

千葉演習林において選抜したアイグロマツの材線虫病抵抗性

米道 学・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1983年に造成された材線虫病抵抗性マツ採種園は、アカマツ29母樹、アイグロマツ2母樹からなる。このアイグロマツは針葉や樹脂道がクロマツ型、冬芽が中間型と形態がほぼクロマツである。千葉県では抵抗性クロマツはまだ選抜されていないことから、今後の抵抗性育種素材として活用を図るため、このアイグロマツの実生苗や接ぎ木苗に対する接種試験を行うとともに雑種性を検討した。実生苗と接ぎ木苗に対する接種試験では実生苗の生存率が高かった。実生苗は選抜アカマツとの交雑で抵抗性が高くなった可能性がある。また、見本林として植栽した実生木(接種時林齢9~14年生)と接ぎ木木(同18~22年生)に3~5回の接種試験を行った結果、成木でも高い抵抗性が維持されていた。雑種性では、接ぎ木苗はアイグロマツの形質を維持していたが、実生苗は自殖苗、自然交配苗ともアカマツに近い形質を示した。

キーワード：アイグロマツ, 材線虫病, 抵抗性, 雑種性

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(以下、千葉演習林とする)では、1978年以降材線虫病に対する抵抗性マツの選抜育種を行い、31クローン(アカマツ29クローン、アイグロマツ2クローン)の接ぎ木個体による採種園(4回繰り返し)を造成し抵抗性マツの苗木生産を行っている。(3, 4, 9)。このアイグロマツ2クローンは、千葉演習林で生存した天然木13本、植栽木18本にマツノザイセンチュウ(以下、線虫とする)を3年間連続接種(2,000頭/本)して生き残った天然個体(3)からの接ぎ木クローンである。針葉形態がほぼクロマツであったことから選抜当初はクロマツとしたが、冬芽の形質からアイグロマツ(アイノコマツとも表記)とされた(3)。

2006年現在、日本全国で材線虫病抵抗性クローンはアカマツ142クローンに対しクロマツは64クローンと少なく(7)、千葉県においても選抜の段階である。そこで、千葉演習林のアイグロマツの内1クローンについてクロマツの代替等としての可能性を材線虫病抵抗性と雑種性から検証してみた。抵抗性は、過去の接種で用いていない線虫のアイソレートを使用して苗木と成木で接種試験を行い検証した。雑種性は外観、針葉断面、RDI(樹脂道指数)で検証した。

II 試験地と方法

1. 接種試験

(1) 苗木 2001~2007年にアイグロマツ苗木(実生、接ぎ木)で接種試験を行った(表-1)。実生苗は全て採種園産の自然交配実生苗(以下、特に断らない限り実生

は採種園産の自然交配実生を指す)を使用した。接種に用いた線虫アイソレートは強病原力のT-4, Ka-4と弱病原力のC14-5(5, 6)で、5,000~10,000頭/本を実生2~3年生苗(苗高約50~60cm)と接ぎ木苗(接ぎ木後の2.5年苗高, 約40cm)に接種した。また、ニセマツノザイセンチュウUn-1(8)を実生3年生苗(苗高約60cm)と接ぎ木後2.5年の苗(苗高約40cm)に5,000頭/本で接種した。対照としてクロマツ実生3年生苗(苗高約20cm)にも16本接種した。このクロマツは、以前接種した個体の生き残りが母樹となった実生苗で、通常の感受性クロマツより抵抗性がやや高いと思われる。接種は剥皮接種で、7~8月で行った。

また苗木の生存率を実生苗と接ぎ木苗、接種アイソレート間で χ^2 乗検定による比較を行った。

なお、全ての枯死苗の地上部全体からベールマン法で線虫の分離を行った。

(2) 成木 成木の接種試験は2002~2005年、2007年に行った。使用林分は、2002年に林齢9年生、平均樹高4.3m、年平均高直径5.2cmの採種園産アイグロマツ実生苗植栽林(以下、実生成木とする)と2003年に林齢18年生、平均樹高10.9m、平均胸高直径8.2cmのアイグロマツ接ぎ木苗植栽林(以下、接ぎ木成木とする)である。この接ぎ木成木は採種園植栽木同様、前述した3年間連続接種して生き残った個体から増殖したものである。接種に用いた線虫は強病原力のT-4, Ka-4で10,000~30,000頭/本を実生5回、接ぎ木3回で同一個体に連続接種した。接種はドリル(径2mm)接種で7~8月に行った。枯死木は全て、幹の胸高部からドリル(径18mm)で材片を

