

## 速報

# リュウキュウマツにおける時期別線虫接種試験について(Ⅱ)<sup>\*1</sup>

## —6月接種と7月接種の検討—

玉城雅範<sup>\*2</sup>・松永孝治<sup>\*3</sup>・栗田 学<sup>\*3</sup>・倉本哲嗣<sup>\*4</sup>・渡辺敦史<sup>\*5</sup>

玉城雅範・松永孝治・栗田 学・倉本哲嗣・渡辺敦史：リュウキュウマツにおける時期別線虫接種試験について(Ⅱ) —6月接種と7月接種の検討— 九州森林研究 72：99－102, 2019 リュウキュウマツにおいて抵抗性評価に適切な接種検定期を検討するために、6月と7月に線虫接種を行った。その結果、6月接種、7月接種ともに4週目までに健全率を大きく低下させていたが、6週目以降は緩やかに健全率が低下していた。その要因は、各接種月ともに、4週目までに成長期を迎え、蒸発散量が高まる中で、線虫接種による線虫の侵入及び増殖、高温や降雨による水分供給の少なさ等により、水分ストレスからキャビテーションが起り、健全率を低下させたと考えられるが、6週目以降はマツ側の生理的な防御応答が影響している可能性がある。各接種月の健全率を各調査週と比較した結果、4週目以降6月接種の健全率が7月接種の健全率に比べ統計的に有意に低くなっていた。家系毎の健全率を接種月間で比較した結果、順位相関が認められたため、6月接種と7月接種のどちらの接種月でも抵抗性の評価ができる可能性が示された。

キーワード：リュウキュウマツ、線虫接種時期、沖縄

### I. はじめに

リュウキュウマツ (*Pinus luchuensis* Mayr) はトカラ群島以南の琉球列島に天然分布する固有の亜熱帯性のマツ類で、沖縄県において風致景観や経済林を形成する上で欠かせない樹種である。しかし、マツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle) (以下線虫とする) を病原とするマツ材線虫病が1973年にリュウキュウマツで確認されて以降(国吉, 1974; 我如古, 1974)、現在までその被害は継続して確認されている。

沖縄県では防除対策の一つとして、リュウキュウマツ抵抗性育種研究に取り組み、これまでに高い抵抗性を有すると期待される抵抗性候補木11クローンを選抜した(酒井, 2012)。今後はこれら抵抗性候補木等から抵抗性品種を確定する必要がある。そのためには、リュウキュウマツを対象とした抵抗性品種開発の選抜実施要領の策定が必要となる。リュウキュウマツは、アカマツやクロマツとは生育環境やフェノロジーが大きく異なっており、両種で策定された選抜実施要領をそのまま適用することで抵抗性品種開発に向けた適切な評価が実施されるか不明である。

酒井(2014)は、リュウキュウマツへ5~9月までの期間に1か月毎に接種を行い、家系毎の生存率について各接種月間の順位相関係数を調べたところ、7月と8月の組み合わせのみで有意な相関が認められたことを報告している。一方で、アカマツやクロマツでは、各家系の生存率は検定環境によって異なるものの相対的な抵抗性には大きな変動がないことが報告されている(戸田, 2004)。そのため、玉城ら(2018)はリュウキュウマツにおいて、

抵抗性評価に適切な接種時期を検討するために、5月と7月に線虫接種を行った。その結果、接種後20週目の家系毎の健全率は高い順位相関が認められた。そこで本研究では、2017年7月と2018年6月の2つの異なる時期に線虫接種を行った場合の健全率の推移を気象条件との関連性を加味して再評価し、家系毎の順位相関を検証した。結果に基づいて、選抜実施要領策定に向けた接種検定期について検討したので報告する。

### II. 材料と方法

供試した家系数は2つの接種時期で共通の8家系で、家系当たりの接種本数と各接種時期の合計接種本数は、2017年7月接種分(以下7月接種とする)が家系当たり29~53本で合計341本、2018年6月接種分(以下6月接種とする)では家系当たり26~51本で合計285本である(表-1)。使用した種子は、玉城・酒井(2016)で用いたAI選抜個体や仲里選抜個体、激害地由来選抜個体に加え、嵐山リュウキュウマツ採種園(名護市)の精英樹から各接種年の前々年に収集した自然交配由来とした。7月接種の育苗は、2016年1~4月に沖縄県森林資源研究センター(以下沖森研とする)のガラス室で播種・育苗し、2016年5~6月に沖森研内の圃場へ移植した。6月接種の育苗は、2017年2月に沖森研のガラス室で播種・育苗し、同年3月に10.5cmのポリエチレンポットやMスターコンテナに移植した後に、2018年1月に沖森研内の圃場へ移植した。

