

養菌性キクイムシとその共生菌に関する研究

衣 浦 晴 生

Studies on the ambrosia beetles and their symbiotic fungi

Haruo KINUURA

目 次

序 章

1. 養菌性キクイムシ (ambrosia beetles) とは?	151
2. 養菌性キクイムシの研究の歴史と現状.....	152
3. 本研究の目的.....	153

第1章 調査地と調査方法

1-1. 調査地の概要	155
1-2. キクイムシの採集方法	
1-2-1. 本調査地における主要なキクイムシおよびその穿入樹種	155
1-2-2. 抗道内成虫および抗道の採取方法	155
1-2-3. 飛翔分散成虫の採集方法	157
1-3. 生態の調査方法	
1-3-1. 材内における生活史および生存率	158
1-3-2. 樹体外における生活史	158
1-4. 共生菌の調査方法	
1-4-1. 孢子貯蔵器官 (mycangia) 内の菌相.....	159
1-4-2. 抗道内の菌相	160
1-4-3. 走査型電子顕微鏡 (SEM) による直接観察	160

第2章 ミカドキクイムシとその共生菌

2-1. 緒 言	161
2-2. 材料と方法	
2-2-1. ミカドキクイムシの概要	161
2-2-2. 生態の調査方法	
a) 材内におけるキクイムシの生態	162
b) 飛翔成虫の季節変化	162
2-2-3. mycangia からの菌の分離	163
2-2-4. 抗道からの菌の分離	163
2-2-5. SEM による観察法	164
2-3. 結 果	
2-3-1. ミカドキクイムシの生活史	164
2-3-2. 性比, 産卵数および生存率	165
2-3-3. 飛翔成虫の季節変化	166
2-3-4. mycangia 内菌相の遷移	169
2-3-5. 抗道内菌相の遷移	
a) 母孔	169
b) 幼虫孔	170
2-3-6. SEM 観察	
a) 母孔	170
b) 幼虫孔	170

2-4. 考 察	
2-4-1. 養菌性キクイムシの密度維持機構	172
2-4-2. ミカドキクイムシの食物資源としての共生菌	173
2-4-3. 共生菌の取り込み時期	173
2-4-4. 抗道内における幼虫・成虫の活動と菌の生育状態との関連性について	174
第3章 サクキクイムシとその共生菌	
3-1. 緒 言	
3-2. 材料と方法	175
3-2-1. サクキクイムシの概要	175
3-2-2. 生態の調査方法	176
3-2-3. mycangia からの菌の分離	176
3-2-4. 抗道からの菌の分離	176
3-3. 結 果	
3-3-1. サクキクイムシの生活史と生態	177
3-3-2. mycangia 内菌相の遷移	178
3-3-3. 抗道内菌相の遷移	178
3-3-4. SEM 観察	183
3-4. 考 察	
3-4-1. サクキクイムシの主栄養源と酵母類の栄養的役割	183
3-4-2. その他の菌類の役割	184
3-4-3. 共生菌の取り込み時期	185
3-4-4. 幼虫の存在と共生菌の繁殖状態との関連性	185
第4章 ハネミジカキクイムシとその共生菌	
4-1. 緒 言	186
4-2. 材料と方法	
4-2-1. ハネミジカキクイムシの概要	186
4-2-2. 生態と共生菌の調査方法	186
4-3. 結 果	
4-3-1. ハネミジカキクイムシの生活史と生態	187
4-3-2. mycangia 内菌相の遷移	188
4-3-3. 抗道内菌相の遷移	188
4-3-4. SEM 観察	190
4-4. 考 察	
4-4-1. ハネミジカキクイムシの主栄養源と共生菌の取り込み時期	190
4-4-2. サクキクイムシの共生菌との相違点	191
第5章 総合考察	
5-1. 3種のキクイムシの類縁関係と共生菌の近縁度について	192
5-2. 抗道内菌類の栄養的役割	
5-2-1. <i>Ambrosiella</i> 属と酵母類の役割	192
5-2-2. その他の菌類の役割	193

5-3. mycangia の形状と共生菌の分離率	193
5-4. キクイムシ抗道タイプと共生菌相の遷移様式との関連性	194
5-5. 養菌性キクイムシとその共生菌との相利共生関係	195
5-6. 今後の課題	196
謝　　辞	198
引用文献	199
摘　　要	204
Summary	206
付　　録 分離された菌の記載	208
1-1. <i>Ambrosiella</i> sp. 1	
1-2. <i>Ambrosiella</i> sp. 2	
1-3. <i>Ambrosiella</i> sp. 3	
2-1. <i>Pichia nakazawae</i>	
2-2. <i>Hansenula bimundalis</i>	
2-3. <i>Saccharomyopsis capsularis</i>	
2-4. <i>Candida rhagii</i>	
3-1. <i>Paecilomyces</i> sp.	
3-2. <i>Cephalosporium</i> sp.	
写真.....	213

衣浦晴生：名古屋大学農学部森林保護学研究室（現：森林総合研究所東北支所）
 （受理：1993年6月24日）

Haruo KINUURA : Laboratory of Forest Protection, School of Agriculture, Nagoya 464-01, Japan (Present Address : Tohoku Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute, Morioka 020-01, Japan)

(Received : June 24, 1993)

※本論文は名古屋大学に提出した博士学位論文である。

序 章

1. 養菌性キクイムシ (ambrosia beetles) とは?

昆虫類の食物は多種多様であり、植物、動物、およびそれらの腐敗物や排泄物など、ほとんどあらゆる有機物に及んでいる。これらは食性により、食肉性 (zoophagous), 食植性 (phytophagous), 食腐性 (saprophagous), 雜食性 (pantophagous) などに大別され、その中で昆虫の種の過半数は食植性といわれている(松本ら, 1979)。その中でも、生きた植物質を食物とする昆虫が最も一般的なものと考えられているが、樹木の材質部を摂食する昆虫も甲虫類を中心存在している。

樹木の材質部はおもにセルロースとリグニンで構成されているが、このいずれもが昆虫自身が持つ酵素のみではほとんど分解されず (Haack and Slansky, 1987), またこの材質部のみでは、窒素分や必須ビタミンB群などの栄養素が決定的に不足している (Baker, 1963)。そのため他の有機物と比較して樹木材質部は、昆虫にとって栄養価が低い食物と言うことができる。それゆえ、これらを主栄養源として繁殖・生育する昆虫類は、昔から栄養生理学的な側面から大きな興味を引きつけてきた。

実際には、これらの昆虫の大部分は、シロアリ類のように消化管に微生物を共生させてセルロースを分解させ、その分解産物あるいはその微生物の死骸を消化することで栄養を吸収していることが知られており、このように体内に共生微生物を保持することを“内部共生”と呼んでいる(石井, 1982)。これに対し、体内共生微生物によってセルロース等を分解するのではなく、人類が農業を営むように、共生微生物を自らが運搬して適当な場所でこれを培養し、その分解産物あるいはその微生物そのものを食物として利用する“外部共生”と呼ばれる関係を持つ昆虫類も存在する。このような昆虫類の中で最も代表的なものが、“養菌性キクイムシ (ambrosia beetles)”と呼ばれる一群である。

キクイムシ類は、分類学的には甲虫類 (鞘翅目: Coleoptera) グウムシ上科に属する、甲虫の中で最も進化した一群であり、ナガキクイムシ科、キクイムシ科の総称で 2 科に分類されるが、応用昆虫学的には一般に食性・生活場所によって大きく 2 つのグループに分類される。一方は、樹皮下穿孔性キクイムシ (bark beetles) と呼ばれ、形成層や韌皮部を摂食するグループで、キクイムシ科の半数以上を占めている。そしてもう一方が、本研究で扱う“養菌性キクイムシ (ambrosia beetles)”であり、材質部深く穿孔し、菌類と外部共生と呼ばれる関係を持つキクイムシ類である。この養菌性キクイムシは、アンブロシア菌 (*ambrosia fungi*) と総称される共生菌の胞子を、mycangia と呼ばれる胞子貯蔵器官内に貯蔵・運搬し、新しい抗道を形成する際にこれを抗道の壁面に接種し、幼虫は材そのものではなく繁殖した菌類を摂食して生育するという生活様式を持つことが知られている。このグループには、キクイムシ科の約 3 分の 1 とナガキクイムシ科全種が含まれる。これらの養菌性キクイムシ (*ambrosia beetles*) の穿入を受けた材では、辺材部に抗道が形成されるだけでなく、菌の繁殖している抗道周辺部が黒～黒褐色に変色するため、材の価値は著しく損なわれ、林業的な被害が大きいことから、森林害虫としても知られている。場合によっては、ブナ材の歩留まりが 4 割台にまで落ちるとさえ言われている (井上, 1948)。

このように養菌性キクイムシは、森林害虫として、また、あたかも人類が食糧を得るために農耕を行なうかのように、自らが持ち込んだ共生菌を培養し摂食するという極めてユニー

クな生活様式を営むことから、昆虫学のみならず、微生物学、樹病学などさまざまな方面から興味を持たれている昆虫である。

2. 養菌性キクイムシの研究の歴史と現状

養菌性キクイムシが木材そのものではなく、正体不明の白色物質を摂食していることは昔から知られており、Schmidberger (1836) はこれに “ambrosia (極めて美味なるもの、神々の食物)” という名称を与えた。1844年にHartigは、この白色物質が菌類であることを証明し、これらの菌のことを ambrosia fungi (アンブロシア菌) と呼ぶようになった。

養菌性キクイムシの新成虫が、この ambrosia fungi を新しい寄主に運搬する方法は長い間謎とされてきた。Neger (1911) は、この菌が成虫の消化管で運搬されると考え、Doane and Gilliland (1929) は外骨格への胞子の粘着作用によることを示唆したが、決定的な証拠は得られなかった。

その後 Nunberg (1951) は、*Trypodendron lineatum* の前胸側板の大きな盲嚢が共生菌を貯蔵・運搬する特別の器官であること、また他の属のキクイムシ前胸背板の凹みも同様の器官であることを示唆した。このことは Francke-Grosmann (1956) によってはじめて確認され、Batra (1963) はこの胞子貯蔵器官を、mycangium (*pl.* mycangia) と命名した。この mycangia の発見によって、キクイムシとアンブロシア菌との共生関係の維持機構に一応の解答が得られた。現在 mycangia はその存在部位によって、口腔、前胸背、前胸側板、基節窩、前・中胸背、鞘翅の 6 つの型に大別されている (Francke-Grosmann, 1963) が、まだ存在位置の確認されていない種が多い。

mycangia への共生菌の取り込み時期については、脱蛹直後であることが予想されていたが (Francke-Grosmann, 1963), ハンノキキクイムシに関してはそれが確認されている (Kaneko and Takagi, 1965)。またその方法に関しては、キクイムシの側にとっては受動的に、すなわち菌が mycangia 内へ侵入するという形で行なわれると予想されていたが、ハンノキキクイムシ、シイノコキクイムシでは、雌成虫の歩行活動に伴う mycangia の反転によって共生菌を接着させて取り入れる方法が観察され、むしろキクイムシの能動的な行動の結果、共生菌を取り込んでいることが明らかになった (高木, 1967)。また Xyloterini 族の雌成虫では、mycangia が亜基節窩の内骨格につながり、足の筋肉を動かすことで mycangia の開口部が開く (野淵, 1980) といった観察もある。

アンブロシア菌自身についても、これまで数多くの議論がなされてきた。Fisher *et al.* (1953) は、すべてのアンブロシア菌は同一の属であるとしたが、Graham (1952) は、アンブロシア菌の種はそのキクイムシごとに特殊化したものであり、それぞれが異なっているという説を提出した。また Francke-Grosmann (1956) は、アンブロシア菌が特殊化しているだけでなく、同一種内においても異なる系統の菌を持つことがあり得るとし、さらに分類学上近縁な養菌性キクイムシでは、共生菌も同一あるいは近縁であることを示唆した。また同一種類のキクイムシにおいても、寄生する樹種によって共生菌が異なるという考え方もある (中島, 1967)。

この中で Batra (1966) は、アンブロシア菌を養菌性キクイムシの生育における菌の重要性によって、①著しく種特異的で共生昆虫の分布域のみに存在し、幼虫生育期の抗道や飛翔中、あるいは穿孔中の成虫の mycangia から恒常的に分離される共生菌 (primary ambrosia

fungi: 以下, PAF) と, ②種特異性が見られず, 抗道内に常在はしないものの補足的に幼虫や新成虫の食料となると推測される菌 (auxiliary ambrosia fungi: 以下, AAF) とに分類した。

さらに Batra (1967) は, これまでに明らかにされたアンプロシア菌を整理し, キクイムシと共に存する菌類の中で酵母状に分裂・出芽し, モニリオイドチェーン (monilioid chain) と呼ばれる形態の分生胞子を形成する菌類について, *Ambrosiella* 属を創設し, 9 種の *Ambrosiella* 属の菌に関する検索表を作成した。その後 Francke-Grosmann (1967), Norris (1979) らもアンプロシア菌の記載を行なった。現在までに記載された共生菌は大部分が不完全世代しか確認されておらず, 完全世代が発見された種はほとんどが子のう菌類に属している (Beaver, 1989)。

そして最近では, 初期の考え方に対して, アンプロシア共生菌は種特異的 (1 種のキクイムシに対し 1 種類の共生菌が対応) ではなく, 養菌性キクイムシ類は, PAF と AAF を含めた共生微生物複合体 (mutualistic microbial complex) を摂食していると考えられるようになってきている (Haanstad and Norris, 1985; Beaver, 1989)。

しかしながら, 共生菌を本来必要としないはずの樹皮下キクイムシの体内から, mycangia やその共生菌の存在が報告されたり (Farris, 1969; Francke-Grosmann, 1967; Whitney and Farris, 1970), 共生菌の運搬方法も mycangia 以外の方法についての再検討が行なわれるなど (Francke-Grosmann, 1975), 現在でも, キクイムシとそのアンプロシア菌との共生関係に関する知見は混沌としており, 生態的, 生理的側面などを含めて, 不明な点が依然として数多く残されている。

3. 本研究の目的

アンプロシア菌発見以来すでに 100 年以上を経ているにもかかわらず, 上述のようにキクイムシとアンプロシア菌に関する知見はきわめて少ない。この理由としては, キクイムシ自身が 0.5~5.0 mm 程度と非常に微小な昆虫で同定が困難であること, 胞子貯蔵器官の位置が明らかにされている種が限られており, そこからのアンプロシア菌の分離が困難なこと, 分離された菌がキクイムシと真の共生関係にあることを確認することが非常に困難であること, さらにアンプロシア菌は二形態性 (dimorphic) または多形態性 (pleomorphic) で, ambrosia 状 (モニリオイドチェーンと呼ばれる分生子を形成), 酵母状, 菌糸状などさまざまな形態を取るために, 同定が非常に困難なことなどがあげられる。

また, これまでに mycangia, 抗道, 虫糞, 虫体表面などから数多くの共生菌類の分離が行なわれ, 多くの不完全菌類や, 半子のう菌類, 酵母類がアンプロシア菌として同定記載されてきたが, 分離時期, 分離方法, 分離場所などの記載が不十分であったり, 混乱していたりして再検討を要するデータも少なくない (中島, 私信)。

そこで本研究では, ミカドキクイムシ (*Scolytoplatypus mikado*), サクキクイムシ (*Xylosandrus crassiusculus*), ハネミジカキクイムシ (*Xylosandrus brevis*) の 3 種のキクイムシを研究対象とし, それらの生態調査を含めて, 以下のような観点から調査を行なった。

1. キクイムシの生育段階が進むにしたがって, 抗道内および mycangia 内の共生菌相はどういうに変化していくのか (*S. mikado* (第 2 章), *X. crassiusculus* (第 3 章), *X. brevis* (第 4 章))。

2. 主栄養源となる共生菌は何か。またその共生菌はいつ mycangia に取り込まれるのか(第 2~4 章)。
3. 抗道の位置によって、繁殖する菌類は異なるのか (第 2 章)。
4. 穿入樹種によって、共生菌は異なるのか (第 3 章)。
5. 多化性の種では世代間で共生菌相に差があるのか (第 3 章)。
6. 天然枯死木に穿入したキクイムシの共生菌相と、伐倒木に穿入したキクイムシの共生菌相は差があるのか (第 3 章)。
7. キクイムシの種、属によって共生菌は異なるのか (第 4 章、第 5 章)。

以上の点を中心に実験・調査を行ない、養菌性キクイムシとアンプロシア菌との共生関係を明らかにすることが、本研究の主たる目的である。

第1章 調査地と調査方法

1-1. 調査地の概要

本研究におけるキクイムシの採集および抗道の採取は、愛知県北東部の名古屋大学農学部附属演習林（35°11'N & 137°33'E：北設楽郡稻武町）とその周辺の広葉樹雜木林（中田和林道）およびヒノキ複層林（中当地区）で行なった（図1-1）。

調査地は標高910m前後に位置しており、演習林月ヶ平下における過去9年間平均の年平均気温は8.1°C（7.1~9.1°C）、年間降水量は2033mm（1741~2479mm）であった。

気候带としては暖温帶上限から冷温帶下部に属するものと考えられるが、植生としては比較的冷温帶性の種が多い。主要広葉樹は、ブナ、ナラ類（コナラ、ミズナラ）、シデ類（アカシデ、クマシデ）、カエデ類（ウリハダカエデ、コハウチワカエデ）、シロモジ、リョウブなどである。

地質は基岩の大部分が角閃黒雲母花こう岩からなり、土壤型は適潤性褐色森林土（B_b~B_d型）に属している（熊田ら、1976）。

1-2. キクイムシの採集方法

1-2-1. 本調査地における主要なキクイムシおよびその穿入樹種

樹皮下穿孔性キクイムシは、おもに形成層および靭皮部を摂食するため、穿入する樹種は非常に限定される傾向にある。これに対して養菌性キクイムシは、本質的には自らが持ち込む共生菌を摂食するので、共生菌がその樹体内で繁殖可能ならば樹種に関係なく穿入するはずである。実際、養菌性キクイムシは樹皮下キクイムシよりも穿入樹種の幅は広い傾向にあるが、その程度はキクイムシの種によって非常に異なる。

そこでキクイムシの加害樹種の選好性について調査するために、1985年6月から1987年12月まで、本調査地における優占樹種、特徴的な樹種を調査対象として選び、環状剥皮または伐倒によって枯損させ、そのまま材を林内に放置した。各種キクイムシ類の穿入後、実験室に搬入して材を切削したのち、穿入したキクイムシの種を同定した（表1-1）。その結果、最も加害されやすくかつ林内に豊富にある樹種は、クスノキ科のシロモジ（*Lindera triloba* (Sieb. et Zucc.) Bl.）であることが判明した（衣浦・金光、1988）。これらの結果をもとに、本研究における主要供試樹種をシロモジに決定し、その他の樹種は隨時伐倒して各実験に供試した。

さらに、このシロモジに穿入するキクイムシ類の中で個体数が多い種は、*Scolytoplatypus* 属のミカドキクイムシ（*S. mikado*）と、タイコンキクイムシ（*S. tycon*），*Xylosandrus* 属のハンノキキクイムシ（*X. germanus*），サクキキクイムシ（*X. crassiusculus*），ハネミジカキクイムシ（*X. brevis*）などであった。本研究ではこれらのうち、亜科の異なる種の比較および同属種同士の比較を行なうために、ミカドキクイムシとサクキキクイムシとハネミジカキクイムシの2属3種を研究対象として選び、これらのキクイムシについての生態および共生菌の調査を行なった。

1-2-2. 抗道内成虫および抗道の採取方法

キクイムシおよびキクイムシの抗道試料の採取は、1989年4月より1991年3月までの2

年間にわたって行なった。直径 2 cm から 10 cm のシロモジを毎週（11月から3月までの越冬期は隔週）4~5 本ずつ材内に伐倒放置し、毎週の直接観察でキクイムシ類の穿入が確認された場合には、その位置と穿入日を材の表面にマークした。キクイムシ類は穿入の際、かならずフラスと呼ばれる材の粉と糞との混合物を樹体外に排出するため、穿入位置を容易に確認できる。したがって、その大きさ、色、フラスの排出状態によって、穿入しているキクイムシの種や生育段階を推測することが可能である。

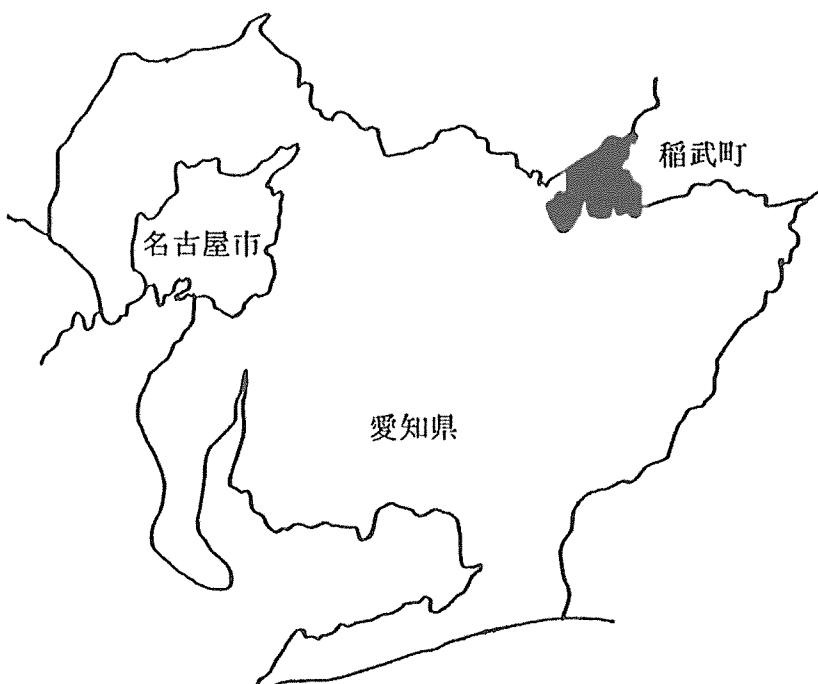


図 1-1 a. 調査地域

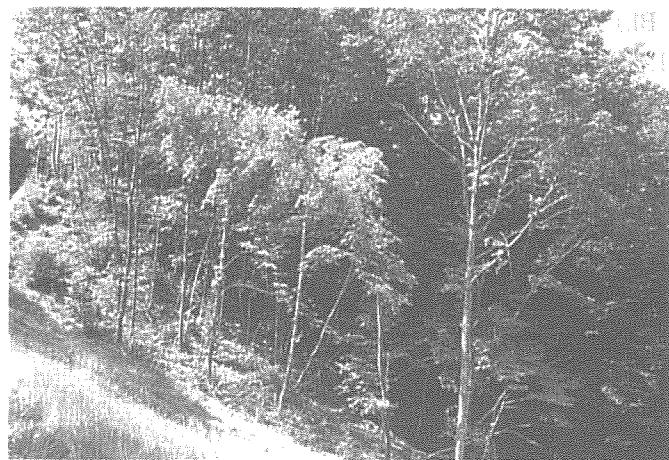


図 1-1 b. 調査地の概況

表1-1. 各種キクイムシの加害樹種

樹種名 Scolytid beetles	カアクセスヒ ラカラミギノ マママキ ツツツ	オアシミヤ ニカラズシ グシカメ ルデンバ ミ	ハクリミズ ンリナブ ノラナキ シ	ブナ ナラ	ケタホシマ ヤムオロシ キシバ	カサオシキ マクオラズ モサジク	ヤヌマカ マルユミ ウデミ	アワブ ラ	コミズ シヨジオ アキブ モ
<i>Scolytus frontalis</i>				+					
<i>Hyorrhynchus lewisi</i>					+	+		+	++
<i>Hylastes parallelus</i>	+								
<i>Tomicus piniperda</i>	卅卅								
<i>Phloeosinus izuensis</i>					+			+	
<i>P. lewisi</i>	卅卅								
<i>P. perlatus</i>	卅卅								
<i>P. rufus</i>	卅卅								
<i>Cryphalus fulvus</i>	卅卅	+							
<i>C. laricis</i>									
<i>C. sp.</i>									
<i>Hypothenemus eruditus</i>		+	+		+				
<i>H. sp.</i>	+								
<i>Indocryphalus pubipennis</i>				+	廿			廿	
<i>Crypturgus pusillus</i>	+								
<i>Poecilips nubilus</i>	+								
<i>P. sp.1</i>	+								
<i>P. sp.2</i>	+					+			
<i>Xylosandrus brevis</i>									
<i>X. crassiusculus</i>	+								
<i>X. germanus</i>		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Xyleborus ampullatus</i>	+								
<i>X. lewisi</i>									
<i>X. minutus</i>		+							
<i>X. multilobatus</i>									
<i>X. octiesdentatus</i>									
<i>X. rubricollis</i>									
<i>X. saxeseni</i>		+							
<i>X. seiryorensis</i>									
<i>X. seriatus</i>	+								
<i>X. validus</i>	+	+							
<i>Orthotomicus angulatus</i>	+								
<i>O. tosaensis</i>	++								
<i>Scolytoplatus mikado</i>				+	++				
<i>S. tycon</i>			+		+			++	
<i>Crossotarsus niponicus</i>				+				+	

キクイムシの穿入が確認された材のなかから、各生育段階の抗道が含まれていると考えられる部分を実験室に搬入し、試料材とした。その後隨時これらの材を切断して、卵、幼虫、蛹、未成熟成虫、新成虫、および各生育段階の抗道の採取を行ない、実験に供試した。ここで未成熟成虫とは、脱蛹後まだ体色が黒化しておらず体が軟らかい成虫のことである。採取した材は乾燥を防ぐために、切断後直ちに切口にシリコンペーストを塗布し、搬入後1週間以内に供試した。シロモジ以外の樹種からのキクイムシ抗道の採取も、ほぼ同様の方法によって行なった。

1-2-3. 飛翔分散成虫の採集方法

キクイムシ類が越冬中のシロモジ材を1989年2月に林内で採取し、野外の網室(1.8×1.8×1.8 m)または室内の飼育箱(30×60×35 cm)に搬入して、越冬成虫および越冬抗道試料

を採集した。さらに、1989年4月より抗道から脱出して分散飛翔はじめたキクイムシを、飛翔成虫試料として網室および飼育箱で採集した。

1-3. 生態の調査方法

1-3-1. 材内における生活史および生存率

キクイムシおよび抗道試料採取と並行して、材内における生活史の調査を行なった。実験室に搬入した材の一部を毎週切削し、材の伐倒日や直径、穿入密度、各キクイムシの穿入日や生育段階、産卵数や抗道長などの諸量を測定し、材内の生活史、産卵数、生存率など調査した。

