

# カラマツヤツバキクイムシ随伴青変菌のカラマツに 対する病原性の比較\*1

伊藤 賢介\*2 · 山口 岳広\*3

## I. はじめに

針葉樹を枯死させるキクイムシ類の多くは青変菌を随伴し、成虫が樹皮下に穿入するさいに青変菌を樹体内に運び込む。青変菌が辺材に侵入すると、感染部の周囲に乾燥帯が形成されて局所的に通水機能が停止する。大量の成虫が穿入して辺材が全周的に青変菌に感染することにより、樹幹内の水分移動が完全に遮断されて急速な萎凋枯死を生じる(1, 5, 10)。

キクイムシ類とその随伴青変菌による針葉樹の枯死に関する研究はマツ属やトウヒ属を中心に進められてきており、カラマツ属に関する研究は少ない(3)。しかしこれまでに、カラマツヤツバキクイムシに随伴する青変菌のうち、ヨーロッパでは *Ceratocystis laricicola* (以下、Cl)が(6)、日本では *Ophiostoma piceae* (以下、Op)が(4, 7, 8, 9)カラマツ属の成木を枯死させるほどの病原性を示すことが報告されている。

Clは最近まで日本では未報告であったが、Yamaoka et al. (11)によって本州のカラマツヤツバキクイムシがこの青変菌を随伴することが発見された。また、筆者らも札幌市のカラマツ人工林内の間伐丸太から採集したカラマツヤツバキクイムシがClを随伴することを発見し、さらにこのキクイムシ虫体の大量接種によってカラマツ生立木が枯死することを確認した(2)。本稿では、カラマツ生立木の枯死に関与する青変菌を明らかにするために、カラマツヤツバキクイムシ穿孔木から分離したClとOpをそれぞれカラマツ丸太や生立木に接種して、内樹皮の変色部(壊死病斑)の大きさや辺材の通水阻害部(乾燥帯)の大きさ、枯死経過などを調べて病原性を比較した。

青変菌の同定にあたり山岡裕一博士(筑波大学)にご教示いただいた。また、供試虫の入手にあたり札幌市白旗山市有林の関係者各位に便宜を図っていただいた。ここにお礼申し上げる。

## II. 材料と方法

以下の実験で接種源としたClとOpは、1995年7月に森林総研北海道支所(以下、支所)構内のカラマツ生立木にカラマツヤツバキクイムシ成虫を放虫して強制穿孔させ、10月に伐採してその内樹皮と辺材から分離した菌を麦芽エキス寒天培地で培養したものである。また、虫体接種には札幌市白旗山市有林のカラマツ間伐丸太から接種当日に脱出した成虫を使った。

### (1) 丸太への接種

1997年8月1日に支所構内のカラマツ6本(1973年植栽、胸高直径13.5~20.2 cm)を伐採して長さ1.5m、中央直径9.8~15.7 cmの丸太を24本作った。各丸太の中央部の幹周を等分する4カ所に直径6 mmのコルクボーラーで木部に達する孔をあけて、以下の4種類の接種処理をした。青変菌接種孔にはClとOpをそれぞれ培養した培地をコルクボーラーで切り取って挿入し、穿孔時の樹皮で栓をした。虫体接種孔にはカラマツヤツバキクイムシ成虫1頭を挿入し、樹皮で栓をして虫体を押しつぶした。培地だけを挿入して樹皮で栓をした孔を対照孔とした。丸太へのキクイムシなどの寄生を防ぐためにナイロン裏地製の袋に入れて屋外の日陰に放置した。定期的に4本の丸太を選んで各接種孔の周囲の外樹皮を削って、内樹皮に形成された変色部の長さを測定した。

### (2) 生立木への接種

1997年7月31日に支所構内のカラマツ生立木20本(1973年植栽、胸高直径11.4~13.8 cm)の地上1.5 m部の4カ所に直径6 mmのコルクボーラーで木部に達する孔をあけて、(1)と同様の方法でそれぞれの孔にCl, Op, 虫体, 培地(対照)を接種した。定期的に4本の接種木を選んで内樹皮の変色長を測定したあと、伐採して接種部から上方に向かって一定間隔で厚さ5 cmの円盤を採取した。この円盤を酸性フクシン0.3%溶液に5日間浸漬して、その中央部断面の染色状態により辺材の通水阻害部

