

ヒノキアスナロ漏脂病に関する走査電子顕微鏡的研究*

福 富 雅 夫** ・ 矢 田 豊***
江 崎 功二郎**** ・ 三 浦 進***

I 緒 言

ヒノキの漏脂病は大正時代の初期頃より問題にされ始めているが、学術的な報告としては北島(1927)(10)により原因不明の新病害として注意されたのが初めてのようである。明治末期から昭和初期に東北地方で広面積にわたり造林されたヒノキに多発して問題視され、造林不成功の原因とされた(5,6,16)。その後、北陸、関東、中部地方をはじめ関西、九州地方でも問題視されるようになり、今日では多積雪地帯のみでなく、全国的に発生が見られるようになってきた(12,17,18)。ヒノキ漏脂病は樹幹表面に樹脂を多量に漏出する特有の症状を示す病気としてよく知られているがその原因については、この病害の存在が知られてから1世紀以上経過する現在でも研究者によって説を異にしている。

石川県で通称アテと呼ばれている種類はアスナロの1変種のヒノキアスナロ (*Thujopsis dolabrata* Siebold et Zuccarini var. *hondae*) である(鈴木ら、1988)(18)。ヒノキアスナロ、アスナロ、アテなどの樹種名で、ヒノキと類似する病状の本病発生の学術報告が見られるようになったのは1982年頃からのようである(伊藤・藍野(1982)(8); 鈴木ら 1988 (18); 矢田 1989 (19); 矢田ら 1989 (21))。ヒノキ漏脂病の場合とほぼ同様な状況で、類似の病状を示して発病することから、病原に関する詳細な研究がなされないまま類似病害として取り扱われてきた。

ヒノキアスナロは石川県の気候に適していると考えられ、多く育成されており、本県の県の木でもある。しかし、本県でのヒノキアスナロおよびヒノキにおける漏脂病の発生は多く、能登半島の穴水町では症状の軽いものを入れると60%を越える発病が見られる林分もあった。現地では本病に対する早急な対策が望まれてきた。

そこでまず、主因究明と発生機構などの基礎的研究により、ヒノキを含む本病の原因解明への手掛かりを得る目的で本共同研究が開始された。

1992年、ヒノキアスナロを中心にまず、病徴と樹脂産生のある場であり、感染の場と考えられる油つぼの形成部位に関する詳細な調査を行った。同時に油つぼ形成部位付近を中心に組織片を切り出し、病原菌の分離を行うと共に一部試料について、病原菌の組織内分布と傷害樹脂道形成の関係を形態学的に解明する目的で電子顕微鏡観察を行った。

一方、組織から分離された菌は培地上での性状により類別して、高頻度に分離される菌の探索を行い、ヒノキアスナロ樹に対する接種試験により病原性の確認を試みた。また、病徴と樹の地際から先端までの位置と油つぼ形成部位の分布について詳細な調査を行った。これらの試験結果の内、菌の分離および油つぼ形成部位の分布については予報的に前報で報告した(福富ら 1996)(2)。

本報は同一病患部について、油つぼ形成、発達の経過ならびに患部組織内における病原菌糸の存在などに関して走査電子顕微鏡により観察した結果について報告するものである。

謝辞 本研究を行うに当たり、石川県農業短期大学付属農業資源研究所、石川県林業試験場、石川県林木育種場ならびに石川県巨樹の会の多くの方々のご協力とご助言をいただいた。また、島根県林業技術センターの周藤靖雄博士には多くのご助言、ご指導をいただいた。また、研究試料をご提供いただいた林業家の方々にたいし、記して深甚なる謝意を表します。

* M. Fukutomi · Y. Yada · K. Esaki · S. Miura (1997) Scanning Electron Microscopic Studies on Resinous Canker of *Thujopsis dolabrata* Siebold et Zuccarini var. *hondae*. Bull. Ishikawa Forest Exp. Sta. No. 28: 21~33.

** 石川県農業短期大学名誉教授
現住所: 京都市左京区静海市原町 601-1123 (〒)
本研究は石川県農業短期大学付属農業資源研究所 在職中に県林業試験場との共同研究として行った一連の研究成果の一部である。

*** 石川県林業試験場

**** 現石川県森林管理課

II 研究材料および方法

1 走査電子顕微鏡観察試料および調製法

1992年(4月)、石川県林業試験場(鶴来町)のヒノキアスナロ林より2個体、1994年、7月8日石川県鳳至郡能都町の林家の林分より10個体、9月19日小松市滝ヶ原町の林家の林分よりヒノキアスナロ2個体およびヒノキ1個体など電子顕微鏡観察用には総計15個体の、いずれも自然発生の典型的な漏脂病樹を採集し供試した。

油つばの分布、病原菌の分離、および電顕観察試料などの切り出しなどを同一部分から行うために以下のようにした。

供試試料樹は基部より5cm間隔に、電気ノコ(チップソー使用)によって輪切りにし、番号を付して、5℃の低温室に保存した。つぎに、卓上電気ノコ、ノミ、ナイフ、片刃カミソリの刃などを用いて、各輪切り断面より病原菌の分離および電顕観察用の試料片を切り出した。電顕用試料はあらかじめ準備しておいた固定液を入れた小試料瓶に入れて固定した。一方、同一部位より切り出した病原菌分離用試料片は小さなビニール袋に入れ、番号をつけて5℃の低温室に保存しておき、常法(2)により病原菌の分離を行った。また、輪切りの断面は各樹体別に5℃の低温室に保存しておき、適時、取り出して、適当な長さにマークを合わせて積み重ね、前方および後方の外表面の病徴など、基部から先端までの写真撮影や調査に用い、その後風乾して乾燥標本として保存し、必要に応じて再調査に用いた。

2 走査電子顕微鏡試料作製法

樹脂を含む植物組織は、一般に良く用いられるグルタル・アルデハイド固定では好結果はえられない。下記の試料作製法の中で、普通、電顕法としてあまり用いられないFAA固定を行うことは、福富によって考案されたもので、この固定液は樹脂やガム状物質などの樹液を有する生植物組織の固定に良く、好結果が得られているので、樹脂を固定し、除去して、このような組織の観察を行うための方法として、本研究に用いた電顕試料作製法の概要を以下に述べる。

1) 新しい片刃のカミソリの刃を用いて、きれいな観察面を作った試料小片(約8mm四角)を小試料瓶に入れたFAA(formalin acetic alcohol)

No.1 固定液(50%アルコール100ml、市販10%ホルマリン*6.5ml、氷酢酸2.5mlの混合液)(*市販のホルマリン使用時に少量の活性炭を入れて攪拌、ろ過して有機酸を除いて使用)に入れ、5℃で1~3日間一次固定後、蒸留水で3回水洗。

2) 2%glutaraldehyde, 2%paraformaldehyde(0.05M caccodylate buf., pH7.2~7.4)で30分~1時間(室温)二次固定後、3~5回蒸留水で十分に水洗。

3) 1% O_3O_4 (0.05M caccodylate buf., pH7.2~7.4)で2~24時間(室温)三次固定後、蒸留水で3回水洗。

4) DMSO(dimethyl sulfoxide)の5, 30, 50%溶液で各30分処理。

5) 0.05M caccodylate buf. (pH7.2~7.4)で30分、2~3回洗い、さらに15分、5~6回蒸留水で洗ってDMSOを完全に除く。

6) 0.5% O_3O_4 (0.05M caccodylate buf.) (室温)約5日固定。

7) 0.05M caccodylate buf. (pH7.2~7.4)で10~20分、2回洗う。

8) 2% tannic acid (0.05M caccodylate buf., pH7.2~7.4)で1時間固定。後蒸留水で3回洗う。

9) 1% O_3O_4 (0.05M caccodylate buf., pH7.2~7.4)で1時間固定。

10) 蒸留水でよく洗う(4~5回)。

11) 30, 50, 70, 80, 90, 95, 100%, Abs. EtOHで各15分脱水。

12) 酢酸イソアミルに入れ、約12時間(2~3回交換)。

13) 臨界点乾燥、イオンスプッターで金蒸着して、35CF型走査電子顕微鏡(日本電子製)で観察および写真撮影を行った。

III ヒノキアスナロ漏脂病に関する前報の概要

1 病患部組織からの病原菌の分離

(福富ら、1996)(2)