Takashi YONEMICHI, Takeshi TSUKAGOSHI, Shigenari SATOMI, Tsutomu KARUKOME, Hiroyuki IKEDA, Toshihiro YAMADA
(University Forest in Chiba, The University of Tokyo, Amatsu 770, Kamogawa, Chiba 299-5503) Pine wilt resistance of *Pinus × densi-thunbergii* selected in the University Forest in Chiba

採取し線虫の有無を検査した。

2. 雑種性の検証

アイグロマツの雑種性を外観、針葉断面、RDI から調べた。

外観（冬芽、針葉）と針葉断面は成木（25年生の採種園クローン母樹、23年生の接ぎ木成木、林齢15年生の実生成木）、苗木（接ぎ木後5.5年の接ぎ木苗、2年生実生苗、人工交配によるアイグロマツ（♀）×アカマツ（♂）の2年生苗）で調べた。外観は目視、手触りによった。針葉断面については、腹面長さ（2）をマイクロメーターで測定した。各3～4個体の1年生枝にある針葉5本を測定した。

RDIを苗木（接ぎ木後5.5年の接ぎ木苗、2年生実生苗、人工交配によるアイグロマツ（♀）×アカマツ（♂）の2年生実生苗、人工交配によるアイグロマツの2年生自殖苗）と成木（林齢15年生の実生成木）で調べた。

RDIは林木育種センター東北育種場の方法（2）で調べた。各区2～4個体を針葉1～2本で針葉横断面中での樹脂道の位置を観察しRDIを求めた。RDIが0.0に近ければアカマツ型、2.0に近ければクロマツ型となる（2）。

$RDI = S / 2 + s / n$ $S =$ 主樹脂道のスコア合計、 $s =$ 副樹脂道のスコア合計、 $n =$ 副樹脂道の総数。

なお、外観と針葉断面は2008年9月、RDIは2008年8月に調査した。

III 結果と考察

1. 接種試験

（1）苗木 苗木の接種結果を表-1に示す。1987年の接種試験（4）と同じく2002年もアイグロマツ実生苗はテーダマツと同程度の抵抗性を示した。T-4を用いたクロマツ実生苗がすべて枯死した。2007年の接種試験でも生存率76%を示し高い抵抗性が示された。

1987年のアイグロマツ接ぎ木苗への接種試験では、生存率87%と実生クロマツの18%よりはるかに高くテーダマツの94%に近かった（4）。1987年と異なる強病原力2アイソレートを使った今回の結果でも接ぎ木苗の生存率は高く抵抗性が高いことが示唆される。

実生苗、接ぎ木苗ともに強弱病原力を含む接種アイソレート間で生存率に有意な差がなかったこと（実生苗 $P = 0.78$ 接ぎ木苗 $P = 0.86$ ）も、強病原力アイソレートに対する抵抗性の高さによるものと考えられる。

2006年の結果では、実生苗、接ぎ木苗ともに弱病原力のC14-5やニセマツノザイセンチュウを接種した苗木で枯死が少数みられたが確認された線虫は20頭以下と著しく少なかった。強病原力線虫（Ka-4、T-4）の接種によ

る枯死個体からは全て数百頭以上の線虫を確認した。強病原力線虫による枯死苗の検査は枯死後2ヶ月以内で行ったのに対し、C14-5とニセマツノザイセンチュウの接種苗は12月頃に検査した。検査時期が線虫の数に影響を及ぼした可能性はあるが、C14-5やニセマツノザイセンチュウの病原力は極めて低く（5, 6, 11）、接種以外の要因による枯死が疑われる。

アイグロマツの実生苗と接ぎ木苗の生存率を比較（2006年7月にKa-4を5,000頭/本接種）したところ有意な差があった（ $P = 0.008$ ）。花粉汚染による抵抗性の低下（1, 11）、交配による抵抗性増大の可能性（9）が報告されているが、本アイグロマツにおいても花粉親として抵抗性選抜アカマツが実生の抵抗性を高めていると思われる。

（2）成木 成木の接種では、実生木で5回、接ぎ木木で3回の連続接種を行ったが、ともに過半数以上の個体が生き残った（表-2）。特に後半の接種では枯死木はほとんどなかった。誘導性抵抗の可能性も否定出来ないが、数回の接種試験を通して高い抵抗性を発揮していることから、当初の接種で比較的抵抗性の低い個体が淘汰されたためと思われる。成木の接種では対照となる感受性クロマツ成木は用いていないが、強い病原力を持つアイソレートに対して常に高い生存率を示したことから、過去に選抜した個体は成木になっても、強い抵抗性を発揮している可能性がある。

