

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20380086

研究課題名 (和文) マツ材線虫病におけるキャビテーション発生機構の解明

研究課題名 (英文) Mechanism of cavitation occurrence in pine wilt disease

研究代表者

福田健二 (Kenji Fukuda)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：30208954

研究成果の概要 (和文)：マツ材線虫病における萎凋枯死過程の理解のため、マツノザイセンチュウ接種後の通水阻害の進展を MRI を用いて非破壊観察するとともに、マツノザイセンチュウの木部における分布と MRI で観察した通水阻害発生分布の比較を行った。その結果、接種部における多数の線虫の存在は面的な通水阻害をもたらし、樹脂道周辺の斑状の通水阻害は移動する線虫によるものと考えられた。

研究成果の概要 (英文)：Cavitation development in pine wilt disease was monitored non-destructively by MRI after inoculation of pine wood nematodes. The massed embolism occurred around the nematode inoculation point, and it developed gradually. Patchy embolisms around xylem resin canals also occurred independently from the massed embolism. The patchy embolisms were thought to be induced by migrating nematodes in the resin canals.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	11,300,000	3,390,000	14,690,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：森林科学

科研費の分科・細目：森林科学

キーワード：マツノザイセンチュウ、キャビテーション、MRI、樹液流、通水阻害

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、(株)エム・アールテクノロジー社と共同で、樹木の水分生理状態を非破壊で継続的に観察することができる MRI (核磁気共鳴画像装置)を開発し、東京大学柏キャンパス環境棟内に設置した。この MRI により Utsuzawa et al. (2005) および Fukuda et al. (2007) は、マツ材線虫病の病徴進展におけるキャビテーションの発生経過を可視化することに成功した。しかし、この MRI では、特定の 1 個体の樹幹の 1 か所への

み信号検出用コイルを固定し、画像を得るという方式であったため、樹幹全体での病徴進展を議論することは困難であった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、この MRI をさらに高機能化し、樹液流速の可視化、樹体全体での水分通導阻害の分布を可視化するシステムを構築することとした。すなわち、U字型コイルの適用と撮像位置を鉛直方向に変更できる可動式磁石支持装置の採用である。それ

とともに、線虫の分布やクライオ SEM による仮道管レベルのキャビテーションの分布との対応から、マツ材線虫病の潜伏期、前期、進展期におけるキャビテーション発生メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

可動式磁石とU字型コイルを利用した樹木用 MRI の開発を MR テクノロジー社と共同で行い、鮮明なマツの水分布画像を得られるシステムを構築した(図 1)。これを用いて、マツノザイセンチュウ接種苗のキャビテーションの進展過程の画像を取得するとともに、適切なタイミングで試料を採取し、線虫の分離と解剖観察、クライオ SEM 観察を併用することにより、線虫の分布とキャビテーションのより微細なレベルでの分布と MRI 画像との比較を行った。

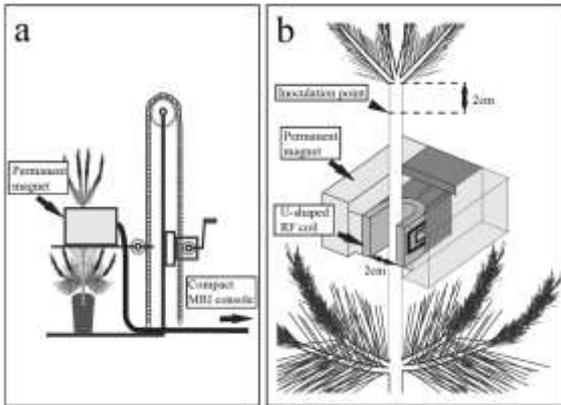


図 1 可動式磁石と U 字型コイルを用いた MRI システムの構築

4. 研究成果

(1) 材線虫接種クロマツ苗における通水障害の立体構造の非破壊観察

2008 年 7 月 11 日にマツノザイセンチュウを接種した場所(0cm)から上下 1cm の範囲では、面的な通水障害(集塊エンボリズムと命名)が接種直後に形成され、時間とともにその範囲は全方向に拡大した(図 2 上段)。一方、接種点から離れた部位では、斑点状の通水障害(散在エンボリズムと命名)が、樹脂道の周囲に発生した(図 2 下段)。散在エンボリズムは縦に長い形状をしており、集塊エンボリズムとは独立に発生しうることが示された。



