総　説 (REVIEW)

マツ枯損防止のための新戦略構築*

黒　田　宏　之**

New Control Strategies for Pine Wilt Diseases

Hiroyuki KURODA

(平成11年9月受理)

松枯れの問題を改めて取り上げた理由は3つある。一番目の理由は，樹木の代謝制御という視点から，松枯れの防除は遺伝子レベルの興味深いユニークな研究対象となること。二番目の理由としては，従来の殺虫剤による松枯れ防除は，近年の環境問題等から一部見直しを迫られ，新たな対応が求められていること。三番目の理由は，現在も松枯れは国境を越えて被害が拡大しつつあり，東アジア地域では深刻な問題となっているからである。

松枯れの解説は，解説や総説[1~4]，単行本[5~8]，インターネット上[9]などにさまざまな観点からまとめられている。ここでは，松枯れの問題点を整理するとともに，近い将来のマツ枯損防止の戦略として材線虫抵抗性を賦与できる遺伝子について考察した。なお，この総説は，表題と同じ課題のプロジェクト報告書[10]の一部をたたき台にして，全面的に書き直したものである。

1．なぜ今，松枯れなのか？　―その社会的背景―

いまさら松枯れを取り上げるのは陳腐ではないかと自問してみた。そこで，松枯れを防除し，松林を維持することの必然性について考えてみた。以下に，日本のマツが我々の生活から遠のいている現状，松枯れ防除にともなう殺虫剤散布のジレンマ，世界のマツをみまわしたときの松枯れ拡大の潜在的な危険性といった観点から考えてみたい。

1.1　松林は消えていった？

戦後，日本経済はめざましく発展し，産業構造と生活様式が著しく変化した。都市への人口集中化が進み，山村・里山は過疎化した。薪炭材を燃料として使う習慣がすたれ，アカマツ山は放置された。大規模な土地開発と松枯れによって，各地のマツ林は消滅した。マツ林は国内造林面積の約1割を占めてきたが，松枯れが猛威をふるった時期は，不幸にして造林事業の縮小という政策転換時期と一致した(図1)。したがって，わが国のマツ林は1970年代以降急速に減少したと考えられ，日本の松は人々の生活から次第にかけ離れた存在になりつつある。しかし，家具やログウッド等を輸入パイン材にたよっている現状は，マツが依然重要な木材資源であることを物語っている。

マツノザイセンチュウ(*Bursaphelenchus xylophilus*；以下，材線虫と略す)に由来すると考えられる大規

* 第54回木質科学研究所公開講演会(平成11年5月28日)において，「マツ枯損防止のための新戦略構築―科研費プロジェクトをめぐって―」と題して講演

** 遺伝子発現分野 (Laboratory of Gene Expression)

Keyword: pine wilt disease, secondary metabolites, nematode resistance stilbenoid, stilbene synthase gene

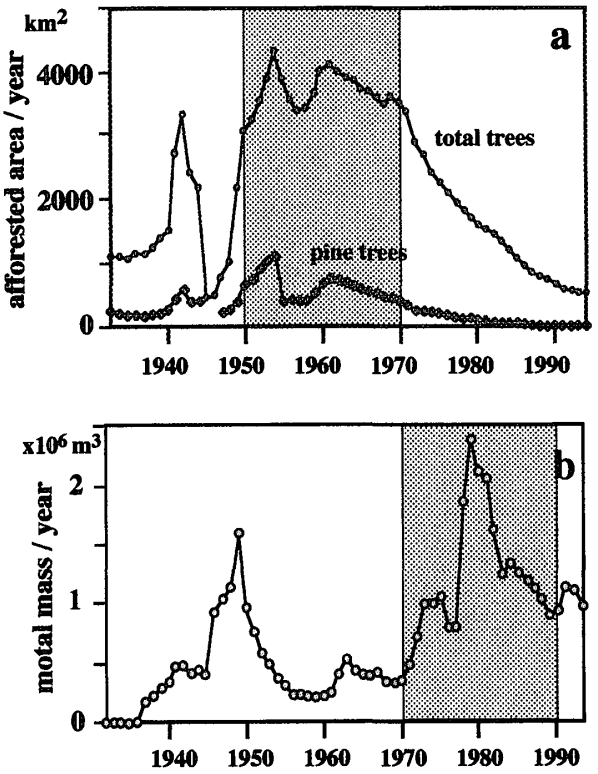

図 1　わが国におけるマツ枯れの推移[7,12]。a：年度当たりの造林面積，
b：年度当たりの枯損材積

模な松枯れ（以下，材線虫病と呼ぶ）は明治時代にすでに記述があり，長崎県佐世保や兵庫県赤穂の港湾近辺から被害が広がったと考えられている[1,7]。第二次大戦中はマツ林の管理が手薄となり被害が拡大した（図 1b）。戦後，連合国総司令部（GHQ）の主導で松枯れ対策として BHC などが大量散布され，人と組織を動員して枯損木が焼却された。1950年台には一旦松枯れ被害は下火になるが，1960年代になると被害は再び拡大し始めた。松枯れは，1970年代前半には九州北部の海岸線のクロマツ砂防林に壊滅的な被害をもたらした。被害は徐々に日本列島を東進し，1970年代後半には中国地方のマツタケ山が被害を受け壊滅状態のアカマツ林が多く存在した[7]。大面積の松林が 1 ～ 2 年で消滅する激害は，1980年前後をピークに減少傾向にある。しかし，現在の被害量は1970年代前半よりも依然大きく[12]（図 1b），マツ枯れの防除体制が解ける状態ではない。

国や自治体は，公園・名勝地の松林や，防風林としての海岸線のクロマツ林などを維持・管理しなければならない。民間では，マツタケ山のアカマツ林，ゴルフ場のマツ林などを維持する必然性がある。防除努力はなされたが，一時期はマツ枯れの勢いが勝り，放置された松枯れ跡地が西日本各地に見られた。これらの跡地にはヒノキなどが植林されたが，放置した結果コナラなどの二次林が育つ例もある[13]。しかし，禿げ山のまま放置されている松枯れ激害地の多くは，乾燥した貧栄養地である。このようなマツ林は生態学的に極相で，他の樹木が生育しにくい環境にある。この極相地では次世代のマツ林が育っても，再び松枯れが繰り返されやすい。古い枯れ木はシロアリの巣窟となり，家屋への二次被害も一部では問題化している。海岸に生育可能なマツは松枯れがなければ景観を兼ね備えた優秀な砂防林となる。また，マツ以外の樹木が生育しにくい禿げ山等では，緑を回復させるためにマツの植林は有効である。現状ではマツを植林しても投資に見合う経済効果は得にくい上に，材線虫による松枯れを心配しなければならない。したがってマツの植林は敬遠されることになる。適切な松枯れ防止戦略がこの

ような問題解決の鍵となっていることは明白である。

1.2　新たな松枯れ防除対策が求められている？　農薬散布のジレンマ

材線虫を運搬して材線虫病をばらまく原因はマツノマダラカミキリ *(Monochamus alternatus)* である。このカミキリを防除するために多くの殺虫剤が使用されてきた。BHC，DDT，ディルドリン，有機水銀剤等の殺虫効果は絶大なもので，戦後の農薬使用量は激増した。しかし，これら農薬による食物および環境の汚染は，深刻な社会問題として認識されはじめ[14]，わが国では1971年以降「農薬取締法」の改正等により BHC と DDT の販売は禁止された。このため代替の松枯れ対策用農薬として毒性および残留性の低い MEP（有機リン系殺虫剤）や NAC（カルバメート系殺虫剤）などの使用が検討された。これらをふまえて，松枯れ防除のための特別措置法が1977年に発効され，これら殺虫剤によるカミキリ駆除を主体とした松枯れ防除が進められることになった[5]。

