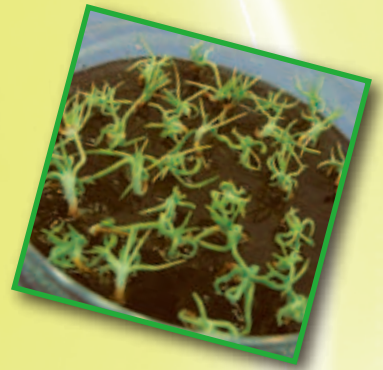
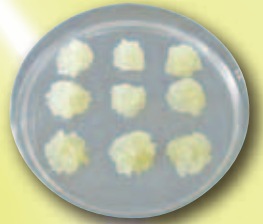
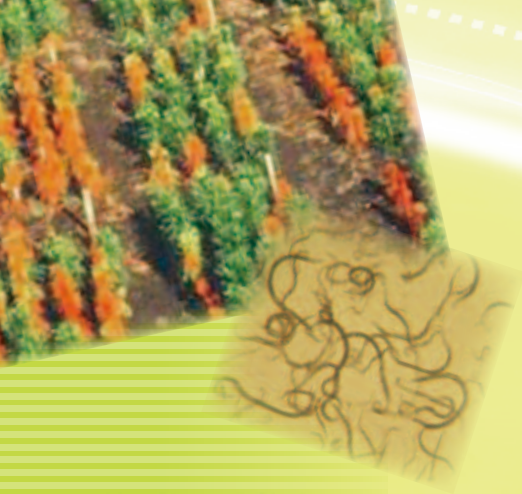


寒冷地における マツノザイセンチュウ抵抗性 クロマツ苗木の安定供給

採種園管理者と苗木生産者のためのマニュアル



国立研究開発法人

森林総合研究所

林木育種センター 東北育種場

はじめに —このマニュアルのねらいと構成

東日本大震災では、東北地方の太平洋沿岸地域において1,000ha以上の海岸防災林が津波によって壊滅的な被害を受けた。被災した海岸部周辺では、住環境を改善し、経済活動としての農業を復興するために、おもに樹種の特性として耐塩性に優れたクロマツを植栽し、潮・風・飛砂への防備機能を持つ海岸防災林を再生することが必要とされた。一方、マツ材線虫病（用語説明参照）の被害が拡大しつつある東北地方では、病原体であるマツノザイセンチュウに対して抵抗性を持つクロマツを植栽することが望ましい。しかしながら、このマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ（以下、抵抗性クロマツ：用語説明参照）、殊に東北地方産種苗の供給量には限りがあり、海岸防災林の再生計画で予定された需要に応えるためには、西日本等の温暖地から抵抗性クロマツ種苗を導入して補完することも検討された。このような状況の下で、われわれは、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業（実用技術開発ステージ・現場ニーズ対応型）として、平成25年度にプロジェクト「東北地方海岸林再生に向けたマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ種苗生産の飛躍的向上」（以下、プロジェクト）を立ち上げ、3年間にわたり抵抗性クロマツの苗木生産を飛躍的に向上させる技術と、温暖地産の抵抗性クロマツ種苗を寒冷な東北地方へ導入する技術の開発に取り組み、海岸防災林の再生現場に抵抗性クロマツ苗木を供給するシステムを構築した。

このたび、プロジェクトの成果として発行したこのマニュアルで紹介する供給システムは、おもに寒冷地における抵抗性クロマツ苗木の供給を対象としているが、マツ材線虫病の被害が深刻化している地域に広く普及されることによって、各地で需要に応えられる抵抗性クロマツ苗木の安定供給システムが構築され、クロマツ海岸防災林の再生が全国的に進み、海岸部周辺における住民の生活と営農が継続されることを願う。

このマニュアルの構成としては、まず、苗木の特徴について供給方式（実生苗、クローン苗、導入苗）別に解説し、本編では、作業の全体像をつかむことに重点を置いて手順を示した。また、技術を習得する上で必要とされる情報を「予備知識」および「用語説明」で提供し、さらに、東北地方での実施例を「プロジェクトについて」で紹介した。

平成28年2月
国立研究開発法人 森林総合研究所
代表者 織部 雄一郎

本マニュアルの作成に携わったメンバー

国立研究開発法人 森林総合研究所

林木育種センター 東北育種場

（平成27年3月まで）

（平成27年4月から）

生物工学研究領域

地方独立行政法人 青森県産業技術センター 林業研究所

宮城県林業技術総合センター

福島県林業研究センター

（平成27年3月まで）

（平成27年4月から）

キリン 株式会社 R&D本部 基盤技術研究所

宮城県農林種苗農業協同組合

織部 雄一郎

山野 邊 太郎

宮本 尚 子

丸山 毅

田中 功 二

今野 幸 則

小澤 創

川上 鉄 也

大西 昇

太田 清 蔵

目 次

- ・はじめに — このマニュアルのねらいと構成
- ・苗木の特徴 — 供給方式別 1

1. 優良種子の生産性の向上

- 1.1. BAP 処理による雌花の着生促進(田中功二).... 2
 - 1.1.1. 計画策定 3
 - 1.1.2. 処理適期の探索と被処理クローンの選定 3
 - 1.1.3. 被処理木への BAP 投与 3
 - 1.1.4. 幼球果摘果処理 5
 - 1.1.5. 球果採取 5
 - 1.1.6. BAP 処理で得られる球果と種子の特徴 6
- 1.2. SMP による種子の充実率の向上と品質保持(宮本尚子・山野邊太郎).... 7
 - 1.2.1. 計画策定 8
 - 1.2.2. 花粉の採取 8
 - 1.2.3. 花粉の保存 9
 - 1.2.4. SMP 9
- 1.3. 充実種子の確実な選別(宮本尚子・山野邊太郎)....10
 - 1.3.1. 種子の取り出し10
 - 1.3.2. エタノール精選11

2. クローン苗の増殖

- 2.1. さし木増殖(今野幸則)....12
 - 2.1.1. さし床（発根床と育苗箱）13
 - 2.1.2. 採穂13
 - 2.1.3. 穂づくり14

2.1.4. さしつけ	14
2.1.5. さしつけ後の管理	15
2.1.6. さし木苗のコンテナ苗化	15
2.2. 未熟種子由来の不定胚からの組織培養苗の大量増殖	(大西昇・丸山毅) 16
2.2.1. 培地	17
2.2.2. PEM の誘導 / 維持	19
2.2.3. PEM の増殖	20
2.2.4. 不定胚の誘導	21
2.2.5. 不定胚の脱水	22
2.2.6. 不定胚の発芽	22
2.2.7. 不定胚の苗化	23
2.2.8. 不定胚の馴化 / 育苗	23
2.2.9. 課題	24

3. 導入種苗の利用

3.1. 温暖地産種苗の導入	(川上鉄也) 25
3.1.1. 導入形態（種子と苗木）の選択	26
3.1.2. 種苗の入手	26
3.1.3. 種子による導入	26
3.1.4. コンテナ苗による導入	26
3.1.5. 裸苗による導入	26
・ 予備知識	28
・ 用語説明	31
・ 全国山林種苗協同組合連合会会員連絡先	32
・ プロジェクトについて	33

苗木の特徴 ー供給方式別

マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ苗木の種類としては、実生苗、さし木苗、未成熟種子由来の組織培養苗、導入苗がある。使用に当たっては、各種の特性を理解して、用途に合った種類の苗木を選択する必要がある。ここでは、マツノザイセンチュウ抵抗性（以下、**抵抗性**）、**供給量**、**多様性**について、それぞれの特徴を解説する。

実生苗

マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ採種園産の種子から、育成した苗木

抵抗性 母樹と花粉親から遺伝すると考えられる。園外からの外来花粉との交配の影響を受ける。

供給量 採種園の規模によるが、大量生産が可能である。

多様性 遺伝的な多様性に富む。

導入苗

他の産地のマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ採種園で生産された種子から、育成した苗木

抵抗性 一部の産地では、マツノザイセンチュウを接種した生存苗（◎）を出荷している。

供給量 他の地域での需要によって影響を受ける。

多様性 遺伝的な多様性に富む。

さし木苗

マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツから、さし木増殖した苗木

抵抗性 いわゆるクローンであることから、親木（採穂木：抵抗性クロマツ）と同等と考えられる。

供給量 採穂木の大きさと本数およびさし木施設の規模によって決まる。

多様性 採穂木の種類（クローン数）を増やすことで多様性を高められる（○）。

未熟種子由来の組織培養苗

マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ採種園産の未熟種子から、組織培養技術によって作られた苗木

抵抗性 実生苗と同レベル（○）であり、抵抗性が高いクローン（◎）の可能性はある。

供給量 1クローン当たり1,000（○）～100,000（◎）本生産できる。

多様性 組織培養系統の種類を増やすことで多様性を高められる（○）。

表 各種のマツノザイセンチュウ抵抗性苗木の特徴

	実生苗		クローン苗	
	実生苗	導入苗	さし木苗	組織培養苗
抵抗性	○	○/◎	◎	○→◎
供給量	◎	△	△	○→◎
多様性	◎	◎	△→○	△→○
プロジェクトでの位置づけ	主力	補完	暫定	

1. 優良種子の生産性の向上

寒冷地において、6-ベンジルアミノプリン（以下、BAP：用語説明参照）による雌花の着生促進、簡易な人工交配（以下、SMP：用語説明参照）による種子生産の量的・質的向上と充実種子（用語説明参照）の確実な選別によって、確実に発芽する優良な採種園産種子を増産する。

1.1. BAP 処理による雌花の着生促進

寒冷地の採種園において、採種木に BAP を投与して雌花の着生量を増加させる。



図1. 寒冷地における BAP 処理による雌花の着生促進の全体工程

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
1年目				BAP処理 計画立案	BAP 処理							
2年目		開 花	通常の採種園管理 (農薬散布、下草刈り、追肥等)						幼球果 摘果処理			
3年目	球果肥大					球果 採取	種子の調整 (精選、発芽率調)					
4年目	播 種											

図2. 寒冷地における BAP 処理作業に関わるスケジュール

準備するもの

取り扱いに注意を要する物質

- ・劇物 KOH（水酸化カリウム）

BAP ペースト塗布用

- ・BAP、1 N 水酸化カリウム水溶液、ラノリン、白色ワセリン、蒸留水、Tween20（界面活性剤）
- ・メスシリンダー、ビーカー、薬さじ
- ・電子天秤、電子レンジ
- ・プラスチック製50ml 注射器（横口、針なし）

BAP エタノール溶液注入用

- ・BAP、1 N 水酸化カリウム水溶液、純度95 % エタノール（99.5 % も可）、蒸留水
- ・メスシリンダー、ビーカー、薬さじ
- ・電子天秤、電子レンジ、電気ドリル
- ・プラスチック製油さし（容量20～40ml）

1.1.1. 計画策定

BAP を用いた雌花の着生促進処理では、採種園の気象条件と構成クローンの着花特性や BAP への感受性の違いを考慮し、処理適期と被処理クローンを決定するために予備試験を実施することが重要である。予備試験を実施した翌春に雌花の着生状況を調査し、BAP 処理の具体的な計画を策定する（図2）。1 年目は、計画をもとに採種園で BAP 処理を実施する。2 年目の春には BAP 処理で誘導された雌花が開花・交配し、秋には幼球果ができる。2 年目の秋もしくは3 年目の春には摘果によって球果の着生密度を調整する。3 年目の秋には成熟した球果を採取して種子が生産される。4 年目の春には、苗木生産に向けて播種できる。

1.1.2. 処理適期の探索と被処理クローンの選定

- ・予備試験を実施する採種園において、9 月を目安に約 1 ヶ月わたって1 週間毎に BAP を投与する。
- ・翌年の開花期（4～5 月）に着花調査を実施する。
- ・着花調査の結果から、各クローンについて BAP による雌花の着生促進効果が認められた処理時期を探索するとともに、雌花の着生が悪いクローンは処理対象から除外する。
- ・予備試験を実施できない場合には、BAP 処理を実施する年度のクロマツの開花期に採種木を観察し、雄花の着生量が多いクローンを処理対象とする。

