

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380092

研究課題名(和文) マツ材線虫病の病原体マツノザイセンチュウを進化させたのはピロウドカミキリか？

研究課題名(英文) Did *Acalolepta fraudatrix* evolve *Bursaphelenchus xylophilus*, the pathogen of 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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,800,000円、(間接経費) 2,940,000円

研究成果の概要(和文)：分子系統解析が示す「広葉樹を寄主とする線虫からマツノザイセンチュウへの進化」が実際に起こるには、線虫を広葉樹から針葉樹へと媒介する、すなわち、これら両樹種を寄主として利用できるカミキリムシの存在が必須である。このような性質を持つピロウドカミキリを調べたところ、マツノザイセンチュウの近縁種(*Bursaphelenchus doui*)を媒介していた。また、*B. doui*は広葉樹と針葉樹のカミキリムシの両方を媒介者として利用できることが分かった。そのため、*B. doui*がピロウドカミキリによって広葉樹から針葉樹へと運ばれてきた後、マツノマダラカミキリへと媒介者を乗り換えた可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Molecular phylogenetic analyses show that *Bursaphelenchus xylophilus* evolved from *B. xylophilus* group nematodes that have a habitat preference for broad-leaved trees. This depends on cerambycid beetles (tribe Lamiini) that vector the nematodes from broad-leaved trees to conifers, namely, those that can use both broad-leaved trees and conifers as host trees. A field study showed that *Acalolepta fraudatrix*, which can use both broad-leaved trees and conifers, vectored *Bursaphelenchus doui*, a species in the *B. xylophilus* group. In addition, laboratory experiments indicated that *B. doui* could be vectored by both cerambycid beetles in broad-leaved trees and ones in conifers. Therefore, we suggest the possibility that *B. doui* was vectored from broad-leaved trees to conifers by *A. fraudatrix*, and then changed its vector from *A. fraudatrix* to *Monochamus alternatus*.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：昆虫 進化 線虫 生物間相互作用

## 1. 研究開始当初の背景

(1) マツ材線虫病の病原体マツノザイセンチュウは、マツノマダラカミキリの虫体内に乗り移り、マツ枯死木から健全木へと媒介され、本病を伝染する。マツノザイセンチュウの近縁種でありながらマツに対して弱い病原性しかも持たないニセマツノザイセンチュウも、マツノマダラカミキリによって媒介されることは当初から知られていたが、近年、研究分担者(神崎)によって、マツノザイセンチュウ近縁種群がヒゲナガカミキリ族(マツノマダラカミキリを含むグループ)のカミキリムシ類によって媒介される事例が次々と発見されていた(Kanzaki et al., 2000 など)。

(2) 研究代表者および分担者は、マツノザイセンチュウ近縁種群の分子系統解析の結果より、広葉樹を寄主としマツノマダラカミキリ以外のヒゲナガカミキリ族を媒介者とする線虫から、針葉樹を寄主としマツノマダラカミキリを媒介者とする線虫へという進化の方向性を明らかにしていた(Kanzaki et al., 2008)。

(3) 研究代表者は、マツ材片を用いたカミキリムシの人工蛹室を開発し、野外と同様にマツノザイセンチュウをマツノマダラカミキリに多数乗り移らせることに成功していた(Maehara and Futai, 1996)。

(4) 研究代表者は、人工蛹室を用いて、マツノザイセンチュウが、本来クワノザイセンチュウの媒介者であるキボシカミキリにも数は少ないが乗り移ることを確認していた(Maehara and Futai, 2001)。このことは、痕跡的性質だと考えられ、上述の進化の方向性を裏付ける1つの証拠だと考えられた。