殺虫剤散布によって材線虫の媒介者であるマツノマダラカミキリの発生を制御できれば，材線虫の伝搬を防ぎ松枯れを防ぐことができる。この点で殺虫剤散布は即効性があり，有効な松枯れ防除手段となる。枯れたマツを切り倒して薬剤処理でカミキリの幼虫を殺すことも重要な防除手段と位置づけられている。枯損木を春先までに伐倒して玉切りにした後，殺虫剤散布や燻蒸処理が行われる。しかし，立ち枯れたマツの処理には多大な労力を必要とするため，マツ山全体のように広い範囲でマツ林が枯れたり，険しい立地，私有林では実行しにくい方法である。現状では立ち枯れのまま放置されたマツを多く見ることができる。新たに枯れたマツには材線虫とカミキリの幼虫が生息するために材線虫病の病巣が温存されることになる。殺虫剤を多量にばらまかないという観点からは立ち枯れのまま放置することは悪くないが，材線虫病の病巣は放置されたままとなる。このことが殺虫剤散布にもかかわらず松枯れがくすぶり続けている原因の一つとなっている。

松枯れ防除のための特別措置法は時限付きで5年毎に3回延長され，1996年まで20年間続いた。この法律は1997年3月に廃止され，実質的な内容が森林病害虫等防除法に取り込まれ恒久法となった。法律と国庫補助金に支えられて MEP 剤および NAC 剤等による防除努力は約20年間続いた。戦後，松林の維持につぎ込まれてきた労力と費用は決して小さいものではないし，それぞれの時代で適当だと判断された松枯れ防止政策が実施されてきたものと想像できる。しかし，法律によって可能となったこれら殺虫剤の空中散布は，神経毒性や環境ホルモンとの関連性を問題視する日弁連，自然保護団体，マスコミほかの強い批判を浴びることとなった[9]。時代は移り環境問題が改めて厳しく問い直されている今[15]，新しい松枯れ防除技術が模索されている。

1.3　材線虫病は国境を越えて拡大している？

現存のマツ属は種分化の進んだグループで約100種弱存在し，3亜属 *(Ducampopinus, Strobus, Pinus)* からなる[16]。広葉の *Ducampopinus* 亜属はベトナムに1種が存在するが，他の2亜属は広く北半球に分布している。わが国で広く用いられている二葉松類，五葉松類の区分けは，この亜属の中の，それぞれ *Pinus* と *Strobus* 亜属に相当する。大半はユーラシア大陸と新大陸（北米大陸～中米）に分布し，アフリカ，オーストラリアおよび南米大陸には天然分布は認められない。もっとも，ユーラシア大陸および新大陸の周辺諸島，北アフリカ地中海側の一部に分布するものや，ラジアータマツのように南半球に導入されて人工林として定着した例もある。

マツの材線虫病に対する抵抗性は，種によって異なるが[17,18]，系統分類群とは一致しない（表1）。マツの種は，属，亜属，節，亜節の順に階層的に細かく分類され，亜節は，種群をまとめる最も血縁の濃い種グループである[19]。テーダマツをはじめとする *Australes* 亜節が材線虫抵抗性を示す一方で，*Sylvestres* 亜節のように抵抗性が強い種と弱い種が混在する分類群もある。さらに，抵抗性の強い種は，もっと上位の分類群である *Strobus* と *Pinus* 亜属の両分類群にまたがって存在する。したがって材線虫

表1　材線虫病に対するマツの抵抗性

北米大陸	在来種：約30種	亜属	亜節*1	分布*1	MWI*2	抵抗性*3
Western white pine	*Pinus monticola*	*Strobus*	*Strobi*	北米北西部	46.4	C
Ponderosa pine	*Pinus ponderosa*	*Pinus*	*Ponderodae*	ロッキー～中央	60.6	C
ラジアータマツ	*Pinus radiata*	*Pinus*	*Oocarpae*	カリフォルニア	92.3	C
ストローブマツ	*Pinus strobus*	*Strobus*	*Strobi*	五大湖周辺～東部	62.2	B
Lodgepole pine	*Pinus contorta*	*Pinus*	*Contortae*	カナダ東部	29.9	B
Jack pine	*Pinus banksiana*	*Pinus*	*Contortae*	カナダ東部	37.9	B
Red pine	*Pinus resinosa*	*Pinus*	*Sylvestres*	五大湖周辺	55.1	B
Pitch pine	*Pinus rigida*	*Pinus*	*Australes*	東部	89.7	A
テーダマツ	*Pinus taeda*	*Pinus*	*Australes*	南東部	146.9	A
longleaf pine	*Pinus palustris*	*Pinus*	*Australes*	南東部	156.4	A
スラッシュマツ	*Pinus elliottii*	*Pinus*	*Australes*	フロリダ	165.3	A
メキシコ～中米	在来種：約20種	亜属	亜節*1	分布*1	MWI*2	抵抗性*3
	Pinus rudis	*Pinus*	*Ponderodae*	メキシコ	—	C
Apache pine	*Pinus engelmannii*	*Pinus*	*Ponderodae*	米南部～メキシコ	120.7	C
	Pinus michoacana	*Pinus*	*Ponderodae*	メキシコ	133.7	C
	Pinus pseudostrobus	*Pinus*	*Ponderodae*	メキシコ	123.7	C
Mexican white pine	*Pinus strobiformis*	*Strobus*	*Strobi*	ニューメキシコメ～キシコ	91.6	C
Chihuahua pine	*Pinus leiophylla*	*Pinus*	*Leiophyllae*	メキシコ	105.5	D
Bishop	*Pinus muricata*	*Pinus*	*Oocarpae*	米加洲～メキシコ	83.1	D
	Pinus greggii	*Pinus*	*Oocarpae*	メキシコ	113.7	C
	Pinus oocarpa	*Pinus*	*Oocarpae*	メキシコ～中米	121.1	C
東～南アジア	在来種：約25種	亜属	亜節*1	分布*1	MWI*2	抵抗性*3
チョウセンゴヨウ	*Pinus koraiensis*	*Strobus*	*Cembrae*	中国東北部北朝鮮・日本	42.8	D
ゴヨウマツ	*Pinus pentaphylla*	*Strobus*	*Strobi*	日本	64.4	C
白皮松	*Pinus bungeana*	*Strobus*	*Gerardianae*	中国西北内陸部	81.0	C
Bhudan pine	*Pinus excelsa*	*Strobus*	*Strobi*	ヒマラヤ南山麓	71.0	B
アカマツ	*Pinus densiflora*	*Pinus*	*Sylvestres*	朝鮮半島～日本	86.4	C
クロマツ	*Pinus thunbergii*	*Pinus*	*Sylvestres*	韓国沿岸～日本沿岸	100.9	D
カシアマツ	*Pinus khasya*	*Pines*	*Sylvestres*	東ヒマラヤ～フィリピン	—	D
雲南松	*Pines yunnanensis*	*Pinus*	*Sylvestres*	中国雲南	101.8	C
琉球松	*Pinus luchuensis*	*Pinus*	*Sylvestres*	琉球列島	188.1	D
馬尾松	*Pinus tabulaeformis*	*Pinus*	*Sylvestres*	中国中西部～中東部	66.8	B
タイワンアカマツ	*Pinus massoniana*	*Pinus*	*Sylvestres*	中国南東部，台湾	113.9	B
タイワンマツ	*Pinus taiwanensis*	*Pinus*	*Sylvestres*	台湾	104.7	A
欧州～シベリア	在来種：約10種	亜属	亜節*1	分布*1	MWI*2	抵抗性*3
オウシュウアカマツ	*Pinus sylvestris*	*Pinus*	*Sylvestres*	欧州～シベリア	33.8	C
Dwarf mountain pine	*Pinus mugo*	*Pinus*	*Sylvestres*	欧州中央，南西部	44.2	D
オウシュウクロマツ	*Pinus nigra*	*Pinus*	*Sylvestres*	地中海	81.2	D
Cluster pine	*Pinus pinaster*	*Pinus*	*Sylvestres*	モロッコ，西イタリア	111.9	C

*1 亜節，分布[16,19]，*2 MWI：平均温量指数[19]，*3 抵抗性の強さは A＞B＞C＞D[17]

病に対するマツの感受性は樹種によって異なり，分類上のグループ化よりも，空間分布に特徴があると見ることもできる（表１）。たとえば，抵抗性があるとされる種（表中の記号A，B）は，北米大陸東岸と台湾・華南～ヒマラヤ南山麓の２地域に分布する。

