

アカマツおよびクロマツのマツ材線虫病抵抗性育種に関する研究

戸田忠雄⁽¹⁾

Tadao Toda⁽¹⁾

Studies on the Breeding for Resistance to the Pine Wilt Disease in *Pinus densiflora* and *P. thunbergii*

要旨：マツノザイセンチュウにより引き起こされるマツ材線虫病は我が国の二葉松に甚大な被害をもたらしている。このマツ材線虫病への対策の一つとして、アカマツおよびクロマツにおいて抵抗育種が試みられた。

迅速な抵抗性の評価には、マツノザイセンチュウの人工接種による検定技術の開発が不可欠である。まず、線虫接種方法について検討し、剥皮接種法を確立した。次に、接種検定に使用する材線虫アイソレート（分離系統）の選定を行った。広範な地域から採取したアイソレートをを用いて、病原力、増殖性、選択的加害性について調査した結果、病原力、増殖性にアイソレート間で大きな変異が認められた。しかし、特定のアイソレートが特定のクローンを加害するといった選択的加害はないこと、強い病原力を有することから、人工接種に使用する線虫はアイソレート島原が妥当であると判定された。

激害林分における生存個体（アカマツ約11,000本、クロマツ約14,000本）を対象として、実際にマツ材線虫病抵抗性個体の選抜を行った。これらのつぎ木苗に2回の線虫接種を行い、抵抗性を評価した。その結果、アカマツで92本、クロマツで16本、合計108本を抵抗性クローンとして確定した。

抵抗性種苗の供給・普及上必要となる諸特性を評価するために、抵抗性クローンの22種類の形質（特性）について調査した。このうちの抵抗性の評価は、抵抗性クローンの自然受粉種子から育苗された実生苗を用いて行った。9年間にわたる検定の結果、アカマツの生存率は家系平均で64%、クロマツで53%であった。これらの値は無選抜マツに比べ、アカマツで16%、クロマツで40%高く、本抵抗性育種の成果が評価された。また、家系平均値を用いて推定された遺伝率は0.84となり、選抜効果は、アカマツで18%、クロマツで35%であった。現在、抵抗性採種園産苗は、苗木の段階で人工接種検定を行い、その合格木が「抵抗性マツ」として供給されるようになっている。

実際の植栽地における抵抗性を評価するために、抵抗性マツ苗を使用して2箇所の次代検定林を造成した。その7年生次における調査の結果、アカマツで58%、クロマツで47%の個体においてマダラカミキリの食害痕が確認されたが、健全個体率は両樹種とも90%以上であり、人工接種検定合格木を抵抗性マツとして供給する現行の方法が有効であることが示された。

(1) 元林木育種センター九州育種場

〒861-1102 熊本県菊池郡西合志町須屋2320-5

Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center

2320-5, Suya, Nishigoshi, Kumamoto 861-1102 Japan

* 本論文は九州大学博士号（農学）請求論文である。

目 次

緒 論	86
第 1 節 研究の目的	87
第 2 節 研究の背景	88
第 3 節 研究史	89
第 4 節 抵抗性育種の可能性	91
第 5 節 抵抗性育種事業の仕組み	92
(1) 抵抗性候補木の予備選抜	92
(2) 抵抗性育種事業の実施	94
第 6 節 抵抗性個体の選抜の概要	94
第 I 章 マツ材線虫病の抵抗性育種に関する基礎的研究	
第 1 節 研究目的	97
第 2 節 マツノザイセンチュウの人工接種検定技術の開発	97
(1) つぎ木苗検定における台木の影響	97
(2) テーダマツにおける抵抗性の家系変異	100
第 3 節 接種検定用の材線虫アイソレートの選定	101
(1) 材線虫アイソレート間の病原力の変異	101
(2) アカマツ, クロマツから分離した材線虫の病原力のちがい	103
(3) 接種検定用の材線虫アイソレート「島原」の選定と病原力	105
(4) 材線虫アイソレート「島原」の病原力の変化	107
(5) 材線虫の大量増殖方法	108
第 II 章 抵抗性クローンの諸特性の解明	
第 1 節 研究目的	110
第 2 節 調査地および特性評価方法	110
(1) 抵抗性クローンの枯損	111
第 3 節 抵抗性クローンの樹高成長	113
第 4 節 抵抗性クローンの着花性	116
(1) 雌花の着花性	116
(2) 雄花の着花性	119
第 5 節 抵抗性クローンの雌雄花の開花時期	122
(1) 雌花の開花時期	123
(2) 雄花の開花時期	125
第 6 節 抵抗性クローンの種子生産性	127

第7節 抵抗性クローンの雑種性	131
(1) 樹脂道指数から見た抵抗性クローンの樹種判定	132
(2) 雑種性と抵抗性の関係	135
(3) 抵抗性クローンの雑種性とその後代の抵抗性	137
第8節 抵抗性クローンの実生後代の抵抗性	140
第9節 接種検定で生き残った苗（抵抗性マツ）の抵抗性	148
第10節 材線虫の侵入に対する組織学的反応	150
第Ⅲ章 次世代のマツ材線虫病抵抗性育種の開発に関する研究	
第1節 はじめに	153
第2節 抵抗性クローンの後代抵抗性の確認	153
(1) 抵抗性クローンの後代から確認された実現選抜効果	153
(2) 苗畑での人工接種によるクロマツのマツ材線虫病に対する 遺伝的な改良効果の評価	156
(3) 現地植栽地で確認された苗畑における選抜の有効性	162
第3節 交雑による抵抗性の向上	168
(1) これまでの成果	169
(2) 人工交雑による抵抗性の向上	169
第4節 クロマツ実生後代からの抵抗性個体の選抜の試み	173
第5節 遺伝資源保存から見た在来マツの抵抗性	176
(1) ヤクタネゴヨウ	176
(2) 霧島松	178
(3) 茂道松	180
第Ⅳ章 マツ材線虫病の抵抗性育種における今後の研究の展望	184
(1) 抵抗性要因の解明	184
(2) 抵抗性の遺伝様式の解明	184
(3) 抵抗性クローン後代の造林地における諸特性の解明	185
(4) 抵抗性クローン後代における抵抗性低下への対応	185
摘 要	186
1. 材線虫の人工接種検定の技術開発	186
2. 抵抗性クローンの諸特性の解明	186
3. 抵抗性クローンの後代における抵抗性の確認	188
謝 辞	189
引用文献	190
Summary	200
Resume	201
付属資料	205

緒 論

我が国の主要な針葉樹であるアカマツ (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.) およびクロマツ (*P. thunbergii* Parl.) は、気象的にも土壌的にも適応性が大きく、その上繁殖力が旺盛なこともあって、天然更新による二次林が形成されやすい。

両樹種は古くから建築、土木、坑木等の用材として、また、パルプ、製函材などの加工用材として多目的に用いられてきた。クロマツは、防潮林、飛砂防止、海岸防風、水源かん養などの林分としても多面的な機能を果たしているばかりでなく、海岸の景観や門松、庭木、盆栽など日本人の精神生活の面においても関わりの深い樹種とされてきた。ところが、これらのマツ林に激害型の集団的な枯損が発生した。被害は伝染病の様相を呈しながら国内の各地に広がり、マツ林は衰退の一途をたどった。この被害は長い間「松くい虫」という名で呼ばれていたが、二十数年前にその被害の原因が *Bursaphelenchus* 属のマツノザイセンチュウ *B. xylophilus* (以下「材線虫」という) によって起きる急性の萎凋病であることが明らかにされ、「マツ材線虫病」 Pine Wilt Disease (以下「材線虫病」という) と命名された (徳重・清原1969, 清原・徳重1971)。材線虫は、マツノマダラカミキリ *Monochamus alternatus* (以下、「カミキリ」という) によって運ばれ、カミキリの新梢食害痕から樹体内に侵入して発病させる (小林ら1971, Mamiya and Kiyohara1972, 森本・岩崎 1972)。このように材線虫病によるマツ枯損は、マツとカミキリ、そして材線虫の3者による巧妙な相互関係によって起きることが明らかにされた。

我が国における材線虫病の初発は明らかではないが、マツ林の集団枯損の記録としては、1905年 (明治38年) に長崎市周辺で発生した被害報告がある (矢野1913)。それ以来、九州全域、兵庫県、岡山県など温暖な低海拔地域を中心に蔓延し、今日では北海道と青森県を除く全国的な被害となっている (岸1988)。材線虫病によるマツの枯損推移と松くい虫防除法の変遷を図-1に示した。近年、被害は減少傾向にあるものの、材積にして100万 m^3 の水準を推移している。被害形態も以前とは異なり、これまで林分上層木の壮齢木や老樹が枯損の対象となっていたが、若齢小径木にまで波及しており、被害実態を材積だけでは論じ難くなっている。材線虫病による被害は、マツ材の生産減少、公益的機能の低下、景観構成を損ねているばかりでなく、遺伝資源の保存の面でも影響が出

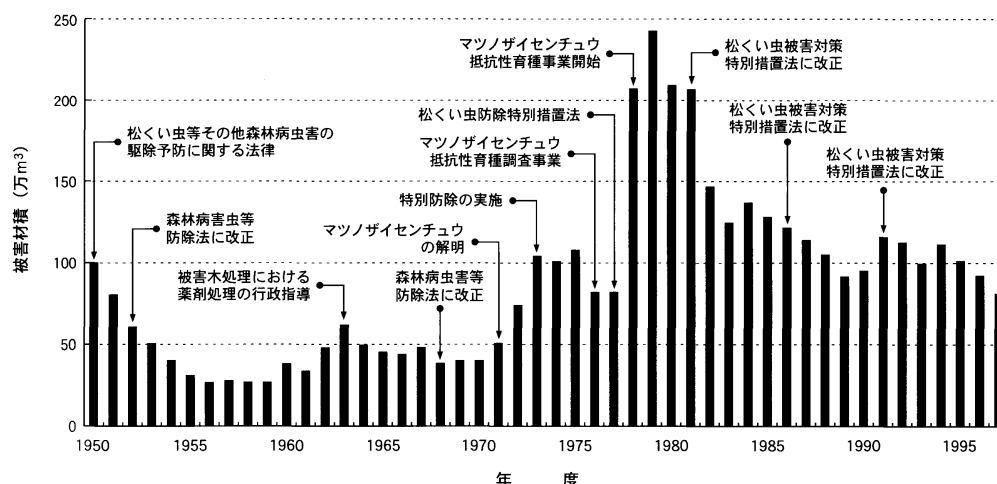


図-1 松くい虫による被害材積の推移と防除法の変遷

被害材積は、林野庁林業統計書より抜粋。防除改正法の変遷 (竹谷, 1997) による。

ている。九州地方では日向アカマツ（宮崎県）、霧島松（鹿児島県）、茂道松、小岱松（熊本県）といった著名な在来マツ林にまで激甚な被害が発生している。また、九州地方の希少な種として保護されているヤクタネゴヨウ（*Pinus Armand Ermandi. var. amamiana* Hatusima）にも確実に材線虫病の被害が進んでいる（金谷ら1995）。被害地域では、特別な地域を除いて伐倒・焼却・殺虫剤駆除による防除が行われている。被害跡地の復旧には代替え樹種による植林も一部の地域で行われてきたが、マツの生育に適さない低位な環境条件のところもあって、成林した事例は少ない。一方、海岸近傍の農耕地やマツタケ生産地など、マツ林が生活基盤となっている地域では依然としてマツの造林が続けられている。

1978年には材線虫病による被害材積が200万 m^3 と過去最大に達し、社会的な問題として一般の人々の関心も高まり、治山治水事業、海岸砂防林地帯、景勝地などから「松くい虫に強いマツ」いわゆる「抵抗性マツ」の創出の要請が強まった。1978～1984年にかけて材線虫に対して抵抗性をもつアカマツ92本、クロマツ16本、合計108本の抵抗性個体が選抜された（緒論第5節参照）。これらの抵抗性個体のクローンで造成された採種園はすでに成熟期を迎えて、抵抗性種苗の生産が行われている。抵抗性種苗の生産において最も重要な情報は、「抵抗性クローン」の特性評価であり、これは採種園の体質改善、抵抗性種苗の効率的な生産および普及を促進させるためにも必要である。

これまで抵抗性クローンの特性について調査されたものはいくつかあるが、普及も視野に入れた総合的な特性評価は行われていない。また、抵抗性種苗の生産では、苗畑検定による予備選抜が行われており、この苗畑検定の有効性あるいは抵抗性マツの造林地における抵抗性の発現についても明らかにされていない。これらの解明は既存の抵抗性クローンの有効な活用と普及の拡大につながるものであり、本論文の重要な課題の1つである。

第1節 研究の目的

清原・徳重（1971）によって、マツ枯れの原因が材線虫によるものであり、材線虫を健全な成木に接種すると枯損に至り、その被害程度は樹種によって変異することが明らかにされた。この報告以後、多くの研究者によって行なわれた接種実験では、材線虫病に対する耐性（抵抗性）は産地や系統によって変異することが認められた。大庭（1976）は材線虫病に対して抵抗性を有するマツ品種・個体の存在を明らかにし、選抜育種法による抵抗性個体選抜の可能性は高いとした。これを期に抵抗性マツの選抜方法が検討された。その概要は次のようなものであった。

当時（1970年代後半）材線虫病の被害が特に多かった西日本地域の激害林分の中から健全な個体を選抜し、これらのつぎ木苗に対して2回（一次検定および二次検定）の接種検定を行い、合格したものを抵抗性個体として確定する。次に、抵抗性個体のクローン苗で抵抗性採種園（以下「採種園」という）を造成し、将来にわたって抵抗性種苗を生産するという長期的な施策である。

1978年から抵抗性育種による選抜が開始された。しかし、検定材料の繁殖方法、接種結果に及ぼす非抵抗性要因の解明、線虫アイソレートの病原力変異と接種源の選定など、接種検定手法に関する技術開発は十分ではなかった。当時、抵抗性育種に関する情報としては、農林水産技術会議が実施した特別研究（1973～1975年）の研究成果集（農林水産技術会議事務局1977）のみであった。この中には、材線虫の接種密度および温度条件と被害発生の関係、材線虫の加害機構の解明、外国産マツを含めたマツ類の抵抗性レベルの解明など、抵抗性育種を進めるにあたって直接関連する成果もあった。しかし、これらの成果は抵抗性育種のポイントとなる「家系および

系統」といった視点を欠いていた。このため、関西、四国、九州の国立林木育種場が中心となってこれらの視点に立って技術開発が行われた。

著者はこのプロジェクトに参加し、抵抗性の検定に関する技術開発について研究を開始した。抵抗性個体の選抜後は、抵抗性クローンの特性評価、抵抗性クローンの自然受粉由来の実生苗（以下「抵抗性実生後代」という）への接種検定の有効性と、材線虫病による被害跡地に造林された抵抗性マツの調査およびそのデータ分析を行い、統計遺伝学的な手法によって評価を行った。また、研究を進める過程において、クロマツ実生後代から抵抗性個体を選抜する方法を考案し、実践した。

本論文では、第 I 章で、抵抗性育種の前期（1978～1984年）における、野外集団からの抵抗性個体の選抜および検定に関する技術開発を行った。第 II 章では、抵抗性育種の後期（1985～1993年）における抵抗性クローンの諸特性調査の結果をもとに、抵抗性クローンの特性評価を行った。第 III 章では、抵抗性クローンの実用化期（1994～2001年）にともなう抵抗性マツの生産技術のうち、特に苗畑の接種実験の結果と造林地に植栽された抵抗性マツの自然感染の結果をもとに、接種検定の有効性について明らかにした。

第 2 節 研究の背景

マツ属の分布

マツ属の樹種は約100種といわれ、そのほとんどが北アフリカ、西インド諸島並びにマレーシア以北の北半球に分布している。日本では複雑管束類に属する二葉松と単維管束類に属する五葉松の合わせて、7種（北村・岡本1959）あるいは9種（林1960）が分布し、代表的なものはアカマツとクロマツの2種である。日本国内のマツ属の分布は北海道から沖縄であるが、天然分布のアカマツの北限は北緯41° 31′ の青森県下北半島の大間崎付近、南限は北緯30° 15′ の鹿児島県屋久島とするのがほぼ定説とされている（林1960）。アカマツはやや肥沃なところで最もよく生育し、砂地、岩石地などの痩せ地、乾燥地にもよく耐えるため、垂直分布の範囲は海岸部から海拔2,300m付近にもおよぶが、1,500mくらいまでの内陸部に多い。一方、クロマツの分布の北限は、アカマツと同じく青森県下北半島先端の大間崎付近、また、南限は北緯29° の鹿児島県トカラ列島宝島といわれている。クロマツは潮風に対してアカマツより強いが、寒さにはやや弱い。pHの高い土壌を好み、地味せき悪な乾燥地にも生育できる等、広い適応性をもっている。こうした特性から、垂直分布は海岸付近、または内陸部でも河川に沿った低海拔地帯に多く、主として400m付近までの範囲に広く分布する。

マツの造林面積の推移

マツの造林は、マツがパルプ原材料として脚光を浴び、需要が拡大し始めた1945年頃から盛んに行われるようになった。1950年以降の10年間の全造林面積の増加は、3万haから6万ha（9→15%）である。特にパルプ用材としての需要が増大した同年代の後半には全造林面積が6万haから8万ha（15→18%）に上昇した。

その後、パルプ用材として広葉樹が利用されるようになり、パルプ原木用としての需要が減る一方、松くい虫による被害の増大、さらに被害跡地の造林が樹種転換されるなどの諸条件が重なり、マツの造林面積は低下した。1975年に約2万ha／年あったものが、1985年以降は2千ha／年まで低落している。

マツ材線虫病の被害

松くい虫の被害としては、1897年（明治31年）、長崎市および福岡県遠賀郡芦屋町方面で発生したものが最初の記録とされている（伊藤1975）。その後、1910年代に、兵庫県赤穂市で、また1925～1930年にかけて兵庫県相生市および長崎県佐世保市で発生している。1935年頃、兵庫県で発生した被害は瀬戸内海沿岸部を岡山県東部へと拡大した。一方、九州においては佐世保市をはじめ熊本県八代市、宮崎県および飫肥地方へと広がった。1945年代になると九州全域、兵庫・岡山両県の瀬戸内海沿岸部を中心としてさらに拡大した。1945年代前半の被害量は約100万m³を越え、社会的にも注目されるようになった。これらマツ枯損木の徹底的な駆除を行うため、1950年に「松くい虫等その他森林害虫の駆除予防に関する法律」が制定交付され、激害地については農林大臣の駆除命令を発するなどの防除対策が実施された。その後1960年代の前半までは小康状態を保っていたが、同年代後半に入ると被害材積は再び増加し、1970年代後半には200万m³を超えた（図-1）。

この時期の主な被害地域は、瀬戸内海沿岸部を中心とした中国および近畿地方と九州の全域である。これらの地域では1950年代にも被害が多発しており、そのほとんどは海岸地域であった。しかし、1960年代の後半から1970年代には内陸部へと拡大した。被害増大の原因は1971年に西日本を襲った風台風、1973年の異常高温、乾燥等が材線虫の生育繁殖にとって好条件となったことが考えられる。1975年には茨城県、静岡県、愛知県、中国地方の日本海側へと拡大した。特に、全国で244万m³と松くい虫被害史上最高を記録した1979年前後における茨城県の被害は全国の29%にあたり、県単独の被害量としては過去最高を記録した。2000年代の被害は北海道と青森県を除く日本全土に及んでいる。

第3節 研究史

マツの大量枯損の原因は、長い間マツの枯死木から発見されるゾウムシ類、キクイムシ類、カミキリムシ類などの甲虫類（昆虫）を総称した「松くい虫」類によるものと考えられてきた（竹谷1997、矢野1913）。

松くい虫の研究は1930年代から多くの研究者や技術者によって行われ、枯損木の伐採、剥皮、焼却等の徹底駆除によって被害は著しく減少したが、1950年代の後半に入って「経済の発展→林業労力不足→枯損木処理の不徹底」という図式により再び被害が急増した。松枯れのメカニズムを追究していた林業試験場（現独立行政法人森林総合研究所）では、松くい虫の産卵痕や材内に幼虫の見られない外見上は健全な個体の中にも樹脂を滲出しない樹脂異常木のあることを発見し、松枯れは松くい虫に侵される以前に始まっていることが明らかされた（日塔ら1966）。樹脂異常木と枯損木の発生率は極めて高い相関をもち、異常木の出現は8月が最も多いことが明らかにされた（小田1967）。これまで知られていた松くい虫類は、健全木を侵すことのできない二次的害虫であり、それらが産卵食害するには、マツ側に何らかの異常、衰弱がなければならないが、その加害機構などは明らかではなかった。

被害機構をあらゆる分野から総合的に解明するため、1965年から農林水産技術会議の特別研究「マツクイ虫によるマツ類の枯損防止に関する研究」が4年間にわたって実施された。この研究では、昆虫、樹病、菌類、樹木生理、土壌、気象、化学の各分野の研究者によるプロジェクトチームが編成され、①害虫加害とマツ類の生理的異常現象の解明、②加害危険木の予知法の確立、③防除対策、について研究が行われた。

1973年～1975年には、同じ農林水産技術会議の特別研究「マツ類材線虫の防除に関する研究」が実施された。この中では、材線虫、カミキリに対する薬剤防除に加えて「抵抗性育種および抵抗性要因の解明」について組織

的かつ総合的な研究が行われた。将来の造林材料の遺伝的改良へ向けての抵抗性育種では、日本産および外国産マツの抵抗性、抵抗性の検定法、抵抗性発現に及ぼす土壤乾燥の影響など、抵抗性育種に関する調査研究が多岐にわたって行われた。特に接種検定における抵抗性の発現に関与する研究成果について抄録的に示す。

材線虫の病原力

1970年にマツの激害型枯死の病原体が材線虫であることが発見されて以来、材線虫について病原学的研究が行われた。マツの枯損木からは*Bursaphelenchus*属の線虫以外にも数種の線虫が検出されているが、現在、各地で起きている激害型マツ枯損の材線虫は*Bursaphelenchus* sp.であることが明らかにされた（清原1989）。材線虫には病原力や増殖性に地域変異が見られ（清原 1977, Kiyohara and Bollal1990, 茨木ら1978b, 戸田ら1979b）、それらを健全なマツに接種すると普遍的に枯損が生じた。その枯損程度は線虫アイソレート（1枯損木からの線虫系統、個体群）の病原力あるいは接種密度（大庭1974, 橋本ら1976）によって変異することが明らかにされた。このことから、材線虫病の発病は単にマツ類の抵抗性ばかりでなく、樹体内に進入する材線虫の病原力とマツ側の耐性との相互関係によるものと考えられた。

なお、抵抗性育種では、多数のマツ属の家系を複数の機関で検定するため、接種検定に用いる接種源は共通の線虫アイソレートが望ましいとされ、関西・四国・九州の各地方で採集された線虫アイソレートの中から強い病原力を示し、かつ増殖率の高い線虫アイソレート「島原」が選定された（第I章、第3節（2）参照）。

マツ属樹種間の抵抗性の差異

マツ属の9種の接種実験の結果、アカマツ、クロマツ、リュウキュウマツ（*P. luchensis* Mayr.）は激しい枯損が見られたが、テーダマツ（*P.taeda* Lamb.）、バンクスマツ（*P. banksiana* Lamb.）、ストローブマツ（*P.strobus* Lamb.）、プンゲンスマツ（*P.pungens* Lamb.）には被害がなかったことが報告された（清原・徳重1971）。これが、樹種別抵抗性の差異を明らかにした最初の論文である。その後、多くの研究者が同様の実験を行った結果、テーダマツ、タイワンアカマツ（馬尾松：*P. massoniana* Lamb.）、スラッシュマツ（*P. elliotii* Engelm.）などの外国マツは材線虫に対して抵抗性を示し、アカマツ、クロマツ、リュウキュウマツは感受性であるという樹種レベルの普遍的な抵抗性の違いであった。一方、産地や樹種内の系統および家系による差異が認められ、感受性の樹種の中にも、抵抗性が極めて高いものが存在していることが明らかにされた（藤本ら1981b, 1981c, 二井・古野1976, 茨木ら1978a, 1978c, 大庭ら1977, 大山・白石1980, 佐々木ら1978, 白石ら1978, 戸田ら1980）。

抵抗性要因

一般に病虫害に対する植物の抵抗性はいくつかの要因に分類される。大庭ら（1983）は材線虫とカミキリの場合を想定して、①非選好性（カミキリが食害しない、あるいは好まないマツ）、②抗性作用－抵抗性と過敏症（樹体内に侵入した材線虫を殺し、あるいは成長、発育および繁殖を抑制するマツ）、③耐性－修復、回復と耐性（材線虫による傷害を修復し、あるいはそれに耐えるマツ）の3要因によると仮説した。非選好性については、室内および野外でカミキリの食害実験が行われた結果、室内実験ではアカマツ63%、クロマツ50%の実生個体が食害され（古野・上中1978）、クローン苗を用いた野外実験（網室の放虫実験）では、アカマツ94%、クロマツ88%の

個体が食害された(戸田1982)。そのほかのカミキリの放虫あるいは接種実験においても、カミキリはほとんどのマツ属を食害し、食害率には樹種間差が認められない(大山ら1977, 佐々木ら1980)というものであり、非選好性を利用した育種法は期待できないことが明らかとなった。したがって抵抗性育種では、抗性作用(狭義の遺伝)または、耐性をもつ抵抗性品種の創出が目標とされた。これらの抵抗性要因について、タンニンとpHとの関係(二井1984, 大山・福島1982, 大山ら1983), ミルセン含有量(渡辺1982)の関与があるとされている。また、材線虫病に感染したマツには正常なときにはおこらない変化、つまり、安息香酸の生成(河津1990), カテーテルタンニンの生成(二井1984), 脂質過酸化(Yamada1987), エチレンの放出(Fukuda et al. 1994, 森・井上1986), モノテルペンの生成(Kuroda 1989), 柔細胞の変性や壊死(Mamiya 1983)など、二次的物質の生産が考えられている。しかし、これらの物質と抵抗性要因との関連性については、未だ、明らかにされていない。

検定方法の検討

接種検定において精度の高い結果を得るためには、抵抗性の発現に関与する非遺伝的要因を除去することが必要で、非遺伝的要因としては、検定材料、人工接種法、検定環境などが考えられる。検定材料では、実生苗およびつぎ木苗(大庭ら1977), 成木の切り枝(在原1997, 戸田ら1977)を用いた接種実験が行われた。その結果、実生苗、つぎ木苗とも抵抗性に系統間差が認められ、検定材料として問題は生じなかった。しかし、検定結果を変化させる要因として、つぎ木苗では台木の影響や線虫接種部位の高さ(線虫接種高)が、また、実生苗検定では苗木の大きさが関与している可能性があり、検討された(第1章第2節(1)参照)。

材線虫の人工接種法では、効率性、確実性、簡易性の面から幹の根元および新梢、枝などに試行錯誤で接種した結果、10種類以上の方法が開発された(西村ら1977, 大庭ら1974)。これらの方法はさらに改良され、「改良剥皮接種法」(以下「剥皮接種法」)として定着した。

材線虫の接種頭数では、苗木1本当たり6千頭以上を接種すれば樹体の線虫頭数はほぼ均一になるとされた(橋本ら1976)。また、接種源には分散型第4期(耐久型)線虫と培養線虫が用いられるが、両者とも同程度の枯損率を示した(金川・岸1982)。分散型第4期線虫は、多量のカミキリの確保が必要なうえ、材線虫の病原力の把握が困難であり、規模の大きい接種実験に適さないと考えられた。なお、人工接種の際に未接種や接種もれが起きるが、食用赤色色素で線虫懸濁液を着色(1/2000量)することによって回避された(戸田ら1979a)。

接種実験の結果は温度条件の違いによって変異し、低温は発病の抑制、高温は発病を促進することが明らかにされた(大山・斉藤1972, 小河1976, 清原1973, 細田ら1979, 竹谷ら1979)。土壤水分と材線虫病の発病機作について、マツの水分ストレスと枯損の関係(Suzuki and Kiyohara1978, 大山・川述1978, 大山ら1975a, 1975b, 1976), 土壤乾燥と樹体内の材線虫増殖との関係(橋本1976)が明らかにされた。

以上のように温度、土壤水分、土壤の種類の各要因は抵抗性検定の結果に、単独もしくは複雑な交互作用として大きく影響するものと考えられる。しかし、既存の報告の多くは、これらを単要因として検討している。

第4節 抵抗性育種の可能性

材線虫病に対する抵抗性育種では、材線虫を伝播するカミキリが食害しないもの、あるいは材線虫が樹体に伝搬されても発病しないマツを選抜する2つがあることはすでに述べた。前者は、切り枝あるいは苗木に対して、アカマツ、クロマツ、テダマツ、スラッシュマツ、タイワンアカマツなど、ほとんどのマツ属が食害され、カ

ミキリの樹種選択性は認められなかった。後者については、外国産マツ属を含めた実生苗の接種実験で、アカマツ、クロマツの中にテーダマツやリギダマツ (*P. rigida* Mill. : 以下対照) 以上に強い抵抗性を有する家系および個体の有無について探索が行われてきた。

1977年、1978年の両年に抵抗性個体の選抜を実施するため、総合的な接種実験が行われた。過去の接種実験で有望と見られた地域 (大庭ら1977) から選抜されたアカマツ19個体、クロマツ35個体のつぎ木苗検定の結果、テーダマツ以上の抵抗性を示すアカマツ、クロマツ各3クローン、計6クロローンの存在を明らかにした (茨木ら1978c)。また、残存率10%以下の林分から選抜されたアカマツ16個体、クロマツ134個体のつぎ木苗検定においても、対照のスラッシュマツより強い抵抗性を示すアカマツ6クローンとクロマツ2クローンが確認された (立仙ら1979)。この両者の事例は、いずれも樹種レベルで感受性とされるアカマツ、クロマツの中に、外国産の対照マツ以上の抵抗性をもつ個体の存在を明らかにしたものである。

抵抗性育種の進め方について導入、交雑、選抜の3つの育種法が検討された。導入育種法では、外国産マツ類のうち抵抗性の強いテーダマツ、リギダマツ、タイワンアカマツについて検討された。これらの樹種は材線虫以外の諸被害や抵抗性、立地適応性などについて不明な点があった。交雑育種法では、アカマツ・クロマツが本来もっている適応性や各樹種の抵抗性を損なわずに、他の樹種あるいは家系の抵抗性遺伝子を取り込むことができる。しかし、抵抗性品種を創出するまでには極めて長い年月が必要である。これに対し選抜育種法では、激害林分内の健全個体を選抜し、そのつぎ木苗の検定によって抵抗性が判定できるため、他の育種法に比べて問題点は少ないと思われた。この際、抵抗性の目標強度は、被害の出ている地域で生存しているテーダマツ程度とされた。

第5節 抵抗性育種事業の仕組み

我が国における材線虫抵抗性育種の事業的な取り組みには、西日本地域で実施された「マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業」および、現在、日本海側地域で実施されている「東北地方等マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業」の2つがある。両事業ともアカマツ、クロマツについて材線虫抵抗性の集団的あるいは個体の選抜とその利用が基本目標とされている。

西日本地域で実施された「抵抗性育種事業」は、林野庁の「マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業実施要領 (林野庁研究普及課1994b)」に基づいて1978～1984年に実施された。この事業は、「選抜育種: (本格対策)」(1978～1984年) と「交雑育種: (マツ材線虫抵抗性松供給特別対策)」(1983年～1986年) の2本立てで行われた。この中の「交雑育種」は、精英樹クロマツ (♀) × 馬尾松 (♂) の種間交雑種 (通称: 和華松) を緊急な造林種苗とする暫定的な対策である。また、東北地方等の「抵抗性育種事業」は、林野庁の「東北地方等マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業実施要領 (林野庁研究普及課1994a)」に基づいて1992年から日本海側地域の9県と林木育種センター、東北育種場、関西育種場の合計12機関が参加して実施されている。

本論文では、西日本地域において実施されたマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の「選抜育種法」についてのみ論じる。

(1) 抵抗性候補木の予備選抜

1976年～1977年の2年間、抵抗性育種事業の実施に先立って、西日本14県を対象にⅦ齢級以上で残存率30%以下の激害林にアカマツ、クロマツの抵抗性候補木 (以下、候補木) がどの程度存在するのかについての予備選抜 (実態調査) が行われた。その結果、候補木の選抜可能本数は表-1のように、全体ではアカマツ約15,000本、クロマツ約82,000本、合計約97,000本がリストアップされた。

表-1 地区別の抵抗性候補木および選抜本数

地 区	機 関	樹 種	区 分	残存率別の候補木本数 (本)					選抜本数 (本)
				1.0% 以下	1.1～ 5.0%	5.1～ 10.0%	10.1～ 30.0%	計	
関 西 育 種 基 本 区	関	アカマツ	激 害 地 (海岸型)	409	888	524	520	2,341	2,890
			特異集団 (内陸型)	256	410	120	265	1,051	
			計	665	1,298	644	785	3,392	
	西	クロマツ	激 害 地 (海岸型)	469	1,022	1,026	300	2,817	1,250
			特異集団 (内陸型)	161	42	16	0	219	
			計	630	1,064	1,042	300	3,036	
	県	県 計	激 害 地 (海岸型)	878	1,910	1,550	820	5,158	4,140
			特異集団 (内陸型)	417	452	136	265	1,270	
			計	1,295	2,362	1,686	1,085	6,428	
	育 種 場	アカマツ クロマツ 育種場計							2,850
									599
									3,449
四 国 育 種 基 本 区	関 西 計	アカマツ クロマツ 計							5,740
									1,849
									7,589
	四	アカマツ	激 害 地 (海岸型)	2	33	131	0	166	640*
			特異集団 (内陸型)	0	0	0	0	0	
			計	2	33	131	0	166	
	国	クロマツ	激 害 地 (海岸型)	95	86	103	289	573	1,760*
			特異集団 (内陸型)	0	0	0	0	0	
			計	95	86	103	289	573	
	県	県 計	激 害 地 (海岸型)	97	119	234	289	739	2,400*
			特異集団 (内陸型)	0	0	0	0	0	
			計	97	119	234	289	739	
九 州 育 種 基 本 区	育 種 場	アカマツ クロマツ 育種場計							888
									1,302
									2,190
	四 国 計	アカマツ クロマツ 計							1,528
									3,062
									4,590
	九	アカマツ	激 害 地 (海岸型)	2,120	1,837	313	1,642	5,912	3,770
			特異集団 (内陸型)	172	1,219	1,333	2,875	5,599	
			計	2,292	3,056	1,646	4,517	11,511	
	州	クロマツ	激 害 地 (海岸型)	2,121	13,219	4,979	56,251	76,570	6,880
			特異集団 (内陸型)	74	120	405	1,333	1,932	
			計	2,195	13,339	5,384	57,584	78,502	
	県	県 計	激 害 地 (海岸型)	4,241	15,056	5,292	57,893	82,482	10,560
			特異集団 (内陸型)	246	1,339	1,738	4,208	7,531	
			計	4,487	16,395	7,030	62,101	90,013	
全 体	育 種 場	アカマツ クロマツ							678
									2,829
									3,501
	九 州 計	アカマツ クロマツ 育種場計							4,448
									9,709
									14,157
	全 体	アカマツ		2,959	4,387	2,421	5,302	15,069	11,446
			クロマツ	2,920	14,489	6,529	58,173	82,111	14,620
			全体合計	5,879	18,876	8,950	63,475	97,180	26,066

*印は候補木調査時は被害進行中で選抜条件が満たされていなかったが、その後特異集団林分等で選抜された。
各育種場の選抜は管轄する各地区の全域を対象とされた。

(2) 抵抗性育種事業の実施

抵抗性育種事業の実施機関は、西日本地域の兵庫、和歌山、岡山、広島、山口、愛媛、高知、福岡、佐賀、長崎、熊本、大分、宮崎、鹿児島県の14県と、関西林木育種場（岡山；現独立行政法人林木育種センター関西育種場）、四国林木育種場（高知；同、関西育種場四国事業場）、九州林木育種場（熊本；同九州育種場）の3機関の計17機関である。

本格的な抵抗性育種事業は1978年から開始された。候補木の選抜地域の条件は、標高が100～300mであり、海岸線からの距離はアカマツで25km、クロマツで4 km以内（海岸型）とされた。また、上記条件以外であっても選抜に値する林分があれば、特異集団（内陸型）として選抜地域に追加された（九州林木育種場1979）。

候補木は材線虫病によって枯損したⅦ齢級以上で、被害度が90%以上の林分の健全個体が対象とされていたが、残存している健全個体全てを選抜することは不可能であったことから、成長性や通直性が優れた個体が優先的に選抜された。

最終的な抵抗性個体の選抜数は、各種の被害に耐えうる遺伝的多様性の確保、抵抗性採種園の自殖率の抑制、それにとまなう抵抗性の低下防止（自殖弱勢）などの観点から抵抗性要因を異にする多くの個体が必要とされ、アカマツ、クロマツ合わせて100個体と想定された（2 育種区×2 樹種×25個体=100個体）。一方、候補木の中から抵抗性個体がどの程度出現するのか、予備検定の結果によって試算された。テーダマツ程度以上の耐性をもつ抵抗性個体の存在率は、約8万分の1と推定され（大庭1976）、選抜対象林分の個体残存率を0.3%と想定すると240本に1本の割合（0.42%）で抵抗性個体が存在するので、一次検定数はアカマツ・クロマツ合せて24,000本程度の候補木が必要であった。

抵抗性育種事業は次のスケジュールで進められた。候補木の選抜・採穂・つぎ木を1978～1980年、一次検定を1980～1982年、二次検定を1982～1984年の各3年間、通算7年間にわたって実施した。実施分担は各県機関および3育種場が選抜、採穂、つぎ木、一次検定を行い、検定用の材線虫の増殖、二次検定用のつぎ木と二次検定、抵抗性個体の確定は関西、四国、九州の3育種場で行われた。

接種検定では、一次および二次検定ともガラス室内の鉢植えされたつぎ木2年生苗が用いられた。また、鉢用土には一次検定は各機関の苗畑土壌、二次検定は赤土+黒土+堆肥の混合用土が使用され、灌水は一次および二次検定ともオートキューサーで行われた。材線虫の人工接種は、毎年7月中旬に苗木1本当たり、一次および二次検定とも1万頭（0.1ml）剥皮接種法で行われた。

第6節 抵抗性個体の選抜の概要

表-2に抵抗性育種事業の一次、二次検定における樹種別、地区別の検定数量と合格率を示した。候補木はアカマツ約11,000本、クロマツ約15,000本の合計約26,000本が選抜され、各候補木から10本のつぎ木苗が育成された。接種検定にあたっては、各機関、年次による検定のひずみやバラツキを防ぐため、本論で後述する共通の線虫アイソレート「島原」が用いられた（第1章第3節（3）参照）。また、テーダマツを抵抗性の合否判定基準として利用した。（第1章第2節参照）。

一次検定は、選抜された候補木の約9割にあたるアカマツ10,767本、クロマツ13,827本、計24,594本で実施された。その結果、アカマツは797本（合格率7.40%）、クロマツは208本（同1.50%）、全体で1,005本（同4.09%）が合格した。一次検定で合格した個体は、各育種場において再度つぎ木増殖された。二次検定に必要な個体当たり

表-2 マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業における
検定数量と合格数 (1978~1995年実施数量)

樹 種	地 区	候補木の 選抜本数 (本)	一次検定			二次検定		
			検定数 (本)	合格数 (本)	合格率 (%)	検定数 (本)	合格数 (本)	合格率 (%)
アカマツ	関 西 四 国 九 州	5,740	5,263	380	7.22	285	32	11.23 (0.61)
		1,528	1,525	216	14.16	98	15	15.31 (0.98)
		4,448	3,979	201	5.05	145	45	31.03 (1.13)
	計	11,446	10,767	797	7.40	528	92	17.42 (0.85)
クロマツ	関 西 四 国 九 州	1,849	1,818	25	1.38	13	1	7.69 (0.06)
		3,062	3,054	106	3.47	57	7	12.28 (0.23)
		9,709	8,955	77	0.86	57	8	14.04 (0.09)
	計	14,620	13,827	208	1.50	127	16	12.60 (0.12)
	合 計	26,066	24,594	1,005	4.09	655	108	16.49 (0.44)

一次および二次検定の合格率は各検定時の検定数を母数として算出した合格率。

() 書きは一次検定数を母数として算出した合格率。

20本が確保されたアカマツ528本、クロマツ127本、合計655本に対して二次検定が行われた。

二次検定では、アカマツで8週目の生存率または健全率が対照のテーダマツ苗と同等かそれ以上のものが合格とされた。また、クロマツは6週目の成績がテーダマツの60%以上のものが合格とされた。その後に行われた追加選抜も含めて、最終的にはアカマツ92本、クロマツ16本、計108本の抵抗性個体が確定された。九州育種区で選抜された抵抗性個体（アカマツ45本、クロマツ8本）について、その選抜地を図-2に示した。この中には、佐

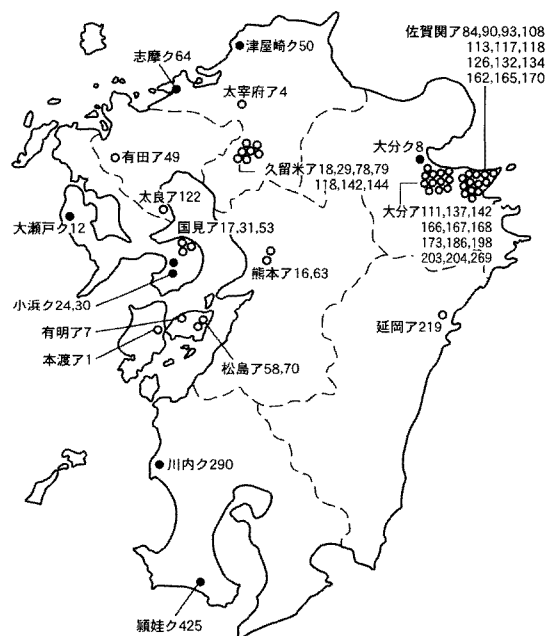


図-2 九州育種基本区における抵抗性クロンの選抜地

○：アカマツ45クロン ●：クロマツ8クロン

賀関や大分のように集中して選抜された地域があり，抵抗性個体の出現頻度の地域差が伺われる。

一次検定数に対する二次検定の合格率は，アカマツ0.85%，クロマツ0.12%，全体では0.44%（表- 2）であり，当初の推定値（0.42%）と非常に近い値であった。また，育種基本区別の合格率は，アカマツで関西0.61%，四国0.98%，九州1.13%，クロマツで関西0.06%，四国0.23%，九州0.09%であり，アカマツは九州，クロマツは四国が高い傾向を示した（表- 2）。

第 I 章 マツ材線虫病の抵抗性育種に関する基礎的研究

第 1 節 研究目的

抵抗性の強度は、接種検定における健全率、生存率、あるいはこの両者によって評価されるが、抵抗性は遺伝的要因のほかに非遺伝的要因によって変動する。つぎ木苗では、つぎ木作業が行い易いこと、つぎ木後の成長が良いこと、などの点からつぎ木台木には一般にクロマツが用いられている。この場合、クロマツは材線虫病に対して感受性であるので、①台木の抵抗性の強弱が穂木部の検定結果におよぼす影響について明らかにしておく必要がある。また、選抜目標にもなっているテーダマツは、抵抗性の評価基準としてばかりではなく、検定年次間あるいは検定場所間の基準として用いるため、②抵抗性の家系変異を把握する必要がある。さらに、接種検定に使用する接種源は、抵抗性育種事業実施全機関において共通の材線虫を用いることから、③強い病原力と増殖性をもった線虫アイソレートを選定する必要がある。

第 I 章では、検定結果に大きな誤差を生じさせると考えられる先述の 3 項目を検討し、抵抗性個体を選抜するための検定技術の開発とその実用化を行った。

第 2 節 マツノザイセンチュウの人工接種検定技術の開発

さし木発根が困難なマツ類では、検定用苗木の育成はつぎ木あるいは実生のいずれかの方法によらなければならないが、実生苗検定ではいくつかの問題が生ずる。その 1 つはマツ類が他の多くの針葉樹と同様にヘテロ性の高い他殖性植物であるため、遺伝変異が大きく、抵抗性個体を選出するためには相当な検定数（子供群）が必要なことである。また、選抜個体の着花性が良くなければ検定は困難である。つぎ木苗検定では選抜個体と全く同じ遺伝子型をもつ「クローン」であるため、少数個体（ラメート）の検定でよく、効率性が高いと考えられる。つぎ木苗に変わるものとして、切り枝の水ざし検定も検討されたが、水ざしの生存期間が短いため、検定法としては適さなかった（戸田ら 1977）。なお、切り枝検定では水ざしできる期間に限度があるため、接種した材線虫の樹体内での移動距離、増殖速度によって抵抗性を判定する方法（在原 1997）も試みられているが、事業規模での検定には適さないと考えられた。

抵抗性育種事業では、実施期間を通して約 55 万本のつぎ木苗の養成が行われることになっており、省力化が重要なポイントである。実生苗検定に比べてつぎ木苗検定は先述のような有利な点が多い。しかし、つぎ木苗検定におけるその活着率は事業の成否を左右する。すなわち選抜される候補木は VII 齢級以上の林分の上層木であるため、高樹齢のものを多く含んでおり、高い活着率は期待できない。また、つぎ木苗検定においてつぎ木台木の抵抗性の強弱が検定結果にどのような影響を及ぼすかについて不明であり、早急に検討する必要がある。

本節では、(1) つぎ木苗の台木および穂木の抵抗性の強弱が検定結果におよぼす影響の解明、(2) 抵抗性個体の選抜の基準になっているテーダマツの抵抗性の家系変異について検討し、若干の考察を試みた。

(1) つぎ木苗検定における台木の影響

一般にマツのつぎ木は台木にクロマツが使われる。しかし、クロマツは材線虫に対して感受性樹種であり、このことが穂木の抵抗性に影響するのかどうかについて、抵抗性の異なる台木と穂木を組合せ、そのつぎ木 3 年生苗および 11 年生苗に接種検定を行い検討した。また穂木部の抵抗性要因に関して若干の考察を行った。

1) 材料と方法

つぎ木3年生苗の実験に用いた供試材料を表-3に示した。クロマツとテーダマツを台木に、テーダマツ、スラッシュマツ、アカマツ、クロマツ、フクシュウマツ (*P. tabulaeformis* Carr.), パチュラマツ (*P. patula* Schlech. Cham.) の6樹種を穂木とした3年生つぎ木苗である。接種時の樹高は50~100cmであり、各つぎ木組み合わせ間で大きな開きが見られたので、接種高を、樹高に応じて、それぞれのつぎ木部位から10cm上、50cm上、および頂部の3箇所に分け、1975年7月に線虫アイソレートS6-1を苗木あたり1万頭、剥皮接種法により接種した。本実験に用いた線虫アイソレートS6-1は1975年に茨城県水戸市で採集されたカミキリの抱卵した耐久型幼虫の雌1頭から人工培養された個体群(清原1989)であり、当時最も強い病原力をもった線虫アイソレートである(岸1988)。

表-3 3年生つぎ木苗における台木および穂木の抵抗性強弱による影響

つぎ木台木の樹種	つぎ木穂木の樹種	供試本数 本	健全本数 本	被害本数 本	枯損本数 本 (%)	台木別 枯損率 (%)
【弱】クロマツ	【強】テーダマツ	43	31	11	1 (2.3)	2.2
	【中】スラッシュマツ	2	2	0	0 (0)	
【弱】クロマツ	【弱】アカマツ	8	3	0	5 (62.5)	38.1
	【弱】クロマツ	7	4	0	2 (28.6)	
	【弱】クロマツ (牛根松)	6	4	1	1 (16.7)	
【強】テーダマツ	【弱】アカマツ	8	3	0	1 (12.5)	25.0
	【弱】クロマツ	8	1	4	3 (37.5)	
【弱】クロマツ	【?】フクシュウマツ	11	9	2	0 (0)	7.1
	【?】パチュラマツ	3	1	1	1 (33.5)	

【 】は抵抗性の強度を示す (? : 抵抗性不明)。

() 台木と穂木の組合せ別枯損率。

つぎ木11年生個体の実験に用いた供試材料を表-4に示した。アカマツ、クロマツ、リギダマツを台木に、アカマツ、クロマツを穂木としたつぎ木個体である。1975年8月に線虫アイソレートS6-1を胸高部位に1個体当たり1万頭、剥皮接種法で接種した。なお、接種時の樹高は4.7m~7.1m、胸高直径は6.1cm~13.7cmである。

表-4 11年生つぎ木苗における台木および穂木の抵抗性強弱による影響

つぎ木台木の樹種	つぎ木穂木の樹種	供試本数 本	健全本数 本	被害本数 本	枯損本数 本 (%)	台木別 枯損率 (%)
【弱】アカマツ	【弱】アカマツ	17	12	5	5 (29.4)	51.6
	【弱】クロマツ	14	3	11	11 (78.6)	
【弱】クロマツ	【弱】アカマツ	11	7	4	4 (36.4)	48.0
	【弱】クロマツ	14	6	8	8 (57.1)	
【強】リギダマツ	【弱】アカマツ	3	2	1	1 (33.3)	50.0
	【弱】クロマツ	1	0	1	1 (100.0)	
計	【弱】アカマツ	31	21	10	10 (32.3)	50.0
	【弱】クロマツ	29	9	20	20 (69.0)	

つぎ木台木はアカマツ、クロマツ精英樹の自然受粉種子由来の個体。

穂木はアカマツは小林署1号~5号の4クローン、クロマツは鹿児島署1号~3号、4号、9号の5クローン。

【 】は抵抗性の強度を示す。() は台木・穂木の組み合わせ別枯損率。

2) 結果と考察

つぎ木3年生苗の樹高階層別に枯損個体の頻度をまとめると、樹高と枯損率の間には有意な関係は認められなかった。また、接種高と枯損率の間にも有意な関係が認められなかった。このため、台木および穂木の抵抗性の強弱により区分して検討を行った。

各台木・穂木組合せにおける材線虫接種結果を表-3に示した。抵抗性の弱いクロマツの台木に抵抗性の強いテーダマツマツの穂木をつぎ木した苗の枯損率は2.2%, この逆の組み合わせであるテーダマツを台木、クロマツを穂木にしたつぎ木苗の枯損率は37.5%であった。また、台木にクロマツ、穂木にクロマツあるいはアカマツとの組み合わせでは38.1%の枯損率であった。この実験では全般的に枯損率は低かったが、その枯損率は穂木の抵抗性の強弱を反映していた。

一方、つぎ木11年生個体では、表-4に示すようにアカマツ、クロマツ、リギダマツの各台木とアカマツを穂木とした組み合わせの枯損率がクロマツを穂木とした組み合わせより低く、穂木部の抵抗性はこれまで明らかにされている樹種別の抵抗性と同じ傾向を示し、台木の影響は見られなかった。以上のように、つぎ木3年生および11年生個体への接種実験から、つぎ木個体の抵抗性は台木ではなく、穂木の抵抗性の強弱に支配されているものと考えられた。

なお、そのメカニズムは不明であるが、材線虫の樹体内における移動の遅速および穂木部に材線虫病の発病を抑制する何らかの物質が存在している可能性もある。これに関連した報告としては、次のものがある。テーダマツとスラッシュマツに材線虫を接種すると短期間に材線虫が減少することが認められており(堂園ら1973)、これらの樹種の丸太に材線虫を接種したところ、材線虫が増殖したことから線虫抑制作用は生体反応であるとされている(橋本・堂園1973)。さらに、穂木部分の抵抗性の強弱とタンニンおよびpHとの関連が示唆されている(二井1984, 大山・福島1982, 大山ら1983)。また、抵抗性のテーダマツ、スラッシュマツ、タイワンアカマツなどの材部にはミルセン含有量が少なく、このためミルセンが材線虫の誘因や繁殖を助長していると推察されている(渡辺1982)。これらの報告はいずれも穂木部が抵抗性であれば、材線虫が侵入しても材線虫病の発病を抑制する物質(成分)が存在することを示唆したものであり、今後の抵抗性要因の解明の手がかりになると考えられる。

次に、つぎ木苗の接種検定において、つぎ木部位からどの程度離して接種すれば穂木部の抵抗性を正しく検定できるのかについて前述の結果から検討した。つぎ木3年生苗の接種実験では、接種高と枯損率との間に相関は認められなかった。しかし、大山ら(1974)は、つぎ木苗の台木部と穂木部にそれぞれ接種した場合、穂木部への接種では明らかな樹種間の抵抗性の差異が認められたが、台木への接種では有意差が認められないことを報告している。この報告ではつぎ木部位が不明であるが、つぎ木苗の地上40cm高に接種しているので、台木の高さを25cm程度とすれば、つぎ木部位から約15cm高に接種されたものと推測できる。このことからつぎ木苗の接種検定では、つぎ木部から少なくとも10~15cm高に接種すればよいことになる。一方、つぎ木苗の生育の良否は接種検定の重要なポイントであるが、九州育種区におけるつぎ木2年生苗の穂木部の伸長は約15~30cm以上あるので検定用苗木としては問題がないと考えられる。

実生苗検定における苗木の大小と枯損の関係についても検討する必要がある。接種後の枯損苗の苗高は20日目までの枯損苗では平均苗高は22.8cm, 21~30日の枯損苗は25.7cm, 31~40日の枯損苗は27.9cm, 41~50日のものでは29.6cmで、苗高の小さいものから順に枯損する傾向が認められている(戸田・藤本1987)。また、交雑マツ(クロマツ(♀)×タイワンアカマツ(♂))の接種検定においても同様な結果が認められている(戸田ら1986)。

一方、根元直径と枯損率の関係について、根元直径は幹の通水量に反映する形質であると考えられることから、枯損に及ぼす影響が大きいと推測されている(佐々木(峰)ら2002)。実生苗の検定では、抵抗性の遺伝的要因のほかにも苗木の生理的な要因も影響している可能性もあり、今後、この分野の研究によって明らかにされることが考えられる。

(2) テーダマツにおける抵抗性の家系変異

数多く行われている接種実験の結果では、マツ属の材線虫病に対する抵抗性は、*Sylvestres*亜節に属するクロマツ、アカマツ、リュウキュウマツは感受性(石井ら1981)であり、テーダマツ、バンクスマツ、ストローブマツなど*Australes*亜節に属する種は抵抗性(田中1973)であるというのが定説となっている。これまで報告されているテーダマツおよびギダマツの樹種レベルの抵抗性評価は、単一あるいは複数のつぎ木クローンや実生家系を供試材料とした検定結果によるものが多い。

テーダマツは抵抗性を評価する上での基準樹種としていることからこの樹種の種内変異について調べた。

1) 材料および方法

供試材料は表-5に示すように熊本営林署西木原国有林102林班の樹齢45年生(1979年当時)のテーダマツ林分の中から、多量に着果する5本の母樹を選定し、採種して育成した2年生苗である。接種は1982年7月に線虫アイソレート島原を苗木1本当たり1万頭、剥皮接種法により行った。接種後80日目の健全率、生存率を調査した。

表-5 テーダマツの家系変異

母樹家系	供試数(本)	健全率(%)	生存率(%)
No. 1	94	22.3	50.0
No. 2	96	25.0	44.8
No. 3	95	25.3	41.1
No. 4	93	30.1	59.1
No. 5	95	15.8	43.2
計	473	23.7	47.6

2) 結果と考察

家系別の健全率および生存率を表-5に示した。各家系の健全率は15.8~30.1%の範囲で、5家系の平均は23.7%、生存率は41.1~59.1%の範囲で、その平均は47.6%となり、健全率、生存率とも家系間に違いが認められた。テーダマツの抵抗性の種内変異は、藤本ら(1981a)が行った産地別テーダマツの接種実験でも認められており、樹種レベルの抵抗性は必ずしも普遍的ではないと考えられる。抵抗性育種事業では、テーダマツが抵抗性評価の尺度とされているため、その抵抗性は遺伝的に均一であることが望ましく、先述の5本の母樹由来の実生2年生苗を均等混合して用いられた。

第3節 接種検定用の材線虫アイソレートの選定

抵抗性育種では、材線虫の病原力の変化にも対処しておくことが必要であり、抵抗性要因の異なる多くの個体を選抜することが望まれる。その際、重要なのは接種検定に用いる接種源（材線虫）の選定である。検定では線虫アイソレート固有の病原力に加えて、マツ側の抵抗性や検定環境の違いが複雑に関与している。

本節では、(1) 線虫アイソレートの病原力の変異、(2) アカマツ、クロマツから分離した材線虫の病原力の違い、(3) 接種検定用の線虫アイソレート島原の選定とその病原力、(4) 線虫アイソレート島原の病原力の変化、(5) 材線虫の大量培養方法、について検討し、抵抗性育種事業に用いる線虫アイソレートの選定と抵抗性育種の面から材線虫の病原力について考察した。

本論文では、材線虫の「病原性」および「病原力」という用語を用いているが、病原体が植物に病気を起こす性質は病原性 (pathogenicity) と呼ばれている。病原性は侵害力 (aggressiveness) と病原力 (virulence) に分かれ (Gaumann 1950)、前者は病原が侵入し、定着するまでに発揮する能力をさし、後者は宿主を発病させる能力とされている。また、両者の定義について、病原性とはある条件下で特定植物に疾病を誘引する能力であって、種その他の分類上の単位の属性であり、病原力とは個々の系統・分離株などの病原性の程度を表すのが一般的であるとされている (大内1978)。本論文では、この定義に従って、材線虫の「病原力」を接種検定における「枯損率」で評価した。

