

クロマツ×タイワンアカマツ雑種に みられるマツ材線虫病抵抗性

中井 勇・福重博正・古野東洲

はじめに

抵抗性育種では、ある種の害に対して抵抗性を示す種（個体）と感受性を示す種（個体）との交雑によって抵抗性遺伝子の導入を図る場合が多い。一般に非生物的被害（寒さや乾燥）に対する抵抗性や耐性は、その性質が永年持続するとされているが、生物害に対する抵抗性は危害生物との競争であり抵抗性種の創成には様々な困難な問題がつかまとう。

マツクイムシ被害は生物害によるものであって、マツノマダラカミキリ (*Monochamus alternatus*) を媒介者とし、マツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) を病原体とする疫病であると考えられている¹⁾。このマツ材線虫病に対する寄主側のマツ属の抵抗性を明らかにする試みは二井ら²⁾、古野³⁾、大山⁴⁾他多くの研究者によって、外国産マツ属を含めて系統的に検討され、整理されている。その中でクロマツ (*Pinus thunbergii*) × タイワンアカマツ (*P. massoniana*) のF₁雑種は花粉親であるタイワンアカマツのマツノザイセンチュウに対する抵抗性を受け継ぎ、マツ材線虫病に対して比較的強い抵抗性を示すことが、石井ら⁵⁾、佐々木ら⁶⁾、古野ら^{7,8)}によって明らかにされた。研究初期においては、マツクイムシ被害対策として有望な種となり得ることが指摘された。しかし、その後のF₁雑種の成育経過で、タイワンアカマツのマツバノタマバエ (*Thecodiplosis japonensis*) の感受性も受け継がれることが明らかになり⁹⁾、加えて、古野ら⁸⁾はこのF₁雑種がマツモグリカイガラムシ (*Matsucoccus matsumurae*) の寄生による被害の激しいことを確認し、さらに20数年経過したこのF₁雑種の林分でマツクイムシ被害が激しくなった事実から¹⁰⁾、このF₁雑種がマツクイムシ対策にとって有望種となり得ないことを指摘した。ここでとりあげたF₁雑種の評価に当たっては、マツ材線虫病に対して強い感受性を示す種子親のクロマツに抵抗性の花粉親であるタイワンアカマツの抵抗性遺伝子が導入されたことを前提としていた。しかしながら、マツ材線虫病に対する感受性あるいは抵抗性についてのメカニズムは未だ明らかでない。そのため抵抗性遺伝子の可否を判断するには抵抗性を支配する要因と連動する指標を探索する必要がある。

本報告ではクロマツ×タイワンアカマツのF₁、F₂雑種と種子親のクロマツを対象として、マツノザイセンチュウの接種による被害状況を比較し、抵抗性遺伝子導入の可能性を明らかにすることを目的としている。特に、F₂雑種ではこれまでの雑種判定においてもっとも有効な指標とされた質的形質である樹脂道の発現位置¹¹⁾の分離を調べ、その分離個体間の被害状況を比較した。F₂雑種の形質分離に関しては調査個体数や針葉のサンプル量に若干の問題は残るものの、マツ材線虫病の被害と樹脂道の発現位置との間に相関があれば、今後樹脂道の発現位置の解析が抵抗性育種の手掛かりをつかむ上で有効な手段となり得るものと考えた。

本実験を進めるに当たって終始有益な助言を賜った本学の農学部農林生物学科の二井一禎博士や実験フィールドの管理などにおいて協力を得た農学部附属演習林上賀茂試験地の教職員各位に

感謝する。

材料および方法

マツノザイセンチュウの接種実験に用いた材料は表-1に示すとおり、クロマツの自然受粉個体とクロマツ×タイワンアカマツのF₁雑種、F₂雑種（自殖および自然受粉）の4種である。接種は二井ら²⁾の方法に従い、1987年7月20日に実施し、苗木1個体当たり2,000頭とした。F₂雑種では1個体の各部分から30針葉束をサンプリングし、主樹脂道の発現位置の表現により、クロマツ型、タイワンアカマツ型と中間型に分けた。被害調査は1987年の秋に全枯死木、部分枯死木、健全木に分けて行なわれた。

表-1 実験に用いた材料

種名および記号	本数	年齢	苗高 (cm)
<i>Pinus thunbergii</i> 自然受粉 [♀]	9	4	100~150
<i>P. thunb.</i> × <i>P. masso.</i> F ₁ 雑種 [F ₁]	14	4	100~150
<i>P. thunb.</i> × <i>P. masso.</i> 自殖 F ₂ 雑種 [SF ₂]	21	3	30~50
<i>P. thunb.</i> × <i>P. masso.</i> 自然受粉 F ₂ 雑種 [OF ₂]	51	4	100~150