1-3-2. 樹体外における生活史

キクイムシが樹体外、すなわち外界で生存する期間は非常に短く、この間の動態に関しては、いずれの種においてもほとんど知られていない。また、林木の揮発成分を主体とする誘因化合物を利用した松くい虫誘引トラップは、野外におけるマツ害虫の相対的密度と季節消長を知る上で有効な手段であるが(野平・小川, 1985 a, b; 槇原, 1988 a, b), これらのトラップには、マツノマダラカミキリ以外にもゾウムシや本研究で扱うキクイムシなど、様々な昆虫が捕獲されることが知られている(野平, 1986; 吉川, 1987; 衣浦ら, 1989)。

そこで、アカマツ天然林、スギ・ヒノキ人工林、ヒノキ複層林および広葉樹林の4つの植生の異なる林分において、松くい虫誘引トラップによってキクイムシ類の採集を行ない、捕獲したキクイムシ類の種名、個体数、飛来時期などを調査した(各林分の詳細については2-2-2. 参照)。



図1-2. キクイムシ飛翔成虫誘引トラップ(マダラコール)

飛翔成虫の採集は、1990年4月から11月まで行なった。誘引剤は α -ピネンを主成分とするマダラコール（サンケイ化学社製）を使用し、また誘引器は黒色湿式のものを、生立木を利用して約1.5mの高さに各林分2個ずつ計8個設置した。採集は週に1回行ない、誘引剤は2週間に1回交換した（図1-2）。

1-4. 共生菌の調査方法

1-4-1. 孢子貯蔵器官（mycangia）内の菌相

採集した成虫の体表面には、多くの場合、本来キクイムシとは関係の無い夾雜物や雑菌が付着している。したがって、成虫の mycangia から真の共生菌を分離するためには、まず体表面から雑菌を除去しなければならない。

成虫の無菌化の方法には、0.2%HgCl₂や70%アルコールなどによって虫体表面を洗浄する方法があるが（Baker and Norris, 1967; Haanstad and Norris, 1985），これらの方法では成虫自身を衰弱させ mycangia 内の共生菌にも影響を及ぼす恐れがあることから、本研究においては、成虫の雑菌除去処理には以下のようない方法(Francke-Grossmann, 1956; Batra, 1986) を用いた。

表1-2. 培地組成

培地	YM	CM	PD
Potato-Dextrose-Agar (PDA)	—	—	39g
合成培地 (Difco 社製)	—	—	—
Glucose	10g	20g	—
Peptone	5g	10g	—
Yeast extract	3g	5g	—
Malt extract	3g	—	—
MgSO ₄ —7H ₂ O	—	2g	—
K ₂ HPO ₄	—	5g	—
Distilled water	1000ml	1000ml	1000ml

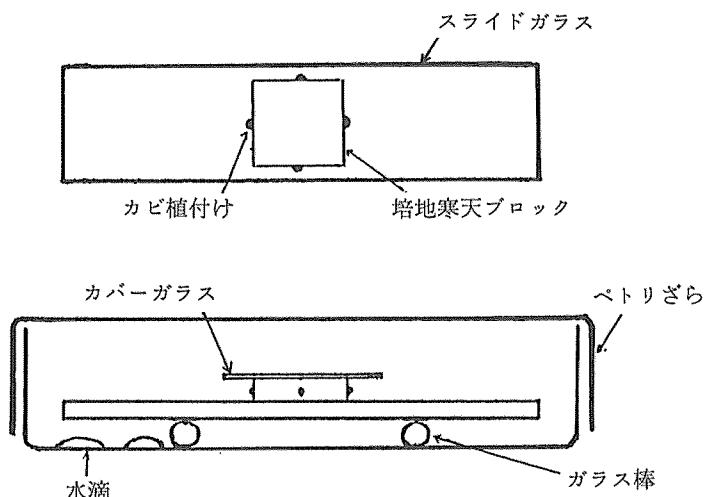


図1-3. スライド培養法

- (1) 滅菌ペトリ皿中のろ紙を滅菌水で湿らせ、その上をキクイムシ成虫に2時間這わせる。
- (2) ペトリ皿を交換し、別の湿ったろ紙の上をさらに12時間這わせる。
- (3) 乾いたら紙の上を12時間這わせる。
- (4) (2)と(3)の操作を3回繰り返す。

このようにして雑菌を除去した成虫をPD寒天培地中に固定し、双眼実体顕微鏡下で解剖してmycangiaを分離した。これを寒天培地に直接接種し、25℃一定暗条件で培養して共生菌の分離を行なった。培地組成を表1-2に示す。各培地にはバクテリアによる汚染を防ぐため、硫酸ストレプトマイシンを約100 ppmの濃度になるように添加した。

分離した菌類の同定は、スライド培養法(図1-3)によって胞子、分生胞子の形状、性状、色などを観察し、子のう菌は宇田川ら(1986)、不完全菌はBatra(1967)、von Arx(1981)、Barnett and Hunter(1987)、酵母類は飯塚ら(1969)、長谷川(1984)、Barnett *et al.*(1990)の文献によって行なった。

1-4-2. 抗道内の菌相

抗道内菌相の調査には、固定培地への直接分離法を用いた。

採取した材を各キクイムシの穿入孔を中心にして1つの抗道全体が含まれる長さに切断して試料片とした。さらにこの表面を火炎滅菌し、ナタ、ナイフによって抗道内を無菌的に露出させ、各生育段階のキクイムシを抗道から取り除いた。その後直ちに、抗道内で繁殖している菌相を1白金耳量かきとり、mycangia内の菌相の分離同様、各寒天培地に直接接種した。これを25℃一定暗条件で培養し、共生菌の分離を行なった。抗道内における分離位置は各章において詳細に述べる。

1-4-3. 走査型電子顕微鏡(SEM)による直接観察

一般に、肉眼で見えない菌類の種類や量を調べるには、分離培養法が用いられている。ところがこの方法では、分離方法や使用する培地の種類、培養条件などによって異なる菌が分離される可能性があり、分離結果が真の菌相を反映していない危険性がある。そこで今回の実験では、通常の分離試験と並行して、走査型電子顕微鏡(SEM)による実際の抗道内壁上の菌の観察を行なった。SEMは分解能が高く焦点深度が著しく大きいことから、高分解能型実体顕微鏡と言うことができる。観察は、試料に照射した電子ビームの反射二次電子を増幅し、陰極線管(CRT)に映すことによって行なう。そのために、良質の画像を得るために観察する試料を高真空環境と電子線照射に耐えられるように物理的・化学的に安定させる必要がある(固定)。試料固定法には、アルデヒドとオスミウム酸による二重固定、あるいはオスミウム酸単独による固定などの方法がある。また電導性のない生物試料は、連続的な電子線照射によってマイナスに帯電する(charge-up)ので、二次電子の発生が乱されでこれをなくす目的と、二次電子発生量を増加させる目的で、試料表面をコーティングする必要がある。この方法には、真空蒸着法、イオンスパッタコーティング法などがある(赤堀、1982)。

本研究におけるキクイムシ抗道内共生菌の固定にはオスミウム酸(O_3O_4)蒸気固定法を用い、コーティングは炭素と金の二重蒸着法を用いた。オスミウム酸蒸気固定は菌の組織には損傷を与えないで、自然状態の抗道内壁が観察できるとともに、オスミウム酸自体に電導性があるので、SEM観察時に試料が帶電することを避けることができる利点がある。観察にはJSM-T 20(日本電子製)を使用した。

第2章 ミカドキクイムシとその共生菌

2-1. 緒 言

養菌性キクイムシ (ambrosia beetles) とその共生菌 (ambrosia fungi) との相互関係を解明するためには、まず林業的被害が大きく胞子貯蔵器官の位置が明らかにされているキクイムシを調査対象種とするのが適当であると考えられる。そこで、名古屋大学演習林内で最も個体数の多い養菌性キクイムシであるミカドキクイムシ (*Scolytoplatypus mikado* Blandford) について、まず未知の部分が多い養菌性キクイムシの生態についての調査を行ない、次に抗道内と mycangia 内から共生菌の分離を行ないながら、同時に SEM (走査型電子顕微鏡) によって実際の抗道内の観察を行なった。

2-2. 材料と方法

2-2-1. ミカドキクイムシの概要

ミカドキクイムシ (図 2-1) は日本全土および朝鮮、台湾に分布する、比較的大型でナガキクイムシ科 (Platypodidae) に類似したキクイムシである (Nobuchi, 1980)。このミカドキクイムシは、ブナ材を加害するキクイムシ類のなかでは、最も大きな経済的被害を与えている主要 3 種の 1 つにあげられている (井上, 1948)。

形態は雄雌異型で、体長は 3.5~4.5 mm ほどである。また一夫一妻性で、抗道型は梯子孔 (図 2-2) である。この抗道型は幼虫個室型とも呼ばれ、母虫が掘った水平孔 (母孔) に垂直に幼虫孔が配置され、*Scolytoplatypus* 属、*Trypodendron* 属などに普通に見られる抗道型である。外部形態的には、雄の触角は剣状で尖り、頭部は凹む。鞘翅は点列部が深く列間部は隆起し、斜面部前方で鋭く尖る。一方、雌の触角は橢円状で丸まり、頭部は凹まない。鞘翅は列間部が隆起せず尖らない。雌の前胸背の中央には小穴があるが、これが胞子貯蔵器官 (mycangia) の開口部となっている (野淵, 1974; 林ら, 1984)。

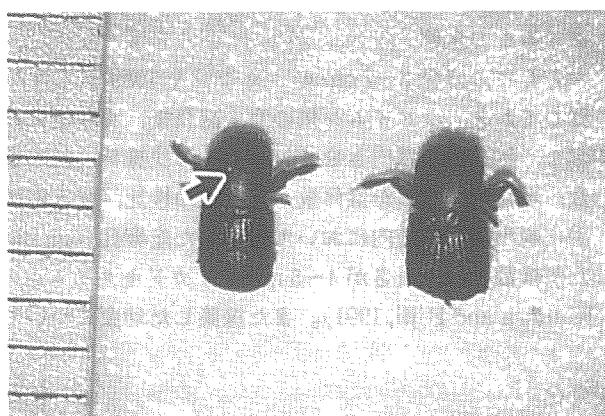


図 2-1. ミカドキクイムシ 左：雌成虫、右：雄成虫
矢印：胞子貯蔵器官

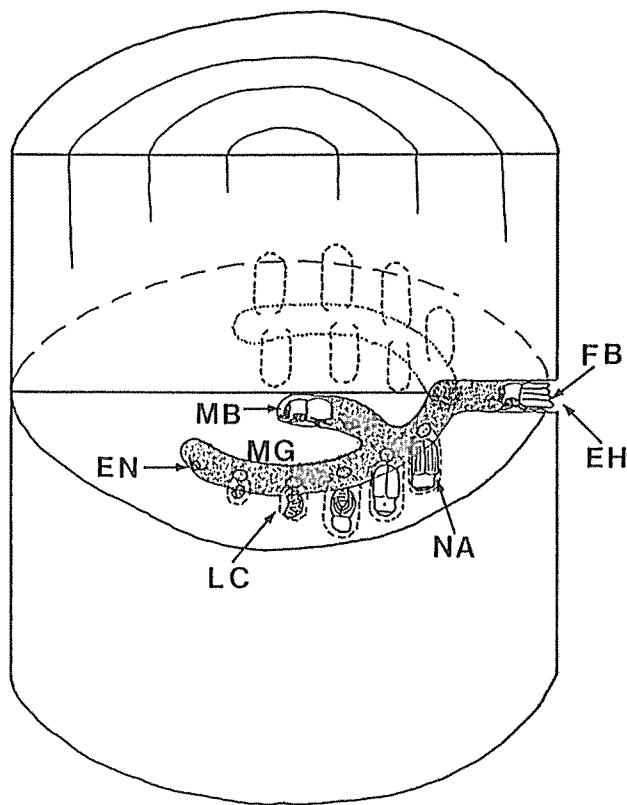


図2-2. ミカドキクイムシの抗道 EH: 穿入孔, EN: 産卵孔, FB: 雄成虫, LC: 幼虫孔,
MB: 雌成虫(母虫), MG: 母孔, NA: 新成虫

2-2-2. 生態の調査方法

a) 材内におけるキクイムシの生態

キクイムシの穿入木として、直径2~7cmのシロモジを1989年4月から8月にかけて林内で定期的に伐倒放置しておき、キクイムシ類の穿入確認後、実験室に持ち帰った。採集した材はその後隨時切削し、抗道内を露出させ、シロモジの伐採日、材の直径、ミカドキクイムシの穿入日、産卵数、羽化に成功した個体数、新成虫の性比、穿入密度などを記録した。ここで産卵数とは、羽化脱出後の抗道内において調査した産卵孔(egg niches)の数のことであり、羽化に成功した個体数とは、長さが4~5mm(ミカドキクイムシの体長)以上の幼虫孔数のことである(Kinuura and Hijii, 1991)。また採集した幼虫については、体重と頭幅を測定した。

b) 飛翔成虫の季節変化

飛翔個体数の季節変化を調べるために、アカマツ天然林、スギ・ヒノキ人工林、ヒノキ複層林および広葉樹林の4つの植生の異なる林分において、松くい虫誘引トラップによってミカドキクイムシ成虫の採集を行ない、個体数、飛来時期などを調査した。

調査は愛知県北設楽郡内の次の4林分で行なった。

1. 稲武町大井平のアカマツ天然二次林（南向き斜面の尾根筋: 15~20年生程度で下層植生はミツバツツジ, アセビ, ヤマウルシなど。スギ・ヒノキも侵入している。）
2. 稲武町林道中田和線沿いの広葉樹林（北向き斜面の沢筋: 薪炭材伐採用の雑木林でナラ類, シデ類, ミズキ, シラカンバ等が優占種。下層植生はミツバツツジ, シロモジ等。）
3. 稲武町演習林内月ヶ平のスギ人工林(西向き斜面の沢筋: スギ 30年生程度で林床は暗く, 下層植生はほとんど無い。)
4. 稲武町名倉のヒノキ複層林(なだらかな凸状地: 上層ヒノキ 63年生, 下層ヒノキ 10~17年生とヤマツツジ, シロモジ等の低木類。)

採集は1990年4月から11月まで行なった。誘引剤は α -ピネンを主成分とするマダラコール（サンケイ化学社製）を使用し、また誘引器は黒色湿式のものを生立木を利用して約1.5mの高さに、各林分2個ずつ計8個設置した。採集は週に1回行ない、誘引剤は2週間に1回交換した。

2-2-3. mycangia からの菌の分離

ミカドキクイムシの雌成虫を未成熟成虫、成熟成虫、越冬成虫、飛翔成虫、穿入成虫の5段階に分けて雑菌除去処理(1-4-1. 参照)し、それぞれの健全個体をPD寒天培地に固定して、ウェッケル剪刃、ピンセットによって双眼顕微鏡下で解剖した。ここで未成熟成虫とは、体色が黒化しておらず鞘翅の硬化する前の成虫のことである。

ミカドキクイムシのmycangiaは前胸背中央に存在し、肉眼でも確認することができるため、顕微鏡下で容易に分離できる。これをYMおよびCM寒天培地(表1-2)に接種し、25°C一定で培養して生育した菌類の分離同定を行なった。

2-2-4. 抗道からの菌の分離

採取したシロモジ材の中で、穿入孔の大きさ、フラスの排出状態などから判断して、ミカドキクイムシの穿入していると思われる部分を取り出し、1つの抗道が完全に含まれるように、穿入孔を中心にして約3cmの長さに切り出してこれを試料片とした。この試料片の表面を99%アルコールで拭いたのち火炎滅菌する操作を2~3回繰り返した。次に火炎滅菌したナタ、ナイフによって抗道内を露出させ、各生育段階に生育している次世代を無菌的に抗道から取り除いた。その後直ちに、各生育段階ごとに幼虫孔内で繁殖している菌相、および水平孔(母孔)内で繁殖している菌相をそれぞれ白金耳でかきとり、YMおよびCM寒天培地に接種した。これらを25°C一定暗条件で培養し、生育した菌類を分離・再分離したのち、同定を行なった。

ミカドキクイムシの抗道型は梯子孔であり、幼虫が母孔で生育することはないことから、母孔には特定の生育段階が単独で出現することはほとんどない。そこで本研究においては付近の幼虫孔内次世代の生育段階を母孔での生育段階とみなし、穿入~産卵期、幼虫~蛹期、越冬期、飛翔期の4段階に分けて菌類の分離を行なった。また幼虫については、体重と頭幅を測定した結果にもとづき(図2-3), $10^{-3}g$ 以下を幼虫前期、 $10^{-3}g$ 以上を幼虫後期と定義した。

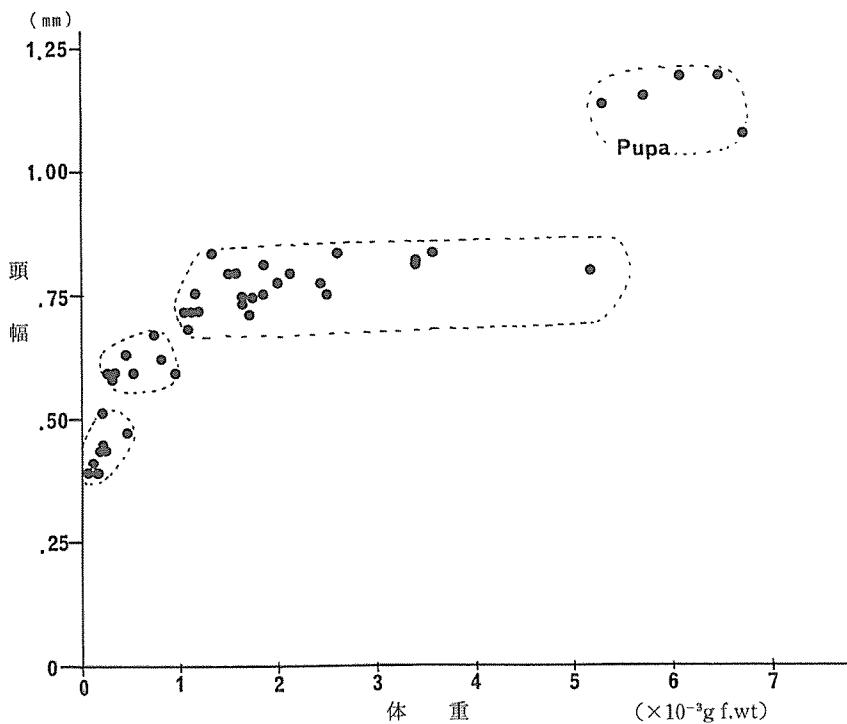


図2-3. 幼虫の体重と頭幅

2-2-5. SEMによる観察法

抗道の固定にはオスミウム酸蒸気固定法を用いた。

まずフラスの排出状態より、次世代がどの生育段階にあるかを推測し、必要とする生育段階を含むと考えられる部分を材より切り出して、試料片とした。これを抗道の内壁に触れないように注意しながら、ナタ、小刀を用いて割り、母虫、卵、幼虫などを取り除き抗道を露出させた。そして各生育段階(穿入期、産卵期、幼虫前期、幼虫後期、蛹期、未成熟成虫期、成熟成虫期、飛翔期)における水平孔、幼虫孔の試料を5~10 mmのブロック状に切り出し、固定する面を上にして小ペトリ皿(直径30 mm)内に置き、これを秤量ビン内に2%オスミウム酸とともに封入し、24時間以上放置して試料を固定した。黒化後、これを吸引デシケーターで8時間以上乾燥させたのち、銀ペーストによって試料台に貼りつけ、真空蒸着装置によってカーボン、金を蒸着してSEM観察用の試料を調整し、観察を行なった。

2-3. 結 果

2-3-1. ミカドキクイムシの生活史

ミカドキクイムシは、年2世代すなわち夏世代と越冬世代の生活史を持っており(図2-4)、繁殖習性は、Xyloterini族やScolytoplatypinae亜科、ナガキクイムシ科の全種と同様、一夫一妻性である(調査抗道数>100)。

ミカドキクイムシの生活史は、4月中旬から6月下旬まで続く越冬成虫の飛翔分散によって始まる。新しい穿入木への加害は、まず雌成虫が行なう。観察の結果、初めて誘引剤で捕

月		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
夏世代	卵期	Eggs											
	幼虫期	Larvae											
	蛹期	Pupae											
	新成虫期	New Adults											
	飛翔期	Dispersal											
	穿入期	Boring											
越冬世代	卵期	Eggs											
	幼虫期	Larvae											
	蛹期	Pupae											
	新成虫期	New Adults											
	越冬期	Overwintering											
	飛翔期	Dispersal											
月		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

図 2-4. ミカドキクイムシの生活史

獲された週の 2 週間後から分散成虫の穿入が確認されたことから、ミカドキクイムシは飛翔から穿入までに、2 週間以上を必要とすると考えられた。ただしその間の行動（後食等）については不明である。

新しく host となる可能性のある材に飛来した雌成虫は、樹皮の上を活発に歩行し材の状態を探査する。穿入に好適な材と判断した場合、穿入位置を決定し穿入孔を体長の 2 倍程度の長さにまで掘り進んだのち、雄成虫の飛来を待つ。やや遅れて飛来した雄成虫と穿入孔の外で交尾した雌成虫は、抗道を水平に伸ばしていき、その途中に上下に作った約 0.7 mm の小さな凹み(egg niche)に卵を 1 個ずつ産んでいく。母虫は、産卵と同時に共生菌の胞子を egg niche に接種する。egg niche の間隔は 2~4 mm 程度であったが、穿入する材が細くなるに従って狭くなる傾向が観察された。母虫の産卵行動は、母孔を 2~3 回分枝させながら約 3 週間続いた。母虫が抗道形成、産卵行動している間、雄成虫は鞘翅斜面部によって穿入孔をふさぎ、外敵、雨滴の侵入、抗道内の清掃、換気などを行なう。

産卵後約 1 週間で孵化した幼虫は、母虫が抗道内に接種し繁殖したアンプロシア菌を摂食して生育する。幼虫は生育とともに幼虫孔を材の繊維方向に広げながら、3~4 令幼虫を経たのちに蛹化する(図 2-3)。卵期から約 1 カ月で脱蛹し、このとき胞子貯蔵器官に共生菌の胞子を取り込み(Kinuura *et al.*, 1991), そのまま材内で成熟する。8 月上旬から 10 月上旬にかけて、この夏世代が飛翔分散を行なう。

新しい host に穿入した夏世代は、9 月から 10 月にわたって越冬世代を産卵する。夏世代と同様の生育過程を経たのち、越冬世代は 12 月までにほとんどの個体が羽化し、抗道内でそのまま越冬する。しかし遅い時期に産卵された一部の個体は、幼虫態または蛹態で越冬した(Kinuura and Hijii, 1991)。

2-3-2. 性比、産卵数および生存率

1 抗道内に 5 個体以上の成虫が生存している越冬抗道内の性比を、図 2-5 に示す(調査抗道数=53)。性比は各抗道によってかなりの差が見られたが、全調査個体数(661 個体)に占める雌成虫の比率が 0.49 であったことから、産卵性比はほぼ 1:1 であると考えられた。

図 2-6 は 1 抗道あたりの産卵数を表す。平均産卵数は 23.9 個(±15.5 S.E.)であったが、

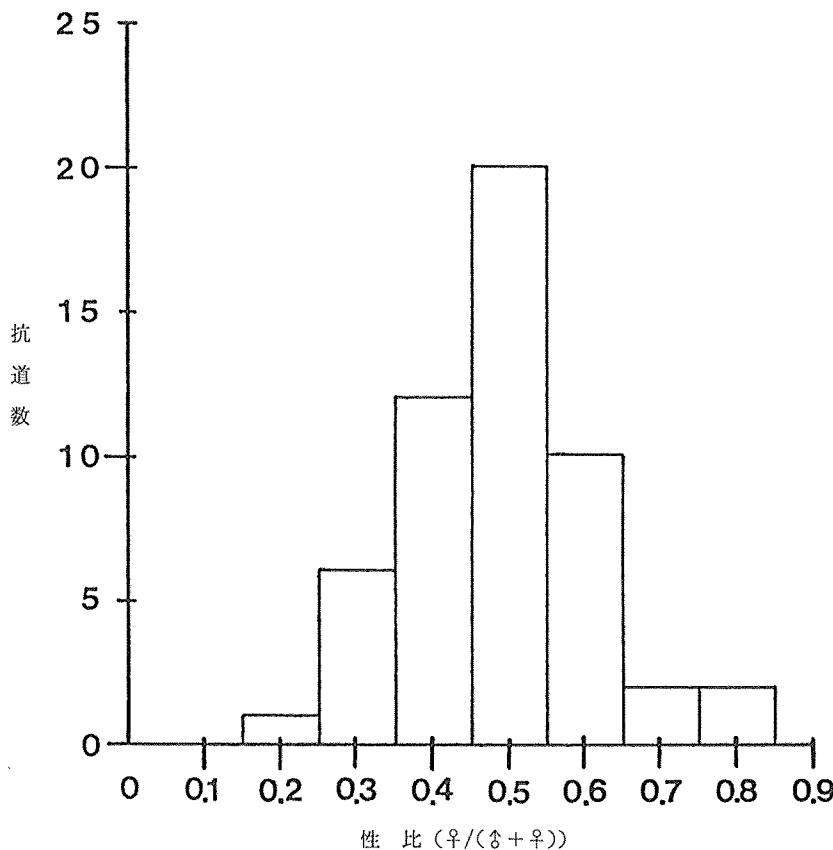


図 2-5. 抗道内新成虫の性比

抗道によって 0~103 個と大きな差がみられた。ただし産卵数が 30 個以下の抗道数が、全体の 70%以上を占めていた。また図 2-7 に示すように、抗道あたりの産卵数は、母虫の穿入する材の部位の直径が大きくなるに従って増加する傾向が認められた($r=0.47, p<0.001, n=194$)。

抗道あたりの産卵数と生存率との間には、正の相関が認められた($r=0.65, p<0.001, n=152$)。すなわち、産卵数が多い抗道ほど死亡率が低下する傾向がみられた。ただしここでいう生存率とは、ある抗道で羽化に成功した成虫数を、その抗道における産卵数で除したものである。さらに一頭も成虫にならない全滅抗道の比率も、産卵数が増加するに従って著しく低下した(図 2-8)。

