

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006 ～ 2008
 課題番号：18780124
 研究課題名（和文） 病原体とその媒介者の両方をターゲットにしたマツ材線虫病の微生物的防除
 研究課題名（英文） Microbial control of both the pathogen and the vector in pine wilt disease
 研究代表者
 前原 紀敏（MAEHARA NORITOSHI）
 独立行政法人 森林総合研究所・東北支所・主任研究員
 研究者番号：20343808

研究成果の概要：マツ材線虫病の病原体であるマツノザイセンチュウに対しては、その餌となる青変菌の繁殖を抑制する「兵糧攻め菌」と線虫を直接殺す能力のある「線虫寄生菌」を、線虫の媒介者であるマツノマダラカミキリ成虫に対しては、成虫を直接殺す能力のある「昆虫病原菌」を微生物的防除の候補菌として用いた。兵糧攻め菌と昆虫病原菌はそれぞれ単独でもマツノマダラカミキリ成虫によってマツ健全木に伝播される線虫の数を減少させる効果があるが、両菌を併用するとより有効であることが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,500,000	0	1,500,000
2007 年度	700,000	0	700,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	210,000	3,110,000

研究分野：森林微生物生態学

科研費の分科・細目：林学、林学・森林工学

キーワード：マツノザイセンチュウ・マツノマダラカミキリ・青変菌・兵糧攻め菌・線虫寄生菌・昆虫病原菌

1. 研究開始当初の背景

(1) マツ材線虫病は、病原体マツノザイセンチュウ（以下線虫と略記）が媒介者マツノマダラカミキリ（以下カミキリと略記）成虫によってマツ枯死木から健全木へと伝播されることによって広がる。線虫の伝播は、カミキリ成虫がマツ健全枝を摂食する際にその摂食痕を通じて起こる。線虫は枯死木材内では主に青変菌を摂食して増殖し、分散型第4期幼虫という特殊なステージになってカミキリ成

虫に乗り移る（Maehara and Futai, 1996, 2001; Maehara et al., 2005）。研究代表者は、科学研究費補助金（若手研究B、平成15～17年度、「兵糧攻め制御法」によるマツノザイセンチュウの森林生態系への取り込み）による研究で、1) 線虫の増殖および分散型ステージの出現を抑制し、かつ、2) 線虫の餌である青変菌の繁殖を抑制するという2つの性質を合わせ持つ菌（*Trichoderma* 属菌）を選抜した。そして、この菌をマツ枯死木に

接種して線虫の餌をなくして増殖を抑えることで（すなわち線虫を「兵糧攻め」にすることで）、そこから脱出してくるカミキリ成虫が持ち出す線虫数（初期保持線虫数）を減少させることに成功した（Maehara et al., 2006）。ただし、ここで選抜した菌（以下「兵糧攻め菌」と呼ぶ）は、青変菌より先に材内で広がらなければならず（Maehara and Futai, 1997）、安定した効果を期待するにはマツの枯死後早い時期に接種する必要がある。

(2) 研究代表者は、伸長速度は遅いが青変菌が材内で広がった後からでも繁殖することができる線虫寄生菌（*Verticillium* 属菌）を得ていて、この菌には線虫を直接殺す能力があることが分かっていた（Maehara and Futai, 1997, 2000）。

(3) 研究代表者も携わっていた農林水産省・先端技術を活用した農林水産高度化事業（平成 15～17 年度、昆虫病原菌を利用したマツノマダラカミキリ成虫駆除法の確立）による研究で、昆虫病原菌（*Beauveria bassiana*）をマツ枯死木に施用して、線虫を健全なマツに伝播する前にカミキリ成虫を駆除する方法が開発されていた。

(4) 少しでも環境への影響が少ない防除法が求められるという背景の下で、線虫に対しても（微）生物的防除法の開発が望まれてきていた。

2. 研究の目的

(1) 線虫寄生菌をマツ枯死木に接種することで、青変菌が先に広がってしまっていて兵糧攻め菌が効きにくい場合にも材内の線虫数を減少させ、そこから脱出するカミキリ成虫が保持している線虫数を減少させる。