図 2 MRI で観察された通水障害領域

次に、他か差別の通水障害面積の継時的変化を検討した結果、通水障害面積はいずれの高さでも病徴の進展期に一斉に拡大した(図 3A)。また、障害面積は接種部から離れるにつれ小さくなる傾向があった(図 3B)。

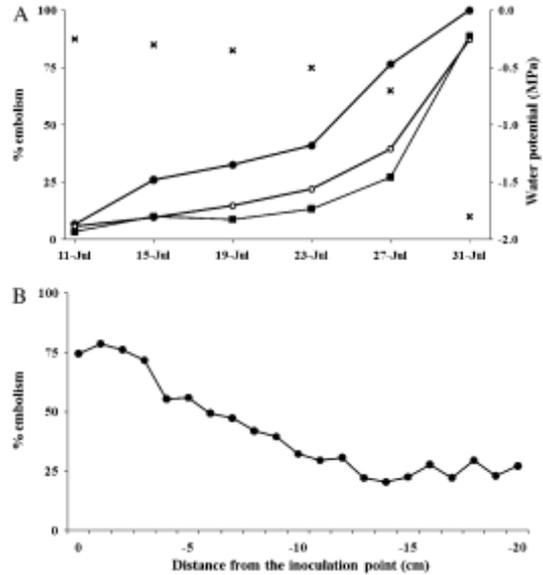


図 3 異なる高さの断面における通水障害領域の拡大過程

(2) 線虫接種後の通水障害の進展と線虫分布との関係の解明

2009 年 7 月接種と 9 月接種において取得した MRI 画像では、通水障害の拡大程度に応じて、病徴を Phase1 から Phase5 の 5 段階に分類した。

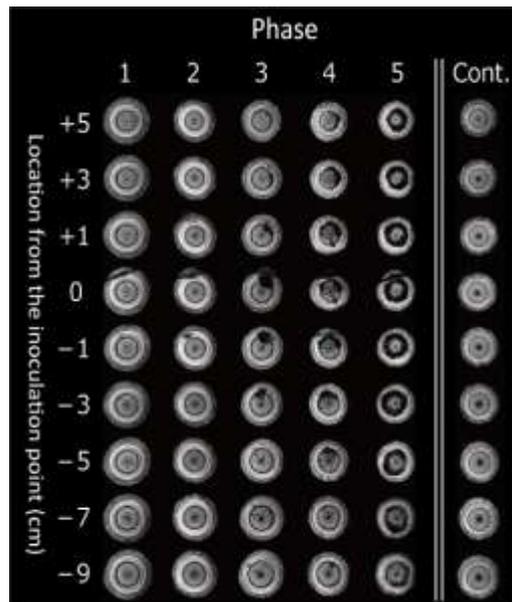


図 4 接種後の通水障害の進展

7月接種では、Phase 1, Phase 2の時期が長く、Phase 3に達した後、2日以内にPhase 4, Phase 5へと急速に通水阻害領域が拡大した。一方、9月接種では、Phase 3以上に進んだものはみられず、通水阻害の拡大範囲は限定的であった。

