

## 【解説】講座

## 林木育種の現場の ABC (16)

## 虫害抵抗性の検定

藤澤 義武<sup>\*,1</sup>

## はじめに

病虫害は造林者の深刻な悩みの一つであろう。樹病、特にマツ材線虫病の深刻さは言うに及ばないが、昆虫もときには深刻な被害をもたらす。造林樹種の大半を占める針葉樹は被子植物とは異なり、本来、昆虫との関係が希薄なので呼び寄せることはないが、逆に、加害に対する対応機能は十分ではないとも言える。昆虫との親和性について、興味深いデータがある。大阪市立大学理学部附属植物園内のトラッピング調査で、モミ・ツガ林の昆虫捕獲数は照葉樹林の68%、暖帯落葉樹の59%にとどまり、しかも、照葉樹林と暖帯落葉樹林とで種構成は相関係数で0.94と非常に似通っていたのに対して、モミ・ツガ林と照葉樹林とでは0.39、暖帯落葉樹とでは0.34と相似性が低かった。このように、我々が主として取り扱ってきた針葉樹は広葉樹と比べて昆虫との関係が疎遠であり、つきあい方も異なっている。針葉樹では昆虫との間に共生関係を持つことは皆無に近く、概ね寄生関係であると言っても良いだろう。とりわけ、コウチュウ目、ハチ目は樹幹内に成育場所を確保し、食害するものが多く、薬剤等による防除が難しい。そこで、林木育種による対応への期待も高まる場所であるが、成長などとは異なって解決すべき課題も多く、少なくとも次の条件を満たす必要がある。

第一に加害に抵抗する、あるいは回避している可能性のある個体が存在することである。第二に、対象となる昆虫の生活環、特に加害行動が明らかでなければならない。第三に抵抗性や感受性の程度を比較できる評価手法が存在すること、さらには抵抗性などが遺伝的に支配されていることは言うまでもない。しかしながら、抵抗性などを評価する手法の確立は成長・材質等に比べて難しい。昆虫は比較的複雑な行動様式をとり、

摂食においても嗜好性がある。さらには環境によって「摂食のモチベーション（静止状態から摂食行動に移行する確率）」が変化するので、加害行動の解明、ひいては抵抗性評価システムの開発が難しい。それでも、これまでにスギカミキリ、スギザイノタマバエ及びマツバナタマバエの被害に対する抵抗性育種が事業化され、抵抗性個体が得られている。これらにおける検定などの概要を紹介する。

## スギカミキリ抵抗性

## スギカミキリとは

スギカミキリ (*Samanotus japonica* Lacordaire) はコウチュウ目、カミキリ科に属するスギ、ヒノキなどの重要な穿孔性害虫の一つであり (図-1)、幼虫が内樹皮を食害することで被害を与える。特にヒノキでは、円周方向に食害することで致命傷となるのでより深刻である。本種の被害は古くから「ハチカミ」として知られていたものの、長く原因が知られることはなく、1950年代に本種による穿孔害が原因であることがわかり、その生活環や防除法の研究が進んだ (植月ら 1983)。



図-1 スギカミキリ

\* E-mail: yochan53@agri.kagoshima-u.ac.jp

<sup>1</sup> ふじさわよしたけ 鹿児島大学農学部

スギカミキリは成虫のまま樹幹中で越冬し、3月下旬から5月上旬にかけて脱出・交尾後、外樹皮の割れ目の深い位置に産卵する。孵化した幼虫は3 mm程度であり、外樹皮を内樹皮に向けて食害・穿孔する。幼虫は1週間程度で2齢となって体長は倍増する。傷害樹脂道がなければ比較的早く内樹皮に侵入することができるが、傷害樹脂道が面的な広がりを持って発生する場合は、内樹皮との境界を傷害樹脂道の切れ目を探すように水平に移動し、内樹皮へ潜り込む。その後は内樹皮を食害しつつ、孵化後3ヶ月間程度で5齢級の幼虫となり、体長4 cm程度となる。この状態にいたると心材部方向の下方に向け、10～15 cmほどの放物線状の穿孔を行って蛹室を形成する。9月になると前蛹態幼虫に変化、その後、脱皮して蛹となる(植木 2004)。こうした木部の食害による穿孔、変色、腐朽によって、外観的には大きな変化がなくとも材の価値が劣化する。これが本種による被害の深刻なところであり、単に被害を受けるだけでは無く、被害を認識できないために価値のない立木に継続して施業経費を投入してしまうことにある。

