マツノザイセンチュウ接種検定後の抵抗性クロマツ自然交配家系の生存率と 接種前後の期間および開花期間の降水の関係

倉本 哲嗣^{*1}・平岡裕一郎²・大平 峰子¹・岡村 政則³・藤澤 義武²

マツノザイセンチュウ接種後の生存率の年次変動の原因を明らかにするため、マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ自然交配家系 11 家系に対する接種検定後の生存率について 8 年間の結果を検討した。その結果、生存率は接種後 8 週間ならびに接種前後 21 日間の降水量との間に相関関係は認められなかった。しかし、解析の対象とした 11 自然交配家系のうち 7 家系で、その家系が受粉した年の開花期の降水量が少なく統計的に有意に生存率が高かった。よって、開花期の降水量の違いによってもたらされる花粉の飛散状況の違いが、抵抗性クロマツ自然交配家系に対する接種検定の年次変動を生じさせる原因の一つである可能性が高いと予想された。

キーワード：開花期間の降水量，生存率，抵抗性クロマツ，マツノザイセンチュウ

Noritsugu Kuramoto,^{*1} Yuichiro Hiraoka,² Mineko Ohira,¹ Masanori Okamura,³ and Yoshitake Fujisawa² (2010)
Relationship of Survival Rate in Japanese Black Pine Seedlings after Inoculation of Pine Wood Nematodes to the Terminal Precipitation during the Period Following the Inoculation and the Flowering Period. J. Jpn. For. Soc. 92 : 120–123. To determine the factors that affect the annual changes in the survival rate of Japanese black pine seedlings inoculated with pinewood nematodes, the results of inoculation tests carried out over 8 years were investigated. These studies involved 11 open-pollinated families in a seed orchard of Japanese black pines resistant to pine wilt disease. The survival rate of the pine seedlings was not affected by the occurrence of precipitation for 8 weeks after inoculation or for 21 days before and after inoculation. However, small amounts of precipitation during the flowering period resulted in a statistically significant increase in the survival rates of 7 families. It was inferred that the differences in pollen dispersion resulting from precipitation during the flowering period is one of the factors that causes the annual changes in the survival rate of the Japanese black pines that have been inoculated with pinewood nematodes.

Key words : precipitation during flowering period, Japanese black pine, pinewood nematodes, survival rate

I. は じ め に

現在の九州地方におけるマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ苗の生産は、マツノザイセンチュウ接種検定（以後、接種検定とする）を行い、その結果生き残った健全な個体を出荷するという方法で生産されている（以後、このように生産される苗を、検定済み抵抗性クロマツ苗とする）。これは、一定レベルの抵抗性を確保することを目的としているが、年により生存率が変動することが知られている。これに関して、戸田（1997）は接種日の前後 10 日間の計 20 日間の降水量が生存率に影響すると報告している。またクロマツの近縁種であるアカマツでは、接種後 40 日間の降水量が健全率に影響することが推測されている（戸田ら，1992）。一方接種検定後の生存率は、接種後の降水量に影響されないとした報告があること（倉本ら，2005），年によって生存率と接種後 30 日の降水量間に相関性がみられる（吉岡，2006）とした報告があることから、現段階では降水量が生存率に与える影響について明確な結論が得

られていない。接種検定の結果が検定前後の降水量によって変動するならば、検定済み抵抗性クロマツ苗そのもののもつ遺伝的な能力ではなく、環境条件によってたまたま合格した個体が出荷されてしまうおそれがある。よって、検定済み抵抗性クロマツ苗の品質保証のために、接種後の降水量が接種検定後の生存率に与える影響について明らかにする必要がある。

一方、採種園産の抵抗性クロマツである田辺ク-54 の自然交配家系では、その花粉親の寄与が DNA マーカーによって推定されており（Goto *et al.*, 2002；宮原ら，2002；倉本ら，2004），それらの報告に示されているデータを比較すると、同じ採種園からの苗でも採種した年によって花粉親の構成比率が異なっている。また、抵抗性クロマツ人工交配家系では、その交配組み合わせによって抵抗性が異なること（倉本ら，2008），人工交配家系に対して行った 2004 年，2005 年および 2006 年の接種検定の結果では、生存率の変動がみられず、接種検定結果がほぼ遺伝的要因によって支配されていること（倉本ら，2007）が報告されている。こ

