

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20405025

研究課題名（和文）

菌類と共生する昆虫の生態解明とそのリスク評価：害虫化の根源を探るための日米間比較

研究課題名（英文）

Ecological study of insects associated with fungi and their risk assessment: comparison between Japan and other countries including US to find a root cause of pests

研究代表者

梶村 恒 (KAJIMURA Hisashi)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：10283425

研究成果の概要（和文）：日本やアメリカなど、世界各地の緑地（森林や果樹園など）を衰退させている昆虫（キクイムシ類、タマバエ類、グンバイ類など）について、その生態や遺伝的背景を比較して害虫化の根源を探った。とくに、昆虫と菌類・細菌類の共生メカニズムを解明するとともに、昆虫の加害様式と随伴菌および共生菌の病原性を検討した。

研究成果の概要（英文）：We have found a root cause of insect pests (e.g., scolytine and platypodine beetles, gall midges, lace bugs), which cause tree decline in forests and orchards etc. in the world including Japan and US, on comparison of ecological and genetic background. Especially, we have examined a biological mechanism in insect-microbe symbiosis, insect attack patterns in host trees and insect-vectoring fungus pathogenicity to them.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	5,000,000	1,500,000	6,500,000

研究分野：森林保護学、昆虫生態学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：媒介昆虫、共生菌、病原性、相互作用、共進化、系統分化、生物地理、侵入種

1. 研究開始当初の背景

キクイムシ類など、菌類と関係する昆虫が森林や果樹園で大きな打撃を与えている。しかし、無被害時の生態情報はほとんどない。一方、世界的には、侵入種の問題と連動して、昆虫と菌類の関係が重要視されている。

2. 研究の目的

昆虫と菌類の共生関係が農林生態系に与える影響を多角的に比較検討する。具体的には、以下の調査および実験を行う。

- (1) 加害様式と立地環境の把握
- (2) 昆虫および運搬する菌類の特定とその生態および遺伝的背景の解明
- (3) 昆虫と菌類の共生関係の定量化
- (4) 昆虫と随伴菌および共生菌の病原力の検定
- (5) 共生メカニズムの解析（昆虫種、菌種、国・地域）

これらの結果から、被害が発生する根本的

な原因を考察し、保護するための方策を提案する。

3. 研究の方法

(1) 加害様式と立地環境の把握

被害地において、植物体上に見られる昆虫の食痕や菌類の孢子形成器官を確認する。また、植物の生理状態や管理方法も把握する。無被害地においても、同様の調査を行う。

(2) 昆虫の捕獲と生態調査

植物体を切開して、穿孔する昆虫を取り出す。あるいは、生け捕りするために開発したトラップを設置して、羽化成虫を捕獲する。無被害地においては、餌木を伐採して、穿孔させ、回収する。

植物体を切開した際に、内部状態を調べる。成虫を種同定し、その生態（穿孔部位、巢の構造、発育過程、性比、配偶様式など）を確認する。

(3) 菌類の分離と生態調査

調査地から入手した虫体の内外を、各種顕微鏡を駆使して詳細に観察し、菌類の保持状態を調べる。とくに、mycangia（孢子を貯蔵する特別な器官）の存在の有無を明らかにする。加害された植物も、菌体の分布と存在様式を明らかにする。

昆虫の運搬する菌類を特定する。分離・培養実験によって、虫体や生息場所から菌類を検出する。とくに、mycangia が確認された場合は、この中の菌相を詳細に調べる。分離した菌の微細構造を観察して同定する。

(4) 昆虫と菌類の遺伝解析

捕獲した成虫と分離した菌株を用いて、定法により DNA 解析する。塩基配列データから、ハプロタイプの系統関係を明らかにし、遺伝的相同性を調べる。

(5) 依存度の査定

随伴菌あるいは共生菌の有無による、昆虫の反応を調べ、両者の関係を定量化する。野外や室内で飼育を行い、繁殖過程を追跡する。成育状況を経時的に観察し、個体数や体サイズなどを記録する。