漏脂病の典型的症状を示しているヒノキアスナロおよびヒノキの病患部樹幹断面組織の油つば形成部付近に存在する病原菌の分離を試みた結果、

1) 1994年に行ったヒノキアスナロ漏脂病病患部組織からの *Cryptosporiopsis* (以下 *Cr.* と略記する) に属する菌の分離率は能都町採集材料では、72.5% (総分離菌数172, 3樹)、小松市採集材料

では、66.9% (総分離菌数238, 2 樹)、両地の材料の総平均分離率69.7% (総分離菌数359, 5 樹)であった。

2) *Cistella* (以下 *Ci.* と略記する) および *Sarea* に属すると思われる菌は極く希にしか分離されなかった。特に内樹皮組織からの分離は見られなかった。

3) 以上、筆者らが行った菌分離試験の結果では、当地域におけるヒノキアスナロの自然発病樹幹部から高頻度に分離された菌は *Cr. sp.* 菌のみであった。

4) ヒノキの病患部からの菌の分離試験においても同様の傾向が見られ、*Cr.* に属する菌が高率 (57.9%; 総分離菌数114, 1 樹) に分離された。

5) *Cr.* 属の分離菌数株および島根県林業技術センター周藤靖雄博士より分譲された *Ci. japonica* 菌の分離系統などについて、1994年11月および1995年3月 (樹液の流動が停止している時期) に石川県林木育種場 (現石川県林業試験場志賀分場) ヒノキアスナロの樹幹ヘコルクボーラーにより穿孔した穴に、菌を培養したヒノキアスナロの樹皮 disc を、樹幹の穿孔穴にはめ込んで、その上を酢酸ビニル樹脂を主成分とするボンドで封じて接種した。試験の結果 (未発表)、供試菌系接種区の発病は無菌の樹皮 disc を接種した対照区と同等の30%前後の発病が見られ、全ての接種菌の病原性は確認されなかった。また、樹脂漏出が早期に停止したものを無発病として扱うと、70%前後の無発病率であった。従って、対照区における30%前後の発病を単純に接種の際の穿孔の傷のみによるとも考え難い。

2 病患部組織における油つぼ形成部位の分布

(福富ら、1996) (2)

1) 本病による感染が樹幹のどのような部位で起きているかを明らかにする目的で漏脂病の典型的症状を示しているヒノキアスナロの樹幹部における油つぼ形成部位の、個体全体における分布状態を調査した。

2) 外部より観察される、顕著な樹脂漏出部では樹皮の形成層付近まで達する多数の油つぼの形成が観察された。また、それらは肉眼的にかなり大きいものが多かった (図1, 2)。

3) 樹脂漏出の激しい部位では樹皮が壊死しているのみでなく、形成層より内部の木部まで変色

が見られる場合も多く、肥大が何年も前より停止していることが年輪によって確認された (図1-8-22, 29; 図2-9-52, 49)。

4) 油つぼの形成部位は外部より観察される樹脂漏出部位より更に上位まで観察された。上位 (年輪10前後) に形成されている油つぼは一般に小型で、無色のもの、淡褐色など淡い色のものが多い傾向があり、発病の初期段階と思われた。個体全体としては、油つぼ形成の全く見られない樹幹部分もかなり広く存在し、油つぼ形成部位は各所で局在する傾向があった。

5) 油つぼが連合してできた、大きな樹脂だまりの領域が樹皮の形成層部分まで拡がった場合は、広い範囲にわたり細胞の壊死が起これ、樹皮の形成層の部分まで進展した場合は木部の肥大も停止していたが、そのような例は症状の激しい部位でのみ見られた。多くの小型の油つぼは内樹皮の部分に形成されていた。このような場合は木部の肥大は正常に起り、油つぼは外方へ押し出されて行くので、形成層やその内部に病患部が拡がるのには、かなり永い期間を要するものと思われる。

6) 油つぼ形成は外部に症状が現れていない、かなり若い年輪のところで既に観察された。最も早いもので、年輪5~10の部位の樹皮内で既に観察された。したがって、本病の感染は5年から10年前後の比較的若い樹齢の樹や樹幹部位で、既に開始されるものと考えられる。これらの時期は外樹皮が発達する時期のようである。

IV 研究結果ならびに考察

1 ヒノキアスナロおよびヒノキ漏脂病の病徴

石川県ではヒノキアスナロはヒノキより漏脂病に強いといわれている。同じ林分内でしばしば見かけるヒノキ漏脂病樹の症状にはかなり進んだ激しいものが見られ、ヒノキアスナロは症状が軽い傾向にあるようである。ヒノキおよびヒノキアスナロ漏脂病の病徴を次のように類別した。ヒノキの病徴についてはすでに多くの研究者 (1, 12, 17, 18, 20, 23) によって述べられているところであるが、明瞭に相異が識別できることを重視して、3型に類別した。

1) ヒノキアスナロおよびヒノキ漏脂病の病徴の類別

全タイプに共通する症状としては、長期にわたる樹脂漏出の継続である。非感染性の物理的およ

び生理的傷害で傷害樹脂道が形成される場合でも、矢田によれば、例えば、枝打ち跡から年をまたいで樹脂の流出が認められたが、結局漏脂病には進展せずに回復した事例も観察されているという。しかし、前述の接種試験の例では、穿孔傷の70%前後は樹脂の流出を停止するかまたは極微量の流出で止まった。漏脂病患部では、継続する傷害により新生傷害樹脂道がさらに長期、永年にわたり継続して内樹皮内に形成され、樹脂が生産、漏出されることである。また、しばしば、樹脂漏出部付近の樹皮に大小様々の亀裂を生じることもある。

(I) 樹脂漏出型 — 樹幹部の顕著な変形はないが、樹脂が長期にわたって流出して止まらないもの。継続観察できない場合は樹脂漏出の長さ、固化した状態や透明な樹脂の重なり、白、茶褐色～黒褐色などの変色、などによって判断される。発病部位は色々で、樹幹部、枝基部、枝打ち跡、各種傷口などで見られるが、単なる傷害のみの場合はまもなく樹脂漏出は停止するが、本病発病部では漏出が長く継続されて止まらない(図1, 2)。

(II) 胴枯型 — 胴枯性で、油つぼが大きく連合して、黒褐色の壊死領域は形成層に達し、木部の肥大成長が停止されて幹は扁平に変形する。漏出樹脂の変色も顕著である(図1-8-20, 22, 29; 図2-9-58)。

(III) 溝腐型 — 縦長の病患部で凹凸の激しい溝腐れ状のもの、陥没した癌腫状の病患部を形成する。樹脂の漏出も多いが、木部が腐朽した部分や、部分的に肥大したり、樹皮の巻き込みが見られる。この症状はヒノキに多いようである。

漏脂病はこれらの症状を示す病害の総称名であると考えべきであろう。ヒノキアスナロ漏脂病ではI型の樹脂漏出型が普通に見られ、激しいものでII型が見られるが、これらは混在して現れた。これら3型は連続して発達するもので、II、III型はI型の長年かかって進行した症状である。一般に長い年月を経て病状が進行する疾病の場合複合感染などの問題を生じ症状は複雑になるものである。病原による症状の相異をあまり細かく類別しても、それらの初期～末期症状などを入れると、その専門家でも正確な類別判定は至難であろう。