2-3-3. 飛翔成虫の季節変化

誘引剤によって捕獲されたミカドキクイムシは、4 林分 8 トランプの合計で 2324 個体であった。これは全捕獲昆虫数の約 70%を占めている。捕獲個体数には 6 月上旬と 8 月中旬に明らかなピークが見られ、これはそれぞれ越冬世代と夏世代の飛翔分散に対応していると考えられる。また 2 つのピーク時期の差から、夏世代においては、穿入から飛翔までに 11 週間から 13 週間を必要とすることが推察される(図 2-9)。

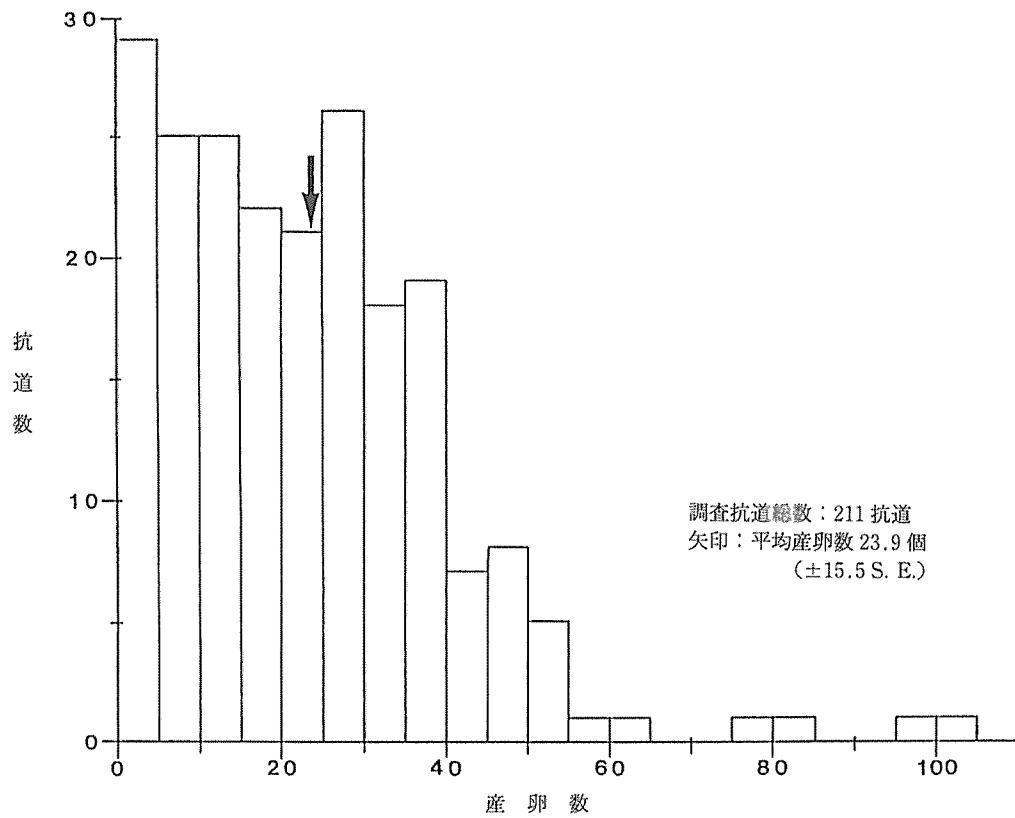


図 2-6. 1 抗道当たりの産卵数

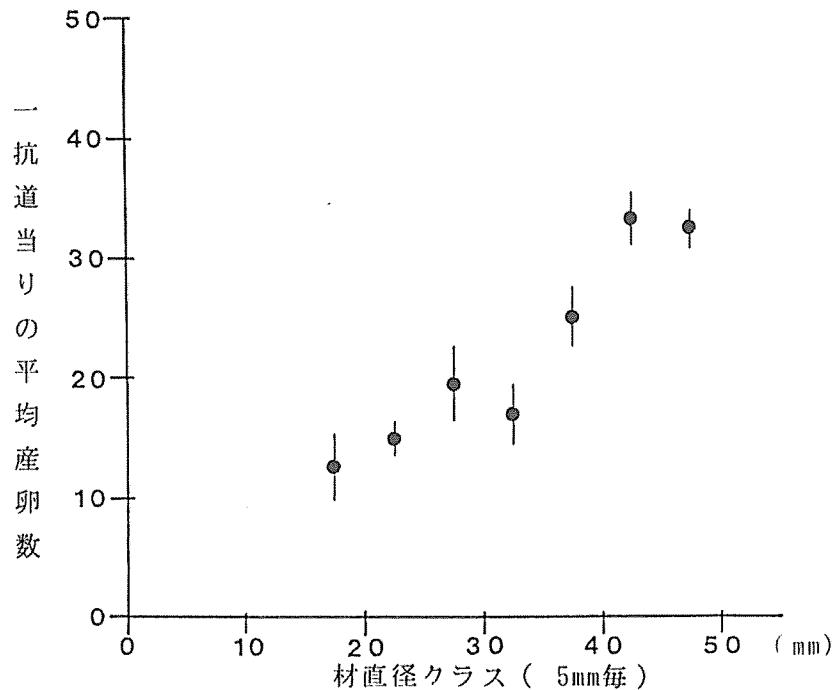


図 2-7. 産卵数と材直径 (Bar: 標準誤差)

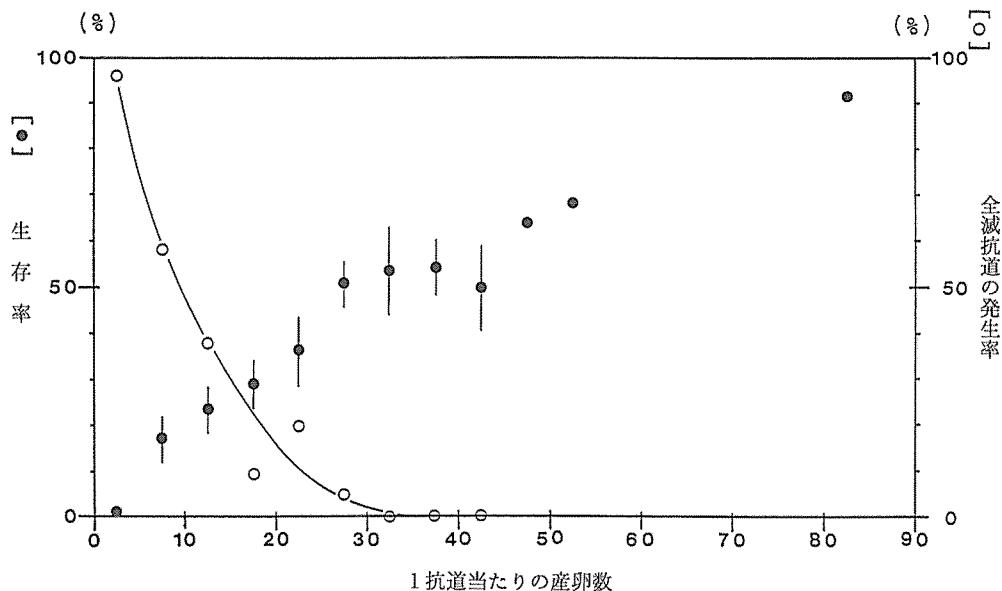


図2-8. 生存率に及ぼす産卵数の影響 (Bar: 標準誤差)

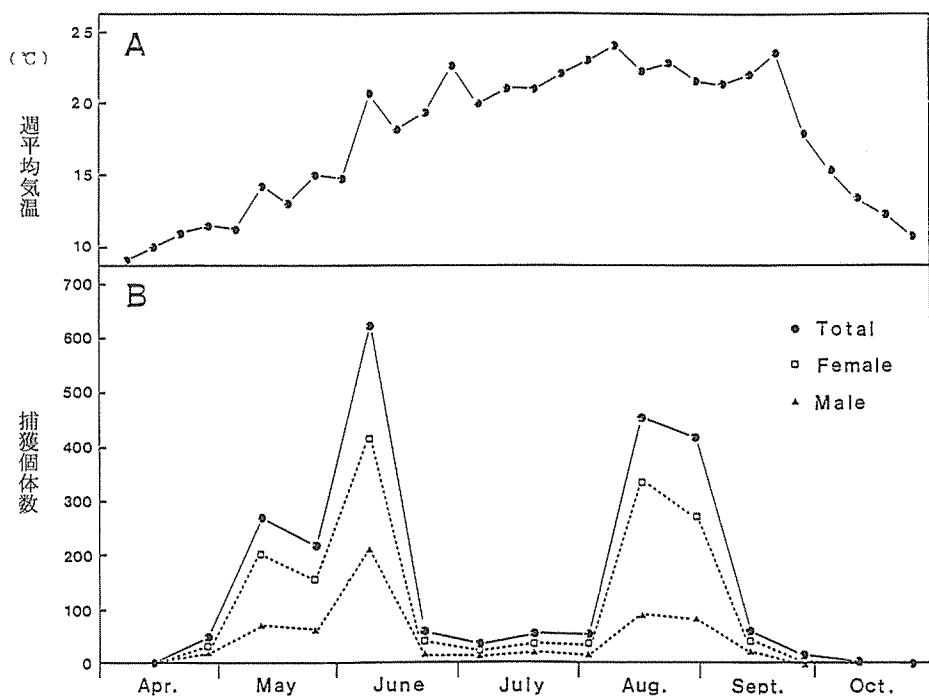


図2-9. 誘引トラップによって捕獲されたミカドキクイムシの季節変化

A: 日平均の週平均気温

B: 捕獲個体数 (捕獲総数: 2324個体)

表2-1. ミカドキクイムシの mycangia から分離された菌類

生育段階	未成熟成虫	成熟成虫	越冬成虫	飛翔成虫	穿入成虫
供試数 (A)	9	28	39	20	31
分離数 (B)	5	28	49	21	28
分離率(B/A)	0.56	1.00	1.26	1.05	0.90
<i>Ambrosiella</i> sp.1	2	0	1	14	12
Yeast-like fungi	2	2	18	2	6
<i>Paecilomyces</i> sp.	1	23	30	3	3
<i>Ceratocystis</i> sp.	0	2	0	2	2
Unidentified spp.	0	1	0	0	5

表2-2. ミカドキクイムシの母孔から分離された菌類

生育段階	穿入一産卵期	幼虫一蛹期	越冬期	飛翔期
供試数 (A)	9	7	8	20
分離数 (B)	0	4	9	20
分離率(B/A)	0	0.57	1.13	1.00
<i>Ambrosiella</i> sp.1	0	3	0	0
Yeast-like fungi	0	0	2	0
<i>Paecilomyces</i> sp.	0	0	7	20
<i>Ceratocystis</i> sp.	0	1	1	0

雄成虫と雌成虫で分散パターンに性差は見られなかったが、捕獲された個体数は約70%が雌であった。産卵性比がほぼ1:1と推定されたことから(図2-5)，雄の約2倍の雌個体が採集された理由は、マダラコールの誘引力が雄と雌で異なっていたためと考えられる。

2-3-4. mycangia 内菌相の遷移

ミカドキクイムシ雌成虫の mycangia より分離された菌相の変化および分離率を、図2-10、表2-1に示す。表中の供試数および分離数は、各分離培地を合計した値で示している。

ここではまず分離数/供試数を、分離された菌種の「豊富さ」の基準(以下、「分離率」として考える。表2-1に示すように、分離率は未成熟成虫期においては低かったものの、その後上昇し、飛翔期新穿入期に再び下がる傾向が認められた。

また菌相は、未成熟成虫期には *Ambrosiella* sp. 1 と酵母類、*Paecilomyces* sp. がわずかに分離されただけであったが、成熟成虫期・越冬期にはこの *Paecilomyces* sp. が優占的となり、飛翔期新穿入期には逆に *Ambrosiella* sp. 1 が優占種となった(図2-10)。

2-3-5. 抗道内菌相の遷移

a) 母孔

表2-2の分離率が示すように、穿入卵期には全く菌が分離されなかつたが、幼虫・蛹期のあたりから少しづつ分離されるようになり、新成虫期に最大となつた。

一方菌相では、幼虫期には *Ambrosiella* sp. 1 が優占的であったが、新成虫期以降は全く出現しなかつた。新成虫期・飛翔期には *Paecilomyces* sp. が優占種となり、とくに飛翔期には *Paecilomyces* sp. のみが分離された(図2-11)。

表2-3. ミカドキクイムシの幼虫孔から分離された菌類

生育段階	産卵期	幼虫前期	幼虫後期	蛹期	新成虫期	越冬期	飛翔期
供試数(A)	23	37	31	20	20	17	26
分離数(B)	18	46	39	24	20	21	26
分離率(B/A)	0.78	1.24	1.26	1.20	1.00	1.24	1.00
<i>Ambrosiella</i> sp.1	11	27	23	13	0	0	0
Yeast-like fungi	6	13	10	10	0	5	0
<i>Paecilomyces</i> sp.	1	5	3	1	20	14	26
<i>Ceratocystis</i> sp.	0	0	2	0	0	0	0
Unidentified sp.	0	1	1	0	0	2	0

b) 幼虫孔

幼虫孔、蛹室より分離された菌相および分離率の変化を、図2-12、表2-3に示す。分離率の変化をみると、とくに幼虫期、蛹期において菌が孔内に豊富に存在し、卵期のみ若干少ないことが分かる。新世代が卵期から蛹期までの摂食活動を行なう時期においては、*Ambrosiella* sp. 1 が全体の約 60%，酵母類が 25~40% を占めたのに対し、新成虫が抗道内に現れてからは *Ambrosiella* sp. 1 は全く分離されなかった。一方、新成虫期と飛翔期においては、*Paecilomyces* sp. のみが分離された（図2-12）。

2-3-6. SEM観察

a) 母孔

母虫が穿入した直後の産卵孔が未形成の時期には、母孔は材の組織が露出したままの状態であり、共生菌が植え付けられた形跡は全く認められなかった。最初の産卵が行なわれた時期においても菌糸がわずかに伸長しているのみであり、そこでは、胞子形成は行なわれていなかった（写真-1）。幼虫・蛹期における幼虫孔付近の母孔では、幼虫孔内からあふれ出るよう、いわゆる“モニリオイドチェーン”と呼ばれる *Ambrosiella* 属に特徴的な分生胞子、および厚膜胞子が繁殖していたが、それ以外の場所では胞子は見当らず、菌糸が伸長しているのみであった。新成虫期・飛翔期になると *Paecilomyces* sp. と考えられる菌の分生子と分生子柄がいくらか繁殖するようになり、同時期の蛹室の内部と類似した状態となった（写真-2）。

母孔ではほとんどの生育段階を通じて菌相は貧弱であり、菌糸がわずかに伸長成長するのみであった。活発な分生子、分生胞子形成も認められず、母孔内は全体的に材組織が露出した状態にあった。

b) 幼虫孔

幼虫孔における菌の繁殖状態は、幼虫孔から分離された菌類の結果（2-3-5.）とほぼ一致した。産卵期には、菌糸の伸長が見られたが、胞子の形成は不活発でわずかに点在するのみであった。卵の周辺では菌糸、胞子ともにほとんど観察されず、卵は材組織上に直接接觸している状態にあった。さらに卵孔内ではモザイク状に菌糸が伸長し、胞子がわずかに発生しているのが認められた（写真-3）。孵化直後の1齢幼虫の幼虫孔では、共生菌は徐々に幼虫孔内全体に広がり、菌糸層も厚くなっていることがわかる。形態的には、直径 10 μm 前後の球状の分生胞子が数珠状に連なった“モニリオイドチェーン”が観察された（写真-4）。幼虫後期になるとさらに活発に柵状構造を形成し、幼虫孔内はアンブロシア菌で充満されるよう

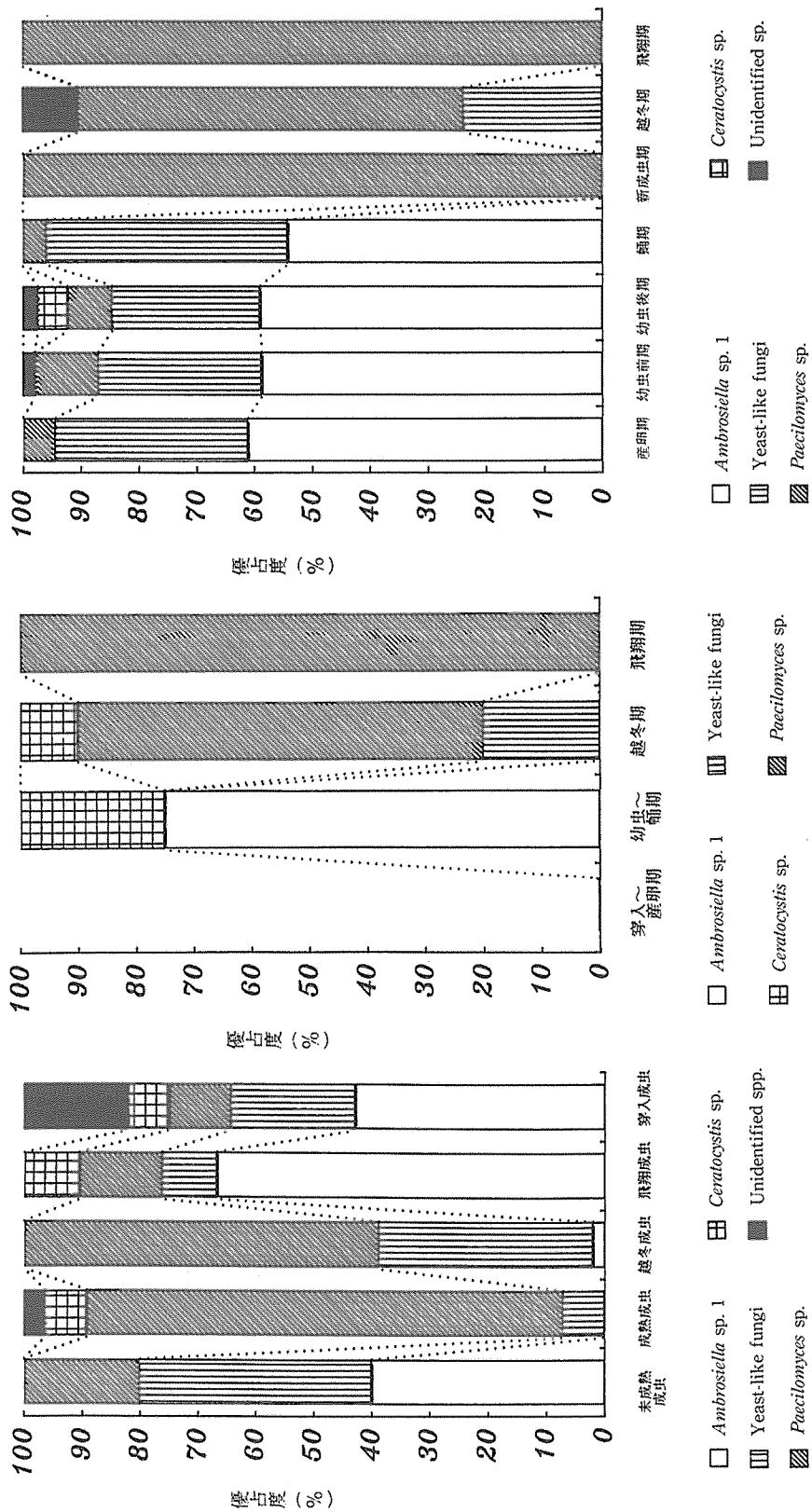


図2-10. mycangia から分離された菌類

図2-11. 母孔から分離された菌類

図2-12. 幼虫孔から分離された菌類

なったが、幼虫孔の奥の部分には菌層は全く観察されなかった。蛹期も幼虫後期と同様に、水平孔に近い部分では菌の繁殖状態はほぼピークに近い状態となるが、やはり蛹室(幼虫孔)の奥では菌層は全く見られなかった(写真-5 a, b)。

菌の状態に大きな変化が起きたのは、キクイムシが体色の白い未成熟成虫(callow adult)から黒色の成熟成虫(sclerotized adult)になる時期であった。それまで蛹室内の母孔側で繁殖していたアンブロシア菌の分生子、分生胞子は、形が崩れたり菌糸に変化しつつあり(写真-6)，このほか酵母と考えられる菌も観察されるようになった。新成虫期には、幼虫・蛹期において活発に繁殖していたモニリオイドチェーン状の分生胞子が急に姿を消し、材組織が露出はじめた。また *Paecilomyces* sp. の分生子柄が所々に観察され、その胞子と考えられるものが拡散していた(写真-7)。越冬期・飛翔期における幼虫孔は、新成虫期とほぼ同様の状態であった。

2-4. 考 察

2-4-1. 養菌性キクイムシの密度維持機構

養菌性キクイムシの生態上興味深い点は、しばしば突発的な密度上昇がみられることであろう(高木, 1967)。今回の調査の結果、ミカドキクイムシがかなり高い産卵能力を持つこと、また産卵数と生存率との間に正の相関関係が存在することが明らかにされたが、このことは本種が産卵数を増加させ得る条件さえ整えば、次世代の個体数を飛躍的に増加させることができることを示すものと考えられる。

一方、産卵数と穿入部位の材の直径との間には正の相関が見られたのに対し、材中における抗道の密度との間には相関が見られなかった。樹皮下穿孔性キクイムシ(bark beetles)の場合、産卵数が上昇し材中の抗道が高密度になると、幼虫の栄養源である形成層の量が相対的に減少し、死亡率が上昇することが報告されている(Reid, 1963; Berryman, 1973)。ところが養菌性キクイムシの場合、材は食物資源として利用する真の宿主ではなく、主たる栄養源であるアンブロシア共生菌を繁殖させる単なる生息場所ということができる。したがって、生息しうるだけの空間(材)が存在し、物理的に好適な条件が保たれれば、高密度下においても餌資源の不足は、bark beetles の場合ほど深刻にはならないであろう。材の直径の増大にともなう産卵数の増加は、生活空間の拡大と同時に、菌の繁殖環境の好適性(含水率の安定化など)が上昇した結果であると考えられる。さらに、養菌性キクイムシは産卵されてから成虫になるまで常に材内で生活することから、成虫に生育するまで親虫、または母虫によって天敵類から保護されており、外界で活動するのは飛翔分散から穿入するまでのわずかな期間にすぎない。

これらの結果を総合すると、台風や病害などで大量の枯損木や衰弱木が発生し、穿入に好適な宿主の量が増加すると、潜在的に大きな産卵能力を持つミカドキクイムシは産卵数を増加させることが可能となり、その結果、生存率も上昇して、個体数を飛躍的に増加させることが可能であると考えられる。

しかしミカドキクイムシが加害できるのは、新鮮な伐倒木あるいは著しい衰弱木などに限られている。本種に健全木を加害する能力はなく、また纖維飽和点まで乾燥した材や完全に腐朽した材にも穿入することはできない。したがって、健全な天然林や管理の行き届いた人工林などでは、繁殖に好適な材は非常に少なく、これらの林分内ではミカドキクイムシの

密度は低いレベルに抑えられていると思われる。

2-4-2. ミカドキクイムシの食物資源としての共生菌

一般に昆虫の摂食行動は、幼虫期において最も盛んである。ミカドキクイムシの場合、この時期の抗道内で *Ambrosiella* sp. 1 が最も優占的であること、また SEM においても、幼虫が摂食活動を行なう部分で最も豊富にモニリオイドチェーンを持つ分生胞子が観察されることから、この菌がミカドキクイムシの最も主要なアンブロシア共生菌であることはほぼ間違いない。飛翔期、新穿入期に mycangia から分離された菌相のなかで、*Ambrosiella* sp. 1 が最も優占的であることもこの事実を裏付けているものと考えられる。

この *Ambrosiella* sp. 1 のほかに、分離率は低いものの、卵・幼虫期の抗道および飛翔・穿入期の雌成虫の mycangia から常に分離されている菌に、酵母類と不完全菌の *Paecilomyces* sp. がある。Batra (1966) によれば、酵母類は AAF (auxiliary ambrosia fungi) とされており、また現在では、養菌性キクイムシ類は、その栄養源を 1 種類の共生菌だけではなく、糸状菌類、酵母類を含めた共生微生物複合体 (mutualistic microbial complex) に依存していると考えられている (Haanstad and Norris, 1985)。これらの結果から、ミカドキクイムシは *Ambrosiella* sp. 1 を主たる栄養源とし、酵母類と *Paecilomyces* sp. を副次的に摂食しているものと考えられる。

成熟成虫・越冬期の mycangia、新成虫・越冬・飛翔期において菌相を支配する不完全菌 *Paecilomyces* sp. の役割は明らかではないが、活動期ではないキクイムシの mycangia や越冬期の抗道から分離された唯一の菌であることから、アンブロシア菌自身と共生関係をもつ菌類であるか、またはアンブロシア菌そのものの栄養源となっている可能性もある。

2-4-3. 共生菌の取り込み時期

抗道内の菌類をいつ mycangia 内に取り込むかという点に関しては、ほとんど明らかにされていないが、ハンノキキクイムシ (*Xyleborus germanus*) では羽化直後 (Kaneko and Takagi, 1965)、ナガキキムシ類 (Platypodidae) では飛翔期の直前であることが報告されている (Nakashima, 1979)。ミカドキクイムシの場合、未成熟成虫期、飛翔期、新穿入期の mycangia から *Ambrosiella* sp. 1 が分離された。SEM 写真による観察によれば、蛹期において蛹室内の菌相は豊富であり、分離結果も *Ambrosiella* sp. 1 が優占種であった。しかし成熟成虫期、越冬期、飛翔期における蛹室内は放棄された抗道と類似しており、*Paecilomyces* sp. の胞子しか見当らなかった。したがってこれらの時期に共生菌を取り込むことは、mycangia に取り込むことができる胞子状の共生菌がすでに姿を消しているために、ほとんど不可能と考えられる。これらのことから、ミカドキクイムシは羽化直後のまだ体表の軟らかい新成虫期に、共生菌を mycangia 内に取り込んでいると推察される。

成熟成虫と越冬期成虫の mycangia からは *Ambrosiella* sp. 1 が全く分離されなかったが、この原因としては、同属のショーグンキクイムシ (*S. shogun*) の研究 (Nakashima et al., 1987)において越冬雌成虫の mycangia 内に共生菌の胞子が観察されたにもかかわらず、そこからの *Ambrosiella* sp. 1 の分離率が非常に低かったこと、また飛翔・越冬抗道からの菌の分離培養にも失敗していることなどから判断して、*Ambrosiella* sp. 1 の生理的活性が減少したためと考えられる。

