

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：82105

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24658148

研究課題名(和文)菌類を活用した花粉症起因植物に対する花粉飛散防止法の開発

研究課題名(英文) Development of pollen dispersal prevention act against allergy to pollen caused by plant with utilizing fungus.

研究代表者

窪野 高德 (Kubono, Takanori)

独立行政法人森林総合研究所・森林微生物研究領域・領域長

研究者番号：80353671

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：子のう菌類、*Sydowia japonica* 菌を用いて、都市圏の住民に問題となっているカバノキ科樹木及びマツ科樹木の花粉症を防止するため、本菌を用いた接種試験を実施した。米ぬか・ふすま培地に培養した活性の高い本菌の菌糸塊を用いた接種試験では、クロマツ及びアカマツの雄花では感染しなかった。一方、カバノキ科樹木においては「有傷接種」で開花しない雄花が発生し、シラカバ、ヤマハンノキ及びカワラハンノキから本菌が再分離されて、病原性が確認された。そこで、防止液の散布による実用化を目指して、カバノキ科の上記3種に対して孢子体懸濁液の散布試験を実施したが、雄花には異常は見られず、花粉は正常に飛散した。

研究成果の概要(英文)：Ascomycetes fungi, using *Sydowia japonica*, in order to prevent allergy to pollen of the birch family trees and pine family trees has become a problem to residents of the metropolitan area, it was carried out vaccination test using this fungus. In the inoculation test using this fungus mycelium mass of activity which had been cultured in rice bran, wheat bran medium, were not infected with black pine and red pine of male flowers. On the other hand, male flowers that do not bloom in the "wounded inoculation" is generated in the birch family trees, birch, is re-isolated this fungus from Shirakabai and tile alder, was confirmed pathogenicity.

研究分野：樹病学

キーワード：花粉症 菌類 活用 マツ科 カバノキ科 シラカバ ヤマハンノキ カワラハンノキ

1. 研究開始当初の背景

現在、スギ花粉症は我が国で大きな社会問題となっており、4人に1人は花粉症に苦しんでいる①②。このような中、筆者らは、スギ花粉症対策の一環として、自然界においてスギ雄花に寄生する菌類 (*Sydowia japonica*) を用いて、人為的に雄花を枯死に導き、花粉の飛散を抑制することに成功した③。このような、微生物を利用して雄花を枯死させることによって、花粉の飛散を抑止したバイオリジカルコントロール手法は世界的に見当たらない。



図1. *Sydowia japonica* 菌によって人為的に枯死させたスギ雄花

2009年より開始した科学研究費補助金による挑戦的萌芽研究「菌類を用いたスギ花粉飛散防止技術の開発」において、特許申請中(スギ花粉飛散抑制剤及びスギ花粉飛散抑制方法)の処理液を適期に散布処理することによって、スギ雄花を枯死させ、花粉の飛散を人為的に防止することに成功した(図1)。これらの成果によって、スギ花粉の飛散防止に一定の目途が着いた。そこで、本手法を現存する全ての花粉症起因植物に適用させるための最初のステップとして、カバノキ科樹木(シラカバ・ハンノキ)及びマツ科樹木(クロマツ・アカマツ)に対する花粉飛散防止法の開発に挑んだ。

2. 研究の目的

本研究は、自然界に存在する菌類を利用して、現存する花粉症起因植物の花粉飛散を防止する手法の開発を目的とする。これまでの研究によって、筆者らは子の菌類である *Sydowia japonica* 菌を雄花に人為的に散布処理することによって、スギ花粉の飛散抑止を成功させて来た。そこで、この手法を用いて、現在、都市圏の住民に問題となっているカバノキ科樹木(シラカバ・ハンノキ)及びマツ科樹木(クロマツ・アカマツ)の花粉症を防止するため、本菌を用いた拡大適用を検討した。