❗処理適期は、処理を実施する年度の気象条件やクローンによって変動することがある。

1.1.3. 被処理木への BAP 投与

BAP は、ペースト塗布かエタノール溶液注入によって被処理木に投与する。

a. ペースト塗布

表1. 低粘度 BAP（濃度2g/L）ペーストの組成

薬品	使用量
BAP	0.4 g
水酸化カリウム水溶液（1N）	4 ml
ラノリン	49 ml
白色ワセリン	49 ml
蒸留水	98 ml
Tween20	2 滴
計	200 ml

- ・秤量した BAP をビーカーに投入し、水酸化カリウム水溶液を加えて完全に溶解する（①）。
- ・別のガラスビーカーに秤量したラノリンと白色ワセリンを投入し、薬さじで簡単に攪拌できる程度まで、溶け具合を注意しながら電子レンジ（湯煎より簡単）で加温する（②）。
- ・②に①、蒸留水、Tween20を加えて薬さじで攪拌する。
- ❗1,000回程度攪拌すると水と油が混ざってペースト状になる。低温下では、さらに攪拌する。
- ・薬さじ等を使って BAP ペーストをプラスチック製50ml 注射器に詰め込む（図3）。
- ❗横口タイプの注射器は、注射器内から空気を排除し易く詰め込みが容易である。
- ・シリンジから 1 ～ 2 mg のペーストを押し出し、冬芽全体に塗布する（図4）。
- ❗一次（幹から直接伸びる）枝については、雌花が大量に着生することによる負担を軽減するために、処理枝に着生している冬芽の総数の1/3程度に処理することを目安とする。



図3. ペーストを充填した注射器

図4. 冬芽（左）への BAP ペースト塗布（右）

b. エタノール溶液注入

表2. BAP（濃度20g/L）エタノール溶液の組成

薬品	使用量	
BAP	2	g
水酸化カリウム水溶液（1N）	20	ml
95%エタノール	60	ml
蒸留水	20	ml
計	100	ml

- ・秤量した BAP をビーカーに投入し、水酸化カリウム水溶液を加えて完全に溶解する（①）。
- ・①に、エタノール、蒸留水を加えてよく攪拌する。
- ・BAP エタノール溶液を油さし容器に20ml 入れる（図5左）。
- ・油さし容器の注ぎ口は、樹脂による詰まりを軽減するために、先端部を斜めに切断する（図5右）。



図5. エタノール溶液用の油さし容器（左）と先端部の切断加工（右）

- ・油さし容器が斜めに刺さるように、一次枝の幹に近い部位に電動ドリルで穴をあける。
- ❗プロジェクトでは、穴の直径は 5 mm、深さは 4 cm とした。
- ・液漏れしないように、穴に油さし容器の先端を十分にさし込む（図6左）。
- ・油さし容器の底部にはさみ等で空気穴をあける（図6右）。



図6. 一次枝にさし込んだ油さし容器（左）と容器底部にあけた空気穴（右：赤矢印）

- ・エタノール溶液が吸収されたら（通常2日程度）、容器を取り外した穴に樹木用癒合剤を充填する。

1.1.4. 幼球果摘果処理

BAP 処理によって、本来雄花に分化する花芽原基から雌花が誘導される。雄花が多く着生するクローンでは、枝条先端部に雌花が100個以上着生する場合がある（図7）。密生状態の幼球果は、肥大成長が妨げられて成熟時には小型化する（図8）。そこで、幼球果の肥大成長を促進するために、幼球果が肥大し始める開花結実翌年の春に先行して摘果し、適正な幼球果数に調整する。

- ・開花結実年の秋、あるいは翌年の春に幼球果を手でもぎ取る。
- ・球果の着生数は、1枝あたり多くて8個程度であり、これを適正な幼球果数の目安とする。

❗プロジェクトでは、摘果処理による球果の肥大効果は認められなかった。



図7. 一次枝へのエタノール溶液注入で誘導された雌花群（左）と幼球果（中央：7月、右：10月）
抵抗性クロマツ鳴瀬39号

1.1.5. 球果採取

- ・林業種苗法施行規則第27条に従って、9月20日以降に球果を採取する。
- ・採取した球果は自然乾燥、あるいは人工乾燥させ、開鱗・脱粒して種子を取り出す（図9左）。
- ・乾燥処理で開鱗しなかった球果は、水に一昼浸漬し（図9右）、再度乾燥処理する。
- ・二度の乾燥処理でも開鱗しない球果は、ペンチ等で鱗片を取り除きながら種子を取り出す。



図8. BAP 処理で誘導された球果（上）と通常の球果（下）
精英樹西津軽1号



図9. BAP で誘導された球果の開鱗（左）と未開鱗時の水浸処理（右）
精英樹仙台10号

1.1.6. BAP 処理で得られる球果と種子の特徴

- ・球果は、通常よりも小型で（プロジェクトでは球果の体積は 3.1cm^3 ：通常の22%）、開鱗し難い傾向がある。
- ❗球果を正常に肥大させるには、球果の適正な着生数、摘果技術や採種木の肥培管理方法について検討する必要がある。
- ・通常に比べて種子は、小型で、1,000粒重は6割程度で、発芽率（播種後21日目）は5割程度で、発芽勢（播種後14日目の発芽率）も低い（図10）。
- ❗種子の大きさと発芽率を改善する必要がある。
- ❗得られた種子を用いてコンテナ（用語説明参照）で育苗する場合には、通常の成育期間内に規格（苗高、根元径）苗が生産できるか実証する必要がある。

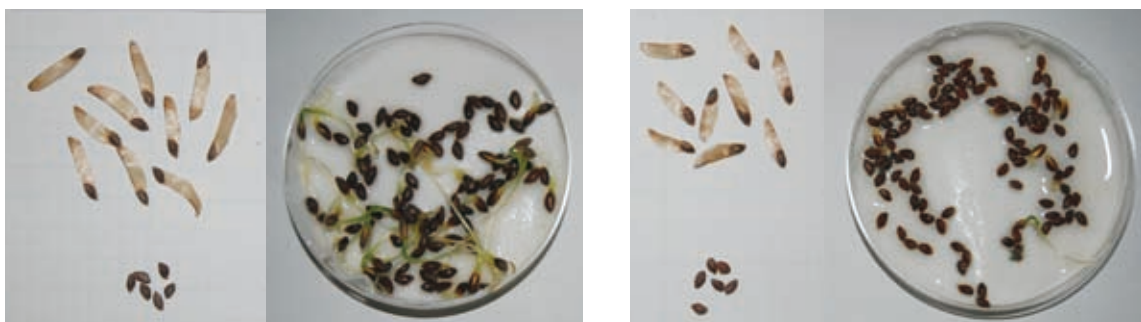


図10. 通常の種子（左）と BAP 処理で得られた種子（右）の発芽状況（播種後7日目）
精英樹仙台10号

参考文献

- 1) 涌嶋智、広島県立林業技術センター研究報告、31、1 - 7（1999）
- 2) Wakushima S. J Plant Grow. Regul., 23, 135 - 145（2004）

1.2. SMP による種子の充実率の向上と品質保持

寒冷地の採種園において、種子の生産性を向上させるとともに品質を保持する。

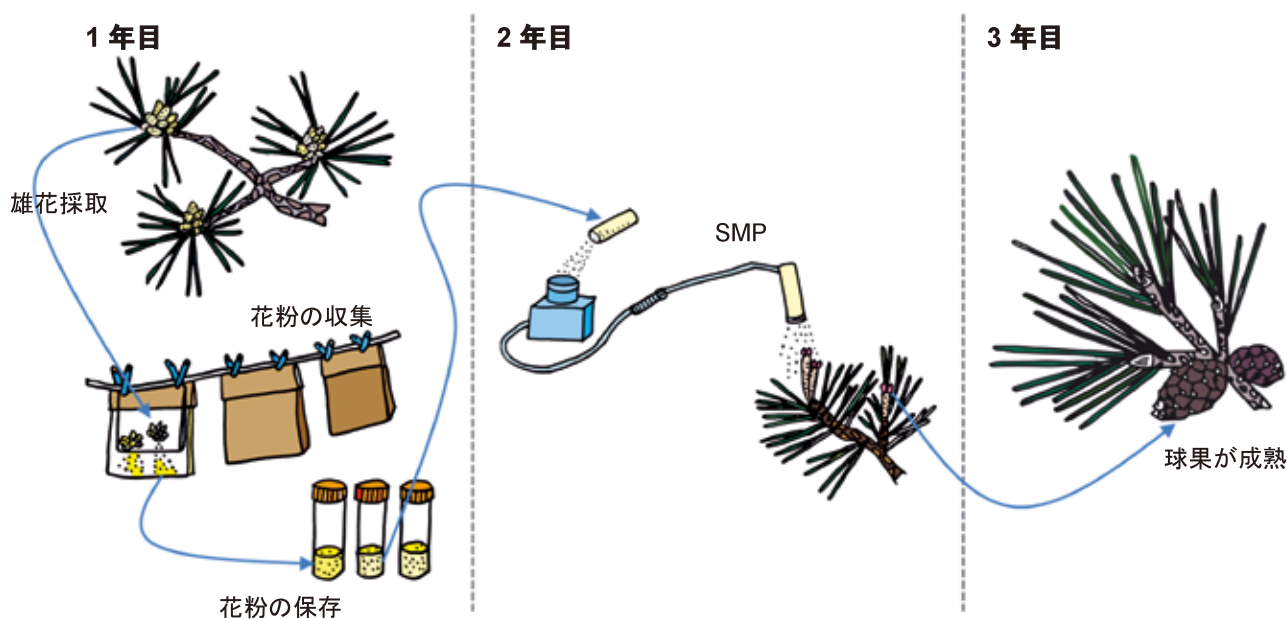


図11. SMP による種子の充実率の向上と品質保持の全体工程

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
1年目		花粉収集	花粉保存									
2年目	花粉保存	SMP	球果の発達期間									
3年目	球果の発達期間							球果採取	球果乾燥 種子精選	種子保存		

図12. 寒冷地における SMP に関わる作業スケジュール

開花の時期は年によって半月から1ヶ月ずれる

準備するもの

器具類

- ・タマネギ用ネット（ストッキングタイプの排水口ネットも可）、グラシン袋、バット、遠沈管
- ・花粉噴霧器、エアダスター

試薬

- ・シリカゲル（用語説明参照）

1.2.1. 計画策定

SMP は、多量の花粉を交配適期の雌花に吹きつけて、目的とする組み合わせの交配を効率的かつ簡易にする処理である。SMP を実施する年の前年よりも前に、花粉親から花粉を採取し、適切に保存しておく必要がある。例として、1年目に交配計画の策定と花粉の採取・保存、2年目の春に SMP を実施し、3年目に球果を採取する場合の作業スケジュールを図12に示す。

1.2.2. 花粉の採取

- ・花粉が飛散する直前に、系統ごとに分けて雄花をもぎ取る（図13）。
- ・雄花は、一度水洗し（図14）、吸湿性のある紙の上に並べて表面の水分を取る（図15）。



図13. 系統別に採取した雄花



図14. 水洗



図15. 水分の吸い取り

- ・タマネギ用ネット（ストッキングタイプの排水口ネットも可）に雄花を入れる。①
- ・系統を表示したグラシン袋の中に①を入れ、袋の口を折り返して封をする（図16）。

❗この工程によって花粉と雄花の残骸が分離できる。



図16. グラシン袋に入れたタマネギ用ネット（左）と排水口ネット（右）

- ・直射日光が当たらない、風通しのよい場所で、張りわたした針金等にグラシン袋を吊して洗濯バサミ等で固定し、3日程度を目安に乾燥させる（図17）。
- ・袋の中で花粉をふるい落とす。
- ・袋の底の角を切り、系統名と採取年月日等を記した遠沈管などに花粉を注ぎ込む（図18）。

