

## 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26日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580196

研究課題名（和文） 樹木応答成分のメタボロミクス解析により探る樹木の不健全性

研究課題名（英文） To evaluate the unhealthiness of the tree, the volatile components of the tree is analyzed by using Metabolomics.

研究代表者

所 雅彦（TOKORO MASAHIKO）

独立行政法人森林総合研究所・森林昆虫研究領域・室長

研究者番号：70343796

研究成果の概要（和文）：森林の健全性評価のため、穿孔性害虫に被害された木の樹木応答による揮発性物質を GC-MS 分析した結果、共通する化合物を中心にテルペノイド化合物、芳香族化合物、アルデヒド化合物、アルコール化合物、炭化水素等合計 30 種以上の成分を検出した。被害前後の変化を統計的手法メタボロミクスにより解析し、森林健全性判定システムの構築に役立てるための指標化合物をリストアップした。

研究成果の概要（英文）：The volatile material of the tree from which the boring pest insect was attacked was analyzed using GC-MS. More than 30 compounds such as a terpenoid compound, an aromatic compound, a aldehyde compound, alcoholic compounds, and hydrocarbons were detected. The element change before and after the damage of the tree was analyzed by statistical method Metaboromics and the indicator compounds were listed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：森林生態・保護・保全

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 広葉樹林の代表であるナラ類の集団枯損が日本海側を中心に本州全域に広がりつつあり、また紀伊半島や九州南部、屋久島種子島、伊豆諸島の三宅島御蔵島八丈島ではシイ・カシ類の集団枯損が観測されている。これらの被害にはカシノナガキクイムシと言う甲虫が関与していることが確認されてき

た。カシノナガキクイムシはブナ科樹木の樹幹に深く穿孔し、坑道をめぐらせ、坑道の中にカビの一種や酵母を繁殖させ、幼虫がそれを餌として繁殖する、養菌性キクイムシであり、この虫が同時に坑道内に病原菌を持ち込み、樹体内に媒介するために引き起こされることが解明されてきた。

(2) 広葉樹林の荒廃が広がりつつある日本列島において、森林環境の保全が叫ばれる中、森林環境の健全性を評価することが求められている。森林の健全性の評価は、現在でも各樹木の光合成量等の代謝量の測定や、組織の解剖学的な観察によって行われているため、評価には手間と時間がかかるのが現状である。どの森林を早急に保全すべきかを、判定することができれば、簡便且つ正確な判定法の開発が望まれる。

## 2. 研究の目的

広葉樹林において樹木穿孔性害虫、特にナラ類樹木、シイ・カシ類樹木を加害し、病原菌を媒介し集団枯損をも引き起こしているカシノナガキクイムシの被害林において、被害を受けた広葉樹が生成する揮発性成分に、着目し、カシノナガキクイムシの加害前後、及び枯損被害をもたらす病原菌の効力発現前後で比較分析し、カシノナガキクイムシ加害前後での揮発性成分の違いを明らかにし、樹木の健全性を判定できる指標となる化合物を探り、リストアップする。これに基づいて、森林林分の健全性を評価できるような指標化学物質を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 広葉樹林において、穿孔性害虫カシノナガキクイムシによる加害を受けているミズナラ、コナラ、ブナ等と、無被害のミズナラ、コナラ、ブナ等の生立木樹幹部から、発生している揮発性成分を、環境測定用フッ素樹脂フィルムを巻きつけ、フィルム内の気体を小型ポンプによりタイゴンチューブを介して吸引し、吸着剤を充てんした吸着管や固相マイクロ抽出法 (S P M E) 等で捕集した。

(2) 揮発性成分を吸着剤に捕集した吸着管をシールし密閉した低温状態で野外より研究室に持ち帰り、各試験区の吸着剤の揮発性成分を研究室内でペン端を用いてノルマルペンタン等で抽出し、ガスクロマトグラフ直結質量分析装置：GC-MSにより分析した。またS P M E捕集区も比較分析した。

(3) GC-MS分析により分析した各成分に関して加害昆虫に特異的な化学物質も想定し、カシノナガキクイムシの触角を用いたガスクロマトグラフ触角電位検出法：GC-EADを用いて分析した。GC-EAD分析で得られた活性成分データをGC-MS分析データと比較し、GC-MS分析データ上に記録した。

