

マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業

— 技術開発と事業実施10か年の成果 —

藤本吉幸⁽¹⁾・戸田忠雄⁽²⁾
西村慶二⁽³⁾・山手廣太⁽⁴⁾
冬野劭一⁽⁵⁾

Yoshiyuki FUJIMOTO, Tadao TODA, Keiji NISHIMURA,

Hirota YAMATE, and Shōichi FUYUNO :

Breeding Project on Resistance to the Pine-wood Nematode.

— An outline of the research and the achievement

of the project for ten years —

要 旨：マツノザイセンチュウによるマツの集団枯損は、西日本から始まって今日では東北地方にまで広がっているが、この対策の一つとして抵抗性育種が十数年前から検討された。その結果、激害林内で生き残った個体の中から抵抗性候補木を選抜し、そのつぎ木苗に材線虫を接種して遺伝的抵抗性の強弱を検定することになった。特に被害の著しい西日本の14県と、九州、関西、四国の国立林木育種場3機関において昭和53年に選抜を開始して、3年間でアカマツ10,303本、クロマツ12,739本の抵抗性候補木を選抜した。これらの候補木をつぎ木で増殖し、まず、第一次検定として1クローン10本の2年生つぎ木苗木に、それぞれ1万頭の材線虫を7月中・下旬にガラス室内で接種した。検定に当たっては、各機関及び年次による検定精度のひずみやばらつきを防ぐため、人工接種検定用材線虫は本事業ではすべて同一系統とした。また材線虫に対する抵抗性が極めて強いテーダマツを検定結果の判定基準とするため、熊本営林署部内の約45年生のテーダマツ林で選定した5本の母樹群から採種し、それらを等量混合した種子による2年生実生苗を比較対照とした。この第一次人工接種検定（一次検定）に合格したクローンは各林木育種場において第二次人工接種検定（二次検定）が行われ、アカマツでは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以上のものを、またクロマツでは6週目の成績がテーダマツの60%以上のものを合格とした。その後追加選抜したものを含めてそれぞれ92本と16本の、合計108本で、当初検定数に対する合格率はアカマツで0.85%、クロマツで0.12%、全体では0.44%であった。これらの合格クローンは、つぎ木で増殖され、クローン採種園が造成されているが、まだ十分な量の種子は生産されるに至っていない。しかし、抵抗性個体母本（オルセツト）の自然受粉種子による実生苗に対する検定はすでに行われており、一般の実生苗にくらべて高い生存率が認められているのは、本抵抗性育種の成果を示すものと言えよう。今後は、抵抗性種苗の早期大量生産法に関する技術開発、それら種苗の適応範囲の探索、抵抗性の遺伝様式の解明、材線虫の適応変異への対応、等についての研究を進める必要がある。

目 次

I はじめに	4
II 研究の背景	5
1 マツ属の分布と造林の推移	5
2 松くい虫の被害の推移	6
III 研究経過とその成果	7
1 マツノザイセンチュウ(材線虫)の発見	7
2 材線虫抵抗性育種の可能性の検討	7

1988年8月1日受理

(1), (2), (3), (4), (5)九州林木育種場

3	材線虫抵抗性の検定方法の検討	8
1)	検定用苗木の養成	9
(1)	マツ属樹種の材線虫に対する抵抗性の変異	9
(2)	つぎ穂の材線虫抵抗性に対するつぎ木台木の影響	13
(3)	材線虫抵抗性と苗齢の関係の検討	14
(4)	つぎ木苗への材線虫人工接種検定による選抜の可能性	14
(5)	樹高の高い候補木用採穂用具の開発	18
(6)	大量のつぎ木の実施方法	20
2)	人工接種検定条件の管理(ガラス室内鉢植検定)	20
(1)	つぎ木苗植栽の鉢用土及び灌水方法の検討	21
(2)	材線虫の人工接種時期及び温度管理	23
3)	人工接種方法の開発	24
(1)	人工接種方法	25
(2)	苗木あたりの材線虫接種頭数及び接種点数	28
(3)	人工接種洩れ防止策	30
4)	接種用材線虫の選定	31
(1)	材線虫の加害性の変異	31
(2)	事業に用いる接種用材線虫の系統の選定	36
(3)	接種用材線虫の大量増殖	40
5)	抵抗性判定基準用対照樹種	41
6)	材線虫抵抗性の判定方法	41
IV	「マツノザイセンチュウ(材線虫)抵抗性育種事業」のしくみ	42
1	抵抗性候補木の予備選抜	42
2	本事業計画	42
1)	事業実施機関	42
2)	候補木及び人工接種検定苗の目標数量	42
3)	事業実施期間	47
3	本事業実施方法	47
1)	抵抗性候補木の選抜	47
2)	抵抗性候補木のつぎ木増殖	47
3)	人工接種検定	47
V	「マツノザイセンチュウ(材線虫)抵抗性育種事業」の経過と成果	49
1	一次検定	49
2	二次検定	49
3	各機関における人工接種苗木の枯損経過	49
4	各機関による対照用テーダマツ苗の枯損率のバラツキ	56
VI	材線虫抵抗性種苗の生産と普及	64
1	検定合格木の自然受粉種子からの苗による育種効果の推定	64
2	材線虫抵抗性クローン採種園の造成	66
VII	今後の課題	69
1	材線虫抵抗性要因の解明	69
2	材線虫抵抗性の遺伝様式の解明	70
3	材線虫抵抗性個体の後代の諸特性の解明	70
4	材線虫抵抗性個体の後代における適応変異への対応	71
5	材線虫抵抗性交雑育種	71
1)	材線虫抵抗性交雑育種のこれまでの成果	71

2) 材線虫抵抗性交雑育種における技術開発.....	72
3) 今後の材線虫抵抗性交雑育種への対応.....	72
VIII ま と め.....	73
引 用 文 献	
付 属 資 料	
マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業実施要領 (抜粋)	

I はじめに

日本に分布するマツ属の樹種は、二葉松と五葉松合わせて7³⁶⁾あるいは9²⁶⁾種と言われ、北海道から沖縄まで広く全土に見られるが、数量的、面積的にも、また利用上からも、一般にマツと言えばアカマツ (*Pinus densiflora* SIEB. et ZUCC.) とクロマツ (*P. thunbergii* PARL.)の両者を指すことが多い。この両者は木材としても加工原料としても極めて多目的に用いられるばかりでなく、林分としても防風、飛砂防止、水源かん養等多面的な機能を果たしている。さらに景観構成や門松、庭木、盆栽等と日本人の精神生活の面においても、最も関わりの深い樹種となっている。しかし、約90年前から各地のマツ林に集団的な枯損が現れ始め、その後増減をくり返してきたが、昭和40年代後半に入って再び被害が増大してきた。これに対してその原因がマツを加害する穿孔性甲虫類、いわゆる「松くい虫」にあると考えられていたため、主として昆虫及び樹病研究者による原因究明と防除法の検討が続けられてきた。昭和43年から4年間にわたって実施された農林水産技術会議の特別研究「まつくい虫によるマツ類の枯損防止に関する研究」においては、昆虫、樹病、菌類、土壌、気象、化学、樹木生理等あらゆる分野からの検討が加えられた。その結果、関東以西の激害地におけるマツの枯損はマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER et BUHRER) NICKLE) (以下便宜上可能なかぎり材線虫と略記する)によるものであること、それはマツノマダラカミキリ (*Monochamus alternatus* HOPE)によって媒介されること、などが明らかにされた。次いで昭和48年から3年間にわたって、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、材線虫、マツノマダラカミキリ、薬剤防除、抵抗性育種、抵抗性要因等の検討が加えられ、抵抗性育種の重要性と可能性が示唆された。これを契機に、抵抗性育種を事業化するための方法論の組み立て及び技術開発が、特に被害の著しい九州及び関西・四国の林木育種場、林業試験場九州支場(現 森林総合研究所九州支所)等を中心として精力的に進められた。

一方、西日本14県において、昭和51、52両年にわたって、「マツノザイセンチュウ抵抗性育種調査事業」が国の委託事業として実施され、残存率がおおむね10%以下の主として沿岸部に見られる激害林と、内陸部等において、集団的に生き残っている特異的な林分から、合計約97,000本の抵抗性候補木がリストアップされた。

これらの基礎資料を背景に、西日本の14県と関西林木育種場、同四国支場、九州林木育種場の計17機関において、昭和53年度から59年度まで7年間にわたって「マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業」が行われた。この結果、一次、二次の材線虫人工接種検定を経て、追加選抜分を含めてアカマツ92本、クロマツ16本、合計108本の材線虫抵抗性個体を選定確保することができた。これらのクローンによる採種園は、各県において現在造成中で、数年後には一定量の材線虫抵抗性種苗も生産される見とおしである。マツノザイセンチュウの発見、材線虫及びその媒介昆虫マツノマダラカミキリの研究に始まり、抵抗性育種の検討、本事業計画、本事業のための技術開発を経て、選抜、増殖、検定、抵抗性個体の選定、採種園造成と、本事業の一連の作業はこのようにして一応完了することができた。ここでは主として材線虫抵抗性候補木の選抜から材線虫の人工接種検定までの経過を中心に、本事業及び研究の成果と、残され課題についてとりまとめた。この事業には、長い歳月と多くの人々の力がついやされたが、直接・間接に事業にかかわった林野庁、林業試験場本・支場、関係各県、営林局、林木育種場の方々に厚くお礼申し上げる。

II 研究の背景

1 マツ属の分布と造林の推移

マツ属の樹木は約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を合わせて7種²⁶⁾あるいは9種²⁶⁾が分布するとされているが、代表的なものはアカマツとクロマツの2種である。日本国内におけるマツ属の分布は北海道から沖縄まで全土にわたっているが、アカマツ・クロマツの天然分布は次のとおりである²⁶⁾。アカマツの北限は北緯41°31'の青森県下北半島の先端大間崎付近、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。アカマツはやや肥沃なところで最もよく生育し、過湿地では生育が悪くなるが砂地、岩石地等やせ地、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の先端大間崎付近と、また南限は北緯29°の鹿児島県とから列島宝島と言われている。クロマツは潮風に対してはアカマツより強いが寒さにはやや弱く、pHの高い土壌を好み、やせ地にも育ち適応性が広い。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付近までに分布する。

マツ類はこのように気象的にも土壌的にも適応性が大きく、その上、先駆樹種として繁殖力が旺盛なこともあって、天然下種更新による二次林が形成されやすい。また、植栽林では形質不良となるものが多かったため、防潮、飛砂防止等、海岸林を中心に植栽が行われてきたといえよう。これに対して山地造林は、マツがパルプ原材料として脚光を浴び、消費が拡大され始めた昭和20年代から盛んに行われるようになったものといわれている。Fig.1にみられるように昭和25年以降の10年間における造林面積は全人工造林面積の9～15%、3万～6万haで平均4.3万haである。特に30年代の前半にはパルプ用材としての需要が増大して同年代の後半には全造林面積の16～18%、6.4～7.5万haと上昇した。しかし、その頃からパルプ用材としてマツのみならず広葉樹等の利用が行われるようになり、パルプ原木用としての消費が減る一方、松くい虫による被害の増大、さらには被害跡地の造林にスギ、ヒノキ等他樹種が植栽される等の諸条件が重なりマツの造林面積は減少していった。50年代初めには8%、約2万haあったものが、同年代後半へと進むにつれてさらに低下し、60年には2%、2千haとなっている。今後も材線虫抵抗性採種園産のマツ苗木が量産される60年代後半までは、現状で推移するものと思われる。

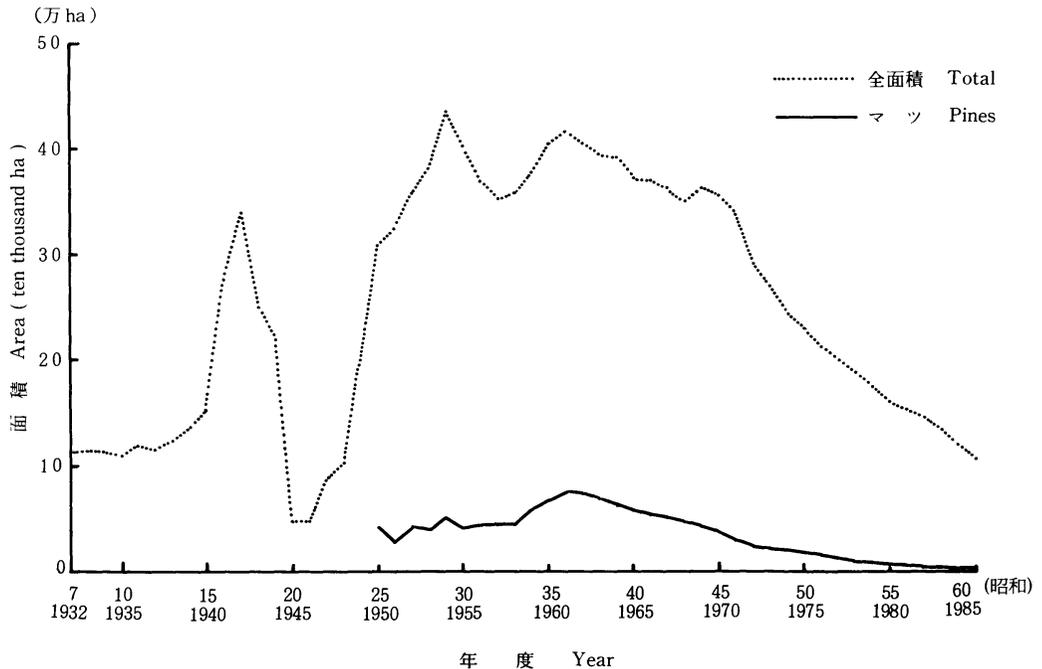


Fig. 1 全人工造林及びマツ造林面積 (林業統計要覧1960~1987年から)

Planting area of Japan

2 松くい虫の被害の推移

わが国の松くい虫の被害に関しては、明治30年代末の長崎市及び福岡県遠賀郡芦屋町方面におけるものが最初の記録とされている³³⁾。

その後大正時代に入り兵庫県赤穂市で、また大正末から昭和の初期にかけて兵庫県相生市及び長崎県佐世保市に発生している。昭和10年代には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する一方、九州においては佐世保市を始め熊本県八代市、宮崎県飨肥地方へと進行していった。20年代になると爆発的に被害が発生し九州全域、兵庫・岡山両県の瀬戸内海沿岸部を中心として拡大した。特に20年代前半における被害量は100万 m^2 を越え、社会的にも注目されることとなった。これら松枯損木の徹底的な駆除を行うため、昭和25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」が制定公布され、激害地については農林大臣の駆除命令を発する等の防除対策が実施された。同年代の後半から40年代の前半までは小康状態を保ち、地域の拡大もみられなかったが、後半に入ると再び100万 m^2 を記録している。

この時期における主な被害地域は、中国、近畿地方の瀬戸内海沿岸部と、九州では中・南部である。これらの地域は20年代にも被害が多発しておりそのほとんどが海岸沿いであったが、40年代後半の被害は内陸部におけるものである。この時期における被害増大の原因としては、46年に西日本を襲った風台風、48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等が考えられる。50年代に入ると新たに關東北部の茨城県や、静岡・愛知等中部地方各県、さらには鳥取・島根両県等中国地方でも日本海側へと拡大

している。特に全国で244万㎡と最高の被害を記録した54年前後における茨城県の被害は約71万㎡、全国の29%にあたり、県単独の被害量としては最高を記録している。同年代も後半にかけて次第に減少傾向を見せ、60年度には全国で119万㎡とピーク時の約半分に減少している。しかし、材線虫による枯損は、先ず林冠上層をなす壮・老齢の大径木から始まるが、近年は若齢木にまで被害が及んでいるため、単木当たりの材積も小さくなっていることから、材積のみでは論じがたいと思われる³⁹⁾。

今後はこれまで軽微であった東北地方において増加する傾向にあり、被害拡大地域における徹底した防除対策が必要である。

III 研究経過とその成果

1 マツノザイセンチュウ（材線虫）の発見

このような大量枯損を生じる原因は、長い間いわゆる松くい虫によるものと考えられてきた。すなわち、ゾウムシ類、キクイムシ類、カミキリムシ類等の穿孔性甲虫で、これらがマツの内樹皮や材を穿孔食害することによって枯らすという説である。これは昭和10年代からの多くの研究者や技術者による研究の結論で、事実枯損木の伐採、剥皮、焼却等徹底駆除によって、昭和20年代後半には被害は著しく減少し、30年代前半には横ばい状態となっていた。ところが、30年代後半に入って経済の発展—労力不足—枯損木処理の不徹底、という図式で再び被害が急増し始める。

一方、松枯れのメカニズムを追求していた林業試験場では、松くい虫の産卵痕や材内に幼虫のみられない外見上は健全な個体の中に、樹脂を滲出しないものを発見し、松枯れは松くい虫に侵される以前に始まっていることを明らかにした⁵⁷⁾。さらに、こうした樹脂調査について、樹幹下部に直径約2cmの円孔をあけて、ここからの樹脂流出量を5段階評価し、異常の有無を判定する方法が考えられた⁵⁸⁾。この方法によって各地で調査が行われ、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8～11月の期間では8月が最も多いことが確かめられた⁵⁸⁾。これまでに知られている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ることから、それらが産卵食害するには、松側に何らかの異常、衰弱がなければならないが、その経緯等が明らかでない。そこで、こうした被害機構をあらゆる分野から総合的に解明するための農林水産技術会議の特別研究“まつくい虫によるマツ類の枯損防止に関する研究”が昭和43年から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、化学等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. 防除対策の検討、の大項目の中で、12項目についての検討が行われた。その結果、関東以西におけるマツの大量枯損が、材線虫によるものであって、マツノマダラカミキリはVectorとして不可欠なもので、その後食痕から材線虫が樹体内に侵入するという被害のサイクルが明らかにされた。

2 材線虫抵抗性育種の可能性の検討

これに引続いて、昭和48年度から50年度にかけて、3年間にわたって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。ここでは材線虫、マツノマダラカミキリ、薬剤防除、抵抗性育種、抵抗性要因等の各項について、組織的、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については、日本産及び外国産マツの抵抗性、抵抗性検定法、抵抗性発現に及ぼす土壌の影響等についての検討が加えられた。

一般に病虫害に対する植物の抵抗性は幾つかの要因に分類されるが、それに材線虫及びマツノマダラカミキリの場合をあてはめると次のようになる。

ア. 非選好性：マツノマダラカミキリが後食しない、あるいは好まないマツ

イ. 抗性作用：樹体内に侵入した材線虫を殺すか、あるいは成長、発育及び繁殖を抑制するマツ

ウ. 耐性：材線虫による被害を修（回）復し、あるいはそれに耐えるマツ

このうちアについては各種のマツの切り枝あるいは苗木を用いて、ケージ内にマツノマダラカミキリを放虫して調べられた例が多く、その結果、アカマツ、クロマツ、テーダマツ (*P. taeda* L.), スラッシュマツ (*P. elliottii* ENGELM.), タイワンアカマツ (*P. massoniana* LAMB.) などにおいていずれも後食を受けていたことが報告されており^{14) 173) 83) 99)}, 非選好性による抵抗性は期待できない。したがって、イあるいはウの要因による抵抗性品種の創出を目的として育種事業が進められることとなった。その場合、抵抗性育種の方法としては、導入育種法、交雑育種法、選抜育種法などが考えられる。このうち導入育種法に関しては、外国産マツ類のうち極めて強いものとしてテーダマツ、フクシュウマツ (マンシュウクロマツ, *P. tabulaeformis* CARR.) が、またこれらに次ぐものとしてリギダマツ (*P. rigida* MILL.), タイワンアカマツなどが知られているが、材線虫以外の諸害抵抗性や立地適応性の点で問題があること、あるいはそれらが明らかでないことなどから、これら導入樹種を直ちに造林するにはリスクが大きい。次に、交雑育種法による材線虫抵抗性育種では、アカマツ・クロマツの本来もっている適応性や各種抵抗性などを損なわずに、上記各樹種あるいは系統の抵抗性遺伝子を取りこむことができる。しかし、それには一回のみの交配でなく、数回の戻し交雑も必要で、諸特性の確認までには極めて長い年月を要する。さらに、種間交雑においては交雑親和性の低い場合が多いため、交雑可能な組合せは限られたものとなり、これも事業化は困難である。これに対して材線虫による激害林分内で生き残っている健全個体を選び、材線虫の人工接種によって抵抗性を検定する選抜育種法では、上記の問題点は生じない。この場合のポイントとして、マツ属各樹種における材線虫抵抗性の程度、選抜対象林分の分布、検定方法、事業規模等が検討された。その結果、アカマツ・クロマツ³⁷⁾, テーダマツ^{89) 102)}, タイワンアカマツ^{7) 89) 102)}, 等において材線虫抵抗性の種内変異が認められ、テーダマツ程度の抵抗性を目標とすれば、その存在率は8万分の1と推定された⁷⁸⁾。また、材線虫抵抗性候補木 (林分) の予備調査は51, 52両年度にわたって行われ、約97,000本がリストアップされた。一般に抵抗性育種において最も重要なのは検定方法であるが、本事業においては後に詳述するように候補木のつぎ苗木に対する材線虫の人工接種法が確立され、事業実行が可能となった。

3 材線虫抵抗性の検定方法の検討

人工接種検定で最も重要なことは、抵抗性発現に関与する非遺伝的変動因を制御することである。この要因として検定材料、接種源、接種法及び検定環境条件などがあげられる。検定材料については増殖方法・苗齢・成長の良否などがあり、接種源については、材線虫系統の加害性、増殖力などがあげられる。また、人工接種法としては、用具、方法、時期などが、さらに環境に関するものには土壌の種類をはじめ、温湿度、光などがある。これらの各要因は抵抗性検定の結果を単独に、また複雑な交互作用をしながら大きく左右するものと考えられ、材線虫抵抗性育種事業を進めるにあたってはまず、これらの要因を早急に解明しなければならなかった。

本事業はタイムリミットの関係から研究と並行して進められたこともあって、事業の効率性を主体とした技術開発が数多く実施された⁶⁵⁾。ここでは、これらの研究のうち特に事業と関連の深い検定技術について、得られた成果と実用化までの経緯等を取りまとめた。

1) 検定用苗木の養成

通常の方法ではさし木発根の著しく困難なマツ類においては、つぎ木か実生のいずれかの方法によって増殖しなければならないが、実生の場合いくつかの問題が生ずる。その一つは、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、真の抵抗性個体を選出するためには各抵抗性候補木について相当な検定数量が必要なことである。また選抜された候補個体の着花性が良くなければ検定は困難である。一方、つぎ木苗の場合、候補個体と全く同じ遺伝子型の“クローン”であるため、少数のつぎ木増殖個体の検定でよいことなど効率性が高い。本事業では1機関で年間数百本の候補木を検定する計画となっており、省力化が重要なポイントであった。そのため実生苗検定に比べ、つぎ木苗検定では上記の各項に関して有利な要素が多く、本事業ではこの方法によって進めることとなった。

つぎ木苗検定においても、その活着如何は事業の成否を左右する問題であるが、選抜される候補木は高樹齢のものが多く、技術的にもそれほど高い活着率は期待できない。

また、マツ属の樹種間及び個体間にはかなりの材線虫抵抗性の強弱が認められていることから、つぎ木台木の抵抗性の違いが検定結果に影響をおよぼさないかも気になるところである。これに関連して、ここでは(1)マツ属の材線虫に対する抵抗性変異を調べ、次に、(2)つぎ木台木の抵抗性の強弱が検定結果に及ぼす影響、さらに、(3)苗齢のちがいによる抵抗性発現の差異の検討、(4)技術開発の結果を用いたつぎ木苗の接種試験を行った。

(1) マツ属樹種の材線虫に対する抵抗性の変異

材線虫に対してマツ属の樹種間には、かなり明らかな抵抗性の差異が認められている。これまでの接種試験からアカマツ³⁷⁾、クロマツ³⁷⁾、及びリュウキュウマツ (*P. luchuensis* MAYR.)^{29) 37) 102)}、の3種は感受性が高く、テーダマツ^{5) 89) 102)}、リギダマツ^{16) 64) 82) 89) 102)}、リギ・テーダマツ (*P. rigida* × *P. taeda*)^{13) 16) 27) 34) 64) 102)}、バンクスマツ (*P. banksiana* LAMB.)^{16) 29) 64) 82)}、ストロブマツ (*P. strobus* L.)⁶⁴⁾、ブンゲンスマツ (*P. pungens* LAMB.)^{29) 64) 89)}、スラッシュマツ^{64) 82)}、クラウスマツ (*P. clausa* VASEY.)^{29) 64)}、バージニヤマツ (*P. virginiana* MILL.)^{29) 64)}、タイワンアカマツ^{7) 29) 64) 89) 102)}、クロマツ×タイワンアカマツ^{15) 17) 81) 101) 105)}、は抵抗性が高いことが確認されている。そのほかにもこれらの樹種の線虫に対する抵抗性についての報告も多い^{20) 27) 65)}。

一方アカマツ、クロマツの種内における抵抗性変異も大庭ら⁶⁰⁾の報告を初め九州林木育種場、関西林木育種場、同四国支場などが中心になって行われた実験において確認されている^{31) 63) 89) 99) 100)}。なお、技術開発等の実験に用いる苗木は、事業と同じつぎ木苗を用いることが望ましいが、試験設計、規模等から、大量の苗木が必要となるため、特につぎ木と直接関係のある実験を除いて、生産の容易な実生苗を使用した。

大庭⁶¹⁾は、精英樹を含むアカマツ29系統(熊本市立田山15, 植木町9, 松島町5, 以上熊本県)、クロマツ17系統(九州産精英樹12, 在来種5)及びリギ・テーダマツ(対照)の1回床替え2年生苗を用いて抵抗性の種内変異について調べた。結果はFig. 2に示すとおりで、アークサイン変換した樹種別の平均生存率は、リギ・テーダマツ60.0%、アカマツ51.9%、クロマツ32.6%の順となり、従来知られている樹種別抵抗性と一致した。

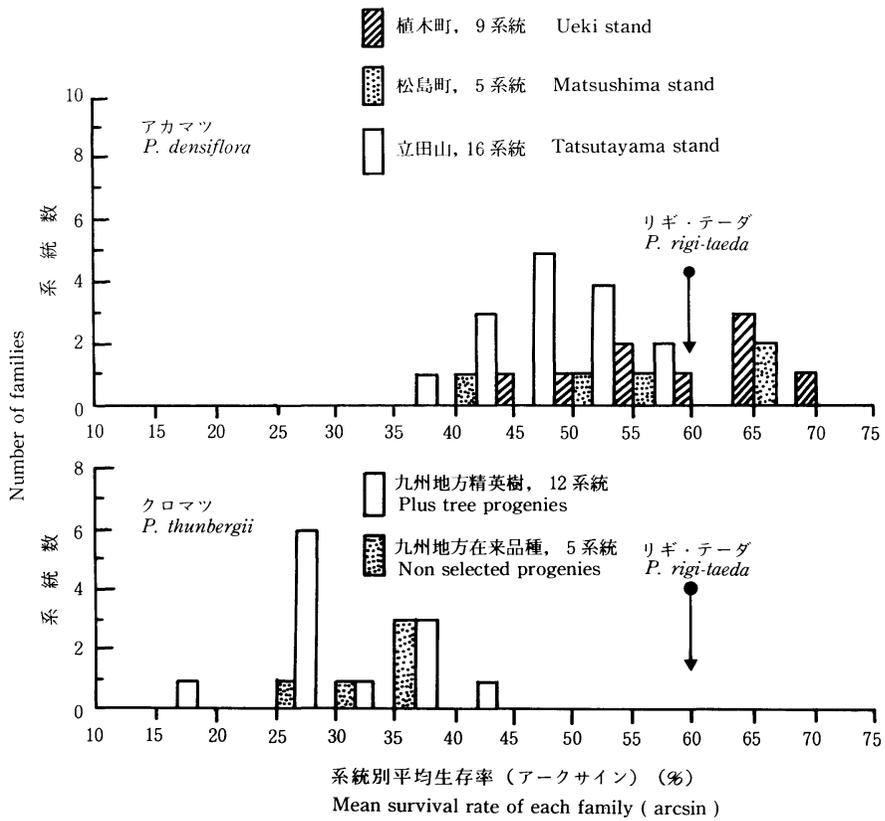


Fig. 2 母樹別実生系統の材線虫抵抗性

Resistance of the open-pollinated progenies to the pine-wood nematode

このうち、植木、及び立田山については原木に材線虫の人工接種を行い生き残った個体からの、また、松島は激害林分で自然感染により生き残った個体からのものである。原木接種個体から採種した全系統の平均生存率は64%、無接種個体から採種した全系統の平均生存率は50%と、生存率に若干の差がみられたが、統計的には有意差はみられなかった。アカマツの産地別集団の平均生存率は、松島68.4%、植木67.2%、立田山56.0%で、分散分析の結果1%水準で産地間に有意差が認められた (Table 1)。クロマツでは、九州産精英樹と在来種の間には生存率の差は見られず、リギ・テーダマツ、アカマツに比べて著しく生存率が低かった。しかし、アカマツ、クロマツとも各系統の生存率に大きなバラツキがあり、抵抗性の強さの一つの目安となるリギ・テーダマツより生存率の高いものが、アカマツに6系統見られた。さらに大庭ら⁶⁰⁾は、全国の有名アカマツ18系統とクロマツ3系統の2年生実生苗の接種検定を行った結果、まったく枯損の生じない系統は見られず、平均生存率でも35.5~68.5%と連続的な変異を示し、しかも顕著な系統間差を認めている。茨木ら²⁸⁾の実験においても母樹別実生苗検定の結果、系統別の平均健全率はアカマツ7~38%、クロマツ0~22%であった。

Table 1 アカマツの産地別及び産地内母樹間の生存率の分散分析 (アークサイン変換値)

Analysis of variance for survival rate of *P. densiflora* (arcsin)

要 因 Factors	自 由 度 D. F	平 方 和 S. S	平均平方 M. S	F
全 体 Total	57	5397.2953		
反 復 Replication	1	604.2687	604.2687	7.96**
産 地 別 Provenance	2	818.1492	409.0746	5.39**
産 地 間 接 種 の 有 無 Between provenances	1	515.8945	515.8945	
産 地 内 接 種 の 有 無 Within provenances	1	302.2547	302.2547	3.98
反 復 × 産 地 Provenance × Replication	2	27.3353	13.6677	0.18
誤 差 Error	52	3947.5421	75.9143	

