

研究報告

マツノザイセンチュウ抵抗性種苗の品質向上  
及び生産量増加技術の開発

川上 鉄也

目 次

要 旨	
I はじめに	2
II 採種園の雌雄花開花特性調査	3
1 調査方法	
2 結果	
3 小括	
III 種子生産量増加技術の現地適用化試験	5
1 SMP による結実促進	
2 BAP による着花結実促進	
IV 挿し木増殖によるコンテナ原苗の確保	14
1 材料と方法	
2 結果	
3 考察	
V 一粒播種による実生コンテナ育苗の省力化	16
1 材料と方法	
2 結果	
3 考察	
VI SMP および BAP による実生苗のマツノザイセンチュウ抵抗性	18
1 材料と方法	
2 結果	
VII おわりに	19
VIII 引用文献	19

---

受付日 令和3年8月27日

受理日 令和4年3月22日

課題名 マツノザイセンチュウ抵抗性種苗の品質向上及び生産量増加技術の開発  
(県単課題 平成28年度 国庫 林業試験研究情報調査 平成29～令和2年度)

## 要 旨

抵抗性クロマツ種子及び苗木増産技術の現地適用化に資する諸点について明らかにした。対象採種園での雌雄花の開花時期は年次により10日間の差があり、3月1日以降の積算日平均気温457.6~485.6℃・日を気温指標に、鳴瀬39を生物指標に活用できる。SMPによる種子増産を検討した結果、SMP施用で自然交配に比較して2倍程度の充実種子が得られた。BAPによる種子増産を検討した結果、対象採種園での処理適期は9月上旬、枝注入法で多産系母樹の選択的処理の有効性が示唆された。SMP施用した場合、また、幼球果を摘果した場合でも種子は少量かつ小粒であった。挿し木による苗木増産を検討した結果、挿し穂に萌芽枝、用土にパーミキュライト、パーライト混合土（容積比8：2）で発根率が高かった。BAP2回散布で利用可能な萌芽枝が多く得られた。コンテナ育苗の省力化を検討した結果、エタノール精選による高発芽率種子の1粒播種で、発根幼苗の植え替え作業を省力化できた。追肥の施用量は、肥料（N-P-K=12-8-10肥効100日タイプ）5g/Lから10g/L程度の2回施肥が適量であった。SMP及びBAPによる1年生実生苗へのマツノザイセンチュウ接種試験の結果、自然交配苗と同程度の抵抗性が示された。

キーワード：マツノザイセンチュウ抵抗性、採種園、SMP、BAP、挿し木

## I はじめに

クロマツ(*Pinus thunbergii*)は他殖性の風媒花であり、通常、専ら自然力に依存して自然受粉により種子生産がなされる。

マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツの種子は、松くい虫激害地から選抜された抵抗性個体の接ぎ木増殖クローンを構成母樹として採種園を造成・育成し、生産供給されている。採種園は造成から種子生産のための稼働が開始されるまで、通常では10年程度を要するが、種苗の需要が急激に増加した場合は、供給量を短期間で増加させる必要がある。そこで、本課題では、種子及び苗木の増産に関する以下6点について検討する。

クロマツ雌雄花の開花時期は、開始、満開、終了まで日単位で、また年次により変化する。採種園は人為繁殖集団であり、構成母樹の開花時期は、繁殖・交配に関する遺伝的管理のための重要な基礎情報となるが、本採種園では明らかにされていない。そこで、はじめに本採種園での開花時期を調査し、人工交配実施のための基礎情報を得る。

第2に、確実な種子生産の増産法として、人工交配があるが、従来からの袋かけ・花粉銃によるものは、開花前に雌花を袋で覆うため、袋内部の雌花の開花状況が見えず、受粉適期を逃す場合がある。作業も煩雑で、適期受粉の確保には熟練を要する。

一方、SMP(Supplemental Mass Pollination)は、裸の雌花の開花状況を目視で確認し、人工交配機を用い花粉を直接吹き付けるため、受粉適期を目視で確認して確実な交配作業が実施できる。また、SMPで受粉を促すことによって、広く園外から飛来する園外花粉による花粉汚染の頻度を低下させて、種子の品質（抵抗性）を確保できる<sup>1)</sup>利点がある。海外では、マツ属の受粉時の花粉不足を人工的に補完し、種子生産量を増加させるSMPが事業的に実施されている<sup>1)</sup>が、国内では、具体的に効果を検証した事例は極めて少なく、SMPを実際の採種園経営に導入するためには、その具体的な施用効果の把握が必要である。そこで、採種園でSMPを施用し、その種子増産効果を数量的に明らかにする。

第3に、国内ではクロマツに BAP (6-ベンジルアミノプリン)を用いて、花性転換による雌性花誘導による種子生産が実験的に試みられている<sup>15)</sup>。BAP 施用によって、良質な種子が大量に得られれば、種子増産効果が可能となるが、実際の事業に適用した事例は極めて少ない。BAP 施用による種子増産は、花性転換による雌花誘導の成功率が低率なこと、球果が小さく得られる種子数が少ないこと、種子が小粒化することが事業適用上の課題である。そこで、まず、本採種園の立地環境下での BAP 施用適期を明らかにする。次に雌花誘導成功率の向上及び SMP による種子数の増加に資する対策を、そして、小粒化する種子の防止対策として摘果処理が種子重に与える影響を検討する。

第4に、挿し木増殖は、抵抗性母樹の遺伝的特性をそのまま受け継ぐことから、温暖な九州では、採穂台木を仕立て、大量に確保可能な萌芽枝による事業的取り組みがなされている<sup>9)</sup>。本県でも、挿し木増殖技術は既に検討されているが<sup>11)</sup>、自然着生する栄養枝のみでは、事業規模で必要となる大量の挿し穂の確保が難しい。そこで、本県での萌芽枝による挿し木増殖方法と、挿し穂に用いる萌芽枝の台木仕立てによる大量確保方法を明らかにする。

第5に、種苗生産現場では、コンテナ苗方式による育苗方式への移行が進んでいるが、コンテナ苗を養成する過程では、発芽床で発根した幼苗を掘り上げて、コンテナセルへ1本毎に移植する工程が、人手を要する作業となっている。また、発根幼苗をセルに移植する際、根の損傷が原因となり、根腐病菌による枯死が発生する場面があることが報告されている<sup>6)</sup>。クロマツ種子はエタノールによる比重精選法により、容易に種子発芽率を向上させ得ることが知られている<sup>10)</sup>。そこで、高発芽率種子の一粒播種と追肥による植え替え作業を省力化したコンテナ育苗方法を検討する。

最後に、SMP 及び BAP により得られた1年生実生苗のマツノザイセンチュウ抵抗性を検証する。

## II 採種園の雌雄花開花特性調査

### 1 調査方法

#### (1) 採種園

本課題で対象とした抵抗性クロマツ採種園は、福島県の内陸部に位置する郡山市に造成された(図-1)。本採種園は9型(均衡格子配置)のクローン採種園である。本採種園は「西日本におけるマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業」により和歌山県以西の西日本において選抜された抵抗性19個体のうち9個体(西日本選抜)の接ぎ木母樹と、「東北地方等マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業」により本県及び宮城県において選抜された抵抗性7個体(東北選抜)の接ぎ木母樹合計16母樹を用いて241本(0.29ha)により構成されている(表-1)。



