

マツノザイセンチュウ捕捉菌による線虫の  
捕捉機構に関する研究

山 中 啓

研究代表者	教授	山 中 啓	(応用生物化学系)
分 担 者	教授	椿 啓 介	(生 物 科 学 系)
	教授	内 藤 豊	(生 物 科 学 系)
	教授	辰 巳 修 三	(農 林 学 系)
	教授	須賀原 亮 三	(応用生物化学系)
	助教授	田 中 秀 夫	(応用生物化学系)
	助教授	桑 原 保 正	(応用生物化学系)
	助教授	手 塚 敬 裕	(化 学 系)
共 同 者	技 官	斉 木 博	(環境科学研究科)
		米 田 公 生	(国際科学振興財団研究員)

## 1 本プロジェクト成立の経緯

昭和54年5月、当時の環境科学研究科2年生米田公生君によりマツノザイセンチュウ捕捉菌が発見され、本菌の示す特異な作用が次々と明らかにされていった。この発見をふまえ、更に本問題の究明のために新しくプロジェクト・チームが辰巳研究科長(当時)の提案によって作られた。米田君はそれより以前にセイタカアワダチソウの細根よりマツノザイセンチュウに対する殺線虫成分のあることを見出し、本物質を単離し、同定した。この成果を中心に、環境科学研究科として「松枯れ」の総合防除を追求してゆくために、化学系、応用生物化学系および農林学系の関係教官を中心としたプロジェクト・チームの編成がされたばかりであった。すなわち、昭和54年4月16日に辰巳研究科長が提案し、上記の教官を中心とする第1回の打合せ会が4月24日に持たれた。米田君は引続いてセンチュウ捕捉菌を新しく発見したので、このプロジェクト・チームのなかに微生物の関係者が更に加わることとなり、微生物班と呼ばれることになった。そのためにマックイムシ・プロジェクトは化学物質を追求するプロジェクト設立時のグループとセンチュウ捕捉菌のグループに2大別される。しかし、両グループともに後述するマックイムシの元凶であるマツノザイセンチュウを目的にしており、マックイムシ・プロジェクトと呼ばれているが、いわゆるマックイムシと見做されたマツノマダラカミキリを目標にしていない。この点は辰巳研究科長のプロジェクト

についての趣意書にも明確に示されている。すなわち、

「このプロジェクト研究は、①現在社会問題と化しているマツクイムシの抜本的な防除対策を明らかにすること、②環境問題の具体的解決を図るための自然科学的総合研究の推進と研究手法の確立を図る、の2つの目的のもとに企画された。マツクイムシ防除を目的とする研究は、積極的に進められているが、抜本的防除対策を確立するまでには到っていない。その原因はマツクイムシの元凶者であるマツノザイセンチュウを有効かつ迅速に防除できる方法が発見できず、ザイセンチュウを媒介するマツノマダラカミキリムシを間接的に防除する方式だけがとられているところにある。

本研究は、昭和54年度に発足したばかりである。しかし既に発見されている事実は画期的であり、この新しい事実から展開される研究内容は予測し難い充実したものとなるであろう。その理由は、本研究が具体的問題解決を図ることを根幹とする環境科学的研究の一貫として推進されているところにある。すなわち、環境科学（研究科）では一つの具体的事実、現象の解明にあたっては、これらの諸問題を各論的に解体することなく、問題の本質に鋭く迫る研究方式を採用するからである。上述の画期的事実は、ザイセンチュウそのものを防除する新しい防除用農薬の開発研究の副産物として発見された。すなわち、このプロジェクト研究で発見された殺線虫性の生理活性物質の農薬開発実験において、たまたま生理活性物質の阻害物質として使用したマツ樹液からセンチュウを効果的に捕食するカビが見つかったのである。この発見に至る過程には、すべて眼前に展開される現象を直視して仔細にわたる観察力であらゆる現象を見逃がさないという実験科学的研究態度に徹した環境科学研究科2年生米田公生の努力があった。われわれプロジェクト研究員は、この米田公生が自ら実践して発見した研究結果をこの発見に至る研究の軌跡を精査して、いままでに欠落していた応用研究の重大な研究基本態度に気付いた。それは、現象を個別的に解体することなく、現象そのものに着目し、一気にその問題解決に当らうとする研究態度である。

