

2系統のマツノザイセンチュウと接種頭数の違いによる抵抗性クロマツ生残率の変化

岩井淳治¹・番場由紀子¹

1 新潟県森林研究所

要旨：マツノザイセンチュウ2系統（島原，Ka-4）の接種頭数とクロマツ苗木生残率の関係について調べた。試験に用いた苗は一次検定合格の自然交配実生苗3年生480本である。試験は線虫2系統，接種環境2箇所，接種頭数4段階の16試験区で各30本の苗を用いた。カイ二乗検定の結果，接種環境は有意差がなかったため，線虫・頭数の8試験区各60本の生残データでロジスティック回帰分析を行った。頭数是对数変換し，線虫をクラスターとした。得られた回帰式からKa-4の生残データの島原への換算や，任意の生残率になる各線虫頭数の算出が可能となった。

キーワード：マツノザイセンチュウ，Ka-4，島原，生残率，ロジスティック回帰

A survival rate change of resistant *Pinus thunbergii* by two strains and four concentration of Pine Wood Nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*)

IWAI Junji¹, BAMBAYUKIKO¹

1 Niigata Prefectural Forest Research Institute, Murakami, Niigata, 958-0264

I はじめに

マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツの選抜が全国的に行われており，新潟県においても13本の抵抗性クロマツが二次検定合格(3)となり，2015年から抵抗性クロマツ採種園を村上市内に造成している。

抵抗性採種園産の実生苗は抵抗性苗と称することができるが，海岸林造成の現場においてはより確実な抵抗性クロマツ苗の要望が強く，九州や静岡県では抵抗性採種園産の実生苗にさらに「島原」5000頭程度の線虫接種を行った接種生存苗が出荷されている(2, 7)。新潟県でも2023年から抵抗性採種園産クロマツ苗の販売を計画しており，同様に島原接種生存苗の販売する見込みであるが，近年では選抜や抵抗性試験の研究において強毒性線虫「Ka-4」の10000頭接種だけを行っている。つまり島原で接種試験を行った場合どの程度枯損するのかという知見が全くないため，苗木販売の2023年までに島原の適切な接種頭数と予測される生残率について早急に把握する必要がある。一方，Ka-4の10000頭接種は今までに二次検定合格家系の人工交配や自然交配で20交配1200本ほどが試験され，十分なデータの蓄積がある。このデータを島原の任意接種頭数に換算する推定式を求めることにより，新たな接種試験を行うことなくこのデータも生かせることから，そのための接種試験を行うこととした。

II 材料と方法

1. 試験材料 森林研究所構内(村上市鶴渡路38.275N,

139.51E, 標高30m)で定植管理している一次検定合格クロマツ，上越8号-1から2016年に得られた自然交配種子を供試種子とした。育苗は2017年4月に屋外播種床へ播種し，床替えしながら3年苗(24ヶ月苗)まで600本ほど育苗し，成長不良苗を除いた480本の苗を，2019年4月にビニールハウスに240本，屋外に240本ずつ植えた。

2. 接種・調査方法 2019年7月上旬に2線虫(島原，Ka-4)を接種頭数4段階(1000, 2000, 5000, 10000頭/0.1ml)に調整した懸濁液を剥皮接種法により接種した。試験区は線虫2系統，接種環境2箇所(ビニールハウス，屋外)，接種頭数4段階の16試験区各30本で，接種時には作業による差を平準化するため，各試験区内で6～9本程度に4分割し，複数名で接種を行った。

調査は接種から約3ヶ月経過した10月中旬に行い，苗の生残・枯損の別を記録した。なお，個体の一部(頂芽以外)が枯れる「部分枯れ」の場合は生残とした。

3. 解析 調査で得た生残データを接種環境別で検定を行ったところ有意な差はなかった(χ^2 検定, $p=0.394$)ことから，解析では接種環境は分けず，線虫2系統と濃度4種の8試験区各60本のデータを用いた。

一般化線形混合モデル(GLMM)によるロジスティック回帰分析では，応答変数は生残率，説明変数は対数変換した接種頭数，各線虫はクラスターとし，応答変数が従う確率分布は二項分布を仮定した。統計解析ソフトウェアはR-3.6.2(The R Foundation for Statistical

Computing, Vienna, Austria.) を用い, glmmML (ver 1.1.0) パッケージを使用した。

III 結果と考察

線虫及び接種頭数別の生残本数と生残率は, 従来から知られているとおり島原よりも Ka-4 の生残率が低い(5, 6) ことが確認でき, 接種頭数が多いほど生残率が下がることも確認できた。