* * 1%水準で有意 Significant at 1%level

アカマツ精英樹ではリギ・テダマツ (平均健全率30%) と同程度のものが15家系中4家系あったが、クロマツ91家系の中には見当たらなかった。また、藤本ら⁶⁾はアカマツ・クロマツの抵抗性候補木及び精英樹家系の接種検定において、両樹種とも候補木の抵抗性が著しく高かったこと、さらにタイワンアカマツの生存率及び健全率を用いた評点の順位から、樹種内家系間に著しい有意差のあることを認めた (Fig. 3)。これらはいずれもクロマツはアカマツにくらべ感受性が高く、またクローンや系統間に顕著な差異を認めたものである。

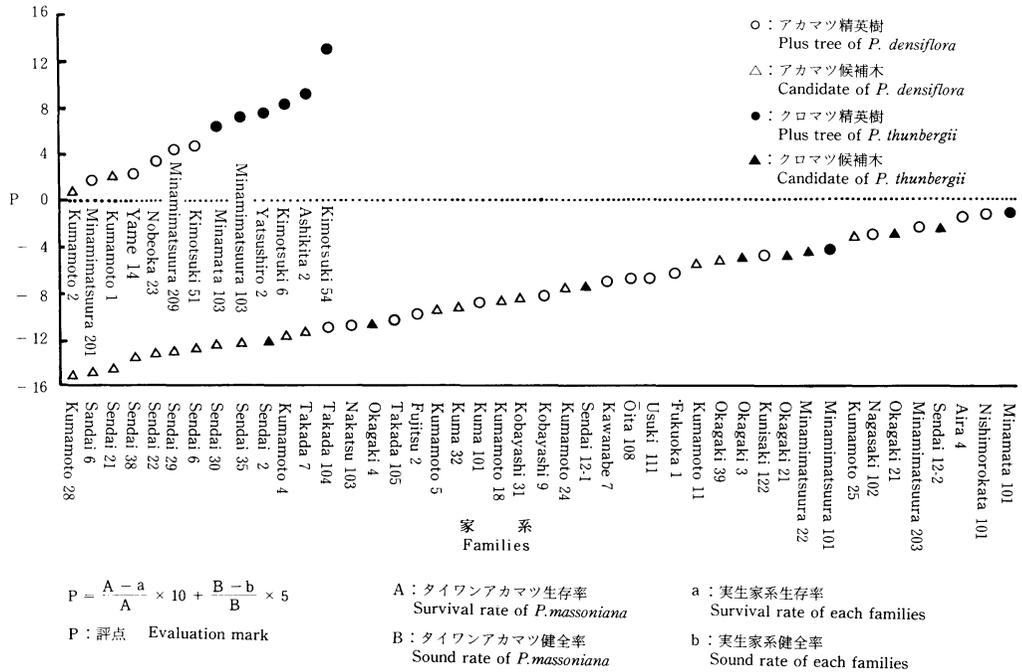


Fig. 3 実生家系の材線虫抵抗性
Resistance of the open-pollinated progenies to the pine wood nematode

こうした現象はある程度の抵抗性レベルのものでも同様な傾向となるため、アカマツの抵抗性集団や抵抗性個体は比較の見つけやすい反面、特に感受性が高く変異幅の小さいクロマツについては、抵抗性の強さの目安をリギ・テダマツ程度とすると、抵抗性個体の検出には相当多数の候補木の検定が必要と考えられる。これに関して藤本ら⁹⁾は、本事業における1年目の結果を取りまとめ、一次検定合格(一次合格)率はアカマツの10.9%に対してクロマツでは1.7%にとどまりクロマツの選抜が困難であること、また合格率が四国地区では高く九州・関西地区では低いことから、地域や機関による抵抗性の違いが見られることを指摘した。

こうした中でクロマツについて個体間差がどの程度あるのか、さらにデータの集積をはかるため各地の集団から個体を選抜し、材線虫に対する抵抗性の強弱の調査及び効率性等も含めて検討がなされた^{19) 35) 67)}。

一方、外国マツのうちテダマツ、リギダマツは各種実験において単一あるいは複数のつぎ木クローン、または実生家系が対照として用いられたが、テダマツあるいはリギダマツという樹種レベルでとり扱われて来た。しかし、テダマツは抵抗性個体の選抜基準にもなっていることから、材線虫抵抗性の種内変異を無視するわけにはいかない。

戸田ら¹⁰²⁾はテダマツ、リギダマツ等合計11種のマツ類における材線虫抵抗性の種内変異を調べた結果、Fig. 4に示すように種内変異が大きいことを認めている。

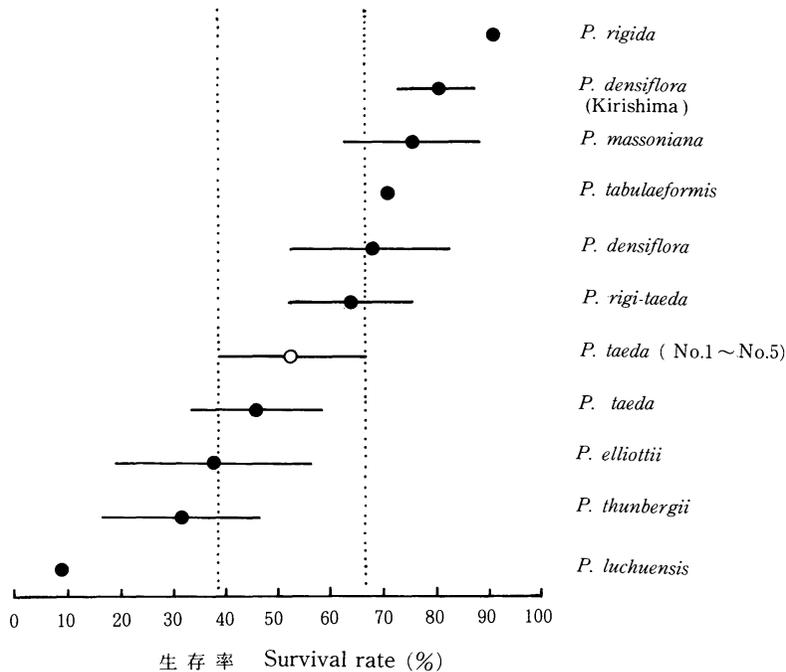


Fig. 4 樹種別生存率と家系内変異

Survival rates and its range of eleven pine species

また藤本ら⁵⁾は北アメリカ8州, 11産地のテーダマツつぎ木苗を用いて材線虫抵抗性の種内変異を調べた。これによると産地間の生存率及び健全率に差は認められなかったが, 大西洋沿岸部産のものに比べ内陸部産のもの生存率が高く, 地域による抵抗性の差が認められた。また, 藤本ら⁷⁾は台湾アカマツ92クローンのつぎ木苗に対する材線虫の人工接種検定において, 比較的弱いものからテーダマツ程度以上に強いものまで幅広い変異を認めた。白石ら⁸⁾も外国産マツ4種の検定から家系間に差を認めている。

こうした報告はいずれもアカマツ, クロマツと同様に材線虫抵抗性の種内変異が大きく, 抵抗性の高低の判定基準あるいは育種母材料として用いる場合には, 慎重な対処が必要であるとしている。

(2) つぎ穂の材線虫抵抗性に対するつぎ木台木の影響

事業における接種検定は, 前述のように検定効率等有利な面が多いことから, つぎ木苗による方法が採用された。ところで, マツ類のつぎ木台木には活着・成長の面から, 樹種レベルでの材線虫抵抗性はアカマツにくらべて弱いが, クロマツを用いることが多い。また, 材線虫の人工接種はつぎ木苗の穂木に行われることから台木および穂木の抵抗性の強弱が検定結果にどう影響を及ぼすか, つぎ木苗による検定の適否を検討した。

戸田ら⁹⁾は, 昭和47年3月クロマツ及びテーダマツを台木にテーダマツ, スラッシュマツ, フクシュウマツ, アカマツ, クロマツの5樹種を穂木としたつぎ木を行い, 50年7月につぎ木3年生苗に材線虫を接種した。接種時の苗高は50~100cmで, 材線虫系統“対馬”をつぎ穂部分に各1万頭(0.2ml)剥皮接種した。

結果は, アカマツ・クロマツのつぎ木苗で比べると, クロマツ台木の場合は材線虫接種によって46.7%枯損したのに対して, テーダマツ台木の場合は25.0%の枯損であった。しかし一方, テーダマツ, スラッシュ

マツ、フクシュウマツ等、抵抗性の強い樹種の穂木のつぎ木苗では、クロマツを台木とした場合でも接種による枯損は0～2.3%と少ない。これに対して、テーダマツを台木としてアカマツとクロマツを接いだ場合は、接種によってそれぞれ12.5%、37.5%の枯損を生じた。

戸田⁹⁰⁾が行った別の試験ではアカマツ、クロマツ、リギダマツを台木に、アカマツ、クロマツ各5クローンの穂木を接いだ11年生個体の接種検定において、アカマツ台木の場合の枯損率は51.6%、クロマツでは48.0%、リギダマツ50.0%と、台木と枯損率との間には有意差が認められず、台木の影響がないことを報告している。また大山⁶⁹⁾ 70)が行った実験でも、クロマツを台木に感受性のクロマツと抵抗性のテーダマツおよびスラッシュマツを穂木としたつぎ木苗に、1本あたり3万頭の材線虫を接種した結果、クロマツは7本のうち6本が、スラッシュマツは7本のうち1本が枯損したもののテーダマツの枯損は認められず、同一樹種を台木としたつぎ木苗を用いた場合にも従来から明らかにされている樹種レベルでの抵抗性に変わりのないことを確認している。

これらの実験結果から判断すれば、つぎ木苗の穂木部への材線虫接種に対して示される抵抗性は穂木の抵抗性の強弱に支配され、台木の影響は受けないものと結論づけられよう。その原因については、なお不明な部分が多いが、関連すると思われる実験結果は幾つか報告されている。堂園³⁾は材線虫の樹体内における移動の遅速と増殖について、抵抗性のテーダマツとスラッシュマツでは、短期間に材線虫が減少することを認めており、橋本²²⁾は同樹種の丸太を用いた接種実験から材線虫抑制作用は生体反応であるとしている。さらに穂木部分の抵抗性の強弱について、大山⁷⁹⁾ 76)及び二井²¹⁾はタンニン及びpHとの関連を、また渡辺¹⁰⁹⁾はミルセン含有量と材線虫の繁殖との関連性を指摘している。

以上のことから、穂木部分が抵抗性であれば、材線虫が侵入した場合、その個体が本来持っている、材線虫の増殖や発病を抑制する何らかの条件によって抵抗性が示されるものと推測される。したがって、つぎ木苗検定においては、穂木部分の抵抗性の強弱によって適正な選抜が可能であると云えよう。

(3) 材線虫抵抗性と苗齢の関係の検討

黒田⁴⁹⁾は、組織解剖学的な見地から幼苗(3年生実生苗)では樹脂道が年輪全体に散在するためマツ苗の枯死にある程度関与するが、6年生苗では垂直樹脂道の分布が晩材に限られ、苗木を枯死に導くほどの通導阻害を起こさないとした。また、真宮⁵¹⁾は、数種のマツの抵抗性に関して生育段階によって変化することを明らかにした。これと関連して、九州林木育種場をはじめ各機関で行った実生苗検定において、生育が旺盛なテーダマツやスラッシュマツ等では、苗齢が高くなると過密となって被圧される個体が出現し、材線虫の接種によって被害は著しく多くなる現象が認められている⁶⁾ 105)。また、逆に生育の不良なものでは低密度となって地表の乾燥等によっても被害が進行するなど⁶⁰⁾、苗木の加齢にともなう生育状態によって被害の異なる例も見られた。

一方、つぎ木苗検定での接種位置は穂木部分であるが、大山⁶⁹⁾及び戸田⁹⁰⁾の結果から、つぎ木部から少なくとも10～15cm以上のところに接種する必要があるのでつぎ木苗の生育促進が重要な課題であった。これに関してはこれまで行われたつぎ木増殖から、1年生つぎ木苗の伸長はほぼ20～35cm以上となり、検定用苗木としては問題がないとされた。

(4) つぎ木苗への材線虫人工接種検定による選抜の可能性

人工接種検定に関する方法論の検討や技術開発が進められた中で、特に事業直前の昭和48年から52年の5年間は抵抗性候補木の予備選抜と接種が行われ、多くの改善点が指摘された。

特に九州林木育種場で行われたアカマツ・クロマツ予備選抜木のつぎ木苗での人工接種検定のうち53年に

行った実験については本事業前の総合プレテストとして、これまでの研究成果を全て網羅した実験であって、材線虫抵抗性個体の選抜に関してかなり高い可能性が認められた。

各実験に用いた材線虫系統は、50年と52年の接種検定については林試九州支場が分離した茨城県産“S-6”，53年の接種検定は九州林木育種場が分離した熊本県天草産“有明”で、接種はいずれも苗木当たり1万頭（0.1～0.2ml）で剥皮接種法によった。なお調査項目は各実験とも健全、半枯れ、枯損の3区分で行った。

ア 50年の接種検定⁶²⁾

48年川内営林署および熊本営林署管内の計38本の抵抗性候補木から採穂し、クロマツにつぎ木した。接種は50年7月に行い、同年12月に最終調査を実施した。

接種後、50日を経過すると苗木の生存及び枯損の状態は安定した。供試35クローンのうち全く枯損しないクローンは見られず、生存率が40～67%を示したクローンは5クローンあった。接種検定における結果が苗木の大きさによって異なることについては、先に実生苗における例を述べたが、つぎ木苗の場合にも、つぎ木後の伸長と生存率の関係が顕著で、苗高が60cm以下では生存率が0～7%と枯れ易い傾向があった。また、同程度の大きさの苗木でもつぎ木部位から接種部までの長さによっても枯損は影響されるようで、10cm以下の場合では全く生存個体がなかった反面、11～35cmのものでは10%の生存率であった。

イ 52年の接種検定²⁷⁾

アの予備検定で有望とみられた地域から、51年にアカマツ19個体、クロマツ35個体を選抜し、つぎ木を行った。対照にテーダマツ、スラッシュマツ、タイワンアカマツ等を用いて52年7月に材線虫を接種した。

これまでの実験でも線虫系統“S-6”は極めて強い加害性を示したが、接種後の晴天ともあいまって枯損が進み、接種80日後の平均生存率はアカマツ10%、クロマツ1%、テーダマツ6%、タイワンアカマツ7%であった。従来、強抵抗性と認められたテーダマツの生存率が6%という、極めて厳しい検定結果となったが、アカマツの中では立田山、植木グループ（熊本県）から3クローン、クロマツでは岡垣及び久留米等（福岡県）から3クローン、計6クローンがテーダマツ程度の抵抗性を示した。

ウ 53年の接種検定（総合プレテスト）⁸⁰⁾

52年2～3月に、九州の各材線虫被害地のうち、健全木の推定残存率10%以下の林分から、アカマツとクロマツあわせて245本の候補木を選抜し、候補木あたり20～40本のつぎ木を行った。候補木の大部分はビニールハウス内で、一部はハウス外においてつぎ木を行った。材線虫接種は53年7月に、つぎ穂部が約35cm以上伸びた苗木が1クローンあたり8本以上ある150クローンについて行い、最終調査は同年9月に実施した。

つぎ木活着率はTable 2に示したが、ハウス内が、ハウス外のものに比べて約10%高い活着率となった。活着率50%以上の候補木は、245本中138本（56%）で、アカマツは、65本中14本（22%）と低かった。クローン当たりの検定本数を10本とすると、クローン数の49%は検定できなくなるので、8本にしたところ、クローン数は約10%増加した。

Table 2 つぎ木活着率別候補木本数
Number of candidates in each successful rate class of grafting

樹種 Species	候補木本数 Number of candidates	活着率 Successful rate			検定可能苗木数 Testable grafts	
		39% 以下 ~39	40% 以上 40~	50% 以上 50~	8本 以上 8<	10本 以上 10<
合計 All total	本 245 (100)	本 92 (38)	本 153 (62)	本 138 (56)	本 150 (61)	本 125 (51)
アカマツ <i>P.densiflora</i>	65 (100)	49 (75)	17 (26)	14 (22)	16 (25)	11 (17)
クロマツ <i>P.thunbergii</i>	180 (100)	44 (24)	135 (75)	124 (68)	134 (74)	114 (63)

注：() は、候補木本数の100分率 () : %

このように検定クローン数が少なくなったのは、おもにつぎ木活着率が低かったためで、その原因としては、候補木のほとんどが老齢木であったこと、採穂からつぎ木までの期間が10日前後と長かったと、つぎ穂に着生していた雌雄花の影響、などがあげられるが、最も影響したのはつぎ木作業の熟練度が考えられる。このため、研修等によってつぎ木技術の向上が図られた。

次に検定結果の健全率について Table 3 に示した。対照のテーダマツ、リギ・テーダマツ、スラッシュマツ及びタイワンアカマツについてみると、テーダマツとリギ・テーダマツの平均健全率はいずれも84%で、テーダマツと同等の抵抗性といわれるタイワンアカマツは33~100% (平均66%) と健全率がやや低く、それらより抵抗性が低いスラッシュマツは、52%であった。

これらを基準にすると、タイワンアカマツと同等以上と思われるものが、アカマツに6クローン、スラッシュマツ程度のものは、クロマツに2クローンあった。これらの8クローンについては、かなり抵抗性が高いものと考えられる。

関西林木育種場においては岡田ら⁶⁷⁾が昭和50年兵庫、岡山県下で推定残存率20%以下の林分からアカマツ、クロマツ52個体を選抜し鉢植えしたつぎ木苗に、苗木当たり1万頭(0.1ml)の材線虫を52年に接種した。その結果、ほとんどのクローンが100%枯損した中で、アカマツ5クローン(枯損率0~67%)、クロマツで3クローン(33~67%)の比較的被害の少ないものが認められ、激害林分からの選抜の可能性を示唆した。

次に、接種後晴天が続くなどの環境条件によって、一般に抵抗性の高いテーダマツでさえ枯損は促進される。これに関して茨木ら²⁷⁾は、検定結果についてクローンの抵抗性の強さと接種した材線虫の加害性、およびその時期の天候、接種場所の条件等によって左右されため、抵抗性の判定基準の一つとして、生存、健全本数のみでなく枯損進行の遅速を検討すべきであるとした。

樹種 Species	林分の残存率 Survival rate of the stands	候補木接種本数 No. of inoculated candidates	健全率 Sound rate		平均 Mean
			55 % >	56 % <	
合 計 All Total	本 計 Total	150	142	8	
	0.1~5.0	89	83	6	
	6.0~20.0	35	35	0	
	21.0~50.0	5	5	0	
	不 明 Unknown	21	19	2	
アカマツ <i>P. densiflora</i>	本 計 Total	16	10	6	
	0.1~5.0	11	6	5	
	6.0~20.0	2	2	0	
	21.0~50.0	0	0	0	
	不 明 Unknown	3	2	1	
クロマツ <i>P. thunbergii</i>	本 計 Total	134	132	2	
	0.1~5.0	78	77	1	
	6.0~20.0	33	33	0	
	21.0~50.0	5	5	0	
	不 明 Unknown	18	17	1	
テーダマツ <i>P. taeda</i>		4	0	4	84%
リギ・テーダマツ <i>P. rigi-taeda</i>		2	0	2	84%
スラッシュマツ <i>P. elliotii</i>		2	1	1	52%
タイワンアカマツ <i>P. massoniana</i>		6	3	3	66%

Table 3 選抜林分の残存率と候補木の接種結果
Survival rates of the stands (selected candidates) and the
result of inoculation test of the pine-wood nematode

一方、選抜の強さによって、選抜される家系・クローンの数や割合がちがって来る。Fig. 5は九州地区において51年から61年の間に行われたアカマツ実生後代384家系の接種結果から健全率ごとの家系頻度分布をまとめたものである。

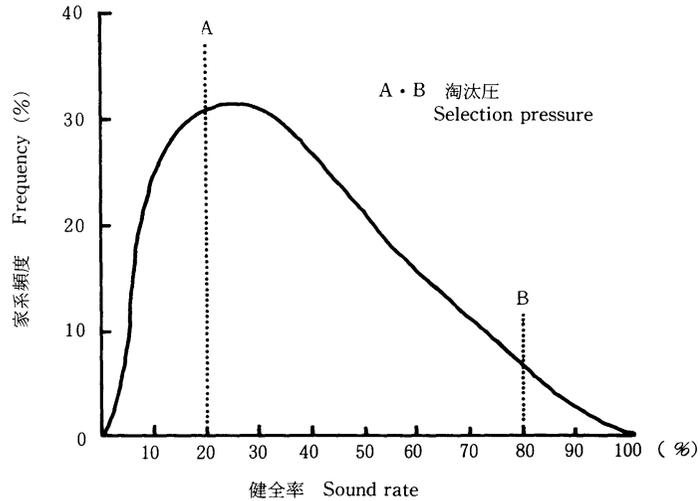


Fig. 5 淘汰圧と選抜される家系数の関係の一例

Relationship between selection pressure and number of families to select

この図において、淘汰圧(抵抗性の判定水準)を健全率20%以上のAにすると、選ばれる家系数は全体の71%と多数であるのに対して、健全率80%以上のBでは8%と極めて少数で、強い抵抗性をもった家系しか選抜されないことになる。また逆に、図のような分布の場合、選抜計画数または率によって、淘汰圧が決定されることになる。

以上の実験から、選抜の可能性ばかりでなく、事業実施上の問題点も数多く指摘されたが、おもなものをあげれば次のとおりである。

ア つぎ穂の保管方法、活着率の向上、活着後のつぎ穂の成長促進、イ 検定用苗木の鉢植えの時期、用土、管理法等、ウ 抵抗性個体の判定基準などがあるが、これらについては次にのべる技術開発の各種実験等によっておおむね解決された。

(5) 樹高の高い候補木用採穂用具の開発

検定材料の種子や穂木の採取では、樹高の高い候補木等が対象になるため、危険がともなう困難な作業である。そこで、本事業発足にともなって木登り用具の安全性、簡便性、能率性、経済性等について検討が行われた。この結果、通直で枝のない大径木にはスイス製のツリーバイシクル (Photo.1のa)が、また樹幹に曲がりのあるもの、枝の多いもの、小径木等には山福式E型複式木登器 (Photo.1のb)が適していることが明らかとなった。しかし、前者は約9kgの重量がある上、かさ張るため、山地では使いにくいのに対して、後者では操作も簡単で特に熟練を必要とせず小型で軽量なうえ運搬も容易なことから、九州林木育種場にお

いては最も使用頻度が高かった。また、採穂後の下降については、ナイロン製クライミングロープと下降器を用いた岩登り技術の改良応用によって、樹木における下降技術が開発され、安全でしかも迅速な下降が可能になった(Photo.1のcとd)。これら用具の使用法等に関しては、事業実施要領の運営についての別紙“木登り作業の手引き”にとりまとめ、関係機関に配布されている。こうした用具・技術の改良・開発によって、この事業においては延べ約2万7千本余りの候補木からの採穂が無事に行われた。

また、木登りせずに地上から種穂を採取する方法については、これまで欧米等では銃器の使用が行われていたが、我が国では伸縮式の柄と鋏あるいは鋸の組合せによる高枝切器が使用されていた。しかし、その使用範囲は地上8m内外の枝に限られるという難点がある。このため、他の方法について模索していたところ、松永ら²⁾はボウガンとソーチェーンの組合せによる枝切り器を考案し、改良を重ねた結果、地上から容易に採穂できるようになった(Photo.2のa)。この方法は、直径6～8mm、長さ30～40cmの鉄棒を矢として用い、一端の孔に直径1mmのナイロン製釣糸を結びつけ、目標とする枝の上を狙って撃つもので、矢は枝を越して落下する。落下した矢をはずして釣糸の先端にポリエステル製で直径約2mmの編みもをつけてリードロープとして引き、さらに直径10～13mmの作業ロープに替える。これには、Fig. 6に示すように左右どちらに引いても切れるように改良したソーチェーンが連結しており、ロープの両端を交互に引き合せて枝を切断する。枝の高さが15m、直径が10cm程度のものであれば10分以内で一連の作業が終わる極めて能率的で安全性の高いものである。このため事業期間中の活用は勿論、海外からの研修生にも広く紹介され、高い評価を得ている。

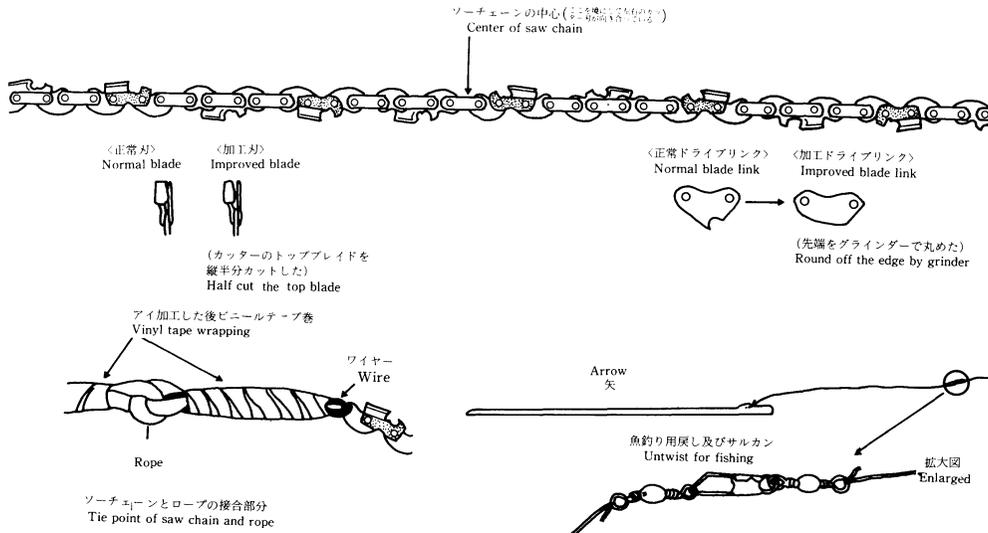


Fig. 6 採穂用の改良ソーチェーン・矢（松永ら1981）
Improved saw chain and arrow made for scion collection

(6) 大量のつぎ木の実施方法

つぎ木は、事業期間をとおして全ての機関で1回床替2年生のクロマツ実生苗を台木として用い、割りつぎ法によった。また、本事業ではつぎ木数が1機関年間2万本を越すこととなり、適期につぎ木を完了するためには、短期間に多数のつぎ木技術者が必要であった。このため、つぎ木期間の拡大を図る必要が生じ、四国・九州地区等では、早くからつぎ木作業ができるように毎年12月初旬に、台木の床替床にビニールハウス（以下ハウス）を設置してつぎ木を行った。九州林木育種場の例では、ハウス1棟の大きさは床替床4列が入るよう幅6m、長さ20mを基準としたが、長さについてはアーチ形パイプの増減により自由に調整できるようにした。また、被覆するビニールは少なくとも4～5か月間は風雨に耐えるよう、厚さ0.08mmのものを使用した。こうして台木の生育を促進させ1月中旬頃からつぎ木を行った。Fig. 7 に事業実施期間中最も平均的な昭和54年2月における20日間のハウス内外の温度、湿度を示した。これによれば、野外の最低気温でマイナス日が3日、最高気温が20度を越す日が4日間見られた。

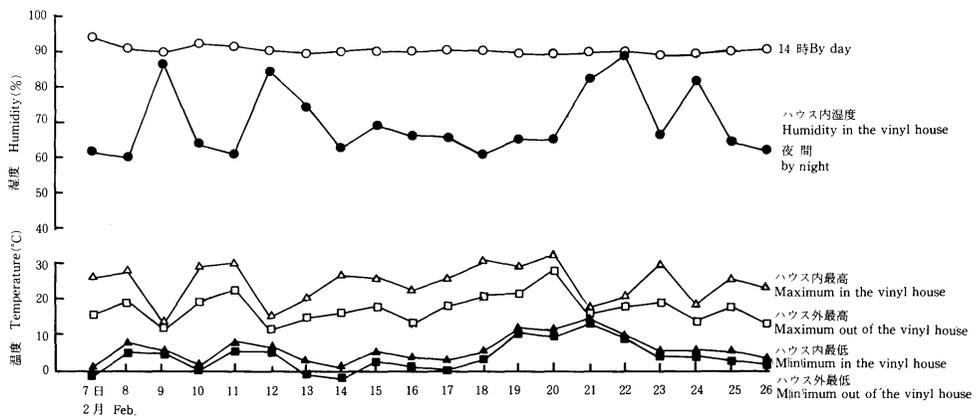


Fig. 7 ビニールハウス内・外の温・湿度 (1979)

Daily maximum and minimum temperature, and humidity in and out of a Vinyl-house

これに対してハウス内では温度の日較差は野外より大きい、最低気温で野外にくらべて1～4度高くマイナス日は見られない。また、最高気温では特に著しく低かった曇天の3日間を除けば20度以上の日が多く、野外に比べて10度ほど高い。湿度については、野外が22～94%の時ハウス内は60～94%と最低値が高く、つぎ木後の活着及び生育等に好結果をもたらした。

ちなみに九州林木育種場の事業実施期間における7か年の平均活着率は、アカマツ74.4%、クロマツ83.7%であった。また、雨天時におけるつぎ木作業が可能になるなど能率の面でも大きく向上した。

本事業実施期間中における全体のつぎ木活着率については一部データがないため明らかにされなかったが、四国地区のアカマツ50.1%、クロマツ51.3%で、先述の九州の実績などから推定すれば、平均活着率はおおよそ60%前後と考えられる。このため、クローンによっては活着あるいは生育不良から予定年度に検定できず次年度に繰り下げる必要が生じた機関もあったが、この事業全体としては支障がなかった。

次に、つぎ木技術における重要なポイントは、台木とつぎ穂の形成層を密着させることにあるが、結束時にこの部分がズレたり、ゆるむ場合が多い。そこで九州林木育種場ではこれを防止する方法について検討した結果、事務用の目玉クリップ（以下クリップ）の利用が考案された（Photo. 2のb）。これはつぎ木部位をクリップで適度の圧力で挟む方法で操作が簡単な上、活着率もこれまでのビニールテープと同程度以上の結果が得られた。またクリップは長期間使用できるなどの経済性をはじめ、通気性の点から虫害予防、さらにつぎ木増殖法で欠かせない“芽かき作業”についても従来の方法にくらべ2.5倍以上と能率が高まった。

