

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20780125

研究課題名（和文） クロマツの抵抗性がマツノザイセンチュウの病原力に及ぼす影響

研究課題名（英文） *Bursaphelenchus xylophilus* virulence in response to increase of *Pinus thunbergii* resistance

研究代表者

松永 孝治（MATSUNAGA KOJI）

独立行政法人森林総合研究所・林木育種センター九州育種場・主任研究員

研究者番号：40415039

研究成果の概要（和文）：クロマツさし木苗の抵抗性にクローン間に差があること、また、その抵抗性は穂を採取した母樹の抵抗性を引き継いでいることを示した。短く、細いクロマツさし穂は発根率が高いことを明らかにした。抵抗性の異なるクロマツ苗を用いて線虫の病原力の選抜実験を行ったが、選抜に用いたマツの抵抗性の違いは、選抜された線虫の病原力に影響を与えなかった。また、薩摩川内市の抵抗性マツ林および感受性マツ林から分離された線虫アイソレートは同程度の病原力を持っていた。

研究成果の概要（英文）：The resistant level against *Bursaphelenchus xylophilus* was different among *P. thunbergii* clones. The rooted cuttings from resistant mother trees showed higher survival rate than that from susceptible mother trees after nematode inoculation. The shorter and thinner *Pinus thunbergii* cuttings tended to show better rooting ability. Although I selected nematode virulence using pine cuttings and seedlings with different resistant level, the resistant level of pines did not affect the virulence of the selected nematodes. Nematode isolates extracted from resistant forest and susceptible forest in Satsumasendai City showed almost the same level of virulence.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：マツノザイセンチュウ，クロマツ，保護，保全

1. 研究開始当初の背景

現在、マツ材線虫病は日本のマツ林に著しい被害を与え続けており、その有効な対策が今も模索されている。林木育種センターはその対策として各県および大学と連携して

アカマツとクロマツの抵抗性育種を進め多数の抵抗性品種を創出している（平成18年までにクロマツ60品種アカマツ170品種）。これらの抵抗性マツは各県の種苗業者によって緑化樹用などとして生産・植栽されており、九州地域では年間10万本以上の抵抗性

クロマツ苗が生産されている。材線虫病は現在、韓国、中国、台湾およびポルトガルへ広がりを見せており、中国では日本の協力を受けて馬尾松の抵抗性育種が進められている。

これまでのマツ材線虫病に関する研究により、線虫の病原力は遺伝形質であること、またその病原力には大きな変異があることが明らかになっている。更に病原力の異なる線虫が同時にマツに感染した場合、樹体内においてより病原力の高い線虫が増殖しやすいことが示唆されている。これらの事実は、線虫がこれまでのマツより抵抗性の高いマツに感染すると、病原力に選択が働き、病原力が上昇する可能性を示唆する。抵抗性マツが植栽されている現在、線虫の病原力上昇がおこるかどうかは、今後の防除対策・育種戦略を考えるために早急に明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

マツ材線虫病対策として抵抗性マツが植栽されているが、マツの抵抗性が上昇した場合に、病原生物であるマツノザイセンチュウの病原力が上昇するかどうか明らかにすることが本研究の目的である。本研究は大きく3つのステップ、(1)クロマツ苗木(さし木と人工交配実生家系)の抵抗性評価、(2)線虫の病原力の選抜実験、(3)野外の抵抗性マツ林分における線虫の病原力調査で構成される。

既存のマツ材線虫病に関する研究では、材料のマツが遺伝的に管理されていない場合が多い。そこで、本研究では(1)において遺伝的に管理された実験材料を作出するため、クロマツさし木の効率的な生産方法を検討する。その後、さし木苗と人工交配家系に線虫を人工接種して、それらの苗の抵抗性を評価する。次に(1)で作出した材料を用いて(2)において線虫の病原力についての選抜実験を行い、線虫の病原力が上昇するか明らかにする。(3)では野外の抵抗性マツ林分において線虫の病原力の上昇が起こっているかどうか明らかにする。

3. 研究の方法

(1)クロマツ苗木の抵抗性評価

①さし穂の形態がクロマツさし木効率に与える影響

抵抗性クロマツ品種(三豊ク103, 三崎ク90, 波方ク37)およびクロマツ精英樹(県南松浦111, 県国東131)の自然受粉家系に由来する採穂台木から長さ・太さの異なる穂を採取し、さし木を行って発根率を調査した。