\*1 Ito, K. and Yamaguchi, T. : Pathogenicity to *Larix kaempferi* of *Ceratocystis laricicola* and *Ophiostoma piceae*, blue-stain fungi associated with *Ips cembrae*

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

\*3 森林総合研究所北海道支所 Hokkaido Res. Ctr., For. & Forest Prod. Res. Inst., Sapporo 062-8516

の伸長を調べた。8月6日にさらに3本の供試木(1973年植栽, 胸高直径 12.5~15.0 cm)を追加して同様の接種を行ない, そのうちの1本を10月15日に伐採して各接種孔周辺の内樹皮と辺材から試料を採取して常法により菌を検出し, 他の2本は12月17日(接種19週間後)に伐採して内樹皮の変色長と辺材の通水阻害を調べた。

(3) 生立木への大量接種

1997年7月1~5日に支所構内のカラマツ生立木23本(1973年植栽, 胸高直径 11.7~14.1 cm)を供試木として, 地上1.0 mから1.4 mまでの樹幹部全周に青変菌を以下の接種密度で大量接種した。5本の供試木には樹幹表面積 100 cm<sup>2</sup>当たり3個の孔をコルクボーラーであけてCIを培地ごと挿入して抜き取った樹皮で栓をした(CI-3)。さらに5本には100 cm<sup>2</sup>当たり9個の孔をあけてCIを接種した(CI-9)。Opについても同じ本数の供試木に同様の密度で接種した(Op-3とOp-9)。残った3本には100 cm<sup>2</sup>当たり9個の孔をあけて何も挿入せずに樹皮で栓をして対照とした。接種孔は等間隔に分布するよう心がけた。秋の落葉期が終わるまで供試木の着葉量を観察し, 翌年の開葉の有無も確認した。1~2月に数本の供試木を伐採して内樹皮の変色状況を観察し, 接種部の内樹皮と辺材から試料を採取して菌を検出した。さらに, 地ぎわ部から生枝下部までの数カ所から厚さ5 cmの円盤を採取して(2)と同じ方法で酸性フクシンで染色し, 辺材断面における通水阻害部の面積を測定した。

III. 結果

(1) 丸太への接種

CIおよび虫体の接種によって丸太内樹皮には接種孔を中心として軸方向に長い大きな褐色の変色部が形成され, この変色部の内側の形成層は壊死・乾燥し褐色化していた。また, この2種類の接種では不連続な変色がしばしば見られた。これら不連続な変色は接種孔から伸びる変色と同じ繊維方向上にあり, しかもその多くは形成層部で連続していたので, これらの変色を合わせてひとつの変色部と見なしてその両端の距離を変色長とした。

接種1週間後の変色長はいずれの接種源でも0.9~1.7 cmで違いは認められなかったが, 2週間後からCIと虫体による変色が大きく伸長した(図-1)。4週間後にはCI

および虫体のすべてで40 cm以上の変色部が形成された。この2種類の接種源による変色はその後伸長を続け, 8週間後にはすべて100 cm以上になり, そのいくつかは丸太端に到達して測定不可能となった。一方, 対照およびOpの変色長はほとんど伸長せず, 8週間後でもそれぞれ1.6~8.7 cmと1.8~4.5 cmであった。8週間後の変色部の接線方向の最大幅は対照で0.9 cm, Opで0.9~1.2 cmだったのに対して, CIで2.1~3.7 cm, 虫体で1.5~3.6 cmとやはりCIと虫体のほうが大きかった。

(2) 生立木への接種

生立木の内樹皮においても, CIおよび虫体の接種によって軸方向に長い変色部が形成されたが, 丸太の場合と比較して変色の伸長は遅かった(図-2)。CIと虫体による変色長は接種4週間後から急速に伸長して, どちらの変色も12週間後には平均40 cm以上になった。一方, 対照とOpによる変色はほとんど伸長せず, 19週間後でもすべて3 cm未満であった。なお, CIと虫体の接種では, 4週間後から丸太の場合と同様に不連続な変色が見られるようになり, これらを合わせてひとつの変色部とみなして変色長を測定した。

対照以外のすべての接種源では, 接種孔を中心とする辺材に大きな通水阻害部(非染色部)が形成された(図-3)。CIと虫体による通水阻害部は通水部を囲んでリング状に形成されたが, Opでは通水阻害部内部に通水部は認められなかった。通水阻害部の軸方向の伸長経過を調べたところ, CIと虫体では接種孔から上方に最大80 cmまで達したが, Opでは最大25 cmまでであった(図-4)。対照孔の通水阻害部はきわめて小さく, 孔の直下の辺材に限られていた(図-3)。

