

林業試験場成果報告

第 1 5 号

平成 1 7 年 3 月

宮城県林業試験場

目 次

菌根性きのこの安定生産技術の開発（第2報）・・・・・・・・・・ 1

ーバイテク等を利用した優良系統の開発ー

ヒノキ漏脂病の被害回避法について・・・・・・・・・・ 15

マツ材線虫病による年越枯れ木の探索に関する研究・・・・・・・・ 22

菌根性きのこの安定生産技術の開発 (第 2 報)

ーバイオテク等を利用した優良系統の開発ー

玉田 克志・相澤 孝夫*・菅野 昭

はじめに

樹木根と共生する菌根性きのこは、これまで実用的な人工栽培による大量生産が行われておらず、栽培きのこ類に比べて極めて高価なものが多い。このため、菌根性きのこ類を主体とする野生きのこ類の売上高がその生産地におよぼす経済効果は大きい¹⁶⁾。近年、共生樹木を利用して、各種の菌根性きのこを林地や植物鉢で栽培する方法が開発されるとともに、樹木のない純粋培養条件下でホンシメジやナガエノスギタケなどの子実体発生技術が開発され⁷⁾、ホンシメジについては施設栽培による生産が行われるようになるなど、栽培技術の開発に一定の成果が得られるようになった。しかし、菌根性きのこ類については、概して菌糸伸長が緩慢であり、また人為的な子実体形成が容易でないために、シイタケ、ナメコ等木質腐朽性きのこ類に比べて育種技術を利用した優良菌株の開発は進んでいないのが現状である。

これらを受けて、本課題では、菌根性きのこのより実用的な人工栽培技術の開発を目的として、人工栽培に利用可能な優良菌株の選抜・作出手法について以下の試験を実施した。

第 1 章 ショウロ優良菌株の選抜・作出技術の検討

第 2 章 マツタケ孢子分離による優良菌株選抜技術の検討

なお、本研究は国庫補助課題、先端技術等地域実用化研究促進事業（バイオテクノロジー実用化型研究）の「菌根性きのこの安定生産技術の開発」（平成 8 ～ 15 年度）における課題「バイオテク等を利用した優良系統の開発」（平成 10 ～ 15 年度）の一環として行ったものであり、本報の一部は東北森林科学会誌に掲載された報文^{11) 12)}である。

第 1 章 ショウロ優良菌株の選抜・作出技術の検討

要旨

ショウロを対象として、孢子分離・菌叢選抜・プロトプラスト調製による優良菌株選抜・作出について試験を実施した。その結果、これら手法を用いることで、菌糸体生長の良好な菌株が分離・単離されることがわかった。一方、これらにより得られた菌株の寄主植物に対する菌根形成能について試験したところ、プロトプラスト再生菌株の中に、元菌に比べて著しく菌根形成能の低下を示す菌株の存在が観察され、その他の菌株についても、生長能と菌根形成能との間には必ずしも相関は認められなかった。

1 試験の目的

ショウロ (*Rhizopogon rubescens* Tul.) は、海岸砂地という特殊な環境でクロマツの根に菌根をつくり生活している典型的な菌根性きのこである。海岸線への人工物設置と残された海岸林に対する手入

*現所属：林業振興課

れ不足のため、最近では、ほとんど見かけることができなくなった⁸⁾。一方、実験室レベルでは、菌根形成苗を用いたショウロの人工栽培が可能になっており、人工気象室内における滅菌土壌を用いたポット内での子実体形成¹⁵⁾、野外における海砂を用いたプランター内での子実体形成⁹⁾の報告がある。これらの人工栽培技術開発にあたっては、菌糸体の大量培養が可能で菌根形成能・子実体形成能が高い優良菌株の確保が不可欠である。

本試験では人工栽培に供し得る優良菌糸体を野生菌株から選抜するとともに、菌糸のプロトプラスト化・細胞選抜、並びに孢子分離によって、菌糸体生長及び菌根形成優良菌株の作出を目的として試験を実施した。

2 試験の方法

1 菌叢選択・分離による菌糸伸長優良菌株の選抜

宮城県鳴瀬町野蒜地内において採取したショウロ子実体から組織分離を実施して、ショウロ菌株数種を得た。この内、本試験に用いた菌株については、同一接種源由来でありながら、他と比較して平板培地上での菌糸伸長が良好な菌叢の出現が確認された。そこで、これら組織分離菌株 (30-6) とそれから得た良伸長菌叢由来菌株 (30-6-2) の菌糸伸長量の差及び形質の持続性について観察した。浜田氏 (改変) 寒天培地 (グルコース 2 %, 酵母エキス 0.2 %, 寒天末 1.5 %, HCl で pH5.1 に調整) 上で 30 日間, 23 °C で暗黒下に培養した菌株のコロニー周縁部を ϕ 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、浜田氏 (改変) 寒天培地上に接種して、23 °C の暗黒下で培養した。24 日間培養後、コロニーの直径を計測して 1 日あたりの菌糸伸長量を算出した。

2 プロトプラスト調製及び再生菌株の菌糸特性

子実体組織分離菌株から得た伸長良好な菌糸体 (30-6-2) を試料として、プロトプラスト調製及び再生菌糸の分離を行った。プロトプラストの調製は松本ら⁶⁾の方法を改変して行った。細胞壁溶解酵素 (Cellulase “ONozuka” R-10 2%, Zymolyase-20T 0.2%, Chitinase 0.1%) を緩衝液 (0.05M マレイン酸 pH5.5, 0.5M マンニトール) に溶解して酵素液とし、浜田氏 (改変) 液体培地 (グルコース 2 %, 酵母エキス 0.2 %, HCl で pH5.1 に調整) にガラスビーズを入れ、30 日間攪拌しながら培養した菌糸体を、ナイロンメッシュで濾過集菌し、この菌糸体の 10 倍量の酵素液を加え、30 °C で 60rpm の振とう処理を 3 時間行った。精製は酵素処理液をミラクロスで濾過後、1,500rpm, 5 分間の遠心分離により緩衝液で洗浄し、沈澱部を緩衝液に再懸濁して精製プロトプラスト液とした。精製プロトプラスト液は再生培地 (YPS : 酵母エキス 0.25%, ペプトン 0.25%, サッカロース 0.6M, 寒天末 1.5%) に塗布し、23 °C で暗黒下に培養して再生菌糸を得た。

再生菌糸については、Iwase et al.⁴⁾、山田・寺崎¹⁴⁾の方法に基づき、蛍光染色法で核相の判別を行った。核染色には、DAPI をリン酸緩衝液 (pH7.0) に 2 ppm 濃度で溶解したものを、細胞壁染色には、Fluorescent Brightener をリン酸緩衝液 (pH7.0) に 100ppm 濃度で溶解したものを染色液として、核と細胞壁の二重染色による観察を行った。

次いで、再生菌株を液体培地で培養することにより生長量を計測した。乳酸添加浜田氏 (改変) 液体培地 (グルコース 2%, 酵母エキス 0.2%, 乳酸 0.2%, NaOH で pH5.1 に調整)¹⁰⁾ 20 ml を、100 ml 容三角フラスコに分注・殺菌後、これに浜田氏 (改変) 寒天培地上で 30 日間培養した各々の供試菌

を直径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、その寒天片を接種した。接種後は 23 °C の暗黒下で 30 日間静置培養を行い、培養終了後は菌糸体を吸引濾過し、105 °C で乾燥して恒量を求めた。

3 胞子分離及び分離菌株の菌糸特性

宮城県鳴瀬町産ショウロ子実体 2 個体 (Rr.31, Rr.33) の肉片 (一片 0.5 mm) を滅菌水中に浸して、胞子懸濁液を調製した。これを培地に 200 μ l 塗布後、23 °C、暗黒下で培養し、培地上に肉眼で確認できる大きさに生長した菌叢の先端部を釣菌・移植して、胞子分離菌株を得た。また、この胞子分離菌株を培地上で 30 日間、23 °C で暗黒下に培養し、日あたりの菌糸伸長量を計測した。なお、培地はいずれも、浜田氏 (改変) 寒天培地を用いた。

さらに、分離された菌株について、試験 2 と同様の方法により、蛍光染色法で核相の判別を行った。

4 選抜菌株の菌糸体生長及び菌根形成能

菌糸体生長が良好な菌株の内、子実体組織分離菌株 5 (30-4, 30-6, 30-21, 30-23, 30-30 : 当試験場所有菌株)、菌株 30-6 の良伸長菌叢選抜菌株 1 (30-6-2 : 試験 1 により得た菌株)、胞子分離菌株 4 (Rr.31-17, Rr.31-32, Rr.33-2, Rr.33-8 : 試験 3 により得た菌株)、菌株 30-6-2 のプロトプラスト再生菌株 2 (No.3, No.6 : 試験 2 により得た菌株) の 12 菌株を無菌クロマツ苗と共生培養して、寄主植物に対する菌根形成能力の強弱を確認した。植物組織培養用容器 (アグリポット 6.5 cm $\times$ 6.5 cm $\times$ 9.5 cm) に試薬の海砂 (粒径 850 ~ 1,400 μ m) 70cc と水で 5 倍に希釈した酵母エキス増量の乳酸添加浜田氏 (改変) 液体培地 (グルコース 2%, 酵母エキス 0.4%, 乳酸 0.2%, NaOH で pH5.1 に調整) を 25 ml 投入し殺菌後、浜田氏 (改変) 寒天培地上で 30 日間、培養した各菌株を直径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、その寒天片を容器内に接種し、同時に発芽直後の無菌クロマツ苗を移植した。育成は温度 23 °C、光度 2,000 ~ 3,000lux、16 時間/日照射の条件下で 6 ヶ月間行い、育成後は容器から苗を取り出し洗浄後、クロマツ苗に形成された菌根数を観察した。菌根は、菌鞘が形成され Y 字型の形態をした根の部分とし、Y 字型ひとつで 1 菌根とした。

次いで、これら供試菌株を液体培地で培養することにより生長量を計測した。酵母エキス増量の乳酸添加浜田氏 (改変) 液体培地 (グルコース 2%, 酵母エキス 0.3%, 乳酸 0.2%, NaOH で pH5.1 に調整) 20 ml を、100 ml 容三角フラスコに分注・殺菌後、これに浜田氏 (改変) 寒天培地上で 15 日間培養した各々の供試菌を直径 5 mm のコルクボーラーで打ち抜き、その寒天片を接種した。接種後は 23 °C の暗黒下で 20 日間静置培養を行い、培養終了後は菌糸体を吸引濾過し、105 °C で乾燥して恒量を求めた。

3 結果と考察

1 菌叢選択・分離による菌糸伸長優良菌株の選抜

ショウロ子実体組織分離菌株及びこれから得た良伸長菌叢由来菌株の寒天培地上における菌糸伸長の結果を表 1 に示した。両菌株とも同一子実体由来の菌糸でありながら、良伸長菌叢由来菌株は組織分離菌株の約 1.4 倍の菌糸伸長速度を示し、菌糸伸長に関してその形質は拡大培養後も維持されることが判った。

ヒラタケでは、伸長速度が異なる菌糸により菌叢が構成されており、平板培地上で良形質及び不良

形質を示す菌叢をそれぞれ継代培養を繰り返すことで、その形質が固定されることが報告されている¹³⁾。今回の試験結果から、菌根菌であるショウロの子実体組織分離菌株においても、菌叢選択による分離及びその継代培養によって、単菌糸分離と同様に不良形質菌糸の除外効果が作用し、良好な伸長を示す菌糸の選抜と形質の固定が可能であることが示唆された。

表－1 ショウロ菌株の寒天培地上での菌糸伸長

菌 株 名	菌糸伸長 ±標準偏差 (mm/日)
子実体組織分離菌株(30-6)	1.78 ± 0.09
良伸長菌叢由来菌株(30-6-2)	2.49 ± 0.11

2 プロトプラスト調製及び再生菌株の菌糸特性

前述の試験 1 により得た菌糸選抜株（30-6-2）を試料としたプロトプラストは、精製時 2×10^5 個／ml 密度で確認できたが、最終的に 7 コロニー（No.1 ～ No.7）のみが培地上で再生し、これらを分離した。ショウロ菌糸についてはクランプコネクションが稀にしか観察されない³⁾ことから、これらの一次もしくは二次菌糸の別を蛍光染色法により観察した。その結果、7 菌株全てが二次菌糸であることが判明した。プロトプラスト再生 7 菌株（No.1 ～ No.7）の培養結果を、表－2 に示した。いずれの再生菌株も、元菌である良伸長菌叢由来菌株の生長量を上回った。特に菌株 No.6 は元菌の約 1.5 倍の生長量を示した。

菌株は遺伝的に不均一な菌糸集合体と考えられ²⁾、Magae et al. はヒラタケで⁵⁾、馬場崎らはナメコで¹⁾、元菌に比べて子実体収穫所要日数の短縮と収量の増大効果を示すプロトプラスト再生菌株の存在を報告している。今回の試験においても、ショウロ子実体組織分離菌株から選抜した良伸長菌叢を、さらにプロトプラスト化・細胞選抜することにより菌叢中の不良因子が排除され、さらに生長の良好な菌糸が単離されたと考えられた。すなわち、菌根菌においても菌糸体生長量を基準とする優良株選抜及び形質固定には、プロトプラスト化・細胞選抜技術が有効であることが示唆された。

表－2 プロトプラスト再生菌株の生長量

菌株名	菌体重量(mg) ±標準偏差
元菌	76.32 ± 15.28
No. 1	91.06 ± 31.68
No. 2	110.62 ± 23.44
No. 3	111.20 ± 77.20
No. 4	106.14 ± 35.28
No. 5	103.98 ± 26.96
No. 6	112.60 ± 20.40
No. 7	90.22 ± 56.16

