

マツノザイセンチュウ抵抗性マツの育種と効率的な増殖に関する研究
(県単研究 平成 18～22 年度)

小澤 創
渡邊 次郎
渡邊 敦史*

目 次

要 旨	2
I 研究緒言	3
1 マツノザイセンチュウ抵抗性苗の供給の現状と解決すべき課題	3
(1) マツノザイセンチュウ抵抗性苗の供給の現状	3
(2) マツノザイセンチュウ抵抗性苗の供給に関する解決すべき課題	3
(3) 本研究の内容	4
II 抵抗性採種園における園外花粉の影響	5
1 はじめに	5
2 材料と方法	6
(1) 雄花・雌花の着花量と生産種子量	6
(2) 暫定採種園内のクローン同定	6
(3) 花粉親の同定	7
(4) 採種園産種子と人工交配による種子の接種試験	7
3 結果と考察	8
(1) 着花量と種子量	8
(2) クローン同定	9
(3) 花粉親の解析	10
(4) 採種園産種子と人工交配による種子の接種試験	13
(5) まとめ	14
III 園外花粉の影響を低減させるための方策	15
1 はじめに	15
2 袋かけをしない人工交配 (SMP) の園外花粉抑制効果の検証	16
(1) 方法	16
(2) 結果と考察	17
3 室内交配による種子生産効率の評価	21

受付日 平成 23 年 4 月 15 日

受理日 平成 23 年 6 月 22 日

* 森林総合研究所林木育種センター

(1) 方法.....	21
(2) 結果と考察.....	21
IV 苗畑におけるマツノザイセンチュウの接種の検討	23
1 はじめに	23
2 方法.....	23
3 結果と考察.....	24
(1) 接種後の気温と降水量	24
(2) 苗畑における「島原」系統と「Ka-4」の病原力の差の評価.....	24
(3) 「Ka-4」の接種済苗の抵抗性の評価.....	25
V 接種済苗のコストを低減するためのさし木増殖技術の開発.....	26
1 はじめに	26
2 材料と方法.....	26
3 結果.....	27
4 考察.....	28
VI 総合考察.....	30
VII 参考文献.....	32

要 旨

マツノザイセンチュウに対して高い抵抗性を示すマツ苗を供給するためには、解決すべき課題は主に4つに集約される。具体的には、抵抗性採種園における園外花粉の影響を評価すること、園外花粉の影響を低減させるための方策を検討すること、接種済苗を供給するために苗畑におけるマツノザイセンチュウの接種の可能性を検討すること、および、接種済苗を安価に供給する方法を検討することである。これらの課題を解決するために、我々はまず、福島県のマツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ暫定採種園において、生産された種子のDNAを用いて花粉親分析を行った。その結果、分析した種子の84.9%が園外からの花粉を父親としていることが明らかになった。

つぎに、園外花粉を抑制するための対策として、袋かけをしない人工交配 (Supplemental mass pollination [SMP]) の効果および室内交配での種子生産性を調査した。その結果、SMP処理によって園外からの花粉を18.5~37.6%抑制することができることが明らかになった。また、室内交配によって最大約7個/球果の種子ができることが明らかになった。採種園からの種子生産量を維持しながら園外花粉を抑制するにはSMP等の対策が必要だと思われた。

つぎに、接種済苗を供給する方法として、マツノザイセンチュウの種類を中程度の病原力を持つ「島原」系統から、高い病原力を持つ「Ka-4」系統に変えて接種試験を行った。その結果、60%程度の苗が生残り、それらは再度マツノザイセンチュウを接種してもほとんど枯れないことが明らかになった。生残った苗は抵抗性を持つと判断されることから、苗畑で接種できることが明らかになった。

最後に、接種済苗の生産コストを低減させるために抵抗性を持つ接種済苗をさし木によってクローン増殖することを考えた。接種済苗をさし木で増殖させる方法は九州では試みられているが、冷涼な東北地方ではさし木が難しいとされていた。我々は広葉樹のさし木

増殖の研究結果を参照し、さし床の環境を 80%以上の高湿度に保ち、気温を 20℃程度に保つことで、80%~90%の発根率が得られることを明らかにした。

これらのことから、園外花粉の影響が大きいマツノザイセンチュウ抵抗性採種園から抵抗性種苗を生産する場合、SMP などを行って抵抗性個体どうしの交配を促進させながら、園外花粉を低減させること、そして、採種園産種子から育成した苗にマツノザイセンチュウを接種して生き残った苗を供給することが必要だろうと考えられ、さらに、生き残った苗をさし木増殖させることで生産コストを低減できると考えられる。

I 研究緒言

1 マツノザイセンチュウ抵抗性苗の供給の現状と解決すべき課題

(1) マツノザイセンチュウ抵抗性苗の供給の現状

マツノザイセンチュウ抵抗性マツの供給はマツノザイセンチュウ抵抗性採種園から得た種子を用いることが種苗法で定められている。そのため、東北以外では開発された抵抗性品種等を用いて早くからクロマツやアカマツの抵抗性採種園を造成し、事業的に抵抗性種苗を供給している^{5, 6, 36)}。

一般に流通している苗は種子から実生苗を育成し、そのまま供給する場合（未接種苗）と育成された実生苗にマツノザイセンチュウを接種し、生き残った苗（接種苗）を供給する場合がある。2003年に流通した苗のうち、アカマツでは未接種苗が15万4千本であり、接種苗の4万7千本の約3倍であり、未接種苗の供給量が非常に多い。一方、クロマツでは反対に接種苗が10万9千本であり、未接種苗の3万4千本の約3倍であり、接種苗の供給量が非常に多いことが明らかになっている⁵⁾。このときの苗価格はアカマツでは未接種苗が41~197円、接種苗が270~1,200円、クロマツでは未接種苗が41~200円、接種苗が400~1,600円となっている。未接種苗は接種苗に比べて高い価格で流通している。一般に、一度マツノザイセンチュウを接種し、生き残ったマツは再度 マツノザイセンチュウを接種しても枯れにくいことが分かっている³⁷⁾。そのため、接種苗は高く取引される傾向にあると思われる。

先にも述べたように東北地方では使える品種が近年まで少数もしくは全く無かったため、採種園の造成が遅れていた。早急に抵抗性苗を供給するために、青森県と山形県以外では平成9年から平成13年にかけて抵抗性が比較的高い品種を用いて暫定的な抵抗性アカマツ採種園が作られた³⁶⁾。また、平成15年から宮城県と福島県に東北地域の抵抗性品種を中心にして抵抗性クロマツ採種園が作られた。このように、東北地方でも本格的にマツノザイセンチュウ抵抗性種苗の供給の準備を行ってきた。

(2) マツノザイセンチュウ抵抗性苗の供給に関する解決すべき課題

現在流通している抵抗性マツ苗はマツノザイセンチュウ抵抗性採種園から得た種子を用いており、今後もこの体制は大きく変化することはない。採種園産の種子を用いて抵抗性種苗の供給を行っていく上で、現在、いくつかの課題が提起されている。それらは主に以下の4つに集約される。

一つ目は、抵抗性採種園における園外から飛来する花粉の影響を評価することである。一般的に選抜された個体を植栽しているクローン採種園において、園外からの花粉は選抜

されていない個体から散布され、採種園から得られる種子の遺伝的形質に悪影響を及ぼすとされている⁴⁾。園外花粉の影響の大きさを評価することは、その影響を低減させる方策を立てる基礎資料になるため、大変重要である。

二つ目は、園外花粉の影響を低減させるための方策を検討することである。園外花粉を低減させる方法はいくつか提案されている²⁴⁾。例えば、人工交配、袋かけをしない人工交配 (Supplemental mass pollination [SMP])、室内交配、周囲の花粉源からの隔離、防風施設等の設置、および開花時期の制御等が挙げられている。園外花粉の抑制策は抑制の目標値 (どれだけ抑えるのか) と、その対策に係る費用で選択するべきである。しかし、園外花粉を抑制する程度とその費用との関係は全く明らかになっていない。むしろ、採種園を経営する側としては、園外花粉を完全に遮断するのではなく、現在の採種園の種子生産を維持させながら園外花粉の混入を抑制させることができ、しかもコストがかからない対策が求められている。

三つ目は、苗畑におけるマツノザイセンチュウの接種の可能性を検討することである。東北地方等マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業において、マツノザイセンチュウの接種はビニールハウスで行うこととされてきた。接種済苗を大量に供給するためには接種苗数を多くする必要がある。ところが、ビニールハウスでは1棟あたり1000本程度であり、年間の接種苗の生産量に限界がある。大量に接種済苗を供給するためには、屋外 (苗畑) での接種を検討する必要がある。苗畑では約5万本/haの苗を育成することが可能であり、飛躍的に接種苗の供給量を増やすことができる。

最後に、接種済苗を安価に供給する方法を検討することである。上述したように接種済苗の価格は未接種苗に比べて高価で取引されている。九州地方では接種済苗の生産コストを低減させるために接種済苗から穂を採取し、さし木増殖を行う技術を開発している²¹⁾。従来、東日本ではマツのさし木が困難だとされてきたが、この手法を福島県に導入する必要がある。

(3) 本研究の内容

問題点として挙げられた4つの課題について明らかにする、もしくは解決することを本研究の目的とする。まず、福島県林木育種新地圃場において、抵抗性アカマツ暫定採種園における園外花粉の影響の評価を行う。次に、園外花粉の影響を低減させるための方策として、室内交配とSMPの園外花粉抑制効果を検討する。次に、マツノザイセンチュウの種類を変えることで苗畑で接種済苗が生産できるかどうかを検討する。さらに、接種済苗を安価に供給する方法として、さし木増殖技術を開発する。これらの試験の結果から、福島県がとるべきマツノザイセンチュウ抵抗性種苗の供給体制について考察する。

II 抵抗性採種園における園外花粉の影響

小澤 創
渡邊 次郎
渡邊 敦史*

1 はじめに

福島県では松枯れ被害の拡大に伴って昭和 62 年度にマツノザイセンチュウ抵抗性育種に関する県単研究課題の中で抵抗性木の選抜に着手した。その後、林野庁によって「東北地方等マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業実施要領」（以後、実施要領）が策定され、平成 4 年度から 10 カ年計画で東北地方のマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業が開始された。関東育種基本区に区分される福島県はこれを契機に、林木育種センター東北育種場および東北育種基本区内の各県と連携して抵抗性育種事業を行ってきた。

実施要領では抵抗性個体が確定し、抵抗性採種園が造成されるまでの間、1 次検定合格木等により「暫定採種園」を造成し、苗を供給する体系になっている²¹⁾。当県では、平成 8 年 3 月、東北育種場から 1 次検定に合格したアカマツのうち 10 クローンがつぎ木苗で配布され、2 年後の平成 10 年 3 月には福島県相馬郡新地町にクローン配置型 9 型、植栽間隔 3.5m×3.5 m となる暫定採種園を造成した。暫定採種園に植栽した 10 クローンは青森県、岩手県、宮城県、新潟県の精英樹から選抜されたものである（表-1）。平成 14 年 3 月には、福島県内で選抜され、1 次検定に合格した 6 クローンが新たに植栽された。最近になって暫

表-1 抵抗性アカマツ暫定採種園植栽木

クローン	略語	種別	県	No.	植栽	
					年	本数
三本木 5	Sa	一次	青森	1	1998	35
一ノ関 101	Ic	一次	岩手	5	1998	33
岩泉 101	Ii	一次	岩手	4	1998	30
岩手 104	It	一次	岩手	2	1998	7
上関伊 101	Km	二次	岩手	6	1998	35
盛岡 1	Mo	一次	岩手	3	1998	14
宮城 101	Mi	一次	宮城	8	1998	39
牡鹿 102	Oj	一次	宮城	7	1998	35
刈羽 102	Ka	一次	新潟	10	1998	43
北蒲原 2	Ki	一次	新潟	9	1998	43
いわき 8	I8	二次	福島	14	2001	19
いわき 23	I23	二次	福島	11	2001	27
いわき 25	I25	一次	福島	13	2001	21
いわき 26	I26	二次	福島	12	2001	31
いわき 91	I91	一次	福島	16	2001	5
いわき 94	I94	一次	福島	15	2001	8

