マツ材線虫病にみる病原体と伝播昆虫, それらを取り巻く菌類の関係

前 原 紀 敏^{*1}

マツ材線虫病の病原体であるマツノザイセンチュウは, マツノマダラカミキリ成虫によってマツ類枯死木から健全木へと伝播される。このマツノザイセンチュウとマツノマダラカミキリの関係には, 菌類が深く関わっている。すなわち, 材内菌類が枯死木におけるマツノザイセンチュウの密度に影響を及ぼす結果, マツノマダラカミキリがその枯死木から持ち出すマツノザイセンチュウの数が, これらの菌類に大きく左右される。また, 昆虫病原菌がマツノマダラカミキリに感染すると, カミキリムシ虫体から健全木へのマツノザイセンチュウの伝播が影響を受ける。そして, これらのことが最終的に, マツ材線虫病という流行病の動向を左右しうることになる。そのため, 環境への影響が少ない防除法として, 菌類をうまく制御し利用する防除法が, マツノザイセンチュウおよびマツノマダラカミキリに対して開発されつつある。

キーワード: 生物間相互作用, 微生物的防除, マツノザイセンチュウ, マツノマダラカミキリ

Noritoshi Maehara^{*1} (2012) Interactions of the Pathogen, its Insect Vector, and Fungi in Pine Wilt Disease. J Jpn For Soc 94: 283-291 The pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, is the causal agent of pine wilt disease, and is vectored from wilt-killed to healthy pine trees by adults of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*. This relationship between *B. xylophilus* and *M. alternatus* is greatly affected by fungi. Wood-inhabiting fungi affect the reproduction of *B. xylophilus* in wilt-killed trees, and then the number of *B. xylophilus* carried by a *Monochamus* beetle from wilt-killed to healthy trees. Entomopathogenic fungi prevent *M. alternatus* from transmitting *B. xylophilus* to healthy trees. Therefore, these fungi can determine the dynamics of the disease. If these fungi are effectively used and applied, we could control the disease successfully. Microbial controls of *B. xylophilus* and *M. alternatus* by fungi are being developed.

Key words: *Bursaphelenchus xylophilus*, interaction, microbial control, *Monochamus alternatus*

I. は じ め に

マツ材線虫病を引き起こす病原体は, マツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) である (清原・徳重 1971)。マツノザイセンチュウは, マツノマダラカミキリ (*Monochamus alternatus*) 成虫によってマツ類枯死木から健全木へと伝播され (Mamiya and Enda 1972; 森本・岩崎 1972), その木を枯死させる。マツノマダラカミキリはその枯死木に産卵し, マツノザイセンチュウは翌年その枯死木から羽化脱出する次世代のカミキリムシ成虫によって健全木へと伝播される。このように, 本病の広がりを考える上で, マツノザイセンチュウとマツノマダラカミキリの関係が重要である。この関係については, これまでの総説 (前原 2002; 相川 2006) にまとめられているが, 材内菌類や昆虫病原菌 (昆虫に病気を起こす菌類) がこの関係を成り立たせる上で様々な役割を果たしていることがわかってきた (図-1) (Maehara 2008b)。例えば, マツノマダラカミキリに乗り移るマツノザイセンチュウは, 枯死木材内で菌類を摂食したものである (Maehara and Futai 1996, 1997)。また, 昆虫病原菌がマツノマダラカミキリに感染すると, カミキリムシ虫体から健全木へのマツノザイセンチュウの伝播が影響を受ける (Maehara *et al.* 2007)。このように菌類は, マツノザイセンチュウやマツノマダラカミ

キリと切っても切れない関係にあるが, 菌類が果たしている役割についてはこれまで総括的な議論が十分になされているとはいいがたい。そこで, 本稿の II. と III. では, 材内菌類や昆虫病原菌が果たしている役割を中心に据えて, マツノザイセンチュウとマツノマダラカミキリの関係を捉え直してみたい。

また, マツ材線虫病における材内菌類や昆虫病原菌の役割に関する研究, すなわち菌類が関わる生物間相互作用の研究は, 新たな防除技術の開発につながる。本病に関する現行の防除法は, 健全木への「予防」と枯死木への「駆除」に分けて考えることができ, いずれも病原体「マツノザイセンチュウ」と媒介者「マツノマダラカミキリ」が対象となる。本病を予防するために通常行われている方法には, あらかじめ健全木の樹冠部に薬剤を散布しておくことで枝を後食するために飛来した媒介者の成虫を殺す方法と, 健全木の樹幹内に侵入してきた病原体を殺す薬剤の樹幹注入がある。また, 駆除に関しては, 枯死木を伐倒し, 材内の媒介者の幼虫を燻蒸剤や散布薬剤によって殺す方法がある。駆除に用いる燻蒸剤 (田畑 1997) や散布薬剤 (Ogura 2004) は病原体に対する効果もあることがわかっている。しかし, これらの現行の方法は, 様々な問題を抱えている。例えば, 予防に用いられる樹幹注入は予防効果が高く, 環境への悪影響の心配も少ないが, 薬剤自体が高価な

* 連絡先著者 (Corresponding author) E-mail: maehara@ffpri.affrc.go.jp

¹ 独立行政法人森林総合研究所東北支所 〒020-0123 盛岡市下厨川字鍋屋敷 92-25 (Tohoku Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute, 92-25 Nabeyashiki, Shimo-Kuriyagawa, Morioka 020-0123, Japan)
(2012 年 1 月 23 日受付, 2012 年 11 月 6 日受理)

図-1. マツ材線虫病におけるマツノザイセンチュウ、マツノマダラカミキリ、菌類の関係

ため大面積での実施には不適であるという欠点がある。さらに、薬剤を注入するために空けた穴から腐朽菌が侵入する可能性も指摘されている。予防と駆除に用いられる散布薬剤に関しては、効果が高く、速い反面、生態系内の他の生物への悪影響や環境汚染を引き起こす可能性が懸念されている。駆除で用いられる燻蒸剤は効果と環境への安全性は高いが、被害材をシートで密閉する必要がある手間がかかるだけでなく、急斜面などでは適用できないこともある。このような予防および駆除で行われている現行の方法の問題点に加え、少しでも環境への影響が少ない防除法が求められるという背景の下で、生物的防除法を開発するための研究が行われてきた。マツノマダラカミキリの生物的防除法全般については、昆虫病原菌を用いる方法を含めて Shimazu (2008) にまとめられている。本稿では、マツノザイセンチュウと菌類 (II.) およびマツノマダラカミキリと菌類 (III.) に大別して生物間相互作用の知見を記述し、これらの知見に基づき IV. において、菌類を用いたマツノザイセンチュウおよびマツノマダラカミキリの微生物的防除法 (生物的防除法の中で、特に微生物を利用する方法を指す) の開発に焦点を当てて最新の情報を含めて取りまとめる。なお、残された課題を V. において検討し、菌類に関わる生物間相互作用についての今後の研究の方向性の一つを示したい。

