

少花粉スギミニチュア採種園におけるクローン別の着花性、 種子生産量及び発芽率

The flowering quantity and seed production and germination rate in the miniature seed orchard of the few pollen *Cryptomeria japonica* according to the clone

中村 博一

I はじめに

近年、スギ花粉による花粉症患者が増え続けている中、スギ花粉症対策の一つとして花粉の少ないスギ品種が開発（近藤，1997）され、花粉発生源減少への期待が高まっている。

群馬県では、2003年からスギ花粉症対策として、ミニチュア採種園方式を導入し花粉の少ないスギ品種で構成した採種園（以下、ミニチュア採種園）の造成を開始した。2005年にミニチュア採種園からの種子生産が可能となり、2006年春から、交付する種子を全量ミニチュア採種園から採取した種子（以下、花粉症対策種子）に切り替えている。これにより、2009年春からは本格的に花粉症対策苗木の出荷が始まっている。

ミニチュア採種園方式を用いることで、定植後3年程度で種子生産が可能となり、従来の採種園に比べ、種子生産までの期間が3分の1程度に短縮され、早期に花粉症対策種子の普及が可能となった（林木育種センター東北育種場，2001）。しかしながら、ミニチュア採種園でのクローン別着花特性や種子生産性、発芽率についての報告事例が少ない。そこで本研究は、花粉症対策種子の品質向上及び種子の安定供給を行うため、クローン別の着花性、種子生産量及び発芽率について調査した。

II 方法

1 調査地

調査地は、群馬県渋川市内にある群馬県林業試験場林木育種場内（以下、林木育種場）のミニチュア採種園である。林木育種場は、標高約550mの南斜面に位置している。採種園の概要を表-1に、構成しているクローンを表-2に示す。各区画ともに、植栽苗木は接ぎ木苗及び挿し木苗である。ミニチュア採種園は苗畑に造成されており、周囲は開けているが一部ヒノキ防風林帯に面している。

表-1 少花粉スギミニチュア採種園の概要

区画	造成年	面積 (ha)	クローン数	植栽本数	植栽間隔 (m)
A	2003	0.02	11	69	1.2×1.2
B	2004	0.03	14	150	1.2×1.2
C	2005	0.03	34	147	1.2×1.2
D	2005	0.03	31	127	1.2×1.2
E	2010	0.03	32	162	1.2×1.2
F	2011	0.03	31	155	1.2×1.2

表-2 ミニチュア採種園区画別構成クローン一覧

コード	No	系統名	A	B	C	D	E	F	計
993	1	多賀2	3	0	1	1	7	7	19
900	2	南那須2	9	0	4	4	6	5	28
782	3	南会津4	9	0	4	2	4	5	24
846	4	河沼1	8	0	2	3	5	6	24
1011	5	那珂5	1	0	0	0	6	6	13
804	6	東白川9	5	0	2	0	5	7	19
1008	7	那珂2	7	0	2	1	7	7	24
1004	8	多賀14	8	0	4	3	5	4	24
895	9	上都賀9	9	0	4	3	3	7	26
930	10	利根3	0	14	13	0	5	5	37
933	11	利根6	2	2	10	8	5	5	32
885	12	坂下2	8	23	9	5	0	0	45
1202	13	西多摩2	0	9	3	2	5	5	24
1175	14	北三原1	0	19	2	1	0	0	22
1176	15	北三原3	0	16	3	3	4	5	31
1178	16	周南1	0	10	4	4	4	4	26
1183	17	勝浦1	0	21	2	4	4	2	33
1174	18	鬼泪10	0	1	2	3	5	5	16
1148	19	比企13	0	2	2	1	4	6	15
1053	20	筑波1	0	7	2	4	5	0	18
1028	21	久慈17	0	12	0	0	0	0	12
948	22	群馬4	0	0	13	13	6	6	38
949	23	群馬5	0	0	12	15	6	4	37
1203	24	西多摩3	0	0	3	2	4	5	14
1213	25	西多摩14	0	0	4	4	5	6	19
1247	26	足柄下1	0	0	1	0	4	2	7
1252	27	足柄下6	0	0	7	4	5	5	21
1264	28	愛甲1	0	0	3	4	5	4	16
1265	29	愛甲2	0	0	3	4	5	5	17
1269	30	津久井3	0	0	3	3	6	3	15
1277	31	丹沢5	0	0	3	3	7	2	15
1292	32	片浦4	0	0	1	1	4	3	9
1293	33	片浦5	0	0	4	4	5	4	17
1277	34	北群馬1	0	7	6	8	6	9	36
1292	35	多野2	0	7	7	8	5	6	33
1159	36	秩父(県)10	0	0	2	2	0	0	4
計			69	150	147	127	162	155	810
クローン数			11	14	34	31	32	31	