3. 研究の方法

(1) 菌糸塊を用いた接種試験 接種試験は森林総合研究所実験林(つくば市)に植栽さ

れたマツ科樹木2種(クロマツ、アカマツ)及び東北支所実験林(盛岡市)に植栽されたカバノキ科樹木5種(シラカバ、ウダイカンバ、ヤマハンノキ、カワラハンノキ、ツノハシバミ)に行った。接種は米ぬか・ふすま培地に約2週間培養した菌糸塊を用いて、雄花にナイフで傷を付けて菌糸塊を直接附着させる「有傷接種」と、傷をつけないで菌糸塊を附着させる「無傷接種」で行った。また、対照として、ナイフで付傷し、無菌の米ぬか・ふすま培地を附着させる「有傷無菌接種」を行った。つくば市では、2014年3~4月にかけてクロマツ及びアカマツの雄花に対し、「有傷接種」と「無傷接種」を行った。一方、盛岡市では、2013年10~11月にかけて、前出のカバノキ科樹木5種の雄花に対し、「有傷接種」と「有傷無菌接種」を行った。その後、2014年3~5月にかけて、雄花の開花状況を調査し、開花有無の雄花数をカウントするとともに、開花せず枯死した雄花に対しては接種菌の病原性を確認するため、コッホの原則に従って、再分離を行った。

(2) 胞子体(分生子)を用いた接種試験 *S. japonica* 菌の分生子懸濁液に5%大豆油と1.6%のレシチンを添加して、分生子乳剤を作成し、散布液とした。2012年11月及び2013年3~4月にかけて、有傷及び無傷処理したクロマツ・アカマツ、及び無傷処理したシラカバ・ヤマハンノキの成熟雄花に対し、分生子乳剤を散布した。

4. 研究成果

(1) 菌糸塊を用いた接種試験 春季3~4月にかけて、クロマツ及びアカマツの雄花に菌糸塊を接種した結果、クロマツでは有傷接種で開花しない雄花が発生したが、接種菌は再分離されなかった(表1)。また、アカマツでは「有傷接種」及び「無傷接種」とも、全ての雄花が開花し、花粉の飛散は抑制されなかった(表1)。クロマツ及びアカマツの雄花は4月頃より成熟し、成熟するとともに短期間で開花が始まることから、本菌が十分に雄花内に蔓延する以前に花粉が飛散することから、開花は防げなかったと推察された。

一方、カバノキ科樹木5種においては、「有傷無菌接種」では全ての雄花が開花し、付傷による開花の影響はなかった(表2)。しかし、「有傷接種」では、すべての樹種で開花しない雄花が発生し、これらの雄花から接種菌の再分離を行った結果、シラカバ、ヤマハンノキ及びカワラハンノキから *S. japonica* が分離され、本菌の病原性が確認された(表2、図2~4)。今回の「有傷接種」によって、シラカバ、ヤマハンノキ及びカワラハンノキに対して、コッホの原則が満たされたことから、*S. japonica* はスギのみならず、カバノキ科樹木の雄花に対しても花粉の飛散を抑制する可能性が示された。

表1 マツ科樹木2種に対する接種試験

樹種	接種日	処理方法	処理本数	雄花開花状況		枯死雄花からの接種菌の再分離
				開花	開花せず(枯死)	
クロマツ	2014.3.1	有傷接種	10	4	6	-
		無傷接種	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
	2014.3.4	有傷接種	5	3	2	-
		無傷接種	5	5	0	N.T.
2014.4.24	有傷接種	10	4	6	-	
	無傷接種	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	
アカマツ	2014.4.24	有傷接種	5	5	0	N.T.
		無傷接種	5	5	0	N.T.