以上の苗木・成木の高い生存率からアイグロマツ母樹個体は抵抗性クローンとして使用できると思われる。

2. 雑種性の検証

接ぎ木の外観は針葉がクロマツ型で冬芽が中間型であった。実生の外観はアカマツに近かった（表-3, 4）。千葉演習林の抵抗性マツ採種園はアカマツを中心に構成されており、その中にアイグロマツが点在している（9）。花粉親はアカマツの可能性が高くそれが外観に現れたように思われる。採種園産実生苗、アイグロマツ×アカマツの人工交配苗、自殖苗の外観はアカマツ型となった。

針葉の厚さは林木育種センター東北育種場の結果ではクロマツは平均0.99mm以上である（2）。採種園母樹の針葉断面の厚さは、 1.10 ± 0.06 でクロマツ型であった（表-5）。針葉の棘感は採種園母樹、接ぎ木成木、接ぎ木苗は同様であったが、針葉断面の厚さは、接ぎ木成木、接ぎ木苗ともに0.99mm以下（表-5, 6）であった。針葉断面が母樹より薄い原因は不明であり、今後、他の植栽地や新たな接ぎ木苗、挿し木苗を含めた調査が必要である。実生成木の針葉断面の大きさは、苗木同様に接ぎ木成木に比べ小さくアカマツ型と言えた（表-5, 6）。針

表-1. 苗木の接種結果

接種年月	苗種	齢	アイソレート	接種頭数 (頭/本)	供試本数 (本)	枯死本数 (本)	生存率 (%)	χ^2 乗検定
2002年7月	実生苗	2	T-4	10,000	16	2	87	P=0.96n. s.
	テーダマツ 実生苗	2	T-4	10,000	25	3	88	
2006年7月	実生苗	3	Un-1	5,000	10	(1)	90	P=0.78n. s.
	実生苗	3	C14-5	5,000	10	(1)	90	
	実生苗	3	T-4	5,000	10	1	90	
	実生苗	3	Ka-4	5,000	10	0	100	P=0.008**
	接ぎ木苗	2.5	Ka-4	5,000	14	7	50	
2006年8月	接ぎ木苗	2.5	Un-1	5,000	8	(1)	87	P=0.87n. s.
	接ぎ木苗	2.5	C14-5	5,000	9	(2)	78	
	接ぎ木苗	2.5	T-4	5,000	5	1	80	
2007年8月	実生苗	3	T-4	10,000	17	4	76	P=7.0×10 ⁻⁶ ***
	クロマツ 実生苗	3	T-4	10,000	16	16	0	

※接ぎ木苗の齢は接ぎ木後の年数を示す(以下同様)

※Un-1 はニセマツノザイセンチュウを示す

※カッコ内数値はベールマン法で抽出線虫が20頭以下の枯死本数を示す

表-2. 成木の接種結果

種別	接種年月	齢	アイソレート	供試本数 (本)	接種頭数 (頭/本)	枯死本数 (本)	生存率 (%)
実生苗	2002年7月	9	T-4	51	10,000	7	87
	2003年7月	10	T-4	44	10,000	4	91
	2004年7月	11	T-4	40	10,000	1	97
	2005年7月	12	Ka-4	39	30,000	0	100
	2007年7月	14	T-4	39	30,000	1	97
累積生存率 75%							
接ぎ木苗	2003年8月	18	T-4	21	10,000	6	71
	2004年8月	19	T-4	15	10,000	2	87
	2007年7月	22	T-4	13	30,000	0	100
累積生存率 62%							

葉の断面測定の数値が高いほど棘感が感じられ、RDI (表-7)でも接ぎ木個体はクロマツ型の傾向を示した。しかし、自殖苗はRDIではアカマツ型の傾向で外観もアカマツ型であった。自殖苗、採種園産実生苗、実生成木ではRDI 2.0に近い個体も存在したが、RDIがクロマツ型に近くても外観はアカマツ型であった。実生成木と採種園産実生苗でRDIを比較した結果、成木のRDIが高い値を示した。樹脂道数は樹齢10年までは増加していき(I0)、苗木の副樹脂道数が成木に比べ少ないため、苗木のRDIが低く出た可能性がある。今後、追跡調査が必要である。

人工交配苗、自殖苗を含め全ての実生でRDIのばらつきが大きく形質がアカマツに近くなった。今回の分類は針葉解剖と外観での判断でしかない。今後は、遺伝的な解析を行う必要がある。