(5) マツノザイセンチュウ近縁種群を広葉樹から針葉樹へと媒介するには、これら両樹種を寄主として利用できるカミキリムシの存在が必須である。このような性質を持ったヒゲナガカミキリ族は少なく、中でも広範囲に分布し、マツからも頻出する種は、ピロウドカミキリしかいない。また、ピロウドカミキリが最高3,050頭のマツノザイセンチュウを媒介していたという報告もあり、ピロウドカミキリとマツノザイセンチュウ近縁種群の親和性は高いと考えられた。

## 2. 研究の目的

(1) 人工蛹室を用いてマツノザイセンチュウ近縁種群とヒゲナガカミキリ族の親和性を調べることにより、「マツノザイセンチュウ近縁種群の広葉樹から針葉樹への進化のかけ橋になったのは、ピロウドカミキリ、もしくはその祖先種である」という仮説を検証し、マツノザイセンチュウの進化の過程を解明する。

(2) マツ材線虫病において現在成立している「マツノザイセンチュウ - マツノマダラカミキリ」という便乗関係の安定性を評価する。

## 3. 研究の方法

(1) 野外でピロウドカミキリが媒介するマツノザイセンチュウ近縁種群の探索

野外でピロウドカミキリが媒介するマツノザイセンチュウ近縁種群を調査した。

(2) ピロウドカミキリの飼育方法の考案・カミキリムシの人工蛹室の改良

ピロウドカミキリに関しては、これまで飼育法が全く研究されていないので、成虫飼育・産卵・幼虫飼育の方法を考案した。また、開発済みのマツ材片を用いたカミキリムシの人工蛹室を、本研究向けに改良することを試みた。

(3) ピロウドカミキリが媒介するマツノザイセンチュウ近縁種群の便乗ステージの解明

マツノザイセンチュウ近縁種群は、媒介者であるカミキリムシが羽化する際に出すシグナル物質を感じて耐久型幼虫もしくは寄生型成虫(タラノザイセンチュウの場合)という特殊なステージになることで、そのカミキリムシに乗り移って媒介される(このカミキリムシに乗り移るためのステージを便乗ステージと呼ぶ)。逆に言うと、便乗ステージになれないとカミキリムシに乗り移れないことになる。(2)で改良した人工蛹室を用いて、ピロウドカミキリが媒介するマツノザイセンチュウ近縁種群の便乗ステージを調べた。

(4) ピロウドカミキリとマツノザイセンチュウ近縁種群との親和性の解明、および他のヒゲナガカミキリ族との比較

(2)で改良した人工蛹室を用いて、ヒゲナガカミキリ族とマツノザイセンチュウ近縁種群との親和性を、カミキリムシの存在下における線虫の便乗ステージの出現頻度を指標に調べ、ピロウドカミキリと他のカミキリムシ(マツノマダラカミキリ・キボシカミキリ・センノカミキリ)とで比較した。

(5) ピロウドカミキリからマツへの線虫の離脱

アカマツ健全木を切った丸太にピロウドカミキリ成虫に産卵させ、翌年その丸太から脱出してきた次世代のピロウドカミキリ成虫が保持する線虫を調べた。

## 4. 研究成果

(1) 野外でピロウドカミキリが媒介するマツノザイセンチュウ近縁種群の探索

ピロウドカミキリ成虫からマツノザイセンチュウ近縁種群の一種である *Bursaphes*

*Ienichus doui* (和名なし) を検出した。

(2) ビロウドカミキリの飼育方法の考案・カミキリムシの人工蛹室の改良

ビロウドカミキリの幼虫飼育には既に開発済みのマツノマダラカミキリ用人工飼料が、成虫飼育にはクワの新鮮葉と乾燥葉が、また産卵木には伐倒後1か月程度経ったカラマツの樹幹が適していることが明らかになり、ビロウドカミキリの飼育・採卵が可能となった。また、マツ材片を用いたカミキリムシの人工蛹室を、寒天培地を用いた簡便な人工蛹室に改良した(図1)。