2) 人工接種検定条件の管理（ガラス室内鉢植検定）

本事業における人工接種検定は、自然条件の異なる広範な地域で実施されるため、環境差が大きいものと予想されたが、出来るだけ検定条件を一定にするため、鉢植えしたつぎ木苗を用いてガラス室内で行われる。したがって接種後最も発病に関与する条件としては土壌水分と温度とが考えられる。そこでこの2点に的を絞って検討した。

(1) つぎ木苗植栽の鉢用土及び灌水方法の検討

鈴木ら^{90) 91)}は、材線虫に感染後のマツの反応は樹体内の水分生理と関連が深く、材線虫接種苗に水分ストレスが生ずると樹体内の材線虫は活発な増殖活動を開始し、強度な水分ストレス下においては50頭前後の材線虫接種でも速やかにマツ枯損に至るとしている。また大山ら^{71) 72) 74)}によると、材線虫に対して高い抵抗性を示すテーダマツでさえ、このような条件下ではクロマツと何ら変わることなく枯死してしまう。他方、一定の土壤乾燥下においては、樹種によって水分ストレスの回復程度が異なり、テーダマツ、アカマツは回復が早いものに対して、クロマツでは回復しにくい。こうしたことから大山らは、テーダマツやアカマツの耐乾性的水分生理が材線虫の加害に対する抵抗性となって発現されている可能性がある、としている。

橋本²⁵⁾は、水分ストレスはマツ苗の樹脂滲出異常から枯死に至る各種の病態反応を促進させ、マツ側の感受性を高める要因として働く一方、土壤乾燥は材線虫増殖に関しても影響を及ぼすとしており、西口⁵³⁾はマツの水分ストレスは7月下旬～8月以降に生ずるとしている。

こうした報告から材線虫接種後のマツ苗の枯損は遺伝的抵抗性や材線虫の加害性のほかに、水分ストレスも深く関与していることがうかがわれ、これら要因の相乗効果によるものと考えられる。したがって、抵抗性検定において極度の水分ストレスを与えられた場合、ある程度の抵抗性をもったものであってもそれを発現しえないという、検定結果に重大な影響を与えることにもなりかねない。

西村ら⁵⁶⁾は、ガラス室内の接種検定において鉢用土の選択とその蒸散量、材線虫接種後の灌水方法、及び灌水量の違いが苗木の枯損にどのような影響を及ぼすかを調べた。供試苗はアカマツ及びクロマツ精英樹とテーダマツ、リギ・テーダマツの3年生実生苗を用いた。用土は、赤土区（赤土3，山砂4，パーク堆肥2，ピートモス1）、黒土区（黒土3，その他の混合割合は赤土区と同じ）の2種類で、苗木は昭和53年3月に直径24cmの素焼鉢に1鉢あたり2本を植えつけ、同年7月材線虫接種時にガラス室内に搬入した。接種は苗木1本あたり材線虫系統“有明”1万頭（0.1ml）を剥皮接種法によって行った。材線虫接種後の灌水は、1回30分で21mmのミスト灌水と、1回10分間23mmのオートキューサーの2種類とし、それぞれ毎日1回灌水と、週2回灌水の2区を設けた。

各処理別の11週後における枯損率は、Fig. 8に示した。灌水回数、灌水方法別には有意差が認められなかったが、毎日灌水より週2回灌水、ミスト灌水よりオートキューサー灌水の方が幾分枯損が多い傾向が認められた。

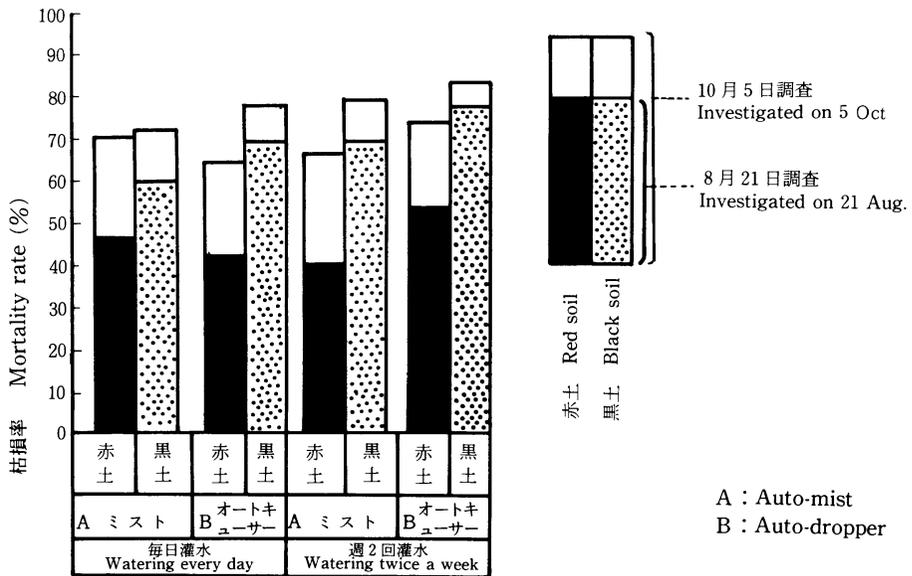


Fig. 8 鉢の灌水処理別の苗木の枯損率
Mortality rates of seedlings of each treatment

鉢用土の乾燥は、用土別蒸散量(Fig. 9)でみた限りは黒土にくらべ赤土の方がわずかに早い傾向を示した。しかし、枯損率は赤土区68%、黒土区79%と黒土区が高く、両者には有意差が認められた。

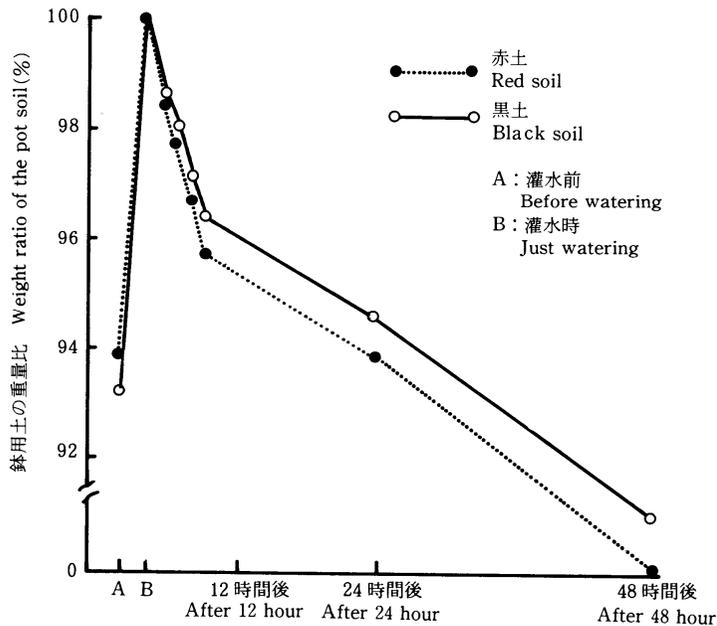


Fig. 9 鉢用土別に見た土壌乾燥の推移
Decreasing pattern of weight ratio of the pot soil

灌水方法の比較では、直径20cmの鉢を用いて1鉢当りの灌水量を20mmにした場合、100㎡当たりの所要時間と総灌水量はミストでは約28分で2トン、オートキューサーの場合には約9分で0.5トンとなり、後者の方が灌水所要時間、水使用量ともに有利であることが認められた。また、ミスト灌水はオートキューサーに比較し灌水ムラが大きい傾向がみられた。

以上の結果から、人工接種検定を実施するにあたっては、鉢用土の選択、灌水量等十分注意を払う必要があることが明らかとなった。しかし鉢用土は短期間に大量に必要となることから17機関が統一したものをを用いるには多大な労力と経費がかかるため引続き検討が加えられ、最終的には各機関の苗畑土壌をベースにして堆肥を混合した用土を用いることとした。また灌水方法では、灌水の均一性や効率性等の点からオートキューサー方式が望ましかったが、九州林木育種場を除く各機関では施設面等の事情によりミスト灌水で行われた。本事業における接種検定は高温で乾燥しやすいガラス室内で実施されるため、野外に比較して水分ストレスはさらに増大するものと考えられ、検定に際しては用土、灌水法の選択には細心の注意が払われた。

(2) 材線虫の人工接種時期及び温度管理

本事業では、1機関で年間1万本もの接種検定が予定され、ガラス室の面積の関係から機関によっては年2回の検定作業が計画された。このため、接種後の温度管理及び接種時期等について検討された。

材線虫によるマツの発病には温度条件も重要な要因であって、清原⁸⁹⁾は苗木1本あたり1,000頭の接種実験で、25～30℃では接種6日目以降急激な材線虫増加がおり、苗木の変色や萎凋症状が認められるが、15～20℃では個体数の増加は見られず、低い密度の状態を続け、枯損も認められないとした。また、堂園²⁾は糸状菌 *Botrytis cinerea* PERSOON上での実験でも、25℃以上では材線虫の活発な増殖を認めている。

接種時期と枯損の関係について清原⁴⁰⁾は、9月から翌年5月までの接種では時間の経過とともに材線虫数は減少し、しかも接種部からの移動も少ないとした。また宮城県石巻市における庄司ら⁹²⁾のクロマツを用いた実験で、8月下旬以降の接種では年内に枯損しなかったことも報告されている。

このように温度条件によって材線虫の増殖速度が異なるのであれば、接種時期の気象条件によって検定結果に微妙な影響を与えることになる。本事業の年1回接種の場合の接種時期は、検定機関によって異なるが平均気温25℃が一応の目安とされ、各機関とも例年7月中旬以降に行われた。

立仙ら⁷⁹⁾は、年2回検定を想定して次のような人工接種時期別の実験をおこなった。アカマツおよびクロマツの精英樹と対照にリギ・テグマツおよびリギ・テグマツの2年生実生苗を用い、昭和53年3月直径24cmの植木鉢に2本の苗木を植え、接種時まで苗畑に置いた。接種の直前に、鉢をガラス室に入れ、林業試験場九州支場が分離培養した材線虫系統No102各1万頭(0.1ml)を接種した。1回目の接種は、6月2日に行い、最低25℃を保つよう温風暖房器で6月20日まで加温し、2回目の接種は同年7月21日に行った。調査は接種後10日毎に健全苗、部分枯れ苗および枯死苗に区分して行った。

その結果、各樹種における人工接種時期別の生存率等を比較すると Fig. 10 のとおりである。

6月接種では、アカマツ、クロマツとも50日目に、テグマツ及びリギ・テグマツは、60日目にすべて枯損した。7月接種では、6月接種よりも全般的に生存率および健全率が低く、40日目にアカマツ、クロマツとも全部枯損し、リギマツ及びテグマツは1～2本生存したのみであった。また、9月21日に同じ材料および方法で接種を行い、加温して最低20℃に保ったが、20日を経過しても枯損苗はみられず、衰弱したものが若干みられる程度であった。これは9月後半においては日中の気温は高い反面、夜間は相当低温になるため、この時期に接種を行っても、材線虫の活動は鈍くなり正確な検定結果は期待出来ない。

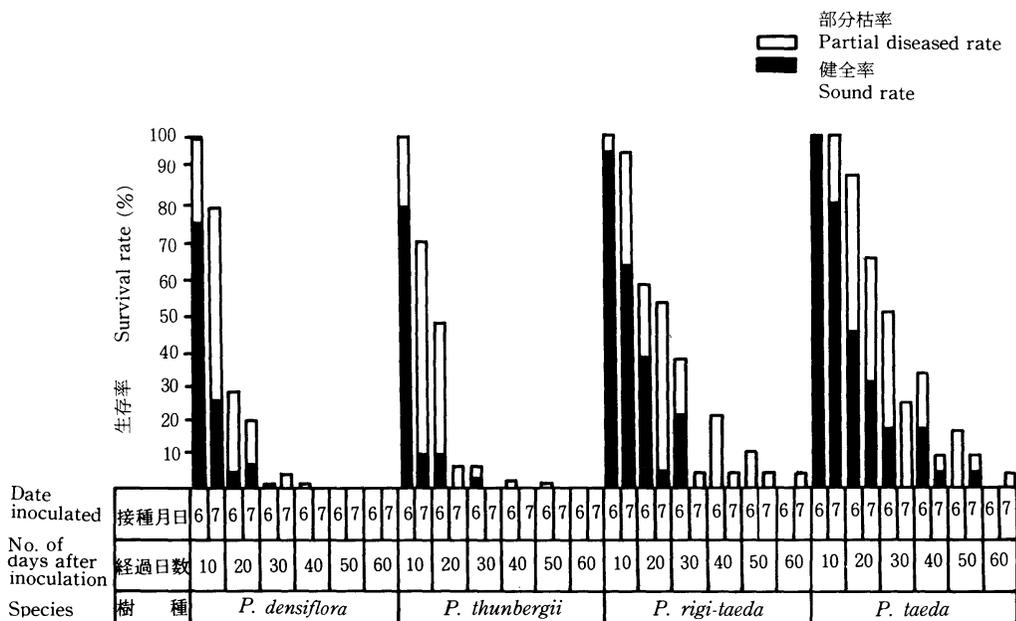


Fig. 10 接種後の生存率の経過 (接種月日の6は6月2日, 7は7月21日)

Course of decreasing survival rate after the inoculation

of the pine-wood nematode (6;2 Jun., 7;21 Jul.)

これらのことから、ガラス室で2回接種検定をするとすれば、第1回目の接種は6月上旬に行い、接種後10～20日間は、最低温度を25°Cに保つように加温し、7月中～下旬に中間調査を行い、生存している苗木は、ガラス室外で最終調査を行う。第2回目の接種は7月中～下旬に行い、無加温で50～60日目に最終調査を行うようにすると、検定精度を低下させずしかも経済的であるため、2回接種の場合はそのように行うこととした。

3) 人工接種方法の開発

マツノザイセンチュウ抵抗性育種が可能になった背景としては、接種源である材線虫の人工増殖が容易に行われるようになったことと、人工接種方法等が確立されたことがあげられる。この事業の実施にあたっては、抵抗性要因の異なる多くのクローンを選抜利用するため、多数の個体を確実にかつ簡易に検定する人工接種方法の確立が必要であった。

接種法については、昭和48年度九州地区林業試験研究機関協議会(研究者会議)保護部会において林業試験九州支場が材線虫の培養から接種に至る手順や方法について取まとめた⁷⁾。これによると、主軸及び枝を剥皮するA型、主軸梢頭部を切断してゴム管をとりつけ、接種後の乾燥防止のため綿栓を用いるB型の2通りが考案されたが、苗木に対する接種方法としては改良の余地が残されていた。そのため九州林木育種場をはじめ関西林木育種場、同四国支場において改良が加えられ“改良剥皮接種法”として確立された。ここでは接種法の開発について行われた各種実験について整理をし、接種頭数及び接種点数、接種もれ防止、について検討した。

(1) 人工接種方法

昭和47年に大庭ら⁵⁹⁾は、苗木の主幹先端部を切除し、その面を5mm程度縦割りしたあと針葉1~2本をクサビとしてさし込み、ゴム管をはめ、その中に材線虫を接種するいわゆる“ゴム管利用接種法”を開発した。しかし、人工接種方法で最も必要とされる作業能率の点から改良を要する面も多く、さらに検討が加えられた。

西村ら⁵⁹⁾は、1回床替3年生アカマツ29家系、同クロマツ35家系、及びリギ・テータマツを用いて50年7月に各種の方法を試みた。接種方法別の供試家系及び平均枯損率はTable 4に示したが、人工接種方法の概要はおおよそ次のようなものであった。

ア ドリル接種法：1~2年生苗の主幹先端部を切除し、電気ドリルを用いて直径3~4mm、深さ1.5~2cmの穴をあけ、材線虫懸濁液を注入する。

イ ふで塗布法：主幹側部に幅約1cm、長さ約5cmの剥皮を行い、かつのこ目を入れて剥皮面をざらざらにする。その面に材線虫懸濁液を塗りつける。

ウ 先端割り注入法：主幹先端部を切除し、縦に約5cmの裂目（割目）をつくり、針葉1~2本をクサビとして差し込む。それに1万頭（0.2ml）の材線虫懸濁液を注入する。

エ 培地塗布法：材線虫を培地ごと苗の主幹剥皮部にぬりつける。

オ リバテープ法：脱脂綿の小片に材線虫懸濁液（約1万頭）をしみこませ、主幹剥皮部に粘着テープではりつける。

Table 4 接種方法別のマツ類苗木の枯損率
Mortality rates of seedlings by several methods to inoculate

接種方法 Method of inoculation	供試系統数および同本数 No. of inoculated families and seedlings	主な系統名(産地)等 Families (Provenances)	平均 枯損率(%) Mean mortality rate
ア ドリル接種法 Drill inoculation method	アカマツ 29系統 1,210本 <i>P.densiflora</i> 29 families	植木, 松島, 立田山 Ueki, Matsushima	38.4
	クロマツ 17系統 1,091本 <i>P.thunbergii</i> 17 families	精英樹 在来種 Plus trees	71.4
	リギ・テータマツ 1系統 60本 <i>P.rigi-taeda</i> 1 family	F ₂ 雑種 F ₂ Hybrids	25.0
イ ふで塗布法 Brush inoculation method	クロマツ 6系統 180本 <i>P.thunbergii</i> 6 families	精英樹自然受粉家系 Open pollinated	77.0
ウ 先端割り注入法 Top cleave inoculation method	クロマツ 6系統 105本 <i>P.thunbergii</i> 6 families	seedlings of plus trees	70.0
エ 材線虫培地塗布法 Medium application method	クロマツ 1系統 46本 <i>P.thunbergii</i> 1 family	〃	65.0
オ リバテープ法 Tape stick inoculation method	クロマツ 1系統 63本 <i>P.thunbergii</i> 1 family	〃	59.0
カ 材線虫ワセリン軟膏法 Vaseline application method	クロマツ 6系統 199本 <i>P.thunbergii</i> 6 families	〃	57.4
キ アルミツメ法 Aluminium piece inoculation method	クロマツ 3系統 93本 <i>P.thunbergii</i> 3 families	〃	47.0

カ ワセリン軟膏法：ワセリン0.1gに少量の水を添加し、材線虫1万頭をねり込み、主軸剥皮部にぬりつける。

キ アルミつめ法：アルミテープで3角形のつめを作り、マツ苗の主軸に受皿となるようにして数個食い込ませ、総量が1万頭の材線虫懸濁液を分注する。以上7種類の方法について行ったほか、接種面の乾燥や接種の時間帯についても実験されている。

結果は Table 4 に示すように、ドリル接種法、ふで塗布法、先端割り注入法が比較的有効であった。ドリル接種は苗木が小さい場合主軸が細く穿孔出来ない場合があり、主軸の太さが限定要因となる。ふで塗布法は無日覆、晴天時日中(14時)の接種でよい結果が得られ、接種点数を容易にふやしうる簡易な方法である。ただ難点は、材線虫の頭数管理が極めてむずかしく、接種用具に注射器またはピペットなどを利用すれば効果的な人工接種法である。さらに、先端割り注入法も1ml程度の材線虫懸濁液であれば効率的な手法となる。なお、先端割り注入法は当年生主軸で65%、2年生主軸では76%の枯損率がみられた。これは樹脂の滲出量が当年生の場合多いため、材線虫の侵入が阻止されるためと考えられるが、ここでは明らかにできなかった。

培地塗布法は、リバテープ法、ワセリン軟膏法はともに材線虫の頭数管理が困難であるほか、材線虫の活性等の点で問題がある。アルミつめ法は他の方法にくらべ材線虫の侵入が悪く、つめを喰込ませる面の処理が必要である。

枯損のちがいは別項で述べる接種した材線虫頭数によっても左右されることから、ア・イ・ウ・キのように苗木に材線虫懸濁液を注入する直接的な方法に比べてエ・オ・カのような間接的な接種方法では、接種した材線虫頭数に大きなロスを生ずるものと考えられる。

人工接種法では作業の簡便化と同時に材線虫の正確な頭数管理が要求される。これらの実験結果では、ふで塗布法が事業実行法上最も適したものと認められたが、頭数管理の正確を期するため、ふでを定量マイクロピペットに変えることが提案された。

竹内ら⁹⁹⁾は先端割り注入法にマイクロピペットを用いた剥皮法と断幹法による接種実験を昭和51年に行っている。断幹法は、つぎ木基部より上部20cm付近を水平に切断、この面に0.05ml 1万頭の材線虫懸濁液を接種した。接種方法およびクローン別の枯損率は Fig. 11 に示すように、断幹法で77.8~100% (88.2%)、剥皮法では50.0~100% (88.4%) であった。また、接種から枯損に至る期間は剥皮法より断幹法がやや長かった。

津田ら¹⁰⁰⁾は、効率的な人工接種検定法を開発するため52年に次に示す7種類の方法について検討した。

ア 剥皮接種方法：当年伸長した主軸部を長さ5~6cm、幅5~6mmに木質部が裸出する程度に剥皮し、金切りのこで傷をつける。

イ のこ歯切傷法：当年伸長した主軸部を長さ5~6cm、幅5~6mmに金切りのこで縦と横二方向に細かく傷をつける。

ウ のこ歯切傷法：横方向に細かく傷をつける。

エ のこ歯切傷法：縦方向に細かく傷をつける。

オ 主幹先割り法：当年伸長した主軸の先端をせん定ばさみで長さ1~2cmに割る。

カ 主軸先折法：当年伸長した主軸の先端から1~2cm下の部分に軽く小刀を当て、先端をきりはなさない程度に折る。

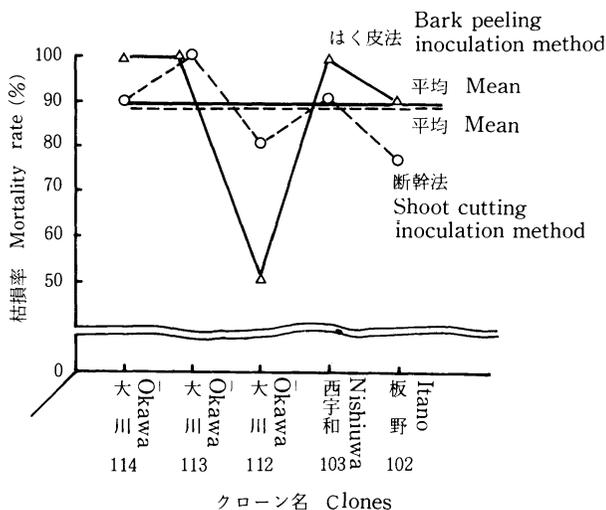


Fig. 11 接種方法別試験 (竹内ら1978)

Mortality results of inoculation of the pine-wood nematode by two methods
(Takeuchi et al 1978)

キ 枝裂き法：最上段の車枝の1本を手で軽く下に枝がはなれない程度に引き裂く。これらの方法で処理した後苗木当たり材線虫懸濁液0.1ml (1万頭)を手製ピペットで接種した。接種方法別の被害率にはそれほど大きなちがいは見られないが、主幹先折法、同先割り法、枝裂き法は作業が簡単で効果的であると述べている (Table 5)。

Table 5 接種方法別の被害率 (津田ら 1978)

Damaged rates by several inoculation methods (Tsuda et al 1978)

場所・樹種 Place・Tree species	苗畑・つぎ木苗 Nursery・Grafts		ファイロン室 (鉢植)実生 Filon house・ Potted seedlings		ファイロン室 (じか植)実生 Filon house・ seedlings
	アカマツ P. densiflora	クロマツ P. thunbergii	アカマツ P. densiflora	クロマツ P. thunbergii	クロマツ P. thunbergii
1 剥皮接種法 Bark peeling inoculation	52.9	83.9	70	93	80
2 鋸歯切傷法 (縦・横) Sawteeth inoculation (crosswise)	—	—	—	—	82
3 // (縦) Sawteeth inoculation (lengthwise)	—	—	—	—	73
4 // (横) Sawteeth inoculation (across)	25.0	56.3	50	100	—
5 主幹先割り法 Top cleave inoculation	—	—	60	90	79
6 主幹先折法 Top break inoculation	47.1	71.9	87	83	—
7 枝裂き法 Twig cleave inoculation	—	—	—	—	90

接種方法についてはその後も検討が重ねられ、予備検定などの実験において効率性などが確かめられた結果、次の要件を満たす方法を用いることとなった。すなわち、①方法が簡易で、②一定頭数の接種が誰にでも正確にできること、③樹種や苗木の生育にちがいがあっても同じ方法が用いられること、④検定後の生存個体が正常に生育できるよう人工接種部の傷口を最小限にすること、などである。

一方、人工接種用器具についても改良が加えられ、一定の材線虫頭数が管理できる定量マイクロピペットをはじめ、改良鋸付きナイフ、ねじロビン等の使用なども開発された (Photo. 2 の c)。

これ等を総合して、本事業における材線虫接種方法は“改良剥皮接種法”として用いられることとなった。この方法は、当年伸長した主軸の基部を幅 1～1.5cm、長さ 3～5 cm 剥皮して、その部分に鋸で浅いかき傷をつけ、マイクロピペットで定量の材線虫懸濁液を接種するものである (Fig. 12)。

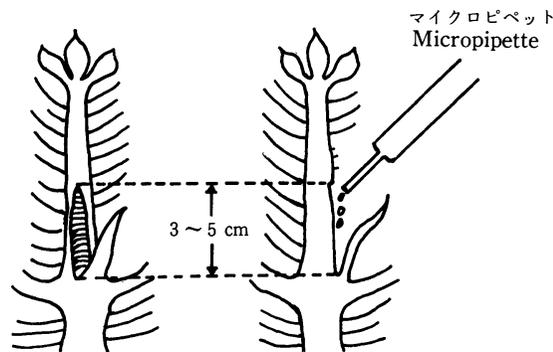


Fig. 12 剥皮接種法

The bark peeling inoculation method

(2) 苗木あたりの材線虫接種頭数及び接種点数

苗木あたりの材線虫接種頭数の多少によって病状発現の遅速等結果が左右されるとする報告は多く^{27) 93) 96) 107)}、これらのうち清原ら³⁸⁾は、0.1ml当たり頭数を30, 300, 1,000, 3,000, 30,000頭に調整して人工接種実験を行った結果、接種材線虫密度が高くなるにつれて枯損も多く、接種頭数間に顕著な枯損の差を認め、さらに抵抗性検定には3,000頭以上の接種が望ましいとしている。また橋本ら²⁴⁾は苗木あたりの接種頭数が6,000頭以上あれば樹体内に侵入した材線虫はほぼ均一な密度となることを報告した。大庭ら⁶⁰⁾が行った実験ではアカマツ・クロマツ21家系の1回床替え2年生苗を用い、0.2ml中に600頭、2,000頭、6,000頭に調整した材線虫懸濁液を接種した結果、平均生存率の各接種頭数間の相関が6,000頭区—600頭区で $r=0.50$ 、2,000頭区—600頭区で $r=0.63$ と有意に高かったが、6,000頭区—2,000頭区では $r=0.30$ と低い値にとどまった。これらのことから本事業における接種頭数は苗木あたり3,000～6,000頭が一応の目安とされた。しかし、検定数量が多く、剥皮と接種作業を2人1組で行うため時間的なずれが生じ、剥皮面への樹脂滲出や、乾燥等の影響で接種した材線虫が侵入し難いことも予想され、安全性を考慮して苗木当たり1万頭の材線虫を接種することになった。次に接種頭数を左右する因子は、懸濁液中の材線虫密度と接種懸濁液量である。材線虫密度の高い懸濁液ほど極少量の接種で接種総頭数に大きな誤差が生じ、低密度にして多量の材線虫懸濁液を接種するには、接種面積を広くしなければならない。これまでの実験における接種法では0.05～0.2ml

の例が多いが、“改良剥皮接種法”であればアカマツの1年生実生苗や生育の悪い場合を除き0.1mlの量で十分可能であるため接種検定には苗木1本当たり1万頭/0.1mlが用いられることとなった。さらに確実に効果的な人工接種検定法を確立するため、一定量の材線虫を①1か所に接種する方法と、②数か所に分散させて接種した場合の枯損率のちがいで等について検討した。

山手ら¹¹⁾は、昭和50年7月にクロマツとリギ・テータマツを用いて苗木あたりの接種点数と枯損の関係について調べた。クロマツ精英樹1回床替え3年生苗6家系を用いドリル法および剥皮法の2種類について、苗木あたり1点、3点及び5点の区分で接種を行った。両者とも1点接種の場合は主軸に、3点の場合は主軸と2側枝、5点については主軸と4側枝に接種した。ドリル法は枝の先端を切除するので、とくに5点接種の場合は苗木に相当なダメージを与えることになる。いずれの接種点数においても、材線虫の総数は、苗木あたり1万頭(0.2ml)になるよう密度を調整した。最終調査は同年12月に全枯れ、上半枯れ、芯枯れ、および健全の4区分により行った。

結果は Fig. 13 に示したようにドリル法の場合、クロマツについては1点接種の枯損率は48%，3点および5点接種ではそれぞれ82%および93%で、芯枯れあるいは上半枯れを加えてもそれほど大きなちがいは認められなかった。剥皮法の場合、クロマツでは接種点数の増加に伴う枯損率、上半枯れ率および芯枯れ率の上昇は見られず、枯損率は40～50%で、芯枯れまで加えると95%以上となり、接種点数と関係なく安定した被害率を示した。

