

養菌性キクイムシの生育期間推定のための簡便法^{*1}

水野 孝彦^{*2} ・ 梶村 恒^{*3}

1. はじめに

キクイムシ類(キクイムシ科およびナガキクイムシ科)の中で養菌性キクイムシ(ambrosia beetle)と呼ばれる一群は、穿孔した材そのものを食物としない。彼らは坑道の壁面にアンブロシア菌と呼ばれる共生菌の胞子を体内の胞子貯蔵器官(mycangia)から取り出して接種・繁殖させ、これらを摂食して生育している(2, 8)。

近年、胞子貯蔵器官からPDA培地に移植して増殖させた共生菌で養菌性キクイムシの飼育が行われ、その生育期間が明らかになった(3, 4)。また、鋸屑を

固化した人工飼料を利用して養菌性キクイムシの大量増殖が可能となり、供試虫の確保が容易になった(6)。

しかし、PDA培地に移植するための共生菌の採取は、胞子貯蔵器官からの共生菌の分離に特殊なテクニックを必要とするため、容易ではない。さらに、大径木に寄生する養菌性キクイムシの場合、材部の坑道を切開するためにも多大な労力が要求される。

そこで本研究では、人工飼料に形成された坑道から分離・培養した共生菌および採取した卵を用いて養菌性キクイムシを飼育し、態別生育期間の推定を試みた。

なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金(NO.10660144)によるものである。

II. 供試虫

本研究では、ファイルキクイムシ(*Xyleborus pfeili* (RATZBURG))を人工飼料(6)で累代飼育して5世代経過したものを対象とした。なお、本種は静岡県榛原郡御前崎町の貯木場にあるダグラスファー原木(植物検疫終了材)より採取した。

III. 試験①(共生菌および卵の採取時期)

(1) 材料と方法

ファイルキクイムシの交尾済み雌成虫(親虫)を1頭ずつ

25本の人工飼料(図-1)に放飼し、飽和食塩水で湿度を一定に保った24℃恒温器内(全暗黒条件下)に静置した。飼育後4日、7日、14日、21日、28日目に5本ずつ人工飼料を切開し、態別次世代虫数を調査した。また、調査日ごとに坑道内の菌相を調査した。すべての人工飼料から各坑道(図-2参照)1本あたり6カ所ずつ(それぞれの調査日ごとに計30カ所)坑道壁をランダムに白金耳でかき取り、直径90mmのPDA平板培地(以下、PDA培地)に無菌的に接種した。培養は24℃・全暗条件下で行い、生育した菌類はそれぞれ数回再分離を繰り返して純粋分離株とした。なお、PDA培地には細菌による汚染を防ぐために硫酸ストレプトマイシンを添加した。

(2) 結果と考察

坑道形成の推移と次世代虫の発育状態を図-2に示した。次世代虫は4日目に卵が確認された後、14日目に幼虫、21日目に蛹、28日目に新成虫が認められた。なお、幼虫、蛹がみられた期間においても卵が確認された。これは、4日目以降21日目まで継続して産卵が行われていることを示している。また、放飼後4日目に母孔(MA)から最初の分枝母孔(B1)、7日目に2本目の分枝母孔(B2)、21日目に3本目の分枝母孔(B3)、28日目には分枝母孔より新たな坑道(SB)が形成された。

坑道内菌相の推移は図-3に示した。4日目および7日目の坑道壁からのみ、主要アンブロシア菌(primary ambrosia fungi: PAF)が分離され、7日目より4日目のほうが分離率が高かった。PAFは、幼虫や成虫の食物となる高度に種特異的な共生菌と定義され、穿入期から幼虫生育期の坑道内で優占的になるものである(1, 5)。また、14日目以降は副次的アンブロシア菌(auxiliary ambrosia fungi: AAF)(1, 5)と考えられる酵母類と*Penicillium*属などの糸状菌のみ分離され、日数の経過に応じてこの糸状菌の割合が増加した。このような菌相の推移は、14日目以降出現した幼虫(図-2)がPAFを摂食する、あるいは坑道内を這い回ることによりAAFを転移・増殖させた結果、

^{*1} Mizuno, T. and Kajimura, H.: A simple method for determining growth periods of ambrosia beetles.