2-4-4. 抗道内における幼虫・成虫の活動と菌の生育状態との関連性について

抗道内におけるキクイムシの存在および活動自体がアンブロシア共生菌の繁殖に影響を与えていたという可能性は、これまでのいくつかの研究によって指摘されてきた(Whitney, 1971; French and Roeper, 1975; 野淵, 1980)。このなかで Batra (1966) は、アンブロシア共生菌は成虫あるいは幼虫の摂食活動によって繁殖が促進されることを示唆した。

本研究において、幼虫期・蛹期の幼虫孔内では、主として *Ambrosiella* sp. 1 が分生胞子形成を行なっていた。さらに新成熟成虫期になると、*Ambrosiella* sp. 1 は急速に失活して菌層が衰退し、ambrosial phase の共生菌が、徐々に mycerial phase に変化し、かわって *Paecilomyces* sp. が優占種になるという菌相の遷移様式が明らかとなった。また幼虫孔からの菌の分離率と水平孔からの分離率と同じ生育段階で比較した場合、幼虫が活動している時期の幼虫孔のほうが、母虫の活動している水平孔よりも圧倒的に高い分離率を示した(表 2-2, 3, 4)。

これらの結果は、*Ambrosiella* sp. 1 の分生子形成が成虫の活動や成虫の分泌物質による作用ではなく、おもに幼虫の摂食活動、すなわち摂食による物理的な刺激、あるいは幼虫の出す分泌物質による化学的な刺激などによって促進されることを示唆するものと思われる。

表 2-4. 抗道および mycangia 内の菌類分離時期の対応表

幼虫孔		穿入期	幼虫 前期	幼虫 後期	蛹	新成虫期	越冬期	飛翔期
母孔	穿入——産卵期		幼虫——蛹期			越冬期		飛翔期
mycangia	穿入期				未成熟 成虫期	成熟 成虫期	越冬期	飛翔期

第3章 サクキクイムシとその共生菌

3-1. 緒 言

ミカドキクイムシとその共生菌（第2章）の調査により、母孔と幼虫孔では菌相や菌の分離率が大きく異なり、またキクイムシの生育段階が進むに従って抗道内の共生菌相は遷移していくことが明らかとなった。では、穿入樹種が異なる場合には共生菌相に違いがあるのだろうか。また、世代が異なる場合、さらに実験的に伐倒木に穿入させたキクイムシと天然枯死木に穿入したキクイムシの共生菌相の間には違いが見られるのであろうか。

これらのことを探るために、各樹種に穿入した *Xylosandrus* 属のサクキクイムシ (*X. crassiusculus* (Motschulsky)) を調査対象種として、基礎的な生態調査と、キクイムシの各生育段階ごとの mycangia および抗道からの菌類の分離を行ない、同時に SEM を用いて、実際の抗道内における共生菌の発育状況を観察した。

3-2. 材料と方法

3-2-1. サクキクイムシの概要

サクキクイムシ（図3-1）は日本、朝鮮半島、台湾、中国、東南アジア、太平洋州、インド、アフリカに分布し、日本で最も普通種であるハンノキキクイムシと同じ *Xylosandrus* 属に分類されるキクイムシで、抗道型は材質共同孔（図3-2）である。体色は赤褐色、雄雌異型で雌成虫の体長 2.4~2.7 mm、雄成虫は 1.0~2.0 mm の非常に小型の種である（林ら、1984）。本調査地においては個体数が多く、1本の材に集中的に加害すること、また独特の細い線香状のフラスを排出し他のキクイムシと区別しやすことなどから比較的容易に採集される。

このサクキクイムシは当初、Niisima(1909)によってサカクレノキクイムシ (*X. ebriosus*) と命名されたが、その後 *X. crassiusculus* と同種であることが判明し、サクキクイムシと改名された。

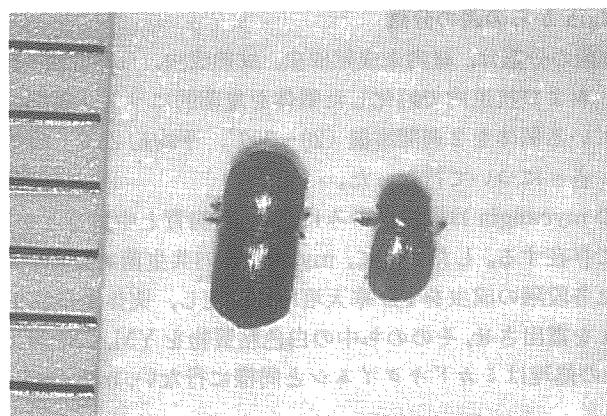


図3-1. サクキクイムシ 左: 雌成虫, 右: 雄成虫

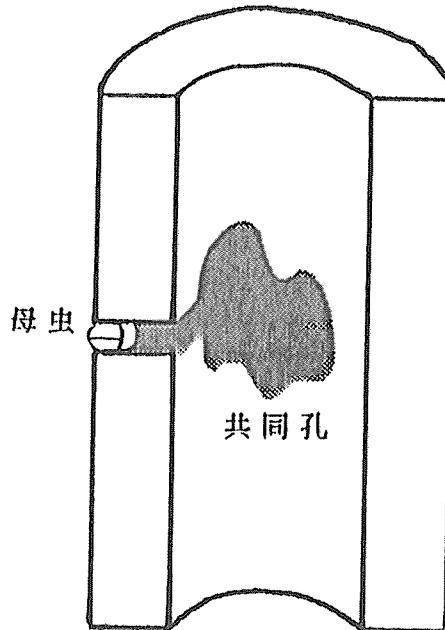


図3-2. サクキクイムシの抗道

3-2-2. 生態の調査方法

ミカドキクイムシの生態の調査方法と同様に、サクキクイムシの穿入しているシロモジ材を定期的に切削し、材の伐採日、穿入日、産卵数、新成虫の性比などを記録・測定し、材内における生態を調査した。前述の松くい虫誘因トラップにはほとんど捕獲されなかつたため、飛翔成虫の季節変化については明らかにできなかつた。

3-2-3. mycangia からの菌の分離

mycangia からの菌の分離は、材内未成熟成虫、成熟成虫、飛翔成虫、越冬成虫、穿入成虫の5段階の雌成虫、および抗道内で蛹化した個体を無菌的にペトリ皿内で脱蛹させた個体、さらに成虫越冬している個体を2週間室温(20~30°C、平均約25°C)暗条件下で滅菌ペトリ皿上に置いた個体、各々について行なつた。

サクキクイムシの mycangia は雌成虫のみにあり、前胸背と中胸背との節間膜の部分に、窪んだポーチ状の形で存在する。したがつて、mycangia 内共生菌を分離するために、まず雑菌除去処理を行なつた各段階の成虫を PD 寒天培地に固定し、実体顕微鏡下で前胸背を強く前屈させて mycangia を露出させ、その中の白色粘質物を YM, CM および PD 寒天培地に接種した。これ以降の処理はミカドキクイムシと同様に行ない、mycangia 内共生菌相の遷移を調査した。

3-2-4. 抗道からの菌の分離

穿入樹種による抗道内の菌相の違いを調査するため、キクイムシの穿入木としてシロモジ以外にウリハダカエデ(*Acer rufinerve* Sieb. et Zucc), ヤマウルシ(*Rhus trichocarpa* Miq.),

コナラ (*Quercus serrata* Thunb. ex Murray), アオハダ (*Ilex macropoda* Miq.) など、その林分における優占樹種、特徴的な樹種を、1990年4月から10月にかけて定期的に伐倒放置しておき、穿入時期、穿入孔の直径、フラスの排出状態などから生育段階を推測して、サクキクイムシが穿入していると考えられる部分を実験室に持ち帰った。またこれらの試験的な伐倒木以外に、立ち枯れ状態の天然枯死木にサクキクイムシが穿入しているのが確認されたため、この材も試料として採取した。

最終的に、①ヤマウルシの伐倒木に穿入した越冬世代の抗道、②アオハダの天然枯死木に穿入した夏世代の抗道、③ウリハダカエデの天然枯死木に穿入した夏世代の抗道と伐倒木に穿入した越冬世代の抗道、④シロモジの伐倒木に穿入した夏世代と越冬世代の抗道(表3-1)、以上4樹種からサクキクイムシの抗道を採取した。

以後、ミカドキクイムシの抗道内共生菌の分離と同様の処理を行ない、樹種別、世代別の抗道内共生菌の分離とそのSEM観察を行なった。分離培地はYM、CMおよびPD寒天培地を使用し、SEM観察にはシロモジ材中の抗道を使用した。

サクキクイムシの抗道型は材質共同孔で、母孔、幼虫孔などに分けることができないため、抗道からの菌の採取はすべて共同孔から行なった。また越冬世代の分離時期は、摂食活動を行なっている11月までを幼虫期、12月から2月までを越冬前期、3月から5月までを越冬後期とした。なおサクキクイムシでは、抗道の生育段階は、サクキクイムシの抗道型が材質共同孔であることから、抗道内に幼虫や蛹、新成虫などが混在している場合が多く見られたが、この場合は最も進んだ生育段階で各生育段階を代表させた。

表3-1. サクキクイムシの抗道を採取した樹種

樹種	穿入木	世代
ヤマウルシ	伐倒木	越冬世代
アオハダ	天然枯死木	夏世代
ウリハダカエデ	天然枯死木	夏世代
シロモジ	伐倒木 伐倒木 伐倒木	越冬世代 夏世代 越冬世代

3-3. 結 果

3-3-1. サクキクイムシの生活史と生態

サクキクイムシは年2世代発生し、一夫多妻性の繁殖習性をもつ。越冬世代の飛翔分散は他のキクイムシよりもかなり遅れて、6月末から始まり、8月上旬まで約1ヶ月半続いた(図3-3)。この時、産卵に適した新しい穿入木を発見した越冬世代の雌成虫(母虫)は、単独で材に穿孔する。穿入後約1週間で、穿入孔に続いて不定形の共同孔を形成し産卵する。共同孔内には産卵孔が形成されないため、サクキクイムシの産卵数を正確に把握することは困難であるが、今回の調査では最大45個、通常20個から30個の卵が抗道内に観察された。

産卵された次世代(夏世代)は順次孵化し、共同孔内で繁殖している共生菌を摂食しながら生育する。幼虫は約5週間から7週間で蛹化、羽化し、そのまま材内で成熟する。性比は極端に雌に偏り、羽化直後における抗道内の雌成虫の比率は0.89($n=5$)であった。雄成虫

月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
夏世代	卵期	Eggs					—					
	幼虫期	Larvae					—					
	蛹期	Pupae					—					
	新成虫期	New Adults					—					
	飛翔期	Dispersal					—					
	穿入期	Boring					—					
越冬世代	卵期	Eggs	—	幼虫越冬	—							
	幼虫期	Larvae		—								
	蛹期	Pupae			—							
	新成虫期	New Adults			—							
	飛翔期	Dispersal			—							
	穿入期	Boring			—							
月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

図3-3. サクキクイムシの生活史

は雌より小さく体も弱いため飛翔分散は行なわず、同一抗道内の雌成虫、または同じ材の近接した抗道の雌成虫と交尾したのち死亡する。夏世代の雌成虫は材内で交尾したのち8月末から10月にかけて飛翔分散をする。

新たに穿入する材を見つけた夏世代の雌成虫は、越冬世代と異なり、穿入後直ちに産卵せずに3~4週間後から産卵を開始する。孵化した幼虫は11月頃までかかってゆっくり老熟幼虫に成長したのち、そのまま幼虫越冬する。翌年の5~6月に休眠解除した幼虫は直ちに蛹化し、その後短期間で羽化して越冬世代と同様、材内で交尾した雌成虫は6月から8月にかけて飛翔分散する(1990年データ)。1989年の気温は、年間を通じて平年より下まわること多かったため、1990年よりも全体的に約2週間ずつ、生育段階に遅れがみられた。

また、夏世代のなかには秋に飛翔分散せず、羽化後そのまま抗道内で成虫越冬する個体も観察された。このことから、サクキクイムシは2化で幼虫越冬、まれに1化で成虫越冬すると考えられる。

3-3-2. mycangia 内菌相の遷移

羽化直後の未成熟成虫のmycangiaからは*Ambrosiella* sp.と酵母類が分離され、分離率はそれぞれ8%と42%であった(図3-4、表3-2)。サクキクイムシから分離された*Ambrosiella* sp.は、ミカドキクイムシから分離された*Ambrosiella* sp. 1とは培養的性質が明らかに異なっていたため、*Ambrosiella* sp. 2とした。

成熟成虫、飛翔成虫および越冬成虫からは*Ambrosiella* sp. 2のみが分離され、分離率も高かったが、越冬期には分離率が低下した。一方穿入期には、雑菌と考えられる糸状菌1株以外は*Ambrosiella* sp. 2のみが分離された。蛹を無菌的に脱蛹させた成虫のmycangiaから分離された菌類は非常に少なく、酵母類のみが12.5%の分離率で分離された。また、越冬成虫の室温処理個体のmycangiaからは、*Ambrosiella* sp. 2のみが100%分離された。

3-3-3. 抗道内菌相の遷移

全樹種を合計して、世代ごとにまとめた全体的な菌相の遷移様式を、図3-5、表3-3に示す。サクキクイムシの菌相の遷移様式はミカドキクイムシと共通点が多く、分離された菌類は、

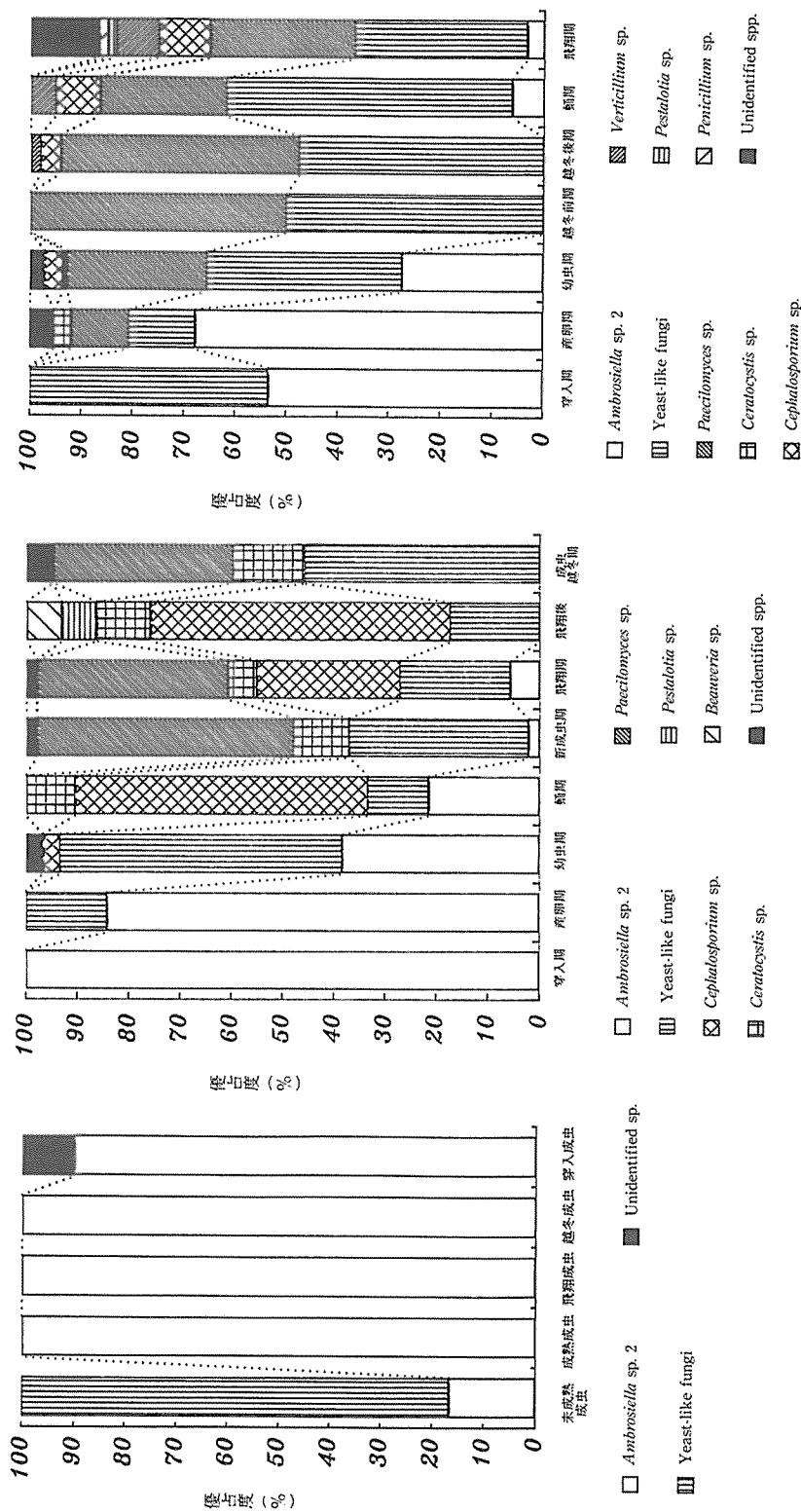


図3-4. mycangia から分離された菌類

図3-5 a. 抗道内から分離された菌類(夏世代)

図3-5 b. 抗道内から分離された菌類(越冬世代)

表3-2. サクキクイムシの mycangia から分離された共生菌

ステージ	未成熟成虫	成熟成虫	飛翔成虫	越冬成虫期	穿入成虫	室温処理越冬虫	無菌蛹→成虫
供試数 (A)	24	30	23	27	10	9	24
分離数 (B)	12	28	17	18	10	9	3
分離率(B/A)	0.50	0.93	0.74	0.67	1.00	1.00	0.13
<i>Ambrosiella</i> sp.2	2	28	17	18	9	9	
Yeast-like fungi	10						3
Unidentified sp.					1		

表3-3 a. サクキクイムシ夏世代の抗道内菌相の遷移

ステージ	穿入期	産卵期	幼虫期	蛹期	新成虫期	飛翔期	飛翔後	成虫越冬期
供試数 (A)	9	17	41	30	24	70	25	39
分離数 (B)	4	19	60	42	46	89	29	55
分離率(B/A)	0.44	1.12	1.46	1.40	1.92	1.27	1.16	1.41
<i>Ambrosiella</i> sp.2	4	16	23	9	1	5		
Yeast-like fungi		3	33	5	16	19	5	26
<i>Cephalosporium</i> sp.			2	24		25	17	
<i>Ceratocystis</i> sp.				4	5	5	3	8
<i>Paecilomyces</i> sp.					23	33		20
<i>Pestalotia</i> sp.							2	
<i>Beauveria</i> sp.							2	
Unidentified spp.			2		1	2		3

表3-3 b. サクキクイムシ越冬世代の抗道内菌相の遷移

ステージ	穿入期	産卵期	幼虫期	越冬前期	越冬後期	蛹期	飛翔期
供試数 (A)	102	48	93	27	54	45	36
分離数 (B)	58	62	139	54	101	81	59
分離率(B/A)	0.57	1.29	1.49	2.00	1.87	1.80	1.64
<i>Ambrosiella</i> sp.2	31	42	38			5	2
Yeast-like fungi	27	8	53	27	48	45	20
<i>Paecilomyces</i> sp.		7	38	27	47	20	17
<i>Ceratocystis</i> sp.		2	1				
<i>Cephalosporium</i> sp.			5		4	7	6
<i>Verticillium</i> sp.					2	4	5
<i>Pestalotia</i> sp.							1
<i>Penicillium</i> sp.							1
Unidentified spp.	3	4					8

Ambrosiella 属と酵母類、およびその他の菌類の3グループに大別された。

まず夏世代の抗道内菌相をみると、全体の菌類の分離率は、穿入期においては低いものの、産卵期・幼虫期と生育段階が進むにつれて高くなる傾向が認められた。また、新成虫期に最大となり、これを過ぎると再び低下する傾向も見られた。穿入期には *Ambrosiella* sp. 2のみが、また産卵期には *Ambrosiella* sp. 2 と酵母類が分離されたが、幼虫期・蛹期になるにしたがって他の菌類が分離されるようになり、*Ambrosiella* sp. 2 の分離率が明らかに低下した。新成虫期・飛翔分散期に入ると、*Ambrosiella* sp. 2 はほとんど分離されなくなり、酵母

類の分離率も相対的に低い（優占率が低下した）のに対し、その他の菌類は高率で分離された。飛翔期には *Ambrosiella* sp. 2 は全く分離されなくなった。また成虫越冬している抗道でも *Ambrosiella* sp. 2 は分離されなかった。

次に越冬世代の抗道内菌相を見ると、全体の菌類の分離率は夏世代と同様に変化したが、最大の分離率は越冬前期に記録された。また、穿入期から幼虫期までは夏世代と同様の遷移様式を示したもの、産卵期にはすでにその他の菌類が分離され始めているという点が、夏世代とは大きく異なっていた。越冬期中は *Ambrosiella* sp. 2 は分離されず、酵母類、その他の菌類が優占的になった。休眠解除後、活動を再開し幼虫が蛹化する時期（蛹期）には、低率ながら *Ambrosiella* sp. 2 が再び分離されるようになったが、それでもやはり酵母類が最も優占的であった。飛翔分散期においては、菌相、分離率ともに夏世代と同様の傾向を示して

表3-4. サクキクイムシの抗道より分離された菌相

アオハダ (夏世代)				ヤマウルシ (越冬世代)			
ステージ	穿入期	蛹期	飛翔期	ステージ	穿入期	卵・幼虫期	幼虫期
供試数 (A)	9	30	24	供試数 (A)	36	24	27
分離数 (B)	4	42	25	分離数 (B)	13	39	41
分離率(B/A)	0.44	1.40	1.04	分離率(B/A)	0.36	1.63	1.52
<i>Ambrosiella</i> sp.2	4	9		<i>Ambrosiella</i> sp.2	5	22	10
Yeast-like fungi		5	8	Yeast-like fungi	8	17	15
<i>Cephalosporium</i> sp.		24	14	<i>Paecilomyces</i> sp.			15
<i>Ceratocystis</i> sp.		4	3	Unidentified sp.			10

ウリハダカエデ

ステージ	幼虫期	夏世代		越冬世代			
		飛翔期	飛翔後	穿入期	産卵期	幼虫期	飛翔期
供試数 (A)	41	15	25	30	24	24	18
分離数 (B)	60	19	29	9	33	26	23
分離率(B/A)	1.46	1.27	1.16	0.30	1.38	1.08	1.28
<i>Ambrosiella</i> sp.2	23	5		3	19	2	2
Yeast-like fungi	33	2	5	6	4	10	6
<i>Cephalosporium</i> sp.	2	11	17			5	1
<i>Ceratocystis</i> sp.			3				
<i>Paecilomyces</i> sp.					7	6	11
<i>Pestalotia</i> sp.			2				
<i>Beauveria</i> sp.			2				
<i>Penicillium</i> sp.						1	
Unidentified spp.	2	1		3	3	2	

シロモジ

ステージ	新成虫期	夏世代		成虫越冬期	穿入期	産卵期	幼虫期	越冬世代		
		飛翔期	成虫越冬期					越冬前期	越冬後期	蛹期
供試数 (A)	24	31	39	36	24	18	27	54	27	
分離数 (B)	46	45	57	36	29	33	54	101	48	
分離率(B/A)	1.92	1.45	1.46	1.00	1.21	1.83	2.00	1.87	1.78	
<i>Ambrosiella</i> sp.2	1			23	23	4				
Yeast-like fungi	16	9	26	13	4	11	27	48	27	
<i>Paecilomyces</i> sp.	23	33	20			17	27	47	10	
<i>Ceratocystis</i> sp.	5	2	8		2	1				
<i>Cephalosporium</i> sp.								4	7	
<i>Verticillium</i> sp.								2	4	
Unidentified spp.	1	1	3							

いた。

夏・越冬いずれの世代も、*Ambrosiella* sp. 2 の分離率は産卵期に最大となり、幼虫期・穿入期にもかなり高い比率を示していた。また酵母類は、夏世代の穿入期以外は常に分離されており、抗道内に常在しているものと考えられる。

樹種別に分離された菌相では(表3-4)、菌全体の分離率は、いずれの樹種、いずれの世代も穿入期において低く、産卵期・幼虫期と生育段階が進むにつれて高くなる傾向が見られた。全樹種に共通して分離された菌は、*Ambrosiella* sp. 2 と酵母類であった。しかしながら、酵母類の種類は樹種によってかなり異なっており、ウリハダカエデでは *Hansenula bimundalis* などの *Hansenula* 属数種と、*Candida* sp. および *Aureobasidium* sp.、シロモジからは *Saccharomyopsis capsularis*、*Pichia* sp.、*Candida* sp. が分離されたのに対し、ヤマウルシからは *Candida rhagii* のみが分離された(表3-5)。*Ambrosiella* sp. 2 は、どの樹種においても産卵期・幼虫期で分離率が高く、新成虫期・飛翔期には低くなる傾向が認められた。

次に、天然枯死木(ウリハダカエデの夏世代のみ、およびアオハダ)と伐倒木(それ以外の樹種とウリハダカエデの越冬世代)との間で抗道の菌相を比較してみると、全体的な遷移

表3-5. 各樹種より分離されたサクキクイムシ抗道内酵母類

樹種	Yeasts
シロモジ	<i>Saccharomyopsis capsularis</i> <i>Pichia</i> sp. <i>Candida</i> sp.
ウリハダカエデ	<i>Hansenula bimundalis</i> <i>Hansenula</i> sp. <i>Candida</i> sp. <i>Aureobasidium</i> sp.
ヤマウルシ	<i>Candida rhagii</i>
アオハダ	<i>Cryptococcaceae</i>

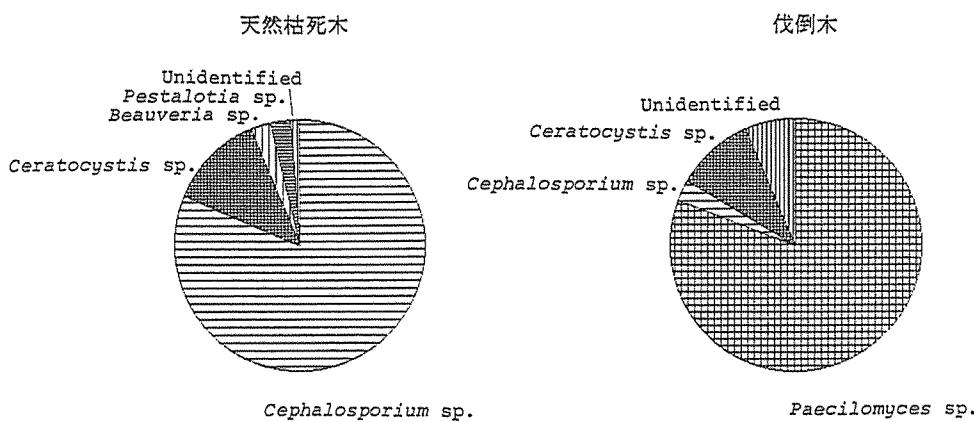


図3-6. 天然枯死木と伐採木から分離された菌類
(*Ambrosiella* sp. 2 および酵母類を除く)