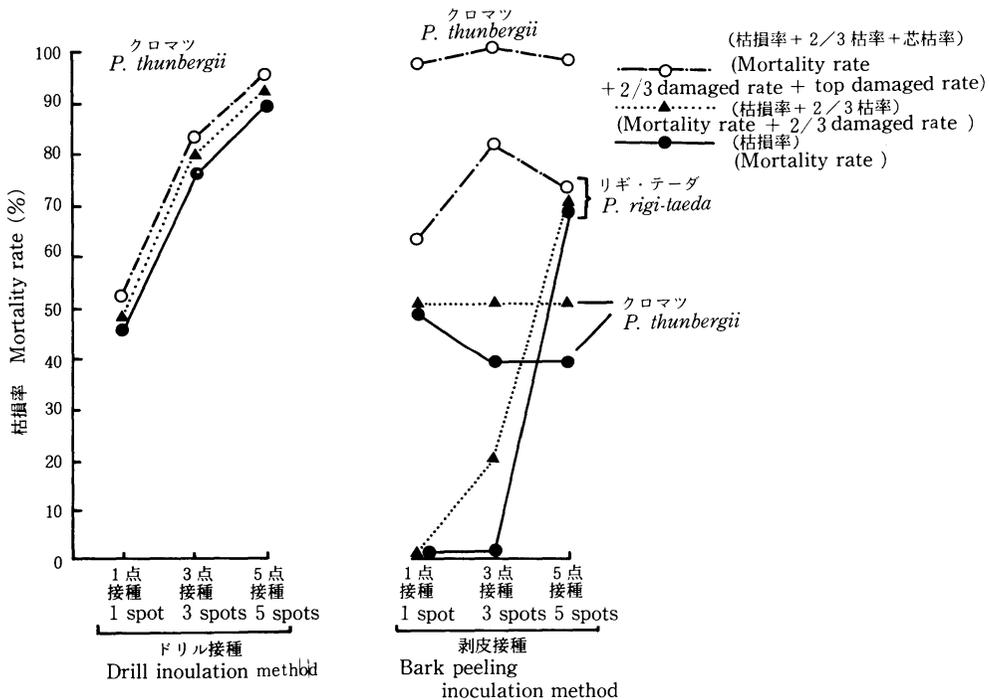


Fig. 13 苗木への接種方法と枯損の関係

Mortality results of inoculation of the pine-wood nematode
by several inoculation methods

一方、リギ・テータマツは1点および3点接種では枯損苗は見られなかったが、5点接種では7本の内5本が枯損した。また、この図でみられるように芯枯れ率まで加えると接種点数にかかわらず60~80%の被害が発生した。西村ら⁵⁵⁾の行ったクロマツ苗への1点ドリル接種の場合、平均枯損率は約70%であったが、この実験では幾分低い値にとどまった。これは供試家系のちがいによるものと考えられる。これらの結果から、事業には作業能率や確実性などの点からも剥皮法1点接種がよいとされた。

(3) 人工接種洩れ防止策

この事業では、大量の苗木に人工接種することになるので、接種洩れや二重接種などのミスが直ちにチェックできることが望ましい。しかし、人工接種作業において材線虫懸濁液が無色であると剥皮処理はしたが接種はしなかったという、いわゆる“人工接種洩れ”をチェックすることがむずかしい。これを防止するため、戸田ら⁹⁸⁾は赤色素を用いて、材線虫懸濁液に着色して接種もれを防ぐための実験を行った。

食用赤色素を、材線虫懸濁液中にそれぞれ1/500、1/2,000量入れ、クロマツ精英樹3年生実生苗へ接種を行い、5回にわたって接種面の着色の状況と苗木の枯損状況を調査した。結果はTable 6に示したように、1/500区では29日後においても枯損苗を含めてわずかに着色を判定することができたが、1/2,000区では約15日間が判定できる限度であった。

Table 6 着色濃度別材線虫懸濁液による接種苗の被害状況と接種面の色の変化
Damage by the inoculation of colored suspension of nematodes and fading of the inoculated part

調査月日	6月2日(接種) 2 Jun. (Inoculate)			6月10日 10 Jun.			6月17日 17 Jun.			7月1日 1 Jul.			7月27日 27 Jul.			8月13日 13 Aug.		
接種後経過日数 Days after inoculation	0			8			15			29			55			70		
色の变化・被害 Discoloration damage	色の变化 A	枯損 B	半枯 C	色の变化 A	枯損 B	半枯 C	色の变化 A	枯損 B	半枯 C	色の变化 A	枯損 B	半枯 C	色の变化 A	枯損 B	半枯 C	色の变化 A	枯損 B	半枯 C
	着色濃度 Color dilution																	
材線虫 500倍 Nematode ×500	●	0	0	●	0	3	●	0	5	△	16	4	△	19	1	△	20	0
材線虫 2,000倍 Nematode ×2,000	●	0	0	○	0	4	△	0	6	×	17	3	×	20	0	×	20	0
水 500倍 water ×500	●	0	0	●	0	0	●	0	0	△	0	0	△	1	0	×	1	0

接種本数：各濃度区 20本

色の变化の凡例 (Discoloration)

- ：明らかに識別できる (Clearly distinguishable),
- ：識別できる (Distinguishable),
- △：わずかに識別できる (Barely distinguishable),
- ×：全く識別できない (Not distinguishable)

- A : Discoloration
- B : Mortality
- C : Partially diseased

両者とも30日経過後においても、樹脂によるコーティング等によって一部確認できる個体も見られた。また健全苗では、接種面の両側からカルスが形成されているため、30日以後では色の識別は困難であった。

一方、着色が材線虫の生存及び増殖等に与える影響について調べた。各着色濃度別液へ24時間浸漬した材線虫20頭を *Botrytis cinerea* 菌上で増殖させ材線虫を分離したところ、1mlあたり6,800~7,700頭で着色濃度や

浸漬時間による影響は認められなかった。事業実行上においては、作業中の接種もれがチェックできれば、実用上問題は無いので、数日で退色するにしても1/2,000量程度の着色で十分と考えられたため、各機関ともこの濃度で着色の上接種することとした。

4) 材線虫の接種源の選定

抵抗性検定には、優良な接種源の確保が必要であるが、接種する材線虫系統の条件としては、①樹種選択性のないこと、②加害性の高い系統で、しかも③検定される候補木の中で5～10%程度のクローンが選抜でき、④増殖力が旺盛であること等があげられる。ここでは(1)材線虫加害性の変異、(2)事業に用いる材線虫系統の決定、(3)材線虫の大量培養法などについて実験を行った。

(1) 材線虫の加害性の変異

材線虫の加害性（病原性）は山地や林分間によって著しく変異することは、清原ら^{41) 44) 46)}によって報告されている。こうしたことから、本事業推進に当って各機関や年によるバラツキを防ぐため検定用材線虫系統を統一しなければならないが、その選択は、育種目標の設定に関わる最も重要な事項なので慎重な対処が望まれ、継続的に実験が行われた。茨木ら³⁰⁾は、昭和52年クロマツ2年生実生苗を用いて材線虫23系統の加害性の変異を調べた。この結果は Table 7 に示したように0～97.3%と系統によって大きなバラツキがみられ、加害性は強、中、弱の3群に区分された。

これに関連して清原ら⁴⁰⁾は、1頭のマツノマダラカミキリがもっている材線虫個体群はほぼ同等の病原性を持った個体から構成されているが、マツノマダラカミキリ間での材線虫の病原性の強弱差は大きいとしている。

一方、材線虫による被害が進行中の茨城県下では特に激しい被害が発生していることから、これらの加害性の強さを調べる必要が生じた。藤本ら⁹⁾は、Fig. 14に示した茨城県下の12系統と九州産のもの等合わせて15系統について、九州林木育種場及び林業試験場九州支場の2か所でクロマツ2年生実生苗の混合家系を用いて接種試験を行った。

Table 7 材線虫23系統の加害性のちがい
Difference of pathogenicity among 23 nematode isolates

番号 No.	系統番号 Isolate No.	材線虫系統 Isolates of nematode	苗木の枯損率 Mortality rate of seedlings				平均 Mean
			反復 Replication				
			1	2	3		
1	6	茨城, 水戸 Mito	93%	81%	86%	86.7%	
2	S-6	茨城, 水戸 Mito	100	100	92	97.3	
3	14	千葉, 一宮 Ichinomiya	9	4	4	5.7	
4	14-5	千葉, 一宮 Ichinomiya	7	7	41	18.3	
5	25-3	京都, 京都 Kyōto	89	89	100	92.7	
6	79	石川, 鶴来 Tsurugi	79	91	96	88.7	
7	43	鳥取, 福部 Fukube	7	4	7	6.0	
8	45	鳥取, 福部 Fukube	4	4	0	2.7	
9	35	島根, 江津 Go-tsu	92	75	81	82.7	
10	48	香川, 仲南 Chu-nan	0	0	0	0.0	
11	46-1	高知, 須崎 Susaki	23	13	20	18.7	
12	102	長崎, 諫早 Isahaya	68	82	83	77.7	
13	103	長崎, 島原 Shimabara	74	52	52	59.3	
14	52	長崎, 諫早 Isahaya	42	50	46	46.0	
15	80	長崎, 対馬 Tsushima	21	14	17	17.3	
16	56	熊本, 植木 Ueki	—	54	—	54.0	
17	68	熊本, 芦北 Ashikita	80	64	62	68.7	
18	69	大分, 臼杵 Usuki	17	35	20	24.0	
19	63	宮崎, 川南 Kawaminami	8	38	32	26.0	
20	101	宮崎, 高千穂 Takachiho	43	68	42	51.0	
21	59	鹿児島, 川内 Sendai	17	14	19	16.7	
22	78	奄美大島 Amami ōshima	42	50	68	53.3	
23	SP-5 *	宮崎, えびの Ebino	0	4	0	1.3	
23 系統平均 Mean of 23 isolates			41.6	43.0	44.0	42.9	

* ニセマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus mucronatus* MAMIYA et ENDA)

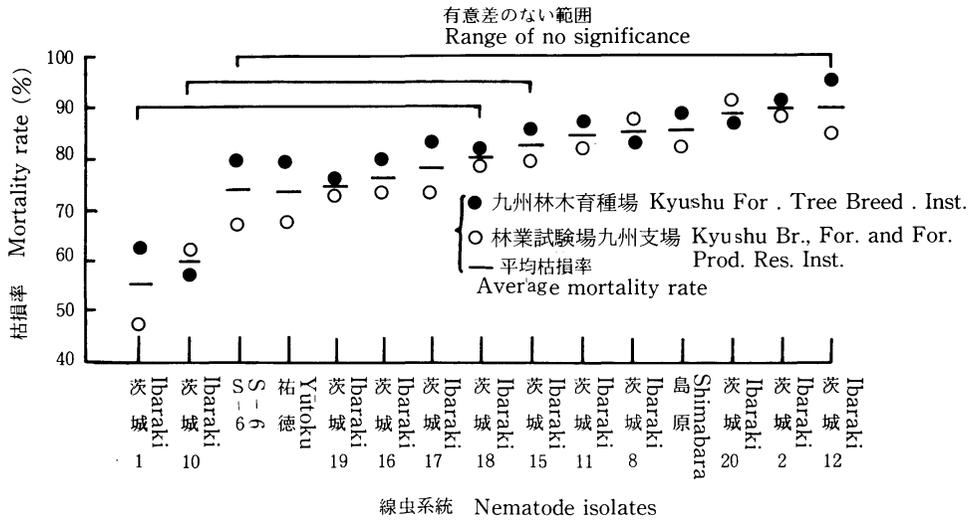


Fig. 14 最終調査における各線虫系統の加害性
Pathogenicity of 15 nematode isolates in inoculation

接種は55年7月に行い、苗木当たり材線虫1万頭（林試は5千頭）を、新梢基部剥皮接種法で行った。最終調査は17週後（林試は10週後）に健全・半枯・枯損に分けて行った。その結果、15系統の加害性を枯損率で見ると、図に示したとおり九州林木育種場と林業試験場九州支場両機関における接種結果には $r=0.84$ と有意に高い相関が認められた。この図の左端に位置する茨城1と茨城10の系統は、“S-6”、“島原”“祐徳”を含む他の13系統にくらべて著しく低い加害性を示したが、茨城1と10を除く13系統の間には有意差は認められなかった。すなわち、抵抗性育種事業に用いられた“島原”に比べて、茨城県の材線虫の加害性は特に2系統が弱いほかは、ほぼ同一レベルにあるものであった。

戸田ら⁹⁷⁾は、アカマツから分離した材線虫8系統とクロマツから分離した12系統合計20系統の加害性の変異と樹種選択性の有無を調べた。昭和53年7月アカマツ精英樹5家系、クロマツ精英樹3家系及びテーダマツの2年生苗を用い、苗木当たり1万頭（0.1ml）の接種を行い、結果を Table 8 に示した。

アカマツとクロマツの材線虫分離源別にみると、接種したマツ属樹種をこみにした場合アカマツから分離した材線虫系統群による枯損率は54.1%、クロマツから分離した系統群では42.2%と、統計的には有意でないが若干の差がみられた。また樹種別枯損率においてもアカマツから分離した材線虫系統群によるものと、クロマツから分離した材線虫系統群によるものとの間には有意差は認められなかった。これらの材線虫系統の接種によるアカマツ、クロマツの枯損率の樹種間相関を Fig. 15 に示したが、図においても明らかなように相関係数は $r=0.82$ と有意に高く、両樹種から分離された各材線虫系統の加害性が、特定のマツ属樹種を選択的に枯損させるというものではないことを示している。

Table 8 材線虫20系統の加害性 (枯損率) のちがひ
 Difference of pathogenicity among 20 nematode isolates

整理 番号 No.	材線虫系統 Isolates of nematode	分離源 Isolated source	苗木の枯損率 (%) Mortality rate of seedlings			
			アカマツ <i>P.</i> <i>densiflora</i>	クロマツ <i>P.</i> <i>thunbergii</i>	テーダマツ <i>P. taeda</i>	平 均 <i>Mean</i>
9	茨城, 水戸 Mito	アカマツ <i>P. densiflora</i>	86.1	94.9	90.0	90.6
1	佐賀, 祐徳 Yutoku	〃	67.5	100.0	90.0	84.4
17	長崎, 島原 Shimabara	〃	52.5	87.5	40.0	66.7
13	佐賀D, 伊万里 Imari	〃	25.0	77.5	80.0	54.4
10	佐賀A, 枝去木 Ezarugi	〃	30.0	52.5	80.0	45.6
4	福岡, 甘木 Amagi	〃	27.5	52.5	40.0	40.0
2	熊本, 芦北 Ashikita	〃	7.5	50.0	10.0	26.7
3	大分, 杵築 Kitsuki	〃	12.5	40.0	30.0	26.7
8 系統 平均 Mean of 8 isolates			38.0	69.3	57.5	54.1
20	鹿児島, 指宿 ² Ibusuki 2	クロマツ <i>P. thunbergii</i>	85.0	92.5	20.0	81.1
15	鹿児島, 川内 Sendai	〃	50.0	87.2	40.0	65.2
7	熊本, 有明 Ariake	〃	35.9	82.5	80.0	61.8
12	佐賀C, 納所 Nōsa	〃	51.3	65.0	70.0	59.6
16	福岡, 若松 Wakamatsu	〃	30.0	90.0	30.0	56.7
5	大分, 大在 Ozai	〃	45.0	65.0	0.0	48.9
18	熊本, 湯の児 Yunoko	〃	30.0	59.0	80.0	48.3
19	熊本, 崎津 Sakitsu	〃	25.0	74.4	40.0	48.3
11	佐賀B, 高串 Takagushi	〃	15.0	22.5	66.7	23.6
14	佐賀E, 波戸 Hato	〃	2.5	23.1	10.0	12.4
6	鹿児島, 指宿 ¹ Ibusuki 1	〃	0.0	0.0	0.0	0.0
* 8	福岡, 岡垣 Okagaki	〃	0.0	0.0	0.0	0.0
12 系統 平均 Mean of 12 isolates			30.8	55.0	36.1	42.2
20 系統 平均 Mean of 20 isolates			33.7	60.8	44.7	47.0

* ニセマツノザイセンチュウ

Bursaphelenchus mucronatus MAMIYA et ENDA

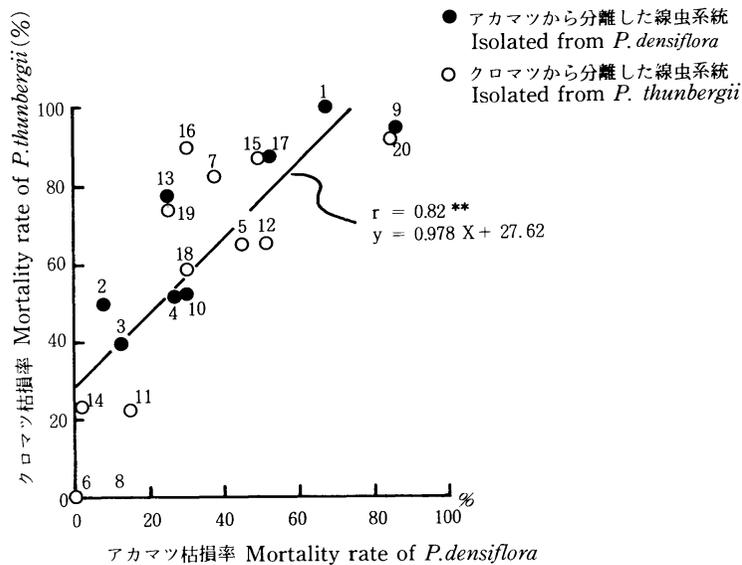


Fig. 15 アカマツとクロマツから分離した線虫各系統による両樹種の枯損率
Mortality rates of *P. densiflora* and *P. thunbergii* by inoculation of
each nematode isolates taken from *P. densiflora* and *P. thunbergii*

また、全ての材線虫系統において接種したクロマツの枯損率はアカマツのそれを大きく上まわったが、各材線虫系統による枯損率は0～90.6%と差が大きく、材線虫集団間に加害性の遺伝的なちがいの存在が示唆された。

こうした材線虫の系統間における加害性の差は、遺伝的な変異にとむ生物集団であることを示すものとしてアイソザイム分析による種内変異の確認が試みられた。藤本ら⁹⁾は、Fig. 14 に示した茨城県下の12系統と九州産のもの等合わせて15系統について、電気泳動法によってエステラーゼ・アイソザイムを検出し、遺伝変異を調べた。エステラーゼ検出法は、1系統当り培養材線虫約70万頭をすりつぶし、その汁液を用い水平式澱分ゲル法により、300Vで約3時間泳動した。

泳動を行った15系統のアイソザイムパターンの模式図を Fig.16に示した。全部で22本のバンドが検出されたが、清原ら⁴²⁾の結果と同様エステラーゼ・アイソザイムは多型であることが確認された。また、同一パターンを示すものはなく、これらのうちF, H, I, N, P, T, の6本は共通バンドであるが他のバンドの出現頻度は不定で、特にA, B, D, K, M, O, R, a, b は特異なバンドである。図には特異なパターンの材線虫系統のみを示したが、同一バンドでも系統によって活性に著しいちがいがみられた。また、材線虫の培養シャーレごとの比較において“S-6”では全て同一パターンを示したのに対して茨城18ではシャーレ5枚中1試料のみに他の試料に現れないバンド1本が検出されたがこの活性は極めて低いものであった。しかし、同一時点での材線虫の系統内変異は極めて小さいと考えられる。したがって、この実験で得られたパターンのちがいは材線虫系統間の遺伝的変異を示すものと考えられる。

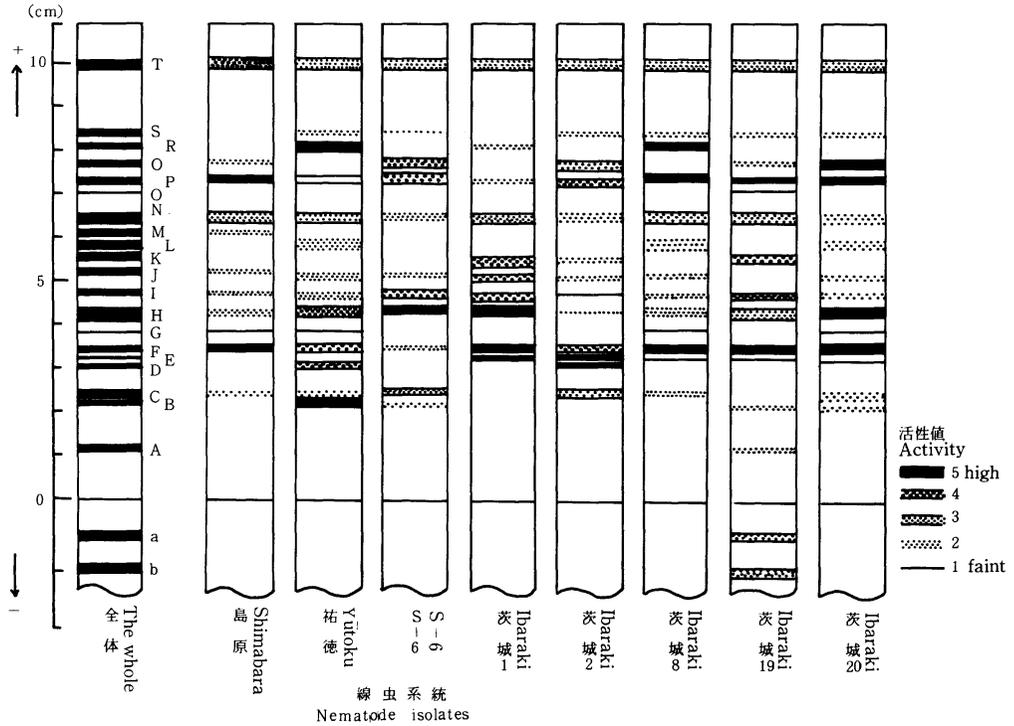


Fig. 16 材線虫系統別エステラーゼ・ザイモグラム

Esterase zymograms of each of the pine-wood nematode isolate

(2) 事業に用いる接種用材線虫の系統の選定

検定用材線虫の条件としては、①安定した加害性、②増殖性のほか、③数日間の保存や継代培養を繰り返しても活性が高く低下しないこと、などがあげられる。特に世代更新が早い材線虫では、突然変異や近親交配等による影響が懸念されていた。これに関連して、本事業前から多くの実験に使用されている材線虫系統“S-6”は、林業試験場九州支場において単雌雄から増殖したものであるが、現在でも旺盛な増殖性と加害性を示しており、近親交配などの影響はないと考えられる。

事業に用いる材線虫系統の選定にあたっては次の手順で行われた。九州林木育種場、関西林木育種場、同四国支場において手持ちの材線虫系統の中から加害性の強い各6系統を選んで互いに交換し、計18系統について検定環境及び各樹種に対する加害性の変異及び増殖性等について調べ、その結果から先述の条件に合った材線虫系統が選ばれた。なおアカマツに対する系統別の加害性は九州及び関西林木育種場で、クロマツについては四国支場を含む三育種場において行われた。また増殖性の調査は、九州林木育種場で行われた。

この結果は Table 9 に示したが、関西林木育種場の実験が、苗木の種類、検定環境などの点で最も本事業と類似しており、この結果をもとにクロマツの枯損率が100%以下の岩出（和歌山）、黄金山（広島）、阿知須（山口）、大串（香川）、島原（長崎）の5系統が候補としてあげられた。

Table 9 材線虫の系統別加害性及び増殖性

Pathogenicity and propagation ability of 18 nematode isolates

樹種 Tree species		アカマツ <i>P. densiflora</i>				クロマツ <i>P. thunbergii</i>				材線虫 Nematodes			
検定機関 Tested organization		関西林木育種場 A		九州林木育種場 D		関西林木育種場 A		四国支場 B		九州林木育種場 D		九州林木育種場 D	
検定環境 Place		ガラス室 Green house		ビニールハウス Vinyl house		ガラス室 Green house		野 外 Nursery		ビニールハウス Vinyl house		シャーレ当たり 増殖頭数 Mean No. of cultivated nematodes per a (10 thou- sand) dish	
材線虫採集機関 Nematodes collected organization	苗木の種類 Tested material	2年生つぎ木苗 2 years grafts		2年生実生苗 2 years seedlings		2年生つぎ木苗 2 years grafts		2年生実生苗 2 years seedlings		2年生実生苗 2 years seedlings			
	材線虫系統 Isolates of nematode	被害率	枯損率	被害率	枯損率	被害率	枯損率	被害率	枯損率	被害率	枯損率		
関西林木育種場 A	和歌山・川辺 Kawanabe	100	90	64	36	100	100	73	73	100	97	27 万	
	〃 〃 ・南部 Minabe	90	70	74	29	100	100	97	97	100	93	43	
	〃 〃 ・岩出 Iwade	100	100	97	74	93	93	90	90	100	100	48	
	〃 広島・黄金山 Koganeyama	80	70	68	42	86	86	73	73	100	97	10	
	〃 山口・宮野 Miyano	100	100	23	13	100	100	97	97	97	91	44	
	〃 阿知須 Ajisu	60	60	19	10	79	79	93	93	78	44	37	
四国支場 B	徳島・小松島 Komatsushima	100	100	58	45	100	100	97	93	100	100	15	
	〃 香川・大串 Ogushi	100	100	55	24	93	93	97	93	100	94	32	
	〃 〃 ・高松 Takamatsu	100	100	38	16	100	100	93	87	100	72	36	
	〃 愛媛・大州 Ozu	100	90	84	44	100	100	100	100	100	94	13	

Table 9つづき

樹種 Tree species		アカマツ <i>P. densiflora</i>				クロマツ <i>P. thumbergii</i>						材線虫 Nematodes
検定機関 Tested organization		関西林木育種場 A		九州林木育種場 D		関西林木育種場 A		四国支場 B		九州林木育種場 D		九州林木育種場 D
検定環境 Place		ガラス室 Green house		ビニールハウス Vinyl house		ガラス室 Green house		野 外 Nursery		ビニールハウス Vinyl house		シャーレ当たり 増殖頭数 Mean No. of cultivated nematodes per a (10 thou- sand) dish
材線虫採集機関 Nematodes collected organization	苗木の種類 Tested material	2年生つぎ木苗 2 years grafts		2年生実生苗 2 years seedlings		2年生つぎ木苗 2 years grafts		2年生実生苗 2 years seedlings		2年生実生苗 2 years seedlings		
		材線虫系統 Isolates of nematode	被害率	枯損率	被害率	枯損率	被害率	枯損率	被害率	枯損率	被害率	枯損率
四国支場 B	〃・重信 Shigenobu	100	100	69	50	100	100	100	97	100	100	18
〃	高知・奈半利 Nahari	100	100	55	28	100	100	80	63	100	91	37
林試九州支場 C	茨城・(S-6) (S-6)	100	100	61	16	100	100	100	100	100	100	37
九州林木育種場 D	佐賀・祐徳 Yütoku	100	100	88	38	100	100	97	97	100	97	45
〃	長崎・島原 Shimabara	100	100	63	41	100	93	100	97	97	94	50
〃	熊本・有明 Ariake	100	90	69	21	100	100	97	93	100	97	28
〃	鹿児島・川内 Sendai	100	100	19	9	100	100	97	97	97	88	34
〃	〃・指宿 Ibusuki	100	100	77	45	100	100	97	93	100	97	49

A : Kansai For. Tree Breed. Inst.
 B : Shikoku Branch, Kansai For. Tree Breed. Inst.
 C : Kyushu Branch, For. and For. Prod. Res. Inst.
 D : Kyushu For. Tree Breed. Inst.