このプロジェクト研究は上記のような背景で組織化された。応用研究と基礎研究を同時併行的に進め、それらの研究は常に総括グループで統合化されて実施される。研究員は化学生態反応論グループ、環境生化学グループ、土壌生態学グループ、微生物学グループ、生物物理学グループ、昆虫生態学グループ、植物生態学グループ、林学グループの多岐にわたっており、これらのグループは別組織北上プロジェクト研究と同一方式によって組織化され総合的研究を進めていく」（完）

（発見当時の雰囲気伝えるため原文のまま収録した）

微生物グループは、生物科学系椿啓介教授を代表者として科学研究費（一般（C））を申請するため、6月2日に会合した。更に学内の多くの方々に広く案内を出して、マツノザイセンチュウ捕捉菌をめぐる2、3の問題点についての懇談会を企画し、7月6日に実施した。話題提供者は、椿先生、辰巳先生、米田君と山中であった。22名の参会者から各の専門分野からの活潑な発言があり、本問題についていかに沢山の方が興味を持っておられるかを強く認識した。

以上の経過より捕捉菌についての検討が活発になり、7月25日に今後の研究打合せを行った。

化学物質によるマツノザイセンチュウの死滅，すなわち殺線虫成分の研究と線虫捕捉菌によるザイセンチュウの誘引，捕捉そして殺線虫効果についての研究とは実に多くの面で異なったアプローチをする必要がある。更に化学物質による殺線虫効果は in vitro で認められるものの in vivo で果してどの程度期待できるか未知数であった。一方線虫捕捉菌に関する研究は in vivo で認められるもので，有効物質の有無と確認，その生産は in vitro では当然のことではあるが当時全く不明であった。このような理由から，微生物班としての仕事は一応独立する方向で検討されるようになった。

しかし，両グループとも生物検定が必須であり，かつ生物検定は同一手法で処理されるため，共有部分がある。その上相互の情報交換が重要であることは当然である。

以上の認識に立って，両チームの合同の会を9月22日に持ち，辰巳科長の提案にもとづく研究組織のフローチャートを作成し，各研究メンバーの所属を明らかにした。更に現在までの研究の進展状況および今後の進め方について討議をした。

研究組織の流れ図を図1に示した。

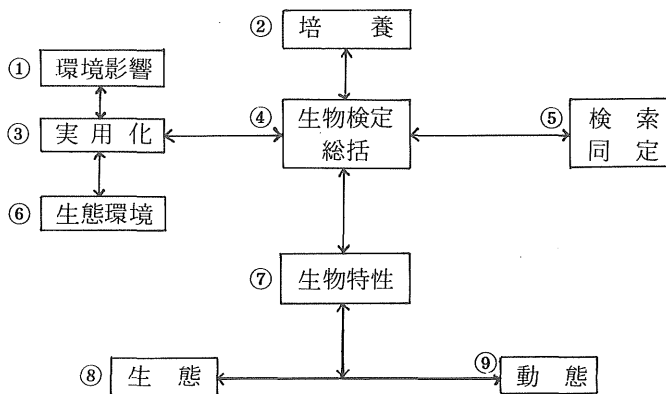


図1. マツクイムシプロジェクト研究  
・研究組織流れ図

基礎部門として，次の分担が決められた。

- |              |                        |
|--------------|------------------------|
| ② 培養部門       | 山中教授                   |
| ④ 生物検定部門     | 辰巳教授（斉木博，米田公生）         |
| ⑤ 化学物質検索同定部門 | 須賀原教授，桑原助教授，手塚助教授，小沢講師 |
| ⑧ 糸状菌生態特性部門  | 椿教授                    |
| ⑨ 線虫動態部門     | 内藤教授                   |

10月16日の会合では，研究メンバー表を作り，情報伝達を早くかつ確実にするために，「マ

ツクイ通信」を発行し、相互の情報連絡を円滑に行うために「マツクイムシ・コミュニケーション・ノート」の発行を計画したが、この企画は当初考え、その必要性が十分に認識されたが、現在あまり機能していない。以上の検討を経て、プロジェクトの体制も整い、上記の各部門の研究者を核として、更により強力なメンバーを得るために11月7日に関係者に広く参加を要請した。その結果にもとづいて、本プロジェクト研究を昭和55年度文部省科学研究費へ一般研究（A）と応用面を試験研究として申請した。研究代表者は前者が山中、後者が石塚教授である。