(1) 材線虫アイソレート間の病原力の変異

抵抗性育種事業において、抵抗性個体の選抜およびその後代の検定に用いる線虫アイソレートの病原力は、自然界の材線虫の病原力と相応のものであることが望ましい。なぜなら、抵抗性実生後代は苗畑段階での接種検定で生き残った苗木が造林されるので、造林された苗木が自然界の病原力に耐えうるだけの抵抗性強度を持っているなければならない。

自然界における材線虫の病原力の変異を把握するためには、広範な地域から採集された材線虫の病原力を調査する必要がある。本実験では、茨城県から奄美大島までの地域で採集された23アイソレートについて、クロマツに対する病原力の変異を調査した。

1) 材料と方法

供試した線虫アイソレートとその採集地を表-6に示した。材線虫は茨城県から奄美大島までの地域で採集した23アイソレート（ニセマツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus mucronatus* を含む）である。接種材料は、精英樹クローン集植所のクロマツ精英樹の混合種子で育成した実生2年生苗である。実験は1976年7月に各アイソレート当たり1反復25本を単位として3反復で行い、接種は、各アイソレートを苗木1本当たり5,000頭、剥皮接種法で行った。また、実験を進める過程で、被害が進行中の茨城県の材線虫が強い病原力を示したことから、新たに茨城県下で採集した12アイソレートと九州育種区で採集した3アイソレートを追加し、両者の病原力を比較検討した。接種検定は1980年7月に九州林木育種場と林業試験場九州支場（以下、九州支場；現独立行政法人森林総合研究所九州支所）の2箇所で行い、九州林木育種場は苗木1本当たり5,000頭、九州支場は10,000頭を剥皮接種法によって接種した。

表-6 材線虫23アイソレートの病原力(枯損率)

番号	線虫 isolata 番号	採集地	苗木の損率(%)			平均
			反	復		
			1	2	3	
1	6	茨城, 水戸	93	81	86	86.7
2	S6-1	茨城, 水戸	100	100	92	97.3
3	14	千葉, 一宮千	9	4	4	5.7
4	14-5	葉, 一宮	7	7	41	18.3
5	25-3	京都, 京都	89	89	100	92.7
6	79	石川, 鶴来	79	91	96	88.7
7	43	鳥取, 福部	7	4	7	6.0
8	45	鳥取, 福部	4	4	0	2.7
9	35	島根, 江津	92	75	81	82.7
10	48	香川, 仲南	0	0	0	0.0
11	46-1	高知, 須崎	23	13	20	18.7
12	102	長崎, 諫早	68	82	83	77.7
13	103*	長崎, 島原	74	52	52	59.3
14	52	長崎, 諫早	42	50	46	46.0
15	80	長崎, 対馬	21	14	17	17.3
16	56	熊本, 植木	—	54	—	54.0
17	68	熊本, 芦北	80	64	62	68.7
18	69	大分, 臼杵	17	35	20	24.0
19	63	宮崎, 川南	8	38	32	26.0
20	101	宮崎, 高千穂	43	68	42	51.0
21	59	鹿児島, 川内	17	14	19	16.7
22	78	奄美大島	42	50	68	53.3
23	SP-5**	宮崎, えびの	0	4	0	1.3
23アイソレート平均			41.6	43.0	44.0	42.9

*：本抵抗性育種事業で用いたアイソレート，**：ニセマツノザイセンチュウ。

2) 結果と考察

接種後80日目における23アイソレートの苗木枯損率を表-6に示した。線虫アイソレートの平均枯損率は0～97.3%の範囲で、23アイソレートの平均は42.9%（ニセマツノザイセンチュウを除いた平均45.2%）であった。このうち、茨城県水戸で採集された6, S6-1の2アイソレートが強い病原力を示したのに対して、No.45（鳥取・福部）、No.48（香川・仲南）、ニセマツノザイセンチュウ（SP-5）など病原力の弱いものもあった。また、後述する抵抗性育種事業で用いられた「線虫アイソレート島原（103）」は全体では上位8番目にランクされ、九州育種区で採集した線虫の中では2番目に強い病原力を示した。

一方、茨城県と九州で採集した15アイソレートの病原力（枯損率）について有意差検定を行い、図-3に結果を示した。九州林木育種場と九州支場の枯損率の間には $r=0.84$ と1%水準で有意な相関係数が認められ、接種場所および接種頭数による顕著な違いは認められなかった。茨城県の線虫アイソレートの中に弱い病原力の2アイソレートが存在した（茨城1, 茨城10）。これを除いた13アイソレート間には、有意差は認められなかった。すなわち、茨城県で採集した材線虫の病原力は、アイソレート島原（103）や祐徳と同じ程度であり、被害が進行中の林分から採集された材線虫が特に強い病原力を示すことはなかった。

以上のように、これまで強い病原力をもつとされてきた線虫アイソレートS6-1, 島原（103）が強いグループに入った。しかし、先述のようにアイソレート間での変異が大きいことから、自然界における材線虫の病原力の変異はかなり大きいと推測され、著しく病原力の強い線虫アイソレートが存在する可能性も考えられる。

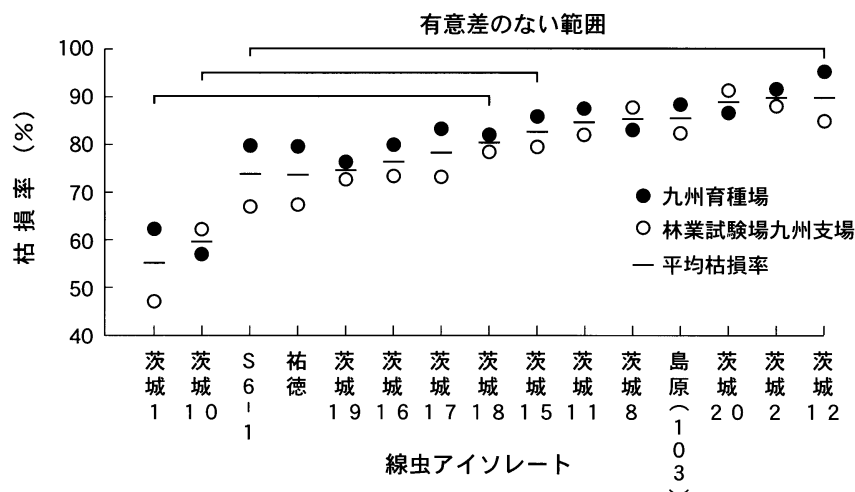


図-3 線虫アイソレートの病原力

今後、抵抗性育種に最適な接種源の確保には、可能な限り広範な地域の線虫アイソレートについて病原力の検定を行う必要がある。この際、使用するマツ苗の系統も抵抗性の異なる多数の家系を混合し、恒久的に供試することにより、自然界における材線虫の病原力を正しく評価できるものと考えられる。

(2) アカマツ、クロマツから分離した材線虫の病原力のちがい

材線虫病に対する樹種レベルの抵抗性変異については緒論で論述したが、抵抗性樹種では病原力の強い材線虫でなければ発病に至らない。また、感受性樹種を枯損させるには弱い病原力の線虫でも発病させうとする仮説がある。このことは将来、造林種苗としての抵抗性マツが広範囲に植林された場合、それらを発病させる線虫アイソレートの出現によって材線虫の病原力は次第に高まり、やがて抵抗性マツもこれまでのマツと同じような足跡をたどることも考えられる。こうしたことから、アカマツ、クロマツそれぞれの林分の枯損木から分離した線虫アイソレートの病原力について比較した。また、材線虫が、それが分離された樹種に対して特異的に病原性を発現するか否かについても検討した。

1) 材料と方法

供試した線虫アイソレートの採集地および分離樹種を表-7に示した。分離樹種はアカマツ8個体から分離した8アイソレートとクロマツ10個体から分離した10アイソレート、計18アイソレートである。接種検定材料は、アカマツ、クロマツの実生2年生苗4家系であり、対照としてテグマツの実生2年生苗を用いた。接種は1978年7月に各線虫アイソレート当たり各樹種20本の苗木を用い(テグマツは10本)、1本当たり線虫1万頭を剥皮接種法で行った。

表-7 採集地別、樹種別に分離した材線虫18アイソレートの病原力(枯損率)のちがい

isolata 番号	材線虫の採集地	分離樹種	苗木の枯損率(%)			
			アカマツ	クロマツ	テーダマツ	平均
9	茨城, 水戸	アカマツ	86.1	94.9	90.0	90.6
1	佐賀, 祐徳神社	//	67.5	100.0	90.0	84.4
17	長崎, 島原	//	52.5	87.5	40.0	66.7
13	佐賀, D伊万里	//	25.0	77.5	80.0	54.4
10	佐賀, A枝去木	//	30.0	52.5	80.0	45.6
4	福岡, 甘木	//	27.5	52.5	40.0	40.0
2	熊本, 芦北	//	7.5	50.0	10.0	26.7
3	大分, 杵築	//	12.5	40.0	30.0	26.7
アカマツ分離源8アイソレートの平均			38.6	69.4	57.5	54.4
20	鹿児島, 指宿	クロマツ	85.0	92.5	20.0	81.1
15	鹿児島, 川内	//	50.0	87.2	40.0	65.2
7	熊本, 有明	//	35.9	82.5	80.0	61.8
12	佐賀, C納所	//	51.3	65.0	70.0	59.6
16	福岡, 若松	//	30.0	90.0	30.0	56.7
5	大分, 大在	//	45.0	65.0	0	48.9
18	熊本, 湯尾	//	30.0	59.0	80.0	48.3
19	熊本, 崎津	//	25.0	74.4	40.0	48.3
11	佐賀, B串	//	15.0	22.5	66.7	23.6
14	佐賀, E波戸	//	2.5	23.1	10.0	12.4
クロマツ分離源10アイソレートの平均			37.0	66.1	43.7	50.6
全 体			37.7	58.7	49.8	52.3

2) 結果と考察

接種60日目における各アイソレート別、樹種別の枯損率を表-7に示した。アカマツから分離した8アイソレートに対する各樹種の枯損率は、アカマツ38.6%、クロマツ69.4%、テーダマツ57.5%を示し、平均は54.4%であった。また、クロマツから分離した10アイソレートはそれぞれ37.0%, 66.1%, 43.7%を示し、平均は50.6%

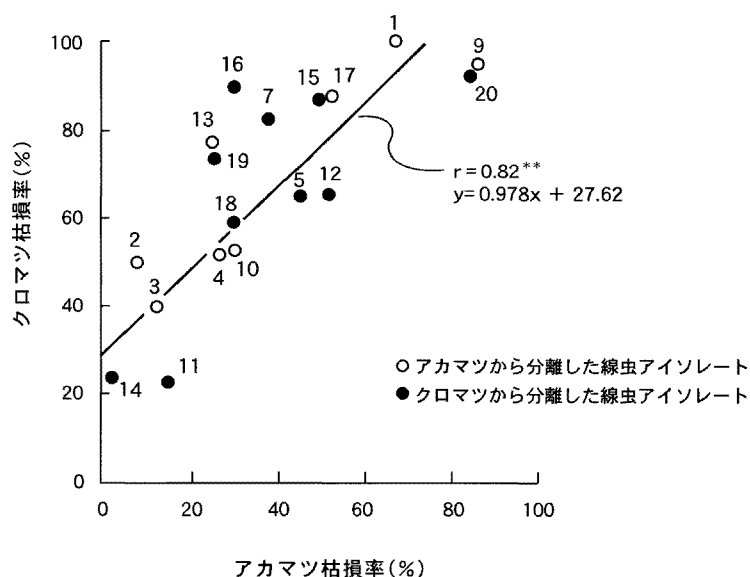


図-4 アカマツとクロマツから分離した線虫アイソレートによる両樹種の枯損率
*: 1%水準の有意差有り

であった。クロマツに比べ、アカマツから分離したアイソレート群がアカマツ、クロマツに対して高い枯損率を示したが、両アイソレート群間の平均枯損率に有意差は認められなかった。分離樹種別アイソレートのアカマツ、クロマツに対する加害率の相関関係を図- 4 に示した。両樹種の枯損率間には $r=0.82$ と1%水準で有意な相関係数が認められ、各線虫アイソレートの病原力とそれらを分離した樹種との交互作用はなく、樹種の抵抗性によって枯損率が左右された。また、材線虫が分離された樹種に対して特異的に病原性を発揮する線虫アイソレートはなかった。

アメリカでの研究によると、パルサムファー (*Abies balsamea* Mill.) およびレジノーサマツ (*P. resinosa* Ait.) を特異的に加害するアイソレートが報告されている (Wingfield *et al.* 1983)。抵抗性育種事業ではアカマツ、クロマツ、外国マツも含めた多くのマツ属が検定された。これらの樹種は、遺伝的に異なった抵抗性をもつクローンや家系で構成されており、線虫アイソレートが樹種あるいは系統を選択的に加害するとすれば検定結果の信頼性に重大な影響を及ぼすことになる。本実験ではこのような傾向は見られなかったが、材線虫の病原力が分離した樹種の抵抗性とまったく関係がないと言いきれない部分もあり、抵抗性の打破にもつながる問題として今後の抵抗性育種の重要な研究課題と考えられる。

(3) 接種検定用の材線虫アイソレート「島原」の選定と病原力

線虫アイソレート間の病原力の変異については既に述べたが、抵抗性育種事業では遺伝的に多様な個体が異なる地域において接種検定される。選抜された個体の抵抗性レベルをそろえるためには共通の線虫アイソレートをを用いる必要がある。

接種検定に用いる線虫アイソレートとしては、①安定した病原力を発揮すること、②増殖力が旺盛なこと、③継代培養によって病原力が低下しないこと、④樹種選択性のないことが要求される。本項では接種検定用の線虫アイソレートの選定を行った。

1) 材料と方法

表- 8 に検定機関、検定環境、苗木の種類、線虫アイソレートの採集地について示した。

線虫アイソレートは、九州（熊本）、関西（岡山）、四国（高知）の各育種場で分離した線虫アイソレートの中から強い病原力の18アイソレート（各育種場6アイソレート）を選定した。材線虫の病原力の強弱はアカマツ、クロマツつぎ木2年生苗および実生2年生苗に人工接種し、その被害率および枯損率によって評価した。接種検定は各育種場のガラス室、パイプハウス、野外の3箇所で行ない、各線虫アイソレート当たり8～12本のつぎ木苗、36～50本の実生苗を用いた。人工接種は苗木1本当たり線虫1万頭を剥皮接種法で行った。また、供試アイソレートの増殖性の評価には、内径9cmのシャーレに馬鈴薯寒天培地（林業試験場九州支場樹病研究室1974）（水100ml中：ジャガイモ200gの煮汁、しょ糖20～30g、寒天20g；以下PDA培地）で繁殖したボトリチス菌上に約50頭の材線虫を移植し、培養8日後に線虫頭数を調査した。なお、各線虫アイソレートにつき5枚のシャーレを使用し、その平均頭数を算出した。

表-8 材線虫アイソレートの病原力および増殖性

樹 種 検 定 機 関 検 定 環 境 苗 木 の 種 類 線虫アイソレート	アカカツ				クロマツ						線虫増殖性
	関西育種場		九州育種場		関西育種場		四国育種場		九州育種場		九州育種場
	ガラス室		ビニールハウス		ガラス室		野外		ビニールハウス		シャーレ1
	つぎ木苗		実生苗		つぎ木苗		実生苗		実生苗		枚当たりの 増 殖 頭 数 (万頭)
	被害率 (%)	枯損 (%)	被害率 (%)	枯損 (%)	被害率 (%)	枯損 (%)	被害率 (%)	枯損 (%)	被害率 (%)	枯損 (%)	
和歌山・川辺 (関西)	100	90	64	36	100	100	73	73	100	97	27
和歌山・南部 (//)	90	70	74	29	100	100	97	97	100	93	43
*和歌山・岩出 (//)	100	100	97	74	93	93	90	90	100	100	48
*広島・黄金山 (//)	80	70	68	42	86	86	73	73	100	97	10
山口・宮野 (//)	100	100	23	13	100	100	97	97	97	91	44
*山口・阿知須 (//)	60	60	19	10	79	79	93	93	78	44	37
徳島・小松島 (四国)	100	100	58	45	100	100	97	93	100	100	15
*香川・大串 (//)	100	100	55	24	93	93	97	93	100	94	32
香川・高松 (//)	100	100	38	16	100	100	93	87	100	72	36
愛媛・大州 (//)	100	90	84	44	100	100	100	100	100	94	13
愛媛・重信 (//)	100	100	69	50	100	100	100	97	100	100	18
高知・奈半利 (//)	100	100	55	28	100	100	80	63	100	91	37
茨城S6-1 (森総研九)	100	100	61	16	100	100	100	100	100	100	37
佐賀・祐徳 (九州)	100	100	88	38	100	100	97	97	100	97	45
*長崎・島原 (//)	100	100	63	41	100	93	100	97	97	94	50
熊本・有明 (//)	100	90	69	21	100	100	97	93	100	97	28
鹿児島・川内 (//)	100	100	19	9	100	100	97	97	97	88	34
鹿児島・指宿 (//)	100	100	77	45	100	100	97	93	100	97	49

*：一次選定されたものを示す。
材線虫の増殖はPDA培地を使用。
苗木はつぎ木・実生とも2年生苗。

2) 結果と考察

各検定機関における検定環境別の線虫アイソレートの検定結果を表-8に示した。野外(四国：クロマツ)と比較して、ガラス室とビニールハウスでの枯損率が高かった。また、つぎ木苗と実生苗の比較では、つぎ木苗での枯損率が高かった。この実験では、関西育種場が使用した苗木の種類、検定環境などが抵抗性育種事業の実施計画と似ていることから、関西育種場の結果をもとにクロマツの枯損率が100%未満であった岩出、黄金山、阿須知、大串、島原の5アイソレートを1次選定した。

線虫の増殖性は、シャーレ当たり10万(黄金山)～50万頭(島原)と線虫アイソレートにより大きく異なった(表-8)。材線虫の病原力と増殖性の関係には、病原力の強い線虫アイソレートほど増殖性が高く、弱い材線虫は低い傾向のあることが報告されている(清原・堂園1986)。しかし、今回の実験では、材線虫の病原力と増殖性との間に明らかな相関関係はなかったが、接種検定用の材線虫の選定には、人工接種による病原力(枯損率)と人工培養による増殖性の両者を総合的に判断する必要がある。

以上のことから、抵抗性育種事業に使用する材線虫としては、長崎県島原市で採集した線虫アイソレート島原が病原力ならびに増殖性の面から最も検定に適していると考えられる。

(4) 材線虫アイソレート「島原」の病原力の変化

抵抗性育種事業に用いる線虫アイソレート島原は、1978年からの事業実施期間中、およびその後の抵抗性マツの生産や抵抗性実生後代の抵抗性評価のための接種検定に用いられている。しかし、世代更新が早い材線虫では、突然変異や近親交配から病原力の低下が起きることが危惧される。このことは接種検定でしだいに抵抗性が低いレベルで評価されることにもつながる。

数年間継代培養を行った*B.xylophilus*において、その病原力が低下した事例が報告されているが（清原1976）、線虫において、継代培養による病原力の低下が普遍的な現象であるか否かについては明らかではない。ここでは線虫アイソレート島原の継代培養による病原力の変化の有無と線虫保存機関（個体群）における病原力の差について調査した。

1) 材料と方法

1978年から1985年の7年間各育種場で繰り返し継代培養されてきた線虫アイソレート島原を九州育種場に集め、病原力の評価を行った。供試材料はアカマツ、クロマツの精英樹各7家系（各家系16本）の実生2年生苗である。接種は1985年7月に苗木1本あたり線虫1万頭を剥皮接種法により行った。

2) 結果と考察

各保存機関別の枯損率を図-5に示した。各機関が保存してきた線虫間の平均枯損率にはそれほど大きな違いはなかった。また、平均枯損率を比較すると、アカマツが四国(80.8%)、関西(72.5%)、九州(71.8%)、クロマツも四国(90.9%)、関西(89.9%)、九州(75.8%)の順となり、九州のクロマツで低い値を示したが両樹種とも保

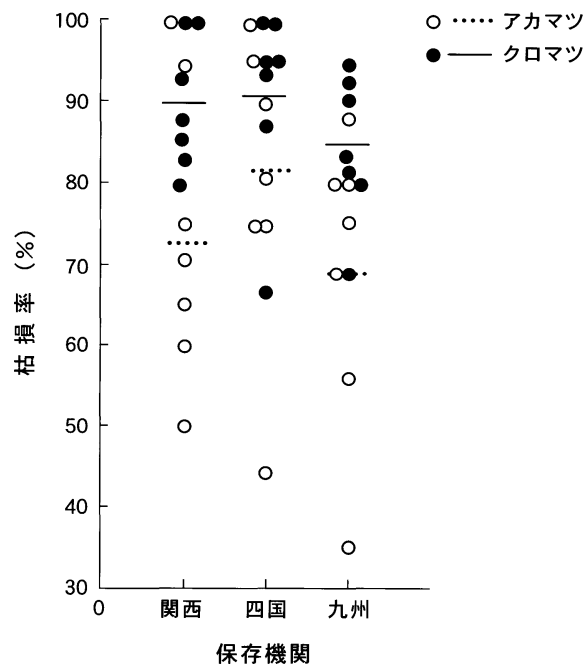


図-5 各機関の保存線虫アイソレート島原の枯損率
 関西・四国・九州は当時の林木育種場、接種検定場所九州

存機関別線虫による枯損率の順位の傾向は同様であった。また、平均枯損率はアカマツ、クロマツとも材線虫保存機関間に有意差は見られず、3 機関が保存している線虫の病原力に差は生じていなかった。

以上のことから線虫アイソレート島原の病原力には変化が起きていないと考えられた。この原因の 1 つに線虫アイソレート島原の初代増殖が30頭以上の複数個体で構成されていることがあげられる。また、単雌雄から増殖された線虫アイソレートS6-1 は、現在でも強い病原力を維持しており、病原力が変化したという報告はない(表-8 : S6-1 参照)。

このような実験では、オリジンの線虫個体群を対照としなければならないが、本実験では初代あるいは継代培養初期の線虫アイソレート島原を使用することはできなかった。今後、材線虫を長期間保存する技術が開発されれば材線虫の病原力の変化について明らかにできると考えられる。

(5) 材線虫の大量増殖方法

一般に材線虫の増殖は、PDA培地で培養した糸状菌上で行う。この方法でシャーレ 1 枚当たり10万~50万頭の増殖が可能である。抵抗性育種事業における各機関の接種検定は、毎年ほぼ同時期に実施される。また、材線虫の活性の変化しない保存期間は約 1 週間と短いことから、短期間に材線虫を大量増殖する技術の開発が必要である。また、検定に必要な材線虫は各育種場で増殖され、各機関に配布される。ちなみに事業期間中に九州育種場が培養した材線虫は、年間約 9 億頭(シャーレでは約2,000枚分)と大量であった。

外国では菌食性線虫の増殖に穀類が用いられているが(Evans 1970)、材線虫の大量培養に大麦を培地として使用することを試みた。また、増殖された材線虫の病原力についても調査を行った。

1) 材料と方法

麦培地用の材料は市販の大麦(大麦100g中の成分は、蛋白質10.1%、灰分0.4%、脂肪0.5%、繊維0.4%、糖質75.5%、水分13.1%以下)を用いた。滅菌はオートクレーブで120℃、1.8気圧、15分間で2回の間欠滅菌を行った。また、麦培地で増殖した材線虫の病原性の確認には、アカマツ精英樹(阿蘇9)とクロマツ精英樹(川辺34)の実生2年生苗を供試した。接種は線虫アイソレート島原(苗木1本当たり1万頭)を剥皮接種法により行った。

2) 結果と考察

麦培地の調整では、直径 9 cmのシャーレに大麦20g(約85粒)が最も良かった。麦培地はPDA培地よりも糸状菌の繁殖面積が広くなり、そのぶん材線虫の増殖頭数は増加する。線虫アイソレート島原の場合だとシャーレ 1 枚あたり176万頭で、PDA培地(46万頭)の約 4 培の材線虫が増殖できた。麦培地では材線虫の分離の際に若干の配慮が必要である。PDA培地からの分離ではシャーレから培地をはずし、水を入れた大型ロートの中で行う。しかし、麦培地の場合には、シャーレのまま、培地を下向きにし、4~5時間浸漬する方法が最も効率的であった。

図-6 に麦培地で増殖した材線虫の病原力について、接種 6 ヶ月後の枯損率と被害率を示した。培地の種類と枯損率との間には統計的な有意差は見られなかった。

なお、材線虫の培養技術と接種技術について、末尾の付属資料に示した。

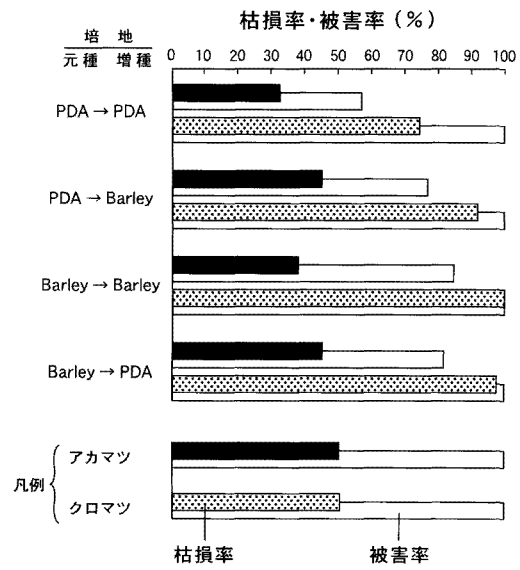


図-6 培地のちがいによる材線虫の病原力
 PDA：馬鈴薯寒天培地
 Barley：麦培地

第Ⅱ章 抵抗性クローンの諸特性の解明

第 1 節 研究目的

1984年にアカマツ92個体，クロマツ16個体，計108個体の材線虫抵抗性個体が確定された。これらの個体をオルテットとしたつぎ木苗が抵抗性採種園の造成に用いられており，1998年現在，1府25県に，アカマツ18箇所（11.2ha），クロマツ23箇所（9.5ha），計41箇所（20.7ha）が造成されている（林野庁林木育種センター 2000）。抵抗性採種園はすでに成熟期にはいり，本格的な抵抗性種苗の生産が行われている（田島1992，鳥羽瀬ら1993）。このため，抵抗性クローンの後代における成長，通直性など木材生産上重要な一般形質や，材線虫抵抗性，着花性などの諸特性の解明は重要な課題である。

抵抗性クローンの選抜では，成長形質について一応選抜時に配慮されたが，着花性，種子生産性，雑種性などの諸特性は不明である。特に抵抗性クローンの実生後代における抵抗性や種子生産性は抵抗性種苗の普及ならびに採種園の維持管理を行うためには欠くことのできない特性である。種子生産に関する特性や実生後代の抵抗性特性など一部の特性については単年度調査の結果が報告されているが（宮原・今村1988），経年調査による抵抗性クローンの特性評価は行われていない。

著者らは林木育種センター九州育種場（以下，九州育種場）内に設定されている「抵抗性クローン集植所」で抵抗性クローンの特性について経年調査を行ってきた。第Ⅱ章では抵抗性クローンの枯損，樹高成長，着花性，開花時期，種子の生産性，後代の抵抗性，雑種性などの21形質の特性を評価した。

第 2 節 調査地および特性評価方法

抵抗性クローン集植所（現遺伝資源保存園）は，つぎ木2年生苗を用いて1986～1987年に造成された。植え付けは，列間3.0m×苗間1.0m，クローン当り7～10本の列状植栽である。定植3～4年目（以下，定植後の成長期間数で○年次）に隣接木と枝が触れ合うなど過密になったため，7年次（1992年）に調整伐を行い，クローン当り6本にした。

材線虫抵抗性クローンの各評価対象形質の評価は，5，4，3，2，1の5段階で行った。この値から樹種別に各クローンの偏差値を次式で求め，評価値とした。

$$\text{偏差値} = (\text{各クローンの値} - \text{全クローンの平均}) \div \text{全クローンの標準偏差}$$

次にこれらの評価値から下記により，各クローンのランク付けを行った。

- 5（最も優れている）； $+1.5\sigma$ 以上
- 4（優れている）； $+1.5\sigma$ 未満～ $+0.5\sigma$ 以上
- 3（中間・普通）； $+0.5\sigma$ 未満～ -0.5σ 以上
- 2（やや劣る）； -0.5σ 未満～ -1.5σ 以上
- 1（劣る）； -1.5σ 未満

ただし雌花，雄花の開花時期の5～1は遅い～早いを表す。また，樹皮色，針葉型，冬芽色，球果型による樹種識別は，5；クロマツ型，3；アイノコマツ型，1；アカマツ型で表す。さらに樹脂道指数（Resin Duct Index；以下RDI），種子発芽率などの特性はその測定値（平均）を使用し，絶対評価を行った。

(1) 抵抗性クローンの枯損

1) 材料および方法

抵抗性クローン集植所や各県が設定した抵抗性採種園において抵抗性個体の枯損が発生している。枯損個体数はまだ少ないが、枯損の原因が材線虫病に起因するものか否かについて、枯損木の材線虫の有無を調査した。調査方法はクローン集植所の枯損個体の幹の材片を採取し、細割してガーゼで包みベルマンロートに12時間浸漬した。材線虫の有無は、ベルマンロートの沈殿液を検鏡して確認した。また、枯損の多いクローンを対象に5年次のつぎ木癒合の良否を調べた。さらにつぎ木癒合がつぎ木不親和性と関係があると考えられるため、各クローンをつぎ木増殖性について、つぎ木1年生苗（各クローン20本を使用）の活着率、癒合の良否、伸長量を調査した。活着率は各クローンの活着率を調べ、その値からクローン毎に偏差値を求め、先述のように5段階の評価（指数）を行った。癒合の良否は、各クローンをつぎ木部の肥大や台木と穂木の接合が悪い個体の割合を調べ、その値から偏差値を求め、癒合の良好なものを5とする5～1の5段階の評価（指数）を行った。伸長量は各クローンをつぎ木当年の伸長量を調査し、その平均伸長量で評価した。

2) 結果と考察

抵抗性クローン集植所におけるクローン数と個体数の経年推移を表-9に示した。設定から6年間に枯損した

表-9 抵抗性クローン集植所における個体数の推移

年度 樹齢（年次）	1987 2	1988 3	1989 4	1990 5	1991 6	1992 7
クローン数						
アカマツ	76	92	92	92	92	92
クロマツ	15	16	16	16	16	16
個体数	571	839	830	823	819	569
枯損						
アカマツ		0	9	3	4	6 (244)
*材線虫病		0	1	2	0	2
個体数	130	126	155	153	149	97
枯損						
クロマツ		4	0	2	4	1 (52)
*材線虫病		0	0	0	0	1

1988, 1989年のクロマツの個体増は補植, 1992年の()の数は間伐による個体減。

*: 材線虫が確認された個体数。

個体はアカマツ22, クロマツ11個体である。このうち風などが原因で枯損した個体を除く残りの個体について材線虫の確認を行った。その結果, 1989年に大分ア111の1個体, 1990年に大分ア168の2個体, 1992年に久留米ア118, 佐賀関ア108, 川内ク290の各1個体の計5クローン, 6個体から材線虫が検出された。このことからクローン集植所では, 植栽後3～4年次には既に材線虫病の感染があったと推測される。材線虫病による被害は, 九州地区で設定されている各県のクロマツ抵抗性採種園でも発生している。熊本県では, 1992年（植栽後4年次）に大瀬戸ク12の3個体, 志摩ク64, 大分ク8, 夜須ク37の各2個体, 小浜ク24, 川内ク290, 波方ク37の各1個体, 合計7クローン12個体が枯損している（データ省略）。また, 鹿児島県では, 川内ク290, 夜須ク37の各々3個体, 波方ク37の2個体, 田辺ク54の1個体, 合計4クローン9個体が枯損した（データ省略）。これらの枯損木からはいずれも材線虫が確認された。

抵抗性クローンが枯損するにはいくつかの原因がある。その1つは材線虫病による枯損である。第1章で記述

したように抵抗性クローンは、テラダマツと同等以上という基準で選定されており、クローン間の抵抗性には変異があると考えられる。先述の熊本、鹿児島両県のクロマツ採種園では、多数の個体でカミキリの食害痕が確認されており、材線虫病の感染機会にさらされている。こうした中、抵抗性が低位のクローンにおいて、その一部個体が発病、枯損したものと推測される。他の原因として材線虫以外の生理的障害による枯損である。つぎ木不親和性もその1つで、大分ア111の枯損個体はつぎ木部位の台木部とつぎ穂部の直径比率が1.32、同様に大分ア168の2個体では、それぞれ1.46、1.73と、いずれもつぎ木部が肥大する（いわゆる台負け）現象が起きていた。また、大分ア111の10個体中6個体、大分ア168の10個体中6個体がつぎ木部位から樹脂が滲出しており（戸田・冬野, 1990）、このことがカミキリを誘引する原因となっていることも推測される。そのほか、樹体の外部傷害と材線虫病の複合的な枯損も考えられ、気象害や病虫害に侵された生理的に不健全な個体は材線虫病に感染すると抵抗性クローンであっても発病する確率は高くなると思われる。抵抗性クローンのつぎ木増殖性の評価結果を表-10に示した。先述の大分ア111、大分ア168はつぎ木当年苗でも癒合が悪く、また、つぎ木活着率も低かった。

表-10 抵抗性クローンのつぎ木増殖特性

クローン	つぎ木 活着率	癒合 良否	伸長量 (cm)	クローン	つぎ木 活着率	癒合 良否	伸長量 (cm)	クローン	つぎ木 活着率	癒合 良否	伸長量 (cm)
太宰府ア4	2	3	34.7	佐賀関ア117	3	4	30.8	備前ア140	3	3	21.4
久留米ア18	2	2	32.9	佐賀関ア118	2	4	18.8	備前ア143	4	4	15.7
久留米ア29	2	1	24.5	佐賀関ア126	3	4	26.3	備前ア150	2	4	20.8
久留米ア78	2	4	49.8	佐賀関ア132	2	4	33.9	岡山ア82	2	3	31.0
久留米ア79	2	2	36.7	佐賀関ア134	3	3	24.0	岡山ア85	4	4	20.3
久留米ア118	2	4	26.6	佐賀関ア162	2	3	24.0	岡山ア88	8	3	23.9
久留米ア142	4	3	31.1	佐賀関ア165	3	2	20.7	岡山ア132	3	4	21.1
久留米ア144	4	3	37.9	佐賀関ア170	3	3	26.3	笠岡ア124	2	3	16.7
有田ア49	2	3	42.8	延岡ア219	4	4	34.6	笠岡ア178	3	4	22.1
太良ア122	4	4	34.8	由岐ア25	2	3	24.3	金光ア13	2	4	21.8
国見ア17	2	2	31.0	阿南ア34	2	4	37.4	金光ア25	2	2	16.3
国見ア31	3	1	28.5	阿南ア55	2	3	31.0	鴨方ア29	3	4	24.2
国見ア53	2	1	41.9	高松ア1	2	4	30.2	総社ア39	2	3	26.7
熊本ア16	4	2	42.8	西条ア8	4	4	19.5	熊山ア25	4	1	17.6
熊本ア63	4	4	40.0	新居浜ア7	4	3	32.8	熊山ア39	3	1	21.1
本渡ア1	4	3	46.2	新居浜ア10	4	4	35.4	熊山ア119	4	3	27.5
松島ア58	3	3	33.1	宇和島ア18	4	4	28.1	宮島ア54	2	3	31.0
松島ア70	3	1	28.9	宇和島ア21	4	3	36.5	吉備ア77	4	3	15.5
有明ア7	2	4	38.6	宇和島ア39	4	4	30.1	山陽ア6	3	3	21.4
大分ア111	1	2	36.2	宇和島ア50	3	4	34.4	日生ア35	4	3	27.0
大分ア137	4	3	32.4	南国ア5	3	4	23.4	志摩ア64	3	3	21.2
大分ア142	3	3	26.2	須崎ア27	3	4	29.2	津屋崎ア50	1	4	16.8
大分ア166	4	2	27.5	須崎ア31	2	2	23.8	小浜ア24	1	4	47.0
大分ア167	4	1	24.5	須崎ア32	4	4	27.3	小浜ア30	4	4	33.7
大分ア168	1	2	33.4	姫路ア232	4	4	36.6	大瀬戸ア12	4	3	20.8
大分ア173	4	1	27.7	田辺ア52	4	3	20.9	大分ア8	1	3	23.2
大分ア186	1	1	28.9	真備ア58	3	4	15.4	川内ア290	4	4	33.3
大分ア198	4	2	31.2	真備ア70	2	4	33.4	額娃ア425	4	4	36.1
大分ア203	3	2	35.7	赤坂ア88	3	4	38.3	三豊ア103	3	1	16.8
大分ア204	4	1	28.5	赤坂ア163	3	4	29.2	三崎ア90	3	2	23.3
大分ア269	4	1	33.2	赤坂ア179	3	3	23.8	吉田ア2	4	3	28.8
佐賀関ア84	4	2	29.0	赤坂ア216	2	4	21.1	波方ア37	4	3	22.2
佐賀関ア90	3	1	24.3	備前ア21	3	3	14.5	波方ア73	4	2	16.6
佐賀関ア93	4	4	25.5	備前ア40	2	4	27.4	土佐清水ア63	4	4	24.6
佐賀関ア108	4	3	24.5	備前ア66	2	4	16.9	夜須ア37	4	3	35.2
佐賀関ア113	3	4	46.7	備前ア137	4	3	24.8	田辺ア54	4	3	18.4

つぎ木活着率: 活着率高いものを5とする5～1の5段階の指数評価。

つぎ木癒合: 癒合が良いものを5とする5～1の5段階の指数評価。

つぎ伸長量: つぎ木当年の平均伸長量で評価。

第3節 抵抗性クローンの樹高成長

抵抗性個体の選抜にあたっては、樹高成長が林分の平均以上のものが選抜された。しかし、残存率が著しく低い林分からの選抜では、成長の劣る個体が選抜された可能性もある。樹高成長は胸高直径に比べて遺伝支配の割合が大きいとされており（岩川ら、1967）、抵抗性クローンの樹高特性はその実生後代に影響する。また、樹高成長は採種園の仕立て方など、育成管理の基礎資料としても必要である。本節では、九州育種区で選抜されたアカマツ（45クローン）とクロマツ（7クローン）について、幼齢期の樹高成長を調査し、評価を行った。

1) 材料と方法

前述の抵抗性クローン集植所において、1987（2年次）～1992年（7年次）の6年間、樹高を測定した。測定データを基に樹高成長の順位変動、採種木の断幹時期に達するクローン頻度について検討した。また、各クローンの樹高成長特性をクローン集植所のつぎ木7年次の調査データを用い、5段階で評価した。

2) 結果と考察

定植6年間の樹高成長の経年変化を表-11に示した。2年次では、アカマツがクロマツの成長を上回ったが、3年次以降はクロマツの成長が旺盛となり、両者の差は樹齢とともに広がる傾向を示した。両樹種の各年次の年平均伸長量は、アカマツは3年次61cm、4年次86cm、5年次82cm、6年次66cm、7年次51cmと経年とともに低下するのに対して、クロマツは3年次81cm、4年次81cm、5年次94cm、6年次86cm、7年次62cmと、伸長量の低下はアカマツに比べて鈍い傾向にあった。

表-11 定植6年間の抵抗性クローン樹高成長（単位cm）

樹 種	アカマツ（*45クローン）					
調査年	1987	1988	1989	1990	1991	1992
樹 齢（年次）	2	3	4	5	6	7
個体数	423	421	418	415	409	282
樹高の総平均	130	191	277	359	425	476
年平均伸長量		61	86	82	66	51
クローン平均最大	167	247	398	513	579	613
同上クローン名	熊本16	久留米78	大分142	大分142	大分142	大分142
クローン平均最少	90	132	191	235	269	308
同上クローン名	佐賀関84	佐賀関90	佐賀関90	佐賀関90	佐賀関90	佐賀関90
個体最大	212	285	435	567	657	710
同上クローン名	久留米78	久留米78	大分142	大分142	大分142	大分142
樹 種	クロマツ（*7クローン）					
調査年	1987	1988	1989	1990	1991	1992
樹 齢	2	3	4	5	6	7
個体数	66	66	66	66	66	41
樹高の総平均	122	203	284	378	464	526
年平均伸長量		81	81	94	86	62
クローン平均最大	171	254	336	446	549	628
同上クローン名	小浜24	小浜24	小浜24	小浜30	小浜30	小浜30
クローン平均最少	99	158	207	274	345	382
同上クローン名	志摩64	志摩64	志摩64	志摩64	志摩64	志摩64
個体最大	212	290	410	505	621	710
同上クローン名	小浜24	小浜24	小浜24	小浜30	小浜30	小浜30

*九州育種基本区で選抜された抵抗性クローンのみ。

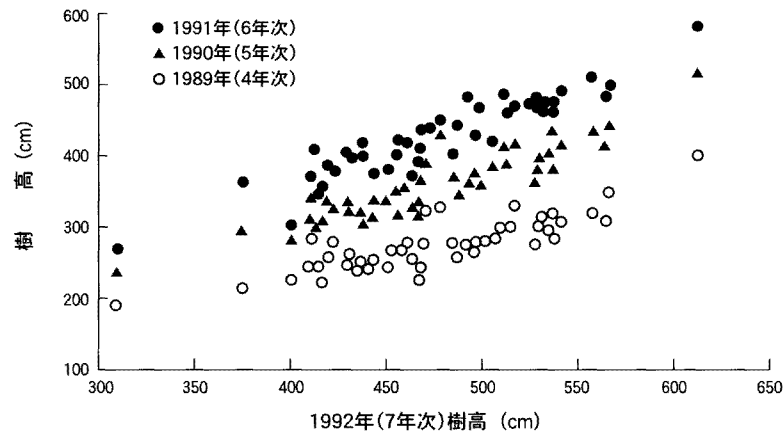


図-7 アカマツ抵抗性クローンの樹高における年次間相関
1992年(7年次)樹高と1989~1991年(4~6年次)間の相関関係

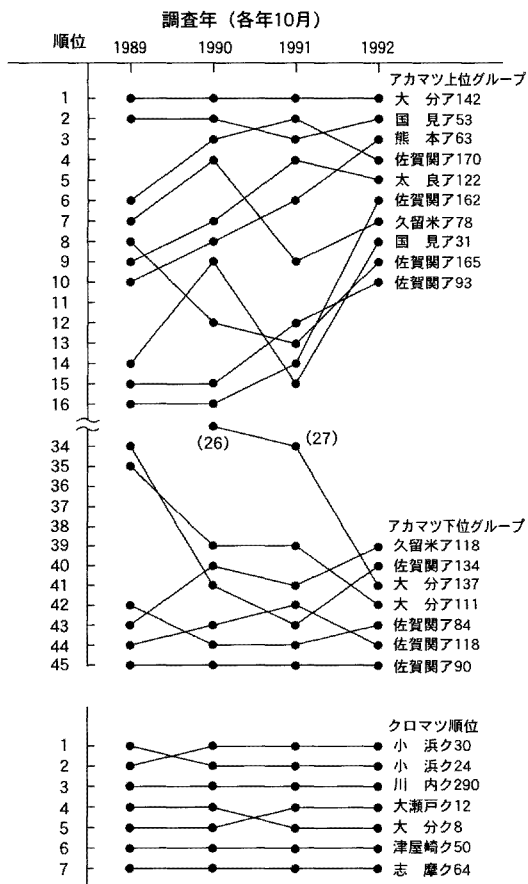


図-8 樹高成長の順位変動

アカマツの各クローンの成長持続性を評価するため、7年次樹高と4~6年次樹高との相関図を図-7に示した。この図で最も左下にプロットされているのは佐賀関ア90、最も右上にプロットされているのは大分ア142である。7年次と各年次の樹高の相関係数は $r=0.902\sim0.934$ と1%水準で有意な関係が認められ、幼齢期の初期成長がそれ以降も持続している傾向が見られた。先述のように年間の伸長量がクローンによって異なるため、総成長量の順位はかなり変動した。1992年の樹高順位がアカマツの上位10クローン(1~10番目)、下位7クローン(39~45番目)とクロマツの7クローンを用いて、それらの順位変動を図-8に示した。クロマツは年次間で順位が比較的安定していたが、アカマツの順位変動は大きく、年により伸長量が大きく変化した。アカマツの大分ア142、国見ア53、クロマツの小浜ク24、同30、川内ク290は上位グループにあって年次変動の少ないクローンであり、佐賀関ア90、同118、同84は下位グループで年次変動が少ないクローンである。

志摩ク64はクロマツの中で最も樹高成長が緩慢なクローンであった。このクローンは枝密度が著しく高い特徴的な樹型を示し(森田・中島, 1989), こうした特徴は木材生産用としてよりは、防砂, 防潮, 防音に適することから, 2001年に品種登録されている(中村, 1990)。

一般に採種園では採種作業の効率化のために, 採種木を一定の高さに抑制する断幹(芯抜き)作業が行われているが, 針

葉樹では頂芽優勢のため低位置で断幹すると枝が立ち上がる傾向がある。九州育種区のマツ採種園の断幹の目安は樹高 5 m とされている。抵抗性クローンの中で、つぎ木 7 年次の樹高が 5 m 以上になるクローン数は表-12 のように、アカマツが約 4 割 (35.6%)、クロマツが約 8 割 (71.4%) であった。また、7 年次における各クローンの樹高特性、5 (最も優れている) ～ 1 (劣っている) の 5 段階で評価した結果は表-13 のとおりである。

表-12 定植 4 ～ 7 年次における樹高階別クローン頻度 (%)

樹 種	アカマツ (*45 クローン)				クロマツ (*7 クローン)			
	1989	1990	1991	1992	1989	1990	1991	1992
調査年度	1989	1990	1991	1992	1989	1990	1991	1992
定植後の年数	4	5	6	7	4	5	6	7
樹高 (cm)								
～200	2.2							
201～300	71.1	6.7	2.2	2.2	71.4	14.4		
301～400	26.7	73.3	31.1	2.2	28.6	42.8	28.6	14.3
401～500		17.8	62.2	60.0		42.8	28.6	14.3
501～600		2.2	4.5	33.4			42.8	57.1
601～				2.2				14.3

*九州育種基本区で選抜された抵抗性クローンのみ。

表-13 抵抗性クローンの 7 年次の樹高特性

クローン	評価	クローン	評価	クローン	評価
太宰府ア4	3	佐賀関ア117	3	備前ア140	—
久留米ア18	3	佐賀関ア118	3	備前ア143	—
久留米ア29	4	佐賀関ア126	3	備前ア150	—
久留米ア78	5	佐賀関ア132	3	岡山ア82	3
久留米ア79	4	佐賀関ア134	3	岡山ア85	—
久留米ア118	3	佐賀関ア162	5	岡山ア88	2
久留米ア142	3	佐賀関ア165	4	岡山ア132	—
久留米ア144	3	佐賀関ア170	4	笠岡ア124	2
有田ア49	4	延岡ア219	4	笠岡ア178	2
太良ア122	5	由岐ア25	3	金光ア13	2
国見ア17	4	阿南ア34	3	金光ア25	2
国見ア31	4	阿南ア55	1	鴨方ア29	3
国見ア53	5	高松ア1	2	総社ア39	2
熊本ア16	4	西条ア8	2	熊山ア25	2
熊本ア63	5	新居浜ア7	3	熊山ア39	2
本渡ア1	4	新居浜ア10	3	熊山ア119	2
松島ア58	3	宇和島ア18	2	宮島ア54	2
松島ア70	4	宇和島ア21	3	吉備ア77	2
有明ア7	4	宇和島ア39	3	山陽ア6	—
大分ア111	2	宇和島ア50	3	日生ア35	—
大分ア137	3	南国ア5	2	志摩ア64	2
大分ア142	5	須崎ア27	2	津屋崎ア50	3
大分ア166	3	須崎ア31	2	小浜ア24	4
大分ア167	4	須崎ア32	2	小浜ア30	5
大分ア168	4	姫路ア232	2	大瀬戸ア12	4
大分ア173	4	田辺ア52	2	大分ア8	3
大分ア186	4	真備ア58	2	川内ア290	4
大分ア198	4	真備ア70	2	瀬娃ア425	3
大分ア203	4	赤坂ア88	3	三豊ア103	—
大分ア204	4	赤坂ア163	2	三崎ア90	3
大分ア269	4	赤坂ア179	1	吉田ア2	1
佐賀関ア84	2	赤坂ア216	2	波方ア37	3
佐賀関ア90	2	備前ア21	2	波方ア73	3
佐賀関ア93	4	備前ア40	1	土佐清水ア63	—
佐賀関ア108	4	備前ア66	—	夜須ア37	3
佐賀関ア113	3	備前ア137	—	田辺ア54	1

成長の優れているものを 5 とする 5 ～ 1 の 5 段階の指数評価。
評価欄の — は 7 年次に達していないクローン。

第 4 節 抵抗性クローンの着花性

採種園を構成する各クローンの雌花着花量は種子生産量に、また、雄花着花量は着果率、種子発芽率など種子生産性に左右する。さらに構成クローン間に雌親と雄親としての寄与率に大きな差異のある場合には、実生後代の抵抗性にも影響すると考えられる。

本節では、1987年（2年次）～1992年（7年次）の6年間、抵抗性クローンの着花性について調査を行い各抵抗性クローンの着花特性を評価した。

(1) 雌花の着花性

1) 材料および方法

前述の抵抗性クローン集植所において、アカマツ92、クロマツ16クローンの雌花数を、1987（2年次）～1992年（7年次）の6年間に渡り調査した。調査は各年とも4月中～下旬に行い、雌花は各クローン、全個体について雌花数を計数し、樹種別、年次ごとに各クローンの偏差値を求めた後、6年間の平均偏差値を算出して着花の多いものを5とする5～1の5段階の指数（相対）評価を行った。

2) 結果と考察

樹種別、調査年別の調査クローン数、調査個体数および雌花の着花状況を表-14に示した。

表-14 抵抗性クローンにおける雌花および雄花の着花個体数（率）

樹 種	アカマツ						クロマツ					
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1987	1988	1989	1990	1991	1992
調 査 年 樹 齢 (年次)	2	3	4	5	6	7	2	3	4	5	6	7
クローン数	*76	92	92	92	92	92	*15	16	16	16	16	16
個体数 (本)	571	839	830	823	819	569	130	126	155	153	149	97
雌 着花クローン数	51	78	91	91	88	73	4	9	11	12	13	11
同上クローン率 (%)	67.1	84.8	98.9	98.9	95.7	79.3	28.6	64.3	68.8	75.0	81.3	68.8
雌 着花個体数	296	434	710	692	590	289	14	38	65	76	76	46
同上個体率 (%)	51.8	51.7	85.8	84.1	72.0	50.8	10.9	29.7	41.9	49.7	51.0	47.4
花 平均着花量 (個数)	2.5	3.7	19.8	16.8	16.8	6.6	0.4	0.9	5.3	5.9	5.9	5.7
雄 着花クローン数	34	75	85	87	88	84	3	9	8	12	13	9
同上クローン率 (%)	44.7	81.5	92.4	94.6	95.7	91.3	21.4	64.3	50.0	75.0	81.3	56.3
雄 着花個体数	103	456	604	614	710	446	13	46	28	73	81	24
同上個体率 (%)	18.0	54.4	72.8	74.6	86.7	78.4	10.2	35.9	18.1	47.7	54.4	24.7
花 平均着花量 (指数)	0.3	1.4	1.5	1.5	2.6	2.3	0.1	0.8	0.2	0.7	1.0	0.3

*：クローン未植差栽。

また、アカマツ、クロマツについて、着花クローン率および着花個体率の経年推移を図-9に示した。アカマツ、クロマツとも2年次（1987年）から着花した。アカマツは4年次でほぼ全クローンが、クロマツは6年次で約8割のクローンで着花が見られた。6年間に一度も雌花が着花しなかったクローンは、クロマツの土佐清水ク63、夜須ク37の2クローンだけであった。また、着花個体率はアカマツが4年次で約9割、クロマツが6年次で約5割と、調査期間中で最も多くの個体で着花した。

調査対象クローン全個体の平均値を用いた雌花着花量の経年推移を図-10に示した。アカマツは3年次までは平均2.5～3.7個の低い水準で推移したが、4年次になって平均19.8個に急増し、調査期間中最も多量に着花した。しかし、7年次には平均6.6個（前年比39.3%）と大幅に低下した。この原因としては、周期的な凶作と考えられ

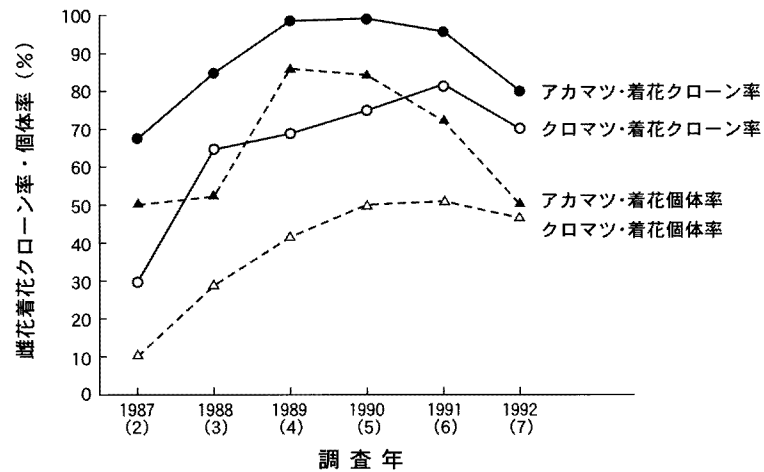


図-9 抵抗性クローンの雌花着花クローン率および個体率の推移
() は定植後の年数

る。クロマツではアカマツほど大きな変動は見られなかった。着花量は5年次に平均5.9個まで増加し、その後はこの水準で推移した。7年次にアカマツの着花量が著しく低下したのに対してクロマツは前年比96.6%と前年同様の着花量であった。

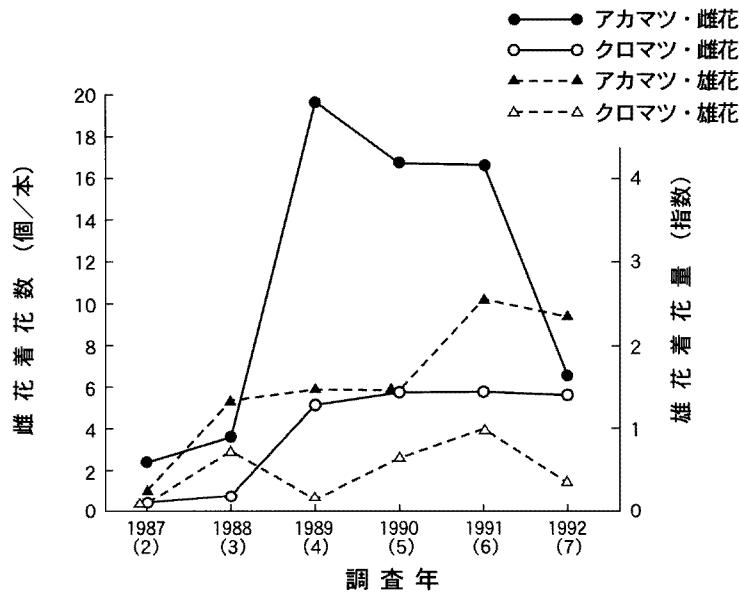


図-10 抵抗性クローンの雌・雄花着花の推移
() は定植後の年数

雌花の着花量はクロマツに比べてアカマツが多いといわれている(斉藤・山本1977)。クローン集植所における本調査においても、着花クローン率、着花個体率、着花量のいずれもアカマツがよかった。

調査した6年間の平均雌花数が10個以上であったアカマツ36クローンについて、4年次(1989年)と7年次(1992年)の雌花着花量と6年間の平均値を図-11に示した。調査期間中で最も着花量が良かった1989年の着花量は大半のクローンが6年間の平均着花量より多かった。しかし1992年は、ほとんどのクローンが平均着花量を下回った。