(4) 得られたGC-MS分析データを加害試験区と未加害試験区でそれぞれ集積し、メタボロミクスにより統計的に多変量解析ソフトを用いて解析して、各樹種のカシノナガキクイムシの加害前後での揮発性成分の違いを明らかにし、樹木の健全性を判定できる指標となりうる化合物を探索した。

多変量解析ソフトはアジレント社製多変量解析ソフト：マスプロファイラープロフェッショナルを用いた。

## 4. 研究成果

(1) カシノナガキクイムシによる加害木及び未加害木からの捕集した揮発性成分の抽出物のGC-MS分析の結果、多くの成分ピークが認められた (図1)。樹種ごとに分析を繰り返し、得られたデータから共通する化合物を中心に、テルペノイド化合物、芳香族化合物、アルデヒド化合物、アルコール化合物、炭化水素等合計30種以上の成分を検出した。ミズナラ樹幹から、ブナ樹幹よりも量的にも質的にも多くの揮発性成分が検出された。各構成成分のGC-MS分析データを集積した。

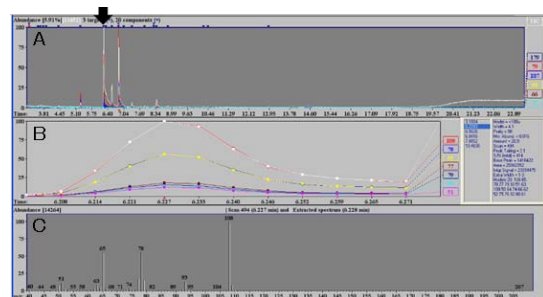


図1: ミズナラ揮発性成分に対するGC-MS分析の結果

A: カシノナガ加害ミズナラ立木揮発性成分のトータルインクロマトグラム

B: 矢印ピークのマスキロマトグラム

C: 矢印ピークのマスペクトル

Anisole	Benzaldehyde
Camphene	Z-Linalool oxide
Phenylacetaldehyde	Isoamyl alcohol
Veratrol	m-Decalol
Furfural	p-Cymene
α-Pinene	Amyl alcohol
β-Cisneol	Thujopene
m-Octanol	2-Amyl furin
m-Hexanol	m-Nonanal
5-Methyl furfural	2-Hexen-1-ol
Methyl phenylacetate	α-Terpinolene
Nachtalene	1-Terpinol
m-Heptyl formate	m-Octanol

(2) 加害昆虫に特異的な化学物質も想定し、カシノナガキクイムシの触角を用いたGC-EAD法を用いて分析した。カシノナガキクイムシ被害ミズナラのGC-EAD分析にの結果、アニソール等数種の活性成分を検出することができた。

触角に対する反応は、カシノナガキクイムシの集合フェロモンであるケルキボロールに対する反応に比べると、触角の反応を示すピークは明確ではなく微弱で、ばらつきが大きく不安定で再現性が低いものであった。

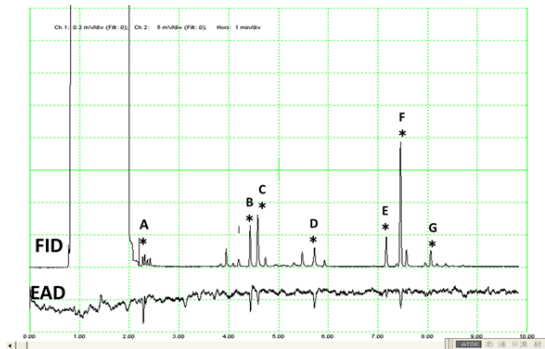


図2: ミズナラの揮発性成分に対するGC-EAD分析の結果  
\*: EAD活性成分ピーク (分析カラム: HP5, 昇温分析)

(3) GC-MS分析で検出した揮発性成分データに関して、多変量解析ソフトを用いた統計的解析手法であるメタボロミクスにより解析を行った。

分析データから揮発性成分は樹種間、樹木個体間で、ばらつきがみられたが、いくつか得られたメタボロームのうち、カシノナガキクイムシの被害を受けたミズナラの揮発性成分において、アニソール等がピックアップされ、特徴的な成分候補化合物の存在を明らかにすることができた。