接種検定は、7月接種、6月接種とも1.5年生苗の地際に線虫懸濁液50 $\mu$ l(5,000頭)を常用されている剥皮接種法によって

<sup>\*1</sup> Tamashiro, M., Matsunaga, K., Kurita, M., Kuramoto, N. and Watanabe, A. : Comparison of the nematode inoculation time on *Pinus luchuensis* (Ⅱ).

<sup>\*2</sup> 沖縄県森林資源研究センター Okinawa Pref. Forest Resource Research Ctr., Nago, Okinawa 905-0012, Japan

<sup>\*3</sup> 森林研究・整備機構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

<sup>\*4</sup> 森林研究・整備機構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

<sup>\*5</sup> 九州大学大学院農学研究院 Fac. of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka, 819-0385, Japan

表-1. 家系別接種月毎の接種本数及び接種後2~20週目の健全率

家系名	7月接種											6月接種										
	接種本数 (本)	健全率(%)										接種本数 (本)	健全率(%)									
		2週目	4週目	6週目	8週目	10週目	12週目	14週目	16週目	18週目	20週目		2週目	4週目	6週目	8週目	10週目	12週目	14週目	16週目	18週目	
AI-1	29	68.3	24.0	20.2	20.2	20.2	20.2	20.2	20.2	20.2	20.2	27	95.8	15.8	11.7	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	
AI-8	36	86.3	63.4	50.8	47.0	47.0	44.8	42.6	42.6	42.6	42.6	26	85.1	45.8	35.1	35.1	31.0	22.6	22.6	22.6	22.6	
AI-18	42	80.4	50.0	46.4	37.5	30.4	23.2	23.2	23.2	23.2	23.2	45	97.8	44.6	26.6	22.1	22.1	20.0	15.5	15.5	15.5	
No2413	53	78.8	43.3	25.5	21.6	21.6	21.6	20.4	20.4	20.4	20.4	34	94.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
No2418	47	65.5	46.0	33.9	33.9	33.9	33.9	33.9	33.9	33.9	33.9	24	79.2	25.0	20.8	20.8	20.8	20.8	20.8	20.8	20.8	
精310	49	69.4	36.3	20.9	20.9	20.9	20.9	20.9	20.9	20.9	20.9	46	100.0	13.0	8.7	8.7	8.7	8.7	8.7	6.5	6.5	
精2701	52	87.1	40.6	37.6	34.7	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3	51	98.0	31.4	19.5	13.6	13.6	13.6	13.6	13.6	11.6	
仲里り-17	33	79.6	65.8	49.2	49.2	41.7	41.7	39.2	39.2	39.2	39.2	32	100.0	74.5	40.6	37.3	33.9	30.6	30.6	30.6	30.6	
	42.6	75.2	43.8	35.1	32.9	30.5	29.2	28.1	28.1	28.1	28.1	35.6	95.1	30.9	19.6	16.8	16.1	14.7	14.0	13.7	13.3	

表-2. 接種月毎の健全率の違い

接種後 週数	健全率(%)		t-検定
	7月接種	6月接種	
2週目	75.2	95.1	**
4週目	43.8	30.9	**
6週目	35.1	16.6	**
8週目	32.9	16.8	**
10週目	30.5	16.1	**
12週目	29.2	14.7	**
14週目	28.1	14.0	**
16週目	28.1	13.7	**
18週目	28.1	13.3	**

\*\* : 1%で統計的に有意差あり

行った。接種は、7月接種は2017年7月11日に、6月接種は2018年6月25日に実施した。線虫系統は島原個体群を使用した。接種後は、接種日から概ね2週毎に枯損調査を行い、7月接種は20週目まで、6月接種は18週目まで実施した。評価は、病徴がみられず健全な個体を健全、部分枯れ症状がある個体を半枯れ、全針葉が赤褐色に変色した個体を枯死として判断した。

