

## ベルマン法によるマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) の効率的な分離・検出に関わる材片調整法

平田 賢司・鈴木 公英・久井 潤也

横浜植物防疫所調査研究部

A comparative study on the efficiency of cutting and drilling methods for the Baermann funnel to extract pine wood nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus*) from wood sample. Kenji HIRATA, Koei SUZUKI and Junya HISAI (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10, Shin-yamashita, Naka-ku, Yokohama 231-0801, Japan). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 40: 75-77 (2004).

**Abstract:** A comparative study was carried out to research a good cutting and drilling method for the Baermann funnel, based on the four methods in common use to extract pine wood nematodes from wood samples. The wood samples were used four branches of a pine tree (*Pinus densiflora*) that had died from a natural infection with the nematode. Small wood pieces of the four methods were made using handsaw-hatchet-pruning shears, two types of power drills, and a hand brace, respectively. Small-size wood pieces (3×3×20 mm) were produced by the handsaw-hatchet-pruning shears method, and this method gave the highest nematode yield of the four methods. The extraction efficiency of this method was significantly different from the other three drilling methods. Additionally, the four piece sizes (2, 3, 5 and 10 mm square, each 20 mm long) were compared with the efficiency of the Baermann funnel to extract pine wood nematodes from wood samples. Small wood pieces were made by the handsaw-hatchet-pruning shears method. The numbers of extracted nematodes for small pieces (2, 3 and 5 mm) were significantly higher than the numbers for 10 mm pieces.

**Key words:** extraction, pine wood nematodes, wood pieces

### はじめに

近年 EU 諸国や中国などでは、輸出用こん包材などに対するマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) などの侵入防止のため、その検疫措置が強化されている。

こん包材などの木材組織内からマツノザイセンチュウを分離・検出するには、線虫の運動性を利用したベルマン法が通常用いられている（清原、1974；真宮、1975）。ベルマン法を行う際に木材組織内から材片を取り出す方法としては、手動ドリルや電動ドリルによって穴を開ける際に掻き出された材片を用いる方法、鋸・剪定ばさみ等で材片を細断する方法などが行われている（清原、1974；真宮、1975；田村、1976）。

こん包用木材などの組織内から、ベルマン法によってマツノザイセンチュウを効率的に分離・検出する方法を調査するため、木材組織内から鋸・なた・剪定ばさみと 3 種類のドリルを用いて材片を取り出した後、

ベルマン法で検出されるマツノザイセンチュウの頭数を比較した。さらに、鋸・なた・剪定ばさみによる材片の角の大きさの違いによる線虫検出数についても調査したので、以下のとおり報告する。

### 材料及び方法

#### 1. 材片の取出し方法及び検出線虫数

マツノザイセンチュウが自然感染した埼玉県産アカマツ枯死木から採取した枝材 4 本（直径 5.0～11.0 mm）を用いて、木材組織内から 4 種類の方法によって材片を取り出した後、ベルマン法で分離・検出されるマツノザイセンチュウの頭数を比較した。材片の取出しは、鋸・なた・剪定ばさみを用いて細片（3 mm 角、長さ 2 cm で、繊維方向に長さ 2 cm となるように加工した。）に調整する方法、充電式電動ドリル、可変式電動ドリル及び手動ドリル（各ドリル刃は直径 15 mm の木工用を用いた。）の 3 種類のドリルを用いて、掻き出された材片を採取する方法で行った。これらの

4種類の方法による枝材からの材片の取出は、枝材1本に付き2cm間隔で4種類の方法を順番に9回繰り返して、合計36点から材片を採取した。

各材片の含水率は、160℃の乾燥器で4時間処理して除かれた水分重量から求めた。ベルマン法は直径9cmの漏斗を用いて、室温16(13～22)℃で線虫の分離・検出を行い、分離開始後の経過日数(1, 2, 5, 9, 18, 28日目)ごとに線虫を取り出し、線虫頭数を計数した(12反復)。計数は希釈計数法または直接線虫頭数を数えて行った。

## 2. 材片の大きさの違いによる検出線虫数

木材組織から鋸・なた・剪定ばさみを用いて、細い角片に切断・調整する際の角片の大きさの違いによって、ベルマン法で検出されるマツノザイセンチュウの頭数を比較した。前述1.と同一のアカマツ枯死木から採取した枝材1本(直径8.0～9.5cmの枝材)を供試して、鋸・なた・剪定ばさみによって前述1.と同様な手順で、2, 3, 5及び10mm角で長さ2cmの材片に調整した。ベルマン法は、直径12cm漏斗と直径6.5cmのベルマン用篩を用いて材片を水に浸漬させ、室温17(14～22)℃で線虫の分離・検出を行い、分離開始後の経過日数(2, 4, 11, 20, 31, 43日目)ごとに線虫を取り出し、線虫頭数を計数した(3反復)。計