^{*2} 那覇植物防疫事務所 Naha Plant Protection Station, Naha 900-0001

^{*3} 名古屋大学農学部 Sch. of Agric. Sci. Nagoya Univ., Nagoya 464-8601

PAFの分離が困難になったためであると推察される。

以上の結果より、PAFおよび飼育に用いる卵の最適採取時期は、親虫放飼後4日目であると考えられた。

IV. 試験② (共生菌の生育最適温度)

(1) 材料と方法

人工飼料の坑道内から分離されたPAF(図-3参照)をPDA培地に接種した。接種後30日目に、成長点の部分から滅菌したコルクボーラーで直径5mmの円形に培地ごと菌を切り取り、ピンセットで計120枚のPDA培地へ無菌的に移植した。これらの培地は20枚ずつ12℃, 16℃, 20℃, 24℃, 28℃, 32℃の各温度別に全暗条件下で保管した。菌の成長量は、直径成長(2方向の平均-5mm)で評価した。測定は移植後5日目に行った。

(2) 結果と考察

表-1のとおり、PAFは12℃~32℃すべての温度で成長し、28℃で最も菌糸がよく伸びた。この結果より、本菌の生育最適温度は28℃前後であると考えられた。

V. 試験③ (PDA培地上の共生菌による飼育)

(1) 材料と方法

上述(試験②)の方法でPAFをPDA培地上に無菌的に接種した。その後、接種した菌が培地全面に繁殖するまで、28℃・全暗条件下(表-1参照)で30日間培養した。この菌叢上にファイルキクイムシの卵を10個ずつ無菌的に投入し、同条件下で飼育した。使用した卵は、前述(試験①)の方法で人工飼料内に産下させたもので、交尾雌成虫より30個(多くは雌卵)、未交尾雌成虫より10個(すべて雄卵)(7)を採取した。観察は毎日行い、各個体の発育過程

を追跡した。

(2) 結果と考察

表-2に28℃・全暗条件下でのファイルキクイムシの態別生育期間を示した。人工飼料の坑道壁からPDA培地上に移植・増殖したPAFで卵から成虫まで飼育が可能であった。そして、雌の卵期間、幼虫期間、蛹期間はそれぞれ4.0日、17.4日、4.9日となり、雄の各生育期間もほぼ同様であった。

VI. まとめ

人工飼料に形成された坑道から分離・培養した共生菌および採取した卵を用いて養菌性キクイムシを飼育し、容易に態別生育期間を算出することができた。今後は他種の養菌性キクイムシにおいてもこの方法の有効性を検討するとともに、発育零点や有効積算温度などの解明にも役立てたい。

引用文献

- (1) Batra, L. R. : Science 153, 193~195, 1966
- (2) Beaver, R. A. : Insect-fungus relationships in bark and ambrosia beetles. Academic Press, London, 121~143, 1989
- (3) Kajimura, H., Hijii, N : Entomol. Exp. Appl. 71, 121~132, 1994
- (4) 梶村 恒 : 名大演報, 14, 89~171, 1995
- (5) 梶村 恒 : 植物防疫, 52, 491~495, 1999
- (6) 水野孝彦ほか : 植防研報, 33, 81~85, 1997
- (7) 水野孝彦ほか : 植防研報, 35, 47~49, 1999
- (8) 野淵輝 : 植物防疫, 28, 75~81, 1974

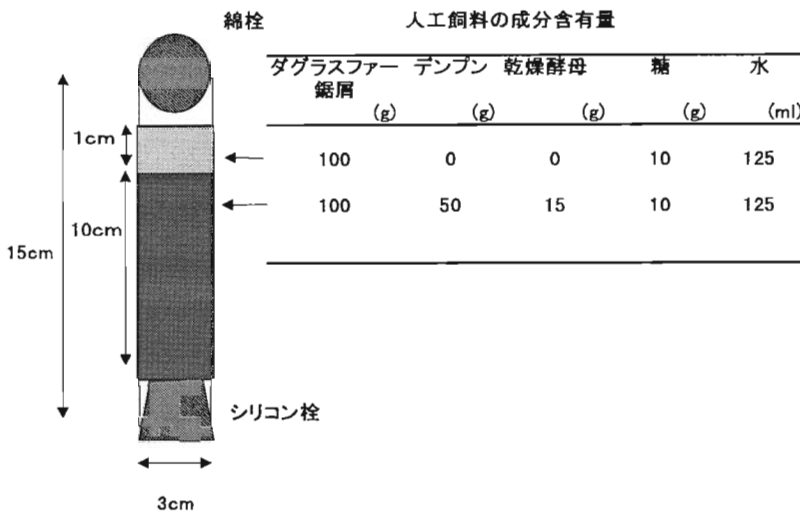


図-1 ファイルキクイムシの飼育容器 (水野ほか, 1997を改良)