*連絡先著者 (Corresponding author) E-mail: norikura@affrc.go.jp

¹ 独立行政法人森林総合研究所林木育種センター九州育種場 〒 861-1102 合志市須屋 2320-5 (Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute, 2320-5 Suya, Koshi 861-1102, Japan)

² 独立行政法人森林総合研究所林木育種センター 〒 319-1301 日立市十王町伊師 3809-1 (Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute, 3809-1 Ishi, Juo, Hitachi 319-1301, Japan)

³ 独立行政法人森林総合研究所林木育種センター関西育種場 〒 709-4335 岡山県勝田郡勝央町植月中 1043 (Kansai Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute, 1043 Uetsukinaka, Sho-oh, Katsuta, Okayama 709-4335, Japan)

(2009 年 4 月 24 日受付；2009 年 12 月 16 日受理)

これらの報告から、自然交配家系に対する接種検定の結果が年ごとに異なる原因の一つとして、花粉親の構成比率が年によって異なるためと考えられる。

ところで、樹木花粉の飛散に関して、スギでは、相対湿度や降水量といった気象条件によって花粉の飛散状況が異なっているという報告がある（高坂，1988）。また、ミズナラの結実率は、開花期の降水による花粉飛散抑制の有無によって左右されることが報告されている（倉本，1996）。抵抗性クロマツ採種園においても同様に、開花期間の降水が花粉飛散に影響しているならば、抵抗性クロマツの自然交配家系における花粉親の構成比率に変化が生じ、結果的に接種検定後の生存率の変動に何らかの影響を与えている可能性が考えられる。

そこで本報告では、検定済み抵抗性クロマツの苗の品質保証のための基礎情報を得るため、抵抗性クロマツ自然交配家系に対して接種検定を行った後の生存率の年次変動が、接種前後あるいは接種後の降水量や降水日数に影響されているか、また、開花期間の降水量や降水日数の年変動に影響されているかについて検討した。

II. 材料と方法

1. 供試家系

解析には、独立行政法人森林総合研究所林木育種センター九州育種場（以後、九州育種場とする）において1998年から2004年、および2006年の合計8年実施した接種検定結果を用いた。接種検定を行った抵抗性クロマツ自然交配家系は、九州育種場構内の交配園において自然交配によって得られた田辺ク-54、三豊ク-103、三崎ク-90、波方ク-37、波方ク-73、志摩ク-64、津屋崎ク-50、小浜ク-30、大分ク-8、川内ク-290 および穎娃ク-425の合計11家系である。なお、各家系の検定回数および抵抗性クロマツ実生後代の抵抗性評価（九州地区林業試験機連絡協議会育種部会，1999）を表-1に示す。

一方、これまでのDNAマーカーによる花粉親の構成比率の検証（宮原ら，2002）から、自然交配家系では周囲個体のクローン配置が異なると、花粉親の寄与が異なっていることが予想された。そこで各家系とも九州育種場内の抵抗性クロマツ交配園第Iブロックに植栽されている1個体から採種・育苗された自然交配家系についてのみを解析の対象とした。なお、各家系とも、各年について3反復以上で検定を行い、かつ1反復あたり最低20本ずつ検定を行った。

2. 接種検定と生存率の算出

各年とも播種の翌年春に床替えした苗に対し、7月25日前後の晴天日に、苗木1本あたり5,000頭のマツノザイセンチュウ（島原個体群）を改良剥皮接種法（藤本ら，1989）により接種した。接種後8週間目の調査結果から反復ごとに生存率を求めた。さらに、今回データとして用いた生存率が過去の自然交配家系を用いた抵抗性クロマツの評価と同様であるか確認するため、家系ごとに8年間の平

均生存率と抵抗性クロマツ実生後代の抵抗性評価（九州地区林業試験機連絡協議会育種部会，1999）との間の相関係数を求め、統計的に有意であるか検討した。

3. 反復率の算出

得られた検定結果について遺伝的要因の寄与の程度を確認するため、毎年反復あたりの生存率を8年間の検定結果を込みにして年・家系を要因とした分散分析を行い、かつその分散分析の結果から家系、年と家系の交互作用および誤差の分散成分を求め、反復率を算出した。解析には農林水産研究計算情報センターのSAS version 6.1.1のGLMプロシージャを使用した。

