

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15877

研究課題名(和文) マツノザイセンチュウ近縁2種の寄主転換操作によるマツノマダラカミキリの防除

研究課題名(英文) Control of *Monochamus alternatus* by transferring *Bursaphelenchus doui* and *B. luxuriosae*, closely related species of *B. xylophilus* as the phoretic symbiont

研究代表者

小澤 壮太 (Ozawa, Sota)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・研究員

研究者番号：10753139

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マツノザイセンチュウ近縁2種の寄生型成虫の生態を解明し、本来の媒介昆虫ではないマツノマダラカミキリに寄生型成虫を保持させた際に与える影響を調べることで、防除素材としての有効性を評価しようとした。寄生型成虫の本来の媒介昆虫への侵入部位を調べた結果、寄生型成虫は媒介昆虫に寄生しておらず、単に便乗しているものと確認した(寄生型成虫の名称は便乗型成虫になった)。便乗型成虫の経過観察により、便乗ステージでありながら増殖能力も備えていることも示唆された。便乗型成虫のマツノマダラカミキリ体内の分布を調べたところ、血体腔や生殖器官へ侵入しておらず、生存や繁殖に影響するような効果は期待できないと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、マツノザイセンチュウ近縁2種の寄生型成虫の、本来の媒介昆虫ではないマツノマダラカミキリへの導入を通して、防除素材としての有効性を評価しようとした。寄生型成虫はマツノマダラカミキリの血体腔や生殖器官に侵入せず、生存や繁殖などの影響も確認されなかった。マツノザイセンチュウ近縁2種を用いた防除技術開発という目標の達成には至らなかったが、生態や生活環における位置づけという寄生型成虫(便乗型成虫)に関する成果は、マツノザイセンチュウを含め *Bursaphelenchus* 属線虫と媒介昆虫の相互の関係性を理解する上で貢献するものとなるであろう。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research was to elucidate the ecology of the parasitic adults of two species of the *Bursaphelenchus* genus, and to evaluate their effectiveness as a control material by studying the effects of retaining the parasitic adults on the *Monochamus alternatus*, which is not the original vector insect. By investigating the invasion site of the parasitic adults into the original vector insect, we confirmed that the parasitic adults were not parasitic on the vector insect, but were identified it as simply a phoretic (the name of the parasitic adults was changed to "the phoretic adults"). Observations of the phoretic adults also suggested that it had the ability to breed despite being in the phoretic stage. The distribution of the phoretic adults in the body of the *Monochamus alternatus* was examined and found that they did not invade the body cavity and reproductive organs, suggesting that they are not expected to have an effect on survival and reproduction for *M. alternatus*.

研究分野：昆虫寄生線虫 マツ材線虫病

キーワード：マツノザイセンチュウ近縁種 便乗型成虫 マツノマダラカミキリ

### 1. 研究開始当初の背景

(1) マツ材線虫病の病原体であるマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) は、日本ではマツノマダラカミキリ (*Monochamus alternatus*) によって媒介される。マツ材線虫病に対する防除では媒介昆虫マツノマダラカミキリを標的とした農薬に依存した処理が一般的であるが、農薬への依存度を低減するための、天敵等を利用した防除技術の開発も古くから取り組まれてきた。これまでマツノマダラカミキリに対する昆虫病原糸状菌 (*Beauveria bassiana*) やマツノザイセンチュウに対する線虫寄生菌が利用されてきた (Maehara et al. 2007, Maehara 2008)。線虫を防除素材として利用した例としては、マツノマダラカミキリの寄生性線虫 (*Contortylenchus genitalicola*) が挙げられるが、十分な効果は得られなかった (Kosaka and Ogura 1993 など)。

(2) マツノザイセンチュウは、分散型 4 期幼虫という便乗に特化した発育ステージでマツノマダラカミキリ成虫に運ばれる。マツノザイセンチュウが所属する *xylophilus* グループには複数の近縁種が知られており、その内の *B. doui* および *B. luxuriosae* は、分散型 4 期幼虫ではなく、寄生型成虫という特殊な発育ステージで、それぞれの媒介昆虫であるピロウドカミキリ (*Acalolepta fraudatrix*) およびセンノカミキリ (*A. luxuriosa*) に運ばれている。