3 孢子分離及び分離菌株の菌糸特性

表－3 のとおり、ショウロ子実体からの孢子分離の結果、形成されたコロニー数から算出した孢子発芽率は 0.04 ～ 0.05 % 程度となり、合計 67 菌株を分離した。培地上での菌叢の形成は 30 日目から

始まり、その後 10 日間程度で分離を終了した。孢子分離菌株の寒天培地上での菌糸伸長速度は、いずれの子実体由来のものも 1.8 ～ 2.2 mm/日の菌株が多かった (図-1)。しかし、伸長が良好なものと不良なものとの間では大きな差異がみられ、伸長速度差は最大で 2 倍を超えた。このことから、孢子分離による菌株の獲得及び育種材料への供試にあたっては、菌糸伸長に基づく優良菌株の選抜が重要であると考えられた。

これらを検鏡により一核菌糸もしくは複核菌糸の判別を行ったところ、全てにおいて菌糸内に 2 つもしくはそれ以上の核を持つ細胞が観察され、これらは複核菌糸であることがわかった。1 平板培地あたりの分離数は 4 ～ 23 菌株であり、一次菌糸を分離可能な数と考えられることから、得られた菌株全てが複核菌糸であったことの原因については、今後検討を要する。

表-3 ショウロ孢子分離の結果

子実体 番号	分離 菌株数	孢子発 芽率 (%)	分離までの日数		菌糸伸長 (mm/日)	
			最短	最長	最大	最小
Rr. 31	36	0.047	30	36	2.46	1.59
Rr. 33	31	0.041	30	41	2.43	1.04

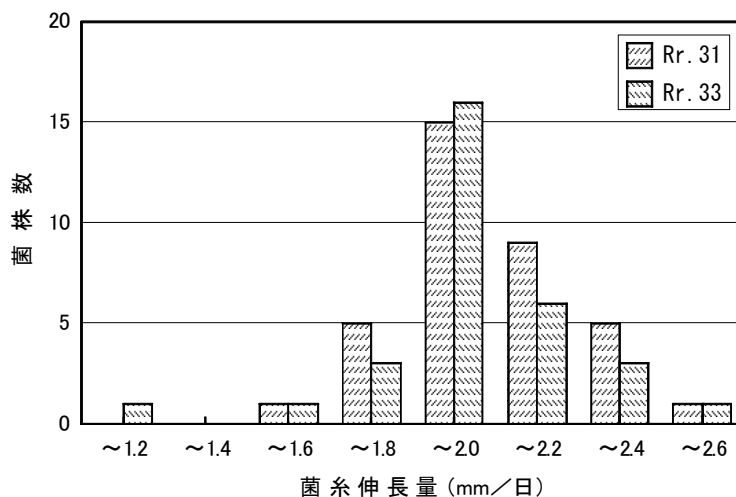


図-1 孢子分離菌株の菌糸伸長量分布

4 選抜菌株の菌糸体生長及び菌根形成能

菌株ごと菌糸体生長量及びクロマツ苗の根に形成された菌根数を、図-2・3に示した。生長量・菌根数ともに供試菌株間で差異がみられた。子実体組織分離菌株についてみると、菌株 30-4 は生長量・菌根数ともに他に比べ良好であり、有用な菌株であることがわかった。他の 4 菌株は菌根数に大きな差はないものの、生長が最も不良な菌株 30-23 が菌根をやや多く形成する傾向を示した。また、孢子分離菌株についてみると、菌株 Rr.31-17 以外の 3 菌株は、菌根数に大きな差はなかったが、Rr.31-17 は他より菌根の形成数が少ない傾向を示した。一方、菌株 Rr.31-17 は他に比べ菌糸体生長が良好であり、同一子実体由来である菌株 Rr.31-32 と、これらにおいて差を示した。

これらのことから、ショウロにおいては、菌糸体生長が良好な菌株が必ずしも菌根形成能力が高いとは限らないことが示唆され、子実体組織分離及び孢子分離により得た菌株を選抜し、寄主植物を利

用した子実体発生試験に供する場合、もしくは育種材料とする場合には、さらに菌根形成能の強弱を確認し選抜を行う必要性が示唆された。

さらに、同一の子実体由来である子実体組織分離菌株 30-6、良伸長菌叢由来菌株 30-6-2 及びプロトプラスト再生菌株 No.3・No.6 についてみると、No.6 以外の 3 菌株は、菌根形成数に有意な差はみられなかったものの、No.6 は 30-6 に対して菌根形成数が有意に少なかった (t 検定, $P < 0.01$)。すなわち、子実体組織分離菌株のプロトプラスト化・細胞選抜によって、生長良好な菌糸体の単離が期待されるものの、それらの中には、元菌同様に菌根形成能が維持される菌株がある一方で、菌根形成能の低い菌株も存在することがわかった。

ナメコなどでは、種菌構成菌糸の遺伝的不均一性とその特性の伝搬性による変異の発生が報告されている²⁾。今回の試験結果では、ショウロの菌糸体における菌根形成に関する遺伝的不均一性がみられ、菌根形成能に差違のある菌糸体が菌株中に混在すると考えられた。すなわち、単離された菌糸体の中には、生長が良好でありながら菌根形成能が元菌に比べ劣っているものもあり、孢子分離菌株等と同様に、ショウロのプロトプラスト調製による細胞選抜にあたっては、菌根形成能維持の確認が重要であることが示唆された。

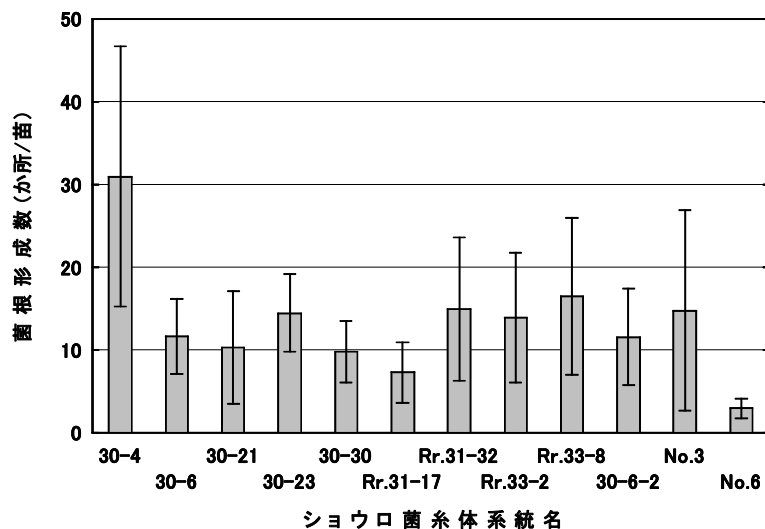


図-2 システム別ショウロ菌糸体の菌根形成数

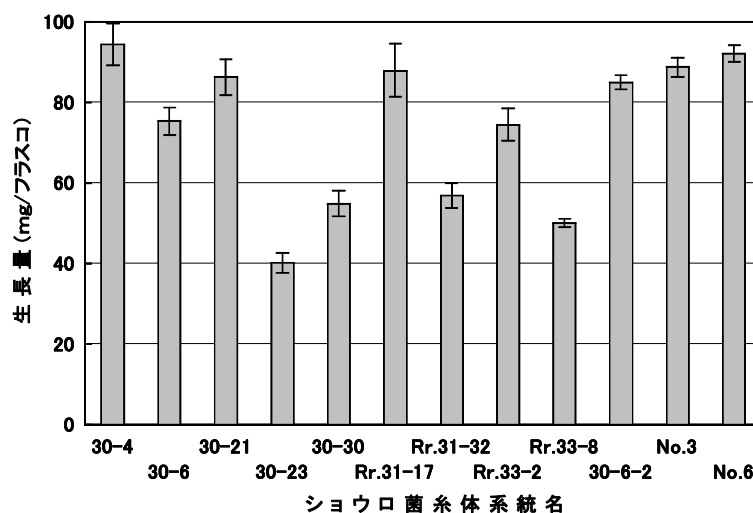


図-3 システム別ショウロ菌糸体の生長量

4 まとめ

これまで、ナメコ・ヒラタケ等栽培きのこ類の発生不良株の判別及び発生不良防止・解消のために、それら種菌の処理に用いられてきた菌叢の選択・分離並びにプロトプラスト化・細胞選抜技術を、さらには、子実体からの菌糸の獲得及び交配育種への供試菌獲得のために行われてきた胞子分離技術を、菌根菌であるショウロの優良系統選抜に応用した。その結果、野生由来の子実体組織分離菌株から、より菌糸伸長の速く、かつ元菌同様に寄主植物に対する菌根形成能を有する菌糸体を単離可能であることがわかった。また、胞子分離菌株からは、選抜材料となる菌株の供給が可能であることがわかった。

これらの手法は、単胞子分離による一次菌糸の獲得及び確認が容易でなく、かつプロトプラスト再生率の低いショウロやその他多くの菌根菌において、交配育種もしくは細胞融合技術を適応せず、より簡単に優良菌株を得ることができる有効な技術として、菌株選抜育種への応用が期待できる。

なお、分離・単離された菌糸体については、生長能と菌根形成能との間には必ずしも相関は認められないと考えられ、細胞選抜による優良菌株作出にあたっては、選抜菌糸体の菌根形成能の維持確認が重要であることが示された。

今後は、これらによる菌株選抜を踏まえて、さらに子実体形成能による選抜を実施し、人工栽培実用化可能な菌株を決定していく必要がある。

第 2 章 マツタケ胞子分離による優良菌株選抜技術の検討

要旨

マツタケを対象として胞子分離を実施し、これにより得られた菌糸体の培養特性・遺伝様式等について試験を実施した。人工培地上でのマツタケ胞子分離菌株の菌叢形成は極めて緩慢に行われ、分離した菌株の菌糸伸長速度は、菌株間で大きな差異が観察された。これらは全て複核菌糸体であり、希釈平板法によるマツタケ一核菌糸体の獲得は困難と考えられた。菌糸体が複核となった由来を確認するためアイソザイム分析を行ったものの、遺伝様式及び核特性を判別するに至らなかった。

1 試験の目的

マツタケ (*Tricholoma matsutake* Ito et Imai) は、アカマツ、ハイマツ、アカエゾマツ、コメツガなどの針葉樹の根に菌根を形成し、子実体を形成する外生菌根菌である¹¹⁾。現在、国内のマツタケ主産地は広島県など中国地域であるが、里山林の激減・放置及び松くい虫被害の影響等により、近い将来、岩手県など東北地域にその主産地が移る可能性が大きいと考えられる¹⁸⁾。

これまで実施されてきたマツタケの人工栽培に向けた試験の結果、最近になり、実験条件下での共生培養によるアカマツ苗へのマツタケ菌根形成¹⁷⁾、マツタケ培養菌糸を林地に接種してのアカマツ根への菌根形成²⁾、不織布を担体に用いたマツタケ培養菌糸によるアカマツ取り木苗への菌根形成¹²⁾ など、培養菌糸体を用いたマツタケ菌感染苗の作出が可能になった。今後、マツタケ人工栽培の実用化のためには、これら栽培手法に供し得る、より菌糸体生長が良好で、菌根形成能力及び子実体形成能力が高い菌株の作出・選抜が不可欠である。また、マツタケ菌糸は、それ自体がマツタケ子実体様の香りを出し、加工方法によっては食用になることが知られていることから、子実体を得なくても菌糸体のみで充分目的を達しうる場合もあり⁸⁾、さらに、マツタケ菌糸体の持つ機能（活性）を付与した健康食品開発に向けた試みも行われている¹⁰⁾。これらに供するマツタケ菌糸体は、利用対象とする成分等が充分量菌糸内に含有する菌株である必要がある。以上のように、それぞれの目的に適応したマツタケ優良菌株作出・選抜が急務であり、そのための育種技術を確立する必要がある。

ところが、マツタケについては、単胞子分離による培養菌糸の獲得が困難なこと、交配を確認するためには、核染色による観察が必要なこと⁵⁾などの理由から、優良菌株の育種は極めて困難であり、単胞子分離菌株を育種材料とした、人為での交配育種による菌株作出の報告はない。

本試験では、マツタケ優良菌株の作出を目的とし、希釈平板法による胞子分離を実施するとともに、それにより得られた培養菌糸体について菌糸特性を検討した。

2 試験の方法

1 胞子分離及び分離菌株の菌糸伸長速度

岩手県岩手町地内において採取したマツタケ子実体 6 個体 (Tm.1 ~ Tm.6) の菌傘を滅菌濾紙に伏せ、室温で 24 時間放置し胞子を採取後、0.5cm × 2 cm の大きさに切断した濾紙を 10 ml の滅菌水中に投入し、胞子懸濁液を調製した。胞子懸濁液は平板培地上に 200 μ l 塗布後、23 $^{\circ}$ C の暗黒下で培

養し、培地上に肉眼で確認できる大きさに生長した菌叢の先端部を釣菌・移植して、孢子分離菌株を得た。また、この孢子分離菌株については、培地上で 70 日間、23 °C の暗黒下で培養し、1 日あたりの菌糸伸長量を計測した。なお、培地はいずれも、浜田氏（改変）寒天培地（グルコース 2%, 酵母エキス 0.2%, 寒天末 1.5%, HCl で pH5.1 に調整）を用いた。

2 孢子分離菌株の核相

孢子分離菌株について、Iwase et al.⁷⁾、山田・寺崎¹⁶⁾の方法に基づき、蛍光染色法で核相の判別を行った。核染色には、DAPI をリン酸緩衝液 (pH7.0) に 2 ppm 濃度で溶解したものを、細胞壁染色には、Fluorescent Brightener をリン酸緩衝液 (pH7.0) に 100ppm 濃度で溶解したものを染色液として、核と細胞壁の二重染色による観察を行った。

