

【原著論文】

マツ材線虫病抵抗性クロマツのクローンとその後代実生家系の
接種試験による抵抗性の関係

遠藤 良太^{*,1}・小林 沙希²

Correlation relationship of resistance against pinewood nematode between clonal grafts
and progeny seedlings from pinewood nematode resistant individuals of Japanese
black pine (*Pinus thunbergii*)

Ryota Endo^{*,1} and Saki Kobayashi²

要旨：マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業で1985年に開発された抵抗性クロマツ11系統を用いて、1999年から2004年までの6年間、つぎ木によるクローン苗と採種園産の自然交配による実生家系苗にマツノザイセンチュウの接種試験を行った。先行研究では、クローン苗と家系苗の生存率の間に相関はなかったが、本研究の相関係数は0.840 ($P=0.001$) となり、両者の間の正の相関関係が認められた。クローン苗と家系苗の生存率は、接種年の花粉親構成比率の違いや気象条件の影響を受けるが、接種年数を増やして解析することで、接種年におけるこれらの影響が小さくなったことが考えられた。したがって、クローン苗の生存率から採種園産の自然交配による実生家系苗の生存率も推定できることが示唆された。

キーワード：クロマツ、生存率、つぎ木苗、実生苗、相関係数

Abstract: For 6 years from 1999 through 2004, we performed inoculation testing on 11 Japanese black pine pedigrees selected in a breeding project for their resistance to pinewood nematode. In the previous study, there was no correlation between the survival rates of the clonal grafts (trees in a seed orchard) and half-sib family seedlings produced in the seed orchard. However, in this study, the correlation coefficient was 0.840 ($P=0.001$). We were able to confirm that there was a strong positive correlation between the two. The pollen constitution ratio and the climatic conditions differed among inoculation years, and these differences influenced the survival rates of clonal grafts and family seedlings. We considered that these influences were reduced by increasing the number of inoculation years. Therefore, we suggest that the survival rates of half-sib family seedlings produced in the seed orchard might be estimated from the survival rates of the clonal grafts.

Key words: Japanese black pine (*Pinus thunbergii*), survival rate of pine wood nematode inoculation test, graft, seedling, correlation coefficient

* E-mail: r.endu@pref.chiba.lg.jp

¹ 千葉県農林総合研究センター森林研究所 Forestry Research Institute, Chiba Prefectural Agriculture and Forestry Research Center, 1887-1 Haniya, Sammu, Chiba 289-1223, Japan

² 千葉県南部林業所 Chiba Prefectural South Part Forest Office, 820 Hiroba, Kamogawa, Chiba 296-0044, Japan

2017年1月30日受付、2017年12月11日受理

はじめに

クロマツは海岸防災林の主要構成樹種のほか用材などにも利用される日本の主要樹種の一つである。しかし、マツ材線虫病に対する感受性が高く、感染すると枯死する可能性が高い。被害を防ぐための林木育種面からの対策として、マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業(以下、抵抗性育種事業)が和歌山県以西の14県と林木育種場(現 国立開発研究法人森林研究・整備機構 森林総合研究所林木育種センター)により1978年から実施され、抵抗性クロマツ16クローンが開発された(藤本ら1989)。2015年度現在、南は鹿児島県から北は宮城、秋田県までの26府県で154クローンが開発され、これらを用いて造成された抵抗性採種園は31府県に42カ所、16.16haとなっている(森林総合研究所林木育種センター2016)。

長い海岸線と海岸砂地を有する千葉県において、クロマツは海岸防災林造成に欠くことのできない樹種であり、その松くい虫被害対策は県の重要施策の一つである。そこで、西日本で1985年に開発された16クローンを導入して採種園を造成し、種子生産を行っている。その後、2010年に開発された千葉県由来の1クローンを採種園に導入し既存採種園を改良、さらに新規採種園造成も進めている。