結果および考察

I. マツ材線虫病の被害状況

実験に用いた種類とそれらの個体数や大きさは表-1に示されているが、種間で年齢やその大きさが若干異なっている。しかしこれまでに行なわれたマツノザイセンチュウの接種実験では、1年生未満の苗木に対する接種実験の結果を除き、それ以上の苗木では年齢の違いが実験結果には大きく影響していない¹²⁾。また、これまでに行なわれているマツノザイセンチュウの苗木1個体あたりの接種量は100~10,000頭の範囲であるが¹³⁾、本実験では二井ら²⁾の試みた2,000頭が“種間での被害の違いを比較する上で適切な量である”と考えられていることからこれに従った。表-2はマツノザイセンチュウの接種による被害状況が示されている。種ごとにその被害状況を整理すると次のとおりであった。

表-2 マツノザイセンチュウの接種による被害状況

種名 (記号)	健全	部分枯死	全枯死	被害率 (%)
[♀]	3	3	3	66.7
[F ₁]	4	5	5	71.4
[SF ₂]	4	8	9	81.0
[OF ₂]	34	11	6	33.3

記号は表-1を参照

1. クロマツ

被検木9個体に対して、健全、部分枯死、全枯死はそれぞれ3個体で、部分枯死と全枯死を合わせた被害率は66.7%であった。二井²⁾の結果では42個体の被検木に対して92.9%が被害を受けその他の実験例でもクロマツはマツ材線虫病に対して強い感受性のあることが指摘され、被害発

現は80~90%と考えられている。本実験では、一般論よりやや抵抗性の結果を示したが、クロマツがマツ材線虫病に感受性であることは間違いない。

2. クロマツ×台湾アカマツF₁雑種

石井ら⁵⁾、佐々木ら⁶⁾、古野ら⁷⁾の結果では、このF₁雑種のマツ材線虫病に対する抵抗性は種子親であるクロマツより強く、花粉親の台湾アカマツよりも弱く現われることが示されている。本実験では14個体の被検木に対して10個体が被害を受け、被害率で71.4%、全枯死個体は35.7%の結果となった。これによると種子親のクロマツとほとんど変わらない感受性を示していることになり、上述の実験例とやや異なる結果を示しているが、実験誤差、すなわち、被検木の多少や生育状態の違いなどによるのかも知れない。

3. クロマツ×台湾アカマツF₂雑種

本実験では人工受粉によるF₂（自殖）とF₁雑種の自然受粉によるものを対象としている。この2つのF₂雑種はその性質が異なっているものと考えられる。すなわち、自殖から得られたF₂雑種は花粉親が明らかであり、その親の遺伝子構成が同じであると考えられる。一方、自然受粉から得られたF₂雑種は花粉親が定まっておらず、さらに、F₁雑種と同時期に開花するクロマツや台湾アカマツとの受粉機会があり、生産される個体には大きな変異を生じている可能性がある。さらに、詳しく検討すると、F₁雑種である対立形質の優劣性の遺伝子型をAaとした場合、自殖ではAa×Aaと表現できる。一方自然受粉ではAa×Aa, Aa×AA, Aa×aaの3とおりが考えられ、しかもその頻度が受粉機会に依存するため自殖と自然受粉では生産されるF₂雑種の遺伝子型の頻度が異なる。これをF₁雑種の雌花から考えてみるとより理解しやすくなる。すなわち、これまでの調査から1つの雌花には有効胚珠数がほぼ50あるとされている¹⁴⁾。自殖の場合には同じ性質の花粉が受粉されることから生産されるF₂雑種ではその変異が一定の法則にしたがって分離するものと考えられる。しかし、自然受粉の場合、50の有効胚珠1つ1つが異なった花粉を受け入れるか、またはその頻度が異なることから1つの球果から生産される個体は自殖に比べて変異の大きなグループとなる。

このように異なる2つのF₂雑種を用いたマツ材線虫病の被害率は自殖では81.0%、自然受粉では33.3%を示した。とりわけ全枯死率は前者で42.9%、後者で11.8%を示し、その差は31.1%となって現われた。石井ら⁵⁾、佐々木ら⁶⁾の人工受粉による実験例では、F₂雑種はF₁雑種の約2倍の被害率を示しており、本実験例でもF₁雑種より高い被害を受ける結果となった。しかし、古野ら⁷⁾の実験では逆にF₁雑種がF₂雑種より高い被害率を示した例もある。自然受粉個体を対象とした実験は岡田ら¹⁵⁾によって試みられ、38個体のF₁雑種から得られたF₂雑種（1個体からほぼ100個体）の被害を整理し、生存率で30~85%の幅を見出し、育種の方法として生存率の高い母樹を選ぶ必要を提案している。しかし岡田ら¹⁵⁾が用いた母樹の大部分がすでに枯死しており、その効果は単純に評価できない。このことから考えられる一つの可能性は先に指摘したように受粉の機会の違いによるF₂雑種での遺伝子型の分離の違いが生存率の違いとなって現われたのである。