II. マツノザイセンチュウと菌類

1. マツノザイセンチュウの食餌菌

マツノザイセンチュウが属する Aphelenchoidea 上科の線虫は、元来、菌食性線虫であり、菌類を餌として増殖する。マツノザイセンチュウも、灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) を餌として容易に培養できることからわかるように、菌食性の性質を持つ。マツノマダラカミキリ成虫によって後食時にマツ類健全木へと運ばれたマツノザイセンチュウは、後食痕から樹体内に侵入し、そのうちの一部が速やかに分散移動する。その頃、マツノザイセンチュウは、健全なマツ類の樹体内に存在する菌類を餌として利用している可能性があるが (小林ら 1975)、菌類の量はわず

かしかない。さらに、マツノザイセンチュウは、マツ類という高等植物に対して寄生性を持ち、これを加害する。マツノザイセンチュウは、菌類だけではなく、マツ類のカルス (Tamura and Mamiya 1979; Iwahori and Futai 1990) や無菌クロマツ稚苗内 (黒田・真宮 1986) でも増殖でき、さらにマツ類柔細胞に多い不飽和脂肪酸がマツノザイセンチュウの増殖と生存に有利にかかわっていること (Mamiya 1990)、および柔細胞摂食を予測させる組織解剖観察の結果も示されている。そのため、マツノザイセンチュウは、健全木への侵入初期にはマツ類柔細胞を摂食すると考えられている。

外観的な病徴であるマツ類の針葉の変色や萎凋がみられる頃になると、マツノザイセンチュウは壊死の進んだ柔細胞を餌として利用することができなくなる。一方、材内の菌類相は大きく変化し、その量も著しく増加する。すなわち、健全木の中に存在した *Pestalotiopsis* 属菌などに代わり、青変菌 (*Ophiostoma* 属菌など) や材の黒変を引き起こす *Macrophoma* 属菌などが優占するようになる (小林ら 1974, 1975; Fukushima and Futai 1987; Wingfield 1987; Maehara *et al.* 2005)。小林ら (1974, 1975) は、当時彼らが *Ceratocystis* 属菌と同定した青変菌をマツノマダラカミキリの体表や蛹室、カミキリムシが摂食した枝から検出し、枯死木材内のこの青変菌は、蛹室でマツノマダラカミキリ成虫の体表に付着して、カミキリムシが枝を摂食する際に健全木へと運ばれると報告した。この際、青変菌が過度に付着したマツノマダラカミキリは奇形になり、寿命が短くなる (遠田 1975)。また、小林ら (1974, 1975) は、当時 *Verticicladiella* 属菌と同定した青変菌はマツノマダラカミキリには運ばれないことも併せて報告している。現在では、マツ類衰弱木に青変菌を持ち込むのは、主としてマツノキクイムシ (*Tomicus piniperda*) などの樹皮下穿孔性キクイムシであることが知られている (黒田・伊藤 1992; Masuya *et al.* 2009)。マツ類に外観的な病徴が現れる頃、マツノザイセンチュウの数は爆発的に増加するが、それと時期を合わせるように青変菌も樹体内に広がっており、この時期のマツノザイセンチュウの餌として、青変菌が重

要な役割を果たしていると考えられている（黒田・伊藤 1992）。マツ類が完全に枯死した後も、マツノザイセンチュウは青変菌などの菌類を摂食している。ただし、材内には、青変菌のようなマツノザイセンチュウの増殖にとって好適な菌類ばかりではなく、*Trichoderma* 属菌などのマツノザイセンチュウの個体数を減少させる菌類も存在する（小林ら 1974, 1975; Fukushige 1991; Maehara and Futai 2000; Wang *et al.* 2005; Sriwati *et al.* 2007）。*Trichoderma* 属菌がマツノザイセンチュウの個体数を減少させる理由は、マツノザイセンチュウが *Trichoderma* 属菌を餌として利用できない（摂食できない）ためだと思われる。*Trichoderma harzianum* と *T. viride* の培養濾液がジャワネコブセンチュウ (*Meloidogyne javanica*) の孵化率を低下させること (Ansari *et al.* 2002), また *T. virens* の培養濾液がサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) の孵化および第 2 期幼虫の動きを妨げること (Meyer *et al.* 2000) が報告されているので、マツノザイセンチュウに対して *Trichoderma* 属菌が同様の作用を持つのかどうか調べる必要がある。

2. 線虫捕食菌

菌類の中には、線虫を捕らえて摂食する菌類、すなわち線虫捕食菌も存在する。この線虫捕食菌は、線虫への寄生の方法により、外部寄生菌、内部寄生菌、卵やシストの寄生菌の大きく三つに分けられる（田村 1973; 三井 1983, 1992; Dix and Webster 1995）。外部寄生菌とは、菌糸に特殊な器官を作って線虫を捕える菌類、すなわち線虫捕捉菌のことである。捕捉器官には大別して、粘性性捕捉器官と環状捕捉器官の二つがある。菌の種類によっては、両者を合わせ持つものもある。いずれの場合にも、捕らえられた線虫は激しくあばれるが、やがて動かなくなる。その後、その菌類は捕捉器官から線虫体内に菌糸を伸ばし、体内内容を吸収し、最終的には、線虫は外皮だけになる。マツノマダラカミキリの蛹室に存在するマツノザイセンチュウから、線虫捕捉菌として *Arthrobotrys* 属菌および *Dactylaria* 属菌が分離されている（真宮・田村 1976; 田村 1980）。内部寄生菌は、特殊な捕捉器官は作らず、分生子が線虫に付着したり、線虫に摂食されたりすることによって線虫に感染し、線虫体内で増殖する。内部寄生菌としては、*Verticillium* 属菌がアカマツ枯死木材内のマツノザイセンチュウから分離されている（Fukushige 1991）。これらの線虫捕捉菌や内部寄生菌は、II. 1. で紹介した材内菌類のように材から分離・検出することが難しいため、病徴進展の時期とこれら菌類の広がりとの関係はよくわかっていない。また、卵やシストの寄生菌は、マツノザイセンチュウからはみつからない。ここまで述べてきたのは不完全菌類であるが、担子菌の中にも線虫を捕食するものがある。有名な菌としてはヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) があり（Thorn and Barron 1984; Barron and Thorn 1987）、室内実験ではマツノザイセンチュウも捕食し（Mamiya *et al.* 2005）、結果としてヒラタケ上でマツノザイセンチュウの数は減少する（堂園 1974）。マツ類に関連する担子菌とし

