

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 マツ材線虫病抵抗性クロマツ苗の
効率的な生産技術に関する研究

氏名 袴田哲司

論文内容の要旨

マツ材線虫病は、マツノザイセンチュウ(*Bursaphelenchus xylophilus*) (以下、センチュウ) の侵入により、樹体内で組織や生理状態の異常と通水阻害が生じ、やがて萎凋のため枯死に至る、日本で最も重大な樹木病害である。これに対し、環境に配慮した育種的対策として抵抗性育種事業が展開され、甚大な被害林内の生残個体から接木苗または実生苗を増殖し、それらにセンチュウを接種する一次、二次検定を経て、感受性樹種であるアカマツとクロマツの抵抗性クローンが選抜された。これらのクローンで構成された採種園で生産される自然交配種子由来の実生家系苗は、抵抗性が保証されているものではなく、接種検定を行って抵抗性苗の生産と普及が進められている。東日本大震災以降、海岸防災林の機能強化が一層求められる中、クロマツは主役となるべき樹種であるが、現在でも材線虫病の被害は続いていることから、抵抗性苗の需要は増大しており、新たな抵抗性品種の開発や苗木の生産性向上が期待されている。

抵抗性苗の生産過程では、接種検定後の生存率を高めて価格を下げる必要がある。強抵抗性品種を導入すれば生存率は高まるが、新品種開発には7~8年を要する。したがって、開発の加速化には、実生苗の抵抗性に関わり、接種検定結果に影響する要因を明らかにして、苗生存率を改善することが重要となる。また、抵抗性確認のための接種検定を省き、より低価格の苗を供給する方法の模索も必要である。組織レベルで樹体の抵抗性を評価できれば、抵抗性苗の生産過程を従来よりも簡略化できる。本研究では、苗へのセンチュウ接種による抵抗性評価の省力化のため、枝片を用いた組織抵抗性の評価による苗全体の抵抗性評価を試みた。また、接種検定時の苗生存率を高めるため、抵抗性に関連する形態的特徴を明らかにした。さらに、これまで困難であった挿し木増殖で高い得苗率を得る方法を検討し、挿し木苗生産の可能性を検証した。

1. クロマツの組織抵抗性と母樹、実生家系苗の抵抗性

組織学的変化と材線虫病に対する樹体抵抗性との関係では、切り枝や樹皮片で抵抗性の樹種間差が再現され、抵抗性樹種では感受性樹種に比べて接種点近くの本部柔細胞の壊死が少ないことが、他のマツ属樹種で報告されている。こうした組織レベルと個体レベルの抵抗性の関連がクロマツにおいても認められれば、苗へのセンチウ接種が省略できる。そこで、組織変性の早さを褐変で評価し、クローンや実生家系間の違いを明らかにするとともに、全身の抵抗性との関連を調べた。抵抗性強度が異なるクロマツ 6 家系の 3 年生実生ポット苗実験では、接種した枝片は最終的にはすべて褐変し、組織レベルで完全な抵抗性を示す苗木は存在しなかった。しかし、枝片が完全褐変に至る日数と、苗木の大部分が枯死する厳しい条件下での枯死までの日数との間には有意な正の相関が認められ、組織の褐変が遅い実生苗は枯死も遅い傾向にあった。一方、抵抗性母樹 15 クローンの枝片への接種実験では、全体が褐変に至る日数にはクローン間差があり、母樹クローンから得られた半兄弟実生家系苗の組織変性の早さとは有意な正の相関が認められ、病態反応に関する母樹組織の性質がその実生家系苗の組織の性質にある程度は遺伝すると考えられた。しかし、母樹および実生家系苗の組織変性の早さは、ともに苗畑で検定した実生家系苗の抵抗性強度との相関が低く、全身抵抗性の構成要因として重要ではないことが示唆された。組織変性が遅い苗は病徴発現が遅れる傾向にあるが、苗の生存には結びつかず、組織抵抗性よりもセンチウの移動や増殖を抑える苗全身の抵抗性が苗の健全率に影響していると考えられた。