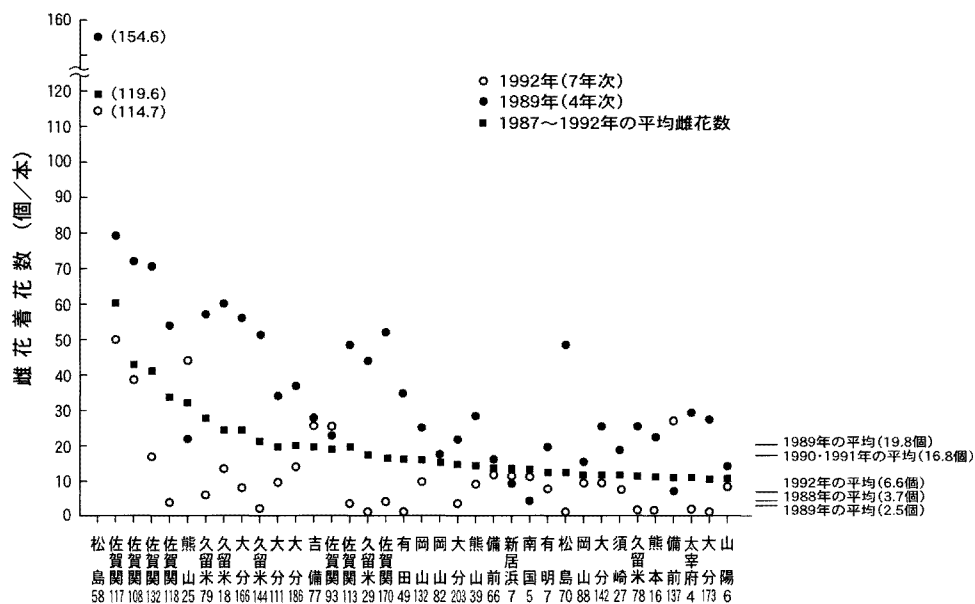


図-11 1989年と1992年におけるアカマツのクローン別平均雌花着花数
1987～1992における平均雌花数が10個以上のクローンのみを表示

6年間の平均着花量と1989年および1992年の着花量との相関係数はそれぞれ $r=0.917$, $r=0.893$ といずれも1%水準で有意な相関係数が認められたことから、平均着花量から各クローンの着花性の良否を推定することが可能である。一方でクローン間の着花性には大きな差異が存在するとともに、各クローンの年変動幅は必ずしも一定ではなかった。

雌花の着花性が高いクローンは、年により着花の絶対量は異なるが、相対的な着花の良否は安定していた。例えば、松島ア58では1989年は、1個体平均154.6個、1990年162.8個、1991年237.0個であり、着花が少なかった

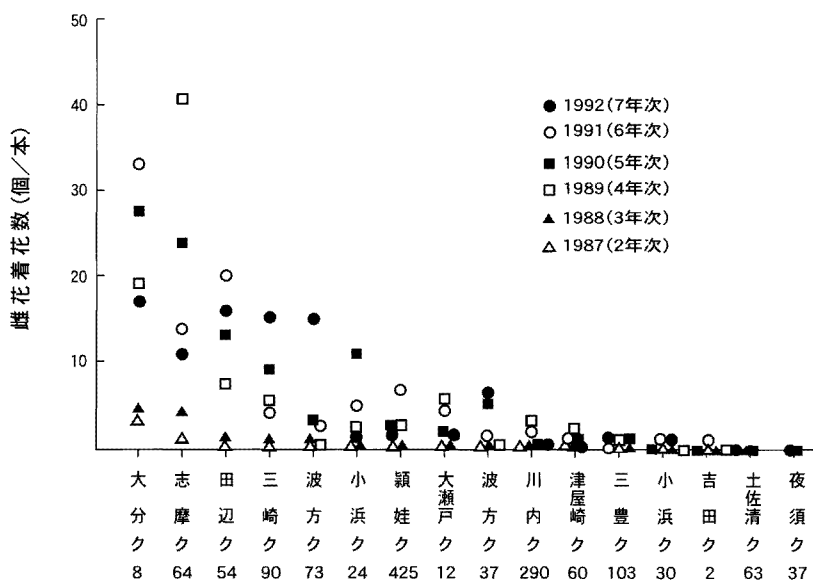


図-12 クロマツの年次別及びクローン別の平均雌花数
1987～1992における平均雌花数が多い順にプロット

1992年でも114.7個の雌花が着花した。そのほか着花量の多いクローンとしては、佐賀関ア117, 佐賀関ア108, 熊山ア25などがあった。これらのクローンは個体ラメート間変動も大きく, 1991年の松島ア58では最大595個, 最小51個と個体によって雌花着花量が異なった。また, 毎年着花量の少ないクローンとしては, 国見ア17, 熊山ア119, 宇和島ア39があった。

クロマツの1987～1992年における平均雌花数の大きい順に, 年次別, クローン別の平均雌花数を図-12に示した。アカマツと同様にクローンによって年変動が認められたが, アカマツに比べて変動幅は小さかった。クローン間で雌花の着花量が年によって激しく変化するという現象は見られない。このことはクロマツの雌花着花量は環境条件や着花の周期性の影響も受けるが, 遺伝的要因の関与もきわめて大きいことを示している。

アカマツとクロマツにおける平均着花量の年次間相関を表-15に示した。アカマツの雌花では全ての年次間で有意な関係が認められ, クロマツも1989年の3組合せと1992年の1組み合わせを除いては有意であった。このことから雌花着花量は遺伝的に強く支配されていると考えられる。

表-15 抵抗性クローンにおける雌花および雄花着花量の年次間相関係数

アカマツ					
年度	1988	1989	1990	1991	1992
1988		0.841**	0.797**	0.854**	0.728**
1989	0.671**		0.893**	0.813**	0.692**
1990	0.754**	0.669**		0.898**	0.823**
1991	0.597**	0.558**	0.784**		0.913**
1992	0.612**	0.636**	0.700**	0.823**	
クロマツ					
年度	1989	1990	1991	1992	
1989		0.758*	0.624*	0.459ns	
1990	0.219ns		0.907*	0.742**	
1991	0.161ns	0.950*		0.696**	
1992	0.138ns	0.517	0.709*		

表中の上欄は雌花, 下は雄花の相関係数を示す。

** : 1%水準の有意差有り, * : 5%水準の有意差有り。

(2) 雄花の着花性

1) 材料および方法

前述のクローン集植所のアカマツ92クローン, クロマツ16クローンについて, 2年次(1987)～7年次(1992年)の6年間調査した。

雄花の着花量は雌花のように計数することが困難であるため, 次に示す調査基準によって, 5～0の6段階で観察調査を行い, その値を着花量(指数)とした。

- 5 ; ほぼ全ての枝に雄花が着花する
- 4 ; 約6割程度の枝に雄花が着花する
- 3 ; 雄花着生枝の数が中程度
- 2 ; 雄花着生枝の数が少ない
- 1 ; ごく一部の枝にわずかに雄花が着花する
- 0 ; 雄花が全く着花しない

雄花着花性の評価は, 6年間の平均指数を用いて, 着花量の多いものを5, 少ないものを1とする5～1の5段階で行った。

2) 結果と考察

樹種別、調査年別の調査クローン数、調査個体数および雄花の着花状況を表-14に示した。また、アカマツ、クロマツについて、着花クローン率および着花個体率の経年推移を図-13に示した。アカマツの雄花着花クローン率は2年次で44.7%であったが、4年次以降は90%以上のクローンで推移し安定した着花がみられた。調査期間中に一度も着花しなかったクローンは真備ア70のみであった。

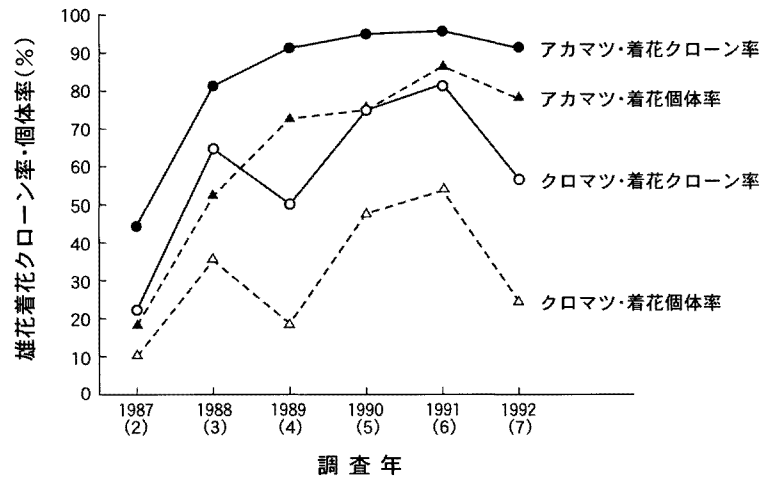


図-13 抵抗性クローンの雄花着花クローン率および個体率の推移
() は定植後の年数

クロマツの着花クローン率は2年次で20%程度であったが、その後はアカマツとほぼ同様に増加した。クロマツの中には、調査期間中に雄花着花が一度もなかった川内ク290、一度だけ着花した吉田ク2、小浜ク30など雄花着花の極めて悪いクローンが存在した。また、雄花着花クローン率は年次によって変動し、1989、1992年にはそれぞれ50.0%、56.3%に低下するなど、雄花着花は著しく不安定であった。また、着花個体率はアカマツが2年次（1987年）ではわずか18.0%であったが、6年次（1991年）には86.7%まで高まった。これに対して、クロマツでは最大でも54.4%（6年次）とアカマツに比べて低かった。

アカマツの雄花着花量は、2年次（1987年）に0.3、6年次には2.6に増加したが、クロマツでは6年次（1991年）の1.0が最高で、他の年次ではいずれも1.0以下という低い水準であった（図-10）。

雄花着花量が少ないことは抵抗性採種園において花粉不足が生じ、種子生産性の量的・質的低下の原因となる。雄花については着花量のほかにも花粉の稔性や不稔性といった種子稔性を低下させる要因も関係する。抵抗性アカマツ64クローンを対象とした花粉調査における花粉発芽率は73.0~96.2%で、平均は90.5%であったが、調査した全クローンから小形花粉や未染色花粉が平均6.5%確認されており、中には19.8%（大分ア173）と高頻度で出現するクローンもあると報告されている（竹内ら1993）。この調査ではクロマツについて調査されていないが、アカマツのような現象があるとすれば雄花着花性の低いクロマツでは大きな問題である。幸いなことにマツ類の雄花の着花促進にはGA₍₄₊₇₎が有効であることが報告されている（金川1979）。クロマツ抵抗性クローンにGA₍₄₊₇₎を用いた着花促進の実験結果では、無処理区に比べてGA処理区で約7倍の着花が認められている（戸田・田島1991）。

これまでの調査結果をもとに各クローンの雌花と雄花の着花性の比較を表-16に示した。この表の雌花は6年間の平均着花量が10個以下を少, 10~20個を中, 20個以上を多として区分した。雄花も同様に評価指数1.0以下を少, 1.0~2.0を中, それ以上を多とした。その結果, 全クローンの約7割(71クローン)が雌花の着花が少に区分された。特にクロマツは雌花, 雄花とも少に区分されるものが多かった。

表-16 抵抗性クローンの雌花・雄花の着花相関

雄 花 (指 数)	5.0	多	大分ア204 大分ア137 西条ア8 宇和島ア18 新居浜ア10 佐賀関ア162 由岐ア25	佐賀関ア165 笠岡ア124 真備ア8 佐賀関ア134 姫路ア232 国見ア31 阿南ア34	大分ア168 大分ア269 真備ア58 備 前ア21 金光ア13 須崎ア31 宇和島ア39	久留米ア29 岡山ア132 松島ア70 熊本ア16 太宰府ア4	佐賀関ア170 熊山ア39 大分ア142 備前ア37	佐賀関ア118 大分ア166 大分ア186	熊山ア25 久留米ア144
	2.0	中	久留米ア142 大分ア167 ●三崎ク90 ●小浜ク24 岡山ア85 宮島ア54 国見ア17	大分ア198 佐賀関ア126 太良ア122 須崎ア32 国見ア53 赤坂ア179 ●土佐清水ク63	赤坂ア216 総社ア39 ●波方ク73 備前ア150 熊本ア63 宇和島ア21	佐賀関ア93 ●志摩ク64 南国ア5 大分ア173	佐賀関ア113 岡山ア82 久留米ア78 山陽ア6	松島ア58 佐賀関ア132 久留米ア18	佐賀関ア17 久留米ア79
	1.0	少 く 無	備前ア143 真備ア40 赤坂ア163 日生ア35 額娃ク425 赤坂ア88 田辺ア52 佐賀関ア84 ●津屋崎ク50 熊山ア119	●田辺ク54 金光ア25 阿南ア55 延岡ア219 ●大瀬戸ク12 備前ア140 鴨方ア29 本渡ア1 ●三豊ク103 ●吉田ク2	真備ア70 佐賀関ア90 高松ア1 笠岡ア178 ●波方ク37 久留米ア118 ●川内ク290 宇和島ア50 ●小浜ク30 ●夜須ク37	吉備ア77 有田ア49 備前ア6 有明ア7 須崎ア27	●大分ク8 大分ア203 新居浜ア7 岡山ア88	佐賀関ア108 大分ア11	
				少 ~ 無		中		多	
			10			20			
			雌 花 (個)						

着花区分の枠内のクローンは左上から右下にかけて着花の多→少の順に並べた。

●: クロマツ, 他はアカマツ。

抵抗性クローンの6年間の調査結果をもとに着花特性評価を行い着花性の良否を5~1の5段階でランク付けした。各クローンの着花特性の評価は表-17に示すとおりである。

表-17 抵抗性クローンの着花特性

クローン	雌花		雄花		クローン	雌花		雄花		クローン	雌花		雄花	
	回数	評価	回数	評価		回数	評価	回数	評価		回数	評価	回数	評価
太宰府ア4	6	3	6	4	佐賀関ア117	6	5	6	5	備前ア140	6	2	6	2
久留米ア18	6	4	6	3	佐賀関ア118	6	5	6	4	備前ア143	6	3	6	2
久留米ア29	6	3	6	4	佐賀関ア126	6	3	6	2	備前ア150	6	2	6	3
久留米ア78	6	3	6	2	佐賀関ア132	6	5	6	3	岡山ア82	6	3	6	2
久留米ア79	6	4	6	3	佐賀関ア134	6	3	6	4	岡山ア85	6	2	6	3
久留米ア118	6	2	6	2	佐賀関ア162	6	3	6	5	岡山ア88	6	3	6	2
久留米ア142	6	3	6	2	佐賀関ア165	6	3	6	5	岡山ア132	6	3	6	3
久留米ア144	6	4	6	5	佐賀関ア170	6	3	6	4	笠岡ア124	6	3	6	4
有田ア49	6	4	6	2	延岡ア219	6	3	6	2	笠岡ア178	6	2	6	2
太良ア122	6	3	6	3	由岐ア25	5	2	5	4	金光ア13	6	3	6	3
国見ア17	6	2	6	2	阿南ア34	5	2	5	4	金光ア25	6	3	6	2
国見ア31	6	2	6	3	阿南ア55	5	3	5	2	鴨方ア29	6	2	6	2
国見ア53	6	3	6	2	高松ア1	5	3	5	2	総社ア39	6	3	6	3
熊本ア16	6	3	6	4	西条ア8	6	3	6	5	熊山ア25	6	4	6	4
熊本ア63	6	3	6	3	新居浜ア7	5	3	5	2	熊山ア39	6	3	6	4
本渡ア1	6	2	6	2	新居浜ア10	5	2	5	5	熊山ア119	6	2	6	3
松島ア58	6	5	6	2	宇和島ア18	5	3	5	5	宮島ア54	6	2	6	3
松島ア70	6	3	6	5	宇和島ア21	5	2	5	2	吉備ア77	6	3	6	3
有明ア7	6	3	6	2	宇和島ア39	5	2	5	3	山陽ア6	6	3	6	3
大分ア111	6	3	6	2	宇和島ア50	5	2	5	2	日生ア35	6	2	6	2
大分ア137	6	3	6	5	南国ア5	5	3	5	3	志摩ア64	6	5	6	4
大分ア142	6	3	6	3	須崎ア27	5	3	5	2	津屋崎ア50	6	2	6	3
大分ア166	6	4	6	4	須崎ア31	5	2	5	3	小浜ア24	6	3	6	4
大分ア167	6	3	6	3	須崎ア32	5	2	5	3	小浜ア30	6	2	6	2
大分ア168	6	3	6	4	姫路ア232	6	2	6	4	大瀬戸ア12	6	3	6	2
大分ア173	6	3	6	3	田辺ア52	6	2	6	2	大分ア8	6	5	6	3
大分ア186	6	4	6	3	真備ア58	6	3	6	4	川内ア290	6	2	6	2
大分ア198	6	3	6	3	真備ア70	6	3	6	2	瀬田ア425	6	3	6	2
大分ア203	6	4	6	2	赤坂ア88	6	2	6	2	三豊ア103	6	2	6	2
大分ア204	6	3	6	3	赤坂ア163	6	3	6	2	三崎ア90	6	3	6	4
大分ア269	6	3	6	4	赤坂ア179	6	2	6	2	吉田ア2	4	2	4	2
佐賀関ア84	6	2	6	2	赤坂ア216	6	3	6	3	波方ア37	6	3	6	3
佐賀関ア90	6	3	6	2	備前ア21	6	2	6	4	波方ア73	6	3	6	5
佐賀関ア93	6	4	6	3	備前ア40	6	3	6	2	土佐清水ア63	4	2	4	3
佐賀関ア108	6	5	6	2	備前ア66	6	3	6	2	夜須ア37	6	2	6	2
佐賀関ア113	6	4	6	3	備前ア137	6	3	6	4	田辺ア54	6	4	6	2

クローンの序列はクローン集植所の植え付け順。

回数は調査年数。

評価は偏差値による5段階（相対）評価、5：最も優れている、3：平均、1：劣っている。

第5節 抵抗性クローンの雌雄花の開花時期

雌雄花の開花時期の遅速はクローンの遺伝的特性および生育環境の違いによって決まる。一般にクロマツは早く、アカマツは遅く開花する。しかし、抵抗性アカマツの中には、クロマツの開花と同調するクローンが、また、クロマツの中に開花が遅くアカマツと同調するものが観察される。開花時期的に、前者はクロマツ（♀）×アカマツ（♂）、後者はアカマツ（♀）×クロマツ（♂）の自然交雑を起こす可能性がある。なお、アカマツ（♀）×クロマツ（♂）の交雑の可能性はきわめて低いとされている（西村ら1974）。抵抗性採種園はアカマツとクロマツが別々に設定されているので、先述のような種間交雑の機会は少ないと考えられるが、採種園内におけるクローン間でみられる開花の遅速は種子生産性の面から好ましくない。

本節では、抵抗性クローンの開花遅速について2年間調査し、その結果をもとに考察を行った。なお、開花遅速はクローンの雑種性以外の要因と関係するが、ここでは複雑になるので雑種性についてのみ論述する。

(1) 雌花の開花時期

1) 材料および調査方法

調査は前述のクローン集植所を用い、雌花の着花したクローンを対象に1991年および1993年の2回行った。クローン数は1991年が84, 1993年は102クローンである。両年とも4月9日～5月9日に行い、各クローン1～2個体を対象として、クローネ中央部の東西2方向の着花枝2本を選定し、表-18に示す萩行ら(1971)の開花基準に従い指数調査を行った。各個体の開花段階を1(開花開始)～5(開花終了)の5段階で表した。なお、雌花の開花段階が指数3(開花中期:種鱗の成長のため包鱗が半分見える時期)の状態が満開(受粉適期)とした。

表-18 マツの雌雄花の開花基準

雌雄花別	指数	開花区分	区 分 内 容
雌花	0	未開花	雌花が保護鱗片に覆われている
	1	開花開始	保護鱗片を破り、種鱗・包鱗が外部に見える
	2	開花前期	種鱗・包鱗がほぼ同じ大きさに見える
	3	開花中期	種鱗の成長のため、包鱗がその半分程度に見える
	4	開花後期	種鱗の肥厚のため、包鱗がさらに小さく見える
	5	開花終了	種鱗の間隔がなくなり、包鱗は外部から見えなくなる
雄花	0	未開花	雄花が保護鱗片に覆われている
	1	開花開始	種鱗が開き、裂葯を始める
	2	開花盛期	花粉飛散
	3	開花終期	花粉飛散末期
	4	開花終了	

開花基準は萩行ら(1971)による。

雌花の開花時期の評価は、1991年(6年次)および1993年(8年次)の2年間の調査データをもとにして、樹種別・年度別に各クローンの偏差値を求め、2年間の平均偏差値を算出して、開花の速いものを1,遅いものを5とする1～5の5段階評価により行なった。

2) 結果と考察

抵抗性クローンの樹種別、調査年別の開花経過を表-19に示した。1991年はアカマツが4月20日に開花を始めた。1993年は4月28日、クロマツも1991年は4月15日、1993年は4月22日と、両樹種とも1991年に比べて1993年の方が7～8日遅れた。開花の遅速は気温による影響が大きいとされ(中井ら1983), 1993年の春先の低温が影響したと考えられる。

表-19 抵抗性クローンの開花経過

樹 種		アカマツ		クロマツ	
調査年		1991年	1993年	1991年	1993年
クローン数		74	89	10	13
雌花	開花開始	4月20日 (2.7)	4月28日 (2.4)	4月15日 (2.6)	4月22日 (1.9)
	開花前期	4月23日 (3.0)	5月 2日 (2.5)	4月16日 (2.6)	4月25日 (1.7)
	開花中期	4月25日 (3.1)	5月 4日 (2.4)	4月18日 (1.8)	4月27日 (1.9)
	開花後期	4月28日 (3.3)	5月 6日 (2.3)	4月20日 (1.7)	4月29日 (2.1)
	開花終了	5月 3日 (3.9)	5月10日 (3.3)	4月24日 (4.3)	5月 1日 (2.4)
	開花期間	12.1日間 (2.9)	11.7日間 (2.7)	9.2日間 (3.5)	9.2日間 (1.9)
クローン数		90	87	13	14
雄花	開花開始	4月24日 (2.4)	4月30日 (1.9)	4月18日 (2.1)	4月25日 (1.6)
	開花盛期	4月26日 (2.4)	5月 3日 (2.2)	4月20日 (2.0)	4月27日 (1.5)
	開花終了	5月 2日 (2.7)	5月 8日 (2.1)	4月26日 (3.0)	5月 2日 (2.0)
	開花期間	8.3日間 (1.9)	7.9日間 (2.1)	7.5日間 (1.6)	6.6日間 (1.1)

月日は開花ステージに達した平均日と() 標準偏差。

アカマツの雌花と雄花について、年による開花時期の違いを調べるため、開花段階別の年次間相関を算出し、表-20に示した。相関係数は $r=0.727\sim0.838$ と1%水準で有意となり、各クロンの相対的な開花時期は比較的安定していた。

表-20 1991年と1993年のアカマツ開花段階別の相関係数

開花段階	雄 花	雌 花
開花開始	0.830	0.765
開花前期	0.838	0.781
開花中期	0.840	—
開花後期	0.838	—
開花終了	0.727	0.674

雌花 n=82, 雄花 n=98

開花開始から終了までの「開花期間」はアカマツが約12日間、クロマツは約9日間であった。開花してから「開花前期」までの期間は約3日間、開花から「開花中期」までの期間は約5日間を要した。開花してから「開花後期」までの期間は約8日間であった。このことから雌花の受粉可能な期間は、開花前期から開花後期までの約5日間と推測される。

1993年の調査で開花の早かった35クロンについて、1991, 1993年の開花ステージの推移を図-14に示した。アカマツの中で開花の早かった備前ア143, 佐賀関ア93など数クロンはクロマツと同じ開花期であった。また、クロマツの小浜ク24はアカマツの開花範囲にあった。

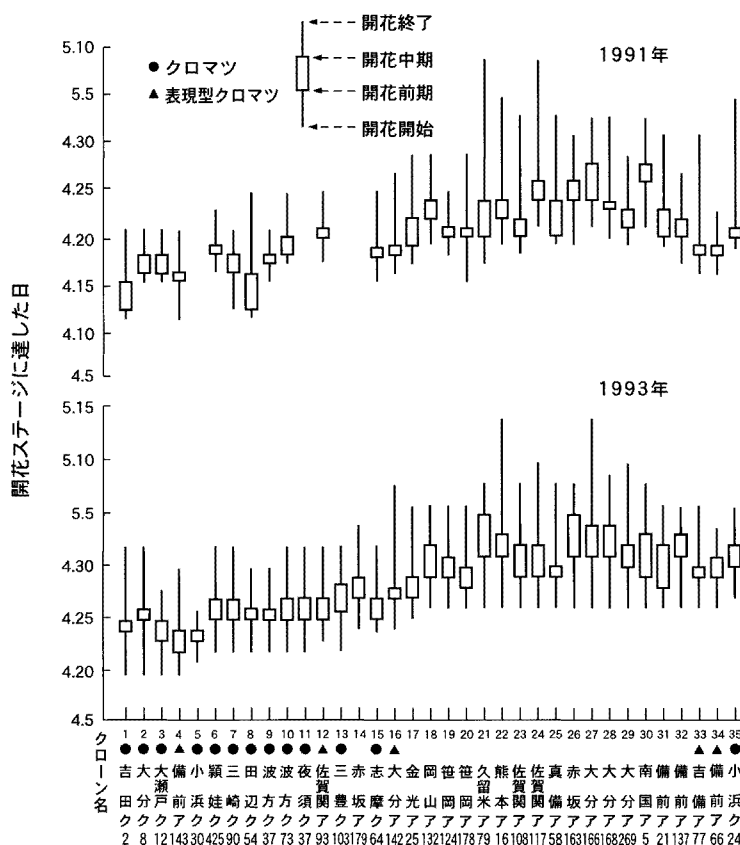


図-14 雌花のクロン別開花推移
1993年の開花の速いクロンを対象

以上のことからアカマツ採種園では、開花の早いクローンはクロマツと、クロマツの開花の遅いクローンはアカマツとの種間交雑の機会があると考えられる。また、採種園外の一般マツとの交雑機会が拡大する可能性の問題もあり（半田ら1995）、これらは抵抗性種苗の質的低下をまねく原因となる。

抵抗性クローンにおける雌花と雄花の開花時期の特性一覧は表-21に示すとおりである。

表-21 抵抗性クローンの開花時期の特性

クローン	雌花		雄花		クローン	雌花		雄花		クローン	雌花		雄花	
	回数	評価	回数	評価		回数	評価	回数	評価		回数	評価	回数	評価
太宰府ア4	2	3	2	3	佐賀関ア117	2	3	2	3	備前ア140	2	3	2	4
久留米ア18	1	4	2	4	佐賀関ア118	2	3	2	4	備前ア143	2	1	1	1
久留米ア29	2	3	2	2	佐賀関ア126	2	4	2	2	備前ア150	2	3	4	2
久留米ア78	2	3	2	4	佐賀関ア132	2	3	2	2	岡山ア82	2	3	2	3
久留米ア79	2	2	2	2	佐賀関ア134	1	3	2	3	岡山ア85	2	3	2	4
久留米ア118	1	3	2	3	佐賀関ア162	1	4	2	5	岡山ア88	2	4	2	4
久留米ア142	1	3	2	3	佐賀関ア165	1	4	2	3	岡山ア132	2	2	3	2
久留米ア144	2	3	2	3	佐賀関ア170	2	3	2	3	笠岡ア124	2	2	2	2
有田ア49	2	3	2	4	延岡ア219	1	3	2	3	笠岡ア178	2	1	2	2
太良ア122	2	4	2	4	由岐ア25	2	3	2	4	金光ア13	2	2	2	4
国見ア17	-	-	2	4	阿南ア34	1	4	2	4	金光ア25	2	2	2	3
国見ア31	1	4	2	4	阿南ア55	2	3	2	3	鴨方ア29	1	3	2	3
国見ア53	2	3	2	2	高松ア1	2	4	2	3	総社ア39	2	3	2	2
熊本ア16	2	2	2	3	西条ア8	1	4	2	3	熊山ア25	2	5	2	3
熊本ア63	1	3	2	4	新居浜ア7	2	3	2	3	熊山ア39	2	3	2	4
本渡ア1	1	5	2	5	新居浜ア10	2	5	2	3	熊山ア119	1	3	1	3
松島ア58	2	3	2	3	宇和島ア18	2	3	2	5	宮島ア54	2	3	2	2
松島ア70	1	3	2	4	宇和島ア21	2	4	2	4	吉備ア77	2	2	2	3
有明ア7	2	3	1	4	宇和島ア39	2	3	2	3	山陽ア6	2	3	2	3
大分ア111	2	5	1	4	宇和島ア50	2	3	1	4	日生ア35	2	3	2	4
大分ア137	2	3	2	2	南国ア5	1	2	2	3	志摩ア64	2	4	2	4
大分ア142	2	1	2	1	須崎ア27	2	3	2	3	津屋崎ク50	-	-	2	3
大分ア166	1	2	2	2	須崎ア31	1	4	2	2	小浜ク24	2	5	2	4
大分ア167	1	3	2	4	須崎ア32	2	5	2	3	小浜ク30	1	2	-	-
大分ア168	2	2	2	2	姫路ア232	2	3	2	4	大瀬戸ク12	2	2	2	3
大分ア173	2	4	2	3	田辺ア52	2	4	2	4	大分ク8	2	2	2	3
大分ア186	2	3	2	2	真備ア58	2	2	2	2	川内ク290	-	-	1	3
大分ア198	2	4	2	2	真備ア70	2	4	-	-	額娃ク425	2	3	2	3
大分ア203	2	3	2	3	赤坂ア88	1	5	2	3	三豊ク103	1	4	2	3
大分ア204	2	3	2	3	赤坂ア163	2	2	2	2	三崎ク90	2	2	2	2
大分ア269	2	2	2	3	赤坂ア179	1	1	2	1	吉田ク2	2	2	1	3
佐賀関ア84	2	3	2	4	赤坂ア216	1	5	2	5	波方ク37	2	3	2	4
佐賀関ア90	2	3	2	2	備前ア21	2	2	2	3	波方ク73	2	4	2	3
佐賀関ア93	2	1	2	1	備前ア40	2	3	2	3	土佐清水ク63	1	3	1	3
佐賀関ア108	2	2	2	1	備前ア66	2	2	2	1	夜須ク37	-	-	2	3
佐賀関ア113	2	3	2	2	備前ア137	2	2	2	1	田辺ク54	2	2	2	3

回数は調査年数。

4月1日を基準日とした遅速を用いて、樹種別、年度ごとに各クローンの偏差値を求め、平均偏差値によって、開花の遅いものを5とする5段階の指数による相対評価、5：最も遅い、3：平均、1：最も早い。

(2) 雄花の開花時期

1) 材料および方法

調査は先述のクローン集植所を用い、雄花の着花したクローンを対象に1991年および1993年の2回行った。調査クローン数は1991年が103、1993年は101クローンである。両年とも4月9日～5月9日に行い、各クローン2個体を対象として、クローネ中央部の東西2方向の着花枝2本を選定し、萩行ら（1971）の開花基準（表-18）に従い指数調査を行った。各個体の開花段階を1（開花開始）～4（開花終了）の4段階で表した。なお、指数2

(開花盛期：花粉の飛散) を満開とした。

雄花の開花時期の評価は、1991年（6年次）および1993年（8年次）の2年間の雄花開花時期（4月1日を基準日とする遅速）の調査データをもとにして、樹種別・年度別に各クロンの偏差値を求め、2年間の平均偏差値を算出して、開花の速いものを1,遅いものを5とする1～5の5段階指数により行なった。

2) 結果と考察

抵抗性クロンの雄花について、樹種別、調査年別の開花経過を表-19に示した。雄花の「開花開始」も雌花と同様な傾向を示し、1993年は1991年に比べてアカマツが6日、クロマツが7日遅れで開花した。アカマツの開花開始の年次間相関は $r=0.765$ と1%水準で有意な相関係数となり、年による変動は認められるがクロンの相対的な「開花開始時期」は類似していた（表-19）。

雄花の開花期間は、雌花より短くアカマツは約8日間、クロマツは7～8日間であった。1993年の調査で開花の早かった35クロンについて、1991, 1993年の開花ステージの推移を図-15に示した。クロマツの開花範囲内にアカマツ（備前ア143, 佐賀関ア108など）で、特に開花の早いクロンが存在した。また、アカマツと同調するクロマツクロン（波方ク37, 小浜ク24）が認められた。

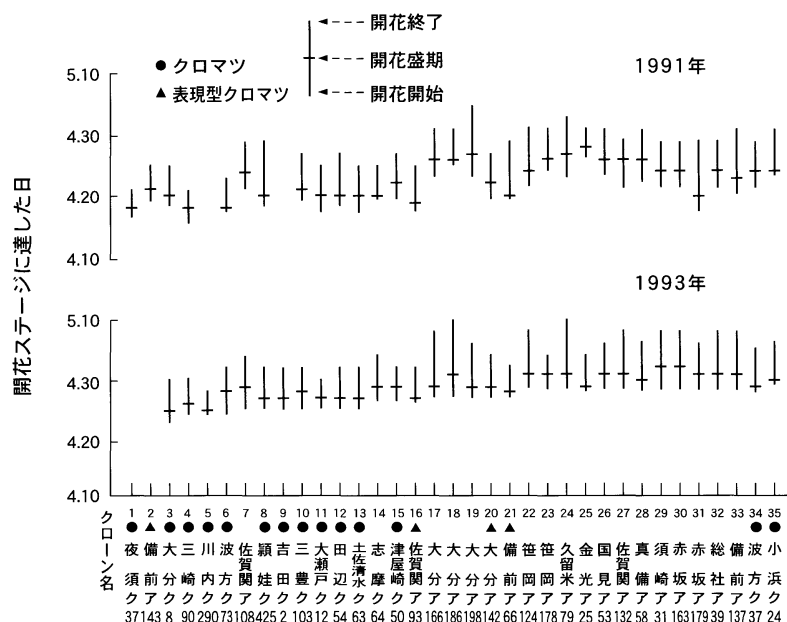


図-15 雌花のクロン別開花推移
1993年の開花の速い35クロンを対象

種子生産性の点からは、雄花の開花盛期（花粉飛散）と雌花の開花前期～中期が一致することが望ましい。雌花の各開花段階におけるクロン頻度と雄花の開花盛期の関係を図-16に示した。図において雄花の開花盛期の範囲にある雌花の各開花段階のクロン頻度は、1991年の開花前期で64.2%, 開花中期で76.1%, 1993年では、それぞれ73.6, 82.3%であった。また、雌花、雄花の開花盛期は個体内でも違いがある（橋詰1981, 齊藤ら1979）ことから、雄花の開花盛期と重なる雌花の前期～中期の開花は、先述の値よりも高くなると考えられる。

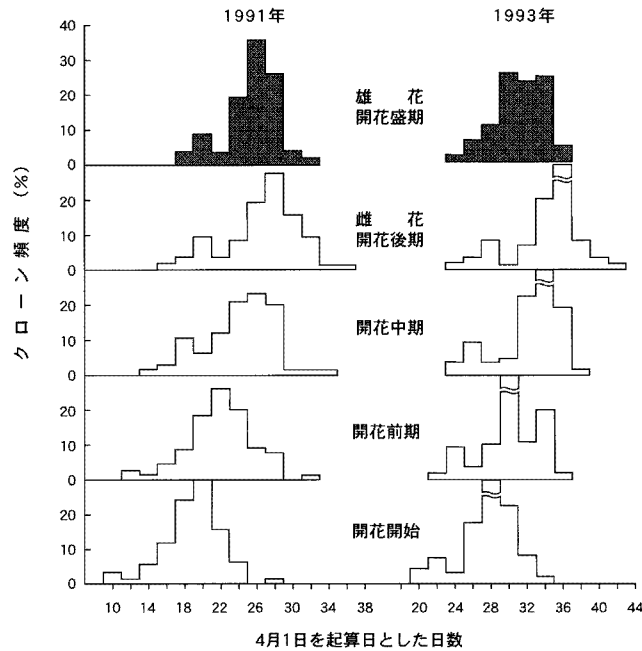


図-16 雄花の各開花段階のクローン頻度と雄花の開花盛期の関係

本調査において、備前ア143、佐賀関ア108は他のアカマツクロンの開花範囲と、小浜ク24は他のクロマツクロンと大きく違っていた。これらのクロンの野外における花粉の生存期間の調査をしていないので明らかではないが、雄花の開花期間が7～8日間とすれば、花粉生存期間は開花期間よりさらに長いと考えられる。したがってアカマツ、クロマツの採種園が隣接している場合には、種間交雑の機会がある。このことは逆に、開花時期が同調するクロマツとアカマツのクローンからなる樹種混合採種園を造成することにより、自然種間交雑による抵抗性向上の可能性を示している。

抵抗性クロンの雄花の開花特性は表-21に示すとおりである。

第6節 抵抗性クロンの種子生産性

抵抗性採種園は質的に優れた種子を継続して生産することが望まれる。抵抗性クロンの中には雌花を多量に着花するが種子量が極めて少ないものも存在する。また、マツは受粉してから球果の成熟完了まで約18ヶ月と長い間、受精に成功しても幼球果の段階で落下し、種子量が計画どおりに採れないこともある。ここでは種子生産について、クローン集植所で継年調査した結果をとりまとめ、各抵抗性クロンの種子生産性を評価した。

1) 材料および方法

先述の抵抗性クローン集植所におけるアカマツ、クロマツの種子生産量および種子稔性について調査した。調査項目は、球果数、結果率、平均球果重、充実種子量、球果当たりの種子粒および種子重、1,000粒重である。結果率は第4節(1)で調査した個体の雌花数を母数とした。各形質はクローンごとに測定してその平均値を算出した。抵抗性クロンの種子生産性の諸特性の評価方法は次のとおりである。

結果率：1988～1990の3年間の調査結果をもとに、樹種・年度別に各クロンの偏差値を算出した。さらに3年

間の平均偏差値で結果率の高いものを5,低いものを1とする5～1の5段階の相対評価を行った。

個体当たり球果数：1994～1998年の5年間にわたり、各クロンの1個体当たりの球果数の調査を行い、その結果を用い、結果率と同様に平均偏差値による相対評価を行った。なお、クロマツの評価には長崎県（1996年）と鹿児島県（1994～1995年）の採種園におけるデータも用いた。

球果当たり種子数：1991～1998年の8年間にわたり、各クロンの1球果当たりの種子数を調査し、8年間の平均値を用いて各クロンの評価を行った。なお、クロマツの評価には福岡県（1997）の採種園におけるデータも用いた。

種子1,000粒重：1990～1998年の9年間にわたり、各クロンの種子1,000粒重を調査し、クロンごとの平均値を用いて各クロンの評価を行った。なお、クロマツの評価には福岡県（1997）、佐賀県（1997）、長崎県（1996～1997）、熊本県（1995）、鹿児島県（1993～1995）の採種園におけるデータも用いた。

種子発芽率：1991～1998年の8年間にわたり、各クロンの種子発芽率を調査し、各クロンの平均値を用いて各クロンの評価を行った。クロマツの評価には福岡県（1997）、佐賀県（1996）、熊本県（1994～1997）、鹿児島県（1993～1995）の採種園におけるデータも用いた。

2) 結果と考察

抵抗性アカマツ・クロマツの種子生産について調査した。このうち1990と1991年の2年間の種子生産と種子稔性について結果を表-22に示した。

表-22 1991年と1990年における抵抗性クロンの種子生産性および種子稔性

クロン名 採取年	球果数 (個)	結果率 (%)	充実種子量 (g)	平均球果重 (g)	1球果当りの 種子重 (g)	1球果当りの 種子粒 (粒)	1000粒重 (g)
	1991 (1990)	1991 (1990)	1991 (1990)	1991 (1990)	1991 (1990)	1991 (1990)	1991 (1990)
松 島ア58	1,048(1,188)	71.5(87.3)	7.5(12.4)	2.7(4.5)	0.01(0.01)	1.0(1.2)	7.2(8.6)
佐賀関ア117	518(766)	83.4(97.9)	43.7(140.5)	8.0(10.8)	0.09(0.18)	8.5(20.6)	10.0(8.8)
ア 佐賀関ア132	494(563)	67.3(79.0)	8.6(13.1)	3.0(4.4)	0.02(0.02)	2.2((3.3)	8.1(7.1)
熊 山ア25	403(141)	99.5(82.0)	9.1(13.0)	3.8(5.4)	0.02(0.09)	2.3((9.6)	9.7(9.6)
カ 吉 備ア77	394(253)	96.6(90.0)	37.3(20.1)	8.0(8.5)	0.09(0.08)	7.8(10.1)	12.1(7.9)
佐賀関ア108	355(687)	61.1(95.3)	31.3(67.0)	4.7(5.5)	0.09(0.10)	10.9(13.7)	8.1(7.1)
マ 久留米ア144	300(464)	92.3(90.3)	44.1(109.1)	6.5(9.2)	0.15(0.24)	14.6(31.0)	10.1(7.6)
久留米ア18	294(533)	97.0(99.3)	44.0(97.3)	6.4(9.8)	0.15(0.18)	14.3(19.8)	10.5(9.2)
ツ 久留米ア79	273(528)	72.8(92.6)	57.8(114.6)	7.4(7.6)	0.21(0.22)	20.2(25.2)	10.5(8.6)
有田ア49	270(313)	86.5(99.1)	44.8(57.4)	5.8(6.9)	0.17(0.18)	15.2(24.5)	10.9(7.5)
その他82クロン	5,663(8,378)	78.5(82.6)	557.8(1,072.1)	5.7(7.2)	0.10(0.13)	10.0(14.6)	9.9(8.7)
全体合計	10,012(13,814)		885.9(1,716.7)				
平 均	108.8(150.2)	78.6(85.7)		5.4(7.2)	0.09(0.12)	8.9(14.7)	9.9(8.8)
田 辺ク54	100(5)	75.2(69.9)	7.9(0.2)	12.9(14.0)	0.08(0.04)	5.2(1.8)	15.2(23.3)
小 浜ク24	73(12)	73.7(91.3)	4.9(2.0)	8.6(14.6)	0.07(0.17)	3.8(9.4)	17.5(17.6)
ク 大 分ク8	50(34)	51.5(67.5)	0.9(0.2)	7.0(5.8)	0.02(-)	1.0(0.4)	18.6(10.9)
志 摩ク64	37(67)	86.0(65.5)	3.0(11.3)	9.1(19.9)	0.08(0.17)	5.0(10.3)	16.0(16.4)
波 方ク73	32(1)	97.0(100)	0.5(0.1)	8.5(5.0)	0.02(0.13)	1.1(14.0)	13.6(9.3)
ロ 三 崎ク90	19(-)	61.3(-)	1.4(-)	12.4(-)	0.07(-)	3.3(-)	22.7(-)
マ 額 娃ク425	15(15)	62.5(60.0)	0.1(0.2)	6.7(8.7)	0.01(0.02)	1.0(1.5)	9.3(10.9)
波 方ク37	8(-)	66.7(-)	0.6(-)	13.8(-)	0.07(-)	4.3(-)	16.5(-)
ツ 大瀬戸ク12	4(17)	50.0(82.5)	0.3(0.3)	10.0(16.0)	0.08(0.02)	6.3(1.2)	13.2(16.3)
三 豊ク103	1(8)	50.0(100)	0.7(0.8)	5.0(17.5)	0.65(0.06)	25.0(5.6)	26.0(16.8)
川 内ク290	0(12)	0(86.7)	-(0.6)	-(11.7)	-(0.05)	-(2.6)	-(19.7)
津屋崎ク50	0(2)	0(80.7)	-(0.6)	-(15.0)	-(0.30)	-(25.4)	-(11.8)
全体合計	339(173)		20.2(16.3)				
平 均	28.3(17.3)	69.6(70.1)		9.9(14.4)	0.06(0.09)	3.6(5.8)	16.9(15.3)

赤字は1991年、() 内は1990年の実績。

この表は1991年に採種したクローンのうち、球果数の多いものから順に、アカマツでは上位10クローンとその他のクローンに、クロマツでは、1990年、1991に球果が着生した全クローンを掲げている。球果数、充実種子量は各クローンの5個体の合計とした。結果率は1989年および1990年の雌花数に対する球果数の割合(%)で示した。なお、1990年の調査結果は括弧書きで示した。

第II章第4節で論述したように松島ア58は毎年多数の雌花を着花するクローンであり、クローンの総球果数は1990、1991年の両年とも1,000個以上が着花した。アカマツは松島ア58を含めて上位10クローンで全体の約4割以上を占めた。

結果率(雌花数に対する球果数の割合)は、1990年のアカマツの平均は85.7%で、70%以上のクローンが約8割を占めた。一方、クロマツは70%前後であった。また、結果率には樹種間差ならびに年変動がみられたが、この原因の1つに雄花着花量に関与していることが考えられる。すなわち1989年および1990年の雄花着花量はアカマツでは平均指数で1.4~1.5であったが、クロマツでは0.2~0.8と低い値であり、クローン集植所の花粉密度が極めて低い(図-10参照)。このことが結果率を低下させた大きな原因と考えられる。

マツの球果は受粉以降、17~18ヶ月後に完熟する。この間、未受粉球果、未発達球果などは落下する。また、病虫害や台風など外的要因が原因で落下するものもある。このように球果採取するまでに球果数は減少する。雌花から球果になる歩留まりは、種子生産ならびに抵抗性種苗の生産に影響する。

1球果当りの平均種子数はアカマツ9~15粒、クロマツは4~6粒である。マツの球果当りの種子数はアカマツ24(野口・渡辺1972)~58粒(百瀬1969)、クロマツ33(渡辺・岩川1969)~36粒(中井ら1969)であるので、今回の調査木が幼齢期であることを考慮しても抵抗性クローンの種子数は極めて少ない。近年、クロマツの種子生産不足を補うため、さし木による増殖が検討されている。接種検定で生き残った個体を採穂台木として、4年生台木の普通枝で68%(石松1998)、3年生は28%(後藤1999)の発根が報告されている。

調査期間で最も種子生産の多かった1990年のアカマツについて、球果重と種子数、種子重の関係を図-17に示した。

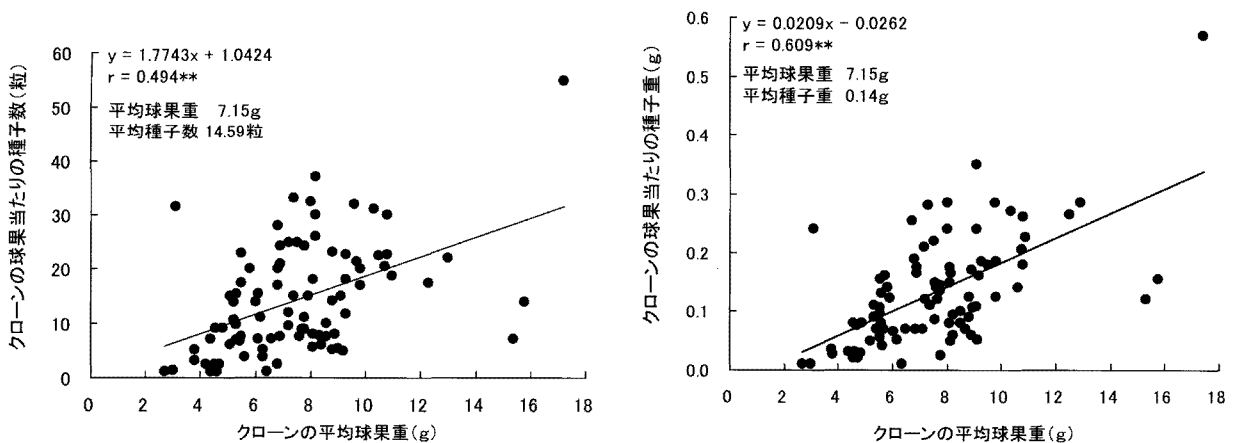


図-17 1990年のアカマツ球果重と種子数および種子重の関係

1990年に採取したアカマツ89クローンを対象とした

** : 1%水準の有意差有り

球果重の増加にともなって種子数と種子重が増える傾向にある。球果重と種子数との間には $r=0.494$ 、球果重と種子重との間には $r=0.609$ と、ともに1%水準で有意な相関係数が認められた。アカマツ、クロマツは受光量の多いクローネの上・中部に大きな球果が着生し、種子数も多いとされている(斉藤・山本1977)。アカマツの種子数と種子重の関係について1990年の四国の採種園と九州のクローン集植所における関係を図-18に示した。種子数、種子重とも四国の方が高い傾向にあるが、これは採種園(四国)と集植所(九州)という育成管理の違いが影響していると考えられる。

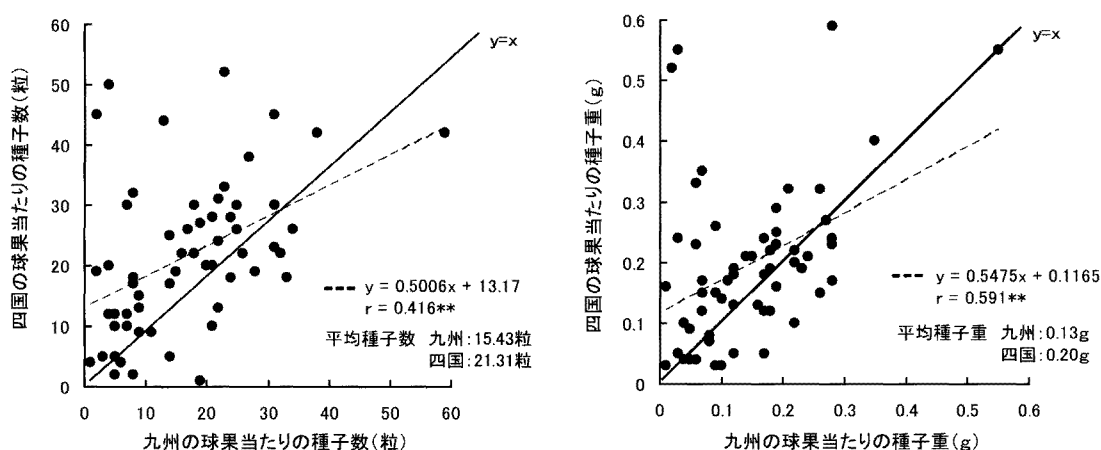


図-18 九州と四国における球果当たりの種子数と種子重の関係
1990年に採取した共通なアカマツ58クローンを対象とした
*: 1%水準の有意差有り

アカマツ松島ア58とクロマツの田辺ク54は多量に雌花を着花したが、充実種子量が著しく少ないクローンであった。松島ア58の1991年の調査では、総球果1,048個から7.5gの種子が生産されたが、1球果あたりの種子数はわずか1粒と極めて少なかった(表-22)。

種子量の少ない原因のひとつに、球果を自然乾燥させても開かない閉球果がある。1991年に調査した抵抗性クローンの閉球果率(球果数に対する閉球果の比率)は、アカマツが0~70.6%(最大値;西条ア8)に分布し、86クローンの平均は20.6%であった。クロマツでは球果採取した全てのクローンで認められ(9.4(波方ク73)~100%(大瀬戸ク12))、14クローンの平均は28.3%であった。閉球果は採種時期が早すぎたり、不適切な乾燥方法によって生ずるが、バンクスマツ(*P. banksiana* Lamb)やコントルトマツ(*P. Contorta* Dougl)の閉球果は遺伝的な特性であるという報告もある(Teich 1970)。本項では遺伝的か否かについては明らかにできなかったが、抵抗性クローンの中にこのようなものが高頻度で存在するとしたら憂慮すべき問題と考えられる。

1991年の苗畑における平均発芽率はアカマツ84.8%(43.3~97.4)、クロマツ64.5%(46.7~82.4)であった。上記の発芽率はアルコール浸漬法によって精選した種子で得られた値である。この精選法は、マツ種子の場合、90%エタノールに数秒間浸漬することによって、充実種子を効率的にしかも高い精度で精選できる。

抵抗性クローンの種子生産性に関する特性(結果率、個体あたりの球果数、球果当たりの種子数、1,000粒重、発芽率)は表-23に示すとおりである。

表-23 抵抗性クローンの種子生産性関連の特性

クローン	結果率	球果数	種子数	1,000粒重	発芽率	クローン	結果率	球果数	種子数	1,000粒重	発芽率	クローン	結果率	球果数	種子数	1,000粒重	発芽率
太宰府ア4	3	3	15	8.8	83.8	佐賀関ア117	4	5	24	9.3	83.3	備前ア140	3	3	25	7.1	79.9
久留米ア18	4	4	21	9.1	79.6	佐賀関ア118	3	3	20	7.6	83.8	備前ア143	3	2	5	18.0	79.4
久留米ア29	2	3	26	8.8	82.9	佐賀関ア126	4	4	16	8.8	86.5	備前ア150	3	3	9	9.8	76.3
久留米ア78	4	4	24	9.2	85.0	佐賀関ア132	3	3	6	8.6	81.5	岡山ア82	2	3	10	9.2	90.5
久留米ア79	4	5	26	9.4	88.9	佐賀関ア134	4	2	26	10.8	84.5	岡山ア85	3	3	16	10.5	87.3
久留米ア118	2	2	18	8.6	89.2	佐賀関ア162	3	2	8	5.6	65.7	岡山ア88	3	3	13	10.8	90.8
久留米ア142	4	5	10	8.5	83.2	佐賀関ア165	2	2	14	8.3	73.4	岡山ア132	3	3	10	9.2	80.5
久留米ア144	4	4	24	8.9	84.1	佐賀関ア170	4	3	28	9.5	78.6	笠岡ア124	2	2	19	10.8	88.1
有田ア49	4	4	27	8.2	71.5	延岡ア219	4	2	36	9.7	82.7	笠岡ア178	2	3	23	14.0	80.8
太良ア122	3	3	22	9.0	75.1	由岐ア25	3	3	26	10.3	83.8	金光ア13	3	3	14	8.3	84.2
国見ア17	-	2	16	11.5	100	阿南ア34	3	2	5	6.8	72.9	金光ア25	1	3	9	10.5	66.4
国見ア31	2	2	3	10.0	69.2	阿南ア55	2	2	11	10.3	73.0	鴨方ア29	2	2	20	7.9	77.2
熊本ア16	3	3	12	7.2	74.0	高松ア1	4	4	19	11.2	82.8	総社ア39	4	3	26	12.2	76.0
熊本ア63	3	3	17	8.7	71.8	西条ア8	2	3	18	10.9	85.7	熊山ア25	3	4	14	9.6	90.5
本渡ア1	1	3	16	8.9	71.9	新居浜ア7	3	4	23	9.0	86.9	熊山ア39	3	3	14	7.6	86.2
松島ア58	3	5	2	8.2	77.8	新居浜ア10	4	2	14	6.4	78.5	熊山ア119	1	2	20	8.2	92.2
松島ア70	1	3	16	7.8	87.6	宇和島ア18	3	3	9	9.1	87.9	宮島ア54	2	2	15	14.0	88.9
有明ア7	3	3	26	7.1	77.8	宇和島ア21	3	2	10	8.3	69.8	吉備ア77	4	4	15	10.0	83.5
大分ア111	4	3	9	9.2	74.9	宇和島ア39	5	2	8	9.9	71.4	山陽ア6	3	3	19	10.1	79.0
大分ア137	3	2	25	8.5	83.3	宇和島ア50	2	2	34	9.5	86.1	日生ア35	2	2	13	13.1	79.1
大分ア142	2	3	25	14.7	77.0	南国ア5	2	2	3	6.6	64.9	志摩ク64	2	3	21	21.7	63.4
大分ア166	3	3	25	7.9	86.0	須崎ア27	4	4	16	6.9	76.0	津屋崎ク50	3	2	24	15.7	76.8
大分ア167	4	4	7	11.5	93.1	須崎ア31	3	2	24	9.9	82.8	小浜ク24	3	3	6	15.2	72.0
大分ア168	1	2	10	8.8	75.2	須崎ア32	3	2	20	9.8	83.1	小浜ク30	-	2	18	18.8	76.9
大分ア173	4	3	11	13.7	90.6	姫路ア232	3	2	24	9.3	70.5	大瀬戸ク12	3	3	19	14.7	81.0
大分ア186	4	3	20	9.1	78.7	田辺ア52	1	2	13	6.1	55.7	大分ク8	2	4	8	17.0	74.0
大分ア198	4	3	18	8.2	77.6	真備ア58	3	2	10	9.4	73.4	川内ク290	3	2	21	18.1	76.7
大分ア203	5	3	26	9.5	80.4	真備ア70	3	3	17	11.8	77.2	穎娃ク425	2	3	15	13.8	74.1
大分ア204	3	4	14	7.6	72.3	赤坂ア88	3	2	11	9.1	80.1	三豊ク103	4	2	23	18.2	82.6
大分ア269	3	3	13	6.5	78.9	赤坂ア163	3	3	11	7.1	80.1	三崎ク90	1	3	7	22.1	81.2
佐賀関ア84	3	2	20	12.9	90.8	赤坂ア179	4	2	12	8.6	89.7	吉田ク2	-	2	11	16.7	89.0
佐賀関ア90	2	3	18	7.5	82.1	赤坂ア216	4	3	4	9.2	79.6	波方ク37	3	4	14	16.7	77.0
佐賀関ア93	3	4	9	12.9	84.3	備前ア21	2	3	16	11.1	81.2	波方ク73	5	3	14	16.3	73.3
佐賀関ア108	3	4	13	7.5	87.6	備前ア40	2	3	8	7.5	78.2	土佐清水ク63	-	3	18	13.5	83.0
佐賀関ア113	3	5	4	11.7	81.5	備前ア66	3	3	18	14.9	84.7	夜須ク37	5	2	33	19.6	87.0
						備前ア137	3	3	11	7.9	79.1	田辺ク54	3	5	19	16.6	81.3