て、シハイタケ (*Trichaptum abietinum*) およびヒトクチャケ (*Cryptoporus volvatus*) も室内実験でマツノザイセンチュウに対する弱い捕食能を有し、これらの先駆の木材腐朽菌が枯死木中でマツノザイセンチュウの個体数変動に影響している可能性がある（Mamiya *et al.* 2005）。

3. マツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数に及ぼす菌類の影響

枯死木から脱出時のマツノマダラカミキリ成虫 1 頭当たりのマツノザイセンチュウ保持数は、個体ごとに大きくばらつくことが知られている（岸 1988; Kishi 1995）。そして、マツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数が皆無かあるいは非常に少ない場合には、たとえそのマツノマダラカミキリがマツ類を加害したとしても、その木は枯死しない。理論的には、マツノザイセンチュウ保持数が 1,000 頭未満のマツノマダラカミキリ単独では、マツ類を枯らすことができないと考えられている（Togashi 1985）。すなわち、マツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数が、マツ材線虫病の動向を左右することになる。マツノザイセンチュウ保持数のばらつきの原因としては、樹体内含水率やマツノマダラカミキリの体サイズなどが挙げられている。例えば、含水率が高すぎる、あるいは低すぎる材から脱出したマツノマダラカミキリはマツノザイセンチュウ保持数が少ない（森本・岩崎 1973; 寺下 1975; 小林ら 1976; Togashi 1989; Fukushige 1990）。また、マツノマダラカミキリ（または北米におけるマツノザイセンチュウの媒介者である *M. carolinensis*）の体サイズが大きいほど多くのマツノザイセンチュウを保持している（Linit *et al.* 1983; Humphry and Linit 1989; Aikawa and Togashi 1998）。さらに、マツノザイセンチュウの病原力（マツ類を枯死させる能力）が強いほど、マツノマダラカミキリに多く保持される（Aikawa *et al.* 2003）という報告がある。

また、マツ類枯死木材内で優占する菌の種類も、マツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数に大きく影響する。Maehara *et al.* (2005) は、マツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数に及ぼす青変菌の影響を枯死木で調べ、マツノマダラカミキリの蛹室に青変菌がよく繁殖している場合、蛹室周辺のマツノザイセンチュウの数が多くなり、そこから羽化脱出したマツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数も多くなることを明らかにした。さらに、Maehara and Futai (1996, 1997) は、マツノザイセンチュウのマツノマダラカミキリへの乗り移りを再現できる人工蛹室（マツ材片に蛹室に相当する穴を空け、高圧蒸気滅菌した後に、菌類、マツノザイセンチュウ、マツノマダラカミキリの老熟幼虫または蛹をその穴に接種して共存培養する方法）を考案して、マツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数に及ぼす菌類の影響を調べた（表-1）。その結果、①材内（人工蛹室内）に 1 種類の菌だけが存在する場合：マツノザイセンチュウの餌になる青変菌の 1 種 *Ophiostoma minus* の存在下では、マツノザイセンチュウが非常によく増殖し、マツノマダラカミキ

表-1. 人工蛹室における菌の種類と接種の順序によるマツノザイセンチュウの増殖とマツノマダラカミキリ成虫のマツノザイセンチュウ保持数への影響

菌の種類と接種の順序*	調査虫数	増殖した線虫の数**	マツノマダラカミキリの保持線虫数**
<i>Verticillium</i> sp. のみ	8	0.3±0.5 ^a	0±0 ^a
<i>Ophiostoma minus</i> → <i>Verticillium</i> sp.	5	0.6±0.9 ^a	0±0 ^a
<i>Verticillium</i> sp.→ <i>O. minus</i>	6	0.7±1.0 ^a	0.3±0.8 ^a
<i>O. minus</i> + <i>Verticillium</i> sp.	5	3.6±3.0 ^b	1.2±1.6 ^{ab}
<i>Trichoderma</i> sp. 3 のみ	9	11914.9±3634.6 ^c	34.9±62.9 ^{bc}
<i>O. minus</i> + <i>Trichoderma</i> sp. 3	12	16482.5±8663.6 ^c	85.8±103.1 ^c
<i>Trichoderma</i> sp. 3→ <i>O. minus</i>	9	12172.3±4489.5 ^c	87.9±93.7 ^c
<i>O. minus</i> のみ	10	65579.0±10155.5 ^d	2759.0±1885.7 ^d
<i>O. minus</i> → <i>Trichoderma</i> sp. 3	12	36187.5±17290.3 ^c	2979.2±2395.7 ^d

*+は2種類の菌を同時に接種したことを、→は左の菌を先に接種し、その菌が人工蛹室全体に広がった後に右の菌を接種したことを表す。**値は平均値±標準偏差を表す。異なるアルファベットは5%水準で有意な差があったことを示す (Tukey-Kramer の多重比較検定)。Maehara and Futai (1997) を改変。

りのマツノザイセンチュウ保持数も非常に多くなった。一方、マツノザイセンチュウの餌にならない菌 (*Trichoderma* 属菌の1種) が存在すると、マツノザイセンチュウの増殖が悪く、マツノザイセンチュウ保持数も非常に少なくなり、線虫の内部寄生菌 (*Verticillium* 属菌の1種) の存在下では、マツノザイセンチュウが増殖できず、マツノザイセンチュウ保持数はゼロになった。さらに、②材内に2種類の菌類が存在する場合：*O. minus* と *Verticillium* 属菌の組み合わせでは、接種の順序にかかわらず *Verticillium* 属菌単独接種の場合と同様に、マツノザイセンチュウ保持数はほとんどゼロであった。*O. minus* と *Trichoderma* 属菌の組み合わせについては、マツノザイセンチュウ保持数は、*O. minus* を先に接種した実験区では *O. minus* 単独接種の場合と同様に多くなったが、逆の接種順序と同時接種の実験区では少なくなった。以上のように、マツノザイセンチュウに対する好適性が異なる菌類間でみられる相互作用の結果、枯死木材内で広く優占する菌の種類によって、マツノザイセンチュウの増殖の良し悪しが影響を受け、さらにはマツノマダラカミキリがその枯死木から運び出すマツノザイセンチュウの数が強く影響を受けることが明らかになった。すなわち、材内菌類とマツノザイセンチュウの関係が、マツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数を介して、マツ材線虫病という流行病の動向を左右しうることになる。