2 クローン別の雄花・雌花着花性

(1) 着花の誘導

種子採取の前年に、100ppmの濃度に希釈したジベレリン（GA₃）水溶液を動力式噴霧機により、各年ともに採種区画の全個体に葉面散布して着花を誘導した。雄花・雌花の花芽の分化時期に違いがあることから（真柴，1998）効率的な着花促進を行うため、ジベレリン処理を2回に分けて行った。各年のジベレリン散布時期を表-3に示す。

表-3 ジベレリン散布時期

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
	A区画	B区画	C区画	D・A区画	B区画	C区画	D・A区画	B・E区画	C区画	D・A区画
雄花促進	6/24	6/29	6/30	6/26	6/24	6/25	7/8	6/28	6/27	7/2
雌花促進	7/21	7/21	7/31	7/27	7/29	7/30	8/5	7/27	8/1	7/31

(2) 雄花・雌花着花量調査

着花量の判定に用いた、雄花・雌花の着生程度を表-4に示す0～5の6段階の指数（以下、着花指数）により採種木を4方向から評価し、平均したものを採種木の着花指数としてクローン別にまとめた。調査は、2004年から2013年に処理した区画について行った。各年の着花量調査時期を表-5に示す。雄花着花量・雌花着花量の遺伝率を求めるため、個体値を用いて区画・年度の組み合わせを反復とし、以下の線型モデルを仮定した。

$$Y_{ijk1} = \mu + Y_i + B_j + F_k + YF_{ik} + BF_{jk} + p_{jk} + e_{ijk1}$$

ここで Y_{ijk1} は、個体測定値、 μ は総平均値、 Y_i は年度*i*の効果、 B_j は区画*j*の効果、 F_k はクローン*k*の効果、 YF_{ik} は年度とクローンの交互作用効果、 BF_{jk} は区画とクローンの交互作用効果、 p_{jk} は一次誤差、 e_{ijk1} は誤差である。年度および区画の効果は固定効果、それ以外の効果は変量効果とした。年度・区画・クローン別の組み合わせに欠損があったため、最小二乗推定値（栗延，2008）を求め、クローン平均値とした。パラメータ推定および検定は、統計パッケージRのlmerパッケージ、lmerTestパッケージ、およびlsmeansパッケージを用いて行った。

表-4 雄花・雌花着花量調査指数表

指数	内 容
0	着生していない
1	わずかに着生している
2	着生しているが量が少ない
3	ある程度着生している
4	全体にかなり着生している
5	一見にして全体に密に着生している

表-5 雄花・雌花着花量調査時期

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2013
	A区画	B区画	C区画	D・A区画	B区画	C区画	D・A区画	B・E区画	C区画	D・A区画
調査日	3/14	3/6	3/20	3/30	3/26	2/25	1/26	3/13	1/18	12/10

