

## 速報

熊本県におけるスギ黒点病菌によるヒノキ花粉飛散抑制の可能性の検討<sup>\*1</sup>

高畑義啓<sup>\*2</sup>・秋庭満輝<sup>\*3</sup>・升屋勇人<sup>\*4</sup>・市原 優<sup>\*5</sup>・廣岡裕吏<sup>\*6</sup>・壽田智久<sup>\*7</sup>・山本茂弘<sup>\*8</sup>  
 矢田 豊<sup>\*9</sup>・阪上宏樹<sup>\*10</sup>・窪野高德<sup>\*11</sup>

高畑義啓・秋庭満輝・升屋勇人・市原 優・廣岡裕吏・壽田智久・山本茂弘・矢田 豊・阪上宏樹・窪野高德：熊本県におけるスギ黒点病菌によるヒノキ花粉飛散抑制の可能性の検討 九州森林研究 69：121－124, 2016 スギ黒点病菌 *Sydowia japonica* はスギ雄花に特異的に感染してこれを枯死させる菌であり、人工接種によってヒノキ雄花にも病原性を示すことから、スギおよびヒノキ花粉の飛散抑制に応用できるかが研究されてきた。そこで本研究では、九州地域において本菌によるヒノキ花粉の飛散抑制が可能であるか検討するため、熊本県においてヒノキ雄花に対する接種実験を行った。その結果、本菌の接種によりヒノキ雄花に枯死が生じ、花粉飛散を抑制できる可能性があり、とくに分生子を用いた接種が効果的であることが明らかになった。しかし感染雄花の割合の正確な算出が難しいなど実験上の困難があり、本菌を用いた花粉飛散抑制の可能性の検討には、さらなる研究が必要である。

キーワード：花粉症, *Sydowia japonica*, 生物防除

## I. はじめに

日本の花粉症の原因植物として、ヒノキ *Chamaecyparis obtusa* がスギ *Cryptomeria japonica* に次いで重要と考えられ、スギと並んでヒノキ花粉症対策も推進されている（林野庁, 2014）。しかしスギと同様、ヒノキ人工林の花粉症対策品種への転換には長期を要するため、即効性のある花粉飛散抑制技術の開発も望まれる。スギ黒点病菌 *Sydowia japonica*（以下、黒点病菌）はスギの雄花を特異的に枯らす糸状菌である（Hirooka *et al.*, 2013 b; 笠井, 1917）。本菌を利用してスギ花粉の飛散を抑制できるならば、他の植物や環境への影響が小さい、即効性のある花粉飛散抑制技術につながると期待できる。こうした観点から黒点病菌のスギ花粉飛散抑制への応用有効性が検討され、福島県や茨城県、熊本県で実験的に効果が確認されている（Hirooka *et al.*, 2013 a; 高畑ほか, 2015）。また黒点病菌は人工接種によりヒノキ雄花にも感染することから、ヒノキの花粉飛散抑制に対する有効性について福島県や茨城県、静岡県で検討が行われ、効果が確認されている（窪野ほか, 2011; 山本ほか, 2013）。