注) 有傷接種: ナイフの付傷部に米ぬか・ふすま培地に培養した菌糸塊を付着させた
 無傷接種: 無傷の雄花に米ぬか・ふすま培地に培養した菌糸塊を付着させた
 -: 再分離されず、
 N.T.: No Test

表2 カバノキ科樹木及びスギ雄花への接種試験

樹種	接種日	処理方法	処理本数	雄花開花状況		枯死雄花からの接種菌の再分離
				開花	開花せず(枯死)	
シラカバ	2013.11.30	有傷接種	15	14	1	+
		有傷無傷接種	5	5	0	N.T.
ウダイガンバ	2013.10.22	有傷接種	10	0	10	-
		有傷無傷接種	5	0	5	N.T.
ヤマハンノキ	2013.11.30	有傷接種	7	0	7	+
		有傷無傷接種	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
カワラハンノキ	2013.11.30	有傷接種	10	0	10	+
		有傷無傷接種	5	不明	不明	N.T.
ツノハシバミ	2013.11.30	有傷接種	10	5	5	-
		有傷無傷接種	5	不明	不明	N.T.
スギ	2013.11.30	無傷接種	15	0	15	+

注) 有傷接種: ナイフの付傷部に米ぬか・ふすま培地に培養した菌糸塊を付着させた
 有傷無傷接種: ナイフの付傷部に米ぬか・ふすま培地に培養した菌糸塊を付着させた
 無傷接種: 無傷の雄花に米ぬか・ふすま培地に培養した菌糸塊を付着させた
 +: 再分離、 -: 再分離されず、N.T.: No Test、不明: 自然落下により確認できず



図2 *S. japonica* の接種によって開花しなかったカバノキ科雄花 (左から; シラカバ、ヤマハンノキ、カワラハンノキ、ウダイガンバ)



図3 花粉が封じ込められたシラカバ雄花内



図4 ヤマハンノキ雄花内に繁殖した菌糸 (矢印)

(2) 胞子体 (分生子) を用いた接種試験 春季3~4月にかけて、クロマツ及びアカマツの雄花に分生子乳剤を散布接種した結果、有傷区及び無傷区とも、全ての雄花が開花し、花粉の飛散は抑制されなかった (表3、図5)。また、シラカバ及びヤマハンノキに分生子乳剤を散布接種した結果、両者とも雄花に異常は見られず、花粉は正常に飛散した (表4)。以上の結果から、マツ科及びカバノキ科に対しては分生子乳剤の効果は認められなかった。

表3 クロマツ及びアカマツ雄花に対する分生子接種

接種時期	処理	供試雄花枝数	健全開花雄花枝率	感染雄花枝率(%)	発病率(%)
3月23日	有傷	10	100	0	0
	無傷	5	100	0	0
4月14日	有傷	10	100	0	0
	無傷	5	100	0	0
4月27日	有傷	10	100	0	0
	無傷	5	100	0	0

表4 シラカバ及びヤマハンノキ雄花に対する分生子接種

樹種	処理時期	処理区	処理花序数	健全開花数	開花率(%)
シラカバ	11月	有傷	60	60	100
		無傷	41	41	100
ヤマハンノキ	11月	有傷	64	54	84
		無傷	34	29	85



図5 感染しなかった健全なクロマツ雄花 (開花済み)

<引用文献>

- ①佐橋紀男、ここまで進んだ花粉症治療法、岩波書店、2002、190pp.
- ②奥野修司、花粉症は環境問題である、文春新書、2008、195pp.
- ③窪野高德、菌類を利用したスギ花粉飛散防止技術の実用化に向けて、季刊森林総研 24、2014、3-4

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0件)

〔学会発表〕（計2件）

- ① 窪野高德、市原 優、阪上宏樹、菌類を活用した花粉症起因植物に対する花粉飛散防止の可能性、東北森林科学会講演要旨集 19、2014年9月1～2日、p29、コラッセ福島、福島市
- ② 窪野高德、市原 優、阪上宏樹、菌類を利用した花粉症起因植物に対する花粉飛散防止効果の検討、日本森林学会大会学術講演集 125、2014年3月26～30日、p145 大宮ソニックシティ、さいたま市

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

窪野高德 (KUBONO Takanori)
森林総合研究所・森林微生物研究領域・領域長
研究者番号：80353671

(2) 研究分担者

市原 優 (ICHIHARA Yu)
森林総合研究所・関西支所・グループ長
研究者番号：10353583

阪上宏樹 (SAKAGAMI Hiroki)
九州大学・連合農学研究院・助教
研究者番号：40604822