3 クローン別の種子生産量

球果採取は、林業種苗法に沿い9月20日以降で球果の充実の程度を確認し、クローン別に行った。採取した球果は、屋内で約1ヶ月半自然乾燥させ、始めに、目の粗さが5mmの篩を使用し、球果から種子を分けた。次に、目の粗さが1mmの篩を使用し、種子より小さい混ざり物を取り除きクローン毎に種子を計量した。分析には、それぞれクローン別に計量した種子量を採取した本数で割った数量を、クローン1本当たりの種子生産量とした。調査は、2005年から2013年に採種した区画について行った。種子生産量の遺伝率を求めるため、個体値を用いて、区画・年度の組み合わせを反復とし、以下の線型モデルを仮定した。

$$Y_{ijk} = \mu + Y_i + B_j + F_k + YF_{ik} + BF_{jk} + e_{ijk}$$

ここで Y_{ijk} は個体測定値、 μ は総平均値、 Y_i は年度*i*の効果、 B_j は区画*j*の効果、 F_k はクローン*k*の効果、 YF_{ik} は年度とクローンの交互作用効果、 BF_{jk} は区画とクローンの交互作用効果、 e_{ijk} は誤差である。雄

花・雌花着花量同様に、クローン別の最小二乗推定値を求め、クローン平均値とした。パラメータ推定および検定は、統計ソフトRのlmerパッケージ、lmerTestパッケージ、およびlsmeansパッケージを用いて行った。

4 クローン別発芽率

発芽試験は、シャーレ内に湿らせた濾紙を敷き、その上に種子100粒を播き、温度23.5℃で照明なしに設定したインキュベーター内に2反復置床した。なお、発芽率は設定後、発芽締め切り日(28日目)のデータをもって平均した値を発芽率とした。調査は、2005年から2013年に採種した区画について行った。

5 雄花・雌花・種子生産量のクローンの広義の遺伝率

各年度別に、各形質についてクローンの変量効果を遺伝子型値として求め、年度間の相関を形質毎に求めた。各形質の年度を通した遺伝性の指標として、広義の遺伝率を求めた。

$$\text{雄花着花量・雌花着花量: } R_i = \sigma_F^2 / (\sigma_F^2 + \sigma_{YxF}^2 + \sigma_{BxF}^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2)$$

$$\text{種子生産量: } R_p = \sigma_F^2 / (\sigma_F^2 + \sigma_{YxF}^2 + \sigma_{BxF}^2 + \sigma_e^2)$$

ここで R_i は個体の広義の遺伝率、 R_p は年度区画内の広義の遺伝率、 σ_F^2 はクローンの分散、 σ_{YxF}^2 は年度とクローンの交互作用分散、 σ_{BxF}^2 は区画とクローンの交互作用分散、 σ_p^2 は一次誤差の分散、 σ_e^2 は誤差分散である。パラメータ推定および検定は、統計ソフトRのlmerパッケージ、lmerTestパッケージ、およびlsmeansパッケージを用いて行った。

III 結果及び考察

1 クローン別の雄花・雌花着花性

クローン別の雄花・雌花の平均着花指数を図-1及び図-2に示す。雄花着花指数については、利根6号の1.24が最も低い値で、次いで周南1号の1.34、勝浦1号の1.49であった。一方、群馬5号は3.22と最も高い値で、次いで那珂5号の2.98、久慈17号の2.95であった。雌花着花指数については、那珂5号の3.30が最も高い値で、次いで上都賀9号の3.12、愛甲2号の3.11であった。一方、足柄下6号は1.48と一番低い値で、次いで鬼泪10号の1.86、北三原1号の1.87であった。仮定した線型モデルから、年度および区画の効果は固定効果、それ以外の効果は変量効果とした。固定効果の検定は分散比によるF検定、変量効果の検定は尤度比検定を行った(表-6)。検定の結果、クローン間の差は雄花・雌花着花性の両形質について有意であった($p < 0.01$)。これにより、ミニチュア採種園を構成している、10年生以下の若い林齢であっても、ジベレリン処理による着花性は、高い傾向にあるクローンと低い傾向にあるクローンがあることが分かった。また、雄花着花量と雌花着花量のクローン平均値による順位相関は低く、有意な関係は認められなかつ(スピアマンの順位相関係数 $r = 0.06$ 、 $p > 0.05$)。このことから、種子親として寄与が大きいクローンと花粉親として寄与が大きいクローンは異なることが示唆された。