3 孢子分離菌株のアイソザイム分析

子実体組織分離及び孢子分離を同時に実施した子実体 2 本 (Tm.5・Tm.6) について、組織分離菌株並びに孢子分離菌株 11 系統を、浜田氏（改変）液体培地で 23 °C、30 日間培養した菌糸体に、0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0) と 2-メルカプトエタノールを加え、14,000rpm で 30 分間遠心し、上澄を粗酵素液とした。これをポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、染色液数種類により活性染色を試みた。

3 結果と考察

1 孢子分離及び分離菌株の菌糸伸長速度

孢子分離菌株は、6 子実体から得た孢子による孢子懸濁液を培地へ塗布後、40 ~ 214 日間に合計 88 菌株の菌叢の形成を確認し菌糸の分離を行った（表－1）。平板培地 1 枚あたりの分離数は 1 ~ 12 菌株で、平均 3.8 菌株、子実体ごとの孢子発芽率は平均で 0.003 ~ 0.028% (Tm.5・Tm.6 は未確認) であった。マツタケの孢子分離については、富永¹⁵⁾は、孢子を培地にまきつけて肉眼的に菌叢を確認できる必要日数を 30 日以上としており、藤岡・植原¹⁾、藤原³⁾は、150 日程で孢子の発芽による菌叢の形成を肉眼で確認している。今回の試験結果では、孢子分離による菌叢形成までの期間が、3 分の 1 の菌株で 150 日間を超えており、それよりもさらに 2 ヶ月経過後の 210 日を超えてから菌叢の形成が確認できるなど（図－1）、これら報告よりもさらに長期にわたることが示された。一方、マツタケ孢子の発芽に関しては、富永¹⁷⁾は 24 °C で 5 日後に発芽を認め、15 ~ 20 日後に盛んに発芽するのを確認している。また、Ohta¹⁴⁾は、発芽は接種 2 日目から始まり、10 ~ 15 日後に最大値に達したとしている。今回の孢子分離において、孢子発芽から菌叢形成に至るまでに数か月の期間を必要としたのか、もしくは、孢子は数か月間発芽することなく培地上にとどまっていたのか等不明な点もあり、孢子発芽についてはさらに観察を続ける必要がある。

これら孢子分離菌株について、寒天培地上での菌糸伸長速度を計測したところ、0.22 ~ 0.76 mm/日となり（表－1）、日あたりの菌糸伸長量が 0.4 ~ 0.5 mm の菌株が多いことがわかった（図－2）。一方、同一子実体由来の孢子分離菌株の中には、伸長が不良な菌株と良好な菌株との間で 3 倍を超える伸長速度の差がみられ (Tm.6)、分離した菌株により菌糸伸長速度が大きく異なることがわかった。このことから、孢子分離による菌株の獲得及び育種材料としての供試にあたっては、菌糸伸長に基づく優良菌株の選抜が重要であると考えられた。

表-1 マツタケ孢子分離の結果

子実体 番号	分離 菌株数	孢子発 芽率(%)	分離までの日数(日)		菌糸伸長(mm/日)	
			最短	最長	最大	最小
Tm. 1	7	0.019	104	180	0.46	0.28
Tm. 2	33	0.028	69	186	0.64	0.26
Tm. 3	8	0.003	99	214	0.61	0.30
Tm. 4	8	0.027	69	180	0.62	0.36
Tm. 5	12	—	40	194	0.76	0.26
Tm. 6	20	—	99	211	0.70	0.22

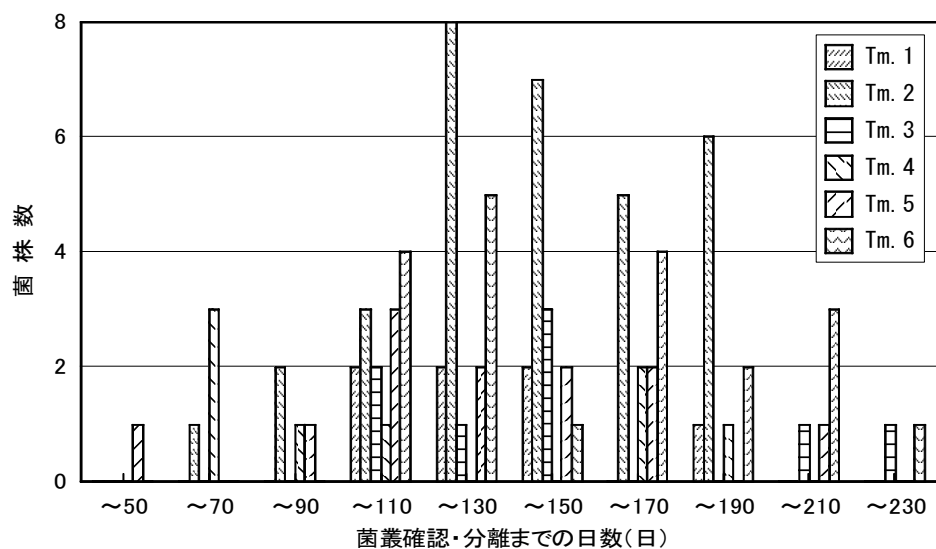


図-1 菌叢確認・分離までの日数分布

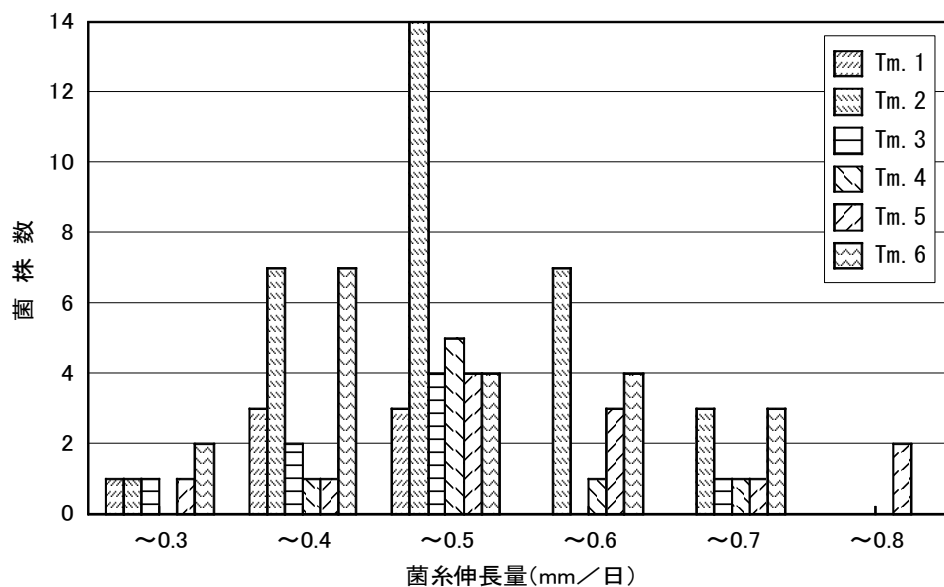


図-2 孢子分離菌株の菌糸伸長量分布

2 孢子分離菌株の核相

担子菌の菌糸体が複核であることを証明する形態的特徴のひとつに、クランプコネクションの有無がある⁹⁾が、マツタケ菌糸はクランプコネクションを持たない⁴⁾ことから、蛍光染色法による核相の顕微鏡観察を行った。その結果、今回得た孢子分離菌株全てにおいて2つ、一部にそれ以上の核を有する細胞が確認され(図-3)、全てが複核菌糸体であることが判った。

藤原³⁾は、発芽したマツタケ菌糸はある程度伸長すると生長を停止するとしている。また、藤岡・植原¹⁾は、発芽した菌糸はある長さ以上には伸長せずに停止してしまうものの、孢子間に空隙が認められない高密度条件下では、菌叢にまで発育するとしており、小川¹³⁾は、孢子を水でうすめてまくと発芽率が悪いが、団子状にして植え付けると、かなり良く発芽するとしている。これらの観察は、マツタケの一核菌糸は生長しにくく、交配して二核菌糸になれば、菌叢まで生長することを示唆している。同様に、太田(私信)も、低濃度の酪酸を加えて発芽率を高めた培地上で得られる菌叢は、全て二核菌糸であり、一核菌糸は菌叢まで生長しないとしている。これらのことから、孢子分離菌株が複核菌糸体であった原因の1つとして、一核菌糸同士が分離前に交配している可能性が考えられた。一方、富永¹⁷⁾は、マツタケの担子孢子には単核性のほか4娘核形成二核性の孢子が形成され、二核性孢子は発芽してそのまま複核菌糸体に発育するとしており、Iwase et al.⁶⁾は、減数分裂の後、四分子核は孢子細胞内へ移行し体細胞分裂を行い、2核のうち1核は担子器に戻るが、形成された孢子のうち0.4%は二核孢子であることを観察している。以上から、今回得られた複核菌糸体がこれら二核孢子由来である可能性も考えられた。

3 孢子分離菌株のアイソザイム分析

育種材料としての孢子分離菌株を得るためには、複核菌糸体が既交配菌株か二核孢子に由来する菌株か判別する必要がある。そこで今回、アイソザイム分析により、孢子分離菌株の遺伝特性解析を行った。子実体 Tm.5, Tm.6 の組織分離菌株及びこれら由来の単孢子分離菌株 11 系統について、アイソザイム分析を行った結果、いずれの菌株についても、エステラーゼ及びリンゴ酸脱水素酵素でアイソザイムパターンが2本のバンドとして認められた(図-4)。しかし、これらの泳動パターンは組織分離菌株と孢子分離菌株で一致した。すなわち、今回実施したアイソザイム分析では、アイソザイムの遺伝様式は確認できず、孢子分離により得られた菌株が、既交配の複核菌糸体もしくは二核孢子由来の複核菌糸体あるいは単核菌糸体のいずれであるか決定するには至らなかった。

以上から、これら菌株の核特性・遺伝特性を明らかにするためには、DNA 解析等別手法の適応が必要と考えられた。



図- 3 孢子分離菌株の顕微鏡像 (二核菌糸・バーは 10 μ m)

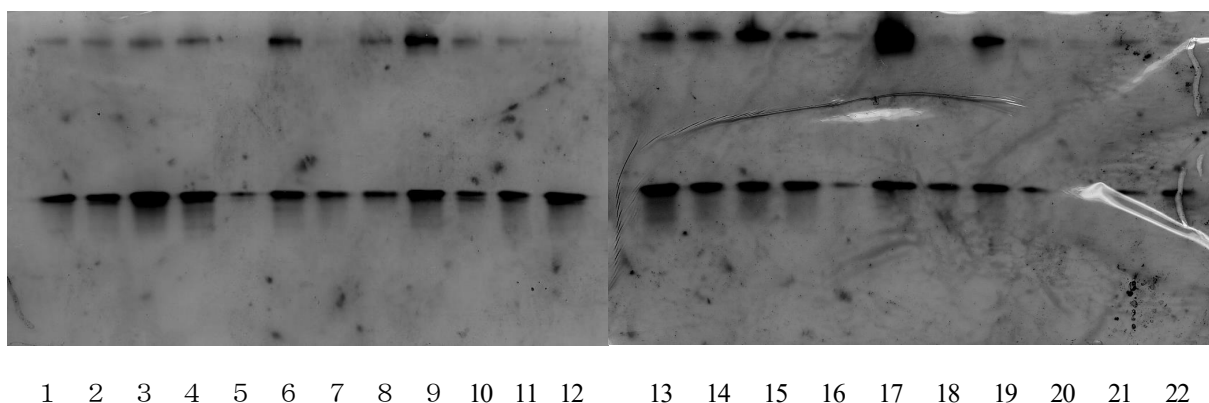


図- 4 分離菌株のエステラーゼアイソザイムパターン

1 : Tm.5 組織分離菌株, 2 ~ 12 : Tm.5 孢子分離菌株

13 : Tm.6 組織分離菌株, 14 ~ 22 : Tm.6 孢子分離菌株

4 まとめ

マツタケ優良菌糸体の作出を目的として、希釈平板法による孢子分離を実施し、6 子実体から合計 88 菌株を得た。孢子懸濁液を培地上に塗布後、菌叢の形成を肉眼で確認・分離に至るまでには、最短期間の菌株で 40 日、最長期間の菌株で 214 日を要し、多くが 100 ~ 200 日程度経過後に菌叢の形成を確認した。このことから、人工培地上でのマツタケ孢子分離菌株の菌叢形成は、極めて緩慢に行われることがわかった。培地上での孢子発芽からの菌糸生長過程については、再度詳細に経時的な観察が必要である。一方、これら菌株の菌糸伸長速度については、菌株により大きな差異がみられ、同一子実体由来孢子分離菌株群の中には、最大 3 倍を超える伸長速度差が観察された。このことから、孢子分離による菌株の獲得・育種材料への供試にあたっては、菌糸伸長に基づく優良菌株の選抜が重要であると考えられた。

これら菌株の核相判別を、蛍光染色法による顕微鏡観察で行った結果、全て複核菌糸体であることを確認し、希釈平板法では単核菌糸体同士の交配育種に供し得るマツタケ単核菌糸体の獲得は困難と考え

られた。さらに、遺伝特性把握のため、一部についてアイソザイム分析を行ったものの、これら菌株が既交配の複核菌糸体あるいは二核胞子由来の複核菌糸体であるか、判別するに至らなかった。

今後、DNA 解析等の技術を用いて、マツタケ胞子分離菌株の核特性・遺伝特性を明らかにすることで、胞子発芽と菌糸体生長の生態解明及びマツタケ交配育種等人為による菌株作出技術開発の一助になることが期待できる。

謝辞

本試験のアイソザイム分析作業について懇切なるご指導をいただいた福島県林業研究センターの古川成治主任研究員、並びに試料を提供していただいた岩手県林業技術センターの成松眞樹専門研究員に、厚く御礼申し上げます。