調査地はクローン集植所

結果率(%)：1988～1990年までの3年間の結果率の平均偏差値から結果率の高いものを5とする5段階の指数による相対評価(結果率=球果数/雌花数×100)。

球果数(個)：1994～1998年までの5年間個体あたりの球果数、評価は上記と同様の相対評価、佐賀県、鹿児島県のデータも用いた。

1,000粒重(g)：1990～1998年までの9年間の平均1,000粒重、絶対評価。

発芽率(%)：1991～1998年までの8年間の苗畑発芽率、絶対評価、福岡県、佐賀県、熊本県、鹿児島県のデータも用いた。

第7節 抵抗性クローンの雑種性

我が国のマツの分布は一般に海岸地方にクロマツ、内陸部にアカマツが生育し、その間には推移帯があり、推移帯にはクロマツとアカマツの天然交雑によって生じる種々の段階の種間雑種が存在するといわれている(平吉・林1961, 1962, 外山ら1969)。

抵抗性クローンの選抜範囲は、海岸線からの距離がクロマツ4km、アカマツ25km以内と定められているが、アカマツ、クロマツの中には両者の中間型、いわゆる雑種を示す個体が選抜された可能性がある。

雑種性は、後代での分離に伴う抵抗性の変化、開花時期のズレから生ずる採種園機能の低下などに影響を及ぼすことから、抵抗性クローンの特性として明らかにしておく必要がある。本節では、抵抗性クローンの樹種の判定とそれらの後代での形態の分離ならびに抵抗性について検討し、雑種性と抵抗性の関係について考察した。

(1) 樹脂道指数から見た抵抗性クローンの樹種判定

樹種区分については、アカマツ型、アイノコマツ型（中間）、クロマツ型とする三分法、さらにその中間を細分割して、アカマツ型、アイアカ型、アイマツ型、アイグロ型、クロマツ型とする五分法がある（佐藤1961）。樹種区分は樹脂道指数（RDI）による組織学的方法、冬芽の色や針葉など外部形態の観察によって行われている。最近では葉緑体DNA上にあるrbcL遺伝子を分析することによって葉緑体ゲノムをアカマツ型とクロマツ型に識別することが可能となり（白石・渡辺1995）、樹種判定がより正確となった。

1) 材料と方法

抵抗性クローンの樹種区分を明らかにするため、先述のクローン集植所のつぎ木5～7年生の抵抗性108クローンを対象に、RDIおよび針葉長、針葉厚、樹皮色、針葉の剛軟、冬芽の色、幼球果のトゲの有無について測定および観察調査を行った。RDIは平吉・林ら（1962）が用いた次式によって算出した。

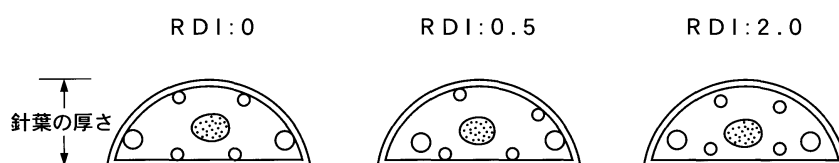


図-19 針葉断面と樹脂道指数RDIとの関係

$$RDI = (Rd \div 2) + (rd \div rd)$$

RDI：樹脂道指数 Resin Duct Index

Rd：クロマツ型主樹脂道数

rd：クロマツ型副樹脂道数

rd：副樹脂道数（総数）

この式によって算出されるRDI値は図-19に示すように、完全なアカマツでは0、クロマツでは2となる。各クローンのRDIは、クローン当たり3個体を選定し、4年生枝の第1節から各個体10針葉、計30針葉について、針葉中央部の横断切片の樹脂道配置を顕鏡した。RDI値による樹種区分は次に示す吉川ら（1991）の5分法で行った。

アカマツ型：0.00～0.250、アイアカ型：0.251～0.750、アイマツ型：0.751～1.250

アイグロ型：1.251～1.750、クロマツ型：1.751～2.000である

針葉長、葉厚は計測し、樹皮色（黒色～赤褐色）、針葉形態（剛～軟）、冬芽の色（白～赤褐色）、幼球果（トゲの有無）は肉眼観察により、次の1～5の5段階による指数評価を行い、これらの平均値から外部形態特徴による樹種区分を行った。

指数5：クロマツ型；完全にクロマツの特徴を示すもの

指数4：アイグロ型；ややクロマツの傾向を示すもの

指数3：アカマツ型；クロマツとアカマツの中間を示すもの

指数2：アイアカ型；アカマツの傾向を示すもの

指数1：アカマツ型；完全にアカマツの特徴を示すもの

また、抵抗性3クローン（クローン当たり6個体）について、4, 5, 6年枝の針葉のRDIを調査し、針葉の採取位置によるRDIの違いについて検討した。

2) 結果と考察

抵抗性クローンの樹脂道指数（RDI）と外観形態形質を表-24に示した。

表-24 マツノザイセンチュウ抵抗性クローンの樹脂道指数（RDI）と外観形態

クローン	RDI	樹皮色	針葉型	冬芽色	球果型	平均	クローン	RDI	樹皮色	針葉型	冬芽色	球果型	平均	クローン	RDI	樹皮色	針葉型	冬芽色	球果型	平均
松島ア58	0.000	1	1	1	1	1.00	宮島ア54	0.056	1	1	1	1	1.00	久留米ア29	0.466	2	1	1	1	1.25
南国ア5	0.000	2	1	1	1	1.25	佐賀関ア170	0.059	2	2	1	1	1.50	佐賀関ア84	0.469	1	2	1	1	1.25
田辺ア52	0.000	1	2	1	1	1.25	大分ア204	0.059	2	2	1	1	1.50	久留米ア79	0.529	1	1	1	1	1.00
真備ア70	0.000	2	2	2	1	1.75	高松ア1	0.074	2	2	2	1	1.75	大分ア137	0.549	1	1	1	1	1.00
熊本ア16	0.000	1	1	1	1	1.00	佐賀関ア165	0.075	1	1	1	1	1.00	備前ア137	0.599	4	3	3	3	3.25
赤坂ア88	0.000	2	2	1	1	1.50	佐賀関ア126	0.078	2	1	1	1	1.25	松島ア70	0.748	2	2	1	1	1.50
岡山ア88	0.003	3	3	3	1	2.50	西条ア8	0.079	2	2	1	1	1.50	佐賀関ア134	0.809	3	3	1	1	2.00
宇和島ア18	0.003	1	1	1	1	1.00	宇和島ア39	0.080	1	2	2	1	1.50	笠岡ア178	0.970	4	3	3	1	2.75
佐賀関ア113	0.005	3	3	2	1	2.25	赤坂ア163	0.084	2	2	2	1	1.75	本渡ア1	0.993	2	2	1	1	1.50
総社ア39	0.008	2	3	3	1	2.25	阿南ア34	0.084	5	3	1	1	2.50	備前ア140	1.046	2	2	2	1	1.75
須崎ア32	0.011	2	2	1	1	1.50	国見ア17	0.088	1	1	1	1	1.00	国見ア53	1.098	1	1	1	2	1.25
大分ア168	0.011	1	1	1	1	1.00	山陽ア6	0.094	1	1	2	1	1.25	大分ア167	1.110	1	2	1	3	1.75
太宰府ア4	0.012	1	1	1	1	1.00	久留米ア18	0.101	2	1	1	1	1.25	金光ア25	1.176	3	4	4	1	3.00
阿南ア55	0.012	3	4	3	1	2.75	岡山ア85	0.104	2	1	2	2	1.75	久留米ア78	1.283	1	1	1	1	1.00
新居浜ア7	0.013	2	2	2	1	1.75	有田ア49	0.106	1	1	1	1	1.00	佐賀関ア108	1.319	3	3	2	1	2.25
岡山ア82	0.016	3	2	1	1	1.75	赤坂ア216	0.111	2	2	1	1	1.50	小浜ク24	1.404	4	4	4	4	4.00
大分ア198	0.017	2	2	1	1	1.50	由岐ア25	0.118	4	3	1	2	2.50	備前ア66	1.518	4	5	5	5	4.75
大分ア203	0.017	1	1	1	1	1.00	国見ア31	0.133	2	2	1	1	1.50	備前ア21	1.527	3	4	3	4	3.50
金光ア13	0.018	2	2	1	1	1.50	真備ア58	0.147	3	2	2	1	2.00	佐賀関ア93	1.662	4	4	5	5	4.50
久留米ア144	0.020	3	2	3	2	2.50	宇和島ア50	0.149	2	1	1	1	1.25	大分ア142	1.739	3	3	3	4	3.25
赤坂ア179	0.021	2	2	1	1	1.50	熊山ア25	0.158	3	4	3	1	2.75	夜須ク37	1.852	5	5	5	5	5.00
有明ア7	0.022	1	1	1	1	1.00	延岡ア219	0.185	1	2	1	3	1.75	土佐清水ク63	1.887	5	5	5	5	5.00
熊山ア119	0.023	3	1	1	1	1.50	佐賀関ア132	0.187	1	1	1	1	1.00	小浜ク30	1.920	5	5	5	5	5.00
岡山ア132	0.024	1	1	1	1	1.00	須崎ア31	0.210	2	2	2	2	2.00	波方ク37	1.947	5	5	5	5	5.00
佐賀関ア162	0.024	1	1	1	1	1.00	新居浜ア10	0.213	1	2	1	1	1.25	瀬娃ク425	1.947	5	5	5	5	5.00
備前ア150	0.026	3	3	1	1	2.00	笠岡ア124	0.215	4	3	3	1	2.75	田辺ク54	1.956	5	5	5	5	5.00
宇和島ア21	0.028	2	2	1	1	1.50	佐賀関ア90	0.222	1	2	1	1	1.25	大瀬戸ク12	1.965	5	5	5	5	5.00
姫路ア232	0.029	2	2	2	1	1.75	大分ア269	0.237	3	2	1	1	1.75	波方ク73	1.969	5	5	5	5	5.00
大分ア173	0.033	1	1	1	1	1.00	大分ア111	0.270	1	1	1	1	1.00	吉田ク2	1.976	5	5	5	5	5.00
大分ア186	0.033	1	1	1	1	1.00	太良ア122	0.301	1	1	1	1	1.00	川内ク290	1.976	5	5	5	5	5.00
須崎ア27	0.040	2	1	2	2	1.75	吉備ア77	0.333	2	2	1	1	1.50	備前ア143	1.984	4	5	5	4	4.50
備前ア40	0.041	2	2	1	1	1.50	鴨方ア29	0.382	3	4	3	1	2.75	志摩ク64	1.985	5	5	5	5	5.00
熊本ア63	0.048	1	1	1	1	1.00	久留米ア142	0.418	2	1	1	1	1.25	三豊ク103	1.985	5	5	5	5	5.00
久留米ア118	0.053	1	1	1	1	1.00	大分ア166	0.433	1	1	1	3	1.50	三崎ク90	1.987	5	5	5	5	5.00
佐賀関ア117	0.054	3	3	2	1	2.25	佐賀関ア118	0.433	3	2	1	1	1.75	大分ク8	1.993	5	5	5	5	5.00
熊山ア39	0.055	4	3	3	3	3.25	日生ア35	0.438	1	1	1	1	1.00	津屋崎ク50	2.000	5	5	5	5	5.00

RDIは、アカマツ型では0.000~1.984の範囲に、クロマツ型では1.404~2.000の範囲に連続的な分布を示した。アカマツ型として選抜された松島ア58から赤坂ア88までの6クローンは純粋なアカマツ型に区分されたが、アカマツ型として選抜された備前ア143 (RDI:1.984) はクロマツ型に、クロマツ型として選ばれた小浜ク24 (RDI:1.404) はアイグロ型に区分された。

平均RDIによる各樹種区分別のクローン頻度は、アカマツ型が59.2%, アイアカ型が12.1%, アイマツ型が6.5%, アイグロ型が7.4%, クロマツ型が14.8%となり、アカマツ型とクロマツ型を除いた中間型が26.0%を占めた。クローン数が実質的に不足している現状から、クロマツ型の頻度が高くなることを期待したが、結果として、1クローンがアイグロ型であり、クローン数はさらに減少した。このため、クロマツでは今後追加選抜が行われるまでの間、アイグロ型 (RDI:1.251<) 以上の25クローンの中から目的に合ったクローンを選んで採種園に用いることも必要と考えられる。

RDIが0.2以上の49クローンについて、平均RDIと標準偏差を図-20に示した。各クローンのRDIには個体内のバラツキの大小が認められ、RDIが2.00に近づくにつれてそれは小さくなった。各クローンのRDIとその個体内の標準偏差の関係を図-21に示した。クローンのRDIが0もしくは2.00のものでは標準偏差が小さく、中間では大

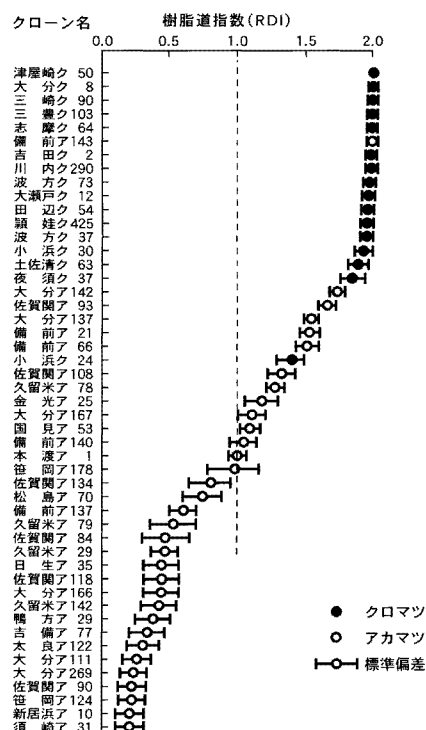


図-20 抵抗性クローンの樹脂道指数とそのバラツキの関係
RDIが0.2以上の49クローン

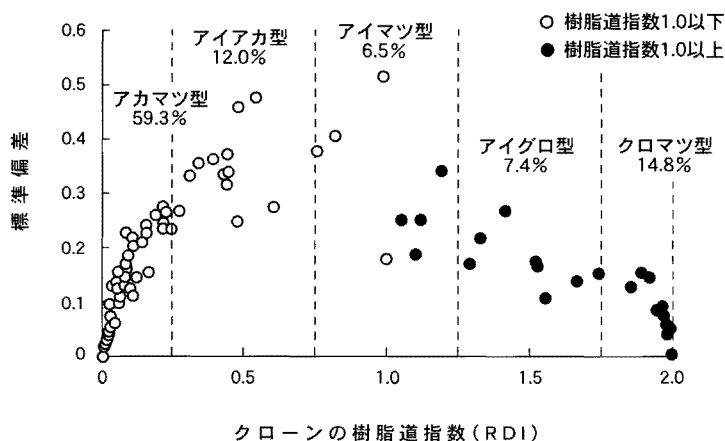


図-21 クローンの樹脂道指数と標準偏差の関係

きくなり、RDIと標準偏差の間には山型の関係が認められた。このパターンが針葉採取位置の違いによるものか、あるいは雑種性によるバラツキなのかについてRDIと葉長について検討した。クローンの採取位置別のRDI値を用いて分散分析を行い、その結果を表-25に示した。RDIと葉長では、クローン間に著しい有意差が認められが、

クローン内個体間、採取位置には有意差はなかった。すなわち、RDIや葉長におけるバラツキは、針葉の採取位置の違いによるというよりは、クローンの雑種性の程度によるものと考えられる。

表-25 樹脂道指数等の調査における採取位置の分散分析

変動要因	樹脂道指数			葉 長	
	自由度	平均平方	分散比	平均平方	分散比
クローン間	2	66.740	976.683**	245.851	64.917**
クローン内個体間	6	0.068		3.787	
採取位置	2	0.019	0.442ns	46.580	2.112ns
採取位置×クローン	4	0.040	0.908ns	22.057	22.192ns
誤 差	255	0.044		0.994	
全 体	269				

** 1%水準の有意差有り。

核ゲノムのRAPD分析による樹種区分では、抵抗性108クローンのうち、松島ア58から佐賀関ア108までの86クローン (RDI:0.000~1.319) はアカマツ型、小浜ク24から大分ア142までの5クローン (同1.404~1.739) は種間雑種、夜須ク37から備前ア143を含む津屋崎ク50までの16クローン (同1.852~2.000) はクロマツ型、残る1クローン (笠岡ア178, 同0.970) は不明と判定されている (白石・渡辺1995, 渡辺ら1996) (表-23参照)。このことからRDIによる樹種区分では、 $0.000 < \text{アカマツ型} < 1.404 < \text{種間雑種} < 1.852 < \text{クロマツ型} < 2.000$ とすることができる。また、5分法による樹種区分は、RAPD分析の結果とよく一致したことから、RDIによる樹種区分は高い精度をもった簡便な方法といえる。

抵抗性クローンの樹皮色、針葉形態、冬芽色、幼球果の4形質における外部形態形質の平均値は、アカマツは1.00 (有田ア49他23クローン) ~4.80 (備前ア143)、クロマツは4.00 (小浜ク24) ~5.00 (津屋崎ク50) の範囲に分布し、抵抗性クローンの選抜時の樹種区分とよく一致した (表-24)。また、各クローンの外部形態形質とRDIの間には $r=0.853$ と1%水準で有意な相関係数が認められ、複数形質の特性による樹種区分も可能であった。

針葉形態による樹種区分は、針葉長について明らかな差は認められなかったが、針葉の中央径はRDIとの間に $r=0.875$ と1%水準で有意な相関係数が認められ、樹種特性の1つと考えられた。特定の外部形態特徴だけによる樹種区分では、アイノコ型と判定されたものでもRDIはアカマツ型に区分されたものもあり (佐藤1961)、樹種区分に用いるのは適当でないと考えられる。また、外部形態特性による樹種区分では、調査者の主観も入りやすく信頼性が低いものと考えられる。

(2) 雑種性と抵抗性の関係

1) 材料および方法

供試した種子は熊本県天草郡松島町千巖山の林分から採集したものである。この林分はアカマツ型65%、クロマツ型30%、アイノコマツ型5%の混交林である (大山・白石1981)。林分の中から外部形態の観察によって、クロマツ型9、アカマツ型4、アカマツ型2の計15個体を選び、個体別に球果と針葉を採取した。母樹の樹種区分は、個体当たり30本の針葉のRDIを調査し、判定した。母樹ごとに育成した1年生苗を、冬芽の色により白芽、中間、赤芽に3区分し、床替えした。材線虫の接種は、1987年7月にアイソレート島原 (苗木1本あたり5,000頭) を剥皮接種法によって行った。

2) 結果と考察

採種母樹の樹種型、外部形態形質ならびにRDI値を表-26に、それらの母樹後代における樹種型分離について表-27に示した。

表-26 採種母樹の外観形態形質および樹脂道指数RDI

母樹の樹種型	母樹番号	樹皮色	針葉型	冬芽色	種鱗のトゲ	RDI
クロマツ型	6	暗黒色	堅・長	帯褐灰色	少有り	1.97
	7	暗黒色	堅・長	帯褐灰色	少有り	2.00
	8	暗黒色	堅・長	帯褐灰色	少有り	1.92
	10	暗黒色	中・中	灰白色	少有り	1.96
	13	暗黒色	堅・長	灰白色	無	1.90
	14	暗黒色	堅・長	灰白色	無	1.86
	22	暗黒色	堅・長	灰白色	少有り	1.74
	23	暗黒色	堅・長	灰白色	有り	2.00
	24	暗黒色	堅・長	灰白色	有り	2.00
アカマツ型	11	暗褐色	軟	赤褐色	有り	0.83
	17	暗褐色	短	赤褐色	少有り	1.72
	20	暗褐色	堅・中	赤褐色	有り	1.87
	25	暗褐色	軟・短	赤褐色	有り	0.20
アカマツ	9	赤褐色	軟・短	赤褐色	有り	0.00
	26	赤褐色	軟・短	赤褐色	有り	0.00

表-27 母樹の樹種型と実生後代の樹種型分離

母樹の樹種型	全本数 本 (%)	実生後代の区分 (冬芽の色で分類)		
		クロマツ型 本 (%)	中間型 本 (%)	アカマツ型 本 (%)
クロマツ型	1,166 (100)	901 (77.3)	242 (20.8)	23 (1.9)
アカマツ型	524 (100)	13 (2.5)	221 (42.2)	290 (55.3)
全 体	1,690 (100)	914 (54.1)	463 (27.4)	313 (18.5)
アカマツ	310 (100)	0	0	310 (100)

クロマツ型母樹は外部形態特徴とRDI値と一致したが、アカマツ型母樹の中にはRDIによる樹種区分でクロマツ型の範囲(母樹番号17, 20)を示すものが認められた。13母樹の後代1,690個体について、冬芽の特徴によって樹種区分した結果、クロマツ型母樹からはクロマツ型77.3%, アカマツ型母樹からアカマツ型55.3%と大半が母樹型と同じ樹種型個体が出現した。一方、クロマツ型母樹からは20.8%, アカマツ型母樹から42.2%の中間型個体が出現し、採種林分において自然交雑が行われている可能性が示唆された。また、純粋なアカマツ(RDI: 0.00)の母樹からは全てアカマツ型の個体が出現した。

先述の各樹種型個体への接種検定結果を表-28に示した。全体の生存率は67.9%であったが、各樹種型別の生存率は、アカマツ型(94.9%) > 中間型(55.7%) > クロマツ型(46.3%) 順になった。大山・白石(1981)は、自然交雑種1個体の後代をアカマツ型、アイグロマツ型、クロマツ型に区分して接種した結果、平均健全率は12.8%であり、樹種区分された後代の健全率はアカマツ型50%, アイグロ型40%, クロマツ型5.7%であったと報告している。このことから、家系内のアカマツ型の個体頻度が高くなると、接種検定における家系生存率は高くなり、後代の抵抗性は母樹の雑種性と深い関係があると考えられた。

表-28 樹種型別実生後代の接種検定結果

母樹の樹種型	実生後代の区分	健全率 (%)	生存率 (%)
クロマツ型	クロマツ型	18.7	46.2
	中間型	29.7	54.1
	アカマツ型	82.7	100.0
アカマツ型	クロマツ型	30.7	53.8
	中間型	38.1	57.5
	アカマツ型	79.4	94.5
	クロマツ型	19.0	46.3
全 体	中間型	33.7	55.7
	アカマツ型	79.5	94.9
アカマツ	アカマツ型	57.7	80.3

抵抗性クロマツ後代の接種検定後における生存個体の中には、明らかにアカマツ型の特徴をもった個体が多く観察される。抵抗性クロンの雑種性と開花時期との間には密接な関係のあることはすでに第5節で述べたが、雑種性のクロンでは、クロン集植所や採種園において、アカマツと自然交雑している可能性は極めて高いと考えられる。また、クロマツ（♀）×アカマツ（♂）の人工交雑個体への接種検定において、その後代の抵抗性はクロマツ（♀）より著しく高くなる（戸田ら1997a）ことからアカマツの抵抗性をクロマツに取り込み、表現型はクロマツ型、抵抗性はアカマツレベルという抵抗性個体の創出も可能と考えられる。さらに、この種間雑種が材質上優れていれば、将来的には木材生産用としてアカマツ、クロマツの混合採種園方式による抵抗性マツの生産も可能となる。

(3) 抵抗性クロンの雑種性とその後代の抵抗性

第Ⅱ章第7節（2）において、母樹の雑種性によって後代の抵抗性が異なることが示唆された。抵抗性クロンにおいても同様な現象が起きている可能性も考えられるため、クロンの雑種性とその後代の分離を調べ、材線虫の接種を行って抵抗性の変異を調べ考察した。

1) 材料および方法

第Ⅱ章第7節（1）で、アカマツ抵抗性クロンのうち雑種性があると判定したRDIが1.00未満の9クロン、1.00～1.50の3クロンおよび1.51以上の6クロン計18クロンについて、自然交雑の実生3年生672個体を用いた。実生苗の樹種型分類は各個体の10針葉の平均RDIにもとづいて、吉川ら（1991）の5分法で行なった。材線虫の接種は1993年7月に線虫アイソレート島原（苗木1本あたり1万頭）を剥皮接種法によって行った。

2) 結果と考察

抵抗性クロンとその後代のRDI値の相関を図-22に示した。実生後代ではRDI値が0.00からクロマツ2.00までの個体が出現しており、特にRDI値が1.50以上のクロンでは、それ以下の家系に比べて明らかに後代のRDI値の分布幅が著しく広く、分類型レベルの分離が起きている可能性が高い。

家系の平均RDI値は0.01～1.53であり、各クロンのRDI値よりも小さい値となった。この原因は、前述のクロン集植所では圧倒的にアカマツが多く、クロマツと開花が同調するアカマツとの自然交雑によって、RDIが

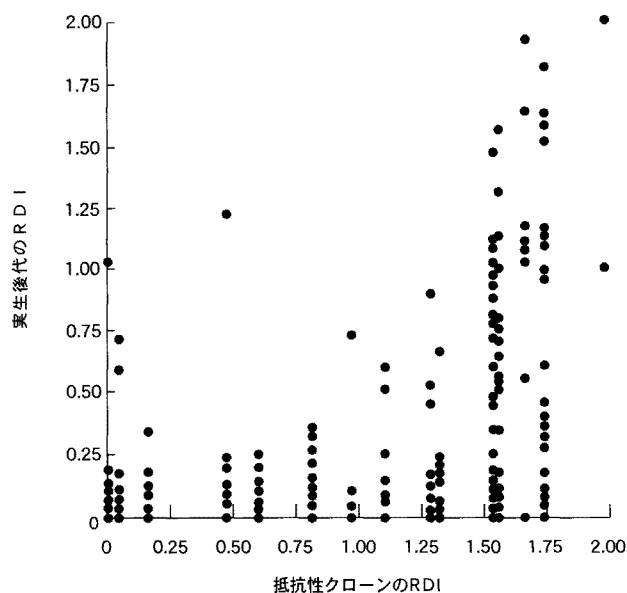


図-22 抵抗性クローンのRDIとその後代のRDIの分布

小さくなった可能性がある。図-23に抵抗性クローンとその後代のRDIとの順位相関図を示した。両者の間には $r_s=0.82$ と 1%水準で有意な関係が見られ、抵抗性クローンのRDI値が高いと後代のRDI値も高くなるという関係が認められた。

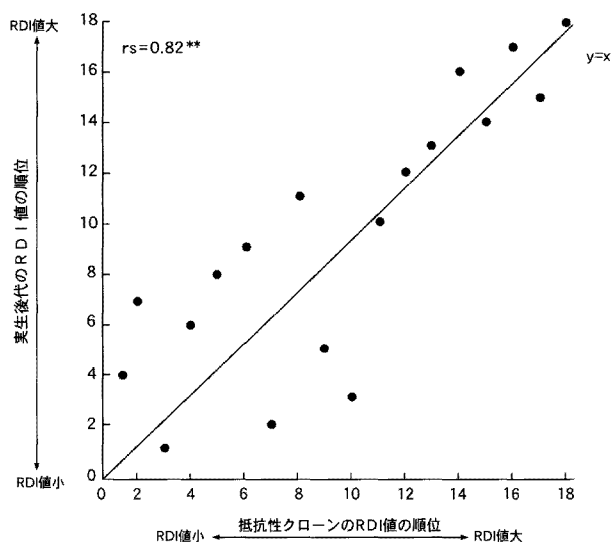


図-23 抵抗性クローンおよび実生後代のRDI値の順位相関図

** : 1%水準の有意差有り

抵抗性クローンの実生後代における樹種型別の出現頻度を表-29に示した。供試した実生後代全体の樹種型出現率はアカマツ型が77.2%，アイアカ型およびアイノコ型がそれぞれ9.4%，アイグロ型2.2%，クロマツ型1.8%であった。

表-29 抵抗性クローンの実生後代における樹種型別の出現頻度

*抵抗性クローンのRDI値	供試個体数 本 (%)	実生後代の樹脂道指数 (RDI) による樹種型				
		アカマツ型 (0.000~0.250) 本 (%)	アイアカ型 (0.251~0.750) 本 (%)	アイノコ型 (0.751~1.250) 本 (%)	アイグロ型 (1.251~1.750) 本 (%)	クロマツ型 (1.751~2.00) 本 (%)
0.00~0.25	190 (100)	184 (96.8)	4 (2.1)	2 (1.1)	0 (0)	0 (0)
0.25~0.75	78 (100)	76 (97.4)	1 (1.3)	1 (1.3)	0 (0)	0 (0)
0.75~1.25	117 (100)	106 (90.6)	11 (9.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1.25~1.75	275 (100)	153 (55.6)	47 (17.1)	53 (19.3)	15 (5.5)	7 (2.5)
1.75~2.00	12 (100)	0 (0)	0 (0)	7 (58.3)	0 (0)	5 (41.7)
全 体	672 (100)	519 (77.2)	63 (9.4)	63 (9.4)	15 (2.2)	12 (1.8)

*アカマツ抵抗性クローンの樹脂道指数 (RDI) が1.00未満 9 クローン, 1.00~1.503クローンおよび1.5以上 6 クローンの計18クローンの後代。

この調査では、アカマツ型個体の出現頻度が高くなっているが、RDI法による樹種分類では、アカマツ寄りの雑種個体を過小評価する傾向があり、雑種もアカマツと判定されることが多いと指摘されており（柴田1977）、こうした判定誤差もあると思われる。また、RDIが0.000~1.250のクローンでは、アカマツ型個体が90%以上の高い頻度で出現したのに対して、アイグロ型とクロマツ型の個体は全く出現しなかった。一方、1.251~1.750のクローンでも約半数がアカマツ型であり、残りがアイアカ型からクロマツ型までとなり、雑種性の高い個体 appeared。今回供試したクローンの中で、RDI値が最も高いアカマツの備前ア143 (RDI値; 1.93) は樹皮、針葉形態、雌花の開花期がクロマツ型の特性をもっているクローンであるが、その後代はアイノコ型が約6割、クロマツ型が約4割出現し、RDI値が1.750未満の他のクローンとは樹種型の出現パターンが異なっていた。これは母本効果やクロマツ寄りの主樹脂道が優性であるとされている（平吉・林1961, 柴田1977）ことも影響していると考えられる。

抵抗性後代の樹種型別の接種検定結果を表-30に示した。供試家系全体の平均健全率は60.7 (39.7~64.0) %, 生存率は82.1 (66.7~84.6) %となり、家系による変異が認められた。樹種型別の健全率では、RDIが0.000~0.750のアカマツ型とアイアカ型が平均健全率と同等以上の値を示したが、RDIが0.751~2.000のアイノコ型、アイグロ型、クロマツ型は平均健全率より低い値を示した。一方、生存率ではアカマツ型を除いた各樹種型で平均生存率より低い値であった。こうした中、樹種レベルの抵抗性が低いとされるクロマツ型の生存率 (75.0 %) が予想外に高い値を示した。

今回の調査においてクロマツ型が出現したクローンは、大分ア137 (RDI:1.55)、佐賀関ア93 (同1.66)、大分ア

表-30 抵抗性クローンの実生後代における樹種型別の接種検定結果

抵抗性後代のRDIによる樹種型	接種検定 個体数 本 (%)	接種検定結果 (%)		
		健全率 本 (%)	生存率 本 (%)	枯損率 本 (%)
アカマツ型 (0.000~0.250)	519 (100)	332 (64.0)	439 (84.6)	80 (15.4)
アイアカ型 (0.251~0.750)	63 (100)	38 (60.3)	50 (79.4)	13 (20.6)
アイノコ型 (0.751~1.250)	63 (100)	25 (39.7)	44 (69.8)	19 (30.2)
アイグロ型 (1.251~1.750)	15 (100)	7 (46.7)	10 (66.7)	5 (33.3)
クロマツ型 (1.751~2.000)	12 (100)	6 (50.0)	9 (75.0)	3 (25.0)
全 体	672 (100)	408 (60.7)	552 (82.1)	120 (17.9)

142 (同1.74), 備前ア143 (同1.98) の4クローンである。これらのRDIが比較的高いクローンは、本来クロマツとの交雑機会が多いと考えられるが、集植所内のアカマツと交雑し、樹種型レベルの分離が起きた結果と推測される。

第8節 抵抗性クローンの実生後代の抵抗性

抵抗性育種事業では抵抗性クローンの後代を直接造林用種苗として用いることになっていたが、くり返し行われた接種検定において実生後代の抵抗性変異が明らかとなった。このため、苗畑での接種検定で生き残ったいわゆる「抵抗性マツ」が造林に用いられるようになった(図-24)。抵抗性クローンの実生後代の特性把握は、抵抗性マツの効率的な生産ならびに普及、採種園の体質改善を進めるためにも早期に解明されなければならない課題である。

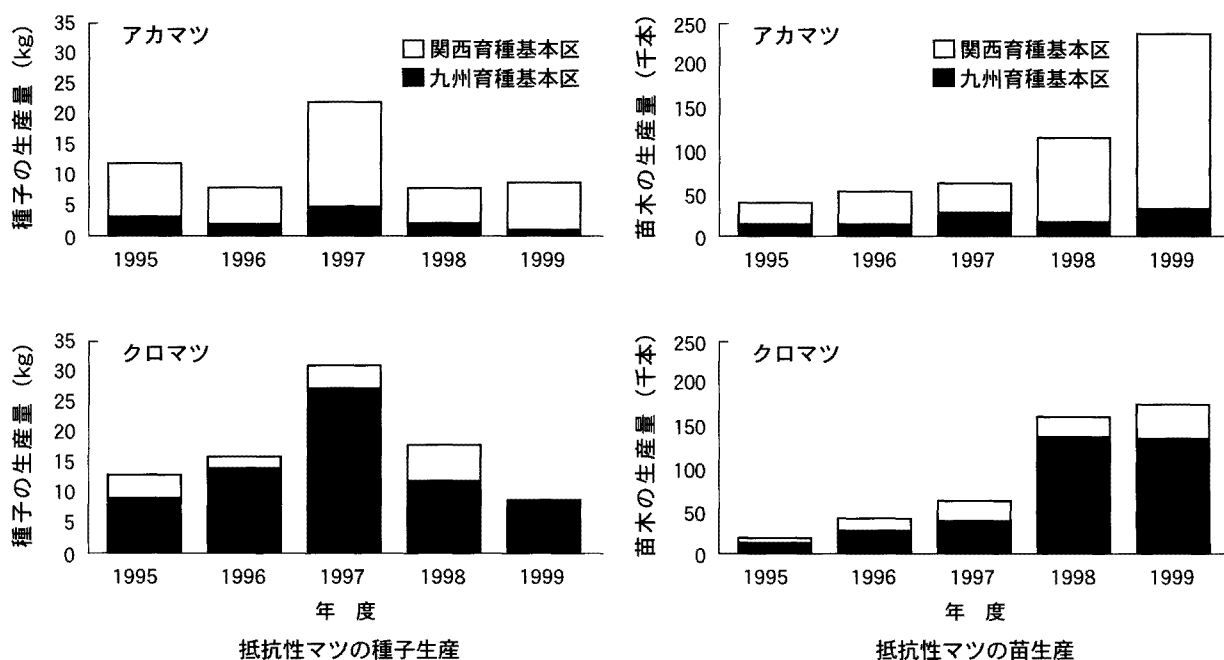


図-24 西日本における抵抗性マツの種子および抵抗性マツ苗の生産量
戸田 (2002) による

現在、造林に供されている抵抗性マツは抵抗性採種園由来の実生後代全てに対する呼称であり、材線虫を接種した「接種苗」と接種しない「未接種苗」に区別されている。接種苗は1回床替え2年生苗(まきつけ後1年4ヶ月目)に材線虫を人工接種して生き残った選抜苗木であり、造林地においても材線虫病に対する抵抗性は高いと考えられる。

実生後代の抵抗性の評価には、接種検定における健全率または生存率が用いられる。この両者の値は接種検定年の環境条件(戸田1997)、検定地の違い(戸田ら1992)、接種源の病原性および採種年の違い(戸田ら1997b)などの要因によって変化する。このため信頼性の高い評価には複数年の検定結果の解析が必要である。

本節では1990年から1998年の9年間に行った抵抗性実生後代の検定データを用いて、多くの知見が得られた初

期（1990年～1992年）の3年間と9年間の接種検定結果を別々に解析し、その結果から抵抗性クローンの実生後代の抵抗性について考察した。

1) 材料および方法

1990年の接種検定：アカマツの一次検定合格クローン後代（一次合格木家系）と二次検定合格クローン後代（抵抗性家系）を接種検定し、その結果から一次および二次検定の選抜効果を調べた。また、選抜林分における抵抗性クローンのオルテット後代（オルテット家系）とクローン集植所の抵抗性クローン後代と比較した。

表-31 1990年～1992年における接種検定供試材料および結果

1990年						
樹種	区分	家系数	接種本数	健全率	生存率	備考（採種源）
アカマツ	抵抗性家系	41	4,355	64.8%	68.2%	抵抗性クローン集植所
	抵抗性クローンのオルテット家系	3	220	86.6	90.2	選抜林分
	一次合格木のオルテット家系	19	1,488	61.2	67.1	選抜林分
	オルテット家系計	22	1,708	74.0	80.4	
	優良林分家系	7	979	38.9	40.8	精英樹クローン集植所
アカマツ	合計	70	7,042	61.1	64.8	
クロマツ	精英樹家系（対照）	11	8,796	11.1	15.1	精英樹クローン集植所
テーダマツ（対照）		5	274	83.2	87.6	5個体の母樹
1991年						
樹種	区分	家系数	接種本数	健全率	生存率	備考（採種源）
アカマツ	抵抗性家系	50	4,907	58.2%	64.1%	抵抗性クローン集植所
	精英樹家系	25	1,310	43.0	50.9	精英樹クローン集植所
	松島産家系	23	1,733	29.8	34.4	天草郡松島町
	一般マツ計	48	3,043	35.5	41.4	
アカマツ	合計	98	7,950	49.5	55.5	
テーダマツ（対照）		5	123	27.9	37.3	5個体の母樹
1992年						
樹種	区分	家系数	接種本数	健全率	生存率	備考（採種源）
アカマツ	抵抗性家系	88	9,518	40.4	55.1%	クローン集植所
クロマツ	抵抗性家系	9	516	23.1	48.3	抵抗性クローン集植所
	抵抗性候補木家系	10	2,637	7.2	15.9	候補木クローン集植所
	精英樹家系	2	620	2.7	5.6	候補木クローン集植所
クロマツ	合計	21	3,773	8.6	18.6	
テーダマツ（対照）		5	589	2.4	46.7	5個体の母樹

供試材料は表-31に示した。アカマツ抵抗性家系は、先述のクローン集植所から1988年に採種して育成した41家系である。抵抗性オルテット家系は、1986年に選抜林分で採種して育成した3家系（久留米ア18，同79，同114）である。一次合格木オルテット家系は、抵抗性候補木のうち、一次検定で合格したクローンのオルテットから1986年に選抜林分で採種して育成した19家系である。優良林分家系は場内に設定されている遺伝子保存園のキシマツから1988年に採種して育成した7家系、合計70家系、7,042本である。また、対照としてクロマツ精英樹11家系（8,796本）、抵抗性育種事業で使用したテーダマツ5家系（274本）を用いた。材線虫の接種は、1990年7月24日に材線虫アイソレート島原（1本当たり5,000頭）を剥皮接種法で行った。

1991年の接種検定：アカマツを対象として、抵抗性家系と一般マツの抵抗性を比較する目的で接種検定を行った。供試材料は表-31に示したように、抵抗性家系は、先述のクローン集植所から採種し、育成した50家系（4,907

本)である。一般マツの精英樹家系は、九州育種場内のアカマツ精英樹クローン集植所から1989年に採種し、育成した25家系(1,310本)である。松島産家系は、熊本県天草郡千巖山から採種し、育成した23家系(1,733本)である。合計で98家系, 7,950本である。また、対照として抵抗性育種事業で使用したテーダマツ5家系(128本)を用いた。材線虫の接種は、1991年7月24日に材線虫アイソレート島原(1本当たり5,000頭)を剥皮接種法で行った。

1992年の接種検定：抵抗性クローンのアカマツ、クロマツの後代抵抗性と非選抜集団の後代抵抗性を比較し、その結果をもとに選抜育種の効果を検討した。供試材料は表-31に示した。抵抗性家系は、先述のクローン集植所から1990年に採種して育成したアカマツ88家系(9,518本)とクロマツ抵抗性9家系(516本)である。クロマツはこの他にも一次検定で不合格となった抵抗性候補木10家系(2,637本)と精英樹家系2家系(620本)を用いた。合計で21家系, 3,773本である。また、対照として抵抗性育種事業で使用したテーダマツ5家系(589本)を用いた。材線虫接種は、1992年7月24日に材線虫アイソレート島原(1本当たり5,000頭)を剥皮接種法で行った。

2) 結果

1990年の検定結果：各年次の接種検定の結果を表-31に示した。アカマツ抵抗性家系および一次合格木家系の、いわゆる抵抗性として選抜された個体を母樹とする家系が非選抜家系より高い生存率を示した。本検定において抵抗性オルテット家系の生存率は78.3~94.0%の範囲で、3家系の平均は90.2%と最も高い生存率を示した。この3家系とクローン集植所の同一の3家系について生存率を比較し、その結果を表-32に示した。

表-32 アカマツ抵抗性後代の採種場所の違いによる抵抗性の変異(1990年)

家系名	クローン集植所採種*		オルテット採種**	
	接種本数(本)	生存率(%)	接種本数(本)	生存率(%)
久留米ア-18	114	67.5	83	94.0
久留米ア-79	201	77.6	60	78.3
久留米ア-144	86	81.4	81	95.1
計(平均)	401	62.6	224	90.2

*九州育種場内, **選抜林分

抵抗性オルテットからの3家系の生存率はクローン集植所由来の3家系に比べて、いずれも高い生存率を示した。材線虫病による林分内の感受性個体の淘汰と抵抗性の関係について、糟谷ら(1990)は40~80年生のアカマツ林分の個体に材線虫を人工接種し、生き残った個体の実生後代の抵抗性が高くなることを報告している。本実験で供試した抵抗性家系も材線虫病の激害林分からのものであり、これに起因するものと考えられる。抵抗性クローンのオルテット後代が高い抵抗性をもつことは、被害林分の残存木から天然更新された次世代林分は材線虫病に対する抵抗性の向上をもたらすことを望むことが出来る。今後、林分での残存率、自殖率、種子の発芽率などの要因が究明されれば材線虫病対策を加味した造林方法として興味深い現象である。

1991年の検定結果：アカマツ抵抗性家系、精英樹、松島産の各採種源グループについて、材線虫接種後の生存率の推移を図-25に示した。テーダマツが最も早く枯損が始まった。

接種検定の結果は、表-31に示すように、テーダマツの生存率は37.3%で、これまでの平均的な値を示した。本検

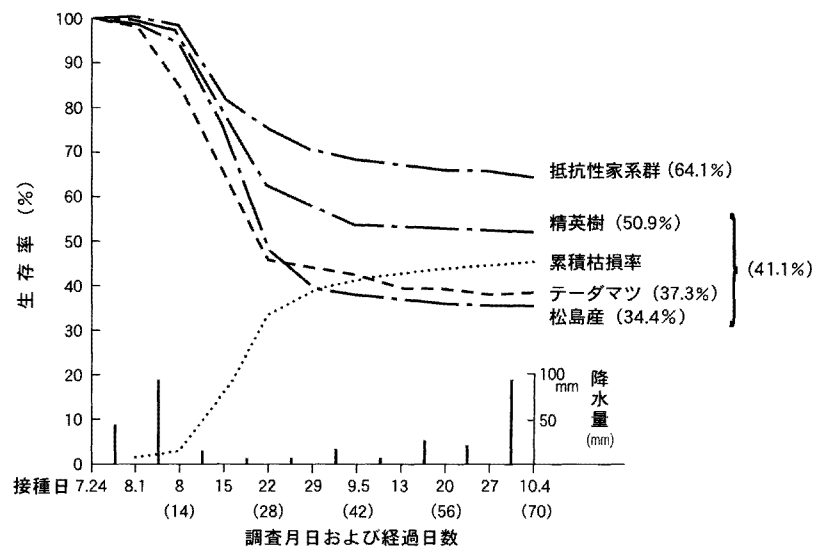


図-25 材線虫接種後の生存率の推移と週間の降水量 (1991年)

定で最も高い生存率を示したのはアカマツ抵抗性家系で、その生存率は34.0～65.8%の範囲を示し、50家系の平均生存率は64.1%であった。一方、非選抜集団におけるアカマツ精英樹家系の生存率は10.0～65.8%の範囲で、25家系の平均は50.9%であった。また、松島産家系の生存率は2.6～65.8%の範囲で23家系の平均は34.4%を示した。これら非選抜集団の平均生存率は41.1%で、抵抗性アカマツ家系の生存率に比べて20%程度低い値であった。

採種源グループごとの生存率の平均値間差の有意性の検定結果を表-33に示した。抵抗性家系群ならびに精英樹家系群とテーダマツの間には有意差が認められたが、松島家系群とテーダマツの間には有意差は見られなかった。

表-33 アカマツ採種源別の平均生存率および
平均値間差とその有意性 (1991年)

区 分	抵抗性 (50.76)	精英樹 (43.29)	テーダマツ (29.96)	松島産 (31.41)
抵抗性 (50.76)		7.47**	20.80**	19.35**
精英樹 (43.29)	4.99		13.33**	11.88**
テーダマツ (29.96)	9.56	9.99		1.45ns
松島産 (31.41)	4.14	5.89	10.06	

表の上段は平均間差、下段は最小有意差 (LSD)。

平均生存率 () はプリスの変換値。

** : 1%水準の有意差有り。

本接種において、精英樹家系群が高い生存率を示した理由として、採種源の精英樹クローン集植所の材線虫病による被害状況からも説明できる。クローン集植所では1970年頃から材線虫病の被害が発生し、種子を採種した1989年時点のアカマツクローンの残存率は71%、個体の残存率は32.8%で、クロマツクローンの残存率は32.2%、個体の残存率は11.1%であった(森田ら 1991)。このことは先述の抵抗性クローンのオルテット家系が抵抗性を示したと似た状況であり、材線虫病によって自然淘汰された抵抗性個体の選抜が行われたことに起因したものと考えられる。

1992年の検定結果：1992年の接種検定結果を表-31に示した。生存率はアカマツ抵抗性家系が19.6～87.0の範囲で、88家系の平均は55.1%であった。また、クロマツ抵抗性家系の生存率は28.6～100%の範囲を示し、9家系の平均は48.3%となり、抵抗性候補木家系（15.9%）、精英樹家系（5.6%）に比べて約30～40%高い値であった。

3) 考 察

前述の3ヶ年の接種検定からいくつかの知見が得られた。まず、接種してから枯損するまでの推移は、接種年の環境あるいは検定材料による違いはあるが、症状の進行は同じ傾向を示した。すなわち、健全なマツに材線虫を接種して6～12日を経過するとマツに典型的な初期症状が現れる。外部特徴としては、前年葉が傘型に直線的に垂れ、脱色して萎凋症状を示す。幹は接種部位を中心に形成層が褐色化し、やがて赤褐色に変わり枯損する。枯損に至る早さは選抜家系では緩やかに、非選抜家系では急速に進む。こうした症状は樹種、家系に関係なく観察される。

次に、各年次とも抵抗性クローンならびに一次合格木など選抜が加わったものからの家系はテーダマツ以上の生存率を示し、明らかな選抜の効果が認められた。また、検定結果は年次によって異なる。

図-26に1992年と1993年の接種検定で共通する家系の生存率の相関関係を示した。一般的傾向として1993年の生存率の方が高いが、両年次間の相関係数は $r = 0.573$ と1%水準の有意であった。検定環境によって生存率は異なるが相対的な抵抗性には大きな変動のないことが示された。

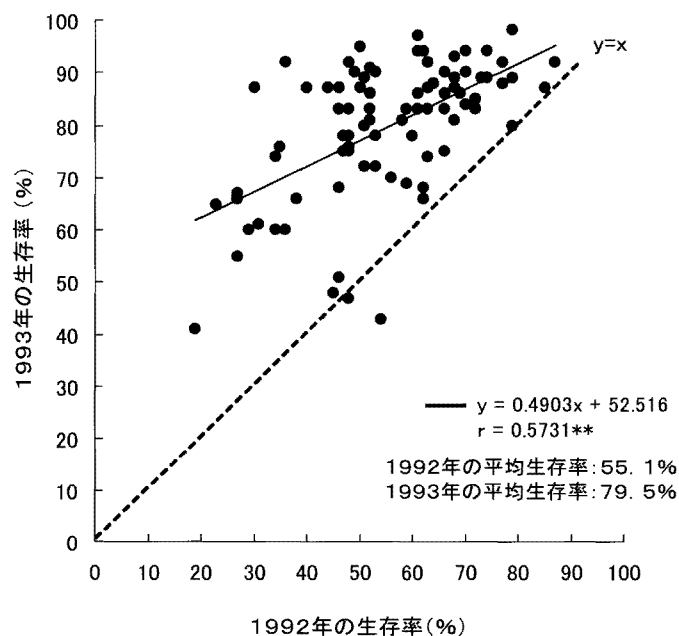


図-26 1992年と1993年の家系生存率の相関図

** : 1%水準の有意差有り

3ヶ年のテーダマツの生存率は、37.3～83.2%の範囲で年変動が大きかった。ここで用いたテーダマツは1988年に採取した種子を使用しているため遺伝的にはほぼ均一と考えられることから、テーダマツの年変動は各年の環境条件の違いを示していると判断され、抵抗性育種事業の検定においてテーダマツを対照として利用したことは妥当と考えられる。

材線虫病によるマツ林の枯損は気象条件などの環境要因によって変動するとされている（岸1988, 鈴木 1979）。また、本来マツ類は乾燥に強い樹種とされているが、降水量の年平均較差が大きいとマツは枯れ易く、ツバキやツツジなどの乾燥害が発生するような異常干ばつではそれを契機にマツの枯損は増加するとされている（竹下ら 1985）。特に接種検定における枯損は、接種前の乾燥より接種後の土壌水分の影響が大きいとされている（大山ら 1975a）。

先述のアカマツ抵抗性家系の生存率と降水量の関係では、生存率が1990>1991>1992年であり、接種前後の降水量の多少と一致した。また、九州育種区における国有林の松くい虫の被害量も人工接種による検定結果と同じ傾向を示した。そこで、同一年度に5本のテーダマツ母樹から採種した5家系の6年間の生存率と接種日の前後10日間の降水量との関係を調べた。その結果は図-27のとおりである。

両者の間には $r=0.894$ と1%水準で有意な相関係数が認められ、検定苗に小雨というストレス要因が付加されると（Suzuki and Kiyohara 1978）、一般的にマツの枯損は促進され、ある程度の抵抗性をもったものでも枯損しやすくなると考えられる。

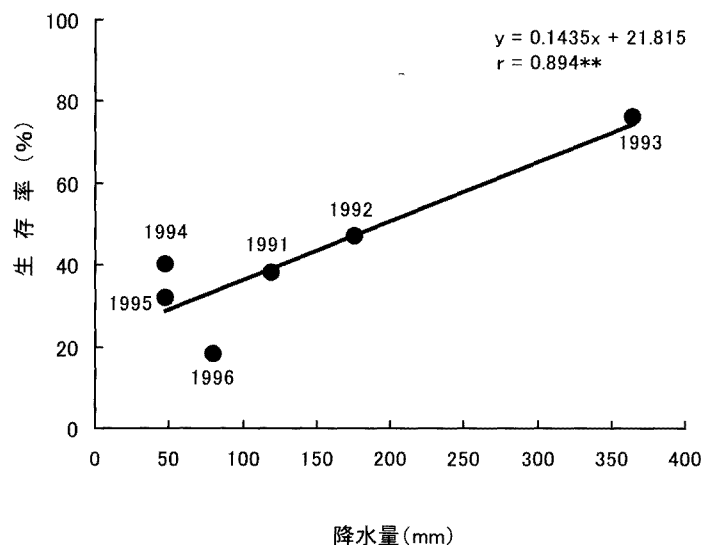


図-27 マツノザイセンチュウ接種前後の降水量とテーダマツの生存率の関係
降水量は接種日の前後10日間、計20日間の総降水量
**：1%水準の有意差有り

最近、接種検定における生存率と降水量の関係について、異論もあり（後藤・宮原2000）、一方、テーダマツの水分特性がアカマツ、クロマツと異なることも指摘されている（千吉良・戸田1995, 大山・川述1978, 大山ら1976）。樹種によるストレスに対する生理的な特性の違いが材線虫の発病機作に影響を及ぼしている可能性もある。

以上のようなことから、抵抗性クローン後代の抵抗性評価に際しては、環境要因を取り除くため9年間の各家系の生存率を樹種別に最小二乗法によって推定し、その値を家系の生存率として用い、表-34に示した。分析に用いた1家系当たりの本数は10~400本で、各家系のプロット数に違いがある。家系推定値（平均値）を用いて算出された反復率は0.82と著しく高いことから、抵抗性評価の信頼性は高いと考えられる。

家系生存率はアカマツが97.6~38.6%の範囲で、92クローンの平均は64.2%であった。また、クロマツは68.9

～37.6%で、16クローンの平均は52.7であった(表-34)。これは各種実験で用いた精英樹等、非選抜集団のアカマツ(47.9%)、クロマツ(12.5%)の平均生存率に比べて、それぞれ16%、40%高い値である。この九州育種場

表-34 最小二乗法で推定した抵抗性後代の生存率と評価

家系名	生存率	偏差値	評価	プロット数	家系名	生存率	偏差値	評価	プロット数	家系名	生存率	偏差値	評価	プロット数
国見ア31	97.6	3.14	5	1	太宰府ア4	67.7	0.33	3	11	宇和島ア39	53.6	-1.00	2	3
宮島ア54	83.1	1.78	5	4	赤坂ア88	67.7	0.33	3	5	熊山ア119	52.5	-1.10	2	5
吉備ア77	82.6	1.73	5	10	日生ア35	67.6	0.32	3	7	佐賀関ア113	51.9	-1.15	2	8
総社ア39	82.2	1.69	5	11	阿南ア55	67.4	0.30	3	9	西条ア8	51.7	-1.17	2	6
備前ア150	80.1	1.49	4	8	赤坂ア179	67.3	0.29	3	2	松島ア58	51.7	-1.18	2	11
有田ア49	79.1	1.41	4	13	久留米ア79	67.2	0.28	3	14	熊本ア63	51.7	-1.18	2	11
国見ア17	78.7	1.37	4	1	佐賀関ア170	66.6	0.23	3	13	佐賀関ア108	51.6	-1.19	2	11
大分ア204	77.1	1.21	4	10	赤坂ア216	65.9	0.16	3	9	太良ア122	51.3	-1.21	2	11
大分ア167	76.8	1.18	4	10	久留米ア18	65.8	0.15	3	13	須崎ア32	51.2	-1.23	2	6
鴨方ア29	76.6	1.17	4	6	赤坂ア163	65.7	0.14	3	10	宇和島ア18	50.7	-1.27	2	8
備前ア143	75.3	1.05	4	6	備前ア140	65.3	0.10	3	10	大分ア111	50.5	-1.29	2	10
岡山ア82	74.9	1.01	4	11	金光ア13	65.1	0.09	3	9	真備ア58	50.3	-1.31	2	10
備前ア137	74.5	0.97	4	11	松島ア70	64.8	0.06	3	10	大分ア166	48.7	-1.46	2	13
宇和島ア50	74.4	0.96	4	7	岡山ア132	64.5	0.03	3	11	大分ア269	48.5	-1.48	2	9
佐賀関ア165	74.2	0.54	4	11	南国ア5	64.2	0.00	3	5	久留米ア29	47.0	-1.62	1	11
国見ア53	73.4	0.87	4	10	大分ア142	63.2	-0.09	3	11	須崎ア27	45.8	-1.73	1	9
高松ア1	73.1	0.83	4	8	久留米ア142	63.1	-0.11	3	10	有明ア7	45.7	-1.74	1	12
本渡ア1	72.7	0.80	4	8	大分ア137	62.7	-0.14	3	10	佐賀関ア93	45.3	-1.78	1	10
真備ア70	72.4	0.78	4	11	田辺ア52	62.6	-0.15	3	4	新居浜ア10	45.2	-1.78	1	6
備前ア40	72.4	0.77	4	8	久留米ア144	62.4	-0.17	3	12	大分ア168	38.6	-2.41	1	6
大分ア186	72.2	0.76	4	12	備前ア66	62.0	-0.21	3	10	波方ク73	68.9	1.75	5	13
岡山ア88	72.1	0.75	4	11	宇和島ア21	62.0	-0.21	3	3	土佐清水ク63	61.1	0.91	4	6
須崎ア31	71.9	0.73	4	5	熊本ア16	61.9	-0.22	3	10	小浜ク24	60.9	0.88	4	12
佐賀関ア132	70.9	0.63	4	11	山陽ア6	61.8	-0.22	3	10	三崎ク90	60.6	0.85	4	13
久留米ア118	70.9	0.63	4	7	姫路ア232	61.8	-0.23	3	6	波方ク37	60.4	0.83	4	12
佐賀関ア134	70.8	0.62	4	10	由岐ア25	61.1	-0.29	3	8	吉田ク2	57.3	0.49	3	8
熊山ア25	70.0	0.55	4	11	延岡ア219	59.5	-0.44	3	7	志摩ク64	56.8	0.44	3	17
笠岡ア124	69.7	0.52	4	10	笠岡ア178	58.9	-0.50	3	9	津屋崎ク50	55.9	0.34	3	10
熊山ア39	69.7	0.52	4	12	大分ア173	58.4	-0.55	2	11	夜須ク37	50.6	-0.22	3	7
佐賀関ア84	69.6	0.51	4	6	佐賀関ア162	58.1	-0.57	2	8	三豊ク103	50.4	-0.25	3	9
岡山ア85	69.3	0.48	3	8	阿南ア34	58.1	-0.58	2	1	小浜ク30	49.6	-0.34	3	8
久留米ア78	69.2	0.47	3	11	佐賀関ア118	57.7	-0.61	2	12	田辺ク54	47.1	-0.61	2	15
佐賀関ア126	68.9	0.45	3	10	新居浜ア7	56.9	-0.69	2	12	穎娃ク425	44.2	-0.92	2	9
金光ア25	68.5	0.41	3	5	佐賀関ア90	56.8	-0.69	2	10	大分ク8	43.6	-0.98	2	10
大分ア198	68.2	0.38	3	12	備前ア21	55.7	-0.80	2	9	川内ク290	38.5	-1.54	1	15
大分ア203	68.0	0.36	3	13	佐賀関ア117	53.3	-0.98	2	14	大瀬戸ク12	37.6	-1.64	1	11
大分ア198	68.2	0.38	3	12	備前ア21	55.7	-0.80	2	9	川内ク290	38.5	-1.54	1	15

