

アカマツ丸太に接種されたマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) の増殖に関する調査

久井潤也・平田賢司・鈴木公英

横浜植物防疫所調査研究部

Investigation of multiplication of inoculated pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) inside red pine log (*Pinus densiflora*). Junya HISAI, Kenji HIRATA and Koei SUZUKI (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10, Shin-yamashita, Naka-ku, Yokohama 231-0801, Japan). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* **40**: 79-82 (2004).

Abstract: Aiming to make experimental material of fumigation tests, multiplication of nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus*) in logs was investigated. 236 holes were made into each three logs (diameter 30 cm and length 2 m), using an electric power drill, and numerous nematodes were injected into the logs. About 25 millions nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus*) were inoculated into each log, and they were stored till investigation. Numbers of nematodes in logs that were stored for 1, 3, and 7 months were 543.3, 340.4, and 449.3 per 1 g of dried wood, respectively. Nematodes could be made to multiply in the logs by injecting numerous nematodes into the logs, but many nematodes could hardly multiply in the heart wood, though they multiplied in the sap wood. Therefore, it is desirable to avoid use of heart wood in making experimental materials of high nematode density.

Key words: *Bursaphelenchus xylophilus*, multiplication, log, inoculation

はじめに

マツノザイセンチュウは、マツ樹体内に寄生及び増殖し、急激にマツを枯死させる「マツ材線虫病」の病原線虫である（清原・徳重，1971）。そのため、欧州連合や中国などは、マツノザイセンチュウの侵入を特に警戒している。日本からこん包材を輸出する際には相手国の要求に従い消毒等を行っているが、相手国の輸入検査で、生きた線虫が発見されたとして、貨物ごと返送されるなど、問題が生じている。日本では、新たな消毒技術を開発するためにくん蒸試験を行っており、その供試材として、マツノザイセンチュウが均一に寄生した材（乾燥材 1 g 当たり 100 頭以上）が必要である。しかし自然感染木からこのような供試材を確保することは多大な労力と時間を費やす。そこで、くん蒸供試材の人為的な作製に資するため、健全なアカマツ丸太に、マツノザイセンチュウを接種し、材中でのように増殖するかを調査した。

材料及び方法

1. 供試線虫懸濁液

灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) の菌そう上で培養したマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) をベルマン法（16～20 時間）により分離した。線虫は、接種前日から分離を開始し、接種当日に 1 ml 当たり 2 万頭の懸濁液に調整して用いた。

2. 供試材

供試材は、長さ 2 m の埼玉県産アカマツ丸太 4 本でマツノザイセンチュウの検出されなかった材を使用した。そのうち 3 本は直径約 30 cm で、丸太内の増殖調査に用い、他の 1 本は直径約 25 cm で、線虫接種後、製材にして調査した。

3. 接種方法及び丸太材の保管

線虫の接種は、電動ドリル（直径 15 mm）で丸太に穴を開け、マツノザイセンチュウの懸濁液を流し込む方法で、平成 14 年 8 月 13 日～21 日に行った。直径約 30 cm の各丸太には 236 点の穴を開け、マツノザ

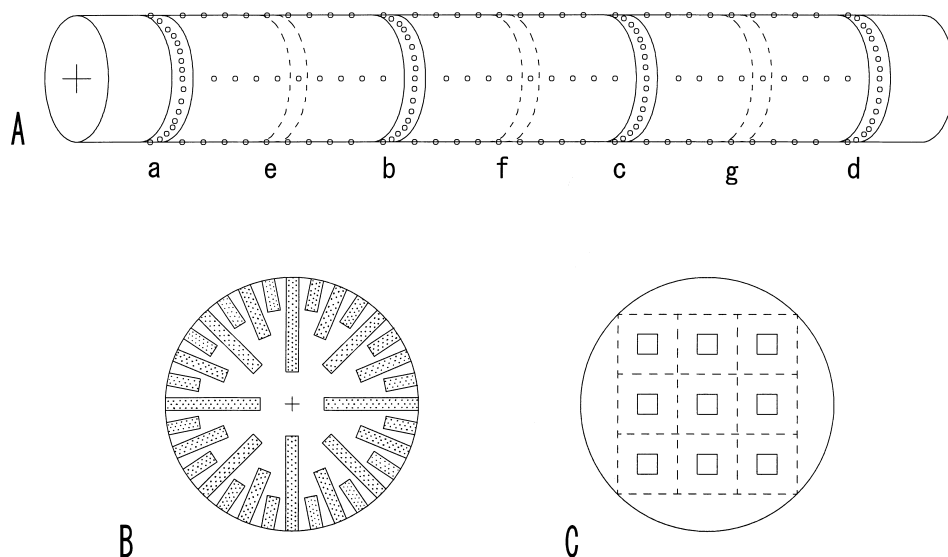


図1 アカマツ丸太への線虫接種箇所及び調査箇所
 A: a~d; 線虫接種面, e~g; 調査面, °印; 線虫接種箇所
 B: 接種面の断面図 (■: 線虫懸濁液接種穴)
 C: 調査面の断面図 (□: 材片採取箇所)