図-1 抵抗性クロマツ採種園（福島県郡山市）

表-1 抵抗性クロマツ採種園の構成母樹

	母樹名	選 抜 地
1	いわき27	福島（東北）
2	小高37	福島（東北）
3	小高203	福島（東北）
4	亘理56	宮城（東北）
5	山元90	宮城（東北）
6	鳴瀬39	宮城（東北）
7	山元84	宮城（東北）
8	三豊ヶ-103	香川（四国）
9	三崎ヶ-90	愛媛（四国）
10	波方ヶ-73	愛媛（四国）
11	土佐清水ヶ-63	高知（四国）
12	夜須ヶ-37	高知（四国）
13	志摩ヶ-64	福岡（九州）
14	津屋崎ヶ-50	福岡（九州）
15	小浜ヶ-30	長崎（九州）
16	日吉ヶ-1	鹿児島（九州）

## （2）調査

調査は採種園において、2016年から2020年の5カ年間、雌雄花開花時期となる4月下旬から5月中旬にかけて実施した。はじめに2016年の4月に各クローンの標準的な生育を示す指標木を定め、地上高2mまでの南向き枝に付く3本の雌雄花序について開花状況を観察した。雌花開花状況では、開花開始期から満開期を経て閉花期に至る6ステージを基準に観察した<sup>2)13)</sup>。雄花の花粉飛散状況では、雄性花序が膨らみ、やがて開裂し花粉を放出する飛散開始期から飛散終了日まで、雄性花序を揺らし花粉飛散の有無を観察した。また、5か年の3月から5月の気象庁「各種データ・資料」<sup>4)</sup>を用いて積算日平均気温（℃・日）を算出し、開花時期の予測可能性を検討した。

## 2 結果

### （1）採種園における雌雄花の開花日

開花期には年次変動があった。雌花の開花開始日は最早年と最遅年には10日の開きがあり、花粉飛散開始日は、雌花の開花開始日から1～2日遅れた。雌花の開花開始から、受粉、雄花の花粉散布終了まで、クロマツの自然交配は8～12日間を要した（図-2）。

本採種園における雌花開花日は、観察した5カ年を通して、東北地方の宮城県において選抜された鳴瀬39が例年最も早かった。これに続いて、いわき27、小高37、山元90、亘理56の東北選抜クローンが雌花を開花させた。一方、西日本選抜の各クローンは、比較的、開花日が遅れる傾向であった。

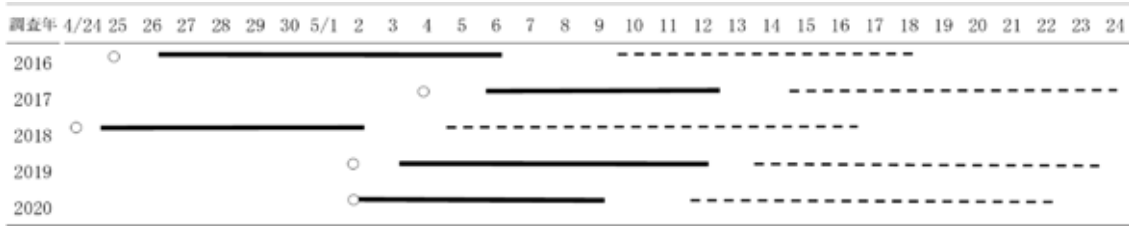
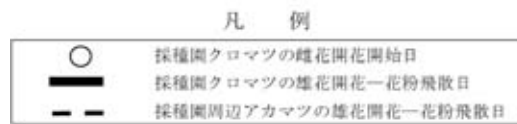


図-2 雌雄花開花と花粉の飛散期間



## (2) 開花期の予測

クロマツ頂芽主軸が伸張を開始し、雄花の細胞分裂が再開し始める3月1日を便宜上の積算始点とし、各調査年の開花日の前日を積算終点として積算日平均気温を算出した。

その結果、各年の雌花開花開始日までの積算日平均気温は、2016年は457.6℃・日、2017年は478.4℃・日、2018年は469.4℃・日、2019年は485.6℃・日、2020年は473.1℃・日となった(表-2)。

表-2 各調査年における雌花開花日と積算日平均気温

調査年	2016	2017	2018	2019	2020
雌花開花日	4月25日	5月4日	4月24日	5月2日	5月2日
積算日平均気温(℃・日)	457.6	478.4	469.4	485.6	473.1

## 3. 小括

調査によって、5カ年での採種園の雌花の開花開始日と、花粉散布期間を把握した。その結果、年次により10日間の差があることが明らかとなった。マツ属の開花日決定の主因は積算温度で、副因として開花日間近い頃の気象条件、寒さ、暖かさの持続日数が大きく寄与することが指摘されている<sup>8)</sup>本採種園においては、3月1日以降の積算日平均気温は、457.6~485.6℃・日、開花日直近の日平均気温15℃を超える日に雌花が開花しており、積算日平均気温を開花開始日の予測指標として活用できる。また、鳴瀬39は、調査期間を通じて毎年、最も早く雌花が開花したことから、鳴瀬39を生物指標として活用し、採種園の開花日を事前に予測することで、花粉採集及び人工交配作業を適期に実施することが可能となる。

## III 種子生産量増加技術の現地適用化試験

### 1 SMPによる結実促進

#### (1) 材料と方法

##### ①交配用クロマツ花粉の収集保存

人工交配に用いる花粉は、交配の実施前年の2016年及び2017年4月下旬に、7母

樹から採集した。採集作業は、花粉散布直前の膨満した雄性花序をもぎとり、紙袋に入れて雄花から花粉が放出されるまで陰干し乾燥させた。次に、袋内に雄花から放出された花粉をメッシュで漉しとったあと、パラフィン紙に包んだシリカゲルと共にエッペンチューブに入れて、交配作業に用いるまで、保冷库に5℃で保存した。

②SMP の施用

2017年の交配作業は、天候が晴れまたは曇り、風は無風から微風の日を選び、同年5月6日、7日、9日の10時30分から14時の中天時に実施した。2018年の交配作業は、2018年4月28日、29日、5月1日に、前年と同様に実施した。交配に使用した花粉は、自殖による不稔の影響を避けるため、表-3のとおりとした。

交配作業は、約半数の鱗片が露出、または、受粉液の滲出がある点を基準（図-3のb及びc）にして、目視により受粉適期<sup>10)</sup>を判定し、人工交配機（ミツワ花粉交配機SK-6SL）を用いて、雌花に花粉を3秒程度噴霧した。

表-3 人工交配した雌花と使用した花粉

交配年	雌花	花粉
2017	鳴瀬39	7種混合花粉 (いわき27 小高37 小高203 亘理56 山元90 津屋崎ク-50 三崎ク-90)
	いわき27 小高37 山元90	単一花粉 (鳴瀬39)
2018	鳴瀬39	7種混合花粉 (いわき27 小高37 小高203 亘理56 山元90 津屋崎ク-50 三崎ク-90)
	いわき27 小高37 山元90 亘理56 志摩ク-64	単一花粉 (鳴瀬39)