ミニチュア採種園の種子から生産した実生苗木については、花粉症対策苗木としての形質が期待されており、雄花着花性については、採種木の雄花着花性が低ければ実生後代苗木の雄花着花性も低くなる(坪村ら, 2009)ため、花粉症対策採種園の造成を検討する際は、今回の結果を踏まえ、群馬5号や那珂5号など、雄花着花指数が高い傾向を示したクローンを除き、採種園を構成にすることが、花粉症対策苗木の品質向上に繋がると考えられる。

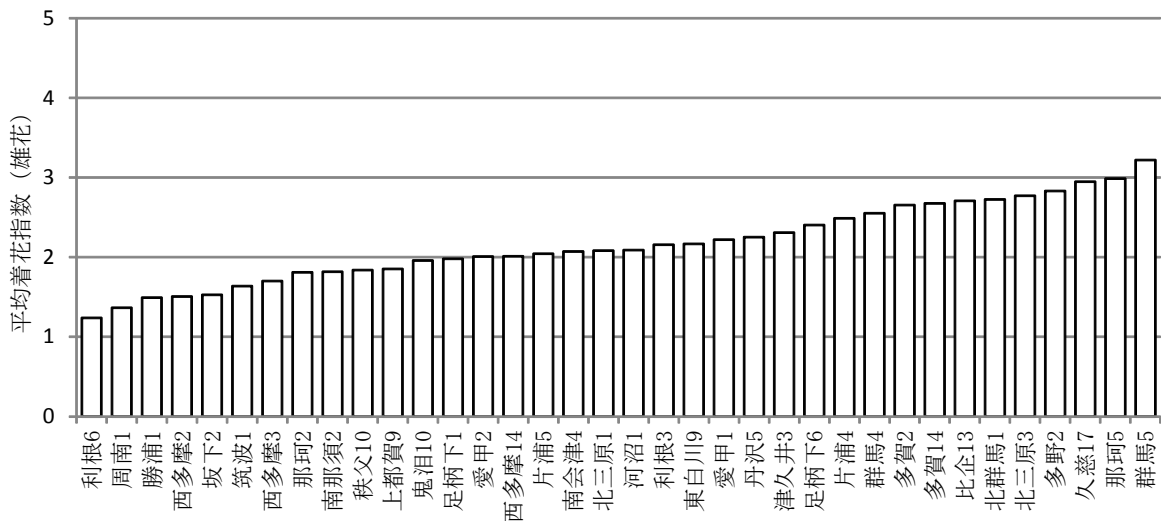


図-1 クローン別平均雄花着花指数

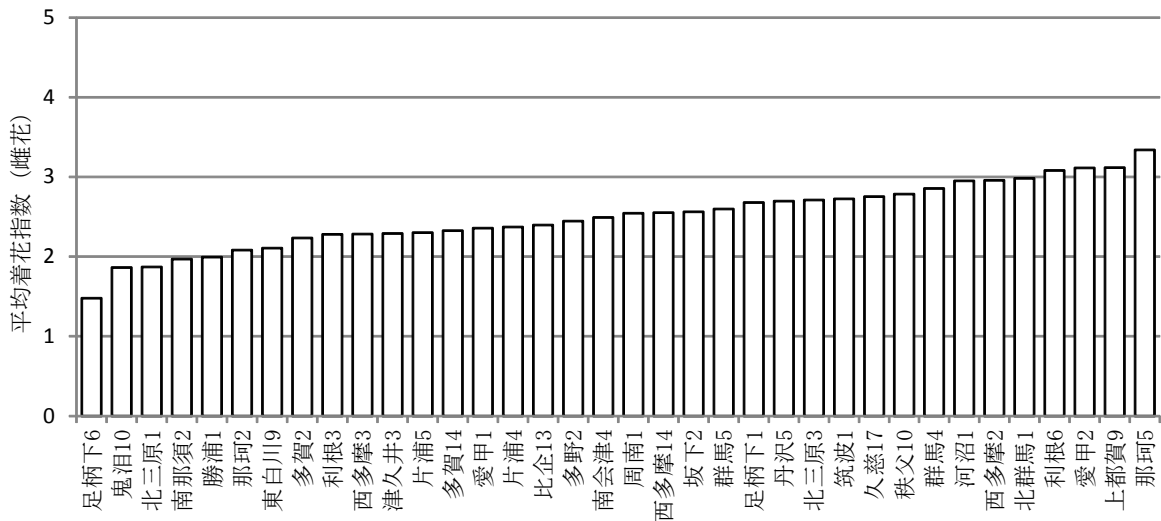


図-2 クローン別平均雌花着花指数

表-6 雄花・雌花の検定結果

	雄花	雌花
年度	<0.01 **	<0.01 **
区画	0.314 ns	<0.013 *
クローン	<0.01 **	<0.01 **
クローン×年次	0.078 ns	0.343 ns
クローン×区画	0.203 ns	0.348 ns

ns:有意差なし、*:5%水準で有意、**:1%水準で有意

年度・区画については分散比によるF検定、クローン以下は尤度比検定の結果を示す。

2 クローン別の種子生産量

クローン別の1本当たりの平均種子生産量を図-3に示す。種子生産量は、河沼1号の0.38リットルが最も多く、次いで久慈17号の0.37リットル、津久井3号の0.35リットルであった。一方、足柄下

