

マツノザイセンチュウ抵抗性と材線虫の初期侵入個体数*

久保 蘭 恵**・****・曾根 晃一**・川内 博文***・辻 稔***

平成10年9月24日 受理

抄 録

1997年7月に鹿児島県林業試験場(鹿児島県始良郡蒲生町)内の苗畑で、2~3年生の材線虫病に対する抵抗性クロマツ8クローン、感受性クロマツ(桜島マツ)、抵抗性樹種(テーダマツ)稚樹にザイセンチュウ約5,000頭を接種し、接種24時間後の材線虫の侵入個体数を調査した。また、1997年10月にザイセンチュウを接種した稚樹の生存率を調査した。桜島マツやテーダマツと比較して、生存率が有意に高いクローンが多かったにもかかわらず、侵入個体数はクローン間で一定の傾向を示さなかった。また、抵抗性8クローンの生存率と初期侵入個体数の間には、有意な相関関係は見られなかった。このことから、ザイセンチュウの初期侵入個体数の多少は、材線虫病に対する抵抗性の樹種間やクローン間の差にはあまり関与していないことが示唆された。

キーワード: マツノザイセンチュウ, クロマツ, 材線虫病, 抵抗性クローン, 初期侵入個体数

はじめに

九州、四国、本州各地の特に海岸線において発生しているマツノザイセンチュウ(*Bursaphelenchus xylophilus*)

(以下、材線虫)によるマツの集団枯損は、大正14年に長崎県で発生して以来、現在も猛威をふるい続けており、ここ数年の全国の被害は約100万 m^3 で推移している(山根1996)。北海道・青森県を除く日本全国で見られるマツ枯損被害に対する育種的な対策として、材線虫に対して抵抗性を有するマツの選抜育種が行われている。しかし、現在においてもマツの材線虫病の発病枯死機構については不明な点が多く、十分解明されていない。そのため、例えばアカマツにおいては2~3割、クロマツにおいては7~8割が枯死するといった種間で起こる抵抗性の差(清原ら1973)の原因は今なお不明であり、選抜育種においても、抵抗性の系統は見つかった(立仙ら1979)が、そのメカニズムは未解明のまま残されている。抵抗性の差のメカニズムについて様々な仮説が挙げられているが、その中で、樹体内侵入直後の材線虫の動態は材線虫病発病に重要な役割を持つと考えられている(真宮1990)。そこで、抵抗

性クロマツのクローンにおいて材線虫接種による枯損状態と、接種24時間後の接種木への材線虫の侵入個体数を調査し、材線虫抵抗性ととの関連について考察した。

材料と方法

1. 実験材料

本実験には、鹿児島県始良郡蒲生町に位置する鹿児島県林業試験場内の苗畑に植栽されていた2~3年生のマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツクローンを用いた。このクローンは、関東・関西・四国林木育種センターでのマツノザイセンチュウ接種試験により選抜された抵抗性クロマツのかけあわせにより生産された種子による苗木である。抵抗性クロマツは一般クロマツと比較して着花性は劣るが、マツノザイセンチュウ接種試験においては3~5倍生存率が高く、管理さえよければ活着性は殆ど変わらないという特性を持っている(川内1997)。

今回はマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツのうち、林木育種センターが公表した抵抗性順位に基づき、上位である波方-37、吉田-2、波方-73、中位である小浜-30、

*KUBOZONO, M., SONÉ, K., KAWAUCHI, H. and TUJIMA: Resistance to the pine wilt disease and initial invasion of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER et BUHRER) NICKLE, into seedlings of resistant clones of *Pinus thunbergii* PARL.

**鹿児島大学農学部森林育種・保護学研究室

Laboratory of Forest Genetics and Protection, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima 890-0065

**鹿児島県林業試験場

Kagoshima Pref. For. Exp. Stn., Kamou, Kagoshima 899-5302

***現東京農工大学大学院農学研究科

Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183-0054

表-1 供試木の枯損状態と桜島マツ、テーダマツとの生存率の比較

クローン名	抵抗性 順位 [※]	接種本数	生存率 (%)	χ^2 -値 (対桜島マツ)	χ^2 -値 (対テーダマツ)
波方-73	1	682	83.8	153.928 ^{***}	29.965 ^{***}
吉田-2	2	33	87.9	10.351 ^{**}	3.071
波方-37	3	1541	88.7	513.114 ^{***}	161.882 ^{***}
津屋崎-50	6	29	100.0	18.933 ^{***}	9.874 ^{**}
小浜-30	7	163	84.7	39.821 ^{***}	8.710 ^{**}
大瀬戸-12	12	36	100.0	23.504 ^{***}	12.257 ^{***}
川内-290	13	249	63.1	0.678	17.524 ^{***}
大分-8	14	209	78.9	29.762 ^{***}	2.085
桜島マツ		385	60.5		40.266 ^{***}
テーダマツ		378	74.6	31.450 ^{***}	

