

報 文

同一林分の線虫接種検定合格クロマツを 3年にわたって枯死させたマツノザイセンチュウの年ごとの病原性*1

宮原文彦*2・大川雅史*2

宮原文彦・大川雅史：同一林分の線虫接種検定合格クロマツを3年にわたって枯死させたマツノザイセンチュウの年ごとの病原性 九州森林研究 67：104－106, 2014 福岡県糸島市の海岸に植栽されたマツノザイセンチュウ接種検定合格苗が、植栽後3～5年目にわたってマツ材線虫病で枯死した。各年の枯死個体から分離したマツノザイセンチュウの病原性を、同程度の抵抗性を保持していると考えられる抵抗性クロマツ苗に接種して判定したところ、その病原性が3年の間に低下した。その原因として、当該林分に移入したマツノザイセンチュウの遺伝的な多様性が極めて小さい個体群であった可能性が示唆された。

キーワード：クロマツ, マツノザイセンチュウ, 病原性, 年変化

I. はじめに

現在、西日本各地で選抜されたマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ（藤本ほか, 1989）採種園産の自然交雑実生苗をもとに、九州各地でマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*, 以下「線虫」) 接種検定合格苗（以下「合格苗」）が生産され、主に海岸クロマツ林を復元するために利用されている。その生産には、1978年に開始されたマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業（藤本ほか, 1989）の時点から使用されている線虫個体群である島原系統（以下「島原」, 藤本ほか, 1989）が現在も使用されている。戸田（1996）は、合格苗が海岸等に植栽された後、マツノマダラカミキリ (*Monochamus alternatus*, 以下「カミキリ」) に後食された場合の生存率は、植栽後5年経過した林分でも95%以上と報告している。

福岡県においても、福岡県樹苗農業協同組合マツ部会が、合格苗を「筑前スーパーくろまつ」の名称で1997年3月に出荷して以来、福岡県内の海岸各地に植栽されてきており、それらのマツ材線虫病による枯れはほとんど認められていなかった。しかし、

2010年秋、福岡県糸島市桜井の大口海岸において2008年春に植栽された800本の合格苗のうちの55本が枯死した（表-1）。宮原・大川（2012a）は、枯死木の一部から分離・増殖した線虫個体群（以下「大口2010」）が、合格苗生産に使用された線虫（島原）よりもはるかに強く、最強病原性線虫「NemaQ」（大平ほか, 2010）に近い病原性を持っていたことを報告した。

翌2011年秋には隣接する2009年春に500本植栽された区域まで被害が拡大して312本の合格苗が枯死したため（表-1）、それらの一部から分離・増殖した線虫個体群（以下「大口2011」）と、大口2010を1年間継代培養したものについて病原性を調査したところ、両個体群は同程度の病原性を示し、いずれも島原との有意差が認められず、NemaQよりも有意に病原性が低いことが確認された（宮原・大川, 2012b）。前年の調査で強病原性を示していた大口2010の病原性が低下した原因については不明であった。

合格苗の被害が確認されてから3年目となる2012年秋には、枯死本数は52本と減少したものの、2010年春に800本植栽された区域まで被害が分散した（表-1）。今回、それらの一部から

表-1. 福岡県糸島市桜井の合格苗植栽地およびその周辺におけるマツ材線虫病の推移

		2008年		2009年		2010年		2011年	2012年
		春	春	秋	春	秋	秋	秋	
植栽 (2年生2号 規格苗)		800本植栽	500本植栽		800本植栽				
合格苗	被害			被害は不明		2008年植栽の 55本が枯死	2008～2009年植栽の 312本が枯死	分散して 52本が枯死	
	被害木 処理					枯死木は全て 根系から掘り取り 森林センターに 搬送, 調査後焼却	枯死木は全て 根系から掘り取り 190本は現地で破砕 122本は森林センター に搬送, 調査後焼却	枯死木は全て 根系から掘り取り 森林センターに 搬送, 調査後焼却	
隣接する 非抵抗性 クロマツ林	被害			枯死木発生 (本数不明)		全滅 (本数不明)			
	被害木 処理			放置 (→翌年の発生源)		伐倒・放置 (→翌年の発生源)			

*1 Miyahara, F. and Okawa, M.: Annual change of the pinewood nematode virulence isolated respectively from a same site planted pine-wilt-disease resistant *Pinus thunbergii* seedlings.

*2 福岡県森林林業技術センター Fukuoka Pref. Forest Res. Exten. Ctr., Kurume, Fukuoka 839-0827, Japan.