一次、一次検定合格木；二次、二次検定合格木

定採種園から種子採取が可能となり、本格的に抵抗性苗を供給する体制を整え始めている。

本格的な苗の生産が開始される前に、暫定採種園の持つ問題点を適切に把握することが必要である。実際、多くの研究事例から採種園が抱える問題点が明らかとなっている^{16, 22)}。例えば、採種園を構成しているクローンの種子生産量は各クローンによって均等ではない

*森林総合研究所林木育種センター

ことや構成クローンが等しく花粉親として貢献していないことが明らかとなっている。これらの事例は当県の暫定採種園にも十分に当てはまることである。さらに、抵抗性のない花粉によって生じた実生苗は抵抗性のある花粉によって生じた実生苗よりも抵抗性が低くなるという指摘がなされており^{9, 11)}、暫定採種園における園外からの花粉飛散を把握する必要性もある。

そこで、本研究では以下のことについて明らかにする。1) 抵抗性アカマツ暫定採種園の構成クローンの着花量および種子生産量を調査し、採種園産の種子生産に対する植栽クローンの種子親としての寄与を評価する。2) マイクロサテライトマーカーを用いて植栽クローンの花粉親としての寄与、及び、園外花粉の寄与を評価する。3) 採種園産の苗や人工交配で得られた苗にマツノザイセンチュウを接種し、親が持つマツノザイセンチュウに対する抵抗性の形質が子供（実生苗）の抵抗性の形質に及ぼす影響を評価する。

これらのことから、福島県のマツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ暫定採種園が抱える問題点を把握し、適切な採種園管理と経営に関して議論する。

2 材料と方法

(1) 雄花・雌花の着花量と生産種子量

2003年5月に各クローン5個体を採種園内からランダムに選定し(図-1a)、雄花数、雌花数を調査した。2004年10月に調査個体の球果を採取し、種子を精選後、重量を測定した。

(2) 暫定採種園内のクローン同定

2006年7月に採種園内の全個体からDNA分析用に数本の葉を採取した。採取した試料は分析を行うまで -20°C で保存した。DNAの抽出はCTAB法で行った¹⁵⁾。抽出されたDNAを鋳型にして、5つのマイクロサテライトマーカー、pdms009³⁹⁾、pde14¹⁹⁾、bcpd006⁸⁾、bcpd502 and bcpd222 (Isoda and Watanabe, 未発表)を用いてPCRを行った。PCRはサーマルサイクラDNAEngine™ Model PTC-200 (MJ Research社)を使用し、反応はtouch-down PCRを適用した。PCR反応溶液は最終濃度が10mM Tris-HCl pH9.0、50mM KCl、2.0mM MgCl₂、0.2mM 各dNTP、0.2 μM 各プライマー、0.1U *Taq* DNA polymerase (Invitrogen社)、ゲノムDNA20ngになるよう調整した。PCR増幅産物はジェネティックアナライザABI PRISM model 3100 (Applied Biosystems Ltd)を利用して検出し、GENESCAN 350 ROX Size Standard (Applied Biosystems Ltd)を内部マーカーとしてGenotyperソフトウェアver2.0を用いてフラグメントサイズを決定した。

分析に用いたSSRマーカーの遺伝的な特徴を対立遺伝子数(Na)、ヘテロ接合対率の観察値(Ho)、ヘテロ接合対率の期待値(He)、父性排他確率(EP1)およびヌルアレル確率(Fnull)で評価した。

クローン同定は採種園の全クローンの植栽木(ラメート)の遺伝子型を決定し、それらが各クローンで同一になるかどうかで判断した。あるクローンの植栽木の遺伝子型が全て同一になった場合、そのクローンは真のクローンであるとした(植栽木は真の親から複製されたものと判断される)。全てが同一にならなかった場合、植栽木は真の親および偽の親から複製されたものと判断されるので、原種の供給先である林木育種センターに保存されて

いるものと同一になった遺伝子型を持つ植栽木を真の植栽クローンであるとした。

(3) 花粉親の同定

種子の花粉親を調査するクローンを三本木 5 (青森県)、上閉伊 101 (岩手県)、宮城 101 (宮城県)、刈羽 102 (新潟県)、いわき 8 (福島県)、いわき 26 (福島県) の 6 つ選定した。そして、園内の交配実態を均一に評価するために、園全体からランダムに種子採取木を選定した (図-1b)。2004 年 10 月に各調査木から種子を採取した。これらの種子を 2% の寒天培地に播種し、気温 25°C で発芽させた。発芽後、芽生えが 5 cm 程度まで伸長した個体 100~200 サンプルを DNA 分析用に採取した。実生からの DNA 抽出および遺伝子型の決定

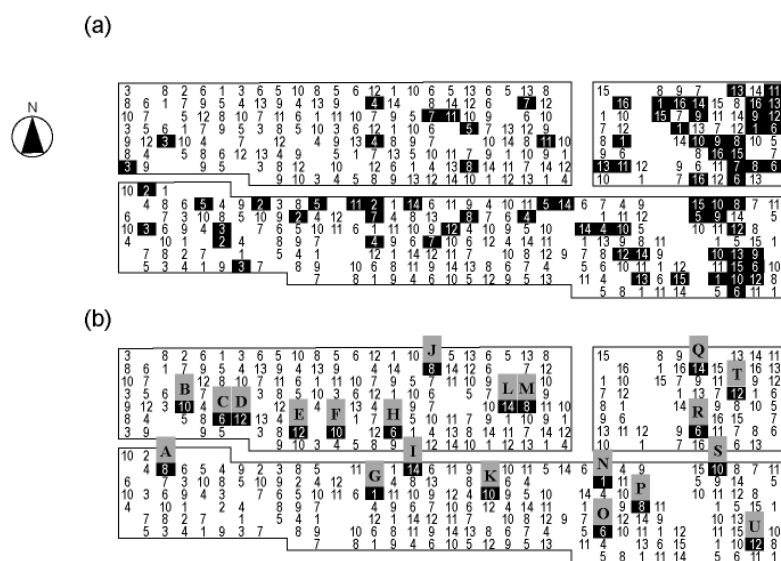


図-1 暫定採種園の植栽配置図 (a) 雄花、雌花の着花量を調査した個体 (■+白番号)、(b) 種子の花粉親を調査した個体 (A~U+白番号)。配置図内のクローンは番号 (表-1) で示した。

は上述した方法を用いた。

花粉親の遺伝子型は実生の遺伝子型からクローン同定で明らかになっている種子親の遺伝子型を差し引くことで得た。この花粉親の遺伝子型が採種園内のクローン由来なのか、採種園外の個体由来なのかの評価⁷⁾によって示された LOD 値を用いた最尤法を用いて判断した。LOD 値は子と父親の尤 (ゆう) 度比 (ある父親候補の尤度 : ランダムに選んだ父親候補の尤度) の対数値である。LOD 値は全ての父親候補について計算され、設定した閾値を越えた最も高い LOD 値を持った父親候補を真の父親とする。LOD 値の閾 (いき) 値の設定はシミュレーションによって決定される。100,000 個体の父親候補の遺伝子型をもとにして作られた真の子供集団と父親候補集団の間の LOD 値の頻度分布と 100,000 個体の父親候補とは異なる遺伝子型を持つ子供集団と父親候補集団の間の LOD 値の頻度分布を作成する。そして、これらの分布の交点の LOD 値を閾値とするものである。これらの分析は父性解析ソフトウェア FaMoZ を用いた。

(4) 採種園産種子と人工交配による種子の接種試験

採種園から得られた種子の抵抗性を評価するために 2003 年~2006 年に種子をクローン

ごとに採取した。また、花粉親が持つマツノザイセンチュウに対する抵抗性の形質が子供（実生苗）の抵抗性の形質に及ぼす影響を評価するために、抵抗性を持つもの13個体（一次検定合格木および、二次検定合格木）および抵抗性を持たないもの3個体（精英樹）から得た花粉を用いて人工交配を行った（表-2）。人工交配は2006年から2008年の3年間に行い、種子を得た。接種試験は苗畑において2008年～2010年に行った。

接種にはマツノザイセンチュウ Ka-4 系統を用い、苗当たり 0.1ml（接種数 10,000 頭）のマツノザイセンチュウ懸濁液を剥皮法によって接種した。接種は毎年7月1～5日の間に行い、接種後15週後に枯死状態を、苗全体が枯れたもの、および生存しているものに分類した。各家系とも2年もしくは3年間の繰返しで接種試験を行った。また、抵抗性の対照家系は独立行政法人森林総合研究所林木育種センター東北育種場から供給されるアカマツ5家系とした。

3 結果と考察

ある採種園が遺伝的なポテンシャルを最大限に発揮しているかどうかは、主にその採種園が理想的な条件に当てはまっているかどうかで判断される⁴²⁾。理想的な採種園の条件とは、主に以下の5つである。つまり、1. 大量の種子を安定して供給できること、2. 園外からの花粉の混入が無視できる程度であること、3. 採種園を構成する全てのクローンが種子に均等に寄与すること、4. 自殖が無視できる程度であること、5. 植栽クローンが計画とおりに管理されていることである。本県のマツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ暫定採種園において、Wheeler (1992)⁴²⁾ が提示した理想的な採種園の条件と比較することで、この採種園が抱える問題点の大きさを把握する。

(1) 着花量と種子量

雄花の着花量はクローンによって差が大きかった（表-3）。最も雄花量が多かったのは三本木5で、1個体あたりの平均雄花数は567.2個（全体の86.4%）であった。

次に多かったのは一ノ関101であり、平均雄花数は39.8個（全体の6.1%）であった。それ以外のほとんどクローンは10個未満の雄花しか着生させなかった。これらのクローンの雄花が全雄花数に占める割合はそれぞれ2%未満であった。

雌花の着花量も雄花と同様にクローンによって差が大きかった。最も雌花量が多かったのは雄花と同様に三本木5であった。1個体あたりの平均雌花数は447.6個（全体の70.8%）であった。次に多かったのは刈羽102であり、平均雌花数は112.6個（全体の17.8%）であった。それ以外のほとんどのクローンは15個未満の雌花しか着生させなかった。これら

表-2 花粉親として用いた個体

クローン名	種別	県
上閉伊101	二次	岩手
久慈102	一次	岩手
一ノ関101	一次	岩手
北蒲原2	一次	新潟
牡鹿102	一次	宮城
盛岡1	一次	岩手
熊山25	二次	岡山
三本木5	一次	青森
白石10	二次	宮城
三本木3	一次	青森
相馬3	精英樹	福島
岩瀬3	精英樹	福島
伊達1	精英樹	福島
刈羽102	一次	新潟
北蒲原3	二次	新潟
西置賜3	二次	山形
小計		
非抵抗性個体	3	個体
抵抗性個体	13	個体
合計	16	個体

一次：一次検定合格木
二次：二次検定合格木

のクローンの雌花が全雌花に占める割合はそれぞれ2%以下のものがほとんどであった。

各クローンの種子量は雌花量をほぼ反映していた。最も種子量が多かったのは三本木5であった。調査木の採取種子の合計は344.3g（全体の69.5%）であった。次に多かったのは宮城101であり、種子量は70.3g（全体の14.2%）であった。それ以外のクローンの種子量は45g未満であった。これらのクローンの種子が全種子量に占める割合はそれぞれ10%未満であった。