平均生存率：アカマツ64.2±10.62

クロマツ52.7±9.26

本表は1990年～1998年に抵抗性アカマツ延べ860家系、105,736本、同クロマツ延べ197家系、57,114本の接種検定結果をもとに最小二乗法によって推定した生存率である。偏差値は推定生存率の平均値及び標準偏差を使って算出した。プロット数は接種検定のプロット総数である。クロマツは福岡、佐賀、熊本、鹿児島郡のデータも使用した。

(熊本県菊池郡)の生存率を用いて、関西育種場(岡山県勝田郡勝央町)での接種検定結果との関係を図-28に示した。関西育種場では、クロマツで生存率がやや高い傾向が見られるが、両育種場間の相関係数は0.64と1%水準で有意な相関が認められ、表-34に示した抵抗性後代の九州での評価は、関西においても活用できると考えられる(戸田2002)。

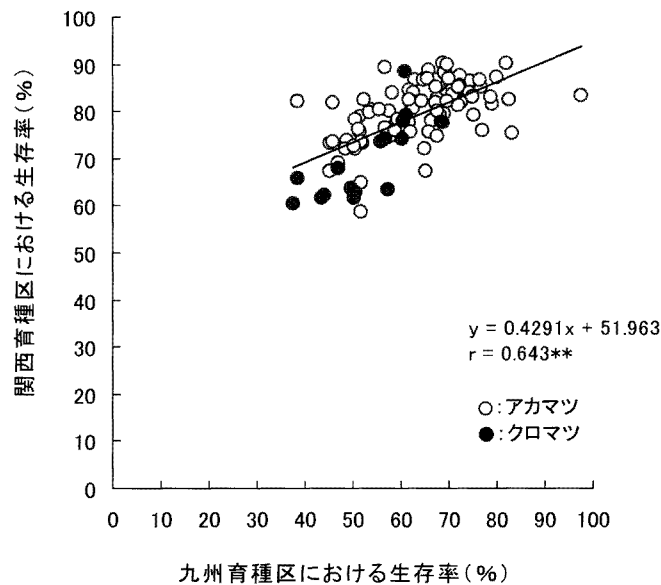


図-28 九州育種場（熊本）と関西育種場（岡山）の接種鑑定結果（%）
九州育種場1990～1998，関西育種場1992～1999年の接種検定結果の最小二乗値
**：1%水準の有意差有り

アカマツでは、27家系の生存率が70%以上を示し、これらの家系の平均生存率は74.4%であった。この値はこれまでの平均値より約10%高い。このことから抵抗性マツの生産においては、アカマツは生存率が70%以上の家系のみを用いるのが効果的と考えられる。クロマツは全ての抵抗性クローン数が16クローンと少ないので、アカマツのような戦略はとれない。クロマツ抵抗性クローンには第II章第4節で論述したように、雌花を着花しない2クローンが存在する。これに生存率が平均以下の8クローンを加えた10クローンを除くと実質的に使用できるものはわずかに6クローンとなる。これらのクローンにより採種園を造成すると自殖率の上昇、それに伴う抵抗性の低下（戸田ら1997a）を引き起こす恐れがある。さらに重要なことは、遺伝的な偏りから生ずる次世代への影響ならびに抵抗性の多様性が大きく狭まるなどの問題もある。したがって、クロマツ抵抗性個体の追加選抜が行われるまでの間、既存の抵抗性採種園から生存率の高い家系を選択的に活用する方法が考えられる。

一方、抵抗性マツの生産では、苗畑における人工接種検定を経るため、接種後の残存率は生産性（苗木生産者の収支）を直接左右する。すなわち、検定年の検定強度が強ければ一定の抵抗性をもった個体でも枯損するが、検定強度が弱ければ一定の抵抗性をもった個体以外にも生き残るものが出てくる。

検定強度の強弱によって接種後の病状発現に明らかな違いが観察される。すなわち、検定強度が強い場合には、個体のもつ抵抗性以上に枯損し、普通は部分枯れで止まる個体でも枯損にまで進行する。また、検定強度が弱い場合には健全個体の割合は多くなり、一定の抵抗性レベルに達していない個体でも部分枯れで止まる。前者は健全率と生存率の差が縮まり健全率≒生存率となり、後者は健全率<生存率となる。図-29に1990～1992年の3年間の接種検定の健全率と生存率の関係を示した。

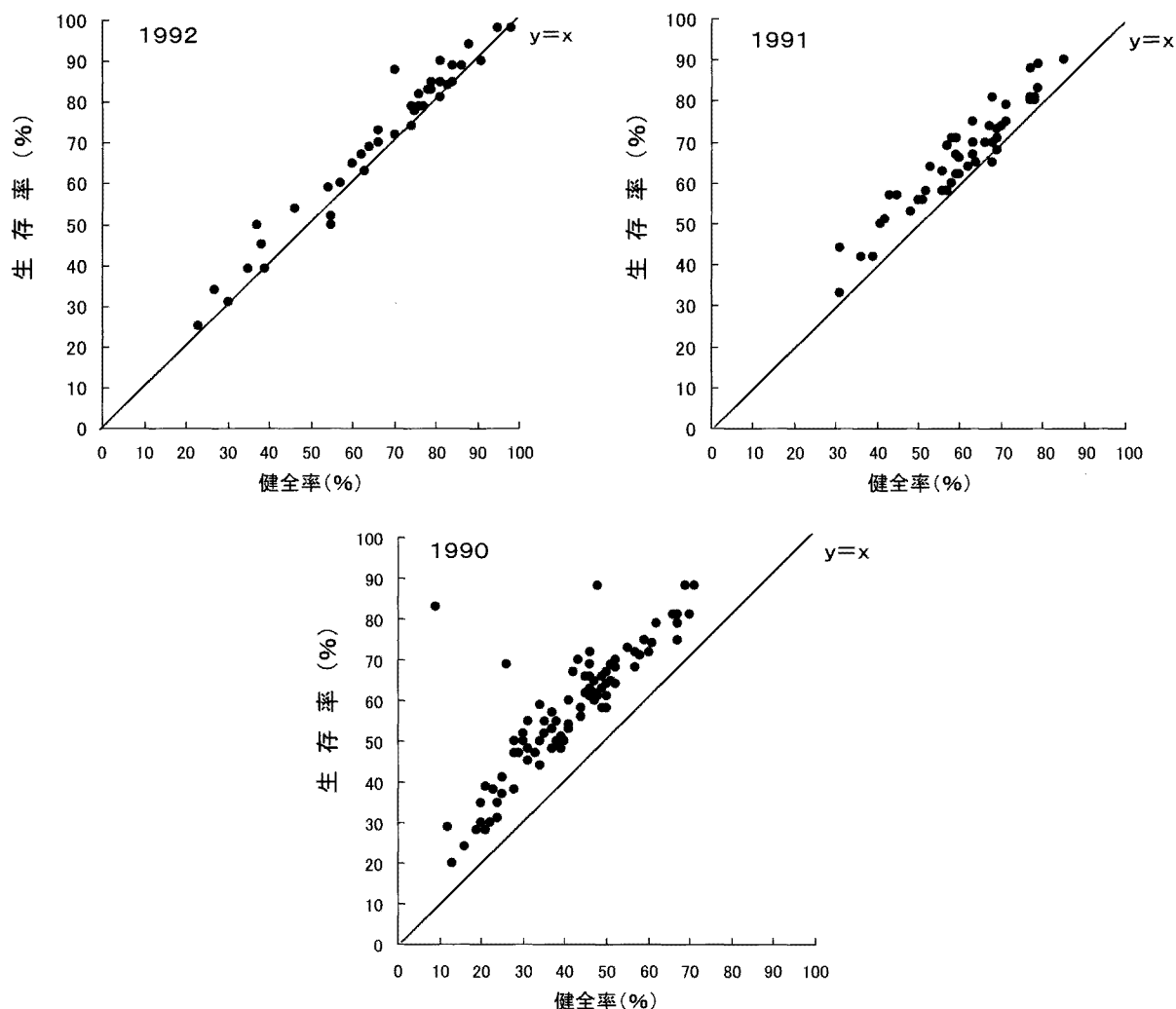


図-29 人工接種検定における健全率と生存率の関係

X軸に健全率、Y軸に生存率とした本図において、検定強度が強ければ対角線近傍に沿ってプロットされ、1991年、1992年がこれにあたる。対照のテーダマツの3年間の健全率と生存率は、1990年は健全率83.2%、生存率は87.6%、1991年ではそれぞれ27.9%、37.3%、1992年は2.4%、46.7であった。このことから1990年の検定強度は弱いといえる（表-31）。各年の検定強度は抵抗性マツの品質に影響する。すなわち、検定強度が強い検定年には抵抗性の高い「抵抗性マツ」が生産されるが、検定強度の弱い検定年には抵抗性の弱い抵抗性マツが生産される可能性もある。このため、苗畑における検定強度の許容範囲についても検討する必要があるので、苗畑検定の有効性については第三章で論述する。

第9節 接種検定で生き残った苗（抵抗性マツ）の抵抗性

人工接種検定でスクリーニングされた苗畑の抵抗性は高く、造林地においても抵抗性を発揮するものと期待されている。九州育種場では、造林地の適応性を明らかにするため、材線虫病の被害跡地に抵抗性マツを用いた次代検定林および現地適応実験地を設定し、造林活着率、生存率、成長について調査を進めているが、設定して日

が浅いこともあり、造林地における抵抗性など造林諸特性についてはまだ明らかではない。本節では苗畑の接種検定で生き残った個体の抵抗性を確認するため、材線虫の人工接種を連続して行い、苗畑におけるスクリーニング効果について検討し、1回目の接種で生き残った苗木の抵抗性について検討して考察を行った。

1) 材料および方法

供試材料は表-35に示したように、クロマツ（雌親）×アカマツ（雄親）の種間交雑12家系と雌親に用いたクロマツの自然受粉3家系である。種間交雑は雌親に抵抗性育種事業において西日本から選抜されたクロマツ候補木7クローンと精英樹2クローン、雄親にはアカマツ精英樹日出107、西諸県102の2クローンをを用い、これらによる交雑12組合せである。雌親の候補木7クローンの中、大分ク45、大分ク56、津屋崎ク158の3クローンは、一次検定は合格したが、二次検定で不合格となったクローンである。また、雌親に用いた候補木の佐賀ク45と精英樹肝属11、川辺39の自然受粉家系を対照として用いた。

1回目の接種は、1987年7月に線虫を苗木1本当たり5,000頭を行った。その生存苗に対し、1988年7月に苗木1本当たり20,000頭を剥皮接種法で2回目の接種を行った。両者ともアイソレート島原を用い、接種後60日目に生存状況を調査した。

表-35 材線虫接種後の残存苗の抵抗性

家 系 名		1 回目接種 (1987年)			2 回目接種 (1988年)		
雌親 (クロマツ)	雄親 (アカマツ)	個体数 (本)	健全率 (%)	生存率 (%)	個体数 (本)	健全率 (%)	生存率 (%)
補 佐 賀ク45 × 精ア	日 出107	30	86.7	100.0	30	76.7	96.7
補 佐 賀ク45 × 精ア	西諸県102	45	51.7	93.3	40	70.0	97.5
補 岡 垣ク29 × 精ア	日 出107	108	78.7	80.6	77	92.2	100.0
補 有 徳ク28 × 精ア	日 出107	9	100.0	100.0	9	88.9	100.0
補 大 在ク17 × 精ア	日 出107	15	86.7	100.0	15	73.3	86.7
*補 大 分ク45 × 精ア	日 出107	6	100.0	100.0	6	83.3	100.0
*補 大 分ク56 × 精ア	日 出107	18	88.9	100.0	18	88.9	100.0
*補 津屋崎ク158 × 精ア	日 出107	6	100.0	100.0	5	80.0	100.0
候補木交雑家系平均		237	77.6	92.4	200	83.0	98.0
精ク 肝 属11 × 精ア	日 出107	13	84.6	100.0	11	81.8	100.0
精ク 肝 属11 × 精ア	西諸県102	49	32.7	51.0	24	66.7	100.0
精ク 川 辺39 × 精ア	日 出107	117	60.7	66.7	75	88.0	100.0
精ク 川 辺39 × 精ア	西諸県102	61	16.4	49.2	23	60.9	100.0
精英樹交雑家系平均		240	45.0	60.8	133	78.9	100.0
補 佐賀ク45自然受粉		293	37.5	46.8	103	55.3	89.3
精ク 肝 属11 //		122	19.7	28.7	27	48.1	96.3
精ク 川 辺39 //		450	8.4	12.7	50	30.0	92.0
精英樹自然受粉家系平均		865	19.9	26.5	180	46.1	91.1

補 : 抵抗性育種事業で選抜された候補木 (* 印は一次検定合格木)。

精ア : 精英樹選抜育種事業で選抜されたアカマツ精英樹。

精ク : 精英樹選抜育種事業で選抜されたクロマツ精英樹。

本実験のように同一個体に連年接種をした場合、誘導抵抗性（清原1982, 1983, 1984, 1985）の影響もあると考えられたため、別の実験結果も用いて検討した。この実験の供試材料は熊本市立田山に生育するアカマツ13個体から採種して養苗した2年生苗を用いた。1980年に苗畑の接種検定（線虫島原:苗木1本当たり5,000頭）で生き残った苗木に対して、毎年線虫接種頭数を増やししながら、1981年（3年生）～1984（6年生）年の5年間、連

続接種を行った。その後 7 年間接種を中断し、1992 年（14 年生）に再び接種した。

2) 結果と考察

表-35から明らかなように、1 回目の接種では候補木と精英樹間の交雑家系群の平均健全率は77.6 (51.7~100) %、生存率は92.4 (80.6~100) %であった。一方の精英樹間の交雑家系群のそれは、各々 45.0 (16.4~84.6) %、60.8 (49.2~100) %を示し、健全率および生存率とも選抜を経たものを雌親に用いた方が高い値であった。また、両群の種間交雑家系の健全率および生存率の値は、精英樹自然受粉家系群よりも高く、種間交雑による抵抗性の向上が認められた。第 2 回目の接種では精英樹自然受粉家系の生存率が平均で91.1%と若干低くなったが、他の種間交雑家系群の生存率は極めて高く (98.0%, 100%), 1 回目の検定の信頼性の高さが裏付けされた。

表-36に立田山産の13家系を用いた材線虫の連年接種実験の結果について、接種年別、接種頭数別の健全率および生存率を示した。

表-36 立田山産13家系の連年接種による健全率及び生存率の推移

接種年	樹 齢	接種線虫頭数 (頭)	接種対象個体数 (本)	健全率 (%)	生存率 (%)	備 考
1980	2	10,000	1,680	30.8	69.9	苗畑検定
1981	3	10,000	478	80.8	81.0	試験地検定
1982	4	50,000	383	95.3	100.0	//
1983	5	150,000	383	20.9	23.2	//
1984	6	200,000	83	75.5	85.5	//
1992	14	400,000	19	73.7	73.7	//

各年 7 月下旬接種。

1992 年の接種数が少ないのは、1989 年の間伐による減少。

1980 年の 1 回接種時点の生存個体は、1980~1982 年の接種検定においても高い生存率を示した。しかし、150,000 頭を接種した 1983 年には、著しい生存率の低下が認められた。1984 年に 200,000 頭を接種したが生存率の低下は認められなかった。8 年後の 1992 年に 400,000 頭を接種した時の健全率は 73.7% であった。1992 年はアカマツ精英樹クロンが大量に枯損するなどきびしい環境にあったにもかかわらず生存率が高かったのは、連続接種によって抵抗性の高い個体の集積が進んでいたことによるものと考えられる。なお、本実験のような連続（年）接種では、誘導抵抗性や順化など、マツ側の材線虫病に対する適応力が高まることも考えられるが、ここでは明らかに出来なかった。しかし、先述のように、150,000 頭接種で生存率が著しく低下したことは、抵抗性マツであっても極端に大量の材線虫が侵入した場合は枯損する可能性が増大することを示唆するものであり、抵抗性マツの造林地ではカミキリの密度低下に配慮する必要がある。

第10節 材線虫の侵入に対する組織学的反応

抵抗性マツの選抜、作出に際しては、材線虫病の発病・枯死機構について、抵抗性要因と関連させて解明する必要がある。これまでに行われたこの種の研究は、材線虫の侵入に対する感受性マツの反応を対象としたもので (Mamiya1983)、クロマツとアカマツの抵抗性家系を用いた研究は行われていない。

本節では材線虫病抵抗性の異なるアカマツとクロマツ家系を用いて、材線虫接種後の侵入を組織・解剖学的特

徴を明らかにした。

1) 材料および方法

供試材料は表-37に示したように、抵抗性育種事業における一次合格木および抵抗性クローンから採種して育成した実生3年生苗の中から、抵抗性の強い家系として佐賀関ア165（アカマツ）と佐世保ク17（クロマツ）を、弱い家系として備前ア66（アカマツ）と岡垣ク29（クロマツ）の4家系を供試材料として選定した。1991年7月にこれらの苗木に線虫アイソレート島原（苗木1本当たり、5,000頭）を剥皮接種法で接種した。9月中旬に各家系で生き残った個体のうち5個体について以下の2点を観察した。

表-37 供試材料の家系生存率

樹 種	家 系	接種本数	生存率(%)	備 考
クロマツ	【強】 佐世保ク17	18	72.2	一次合格木家系
	【弱】 岡垣ク29	77	14.3	//
アカマツ	【強】 佐賀関ア165	28	85.7	抵抗性家系
	【弱】 備前ア66	70	31.8	//

【 】は抵抗性の程度。

1) 材線虫病罹病木が示す病徴の1つとして、木部の通水性低下が知られている (Ikeda and Suzuki 1984)。ここでは、染色法により、通水性を定性的に評価した (Ikeda 1993)。つまり、供試マツの幹の接種部位を含んだ節間を切断し、それを水平に保って地際側切断面から0.1 μ mフィルターで濾過した0.1%サフラニン染色液を供給した。もう一方の切断面からサッカードで吸引し、染色液が試料中を流れるようにした。この操作を30分続けた。その後、横断方向に試料を切断し、木口面の染色状況を観察した。なお、この方法では、通水の行われている部位は赤く染まり、行われていない部位は染まらない。

2) 通水性を調べた試料の上下から組織・解剖学的観察のための試料を採取し、直ちにFAA溶液で固定した。固定した試料は水洗、アルコールシリーズによる脱水の後、パラフィン包埋し、スライドミクロトームで約15 μ m厚の切片を作製した。切片をサフラニン・ファストグリーンで二重染色し、光学顕微鏡で観察した。なお、組織・解剖学的観察用の試料を採取するに当たっては次のことに留意した。採取しようとする部位の上下をカッターナイフで約1mm幅剥皮し、木部を露出させ、その部分を鋸で切断した。こうすることで、切断に伴う組織の乱れを防止した。

2) 結果と考察

観察の結果を写真-1に示した。材線虫を接種して生き残った個体では、接種部位から髄方向にかけてサフラニンによる染色が見られず、通水が停止していた (写真1-1)。その部分に含まれる軸方向柔細胞やエピセルーム細胞は消失し (写真1-2矢印)、放射柔細胞も変色していた (写真1-2)。その反対側で通水が行われている部位でもエピセリウム細胞周囲の軸方向柔細胞のごく一部に変成が見られた (写真1-3矢印)。さらに、線虫接種部位から離れた木部でも髄周辺の中央付近は通水が停止し (写真1-4)、その部分のエピセリウム細胞周囲の軸方向柔細胞や放射柔細胞に部分的な変成が見られた (写真1-5矢印)。通水が行われている部位の形成層や柔細胞に変化はなかった (写真1-6)。このような結果は、供試した4家系すべてで確認された。

以上のことから、材線虫病に強い抵抗性を有するマツといえども材線虫の侵入による影響を受け、木部の一部がエンボリズムをおこして通水機能を失ったり、柔細胞の破壊や変成を起こしていることがあきらかになった。これらの結果は、弱病原性アイソレートを感受性マツに接種し、生き残った個体で観察された結果 (Fukuda *et al*, 1992, Ikeda 1993) と類似している。つまり、材線虫が侵入しても枯損しないマツには次の三つの現象が共通して認められる。

- 1) 髄を中心とした木部中央部で通水が停止するが、木部周辺では通水阻害はおこらない。
- 2) 通水の停止した木部の柔細胞は部分的に変成する。
- 3) 通水の停止していない木部の柔細胞ならびに形成層には変化がない。

一方、材線虫の侵入によって枯れたマツでは、木部全体の通水の停止ならびに柔細胞や形成層の変成、破壊が起こる (Fukuda *et al* 1992, Ikeda 1993, Ikeda and Suzuki 1984, Kuroda *et al* 1988, Kusunoki 1987, Myers 1986)。これらを総合すると、上述した三つの現象で病徴の進行が停まることが抵抗性マツの特徴と考えられる。

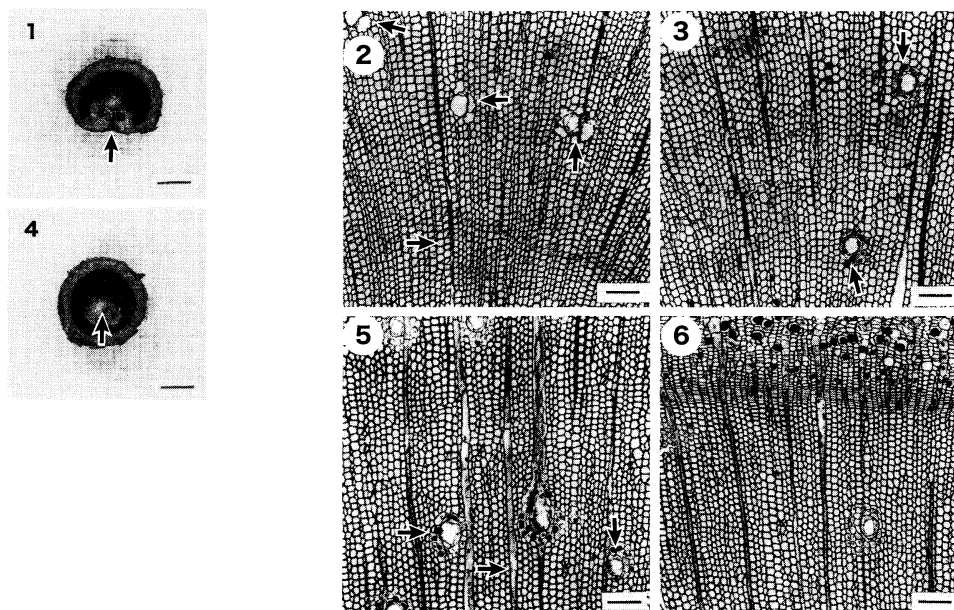


写真-1 材線虫接種後の細胞組織の変化 (—: 100 μ m)

第三章 次世代のマツ材線虫病抵抗性育種の開発に関する研究

第1節 はじめに

マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業は1984年に終了し、選抜された抵抗性クローンはつぎ木増殖され、それらで造成された抵抗性採種園では、現在、成熟期を迎えて本格的な種子生産が行われている。九州地域では、抵抗性マツを生産している全ての森林組合および種苗組合などにより、苗畑検定が実施され、「接種検定済苗」が生産され固有のネーミングで配布・造林されている。

しかしながら、抵抗性後代の遺伝率や選抜効果については完全には明らかにされていない。また、市販されている抵抗性マツは、苗畑での接種検定によって生産されているが、その検定の有効性や抵抗性マツ造林地における抵抗性の検証は十分とは言えない。特に苗畑での接種検定の選抜の有効性は市販される抵抗性マツの抵抗性レベルに影響することから、その検証を急ぐ必要がある。しかし、この種の分析ではデータを収集するまでに、相当長い年月がかかるため、これまでに行われた報告はない。

一方、抵抗性クローンの抵抗性要因ならびに自然界における材線虫の病原力も一様でないことから、選抜育種においては、特定の遺伝子型に偏ることのないよう変異幅を拡大する必要がある。そのためには、抵抗性クローン間の交配によって複数の抵抗性要因を合わせもった個体の作出を図る必要がある。

第三章では、抵抗性マツの普及化を円滑に進めるために、抵抗性後代の抵抗性について統計遺伝学的な分析を行うとともに、造林地での抵抗性の発現と苗畑での接種検定の結果を分析して、苗畑における接種検定の有効性について検討し、考察を行った。

第2節 抵抗性クローンの後代抵抗性の確認

マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業によりアカマツ92クローン、クロマツ16クローンが材線虫病に対してテダマツ以上の抵抗性を有するクローンとして選抜された。これらのクローン苗を用いて造成された抵抗性採種園数は、1998年現在、1府25県にアカマツ18箇所、クロマツ23箇所、合計41箇所(20.75ha)となっている(林野庁林木育種センター、2000)。ここで生産されている抵抗性マツ苗の生産量は、関西育種区と九州育種区を含めるとアカマツが39千本～234千本、クロマツが19千～175千本と増加傾向で推移しており、これらは主に海岸保安林の修復や公共事業などの造林に供されている(戸田1996, 戸田・寺田2001)。

抵抗性クローンの諸特性については、第II章において述べたように、成長、着花性、実生後代などの評価が行われてきたが、抵抗性マツの材線虫に対する抵抗性に関して、これまで統計遺伝学的評価はされていない。

(1) 抵抗性クローンの後代から確認された実現選抜効果

抵抗性後代の材線虫抵抗性について、九州育種場で10年間にわたり実施してきた苗畑における接種検定の結果から評価した。さらにその実現された選抜効果や家系変異をもとにこの事業の将来の展開方向について検討した。

1) 材料および方法

抵抗性クローンの後代抵抗性は材線虫接種検定結果(生存率)を分析して評価した。この分析には表-38に示し

たように、1984～1997年に九州育種場で実施した苗畑での自然受粉家系への接種実験による生存率を用いた。接種検定に用いた家系は年によって異なるが、対照として遺伝的にほぼ均一なテグマツ家系を用いている。抵抗性後代に関しては、アカマツは1990年から、クロマツも1992年から接種検定を開始した。これら抵抗性後代のほとんどは、先述のクローン集植所から採種した自然受粉家系である。非選抜集団は、材線虫病の被害が深刻化する以前の1950年代に選抜された精英樹の自然受粉後代である。

この自然受粉後代を用いた材線虫病の抵抗性検定は、先述した接種方法を用いて毎年繰り返された。各家系はプロット当たり10～60本を乱塊法の3回繰り返して実験した。接種検定は実生2年生苗に線虫アイソレート島原(苗木1本当たり5,000頭)を剥皮接種法で接種した。生存率は接種後3ヶ月目に生存個体を調査して求めた。

表-38 1984年から1997年までの接種検定に用いた家系数と平均生存率

接種検定年	全 体		アカマツ				クロマツ				テグマツ(対照)	
			選抜集団		非選抜集団		選抜集団		非選抜集団			
	家系数	生存率	家系数	生存率	家系数	生存率	家系数	生存率	家系数	生存率	家系数	生存率
1984	31	0.59			17	0.71			9	0.39	5	0.44
1985	52	0.21			15	0.36			37	0.15		
1990	58	0.60	42	0.68					11	0.15	5	0.88
1991	80	0.60	50	0.66	25	0.52					5	0.37
1992	101	0.55	86	0.57			8	0.48	2	0.06	5	0.47
1993	112	0.76	89	0.80	2	0.54	10	0.69	6	0.20	5	0.77
1994	96	0.58	79	0.60	5	0.34	6	0.62	1	0.55	5	0.41
1995	38	0.50	30	0.55			3	0.33			5	0.30
1996	94	0.37	77	0.40			14	0.28			3	0.16
1997	99	0.68	78	0.71			12	0.47				
平均生存率 (%)	0.58		0.62		0.55		0.47		0.22		0.46	
	(58)		(62)		(55)		(47)		(22)		(46)	

プロット毎の生存率はアークサイン平方根変換し、分散分析に用いた。各年に接種検定を行った家系は異なるので、以下の線型モデルにしたがって最小二乗法を用いた分散分析を行った (Harvey1979)。

$$y_{ijk} = \mu + Y_i + R/Y_{ij} + F_k + Y^*F_{ik} + e_{ijk} \quad \text{--- (1) .}$$

y_{ijk} は変換したi年次におけるk番目の家系のjプロットでの生存率。 μ , Y_i , R/Y_{ij} , F_k , Y^*F_{ik} , e_{ijk} は、それぞれ集団平均、年次効果、反復効果、家系効果、年次×反復の交互作用、実験誤差を表す。

各家系の抵抗性は、分散分析の際に求めた最小二乗推定値で評価した。この推定精度を確認するために、以下の式で家系平均値の遺伝率 (h_f^2) を計算した (Zobeland Talbert1984)。

$$h_f^2 = \sigma_f^2 / [\sigma_f^2 + \sigma_{yf}^2 / y + \sigma_e^2 / (y \times r)] \quad \text{--- (2) .}$$

ここに、 σ_f^2 , σ_{yf}^2 , σ_e^2 は、家系分散、年次と家系の交互作用分散、実験誤差分散を示し、 y と r は家系当りの実験年数と反復数を表す。

2) 結 果

10年間の接種実験による各年次の生存率の平均値を表-38に示した。全体の平均生存率は0.58となるが、年によって0.21～0.76と値は変動している。これは、接種実験が苗畑で行われたため、接種年次の環境条件の違いに

よる影響と考えられる。生存率の違いは樹種によって異なるとともに、選抜・非選抜集団の間でも違いが認められた。選抜集団の生存率は全期間を通じて非選抜集団の生存率よりも高かった。

表-39 10年間のマツノザイセンチュウ接種検定結果の分散分析表

要 因	自由度	平均平方	期待成分
年	9	4.3219	
反復/年	16	0.1344	
家系	210	0.2561**	$\sigma_e^2 + 2.37\sigma_{yf}^2 + 9.09\sigma_f^2$
年×家系	539	0.0443**	$\sigma_e^2 + 2.62\sigma_{yf}^2$
誤差	1,159	0.0195	σ_e^2

計算にはアークサイン平方根変換したデータを用いた。

**：1%水準の有意差有り。

全期間10年間を通じての分散分析結果を表-39に示した。年と家系との交互作用にも有意差は認められたが、家系間差にきわめて高い有意差が認められるとともに式(2)で求めた家系平均値の遺伝率は0.836と高かった。これは、交互作用分散($\sigma_{yf}^2=0.0094$)が家系分散($\sigma_f^2=0.0236$)の半分以下の大きさであったのに加えて、その影響が遺伝率を計算する際には式(2)の分母のように年次の繰り返しによってさらに小さくなるためである。特に、選抜集団のアカマツやクロマツの平均検定回数はそれぞれ5.9、3.6となることから、この交互作用の影響は小さいと言える。したがって、抵抗性後代の家系別推定値は、各母樹の遺伝的抵抗性を評価するのに十分な精度を有しているとみなすことができる。一方、非抵抗性集団の各家系推定値は、平均検定回数がアカマツ、クロマツともに1.3と少ないので、選抜集団に比べ精度が高いとは言えない。しかし、両樹種ともに50家系以上の家系が供試されているので、それぞれの非選抜集団の平均的な抵抗性レベルを見るのには十分であると考えられる(表-40)。

表-40 抵抗性マツ後代で確認されたマツノザイセンチュウ抵抗性の選抜効果

樹 種	選抜集団		非選抜集団		実現選抜効果(%)
	生存率(%)	家系数	生存率(%)	家系数	
アカマツ	0.650 (65.0)	91	0.473 (47.3)	50	0.177 (17.7)
クロマツ	0.514 (51.4)	14	0.166 (16.6)	51	0.348 (34.8)
テーダマツ(対照)			0.474 (47.4)	5	

アカマツの選抜集団では非選抜集団に比べて生存率(実現選抜効果)が0.177(約18%)増加している。選抜集団と非選抜集団の苗畑生存率の家系頻度を図-30に示した。両集団の抵抗性レベルの違いは頻度分布からも明らかである。しかし、両集団の分布は一部が重複している。これは、前述の交互作用の影響により非選抜集団の分布が拡大したためと考えられる。いずれにせよ、現在のクローン採種園から後代の抵抗性が劣る親クローンを除去することによって、採種園産種子の抵抗性レベルを更に向上させることが可能である。

クロマツの選抜集団の苗畑生存率は、非選抜集団に比べて0.348(約35%)増加した(表-40)。この増加量はア

カマツに比べてはるかに大きいと言えるが、クロマツの選抜集団の平均生存率はアカマツのそれに及ばない。これはクロマツの樹種レベルでの抵抗性が図-30示すようにL字型の分布となり、アカマツに比べてはるかに低いためである。クロマツの選抜結果での問題点は、選抜集団の規模が余りにも小さく、今後更に選抜と検定を繰り返すには不十分な点である。

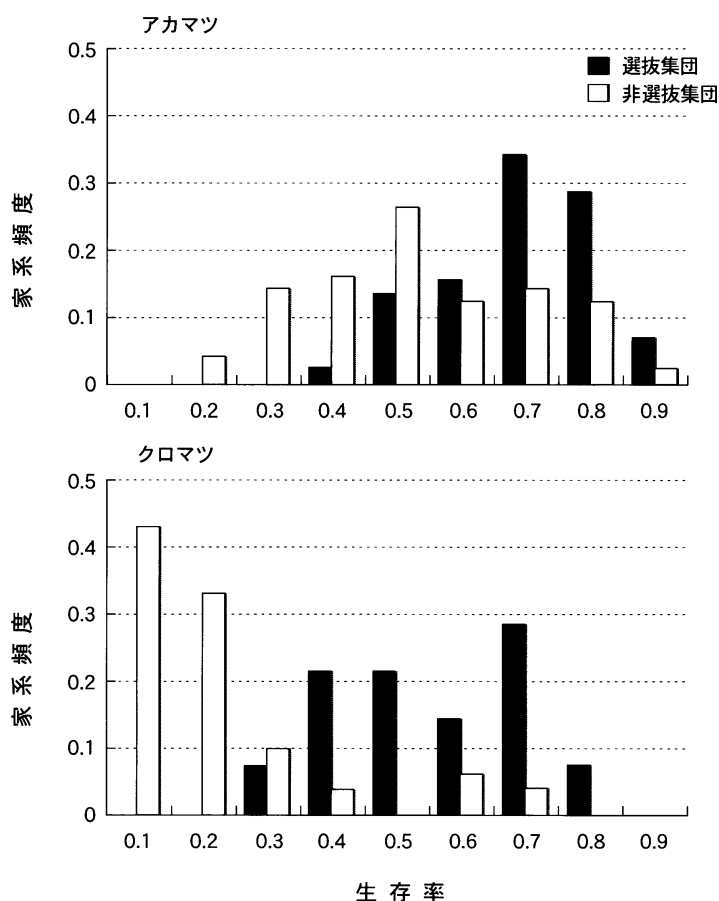


図-30 マツノザイセンチュウ接種検定における稲畑生存率の家系頻度

3) 考 察

以上のことから、つぎ木クローンを用いて接種検定によって選抜した抵抗性アカマツおよびクロマツの後代は、当初目標としたテダマツ並の材線虫病抵抗性を示すことが明らかとなった。樹種レベルで比較的高い抵抗性を持つアカマツでは、クロマツに比べて比較的容易に目的とする抵抗性の改良を達成でき、選抜された集団はさらに改良できる余地を残していた。一方、クロマツでは、目標とする抵抗性レベルを達成ことはきわめて厳しかった。クロマツにおいても目標とする抵抗性レベルを達成することには成功したが、選抜された集団の規模は小さく、さらなる改良が困難な状況である。

(2) 苗畑での人工接種によるクロマツのマツ材線虫病に対する遺伝的な改良効果の評価

クロマツ15クローンの自然受粉後代に対して、6年間にわたり九州育種場の苗畑での接種検定を繰り返して抵抗性を確認するとともに、苗畑での接種検定による予備スクリーニングにより有効と考えられる生存率の範囲に

について検討した。

造林用抵抗性マツの供給にあたっては、抵抗性が不十分な個体を事前に除去する目的で、苗畑で材線虫の接種検定が広く行われている。抵抗性が不十分な苗木は、抵抗性採種園に用いられている抵抗性クローンの抵抗性レベルが必ずしも同じでないため、苗木の遺伝的組成にバラツキがあることや、採種園外部からの非抵抗性個体の花粉の汚染によって、抵抗性が不十分な苗木が生じるものと考えられる。しかし、実際には苗畑での接種検定による生存率は各年の気象条件によって大きく異なる（戸田1997）。この生存率の違いは、抵抗性マツ苗の生産経費と人工接種による抵抗性の改良の程度に影響を与え得ると言える。しかし、これまでにこのような予備的なスクリーニングの有効性について検討された報告はない。

抵抗性育種の分野では、データが「1」か「0」で表される閾値形質を2項データとして分析して個体遺伝率が推定されている（Sonand Goddard 1979, 明石ら1991）。スラッシュマツの紡錘さび病罹病率（Son and Goddard 1979）とアカマツの材線虫検定における生存率（明石ら1991）でも、実現された選抜効果が計算された遺伝率とよく適合することが確かめられている。さらに、前者の報告では、遺伝率自体が罹病率によって変化することも報告されている。

本節では、6年間の接種検定の結果を2項データとプロット平均生存率の両方で分析した。その分散の推定値を平均生存率に回帰させて遺伝率と罹病率との関係を確認した。そして、山出し前の人工接種による改良効果を予測して、十分な改良効果が期待できる生存率の範囲、いわゆる苗畑における接種検定での有効な生存率の範囲について明らかにした。

1) 材料および分析方法

分析したデータは、九州育種場の苗畑で6年間（1993～1999年）にわたり実施した接種検定の結果である。接種検定に用いた実生苗は抵抗性クロマツ16クローンが植栽されている先述のクローン集植所から採種した自然受粉後代である。表-41に接種検定に用いた16家系の年次別供試本数を示した。

表-41 マツノザイセンチュウ接種検定に用いた抵抗性クロマツ16クローンの自然受粉後代の年次別供試本数一覧表

番号	家系名	接種検定年											
		1993		1994		1996		1997		1998		1999	
		プロット 数	平均本数 (本)	プロット 数	平均本数 (本)	プロット 数	平均本数 (本)	プロット 数	平均本数 (本)	プロット 数	平均本数 (本)	プロット 数	平均本数 (本)
1	志摩ク64	3	36.7	3	33.3	3	60.0	3	60.0	3	60.0	3	60.0
2	津屋崎ク50					3	60.0	3	5.7			3	10.0
3	小浜ク24	3	30.0	3	18.3	3	54.3	3	57.7	3	60.0	3	60.0
4	小浜ク30					3	31.0	3	12.0			3	60.0
5	大瀬戸ク12	3	40.0	3	27.0	3	60.0	3	59.7				
6	大分ク8	3	14.3	3	40.0	3	60.0	3	60.0	3	50.0	3	60.0
7	川内ク290					3	25.7	3	20.0				
8	額娃ク425	1	7.0			3	45.3	3	4.0				
9	三豊ク103	3	8.7			3	16.0	3	21.0	3	50.0	3	60.0
10	三崎ク90	3	15.3	3	24.7	3	35.3	3	21.3	3	49.0	3	60.0
11	吉田ク2					3	25.3					3	28.3
12	波方ク37	3	8.7			3	60.0	3	60.0	3	60.0	3	60.0
13	波方ク73	3	8.7			3	59.0	3	60.0	3	60.0	3	60.0
14	夜須ク37									3	60.0	3	60.0
16	田辺ク54	3	40.0	3	40.0	3	60.0	3	60.0	3	60.0	3	60.0

接種検定に用いた家系は年によって異なるが、年平均12家系（6～15家系）であり、これを3反復の乱魁法で実験した。プロット当りの苗木本数は、毎年できるだけ多くの家系を実験したため6～60本と一定していない。人工接種はこの実験を行った全期間、毎年7月の末に実生2年生苗に線虫アイソレート島原（苗木1本当たり5,000頭）を剥皮接種法によって行った。生存率は、生死が明らかになる接種3か月後に調査した。毎年得られた「1」、「0」分類データには、次の線形モデルによる分散分析を行った。

$$y_{ijk} = m + B_i + F_j + BF_{ij} + e_{ijk} \quad \text{--- (1)}$$

ここで、 y_{ijk} は、 i 番目の反復における j 番目の家系の k 番目の個体データで、1：生存、0：枯死で表される。 m, B_i, F_j, BF_{ij} と e_{ijk} は、それぞれ、集団平均、 i 反復の効果、 j 家系の効果、 i 反復内 j 家系のプロット誤差、 y_{ijk} のプロット内誤差を表す。家系分散、プロット分散、プロット内分散は、それぞれの平均平方の各成分と対応させて推定した（Harvey1979）。同様に、式（1）の交互作用項（ BF_{ij} ）を除いた線形モデルで、プロット毎の生存率を用いた分散分析も行った。

家系間変異を確認し、各年次の平均生存率を正確に推定するために、6年間の接種検定の結果を合わせた分散分析を行った。この分散分析にはプロット毎の生存率を用いて、以下の線形モデルで計算した。

$$y_{ijk} = m + Y_i + B/Y_{ij} + F_k + YF_{ik} + e_{ijk} \quad \text{--- (2)}$$

ここに、 y_{ijk} は i 番目の年の j 反復における k 番目の家系のプロット生存率、 $m, Y_i, B/Y_{ij}, F_k, YF_{ik}$ と e_{ijk} は、それぞれ、集団平均、 i 年次の効果、 j 反復の効果、 k 家系の効果、 i 年次と j 家系の交互作用、 y_{ijk} のプロット誤差を表す。

この分析に用いた自然受粉家系は半兄弟家系であると想定して、各年次の相加的遺伝分散は、2項データとプロット生存率の両方で推定した家系分散の4倍として算出した（Falconer1981）。表現型分散は、家系分散、プロット分散と2項データから算出したプロット内分散の和として算出した。そして、相加的遺伝分散と表現型分散について、それぞれ各年次の平均生存率に対する2次回帰を当てはめた。これは、2項データの表現型分散は、平均生存率を p とした場合に、 $p(1-p)$ で表される2次曲線に従うためである。

実際には、苗畑での接種検定で生き残った苗木は全て抵抗性であるとみなして、造林に用いられる。この仮定のもとでは、選抜差は $(1-p)$ として求められる。したがって、人工接種によって期待される単年度の選抜効果（ ΔG ）は、次の式で算出できる。

$$\Delta G = (1-p) h^2 \text{-----} \quad \text{(3)}$$

ここに、 h^2 は個体遺伝率であり、平均生存率が (p) の時にそれぞれの2次回帰曲線から求められる表現型分散に対する相加的遺伝分散の割合となる。

2) 結 果

6年間の接種検定の年次別分散分析を表-42に示した。生存率は、平均すると0.46であるが、1996年には0.28、1993年には0.69となり接種した年によって大きく異なった。このような大きな違いは、接種検定が野外の苗畑で実施されたため、各検定年の環境条件に大きく左右されたためである（戸田1997）。苗木の生存率は、接種前後の10日間の総降雨量と強い相関があると言われている。生存率は降雨量が多いほど高くなる（戸田1997）。

生存率の家系間差（家系分散）には全ての年で有意差が認められる（表-42）。しかし、家系分散は、2項データで0.0121（1999年）～0.0391（1997年）、プロット平均生存率データで0.0162（1996年）～0.0285（1997年）と大

表-42 6年間のマツノザイセンチュウ接種検定の年次別分散分析結果

分散成分	1993	1994	1996	1997	1998	1999
2 項データ						
家系分散	0.0156**	0.0285**	0.0190**	0.0391**	0.0190**	0.0121**
プロット分散	0.0000	0.0020	0.0085**	0.0006	0.0069**	0.0069**
プロット内分散	0.2084	0.2083	0.1681	0.2134	0.1983	0.2047
プロット 平均生存率						
家系分散	0.0162**	0.0238**	0.0162**	0.0285**	0.0192**	0.0213**
試験誤差	0.0084	0.0098	0.0137	0.0089	0.0107	0.0122
平均生存率 (%)	0.69 (69)	0.66 (66)	0.28 (28)	0.47 (47)	0.33 (33)	0.34 (34)

** : 1%水準の有意差有り。平均生存率は式 (2) を用いて算出した最小自乗推定値。

大きく異なる。6年間の家系分散の変化は、2項データとプロット平均生存率データとの間に $r=0.823$ と1%水準で有意な相関が認められ、両者はほぼ同様の傾向を示した。このことから家系分散は、個体データ(2項データ)から算出しても、プロット平均値(プロット生存率)から計算しても、ほぼ同様の推定値を示すという事実によるものとする(Wright1976)。

6年間の接種検定結果を込みにした分散分析において、年次間と家系間に著しい有意差が認められた(表-43)。最も大きな平均平方を示した年次間差は、年による気象条件の違いが苗木の生存率を左右するとする最も基本的

表-43 6年間の全てのザイセンチュウ接種検定結果の分散分析表

変動要因	自由度	平均平方	期待成分
年	5	0.8148**	
反復	12	0.0446**	
家系	14	0.2074**	$\sigma_e^2 + 2.97\sigma_{yf}^2 + 12.21\sigma_f^2$
年×家系	44	0.0293**	$\sigma_e^2 + 2.94\sigma_{yf}^2$
誤差	113	0.0109	σ_e^2

** : 1%水準の有意差有り。この分散分析表から求めた家系分散(σ_f^2)と交互作用分散(σ_{yf}^2)は、0.0146と0.0063となった。

な問題点を示唆している。また、遺伝的な違いにもとづく家系間の影響も明らかであるが、同時に年次と家系との交互作用にも有意差が認められた。表-43の分散分析の結果によると、交互作用分散($\sigma_{yf}^2=0.0063$)は家系分散($\sigma_f^2=0.0146$)の半分以下の大きさである。したがって、単年度の家系分散($\sigma_f^2 + \sigma_{yf}^2$)に占める6年間を通じての家系分散(σ_f^2)の割合(Yamada1962)は0.70となる。これは、単年度の家系分散のうち、70%が他の年にも期待できる家系分散であることを意味している。

平均生存率を説明変数として表現型分散(σ_p^2)、2項データおよびプロット平均生存率による遺伝分散(σ_g^2)の3種類の分散推定値を当てはめた2次回帰曲線を図-31に示した。また、その分散分析結果を表-44にまとめた。表現型分散の回帰係数(相関係数)が0.989と高いように、当てはめはほぼ完全であった。しかも、図-31で明らかのように1次と2次の項の係数は0.9507と0.9856と理論値の1.00にきわめて近かった。遺伝分散に関して

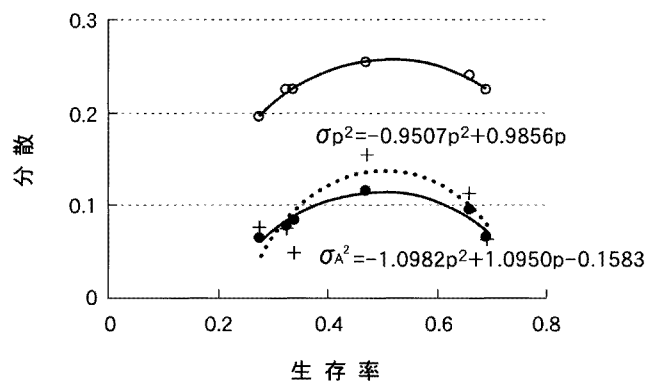


図-31 表現型分散 (σp^2) と遺伝分散 (σA^2) の平均生存率に対する 2 次回帰曲線。
○, ●と+は, プロット生存率から推定した遺伝分散, および 2 項データから推定した遺伝分散を表す。それぞれの回帰分析の結果は表44のとおり。

は, プロット生存率から推定した分散の当てはめは相関係数が0.936となり (表-44), かなり良好であったが, 2 項データからの推定値に対して当てはめた 2 次回帰曲線には有意差が認められなかった。したがって, 以後の分

表-44 遺伝分散と表現型分散の平均生存率に対する 2 次回帰の分散分析表

変動要因	表現型分散		2 項データによる 遺伝分散		プロット平均生存率による 遺伝分散	
	自由度	平均平方	自由度	平均平方	自由度	平均平方
回帰	2	0.000893**	2	0.002165	2	0.000798*
残差	4	0.000010	3	0.001173	3	0.000076
回帰係数		0.989		0.743		0.936

** : 1%水準の有意差有り * : 5%水準の有意差有り。

表現型分散に当てはめた 2 次回帰曲線は原点を通るので, 自由度は 4 となる (図-31参照)。

析には, プロット生存率から推定した遺伝分散に当てはめた 2 次回帰曲線を用いて遺伝分散の変化を表した。遺伝分散と表現型分散の変化が回帰式によって表されると, 回帰式の推定値から, 表現型分散に対する遺伝分散の割合としての個体遺伝率の変化を再現できる (図-32)。さらに, (3) 式を用いて選抜効果を計算できる。遺伝

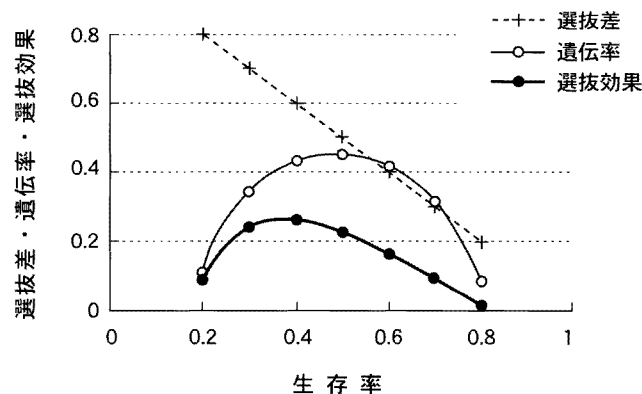


図-32 遺伝率とザイセンチュウ接種による選抜効果の平均生存率に対する変化
遺伝率の変化を示す曲線は, 図-31の分散の曲線から導いた。
選抜効果は式 (3) より算出した。

率は、生存率0.45で最大値0.49となり、その両端で次第に減少する紡錘形の曲線となる。一方、選抜効果の予測値は、生存率の低い方に歪んだ曲線となり、図-32に示したとおり、生存率0.38で最大値0.26となる。生存率0.25～0.60の範囲で、かなり大きい選抜効果が期待できると言える。

3) 考 察

6年間の接種検定の結果から、家系間差に有意差が認められたことは、抵抗性マツ集団は非選抜集団に比べて生存率が0.38も増加したにもかかわらず (Toda and Kurinobu 1998)、集団内に未だ抵抗性レベルの違いがあることを示唆している。このことは、接種検定が抵抗性の劣る個体を淘汰し、検定後に山出しされる抵抗性マツ苗の抵抗性をさらに向上できる可能性を示したものである。

材線虫抵抗性に関する分散は、平均生存率に対して系統的な変化を示していた (図-31)。同様の傾向はスラッシュマツの紡錘さび病の研究で報告されている (Son and Goddard 1979)。

その報告では、平均罹病率に対する分散の変化が2次回帰でよく表されている。これは、比率に関する分散は、2項データとして分析した時に平均発生率と強い関係を有するためである。したがって、こうした分析方法は、遺伝率が環境の影響によって変化するような一連の系統的な実験結果から総合的な結論を導き出すのに適している。

表現型分散の6年間の接種結果に対する回帰は良好であったが、遺伝分散の回帰への適合はまちまちであった。プロット生存率から推定した遺伝分散は良い適合を示したが、2項データからの推定値では、回帰に有意差が認められなかった (図-31, 表-44)。この遺伝分散の適合性の違いは、2種類の分析法間でデータに対する重み付けが異なることによると考えられる。プロット生存率の場合には、本数の大小に関わらず各プロットに対する重みが一定となり、各家系に同様の重みが与えられるのに対して、2項データでは重みが異なる。これは、2項データは個体を単位として分析を行うので、各家系の供試数 (表-41) が7本から180本と大きく異なるとそれに応じて各家系の重みも大きく異なる。したがって、2項データを分析して得た家系分散は、家系別の本数の違いによる影響があったものと考えられる。

分析結果の正当性を裏付けるために、プロット生存率については、データの正規性が成り立っているかどうかを確かめておく必要がある。これは、2項データから算出した比率データは、0.3以下あるは0.7以上の場合に分布が歪むことが知られているためである (Snedecor and Cochran 1972)。このため、各年次のプロット生存率に対してコロモゴロフスミルノフ検定 (Sokal and Rohlf 1969) を行い、その結果を表-45に示した。

表-45 各年次のプロット平均生存率データに対する
コロモゴロフスミルノフ法による正規性の検定結果

接種検定年次	1993	1994	1996	1997	1998	1999
データ数	28	18	42	39	27	36
Dの最大値	0.090	0.110	0.118	0.091	0.181*	0.141
Dの5%有意水準	0.167	0.200	0.137	0.142	0.171	0.148

* : 5水準の有意差有り。

Dはコロモゴロフスミルノフ法で算出した統計量 (H.W. Lilliefors 1967)

6 セットのうち、5 セットのデータの分布は正規分布から有意に外れているとは言えなかったが、1998年のデータについては5%水準で有意差が認められた。家系分散の変化は2次回帰曲線にあてはめて推定しており、6 セットのうち1セットが正規性から少し外れていても、それによって全体の結果が大きく変わったとは考えにくい。したがって、今回得られた遺伝率は、選抜効果の推定に用いてもおそらく大丈夫であろうと考えられる。

今回推定した遺伝率の変化は、平均生存率が0.5あたりで最大となる2次曲線に従った(図-32)。これは、遺伝的な抵抗性が最も明瞭に現れる領域が存在することを示唆している。この現象は、人工接種時における環境条件によって左右される苗木の生理的な状況、あるいは材線虫の増殖能力によって説明される。生存率が高い場合には、ほとんどの苗木は、各個体の遺伝的な抵抗性の大小にかかわらず、接種された材線虫の増殖を抑制できる健全な状態にあったと考えられる。このため、家系間の生存率の差は明瞭に現れない。一方、生存率が低い場合には、苗木の遺伝的な抵抗性の有無に関わらず、ほとんどの苗木が材線虫の増殖を抑制する機能を低下させていたものと考えられる。言い換えれば、材線虫の増殖能力が、苗木の材線虫増殖抑制機能を超過していたと考えられる。したがって、遺伝的な違いによる抵抗性の差が反映される領域は、上述した2つの極端な状況の中間に位置するであろうと推測される。

本報で予測した事前の接種検定による選抜効果(図-32)では、さらに検討を要する。なぜなら、単年度の遺伝分散推定値のうち、約30%が年次と家系の交互作用で占められるためである。この点を考慮すると、この報告の遺伝分散さらに遺伝率は、単年度の家系分散推定値を4倍して遺伝分散としたため、過大推定の恐れがある。したがって、交互作用が今回の生存率の範囲で均一に生ずると仮定して控えめに選抜効果を試算すれば、図-32に示した値の7割程度とみなすのが適当であろう。

この分析で明らかにした結果の中で実用的に最も注目すべき点は、材線虫の接種検定による事前のスクリーニングがもたらす抵抗性の改良の程度が平均生存率の関数として表現されているため、生存率自体から改良量を直接的に推測できる点である(図-32)。すでに述べたように、事業的な抵抗性マツの苗木生産はすでに始まっている。そして、この事業では、トレードオフの関係にある苗木生産経費と人工接種による抵抗性の改良とが大きな関心事と言える。すなわち、人工接種による苗木の生存率は、苗木の生産経費を決定する最も大きな因子であるとともに抵抗性の改良程度を判断する指標となることが明らかとなった。本項で得られた知見が、抵抗性マツ苗の合理的な価格設定の基礎情報として活用できると考える。

(3) 現地植栽地で確認された苗畑における選抜の有効性

抵抗性採種園からの種子が本格的に生産されるようになって、抵抗性マツ苗の造林が始まっているが、抵抗性マツの成長など木材生産上重要な一般形質や造林後における材線虫病に対する抵抗性については明らかにされていない。

造林に供される「抵抗性マツ」とは、抵抗性クローンで造成された抵抗性採種園産種子由来の苗木の呼称である。その苗木は材線虫を接種した接種苗と接種しない未接種苗に区分される。接種苗は1回床替えて、まきつけ後1年4か月目の苗(以下、2年生苗)に材線虫を人工接種して生き残った接種検定合格苗木であり、造林地においても材線虫に対する抵抗性が高いと考えられている。しかし、抵抗性マツ苗が造林されるようになって日が浅いこともあって、造林活着率や植栽後における生存率、成長量などについて検討された報告はない。