そこで本研究では、黒点病菌を利用したヒノキ花粉飛散の抑制が九州地域（熊本県）でも可能であるか、接種実験により検討することを目的とした。

## II. 材料と方法

## 1. 黒点病菌の菌糸を用いた接種

黒点病菌が九州地域でヒノキ雄花に対して病原性を持つか、また適切な接種適期がいつか検討するため、菌糸体を用いた接種実験を行った。接種には森林総合研究所九州支所立田山実験林（熊本市）に植栽されたヒノキ壮齢木を供試した。2010年7月に供試木の主幹から伸びている大枝の基部にジベレリンペーストを埋め込み、雄花の形成を誘導した。黒点病菌の接種法は概ね高畑ほか（2015）と同様である。すなわち、福島県で採取された菌株を用い、①米ぬかフスマ培地上の菌糸体を培地ごとヒノキ雄花に付着させビニールテープで覆う、②液体培地で培養した菌糸体を破碎し、10%大豆油を添加した滅菌水に懸濁した処理剤を雄花着生枝に散布、③米ぬかフスマ培地上の菌糸体を培地ごと破碎し②と同様に散布、の3処理区を設けた（以下①を固形培地区、②を菌糸体区、③を菌糸粒区と呼ぶ）。対照として、各処理区に対応した無菌の処理剤を同様に施用する区を設けた。ただし、固形培地区では作業中の失敗により対照区を設けられなかった。雄花表面のワックス除去により感染の可能性を高めるため、処理直前に Tween 20 0.003% 水溶液を散布した。各接種日の供試雄花数は、固形培地区では接種区で30、菌糸体区では接種区で平均457（最大952、最小266）、対照区で平均323（最大620、最小51）、菌糸粒区では接種区で平均544（最大1015、最小105）、対照区で

\*1 Takahata, Y., Akiba, M., Masuya, H., Ichihara, Y., Hirooka, Y., Suda, T., Yamamoto, S., Yada, Y., Sakagami, H. and Kubono, T.: Evaluation of the possibility of control of Hinoki cypress pollen dispersal by *Sydowia japonica* in Kumamoto Prefecture, Japan.

\*2 森林総合研究所九州支所 Kyushu Res. Center, For. & Forest Prod. Res. Inst., Kumamoto, Kumamoto 860-0862, Japan.

\*3 森林総合研究所 For. & Forest Prod. Res. Inst., Tsukuba, Ibaraki 305-8687, Japan.

\*4 森林総合研究所東北支所 Tohoku Res. Center, For. & Forest Prod. Res. Inst., Morioka, Iwate 020-0123, Japan.

\*5 森林総合研究所関西支所 Kansai Res. Center, For. & Forest Prod. Res. Inst., Kyoto, Kyoto 612-0855, Japan.

\*6 法政大学生命科学部 Fac. Biosci., Hosei Univ., Koganei, Tokyo 184-8584, Japan.

\*7 福島県農中農林事務所 Fukushima-ken Kenchu Nourin Jimusho, Koriyama, Fukushima 963-8540, Japan.

\*8 静岡県農林技術研究所森林・林業研究センター Shizuoka Pref. Res. Inst. of Agric. For., For. & For. Prod. Res. Ctr., Hamamatsu, Shizuoka 434-0016, Japan.

\*9 石川県農林水産部森林管理課 Ishikawa Pref. Agric., For. & Fish. Dep., For. Man. Div., Kanazawa, Ishikawa 920-8580, Japan.

\*10 九州大学大学院農学研究院 Fac. of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka, Fukuoka 812-8581, Japan.

\*11 森林総合研究所多摩森林科学園 Tama For. Sci. Garden, For. & Forest Prod. Res. Inst., Hachioji, Tokyo 193-0843, Japan.

平均 361 (最大 747, 最小 67) であった。

接種は 2010 年 10 月から翌 2011 年 3 月にかけて、およそ 1ヶ月に 1 度の間隔で行った。花粉の飛散が完全に終了した 2011 年 5 月に雄花の感染と枯死の最終的な判定を行い、枯死した雄花の数を処理枝中の雄花の全数で除して雄花の枯死率とした。また、枯死した雄花の一部を採取し、黒点病菌の再分離を試みた。