1号は0.004リットルで最も少なく、次いで勝浦1号0.02リットル、足柄下6号0.04リットルであった。年度および区画の効果は固定効果、それ以外の効果は変量効果とした。固定効果の検定は分散比によるF検定、変量効果の検定は尤度比検定を行った(表-7)。検定の結果、クローン間差は有意であった($p < 0.01$)。これにより、雄花・雌花の形質と同様に、種子生産量についても高い傾向にあるクローンと低い傾向にあるクローンがあることが分かった。雌花着花指数と種子生産量とのクローン平均値については有意な順位相関が認められたが、その関係はあまり強くなかった(スピアマンの順位相関係数 $r = 0.269$, $p < 0.01$)。那珂5号や上都賀9号及び愛甲2号のように雌花着花指数が高い値を示していても種子生産量が少ないクローンが見られたが、これは、クローン毎に種子の大きさが違うことから、種子が小さいクローンは、精選時に種子が篩の下に落ちる割合が高く、球果から精選された種子量の減少幅が大きい。逆に、津久井3号や比企13号のように雌花着花性が低い値を示していても、種子生産量が多いクローンは、種子サイズが大きいため、種子が篩の上に残る割合が高く、総種子生産量の減少幅が小さくなることが要因の一つと考えられる。

安定的に少花粉性を持った種子生産を行うためには、足柄下1号や勝浦1号など、雌花着花性が低くかつ、種子生産量が少ないクローンを除き、津久井3号や比企13号など、種子生産量が多いクローンや、河沼1号や久慈17号のような雌花着花指数が高く、種子生産量も多いクローン構成にすることにより、安定的に種子供給が可能になると考えられる。

