

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	斉 宏 業
論文題目	ナラ枯れ防除のための昆虫病原性微生物の探索		
(論文内容の要旨) ブナ科のミズナラやコナラ、クヌギなどを枯死させる“ナラ枯れ”の被害が、平成20年までに26府県で確認されている。この病気はナラ・カシ類の樹木を突然真っ赤に枯らすので「第二の松くい虫」とも呼ばれている。この病気の病原体はナラ菌 (<i>Raffaelea quercivora</i> Kubono & Shin. Ito) と呼ばれる菌類で、この病原菌が媒介昆虫であるカシノナガキクイムシ (<i>Platypus quercivorus</i> Murayama、以下カシナガ) により枯死木から衰弱木や健全木に伝播されることにより被害が拡大する。これまで本病の防除のために多くの努力が払われてきたが、効果的な防除法は確立されておらず、森林保全上の大きな問題になっている。本博士論文では、ナラ枯れの伝播昆虫であるカシナガを標的とした生物防除を目指し、その個体群密度を人為的に抑制する生物防除資材として有望な昆虫病原性微生物を探索し、その有効性の評価を行った。 まず第2章では、有望なナラ枯れ生物防除資材を見つけるために、10府県のナラ枯れ被害林で枯死したコナラ (<i>Quercus serrata</i>)、ミズナラ (<i>Q. crispula</i>)、クヌギ (<i>Q. acutissima</i>) の樹幹部丸太からカシナガ幼虫を回収し、それを分離源として微生物を単離し、形態観察に基づき候補微生物39株を得た。次にこれらの微生物から抽出したDNAを用いて、そのリボソームDNAの大サブユニットD1/D2領域の塩基配列に基づき分子同定した結果、最終的に菌類17種26株、細菌1種2株の微生物を得た。これら18種の微生物とは、<i>Beauveria bassiana</i>、<i>Bionectria ochroleuca</i>、<i>Candida oleophila</i>、<i>Candida</i> sp.、<i>Chaetomium globosum</i>、<i>Fusarium merismoides</i>、<i>F. oxysporum</i>、<i>F. solani</i>、<i>Fusarium</i> sp.、<i>Isaria tenuipes</i>、<i>Lecanicillium</i> sp.、<i>Ophiostoma canum</i>、<i>Penicillium aurantiogriseum</i>、<i>P. ochrochloron</i>、<i>P. paneum</i>、<i>Penicillium</i> sp.、<i>Trichoderma</i> sp.、<i>Serratia marcescens</i>、であった。 第3章では、第2章で得られた18種の微生物のうち <i>Candida oleophila</i> を除く17種20株の微生物を用いて、カシナガに対する病原性を指標としたスクリーニングを行った。その結果、菌類3種 (<i>Lecanicillium</i> sp.、<i>Isaria tenuipes</i>、<i>Beauveria bassiana</i>) と細菌1種 (<i>Serratia marcescens</i>) がカシナガに対して強い病原性を示すことが明らかになった。さらに、これら3種の菌類の胞子と細菌1種の細胞密度を$10^3 \sim 10^7$の5段階に調節した懸濁液を作成し、密度別の病原力試験を行なった。その結果からこれら4種の微生物のLC_{50}値を求め、病原力を比較すると共に、至適胞子(細胞)密度を求めたところ、用いたいずれの微生物においても最も高い病原性が表れるのは溶液1mlあたり$10^6 \sim 10^7$のときで、4種の微生物の中では <i>B. bassiana</i> がカシナガ幼虫に対する生物防除資材として最も有望な候補微生物であることが判明した。 第4章では、前章での病原力スクリーニングにより生物防除資材として有望と判定された4種の微生物をカシナガ繁殖丸太に施用して、野外への応用可能性を調べたが、その結果は概ね失敗で、材中奥深く生息するカシナガ個体群への病原性微生物の使用の難しさが明らかになった。 以上の結果を踏まえ、第5章ではナラ枯れ防除のための病原微生物の利用に関わる問題点を総合的に検討した。			

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。
論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 words で作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

日本各地でナラ・カシ類樹木に激害を及ぼしている“ナラ枯れ”は被害域が過去 10 年の間に 12 府県から 26 府県に広がると言う急速な流行症状を示している。この森林流行病を防止するために、各府県では様々な方法を開発し事態に対処しようとしているが問題の解決には至っていない。既往の防除方法は主として本病の病原菌の媒介者カシノナガキクイムシ（以下、カシナガ）を標的にし、（１）この体長 5 mm という小さな甲虫が集中穿孔（マスアタック）することから寄主樹であるナラ・カシ類を防御したり、（２）その集中穿孔と続く病原菌の感染により衰弱・枯死した寄主の樹体内で繁殖したカシナガが、翌年枯死した樹体より脱出して、他の健全樹へ被害を拡げることを封鎖したりすることにより行なわれている。これまで試みられてきた方法は、燻蒸殺虫剤をはじめとする化学的な方法や、樹幹のビニール被覆などに見られる物理的な方法が主体で、カシナガの生物的側面に焦点を絞った生物的防除法としてはフェロモントラップによる誘殺が数少ない例として挙げられるが、この方法もほとんど効果が上がっていない。そのような状況の中で、本研究は自然界に存在する天敵微生物を用いてカシナガの個体数を制御することにより被害の拡大を防除しようと言うもので、評価される点は以下のとおりである。

1. 枯死木内で繁殖したカシナガ幼虫を広い地域から集め、その虫体から微生物を分離し、さらに単離操作を繰り返すことにより純粋株を確立し、培養形態による選別と、リボソーム DNA の大サブユニット D1/D2 領域の塩基配列に基づく分子同定により、菌類 17 種 26 株、細菌 1 種 2 株を候補微生物として確立した。

2. それら微生物を用いた第一段階の病原力テストで候補微生物を 4 種（菌類 3 種；*Lecanicillium* sp.、*Isaria tenuipes*、*Beauveria bassiana*と、細菌 1 種；*Serratia marcescens*）に絞り込み、さらに孢子密度や細胞密度を 5 段階に調整した接種源を用いて密度別病原力試験を行なうことにより、候補微生物各種の LC₅₀ 値を求め、それら微生物間での客観的病原力比較により *B. bassiana* が最も有望なカシナガ防除資材であることを明らかにした。

3. これら天敵微生物を野外に施与するための基本的情報を得るため、カシナガ繁殖材への天敵微生物の施与方法を試験したが、期待した結果は得られなかった。しかし、これらの試験を通じて、寄主樹体の奥深くに坑道を展開するカシナガ防除の難しさの原因の一つが明らかになり、今後の防除法開発に大きな示唆を与えるものとなった。

このように、本研究は森林流行病“ナラ枯れ”を防除するために天敵微生物を広く収集し、その種を厳密に同定することにより候補微生物の評価に科学的基盤を与えた。さらに多数の候補微生物のカシナガに対する病原性を順次、客観的手法に基づき比較することにより候補微生物を絞り込み、本病の流行媒介者であるカシナガの個体数制御に最も有望な微生物として *Beauveria bassiana* 菌を提唱したもので、微生物制御学、森林保護学、昆虫病原微生物学、応用昆虫学などに寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 23 年 2 月 15 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) Web での即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降