(6) 加害性の検討

成虫を苗木や成木へ接種し、その影響を調べる。供試木の生育環境を調整し、加害性の挙動を確かめる。また、昆虫側の繁殖状態も記録する。

(7) 病原性の検討

随伴菌あるいは共生菌のみを、人為的に苗木や成木へ導入し、その影響を調べる。各菌株を苗木や成木へ接種した後、衰弱過程を追

跡する。通水状態の変化も記録する。また、接種木における菌の定着・繁殖状況を、材組織の観察や菌の再分離実験によって、確認する。

(8) 共生システムの解析

以上の調査や実験によって得られる、様々なパラメータを、昆虫種間、菌種間、国・地域間で比較する。昆虫と菌類の共生システムをモデル化する。

(9) 防除対策の提言

パラメータの相違点あるいは共通点から、昆虫と菌類の共生関係によって、植物が衰退する根本原因を考察する。さらに、無被害地における両者の関係が、害虫化へとシフトする原理を探り、今後の予防対策における指針とする。

4. 研究成果

(1) キクイムシ類

イチジク生産地（福岡県、広島県、和歌山県、愛知県）を踏査し、株枯病の発生状況を比較した。どの調査地においても、アイノキクイムシが集中的に穿孔することを発見した。トラップによる経時的な捕獲調査によって、東京都などの森林内にも、アイノキクイムシが生息していることを明らかにした。そして、アイノキクイムシの種内系統関係を、国内外の採集地間で比較した。海外個体群と日本個体群で、その系統が一致する場合があった。また、イチジクの衰退・枯死に関与する菌類を見出し、記載した。イチジクの乳液がアイノキクイムシの生存や随伴病原菌の生長に与える影響を明らかにした。さらに、イチジク株枯病感染木の材組織観察を行い、病原菌による通水阻害を確認した。

米材の貯木場において、ファイルククイムシの発生消長や穿孔状況を調べた。ファイルククイムシの繁殖に及ぼす人工飼料の影響・効果を定量的に評価し、飼育法を確立した。そして、発生消長と気温との関係を吟味し、その温度依存性を人工飼育によって実証した。

日本各地に生息するハンノキククイムシ、サククイムシ、ハネミジカククイムシを、トラップや餌木を用いて捕獲し、これらの遺伝的系統を明らかにした。例えば、ハンノキククイムシの場合、3系統が存在することを明らかにした。そして、この種内系統によって、外部形態に差異があることを見出した。さらに、mycangia から共生菌を分離し、分子系統解析を行った。その結果、共生菌も3系統あるが、その分化パターンはククイムシのものとは一致しないことを発見した。上記3種など、海外に移入・定着したククイムシのサンプルを収集し、系統関係を日本列島と比較

した。

ビロウジマコキクイムシがトベラに穿孔し、衰退・枯死を引き起こしていることを、日本各地で確認した。また、ビロウジマコキクイムシが特異的な菌類を随伴していることを見出し、この随伴菌を記載した。また、接種実験によって、分離菌の寄主木に対する病原性を確認した。

各種キクイムシの細胞内共生細菌を、外国産サンプルを含めて、検出した。例えば、ハンノキキクイムシにおいて、複数系統が様々なパターンで多重感染していることを明らかにした。加えて、キクイムシの交配様式が細菌の感染パターンに与える影響を探った。その結果、半数倍数性/同系交配のキクイムシ種が共生細菌と関係しやすいことを実証した。また、数理モデルを用いて、そのシステムが構築される閾値を推定した。

ナラ枯れの新しい防除法を試験し、カシノナガキクイムシの反応を見出すとともに、活用に向けた提案を行った。また、飼育法を駆使して、坑道（巣）内における行動生態を解明した。

外国産ナガキクイムシが日本のコナラ被害地に生息していることを確認した。また、その他のキクイムシ類に関しても、欧米産の標本も含めて検討し、初めての分布記録となる種を記載した。