表-2. 各年の接種線虫と苗の供試本数ならびに反復数

	2011年7月			2012年7月			2013年7月		
	系統	供試本数	反復数	系統	供試本数	反復数	系統	供試本数	反復数
対象 線虫	大口2010	90~160	3	大口2010 (1年継代)	120	3	大口2010 (2年継代)	50~60	3
				大口2011	120~140	3	大口2011 (1年継代)	10	2
							大口2012	110~120	3
対照 線虫	島原	150	3	島原	250~260	3	島原	190~200	3
	NemaQ	100~110	3	NemaQ	110~160	3	NemaQ	110~120	3

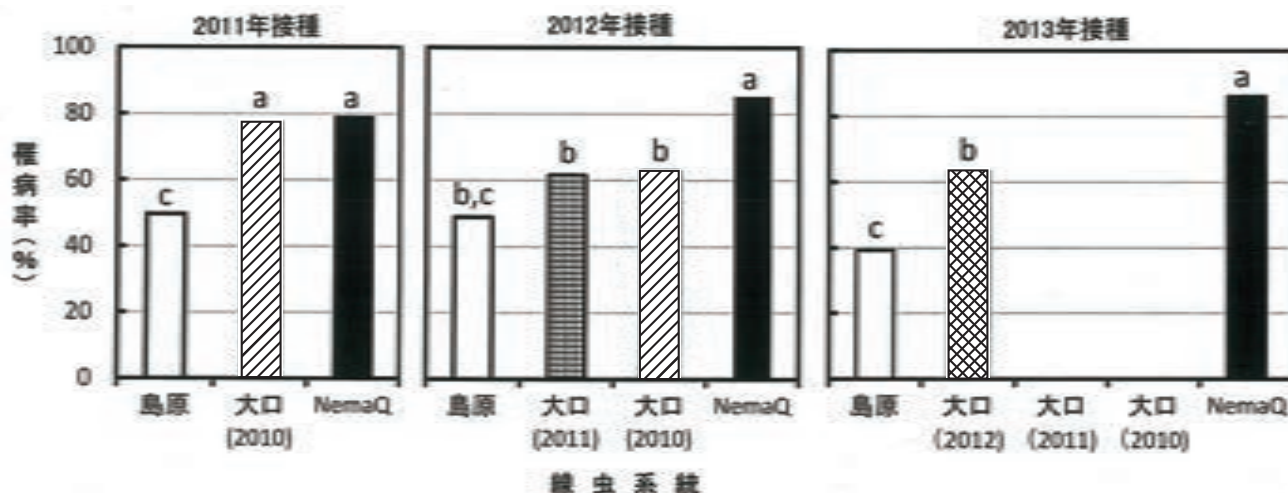


図-1. 大口系統ならびに対照系統の病原性
a-b 間, b-c 間には 5%, a-c 間には 1% の確率で有意差あり

分離・増殖した線虫個体群（以下「大口2012」と）1~2年間継代培養した大口2011と大口2010について、過去2年間と同様の方法で病原性を調査した結果を報告する。

II. 材料と方法

調査地は、福岡県糸島市（旧志摩町）桜井の大口海岸に造成された海岸防災林造成事業施工地（面積は0.42ha）である。海岸沿いに360m、幅約15mの中に、2008年春~2010年春の3年間で合計2,100本の筑前スーパーくろまつ2年生2号規格苗木（苗高25~50cm、根元径7mm以上）が植栽されている。なお、2008年春植栽地の陸側に1995~1996年度更新された非抵抗性のクロマツ林（0.22ha）が隣接している。

線虫は、2010~2012年の秋から冬にかけて、それぞれの年に枯死した合格苗木10本ずつを無作為に選んで持ち帰り、バールマン法で個別に分離した。得られた線虫懸濁液0.2mlを、枯死個体別に灰色かび病菌（*Botrytis cinerea*）を蔓延させた大麦ショ糖培地（戸田，2004）に移植し、25℃暗黒下で培養した。健全に増殖したアイソレートは、以後2ヵ月毎に継代培養を行った。それぞれの翌年7月に戸田（2004）の方法で線虫を増殖して培地から洗い出した後、年毎に線虫懸濁液を混合し、線虫の頭数を5,000頭/0.05mlに調製して接種用の懸濁液とした。1~2年間継代培養した大口2011と大口2010も同様に増殖・頭数調製し、接種試験に供試した。比較対照とする線虫として、合格苗木生産に使用さ

