

【原著論文】

香川県抵抗性採種園におけるマツノザイセンチュウ抵抗性マツの 21 年間の線虫接種データに基づく抵抗性評価

岩 泉 正 和^{*,1}・横 山 桂 一 郎²・表 崎 晃³・久 保 田 正 裕¹

Pine wood nematode-resistance ranking of resistant Japanese black and red pine clones in seed orchards of Kagawa prefecture based on 21 years of seedling nematode-inoculation test data

Masakazu G. Iwaizumi^{*,1}, Keiichiro Yokoyama², Akira Uwazaki³ and Masahiro Kubota¹

要旨：抵抗性種苗の効果的な普及を検討する上で、第一期（1980 年代）の西南日本産抵抗性マツの抵抗性評価が九州で行われているが、他の地点での適用性については知見が十分でない。本研究では、関西育種基本区の香川県で実施された、21 年間にもわたる抵抗性クロマツ・アカマツ採種園産種苗への母樹系統別の線虫接種試験データを解析した。生存率における母樹系統毎の最小二乗平均値から、抵抗性評価値の香川県版（香川ランキング）を構築するとともに、既往の九州の評価値との関係性について検討した。その結果、両樹種ともに接種後の生存率は母樹系統間で有意な違いが見られたが、年次間での変動も大きく、年次間での環境条件の違い等が接種強度の違いに影響したと考えられた。一方で、九州と香川県の評価値を比較したところ、両樹種ともに有意な正の相関係数が認められ、九州で生存率の高い系統は香川県でも高いことが明らかになった。このことから、多数系統を用いた特定の地点での抵抗性評価値が利用地域（育種基本区・種苗配布区）内の他の地点でもおおむね適用可能であり、地点特異性の確認をしつつ、利用地域内での早期の採種園改良等の検討に資すると考えられた。

キーワード：アカマツ、香川ランキング、クロマツ、九州ランキング、マツノザイセンチュウ抵抗性育種

Abstract: To consider effective diffusion of pine wood nematode-resistant seedlings, the ranking of nematode-resistance levels for resistant pine clones formerly developed in southwestern Japan (in the 1980s) has been evaluated in Kyushu (“Kyushu resistance ranking”), but information regarding the ranking’s applicability knowledge in other locations is insufficient. In the present study, we analyzed 21 years of nematode-inoculation test data for 14 *Pinus thunbergii* and 56 *Pinus densiflora*-resistant clones collected from resistance seed orchards in Kagawa prefecture, Kansai breeding region. Then, we determined the ranking of clones’ resistance in Kagawa (“Kagawa resistance ranking”) based on the least-square mean values and examined the relationship between the two rankings. The survival tree rate of progenies significantly varied between clones of both species, as well as between test years, indicating the influence of year-to-year variation in testing environments. Nevertheless, there were significantly positive correlation coefficients between the rankings of Kyushu and Kagawa for both species, indicating clones with commonly high survival rates in both locations. These results showed that resistance ranking in a particular location is almost applicable in the other locations within a breeding and distribution region, and contributes to the earlier seed orchard improvement in each region with the check of location-dependent resistance fluctuation.

Key words: *Pinus densiflora*; Kagawa resistance ranking; *Pinus thunbergii*; Kyushu resistance ranking; pine wood nematode-resistance breeding

* E-mail: ganchan@ffpri.affrc.go.jp

¹ 森林総合研究所林木育種センター九州育種場 Kyusyu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute, 2320-5, Suya, Koshi, Kumamoto 861-1102, Japan

² 香川県森林センター Forest Center, Kagawa Prefecture, 823, Shinme, Manno, Nakatado, Kagawa 769-0317, Japan

³ 香川県立農業大学校 Agricultural Academy, Kagawa Prefecture, 34-3, Enai, Kotohira, Nakatado, Kagawa 766-0004, Japan

2022 年 8 月 30 日受付、2023 年 2 月 20 日受理

はじめに

マツ材線虫病に起因する我が国のクロマツ (*Pinus thunbergii*) やアカマツ (*Pinus densiflora*) をはじめとするマツ属樹種の枯損被害は、1900 年前後に九州で端を発し、現在では北海道を除く 46 都府県にまで被害が広がっており (中村・大塚 2019; 林野庁 2022)、我が国最大の森林病虫害である。この被害に対する育種的対応として、マツ材線虫病に対して高い抵抗性を有する個体の選抜を目的に、早くから被害が甚大であった西南日本 (関西・九州育種基本区のクロマツ種苗配布第二区およびアカマツ同第三区; 近畿中南部、瀬戸内、四国および九州地方) においては 1978 年より「マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業」 (以降、「第一期事業」という) が実施された (林野庁研究普及課 1994)。その結果、1986 年 3 月までに、クロマツについては 16 系統、アカマツについては 92 系統の抵抗性マツが開発され (戸田・寺田 2004)、抵抗性採種園の造成と抵抗性種苗の生産を通じて多くの抵抗性マツ林が造成されてきた。しかし、依然として被害の収束には至っていないことから (亀井・吉岡 2013; 中村・大塚 2019; 杉本・富樫 2011)、抵抗性種苗のマツノザイセンチュウ抵抗性 (以降、「抵抗性」という) を高めるための、抵抗性マツの評価や普及方法の検討、さらなる抵抗性育種の推進が求められている。

これまでの研究で、抵抗性採種園等から産出される種苗の抵抗性には母樹系統間で違いがあることがわかっている (岩泉ら 2019, 2022b; 亀井・吉岡 2013; 杉本ら 2017)。特に九州では、第一期事業で開発された抵抗性クロマツ・アカマツについて、九州育種場 (熊本県合志市) 内での複数年次にわたる実生後代家系へのマツノザイセンチュウ (以降、線虫) の接種試験が行われ、生存個体率 (生存本数 (健全本数 + 部分枯れ本数) / 接種本数: 以降、「生存率」という) に基づき抵抗性レベルの違いが評価されており、それを 5 段階で区分した抵抗性評価値 (以降、「九州ランキング」という) が抵抗性クロマツ・アカマツの特性情報として利用されている (戸田 2004)。しかしながら、九州以外でもこの九州ランキングがどのくらい適用可能なのか、十分に明らかではない。近畿中南部・瀬戸内・四国といった、西南日本内の他の地点における抵抗性種苗のより効果的な普及を考慮する上で、上記適用の可否を評価するためには、母樹系統間での抵抗性レベルの違いが異なる地点でも共通するのかどうかを検証する必要がある。これまで、少数系統を用いた抵抗性に関する遺伝×環