※ 林木育種センター公表の16クローンでの抵抗性順位

** 99%レベルで有意

*** 99.9%レベルで有意

津屋崎-50, 下位である大瀬戸-12, 川内-290, 大分-8の合計8クローンと, 一般クロマツとの比較のために, 桜島に生息するクロマツの種子から発芽したクロマツ(以下, 桜島マツ), 感受性であるクロマツの対照種として抵抗性があるとされているテーダマツを選出した(表-1)。供試木には, 吉田-2が3年生苗, その他のクローンと桜島マツ, テーダマツは2年生苗を用いた。

マツノザイセンチュウ(以下, 単に材線虫)はその系統により病原性に差異が認められる(清原ら1977)。今回は鹿児島県林業試験場で累代培養されている, クロマツに対して非常に病原性が強い「島原」系統を用いた。

2. 実験方法

1997年7月9日に供試木に対し, 様々な材線虫の接種方法の中で最も能率が上がって確実性が高いとされている剥皮接種法(岸 1988)を用いて, 材線虫を接種した。今回接種を行った各クローン, 桜島マツ, テーダマツの苗木の本数は表-1に示した通りである。接種木の5~10cmの部分をナイフで幅約5mm, 長さ1cmに剥皮し, 脱脂綿を挟んだ。そこに材線虫約5,000頭を含む線虫懸濁液0.05ccをメスピペットで注入し, パラフィルムで覆った。また, 各クローンにつき3本ずつ, 対照のために同様の方法で蒸留水の接種を行った。

接種24時間後の材線虫の侵入個体数を調査するために, 各クローンの接種木から10本ずつ計80本と桜島マツ, テーダマツを各10本ずつの合計100本を無作為に抽出した。こ

れらのサンプル木を地際から刈り取り, 全葉を摘葉した。線虫懸濁液を注入した脱脂綿を除去し, 土壤線虫の混入を避けるために土砂を水により洗い落とし, 傷部分も含めて樹幹と枝を全て剪定ばさみで細かく刻み, ベルマン法により24時間材線虫を抽出した。その後, 顕微鏡下で材線虫の個体数を数えた。また, 接種木の生存率は同年10月1日に調査した。線虫侵入個体数の調査木の根の掘り取りが他の接種木の根を傷め, 生存率に影響を及ぼす可能性があったため, 今回は根の部分への材線虫の侵入個体数は調査しなかった。

結 果

1. クローン間での生存率の比較

蒸留水のみでの接種では, 供試木は全く枯死しなかった。これより, 表皮剥皮法による材線虫の接種が接種木の枯損に影響は与えていなかったと考えられる。

表-1に, 供試木のクローン別の生存率及び桜島マツ, テーダマツとの生存率の比較結果を示す。生存率は高い順に, 津屋崎-5, 大瀬戸-12で100.0%, 波方-37で88.7%, 吉田-2で87.9%, 小浜-30で84.7%, 波方-73で83.8%, 大分-8で78.9%, 川内-290で63.1%であった。今回の調査では, 桜島マツの生存率は60.5%で, 1996年度の結果(21.1%:川内未発表)より高かった。テーダマツの生存率は74.6%で, これまで報告されている値(岸1988)と著しい差は見られなかった。