各接種孔周辺部からの菌の検出結果を表-1に示す。虫体接種孔ではOpを含むOphiostoma属3種とCIの合計4種類の青変菌を検出したが, Op接種孔とCI接種孔ではそれぞれ接種した青変菌だけが検出され, 対照孔では青変菌は全く検出されなかった。

(3) 生立木への大量接種

供試木の落葉経過と翌年の開葉の有無(図-5)に基づいて, 10月中旬までに落葉した木は翌年に開葉しなかったので枯死木と判断し, 10月下旬以降に落葉した木は翌年に正常に開葉したので生残木と判断した。したがって, 接種によって枯死したのはCI-3の1本とCI-9の5本すべてで, その他の木はすべて生残木と判断した。

供試木の一部を冬季に伐採して, 内樹皮の変色状況を観察した。対照木では, 各接種孔の周囲に長さ1.5 cm程度の小さな変色部が形成されただけで, 大部分の内樹皮は正常であった。Op-3とOp-9では長さ2.5~5 cmの変色部が形成されていた。変色の一部は軸方向に癒合していたが長さ10 cmをこえる

表-1 青変菌および虫体を接種したカラマツ生立木の接種孔周辺からの菌検出率

	対照孔		Op接種孔		CI接種孔		虫体接種孔	
	内樹皮	辺材	内樹皮	辺材	内樹皮	辺材	内樹皮	辺材
<i>Ophiostoma piceae</i>	0	0	50.0	53.3	0	0	19.0	26.1
<i>O. brunneo-ciliatum</i>	0	0	0	0	0	0	9.5	13.0
<i>O. laricis</i>	0	0	0	0	0	0	47.6	13.0
<i>Ceratocystis laricicola</i>	0	0	0	0	76.3	68.1	23.8	47.8
<i>Penicillium</i>	0	0	0	0	0	0	4.8	0
<i>Cryptosporiopsis</i>	85.7	85.7	0	0	21.1	23.4	0	0
その他	14.3	0	0	0	2.6	2.1	0	0
総試料数	7	7	14	15	38	47	21	23

検出率 = 検出試料数 / 総試料数 (%)

ものは無く、大部分の内樹皮は正常であった。CI-3では多くの変色が軸方向に癒合して長さ40 cm以上の変色も見られたが、接線方向の癒合は少なく正常な内樹皮が多かった。CI-9では、接種部が全面的に変色して正常な内樹皮は見られなかった。また、CI-9の変色は接種部から上下に大きく伸びて、地ぎわ(地上0.1 m)から地上2.0~2.5 mまで達していた。

供試木における通水阻害の大きさと分布範囲を図-6に示す。対照木では各接種孔の直下に放射方向の深さが1~2 mm、接線方向の幅が6 mm程度の微小な通水阻害部が見られただけで、接種部以外では通水阻害は認められなかった。一方、青変菌接種木の辺材には大きな通水阻害部が認められた。Op接種木における通水阻害は地上0.8~1.8 mの範囲に見られ、接種部で最大となり、そこから上下に向かって急速に減少した。一方、CI接種木の通水阻害はOp接種木よりも広範囲に及び、地ぎわから地上2.5 mまで見られた。また、CI接種木の通水阻害部は接種部でよりもその上下で大きかった。落葉経過から枯死木と判断したCI-9の2本では通水阻害の割合の最大値は0.84と0.99だった。一方、生存木と判断したOp-3、Op-9およびCI-3では0.65~0.81だった。したがって、カラマツは辺材断面積の80%程度の通水阻害には耐え得るが、これ以上になると枯死の危険性が高まることが示唆された。