ロジスティック関数は次の数式で示される (1, 4)。

$$y = \frac{1}{1 + \exp[-(\beta_0 + \beta_1 x + r_n)]}$$

ここで y は生残率, x は線虫頭数 (対数変換), β_0 は切片, β_1 は傾き, r_n は各線虫の変量効果である。

GLMM によって得られた各係数推定値は $\beta_0 = 7.348$, $\beta_1 = -2.294$, $r_{Ka-4} = -0.587$, $r_{島原} = 0.591$ となった。この推定値によるロジスティック曲線は図-1 のとおりで, 丸印で示した実際の生残率をよく推定している。なお, 横軸に対数変換しない線虫頭数を用いた場合は推定の精度は非常に悪かった。これは枯損と線虫頭数の関係が線形ではなく, 非線形 (指数関数的) であるためと考えられる。また, 線虫変量効果推定値からオッズ比を求めると, 島原/Ka-4 は 3.25 となった。つまり島原は Ka-4 の 3.25 倍生き残り, 反対に, Ka-4 は島原の 0.308 倍 (約 31%) が生き残ると推定されていることになる。

次に実際の Ka-4 の 10000 頭接種での生残率を用いて島原を 5000 頭接種した場合の推定生残率 $\hat{y}_{島原}$ を求めた (表-1)。

推定は, まず式①に表-1 の Ka-4 実生残率 y_{Ka-4} を代入し接種頭数 x_{10000} を求め, 式②によって $\log 10000 - \log 5000 = 0.30103$ を減じて 5000 頭に換算した接種頭数 x_{5000} を求め, これを式③へ代入し $\hat{y}_{島原}$ を求めた。

$$y_{Ka-4} = \frac{1}{1 + \exp(-7.348 + 2.294x_{10000} - 0.587)} \quad \text{①}$$

$$x_{5000} = x_{10000} - 0.30103 \quad \text{②}$$

$$\hat{y}_{島原} = \frac{1}{1 + \exp(-7.348 + 2.294x_{5000} + 0.591)} \quad \text{③}$$

その結果, Ka-4 を 10000 頭接種した生残率が 13.37% であれば, 島原 5000 頭接種で生残率が 50% になると計算された。なお, この 50% という値は, 得苗率 50% 未満ではコスト的に見合わない (新潟県山林種苗協会, 私信) ことから, その達成のため採種母樹を新潟 8 号や相川 27 号に絞ることも可能性の一つとなるだろう。

IV おわりに

今回はクロマツ 1 家系だけから回帰式を求めたが, さらに数家系を用いて解析を進めることで推定精度を高めていきたい。

引用文献

- (1) David W. Hosmer, Jr., Stanley Lemeshow, Rodney X. Sturdivant (2017) データ解析のためのロジスティック回帰モデル. 共立出版, 東京. 514pp
- (2) 袴田哲司 (2018) マツ材線虫病抵抗性クロマツ苗の効率的な生産技術に関する研究. 静岡県農林技術研究所特別報告 10
- (3) 岩井淳治 (2017) マツノザイセンチュウ抵抗性一次検定合格クロマツの着花傾向. 新潟森林研報 57:9-15
- (4) 久保拓弥 (2012) データ解析のための統計モデリング入門. 岩波書店, 東京. 267pp
- (5) 小澤創・渡邊次郎・渡邊敦史 (2011) マツノザイセンチュウ抵抗性マツの育種と効率的な増殖に関する研究. 福島林業研究センター研報 44
- (6) 玉城聡・山野邊太郎 (2006) 東北地方等マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の一次検定における選抜強度の改善の試み. 日本森林学会大会学術講演集 117:PE15
- (7) 鳥羽瀬正志・中村健作・宮嶋淳二・戸田忠雄 (1993) マツノザイセンチュウ抵抗性種苗の生産 (I). 日林九支研論集 46:81-82

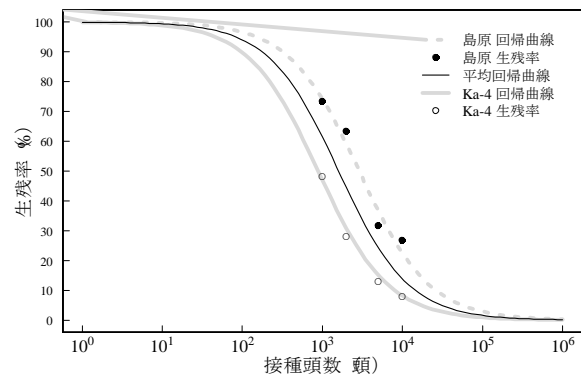


図-1. 線虫別接種頭数別生残曲線

表-1. Ka-4実生残率からの推定生残率

母樹 略称	花粉親 略称	Ka-4; 10000頭	島原; 5000頭
		実生残率 y_{Ka-4}	推定生残率 $\hat{y}_{島原}$
長岡15	新潟8	0.00%	0.00%
長岡15	村上11-5	1.75%	10.37%
村上11-5	新潟8	3.17%	17.53%
新潟40	村上1-3	4.44%	23.16%
新潟3-1	上越1-4	8.16%	36.55%
新潟8	相川27	9.30%	39.93%
新潟8	自然交配	12.20%	47.38%
相川27	村上16-1	18.87%	60.12%
相川27	長岡15	25.42%	68.84%
相川27	村上11-5	28.57%	72.17%
相川27	自然交配	38.46%	80.20%