マツノザイセンチュウの伝播機構 ——どのように媒介昆虫へ乗り移りそして離脱するのか——

相川 拓也^{*,1}

相川拓也：マツノザイセンチュウの伝播機構——どのように媒介昆虫へ乗り移りそして離脱するのか—— 日林誌 88：407～415, 2006 マツノザイセンチュウはマツ材線虫病の病原体であり、*Monochamus* 属のカミキリムシによって伝播される。日本における主要な媒介者はマツノマダラカミキリであり、マツノザイセンチュウとマツノマダラカミキリとの間には個体群レベルで相利共生関係が成り立っている。本病におけるマツノザイセンチュウとマツノマダラカミキリの役割が明らかにされて以降、両者の生態および相互関係に関する研究が数多く行われてきた。特にこの10年間は、人工蛹室の開発、マツノマダラカミキリへのマツノザイセンチュウの乗り移りおよび離脱に影響を及ぼす要因の解析、さらに新たな伝播経路の発見など研究の進展が著しい。そこで本稿では、マツノザイセンチュウの伝播機構に関する研究を最新の情報を中心に総括し、この分野における今後の研究方向について検討する。

キーワード：伝播機構、媒介昆虫、マツ材線虫病、マツノザイセンチュウ、マツノマダラカミキリ

Aikawa, T.: **Transmission Mechanism of the Pinewood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*: How Does the Nematode Transfer to and Depart from Its Insect Vector?** J. Jpn. For. Soc. 88: 407~415, 2006 The pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, is the causative agent of pine wilt disease (PWD), and is transmitted among host trees by cerambycid beetles in the genus *Monochamus*. In Japan, its principal vector is *M. alternatus* and there is a mutualistic relationship between *B. xylophilus* and *M. alternatus* at population level. After the roles of *B. xylophilus* and *M. alternatus* in PWD were clarified, the biology of and the interaction between the two species have been energetically investigated. Especially for the last decade, the study on interaction between them has been rapidly advanced by the development of artificial pupal chambers, the analysis for factors affecting *B. xylophilus* transfer to and departure from *M. alternatus* adults, the discovery of new transmission pathways of *B. xylophilus* to pine trees and so on. In this review, I summarize the studies on the transmission mechanism of *B. xylophilus* containing the latest information and discuss the future direction of research on this topic.

Key words: *Bursaphelenchus xylophilus*, *Monochamus alternatus*, pine wilt disease, transmission mechanism, vector beetle

I. は じ め に

マツ材線虫病、いわゆる“マツ枯れ”はマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) (以後線虫と略する) により引き起こされるマツ類の伝染病である (清原・徳重, 1971)。線虫は *Monochamus* 属のカミキリムシにより感染木から健全木へと伝播されることが知られており、日本では主にマツノマダラカミキリ (*Monochamus alternatus*) (以後カミキリと略する) がその役割を担っている (Mamiya and Enda, 1972; 森本・岩崎, 1972)。この線虫は北アメリカ原産で (Tares *et al.*, 1992), 1900 年代初頭に日本へ持ち込まれたと考えられている (Mamiya, 1984)。現在、本病による被害は青森県と北海道を除くすべての都府県で確認されている。年間の被害量 (材積) はここ数年 700,000~900,000 m³ で推移しており、最も被害が大きかった昭和 54 年 (約 2,400,000 m³) と比較すると 1/3 程度に収まっているものの、依然として高い値であることに違いはない。日本以外でも 1980 年代に中国、台湾、

および韓国などの東アジアの国々で本病による被害が報告され、近年ポルトガルでも線虫の侵入が確認された (Mota *et al.*, 1999)。ヨーロッパには、本病に対して抵抗性を持たないマツが多く分布していることから今後の被害拡大が懸念されている。

本病は病原体である線虫と媒介者であるカミキリとの密接な関係の上に成り立っている。よって本病を十分理解するためには、両者の関係を知ることが必要である。線虫は“増殖型”と“分散型”という二つのサイクルを持ち、生活環境に対応してそのサイクルを変化させる (真宮, 1975)。増殖型はマツ樹体内で増殖するためのサイクルであり、分散型はカミキリによって新たなマツへ運搬されるサイクルである (図-1)。夏の間、線虫はカミキリ成虫によって健全なマツへ伝播される。マツへの侵入に成功した線虫は樹脂道を通してマツ樹体内を移動し、マツの柔細胞やマツの衰弱に伴って樹体内に侵入した青変菌などを摂食する。本病の発病後、線虫は“増殖型サイクル”を繰り返して爆発的に増殖する。これらの枯死木にカミキリ成虫が

* 連絡・別刷請求先 (Corresponding author) E-mail: taikawa@ffpri.affrc.go.jp

¹ (独) 森林総合研究所 (305-8687 つくば市松の里 1)

Forestry and Forest Products Research Institute, 1 Matsunosato, Tsukuba 305-8687, Japan.
(2005 年 10 月 3 日受付; 2006 年 5 月 12 日受理)

産卵する。孵化したカミキリ幼虫は樹皮下の組織や材を摂食しながら发育し、終齢幼虫に達すると材内に穿孔して蛹室を形成する。カミキリはその蛹室内で終齢幼虫として越冬し、翌年の晩春から初夏にかけて蛹化する。一方、線虫は増殖する過程で増殖型第2期幼虫から分散型第3期幼虫への脱皮を開始し、“増殖型”から“分散型”へとサイクルが移行する。冬の間、分散型第3期幼虫はカミキリ終齢幼虫の蛹室に集合定着する。その後、カミキリの羽化にともない分散型第4期幼虫へと脱皮し、羽化直後のカミキリ成虫へ乗り移る。分散型第4期幼虫を保持したカミキリ成虫は枯死木から脱出後、健全なマツへ飛来して枝の樹皮を摂食する。その際、分散型第4期幼虫はカミキリ虫体から離脱し、新たなマツへと侵入する。これが線虫とカミキリによる本病の感染鎖である。線虫にとってカミキリは運搬役であり、カミキリにとって線虫は産卵資源の提供役といえる。すなわち両者の個体群間には堅固な相利共生関係が成り立っている。

