

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18380092

研究課題名（和文）ナラ類萎凋病における樹種間の枯死機構と抵抗性機構の比較研究

研究課題名（英文）Comparative studies on death and resistance mechanisms between Fagaceae tree species in the Oak wilting disease

研究代表者 伊藤 進一郎 (ITO SHIN-ICHIRO)

三重大学・大学院生物資源学研究科・教授

研究者番号：90092139

研究成果の概要：世界的にドングリを实らせる樹木，ナラ類に衰退・枯死の発生が問題となっている。日本でも1980年以降，日本海側でナラ類が集団的に枯死する被害が発生し，現在も拡大傾向にある。そこでブナ科樹木の樹種間における感受性の差異に關与する要因の研究を行った。その結果，樹種間で感受性の差異は大きく，その差異は辺材部における接線方向への変色域や非通水域の拡大範囲と關係していることが分かった。一方，病原菌 *Raffaelea quercivora* の接種試験によって，枯死に至らない事例も多く，本菌の病原性自体は弱いことが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	6,800,000	0	6,800,000
2007年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2008年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	2,340,000	16,940,000

研究分野：樹木病理学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：感受性，ミズナラ，ナラ類萎凋病，*Raffaelea quercivora*

1. 研究開始当初の背景

1980年以降，日本海側の地域でナラ類（主にミズナラとコナラ）が集団的に枯死する被害が発生し，大きな問題となっている。この被害は，養菌性キムイムシが關与した世界で最初の集団枯死被害であり，新種とした病原菌が所属する *Raffaelea* 属のグループには，それまで病原菌は含まれておらず，このグループの菌類による世界で初めての森林の枯死被害で，今後海外での同様の被害発生が危惧される。

2. 研究の目的

本研究では，日本で発生したナラ類萎凋病において，ブナ科樹木樹種間における枯死機構と抵抗性機構の比較研究を行った。

(1) *R. quercivora* に対するブナ科9樹種の感受性の差異：過去に接種試験が行なわれていないブナ科樹木9樹種の *R. quercivora* に対する感受性を明らかにすることを目的とした。感受性の評価は，感受性に關与していることが指摘されている辺材内に形成された水平方向への非通水域の大きさを計測することで行い，感受性の高いミズナラとコナラ，低いアラカシとスダジイと比較することで，9樹種の感受性の評価を試みた。

(2) *R. quercivora* に対する感受性樹種間差をもたらす要因の解析：*R. quercivora* に対するブナ科樹木の感受性に種間差がもたらされる要因を明らかにするため、いくつかの角度から検討を行った。

(3) *R. quercivora* に対するコナラ、ミズナラ反応障壁の有効性評価：*R. quercivora* に対する感受性がブナ科樹種間で異なる現象には菌糸の伸展を防止する宿主の防御反応が関与すると組織化学的観察から示唆されている。しかし、実際に反応障壁が菌糸の伸展を阻害しているかどうかについては明らかでない。そこで、反応障壁が形成されたブナ科樹木萎凋病自然感染木および *R. quercivora* 人工接種木の材片を γ 線滅菌することで、先に侵入した菌糸、樹木の細胞を殺して動的防御反応を抑制した上で、本菌の菌糸を接種して反応障壁における伸展を調べ、反応障壁の有効性評価を試みた。

(4) *R. quercivora* 接種後のブナ科 7 樹種の防御反応：感受性の異なるブナ科 7 種に対し *R. quercivora* を接種し、各樹種における防御反応を比較することを目的とした。

(5) 広葉樹における傷害、菌感染による水分通道阻害の発生機構：針葉樹および広葉樹数樹種について、苗木樹幹への付傷および病原体の接種実験を行い、水分通道阻害の発生経過を比較した。