(2) 昆虫病原菌はカミキリ成虫の脱出直前に枯死木表面に施用するため、前年から枯死木材内に接種する兵糧攻め菌や線虫寄生菌とは拮抗しないと考えられる。そこで、線虫に対する兵糧攻め菌・線虫寄生菌と、カミキリ成虫に対する昆虫病原菌を併用し、病原体とその媒介者の両方をターゲットにするという世界でも例のない微生物的防除法を開発する。

3. 研究の方法

(1) カミキリの日齢別の昆虫病原菌感受性の調査

マツ枯死木からの脱出後の日齢が異なるカミキリ成虫に昆虫病原菌を接種し、その後アカマツ健全枝を与えて個体飼育した。そして、死亡までの日数を調べることで、カミキリ成虫の日齢別の昆虫病原菌感受性を調べ、

昆虫病原菌接種の最適な時期を確認した。

(2) 線虫寄生菌の増殖・施用方法の開発

線虫寄生菌の特性に合った増殖・施用方法を開発した。兵糧攻め菌については種駒を、昆虫病原菌については不織布を用いた増殖・施用方法がすでに確立していた。

(3) 兵糧攻め菌・線虫寄生菌・昆虫病原菌の接種

夏に本病で枯死し、カミキリ成虫が産卵したアカマツを伐倒・切断し、そこに兵糧攻め菌と線虫寄生菌を施用した。施用丸太は野外網室に入れ、定期的に施用菌の広がりを確認した。

翌年の夏にその丸太から羽化脱出してきたカミキリ成虫に、分生子を多数形成している昆虫病原菌の菌叢上を歩行させることで昆虫病原菌を接種した。

(4) カミキリ成虫の寿命とその成虫によりマツに伝播される線虫数の調査

カミキリ成虫にアカマツ健全枝を与えて個体飼育し、虫体から離脱した線虫数および摂食痕から枝に侵入した（伝播された）線虫数を定期的に計数した。カミキリ成虫が死亡するまで継続し、枝に伝播された線虫数の総和を求めるとともに、死亡時に体内に残っていた線虫数も計数した。

(5) 兵糧攻め菌・線虫寄生菌・昆虫病原菌接種の効果の判定

カミキリ成虫の死亡時に体内に残っていた線虫数とアカマツ健全枝に伝播された線虫の総数の和から、カミキリ成虫が脱出時に保持していた線虫数（初期保持線虫数）を推定した。そして、菌を接種していない対照区との比較により、初期保持線虫数の減少、カミキリ成虫の寿命の短縮、およびカミキリ成虫が死亡するまでの間に枝に伝播された線虫数の抑制の度合いを求めて、兵糧攻め菌・線虫寄生菌・昆虫病原菌の接種がカミキリ成虫による健全木への線虫の伝播を阻止する効果を判定した。

4. 研究成果

(1) カミキリの日齢別の昆虫病原菌感受性

脱出後の日齢が異なるカミキリ成虫の昆虫病原菌感受性を調べたところ、1) 脱出直後に感受性が最も高いこと（接種後死亡までの日数の平均値 8.1 日）、2) 脱出後 2 週間までは時間の経過とともに感受性が低くなること（脱出後 3 日で 13.0 日、1 週間で 14.4 日、2 週間で 24.0 日）、及び 3) 脱出後 4 週間では再び脱出直後に近い程度まで感受性が高くなること（10.6 日）が分かった。対照区のカミキリは、34 日で死亡した 1 頭

を除いて調査期間（70 日）内には死亡しなかった。脱出後 4 週間ではすでにカミキリがマツ健全木に線虫を伝播してしまっているため、線虫伝播を阻止するためには、脱出直後のカミキリに昆虫病原菌を感染させるのが最もよいことが確認できた。