着花量、種子量とも暫定採種園を構成するクローン間で大きな偏りがあることが明らかになった。特に三本木5の雄花数は全体の約9割、種子生産量は全体の約5割を占めており、他の報告と比べても極端に偏った事例と考えられた^{20, 35)}。

これらの結果から、理想的な採種園の条件「採種園を構成する全てのクローンが種子に均等に寄与すること」に関しては、あてはまっていないことが明らかになった。

表-3 マツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ暫定採種園の着花量および、種子生産量

クローン	雄花数			雌花数			種子生産量	
	平均	SD	%	平均	SD	%	重量 (g)	%
三本木5	567.2	253.4	86.4	447.6	114.2	70.8	344.3	69.5
一ノ関101	39.8	37.3	6.1	2.0	2.3	0.3	2.8	0.6
岩泉101	0.2	0.4	0.0	1.2	1.3	0.2	0.6	0.1
岩手104	0		0	7.2	4.8	1.1	5.9	1.2
上閉伊101	0.2	0.4	0.0	3.4	2.6	0.5	2.0	0.4
盛岡1	3.2	3.6	0.5	7.4	2.8	1.2	6.3	1.3
宮城101	6.0	6.4	0.9	26.0	11.4	4.1	70.3	14.2
牡鹿102	12.6	9.5	1.9	1.2	2.2	0.2	1.0	0.2
刈羽102	0.2	0.4	0.0	112.6	51.8	17.8	45.0	9.1
北蒲原2	7.0	2.8	1.1	12.4	2.2	2.0	7.8	1.6
いわき8	1.8	2.4	0.3	6.0	1.7	0.9	7.1	1.4
いわき23	3.4	5.0	0.5	0.4	0.9	0.1	0	0
いわき25	5.0	5.8	0.8	0.4	0.5	0.1	0.2	0.0
いわき26	3.4	7.6	0.5	2.2	2.3	0.3	1.9	0.4
いわき91	6.2	5.0	0.9	0.8	1.3	0.1	0	0
いわき94	0.6	1.3	0.1	1.2	2.7	0.2	0.2	0.0
合計							495.3	100

(2) クローン同定

5つのマイクロサテライトマーカーの対立遺伝子数 (Na) は最小15から最大32であった。また、父性排斥率が0.998、ヌルアレル確率は-0.0198以下であった。これらのパラメーターから、この5つのマーカーは花粉親分析に用いるのに十分な解析力を持っていると判断される。

植栽クローンのクローン同定を行った結果、三本木5以外のクローンでは植栽木全てが同じ遺伝子型を持っていたので、真のクローンであると考えられた。三本木5は3つの遺伝子型で構成されていた(図-2)。植栽されている三本木5、35本のうち、独立行政法人森林総合研究所林木育種センター東北育種場に保存されている三本木5と同一の遺伝子型を持つクローンと判断されたのは18本であった(SaB)。それ以外と判断されたのは3本(SaA)、および14本であった(SaC)。これらは採種園にある程度のまとまりを持って植栽されており、SaAは採種園の西側に、SaCは東側に集中していた。

表-4 花粉親分析に用いたSSRマーカーの特徴

locus	Na	Ho	He	EP1	Fnull
pdms009	31	0.925	0.891	0.643	-0.0198
pde14	22	0.929	0.850	0.544	-0.0470
bcpd502	32	0.922	0.885	0.628	-0.0216
bcpd006	30	0.951	0.895	0.652	-0.0315
pdms222	15	0.820	0.779	0.416	-0.0281
Total				0.998	

Na, ローカスあたりの対立遺伝子数; Ho, アレルへのヘテロ接合対率の観察値; He, ヘテロ接合対率の期待値; EP1, 父性排斥率; Fnull, ヌルアレルの確率

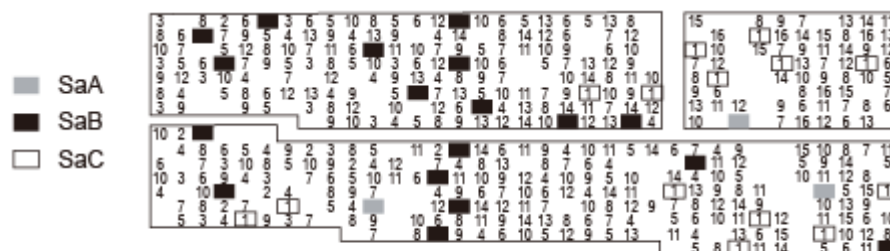


図-2 三本木5のクローン同定の結果
SaB: 三本木5, SaAとSaC: 三本木5とは異なるクローン

植栽されているクローンが誤っていることは他の報告にもあり、つぎ木増殖後の台木の立ち上がりやクローン増殖時の人為的ミスが挙げられている。これらの結果から理想的な採種園の条件である「植栽クローンが計画とおりに管理されていること」に関しては、当てはまっていないことが明らかになった。

(3) 花粉親の解析

調査木の種子の花粉親は多くが園外からの花粉であると判断された(表-5)。園外花粉の混入率は全調査種子の84.9%であった。また、混入率は調査木によって大きく異なっていた。最も混入率が高かったのはH(上閉伊101)で98.8%であり、最も低かったのはL(いわき8)で41.1%であった。

園内花粉による交配は少なかった。園内花粉による交配は全調査種子では15.1%であった。また、交配率はLで58.9%と最も高く、Hで1.3%と最も低かった。園内のクローンで最も花粉親として寄与していたのは雄花量が最も多い三本木5で全調査種子の13.0%であった(園内交配のうちの86.1%)。その他のクローンの花粉親としての寄与は全種子のうちの1%未満、園内交配種子のうちの4.0%未満であり、ほとんど親として貢献していないことが明らかになった。

従来²³⁾の知見では、園外花粉の混入率は高くても60-70%程度が最高であることから³¹⁾、今回の結果はそれよりも高い混入率であると考えられる。このことから、園外花粉が

交配に大きな影響を与えていることが明らかになった。

園内花粉よりも園外花粉の影響が大きくなる採種園の要因としていくつか挙げることができる。例えば、植栽クローンの開花時期が異なることや²⁾、採種園の規模が小さいこと³⁾ 採種園の構成木の樹齢が若く、雄花量が少ないことなどである¹²⁾。これらにより、空気中の園内クローンの花粉量が園外花粉よりも少なくなり、園外花粉の混入率が高くなる²⁵⁾。これらの結果から、この採種園においては理想とされる採種園の条件のうち、「園外からの花粉の混入が無視できる程度であること」についても当てはまらないことが明らかになった。

表-5 採種園の植栽木から採取した種子の花粉親分析の結果

位置	クローン	n	花粉親候補													
			園外		園内											
			園内の花粉親候補													
		SaA	SaB	SaC	Ic	Ii	Km	Mo	Mi	Oj	Ka	Ki	I25	I91		
		no.	(%)													
A	Mi	30	(100)	27	(90.0)				1	(3.3)	2	(6.7)				
B	Ka	96	(100)	92	(95.8)				1	(1.0)	3	(3.1)				
C	Km	86	(100)	83	(96.5)	3	(3.5)									
D	I26	-	(100)													
E	I26	14	(100)	13	(92.9)	1	(7.1)	1	(7.1)							
F	Ka	120	(100)	116	(96.7)	4	(3.3)	2	(1.7)				1	(0.8)		
G	SaA	113	(100)	101	(89.4)	12	(10.6)	6	(5.3)			4	(3.5)	2	(1.8)	
H	Km	80	(100)	79	(98.8)	1	(1.3)							1	(1.3)	
I	I8	94	(100)	84	(89.4)	10	(10.6)	2	(2.1)		5	(5.3)				
J	Mi	73	(100)	63	(86.3)	10	(13.7)			1	(1.4)	7	(9.6)	1	(1.4)	
K	Ka	79	(100)	72	(91.1)	7	(8.9)	1	(1.3)	1	(1.3)	3	(3.8)			
L	I8	56	(100)	23	(41.1)	33	(58.9)	1	(1.8)	2	(3.6)	30	(53.6)			
M	Mi	109	(100)	90	(82.6)	19	(17.4)	2	(1.8)			16	(14.7)	1	(0.9)	
N	SaA	69	(100)	58	(84.1)	11	(15.9)	1	(1.4)	3	(4.3)	7	(10.1)			
O	Km	45	(100)	35	(77.8)	10	(22.2)			2	(4.4)	8	(17.8)			
P	Mi	57	(100)	50	(87.7)	7	(12.3)	1	(1.8)			6	(10.5)			
Q	I8	84	(100)	40	(47.6)	44	(52.4)			1	(1.2)	38	(45.2)	1	(1.2)	
R	Km	95	(100)	88	(92.6)	7	(7.4)			2	(2.1)	5	(5.3)	1	(1.2)	
S	Ka	116	(100)	102	(87.9)	14	(12.1)	2	(1.7)	7	(6.0)			1	(0.9)	
T	I26	63	(100)	36	(57.1)	27	(42.9)			2	(3.2)	22	(34.9)	1	(1.6)	
U	I26	44	(100)	41	(93.2)	3	(6.8)					2	(4.5)			
Total		1523	(100)	1293	(84.9)	230	(15.1)	21	(1.4)	21	(1.4)	156	(10.2)	9	(0.6)	
														1	(0.1)	
														2	(0.1)	
														3	(0.2)	
														7	(0.5)	
														1	(0.1)	
														1	(0.1)	
														3	(0.2)	
														4	(0.3)	
														1	(0.1)	
														1	(0.1)	
														3	(0.2)	
														4	(0.3)	
														1	(0.1)	
														1	(0.1)	
														3	(0.2)	
														4	(0.3)	

I26 (D) は球果が着生せず、種子が得られなかった。植栽位置(A-U)は 図-1bに示した。

(4) 採種園産種子と人工交配による種子の接種試験

暫定採種園の実生家系の抵抗性（生存率）は植栽クローンによって平均 0~32.7%までの差が見られた（表-6）。いわき 8 が最も高く、32.7%、次が三本木 5（SaA）で、20.3%であった。最も生存率が低かったのはいわき 91 の 0%であった。生存率が高いクローンのうち、いわき 8 および三本木 5（SaA）は抵抗性の対照苗よりも生存率が高かった。抵抗性の対照苗の生存率は抵抗性を判断する基準となることから、これらの 2 クローンは抵抗性があると判断される。また、暫定採種園に植栽されている抵抗性品種（二次検定合格木）の 4 品種（上閉伊 101、いわき 8、いわき 23、いわき 26）のうち、上述したいわき 8 以外の生存率は対照苗よりも低かった。

表-6 抵抗性アカマツ暫定採種園産苗の生存率

クローン名	種別	n	最小	平均	最大
いわき 8	二次	2	32.0	32.7	33.3
三本木 5 (SaA)	一次	2	12.0	20.3	28.6
対照苗		3	3.0	17.8	51.9
いわき 25	一次	2	0	17.4	34.8
岩泉 101	一次	3	0	13.1	21.9
三本木 5	一次	2	4.5	12.3	20.0
一ノ関 101	一次	3	3.4	11.6	26.1
牡鹿 102	一次	4	0	11.4	22.6
北蒲原 2	一次	3	4.5	10.3	15.2
三本木 5 (SaB)	一次	2	2.9	9.8	16.7
盛岡 1	一次	4	3.0	5.6	10.7
いわき 23	二次	2	0	5.0	10.0
いわき 26	二次	2	3.8	4.2	4.5
上閉伊 101	二次	4	0	3.8	7.7
三本木 5 (SaC)	一次	2	0	3.6	7.1
刈羽 102	一次	4	0	3.0	5.6
岩手 104	一次	3	0	2.4	7.1
宮城 101	一次	4	0	2.1	5.3
いわき 91	一次	1	0	0	0

n は家系の繰り返し数を示す。

暫定採種園から生産される種子の多くが園外からの花粉を父親として持つことから、この抵抗性の結果は園外花粉を父親として持った場合の実生の抵抗性を示していると考えられる。マツノザイセンチュウの抵抗性に与える種子親、花粉親の寄与は抵抗性品種によって異なることが示されている¹⁰⁾。例えば、クロマツでは園外花粉を父親として持つ場合、抵抗性は低くなるが、抵抗性個体の花粉を父親として持つ場合、抵抗性は高くなる。この知見から花粉親によって、この暫定採種園から生産される種子の抵抗性は大きく変わると考えられるが、現時点では生産種子の多くは抵抗性がないと判断される。