様式と *Ambrosiella* sp. 2, 酵母類の遷移様式についてはほとんど同様であったが、その他の菌類において、分離された菌の種類はかなり異なっていた。伐倒木において幼虫期以降に発生し、蛹期・新成虫期・飛翔期に圧倒的に優占的となる菌類は、どの樹種においても *Paecilomyces* sp. であったのに対し、天然枯死木であるウリハダカエデの夏世代とアオハダからは *Paecilomyces* sp. は全く分離されず、かわって *Cephalosporium* sp. が蛹期・飛翔期に優占的となった（図 3-6）。

3-3-4. SEM 觀察

穿入産卵期のサクキクイムシの抗道内壁には、*Ambrosiella* 属の特徴である明瞭なモニリオイド (monilioid) チェーン状の分生子柄を備えた菌が観察された（写真-8）。分生子の形成方法は出芽型で、分生子柄はよく分枝し、直径 5~10 μm 前後の球状～橢円状の分生子は数珠状に連なっていた。その繁殖形態は、抗道内から分離・培養した *Ambrosiella* sp. 2 のそれと同一であり、分離された菌が実際に抗道内で発育していることが確認された。産卵期においては非常に疎であった菌層も、幼虫期に入ると厚い菌層を形成しており（写真-9）となり、共同孔全体に繁殖した菌層の所々には、キクイムシ幼虫が摂食したと考えられる痕跡が認められた。また、胞子の表面が粘稠状の物質で覆われている部分や幼虫の排泄物も所々で観察された。しかし幼虫越冬期に入ると、菌層は幼虫期よりも薄くなり、部分的に材が露出している箇所が頻繁に見られた。また抗道内には、*Paecilomyces* sp. のフィアライド (phialide) と考えられる分生子柄（写真-10）や酵母状胞子、また 1~2 μm 程度の細菌類と考えられる胞子も観察されるようになり、共同抗内全体は不均質でかなり荒れた状態を呈していた。

3-4. 考 察

3-4-1. サクキクイムシの主栄養源と酵母類の栄養的役割

今回の抗道からの分離結果より、サクキクイムシの夏世代では穿入期・産卵期にかけて *Ambrosiella* sp. 2 が、幼虫期には *Ambrosiella* sp. 2 と酵母類が高い割合で繁殖していた。越冬世代では、産卵期に *Ambrosiella* sp. 2 が、幼虫期には *Ambrosiella* sp. 2, 酵母類、*Paecilomyces* sp. が優占的に分離された。こうした菌相の遷移は、SEM によっても確認された。これらの結果を総合すると、サクキクイムシでは *Ambrosiella* sp. 2 と酵母類が中心となって、サクキクイムシと共に存する共生微生物複合体 (mutualistic microbial complex) を形成しているものと考えられる。

しかしながら、mycangia からの分離では、成熟成虫、飛翔成虫、越冬成虫、穿入成虫から酵母類は全く分離されず、*Ambrosiella* sp. 2 のみが分離される結果となった。一方、酵母類は、未成熟成虫から分離されたのみであった。このことは、酵母類がサクキクイムシによって PAF として積極的に運搬されていないということを意味するものと思われる。

さらに、分離された酵母類は、穿入樹種ごとに全く異なっていた。分離される酵母類が樹種に依存するということは、種特異的にサクキクイムシと密接な関係を持っている特定の種の酵母は存在しないことを意味している。以上のことからサクキクイムシの主食となる PAF は、*Ambrosiella* sp. 2 のみと考えられた。

また、*Ambrosiella* sp. 2 がサクキクイムシの主たる栄養源とすると、どの樹種においても、またいずれの世代でも産卵期前後には *Ambrosiella* sp. 2 ただ一種が優占的であったことか

ら、ある種のキクイムシが樹種ごとに異なるアンブロシア共生菌を持つという説 (Graham, 1952; 高木, 1967) は否定され、同一地域内の同一キクイムシではすべて同じアンブロシア菌と共生していることが推察された。

ただし、夏世代、越冬世代ともに、幼虫期には *Ambrosiella* sp. 2 よりも酵母類の分離率が高くなることから、酵母類はキクイムシと全く無関係な菌類ではなく、サクキクイムシの AAF になっているか、あるいは、ミカドキクイムシの共生菌の考察で指摘したように、*Ambrosiella* 属と酵母類が相互に何らかの影響を及ぼし合っているという可能性も否定できない。今後、キクイムシ幼虫の人工飼料による飼育実験などによって、この点が明らかにされていくものと考えられる。

3-4-2. その他の菌類の役割

前章のミカドキクイムシの抗道内菌相の分離は、伐倒木のみから行なったものであったが、ほぼすべての生育段階から *Paecilomyces* sp. が分離されたことから、*Paecilomyces* sp. は酵母類同様、ミカドキクイムシの栄養源として共生微生物複合体に含まれているか、または *Ambrosiella* sp. 1 の栄養源であることが示唆された (2-4-2.)。

しかし、サクキクイムシの抗道内菌相の分離実験の結果では、天然枯死木からは *Paecilomyces* sp. は全く分離されず、かわりに *Cephalosporium* sp. がその他の菌類の優占種となっていた。一方伐倒木の抗道からは、ミカドキクイムシ同様、*Paecilomyces* sp. がその他の菌類のなかで優占種となっていた。このように、伐倒木のみに侵入するという点から判断して、*Paecilomyces* sp. はサクキクイムシの PAF には含まれず、また *Ambrosiella* sp. 2 の栄養源にもなっていないことはほぼ明らかである。

Paecilomyces 属はセルロース系物質に対する強い分解酵素をもっており、パルプ廃水中の多糖類の分解に利用されている種もある (Romantschuk, 1975; Sjöström, 1981; 原口ら, 1985)。また昆虫寄生菌を多く含む属でもあり (青木, 1989), 寄主選択性が弱く、多種多様な基質に容易に侵入する菌類とされている。このことから、*Paecilomyces* sp. が、伐倒木において *Ambrosiella* sp. 2, 酵母類以外の菌として優占的に存在していた理由は、キクイムシ抗道内という特殊な環境下に他の菌類よりも早い時期に侵入しやすく、かつ *Ambrosiella* sp. 2, 酵母類との共存下でも、生育・繁殖が可能な何らかの条件を備えているからではないかと考えられる。

Cephalosporium 属は、*Graphium* 属、*Cladosporium* 属とともに、*Ceratocystis* spp. の分生子世代として知られている (宇田川ら, 1986 a, b)。そしてこの *Ceratocystis* 属は、世界三大樹病の一つであるニレ立枯病 (Dutch elm disease) の病原菌 (*C. ulmi*) や、アカマツ青変病菌 (*C. ips*)、トドマツ青変病菌 (*C. piceae*) などの青変病菌など、非常に有名な樹病菌を含むグループである (青島・林, 1952, 1953; Upadhyay, 1981)。またこれらの樹病は、キクイムシが媒介昆虫となって伝播されると言われている (Leach et al., 1934; Graham, 1967)。

これらのことから、実験に供試した天然枯死木は、① *Ceratocystis* 属の病原菌の影響で衰弱または枯死し始めた時期にサクキクイムシの加害を受けた樹木、あるいは②サクキクイムシが *Ceratocystis* 属の菌を体表に付着させるか mycangia に貯蔵して穿入し、その結果枯死に至った樹木のいずれかであったと考えられ、そのために *Ambrosiella* sp. 2, 酵母類以外の菌として、*Cephalosporium* 属が天然枯死木中で優占的になっていたのではないかと推察される。

3-4-3. 共生菌の取り込み時期

雌成虫の mycangia からの分離結果より、蛹から無菌的に脱蛹させた成虫からは酵母類がわずかに分離されたのみで、*Ambrosiella* sp. 2 は全く分離されなかった。未成熟成虫から成熟成虫の間には、*Ambrosiella* sp. 2 の分離率が急激に上昇し、酵母類は分離されなくなった。また抗道内の菌相は、夏世代、越冬世代ともに、蛹期・飛翔期に入っても *Ambrosiella* sp. 2 が低率ながら分離された。

これらのことから、サクキクイムシの共生菌の取り込みは、ミカドキクイムシの場合と同様、脱蛹直後から成熟成虫期にかけて行なわれるものと推察された。また取り込みは抗道内で非選択的に行ない、その後何らかの作用によって、mycangia 内で *Ambrosiella* sp. 2 のみが存在できる純粋培養状態にしていることが考えられる。

mycangia からの菌の分離率は、越冬期には 67% と低くなつたが、無菌状態で室温処理した越冬成虫からは *Ambrosiella* sp. 2 のみが 100% 分離されたことから、*Ambrosiella* sp. 2 はこの時期にはすでに mycangia 内に取り込まれていることはほぼ間違いない。越冬期の分離率が低かった理由としては、越冬中は成虫の活性が低下しているため、*Ambrosiella* sp. 2 の生理的活性、発芽能力も同様に低下しているためと考えられた。

3-4-4. 幼虫の存在と共生菌の繁殖状態との関連性

前章のミカドキクイムシでは、母孔側より幼虫孔側で盛んに分生胞子が繁殖していたことから、成虫ではなく幼虫の活動が抗道内の共生菌の分生子形成を促進させているのではないかと推察した。

サクキクイムシ越冬世代の抗道内では、産卵期において優占的であった *Ambrosiella* sp. 2 が、幼虫期には出現率が低下し、これにかわって酵母類が優占種となつた。さらに越冬期には *Ambrosiella* sp. 2 は全く分離されなくなった。ところが休眠解除後、越冬幼虫が蛹化すると、11% と低率ではあるが、再び *Ambrosiella* sp. 2 が抗道から分離されるようになった。こうした事実、すなわち幼虫が活動を停止している時期、すなわち越冬期に共生菌が分離されなくなり、休眠解除後蛹化するころから再び分離されるようになったということは、サクキクイムシの場合も、幼虫の摂食活動が *Ambrosiella* sp. 2 を活性化し、胞子形成を促す働きがあることを示唆するものである。しかし、こうした促進作用が摂食活動による物理的刺激によるものか、唾液などの分泌液による化学的刺激によるものかについては、今後の研究を待ちたい。

第4章 ハネミジカキクイムシとその共生菌

4-1. 緒 言

過去の知見によれば、分類学上近縁な養菌性キクイムシでは、それらの共生菌も同一あるいは近縁であるとされてきたが(Francke-Grosmann, 1967)この関係はまだ十分に解明されていない。そこで本章では、共生菌の属とキクイムシの属または種との関連性について明らかにするため、第3章で調査したサクキクイムシと同属の、ハネミジカキクイムシ(*Xylosandrus brevis* (Eichhoff))の抗道から共生菌の分離を行ない、同時にSEM(走査型電子顕微鏡)を用いて実際の抗道内における共生菌の発育状況を観察し、近縁なキクイムシ間における共生菌相の相違を調査した。

4-2. 材料と方法

4-2-1. ハネミジカキクイムシの概要

ハネミジカキクイムシ(図4-1)は、サクキクイムシ同様、一夫多妻性で雄雌異型、日本、朝鮮、台湾、タイに分布する小型のキクイムシである(Nobuchi, 1981)。雌の体長2.5~3.0mmで、雄は軟弱で雌よりもかなり小さい。体色は黒色、形態は非常に特徴的で、雌成虫の鞘翅後方は急に裁断され、その縁は竜骨状とならない。本調査地域では、ミカドキクイムシについて個体数の多い種である。

4-2-2. 生態と共生菌の調査方法

キクイムシ成虫とその抗道試料の採取方法、および生態・生活史の調査は、第2、3章と同様の方法で行なった。

ハネミジカキクイムシのmycangiaは、サクキクイムシと同様、雌成虫の前胸背と中胸背との節間膜の部分に窪んだポーチ状に存在している。このため mycangiaからの菌類の分離は、サクキクイムシ成虫と同様の処理を施したのちに行なった。供試した個体は、未成熟成虫期、成熟成虫期、越冬期、穿入期の4段階の成虫とした。またこれらの他に、抗道内で蛹化した

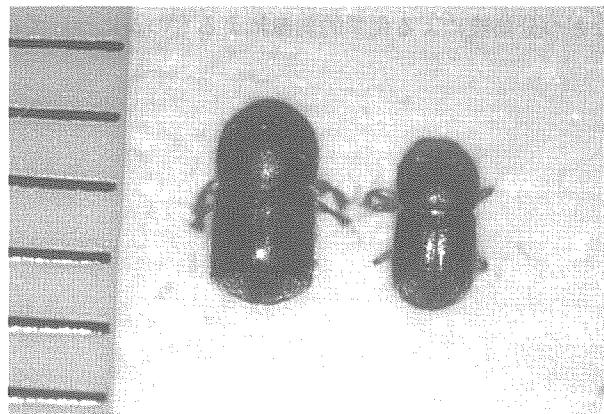


図4-1. ハネミジカキクイムシ 左: 雌成虫, 右: 雄成虫

個体を無菌的にペトリ皿内で脱蛹させた個体の mycangia, および, 成虫越冬している個体を室温(20~30°C, 平均約25°C)で2週間, 暗条件下の滅菌ペトリ皿上に置いた個体の mycangia からも菌類の分離を行なった。

ハネミジカキクイムシの抗道型は、大部屋型の長梯子孔(図4-2)であり、抗道からの菌類の分離部位は、垂直孔形成前は水平孔、形成後は垂直孔とした。また分離時期は、産卵期、幼虫期、未成熟成虫期、成熟成虫期、越冬期の5段階の抗道とした。なお、幼虫と蛹、蛹と成虫のように、異なる生育段階が混在している場合には、サクキクイムシの場合と同様、最も進んだ生育段階で各生育段階を代表させた。

4-3. 結 果

4-3-1. ハネミジカキクイムシの生活史と生態

ハネミジカキクイムシはミカドキクイムシ、サクキクイムシとは異なり、年1世代で、非常に細い枝条部に穿入するのが大きな特徴である。抗道内において集団越冬した雌成虫は、5月最初から7月初旬頃まで飛翔分散し(図4-3), 宿主として好適な細枝を選択した後穿入

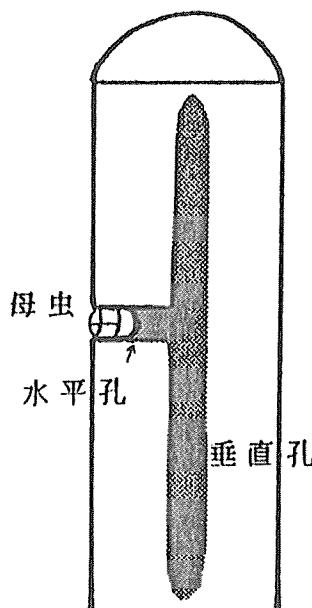


図4-2. ハネミジカキクイムシの抗道

月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
産卵期 Eggs						—	—					
幼虫期 Larvae						—	—					
蛹期 Pupae						—						
新成虫期 New Adults						—	—	—	—			
越冬期 Overwintering				—	—	—	—	—	—	—		
飛翔期 Dispersal						—	—					
穿入期 Boring						—	—					
月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

図4-3. ハネミジカキクイムシの生活史

する。穿入した雌成虫は数 mm から 15 mm 程度、材表面から鉛直方向に穿入孔(水平孔)を形成したのち、材繊維方向に長い垂直孔を形成する。穿入後、5月上～中旬に穿入した個体は約2～3週間後、6～7月に穿入した個体は約1週間後に産卵を開始する。産卵数は、最大60個、平均23.9個(=垂直孔長が20 mm 以上の抗道における産卵数の平均、n=50, S. D.=11.2)であった。孵化した幼虫は、4～6週間で蛹化、羽化して、そのまま材内で成熟する。

性比はサクキクイムシ同様、圧倒的に雌が多く、新世代の雄は1抗道当たり3～4個体のことが多かった。雄成虫は生存期間が短く、同じ抗道内、または近接した抗道内の雌成虫と交尾したのち死亡する。雌成虫は交尾後そのまま材内で成虫越冬する。まれに8～9月に飛翔分散し、新しい材に穿入した状態(ただし産卵は行なわない)で成虫越冬する個体も観察された。

4-3-2. mycangia 内菌相の遷移

いずれの生育段階においても、mycangia からは *Ambrosiella* 属と考えられる菌が優占的に分離された(図4-4、表4-1)。しかし、発生臭、コロニーの性状などの培養的性質および顕微鏡下の構造は、ミカドキクイムシの *Ambrosiella* sp. 1、サクキクイムシの *Ambrosiella* sp. 2とは明らかに異なっていたため、本調査ではこれを *Ambrosiella* sp. 3とした。

未成熟成虫期の mycangia 内では、ほとんど *Ambrosiella* sp. 3 が優占していたが、これ以外の菌もわずかながら分離された。成熟期に入ると、*Ambrosiella* sp. 3 が唯一の分離菌となり、しかも分離率は100%に達した。越冬期には *Ambrosiella* sp. 3 の分離率は低下し、他の菌類も分離されるようになった。しかし越冬を終え、新しい材に穿入した母虫の mycangia からは、やはり *Ambrosiella* sp. 3 が優占的に分離された。

蛹を無菌化し人工的に脱蛹させた成虫の mycangia からの分離試験では、*Ambrosiella* sp. 3 は全く分離されず、酵母類のみが低い割合で分離された。また、人工的に室温処理した越冬期の成虫の mycangia から分離を行なったところ、成熟成虫期と全く同様に、*Ambrosiella* sp. 3 が100%の割合で分離された。

4-3-3. 抗道内菌相の遷移

ハネミジカキクイムシの菌相の遷移様式には、ミカドキクイムシ、サクキクイムシのそれとかなりの類似点がみられた(図4-5、表4-2)。

産卵期においては *Ambrosiella* sp. 3 と酵母類が分離されたのみであったが、幼虫期になると、*Ambrosiella* sp. 3 の分離率がわずかに低下し、酵母類の分離率も低下して、産卵期にお

表4-1. ハネミジカキクイムシの mycangia から分離された菌類

ステージ	未成熟成虫	成熟成虫	越冬成虫	穿入成虫	室温処理越冬虫	無菌蛹→成虫
供試数(A)	24	24	27	14	27	24
分離数(B)	26	24	19	14	27	8
分離率(B/A)	1.08	1.00	0.70	1.00	1.00	0.33
<i>Ambrosiella</i> sp.3	23	24	11	12	27	
Yeast-like fungi	2			1		8
<i>Paecilomyces</i> sp.	1			1		
<i>Penicillium</i> sp.			6			
Unidentified sp.			2			

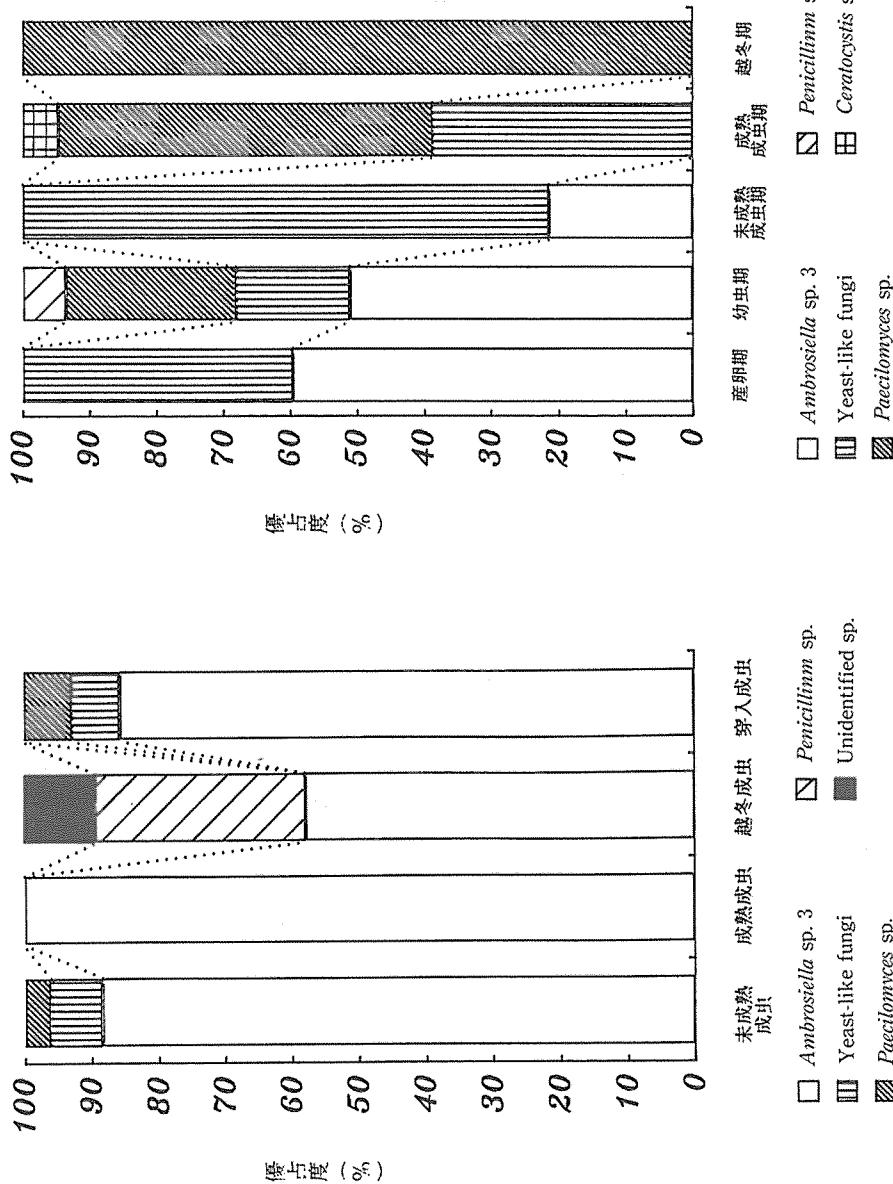


図4-4. mycangia から分離された菌類

図4-5. 抗道内から分離された菌類

表4-2. ハネミジカキクイムシの抗道から分離された菌類

ステージ	産卵期	幼虫期	未成熟成虫期	成熟成虫期	越冬期
供試数 (A)	36	30	12	42	27
分離数 (B)	57	47	14	75	27
分離率(B/A)	1.58	1.57	1.17	1.79	1.00
<i>Ambrosiella</i> sp.3	34	24	3		
Yeast-like fungi	23	8	11	29	
<i>Paecilomyces</i> sp.		12		42	27
<i>Ceratocystis</i> sp.					4
<i>Penicillium</i> sp.		3			
Unidentified sp.					