Op接種木からはOpだけが、またCI接種木からはCIだけが検出され、対照木からはどちらの青変菌も検出されなかった(表-2)。

#### IV. 考 察

カラマツヤツバキクイムシに随伴する2種類の青変菌のうち、CIは虫体を接種した場合と同様の強い病原性をカラマツに対して示したが、Opの病原性はCIや虫体に較べてかなり弱かった(図-1, 2, 4)。また、CIを高密度に接種すると枯死木が発生したが、これと同じ密度でOpを接種しても枯死に至るものは無かった(図-5)。特に、CIを樹幹表面積100 cm<sup>2</sup>当たり9カ所に接種するとすべてのカラマツが枯死したことは、これと同じ密度で虫体を接種してすべて枯死したという伊藤・山口(2)の結果と一致した。また、CI接種によって形成された通水阻害部の形状と分布(図-3, 6)も伊藤・山口(2)の虫体接種の結果と一致した。さらに、Yamaoka et al.(11)もこれら2種の青変菌の病原性を比較して、OpよりもCIのほうが病原性が強いことを報告している。以上から、カラマツヤツバキクイムシによるカラマツの枯死にはOpよりもCIのほうが大きく寄与し得ると考えられる。

筆者らと同様に北海道産のカラマツヤツバキクイムシ

表-2 青変菌大量接種木の接種部内樹皮・辺材からの菌検出率

	対照 #1	Op-3 #17	Op-9 #10	CI-3 #21	CI-9 #2
<i>Ophiostoma piceae</i>	0	64.3	76.2	0	0
<i>Ceratocystis laricicola</i>	0	0	0	38.1	14.3
<i>Penicillium</i>	59.5	0	0	0	0
<i>Pestalotiopsis</i>	21.4	0	0	0	0
総試料数	42	42	42	42	42
検出率=検出試料数/総試料数(%)					

の随伴青変菌を調べた前藤ら(4)は、Opと虫体の接種によって形成された内樹皮変色長に大きな差が無かったことを報告し、また虫体接種木からCIを検出しなかった。これらのことは、前藤ら(4)のカラマツヤツバキクイムシがCIを随伴していなかったことを示す。したがって、北海道におけるカラマツヤツバキクイムシによるCIの随伴関係がごく最近に成立したのか、あるいは地域によってはこの関係が生じていないのか、いずれかであることが示唆される。

病原性の強いCIを随伴するカラマツヤツバキクイムシはCIを随伴しない場合よりも少数の成虫の穿孔によってカラマツを枯死させることが可能だろう。したがって、カラマツヤツバキクイムシがCIを随伴している地域ではカラマツの枯死被害が発生しやすいかもしれない。今後は、枯死被害発生の危険性を評価するために、またこの危険性に応じた施業を行なうために、カラマツヤツバキクイムシに随伴する菌の種類とその病原性を地域別に解明する必要がある。

#### 引用文献

- (1) Harrington, T.C. : In *Ceratocystis and Ophiostoma* : Taxonomy, Ecology, and Pathogenicity. Wingfield M.J., Seifert K.A. and Webber J.F. ed., 161~172, Am. Phytopathol. Soc., St. Paul, Minnesota, USA, 1993
- (2) 伊藤賢介・山口岳広 : 日林北支論, 46, 121~124, 1998
- (3) Jacobs, K. et al. : Mycologia, 89, 332~338, 1997
- (4) 前藤薫ほか : 日林北支論, 39, 79~82, 1991
- (5) Paine T.D. et al. : Annu. Rev. Entomol., 42, 179~206, 1997
- (6) Redfern D.B. et al. : Plant Pathol., 36, 467~480, 1987
- (7) 山口岳広 : 「カラマツヤツバキクイムシに関する青変菌(*Ophiostoma piceae*)に対するカラマツの樹体反応と萎凋枯死に関する研究」, 北海道大学農学部博士論文, 1995
- (8) 山口岳広ほか : 日林北支論, 39, 76~78, 1991
- (9) 山口岳広ほか : 森林防疫, 41, 118~122, 1992
- (10) 山岡裕一 : 日菌報, 40, 25~28, 1999
- (11) Yamaoka, Y. et al. : Mycoscience, 39, 367~378, 1998

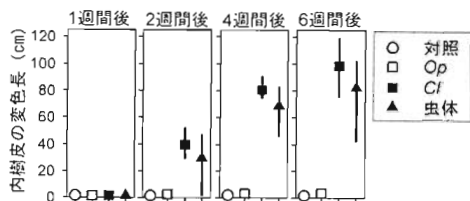


図-1 青変菌と虫体を接種したカラムツ丸太の内樹皮における変色部の長さの経時変化  
シンボルは4本の丸太の平均値、縦棒は最大値と最小値を示す。

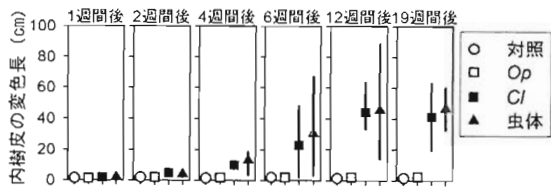


図-2 青変菌と虫体を接種したカラムツ生立木の内樹皮における変色部の長さの経時変化  
シンボルは平均値、縦棒は最大値と最小値を示す。  
測定本数: 4本(19週間後のみ2本)。