本病における線虫とカミキリの役割が明らかにされて以降、線虫の伝播機構を解明すべく数多くの研究者によって両者の生態および相互関係に関する研究が精力的に行われてきた。これらの内容は各種の総説にまとめられている (Kobayashi *et al.*, 1984; Mamiya, 1984; 岸, 1988; Linit, 1988; Kishi, 1995)。一方、人工蛹室の開発、カミキリ成虫への線虫の乗り移りや離脱に影響を及ぼす要因の解析、および新たな伝播経路の発見など、この分野は近年飛躍的に進展しており、最新の情報を網羅した総説は存在しない。そこで本稿では最近の10年間に得られた成果を中心に線虫の伝播機構に関するこれまでの研究を総括し、今後の研究の方向についても検討する。なお、本稿では線虫の伝播機構を、1) カミキリ成虫への線虫の乗り移り、2) カミキリ成虫の気管内における線虫の挙動、3) カミキリ成虫からの線虫の離脱、4) マツへの線虫の伝播、の四つの過程に分けて述べる。

II. カミキリ成虫への線虫の乗り移り

1. 増殖型第2期幼虫から分散型第3期幼虫への脱皮

線虫がカミキリ成虫へ乗り移るためには、まず増殖型から分散型への移行、すなわち増殖型第2期幼虫から分散型第3期幼虫への脱皮が必要である (図-1)。分散型第3期幼虫は体内に貯蔵物質 (中性脂質) を多く蓄えているのが特徴で、増殖型幼虫とは体の構造が異なっている (Kondo and Ishibashi, 1978)。分散型第3期幼虫の出現には線虫密度の上昇が不可欠である (Fukushige, 1991; Maehara and Futai, 2000)。線虫は健全なマツへ侵入し、マツの発病後に急激に増殖することは先程も述べた。分散型第3期幼虫の出現はマツ樹体内の線虫密度が高くなる頃から始まる (清原・鈴木, 1975)。その割合は時間の経過とともに増加し、線虫密度がピークに達したときあるいは達した後、最大となる (Fukushige and Futai, 1987; Fukushige, 1991; Maehara and Futai, 2000)。線虫の生息場所である

図-1. マツノザイセンチュウの生活環

実線の矢印は増殖のためのサイクルを、破線の矢印は伝播のためのサイクルを示す。

材組織は、マツの枯死後の時間的経過にともない質の低下が進んでいく。分散型第3期幼虫はこのような悪化した生育環境に適応したステージである (Mamiya, 1983)。その後、分散型第3期幼虫はカミキリ終齢幼虫が作った蛹室周辺に集合定着する。蛹室内はカミキリ終齢幼虫の排泄物で汚染されており、その排泄物中に存在する不飽和脂肪酸に分散型第3期幼虫が反応し、集合定着すると考えられている (宮崎ら, 1977a, b)。

2. 分散型第3期幼虫から分散型第4期幼虫への脱皮

蛹室周辺に集まった分散型第3期幼虫は、蛹室内のカミキリが羽化するのにもともない分散型第4期幼虫へと脱皮する。分散型第4期幼虫は分散型第3期幼虫同様、体内に脂質を多く蓄えているが、頭部がドーム状に丸く、さらに尾端が尖っているのが特徴であり、形態的に分散型第3期幼虫と区別できる (図-2)。分散型第4期幼虫への脱皮には蛹室内にカミキリの蛹あるいは羽化直後の成虫の存在が不可欠であり (森本・岩崎, 1973; Maehara and Futai, 1996)、寒天培地上で線虫とカミキリを共存培養した実験でもほぼ同様の結果が得られている (Ogura and Nakashima, 2002)。また、*M. carolinensis* (北米での線虫の主要な媒介者) の後期の蛹あるいは羽化直後の成虫をすりつぶした懸濁液を綿に含ませ、それを線虫の生息するマツ丸太に穿った穴に置いた場合でも、分散型第3期幼虫から分散型第4期幼虫への誘導が可能なことから、*Monochamus* 属カミキリの羽化に関わる物質が、分散型第3期幼虫から分散型第4期幼虫への脱皮に関与していると考えられる (Necibi and Linit, 1998)。しかし人工蛹室 (蛹室に相当する穴を開けたマツ材片を小瓶に入れ高圧蒸気滅菌した後、青変菌、線虫、およびカミキリをその穴へ接種し共存培養する方法) を使った実験では、クワヤイチジクを加害するキボシカミキリ (*Psacotha hilaris*) を蛹室内に置いた場合でも、非常に低率ではあるが分散型第4期幼虫の出現が確認されていることから、この現象は必ずしも *Monochamus* 属カミキリに特異的な物質のみによって引き起こされるとはいえない (Maehara and Futai, 2001)。

