

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 1日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20405027

研究課題名（和文）媒介昆虫と病原菌の遺伝的変異と病原性の変異からナラ枯れの起源に迫る

研究課題名（英文）Seeking the origin of the Japanese oak wilt from phylogeny of its vector insect and pathogen and from variation in virulence of the pathogen

研究代表者

鎌田 直人（KAMATA NAOTO）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：90303255

研究成果の概要（和文）：日本以外に、台湾・タイ・ベトナム・インドネシアから、ナラ枯れの媒介者であるカシノナガキクイムシと病原菌の *Raffaelea quercivora* を採集し、DNA を使った系統解析を行った。日本以外にも媒介昆虫も菌も存在し、菌の病原力には地域性は認められなかった。媒介昆虫の攻撃性については検討が必要であるが、本種が日本でのみ発生するのは、寄主植物の菌に対する感受性が高いことが原因と推測された。

研究成果の概要（英文）：An ambrosia beetle, *Platypus quercivorus*, and *Raffaelea quercivora*, a pathogen of the Japanese oak wilt (JOW) were collected from Japan, Taiwan, Thailand, Vietnam, and Indonesia. Their phylogeny was determined by DNA analysis. Both the vector insect and the pathogen existed outside Japan without the JOW incidence. *Raffaelea quercivora* isolates outside Japan were also pathogenic to *Quercus serrata*. The virulence was not determined by regions. The reason why the JOW occurs only in Japan may be related to high susceptibility of host plant species in Japan though more studies will be needed for aggressiveness of *Platypus quercivorus* overseas.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2009年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2010年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	11,400,000	3,420,000	14,820,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：ナラ枯れ, カシノナガキクイムシ, *Raffaelea quercivora*, 遺伝的変異, 病原性

1. 研究開始当初の背景

(1)日本は、1980年代後半から、ナラ・カシノ類の集団枯死（ナラ枯れ）が流行している。日本のナラ枯れは、養菌性キクイムシの一種であるカシノナガキクイムシ（以下、カシナガ）が媒介する共生菌が樹木を枯死させる樹木の伝染病である。

(2)韓国で日本とは異なる病原菌と媒介昆虫

(*P. koryoensis*) によって同様のナラ枯れがみられるほか、世界中で、同様のナラ枯れはみられない。

(3)カシナガは、日本以外にも、インド・インドネシア・ニューギニア・台湾・タイで記録されていた。

(4)カシナガや *P. koryoensis* のように、健全木に寄生して場合によっては寄主を枯らし

てしまう養菌性キクイムシの記載が、近年急速に増加している。これらについては、単なる新発見なのか、それとも、温暖化などの環境の変化の結果なのか、昆虫種の生息域の拡大により新たな寄主植物と出会った結果からなのか、森林の管理が行き届かず樹木が老齢化したことによるものか、さまざまな仮説が提唱されている。

2. 研究の目的

- (1) これまでにカシナガの採集記録のない地域、カシナガの探索を行う。
- (2) カシナガ（あるいは亜種）と共生菌が採集できた場合には、種の同定、DNA を使った系統解析を行う。
- (3) 各地で採集したカシナガと近縁種から採集された共生菌の、コナラに対する病原性を検定する。
- (4) カシナガと共生菌について DNA を使った系統解析の結果、および共生菌のミズナラに対する病原性の結果から、日本の本土個体群によって引き起こされるナラ枯れの起源を考察する。

3. 研究の方法

- (1) 衰弱木や新しい倒木、太い枯れ枝を探し、穿入孔のサイズとフラスの形状からカシナガあるいはその近縁種と推定される場合は、現場で割材して昆虫と共生菌を採集する。現場で割材できない場合には、羽化トラップを設置するか、あるいは丸太を採取して、羽化する昆虫を採集する。
- (2) カシナガの系統解析には mtDNA とゲノム DNA (rDNA) の両方を使って、地域間の変異を解析する。PCR に用いたプライマーおよび目的領域の内側に新たに設計したシーケンス用プライマーを用い、ダイレクトシーケンス法により、塩基配列を決定する。
- (3) 菌類でよく用いられている rDNA や beta-tubulin 遺伝子については、*R. quercivora* ではほとんど多型が見られない。そこで、別の 3 領域について独自に設計済みのプライマーをもとに分子系統解析およびハプロタイプネットワーク解析を行い、地域間および地域内の多型の比較を行う。
- (4) ミズナラ苗木とコナラ丸太に日本各地産の *R. quercivora* を接種して、辺材の壊死部の幅を比較する。新鮮な丸太を使った接種実験による菌の病原力の検定手法を確立する。
- (5) この方法で、各地域から採集した *R. quercivora* の病原力の検定を行い、地域間差を比較する。