❗花粉の吸入を防ぐために、マスク等を着用し、ドラフトチャンバー内で作業する。



図17. 雄花が入った袋の乾燥

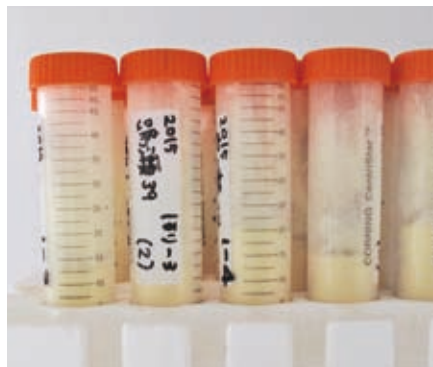


図18. 採取した花粉

1.2.3. 花粉の保存

- ・薬包紙で包んだシリカゲルを、花粉が入った瓶に入れ、シリカゲルの色が変わらなくなるまで新しいシリカゲルと交換しながら（2～3日程度）花粉を乾燥させる。
- ・乾燥させた花粉は、冷蔵あるいは冷凍庫内で適切に保管する。

❗ -196℃、-20℃と5℃では、2年保存した花粉の発芽能力が確認されている。

1.2.4. SMP

- ・受粉適期（予備知識：雌花の受粉適期参照）に、交配する系統の花粉を入れた花粉交配器（図19、用語説明参照）で、雌花が覆われるように花粉を吹きつける（図20）。

❗ 複数の系統の花粉を使う場合は、系統を替えるたびに花粉を入れる容器を取り外し、ノズルから花粉が出なくなるまで花粉交配器を運転する。さらに、エアダスターなどで花粉交配器本体についた花粉を除去してから別の系統の花粉を入れる。



図19. 遠沈管（左）を取りつけた花粉交配器（中央）を用いた採種園における SMP（右）



図20. 珠孔液が出る受粉適期に SMP によって花粉（黄色）で覆われた雌花

1.3. 充実種子の確実な選別

エタノールによる比重選を活用し、寒冷地の採種園産種子から、確実に発芽する充実種子を95%以上の精度で選別する。

準備するもの

器具類

- ・タマネギ用ネット（ストッキングタイプの排水口ネットや紙袋も可）、お茶袋、ふるい
- ・ピーカー、茶こし、ピンセット
- ・薬包紙、ビニール袋

試薬

- ・純度99.5 % エタノール

1.3.1. 種子の取り出し

- ・採取した球果は、系統ごとにタマネギ用ネット（ストッキングタイプの排水口ネットや紙袋も可）に入れ、暖かい室内で乾燥させて開かせる（図21）。

❗羽つき種子は、球果が開く際に舞い上がるので、他の系統と混ざらないように隔離する。



図21. 系統ごとにタマネギ用ネット（左）や紙袋（右）に入れた球果

- ・開きが悪い球果は、必要に応じて浸水と乾燥を繰り返して開かせる。
- ・紙袋を使う場合には、球果が十分開いたら、中身が飛び出さないように口を折り返す。
- ・タマネギ用ネット（ストッキングタイプの排水口ネットや紙袋も可）を強く振り、球果から脱落した種子を回収する。
- ・球果を取り出して、ピンセットなどで鱗片の間に挟まっている種子を取り出す（図22）。
- ・取り出した羽根つき種子は、お茶袋などに入れ、軽くもむことで種子と羽を分離する。タマネギ用ネットを使う場合には、球果や針葉などの夾雑物を取り出した後、ネットをもむと羽が細くなり種子のみを分離することができる（図23）。
- ・ふるいなどを使用して種子と羽を分離する（図23）。



図22. 鱗片の間に挟まった種子の取り出し



図23. お茶袋（左）とふるい（右）による種子と羽の分離

1.3.2. エタノール精選

❗ 種子は、高濃度のエタノールに長時間浸漬すると発芽しなくなる。

- ・ 種子を純度99.5%エタノールに投入し（図24）、茶こしなどを用いて30秒以内に浮いた種子（シイナ：用語説明参照）と沈んだ種子（充実種子）を分離する（図25）。
- ・ 選別した充実種子は、ティッシュペーパーなどの上に広げ、素早くエタノールを揮発させる。
- ・ 充実種子は薬包紙やビニール袋などに入れ、系統名を明記して冷暗所で保存する。



図24. エタノールへ投入（左）して沈む充実種子と浮くシイナ（右）



図25. 茶こし（左）による充実種子（黒）とシイナ（白）の分離（右）

2. クローン苗の増殖

寒冷な東北地方において抵抗性クロマツ苗をさし木で増殖し、さし木毛苗を海岸植栽への順応性を高めるためにコンテナ苗化する。また、抵抗性クロマツの未熟種子からクローン苗木を大量に増殖する。

2.1. さし木増殖

寒冷地において、さし木増殖で50%以上の得苗率を達成し、さし木苗の海岸植栽への順応性を向上させるためにコンテナ苗化する。

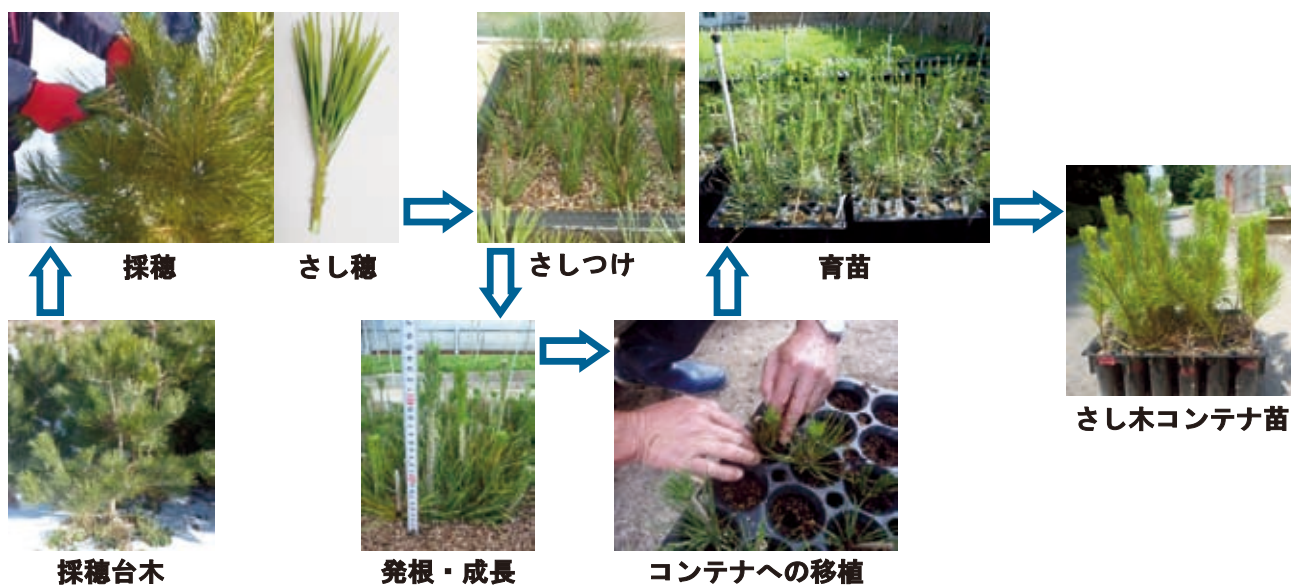


図26. 寒冷地におけるさし木増殖の全体工程

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
1年目										さし床作り	採穂 さしつけ	台木の 剪定
2年目	台木の 剪定	さし穂管理 (散水・換気)										
			コンテナ 移植	コンテナ苗の育苗 (散水・除草・追肥等)								
3年目	海岸植栽						海岸植栽					
	コンテナ苗の育苗 (散水・除草・追肥等)											

図27. 寒冷地における抵抗性クロマツのさし木に関わる作業スケジュール

宮城県林業技術総合センターの例

準備するもの

さし木用

- ・パーミキュライト、パーライト、育苗箱、温床線あるいは電熱マット、散水器具
- ・剪定ばさみ、水切りかご、トロ箱
- ・切り出しナイフ、切り台
- ・オキシベロン液剤、案内棒、ビニール手袋
- ・ハウスビニール、ビニールトンネル用支柱

コンテナ苗化用

- ・コンテナ（マルチキャビティコンテナ、M スターコンテナ等）、コンテナ用培土、トロ箱
- ・剪定ばさみ、案内棒
- ・保水剤

2.1.1. さし床（発根床と育苗箱）

- ・用土として、パーミキュライトとパーライトを8：2の割合で配合する。
- ・底に温床線を配線した発根床、あるいは電熱マットの上に置いた育苗箱（図28）に、深さ12cm 程度まで用土を入れ、十分に散水する。



図28. 用土を入れた育苗箱

2.1.2. 採穂

- ・2月に、冬芽のつけ根から下を7～10cm 残すようにして、剪定ばさみで採穂台木から荒穂を切り取る（図29）。

❗採穂台木の上部から採取したさし穂は、発根率が低い傾向がある。

- ・荒穂は、切り口をそろえて水切りカゴに入れる。
- ・荒穂が入った水切りカゴをトロ箱に並べ、流水を注入して荒穂の切り口を一晩水にさらす。



図29. 採穂木からの荒穂の採取

2.1.3. 穂づくり

- ・一晚流水にさらした荒穂は、冬芽のつけ根から下の1 cm 程度の範囲を残して、それより下の部分に着生している針葉をすべて手でむしり取る（図30）。
- ・冬芽は、大きなものを1つ残して、すべて手でむしり取る（図31）。
- ・さし穂は、長さが5 cm 程度で切り口が斜めになるように鋭利な刃物で基部を切り落とし、次いで切り返しをして切り口を整える（図32と33）。
- ・すぐにさしつけられない場合には、乾燥を防ぐためにさし穂の切り口を水に漬けておく。



図30. 針葉をむしり取った荒穂



図31. 残した冬芽



図32. さし穂基部の切削



図33. さし穂基部の切り口

2.1.4. さしつけ

- ・さし床には、さし穂をさしつける場所にあらかじめ案内棒で穴を開けておく。
- ・発根促進剤（インドール酪酸（IBA）を含むオキシベロン液剤原液：IBA 濃度0.4%）に、さし穂の切り口を5秒間浸漬する（図34）。
- ❗発根促進剤は、さし穂から出る樹液で汚れたり、水分で薄まった場合には新しいものと交換する。
- ・さし穂は、残した針葉の直下まで用土にさしつけ、地際を手で押さえて用土と密着させる（図35）。
- ・さしつけ完了後（図36）、温床線または電熱マットの電源を入れて、さし床の温度を23℃に調節する。



図34. 発根促進剤処理



図35. さしつけ作業



図36. さしつけ完了

2.1.5. さしつけ後の管理

- ・発根床および育苗箱の上には、ビニールトンネル用支柱を立て、上からハウスビニールを被せて密閉状態にする（図37）。
- ❗️ハウスビニールの裾が飛ばないように、角材等を置いて固定する。
- ・密閉状態にするが2～3日に1度は十分に灌水する。目安としては、日中にビニールトンネル上部に水滴がついている状態が望ましい（図38）。
- ・芽の伸長が確認できた場合には（さしつけ後約2ヶ月程度）、ビニールトンネル内の温度が日中30℃を超えたら、温度を下げるためにハウスビニールを外して換気する。夜間は、ハウスビニールを元に戻す。
- ・5月上旬には、ビニールトンネルを撤去する。

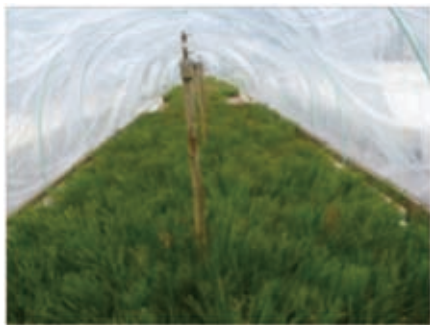


図37. ビニールトンネル内のさし穂



図38. ビニールトンネル上部についた水滴

2.1.6. さし木苗のコンテナ苗化

- ・コンテナ培土に水分を十分に含ませておく。
- ・コンテナに培土を充填する（図39）。
- ❗️充填後に培土は締固めない。
- ・コンテナには、あらかじめ案内棒で移植用の穴を開けておく。
- ・さし木苗の根は、剪定ばさみ等で長さ6～7cmに切りそろえる。
- ・根に保水剤を塗布する。
- ❗️根の乾燥を防止するとともに、根がしまって移植しやすくなる。
- ・さし木苗は、根が切れないように、移植用の穴へ残った針葉の直下まで静かに差し込む。（図40）
- ・さし木苗が動かないように手で培土を押さえる。（図41）
- ・移植直後に（図42）、コンテナの底部から水がしみ出すまで十分に散水する。