図1および2はヒノキアスナロ樹幹表面における漏脂病の明瞭な樹脂漏出型病徴の写真である。中心部では形成層まで壊死が進行して、年輪は数

年にもわたり欠けて、変形が始まり、胴枯型症状を現し始めている。それは単に外部から見るだけでは初期症状は解りにくい、右に示した断面を、年輪を追って観察すると解りやすい。III型はヒノキアスナロではあまり見られないようである。断面写真に示した数字は油つぼの数を示し、そしてその分布状態が示されている。

2 病患部組織における傷害樹脂道の形成過程

針葉樹二次師部の樹脂道形成について、山中(1984)(22)は健全な樹幹の師部には樹脂道が認められず、傷害部の師部にのみ樹脂道が存在し、木口断面の師部における樹脂道の配列は接線方向に環状に連続配列するか、あるいは独立した樹脂道が接線状に点在していたと報告している。そして、スギやヒノキでは健全な樹幹の切断傷害が師部樹脂道の形成を誘起し、スギカミキリの被害木の樹幹二次師部には環状に連続配列する垂直樹脂道の形成を観察している。また、ヒノキ樹脂胴枯病に感染したヒノキ枝の病幹部の皮層、師部、形成層は壊死して胴枯部を作り、これを中心に樹脂道領域が接線方向に形成されていたという。また、スギに対するパラコートやシクロヘキシミド溶液処理などの化学的傷害は、二次師部に樹脂道を形成したと報告している。また、Yamanaka(1985)(23)は形成層帯と二次師部内層を含む領域は傷害エチレンの生成速度が速く樹脂道の形成や樹脂の合成に密接に関連しているものと考えた。

Kuroda & Suzuki(1985)(13)も漏脂病に罹病したヒノキの感染部の横断切片における多くの傷害樹脂道の二次師部内における形成を観察している。師部柔細胞の部分は傷害樹脂道の周りに接線方向の分裂によって2～4倍の数に増加し、樹脂道の周りのエピセリウム細胞として機能するという。これらの報告はいずれもスギおよびヒノキについての光学顕微鏡による組織学的研究で、とくに、傷害樹脂道の発達過程や病原体菌糸との関係については明らかにしていない。

筆者らはヒノキアスナロ(アテ)漏脂病の自然発病の幹部組織について走査電子顕微鏡により詳細な観察を行った。

まず、発病幹部組織における傷害樹脂道の形成過程について走査電子顕微鏡による観察を行った結果について述べると、図3は第9樹の21番目の

ブロック (105cm位置) の横断面について観察したもので、図に見られるように、初期の傷害樹脂道 (TRC) 形成は樹皮 (B) の外樹皮に近い内樹皮組織内で接線方向に横に並んで観察された (図3)。この点、ヒノキアスナロにおいても、前述の山中 (1984)(22) および Kuroda & Suzuki (1985)(13) らの結果の通りであった。図4は3図④部分の拡大写真で、傷害樹脂道 (TRC) は数層のエピセリウム (E) 細胞によって取り囲まれていて、放射柔組織 (PR) は傷害樹脂道形成部で中断されている。

本病患部組織に形成された傷害樹脂道 (TRC) は樹脂を生産するエピセリウム (E) の細胞間隙に発達していた (図5)。そして、傷害樹脂道の周囲はかなり長期にわたり3層前後の活性のあるエピセリウム細胞 (EC) によって取り囲まれている。このエピセリウムに続く樹皮組織の配列は外方、内方共に基本的な変化はなく、「師細胞 (S) - じん皮繊維 (F) - 師細胞 (S) - 師部柔細胞 (P)」の基本配列 (S-F-S-P) が繰り返されている (図5)。要するに、師細胞と師細胞の間の師部柔細胞の部分にエピセリウムの組織が形成、発達し、傷害樹脂道を形成している。これらの傷害樹脂道を含むエピセリウム組織は、形成層における外方への内樹皮の分化発達により外樹皮へと押し出されて行く (図3)。進行した漏脂病患部で、外樹皮内にも極めて多数の発達した傷害樹脂道が観察されるのは内樹皮で形成したものが、外樹皮へと押し出されたもので、ついには、外樹皮表面で裂開しているのが肉眼でも観察される。

本病患部での病状は一般に患部の中心部ほど病状が激しく、周辺に行くに従って軽症になり、ついには傷害樹脂道形成のない部分へと段階的に変化していた。傷害樹脂道の発達も中心ほど大きく、数個が連合しているが、周辺に行くに従って樹皮内に接線方向に環状に配列して形成される傷害樹脂道も、患部中心から遠ざかるほど初期段階のものとなっている。したがって、新しい病患部組織では、傷害樹脂道形成の各段階を観察することができる。(図3, 6~8)。

新しい傷害樹脂道の形成は内樹皮の外樹皮に近い部分から中程で盛んであるが、しだいに樹皮の内方へと形成部位が移行するのが普通に見られる。この点、Kurodaら (1985) がヒノキ漏脂病につ

いて、内樹皮最内層の部分に傷害樹脂道の形成が観察されるとしているのと若干異なっている。そして、ついに形成層に達すると、木部組織の形成が停止されて変形が起こった。1列に並んでいる各段階の形成過程を観察すると、樹脂を生産するエピセリウムの分化は師部柔細胞 (P) の軸方向への2分裂を第1段階として (図8, iD)、第2段階 (2D) ではその内方の細胞が2分裂して3層になり、次いで、外方の細胞が2分裂して4層 (4D) となっている。初生傷害樹脂道 (iTTC) はこれが4層から6層 (6D) になる段階で、これら細胞の中心部付近の細胞間隙に発達している (図7)。

従って、師部柔細胞の異常分裂によって生じた細胞 (エピセリウム細胞) で樹脂産生が始まり、細胞外へ分泌され始めるのは、師部柔細胞が4細胞に分裂した細胞 (4D) が成熟する頃と考えられる。その後、10層前後に分裂した頃には、エピセリウムは発達して接線方向に次々と多数の傷害樹脂道 (TRC) を形成、発達させている (図4および6)。その後、これら多数の傷害樹脂道に、多量の樹脂を蓄積し、肥大し、連合して、巨大樹脂道に発達する。この過程で一部のエピセリウム細胞および周辺細胞の壊死が進行する。

3 病患部組織内における病原菌糸の分布

ヒノキアスナロ漏脂病患部組織中における糸状菌菌糸の分布状態を図9~14に示した。図9は、試料樹No.8の16番目のブロック (80cm位置) の断面の走査電顕写真で、傷害樹脂道 (TRC) は数層で形成されていた。一般に傷害樹脂道内における菌糸の存在は希で、少ない。内樹皮組織の生細胞組織では、各所で菌糸が存在するが、60~70%の分離率で特定の菌種が分離されていることを考えると、*Cr.* の菌糸が高い確率で存在すると考えられる。

図9の○はこの程度の倍率では菌糸を確認しにくいので、1例として、円部分の拡大写真を図11に示した。この中心部分の組織はエピセリウムではなく、師部組織で、内容物を含む細胞は師部柔細胞 (P) で、師細胞 (S)、じん皮繊維細胞 (F) など、S-P-S-F-S-P-Sなどの配列が見られる。

一般に活性の高い樹脂道内には菌糸はまれにしは見られないが、図10の写真に見られるように、

樹脂道によっては極めて多数の菌糸が存在している例もある。外樹皮部分に押し出された樹脂道などで多く観察されるが、菌糸の太さにもやや変化が見られ、このような外樹皮組織では数種の菌と混在しているものと思われる。図11では、細胞質に富んだ師部柔細胞 (P) 内などに数は少ないが明らかに菌糸の存在が観察される。このように生きている内樹皮細胞内に存在する菌糸は寄生性を有する菌と考えて良からう。普通、腐生菌は生きた細胞へは侵入できないからである。

図12は試料樹No.9の21番目のブロック (105cm位置) の断面の写真。細胞質に富む師部柔細胞 (P) や放射柔組織細胞 (RC) における菌糸の存在が観察される。これらの菌糸は図11の場合同様に師細胞内へも容易に侵入、蔓延するようである。