いては全く分離されなかった *Paecilomyces* sp. と *Penicillium* sp. が分離されるようになった。未成熟成虫期に入ると *Ambrosiella* sp. 3 の分離率はさらに低下し、かわって酵母類が優占的となった。成熟成虫期には *Ambrosiella* sp. は全く分離されなくなり、*Paecilomyces* sp. と酵母類が優占的となり、越冬期には *Paecilomyces* sp. のみ分離されるようになった。

4-3-4. SEM 観察

穿入産卵期のハネミジカキクイムシの抗道では、水平孔においては、菌糸のみが活発に伸長成長し（写真-11），胞子形成はほとんど行なわれていなかったが、わずかに形成された垂直孔では、産卵された卵の周辺に、サクキクイムシの *Ambrosiella* sp. 2 よりも短く分枝していない *Ambrosiella* sp. 3 のものと考えられる分生子が、モニリオイドチェーン状の形態で抗道内壁を厚く覆っていた（写真-12）。幼虫期には垂直孔は拡張され、その先端部では全く菌相は観察されなかつたが、水平孔に近い部分から垂直孔の中央周辺まで、上記の分生子が厚い層を形成していた（写真-13）。またこれとは別に、直径 10 μm 前後の出芽状の、酵母と考えられる胞子も多数観察され、同じ時期に单一の共生菌種ではなく、2 種類の共生菌が存在することが確認された。このように幼虫期の抗道内の菌相の状態は、先の分離結果とほぼ一致していた。蛹期においては垂直孔全体に胞子が広がっていたが、胞子層は非常に衰退して薄くなつておらず、材組織が露出する割合が多くなった（写真-14）。全体的にハネミジカキクイムシの抗道は、サクキクイムシの抗道よりも排泄物や材屑などが多く、母虫による管理が十分なされていないことが推察された。

4-4. 考 察

4-4-1. ハネミジカキクイムシの主栄養源と共生菌の取り込み時期

今回のハネミジカキクイムシの抗道内共生菌の分離・観察結果、および mycangia からの菌の分離結果は、*Ambrosiella* sp. 3 が産卵期・幼虫期の抗道に高い割合で繁殖していること、またこれが mycangia 内から常に分離される唯一の菌であることを示した。さらに、成熟成虫・室温処理越冬成虫からこの菌が 100% 分離されたことからみても、この *Ambrosiella* sp. 3 がハネミジカキクイムシの主要なアンブロシア共生菌(PAF)であることはほぼ間違いないものと考えられる。しかし、酵母類も越冬期以外のすべての抗道から分離されていることから、*Ambrosiella* sp. 3 と共存する微生物複合体の 1 種 (AAF) ではないかと考えられる。

またサクキクイムシ同様、無菌蛹からの人工羽化個体の mycangia からは共生菌がほとんど分離されなかったこと、未成熟成虫の mycangia からすでに *Ambrosiella* sp. 3 がほぼ 100% 分離されたこと、さらに未成熟成虫期にはまだ *Ambrosiella* sp. 3 が抗道内に存在していたことなどから、ハネミジカキクイムシにおいても共生菌の取り込みは、脱蛹直後に抗道壁から非選択的に行なわれ、成熟するにしたがって mycangia の中で、PAF のみが純粋培養されていくものと推察される。

越冬期には *Ambrosiella* sp. 3 の分離率が 40% に低下し、他の菌類が分離されるようになつたが、サクキクイムシ同様、室温処理した越冬成虫からは *Ambrosiella* sp. 3 が 100% 分離されたことから、越冬期の mycangia 内では、成虫の活動性の低下に伴つて、アンブロシア共生菌の生理的活性も低下していることが予想される。

4-4-2. サクキクイムシの共生菌との相違点

過去の知見では、分類学上近縁な養菌性キクイムシでは、それらの共生菌も同一、あるいは近縁であるとされてきた (Francke-Grosmann, 1967)。ハネミジカキクイムシはサクキクイムシと同じ *Xylosandrus* に属し、この 2 種は分類学的には極めて近縁なキクイムシである。今回の調査地域で得られたハネミジカキクイムシのアンブロシア菌は、すべて同一の *Ambrosiella* sp. 3 のみであり、サクキクイムシのアンブロシア共生菌 *Ambrosiella* sp. 2 は全く分離されなかつた。また同様に、サクキクイムシの抗道および mycangia からは、*Ambrosiella* sp. 3 は全く分離されなかつた。

同一地域の、しかも同種の穿入材 (シロモジ) から分離したにもかかわらず、この近縁なキクイムシ 2 種から分離された共生菌が、同じ *Ambrosiella* 属ながら異なる種の菌であったことから、少なくとも *Xylosandrus* 属のキクイムシに関しては、近縁ではあるもののキクイムシの種ごとに異なる共生菌、すなわち種特異的な共生菌が存在することが推察された。

第5章 総合考察

5-1. 3種のキクイムシの類縁関係と共生菌の近縁度について

本研究において、*Scolytoplatypus* 属（1種）と *Xylosandrus* 属（2種）という系統的に全く異なる(*Scolytoplatypinae* 亜科と *Ipinae* 亜科)キクイムシの共生菌を調査した結果、3種とも同じ *Ambrosiella* 属の菌を主共生菌 (PAF) としており、この菌が最も重要な栄養源となっていることが明らかにされた。いずれの属の養菌性キクイムシにも、一つの属という共通性はあるものの、種のレベルではキクイムシの種ごとにそれぞれ異なっている共生菌を持っていること、つまり養菌性キクイムシには近縁であるがそれぞれのキクイムシに種特異的な共生菌が存在することは非常に興味深い事実である。

しかし本研究における *Ambrosiella* sp. 1, sp. 2, sp. 3 の分類は、形態および培養的性質の調査のみにとづくものであり、詳細な生理的、生化学的実験を行なっていないため(付表)、共生菌間の分類学的近縁度にまで言及することはできない。

現在では樹皮下穿孔性キクイムシからも mycangia が見つかっており(Francke-Grosmann, 1967; Farris, 1969; Whitney and Farris, 1970), 養菌性、樹皮下穿孔性を問わずキクイムシ類すべての種が、何らかの形で菌類との相互関係を持っていると考えられている(Beaver, 1989)。

したがって今後は、食性の全く異なるキクイムシとその共生菌の比較調査を行なうことによって、キクイムシ・共生菌各々の分類学的位置と種分化の機構、および両者間の共進化的意義を明らかにしていく必要があろう。

5-2. 抗道内菌類の栄養的役割

5-2-1. *Ambrosiella* 属と酵母類の役割

上記のように、2属3種のキクイムシが *Ambrosiella* 属の主共生菌 (PAF) を持っていたことから、他の養菌性キクイムシもかなりの種が PAF としてこの *Ambrosiella* 属の菌を種特異的に保持しており、これを主たる栄養源として生育していくことが予想される。これに対し、サクキクイムシの異なる樹種からの分離試験の結果より、種特異的な酵母類は存在しないことが明らかとなった。また、サクキクイムシとハネミジカキクイムシにおいては、酵母類は mycangia によって能動的に運搬されていないことも判明した。これらのことから、今回分離された酵母類は、これらのキクイムシの主共生菌 (PAF) とはなっていないものと考えられる。

しかしながら、今回の研究対象となった3種キクイムシの抗道からの菌類の分離結果では、サクキクイムシとハネミジカキクイムシの幼虫期に最も優占的となる菌類は酵母類であった。また *Pichia* 属や *Candida* 属の酵母には、キクイムシの PAF と考えられている種がいくつか含まれている(Baker, 1963; Whitney, 1982)。また酵母類は、栄養的には多くのビタミン類を含んでいることが知られており(宇田川ら, 1986 a), 人工培地にビタミン類を添加する際には、多くの場合酵母粉末を加えている。さらにプロビタミンであるステロール類は、*Xyleborus* spp. の正常な変態に必須であると言われており(Norris, 1966; Kok et al., 1970), *Pichia* sp. によって合成されるビタミン B グループが、*Ips cembrae* の正常な発育・変態に必須のものであることも示されている(Gusteleva, 1982)。

これらのことから、キクイムシ類、とくにその幼虫は主栄養源である PAF 以外に、ビタミン類に富みしかも *Ambrosiella* 属の菌と性質的に共通点の多い酵母類を、Batra (1966) によるところの AAF (副次的栄養源) として摂食している可能性があり、これらの酵母類は、必要微量元素の摂取という点に関して何らかの役割を担っているものと考えられる。

5-2-2. その他の菌類の役割

その他の菌類のうち、最も高い頻度で分離されたのは伐倒木では *Paecilomyces* sp., 天然枯死木では *Cephalosporium* sp. であった。このうち *Paecilomyces* sp. は、幼虫期の抗道や mycangia 内から高い分離率で頻繁に分離されたことから（第 2 章）、*Paecilomyces* sp. も AAF の 1 つとしての役割を持つことが考えられたが、伐倒木と天然枯死木との間では、優占種が大きく異なっていたため（第 3 章）、これらの菌は、キクイムシの繁殖と生存に本質的に無関係な雑菌類 (non-ambrosia fungi: 以下、NAF) に区分されるべきグループと思われる。しかしながら今回は、その栄養的な役割については明らかにできなかった。

しかし Batra (1966) は、他のキクイムシのアンブロシア菌（他種の PAF），または NAF によって養菌性キクイムシを人工的に飼育することに成功し、さらに Norris (1979) は、キクイムシの産卵数は摂食する菌の種類に依存し、AAF や NAF のみによって飼育した場合には PAF で飼育したときよりも産卵数が減少することを見出だした。このことから、おそらく AAF や NAF の栄養価は PAF のアンブロシア菌よりも低く、単独では *Ambrosiella* spp. の代用にはなり得ないものと考えられる。

5-3. mycangia の形状と共生菌の分離率

成熟成虫期における mycangia からの菌類の分離試験では、ミカドキクイムシからは *Ambrosiella* sp. 1 が全く分離されなかつたのに対し、サクキクイムシ、ハネミジカキクイムシからは *Ambrosiella* sp. 1, sp. 2 がそれぞれ 100% 分離された。

また、通常成虫で越冬するミカドキクイムシとハネミジカキクイムシを比べた場合、ミカドキクイムシの越冬期の mycangia からは *Ambrosiella* sp. 1 はほとんど分離されなかつたのに対し、ハネミジカキクイムシでは全分離数のうちの 60% が *Ambrosiella* sp. 3 であった。また、サクキクイムシの夏世代のうち、成熟後に飛翔分散せずそのまま越冬する個体の mycangia から菌類を分離した結果、全分離数のうちの 47% が *Ambrosiella* sp. 2 であった。また、ミカドキクイムシの mycangia から分離された *Ambrosiella* sp. 1 は、全生育段階を通じても最高で 67% の分離率であった。

これらの結果は、ミカドキクイムシの場合には *Ambrosiella* sp. 1 以外の菌類が mycangia 内で繁殖しやすく、サクキクイムシやハネミジカキクイムシの場合には *Ambrosiella* sp. 1, sp. 2 が純粋培養の状態で保存されやすいことを表すものと考えられる。

このことは、3種の形態的特質から説明することができる。サクキクイムシとハネミジカキクイムシはともに *Xylosandrus* 属のキクイムシであり、mycangia は前胸背と中胸背との節間膜の部分に窪んだポーチ状に存在している。このタイプの mycangia は外部には直接開口しておらず、前胸背を強く前屈させないと露出しない構造になっている。これに対し、ミカドキクイムシなど *Scolytoplatypus* 属の mycangia は、前胸背中央に開口部があり、常に小穴が開いた状態で存在している（表 5-1）。これらの mycangia の微細構造的特徴は、他の菌

類の混入しやすさの程度に反映されるものと考えられ、開口部があるミカドキクイムシの mycangia の方が、サクキクイムシ、ハネミジカキクイムシよりも雑菌類が侵入しやすいために、目的とする共生菌を純粋培養の状態に持っていくことが難しいのではないかと考えられる。

ただし、非選択的に取り込んだものを mycangia で純粋培養する能力において、ミカドキクイムシが *Xylosandrus* 属 2 種よりも劣っている可能性も考えられる。したがって、各種キクイムシの mycangia 内における、PAF の優占度の違いを解明するためには、mycangia の位置が異なるキクイムシ群ごとに共生菌類を分離し、その傾向を把握することが必要である。

5-4. キクイムシ抗道タイプと共生菌相の遷移様式との関連性

ミカドキクイムシの抗道では、*Ambrosiella* sp. 1 が産卵期から蛹期にかけてほぼ一定の割合（全体の約 60%）で優占的になるのに対し、サクキクイムシやハネミジカキクイムシでは、*Ambrosiella* sp. 2, 3 は穿入期に最も優占的で、産卵期、幼虫期と生育段階が進むにつれて分離率が下がり、徐々に酵母類が優占するようになった（図 2-11, 3-5, 4-5）。こうした菌相の遷移様式の違いは、*Scolytoplatypus* 属のミカドキクイムシと *Xylosandrus* 属のサクキクイムシ、ハネミジカキクイムシというキクイムシの属に依存するというよりむしろ、抗道型の違い、すなわち個室型抗道か大部屋型抗道かによるものと考えられる（表 5-1）。

ミカドキクイムシの場合、mycangia は開口部を持つために雑菌が侵入しやすい構造であることはすでに述べた通りである。しかしその抗道型は梯子孔であることから、幼虫は自分の排泄物や材屑（フラス）をすべて母孔側に押し出すことによって各自の個室（幼虫孔）内を常に清掃しており、さらにこの幼虫の摂食活動によって *Ambrosiella* sp. 1 は幼虫孔内で盛んに胞子を形成している。このために幼虫孔内は比較的安定した、菌の繁殖に適した状態に保たれているものと考えられ、これは SEM 観察によても確認されている。

これに対し、サクキクイムシとハネミジカキクイムシの場合、mycangia 内では *Ambrosiella* spp. が純粋培養されているため、穿入期には *Ambrosiella* 属が高率で分離される。ところがこの 2 種は大部屋型の抗道を形成するため、生育段階が進むにつれて幼虫や母虫が抗道内

表 5-1. 3 種のキクイムシの生態等の比較

学名	<i>Scolytoplatypus mikado</i>	<i>Xylosandrus crassiusculus</i>	<i>Xylosandrus brevis</i>
和名	ミカドキクイムシ	サクキクイムシ	ハネミジカキクイムシ
亜科	Scolytoplatypinae 亜科		
世代	1 年 2 世代		1 年 1 世代
習性	一夫一妻性		
性比(♂ : ♀)	1 : 1		
越冬段階	成虫	幼虫	成虫
抗道型	梯子孔（個室型）	材質共同孔（大部屋型）	長梯子孔（大部屋型）
穿入部位	枝条部～樹幹部		
フラスの状態	粉状	短い線香状	長い線香状
Mycangia	前胸背中央に開口部あり	前胸背と中胸背との節間膜が窪んでいる	
主共生菌	<i>Ambrosiella</i> sp.1	<i>Ambrosiella</i> sp.2	<i>Ambrosiella</i> sp.3

を清掃しても、ある程度はフ拉斯が残存することになる。また幼虫の摂食活動によって *Ambrosiella* 属の胞子形成が活発になっても、幼虫 1 頭当たりの抗道壁面積が少ないとことから、供給量以上に多量に消費されてしまう。その結果、サクキクイムシやハネミジカキクイムシのような大部屋型の抗道を持つグループでは、幼虫の生育段階が進むにつれて徐々に *Ambrosiella* 属の分離率が低下し、酵母類が優占するような遷移様式をたどるのではないかと考えられる。

5-5. 養菌性キクイムシとその共生菌との相利共生関係

本研究によって、養菌性キクイムシの抗道内の菌相は数種の菌類で構成されており、優占種は生育段階とともに遷移していくことが明らかになったが、分離される菌類の種類は比較的少なく、昆虫のハビタットに常在すると思われる数多くの菌類の種数から考えると(小林, 1986), このフローラの貧弱さは予想を上回るものであった。このことは、ある特定の微生物の発生を制限する抗生物質の存在を暗示するものであり、トドマツオオキクイムシの共生菌からは実際に Cerulenin と Helvolic acid と呼ばれる抗生物質が分離されている(Nakashima *et al.*, 1982)。このことはまた、これ以外のアンブロシア菌も同様に抗生物質を生産している可能性を示唆するものである。

また酵母類は、おもに出芽によって増殖し、酵母状あるいはアンブロシア状で繁殖する *Ambrosiella* sp. とは形態的、分類学的にも類似性が高い菌類である。したがって、生理・生化学的な性質もかなりの共通点があるものと考えられ、アンブロシア菌以外の菌類の繁殖を抑制する抗生物質も、酵母類の繁殖は抑制できないことが予想される。

本研究で得られた結果、およびこれまでに得られている知見を総合して、微生物生態学的観点から考察してみると、養菌性キクイムシとその共生菌とのサイクリックな共生関係は、およそ以下のようなものとなろう(表 5-2)。

- ① 飛翔期、PAF (*Ambrosiella* spp.) はキクイムシ成虫の mycangia 内に貯蔵されており、飛翔に伴って能動的に運搬され新しく形成された抗道内へ接種される。
- ② AAF (酵母類) および NAF (キクイムシとは本質的に無関係の雑菌類) は、キクイムシ成虫の体表や体腔、消化管(キクイムシによっては mycangia に侵入)に存在し、キクイムシの穿入によって受動的に抗道内に侵入する。
- ③ キクイムシ幼虫はその摂食行動によって PAF の生育を促進させる。PAF 自身は抗生物質を含む抑制物質を生産することによって NAF の繁殖を押さええる。
- ④ AAF は PAF とは近縁であるため、繁殖は抑制されず PAF と同様に繁殖し続ける。
- ⑤ 主栄養源として PAF を、副次栄養源として AAF を(場合によっては NAF も)摂食することによりキクイムシの幼虫が生育する。AAF は、変態ホルモンの生成に関与していることも考えられる。
- ⑥ 幼虫が蛹化する。PAF の活性が低下し、逆に NAF が繁殖し始める。
- ⑦ 蛹が羽化する。このとき未成熟成虫は、抗道壁にある菌類を mycangia 内に取り込む。
- ⑧ PAF の活動がさらに衰弱し、これまで抑制されていた NAF が活発に繁殖し始める。
- ⑨ 新しく取り入れられた菌類のうち、PAF は mycangia 内で純粋培養される(キクイムシによっては AAF, NAF も繁殖)。
- ⑩ ①のフェーズにもどる。

表 5-2. 微生物生態学的動態

キクイムシ 生育段階	飛翔期	穿入期	産卵期	幼虫期	蛹期	新成虫期	
						未成熟成虫	成熟成虫
Ambrosiella 属 (PAF)	mycangia 内において培養	mycangia からキクイムシによって抗道壁に接種	抗道内で活発に分生子を形成繁殖	キクイムシに摂食されことによって、さらに活発に繁殖	徐々に活性が低下	新成虫によつて非選択的に mycangia に取り入れられる	mycangia 内：培養 抗道内：活性無
酵母類 (AAF)	体表、体腔に付着、あるいは消化管等に存在 (S.mikado では mycangia 内も)	キクイムシの穿入によって受動的に抗道内に侵入	繁殖してきた PAF と共存して繁殖することが可能	PAF 同用、キクイムシに摂食されるが、PAF やキクイムシの活性に影響を受けない	PAF の衰退とともに徐々に繁殖	抗道内では急激に PAF が衰退 AAF と NAF は活発に繁殖	mycangia 内：キクイムシの生理的活性 高—繁殖が抑制 低—自由に繁殖
その他の菌類 (NAF)				PAF の義務物質によって繁殖が抑制	PAF の衰退とともに徐々に繁殖		抗道内：活発に繁殖
抗道内菌相の豊富さ (分離率)	全体 (PAF, AAF, NAF の合計)	2.0 1.0					
	PAF	1.0 0.5					
	AAF	1.0 0.5					
	NAF	1.0 0.5					

このサイクルは、キクイムシにとっては、樹木の材質部という、タンパク質やビタミン類が非常に不足している栄養価の低い基質から、栄養価の高い食物を容易にかつ恒常的に得ることを可能にする。またこのサイクルは、共生菌側にとっては、風などによる自然分散よりも確実に生息域を拡大することを可能にしている。さらに、キクイムシが共生菌の生育に好適な環境を生み出し、抗道内で優占的となるようにその共生菌を保護・養育し、さらには他の菌類の繁殖までも抑制するという点で、共生菌はこのキクイムシから大きな利益を得ている。すなわち、養菌性キクイムシとその共生菌との間には典型的な相利共生関係(mutualism)が成立しているものと考えられる。

今後、さらに多くのキクイムシについてこうした共生関係が明らかにされていくことで、両者間の共進化のメカニズムの解明に重要な手がかりを得ることになるであろう。またこうしたキクイムシと菌との共生関係の解明は、森林における微生物生態系の構造を明らかにする上で極めて重要な課題と思われる。

5-6. 今後の課題

養菌性キクイムシの生理的側面や樹体内における繁殖様式が、最近までほとんど明らかにされていなかった理由の一つには、このキクイムシの発生の年次変動が極めて大きく、研究材料が入手しにくことが挙げられる（高木、1967）。

本研究では、予備調査に基づいて加害を受けやすい樹種を選択し（衣浦・金光、1988），養菌性キクイムシの穿孔に好適な材を短い伐倒間隔で林内に常時供給することによって、各生

育段階のキクイムシおよび抗道の採取と生態の調査を連続的に行なった。しかしこうした野外個体群を用いた方法は、目的とする種が安定的に得られないという問題と同時に、温度・湿度などキクイムシと菌の生育条件を人為的に制御することができないという問題を抱えている。今後は、2~3の種で研究されてきた人工飼育の試み(Kaneko, 1965; Norris and Chu, 1985)をさらに発展させ、普遍的な人工飼育方法を開発していくことが、キクイムシの生理・生態の研究を前進させていくために必要不可欠となるであろう。

一方、養菌性キクイムシのアンブロシア共生菌の研究における最大の問題点は、菌類の同定が極めて困難なことであろう。本研究では、形態的特徴から、Batra (1967) や、Barnett and Hunter (1987) などのモノグラフを用いて菌類を同定し、高頻度で分離された菌に関しては記載を行なった(付表)。しかし、ほとんどの菌類について種名まで判定できなかった。

現在の菌類分類学では、菌の最も重要な分類基準は、生殖器官の諸形質に置かれている(宇田川ら, 1986 a)。しかしキクイムシやその抗道から分離される不完全菌類や酵母類のような体制が単純である菌類を、生殖器官の形質のみで分類することは非常に困難であり、正確な分類・同定には技術的にかなりの熟練を必要とする。

そのために今後は形態分類と同時に、これとは異なる観点からの分類体系の構築も必要となるであろう。実際、酵母類の分類においてはすでに生理的性質が重視されており、また最近では菌類の分類に血清学、生化学、遺伝学その他の手法が導入されつつある。アンブロシア共生菌に関しても、補酵素Q(ユビキノン)システムによる分類や(Yamada *et al.*, 1987), タンパク質の電気泳動パターンによる分類(Kajimura and Hijii, submitted)も試行されはじめており、現在発展途上にある。今後新しい分類体系が整い、菌類の同定が容易になれば、養菌性キクイムシとアンブロシア菌との共生関係の研究も、飛躍的に発展していくものと思われる。

謝　　辞

本研究は、名古屋大学農学部森林保護学研究室の金光桂二教授のご指導のもとに行なわれた。日頃からの丁寧なご指導に、心から感謝の意を表する次第である。

東京大学農学部の片桐一正教授、名古屋大学農学部の伊藤嘉昭教授には、本論文に関して数々の貴重なご意見とご批評を頂いた。また森林保護学研究室の弓場謙助教授には採集植物の同定で、助手の肘井直樹博士には実際の野外調査から本論文に関する貴重な御批評まで、あらゆる面でご教示頂いた。ここから御礼申し上げる。

北海道大学農学部の中島敏夫名誉教授、飯塚敏彦教授には、SEM 走査型電子顕微鏡による観察方法および養菌性キクイムシ全般にわたって様々なご指導を賜った。また、名古屋大学農学部の故西村正暉教授、信州大学農学部の林康夫教授、および森林総合研究所の島津光明博士には、分離された糸状菌類の同定について、東京家政大学の曾根田正巳教授には酵母類の同定でご教示を賜った。さらに元林業試験場昆蟲研究室の野淵輝博士には、キクイムシの同定をはじめとして数多くのご教示を頂いた。これらの方々に深甚なる感謝の意を表したい。

名古屋大学農学部附属稻武演習林の山田金二、青木重昌、今泉保次技官には、実験道具、器具の製作から演習林の使用について、元演習林助手（現古橋会）の北原宣幸氏には材料の伐採、キクイムシ採集地として古橋実験林の使用等について、また名古屋大学理学部助手の永井ひろ美氏、元名古屋大学農学部技官の小林拓治郎氏には SEM の使用に際して多大な便宜をはかって頂いた。これらの方々にもこの場をお借りして深謝の念を表する次第である。

最後に造林学研究室の宮浦富保博士（現林木育種センター）、倉地奈保子博士（現森林総合研究所）、宮浦真澄博士（旧姓勝野）ほか、造林学研究室の大学院生の方々、ならびに森林保護学研究室の浦野忠久氏（現森林総合研究所関西支所）、梶村恒氏ほか歴代の大学院生、四年生の方々には、キクイムシの採集ほか実際の野外調査などで惜しみない協力を頂くとともに、貴重なご意見、ご助言を頂いた。心から御礼申し上げる。

引用文献

- 赤堀宏 (1982) 医学・生物学 電子顕微鏡観察法. (日本電子顕微鏡学会関東支部編), 379 pp, 丸善, 東京.
- 青木襄二 (1989) 昆虫病原菌の検索. 280 pp, 全国農村教育協会, 東京.
- 青島清雄・林康夫 (1952) マツ箱材の青変菌防止試験. 林業試験集報 64: 83-92.
- 青島清雄・林康夫 (1953) ブナの青変と青変菌について (予報). 日林誌 35: 268-269.
- Baker, J. M. (1963) Ambrosia beetles and their fungi, with particular reference to *Platypus cylindrus* Fab. "Symbiotic associations". Symp. Soc. Gen. Microbiol. 13, 232-265.
- Baker, J. M. and Norris, D. M. (1968) A complex of fungi mutualistically involved in the nutrition of the ambrosia beetle *Xyleborus ferrugineus*. J. Inver. Path. 11: 246-250.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (1987) Illustrated genera of imperfect fungi (4th edition). 218pp, Macmillan Publ., New York.
- Barnett, J. A., Payne, R. W. and Yarrow, D. (1990) Yeasts, characteristics and identification (second edition). 811pp, Cambridge University Press, Cambridge.
- Batra, L. R. (1963) Ecology of ambrosia fungi and their dissemination by beetles. Trans. Kans. Acad. Sci. 66: 213-236.
- Batra, L. R. (1966) Ambrosia fungi. Extent of specificity to ambrosia beetles. Science 173: 193-195.
- Batra, L. R. (1967) Ambrosia fungi. A taxonomic revision, and nutritional studies of some species. Mycologia 59: 976-1017.
- Batra, L. R., Batra, S. W. T. and Nakashima, T. (1986) Some techniques to study ambrosia beetles and their associated fungi. Memoirs of Hokkaido Musashi Women's Junior College 18: 73-94.
- Beaver, R. A. (1989) Insect-Fungus relationship in the bark and ambrosia beetles. "Insect-fungus interactions" (eds. Wilding, N., Collins, N. M., Hammond, P. M. and Webber, J. F.), 121-143. Academic Press, London.
- Berryman, A. A. (1973) Population dynamics of the fir engraver, *Scolytus ventralis* LeConte (Coleoptera: Scolytidae). I. Analysis of population behavior and survival from 1964 to 1971. Can. Entomol. 105: 1465-1488.
- Doane, R. W. and Gilliland, O. J. (1929) Three California ambrosia beetles. J. Econ. Entomol. 22: 915-921.
- Farris, S. H. (1969) Occurrence of mycangia in the bark beetle. *Dryocoetes confusus* (Coleoptera: Scolytidae). Can. Entomol. 101: 527-532.
- Fisher, R. C., Thompson, G. H. and Webb, W. E. (1953) Forestry abstracts 14: 381-389.
- Francke-Grosmann, H. (1956) Hautdrüsen als Träger der Pilzsymbiose bei ambrosiakäfern. Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere 45: 275-308. †
- Francke-Grosmann, H. (1963) Some new aspects in forest entomology. Ann. Rev. Entomol. 8: 415-438.