松枯れの原因究明は林野庁旧林業試験場を中心に進められた。1971年には，木材中で増殖しマツを枯らす犯人としてマツノザイセンチュウが実験的に特定された[20]。続いてこの材線虫媒介者としてマツノマダラカミキリも同定された。材線虫病はアメリカ本土に風土病として分布するが，米国産マツは材線虫に対する抵抗力を持つために大きな問題とはならない。また，寒冷地では被害の進行が緩やかなものになる傾向がある。我が国のマツは，材線虫に対する抵抗力が弱く，米国から渡ってきた材線虫によって松枯れが爆発的に流行したと考えられている[1]。梱包用材，枕木，電柱，チップなどのマツ材と共に材線虫を持ったカミキリの幼虫や蛹が国外から侵入したと考えられる。国外から侵入したカミキリは，羽化して材線虫をばらまくことになる。かくして新しい環境を得た材線虫は異常に増殖し，流行病となったと考えられる。

材線虫による松枯れは，現在，世界各国で植物防疫上の重点課題となっている。たとえば，紙パルプ産業の盛んな北欧圏の諸国は，米国，カナダほか材線虫病の認められる諸国からのマツ材やチップの輸入を1980年代半ばには禁止した[21]。このため，米国などのチップ産業が打撃を受けて政治問題化した。欧州に分布するマツの材線虫抵抗性は低いと判断されるが（表１），現在，材線虫病をくい止めるための欧州のガイドライン整備が進んでいる。台湾，韓国，中国など東アジア諸国では，材線虫病が飛び火して問題となっている。中国の江（江主席の妹）林業科学研究院院長は，1998年の夏訪日した際に，中国でマツクイムシの被害が広がっていることを紹介し，日本から入ってきた病害という理由をつけて日本側に対策を求めている[22]。ラジアータマツはカリフォルニア沿岸の３箇所のみに天然分布しており，材線虫病に対する抵抗性は低い。材線虫病の蔓延する大陸でひっそりと生き延びているとも考えられる。このマツは南半球では大規模に植林されており，材線虫病流行の潜在的な危険性を考える必要があるかもしれない。

2．マツ枯損防止のための戦略

2.1　マツノザイセンチュウとマツノマダラカミキリは松枯れの真の原因か？

「1.2」で述べたように，殺虫剤によるカミキリ駆除を主体とした松枯れ防除が進められてきた[5]。景観の保全を必要とする場所では，個々のマツに対する殺虫剤散布や樹幹注入剤も使用されている。枯れ木の伐倒・消毒や焼却も行われている。樹幹注入や枯れ木の処理は労力と経費がかかり，広範囲のマツ枯れ防除には向かない。現状では，それぞれの方法の欠点を相互に補いながら松枯れ防除が進められている。これ以外にも，材線虫病に強いマツの育種や，材線虫に対する抵抗性のマツを自然界から選抜育種するプロジェクトが林野庁を中心に進められいる。また，マツノマダラカミキリのフェロモンや天敵を松枯れ防除に応用するための検証も進められている[3]。

防除努力が続けられているにもかかわらず，現実にはマツ枯れがなくならない。材線虫とカミキリの関与が実験的に証明された後も，線虫-カミキリ主犯説に対して根強い疑問の声があがり世間に混乱をまねく原因にもなっている。最近では，酸性雨が松枯れの主犯であるとする説がマスコミ等により繰り返し取り上げられた。しかし，西日本をなめ尽くした激害型松枯れの主犯は材線虫とかんばつであり，酸性雨の関与は明確でない[8]。一方，酸性雨の根拠として引用される欧州の酸性雨に関する追跡調査では，ドイツの森林衰退が酸性雨よりも干ばつ等の気象害の影響を大きく受けたと報告されている[23]。森林衰退という言葉から木が枯れることをイメージした結果，欧州では酸性雨で多くの木が枯れたと勘違いした人も多い。欧州の森林衰退では，酸性雨の被害を受けた地域は局在しており，ほかの広い地域では大規模な気象害の影響を受けて針葉が黄変し樹勢が一時的に弱まった。当時これら全てを酸性雨が

原因と疑っていた。しかし，多くの地域で木は枯れることなく，現在では樹勢を完全に回復している。

材線虫病によってマツが枯れる機構として，これまでに多くの説が提案されてきた[1~8]。それらの説の中で，材線虫の影響を受けた樹幹は通水が遮断され，マツは水不足となり，最終的に枯れるというという図式が受け入れられつつある[8]。なぜ通水遮断が起こるかについては，仮道管というパイプの水柱が蒸散による張力で切れ，これが回復できなくなるためと考えられている。なぜ水柱が切れるか，なぜ回復しないかについては，張力を局所的に弱める物質（air seed）として，材線虫によって誘導産生された揮発性テルペノイドが寄与するという説[30]が提案されている。しかし，これ以外に原因を求める立場もある[1~8]。また，次節「2.2」で取り上げるが，材線虫と共存する細菌の産生する毒素[35]が細胞の死をもたらし木は枯れると考える立場もある。二次代謝産物を研究対象とするものにとって毒素説[32~35]は興味深いが，単離された代謝産物の毒性は，多くの二次代謝産物と同様に必ずしも強いとは言えない（次節「2.2」参照）。草本と異なり個体が大きな樹木の場合には，細胞死と個体の死を特に厳密に区別する必然性も出てくる。ここではこれ以上マツ枯れの機構に深入りしないが，マツノマダラカミキリとマツノザイセンチュウはマツ枯れの立役者であることに変わりはない。両者のどちらか一方でも完全に制御できれば，材線虫病を克服できる。

空中散布による松枯れ防除効果に関しては立場によって評価が別れている。マツは依然枯れ続けているので，空中散布は無効という見方も成り立つ。空中散布が松枯れ沈静化に寄与した程度を定量的に評価することはむずかしいが，その科学的評価はおおむね散布効果を認めるものである。関係機関による説明では[3,8]，松枯れを根絶できない理由として次のような事項が挙げられる。環境問題を考慮したために散布を行わない林分のカミキリと線虫が生き残ったこと，枯損木が放置されて材線虫病の発生源となること，干ばつによる偶発的な気象害が重なったこと，カミキリの繁殖期が変動するために殺虫剤散布の時期を特定しにくいことなどである。激害型被害の減少は，マツと枯損原因であるマツノマダラカミキリや材線虫との間に，新たな生態的均衡がつくられつつある兆候と見ることもできる。しかしながら，空中散布の是非は，松枯れ防除効果とは次元の異なる問題を含んでおり，現在では空中散布の対象地域は限定されている。環境問題を考慮すると殺虫剤散布による防除が困難な場所では，それを補完する新たな松枯れ防除対策が必要となる。

2.2　マツの二次代謝産物は材線虫病制御の鍵をにぎる？

マツの二次代謝産物のいくつかは，材線虫に対するマツの抵抗力を左右すると考えられる（図2）。タイワンアカマツ *(Pinus massoniana)* の心材から単離された殺材線虫活性は，ピノシルビンモノメチルエーテル＞ピノシルビン＞(−)-nortrachelogenin，マソニアナラクトン＞フェルラ酸メチル，(+)-ピノレジノールの順に弱くなった。特に，ピノシルビンモノメチルエーテルとピノシルビンには，24時間後の LD_{50} がそれぞれ約 4 ppm，50 ppm と強い殺線虫活性が認められた。マツの抗菌性物質の1つと考えられるピノセンブリン[24,25]は，心材中に比較的多量に存在するが，報告された殺線虫スクリーニングにはかかってこなかった[26]。一方，マツ辺材水蒸気蒸留物から検出されるチモール，カルバクロール，フェノールには，シイタケ菌の生育阻害作用がある[27]。スチルベノイドやピノセンブリンに比べると材内の含有量はかなり低いが，このような化合物にもある程度の殺材線虫活性が期待できる。