## 2. 黒点病菌の分生子を用いた接種

黒点病菌はツァベック・ドクスおよび酵母抽出物の液体培地で振盪培養を行うことにより分生子を多数形成する (Masuya *et al.*, 2013)。接種源を大量に生産、調整するにはこの分生子を用いるのが有効と考えられる。そこで、分生子を用いた花粉飛散の抑制が九州地域で可能か検証するとともに最適な接種時期を検討するため、分生子による接種実験を行った。立田山実験林に植栽されたヒノキ壮齢木を供試し、2011 年 7 月にジベレリンペーストを埋め込んで雄花の形成を誘導した。接種法は概ね高畑ほか (2015) と同様である。すなわち、滅菌蒸留水および大豆油、大豆レシチンの混合液に①福島県産菌株の分生子を  $10^7$  ml<sup>-1</sup> の濃度で懸濁した液、②熊本県産菌株の分生子を同様に懸濁した液、③液体培地上の菌糸体 (福島県産菌株) を破碎し 10% 大豆油を含む滅菌水に懸濁した液、の 3 種の処理剤を調整した。供試枝をビニール袋で覆って外部への飛散を防ぎつつ、ハンドスプレーを用いて各処理剤を枝から滴る程度に散布した (以下、処理剤①を散

布した実験区を福島区、同②を散布した区を熊本区、同③を散布した区を菌糸体区と呼ぶ)。対照として、無菌の蒸留水、大豆油、大豆レシチンの混合液を散布する区を設けた。接種は 2011 年 11 月から 2012 年 3 月の各月に行い、それぞれの月に原則として中旬に 1 回接種する区と、中・下旬の 2 回接種する区とを設けた。接種月、処理剤、接種回数組み合わせによって最も細分化された各処理区を、11 月福島 1 回接種区、11 月対照 2 回処理区、のように呼ぶ。この最も細分化された処理区ごとの供試枝数は 3 である。本菌の接種後、2012 年 5 月下旬まで 1 ヶ月ごとに、各区の雄花の枯死程度を目視で判定した。菌糸を用いた接種の場合よりも広い範囲に接種源を散布したため、各供試枝内の雄花数が多く、また供試した枝の総数も菌糸を用いた接種よりも多かったことから、各枝の雄花枯死程度の判定に要する時間をできるだけ短縮するため、雄花を直接計数するのではなく、枯死の程度を指数化して評価することとした。雄花の枯死程度は、雄花の枯死が観察されない場合に 0、雄花の 25% 未満が枯死した場合に 1、雄花の 25% 以上 50% 未満が枯死した場合に 2、雄花の 50% 以上 75% 未満が枯死した場合に 3、雄花の 75% 以上が枯死した場合に 4、のように指数化した。処理区内の供試枝の指数の平均値をその処理区の雄花枯死程度の指数とした。

## III. 結果

### 1. 黒点病菌の菌糸を用いた接種

黒点病菌を接種した区のヒノキ雄花の一部は黒変して枯死し、開花しなかった。固形培地区では接種時期が遅くなるにつれて枯死雄花の割合は増加し、2011/2/18 の接種で最も多く (40.0%) になったが、その後の接種では減少した (図-1)。菌糸体区では 2010/11/18 の接種で感染雄花の割合が最も多く (43.2%) となり、一旦減少した後、2011/1/13 の接種で再び増加し、その後は次第に減少した。一方、菌糸体対照区においても枯死した雄花が見られ、接種区より枯死割合が多い場合もあった (2010/12/16 接種、接種区 15.8% に対し対照区 24.2%)。菌糸粒区では枯死雄花の割合が次第に増加して 2010/12/16 に最も多く (54.6%) となり、その後は次第に減少した。一方、菌糸粒対照区でも枯死雄花が見られ、2011/2/18 および 2011/3/24 接種では接種区よりわずかに枯死割合が多かった。接種区で枯死したヒノキ雄花は黒変して開花が見られないなど、黒点病に感染したスギ雄花と同様の特徴を示し、全接種区からではないが黒点病菌が再分離された。これに対して、対照区で枯死したヒノキ雄花は茶褐色に変色しており、黒点病菌とは異なる特徴を示した。なお、花粉飛散後の雄花はスギと比較しても非常に脱落しやすかった。