抵抗性を持つと判断された個体（一次検定合格木もしくは二次検定合格木）に抵抗性個体の花粉を人工的に交配させ、それらの実生の抵抗

性を評価した（表-7）。花粉親として実生の抵抗性への寄与はクローンによって 0%から 43.8%の差が見られた。最も抵抗性が高くなったのは上閉伊 101 を花粉親とした場合であり、生存率は平均 43.8%であった。抵抗性が最も低かったのは西置賜 3 を花粉親とした場合であり、生存率は 0%であった。抵抗性のある花粉親 13 クローンのうち、対照苗の生存率が 17.8%よりも高かったのは 8 クローンであり、5 クローンが対照苗の生存率よりも低かった。

非抵抗性個体（精英樹）を花粉親とした場合、その生存率は 13.0%から 11.5%であった。この生存率よりも低かった花粉親は 3 クローン（刈羽 102、北蒲原 3、西置賜 3）であった。多くのクローンが非抵抗性個体よりも高い生存率を示した。

これらのことから、抵抗性がある個体であっても、花粉親として子の抵抗性に寄与するクローンもあるが、子の抵抗性にあまり貢献しないクローンもあることが分かった。また、多くの抵抗性がある個体は抵抗性をもたない個体よりも抵抗性が高くなることが分かった。

(5) まとめ

抵抗性を持った種子を供給する場合、抵抗性が高いものどうしを交配させることを目的として採種園を造成する。しかし、造成された採種園は理想とされる条件を満たしていなかった。抵抗性採種園に課せられた目的は抵抗性種子を生産することなので、生産される種子の抵抗性が高ければ、採種園としての機能を維持していると判断できる。しかし、種子の抵抗性は低いクローンが多かった。

この採種園から継続して種子を生産していくには、採種園が持つ遺伝的ポテンシャルを十分に発揮させることが必要である。理想とされる採種園の条件に近づけることが必要である。まず「大量の種子を安定して供給できること」については経過年数とともに植栽された個体が成長し、着花量が多くなることから、解消できる。次に「園外からの花粉の混入が無視できる程度であること」については採種園内の着花量が多くなれば相対的に園外花粉の影響も軽減すると考えられる。しかし、園外からの花粉を完全に遮断することはできないので、何らかの対策が必要である。園外花粉を抑制する対策については次章で議論したい。次に「採種園を構成する全てのクローンが種子に均等に寄与すること」については着花のコントロールが考えられる。マツにおいてはBAPなどの薬剤を処理することで雌花を着生させることが可能であることが知られている³⁸⁾。雄花のコントロールはできないことから、技術開発が待たれるところである。次に、「自殖が無視できる程度であること」について、マツは他殖性であるので、自殖はほとんどないと考えられる。最後に「植栽クローンが計画とおりに管理されていること」であるが、人為的ミスを少なくすることが必要である。

表-7 抵抗性個体（一次検定合格木もしくは二次検定合格木）の花粉親としての実生の抵抗性（生存率）への寄与

花粉親	区分	n	最小	平均	最大
上閉伊 101	二次	6	12.5	43.8	100
久慈 102	一次	1	38.1	38.1	38.1
一ノ関 101	一次	7	0	35.2	56.3
北蒲原 2	一次	6	0	33.9	80.0
牡鹿 102	一次	8	0	33.7	62.5
盛岡 1	一次	7	0	30.9	75.0
熊山 25	二次	2	15.0	22.3	29.6
三本木 5	一次	8	0	21.8	50.0
対照苗		19	3.0	17.8	51.9
白石 10	二次	2	10.0	15.7	21.4
三本木 3	一次	3	0	13.9	31.3
相馬 3	精英樹	6	0	13.0	28.6
岩瀬 3	精英樹	4	0	11.7	22.2
伊達 1	精英樹	3	10.0	11.5	13.3
刈羽 102	一次	8	0	10.9	28.6
北蒲原 3	二次	3	0	1.9	5.6
西置賜 3	二次	2	0	0	0

nは接種試験をした家系数を示す。

Ⅲ 園外花粉の影響を低減させるための方策

小澤 創
渡邊 敦史*

1 はじめに

園外花粉への対応策として、多くの提案がなされている。例えば、人工交配、Supplemental mass pollination (SMP)、室内での交配、および周囲の花粉源からの隔離、防風施設等の設置、および開花時期の制御が挙げられている。

人工交配は目的とするクローンどうしの交配に広く行われている交配法である。作業は雌花の開花前に袋かけを行い、雌花を構成する鱗片と鱗片の間隔が最大になる時期（受粉適期とする）に花粉銃によって袋内に花粉を注入し、開花過程が終了後、袋をはずすという工程をへる。袋内の雌花は他の花粉から遮断されることになる。

SMP は袋かけによらない人工交配法である。高圧スプレーや農薬散布機などによって、貯蔵しておいた花粉を開花期に雌花に直接散布する方法がとられている。SMP は海外のマツの採種園でよく行われており、採種園の花粉量が限られている場合に空気中の花粉量を増加させ、生産される種子数を増加させるのに有効な処理方法だとされている。採種園内の開花時期の異なる全親クローンの花粉を混合して処理することによって、遺伝的多様性を高める効果や自殖率を減少させる効果もあるとされている。SMP は目的外の花粉との交配を遮断することはできないが、採種園の種子生産をオープン交配と並行して処理することができ、通常の人工交配よりもコストを下げることができると考えられる。

周囲の花粉源から採種園を隔離する方法の一つは採種園を同樹種林分の少ない地域に造成することである。このことで、園内の空中花粉における園外花粉の割合を減少させることができる。そして、結果的に空中花粉における園内花粉の割合が増加し、園内交配がなされやすくなると考えられる。しかし、園外からの花粉は同樹種林分が採種園から数十 km 以上離れていても混入することが報告されている。そのため、園外花粉が全く混入しない場所を選定することは困難であると考えられる。周囲の花粉源から採種園を隔離するもう一つの方法は花粉をほぼ遮断できる屋内での交配が考えられる。スギではミニチュア苗を用いてビニールハウスやガラスハウスを用いた交配が行われており、一定の効果が認められている¹⁵⁾。施設を導入する必要があるため、コストはかかるものの、袋かけや花粉採取、受粉作業などの一連の作業を省略でき、冬期間の雌花と雄花の寒害などを防止することができる。また、ハウス内の温度が上昇することにより、雄花と雌花の開花時期が屋外よりも早まり、外部の花粉との交配をさらに抑制することができる。

周囲の花粉源から混入する花粉を抑制する方法として、防風ネットや防風林などの防風施設を設置することが考えられる。防風施設は周囲からの花粉を完全に遮断することはできないが、混入を抑制する効果があると考えられる。

これらの園外花粉の抑制策のうち、本研究では SMP および室内交配を取り上げる。SMP

*森林総合研究所林木育種センター

では処理を行うことでどれだけ園外花粉を抑制できるかを評価することを目的とする。人工交配では室内で交配することで、どれだけの種子が得られるかを評価することを目的とする。

この章では試験内容が複雑なため、方法と結果と考察を「袋かけをしない人工交配 SMP の園外花粉抑制効果の検証」および「室内交配による種子生産効率の評価」に分けて記載する。

2 袋かけをしない人工交配 (SMP) の園外花粉抑制効果の検証

(1) 方法

散布は二つの方法を用いた。一つは 2.0ml のマイクロチューブの先端 (底部) を斜めに切断し、メッシュ (70 μ m \times 70 μ m) を取り付けたものである (写真 1 a)。もうひとつは花粉銃を用いたものである (写真 1 b)。処理花粉はマツノザイセンチュウ抵抗性個体から採取したものをを用いた。すなわち、久慈 102、上閉伊 101、白石 10 を用い、それぞれ体積比 1 : 1 : 1 で混合したものである。これをマイクロチューブに 0.15~0.20 g およびシリカゲルを 0.8 g 入れ、花粉銃には約 4 g 入れた。処理木は刈羽 102 とし、マイクロチューブによる SMP 処理を行う 2 個体 (図-3 A, B 個体) と花粉銃による処理を行う 2 個体 (C, D 個体) を選定した。各個体について 9 本の当年枝を選定し、各当年枝の先端の穂 (雌花 1~3 個が着生) に対して処理を行った。処理は雌花が開花後 2~3 日目に達した 2007 年 5 月 18 日より開始した。マイクロチューブによる処理では 2~3 日ごとに新しいチューブに交換し、花粉銃による処理では、2~3

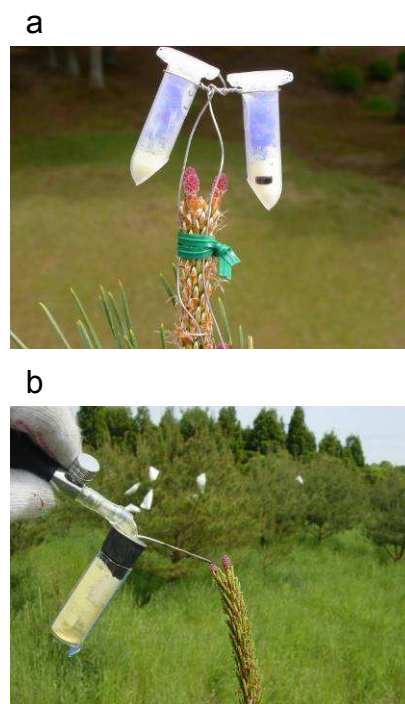


写真 1 SMP 処理
マイクロチューブを用いる方法(a)と花粉銃を用いる方法(b)

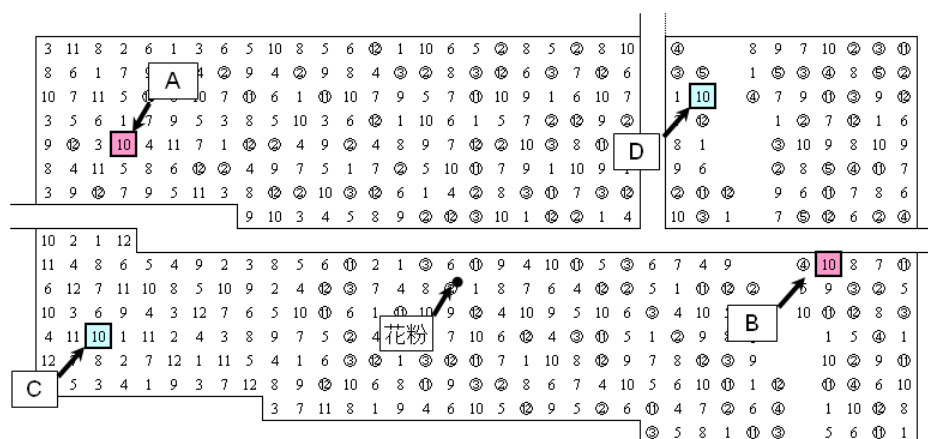


図-3 SMP処理を個体と花粉密度を測定した位置

A、**B**、マイクロチューブによるSMPを行った調査木；**C**、**D**、花粉銃によるSMPを行った調査木；**花粉**、空中花粉量を測定した位置

日ごとに穂あたり 2 回散布した (表-8)。

散布した花粉量はマイクロチューブによる処理ではチューブを設置する前後に重量を測定すること

とで決定した。花粉銃による処理では予め、1 回の散布にどれだけ花粉が散布されるかを散布前後の重量を測定して決定した。

また、採種園内の花粉密度の推移を把握するために園内の 1 箇所にダーラム型花粉収集器を設置した。そして、2007 年 5 月 8 日から 6 月 4 日まで 2 日おきにマツの花粉密度を測定した。この期間は事前の調査により採種園の植栽クロンの雌花の開花過程が開始する直前から、終了した後までに相当する。