マツのテルペノイドにも生理活性が認められる（図2）。β-ミルセンには，材線虫の誘因，増殖促進作用や耐久型幼虫の脱皮促進作用が認められる。その含有量の低い樹種ほど材線虫病にかかりにくいという説も提案されている[28]。一方，マツの丸太から揮散するテルペノイド（α-ピネン，カンフェン，β-ピネン，β-ミルセン，リモネン，β-フェランドレンの混合物）がマツノマダラカミキリの成虫を誘引する[29]。現在商品化されているカミキリの誘引剤は，その発生予知などに利用できる。材線虫感染によって樹幹内の二次木部ではモノテルペン等の揮発性炭化水素レベルが増加し始める。このような疎

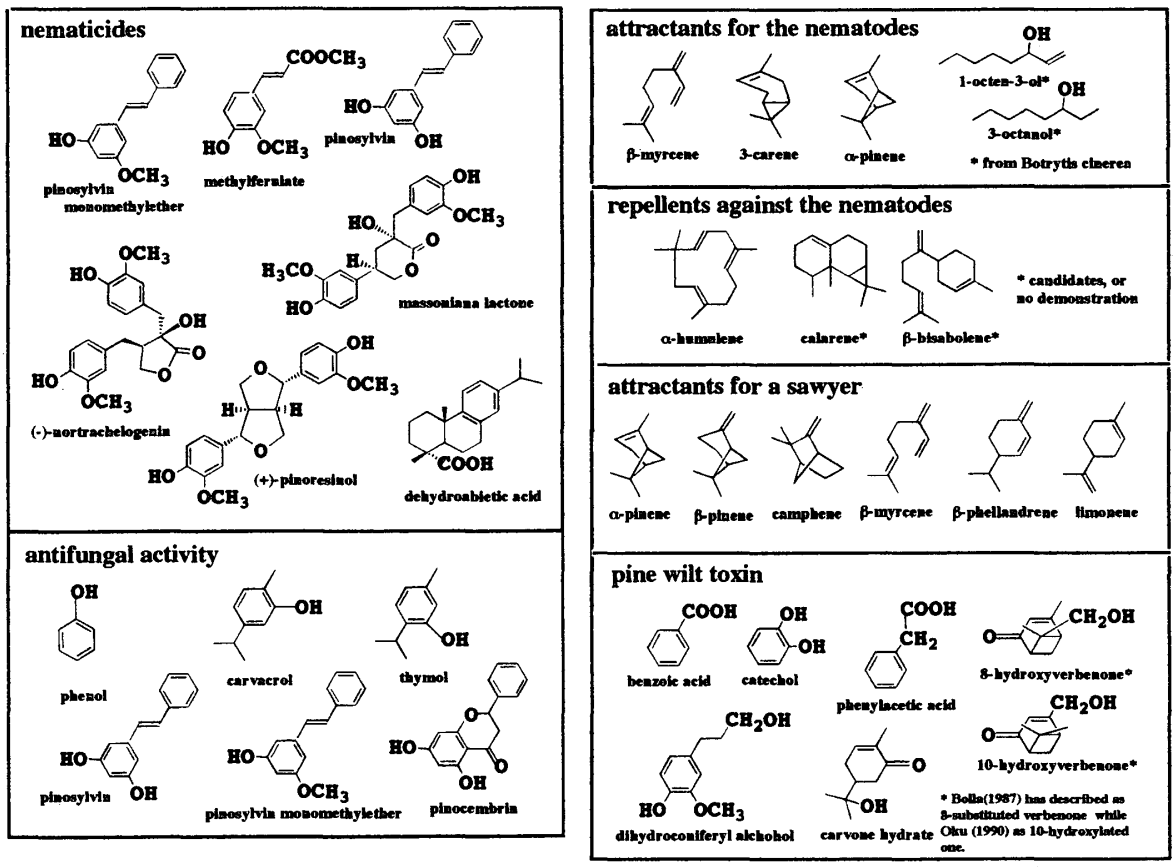

図２　生理活性を持つマツの二次代謝産物の例

水性揮発物質の産生は，樹幹の蒸散流を止めマツを死に至らしめる[30]。また，デヒドロアビエチン酸には殺線虫活性（24時間以内に100％のザイセンチュウが死ぬ最低濃度＜200 ppm）が報告されている[31]。

材線虫病に感染したマツからは，萎凋毒素と言われる二次代謝物質（図２）がいくつか単離されている[32~35]。いずれの化合物もマツの細胞に対する毒性を持ち，比較的多量に投与するとマツは枯死する。これらの化合物は，マツと線虫には検出されず，感染したマツにのみ検出できる。毒性の強さは安息香酸＞8-ヒドロキシカルボタンアセトン，カテコール＞ジヒドロコニフェリルアルコールの順である。3年生苗木を用いた実験では，100 ppm の安息香酸水溶液で針葉に影響が出ると言われる。これ以外にマツに関連する毒素としてはフェニル酢酸とピノシルビン誘導体があげられる。材線虫はある種の *Bacillus* 菌を抱えている。フェニル酢酸はこのような細菌により産生され，マツにより安息香酸に変換されると考えられている。毒性は 1/4 量の投与量で安息香酸と同等の効果を持つ[35]。一方，欧州アカマツ *(Pinus sylvestris)* では，森林病害菌（担子菌 *Heterobasidion annosum*）の感染で産生されるピノシルビンが，芽生えの中で約0.1％絶乾重に達すると萎凋原因になると報告されている[36]。

ここではマツの二次代謝産物を羅列した。これら代謝産物はマツ枯れ防除にどのように応用できるのだろうか? まず，材線虫に対して毒性をもつスチルベノイドなどは，その材内含有量を制御することによって線虫を殺すことに役立てることができるかもしれない。モノテルペンが蒸散流を止めるたり，カミキリの誘引や材線虫の増殖に関与するならば，マツのモノテルペン代謝の調節に着目することも必要になる。仮に，バクテリア由来の萎凋毒素が材線虫病に関与するならば，バクテリアに対してある程度の成長阻害効果をもつ二次代謝産物の生成制御が意味をもつ。さらに，マツ枯れ時に観察される通水阻

害と生理変化の関係を二次代謝という切り口で追跡することによって，新しい展開が得られるかもしれない。

2.3 マツは外敵に対してどう応答するか？

材線虫の単離株にはマツを枯らす力の強いもの（強毒性）と弱いもの（弱毒性）が存在する。クロマツに弱毒性の材線虫を接種するか，低密度の強毒性線虫を接種すると，マツ枯れに対する抵抗性が誘導される[39]。しかし，弱毒性材線虫は，接種後マツを枯らすこともあり，毒性の強さを制御することがむずかしい。材線虫の毒性は共存するバクテリアに由来すると推察されている[35]。一方，マツはある種のバクテリア，カビに対しても類似の誘導抵抗性を示す。これらの微生物はクロマツよりもアカマツに強いマツ枯れ抵抗性を誘導すると言われる[39]。

樹種により材線虫に対する応答の違いもある。抵抗性樹種であるテーダマツのような樹種では接種したザイセンチュウは増殖しない。一方，材線虫抵抗性の比較的高いストローブマツ *(Pinus strobus)* では，感染部位の枝だけが枯れ，材線虫の分布が樹幹にまで及ぶことはない。材線虫の接種によって枝の基部にピノシルビンは0.04～0.08％絶乾重，ピノシルビンモノメチルエーテルは0.2～0.3％絶乾重と高濃度の蓄積が見られる[38]。材線虫の接種枝が枯れることによって抵抗性を示していることを説明できる点で興味深い。一方，感受性のクロマツではこのような蓄積はみられない[38]。

材線虫に対して毒性を持つと考えられるピノシルビン誘導体は，マツ属心材に普遍的に存在する。また，マツの辺材を傷をつけると傷害心材が形成される。しかし，アカマツ *(Pinus densiflora)* では，このような傷害心材のピノシルビンおよびピノシルビンモノメチルエーテル含有量は0.01および0.02％絶乾重で，その正常心材の0.12および0.14％絶乾重に比べてかなり低い[40]。一方，欧州アカマツ *(Pinus sylvestris)* の芽生えにおいては，森林病害菌（担子菌 *Heterobasidion annosum*）に感染した根で産生されるピノシルビンおよびピノシルビンモノメチルエーテル含有量はそれぞれ最大で約0.02および0.09％絶乾重であった。この針葉部分ではピノシルビンおよびピノシルビンモノメチルエーテル含有量は最大で約0.05および0.122％絶乾重で，根と比較してやや高い傾向にあった[36]。