図39. コンテナへの培土の充填



図40. 根に塗布した保水剤



図41. さし木苗のコンテナへの植えつけ



図42. 移植完了

2.2. 未熟種子由来の不定胚からの組織培養苗の大量増殖

抵抗性クロマツの未熟種子から不定胚形成細胞（以下、PEM：**用語説明**参照）を確立し、PEM から不定胚を誘導する。これらの不定胚を発芽・発根させて苗化する。

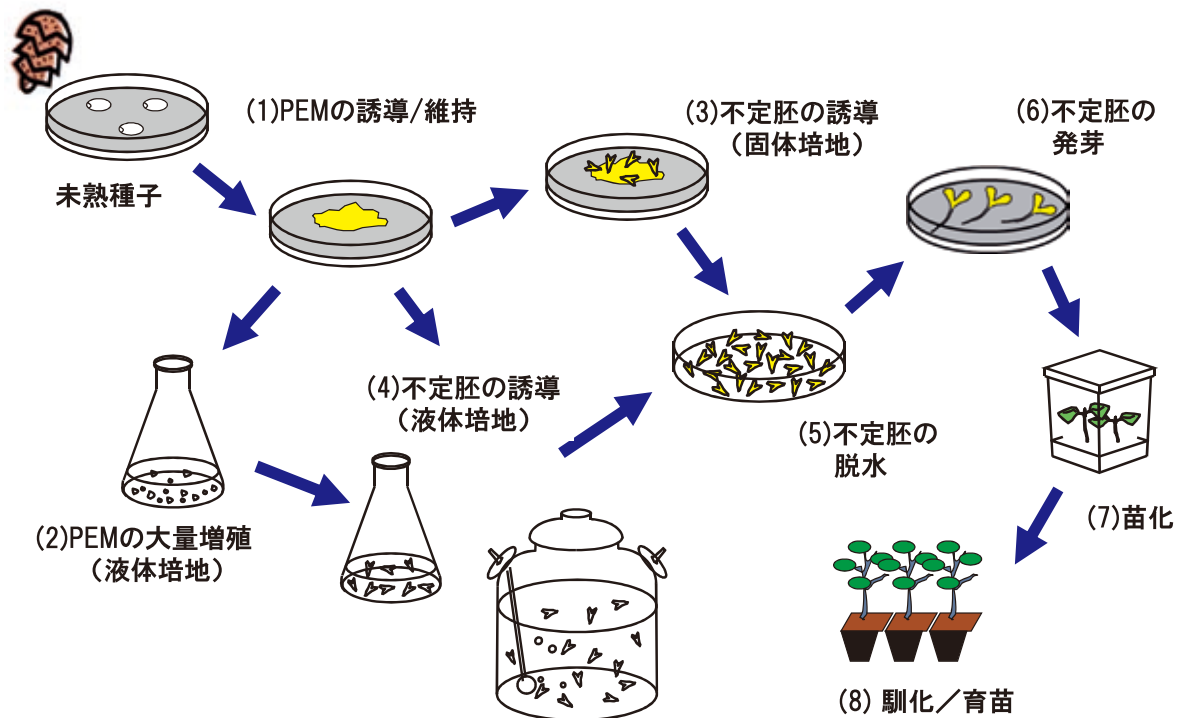


図43. 未熟種子からの不定胚による組織培養苗の大量増殖の全体工程

準備するもの

器具類

- ・ステンレスメッシュ（300 μ ）、ピペット、ピンセット、メス
- ・三角フラスコ（300ml等）、滅菌シャーレ（60×15mm、90×15mm、90×20mm）、滅菌6穴シャーレ、培養槽（4～6Lスピナーフラスコ等）、培養容器（プラントボックス等）
- ・実体顕微鏡、振とう培養機、低速攪拌機（培養槽用）、エアーポンプ
- ・ココピート（馴化用土）、トレイ、ペーパーポット（300穴）遮光ネット（または遮光環境）、フラワーキャップ（または保湿環境）

試薬

- ・アンチホルミン、エタノール、滅菌水
- ・培地作成用試薬（表3）

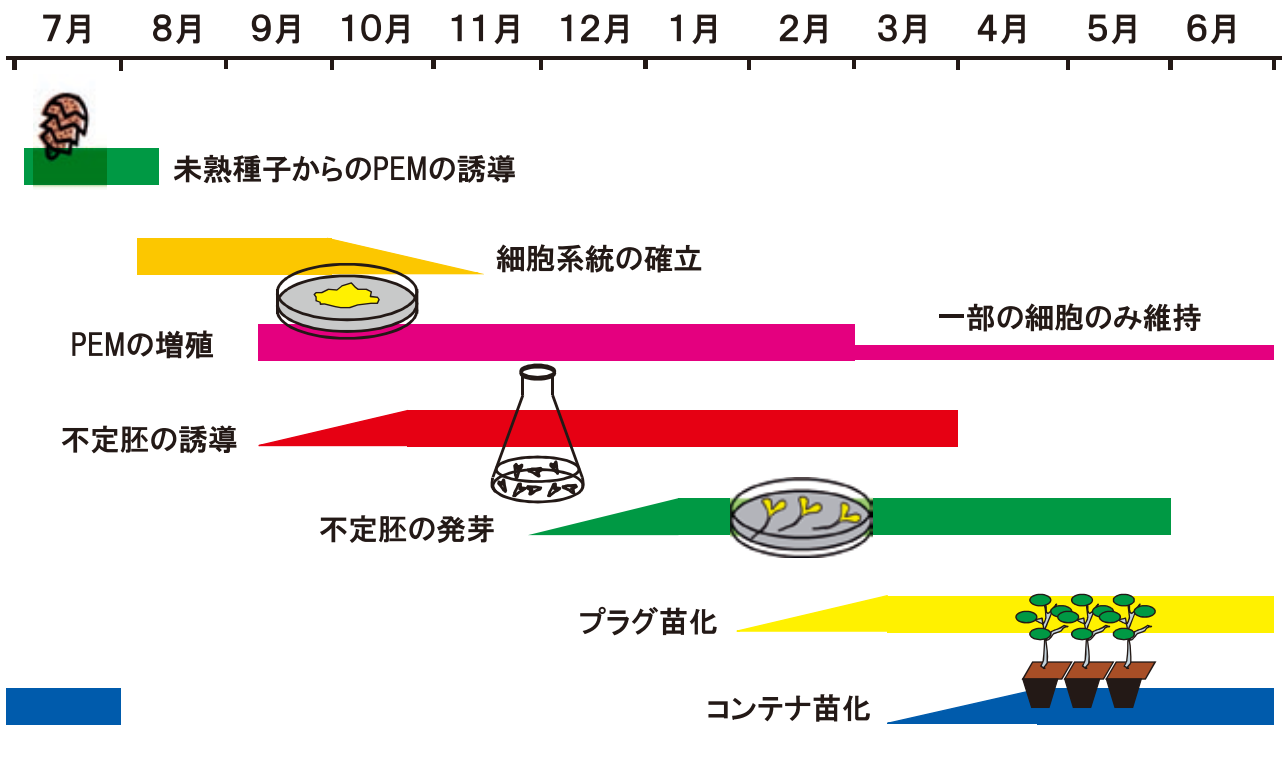


図44. PEM の誘導から組織培養苗作製までの作業スケジュール

注) プラグ苗をコンテナ苗化する技術は開発途上にある。

①誘導した PEM を、翌年の不定胚誘導に用いることを基本とする。細胞系統の一部は、翌々年用の予備材料として維持する。

2.2.1. 培地

取り扱いに注意を要する物質

- ・ 特定化学物質 $\text{MnSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$
- ・ 劇物 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$

注) 培地の番号 (例①) は図43の各工程の番号 (例 (1)) に対応している。

①: PEM の誘導および維持 (固体) 培地・量: $90 \times 15\text{mm}$ 滅菌シャーレ当り 20ml

LP 基本培地¹⁾+2% ミオイノシトール +500ppm カゼイン +450ppm グルタミン*+0.05ppm ビオチン +0.5ppm 葉酸 +1.5% マルトース +2ppm NAA+0.63ppm BA+0.61ppm カイネチン +0.8% 寒天 (pH5.8)

②: PEM の増殖 (液体) 培地・量: 300ml フラスコ当り 100ml

LP 基本培地 (NH_4NO_3 は 600mg/L に、Fe・EDTA は 10.5mg/L に変更) +0.1% ミオイノシトール +500ppm カゼイン +450ppm グルタミン*+1.1ppm 2,4-D+0.45ppm BA+0.43ppm カイネチン +3% スクロース (pH5.8)

③: 不定胚誘導 (固体)

③-a: 培地・量: $90 \times 15\text{mm}$ 滅菌シャーレ当り 20ml

LP 基本培地 +100ppm ミオイノシトール +500ppm カゼイン +450ppm グルタミン*+2% マルトース +13% PEG8000 (Sigma P5413) +5.2ppm ABA*+0.25% ゲルライト (pH5.8)

③-b: 培地・量: $90 \times 20\text{mm}$ 滅菌シャーレ当り 25ml

EM 基本培地²⁾+0.1% ミオイノシトール +0.3% グルタミン*+0.22% アスパラギン*+0.1% アルギニン*+35ppm プロリン*+40ppm アラニン*+79ppm シトルリン*+104ppm オルニチン*+55ppm リジ

ン*+3%マルトース+10%PEG4000 (Wako 162-09115)+26.4ppmABA*+0.2%活性炭 (Wako 037-02115)+0.3%ゲルライト (pH5.8)

④：不定胚誘導（液体）培地・量：300ml フラスコ当り100ml、5L 培養槽当り3L

LP 基本培地 +100ppm ミオイノシトール +500ppm カゼイン +450ppm グルタミン*+2%マルトース +13% PEG6000 (Wako 169-09125) +10.4ppmABA*+ +1/3000倍クリザール* (Chrysal K-20C, クリザール・ジャパン株式会社)+5mM MES バッファー (pH5.8)+1.6%顆粒状活性炭 (Wako 034-02125) (pH 5.8)

⑥：不定胚発芽培地・量：90 × 20mm 滅菌シャーレ当り35ml

1/2倍 EM 基本培地 (KCl は40mg/L に変更) +0.05%ミオイノシトール +400ppm グルタミン*+250ppm アルギニン*+50ppm プロリン*+3%グルコース +0.2%活性炭 (Wako 037-02115) +0.6%ゲルライト (pH5.8)

	1) LP 基本培地 (mg/l)	2) EM 基本培地 (mg/l)
MgSO ₄ ·7H ₂ O	246.5	500
Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	256.5	
MgCl ₂ ·6H ₂ O	101.7	
KH ₂ PO ₄	136.1	70
KCl		750
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O		160
NaH ₂ PO ₄ ·6H ₂ O		
NaNO ₃		60
NH ₄ NO ₃	200	
KNO ₃	909.9	1000
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	236.2	60
CaCl ₂ ·2H ₂ O		75
MnSO ₄ ·5H ₂ O	15	20
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	14.4	25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.125	2.4
H ₃ BO ₃	15.5	40
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.125	0.2
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.125	0.2
KI	4.15	1
ニコチン酸	0.5	5
塩酸ピリドキシン	0.5	0.5
チアミン塩酸塩	1	5
グリシン	2	5
Fe·EDTA	21.05	
FeSO ₄ ·7H ₂ O		30
Na ₂ EDTA		40

表3. LP 基本培地と EM 基本培地の組成

⑦：不定胚の苗化培地・量：プラントボックス当り70ml

1/2 倍 EM 基本培地（KCl は40mg/L に変更） + 0.05% ミオイノシトール + 3 % グルコース + 0.2 % 活性炭（Wako 037-02115） + 0.6 % ゲルライト（pH5.8）