図13および14は試料樹No.7の第30番目のブロック (150cmの位置) の外樹皮組織の縦断面の写真である。極めて多数の菌糸が各種組織の細胞内に蔓延しているのが観察される。菌糸の太さがやや変化に富む点から、数種の腐生菌が混在しているものと考えられる。しかし、これら組織からも極めて高率に *Cr.* 属の菌が分離されているので、この病原菌の存在は明らかであると考えてよからう。図14は図13の一部の拡大写真である。

以上一連の観察結果から、本病特有の病徴である樹脂道の形成は、生きた組織である内樹皮組織で形成されて発達し、そのような師部柔細胞や師細胞をはじめとする内樹皮組織の細胞内へ糸状菌の菌糸がわずかであるが蔓延して寄生していて、長期にわたり傷害樹脂道を形成させる様な刺激を与える結果、漏脂病のような症状の病害を引き起こすものと考えてよいのではなかろうか。

V 論 議

ヒノキ漏脂病は大正時代の初期頃より東北地方を中心にその発生が問題視され始めていたようであるが、学術的な報告としては北島 (1927)(10) により原因不明の新病害として注意された。そして、組織を鏡検して、すでにこの部分に多数の菌糸の侵入せるを認める …… としている。以後、本病の原因については諸説が出され、その主なものは北島の言及した害虫説、気象要因説、病原菌説の3つに要約されようといわれている (鈴木ら 1988)(18)。戦後、伊藤 (1954)(5) によれば生

物によるとする説は影が薄くなり雪圧あるいは凍害というような気象因子がより妥当性があるように見える (伊藤 1971)(7) と考えられてきた (鈴木ら 1988)(18)。生物説の影が薄くなった理由には、それを立証できなかったことによると思われる。それは多分病原菌の分離が出来なかったことによると思われる。それは現在提唱されている病原菌はいずれも生育速度が極めて遅いため、他の雑菌の陰に隠れて分離できなかったと思われる。この問題を周藤らは普通の菌は5℃、10℃では発育しないのに、病原菌と考えられる菌はいずれもこのような低温下でわずかに発育できることに着目して、このような温度下に1ヶ月~数ヶ月おいて分離することに成功している (17)。筆者らも現在この方法で60%を越える高い分離率で *Cr.* 菌を簡単に分離している。しかし、筆者らが行った試験において、穿孔無菌 disc 接種の対照区でも分離菌接種区と同等の30%前後の発病率を示し、高率に分離された菌糸の全てにおいてヒノキアスナロに対する病原性は確認されなかった。また、穿孔接種処理の70%前後は無発病またはそれに近い状態のものであった。したがって、単純に付傷によって形成される傷害樹脂道によって漏脂病が発病するとは考え難く、付傷部での糸状菌などの関与でも考えないと説明できないのではなかろうか。

1本の発病樹における油つぼや樹脂道の分布状態、年々病患部が中心から周辺部に向かって広がっていくこと、また樹脂道や油つぼの形成、発達も中心部が進行していて、周辺部で初期段階のものが見られることなど、自然発生の場合で傷の見られない樹幹部で発病が見られること、また、本研究において内樹皮の樹脂道形成部付近に糸状菌が観察されることなど、を考えると生物要因の関与を考えざるをえないのではなかろうか。しかし、病患部より高率に分離された菌の病原性は確認されなかった。

ヒノキ漏脂病について、寄生菌の寄生による疾病であるとする報告も多く、これまでに病原菌として主張されたものを挙げると以下のようなものである。

Cryptosporiopsis abietina Petrak : 小林ら (1985)(11)、金子ら (1985)(9)、小林ら (1990)(12)、作山ら (1987)(14)、周藤・金森 (1990)(17)

Cryptosporiopsis sp. : 林・小林 (1985)(3)、
林・小林 (1987)(4)、横沢ら (1986)(25)、横
沢ら (1989)(24)

Cistella japonica Sudo et Kobayashi : 周藤・
金森 (1990)(17)、周藤 (1995)(16)

Amylosterum laevigatum (Fr. et Fr.) 鳥取
県 (17)

Sarea resiniae (Fr. ex Fr.) Kuntze Suto
(1985)(15)、横沢 (1989)(24) 病原性は弱い。

ヒノキアスナロ漏脂病については現在までこの
種の研究が少ない。ヒノキの病原菌との関係を含
めて今後研究が進められることが望まれる。

VI 摘 要

1) 本報告はヒノキアスナロ漏脂病の自然感染
組織の走査電子顕微鏡観察によって傷害樹脂道形
成過程の解明、樹脂道形成部位付近の組織内にお
ける糸状菌の分布状態の探索を行い、本病発生の
原因ならびに発生機作を明らかにする目的で行っ
た研究である。

2) ヒノキアスナロおよびヒノキ漏脂病の病徴
を、(I)樹脂漏出型、(II)胴枯型、(III)溝腐型の3型に
類別した。全タイプに共通する症状としては、長
期にわたる樹脂漏出の継続である。漏脂病はこれ
らの症状を示す病害の総称名であると考えべき
であろう。ヒノキアスナロ漏脂病ではI型の樹脂
漏出型が普通に見られるが、一般に、これら3型
は連続して発達するもので、II、III型はI型の長
年かかって進行した症状であるが、寄生する菌の
種類も関係するようである。

3) 本病患部組織に形成された傷害樹脂道は樹
脂を生産するエピセリウム細胞の細胞間隙に発達し
ていた。樹脂道の周囲はかなり長期にわたり3層
前後の活性のあるエピセリウム細胞によって取り
囲まれている。このエピセリウムに続く樹皮組
織の配列は外方、内方共に基本的な変化はなく、
「師細胞(S) - じん皮繊維(F) - 師細胞(S) -
師部柔細胞(P)」の基本配列(S-F-S-P)が
繰り返されている。要するに、師部柔細胞の部分
のみがエピセリウムと傷害樹脂道形成に関わっ
ていた。

4) 本病患部での病状は一般に患部の中心部ほ
ど病状が激しく、周辺に行くに従って軽症になり、
ついには傷害樹脂道形成のない部分へと段階的に
変化していた。

5) 傷害樹脂道の発達も中心ほど大きく、数個
が連合しているが、周辺に行くに従って樹皮内に
接線方向に環状に配列して形成される。

6) 傷害樹脂道形成は、後に、更に内樹皮の内
方へと形成部位が移行するのが普通に見られる。
そして、ついに形成層近くで形成されるようにな
ると、形成層の壊死が起こり木部組織の形成が停
止されて変形が起こっていた。

7) 従って、師部柔細胞の異常分裂によって生
じた細胞で樹脂産生が始まり、細胞外へ分泌され
始めるのは、師部柔細胞が4細胞に分裂して細胞
が成熟する頃であった。

8) エピセリウム細胞が10層前後に分裂した
頃には、エピセリウムは発達して接線方向に次々
と多数の傷害樹脂道を形成、発達させる。

9) 初生傷害樹脂道の形成は生きている組織で
ある内樹皮組織内で形成され、その部位は中間部
から外樹皮に近い部分が多かった。深部の形成層
に近い部分で形成された場合は年輪の形成が停止
され、木部組織の変形がみられた。

10) 樹脂生産細胞であるエピセリウム細胞は
幹の横断面でいえば1細胞列からなる師部柔細胞
がまず2分裂し、その後5~10個に分裂し細胞も
肥大した。4~5細胞列に分裂した頃より、細胞
間に間隙を生じその後明瞭な油つぽに発達した。