図1. カミキリムシの改良人工蛹室

(3) ビロウドカミキリが媒介するマツノザイセンチュウ近縁種群の便乗ステージの解明

ビロウドカミキリは、マツノザイセンチュウ近縁種群の一種である *B. doui* を、耐久型幼虫と寄生型成虫という2つの便乗ステージで媒介することが明らかになった。

(4) ビロウドカミキリとマツノザイセンチュウ近縁種群との親和性の解明、および他のヒゲナガカミキリ族との比較

ビロウドカミキリは、マツノザイセンチュウ近縁種群の中で *B. doui* と高い親和性を示すことが明らかになった。また、*B. doui* は、キボシカミキリやセンノカミキリとも高い親和性を示し、マツノマダラカミキリとも親和性を示した。このことは、*B. doui* ならビロウドカミキリからマツノマダラカミキリへと媒介者を乗り換えることが可能であることを示している。一方、マツノザイセンチュウは、マツノマダラカミキリと高い親和性を示したが、ビロウドカミキリ、センノカミキリ、キボシカミキリとも親和性を示し、マツノマダラカミキリとだけ特異的に関係するわけではなかった。

(5) ビロウドカミキリからマツへの線虫の離脱

アカマツ健全木を切った丸太にビロウド

カミキリ成虫に産卵させたところ、翌年その丸太から脱出してきた次世代のビロウドカミキリ成虫が、*B. doui* を保持していた。すなわち、ビロウドカミキリ成虫に運ばれていた *B. doui* が、ビロウドカミキリの産卵時にアカマツ丸太に侵入し、次世代の成虫によって丸太から再び運び出されたと考えられた。

(6) 全体のまとめ

*B. doui* がビロウドカミキリによって広葉樹から針葉樹へと運ばれてきて、ビロウドカミキリの産卵時に針葉樹に侵入した後、マツノマダラカミキリへと媒介者を乗り換えた可能性があると考えられた。

マツ材線虫病における「マツノザイセンチュウ - マツノマダラカミキリ」という便乗関係は、必ずしも特異的ではないということが明らかになった。

(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

従来の研究では、「マツ - マツノザイセンチュウ - マツノマダラカミキリ」というマツ材線虫病において現在成立している関係のみが対象とされてきた。近年、マツノザイセンチュウがポルトガルに侵入したことを受けて本病の研究が盛んなヨーロッパにおいても、同様である。これに対して、本研究は、寄主を広葉樹、線虫をマツノザイセンチュウ近縁種群、媒介者をヒゲナガカミキリ族に広げることで、マツノザイセンチュウの進化の過程に迫ろうとしたところに最大の特色がある。分子系統樹で得られている広葉樹から針葉樹へとというマツノザイセンチュウ近縁種群の進化の方向性について、実際にその進化に直接関わった線虫と媒介者をそれぞれ *B. doui* とビロウドカミキリであると推定し、進化生態学的に興味深い結果を得ることができた。

マツ材線虫病における「マツノザイセンチュウ - マツノマダラカミキリ」という便乗関係は、これまで非常に強く、特異的であると考えられてきたが、必ずしもそうではないことを明らかにできた。この知見は、マツノザイセンチュウとマツノマダラカミキリの便乗関係を断ち切る新たな防除法の開発につながる成果だと考えられる。

(8) 今後の展望

「ビロウドカミキリによって広葉樹から針葉樹へと運ばれてきた後、マツノマダラカミキリへと媒介者を乗り換えた *B. doui* は、その後、どのようにして病原性を獲得し、病原力の強いマツノザイセンチュウへと進化したのか」というマツ材線虫病における最大の謎を解明する。

得られた知見を基に、「マツノザイセンチ

ユウ - マツノマダラカミキリ」という便乗関係を断ち切る防除法を開発する。

5. 主な発表論文等  
〔雑誌論文〕(計7件)

Noritoshi Maehara 2014. Effects of location of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) pupal chambers and individual trees from which the beetles emerged on the number of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) carried by the beetles. *Nematology* 16, 369-372. (査読有)