### 抵抗性の検定

生活環の研究によって、本種の幼虫は孵化後内樹皮の樹脂によって90%以上が死亡するということが明らかになり、抵抗性に樹脂浸出が大きな役割を果たすことがわかった(植月ら 1983)。スギは樹脂道を持たず、何らかの刺激によって傷害樹脂道を形成して樹脂を浸出させる。したがって、傷害樹脂道の形成能力が抵抗性のポイントの一つとなる。そこで、人工的に刺激を与えて傷害樹脂道を形成させたところ、系統によって差異があることがわかり、候補個体のスクリーニングに用いられている(植木 2004)。スギカミキリに対する抵抗性の検定作業を実施要領に示された流れにそって紹介する。

**候補木の選抜：**被害個体が80%以上を占める林分を激害林分とし、これらを対象として、無被害もしくはほとんど被害を受けておらず、成長が良好で樹幹形などの林業的形質に優れかつ他の病虫害のない個体を抵抗性の候補木として選抜する(植木 2004)。

**簡易検定による候補木のスクリーニング：**候補木の樹幹表面に接線方向に3 cm × 樹幹方向に5 cmの領域を設定し、領域の下部に並行に一定間隔で5箇所を千枚通しなどで木部に達する刺し傷を付ける。5日後、この領域を内樹皮から剥がし、グルタルアルデヒド等で固定・

保存する。この内樹皮の樹幹方向の下部から1 cm及び3 cmの部分で切断し、それぞれの木口断面を万能投影機などで検鏡し、傷害樹脂道の形成状況を観察・評価する。評価は内樹皮の外樹皮側から2層に重点をおき、複数層に多数の樹脂道が形成されるものを抵抗性候補個体としてクローンを養成する。

**一次検定：**候補クローンの樹幹径が、被害を受けるビール瓶の太さ(75 mm)以上になると一次検定に供する。一次検定は、十分な大きさと環境条件が考慮された網室内に供試個体を移植し、成虫を放虫して被害の発生の有無を判定する(植木 2004)。候補木は検定の前年に移植し、一年間養生したうえで供試する。植栽間隔は1 m以上空けるようにして密植を避ける。また、検定が複数年にわたる場合、抵抗性と感受性双方を毎年の共通クローンとして植栽し、これらによって毎年の結果を基準化し、抵抗性を評価する(図-2)。

接種源、すなわち放虫する成虫は羽化・脱出直後の新鮮なものを使用し、被害木から脱出直後に捕獲する。カミキリほいほいなどの粘着板の使用は避け、幹にコモなどを巻き付けその下に潜り込んだ成虫を捕獲する。動きはそれ程早くないので捕獲は難しくないが、コウ



図-2 検定網室と検定木の被害調査

チュウ目の特性として危機に直面すると地上に落下して草叢に隠れるので、それらの捕獲も忘れてはならない。カブトムシ、クワガタムシの捕獲を思い出すと良い。

放虫数は植栽した候補木と同数であり、その半分数の雄雌つがいを用意する。検定に供する個体はサイズがほぼ同一のものを選択するとともに、捕獲した成虫は放虫まで5°Cで保存して活性を維持する。サイズを同一にするのは産卵能力と個体サイズとの間に正の相関関係があるためであり、これによる偏りを避けるためである(植木 2004)。

成虫の寿命は脱出後 30 日程度とされているので、放虫後 1 ヶ月間程度網室は密閉しておく。その後は開放し、防虫網が取り外し式であれば網を取り外すなどして、検定木の健全性の維持に努める。被害は、産卵後、幼虫が侵入・成育し、蛹室を形成する 9 月以降に調査する。検定木を伐倒して樹幹を全て剥皮し、産卵の痕跡、辺材の食害の程度、蛹室の形成の有無と程度を評価する。実施要領では合格の要件として次の 2 点を考慮することとなっている。①産卵寄生が少なく、かつ辺材部の食害より深い深度に達する被害がないもの、②産卵がやや多くても、内樹皮での死亡率が高く、被害程度が軽微なもの。