マツ類枯死木材内には、マツノマダラカミキリ以外にも様々な種類のカミキリムシ、キクイムシ、ゾウムシなどの穿孔性甲虫が生息している。それにもかかわらず、マツノザイセンチュウは主にマツノマダラカミキリによって伝播される。これは、マツノマダラカミキリ以外の甲虫の蛹室には、ほとんどマツノザイセンチュウが集まらないからである (Maehara and Futai 2002)。マツノマダラカミキリ幼虫の排泄物中に不飽和脂肪酸が含まれるため、マツノマダラカミキリの蛹室にはそれ以外の部分より不飽和脂肪酸の量が多く (宮崎ら 1977b; Maehara and Tokoro 2010)、マ

ツノマダラカミキリの蛹室にマツノザイセンチュウが集まる理由の一つは、マツノマダラカミキリ幼虫の排泄物中に含まれる不飽和脂肪酸にマツノザイセンチュウが誘引されることである (宮崎ら 1977a, b)。しかし、ヒゲナガモモブトカミキリの蛹室周辺には、同程度の不飽和脂肪酸が存在するにもかかわらず、マツノザイセンチュウは集まらない (Maehara and Tokoro 2010)。このため、蛹室への線虫の集中に影響する要因が他にもあることが想定され、さらに調べられた。その結果、マツノマダラカミキリの蛹室は、他の甲虫に比べて樹皮下ではなく材内の深い位置に形成されるため、マツノザイセンチュウが生存しやすい環境であること、および他の甲虫よりも蛹室壁に青変菌がよく繁殖していることが明らかになった。そのため、これらのことが、蛹室周辺のマツノザイセンチュウ数の違いに影響していると考えられた (Maehara and Futai 2002)。

III. マツノマダラカミキリと菌類

1. マツノマダラカミキリの病原菌

一般的に、野外での昆虫病原菌のマツノマダラカミキリへの感染率は高くはない。例えば、富樫 (1989) がアカマツ丸太内のマツノマダラカミキリの死亡要因を調べたところ、卵、蛹、材内成虫の昆虫病原菌による死亡はみられず、幼虫についても死亡個体 369 頭中 3~4 齢幼虫 2 頭から *Beauveria bassiana* が検出されただけだった。興津ら (2005) は、マツ類丸太から羽化脱出したマツノマダラカミキリ成虫を野外虫かごで飼育し、死亡した個体の 1~2% から *B. bassiana* を検出した。中国においては、Wang *et al.* (2004) が、マツノマダラカミキリ幼虫の 1~5% が何らかの病原体に感染しており、*B. bassiana* はその中の 12~19% だったと報告している。片桐・島津 (1980) は、九州から宮城県にかけての各地で採集されたマツノマダラカミキリの死体から、昆虫病原菌として *B. bassiana*, *Verticillium* 属菌, *Paecilomyces* 属菌を分離し、Soper and Olson (1963) は、アメリカ合衆国メイン州で *Monochamus* 属カミキリムシ類に関連する生物相を調べ、昆虫病原菌として *B. bassiana*, *Isaria farinosa* (*Paecilomyces farinosus* の異名), *Verticillium* 属菌, *Aspergillus flavus*, および *Fusarium* 属菌を記録した。昆虫病原菌としては普通種である *Metarhizium anisopliae* は、島津・串田 (1983) がマツノマダラカミキリ幼虫に対して *B. bassiana* と同程度の病原力を持つことを示したが、マツノマダラカミキリからはほとんどみつからない。*B. bassiana* に対するマツノマダラカミキリ成虫の感受性は成虫の齢によって変わり、羽化脱出後 4 日以内の成虫の方が 10 日以上成虫よりも感受性が高く (Shimazu 2004)、脱出後 4 週間経つと再び脱出直後に近い程度にまで感受性が高くなる (前原 未発表)。*B. bassiana* は通常罹病個体の死体から分離されるが、クロマツ林の土壌中および空気中からも検出されている (Shimazu *et al.* 2002b)。また、*B. bassiana* はトウモロコシなどの草本のエンドファイトとして生息して

表-2. アカマツ枯死木に接種した菌類によるマツノマダラカミキリのマツノザイセンチュウ保持数への影響の一例

接種菌 (接種点数/長さ 25 cm の丸太)	調査虫数	マツノマダラカミキリの保持線虫数*
<i>Trichoderma</i> sp. 3 (4 点)	11	333.5 ± 408.0
<i>Verticillium</i> sp. (2 点)	15	442.8 ± 644.1
<i>Trichoderma</i> sp. 2 (2 点)	16	687.2 ± 1232.4
<i>Trichoderma</i> sp. 3 (6 点)	16	700.6 ± 1841.8
<i>Pleurotus ostreatus</i> (2 点)	11	736.4 ± 1489.0
<i>Pycnoporus coccineus</i> (2 点)	20	1085.0 ± 1911.9
<i>Trichoderma</i> sp. 3 (2 点)	12	2723.6 ± 6201.9
対照区 (接種菌なし)	11	3917.1 ± 7695.8

*値は平均値 ± 標準偏差を表す (5%水準で有意差なし)。Maehara *et al.* (2006) を改変。

いることが知られている (例えば, Lewis and Cossentine 1986; Lewis and Bing 1991)。マツ類に限れば, 北米で, *Beauveria* 属菌が *Pinus monticola* の種子のエンドファイトとして検出されている (Ganley and Newcombe 2006)。昆虫病原菌が宿主昆虫と出会うまでに生息環境中で過ごす時間は実は長く, 昆虫病原菌の生活史を解明するためには, 昆虫に感染していない時期の昆虫病原菌の生態についての研究が, さらに必要とされている。