材線虫とは直接関係しないが，松の病害として興味深い報告がある。ニュージーランドとタスマニアにおいては，過去にラジアータマツが欧州キバチ *(Sirex noctilio)* の被害を受けた。キバチの産卵傷害が激しいと産卵孔の周辺からキャビテーションが広がり，感受性の個体は枯れてしまう。産卵管にはカビ（*Amylosterium* sp.）が生息している。キバチの産卵孔周辺では，フラボノイドは検出されず，ピノシルビン含有量が高まる。この節材には，ピノシルビン，ピノシルビンモノエチルエーテル，ピノバンクシン，ピノセンブリンがそれぞれ0.16～0.10％絶乾重含まれる。これらの含有量は心材，産卵で傷害を受けた材のそれよりも高い[41]。

スチルベノイドの含有量を人為的に制御するための予備知識として，細かい数値をここでは記述した。日本産のマツのスチルベノイド含有量を，木を枯らすことなく心材レベルまで人為的に引き上げることはそれほど容易ではないことがご理解いただけたであろうか？　スチルベン合成酵素遺伝子はスチルベノイドの生成の最初の段階に関与する。この遺伝子はマツの中に多重遺伝子族として多種類存在する[37,57]。芽生えなど若い組織では刺激特異的に発現できるスチルベン合成酵素遺伝子は一部の種類に限られるのに対して，心材化時には多くの種類が発現すると考えられている[37]。また，日本産マツでは，材線虫の感染による刺激ではスチルベノイド生成は起こらない[38]。これらを克服して人為的にスチルベノイドを生成するための戦略については次の「3.」で改めて論じる。

3．マツ枯損防止のための新戦略は構築できるか？

マツ枯損の問題点や材線虫抵抗性に関する報告に関して，私的なコメントを交えながら概観してき

た。これまでの防除努力は決して無駄であったとは思わないが，さらなる枯損防止努力がマツを枯らさないために必要であるように感じる。ここでは新しい切り口として，植物に病原抵抗性を誘導する薬剤の散布と，抵抗性品種を遺伝子導入によってつくるという観点から考察してみたい。

3.1　抵抗性を誘導する？

近年，植物病原菌と植物のシグナル伝達に関する情報は飛躍的に増加し，病原抵抗性遺伝子が明らかになってきた[42]。病原菌に感染したタバコでは，サリチル酸/過酸化水素レベルが上昇し，そのシグナルが PR（pathogen related）蛋白質を誘導生成し，病原抵抗性を高める[43]。サリチル酸以外に病原抵抗性に関係するシグナル物質としては，ジャスモン酸やエチレンが知られている[42]。動植物のシグナル伝達系には共通点が多い。たとえば，細胞膜上の受容体，蛋白質のリン酸化酵素，植物の二次代謝活性化に寄与する活性酸素種[42,43]や一酸化窒素（NO）[44]，NPR1[45] などは，動物のシグナル伝達系でもよく知られている（NPR1 は，哺乳動物では転写因子阻害蛋白質 I kappa B に相当）。したがって，植物病原菌に対する抵抗性を誘導できるシグナル物質の実用化にあたっては，動物に対する影響を十分検討する必要があろう。

合成薬剤のイソニコチン酸，ベンゾジチアジアゾール誘導体などは，サリチル酸と作用機作が類似しており植物に誘導抵抗性を賦与する[46]。高濃度のサリチル酸はマツの芽生えでスチルベン合成酵素遺伝子の発現を誘導することがわかっていたので[47]，マツに対する誘導抵抗性合成薬剤処理の効果を3年生苗木を用いて試験した[10,48]。まず，これら誘導抵抗性薬剤が，遺伝子発現を通じてスチルベノイドを誘導生成するか否を調べた。スチルベノイドが検出されないアカマツ苗木に，誘導抵抗性薬剤を吸収させたが，若いシュートではスチルベノイドの誘導生成はほとんどなかった。しかし，枝の付け根では正常心材に匹敵するスチルベノイドの誘導生成を認めた。スチルベノイドの誘導生成は，ベンゾジチアジアゾール誘導体処理で顕著で，サリチル酸処理では明瞭でなかった。このことはベンゾジチアジアゾール誘導体が，サリチル酸とは異なるシグナルでスチルベノイドを誘導生成している可能性を示唆している。

すでに触れたようにピノシルビン誘導体は材線虫に対して毒性を持っている[26]。スチルベン合成酵素遺伝子を導入することによってスチルベノイドを過剰産生させた形質転換タバコが，カビ（*Botrytis* sp.）に対して抵抗性を示すことも報告されている[49]。しかし，一方で，ピノシルビンレベルの高くなった欧州アカマツではマツに対して毒性が認められる[36]。いくつかの二次代謝産物は感染による過敏感反応の結果生成し，細胞を殺すことによって病原の拡散防止に役立つと考えられている。ピノシルビン生合成系を活性化することでマツが枯れてしまってはなにもならない。上述の誘導抵抗性薬剤を吸収させた実験では，イソニコチン酸処理で針葉が黄変したが，ベンゾジチアジアゾール誘導体処理では薬害は認められなかった[10,48]。

苗木を用いた予備試験的な材線虫接種調査では[10,48]，薬剤処理をしない苗木は全て枯死した（図3B）。これに対して，ベンゾジチアジアゾール誘導体処理した苗木では枯れる個体，枯れが遅れる個体，生き残る個体が混在した。また，生き残った個体では予測したように枝だけが枯れる現象も観察された（図3C）。マツは他家受粉により種子をつくり，栽培植物ほど遺伝的に均質ではないので，誘導抵抗性薬剤に対する応答に差が出たものと思われる。したがって誘導抵抗性薬剤は散布しても劇的な効果が出ない可能性も予測しなければならない。

誘導抵抗性薬剤の効果を試験する前は，単純にピノシルビン生合成に関与する遺伝子を薬剤処理によって活性化すればマツに抵抗性を賦与することができると考えていた。しかし，著者らの得た結果を総合すると，誘導抵抗性薬剤処理したマツでは，マツの若い枝先から入った線虫は枝を枯らす。しかし材線虫は枝の付け根に蓄積したスチルベノイドによって死滅し，線虫移動が阻止されると予想できる。

マツは枝の一部を切り捨てることによって材線虫病を逃れ，生き延びることができるという図式が描ける（図 3C)。誘導抵抗性薬剤とマツの相互作用には興味深い現象がいくつかみつかったが，これを実用化と結びつけるためには，さらに調査試験が必要であろう。

3.2 材線虫病抵抗性遺伝子とは？

裸子植物は被子植物とは異なる遺伝子レベルの特徴をもつので，マツの遺伝子の特徴について簡単に触れておく。裸子植物では，ゲノムサイズが大きく，被子植物に広く認められる倍数性を示さない[50]。被子植物では細胞質性遺伝子（ミトコンドリア，クロロプラスト遺伝子）が母性遺伝するのに対して，マツをはじめかなりの裸子植物種でクロロプラスト遺伝子の父性遺伝が認められている[51]。マツでは，ゲノムサイズがヒトの約10倍あり，気候や乾燥因子が遺伝子の重複を進行させたとも言われる[52]。マツは，進化の過程で遺伝子重複の度合いが進み複雑なゲノム構成をしている[53]。「1.3 材線虫病は国境を越えて拡大している？」では，材線虫病に対するマツの感受性は樹種によって異なり，分類上のグループ化よりも，空間分布に特徴があるのではないかと考察した。さらに言えば，材線虫の抵抗性が系