- Francke-Grosmann, H. (1967) "Symbiosis" (ed. Henry, S. M.), Vol. 2, 141-205. Academic Press, New York and London.
- Francke-Grosmann, H. (1975) Zur epizoischen und endozoischen Übertragung der symbiotischen Pilze des Ambrosiakäfers *Xyleborus saxeseni* (Coleoptera: Scolytidae). Entomol. Ger. 1: 279-292.
- French, J. R. J. and Roeper, R. A. (1975) Studies on the biology of the ambrosia beetle *Xyleborus dispar* (F.) (Coleoptera: Scolytidae), Z. Angew. Entomol. 78: 241-247.
- Graham, K. (1967) Fungal-insect mutualism in trees and timber. Ann. Rev. Entomol. 12: 105-126.
- Graham, S. A. (1952) Forest Entomology (3rd edition). 351 pp, McGraw-Hill, New York.
- Gusteleva, L. A. (1982) The interaction of wood-decomposing insects with microorganisms. "Konsortivnye Svyazi Dereva i Dendrofil'nykh Nasekomykh" (ed. Isaev, A. S.), 56-67. †
- Haack, R. A. and Slansky, F. (1987) Nutritional ecology of wood-feeding Coleoptera, Lepidoptera, and Hymenoptera. "Nutritional Ecology of Insects, Mites and Spiders" (eds. Slansky Jr. F., and Rodriguez, J. G.), 449-486. Wiley, New York.
- Haanstad, J. O. and Norris, D. M. (1985) Microbial symbionts of the ambrosia beetle *Xyloterinus politus*. Microbial Ecol. 11: 267-276.
- Hartig, T. (1844) Ambrosia des *Bostrichus dispar*. Allgemeine Forest- und Jagdzeitung 13: 73-74. †
- 長谷川武治 (1987) 微生物の同定法 (上). 310 pp, 学会出版センター, 東京.
- 原口隆英・寺島典二・臼田誠人・越島哲夫・坂井克巳・諸星紀幸・寺谷文之・甲斐勇二・志水一允・柳原彰 (1985) 木材の化学. 288 pp, 文永堂, 東京.
- 林匡夫・森本桂・木元新作 (1984) 原色日本甲虫図鑑 (iv). 438 pp, 保育社, 大阪.
- 飯塚廣・後藤昭二 (1969) 酵母の分類同定法. 183 pp, 東京大学出版会, 東京.
- 井上元則 (1948) ブナ材の取扱に就て. 北海道林業試験集報第 65 号. 85 pp, 農林省林業試験所札幌支場, 野幌.
- 石井象二郎 (1982) 昆虫生理学. 256 pp, 培風館, 東京.
- Kaneko, T. and Takagi, K. (1965) Biology of some Scolytid ambrosia beetles attacking tea plants IV. Parthenogenesis of *Xyleborus germanus* Blan. in relation to the *Germanus* ambrosia fungus. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 9: 303-304.
- Kinuura, H. and Hijii, N. (1991) Life history and reproduction of the ambrosia beetle, *Scolytoplatypus mikado* Blandford (Coleoptera: Scolytidae). Jpn. J. Entomol. 59: 1-11.
- Kinuura, H., Hijii, N. and Kanamitsu, K. (1991) Symbiotic fungi associated with the ambrosia beetle, *Scolytoplatypus mikado* Blandford (Coleoptera: Scolytidae)—succession of the flora and fungal phases in the gallery system and the mycangium in relation to the developmental stages of the beetle—. J. Jpn. For. Soc. 73: 197-205.
- 衣浦晴生・肘井直樹・金光桂二 (1990) *Xylosandrus* 属 2 種のキクイムシの共生菌. 日林誌 72: 441-445.

- 衣浦晴生・金光桂二 (1988) 愛知県産キクイムシ類とその加害樹種. 99回日林論: 779-780.
- 衣浦晴生・豊島義之・肘井直樹 (1989) 誘引トラップによって捕獲されたキクイムシ類. 100回日林論: 601-602.
- 小林享夫 (1986) スギ・ヒノキ穿孔性害虫の生態と加害. (VI) 加害に伴う材変色・腐朽に関する微生物, (1)加害材から分離・検出される糸状菌. 森林防疫 38: 38-43.
- Kok, L. T., Norris, D. M. and Chu, H. M. (1970) Sterol metabolism as a basis for mutualistic symbiosis. Nature 225: 661-662.
- 熊田恭一・大角泰夫・太田誠一 (1976) 名古屋大学演習林および尾鷲実験林の土壤について. 名大演報 6: 227-262.
- Leach, J. G., Orr, L. W. and Christensen, C. (1934) The interrelationships of bark beetles and blue-staining fungi in felled Norway pine timber. J. Agric. Res. 49: 315-341.
- 横原寛・五十嵐豊・鎌田直人・東本光広 (1988) 各種誘因器に誘引されるカミキリ類 (I). 日林東北支誌 40: 212-213.
- 横原寛・五十嵐豊・鎌田直人・東本光広 (1988) 各種誘因器に誘引されるカミキリ類 (II). 日林東北支誌 40: 214-215.
- 松本義明・高橋信孝・吉武成美 (1979) 昆虫の科学. 244 pp, 朝倉書店, 東京.
- 中根猛彦編 (1963) 原色昆虫大図鑑 (II). 443 pp, 北隆館, 東京.
- 中島敏夫 (1967) キクイムシ類とカビの共棲. 化学と生物 5: 364-365.
- Nakashima, T. (1979) Notes on the time when the new female adults of the ambrosia beetle *Crossotarsus niponicus* Blandford (Coleoptera: Platypodidae) harvest their symbiotic fungi into their mycetangia. Insecta Matsumurana 17: 1-19.
- Nakashima, T., Goto, C. and Iizuka, T. (1987) The primary and auxiliary ambrosia beetles, *Scolytoplatypus shogun* Blandford (Coleoptera: Scolytidae) and *Crossotarsus niponicus* Blandford (Coleoptera: Platypodidae). J. Fac. Agric. Hokkaido Univ. 63: 185-208.
- Nakashima, T., Iizuka, T., Ogura, K., Maeda, M. and Tanaka, T. (1982) Isolation of some microorganisms associated with five species of ambrosia beetles and two kinds of antibiotics produced by Xv-3 strain in their isolates. J. Fac. Agric. Hokkaido Univ. 61: 60-72.
- Neger, F. W. (1911) Zur Übertragung des Ambrosiapilzes von *Xyleborus disper*. Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft 9: 223-225. †
- Niisima, Y. (1909) Die Scolytiden Hokkaidos unter Berücksichtigung ihrer Bedeutung für Forstschäden. J. Coll. Agr. Tohoku imp. Univ. 3: 109-179.
- 野淵輝 (1974) キクイムシ類の生活型の進化. 植物防疫 28: 75-81.
- 野淵輝 (1980) 外材のキクイムシ類 (上) ——生態, 南洋材と米材のキクイムシの同定分類 ——. 林業科学技術振興所, 75 pp, 東京.
- Nobuchi, A (1980) The Ambrosia beetles of the subfamily Scolytoplatypinae (Coleoptera, Scolytidae) in Japan. Kontyu 48: 42-52.
- Nobuchi, A (1981) The ambrosia beetles of the genus *Xylosandrus* Reitter from Japan (Coleoptera). Bull. For. & For. Prod. Inst. 314: 27-37.

- 野平照雄・小川知 (1985 a) 松くい虫誘引剤で捕獲された昆虫類 (I). 34回日林中支講: 171-172.
- 野平照雄・小川知 (1985 b) 松くい虫誘引剤で捕獲された昆虫類 (II). 34回日林中支講: 173-174.
- 野平照雄・小川知 (1986) 松くい虫誘引剤で捕獲されたキクイムシ. 日林誌 68: 249-250.
- Norris, D. M. (1966) Chemical interdependencies among *Xyleborus* spp. ambrosia beetles and their symbiotic microbes. "Organismen und Holz". International symposium, Berlin-Dahlem 1965 (eds. Becker, G. and Liese, W.), 479-488. †
- Norris, D. M. (1979) The mutualistic fungi of xyleborine beetles. "Insect—Fungus Symbiosis" (ed. Batra, L. R.), 53-63. Halsted Press, Sussex. †
- Norris, D. M. and Chu, H. M. (1985) *Xyleborus ferrugineus*. "Handbook of insect rearing. Vol. 1" (eds. Singh, P. and Moore, R. F.), 303-315. Elsevier, Amsterdam.
- Nunberg, M. (1951) Contribution to knowledge of prothoracic glands of Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera). Annales Musei Zoologici Polonici 14: 261-265.
- Reid, R. W. (1963) Biology of the mountain pine beetle, *Dendroctonus monticolae* Hopkins, in the East Kootenay Region of British Columbia III. Interaction between the beetle and its host, with emphasis on brood mortality and survival. Can. Entomol. 95: 225-238.
- Romantschuk, H. (1975) The Pekilo process. "Single-Cell protein II" (eds. Tannenbaum, S. R. and Wang, D. I. C.), 707pp. †
- Schmidberger, J. (1836) Naturgeschichte des apfelbochenkäfers *Apate disper*, Beiträge zur Obstbaumzucht und zur Naturgeschichte der den Obstbaumen. Schädlichen Insekten 4: 213-230. †
- Sjöström, E. (1981) Wood chemistry fundamentals and applications. 223pp, Academic Press, New York.
- 高木一夫 (1967) アンブロシア甲虫類の研究展望 ハンノキキクイムシ, シイノコキクイムシを中心にして. 茶葉技術研究 34: 1-10.
- 宇田川俊一・椿啓介・堀江義一・三浦宏一郎・蓑浦久兵衛・山崎幹夫・横山竜夫・渡辺昌兵 (1986 a) 菌類図鑑 (上). 792 pp, 講談社, 東京.
- 宇田川俊一・椿啓介・堀江義一・三浦宏一郎・蓑浦久兵衛・山崎幹夫・横山竜夫・渡辺昌兵 (1986 b) 菌類図鑑 (下). 556 pp, 講談社, 東京.
- Upadhyay, H. P. (1981) A monograph of *Ceratocystis* and *Ceratocystiopsis*. 176pp, The University of Georgia Press, Athens.
- von Arx, J. A. (1981) The genera of fungi sporulating in pure culture. 315pp, J. Cramer.
- Whitney, H. S. (1971) Association of *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera: Scolytidae) with blue stain fungi and yeasts during brood development in lodgepole pine. Can. Entomol. 103: 1495-1503.
- Whitney, H. S. (1982) Relationships between bark beetles and symbiotic organisms. "Bark beetles in North American Conifers" (eds. Mitton, J. B. and Sturgeon, K. B.), 183-211. Univ. of Texas Press, Austin. †

- Whitney, H. S. and Farris, S. H. (1970) Maxillary mycangium in the mountain pine beetle. *Science* 167: 54-55.
- Yamada, Y., Banno, I., von Arx, J. A. and van der Walt, J. P. (1987) Taxonomic significance of the coenzyme Q system in yeasts and yeast-like fungi. "The expanding realm of yeast-like fungi" (eds. de Hoog, G. S., Smith, M. Th. and Weijman, A. C. M.), 299-308. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- 吉川賢・笠原誠・永森通雄 (1987) 誘引トラップに集まつた穿孔虫類. 98回日林論: 503-504.

(†: indirectly cited)

摘要

養菌性キクイムシ (ambrosia beetles) は、アンブロシア菌と総称される菌類と共生関係を結んでいることが知られている。本研究では養菌性キクイムシとその共生菌、および穿入樹木の3者間の相互関係を明らかにすることを目的として、同一地域（愛知県北東部）における2属3種の養菌性キクイムシ（ミカドキクイムシ、サクキクイムシ、ハネミジカキクイムシ）の生態調査と、抗道内および胞子貯蔵器官 (mycangia) 内の菌類の調査を行なった。また抗道内の菌相を正確に把握するために、走査型電子顕微鏡 (SEM) による実際の抗道の観察もあわせて行なった。その結果、以下のことが明らかにされた。

《生態》

1. ミカドキクイムシとサクキクイムシは1年2化で、ハネミジカキクイムシは1年1化の生活史を持っていた。越冬様式は、ミカドキクイムシとハネミジカキクイムシが成虫越冬で、サクキクイムシは幼虫越冬であった。成虫の飛翔分散時期は、ミカドキクイムシが4月上旬と最も早く、ハネミジカキクイムシが5月上旬から、幼虫越冬するサクキクイムシは最も遅く6月下旬であった。
2. 性比 (♀ : ♂) は、ミカドキクイムシが1:1、サクキクイムシとハネミジカキクイムシが約10:1であった。
3. キクイムシ誘引トラップによって捕獲されたキクイムシのうち、約70%がミカドキクイムシであり、雌成虫の捕獲数は雄成虫の約2倍であった。また、ミカドキクイムシの伐倒木への初穿入日は、誘引トラップにおける初捕獲日の2週間後であった。
4. ミカドキクイムシの材内生存率は、抗道内産卵数と正の相関関係があることが示された。また産卵数は、抗道によって大きな差が見られたが、材の直径との間に正の相関が認められた。

《抗道内菌相》

1. キクイムシ抗道内の菌相はキクイムシの生育段階によって遷移し、その遷移様式は3種ともに一定の共通性が認められた。すなわち抗道内では、穿入期から幼虫期にかけて、3種とも *Ambrosiella* 属の菌が優占的になり、生育段階が進むにつれて徐々にその他の菌類と置き換わり、新成虫期には *Ambrosiella* 属の菌はほとんど分離されなくなった。
2. *Ambrosiella* 属の菌はキクイムシごとに種が異なっていた。しかし同一種のキクイムシでは、穿入樹種が異なっても、また世代が異なっても同じ種の *Ambrosiella* sp. が分離された。
3. 酵母類はどの生育段階でもかなり普遍的に存在し、優占率と遷移様式はキクイムシの種によって多少異なるものの、産卵期から飛翔期までほとんどすべての生育段階で分離された。
4. 酵母類は、*Ambrosiella* 属の菌と異なり、キクイムシごとではなく穿入樹種によってその種が異なっていた。
5. *Ambrosiella* 属と酵母類以外の菌類は、ミカドキクイムシとハネミジカキクイムシの場合、*Paecilomyces* sp. が優占種となつたが、伐倒木と天然枯死木で調査したサクキクイムシの場合では、伐倒木では *Paecilomyces* sp. が、天然枯死木では *Cephalosporium* sp. が優占種となつた。

6. ミカドキクイムシのような梯子孔の抗道を作る種では、母孔と幼虫孔で繁殖している菌相が異なっており、母孔では全体的に菌の分離率が低く胞子形成も幼虫孔側より弱かった。
7. サクキクイムシの越冬世代では、幼虫休眠解除後の抗道から、越冬期に全く分離されなかった *Ambrosiella* sp. 2 が再び分離されるようになった。
8. 走査型電子顕微鏡 (SEM) によって実際の抗道内の菌類繁殖状況を観察したところ、キクイムシの生育段階に伴う菌相の変化は、分生胞子の形態や抗道内の状態などから判断して、分離試験の結果を裏付けるものであった。

《胞子貯蔵器官 (mycangia) 内菌相》

1. mycangia から分離された菌相も、抗道内の菌相同様、キクイムシの生育段階によって遷移したが、その遷移様式はキクイムシの種によって異なっていた。すなわちサクキクイムシとハネミジカキクイムシでは、分離率が越冬期に低下し、菌相はいずれの生育段階でも *Ambrosiella* sp. 2, sp. 3 が優占していた。これに対しミカドキクイムシでは、分離率は越冬期に入っても低下せず、*Ambrosiella* sp. 1 は、成熟成虫期・越冬成虫期にほとんど分離されなくなった。
2. 材内において羽化した未成熟成虫の mycangia からは、3 種とも *Ambrosiella* 属の菌が分離された。これに対し、蛹から無菌的に脱蛹させたサクキクイムシとハネミジカキクイムシの mycangia からは、菌類はほとんど分離されなかった。
3. 酵母類は、サクキクイムシとハネミジカキクイムシの mycangia からはほとんど分離されなかつたが、ミカドキクイムシからは全生育段階を通じて分離された。
4. 成虫越冬しているサクキクイムシとハネミジカキクイムシを雑菌除去後約 1 週間、室温処理した後に mycangia から菌類の分離を行なった結果、*Ambrosiella* sp. のみが 100% 分離された。

以上の結果を総合して、次のことが推察された。

1. 養菌性キクイムシは、繁殖に好適な衰弱木や枯死木が量的に増加することによって、個体数を飛躍的に上昇させる可能性を持つものと考えられる。
2. 養菌性キクイムシの主要栄養源となる共生菌 (PAF) は、種特異的な *Ambrosiella* 属の菌であり、穿入樹種ごとに種の異なった酵母類は副次的共生菌 (AAF) と考えられた。これら以外の菌類 (NAF) は、本質的には養菌性キクイムシと無関係の菌類と推察される。
3. 養菌性キクイムシが mycangia に共生菌を取り入れる時期は、蛹から成虫になった直後の、未成熟成虫期と考えられた。
4. キクイムシ幼虫の摂食作用は、抗道内の菌類に大きな影響を及ぼし、PAF の繁殖を促進させる働きがあることが考えられる。
5. PAF 自身は、AAF には影響がなく NAF の繁殖を抑制する何らかの物質を生産していることが推測された。

Summary

Ambrosia beetles (Scolytidae and Platypodidae) are wellknown as forest pests that have a mutualistic association with fungi. The present study has clarified the biology of three ambrosia beetle species, *Scolytoplatypus mikado*, *Xylosandrus crassiusculus* and *X. brevis*, and their symbiotically associated fungi by means of both isolation experiments and SEM microscopy. The major results were summarized as follows.

Biology of scolytid beetles

S. mikado had two generations annually and overwintered in the adult stage. The sex ratio of offspring was approximately 1 : 1, although the proportion of female adults captured by an attractant-mounted trap (α -pinene) reached about 71 % of total catches of *S. mikado*. The mean fecundity per gallery positively correlated with the diameter of an infested log. The survival rate of offspring in each gallery was correlated strongly with the number of eggs deposited per gallery.

X. crassiusculus was bivoltine and overwintered in the larval stage. Dispersal flight of the overwintered generation started in late June. The congener *X. brevis*, however, was univoltine and overwintered in the adult stage, and dispersal flight began in early May. The sex ratio of offspring of both species was about 10 : 1.

Fungi in the galleries

The fungal composition in the galleries changed greatly with the developmental stages of the scolytid beetles. The isolated fungi were classified into the three groups: *Ambrosiella* spp., yeast-like fungi and other fungi. *Ambrosiella* spp. were highly species-specific among scolytid species: *Ambrosiella* sp. 1, sp. 2 and sp. 3 were isolated from *S. mikado*, *X. crassiusculus* and *X. brevis* respectively. *Ambrosiella* spp. were generally predominant among the fungal groups at the egg/larva periods in all host tree species, but the relative dominance decreased gradually with larval development.

Yeast-like fungi were constantly isolated from the galleries, and the relative dominance among yeast species depended not on scolytid species but on host tree species. Among other fungi *Paecilomyces* sp. was dominant in felled trees, whereas *Cephalosporium* sp. in standing dead trees. *Ambrosiella* sp. 1 associated with *S. mikado* flourished more vigorously in the larval cradles than in the mother galleries during the larval grazing period.

Fungi in the mycangia

The fungal composition in the mycangia changed greatly with the developmental stages of the scolytids. *Ambrosiella* sp. 1 was hardly isolated from the mycangia at the sclerotizing and overwintering stages of *S. mikado*, while *Ambrosiella* sp. 2 and sp. 3 were

dominant at almost all stages in the mycangia of *X. crassiusculus* and *X. brevis* respectively. No fungal spores occurred in the mycangia of the adult beetles reared under an aseptic condition from the pupal stage in each scolytid species.

All the present results suggested that: 1) *S. mikado* populations were likely to have the potential to increase rapidly in response to increasing availability of host trees, 2) the symbiotic fungi associated primarily with ambrosia beetles were species-specific *Ambrosiella* spp., 3) yeast-like fungi were likely to be auxiliary ambrosia fungi, whereas other fungi might have no essential association with the ambrosia beetles, 4) the intake of fungal spores by the beetles into their mycangia occurred immediately after adult eclosion, and 5) the development of ambrosia fungi appeared to be affected by the activity of larvae.

付表 分離された菌の記載

1. 主共生菌類 (PAF)

1-1. *Ambrosiella* sp. 1 (写真-15, 16)

分離場所—ミカドキクイムシ抗道および mycangia

培養的性質

色 : 表 初期は白色のちに灰～オリーブ～黒色
裏 黒色

性状 : 平滑

顕微鏡観察 : 分生子の Size が不均一

発生臭 : 果実臭

1-2. *Ambrosiella* sp. 2 (写真-17, 18)

分離場所—サクキクイムシ抗道および mycangia

培養的性質

生育速度(25°C) : 1週間後 CM 70 mm
YM 70 mm

色 : 表 初期は透明
1週間後縁透明少し中茶～オリーブ
その上白い分生子中央気生菌糸

裏 葉脈状に黒～オリーブ

性状 : 平滑で盛り上がりがない

顕微鏡観察 : 分生子の分岐頻繁

発生臭 : 強い果実臭

1-3. *Ambrosiella* sp. 3 (写真-19, 20)

分離場所—ハネミジカキクイムシ抗道および mycangia

培養的性質

生育速度(25°C) : 3日後 CM 培地上 18 mm
1週間後 CM 4～5 mm
YM 3～4 mm

色 : 表 灰色～灰褐色
裏—黒い斑点状

性状 : 中央盛り上がる ビロード状

顕微鏡観察 : 分生子あまり分岐しない

発生臭 : 強い酸性臭

2. 酵母類 (AAF)

2-1. *Pichia nakazawae* var. *akitaensis* (写真-21, 22)

形態	培地						
栄養増殖形式	: YM	: 多極出芽					
細胞の形態	: YM	: 円形～橢円形					
大きさ	: YM	: 円 3～7 μm,					
菌糸の形成	: コーンミール	: 假性菌糸あり, 菌糸, 分節・厚膜胞子なし					
胞子形成の有無 (形成培地)		: YM・コーンミール・改良 Gorodkowa 培地で形成					
子のう胞子の形状と数		: 半球～帽子型, 1～4 個					
培養的性質							
斜面培地	表面	: 繖状					
	周縁	: 全縁～波状					
	光沢	: 白亜状					
	隆起	: 膜状～凸状					
	コロニーの色	: 白～乳白色					
液体培地	ガスの発生	: あり・下面					
	培地の混濁	: かすか					
	沈殿物	: 薄片状					
	皮膜の形成	: あり・島状					
生理的性質 (+: あり, -: なし, W: 弱い, D: 遅い)							
Fermentation							
Glucose	+	Galactose	-	Maltose	+	Sucrose	W
Lactose	-	Melibiose	-	Raffinose	-		
Carbon assimilation							
Glucose	+	Galactose	+	Maltose	+	Sucrose	+
Lactose	-	Melibiose	-	Raffinose	-		
L-sorbose	W	Cellobiose	+	Trehalose	+	Soluble Starch	+
D-Xylose	+	L-Arabinose	+	L-Rhamnose	-	Inositol	-
Nitrogen assimilation KNO ₃			-	DBB Color Test			-
Starch synth. solid			-	Starch synth. liq.			-
過去において発見されている場所		: シラカシ等の樹液 (日本)					

2-2. *Hansenula bimundalis* (写真-23, 24)

形態	培地	
栄養増殖形式	: YM	: 多極出芽
細胞の形態	: YM	: 円形～橢円形
大きさ	: YM	: 円 4～8 μm,
菌糸の形成	: コーンミール	: 假性菌糸・菌糸あり, 分節・厚膜胞子なし
胞子形成の有無 (形成培地)		: YM・コーンミール培地で形成

子のう胞子の形状と数	：球～シルクハット型，1～4個	
培養的性質		
斜面培地	表面	：平滑
	周縁	：全縁
	光沢	：白亜状
	隆起	：扁平状
	コロニーの色	：白～乳白色
液体培地	ガスの発生	：なし
	培地の混濁	：かすか
	沈殿物	：なし
	皮膜の形成	：かすか

生理的性質

Fermentation

Glucose	D	Galactose	W	Maltose	-	Sucrose	D
Lactose	-	Melibiose	-	Raffinose	-		

Carbon assimilation

Glucose	+	Galactose	W	Maltose	+	Sucrose	+
Lactose	-	Melibiose	-	Raffinose	-		
L-sorbose	-	Cellobiose	+	Trehalose	+	SolubleStarch	+
D-Xylose	+	L-Arabinose	-	L-Rhamnose	+	Inositol	-

Nitrogen assimilation KNO ₃	+	DBB Color Test	-
Starch synth. solid	-	Starch synth. liq.	-

過去において発見されている場所：昆虫、マツ類からであるフラス

2-3. *Saccharomyopsis capsularis* (写真-25, 26)

形態 培地

栄養増殖形式	YM	：多極出芽
細胞の形態	YM	：円形～橢円形
大きさ	YM	：円 2～5 μm,
菌糸の形成	：コーンミール	：仮性菌糸あり，菌糸，分節・厚膜胞子なし
胞子形成の有無(形成培地)	：YM・コーンミール・改良 Gorodkowa 培地	で形成
子のう胞子の形状と数		：半球～帽子型，1～4個

培養的性質

斜面培地	表面	：繖状
	周縁	：全縁～波状
	光沢	：白亜状
	隆起	：臍状～凸状
	コロニーの色	：乳白色
液体培地	ガスの発生	：あり・下面

糞菌性キクイムシとその共生菌に関する研究

培地の混濁 : かすか
 沈殿物 : 薄片状
 皮膜の形成 : あり・島状

生理的性質

Fermentation

Glucose	+	Galactose	-	Maltose	+	Sucrose	-
Lactose	-	Melibiose	-	Raffinose	-		

Carbon assimilation

Glucose	+	Galactose	+	Maltose	+	Sucrose	W
Lactose	-	Melibiose	-	Raffinose	-		
L-sorbose	-	Cellobiose	+	Trehalose	+	SolubleStarch	+
D-Xylose	D	L-Arabinose	D	L-Rhamnose	W	Inositol	-
Nitrogen assimilation	KNO ₃		-	DBB Color Test			-
Starch synth. solid			-	Starch synth. liq.			-

過去において発見されている場所：放牧地土壤（スイスアルプス）

Xylocopa の花粉（南アフリカ）

2-4. *Candida rhagii* (写真-27)

形態 培地

栄養増殖形式	: YM	: 多極出芽
細胞の形態	: YM	: 円形～橢円形
大きさ	: YM	: 円 2～5 μm,
菌糸の形成	: コーンミール	: 仮性菌糸あり、菌糸、分節・厚膜胞子なし
胞子形成の有無(形成培地)		: なし
子のう胞子の形状と数		: なし

培養的性質

斜面培地	表面	: 平滑
	周縁	: 全縁
	光沢	: 白亜状
	隆起	: 扁平状
	コロニーの色	: 白～乳白色
液体培地	ガスの発生	: あり・下面
	培地の混濁	: やや濁る
	沈殿物	: 粉状
	皮膜の形成	: あり・膜状

生理的性質

Fermentation

Glucose	+	Galactose	+	Maltose	-	Sucrose	+
Lactose	-	Melibiose	-	Raffinose	-		

Carbon assimilation

Glucose	+	Galactose	+	Maltose	+	Sucrose	+
Lactose	-	Melibiose	-	Raffinose	+		
L-sorbose	-	Cellobiose	+	Trehalose	+	SolubleStarch	+
D-Xylose	+	L-Arabinose	W	L-Rhamnose	+	Inositol	-
Nitrogen assimilation KNO ₃			-	DBB Color Test			-
Starch synth. solid			-	Starch synth. liq.			-

過去において発見されている場所：樹皮下穿孔性キクイムシ

3. その他の主要な菌類 (NAF)