### 2. 黒点病菌の分生子を用いた接種

いずれの接種区でもヒノキ雄花に黒変をとまう枯死が観察された。接種源が分生子の場合、接種後の時間の経過にもなると雄花の枯死程度指数は増加し、福島区、熊本区のいずれにおいても最終的に 4 程度になった (図-2)。11-1 月の接種の場合、菌糸体区は福島区、熊本区より最終的な枯死程度指数が低かったが、2-3 月接種では接種区の間には差は見られなかった。各接種月において 1 回接種区と 2 回接種区との間に枯死程度指数やその推移に大きな差は見られなかった。対照区は、多くの場合福島区や熊本

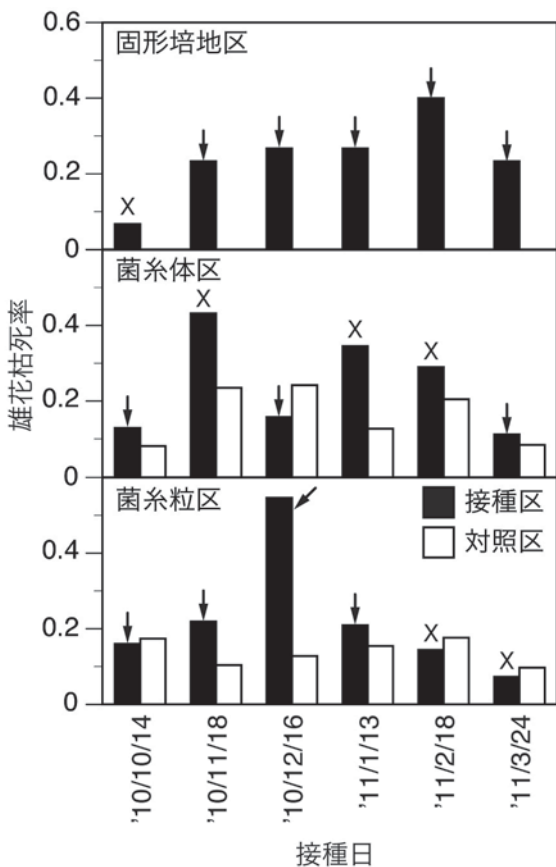


図-1. 黒点病菌菌糸体の接種時期とヒノキ雄花枯死率  
棒に付着した矢印は黒点病菌が再分離されたことを、「×」は再分離されなかったことを示す。また、対照区は分離を行っていない。

区より枯死程度指数が低かったが、11月、1月、3月接種のように3程度になったり、11月、12月1回接種のように菌糸体区より高くなる場合もあった。各処理区内の各判定日における枯死程度指数のばらつきは大きくない場合が多かった。最終的な判定においては、福島区、熊本区では処理区内の3枝でほぼ一致してい

る場合が多く、菌糸体区、対照区ではこれらよりもやや枯死程度指数のばらつきが大きく、同じ処理区内に指数0と4の枝が存在する場合もあった。分生子、菌糸いずれの接種区においても、また対照区においても一部の葉で葉色が赤くなって枯死する現象が見られた。開花期頃から、とくに健全な雄花は風や振動で容易に