枯損状況の評価には、接種した苗木本数から健全と半枯れの合計本数割合を算出した生存率や健全のみの本数割合を算出した健全率を用いるが、部分枯れ症状が現れる半枯れは環境要因の影響も示唆されていることから(森ら, 2004), 今回の試験においては、より遺伝的要因を現すことが出来ると考えられる健全率を用いた。

各接種月による健全率の経過は、各接種月の2週目から18週目までの2週間毎の健全率をそれぞれでt-検定で比較した。気象条件が各接種月の健全率へ及ぼす影響を検討するため、沖森研から最寄りの名護特別地域気象観測所で測定された2017年7月11日~10月16日、及び2018年6月25日~10月28日までの1時間毎の気温及び日降水量のデータを用いた(気象庁, 2018 a)。気象データのうち、特に接種日から各調査週までの20℃以上、25℃以上、30℃以上の気温が観測された積算時間及び積算降水量を算出した。なお、測定期間内において35℃を超える気温は観測されなかった。各接種月の健全率の傾向を検討するため、スピアマンの順位相関係数を求めた。解析にはR ver.3.4.0 (R Development Core Team 2017)を用いた。なお、沖縄の2017

年の梅雨入りは2017年5月13日頃、梅雨明けは6月22日頃、2018年の梅雨入りは2018年6月1日頃、梅雨明けは6月23日頃であった(気象庁, 2018 b)。

### Ⅲ. 結果と考察

#### 1. 接種月による健全率の経過

7月接種及び6月接種における接種後2~20週目の健全率を表-1に示した。その結果、7月接種では4週目までに健全率が大きく低下し、6週目以降では緩やかに健全率が低下していた。6月接種は2週目までは大きな健全率の低下は確認されなかったが、2週目から4週目にかけて大きく健全率が低下した。6週目以降は7月接種と同様に健全率の低下は緩やかであった。各接種月の健全率は、接種後2週目では7月接種の健全率が低く、接種後4週目以降では6月接種の健全率が低くなっており、各週で統計的に有意な差があった(表-2)。今回の供試苗木は各接種月で育苗方法が異なる。7月接種は圃場への移植から接種までの期間が13~14ヵ月であった一方で、6月接種は5ヵ月であった。そのため、各接種月によって苗木の根張りや地際径などの苗木サイズが影響して健全率の違いが認められた可能性がある。

#### 2. 気象条件と健全率

接種月毎の2週目から18週目までの20℃以上、25℃以上、30℃以上の気温が観測された積算時間を表-3に示す。その結果、20℃以上及び25℃以上の積算時間については2週目から18週目にかけては接種月間で大きな差が見られず、14週目まではほぼ25℃以上の気温であった。30℃以上の積算時間については7月接種の方が6月接種を上回っていた。外気温と樹体内の線虫増殖の関係について、山口ら(2018)は外気温が25℃一定試験区より30℃一定試験区の方が樹体内の線虫頭数が増加していたことを明らかにしている。従って、本試験においても7月接種の方が樹体内の線虫増殖は進んでいると考えられる。一方、接種後2週目から18週目までの積算降水量は6月接種の方が多かった(表-4)。気温の積算時間の情報と併せて考えた場合、7月接種が6月接種に比べ接種後高温で降雨による水分供給が少ない状況にあった。リュウキュウマツの伸長成長は2~4月、7月、10月に盛んになる(山盛, 1979)。そのため、7月は6月と比較して蒸発散量が高まる可能性がある。すなわち、7月接種は6月接種に

表-3. 接種月毎の気温別積算時間

接種後週数	単位：時間					
	20℃以上		25℃以上		30℃以上	
	7月接種	6月接種	7月接種	6月接種	7月接種	6月接種
2週目	336	336	336	335	152	46
4週目	672	672	672	671	334	113
6週目	1,008	1,008	1,008	1,007	516	222
8週目	1,344	1,344	1,344	1,343	664	299
10週目	1,680	1,680	1,677	1,676	750	371
12週目	2,016	2,016	1,983	2,012	817	439
14週目	2,352	2,352	2,318	2,341	889	487
16週目	2,688	2,675	2,525	2,464	891	487
18週目	3,018	3,000	2,586	2,516	891	487