(6) ナラ類萎凋病に対するブナ科樹種の枯死機構と抵抗性の解明：基礎データとして、ブナ科樹木の水分生理に関する基礎的研究を実施した。

3. 研究の方法

(1) 接種試験は、東京大学演習林田無試験地内の圃場で 2008 年 6 月 19 日に行なった。試験には、感受性の明らかになっていない 9 種（カシワ、クリ、ナラガシワ、アベマキ、ツブラジイ、シラカシ、アカガシ、ツクバネガシ、イチイガシ）と感受性の明らかになっている 4 種（ミズナラ、コナラ、アラカシ、スダジイ）の計 13 樹種を用い、接種木 9 本（アカガシのみ 4 本）と対照木 3 本を供試した。各苗木の幹直径 8mm の部位にドリルで径 1.5mm、深さ 4mm の穴を 1 ヶ所あけ、そこに *R. quercivora* (RA1083, 三重大学森林生物循環学研究室保存) を蔓延させた爪楊枝の先端を埋めこみ、パラフィルムとガムテープで巻いた。対照木は、菌を接種する代わりに、滅菌した爪楊枝を埋めこんだ。

すべての苗木は接種 1 ヶ月後に根元で切り、0.1%酸性フクシン水溶液に 12 時間以上浸漬

した。その後、接種点の横断面の写真をとり、材変色域より再分離試験を行なった。非通水域の割合は、横断面写真より非通水域や接種部、辺材全体の面積をそれぞれ計測し、次式により算出した。非通水域の割合 (%) = (非通水域の面積 - 接種部の面積) \times 100 / (辺材全体の面積 - 接種部の面積)

(2) ①. 健全辺材抽出物が *R. quercivora* の培地上伸長に及ぼす影響

樹種間の感受性の差異と、各樹種木部の養分量・栄養適性や静的阻害成分含有量との関連について検討する目的で、*R. quercivora* に対して感受性の異なるコナラ（やや感受性）、アラカシ・スダジイ（やや抵抗性）、マテバシイ・ブナ（抵抗性）の 5 樹種の健全辺材部を供試した。80%メタノールおよび 40°C 温水によって木部含有成分を抽出した。得られた抽出物をそれぞれ材内濃度の 1 倍および 2 倍の濃度で添加した 1/2PDA 培地上に *R. quercivora* NA9810-1 菌株を接種し、20°C・暗条件下における菌糸伸長速度を計測比較した。

②. *R. quercivora* 接種後の木部樹液表面張力の変化

R. quercivora 感染後のブナ科樹木の病徴は、木部における水分通道の阻害を大きな特徴とする。そこで、道管においてキャピテーション発生を促進することで水分通道阻害を引き起こす要因となりうる木部樹液の表面張力に着目し、樹種間における *R. quercivora* 感染後の木部樹液表面張力の低下程度の違いと、感受性差との関連を検討することを目的として、ミズナラ（感受性）、コナラ（やや感受性）、アラカシ（やや抵抗性）の 3 樹種の苗木に *R. quercivora* NA9810-1 菌株を接種した。接種 1 ヶ月後に掘り取り、木部組織を供試して水抽出を行い、得られた抽出濾液の表面張力値を測定した。

(3) 自然感染木：*R. quercivora* に自然感染し生残したコナラから採取した材ブロック（放射方向 1cm、軸方向 1.5cm、接線方向 3cm）を γ 線滅菌した後に側面にワセリンを塗布し、*R. quercivora* を接種、接線方向への菌糸の伸展を菌の分離および解剖観察で調べた。反応障壁の形成を組織化学的観察により確認した後、健全辺材、心材、反応障壁を含む辺材を供試した。反応障壁を含む辺材では材変色域の接線方向の厚さを 10~15mm として、反応障壁（厚さ 1~2mm 程度）の接線方向での位置を揃えた。接種菌の分離は材ブロックを接線方向の厚さ 3mm 毎に切断して行った。

接種木：接種試験によりミズナラに形成された反応障壁を含む辺材ブロックを γ 線滅菌した後、*R. quercivora* の菌糸を接種して反応障壁が接線方向の菌糸伸展を阻害するかどうか検討した。接種試験は 2007 年 7 月 1 日に行い、それぞれの木の幹直径 11cm の部位に径 3mm のドリル