11) 病原菌糸は内樹皮組織内では多数が集団を
なして存在することはなく、まばらに観察された。
外樹皮組織では、ところにより菌糸の塊が観察さ
れた。

12) 以上により、本病特有の病徴である傷害樹
脂道の形成は、生きた組織である内樹皮組織で形
成されて発達した。そのような師部柔細胞や師細
胞をはじめとする内樹皮組織の生細胞内への菌糸
の蔓延が確認された。このことは継続される傷害
樹脂道形成への糸状菌の関与を示唆しているので
はなからうか。

VII 引用文献

- (1) 福田健二・山口秀幸・梶幹男・鈴木和夫・
紙谷智彦・柳田範久・川口米美・矢田豊
(1988) ヒノキ人工林における漏脂性病害の
発生実態および罹病木の水分生理状態. 99回
日林論541~542.
- (2) 福富雅夫・矢田豊・江崎功二郎・三浦進
(1996) アテ漏脂病の病原体の探索と発生生

- 態の解明に関する研究. 1) 自然発病アテ樹幹における油つぼの形成部位の分布. 2) 自然発病アテ樹幹病患部からの病原菌の分離. 石川県農業短大農業資源研年報(平成5~6年度), No.5: 10~13.
- (3) 林弘子・小林享夫(1985) ヒノキ漏脂症の病原学的研究(予報)(II)—主要分離菌の各種針葉樹に対する病原性—. 96回日林論: 479~480.
- (4) 林弘子・小林享夫・窪野高德(1987) ヒノキ漏脂症の病原学的研究(予報)(IV)—主要分離菌の各種針葉樹に対する病原性—. 98回日林論: 521~522.
- (5) 伊藤一雄(1954) ヒノキの漏脂病について, 森林防疫ニュース29: 324~326.
- (6) 伊藤一雄(1966) 日本における樹病学発達の展望. 日本樹病学史. (III) 林試研報, 193: 1~375.
- (7) 伊藤一雄(1971) 樹病学大系 I: 279pp, 農林出版
- (8) 伊藤一雄・藍野祐久(1982) 原色樹木病害図鑑, 200pp, 創文堂.
- (9) 金子繁・横沢良憲・陳野好之(1985) ヒノキ漏脂症患者部に生息する2種の盤菌類. 日林東北支誌37: 221~222.
- (10) 北島君三(1927) 各地方の森林に於いて近年注意せらるるに至りたる新病害に就て. 日林誌, 9(8): 34~42.
- (11) 小林享夫・林弘子・楠木学・窪野高德(1985) ヒノキ漏脂症の病原学的研究(予報)(I)—漏脂症患者部からの糸状菌の分離・検出—. 96回日林論: 477~478.
- (12) 小林享夫・林弘子・窪野高德・田端雅進・伊藤進一郎(1990) ヒノキ漏脂病に関する病原学的ならびに病理学的研究. I. 病原菌の探索・分類と病原性, 森林総研研報357: 51~93.
- (13) Kuroda, K. & Suzuki, K. (1985) Anatomical studies on "Rooshi Resinous Canker of Hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). 日林誌67: 63~66.
- (14) 作山健・外館聖八朗・小林光憲(1987) ヒノキ漏脂症患者部から分離された糸状菌とその病原性. 98回日林論: 519~520.
- (15) Suto, Y. (1985) A new collection of a resinicolous discomycete, *Sarea resinae*, and some physiological characteristics of the fungus. Trans. mycol. Soc. Japan26: 331~341.
- (16) 周藤靖雄(1995) ヒノキ漏脂症の被害実態と防除技術に関する調査—関西ブロックのとりまとめ—. 森林防疫44: 46~53
- (17) 周藤靖雄・金森弘樹(1990) 島根県におけるヒノキ漏脂症の被害解析と病因究明, 島根林技研報41: 31~50.
- (18) 鈴木和夫・福田健二・梶幹男・紙谷智彦(1988) ヒノキ・ヒノキアスナロ漏脂症の発生機序. 東大農演報, 80, 1~23.
- (19) 矢田豊(1989) ヒノキ・アテ漏脂症の被害実態に関する研究, (I) 樹脂流出状況の季節変化. 石川林試研報19: 13~18.
- (20) 矢田豊(1990) アテ漏脂症被害木における樹脂流出状況の季節変化. 森林防疫39: 221~225.
- (21) 矢田豊・小谷二郎(1989) 多雪地帯におけるヒノキ・アテ漏脂症の発生実態 — 石川県小松市におけるアテ林の被害状況. 100回日林論: 621~622.
- (22) 山中勝次(1984) 針葉樹二次師部の樹脂道. 木材学会誌30: 347~353.
- (23) Yamanaka, K. (1985) Ethylene production in *Chamaecyparis obtusa* phloem and xylem tissues in response to wounding. Mokuzai Gakkaishi31: 703~710.
- (24) 横沢良憲・金子繁・窪野高德(1989) ヒノキ漏脂症患者部からの分離菌による接種試験(II)—接種後5年目までの経過—. 日林東北支誌41: 199~201.
- (25) 横沢良憲・金子繁・陳野好之(1986) ヒノキ漏脂症患者部からの分離菌による接種試験(1). —接種後2年目までの経過—. 日林東北支誌38: 207~208.