次にこの5系統について増殖性の検討を行った。材線虫の加害性が人工培養における増殖性に比例するかどうかについて清原ら⁴⁸⁾は、加害性の強い材線虫の増殖性は高く、弱い材線虫では低い傾向を示すという両者の関連性を示唆している。上記各系統の枯損率（アカマツ60～100%、クロマツ79～100%）から判断すると、これら5系統は極めて強い加害性を持った系統であるため、かなりの増殖性を示すものと推測されていた。しかし、増殖・分離した各系統の材線虫頭数は表に示したようにシャレーあたり10万（金山）～50万頭（島原）で、系統による増殖性のちがいが認められ、予想外の結果となった。本事業に使用する材線虫系統はその中で最も増殖性の高い長崎県“島原”に決定された。

検定に必要な材線虫は、各育種場で培養増殖して各機関に配布したものをを用いたが、“島原”は昭和53年に九州から各場に配布した原原種を保存して継代培養が行われているため、加害性について再度のチェックを行った。すなわち、事業終了後の60年、各育種場保存の材線虫“島原”を九州に集め、露地植えしたアカマツ、クロマツ各7家系の2年生実生苗に1本当たり1万頭（0.1ml）を接種した。各場別の保存材線虫による枯損率は Fig. 17 に示すとおり、マツ属樹種及び各種内家系によって変異が認められるが、各場材線虫間の平均枯損率、変異幅はそれほど変わらなかった。

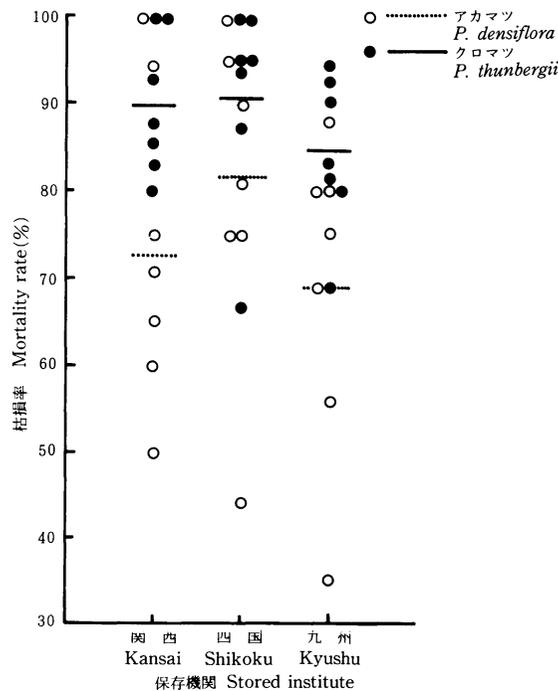


Fig. 17 各機関が共通に使用した系統“島原”の保存線虫による枯損率

Mortality rates by the stored pine-wood nematode isolate “Shimabara” in each institute

また平均枯損率の比較において、アカマツでは四国（80.8%）、関西（72.5%）、九州（71.8%）の順になり、クロマツでも四国（90.9%）、関西（89.9%）、九州（75.8%）と同様の傾向が認められた。枯損率を用いた分散分析の結果は、両樹種とも各場別材線虫間に有意差は見られず、検定結果に支障をきたす程の加害性の差は認められなかった。

(3) 接種用材線虫の大量増殖

事業参加各機関における材線虫の人工接種検定は毎年ほぼ同時期に実施されることや、材線虫の保存可能期間が比較的短いことなどから、短期間に活力の高い大量増殖が必要である。九州林木育種場の場合、年間(毎年7月上旬～下旬)の培養数は約9億頭(直径9cmのシャーレ1,800枚)にもものぼった。材線虫の増殖は、一般にはまずシャーレの馬鈴薯寒天培地(以下PDA)⁷⁾にボトリチス菌を培養し、その上に材線虫を移植増殖する方法がとられた。これによると事業に用いている材線虫系統“島原”はシャーレ1枚当り30万～70万頭(平均50万頭)の増殖が可能であった。その後外国において菌食性材線虫の増殖に穀類を使っている例が見られ⁴⁾、戸田は¹⁰⁾事業をより効果的に進めるため、オオムギ培地による大量増殖法とその材線虫の加害性について検討した。これは、麦粒の間にボトリチス菌の繁殖スペースが広がることにより、シャーレあたりの材線虫数を増大させる方法である。材線虫が最も増加する培地の調整法はシャーレあたり市販のオオムギ20g、2～5%の蔗糖液20ccを加えることで、滅菌等の過程はPDAと全く同様である。

この方法で材線虫系統“島原”を増殖させたところ、シャーレ1枚当たり176万頭で、同時に行ったPDA培地の46万頭に比較して著しく多かった。ただ、材線虫分離の際若干の注意が必要で、PDAで増殖した材線虫の分離は、シャーレから培地をそっくりはずし口径30cmの大型ロートで行う方法をとっているが、ムギ培地の場合にPDAと同様な方法で行うと材線虫以外の夾雑物が混入することが多い。このためロートに水をいれ、培地をつけたままシャーレを下向きに4～5時間程度浸漬するのが最も効率的であった。また、ムギ培地で増殖した材線虫の加害性について調査した結果は、Fig. 18に示すように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ず、ムギ培地による材線虫の大量増殖法は効率面で極めて有利なことが明らかにされた。

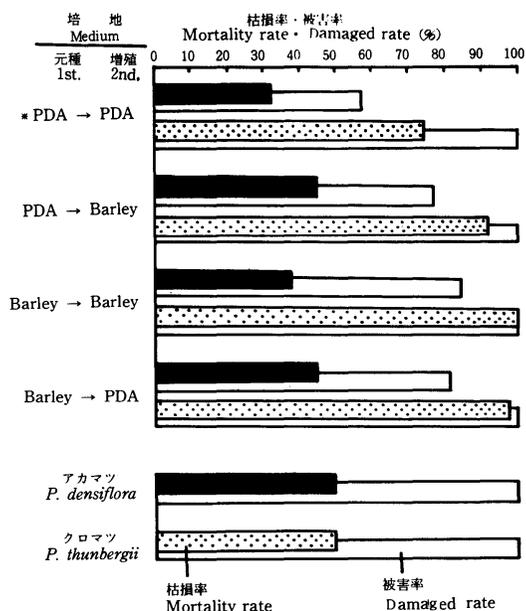


Fig. 18 培地のちがいによる材線虫の加害性

Pathogenicity of the pine-wood nematodes propagated on different culture media

* PDA : Potato dextrose agar

5) 抵抗性判定基準対照樹種

本事業において目標とする材線虫抵抗性のレベルはテーダマツ程度とされたため、対照となるテーダマツは2年生実生苗を検定用苗木と同様に鉢植えして用いることとなった。テーダマツの材線虫抵抗性に関する種内変異についてはすでに述べたが、本事業実施期間中、全機関が対照として使用するテーダマツは遺伝的に均一であることが必要である。このため、熊本営林署西木原国有林102林班の樹齢45年生（昭和54年当時）の林分から5本を採種母樹として固定し、1年おきに九州林木育種場では採種した。この種子により三育種場で養成した1年生苗を各機関に配布した。5本の母樹の各家系の抵抗性について戸田ら⁹⁹⁾は接種検定を行ったが、Table 10 に示すように生存率で41.1～59.1%（平均47.6%）、健全率では15.8～30.1%（平均23.7%）と母樹によって若干のちがいが認められている。このため母樹からの種子は均等混合したもので苗木を養成して用いた。

Table 10 対照用テーダマツ家系別生存率および健全率
Survival rates and sound rates in the *P. taeda* families as the control

母樹番号 Tree No.	供試数 No. of inoculated seedlings	生存数 No. of survivors	健全数 No. of sound seedlings	生存率 Survival rate	健全率 Sound rate
No. 1	94	47	21	50.0	22.3
No. 2	96	43	24	44.8	25.0
No. 3	95	39	24	41.1	25.3
No. 4	93	55	28	59.1	30.1
No. 5	95	41	15	43.2	15.8
計 Total	473	225	112	47.6	23.7

※野外検定，接種80日後の結果
Result of the field test, on the 80 days after inoculation

6) 材線虫抵抗性の判定方法

本事業のための技術開発及び予備検定における材線虫の人工接種後の枯損と被害の発生推移は、樹種や供試苗木、接種検定条件等によっても異なる。九州林木育種場で実施した野外における検定では、Fig. 19 に示したように10日目から萎凋症状が現れ抵抗性の弱いものでは20日目には枯損苗が発生する。

さらに40日目では枯損苗が急速に増加するが、それ以後はほぼ安定する傾向になる⁹⁹⁾。また、ガラス室内の検定ではこれよりも早くおよそ30日で枯損は安定する⁷⁹⁾。このため調査は次の区分によって接種後2週毎に4回、8週目まで続けられた。

枯損：針葉が褐色になり、つぎ木穂木部の形成層部分が褐変しているもの

健全：針葉及び形成層部分が共に正常であるもの

評価は、生存率（(接種本数－枯損本数)×100/接種本数）と健全率（健全本数×100/接種本数）を算出して用いた。

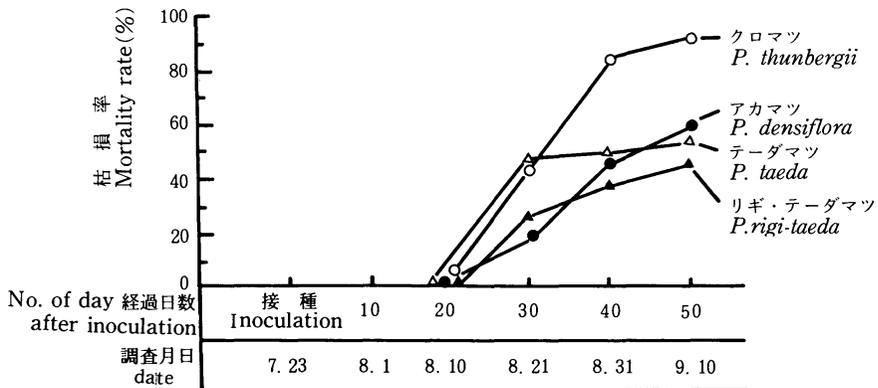


Fig. 19 樹種別枯損率の推移
The transition of mortality rates on each pine species
after inoculation of the pine-wood nematode

最終的な判定基準は、アカマツでは一次及び二次とも8週目の生存率または健全率がテーダマツと同等かそれ以上のものを、クロマツでは一次はアカマツと同様で、二次については6週目の生存率あるいは健全率がテーダマツの値の60%以上であるものがそれぞれ合格とされた。

このように事業における調査は生存、健全苗について接種後8週目まで隔週行われた結果、被害の遅速についても情報が得られた。

IV 「マツノザイセンチュウ (材線虫) 抵抗性育種事業」のしくみ

1 抵抗性候補木の予備選抜

マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の実施に先立って抵抗性候補木の選抜要領を作成し、選抜母集団の実態を把握するために、昭和51・52の2年間、関西以西の14県において予備選抜が実施された。VII齢級以上で残存率30%以下の激害木の調査結果を Table 11 に示した。

この表に明らかなように、抵抗性候補木はアカマツが関西で、クロマツが四国、九州で多く選ばれたが、これは各地区の樹種構成の違いによるものと思われる。この予備調査の詳細については、各地区ごとに取りまとめているのでここでは省略する。

2 本事業計画

1) 事業実施機関

この事業の実施機関は、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、鹿児島島の14県と、関西林木育種場、同四国支場、九州林木育種場の3機関、合計17機関である。

2) 候補木及び人工接種検定苗の目標数量

他家受精植物のマツ類では、自殖による劣悪遺伝子の集積や自殖弱勢を避けるため、抵抗性採種圃の構成にはできるだけ数多くのクローンが必要である。また、林木では生育期間が長く、かつ生育環境の制御が困

難であるため、各種被害に耐えるような遺伝的多様性が重要である。さらに、虫害抵抗性品種については、虫側の適応変異による抵抗性打破を防ぐために、抵抗性要因の異なる相当数の抵抗性個体を選定しておく必要がある。一方、採種園においては少なくともあるクローンの周辺2～3列は同一クローンが配置されないよう配慮する必要がある、そのためには1育種区最低25クローンは必要となる。

この事業では、当初独自の育種区を想定し、関西以西を北九州・瀬戸内育種区と、南九州・四国・近畿育種区の2つに区分したことから、全体での抵抗性個体の必要本数は2育種区×2樹種×25クローン=100クローンと計画された。

九州林木育種場で実施したパイロットテストの結果から、この事業で目標とするテーダマツ程度以上の強さをもつ抵抗性個体の存在率は、約80,000分の1と推定され、選抜対象林分の個体残存率を0.1～0.5%と想定すると2育種区に必要な抵抗性候補木は、アカマツ・クロマツ合わせて25,000本となる。各クローン10本ずつ、計25万本のつぎ木苗について一次検定を行うため、各20本計50万本のつぎ木を行う事業計画（Table 12）が決定された。

Table 11 地区別抵抗性候補木本数
Number of candidate trees selected in each region

地区 Region	機関 Organization	樹種 Tree species	区分 Type of damage	残存率別本数 Candidates No. on each survival rate class					一次検定 予定本数 Estimated No. of candidates
				1.0% >	1.1 ~5.0%	5.1 ~10.0%	10.1 ~30.0%	計 Total	
関西 Kansai	県 Prefectural organization	アカマツ <i>P.densiflora</i>	激害地(海岸型) Coastal type	409	888	524	520	2,341	2,890
			特異集団(内陸型) Inland type	256	410	120	265	1,051	
			計 Total	665	1,298	644	785	3,392	
	計 Prefectural organization	クロマツ <i>P.thunbergii</i>	激害地(海岸型) Coastal type	469	1,022	1,026	300	2,817	1,250
			特異集団(内陸型) Inland type	161	42	16	0	219	
			計 Total	630	1,064	1,042	300	3,036	
	計 Total	計 Total	激害地(海岸型) Coastal type	878	1,910	1,550	820	5,158	4,140
			特異集団(内陸型) Inland type	417	452	136	265	1,270	
			計 Total	1,295	2,362	1,686	1,085	6,428	
	林 木 育 種 場 National institute	計 Total	アカマツ <i>P.densiflora</i>						2,500
クロマツ <i>P.thunbergii</i>								500	
計 Total								3,000	
計 Total	計 Total	アカマツ <i>P.densiflora</i>						5,390	
		クロマツ <i>P.thunbergii</i>						1,750	
		計 Total						7,140	
四 国 Shikoku	県 Prefectural organization	アカマツ <i>P.densiflora</i>	激害地(海岸型) Coastal type	2	33	131	0	166	640
			特異集団(内陸型) Inland type	0	0	0	0	0	
			計 Total	2	33	131	0	166	
	計 Prefectural organization	クロマツ <i>P.thunbergii</i>	激害地(海岸型) Coastal type	95	86	103	289	573	1,760
			特異集団(内陸型) Inland type	0	0	0	0	0	
			計 Total	95	86	103	289	573	
計 Total	計 Total	激害地(海岸型) Coastal type	97	119	234	289	739	2,400	
		特異集団(内陸型) Inland type	0	0	0	0	0		
		計 Total	97	119	234	289	739		

Table 11つづき

地区 Region	機関 Organization	樹種 Tree species	区分 Type of damage	残存率別本数 Candidates No. on each survival rate class					一次検定 予定本数 Estimated No. of candidates
				1.0% >	1.1 ~5.0%	5.1 ~10.0%	10.1 ~30.0%	計 Total	
四 国 Shikoku	林 木 育 種 場 National institute	アカマツ <i>P.densiflora</i> クロマツ <i>P.thunbergii</i> 計 Total							837 1,043 1,880
	計 Total	アカマツ <i>P.densiflora</i> クロマツ <i>P.thunbergii</i> 計 Total							1,477 2,803 4,280
九 州 Kyushu	県 Prefectural organization	アカマツ <i>P.densiflora</i>	激 害 地(海岸型) Coastal type 特異集団(内陸型) Inland type 計 Total	2,120 172 2,292	1,837 1,219 3,056	313 1,333 1,646	1,642 2,875 4,517	5,912 5,599 11,511	3,770
		クロマツ <i>P.thunbergii</i>	激 害 地(海岸型) Coastal type 特異集団(内陸型) Inland type 計 Total	2,121 74 2,195	13,219 120 13,339	4,979 405 5,384	56,251 1,333 57,584	76,570 1,932 78,502	6,880
		計 Total	激 害 地(海岸型) Coastal type 特異集団(内陸型) Inland type 計 Total	4,241 246 4,487	15,056 1,339 16,395	5,292 1,738 7,030	57,893 4,208 62,101	82,482 7,531 90,013	10,650
	林 木 育 種 場 National institute	アカマツ <i>P.densiflora</i> クロマツ <i>P.thunbergii</i> 計 Total							1,500 1,500 3,000
	計 Total	アカマツ <i>P.densiflora</i> クロマツ <i>P.thunbergii</i> 計 Total							5,270 8,380 13,650
合計 All total		アカマツ <i>P.densiflora</i> クロマツ <i>P.thunbergii</i> 計 Total		2,959 2,920 5,879	4,387 14,489 18,876	2,421 6,529 8,950	5,302 58,173 63,475	15,069 82,111 97,180	12,137 12,933 25,070

Table 12 事業計画
Annual plans of the candidate selection, grafting, inoculation of the pine-wood
nematode in the first and the second inoculation tests of the project

区 分		53年度 1978	54年度 1979	55年度 1980	56年度 1981	57年度 1982	58年度 1983	59年度 1984	計 Total	備 考 Remarks
一 次 検 定 First inoculation test	候補木の選抜 Selection of candidates	本 7,500	本 7,500	本 10,000	本	本	本	本	本 25,000	
	候補木の採穂 Scion collection	150,000	150,000	200,000					500,000	候補木 1本につき 20本 20 scions/candidate
	つぎ木 Grafting	150,000	150,000	200,000					500,000	候補木 1本につき 20本 20 scions/candidate
	検 定 Inoculation test			75,000	75,000	10,000			250,000	候補木 1本につき 10本 10 grafts/candidate
二 次 検 定 Second inoculation test	つぎ木 Grafting			15,000	15,000	20,000			50,000	候補木 1本につき 40本 40 scions/candidate
	検 定 Inoculation test					7,500	7,500	10,000	25,000	候補木 1本につき 20本 20 grafts/candidate
	マツノザイセンチュウ培養 Nematode cultivation			11,250 ×10 ⁸ 頭	11,250 ×10 ⁸ 頭	16,125 ×10 ⁸ 頭	1,125 ×10 ⁸ 頭	1,500 ×10 ⁸ 頭	41,250 ×10 ⁸ 頭	育種場で一括培養 Cultivated in national For. Tree Breed. Inst.

また、一次合格クローンについては各20本を用いて二次検定を行うためそれぞれ40本のつぎ木を行うこととされた。

3) 事業実施期間

作業区分別の年次計画は Table 13 に示すとおりで、抵抗性候補木の選抜・採穂・つぎ木を昭和53年度から55年度まで、一次検定を55年度から57年度まで、二次検定を57年度から59年度までそれぞれ3年間、通算7年間にわたって実施された。

3 本事業実施方法

事業は実施計画に基づいて各県及び林木育種場が①選抜、②採穂、③つぎ木、④第一次人工接種検定（以下、一次検定）を実施した。また①接種用の材線虫増殖、②第二次人工接種検定（以下、二次検定）用のつぎ木苗養成、③二次検定、④抵抗性個体の決定については林木育種場が行った。

なお、材線虫抵抗性採種園については、つぎ木クローン増殖を三つの国立林木育種場が行い、採種園造成を各県が行っている。

1) 抵抗性候補木の選抜

抵抗性候補木の選抜は各機関が予備選抜の結果に基づいて行ったが、四国地区では予備選抜当時なお被害進行中であったため、その後生じた激害林からも選抜が行われた。

選抜した候補木については個体形質、林況、地況等の調査を行い、胸高部にペンキで白帯の表示をし、その上部に市町村単位の通し番号をつけた。

2) 抵抗性候補木のつぎ木増殖

できるだけ雌雄花のない健全な穂木を採取し、1回床替2年生クロマツ実生苗を台木として、つぎ木を行った。

3) 人工接種検定

一次検定は各機関において、二次検定は育種場において行った。検定方法等についてはすでにIII-3で述べたとおりである。

Table 13 作業区別年度計画
Annual programs for each organizations in the project

作業区分	機 関 Organ.	53年度 1978	54年度 1979	55年度 1980	56年度 1981	57年度 1982	58年度 1983	59年度 1984
一 次 検 定 First inoculation test	機 関 Organ. 県・育種場 National institutes and prefectural organizations	用地・施設準備 Preparation of sites and facilities	台木(成苗)準備 Preparation of stocks					
			選抜・採穂 (Jan. ~ Mar.) Selection, Scion collection	つぎ木 (Feb. ~ Mar.) Grafting	つぎ木苗養成 Nursery practice for the grafts	接種 (July) Inoculation		
二 次 検 定 Second inoculation test	育種場 National institutes		台木養成 Nursery practice for the stocks		採穂 (Jan. ~ Mar.) Scion collection	つぎ木 (Feb. ~ Mar.) Grafting	つぎ木養成 Nursery practice for the grafts	接種 (July) Inoculation
材線虫の培養・配布 Cultivation and supply of nematodes	育種場 National institute			一次検定用の培養・配布 Cultivation and supply for the 1st test			二次検定用の培養 Cultivation for the 2nd test	

V 「マツノザイセンチュウ（材線虫）抵抗性育種事業」の経過と成果

1 一次検定

昭和51・52年度に実施された予備選抜の結果をもとに、参加各機関における地域や実行年度別の選抜計画が立てられた。

この事業において選抜された抵抗性候補木は、Table 14 に示すとおり合計26,066本であったが、検定に供された候補木は約94%に当たる計24,594本であった。

全数が検定できなかったのは、候補木が伐採、枯損等何らかの理由により消失したり、つぎ木活着が悪く所定の本数が得られなかったためなどである。

検定結果はアカマツ797（7.4%）、クロマツ208（1.5%）、計1,005クローン（4.1%）が合格し、これまでの予備検定等と同様にアカマツが高い合格率を示した。また、地区別の合格率では、アカマツ、クロマツとも四国が最も高い値であった。

2 二次検定

二次検定に供された一次検定合格クローンはアカマツ528、クロマツ127、計655クローンで、これに合格したのはアカマツ92（17.4%）、クロマツ16（12.6%）、計108クローン（16.5%）であった。この中には関西林木育種場で選定されたクロマツ精英樹三豊103号が含まれている。これらのクローン名及び所在地等については各地区ごとに報告されている。地区ごとの合格率ではアカマツ、クロマツとも九州が高く、次いで四国、関西の順位となっている（Table 14）。

なお、一次検定クローン数に対する二次検定合格（二次合格）率は、アカマツ0.85%、クロマツ0.12%、全体で0.44%で、地区別にみるとアカマツでは関西0.61%、四国0.98%、九州1.13%であった。またクロマツは関西0.06%、四国0.23%、九州0.09%と、アカマツでは九州が、クロマツでは四国が比較的高い合格率を示している。

3 機関における人工接種苗木の枯損経過

材線虫接種後における苗木の経時的枯損パターンは、各樹種及び系統の抵抗性のちがいや、検定環境及び検定条件等の多くの要因によって異なる。そのため、この事業では二次検定に限り、アカマツとクロマツの樹種によって合格基準が変えられたことはすでに述べたが、ここでは二次検定を実施した各機関における苗木枯損の推移について検討した。

アカマツ、クロマツの各週におけるクローン別の単純平均値を用いて各地区別の枯損推移を Fig. 20 に示した。

Table 14 一次検定及び二次検定の実施数量と合格数
Number of examined and passed candidates in 3 regions
in the first and the second inoculation test

樹種 Tree species	実施地区 Region	選 抜 Selection					一 次 検 定 First inoculation test					一 次 合 格 Passed in the first inoculation test					合格率 Passed rate (%)
		53年度 (1978)	54年度 (1979)	55年度 (1980)	56~60 年度 (1981 ~1985)	計 Total	55年度 (1980)	56年度 (1981)	57年度 (1982)	58~60 年度 (1983 ~1985)	計 Total	57年度 (1982)	58年度 (1983)	59年度 (1984)	60年度 (1985~)	計 Total	
ア カ マ ツ <i>P. densiflora</i>	関西	1,625	1,868	1,946	31	5,470	1,038	1,937	2,024	264	5,263	75	84	212	9	380	7.22
	四国	329	499	700		1,528	158	412	755	200	1,525	37	99	40	40	216	14.16
	九州	1,531	1,373	1,544		448	706	1,292	1,981		3,979	67	51	83		201	5.05
	計	3,485	34,740	4,190	31	11,446	1,902	3,641	4,760	464	10,767	179	234	335	49	797	7.40
	Total																
ク ロ マ ツ <i>P. thunbergii</i>	関西	711	492	515	131	1,849	484	556	556	222	1,818	5	10	8	2	25	1.38
	四国	880	783	1,089	310	3,062	712	700	869	764	3,054	16	42	36	12	106	3.47
	九州	2,790	3,505	3,286	128	9,709	2,078	2,992	3,783	102	8,955	11	49	35	2	77	0.86
	計	4,381	4,780	4,890	569	14,620	3,283	4,248	5,208	1,088	13,827	32	81	79	16	208	1.50
	Total																
合計	All total	7,866	8,520	9,080	600	26,066	5,185	7,889	9,968	1,552	24,594	211	315	414	65	1,005	4.09

樹種 Tree species	実施地区 Region	二 次 検 定 Second inoculation test					二 次 合 格 Passed in the second inoculation test					合格率 Passed rate (%)
		57年度 (1982)	58年度 (1983)	59年度 (1984)	60年度 (1985~)	計 Total	57年度 (1982)	58年度 (1983)	59年度 (1984)	60年度 (1985~)	計 Total	
ア カ マ ツ <i>P. densiflora</i>	関西	40	80	146	19	285	7	7	7	11	32	11.23
	四国	31	20	21	21	98	1	8	6		15	15.31
	九州	39	42	64		145	8	4	33		45	31.03
	計	110	142	231	45	528	16	19	46	11	92	17.42
	Total											
ク ロ マ ツ <i>P. thunbergii</i>	関西	2	6	5		13	0	0	1		1	7.69
	四国	11	11	35		57	2	2	3		7	12.28
	九州	7	24	24	2	57	0	3	4	1	8	14.04
	計	20	41	64	2	127	2	5	8	1	16	12.60
	Total											
合計	All total	130	183	295	47	655	18	24	54	12	108	16.49

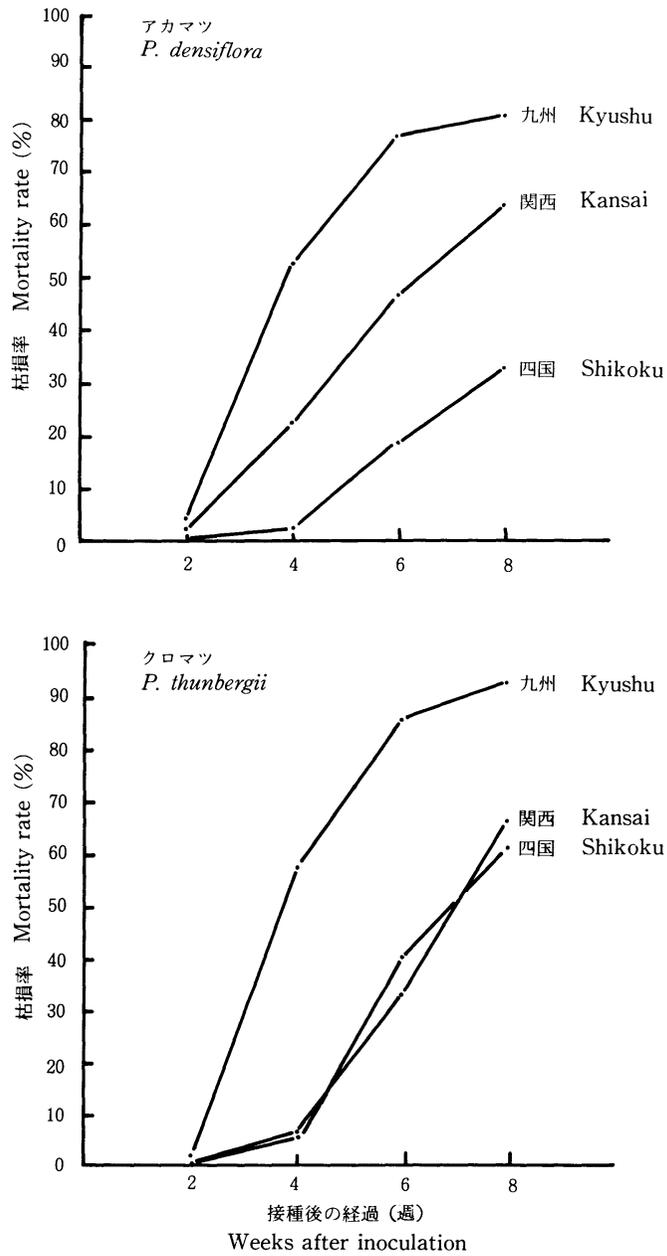


Fig. 20 樹種別及び地区別の枯損率の推移

Transition of mortality rates of pine species of different regions after inoculation of the pine-wood nematode in each region

アカマツでは図から明らかなように関西及び九州地区ではすでに2週目にはわずかながら枯損が認められ、九州ではそれ以後急速に枯損が進行するが、四国地区では遅れて枯損が発生し、6週目から急激に枯損する傾向を示した。各地区において枯損が最も増大する期間は関西、四国地区では4～6週で、この期間における枯損率はそれぞれ24.2%、15.8%、九州では2～4週の47.8%であった。また合格判定の基準となる6週から8週目にかけての枯損率の増加は関西16.5(8週目63.3)%、四国14.3(33.0)%、九州4.2(80.9)%で九州の場合の枯損の増加はそれほど多くないのに対して関西、四国ではまだ進行中で、枯損の推移は機関によって著しく異なる傾向が認められた。一方、クロマツについても Fig. 20 に見られるとおり6週及び8週目における関西と四国の枯損は、アカマツと同様に遅れて発生している。これに対して九州地区の場合、2週目ですでに枯損が発生し、2～4週目になると急速な増加がみられ、6週と8週目には関西、四国地区に比べて著しく高い値となって、アカマツと同様な枯損経過を示した。

次に生存率とともに合格木決定の基準となる健全率の各地区のちがいでについて検討した。Fig. 21 の A, B に各地区における検定クローンの生存率(X軸)と健全率(Y軸)の関係を2, 4, 6及び8の各週ごとに示した。この図で対角線上にプロットされたものは生存苗と健全苗がほぼ同率で、対角線から下方に離れるにしたがって生存苗中に健全苗の占める割合が少なくなることを示す。

①2週目では四国地区のほとんどのクローンが健全だったのに対して、関西地区では健全率が著しくバラツクうえ7クローンでは健全苗が全く見られなかった。また四国では、15クローン全てが生存率100%という高い値を示し、接種後における反応が遅いことが認められる。九州では枯損経過からも明らかなように、接種後の反応が早く、生存、健全率とも、バラツク傾向がうかがわれる。

②4週目では四国地区の生存率、健全率とも依然として高く、図の右上に集中する反面、関西では生存率、健全率の低いクローンが認められ、また9クローンでは健全苗が全くなかった。九州では生存率で7.7～91.7%と大きなバラツキがあるものの、生存苗中に健全苗の占める割合が高く図の対角線近くに分布する。

③6週目になると四国地区のクローンにも反応が現れるが、生存率で42.9～100(平均81.2)%、健全率31.3～100(69.3)%と、他の地区にくらべ著しく高い値を示した。また関西のそれは18.8～100(53.2)%と0～20.8(8.1)%で、14クローンでは健全苗が全く見られなかった。同様に九州地区では7.7～50.0(26.3)%と0～44.4(18.0)%で、ほとんどが図の左下にプロットされている。

④最終調査の8週目における四国地区の生存率は35.7～100(67.1)%健全率でも21.4～100(60.7)%と、どの地区よりも高く、特に“宇和島ア-50”は100%の健全率を示した。関西では6.3～73.3(36.7)%、健全率では0～20.8(4.2)%で健全苗の見られないものが20クローン(クローン率63%)存在し、九州では生存率が5.9～56.3(19.1)%、健全率0～31.3(11.2)%で、健全苗が認められないものは12クローン(クローン率27%)であった。

またクロマツの合格木について生存率と健全率の関係を Fig. 22 に示した。

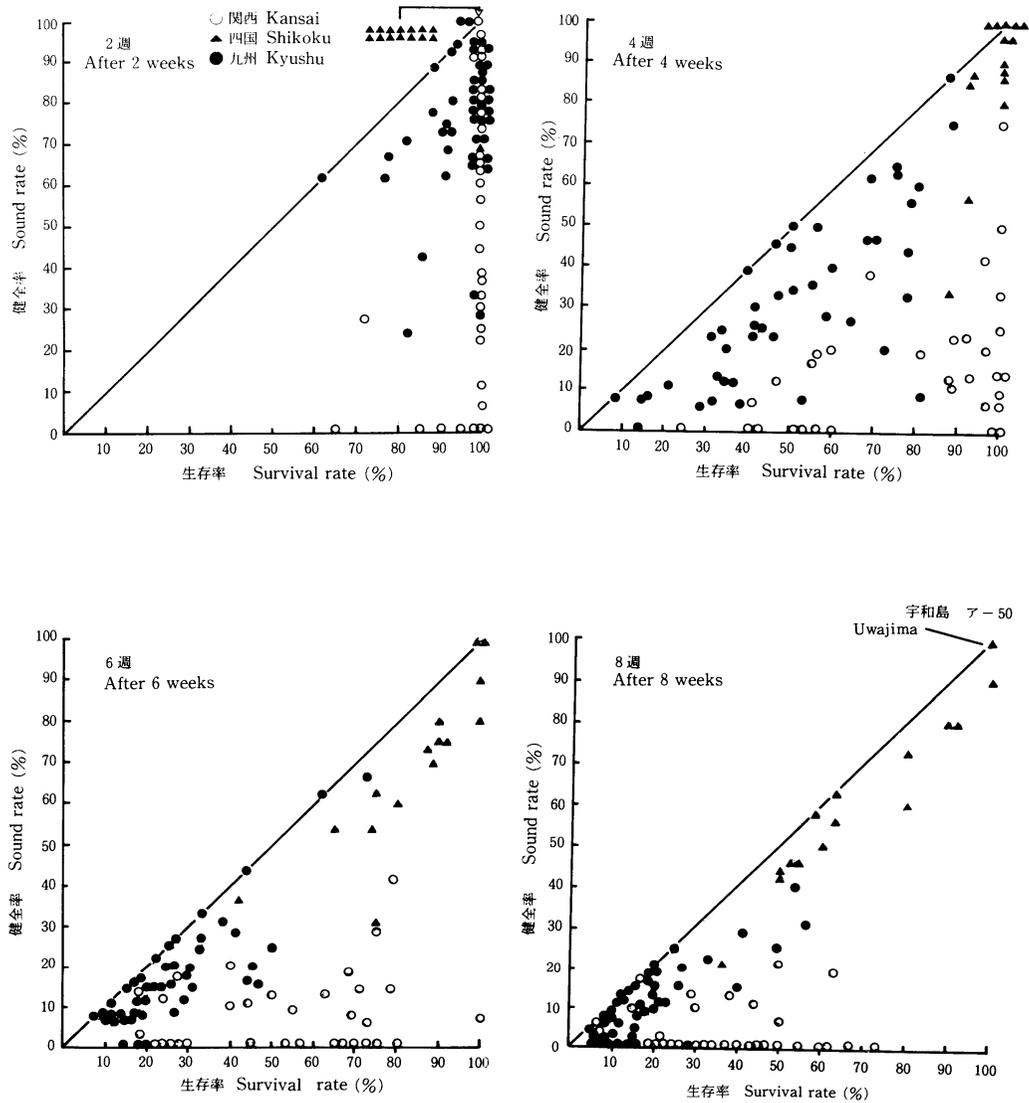


Fig. 21 アカマツの二次検定における生存率と健全率の関係
 Relationship between survival and sound rates of *P. densiflora*
 in the second inoculation test of the pine-wood nematode