**二次検定：**一次検定の合格クローンは二次検定で最終的な評価を行う。一次検定に同じく樹幹がビール瓶の太さまで育つと幼虫を接種する。方法を次に示す。

接種は、接種板と呼ばれる孵化 3 日以内の幼虫を入れた厚紙を樹幹に貼り付けて行う。接種板は厚さ 2.1 mm の厚紙を 2 枚重ねて貼り合わせたものを 2 cm × 3 cm の大きさに切断、さらに直径 5 mm の穴を 2 箇所あけたものであり、この穴の中に幼虫を各 1 頭ずつ入れて薄紙で閉じる(植木 2004)。幼虫は羽化・脱出直後に捕獲した成虫を濾紙を敷いたシャーレの中に活力のある個体を 1 つがいずつ入れる。シャーレの中で交尾・産卵を確認し、孵化した幼虫を先述の接種板に封入する。1 検定個体あたりの接種数は接種板 5 枚、すなわち、幼虫 10 頭であり、検定木の地上高 50 cm から 150 cm の範囲に概ね 50 cm 間隔で、2 枚、3 枚、2 枚、3 枚の組み合わせで、平滑面を選択して交互に貼り付ける。このとき、2 枚組み合わせでは対向面、すなわち、樹幹円周上の 180 度間隔で、3 枚組み合わせでは樹幹円周上を概ね 120 度間隔で貼り付けることになる。幼虫が樹皮に侵入するまでに強い雨にさらされ、接種板が濡れると幼虫が活力を失ったり、死んだりするので、天候の変化に十分配慮して接種日を決定する。抵抗性の評価は一次検定と同様である。

## スギザイノタマバエ抵抗性

### スギザイノタマバエ

スギザイノタマバエ (*Resseliella odai* Inouye) はハエ目、タマバエ科に属するスギを加害する穿孔性害虫である(図-3)。本種は内樹皮を食害し、皮紋を形成するが、ときに形成層に被害が及ぶことがあり、その場合は材部の変色や腐朽を発生し、価値を低下させる(図-4)。価値のない立木に施業を継続してしまう点において、スギカミキリと同じである。



図-3 スギザイノタマバエとその幼虫



図-4 内樹皮の皮紋(左)と材斑(右矢印)

本種は体が大きい雌でも 2.5 mm から 4 mm 程度の体長であり、体型もハエよりはカに似ている。飛翔能力は弱く、鬱閉した風のほとんどない林内で樹幹の周りを浮遊する程度であり、分布速度は年 8 km 程度とされる。九州では年 2 回発生し、第一世代の成虫は 6 月頃、第 2 世代の成虫は 8 月から 9 月に羽化し、直ちに交尾した後、外樹皮の裂け目などに産卵する。その後、4 ヶ月程度を経て孵化すると外樹皮に潜り、内樹皮に定着して消化液を分泌する。これによって内樹皮を摂取する。消化液の浸透した内樹皮は壊死し、褐色の皮紋を生じる。内樹皮が十分に厚いと被害はそこでとどまるが、そうでないと形成層に及び、材の変形、変色などの傷害を与え、材斑となる (藤本ら 1983)。本種が発見されたのは 1952 年で比較的新しいが、吉田ら (1981) はヤクスギ工芸品に 750 年前の材斑を見いだすとともに、本土では 1944 年より古い材斑を見いだせなかったこと、他の島嶼には被害が皆無であることなどから、本種は屋久島起源の侵入害虫であろうと推察している。個体数密度の低いヤクスギに寄生し、細々と生きながらえてきたが、本土で新天地を見いだすことができたわけである。