3. カミキリ成虫への分散型第4期幼虫の移動

分散型第4期幼虫は蛹室内に繁殖する青変菌の子実体な

図-2. 分散型第3期幼虫および分散型第4期幼虫の頭部と尾部

A, 分散型第3期幼虫の頭部；B, 分散型第4期幼虫の頭部；
C, 分散型第3期幼虫の尾部；D, 分散型第4期幼虫の尾部。

ど突出するものの先端へ移動し、カミキリ成虫の体表へ付着する。カミキリが呼吸によって放出する二酸化炭素量は羽化時に最も多くなり、分散型第4期幼虫はこの二酸化炭素に誘引されてカミキリ成虫の気門へ向かい、最終的に気管へと侵入する(宮崎ら, 1978a, b)。侵入部位は成虫の胸部に存在する気管が最も多い(Linit *et al.*, 1983; Kobayashi *et al.*, 1984; Kondo, 1986)。

カミキリ成虫が枯死木脱出時に体内に保持している分散型第4期幼虫数(初期保持線虫数)は、本病の被害レベルを左右する要因の一つである(Togashi, 1985, 1991)。この初期保持線虫数はカミキリ個体ごとに大きくばらつくことが知られており、そのばらつきを説明する要因についてもいくつか報告されている。含水率が極度に高い、あるいは

は低い材から脱出したカミキリ成虫の初期保持線虫数は非常に少なくなり(森本・岩崎, 1973; 寺下, 1975; Togashi, 1989), また体サイズの大きいカミキリ成虫, または *M. carolinensis* 成虫ほど多く線虫を保持しているという報告がある(Linit *et al.*, 1983; Humphry and Linit, 1989; Aikawa and Togashi, 1998)。人工蛹室による実験では、カミキリの羽化後1日目から3日目までにカミキリ成虫へ乗り移る分散型第4期幼虫数が急増し、4日目以降はその数が安定することが示されている(Maehara and Futai, 2001)。自然条件下では、羽化後のカミキリ成虫は蛹室内に4日から8日程度とどまることから(井戸・武田, 1972; 岸, 1976; 滝沢, 1979; 遠田, 1980), それらは可能な限り多くの分散型第4期幼虫を保持して枯死木から脱出しているものと推測される。ただし, Maehara and Futai (2001) では平均初期保持線虫数が非常に少なかったことから, 初期保持線虫数が数千頭あるいは数万頭に達するような条件での追試が望まれる。マツ樹体内に優占する菌の種類も初期保持線虫数に影響を及ぼすと考えられる。材内に優占する菌が線虫の餌資源として好適な種類であれば, 線虫は旺盛に増殖できるため密度が上昇し, 分散型第3期幼虫および分散型第4期幼虫への発育がスムーズに進み, 初期保持線虫数も多くなる。一方, 材内に優占する菌が餌資源として不適な種類であった場合, 線虫は増殖できないため分散型への移行が進まず, その結果としてカミキリ成虫へ乗り移る数も少なくなる(Maehara and Futai, 1996, 1997)。またその他に, 線虫の病原力(マツを枯死させる能力)の違いによって初期保持線虫数に差が出ることも知られている。野外には強い病原力を持つ線虫個体群もいれば, ほとんど病原力を持たない線虫個体群も存在する(清原, 1989; Kiyohara and Bolla, 1990)。病原力の強い個体群は弱い個体群に比べ増殖力が高く, また増殖型2期幼虫から分散型第3期幼虫への発育能力, および分散型第3期幼虫から分散型第4期幼虫への発育能力も高い。その結果, カミキリ成虫の初期保持線虫数は強病原力個体群の方が圧倒的に多くなる(Aikawa *et al.*, 2003)。

III. カミキリ成虫の気管内における線虫の挙動

線虫(III, IV および V では分散型第4期幼虫を指す)がカミキリ成虫に保持されて運搬されることはこれまで数多くの研究で示されているものの, カミキリ成虫気管内における線虫の行動に関する報告は非常に少ない。気管はカミキリ体内と外界との間でガス交換を行うための管であり, カミキリ成虫の胸部および腹部に存在する気室(atrium: 気門直下にある空間で気管の直前にある)からつながり, 複雑に枝分かれしながら体全体に広がっている。一般的に気管は枝分かれをしながら径が細くなり, 最終的に気管末端細胞となる。初期保持線虫数が非常に多い時は, 最も大きい気門である腹部第1気門下の気室の中に線虫が塊となって詰まっているのが観察されるほか(Zhang *et al.*, 1995; Stamps and Linit, 1998a) (図-3),

図-3. マツノマダラカミキリ成虫の腹部第1気門

A, 腹部第1気門の位置 (矢印)。観察のため左側の翅鞘を除去；B, マツノザイセンチュウを保持していないカミキリ成虫の腹部第1気門。気室内の空間がはっきりとみえる；C, マツノザイセンチュウを多く保持しているカミキリ成虫の腹部第1気門。遮蔽物により気室内の空間が全くみえない。この遮蔽物を検鏡したところ、線虫の塊であることが確認された。

触角や脚などの末端に近い部位の気管にまで線虫が存在する (図-4)。これら触角および脚から分離される線虫数、あるいは腹部第1気門下の気室に存在する線虫の量などを基に、カミキリ成虫あるいは *M. carolinensis* 成虫の初期保持線虫数を推定する方法も考案されている (小林・細田, 1978; 遠田・楨原, 1982; Zhang *et al.*, 1995)。

このように、カミキリ成虫の体内における線虫の分布は末端の気管にまで及ぶ。一方、線虫が再びマツへ侵入するためにはこの気管から抜け出し、虫体から離脱しなくてはならない。気管内における線虫の行動は、日齢の異なるカミキリ成虫から気管を取り出し、その気管内で線虫が向いている方向を調べた実験により類推されている。枯死木から脱出直後の *M. carolinensis* 成虫体内にいる線虫のほとんどは気管内で同一方向を向いている (Kondo, 1986)。カミキリ成虫を用いた実験でも同様の結果が得られ、さらにそれらの線虫はカミキリ虫体内部に頭部を向けていることが示されている (Aikawa and Togashi, 2000)。その