分散型 4 期幼虫がカミキリムシ成虫に運ばれる際には、昆虫の気管に入り込むことが知られており、昆虫には影響を及ぼさず乗り物として利用している。これに対し、寄生型成虫は、昆虫に悪影響を及ぼす可能性があるが、昆虫への侵入部位をはじめとする生態の詳細や線虫の生活環における位置づけも明らかになっていなかった。寄生型成虫がカミキリムシへの寄生能力をもち、生存や繁殖に影響を及ぼすならば、媒介昆虫の駆除、ひいてはマツ材線虫病の防除にもつながると考えた。

(3) *B. doui* および *B. luxuriosae* の寄生型成虫を本来の媒介昆虫へ移行させる系 (Maehara et al. 2013) や、寄生型成虫を本来の媒介昆虫とは異なるマツノマダラカミキリへ移行させる寄主転換操作の手法は既に確立された技術である (前原ら 2018)。これらの技術を用いるアプローチにより、自然には存在しない組み合わせの生物間相互作用を現出し、防除素材を開拓しようとした。

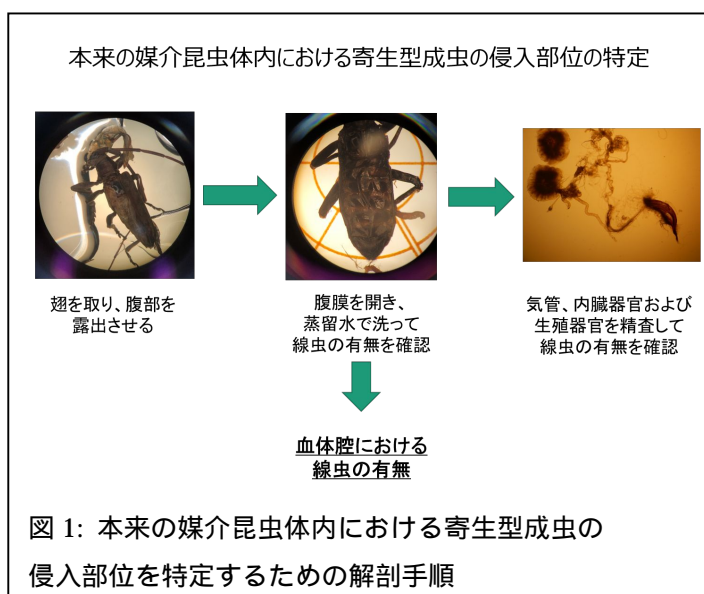
### 2. 研究の目的

本研究では、マツノザイセンチュウ近縁 2 種の *B. doui* および *B. luxuriosae* の寄生型成虫の寄生生態やその位置づけを解明するとともに、本来の媒介昆虫ではないマツノマダラカミキリに寄生型成虫を保持させた際に与える影響を調べることで、防除素材としての有効性を評価する。

### 3. 研究の方法

#### (1-) 本来の媒介昆虫への寄生型成虫の侵入部位の特定

マツノザイセンチュウ近縁種の *B. doui* および *B. luxuriosae* の寄生型成虫の本来の媒介昆虫への侵入部位を明らかにするため、両線虫種を培養した寒天培地に本来の媒介昆虫であるピロウドカミキリおよびセンノカミキリを導入して共存させた。寄生型成虫は、媒介昆虫の存在下でそれらの羽化時期にタイミングを合わせて出現することが知られている。そこで、これら共存培養下で羽化したカミキリムシ成虫を取り出し、解剖により気管、血体腔、内臓器官および生殖器官を精査することで寄生型成虫の侵入部位を調べた (図 1)。



#### (1-) 寄生型成虫の生活環における位置づけの解明

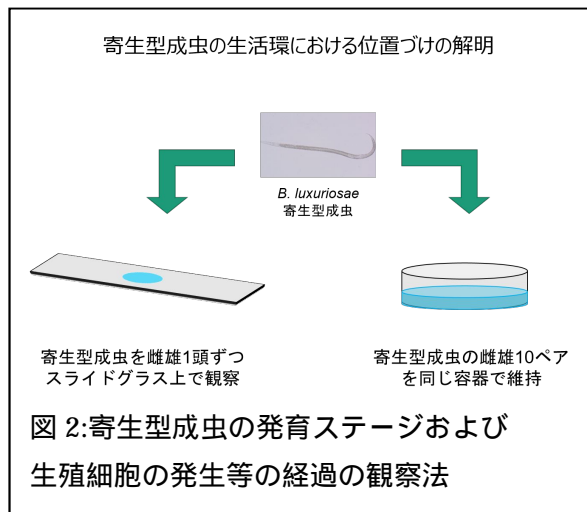
*B. luxuriosae* を培養した寒天培地上で羽化したセンノカミキリを解剖して得られた *B.*