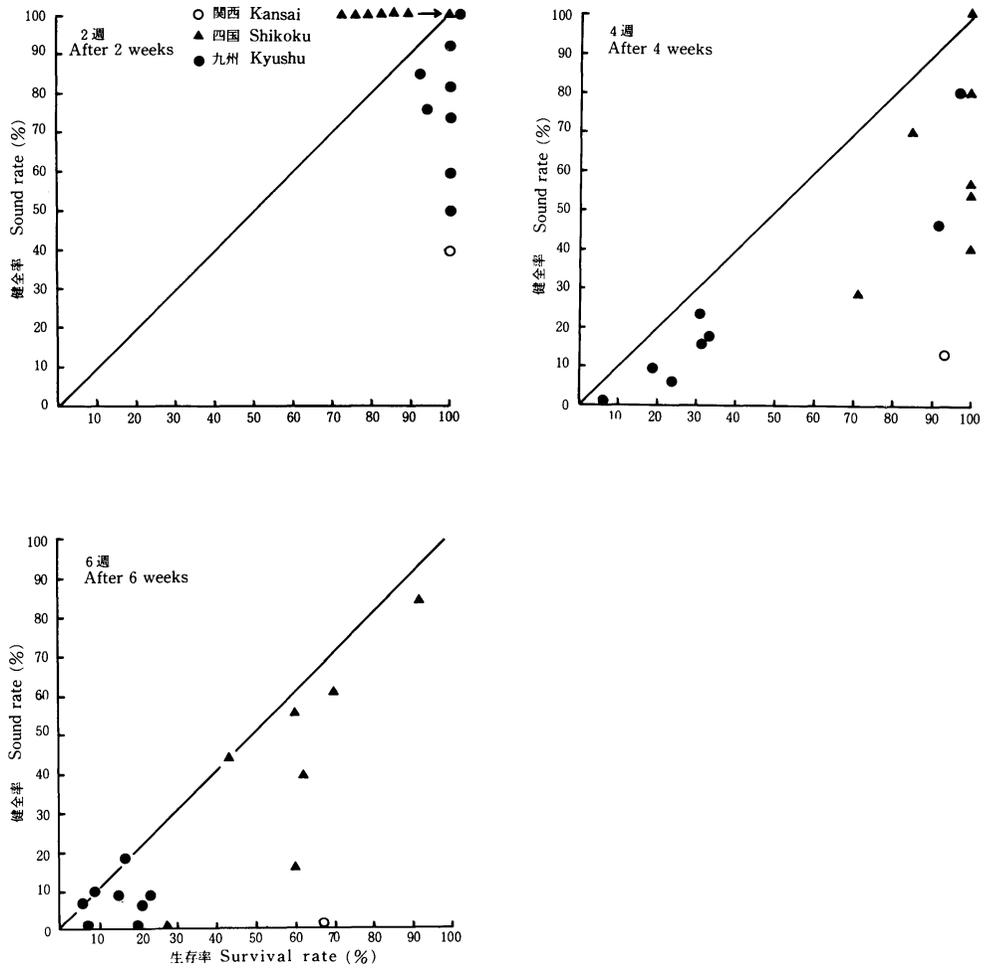


Fig. 22 クロマツの二次検定における生存率と健全率の関係
 Relationship between survival and sound rates of *P. thunbergii*
 in the second inoculation test of the pine-wood nematode

この図から2週目では四国地区の全クローンが健全率100%だったのに対して関西地区の1クローンでは健全率40%,九州地区では8クローン中健全率100%のものはわずか1クローンであった。4週目でも四国地区における平均生存率は高く,5クローンが100%を示し,健全率においても他の地区にくらべて著しく高い値を示した。九州, 顕娃ク-425, 小浜ク-24を除いて各クローンとも生存率(6.7~33.3%),健全率(0~23.1%)が低い値で図の左下に集中した。6週では四国地区の生存率,健全率ともバラツク一方,九州地区のものでは著しい低く値に集中した。この中で,四国地区の吉田ク-2は著しく高い値を示した。

このように,関西地区におけるアカマツでは接種後早くから枯損の発生が認められ,生存苗中に健全苗の占める割合の低いクローンが多い。四国地区ではアカマツ,クロマツとも接種後の枯損発生開始が遅い傾向にあり,最終調査の生存率も高い。特にアカマツでは生存苗中に健全苗の占める割合の高いクローンが多い。九州地区ではアカマツ,クロマツとも枯損発生の開始が早く6~8週にそのピークがみられ,生存率そのものは低いが,その中に健全苗の占める割合が比較的高いクローンが見られる。このように枯損経過には地区による特徴が認められるが,これには特に土壤水分,気温など検定環境差が関与しているものと考えられる。このうち各機関のガラス室における接種後の気温変化を,各5日間の移動平均値を用いて比較し Fig. 23 に示した。

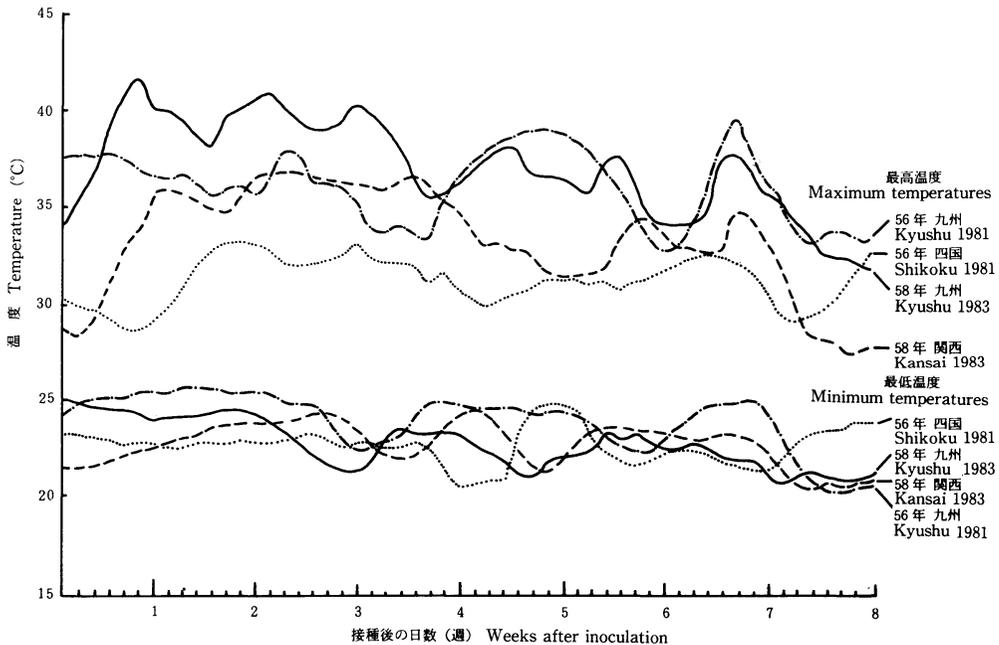


Fig. 23 ガラス室内の温度

Daily maximum and minimum temperatures in
green houses in three forest tree breeding institutes

56年度における最高気温は全期間を通じて九州が四国よりも高く、特に接種後2週目までの平均最高気温は四国では30.8 (27.2~34.0)°Cだったのに対して九州では36.7 (34.0~39.0)°Cと5.9°C高い。また、最低気温では四国の22.8 (21.9~24.0)°Cに対して九州では25.3 (24.0~25.9)°Cで、2.5°C高くなっている。58年度の関西と九州の最高気温では、ほぼ全期間とも九州が高い傾向を示しており、接種2週目までの平均最高気温は、関西では33.3 (25.0~38.0)°C、九州では38.6 (30.0~43.0)°Cで5.3°C高く、最低気温でも関西の22.6 (21.0~25.0)°Cに対して九州では24.3 (23.0~25.2)°Cと1.7°C高い値となっている。各機関における二次検定時の気象データが不揃いのため完全な相互比較はできないが、九州では最高気温が他の育種場よりも著しく高い傾向がみられる。また最低気温については材線虫が最も増殖しやすいとされる25°C²⁾を下回る日は各場とも見られず、それほど大きな差は認められなかった。こうした接種初期における気温の違いを直接枯損発生の一因とするには問題があるが、無視する訳にはいかない。また、技術開発において水分管理はミストあるいはオートキューサーによる方法がよいとされたが、三つの林木育種場のうち、関西、四国ではミスト、九州ではオートキューサーが使用された。ミストの場合、オートキューサーに比べて幾分枯損しにくい傾向が報告されていることから⁵⁶⁾、これが、枯損経過に影響を与えた可能性もある。

4 各機関による対照用テーダマツ苗の枯損率のバラツキ

各機関における対照用テーダマツ苗の一次及び二次検定の結果を Tables 15,16に示した。これらのテーダマツ苗は、全て九州林木育種場が選定した5本の母樹から採種し、これらの種子を等量ずつ混合したものを各林木育種場で1年間養苗した後、各実施機関に配布されたものである。

一次検定での対照苗の生存率を地域的にみると関西地区42.0~50.8 (平均44.8)%, 四国地区22.9~80.0(57.6)%は、九州地区では50.1~51.6(51.0)%と平均生存率ではそれほど大きな差は認められないが、全体的にみると各機関及び年度によって0~100 (平均49.8)%とバラツキがみられた。特に、和歌山県では0~31.3 (23.2)%と著しく低い値を示している。

次にこれを年度別にみると、人工接種検定開始当初の昭和55年度の一次検定でのテーダマツ苗の生存率は0 (和歌山県) から100% (福岡県) と大きなレンジとなっているが、56, 57両年度にはそれぞれ12.0~100, 24.1~83.0%と若干せばまっている。

一方、テーダマツ苗の健全率は生存率以上に実施機関や年度によるバラツキが大きく、地域別の平均健全率は四国地区の28.5%及び九州地区の30.9%に比べて関西地区では9.5%と低く、特に関西林木育種場、和歌山県、岡山県などではいずれも5%以下にとどまり、逆に福岡、熊本、鹿児島等の各県では40~50%以上と高い値を示した。

各育種場で実施された二次検定においてクロマツでは6週目、アカマツでは8週目における生存率、健全率をテーダマツ苗のそれと比較したが、6週から8週の間におけるテーダマツの生存率の低下は4~27%であった。

各育種場の8週目におけるテーダマツ苗の生存率は Table 16 に示すとおり四国、関西、九州の順となり、九州は著しく低かった。また同じく平均健全率は関西及び九州に比べて四国は著しく高い値を示した。

アカマツの二次合格木について、一次検定における生存率と対照用テーダマツ苗の生存率の関係を Fig. 24 に示した。

Table 15 一次検定における対照用テータマツの検定結果

Result of the first inoculation test of the pine-wood nematode to *P. taeda* as the control

機関 Organization	年度 項目	55年度 (1980)					56年度 (1981)					57年度 (1982)					計 Total				
		供試数 A	生存数 B	健全数 C	生存率 D	健全率 E	供試数 A	生存数 B	健全数 C	生存率 D	健全率 E	供試数 A	生存数 B	健全数 C	生存率 D	健全率 E	供試数 A	生存数 B	健全数 C	生存率 D	健全率 E
兵庫 Hyōgo		96	52	21	54.2	21.9	* 110	54	12	49.1	10.9	* 110	54	7	49.1	6.4	316	160	40	50.6	12.7
和歌山 Wakayama		30	0	0	0.0	0.0	48	15	0	31.3	0.0	60	17	4	28.3	6.7	138	32	4	23.2	2.9
岡山 Okayama		50	40	0	80.0	0.0	63	21	0	33.3	0.0	80	46	6	57.5	7.5	193	107	6	55.4	3.1
広島 Hiroshima		10	2	1	20.0	10.0	48	21	11	43.8	22.9	50	28	4	56.0	8.0	108	51	16	47.2	14.8
山口 Yamaguchi		50	38	15	76.0	30.0	50	26	14	52.0	28.0	50	27	15	54.0	30.0	150	91	44	60.7	29.3
関西育 Kansai		83	30	4	36.1	4.8	100	39	0	39.0	0.0	* 112	27	0	24.1	0.0	295	96	4	32.5	1.4
小計 Total		319	162	41	50.8	12.9	419	176	37	42.0	8.8	462	199	36	43.1	7.8	1,200	537	114	44.8	9.5
愛媛 Ehime		49	34	15	69.4	30.6	100	33	2	33.0	2.0	100	83	52	83.0	52.0	249	150	69	60.2	27.7
高知 Kōchi		24	20	13	83.3	54.2	60	9	2	15.0	3.3	100	79	45	79.0	45.0	184	108	60	58.7	32.6
四国支 Shikoku		25	17	5	68.0	20.0	50	6	0	12.0	0.0	60	46	28	76.7	46.7	135	69	33	51.1	24.4
小計 Total		98	71	33	72.4	33.7	210	48	4	22.9	1.9	260	208	125	80.0	48.1	568	327	162	57.6	28.5
福岡 Fukuoka		48	48	48	100.0	100.0	49	13	13	26.5	26.5	* 49	17	16	34.7	32.7	146	78	77	53.4	52.7
佐賀 Saga		60	39	27	65.0	45.0	50	31	23	62.0	46.0	50	16	9	32.0	18.0	160	86	59	53.8	36.9
長崎 Nagasaki		50	46	12	92.0	24.0	50	16	5	32.0	10.0	* 50	41	31	82.0	62.0	150	103	48	68.7	32.0
熊本 Kumamoto		48	2	2	4.2	4.2	50	50	47	100.0	94.0	* 44	19	11	43.2	25.0	142	71	60	50.0	42.3

マツノゲンセンチュウ抵抗性育種事業 (藤本・戸田・西村・山手・冬野)

Table 15 つづき

年度 項目 機関 Organization	55年度 (1980)					56年度 (1981)					57年度 (1982)					計 Total				
	供試数 A	生存数 B	健全数 C	生存率 D	健全率 E	供試数 A	生存数 B	健全数 C	生存率 D	健全率 E	供試数 A	生存数 B	健全数 C	生存率 D	健全率 E	供試数 A	生存数 B	健全数 C	生存率 D	健全率 E
大分 Oita	50	37	0	74.0	0.0	50	19	9	38.0	18.0	* 37	17	6	45.9	16.2	137	73	15	53.3	10.9
宮崎 Miyazaki	50	12	8	24.0	16.0	50	24	14	48.0	28.0	50	38	11	76.0	22.0	150	74	33	49.3	22.0
鹿児島 Kagoshima	40	33	15	82.5	37.5	50	19	16	38.0	32.0	* 60	47	41	78.3	68.3	150	99	72	66.0	48.0
九州育 Kyushu	98	11	5	11.2	5.1	120	63	32	52.5	26.7	73	18	9	24.7	12.3	291	92	46	31.6	15.8
小計 Total	444	228	117	51.4	26.4	469	235	159	50.1	33.9	413	213	134	51.6	32.4	1,326	676	410	51.0	30.9
県計 Total of prefectural organi- zations	655	403	177	61.5	27.0	828	351	168	42.4	20.3	890	529	258	59.4	29.0	2,373	1,283	603	54.0	25.4
育種場計 Total of national institutes	206	58	14	28.2	6.8	270	108	32	40.0	11.9	245	91	37	37.1	15.1	721	257	83	35.6	11.5
合計 All total	861	461	191	53.5	22.2	1,098	459	200	41.8	18.2	1,135	620	295	54.6	26.0	3,094	1,540	686	49.8	22.2

*は同一年度に2回検定したものの合計

Total value (twice tested in a year)

A : No. of inoculated seedlings

B : No. of survivors

C : No. of sound seedlings

D : Survival rate

E : Sound rate

Kansai : Kansai For. Tree Breed. Inst.

Shikoku : Shikoku Br., Kansai For. Tree Breed. Inst.

Kyushu : Kyushu For. Tree Breed. Inst.

Table 16 二次検定における対照用テータマツの検定結果

Result of the second inoculation test of the pine-wood nematode to *P. taeda* as the control

()%

区 分 機 関 Organization	57年度 (1982)				58年度 (1983)				59年度 (1984)				計 Total							
	接種 本数 C	6週目 After 6 weeks		8週目 After 8 weeks		接種 本数 C	6週目 After 6 weeks		8週目 After 8 weeks		接種 本数 C	6週目 After 6 weeks		8週目 After 8 weeks		接種 本数 C	6週目 After 6 weeks		8週目 After 8 weeks	
		生存数 A	健全数 B	生存数 A	健全数 B		生存数 A	健全数 B	生存数 A	健全数 B		生存数 A	健全数 B	生存数 A	健全数 B		生存数 A	健全数 B		
関西育 Kansai	56	13 (28.2)	0 (0.0)	11 (19.6)	0 (0.0)	* 200	83 (41.5)	3 (1.5)	78 (39.0)	2 (1.0)	* 100	88 (88.0)	40 (40.0)	61 (61.0)	4 (4.0)	356	184 (51.7)	43 (12.1)	150 (42.1)	6 (1.7)
四国支 Shikoku	60	51 (85.0)	43 (71.7)	46 (76.7)	28 (46.7)	* 118	104 (88.0)	80 (67.8)	98 (83.1)	58 (49.2)	108	56 (51.9)	32 (29.6)	50 (46.3)	24 (22.2)	286	211 (73.8)	155 (54.2)	194 (67.8)	110 (38.5)
九州育 Kyushu	73	20 (27.4)	11 (15.1)	18 (24.7)	9 (12.3)	100	8 (8.0)	5 (5.0)	6 (6.0)	5 (5.0)	50	5 (10.0)	3 (6.0)	3 (6.0)	3 (6.0)	223	33 (14.8)	19 (8.5)	27 (12.1)	17 (7.6)
合計 All total	189	84 (44.4)	54 (28.6)	75 (39.7)	37 (19.6)	418	195 (46.7)	88 (21.1)	182 (43.5)	65 (15.6)	258	149 (57.8)	75 (29.1)	114 (29.0)	31 (12.1)	865	428 (49.5)	217 (25.1)	371 (42.9)	133 (15.4)

*は同一年度に2回検定したものの合計
Total value (twice tested in a year)

A : No. of survivors

B : No. of sound seedlings

C : No. of inoculated seedlings

Kansai : Kansai For. Tree Breed. Inst.

Shikoku : Shikoku Br., Kansai For. Tree Breed. Inst.

Kyushu : Kyushu For. Tree Breed. Inst.

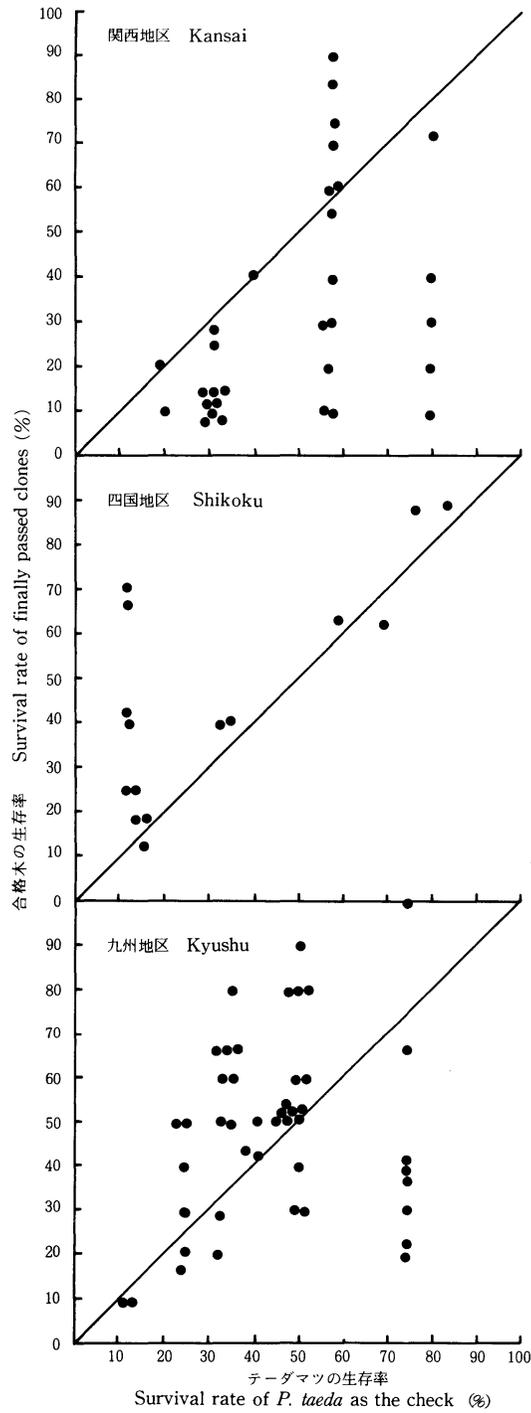


Fig. 24 アカマツ二次合格木の一次検定における生存率
Survival rates of the finally passed clones of *P. densiflora*
in the first inoculation test of the pine-wood nematode

これによると、実施機関や年度によってテーダマツの生存率に大きなバラツキがみられるが、それぞれの値を比較対照として検定クローンが評価されているため、各ケースごとには正当な選抜と云えよう。しかし、合格木相互間の材線虫抵抗性の優劣は早急にチェックしておく必要がある。Fig. 24 において、対角線より上にプロットされたクローンはテーダマツとの比較において生存率で、また下にプロットされたものは健全率によって選抜されたものである。今回の場合、関西地区では25%、四国では87%、九州においては64%が生存率によって選抜されている。

次にクロマツの一次・二次検定における結果を Fig. 25 に示した。一次検定においては関西では100%（1本）、四国では71%、九州では50%の合格クローンがテーダマツ苗の生存率を上回る値を示した。また二次検定では、四国が57%、九州では一次検定と同様50%の合格クローンがテーダマツ苗以上の生存率となっている。

人工接種検定に当たっては、対照としたテーダマツ苗の遺伝的な管理以外にも、育成管理や人工接種検定方法等を一定にしたにもかかわらず、二次検定におけるテーダマツ苗の生存率及び健全率は各育種場によって異なり、しかも年度間にも一定の関係がみられない。このような機関や年度によるテーダマツの成績のちがいは検定環境のうち、温度の上限を制御できなかったことなど、地域的な気象条件のちがいが大きく関与している上、苗高などテーダマツ苗の生理的差異も関与しているものと考えられる。

こうした異なる検定環境の中で選定され合格とされた抵抗性クローンの抵抗性の程度に関して、Fig. 26 に見られるように各育種場の単年度あるいは九州の58、59年度のようにテーダマツ苗の生存率、健全率が一定の場合は、その範囲内において抵抗性レベルの比較が可能と思われる。また、選定された合格木全クローンについて、同時に材線虫の人工接種検定を行えば抵抗性のランクづけが可能なので、できるだけ早いうちに実施しておく必要がある。

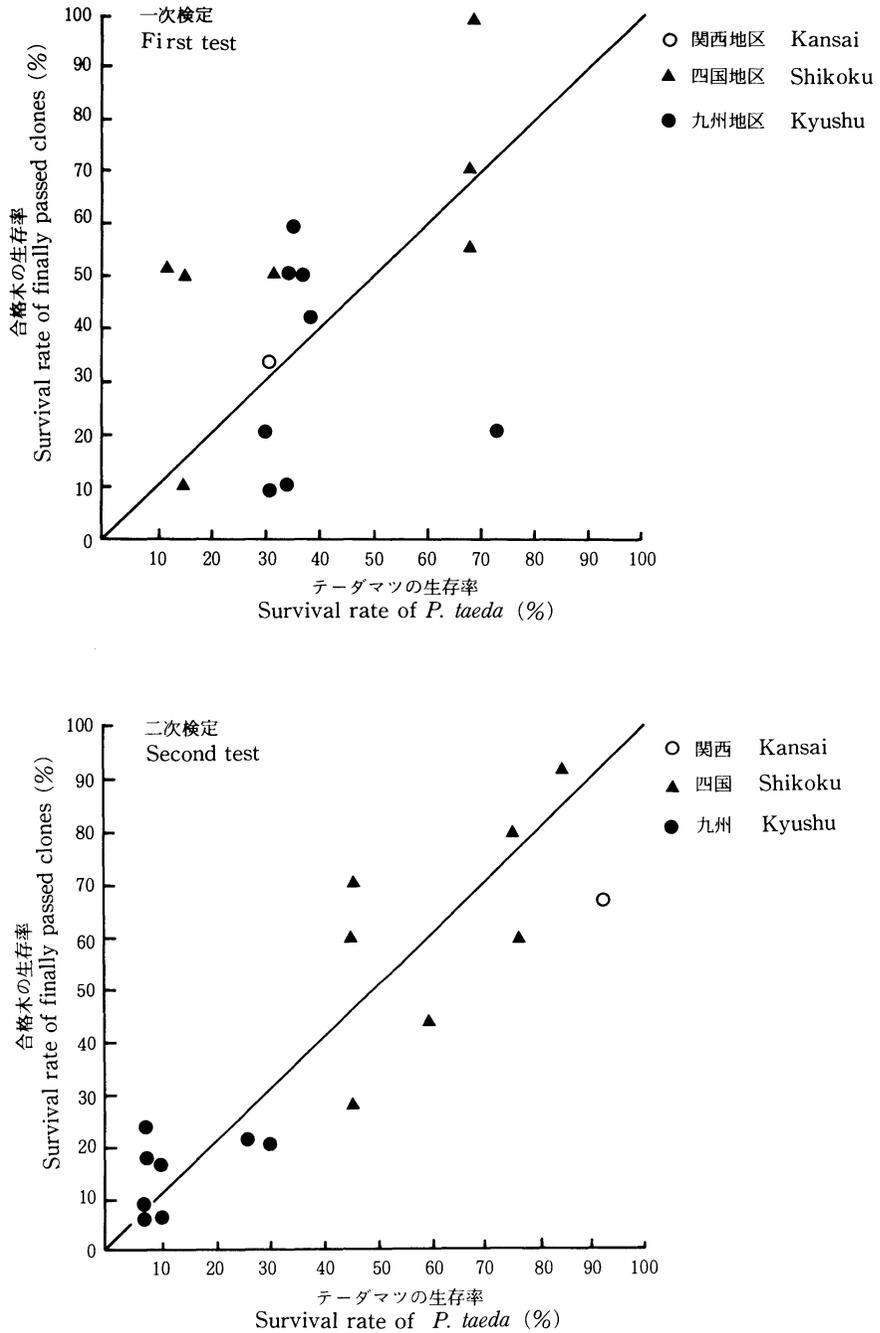


Fig. 25 クロマツ合格木の一次及び二次検定におけるテーダマツ生存率との比較
Survival rates of the finally passed clones of *P. thunbergii* and *P. taeda*
as the control in the first and the second inoculation tests

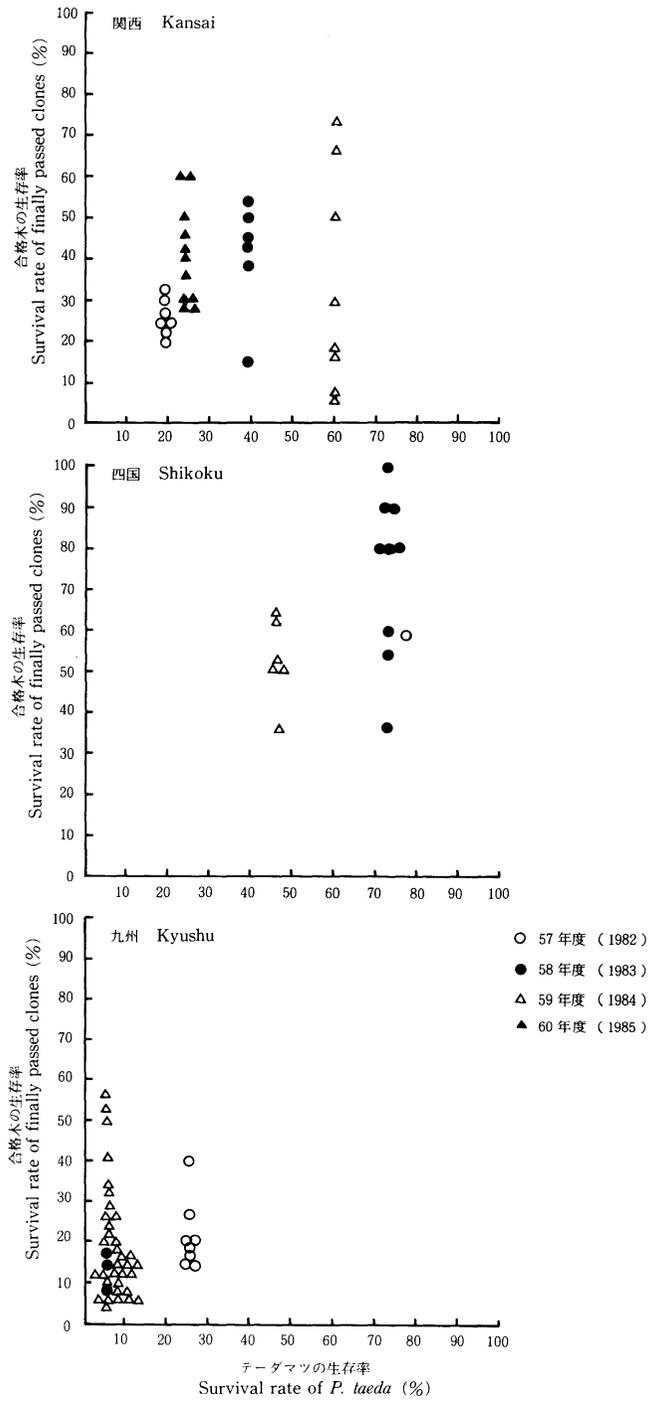


Fig. 26 アカマツ二次検定における合格木及びテーダマツの生存率
Survival rates of the finally passed clones of *P. densiflora* and *P. taeda*
as the control in the second inoculation test of the pine-wood nematode