2. クロマツの組織抵抗性の評価指標としての微弱発光の利用

クロマツやアカマツでは、センチウの侵入部付近の組織にエピセリウム細胞の崩壊や柔細胞の壊死が認められ、このような病態反応の質的・量的な差が全身的な発病の有無に影響することが示唆されている。したがって、センチウ侵入後の組織の変化を的確に把握することは、抵抗性の判定において極めて重要である。これまで、組織や細胞の変性や壊死については、肉眼的観察や試薬染色後の顕微鏡観察のほか、脂質の過酸化程度や、電解質の漏出量等によって評価されてきたが、これらの方法は組織の抵抗性を部分的に評価しているだけであり、新たな組織の抵抗性判定の指標が必要であった。本研究は、この一つの候補として、植物から発生する微弱発光の利用を考えた。この微弱発光は生体の生理状態を強く反映し、糸状菌等のエリシター物質に応答した植物の防御反応に付随して発生することが明らかにされている。これまでに、マツ属樹種とセンチウとの関係において発生する微弱発光を報告した例はなかったが、これが抵抗反応を反映するのであれば、特別な試薬を必要とせず非破壊で行なえるため、センチウに対する抵抗性の簡便な指標として利用できる可能性がある。そこで、マツ材線虫病抵抗性の新たな検定技術の開発を目的として、センチウを接種したクロマツ枝片から発生する微弱発光を調査した。センチウを接種した枝片からは、接種後 30 分以内に 1 時間程度、接種 70 時間後には 100 時間以上持続する微弱発光が認められ、10 日後には枝片全体が褐変した。接種頭数を 2 倍にすると、発生パターンは類似したまま発光強度は高まった。本研究により、クロマツの組織からは初

となるセンチュウ加害による微弱発光の発生は認められたが、組織の防御応答を示す発光パターンまでは確認できず、これに基づく抵抗性評価はできなかった。

3. 実生苗の形態的特徴と抵抗性との関係

実生苗へセンチュウを接種し、その後健全であった抵抗性苗を出荷する生産方法で、静岡県は全国有数の生産県となっている。しかし、センチュウの培養や接種検定作業に手間がかかることや、検定で50%近い個体が枯死する等の問題があり、苗木価格が一般の苗に比べて高くなっている。接種検定後生存率には家系や環境条件が影響するとされているが、生存率に影響する苗木の形態的特徴については解明されていない。そこで、多家系（品種）・複数年の試験を設計し、苗木のサイズや枝数が生存率に与える影響を評価した。抵抗性クロマツ採種園由来の16家系の苗木について、接種試験直前の苗木の各部位を測定し、センチュウ接種の2ヵ月後に生存率を調査する試験を3年間行った。その結果、輪生枝数は生存率に関与する要因ではなかったが、家系と苗高、根元径が健全率に有意に関与していた。特に、苗高は家系・接種年との交互作用がなく、独立的に関与する要因であった。3年間とも苗高が大きいほど健全率が高く、大きい苗への優先的接種により生産効率を高められることが明らかとなった。

4. 挿し木発根性に関わる要因

実生苗への接種検定で抵抗性苗を生産する方法では、その年の環境条件によって健全率や抵抗性強度が安定せず、また、センチュウ培養技術をもつ一部の種苗生産者しか生産できないことから、抵抗性が確認された母樹から採穂し、挿し木によって苗木を増殖する方法が試みられるようになった。クロマツは発根率が低いとされていたが、母樹によっては高い発根率が得られ、強病原性センチュウの接種検定で生残した母樹から挿し木によって増殖した苗は抵抗性が強い。そのため、抵抗性確認のために苗木段階で再び接種検定を行う必要がなく、生産コストが低く抑えられるという試算もある。挿し木苗生産の成功には、挿し穂の高い発根能力が不可欠であるが、それには母樹が持つ遺伝的な因子や挿し穂の生理的特性が大きく関わっている。品種の違いは発根性に影響するとされてきたが、同じ母樹からの採穂部位、挿し穂重量、冬芽数等の影響は未解明であった。解析の結果、家系と採穂部位だけは発根率に有意に関係していた。特に採穂部位は他の要因との交互作用が認められず、樹冠下部からの挿し穂は上部よりも高い発根率が得られた。挿し穂の新梢から伸びた針葉の長さや発根量間には正の相関が認められ、針葉長は掘り取り前の根量評価の有効な指標と考えられた。

本研究では、クロマツの組織変性と苗の枯死に至る日数との相関性や、センチュウ加害による微弱発光の発生という新知見が得られたものの、微弱発光に基づく全身の抵抗性評価までには至らなかった。センチュウの移動や増殖を阻害する苗全身の抵抗性評価には、苗全身の抵抗性が反映される組織抵抗性評価方法の構築や、防御応答に基づく微弱発光が検出可能となる接種条件の解明が必要である。一方、抵抗性苗の生産において、実生苗サイズが接種検定結果に、また、母樹からの採穂部位が挿し木発根率に影響したことは、種苗生産の効率化を図る上で重要な知見であると考えられる。