IV. 菌類によるマツ材線虫病の微生物的防除

1. 菌類によるマツノザイセンチュウの防除

マツノザイセンチュウと菌類の関係を利用した微生物的防除法の開発が, いくつか試みられている。Maehara *et al.* (2006) と Maehara (2008a) は, 表-1 で示した人工蛹室の結果を元に, 線虫の餌にならない様々な菌類を秋に種駒 (小さな木片に目的とする菌を繁殖させ, 接種源としたもの) で枯死木に接種して, 線虫の餌となる青変菌の繁殖を抑制することで材内の線虫密度を低下させ, 翌年の夏にマツノマダラカミキリがそこから運び出すマツノザイセンチュウの数を減少させる方法 (駆除) を試みた。この手法は, マツノザイセンチュウを直接殺すのではなく, 餌をなくすことによって増殖を抑えるという発想にもとづいている。その結果, *Trichoderma* 属菌に, マツノマダラカミキリが保持するマツノザイセンチュウの数を減少させる効果がみられた (表-2)。ただし, 表-1 から, *Trichoderma* 属菌には, 菌糸の伸長は速いが青変菌より先に広がらなければ効果がないという欠点があることがわかっており, マツ類の枯死後早い時期に接種するか, あるいは労力の軽減を含めて, 種駒による接種方法よりさらに簡便な接種方法を検討する必要がある。

Saiki *et al.* (1984) は, 線虫捕捉菌である *Arthrobotrys* 属菌の分生子を予防的に散布することで, マツノザイセンチュウによるアカマツおよびクロマツ 2~4 年生実生の枯死を 10~60% 程度抑制した。また, Maehara *et al.* (2006) は, *Arthrobotrys* 属菌および線虫の内部寄生菌である *Verticillium* 属菌を接種して, 材内の線虫密度を低下させる方法 (駆除) を試みた。その結果, *Verticillium* 属菌に, マツノマダラカミキリが保持するマツノザイセンチュウの

図-2. *Beauveria bassiana* によるマツノマダラカミキリ成虫および幼虫の防除

数を減少させる効果がみられ (表-2), *Arthrobotrys* 属菌には, その効果がみられなかった (ここではデータは示さない)。ただし, *Verticillium* 属菌には, 菌糸の伸長速度が遅いという欠点がある。韓国では, Wang *et al.* (2011) が, 線虫の内部寄生菌 *Esteya vermicola* を用いてマツノザイセンチュウを防除する試みを始めている。

2. 菌類によるマツノマダラカミキリの防除

一方, マツノマダラカミキリと菌類の関係にもとづく微生物的防除法の開発も行われてきた (図-2)。各地のマツノマダラカミキリ死体から昆虫病原菌を分離し, 単離された菌類を培養して接種試験を行うことで, マツノマダラカミキリに有効な天敵微生物が探索された。そのうち, 熊本県のマツノマダラカミキリ幼虫の死体から分離された *B. bassiana* の F-263 株が, 病原力が強く, かつ孢子 (分生子) 形成も良好であったため有力な候補株として選抜された (島津・串田 1983)。この菌株は, 成虫よりも幼虫に対して強い病原力を示す。そこで, マツ類枯死木の樹皮下にいるマツノマダラカミキリ幼虫を駆除するために, 樹皮外から *B. bassiana* F-263 の孢子懸濁液を散布したところ, 効果が不十分であった (島津・串田 1980)。これは, 本菌の病原力は強いが, 樹皮下の幼虫に菌が接触しにくいことが原因であった。この問題の解決のためには, ①菌を樹皮下に施用する, あるいは②樹皮外からさらに大量の菌を施用することが考えられた。①として, 枯死木の樹皮下を摂食するキイロコキウムシ (*Cryphalus fulvus*) に菌を運ばせる (例えば, 遠田ら 1989; 牧野ら 2002), また種駒を枯死木に施用する (Shimazu *et al.* 1992) という方法が開発されたが, 前者は効果が安定せず, 後者は有効だが多大な労力を要し実用には不向きだった。そこで②として, 孢子懸濁液の濃度を上げるには限界があるため, 培地を染みこませた不織布に菌を培養して大量に孢子を形成させた上で枯死木に施用したところ, 種駒以上に高い殺虫率を得ることができた (Shimazu *et al.* 1995)。今のところ, この菌をマツノマダラカミキリ幼虫の駆除に利用するには不織布を用いた方法が最良だと考えられているが, 幼虫の材入後は効果が低いため, マツ類の枯死後できるだけ早い時期に施用しなければならない (Shimazu and Sato 2003)。

図-3. *Beauveria bassiana* によるマツノマダラカミキリ成虫の生存率と後食面積への影響

接種区, *B. bassiana* を接種した成虫; 対照区, *B. bassiana* を接種していない成虫。Maehara *et al.* (2007) を改変。

マツノマダラカミキリ成虫に対しては、マツ類枯死木に *B. bassiana* F-263 の孢子懸濁液を散布してそこから羽化脱出する成虫に感染させる（駆除）（島津ら 1982）、また健全木にあらかじめ孢子懸濁液を散布しておくことで摂食のために飛来する成虫を殺す（予防）（島津ら 1983）という方法が試みられた。しかしながら、いずれも殺虫率が不十分上に殺虫にかかる時間も長く、そもそもこの菌の成虫に対する病原力は幼虫に対する病原力ほど強くないこともあって、成虫防除の役には立たないと考えられてきた。ただし、菌を培養した不織布に枯死木から羽化脱出した直後の成虫が触れた場合には、短い潜伏期間で高い死亡率が得られることが近年明らかになった（興津ら 2000, 2005; 岡部ら 2001; Shimazu 2004）。さらに、羽化脱出直後に、菌を培養した不織布上を歩行させることで菌を接種した成虫にアカマツ枝を与えてプラスチックカップで飼育したところ、後食量が減り、死亡前数日は摂食しなくなった（図-3）（Maehara *et al.* 2007）。そのため、菌を接種していない成虫から離脱したマツノザイセンチュウは、成虫の後食痕を通じて健全枝へと侵入するのに対し（図-4(a)）、菌を接種した成虫から離脱したマツノザイセンチュウは、後食痕がないために健全枝への侵入が妨げられることが確認された（図-4(b)）（Maehara *et al.* 2007）。すなわち、この菌は産卵可能時期までに成虫を死亡させることで次世代の発生を抑制する（岡部ら 2002）だけでなく、病原線虫の伝播を防ぐ観点からも有効であることがわかった。そこで、伐倒集積した枯死木の上にこの菌を培養した不織布を設置し、遮光性のビニールシートで被覆することで、その枯死木から羽化脱出してきた成虫が菌に触れるようにする方法（駆除）を開発したところ、多くの実用試験で、脱出後 15 日以内に 90% 以上の高い死亡率が得られた（島津・樋口 2007, 2008）。被覆の目的は光を求めて歩く成虫が不織布に接触しやすくすることなので、燻蒸処理のようにシートを周囲の土に埋めて密閉する必要がなく、作業が簡単であるという利点もある。さらにこの菌は、カイコにも病原性はあるが不織布から数十メートル離せばほぼ感染の危険性はないこと（Shimazu *et al.* 2002b）、細菌、放線菌、真菌に影響しないこと（Shimazu