一方、抵抗性採種園産実生苗を海岸に植栽した場合、12年生時点でも12%ほどの枯死が確認されており(遠藤ら2011)、採種園の改良や造成にあたり採種園産実生の抵抗性を向上させることが必要である。このためには、より抵抗性評価の高いクローンの導入が望ましいが、導入したクローンの後代実生家系の抵抗性を確認するためには、母樹が繁殖して種子が結実し、さらに確認用の苗木が確保できるまでに10年以上の時間を要する。したがって、クローンの抵抗性からその後代実生の抵抗性を推定できれば、この年月を短縮できる。このことを目的として、倉本ら(2014)は2003年に開発された抵抗性9クローンと候補9クローンを用いて、クローン苗の選抜時の評点(岡村ら2006)と抵抗性5クローンを花粉親とした人工交配家系苗及び自然交配家系苗の健全率との相関関係を調べた結果、クローン苗の評点と人工交配家系苗の健全率との間に有意な正の相関関係が認められたが、クローン苗の評点と自然交配家系苗の健全率との間には有意な相関関係は認められなかった。この理由として、自然交配家系では年次によって花粉親の構成比率が異なり、その組合せによって抵抗性が異なること(後藤ら2002;宮原ら2002;倉本ら

2004)が考えられるとしている。

倉本ら(2014)は自然交配家系の抵抗性評価を2~3年の接種試験の結果によったが、年数を増やすことで花粉親の構成比率の偏りの影響が低減できる可能性がある。また、接種年の気象条件は苗の生存率に影響する要因である(Hakamata et al. 2013)ため、クローンの評価についても複数年の結果を用いたほうがよいと考えられる。

そこで筆者らは、抵抗性育種事業により1985年に開発されたクローン苗とそれらによる採種園産の自然交配家系苗を用いて、同時に同一場所で6年間行った接種試験の生存率から、クローンと自然交配家系間の相関関係を検討した。

材料と方法

接種試験を行ったのは千葉県木更津市にある千葉県農林総合研究センター森林研究所上総試験園にある圃場で、材料は上総試験園内の抵抗性クロマツ採種園(1988年造成)から採取した穂のつぎ木クローン苗(以下、クローン苗)と採種園産自然交配種子による実生家系苗(以下、家系苗)である。クローン苗、家系苗ともに、1999~2004年の6年間の半分の3回以上の接種試験を行った11系統を解析の対象とした(表-1)。クローン苗は1年間、家系苗は2年間、上総試験園にある苗畑で育苗後、毎年3月下旬に園内の圃場に60cm×60cm間隔で両苗をコミとし、無作為に単木混交植栽し試験地を造成した。接種は造成した年の7月下旬に剥皮接種法により行った。用いたマツノザイセンチュウはアイソレートKa-4、接種量は1本当たり3,000頭とした。接種にあたり枯死に関係するといわれている降雨や土壌水分の影響(千吉良・戸田1995;戸田1997)を低減するため、接種前後の約3週間、試験地上部をビニールハウスに使用する無色透明の農業用塩化ビニール(厚さ0.075mm)で覆うとともに試験地周囲に溝を掘り、雨水の試験地への侵入を防いだ。接種した年の12月に試験苗の生死を判定したが、判定できなかった苗については苗畑で最大1年間経過観察後に判定し、系統ごとに生存率を算出した。試験に用いた各系統の本数は7~15本/年である。試験に用いたクローン苗は1年間、家系苗は2年間と育苗期間が異なったものとした。これは、生存率に抵抗性とは独立して相関するといわれている苗高(Hakamata et al. 2013)を概ね同じにするためである。そこで、クローン苗と家系苗の苗高に差があるかを確認するため、1999