抵抗性マツ苗は、最近になって種子生産量の増加や生産体制の整備によって効率的な生産が行われるようにな

り、造林種苗として用いられる頻度が高まってきた。植栽後の成長および枯損など、抵抗性マツの状況を把握することは、抵抗性マツ苗の普及と事業を進める上で重要であることから、林木育種センター九州育種場では1991年から、抵抗性マツを植栽した「マツノザイセンチュウ抵抗性次代検定林」を設定している。

抵抗性マツの造林地における初期成長と苗畑接種による選抜の有効性を明らかにするため、2箇所の次代検定林を使って造林活着率、7年次の成長と生存率、ならびにカミキリの食害痕（後食痕）の有無を調査・分析して、造林地における抵抗性マツの抵抗性を評価した。

1) 材料および方法

調査した抵抗性次代検定林は、熊本と鹿児島県の県境に位置する、熊本県水俣市南志水国有林の「マツ水俣署3号次代検定林」および「マツ水俣署3-1号次代検定林」の2箇所である（以下3号検定林および3-1号検定林と略す）。両検定林は海岸から約500mの所に位置しており、標高は30m～40mである。前生樹はアカマツとクロマツの精英樹人工交雑種などの試植検定林であったが、材線虫病により43.9%が枯損したため1990年12月に皆伐した跡地である。植栽に用いた抵抗性マツ苗は林木育種センター九州育種場苗畑において1990年および1991年の7月に、抵抗性クローンなどの種子から育成した家系別の床替1年4か月苗に材線虫を接種して生き残った個体である。接種は両年とも苗木の地際部を剥皮して線虫アイソレート島原を（苗木1本あたり5,000頭）、剥皮接種法によって行った。

表-46に検定林毎の家系数および植栽本数を示した。3号検定林は1991年2月に、3-1号検定林は翌1992年3

表-46 マツノザイセンチュウ抵抗性次代検定林における造林活着率と5年次および7年次における生存率

検定林名	樹種	家系数	植栽本数 (本)	造林活着率 (%)	生存率 (%)	
					5年次	7年次
3号検定林	アカマツ	51	2,029	93.9	91.6	90.8
	クロマツ	7	452	87.2	97.2	94.9
3-1号検定林	アカマツ	58	2,431	98.3	97.2	96.3

5年次および7年次の生存率は造林活着本数を分母に用いた。

月に3号検定林に隣接して設定し、苗木は列間1.5m、苗間1.5mの単木混交方式の植栽で2反復を設けた。保育は植え付け当年から5年間は下刈りを行い、5年次および7年次の調査時には、除伐と枝打ちを行い枯損木は伐倒した。

両検定林とも植栽当年の活着率、5年次および7年次の生存率を調査し、7年次には樹高と胸高直径の測定、カミキリの食害痕の有無を調べた。食害痕は調査の都合上便宜的に生存個体の高さ2m付近までの枝を全て切り落とし、これらの枝に食害痕が1か所でも確認されたものは食害痕有りと判定した。

7年次の樹高、直径、食害痕の解析は、個体測定値をデータに用いた分散分析を使用した。アカマツだけが植栽された3-1号検定林には家系と反復を要因とする2元分類の分散分析を用いたが、3号検定林にはアカマツとクロマツが植栽されているので、樹種、樹種内家系および反復を要因とする分散分析を行った。また、生存率は、植栽時の人為的な影響を除くため、植え付け1年後に活着が確認された個体を対象とし、家系別、反復区毎

に調査し、その正弦変換値を用いた。なお、個体測定値を用いた分析では、各家系の反復区あたりの本数が不揃いになることから、その影響を取り除くために、最小 2 乗法により家系推定値を算出し、以後の相関関係の分析に用いた。

2) 結果と考察

苗畑における接種健全率

1990年と1991年の苗畑における平均健全率（以下、健全率と略す）を表-47に示した。

表-47 マツノザイセンチュウ抵抗性次代検定林造成に供試した家系への人工接種結果（平均健全率）

接種年月	樹 種	家系数	家系あたりの 接種本数（本）	接種総本数 （本）	平均健全率 （%）
1990. 7	アカマツ	51	28～ 201	5, 372	68. 9
〃	クロマツ	7	387～2, 001	7, 185	11. 8
1991. 7	アカマツ	58	28～ 159	5, 631	57. 4

抵抗性に関して選抜を経たクローンの家系であっても、健全率が20%台と低いものが1990年に 2 家系、1991年に 1 家系認められた。クロマツの平均健全率はアカマツに比べて極めて低く、7 家系中 4 家系が10%以下となり、一般に言われている樹種レベルの抵抗性の差が認められた（大庭ら1983）。

造林活着率と成長

植え付け当年の造林活着率は87.2～98.3%と両検定林とも良好であった（表-46）。

7 年次における樹高と胸高直径の家系平均値を表-48に示した。3 号検定林の 7 年次における樹高と胸高直径は

表-48 マツノザイセンチュウ抵抗性次代検定林における 7 年次の成長および食害痕の家系平均

検定林名	樹 種	家系数	調査本数 （本）	樹高の家系 平均（m）	胸高直径の 家系平均（cm）	食害痕の家 系平均（%）
3 号検定林	アカマツ	51	1, 701	5. 0	6. 6	58. 0
	クロマツ	7	374	5. 0	6. 2	47. 1
3- 1 号検定林	アカマツ	58	2, 301	4. 9	6. 1	34. 2

アカマツで5.0m、6.6cm、クロマツで5.0m、6.2cmであった。3-1号検定林のアカマツは4.9m、6.1cmであった。両検定林の平均値は熊本県の八代、人吉、多良木地区における10年生のマツ主林木の値（樹高3.5m、胸高直径5.2cm）（九州森林管理局1999）を全家系が上回った。抵抗性クローンの選抜では、周囲の上層木にくらべて成長や形状が特に劣らないものが対象とされたため、林分の中で成長速度が平均以上の個体が選抜されたことが後代の成長に影響していると推測される。7 年次の樹高と胸高直径の分散分析を表-49に示した。アカマツ、クロマツが植栽されている 3 号検定林の胸高直径に 5 % 水準で樹種間差が、また、両検定林の樹高、胸高直径に

各々1%, 5%水準で有意な家系間差が認められた。このことは抵抗性家系の中からさらに初期成長の優れた家系を選抜できる可能性を示唆しており、次代検定林が材線虫抵抗性形質と成長形質の両方を備えた個体の選抜母集団になると考えられる。

表-49 マツノザイセンチュウ抵抗性次代検定林における7年次の樹高, 直径, 食害痕および生存率の分散分析表

検定林名	変動因	自由度	平均平方			
			樹高	胸高直径	食害痕	生存率
3号検定林	反復	1	23.0144**	4.1780	31.2525**	0.0012
	樹種	1	0.4745	66.1686*	3.6085**	0.0685
	家系	56	2.6673*	9.6152**	0.3360	0.0527**
	試験誤差	57	0.8062	3.5627	0.3467**	0.0202
	プロット内	1,959	0.6987	3.4069	0.2223	
3-1号検定林	反復	1	32.0081**	263.6642**	10.5693**	0.04172
	家系	57	2.4241**	9.0446**	0.2753	0.02335
	試験誤差	57	0.9609	3.0605	0.2242	0.02007
	プロット内	2,185	0.8233	3.1240	0.2184	

生存率は造林活着後の本数を母数とする7年次の家系生存率。

** : 1%水準の有意差有り, * : 5%水準の有意差有り。

マツノマダラカミキリの食害痕個体率

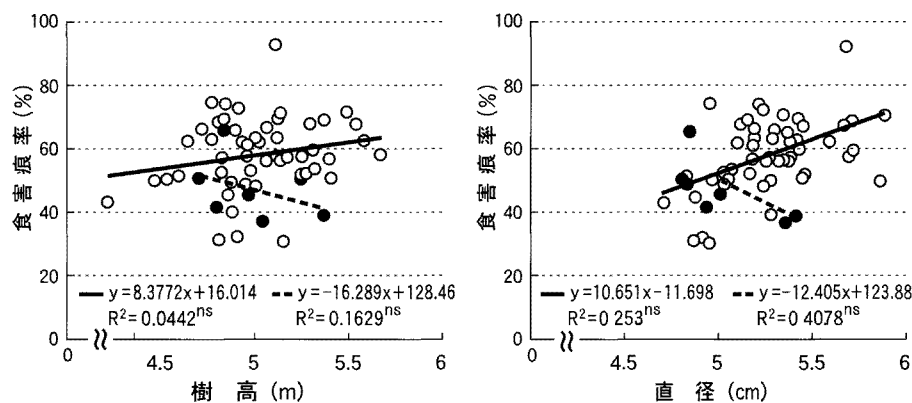
本検定林の食害痕は個体の3~4段目(地上2m前後)の輪生枝の基部でも確認され、植栽後3~4年目にはすでにカミキリの食害を受けているものと思われる。両検定林の7年次におけるカミキリの食害痕率を表-48に示した。両検定林をあわせると5割近い個体に食害痕が認められたが、食害痕調査では個体の全ての枝を調査していないため過小な結果であると考えられ、実際にはより多くの個体が食害されていると推測される。

検定林におけるカミキリ食害痕率の分散分析の結果を表-49に示した。両検定林とも反復間に著しい有意差が認められた。この原因については検定林と周辺被害地との距離や検定林内のカミキリ密度の違いが考えられるが、正確な理由は不明である。

アカマツとクロマツが植栽されている3号検定林には、樹種間に明らかな有意差が認められた(アカマツ>クロマツ)。アカマツおよびクロマツに対するカミキリの食害程度の差については、これまで網室や室内実験で調査されている。飼育ビンを使った放虫実験ではアカマツ63%, クロマツ50%の個体が食害されたという報告がある(古野・上中1978)。クローン苗を用いた網室放虫実験では、アカマツ94%, クロマツ88%の個体が食害された(戸田1982)。この両者の実験ではアカマツの食害痕率が10%前後クロマツより高い値を示しているが、いずれも明らかな樹種間差は認められていない。本検定林調査の結果は、これまで人工的な環境下の試験でアカマツの食害痕率が高いという傾向が、実際の造林地においても確認された。一方、家系間差は両検定林とも認められなかったことから、カミキリは特定の家系を選択的に食害していないということが分かった。

7年次における家系の樹高・胸高直径と食害痕率の関係を図-33に示した。両検定林の樹高・胸高直径と食害痕率の間には、明らかな相関は認められず、個体サイズと食害痕の間にも一定の関係は認められなかった。

3号抵抗性マツ次代検定林



3-1号抵抗性マツ次代検定林

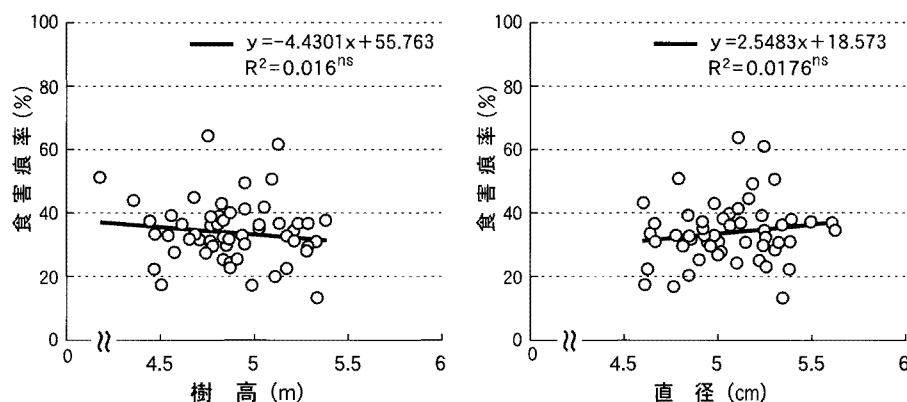


図-33 抵抗性マツ次代検定林における7年次の樹高・胸高直径と食害痕率との関係
○：アカマツ ●：クロマツ **：1%水準の有意差有 ns：有意差有

両検定林の食害痕率と接種健全率の関係を図-34に示した。両検定林とも全家系に食害があり、接種によって生き延びた苗であってもカミキリに食害されていた。アカマツの食害痕率と接種健全率の間に有意な関係は認められなかったが、クロマツには有意な相関が認められた。

抵抗性マツ個体の7年次までの生存率

5年次および7年次における生存率の低下は植栽後5年次までが、3号検定林で8.3%，3-1号検定林では2.8%，5年次から7年次までの2年間では、各々1.3%，0.8%を示し、植栽後5年次までの低下が大きかった(表-46)。

枯損木の方が食害痕数は多い傾向が見られたが、わずか数個の食害痕数でも枯損するという報告がある(中村ら1998)。本検定林では植栽後3～4年目からカミキリの食害が始まっており、検定林設定当時、近隣の若齢クロマツが短期間に急激に枯損したことから、本検定林で枯損した個体も材線虫病が原因である可能性が高い。

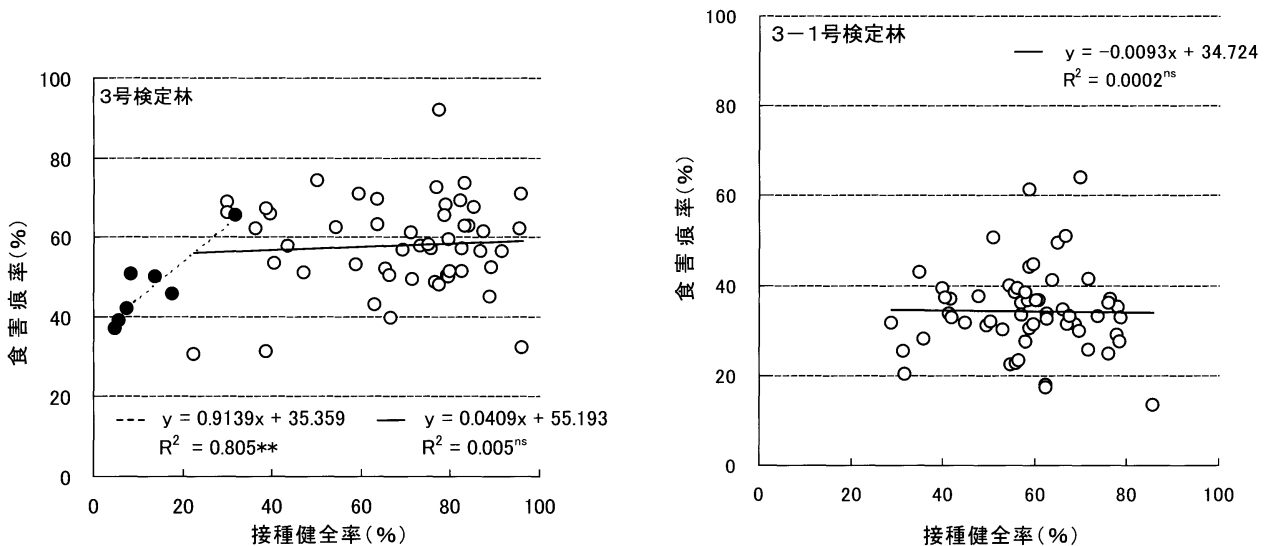


図-34 苗畑の接種健全率と7年次の食外痕率の関係

○：アカマツ ●：クロマツ **：1%水準の有意差有り

7年次の生存率は両検定林とも90%以上の高い生存率が認められた。家系別に見ると、3号検定林の中には生存率が100%を示すものが8家系（供試家系に対する家系割合、14%）あった。一方で、70%台のものが5家系も存在した。3-1号検定林では全家系が80%以上を示し、その中の18家系（同、31%）は100%の生存率であった。家系生存率の変異幅は3号検定林の方が大きく、分散分析の結果も3号検定林のみ家系間差が認められた（表-49）。カミキリ食害痕の多い家系の生存率と苗畑における接種健全率を表-50に示した。生存率は各家系の変異幅が狭いのでそのままの数値を用いたが、食害痕率と接種健全率については、各検定林の平均値と変異幅が大きく異なっているため、検定林毎の偏差値を求め、その値を5段階（1：非常に低い→5：非常に高い、表-50参照）の指数にして用いた。表-50には、食害痕率4以上を示す3号検定林の19家系（供試家系の32.8%）と3-1号検定林の14家系（同24.1%）を示した。これらは各検定林においてカミキリの食害痕率が「非常に高い」または「高い」に区分された家系である。生存率と接種健全率の間にはアカマツ、クロマツとも有意な相関関係は認められず、苗の時点では抵抗性が低い家系であっても、苗畑接種によって生き延びた個体は、高い抵抗性を有していると推察される。

この調査ではカミキリの食害によって材線虫感染の機会が多かったにもかかわらず、5年次、7年次の生存率は依然として高かった。このことは、苗畑接種に合格して植栽された個体の抵抗性が自然条件下でも発揮されたものと推測される。ただし、検定林周辺のマツが少なくなっており、カミキリの生息密度の低下とともに、材線虫病を発病させるに十分な材線虫量が伝搬されたかどうかについては疑問が残る。

以上述べたように、検定林周辺のマツが材線虫病に特異的な枯損をしたことや、検定林において数年前からカミキリの食害痕が認められていることから、本検定林も材線虫病の感染にさらされており、枯損の原因は材線虫病によるものと考えられる。検定林における7年次の全家系生存率が高い値を示したことは、材線虫の人工接種によって生き残ったマツ苗は材線虫病に対する抵抗性が高いと考えられ、苗畑における接種が造林地での生存率の向上に有効であることが示唆された。

表-50 マツノマダラカミキリ食害痕の多い家系の生存率と苗畑における接種健全率

検定林	*家系名	選抜県	樹種	***食害痕率 (指数)	検定林生 存率(%)	接種健全率 (指数)
3号検定林	岡 山82	岡山県	アカマツ	4	94.1	4
//	熊 山39	岡山県	//	4	100.0	4
//	久留米78	福岡県	//	4	100.0	4
//	久留米142	福岡県	//	4	85.2	4
//	久留米144	福岡県	//	4	79.5	4
//	大宰府4	福岡県	//	4	85.0	3
//	太 良122	佐賀県	//	4	79.5	2
//	佐賀関118	大分県	//	4	76.7	3
//	佐賀関170	大分県	//	4	90.0	2
//	大 分137	大分県	//	4	86.0	4
//	大 分142	大分県	//	4	84.6	3
//	大 分166	大分県	//	4	92.1	2
//	大 分167	大分県	//	4	90.0	4
//	大 分168	大分県	//	4	90.0	2
//	大 分173	大分県	//	5	89.5	4
//	大 分203	大分県	//	4	83.1	4
//	本 渡1	熊本県	//	4	100.0	4
//	松 島98	熊本県	//	4	93.8	3
//	**川 辺53	鹿児島県	クロマツ	4	98.5	2
3-1 検定林	岡 山88	岡山県	アカマツ	4	100.0	3
//	熊 山39	岡山県	//	4	95.0	4
//	山 陽6	岡山県	//	5	93.3	4
//	真 備58	岡山県	//	4	100.0	2
//	真 備70	岡山県	//	5	100.0	3
//	西 条8	愛媛県	//	4	95.7	4
//	太 良122	佐賀県	//	5	93.8	5
//	佐賀関84	大分県	//	4	100.0	3
//	佐賀関162	大分県	//	4	100.0	3
//	佐賀関170	大分県	//	4	100.0	3
//	**佐 伯102	大分県	//	5	95.8	4
//	**延 岡219	宮崎県	//	4	95.7	3
//	**高 鍋101	宮崎県	//	5	100.0	3
//	**児 湯106	宮崎県	//	4	90.0	1

*：食害痕指数が4以上の33家系を示した。

**：マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の一次検定合格木。

***：

指数5；非常に高い	：+1.5σ以上
指数4；高い	：+0.5σ以上～+1.5σ未満
指数3；平均	：-0.5σ以上～+0.5σ未満
指数2；低い	：-1.5σ以上～-0.5σ未満
指数1；非常に低い	：-1.5σ未満

第3節 交雑による抵抗性の向上

抵抗性を向上させる育種的な手法には2つの方法が考えられる。1つは既存の抵抗性採種園を改良する方法、他の1つは抵抗性クローンを用いた人工交雑による抵抗性品種の創出である。両者とも効率的に実施するためには、各家系の抵抗性特性が明らかにされていることが条件となる。

一般に、ある病虫害に抵抗性を示すとして選抜された個体群において、抵抗性の程度、抵抗性要因、遺伝子型、環境適応性など、抵抗性発現に直接関与する種々の要因に違いが認められている。したがって、抵抗性家系の創

出に当たっては、できるだけ多くの遺伝的組合せからなる後代を養成しなければならない。このためには、交雑によって有用遺伝子の取り込みを図ることになる。既に多くの農作物の種内交雑では、相互の欠点を補う組合せにより、抵抗性品種のさらなる改良が行われてきた(山川1978)。クリでは、銀寄などのクリタマバチ抵抗性品種を交配親に用いて、丹沢他の抵抗性優良品種を育成した例がある(志村1973)。また、種間交雑は両親のもつ優れた特性を組み合わせ、より優れた種間雑種を創出するものである。林木では種内交雑より種間交雑による事例が多い。古くは、オランダで行われた欧州産ニレのオランダ病抵抗性品種の創出において、アジア産ニレと種間交雑した例があげられる(伊藤1959)。

(1) これまでの成果

交雑による抵抗性育種の可能性を検討するため、多くの種内および種間交雑苗で材線虫抵抗性検定が行われてきた。種間雑種における一連の抵抗性検定の中で、クロマツ×タイワンアカマツは交雑が容易で、成長が良いことなどが報告されている(古越・佐々木1983, 佐々木・古越1976, 佐々木ら1983b)。また、クロマツ精英樹を母樹とし、これに7家系(6個体からの花粉と1混合花粉)のタイワンアカマツ花粉を交配して得られた雑種苗への接種検定において、抵抗性は雌親として用いた全てのクロマツより高くなった(戸田ら1986)。種間交雑のクロマツ(♀)×アカマツ(♂), クロマツ(♀)×タイワンアカマツ(♂)は交雑親和性が高く、交配材料が抵抗性であれば交雑家系の抵抗性は向上する(戸田1981, 1989, 戸田・藤本1989, 戸田ら1997a)。一方、交配に関する一連の作業を的確に進めるための技術開発も行われている。タイワンアカマツの花粉の採取方法や花粉の保存方法(戸田1990), タイワンアカマツの雄花穂の大きさや花粉量の関係や、花粉貯蔵と発芽率の関係(藤本1985, 藤本ら1987)が明らかになっている。

今後は、これまで交配親として使用されていない外国マツについても、抵抗性をマツ樹種の探索を行い、活用を検討すべきである。ただし、これらの外国マツは、立地適応性や材線虫以外の病虫害抵抗性、成長性などの形質が不明なものが多く、交配材料の選定には慎重な対応が必要である。

(2) 人工交雑による抵抗性の向上

種間交雑によって創出された抵抗性品種に「和華松」がある。これはクロマツ(♀)×タイワンアカマツ(♂)の交雑種で、1992年に「関東林育1号」として品種登録されている(佐々木・大谷1990)。この品種は材線虫病に対して抵抗性があり、用材向きとして関東地域の造林に使われている(栗延・藤沢1988)。種間交雑では、交雑種の造林特性を明らかにすることが重要な課題となる。なぜなら、創出された品種が抵抗性であったとしても、潮害、寒害や材線虫以外の病虫害に対して感受性を示せば実用化は困難となる。

筆者らは1987, 1988, 1993年に、クロマツ(♀)×アカマツ(♂)の交雑家系について接種検定を行い、抵抗性品種の創出の可能性について検討を行った。

1) 材料および方法

各年次の接種検定に用いた供試材料は、クロマツ(♀)×アカマツ(♂)の交雑家系である。材線虫の接種は各年とも床替え2年生苗に、アイソレート島原(苗木1本当たり5,000頭)を剥皮接種法によって行った。調査は健全、生存、枯損苗の3区分で行い、とりまとめには生存率を用いた。

1987年の接種検定：供試材料は、材線虫抵抗性育種事業で選抜された一次検定合格木（以下、候補木）5 クローン，精英樹 2 クローン，計 7 クローンのクロマツを母樹として用い，これに，アカマツ精英樹の県日出107および県西諸県102の 2 クローンを花粉親とした 9 家系である（図-35）。接種本数は，交雑 9 家系の393（6～117本／家系）本と，母樹として用いた 3 クローンの自然受粉家系635（53～460本／家系）本（総計11家系1,028本）である。材線虫の接種は1987年 7 月に剥皮接種法によって行い，接種後70日目に調査を行った。

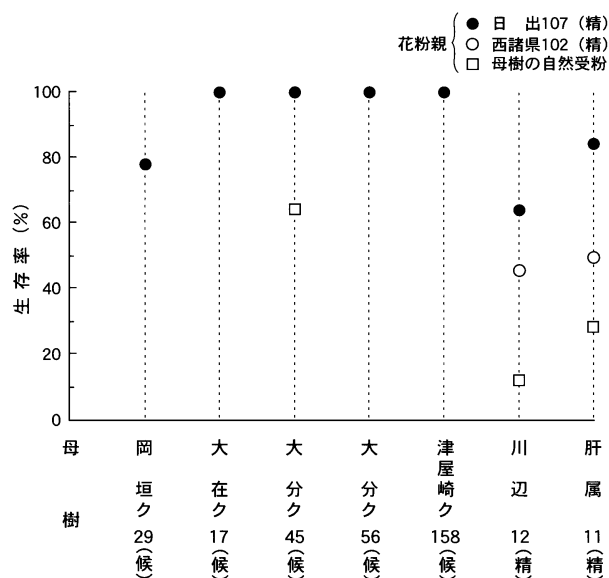


図-35 1987年の交雑家系の検定結果
(候：候補木，精：精英樹)

1988年の接種検定：供試材料は，候補木 4 クローン，精英樹 3 クローン，計 7 クローンのクロマツを母樹として用いた。花粉親は，1980年の実生検定において80.0～86.2%と高い生存率を示した 3 クローン（以下，選抜木），および1992年の実生検定において87.2%の生存率を示した（戸田・藤本1987）キリシママツNo. 3 の計 4 クローンある。接種本数は，交雑28家系の1,310（4～231本／家系）本と母樹の自然受粉 5 家系377（45～104本／家系）本（総計33家系，1,687本）である（図-36）。材線虫の接種は1988年 7 月に剥皮接種法によって行い，接種後100日目に調査を行った。

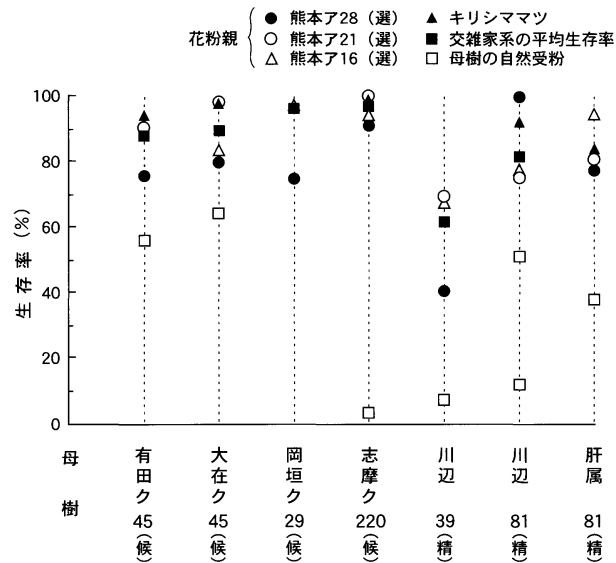


図-36 1988年の交雑家系の接種検定
(候：候補木，精：精英樹，選：選抜木)

1993年の接種検定：供試材料は、材線虫抵抗性5クローンおよび精英樹2クローンを母樹に、花粉親はアカマツ抵抗性3クローンを花粉親とした9家系（内1家系は自殖）である（図-37）。接種本数は交雑8家系146（3～33本／家系）本と母樹および花粉親の自然受粉苗の9家系の839（43～150本／家系）本（総計18家系，985本）である。また、クロマツ種内交配家系の三崎790（♀）×志摩764（♂）（34本）、志摩764の自殖家系（14本）も同時に検定した。材線虫の接種は1993年7月に剥皮接種法で行い、接種後120日目に調査を行った。

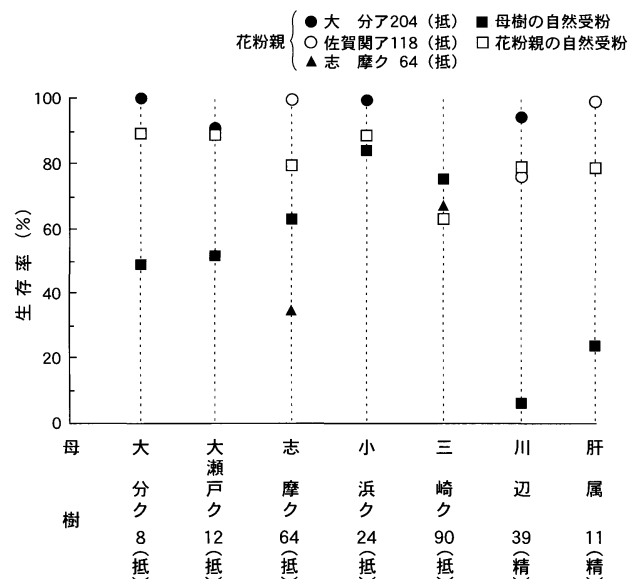


図-36 1988年の交雑家系の接種検定
(候：候補木，精：精英樹，選：選抜木)

2) 接種検定結果

1987年の検定結果：接種検定の結果を図-35に示した。候補木を母樹とした交雑 5 家系の平均生存率は84.3%，精英樹を母樹とした組み合わせ 4 家系の平均は67.9%であった。各交配組み合わせの花粉親は同じであることから，交雑家系の抵抗性は母樹の抵抗性の影響を受ける。すなわち，抵抗性に関して選抜あるいは非選抜かによって，交雑家系の生存率は異なる。この実験では花粉親の検定はしなかったが，1979年に行った検定において，県日出107の生存率は52.1%，西諸県102は57.9%であり，生存率は各交雑家系ともこの値を上回った。

1988年の検定結果：接種検定の結果を図-36に示した。候補木を母樹とした交雑家系の家系生存率は88.4～97.8%の範囲で，16家系の平均は91.4%であった。また，精英樹を母樹とした家系の生存率は61.9～83.8%の範囲で，12家系の平均は70.4%であった。同時に検定した母樹の自然受粉苗の生存率と比較すると，すべての組み合わせで高い値を示した。花粉親の抵抗性（自然受粉苗）は，1980年の検定で，熊本728は86.2%，熊本ア21は80.3%，熊本ア16は80.0%，また，霧島松（キシママツNo. 3）は1985年の検定で87.2%と，いずれも高い抵抗性のものを使用しており，このことが交雑家系の抵抗性に反映したものと考えられる。一方，花粉親でまとめた平均生存率は，熊本716は87.7%（分布範囲41.0～100%），キシマアカマツ，86.2%（同61.4～100%），熊本ア21，79.6%（同69.7～100%），熊本ア28，61.7%（同41.0～100）の順であった。精英樹川辺39との組み合わせでは，各花粉親とも低い値を示し，特定の母樹との組み合わせにおいて抵抗性の向上に違いのあることが示唆された。なお，花粉親間には統計的な有意差は認められなかった。

1993年の検定結果：接種検定の結果を図-37に示した。抵抗性クローンを母樹とした交雑 5 家系の生存率は90.6～100%の範囲で，平均値は95.4%，精英樹を母樹とした 2 家系は86.8%であり，共に高い生存率を示した。母樹の自然受粉家系の生存率は64.6（51.7～84.4）%，花粉親のそれは79.5（69.7～89.2）%となり，すべての交雑家系で両親の自然受粉家系の生存率を上回った。また，クロマツの三崎ク90（♀）×志摩ク64（♂）の組合せでは，母樹の生存率より低い値となり，また，志摩ク64の自殖苗は自然受粉苗の生存率より15%程度低下した。

3) 考 察

以上のように交配材料が抵抗性に関して選抜されたものであれば交雑家系の抵抗性は明らかに向上した。また，母樹および花粉親のどちらか一方が抵抗性であっても交雑家系の抵抗性は高まる。しかし，中には，抵抗性の向上しないものがあつた（1988年の精英樹川辺39）。さらに自殖家系では交配母樹より抵抗性は低下し，自殖弱勢の傾向が認められた（図-37）。3ヶ年の接種検定結果を供試材料の由来別にまとめ，図-38に示した。クロマツ（母樹）×アカマツ（花粉親）の交雑において，両親の生存率（過去の検定結果も含めて）が明らかなものは33組み合わせがあるが，全ての交雑家系が母樹（母樹の自然受粉苗）の生存率を上回った。この中の18家系は両親の生存率より高い値を示したが，残りの15家系は花粉親より低い生存率を示した（図-38）。これは，クロマツとアカマツの交雑家系の抵抗性の遺伝様式が不完全優性もしくは完全優性に近く，組み合わせしだいでは超優性（雑種強勢）のものが出現することを示唆するものであり，クロマツを母樹としたアカマツとの人工交雑は抵抗性品種の創出ならびに抵抗性の向上の有効的な手段と考えられる。

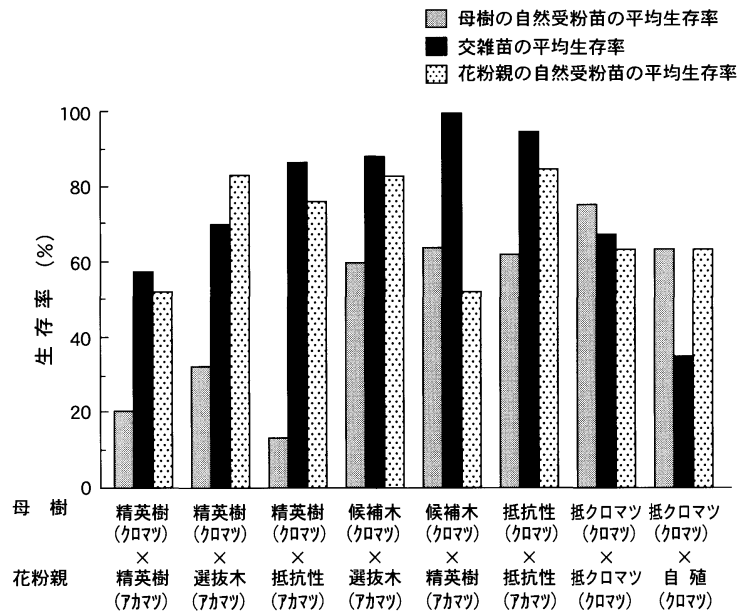


図-38 母樹と花粉親の自然受粉苗及び交雑苗の生存率

第4節 クロマツ実生後代からの抵抗性個体の選抜の試み

抵抗性クローンの中には、着花性や後代の抵抗性など、いくつかの形質において劣っているクローンがあることは、第II章（第4節、第6節、第8節）で述べた。これらのクローンは抵抗性採種園から除去することで遺伝的な改良が可能である。しかし、クローン数が16と少ないクロマツでは、改良後に起きる自殖率の上昇、それにとともう抵抗性の低下、次世代の遺伝的な片寄りなどいくつかの問題があるため、クロマツの追加選抜は早急に必要な必要がある。接種検定後の生き残った苗木には抵抗性があり、また、一般マツの接種検定では低率ではあるが健全個体が残る。さらに連年接種することによって家系内の個体抵抗性は高まっていくことは第II章第9節で論述した。このことから、一般のクロマツ実生後代からの抵抗性個体の選抜は可能と考えられる。そこで、一般クロマツの母樹別家系を選抜母集団として育成し、そこから抵抗性個体の選抜を行った。

1) 選抜方法

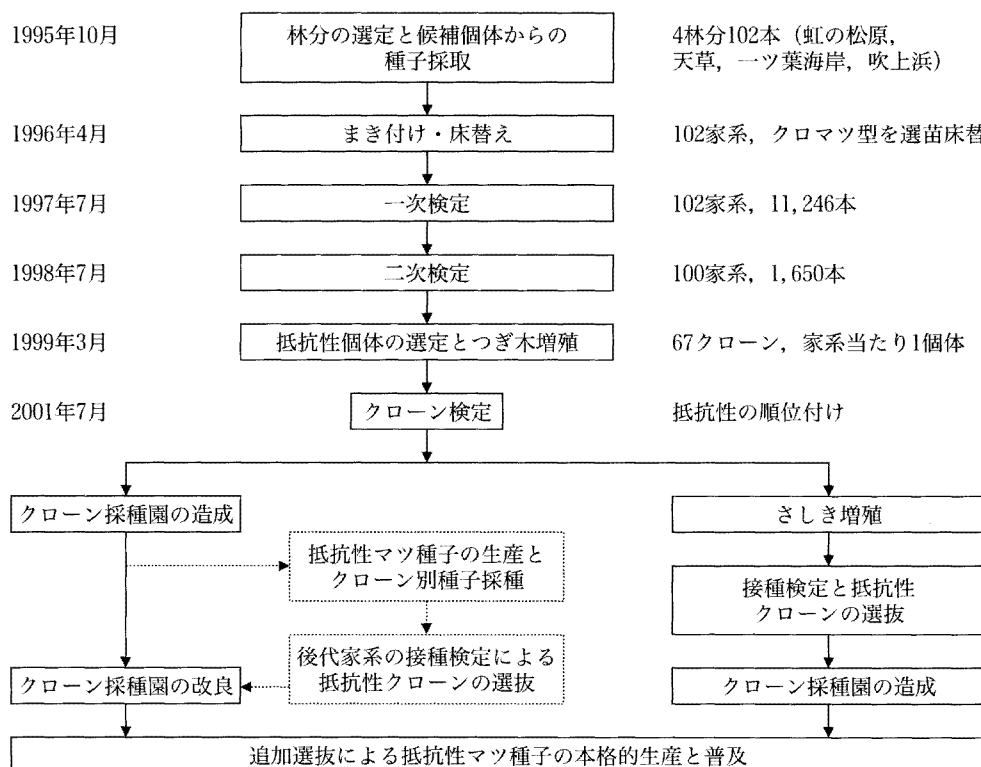
選抜方法は、一般のクロマツから採種して育成した苗木に、一次検定（5,000頭接種）と二次検定（10,000頭接種）を行い、その生存個体のクローン苗に接種検定（クローン検定）し、最終的な合格木を抵抗性クローンとして確定するものである。選抜は、原則として二次検定後に行うが、家系あたり1個体を選抜する。一次および二次検定は実生検定である。これらの抵抗性の確認は、後代検定あるいはクローン検定のどちらかを行わなければならないが、ここでは後者を選択した。

2) 材料および方法

抵抗性クロマツの追加選抜の進め方を表-51に示した。九州育種区の虹の松原（佐賀県）、天草西海岸（熊本県）、一ツ葉海岸（宮崎県）、吹上浜（鹿児島県）の4箇所のクロマツ林分を選定し、この林分の中から成長速度が林

表-51 抵抗性クロマツの追加選抜における抵抗性個体の選定方法

1 これまでおよび今後の進め方



分の平均以上で，球果の着生が多い個体を採種母樹として選んだ。母樹の選定では近縁個体の選抜をさけるために，できる限り離れた母樹を選んだ。

母樹の樹種区分は球果の形状，針葉形態の観察を行い，さらにRDIを調査した。RDIの値が1.86以上（渡辺ら1194, 1996）のものをクロマツと判定した。また，母樹がクロマツであっても，花粉親が林分内に混在する雑種性の高い個体である可能性もあるため，実生苗の床替え段階において，冬芽が白芽のタイプ（クロマツ型）のものだけを選別して床替えした。

接種検定は野外で行い，実生苗で2回，つぎ木苗で1回の計3回行った（表-51）。線虫接種は，一次検定（2年生苗），二次検定（3年生苗）とも苗木1本あたり線虫アイソレート島原5,000頭を剥皮接種法によって行った。二次検定の健全個体の中から，冬芽色と針葉の剛軟を考慮して各家系から1本の候補木を選抜した。候補木は1999年3月につぎ木増殖し，2001年7月に各クローン5～20本，合計1,054本に対して苗木1本当たり10,000頭を剥皮接種法で接種した。

3) 結果と考察

表-52に示すように4林分の102家系の白芽タイプの出現頻度は19.7～34.5%の範囲で平均は24.2%であった。一次検定および二次検定の結果を表-53に示した。一次検定では白芽タイプの11,246本について行った結果，平均生存率は14.9（採種林分別の生存率8.3～22.7）%であった。二次検定では一次検定での健全苗1,650本について

行った結果、平均生存率は43.5（採種林分別の生存率42.3～44.8）％で、林分別生存率の変動幅が狭まり、抵抗性が高まったことがうがわれた。

表-52 母樹のRDIと後代における冬芽形態別出現率の地域別平均値

林 分	母樹数	平均RDI (分布幅)	冬 芽		
			赤芽系	中 間	白芽系
虹の松原	25	1.983 (1.935～2.000)	18.0%	62.3%	19.7%
天 草	25	1.982 (1.692～2.000)	17.6	47.9	34.5
一ツ葉海岸	26	1.979 (1.792～2.000)	17.4	61.1	21.5
吹上浜	26	1.984 (1.936～2.000)	15.2	56.9	27.9
全 体	102	1.983 (1.692～2.000)	17.3	58.6	24.2

表-53 クロマツ実生後代の一次検定および二次検定

林 分	一次検定			二次検定		
	家系数	接種本数	生存率	接種本数	健全率	生存率
虹の松原	25	2,903	22.7%	657	30.3%	42.3%
天草	24	2,588	17.5	441	32.9	44.0
一ツ葉海岸	26	3,012	8.3	244	37.3	43.9
吹上浜	26	2,743	11.4	308	34.4	44.8
平 均	101	11,246	14.9	1,650	32.8	43.5

一次検定の地域間および家系間には1％水準の有意差有り。

二次検定の地域間には有意差なし。家系間には1％水準の有意差有り。

二次検定の健全苗の中から冬芽の色、針葉の堅さ、苗木の形状の3形質を加味して67個体の候補木を選抜した。一次検定数を母数にした合格率は0.59％で、抵抗性育種事業のクロマツ合格率0.12％に比べて高い合格率である。クローン検定の結果を表-54に示した。抵抗性を評価するため、各個体を健全5，部分枯れ3，枯損1，とする

表-54 クローン検定における林分別の選抜候補木数

林 分	接種クローン数	候補木本数 (本)	クローンの抵抗性区分		
			【強】	【中】	【弱】
虹の松原	25	18	10	7	1
天 草	25	20	2	11	2
一ツ葉海岸	26	14	5	9	6
吹上浜	26	16	4	5	5
計	102	67	21	32	14

抵抗性（健全性）の区分は岡村ら（2002）による。

本実験で最も抵抗性の高い佐賀9と同じ範囲内にあるクローンを【強】、最も抵抗性が低い鹿児島7と同じ範囲内のクローンを【弱】、どちらとも入らないものを【中】とした。

5段階で採点し、これを用いて各クローンの健全度指数（岡村・戸田2002）を算出した。この指数を用いて、抵抗性（健全度）の高い（表-54の「強」）21個体をクロマツ抵抗性クローンとして確定した。これらは新規に造成される採種園や既存の採種園の改良に用いられることになっており、その中で後代の抵抗性、種子生産性などの諸特性が評価される予定である。最近、諸特性を明らかにした上で、普及させるべきとの慎重論もあるが、これらの特性の解明には時間がかかる。林木育種では普及と検定を並行して行うことが一般的であり、スギやヒノキの育種の進め方と同じと考える。

第 5 節 遺伝資源保存から見た在来マツの抵抗性

九州地方に分布するマツ属はアカマツ、クロマツ、ヤクタネゴヨウ、リュウキュウである。このうちヤクタネゴヨウは南西諸島の一部に分布する稀少種である。また、アカマツ、クロマツの中には、日向マツ、霧島松、牛根松、茂道松といった良質材として評価を受けている地域品種がある。

近年、材線虫病による被害で林分としての保存が困難になっている樹種、地域品種も見られる。これらの樹種、地域品種は遺伝資源の面からも保存が検討されているが、この場合、材線虫病に対する抵抗性は保存の成否を左右する重要な要因と考えられる。

本項ではヤクタネゴヨウ、霧島松、茂道松の 1 樹種、2 地域品種について接種検定を行い、抵抗性の評価と抵抗性個体選抜の可能性を検討し、考察を行った。

(1) ヤクタネゴヨウ (*Pinus armandii* Fr.var.*amamiana*)

ヤクタネゴヨウは九州の屋久島と種子島だけに自生する五葉松で、屋久島では標高200m～800m、種子島では200m以上に分布する。

近年、ヤクタネゴヨウの個体数が減少しており、環境省が公表した植物版レッドリストには野生において放置しておけば絶滅の可能性のある絶滅危惧種の 1 つに指定されている。現存するヤクタネゴヨウの個体数は、屋久島に約1,000～1,500個体、種子島に約100個体と推定されている（明石1994、山本・明石1994）。個体数の減少は、台風や材線虫病による被害、その両者の複合によるという報告もある（秋庭ら2000、金谷ら1995）。

ヤクタネゴヨウから材線虫が発見されたのは種子島の西之表市屋久川国有林106林班において、推定樹齢50年の枯損木（樹高15m、胸高直径30cm）からで（森田ら1989）それ以降材線虫病が枯損原因の 1 つとされてきた。また、ヤクタネゴヨウの分布が小集団あるいは孤立木であることから遺伝的な多様性が小さく、近親交配の影響によって次世代の繁殖が困難であるという遺伝的な構造に衰退の原因があるという指摘もある（林1988、林ら1984、金指ら1998）。

ヤクタネゴヨウの保存は1998年から九州育種場で現地外保存を行っているが、2000年から「保護林保全緊急対策事業」として九州森林管理局で保全が行われている。

著者はヤクタネゴヨウの材線虫抵抗性を確認するため、同種の近縁種とされるカザンマツ (*Pinus armandii* var.*armandii*) ならびにタカネゴヨウ (*Pinus armandii* var.*masteriana*) の 3 樹種について接種検定を行い、抵抗性個体の選抜の可能性を考察した。

ヤクタネゴヨウは種子の入手が困難なこと、発芽率が低いこと、などから検定材料の確保が困難なこともあって、これまで産地の明らかな材料を用いたこの種の報告は少ない（寺下・松本1986）。

1) 材料および方法

接種検定に用いた供試材料を表-55に示した。ヤクタネゴヨウは、監物台樹木園（熊本県：監物台）、種子島、

表-55 ヤクタネゴヨウ等の接種検定供試材料

樹 種	所在地	繁殖方法	樹齢 (年)	平均樹高 (cm)	平均直径 (mm)	家系・クローン構成
ヤクタネゴヨウ	監物台	s	3	47.7	6.7*	1家系
〃	種子島- A	s	11	196.0	15.5	1家系 (西之表平松11)
〃	種子島- B	s	11	268.2	28.0	1家系 (家系不明)
〃	種子島- C	c	11	328.0	67.5	1クローン
〃	下屋久署- A	s	11	234.8	23.3	家系不明
〃	下屋久署- B	s	6	178.7	10.8	1家系
〃	下屋久平瀬	s	25	849.0	204.5	1家系
〃	磯公園 (仙巖園)	s	7	219.7	14.6	1家系
カザンマツ	中国	s	7	144.5	15.3**	家系不明 (混合)
〃	静岡県林業試験場	c	7	180.3	15.9	クローン不明
タカネゴヨウ	台湾	s	6	178.8	12.9	家系不明

同表は1988年および1993年の九州育種場年報と一部聞き取り調査による。

*：地際直径、**：1m高の直径、他は胸高直径。

S：実生 C：つぎ木

下屋久署構内、同平瀬国有林（鹿児島県：下屋久平瀬）、磯公園（現仙巖園）の5地域から収集して育成した3～25年生の実生個体である。カザンマツは中国から種子を導入して育成した実生7年生の個体および静岡県林業試験場（現静岡県林業技術センター）からつぎ穂の分譲を受けて増殖したつぎ木7年生個体である。タカネゴヨウは台湾から導入した種子を育成した実生6年生個体である。

監物台のヤクタネゴヨウと中国産のカザンマツは鉢植え、その他は苗畑に植栽されたものである。材線虫の接種は2000年8月に線虫アイソレート島原（苗木1本当たり5,000頭）を剥皮接種法によって行い、乾燥防止のため接種部位をパラフィルムで覆った。

2) 結果と考察

接種後30日を経過しても病状が見られない種子島-B、種子島-C、下屋久平瀬は同年8月31日に20,000頭を剥皮接種法により追加接種した。調査は同年10月12日（接種後70日目）に行ない、健全率、生存率を算出し、検討した。

接種検定の結果を表-56に示した。材線虫接種直後からヤクタネゴヨウの種子島-B、種子島-C、下屋久平瀬、タカネゴヨウの個体では、接種部位から多量の樹脂が滲出した。

接種後14日以内にヤクタネゴヨウの監物台、カザンマツの針葉に萎凋症状が発現した。これは同時期に接種検定した一般クロマツと同時期であった。しかし、ヤクタネゴヨウの種子島-B、種子島-C、下屋久平瀬は接種後30日を経過しても異常は現れなかった。20,000頭の材線虫を追加接種20日目後（初回接種後50日）に、種子島-Bの2個体で症状が発生した。次いで種子島-Cの3個体で針葉の黄色化が認められた。しかし、下屋久平瀬は全く変化が認められず、接種約120日目でも健全であり、材線虫病に対して強い抵抗性を示した。

健全率の高いグループに下屋久平瀬（健全率100%）、種子島-B（89.5%）、種子島-C（75.0%）、下屋久署-A

表-56 ヤクタネゴヨウ等の材線虫接種後70日目の結果

樹種	所在地	接種数 (本)	健全数 (本)	生存数 (本)	健全率 (%)	生存率 (%)
ヤクタネゴヨウ	監物台樹木園	81	0	0	0.0	0.0
〃	種子島-A	7	2	2	28.6	28.6
〃	*種子島-B	19	17	17	89.5	89.5
〃	*種子島-C	4	3	3	75.0	75.0
〃	下屋久署-A	9	5	5	55.6	55.6
〃	下屋久署-B	9	1	1	11.1	11.1
〃	*下屋久平瀬	2	2	2	100.0	100.0
〃	磯公園 (仙巖園)	60	4	4	6.7	6.7
カザンマツ	中 国	19	0	1	0.0	5.3
〃	静岡県林業試験場	6	1	1	16.7	16.7
タカネゴヨウ	台 湾	50	29	30	58.0	60.0

* : 20,000頭の材線虫を追加接種。

健全率 : (健全数 / 接種数) × 100

生存率 : ((健全数 + 部分枯れ) / 接種数) × 100

(55.6%) があげられる。このうち、種子島-Cは1988年に採穂してつぎ木育成中の12個体の内の1個体であり、抵抗性が高い母樹であった可能性がある。一方、健全率の低いグループは、監物台 (健全率0.0%)、磯公園 (6.7%)、下屋久署-B (11.1%) があげられる。これらは一般クロマツの接種後60日目の健全率 (16.5%) より低い値である。

この接種検定において抵抗性が低かった監物台と磯公園は種子の生産状況が似ている。すなわち監物台のヤクタネゴヨウは2個体中1個体しか着果しておらず、また、磯公園は1990年以降、3本の内2本が材線虫病によって枯損し、1993年に残りの1本から採種された。周辺にはヤクタネゴヨウがないことから自殖種子の可能性がある。自殖家系の抵抗性は著しく低いことから (戸田ら1997a)、この2産地もこのことが影響しているものと推測される。

中国産カザンマツの健全率は0.0%で、抵抗性が認められなかった。しかし、静岡県林業試験場のつぎ木苗は16.7%で、一般クロマツと同程度の健全率を示した。タカネゴヨウは58.0%の健全率で、抵抗性アカマツ程度の抵抗性を示した。

以上のようにヤクタネゴヨウの3家系が高い抵抗性を示したことから、屋久島および種子島に生育している個体の中には抵抗性の高いものが存在すると推察され、抵抗性個体の選抜は可能性であると考えられる。

(2) 霧島松

霧島松は九州を代表する木材生産用のアカマツ地域品種である。宮崎県と鹿児島県両県にわたる霧島一帯にはアカマツの美林が見られる。霧島松の特性は海拔700~1,300mに分布しており、幹は完満で、枝下高は高く、節が少なく小さい、年輪幅が均一である、など優れた諸特性を備えている。特に材にはヤニが少なく、木理が通直であることからヒノキ材に勝る建築用材として高い評価を得ている (佐藤1961)。

標高1,000m以下では霧島松の材線虫病による被害が発生している。著者は1997年に標高570~1,300m地点に生育している衰弱13本個体 (樹高20~28m, 胸高直径40~80cm) の霧島松について材線虫の生息を調べた結果、5本から材線虫が検出された。その中の3本は標高1,200m, 1本は1,300mのものであり、その被害は垂直的な

拡大の様相を見せている。材線虫病で被害を受けた試植検定林の中に植栽されていた霧島松の2家系が著しく高い抵抗性を示した例があることから(戸田ら1983),ここでは霧島松の抵抗性を再確認するとともにアカマツのなかでどの程度の抵抗性をもっているのか,さらに,霧島松の無被害林分(以下, O霧島松)と被害林分(以下, K霧島松)の家系抵抗性を比較検討し, 霧島松からの抵抗性個体の選抜の可能性について考察した。

1) 材料および方法

表-57に示したように, 無被害林分のO霧島松の供試材料は標高740m~780m地点の35年生林分から採種して育成した21家系である。また, 被害林分のK霧島松13家系およびリギダマツ(以下, Kリギダマツ)の1家系は1961年に熊本市金峰山に設定されている試植検定林から採種して育成したものである。この試植検定林は, 外国産マツなど16樹種が植栽されていたが, 1973年頃から材線虫病の被害によって大半が枯損した。

表-57 霧島松の接種検定供試材料および調査結果

林分名	樹種/品種名	家系数	接種検定結果			採 種 地
			接種本数	健全率	生存率	
被害林分	霧島松 (K霧島松)	13	708	60.9	72.2	熊本営林署金峰山国有林88へ
	リギダマツ (Kリギダマツ)	1	107	85.0	86.0	//
無被害林分	霧島松 (O霧島松)	21	2,284	41.2	46.8	宮崎県小林営林署王司国有林119- つ
	テーダマツ	5	100	31.0	45.0	熊本営林署西木原国有林102- い
対 照	精英樹アカマツ	14	1,421	26.0	29.3	熊本県九州育種場
	精英樹アカマツ混合	1	107	17.8	33.6	//

対照としてテーダマツ5家系, 精英樹14家系, 精英樹の混合家系の2年生苗を供試した。材線虫の接種は家系当たり25~111本の苗木を用い, 地際部にアイソレート島原5,000頭を剥皮接種法によって行った。

2) 結果と考察

接種後10日目に材線虫の被害特有の針葉退色, 萎凋症状が現れ, O霧島松やテーダマツには枯損が観察された。10~20日目には枯損苗が急速に増加し, これまでと同じ発病推移が観察された。最終調査の結果を表-57に示した。K霧島松が健全率60.9%, 生存率72.2%, O霧島松が41.2%, 46.8%であった。テーダマツ以上の健全率を示した家系は, K霧島松で約9割, O霧島松で約6割あり, アカマツ精英樹の3割に比べて著しく多かった。また, Kリギダマツは, 健全率, 生存率とも約85%を示した。K霧島松の1家系(個体No. 3)が健全率88%, 生存率92%と前回(生存率80%)と同様に高い抵抗性を示した(戸田ら1983)。このことは, 被害林分では, 材線虫病による淘汰が行われ, 材線虫病に対する抵抗性が向上していることを示している。一方, 無被害林分のものの生存率は, 40%台であり, 抵抗性は一般アカマツ程度であると考えられる。以上のことから, 霧島松の抵抗性個体は被害林分において効率的に選抜することが可能性である。

(3) 茂道松

茂道松は鹿児島県と熊本県の県境にある水俣市茂道地区に古くから集団的に分布した地域品種である。別名「住吉藻道松」,「杉松」と呼ばれ, 建築用材や造船用材として珍重された。

1960年代前半から材線虫病の被害によって枯損が進んでおり, 九州地域で集団的に残っているのは, 1968年に九州育種場と水俣営林署で設定された「水俣署クロマツ遺伝子保存林」だけである。茂道松の成立は, 約200年前に植栽されて暫時天然更新または植林されたとする説(水俣営林署1969)や天然生説(河田1943)が報告されているが明らかではない。また, 茂道松の特徴について成長(河田1943)や樹皮の亀紋(木原1934)が調査されている。これによると外部形態特徴はクロマツに近く, 樹皮色, 冬芽の形状, 冬芽色はアカマツ的な性質も混じっているとされているが樹種区分は明らかにされていない。

前述の遺伝子保存林は茂道松の種子源に用いられていることから, 外部形態、種子形質, RDIによる樹種区分を行い, 接種検定によって抵抗性を調査した。

1) 材料および方法

調査および種子採取地は, 熊本県芦北郡湯浦町米田山国有林41-へ林小班の茂道松遺伝子保存林(25年生)である。同保存林は当初8,000本が植栽されたが, 1993年時点では2,500本~3,000本が残っている。