境条件の交互作用評価は行われている (Iki et al. 2020; 戸田ら 1992) が、多数系統を網羅した線虫接種データに基づく、九州以外での抵抗性マツの抵抗性評価に関する体系的な知見は得られていない。

瀬戸内海に面し、降水量が少なく夏季に高温となる香川県では、森林荒廃地の復旧や海岸・島しょ部の緑化にマツが適しているため、第一期事業後早くから抵抗性クロマツ・アカマツの導入と特性評価が進められてきた。1987 年度より県営クロマツ・アカマツ抵抗性採種園が樹種別に造成されるとともに、種苗の抵抗性評価と、その後の次世代抵抗性マツの開発に資するため、20 年以上にもわたり、母樹系統別の種苗の線虫接種試験が実施されてきた。当該採種園では第一期事業の開発系統のうちの多くが植栽・採種され、実生苗の線虫接種試験が実施されており、毎年の試験結果 (接種本数、生存本数、生存率) については『香川県森林センター業務報告』において母樹系統毎にデータが報告されている。そこで筆者らは、この連年データを解析することにより、香川県における抵抗性クロマツ・アカマツ系統の実生後代抵抗性をランク付けし、九州ランキングとの比較を行うこととした。西南日本以外の各利用地域 (育種基本区・種苗配布区) でも 2000 年以降、全国的に抵抗性マツの開発・普及が進んでいる一方で、その各地域における抵抗性レベルの評価は始まったばかりである (井城ら 2020; 岩泉ら 2022a)。当該データの活用と解析を通じて、抵抗性形質の遺伝的変異や年次変動についても把握しつつ、効果的な抵抗性評価手法について検討することが、今後の全国的な抵抗性種苗の普及・改良や次世代抵抗性育種の推進のための基礎的知見として不可欠である。

本研究では、『香川県森林センター業務報告』において報告されている、香川県の抵抗性クロマツ・アカマツ採種園産種苗の線虫接種試験データを利用して、系統別の実生後代の生存率から抵抗性評価値の香川版 (香川ランキング) を構築することを目的とした。抵抗性に関する遺伝パラメータを算出するとともに、既存の九州ランキングと同様の手法により、樹種別に母樹系統毎の抵抗性を評価した。そして、算出された香川ランキングと、九州ランキングとの関係性について解析した。

材料と方法

供試データ

解析に供試したデータは、『香川県森林センター業務

報告』において報告されている、第一期事業で開発された抵抗性クロマツ・アカマツの実生後代家系の線虫接種試験データ（接種本数、生存本数、生存率）である（引用した報告の一覧を表-1に示す）。これまでに県営抵抗性採種園で植栽され採種されてきた、抵抗性クロマツ14系統および抵抗性アカマツ56系統から得られた実生家系を対象として、1996～2018年までの21年間にわたる線虫接種試験により得られたデータを利用した。なお、2014年、2015年の2ヶ年では供試線虫の不良が見られたため、抵抗性評価データから除外した。

試験用に採種された抵抗性採種園は、クロマツについては香川県まんのう町に所在する香川県森林センター内に、またアカマツについては香川県さぬき市に所在する大川事業地内に1987年度に造成され（アカマツについては以降「旧採種園」という）、それぞれ14系統の計195本、56系統の計468本が植栽された。両採種園では1993年度より系統別の自然交配種子のランダム採種が開始され、そのときの採種園齢は6年次であった（1996年試験における3年生苗：表-2）。しかしアカマツについては、1997年にクロマツと同じ香川県森林センター内に新採種園が造成され、30系統の計408本が植栽された。旧採種園では2005年度（園齢18年次）まで採種が行われたが、新採種園では同じく2005年度

（園齢9年次）より採種が開始され、2006年度以降は新採種園でのみ採種が行われた。2005年度のアカマツ種子については、同一系統については両採種園産の混合種子が用いられた。

播種・育苗および線虫接種試験は、香川県森林センター内の苗畑で行われた。九州ランキングが評価された九州育種場と、今回の香川県森林センターの環境条件を気象庁メッシュ平年値2020（気象庁2022）に基づき比較すると、九州育種場の年平均気温は16.0℃、年降水量は2,029mm、年日射量は13.6MJ/m²、年日照時間は1,985時間であり、香川県森林センターはそれぞれ14.7℃、1,325mm、13.1MJ/m²、1,920時間である。種子は苗畑で母樹系統毎に播種し、得られた実生家系について各翌年の2～3月に床替えし、線虫接種までさらに育苗された。植栽反復は設けられなかった。接種苗齢に年次間で違いがあり、1996～1998年では2年生苗と3年生苗の両者、1999～2003年では2年生苗、2004年以降では3年生苗が接種対象とされた。3年生苗については2年目には床替えをせず、2年目の冬には根切りも実施されなかった。線虫接種は各年とも7月中～下旬に行われた。接種する線虫アイソレイトは、1996～2008年では島原であったが、2009～2012年では島原に加えて強病原力を有するKa-4も別々の苗木に使用され、2013年以降ではKa-4のみが供試された。線虫の接種頭数は2年生苗については1個体あたり5,000頭、3年生苗については10,000頭であった。線虫接種は、育苗した健全苗の主軸の前年伸長部に対し、改良剥皮法（藤本ら1989）により実施された。その他、線虫の培養や接種方法等の詳細については戸田（2004）に基づき実施された。