イセンチュウの懸濁液を、1,268 ml (2,536 万頭) 接種し、コルクで穴を封じた。接種点は、図1のとおりである。長さ50 cmの供試材が確保できるような間隔を開け、厚さ5 cmの接種面を4面設けた。各接種面には周囲から材の中心に向かって32点の穴を開け、一面当たり合計236 ml (472 万頭) の線虫懸濁液を接種した。また供試材を確保する部分にも4方向から深さ4 cmの接種穴を5 cm間隔で設け、合計108点に324 mlの懸濁液を接種した。

直径25 cmの丸太には同様の方法で接種点を136点設け、合計800 ml (1,600 万頭) の懸濁液を接種した。線虫を接種した材は、直射日光を避け、寒冷遮とビニールシートを被せて屋外に保管した。

4. 調査方法

1) 丸太

保管開始から、1, 3, 7ヵ月後の、丸太内のマツノザイセンチュウの増殖について調査した。各調査時期に丸太を1本ずつ切断して調査に用いた。隣り合う接種面の中間から、厚さ4 cmの輪切りにした円盤状の材を、調査面として3枚取り出した(図1)。取り出した丸太の断面に、内接する正方形を描いて縦横3区ずつの9区に区切り、それぞれの区の中央部から約20 gの材片を取り出した。これを、のこぎり、なた、剪定鋏を用いて3×3×20 mmの細片にした。細片化した

材の中から5 gについてベルマン法(1反復, 72時間)を行い、線虫を分離した。また、細片化した別の材5 gを160℃で、4時間乾燥させ、減少した重量から含水率を求め、乾燥材1 g当たりの線虫数を算出した。

2) 製材

7ヵ月後のみ、製材について調査を行った。直径25 cmの丸太に線虫を接種し、他の丸太と同じ方法で保管した。保管開始から4ヵ月後に、15 cm角、長さ2 mの角材に製材し、引き続き7ヵ月後まで保管した。丸太と同様に、隣り合う接種面の中間から、15 cm角、厚さ4 cmの角材を3枚取り出し、その断面に、各区が5 cmの正方形となるような縦横3区ずつの9区を設けた。各区の中央部から約20 gの材を取り出し、材を細片化して、線虫数を調査した。

結果及び考察

1. 丸太内の線虫数と材の含水率

マツノザイセンチュウの懸濁液を接種し、長期間保管したアカマツ丸太内のマツノザイセンチュウ数は、表1のとおりであった。1, 3, 7ヵ月後の乾燥材1 g当たりのマツノザイセンチュウ数はそれぞれ、543.3頭、340.4頭、449.3頭であった。調査した区を辺材部と心材部に分けてみると、1, 3, 7ヵ月後ともに心材部からマツノザイセンチュウはほとんど分離されな

表 1 マツノザイセンチュウ接種材から分離された線虫数*

材の状態	線虫を分離した部位	1 カ月後	3 カ月後	7 カ月後
丸太	心材部	0	2.8	0
	辺材部	657.6	409.1	516.4
	全体の平均	543.3	340.4	449.3
製材	心材部	—	—	14.8
	辺材部	—	—	270.8
	全体の平均	—	—	238.9