抵抗性クロマツ8クローンの生存率を一般クロマツであ

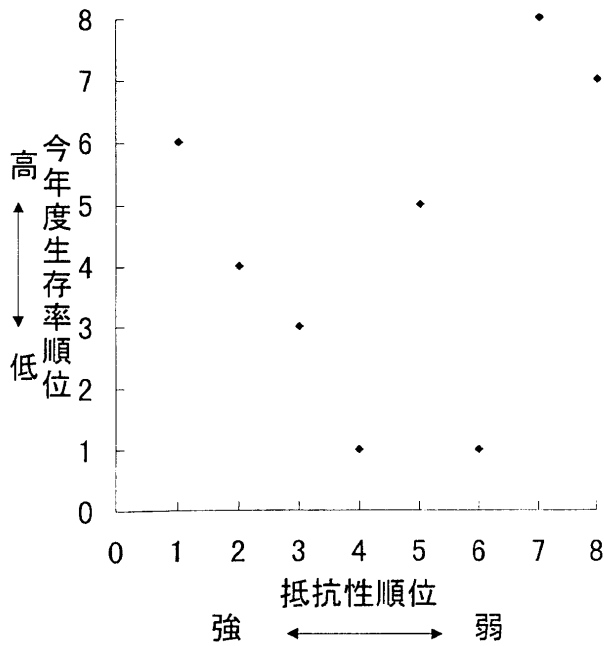


図-1 抵抗性順位と生存率順位間の相関関係

る桜島マツ，抵抗性樹種であるテーダマツと比較したところ，今回大変生存率が高かった桜島マツに対しては8クロンとも生存率はさらに高く，川内-290を除く7クロンでその差は有意であった。また，テーダマツに対しては8クロン中7クロンで生存率はより高く，そのうち吉田-2，小浜-30を除く5クロンで生存率がテーダマツより有意に高かった。一方，川内-290の生存率は有意に低かった（表-1）。

図-1に，林木育種センター公表の抵抗性順位と今年度生存率順位の関係を示す。両者の間に有意な相関関係は見られなかった ($r_s=0.361$, $P>0.05$)。

2. 材線虫の侵入個体数

表-2に，各クロンにおける接種24時間後の材線虫の侵入個体数を示す。侵入個体数は26から846まで変動したが，侵入個体数が接種頭数の10%である500頭を越えている個体は全体の約10%で，全体の約60%で侵入個体数は200頭以下であった。平均侵入個体数は少ない順に，波方-37で83.1，小浜-30で117.4，大分-8で173.4，波方-

表-2 材線虫の侵入個体数

試料番号	波方-73	吉田-2	波方-37	津屋崎-50	小浜-30	大瀬戸-12	川内-290	大分-8	桜島マツ	テーダマツ
1	226	305	119	404	173	90	447	128	321	50
2	344	507	104	532	115	521	161	73	105	292
3	136	160	31	352	103	307	609	115	242	45
4	44	297	81	147	160	806	432	68	163	368
5	177	274	47	87	151	597	34	279	239	164
6	136	219	44	320	36	256	519	290	270	36
7	269	120	41	279	156	210	64	198	255	146
8	320	282	198	29	133	26	91	121	79	128
9	156	628		98	108	126	145	151	58	84
10	145	693			39	846		311		134
平均	195.3	348.5	83.1	249.8	117.4	378.5	278.0	173.4	192.4	144.7
S. D	93.3	194.6	56.4	169.0	48.1	296.1	221.2	90.8	93.9	108.9

表-3 t-検定による材線虫の侵入個体数の比較結果

	吉田-2	波方-37	津屋崎-50	小浜-30	大瀬戸-12	川内-290	大分-8	桜島マツ	テーダマツ
波方-73	2.244*	2.982**	0.882	2.346*	1.866*	1.041	0.532	0.066	1.157
吉田-2		4.102**	1.174	3.645**	0.268	0.739	2.578*	2.183*	2.890*
波方-37			2.789**	1.392	3.085**	2.551*	2.451*	2.860*	1.445
津屋崎-50				2.268*	1.145	0.304	1.246	0.890	1.629
小浜-30					2.752*	2.133**	1.723	2.228*	0.725
大瀬戸-12						0.830	2.094*	1.884*	2.343*
川内-290							1.322	1.068	1.638
大分-8								0.449	0.640
桜島マツ									1.018

* 95%レベルで有意

** 99%レベルで有意

73で195.3, 津屋崎-50で249.8, 川内-290で278.0, 吉田-2で348.5, 大瀬戸-12で378.5であった。

平均侵入個体数はクローン間全体において有意差が認められた ($F_0=3.458$, $P<0.01$)。全部で28通りのクロンの組み合わせのうち約半数の15通りの組み合わせで、平均侵入個体数に有意差が認められた。波方-37は、他の7クローン中6クローンに対し侵入個体数が有意に少なく、他のクローンでは約半数のクローンとの間で有意差が見られた。

桜島マツとテーダマツでは、それぞれ平均192個体と145個体の材線虫の侵入が確認されたが、両者の間に有意差はなかった。

桜島マツと比較すると、侵入個体数は吉田-2, 大瀬戸-12で有意に多く、波方-37, 小浜-30では有意に少なかった。他の4クローンでは有意差は認められなかった。テーダマツと比較した場合、大瀬戸-12, 吉田-2では有意に多かったが、他の6クローンとは有意差は見られなかった(表-3)。