れている島原と、最強病原性個体群「NemaQ」（大平ほか，2010）を、同じ線虫密度に調製して供試した（表-2）。

病原性の確認に供するクロマツ苗木は、2011~2013年の3年間ともに抵抗性クロマツ採種圃産の自然交配種子（母樹家系は混合）による1回床替えの1.5年生苗木で、毎年福岡県樹苗農業協同組合マツ部会が朝倉市で育成している約6万本の一部を使用した。

各線虫系統あたり苗木100~260本ずつ3回反復で供試した（表-2）。2013年7月の培養において、増殖量が少なかった大口2010（2年間継代）と大口2011（1年間継代）は、それぞれ約50本3反復と10本2反復で接種した（表-2）。

接種は2011~2013年の3年間ともに梅雨明け後の7月25日前後に改良剥皮接種法（藤本ほか，1989）で苗木1本あたり5,000頭ずつ接種した。生死は接種から12週間後の10月15日前後に目視で判定し、枯死と部分枯れを合わせた個体割合を罹病率とした。

III. 結果と考察

線虫系統毎の罹病率を図-1に示した。合格苗木生産に使用されている島原と、最強病原性個体群「NemaQ」の罹病率はそれぞれ39~50%、79~86%と安定しており、いずれの年も互いに1%の確率で有意差があった。2011年の接種でNemaQと同等の罹病率を示した大口2010は、1年間継代培養後の2012年の接種では、2011年秋冬に分離した大口2011と同程度の罹病率（63%）

を示し、ともに NemaQ とは 5% の確率で有意に低かった。2013 年の接種では、2012 年秋冬に分離した大口 2012 は 64% と島原や NemaQ の中間の罹病率を示したが（それぞれとの間に 5% の確率で有意差あり）、2~1 年間継代培養した大口 2010 や大口 2011 は、ともに罹病率が 0% でまったく病徴を示さなかった（図-1）。

同一林分で採集した線虫でも、現地の被害材の中で継代が進んだ翌年の線虫の病原性が低下したことから、実験室での継代培養だけでなく、野外の自然条件下でも病原性が低下することが明らかとなった。6 年間の継代培養で病原性が失われたという報告はあるが（清原, 1976）、今回 2 年間という短い期間でも継代培養で線虫の病原性が失われることが明らかとなったことから、2010 年に抵抗性クロマツ合格苗を枯死させた線虫は、遺伝的な多様性が小さな個体群であったことが示唆された。

合格苗の枯死が確認された 2010 年秋の時点で隣接していた非抵抗性クロマツはすべて枯死し伐倒されていたが（本数未確認、推定数百本）、その中に 2009 年に枯死・放置されていたと推察される被害材が混在しており、それらには 2010 年夏のカミキリ脱出孔が観察されたことから、遅くとも 2009 年夏には隣接クロマツ林へのカミキリ飛来が推察された。2010 年秋の枯死合格苗 55 本はすべて根系まで掘り取って当センターに持ち帰ったので、2011 年夏の現地でのカミキリ発生は全滅した隣接クロマツ被害材からがほとんどと考えられた。2011 年秋の枯死合格苗 312 本についてもすべて根系から掘り取り、190 本は現地で破碎し、残り 122 本は当センターに持ち帰って処理した。また隣接クロマツ林は全滅後 2 年目なのでカミキリの発生は考えられないことから 2012 年秋の被害は新たなカミキリの飛来によるものと考えられた。

この 2012 年に新たに飛来して合格苗を枯死させた線虫は、島原よりも有意に病原性が高かったことから、現地では合格苗生産に使われた線虫系統よりも病原性の強い線虫が存在し、たびたび侵入していることが示唆された。このことから、現地での枯死木の徹底駆除のほか、庭木等を含めた周辺のクロマツ被害対策も重要であると考えられた。

謝辞

本研究で使用した最強病原性個体群「NemaQ」は、2004 年度から 2008 年度まで実施した農林水産省の新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業、「クロマツの第二世代マツ材線虫病抵抗性種苗生産システムの構築」により開発されたもので、線虫の使用を承諾いただいた共同研究者各位に深く感謝致します。

引用文献

- 藤本吉幸ほか（1989）林育研報 7：1-84.
清原友也（1976）日本線虫研究会誌 6：56-59.
宮原文彦・大川雅史（2012 a）九州森林研究 65：68-70.
宮原文彦・大川雅史（2012 b）第 68 回九州森林学会大会 講演番号 504.
大平峰子ほか（2010）林木の育種 235：1-5.
戸田忠雄（1996）森林防疫 45：132-137.
戸田忠雄（2004）林育研報 20：205-217.

（2013 年 11 月 18 日受付；2014 年 1 月 31 日受理）