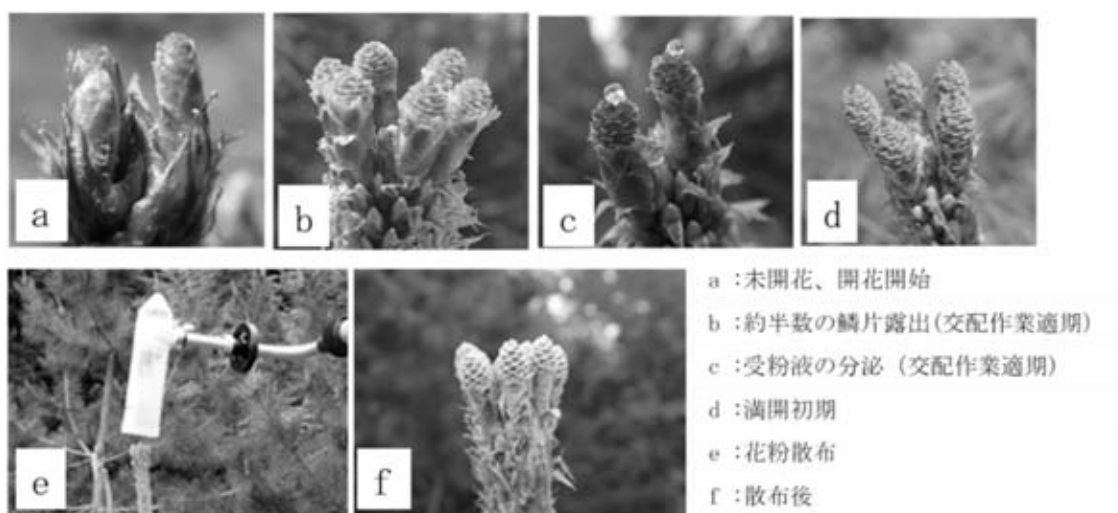


図-3 交配作業における雌花の受粉適期判定

③結実種子調査

2017年に交配した雌花は、翌2018年5月頃には受精し、幼球果が肥大化し始め、

秋には球果内部の種子が成熟した。球果色が鉄錆色を呈し、鱗片の亀甲模様が明瞭となった2018年10月25日に球果を採取した。SMPを施用した4母樹の付印されたSMP球果と、自然交配に任せた4母樹の自然交配球果を採取して、標準的な形状の球果各々10個合計80個を任意に選び、天日乾燥後、種子を取り出した。種子は、エタノール精選法により、充実種子とシイナに分別して粒数を計数し、比率について $\chi^2$ 検定した。また、次式により充実率を求めた。

$$\text{充実率} = \text{充実種子数} / (\text{充実種子数} + \text{シイナ数})$$

2018年にSMPを施用した雌花は2019年10月25日に球果を採取した。6母樹の付印されたSMP球果と自然交配球果を採取して、標準的な形状の球果各々10個合計120個を任意に選び、天日乾燥後、種子を取り出した。得られた種子については、2018年と同様の方法により充実率を求めた。

## (2) 結果

### ① 充実種子

成熟した採種園の採種標準量は30kg/haである。2018年は、球果も少なく採種園の全球果計数値から推定した種子結実量は2.3kgで、本採種園(面積0.29ha)に換算した結実量8.7kgと比較すると少なく、不作の年となった。自然交配によるものは、球果40個から得られた総種子数は1,501粒であり、そのうち充実種子が490粒で充実率は32.6%となった。一方、SMP施用によるものは、球果40個あたりの総種子数は2,572粒であり、そのうち充実種子が989粒で充実率は38.5%となり、自然交配と比較して充実種子数は2.01倍( $\chi^2$ 検定 $p < 0.01$ )、充実率は5.9%高かった(図-4)。

次に、2019年は、球果も多く、採種園の全球果計数値から推定した種子結実量は10.5kgとなった。自然交配によるものは、球果60個から得られた総種子数は2,388粒であり、そのうち充実種子が1,230粒で充実率は51.5%となった。一方、SMP施用によるものは、球果60個あたりの総種子数は2,927粒であり、そのうち充実種子が2,229粒で充実率は76.1%となり、自然交配と比較して充実種子数は1.81倍となり( $\chi^2$ 検定 $p < 0.01$ )充実率は24.6%高かった(図-4)。

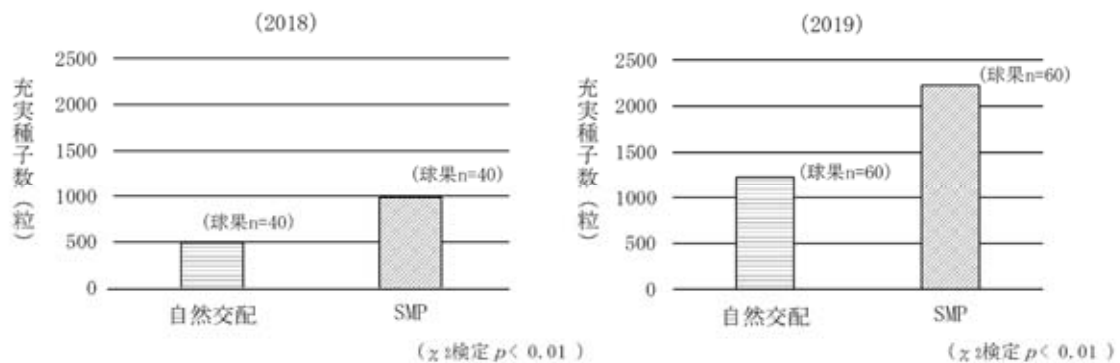


図-4 自然交配およびSMPにより得られた充実種子数

② 充実率

供試したいわき 27、小高 37、鳴瀬 39、山元 90、亘理 56、志摩ク-64 は、採種園における全球果生産数の 86% を占め、いずれも雄花着花量が多く、雌雄花ともに多くつける多産系の母樹であるが<sup>3)</sup>、それぞれ雌花開花日が異なっているため、SMP 施用効果も異なってくる可能性がある。そこで、各母樹の充実率を求め、母樹毎の SMP 施用効果を検討した。

各供試クローンの自然交配と SMP による充実率の差をみると、2018 年では、いわき 27 で 40.2% と大きく、小高 37、鳴瀬 39、山元 90 においても差が大きかった (図-5)。2019 年では、SMP による充実率の差は、小高 37 で 46.9% と大きく、志摩ク-64 で 8.4% と、開きは比較的小さかった。また、毎年最も早く雌花開花を開始する鳴瀬 39、次に開花する小高 37、いわき 27 に着目してみると、充実率の差が比較的大きかった (図-5)。

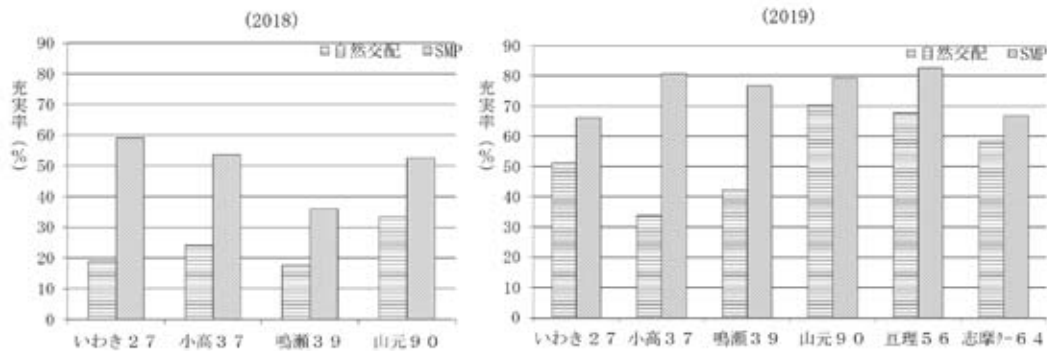


図-5 各クローンの然交配および SMP による充実率の比較

(3) 考察

今回、袋がけ不要の人工交配法である SMP を行った結果、自然交配に比較して、2 倍程度の充実種子を得られることが明らかとなった。

本採種園では、SMP 施用により自然交配に比較して各母樹の充実率が 8.4% から 46.9% 向上した。不作の年は、雌雄花とも着生数が少なく、受粉期における採種園内の空中花粉濃度も比較的低濃度となるため、SMP の施用による受粉機会の増加効果が発揮され、自然交配と SMP との充実率に大きな差が生じたものと推定された。