一般研究の申請時における研究組織は次のとおりである。

研究分担者	役割分担
山中 啓（応用生物化学系）	捕捉菌の培養と捕捉器官の生化学
田 淵 武 士（同 上）	捕捉菌の培養と有効物質の生産
椿 啓 介（生物科学系）	捕捉菌 <i>Arthrobotrys</i> の検索と生態及び捕捉機構の電顕による解明
辰 巳 修 三（農 林 学 系）	捕捉菌の生物検定法の確立と捕捉機構
桑 原 保 正（応用生物化学系）	捕捉菌の生産する生理活性物質の単離と同定
内 藤 豊（生物科学系）	マツノザイセンチュウの捕捉菌に対する行動反応
石 塚 皓 造（応用生物化学系）	捕捉有効物質の効力検定

## 2 「マツクイムシ」による松枯れの機構

いわゆる「マツクイムシ」による松枯れはマツノマダラカミキリにより伝播されたマツノザイセンチュウが松の樹体内で異常繁殖したためにおこる。このマツとマツノマダラカミキリとマツノザイセンチュウの生活環は、農林水産省の林業試験場の人達の長年の努力によりつきとめられた。これを真宮博士（林試保護部樹病課線虫研究室長）の作製した図で示す（図2）。

我々の研究では、この生活環を前提にして進めることにしている。我々の発見したセンチュウ捕捉菌がこの生活環のなかでどのように位置づけられるかは今後の問題となるであろう。

## 3 本プロジェクトの目的

いわゆる「マツクイムシ」による被害木は53年度全国で200万㎡に達した。これは全国の松の1%に相当する量である。このような大きな被害に対する防除策として、スミチオン乳剤を中心とする薬剤散布法が広く採用されている。それは図2で示したように、耐久型幼虫期のマツノザイセンチュウが羽化したばかりのマツノマダラカミキリに移行し、枯死した松より脱出する。脱出したカミキリは直ちに次の松（健全）の若葉を摂食する（後食という）。この時にカミキリの気門内に移行していたマツノザイセンチュウが食害を通して松へ侵入する。このカミキリの脱出時を狙って薬剤を散布する。その結果、カミキリを殺すことによりセンチュウの侵入を防除しようとするもの

である。

散布は5～7月の間に通常2回実施される。茨城県では6～7月に実施している。散布効果は確かに認められるが、マツノマダラカミキリを選択的に殺すものではないので、環境影響を無視することができない。人家に接近した松林や散布した薬剤が養魚場へ流入するような松林には散布できない。茨城県の場合には、松林に隣接して桑畑がある例が多く、養蚕業へ影響するなど、散布地域、回数、薬剤の濃度制限等種々の制約が多い。