接種苗の生存調査は、各実施年の接種から約4ヶ月経過した11月中～下旬に行われた。各接種個体について「健全」（無被害なもの）、「部分枯れ」（樹体の一部が線虫により枯損）ないし「枯死」（線虫により全体が枯損）が判定され、実生家系の抵抗性を評価するため、母樹系統毎に生存率が算出された。

データ解析

各母樹系統の抵抗性評価のため、各年次、接種苗齢、線虫系統毎の実生苗を1プロットとし、プロットベースの生存率データを解析に用いた。今回、接種苗齢に合わせて接種頭数が設定されており、苗齢と頭数の要因を区別できないため、あわせて両者の要因を苗齢と考慮することとした。また、この苗齢については、2年生苗と3年生苗の両者が同時に試験されたのが最初の

表-1 本研究で供試した「香川県森林センター業務報告」における線虫の接種試験データの引用元一覧

西暦	年度	号	ページ
1996	平成8年度	29	46-47
1997	平成9年度	30	46-50
1998	平成10年度	31	16-20
1999	平成11年度	32	19-19-3
2000	平成12年度	33	11-13
2001	平成13年度	34	45-48
2002	平成14年度	35	35-38
2003	平成15年度	36	19-20
2004	平成16年度	37	26
2005	平成17年度	38	24-25
2006	平成18年度	39	20-21
2007	平成19年度	40	20-21
2008	平成20年度	41	27-28
2009	平成21年度	42	25-28
2010	平成22年度	43	22-25
2011	平成23年度	44	12-15
2012	平成24年度	45	16-19
2013	平成25年度	46	1-3
2016	平成28年度	49	26-28
2017	平成29年度	50	15-17
2018	平成30年度	51	4-6

表-2 評価対象とした抵抗性クロマツ・アカマツにおける、年次、苗齢、線虫アイソレイト別の接種試験の結果

年次	苗齢	線虫	クロマツ				アカマツ			
			園齢	系統数	本数	生存率(%)	園齢	系統数	本数	生存率(%)
1996	2	島原	7	11	275	70.5	7	1	24	83.4
	3	島原	6	8	186	31.3	6	—	—	—
1997	2	島原	8	12	959	81.9	8	38	2,990	95.2
	3	島原	7	6	175	45.2	7	9	239	79.6
1998	2	島原	9	14	1,231	45.3	9	31	1,433	70.8
	3	島原	8	9	540	79.3	8	28	1,640	85.1
1999	2	島原	—	—	—	—	10	26	1,954	93.0
2000	2	島原	11	14	1,315	70.4	11	35	2,724	88.3
2001	2	島原	12	14	3,548	80.0	12	32	2,538	88.4
2002	2	島原	13	13	4,681	59.8	13	34	3,278	83.2
2003	2	島原	14	14	2,124	79.6	14	37	5,568	91.0
2004	3	島原	14	6	297	83.5	14	7	347	90.8
2005	3	島原	15	14	467	64.6	15	35	1,249	76.3
2006	3	島原	16	7	257	77.4	16	37	1,448	93.0
2007	3	島原	17	14	500	84.7	17	37	2,261	96.7
2008	3	島原	18	14	946	75.2	18, 9*	52	3,480	90.7
2009	3	島原	19	14	264	89.2	10	30	743	98.3
		Ka-4	19	14	266	79.0	—	—	—	—
2010	3	島原	20	14	401	99.3	11	30	893	99.4
		Ka-4	20	14	400	76.7	—	—	—	—
2011	3	島原	21	14	295	78.6	12	30	645	60.7
		Ka-4	21	14	274	17.5	—	—	—	—
2012	3	島原	22	14	588	16.0	13	30	1,250	48.9
		Ka-4	22	14	583	1.9	—	—	—	—
2013	3	Ka-4	23	14	1,398	5.1	—	—	—	—
2016	3	Ka-4	26	13	537	66.3	—	—	—	—
2017	3	Ka-4	27	13	580	44.5	—	—	—	—
2018	3	Ka-4	28	13	472	53.5	—	—	—	—

年次、苗齢および線虫アイソレイト毎の、採種時の採種園齢、評価系統数、総接種本数および平均プロット生存率を示す。

* アカマツの 2008 年については、2005 年の旧採種園と新採種園産種子の両者が用いられている。

1996～1998 年の 3 年間（アカマツは 1997～1998 年の 2 年間）だけで、供試系統数も十分でないため、事前の解析では年次と苗齢の要因を正確に区別して評価することは困難と考えられた。実際、この 2～3 年間のデータを用いて、年次、苗齢を主効果とし、母樹系統の違いをランダム効果として考慮した線形混合モデルにより生存率の違いを解析したところ、両樹種ともに苗齢による有意な違いは見られなかった（クロマツ： $df=2$ 、 $F=2.52$ 、ns；アカマツ： $df=1$ 、 $F=2.66$ 、ns）。したがって今回は、岩泉ら（2019）を参照し、同一年次の 2 年生苗と 3 年生苗のデータはそれぞれ「別の年次」と同義という扱いで用いることとした。また、プロットデータの信頼性を高めるため、過去の実生抵抗性評価の既報（岩泉ら 2019）に従い、接種本数が 10 個体以上のプロットで得られたデータのみを用いた。

次に、生存率のデータセットについて、樹種毎の母樹系統間の抵抗性レベルの変異の解析および遺伝パラメータの推定を行った。クロマツについては、各年次

および 2 線虫アイソレイトにおいておおむね 14 系統のプロットデータが整っていることから、以下の線形モデルを仮定した。

$$yI_{ijk} = \mu + G_i + Y_j + N_k + GN_{ik} + e_{ijk}$$

yI_{ijk} は個体値、 μ は総平均値、 G_i は母樹系統 i の効果、 Y_j は年次 j （以降、同一年内の複数の苗齢も含む）の効果、 N_k は線虫系統 k の効果、 GN_{ik} は母樹系統 i と線虫系統 k の交互作用効果、 e_{ijk} は誤差（残差）である。統計ソフト R version 3.5.0 (R Core Team 2018) のコマンドパッケージである EZR version 1.40 (Kanda 2013) を用いてモデルを解析し、 F 統計量に基づき各要因による効果の有意性を検定した。また、母樹系統による分散の大きさを評価するため、全要因をランダム効果とした線形混合モデルを仮定し、EZR を用いて各要因の分散成分を推定した。遺伝パラメータの推定には、プロット反復が設けられていないことから、家系反復率 (R_f) を適用することとした。年次、線虫系統、年次と線虫系統の交互作用効果を除いたプロット値の変動に占める母樹系