雌雄花は、まず雌花が開花を開始し、2 日程度おくれて雄花が開花し花粉散布を開始する。採種園において、春季の受粉が始まる初期段階では、まだ空中に花粉の飛散がないか、低濃度であり、自然交配による受粉効率は低く充実率に差が生じる。一方、受粉期中期以降、次第に各母樹からの花粉散布により空中花粉濃度が高まるとともに、自然交配による受粉効率が向上する。その結果、2019 年の山元 90、亘理 56、志摩ク-6 のように、SMP と比較して充実率に大きな差を生じない母樹が観察されたものと思われた。クロマツの生理生態の特性上、交配に使用する花粉の採取保存から種子を得るまで最短で 30 カ月を要するが、採種園内の花粉飛散量が少ない中で SMP を施用することで、より施用効果が発揮される。

本法を適用すれば、受粉適期を逃さず交配作業を実施できるため、生産種子量の増



加が期待できる。

## 2 BAP による着花結実促進

### (1) 材料と方法

#### ①冬芽ペースト塗布法による BAP 処理

クロマツ冬芽への処理は、南向きの日当たりの良い 1.5m 高の当年枝につく標準的な冬芽を、1 クローンにつき 4 個選定し、BAP 低粘度ペースト（表-4）を調整して、毎週のべ4回、各4冬芽、合計 272 冬芽について、冬芽 1 個当たり 2mg シリンジを用いて塗布した（図-6）。処理は適期判定のため9月の各週1回計4回に分けて、2016年9月5日、12日、16日、28日に採種園 14 クローンおよび集植保存園 3 クローンの合計 17 クローンに実施した。BAP 処理から 8 か月後（2017 年 4 月 28 日）、花性転換により誘導された雌花の有無、さらにその 18 カ月後（2018 年 10 月 25 日）に球果を採取し、球果開裂割合、形状について調べた。また、得られた種子はエタノール精選により充実種子とシイナに分け、充実種子数および 100 粒重を秤量し、充実種子について発芽鑑定した。

表-4 低粘度 BAP ペースト組成  
(濃度 2g/L)

薬品名	使用量
BAP	0.4 g
KOH (1N)	4 ml
ラノリン	49 ml
白色ワセリン	49 ml
Tween 20	2 滴
H <sub>2</sub> O	98 ml

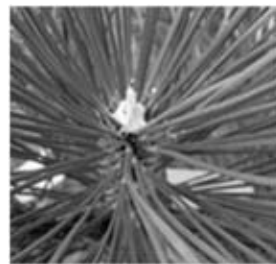


図-6 BAP ペースト塗布した冬芽

#### ②枝注入法による BAP 処理

前記の結果および雄花着花調査<sup>3)</sup>をもとに、雄性花序の着花性が良好な 3 母樹、いわき 27、鳴瀬 39、小高 37 の直径 5 cm の 3 枝を選び 2 cm 程度の深さまでドリルで穴をあけた。次に BAP エタノール溶液（表-5）を調製し、その穴に小型油さし容器を用いて 2017 年 9 月 5 日に 1 枝につき 20ml 注入した（図-7）。8 カ月後（2018 年 5 月 1 日）に花性転換により誘導された雌性花序数を計数し、雌花に SMP を施用した。ただし、交配に使用した花粉は、鳴瀬 39 には、7 種混合花粉（いわき 27、小高 37、小高 203、亘理 56、山元 56、津屋崎ク-50、三崎ク-90）を用い、いわき 27、小高 37 には鳴瀬 39 の単一花粉を用いた。さらにその 18 カ月後（2019 年 11 月 3 日）に球果を採取し、球果開裂割合、形状について調べた。また、得られた種子はエタノール精選により充実種子とシイナに分け、充実種子数を計数した。

表－5 BAP(濃度 20g/L)  
エタノール溶液

薬品名	使用量
BAP	2 g
KOH (1N)	20 ml
エタノール (95%)	60 ml
H <sub>2</sub> O	20 ml



図－7 BAP 溶液の枝への注入

### ③幼球果の摘果による種子の大粒化

2017年9月5日にBAP枝注入法により誘導した鳴瀬39の花性転換による雌性花序を供試した。2018年5月1日に、雌性花序に、鳴瀬39の花粉を含まない7品種混合花粉を用いてSMPを施用したのち、12カ月後(2019年4月8日)に球果3房(19個、20個、21個)を摘果し、幼球果を各6個残した。さらに6か月後(2019年11月3日)に球果を採取して、球果開裂割合を算出し、形状について調査した。得られた種子はエタノール精選により充実種子とシイナとに分け、充実種子数と100粒重を秤量した。

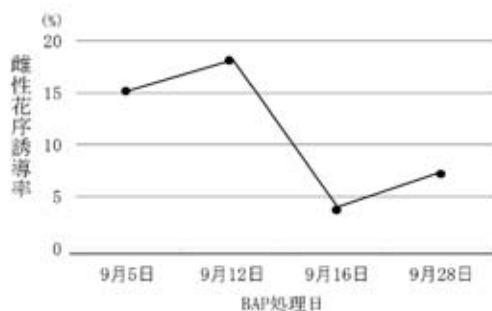
## (2) 結果

### ①冬芽ペースト塗布法によるBAP処理

#### ア 雌性花序誘導の有無

2016年9月にBAP処理した冬芽は、8カ月後に雄花からの花性転換による雌花への誘導を確認できた。BAP塗布処理した272冬芽のうち、1冬期を経て生残が確認できた冬芽数は158個であった。そのうち誘導が確認できた冬芽は24個であり、確認した全冬芽数に対する割合は15.1%、全処理数に対して8.8%であった。

雌花序誘導率について、9月5日処理では15.2%、9月12日処理では18.2%、9月16日処理では4.0%、9月28日処理では7.4%であった(図－8)。9月の1週から4週にわたり花性転換により雌花へ誘導されたが、9月第2週までの冬芽へのBAPペースト処理において、より効果が高かった。また、母樹別には、今回、17母樹について塗布処理を実施したが、雌花誘導が確認できたものは、小高203、鳴瀬39、鳴瀬72、亘理56、山元90、志摩ク－64であった(図－9)。



図－8 BAP 処理日と雌性花序誘導率



図－9 鳴瀬39で誘導された雌性花序

イ 結実種子調査

2016年9月にBAP処理した冬芽は、雌花が誘導され9カ月後(2017年5月)に受粉し、12カ月後(2018年5月)に花粉管を伸ばし受精し、さらにその6カ月後(2018年10月)に花性転換による球果231個を結実させた。

得られた自然交配による球果231個は、球果結実まで至ったが、BAP処理球果の開裂は全開裂7%、半開裂31%、不開裂62%であり、不開裂のものが多かった(図-10)。また、球果長径は平均 $23 \pm 4.5\text{mm}$ と普通球果と比較して小型であった(図-11)。全開裂および半開裂球果89個からは、総種子数874粒、充実種子数357粒を得た。充実種子の100粒重は0.795gで、普通球果による充実種子に比較して小粒であった。エタノール精選後の種子発芽率は87%であった。