DOI: 10.1163/15685411-00002784

Noritoshi Maehara, Natsumi Kanzaki, Takuya Aikawa and Katsunori Nakamura 2013. Effects of two species of cerambycid beetles, tribe Lamiini (Coleoptera: Cerambycidae), on the phoretic stage formation of two species of nematodes, genus *Bursaphelenchus* (Nematoda: Aphelenchoididae). *Nematological Research* 43, 9-13. (査読有)

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjn/43/1/43\\_9/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjn/43/1/43_9/_pdf)

Takuya Aikawa, Natsumi Kanzaki and Noritoshi Maehara 2013. ITS-RFLP pattern of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) does not reflect nematode virulence. *Journal of Forest Research* 18, 384-388. (査読有)

DOI: 10.1007/s10310-012-0354-1

Natsumi Kanzaki, Noritoshi Maehara, Takuya Aikawa and Katsunori Nakamura 2013. An entomoparasitic adult form in *Bursaphelenchus doui* (Nematoda: Tylenchomorpha) associated with *Acalolepta fraudatrix*. *Journal of Parasitology* 99, 803-815. (査読有) DOI: 10.1645/GE-3253.1

前原紀敏 2012. マツ材線虫病にみる病原体と媒介昆虫、それらを取り巻く菌類の関係。日本森林学会誌 94, 283-291. (査読有)  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjfs/94/6/94\\_283/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjfs/94/6/94_283/_pdf)

Natsumi Kanzaki, Noritoshi Maehara, Takuya Aikawa and Kazuma Matsumoto 2012. *Bursaphelenchus firmae* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), isolated from *Monochamus grandis* Waterhouse that emerged from dead firs, *Abies firma* Sieb. et Zucc. *Nematology* 14, 395-404. (査読有)

DOI: 10.1163/156854111X602974

Natsumi Kanzaki, Ryusei Tanaka and Norio Sahashi 2012. Mortality of shaded pine trees inoculated with virulent and less-virulent isolates of pine wood nematodes. *Environmental Entomology* 41, 828-832. (査読有) DOI: 10.1603/EN12031

〔学会発表〕(計4件)

前原紀敏・神崎菜摘・相川拓也・中村克典 弱病原力マツノザイセンチュウのLamiini族カミキリムシ4種への乗り移り。第125回日本森林学会大会 2014年3月29日 大宮ソニックシティ(埼玉県)

前原紀敏・神崎菜摘・相川拓也・中村克典 ニセマツノザイセンチュウのLamiini族カミキリムシ4種への乗り移り。第124回日本森林学会大会 2013年3月26日 岩手大学(岩手県)

前原紀敏・神崎菜摘・相川拓也・中村克典 マツノザイセンチュウ近縁種群の進化過程におけるピロウドカミキリと*Bursaphelenchus doui*。第123回日本森林学会大会 2012年3月28日 宇都宮大学(栃木県)

前原紀敏・神崎菜摘・相川拓也・中村克典 *Bursaphelenchus*属4種のLamiini族カミキリムシ4種への乗り移り。日本線虫学会第19回大会 2011年9月15日 京都市国際交流会館(京都府)

〔図書〕(計1件)

前原紀敏 京都大学学術出版会 微生物生態学への招待 森をめぐるミクロな世界(二井一禎・竹内祐子・山崎理正編)2012年 181-200.

〔その他〕

前原紀敏 カミキリムシに線虫を乗せる。岩手の林業(岩手県林業改良普及協会編集発行) 657, 6.

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

中村 克典 (NAKAMURA, Katsunori)

独立行政法人森林総合研究所・東北支所・グループ長

研究者番号: 40343785

相川 拓也 (AIKAWA, Takuya)

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: 90343805

神崎 菜摘 (KANZAKI, Natsumi)

独立行政法人森林総合研究所・森林微生物研究領域・主任研究員

研究者番号: 70435585