表-1 抵抗性クロマツ 11 系統の各年の接種試験本数

増殖法	系統名	1999	2000	2001	2002	2003	2004
クローン苗	津屋崎 50	10	10	10	— *	—	—
	三崎 90	—	10	10	13	15	9
	大瀬戸 12	10	10	10	15	15	—
	波方 37	10	10	10	15	15	10
	波方 73	10	10	10	15	13	10
	大分 8	9	10	10	14	15	10
	吉田 2	10	10	10	—	—	—
	小浜 30	9	10	10	—	—	—
	土佐清水 63	10	9	10	—	—	10
	穎娃 425	—	8	10	15	15	10
	田辺 54	10	10	9	15	15	10
家系苗	津屋崎 50	—	10	—	13	10	10
	三崎 90	10	10	9	15	—	9
	大瀬戸 12	—	10	10	—	—	—
	波方 37	10	10	10	15	10	—
	波方 73	10	10	—	15	10	10
	大分 8	10	10	10	11	—	9
	吉田 2	—	10	10	12	—	9
	小浜 30	9	10	10	15	—	9
	土佐清水 63	—	10	10	14	—	10
	穎娃 425	10	10	7	12	—	—
田辺 54	9	10	—	13	10	10	

* 接種試験を行わなかった。

年の接種作業2週間後に苗高を測定した。クローン苗の苗高は、つぎ部位が地上から約 15 cm であったので、台木部分を 15 cm と仮定してそれを除いたもの(例えば、苗高 55 cm のクローン苗は 40 cm とした。)とした。クローン苗と家系苗ともに接種を行った5系統を用いて、系統と増殖法(つぎ木と実生)を要因とする二元配置の繰り返しのある分散分析を行い、クローン苗と家系苗の苗高の違いを検討した。なお、苗高測定の際、参考に接種部位の直径も測定した。苗高の差を検討するために行った分散分析は統計解析ソフト JMP ver.8 によった。

6年間の接種試験により得られたクローン苗と家系苗の生存率を用いてピアソンの相関係数を算出し、両者の相関関係を検討した。この際、各系統の生存率は6年間の平均値を用いたが、系統によっては試験を行わなかった年があったので、その値をアークサイン平方根変換した値を用いて分散分析プログラム LsAb02 (久保田 2010) により推定し算出した。相関係数もアークサイン平方根変換した値を用いた。なお、本報告に用いた家系苗の生存率のうち 2003 年までの結果は既に報告済みである(遠藤・中川 2005)。

結果と考察

1999 年の接種試験苗の苗高と接種部位直径を表-2 に示した。また、クローン苗と家系苗ともに試験した5系統の苗高を用いて、系統と増殖法(つぎ木か実生)を要因とする二元配置の繰り返しのある分散分析の結果を表-3 に示した。クローン苗は平均苗高 38.3 cm、平均接種部位直径 11.7 mm、家系苗は平均苗高 43.5 cm、平均接種部位直径 12.2 mm だった。苗高の分散分析から、系統間には 1% 水準で有意差が検出されたが、増殖法及び交互作用には有意差が検出されなかった。

次に、試験に用いた 11 系統の 1999 ~ 2004 年の各年の生存率と平均値を表-4 に示した。6年間の各系統の平均生存率はクローン苗では 10.2% ~ 34.6%、その平均は 20.8% だったのに対し、家系苗では 20.9% ~ 87.8%、その平均は 53.9% であり、クローン苗よりも高い値であった。クローン苗と家系苗の相関係数は 0.840 ($P = 0.001$)、0.1% 水準で有意な正の相関関係が認められた。したがって、接種試験によるクローン苗の生存率と採種園産自然交配実生家系苗の生存率の間にも正の相関関係があることが確認され、クローン苗の生存率から採種園産の自然交配による実生家系苗の生存率も推定できることが示唆された。

表-2 1999年に接種試験を行った抵抗性クロマツ 11 系統の苗木の接種作業 2 週間後の苗高 *1 と接種部位の直径 *1

系統名	クローン苗 (つぎ木)		家系苗 (実生)	
	苗高 *2 (cm)	直径 *3 (mm)	苗高 (cm)	直径 (mm)
津屋崎 50	33.2	13.1	— *4	—
三崎 90	—	—	42.7	11.2
大瀬戸 12	42.4	11.2	—	—
波方 37	43.0	11.3	43.1	11.4
波方 73	38.2	12.4	42.5	11.3
大分 8	38.9	10.4	41.2	11.1
吉田 2	42.3	11.0	—	—
小浜 30	48.7	12.3	51.3	13.0
土佐清水 63	35.1	12.2	—	—
穎娃 425	—	—	43.3	13.8
田辺 54	22.7	11.4	40.2	13.7
平均 *5	38.3	11.7	43.5	12.2