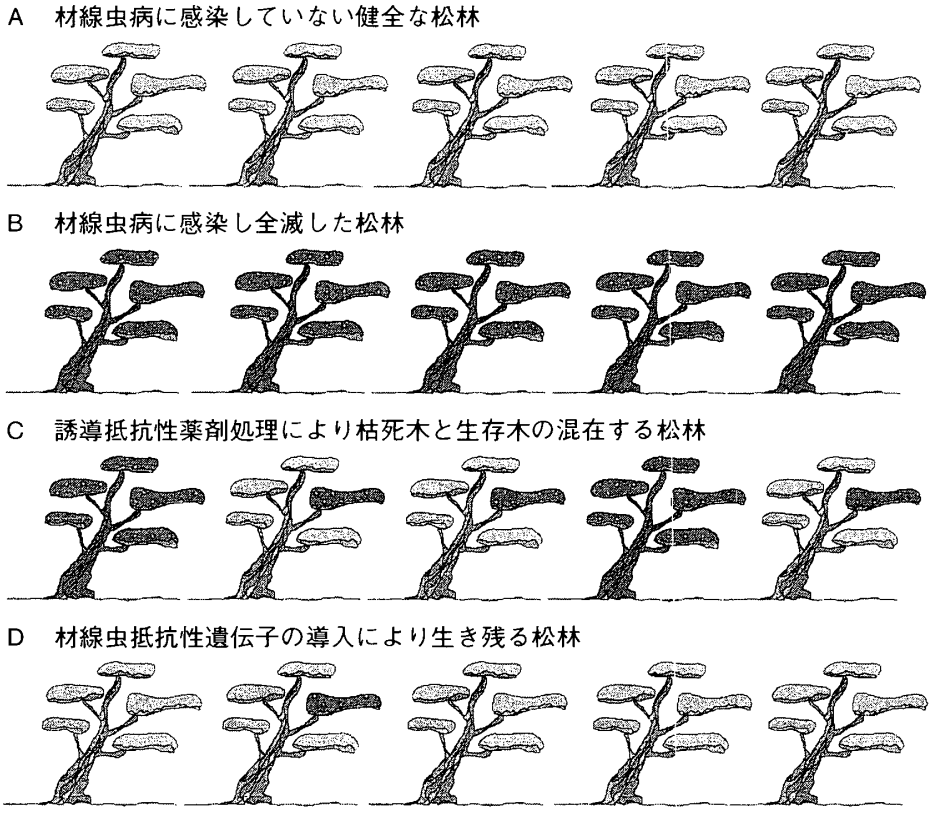

図 3　材線虫感染後に予測される松林の状態。防除策を取らなかった健全な松林（A）が，材線虫感染により全滅する場合（B）を考える。誘導抵抗性薬剤処理をすると，生存木が出てくると予測される。生存木は枝枯れにより生き残るであろう（C；本文参照)。材線虫抵抗性遺伝子をマツに導入した場合は，材線虫感染に対する生存率の飛躍的改善が期待できる（D；本文参照)。

健全なマツ　　枝枯れしたマツ　　枯死したマツ

統とは無関係に，進化の過程でたびたび生じるものならば，遺伝子重複，遺伝子変換，遺伝子シャッフリングなどによる抵抗性獲得が想像される。これまでに，マツのアルコールデヒドロゲナーゼ[54]，レトロトランスポゾン[55]，フェニルアラニンアンモニアリアーゼ[56]，スチルベン合成酵素遺伝[37,57]などに遺伝子重複によると考えられる多重遺伝子の存在が認められている。

マツに導入すると材線虫病に対する抵抗性向上（図 3D）が期待できる遺伝子はないだろうか？　抵抗性家系の遺伝学的解析によって，テーダマツの癌腫病菌（マツにコブをつくるカビ *Cronartium quercuum*）に対する病原抵抗性遺伝子が特定され，染色体上にマッピングされている[58]。このような遺伝子や植物病理学分野で明らかにされた抵抗性遺伝子群を利用することも考えられる。しかし材線虫病に対する効果は明らかでない。一般に，抵抗性遺伝子は種特異性が高く，特定の病原菌と植物の間でのみ有効である[42]。したがって，より現実的な選択枝は，材線虫病に対する抵抗性を向上させる遺伝子として，すでに構造や殺虫・殺線虫活性の明らかにされたものを対象とすることであろう。以下に，昆虫を標的とする場合と，材線虫を標的とする場合の 2 例の遺伝子について触れたい。

1950年台には害虫等の生物防除策として *Bacillus thuringiensis* の胞子や菌体が商品化されてきた。しかし，散布しても植物中に取り込まれないことや，安定性などに問題があり，その効果は顕著でなかった。昆虫等に対すれる毒素の本体は，パラ胞子中に結晶蛋白質（Cry）として生成する Bt トキシンとよばれる ～130 kDa の蛋白質である。Cry 蛋白質は現在までに130以上の遺伝子が明らかにされている[59]。一つの Cry 蛋白質が示す殺虫活性は特異性が非常に狭く，特定の種類の害虫だけに有効である。Cry 遺伝子ファミリーは，昆虫の宿主特異性によって Lepidoptera（毛虫類）特異的，Diptera（カやハエ類）特異的，Coleoptera（甲虫類）特異的と 3 つに分類される。これ以外に，原虫，ダニ，線虫などに対して有効なものも存在するようである[60]。近年，Cry 遺伝子を組み込んだ遺伝子組換え作物が市場に出回るようになって，害虫防除効果は改善された。カミキリムシに対しての効果が顕著であれば，Cry 遺伝子は材線虫病防除の有効な選択肢となろう。そのほか，レクチンは糖鎖を認識する蛋白質であるが，この中には昆虫に対して消化不良をおこしたり毒性を示すものがいくつか知られている。種特異性が低く動物に対する影響を注意する必要がある。

「3.1 誘導抵抗性」で述べたように誘導抵抗性薬剤によって正常心材に匹敵するスチルベノイドを誘導・生成しても，マツの個体は枯れないことを示すことができた。したがって，スチルベン合成酵素遺伝子をマツに導入してスチルベノイドレベルを高め，材線虫抵抗性を高めることも可能であろう（図 3D）。スチルベン合成酵素遺伝子はスチルベノイド生成を制御する遺伝子で，殺線虫遺伝子と位置づけることができる。これまでに，アカマツ[57]，欧州アカマツ[61]，ストローブマツ[62]から遺伝子が完全なかたちで取り出された。これらの遺伝子を大腸菌で発現させると酵素活性が確認された。この酵素は約 40 kDa のモノマーが二量化して活性なかたちとなる。ゲノム上では 2 つのエクソンの間にイントロンが 1 つ挿入されている。部位特異的変異体による解析結果では，第 1 エクソン部分はマロニル CoA の結合に関与する官能基が存在し[63]，第二エクソンにはシンナモイル CoA に関係するシステイン残基を含むモチーフが存在する[64]。アミノ酸配列をコンピュータにかけると，リン酸化部位，糖鎖付加部位，ミリスチル化部位などが見出されるが，翻訳後の修飾・活性調節については報告がない。カルコン合成酵素の結晶構造が最近明らかにされており[11]，今後，蛋白質翻訳後の修飾・活性調節についての進展が期待できる。この酵素は，親に当たるフラボノイド生合成の鍵酵素であるカルコン合成酵素から派生したと考えられる[65]。これ以外にも植物由来の親戚（ポリケチド合成酵素群）として，キイチゴの芳香であるラズベリーケトン（*p*-hydroxyphenylbutan-2-one）の前駆物質 benzalacetone（*p*-hydroxyphenyl-but-3-ene-2-one）をつくる酵素[66]，ビールのホップの苦み成分（phlorisovalerophenone など）をつくる酵素[67]，抗菌作用を持つガーベラの parasobic acid 前駆物質をつくる酵素[68]などが見つかっている。現在，ポリケチド合成酵素遺伝子の周辺は，知見が急速に蓄積されつつある。木材抽出成分の構造を教

科書で眺めると，類似の酵素[69]もかなり見つかりそうである。これらの詳細については機会を改めて記述したい。

3.3 遺伝子組換えに至る道

遺伝子組換え植物という新しい技術の実用化の過程では，予期せぬ問題に遭遇しないとは言いきれない。そこで，このような遺伝子組換樹木をつくる戦略について以下に考察したい。

