

速報

1-3年生のクロマツさし木苗におけるマツノザイセンチュウ抵抗性の苗齢間相関*1

松永孝治*2・大平峰子*3・栗田 学*2・武津英太郎*2・倉原雄二*2・千吉良治*4・倉本哲嗣*2

松永孝治・大平峰子・栗田学・武津英太郎・倉原雄二・千吉良治・倉本哲嗣：1-3年生のクロマツさし木苗におけるマツノザイセンチュウ抵抗性の苗齢間相関 九州森林研究 69：131-133, 2016 クロマツさし木苗のマツノザイセンチュウに対する抵抗性発現の安定性を確認するために、1-3年生のクロマツさし木苗に線虫接種を行い、生存率を比較した。2・3年生の苗は1年生の苗より生存率が有意に高く、また精英樹由来のクローンは抵抗性由来のクローンより生存率が有意に低かった。苗齢間における各クローンの生存率の順位相関係数は0.43~0.82となり、健全率についての順位相関係数は0.63~0.95であった。この結果はクロマツさし木苗のマツ材線虫病抵抗性のクローン間順位が若齢期において比較的安定していることを示唆する。

キーワード：クロマツ、さし木、マツノザイセンチュウ、抵抗性、育種

I. はじめに

クロマツは日本の海岸林を構成する主要な樹種であり、防潮・防砂等の公益的な機能や津波に対する減災機能を発揮すると考えられている。しかしながら、日本のクロマツ林は北海道を除く全国で現在もマツ材線虫病による深刻な被害を受け続けている。国立研究開発法人森林総合研究所林木育種センターはマツ材線虫病対策の一環として、マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業を関係機関と連携して実施しており（藤本ほか, 1989）、平成26年3月までに144の抵抗性クロマツ品種を開発している（独立行政法人森林総合研究所林木育種センター, 2014）。クロマツは他殖性であり、また発根性が悪いとされていることから、造林用の苗は主として抵抗性品種を植栽した抵抗性採種園由来の種子を用いて生産されている。一方で、さし木は選抜した個体と同一の遺伝子型を持つ苗を増殖できることから、安定した抵抗性を持つ種苗の生産を目指して、抵抗性クロマツのさし木による種苗生産の取り組みが行われている（大平ほか, 2010）。

これまで、クロマツのさし木については、発根性等の増殖に関する研究が多く報告されているが（例えば、石川・草下, 1959；石松, 1998等）、その抵抗性についての報告はそれほど多くない。宮崎・石松（2002）は、抵抗性クロマツ品種の自然受粉した実生後代をさし木増殖した後、線虫を接種して、クロマツさし木苗の抵抗性は家系間および家系内に大きな変異があることを示した。また、森ほか（2006）は抵抗性クロマツ品種の後代家系についてさしつけから、27-29ヶ月生のさし木苗に3年間にわたり線虫を接種して、クローンの健全率に高い年次間相関（ $r = 0.61-0.76$ ）を認めている。しかしながら、その材料は抵抗性クロマツの1品種の後代のみ由来するため、さし木苗における抵抗性

の安定性を検証するには、抵抗性の変異が十分ではなかった。

ここでは、多様な遺伝的背景を持つ抵抗性の異なるクロマツをさし木増殖し、1-3年生まで養成してから線虫を接種して、クロマツさし木苗のマツ材線虫病抵抗性の安定性を検討するとともに、抵抗性に影響する要因を検討した。

II. 材料と方法

熊本県合志市にある国立研究開発法人森林総合研究所林木育種センター九州育種場（以下、九州育種場）内の3号畑クロマツ採種園に植栽された精英樹F₁（抵抗性について選抜を受けていない精英樹クローンから自然受粉種子を採取し、育成した個体）、抵抗性F₁（抵抗性クロマツクローンの自然受粉種子を採取し、育成した後、線虫アイソレイト唐津3を接種した後も健全であった個体。ただし、田辺54-2、三豊103-1および三豊103-2は島原を接種しており、川内290-1は線虫を接種していない）、および抵抗性クローン（線虫アイソレイト島原によって選抜されたクロマツ抵抗性品種をさし木増殖した個体）の採種台木から2010年2月、2011年2月、2012年1月に長さ8cm程度の萌芽枝を採取した（表-1）。これらの萌芽枝はカッターによって冬芽の付け根から5cmの位置で切り返しを行い、下方1/2の針葉を除去してさし穂とした。オキシペロン液剤（バイエルクロップサイエンス（株）、0.4% IBA）の原液に穂の基部を5秒間浸漬した後、育苗箱にパーミキュライトを入れて十分灌水して作成したさし床に穂をさしつけた。その後、育苗箱を覆うようにビニールトンネルを設置し、密閉ざしを行った。さし木を行った同年の6月に各穂の発根状況を調べ、十分な発根の見られた穂を苗畑に40cm×40cmの間隔で移植した。その後、それらの苗を据え置