後、カミキリ成虫の日齢が進むにつれてカミキリ虫体外部へ頭部を向ける線虫の割合が増加し、その割合は45日齢のカミキリ成虫で最も高くなることも示されている (Aikawa and Togashi, 2000)。また、カミキリ虫体外部へ頭部を向けた線虫が存在する気管の割合も、カミキリ成虫の日齢とともに増加し、0日齢のカミキリ成虫よりも15, 30, 45日齢のカミキリ成虫でその割合は高くなっている (Aikawa and Togashi, 2000)。これらの観察から、線虫は前進してカミキリ成虫の気管内へ侵入し、その後気管内で体を回転させて方向転換し、再び前進して気門へ向かい脱出するものと推測できる。実際、気管内で体をUの字に曲げている線虫が多数みつかったことから (Kondo, 1986; Aikawa and Togashi, 2000; Mamiya, 2003)、この推測の妥当性が確認される。

図-4. マツノマダラカミキリ成虫の後脚基部の気管内に存在するマツノザイセンチュウ

A, 後脚を除去したカミキリ成虫の腹面。後脚につながっていた気管が露出している (矢印)；B, 露出した気管の拡大写真。気管の中に線虫が束になって存在している。

IV. カミキリ成虫からの線虫の離脱

1. 離脱する時期

線虫はカミキリ成虫の気管から脱出して体表へ出た後、カミキリ成虫の尾端へ進み、虫体から離脱する (Kobayashi *et al.*, 1984)。このような線虫の離脱は、カミキリ成虫が枯死木から脱出した直後から死亡するまで一定のペースで延々と続くわけではない。線虫の離脱経過に関するこれまでの研究報告に共通していえることは、カミキリ成虫が枯死木から脱出した直後には線虫はほとんど離脱せず、カミキリ成虫脱出後およそ10日目から40日目までに多くの線虫が脱出し、離脱のピークがカミキリ成虫脱出後2週目から3週目に確認されることである (森本・岩崎, 1972; Togashi and Sekizuka, 1982; Togashi, 1985; Aikawa and Togashi, 1998)。北米の実験でも、離脱する線虫数は *M. carolinensis* 成虫脱出後2週目および3週目に多くなっており (Linit, 1989), 線虫が日本に持ち込まれる以前からこのような性質を持っていたことがうかがえる。

2. 離脱に関係する要因

このように、線虫がカミキリ成虫から離脱を開始するまでにしばらく時間を要することを考えると、カミキリ成虫の寿命は線虫の離脱に影響を及ぼすことが予想される。実際、寿命の長いカミキリ成虫は寿命の短いカミキリ成虫に比べて、離脱に成功する線虫の割合が高いことが示されている (Togashi, 1985)。一方、カミキリ成虫の寿命は初期保持線虫数と負の相関関係にあることが室内実験で証明されている (Togashi and Sekizuka, 1982)。初期保持線虫数の増加とともにカミキリ成虫の寿命が短くなり、その結果、離脱できずにカミキリ成虫の死体内に残る線虫の割合が高くなる傾向が示されている (Togashi, 1985)。呼吸器である気管はカミキリの生命維持に欠かせない重要な器官である。その気管の中に線虫が密集することによりガス交換が滞り、カミキリ成虫は悪影響を受けているものと推測される。このことは *M. carolinensis* 成虫を使った実験で、初期保持線虫数が10,000頭以上の成虫は、10,000頭未満の成虫に比べ飛翔能力が劣るという結果からもうかがえる (Akbulut and Linit, 1999)。すなわち、線虫は新たな宿主への移動のためにカミキリ成虫に乗り移るものの、過度の線虫が乗り移った場合には、その負荷によりカミキリ成虫が短命になり、結果として自らの離脱の機会を失う可能性が高くなる。また、カミキリ成虫の寿命に影響を与える他の要因として温度条件が挙げられる。カミキリ成虫を16°Cおよび20°Cで飼育したときの寿命 (平均65.9日および87.9日) は、25°Cで飼育したときの寿命 (平均143.6日) よりも短くなる (Jikumaru and Togashi, 2000)。さらに、飼育温度の低下にともない線虫の離脱時期が遅れることも示されている (Jikumaru and Togashi, 2000)。

線虫がマツへ侵入するためには、カミキリ成虫がマツを訪れている間に虫体から離脱しなくてはならない。そのため的手段として、線虫はカミキリ成虫の気管の中で外部から入ってくる“マツのにおい”を感知しているとの報告がある。チップ状にしたマツから発せられる揮発性成分が *M. carolinensis* 成虫からの線虫の離脱を促進させることや (Edwards and Linit, 1992), そのマツの揮発性成分の中でも、特に β -ミルセンが線虫に対する離脱促進効果を持っていることが示されている (遠田・池田, 1983; Stamps and Linit, 1998b)。また、寒天培地上の実験でも、カミキリ成虫体内から分離した線虫は β -ミルセンに最も誘引されている (Ishikawa *et al.*, 1986)。これらの結果は、カミキリ成虫の気管内にいる線虫が、 β -ミルセンなどのマツから発せられる揮発性成分を感知することで離脱が促進されることを示唆している。ただし、線虫の離脱はマツからの揮発性成分によってすべてコントロールされているわけではない。高圧蒸気滅菌処理したアカマツ枝、すなわち揮発性成分を放出しないように処理した枝をカミキリ成虫に与えて飼育した場合でも、線虫はカミキリ成虫から離脱し、カミキリ成虫の日齢51日までに平均で初期保持線虫数の84%が離脱している (Aikawa and Togashi,