引用文献

はじめに・第 1 章

- 1) 馬場崎勝彦・増野和彦・明間民央：ナメコ種菌再活性化法としてのプロトプラスト技術の利用．第 48 回日本木材学会大会研究発表要旨集：483．1998
- 2) 馬場崎勝彦：きのこ栽培における変異発生機構と解析法（きのこの変異判別と変異発生予防．農林水産省農林水産技術会議事務局・林野庁森林総合研究所）：16-20．2000
- 3) 今関六也・本郷次雄：原色日本新菌類図鑑（Ⅱ）．315pp, 榊保育社, 大阪．1989
- 4) Iwase,K.,Matsui,S.,Taniguchi,S.,& Obayashi,A. : Identification of the cell type of hyphae from cultures of single basidiospores and fruit-body tissues of the mycorrhizal fungus *Tricholoma robustum* by double staining of nuclei and septa. Trans.Mycol.Japan29: 383-390. 1988
- 5) Magae,Y.,Kakimoto,Y.,Kasiwagi,Y.,& Sasaki,T. : Fruiting body formation from regenerated mycelium of *Pleurotus ostreatus* protoplasts. Applied and Environmental Microbiology 49: 441-442. 1985
- 6) 松本美佐緒・江口文陽・飯島倫明・檜垣宮都：マツタケ菌糸体からのプロトプラスト調製と再生．日本木材学会誌 45 : 413-418. 1999
- 7) 太田明：菌根性きのこの栽培．農林水産技術研究ジャーナル 25 (10) : 12-17. 2002
- 8) 小川眞：野生きのこのつくり方．173pp, 全国林業改良普及協会, 東京．1992
- 9) 玉田克志：ショウロ菌根合成苗による野外での子実体形成．日本応用きのこ学会第 6 回大会講演要旨集：46. 2002
- 10) 玉田克志・粕谷玲子・菅野昭・相澤孝夫：菌根性きのこの安定生産技術の開発 ―菌根菌及び菌根と化学成分―．宮城県林業試験場成果報告 13 : 23-39. 2002
- 11) 玉田克志：ショウロ子実体組織から分離した菌糸体の特性．東北森林科学会誌 Vol 9 No. 1 : 30-33. 2004
- 12) 玉田克志・練春蘭：マツタケ胞子分離により得られた菌糸体の特性．東北森林科学会誌 Vol 9 No. 2 : 90-93. 2004
- 13) 角田光利：ヒラタケ菌株の簡易純化法（きのこの変異判別と変異発生予防．農林水産省農林水産技術会議事務局・林野庁森林総合研究所），30-34. 2000
- 14) 山田明義・寺崎正孝：茨城県産マツタケ培養菌株の性状．日林論 109 : 483-484. 1998

- 15) 山田明義・小倉健夫：菌根合成をもとにした食用外生菌根菌の栽培．日本菌学会第 44 回大会講演要旨集：62．2000
- 16) 山田明義：日本産菌根性きのこ類の食資源としての利用性．信州大学農学部紀要 38 (1・2 合冊)：1-17．2002

第 2 章

- 1) 藤岡保夫・植原一雄：マツタケ菌の培養についての 2，3 の実験．日本菌学会報 1：10-11．1957
- 2) 藤田徹・藤田博美・野崎愛・中村善剛・上家祐：培養菌糸を種菌としたマツタケの菌根合成．日本応用きのこ学会第 7 回大会講演要旨集：71．2003
- 3) 藤原直哉：希釈平板法を用いた菌根性きのこの胞子観察－胞子の分離と観察方法－．森林応用研究 9：61-64．2000
- 4) 今関六也・本郷次雄：原色日本新菌類図鑑 (I)．325pp，(株)保育社，大阪．1989
- 5) 岩瀬剛二：最新バイオテクノロジー全書 7．きのこの増殖と育種．307pp，農業図書(株)，東京．1992
- 6) Iwase,K.,Matsui,S.,Taniguchi,T.,& Obayashi,A.：Behavior of cell nuclei during basidiospore formation in *Tricholoma matsutake*. Trans.Mycol.Soc.Japan28: 63-67．1987
- 7) Iwase,K.,Matsui,S.,Taniguchi,S.,& Obayashi,A.：Identification of the cell type of hyphae from cultures of single basidiospores and fruit-body tissues of the mycorrhizal fungus *Tricholoma robustum* by double staining of nuclei and septa. Trans.Mycol.Japan29: 383-390．1988
- 8) 河越幹男：気泡塔型培養装置によるマツタケ菌糸の高速培養．日本菌学会第 44 回大会講演要旨集：11-14．2000
- 9) 衣川堅二郎：きのこの遺伝と育種．189pp，築地書館(株)，東京．1990
- 10) 松永健一・千葉忠彦・高橋栄作：マツタケ菌糸体の量産技術と健康食品への応用．Bio Industry 20：37-46．2003
- 11) 中村克哉：キノコの事典．492pp，(株)朝倉書店，東京．1982
- 12) 成松眞樹：シート状マツタケ接種源の開発 (1)．マツタケ感染アカマツ苗木の育成に成功．岩手県林業技術センター成果速報 117．2002
- 13) 小川眞：マツタケの生物学．326pp，築地書館(株)，東京．1987
- 14) Ohta,A.：Basidiospore germination of *Tricholoma matsutake* (II)．Evaluation of germination conditions and microscopic observation of germination stages. Trans.Mycol.Soc.Japan27: 473-480．1986
- 15) 富永保人：マツタケの生活史に関する研究．広島農業短期大学研究報告 2：105-145．1963
- 16) 山田明義・寺崎正孝：茨城県産マツタケ培養菌株の性状．日林論 109：483-484．1998
- 17) Yamada,A., Maeda,K., & Ohmasa,M：Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* isolates on seedlings of *Pinus densiflora* in vitro. Mycoscience 40:455-463．1999
- 18) 吉村文彦：きのこ年鑑．460pp，(株)農村文化社，東京．2000

ヒノキ漏脂病の被害回避法について

中澤 健一・片倉 修^{*1}・唐澤 悟^{*2}・須藤 昭弘

1 はじめに

ヒノキ漏脂病（以下「漏脂病」という）は、ヒノキの天然分布域を越えた本県各地に多発している。罹病すると樹幹から樹脂を流出し、次いで形成層が壊死し、最後には樹幹の陥没に至り、材価を著しく損ねる。一方で、ヒノキは、木材市場において価格が有利なこと、松林の樹種転換に選択されることから主要な造林樹種となってきた。そのため、当試験場ではこれまで漏脂病被害を回避するための様々な検討を行ってきた。本研究では、同様の目的で、「病原菌と発病との関係調査」「被害と立地条件との関係解析」「被害とヒノキの系統との関係解析」「施業による被害回避法の検討」について調査した。

なお、これは、林野庁の林業普及情報活動システム化・特定情報調査の課題「環境調和型森林病害制御技術の開発に関する調査（平成 10～12 年度）」「間伐等の施業による森林病害軽減・回避効果の評価に関する調査（平成 13～15 年度）」として行ったものである。

2 調査の方法

1 病原菌と発病との関係調査

漏脂病の病徴の経年変化を明らかにするため、漏脂病を引き起こす病原菌であるシステラ菌（独立行政法人森林総合研究所東北支所から分譲された）をヒノキの樹幹に接種し、病徴を継続して観察した。接種は、大郷町石原 59 林班ハ 3-1 小班内（ヒノキ、1996 年当時林齢 24 年、県有林）のヒノキ 16 本に、6 菌株のシステラ菌と 1 菌株のクリプトスポリオプシス菌、菌を培養していない培地 1 個を 1 組とし、1 本につき、樹幹の根元から高さ 120cm 以下の範囲と 135cm 以上の範囲に 1 組ずつ行った。接種は 1996 年 11 月または 1997 年 5 月に行った。16 本のうち 14 本は、ポンチで形成層に達する孔を抜き、菌を培養した米ぬか・ふすま培地あるいは培地のみを詰め、樹皮でふたをし、その上を滅菌した脱脂綿とパラフィルムで覆い、ビニールテープを巻いて固定した。残り 2 本（接種木 NO.55, 56）は外樹皮を薄く剥いで外樹皮面に接種した。

2 被害と立地条件との関係解析

造林予定地の漏脂病の被害予測ができれば、当該箇所へのヒノキ造林を避けることで漏脂病の被害回避ができるものと思われる。そこで、被害林分の被害率（本数率）を大・中・小の 3 区分に分け、環境要因（最深積雪、最低気温、標高、傾斜度、方位、土壤区分、A 層厚、土壤湿度）による被害率の判別を試みた。方法は数量化Ⅱ類によった。被害率と環境要因のデータは、松野ら⁴⁾により実施された 57 箇所の被害調査結果を用いた。

3 被害とヒノキの系統との関係解析

漏脂病抵抗性系統を見出すため、1996～2001 年に 8 箇所のヒノキ精英樹次代検定林において被害調査を行った。被害程度を、樹幹に樹脂が見られるもの（G1）、樹脂流出長が 30cm 以下のもの（G2）、樹脂流出長が 30cm を超えるもの及び樹幹に変形が見られるもの（G3）に区分し、G2 と G3 を被害木とし、その本数率を被害率とした。2002 年に 1 箇所（東宮 29 号）について再調査した。

* 1 現所属：財団法人神奈川県公園協会

* 2 現所属：気仙沼地方振興事務所

4 施業による被害回避法の検討

漏脂病の発生誘因として枯れ枝の巻き込みが推測され、枯れ枝の基部に多く認められるシステラ菌が巻き込まれて発病すると考えられることが報告されている¹⁾。このことから、生枝打ちによる被害回避を検討するため生枝打ち試験地を設定した。また23箇所のヒノキ林を調査して、枝打ちの実施林齢と被害率との関係について検討し、被害木の除間伐に関する考察を行った。

1) 生枝打ちによる被害回避の検討

表-1のとおり、2001年12月に枝打ちを実施して試験地を3箇所設定し、その後、毎年発病の有無を調査した。各試験地とも、生枝を幹から平滑に枝打ちした「生枝打ち区」、生枝基部を5cm残して枝打ちした「枯れ枝形成区」、何も手を加えない対照区で構成した。

表-1 生枝打ち試験地の概要

所在地	枝打ち実施年月	試験木本数	実施時林齢	実施時平均胸高直径(cm)	実施時平均樹高(m)
大郷町川内14林班ホ-1小班	2001.12	各区10本	10年	8.8	5.5
利府町菅谷5林班ホ-21小班	2001.12	各区35本	11年	6.5	4.9
大和町小野17林班ロ-9小班	2001.12	各区10本	11年	9.3	6.3

2) 枝打ち実施林齢と被害率との関係についての検討

Ⅲ～Ⅶ齢級のヒノキ林23箇所(付表-1)で、1箇所につき50～300本程度の被害調査と胸高直径の計測を行った。被害調査は、根元からおおよそ高さ4mまでの範囲で行い、被害程度の基準は前述の3と同様とし、被害木の本数率を被害率とした。また、森林所有者から枝打ち実施林齢の聞き取りを行った。

3) 被害木の除間伐に関する考察

前述の2)の調査林分において立木位置を調査し、被害率と被害木の集中性との関係を求めた。

3 結果および考察

1 病原菌と発病との関係調査

表-2に樹脂流出長の最大値と樹幹の変形箇所を示す。なお、樹脂囊の確認のための伐倒などが行

表-2 接種試験木の病徴の進行状況

接種木NO.		41		44		47		50		51	
接種年月		1996.11	1996.11	1997.5	1997.5	1997.5	1996.11	1997.5	1997.5	1997.5	1997.5
接種高(cm)		120以下	135以上	120以下	135以上	120以下	135以上	120以下	135以上	120以下	135以上
菌株別の樹脂流出長(mm)	B	1,730	0	650	1,890	1,175	870	1,030	1,860	1,040	2,380
	BL	330	+	120	0	1,300	930	175	1,440	490	970
	R	30	+	430	0	170	510	0	0	0	360
	Y	+	0	0	760	1,010	1,360	190	0	0	150
	G	0	+	900	2190	950	1,980	560	20	530	1,010
	WG	0	0	0	180	190	120	0	+	0	160
	WY	0	0	0	0	50	50	0	370	20	30
	W	0	0	0	55	0	0	140	0	150	0
		52		53		54		55	56	<備考> ・B, BL, R, Y, G, WGはシステラ菌株, WYはクリプト菌株, Wは培地のみを示す。 ・接種木NO55と56は外樹皮をうすく剥いて接種した。 ・樹幹に樹脂が見られるものは「+」とした。	
		1997.5	1997.5	1997.5	1997.5	1997.5	1997.5	1997.5	1997.5		
		120以下	135以上	120以下	135以上	120以下	135以上	120以下	120以下		
		1,320	1,150	0	100	840	1,950	0	0		
		50	+	860	2,310	0	1,490	0	0		
		0	0	0	0	1,040	30	0	0		
		680	0	870	100	0	1,940	0	0		
		0	●	800	1,500	0	1,160	0	0		
		0	0	0	+	0	0	0	0		
		0	0	0	30	0	0	0	0		
		0	0	0	1,500	0	0	0	0		

われたので、現存する 10 本のデータである。樹脂流出量は 1998 年の調査までに確認したもので、それ以降は流出が停止しているが、NO.47 の 1997 年 5 月接種の Y 部からは 2002 年の調査で再流出し、翌年再び停止を確認した。樹幹の変形は、2002 年 1 月の調査により表中●印の 5 箇所扁平を確認した。陥没に至るまでの経年変化を明らかにするためには今後も継続して観察する必要がある。