図-4. *Beauveria bassiana* によるマツノマダラカミキリ成虫が伝播するマツノザイセンチュウの数への影響

(a) *Beauveria bassiana* を接種していない成虫の一例, (b) *B. bassiana* を接種した成虫の一例。Maehara *et al.* (2007) を改変。

et al. 2002a)、自然の淡水系に混入しても増殖することは困難なこと（Wang and Shimazu 2006）など、標的外生物への影響は少ないことが明らかにされた。この菌を接種したマツノマダラカミキリ成虫の死体において、菌糸の叢生不良が時にみられることがあるが、これにはカミキリムシの羽化後の日齢、幼虫時代の餌（材か人工飼料か）、カミキリムシの血体腔内における菌の増殖能などが関わっていた（島津・高務 2006）。この菌を含む *B. bassiana* 59 菌株と *B. brongniartii* 1 菌株（いずれも森林総合研究所保存菌株）の ISSR-PCR (inter-simple-sequence-repeat-anchored polymerase chain reaction) 法による系統解析が行われた（Takatsuka 2007a）。さらに、この菌を防除資材として施用した場合の環境モニタリング手法として、SCAR (sequence-characterized amplified region) マーカーを用いてこの菌の DNA を特異的に検出する PCR 法が開発された（Takatsuka 2007b）。これらの成果をもとに、この菌の不織布製剤は、マツノマダラカミキリの脱出成虫の駆除を対象として 2007 年 2 月に農薬登録され、2008 年 4 月から製造販売されている（島津・樋口 2007, 2008）。今後は、防除の現場への本剤の普及を図るとともに、マツノマダラカミキリの幼虫に登録を拡大し、本剤の利用の場を広げる必要がある。

国外では、中国においても *B. bassiana* によるマツノマダラカミキリの防除法が研究されている（Xu 2008）。また、

1999年にポルトガルでマツノザイセンチュウが発見された (Mota *et al.* 1999) ことを受けて、ヨーロッパでも *B. bassiana* による *M. galloprovincialis* (ヨーロッパにおけるマツノザイセンチュウの媒介者) の防除法が検討されている (Francardi *et al.* 2003)。

V. お わ り に

以上のように、マツ材線虫病の感染環には、材内菌類や昆虫病原菌が大きく関わっている。マツノザイセンチュウと材内菌類の関係が、マツノマダラカミキリがマツ類枯死木から持ち出すマツノザイセンチュウの数に影響し、また、マツノマダラカミキリと昆虫病原菌 *B. bassiana* の関係が、カミキリムシ虫体からマツ類健全木へのマツノザイセンチュウの伝播に影響を及ぼす。つまり、菌類が本病による被害拡大・縮小の鍵を握っているといっても過言ではない。そのため、II. と III. で取りまとめた生物間相互作用の知見にもとづいて、菌類をうまく制御し、利用することができれば、本病の防除に大きく貢献できるのではないかと考えられるが、いくつか課題が残されている。

防除を成功させるためには、枯死木の駆除とともに健全木への予防が欠かせない。しかし、マツノマダラカミキリに対する *B. bassiana* 不織布製剤は駆除の利用に限られ、現在のところ予防的に使える天敵微生物はみつかっていない。また、マツノザイセンチュウに対する *Trichoderma* 属菌と *Verticillium* 属菌に関しても、今考えられているのは駆除の利用方法であり、予防的に分生子を散布する試験が行われた *Arthrobotrys* 属菌や *E. vermicola* も、実用化には至っていない。したがって、病原体および媒介者のそれぞれに対して、予防的に利用できる菌類あるいは他の微生物を探索することが、一つ目の課題である。

また、このような防除資材として用いる菌類 (マツノマダラカミキリ幼虫に対する *B. bassiana* や、マツノザイセンチュウに対する *Trichoderma* 属菌や *Verticillium* 属菌など) は、駆除のために材に施用したときに、材内での移動分散能力が高くないため、効果が安定しないという問題点がある。前述のように、*B. bassiana* については、マツノマダラカミキリの幼虫を駆除するために、枯死木の樹皮下を摂食するキイロコキクイムシに菌を運ばせる方法が試みられたが、その効果は安定しなかった。そのため、材内で菌類を運ぶための適当なキャリアをみつけだすことが、二つ目の課題となっている。

先に、昆虫病原菌の生活史を解明するためには、昆虫に感染していない時期の昆虫病原菌の生態について研究する必要があると述べた。このことは、*B. bassiana* をその特性を理解した上で防除資材として用いるためにも必要であり、これが三つ目の課題である。また、昆虫に感染していない時期の菌の生態について調べる過程で、*B. bassiana* の新たな利用法がみえてくる可能性もある。

そして、四つ目の課題は、マツノマダラカミキリに対する *B. bassiana* などの昆虫病原菌と、マツノザイセンチュウ

に対する *Trichoderma* 属菌や *Verticillium* 属菌などの併用の可能性についてであり、相乗効果が得られる併用方法の開発が望まれている。以上四つの課題を克服できたとき、これらの菌類を駆使する技術が、生物間相互作用の知見にもとづく効果的な微生物的防除手法として利用されることだろう。

本報告をまとめるにあたり、森林総合研究所東北支所の相川拓也博士には貴重なご意見をいただき、同研究所の島津光明博士には文献情報に関するご助言をいただいた。この場を借りて、御礼申し上げる。また、本稿執筆の機会を与えていただいた京都大学の二井一禎教授に感謝申し上げる。なお、本論文の成果の一部は、科学研究費補助金 (15780120), (18780124), (23380092) の助成を受けて行われた。