②クロマツさし木苗の抵抗性評価

抵抗性クロマツ品種(田辺ク54, 三崎ク

90, 志摩ク64, 波方ク37)およびクロマツ精英樹(福岡2, 県国東131, 南高来107, 南松浦111)の自然受粉家系に由来する採穂台木から穂を採取してさし木増殖した。それらの苗を養苗し、2.5年生次にマツノザイセンチュウアイソレイト, 島原, 10,000頭を地際部に剥皮法によって接種した(系統あたり)。接種8週間後以降に枯死本数を調査した。

③クロマツ交配家系の抵抗性評価

抵抗性クロマツ品種, 田辺ク54を母樹とした15交配家系の1.5年生苗木について、各苗木に5,000頭のマツノザイセンチュウアイソレイト, 島原を接種した(家系あたり80本)。接種8週間後の枯死率を調査した。

(2)線虫の病原力の選抜実験

①線虫の選抜実験

抵抗性品種三豊ク103および精英樹佐伯署3および南松浦111の自然受粉家系の各1個体(それぞれRC6, EC1, EC8とする)をさし木増殖した1.5年生苗および抵抗性クロマツ同士の人工交配家系の1.5年生苗2系統(田辺ク54×大分ク8(K35)および田辺ク54×波方ク73(K39))を実験に用いた。継代培養していた4種のマツノザイセンチュウアイソレイト, 島原, T-4, S-10およびOK149を増殖した後、等量混合して各系統の苗木4-5本に剥皮法によって接種した。接種8週以降、苗が枯死した場合、その苗を厚さ1-2mmのチップにして、ベールマン法によって線虫を再分離した。線虫が分離された場合、30頭の線虫を任意に選び、アイソレイトを確立した。

②再分離された線虫の病原力評価

枯死木より再分離して、継代培養していた7アイソレイト(RC6, EC8, K35, K39から再分離された各1アイソレイトおよびEC1から再分離された3アイソレイト)を抵抗性クロマツ波方ク37の自然受粉家系の1.5年生苗32本にそれぞれ5,000頭接種してその後の枯死を調査した。

(3)野外の抵抗性マツ林分における線虫の病原力調査

薩摩川内市の抵抗性マツ林分と感受性林分においてそれぞれ枯死した5本のマツから材片を採集して、アイソレイトを確立した。それらのアイソレイトを培養して、抵抗性クロマツ田辺ク54の自然受粉家系に接種して枯死率を比較した。

4. 研究成果

(1)クロマツ苗木の抵抗性評価

①さし穂の形態がクロマツさし木効率に与える影響

短いさし穂ほど発根率が高いこと(図1),

直径が4mm以上のさし穂は発根率が有意に低いこと(図2)、発根率にクローン間差があることが明らかになった。

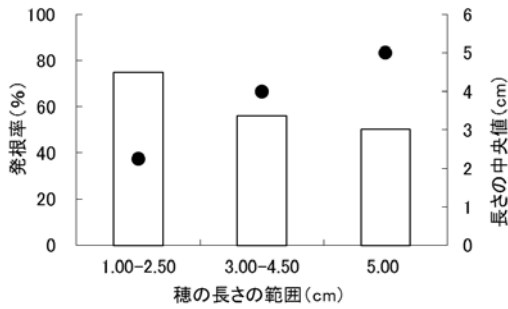


図1 さし穂の長さが発根率に及ぼす影響
カラムの高さは発根率を●は穂の長さの中央値を示す

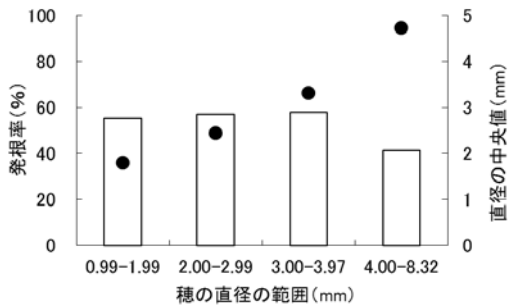


図2 さし穂の直径が発根率に及ぼす影響
カラムの高さは発根率を●は穂の直径の中央値を示す

②クロマツさし木苗の抵抗性評価

抵抗性品種に由来するさし木系統は0~100%の枯死率を示した(図3)。一方、精英樹に由来するさし木苗は30~100%の枯死率を示した。抵抗性マツに由来するさし木系統の枯死率は精英樹に由来するものより低かった。この結果は、さし木苗の抵抗性に系統間差があること、およびさし木苗の抵抗性は採穂母樹の抵抗性を受け継いでいることを示唆した。