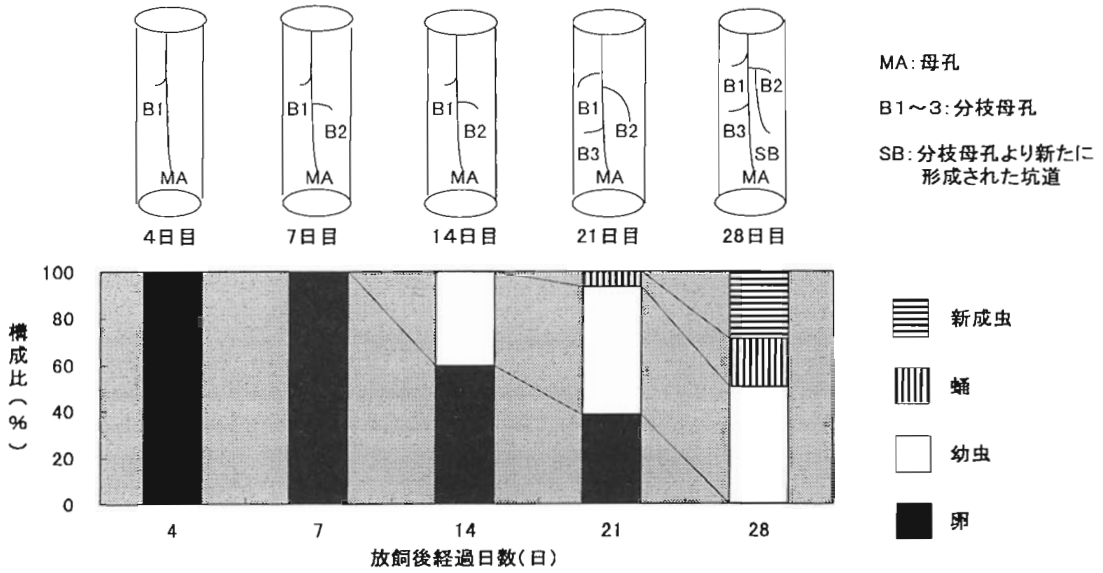


図-2 坑道形成の推移と次世代の発育状態

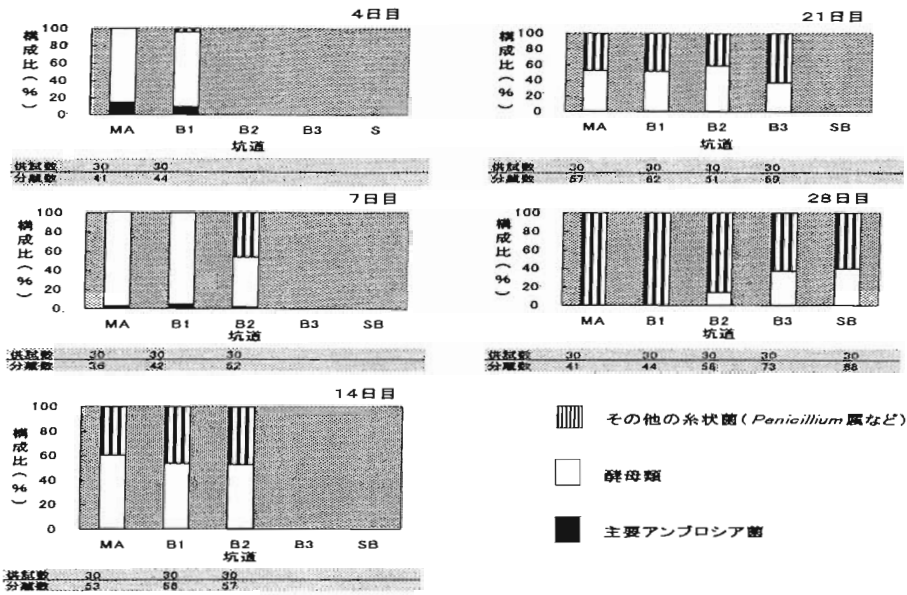


図-3 坑道内菌相の推移

表-1 培養温度による主要アンブrosiア菌の成長の違い

温度	直径成長量(mm)		
	平均*	標準偏差	n
12° C	14.9 ^a	1.2	20
16° C	23.4 ^{ab}	0.9	20
20° C	32.3 ^b	0.9	20
24° C	44.9 ^{bc}	1.3	20
28° C	52.4 ^c	1.1	20
32° C	44.8 ^{bc}	1.4	20

表-2 28°C・全暗条件下でのファイルキクイムシの生育期間

	卵期間(日)			幼虫期間(日)		蛹期間(日)			
	平均*	標準偏差	n	平均	標準偏差	n	平均	標準偏差	n
雌	4.0	0.7	29	17.4	1.8	12	4.9	0.3	12
雄	4.2	0.9	10	20.0	-	1	5.0	-	1

* Mann-Whitney U-testにより検定したところ、5%レベルで有意差が認められなかった。

* 同じ英小文字を付した平均値間には有意差のないことを示す。(Tukeyの多重比較法, P>0.05)