引用文献

- 相川拓也 (2006) 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
- Aikawa T, 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, Togashi K, 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
- Ansari MA, Rupela OP, Douaik A, Gopalakrishnan S, Sharma SB (2002) Effect of culture filtrates of *Pseudomonas striata*, *Trichoderma harzianum*, *T. viride* and *Aspergillus awamori* on egg hatch of *Meloidogyne javanica*. Internat J Nematol 12: 131-136
- Barron GL, Thorn RG (1987) Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. Can J Bot 65: 774-778
- Dix NJ, Webster J (1995) Fungal Ecology. Chapman & Hall
- 堂園安生 (1974) 各種糸状菌類におけるマツノザイセンチュウの増殖. 日林九支研論 27: 161
- 遠田暢男 (1975) マツノマダラカミキリ体表面の糸状菌と線虫保持数および死亡率. 日林講 86: 325-326
- 遠田暢男・五十嵐正俊・福山研二・野淵 輝 (1989) キイロコキクイムシを伝播者としたポーベリア菌によるマツノマダラカミキリの防除 (予報). 日林論 100: 579-580
- Francardi V, Rumine P, de Silva J (2003) On microbial control of *Monochamus galloprovincialis* (Olivier) (Coleoptera Cerambycidae) by means of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Deuteromycotina Hyphomycetes). Redia 86: 129-132
- Fukushige H (1990) The number of *Bursaphelenchus xylophilus* carried by *Monochamus alternatus* and some possible factors regulating the number. Jpn J Nematol 20: 18-24
- Fukushige H (1991) Propagation of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) on fungi growing in pine-shoot segments. Appl Entomol Zool 26: 371-376
- Fukushige H, 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
- Ganley RJ, Newcombe G (2006) Fungal endophytes in seeds and needles of *Pinus monticola*. Mycol Res 110: 318-327
- Humphry S, Linit MJ (1989) Effect of pinewood nematode density on tethered flight of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). Environ Entomol 18: 670-673
- Iwahori H, Futai K (1990) Propagation and effects of the pinewood nematode on calli of various plants. Jpn J Nematol 20: 25-36
- 片桐一正・島津光明 (1980) マツノマダラカミキリの天敵微生物. 森林防疫 29: 28-33
- 岸 洋一 (1988) マツ材線虫病—松くい虫—精説. トーマス・カンパニー

- Kishi Y (1995) The pine wood nematode and the Japanese pine sawyer. Thomas
- 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
- 小林一三・奥田素男・細田隆治 (1976) マツ枯損木の乾燥程度, 太さとマツノマダラカミキリの脱出, 線虫保持数. 日林誌 87: 239-240
- 小林享夫・佐々木克彦・真宮靖治 (1974) マツノザイセンチュウの生活環に関連する糸状菌 (I). 日林誌 56: 136-145
- 小林享夫・佐々木克彦・真宮靖治 (1975) マツノザイセンチュウの生活環に関連する糸状菌 (II). 日林誌 57: 184-193
- 黒田慶子・伊藤進一郎 (1992) クロマツに侵入後のマツノザイセンチュウの動きとその他の微生物相の変遷. 日林誌 74: 383-389
- 黒田慶子・真宮靖治 (1986) マツノザイセンチュウの無菌クロマツ稚苗内における行動. 日林誌 97: 471-472
- Lewis LC, Bing, LA (1991) *Bacillus thuringiensis* Berliner and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin for European corn borer control: Program for immediate and season-long suppression. Can Entomol 123: 387-393
- Lewis LC, Cossentine JE (1986) Season long intraplant epizootics of entomopathogens, *Beauveria bassiana* and *Nosema pyrausta*, in a corn agroecosystem. Entomophaga 31: 363-369
- Lint MJ, Kondo E, Smith MT (1983) Insects associated with the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae), in Missouri. Environ Entomol 12: 467-470
- 前原紀敏 (2002) マツノザイセンチュウのマツノマダラカミキリへの乗り移り. 森林防疫 51: 169-176
- Maehara N (2008a) Reduction of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) population by inoculating *Trichoderma* spp. into pine wilt-killed trees. Biol Control 44: 61-66
- Maehara N (2008b) Interactions of pine wood nematodes, wood-inhabiting fungi, and vector beetles. In: Pine wilt disease. Zhao BG, Futai K, Sutherland JR, Takeuchi Y (eds) Springer, 286-298
- Maehara N, 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, 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, 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, Futai K (2002) Factors affecting the number of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) carried by several species of beetles. Nematology 4: 653-658
- Maehara N, Tokoro M (2010) Effect of unsaturated fatty acids around pupal chambers of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) and *Acanthocinus orientalis* (Coleoptera: Cerambycidae) on the number of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) carried by the beetles. Nematology 12: 721-729
- Maehara N, Hata K, Futai K (2005) Effect of blue-stain fungi on the number of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) carried by *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Nematology 7: 161-167
- Maehara N, He X, Shimazu M (2007) Maturation feeding and transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) by *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) inoculated with *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). J Econ Entomol 100: 49-53
- Maehara N, Tsuda K, Yamasaki M, Shirakikawa S, Futai K (2006) Effect of fungus inoculation on the number of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) carried by *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Nematology 8: 59-67
- 牧野俊一・後藤秀章・北島 博・長谷川元洋・横原 寛・後藤忠男 (2002) 千葉県における天敵微生物を利用したマツクイムシ防除試験 (V). 日林関東支論 54: 209-210
- Mamiya Y (1990) Effects of fatty acids added to media on the population growth of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae). Appl Entomol Zool 25: 299-309
- Mamiya Y, Enda N (1972) Transmission of *Bursaphelenchus lignicolus* (Nematoda: Aphelenchoididae) by *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Nematologica 18: 159-162
- 真宮靖治・田村弘忠 (1976) マツノマダラカミキリの蛹室周辺材から検出された線虫捕食菌の一種. 森林防疫 25: 147-149
- Mamiya Y, Hiratsuka M, Murata M (2005) Ability of wood-decay fungi to prey on the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhner) Nickle. Jpn J Nematol 35: 21-30
- Masuya H, Yamaura Y, Yamaoka Y, Kaneko S (2009) Ophiostomatoid fungi isolated from Japanese red pine and their relationships with bark beetles. Mycoscience 50: 212-223
- Meyer, SLF, Massoud SI, Chitwood DJ, Roberts, DP (2000) Evaluation of *Trichoderma virens* and *Burkholderia cepacia* for antagonistic activity against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Nematology 2: 871-879
- 三井 康 (1983) わが国における線虫捕食菌の種類と分布および生理・生態に関する研究. 農技研報 C37: 127-211
- 三井 康 (1992) 線虫寄生菌の生態とその利用. (線虫研究の歩み, 中園和年編, 日本線虫研究会). 262-266
- 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室における脂肪酸の蓄積. 木材学会誌 23: 307-311
- 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 MM, Braasch H, Bravo MA, Penas AC, Burgermeister W, Metge K, Sousa E (1999) First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. Nematology 1: 727-734
- Ogura N (2004) Inhibitory effect of several insecticides on *in vitro* propagation of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Jpn J Nematol 34: 99-102
- 岡部武治・中嶋清明・高井一也・鈴木敏雄・樋口俊男 (2001) *Beauveria bassiana* を培養したシート型不織布製剤によるマツノマダラカミキリ成虫駆除. 日林九支研論 54: 115-116
- 岡部武治・高井一也・鈴木敏雄・樋口俊男 (2002) *Beauveria bassiana* を培養したシート型不織布製剤によるマツノマダラカミキリ成虫駆除 (II) —雌成虫の産卵に及ぼす影響—. 九州森林研究 55: 73-74
- 興津真行・岸 洋一・高木よし子 (2000) *Beauveria bassiana* を培養したシート型不織布帯の施用によるマツノマダラカミキリ成虫の制御. 日林誌 82: 276-280
- 興津真行・谷脇 徹・大田郁夫・岸 洋一 (2005) ボーベリア菌培養不織布帯を施用したマツ丸太から羽化脱出したマツノマダラカミキリ成虫の野外条件下における高い死亡率. 応動昆 49: 223-230
- Saiki H, Saito T, Yoneda K, Kaijo M, Uchida K, Yamanaka K (1984) Biological control of the pine-wood nematode by spraying a nematode-trapping fungus. J Jpn For Soc 66: 30-32
- Shimazu M (2004) A novel technique to inoculate conidia of entomopathogenic fungi and its application for investigation of susceptibility of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*, to *Beauveria bassiana*. Appl Entomol Zool 39: 485-490
- Shimazu M (2008) Biological control of the Japanese pine sawyer beetle, *Monochamus alternatus*. In: Pine wilt disease. Zhao BG, Futai K, Sutherland JR, Takeuchi Y (eds) Springer, 351-370
- 島津光明・樋口俊男 (2007) マツノマダラカミキリ成虫駆除のための微生物農薬「バイオリサ・マダラ」. 森林防疫 56: 233-239
- 島津光明・樋口俊男 (2008) カビを利用した松くい虫防除剤について. 山林 1484: 55-61
- 島津光明・串田 保 (1980) 天敵微生物によるマツノマダラカミキリ防除試験—被害材の処理—. 日林関東支論 32: 93-94