人体に対する化合物の反応は多様で，合成化合物だから危険で，天然化合物だから安全とは一概に言えない。しかし，マツの心材成分であるピノシルビン誘導体は，人類がマツ材を使用し始めてから何百世代以上にわたり，人の肌と接し続けている。天然に存在するレベルで材線虫を殺すのであれば人体に危害をおよぼす危険性は低いと考えられる。現に，マツに存在するピノシルビン誘導体が，これまでに人体に危害を及ぼすことは報告されていない[70]。一般論として言えば，微生物等から得られた外来遺伝子を使用するよりも，本来植物の持っている遺伝子を制御することの方が危険率は低いのではないだろうか。材線虫病に関しては，上述のスチルベノイド合成に関与する遺伝子をはじめ，通水に関連する遺伝子等がこの対象として考えられる。

遺伝子導入によって本来ない物質が花粉に蓄積し，空気中に大量に放出されると問題が起きる危険性がある[71]。花粉形成にはフラボノイドが関与すると言われている。スチルベノイド生成とフラボノイド生成は共通の基質を使うため，前者の生合成系が活発な間は後者の生成が抑制される。実際，スチルベン合成酵素遺伝子を過剰発現させた形質転換タバコでは花粉形成が抑えられた[72]。花粉形成はこれ以外の方法でも抑えることが可能で，稔性（花粉生成）を制御する遺伝子 barnase 遺伝子（RNase）などが遺伝子組換作物に使われている。

人体に問題がない場合でも，環境に対する負荷という点では問題がないであろうか？ たとえば，スチルベノイド合成遺伝子の導入は，材線虫のみならず土壌線虫などにも効果が期待できる反面，菌根菌等への影響も考えなければならない。このような点から考えると，導入遺伝子はいつも ON の状態ではなく，導入した遺伝子の発現を状況に応じて ON/OFF できることが望ましい。刺激特異性や組織特異性を持ったプロモーターの開発が必要となるだろう。また，導入遺伝子産物に対して病害虫が抵抗性を獲得する可能性についても十分な検討が必要となる[73]。他家受粉をする樹木の場合は，遺伝子組換え樹木と野生種の間で雑種ができる。これをどのように制御するかも検討の対象となるだろう。スペースの関係で省略するが，マツの形質転換効率についても未知な部分が多い[74]。このように実用化までにはいくつかの越えなければならないハードルがある。

遺伝子組換え（GM；genetically modified）食品の出現によって，植物の形質を遺伝子組換えによって制御する技術は世間の関心を引くようになった。食べるか食べないかの違いを除くと遺伝子組換え樹木に関しても類似点が多いように思われる。遺伝子組換え作物・樹木には，高生産性が期待できると同時に，特許権取得等によって世界市場をおさえることも可能である。新しい技術に対する期待は大きい一方で，遺伝子組換え商品に漠然とした不安を覚える人も多い。遺伝子組換え植物が市民権を得るための最低限の必要条件は次の２点であろう。一点目は，新技術につきまとう共通の問題といえるかもしれない。安全性の問題を客観的に（科学的に）評価・公表する，危険率を出来る限り下げる，不幸にして当初予測できなかった問題に直面した場合の対応が的確にできるなどの技術と体制づくりが不可欠である。二点目は，経済効果と倫理を両立させるコンセンサスづくりである。富や利権を特定の国家や企業だけに集中させることなく，次世紀の資源・環境・食糧・人口問題の解決に役立てることが必要である。

引 用 文 献

1) Y. MAMIYA : in "Pathogenicity of the pine wood nematode", M.J. Wingfield ed., pp. 59-65, APS press, "Origin of the pine wood nematode and its distribution outside the United States" (1987)
2) 日本農芸化学会誌，**64**，1241-1264（1990）
3) 森林防疫，**45**，82-149（1996）
4) N.J. FIELDING and H.F. EVANS : *Forestry (Oxford)*, **69**, 35-46 (1996)
5) 松枯れ問題研究会編：「松が枯れてゆく　この異常事態への提言」，山と渓谷社（1981）
6) M.J. WINGFIELD ed. : "Pathogenicity of the pine wood nematode", APS press (1987)
7) Y. KISHI : "The pine wood nematode and the japanese pine sawyer", Thomas Co. Ltd, Tokyo (1995)
8) 鈴木和夫編著：樹木医学，朝倉書店（1999）
9) 日本弁護士連合会：http://www.nichibenren.or.jp/sengen/iken/1997i5.htm (1997)
10) 黒田宏之：平成９年度～平成10年度科学研究費補助金（基盤研究（B）（1））究成果報告書，「マツ枯損防止のための新戦略構築」（研究課題番号 09556037）（1999）
11) J.L. FERRER, J.M. JEZ, M.E. BOWMAN, R.A. DIXON and J.P. NOEL : *Nat. Struct. Biol.*, **6**(8), 775-784 (1999)
12) 林野庁：http://www.maff.go.jp/soshiki/rinnya/zourin/matsukui.html (1996)
13) M. FUJIHARA : *J. Vegetation Science*, **7** : 729-738 (1996)
14) レイチェル カーソン（1962）："沈黙の春"，青樹梁一訳，新潮社（1987）
15) T. COLBORN, D. DUMANOSKI and J.P. MYERS : 長尾　力訳「奪われし未来」祥泳社（1997）
16) W.B. CRITCHFIELD and E.L. LITTLE, JR. : USDA Forest Service, Miscellaneous Publication, **991**, 1-97 (1966)
17) 二井一禎，古野東洲：京都大学農学部演習林報告，**51**，23-36（1979）；古野東洲：京都大学農学部演習林報告，**54**，16-30（1982）；古野東洲，二井一禎：京都大学農学部演習林報告，**57**，112-127（1986）
18) Y. MAMIYA : *Ann. Rev. Phytopathol.*, **21** : 201-220 (1983)
19) 大畠誠一：京都大学農学部演習林報告，**65**，21-49（1993）
20) 清原友也，徳重陽山：日林誌，**53**，210-218（1971）
21) D.R. BERGDAHL and S. HALIK : in "Pathogenicity of the pine wood nematode", M.J. Wingfield ed., pp. 46-58, APS press, "The pine wood nematode associated with conifer mortality in the northeastern United States" (1987)
22) 朝日新聞："窓―江兄妹" 9月5日（1998）
23) 黒田宏之：平成８年度調査報告書 NEDO-GET-9635，汚染物質耐性植物とその植栽技術に関する調査，"ドイツ連邦における森林衰退とその研究に関する調査森は枯れているか？"，pp. 147-155（1997）
24) A.A. LOMAN : *Can. J. Bot.*, 48 : 1303-1308 (1970)
25) L. SHAIN and J.B. MILLER : *Phytopathol.*, **72**, 877-880 (1982)
26) T. SUGA, S. OHTA, K. MUNESADA, N. IDE, M. KUROKAWA, M. SHIMIZU and E. OHTA : *Phytochem.*, **33**, 1395-1401 (1993) ; 菅　隆幸：公開特許公報（A），特開平 6-279428（1994）
27) 大賀祥治，田畑武夫，近藤民雄：木材誌，**23**，459-463（1977）
28) M. ISHIKAWA, A. KANEKO, T. KASHIWA and H. WATANABE : *Agr. Biol. Chem.*, **51**, 3187-3191 (1987)
29) T. IKEDA, N. ENDA, A. YAMANE, K. ODA and T. TOYODA : *Appl. Ent. Zool.*, **15**, 358-361 (1980)
30) K. KURODA, T. YAMADA, K. MINEO and T. TAMURA : *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **54**, 606-615 (1988) ; K. KURODA : *ibid*, **55**, 170-178 (1989) ; K. KURODA : *Eur. J. For. Pathol.*, **21**, 82-89 (1991) ; K. KURODA : Int. symp. on pine wilt disease caused by pine wood nematode, China. (Chinese Society of Forestry) Proceedings 53-58 (1995) ; 黒田慶子：森林保護，**268**，36-38（1998）；K. KUORDA, H. KURODA and A.M. LEWIS : *IAWA Journal*, **19**(4), 463 (1998)
31) R.I. BOLLA, C. NOSSER and H. TAMURA : *Jpn. J. Nematol.*, **19**, 1-6 (1989)
32) T. UEDA, H. OKU, K. TOMITA, K. SATO and T. SHIRAISHI : *Ann. Phytopathol. Soc. Japan*, **50**, 166-175 (1984)
33) R.I. BOLLA, R.E.K. WINTER, K. FITZSIMMONS, C. WEAVER and P. KOSLOWSKI : in "Pathogenicity of the pine wood nematode", M.J. Wingfield ed., pp. 26-49 APS press (1987)