4. 接種後8週間および接種前後21日間の降水が生存率に与える影響に関する解析

解析は、生存率と接種日より生存率の調査を行った8週間後まで（以後、接種後8週間とする）の降水量と降水日数、および接種日の前後10日間の計21日間（以後、接種前後21日間とする）の降水量と降水日数との相関係数を求め、有意差検定を行った。降水量および降水日数のデータは、九州育種場で測定されている苗畑気象情報を使用した。なお、実際の検定済み抵抗性クロマツ苗の生産では母樹単位で種子を管理することはほとんどないことから、解析では各年における各家系の平均生存率（以後、家系生存率とする）だけではなく、各年における全家系を込みにした平均生存率（以後、全平均生存率とする）も使用した。

5. 開花期間の降水量が生存率に与える影響に関する解析

開花年の開花期間の降水量が生存率に与える影響に関する解析は、家系生存率および全平均生存率と開花期間の降水量および降水日数の相関をそれぞれ求め、有意差検定を行った。抵抗性クロマツの開花期間は、九州育種場内で行った抵抗性クロマツの開花調査結果（戸田ら，1994）を参考に、開花期の年変動を考慮して、4月8日から4月28日とした。

III. 結果と考察

1. 8年間の接種検定結果と反復率

家系ごとに8年間の平均生存率を求めたところ、これまでに報告されている抵抗性クロマツ実生後代苗の抵抗性評価（九州地区林業試験機連絡協議会育種部会，1999）と同じ傾向で（表-1）、抵抗性評価と8年間の平均生存率間には相関係数が0.781と、統計的に1%水準で有意な相関関係がみられた。次に分散分析を行ったところ、年次間、家系間、反復および交互作用のすべての要因で1%または5%水準の有意差がみられた。さらに、分散成分から各要因の寄与率を算出すると、最も生存率に大きな影響を与える要因は接種した年（約35%）で、次に家系（約23%）であった。一方、生存率に対する年と家系の交互作用の寄与率は約5%で、それほど大きくなかった。反復率は0.911であった。

以上の結果から、今回解析の対象とした8年間の抵抗性クロマツの自然交配家系に対する接種検定結果は、①これ

表-1. 解析に使用した抵抗性クロマツ自然交配家系に対する
検定実施数と抵抗性評価、ならびに各家系の8年間の接
種検定結果に基づく平均生存率

家系	検定実施数	抵抗性クロマツ実生 後代の抵抗性評価 ¹⁾	平均生存率
田辺ク-54	8	2	0.385
三豊ク-103	7	3	0.241
三崎ク-90	7	4	0.487
波方ク-37	7	4	0.608
波方ク-73	8	5	0.563
志摩ク-64	8	3	0.465
津屋崎ク-50	7	3	0.526
小浜ク-30	7	3	0.464
大分ク-8	8	1	0.276
川内ク-290	6	2	0.374
顕娃ク-425	8	2	0.378

¹⁾ ヒノキ精英樹・抵抗性マツ特性表（九州地区林業試験機関連絡協議会
育種部会，1999）より引用。

までに報告された結果とほぼ同じであること、②年次間差
は大きいものの、交互作用は少なく、家系間差は明らかで、
遺伝的な再現性が高いことが示された。

2. 接種後8週間および接種前後21日間の降水と生存 率の相関性

表-2に、家系生存率および全平均生存率と接種後8週
間の降水量との相関係数を示した。その結果、三豊ク-103
の家系生存率で降水量が多くなると生存率が低下する傾向
にあったが、すべての家系生存率および全平均生存率は、
接種後8週間の降水量と統計的に有意な相関関係はみられ
なかった。同様に、表-2では家系生存率および全平均生
存率と接種前後21日間の降水量との相関係数を示した。
その結果、三豊ク-103および波方ク-37の2家系は、降水
量が多くなると5%水準で有意に生存率が低下した。また、
小浜ク-30の家系生存率は、統計的な有意差はなかったが、
降水量が多くなると生存率が低下する傾向であった。しか
し、その他8家系の家系生存率および全平均生存率は、接
種前後21日間降水量と統計的に有意な相関関係はみられ
なかった（表-2）。さらに、家系生存率および全平均生
存率と接種後8週間および接種前後21日間の降水日数との
相関係数をそれぞれ求めたが、両者とも統計的に有意な相
関関係はみられなかった（表-2）。