2 被害と立地条件との関係解析

表-3に、被害率を3区分し、それらを環境要因により判別した結果を示す。また、被害林分の被

表-3 環境要因による被害率の判別結果

調査結果		判別結果							
被害林分	被害の区分	スコアⅠの合計 (f)	判別基準	判別 結果	正答 率	スコアⅡの合計 (g)	判別基準	判別 結果	正答 率
松山町 利府町 雄勝町 角田市 大衡村 泉区 泉区 高清水町 鳴瀬町 岩沼市 米山町 雄勝町 雄勝町 亘理町 亘理町 色麻町 志津川町 岩沼市	小 (被害率: 0 ~9%)	0.450009 0.696208 0.092073 -0.248159 0.437448 0.746400 -0.246844 -0.753782 0.972253 -0.744948 -1.461620 0.584201 -0.905664 -0.825914 0.366625 -0.906578 0.539533 -0.905664	$-0.208111 \leq f$ < 0.939039 $\Rightarrow$ 小	小 小 小 中 小 小 中 中 大 中 中 小 小 中 小 中 中 中	44%	0.346226 -0.976889 -0.603546 -0.607345 -0.808650 -0.995724 -2.218885 -1.572935 -0.561904 -0.937960 -1.646157 -2.497944 -0.282955 -1.117810 -1.448685 -1.313001 0.190487 -0.282955	$g < -0.367418$ $\Rightarrow$ 小	大 小 小 小 小 小 小 小 小 小 小 小 小 大 小 小 小 大	78%
山元町 本吉町 田尻町 唐桑町 桃生町 矢本町 東和町 亘理町 白石市 唐桑町 角田市 金成町 東和町 鳴子町 利府町 桃生町 登米町 岩沼市 中新田町 田尻町 築館町 鳴瀬町 鳴子町 志津川町 矢本町 米山町 丸森町 矢本町 村田町 涌谷町 仙台市 仙台市 金成町	中 (被害率: 10 ~29%)	-1.035833 0.133805 -0.679628 0.450009 0.199786 -0.205426 -0.887340 0.299705 0.791274 0.088379 -0.630980 -0.800496 -0.978825 -0.141233 -0.544084 -1.469310 -0.630799 -1.131187 -0.427138 0.184128 0.046578 -0.744948 0.981542 0.446224 0.293465 0.556460 -1.244975 0.359328 -0.248159 -0.104582 -1.156857 -1.418604 -0.209128	$f < -0.208111$ $\Rightarrow$ 中	中 小 中 小 小 小 中 小 小 小 中 中 中 中 中 中 中 中 中 小 小 中 大 小 小 小 中 中 中 中 中 中 中	55%	0.157688 0.670336 1.444895 0.346226 -0.653495 0.042922 1.232077 0.162354 -0.242158 1.624242 -0.226993 0.486959 2.287244 0.837865 0.566823 0.533753 1.115500 0.465686 -0.179502 -0.106471 0.764531 -0.937960 0.364451 0.715511 0.774032 -0.181117 0.000018 -0.078305 -0.607345 0.429741 1.228333 0.669071 2.259859	$0.356076 \leq g$ $\Rightarrow$ 中	大 中 中 大 大 大 大 大 大 大 大 中 中 中 中 中 中 中 中 中 大 大 中 中 中 中 中 中 中 中 中 中 中	58%
鳴瀬町 登米町 鳴子町 志津川町 本吉町 花山村	大 (被害率: 30 ~46%)	1.197776 1.789219 2.102369 1.511185 1.172284 4.200442	$0.939039 \leq f$ $\Rightarrow$ 大	大 大 大 大 大 大	100%	-1.310545 0.241978 1.554264 -0.098395 0.456652 0.525908	$-0.367418 \leq g$ < 0.356076 $\Rightarrow$ 大	小 大 大 大 大 中	33%

害率と環境要因から数量化Ⅱ類により求めたスコアを付表-2に示す。表-3の正答率とは正しい判別ができた率である。すなわち、被害林分ごとに付表-1から該当する環境要因の区分のスコアを合計し、その値を表中の判別基準に当てはめて大・中・小の3区分に判別し、それが実際の調査結果の区分と一致したものを正答とした率である。スコアⅠでは44～100%，スコアⅡでは33～78%という正答率が得られた。

造林予定地の漏脂病の被害率を予測するには、表-3の2通りのスコアの合計値を縦軸、横軸にとって散布図をつくり、大中小それぞれのエリアを描き、予測したい造林予定地の値を付表-2で計算して、それがどのエリアに落ちるかあるいは近いかということと、その値を表-3の判別基準に当てはめて得られた判別結果とを考えあわせて予測する。ただし、付表-2のとおり相関比がそれほど高くなく、常に正しい予測が期待できるわけではないので、より正確な予測を得るためにはより相関比を高めた上でスコアを求め直す必要がある。そのためには解析データとして用いた被害調査結果を精査する必要があると思われる。

なお、上記数量化Ⅱ類による解析過程については唐澤の報告³⁾が詳しい。

3 被害とヒノキの系統との関係解析

表-4に、8つの検定林の系統別被害率を示す。被害率が極端に低い王滝101・王滝102・上松1・野尻8・野尻6・坂下3・坂下4・上松2の8系統（すべて実生家系）が抵抗性候補系統として見出された。ただし、この8つの系統がある検定林（東宮29号、東宮30号）はいずれも検定林自体の被害率が低く、調査時（1996年）の林齢が20年だったことから、被害発生進行中の林分だったことも考えられるので、林齢26年時（2002年）に東宮29号の一部のブロックで被害調査を行った。王滝101は林齢20年では0%だった

ものが林齢26年では9.5%となった。同様に王滝102が0%から4.9%に、野尻8が0%から11.8%に、野尻6が0%から18.4%に、坂下3が14.7%から35.5%に、坂下4が5.1%から32.4%に、上松2が5.8%から

20.7%に増加し、上松1が不変（5.1%）だった。このことから8系統に絶対的な抵抗性を認めることはできないと思われるが、今後も継続して調査し、同じ検定林内の他の系統と比較することにより抵抗性の強さを判断する必要があるものと思われる。

4 施業による被害回避法の検討

1) 生枝打ちによる被害回避の検討

試験地設定から2年を経過したが、どの試験地のどの試験区でもまだ発病がない。現在のところ生枝打ちの効果を判断することはできなかった。

2) 枝打ち実施林齢と被害率との関係についての検討

調査地ごとの結果を付表-1に示す。

図-1に林齢に対する被害率の変化を示す。林齢ごとにみて最も高い被害率の変化を点線のように

表-4 系統別ヒノキ漏脂病被害率

単位: %

系統名	被害率	系統名	被害率	系統名	被害率	系統名	被害率	系統名	被害率
○王滝101	0.0	上松10 ×宮城1	4.1	沼田3	15.2	大田原2	21.2	河内3	33.9
○王滝102	0.0	上松10	8.8	上松10 ×久慈1	15.4	上松10 ×坂下6	21.7	久慈7	39.1
○上松1	0.0	郡山1	9.5	上松9	15.8	久慈1	22.0	上松10 ×妻籠3	45.2
○野尻8	0.0	多野2	10.0	野尻5	16.4	久慈5	22.1	※○印が8系統	
○野尻6	0.4	大間々2	11.2	野尻3	16.6	坂下6	24.2		
○坂下3	0.6	上松4	11.2	宮城2	16.6	宮城2× 宮城1	26.1		
○坂下4	0.9	宮城2× 久慈1	13.1	宮城1	17.7	野尻7	26.3		
○上松2	1.0	妻籠3	13.7	坂下2	19.1	上松10 ×沼田3	33.8		

に示すと、林齢20年まで急に上昇し、20年以降はゆるやかとなって、最大値は54.5%に達した。林齢20年未満では林齢の増加に伴って被害率が増加する傾向があった。

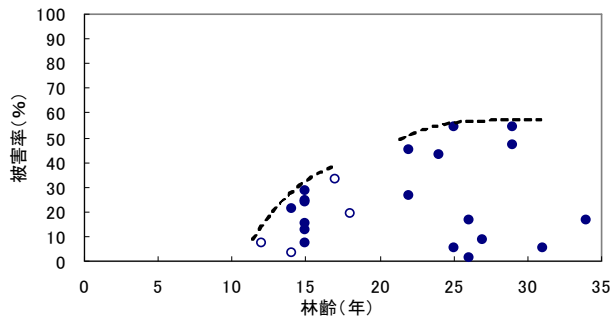


図-1 林齢と被害率
(※白丸は枝打ち未実施の林分。黒丸は実施済み。)

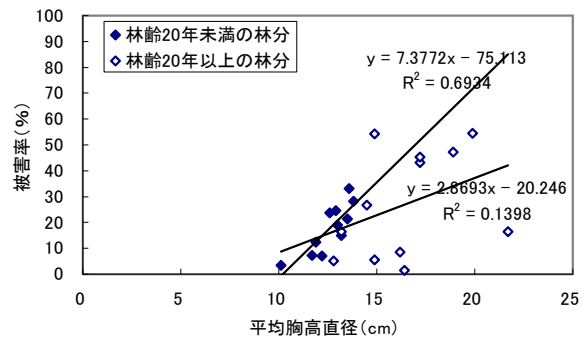


図-2 平均胸高直径と被害率

図-2に平均胸高直径と被害率との関係を示す。林齢20年未満の林分で正の相関があり（ $r = 0.8327$, $p < 0.05$ ）、20年以上の林分では相関がなかった。このことから、林齢20年未満では直径の成長とともに被害率が増加していくことが推測された。

枝打ち実施林齢と被害率との関係を解析する際に、解析するデータに被害進行中の林分の被害率が混在することは避けたいが、このように林齢20年未満で直径成長に伴う被害率の増加が推測されたので、林齢20年以上の林分により解析することとする。

図-3に、林齢20年以上の林分における枝打ち実施林齢と被害率との関係を示す。在元の報告¹⁾と同様に両者に正の相関があった（ $r =$

0.7175 , $p < 0.05$ ）。回帰式により枝打ち実施林齢から被害率を予測することは、予測値の当てはまり具合が51%（ $r^2 = 0.5148$ ）であることから控えるべきであるが、早期に枝打ちを行うことにより被害率を低く抑えられる関係は示された。ところで枝打ちには生枝打ちと枯れ枝打ちがあるが、調査を行った地域では、林齢が10年を過ぎると枝打ちをする

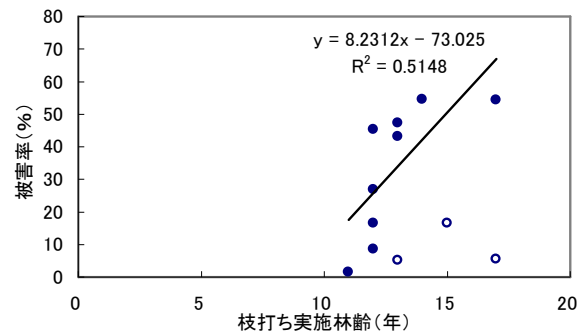


図-3 枝打ち実施林齢と被害率
(※林齢が20年以上の林分。なお、白丸は平均直径成長量が小さく、解析から除いた林分)

範囲の枝はほとんどの場合枯れ枝となっていることが多いことから、この場合枝打ちとは生枝打ちのみではなく枯れ枝打ちも含めてよいと思われる。なお、図中白丸は解析から除いた林分で、林分の平均胸高直径を林齢で割って求めた平均直径成長量が他の林分に比べて著しく小さかった林分である。同林齢において平均胸高直径が大きいほど被害率が高くなること⁵⁾が報告されており、ある程度の林齢範囲において平均直径成長量が著しく小さい林分はその影響で被害率が低くなることが推測されたので除いたものである。

枯れ枝の巻き込みが直径成長に伴って進行することから、枝打ちが被害率を低く抑

える効果に与える直径成長の影響を検討するため、図-4に、枝打ち実施林齢と被害率とに相関が

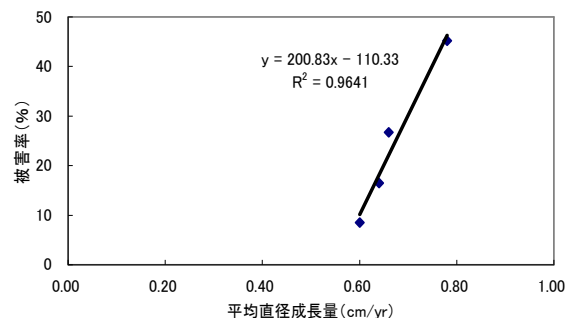


図-4 同林齢で枝打ちを行った林分の平均直径成長量と被害率
(※枝打ち実施林齢は12年。4林分の林齢は22～34年。)

認められた林齢 20 年以上の林分のうち同林齢 (12 年) で枝打ちを行った 4 林分における平均直径成長量と被害率との関係を示した。平均直径成長量は平均胸高直径を林齢で割って求めた。両者には正の相関があり ($r = 0.9819$, $p < 0.05$), 同じ林齢で枝打ちを行っても, 平均直径成長量が大きい林分ほど被害率が高くなることが示唆され, 直径成長が旺盛な林分ほど早期に枝打ちを行う必要があるものと思われた。

3) 被害木の除間伐に関する考察

図-5 により, 調査林分ごとに健全木と被害木の平均胸高直径を比較したところ, 2 林分を除く 21 の林分において被害木の平均胸高直径の方が大きかった。このことから, 同じ林分では被害木が健全木に比べて大径側に偏ることが示唆された。また, 被害木が大径側に偏ることと関連して, 林内に局部的に被害木

