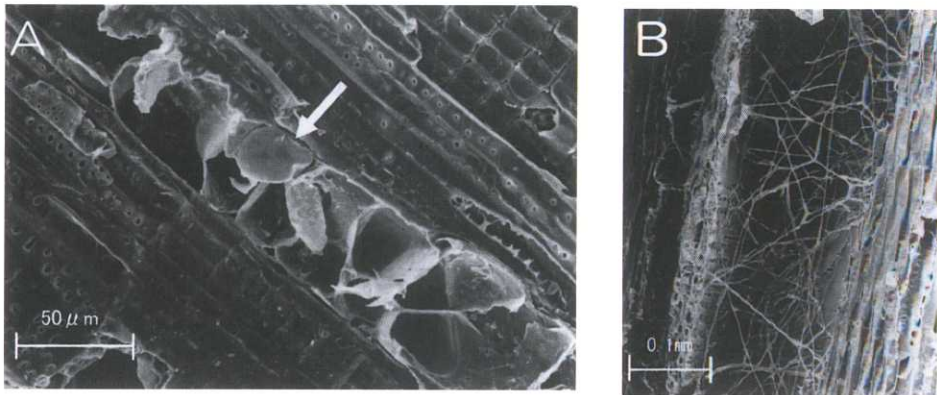


図-4 ナラ菌接種木（ミズナラ）及びカシノナガキクイムシ被害木の道管縦断面

- A) 道管を閉塞するチロース（矢印）
 B) 大径道管内の菌糸

Fig. 4. Longitudinal view of vessels.

- A) Vessels blocked by tylosis (arrow) in discolored sapwood of *Q. crispula* inoculated with the fungus.
 B) Hyphae in large vessels of *Q. crispula* attacked by *Platypus quercivorus*.

通水機能および木部組織の変化

接種後生残したミズナラ苗木に酸性フクシン水溶液を吸収させた（図-3）。赤色の部分は酸性フクシン水溶液を吸収しており通水機能が保持されているが、白く見える部分では通水が停止している。非接種木では断面のほぼ全面で通水が認められた（図-3A）。それに対し、ナラ菌接種木では接種部付近には薄茶色の変色域が形成され、変色域から軸方向に長く通水阻害域が存在していた。しかし、生存木においては接種部付近でも樹幹中心周辺に通水域が残っており、接種後に新しく形成された木部にも通水が認められた（図-3B）。接種部から 10 cm 上部の樹幹では通水

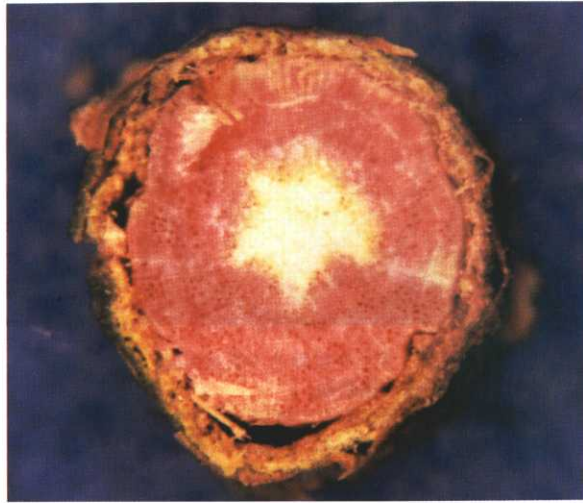


図-5 コナラ接種木の上における萎凋開始時の通道状況
接種部より 20 cm 上の横断面

Fig. 5. Cross section of wilting *Q. serrata* seedling inoculated with the fungus. 20 cm above the inoculation point.