*luxoriosae*の寄生型成虫を使用して、発育ステージおよび生殖細胞の発生等の経過を観察した。寄生型成虫は雌雄1頭ずつスライドグラス上で観察する方法および、寄生型成虫の雌雄10ペアを同じ容器で維持する方法などで経過観察を行った(図2)。

## (2) マツノザイセンチュウ近縁種の

### マツノマダラカミキリへの寄主転換操作

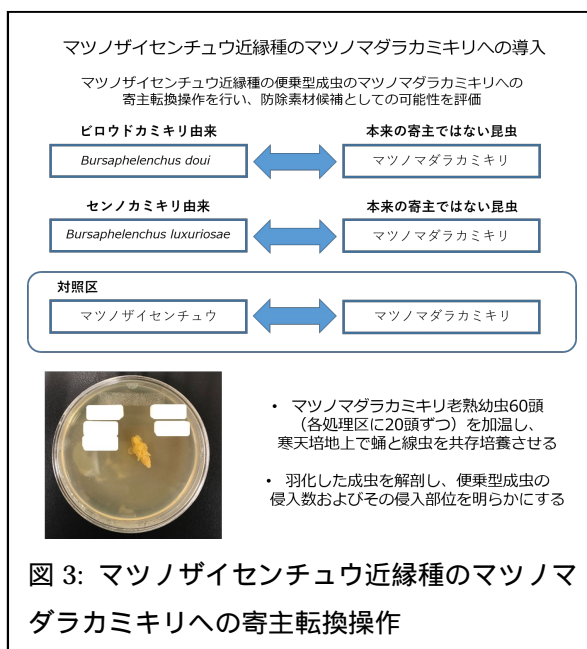
マツノザイセンチュウ近縁2種の寄生型成虫のマツノマダラカミキリへの寄主転換操作を行い、マツノマダラカミキリに及ぼす影響を調べた。寄主転換操作は、寒天培地上で線虫とマツノマダラカミキリを共存培養する方法で行った。*B. doui*と*B. luxoriosae*、さらにマツノザイセンチュウを培養した寒天培地上にマツノマダラカミキリの蛹を置き、線虫を保持させた(図3)。羽化したカミキリムシ成虫を取り出し、解剖により気管、血体腔、内臓器官および生殖器官を精査することで寄生型成虫の侵入部位を調べた(図1)。



## 4. 研究成果

### (1- ) 媒介昆虫への寄生型成虫の侵入部位の特定

寄生型成虫の生活環における位置づけやその寄生生態を明らかにするために、マツノザイセンチュウ近縁種*B. doui*および*B. luxoriosae*をそれぞれの本来の媒介昆虫のピロウドカミキリ*Acalolepta fraudatrix*14頭およびセンノカミキリ*A. luxuriosa*9頭に実験条件下で保持させて、寄生型成虫のカミキリムシへの侵入部位の特定を試みた。寄生型成虫はカミキリムシ成虫の血体腔には侵入しておらず、気管から主に分離された。したがって、マツノザイセンチュウ近縁2種の寄生型成虫が本来の寄主昆虫に対して影響を及ぼしている可能性は低く、カミキリムシとの関係においては寄生というよりむしろ便乗という関係にあるものと考えられた。



### (1- ) 寄生型成虫の生活環における位置づけの解明

*B. luxoriosae*とセンノカミキリを寒天培地上で共存培養した後、取り出したセンノカミキリ成虫を解剖して得られた*B. luxoriosae*の寄生型成虫の発育ステージおよび生殖細胞の発生等の経過を観察した。マツノザイセンチュウの便乗ステージである分散型4期幼虫は増殖型成虫へと脱皮して成長するが、*B. luxoriosae*の寄生型成虫では9~10日に及び観察の中で脱皮は確認されなかった。また、寄生型成虫の雌雄ペアを一緒にの容器で維持したところ、寄生型成虫の雌が卵を産下したことを発見した。このことは、寄生型成虫が昆虫への便乗ステージであるとともに増殖能力ももつことを示す新規な知見である。