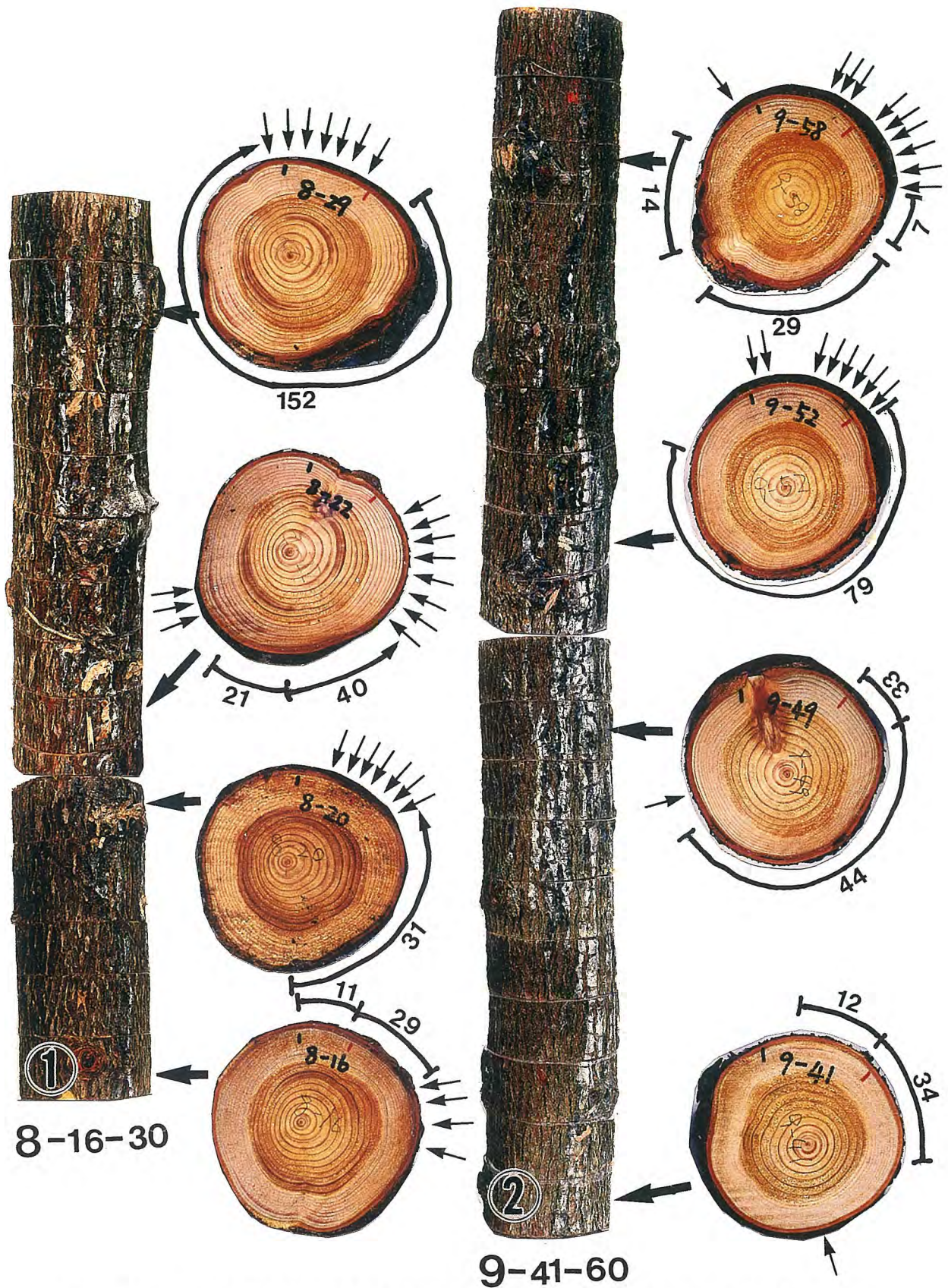
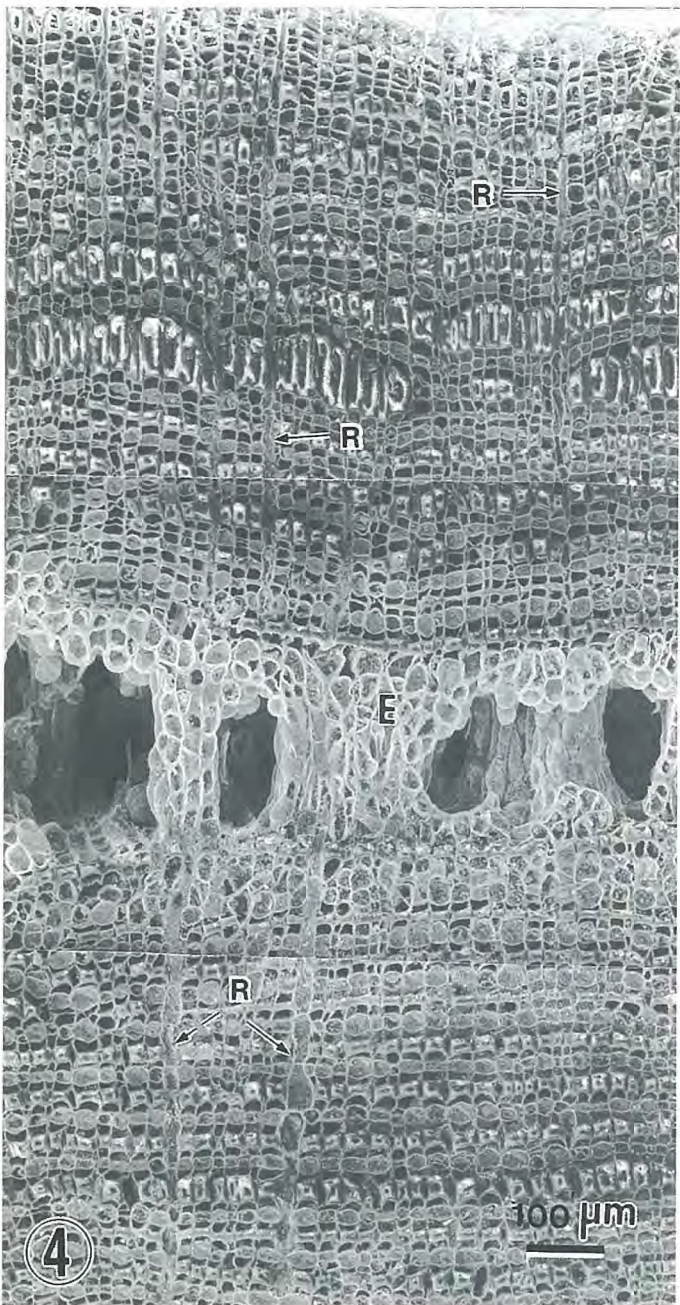
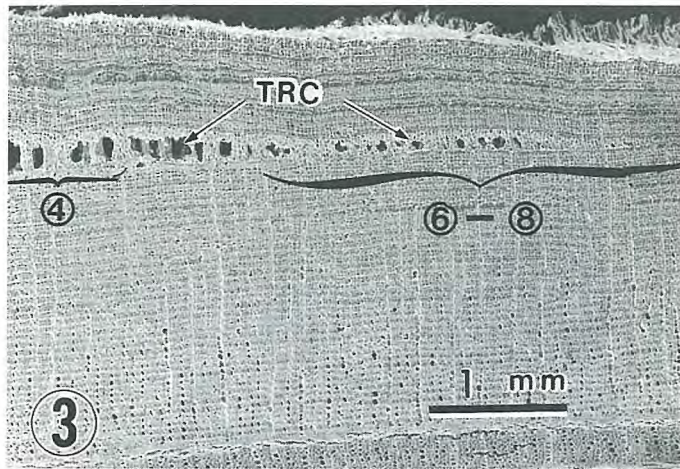


図1および2. ヒノキアスナロ樹幹表面における漏脂病の病徴と切断面における油つぼの分布状態

図1：試料樹No. 8の地際より5間隔に輪切にした第16～30番目の樹幹部外部における樹脂の漏出状態の写真と4カ所の横断面における油つぼの分布状態を示す。

図2：試料樹No. 9の41～60番目の横断面である。断面の高さはこれらの数に5cmを乗じた位置である。小矢印は肉眼的に単生して観察される油つぼの位置を示し、周囲の線部分は1層または数層が連生または密集して観察される油つぼの概数を示す。また、大矢印はブロックの切り出し位置を示す。



《図記号説明》

- H …… 菌糸 (hypha)
- B …… 樹皮 (bark)
- OB …… 外樹皮 (outer bark)
- IB …… 内樹皮 (inner bark)
- S …… 篩細胞 (sieve cell)
- F …… じん皮繊維 (bast fiber)
- P …… 篩部柔細胞
(phloem parenchyma cell)
- R …… 篩部放射組織 (phloem ray)
- RC …… 放射柔組織細胞
(ray parenchyma cell)
- iD …… 初生分裂 (initial division)
- 2D …… 第2期分裂 (2nd division)
- 3D …… 第3期分裂 (3rd division)
- 4D …… 第4期分裂 (4th division)
- E …… エピセリウム
(epithelium)
- EC …… エピセリウム細胞
(epithelial cell)
- iTRC …… 初生傷害樹脂道
(initial traumatic resin canal)
- TRC …… 傷害樹脂道
(traumatic resin canal)
- C …… 形成層 (cambium)
- X …… 木部 (xylem)

図3および4. ヒノキアスナロ漏脂病患部組織における傷害樹脂道形成の位置を示す走査電子顕微鏡写真。(試料第9樹の第21番目のブロック(105cm位置)の断面)。

図3：初期の傷害樹脂道 (TRC) 形成は樹皮 (B) の外樹皮に近い内樹皮組織内で接線方向に横に並んで起こっている。

図4：上図④部分の拡大写真。傷害樹脂道 (TRC) は数層のエピセリウム (E) 細胞によって取り囲まれている。放射柔組織 (R) は傷害樹脂道形成部で中断されている。

