

速報

マツノザイセンチュウの接種頭数が抵抗性クロマツ自然交配3家系の枯損に及ぼす影響*¹松永孝治*² · 真崎修一*³ · 大平峰子*² · 倉本哲嗣*²

キーワード：クロマツ，抵抗性，マツノザイセンチュウ，用量反応

I. はじめに

クロマツ (*Pinus thunbergii*) は古くから日本人に愛され、白砂青松という言葉に表されるように日本の代表的な景観を担ってきた。しかしながら、20世紀初頭にマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) (以下線虫) が日本に侵入して以降、温暖な低海拔地を中心にマツ材線虫病が蔓延し、やがて高緯度高標高地へと被害が拡大した。平成16年度～18年度には年間約60～70万㎡のアカマツとクロマツが枯れている (林野庁, 2008)。

これまでに材線虫病への対策の1つとして、林木育種センターは西日本の各県と協力して、マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業を進めてきた結果、クロマツについては16個体の抵抗性品種を選抜した (藤本ら, 1989)。

これらの抵抗性クロマツで各県に採種園が造成され、そこから得た種子で抵抗性マツが生産されている。この抵抗性マツ自然交配の実生苗は花粉親の違い、抵抗性に関する遺伝子の分離により抵抗性にばらつきが生じることが知られている。そのため、九州地方では抵抗性品種の自然交配家系実生苗に線虫の島原個体群 (以下、島原) 5,000頭を人工接種して生き残ったもののみを出荷・植栽する体制が整っている。しかしながら、これらの苗木がより多くの線虫の感染を受けた場合に抵抗性を発揮するかどうかはほとんど明らかになっていない。抵抗性マツを用いて健全なマツ林を復活させるためには、これらの苗がどの程度まで線虫の感染に耐えられるか把握しておく必要がある。

そこで、抵抗性クロマツ自然交配家系の線虫の感染頭数に対する抵抗性の分布を明らかにするために、抵抗性クロマツ自然交配3家系の2年生実生苗に濃度の異なる線虫懸濁液を接種して、その後の発病と枯死を調査したので報告する。

II. 材料と方法

マツ：抵抗性クロマツ品種の自然交配3家系 (三豊ク-103 (以下、三豊)、吉田ク-2 (以下、吉田) および志摩ク-64 (以下、志摩)) の種子を2007年3月にまき付けた。2008年3月にこれら

の苗を各家系について27～36本の苗木からなる7つのグループに分けて床替えした。これらの家系の中で今回の志摩の苗は例年よりかなり小さかった。これは今回の苗の採種木と播種床が例年と異なったことによるかもしれない。そのため、今回の実験において志摩の値は参考程度とし、詳細な解析には用いなかった。

線虫：アイソレイト島原をペトリ皿中のオオムギ上に増殖した *Botrytis cinerea* 上で1～2週間程度培養した。これらの線虫をバールマン法によって培地から分離し、50 μlあたり625, 1250, 2500, 5000, 10000, 20000, 40000頭の7段階の濃度に調整した。

接種：2008年8月4日、各苗木の地際部にナイフで長さ3～5 cmの木部に達する傷をつけ、のこぎりで切断面にかき傷をつけ、マイクロピッシャーを用いて各濃度の線虫懸濁液50 μlを接種した。

調査：線虫接種後、20, 40, 60日目に枯損した苗数を調査した。ここでは全針葉が変色した個体を枯死とした。

解析：各家系について接種60日後の接種頭数ごとの枯死率を用いて、以下のモデルに従ってロジスティック回帰分析を行った。

$$\text{Log}(P(d)/(1 - P(d))) = \text{Logit}P(d) = \beta * \text{Log}(d) + \alpha$$

ここで $P(d)$ は接種頭数 d における枯死率、 β は対数化した接種頭数の係数そして α は切片を示す。得られた回帰式の適合度は Hosmer and Lemeshow の検定で評価した。また Wald 検定を用いて係数 β の有意性を検定した。次に各家系について50%致死接種頭数 (濃度) (LD₅₀) を推定し、その標準誤差をデルタ法で算出し (Bishop et al., 1975)、95%信頼区間を近似的に求めた。

III. 結果と考察

3家系全体の接種60日後における平均枯死率は625頭接種で42%、以降接種頭数が増えると58, 53, 61, 56, 87, 86%となった。三豊と吉田において接種頭数が多いほど枯死率が高くなる傾向があった (図-1)。多くの線虫を接種した場合、20日までに多数の苗が枯死する傾向があり、少数の線虫を接種した場合は相対的にゆっくりと苗が枯死する傾向があった。志摩は三豊や吉田に比べて枯死率が高く、島原を5000頭接種した場合の枯死率は、

*¹ Matsunaga, K., Masaki, S., Ohira, M. and Kuramoto, N.: Dose-response relationships between the inoculated *Bursaphelenchus xylophilus* and the mortality of three open pollinated families of pine wilt disease resistant clones of *Pinus thunbergii*.