* フィルター滅菌

1）：LP 基本培地（Pullman et al. 2002）

2）：EM 基本培地（Maruyama et al. 2000）

2.2.2. PEM の誘導／維持

図43の工程（1）

a.PEM の誘導

- ・母樹より受粉2年目の未熟球果（図45、予備知識：結実過程参照）を採取する。宮城県の母樹を用いる場合、採取適期は7月中旬から8月上旬であることが多い。球果は冷蔵庫で1ヶ月程度保存可能である。
- ・メス等を用いて球果を解体し未熟種子を取り出す。
- ・未熟種子を流水で軽く洗浄する。70 % エタノールで30秒、次いで1 % アンチホルミンで5分間表面滅菌した後、滅菌水で3回程度水洗する。滅菌した未熟種子はシャーレ等に保管する。
- ・実体顕微鏡下でピンセット（先端が丸型のものがあると望ましい）とメスを用いて、無菌的に未熟種子から雌性配偶体を取り出す。内皮も取り除く。具体的な手順を図46に示す。
- ・シャーレ当り10～20個程度の雌性配偶体を、PEM 誘導培地（培地①）に置床する。
- ・25℃、暗条件で培養する。



図45. 受粉後2年目の未熟球果
抵抗性クロマツ山元84号（バーは8cm）

b.PEM の維持（継代培養）

- ・未熟種子が適期に採取できた場合、1週間程で雌性配偶体から胚柄の伸長が認められ始める（図47）。その後、反応が停止する場合もある。
- ・1ヶ月程経過し、胚柄の増殖が継続し塊状になった細胞塊（PEM）は、分割せずにそのまま新しい培地に移植する（図48）。
- ・その後は、約2週間毎に継代培養を行う。増殖した細胞塊からピンセットで摘み取った約φ1cm位の塊を新しい培地に移植する。増殖した部分を中心に移植し、褐変した細胞がなるべく含まれないようにする。

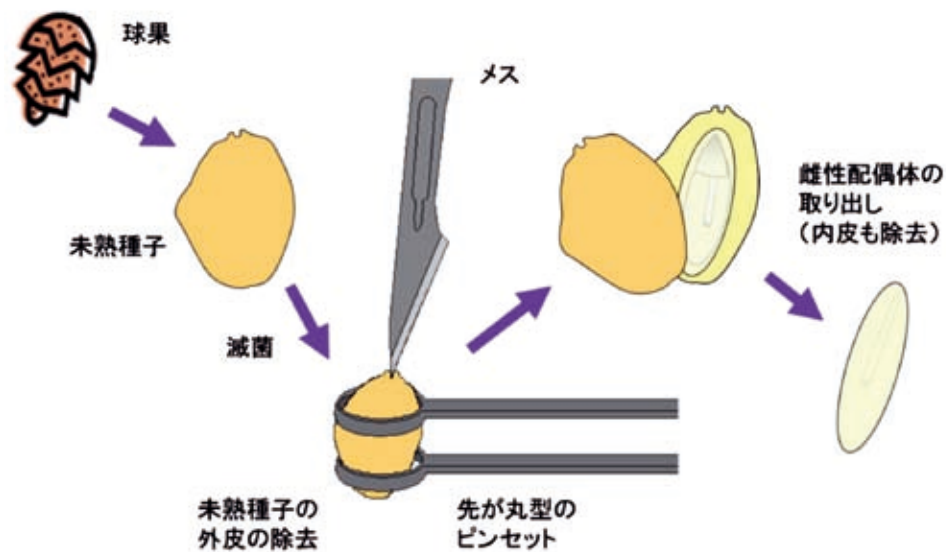


図46. 未熟種子からの雌性配偶体の取り出し手順

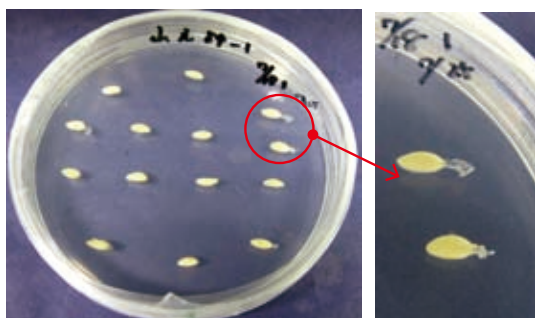


図47. 雌性配偶体と胚柄（右）の伸長

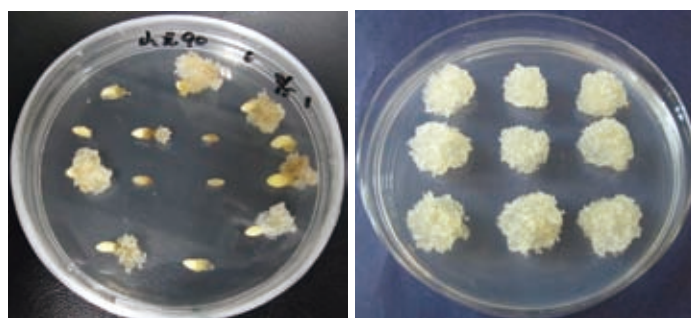


図48. 胚柄塊（左）と移植後の増殖（右）

2.2.3. PEM の増殖

図43の工程(2)

- ・ PEM が大量に必要な場合は、固体培地で維持されている PEM を、液体増殖培地（培地②）に0.4g 置床する。
- ・ 25℃、暗条件において回転数80rpm で振とう培養する。約 2 週間で十分な量の PEM が得られる（図 49）。この細胞からは、固体培地でも液体培地でも不定胚を誘導できる。

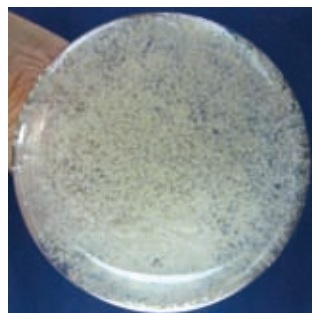


図49. 液体培地での PEM の増殖

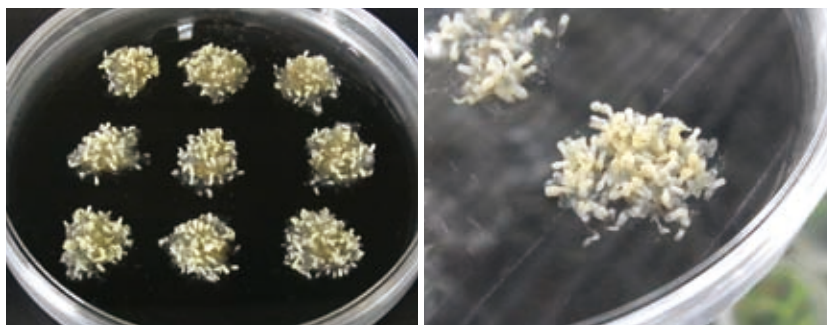


図50. 固体培地で誘導された不定胚と拡大図（右）

2.2.4. 不定胚の誘導

a. 固体培地条件 図43の工程（1）→（3）または（2）→（3）

- ・不定胚誘導（固体）培地 ③ - a,b に移植する場合は、PEM の継代培養と同様に固体培地で維持している細胞塊を培地上に置く。
- ・25℃、暗条件で培養する。4～8週間で不定胚が誘導される（図50）。

b. 液体培地条件

◎固体培地の維持細胞を用いる場合 図43の工程（1）→（4）

- ・固体培地で維持している細胞を不定胚誘導（液体）培地（培地 ④）に置床する。置床量は、300ml フラスコ当り0.2～0.4g、5 L 培養槽当り2～3 g とする。
- ・25℃、暗条件において、フラスコでは回転数80rpm で、培養槽では回転数20～30rpm（エアレーション50ml／分）で培養する。4～8週間で不定胚が誘導される（図51、52）。

◎液体培地の増殖細胞を用いる場合 図43の工程（2）→（4）

- ・液体培地で維持している細胞をピペットで吸い取り、不定胚誘導（液体）培地（培地 ④）に置床する。置床量は、300ml フラスコ当り0.7～2.5ml、5 L 培養槽当り15～30ml とする。
- ・25℃、暗条件において、フラスコでは回転数80rpm で、培養槽では回転数20～30rpm（エアレーション50ml／分）で培養する。4～8週間で不定胚が誘導される。

◎不定胚誘導初期段階の細胞を用いる場合 図43の工程（4）フラスコ→（4）培養槽

フラスコでの不定胚誘導の初期段階の細胞は、培養槽への置床材料として用いることができる。フラスコ内の不定胚誘導密度が高過ぎる場合（このままでは分化が十分に進まない）等に有効なプロセスである。

- ・フラスコ中の細胞を培地ごと培養槽に置床する。置床量は、5 L 培養槽当りフラスコ1～数本分とする。
- ・25℃、暗条件において回転数15～30rpm（エアレーション50ml／分）で培養する。不定胚の分化が進み3～5週間で回収できる段階になる（図53）。

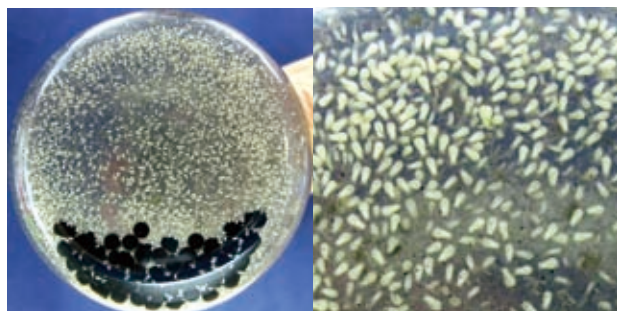


図51. 液体培地で誘導された不定胚

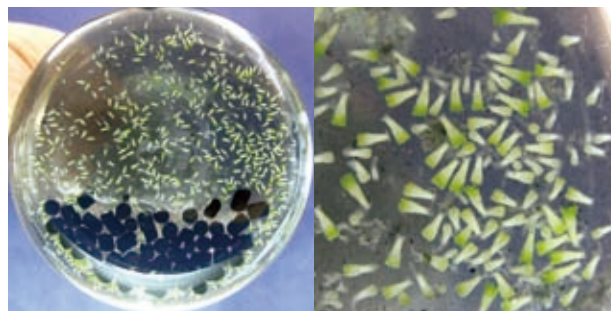


図52. 分化程度がより進んだ不定胚

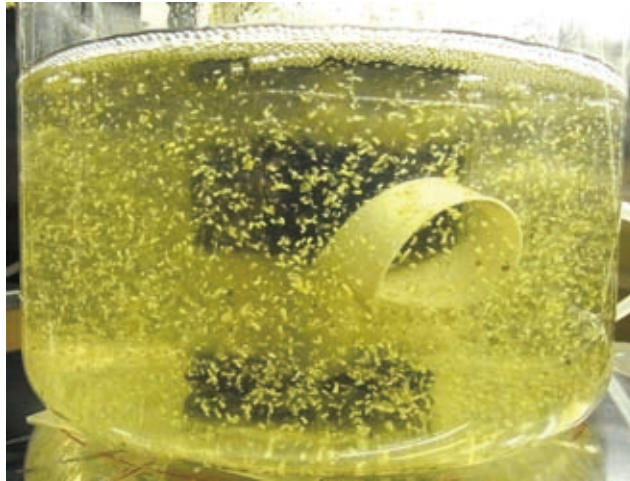


図53. 培養槽での不定胚誘導

2.2.5. 不定胚の脱水

図43の工程(5)

a. 固体培地誘導の不定胚

- ・ 6 穴シャーレの 2 つの穴に発芽培地で湿らせたろ紙を敷く。
- ・ 残りの 4 つの穴に滅菌水を入れる。
- ・ ピンセット等を用いてシャーレから不定胚を回収し、ろ紙の上に乗せる。
- ・ 25℃、暗条件にて 3 ～ 4 週間脱水する。

b. 液体培地誘導の不定胚

- ・ ピペットまたは（培養槽の場合）ステンレスメッシュを用いて不定胚を回収し、三角フラスコ、プラントボックス等の容器に移す。滅菌水をこの容器に入れ、不定胚以外の組織（胚柄塊等）を洗い流す。この水洗作業を 2 ～ 3 回繰り返す。
- ・ よく洗浄した不定胚をろ紙に乗せ、余分な水分を除く。
- ・ ろ紙を敷いた 60 × 15mm または 90 × 15mm シャーレに不定胚を移す。
- ・ 25℃、暗条件にて 7 ～ 10 日程度脱水する（図54）。
- ・ 脱水した不定胚は、冷蔵庫で 1 ～ 3 ヶ月間保存できる。