VI 材線虫抵抗性種苗の生産と普及

1 検定合格木の自然受粉種子からの苗による育種効果の推定

この事業で合格した抵抗性個体のつぎ木クローンで採種園が造成され、そこで得られた種子は材線虫抵抗性種苗として普及される予定である。各機関においてはすでにこれら合格木クローンによる採種園造成が進められているが、本格的な抵抗性種苗の供給は昭和60年代後半になる見通しである。この間抵抗性苗を緊急に造林する必要のあるか所については「マツノサイセンチュウ抵抗性松供給特別対策事業」により次の二通りの方法で暫定的な措置がとられることとなった。

①その一つは、一次検定に合格した原母樹から自然受粉種子を採取し、その苗木に材線虫接種を行い生残った健全苗を供給するものである。

②また、他の一つは精英樹採種園を利用して人工交配によりクロマツ×タイワンアカマツのF₁苗を造林するというものであるが、これについては、地域における当事業の報告でも一部述べたもので本報では省略する。

原母樹の実生苗による方法は関西地区では59～62年度に和歌山、広島県、四国地区では60～61年度に香川、愛媛、高知県、九州地区では59～62年度に長崎、大分県の計7県、並びに3育種場の合計10機関で実施された。

材線虫の接種検定は関西地区及び九州地区で2～3年生の実生苗が、四国地区では2年生実生苗が用いられ各機関とも苗畑において接種が実施された。また着果あるいは種子発芽の不良な原母樹があつて、一次合格木の全ての家系を検定するには至らなかった。そのため、家系当たりの本数の多少や家系の重複など問題もあるが、一応とりまとめてその傾向を検討した (Table 17)。

全機関が材線虫接種検定を行った家系数及び苗木本数はアカマツ延べ386家系、48,932本、クロマツ延べ146家系30,158本である。この検定の合格基準を山行得苗数として調査したため、健全ではあつても苗長などにおいて山行き規格外のものは健全苗としてカウントされず、以下のとおり本事業における評価よりもきびしい結果となった。

アカマツの全機関平均山行き健全率は29.8%で地区ごとでは四国地区が47.2 (12.5～66.8)%と最も高く、次いで関西地区28.9 (1.4～79.1)%、九州地区の27.8 (10.5～59.0)%の順となった。さらに各地区内の機関ごとに見ると、実施機関によっては健全率が毎年相対的に高い値となる県と逆に低い値を示す県とが認められる。例えば四国では愛媛県 (60.0%)、関西では広島県 (20.8%)、九州では大分県 (51.4%) が、地区内の他の機関に比べ各年度とも高い傾向となっている。

Table 17 一次合格木実生家系の接種結果

Result of inoculation test of the pine-wood nematode on seedlings derived from open
pollinated seeds of the passed clones in the first inoculation test

樹種 Tree species	地区 Region	機関 Organization	接家数 A	接本数 B	健全山行苗 C	健全山行率 D%	樹種 Tree species	地区 Region	機関 Organization	接家数 A	接本数 B	健全山行苗 C	健全山行率 D%
アカマツ <i>P. densiflora</i>	関西 Kansai	育種場 E	48	4,162	3,292	79.1	クロマツ <i>P. thunbergii</i>	関西 Kansai	育種場 E	4	415	114	27.5
		県 F	94	21,177	4,020	19.0			県 F	11	2,727	65	2.4
		計 Total	142	25,339	7,312	28.9			計 Total	15	3,142	179	5.7
	四国 Shikoku	育種場 E	13	780	363	46.5		四国 Shikoku	育種場 E	8	568	186	32.7
		県 F	24	2,766	1,312	47.4			県 F	36	10,162	4,901	48.2
		計 Total	37	3,546	1,675	47.2			計 Total	44	10,730	5,087	47.4
	九州 Kyushu	育種場 E	93	14,761	3,033	20.5		九州 Kyushu	育種場 E	47	9,710	642	6.6
		県 F	114	5,268	2,543	48.1			県 F	40	6,576	3,488	53.0
		計 Total	207	20,029	5,576	27.8			計 Total	87	16,286	4,130	25.4
	合計 All total	育種場 E	154	19,703	6,688	33.9		合計 All total	育種場 E	59	10,693	942	8.8
		県 F	232	29,229	7,875	26.9			県 F	87	19,465	8,454	43.4
		計 Total	386	48,932	14,563	29.8			計 Total	146	30,158	9,396	31.2

A : No. of inoculated families

B : No. of inoculated seedlings

C : No. of sound seedlings

D : Sound rate

E : National institutes

F : Prefectural organizations

クロマツの全機関における平均山行き健全率は31.2%で地区ごとの結果では四国地区47.4 (32.7~60.6)%, 九州地区25.1 (2.6~75.0)%, 関西地区5.7 (1.0~27.5)%と、アカマツと同様四国が最も高い値を示した。全体の平均山行き健全率は予想に反してクロマツの方がわずかに高い値となったが、これは床替え2~3年生の実生苗ではアカマツの生育がクロマツより劣り、健全苗であったにもかかわらず山行き規格等で除外されるなど、調査基準による影響と考えられる。また各機関の山行き健全率のバラツキについては検定苗木のちがいによるばかりでなく、接種場所の気象条件が結果を左右したものと推測される。すなわち、実生検定の場合は先述のように苗畑において材線虫接種が実施されたため、検定条件として共通なものは材線虫系統と接種頭数だけで、環境条件等についてはコントロールできなかったためであろう。

一次合格木の実生後代の抵抗性が一般のものにくらべてどの程度高くなるのか今後の抵抗性種苗の普及とも関連して興味深いが、先述の結果では検定苗数等が不揃いで明らかにできなかった。そこで、四国及び九州地区については一次合格木のうち検定苗本数が30本以上の家系と、対照とした精英樹家系との山行き健全

率を比べてみた。なお、関西地区については育種場が実施した結果の生存率で比較した。

アカマツでは四国地区の一次合格木の家系で47.3%、二次のそれは58.0%で、四国産精英樹の24.1%に比べてそれぞれ23.2%及び33.9%高い。九州地区では一次合格木の家系が30.0%、二次のものは38.5%で、対照の九州産精英樹の26.7%に比べてそれぞれ3.6%及び11.8%高い値を示した。一方、クロマツでは四国地区の一次合格家系では46.6%、二次のそれは56.9%で、精英樹（17.8%）に比べて28.8%及び39.1%高い。九州地区では一次合格家系が8.5%、二次のそれは9.1%で、精英樹（6.6%）に比べてわずかであるがいずれも二次合格木の家系が高い値となった。

関西林木育種場が59、60年に実施した試験結果（関西地区版）では平均生存率を用いているが、これから算出するとアカマツの一次合格木の家系では70.0%、クロマツのそれは27.5%で対照とした一般のアカマツ20.0%、同クロマツ15.5%に比べてそれぞれ50.5%及び12.0%高い値を示した。また岡田ら⁶⁸⁾がアカマツ抵抗性候補木の異年次採種の同一家系をもちいて検定したところ生存率の年次間相関が0.85と有意に高いことを認めている。

これまでに行った技術開発等の実験において、抵抗性を目標として選抜した個体の実生後代の抵抗性が高いことは確認されていたが、一次及び二次合格木からの自然交雑実生苗も予想通りの抵抗性を示した。また同一家系の材線虫接種にともなう生存率の年次相関が高いこと等から、まだ遺伝率の解明などはなされていないが本抵抗性について遺伝性の強いことがうかがわれる。今後これら抵抗性クローン同士の交配による採種園産種苗の抵抗性はさらに向上することが期待される。

2 線虫抵抗性クローン採種園の造成

材線虫抵抗性苗木の大量生産には、選定した抵抗性個体を母材としてクローン採種園あるいは実生採種園のいずれかを造成し、実生苗を養成する方法が考えられる。

この事業では後代への抵抗性の遺伝様式が不明なこと、着花結実までの所要年数の長さ、及び育成・管理技術上の難易性等を考慮してクローン採種園が造成されることになっている。Table 18 に示すとおり22の府県において、すでに造成済みあるいは準備中である。この中、茨城県、静岡県等関東・中部を含む9府県は本事業には参加しなかった機関であるが、その後の被害の増加に対処するため材線虫抵抗性マツの採種園造成をはかるものである。

Table 18 材線虫抵抗性採種園の造成実績及び計画
 Program of establishment of the seed orchard consisted
 of resistant clones to pine-wood nematode (ha)

樹種 Tree species	60年度 1985			61年度 1986			62年度 1987			63年度 1988			64年度 1989			計 Total		
	アカ マツ A	クロ マツ B	計 C															
茨城 Ibaraki											0.50	0.50					0.50	0.50
栃木 Tochigi									1.00			1.00				1.00		1.00
千葉 Chiba	0.50		0.50											0.50	0.50	0.50	0.50	1.00
静岡 Shizuoka											0.50	0.50					0.50	0.50
三重 Mie					0.50	0.50											0.50	0.50
滋賀 Shiga	0.50		0.50	0.50		0.50	0.30		0.30							1.30		1.30
京都 Kyōto													0.40		0.40	0.40		0.40
兵庫 Hyōgo				0.50		0.50										0.50		0.50
奈良 Nara											0.10	0.10					0.10	0.10
和歌山 Wakayama	0.50		0.50		0.50	0.50										0.50	0.50	1.00
岡山 Okayama	0.50		0.50	0.50		0.50		0.50	0.50							1.00	0.50	1.50
広島 Hiroshima							0.50	0.50	1.00							0.50	0.50	1.00
山口 Yamaguchi				0.50	0.50	1.00										0.50	0.50	1.00
香川 Kagawa							0.50	0.50	1.00				0.50		0.50	1.00	0.50	1.50
愛媛 Ehime							0.50		0.50							0.50		0.50
福岡 Fukuoka								0.50	0.50								0.50	0.50
佐賀 Saga					0.50	0.50	0.50		0.50							0.50	0.50	1.00
長崎 Nagasaki					0.25	0.25		0.25	0.25								0.50	0.50
熊本 Kumamoto								0.50	0.50								0.50	0.50
大分 Ōita				0.10	0.10	0.20										0.10	0.10	0.20
宮崎 Miyazaki								1.00	1.00								1.00	1.00
鹿児島 Kagoshima								1.00	1.00								1.00	1.00
計 Total	2.00		2.00	2.10	2.35	4.45	2.30	4.75	7.05	1.00	1.10	2.10	0.90	0.50	1.40	8.30	8.70	17.00

A : *P. densiflora*

B : *P. thunbergii*

C : Total

当初事業計画では、兵庫、岡山、広島、山口、福岡、佐賀、長崎の北九州・瀬戸内育種区と、和歌山、愛媛、高知、熊本、大分、宮崎、鹿児島、南九州・四国・近畿育種区の二区分が考えられていた。しかし、その後これ以外の府県において育種場による選抜が行われ、あるいは上述のように採種園造成希望機関が増加する等、情勢に変化が生じてきた。一方採種園造成に当たっては、できるだけ多くの抵抗性要因の組合せが望ましいことや、クロマツではクローン数が少ないこともあって、これらの2育種区を合併して実行することになった。

Table 18 に示すとおり、昭和62年度までにアカマツ6.4ha、クロマツ7.1ha 計13.5ha が造成され、今後さらにアカマツ1.9ha、クロマツ1.6ha の準備が進められており、総面積ではアカマツ8.3ha、クロマツ8.7ha、計17ha の採種園が64年度までに造成されることになっている。なお、これに要するつぎ木苗はすべてそれぞれの育種場において養成されている。アカマツ・クロマツ採種園の造成はこれまで精英樹クローンによって行われており、当初植栽間隔を3.5×3.5m、ha 当たり800本とし、2回の間伐を経て最終的に7×7m、ha 当たり200本仕立てとすることになっている。これに対して今回の抵抗性採種園では、造成規模が小さいことやクローン増殖の都合上、アカマツでは ha 当たり800本植栽、1回間伐400本仕立てに、またクロマツでは ha400本植栽無間伐仕立てにすることとされた。次に、マツ類精英樹採種園における種子生産目標は1本当たり75g、ha 当たり30kg とされているが、抵抗性採種園からの本格的な種子生産は60年代末と考えられる。ここで種子1g から山行苗生産本数をアカマツで32本、クロマツでは26本として試算すると、採種園1ha から生産される山行苗はそれぞれ96万本、78万本となる。いま仮に ha 当たり造林本数を6千本とすると、アカマツでは160ha、クロマツでは130ha がカバーでき、造成される採種園が十分に稼働すると、アカマツで年間1,328ha、クロマツでは1,131ha 分の山行苗が生産可能となる。

本来、採種園造成に当たっては不良木の花粉による汚染を避け、多くの優良クローン間の交配を図るため、1か所1ha 以上が望ましいとされている。しかし、抵抗性採種園においては、各県の種苗需給事情によって1樹種0.1ha から1ha までの造成計画となっている。したがって、造成場所の選定、不良木花粉による汚染防止等に十分に注意すべきであろう。

こうして生産される種苗の抵抗性については、別項で述べたとおり一次合格木、二次合格木の自然交雑家系がそれぞれ精英樹家系に比べて高い値を示すことが知られている。さらに採種園はさまざまな抵抗性要因をもつクローンで構成されているため、それら同士の交配によって、抵抗性遺伝子の集積が期待されている。ただ、これらの抵抗性の遺伝率、遺伝様式などは未解明の状態で、材線虫抵抗性について子供苗に分離が生じることも当然考えられる。そこで、現在人工交配によってこれらの課題の解明を図っている。さらに、抵抗性クローンの諸特性に関してもクローン集植所において調査中で、成長性、着花性については一部すでに報告されている¹²⁾。採種園産実生後代について、この事業の目標形質である材線虫抵抗性が明らかにされ、また構成クローンに関して他の一般諸特性が明らかにされ、さらにそれらの遺伝様式が解明されれば、順次採種園の体質改善が進められ、一そう優れた実生後代の供給が可能になるものと期待されている。

採種園経営においては、遺伝的管理と同時に、施肥、消毒、台芽かき、除草等が重要である。特にマツのつぎ木クローンにおいては台木の芽かき、マツツアカシムシ、マツツマアカシムシ、マツシンマダラメイガ等しんくい虫類の防除、BM 熔燐の施用等の適切な肥培管理などが極めて重要である。

VII 今後の課題

選抜によるマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業は昭和59年度には終了し、現在は抵抗性クローンによる採種園の造成が進められている。この採種園からの本格的な抵抗性種苗の供給は昭和60年代の後半から昭和70年代の前半になるものと思われる。一方、抵抗性マツの造林を緊急に必要とするか所には昭和58年度から行われている「マツノザイセンチュウ抵抗性松供給特別対策事業」にもとづいて、①一次合格木からの実生苗に材線虫を接種し、生き残った健全苗、あるいは②クロマツと一般に材線虫に対し強い抵抗性を示すタイワンアカマツの交雑苗を造林する方法がとられている。

材線虫抵抗性交雑育種では、従来からの調査研究によってクロマツとタイワンマツの交雑F₁苗に材線虫抵抗性のあることが確認されている^{17) 18) 81) 88) 105)}。しかし、この雑種の造林対象となるクロマツ造林地は、一般に潮風害、乾燥害の発生し易い地域であるが、これらの被害やマツノモグリカイガラあるいはマツバナクマバエ等に対するタイワンアカマツの抵抗性はまだそれ程明らかではない。したがって、交雑マツを事業的規模で造林するに当たっては、これらに対する抵抗性の確認を行う必要がある。また、F₁苗の造林特性及び用材としての利用価値等についても早急に調査を進めなければならない。

材線虫の加害性に変異があり、また各材線虫抵抗性クローンの抵抗性要因も様でないとと思われることから、選抜育種においては抵抗性個体も特定の遺伝子型に偏ることのないよう幅広く選抜し、その抵抗性クローン間の交配により複数の抵抗性要因を合わせもつ個体を創出しておく必要がある。そのためにも、材線虫抵抗性の要因並びにその遺伝様式の解明を行わなければならない。

なお、本事業においては材線虫抵抗性候補木の選抜に当たって成長等の諸特性についても一応の配慮は払われたが、一義的には抵抗性に重点をおいた選抜が行われたために、今後は抵抗性クローンの諸特性を明らかにし、それによって材線虫抵抗性マツ採種園の体質改善を図らなければならない。

1 材線虫抵抗性要因の解明

材線虫抵抗性については、すでに述べてきたとおり、マツ属の樹種間、樹種内個体間に変異のあること、そしてこれらの変異が遺伝的であることが確認されている。しかしその抵抗性がどの様な要因によるものであるか、どの様な要因の差が種間あるいは種内に変異をもたらしているのか未解明の部分が多い。

材線虫抵抗性の場合、大山ら⁷³⁾、佐々木⁸³⁾、戸田¹⁰³⁾がアカマツ、クロマツ、テーダマツ等を用いてマツノマダラカミキリの後食に樹種選択性のないことを確認していることから、一般に言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、非選好性にもとづく育種に関しては期待できないことは、すでにIII-2において述べた。

一方、堂園ら³⁾、橋本ら²³⁾はテーダマツ、スラッシュマツの生立木では、アカマツ、クロマツに比べ、樹体内での材線虫の動きは緩慢であり、増殖率も低いとしている。渡辺¹⁰⁹⁾は材線虫に対し抵抗性マツは感受性マツに比べて、材部のβ-ミルセン含有量が少なく、ミルセンが材線虫の誘引や、繁殖を助長しているとし、大山ら^{75) 76)}は感受性クローンに比べて抵抗性クローンでは内樹皮液のpHが低く、カテコールタンニンの含有量が多いとしている。これらはいずれも抗生作用に属し、樹体内の材線虫の増減に大きく影響を与えているものと思われる。一方、清原^{43) 45) 47)}はマツノザイセンチュウ病において、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ことを報告している。この原因は、一度病原性の弱い材線虫が樹体内に侵入することによって樹体が刺激を受け、樹体内の抗生作用が働き、後接種された材線虫の増殖が妨げられるものと考えられるとしている。

このようにさまざまな遺伝的及び生理的抵抗性要因に関連した研究が進められ、また、実証されつつあるが、まだ決定的な解明には至っていない。

今後は、抵抗性個体と感受性個体の細胞学的・組織学的・生理学的な違い、あるいは生化学的な違いを調べ、抵抗性要因の早期解明に努めなければならない。

2 線虫抵抗性の遺伝様式の解明

材線虫抵抗性品種の一般造林用苗木は、本抵抗性クローン採種園からの種子によって生産される。

マツは一般の農作物とはことなり、他家受精植物であることや、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などから、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、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、ホモであるかヘテロであるか等の検索区分が必要である。

今日まで報告されている他植物の材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、センチュウ *Meloidogyne hapla* CHITWOOD に対するアルファルファ、*Heterodera schachtii* SCHMIDT に対するサトウ大根、*Tylenchulus semipenetrans* COBB に対する柑きつ類の抵抗性がある。また、劣性遺伝の例としては *M. incognita* (KOFOID & WHITE) CHITWOOD に対する綿あるいは豆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⁷⁾。材線虫抵抗性の遺伝性については、藤本ら⁸⁾の他に数多くの報告があるが、遺伝様式の解明に関する研究は下記の数例が見られるだけである。佐々木らによるとクロマツとタイワンアカマツとの種間雑種、その戻し交雑家系及びF₂家系の検定結果から、タイワンアカマツの抵抗性は優性遺伝子によることが確認された^{85) 86)}。また、クロマツ精英樹4クローンの自殖家系と種内交配家系の検定結果からは、2対あるいは数対の優性の主働遺伝子によって抵抗性が支配されており、中には特定組合せの効果も見られたことを明らかにしている⁸⁴⁾。しかし、現段階では遺伝様式についても不明の点が多いので、今後は抵抗性個体を用いた交配を行い、抵抗性要因や発現機構の解明を進めていかなければならない。

3 線虫抵抗性個体の後代の諸特性の解明

本抵抗性採種園からの種子は昭和60年代後半には生産される見通しで、順次、材線虫抵抗性種苗の造林が始まることになる。したがって、これら種苗の成長の他通直性等木材生産上重要な一般形質や、材線虫以外の諸害に対する抵抗性並びに立地適応性等についてはまだ全く解明されていない。これら種苗の材線虫抵抗性をはじめ、一般諸形質の解明には、採種園を構成する抵抗性各クローンの特性の早期把握が必要で、クローン集植所や採種園における成長、着花性、病虫害・気象害抵抗性、立地適応性などの調査と並行してそれらの遺伝性のチェックも進められている。

一方、後代の造林木については、採種園産実生集団としての抵抗性ばかりでなく、各家系の抵抗性及び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、調査結果の効率的な解析ができるように家系ごとの植栽が望まれる。調査は、現行の精英樹選抜育種事業における次代検定林以上に詳細に行い、家系ごとの特性表としてまとめることが望ましい。これらの結果をもとに人工交配計画を作成して複数要因による抵抗性遺伝子の集積や複合形質クローンの創出を図りたい。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、気象害抵抗性等については、各地に造成された後代造林地の調査結果を解析して比較検討し、第二次抵抗性選抜に備えることが必要であろう。

4 線虫抵抗性個体の後代における適応変異への対応

一般に病虫害抵抗性育種では、時間の経過にしたがって、加害因側の適応変異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、抵抗性作物にさらに適応した病原菌や害虫の系統が出現して抵抗性が失われると言うもので、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¹¹⁰⁾。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、銀寄等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別の系統のクリタマバチが出現して再びクリに被害が見られるようになった⁶⁹⁾。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順ぐりの競争関係があつて、抵抗性品種を侵し得る危害因側の系統が出現すると、またそれに抵抗性を持つ品種の創出によって対抗しなければならぬと言う宿命関係にある。これについて戸田(良)⁹⁴⁾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、複雑な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。本事業において現在造成中のアカマツ採種園では、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るが、この中にはさまざまな抵抗性要因を持つものが含まれることが期待される。これらの自然交雑苗が造林されるため、当面は材線虫の適応変異を誘発し、マツの材線虫抵抗性が崩壊を来すようなことは考え難い。しかし、問題は抵抗性の有効性がどの程度の年数を持続できるかであるが、これに備えて次の抵抗性創出に向かつての研究を進めねばならない。このため、今後の課題としては、複数の異なる種類の抵抗性遺伝子を持つ実生集団の造成を目標に、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本抵抗性の安定維持を図ることが必要である。

5 材線虫抵抗性交雑育種

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の中にも、抵抗性の程度、抵抗性要因や遺伝子型の違い、環境適応性等、抵抗性発現に直接関与する種々の要因が含まれている。したがって、抵抗性優良系統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が、種内交雑では相互の欠点を補う組合せによる遺伝子型の創出を目標として、既に多くの農作物において抵抗性品種の創出が行われている¹¹⁰⁾。クリでは、銀寄等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⁸⁷⁾。また、種間交雑においても同様に両親のもつ優れた特性を組合せてより性能の高い種間雑種を創出するものであるが、林木では種内より種間交雑による事例が多い。古くは、オランダにおいて行われた欧州産ニレの立枯病（オランダ病）抵抗性品種の創出においてアジア産ニレとの交雑があげられる³²⁾。

1) 材線虫抵抗性交雑育種のこれまでの成果

交雑による材線虫抵抗性育種の可能性を検討するため、既に数多くの種内及び種間交雑苗で材線虫抵抗性検定が行われてきたが^{5) 17) 18) 81) 102)}、古越ら¹⁴⁾は種間雑種における一連の材線虫抵抗性検定の中で、クロマツ×タイワンアカマツは、人工交配による稔性が高く、成長が良いことなどを報告した。また、藤本⁷⁾、戸田ら¹⁰²⁾は、タイワンアカマツ、テーダマツ、フクシュウマツ、リギダマツ及びアカマツ・クロマツ精英樹クロンの種内交雑及び種間交雑による材線虫抵抗性について検討し、外国産マツとの交雑親和性が高く、かつ、その樹種が強い材線虫抵抗性を持っているれば交雑育種に一段と期待が持てるとしている。一方、藤本ら⁷⁾は、タイワンアカマツ21年生林分から任意に選んだ100個体をクロマツ台木につぎ木して接種検定を行ったとこ

ろ、その材線虫抵抗性は、比較的弱いものからテーダマツと同程度に強いものまで違いがあることを確かめ、交配材料に用いる場合は個体の選択に注意が必要であると指摘している。さらに、戸田ら¹⁰⁵⁾は、これを確認するため、クロマツ精英樹を母樹として、材線虫抵抗性のタイワンアカマツ7系統の花粉(6個体からの花粉と1混合花粉)による雑種苗を検定したところ、それらの材線虫抵抗性はすべて雌親のクロマツよりは向上したが、花粉の系統(親)によって変動が認められた。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、材線虫抵抗性を示す樹種の探索を行い、交配親としての活用を検討すべきであろう。ただし、これら外国マツでは、立地適応性が明らかでないことや、他の形質が把握されていない場合が多いこともあって、慎重な対処が必要である。また、戸田ら¹⁰⁶⁾はクロマツの材線虫抵抗性レベルアップを図るため、自生しているアイノコマツの中から、表現型によってアカマツタイプ2個体、クロマツタイプ13個体を選択採種して実生苗を育て、それぞれアカマツ型、中間型、クロマツ型に区分して材線虫の接種検定を行った。その結果、実生後代の材線虫抵抗性はクロマツ型にくらべてアカマツ型が著しい強さを示し、母樹のタイプによる違いは認められなかった。このようにアカマツ、クロマツ雑種後代の表現型と材線虫抵抗性の間には一定の関係が見られるので、アイノコマツの利用もこの中で検討されるべきものと思われる。

2) 材線虫抵抗性交雑育種における技術開発

交配に関する一連の作業を的確に進めるためには、花粉の採取・貯蔵・発芽試験、袋かけ、受粉等の適期や方法を十分把握しておく必要がある。品質の良い花粉を必要量得るには雄花をいつ、どのくらい採取すれば良いかを検討するため、藤本は¹⁰⁾昭和58年、九州林木育種場においてタイワンアカマツについて雄花穂採取の方法と適期、雄花穂の重量や大きさと花粉量との関係等を調べた。この結果、花粉採取量の最も多かったのは4月13日で、雄花穂1 kg 当たりの花粉量は272 ccであった。また、1花穂当たりの花粉量が最大を示したのは4月12日に採取した長さ9.0cm、重さ12.9 gの花穂で、花粉4.54 cc、1.13 gが得られた。そして、花粉の採集適期や雄花穂と花粉量との関係は、気象条件や土壌あるいはクローン・家系等により変動はあるものの、1リットルの花粉を採集するためには約5 kgの雄花穂採取が必要であるとしている。また、着花の多い年に大量に採集、貯蔵する可能性を見るため、藤本らは¹¹⁾タイワンアカマツ9個体からの花粉を-40°Cの超低温に3年間貯蔵して毎年花粉の発芽を調べた。この結果3年間は著しく発芽能力を損なうことはなかった。次に、交雑育種を進めるに当たっては、交配用具等についてもまだ改良開発の余地があるものと考えられる。たとえば、クロマツ×タイワンアカマツと云ったレベルの交配の場合、花粉銃は従来用いられているようなある程度の花粉量の入るものが望ましい。これに対して、多数の交配組合せを樹上等の高所において行う場合は、それぞれの花粉量は少量ですむため、小型のものが携帯や取り扱いに好都合である。九州林木育種場では各種のものを比較検討した結果、Photo. 2のdに示すツボミ印を採用しているが、10個程度は携帯できるので、高所で行う多数組合せの交配作業では能率と安全性の面から極めて好都合である。

3) 今後の材線虫抵抗性交雑育種への対応

今後の材線虫抵抗性交雑育種をより確実に進めるには、本抵抗性採種園産実生後代の諸特性の解明も重要な課題で、先述のとおり採種園構成クローンの特性を十分把握しておくことが重要である。藤本¹²⁾は、設定後2~3年生の九州林木育種場構内のクローン集植所において材線虫抵抗性つぎ木クローンの成長性及び着花性を調査した。2年生(つぎ木14か月後)の平均樹高はアカマツ(31クローン)、クロマツ(8クローン)とも60 cmで、アカマツは1本当たり0.6個、クロマツでは0.1個の雌花をつけ、3年生(つぎ木26か月後)ではアカマツ(45クローン)の平均樹高が130 cmで雌花数は3.1個、クロマツ(7クローン)では122cmで0.8個と、樹高は両種にそれ程の差は見られないが、雌花数ではアカマツが多く、また、雄花は両種とも全体に少

なかった。このように、着花は早く見られるが今後の着花量の推移、雌雄花数の開花期、交配の可能性、結果率、種子稔性等継続して調査を行うことが必要で、これらのことを基礎に材線虫抵抗性採種園の体質改善を進めねばならない。また、重要事項の一つに球果の虫害防除があげられる。特にマツは球果成熟までおよそ2年を要するため被害を受ける期間が長く、交配は成功しても幼球果以後の虫害により種子が計画通りに採れないことがあるため、十分な対策を講じる必要がある。また、一般にマツ類の種間交雑では得られる種子が極めて少ないとされており^{54) 81) 101)}、球果当たりの種子量や稔性等の調査例も少ない。九州林木育種場が調査した資料によれば、球果当たりの種子量と山行得苗はクロマツ×タイワンアカマツで0.195 g, 4.3本、クロマツ×クロマツでは0.235 g, 11本、またクロマツ×アカマツで0.085 g, 4本と推定している⁵⁰⁾。こうした低生産性への対応としては、花粉の品質管理、交配適期についての再検討等が必要であろう。また、材線虫に対し著しい抵抗性は示すが特に交雑親和性等の理由で種子生産性の低い組合せ家系については、組織培養による大量増殖の検討が必要である。