*1 Matsunaga, K., Ohira, M., Kurita, M., Fukatsu, E., Kurahara, Y., Chigira, O. and Kuramoto, N.: Among age correlation of resistance against *Bursaphelenchus xylophilus* in 1-3 years old *Pinus thunbergii* clones.

*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. Ctr., For. & Forest Prod. Res. Inst., Koshi, Kumamoto 861-1102, Japan.

*3 森林総合研究所林木育種センター Forest Tree Breed. Ctr., For. & Forest Prod. Res. Inst., Hitachi, Ibaraki 319-1301, Japan.

*4 森林総合研究所林木育種センター西表熱帯増殖保存園 Iriomote Tropical Forest Tree Breed. Technical Garden, Forest Tree Breed. Ctr., For. & Forest Prod. Res. Inst., Komi, Taketomi, Yaeyama, Okinawa 907-1432, Japan.

表-1. 実験に用いた材料の詳細

グループ	クローン名	接種本数			
		1年生	2年生	3年生	
精英樹 F ₁	肝属24-2	9	44		
	肝属24-5	18	38		
	国東128-3	8			
	国東131-1	5	12	37	
	国東131-6	17	20		
	佐伯署3-4	25		42	
	南高来107-10	17	47	17	
	南高来107-9	16			
	南松浦111-3	30	20		
	南松浦111-8	19	27	28	
	福岡2-1	27	33		
	福岡2-8	34	22		
	福岡2-9	32	30	18	
	抵抗性 F ₁	波方37-1	22	58	47
		波方37-2	5	168	36
三崎90-1		12			
三崎90-2		18	5	51	
三崎90-3				19	
志摩64-1		10	158		
志摩64-2		16			
田辺54-1		15	148	143	
田辺54-2			100		
三豊103-1		25	76		
三豊103-2		5			
川内290-1				38	
抵抗性	唐津4		4	22	
クローン	唐津11		13		
	天草20		29		
	日吉1		94	80	
	吹上25		12	30	

いて管理し、2013年7月下旬に外見上健全な各苗にマツノザイセンチュウアイソレイト鎮西9 (Sc-9) (大平ほか, 2010) 5000頭を接種した。この鎮西9は九州地域の抵抗性育種事業で一般的に用いられているアイソレイト島原より高い病原性を持つことが抵抗性クロマツ苗木への接種実験によって、確認されている(大平ほか, 2010)。この時、2012, 2011および2010年に増殖した苗の月齢はそれぞれ17, 29, 42ヶ月であった(以後これらの苗をそれぞれ、1年, 2年, 3年生苗とする)。1年生苗と2年生苗は主軸の地際5cm上方に剥皮法にて接種を行い、3年生苗は主軸の当年部(シュート)の基部に剥皮法で接種を行った。2013年12月上旬に各苗の病徴を調査した。一部の針葉が褐変している場合を発病、全身の針葉が褐変している場合を枯死とした。

線虫接種後の苗の生存に苗齢と遺伝的抵抗性の違いが及ぼす影響を明らかにするため、苗の生存/枯死を従属変数、苗齢、抵抗性グループ(精英樹 F₁, 抵抗性 F₁ および抵抗性クローンの違い) およびクローンを説明変数としたロジスティック回帰分析を

行った。ここで、苗齢と抵抗性グループは固定効果、クローンは変数効果とした。また、各クローンの抵抗性について苗齢間の安定性を明らかにするため、各クローンの生存率(1-(枯死本数/接種本数))と健全率(1-(発病本数/接種本数))について Spearman の順位相関係数を苗齢間で算出した。解析には R 3.2.2 (R Development Core Team, 2015) を用い、ロジスティック回帰分析は lme4 パッケージの glmer 関数を用いた。

