

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2006～2009

課題番号：18208013

研究課題名 (和文) 昆虫嗜好性線虫の侵入定着と遺伝的構造に及ぼす種間交雑と媒介昆虫種数の影響

研究課題名 (英文) Effects of interspecific hybridization and multiple insect vector species on establishment and genetic structure of entomophilic nematodes

研究代表者

富樫 一巳 (TOGASHI KATSUMI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究分野：農学

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, ニセマツ, クワノザイセンチュウ, アカマツ, エゾマツ, 媒介昆虫, 伝染病, 侵入生物

#### 1. 研究計画の概要

本研究の目的は、侵入生物の定着や定着後の形質変化に及ぼす種間交雑の影響および線虫-媒介昆虫-樹木の系と線虫個体群の遺伝的構造の関係を解明することである。そのために、マツノザイセンチュウ (以後ザイセンと略) と近縁在来種ニセマツノザイセンチュウ (以後ニセマツと略) の種間交雑に及ぼす環境の影響、雑種個体群の遺伝的構造の時間的変化、雑種個体群の増殖率、病原力、低温耐性および媒介昆虫との相互関係 (侵入と離脱の能力) を親個体群と比較する。野外における枯死木内と媒介昆虫内のザイセンの遺伝的構造の関係および病原力の関係を明らかにする。雑種個体の存在を全国各地で調べる。クワノザイセンチュウの遺伝的マーカーを作成し、その線虫の媒介昆虫 3 種の個体群動態と線虫個体群の遺伝的構造を明らかにする。

#### 2. 研究の進捗状況

*Monochamus* 属 3 種のカミキリムシから *Bursaphelenchus* 属線虫を分離し、アイソレイトを確立することが出来た。そのうちの 2 種は新種であった。線虫を 25℃ で 1 - 2 週間飼育した後、5℃ に 16 週間保存することによって、終期幼虫の割合が高まること示された。この技術を用いて、交雑実験が容易に行うことができるようになった。ザイセンとニセマツの種間雑種の形成率はアイソレイト間で異なり、北海道富良野市産と広島県高野町産のニセマツはその他の系統よりもザイセンとの雑種形成能力が高

かった。DNA 解析によってそれらニセマツの 2 系統は欧州型であることが分かった。種間雑種系統の累代飼育によって、雑種個体群の核ゲノムがどちらかの種のそれに急速に近づくことが分かった。また、3 年の間に雑種個体群の絶滅は起こらなかった。

2 種線虫の 4 親系統と種間雑種 8 系統を 2 年生クロマツ 100 から 120 本ずつに接種した。その結果、ザイセンの 2 系統による枯死率は 0.69, 0.42 であり、ニセマツ 3 系統は全て 0.0 であった。また、雑種個体群の中で核ゲノムの大部分がザイセンのそれになっている場合だけ枯死率が 0.40, 0.48 であり、ニセマツのそれになっている場合は全くマツを枯らすことができなかった。後者の場合、細胞質がザイセン由来であってもニセマツ由来であっても枯死率に違いがなかった。このことから病原性の遺伝子は核内にあることが示唆された。

ザイセンとニセマツの雑種のうち、クロマツに病原性を示す雑種線虫 1 系統とその親線虫個体群を用いて、アカマツ材からマツノマダラカミキリ成虫への乗り移り能力を実験的に調べた。その結果、昆虫の平均保持線虫数 ( $\pm$  SE) は雑種線虫の場合  $1,126 \pm 480$  であり、ザイセンの  $990 \pm 486$  と有意な差はなく、ニセマツの  $390 \pm 35$  より有意に大きかった。このため、雑種線虫の一部はマツ林で存続可能であると判断された。

アカマツ枯死木の高さ別に材を採取してザイセンを分離したところ、枯死木内よりも枯死木間で線虫個体群の遺伝的分化が起こることが示された。日本各地からザイセンを採集して、DNA 解析によって雑種個体の存