障害部を示す白斑が多数認められたものの断面の広い範囲で通水機能が維持されていた (図-3 C)。

走査型電子顕微鏡で組織を観察したところ、ナラ菌接種木の変色域ではチロースによって閉塞している道管が多かった (図-4A)。道管内に菌糸が見られたが、ナラ菌かどうか定かではない。接種部から 20 cm 上ではチロース芽が見られたが、閉塞している道管は少なかった。野外におけるカシノナガキクイムシ穿入木では、多くの大径道管がチロースによって閉塞され、道管に菌糸が見られた (図-4B)。また、カシノナガキクイムシの坑道表面は酵母や菌糸に覆われていた。チロースは変色部位以外にも見られ、通水障害域の形成は材の変色に先行することが示唆された。

萎凋後の水分供給と樹体の生理状態

萎凋開始時において、接種木、切断放置木上部の側枝は酸性フクシン水溶液をよく吸収しており (図-5)、通水機能を維持していると考えられた。また、接種による萎凋木と切断放置による萎凋木の症状は外観上類似していた。接種木、切断放置木の両方で、萎凋後に上部を切り取って水に挿した場合は水挿し後 10 日以上あいた葉脈周辺に緑色の部分が残っていたのに対し、放置した場合は萎凋後 4 日以内にすべての葉が褐変した。

接種木、切断放置木の両方で、Fv/Fm は葉がわずかに退色した時点で顕著に下がり、水分供給をしない場合には、接種木では萎凋症状が現れてから遅くとも 3 日後、切断放置木では 2 日後に Fv/Fm の値はほぼ 0 となった (図-6)。しかし、萎凋開始時点で上部を切り取り水分供給したものであれば、接種木、切断放置木の両方で Fv/Fm 値の低下が遅れた。

萎凋開始時においても接種部から離れた上部は正常な通水機能を保ち、水分供給により萎凋症状の進行が遅れたことから、萎凋症状の主原因は接種部付近における通水障害であることが示唆された。

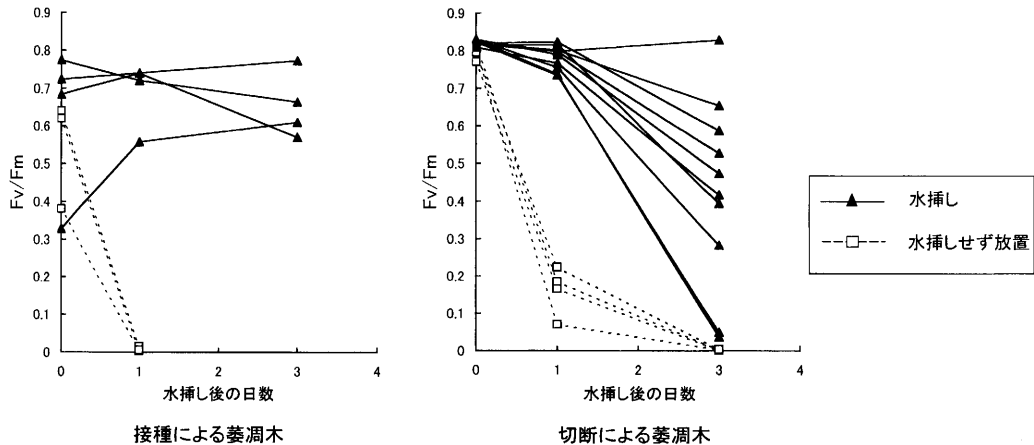


図-6 ナラ菌接種あるいは切断によって萎凋したコナラの水挿し後の Fv/Fm 推移
萎凋した苗木は 0 日の夜に Fv/Fm 測定後水挿しした。

Fig. 6. Changes in Fv/Fm of wilting *Q. serrata* seedlings after supplying water.

Wilt of seedlings was induced by the fungal inoculation (left) or artificial cutting (right). Cuttings of wilting seedlings were put into water just after the measurement of Fv/Fm in the night of 0 day.

ま と め

ナラ菌によるナラ類の萎凋枯死は以下の過程を経ると考えられた。ナラ菌の侵入により局所的な木部の通水阻害域が形成され、強度の水ストレスにより葉の萎凋が始まる。しかし、ナラ菌は樹冠部までは達せず、この時点では樹幹上部の通水機能は保たれている。葉が褐変した後に樹幹上部が枯死する。苗木では下部は生残するが、自然の被害木ではこの後に最終的な全身の枯死に至る。

謝 辞

森林総合研究所東北支所の窪野高徳博士にはナラ菌菌株を分譲していただいた。ここに深く感謝の意を表する。

本研究は農林水産省特別研究「ナラ類の集団枯損機構の解明と枯損防止技術の開発」および文部科学省科学研究費補助金 基盤研究 (B) (2) No. 13460064「ナラ・カン類集団枯死被害における萎凋症状発現機構ならびに宿主の防御機構の解明」の補助を受けて行われたものである。