*1 各系統の苗高および直径は平均値。

*2 つぎ木苗の苗高は台木部分 (15cm と仮定) を除いた高さ。

*3 接種部位の直径。

*4 接種試験を行わなかった。

*5 平均は系統ごとの平均値を平均した値。

表-3 抵抗性クロマツ 5 系統の苗高 *1 の系統と増殖法 *2 を要因とした繰り返しのある二元配置分散分析表

要因	自由度	平方和	平均平方	F 値
系統	4	1461.37	365.34	6.624 **
増殖法	1	135.58	135.58	2.458
系統×増殖法	4	44.91	11.23	0.204
誤差	86	4743.14	55.15	
全体	95	6388.74		

*1 つぎ木苗の苗高は台木部分 (15cm と仮定) を除いた高さ。

*2 増殖法はつぎ木と実生。

** 1% 水準で有意。

表-4 抵抗性クロマツ 11 系統の接種試験における生存率

増殖法	系統名	1999	2000	2001	2002	2003	2004	平均 1*1	平均 2
クローン苗	津屋崎 50	20.0	20.0	40.0	— *2	—	—	34.6	0.629
	三崎 90	—	20.0	20.0	15.4	26.7	77.8	30.7	0.587
	大瀬戸 12	60.0	10.0	20.0	13.3	6.7	—	26.1	0.509
	波方 37	20.0	10.0	30.0	13.3	13.3	80.0	24.4	0.536
	波方 73	20.0	20.0	10.0	20.0	23.1	60.0	23.8	0.517
	大分 8	11.1	30.0	20.0	0.0	26.7	60.0	20.4	0.469
	吉田 2	10.0	20.0	10.0	—	—	—	19.7	0.460
	小浜 30	11.1	0.0	20.0	—	—	—	15.3	0.359
	土佐清水 63	0.0	0.0	20.0	—	—	80.0	12.3	0.401
	穎娃 425	—	25.0	0.0	6.7	6.7	40.0	11.3	0.343
	田辺 54	10.0	0.0	0.0	6.7	13.3	70.0	10.2	0.325
平均		18.0	14.1	17.3	10.8	16.6	66.8	20.8	
家系苗	津屋崎 50	—	60.0	—	69.2	100.0	100.0	87.8	1.213
	三崎 90	80.0	50.0	55.6	80.0	—	66.7	68.3	0.973
	大瀬戸 12	—	20.0	50.0	—	—	—	46.7	0.752
	波方 37	60.0	40.0	20.0	73.3	80.0	—	59.6	0.882
	波方 73	50.0	60.0	—	46.2	100.0	70.0	67.9	0.968
	大分 8	50.0	70.0	20.0	54.5	—	77.8	55.8	0.844
	吉田 2	—	0.0	50.0	75.0	—	77.8	45.5	0.740
	小浜 30	44.4	30.0	20.0	73.3	—	44.4	43.4	0.719
	土佐清水 63	—	50.0	20.0	78.6	—	90.0	62.3	0.909
	穎娃 425	20.0	10.0	14.3	16.7	—	—	20.9	0.475
	田辺 54	55.6	20.0	—	7.7	80.0	30.0	34.4	0.627
平均		51.4	37.3	31.2	57.5	90.0	69.6	53.9	

*1 平均 1 はアークサイン平方根変換した値で欠測値を最小二乗法で補正し算出した値を再度生存率に変換したものの。

*2 接種試験を行わなかった。

倉本ら (2014) は、1回のクローン苗の接種試験の評点と2～3回の自然交配家系苗の接種試験の健全率には有意な相関関係が認められなかったが、本報告では、両者に正の相関関係が認められた。有意な相関関係が認められた原因として倉本ら (2014) が指摘した花粉親の構成比率の偏りの影響が6年間の試験結果を用いたことで減じ、正の相関関係が認められたと考えられる。さらに、接種は苗の生存率に影響を及ぼす (Hakamata et al. 2013) ことから、クローンの評価についても6年間の結果を用いたことでこれらの影響を少なくすることができたのではないかと考えられる。