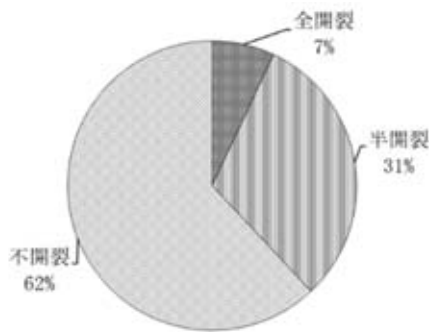


図-10 BAP処理による球果の開裂割合

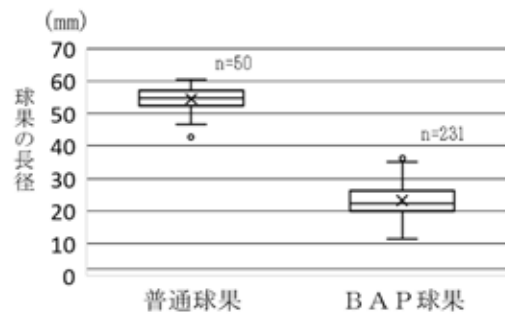


図-11 普通球果とBAP球果の長径

②枝注入法によるBAP処理

枝注入法により得られた球果数は、いわき27では252個、鳴瀬39では379個であった。なお、小高37では雌性花序を誘導できなかった。

球果開裂割合は、SMPでは全開裂が51%、半開裂が34%、不開裂が15%で、自然交配では全開裂が18%、半開裂が35%、不開裂が47%であった。(図-12)。

種子数は、SMPでは総種子数4,229粒、充実種子数は914粒、シイナ数は3,315粒で、自然交配では総種子数995粒、充実種子数260粒、シイナ数735粒であり、種子の生産が見込める全開裂および半開裂球果1個あたりの平均種子数は8.7粒、平均充実種子数は2.3粒で、残りはシイナとなった。一方、SMPを施用したものでは、種子の生産が見込める全開裂および半開裂球果1個あたりの平均種子数は20.5粒、平均充実種子数は4.4粒で、残りはシイナであり、通常の球果から得られる種子数と比較して極端に少なかった(表-6)。

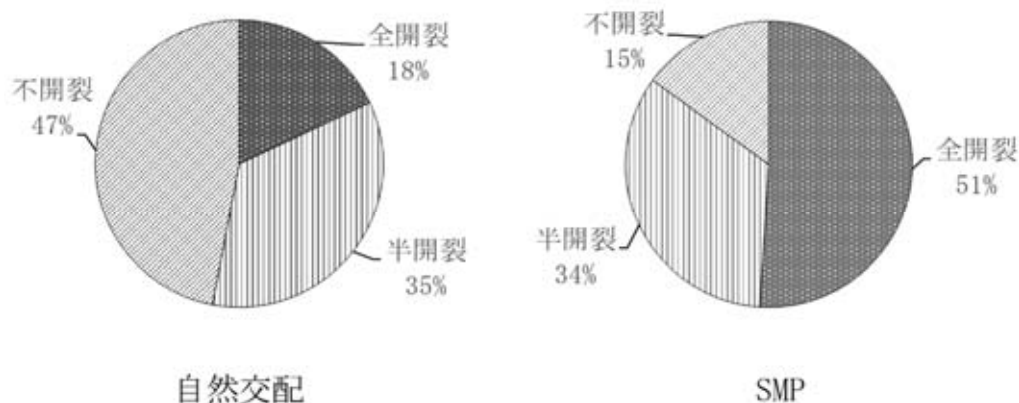


図-12 自然交配と SMP による球果の開裂割合の比較

表-6 SMPの有無による球果および種子数

SMPの有無	有					無					
	雌性花序 番号	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	計	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	計
総球果数		65	107	47	33	252	69	53	56	39	217
全開裂数		33	51	34	15	133	18	7	8	6	39
半開裂数		25	38	6	4	73	35	16	13	12	76
不開裂数		7	18	5	16	46	16	30	35	21	102
総種子数		1,157	1,394	1,262	416	4,229	390	200	207	198	995
充実種子数		210	278	261	165	914	112	52	40	56	260
シイナ数		947	1,116	1,001	251	3,315	278	148	167	142	735

③誘導された幼球果の摘果による種子の大粒化

摘果実施の結果、球果長径は、同年産の普通球果は  $54.1 \pm 4.2 \text{mm}$  (S. D)、摘果処理した BAP 球果は  $34.1 \pm 3.3 \text{mm}$  (S. D)、摘果しない BAP 球果は  $26.7 \pm 2.0 \text{mm}$  (S. D) となった (図-13)。球果数 18 個あたりの総種子数 504 個、充実種子 222 粒 (総種子数比 44.0%)、シイナ 282 粒 (総種子数比 56.0%) が得られた。種子の 100 粒重は 1.27g であり、摘果しないものに比較して 27% 多かったが、普通種子に比較すると小粒であった (表-7)。

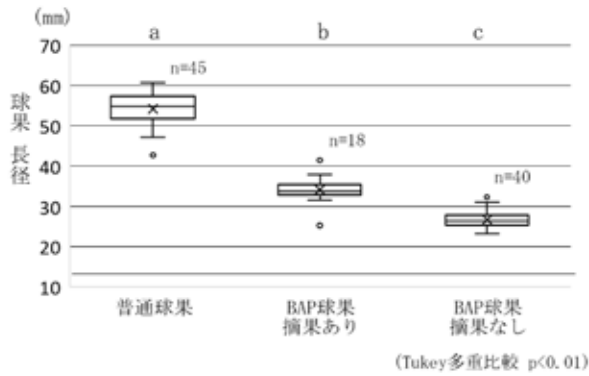


表-7 摘果による100粒重の比較

種子の種別	100粒重(g)
普通球果	2.06
BAP球果 摘果あり	1.27
BAP球果 摘果なし	1.00

図-13 摘果による球果長径の比較

### (3) 考察

冬芽ペースト塗布法により、BAP 処理した結果、9月の第1、2週がBAP 処理の適期であることが明らかとなった。BAP 処理が雄性花序に及ぼす効果は、雄性花序から雌性花序への花性転換であり、花序原基そのものの形成促進作用は認められていない<sup>16)</sup>。冬芽ペースト塗布法を処理する時点では、雄花序はまだ形成されておらず、目視での確認ができない。そのため、雄花序の形成がない冬芽に処理を施す場合も生じ、処理による雌花誘導の成功率が低い。最終的に雌花誘導できたものは、供試17母樹のうち、多産系の6母樹であり、多産系母樹を選択的にBAP 処理することで雌花誘導の成功率を向上できるものと思われた。また、枝注入法によれば、1枝につき1回の注入処理で、大量の球果が得られ、処理効率を向上させることができた。

冬芽ペースト塗布法では、最終的に、球果は231個得られたが、球果は小粒で、全開裂したものは7%と少なく、得られた充実種子の発芽率は良好であったが量的には少量であった。開裂球果の割合が少ないことは、十分な受粉がなされていないことを示している。一方、枝注入法で得られた雌花にSMPを施用した結果では、自然交配に比べて、球果の開裂割合は全開裂が2.8倍程度増加し、球果1個あたりの充実種子数も4.4粒と約2倍となったが、SMP 施用で最終的に得られた充実種子数は、なお量的には少量であった。種子重量の違いは、稚樹高に影響を与え、大きく重い種子からは大きな稚樹が得られ、小さく軽い種子からは小さな稚樹が得られることが知られている<sup>7)</sup>。BAP 処理による房状の多数の球果を摘果処理した結果、得られた種子は、通常種子の1/2程度の種子重で小粒であり、幼球果の摘果によっても、3割程度の種子重の増加が見られた程度であった。

