

千葉演習林におけるマツ材線虫病に対する抵抗性選抜育種

—新たな選抜と採種園産苗木の再検定—

米道 学・鈴木祐紀・塚越剛史・里見重成・軽込 勉・池田裕行・山田利博（東大千葉演）

要旨：東京大学千葉演習林では、マツ材線虫病抵抗性アカマツ、アイグロマツの苗木生産を行っているが、近年、抵抗性マツ採種園母樹個体に枯死が確認される。そこで、新たな抵抗性個体の選抜と採種園産実生苗木の再検定を行った。激害地の生存木にマツノザイセンチュウ（Ka-4, T-4）を連年接種する方法で2001年から新たな抵抗性個体の選抜を行い、現在までにアカマツ9個体、クロマツ1個体の10個体が選抜された。これらの接ぎ木苗に対する接種でも高い抵抗性が認められた。また、採種園産実生苗木（アカマツ14母樹）の接種を2年連続接種で行った結果、枯死率が0~28%であり、採種園個体の枯死にもかかわらず概ね抵抗性が高いと判定された。採種園産実生苗木は母樹個体より抵抗性が高くなった可能性がある。

キーワード：マツ材線虫病抵抗性マツ、選抜育種、採種園実生苗

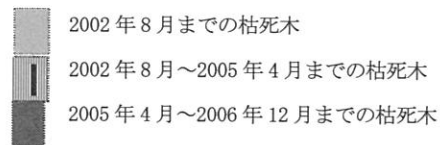
I はじめに

東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林千葉演習林では、1978年以降マツ材線虫病に対する抵抗性マツの選抜育種を行っている。千葉演習林内のマツ枯れ激害地での生存個体から接ぎ木苗を育成し、30母樹（アカマツ29母樹、アイグロマツ1母樹）による採種園（30母樹×4区=120本）を1983年に造成して抵抗性マツの苗木生産を行っている。1986~1991年まで採種園産実生苗に接種検定を行ってきた。一例としてとして、1988~1989年に5アイソレートの線虫接種を行った（1）。その時の生存率は19母樹で平均98%を示し、最低でもS6-1接種の96%であり、高い抵抗性を示した。しかし、1995年以降、採種園内の個体に枯死がみられ始め、2006年12月現在、累積枯死は63本（枯死率53%）となった（図-1）。なお、2002年8月以降の枯死個体は全てベールマン法による検査を行い、マツノザイセンチュウ（以下、線虫）が確認されている。

そこで、採種園維持のために新たな抵抗性個体の選抜を行うと同時に、1992年以降、採種園産の実生苗木に対する接種を行っていなかったことから、抵抗性確認のため採種園産苗木の接種検定を行った。

1	17	2	18	3	1	17	2	18	3
19	4	20	5	21	19	4	20	5	21
6	22	7	23	8	6	22	7	23	8
24	9	25	10	26	24	9	25	10	26
11	27	12	28	13	11	27	12	28	13
29	14	30	15	16	29	14	30	15	16
1	17	2	18	3	1	17	2	18	3
19	4	20	5	21	19	4	20	5	21
6	22	7	23	8	6	22	7	23	8
24	9	25	10	26	24	9	25	10	26
11	27	12	28	13	11	27	12	28	13
29	14	30	15	16	29	14	30	15	16

図-1. 採種園の状況



Takashi YONEMICHI, Masanori SUZUKI, Takeshi TSUKAGOSHI, Shigenari SATOMI, Tsutomu KARUKOME, Hiroyuki IKEDA, and Toshihiro YAMADA (University Forest in Chiba, The University of Tokyo, Amatsu 770, Kamogawa, Chiba 299-5503. Selection breeding of pine wilt-resistant pines at University Forest in Chiba.

II 試験地と方法

1) アカマツ・クロマツの抵抗性クローン選抜

2001年、千葉演習林内のマツ材線虫病激害地(90%以上の枯死地域)の生存木中で形状の良いものをマツ材線虫病抵抗性母樹候補木とした。アカマツは天然林と思われる64年生林から、クロマツは42年生人工林から選抜した(表-1)。これらの個体に直接マツノザイセンチュウを2001~2004年の4年間連続してドリル接種(直径2mm 深さ約10cm)で接種して、枯死しなかった個体を抵抗性母樹と判定した(表-2)。使用した線虫は、2001~2003年はT-4、2004年はka-4で、いずれも強病原力である(2)。その母樹から接ぎ木によるクローン苗を作成し(2004年2月に接ぎ木を行った)、その接ぎ木クローンにも剥皮接種を行った。使用した線虫は、ka-4で5,000頭/本接種した。なお、対照として2002年にテータマツ(2年生)、2003年にクロマツ(4年生)に剥皮接種を行った。使用した線虫はT-4を使用した。枯死木は全てベールマン法で線虫の有無を検査した。