### 抵抗性の検定

生活環の研究とともに育種による対応の可能性が検討され、激害地でも皮紋数が極めて少ない個体やクローンが存在したことから、抵抗性育種は可能であると考えられた。抵抗性のメカニズムとして、産卵しにくい、孵化しにくい、幼虫が成育しにくいあるいは材斑が生じにくいことが考えられる。皮紋の最大深度は 1.6 mm 程度であり、それ以上に内樹皮が厚いと被害が形成層に及ばないこと、内樹皮厚は変異が大きく、しかも、遺伝的支配が強いことがわかっている。また、皮紋は直径が 1.1 cm の幼木でも形成されることも確認されており、これは幼齢木を用いた接種検定の可能性を示す (藤本ら 1983)。これらの成果をもとに事業が進められた。

**抵抗性候補木の選抜**：本被害は鬱閉後に発生するので、Ⅲ齢級以上で内樹皮 100 cm<sup>2</sup> あたりの皮紋数が 30 を越える激害木が 50% 以上を占める林分を対象林分とする。それらの林分において無被害もしくは被害が軽微な個体を中心に、5 本×5 本の標本集団を設定し、この中で内樹皮 400 cm<sup>2</sup> あたりの平均皮紋数が 120～200 では平均皮紋数の 1% 以下、200 以上では概ね平均の 1% 以下もしくは 10 個以下でかつ林業的形質に優れて他の病虫害がないものを候補個体とし、クローンを養成する (佐々木ら 2003)。

内樹皮の採取が可能な場合は胸高部位から内径 2 cm 程度の皮抜きポンチで打ち抜いて採取し、厚さ計で測定する。厚さ計はシート状の素材の厚みを測定するための器具である。色々なタイプのものが用意されているが、ダイアルシックネスゲージと呼ばれるアナログタイプのもので精度的には十分であり、これはクリップで紙を挟み込む感覚で効率的に測定できる。外樹皮を含めた樹皮厚は樹高方向に大きく変化するが、内樹皮厚は地上高 1 m 程度までの根張り部と梢端部を除いて大きな変化はない。ただし、局所的な変異を避けるため、樹幹の短径方向に 2 方向から採取し、ユニパックなどへ封入して乾燥を防ぐ。

**幼虫の強制接種による検定**：候補木のクローンが十分に成育すると簡易検定を実施する。これは、樹幹に幼虫を入れた簡易ゲージをとりつけて羽化・産卵させ、孵化した幼虫が形成した皮紋によって抵抗性を評価するものである。本ゲージは図-5 に示す形状をしており、内部に幼虫を含む接種源を入れ、孵化、産卵する空間を確保するようになっている (佐々木ら 2003)。

九州育種場 (旧九州林木育種場) で開発したゲージの構造を次に示す。羽化・産卵を可能にする空間を確保するために、20～30 mm メッシュ程度のネットで樹



図-5 検定用簡易ゲージと接種源の内樹皮と水苔

幹を取り巻く籠状の外枠を形成する。このとき、籠の内側には、後述する接種源を設置し、かつ羽化した成虫が飛翔して産卵できる空間を確保する。なお、網の材質は樹脂製、あるいは鋼材製の場合は樹脂被覆、あるいはステンレスなどのサビのでないものを使う。九州育種場ではトリカルネット（樹脂製で線を編むのではなく、連続押し出し形成でメッシュを作る。網目のピッチは2～35 mm程度の範囲でいくつか用意されており、目崩れせずに寸法安定性に優れている）を使用して良い結果を得ている。トリカルネットは園芸用、土木用資材として各種のメッシュサイズと幅、長さのものがホームセンター等で販売されている。この籠をスギザイノタマバエの拡散の防止と成育環境の確保を目的とした寒冷紗で覆う。この寒冷紗は籠の上下方向にも余裕を持った大きさとし、上下部分は絞り込んで樹幹に縛り付け、上下方向からのスギザイノタマバエの拡散やアリなどの捕食動物の侵入がないようにする。九州育種場では上下の取り付け部の樹幹の外皮を削って平滑にし、パッキンとしてペーパータオルを巻き付けるようにしている（佐々木ら 2003）。こうして籠を樹幹に取り付けたいうで、内部に接種源をセットし、検定を開始する（図-5）。