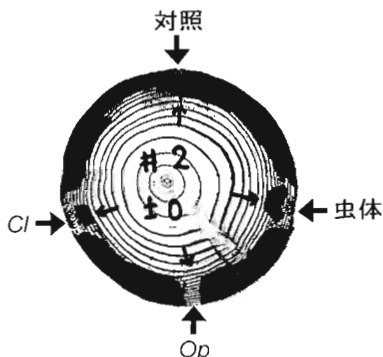


図-3 青変菌と虫体を接種したカラムツ生立木の接種部の染色断面  
接種19週間後、地上1.5m、皮なし直径11.4cm。  
白く見える辺材が通水阻害部を示す。

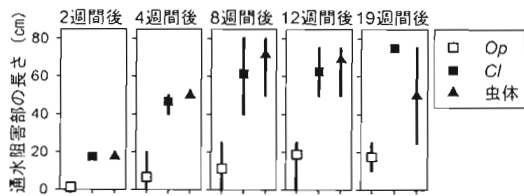


図-4 青変菌と虫体を接種したカラムツ生立木における通水阻害部の接種孔上方への伸長の経時変化  
シンボルは平均値、縦棒は最大値と最小値を示す。  
測定本数: 4本(19週間後のみ2本)。

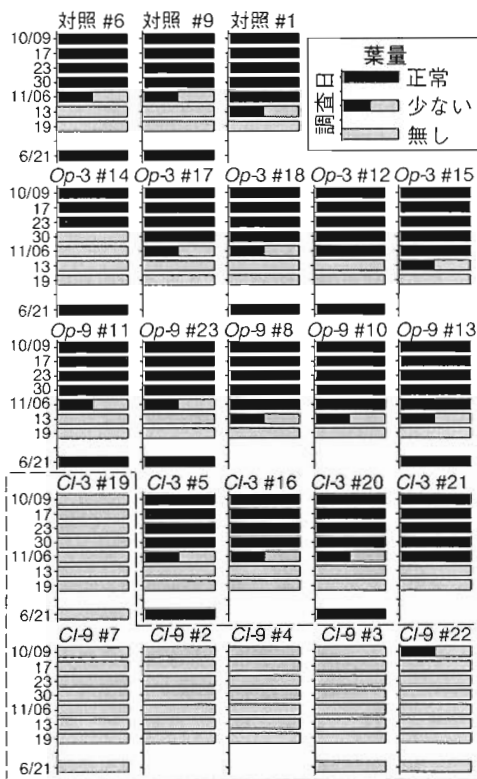


図-5 青変菌大量接種木の着葉量の推移  
点線内は枯死木を示す。接種翌年の記録がないのは伐採調査したことを示す。

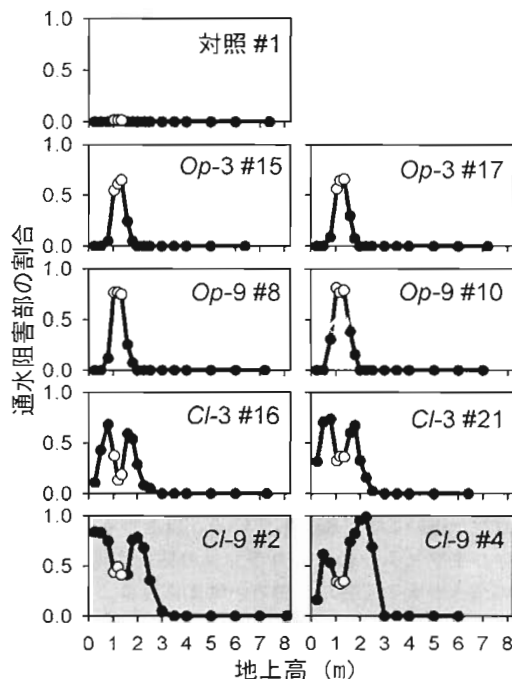


図-6 青変菌大量接種木の辺材断面積に占める通水阻害部の割合  
○は接種部、灰色の背景は枯死木を示す。