1993年10月に33個体を選木し, 樹冠中央部の2枝を採取し, 着果の見られた24個体から球果を採取した。選木した個体の平均樹高は14.6m, 平均胸高直径は19.8cmであり, 成長は25年次の一般的なものとほぼ同程度もしくはそれ以上であった(熊本営林局1970)。

樹種区分の調査項目は, 球果重, 球果あたりの種子粒, 充実粒, 充実種子の割合, 1000粒重, 発芽率, 針葉長, 針葉厚, 樹脂道指数(RDI)の9形質である。茂道松とクロマツとの各形質の比較には, RDIが1.80以上の抵抗性クロマツ9クローンの平均値を用いた。樹種区分を行うため, 針葉長, 針葉厚は個体あたり30針葉を調査した。また, RDIは30針葉の中央部切片の樹脂道配列を検鏡して算出した。

接種検定の供試材料は, 茂道松24家系の実生2年生苗および対照として用いたテーダマツ5家系を用いた。接種本数は24家系, 3,848本で, 家系あたりの本数は9~121本である。材線虫の接種は, 1995年7月に線虫アイソレート島原を苗木1本当たり5,000頭剥皮接種法により行った。調査は接種後10日間隔で, 健全, 部分枯れ, 枯損の3区分で調査した。最終調査時(70日目)の生存率をアークサイン変換して分析に使用した。

2) 結果と考察

茂道松の球果および種子形質についてクロマツ抵抗性クローンの平均値と比較して表-58に示した。茂道松は, 千粒重を除いた各形質はクロマツ抵抗性クローンの値を上回った。特に充実種子数はクロマツ抵抗性クローンの約2倍と多かった(宮田1996)。

針葉長と針葉厚の平均値(標準偏差)およびRDIを表-59に示した。針葉の前2者の形質の値はクロマツ抵抗性クローンと比較して, 針葉は短く薄い傾向が認められた。また, これらの形質は分散分析の結果(表-60)のように個体間および枝間に1~5%レベルで有意差が認められ, 茂道松の針葉長・針葉厚には個体間に大きなバラツキのあることが明らかとなった。

茂道松の各個体におけるRDIの平均値とその95%信頼区間を図-39に示した。個体のRDIは1.80~2.00の分布幅

表-58 茂道松の球果及び種子形質の特性

種 類	形 質	球果重 (g)	充実粒	シイナ粒	種子数	充実種子の 割合 (%)	1,000粒 重 (g)	発芽率 (%)
茂道松	平 均	11.1	13.3	5.9	19.3	68.4	12.3	83.5
	最大値	15.2	29.7	13.0	36.1	90.2	16.8	96.6
	最小値	6.9	3.1	0.8	3.9	28.8	8.8	72.4
*クロマツ	平 均	9.4	6.8	5.2	12.1	53.4	15.0	82.8
	最大値	15.5	26.5	13.0	37.5	86.3	19.5	95.1
	最小値	5.3	2.3	1.4	2.3	22.4	7.1	31.0

* 1993年10月に九州育種場のクローン集植所より採種した樹脂道指数 (RDI) が1.80以上のクロマツ9クローンの平均種子形質。

表-59 茂道松の 針葉形質の平均値 (標準偏差)

種 類	針葉長 (cm)	針葉厚 (cm)	樹脂道指数 (RDI)
茂道松	12.7 (1.12)	0.86 (0.06)	1.968 (0.035)
*クロマツ	15.2 (1.27)	0.99 (0.09)	1.958 (0.023)

* 抵抗性クローンの樹脂道指数 (RDI) が1.80以上の16クローンの平均値。

表-59 茂道松の 針葉形質の平均値 (標準偏差)

形 質	要 因	自由度	平均平方	F 値
針葉長	個体間	32	2.4941	5.353*
	枝 間	1	4.8006	10.304**
	枝 内	32	0.4659	
針葉厚	個体間	32	0.0060	4.461*
	枝 間	1	0.0072	5.376*
	枝 内	32	0.0013	
樹脂道指数 (RDI)	個体間	32	0.0054	1.938ns
	枝 間	1	0.00001	0.0003ns
	枝 内	32	0.0028	

** 1%水準の有意差有り, * 5%水準の有意差有り。

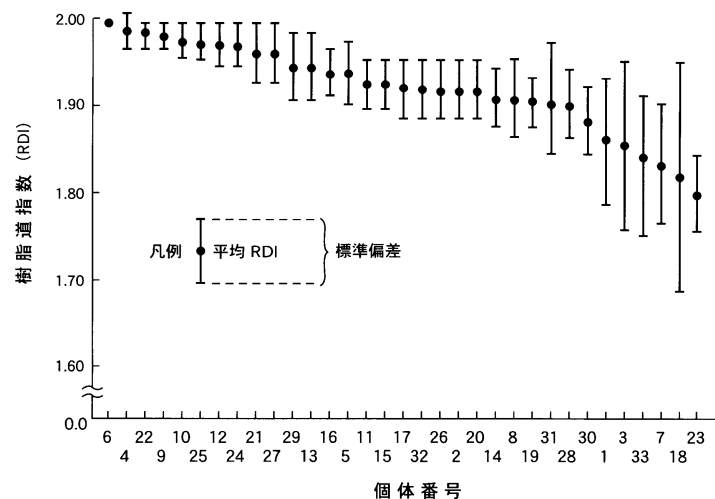


図-39 茂道松の個体別平均樹脂道指数の変異

を示し、平均は1.97であった。個体のRDIが1.90以下のものでは、個体内のバラツキが大きくなる傾向にあったが、個体間および枝間に有意差は認められなかった。マツの樹種区分では、RDIが1.8以上のものをクロマツに区分してさしつかえないことが明らかとなっている（渡辺ら1994）ことから、茂道松はクロマツといえる。ただ、針葉形質がクロマツと若干異なっているため、これを茂道松の特徴とするべきかについては明らかにできなかった。

接種後の病状推移は、対照のテーダマツが接種10日目に萎凋症状が観察されたのに対し、茂道松は若干遅れた。茂道松の生存率は、40日目まで急速に低下したあとは緩やかな下降となった。家系生存率は、表-61に示したように、9.9～45%に分布し、その平均は21.5%であった。分散分析表の結果（表-62）、家系間に著しい有意差が認められた。平均生存率は一般的なクロマツに比べて高かった。テーダマツの平均が28.8%と例年になく低値であり、1995年の検定環境が厳しい条件であったことを考慮すると茂道松は、比較的材線虫に対して強い品種であると言

表-61 茂道松の接種検定結果

家系名	接種数	健全率	生存率
茂道松19	202本	38.6%	45.0%
茂道松1	86	25.6	37.2
茂道松17	191	31.4	35.1
茂道松21	207	29.0	31.9
茂道松5	112	22.3	30.4
茂道松28	56	17.9	28.6
茂道松14	176	21.6	27.8
茂道松8	69	23.2	26.1
茂道松15	164	20.7	25.6
茂道松4	123	19.5	25.2
茂道松6	98	17.3	24.5
茂道松13	216	20.4	24.1
茂道松16	223	19.7	23.8
茂道松2	117	15.4	17.9
茂道松10	275	14.5	17.8
茂道松7	215	11.6	16.3
茂道松12	129	14.0	16.3
茂道松18	228	14.5	16.2
茂道松3	156	7.7	12.2
茂道松23	88	6.8	10.2
茂道松9	354	7.6	9.9
計21家系	3848	17.5	21.5
テーダマツ	583	25.9	28.8

家系名は生存率の高い順。

表-62 茂道松の接種検定結果の分散分析表

変動因	自由度	平方和	分散	F 値
家系間	23	4311.029	187.436	4.484**
反復	2	617.507	308.753	7.386**
誤差	46	1922.997	41.804	
全体	71	8651.532		

**1%水準の有意差有り、*5%水準の有意差有り。

える。また、茂道松の平均生存率がテーダマツと大差がなかったのは、遺伝資源保存林が材線病によって既に自然淘汰を受けていることも影響していると考えられる。

本実験において生き残った個体は別の現地検定実験地に植栽され、追跡調査を行っている。同試験林ではカミキリの後喰痕が8.5%の個体で確認され、枯損した個体からは材乾重1gあたり平均66頭の材線虫が分離されることから、同実験地の枯損は材線虫によるものと考えられる（戸田・田中2001）。にもかかわらず5年次の生存率は97.0%ときわめて高い。

第IV章 マツ材線虫病の抵抗性育種における今後の研究の展望

抵抗性採種園では広い地域から選抜された多数の抵抗性クローンが混植されているが、の中にはさまざまな抵抗性要因を持つものが含まれている。抵抗性の有効期間がどの程度持続できるかといった問題が提起されている。これに関する研究はすでに始められているが(宮原ら2000)、並行して次の抵抗性品種の創出に向けた研究を進めなければならない。その1つにはクロマツ実生後代からの抵抗性個体の選抜も含まれるが、今後の課題としては、抵抗性の発現機構が異なる抵抗性遺伝子を二重、三重に組み込むような交雑を行って抵抗性の安定維持を図ることが必要と考えられる。また、抵抗性の要因および遺伝様式の解明も今後の重要な課題である。

(1) 抵抗性要因の解明

材線虫抵抗性にはマツ属の樹種、樹種内の個体による遺伝的変異がある。しかし、その抵抗性がどのような要因によるものなのかについては明らかにされていない。材線虫の抵抗性育種ではカミキリの食害には樹種選択性がなく、一般にいわれている病虫害抵抗性要因の非選好性、抗性作用、耐性のうち、非選好性に基づいた育種法はとられなかった。抵抗性要因は抗性作用、耐性あるいはこの両者によると考えられる。

材線虫病の発病機作の解明が抵抗性要因の解明につながる。発病機作についてはこれまで多くの研究が行われてきた。材線虫の樹体内の増殖率(堂園ら1973, 橋本・堂園1975)、材部の β -ミルセン含有量(渡辺1982)、内樹皮液のpH、カテコールタンニンの含有量が抵抗性に影響すると報告されている(大山・福島1982, 大山ら1983)。これらはいずれも抗性作用に属し、樹体内の材線虫の増殖に大きく影響を与えているものと推測される。また、材線虫が侵入しても柔細胞や形成層に変性が生じない、または、細胞が破壊されても修復能力(池田ら1994)を備えたもの、さらに材線虫が侵入しても根の伸長停止の生じにくい特性(作田ら1993)や耐乾特性など、生理的特性についても見逃してはならないと考えられる。

材線虫病において、弱病原性の材線虫を前接種することにより、本病に対する抵抗性が誘起されるという誘導抵抗性が報告されている(清原1982, 1983, 1984, 1985)。これは一度病原性の弱い材線虫が一度樹体内に侵入することによって樹体が刺激を受け、樹体内の抗性作用が働き、後接種された材線虫の増殖が妨げられると言うものである。

このようにさまざまな生理的抵抗性要因に関連した研究が進められているが、アカマツおよびクロマツの抵抗性クローンと感受性クローンについて化学的組成、生理的特性における違いを究明し、抵抗性要因の解明を図る必要がある。

(2) 抵抗性の遺伝様式の解明

マツは一般の農作物とは異なり、他植性植物であることや、採種園産の種子は園内に植栽された抵抗性個体相互間交配によって生産されることから、抵抗性遺伝子の固定は難しい。また、抵抗性が劣性遺伝子による場合には、抵抗性が子供群に発現されにくい恐れがあるため、各クローンのもつ抵抗性遺伝子が優性であるか劣性であるか、それをホモあるいはヘテロで保持しているかを解明する必要がある。

これまでに報告されている他の植物の線虫抵抗性の遺伝様式を見ると、優性遺伝するものとしては、線虫 *Meloidogyne hapla* Chitwood に対するアルファアルファ、*Heterodera schachtii* Schmidt に対するサトウダイコ

ン, *Tylenchulus semipenetrans* Cobbに対するカンキツ類の抵抗性がある。一方, 劣性遺伝の例としては, *M. incognita* (Kofoed & White) Chitwoodに対するワタあるいはマメ類の抵抗性が知られており, いずれも1~2個の遺伝子によって抵抗性が支配されている (Blngfors 1971)。材線虫抵抗性の遺伝性については数例が報告されている (寺田ら1999, 蓬田1998, Toda and Kurinobu 1998, 2001, 2002)。また, 遺伝様式の解明に関して, クロマツとタイワンアカマツとの交雑種, その戻し交雑家系およびF₂家系の検定結果から, その抵抗性遺伝子が優性であることが確認されている (佐々木ら1983a, 1983b)。また, クロマツ精英樹4クローンの自殖家系と他殖家系の検定結果から, 2対あるいは数対の優性な主働遺伝子によって抵抗性が支配されており, 中には特定組合せ効果もあることが報告されている (佐々木ら1983a)。しかし, 現段階では遺伝様式については不明な点もこのこされている。今後は抵抗性個体を用いた交配を行い, 抵抗性要因やその発現機構の解明を進めなくてはならない。

(3) 抵抗性クローン後代の造林地における諸特性の解明

抵抗性クローンの後代の造林については, 抵抗性ばかりでなく, 各家系の諸特性が十分把握されることが重要である。このため, 抵抗性採種園産種苗の造林に当たっては, 植栽後の追跡調査ができるような植栽計画が望まれる。病虫害の検定では, 加害者側の選択性が大きなポイントとなることから, 混合植栽が望ましい。近年, 検定林レス次代検定方法の新しい技術も開発されており, これらを取り入れた実験林の造成も考慮する必要である (白石1996, 1999)。

調査は, 現行の精英樹選抜育種事業における次代検定林よりもさらに詳細に行い, 各抵抗性クローン (家系) の特性評価をする必要がある。これらの結果をもとに人工交配を実施して複数の抵抗性遺伝子を集積させたクローンの創出を進めなくてはならない。また, 遺伝と環境の交互作用関係を把握する上から, 立地適応性, 気象害抵抗性などについても, 各地の造林地での調査・解析を行い, 次世代抵抗性個体の選抜に備えておくことが必要である。

(4) 抵抗性クローン後代における抵抗性低下への対応

一般に病虫害抵抗性育種では, 時間が経過するにつれ, 加害者側の適応進化により抵抗性が無効化されることが多いと言われている。すなわち, 抵抗性品種に適応した病原菌や害虫の家系が出現して抵抗性が失われるというもので, 古くは, イネ, ムギ, 野菜の病虫害抵抗性において多くの事例が報告されている (山川1978)。果樹では, かつてナツダイダイがヤノネカイガラムシに対して抵抗性品種とされていたが, 現在ではヤノネカイガラムシは全国どこでもナツダイダイのごく一般的な害虫となっている。また, クリタマバチは一時期, 銀寄などの抵抗性品種の栽培によって被害からまぬがれていたが, 10~15年後にはこれらの品種に寄生可能なクリタマバチ系統が出現し, 再びクリに被害が見られるようになった (大串1978)。このように, 病虫害に対する抵抗性では, 気象害抵抗性とは異なり, 作物と危害因生物との競争関係があり, 抵抗性品種を侵す新系統が出現する。このため, またそれに抵抗性を持つ新たな品種を創出しなければならない。これについて戸田 (良) (1979) は, 「特に成林あるいは伐採利用までに数十年を要する林木の場合, 危害因生物に比べて著しく不利と考えられる。したがって一般に適応変異の誘発を防ぐ対策としては, 複数の抵抗性遺伝子をもつ複雑な遺伝子構成を維持する配慮が必要である」としている。このため, 現在選抜されている108クローンを最大限活用し, 材線虫病に対抗しなければなら

らない。

材線虫の病原力について、これまでの研究から線虫の採集地域、林分間や林分内カミキリの個体間による変異の大きいことが報告されている（清原1977, 清原・河辺1984, 清原ら1983, 戸田ら1979b）。また、材線虫を分離した樹種の抵抗性と病原力との関係、さらに材線虫の継代培養による病原力の変異についても解明する必要がある。この際、使用する材料も遺伝的に安定しているものを用い、また、抵抗性の異なるものを複数供試するなどの配慮が必要と考える。

摘 要

本研究では、材線虫病の抵抗性育種に関して、抵抗性クローンの選抜技術の開発、抵抗性クローンの評価ならびに、実用化されている抵抗性種苗の抵抗性を確認するため、次に述べる3つの観点から実験ならびに調査を行い、抵抗性クローンの選抜の妥当性を検討した。

1. マツ材線虫病抵抗性個体を選抜するため、材線虫の人工接種検定技術の開発に向けた基礎的な実験を行なった。
2. マツ材線虫病抵抗性クローンの21の特性について経年調査を実施し、これらの特性評価を行った。さらにクローンの雑種性と後代の外部形態形質の分離を調べ、雑種性と抵抗性との関係を検討した。
3. 抵抗性クローンの後代における抵抗性について、10年間の苗畑検定の結果と次代検定林におけるマツノマダラカミキリの食害痕調査の結果から、苗畑段階での接種検定の有効性を検討した。さらに種間交雑による抵抗性の向上ならびにクロマツ実生後代からの抵抗性個体の選抜を試みた。

以上の項目について行った本研究の要点を総括的に記述すれば次のとおりとなる。

1. 材線虫の人工接種検定の技術開発

1) 接種検定において選抜基準として用いたテーダマツの生存率は41～59（健全率16～30）%の範囲に分布し、家系によって抵抗性が変動することが明らかとなった。テーダマツが種特性として強い抵抗性を有しているという評価は普遍的なものではなかった。

2) 接種検定はクロマツを台木としたつぎ木苗で行われるが、穂木が抵抗性のものであれば台木に関係なくその抵抗性は発現された。さらにつぎ木苗への線虫接種はつぎ木部位から10～15cm離れたところに接種すれば検定は可能であった。

3) 材線虫の病原力は採集地域によって変異し、被害が進行中の林分の材線虫が特に強い病原力をもつということではなかった。また、線虫アイソレートは分離された樹種を選択的に加害することはなかった。さらに本事業で使用した線虫アイソレート（島原）の病原力は継代培養によって変化しなかった。材線虫の大量培養は麦培地が最も効率的であった。抵抗性育種事業の接種検定用の線虫アイソレートは、病原力と人工培養による増殖性から線虫アイソレート島原が用いられた。

2. 抵抗性クローンの諸特性の解明

1) 抵抗性採種園における枯損は、抵抗性の低位なクローン、あるいは、つぎ木不親和性などにより生理的障害のある個体で多く見られた。枯損した個体からは材線虫が確認された。

2) 抵抗性クローンの幼齡期の成長は、アカマツに比べてクロマツが旺盛であった。また、クローン間の成長の変異は、アカマツでは大きく、クロマツでは小さかった。

3) 抵抗性クローンは、アカマツ、クロマツとも2年次から雌花を着花し、アカマツは4年次ですべてのクローンが着花した。クロマツでは6年次で8割程度のクローンが着花した。また、クロマツでは7年間で1度も雌花を着花しないクローン（土佐清水ク63、夜須ク37）があり、雌花の着花性は低かった。

また、雄花は、アカマツの真備770、クロマツ小浜ク30が7年間で一度も着花しなかった。吉田ク2は1度だけ着花した。抵抗性クローンの雌雄花の着花性はアカマツ、クロマツとも低い、特にクロマツは著しかった。

4) 抵抗性クローンの開花時期は、雌雄花ともクローンや年によって変動した。各クローンの開花日の年相関は、雌花で0.830^{**}、雄花で0.765^{**}と有意であり、相対的な開花順序には違いがないといえる。アカマツでは備前ア143、佐賀関ア93など雌花の開花時期の早いクローンが存在し、クロマツでは小浜ク24がアカマツの開花時期と同調した。また、備前ア143、佐賀関ア93はアカマツの雄花開花範囲をはずれ、また、小浜ク24はアカマツの開花範囲にあった。

5) 抵抗性クローンの種子生産性は一般のマツに比べて低かった。結果率はアカマツが80%台、クロマツは70%台であった。1球果あたりの種子数がアカマツ8～15粒、クロマツが4～6粒であった。アカマツの松島ア58では総球果数1,048個から7.5gの種子が生産されたが、1球果あたりの種子量はわずか1粒と極めて少なかった。さらに閉球果率は、アカマツが0～70%、クロマツが9～100%であった。

6) 抵抗性クローンを樹脂道指数（RDI）によって樹種判定した結果、アカマツ型が59%、中間型が26%、クロマツ型が15%であった。また、アカマツとして選抜された備前ア143は、RDIならびに外部形態の調査からクロマツと判定された。

雑種性と抵抗性の関係では、雑種性が高い母樹ほど後代で様々な形態をもつものが出現した。接種検定の結果は、家系内でアカマツ型個体の占める割合が高いものほど、抵抗性は高かった。

7) 抵抗性クローンの後代の抵抗性を評価するために、9年間の接種検定における生存率を最小二乗法で分析した。生存率はアカマツで98～39%（平均：64%）、クロマツで69～38%（平均：52.7%）となり、一般のマツにくらべてアカマツが16%、クロマツが40%高くなった。

接種検定における生存率は接種前後の降水量の影響を受け、6年間のテーグマツ家系の生存率と接種前後10日間の降水量との相関は $r=0.89^{**}$ と有意に高かった。さらに検定強度によって発病形態が異なり、検定強度が強ければ生存率＝健全率となり、弱ければ健全率＜生存率という関係があった。

8) 接種検定で生き残った苗（抵抗性マツ）に、接種頭数を10,000～400,000頭に増やし接種を続けると、150,000頭接種で急激な枯損が生じた。しかしそれ以上増やしても枯損の変化は小さかった。また、抵抗性クローンの原母樹由来の家系はクローン集植所産のものより抵抗性が高かった。このことは、自然界においても材線虫病に対する自然淘汰によって集団の抵抗性は高まっていると考えられた。

9) 材線虫を接種して枯損しない個体には、次の三つの共通した現象が見られた。①髄を中心とした木部中央部での通水は停止するが、木部周辺における通水阻害はおこらない。②水の停止した木部の柔細胞は部分的に変成する。③通水の停止していない木部柔細胞ならびに形成層には変化がない。このことから、苗木の修復機能は抵抗性要因の1つと考えられた。

1) 10年間の接種検定結果を分析した結果、家系間差は著しく有意であり、家系平均の遺伝率は0.836と高い値を示した。さらに無選抜集団とくらべて実現された選抜効果は、アカマツで0.177 (18%)、クロマツで0.348 (35%)であった。これらの選抜効果により抵抗性アカマツ後代の平均生存率は0.650 (65%)に、同じくクロマツは0.514 (51%)となり、両樹種とも目標とするテーダマツの生存率0.474 (47%)を上回ることが、統計遺伝学的に確認された。

3) 接種検定で選抜された抵抗性マツで造林した2ヶ所の次代検定林における7年次の生存率はともに90%以上で、成長は樹高、胸高直径とも一般のマツの平均を上回った。カミキリの食害痕は各々の検定林の58%, 34%の個体で確認され、食害痕率はアカマツの方がクロマツにくらべて高く、樹種間差が認められた。7年次のカミキリ食害の多い家系の生存率は各検定林の平均生存率とほぼ等しいことから、接種検定済みの苗は、遺伝的に抵抗性の高い個体が残っていることが明らかになった。

①種間交雑33組合せにおいて、全ての交雑種が母樹の抵抗性よりも高く、そのうちの18組合せでは両親の抵抗性を上まわった。②種間交雑種では、母樹および花粉親のどちらか一方が材線虫病に関して抵抗性であれば抵抗性は高まるが、その向上幅は交配材料の抵抗性によって変動した。③クロマツの種内交配種の抵抗性は、花粉親よりも高くなったが、種間交雑に比べて向上幅は小さい傾向があった。④クロマツ抵抗性クローンの自殖家系での抵抗性は著しく低かった。

5) ヤクタネゴヨウ、霧島松、茂道松など地域品種の材線虫接種検定では、各樹種／品種とも生存率の高い家系や個体が確認され、選抜の可能性が示された。

謝 辞

本論文をとりまとめるにあたって、九州大学大学院農学研究院森林資源科学部門の白石進教授には始終懇切なご指導と有益なご助言を賜り厚くお礼申し上げます。

九州大学大学院農学研究院附属遺伝子資源開発研究センターの佐藤光教授ならびに同農学研究院森林資源科学部門の吉田茂二郎教授には懇切丁寧なご助言と校閲の労をおとりいただき心から感謝いたします。

本研究の遂行と本論文のとりまとめに際し、独立行政法人林木育種センター育種工学課長の近藤禎二博士ならびに同育種課長の栗延晋博士には本論文をとりまとめるきっかけを与えていただくとともに、論文の執筆に際し、常に懇切なご指導とご協力をいただきました。同センター理事長の中道正氏ならびに同海外協力部長の黒木亮氏にはたえず叱咤激励の言葉をいただきました。抵抗性育種および遺伝資源保存の面から、同育種部長の田島正啓博士、同遺伝資源部長の宮田増男博士には貴重なご助言をいただきました。統計解析の面から、同育種課成長形質研究室長の久保田正裕氏に有益な助言をいただきました。また、森林保護の面から、独立行政法人森林総合研究所森林微生物研究領域長いきるの楠木学博士に貴重なご意見をいただきました。材線虫病の発病・枯死機構について組織・解剖学の面から、京都府立大学農学研究科助教授の池田武文博士にご指導と貴重なご助言をいただきました。以上の方々に心から感謝いたします。

本研究を進めるにあたって、独立行政法人林木育種センター九州育種場元場長の茨木親義氏、同元育種課長の大庭喜八郎博士、同藤本吉幸氏、同現育種課長の藤澤義武博士、同元育種専門官の冬野劭一氏ならびに同元関西育種場育種課長の西村慶二氏には材線虫抵抗性育種事業の開始から始終ご指導とご協力をいただきました。また、同九州育種場の職員の方々には材線虫の接種検定ならびに抵抗性マツ次代検定林およびクローン集植所の調査等にご協力していただきました。熊本県天草森林組合組合長の池田定行氏ならびに同業務課長の鳥羽瀬正志氏には材線虫抵抗性育種の研究成果を事業に取り入れ、その結果について有益なご意見をいただきました。九州地区林業試験研究機関協議会育種部会の方々には会議や現地視察を通じ、ご教示とご示唆をいただきました。以上の方々に心から感謝申し上げます。

本論文の執筆に際し、独立行政法人国際協力機構（JICA）の森林・自然環境協力部ならびに同北京事務所の担当職員の方々には種々ご配慮をいただきました。同日中協力林木育種科学技術センター計画首席顧問の宇津木嘉夫氏、同長期専門家の中山誠憲博士、同河野耕蔵氏、同河村嘉一郎氏ならびに調整員の井上治子女史、元調整員の中幡玲尼女史には始終激励と便宜をはかっていただきました。また、同センター計画の中国側スタッフの皆様には激励とご協力をしていただきました。以上の方々に厚くお礼申し上げます。

図、表の整理に浅沼幸子女史、佐藤愛子女史、周凌雲女史の手をわずらわし、妻の玲子は引用文献の整理、印刷所への手配などの協力をしてくれました。

本研究は以上の多くの方々の御指導とご協力のもとに成し遂げられたたものであり、お世話になった方々に心からお礼申し上げます。

なお、本論文は九州大学大学院農学研究院に学位論文として提出するために執筆したものである。今回、林木育種センター研究報告に掲載される機会が与えられるに際し、便宜をはかっていただいた独立行政法人林木育種センター研究報告編集委員会ならびに同事務局の今井道博氏に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 明石孝輝 (1994) 絶滅の危機にある有用な稀少樹種の保全対策について. 林木の育種, 171, 1-4
- 明石孝輝・糟谷重夫・北村系子・金指あや子 (1991) マツ材線虫病抵抗性個体選抜における選抜効果と選抜効果予測の手法. 日林誌, 73, 46-49
- 秋庭満輝・中村克典・石原誠 (2000) ヤクタネゴヨウ枯損丸太からのマツノマダラカミキリの羽化脱出とマツノザイセンチュウ保持状況. 日林九支研論, 53, 103-104
- 在原登志男 (1997) マツ材線虫病抵抗性簡易検定法の試み (I) - 冬期間に接種した数種マツ切り枝におけるマツノザイセンチュウの移動, 増殖または死滅 -. 森林防疫, 46, 3-8
- B 1 ngefors, S. (1971) Resistance to nematodes and the possible value of induced mutations. Mutation Breeding for disease Resistance, IAEA, 209-235
- 千吉良治・戸田忠雄 (1995) マツノザイセンチュウ抵抗性家系の土壌乾燥時の特性とマツノザイセンチュウ抵抗性の関係. 日林九支研論, 48, 51-52
- 堂園安生・清原友也・橋本平一 (1973) マツ種類別にみたマツノザイセンチュウの樹体内移動. 日九支研論, 26, 183
- Evans, A.A.F. (1970) Mass culture of mycophagous nematode. Journal of Nematology, 2, 99-100
- Falconer, D.S. (1981) Introduction to quantitative genetics. 2 nd ed., 340pp. Longman Scientific & Technical, Essex, UK.
- 藤本吉幸 (1985) タイワンアカマツの雄花穂と花粉の量的関係について. 九育年報, 12, 100-104
- 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二 (1987) タイワンアカマツの貯蔵花粉の発芽. 日林九支研論, 40, 85-86
- 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二・田島正啓 (1981a) 産地別テーダマツのマツノザイセンチュウ抵抗性のちがい. 日林九支研論, 34, 75-76
- 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二・田島正啓 (1981b) 抵抗性候補木みしょう家系等のマツノザイセンチュウ抵抗性. 日林九支研論, 34, 77-78
- 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二・田島正啓 (1981c) タイワンアカマツにおけるマツノザイセンチュウ抵抗性のクローン間差. 日林九支研論, 34, 81-82
- Fukuda, K. Hogetsu, T. and Suzuki, K. (1992) Cavitation and cytoogcal changes in xylem of pine seedlings inoculated with virulent and avirulent isolates of Bursaphelenchus xylophilus and B. mucronatus. J. Jpn. For. Soc., 74, 289-299.
- Fukuda, K., Hogetsu, T. and Suzuki, K. (1994) Ethylene production during symptom development of pine-wilt disease. Eur. J. For. Path., 24, 193-202
- 古越隆信・佐々木研 (1983) 二葉松類の種間雑種とマツノザイセンチュウ抵抗性. 林木の育種, 129, 1-6
- 古野東洲・上中幸治 (1978) 外国マツ属の虫害に関する研究第 6 報 - マツノマダラカミキリ成虫の後食について -. 京大農学部演報, 51, 12-22
- 二井一禎 (1984) マツノザイセンチュウ, ニセマツノザイセンチュウの樹体内動態とタンニン量の変化. 95回日林論, 473-474

- 二井一禎・古野東洲 (1976) マツノザイセンチュウに対するマツ属の抵抗性. 京大演報, 51, 23-36
- Gaumann, E. (1950) Principles of plant infection. Authorized English Edition by Brierley, W.B., 543pp, Crosby Locwood & Son, LTD., London
- 後藤 晋 (1999) クロマツのさし木増殖における発根条件の検討. 日林九支研論, 52, 57-58
- 後藤 晋・宮原文彦 (2000) 抵抗性クロマツ「田辺-54号」を母樹とする自然交雑実生苗の初期成長とマツノザイセンチュウ抵抗性. 日林九支研論, 53, 69-70
- 萩行治義・河野耕蔵・田淵和夫 (1971) アカマツ雌雄花芽の外部形態的变化. 46年林木育種発表講演集, 64-67
- 半田孝俊・加藤一隆・植木忠二・河村嘉一郎 (1995) 非抵抗性花粉の飛来によるアカマツザイセンチュウ抵抗性子供苗の抵抗性低下. 日林論, 106, 295-296
- Harvey W. A. (1979) Least squares analysis of data with unequal subclass numbers. 157pp, U. S. Dept. of Agric. Res. Reprinted
- 橋本平一 (1976) 灌水条件の異なるクロマツ苗におけるマツノザイセンチュウの動態とマツ苗の病態反応. 87回日林論, 233-235
- 橋本平一・堂園安生 (1973) マツ丸太中における材線虫の増殖. 日林九支研論, 26, 185-186
- 橋本平一・堂園安生 (1975) 抵抗性及び感受性マツの樹体内におけるマツノザイセンチュウの移動と増殖. 86回日林講, 301-302
- 橋本平一・堂園安生・清原友也・鈴木和夫 (1976) マツノザイセンチュウの密度別接種および分枝接種後の樹幹内の材線虫密度. 日林九支研論, 29, 203-204
- 橋詰隼人 (1981) 林木の交配に関する基礎的研究 (9) -アカマツ, クロマツの開花, 受粉の適期について-. 鳥取大学農学部研報, 33, 34-40
- 林 重佐 (1988) ヤクタネゴヨウ (アマミゴヨウ) の保護と保存. 林木の育種, 147, 11-13
- 林 重佐・馬田英隆・高橋泰子 (1984) ヤクタネゴヨウ松の絶滅抑止に関する森林育種学的研究. 鹿大農演報, 12, 67-77
- 林 弥栄 (1960) 日本産針葉樹の分類と分布. P. 37-163, 農林出版, 東京
- 平吉 功・林 石根 (1961) 三河東南部におけるアイグロマツ集団の分布. 72回日林講, 220-224
- 平吉 功・林 石根 (1962) 濃尾平野から越中平野に至る高山線沿線地域におけるアイグロマツ集団の分布. 73回日林講, 203-205
- 細田隆治・竹谷昭彦・柴田叡式 (1979) マツ枯損と侵入マツノザイセンチュウ数および温度との関係 (1). 日林九支研論, 32, 253-254
- Ikeda, T. (1993) Effect of environment and pathogenicity of pine wood nematode on development of pine wilt disease. Abst. 6th Intern. Congr. Plant Pathol., 240pp
- Ikeda, T. and Suzuki, T. (1984) Influence of pine-wood nematodes on hydraulic conductivity and water status in *Pinus thunbergii*. J. Jpn. For. Soc., 66, 412-420
- 池田武史・戸田忠雄・田島正啓 (1994) マツノザイセンチュウ抵抗性の異なるクロマツとアカマツ家系のマツノザイセンチュウ進入に対する組織学的反応. 日植病報, 60, 540-542
- 茨木親義・大庭喜八郎・立仙雄彦・西村慶二・戸田忠雄・大山浪雄・高木哲夫・川述公弘 (1978a) マツノザイ

- センチュウ抵抗性候補木のみしょう苗検定. 日林九支研論, 31, 61-62
- 茨木親義・大庭喜八郎・戸田忠雄・橋本平一・清原友也 (1978b) マツノザイセンチュウ23系統のクロマツ苗木に対する病原性のちがい. 日林九支研論, 31, 211-212
- 茨木親義・大庭喜八郎・山手廣太・立仙雄彦・戸田忠雄・西村慶二・松永健一郎 (1978c) マツノザイセンチュウ抵抗性候補木のつぎ木苗検定. 日林九支研論, 31, 59-60
- 石井克明・栗延 晋・大庭喜八郎・古越隆信 (1981) マツ属 *Sylvestres* 亜節内種間雑種のマツノザイセンチュウに対する抵抗性. 92回日林論, 291-292
- 石松 誠 (1998) マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツのさし木による増殖. 日林九支研論, 51, 47-48
- 伊藤一雄 (1959) 林木の耐病性. P. 121-127, 農林出版, 東京
- 伊藤一雄 (1975) 松くい虫の謎を解く. P. 1-162, 農林出版, 東京
- 岩川盈夫・渡辺 操・佐藤了・三上 進・井沼正之・貴田忍 (1967) アカマツの母樹別自然交配家系における諸形質の遺伝性. 林試研報, 207, 31-67
- 金指あやこ・中島清・河原孝行 (1998) ヤクタネゴヨウの遺伝資源保全研究. 林木の育種, 188, 24-28
- 金川 侃 (1979) ジベレリン (GA4+GA7) によるクロマツの着花促進効果. 林木の育種, 特別号, 48-49
- 金川 侃・岸 洋一 (1982) リギテーダマツ F1, F2 苗のマツノザイセンチュウ病抵抗性. 林木の育種, 特別号, 44-46
- 金谷整一・斉藤 明・玉泉幸一郎 (1995) 種子島におけるヤクタネゴヨウの個体数と鹿児島県本土における由来. 日林九支研論, 48, 65-66
- 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. 東大農演報, 83, 19-30
- 河田 杰 (1943) 茨城県下に於ける茂道松植栽の成績. 日林誌, 26, 17-20
- 河津一儀 (1990) マツノザイセンチュウ感染による樹体成分の変動. 農化, 64, 1262-1264
- 木原邦夫 (1934) 茂道松の亀紋について. 日林誌, 17, 21-22
- 岸 洋一 (1988) マツ材線虫病-松くい虫-精説. P. 1-292, トーマスカンパニー, 東京
- 北村四郎・岡本省吾 (1959) 原色日本樹木図鑑. P. 12-13, 保育社, 東京
- 清原友也 (1973) マツノザイセンチュウを接種したクロマツ苗の発病に及ぼす温度の影響. 84日林講, 334-335
- 清原友也 (1976) マツノザイセンチュウの継代培養による病原性の低下. 日線虫研誌, 6, 56-59
- 清原友也 (1977) マツノザイセンチュウ系統間の増殖および病原性の比較. 日林九支研論, 30, 241-242
- 清原友也 (1982) マツ材線虫における誘導抵抗性. 日林九支研論, 35, 161-162
- 清原友也 (1983) マツ材線虫病に対する抵抗性の誘導-抵抗性誘導におよぼす前接種密度の影響. 日林九支研論, 36, 91-192
- 清原友也 (1984) マツ材線虫病に対する誘導抵抗性-抵抗性誘導の樹種間比較. 日林九支研論, 37, 171-172
- 清原友也 (1985) マツノザイセンチュウ病における誘導抵抗性について. 森林防疫, 34, 99-102
- 清原友也 (1989) マツ材線虫の病原学的研究. 林業試験場研究報告, 353, 127-176
- Kiyohara, T. and Bolla, R.I. (1990) Pathogenic variability among populations of the pin wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. For Sci., 36, 1061-1076

- 清原友也・堂園安生 (1986) マツノザイセンチュウの病原力と増殖力の関係. 日林九支研論, 39, 157-158
- 清原友也・橋本平一・藤本吉幸 (1983) マツノザイセンチュウの病原力の変異. 日林九支研論, 36, 189-190
- 清原友也・河辺祐嗣 (1984) マツノザイセンチュウの病原力の変異ークロマツおよびアカマツ母樹別系統の接種実験ー. 日林九支研論, 37, 169-170
- 清原友也・徳重陽山 (1971) マツ生立木に対する *Bursaphelenchus* sp 接種実験. 日林誌, 53, 210-218
- 小林富士雄・細田隆治・奥田素男・竹谷昭彦 (1971) 各種穿孔虫からのマツ材線虫の分離. 22回日林関西支講, 137-139
- 熊本営林局 (1970) 収穫表調整業務研究資料. 11, P. 1-16
- Kuroda, K. (1989) Terpenoids causing tracheidcavitation in *Pinus thunbergii* infected by the pine wood nematode (*Brusaphelenchus xylophilus*). Ann. Phytopath. Soc. Jpn., 55, 170-178
- Kuroda, K., Yamada, T., and Tamura, H. (1988) Effects of cavitation on the development of pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. Ann. Phytopath. Soc. Jpn., 54, 606-615
- Kusunoki, M. (1987) Symptom development of pine wilt disease. -Histopathological observations with electron microscopes-. Ann. Phytopath. Soc. Jpn., 53, 622-629
- 栗延晋・藤沢義武 (1988) クロマツ母樹が異なる和華松及び戻し交雑種のマツノザイセンチュウによる被害度の変異. 日林論, 99, 253-254
- 九州森林管理局 (1999) 球磨川森林計画区, 第1次地域管理経営計画書, 国有林野施業実施計画書の付属表, 29pp
- 九州林木育種場 (1979) マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業実施要領の運営について. マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の手引き, P. 1-50, 九州育種場, 熊本
- Lilliefors, H.W. (1967) On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. J. Am. Stat. Assoc., 62, 399-402.
- Mamiya, y. (1983) pathology of the pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. Ann. Rev. Phytopathol. 21, 201-220
- Mamiya, y and Kiyohara, t. (1972) Description of *Bursaphelenchus lignicolus* n.sp. from pine wood and histopathology of nematodeinfected trees. Nematologica, 18, 20-124
- 水俣営林署 (1969) 茂道松. 1-3
- 宮原文彦・後藤 晋・小河誠司 (2000) マツノザイセンチュウ接種検定合格木の抵抗性の有効期間に関する研究 (I) - 3年間の結果-. 日林九支研論, 53, 67-68
- 宮原文彦・今村勝明 (1988) クロマツ採種園における母樹別の球果生産量について. 日林九支研論, 41, 47-48
- 宮田増男 (1996) わが国におけるクロマツ (*Pinus thunbergii* Parl.) の遺伝資源存に関する集団遺伝学的研究. 林木育種センター研究報告, 14, 1-76
- 百瀬行男 (1969) 採種・穂園の管理とスギのさし木. 7 pp, 農林出版, 東京
- 森本 桂・岩崎 厚 (1972) マツノザイセンチュウ伝播者としてのマツノマダラカミキリの役割. 日林誌, 54, 177-183
- 森田正彦・中島勇夫 (1989) 枝成長から見た抵抗性クロマツ志摩64の特性. 九育年報, 17, 61-65
- 森田正彦・冬野昭一・西村慶二・塚本 徹 (1989) 種子島におけるヤクタネゴヨウの調査, 収集. 九育年報, 17,

80-83

- 森田正彦・中島勇夫・戸田忠雄 (1991) アカマツ・クロマツ精英樹クローンの自然感染による枯損推移. 日林九支研論, 44, 33-34
- 森 徳典・井上敬雄 (1986) マツノザイセンチュウによるマツ樹幹のエチレン生成とその誘導因子としてのセルラーゼ. 日林誌, 68, 43-50
- Myers, R.F. (1986) Cambium destruction in conifers caused by pinewood nematodes. J. Nematol., 18, 398-402
- 中井勇・藤本博次・稲森幸雄・伊佐義朗・佐野宗一 (1969) マツ類の交雑育種に関する研究 (I) - クロマツの種間交雑ならびに他のマツ類数種との種間交雑の可能性 -. 京大演報, 39, 125-143
- 中井 勇・大島誠一・真鍋逸平・藤本博次・加藤景生・赤井龍男 (1983) マツ属の開花に関する研究 (I) - クロマツとアカマツの開花期について -. 京大演報, 16, 66-76
- 中村克典・吉田成章・郎 杏茄 (1998) マツ材線虫病激害林分に生育するクロマツ幼樹におけるマツマダラカミキリ成虫の食害と枯損との関係. 日林九支研論, 51, 75-76.
- 中村征雄 (1990) クロマツ「荒雄」の品種登録出願について. 九育年報, 18, 124-125
- 西村慶二・松永健一郎・坂本和子 (1974) 精英樹におけるアカマツ, クロマツの種間交雑の試み. 日林九支研論, 日林九支研論, 27, 63-64
- 西村慶二・大庭喜八郎・立仙雄彦・松永健一郎・今村政秀 (1977) マツノザイセンチュウ抵抗性育種のための人工接種方法の開発. 日林九支研論, 30, 61-62
- 日塔正俊・小田久五・加藤幸雄・山根明臣・遠田暢男 (1966) マツ類の穿孔虫に関する研究 - 穿孔虫の産卵加害の対象木についての一考察 -. 77回日林講, 376-379
- 野口常介・渡辺 操 (1972) アカマツ精英樹クローンでの自家受粉によるタネのでき方. 日林誌, 54, 356-359
- 農林水産技術会議事務局 (1977) マツ類材線虫の防除に関する研究. P. 1-156 農林弘済会, 東京
- 小河誠司 (1976) マツノザイセンチュウに関する試験 (3) - 標高別材線虫接種試験. 日林九支研論, 29, 211-212
- 大庭喜八郎 (1974) マツノザイセンチュウの床替え苗への接種法. 九育年報, 2, 131-133
- 大庭喜八郎 (1976) マツノザイセンチュウ抵抗性育種. 林木の育種, 99, 1-6
- 大庭喜八郎・藤本吉幸・古越隆信・岡田 茂 (1983) マツノザイセンチュウ抵抗性育種. 育種学最近の進捗, 24, 日本育種学会, 90-101
- 大庭喜八郎・西村慶二・戸田忠雄・山手廣太・大山浪雄 (1977) 川内署まつくい虫抵抗性候補木 (クロマツ) のつぎ木苗の人工接種検定. 日林九支研論, 30, 71-72
- 大串龍一 (1978) 生物的総合防除. 81pp, 共立出版, 東京
- 大内成志 (1978) 感染と遺伝子. 51-61, 植物病理学最近の進歩, 226 pp, 同刊行会, 東京
- 大山浪雄・福島 勉 (1982) マツノザイセンチュウ抵抗性マツの内樹皮液pH. 日林九支研論, 35, 109-110
- 大山浪雄・川述公弘 (1978) 乾燥条件下におけるマツノザイセンチュウ接種に対するクロマツ, アカマツ, テーダマツの抵抗性要因の違い. 日林九支研論, 31, 53-54
- 大山浪雄・川述公弘・斉藤 明 (1974) マツノザイセンチュウ加害に対するアカマツ, クロマツ, テーダマツ, ス

ラッシュマツの抵抗性. 日林九支研論, 27, 77-78

大山浪雄・川述公弘・斎藤 明 (1975a) マツノザイセンチュウ接種クロマツ苗の発病に及ぼす土壤乾燥の影響. 日林九支研論, 28, 107-108

大山浪雄・川述公弘・斎藤 明 (1975b) マツ枯損微害地・激害地土壤による栽培マツのマツノザイセンチュウ抵抗性の違い. 日林九支研論, 28, 109-110

大山浪雄・川述公弘・鈴木和夫・末吉幸満 (1976) アカマツとクロマツのマツノザイセンチュウ感受性に及ぼす土壤乾燥の影響. 日林九支研論, 29, 219-220

大山浪雄・森本 桂・吉田成章 (1977) アカマツ, クロマツ, テーダマツに対するマツノマダラカミキリの食害選択性. 日林九支研論, 30, 229-230

大山浪雄・斎藤 明 (1972) マツノザイセンチュウ加害に対する生育地の気候の影響. 林試九州支場年報, 15, 18

大山浪雄・白石 進 (1980) マツノザイセンチュウ病抵抗性マツの特性. 日林九支研論, 33, 205-206

大山浪雄・白石 進 (1981) マツノザイセンチュウ病に対するアイノコマツの抵抗性. 日林誌, 63 (4), 137-140

大山浪雄・白石 進・福島 勉・知念正儀 (1983) 材線虫病抵抗性マツつぎ木クローンにおける抵抗性要因の解析. 日林九支研論, 36, 105-106

小田久五 (1967) 松くい虫の加害対象木とその判定法について. 森林防疫ニュース, 16, 2-5

岡村政則・戸田忠雄 (2002) クロマツ実生家系からのマツノザイセンチュウ抵抗性個体の選抜 (IV). 九州森林研究, 5, 151-152

林業試験場九州支場樹病研究室 (1974) マツノザイセンチュウの培養と接種方法. P. 1-6

林野庁研究普及課 (1994a) 林木育種事業関係通達集. P. 133-139, 社団法人林木育種協会, 東京

林野庁研究普及課 (1994b) 林木育種事業関係通達集. P. 149-154, 社団法人林木育種協会, 東京

林野庁林木育種センター (2000) 平成10年度林木育種事業統計. P. 1-113

立仙雄彦・藤本吉幸・戸田忠雄・栗延 晋・西村慶二 (1979) マツノザイセンチュウ抵抗性候補木の人工接種検定の結果. 日林九支研論, 32, 209-210

斎藤幹夫・山本千秋 (1977) アカマツ・クロマツの球果における有効鱗片の位置とタネの生産. 林試研報, 293, 89-103

斎藤幹夫・山本千秋・荻原 訓・河野耕蔵・下平勝三 (1979) クロマツ雌花の開花と受粉適期. 林試研報, 302, 79-96

作田耕太郎・玉泉幸一郎・矢幡 久 (1993) マツ材線虫の進展に伴うクロマツ苗の根長伸長. 日林九州支部, 46, 139-140

佐々木研・古越隆信 (1976) クロマツとタイワンアカマツ (*P.massoniana*) およびフクシュウマツ (*P.tabulaeformis*) の種間交雑. 87回日林論, 183-184

佐々木研・古越隆信・大谷賢二 (1980) マツ属 *Sylvestres* 亜節内種間雑種に関する研究 (VI) - マツノマダラカミキリの後食性 -. 林木の育種, 特別号, 38-41

佐々木研・古越隆信・河村嘉一郎・田島正啓・岡田 滋・津田知明 (1983a) クロマツのマツノザイセンチュウ

- 抵抗性に関する2, 3の遺伝情報. 日林関西支講, 34: 179-183
- 佐々木研・古越隆信・佐々木常夫 (1978) マツ属10種のマツノザイセンチュウ抵抗性. 林木の育種. 特別号, 35-38
- 佐々木研・大谷賢二 (1990) 職務育成品種「関東1号」(通称: 和華松) の創出とその創出過程で得た知見. 関東育種場年報, 24, 25-85
- 佐々木研・田島正啓・河村嘉一郎・岡田滋・古越隆信・津田知明・小林慎一・片山重俊 (1983b) クロマツとタイワンアカマツのF1雑種間の交雑(II) マツノザイセンチュウに対する抵抗性. 94回日林論, 249-250
- 佐々木峰子・平岡裕一郎・岡村政則・藤澤義武・秋葉満輝 (2002) マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツの特性-実生後代の諸特性と抵抗性の関係-. 第113回日林学術講, 649
- 佐藤啓二 (1961) 日本のマツ第1巻. 人工造林編, 林業改良普及業書13, P. 53-63, 全国林業改良普及協会, 東京
- 柴田 勝 (1977) アカマツ, クロマツおよびその種間雑種に関する遺伝・育種学的研究. 王子製紙林育研報, 4, 1-92
- 志村 勲 (1973) 果樹の耐虫性育種. 育種学最近の進歩, 13, 11-18
- 白石 進 (1996) DNA分析技術を用いた新たな育種システムの構築 (クローナルフォレスト). P. 21-25, 社団法人林木育種協会, 東京
- 白石 進 (1999) 林木のDNA分析法 (8) 核DNA分析の応用と発展①, 林木への貢献. 林木の育種, 193, 37-41
- 白石 進・大山浪雄・高木哲夫・川述公弘 (1978) マツ母樹別実生苗に対するマツノザイセンチュウ接種結果. 日林九支研論, 31, 57-58
- 白石 進・渡辺敦史 (1995) rbcL遺伝子多型を利用したアカマツとクロマツの葉緑体ゲノム識別. 日林誌, 77, 429-436
- Snedecor G, W, and Cochran W. G. (1972) スネデカー, コ克蘭の統計的方法. 原著第6版. 畑村又好, 奥野忠一, 津村嘉郎共訳, 546pp, 岩波書店, 東京
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1969) Introduction to biostatistics. 368pp. W.H. Freeman, San Francisco: Japanese translation by Kohichi Fujii, Kyouritu-shuppan, Tokyo 1983.
- Son, S. -I. and Goddard, R. E. (1979) Influence of infection percent on improvement of fusiform rust resistance in Slash pine. *Silvae Genet.*, 28, 173-180.
- 鈴木和夫 (1979) マツの材線虫病の発現機作. 森林防疫, 28, 15-19
- Suzuki, K. and Kiyohara, T. (1978) Influence of water stress on development of pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus lignicolus*. *Eur. J. For. Path.*, 8, 97-109
- 田島正啓 (1992) ザイセンチュウ抵抗性マツの育種とその供給. 林業技術, 11 (608), 17-20
- 竹下敬司・萩原幸弘・小河誠司 (1985) 西日本におけるマツの立枯れと環境. 福岡県林試時報, 24, 1-45
- 竹谷昭彦 (1997) 松くい虫の被害の推移と研究の歴史. 農業および園芸, 72 (3), 344-348
- 竹谷昭彦・細田隆治・柴田勲次 (1979) マツ枯損とマツノザイセンチュウ数および温度との関係 (2). 日林九支

研論, 32, 255-256

竹内寛興・戸田忠雄・田島正啓・西村慶二 (1993) マツノザイセンチュウ抵抗性クローンの諸特性 (Ⅷ) -アカマツの花穂当りの花粉量と発芽率-. 日林九支研論, 46, 79-80

田中 潔 (1973) マツノザイセンチュウに対するマツ属植物の種間抵抗性に関する考察フランスカイガンショウ被害の発見にちなんで. 森林防疫, 22, 254-258

Teich, A.H. (1970) Cone serecting and inbreeding in natural populations of *Pinus banksia* and *Pinus Contorta*. Can. J. Bot., 48, 1805-1809

寺田貴美雄・那須仁弥・宮浦富安 (1999) アカマツ精英樹ダイヤレル交配家系のマツノザイセンチュウ接種結果 (11). 東北育種場年報, 29, 64-67

寺下隆喜代, 松本憲二郎 (1986) ヤクタネゴヨウに対するマツノザイセンチュウの病原性. 日林九支研論, 39, 159-160

鳥羽瀬正志・中村健作・宮島淳二・戸田忠雄 (1993) マツノザイセンチュウ抵抗性種苗の生産 (Ⅰ) -天草森林組合におけるスーパーマツの生産-. 日林九支研論, 46, 81-82

戸田良吉 (1979) : 今日の林木育種. P. 172-181, 農林出版, 東京

戸田忠雄 (1981) 交雑マツにおけるマツノザイセンチュウ抵抗性. 日林九支研論, 34, 79-80

戸田忠雄 (1982) マツノマダラカマキリの樹種選択性. 九育年報, 9, 132

戸田忠雄 (D1989) 交雑種「和華松」のマツノザイセンチュウ抵抗性. 熊本営林局暖帯林4月号, 432, 18-26

戸田忠雄 (1990) マツ交配における花粉管理と交配技術. 林木育種研究報告, 8, 123-127

戸田忠雄 (1996) マツノザイセンチュウ抵抗性育種. 森林防疫, 45, 132-137

戸田忠雄 (1997) 松くい虫 (マツ材線虫病) -沿革と最近の研究-. 全国森林病虫獣害防除協会, P. 168-274, 協文社, 東京

戸田忠雄 (2002) 森をまもる -森林防疫研究50年の成果と今後の展望-. 全国森林病虫獣害防除協会, P. 37-42, 東京

戸田忠雄・千吉良治・宮田増男 (1997a) クロマツ×アカマツ交雑種のマツノザイセンチュウ抵抗性の向上の事例. 日林九支研論, 50, 41-42

戸田忠雄・藤本吉幸 (1987) キリシママツのマツノザイセンチュウ抵抗性. 98回日林論, 261-262

戸田忠雄・藤本吉幸 (1989) アイノコマツのマツノザイセンチュウ抵抗性 (Ⅱ) -人工交雑による抵抗性の向上-. 日林九支研論, 42, 53-54

戸田忠雄・藤本吉幸・一丸喜八郎 (1979a) マツノザイセンチュウの人工接種法 -接種もれ防止について-. 林木の育種, 特別号, 40-42

戸田忠雄・藤本吉幸・前田武彦・西村慶二 (1983) 外国産マツ類等みしよ家系のマツノザイセンチュウ抵抗性. 日林九支研論, 36, 103-104

戸田忠雄・藤本吉幸・西村慶二・山手廣太・前田武彦 (1986) 交雑マツ (クロマツ×タイワンアカマツ) のマツノザイセンチュウ抵抗性. 日林九支研論, 39, 67-68

戸田忠雄・冬野劭一 (1990) マツノザイセンチュウ抵抗性クローン集植所における枯損について. 九育年報, 18, 35-40

- Toda, T. and Kurinobu, S. (1998) Current status of resistance breeding of Japanese pine species to pine wilt disease. Proceedings of International Symposium on Sustainability of Pine Forests Relation to Pine Wilt and Decline. P. 208-212, Tokyo, Japan.
- Toda, T. and Kurinobu, S. (2001) Genetic improvement in pine wilt disease resistance in *Pinus thunbergii*. The effectiveness of pre-screening with an artificial inoculation at the nursery. J. For. Res., 6, 197-201
- Toda, T. and Kurinobu, S. (2002) Realized genetic gains observed in progeny tolerance of selected red pine (*Pinus densiflora*) and black pine (*P. thunbergii*) to pine wilt disease. Silvae genet., 51, 42-44
- 戸田忠雄・坂本和子・一丸喜八郎 (1979b) アカマツ, クロマツ精英樹家系に対するマツノザイセンチュウ20系統の加害性. 日林九支研論, 32, 203-204
- 戸田忠雄・西村慶二・藤本吉幸 (1980) アカマツ, クロマツ精英樹家系等のマツノザイセンチュウ抵抗性. 日林九支研論, 33, 207-208
- 戸田忠雄・立仙雄彦・山本久 (1977) つぎ木苗によるマツノザイセンチュウ抵抗性の検定ならびに切枝の水ざしによる検定. 日林九支研論, 30, 65-66
- 戸田忠雄・田島正啓 (1991) マツノザイセンチュウ抵抗性クローンの着花促進. 九育年報, 19, 51-53
- 戸田忠雄・竹内寛興・田村 明・西村慶二 (1997b) マツノザイセンチュウ抵抗性クローンの諸特性 (XIII) - 採取年次の異なる種子から育成したアカマツ抵抗性家系の抵抗性変異 -. 日林九支研論, 50, 39-40
- 戸田忠雄・田中文浩 (2001) 水俣茂道松現地適応実験地の5年次調査. 九育年報, 29, 48-50
- 戸田忠雄・寺田貴美雄 (2001) 林木育種プロジェクト (3) - マツノザイセンチュウ抵抗性育事業 -. 林木の育種, 198, 39-43
- 戸田忠雄・鳥羽瀬正志・永田勲 (1992) 検定地間における材線虫接種検定結果の変異. 日林九支研論, 45, 45-46
- 徳重陽山・清原友也 (1969) マツ枯死木中に生息する線虫 *Bursaphelenchus* sp.. 日林誌, 51, 193-195
- 外山三郎・林 武彦・黒木嘉久・戸田義弘 (1969) 霧島山におけるクロマツ, アカマツ及びその中間種の分布並びに核型. 宮崎県霧島山総合調査報告書, P. 201-220
- 渡辺敦史・川瀬英治・白石 進・戸田忠雄 (1994) *rbcL* 遺伝子を指標としたマツノザイセンチュウ抵抗性クローンの樹種判定. 日林九支研論, 47, 113-114
- 渡辺敦史・白石 進・川瀬英治・戸田忠雄・那須孝 (1996) DNA分子マーカーによるアカクロマツ (*Pinus × densithunbergii*) のゲノム解析 - その雑種性の検証 -. 日林誌, 78, 293-300
- 渡辺博恭 (1982) マツノザイセンチュウ誘引物質と松枯抵抗性. 化学と生物, 20, 123-125
- 渡辺操・岩川盈夫 (1969) マツ類の人工受粉 技術ならびに種間交雑について. 林試研報, 224, 125-146
- Wingfield, M.J., Blanchette, A. and Kondo, E. (1983) Comparison of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* from pine and balsam fir. Eur. J. For Pathol., 13, 360-372,
- Wright, J.W. (1976) Introduction to forest genetics. 463pp, Academic Press, New York.
- Yamada, Y. (1962) Genotype by environment interaction and genetic correlation of the same trait under different environments. Jpn. J. Genet. 37, 498-509
- Yamada, T. (1987) Lipid peroxidation during the development of pine wilt disease. Ann. Phytopath. Soc. Jpn.,

53, 523—530

山川邦夫 (1978) 野菜／抵抗性品種とその利用. 136pp, 全国農村教育協会, 東京

山本千秋・明石孝輝 (1994) 稀少樹種ヤクタネゴヨウの分布と保全について. 105日林講, 750

矢野宗幹 (1913) 長崎県下松枯損原因調査. 山林広報 (4), 付録ノート, 1—4

蓬田英俊 (1998) アカマツ精英樹の人工交配家系に対するマツノザイセンチュウ接種検定結果の解析 (11). 東北森林科学会講演集, 3, 25

吉川 賢・重松真二・永森通雄 (1991) アカマツ, クロマツの雑種に関する研究 (II) —アカマツ, クロマツおよびその雑種の空間分布—. 高知大農学部演報, 18, 1—9

Zobel, B. and Talbert J. (1984) Applied forest tree improvement. 505pp, John Wiley & Sons, New York

Studies on the Breeding for Resistance to the Pine Wilt Disease in *Pinus densiflora* and *P. thunbergii*

Tadao Toda⁽¹⁾

Summary : Pine wilt disease caused by pine wood nematode has brought about disastrous damages to the pine forests, Japanese red pine and black pine, in Japan. To cope with this damage, a breeding project for resistance to pine wilt disease had been started in 1978 in the southeastern part of Japan.