なお、予定している抵抗性選抜育種のプロセスは次の通りである。

抵抗性候補木選定—接種—抵抗性母樹判定—抵抗性接ぎ木クローン増殖—採種園造成—抵抗性自然交配種子採取—苗木の抵抗性検定—抵抗性苗木生産。

表-1. 成木供試木の大きさ

樹種	供試本数 (本)	平均胸高直径 (cm)	平均樹高 (m)
アカマツ	15	27	14
クロマツ	2	30	14

2) 採種園産実生苗木の接種検定

前述した通り千葉演習林では、近年、採種園個体の枯死が確認されたため2002~2003年の2年間連続接種で採種園産実生苗木の接種検定を行った。苗木の数を確保できた14母樹からの実生苗(3~4年生)各28~50本(総計637本)に対してT-4を10,000頭/本接種した。なお、接種して枯死した苗木は全てベールマン法で線虫の有無を検査した。

III 結果と考察

1) アカマツ・クロマツの抵抗性クローン選抜

4年間連続接種を行った結果、アカマツで9本、クロマツで1本の抵抗性母樹候補が選抜できた(表-3)。2003年のアカマツの高い枯死率の原因は不明だが、悪条件下の接種で生き残った個体の抵抗性の高さが期待できよう。

これらの母樹からの接ぎ木クローンに対する接種(アカマツ7母樹で162本、クロマツ1母樹で11本)の結果、アカマツ、クロマツ共に10%以下の枯死率であった(表-3)。これは、対照として接種したテータマツの枯死率(12%)より低い値だった(表-5)。したがって、4年間連続接種で生き残った母樹の抵抗性は高いといえる。今後も接ぎ木クローンに対する連続接種を継続して高度な抵抗性をもつ母樹の確保を目指す。

今回の選抜で用いた線虫はかつての選抜と異なるため単純に比較することはできない。しかし、今回の線虫接種頭数の多さと繰り返し接種の多さを考えれば、今回の選抜個体は、現存する採種園母樹以上の抵抗性を持つ可能性が考えられる。

表-2. 抵抗性母樹判定のための接種結果

樹種	接種年月	供試本数 (本)	接種頭数 (アイトレート・頭/本)	枯死本数 (本)	枯死率 (%)
ア	2001年7月	15	T-4・5,000	1	7
カ	2002年8月	14	T-4・10,000	0	0
マ	2003年8月	14	T-4・30,000	5	36
ツ	2004年6月	9	Ka-4・60,000	0	0
累積枯死率					40
ク	2001年7月	2	T-4・5,000	1	50
ロ	2002年8月	1	T-4・10,000	0	0
マ	2003年8月	1	T-4・30,000	0	0
ツ	2004年6月	1	ka-4・60,000	0	0
累積枯死率					50

表-3. 接ぎ木クローン接種結果

樹種	系統 番号	供試本 数 (本)	枯死本 数 (本)	枯死率 (%)
アカマツ	2	4	0	0
アカマツ	3	10	0	0
アカマツ	4	29	1	3
アカマツ	5	6	0	0
アカマツ	7	49	1	2
アカマツ	8	29	1	3
アカマツ	9	35	3	9
クロマツ	1	11	1	9

※接種年月は2006年7月である。

表-4. クロマツ, テーダマツの接種結果

樹種	接種 頭数 (頭/本)	供試本 数 (本)	枯死 本数 (本)	枯死 率 (%)
テーダマツ	10,000	25	3	12
	200	50	0	0
	500	50	5	10
クロマツ	2,000	40	10	25
	5,000	40	19	48
	10,000	48	19	40
	20,000	48	30	63

※テーダマツ 2002年7月, クロマツ 2003年7月に接種。

クロマツに対する T4 を用いた接種頭数別試験では、線虫の接種頭数が多いほど高い枯死率を示し (表-4)、接種自体 (線虫の病原力、接種技能) には問題が無いと思われる。ここで用いたクロマツは、以前接種した個体の生き残りが母樹となった実生苗であり通常感受性クロマツに比べやや抵抗性が高いと考えられ、枯死率は通常のクロマツで予想されるより低かった。5,000~10,000 頭/本接種はアカマツ・クロマツのクローン選抜の対照とした。対照クロマツの枯死率 48~40%、テーダマツの枯

死率 12% を考えれば前述し通り、接ぎ木クローン (表-3) の (枯死率 0~9%) 抵抗性は高いといえる。今回の対照クロマツと接ぎ木クローンに接種に使用した線虫が T-4 (対照クロマツ) と ka-4 (接ぎ木クローン) で異なり純粋に比較できないが、前述した通り両線虫とも強病原力であり概ね問題がないと考える。今後、繰り返し接種時には対照苗と同じ線虫を使用するつもりである。