3. 生存率と材線虫の侵入個体数の関係

図-2に今年度生存率順位と材線虫の平均侵入個体数順位の関係を示す。両者の間には有意な相関は認められなかった ($r_s=0.204$, $P>0.05$)。

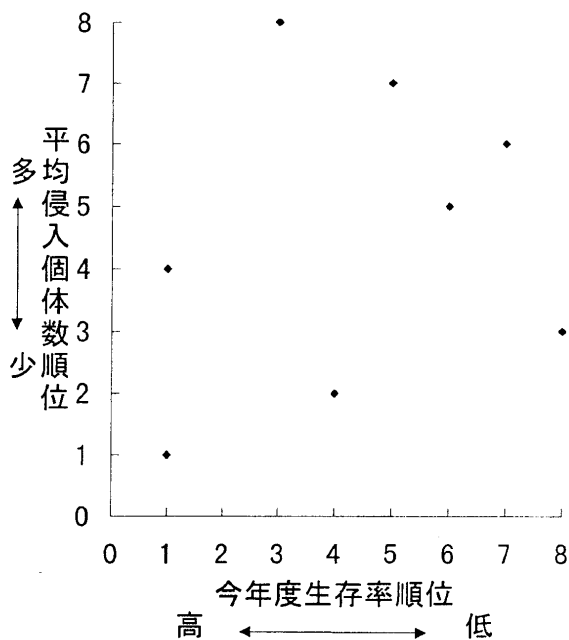


図-2 生存率順位と平均侵入個体数順位間の相関関係

考 察

今回調査に用いた抵抗性クロマツ8クロンの生存率は、一般クロマツである桜島マツより生存率が高く、川内-290を除いてその差は有意であった。また、抵抗性が強

いテーダマツと比べても、半数以上のクローンで生存率が有意に高かった。以上の結果から、これらの抵抗性クロマツ8クローンは、材線虫病に対する抵抗性をそなえていたと考えられる。

材線虫病に対する抵抗性の差は、材線虫のマツ樹体内への侵入と侵入後の樹体内での分散、増殖という2つのプロセスでの差によるものと考えられる。鈴木(1984)は、4年生クロマツ苗で接種後1日目の接種部における線虫数は接種頭数の平均13%であったと報告している。今回の抵抗性クロマツクローンへの接種試験では、これに比べ、明らかに材線虫の侵入個体数が少なかった。しかし、このような傾向は桜島マツとテーダマツでも見られた。また、今回、抵抗性クロマツクロンの生存率は、桜島マツやテーダマツと比べて高い傾向が見られたにもかかわらず、侵入個体数を桜島マツ、テーダマツと比較した場合、あるクローンでは多いが、あるクローンでは少ないというように、一定の傾向は認められなかった。これらの結果は、抵抗性クロマツクローンと一般クロマツ、抵抗性マツとの生存率の差は、材線虫の初期侵入個体数と関係がないことを示している。また、抵抗性クロマツクローン間全体においても、生存率順位と材線虫の平均侵入個体数順位との間に有意な相関は認められなかったことから、抵抗性クロマツクローン間の枯死の差に材線虫の侵入個体数の多寡が影響を与えた可能性は小さいと考えられる。

Futai(1982)は17種類のマツの新梢片への材線虫の侵入率を調査し、6月では材線虫病に対する抵抗性の一部は樹皮への材線虫の侵入率と関係があるが、材部への侵入率は抵抗性と関係がなかったと報告している。今回は樹皮と材を分離せずに侵入個体数を求めた。もし、侵入個体数を樹皮と材で別々に求めたら、抵抗性クロマツクローンと一般クロマツである桜島マツとの間に侵入個体数の差がはっきりと認められるかもしれない。

以上のことから、材線虫病に対する抵抗性の差には、材線虫侵入後の分散、増殖の抑制と関係するマツの生体防御が、より重要なのではないかと考えられる。真宮(1976)は、アカマツ、クロマツにおいて、接種後24時間で接種枝を切除した場合も苗木に発病が見られ、このことは、少ない個体数の材線虫による発病を示すとともに、接種直後における線虫の樹体内での移動、分散が発病との関連で大きな意味を持つと報告している。また、堂園ら(1973)は感受性樹種であるクロマツと抵抗性樹種であるテーダマツなどの生立木に対する接種試験で、接種直後の材線虫の樹体内移動、分散の速さや距離は両者の間でほとんど差がなかったが、抵抗性樹種においては移動数が少ない傾向を示し、さらに樹幹全面に分散せず局在していたことから、抵