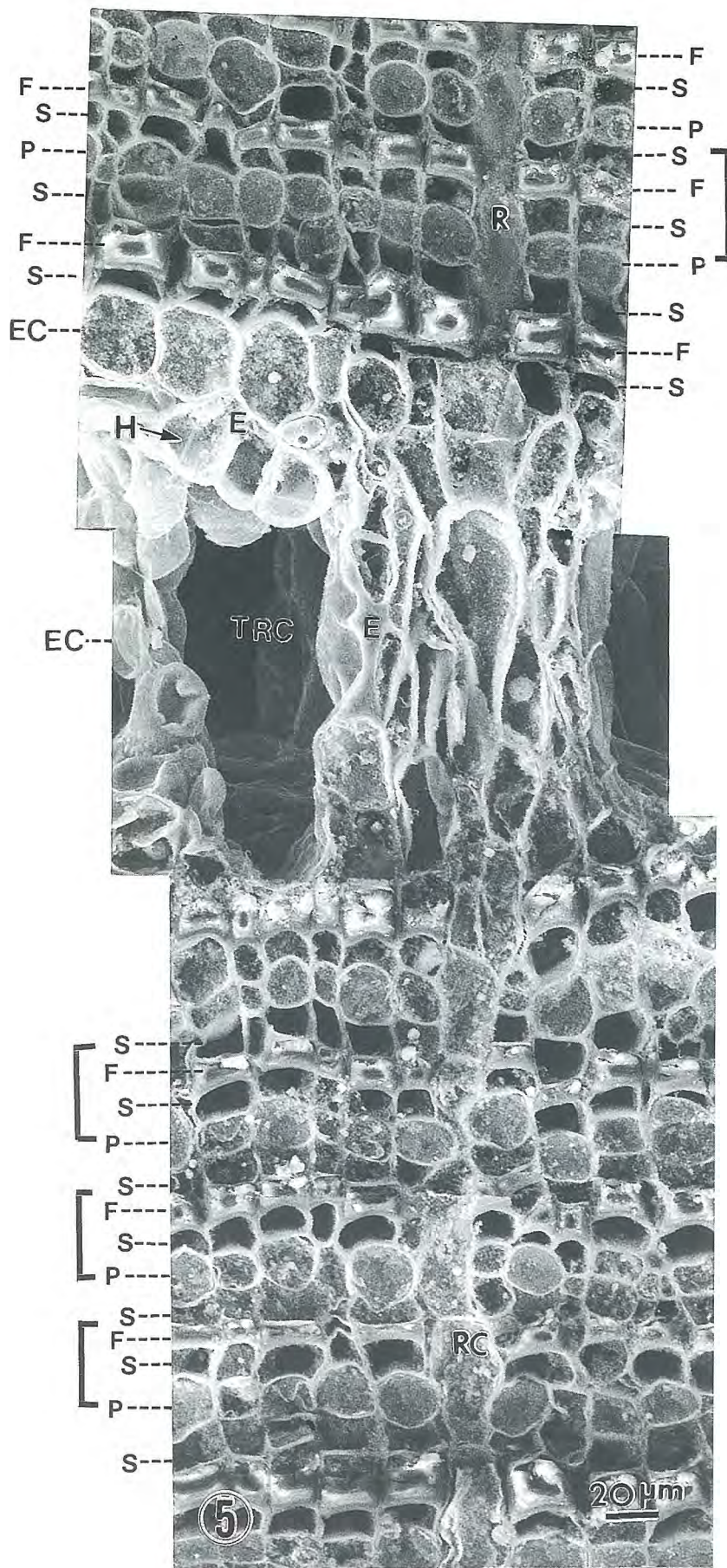


図5：ヒノキアスナロ漏脂病病
患部組織に形成された傷害樹
脂道ならびに周辺組織の走査
電子顕微鏡写真。

樹脂を生産するエピセリウム (E) の細胞間隙に傷害樹脂道 (TRC) が発達している。傷害樹脂道の周囲はかなり長期にわたり3層前後の活性のあるエピセリウム細胞 (EC) によって取り囲まれている。このエピセリウムに続く組織の配列は外方、内方共に基本的な変化はなく、「篩細胞 (S) — じん皮繊維 (F) — 篩細胞 (S) — 篩部柔細胞 (P)」の基本配列 (S—F—S—P) が繰り返される。要するに、篩細胞と篩細胞の間の篩部柔細胞の部分のみがエピセリウムと傷害樹脂道に替わっている。

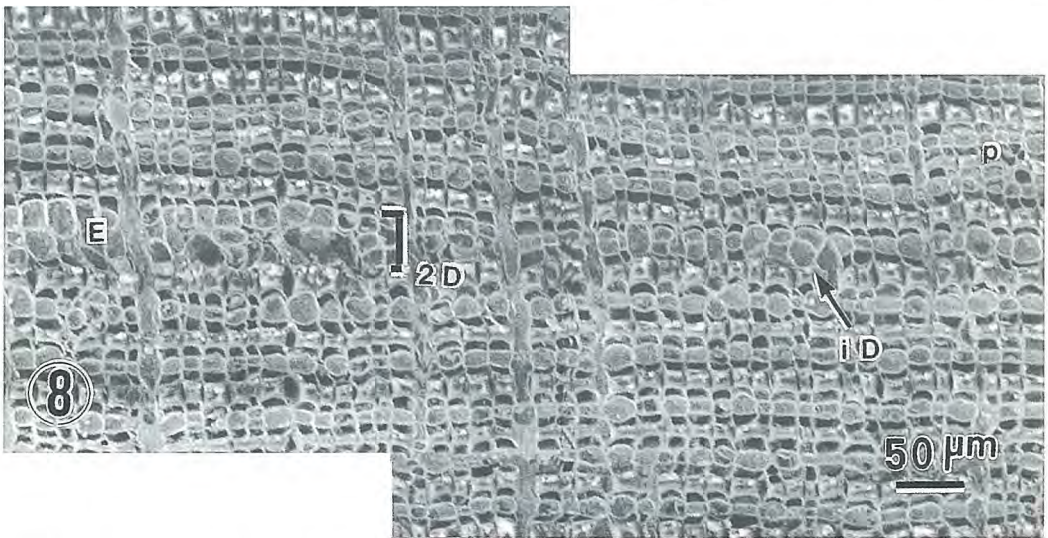
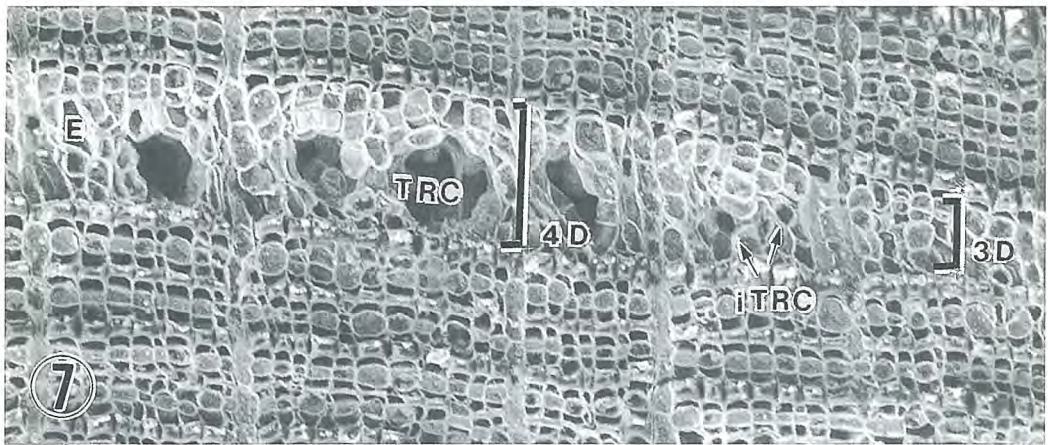
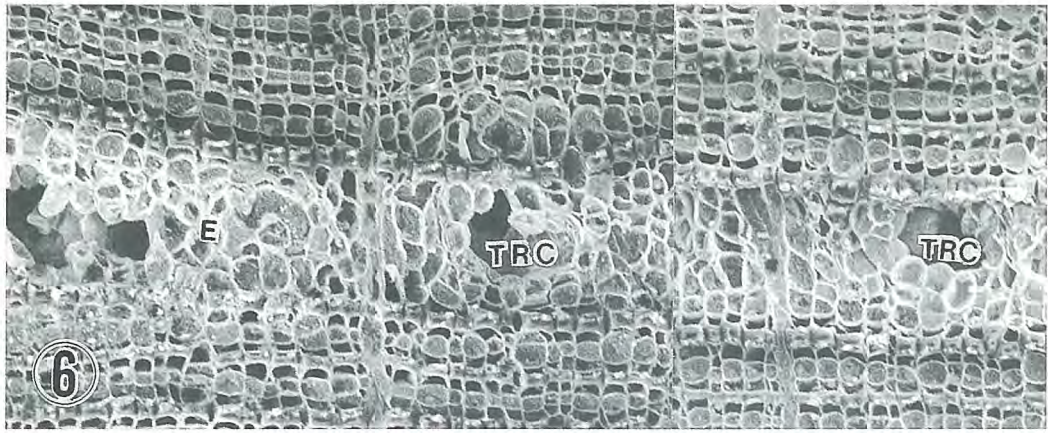