(2) 線虫寄生菌の増殖・施用方法

線虫寄生菌は種駒で増殖・施用するとよいこと、及び兵糧攻め菌・線虫寄生菌の種駒は少なくとも 4 か月は冷蔵保存が可能であることが明らかになった。

(3) 兵糧攻め菌・線虫寄生菌の繁殖

兵糧攻め菌は接種したアカマツ枯死木丸太での繁殖が確認できたが、線虫寄生菌の繁殖は確認できなかった。

(4) 対照区の結果

兵糧攻め菌・線虫寄生菌・昆虫病原菌のいずれも接種していない対照区では、カミキリ成虫の初期保持線虫数が多く、さらに初期保持線虫数に占める摂食時にマツ健全木の枝に伝播された線虫数の割合も高くなった（図 1）。

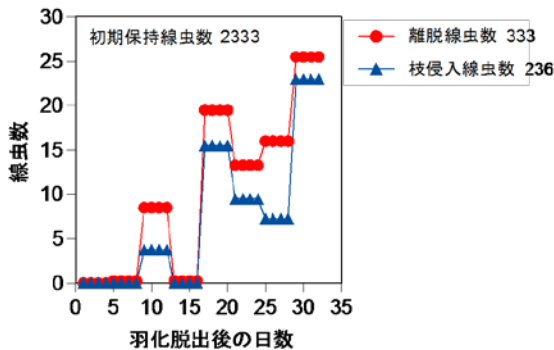


図1 対照区の一例

(4) 兵糧攻め菌・線虫寄生菌接種の効果

兵糧攻め菌には、カミキリ成虫の初期保持線虫数を、兵糧攻め菌を接種していない対照区と比べて減少させる効果が見られた。一方、予備試験では効果が見られた線虫寄生菌には、本試験ではその効果が見られなかった。線虫寄生菌は青変菌が材内で広がった後からでも繁殖することができるという性質はあるものの、伸長速度が遅く、枯死木材内でうまく広がる場合と広がらない場合があるため効果がばらついたと考えられた。

(5) 昆虫病原菌接種の効果

脱出直後に昆虫病原菌を接種されたカミキリ成虫は、接種後平均 8.6 日で死亡したのに対し、昆虫病原菌を接種されていない対照

区のカミキリ成虫は全個体が調査期間（32 日）内には死亡しなかった。その結果、昆虫病原菌は、生存（摂食）期間を短縮することで、カミキリ成虫の初期保持線虫数に占める摂食時にマツ健全木の枝に伝播された線虫数の割合を減少させた。

(6) 兵糧攻め菌・昆虫病原菌併用の効果

(4) と (5) より、兵糧攻め菌と昆虫病原菌はそれぞれ単独でもカミキリ成虫によって健全木に伝播される線虫の数を減少させる効果があったが、両菌を併用すると伝播線虫数を各菌単独接種の場合よりもさらに減少させることができ、両菌に相乗効果が見られた（図 2）。

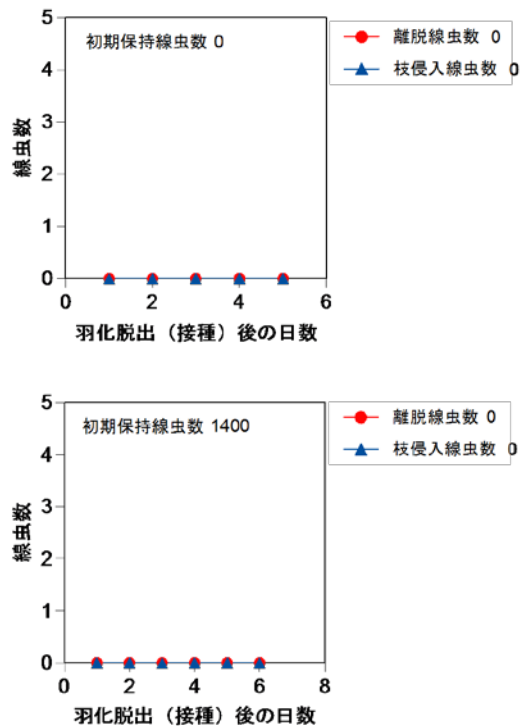


図2 兵糧攻め菌・昆虫病原菌併用区の二例

(7) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

①天敵あるいは病原体を用いて病害虫を直接殺そうとしてきたこれまでの数多くの（微）生物的防除法に関しては、なかなか成功例がない。本研究においても線虫寄生菌を枯死木丸太に接種して線虫を直接殺す試みは、予備試験では効果が見られたが、本試験では効果が見られず、うまくいかなかった。しかし、本研究では、線虫の餌になる菌（青変菌）の繁殖を別の菌（兵糧攻め菌）で抑制するという独創的な発想のもとで、枯死木丸太に兵糧攻め菌の接種も行い、カミキリ成虫の初期保持線虫を減少させることに成功し