要 旨

近年、日本海側を中心とする各地でナラ類の集団枯死が発生している。被害木には例外なくカシノナガキクイムシ (*Platypus quercivorus*) が穿入しており、それによって伝播される菌 (ナラ菌) が通水阻害および萎凋枯死を引き起こしていると考えられる。本研究では、ナラ菌による通水阻害がナラ類の萎凋枯死にどのように関与しているか明らかにすることを目的とした。ナラ菌をミズナラとコナラの苗木に接種したところ、接種部付近には通水阻害域が存在したが、接種部より離れた上部では通水機能は正常に保たれていた。また、ナラ菌の接種により萎凋した苗木と

切断放置して萎凋させた苗木を比較するとその症状は類似しており、両者とも樹幹上部の通水域に水分を供給すると萎凋症状の進行が遅れた。これらのことから、ナラ菌接種木の萎凋枯死は、接種部付近の局所的な通水阻害に起因することが示唆された。

キーワード: ナラ類, 萎凋, 通水阻害, カシノナガキクイムシ, ナラ菌

引用文献

- 石山新一郎(1993) 山形県朝日村におけるナラ類の枯損実態について. 森林防疫 **42**: 236-242.
 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) ナラ類集団枯死被害に関連する菌類. 日林誌 **80**: 170-175.
 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.
 三河孝一・三浦直美・小野瀬浩司・斉藤正一・森川東太・中村人史(1995) 山形県におけるナラ類の集団枯損について (I)―被害木の地上高別菌の分離―. 日林東北支誌 **47**: 79-80.
 森 徳典(1990) クロロフィル蛍光の測定による林木のストレス生理学研究の試み. 日林誌 **72**: 67-72.
 日本電子顕微鏡学会関東支部(1970) 電子顕微鏡試料技術集. 432 pp, 誠文堂新光社, 東京.
 Rohacek, K. and Batak, M. (1999) Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetica* **37**: 339-363.
 斉藤正一・中村人史・三浦直美・三河孝一・小野瀬浩司(2001) ナラ類の集団枯損被害の枯死経過と被害に関与するカシノナガキクイムシおよび特定の菌類との関係. 日林誌 **83**: 58-61.

(2001年6月29日受付)

(2001年11月5日受理)

Summary

Mass mortality of oaks (*Quercus serrata* and *Q. crispula*) has been appeared along the Japan Sea since late 1980's. Blockage of xylem sap ascent induced by infection of an unidentified fungus is considered having close relationship with this mortality of oaks. The fungus is vectored by ambrosia beetle *Platypus quercivorus*. *Q. serrata* and *Q. crispula* seedlings were inoculated with the fungus. Blockage of sap-flow occurred around the inoculation point, and this phenomenon is considered to be the direct cause of tree's death.

Key words: oaks, wilt, blockage of xylem sap ascent, *Platypus quercivorus*

Nursery Practices Concerning with Propagation of *Picea jezoensis* from Seedlings at the Tokyo University Forest in Hokkaido

Shigeo OGASAWARA

This report deals with the nursery practices for *Picea jezoensis*, as developed from 1988 to 2001 at the arboretum at the Tokyo University Forest in Hokkaido. To successfully propagate *Picea jezoensis* from seedlings, the author tried to prevent snow blight disease in the seed bed. The author found that this disease was caused by soil impaction and pressure on the seedlings by the weight of the snow, and proved that scattering volcanic conglomerates on the seed bed and snow fence surrounding the seed bed by timber to protect the seedlings against snow pressure effectively prevented this disease.

Wilt of Oaks—Blockage of Xylem Sap Ascent

Mariko YAMATO, Toshihiro YAMADA and Kazuo SUZUKI

Mass mortality of oaks (*Quercus serrata* and *Q. crispula*) has been appeared along the Japan Sea since late 1980's. Blockage of xylem sap ascent induced by infection of an unidentified fungus is considered having close relationship with this mortality of oaks. The fungus is vectored by ambrosia beetle *Platypus quercivorus*. *Q. serrata* and *Q. crispula* seedlings were inoculated with the fungus. Blockage of sap-flow occurred around the inoculation point, and this phenomenon is considered to be the direct cause of tree's death.