統による変動の割合を評価するため、母樹系統 (σ_g^2) および誤差 (σ_w^2) の分散成分から、栗延・久保田 (2012) に示される反復率の算出方法に従い、下記の式により家系反復率を推定した。

$$R_f = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_w^2)$$

一方で、アカマツについては、2009 年以降の Ka-4 による接種試験データが少数の母樹系統に限られており、事前の解析では 2 線虫アイソレイトのデータによる系統評価の解析を行うのは困難と考えられたため、今回は 2012 年までの島原による接種試験データのみを用いることとした。アカマツについては以下の線形モデルを仮定した。

$$y_{2ij} = \mu + G_i + Y_j + e_{ij}$$

y_{2ij} は個体値、 μ は総平均値、 G_i は母樹系統 i の効果、 Y_j は年次 j の効果、 e_{ij} は誤差 (残差) である。クロマツと同様、EZR を用いて各要因による効果の有意性の検定を行った。また、クロマツと同様に線形混合モデルに基づき各要因の分散成分を算出するとともに、母樹系統および誤差の分散成分から家系反復率を推定した。

さらに、樹種毎の各母樹系統の抵抗性レベルを評価するため、上記の線型モデルに基づいた生存率の最小二乗平均値 (lsm) を、R の lsmeans 関数を用いて算出した。九州ランキング (戸田 2004) と同様にして、lsm の母樹系統平均および標準偏差 (\pm SD) から、各母樹系統の偏差値 (DV) を平均 50 として算出し、その値から 5 段階の評価付けを行った (評価 1 : ~ 35 、評価 2 : $35 \sim 45$ 、評価 3 : $45 \sim 55$ 、評価 4 : $55 \sim 65$ 、評価 5 : $65 \sim$)。そして、今回評価した香川ランキングが既往の九州ランキングとどのくらい相応するかを検証するため、樹種毎に lsm (DV も同じ) の 2 接種地点間での相関関係を、Spearman 順位相関係数 (R_s) に基づき EZR を用いて検定した。

結 果

接種試験の結果

1996 年～2018 年までの 21 ヶ年での線虫接種試験のデータを年度毎に集計したところ、クロマツでの生存率は 1.9% (2012 年の Ka-4) \sim 99.3% (2010 年の島原)、アカマツでは 48.9% (2012 年の島原) \sim 99.4% (2010 年の島原) であり、両樹種ともに年次間で大きく異なった (表-2)。樹種間では、共通の線虫アイソレイトである島原でのデータに基づき比較すると、全体的にクロマツ (検定した計 19 年 (齢) の平均 : 69.0%) に比べ

てアカマツ (同 19 年 (齢) の平均 : 84.9%) のほうが生存率は高かった。また、クロマツにおいて線虫アイソレイト間で比較すると、全体的に島原 (上記 : 69.0%) よりも Ka-4 (検定した計 8 年の平均 : 43.1%) のほうが生存率は低かった。両方の線虫アイソレイトを同時に用いたクロマツ 4 年間 (2009 \sim 2012 年) においても、生存率は一貫して島原に比べて Ka-4 のほうが低かった。

遺伝パラメータの評価

線虫接種後の生存率について、線形モデルに基づき樹種毎に分散分析を実施した結果、両樹種ともに母樹系統および年次間で有意な違いが認められた (表-3)。クロマツについては線虫アイソレイト間でも有意な違いが認められた。一方で、クロマツにおける母樹系統 \times 線虫アイソレイトの交互作用については有意な効果が見られなかった。線形混合モデルによる母樹系統と誤差の分散成分から、樹種毎に家系反復率 (R_f) を算出したところ、クロマツでは 0.149、アカマツでは 0.087 と推定された。

香川ランキングの評価と九州ランキングとの比較

樹種毎の線形モデルから推定された母樹系統の生存率における最小二乗平均値 (lsm) は、クロマツ (14 系統) では 44.2% (RPT015) \sim 64.1% (RPT009) で平均 54.7% (\pm 6.7SD)、アカマツ (56 系統) では 70.4% (RPD089) \sim 95.6% (RPT015) で平均 85.1% (\pm 5.6SD) となり、両樹種ともに母樹系統間で違いが認められた (表-4 ; 表-5)。その lsm に基づき、各母樹系統を偏差値 (DV: 平均 50 ベース) および 5 段階で評価したところ、クロマツでは DV が 34.4 \sim 63.9 となり、評価 1 が 1 系

表-3 香川県抵抗性マツ接種試験における生存率の分散分析結果

要因	自由度	平均平方	F (P)
クロマツ			
母樹系統	13	0.118	5.69 **
年次	24	0.858	41.48 **
線虫	1	2.109	101.92 **
母樹系統 \times 線虫	13	0.032	1.55 ns
誤差 (残差分散)	283	0.021	
アカマツ			
母樹系統	55	0.031	2.34 **
年次	18	0.510	38.31 **
誤差 (残差分散)	486	0.013	

各要因における自由度、平均平方および F 統計量の推定値と有意性を示す (** : $P < 0.01$ 、* : $P < 0.05$ 、ns : $P \geq 0.05$)。

統、評価2が4系統、評価3が5系統、評価4が4系統、評価5は該当なしであった。アカマツではDVが23.7～68.7となり、評価1が5系統、評価2が12系統、評価3が22系統、評価4が13系統で、評価5には4系統が該当した。