た。

②マツが枯死した年の秋に材内に施用する兵糧攻め菌と、翌年の夏にカミキリ成虫が脱出する直前に枯死木表面に施用する昆虫病原菌のように、接種時期と接種箇所をうまくずらすことができれば、1つの病害の微生物的防除に2つの菌を併用することが可能であることを示せた。

③1つの病害の病原体とその媒介者の両方をターゲットにするという、世界でも例のない(微)生物的防除法のモデルケースを示すことができた。

(8) 今後の展望

兵糧攻め菌には、1) 枯死木材内に青変菌が先に広がってしまっていると効きにくい、また、2) 種駒による枯死木への接種は労力がかかりすぎるという欠点がある。しかし、接種時期および接種方法を今後さらに工夫することで、カミキリ成虫を対象に2008年4月から製造販売されている昆虫病原菌の不織布製剤と併用することが可能な、線虫を対象にした兵糧攻め菌製剤を開発できると考えられる。

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3件)

①前原紀敏・島津光明 2009. 菌類によるマツ材線虫病の微生物的防除—病原体とその媒介者を対象に— 林業と薬剤 187, 15-22. (査読無)

② Maehara, N. 2008. Reduction of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) population by inoculating *Trichoderma* spp. into pine wilt-killed trees. *Biological Control* 44, 61-66. (査読有)

③Maehara, N., He, H., Shimazu, M. 2007. Maturation feeding and transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) by *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) inoculated with *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Economic Entomology* 100, 49-53. (査読有)

[学会発表] (計8件)

①前原紀敏・神崎菜摘 *Bursaphelenchus* 属線虫3種のマツノマダラカミキリとセンノカミキリへの乗り移り 第120回日本森林学会大会 2009年3月27日 京都大学

②前原紀敏 マツノザイセンチュウの微生物的防除—菌類利用の試み— 日本線虫学会

第16回大会 2008年9月17日 文部科学省研究交流センター

③前原紀敏・島津光明 *Beauveria bassiana* によるマツノマダラカミキリの防除 東北森林学会第13回大会 2008年8月25日 コラッセふくしま

④前原紀敏・相川拓也・神崎菜摘 *Bursaphelenchus* 属数種線虫の接種と潜在感染調査(Ⅱ) 第119回日本森林学会大会 2008年3月28日 東京農工大学

⑤前原紀敏・相川拓也・神崎菜摘 *Bursaphelenchus* 属数種線虫の接種と潜在感染調査 第118回日本森林学会大会 2007年4月2日 九州大学

⑥ Maehara, N. Interaction between pinewood nematodes, wood-inhabiting fungi, and vector beetles. *International Symposium on Pine Wilt Disease in Asia*. 2007年2月16日 京都大学

⑦Maehara, N., Futai, K. Microbial control of *Bursaphelenchus xylophilus* by fungi. *International Symposium, Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat to Forest Ecosystem*. 2006年7月10日 ポルトガル

⑧前原紀敏・二井一禎 菌類を用いたマツノザイセンチュウの微生物的防除 第117回日本森林学会大会 2006年4月3日 東京農業大学

[図書] (計2件)

①Maehara, N. 2008. Pine Wilt Disease (Zhao, B.G., Futai, K., Sutherland, J.R., Takeuchi, Y. eds.) Springer. pp. 262-263, 286-298, 299-300.

②Maehara, N. 2008. Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat to Forest Ecosystem (Vieira, P.R. and Mota, M.M. eds.) Springer. pp. 359-368.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前原 紀敏 (MAEHARA NORITOSHI)
独立行政法人 森林総合研究所・東北支所・主任研究員
研究者番号：20343808

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：