数は希釈計数法または直接線虫頭数を数えて行った。

## 結果及び考察

### 1. 材片の取出し方法と検出線虫数

4種類の方法で取出した材片について、ベルマン法による分離開始から2日間(2回計数した合計数)及び28日間(経過日数毎に6回計数した合計数)に検出したマツノザイセンチュウの頭数(乾材1g当たり)を第1表に示した。各材片の含水率は12.8～17.9%で、各材片の1漏斗当たりの乾燥重量は4.2～4.4gであった。

4種類の材片の取出し方法を比較すると、鋸・なた・剪定ばさみが3種類のドリルと比べて有意(有意水準5%)に多くの線虫が検出され、その値は分離開始2日間に検出した線虫頭数で5.0倍、分離開始後28日間の合計で4.5倍となった。3種類のドリルによる線虫の検出頭数は、2日間及び28日間ともに、多い順に可変式電動ドリル、手動ドリル、充電式電動ドリルとなった。

今回用いた3種類のドリルによって掻き出された材片には、いずれも圧縮と変形が見られることから、木材組織内の線虫の生存や運動に影響を与えて、線虫の検出率が低下したものと推察される。また、材片の形状と線虫検出率では、木材繊維と同一方向に細断し

第1表 材片取り出し方法とマツノザイセンチュウの検出数<sup>\*1</sup>

| 方法         | 検出線虫数(乾材1g当たり) <sup>*2</sup> |                      |
|------------|------------------------------|----------------------|
|            | 2日間合計 <sup>*3</sup>          | 28日間合計 <sup>*3</sup> |
| 鋸・なた・剪定ばさみ | 4,774.5±677.0a               | 6,240.9±734.9a       |
| 可変式電動ドリル   | 1,281.4±357.4b               | 1,795.1±399.9b       |
| 手動ドリル      | 894.1±183.1bc                | 1,399.6±290.6bc      |
| 充電式電動ドリル   | 691.1±109.8c                 | 925.4±139.3c         |

<sup>\*1</sup> 数値は12反復、平均値±標準偏差。

<sup>\*2</sup> 同一欄内の同一英小文字間はTukey法の多重比較検定により有意差(有意水準5%)がないことを示す。

<sup>\*3</sup> 2日間合計は2回、28日間合計は6回計数した合計数。

第2表 材片の大きさの違いによるマツノザイセンチュウの検出数<sup>\*1</sup>

| 材片の角の大きさ(mm) | 検出線虫数(乾燥材1g当たり) <sup>*2</sup> |                      |
|--------------|-------------------------------|----------------------|
|              | 2日間                           | 43日間合計 <sup>*3</sup> |
| 2            | 1,520.7±69.5a                 | 2,140.4±104.7a       |
| 3            | 1,530.7±305.4a                | 1,962.6±199.1a       |
| 5            | 1,492.5±173.8a                | 1,884.3±201.8a       |
| 10           | 659.1±178.0b                  | 959.8±269.1b         |

<sup>\*1</sup> 数値は3反復、平均値±標準偏差。

<sup>\*2</sup> 同一欄内の同一英小文字間はTukey法の多重比較検定により有意差(有意水準5%)がないことを示す。

<sup>\*3</sup> 6回計数した合計数。

た場合にマツノザイセンチュウの検出率の高まることが指摘されており（清原、1974）、鋸・なた・剪定ばさみによる細片では、この点を考慮して木材繊維と同じ方向に細断を行った。

## 2. 材片の大きさの違いによる検出線虫数

各材片の大きさごとに 2 日間及び 43 日間（経過日数ごとに 6 回計数した合計数）に検出した線虫頭数を第 2 表に示した。各材片の含水率は 15.2～15.8%で、各試料の 1 漏斗当たりの乾燥重量は 4.3～4.4 g であった。2 日間及び 43 日間に検出した線虫頭数は、2, 3, 5 mm 角の各材片では有意な差がなかったが、10 mm 角では 2 日間及び 43 日間に 5 mm 角の 0.44 倍及び 0.51 倍と検出した線虫が少なく、有意な差（有意

水準 5%）が認められた。

以上の結果、ベルマン法によって木材組織内からマツノザイセンチュウを検出する際の材片の細断・調整方法としては、今回比較した中で鋸・なた・剪定ばさみを用いて 2～5 mm 角に細片化することによって、その検出率が高くなると考えられる。

## 引 用 文 献

- 清原友也 (1974) 除去法によるマツノザイセンチュウの個体数推定. 日林九支研論 27: 167-168.  
真宮靖治 (1975) マツノザイセンチュウのベルマン法による抽出効率. 森林防疫 24(6): 115-119.  
田村弘忠 (1976) 枯死木におけるマツノザイセンチュウの分布. 日線研誌 6: 60-66.