なお、全ての枯死木で線虫が確認された。

2) 採種園産実生苗木の接種検定

採種園産実生苗木に 2 年連続接種を行った。累積枯死率は 0~28% で、千葉演習林アカマツ採種園産実生苗の多くは T-4 に対しても高い抵抗性を持つことが確認された (表-5)。特にテーダマツの枯死率 12% より低い値を示した 9 母樹からの苗木は非常に抵抗性が高いと考えられる。なお、全ての枯死苗で線虫が確認されている。

1988~1989 年の接種 (I) に比べ今回の接種ではテーダマツを含めて枯死率が全体に高くなったが、テーダマツでも高くなったことから、この原因としては抵抗性レベルの違いではなく、接種方法の違いが考えられる。1988~1989 年の接種方法は、苗木主軸にピンセットの先で 3 cm の傷をつけてスポイドで線虫を注入する (I) やり方をしており、今回用いた剥皮接種より線虫の侵入率が低かったのかも知れない。

14 母樹中、1 年目より 2 年目の枯死が多かったのは母樹 No.28, 29 だけであり、2 年目の方が枯死率は低かった (F 検定, $P=0.00027$)。2 年目は 1 年目の接種で生き残った苗木への接種なので抵抗性がより高かったのであろう。しかし 2 年目の接種においても枯死が確認されている。よって、複数年接種は抵抗性の認定では必要と考える。

当初、採種園母樹の枯死率が高い個体群は実生苗木の枯死率も高くなると思われたが今回の接種では相関関係は認められなかった ($r=0.092$, $P=0.75$)。花粉親の影響が大きかったと考えられる。

採種園の個体の半数以上が自然感染で枯死したのに対し、接種試験による実生苗木の抵抗性が高かったことから、抵抗性個体同士の自然交配によって苗木が母樹個体に比べ抵抗性が増した可能性がある。これまで花粉汚染によって抵抗性が低下することが報告されているが (3, 4)、抵抗性の増大を論じた例はない。千葉演習林の採種

園はその他マツ林から隔離された地域に存在しており、園外からの花粉による交配の頻度が低いことが、遺伝学的解析なしに母樹の枯死率との比較で抵抗性増大の可能性が示唆された要因であろう。ただし、単に枯死率の比較によるものなので、今後は遺伝学的な解析が必要である。

表-5. 採種園産実生苗木の接種

	2003年7月接種			2004年7月接種			累積枯死率 (%)	採種母樹 (%)
	母樹本数 (本)	枯死本数 (本)	枯死率 (%)	母樹本数 (本)	枯死本数 (本)	枯死率 (%)		
1	50	12	24	38	2	5	28	100
2	50	2	4	48	1	2	6	50
3	50	11	22	39	1	3	24	25
4	50	3	6	47	0	0	6	25
5	28	5	18	23	0	0	18	50
8	50	4	8	46	0	0	8	50
9	28	3	11	25	2	8	18	25
12	50	7	14	43	1	2	16	25
22	50	1	2	49	0	0	2	50
24	50	1	2	49	0	0	2	75
26	50	5	10	45	0	0	10	50
27	50	0	0	50	0	0	0	50
28	50	1	2	49	1	2	4	25
29	31	0	0	31	2	6	6	0

※接種に用いた苗木は2003年時点で全て3年生である。

IV おわりに

千葉演習林のマツ材線虫病抵抗性苗木生産のための採種園では母樹個体のマツ材線虫病による枯死が続いているが、今後も連年接種によって新たな抵抗性個体を選抜し、新たに採種園に追加していくことでより強い実生抵抗性苗木生産につながると考える。

本試験を行うにあたりマツノザイセンチュウの分譲と指導をいただいた東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林田無試験地の坂上大翼博士に深く感謝する。

引用文献

- (1) 糟谷重夫・佐倉詔夫・岸洋一(1990)マツ材線虫病抵抗性マツの選抜育種一家系とクローンの比較。東京大学農学部演習林報告 83 : 19-30.
- (2) Kosaka, H., Aikawa, T., Ogura, N., Tabata, K. and Kiyohara, T. (2001) Pine wilt disease caused by the pine wood nematode: the induced resistance of pine trees by the avirulent isolates of nematode. *Eur. J. Plant Path.* 107:667-675.
- (3) 後藤 晋・宮原文彦・井出雄二 (2002) クロマツ種苗のマツ材線虫病抵抗性に対する花粉親の寄与. *日林誌* 84 : 45-49.
- (4) 全国森林病虫獣害防除協会 (1997) 松くい虫 (マツ材線虫) -沿革と最近の研究-. 274pp.