表-4. 接種月毎の積算降水量

接種後週数	単位：mm	
	7月接種	6月接種
	2週目	6.0
4週目	71.5	221.5
6週目	87.5	272.0
8週目	113.5	476.0
10週目	230.5	528.0
12週目	263.0	605.0
14週目	289.0	834.0
16週目	541.5	1,058.5
18週目	545.0	1,127.0

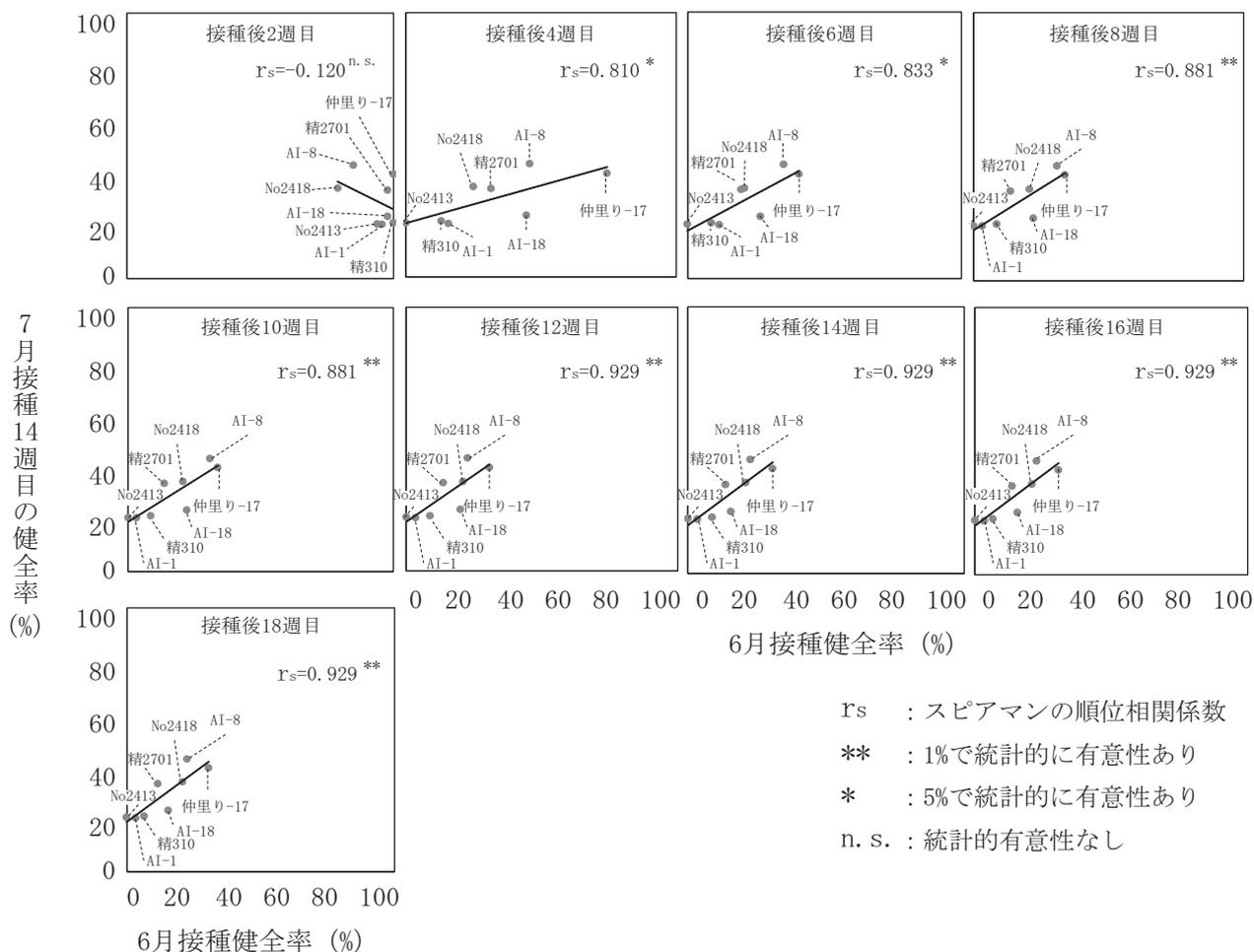


図-1. 7月接種の接種後14週目に対する6月接種の調査週毎の相関関係

比べ蒸発散量が高まっている中で、線虫接種による線虫の侵入及び増殖、高温や少雨により高い水分ストレスからキャビテーション等が起り、接種直後から4週目まで健全率を大きく低下させたと考えられる。それに対し6月接種は7月接種に比べ旺盛な成長期前であるため蒸発散量も相対的に低く、多雨による水分ストレスも軽減されたことによりキャビテーション等も起りにくい状況であったと考えられる。従って、6月接種は7月接種に比べ、接種直後から2週目までは健全率の低下は穏やかであったが、2