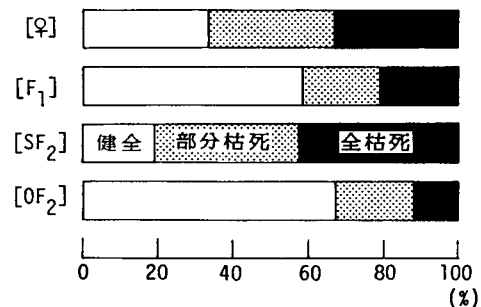


図-1 マツノザイセンチュウ接種による被害率 (記号は表-1を参照)

以上、クロマツ、クロマツ×タイワンアカマツのF₁、F₂雑種のマツノザイセンチュウの接種実験の結果について述べてきたが、古野³⁾、佐々木ら⁶⁾の実験からタイワンアカマツの被害率を参考にしてマツ材線虫病に対する感受性を相対的に整理すると、クロマツ>F₂>F₁>タイワンアカマツの関係が成り立つものと考えられる(図-1)。

そこで、F₂雑種について感受性を強く表現する個体は、クロマツの強感受性の性質が遺伝されているものと理解されるが、タイワンアカマツそのものがテーダマツ(*P. taeda*)やリギダマツ(*P. rigida*)などのように強抵抗性²⁻⁴⁾を示すものでないため、その解析は非常にむずかしい。仮に感受性から抵抗性に至る一直線上の両端にクロマツとタイワンアカマツを置くと、その中間のいずれかの点に雑種が位置つけられるものと理解されよう。このような視点から抵抗性を支配する遺伝子の解析が必要となるが、抵抗性の本質は未だ明らかでない。抵抗性の指標としてテルペン、ミルセン、タンニン量の違いが調べられているが⁵⁾、抵抗性を異にする個体あるいは種間でのこれらの指標の差と被害の差との相関がみだされていないのが現状である。

II. 形質分離とマツ材線虫病の被害

1. 主樹脂道の分離

マツ材線虫病に対する抵抗性個体は抵抗性遺伝子の支配によるものであろうが、それがメジャーゾーンかポリゾーンの支配によるものかは全く明らかでない。特に永年作物でしかも大型の植物では、生理的性質の発現に時間を要することから遺伝的解析は至難の業である。そこで、比較的幼齢期に安定する形態的な性質の遺伝子分析によって、その遺伝様式が明らかにされ、その様式が抵抗性を制御する生理的性質をも同様に支配するものであれば、その間に相関関係が成り立ち、抵抗性個体の検出が容易に可能となるものと考えられる。ただし、この考えを実証するためには本来の抵抗性遺伝子の解析を待たねばならないが、ここでは予備的な知見を得るために形態的性質の遺伝様式とマツノザイセンチュウの接種による被害の関係を解析した。

人工による種間交雑において生産された雑種の検定には、両親間で明らかに異なる質的形質がもっとも有効な指標となる。本実験で用いたクロマツ×タイワンアカマツでは、樹脂道の発現位置が両親間で明らかに異なり種内変動を伴わない質的形質である。すなわち、樹脂道がクロマツでは葉肉組織内に位置する中位型、タイワンアカマツは下表皮細胞に接する外位型であり、この性質は不変である。この両親間での雑種は両者の中間型を示している。特に主樹脂道は母本効果が、副樹脂道は父本効果が認められ、両樹脂道の遺伝様式に違いのあることが指摘^{11,16)}されている。