1998)。この事実は、たとえマツの揮発性成分が存在しなくても、線虫は内的な要因によりカミキリ成虫から離脱することを示している。この内的な要因による離脱行動は、線虫体内に貯蔵されている中性脂質と関係があると考えられている。日齢の異なる *M. carolinensis* 成虫を用いて、成虫から離脱した線虫と成虫体内に残っている線虫の体内脂質量を比較してみると、離脱した線虫の方が明らかに少なく、さらに *M. carolinensis* 成虫の日齢の増加にともない成虫体内に残っている線虫の脂質量も減少している (Stamps and Linit, 1998a)。すなわち、線虫はカミキリ成虫の体内に在る間、生命維持のためのエネルギー源として脂質を消費し、その脂質量の減少が線虫に離脱を開始させる要因になっていると考えられる。さらに、*M. carolinensis* 成虫から分離した線虫を用いて、それらが誘引される物質と体内脂質量との関係を調べた実験では、体内の脂質をすべて消費してしまった線虫は β -ミルセンに、一方、体内に脂質が多く残っている線虫はカミキリのクチクラ成分であるトルエンにそれぞれ誘引されている (Stamps and Linit, 1999)。これらの結果をまとめると次のようなことがいえる。カミキリ成虫の気管内に侵入した直後の線虫の体内は中性脂質で満たされている。この状態の線虫は、カミキリの成分であるトルエンに強く誘引されるため、しばらくはカミキリ成虫体内にとどまっている。やがて時間の経過とともに線虫体内の脂質の減少が始まり、この内的な変化に起因して離脱が始まる。体内の脂質を消費した線虫は、マツが放出する β -ミルセンに強く反応するので、離脱がよりいっそう促進される。このように、カミキリ成虫からの離脱という一見単純に思える線虫の行動は、線虫体内の脂質の減少という内的要因と、マツからの揮発性成分という外的要因の複合作用によって起こる複雑な現象であることが解明された。

V. マツへの線虫の伝播

1. 摂食痕および産卵痕を経由した線虫の伝播

従来の研究によって、カミキリ成虫または *M. carolinensis* 成虫から離脱した線虫がマツへ侵入するための経路は二つ存在することが明らかになっている。一つは雌雄成虫がマツを摂食する際に作った傷 (摂食痕) からの侵入 (Mamiya and Enda, 1972; 森本・岩崎, 1972) であり、もう一つは雌成虫が産卵する際に作った傷 (産卵痕) からの侵入である (Wingfield, 1983; Wingfield and Blanchette, 1983; Linit, 1988)。マツへの侵入に成功する線虫は、カミキリ成虫から離脱した線虫の一部である。これまでの報告によると、線虫がマツへ伝播される時期は線虫がカミキリ成虫から離脱する時期とほぼ同調している。たとえば、摂食痕を経由した線虫伝播のピークはカミキリ成虫脱出後 2 週目 (Shibata, 1985), 15 日目から 35 日目の間 (Togashi, 1985), あるいは 10 日目から 30 日目の間 (Jikumaru and Togashi, 2000) で確認され、一山型の伝播パターンが示されている。また、*M. carolinensis* 成虫による実験でも、

カミキリ成虫脱出後 3 週目から 4 週目に線虫伝播のピークを迎えている (Linit, 1990)。例外的に、カミキリ成虫脱出直後から 5 日目までの間に最も多くの線虫が摂食痕を経由して伝播された L 字型の伝播パターン (岸, 1978; Togashi, 1985) も少数ながら存在する。初期保持線虫数や温度は摂食痕を経由した線虫伝播に影響を及ぼす。カミキリ成虫では初期保持線虫数が多いほど伝播線虫数のピーク値が高くなる (Togashi, 1985; Jikumaru and Togashi, 2000)。また、*M. carolinensis* 成虫では、初期保持線虫数の増加とともに摂食痕を経由して伝播される線虫数が増加している (Linit, 1990)。25°C, 20°C および 16°C においてカミキリ成虫を飼育した場合、温度の低下とともに線虫伝播のピークの遅れ、ピーク値の低下、および線虫伝播効率 (マツ枝への侵入に成功した線虫数/カミキリ成虫から離脱した線虫数) の減少などが確認されている (Jikumaru and Togashi, 2000)。一方、産卵痕を経由してマツに伝播される線虫数は、*M. carolinensis* の雌成虫の週齢 (1 週から 5 週) に関わらず一定のレベルで推移し (Edwards and Linit, 1992), 初期保持線虫数の多い *M. carolinensis* の雌成虫は、産卵痕を経由してより多くの線虫をマツに伝播することが示されている (Edwards and Linit, 1992)。カミキリ成虫の産卵痕を経由した線虫の伝播はその存在が示唆されているものの (Kishi, 1995), 実証例がなく今後の研究が望まれる。