上記のとおり評価された香川ランキングと、既往の九州ランキングを比較したところ、母樹系統の生存率 (lsm) はクロマツでは顕著な違いは見られなかった一方で、アカマツでは香川県のほうが九州と比べて全体的に生存率が高かった (表-5; 図-2)。母樹系統の生存率の lsm (DV も同じ) における2接種地点間での関係を解析したところ、クロマツでは高い正の順位相関係数が認められ、九州と香川県での母樹系統の評価値の順位関係はおおむね共通する傾向が観察された (図-1)。アカマツではクロマツに比べて、やや九州と香川県の間での系統順位のばらつきが大きく、一部の母樹系統では5段階評価で2以上異なるものも見られたが、全体的にはクロマツと同様に有意な正の相関が認められ、九州と香川県での評価値の順位関係はおおむね共通していた (図-2)。

考 察

接種試験における生存率の違い

今回、香川県の県営抵抗性マツ採種園内に植栽されている多数の抵抗性クロマツ、アカマツから得られた

クロマツ ($N = 14$, $R_s = 0.767^{**}$)

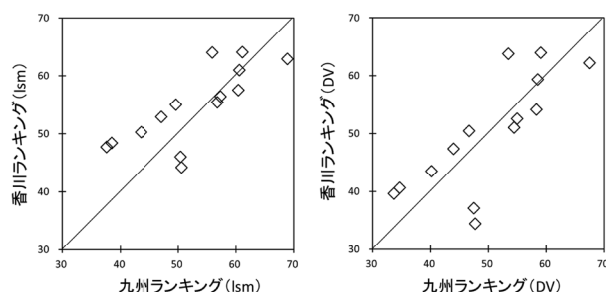


図-1 香川県抵抗性クロマツ接種試験において推定された生存率 (%) の最小二乗平均値 (lsm) および偏差値 (DV; 以上、「香川ランキング」と、既往の九州で評価された抵抗性評価値 (九州ランキング) の相関関係 (Spearman 順位相関係数: R_s)。

アカマツ ($N = 56$, $R_s = 0.596^{**}$)

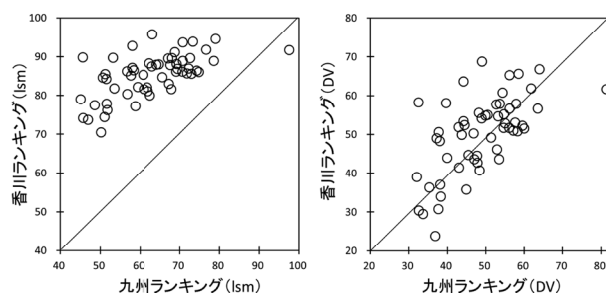


図-2 香川県抵抗性アカマツ接種試験において推定された生存率 (%) の最小二乗平均値 (lsm) および偏差値 (DV; 以上、「香川ランキング」と、既往の九州で評価された抵抗性評価値 (九州ランキング) の相関関係 (Spearman 順位相関係数: R_s)。

表-4 香川県抵抗性クロマツ接種試験において推定された生存率 (%) の最小二乗平均値 (lsm)、偏差値 (DV) および5段階評価 (以上、「香川ランキング」と、既往の九州で評価された抵抗性評価値 (九州ランキング)¹⁾ との比較。九州ランキングの低い系統の順に並べてある。

系統識別 No.	九州ランキング ¹⁾				香川ランキング			
	プロット数	lsm (%)	DV	5段階	プロット数	lsm (%)	DV	5段階
RPT003	11	37.6	33.7	1	22	47.7	39.6	2
RPT006	15	38.5	34.7	1	23	48.4	40.7	2
RPT002	10	43.6	40.2	2	25	50.3	43.5	2
RPT007	15	47.1	44.0	2	24	52.9	47.3	3
RPT004	8	49.6	46.7	3	24	55.0	50.4	3
RPT014	9	50.4	47.5	3	24	46.0	37.1	2
RPT015	7	50.6	47.7	3	20	44.2	34.4	1
RPT008	10	55.9	53.5	3	24	64.0	63.8	4
RPT005	17	56.8	54.4	3	26	55.4	51.0	3
RPT016	8	57.3	55.0	3	23	56.4	52.5	3
RPT010	12	60.4	58.3	4	26	57.5	54.2	3
RPT013	13	60.6	58.5	4	25	61.0	59.3	4
RPT009	6	61.1	59.1	4	22	64.1	63.9	4
RPT011	13	68.9	67.5	5	27	62.9	62.2	4

¹⁾ 九州ランキング: 戸田 (2004) で九州育種場における複数回の線虫接種試験に基づき推定された、抵抗性マツ実生後代家系の生存率に基づく最小二乗平均値 (lsm) と偏差値 (DV) および5段階評価。

表-5 香川県抵抗性アカマツ接種試験において推定された生存率(%)の最小二乗平均値(lsm)、偏差値(DV)および5段階評価(以上、「香川ランキング」と、既往の九州で評価された抵抗性評価値(九州ランキング)¹⁾との比較。九州ランキングの低い系統の順に並べてある。