図54. 脱水した不定胚（右は分化がより進んだ不定胚）

2.2.6. 不定胚の発芽

図43の工程(6)

- ・ 90 × 20mm シャーレ当り 30 ～ 50 個の脱水した不定胚を、不定胚発芽培地（培地 ⑥）に置床する（図 55）。

- ・25℃、暗条件で1～2週間培養して発根させる。発根後は、25℃、明条件（14時間日長、3000lux など）で培養して、発芽を促進する（図56、図57）。

❗液体培地でも発根させることができる。

- ・液体の不定胚発芽培地で湿らせたろ紙（90 × 20mm シャーレの場合）、またはペーパータオル（大型容器の場合）上に不定胚を置床する。
- ・25℃、暗条件で1～2週間培養して発根させる。発根後は、25℃、明条件（14時間日長、3000lux など）で培養して、発芽を促進する。

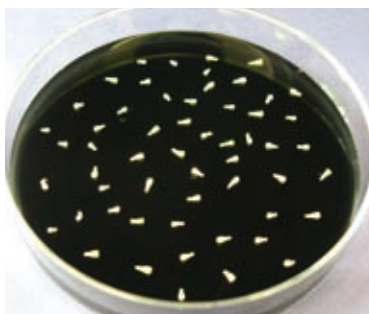


図55. 発芽前の不定胚



図56. 発芽初期の不定胚



図57. 培養槽の不定胚の発芽

2.2.7. 不定胚の苗化

図43の工程（7）

- ・発芽した不定胚は、ピンセットを用いて根を傷めないようにして苗化培地（培地⑦）に移植する。
- ・25℃、明条件（14時間日長、3000lux など）で1～2ヶ月培養する（図58）。

❗バーミキュライトなどの育苗用資材に移植することも可能である。

- ・プラントボックスにバーミキュライトを入れて滅菌する。その後、別に滅菌した苗化培地（液体培地）を入れて、発芽した不定胚を置床する。
- ・25℃、明条件（14時間日長、3000lux など）で1～2ヶ月培養する（図59）。

❗不定胚の発芽（図43の工程（6））で十分に発芽した不定胚は、不定胚の苗化（図43の工程（7））を省略して、不定胚の馴化／育苗（図43の工程（8））に用いることができる。

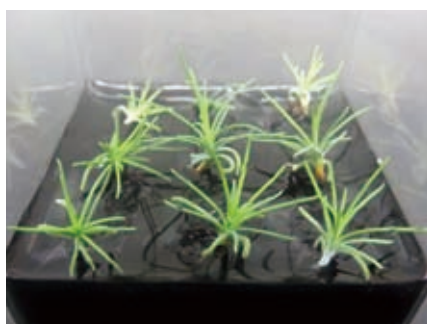


図58. 不定胚の苗化



図59. 不定胚の苗化（バーミキュライト）

2.2.8. 不定胚の馴化／育苗

図43の工程（8）

- ・不定胚の苗化（図43の工程（7））で得られた苗を培地からピンセットを用いて引き抜き、軽く水洗する。（図60）
- ・水で十分に湿らせたココピート（ココピート）をペーパーポットに充填し、水で十分湿らせる。
- ・ピンセットを用い、できるだけ根を痛めないようにして苗をペーパーポットに植付ける。

- ・ペーパーポットにフラワーキャップをかぶせ、遮光ネットをかける。または、同様の遮光および保湿環境下にペーパーポットを置く。
- ・この環境条件に2～3週間、苗を馴化した後、遮光ネットとフラワーキャップを取り外し、必要なサイズになるまで育成する。
- ①フラワーキャップを完全に取り外すのではなく、穴をあけたフラワーキャップに交換したり、フラワーキャップをずらすなど、外部環境への段階的な馴化が必要な場合もある。
- ・4～5週間程度で、コンテナに移植できるサイズになる（図61）。



図60. ペーパーポットに植えつける苗



図61. コンテナに移植するプラグ苗
(馴化5週目)

2.2.9. 課題

- ・上記2.2.8. 不定胚の馴化／育苗の条件については、今後の研究開発または試験生産の中で検証を進め、継続的に、より実用的な手法に改善して行くことが必要である。

引用文献

- 1) Pullman, G. and Johnson, S., Ann. For. Sci., 59, 663 – 668 (2002)
- 2) Maruyama, E., et al., Plant Biotechnology, 17, 281 – 296 (2000)

参考文献

- 1) Maruyama, E. et al., J. For. Res. 10, 403 – 407 (2005)
- 2) Maruyama, E. and Hosoi, K., Plant Cell Tissue and Organ Culture, 110, 45 – 52 (2012)

3. 導入種苗の利用

九州地方を含む関東地方以西の太平洋側の温暖地で生産された抵抗性クロマツの種子、コンテナ苗ならびに裸苗を、東北地方などの寒冷地に適応できるように順化させて、導入苗として植栽する。

3.1. 温暖地産種苗の導入

抵抗性クロマツの温暖地産種子・苗木を、寒冷地に導入して苗木として植栽する。



図62. 温暖地から寒冷地への種子および苗木の導入の全体工程



図63. 種子（上）および苗木（下）として導入する場合の作業スケジュール

3.1.1. 導入形態（種子と苗木）の選択

- ・ 種子は、軽量で輸送が容易であり、保存や輸送に伴う環境変化の影響を比較的受けにくいために、随時導入することが可能である。
- ・ 苗木は、輸送時期、輸送中および導入後の管理状態に注意を要し、これらは、植栽後の活着性に影響を及ぼす。

3.1.2. 種苗の入手

- ・ クロマツの種苗は、林業種苗法（参照：用語説明）によって移動が制限されているので、種苗配布区域を確認したうえで種苗の入手元を決める。
- ・ 種苗は、全国山林種苗協同組合連合会に所属する各都道府県の事業協同組合、事業協同組合連合会または農業協同組合を通じて入手する（参照：全国山林種苗協同組合連合会会員連絡先）。

3.1.3. 種子による導入

- ・ 種子を導入する。
- ・ 植栽現場の気象・土壌条件を勘案して、コンテナ苗として植栽する場合には造林可能期（用語説明参照）、裸苗として植栽する場合には造林適期（用語説明参照）を決定する。
- ・ 植栽現場の近隣の育苗施設において、播種して、2年間育苗する。
- ・ 3年目に苗木として山出しする。

3.1.4. コンテナ苗による導入

- ・ コンテナ苗は、夏と冬の一時期を除けば、随時、産地から植栽現場へ直送して導入できる。

3.1.5. 裸苗による導入

a. 苗木の取り扱い上の注意点

- ・ 苗木の輸送時期、輸送中のストレス（針葉の蒸れ、根の乾燥）および導入後の管理には注意を要する。これらは、植栽後の活着性に影響を及ぼす。

①裸苗は、鮮魚と同じくらいに鮮度を保って輸送するように心がけることが重要である。例えば、温度湿度調整機能付きのトラック（庫内温度18℃、湿度70%程度）で、出荷元を夕方に出発し、夜間に輸送して、造林地に翌朝苗木が到着するように即日運搬する。

b. 導入時期の決定

- ・ 裸苗は、導入直後に仮植して厳冬期を越させる必要がない春期あるいは秋期に、植栽現場の造林適期に合わせて導入する。

c. 苗木の掘取り

- ・ 苗木の出荷元と植栽現場との間で調整して、できるだけ植栽時期の直前に、必要な本数の苗木だけを掘り取って送る。

d. 選苗

- ・ できるだけ日光と風が当たる状況を避け、曇天時などに選苗する。
- ・ 傷や病虫害が認められる苗木、および根が裂けた苗木を排除する。
- ・ 苗木の規格（大、中、小など）ごとにより分け、50本ずつ束ねる。
- ・ 苗木は、乾燥を防ぐために、一時的に根を土中に埋めるか、地面に並べた上から濡れたコモ等で覆う。

e. 荷造り

- ・運搬中の蒸熱を防止するために、荷造りは、濡れた材料を使用せずに、朝露が残っている間や降雨直後など、苗木が湿っている時にはしない。
- ・長距離を輸送する場合は、根には、水をかけて土を振りかけるか、浸漬処理によって粘土の泥を付着させて、乾燥を防ぐ。
- ・針葉の蒸れを防ぐために竹などを適量入れて、すき間を作ってムシロやコモ等で梱包する。

f. 輸送

- ・苗木は、できるかぎり短時間で輸送する。
- ・長距離を輸送する場合は、針葉が過熱状態にないか輸送中に苗木の間に手を差し込むなどして調べる。
- ・蒸れている恐れがある場合には、日陰で梱包を解いて、苗木を冷やす。

g. 到着後の取り扱い

- ・到着したら、苗木をストレスから解放するために、すぐに梱包を解く。
- ・根に皺や萎縮が見られるなど苗木が衰弱している場合には、束ねたままに直ちに根部を流水に浸す。

❗溜水や泥水に長く浸すことは避ける。

- ・流水に浸す時間は、根が十分に水を吸収して、張りが戻り、活力を回復する程度とする。

h. 植栽

- ・すぐに植えつけられない場合には、湿った日陰の地中に根を埋め、下枝が隠れるまで土をかけておく。
- ・苗木の束を解く。
- ・すき間を空けずに根と土が密着するように一列に並べて仮植する。

❗苗木の根を乾かさないように、細心の注意を払う。

- ・植栽現場に苗木を植えつける。

参考文献

- 1) 佐藤敬二 (1961) 日本のマツ、第1巻 人工造林篇、全国林業改良普及協会編、全国林業改良普及協会

予備知識

・着花特性

雌花は、シュート（用語説明参照）の先端部に数個着生し、樹体の上部に多く見られる。雄花は、伸長したシュートの基部付近に多数着生し、樹体の中部から下部にかけて多く見られる。

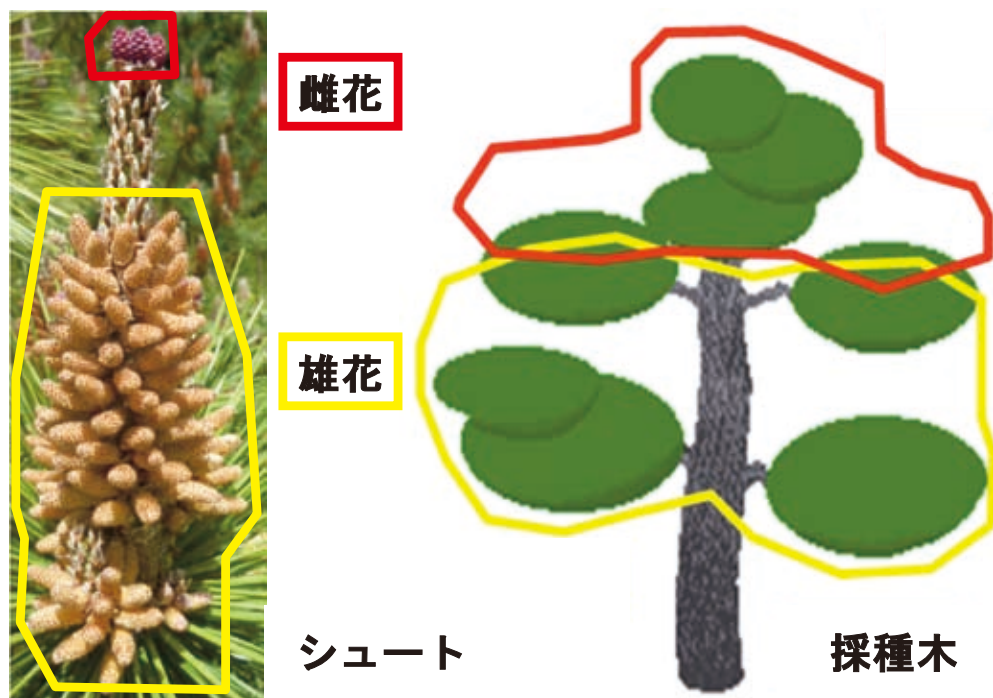


図 クロマツの花序（左）および雌花と雄花のおもな着生部位（右）

・結実過程

雌花は、春に開花・受粉した後、大きさを保持したままで幼球果になって越冬する。翌年4月に受精した後、肥大成長して9～10月に成熟する。開花から結実までは2年かかる。