4. 研究成果

- (1) これまでカシナガの採集記録のないベトナム北部と南部であらたにカシナガを採集

した。これらを含め、タイ・ベトナムから新たにカシナガと *R. quercivora* を採集した。(2) 日本海型のカシナガは、日本本土、タイ、ベトナム・インドネシア・沖縄の順番で近縁関係が認められた。日本本土の個体群については、地理的關係から近縁関係が説明することが困難であった。太平洋型個体群については、台湾と石垣島の個体群が近縁であるなど、地理的距離を反映した結果となった。日本海型と太平洋型では形態的な差異のほか、生殖隔離も認められるが、ベトナム南部で採集された個体群は、遺伝的に日本海型と太平洋型の中間的な位置にあった。これらの結果から、これら 3 タイプは種群 (species complex) として扱うのが妥当であると考えられた。(図 1)

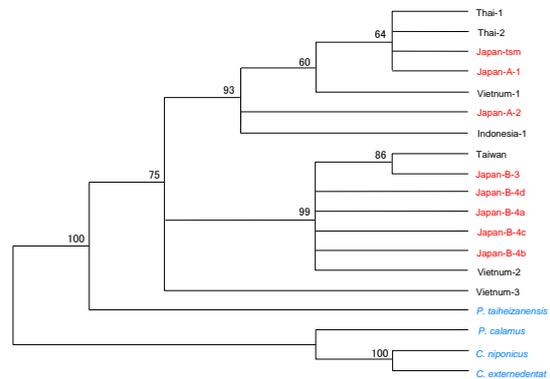


図 1 28S rDNA の D1-D2 シーケンスに基づくカシナガキクイムシの系統樹 (MP 法) .

(2) カシナガが捕獲されたすべての場所から、*R. quercivora* は採集された。*R. quercivora* については、地理的距離と系統関係の間に関係を見いだすことはできず、分離されたカシナガの型によっても説明することはできなかった。

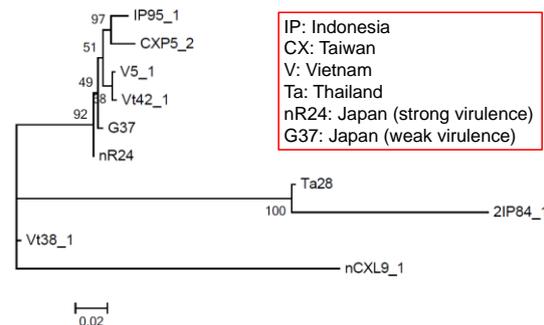


図 2 *Raffaelea quercivora* の系統樹

(3) *R. quercivora* 株間で、ミズナラ苗木と木櫓新線丸太の壊死部の広さは正の相関が認められた。これらの結果は、株間に病原力の差があること、および、苗木を使わずに、新線な丸太に接種することによって、*R.*

quercivora の病原力の検定が可能であることを示していた。

(4) コナラ丸太に各地域から採集した *R. quercivora* を接種して、病原力を比較した。日本の強病原力の菌株よりも台湾の1菌株は強い病原力を示した。日本の弱病原力の菌株よりも、外国産の多くの菌株が強い病原力を示した。

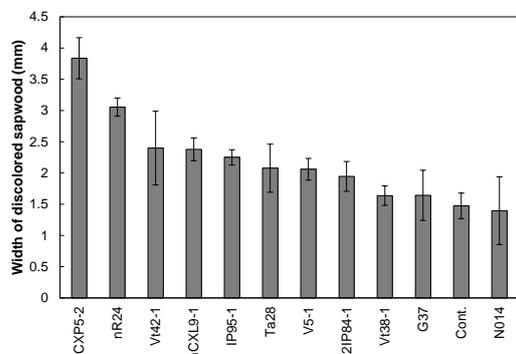


図3 日本内外から採集した *Raffaelea quercivora* 菌株の病原力（菌株の産地については図2を参照）

(5) これらの結果から、日本以外でナラ枯れが発生していないのは、虫がないからでも、菌がないからでも、また菌の病原力が弱いからでもないことが示された。今後は、カシナガの攻撃性（生きている木を攻撃する性質）と各地の寄主植物の *R. quercivora* に対する感受性を検討する必要がある。

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8件）

- ① 高徳佳絵・澤田晴雄・渡部賢・鎌田直人、東京大学愛知演習林犬山研究林内におけるカシノナガキクイムシによるナラ枯れ被害の実態、中部森林研究、査読有、57巻、2009、289—292
- ② 井上淳・澤田晴雄・鎌田直人、東京大学愛知演習林と石川県におけるコナラの直径—辺材率関係とナラ枯れの枯死率、中部森林研究、査読有、58巻、2010、19—16
- ③ 井上淳・澤田晴雄・鎌田直人、東京大学コナラの直径—辺材率関係の地域間比較、中部森林研究、査読有、59巻、2011、253—256
- ④ Ryotaro Komura, Naoto Kamata, Analysis of trend if forest declination using aerial photograph and DEM, Proceedings: 2010 International Symposium on Environmental Monitoring in East Asia, 査読無, 33—36