図6～8. 初生傷害樹脂道の各種発達過程の走査電子顕微鏡写真。図6～8は接線方向の連続写真である。これらの写真に傷害樹脂道の発達の初期過程の各段階が観察される。それは、漏脂病患部の症状が中心部ほど激しく、周辺に行くに従って軽症になり、ついには傷害樹脂道形成のない部分へと段階的に変化していることによる。その後は、更に内樹皮の内方へと形成部位が移行するのが普通に観察された。1列に並んでいる各段階の形成過程を観察すると、樹脂を生産するエピセリウムの分化は師部柔細胞(P)の軸方向への2分裂を第1段階として(図8)第2段階ではその内方の細胞が2分裂して、次いで、外方の細胞が2分裂して4層となる。初生傷害樹脂道はこれが4層から6層になる段階で、これら細胞の中心部付近の細胞間隙に発達している(図7-iTRC)。従って、師部柔細胞の異常分裂によって生じた細胞で樹脂産生が始まり、細胞外へ分泌され始めるのは、師部柔細胞が4細胞に分裂した細胞が成熟する頃と考えられる。その後、10層前後に分裂した頃には、エピセリウムは発達して接線方向に次々と多数の傷害樹脂道(TRC)を形成、発達させている(図4および6)。

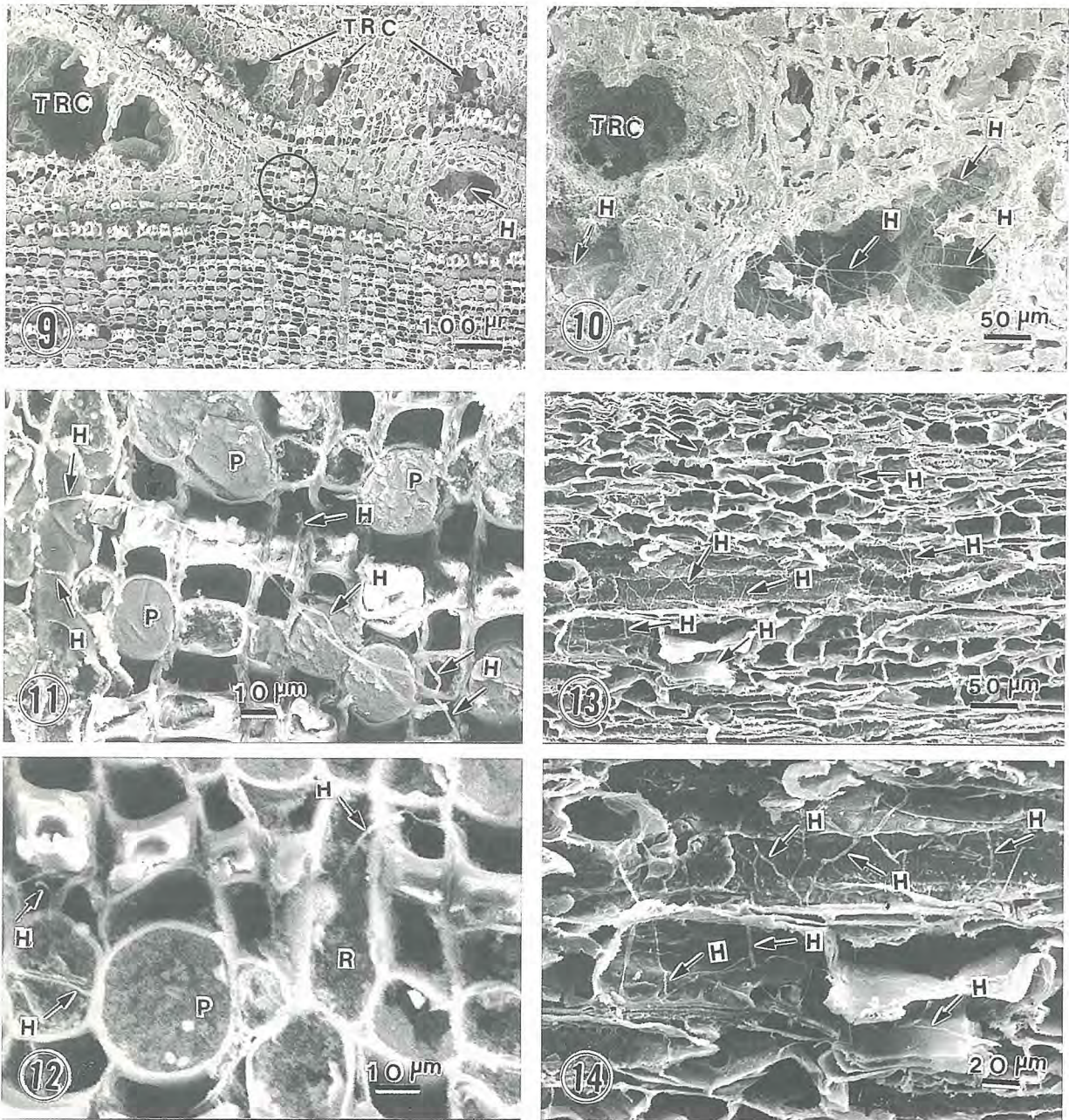


図9～14. ヒノキアスナロ漏脂病患部組織における糸状菌菌糸の分布状態の走査電顕写真。

- 図9：試料樹No. 8の16番目のブロック（基部より80cm位置）の断面の写真。傷害樹脂道（TRC）は数層で形成されていた。一般に樹脂道内における菌糸の存在はまれで、少ない。内樹皮組織の生細胞組織の各所で糸状菌の菌糸が存在するが、この程度の倍率では確認しにくいので、1例として、円部分の拡大写真を図11に示した。
- 図10：一般に活性の高い傷害樹脂道内には菌糸はまれにしか見られないが、ときにこの写真のように極めて多数の菌糸が存在している例もある。外樹皮部分に押し出された樹脂道などで多く見られ、菌糸の太さにもやや変化が見られた。
- 図11：図9の円部の拡大写真。細胞質に富んだ師部柔細胞（P）や師細胞（S）内などに数は少ないが明らかに糸状菌の菌糸が観察される。このように生きている内樹皮細胞内に存在する菌糸は寄生性を有する菌と考えるのがよろしい。普通、腐生菌は生きた細胞へは侵入できないからである。
- 図12：試料樹No. 9の第21番目のブロック（105cm位置）の横断面の写真。細胞質に富む師部柔細胞（P）や放射柔組織細胞（RC）における菌糸の存在が観察される。これらの菌糸は図11の場合同様に師細胞内へも容易に侵入、蔓延するようである。
- 図13および14：試料樹No. 7の第30番目のブロック（150cmの位置）の外樹皮組織の縦断面の写真。極めて多数の菌糸が各種組織の細胞内に蔓延しているのが観察される。菌糸の太さがやや変化に富む点から、数種の菌が混在しているものと考えられる。しかし、これら組織からも極めて高率に *Cryptosporiopsis* 属の菌が分離されているので、この菌の存在は明らかであると考えてよからう。図14は図13の一部の拡大写真である。