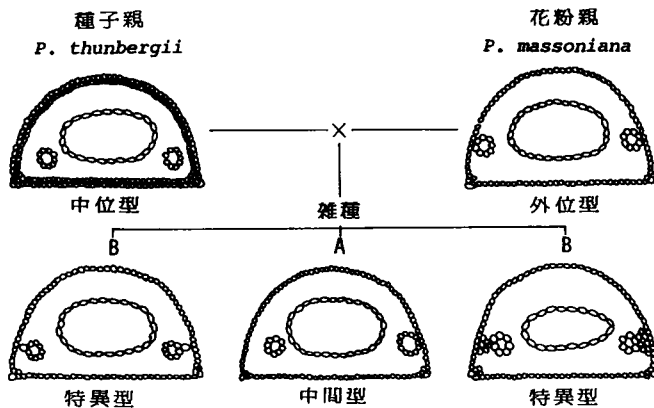


図-2 両親と雑種に現われる主樹脂道の位置とパターン

また、雑種では図-2のBに示すような特異な発現がみられる。

本調査では、若齢の苗木を対象とした関係から副樹脂道がほとんど発現していないため、主樹脂道の発現位置についてのみ検討したものである。F₁雑種では、先に指摘したように主樹脂道はクロマツ型、すなわち、中位型が優勢に表現されていることから外位型は劣勢であると考えられる。ここで、対立遺伝子を中位型 AA, 外位型 aa とし、これらがメンデル則に従っているならば、F₂雑種では AA+2Aa+aa に分離するものと考えられる。接種実験以外に調べたものも含めた47個体で観察した分離比は、 χ^2 検定の結果ほぼ理論値を満足させている。したがって、主樹脂道はメンデル則にのっとった主働遺伝子であることを裏付ける結果となった。ただし、本実験では個体数が少ないためさらに多くの個体やサンプルについての検討が必要である。

2. 主樹脂道の発現位置と被害の関係

樹脂道の発現位置は前項で述べたように外位、中位とその中間の型がみられる。ここではF₂雑種の各個体について外位率を求め、図上ではその比率から個体を位置付け、マツ材線虫病に対する被害度を健全 (○)、部分枯死 (⊕) と全枯死 (●) に分け、これら2つの因子間の関係を図-3にまとめた。

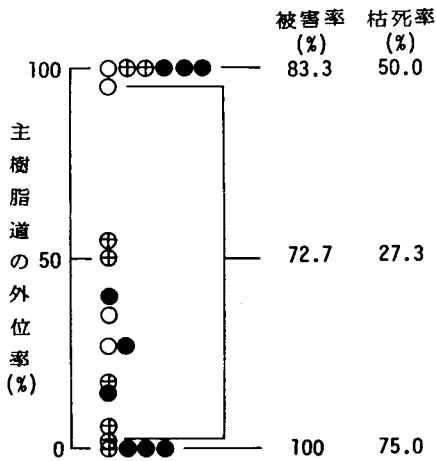


図-3 自殖によるF₂雑種の個体に現われる主樹脂道の発現位置とマツノザイセンチュウ接種による被害率との関係 (●:全枯死, ⊕:部分枯死, ○:健全)

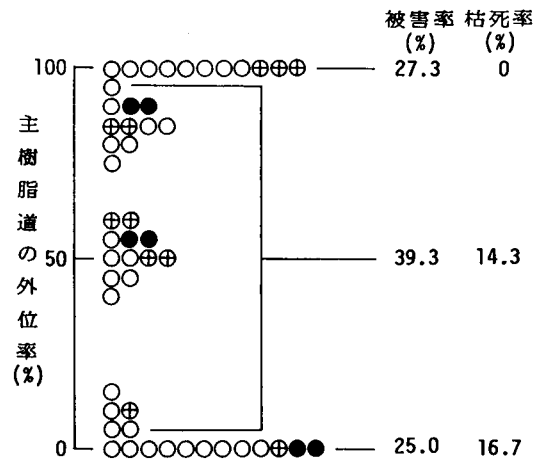


図-4 自然受粉によるF₂雑種の個体に現われる主樹脂道の発現位置とマツノザイセンチュウ接種による被害率との関係 (記号は図-3を参照)

図-3にみられるように、自殖によるF₂雑種では外位率0%が4個体、100%が6個体であり、その中間の11個体は0.25~95%までの範囲にあった。マツノザイセンチュウの接種による被害はタイワンアカマツ型(外位型)6個体中3個体が全枯死、2個体が部分枯死、1個体が健全であった。クロマツ型(中位型)では4個体中3個体が全枯死、1個体は部分枯死であり、健全個体は皆無であった。一方、中間型では11個体中3個体が全枯死、5個体が部分枯死、3個体が健全であった。全枯死と部分枯死を合わせた被害率で見ると、クロマツ型(外位率0%)では100%、タイワンアカマツ型(外位率100%)では83.3%、その中間型(外位率5~95%)では72.7%となり、さらに、両端に近い個体をクロマツ型(外位率0~5%)、とタイワンアカマツ型(外位