で深さ 3cm の穴をあけ、*R. quercivora* を埋め込んだ。接種 2 ヶ月後に伐倒した。接種により形成された材変色域と健全域の両者を含むブロックと健全域のみのブロックを採取した。一部はカシノナガキクイムシの加害を受けていたため、加害により形成された材変色域のみのブロックと健全域のみのブロックを採取した。採取したブロック（放射方向、軸方向各 1cm、接線方向 2cm）はすべて組織化学的観察により顕微鏡で脂質物質やリグニン様物質の堆積状況を記録し、その後 γ 線滅菌を行なった。滅菌したブロックの側面にワセリンを塗布し、組織培養試験管の中に分注した PDA 培地上に静置した。ブロックの上面（材変色域と健全域の両者を含むブロックでは材変色域を上面とした）に前培養した *R. quercivora* の菌糸をのせ、25°C 暗条件下で培養し、PDA 培地に菌糸が到達するまでの時間を計測した。また、培養後にブロックの解剖観察を行い菌糸の伸展状況を観察した。

(4) 接種試験は、東京大学演習林田無試験地内の圃場で 2008 年 6 月 19 日に行なった。試験には、感受性の高いカシワ、クリ、ナラカシワ、アベマキと感受性の低いシラカシ、ツクバネガシ、イチイガシの計 7 樹種を用い、接種木 3 本と対照木 1 本を供試した。各苗木の幹直径 8mm の部位にドリルで径 1.5mm、深さ 4mm の穴を 1 ヶ所あけ、そこに *R. quercivora* (RA1083, 三重大学森林生物循環学研究室保存) を蔓延させた爪楊枝の先端を埋めこみ、パラフィルムとガムテープで巻いた。対照木は、菌を接種する代わりに、滅菌した爪楊枝を埋めこんだ。

すべての苗木は接種 1 ヶ月後に根元で切り、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、凍結ミクロームで約 25 μ m の薄切片を作成した。辺材の材変色域と健全域の間にある反応帯や移行帯を観察するため、切片のリグニン様物質を染色する 2% フロログルシノール塩酸溶液、脂質様物質（スベリン様物質を含む）を染色する 0.1% スダンブラック B 溶液、フェノール性物質を染色する 0.05% トルイジンブルー O 水溶液で切片染色し、光学顕微鏡または蛍光顕微鏡（U 励起）下で観察した。

(5) 付傷による通水阻害と材変色の広がり、樹種と季節を変えて比較した。樹種として、シラカシ、コナラ、ヒノキ、メタセコイアを用い、春、夏、秋、冬の 4 回、ドリルにより樹幹を貫通する傷をつけて、通水阻害と材変色の広がりを 2 週間、2 ヶ月、6 ヶ月後に観察した。ミズナラの苗の樹幹にドリル傷を開け、爪楊枝に培養した *R. quercivora* を接種した後の通水阻害を MRI と色素吸い上げ法によって観察し、マツノザイセンチュウを

接種したアカマツ苗と比較した。

(6) 京都府立大学実験圃場と京都府立植物園に植栽されているブナ、コナラ、アラカシ、イチイガシ、マテバシイ、シリブカガシの 6 樹種を供試木とし、以下 3 測定項目のため葉と枝を採取した。1) 樹木の最も水不足となる状態を評価するため、夏期の日中の葉の水ポテンシャル Ψ_{mid} を測定した。2) 葉の水ストレスに対する適応を評価するため、P-V 曲線法により葉の水分特性を測定、特に葉の細胞が膨圧を失うときの水ポテンシャル Ψ_w , tlp の検討を行った。3) 樹木木部のキャビテーション発生感受性を評価するため、空気注入法で vulnerability curve を作成し、水分通道が 50% 低下する時の木部圧ポテンシャル P50 を求めた。

4. 研究成果

(1) ほとんどの接種木から *R. quercivora* が再分離された。アカガシとツクバネガシを除く接種木の非通水域の割合は、対照木より有意に大きかった。有意差がなかった両樹種においても、接種木の非通水域の割合は対照木よりも大きい傾向にあった。

非通水域を樹種間で比較した結果を図 1 に示した。非通水域の割合は樹種間で有意に異なった (Kruskal Wallis $p < 0.01$)。落葉性樹種の非通水域の割合は、常緑性樹種より大きい傾向にあり、カシワやクリ、アベマキの非通水域の割合はミズナラやコナラとほぼ同程度であり、アラカシやスダジイよりも小さかった。したがってこれらの樹種はミズナラやコナラと同様に *R. quercivora* に対して感受性が高いと考えられた。一方、常緑樹のツブラジイやシラカシ、アカガシ、ツクバネガシ、イチイガシの非通水域の割合はアラカシやスダジイと同程度であり、これらの樹種は *R. quercivora* に対して感受性が低いと考えられた。