週目以降においては成長期を迎えるに従い、次第に蒸発散量が高まっていく中で、一定程度樹体内の線虫増殖が進行し、7月接種と同様に降雨による水分供給も減るため、高い水分ストレスによりキャビテーション等が起り、急激に健全率が低下したと考えられる。一方で、各接種月ともに6週目から14週目にかけては、線虫の増殖が可能な外気温である25℃以上が期間を通してほとんどの時間で観測されたが、健全率の低下が緩やかになっていることからマツ側の防御応答が発揮されている可能性がある。

### 3. 異なる接種時期における各家系の健全率の順位相関

順位相関を検討するにあたっては、表-1の結果より7月接種は14週目以降で各家系の健全率に変化がないため、7月接種は14週目の健全率を用い、6月接種の各調査週における健全率と比較した(図-1)。その結果、接種後2週目は負の相関傾向であり、スピアマンの順位相関も統計的に有意な相関ではなかった。しかし接種後4週目以降は正の相関となり、5%水準若しくは1%水準で統計的に有意な相関が確認された。この結果から、7月接種と6月接種では接種年や育苗方法は異なったがどちらの接種月でも同様な家系が選抜出来ると考えられる。

## IV. おわりに

今回の結果より、接種年及び育苗方法が異なる7月接種と6月接種のどちらの接種月でも、同様な家系が選抜されることが示唆された。玉城ら(2018)で5月接種と7月接種の各家系の健全率に高い順位相関が認められたことから、リュウキュウマツの相対的な抵抗性評価のための接種検定は5~7月にかけて可能と考えられる。本結果は、リュウキュウマツの選抜実施要領を策定する際の接種検定時期に関する基礎的情報の提供として位置づけることが出来る。一方で、各接種月で育苗方法が異なるために接種時の根張りや苗木サイズ等が影響して、各接種月の健全率に差が認められた可能性がある。そのため、今後は育苗過程を考慮し苗木サイズ等の影響等についても検討していく必要がある。更に、各接種月で4週目までに健全率が大きく低下し、6週目以降は緩やかに健全率が低下していることから、この時期までにマツ側の防御応答が発揮されている可能性がある。この結果は、線虫接種直後から防御応答に関連する遺伝子の過剰な発現が認められ、こ

の過剰な遺伝子発現が枯損と関係することが示された感受性クロマツの結果(Hirao *et al.*, 2012)とは異なっており、リュウキュウマツ抵抗性品種開発に向けて詳細な検討が必要であると考えられる。

## 引用文献

- 我如古光男(1974) 森林防疫 264 : 4-6  
 気象庁(2018 a) 気象庁ホームページ気象観測データ.  
 URL : [http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php?prec\\_no=91&block\\_no=47940&year=&month=&day=&view=](http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php?prec_no=91&block_no=47940&year=&month=&day=&view=)  
 (2018年11月6日利用)  
 気象庁(2018 b) 気象庁ホームページ.  
 URL : [https://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/baiu/kako\\_baiu\\_01.html](https://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/baiu/kako_baiu_01.html) (2018年11月6日利用)  
 Hirao T *et al.* (2012) BMC Plant Biology 12 : 13  
 国吉清保(1974) 森林防疫 264 : 2-4  
 森康浩ら(2004) 日林誌 86 : 98-104  
 R Development Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. URL : <http://www.R-project.org/>  
 酒井康子(2012) 沖林試研報 53 : 5-9  
 酒井康子(2014) 沖林試研報 55 : 15-19  
 玉城雅範ほか(2018) 九州森林研究 71 : 59-62  
 玉城雅範・酒井康子(2016) 九州森林研究 69 : 187-188  
 戸田忠雄(2004) 林育研報 20 : 83-217  
 山口莉未ほか(2018) 九州森林研究 71 : 63-66  
 山盛直(1979) 琉大農学術報 26 : 573-716  
 (2018年11月9日受付; 2018年12月29日受理)