BAP 処理による種子増量技術を現地適用するためには、まず、得られる充実種子数を大幅に増加させる必要がある。また、できる限り大粒種子であることが望ましい。花性転換による雌花の胚珠の有無、受精能力および種子生産に寄与する有効鱗片内の胚珠について解剖学的な検討<sup>12)</sup>とあわせて、母樹から球果内の種子への栄養補給能力について、今後、検討が必要であるものと考察された。

## IV 挿し木増殖によるコンテナ原苗の確保

### 1 材料と方法

#### (1) 挿し床用土と挿し穂種別発根率の検討

挿し床用土は、パーミキュライト、パーライト混合土（容積比8：2）、鹿沼土（小粒）を、挿し穂は、5年生クロマツ萌芽枝と15年生抵抗性クロマツ（いわき27、亘理56、志摩ク-64、土佐清水ク-63）の栄養枝とした。挿し穂の挿し口直径は5mm以上の比較的太いものを用いた。挿し付けは冬挿しとし、2019年2月12日に実施し、2019年12月6日に掘り取り、発根率を調査した。

挿し付け及び管理方法は、採取した荒穂を流水につけ3日間樹脂抜きしたのち、優勢な冬芽1個のみを残した。挿し穂は長さ5～7cmで切出刃を用いて斜切りし、オキシベロン原液に5秒浸漬したのち、育苗トレー（深さ10cm）に挿し穂長の1/2程度の深さに挿し付けた。ガラス温室内で、白冷紗（遮光率30%）で遮光して育苗トレーを置き、電床マットを用いて地温23℃に加温し、農業用ビニールトンネルで密封した。マルチ内部のビニールに水滴がつく程度に、2～3日毎にミスト装置によりミスト灌水し、トンネル内部の湿度を90%以上に維持した。なお、4月上旬以降、30℃を超える日中はトンネルを開放した。トンネル内部が連日30℃を超え始めた5月上旬に密封トンネルを撤去し、以降、8時間ごとに3分間程度ミスト装置で定期灌水した。また、9月以降、灌水量を1/2～1/3に抑制した。

#### (2) 萌芽枝による挿し穂の挿し口径

挿し穂は、5年生クロマツ萌芽枝を用い、挿し穂の挿し口直径によらず任意に選定した。2020年2月28日に実施し、2020年11月20日に全挿し付け穂162本を掘り取って発根状況を調査した。挿し穂は発根が認められる穂、葉色が緑色でカルス形成はあるが未発根の穂、葉色が褐変し枯死した穂に3区分し、区分毎に挿し口径を測定した。挿し付けおよび管理方法は（1）と同様である。

#### (3) 挿し穂に用いる萌芽枝の誘導

挿し穂誘導に用いた台木には、苗畑に定植し3カ年養成した6年生クロマツを用いた。台木の頂芽、輪生枝側芽をすべて切除したのち、市販のBAP液剤（6-N-ベンジルアミノプリン3.0%）を100倍に希釈した水溶液を2020年4月21日、5月1日、8日、16日に合計4回散布した。処理区は①頂芽、側芽切除-BAP散布2回処理区 ②頂芽、側芽切除-BAP散布4回処理区 ③頂芽、側芽切除のみ区とした。11月24日に、得られた萌芽枝数、枝長、枝径を測定し、台木1本当たり得られる挿し穂利用可能本数を調査した。

## 2 結果

### (1) 挿し床用土と挿し穂種別発根率

挿し床用土について、パーミキュライト、パーライト混合土（容積比8：2）では、萌芽枝の発根率は75.0%、栄養枝の発根率は27.0%であり、鹿沼土では、それぞれ30.0%、0%だった。萌芽枝および栄養枝ともに発根率は、鹿沼土と比較してパーミ

キュライト、パーライト混合土（容積比8：2）が良好であった。また、萌芽枝の発根率は、挿し床用土によらず、栄養枝の発根率を上回っていた。（表－8）。

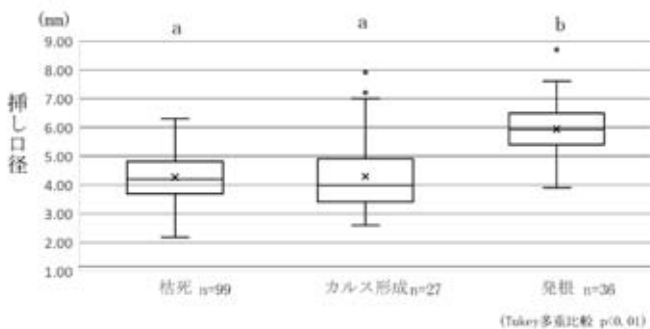
表－8 挿し床用土－挿し穂種別 発根率

挿し穂 種別	パーミキュライト、パーライト (容積比8：2)			鹿沼土		
	挿付(本)	発根(本)	発根率(%)	挿付(本)	発根(本)	発根率(%)
萌芽枝	24	18	75.0	20	6	30.0
栄養枝	42	11	26.2	44	0	0.0

### (2) 挿し穂の挿し口径

調査の結果、全挿し付け本数 162 本のうち、発根した穂は 36 本であり、挿し口径は平均  $5.9 \pm 0.9\text{mm}$  となった。カルス形成のみ未発根穂は 27 本で、挿し口径は平均  $4.3 \pm 1.3\text{mm}$  であった。枯死した穂は 99 本で、挿し口径は平均  $4.2 \pm 0.9\text{mm}$  であり、水準間に有意差が見られた (Tukey 多重比較  $p < 0.01$ )。

枯死及びカルス形成した穂に比べて、発根した穂の挿し口径は大きい傾向にあった (図－14、図－15)。



図－14 萌芽枝挿し穂の発根と挿し口径



図－15 挿し穂の発根状況

### (3) 挿し穂に用いる萌芽枝の誘導

処理により誘導された萌芽枝 760 本について、部位別では、挿し穂調製に必要な枝長 6 cm 以上の萌芽枝は、頂芽で 208 本、輪生枝側芽で 391 本、計 599 本得られた。また、発根が良い直径 5 mm 以上の萌芽枝は、頂芽で 132 本、輪生枝側芽で 68 本、計 200 本得られた。処理方法では、枝長 6 cm 以上の萌芽枝は、頂芽では、BAP 散布 4 回処理が平均 27 本、BAP 散布 2 回処理の平均 23 本、頂芽切除のみで平均 19 本となった。輪生枝側芽では、BAP 散布 4 回処理が平均 7 本、BAP 散布 2 回処理が平均 8 本、頂芽切除のみで平均 3 本となった。

次に、発根が良好な枝直径 5 mm 以上の萌芽枝は、頂芽では 132 本、BAP 散布 4 回処

理で平均 11 本、BAP 散布 2 回処理で平均 20 本、頂芽切除のみで平均 13 本となった。輪生枝側芽では、BAP 散布 4 回処理が平均 1 本、BAP 散布 2 回処理が平均 2 本、頂芽切除のみで平均 1 本となった（表－9）。