*² 森林総合研究所林木育種センター九州育種場 Kyushu Regional Breed. Office, Forest Tree Breed. Center, For. & Forest Prod. Res. Inst., Koshi, Kumamoto 861-1102

*³ 佐賀県林業試験場 Saga Pref. Forest Exp. Stn., Saga 840-0212

表-1. マツノザイセンチュウを接種した抵抗性クロマツ自然交配家系の枯死率についてのロジスティック回帰分析の結果

家系	$\beta \pm SE$	$a \pm SE$	適合度*1		有意性*2		LD50*3	オッズ比*4
			χ^2	P値	χ^2	P値		
三豊	1.56±0.26	-5.34±0.94	11.05	0.051	36.88	<0.001	2587 (1677-3992)	4.8 (2.9-7.9)
吉田	1.15±0.24	-4.15±0.90	24.12	<0.001	22.83	<0.001	4054 (2335-7037)	3.2 (2.0-5.1)

*1 回帰式の適合度について Hosmer and Lemeshow 検定を行った。*2 係数 β の有意性について Wald 検定を行った。

*3 () はデルタ法に基づいて算出した95%信頼区間を示す。*4 () は Wald 検定に基づいて算出した95%信頼区間を示す。

例年九州育種場で得られている枯死率より著しく高かった。その原因として、今回の志摩の苗のサイズが例年より小さかったことが考えられたため、今回は詳細な解析に用いなかった。

ロジスティック回帰分析の結果、三豊と吉田でそれぞれ $LogitP(d) = 1.56 * \log(d) - 5.34$ と $LogitP(d) = 1.15 * \log(d) - 4.15$ の回帰式が得られた。Hosmer and Lemeshow 検定の結果、三豊の回帰式は実測値に適合していたが、吉田の回帰式は適合がよくないと判断された(表-1)。Wald 検定の結果、三豊と吉田はどちらにおいても係数 β が有意に0より大きかった。LD50は三豊で2587(範囲1677-3992)頭、吉田で4054(2335-7037)頭となった。オッズ比は三豊で4.8、吉田で3.2となった。ここでオッズ比は対数化した接種頭数 ($\log(d)$) が1増加した場合の発症オッズの増加を示す。つまり、線虫頭数が10倍になったときに発症オッズ $P(d)/(1-P(d))$ が何倍になるかを示す。今回の結果は三豊が吉田より接種線虫数の増加に対する感受性が高い傾向を持つことを示した。

九州地域において生産・出荷されている抵抗性クロマツには5000頭の鳥原が接種されている。これは、気温、降水量などの環境要因によって変動はするものの、抵抗性クロマツの出荷苗は鳥原5000頭接種に値する線虫の病原力に対して抵抗性を有することを示す。一方、野外の線虫が、その病原力と感染頭数、そしてその年における環境要因の組み合わせにより鳥原5000頭以上の病原力を生じた場合、抵抗性マツであっても枯損が生じる可能性を示唆している。この場合は抵抗性マツ林であっても、伐倒駆除や空中散布などの防除を行う必要があると思われる。

本研究の結果から、今回用いた手法によって得られる回帰式から抵抗性クロマツ苗の線虫の感染頭数に対する生存率の変化が記載できると考えられた。今回の結果は苗畑における1.5年生苗の抵抗性について得られたものである。この結果を野外に植栽された抵抗性マツの林分に拡張するためには、抵抗性に関する幼齢木と成木の関係を明らかにしていく必要がある。また、今回は増殖

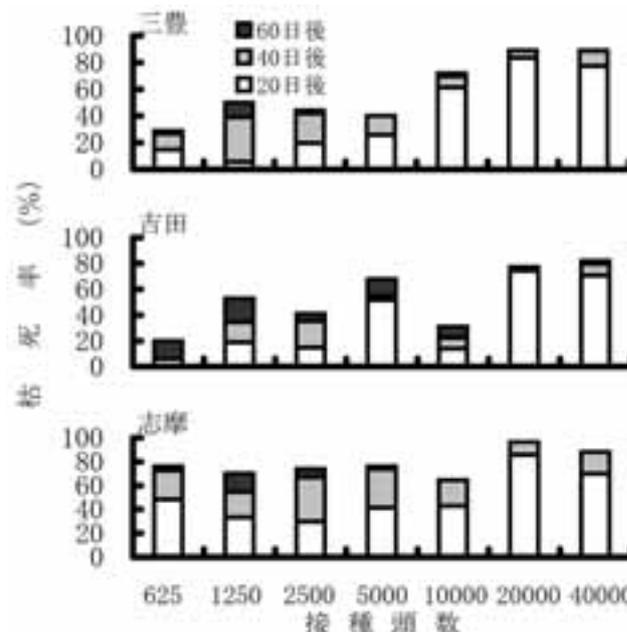


図-1. 濃度の異なるマツノザイセンチュウを接種した抵抗性クロマツ3家系の枯死率

した鳥原を接種に用いたため、線虫の発育段階やアイソレイトの違いが及ぼす影響についても検討する必要があるだろう。

引用文献

- Bishop, Y. M. M. et al. (1975) Discrete multivariate analysis: Theory and Practice. 557pp, MIT Press, Cambridge.
 藤本吉幸ほか (1989) 林育研報 7: 1-84.
 林野庁 (2008) 平成20年度版森林・林業白書, 244pp, 日本林業協会, 東京.

(2008年12月6日受付; 2009年1月28日受理)