ニレ立枯病菌など、樹皮下穿孔性昆虫と関係する菌類を分離し、その分類学および生態学的な位置づけを明らかにした。

(2) タマバエ類

シキミタマバエの生活史に伴う、ゴール（虫こぶ）および mycangia における共生菌相の動態を明らかにした。さらに、共生菌の mycangia への取り込み方法を、調査地で発見し、操作実験でも確認した。分離菌株の対峙培養も行い、競争力や和合性を検証した。また、日本各地で養菌性タマバエを採集し、菌の分離と DNA 解析を行った結果、特定の菌種が多種のタマバエ類と共生関係を結んでいることを見出した。

(3) グンバイ類

日本各地に侵入した北米産グンバイムシ（プラタナスグンバイ）の生活史を調査し、年3化であることを明らかにした。さらに、随伴菌を分離し、その世代に関わらず、豪州産菌類を見出した。

(4) その他

クロバネキノコバエ類について、生活史特性に基づき、防除の適期および方策を示した。様々な昆虫の体内外やその生息場所、輸入木材を分離源とし、菌相を明らかにするとともに、リスク・アセスメントを行った。

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 36 件)

① Kobune S., Kajimura H., Masuya, H. and Kubono T. Symbiotic fungal flora in leaf galls induced by *Illiciomyia yukawai* (Diptera: Cecidomyiidae) and in its mycangia. *Microbial Ecology* 査読有 63, 2012 年, 619-627.

DOI: 10.1007/s00248-011-9962-0

② Masuya H., Kajimura H., Tomisawa N. and Yamaoka Y. Fungi associated with *Scolytogenes birsimensis* (Coleoptera: Curculionidae) infesting *Pittosporum tobira*. *Environmental Entomology* 査読有 41, 2012 年, 255-264.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/EN11090>

③ Kajitani Y. and Masuya H. *Ceratocystis ficicola*, a causal agent of fig canker in Japan. *Mycoscience* 査読有 52, 2011 年, 349-353.

DOI: 10.1007/s10267-011-0116-5

④ Masuya H., Brasier C., Ichihara Y., Kubono T. and Kanzaki N. First report of the Dutch elm disease pathogens *Ophiostoma ulmi* and *O. novo-ulmi* in Japan. *Plant Pathology* 査読有 59, 2010 年, 805.

⑤ Ito M. and Kajimura H. Phylogeography of an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Japan. *Applied Entomology and Zoology* 査読有 44, 2009 年, 549-559.

⑥ 上田明良, 水野孝彦, 梶村 恒 キクイムシの生態: 食性と繁殖様式に関する研究の現状と展望. *森林学会誌* 査読有 91, 2009 年, 469-478.

⑦ 升屋 勇人, 山岡 裕一 菌類とキクイムシの関係. *森林学会誌* 査読有 91, 2009 年, 433-445.

⑧ Yamaoka Y., Masuya H., Chung W.-H., Goto H., To-Anun C., Tokumasu S., Zhou X.-D. and Wingfield M. J. The teleomorph of *Leptographium yunnanense*, discovered in crosses among isolates from Thailand, China and Japan. *Mycoscience* 査読有 49, 2008 年, 233-240.

[学会発表] (計 50 件)

① 家田真理子, 松下泰幸, 森田剛成, 軸丸祥大, 梶村 恒 アイノキクイムシとその随伴植物病原菌に対するイチジク乳液の防除作用. 第 56 回日本応用動物昆虫学会大会, 2012 年 3 月 28-29 日, 近畿大学 (奈良県)