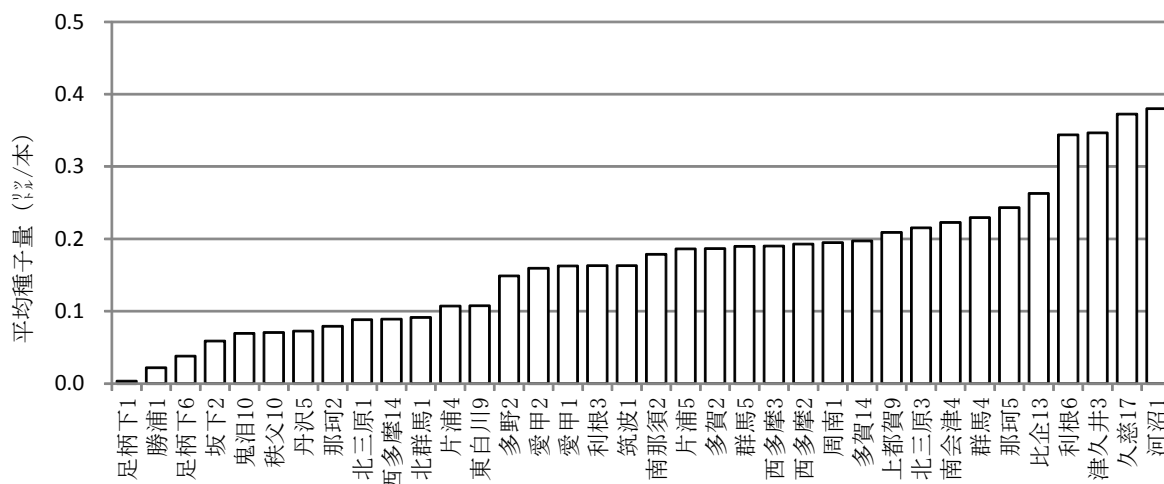


図-3 クローン別植栽木一本当たりの平均種子生産量

表-7 種子生産量の検定結果

	種子量 (リットル)
年度	<0.01 **
区画	-
クローン	<0.01 **
クローン×年次	-
クローン×区画	-

** : 1%水準で有意

年度・区画については分散比によるF検定、クローン以下は尤度比検定の結果を示す。

「-」は解析モデルに含まれていないことを示す。

3 クローン別発芽率

クローン別平均発芽率を図-4に示す。発芽率は、秩父10号の63.0%が最も高く、次いで足柄下6号の51.3%、群馬5号の49.8%であった。一方、筑波1号は7.1%で最も低く、次いで北群馬1号の15.3%、多野2号の18.3%であった。分散分析の結果を表-8に示す。クローン間差は有意であった ($p < 0.05$)。これにより、他の形質と同様に、発芽率についても高い傾向にあるクローンと低い傾向にあるクローンがあることが分かった。また、種子生産量と発芽率のクローン平均値による順位相関は低く、有意な関係は認められなかった (スピアマンの順位相関係数 $r = 0.045$ 、 $p > 0.05$)。これにより、種子生産量に寄与が大きいクローンと発芽率として寄与が大きいクローンは異なることが示唆された。

スギの標準発芽率は30%とされていることから (真柴, 1998)、これらよりも発芽率が低い傾向を示した筑波1号や北群馬1号などのクローンを除き、採種園を構成することが、ミニチュア採種園から生産した種子の発芽率向上に繋がると考えられる。