系統識別 No.	九州ランキング ¹⁾				香川ランキング			
	プロット数	lsm (%)	DV	5段階	プロット数	lsm (%)	DV	5段階
RPD075	6	45.2	32.1	1	10	78.9	38.9	2
RPD007	12	45.7	32.6	1	17	89.7	58.2	4
RPD066	9	45.8	32.7	1	12	74.1	30.3	1
RPD046	11	47.0	33.8	1	11	73.6	29.4	1
RPD016	13	48.7	35.4	2	16	77.4	36.2	2
RPD089	10	50.3	36.9	2	6	70.4	23.7	1
RPD009	8	50.7	37.3	2	10	84.5	48.9	3
RPD068	6	51.2	37.8	2	15	74.3	30.7	1
RPD073	11	51.3	37.9	2	11	85.4	50.5	3
RPD052	11	51.6	38.1	2	16	84.1	48.2	3
RPD051	6	51.7	38.2	2	10	77.8	36.9	2
RPD053	8	51.9	38.4	2	5	76.1	33.9	1
RPD054	14	53.3	39.7	2	6	89.6	58.0	4
RPD011	3	53.6	40.0	2	6	81.7	43.9	2
RPD063	10	56.8	43.0	2	5	86.1	51.8	3
RPD076	12	56.9	43.1	2	13	80.3	41.4	2
RPD055	12	57.7	43.9	2	17	85.0	49.8	3
RPD005	1	58.1	44.3	2	8	87.0	53.4	3
RPD059	8	58.1	44.3	2	6	92.7	63.5	4
RPD019	11	58.4	44.5	2	7	86.4	52.3	3
RPD031	7	58.9	45.0	3	3	77.1	35.7	2
RPD077	7	59.5	45.6	3	11	82.1	44.6	2
RPD029	12	60.9	46.9	3	11	85.2	50.1	3
RPD092	8	61.1	47.1	3	16	81.5	43.5	2
RPD037	10	61.9	47.8	3	6	82.0	44.4	2
RPD010	3	62.0	47.9	3	7	81.0	42.6	2
RPD044	12	62.4	48.3	3	12	88.2	55.5	4
RPD072	4	62.6	48.5	3	15	79.9	40.7	2
RPD043	10	63.1	49.0	3	6	87.4	54.1	3
RPD015	11	63.2	49.1	3	5	95.6	68.7	5
RPD074	5	64.2	50.0	3	10	87.8	54.8	3
RPD088	10	64.8	50.6	3	18	87.9	55.0	3
RPD001	10	65.7	51.4	3	11	84.6	49.1	3
RPD048	14	67.2	52.8	3	6	89.4	57.6	4
RPD006	9	67.4	53.0	3	11	82.9	46.0	3
RPD071	11	67.7	53.3	3	15	87.7	54.6	3
RPD022	13	68.0	53.6	3	6	81.5	43.5	2
RPD021	12	68.2	53.8	3	13	89.5	57.8	4
RPD056	10	68.9	54.4	3	6	91.1	60.7	4
RPD047	11	69.2	54.7	3	16	86.0	51.6	3
RPD027	8	69.3	54.8	3	5	88.0	55.1	4
RPD062	6	69.6	55.1	4	11	86.7	52.8	3
RPD058	10	70.8	56.2	4	10	86.0	51.6	3
RPD042	9	70.9	56.3	4	4	88.8	56.6	4
RPD057	11	70.9	56.3	4	7	93.6	65.1	5
RPD067	5	71.9	57.3	4	11	85.6	50.9	3
RPD082	8	72.4	57.7	4	11	86.8	53.0	3
RPD086	8	72.7	58.0	4	13	89.5	57.8	4
RPD070	8	73.1	58.4	4	14	85.5	50.7	3
RPD036	10	73.4	58.7	4	6	93.8	65.5	5
RPD012	7	74.4	59.6	4	14	86.3	52.1	3
RPD026	11	74.9	60.1	4	15	85.9	51.4	3
RPD017	10	76.8	61.9	4	6	91.7	61.8	4
RPD034	1	78.7	63.7	4	9	88.8	56.6	4
RPD008	13	79.1	64.0	4	7	94.5	66.8	5
RPD035	1	97.6	81.5	5	6	91.6	61.6	4

¹⁾ 九州ランキング：戸田(2004)で九州育種場における複数回の線虫接種試験に基づき推定された、抵抗性マツ実生後代家系の生存率に基づく最小二乗推定値(lsm)および5段階評価。

実生苗を対象とした、20 年以上の長期年次にわたる線虫接種試験データを利用して、母樹系統の実生後代抵抗性を評価した。その結果、両樹種ともに生存率は母樹系統間で有意な違いが検出された (表-3)。このことから基本的には、実生後代の抵抗性には系統の遺伝的性能による違いが関係していることが示唆される。一方で、樹種間での違いや、クロマツにおいては線虫アイソレイト間での違いが認められたほか、生存率の年次間での違いは大きく、年次間での環境条件や生育条件の違い等が接種強度の違いに影響した可能性が考えられる。

アカマツはクロマツと比較して樹種としての抵抗性が高いことが知られており (Toda and Kurinobu 2002)、今回のような選抜集団における接種試験の結果でも特にアカマツは全体的に生存率が高く、その樹種間差の傾向が反映されたと考えられる。接種試験での生存率の違いに影響しうる要因としてこれまで、今回の解析時にも考慮した線虫アイソレイト間の病原力の違い (Akiba et al. 2012 ; 岩泉ら 2017 ; 岡村ら 2004)、苗齢 (苗サイズ: Hakamata et al. 2013 ; 岩泉ら 2019) や接種頭数 (松永ら 2011) のほか、接種場所での気象条件 (気温、降水量等: Iki et al. 2020) や採種時の採種園齢 (岩泉ら 2022b) 等が指摘されている。

生存率の年次間差をもたらす要因のひとつとして、上述した気象条件の違いが考えられるが、本試験では各年次での気温や土壌水分量等の環境測定が行われなかったため詳細な考察は難しい。一方で、同一ロットの抵抗性クロマツ種苗を用いた東北育種場～九州育種場の 5 地点の苗畑における複数年次での接種試験の結果 (Iki et al. 2020) では、接種場所の気温が高いほど抵抗性家系の生存率が全体的に低下する傾向が認められている。しかしこの報告では、接種地点間での母樹系統の生存率の順位変動は小さく、抵抗性に対する遺伝 \times 環境 ($G \times E$) の交互作用の影響は比較的小さいと議論している。また採種園齢について、設定年次の異なる複数の抵抗性アカマツ採種園から採種した同一系統の種苗の抵抗性を比較した結果 (岩泉ら 2022b) では、特に設定後 10 年次頃までに採種された種苗で園外花粉親率が高く、同一系統でも生存率がやや低い傾向が報告されている。特に今回のような、長期年次にわたる抵抗性採種園産種苗の評価においても、採種時の園齢が低い間は実生苗の生存率が低くなる可能性が考えられる。しかし実際、系統別と同時に年次別にも算出した生存率の lsm は、両樹種ともに、採種時の園齢とは有意な相関関係は認められなかった (クロマツ: $N=25$ 、