以上の結果から、これまで報告されていたような接種前
後の降水量が少ないと接種検定を行った抵抗性クロマツ自
然交配家系の生存率が低下するという結果（戸田，1997）
は得られず、むしろ一部の家系生存率で降水量が多いと生
存率が有意に低下する結果となった。

九州地域における実際の検定済み抵抗性クロマツ苗生産
では、全家系を込みにした実生苗を対象に接種検定を行っ
ている。今回、全平均生存率と接種前後の降水量および降
水日数との間に相関関係がみられなかったことから、接種
前後の降水量や降水日数が、検定済み抵抗性クロマツ苗生
産に影響していない可能性を示唆するものと推測された。

3. 開花期間の降水量と接種検定結果の相関性

抵抗性クロマツ自然交配家系ごとに、開花期間の降水量

表-2. 抵抗性クロマツ自然交配家系の接種検定後の生存率と
接種前後の降水量ならびに降水日数との相関係数

家系	降水量との相関係数 ¹⁾		降水日数との相関係数 ²⁾	
	接種後 8週間	接種前後 21日間	接種後 8週間	接種前後 21日間
田辺ク-54	-0.114	-0.155	0.050	0.279
三豊ク-103	-0.748	-0.766*	-0.592	0.152
三崎ク-90	-0.429	-0.317	-0.393	-0.123
波方ク-37	-0.385	-0.771*	-0.442	0.030
波方ク-73	-0.263	-0.389	-0.194	0.152
志摩ク-64	-0.182	-0.323	-0.315	-0.165
津屋崎ク-50	-0.178	-0.042	0.150	0.546
小浜ク-30	-0.315	-0.739	-0.200	0.488
大分ク-8	-0.216	-0.328	-0.073	0.347
川内ク-290	-0.518	-0.432	-0.173	0.464
顕娃ク-425	-0.145	-0.357	-0.075	0.221
全平均生存率	-0.278	-0.412	-0.157	0.280

¹⁾ 接種検定後の生存率と接種後8週間ならびに接種前後21日間の降水量
との相関係数。²⁾ 接種検定後の生存率と接種後8週間ならびに接種前後
21日間の降水日数との相関係数。*5%水準で有意。

表-3. 抵抗性クロマツ自然交配家系の接種検定後の生存率と
開花期間の降水量との相関係数

家系	相関係数
田辺ク-54	-0.796*
三豊ク-103	-0.225
三崎ク-90	-0.791*
波方ク-37	-0.775*
波方ク-73	-0.796*
志摩ク-64	-0.725*
津屋崎ク-50	-0.324
小浜ク-30	-0.689
大分ク-8	-0.778*
川内ク-290	-0.558
顕娃ク-425	-0.790*
全平均生存率	-0.769*

*5%水準で有意。

と家系生存率との相関係数を求めたところ、11家系すべ
てで開花期間の降水量が多いと生存率が低くなる傾向にあ
り、そのうち三豊ク-103、津屋崎ク-50、小浜ク-30およ
び川内ク-290の4家系を除く7家系は統計的に有意な負
の相関であった（表-3、図-1）。また、全平均生存率にお
いても、開花期間の降水量と統計的に有意な負の相関関係
がみられた（表-3、図-1）。なお、今回調査した11家系の
家系生存率および全平均生存率は、開花期間の降水日数と
の間に統計的に有意な相関関係はなかった。

これまでに、九州育種場交配園産の抵抗性クロマツ田辺
ク-54の自然交配家系苗について、DNAマーカーによる
花粉親の寄与の推定されており（宮原ら，2002；倉本ら，
2004），それらの報告に示されているデータを比較すると
自然交配家系を採種した年によってその花粉親の構成比率
が異なっていた。これは各家系における自然受粉の状態が
異なっていたことを示唆する結果と考えられる。さらに、
抵抗性クロマツの交配組み合わせによって生存率が異なる
こと（倉本ら，2008）や、自殖家系では生存率が低いこと
（戸田ら，1997；倉本ら，2007），さらには人工交配家系で
は接種検定を行った年が異なっても生存率に変動がみられ
ない可能性が報告されていること（倉本ら，2007）から、