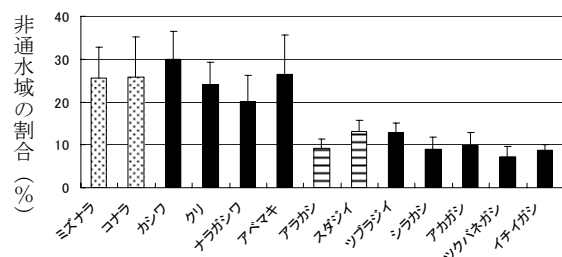


図 1. ブナ科 13 種の接種後に形成された非通水域の大きさ

(2) ①. 健全辺材抽出物が *R. quercivora* の培地上伸長に及ぼす影響

メタノール抽出物を 1 倍濃度で添加した培地上では、何れの樹種においても対照より菌糸伸長速度が高かった。2 倍濃度で添加した培地上では、コナラ、スダジイ、ブナで対照より高く、アラカシとマテバシイで低かった。また、コナラとブナでは 1 倍と 2 倍濃度との間で差が認め

られないのに対して、アラカシ、スダジイ、マテバシイでは2倍濃度で1倍濃度に比べて低下した(図2)。これらのことから、アラカシ、スダジイ、マテバシイの3樹種では材内に静的阻害成分を有するものの、現実の材内濃度では *R. quercivora* の伸長を阻害する程度のものではないと判断された。そして、現実の材内濃度では5樹種とも、むしろ促進的に作用する成分の方が優勢であるものと考えられた。

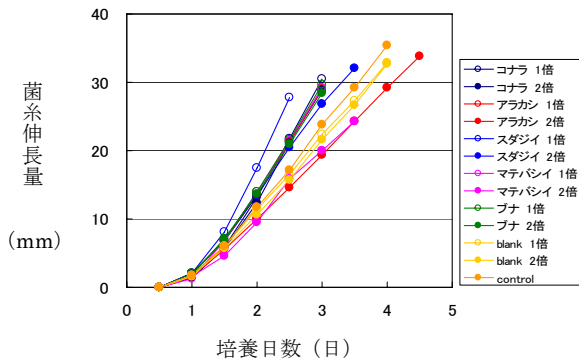


図2. メタノール抽出物添加 1/2PDA 培地上における *R. quercivora* の菌糸伸長速度 (20°C)

②. *R. quercivora* 接種後の木部樹液表面張力の変化

蒸留水の表面張力値と木部組織の水抽出濾液の表面張力値との差を、抽出に供試した木部組織の乾燥重量で除した乾重当り表面張力低下量は、統計的有意差は認められないものの、感受性およびやや感受性のミズナラとコナラでは接種苗で対照苗よりもやや大きい傾向が認められた。これに対して、やや抵抗性のアラカシでは接種苗では対照苗よりも小さい傾向にあった(図3)。このことから、木部樹液表面張力の低下程度が *R. quercivora* 菌に対する感受性に関与している可能性が示唆された。一方で、アラカシでは接種苗・対照苗ともにミズナラ・コナラより

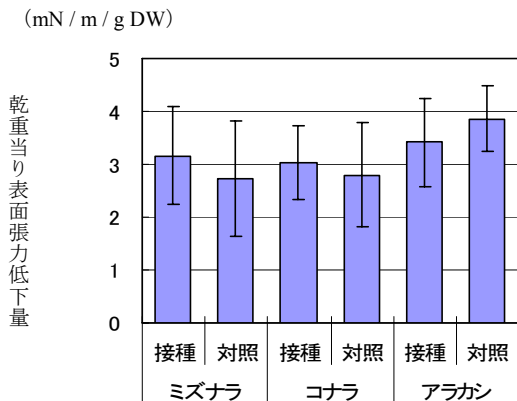


図3. *R. quercivora* 接種後の木部水抽出液における乾重当り表面張力低下量 (接種1ヵ月後)