SMP を行った後、2008 年 10 月に処理した球果を採取し、種子精選を行った。このとき、シイナ (種子の中が空洞のもの) とシイナ以外に分けた。これらの種子を 2% の寒天培地に播種し、気温 25℃ で発芽させた。発芽後、芽生えが 5 cm 程度まで伸長した個体 100~200 サンプルを DNA 分析用に採取した。DNA 抽出、PCR および各種子の遺伝子型の決定、および花粉親分析については第 2 章で述べた方法を用いた。

(2) 結果と考察

採種園の空中花粉は 5 月 10 日から増加し始め、5 月 30 日に最も多くなった (図-4)。その後、6 月 4 日には減少した。このことから、この採種園における花粉飛散期間は 5 月 10 日から 6 月 4 日までだと推定される。

SMP 処理は 5 月 18 日から 6 月 1 日までであったので、採種園の花粉飛散期間と一致していたと推定される。

散布した花粉量は花粉銃による処理がマイクロチューブによる処理よりも 2 倍~15 倍多かった。マイクロチューブによる処理では 1 日あたり 0.03~0.15 g であり、5 月 18 日から 6 月 1 日までの期間の合計で 0.29~1.52 g であった (表-9)。花粉銃による処理では 1 回あたり 0.36~0.44 g であり、全処理の合計で 1.78~2.22 g であった。

種子が得られた球果は調査木あたり 10~19 個であった (表-10)。球果当たりの種子数、充実種子数 (シイナ以外) ともチューブによる処理を行った球果の方が多かった。全種子数は平均で 15.7~38.2 個であった。最小は 6 個/球果、最大は 51 個/球果であった。充実種子数は平均で 12.9~33.9 個であった。最小は 5 個/球果、最大は 47 個/球果であった。

表-8 SMP 処理条件の概要

処理方法	処理木数	処理穂数	処理期間・処理日 (2007 年)
マイクロチューブ	2	18	5 月 18 日~6 月 1 日
花粉銃	2	18	5 月 18, 21, 24, 28 日, 6 月 1 日

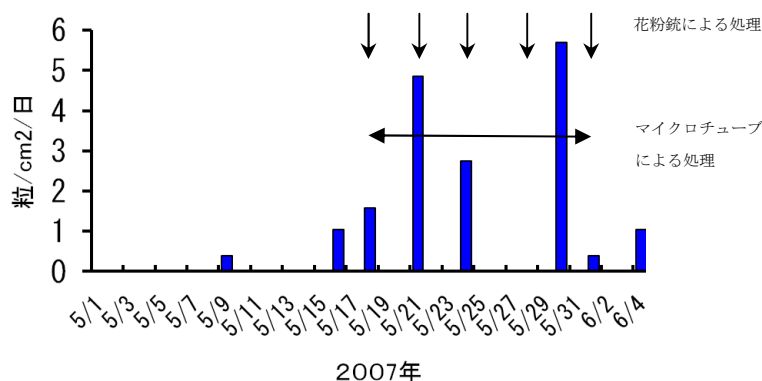


図-4 SMP 処理を行ったときの空中花粉量の推移。

表-9 散布した散布量

処理方法	1 日 / 1 回	期間 / 回数計
マイクロチューブ	0.03~0.15 g	0.29~1.52 g
花粉銃	0.36~0.44 g	1.78~2.22 g

一般的にマツの球果当たりの充実種子数は 45 個程度である³²⁾。また、2004 年に調査したこの採種園における球果当たりの充実種子数は 19~38 個である^(小澤、未発表)。これらの知見から、調査木 A、B では得られた球果当たりの充実種子数はこの採種園の通常値に近く、調査木 C、D ではそれに比べて少ないことが明らかになった。これらが SMP 処理の影響によるものなのか、調査木間の個体差であるのかについては不明である。

表-10 処理した穂に着生していた球果数、および球果あたりの種子数

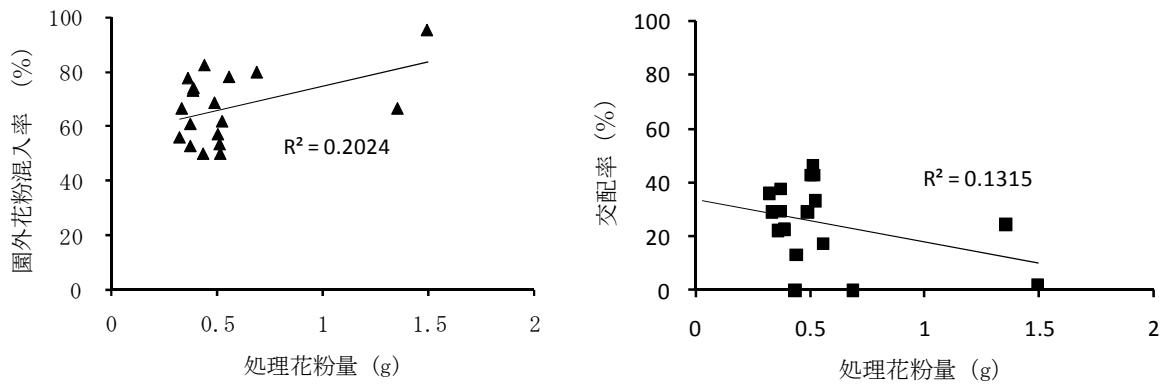
処理方法	処理木	球果数	球果当たりの種子数								
			全数			シイナ以外			シイナ		
			平均	最小	最大	平均	最小	最大	平均	最小	最大
チューブ	A	19	33.0	12	50	28.9	11	45	4.1	1	13
	B	19	38.2	17	51	33.9	12	47	4.3	1	9
花粉銃	D	10	22.8	7	35	19.0	5	29	3.8	1	6
	C	14	15.7	6	27	12.9	5	24	2.8	0	5

マイクロチューブを用いた場合、SMP 処理をした花粉は DNA 分析を行った全種子 167 粒のうち、平均 28.2% (最小 0%、最大 42.9%) が親として貢献していると推定された (表-11)。採種園内の植栽クローンが花粉親として貢献している割合は平均 5.4% (最小 0%、最大 20.0%) と推定された。園外から飛来する花粉が親として貢献している割合は平均 66.4% (最小 50.0%、最大 95.6%) と推定された。

花粉銃を用いた場合、SMP 処理をした花粉は DNA 分析を行った全種子 98 粒のうち、平均 47.3% (最小 0%、最大 100%) が親として貢献していると推定された。採種園内の植栽クローンが花粉親として貢献している割合は平均 5.4% (最小 0%、最大 22.2%) と推定された。園外から飛来する花粉が親として貢献している割合は平均 47.3% (最小 0%、最大 95.6%) と推定された。

これらの結果から、SMP 処理を行うことで園外花粉をある程度抑制できると判断される。一般的に、園外花粉の影響は大きな経年変化はないことが分かっており³¹⁾、周囲林の状況や採種園内の着花量が大きく変わらない限り、その影響の大きさは継続すると考えられる。園外花粉の影響を調査した 2004 年と SMP 処理を行った 2007 年の園外花粉の混入率はほとんど同じであると推定される。仮に、SMP 処理を行った 2007 年の園外花粉の混入率が 2004 年と同じ 84.9% とすると、マイクロチューブで処理することによって、園外花粉の混入率は 66.4% に減少し (-18.5 ポイント)、花粉銃で処理することによって 47.3% に減少する (-37.6 ポイント) と推定される。

散布された花粉と園外花粉の混入率および散布された花粉が親として貢献する割合には有意な関係は見られなかった (図-5)。そのため、SMP を行うことで園外花粉を抑制したり、目的とした花粉と交配させることはできるが、散布された花粉量が多いほどその効果が大きくなるとは考えにくい。SMP の効果は散布する回数や散布する花粉量よりも、散布する時期が重要であるのかもしれない。



図ー5 処理花粉量と園外花粉の混入率、および散布した花粉が花粉親として貢献する割合（交配率）の関係

表-11 SMP処理を行った雌花から得た種子の花粉親分析

処理方法	処理木	NO	球果数	n	父親候補																			
					処理花粉					園内花粉										園外花粉				
					計	%	Km	Kj	Si	計	%	I23	I25	I94	Ic	Ii	Mi	Oj	SaA	SaB	SaC	計	%	
マイクロ チューブ	A	690	1	9	2	22.2	1	1		0											7	77.8		
		691	3	31	7	22.6		3	4	1	3.2	1									23	74.2		
		692	3	43	20	46.5	4	4	12	0											23	53.5		
		694	3	23	3	13.0		2	1	1	4.3				1						19	82.6		
		695	2	42	14	33.3	2	4	8	2	4.8				1				1		26	61.9		
		696	1	5	0	0.0				1	20.0				1						4	80.0		
		697	2	48	14	29.2	1	5	8	1	2.1		1								33	68.8		
		698	1	2	0	0.0				1	50.0									1	1	50.0		
		699	3	45	11	24.4			5	6	4	8.9				2	1		1		30	66.7		
		小計	19	248	71	28.6	8	24	39	11	4.4	1	1	0	4	1	1	1	0	2	0	166	66.9	
マイクロ チューブ	B	700	1	7	3	42.9	1		2	0										4	57.1			
		701	3	53	20	37.7	7	6	7	5	9.4				3		1		1		28	52.8		
		702	3	41	12	29.3	2	2	8	4	9.8	1				1		1		1	25	61.0		
		703	1	25	9	36.0		3	6	2	8.0				1		1				14	56.0		
		704	2	56	24	42.9	4	8	12	4	7.1					2			2		28	50.0		
		705	3	45	1	2.2			1	1	2.2	1									43	95.6		
		706	2	23	4	17.4		2	2	1	4.3					1					18	78.3		
		707	3	71	16	22.5	2	5	9	3	4.2			1	1			1			52	73.2		
		709	1	24	7	29.2	2	2	3	1	4.2								1		16	66.7		
		小計	19	345	96	27.8	18	28	50	21	6.1	2	0	1	5	0	5	1	3	3	1	223	66.1	
総計		38	593	167	28.2	26	52	89	32	5.4	3	1	1	9	1	6	2	3	5	1	394	66.4		
花粉銃	D	712	2	11	3	27.3		2	1	0										8	72.7			
		713	1	6	4	66.7	2	1	1	0											2	33.3		
		715	1	17	10	58.8	4	3	3	1	5.9			1							6	35.3		
		717	3	48	12	25.0	2	5	5	3	6.3									3	33	68.8		
		718	2	13	0	0.0				1	7.7									1	12	92.3		
		719	1	13	10	76.9	2	3	5	0											3	23.1		
		小計	10	108	39	36.1	10	14	15	5	4.6	0	0	0	1	0	0	0	0	0	4	64	59.3	
		花粉銃	C	720	2	7	6	85.7		3	3	1	14.3						1			0	0.0	
				721	2	12	8	66.7	1	3	4	1	8.3			1						3	25.0	
				722	1	1	1	100.0			1	0										0	0.0	
724	3			27	18	66.7	2	4	12	0										9	33.3			
725	1			5	2	40.0			2	0										3	60.0			
726	2			26	9	34.6	1	6	2	2	7.7						1	1		15	57.7			
727	1			9	5	55.6		1	4	2	22.2			1			1			2	22.2			
728	1			8	6	75.0			1	5	0									2	25.0			
729	1			4	4	100.0	1	1	2	0										0	0.0			
小計	14			99	59	59.6	5	19	35	6	6.1	0	0	0	2	0	0	1	2	1	0	34	34.3	
総計		24	207	98	47.3	15	33	50	11	5.3	0	0	0	3	0	0	1	2	1	4	98	47.3		