在を調査したが、核ゲノムについて雑種個体の存在は確認できなかった。

北海道のシラフヨツボシヒゲナガカミキリ（以後シラフと略）はニセマツを伝播し、その保持率は23%であった。また、その線虫はエゾマツとトドマツの内樹皮にいたることが分かった。実験室ではシラフ成虫はトドマツよりエゾマツの枝を有意に好んで摂食したが、樹種間で産卵選択は認められなかった。このことからシラフ成虫は健全なエゾマツと枯死したばかりの2種の樹木に線虫を伝播すると考えられた。なお、シラフ幼虫をエゾマツとトドマツの小丸太を用いて飼育すると、羽化率は樹種間で違いはなかったが、発育速度は16時間明期より8時間明期の条件下で長くなった。北海道の針広混交林内の隣接する二つの帯状皆伐地（30m×400m）を使ってシラフ成虫の分散を調べたところ、50m以内の短距離分散と平均250mの長距離分散を行うことが示され、皆伐地間の林は分散に影響しなかった。

クワ園でキボシカミキリ（以後キボシと略）、クワカミキリ、トラフカミキリの個体群動態とクワノザイセンチュウ保持個体数の割合の調査を3年間おこなった。キボシの成虫は6月から12月まで発生したが、他の2種は6～8月にしか発生しなかった。キボシ成虫のクワノザイセンチュウ保持率は平均52%であり、クワカミキリとトラフカミキリのそれは各々20と3%であった。

小さな6クワ圃場でのキボシ成虫の発生期間には0日から197日までの変異があり、発生期間は圃場内の寄主木数と相関がなかったが、のべ捕獲数とは密接な関係を示した。すなわち、のべ捕獲数が0から18頭に増加するにつれて発生期間は急激に増加したが、18頭以上では安定した。のべ捕獲数と再捕獲の確率には正の相関があり、発生数が少ないと成虫は定着しないことが示され、新しいクワ圃場に進入して定着するまでにAllee効果（適応度に対する正の密度効果）があることが示唆された。

クワノザイセンチュウのSSR遺伝的マーカーの11プライマー対の設計が完了した。

### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

（理由）

侵入生物の定着や定着後の形質変化に及ぼす種間交雑の影響および線虫-媒介昆虫樹木の系と線虫個体群の遺伝的構造の関係の解明は、野外調査、実験室での解析と実験によって順調に進んでいる。ただ、論文として研究成果の公表が遅れている。

### 4. 今後の研究の推進方策

研究計画で残っている部分を完成させるとともに、これまでに得られた成果を論文として発表すべく、今年度は論文作成にかける時間と労力の割合を高めたい。

### 5. 代表的な研究成果

（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8件）

Kanzaki, N., N. Maehara, T. Aikawa, and K. Togashi, First report of parthenogenesis in the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937: a description of *Bursaphelenchus okinawaensis* sp. nov. isolated from *Monochamus maruokai* (Coleoptera: Cerambycidae), *Zoological Science*, 査読有, 25, 2008, 861-873.

Jikumaru, S. and K. Togashi, Resistance of an indigenous biological system against expansion of the invasive nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in cool areas of Japan, *Nematology*, 査読有, 10, 2008, 679-687.

Togashi, K., H. Kasuga, H. Yamashita, and K. Iguchi, Effect of host tree species on larval body size and pupal-chamber tunnel of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Applied Entomology and Zoology*, 43, 査読有, 2008, 235-240.

Togashi, K., Y. Taga, K. Iguchi, and T. Aikawa, *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) vectored by *Monochamus urussovi* (Coleoptera: Cerambycidae) in Hokkaido, Japan. *Journal of Forest Research*, 査読有, 13, 2008, 127-131.

〔学会発表〕（計7件）

〔図書〕（計2件）

Togashi, K., Springer, Pine wilt disease (eds. B. G. Zhao, K. Futai, J. R. Sutherland, & Y. Takeuchi), 2008, 162-183