もう1つの防除法は枯損木を処理して、翌年の蔓延を防止するための処置である。これにも同様

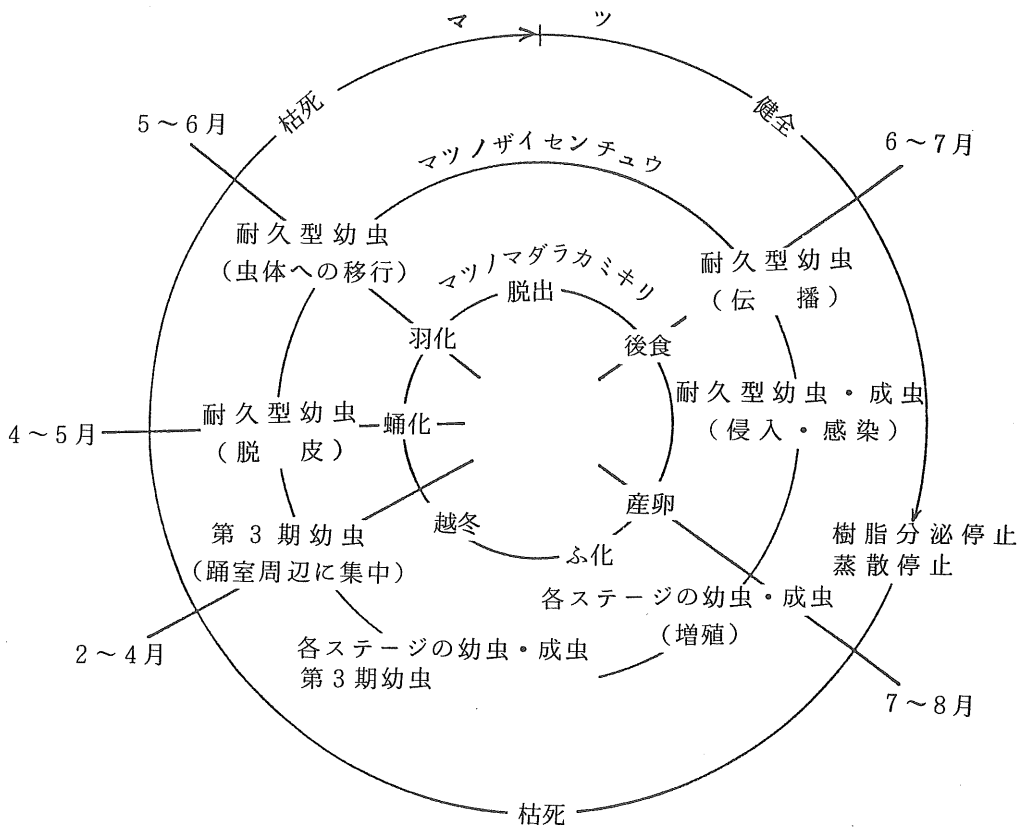


図2. 「マツクイムシ」病の生活環 (真宮氏原図を複製)

の薬剤散布が行われている。図2に示したように、センチウの侵入した松は水分調節機能が破壊されるために、夏期に入って枯れ始める。秋10月頃、これら枯損木を現地で伐倒し、作業し易い長さに切断する。これらをすべて焼却し、樹体内のカミキリムシの幼虫、センチウをすべて焼却すれば完全な殲滅ができるが、現地では非常に困難である。そのため、幹、枝条部（茨城県では直径3cmの枝まで）にむらなく薬剤を散布して駆除を行なっている。これには薬剤の材への浸透が問題であるが、同じくカミキリの幼虫を殺して、翌年の発生源になることを防止しようとするものである。

現在実用可能であり、実施されている防除法は薬剤散布法のみであるが、これは決して最良の方法とは言えない。それはマツノマダラカミキリは二次の害虫にすぎず、真の元凶はマツノザイセンチュウであるからである。しかし、マツノザイセンチュウに薬剤を到達あるいは浸透されることは非常に困難である。すなわち、マツノザイセンチュウは松の材中で生息し、外界へ出るのはマツノマダラカミキリの虫体に移行した時のみである。また本センチウは自由生活期を持たず、土中では生育しないと言われている。従ってセンチウを誘引しない限りこれを捕集することができない。マツノマダラカミキリを防除対象とする農業散布法は間接法であっても、現在この方法以外に実用的な方法はない。

マツノザイセンチュウに対して殺線虫力を持つ化学物質がいくつか発見されている。しかし、これには2つの問題点がある。1つは *in vitro* で有効な化合物も、*in vivo* で果して有効であるか否かは非常に疑問である。それは有効物質の自然界における安定性である。酸化、分解による有効物質の活性低下もしくは消失が考えられる上に、天然物質との反応、物理的反応による失活も考えられる。第2は有効化学物質の松の材への浸透性である。浸透助剤、安定化剤、共役剤が溶剤の他に必要となるであろう。実用化を前提にする時、解決すべき問題がかなり多い。

本プロジェクト研究は、マツノザイセンチュウを特異的に捕捉するかびを用いる点で、上記の方法に比し、いくつかの利点が考えられる。我々の目的は、捕捉菌による捕捉機構の解明であり、本菌の生産する各種生態活性物質（殺線虫物質、線虫誘引物質等）を同定することであるが、環境科学研究として最終目標を実用化にしているのは当然である。その場合、化学物質のもつ致命的な欠点を充分克服できるのではないかと予想される。この捕捉菌が健全松の樹脂より分離されたので、松の材中への侵入は可能であろう。そうすれば松の材中でのセンチウの捕捉、捕殺は可能であろう。自然における安定性についても、本菌は外生胞子を作り易いので耐久性は充分あるものと思われる。また発芽直後の菌糸もす早くセンチウを捕捉できるので、胞子散布法が実施上考えられる。特に枯損木の駆除では現在の薬剤散布法と全く同じ散布法で本菌の胞子を散布すれば、駆除効果は剤に比し、はるかに優れた結果が得られるのではないだろうか。広域にかびの胞子を高濃度にまくことは、困難を伴い biohazard の生ずるおそれもある。しかし、枯損木の伐倒後の駆除法は有効性の高い方法ではないだろうか。我々はこの実用化の見通しを持って基礎研究を行うものである。