Ⅲ. 結果

各抵抗性グループの線虫接種後の平均生存率をみると、苗齢に関係なく、精英樹 F₁ は 50-70 % 程度、抵抗性 F₁ と抵抗性クローンは 90-100 % 程度であった(図-1)。平均健全率をみると精英樹 F₁ は 10-30 %, 抵抗性 F₁ は 70-80 % 程度と苗齢に関係なく比較的安定していたが、抵抗性クローンは 2 年生で 80 % であったのが、3 年生では 22 % と大きく変化した。

ロジスティック回帰分析の結果、苗齢および抵抗性グループは枯死の発生に有意に影響した。1 年生苗を対照とした場合、2 年生苗、3 年生苗は有意に枯死しにくく、精英樹 F₁ を対照とした場合、抵抗性 F₁ および抵抗性は有意に枯死しにくかった(表-2)。

苗齢間の生存率についての順位相関係数は 1 年生と 2 年生で 0.74 (n = 16, P < 0.0001), 2 年生と 3 年生で 0.43 (n = 11, P = 0.1823), また、1 年生と 3 年生苗で 0.82 (n = 9, P < 0.0006) であった(図-2)。苗齢間の健全率についての順位相関係数は 1 年生と 2 年生で 0.90 (n = 16, P < 0.0001), 2 年生と 3 年生で 0.63 (n = 11, P = 0.0250), また、1 年生と 3 年生苗で 0.95 (n = 9, P < 0.0006) であった。

Ⅳ. 考察

これまでにクロマツさし木のマツノザイセンチュウに対する抵抗性に関する報告は、実験の反復がなかったり、材料の遺伝的な抵抗性の変異が小さかったりしたため、遺伝的な抵抗性がさし木増殖した苗によって発揮されるかどうかは十分に確認されていなかった。本研究は遺伝的な抵抗性の異なるクロマツをさし木増殖し、それらの苗に線虫を接種して各クローンの生存率および健全率を調べた。その結果、クローンの生存率と健全率において異なる苗齢間で正の相関関係が認められた。この結果は若齢期におけるクロマツさし木苗が遺伝的な抵抗性を概ね安定して発揮していることを示唆する。2 年生と 3 年生の間の生存率についての相関係数は統計的に有意とならなかったが、これは 2・3 年生における抵抗性クローンおよび抵抗性 F₁ の生存率が全体として高かったため、グループ内のクローン間の抵抗性の変異が十分に生存率に反映されなかったためだと考えられた。

本研究で用いた各齢の材料の一部について苗高を測定したところ、1, 2, 3 年生の苗はそれぞれ 15-50, 65-165, 150-210 cm であった。これまでに、同一の家系内であれば樹体サイズの増大に伴って、線虫接種後の生存率が増加することが報告されている(例えば Yamanobe, 2009), 本研究においても 2・3 年生の苗は 1 年生の苗と比べて生存率が高く、既報と同じ傾向を示した。一方、