VIII ま と め

長年にわたる各分野の研究成果にもとづいて、マツノザイセンチュウ抵抗性育種に関する検討が行われ、選抜対象林分の予備調査、育種事業に必要な技術開発を経て、この大プロジェクト事業は実施された。西日本の国立林木育種場3機関と14県が参加し、昭和53年から59年まで7年の事業期間と、その後の追加選抜期間を含めると実に10年に及ぶものである。

この事業において予備調査でリストアップされたアカマツ・クロマツ約97,000本の中、26,066本が抵抗性候補木として選抜され、その中94%に当たる24,594クローンについて一次検定が行われた。各機関とも遺伝的に斉一なテダマツ実生苗を比較対照として、3年間にわたって比較検討した結果、アカマツで7.40%、クロマツ1.50%、全体で4.09%、1,005クローンが一次検定に合格した。この中、枯損したり伐倒されたもの、及び検定用つぎ木苗の確保ができなかったものを除いて、一次検定合格655クローンについて3林木育種場において二次検定が行われ、アカマツで17.42%、92クローン、クロマツで12.60%、16クローン、全体で16.49%、108クローンが合格した。このように、一次検定にくらべて二次検定の合格率が著しく高くなったのは、一次検定の選抜効果を示すものと言えよう。一次・二次をとわず、合格率及び合格数には、機関、地域、実施年などによる差が見られ、抵抗性個体が特定の林分や地域に偏在する可能性もわかされたが、確認には至っていない。材線虫抵抗性として最終的に選定された108クローンについて、同時に接種検定を行うことによって、相互の抵抗性の程度や地域的な傾向等がさらに明らかになるものと思われる。また、これらクローンについて、成長性、増殖性、諸害抵抗性及び適応性等一般諸特性が徐々に明らかにされよう。さらに、採種園における相互交配や人工交配によって材線虫抵抗性遺伝子の集積が図られ、本抵抗性と一般優良形質の組合せによって複合形質系統の創出も可能となろう。こうしてみると、各クローンの材線虫抵抗性の程度や抵抗性要因、さらに遺伝様式などの解明は今後の研究にまたなければならないが、本抵抗性育種の根幹となる材線虫抵抗性108クローンが選定された意義は極めて大きいものと言えよう。

さらに、このプロジェクト遂行に当たって行われた数多くの実験・調査・研究の成果は、事業実行上直接的な役割を果たしたばかりでなく、材線虫の加害性における生理・遺伝研究の外生物害抵抗性育種あるいは育種一般にとっても重要な資料となったものも少なくない。本報の一部ではこれらの幾つかについて総論抄録的にとりまとめたつもりであるが、今後の林木の抵抗性育種全般の推進に資するところがあれば幸いである。

引用文献

- 1) BINGFORS, S. : Resistance to nematodes and the possible value of induced mutations, Mutation Breeding for disease Resistance IAEA, 209~235, (1971)
- 2) 堂園安生・清原友也 : 菌糸培養法におけるマツノザイセンチュウの増殖温度, 日林九支論, 25, 160~161, (1971)
- 3) 堂園安生・清原友也・橋本平一 : マツ種類別にみたマツノザイセンチュウの樹体内移動, 日林九支論, 26, 183, (1973)
- 4) EVANS, A. A. F. : Mass Culture of Mycophagous Nematode, Journal of Nematology, 2, (1) 99~100, (1970)
- 5) 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二・田島正啓 : 産地別テーダマツのマツノザイセンチュウ抵抗性, 日林九支論, 34, 75~76, (1981)
- 6) 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二・田島正啓 : 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のちがひ, 日林九支論, 34, 77~78, (1981)
- 7) 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二・田島正啓 : タイワン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, 日林九支論, 34, 81~82, (1981)
- 8) 藤本吉幸・大庭喜八郎 : マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の1年目の結果, 第17回 IUFRO 世界大会論文集, 258~260, (1981)
- 9) 藤本吉幸・戸田忠雄・田島正啓・大山浪雄・白石 進 : 抵抗性育種からみたマツノザイセンチュウの有害性の変異, 92回日林論, 293~294, (1981)
- 10) 藤本吉幸 : 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, (1985)
- 11) 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二 : タイワンアカマツの貯蔵花粉の発芽, 日林九支論, 40, 85~86, (1987)
- 12) 藤本吉幸 : マツノザイセンチュウ抵抗性クローンの特性 (I), 日林九支論, 41, 45~46, (1988)
- 13) 福田利雄・岩川盈夫 : リギ・テーダマツの特徴とマツノザイセンチュウに対する抵抗性, 林木の育種, 111, 43~46, (1979)
- 14) 古越隆信・佐々木研 : 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, (1983)
- 15) 古野東洲・上中幸治 : マツ属に対するマツノマダラカミキリの後食について, 89回日林論, 287~288, (1978)
- 16) 古野東洲 : 外国産マツ属の虫害に関する研究第7報——マツノザイセンチュウにより枯死したマツ属について——, 京大演報, 54, 16~30, (1982)
- 17) 古野東洲・二井一禎・中島 勇 : クロマツとタイワンアカマツの雑種 F₂, マンシュウクロマツ, カーシャマツとの雑種 F₁ および *P. yunnanensis* のマツノザイセンチュウに対する抵抗性, 日林関西支講, 35, 154~157, (1984)
- 18) 古野東洲・二井一禎 : マツノザイセンチュウを接種したクロマツ×タイワンアカマツ (F₁) の生育について, 95回日林論, 477~478, (1984)
- 19) 二井一禎・古野東洲 : 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, (1976)
- 20) 二井一禎・古野東洲 : マツ属のマツノザイセンチュウに対する抵抗性, 89回日林論, 297~299, (1978)
- 21) 二井一禎 : 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, (1984)
- 22) 橋本平一・堂園安生 : マツ丸太中における材線虫の増殖, 日林九支論, 26, 185~186, (1973)
- 23) 橋本平一・堂園安生 : 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回日林論, 301~302, (1975)

- 24) 橋本平一・堂園安生・清原友也・鈴木和夫：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線虫密度，日林九支論，29,203～204，(1976)
- 25) 橋本平一：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，(1976)
- 26) 林 弥栄：日本産針葉樹の分類と分布，農林出版，P. 37～163，(1960)
- 27) 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：マツノザイセンチュウ抵抗性候補木のつぎ木苗検定，日林九支論，31,59～60，(1978)
- 28) 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：マツノザイセンチュウ抵抗性候補木のみしょう苗検定，日林九支論，31,61～62，(1978)
- 29) 茨木親義・大庭喜八郎・西村慶二：外国産マツ類のつぎ木苗によるマツノザイセンチュウ抵抗性検定，日林九支論，31,63～64，(1978)
- 30) 茨木親義・大庭喜八郎・戸田忠雄・橋本平一・清原友也：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ひ，日林九支論，31,211～212，(1978)
- 31) 石井克明・栗延 晋・大庭喜八郎・古越隆信：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，(1981)
- 32) 伊藤一雄：林木の耐病性，農林出版，P. 121～127，(1959)
- 33) 伊藤一雄：松くい虫の謎を解く，農林出版，P. 6～17，(1975)
- 34) 金川 侃・岸 洋一：リギ・テグマツ F_1 ， F_2 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，(1982)
- 35) 糟谷重夫・岸 洋一・佐倉詔夫・石原 猛・成瀬善高：マツノザイセンチュウ抵抗性母樹に対する接種試験（II），91回日林論，365～366，(1980)
- 36) 北村四郎・岡本省吾：原色日本樹木図鑑，保育社，P. 12～13，(1959)
- 37) 清原友也・徳重陽山：マツ生立木に対する線虫 *Burusaphlenchus* Sp. 接種試験，日林誌，53,210～218，(1971)
- 38) 清原友也・堂園安生・橋本平一・小野馨：マツノザイセンチュウの接種密度と加害力，日林九支論，26,191～192，(1973)
- 39) 清原友也：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回日林講，334～335，(1973)
- 40) 清原友也・鈴木和夫：接種時期を異にしたマツ樹体内でのマツノザイセンチュウの個体数推移，87回日林論，227～228，(1976)
- 41) 清原友也：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，日林九支論，30,241～242，(1977)
- 42) 清原友也・白石 進・上中久子・鈴木和夫：マツノザイセンチュウの酵素多型，日林九支論，34,183～184，(1981)
- 43) 清原友也：マツ材線虫における誘導抵抗性，日林九支論，35,161～162，(1982)
- 44) 清原友也・橋本平一・藤本吉幸：マツノザイセンチュウの病原力の変異，日林九支論，36,189～190，(1983)
- 45) 清原友也：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—，日林九支論，36,191～192，(1983)
- 46) 清原友也・河辺祐嗣：マツノザイセンチュウの病原力の変異—クロマツおよびアカマツ母樹別系統の接種試験—，日林九支論，37,169～170，(1984)
- 47) 清原友也：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—，日林九支論，37,171～172，(1984)
- 48) 清原友也・堂園安生：マツノザイセンチュウの病原力と増殖力の関係，日林九支論，39,157～158，(1986)

- 49) 黒田慶子・鈴木和夫・山田利博：マツノザイセンチュウの接種後のクロマツの組織解剖学的観察，95回日林論，471～472，(1984)
- 50) 九州林木育種場：昭和59年度九州地区林業試験研究機関協議会育種部会資料，(1984)
- 51) 真宮靖治：各種マツ苗木のマツノザイセンチュウおよびニセマツノザイチュウに対する抵抗性—とくに齢に関連するものとして—，95回日林論，475～476，(1984)
- 52) 松永健一郎・金光隆義：リモコン式高所採穂器の開発について，林木の育種(特別号)，20～22，(1981)
- 53) 西口親雄：アカマツ樹脂圧の季節変動と松くい虫による枯損について—激害型林分慢性型林分の比較—，日林誌，52,131～133，(1970)
- 54) 西村慶二・松永健一郎・坂本和子：精英樹におけるアカマツ，クロマツの種間交雑の試み，日林九支論，27,63～64，(1974)
- 55) 西村慶二・大庭喜八郎・立仙雄彦・松永健一郎・今村政秀：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，日林九支論，30,61～62，(1977)
- 56) 西村慶二・栗延 晋・金光隆義：マツノザイセンチュウ人工接種の用土別，灌水方法別試験，日林九支論，32,205～206，(1979)
- 57) 日塔正俊・小田久五・加藤幸雄・山根明臣・遠田暢男：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，(1966)
- 58) 小田久五：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,(12),2～5，(1967)
- 59) 大庭喜八郎：マツノザイセンチュウの床替苗への接種法，九育年報，2,131～133，(1974)
- 60) 大庭喜八郎・戸田忠雄・西村慶二・岩下禮治・松永健一郎：マツノザイセンチュウの人工接種による系統別マツ苗の生存率，日林九支論，30,67～68，(1977)
- 61) 大庭喜八郎・西村慶二・戸田忠雄・立仙雄彦：マツノザイセンチュウの人工接種による母樹別マツ苗の生存率，日林九支論，30,69～70，(1977)
- 62) 大庭喜八郎・西村慶二・戸田忠雄・山手廣太・大山浪雄：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，日林九支論，30,71～72，(1977)
- 63) 大庭喜八郎：抵抗性選抜育種及び抵抗性要因の解析—産地別および母樹別集団の抵抗性—，農林水産技術会議成果，153～155，(1977)
- 64) 大庭喜八郎：マツノザイセンチュウ抵抗性，森林病虫獣害防除技術，全国病虫獣害防除協会，352PP., (1982)
- 65) 大庭喜八郎・藤本吉幸・古越隆信・岡田 滋・小笠原健二：マツノザイセンチュウ抵抗性育種，育種学最近の進歩，24,90～101，(1983)
- 66) 大串龍一：生物的総合防除，共立出版，81PP., (1978)
- 67) 岡田 滋・津田知明・片山重俊・小林慎一・伊田貞雄：アカマツ，クロマツつぎ木クロンのマツノザイセンチュウ抵抗性検定，日林関西支講，29,85～87，(1978)
- 68) 岡田 滋・津田知明：アカマツ(マツノザイセンチュウ抵抗性候補木)自然受粉種子家系のマツノザイセンチュウ抵抗性，98回日林論，259～260，(1987)
- 69) 大山浪雄・川述公弘・斎藤 明：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，日林九支論，27,77～78，(1974)
- 70) 大山浪雄・白石 進：マツノザイセンチュウ病抵抗性マツの特性，日林九支論，33,205～206，(1980)
- 71) 大山浪雄・川述公弘・斎藤 明：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壌乾燥の影響，日林九支論，28,107～108，(1975)
- 72) 大山浪雄・川述公弘・鈴木和夫・末吉幸満：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壌乾燥の影響，日林九支論，29,219～220，(1976)
- 73) 大山浪雄・森本 桂・吉田成章：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後

- 食選択性, 日林九支論, 30, 229~230, (1977)
- 74) 大山浪雄・川述公弘: 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, 日林九支論, 31, 53~54, (1978)
- 75) 大山浪雄・福島 勉: マツノザイセンチュウ抵抗性マツの内樹皮液 pH, 日林九支論, 35, 109~110, (1982)
- 76) 大山浪雄・白石 進・福島 勉・知念正儀: 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, 日林九支論, 36, 105~106, (1983)
- 77) 林業試験場九州支場樹病研究室: マツノザイセンチュウの培養と接種方法, 5PP., (1974)
- 78) 林野庁造林課: マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の実施方法に関する検討報告書, 13, (1977)
- 79) 立仙雄彦・戸田忠雄・丸喜八郎・栗延 晋: ガラス室におけるマツノザイセンチュウ接種時期別試験, 日林九支論, 32, 207~208, (1979)
- 80) 立仙雄彦・藤本吉幸・戸田忠雄・栗延 晋・西村慶二: マツノザイセンチュウ抵抗性候補木の人工接種検定結果, 日林九支論, 32, 209~210, (1979)
- 81) 佐々木研・古越隆信: 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, (1976)
- 82) 佐々木研・古越隆信・佐々木常夫: 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, (1978)
- 83) 佐々木研・古越隆信・大谷賢二: 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嗜好性—林木の育種 (特別号), 38~41, (1980)
- 84) 佐々木研・古越隆信・河村嘉一郎・田島正啓・岡田 滋・津田知明: クロマツのマツノザイセンチュウ抵抗性に関する 2, 3 の遺伝的情報, 日林関西支講, 34, 179~183, (1983)
- 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: 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, (1983)
- 86) 佐々木研・河村嘉一郎・田島正啓・古越隆信・岡田 滋・津田知明・小林玲爾・赤堀陽一: 二葉松類の戻し交雑と三種間交雑 (IV) —マツノザイセンチュウに対する抵抗性—, 94回日林論, 251~252, (1983)
- 87) 志村 勲: 果樹の耐虫性育種, 育種学最近の進歩, 13, 11~18, (1973)
- 88) 白石 進・川述公弘: クロマツとリュウキユウマツおよびタイワンアカマツ雑種苗のマツノザイセンチュウ抵抗性, 日林九支論, 31, 55~56 (1978)
- 89) 白石 進・大山浪雄・高木哲夫・川述公弘: 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, 日林九支論, 31, 57~58, (1978)
- 90) 鈴木和夫・清原友也: マツノザイセンチュウ接種後のクロマツの蒸散量および樹脂滲出量の変化と材中の線虫密度, 86回日林講, 293~295, (1975)
- 91) SUZUKI, K., KIYOHARA T.: Influence of water stress on development of pine wilting disease caused by *Bursaphelenchus lignicolus*. Eur. J. For. Path. 8, 97~107, (1978)
- 92) 庄司次男・陣野好之・早坂義雄・尾花健喜智: クロマツに対するマツノザイセンチュウの時期別接種試験, 94回日林論, 475~476, (1983)
- 93) 竹内寛興・岡村正則・大黒 正・国沢豊純: マツノザイセンチュウの人工接種試験方法について, 林木の育種 (特別号), 33~35, (1978)
- 94) 戸田良吉: 今日の林木育種, 農林出版, P172~181, (1979)
- 95) 戸田忠雄・立仙雄彦・山本 久: 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り枝の水ざしによる検定, 日林九支論, 30, 65~66, (1977)
- 96) 戸田忠雄: 台木樹種を異にしたつぎ木11年生個体のマツノザイセンチュウ接種試験, 日林九支論,

- 32,201~202, (1979)
- 97) 戸田忠雄・坂本和子・一丸喜八郎：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，日林九支論，32,203~204, (1979)
- 98) 戸田忠雄・藤本吉幸・一丸喜八郎：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, (1979)
- 99) 戸田忠雄・西村慶二・藤本吉幸：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，日林九支論，33,207~208, (1980)
- 100) 戸田忠雄：精英樹家系のマツノザイセンチュウ抵抗性，林木の育種，115,21~22, (1980)
- 101) 戸田忠雄：交雑マツにおけるマツノザイセンチュウ抵抗性，日林九支論，34,79~80, (1981)
- 102) 戸田忠雄・藤本吉幸・前田武彦・西村慶二：外国産マツ類等みしょう家系のマツノザイセンチュウ抵抗性，日林九支論，36,103~104, (1983)
- 103) 戸田忠雄：マツノマダラカミキリの樹種選択性，九林育年報，9,132, (1983)
- 104) 戸田忠雄：マツノザイセンチュウの大量培養法—ムギによる培養基の調整と線虫の加害性—，九林育年報，10,111~114, (1983)
- 105) 戸田忠雄・藤本吉幸・西村慶二・山手廣太・前田武彦：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，日林九支論，39,67~68, (1986)
- 106) 戸田忠雄・藤本吉幸：アイノコマツのマツノザイセンチュウ抵抗性—自然交雑苗の冬芽による分類と抵抗性—，日林九支論，41,43~44, (1988)
- 107) 津田知明・小林慎一・片山重俊・伊田貞雄：抵抗性育種に関する試験，関西林育年報，13,91~97, (1977)
- 108) 津田知明・小林慎一・片山重俊・伊田貞雄：抵抗性育種に関する試験，関西林育年報，14,48~61, (1978)
- 109) 渡辺博恭：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, (1982)
- 110) 山川邦夫：野菜／抵抗性品種とその利用，全国農村教育協会，136PP.,(1978)
- 111) 山手廣太・大久保哲也：苗木あたりのマツノザイセンチュウの接種点数と枯損の関係，日林九支論，30,63~64, (1977)

Breeding Project on Resistance to the Pine-wood Nematode
An outline of the research and the achievement of the project for ten years

Yoshiyuki FUJIMOTO⁽¹⁾, Tadao TODA⁽²⁾
Keiji NISHIMURA⁽³⁾, Hirota YAMTE⁽⁴⁾
and Shōichi FUYUNO⁽⁵⁾

Summary

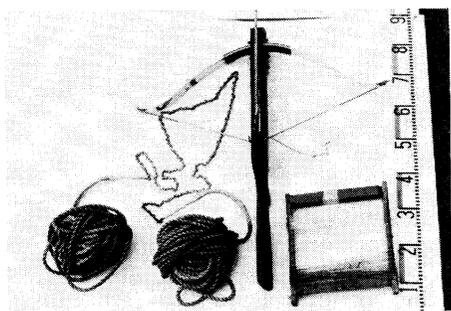
Severe damage of pines by the pine-wood nematode (*Brusaphelenchus xylophilus* (STEINER et BUHRER)NICKLE) has spread in the southwestern part of Japan and nowadays has extended to the northeastern part of Japan. Coping with this damage, we had made developmental researches on the resistance breeding of pines for over ten years. And then, a breeding project for resistance to the pine-wood nematode, as the national project, was started in 1978 in cooperation with three national forest tree breeding institutes and fourteen prefectural organizations. We have selected sound individual pine trees as candidates for the resistance among survivors in severely damaged stands, and they were propagated by grafting to produce ramets for the pine-wood nematode inoculation. The ramets have been tested their degrees of genetic resistance to the pine-wood nematodes.

We selected, as the candidates, 11,446 trees of Japanese red pine (*Pinus densiflora* SIEB. et ZUCC.) and 14,620 trees of Japanese black pine (*P. thunbergii* PARL.). So the total number of candidate trees amounted to 26,066. And then, those trees were propagated by grafting and two years old ten grafts for each candidate trees were inoculated with ten thousand nematodes per each ramets. In order to put the identical selection intensity in different testing sites of the participated organizations and in different inoculation testing years, the inoculation was made on two grafts in each porous pots in a greenhouse with the nematodes of the same isolate in the middle or the end of July. Two years old seedlings from fixed 5 loblolly pines (*P. taeda* L.) were used as a control in the test. The clones which passed the primary (first) inoculation test were put to the secondary (second) inoculation test.

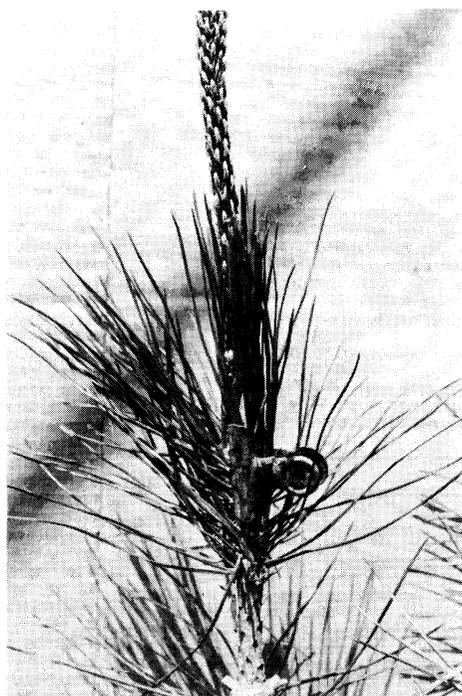
Ninety two clones of Japanese red pine whose survival and sound rates were equal to or higher than these of the check loblolly pine seedlings in the eighth week after the inoculation, and sixteen clones of Japanese black pine whose rates were higher than 60 percent of those of the check seedlings in the sixth week, finally passed the second inoculation test. The passing rates of final survivors to all the candidates tested in the primary inoculation are as follows; 0.85% in Japanese red pine, 0.12% in Japanese black pine and 0.44% in total.

Those passed clones are now being propagated by grafting. And clonal seed orchards are under in establishment. It will take a few years more to produce the resistant seeds on a full scale. In the inoculation test of the seedlings raised from wind pollinated seeds of those selected original resistant trees showed higher survival rate than that of common seedlings. Thus, it also showed reasonable effect of this resistance breeding project.

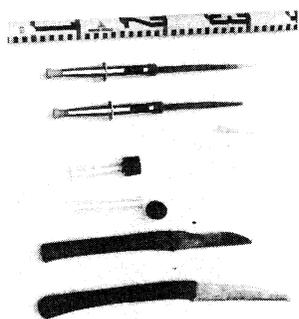
Hereafter, it would be necessary to be engaged in explanation of heredity of resistance, dealing with adaptive change of nematodes, method of early mass production of resistant seeds and plants and investigation of range of their extension area.



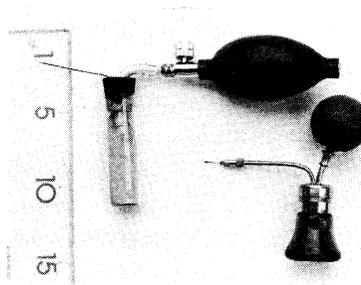
a : ボウガン枝切り器
a Bow-gun with rope and saw-chain
for scion collection



b : 結束用目玉クリップ
Paper clip for setting the grafted scion

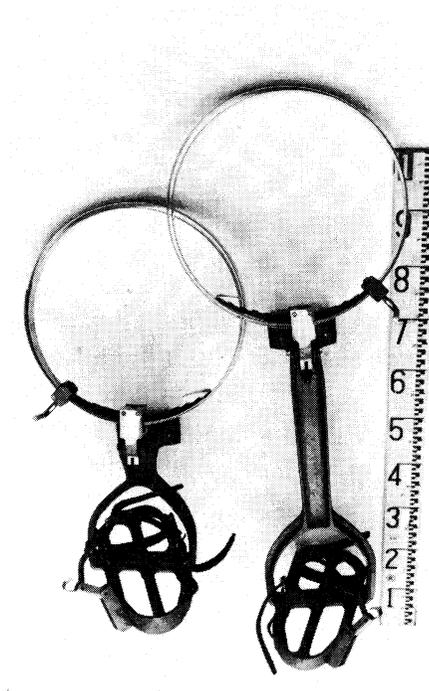


c : 接種用具
Injection tools for inoculation

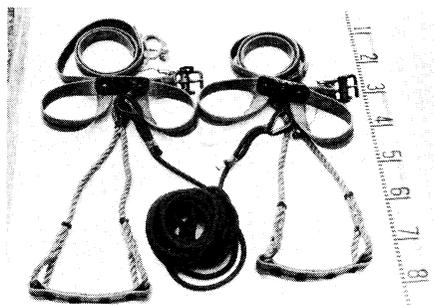


d : 父配用花粉銃
Pollen gun for crossing

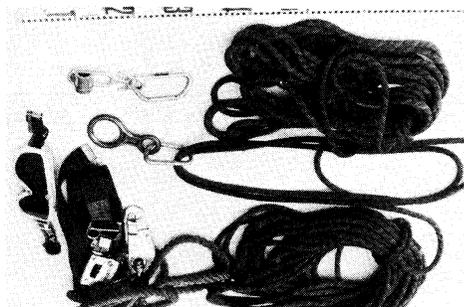
Photo. 2 マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業に使用された器具類
Tools being used in the project



a: スイス式木登器
Tree bicycle made in Switzerland



b: 山福式 E 型複式木登器
Tree climbing tool
(Yamafuku E type)



c: 下降用具
Descending tools



d: 採穂状況
Scion collecting man climbing up a candidate tree

Photo. 1 マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業に使用された器具類
Tools being used in the project

附 属 資 料

マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業実施要領（抜粋）

（53林野造 第131号）
（昭和53年7月17日）

1 目 的

マツノザイセンチュウによるマツの枯損被害は、近年著しく増加していることにかんがみ、「松くい虫防除特別措置法」を制定して現存するマツ林の被害防止の徹底を期するとともに、代替樹種による被害跡地の復旧造林の推進を図っているところであるが、被害跡地の造林については、土壌条件等から代替樹種による復旧が困難なところが多いため、マツノザイセンチュウに対し抵抗性を有するマツの新品種を創出する事業（以下「事業」という。）を実施し、マツノザイセンチュウの被害に対する抜本的対策を講ずることを目的とする。

2 実施主体

事業は次の14県が国立の林木育種場との連携を密にしつつ実施するものとする。

北九州・瀬戸内育種区

福岡県、佐賀県、長崎県、山口県、広島県、岡山県、兵庫県

南九州・四国・近畿育種区

大分県、宮崎県、熊本県、鹿児島県、高知県、愛媛県、和歌山県

3 対象樹種

対象樹種は北九州・瀬戸内育種区及び南九州・四国・近畿育種区の2育種区におけるアカマツ、クロマツとする。

4 年度別事業実施項目

年度別事業実施項目は次のとおりとする。

区 分	53 年度	54 年度	55 年度	56 年度	57 年度
食 補 木 の 選 抜	○	○	○		
採 穂	○	○	○		
つぎき台木床替	○	○	○		
つぎき	○	○	○		
つぎき苗の育成管理		○	○	○	○
検 定			○	○	○
温 室 の 設 置	○				

5 育種手法

- (1) 育種手法は選抜育種手法とし、マツノザイセンチュウによりアカマツ、クロマツの90%以上が枯損した激害地に残存するマツの健全木の中から別途指示する選抜量を候補木（以下「候補木」という。）として選抜し、これらからつぎ穂を採取して、別途養成した台木につぎき増殖する。
- (2) つぎき増殖したマツに、国立の林木育種場で培養したマツノザイセンチュウを人工接種して抵抗性

を検定する。

6 候補木の選抜対象地域

候補木の選抜対象地域は、51, 52年度に実施したマツノザイセンチュウ抵抗性育種委託調査報告及びマツノマダラカミキリ、マツノザイセンチュウの活動に関連する気象要因等を勘案して次に該当する地域とする。

北九州，瀬戸内育種区				南九州，四国，近畿育種区			
県	標高	海岸線からの距離		県	標高	海岸線からの距離	
	クロマツ アカマツ	クロマツ	アカマツ		クロマツ アカマツ	クロマツ	アカマツ
	m	Km	Km		m	Km	Km
福岡	200以下	4以下	25以下	大分	200以下	4以下	25以下
佐賀	200	4	25	宮崎	300	4	25
長崎	200	4	25	熊本	200	4	25
山口	100	4	25	鹿児島	300	4	25
広島	100	4	25	高知	300	4	25
岡山	100	4	25	愛媛	200	4	25
兵庫	100	4	25	和歌山	300	4	25

7 事業内容

(1) 候補木の選抜

- ア 候補木は選抜対象地域において、VI齢級以上でかつマツノザイセンチュウによる被害度が90%以上の林分の中から上層木の健全木を選抜する。
- イ 候補木については、胸高位の上部にペンキで白帯一卷きの表示をし、その上部に番号札を付する。
- ウ 選抜した候補木については、候補木の所有者、林況調査、地況調査等を調査し、別紙様式による調査票及び候補木の位置図（1/250,000）を2部作成する。

(2) 採 穂

採穂は、候補木の頂部から樹高のおおむね1/3の範囲内で健全な穂木を採穂する。

(3) つぎき台木

つぎき台木は、アカマツ、クロマツの2年生床替苗を使用する。

(4) つぎき

つぎきは、1候補木当たり20本の穂作りをしてつぎき増殖する。

(5) 検 定

検定は、候補木のつぎき増殖した苗木について、マツノザイセンチュウに対する抵抗性を検定するため、林野庁長官が別に定める検定要領に従い実施する。

(6) 温室の設置

温室は、つぎき適期の拡大と正確な検定を行うため、次の規格、規模に従って設置する。

ア 規 格

(ア) 天窓開閉式温室

(イ) 暖房装置一式及びミスト装置一式附属する。

イ 規 模

規模は効率性に配慮すること。

8 報 告 等

- (1) 都道府県知事は、7のウで作成した調査票及び位置図を当該年度末までに林野庁長官に報告する。
- (2) その他事業実施の細部については、林野庁長官と協議の上実施するものとする。