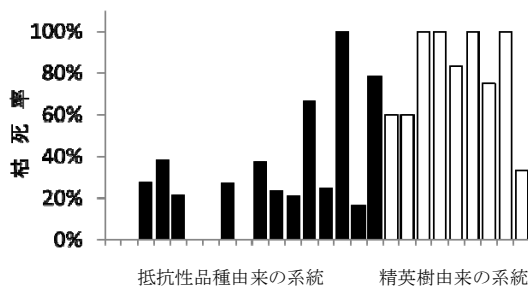


図3 抵抗性品種および精英樹に由来するさし穂の線虫接種後の枯死率

(2) 線虫の病原力の選抜実験

①線虫の選抜実験

接種8週以降に枯死した苗から線虫を再分離したが、線虫が分離できない場合があっ

た。また、分離された線虫数が少なく、アイソレイトを確立できない場合があった。これは苗が枯死する(全針葉が変色する)時期はすでに苗が乾燥しており、苗内の線虫数が減少しているためだと考えられた。最終的にRC6, EC8, K35, K39から各1アイソレイトおよびEC1から5アイソレイトを確立した。

②再分離された線虫の病原力評価

EC1, EC8 および RC6 に由来するアイソレイトは41-52%の苗を枯死させた(図4)カイ二乗検定の結果、アイソレイト間で枯死に影響する有意な差は認められなかった($X^2 = 1.04$, $P = 0.903$, 自由度 = 4)。

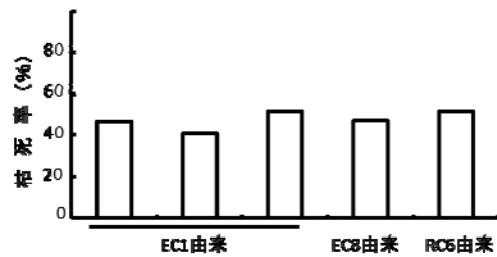


図4 抵抗性の異なるさし木苗から再分離したマツノザイセンチュウアイソレイトによる枯死率

K35 および K39 に由来するアイソレイトはそれぞれ58%と63%の苗を枯死させた。カイ二乗検定の結果、アイソレイト間で枯死に影響する有意な差は認められなかった($X^2 = 0.13$, $P = 0.719$, 自由度 = 1)。

確立できたアイソレイト数が少ないが、さし木苗と実生苗のどちらにおいても、線虫の選抜に用いたマツの抵抗性のレベルは再分離された線虫の病原力に影響を与えなかった。

(3) 野外の抵抗性マツ林分における線虫の病原力調査

抵抗性林分および感受性林分由来のアイソレイトはそれぞれ0-44%(平均30%)および0-50%(平均31%)の苗を枯死させた。分散分析の結果、線虫を採取した林分の抵抗性は枯死率に影響しなかった(一元分散分析, $P = 0.95$)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

①松永孝治、大平峰子、倉本哲嗣、倉原雄二、武津英太郎、千吉良治、高橋誠 抵抗性クロマツを用いたマツノザイセンチュウの病原力の選抜実験—1年間の選抜後の結果—、九州森林研究、65、2012、査読有

②磯田圭哉、松永孝治、大平峰子、倉本哲嗣、

クロマツさし木苗を用いたマツノザイセンチュウ抵抗性の評価、関東森林研、60、109-112、2009、査読有

③松永孝治、大平峰子、倉本哲嗣、さし穂サイズと採穂台木の形態的要因がクロマツさし木苗の生産効率に与える影響、日本森林学会誌、91、335-343、2009、査読有

〔学会発表〕(計3件)

①松永孝治、大平峰子、倉本哲嗣、倉原雄二、武津英太郎、千吉良治、高橋誠、抵抗性クロマツを用いたマツノザイセンチュウの病原力の選抜実験－1年間の選抜後の結果－、日本森林学会九州支部研究発表会、2011年10月29日、鹿児島大学(鹿児島県)

②松永孝治、大平峰子、倉本哲嗣、星比呂志、クロマツのさし穂のサイズが発根性に及ぼす影響、日本森林学会、2009年3月26日、京都大学(京都府)

③磯田圭哉、松永孝治、大平峰子、倉本哲嗣、クロマツさし木クローンを用いたマツノザイセンチュウ抵抗性の評価、日本森林学会関東支部、2008年10月24日、かながわ労働プラザ(神奈川県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松永 孝治 (MATSUNAGA KOJI)
独立行政法人森林総合研究所・林木育種センター九州育種場・主任研究員
研究者番号：40415039

(2) 連携研究者

倉本 哲嗣 (KURAMOTO NORITSUGU)
独立行政法人森林総合研究所・林木育種センター・育種調査役
研究者番号：30370860
大平峰子 (OHIRA MINEKO)
独立行政法人森林総合研究所・林木育種センター・育種第二課・主任研究員
研究者番号：40370861
富樫一巳 (TOGASHI KATSUMI)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
研究者番号：30237060