Km, 上関伊101; Kj, 久慈102; Si, 白石10; I23, いわき23; I25, いわき25; I94, いわき94; Ic, 一ノ関101; Ii, 岩泉101; Mi, 宮城101; Oj, 牡鹿102; SaA, 三本木5; SaB, 三本木5; SaC, 三本木5

3 室内交配による種子生産効率の評価

(1) 方法

交配装置は福島県林業研究センターの施設内に幅 1.3m、奥行 1.4m、高さ 2.0mの屋内交配室を 1 箇所あたり 4 個、計 8 個設置した(写真-2)。この室内の中央部で高さ 1.8mの位置から花粉銃によって、花粉を散布させた。また、室内の床に小型の扇風機を置き、室内の空気を常に循環させるようにした。調査木はつぎ木の 3 年生抵抗性クロマツ苗 40 個体(福島いわき 27 号)である。これらを 2006 年 3 月にプラスチック製の鉢(上面直径 30cm、下面直径 26cm、深さ 20cm)に移動させた。そして、雌花が開花する直前の 2006 年 4 月 28 日に屋内交配室に 1 室あたり 4 個体設置した。交配後、2006 年 5 月 23 日に交配室から出し、苗畑に鉢ごと移動させた。交配に用いた花粉はマツノザイセンチュウ抵抗性個体から採取した。すなわち、波方 73 (処理室 1~4)、および、波方 73 と志摩 64 の混合花粉(体積比、1:1)(処理室 5~8)である。



写真-2 室内交配

花粉の散布は 1 日もしくは 2 日に 1 回、2006 年 5 月 4 日から 5 月 16 日まで行った(表-12)。交配室内の雌花の周囲の花粉密度を把握するために高さ 1 m の位置の花粉密度を測定した。交配後の雌花(球果)の消長及び球あたりの種子数(シイナ、シイナ以外)を調査した。

(2) 結果と考察

散布された花粉量は処理時間が短いほど、少なかった(表-13)。最も少ないものは処理室 1 の 0.032 g、最も多いものは処理室 8 で 0.743 g であった。各処理室内に散布された花粉を受け取る雌花数は 23~39 個であった。これらのうち、SMP 処理後、球果として成長したものは少なかった。最も成長した球果が多かったのは処理室 5 であり、47% (雌花 19 個のうち、球果まで生長したのは 9 個) であった。最も少なかったのは処理室 2 であり、26% (雌花 31 のうち、球果まで生長したのは 8 個) であった。果あたりの充実種子数(シイナ以外)は 2.5~6.8 個であり、少なかった。

表-12 処理条件

処理室 (番号)	散布機	散布 時間
1, 5	1 個	5 秒
2, 6	2	20
3, 7	3	30
4, 8	4	60

これらの結果から処理した花粉のうち、交配出来たものはほとんどなかったと判断される。処理花粉量に関わらず球果当たりの種子数が少なかった要因として、人工交配として処理する花粉量が少なかったことが考えられる。通常行われる袋かけによる人工交配の場合、使用する花粉量は 0.36~0.44 g である(小澤、未発表)。交配袋内の空間を 1,296cm³程度(18cm×18cm×4cm)とすると、空気中の花粉量は最大で 3×10⁻⁴ g/cm³ と考えられる。今回処理した花粉量 0.03~0.74 g は、処理室の単位空間(1.3 m×1.4 m×2.0m)あたりに換算すると最大で 2×10⁻⁷ g/cm³ と推定されることから、処理する花粉量は袋かけによる人工交配に比べて非常に少なかったと考えられる。室内交配は十分な種子量を得るには相

当量の花粉が必要であると考えられる。

表-13 室内交配の結果

交配室	花粉	散布量	花から球果の歩留				種子 (数/球果)			
			雌花	球果	増減	%	シイナ以外		シイナ	
		g	数	数	数	%	平均	S D	平均	S D
1		0.032	23	9	-14	60.9	0		26	(10.9)
2	N73	0.167	31	8	-23	74.2	0		0	
3		0.236	30	10	-20	66.7	0		0	
4		0.672	39	10	-29	74.4	6.77	(4.8)	26.77	(9.5)
5		0.054	19	9	-10	52.6	0		0	
6	N73:S64	0.215	37	12	-25	67.6	3.00	(2.7)	25.00	(9.3)
7	= 1 : 1	0.362	30	10	-20	66.7	2.50	(0.7)	35.00	(7.0)
8		0.743	31	12	-19	61.3	0		0	

N73、波方 73 ; S64、志摩 64

IV 苗畑におけるマツノザイセンチュウの接種の検討

小澤 創
渡邊 次郎

1 はじめに

一般的に市場に流通しているマツノザイセンチュウ抵抗性苗は抵抗性採種園から採取した種子から苗木を育成して供給する場合と（未接種苗で供給）、育成された苗木にマツノザイセンチュウを接種し、生き残った苗を供給する場合がある（接種済苗で供給）。クロマツでは九州地方で接種済苗が多く供給されており⁵⁾、東北地方に植栽されていることから、当県でも接種済苗を生産する体制を作る必要がある。

冷涼な東北地方において、マツ苗にマツノザイセンチュウを接種する場合、マツノザイセンチュウ病で枯死しやすい環境条件（気温と土壤水分）を満たす必要があるとされる²⁶⁾。マツノザイセンチュウの病原力（マツを枯らす能力）は気温が 25～30℃¹⁷⁾ および、土壤の乾燥³⁰⁾ によって十分に発揮されることから、この条件に合わせるために、ビニールハウス内でマツノザイセンチュウの接種が行われてきた²⁷⁾。

ところが、ビニールハウス内の接種は一回に接種できる苗数がハウスの規模に制約される。一般的な農業用のビニールハウスでは1棟あたり1000本程度しか接種することができず、種苗業者が接種済苗を大量に生産するためには、多くのビニールハウスを新たに設置する必要がある。東北地方において、大量に接種済苗を供給するためには、屋外（苗畑）での接種を可能にする必要がある。苗畑で接種することが可能になれば、種苗業者は1haで1万本のマツ苗を育成し、接種することができ、接種済苗を生産することができる。

接種済苗を供給するための問題点を解決する方法の一つに、マツノザイセンチュウの種類を変えるということが挙げられる。マツノザイセンチュウがマツを枯らす能力は一定ではなく、分離された場所によって大きな差がある¹⁸⁾。従来、接種に用いられてきたマツノザイセンチュウは「島原」系統であり、その病原力は中程度とされている³⁴⁾。この系統は増殖が容易で継代培養をしても病原力が低下しないことから、林木育種事業においてマツノザイセンチュウ抵抗性個体の開発に用いられてきた。この「島原」よりも病原力が強い系統を用いることで冷涼な東北地方でも十分にマツ苗を枯らすことができるのではないかと考えた。

そこで、本研究では苗畑で接種済苗を生産する技術を開発するために、病原力が高いマツノザイセンチュウを用いて苗畑で接種試験を行う。具体的には病原力が中程度の「島原」系統と病原力が強い「Ka-4」系統¹⁾を用いて以下の試験を行う。1) 苗畑における「島原」系統と「Ka-4」系統の病原力の差を評価する。2) 「Ka-4」系統の接種済苗の抵抗性を評価する。これらの試験から、福島県において屋外において接種済苗を生産する体制について議論する。

2 方法

苗畑における「島原」系統と「Ka-4」系統の病原力の差の評価はアカマツ苗で行った。試験材料は抵抗性アカマツ苗 600 個体（2系統×100 個体×3 反復）である。これらは東

北地方等マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業に用いられている対照苗であり、自然交配3年

生実生苗5家系（一ノ関101、岩手104、岩泉101、三本木3、北蒲原2）で構成されている。接種試験は2008年～2010年の3年間に行った。いずれも7月上旬（7月1日～4日）に10000頭/0.1ccのマツノザイセンチュウの懸濁液を剥皮法により苗に接種した。接種約12週後（9月24日～29日）の苗の病徴を生存（健全、部分枯）および枯死に分類した。接種から枯死調査を行うまでの7月1日～9月30日の気温および降水量について近隣の気象観測点（郡山）からデータを得た。

「Ka-4」系統の接種済苗の抵抗性の評価はアカマツ苗で行った。試験材料は上述した抵抗性アカマツ苗25個体、5家系（一ノ関101、岩手104、岩泉101、三本木3、北蒲原2）各5個体である。このアカマツ苗全個体に2008年にマツノザイセンチュウ「Ka-4」系統を接種し、生き残った苗に対して2009年に再度「Ka-4」系統を接種した。接種時期および接種後の苗の病徴の分類は上述した方法で行った。

3 結果と考察

(1) 接種後の気温と降水量

接種後の降水量は340.0～595.5mmであった（表-14）。平均気温はほぼ20℃以上で推移した。最低気温は7月および8月は14～20℃であったが、9月は8～10℃となり低くなった。最高気温は30℃以上であった（表-15）。

マツノザイセンチュウを接種後、2ヶ月間の苗畑の平均気温は23℃以上であり、マツノザイセンチュウの増殖に適した条件であったと考えられる。また、土壌の水分は降雨があったことを考慮すると、乾燥していた状態ではなかったと考えられる。

表-14 降水量の推移 (mm)

月	2008	2009	2010
7	88.5	114.5	270.5
8	251.5	215.0	52.5
9	105.5	10.5	272.5
計	445.5	340.0	595.5

表-15 接種後の気温の推移 (℃)

月	2008			2009			2010		
	平均	最高	最低	平均	最高	最低	平均	最高	最低
7	24.0	33.3	14.4	23.0	33.0	16.1	25.0	34.2	17.8
8	23.3	33.2	14.6	23.0	33.2	13.3	26.8	34.9	21.1
9	20.4	31.9	8.2	18.8	29.3	9.3	20.9	34.1	10.1

(2) 苗畑における「島原」系統と「Ka-4」系統の病原力の差の評価

表-16 マツノザイセンチュウの系統による病原力の差

系統	接種苗		反復	枯死率 (%)		
	年生	本数		平均	最小	最大
島原	3	100	3	4.1	0	25.0
Ka-4	3	100	3	74.9	48.1	91.7

マツノザイセンチュウ「Ka-4」系統の方が「島原」系統よりも枯死率が非常に高かった（表-16）。抵抗性アカマツ苗に「島原」系統を接種した場合、5家系の平均枯死率は4.1%

であった。枯死率の最小は0%、最大は25.0%であった。抵抗性アカマツ苗に「Ka-4」系統を接種した場合、5家系の平均枯死率は74.9%であった。枯死率の最小は48.1%、最大は91.7%であった。「Ka-4」系統の方が平均枯死率で71.8ポイント高かった。

「島原」系統は苗畑では土壤の乾燥が十分ではなかったため、病原力を十分に発揮できなかったと推測される。一方、「Ka-4」系統は屋外における枯死率が93%と、今回よりも高い病原力を示した事例もあることから¹⁾、土壤が乾燥していなくても病原力が十分に発揮されたと考えられる。

(3) 「Ka-4」系統の接種済苗の抵抗性の評価

抵抗性アカマツ苗25個体にKa-4を接種した場合、生存した苗は16個体であり、枯死率は36%であった(表-17)。この生存苗16個体に再度「Ka-4」系統を接種したところ、生存した苗は15個体であり、枯死率は6.3%であった。