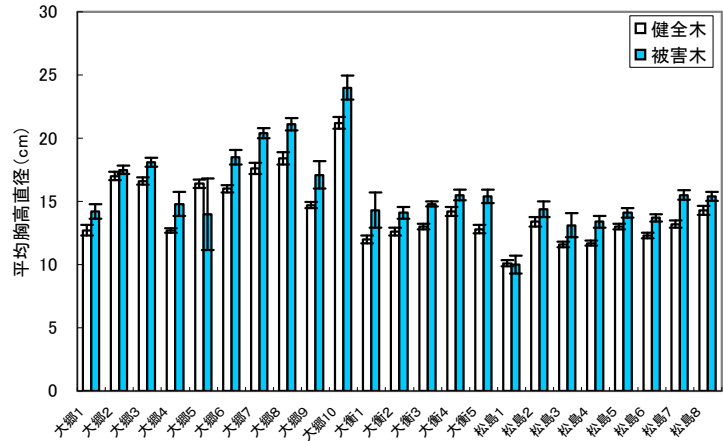


図-5 調査林分の健全木・被害木別平均胸高直径
(※グラフ中の区間推定表示は平均胸高直径の68%区間推定)

が集中し, 被害の進行に伴いその状態が明瞭になることを想定し, 図-6 により被害率と被害木の集中性との関係を検討した。準備として, 全調査林分について立木位置図を作成し, 縦・横同じ本数となる区画に区切り, その中の被害木の本数を数え, その平均値と分散を算出し, 分散/平均値を算出した。ランダムな分布はポアソン分布と適合し, ポアソン分布は分散/平均値が 1 となる特性があることから, 算出した値が 1 であるかどうかを統計的に検定することによりその分布状況がランダム分布かどうかを知ることができるが, 区画の数×分散/平均値を算出し, それを χ^2 検定することによってその判定ができる²⁾。有意確率が 5 % 以下であれば, ランダム分布であるという帰無仮説が棄却され, 集中分布と判定される。区画の大きさを 3×3 本, 5×5 本, 7×7 本とかえて有意確率を算出したところ, 図-6 のとおり, 被害率の増加に伴って有意確率が一定の傾向で変化することはなかったが, 7×7 本の区画で被害率が 38.2 % 以上のときにすべて 5 % 以下におさまった。このことから, 被害率がおおよそ 40 % 以上の林分では, 7×7 本の大きさの特定のいくつかの区画で被害木が集中しやすいことが示唆された。除間伐の際はどうしても被害木を対象にしがちだが, 40%以上の高被害率の林分でそのように行くと, 7×7 本の大きさで林冠が局部的に疎開されるおそれがあるものと思われた。

4) まとめ

早期に枯れ枝打ちも含めた枝打ちを行うことにより被害率を低く抑えられること, また直径成長の旺盛な林分ほど早期に行

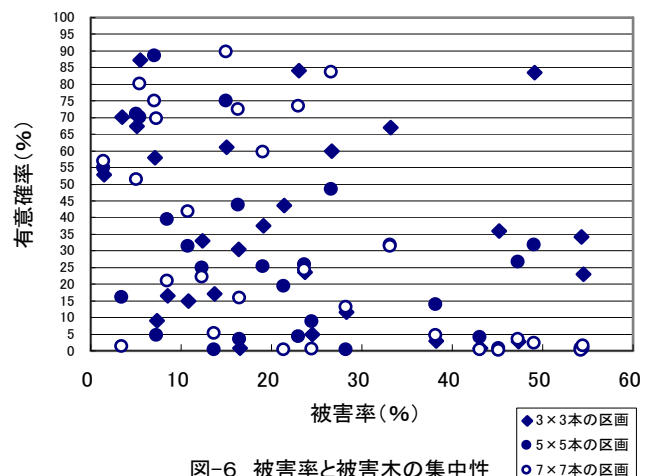


図-6 被害率と被害木の集中性

う必要のあること, 被害率がおおよそ 40 % 以上の被害林分において被害木をすべて伐倒すると林

冠を局部的に大きく疎開してしまうおそれがあることが示唆された。

4 おわりに

大きく 4 つの項目について調査検討を行った。「病原菌と発病との関係調査」と「被害とヒノキの系統との関係解析」、「施業による被害回避法の検討」のうちの生枝打ち試験については今後も継続して調査する必要がある。「被害と立地条件との関係解析」では、8 つの環境要因により被害率を判別し、被害率を予測できることがわかったが、より正しく予測するためには、解析に用いたデータを精査し、スコアを修正する必要がある。「施業による被害回避法の検討」のうちの「枝打ち実施林齢と被害率との関係についての検討」と「被害木の除間伐に関する考察」についての結論は、限られた地域の調査に基づくものであることを明記したい。

引用文献

- 1) 在原登志夫：ヒノキ漏脂病の発生誘因としての枯れ枝の巻き込み 森林防疫 VOL50 114-120 2001
- 2) 伊藤嘉昭：動物生態学入門 古今書院 394pp 1955
- 3) 唐澤悟：ヒノキ漏脂病被害回避の可能性-宮城県における検討- 森林防疫 VOL50 246-251 2001
- 4) 松野茂・尾山郁夫：ヒノキ漏脂病の被害実態と防除技術に関する調査 宮城県林業試験場業務報告 第 24 号 9-10 1991
- 5) 柳田範久^{ほか}：ヒノキ漏脂病の被害実態と防除技術に関する調査 福島県林業試験場研究報告第 26 号 99-119 1994

付表-1 ヒノキ漏脂病の被害調査結果

調査地	林齢 (年)	平均樹 高(m)	平均胸高 直径(cm)	被害率 (%)	枝打ち実施 林齢(年)	調査本数 (本)
大郷1	18	9.0	13.0	19.1	枝打ちなし	68
大郷2	22	11.0	17.2	45.2	12	146
大郷3	24	13.0	17.2	43.1	13	232
大郷4	25	9.0	12.8	5.1	13	198
大郷5	26	12.0	16.4	1.5	11	130
大郷6	27	13.0	16.2	8.5	12	153
大郷7	29	13.0	18.9	47.3	13	169
大郷8	29	14.0	19.9	54.5	14	134
大郷9	31	10.0	14.9	5.5	17	164
大郷10	34	13.0	21.7	16.5	12	103
大衡1	12	5.0	12.2	7.1	枝打ちなし	112
大衡2	15	8.0	12.9	24.5	13	98
大衡3	17	9.0	13.6	33.2	枝打ちなし	334
大衡4	22	12.0	14.5	26.7	12	116
大衡5	26	13.0	13.2	16.4	15	110
松島1	14	8.0	10.1	3.5	枝打ちなし	114
松島2	14	9.0	13.5	21.4	12	112
松島3	15	7.0	11.7	7.3	11	124
松島4	15	8.0	11.9	12.4	11	177
松島5	15	9.0	13.2	15.0	7	180
松島6	15	9.0	12.6	23.7	11	241
松島7	15	9.0	13.8	28.3	11	152
松島8	25	14.0	14.9	54.3	17	162

※調査地内の標準的な木を計測して平均樹高とした。

付表-2 数量化Ⅱ類により求めたスコア

環境要因	区分	スコア I	スコア II
最深積雪 (cm)	20～40	-0.490795	0.0475507
	50～90	0.7804378	-0.359478
	100～	2.4781426	1.1792287
最低気温 (℃)	-10～-12	0.1214319	-0.75306
	-13～-14	0.3228236	0.6245188
	-15～-16	-0.631902	0.5417965
	30～70	0.3526509	-0.30116
標高 (m)	80～170	-0.147556	0.3915182
	180～400	-0.506983	-0.177707
	～9	-1.124531	-0.727619
傾斜度 (°)	10～29	0.0666986	0.0366658
	30～45	0.5446354	0.3932026
	N	-0.565526	0.023828
	NE	-0.814205	0.6771599
方位	E	-0.884849	-1.57596
	SE	0.5863313	0.0037385
	S	0.6567336	-0.421789
	SW	-0.240519	-0.697016
	W	1.0377074	-0.311083
	NW	-0.631389	0.8761655
	～9	-0.233057	0.241977
土壌区分	褐色森林土	0.2381753	-2.080236
	赤褐色系褐色森林土	0.3303368	-0.238273
	黄褐色系褐色森林土	4.3895705	1.4530821
	黒色土	-2.562827	0.3690634
A層厚 (cm)	れき質未熟土	-0.354241	-0.186362
	～9	0.1435418	-0.150733
	10～29	-0.081981	0.5979081
土壌湿度	30～50	0.199597	-0.120703
	適	-0.618503	1.2312594
	湿	-0.074031	-0.935367
	潤	-0.365158	0.0005246
(相関比)	乾	(0.4752099)	(0.4339624)

マツ材線虫病による年越枯れ木の探索に関する研究

須藤 昭弘・田代 丈士※

1 はじめに

東北地方におけるマツ材線虫病の枯損パターンを特徴付けるものとして年越枯れがあり、枯死木に占める年越枯れ木の割合は 40～50%にも及ぶ^{1) 3) 8)}とされている。また、年越枯れ木にはマツノマダラカミキリ(以下、「マダラカミキリ」という。)の寄生も認められる^{2) 6)}ことから、これが新たな感染源となり得るため年越枯れ木の存在が徹底駆除を困難にしている要因のひとつと考えられる。さらに、枯死木の伐倒駆除を目的とした被害調査は通常 10 月と 1 月に行われ駆除は 2 月から 5 月にかけて実施される。年越枯れ木が外見上枯損木と認識される時期は 1 月から 7 月までに及び^{1) 3) 4)}、防除事業の現場においては駆除の実施時期から次の調査時期までの間に発見されるため、伐倒駆除の効果が疑問視される要因にもなっている。このため年越枯れ木の早期発見と早期駆除が求められており、後々年越枯れとなる感染木を被害調査時に特定する手法を確立することを目的として被害林分での調査を行なった。

なお、本研究は林野庁の林業普及情報活動システム化・特定情報調査として平成 10～12 年度に実施した「環境調和型森林病害制御技術の開発に関する調査」の一部及び平成 13 年度～15 年度に実施した「間伐等の施業による森林病害被害軽減・回避効果の評価に関する調査」の内容をとりまとめたものである。

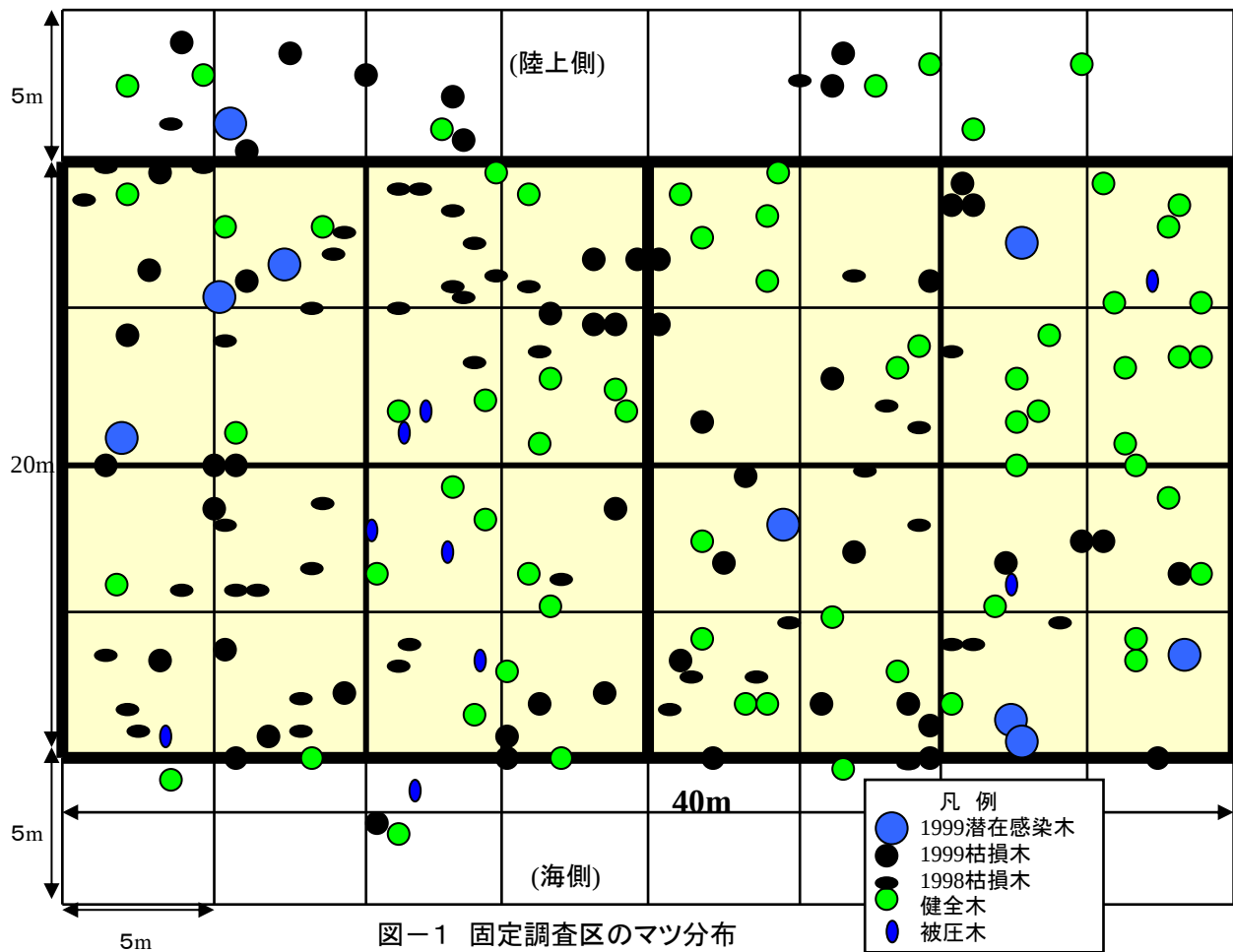
2 枯損木の分布と潜在感染木の枯損経過

1 調査の方法

1999 年 3 月に鳴瀬町の海岸林(クロマツ 65 年生)に、幅 30m×長さ 40mの方形の固定調査区を設置した(図-1)。調査区内の全てのマツ 188 本に番号札を貼り付けマツの位置図を作成の上、同年 8 月から 2 ヶ月に 1 回程度マツの外観を観察した。マツ個体の分布をみるため、調査区を図上で 5×5m, 10×10m, 20×20mの 3 種類の大きさで区画し、各区画におけるマツ個体数について χ^2 検定を行なった。区画する際に調査区の前各 5m 幅についてはニセアカシアがマツの成立本数に影響を与えていると認められたため除外した。