も乾重当り表面張力低下量が大きかったため、今後、樹種ごとの水分生理特性も考慮しつつ詳細な検討を行っていく必要がある。

(3) 自然感染木(図4): 菌の伸長は心材では健全辺材より遅かったが、材変色域内部では健全辺材と変わらなかった。材変色域側に接種した菌の伸長は反応障壁で抑制されたが、辺材(健全部)側から接種した場合には菌伸長の抑制が認められなかった。

接種木(図5, 6): 反応障壁を含んだ辺材における *R. quercivora* の菌糸の伸長は材変色のみや健全な辺材よりも遅い傾向にあったが、供試ミズナラ個体間で有意差が認められる場合と認められない場合とがあった。有意差の有無と材変色域の拡大や防御反応の程度との間に明瞭な関係は認められなかった。

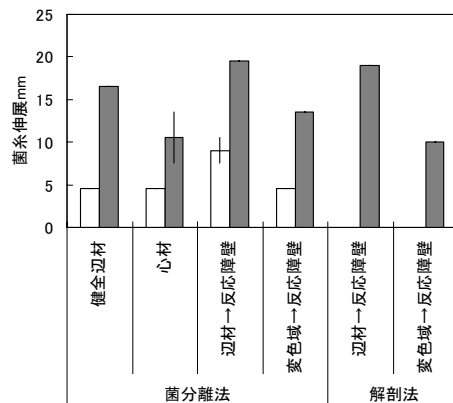


図4. 自然感染木の材ブロックにおける菌糸伸長
白: 接種4日後, 灰色: 10日後
辺材→反応障壁: 辺材側に接種した場合

以上より、反応障壁の構造や成分自体に菌に対する抑制効果があることが示唆された。しかし、一貫した結果が得られなかったことから、菌糸の阻害に方向性があるのかどうか、個体差の評価方法、また動的防御をある時間断面で切り取った評価法であることが結果に影響したかどうかなど、抑制機構について詳細な検討が必要である。

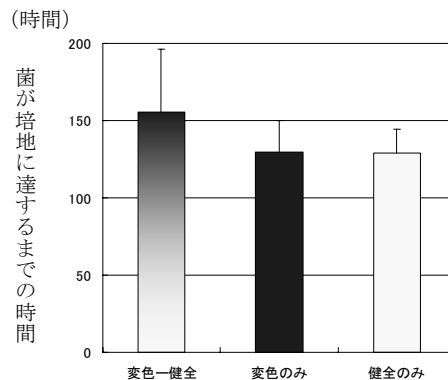


図5. 接種木すべてのブロックをまとめて示した結果。ブロック間に有意差なし ($p>0.05$)

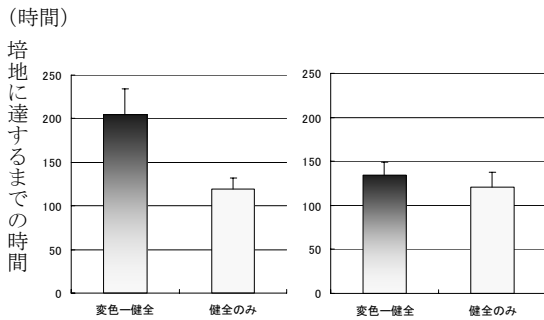


図6. 採取した個体ごとに変色-健全と健全のみのブロックを比較した結果例
左の例では有意な差があったが右の例ではなかった。

(4) いずれの樹種においても、接種木と対照木間の呈色反応の程度に違いはなかった。したがって、傷害と菌類の感染に対する防御反応は基本的に同じものと考えられた。

表1. 各染色法によるブナ科7種の呈色反応

	フロログルシノール塩酸		スダンブトールイジンブルーO	
	光学	蛍光	ラックB	インブルーO
カシワ	++	++	++	++
クリ	+	+	+	+
ナラカシワ	++	++	++	++
アベマキ	++	+	+	++
シラカシ	++	++	++	++
ツクバネガシ	++	++	++	++
イチイガシ	++	++	++	++