図 球果の成長過程

・雌花の受粉適期

受粉適期は、雌花の露出の状態（青矢印）で判断し、半分程度露出した頃である。場合によっては、珠孔液（白矢印）が見られることもある。

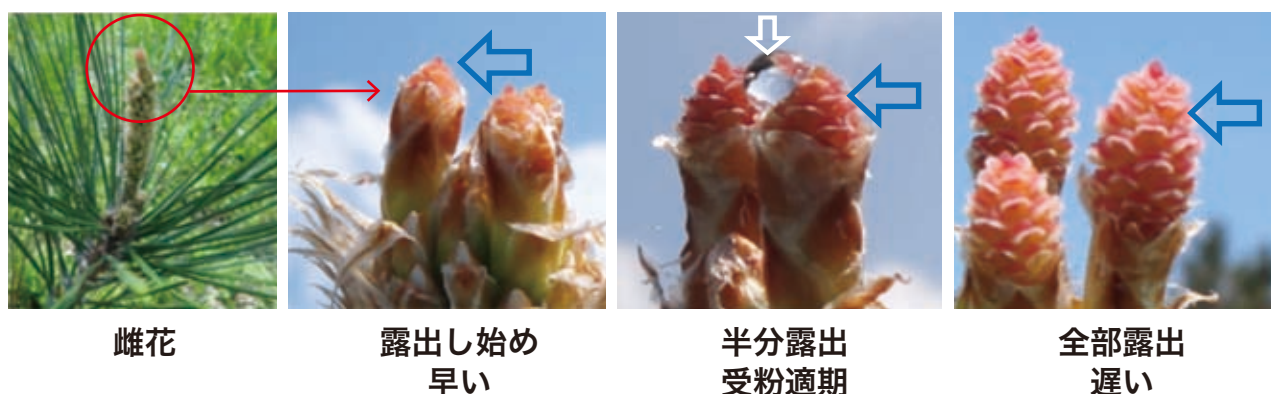


図 雌花の受粉適期

・投与時期が BAP による着花促進効果に及ぼす影響

BAP 処理は、適期に実施すると雄花の数だけ雌花が着生するが（②）、早過ぎると雄花も雌花も着生せず（①）、少し遅れると雄花の先端に雌花が着生した両性花序が誘導され（③）、遅過ぎると雄花だけが着生する（④）。



図 BAP の投与時期による着花促進効果の違い

・クロマツの種苗配布区域

林業種苗法（第二十四条第一項の規定）に基づいて、農林水産大臣の指定する種苗の配布区域が定められており、クロマツでは、第一区と第二区に分けられている。



図 クロマツの種苗配布区域

第二区は以下の通り。

岩手県、宮城県、福島県（福島市、郡山市、いわき市、白河市、須賀川市、相馬市、二本松市、田村市、南相馬市、伊達市、本宮市、伊達郡、安達郡、岩瀬郡、西白河郡、東白川郡、石川郡、田村郡、双葉郡、相馬郡）、茨城県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県、東京都、神奈川県、山梨県、長野県（松本市、上田市、岡谷市、飯田市、諏訪市、小諸市、伊那市、駒ヶ根市、茅野市、塩尻市、佐久市、東御市、安曇野市、南佐久郡、北佐久郡、小県郡、諏訪郡、上伊那郡、下伊那郡、木曽郡、東筑摩郡）、岐阜県（岐阜市、大垣市、多治見市、関市、中津川市、美濃市、瑞浪市、羽島市、恵那市、美濃加茂市、土岐市、各務原市、可児市、山県市、瑞穂市、本巣市、郡上市、海津市、羽島郡、養老郡、不破郡、安八郡、掛斐郡、本巣郡、加茂郡、可児郡）、静岡県、愛知県、三重県、滋賀県、京都府（京都市：旧京北町の区域を除く、宇治市、亀岡市、城陽市、向日市、長岡京市、八幡市、京田辺市、木津川市、乙訓郡、久世郡、綴喜郡、相楽郡）、大阪府、兵庫県（神戸市、姫路市：旧安富町の区域を除く、尼崎市、明石市、西宮市、洲本市、芦屋市、伊丹市、相生市、加古川市、赤穂市、西脇市、宝塚市、三木市、高砂市、川西市、小野市、三田市、加西市、篠山市、南あわじ市、淡路市、加東市、たつの市、川辺郡、多可郡、加古郡、神崎郡、揖保郡、赤穂郡）、奈良県、和歌山県、岡山県（岡山市、倉敷市、玉野市、笠岡市、井原市、総社市、高梁市：旧有漢町の区域を除く、備前市、瀬戸内市、赤磐市、浅口市、和気郡、都窪郡、浅口郡、小田郡、加賀郡：旧賀陽町の区域を除く）、広島県（広島市：旧白木町の区域を除く、呉市、竹原市、三原市、尾道市、福山市、府中市、三次市：旧甲奴町の区域、庄原市：旧総領町の区域、大竹市、東広島市、廿日市市、江田島市、安芸郡、豊田郡、世羅郡、神石郡）、山口県、徳島県、香川県、愛媛県、高知県、福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県、宮崎県、鹿児島県、沖縄県

用語説明

- ・ **BAP**（6－benzylaminopurine：6－ベンジルアミノプリン）

植物の成長を調節する作用を持つサイトカイニン系合成植物ホルモンの一種。マツ類では、雌花の着生を促進する効果が報告されている。

- ・ **PEM**（proembryogenic mass：不定胚形成細胞）

不定胚を形成する能力をもつ未分化な培養細胞。

- ・ **SMP**（supplementary mass pollination：簡易な人工交配）

交配袋などで隔離せずに雌花に花粉を吹きつける人工的な受粉作業。

- ・ **花粉交配機器**

おもに果樹で、確実に受粉させるために花粉を吹きつける器具。

- ・ **コンテナ**

特殊な形状の育苗容器。育成した苗木には根鉢が形成される。

- ・ **シイナ**

種皮だけは通常の種子の大きさ程度に発達するが、胚が形成されない稔実不良種子。未受精や受精後の養分不足によりできると考えられている。

- ・ **充実種子**

胚が発達し、発芽能力のある健全な種子。

- ・ **シュート（苗条）**

茎とそれについた葉との総体。

- ・ **シリカゲル**

多孔質のガラス状個体。表面積が広く吸湿性が高いことから、乾燥・吸着剤として使用される。

- ・ **造林可能期**

一般に、コンテナ苗は、通年植栽が可能と考えられており、福島県の海岸防災林の再生現場では、夏の一時期（7月下旬～8月下旬）と冬の一時期（12月中旬～2月上旬）を除いて、裸苗の植栽適期よりも長期にわたって植栽されている。

- ・ **造林適期**

裸苗の植えつけに適した時期。一般に、春植えとして梅雨時に、秋植えとして秋雨時に、苗木を土に降ろす。

- ・ **裸苗**

苗畑の苗床で育てる苗木。

- ・ **不定胚**

受精卵と同様な形態的変化の過程を経て植物の体細胞から生ずる一種の胚で、完全な植物体に誘導することが可能である。

- ・ **マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ**

マツ材線虫病の被害林の中で生き残った健全な個体を候補として、そのクローン苗や実生苗にマツノザイセンチュウを人工的に接種したときの枯損状況をもとに選抜されたクロマツ。

- ・ **マツ材線虫病**

わが国においては、マツノマダラカミキリが病原体であるマツノザイセンチュウを媒介して、おもにアカマツとクロマツが感染する樹病。

全国山林種苗協同組合連合会会員連絡先

北海道山林種苗協同組合	札幌市中央区北4条西5丁目1 林業会館内	☎ 011-200-2211
青森県山林種苗協同組合	青森市柳川2丁目3-35 緑友会館内	☎ 017-766-6430
岩手県山林種苗協同組合	盛岡市中央通3丁目15-17 県森林組合会館内	☎ 019-622-2729
宮城県農林種苗農業協同組合	仙台市青葉区上杉2丁目4-46 県森林組合会館内	☎ 022-222-3661
秋田県山林種苗協同組合	秋田市東通り2丁目7-35	☎ 018-887-5676
山形県山林種苗協同組合	山形市成沢西4丁目9-32 県森連内	☎ 023-688-8100
福島県農林種苗農業協同組合	福島市中町5-18 県林業会館内	☎ 024-523-5294
茨城県林業種苗協同組合	水戸市三の丸1丁目3-2 林業会館内4階	☎ 029-221-4506
栃木県山林種苗緑化樹協同組合	宇都宮市北一の沢町21-20	☎ 028-622-4893
群馬県山林種苗緑化協同組合	高崎市貝沢町字北545-1	☎ 027-363-2847
埼玉県山林種苗協同組合	さいたま市浦和区高砂1丁目14-13 県林材会館内	☎ 048-822-5266
千葉県山林種苗緑化木協同組合	千葉市中央区長洲1丁目15-7 森林会館内	☎ 043-222-1231
東京都山林種苗緑化樹生産組合	西多摩郡日の出町大久野7852	☎ 042-597-5990
神奈川県山林種苗協同組合	厚木市旭町1丁目8-14 グリーン会館内	☎ 046-228-4213
新潟県山林種苗協同組合	新潟市西区曾和521-3	☎ 025-261-7110
富山県樹苗緑化協同組合	富山市八町6931 県森連内	☎ 076-434-3351
石川県山林種苗協同組合	金沢市古府1丁目197 農林会館内	☎ 076-240-3461
福井県山林種苗協同組合	越前市池泉町1-19	☎ 0778-27-1921
山梨県山林種苗緑化木協同組合	甲府市丸の内1丁目5-4 恩賜林記念館内	☎ 055-235-3989
長野県山林種苗協同組合	長野市岡田町30-16 県林業センタービル内	☎ 026-228-5561
岐阜県山林種苗協同組合	加茂郡富加町滝田1234-1 加茂山林種苗生産組合内	☎ 057-454-4075
静岡県山林種苗協同組合連合会	静岡市葵区追手町9-6 県庁西館内	☎ 054-254-8916
愛知県林業種苗協同組合	名古屋市中区丸の内3丁目5-16 県林業会館内	☎ 052-961-9730
三重県林業種苗協同組合連合会	津市桜橋1丁目104 県林業会館内	☎ 059-228-7387
京都府山林種苗緑化樹組合	京都市中京区西ノ京樋ノ口町123 森林組合連合会内	☎ 075-841-1030
兵庫県林業種苗協同組合	神戸市中央区北長狭通5-5-18 県林業会館内	☎ 078-351-0734
奈良県山林種苗協同組合	奈良市登大路町30 県庁林業振興課内	☎ 0742-27-7469
和歌山県山林種苗協同組合	和歌山市小松原通1丁目1 県庁森林整備課内	☎ 073-441-2981
鳥取県山林樹苗協同組合	鳥取市湖山町西2-413	☎ 0857-28-4886
島根県林業種苗協同組合	松江市母衣町55 林業会館内	☎ 0852-25-9348
岡山県山林種苗協同組合	津山市山下53岡山県美作県民局別館 森林企画課内	☎ 0868-24-0077
広島県樹苗農業協同組合	広島市中区上八丁堀8-23 林業ビル	☎ 082-228-5437
山口県樹苗生産農業協同組合	山口市駅通り2丁目4-17 県林業会館内	☎ 083-922-5108
徳島県林業種苗協同組合	徳島市かちどき橋1丁目41 県林業センター1階 県森連内	☎ 088-653-8728
香川県山林種苗協同組合	高松市中野町23-2 県森連内	☎ 087-861-4352
愛媛県山林種苗農業協同組合	松山市中野町甲130-7 県森連緑化センター内	☎ 089-963-2001
高知県種苗緑化協同組合	香美市土佐山田町神母ノ木159-1	☎ 0887-53-4161
福岡県樹苗農業協同組合	朝倉市三奈木2169	☎ 0946-22-8881
佐賀県山林種苗緑化協同組合	佐賀市本庄町本庄278-4 森林会館内	☎ 0952-24-3663
熊本県樹苗協同組合	熊本市中央区新屋敷1丁目5-4 県林業会館内	☎ 096-362-1762
大分県樹苗生産農業協同組合	大分市古国府字内山1337-20 県林業会館内	☎ 097-545-1322
宮崎県緑化樹苗農業協同組合	宮崎市橘通東1丁目11-1 県林業会館内	☎ 0985-22-2929
鹿児島県山林種苗協同組合	鹿児島市山下町9-15 県林業会館内	☎ 099-222-2494