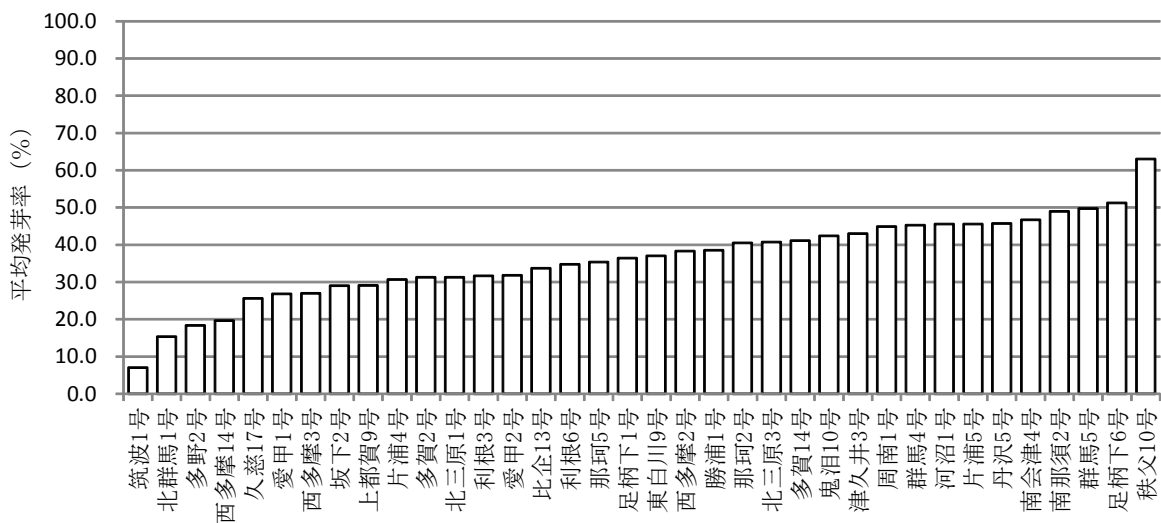


図-4 クローン別平均発芽率

表-8 クローン別平均発芽率の分散分析結果

要因	自由度	平均和	平均平方	F 値	有意水準
クローン間	35	24012.87	686.08	1.480	*
クローン内	207	88741.52	428.70		
総	68	112754.40			

*:5%水準有意

4 雄花・雌花・種子生産量のクローンの広義の遺伝率

雄花・雌花着花量の個体の広義の遺伝率はそれぞれ0.459、0.250であり、またクローン平均値の広義の遺伝率はそれぞれ0.940、0.856であった。種子生産量の反復平均値の広義の遺伝率は0.500、クローン平均値の広義の遺伝率は0.916であった。栗延 (1993) や田村ら (2006) は、個体の広義の遺伝率が、スギ挿し木で直径が0.3、樹高が0.4程度と報告している。これと比較すると、雄花着花量、種子生産量については成長形質よりも高い遺伝率を示し、遺伝的な支配が大きいことを示している。また、クローン平均値の広義の遺伝率についてはどの形質についても0.8を越える値を示し、今回調査したミニチュア採種園においては、年度・区画の影響は少なく、高い値を示すクローンは、安定して高い値を示すことが示唆された。

IV おわりに

早期に種子供給が可能なミニチュア採種園は、花粉症対策への期待が大きい。そのためには、品質の高い花粉症対策種子の生産に加え、安定した種子の供給についても考えなければならない。今回、採種木の着花特性、種子生産量、発芽率の各形質について調査したが、雄花着花量、種子生産量については遺伝的な支配が大きいことが分かった。花粉症対策種子の生産に向けて、雄花着花指数の高いクローンを除いて採種園を改良する方法が考えられるが、雄花着花指数の高い傾向を示したクローンの中には、種子生産量の多いものがあることから、改良により、生産した種子の品質は改良前と比較し向上が期待できる。しかし、現状の面積で改良した場合、構成するクローンによっては種子生産量が減少する可能性がある。また、雄花着花指数の低いクローンに入れ替えた場合、ミニチュア採種園内の花粉濃度が低下することによる、外部花粉の影響も懸念される。については、採種園を構成するクローン、造成面積、立地条件、周辺環境などを考慮し目的にあった採種園を造成する必要がある。

ミニチュア採種園は採種木の樹高が低く管理され、クローンの改良については従来に比べ格段に容易になった。これにより、研究の成果を速やかに事業に活用できるため、今回得たクローン毎の形質特性の結果がミニチュア採種園改良の一助になれば幸いである。

最後に、本調査データの分析にご協力くださった国立研究開発法人森林総合研究所林木育種センターの武津英太郎氏に深く感謝申し上げます。

引用文献

近藤禎二(1997), 花粉の少ないスギ精英樹, 林木の育種183, 7-9

栗延晋(1993), 次代検定林における精英樹の材質について, 林木の育種161, 28-32

栗延晋(2008), 林木育種のための統計解析 (10), -不揃いな2元分類データの分散分析法-, 林木の育種229 : 43-46

真柴孝司(1998), 林業技術ハンドブック, 703pp, 社団法人全国林業改良普及協会, 東京

林木育種センター東北育種場(2001), 東北育種基本区スギミニチュア採種園技術マニュアル, 2-48

田村明・栗延晋・武津英太郎・飯塚和也(2006), スギ精英樹クローンにおける炭素貯蔵量の選抜効果の試算, 日本森林学会誌88, 15-20

坪村美代子・中田了五・武津英太郎・福田陽子(2009), 人工交配家系を用いたスギ雄花着花性の遺伝性, 第120回日林学術講, CD-ROM