- 島津光明・串田 保 (1983) 昆虫病原糸状菌各株のマツノマダラカミキリに対する病原性. 日林関東支論 35: 165-166
- 島津光明・高務 淳 (2006) 昆虫病原性糸状菌 *Beauveria bassiana* に感染したマツノマダラカミキリ成虫の死体上における菌糸の叢生不良の原因について. 森林総研研報 5: 235-242
- 島津光明・串田 保・片桐一正 (1982) 天敵微生物によるマツノマダラカミキリ防除試験—脱出直前の被害材の処理—. 日林論 93: 399-400
- 島津光明・串田 保・片桐一正 (1983) 天敵微生物によるマツノマダラカミキリ防除試験—成虫後食期の散布—. 日林論 94: 485-486
- Shimazu M, Kushida T, Tsuchiya D, Mitsuhashi W (1992) Microbial control of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae) by implanting wheat bran pellets with *Beauveria bassiana* in infested tree trunks. J Jpn For Soc 74: 325-330
- Shimazu M, Maehara N, Sato H (2002a) Density dynamics of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) introduced into forest soil, and its influence on other soil microorganisms. Appl Entomol Zool 37: 263-269
- Shimazu M, Sato H (2003) Effects of larval age on mortality of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae) after application of nonwoven fabric strips with *Beauveria bassiana*. Appl Entomol Zool 38: 1-5
- Shimazu M, Sato H, Maehara N (2002b) Density of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in forest air and soil. Appl Entomol Zool 37: 19-26
- Shimazu M, Tsuchiya D, Sato H, Kushida T (1995) Microbial control of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae) by application of nonwoven fabric strips with *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on infested tree trunks. Appl Entomol Zool 30: 207-213
- Soper RS, Olson RE (1963) Survey of biota associated with *Monochamus* (Coleoptera: Cerambycidae) in Maine. Can Entomol 95: 83-95
- Sriwati R, Takemoto S, Futai K (2007) Cohabitation of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, and fungal species in pine trees inoculated with *B. xylophilus*. Nematology 9: 77-86
- 田畑勝洋 (1997) 防除対策. 駆除. (松くい虫 (マツ材線虫病)—沿革と最近の研究—. 田村弘忠編, 全国森林病虫獣害防除協会). 125-133
- Takatsuka J (2007a) Characterization of *Beauveria bassiana* isolates from Japan using inter-simple-sequence-repeat-anchored polymerase chain reaction (ISSR-PCR) amplification. Appl Entomol Zool 42: 563-571
- Takatsuka J (2007b) Specific PCR assays for the detection of DNA from *Beauveria bassiana* F-263, a highly virulent strain affecting the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae), by a sequence-characterized amplified region (SCAR) marker. Appl Entomol Zool 42: 619-628
- 田村弘忠 (1973) 線虫捕食菌研究の現状. 日線虫研誌 3: 9-18
- 田村弘忠 (1980) 材線虫捕捉菌その後の検出. 森林防疫 29: 39-42
- Tamura H, Mamiya Y (1979) Reproduction of *Bursaphelenchus lignicolus* on pine callus tissues. Nematologica 25: 149-151
- 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. 日林関西支講 26: 279-281
- Thorn RG, Barron GL (1984) Carnivorous mushrooms. Science 224: 76-78
- 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
- 富樫一巳 (1989) マツノマダラカミキリの個体群動態とマツ材線虫病の伝播に関する研究. 石川林試研報 20: 1-142
- Wang B, Shimazu M (2006) Density dynamics of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* introduced into fresh water. Bull FFPRI 5: 227-233
- Wang CY, Fang ZM, Wang Z, Zhang DL, Gu LJ, Lee MR, Liu L, Sung CK (2011) Biological control of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by application of the endoparasitic fungus *Esteya vermicola*. BioControl 56: 91-100
- Wang L, Xu F, Jiang L, Zhang P, Yang Z (2004) Pathogens of the pine sawyer, *Monochamus alternatus*, in China. In: The pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Nematology monographs and perspectives, vol 1. Mota M, Vieira P (eds) Brill, 283-289
- Wang Y, Yamada T, Sakaue D, Suzuki K (2005) Influence of fungi on multiplication and distribution of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in axenized *Pinus thunbergii* cutting. Nematology 7: 809-817
- Wingfield MJ (1987) Fungi associated with the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, and cerambycid beetles in Wisconsin. Mycologia 79: 325-328
- Xu F (2008) Recent advances in the integrated management of the pine wood nematode in China. In: Pine wilt disease. Zhao BG, Futai K, Sutherland JR, Takeuchi Y (eds) Springer, 323-333