$R_s=0.229$, ns ; アカマツ: $N=19$, $R_s=-0.138$, ns)。以上のことから、年次毎の交配実態以外の環境条件や生育条件等によっても生存率は変動しうる一方で、それと系統による遺伝的な要因を区別して抽出することにより、複数年次のデータに基づく、多数系統を用いた抵抗性の評価が可能であると考えられる。

香川ランキングと九州ランキングの比較

母樹系統と誤差の分散成分から推定された家系反復率は、クロマツで 0.149、アカマツでは 0.087 であった。これまでの自然交配家系を用いたマツの抵抗性形質に関しては、複数年次にわたる抵抗性クロマツ実生苗の接種試験データに基づく遺伝パラメータが報告されている (Toda and Kurinobu 2001)。その中では、家系の遺伝率は年次により 0.30 ～ 0.50 程度であったとしているほか、遺伝分散を過大推定している可能性も指摘している (実際はこの 7 割程度ではないかと考察している)。また、関東地方のアカマツにおける、抵抗性に関する選抜集団と非選抜集団に対する接種試験の報告 (明石ら 1991) では、家系の遺伝率は 0.145 と算出されている。しかし、この報告では抵抗性レベルの違いが明らかな集団を合わせた解析結果であることを考慮すると、本研究でもおおむね同等の遺伝性が検出されていると考えられる。

その上で本研究では、長期年次にわたる接種試験データから、生存率における母樹系統毎の lsm を算出し、香川ランキングとして抵抗性の評価付けをすることができた (表-4 ; 表-5)。そして、香川ランキングと既往の九州ランキングを比較すると、両者の間には、クロマツでは高い正の相関、アカマツでも有意な正の相関が認められ (図-1 ; 図-2)、九州で生存率の高かった系統は香川県でも生存率が高いことが明らかになった。九州育種場と香川県のメッシュ気候値を比較すると、気温や日射量・日照時間では顕著な相違はないが降水量では違いが見られ (材料と方法の項を参照)、少なからず環境条件の違いが示唆される。一方で今回の結果は、抵抗性形質の相対的な順位関係が西南日本内での異なる接種地点間でも比較的共通しており、多数系統を用いた統合的な抵抗性評価値 (1 地点でも得られれば ; 例えば九州育種場) が、西南日本内でおおむね適用可能であることを示唆するものであった。つまり、例えば遺伝的な抵抗性が低いと評価された系統を、高い系統と入れ替える (採種園改良) ような検討を、特定の利用地域 (育種基本区・種苗配布区) 内の他の地点でもより早期に行うことが可能と考えられる。ただ

し、全体的には順位変動は大きくないながらも、個々の系統の中には地点特異的に高い適応性をもち、特定の地点で高い抵抗性を発揮する可能性も否定できない。したがって、それぞれの地点（府県単位等）では今回のように必要な系統だけでも中長期的に抵抗性評価を行うことにより、地点または地域特異性の確認や、双方の評価値を参考に系統利用を図るといった方策も有効と考えられる。

今回のような長期間にわたる線虫接種試験データの解析に基づいた抵抗性の評価結果は、上述した個々の地点での採種園改良といった、より効果的な抵抗性種苗の性能向上に重要であるほか、今後の他の地点または利用地域でのより効果的な抵抗性評価手法の検討にも資すると考えられる。例えば、地点間で異なる抵抗性を発揮するような系統を把握しその地点（地域）特異性を評価するため、今後他の地点または利用地域での抵抗性評価データを蓄積していくことが必要と考えられる。また、その上では接種苗の苗齢、供試線虫系統・頭数等の試験条件について、可能な限り地点間・利用地域間で統一させることが重要とも考えられる。

まとめ

今回、香川県抵抗性マツ採種園から産出された第一期抵抗性クロマツ・アカマツ実生苗を対象として、多数系統の長期年次にわたる線虫接種試験データに基づき、抵抗性の評価を実施した。その結果、生存率は年次間での環境条件等による影響を受ける一方で、両樹種ともに母樹系統間での遺伝的違いが検出されたとともに、構築した香川ランキングは既往の九州ランキングと有意な正の相関関係が認められた。今回の結果は、特定の利用地域内で開発された抵抗性マツについて系統網羅的に抵抗性を評価し、その範囲内でのより早期な採種園改良等へ適用していくと同時に、利用地域内外のより個々の地点（府県単位等）においても抵抗性評価を継続して進めていくことの重要性を示唆するものである。

西南日本においては第一期抵抗性マツについて、実生後代抵抗性や着花量等といった普及や育種に必要な特性評価が進んでいる（戸田 2004 他）。また近年ではその評価値をふまえた抵抗性マツ（第一世代）同士の交配と選抜が行われ、クロマツでは九州育種基本区、アカマツでは関西育種基本区がそれぞれ中心となり、第二世代抵抗性マツの開発が進められている（岩泉 2018；

松永・渡辺 2018）。一方で、特に西南日本以外の利用地域における、2000 年以降に新たに開発された抵抗性マツについては、近年各地域での抵抗性等の特性評価が着手されたところである（井城ら 2020；岩泉 2016；岩泉ら 2022a）。今後は、本研究も含めたこれまでの西南日本での知見を他の利用地域へも適用し、また利用地域横断的な評価・比較等も可能にする上で、より統一的な要領や基準等に基づく、全国の抵抗性マツの系統評価の推進が重要になると考えられる。

謝 辞

本研究にあたり、香川県森林センターの歴代のマツノザイセンチュウ抵抗性育種担当者の方々には、試験材料の収集、播種・育苗、線虫接種試験等、本研究の根幹となるデータ取得に対し多大なるご尽力を頂いた。森林総合研究所林木育種センター関西育種場の歴代のマツノザイセンチュウ抵抗性育種担当者の方々には、試験用線虫の配布や試験実施に関する助言等のご尽力を頂いた。同センターの山田浩雄氏、同センター関西育種場の宮下久哉氏、三浦真弘氏、河合慶恵氏、同センター九州育種場の松永孝治氏、福田有樹氏には、研究とりまとめにかかるデータ解析や解釈等の検討に際して有益な助言を頂いた。これらの方々に厚く御礼申し上げる。