潜在感染木の枯損経過を把握するため、1999 年 11 月と 2000 年 2 月に外観健全木について小田の方法による樹脂滲出調査を行った。樹脂滲出異常木について胸高部から材片を採取してベールマン法によりマツノザイセンチュウ(以下、「材線虫」という。)の有無を確認し、枯損経過を観察した。

※ 産業経済部森林整備課



図－1 固定調査区のマツ分布

2 調査の結果

χ^2 検定の結果は表－1 のとおりである。

調査開始時の全個体はどの大きさの区画においても特定の区画に集中しているとはいえない。調査期間中の枯損木数の χ^2 値は調査開始時の全個体数の χ^2 値 よりも大きくなっており、枯損木は当初の全個体よりも集中する傾向にあると考えられる。調査終了時の生存木は 10×10m の区画において特定の区画に集中している(危険率 1% で有意)。

表－1 マツ個体数の χ^2 値

メッシュの大きさ	5×5	10×10	20×20
危険率(α)のときの χ^2 値	P(0.05) =44.65	P(0.05)=14.07 P(0.01)=18.48	P(0.05) =3.84
調査開始時の全立木数	20.69	3.81	0.52
調査期間中の枯損木数	34.37	11.83	3.38
調査終了時の生存木数	41.34	19.27	1.37

次に 1999 年 11 月に発生した樹脂滲出異常木の観察経過を表－2 に示す。材線虫が検出され、潜在感染木として確認された 5 本(No.16,53,155,165,73)のうち 3 本は年越枯れとなったが、1 本(No.53)は緑葉を保持したまま樹脂滲出も正常に回復した。残り 1 本(No.73)は一部枝枯れ状態を保持していた。

潜在感染木は 1999 年の年内枯れ木に隣接して発現し、さらに 2000 年 8 月にはその潜在感染木に隣接して新たな枯損木が発現した。

これらのことから今回の調査期間においては、枯損の拡散が年内枯れ木→年越枯れ木→年内枯れ木と進行していく過程で生存木が 100 m² の大きさで集中的に残っていく状況が示された。

2000 年 2 月の調査で新たに発生した樹脂異常木からは材線虫は検出されず枯死木も発生しなかった。

3 考察

調査結果を総合すると、潜在感染木を中心に感染が拡散している状況が疑われるが、秋に年内枯れ木の周辺木に対して樹脂滲出調査を行ない、樹脂滲出異常木について材線虫の有無を確認することにより潜在感染木を特定できる可能性が示唆された。

しかし、調査区内に被害木が予想外に多く発生し潜在感染木の周囲に多数の年内枯れ木が隣接する結果となった。このため、駆除

事業の被害調査時に樹脂滲出調査を基にして潜在感染木を特定する手順を想定すると、樹脂滲出調査の実施範囲を限定するため微害林分における年越枯れ木の発現状況を調査する必要性が生じた。

また、樹脂滲出異常木のうち秋・冬には材線虫が検出されないが翌春になって枯損しその時になって初めて検出された個体(No.32)がある。これは材片 10 g 当たりの材線虫検出頭数は年内枯れ木では数百～千頭前後であったのに対し、潜在感染木では 0～数頭であり材線虫の密度が低く検出率が低いことによるものと考えられた。このため、潜在感染木の特定手法としての材片採取部位・時期等を検討する必要性が生じた。

3 微害林分における年越枯れ木の発現

1 調査の方法

年内枯れ木※¹に近接して年越枯れ木※²が発現し被害が拡散する傾向が、年被害率が数%程度の微害林分で見られるかどうか確認するため、2001 年 2 月までに枯損木が伐倒駆除されたアカマツ林分 4 箇所に 2001 年 10 月に調査地を設けた(表-3)。2001 年 10 月から 2003 年 12 月までの間に 2 ヶ月に 1 回程度調査地内を踏査し枯損木の発現位置を記録した。年越枯れ木の発現が確認された都度、年越枯れ木から最寄りの年内枯れ木または前感染年度の年越枯れ木までの距離を測定した。調査地番号 3、4 は新たな枯損が発生しなかったため 2002 年 6 月で調査を打ち切った。

表-3 調査地の概要

番 号	調 査 地	面積(ha)	調査円数	調査本数	調査地における. 防除方法
1	仙台市宮城野区(県民の森)	4	4	65	定期伐倒駆除
2	松島町松島(双観山周辺)	3	1	22	定期・随時伐倒駆除+地上散布
3	大衡村大衡(昭和万葉の森)	4	3	67	定期・随時伐倒駆除+地上散布
4	大衡村大衡(林業試験場)	2	2	34	定期・随時伐倒駆除
計			10	188	

表-2 樹脂滲出異常木の観察経過

調査月 番号	1999.11	2000.2	2000.6	2000.8
No. 16	○, -, (+)	○, +, (0)	△, +, (0)	×, -, (4)
32	○, 0, (0)	○, 0, (0)	×, -, (4)	
53	○, -, (+)	○, +,	○, 0, (1)	○, +, (0)
155	○, 0, (+)	×, -,		
165	○, 0, (+)	▲, -, × (2000.3)		
117	○, -, (0)	○, -,	○, +,	○, +,
145	○, 0, (0)	○, 0, (0)	×, -, (0)	
157	○, 0, (0)	×, -,		
73	▲, -, (+)	△, -,	△, -, (10)	△, -, (5)

※記号の左は外観(○:健全, △:一部異常, ▲:針葉一部褐変, ×:枯損), 中央は樹脂の状態(0:停止, -:若干点出, +:若干粒出) 右は材線虫の有無(検出頭数/材片乾重 10 g), ただし(+)表示は検出を確認したのみで頭数をカウントせず)

※¹ 枯死木のうち感染・発病年内に葉の大部分が褐変するもの。

※² 枯死木のうち感染・発病年内は葉の大部分が緑葉を保持していて年を越してから褐変するもの。

2 調査の結果

調査地 1，2 における枯損木の発現位置図を図・2・1，図・2・2 に示す。調査地 1 では年越枯れ木→年内枯れ木→年越枯れ木と枯損が拡散する形が認められ経年により累積する枯損木群は集中的であった。調査地 2 では枯損木は林縁部に孤立的に発現する傾向がみられた。各感染年度における年越枯れ木に係る最寄りの年内枯れ木または前感染年度の年越枯れ木までの距離別累積本数割合を図・3・1，図・3・2 に示す。年越枯れ木のうち前感染年度の年越枯れ木または当年枯損木から 10m 以内に発生した割合をみると，調査地 1 では 2001 感染年度が 67%，2002 年感染年度は 74% であった。調査地 2 では 2001 感染年度が 57%，2002 感染年度は 17% であった。2001 感染年度は調査地間で大きな違いはなかったが，2002 感染年度は調査地 2 で年越枯れ木の 67% が 16m を超えた離れた場所に発現した。

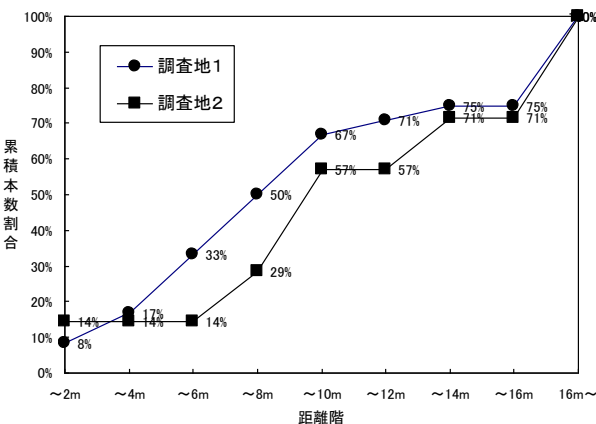


図-3-1 枯死木までの距離別累積本数割合(2001年度)

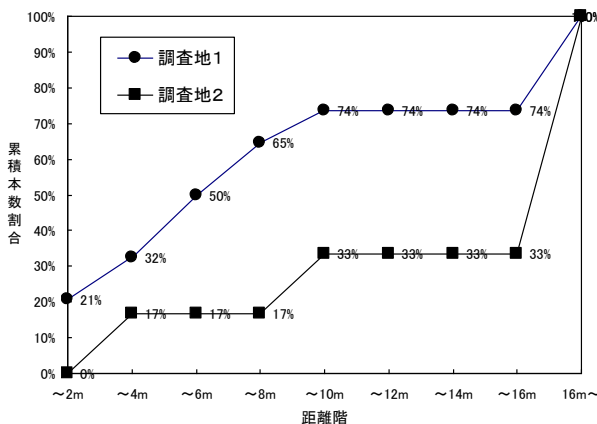


図-3-2 枯死木までの距離別累積本数割合(2002年度)

4 潜在感染木の特定手法の検討

1 2001 年度における検討(年内枯れ木を中心とした半径 10m の調査円による検討)

1) 調査の方法

4 箇所の調査地において，2001 年 11 月に年内枯れ木を中心とする半径 10m の円（以下，「調査円」という。）を設定した。調査円内の外観健全木について，2001 年 11 月と 2002 年 2 月に小田の方法による樹脂滲出調査を行い，樹脂異常木の高さ 1 m，3 m，7 m（または 5 m）の樹幹部から材片を採取し，乾燥を防ぐためチャック付きビニール袋に封入し 25℃ の恒温器内で 1 ヶ月間加温した後，バールマン法により線虫分離し材線虫の有無を確認した。また，高さ 7 m（または 5 m）までの範囲でマダラカミキリの材入孔の有無を確認した。

2) 調査の結果

調査結果は表－4 のとおりである。

2001 年 11 月の調査では全ての調査地・調査円に樹脂異常木が発生しその本数は 14 本であった。そのうち材線虫検出木は 2 本（調査地 1，該当調査円は 2

表－4 調査円内樹脂滲出等調査結果(2001 年度)

単位：本

調査時期	調査本数	樹脂異常木	材線虫検出木	マダラカミキリ寄生木	枯死木
2001. 11	188	14	2	0	1
2002. 2	188	16	0	0	0

つ) であった。材線虫検出木のうち 1 本は 2002 年 2 月に穿孔虫類の被害により枯損が確認されたもの

の 2 月いっぱいには緑葉を保持し、3 月になって針葉が褐変した。残りの 1 本は外観が健全な状態を維持し続けた。

材線虫が検出された 2 個体は全ての採取部位から検出された。年越枯れ木では材片の採取部位によって検出率に差があるという報告^{6) 7)}があるが、今回の調査では材片採取部位は胸高部だけでも足りる結果となった。樹脂滲出異常木の高さ 7 m までの範囲でマダラカミキリの寄生が認められた個体はなかった。また、2001 年 11 月に樹脂異常であっても 2002 年 2 月には正常に回復した個体もみられた。2002 年 2 月の調査では樹脂滲出異常木が 16 本発生したが材線虫検出木も枯死木も発生しなかった。

2 2002 年度における検討(年内枯れ木及び前年度の年越枯れ木を中心とした半径 16m の調査円による検討)

1) 調査の方法

調査地 1 において、2002 年 10 月に年内枯れ木を中心とする半径 16m の調査円を 2 つ、前感染年度の年越枯れ木を中心とする半径 16m の調査円を 2 つ設定した。調査円内の外観健全木について、小田の方法による樹脂滲出調査を行い、樹脂滲出異常木について胸高部から材片を採取し 2001 年度と同様の方法で材線虫の有無を確認した。

2) 調査の結果

調査結果は表-5 のと

調査円 番 号	中心木の 枯損区分	調査 本数	樹脂滲出異常木 (内樹皮褐変木)	単位: 本	
				左のうち 材線虫検出木	左のうち外観 枯損木(3 月)
1	年内枯れ	24	0(2)	—(2)	0(2)
2	年内枯れ	88	2(2)	0(2)	0(2)
3	年越枯れ	57	1(0)	0(—)	0(—)
4	年越枯れ	37	2(0)	0(—)	0(—)

おりである。3 つの調査円
で樹脂滲出異常木が発生
したがそのうち材線虫が
検出された個体はなく枯

損木も発生しなかった。

樹脂滲出調査の過程で、樹脂滲出異常木の他に、緑葉を保持していながら木部表面と内樹皮が褐色に変化しているマツが年内枯れ木を中心とする 2 つの調査円内に 2 本ずつ計 4 本見つかった。これらは形成層など生きている組織の乾燥や壊死が進み、それに引き続いて葉の萎れや変色などの病徴が進展する⁵⁾ 途上の事実上枯死したマツと考えられる。この 4 本から最寄りの年内枯れ木までの距離は 1.0, 4.6, 4.7, 7.5m であった。これらの個体全てから材線虫が検出され、いずれも 3 月中旬に針葉が褐変し年越枯れとなった。

3 考察

調査円内の外観健全木について小田の方法による樹脂滲出調査を行った結果多数の樹脂滲出異常木が発見されたが、それらを経過観察したところ、①数日後に観察すると調査孔から樹脂が滲み出しているもの、②数ヵ月後に再調査すると樹脂滲出が正常であるもの、③樹脂滲出が異常でも材線虫が検出できないもの、④材線虫が検出されても枯死に至らないものなど多様なパターンがあり、この方法により後々年越枯れ木となる潜在感染木を特定することは今回の調査からは難しいと考えられた。