抗性樹種では樹幹全体にわたって増殖し難いことが、枯損を妨げていると推察されると報告している。さらに、大山・白石(1980)によると、抵抗性マツでは、材線虫の増殖は遅く、しかも増殖した個体密度も低い。これらの抵抗性樹種に見られる材線虫侵入後の活動、増殖に関係すると思われる生体防御反応と同様な防御反応が、抵抗性クロマツクローンにおいても材線虫に対し作用するのではないかと考えられる。

接種後の枯損の程度は接種年の降水量、気温やマツ自体の健全性によっても異なる(川内 1997)と言われている。マツ樹体内における材線虫の増殖に好適な条件が整うかどうかは環境条件の影響を強く受ける(清原ら 1975)ため、土壌水分や気温などの外部環境要因により、抵抗性クローンの材線虫に対する抵抗力が受ける影響について考慮する必要があると思われる。

林木育種センター公表の抵抗性順位は、つぎ木苗1本当たり材線虫約1万頭の接種で1次検定、2次検定を経て決定されたものである。今回の調査では、生存率と抵抗性順位の間に関連は認められなかった。これより、林木育種センター公表の抵抗性順位はまだ可変的なものであろうと思われる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、調査に御協力下さった鹿児島県林業試験場の職員の方々に深く感謝いたします。

引用文献

- 堂園安夫・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。日林九支研論 26, 183-184 (1973)
- Futai, K. : Factors determining the affinity between pine wood nematodes and their host plants. (III) Host specific aggregation and invasion of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda : Aphelenchoididae) and *B. mucronatus*. Mem. Coll. Agric., Kyoto Univ. 126, 33-43 (1985)
- 川内博文：マツノザイセンチュウ抵抗性マツ生産マニュアル。鹿児島県林業試験場, 10 p. (1997)
- 岸 洋一：マツ材線虫病—松くい虫—精説。292 pp. トーマス・カンパニー, 東京 (1988)
- 清原友也・堂園安夫・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。日林九支研論 26, 191-192 (1973)
- 清原友也・橋本平一・大庭喜八郎・西村慶二：アカマツおよびクロマツ精英樹の母樹別系統に対するマツノザイセンチュウ4系統の病原性。88回日林論, 329-330 (1977)
- 清原友也・鈴木和夫・橋本平一：接種初期のマツノザイセンチュウの動態。86回日林論, 299-300 (1975)
- 真宮靖治：マツノザイセンチュウの侵入個体数とマツ苗木の発病。87回日林論, 225-226 (1976)
- 真宮靖治：マツノザイセンチュウの樹体内動態とマツの発病経過。日農化会誌 64, 25-28 (1990)
- 大山波雄・白石進：マツノザイセンチュウ病抵抗性マツの特性。日林九支研論 33, 205-206 (1980)
- 立仙雄彦・藤本良幸・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試験の結果。日林九支研論 32, 209-210 (1979)
- 鈴木和夫：マツの水分生理状態と材線虫進展。林試研報 325, 99-100 (1984)
- 山根明臣：松くい虫被害の現状、対策とその効果。林業技術 652, 16-19 (1996)

Summary

In order to study the relationship between the resistance of pine trees to the pine wilt disease and the initial levels of invasion of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, into host plants, we inoculated about 5,000 nematodes on the trunks of 2-3 year old seedlings of eight wilt-resistant clones and a susceptible clones of *Pinus thunbergii* and wilt-resistant pine species, *P. teada*, in Kagoshima Pref. For. Exp. Stn., Kamou, Kagoshima, in July 1997. We counted the number of nematodes which had invaded into each seedling one day after inoculation, and examined the survival of each inoculated seedling in October 1997. The survival rates of seedlings of the resistant clones tended to be higher than that of a susceptible clone and *P. teada*. However, the average number of nematodes in seedlings of the resistant clones did not show a consistent tendency. There was no correlation between the survival of the seedlings and the average number of nematodes in seedlings of the eight resistant clones. These results suggest that the initial levels of nematode invasion into host plants contribute little to the differences in the resistance to pine wilt disease among pine species and clones.

Keyword : pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, resistant clone, pine wilt disease, initial invasion