34) 奥　八郎：農化誌，**64**，1254-1257（1990）；H. Oku, T. Shiraishi and S. Kurozumi: *Naturwissenschaften*, **66**, 210 (1979)
35) 河津一儀：化学と生物，**36**，120-12（1998）；H. Oku, T. Shiraishi, S. Ouchi, S. Kurozumi and H. Ohta: *Naturwissenschaften*, **67**, 198-199 (1980)；K. Kawazu, H. Zhang, H. Yamashita and H. Kanzaki: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 1413-1415 (1996)；H. Zhang, H. Kanzaki and K. Kawazu: *Z. Naturforsch.*, **52c**, 329-332 (1997)
36) P. Bonello, W. Heller, H and Sandermann Jr.: New Phytol., **124**, 653-663 (1993)
37) R. Preisig-Müller, A. Schwekendiek, I. Brehm, H.-J. Reif and H. Kindl: *Plant Mol. Biol.*, **39**, 221-229 (1999)
38) T. Yamada and S. Ito: *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **59**, 666-672 (1993)
39) 清原友也：林試研報，**353**，127-177（1989）；農化誌，**64**，1251-1253（1990）
40) 樋口隆昌，島田幹夫，渡邊孝司：木材学会誌，**13**，274-279（1967）
41) W.E. Hillis and T. Inoue: *Phytochem.*, **7**, 13-22 (1968)
42) R.M. Mulligan, J. Chory and J.R. Ecker: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 2793-2795 (1997)；Y. Yang, J. Shah and D.F. Klessig: *Genes Dev.*, **11**, 1621-1639 (1997)；山田，島本，渡辺監修：分子レベルからみた植物の耐病性　細胞工学別冊，植物細胞工学シリーズ8，秀潤社（1997）
43) D.F. Klessig and J. Malamy: *Plant Mol. Biol.*, **26**, 1439-1458 (1994)
44) Dangl J.: *Nature.*, 394, 525-527 (1998)；J. Durner, D. Wendehenne and D.F. Klessig: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 10328-10333 (1998)
45) J. Ryals, K. Weymann, K. Lawton, L. Friedrich, D. Ellis, H.Y. Steiner, J. Johnson, T.P. Delaney, T. Jesse, P. Vos and S. Uknes: *Plant Cell*, 9, 425-439 (1997)；H. Cao, J. Glazebrook, J.D. Clarke, S. Volko and X. Dong: *Cell*, **88**, 57-63 (1997)
46) J. Gorlach, S. Volrath, G. Knauf-Beiter, G. Hengy, U. Beckhove, K.H. Kogel, M. Oostendorp, T. Staub, E. Ward, H. Kessmann and J. Ryals: *Plant Cell*, **8**, 629-643 (1996)；K.A. Lawton, L, Friedrich, M. Hunt, K. Weymann, T. Delaney, H. Kessmann, T. Staub and J. Ryals: *Plant J.*, **10**, 71-82 (1996)
47) K. Kubota, H. Kuroda and F. Sakai: Wood Research, **83**, 17-20 (1996)
48) 江藤和美，酒井富久美，黒田宏之：第49回日本木材学会大会（東京），1999年4月，研究発表要旨，2B24，p. 34；H. Kuroda: Abstract of 7th Int. Congress of Plant Pathol., 1.14.1, Edinburgh, Scotland；黒田宏之，高井一也，鈴木敏雄，黒田慶子：同発表要旨，P2A13，p. 511（1998）
49) R. Hain, H.J. Reif, E. Krause, R. Langebartels, H. Kindl, B. Vornam, W. Wiese, E. Schmelzer, P.H. Schreier, R.H. Stocker and K. Stenzel: *Nature*, **361**, 153-156 (1993)
50) H.J. Price, A.H. Sparrow and A.F. Nauman: *Brookhaven Symp. Biol.*, **25**, 390-421 (1973)
51) D.B. Neale and R.R. Sederoff: *Theor. Appl. Genet.*, **77**, 212-216 (1989)；K.A. Marshall and D.B. Neale: *Can. J. Forest Res.*, **22**, 73-75 (1991)
52) I. Wakamiya, R.J. Newton, J.S. Johnston and H.J. Price: *Amer. J. Bot.*, **80**, 1235-1241 (1993)
53) C.S. Kinlaw, D.B. Nael and J. Schröder: *Trends in Plant Science*, **2**, 373-378 (1997)
54) C.S. Kinlaw, D.E. Harry and R.R. Sederoff: *Can J. For Res.*, **20**, 1343-1350 (1990)
55) A. Kamm, R.L. Doudrick, J.S. Heslop-Harrison and T. Schmidt: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 2708-2713 (1996)
56) S.L. Butland, M.L. Chow and B.E. Ellis: *Plant Mol. Biol.*, **37**, 15-24 (1998)
57) Y. Yamauchi, H. Kuroda and F. Sakai: *Wood Research*, **84**, 15-18 (1997)；A. Kodan, H. Kuroda and F. Sakai: *Wood Research*, **86**, 34 (1999)
58) P.L. Wilcox, H.V. Amerson, E.G. Kuhlman, B.H. Liu, D.M. O'Malley and R.R. Sederoff: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **93**(9), 3859-3864 (1996)
59) http://epunix.biols.susx.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/
60) J.S. Feitelson, J. Payne and L. Kim: *Biotechnology*, **10**, 271-275 (1992)
61) J. Fliegmann, G. Schröder, S. Schanz, L. Britsch and G. Schröder: *Plant Mol. Biol.*, **18**, 489-503 (1992)
62) S. Raiber, G. Schröder and J. Schröder: *FEBS Lett.*, **361**, 299-302 (1995)
63) R. Preisig-Müller, R. Gehlert, F. Melchior, U. Stietz and H. Kindl: *Biochemistry*, **36**, 8349-8358

(1997)
64) S. Tröpf, B. Karcher, G. Schröder and J. Schröder: *J. Biol. Chem.*, **270**, 7922-7928 (1995)
65) S. Tröpf, T. Lanz, S.A. Rensing, J. Schröder and G. Schröder: *J. Mol. Evol.*, **38**, 610-618 (1994)
66) W.B. Wysocki and G. Hrazdina: *Plant Physiol.*, **110**, 791-799 (1996)
67) N.B. Paniego, K.W.M. Zuurbier, S.-Y, Fung, R. van der Heijden, J.J.C, Scheffer and R. Verpoorte: *Eur. J. Biochem.*, **262**, 612-616 (1999)
68) S. Ecermann, G. Schröder, J. Schmidt, D. Strak, R.A. Edrada, Y. Helariutta, P. Elomaa, M. Kotilainen, I. Kilpeläinen, P. Proksch, T.H. Teeri and J. Schröder: *Science*, **396**(26), 387-390 (1998)
69) 黒田宏之：平成8年度～平成9年度科学研究費補助金 基盤研究（A）（1）研究成果報告書（研究課題番号 08306021）pp. 111-116, 代表　島田幹夫「森林植物と菌類の二次代謝物生合成と機能に関する生化学的研究」(1998)
70) http://www.csdl.tamu.edu/FLORA/newgate/cronang.htm EthnobotDB
71) J.E. Losey, L.S. Rayor and M.E. Carter: *Nature*, **399**(6733), 214 (1999)
72) R. Fischer, I. Budde and R. Hain: *Plant J.*, **11**, 489-498 (1997)
73) F. Huang, L.L. Buschman, R.A. Higgins and W.H. McGaughey: *Science*, **284**(5416), 965-967 (1999)
74) A.R. Wenck, M. Quinn, R.W., Whetten G. Pullman and R.R. Sederoff: *Plant Mol. Biol.*, **39**(3), 407-416 (1999)