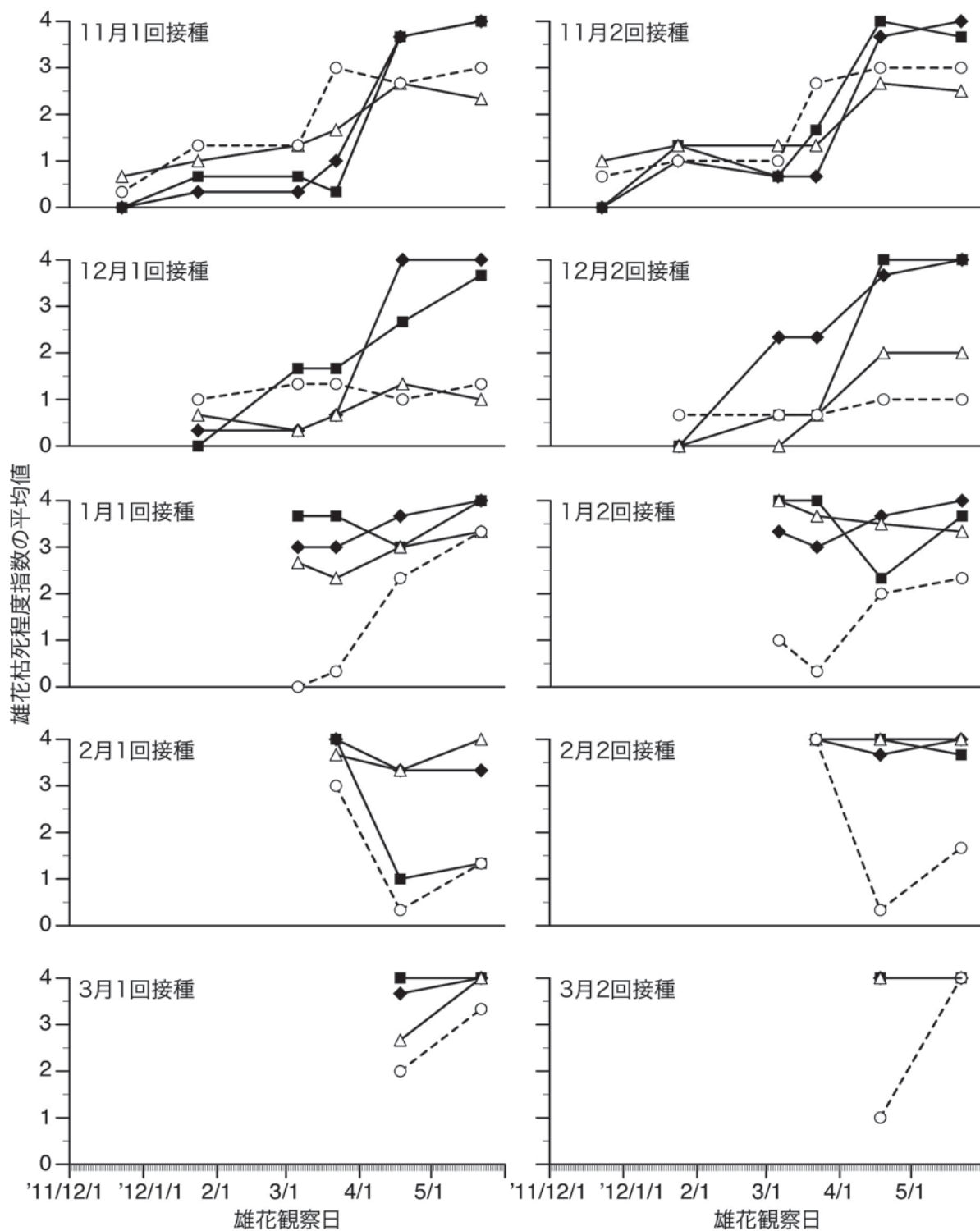


図-2. 黒点病菌の分生子接種におけるヒノキ雄花枯死程度指数の経時変化

■ 福島区    ◆ 熊本区    ▲ 菌糸体区    -○- 対照

落下した。

#### IV. 考察

##### 1. 黒点病菌の菌糸を用いた接種

黒点病菌を接種した雄花でスギ雄花と同様の病徴を示して枯死が生じ、本菌が再分離されたことから(図-1)、静岡県などと同様に(山本ほか, 2013)、本菌は九州地域においてもヒノキ雄花に対して病原性を持つと考えられる。この枯死は開花前に生じており、黒点病菌の散布により九州地域でヒノキ花粉飛散を抑制できる可能性はあると思われる。しかし枯死雄花の割合は最大でも55%程度で、菌糸を用いた接種には花粉症を低減するほどの効果は期待しにくい。一方、対照区でも接種区と同程度の雄花の枯死が見られることがあり、この理由としては、処理薬剤の何らかの影響があった、あるいは自然条件下でもこの程度の枯死はヒノキ雄花に通常観察される、などが考えられるが、本実験で観察した肉眼的な特徴からは原因について明らかにできなかった。