科学研究費の申請課題は「マツノザイセンチュウ捕捉菌による線虫の捕捉機構とその有効物質に関する基礎的研究」である。

#### 4 今までの研究成果

本分離菌の純化を反覆し、最終的に本菌は *Arthrobotrys superba* 類縁菌であろうと椿教授により同定された。しかしその生理作用の特性は明らかに顕著であり、マツノザイセンチュウを特異的に捕捉し、殺線虫成分を生産していることおよび線虫添加後、捕捉まで僅かに15-20分であることが特徴的であるので、恐らく新種であろう。

本菌による捕捉状況について、走査型電子顕微鏡により予備的に検鏡した。その結果、本菌のつくる捕捉器官は、くびわ式、あるいはしめわ式のようなループを作っていないので、恐らくとりもち式の粘質物質を出して化学的に捕捉する方式と考えられる。また捕捉後直ちに菌糸より細い側糸を出し、これが線虫の外皮を突き破って侵入している写真(写真1,2)を撮影することができた。

本菌の生産する有効物質には誘引物質、殺線虫物質の存在が考えられ、また麻痺物質も予想される。これらの生態活性物質の生産を菌の培養にて得ることを検討した。本菌は培養可能で糸状菌用培地に生育できるが、現在未だ有効物質の生産に到っていない。有効物質生産に必要な有効物質の検索が必要である。しかし、本菌を継代培養をしても線虫捕捉能は低下していないので、この能力は遺伝的に安定ではないかと考えている。



写真1. マツノザイセンチュウ捕捉菌, *Arthrobotrys* sp. の捕捉器官 (撮影倍率:  $\times 20,000$ )

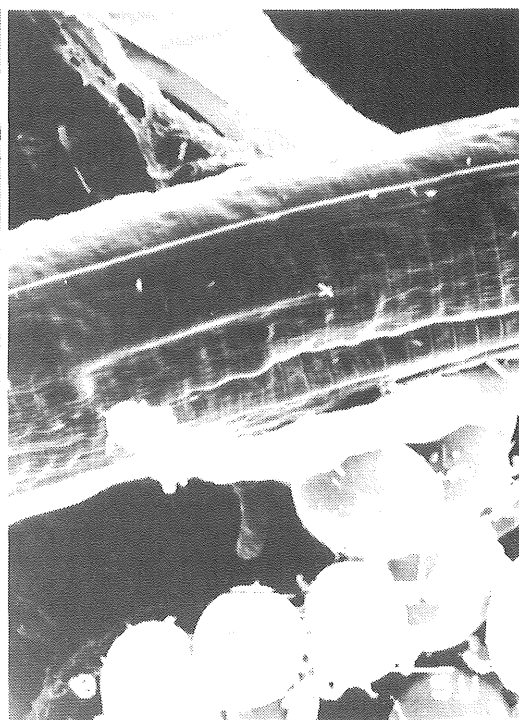


写真2. センチュウを捕捉した捕捉器官 (菌糸の上にセンチュウを添加して15分放置後固定した)

本研究で発表した論文および記事

- 1) K. Yoneda, J. Katsumata, H. Saiki, K. Tsubaki, and S. Tatsumi : A. Nematode-trapping Fungus Detected in pine Sap. J. Jap. For. Soc., **62** (7) (in press).
- 2) 米田公生, 勝又淳, 斉木博, 椿啓介, 山中啓, 辰巳修三 : マツノザイセンチュウ捕捉菌 *Arthrobotrys* sp. の挙動について. 日本林学会昭和55年大会発表 (ポスターセッション) (4月, 1980).
- 3) 山中 啓 : 松枯れの“特効薬”カビ発見. 科学朝日, 4月号, 32-34 (1980).
- 4) 斉木 博 : 捕捉菌の発見と今後の駆除方法— マツノザイセンチュウ—, 林業知識, 311号, 10-13 (10月, 1979).