また、1999年の単年の結果であるが、クローン苗と家系苗の苗高 (クローン部分の高さ) に統計的に有意な差はなく、クローン苗と家系苗で育苗期間は異なっていたが、両者の生存率を比べるにあたり苗高の影響は生じていなかったと判断できた。

なお、本研究に用いたすべての系統においてクローン苗の生存率は家系苗の生存率よりも低い値であった。この一因として、本試験のクローン苗の増殖方法であるつぎ木ではつぎ木不親和の影響が考えられる。しかし、本研究の場合、明らかな外見的異常は観察されず、この理由の解明は今後の課題である。

謝 辞

本報告は長期間にわたる試験によるものであり、その間の多くの千葉県農林総合研究センター森林研究所職員にお手伝いいただいた。ここに感謝の意を表す。

引用文献

千吉良 治・戸田忠雄 (1995) マツノザイセンチュウ抵抗性家系の土壌乾燥時の特性とマツノザイセンチュウ抵抗性の関係. 日本林学会九州支部研究論文集 48: 51-52
遠藤良太・中川茂子 (2005) マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業で選抜された抵抗性マツ採種園産実生家系の千葉県における評価. 林木の育種 215: 7-10
遠藤良太・小林沙希・福原一成・松浦孝憲 (2011) 千

葉県における抵抗性マツ実生家系の現地適応性と自然感染下のマツ材線虫病抵抗性. 林木の育種 241: 12-18

藤本幸吉・戸田忠雄・西村慶二・山手廣太・冬野 劭 (1989) マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業—技術開発と事業実施 10 か年の成果—. 林木育種センター研究報告 7: 1-84

後藤 晋・宮原文彦・井出雄二 (2002) クロマツ種苗のマツ材線虫病抵抗性に関する花粉親の寄与. 日本林学会誌 84: 45-49

Hakamata T, Kato K, Yamamoto S (2013) Correlation of seedling size and branch number with disease resistance of *Pinus thunbergii* seedlings to *Bursaphelenchus xylophilus*. Forest Pathology 43: 238-244

久保田正裕 (2010) 林木育種のための統計解析 (16) —検定林データの分散分析プログラム—. 林木の育種 236: 54-56

倉本哲嗣・佐々木峰子・岡村政則・平岡裕一郎・柏木 学・井上祐二郎・藤澤義武 (2004) 花粉親が異なる田辺ク -54 自然交配家系におけるマツ材線虫病進展経過の比較. 九州森林研究 57: 228-229

倉本哲嗣・松永孝治・大平峰子・岡村政則・藤澤義武 (2014) マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ開発時の抵抗性評価とその実生後代における抵抗性評価の相関. 九州森林研究 67: 59-61

宮原文彦・森 康浩・落合年史・三樹陽一郎・小山孝雄 (2002) 九州各地の抵抗性クロマツ採種園から得られた「田辺ク -54 号」家系苗の花粉親とマツノザイセンチュウ抵抗性の関係. 日本林学会学術講演集 113: 639

岡村政則・倉本哲嗣・佐々木峰子・平岡裕一郎・藤澤義武・戸田忠雄 (2006) クロマツ実生家系からのマツノザイセンチュウ抵抗性個体の選抜. 林木育種センター研究報告 22: 35-50

森林総合研究所林木育種センター (2016) 平成 27 年度版林木育種の実施状況及び統計. 森林総合研究所林木育種センター, 日立

戸田忠雄 (1997) マツノザイセンチュウ抵抗性マツの育成. 全国森林病虫獣害防除協会編, 松くい虫 (マツ材線虫病) —沿革と最近の研究—, 168-274. 全国森林病虫獣害防除協会, 東京