図-1. 抵抗性クロマツ 11 自然交配家系の接種検定後の家系生存率および全平均生存率と開花期間の降水量との相関

*接種検定後の生存率と開花期間の降水量との相関係数が統計的に 5% 有意水準であったことを意味する。

開花期の降水が花粉の飛散状況に影響することで、花粉親の寄与率が変動し、結果的に接種後の生存率が変動したものと推測された。

また今回の結果は、九州育種場の交配園（採種園）産の抵抗性クロマツ自然交配家系のみであるが、開花期間の降水量の多寡によりおおむね接種検定時の生存率（得苗率）が予想できることを示すものであった。これまでの接種検定済み抵抗性クロマツ苗の生産では、検定後の合格率が年によって大きく変動し、受注数にあわせた安定した抵抗性クロマツ苗の生産が困難であること、また、接種検定に不合格となる苗の育苗に要した経費が無駄になり生産コストが高くなる、といった問題があった。よって今後他の採種園でも同様の調査を行い、同様の結果あるいはその採種園特有の傾向が得られれば、各採種園産の種子の播種量から検定済み抵抗性クロマツ苗として出荷可能な得苗数が予測可能となり、受注数にあわせた効率的な抵抗性クロマツ苗の生産が図れる可能性があると考えられる。

以上、抵抗性クロマツ苗に対する接種検定後の生存率の

年次変動は、接種前後の降水量という環境要因によるのではなく、開花期間の降水により花粉の飛散状況が変化することに原因がある可能性が推測された。

この論文を作成するにあたり、林木育種センター技術指導役植田 守氏には貴重なご意見をいただいた。また、今回使用した接種検定結果の一部は、戸田忠雄氏（元九州育種場育種研究室長）からいただいた。ここに深く感謝の意を表します。

引用文献

- 藤本吉幸・戸田忠雄・西村慶二・山手廣太・冬野劭一（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 年間の成果—。林育研報 7：1-84。
- Goto, S., Miyahara, F., and Ide, Y. (2002) Identification of the male parents of half-sib progeny from Japanese black pine (*Pinus thunbergii* Parl.) clonal seed orchard using RAPD markers. *Breed. Sci.* 52：71-77.
- 高坂知節（1988）スギ花粉症と気象条件—飛散の予報への可能性を探る—。日本医事新報 3271：121。
- 倉本恵生（1996）ミズナラの堅果生産の年変動現象と発生機構。157 pp, 北海道大学博士論文。
- 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・大平峰子・岡村政則・平岡裕一郎・柏木 学・井上祐二郎・福田友之・藤澤義武（2005）抵抗性クロマツ交配家系 2 家系におけるマツノザイセンチュウ接種試験結果の比較。九州森林研究 58：153-154。
- 倉本哲嗣・大平峰子・平岡裕一郎・谷口 亨・柏木 学・井上祐二郎・福田友之・佐藤省二・村山孝幸・植田 守・岡村政則・星比呂志・藤澤義武（2007）マツノザイセンチュウ抵抗性マツ交配家系の遺伝解析。日林学術講 118：113。
- 倉本哲嗣・松永孝治・大平峰子・平岡裕一郎・谷口 亨・岡村政則・星比呂志・藤澤義武（2008）マツノザイセンチュウの接種頭数による抵抗性クロマツ交配 15 家系の生存率の違い。九州森林研究 61：116-117。
- 九州地区林業試験機関連絡協議会育種部会（1999）ヒノキ精英樹・抵抗性マツ特性表。35-58。
- 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。日林学術講 113：639。
- 戸田忠雄（1997）マツノザイセンチュウ抵抗性マツの育成。（松くい虫（マツ材線虫病）—沿革と最近の研究—。全国森林病虫獣害防除協会）。168-274。
- 戸田忠雄・鳥羽瀬正志・永田 勳（1992）検定地間における材線虫接種検定結果の変動。日林九支研論 45：45-46。
- 戸田忠雄・西村慶二・田島正啓（1994）マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツの諸特性（IX）—抵抗性クロマツの開花時期—。日林九支研論 47：53-54。
- 戸田忠雄・千吉良治・宮田増男（1997）クロマツ×アカマツ交雑種のマツノザイセンチュウ抵抗性の向上の事例。日林九支研論 50：41-42。
- 吉岡 寿（2006）マツノザイセンチュウ抵抗性マツ実生後代の抵抗性。広島県立林業技術センター研究報告 38：45-51。