表－9 BAP 散布処理による萌芽枝誘導数

処理の部位	処理方法	供試芽数 (個)	総萌芽枝数 (本)	平均 (本)	枝長6cm以上 (本)	平均 (本)	枝直径5mm以上 (本)	平均 (本)
頂芽	BAP散布 4回	3	99	33	81	27	33	11
	BAP散布 2回	3	77	26	70	23	59	20
	切除のみ	3	66	22	57	19	40	13
輪生枝側芽	BAP散布 4回	28	251	9	183	7	19	1
	BAP散布 2回	22	227	10	181	8	45	2
	切除のみ	8	40	4	27	3	4	1

### 3 考察

挿し穂に萌芽枝を用いた本試験では、用土にパーミキュライト、パーライト混合土（容積比 8 : 2）を用いることにより、高い挿し木発根率が得られた。

栄養枝による場合、自然着生枝を挿し穂に用いるため、採穂可能な枝に限られる。一方、萌芽枝は、冬芽切除、BAP 散布処理の人為操作によって、大量の挿し穂が確保できる。本試験では、5 年生クロマツを挿し穂台木として、4 月に 2 回の BAP 散布処理を実施することにより、挿し穂調製に適する形状をした多くの挿し穂を得られることが明らかとなった。

東北地方においても、挿し木増殖による事業規模の苗木供給の試みがされており<sup>5)</sup>、本県でも挿し木による大量増殖が可能になれば、苗木の品質（抵抗性）が確実な苗木を大量供給できる。今回の試験結果により、事業規模で 10,000 本の挿し木苗を生産する場合、頂芽および輪生枝側芽から挿し木に適した萌芽枝が、台木 1 本あたり 87 本得られ、挿し穂発根率 75% として、150 本の採穂用クロマツ台木が必要になると試算される。

## V 一粒播種による実生コンテナ育苗の省力化

### 1 材料と方法

#### (1) 精選の違いによる圃場発芽試験

2017 年産の抵抗性クロマツ採種園産種子を供試し、種子の精選に風選のみを施用した鑑定発芽率 57% 種子と、風選後さらにエタノール精選して鑑定発芽率 95% に向上させた種子を用いた。コンテナは 1 トレーあたり 40 本の分離可能なコンテナ方式のものを用いた。コンテナ培土にはココピートオールタイプを用い、緩効性肥料（N-P-K=12-8-10 肥効 100 日）20g/L、苦土石灰 2g/L、腐葉土 20g/L を元肥として添加した。2018 年 5 月 11 日に、風選のみの鑑定発芽率 57% 種子及びエタノール精選した鑑定発芽率 95% 種子を各々 3 トレー（120 穴）に、コンテナ 1 穴につき 1 粒



播種し、コンテナ穴すべてに発芽幼苗が揃うまでの播種回数と、圃場発芽率を調査した。その際に発芽が無かったコンテナ穴には再度播種した。さらに、8月8日に圃場発芽率を調査し、その際に発芽が無かったコンテナ穴に再度播種した。その後、苗高を12月14日に測定した。

## (2) 前年播種したコンテナ苗の追肥試験

2019年に播種した1年生コンテナ苗を用いて、各処理区に20本供試した。追肥量は、肥料(N-P-K=12-8-10 肥効100日タイプ) 5g/Lを基本量とし、比較区として、2倍量区、3倍量区および無追肥とした。追肥時期は、初回を2020年5月12日とし、2回目を100日後の8月24日とし11月10日に苗高および根元径を測定した。

## 2 結果

### (1) 精選法の違いによる圃場発芽試験

風選のみの鑑定発芽率57%種子は、2018年5月11日に播種後、同年7月17日および8月8日の3回播種によりコンテナ120穴のうち116穴に発芽幼苗が得られた(圃場発芽率96.7%)。一方、エタノール精選した鑑定発芽率95%種子は5月11日の1回目の播種により7月17日にはコンテナ120穴のうち111穴に発芽幼苗が得られた(圃場発芽率92.5%)(図-16)。

苗高は風選のみの種子は $8.6 \pm 2.7$ cm(S.D)、エタノール精選した種子は $8.9 \pm 2.6$ cm(S.D)となり、ほぼ同様な苗が得られた(図-17)。

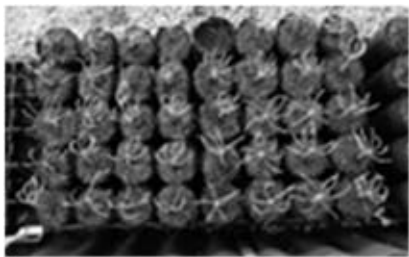


図-16 一粒播種で得られた発芽実生幼苗

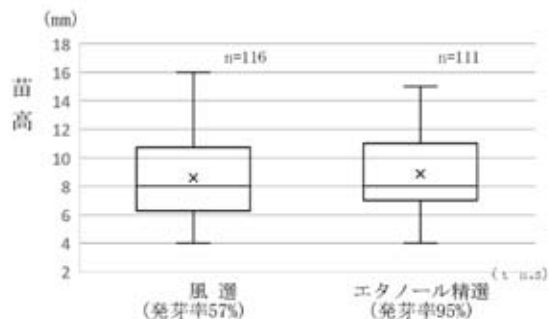


図-17 各精選法により得られた当年生苗の苗高

### (2) 前年播種したコンテナ苗の追肥試験

基本量区において、75%の苗が出荷規格(苗高20cm 根元径5mm)を超える生長量となった。苗高について、2倍量区は平均 $31.2 \pm 6.3$ cm(S.D)となり、根元径について、2倍量区は平均 $7.8 \pm 1.2$ mm(S.D)となり、2倍量区と3倍量区間には有意差は見られなかった(Tukey 多重比較  $p < 0.01$ )(図-18)。

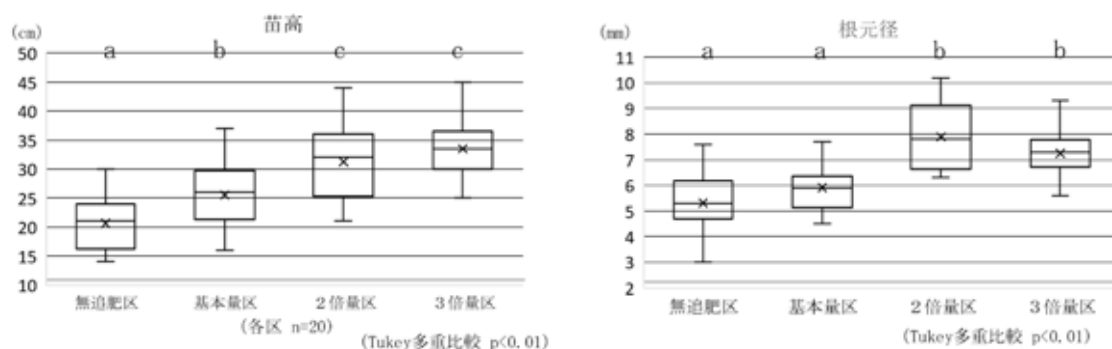


図-18 1年生実生苗の追肥による苗高および根元径

### 3 考察

風選のみの低発芽率の種子を用いて、コンテナセルへ1粒播きした場合は、すべての発芽幼苗がトレーに揃うまで3回程度の蒔き付け作業を要し、幼苗の生育も不揃いとなる。一方、エタノール精選で発芽率を高めた種子による1粒播種によれば、圃場発芽率も高率に維持され、幼苗の生育も斉一なものを得られた。