3-1. *Paecilomyces* sp. (写真-28)

分離場所—伐倒放置した材に穿入したキクイムシの抗道および mycangia
培養的性質

生育速度(25°C)：3日後 CM 培地上 10 mm 高さ 2 mm

1週間後 CM	35-38 mm
YM	28-30 mm

色 : 白～クリーム

性状 : 毛ば立っている粉状

分生子形成方法：フィアロ型

Penicillium 属に似ている。フィアライド明瞭

分生子柄の長さ：最大 200 μm 程度まで成長

3-2. *Cephalosporium* sp. (写真-29)

分離場所—天然枯死木に穿入したキクイムシの抗道および mycangia
培養的性質

生育速度(25°C)：3日後 CM 培地上 10 mm 高さ 2 mm

1週間後 CM	15 mm
YM	15 mm

色 : 白

性状 : 濡った綿状、中央が盛り上がっている

分生子形成方法：フィアロ型

分生子は粘球となって分生子柄先端にかたまる

[写真-1~14: Bar=50 μm]

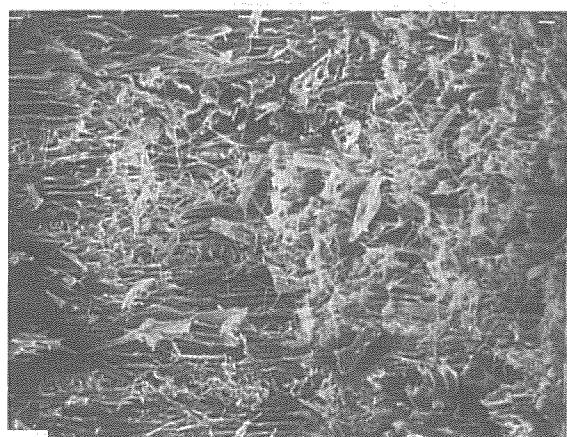


写真-1. ミカドキクイムシ 母孔穿入期

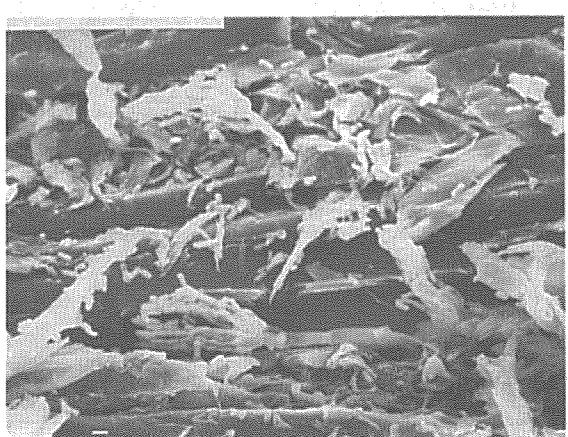


写真-2. ミカドキクイムシ 母孔飛翔期

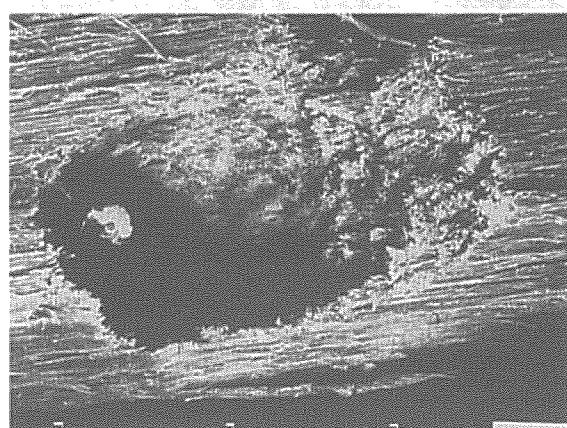


写真-3. ミカドキクイムシ 幼虫孔卵期

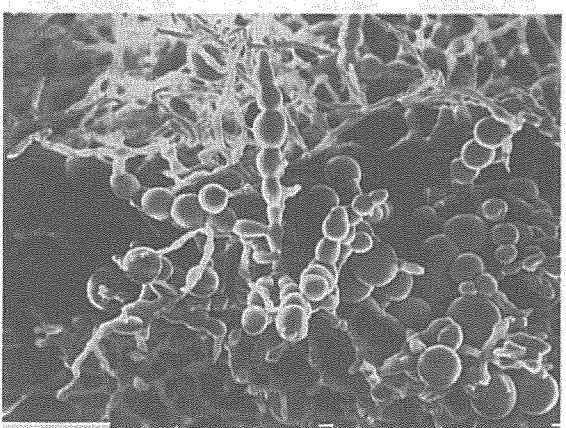


写真-4. ミカドキクイムシ 幼虫孔幼虫期

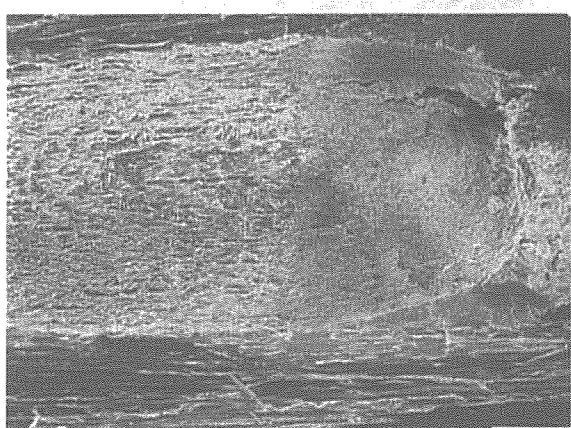


写真-5 a. ミカドキクイムシ 幼虫孔蛹期

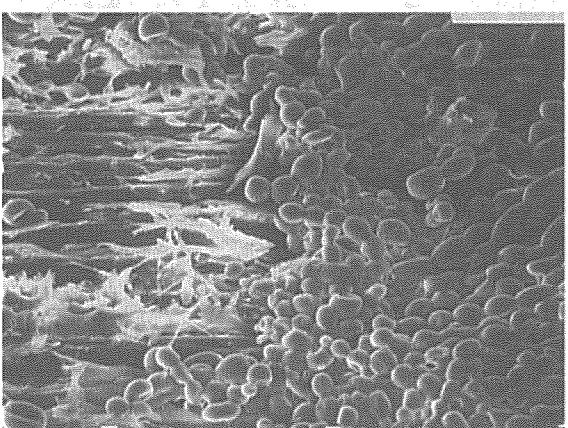


写真-5 b. ミカドキクイムシ 5 a. の拡大

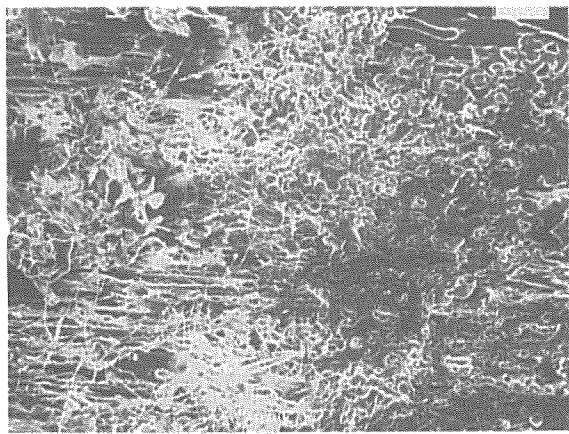


写真-6. ミカドキクイムシ 幼虫孔未成熟成虫期

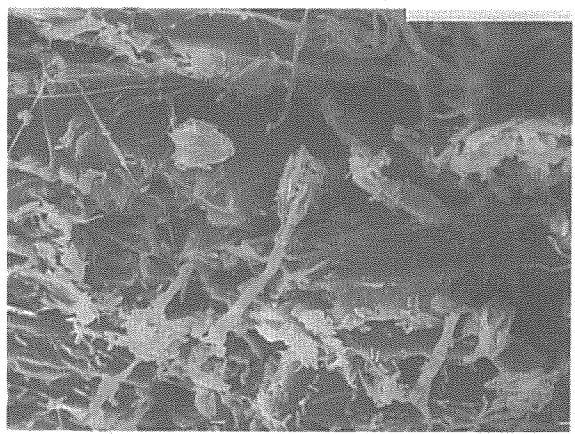


写真-7. ミカドキクイムシ 幼虫孔新成虫期

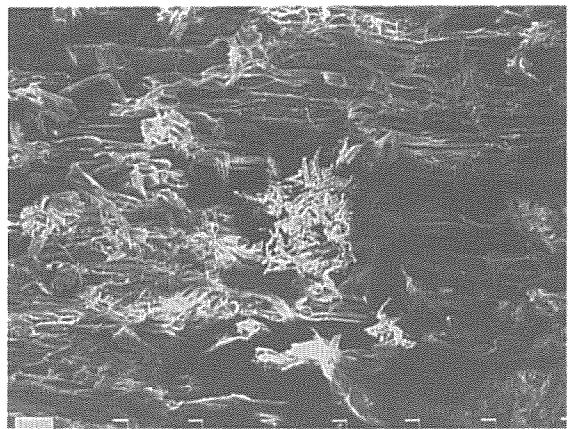


写真-8 a. サクキクイムシ 産卵期

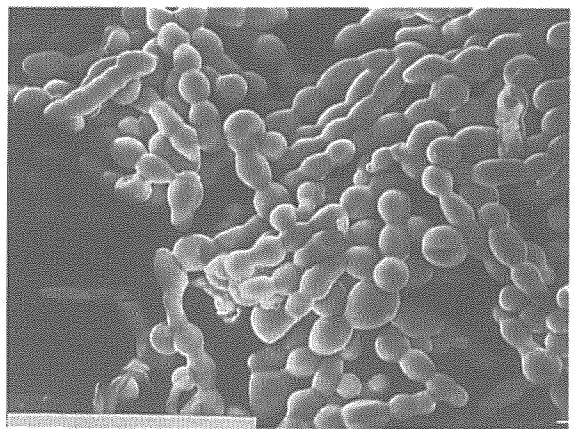


写真-8 b. サクキクイムシ 8 a の拡大

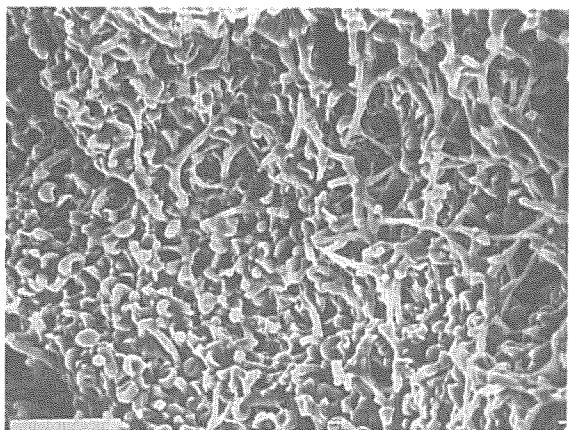


写真-9. サクキクイムシ 幼虫期

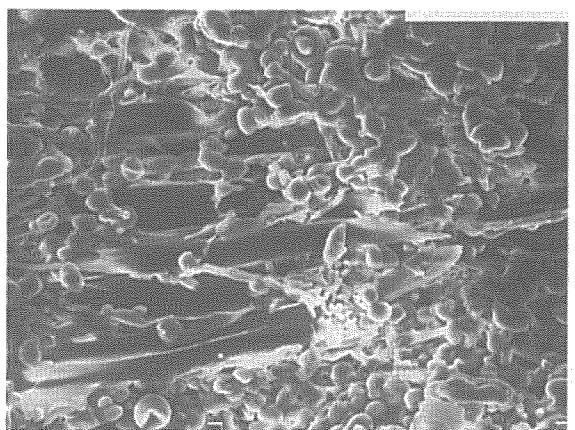


写真-10. サクキクイムシ 越冬期

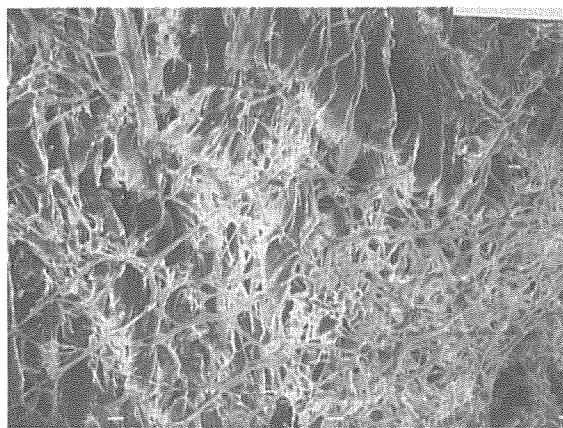


写真-11. ハネミジカキクイムシ 産卵期水平孔

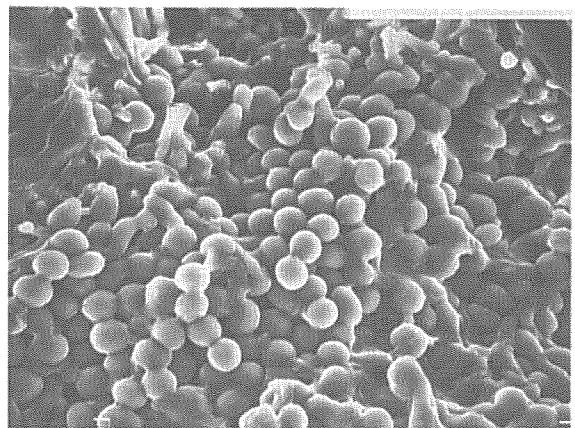


写真-12. ハネミジカキクイムシ 産卵期垂直孔

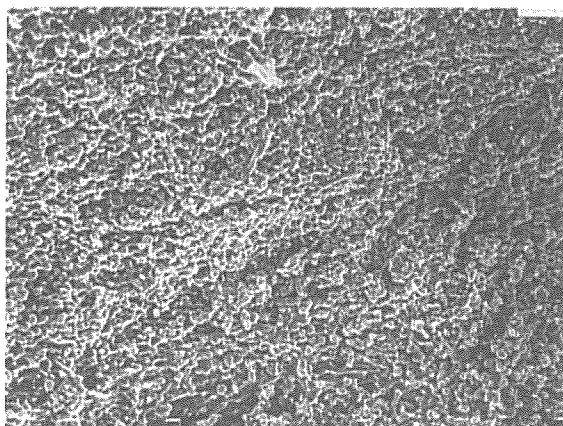


写真-13. ハネミジカキクイムシ 幼虫期

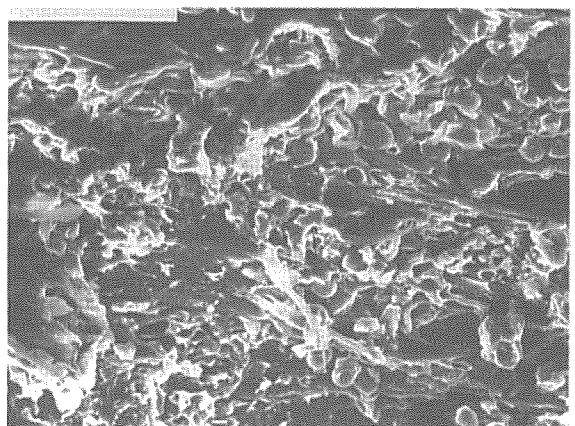


写真-14. ハネミジカキクイムシ 蛹期

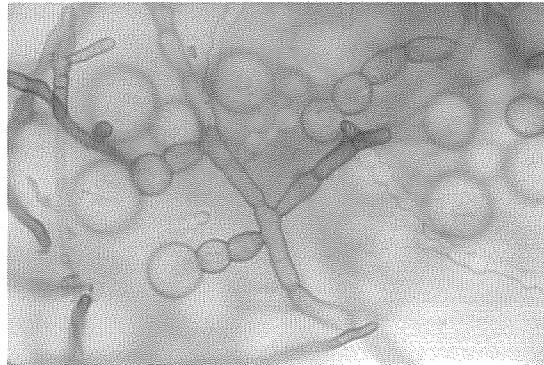


写真-15. *Ambrosiella* sp.1 基中分生子

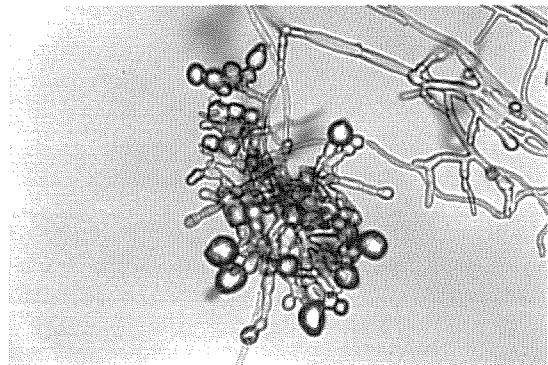


写真-16. *Ambrosiella* sp.1 気生分生子

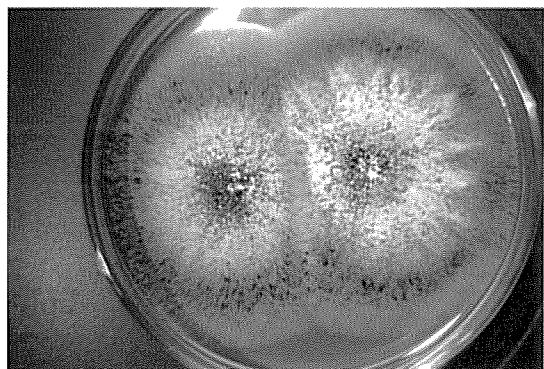


写真-17. *Ambrosiella* sp.2 PD 寒天培地上

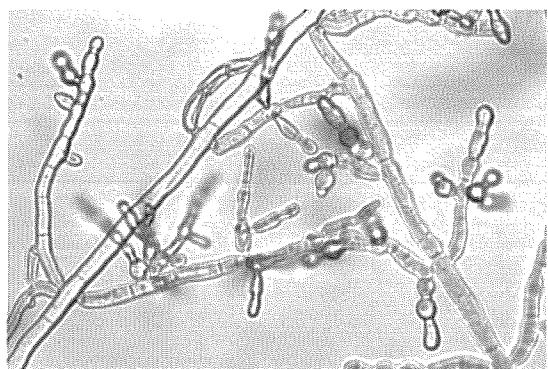


写真-18. *Ambrosiella* sp.2 気生分生子

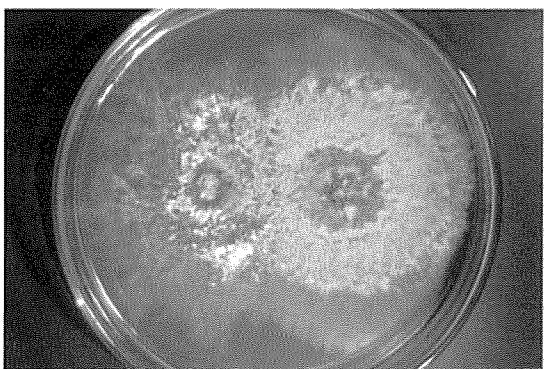


写真-19. *Ambrosiella* sp.3 PD 寒天培地上

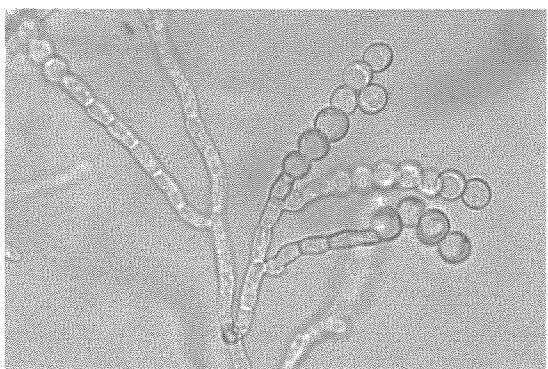


写真-20. *Ambrosiella* sp.3 気生分生子

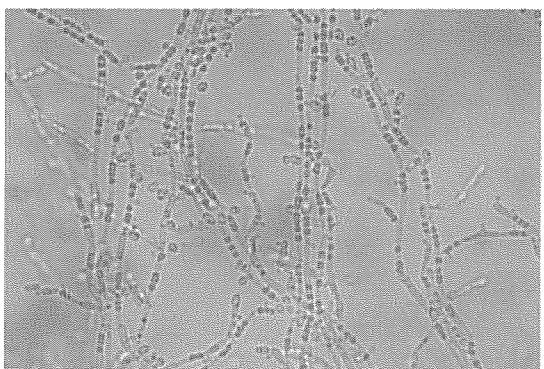


写真-21. *Pichia* *nakazawae* 半球状子のう胞子

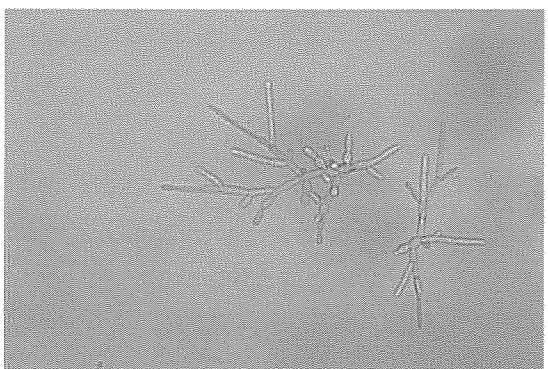


写真-22. *Pichia* *nakazawae* 出芽細胞

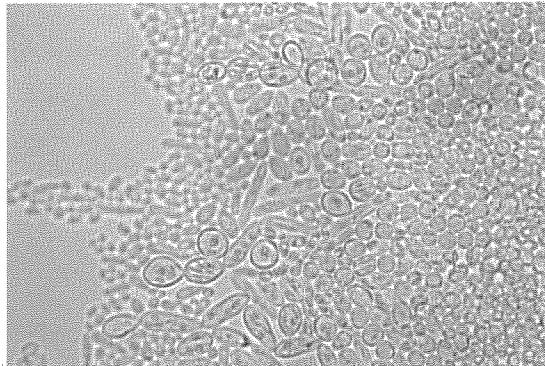


写真-23. *Hansenula bimundalis* シルクハット型子のう胞子

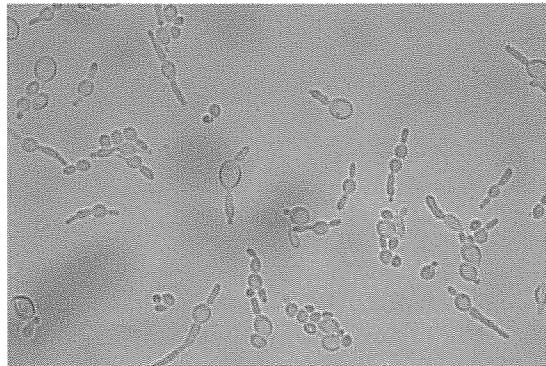


写真-24. *Hansenula bimundalis* 出芽細胞

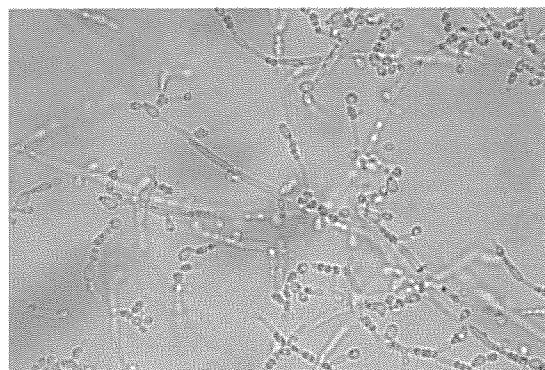


写真-25. *Saccharomyces capsularis* 半球状子のう胞子

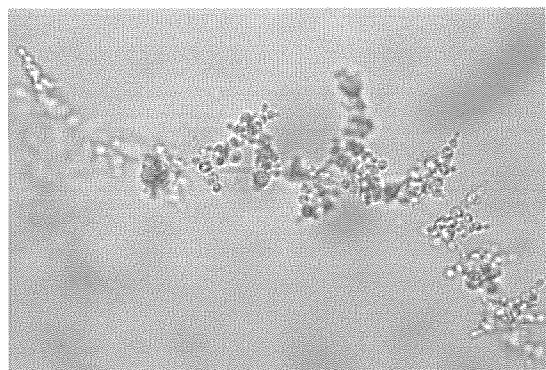


写真-26. *Saccharomyces capsularis* 出芽細胞

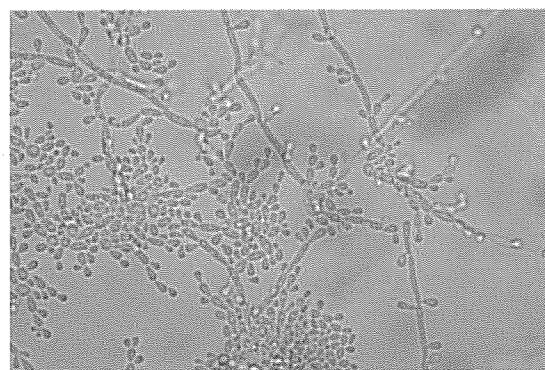


写真-27. *Candida rhagii* 假性菌糸, 出芽細胞

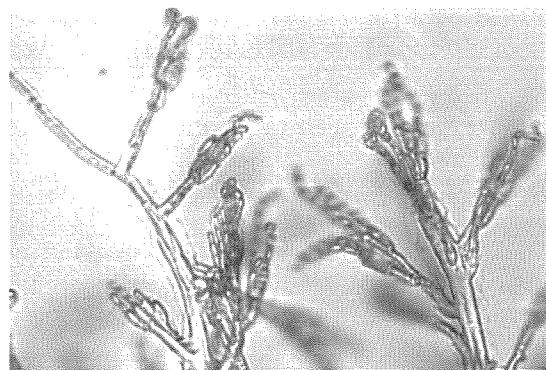


写真-28. *Paecilomyces* sp. 分生子

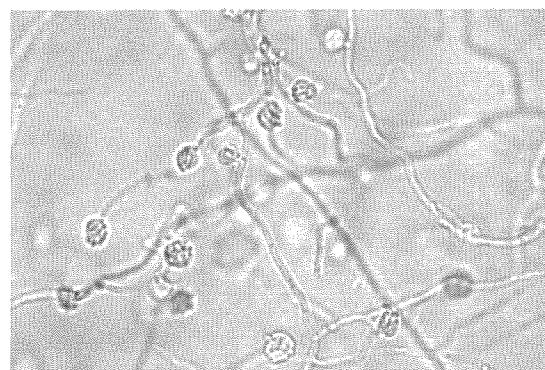


写真-29. *Cephalosporium* sp. 分生子

[写真-15~29 : 400 倍 (17, 19 を除く)]