引用文献

- 明石孝輝・糟谷重夫・北村系子・金指あや子 (1991) マツ材線虫病抵抗性個体選抜における選抜効果と選抜効果予測の手法. 日本林学会誌 73: 46–49
- Akiba M, Ishihara M, Sahashi N, Nakamura K, Ohira M, Toda T (2012) Virulence of *Bursaphelenchus xylophilus* isolated from naturally infested pine forests to five resistant families of *Pinus thunbergii*. Plant Disease 96: 249–252
- 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一技術開発と事業実施 10 か年の成果一. 林木育種場研究報告 7: 1–84
- 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

- Iki T, Matsunaga K, Hirao T, Ohira M, Yamanobe T, Iwaizumi MG, Miura M, Isoda K, Kurita M, Takahashi M, Watanabe A (2020) Effects of temperature factors on resistance against pine wood nematodes in *Pinus thunbergii*, based on multiple location sites nematode inoculation tests. *Forests* 11: 922
- 井城泰一・松永孝治・岩泉正和 (2020) 複数箇所で行った抵抗性クロマツ実生へのマツノザイセンチュウ接種試験. 日本森林学会大会学術講演集 131: P2-186
- 岩泉正和 (2016) 関西育種基本区の山陰北陸地域で開発された抵抗性クロマツの着花特性. 応用森林学会講演要旨集 67: 27
- 岩泉正和・河合慶恵・三浦真弘・松永孝治・小林 玄・渡辺敦史 (2017) 近畿・瀬戸内地域で新たに収集されたマツノザイセンチュウ系統の病原性評価. 応用森林学会講演要旨集 68: 21
- 岩泉正和 (2018) 県との連携による第二世代抵抗性アカマツ品種の開発. 森林遺伝育種 7: 159-161
- 岩泉正和・玉城 聡・磯田圭哉・久保田正裕 (2019) マツノザイセンチュウ抵抗性アカマツのハーフダイアレル交配家系に基づく抵抗性の組合せ能力の評価. 森林遺伝育種 8: 121-130
- 岩泉正和・河合貴之・河合慶恵・宮下久哉・三浦真弘 (2022a) 山陰・北陸側抵抗性クロマツ苗の 2 ヶ年の線虫接種試験による抵抗性評価. 日本森林学会大会学術講演集 133: P-183
- 岩泉正和・三浦真弘・片桐智之・吉岡 寿・大池航史・杉本博之 (2022b) マツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ 6 採種園産種苗の抵抗性に対する母樹系統と園齢に伴う花粉親の効果. 日本森林学会誌 104: 162-169
- 亀井幹夫・吉岡 寿 (2013) 抵抗性アカマツ次代検定林の広島県における 15 年次までの生存状況. 日本森林学会大会学術講演集 124: 632
- Kanda Y (2013) Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplantation* 48: 452-458
- 気象庁 (2022) メッシュ平年値 2020. <https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/atlas.html> (2022 年 10 月 30 日アクセス)
- 栗延 晋・久保田正裕 (2012) 林木育種のための統計解析. 林木育種協会, 東京
- 松永孝治・大平峰子・倉原雄二・倉本哲嗣・山田浩雄・杉本博之・富樫一巳 (2011) クロマツの材線虫病抵抗性はマツノザイセンチュウの病原性に依存して変化するのか? 日本森林学会大会学術講演集 122: D17
- 松永孝治・渡辺敦史 (2018) 林野庁委託事業「マツノザイセンチュウ抵抗性品種開発技術高度化事業」の成果の概要—マツノザイセンチュウの特性評価とより強い第二世代抵抗性品種開発—. 森林遺伝育種 7: 115-119
- 中村克典・大塚生美 (2019) 森林保護と林業のビジネス化—マツ枯れが地域をつなぐ—. 日本林業調査会, 東京
- 岡村政則・平岡裕一郎・倉本哲嗣・佐々木峰子・中平康子・秋庭満輝 (2004) リュウキュウマツ枯死木から分離したマツノザイセンチュウのアイソレイト間による病原性の変異. 九州森林研究 57: 224-225
- R Core Team (2018) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org/>
- 林野庁 (2022) 令和 3 年度森林・林業白書. <https://www.rinya.maff.go.jp/j/kikaku/hakusyo/r3hakusyo/zenbun.html> (2022 年 7 月 12 日アクセス)
- 林野庁研究普及課 (1994) 林木育種事業関連通達集. 林木育種協会, 東京
- 杉本博之・富樫一巳 (2011) 材線虫病抵抗性アカマツ・クロマツの残存木の抵抗性発現と年次変化. 日本森林学会大会学術講演集 122: C26
- 杉本博之・大池航史・岩泉正和・磯田圭哉 (2017) マツ材線虫病被害進行地における抵抗性クロマツ品種植栽林の遺伝的構成. 樹木医学研究 21: 213-214
- 戸田忠雄・鳥羽瀬正志・永田 勲 (1992) 検定地間における材線虫接種検定結果の変異. 日本林学会九州支部研究論文集 45: 45-46
- Toda T, Kurinobu S (2001) Genetic improvement in pine wilt disease resistance in *Pinus thunbergii*: the effectiveness of pre-screening with an artificial inoculation at the nursery. *Journal of Forest Research* 6: 197-201
- Toda T, Kurinobu S (2002) Realized genetic gains observed in progeny tolerance of selected red pine (*Pinus densiflora*) and black pine (*P. thunbergii*) to pine wilt disease. *Silvae Genetica* 51: 42-44
- 戸田忠雄 (2004) アカマツおよびクロマツのマツ材線虫病抵抗性育種に関する研究. 林木育種センター研究報告 20: 83-217
- 戸田忠雄・寺田貴美雄 (2004) マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業. 林木育種協会編. 林木育種のプロジェクト, 129. 林木育種協会, 東京