これらの個体のうち、代表的なものを各Phaseから選び図4に示した。

また、それぞれの木部からペールマン法により分離された線虫数を図5に示した。

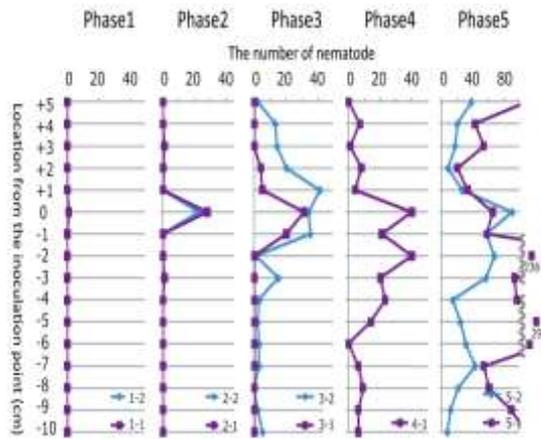


図5 木部内の線虫分布

7月接種個体の中から、接種5日後にPhase 4に該当した個体では、接種部の2cm上から2cm下の範囲で接種側の皮層樹脂道、木部樹脂道に多数の線虫が観察され、-3cm以下の部位では接種部側の木部樹脂道に線虫がみられた。Phase 5の個体では、すべての撮像部位の横断面全体で木部樹脂道内に多数の線虫が存在し、皮層樹脂道、形成層にも広く線虫が分布していた。これらの線虫分布は、MRIで観察された黒色領域の面的な分布とある程度対応していたことから、通水阻害進展と組織内の線虫分布との間に密接な関係があることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① Umebayashi, T., Fukuda, K., Haishi, T., Sotooka, R., Zuhair, S., Otsuki, K. (2011) The developmental process of xylem embolisms in pine wilt disease monitored by multipoint imaging using compact magnetic resonance imaging. *Plant Physiology* 146: 943-951. 査読有

- ② 赤見亜衣・梅林利弘・福田健二 (2010) コンパクトMRIからみたマツ材線虫病における通水阻害と線虫分布との関係(速報). *樹木医学研究* 14:101-102. 査読有

- ③ 外岡遼・梅林利弘・福田健二 (2009) マツ材線虫病における通水阻害進展様式の解明に向けたコンパクトMRI多点撮像法の開発(速報). *樹木医学研究* 13:148-149. 査読有

- ④ Ugawa, S., Ichihara, Y., Fukuda, K., Suzuki, K. (2009) Ectomycorrhizae and ectomycorrhizal fungal fruit bodies in pine stands differently damaged by pine wilt disease. *Forest Pathology* 50: 63-69. 査読有

[学会発表] (計9件)

- ① 梅林利弘・山田利博・福原一成・遠藤良太・米道学・里見重成・福田健二 (2011年3月25日~28日) マツ材線虫病抵抗性クロマツ苗主軸における通水阻害. 第122回日本森林学会大会、静岡大学

- ② 赤見亜衣・小松雅史・福田健二 (2011年3月25日~28日) コンパクトMRIからみたマツ材線虫病における通水阻害進展過程と線虫分布の関係. 第122回日本森林学会大会、静岡大学

- ③ 坂上大翼・福田健二 (2011年3月25日~28日) エゾマツ青変病におけるキャビテーション発生と表面活性物質生産(予報) 第122回日本森林学会大会、静岡大学

- ④ 梅林利弘・森田敏充・福田健二 (2011年3月8日~12日) 針葉樹2種の渇水ストレスにおける木部通水阻害進展様式. 日本生態学会第58回大会、北海道大学

- ⑤ 野口雄二郎・梅林利弘・高橋由紀子・福田健二 (2010) コンパクトMRI位相法による樹木の通導経路の可視化. 日本生態学会大会、京都大学

- ⑥ 福田健二ほか (2009年3月25日~28日) コンパクトMRIでみた樹木の水分通道. 第120回日本森林学会大会テーマ別シンポジウム招待講演、京都大学

- ⑦ 梅林利弘・外岡遼・福田健二 (2009年3

月 25 日～28 日) コンパクト MRI 多点撮像によるマツ材線虫病通水阻害進展様式の観察. 第 120 回日本森林学会大会、京都大学

- ⑧ 野口雄二郎・梅林利弘・福田健二 (2009 年 7 月 25 日) コンパクト MR I 位相法によるカツラ切枝における通道経路の立体構築. NMR マイクロイメージング研究会、キャンパスイノベーションセンター
- ⑨ 外岡遼・梅林利弘・福田健二 (2008) 病原性の異なるマツノザイセンチュウを接種したマツ切枝における通水阻害. 第 119 回日本森林学会大会、東京農工大学

[その他]

ホームページ等

<http://hyoka.nenv.k.u-tokyo.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 健二 (Kenji Fukuda)

東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：30208954

(2) 研究分担者

坂上 大翼 (Daisuke Sakaue)

東京大学大学院農学生命科学研究科附・助教

研究者番号：90313080

(3) 連携研究者

内海 泰弘 (Yasuhiro Utsumi)

九州大学大学院農学研究院・助教

研究者番号：50346839

(4) 研究協力者

梅林 利弘 (Toshihiro Umebayashi)

東京大学大学院新領域創成科学研究科・特任研究員