* 乾燥材 1 g 当たりの線虫数

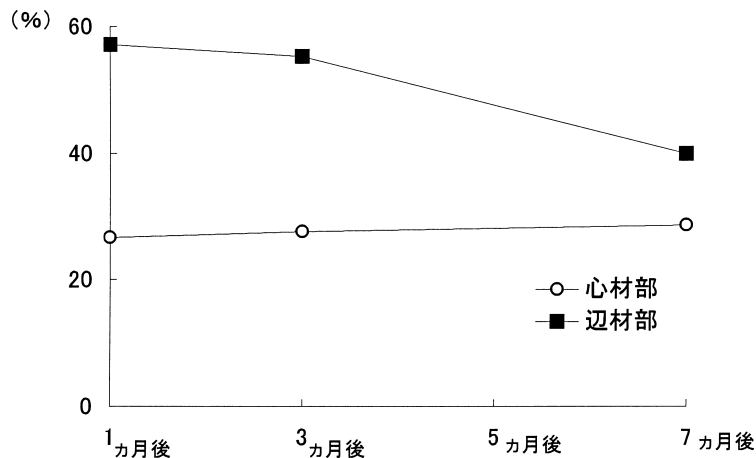


図 2 丸太内の含水率の変化

表 2 線虫接種材から分離されたマツノザイセンチュウ数*

材の状態	マツノザイセンチュウの態	1 カ月後		3 カ月後		7 カ月後	
丸太	分散型 III 期幼虫	65.2	(12.0%)	47.1	(13.8%)	225.5	(50.2%)
	分散型 III 幼虫以外	478.1	(88.0%)	293.3	(86.2%)	223.8	(49.8%)
	合計	543.3	(100%)	340.4	(100%)	449.3	(100%)
製材	分散型 III 期幼虫	—	—	—	—	157.4	(65.9%)
	分散型 III 期幼虫以外	—	—	—	—	81.5	(34.1%)
	合計	—	—	—	—	238.9	(100%)

*乾燥材 1 g 当たりの線虫数

かった。また、1, 3, 7 カ月後の含水率の変化を図 2 に示した。辺材部では、50%台から徐々に含水率が低下し、7 カ月後には 38.7%となった。しかし、心材部では 1 カ月後が 26.6%で、その後もほとんど変化が見られなかった。分離された線虫を態別に見ると、3 カ月後までは、分散型 III 期幼虫は全体の 12~13%であったが、7 カ月後には、50.2%まで増加した(表 2)。

2. 製材内の線虫数

線虫接種後に製材し、保管した材中のマツノザイセンチュウ数は、表 1 のとおりである。心材部から分離

された線虫数は、乾燥材 1 g 当たり 14.8 頭であったのに対し、辺材部から分離された線虫数は 270.8 頭であった。また、分散型 III 期幼虫の割合は、全体の 65.9%であった(表 2)。

今回の調査では、保管開始から 7 カ月後においても丸太内、製材内において高い線虫密度を保っていた。しかし、丸太内の線虫の分布を調査した結果、心材部では、マツノザイセンチュウがほとんど増殖していなかった。また、製材の調査においても、同様の傾向が見られた。材の含水率が高いほどマツノザイセンチュウはよく移動し、増殖することが報告されている(堂

園・橋本, 1974) が、今回の調査では心材部の含水率が調査期間を通じて20%台で辺材部よりも低く、線虫の増殖に不適であったと考えられる。また、7カ月後では、丸太、製材ともに分散型III期幼虫の割合が高かった。分散型III期幼虫は、乾燥や飢餓などの悪環境でも長期間生存できる耐久型のステージであり、材内の環境が悪くなるのに対応して出現し始める(石橋・近藤, 1974; 真宮, 1975; ISHIBASHI & KONDO, 1977)。線虫接種直後に比べ、7カ月後の材の中は、含水率の低下など、マツノザイセンチュウの増殖に不向きな環境に移行していると考えられた。

丸太に大量の線虫懸濁液を接種することによって、丸太内でマツノザイセンチュウを増殖させることができた。乾燥材1g当たりの線虫数は、くん蒸試験の供試材として利用できるものであった。しかし、心材部では、線虫がほとんど増殖しないため、線虫接種後に製材にして供試する場合、その大部分が心材であれ

ば、線虫密度は低いものとなる。したがって、線虫密度の高い供試材を得るためには、できる限り心材部分を含まない製材を供試することが必要と考える。

引用文献

- 堂園安生・橋本平一(1974) マツ切枝(試片)の含水率と材線虫の増殖. 日林九支研論 27: 165-166.
- ISHIBASHI, N. and E. KONDO (1977) Occurrence and Survival of the Dispersal Forms of Pine Wood Nematode, *Bursaphelenchus lignicolus*. *Appl. Ent. Zool.* 12(4): 293-302.
- 石橋信義・近藤栄造(1974) 線虫類の发育ステージと不良環境耐性. 日本線虫研究会誌 4: 1-11.
- 清原友也・徳重陽山(1971) マツ生立木に対する線虫 *Bursaphelenchus* sp. の接種試験. 日林誌 53(7): 210-218.
- 真宮靖治(1975) マツノザイセンチュウの发育と生活史. 日本線虫研究会誌 5: 16-25.