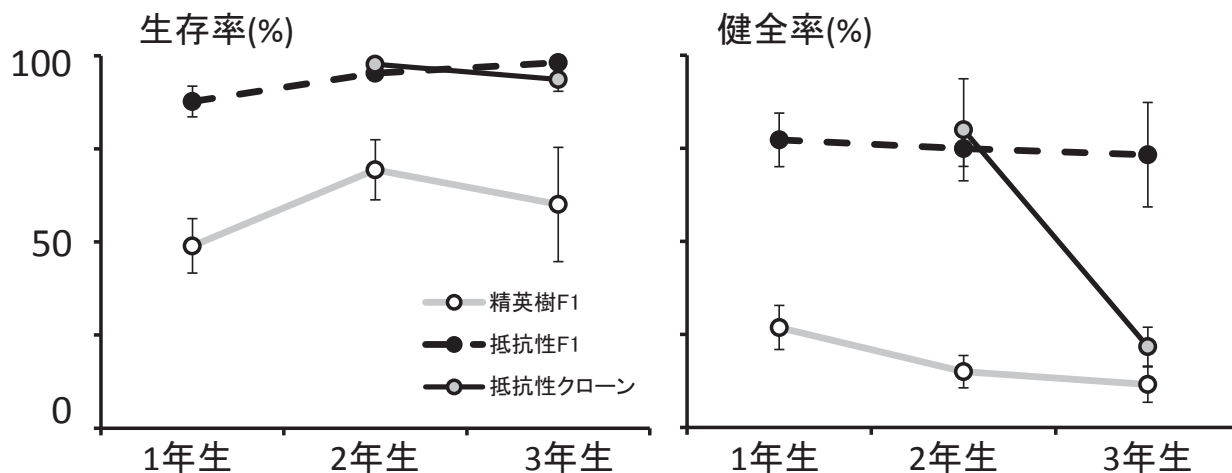


図-1. マツノザイセンチュウを接種したクロマツさし木苗の平均生存率および平均健全率は標準誤差を示す。

表-2. マツノザイセンチュウを接種したクロマツさし木苗の生存率についてのロジスティック回帰分析の結果

要因		回帰係数	標準誤差	P 値
切片		0.1618	0.3024	0.5927
苗齢	1年生	対照		
	2年生	0.5257	0.1892	0.0055
	3年生	0.9135	0.2447	0.0002
抵抗性グループ	精英樹 F ₁	対照		
	抵抗性 F ₁	2.2002	0.4382	0.0001
	抵抗性クローン	2.4093	0.6502	0.0002

これらの苗の植栽間隔は、苗齢にかかわらず一定であったため、高齢の苗ほど過密な状態にあったといえる。本研究では健全率は苗齢の増加に伴い、低下する傾向にあったが、この原因の一つは各苗の樹体の増大に伴う生育環境の悪化にあるのかもしれない。また、3年生苗は1・2年生苗とは異なり、主軸のシュート基部に接種した。このような接種部位の違いが、部分枯れ（例えば接種したシュートの針葉の変色）を促し、結果として健全率を低下させたかもしれない。3年生の抵抗性クローンの健全率は2年生に比べて著しく低下したが、その理由はわからなかった。

なお、本研究で用いた材料は、材料をさし木増殖したために相対的に発根性のよかったクローンが主体である。そのため、本研究で得られた結果はそのような比較的发根性のよいクローンを用いて得られていることに留意する必要がある。

謝辞

苗畑の管理・線虫接種にご協力いただいた関係者の皆様に深く感謝する。

引用文献

独立行政法人森林総合研究所林木育種センター (2014) 平成 26 年度版 林木育種の実施状況及び統計: 30.

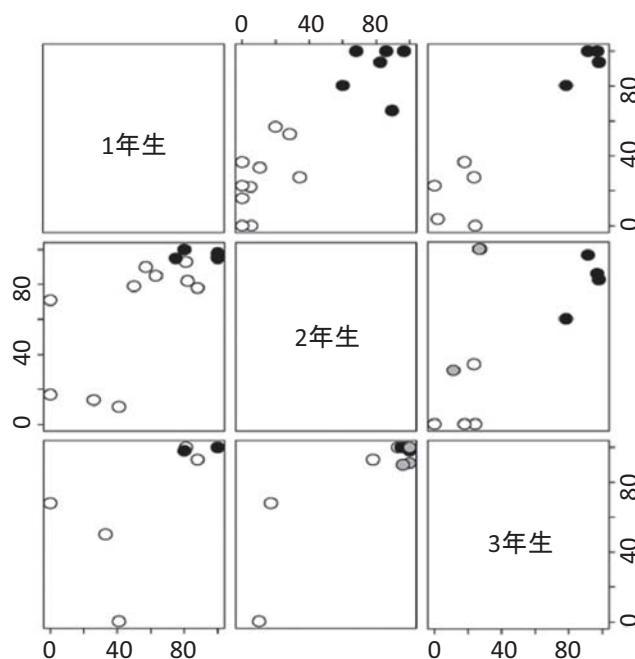


図-2. マツノザイセンチュウを接種したクロマツさし木苗各クローンの生存率および健全率における異なる苗齢間の関係
縦軸および横軸は生存率あるいは健全率を示す。
左下: 生存率の散布図。右上: 健全率の散布図。
図中の白、黒および灰色のシンボルは、精英樹 F₁、抵抗性 F₁ および抵抗性のクローンを示す。

藤本吉幸ほか (1989) 林育研報 7 : 1-84.

石川広隆・草下正夫 (1959) 林試研報 116 : 59-64.

石松誠 (1998) 日林九支論 51 : 47-48.

宮崎潤二・石松誠 (2002) 九州森林研究 55 : 153-154.

森康浩ほか (2006) 日林誌 88 : 197-201.

大平峰子ほか (2010) 林木の育種 235 : 1-5.

R Development Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Yamanobe T (2009) Euro J Plant Pathol 124 : 543-552.

(2015年10月26日受付; 2016年2月3日受理)