この結果から一度マツノザイセンチュウ「Ka-4」系統を接種し、生き残った場合、その苗に再度「Ka-4」系統を接種しても枯れないことが明らかになった。つまり、一度マツノザイセンチュウを接種して生き残った苗はマツノザイセンチュウ病の病徴が進行せずに生き残ったのではなく、マツが持つマツノザイセンチュウに対する抵抗性によって生き残ったと判断される。

表-17 マツノザイセンチュウ「Ka-4」系統をアカマツ苗に複数回接種したときの生存苗数および枯死率

1回目			2回目		
接種数	生存数	枯死率(%)	接種数	生存数	枯死率(%)
25	16	36.0	16	15	6.3

これらの試験からマツノザイセンチュウ「Ka-4」系統を接種して生き残った苗は抵抗性を持っていると推察される。

V 接種済苗のコストを低減するためのさし木増殖技術の開発

渡邊 次郎

小澤 創

1 はじめに

当センターで開発したマツのさし木育成方法⁴⁰⁾は、ガラスハウスの中に幅1 m×長さ任意×深さ28 cm(上層部18 cmは小粒鹿沼土、防草シートを挟んで下層10 cmは大粒鹿沼土の構造)のさし床を用いて、ミストによる自動灌水でさし床の床土の水分と育成空間の湿度管理を行っている。このため一般の苗木生産者には、さし木育成に要する設備や管理費が高額となるため、さし木苗の生産コストが高くなる問題があり不向きである。この問題を解決するためには、普通の苗畑環境下でさし木増殖が行える施設を開発し、事業規模でのさし木増殖が行える技術を確立することが必要である。このため、簡易さし木増殖技術の確立を目的として試験を行った。

2 材料と方法

表-18 試験方法とさし穂の形状

処理区	マルチの有無	苗齢 (年生)	n	穂長		根元径		葉層長	
				SD (cm)	SD (mm)	SD (cm)	SD (cm)		
Y	×	3	22	5.5	0.5	4.1	0.8	2.9	0.7
	×	4	25	6.3	0.2	6.6	1.0	3.7	0.4
YM	○	3	24	5.7	0.5	4.2	0.9	3.1	0.5
	○	4	25	6.1	0.3	7.3	0.9	3.4	0.4
B	×	3	23	5.5	0.6	4.5	1.0	3.1	0.5
	×	4	25	6.3	0.3	6.4	1.0	3.8	0.6
BM	○	3	22	5.4	0.7	4.7	1.1	2.9	0.7
	○	4	25	6.2	0.2	6.7	1.0	3.5	0.5
GHF	×	3	30	5.5	0.6	4.5	1.0	3.0	0.6
	×	4	30	6.2	0.3	7.1	0.9	3.5	0.4

n: さし付け本数

Y区: ヨシズ®でさし床を遮光のみした育成区、

YM区: ヨシズ®で遮光し、床土をマルチ処理した育成区

B区: さし床を透明のビニールシートの小型ハウスで被覆した育成区

BM区: B区においてさらに床土の表面をマルチした育成区

GHF区: ガラスハウスの中に設置したさし床を1枚の不織布の小型ハウスで被覆した育成区

材料は、当センターの苗畑で育成している抵抗性の実生のクロマツ3年生苗と4年生苗の当年伸長枝(1年生穂)を用いた。さし穂を作るための荒穂は2008年9月12日に用意した。選定缺で苗の当年伸長枝(1年生穂)の頂芽直下から概ね8 cmの長さに切断して採取した。それを育成環境条件ごとに22~30本用意した。穂木を12~15本ずつに小分けして束ねて紐で縛り、水(水道水)を張った容器に入れた格子状のプラスチックトレイに入

れて流水に 60 時間程度浸漬し脂抜きと水揚げをした。その間、穂木の葉が萎れないように水槽全体を不織布で覆い、その上にヨシズを掛け直射日光を遮光すると同時に空間を保湿した。2008 年 9 月 17 日に流水に浸漬しておいた穂を引き上げ、穂木の元口部分の針葉を穂長の 2 分の 1 程度取り除いた。それから穂木の元口の先端部から 1.5 cm の長さに楔形に削るように一気に削るように返し切り¹⁴⁾を行った。返し切りを行った穂木は切り口が乾燥しないように直ちに流水に再浸漬した。返し切りを終えた後、穂木を水中から引き上げ、12~15 本に束ねて紐で縛り直して、100 ppm に希釈したオキシベロン水溶液に返し切りした部分を浸漬し静置した。この時、穂木の針葉がオキシベロン水溶液に浸漬しないように注意し、前述の脂抜きと水揚げ時に用いた施設の中に 24 時間漬け置きして発根促進処理した。そしてさし床に十分灌水し Y 区と B 区は床土にマルチして、発根促進処理開始 24 時間後の 2008 年 9 月 18 日にさし付けた。さし付け後の育成期間中の灌水は 7 日に 1 回行った。

試験区は、表-18 に示したようにさし付け床の育成条件を変えて設定した。Y 区：さし床をヨシズで遮光しただけの育成区（当センターがスギのさし木クローン増殖に用いている育成方法がマツに応用できるかの検証）、YM 区：さし床をヨシズで遮光し、床土を黒のビニールシートでマルチした育成区（さし床に及ぼすマルチ効果の検証）、B 区：さし床を透明のビニールシートの小型ハウスで被覆した育成区（空間の保温・保湿、さし床への保温効果の検証）、BM 区：さし床を透明のビニールシートの小型ハウスで被覆し、床土の表面をマルチした育成区（育成空間の保温・保湿、さし床の保温への影響、マルチ効果の検証）、GHF 区：ガラスハウスの中に設置したさし床の空間を 1 枚の不織布の小型ハウスで被覆した育成区（当センターが開発した育成方法で、4 月中旬にさし木をすれば 3 年生以下がほぼ 100%、年生を超えたものでも 75% 以上発根する）。

また、育成期間中のさし床に及ぼす透明のビニールシートの小型ハウスとマルチの効果を調査するため、YM 区と BM 区のさし床深さ 3 cm の位置に自動地温測定記録計（データ・ロガー）のセンサーを差し込んで、さし付け直後の 2008 年 9 月 18 日から 2008 年 11 月 18 日まで、60 分間隔でさし穂のさし付け深の地温を測定した。

3 結果

表-19 さし木試験の結果

処理区	Y		YM		B		BM		GHF	
苗齢(年生)	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4
<i>n</i>	22	25	24	25	23	25	22	25	30	30
発根 (%)	0	0	0	0	4.3	0	45.5	0	53.3	33.3
発根突起形成 (%)	0	0	8.3	4	60.9	0	0	8	16.7	30
カルス形成 (%)	4.5	8	41.7	0	73.9	0	95.5	52	76.6	60
カルス始まり (%)	0	0	33.3	52	4.3	76	4.5	44	6.7	10
葉色健全 (%)	27.3	36	12.5	32	34.8	88	45.5	64	100	100
枯損 (%)	59.1	0	41.7	0	17.4	0	0	0	0	0

2008 年 12 月 17 日にさし付けた穂を掘り取ってそれぞれの処理区ごとの発根の有無、カ

ルスの形成状態、葉色変化、枯損の有無などを調査すると同時に地温のデータを回収した。発根等の調査結果は表-19のとおりである。

Y区とYM区の3年生苗と4年生苗は発根しなかった。YM区の3年生に8.3%、4年生に4.0%の発根が始まった突起形成がみられた。ただし、Y区の3年生、4年生にはこの突起形成はみられなかったが、Y区の3年生に4.5%、4年生に8.0%のカルスの形成がみられた。YM区の3年生にカルス形成が41.7%みられたが、4年生ではみられなかった。また、Y区の3年生、4年生はともに発根促進処理しても切り口にカルス形成の兆候はみられなかったが、YM区の3年生に33.3%、4年生に52.0%のカルス形成の兆候が認められた。葉色はY区の3年生が27.3%、4年生が36.0%、YM区の3年生が12.5%、4年生は32.0%が健全であった。枯損は、Y区の3年生が59.1%、YM区の3年生が41.7%であったが、4年生はY区、YM区ともに全く生じなかった。

B区の3年生が4.3%、BM区の3年生は45.5%が発根した。発根初期のカルス部における突起形成は、B区の3年生で60.9%、BM区の4年生で8.0%認められたが、B区の4年生とBM区の3年生には認められなかった。カルス形成は、B区の3年生に73.9%認められたが、4年生には認められなかった。BM3年生には95.5%、4年生には52.0%認められた。また、さし付けた切り口にカルス形成の兆候がB区の3年生に4.3%、4年生に76.0%認められた。BM区の3年生は4.5%、4年生は44.4%認められた。葉色は、B区の3年生が34.8%、4年生が88.0%、BM区の3年生が45.5%、4年生が64.0%健全であった。枯損は、B区の3年生に17.4%生じたが、それ以外には生じなかった。

GHF Eの3年生は53.3%、4年生は33.3%が発根した。発根の始まりの突起の形成は3年生が16.7%、4年生は30.0%であった。カルス形成は3年生が76.6%、4年生は60.0%であった。元口の切り口にカルス形成の始まりが認められたのは3年生が6.7%、4年生は10.0%BM区3年生の発根状況であった。葉色は3年生、4年生ともに全て健全であった。枯損は3年生、4年生ともに全く生じなかった。

さし付け直後の2008年9月18日から年2008年11月18日までの育成期間中の各育成区ごとのさし床の日平均温度を示したのが図-6である。日平均気温が20℃を超えたのはYM区の7日、BM区の11日、GHF区の13日であった。育成区外の外気温では3日であった。2008年10月17日以降は19.5℃以下に著しく低下した。

4 考察

当センターが開発したガラスハウス内の育成方法(GHF区)が3年生の発根率53.3%、4年生33.3%と安定していたが、この大きな要因としてミスト効果が考えられる。今回新たな試みとして行ったさし床をヨシズで遮光しただけの育成方法(Y区)では、マルチ(YM区)をしても3年生、4年生ともに全く発根率しなかった。しかし、さし床の育成空間を透明のビニールシートの小型ハウスで被覆し、空間の保温と保湿それにさし床を保温した育成方法では、3年生にマルチなし(B区)で4.3%、マルチ(BM区)で45.5%が発根したことから、3年生には保温効果が顕著に現れたと考えられる。発根率は親木の年齢が高くなるにつれて発根率が低下することが知られており、2年生以上になると急激に減少して3年生は19%であったとの報告がある²⁸⁾が、当センターではアカマツとクロマツを材料として、穂木の採取時期やさし床、さらにミストを含めたさし木後の育成条件等を改善

することによって、1～3年生の母樹からのさし木は100%、100年を超えるクロマツのつぎ木伸長枝を用いたさし木も75%以上発根することを確認している⁴⁰⁾ことから、さし付け後の育成期間の温度と湿度が確保できれば今回のGHF区と同程度の発根率が期待できると考えている。今回の試験では試験開始が遅かったこともあり、総体的に温度不足が発根率の低下に大きく影響したと考えられる。また、発根が始まった突起形成やカルス形成、カルス形成までは至っていないが、今回の試験では、図-1に示したように日平均気温が20℃を超えたのはYM区は7日、BM区は11日、GHF区は13日、育成区外(図-6、郡山市の外気温)は3日であったこと、さらに2008年10月17日以降は日平均温度が19.5℃以下に急激に低下していることから、さし木の時期を早めれば発根に必要な温度は確保できるものと考えられる。

また、空中湿度が発根に与える影響は大きいことが知られており、一般に多湿条件下では生存率や発根率が高まることが認められている⁴¹⁾。さらに、さし付けてからしばらくの間のさし穂の蒸散能力は根のある苗木のそれよりも高く、水分関係が不安定であることを明らかにし、さし木の初期の水管理が重要である³³⁾と指摘していることから、今回行ったYM区の育成方法は湿度が十分な時期に実施すれば実用化できると考えられるが、B区