高発芽率の種子を1粒播きした場合でも、低率ではあるが未発芽のセルも生じ得るが、セルを分離できるセパレート方式のコンテナを使用して、未発芽セルをトレーから除き、発芽セルをトレーに移し替えれば、容易に全セルが発芽幼苗で揃ったコンテナトレーを得ることができる。

クロマツ苗の出荷規格は、苗高20cm以上、根元径5mm以上である。コンテナ培土に元肥を施用した後、翌年に2回の基本量の追肥を施用した場合、75%の苗が出荷規格を上回り、2倍基本量の追肥を施用した場合は、すべての供試苗が出荷規格を上回ったことから、追肥の施肥量は、肥料(N-P-K=12-8-10 肥効100日タイプ) 5g/Lから10g/L程度の2回施肥が適量であることが明らかとなった。

本法を用いることで、移植工程が省略でき、斉一な発芽幼苗が得られ、効率的なコンテナ育苗作業が可能になるものと考えられる。

## VI SMP および BAP による実生苗のマツノザイセンチュウ抵抗性

### 1 材料と方法

2018年に得られた種子を用いて、2019年5月15日に、コンテナトレーに一粒播種し養苗して得られたSMPによる実生苗(n=20)、BAPによる実生苗(n=21)、自然交配による実生苗(n=20)および対照として在来アカマツ実生苗(n=11)の1年生苗を用いた。

2020年9月18日にマツノザイセンチュウ「Ka4」を0.1ml当たり1万頭に調製し、剥皮法により、苗木1本当たり5千頭(0.05ml/本)接種した<sup>14)</sup>。また、対照として自然交配実生苗に水のみを接種した。接種後の苗木管理は、かん水を週1回、トレー内の培土が乾燥しない程度に抑え、ガラス温室を締め切り、室内の気温の低下を防止した。12月11日に、針葉色により苗木の生死を判定し、生存本数を計数したのち、生存率を算出した。

## 2 結果

SMP 苗の接種後生存率は 60%、BAP 苗は 52.4%、自然交配苗は 65.0%となり、ほぼ同様な生存率を示した。また対照在来アカマツは 5.6%、水接種苗は 100%の生存率を示した(図-19)。特に、BAP 処理により得られた苗木での接種試験において抵抗性に差は見られなかった事例報告がある<sup>15)</sup>。与えられた試験研究期間に限ってではあるが、今回、SMP による種子、BAP による種子の1年生実生苗は、自然交配によるものと同程度の品質(抵抗性)を有することが改めて確認された。

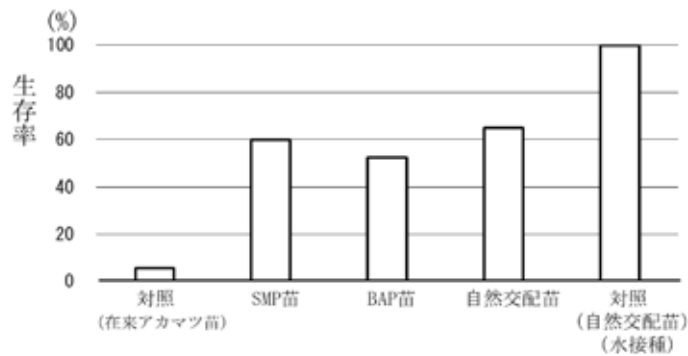


図-19 ザイセンチュウ接種苗の生存率

## Ⅶ おわりに

樹木の増殖に関する開発された技術を、実際の生産現場に現地適用する場合、地域の気候風土をはじめ、現地における樹木の生理生態上の特性、現場施設に備わる特性を良く把握し、現地の生産環境と導入すべき技術との折り合いをつけることが重要である。そして、現地適用事例を増やし、多くの実践事例の中から改善を要する諸課題を抽出して、さらに改良を加え、技術の成熟を果たす必要がある。

抵抗性クロマツ品種は、既に第二世代品種の開発も進捗し、新たな抵抗性採種園の造成、種子生産の事業化も可能となりつつあり、新たに開発された新品種、新技術をはじめ、従来技術の再評価や他分野技術の組み換え導入、課題解決のための現場への普及、積極的な社会実装の促進が期待される。

本試験研究の遂行にあたり、採種園の維持管理、野外実験、調査測定の労苦を共にして頂きました皆様、様々な御助言を与えて下さった関係試験研究機関の研究職員諸兄、また、貴重な試験研究の機会を設けて頂きました関係各位に対しまして、厚く御礼申し上げます。

## Ⅷ 引用文献

- 1) Floyd E. Bridgwater and I.F. Trew (1981) Supplemental Mass Pollination (Pollen management handbook. E. Carlyle Franklin, Agric. Handb. 587 U.S. Dep. Agric, Washington, D. C.) 52-57
- 2) 橋詰隼人(1981) 林木の交配に関する基礎的研究(IX) アカマツ, クロマツの開花, 受粉および人工授粉の適期について. 鳥大農研報 33:34-40
- 3) 川上鉄也・大沼哲夫・小澤 創ら(2017) マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ採種園の改良. 福島県林業研究センター研究報告第49号: 1-12

- 4) 気象庁. 「各種データ・資料」 (<https://www.data.jma.go.jp>) アメダス 地点名「郡山」(北緯 37° 22.1′ 東経 140° 19.8′ 標高 249m)
- 5) 今野幸則(2017)クロマツ苗の無性繁殖による大量増殖技術の開発. 宮城県林業技術総合センター成果報告 25号:8-12
- 6) 升屋勇人・安藤裕萌・八木橋勉ら(2019)カラマツコンテナ苗における床替苗根腐苗. 森林総合研究所研究報告 452:389-392
- 7) 三宅 登・黒川卓三(1958)クロマツ種子の大小が発芽力並びに稚樹生育におよぼす影響. 島根農科大学研究報告 6:139-144
- 8) 中井 勇・大島誠一・藤本博次ら(1987)マツ属の開花に関する研究(Ⅱ). 京都大学農学部演習林集報 17:82-91
- 9) 大平峰子・宮原文彦・森 康浩ら(2007)さし木繁殖によるマツ材線虫病抵抗性クロマツ苗生産技術の開発. 林木の育種 特別号:29-32
- 10) 織部雄一郎 編集(2016)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. :8-9
- 11) 小澤 創・渡邊次郎・渡邊敦史(2011)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. 福島県林業研究センター研究報告第 44 号:17-49
- 12) 斎藤幹夫・山本千秋(1977)アカマツ・クロマツの球果における有効鱗片の位置とタネの生産(1977). 林試研報 No. 293:89-103
- 13) 斎藤幹夫・山本千秋・萩原 訓ら(1979)クロマツ雌球花の開花と受粉の適期. 林試研報 No. 302:79-96
- 14) 戸田忠雄(2000)抵抗性マツを生産するための材線虫の培養技術と接種技術. 林木育種センター九州育種場年報第 28 号:56
- 15) 涌嶋 智(2002)BAP 処理により得られた抵抗性マツの球果・種子量および苗木のマツノザイセンチュウ抵抗性. 広島県林業技術センター研究報告 34:11-17
- 16) Wakushima, S., Yoshioka, H., and Sakurai, N. (1997) Promotion of lateral female strobilus production in *Pinus densiflora* by cytokinin application at specific stage. *J. For. Res.* 2:51-57