++: 連続した呈色反応があり, +: 部分的な呈色反応があり

リグニン様物質に反応する光学顕微鏡観察におけるフロログルシノール塩酸による染色の結果、材変色域と健全域の境界にある繊維・仮道管で堆積している物質に呈色反応がすべての樹種で観察され、蛍光観察では光学顕微鏡で観察された赤く染色された物質は発光しなかった。脂質様物質に対する呈色反応の結果として、フロログルシノール塩酸によって処理し蛍光観察を行った切片において、発光していた部位とスダンブラックBによって呈色反応を示した部位はほぼ一致しており、ともにすべての樹種で材変色域と健全域の境界にある繊維・仮道管や柔細胞、道管内のチロースにおいて呈色反応が見られた(写真1)。フェノール性物質に対し反応を示すトルイジンブルーOによる染色では、ともに材変色域内の柔細胞で呈色反応が観察された。

呈色反応の程度を樹種間で比較したところ、クリの呈色反応は、いずれの染色法においても部分的な反応だけが観察された(表1)。アベマキでは、脂質様物質に対する呈色反応が部分的なものであった。一方、それ

以外の樹種ではいずれの呈色反応も連続的な反応が観察された。観察を行ったすべての樹種において、横断面の肉眼での観察では大きな違いは見られなかったにもかかわらず、クリまたはアベマキにおいて他の樹種と呈色反応に違いが見られたことは、これらの樹種では異なった防御反応物質が蓄積しているか、反応が遅く形成の途中段階であるかのどちらかであることが考えられた。

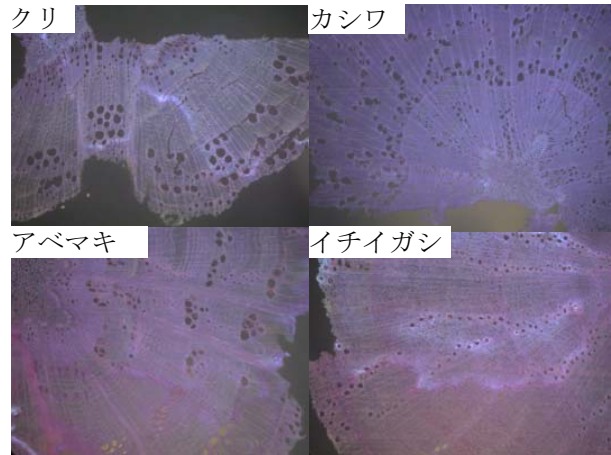


写真1. フロログルシノール塩酸の呈色反応(蛍光観察)。光っている部位に脂質様物質が蓄積していることを示す

(5) 4樹種とも2週間後、2ヵ月後における通水阻害・変色域の広がり、成長期に比べて成長休止期の付傷で小さかったが、6ヵ月後にはその差は小さくなった。したがって、樹種によらず樹幹における通水が盛んな時期の付傷が、大きな通水阻害域を引き起こすと示唆された。

樹木用MRIを用いた撮像の結果、マツ材線虫病においては接種部から水分通道阻害部位が面的に広がると同時に、接種部から離れて散在する水分通道阻害部位の発生がはっきりと観察でき、色素吸い上げで観察される水分通道阻害パターンとよく一致した。

一方、*Raffaelea* 菌を接種したミズナラ苗においては、接種部のドリル傷の部分はMRIによりはっきりと確認できたが、その上下の部位においては、接種前とほぼ同様の水分分布を示し、水分通道阻害の広がりには観察できなかった。同様に接種したミズナラ苗の色素吸い上げ法による水分通道阻害の観察結果では、接種部から上下に広く、色素による染色が認められない範囲が生じており、MRIの観察結果とは一致しなかった。ナラ枯れにおける水分通道阻害においては、一部の道管にキャビテーションが生じて、その周囲の木部全体での含水率低下にはつながらないことが示唆された。このような水分通道阻害の特徴から、ナラ枯れにおける水分通道阻害の非破壊継続観察には、更なる手法の改良が必要であることが明らかにされた。

(6) 葉が萎凋しないためには $\Psi_w, tlp \geq \Psi_{mid}$

であることが必要であり、かつ2つの値の差が大きいくほど葉は水欠差に対して余裕をもつものに対して、差の小さな葉はしおれの危険性が迫っている。すなわち、ブナはイチイガシ、マテバシイ、シリブカガシに比べて両値が接近しており、しおれ寸前まで葉の水分状態が低下していることを示している。