2. 新たな伝播経路

また、最近になって新たな伝播経路が二つ発見されている。一つは、雄成虫から離脱した線虫が既存の産卵痕を経てマツ樹体内に侵入する経路である。線虫を保持していないカミキリ雌成虫を用いて産卵痕をあらかじめ作らせたマツ丸太の上を、線虫を保持した雄成虫 (摂食できないように口器を固定してある) に徘徊させると、雄成虫から離脱した線虫が産卵痕経由で丸太内に侵入して増殖することが確認されている (Arakawa and Togashi, 2002)。もう一つの経路は、カミキリ雌雄間での水平移動を経た後にマツへ侵入する経路である。線虫を保持しているカミキリの雄成虫 (または雌成虫) と線虫を保持していないカミキリの雌成虫 (または雄成虫) をつがいにして飼育した場合、カミキリ成虫の交尾行動を介して線虫が異性のカミキリ成虫へ移動することが証明されている (Togashi and Arakawa, 2003)。同時に、雄成虫から雌成虫へ移動した線虫は、その雌が作った産卵痕を経由してマツへ伝播されることが示されている (Togashi and Arakawa, 2003)。雌雄間を移動する線虫数は、カミキリ成虫の初期保持線虫数が多いほど、また交尾のためのマウント時間が長いほど多くなる傾向があり (Togashi and Arakawa, 2003), 雄から雌の受精囊へ移ることも示されている (Arakawa and Togashi, 2004)。1 回のマウント行為でカミキリ雌雄間を移動する線虫数は、100 頭未満とそれほど多くはない (Togashi and Arakawa, 2003)。しかし、保持線虫数が非常に多い個体と何度も交尾をすることにより、初めは全く

線虫を保持していなかった個体も二次的に多くの線虫を獲得し、それらを伝播する可能性がある。よって、このカミキリ成虫間の線虫の移動は、間接的に伝播者の増加を引き起こしているかも知れない。

VI. お わ り に

この線虫の伝播機構に関する分野は、本病の研究の中で近年最も進展した分野の一つと考えられる。この進展の契機として、Maehara and Futai (1996) による人工蛹室の開発が挙げられる。従来、線虫とカミキリの相互関係に関する研究は、主に野外で発生した枯死木、あるいは枯死木から脱出したカミキリ成虫を用いて行われてきた。よって、1年1世代というカミキリの性質上これらの研究も年に1度に限定されてきた。ところが、彼らの方法を用いることにより、マツ材片、カミキリ終齢幼虫、そして線虫の3者が揃えば、いつでも線虫とカミキリとの関係を調べられるようになった。またその方法を応用し、より簡易にそしてより多くの線虫をカミキリ成虫に保持させる方法も検討された (Aikawa and Togashi, 1997; Aikawa *et al.*, 1997)。これらの方法は季節に影響されないという利便性から、その後の研究にも多く用いられている。たとえば、蛹室内へ接種する菌の種類 (Maehara and Futai, 1997)、カミキリの種類 (Maehara and Futai, 2001)、そして線虫の病原性 (Aikawa *et al.*, 2003) の違いがカミキリ成虫への線虫の乗り移りに及ぼす影響などがこれらの方法を用いて明らかにされている。さらに、線虫と最も近縁な種であるニセマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus mucronatus*) との乗り移り能力の比較も可能になるなど (Jikumaru and Togashi, 2003, 2004)、人工蛹室の恩恵を大きく受けている。また最近では、大麦とマツのチップを混合した簡易な培地を用いてカミキリ成虫に多数の線虫を保持させる方法や (Togashi, 2004)、マツ材片を一切使わず寒天培地上で線虫を保持させる方法など (Ogura and Nakashima, 2002)、より簡略化、省力化された方法も開発されている。

これまで述べてきたように、線虫の伝播機構に関する新たな知見がこの10年間で数多く得られたものの、未解明な部分も依然として多い。たとえば、分散型第3期幼虫から分散型第4期幼虫への脱皮には、*Monochamus* 属カミキリの羽化に関与する物質が大きく関わっていることが示されたが、まだ物質の特定には至っていない。分散型第4期幼虫はカミキリ成虫によって運ばれる唯一のステージである。よって、もしこのステージへの脱皮を阻止する、あるいは抑制する方法を見出すことができれば、新たな防除技術の開発に繋がる。そのための第一歩として、この物質の特定が望まれる。また、従来知られていた二つの伝播経路に加えて、新たな経路が二つ明らかになった。本病の拡大、線虫の個体群維持および線虫の病原性の進化における、これらの伝播経路の役割の解明なども興味深い研究テーマである。これらの伝播に関する知見は、本病におけ

る感染鎖の解明ということだけでなく、世界的な樹木病害に関する疫学的研究としても大きな意味を持つ。おそらく、線虫とカミキリとの間には、まだ我々の知りえない緻密な関係が隠されていることだろう。両者の関係を容易に調べられるようになった今、引き続きこの分野の研究が進展し、防除技術の開発ならびに学問の発展に寄与する有益な情報が得られることを期待する。