接種源には孵化寸前のⅢ齢の幼虫が生活する樹皮を採取して用いる。まずは、孵化時期に近い激害林分で激害木を選定し、伐倒・玉切りする。丸太の取り扱いを考慮し、胸高直径20 cm程度のものを選択すると良いが、この程度でも黒心で心材含水率の高い個体は2 m長の丸太で80 kg近くになることを考慮し、適当な長さに玉切りする。採取した丸太は、ただちに接種する場合を除き、元口を流水につけて乾燥を防ぐ。接種にあたって、それぞれの丸太から内樹皮を一部採取し、単位面積あたりの幼虫生息密度を調べ、ケージあたりの幼虫数が概ね100頭となるように面積を調整し、乾燥を防止するためのミズゴケと併せて接種源とする（図-5）。これを先述したケージに入れ、ケージの上下を閉じて検定を開始する。検定は羽化・産卵の時期に合わせて7月に開始し、翌年の3月から5月に、ケージの底部に成虫の死骸があること、すなわち、産卵したことを確認したうえで、設置部分の外樹皮を剥いで内樹皮を露出させ、面積あたりの皮紋数を計測する。

検定が複数年に及ぶ場合、共通クローンを3クローン以上含ませ、これによって各年の結果を基準化することができる。しかし、比較的検定の手間のかかる本手法では負担が大きくなるので、次に示す皮紋指数を用いて年度の変動を平均化して評価している。すなわち、最も被害の大きい年度の全平均値を基準とし、各年度

の全平均皮紋数をこれで除した値を年度毎の各クローンの平均値を乗じ、対数化した値を皮紋指数として評価した（佐々木ら 2003）。この方法では、年度ごとに供試するクローン集団によって偏りが生じる可能性があるが、これは供試クローン数を十分に大きくすることで小さくすることができる。

$$y = \log(x \times \text{ave. n} / \text{ave. max} + 1)$$

$y$  : 皮紋指数、 $x$  : クローンの皮紋数、 $\text{ave. n}$  : 各検定年度の平均皮紋数、 $\text{ave. max}$  : 最も被害の大きい年度の平均皮紋数

上記式で算出した皮紋指数をもとに標準偏差を計算し、次に示す評価指数のうち、4および5に相当するものを合格としている。

指数5 :  $-1.5 \sigma$  未満

指数4 :  $-1.5 \sigma \sim -0.5 \sigma$  未満

指数3 :  $-0.5 \sigma \sim 0.5 \sigma$  未満

指数2 :  $0.5 \sigma \sim 1.5 \sigma$  未満

指数1 :  $1.5 \sigma$  以上

## マツバノタマバエ抵抗性

### マツバノタマバエ

マツバノタマバエ (*Thecodiplosis japonica* Uchida et Inoue) はハエ目、タマバエ科に属するアカマツ、クロマツ、タイワンアカマツ、チョウセンゴヨウなどマツ属の重要な害虫であり、針葉基部に潜ってゴールを形成することによって加害する（図-6）。西日本において古くから被害が報告されていたが、1950年代には九州北



図-6 マツバノタマバエ被害木と針葉に寄生した幼虫（矢印の先）。森林総合研究所林木育種センター東北育種場提供。

部から中国、山陰地方で激害が見られ、60年代には被害発生区域は北上を続け、北海道に到達した。韓国では、古くから本種による被害が認められ、激害が続いているとの報告もある(寺田1992)。

本種の生活環については、多数の研究によってほぼ明らかになっている。まず、幼虫は地中の浅いところで越冬したのち、6~7月には地中で羽化して成虫となって地上へ出現する。これらの成虫はマツの針葉の基部に産卵し、その後、孵化した幼虫は直ちに針葉内に侵入し、ゴールを作って寄生し、晩秋から初冬にかけて地上へ落下し、地中に潜って越冬する。寄生された針葉は伸長成長が抑制されて短くなり、幼虫が地上へ脱出した後は落葉する。本種に寄生された個体は成長が抑制され、連年に被害を受けた場合は枯死することもある(寺田1992)。