IV おわりに

今回の接種試験は対照となる感受性クロマツによる接種が少なく明確な結論が出せない点があるが、本アイグ

表-3. 成木外観

供試材料	齢	針葉	冬芽
採種園母樹	25	棘感強い	赤みを帯びた灰白色
接ぎ木成木	15	棘感強い	赤みを帯びた灰白色
実生成木	23	棘感弱い	赤褐色

表-4. 苗木外観

供試材料	齢	針葉	冬芽
接ぎ木苗	5.5	棘感強い	赤みを帯びた灰白色
採種園産実生苗	2	棘感弱い	赤褐色
アイ×アカ	2	棘感弱い	赤褐色
自殖苗	2	棘感弱い	赤褐色

※アイ×アカはアイグロマツ×アカマツの略称(以下同様)

表-5. 成木針葉断面の大きさ

供試材料	齢	調査個体数	腹面長さ (mm)	厚さ (mm)
採種園母樹	25	3	1.28±0.03	1.10±0.06
成木接ぎ木	15	4	1.10±0.05	0.76±0.05
成木実生	23	4	0.95±0.10	0.64±0.06

※腹面長さ、厚さは平均±標準偏差で表す(以下同様)

表-6. 苗木針葉断面の大きさ

供試材料	齢	調査個体数	腹面長さ (mm)	厚さ (mm)
接ぎ木苗	5.5	3	1.21±0.06	0.83±0.04
採種園産実生苗	2	4	0.92±0.07	0.64±0.04
アイ×アカ	2	4	0.88±0.08	0.68±0.06
自殖苗	2	4	0.95±0.09	0.63±0.04

ロマツの材線虫病抵抗性は概ね高いと思われる。千葉演習林で選抜されたアイグロマツは、クロマツに近い表現型を持つが、次世代の表現型はアカマツに近くなった。そのため、単純にクロマツの代替にならない。今後、クロマツとアイグロマツとの交配、アイグロマツの自殖といった人工交配苗の作成と抵抗性検定および生理的性質の確認によってクロマツに近い抵抗性系統を創造していきたい。

表-7. 針葉断面のRDI

供試材料	齢	調査個体数	RDI
接ぎ木苗	5.5	2	1.93±0.02
採種園産実生苗	2	4	1.01±0.64
アイ×アカ	2	3	0.71±0.39
自殖苗	2	3	1.16±0.55
成木実生	23	4	1.42±0.35

※樹脂道指数は平均±標準偏差で表す

本研究を行うにあたりマツノザイセンチュウとニセマツノザイセンチュウを分譲いただいた東京大学大学院農学生命科学研究科の富樫一巳教授に深く感謝する。なお、本研究の一部は、(社)ゴルファーの緑化促進協会の研究助成金と平成18年度科学研究費補助金(奨励研究)課題番号18922030によって行われた。

引用文献

- (1) 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.
- (2) 東原貴志・宮下久哉・宮下智弘・中田了五(2003) 東北地方等マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の東北育種場における平成15年度実施結果-接種検定及び2次検定合格木の雑種性の調査-. 平成15年度育種七年報: 72-75.
- (3) 金光桂二(1984) 松の材線虫病にたいして抵抗性を有するアカマツ・クロマツの選別. 昭和57~58年度科学研究費補助金(一般研究C)研究成果報告書. 22pp.
- (4) 糟谷重夫・佐倉詔夫・粕谷伊佐義・川名一夫・岸洋一(1987) 抵抗性選抜アカマツと、テーダマツ, 和華松などの苗に対するマツノザイセンチュウ接種試験. 日林関東支論 39: 179-180.
- (5) 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.
- (6) 日本緑化センター(2007) 松保護士の手引き. 229pp.
- (7) 森林総合研究所 林木育種センター (2008) 平成18年度年報. 166pp.
- (8) TOGASHI, K., TAGA, Y., IGUCHI, K. and AIKAWA, T. (2008) *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) vectored by *Monochamus urussovi* (Coleoptera: Cerambycidae) in Hokkaido, Japan. J. For. Res. 13: 127-131.
- (9) 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(2008) 千葉演習林におけるマツ材線虫病に対する選抜育種-新たな選抜と採種園産苗木の再検定-. 関東森林研究 59: 113-116.
- (10) 吉川賢・重松真二・永森通雄(1987) アカマツ, クロマツ雑種に関する研究(I). 高知大農演報 14: 17-25.
- (11) 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.