ブナの揮発性成分においては未被害木と被害木での明確な特徴的成分は今回の実験条件においては検出することができなかった。

その成果の一部を日本森林学会関東支部大会、日本森林学会、アメリカ昆虫学会、関東森林学会にて発表した。

今回ミズナラにおいて樹木応答候補成分を上げることができたが、ブナその他の樹種においてはサンプル数を増やして再解析する必要がある。さらに得られた指標化合物のマスタータを用いて森林内の少量の捕集大気においても選択イオン検出法で解析できる方法を確立する必要がある。次期交付金課題内で発展的継続を図る。

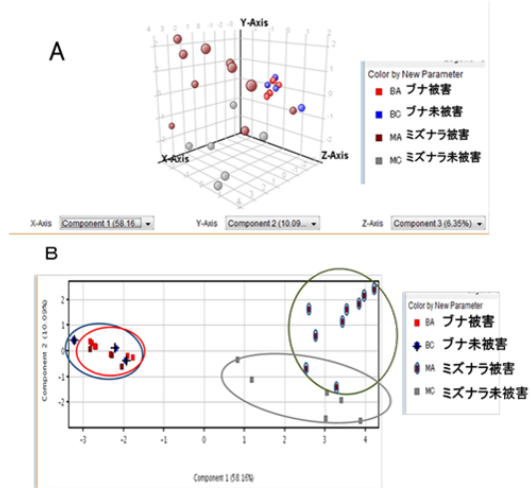


図3 多変量解析ソフトを利用した主成分分析の結果  
・カシノナガ加害と未加害のブナ・ミズナラ立木の揮発性成分の解析  
A: 3次元解析データ、B: 2次元解析データ

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

①所雅彦、市原優、衣浦晴生、齊藤正一、岡田充弘、カシノナガキクイムシ集合フェロモンの誘引効果を高めるナラ類揮発性成分の探索—GC-MS分析の結果—、関東森林研究、査読有、61巻、2010、199-202

〔学会発表〕(計7件)

①所雅彦、伊豆諸島のスタジイ被害とカシノナガキクイムシについて、第123回日本森林学会大会、2012.03.27、宇都宮大学(栃木県宇都宮市)

②松本剛史、間伐の実施によるキバチ類の発生数と林内揮発性成分への影響、第56回日本応用動物昆虫学会大会、2012.03.27、近畿大学農学部(奈良県奈良市)

③所雅彦、伊豆諸島におけるカシノナガキクイムシ被害について、第1回関東森林学会大会2011.10.21、群馬県社会福祉総合センター(群馬県前橋市)

④所雅彦、Influence of the volatile components of oak tree on the attraction effect of the oak borer, *Platypus quercivorus* aggregation pheromone. (カシノナガキクイムシの誘引効果に与える樹木揮発成分の影響)、第58回アメリカ昆虫学会年次大会、2010.12.15、サンディエゴ国際会議場(アメリカ合衆国サンディエゴ)

⑤所雅彦、カシノナガキクイムシの誘引効果を高める成分としてのエタノールは?、第62

回日本森林学会関東支部大会、2010.10.22、  
栃木県青年会館(栃木県宇都宮市)

⑥所雅彦、カシノナガキクイムシ集合フェロ  
モンの誘引効果に対するナラ類揮発性成分  
の影響、第121回日本森林学会大会、2010.4.4、  
筑波大学(茨城県つくば市)

⑦所雅彦、カシノナガキクイムシの誘引効果  
を高めるカイロモン成分の探索、第61回日  
本森林学会関東支部大会、2009.09.23、  
国立女性教育会館(埼玉県嵐山町)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

所 雅彦 (TOKORO MASAHIKO)  
独立行政法人森林総合研究所・森林昆虫研  
究領域・室長  
研究者番号：70343796

### (2) 研究分担者

加藤 厚 (KATO ATSUSHI)  
企画部・室長  
研究者番号：30353642