- ②小舟 瞬, 梶村 恒, 升屋勇人 アンブロシヤゴール形成タマバエは共生菌をどのように伝播しているのか?. 第 56 回日本応用動物昆虫学会大会, 2012 年 3 月 28-29 日, 近畿大学 (奈良県) * 「ポスター賞」受賞
- ③菊池和史, 升屋勇人, 梶村 恒 プラタナスグンバイの随伴菌相—地域間および世代間の比較—. 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)
- ④伊藤昌明, 梶村 恒 ハンノキクイムシ (*Xylosandrus germanus*) の共生菌の培養形質に基づく種内系統と外部形態形質の関係. 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)
- ⑤水野孝彦, 梶村 恒 水面貯木場におけるファイルクイムシの発消長とその温度依存性の実証. 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)
- ⑥Kajimura H., Kokado T., I' eda M., Ito M., Mizuno T., Morita T. and Jikumaru S. Ecology and management of *Euwallacea interjectus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) associated with *Ceratocystis* canker on fig trees in Japan. IUFRO WP. 7.03.05 Ecology and Management of Bark and Wood Boring Insects: Novel risks with bark and wood boring insects in broadleaved and conifer forests, 2011 年 9 月 9 日, Sopron (ハンガリー)
- ⑦Kawasaki Y., Kajimura H., Stauffer C. and Lakatos F. Infection pattern of *Wolbachia* strains in Scolytinae. 4th Workshop on the Genetics of Bark Beetles and Associated Microorganisms, 2011 年 9 月 5-6 日, Sopron (ハンガリー)
- ⑧Kajimura H., Ito M., Kawasaki Y., Mizuno T. and Lakatos F. Ecology of invasive exotic Asian ambrosia beetles and their symbiotic fungi. XXIII IUFRO World Congress, 2010 年 8 月 24 日, COEX 国際会議場 (ソウル)
- ⑨ Ito M. and Kajimura H. Colonization dynamics of Japanese populations of *Xylosandrus germanus* (Curculionidae: Scolytinae) based on mitochondrial DNA sequencing. XXIII IUFRO World Congress, 2010 年 8 月 23-28 日, COEX 国際会議場 (ソウル)
- ⑩梶村 恒, 小角隆文, 伊藤昌明, 軸丸祥大 イチジク樹に穿孔するアイノクイムシの分布域と系統. 第 54 回日本応用動物昆虫学会大会, 2010 年 3 月 28 日, 千葉大学 (千葉県)
- ⑪Yamaoka Y., Masuya H., Inaba S., Yamaguchi K., Suzuki R., Ohtaka N., Tokumasu S. and

Kaneko S. Ophiostomatoid fungi associated with bark beetles infesting Japanese larch and firs in montane and subalpine zones of Japan. Asian Mycological Congress 2009, 2009 年 11 月 16 日, Taichung (台湾)

- ⑫伊藤昌明, 梶村 恒 ハンノキクイムシと共生菌 *Ambrosiella hartigii* の遺伝的種内系統関係. 第 120 回日本森林学会大会, 2009 年 3 月 27 日, 京都大学 (京都府)

〔図書〕 (計 2 件)

- ①梶村 恒 (名古屋大学大学院環境学研究科 しんきん環境事業イノベーション寄附講座編) 風媒社, 昆虫と微生物の共生: 生物多様性における光と影 (地球からのおくりもの—生物多様性を理解するために—), 2011 年, 58-70.
- ②山岡裕一 (中村 徹 編著) 筑波大学出版会, 森林の病気 (森林学への招待), 2010 年, 61-76.

〔その他〕 (計 2 件)

報道関連情報 (出演解説)

- ①里地里山①猛威を振るうナラ枯れ. NHK 名古屋, ほっとイブ, 2010 年 11 月 8 日
- ②ナラ枯れレポート. NHK, おはよう日本, 2010 年 11 月 24 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梶村 恒 (KAJIMURA Hisashi)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授
研究者番号: 10283425

(2) 研究分担者

山岡 裕一 (YAMAOKA Yuuichi)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授
研究者番号: 00220236

(3) 連携研究者

富樫 一巳 (TOGASHI Katsumi)

東京大学・農学生命科学研究科・教授
研究者番号: 30237060

升屋 勇人 (MASUYA Hayato)

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: 70391183

山路 恵子 (YAMAJI Keiko)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・講師
研究者番号: 00420076

菊池 泰生 (KIKUCHI Taisei)

独立行政法人森林総合研究所・森林微生物研究領域・研究員

研究者番号: 20353659