### (2) マツノザイセンチュウ近縁種のマツノマダラカミキリへの寄主転換操作

マツノザイセンチュウ近縁種*B. doui*および*B. luxoriosae*がそれぞれの本来の媒介昆虫に対し、寄生ではなく便乗関係にあることが明らかになった。一方、寄生型成虫の名称についても、浴野ら(2017)による外部形態等の観察に基づき、神崎ら(2019)により便乗型成虫へと変更された。しかし、本来の媒介昆虫ではないマツノマダラカミキリに便乗型成虫が導入された際にどのようなことが起こるのかはわかっておらず、侵入部位の錯位により生存や繁殖に影響を及ぼす可能性も想定された。そこで、*B. doui*と*B. luxoriosae*、さらにマツノザイセンチュウと、マツノマダラカミキリ19頭、17頭、16頭の組み合わせで線虫を保持させて、便乗型成虫のカミキリムシへの侵入部位を調べた。その結果、便乗型成虫はカミキリムシの血体腔や生殖器官には侵入しておらず、生存や繁殖に影響するような明瞭な効果は確認されなかった。

(3) マツノザイセンチュウ近縁2種の*B. doui*および*B. luxoriosae*の便乗型成虫もマツノザイセンチュウの分散型4期幼虫と同じく、便乗関係にあることが明らかになった。さらに、便乗

型成虫は便乗型のステージであるにもかかわらず、増殖能力ももつことを示した。マツノザイセンチュウを含めた *Bursaphelenchus* 属線虫の *xylophilus* グループは、その多くがそれぞれの媒介昆虫と関係性を持っており、分散型 4 期幼虫では媒介昆虫カミキリムシから寄主樹木に移動・分散する際に、脱皮を経て雌雄どちらかの成虫に成長する。便乗型成虫という発育ステージは、媒介昆虫から寄主樹木に移動・分散する際に、脱皮を経ることなく、交尾・産卵に移ることが可能だと推測される。便乗型成虫が媒介昆虫に保持されている時にすでに交尾を済ませていれば、媒介昆虫から脱出した後、直ちに繁殖が可能になるだろう。便乗型成虫は分散型 4 期幼虫よりも少数頭から次世代を増殖させるのに有利な発育ステージではないかと推察される。本研究の成果はマツノザイセンチュウを含めた *Bursaphelenchus* 属線虫と媒介昆虫の関係性を理解する上で有益な情報になるであろう。

便乗型成虫は本来の媒介昆虫ではないマツノマダラカミキリに対し生存や繁殖に影響するような明瞭な効果が認められなかった。マツ材線虫病の生物的防除技術の開発は、長年取り組まれてきた課題であり、鳥類、昆虫、線虫、病原微生物などの利用が検討されてきたが、昆虫病原菌を除き実用化には至っていない。マツノマダラカミキリの天敵としては、捕食寄生者や寄生性線虫の利用が検討されてきた。寄生生物が本来の寄主の生存や繁殖に深刻な影響を及ぼしてしまふと、寄主の存亡を脅かすことになり、寄生者にとっても生存することが危ぶまれることとなるため、寄生生物はマツノマダラカミキリとの共進化の過程で、本来の寄主に対し深刻な影響を引き起こさなくなっている可能性がある。そのような場合、寄生者は本来の寄主とは、言わば共存するようなレベルの影響となっており、このことが防除に利用する上での困難な点になっていたと考えられる。

寄主転換操作の技術を用いたアプローチは、本来の媒介昆虫と線虫間の相互作用系への介入という形で防除素材を開拓しようとしたもので、この問題に挑戦しようとするものであった。このアプローチで有用な線虫がスクリーニングされたならば、マツ材線虫病の新たな生物的防除技術の開発にも繋がるかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 小澤壮太、中村克典、前原紀敏	4. 巻 26
2. 論文標題 マツノキクイムシに寄生するParasitorhabditis属線虫のマツノマダラカミキリへの接種の試み	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 東北森林科学会誌	6. 最初と最後の頁 13-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小澤壮太	4. 巻 762
2. 論文標題 昆虫寄生線虫を使ったマツノマダラカミキリ防除の試み	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 岩手の林業	6. 最初と最後の頁 6-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小澤壮太、中村克典、前原紀敏
2. 発表標題 マツノキクイムシ寄生性線虫のマツノマダラカミキリへの寄生性の検討
3. 学会等名 日本森林学会大会学術講演集、132:L9
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小澤壮太、前原紀敏、神崎菜摘、相川拓也、中村克典
2. 発表標題 マツノザイセンチュウ近縁2種の便乗型成虫のカミキリムシへの乗り移り
3. 学会等名 日本森林学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------