葉の水分状態の低下におよぼす枝の水分通道機能低下の影響を評価するために Ψ_{mid} とP50の差を樹種間で比較した。コナラは、常緑性コナラ属、マテバシイ属の樹種に比べて、 Ψ_{mid} がP50に近い値であり、さらにP50が高い値を示した。これらより、コナラはキャビテーションにより水分通道機能低下を起ししやすい樹種であることがわかった。コナラがカシノナガキクイムシの加害より、幹の水分通道が阻害されると、葉への水供給が減少し、葉の水分状態は低下することが予想される。そのような状況ではキャビテーション感受性の高いコナラのシュートでは急激な水分通道機能の低下が生じ、葉はしおれることが予想される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 35 件)

1. 伊藤進一郎 (2008) 我が国のブナ科樹木萎凋枯死被害 (ナラ枯れ) の現状. 樹木医学研究 12:57-60. 査読有.
2. 山田利博 (2008) 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. 査読有.
3. Murata M., Matsuda Y., Yamada T., Ito S. (2008) Differential spread of discoloured and non-conductive sapwood among four Fagaceae species inoculated with *Raffaelea quercivora*. For. Pathol. Accept. 査読有.
4. Ugawa S., Fukuda K. (2008) Effect of aerial spraying of insecticide as a control measure of pine wilt disease. For. Pathol. 38:16-28. 査読有.
5. Murata M., Matsuda Y., Yamada T., Ito S. (2007) Discolored and non-conductive sapwood among six Fagaceae species inoculated with *Raffaelea quercivora*. For. Pathol. 37: 73-79. 査読有.
6. Yamada T., Sakaue D. (2007) Changes in hydraulic conductivity of *Quercus crispula* seedlings surviving the inoculation of *Raffaelea quercivora* Bull. Tokyo Univ. For. 117:65-76. 査読有.
7. Fukuda K., Utsuzawa S., Sakaue, D. (2007) Correlation between acoustic emission, water status, and xylem embolism in pine wilt disease. Tree Physiol. 27: 969-976. 査読有.
8. 伊藤進一郎 (2006) 森林の衰退・枯死と

樹木学. 樹木医学研究 10:1-2. 査読有.

〔学会発表〕(計 28 件)

1. 村田政穂・小林正秀・山田利博・鎌田直人・伊藤進一郎(2008) *Raffaelea quercivora* の菌糸の進展に対する辺材部に形成された反応障壁の効果. 第119回日本森林学会大会研究発表講演要旨集(東京農工大, 3月27日)
2. 伊藤進一郎(2007)わが国におけるブナ科樹木萎凋枯死被害(ナラ枯れ)の現状. 樹木医学会第12回大会公開シンポジウム講演要旨(名古屋大, 12月1日)
3. 山田利博(2007)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. 樹木医学会第12回大会公開シンポジウム講演要旨(名古屋大, 12月1日)
4. Zuhair S., Fukuda K., Yamada T. (2006) The effects of season on the longitudinal expansion of wood discoloration column after mechanical injury. 第117回日本森林学会大会研究発表講演要旨集(東京農大, 4月3日)

〔図書〕(計 1 件)

1. Ikeda T. (2007) Control program of pine wilt disease for landscape conservation - The case of Amanohashidate, Kyoto, Japan. In Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat to Forest Ecosystem. M.M. Mota and P. Vieira eds. Springer, p.397-403.

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 進一郎 (ITO SHIN-ICHIRO)

三重大学・大学院生物資源学研究所・教授

研究者番号: 90092139

(2)研究分担者

池田 武文 (IKEDA TAKEFUMI)

京都府立大学・農学研究科・教授

研究者番号: 50183158

山田 利博 (YAMADA TOSHIHIRO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号: 30332571

福田 健二 (FUKUDA KENJI)

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

松田 陽介 (MATSUDA YOSUKE)

三重大学・大学院生物資源学研究所・助教

研究者番号: 30324552

坂上 大翼 (SAKAUE TSUBASA)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号: 90313080