率95~100%)に含めると、被害率はそれぞれ100%, 71.4%で、中間型は75.0%となる。この3つの型間におけるF検定の結果は有意な差はみられなかった。

図-4は自然受粉によるF₂雑種について同様の検討を行った結果を示したものである。これによると樹脂道の位置関係は、タイワンアカマツ型11個体、クロマツ型12個体、中間型28個体に分けられ、一方、マツノザイセンチュウ接種に対する症状に関しては、全枯死個体はクロマツ型で2個体、中間型で4個体であり、タイワンアカマツ型では枯死個体は見られなかった。しかし、部分枯死を合わせた被害率でみると、クロマツ型で25%、中間型で39.3%、タイワンアカマツ型では27.3%であり、この場合にも樹脂道の位置関係で分けた三者間には有意な差は認められなかった。

おわりに

マツ材線虫病に対する抵抗性育種を進める場合、その抵抗性を判定する指標を明らかにする必要がある。そこで、本研究では遺伝的に安定した形質である主樹脂道の発現位置の違いが、この指標として有効であるか否かについて検討した。しかし、ここで得られた結果からは主樹脂道の発現位置とマツ材線虫病に対する抵抗性との間に積極的な関連性は見出せなかった。したがって、抵抗性と関連した生理的な指標の検索が急がれ、それらの違いが抵抗性を異にする種間あるいは個体間ではっきりとした位置付けがなされるならば抵抗性育種にも新しい展開が期待されるであろう。ただし、マツが生理的形質の判定に時間を要する永年作物であることは抵抗性育種を進める上で大きな障害となるであろうし、同時にこれが世代時間が短く適応速度の速い病原体(マツノザイセンチュウ)との競争であることも十分考慮することが必要であろう。

引用文献

- 1) 二井一禎: 松を枯らす小さな生物・線虫. *Nature Study* 20. 101~104, 1974
- 2) 二井一禎・古野東洲: マツノザイセンチュウに対するマツ属の抵抗性. *京大演報* 51. 23~36, 1979
- 3) 古野東洲: 外国産マツ属の虫害に関する研究 第7報 マツノザイセンチュウにより枯死したマツ属について. *京大演報* 54. 16~30, 1982
- 4) 大山浪雄: マツの材線虫病抵抗性育種の現状と成果. *山林* 1143. 36~41, 1979
- 5) 石井克明・栗延 晋・古越隆信: クロマツ×タイワンアカマツF₁, F₂およびB₁等のマツノザイセンチュウ抵抗性. 94回日林論. 245~247, 1983
- 6) 佐々木研・田島正啓・河村嘉一郎・岡田 滋・古越隆信・津田知明・小林慎一・片山重俊: クロマツ×タイワンアカマツのF₁雑種の交雑(Ⅱ)—マツノザイセンチュウに対する抵抗性—. 94回日林論. 249~250, 1983
- 7) 古野東洲・二井一禎・中井 勇: クロマツとタイワンアカマツの雑種F₂, マンシュウクロマツ, カーシャマツとの雑種F₁および *P. yunnanensis* のマツノザイセンチュウに対する抵抗性. *日林関西支講* 35. 154~157, 1984
- 8) 古野東洲・中井 勇: 外国産マツ属の虫害に関する研究 第9報 マツモグリカイガラムシの寄生による樹体湾曲. *京大演報* 60. 18~32, 1988
- 9) 古野東洲・曾根晃一: 外国産マツ属の虫害に関する研究 第5報 マツバナタマバエの加害について. *京大演報* 50. 12~23, 1978
- 10) 中井 勇・古野東洲: クロマツ×タイワンアカマツF₁雑種の成育について. *日林関西支講* 38. 89~92, 1987

- 11) 中井 勇・吉村健次郎・吉田義和・落合幹男・野村安子：徳山試験地におけるクロマツ×タイワンアカマツF₁雑種の形質と成育状況. 京大演報 53. 65~75, 1981
- 12) TAMURA, H., and DROPKIN, V. : Resistance of pine trees to Pine wilt caused by the nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. 日林誌 66. 306~312, 1984
- 13) 岸 洋一：マツ材線虫病—松くい虫—精説. トーマス・カンパニー 292pp., 東京 1988
- 14) 中井 勇：クロマツ・アカマツの近縁種について. 日林誌 69. 252~257, 1987
- 15) 岡田 滋・津田知明：アカマツ, クロマツ (マツノザイセンチュウ抵抗性候補木) およびクロマツ×タイワンアカマツ半兄弟家系のマツノザイセンチュウ抵抗性人工接種検定. 日林関西支講 37. 46~48, 1986
- 16) 柴田 勝：アカマツ, クロマツおよびその種内交雑種に関する遺伝育種学的研究. 王子製紙株式会社 林木育種研究所 研究報告 4. 1~92, 1977