- ⑤ Keiko Hamaguchi, Kenryu Kato, Kojiro Esaki, Naoto Kamata, Isolation and characterization of 10 new microsatellite loci in the ambrosia beetle *Platypus quercivorus*, Journal of Forest Research, Vol. 16, No. 6, 2011, 査読有, 518—521
- ⑥ Sunisa Sanguansub, Hideaki Goto, Naoto Kamata, Guild structure of ambrosia beetles attacking a deciduous oak tree (*Quercus serrata*) in relation to wood oldness and seasonality in three locations in the Central Japan, Entomological Science, Vol. 15, No. 1, 42—55
- ⑦ Kobayashi Makoto, Naoto Kamata, Hiroshi Tani, Bark-beetle-attacked trees produced more charcoal than unattacked trees during a forest fire on the Kenai Peninsula, Southern Alaska, Scandinavian Journal of Forest Research, Vol. 27, No. 1, 30—35
- ⑧ Dai Kusumoto, Hayato Masuya, Naoto Kamata, Virulence of *Raffaelea quercivora* isolates inoculated to *Quercus serrata* logs and *Q. crispula* saplings, Journal of Forest Research DOI 10.1007/s10310-011-0302-5

〔学会発表〕（計12件）

- ① 上林徳久，谷 宏，鎌田直人，ALOS/ANVIR-2 を用いたナラ枯れ現状把握，日本写真測量学会 平成 20 年度年次学術講演会，2008-06，横浜
- ② 江崎功二郎・鎌田直人，カシノナガキクイムシの耐寒性，第 53 回応用動物昆虫学会大会，2009-03-00，札幌
- ③ 濱口京子，野崎 愛，小林 正秀，衣浦晴生，江崎 功二郎，加藤 賢隆，鎌田直人，後藤 秀章，カシノナガキクイムシの孔道内血縁構造の解析，第 120 回日本森林学会大会，2009-03-30，京都
- ④ Sunisa Sanguansub, Hideaki Goto, Naoto Kamata, Ambrosia Beetle Guild Attacking Deciduous Oak Trees (*Quercus serrata*) in Relation to Tree Vigor, Seasonality, and Japanese Oak Wilt Incidences, 第 25 回個体群生態学会大会，2009-10-17，京都
- ⑤ Sunisa Sanguansub, Hideaki Goto, Naoto Kamata, Ambrosia beetle fauna attacking deciduous oak *Quercus serrata*: Freshness of wood, seasonality, and biological conditioning, 第 121 回日本森林学会大会，2010-4-3，つくば
- ⑥ Sunisa Sanguansub, Hideaki Goto, Naoto

- Kamata, Influence of JOW Incidences on Ambrosia Beetle Guild Attacking Deciduous Oak (*Quercus serrata*) Trees, 22nd World Congress of IUFRO, 2010-8-26, Seoul, South Korea
- ⑦ Naoto Kamata, Kyung-He Kim, Oak Decline caused by ambrosia beetles/Raffaelea Complex in Japan and Korea, 22nd World Congress of IUFRO, 2010-8-26, Seoul, South Korea
- ⑧ Sunisa Sanguansub, Hideaki Goto, Naoto Kamata, Ambrosia Beetles Guild Attacking *Quercus serrata* at Three Locations in Central Japan: Ecological Niche of the Four Major Species in a Location with Japanese oak Wilt Incidence, 第26回個体群生態学会大会, 2010-9-23, 横浜
- ⑨ Ryotaro Komura, Naoto Kamata, Analysis of trend of forest declination using aerial photograph and DEM, 2010 International Symposium on Environmental Monitoring in East Asia, 2010-9-27, Kanazawa, Japan
- ⑩ Sunisa Sanguansub, Hideaki Goto, Naoto Kamata, Guild structure of ambrosia beetles attacking a deciduous oak tree (*Quercus serrata*) in three locations in the Central Japan: Effects of location, timing of cutting, timing of exposure, and wood oldness, 第122回日本森林学会大会, 2011-3-27, 静岡
- ⑪ Naoto Kamata, Monitoring and management strategy of forest damage caused by biological agents, Abstracts: The 4th Symposium of Asia University Forests, 2011-7-2, Sitou, Taiwan
- ⑫ 鎌田直人・江崎功二郎・加藤賢隆、カシノナガキクイムシの寄主選択・穿孔数・枯死率に関係する要因と樹種間差、第1回中部森林学会大会、2011-10-22、金沢

[図書] (計2件)

- ① 鎌田直人, 他、文一総合出版、生物間の相互作用と森の昆虫のダイナミクス。エコロジー入門 森の不思議を解き明かす (矢原徹一責任編集)、2008、pp. 64-73
- ② 鎌田直人, 他、東大演習林出版会、ナラ枯れブックレット (田中延亮・山本清龍)、2012、94p

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]
とくになし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鎌田直人 (KAMATA NAOTO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号: 90303255

(2) 研究分担者

濱口京子 (HAMAGUCHI KEIKO)

森林総合研究所・関西支所・主任研究員

研究者番号: 60343795

後藤秀章 (GOTO HIDEAKI)

森林総合研究所・九州支所・主任研究員

研究者番号: 10353682

升屋勇人 (MASUYA HAYATO)

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

楠本大 (KUSUMOTO DAI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号: 80540608

江崎功二郎 (ESAKI KOUJIRO)

石川県林業試験場・森林環境部・専門研究員

研究者番号: 30450810

(3) 連携研究者