### 抵抗性の検定

マツバノタマバエ抵抗性のスクリーニング法は開発されておらず、候補木の選抜と被害現地への植栽試験によって抵抗性を評価している。この種に対する抵抗性個体は、産卵されるものの虫えいは形成されず、幼虫が死亡することがわかっており、しかも、抵抗性は単一の優性遺伝子に支配されていることもわかっている(寺田1992)。また、抵抗性と連鎖したRAPIDマーカーも開発され、バイオテクノロジーを利用した育種研究の先駆けともなっている(Kondo et al. 2000)。

激害林分において、成長が良好で針葉の変色がなく無被害の個体を候補木として選抜。樹冠全体にわたって当年枝を8本ずつ採取、これらの枝からすべての2葉の内側を検鏡し、次に示す基準で被害を評価する(寺田1992)。

健全針葉：後述した症状がみとめられないもの  
傷痕針葉：針葉基部に侵入痕跡は認められるが、幼虫寄生のないもの

虫えい形成針葉：虫えいが形成され、幼虫が寄生しているもの

これらの観察結果から、以下の値を計算する。

産卵針葉数 = 傷痕針葉数 + 虫えい形成針葉数

産卵率 = (産卵針葉数 / 全針葉数) × 100

寄生率 = (虫えい形成針葉数 / 産卵針葉数) × 100

それらを計算した結果、感受性個体群は寄生率が100%もしくはこれに近いものが多いが、抵抗性個体群は産卵率、寄生率ともに低く、特に寄生率は0%もしくはこれに近いものが大半を占めた。

こうして得られた抵抗性個体と感受性個体の交配家

系を被害現地で検定した結果、マツバノタマバエ抵抗性が単一の優性遺伝子に支配されていることを示す結果を得た。

### まとめ

虫害抵抗性に対する林木育種的対応は、色々な面で困難な事項が多い。しかし、スギカミキリ、スギタマバエなどの穿孔性の害虫は薬剤による処理が難しいため、抵抗性品種の利用が唯一の有効な防除策とも言えよう。また、マツバノタマバエ抵抗性では、これが単一の優性遺伝子に支配されていることを明らかにし、交雑による抵抗性の付与やゲノム育種に道をひらく成果が得られている。ただし、単一遺伝子に支配された抵抗性は昆虫側の変化などによって感受性となってしまいう危険性があり、抵抗性に関しては圃場抵抗性と呼ばれる複数遺伝子によって抵抗性を得る方が抵抗性を長く維持できるとされる。今後とも抵抗性を維持していくためには色々な抵抗性のタイプを集める必要があるのかも知れない。

経済的及び環境保全からの制約から、森林では薬剤による虫害の防除が難しく、林木育種で対応できるのであれば効果は大きい。しかし、抵抗性品種を開発するのは容易ではないうえ、樹木に対してはるかに生活環の短い昆虫の変化に対応して長く抵抗性を維持していくことも求められる。このためには、他の手段と複合した総合防除法なども考慮していく必要がある。

### 引用文献

- Kondo T, Terada K, Hayashi E, Kuramoto N, Okamura M, Kawasaki H (2000) RAPID markers linked to gene for resistance to pine needle gall midge in Japanese black pine (*Pinus thunbergii*). *Theoretical and Applied Genetics* 100: 391–395
- 藤本吉幸・前田武彦・田島正啓・戸田忠雄・西村慶二・栗延 晋 (1983) スギザイノタマバエ抵抗性育種に関する研究. 林木育種センター研究報告 1: 109–123
- 佐々木峰子・岡村政則・藤澤義武・西村慶二 (2003) スギザイノタマバエ抵抗性育種事業実施経過. 林木育種センター研究報告 19: 1–12
- 寺田貴美雄 (1992) クロマツのマツバノタマバエ抵抗性育種に関する研究. 林木育種センター研究報告 10: 1–32

吉田成章・讃井孝義・国生定男 (1981) 九州周辺島嶼部におけるスギザイノタマバエの分布. 日本林学会九州支部研究論文集 34: 219-220  
植木忠二 (2004) 関西育種基本区におけるスギカミキリ抵抗性育種に関する研究. 林木育種センター研究

報告 20: 219-292  
植月允孝・丹藤修・植木忠二・綱田良夫 (1983) 関西育種基本区におけるスギカミキリ抵抗性育種に関する研究. 林木育種センター研究報告 1: 93-107