##### 2. 黒点病菌の分生子を用いた接種

分生子を用いて接種を行った福島区、熊本区では菌糸体区と同等以上の枯死程度指数を示したこと(図-2)、菌糸体を用いる場合より接種源の生産、調整がはるかに容易であることから、分生子を用いる接種でも花粉飛散抑制が可能であり、また菌糸体を用いるよりも有用であると考えられる。2月1回接種区を除いて、福島区と熊本区との間に最終的な枯死度の差はなかったことから、黒点病菌の遺伝的な攪乱の可能性などを考慮すると、九州地域で花粉飛散抑制に用いるのは熊本産菌株が望ましいと考えられる。また、同じ接種月で比較すると、1回接種と2回接種とで枯死度の推移や最終的な枯死度に顕著な差が観察されなかったことから、接種回数は1回で十分と思われる。各処理区内の各判定日における枯死程度指数のばらつきがさほど大きくなかったことから、こうした傾向はある程度安定しているのではないと思われる。

一方、開花期(3月)以降、健全な雄花は花粉が飛散した後に容易に落下したため、最終的に判定した雄花枯死度が過大推定になっている可能性は否定できない。この影響が比較的小さいと思われる、かつ接種後ある程度の期間が経過した3月上旬の枯死度で比較すると、1-2月の接種区で枯死度が高かったことから(図-2)、開花直前の1-2月が接種に適している可能性が高いと考えられる。しかし本研究では雄花の落下が見かけの枯死度にどの程度影響したか評価できないため、適切な接種時期については今後

さらに検討する必要がある。また、対照区において、処理後に時間の経過とともに枯死程度指数が増加した一因にも、健全な雄花が落下したことがあると思われる。なお、2月接種区の対照区や福島区で4月の判定時に枯死程度指数の低下が見られたのは、この時点ではごく少数の雄花しか残存しておらず、雄花の落下が枯死程度指数に大きく影響する状態だった中で、枯死雄花の一部も落下したためと思われる。

供試したヒノキの葉に見られた赤変は葉害とも考えられるが、静岡県で見られた現象(山本ほか, 2013)とは異なり、多くの処理区で観察されたものは、変色部位は比較的狭い範囲に留まっており、供試木の成長に影響する可能性は低いものと思われる。

以上のことから、九州地域においてもスギ黒点病菌の接種によるヒノキ花粉飛散抑制を行える可能性はあり、分生子を用いた接種が効果的と考えられるが、実験方法を含め、さらに検討を行う必要がある。

#### 引用文献

- Hirooka, Y *et al.* (2013 a) PLoS ONE 8: e 62875.  
 Hirooka, Y *et al.* (2013 b) Mycol. Prog. 12: 173-183.  
 笠井幹夫(1917) 病虫害雑誌 4: 23-28.  
 窪野ほか(2011) 東北森林科学会第16回大会講要: 60.  
 Masuya, H *et al.* (2013) Bulletin of FFPRI 12: 165-170.  
 林野庁編(2014) 平成26年度森林・林業白書, 223 pp, 全国林業改良普及協会, 東京.  
 高畑ほか(2015) 九州森林研究 68: 135-137.  
 山本ほか(2013) 中部森林研究 61: 149-150.

#### 謝辞

本研究は農林水産省の、新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「菌類を利用したスギ及びヒノキ花粉飛散防止技術の開発」(課題番号22023)の研究費により行った。また、熊本県林業指導所(当時)の廣石和昭氏、九州支所の小坂肇博士には菌株採取に、九州支所の川地直子氏には接種実験にご協力いただいた。ここに記して感謝申し上げる。

(2015年11月20日受付; 2016年2月15日受理)