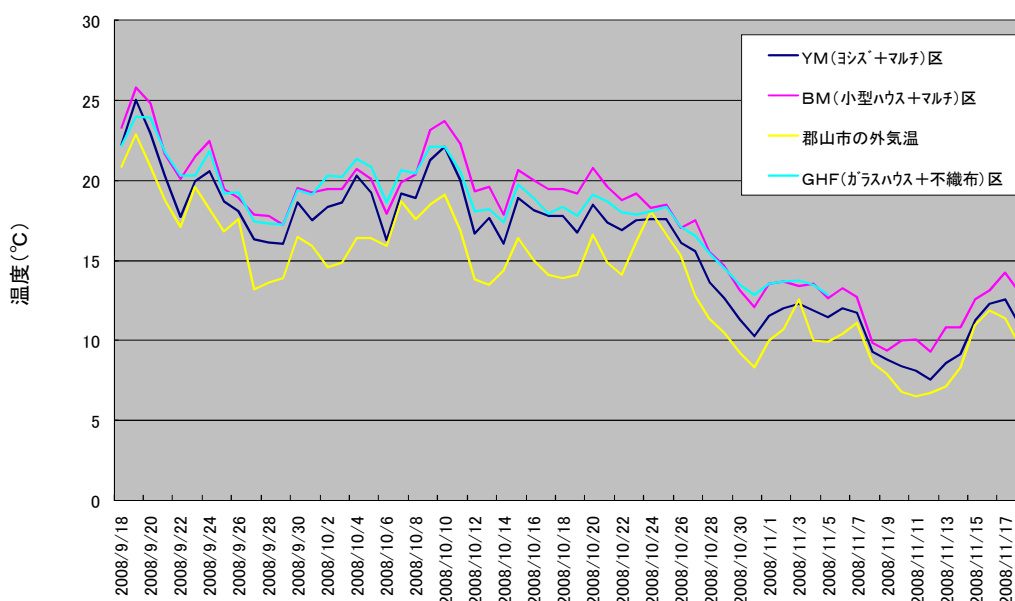


図-6 育成期間中の温度

やBM区がより確実な方法である。以上から、さし木は9月以前か4月に行う⁴⁰⁾ことにより温度が確保できれば、今回新たな試みとして行ったYM区(さし床をヨシズで遮光し、床土をマルチ処理する方法)やB区(さし床を透明のビニールシートの小型ハウスで被覆する方法)、BM区(さし床を透明のビニールシートの小型ハウスで被覆し、床土の表面をマルチする方法)は活用できる可能性が高く、当センターが開発した育成施設⁴⁰⁾をより簡易化できた意義は大きい。

VI 総合考察

緒言で列挙した問題点について、この研究をとおして明らかになったこと、および本県でとるべきマツノザイセンチュウ抵抗性種苗の生産体制について述べる。

まず、我々は採種園における園外花粉の影響の評価を行った。福島県の抵抗性アカマツ暫定採種園において、園外花粉の混入率は84.9%であると考えられた。この採種園の場合、造成されてからの年数が短いため、採種園植栽木の着花量は少なく、園外花粉の影響を受けやすいと考えられた。今後、着花量が多くなると、園外花粉の影響は徐々に減少すると考えられる。しかし、他の採種園の研究を考慮すると、着花量が多くなったとしても、園外花粉の影響を完全になくすことはできないと考えられる。園外花粉は採種園から生産される種子の抵抗性を低減させることから、抵抗性が高い種苗を生産するには抵抗性個体どうしを交配させることが必要である。

次に、園外花粉の影響を低減させるための方策として、SMP（袋かけをしない人工交配）および室内交配を検討した。SMPを行うことで、18.5～37.6%の園外からの花粉を抑制することができると考えられた。一方、園外花粉を遮断させた室内交配では最大約7個/球果しか種子生産ができないことが明らかになった。これらの結果から、採種園からの種子生産量を維持しながら園外花粉の影響を低減させるにはSMPがよいと思われた。また、室内交配によって種子生産を行うことは困難であろうと判断された。

SMPの結果を最大限に発揮させるには散布する花粉の種類を選ぶ必要がある。人工交配によるマツ苗への接種試験の結果から、花粉親と種子親の組み合わせによってマツノザイセンチュウによる枯死率が大きく変わることが明らかになった。そのため、種子の抵抗性が高くなる（枯死率が低くなる）個体を花粉親としてSMP処理に用いることが必要だと考えられる。

抵抗性が高くなる個体を花粉親として交配させたとしても、マツノザイセンチュウによって全く枯れないマツ苗が生産できる訳ではない。採種園産種苗を生産するに当たっては抵抗性の品質保証をする必要がある。つまり、マツノザイセンチュウを接種し、生き残った苗を供給することが必要である。そこで、苗畑におけるマツノザイセンチュウの接種の可能性を検討した。具体的にはマツノザイセンチュウの病原力が中程度の系統から強のものに変えて接種試験を行った。その結果、苗畑において接種し、生き残った苗は抵抗性があることが明らかになった。屋外環境下でマツノザイセンチュウを接種し、接種済苗を大量に供給することが可能になると考えられる。

接種済苗を大量に供給する場合、必ず接種後枯れる個体が一定量あることから、そのまま苗を供給するのに比べて生産コストが高くなる。生産コストを低減させるために九州では接種済苗をさし木によってクローン増殖する試みがなされている。九州に比べて冷涼で湿度が低い東北地方ではさし木が困難だとされていたが、今回、従来行われてきた針葉樹のさし木の育成環境を変えることでさし木増殖が可能であることを示すことができた。

これらのことから、マツノザイセンチュウ抵抗性種苗の供給について、次のような体制をとる必要があると思われる。当県のマツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ暫定採種園には多くの園外花粉が混入していることから、種子生産をするにあたっては、SMPなどによって人工的に花粉を与え、抵抗性個体どうしの交配を促進させる必要がある。つぎに、採種園から得られた種子はそのまま抵抗性苗として供給するのではなく、マツノザイセンチ

ユウを接種し、生き残った苗を供給する必要がある。接種済苗は両親が抵抗性個体であれば、未接種苗から高い割合で得られる可能性がある。現在、福島県ではマツノザイセンチュウ抵抗性採種園が造成され、そこから種苗が供給されていない状態であるので、少なくとも接種済苗の供給を進める必要があるだろう。

さらに、接種済苗を供給する体制を整えた後取るべき対策は接種済苗のクローン増殖である。接種済苗は苗が持っている遺伝的特性（マツノザイセンチュウに対する抵抗性）によって生き残ったと考えられるので、苗をさし木等でクローン増殖させることで、同じ遺伝的特性を持った苗を大量に増殖することができる。

この研究の担当者として、今回明らかになった成果ができるだけ早く抵抗性種苗の供給に結びつくことを願ってやまない。

VII 引用文献

- 1) Aikawa T., Kikuchi T., Kosaka H.: *Appl. Entomol. Zool.* 38: 565-569 (2003).
- 2) Burczyk J., Part D.: *Heredity* 79: 638-647 (1997).
- 3) Chaix G., Gerber S., Razafimaharo V., Vigneron P., Verhaegen D., Hamon S.: *Theoretical and Applied Genetics* 107: 705-712 (2003).
- 4) Di-Giovanni F., Kevan P.G.: *Canadian Journal of Forest Research* 21: 1155-1170 (1991).
- 5) 遠藤 良太、小倉 満: 林木の育種「特別号」: 4-6 (2005).
- 6) 藤本 吉幸、戸田 忠雄、西村 慶二、山手 廣太、冬野 劭一: *林育研報* 7: 1-84 (1989).
- 7) Gerber S., Mariette S., Streiff R., Bodenes C., Kremer A.: *Molecular Ecology* 9: 1037-1048 (2000).
- 8) Goto S., Watanabe A., Miyahara F., Mori Y.: *Silvae genetica* 54: 69-76 (2005).
- 9) 後藤 晋、宮原 文彦、井出 雄二: 林木の育種 203: 6-10 (2002).
- 10) 後藤 晋、宮原 文彦、井出 雄二: *日本林学会誌* 84: 45-49 (2002).
- 11) 半田 孝俊、加藤 一隆、植木 忠二、河村 嘉一郎: 第106回日本林学会大会学術講演集: 295-296 (1995).
- 12) Harju A., Muona O.: *Scandinavian Journal of Forest Research* 4: 513-520 (1989).
- 13) 石川 広隆: *日林講* 74:217-217 (1963).
- 14) 石松 誠: *日林九支研論* 51:47-48 (1998).
- 15) 河原 孝行、村上 哲明、瀬戸口 浩彰、津村 義彦: *日本植物分類学会報* 11: 13-32 (1995).
- 16) 川内 博文、後藤 晋: *日本林学会誌* 81: 338-340 (1999).
- 17) 清原 友也: 第84回日本林学会大会講演集 334-335 (1973).
- 18) 清原 友也: *林業試験場研究報告* 353: 127-176 (1989).
- 19) Lian C., Miwa M., Hogetsu T.: *Molecular Ecology* 9: 1186-1187 (2000).
- 20) Matziris D.: *Silvae Genetica* 42: 136-141 (1992).
- 21) 森 康浩、宮原 文彦、後藤 晋: *福岡県森林研究情報* 7: 1-19 (2006).
- 22) 森口 喜成、後藤 晋、高橋 誠: *日本森林学会誌* 87: 161-169 (2005).
- 23) Moriguchi Y., Taira H., Tani N., Tsumura Y.: *Canadian Journal of Forest Research* 34: 1683-1690 (2004).
- 24) 森口 喜成: 林木の育種「特別号」: 24-26 (2005).
- 25) 森口 喜成、後藤 晋、高橋 誠: *日本森林学会誌* 87: 161-169 (2005).
- 26) 野口 常介、川村 忠士、板鼻 直榮、久保田 正裕: *東北育種場 年報* 59-61 (1988).
- 27) 野口 常介、川村 一、川村 忠士、板鼻 直榮、久保田 正裕: *東北育種場 年報* 57-59 (1988).
- 28) 沖村 義人: *鳥取大学農学部演習林報告* 5:5 (1974).
- 29) 大山 浪雄、豊島 昭和: *林試研報* 179:99-125 (1965).
- 30) 大山 浪雄、川述 公弘: *日本林学会九州支部研究論文集* 31: 53-54 (1977).
- 31) Pakkanen A., Nikkanen T., Pulkkinen P.: *Scandinavian Journal of Forest Research* 15:399-404 (2000).

- 32) 齋藤 幹夫、山本 千秋: 林業試験場研究報告 293: 89-103 (1977).
- 33) 佐藤 大七郎・福原 楯勝: 東大演報 45: 89-101 (1953).
- 34) 佐々木 峰子、秋庭 満輝、戸田 忠雄、岡村 政則: 林木育種センター九州育種場年報 29: 51-54 (2001).
- 35) Tang D.Q., Ide Y.: Journal of Forest Research 6: 67-72 (2001).
- 36) 寺田 貴美雄: 林木育種センター東北育種場 年報 29: 39-43 (1999).
- 37) 戸田 忠雄: 林木育種センター研究報告 20: 83-217 (2004).
- 38) 涌嶋 智: 広島県林業技術センター研究報告 31: 1-7 (1999).
- 39) Watanabe A., Iwaizumi M. G., Ubukata M., Kondo T., Lian C., Hogetu T.: Molecular Ecology Notes 6: 80-82 (2006).
- 40) 渡邊 次郎・壽田 智久・小澤 創: 東北森林科学会誌13:14-15(2008)
- 41) 渡辺 政俊・中井 勇・橋本 英二: 京大演報36:143-151(1965)
- 42) Wheeler N.C., Jech K.S.: New Forests 6: 311-328 (1992).