プロジェクトについて

農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業（実用技術開発ステージ・現場ニーズ対応型）

東北地方海岸林再生に向けたマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ種苗生産の飛躍的向上

研究総括機関 国立研究開発法人 森林総合研究所

共同研究機関 地方独立行政法人 青森県産業技術センター 林業研究所

宮城県林業技術総合センター

福島県林業研究センター

キリン 株式会社 R&D 本部 基盤技術研究所

普及・実用化支援組織 宮城県農林種苗農業協同組合

研究期間 平成25～27年度

目標・目的 東日本大震災によって壊滅的な被害を受けた東北地方太平洋側地域の海岸防災林の再生計画において、植栽が予定されているマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ苗木の需要に応えるために、次の4課題に取り組み、苗木の安定供給システムを構築することを目標とする。**(1) 種子生産の飛躍的向上技術**では、抵抗性クロマツについて、植物成長調節物質による優良種子の増産、簡易な人工交配による種子生産の量的・質的向上と、確実に苗木を生産できる種子の選別を目指す。**(2) さし木増殖技術**では、寒冷な東北地方において、抵抗性クロマツについて、50%以上の得苗率を達成できるさし木増殖技術とさし木苗木の海岸植栽への順応性を向上させる技術を開発する。**(3) 未熟種子由来の不定胚からの組織培養苗を大量増殖する技術**では、未熟種子から不定胚を誘導して抵抗性クロマツの組織培養苗の大量増殖技術を新たに開発する。**(4) 東北地方への苗木の導入技術**では、温暖地産の抵抗性クロマツ種苗を導入して、苗木として東北地方の寒冷な生育環境に順化させる技術の開発を目指す。

目的 抵抗性クロマツ苗の安定供給体制の確立

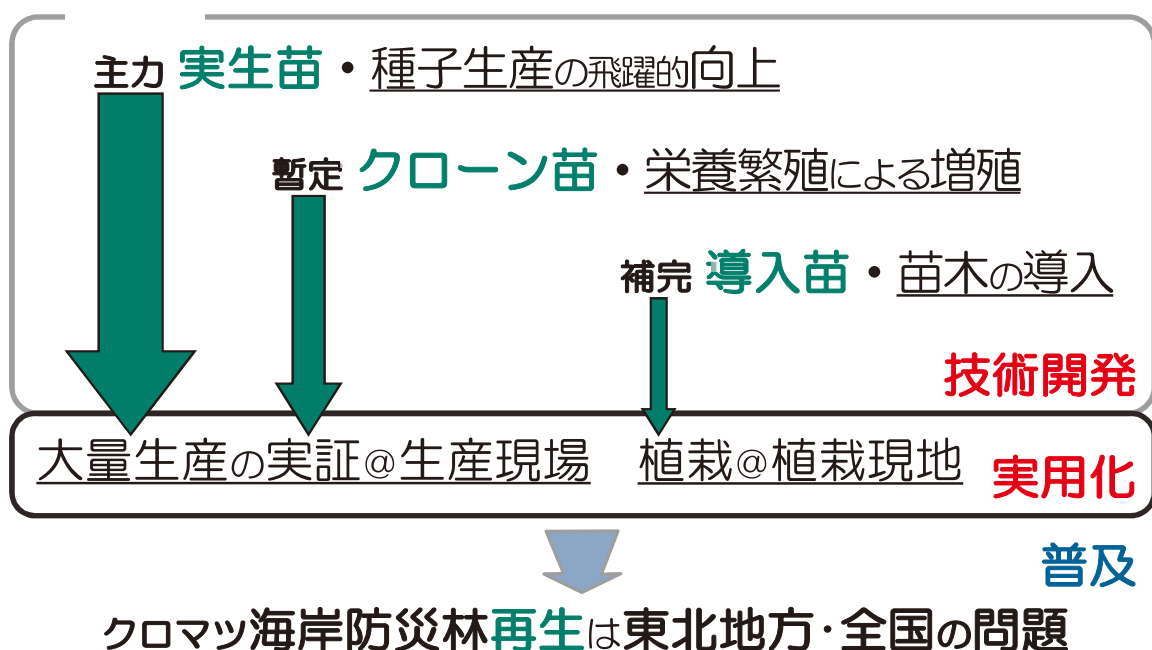
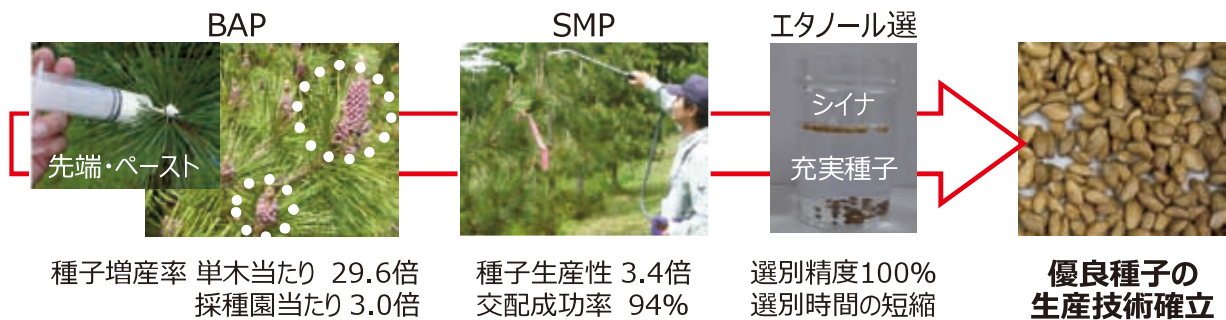


図 プロジェクトの概略

成果

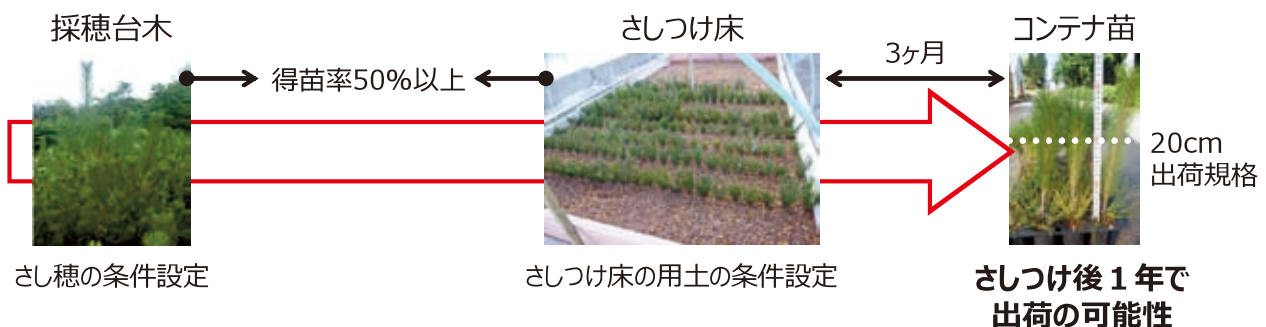
(1) 種子生産の飛躍的向上技術

6-ベンジルアミノプリン（以下、BAP：用語説明参照）の投与方法、濃度と時期の適正条件を探索し、種子の増産率を単木当たりで29.6倍に、採種園当たりで3.0倍に向上させた。エタノールを用いた種子選別法は、従来法の1/4の時間で充実種子をほぼ100%判別でき、種子の選別現場でも利用できることを実証した。人工交配機を用いた簡易な人工交配（以下、SMP：用語説明参照）によって、自然交配に比べて採種園の種子生産性が3.4倍に向上し、目的とする花粉親との交配成功率が94%に達した。これらの成果により、極めて高い種子充実率とマツノザイセンチュウ抵抗性を保持した優良種子の生産技術が開発された。



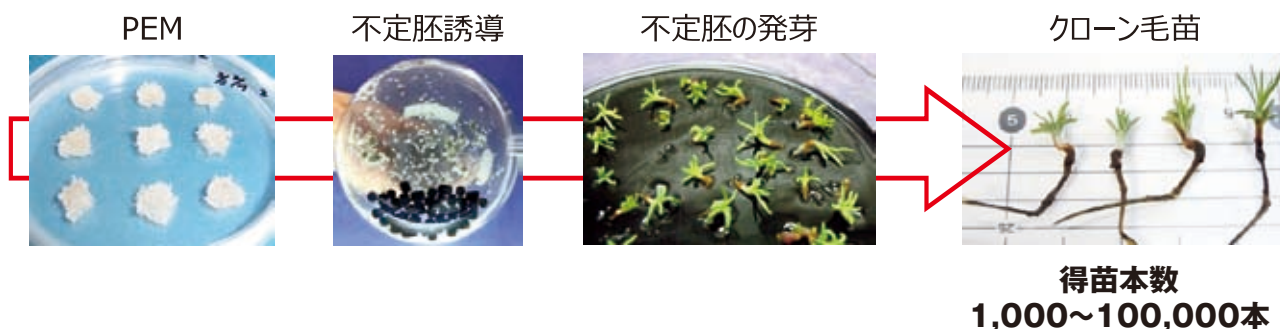
(2) さし木増殖技術

寒冷な東北地方において、抵抗性クロマツのさし木の発根性と生育に影響するさし穂の種類やさしつけ床の用土等の条件を設定した。さらに、抵抗性クロマツ実生家系のさし木発根率を評価し、目標値である50%に達した家系を用いて、さし木施設における事業規模でのさし木苗の生産技術を確立した。得られた毛苗を用いて、海岸植栽への順応性がより高いと考えられるコンテナ苗を育成する技術を開発し、コンテナ苗を実際に海岸に植栽し、順応性を検証するための試験地を造成した。



(3) 未熟種子由来の不定胚からの組織培養苗の大量増殖技術

抵抗性クロマツのクローン苗の新たな大量生産方法として未熟種子由来の不定胚形成細胞（以下、PEM：用語説明参照）から不定胚を誘導し、クローン毛苗を大量増殖する技術を開発した。



(4) 東北地方への苗木の導入技術

温暖地産と東北産の抵抗性クロマツの裸苗とコンテナ苗を東北地方の海岸部と内陸部に導入し、活着状況、初期成長と気象害の発生状況を調査し、産地や系統ごとに環境への順応性を把握した。また、温暖地産と東北産の抵抗性クロマツ種子を植栽現場に近い場所に導入し、育苗した苗木を東北地方太平洋沿岸部に植栽し、活着状況と初期成長を調査した。種子と苗木の導入結果を合わせて検討し、温暖地産の抵抗性クロマツの種子・苗木を寒冷な東北地方に導入・順化するための指針を示した。



東北の海岸防災林再生現場への導入指針

**寒冷地におけるマツノザイセンチュウ抵抗性
クロマツ苗木の安定供給
採種園管理者と苗木生産者のためのマニュアル**

2016年2月初版発行

編集：織部 雄一郎

発行：国立研究開発法人 森林総合研究所

林木育種センター 東北育種場

〒020-0621 岩手県滝沢市大崎95

電話 (019) 688-4518

FAX (019) 694-1715

印刷：永代印刷 株式会社