To evaluate candidate trees' tolerance to the pine wilt disease, artificial inoculation procedure had been developed by examining methods of inoculation as well as isolate of wood nematode. After several trials of inoculation, peeling bark method with dripping a suspension of wood nematode was found to be reasonably practical and efficient to test several thousands of candidate pine grafts. Regarding the isolates of wood nematode that were known to be variable in their morbidity as well as their multiplication rate, the one from Shimabara was adopted as a common isolate for the inoculation test because of its fairly strong and stable morbidity.

Eleven thousands of candidates of red pine and 14,000 of black pines were selected in heavily damaged stands by pine wilt disease and they were propagated by grafting. Then their tolerances to the disease were evaluated with the results of the two stage screenings of artificial inoculation. Ninety-one clones of red pines and the 16 of black pines were identified as tolerant pines to the disease.

To promote an efficient production and an effective use of tolerant pine seedling, 22 traits of the selected pines were measured. Tolerance to the pine wilt disease, the most important one of the 22 traits, was evaluated based on their open-pollinated progeny's survivals after the inoculation. As a result of inoculation tests repeated for nine years, average survivals of the selected pines were 64% for red pine and 53% for black pine. These survivals were 16% higher than those of the unselected populations for red pine and 40% higher for black pine; hence the breeding project for resistance to pine wilt disease had been justified with this apparent progress in the progeny tolerance. The seedlings that are produced from clonal seed orchards of the selected pines are now screened with the artificial inoculation tests at the nurseries, and then they are supplied as tolerant pine seedling for the operational reforestation.

To examine the tolerance after the field planting, two progeny tests were established with the tolerant pine seedlings. In these tests traces of feeding by pine beetles, the carrier of wood nematode, were observed 58% of the trees for red pine and 47% for black pine at 7 years old, whereas the survivals for the both pine species were still exceeding 90% . This indicates the validity of the current procedure for supplying tolerant pines.

(1) Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center

2320-5, Suya, Nishigoshi, Kumamoto 861-1102 Japan

元林木育種センター九州育種場

〒861-1102 熊本県菊池郡西合志町須屋2320-5

Resume

This thesis dealt with the validity of the selection of resistant pine clones currently used for operational seed production of resistant pine by conducting the following three experiments and surveys.

1. Basic experiments were conducted for developing techniques and artificial inoculation test with pine wood nematode to select pines resistant to pine wilt disease.

2. The resistant pine clones were examined once a year to collect data on 21 traits. Then they were used to investigate the degree of hybridization of each clone as well as separation in a later generation in order to examine the relationship between the hybridization and tolerance to pine wilt disease.

3. The effectiveness of the artificial inoculation with pine wood nematode was examined by analyzing the results of an inoculation test at nursery obtained over a 10-year period and those on maturation feeding measured in two progeny tests of the resistant pines. Then attempts were made to increase the tolerance by hybridization as well as to select resistant individuals among the seedlings of black pine.

The major points on the research mentioned above were summarized as follows:

1. The development of an artificial inoculation test with pine wood nematode

1) The tolerance to pine wood nematode of loblolly pine used as a control for the test ranged from 16% to 30% depending on the families tested. Thus the general understanding that the loblolly pine is a tolerant species was found not to be universally acceptable.

2) The inherent tolerance of the scion was found to be expressed irrespective of the grafting stock that is commonly used with seedlings of black pine. For this reason, it was possible to screen for genetic tolerance by inoculating wood nematode to the scion around 10 to 20 cm above the point of grafting.

3) The virulence of wood nematode was found to vary with the sampling site, while the nematode isolated from currently infested stands did not show any significant differences. The virulence of the nematode did not change due to the subculture and did not show any specific relationship with the species from which it was isolated. For mass propagation of the nematode, use of wheat-media was the most productive.

4) By the above-mentioned techniques, 92 clones of red pine and the 16 clones of black pine were found to be as resistant to pine wilt disease. The percentage with satisfactory resistance through the two stages of screening was extremely low: 0.85% for red pine and 0.11% for black pine.

2. Study on various characteristics of resistant pine clones

1) The mortality of the clones in the orchards tended to be high for the clones that had relatively low tolerance and showed physiological disorders due to incompatibility of grafting.

2) The black pine seedlings grew better than red pine during the young stage and the ranking of the growth rate was more stable for black pine.

3) Both red pine and black pine started female flowering at the age of 2 years, but the flowering age was relatively early and homogeneous for red pine: all of the resistant clones started flowering by four years of age. On the other hand, only 80% of

clones of black pine started flowering by six years and two clones: Tosashimizu 63 and Yasu 37, had not yet flowered at age 7. Thus it might be concluded that flowering habit was favorable for red pine and relatively poor for black pine.

4) The clonal variation in the male and female flowering season was evident, although it was also influenced by year-to-year variation. The flowering date among the clones was relatively consistent, because the year-to-year correlation was significant both for male and female flowering date. Among them, the clones of the red pine Bizen 143 and Saganoseki 93 tended to flower earlier than the ordinary flowering season of red pine. Flowering of the clone of the black pine Obama 24 was much later than that of ordinary black pine and it was almost the same as that of red pine. Thus those clones did not synchronize flowering in the orchard caused problems with the management of seed production.

5) Seed productivity of the resistant clone was generally lower than that of the standards of both pine species. The cone yield was around 80% for red pine and 70% for black pine. The number of filled seed per cone was 8 to 15 for red pine and 4 to 6 for black pine. In Matsushima 58, 7.8 g of filled seed was extracted from 1,048 cones, while a clone that produced only one filled seed per cone was also found in the resistant pines. Moreover, there were some clones that produced cones whose scales remained closed even after drying (closed cones), the percentage ranging from 0 to 70% for red pine and 9 to 100% for black pine. The percentage of closed cones was 100% for Ohseto 12.

6) According to the number of resin canals (resin d index, RDI), 59%, 26% and 15% were the red

pine type, intermediate type and black pine type, respectively. Bizen 143 that was once selected as red pine was identified as black pine based on the RDI as well as morphological characters. The clones with a higher hybrid index tended to produce a higher rate of hybrids in their progeny and the results of the inoculation test seemed to be dependent on the rate of red pine type seedlings in the family.

7) According to the analysis of the results on the progeny of resistant pines obtained during the 9-year period after inoculation by the least squares test, the percentage of nursery survivals ranged from 39 to 98% with an average of 64% for red pine and from 38 to 69% with an average of 52.7% for black pine. Thus the increase in the progeny tolerance compared to the unselected population was 16% for red pine and 40% for black pine. A fairly strong relationship was found between the results of the inoculation test and the amount of rainfall during the period from ten days before to ten days after the test. There was a significant correlation between the survival rate of loblolly pine and the amount of rainfall with a correlation coefficient of 0.89. In addition, it was found that the type of damage expression tended to vary with the testing environment: the survival rate was similar to the sound tree rate in a severe testing environment, whereas the survival rate was higher than the sound tree rate in a milder testing environment.

8) When the surviving seedlings were repeatedly inoculated annually and the contents of nematodes increased from 10,000 to 400,000 per tree, a rapid reduction in survival was observed when the density was 150,000 per tree. At a higher density,

the survival was leveled off and the tolerance of the remaining seedlings seemed unchanged.

9) The seedlings that survived after the inoculation tended to show the following three phenomena. (1) Water transfer at the center of the xylem was stopped, but that at the outer portion of the xylem was not inhibited. (2) Parenchyma cells were partially changed where the transport of water was stopped. (3) Parenchyma cells and cambium remained unchanged where water transport was not inhibited. Based on these findings, the self-restoration function was regarded as one of the factors related with the tolerance to the pine wilt disease.

3. Confirmation of progeny tolerance of resistant pines to the pine wilt disease

1) According to the results of analysis of variance obtained during the 10-year period, family variation was highly significant with a family-mean heritability of 0.836. The realized gain in the progeny tolerance was calculated as 0.177 (18%) increase in the nursery survival rate for red pine and 0.348 (35%) increase for black pine as compared to the survival of non-selected populations. These increases raised the average levels of progeny tolerance 0.650 (65%) for red pine and 0.514 (51%) for black pine, both of which are greater than that of loblolly pine (*P. taeda*) population: 0.474 (47%)

2) The results of artificial inoculation test for the 15 open-pollinated families of resistant black pine obtained over a 6-year period were analyzed to confirm the effectiveness of the nursery prescreening. Phenotypic and genetic variances estimated from the results each year were fitted to a quadratic regression using their mean survival

ratio as an independent variable. The variances were greatest at around 0.5 (50%) of the mean survival ratio. The estimated heritability showed a similar trend of change, whereas the peak of the expected amount of improvement shifted toward lower survival range: around 0.4 (40%), where the greater selection differential was anticipated. It was concluded that the genetic improvement may be reduced by 30% due to the interaction, by the pre-screening seedlings where the mean survival ratio after inoculation was around 0.25 to 0.60 (25% to 60%)

3) The 7-year survival in the two field trials established with progenies of resistant pines survived after the artificial inoculation with pine wood nematode was more than 90% and the growths were exceeding the local 10-year survival rate for pine. The rates of trees with feeding marks made by pine sawyer were 56.7% and 34.1% in the respective trial and the rate was significantly higher for red pine than for black pine. The 7-year survival rate was around 90% for most of the families. The survival rate of the families with a higher feeding mark rate was not much different from the average rate in the respective trials. This indicated that the seedlings planted in these trials were genetically more tolerant to pine wilt disease due to the screening of artificial inoculation with pine wood nematode at the nursery.

4) The following results were obtained based on the inoculation test to artificially pollinated hybrids. (1) The hybrid (black pine $\times$ red pine) was more tolerant to pine wilt disease as compared to their mother trees and 18 out of 33 crosses were found to be more tolerant than either parent. (2) The tolerance of the hybrid tended to increase when

either parent was selected for its tolerance to the disease, while the amount of increase was dependent on the cross. (3) The intra-specific crosses among the resistant black pines resulted in more tolerant progenies than their male parent, although the amount of increase in tolerance was smaller than that of the inter-specific hybrid. (4) Inbreeding caused by self-pollination of the resistant black pine evidently reduced their

tolerance.

5) Although Yakutane-goyo and local varieties of pines: Kirishima-matsu, Moto-matsu were also decreased in size due to the damage by pine wilt disease, some resistant trees were found in each population. This suggests the possibility of selecting resistant individuals for those populations.

付属資料

抵抗性マツを生産するための材線虫の培養技術と接種技術

マツノザイセンチュウに対する抵抗性の強弱はマツ苗にマツノザイセンチュウ（以下材線虫と略記）を人工接種してその生存率，健全率で判断される。抵抗性採種園由来の抵抗性種苗は一般のマツ苗に比べて抵抗性は高いといえるが，その抵抗性には強いものから弱いものまで変異があり，抵抗性種苗といえども乾燥や高温など厳しい環境条件に遭遇すると遺伝的に抵抗性の弱い個体は材線虫病の被害を受け易くなる。このため，抵抗性採種園由来の苗木に材線虫を人工接種して生き残った一定以上の抵抗性をもつ苗木を「抵抗性マツ」として生産している。

最近になって抵抗性マツが広範な地域で複数の場所から生産されていることもあって，抵抗性レベルの産地間差が指摘されている（戸田ら1992）。

抵抗性レベルは降水量や気温等の気象条件をはじめ，マツ苗の健全性，材線虫の活性，接種作業の熟練度等の要因によって変動する。この中，人為的に制御できるものは適切な育苗技術，活性の高い接種源の確保，精度の高い接種作業であり，これらの要因を統一することによって抵抗性レベルはかなり均一化できると考えられる。

ここでは抵抗性マツを生産するために必要な材線虫の増殖・保存，材線虫の取り扱い手順及び接種方法についてまとめたものである。

1 材線虫の培養

(1) 機器類の準備

機器の容量，性能は材線虫の接種規模によって異なるが，材線虫の培養から接種までに必要な機器は下表の通りである。

材線虫の培養及び接種に必要な器機等

培地作成のための機器	培養のための機器	分離・調整のための機器	接種のための機器
乾熱滅菌器 高圧蒸気滅菌器 蒸留水製造装置 クリーンベンチ 天秤 マグネチックスターラー シャーレ 試験管 分注器	恒温器（インキュベータ， 孵卵器） 冷蔵庫（ボトリチス菌及 び材線虫元種の保存） メス ピンセット 白金耳 綿栓	大型ロート・シリコン管 ステンレス製網 メスシリンダー 三角フラスコ ピーカ ピペット 計数盤 計数カウンター 実体顕微鏡 超音波洗浄器 洗浄ビン 吸引ビン	マイクロピペット ねじロビン ナイフ付きノコギリ クーラーボックス 時計皿 エチルアルコール 食用赤色色素

ア 培地作成のための機器

乾熱滅菌器，高圧蒸気滅菌器，クリーンベンチは培養の規模に合ったものを備える。蒸留水製造装置は必ずし

も必要としないが、カルキの多い水道水を使用するときには一度容器に溜めてその上澄みを使用すると良い。シャーレは使い捨てでも市販されているが、抵抗性マツを事業的に生産する場合には長期間使用できる耐熱性の材質のものが良い。また、シャーレの大きさは直径9 cm程度のものが材線虫の分離作業が容易である。試験管は材線虫及び糸状菌の元種の保存用として各種のものを準備しておいた方が便利である。分注器は大量の培地を作成するのに効率的である（写真1, 2）。

イ 培養のための機器

恒温器は温度調節が可能なインキュベーターも販売されているが高価である。孵卵器等の安価なものもあるが、外気温以下の温度調節ができない。このため孵卵器を使用する場合は、室内温度が20℃～25℃に設定できる場所に置く必要がある（写真3）。

ウ 材線虫の分離・頭数調整のための機器

材線虫が繁殖した培養シャーレをそのまま水をいれた大型ロートに浸漬するため、直径30cm程度のものを準備する。市販のロートには材線虫を集める管がついていないので材線虫の溜まり具合が外から見えるシリコン管を取り付けなければならない。ステンレス製の網は特注である。メスシリンダーは管に溜まった材線虫を採集するときに用いるが、500ml, 1000ml, 2000mlの各種を用意しておき採集量によって使い分ける。その他に三角フラスコ、ビーカー等、さまざまな形の容器を用いるが、耐熱性のあるものを各種取りそろえておくとう便利である。ピペットは材線虫の測定に必要であるので1 ml, 5 ml, 10mlを準備する。計数盤は材線虫を所定の頭数に調整する際に必要で、1 ml用を数枚準備する。実体顕微鏡は材線虫の計数や活性度の点検等に用いるので倍率が80倍程度のズーム式が便利である。超音波洗浄器はシャーレ等のガラス器具類の洗浄に効率的である（写真4, 5, 6, 7）。

エ 接種のための機具

吸引ピンは「材線虫懸濁液」をねじ口ピンに小分けにする際に必要であり、500ml, 1000mlを準備する。ねじ口ピンは接種作業に必要な手持ちの材線虫用である。クーラーボックスは材線虫の活性を落とさずに小分けしたねじ口ピンを現場へ携行する時に必要である。ナイフ付きノコギリは生け花用のノコギリを改良したものでノコギリの背部をグラインダーで研いでナイフにしたものである。薄いものより少し厚めのしっかりしたものを準備する。時計皿は材線虫の活性を検鏡する際に必要である（写真8, 9, 10）。

2 元種用材線虫の培養方法

(1) 馬鈴薯寒天培地（PDA）の作成方法（林業試験場九州支場樹病研究室1974）

培養基1ℓを作成する場合

馬鈴薯寒天培地の材料は蒸留水1.5ℓ、皮を剥いた馬鈴薯200g、砂糖20g、寒天末10gを用意する。作り方は皮を剥いて1 cm角にした馬鈴薯200gを1.5ℓの蒸留水で約1時間煮る。これを二重にしたガーゼで濾して煮汁のみを取り出す。馬鈴薯の煮汁は500ml程度採集できるが、これに蒸留水を加えて1ℓにメスアップする。1ℓに調整した馬鈴薯の煮汁に寒天末を加えて溶かし、最後に砂糖を加える。出来上がった培地は試験管に20mlずつ分注器を使って分注し、綿栓をして高圧蒸気滅菌器で121℃、20分間滅菌する。滅菌が終わった試験管はクリーンベンチ内で試験管を斜めにして固める（写真11, 12）。

(2) 糸状菌 (*Botrytis cinerea*) の培養

糸状菌の移植はクリーンベンチ内で行い、PDA培地上に保存糸状菌を白金耳でかきとり移植する。移植した試験管は試験管の口部分と綿栓を火炎滅菌する。糸状菌の培養は、20～25℃で良く生育し、移植して約7日間で培地面が糸状菌で覆われる。糸状菌で覆われた試験管は、直ちに材線虫を移植するものと糸状菌の保存株とするものに分け、保存株とするものは雑菌等の汚染を防ぐため、サランラップやアルミハクで包み4℃前後の冷蔵庫に保存する（写真13）。

(3) 材線虫の培養

材線虫の移植は、保存線虫の活動を確かめ、活力のある線虫を用いる。移植はクリーンベンチ内で行い、白金耳で表面のPDA培地をかき取り菌糸上に移植する。この際、かき取る培地の大きさは経験的に1cm×0.5cm程度が適当である。移植した試験管は試験管の口部分と綿栓を火炎滅菌する。

材線虫の培養は、25～27℃を保つ恒温器で行うが、10日前後で試験管内は材線虫の頭数が飽和状態となる。このとき試験管の側面にも材線虫が這い上がり肉眼で見える程の増殖となる。

材線虫の増殖で注意しなければならないのは培養温度である。30℃以上の高温では材線虫の増殖は早まるがシャーレ当たりの材線虫頭数は最適条件（25～27℃）下のそれと比較して少ない。

(4) 材線虫・糸状菌の保存

保存線虫及び保存糸状菌は（3）で述べる大量増殖の元種となるので、その保存には十分注意すべきである。

保存については、材線虫、糸状菌とも保存試験管をサランラップかアルミハク等で包み4℃程度の冷蔵庫で行う（写真12）。材線虫の保存期間は最適条件下で3ヶ月間程度であるが、保存期間が長くなるほど材線虫の密度や活性が著しく低下する。九州育種場では安全面を考慮して最長2ヶ月を目途に継代培養（更新）している。糸状菌は材線虫と同様にして保存するが、特別な場合を除いて6ヶ月毎に継代培養を行っている。

その他、長期の停電や冷蔵庫の故障などによって保存中の材線虫や糸状菌が死滅することもあるので注意が必要である。

3 接種用材線虫の培養（麦培地による材線虫島原個体群の大量増殖）（戸田1983b）

抵抗性マツの事業的な生産では大量の材線虫を増殖しなければならないが、材線虫の大量増殖の進め方は下図に示す通りである。

(1) 器具類の準備

接種予定日及び接種数量が決定したら材線虫の増殖、接種器具類の準備をする。1-（1）で示した器具類の点検や補充が必要である。

(2) シャーレの滅菌

事業用として大量の材線虫を増殖する場合はシャーレを使用する。シャーレは150℃で約1時間乾熱滅菌し、乾熱滅菌器の中で自然冷却する。

(3) 麦培地の調整

材料はまる麦（つぶし大麦でも可）と砂糖を準備する。乾熱滅菌済みのシャーレ（直径 9 cm）1 枚当たり 20 g の麦を入れ、2～3 %の砂糖液 20ml を分注してシャーレ内で麦が水平になるように揺する。この作業は一般の室内で行う（写真 14, 15）。

(4) 培地の高圧蒸気滅菌

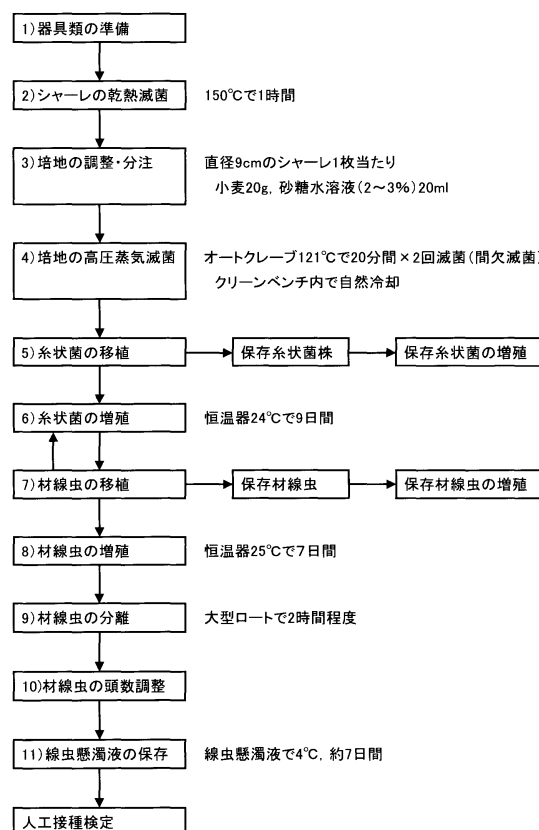
調整した培地は 121℃ で約 20 分間高圧蒸気滅菌する。麦培地の滅菌で重要なことは、1 回目の滅菌が終わった段階で蒸気を排気して、直ちに 2 回目の滅菌を行うことである。特に麦が古い場合には 1 回だけの滅菌では充分ではない。2 回の滅菌をした場合、雑菌の発生率は、経験的には 1～2 % である。滅菌したシャーレは直ちにクリーンベンチ内で自然冷却をする。

(5) 糸状菌の移植

2 - (2) で培養した保存糸状菌の中から雑菌の発生していないものを選んで元種に用いる。糸状菌の移植はクリーンベンチ内で行い、白金耳で菌糸をかき取りシャーレ内の麦と麦の間に移植する。1 枚のシャーレには 普通 1 点の移植を行うが、糸状菌を早く増殖させたい時には 2～3 点移植をする（写真 16）。

保存糸状菌は冷蔵庫から取り出すと結露して白金耳では取りにくくなるので、保存糸状菌はその都度取り出して用いると良い。また、シャーレ 10 枚程度毎に白金耳を火炎滅菌する。

大量培養の期間中に繰り返して糸状菌を増殖する際は、事業用として既にシャーレで培養中の糸状菌を元種として使用すると良い。この場合、糸状菌の良く発達したものの中から、雑菌のないものを選び、メスやピンセットを用いて麦を粒状に解し、1 シャーレ 4～5 粒を移植する。



(6) 糸状菌の増殖

糸状菌を移植したシャーレは24℃の恒温器等で培養すると約9日間でシャーレ全体に繁殖する。雑菌の発生は糸状菌を移植してから2～3日後に確認できるが、糸状菌の繁殖速度が速いため、雑菌が糸状菌の下に埋もれて見逃すこともある。また、雑菌で汚染されたシャーレが多いと恒温器内の温度が異常に高温となるので温度管理は特に注意が必要である（写真17）。

(7) 材線虫の移植

糸状菌がシャーレの上蓋に着くぐらい良く伸びたものに保存材線虫を移植する。このとき糸状菌がカビ状にべとついているもの、黒ずんでいるもの、酸の臭いがするものはこの時点で廃棄する。

保存材線虫は雑菌のないものを選んで使用するが、表面が光っている黒褐色のものは雑菌に汚染している可能性があるので使用しない。また、保存材線虫では材線虫の密度や活性を検鏡して確認する。

大量培養の期間中に繰り返して材線虫を増殖する際は、事業用として既にシャーレで培養中の材線虫を元種として使用すると良い。この場合、材線虫の良く繁殖したシャーレの中から雑菌のないものを選び、メスやピンセットで麦を粒状に解して、1シャーレに4～5粒を移植する。

(8) 材線虫の増殖

材線虫を移植したシャーレは27℃に設定した恒温器等で培養する。最適条件下では9日前後ではシャーレ内が濃褐色となり上蓋に少し材線虫が確認できる。この状態は材線虫の密度がピークに達し、1シャーレ当たり平均で80～120万頭以上となる（写真17, 18）。しかし、15日以上培養を続けると材線虫は徐々に減少する（写真19）

温度調節が出来ない孵卵器で培養する場合には、室内の温度を24℃以下に設定しておく必要がある。また、温度調節機能が鈍い恒温器等では上限を27℃に設定していても器内温度が上昇し、線虫密度の低下や雑菌の発生が促進されるので温度管理には十分な配慮が必要である。また、日数調整のために増殖したシャーレを冷蔵庫等でストックすると雑菌の発生ばかりでなく、洗い出し作業において麦が拡散して夾雑物の多い懸濁液となるので、事業用の増殖ではシャーレのままでストックするのは好ましくない。

(9) 材線虫の分離（洗い出し）

材線虫の分離には大型ロートを使用する。大型ロートにステンレス製の金網を敷いてその上にガーゼを2枚重ねて置く。これに7分目程度水を入れ、その中でシャーレの上蓋に付着した材線虫を洗う。次にシャーレ本体を逆さに静かに浸漬するが、30cmの大型ロートだと7～8枚のシャーレが丁度良い。この操作ではロート内の水に麦や麦汁を混濁させないことに配慮し、ロートに一度浸漬したシャーレを動かしたりして、シャーレから麦を離脱させないように注意する（写真20）。

浸漬時間は約2時間程度が最適である。浸漬2時間でシャーレ内の約8割の材線虫が培地から離脱する。浸漬時間を長くすると材線虫の離脱率は高いが、麦の夾雑物の混入が多くなる。材線虫がロート管に溜まっているのが確認できるのでメスシリンダーに採集する（採種した材線虫を線虫原液と略記）（写真21）。採集した線虫原液には麦汁が混濁しているので直ちに取り除いてやらなければならない。それには、採集量の3倍程度の水を加えて材線虫を沈殿させる。材線虫の沈殿を確認しながら上澄み液を廃棄して再度水を加える。この工程を2～3回

繰り返すと麦汁はほぼ取り除くことができる。麦汁等の夾雑物が残ったままだと材線虫の頭数調整が困難となるばかりでなく材線虫の活性低下が起きる（写真22, 23）。

(10) 材線虫の頭数調整

材線虫の頭数調整は苗木 1 本当たりの接種頭数によって異なる。九州育種場では 1 年生床替苗（3 月床替え 7 月接種）の場合、苗木 1 本当たり 0.05ml に 5,000 頭の材線虫が入った懸濁液を接種している。

ア 材線虫原液の頭数計測

まず、3-(9)で採集・調整した材線虫の量を測定してピペットを使って空気を送り込み良く攪拌する。次に 1 ml をとり出し、ビーカーに入れた 1000ml の水で希釈して材線虫が均等になるように攪拌する。その中層部から試料 1 ml を取って計数盤に入れて材線虫を計数する（写真24, 25）。

計数は 3 回行うが頭数が極端に異なった場合には 5 回行い、最高値と最低値を捨て 3 回の平均値を用いる。経験的に試料 1 ml 中の材線虫は 200 頭以下が計測しやすい（写真26）。これ以上の頭数の時にはさらに希釈して計数する。

イ 材線虫の頭数調整の方法

材線虫原液中の材線虫頭数を所定の濃度に調整する手順を示すが、九州育種場では 1 ml 当たり 100,000 頭の線虫懸濁液を作っている。これだと苗木 1 本当たりに接種する頭数が 0.1 ml 当たり 10,000 頭、0.05 ml 当たり 5,000 頭であっても対応ができるからである。

材線虫原液が 150ml、1000 倍液の 1 ml の中に 160 頭の材線虫がいたと仮定して計算すると次のようになる。

線虫原液 1 ml 中の線虫頭数は $160 \text{ 頭} \times 1,000 = 160,000 \text{ 頭}$

線虫原液全体の線虫頭数は $160,000 \text{ 頭} \times 150 \text{ ml} = 24,000,000$

1 ml 当たり 100,000 頭の線虫懸濁液にするには $24,000,000 \text{ 頭} \div 100,000 \text{ 頭} = 240 \text{ ml}$ となる。

したがって、150ml の線虫原液に水を加えて 240ml にメスアップすれば 1 ml 当たり 100,000 頭の線虫懸濁液ができる。

(11) 材線虫懸濁液の保存と取り扱い

ア 接種当日までの保存

人工接種をするまで材線虫の活性を低下させないため次のことに注意する。

調整した線虫懸濁液は三角フラスコ等に入れて、4℃ 程度の冷蔵庫で保存するが、家庭用冷蔵庫で十分である。三角フラスコには頭数調整した線虫懸濁液の量が分かるように印を付けておき、毎日 2 回上澄み液を捨て、その分だけ水を加えピペット等で良く攪拌してから保存するがこれは接種当日まで続ける。

この保存期間は長くて 7 日程度に止めた方が無難である。雨などによって作業が 7 日間以上延期された場合は 3-(9), 3-(10) によって再度材線虫の計数をやり直さなければならない。

イ 接種当日の線虫取り扱い

接種当日は接種作業の 2 時間前に三角フラスコの水を交換して常温に置き、当日使用する接種本数の 1.5~2.0 倍の線虫量を吸引ビンに移し、残りは冷蔵庫に保存する。当日使用する線虫は実体顕微鏡で動きを観察する。保存期間が 7 日以内の線虫であれば約 1 時間で活発に動き出すので、それを確認してから食用赤色色素を 1,000 分

の1量程度入れて線虫懸濁液を着色する。

材線虫の増殖場所から接種場所が遠距離の場合や接種作業日前に材線虫懸濁液を入手したときにも上記と同様な作業を行い、決してねじロビンに小分けしたものの移動や保存をしてはならない。

ウ 接種用ねじロビンへの小分け

濾過ビンで容量12mlのネジロビンに小分けする。この時濾過ビンの線虫懸濁液をピペット等で良く攪拌しながら行う。小分けしたねじロビンはクーラボックスに氷を入れて新聞紙を敷いた上に置き、その都度取り出して使用する。ねじロビンの口の大きさは接種作業時に線虫の沈殿を防ぐために親指で蓋をして振るので、それに見合ったものを準備する（写真27）。

エ ねじロビンの材線虫懸濁液の取り扱い

昼食時や休憩で接種作業が中断したときには、使用中のねじロビン内の線虫は捨てた方が安全である。また、未使用のものは2～3日の間は使用出来るが、この場合、ねじロビンから三角フラスコに移し替えて3（II）アと同様な方法で保存する。ねじロビンに入れたままで保存して再使用してはならない。

4 人工接種方法

抵抗性マツの生産では大量の苗木に接種するため、確実に所定の材線虫が接種できる方法であり、誰にでもできる簡易な技術でなければならない。また、抵抗性マツの生産歩留まりを高めるために、台風や堀取り作業時に接種部位が折損しないような接種作業をしなければならない。

(1) 人工接種作業

接種作業の始まる前に小さな苗への接種をするかどうかを決めておき接種しない個体はその都度廃棄する。

接種部位は根元付近にするが、地際に近いほど折損は少ない。接種部位を決定したら針葉や根元に付着した土を取り除き九州育種場が開発した改良剥皮接種法で行う。この接種作業は2人1組で行い1人は苗木の地際部を3cm～5cm程度をナイフで剥皮してノコギリで掻き傷を付ける。他の1人は材線虫をマイクロピペットで所定量を接種する。剥皮で注意することは剥皮を深くしないこと。剥皮した皮は切り落とさないこと。地際直径の細いものは接種面を長く、太いものは短くする等、苗木の大きさに合わせた剥皮を行う。また、剥皮面からは樹脂が侵出して時間の経過とともに樹脂がコーティングして接種した線虫の侵入を妨げるので両者の作業間隔が開かないように心がける（写真28）。一方、接種者は線虫の沈殿を防ぐため、接種毎にねじロビンを上下の良く振ってからマイクロピペットで所定量の懸濁液を接種する。接種は剥皮面が小さいときはゆっくりと行い懸濁液が漏れないように注意する（写真29）。先述のように剥皮面から侵出する樹脂は接種用具にも付着するので、剥皮器具は随時アルコールを含ませたガーゼでふきとり、マイクロピペットはチップの先を斜めに切り取ったものを用いると良い。

一定数量の接種が終わった段階で接種漏れがないか点検するが、これらの作業を含めても2人1組で1日約1,500本の接種が可能である。

(2) 九州育種場の人工接種作業

九州育種場で実施している作業手順は次のとおりである。

- ア 接種用苗木は3月に床替えした2年生苗木である。床替え幅は苗間18cm, 列間27cmの4本植えである。
- イ 接種時期は梅雨開け後の気候が安定し、気温が25～30度となる7月25日前後に行っている。
- ウ 接種前, 接種作業中の降雨については接種開始時に針葉に水滴のあるときには実施しない。接種作業中の降雨については, 降雨1時間前には中止するが, 最低でも30分間は降雨をさけたい。
- エ 接種頭数は特別な場合を除き実生苗には0.05ml—5,000頭である(九州地区の一部の機関を除き統一)。
- オ 材線虫個体群はマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業でも使用した「島原個体群」(九州地区で統一)を用いる。

(3) 抵抗性マツの生産数量の把握

健全苗の歩留まりや生産数量の把握には接種検定した翌春に行う方が正確な数値が得られるが, 接種当年に翌春の生産数量を推定する場合には, 最低でも接種してから60日後が望ましい。60日以降, 翌年の3月までに進行する枯損は1.5%程度である(鳥羽瀬ら1993)。

抵抗性マツを生産するために必要な器具類及び 材線虫の培養技術と接種技術

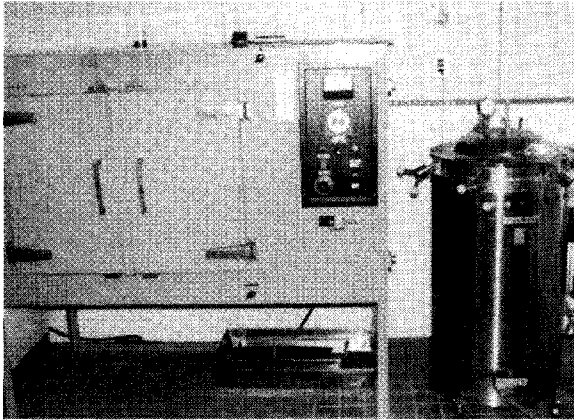


写真-1 感熱減菌器 (左), 高圧蒸気減菌器 (右)

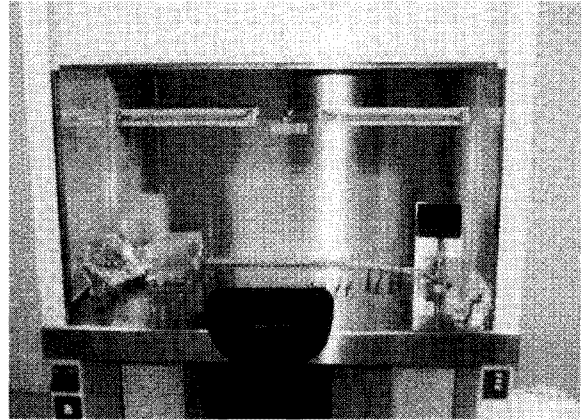


写真-2 クリーンベンチ

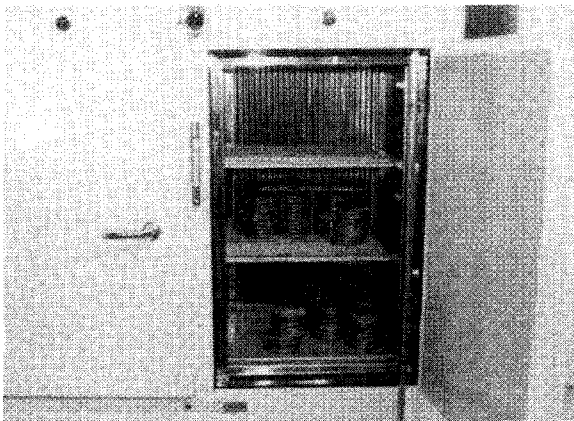


写真-3 恒温器 (孵卵器)

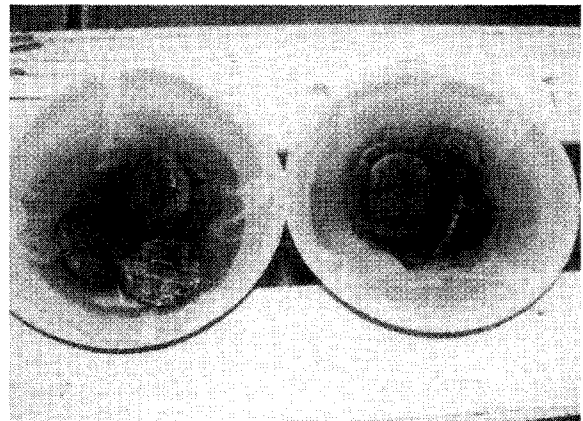


写真-4 大型ロート (直径30cm)

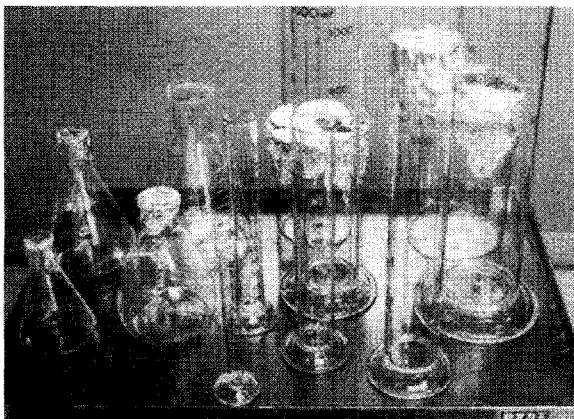


写真-5 各種ガラス器具
(三角フラスコ・吸引ビン・メスシリンダー等)

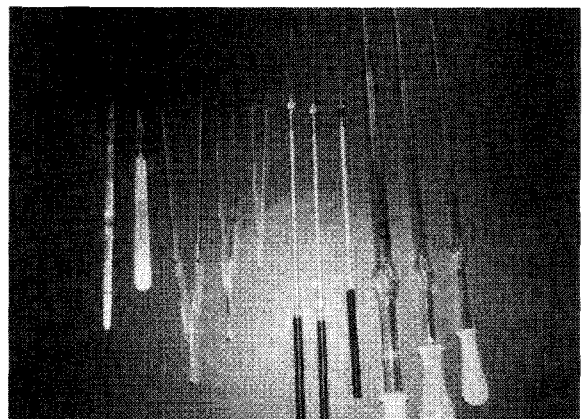


写真-6 材線虫移植器具
(メス・ピンセット・白金耳・ピペット)

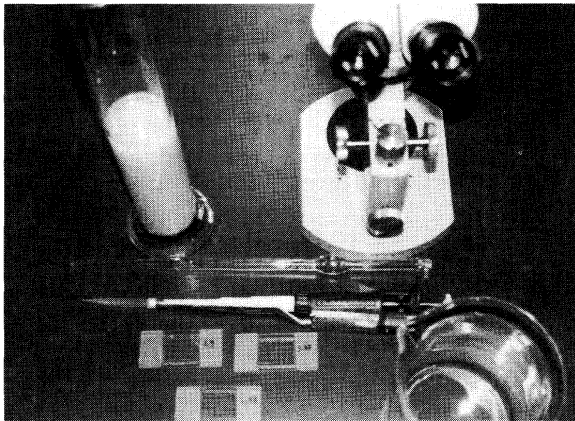


写真-7 材線虫の頭数調整器具
(計数盤・ビーカー・マイクロピペット・実体顕微鏡)

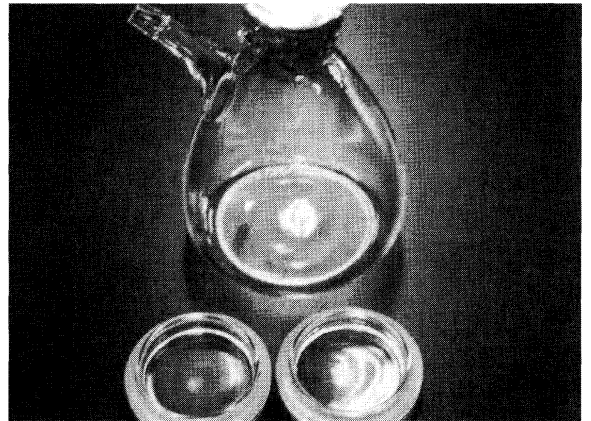


写真-8 時計皿と吸引ビン

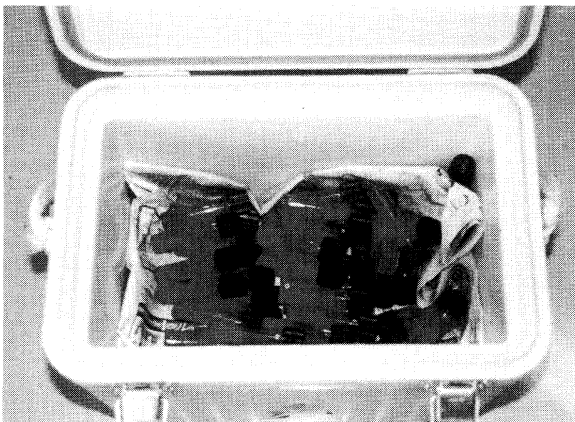


写真-9 クーラーボックスとねじロビン

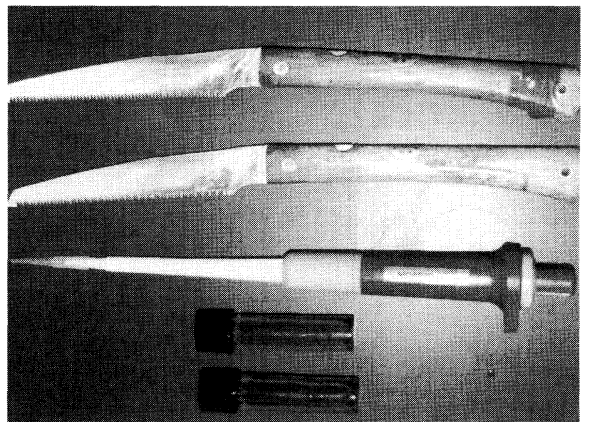


写真-10 人工接種機器
(ねじロビン・マイクロピペット・ナイフ付きノコギリ)

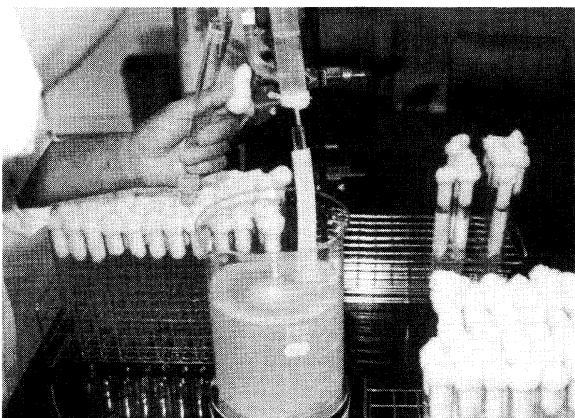


写真-11 分注器で試験管 1 本当たり 20ml を分注する

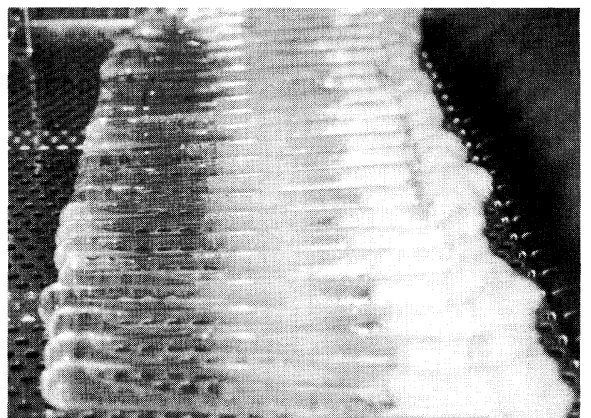


写真-12 クリーンベンチ内で培地を固める

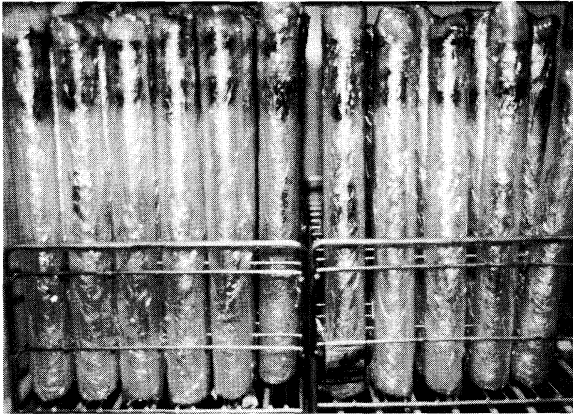


写真-13 糸状菌及び材線虫元種の保存

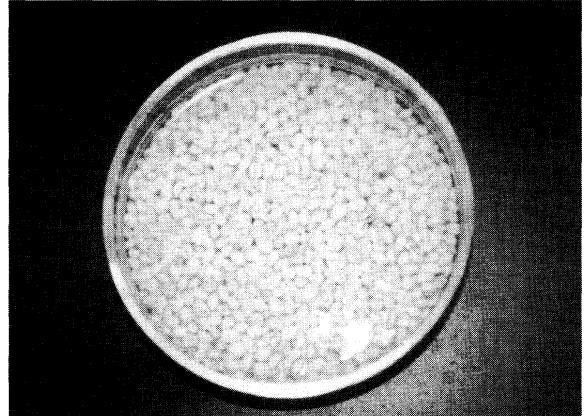


写真-14 まる麦 (シャーレ当たり20g)

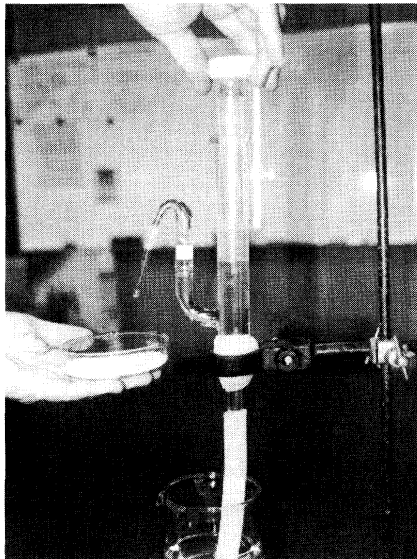


写真-15 分注器で砂糖液をいれる

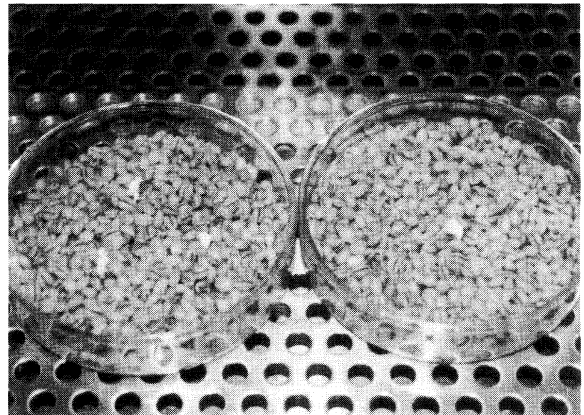


写真-16 糸状菌の3点移植 (左) 1点移植 (右)

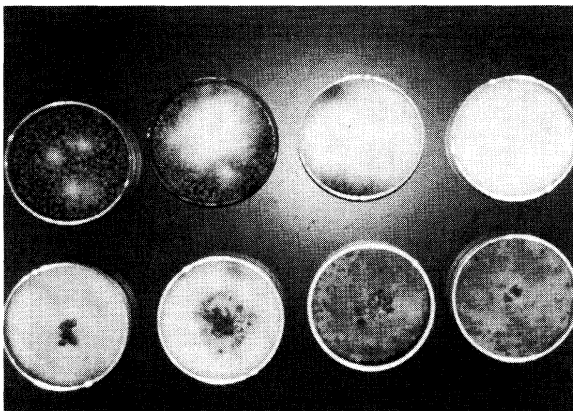


写真-17 上段は糸状菌の増殖推移 (右端9日前後)
下段は材線虫の増殖推移 (右端8~9日)



写真-18 材線虫接種後8日目
(1シャーレ当たり80~120万頭)

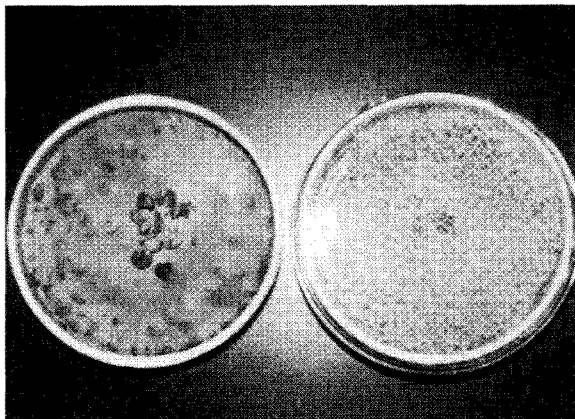


写真-19 写真左：最も材線虫が多い8～9日
写真右：15日以上培養したもの死滅した材線虫が多い



写真-20 左材線虫の分離 シャーレ7～8枚入れる

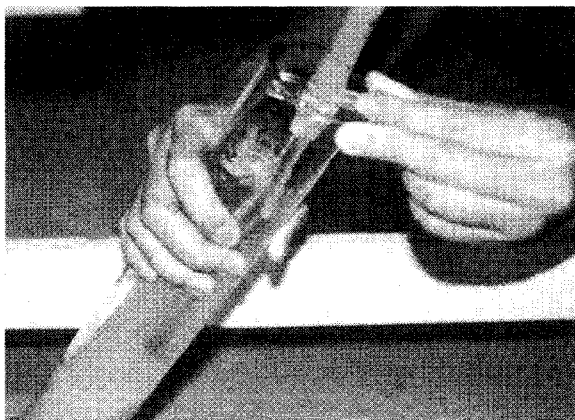


写真-21 材線虫の採集

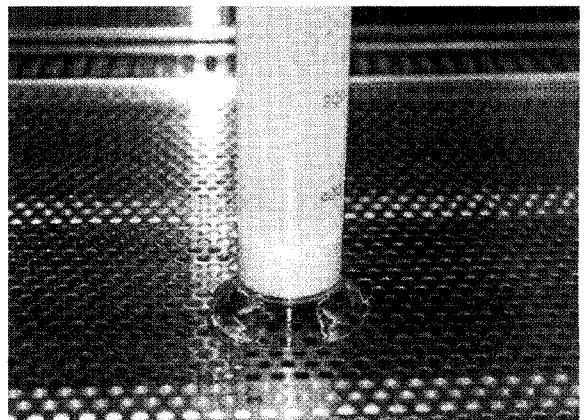


写真-22 採集した直後の材線虫原液
(麦汁で濁っている)

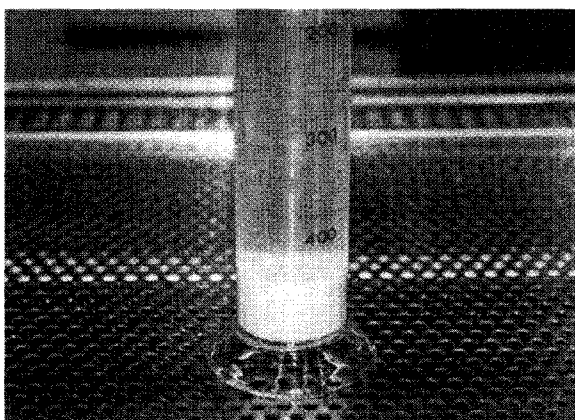


写真-23 3回の水交換で麦汁を除去したあと

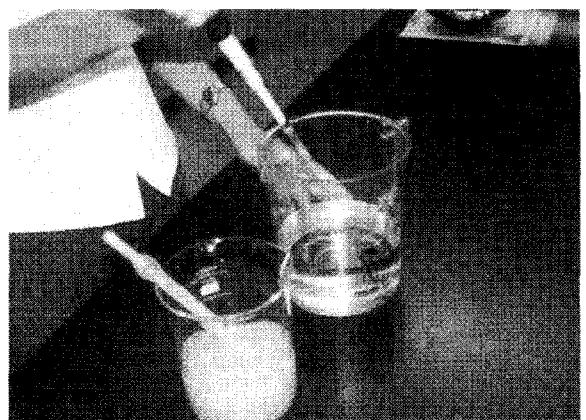


写真-24 材線虫の頭数調整 (線虫原液の希釈)



写真-25 計数盤に1ccの希釈液をいれる

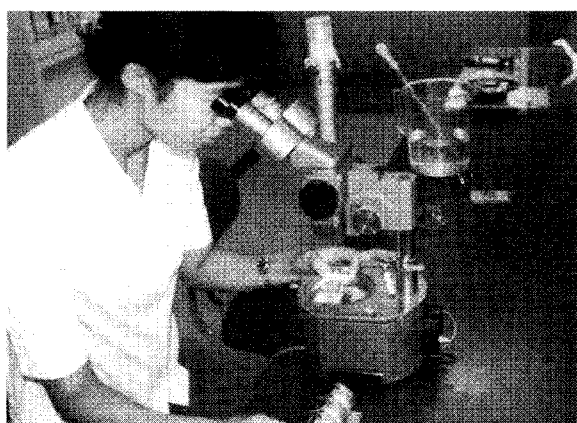


写真-26 材線虫の計数

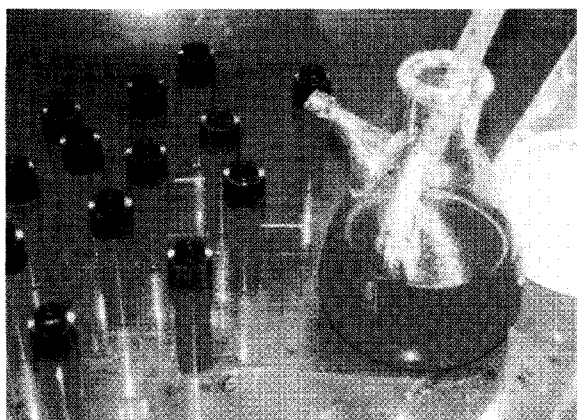


写真-27 頭数調整された材線虫の小分け



写真-28 長さ5cm程度剥皮して掻き傷をつける



写真-29 材線虫の接種