しかし、調査の過程で得られた知見として、外観が健全な状態であっても木部表面と内樹皮の褐変を確認することにより枯死判定が可能と考えられた。また、この変色の程度について、胸高部から地際付近にかけて数箇所開孔して観察した結果、地際に近いほど褐変色が濃い状況が認められたことか

ら地際付近に開孔した方が判定の精度が高いと考えられる。また、これまでの調査では地際付近における 1 回の開孔により木部の褐変を確認できている。

5 年越枯れ木の探索手法

3, 4 の調査結果を総合し、半径 10m の調査円内における年越枯れ木の発現率として表 6 に整理した。また、冬調査を想定した補足調査として 2004 年 2 月に林業試験場内の試験林で実施した調査の結果を追記した。

調査地 1 では 2001, 2002 の 2 感染年度において、前感染年度の年越枯れ木及び年内枯れ木を対象とする調査円内に年越枯れ木の 71% が発現した(発現率①)。年内枯れ木だけを対象とした場合の発現率②は発現率①よりも低く、また、年によって大きく異なり、年内枯れ木率が低い年は発現率②も低かった。調査地 2 は調査地 1 に比べて発現率が低かった。2 つの調査地は、林分の大きさや実施されている防除方法の種類及び除間伐等の実施の有無から生じるマダラカミキリの林内密度の差などにより、感染源の影響を林内、林外のどちらからより大きく受けるかという点において相違していると考えられ、調査地 1 は林内から、調査地 2 は林外からの影響が大きいと推測された。

表 6 調査円内における年越枯れ木の発現率※

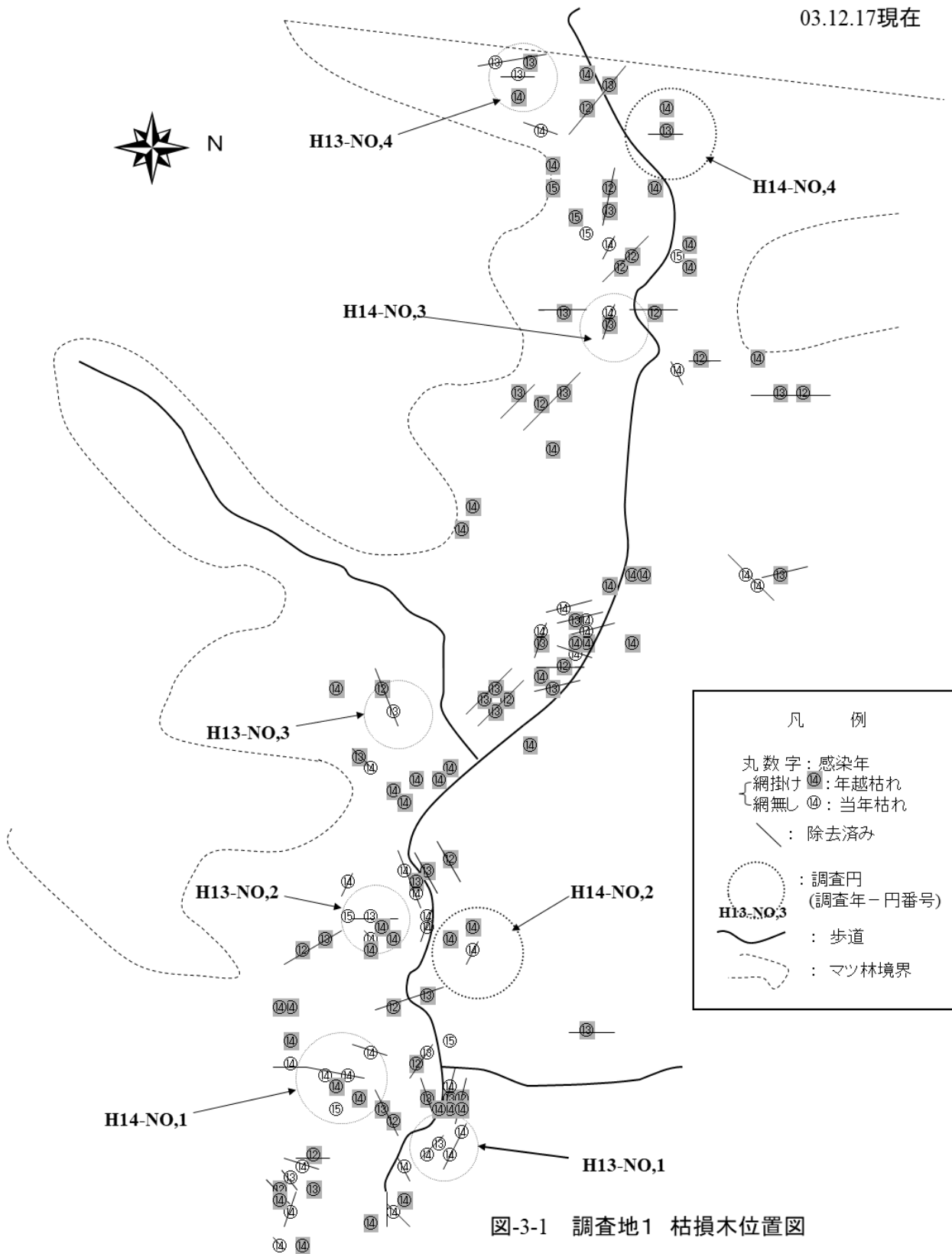
単位: 本

調査地	感染年度 (調査年 度)	前感染 年度の 年越枯 れ木(A)	年 内 枯 れ 木 (B)	年 越 枯 れ 木 (C)	Cのうち A・B に係る調査円 内に発現した 年越枯れ木 (D)	発現率 ① (D/C)	A・B 調査円 1 個当たりの年越 枯れ木の発現 数 (D/(A+B))	Cのうち B に係る調査 円内に発現 した年越枯 れ木(E)	発現率 ② (E/C)	B 調査円 1 個当たりの 年越枯れ木 の発現数 (E/B)	年越枯れ率 (C/(B+C))	年内枯れ木 率 B/(A+B)
調査地 1	H13	19	7	24	16	67%	0.62	2	8%	0.29	77%	27%
	H14	24	30	34	25	74%	0.46	19	56%	0.63	53%	56%
	計	43	37	58	41	71%	0.51	21	36%	0.57	61%	46%
調査地 2	H13	0	12	7	4	57%	0.33	3	43%	0.25	37%	100%
	H14	0	19	6	2	33%	0.11	2	33%	0.11	24%	100%
	計	0	31	13	6	46%	0.19	5	38%	0.16	30%	100%
林試 試験林	H15	0	4	2	2	100%	0.50	2	100%	0.50	33%	100%

※ 発現率: 全年越枯れ木のうち調査円に発現した年越枯れ木の割合

前感染年度の年越枯れ木と年内枯れ木の周辺に年越枯れ木が発現する現象は、性成熟後のマダラカミキリ成虫が罹病木とその周囲の健全木に集中する結果、罹病木周囲の健全木が新たに罹病するという仮説⁹⁾によって説明できると考えた。

年越枯れ木の多くは発病した年の 10 月の時点で木部表面と内樹皮が褐変していると仮定し、発現率①を年越枯れ木の把握率とみなせば、主な感染源が林内にあると考えられる林分においては、秋・冬の被害調査時に、前感染年度の年越枯れ木及び年内枯れ木を中心とする半径 10m の調査円内にある外観健全木について木部と内樹皮の褐変を確認することにより年越枯れ木の多くを把握できるものと考えられる。ただし、5 月に針葉が褐変するタイプの年越枯れ木については上記の方法で把握できていないので枯損経過を調査する必要がある。また、感染源の影響を林内、林外のどちらからより強く受けるかにより探索の精度が異なると考えられるので、林分間の感染移動を評価する手法について研究する必要がある。



03.9.12現在

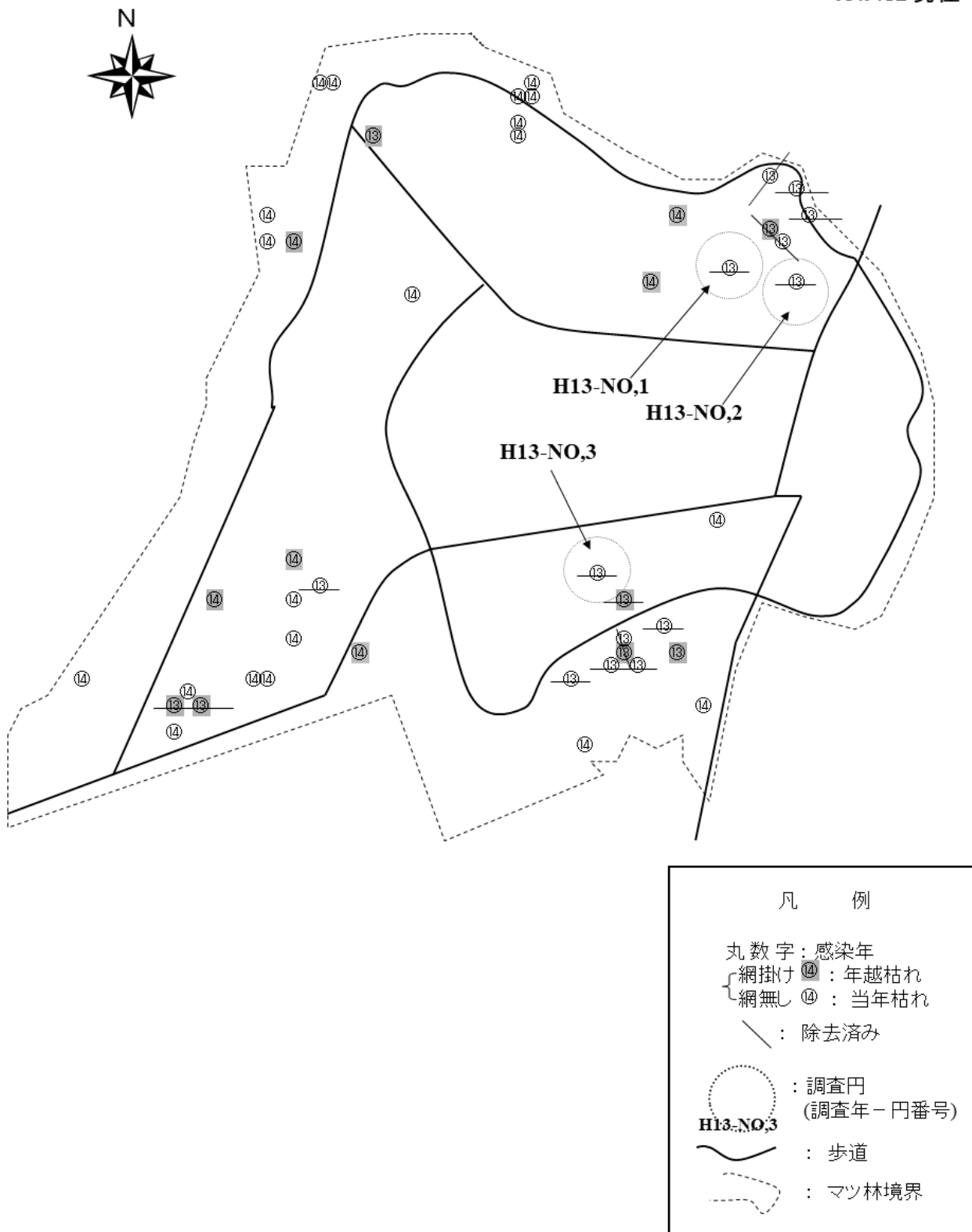


図-3-2 調査地2 枯損木位置図

引用文献

- 1) 在原登志男・齊藤勝男：福島県におけるマツの枯損動態に関する研究(Ⅰ)－マツの枯損時期とマツノザイセンチュウ検出率－ 95 回日林論 463～464 1984
- 2) 在原登志男・齊藤勝男：福島県におけるマツの枯損動態に関する研究(Ⅱ)－マツの枯損 時期とマツノマダラカミキリの寄生数－ 95 回日林論 465～466 1984
- 3) 早坂義雄・尾花健喜智・滝沢幸雄・庄司次男：宮城県石巻におけるマツ材線虫病の枯損動態(Ⅰ)－自然感染木の病徴発現時期と穿孔虫の寄生状況－ 日林東北支誌 33 166～168 1981
- 4) 早坂義雄・尾花健喜智・志水勝彦：宮城県石巻におけるマツ材線虫病の枯損動態(Ⅱ)－自然感染木の病徴発現時期と穿孔虫の寄生状況－ 日林東北支誌 33 166～168 1981
- 5) 黒田慶子：マツ樹幹内で起きていること－マツ材線虫病の発病機構と抵抗性に関する研究より－ 森林防疫 VOL. 52 No. 2 (No. 611) 4～11 2003
- 6) 作山健・佐藤平典：マツの材線虫病によって翌年に枯れた事例 日林東北支誌 32 206～207 1980
- 7) 作山健・神山安生・小林光憲・佐藤平典：寒冷地方におけるマツ材線虫病激害林の様相(Ⅱ)－マツノザイセンチュウの検出状況－ 日林東北支誌 36 212～168 1981
- 8) 作山健・千田寿光：岩手県における材線虫病によるマツの枯損時期－枯損木材片の線虫分離結果から－ 日林東北支誌 35 137～138 1983
- 9) 富樫一巳：マツノマダラカミキリの個体群動態とマツ材線虫病の伝播に関する研究 石川県林業試験場研究報告No. 20 1989

林 業 試 験 場 成 果 報 告
第15号

平成17年 3 月 発行

宮城県林業試験場

981-3602 宮城県黒川郡大衡村大衡字はぬ木14

電話 0 2 2 - 3 4 5 - 2 8 1 6

FAX. 0 2 2 - 3 4 5 - 5 3 7 7

E-mail stsc@pref.miyagi.lg.jp