引用文献

- Aikawa, T. and Togashi, K. (1997) An effect of inoculum quantity of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) on the nematode load of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in laboratory. Jpn. J. Nematol. 27: 14-21.
- Aikawa, T. and Togashi, K. (1998) An effect of pine volatiles on departure of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) from *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Appl. Entomol. Zool. 33: 231-237.
- Aikawa, T. and Togashi, K. (2000) Movement of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) in tracheal system of adult *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Nematology 2: 495-500.
- Aikawa, T., Togashi, K., and Kosaka, H. (2003) Different developmental responses of virulent and avirulent isolates of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae), to the insect vector, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Environ. Entomol. 32: 96-102.
- Aikawa, T., Maehara, N., Futai, K., and Togashi, K. (1997) A simple method for loading adult *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) with *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae). Appl. Entomol. Zool. 32: 341-346.
- Akbulut, S. and Linit, M.J. (1999) Flight performance of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae) with respect to nematode phoresis and beetle characteristics. Environ. Entomol. 28: 1014-1020.
- Arakawa, Y. and Togashi, K. (2002) Newly discovered transmission pathway of *Bursaphelenchus xylophilus* from males of the beetle *Monochamus alternatus* to *Pinus densiflora* trees via oviposition wounds. J. Nematol. 34: 396-404.
- Arakawa, Y. and Togashi, K. (2004) Presence of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in the spermatheca of female *Monochamus alternatus*. Nematology 6: 157-159.
- Edwards, O.R. and Linit, M.J. (1992) Transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* through oviposition wounds of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). J. Nematol. 24: 133-139.
- 遠田暢男 (1980) マツノマダラカミキリのような化から羽化脱出までの期間. 日林関東支論 32: 91-92.
- 遠田暢男・池田俊弥 (1983) マツノザイセンチュウの離脱に関与するアカマツの揮発成分. 94 回日林論: 479-480.
- 遠田暢男・横原 寛 (1982) マツノマダラカミキリの触角から保持線虫数を推定する方法. 日林関東支論 34: 145-146.
- Fukushige, H. (1991) Propagation of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) on fungi growing in pine-shoot segments. Appl. Entomol. Zool. 26: 371-376.
- Fukushige, H. and Futai, K. (1987) Seasonal changes in *Bursaphelenchus xylophilus* populations and occurrence of fungi in *Pinus thunbergii* trees inoculated with the nematode. Jpn. J. Nematol. 17: 8-16.
- Humphry, S.J. and Linit, M.J. (1989) Effect of pinewood nematode density on tethered flight of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). Environ. Entomol. 18: 670-673.
- 井戸規雄・武田丈夫 (1972) マツノマダラカミキリの生態・形態に

- 関する2・3の知見. 日林関西支講 23 : 180-182.
- Ishikawa, M., Shuto, Y., and Watanabe, H. (1986) β -myrcene, a potent attractant component of pine wood for the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Agric. Biol. Chem. 50 : 1863-1866.
- Jikumaru, S. and Togashi, K. (2000) Temperature effects on the transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) by *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). J. Nematol. 32 : 110-116.
- Jikumaru, S. and Togashi, K. (2003) Boarding abilities of *Bursaphelenchus mucronatus* and *B. xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) on *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Nematology 5 : 843-849.
- Jikumaru, S. and Togashi, K. (2004) Inhibitory effect of *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) on *B. xylophilus* boarding adult *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). J. Nematol. 36 : 95-99.
- 岸 洋一 (1976) 割材復元法によるマツノマダラカミキリの発生予察調査. 森林防疫 25 : 96-98.
- 岸 洋一 (1978) マツノザイセンチュウのマツノマダラカミキリからマツ樹体への侵入経過. 日林誌 60 : 179-182.
- 岸 洋一 (1988) マツ材線虫病—松くい虫—精説. 292 pp, トーマス・カンパニー, 東京.
- Kishi, Y. (1995) The pine wood nematode and the Japanese pine sawyer. 302 pp, Thomas, Tokyo.
- 清原友也 (1989) マツ材線虫病の病原学的研究. 林試研報 353 : 127-176.
- Kiyohara, T. and Bolla, R.I. (1990) Pathogenic variability among populations of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Forest Sci. 36 : 1061-1076.
- 清原友也・鈴木和夫 (1975) クロマツ樹体内におけるマツノザイセンチュウの季節的消長. 日林講 86 : 296-298.
- 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 : 210-218.
- Kobayashi, F., Yamane, A., and Ikeda, T. (1984) The Japanese pine sawyer beetle as the vector of pine wilt disease. Ann. Rev. Entomol. 29 : 115-135.
- 小林一三・細田隆治 (1978) マツノマダラカミキリを生かしたまま保持線虫数を推定する方法. 89 回日林論 : 301-302.
- Kondo, E. (1986) SEM observations on the intratracheal existence and cuticle surface of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, associated with the Cerambycid beetle, *Monochamus carolinensis*. Appl. Entomol. Zool. 21 : 340-346.
- Kondo, E. and Ishibashi, N. (1978) Ultrastructural differences between the propagative and dispersal forms in pine wood nematode, *Bursaphelenchus lignicolus*, with reference to the survival. Appl. Entomol. Zool. 13 : 1-11.
- Linit, M.J. (1988) Nematode-vector relationships in the pine wilt disease system. J. Nematol. 20 : 227-235.
- Linit, M.J. (1989) Temporal pattern of pinewood nematode exit from the insect vector *Monochamus carolinensis*. J. Nematol. 21 : 105-107.
- Linit, M.J. (1990) Transmission of pinewood nematode through feeding wounds of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). J. Nematol. 22 : 231-236.
- Linit, M.J., Kondo, E., and Smith, M.T. (1983) Insects associated with the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae), in Missouri. Environ. Entomol. 12 : 467-470.
- Maehara, N. and Futai, K. (1996) Factors affecting both the numbers of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae), carried by the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae), and the nematode's life history. Appl. Entomol. Zool. 31 : 443-452.
- Maehara, N. and Futai, K. (1997) Effect of fungal interactions on the numbers of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae), carried by the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Fundam. Appl. Nematol. 20 : 611-617.
- Maehara, N. and Futai, K. (2000) Population changes of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae), on fungi growing in pine-branch segments. Appl. Entomol. Zool. 35 : 413-417.
- Maehara, N. and Futai, K. (2001) Presence of the cerambycid beetles *Psacothoe hilaris* and *Monochamus alternatus* affecting the life cycle strategy of *Bursaphelenchus xylophilus*. Nematology 3 : 455-461.
- 真宮靖治 (1975) マツノザイセンチュウの発育と生活史. 日線虫研誌 5 : 16-25.
- Mamiya, Y. (1983) Pathology of the pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. Ann. Rev. Phytopathol. 21 : 201-220.
- Mamiya, Y. (1984) The pine wood nematode. In Plant and insect nematodes. Nickle, W.R. (ed.), Marcel Dekker, New York, 589-626.
- Mamiya, Y. (2003) Anatomical observations on the exiting behavior of the dispersal fourth stage juveniles of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, from tracheae of the adult pine sawyer, *Monochamus alternatus*. Jpn. J. Nematol. 33 : 41-43.
- Mamiya, Y. and Enda, N. (1972) Transmission of *Bursaphelenchus lignicolus* (Nematoda: Aphelenchoididae) by *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Nematologica 18 : 159-162.
- 宮崎 信・尾田勝夫・山口 彰 (1977a) マツノザイセンチュウの不飽和脂肪酸に対する行動. 木材学会誌 23 : 255-261.
- 宮崎 信・尾田勝夫・山口 彰 (1977b) マツノマダラカミキリ蛹壁における脂肪酸の蓄積. 木材学会誌 23 : 307-311.
- 宮崎 信・山口 彰・尾田勝夫 (1978a) マツノザイセンチュウの炭酸ガスに対する行動. 日林誌 60 : 203-208.
- 宮崎 信・山口 彰・尾田勝夫 (1978b) マツノマダラカミキリ蛹の呼吸気に含まれる炭酸ガスとマツノザイセンチュウの行動. 日林誌 60 : 249-254.
- 森本 桂・岩崎 厚 (1972) マツノザイセンチュウ伝播者としてのマツノマダラカミキリの役割. 日林誌 54 : 177-183.
- 森本 桂・岩崎 厚 (1973) マツノマダラカミキリに関する研究 (IV)—蛹室をめぐるカミキリと材線虫の生態—. 日林九支研論 26 : 199-200.
- Mota, M.M., Braasch, H., Bravo, M.A., Penas, A.C., Burgermeister, W., Metge, K., and Sousa, E. (1999) First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. Nematology 1 : 727-734.
- Necibi, S. and Linit, M.J. (1998) Effect of *Monochamus carolinensis* on *Bursaphelenchus xylophilus* dispersal stage formation. J. Nematol. 30 : 246-254.
- Ogura, N. and Nakashima, T. (2002) *In vitro* occurrence of dispersal fourth stage juveniles in *Bursaphelenchus xylophilus* co-incubated with *Monochamus alternatus*. Jpn. J. Nematol. 32 : 53-59.
- Shibata, E. (1985) Seasonal fluctuation of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer) Nickle (Nematoda: Aphelenchoididae), transmitted to pine by the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae). Appl. Entomol. Zool. 20 : 241-245.
- Stamps, W.T. and Linit, M.J. (1998a) Neutral storage lipid and exit behavior of *Bursaphelenchus xylophilus* fourth-stage dispersal juveniles from their beetle vectors. J. Nematol. 30 : 255-261.
- Stamps, W.T. and Linit, M.J. (1998b) Chemotactic response of propagative and dispersal forms of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* to beetle and pine derived compounds. Fundam. Appl. Nematol. 21 : 243-250.

- Stamps, W.T. and Linit, M.J. (1999) The interaction of intrinsic and extrinsic factors in *Bursaphelenchus xylophilus* exit behavior from its beetle vector. In Proceeding of sustainability of pine forests in relation to pine wilt and decline. Futai, K., Togashi, K., and Ikeda, T. (eds.), Shokado, Tokyo, 155-161.
- 滝沢幸雄 (1979) 東北地方におけるマツノマダラカミキリの生態 (VII) —盛岡の自然温度下での蛹の期間と成虫の羽化脱出するまでの日数—. 日林東北支誌 31 : 156-157.
- Tares, S., Abad, P., Bruguier, N., and De Guiran, G. (1992) Identification and evidence for relationships among geographical isolates of *Bursaphelenchus* spp. (pinewood nematode) using homologous DNA probes. Heredity 68 : 157-164.
- 寺下隆喜代 (1975) まつくいむし被害材の含水率, その材中のマツノザイセンチュウ数, およびその材から羽化したマツノマダラカミキリの保持線虫数の関係. 日林関西支誌 26 : 279-281.
- Togashi, K. (1985) Transmission curves of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) from its vector, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae), to pine trees with reference to population performance. Appl. Entomol. Zool. 20 : 246-251.
- Togashi, K. (1989) Factors affecting the number of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) carried by newly emerged adults of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Appl. Entomol. Zool. 24 : 379-386.
- Togashi, K. (1991) Spatial pattern of pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) within a *Pinus thunbergii* stand. Res. Popul. Ecol. 33 : 245-256.
- Togashi, K. (2004) A new method for loading *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) on adult *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). J. Econ. Entomol. 97 : 941-945.
- Togashi, K. and Arakawa, Y. (2003) Horizontal transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* between sexes of *Monochamus alternatus*. J. Nematol. 35 : 7-16.
- Togashi, K. and Sekizuka, H. (1982) Influence of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus lignicolus* (Nematoda: Aphelenchoididae), on longevity of its vector, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Appl. Entomol. Zool. 17 : 160-165.
- Wingfield, M.J. (1983) Transmission of pine wood nematode to cut timber and girdled trees. Plant Dis. 67 : 35-37.
- Wingfield, M.J. and Blanchette, R.A. (1983) The pine-wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Minnesota and Wisconsin: insect associates and transmission studies. Can. J. For. Res. 13 : 1068-1076.
- Zhang, X., Stamps, W.T., and Linit, M.J. (1995) A nondestructive method of determining *Bursaphelenchus xylophilus* infestation of *Monochamus* spp. vectors. J. Nematol. 27 : 36-41.