

初期成長のよい苗木を用いた省力造林に関する調査研究

Research about the labor reduction in saving afforestation using seedlings of rapid growth at early stage

— スギ少花粉ミニチュア採種園から生産された種苗の性能評価 —

The performance of the seed and sapling produced from *Cryptomeria japonica* miniature seed orchard

中村博一・平岡裕一郎*・坪村美代子*・栗田 学**・高橋 誠*

要旨

親情報のない一般造林地及び苗畑で育成したスギ実生個体について、個体のDNA分析から得られた遺伝子型を基に親クローンの推定を実施し、推定した親情報を利用した成長形質の系統評価を行った。一般造林地と実生による次代検定林の樹高成長データを統合して解析し、育種価を予測した結果、多賀14や南那須2及び河沼1が異なる場所に植栽しても良好な初期成長を示すことが分かった。苗畑における個体の親の構成割合は年ごとに大きく変動していた。苗畑における個体サイズの系統評価値と一般造林地及び実生による次代検定林における樹高の評価値には弱い正の相関が認められた。

キーワード：少花粉スギ、ミニチュア採種園、次代検定林、BwB (Breeding without Breeding)

I はじめに

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取組を各都府県が進めている。群馬県では、2003年から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。

一方で、我が国の森林資源は、戦後造林した人工林が伐期を迎え充実しつつある。この豊富な資源を活用し、持続可能な森林経営を推進するためには、主伐後の再造林等を着実に、そして低コストで行う必要がある。しかし、伐採後、再造林から保育に費やす経費は割高で、このことが森林の循環利用を妨げる原因のひとつとなっている。植栽から10年間までの初期保育費は、約1,500千円/haで、このうち約5割が下刈りまでの期間に費やされ、森林所有者への大きな負担となっている。

* 国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター

** 国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター九州育種場

これまでの品種の選抜は、母樹別の実生苗やさし木によるクローン増殖をした苗を植栽して次代検定林を造成し、その後の生育結果を比較・評価してきた。それにより、優れた品種を採種園等に導入、あるいは劣る品種を除去することにより、育種効果を高めてきた。しかし、近年では多様な社会ニーズに応じるため、花粉症対策品種、成長や材質に優れた品種の開発などさまざまな品種の開発が進められている。そのための系統評価を行うには、新たに複数箇所の次代検定林を設定する必要があり、植栽する苗の増殖や育苗、維持管理のための人員と経費が必要となる。

また種苗生産においては、出荷規格を超えて大きく成長した苗木は山出しすることができない。一方で、採種園産種子から育成された苗木の生育の良し悪しは親となる品種に少なからず依存する可能性がある。これらのことから、出荷規格による制限が原因で、成長の良好な家系の苗木の山行きを妨げている可能性がある。そうした場合、造林地における木材生産性に影響が生じる可能性が考えられる。このため、苗畑での初期成長特性と家系の関係性の有無や、それぞれの家系の苗畑と造林地での成長性の関連性を明らかにする必要がある。

そこで、本研究では、ミニチュア採種園から生産した種苗の性能評価を行い、より成長の優良な品種を絞り込むため、実生による次代検定林と検定林ではない、ミニチュア採種園産の一般造林地を検定林的に利用したいいわゆるBreeding without Breeding (BwB) (El-Kassabyら, 2006) の手法を適用し、現在導入しているクローンの評価を試みた。この手法は親情報が不足した試験地において、DNAマーカーに基づく遺伝子型から親子解析により個体の親を推定し、家系情報が明らかな次代検定林と同様に統計遺伝学的解析を行い、系統や個体の評価を行うものである (El-Kassabyら, 2006)。さらに本試験では、苗畑で育成中の苗木についてもDNAマーカーを適用して推定した親情報に基づく系統評価を行い、実生による次代検定林及び一般造林地における評価結果と比較することで、苗畑における選苗が造林地の生産性に及ぼす影響を評価した。

II 材料及び方法

1 実生による次代検定林及び一般造林地

(1) 試験地

実生による次代検定林は、2010年5～6月に県中央部に位置する渋川市横堀地内の林木育種場（標高約550m）に設定した。植栽苗は、2006年及び2007年にミニチュア採種園から採取した21クローンから自然交配種子を採取し、2007年及び2008年に林木育種場内の苗畑に播種し育苗したものと、(国研) 森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター（以下、育種センター）で育苗した7クローンとした。なお、採種（育苗）地域が違う場合でも系統が同じであれば同様として扱った（表－1）。各系統1プロット5本を植栽し、反復は4つ設けた（28系統×5本×4反復の計560個体）。植栽間隔は1.5m×1.5mとした（図－1）。なお、群馬4の1系統が19本であるため、植栽本数は559本である。

一般造林地については、前橋市富士見町市之木場地内（標高約400m）の2010年に植栽されたスギ造林地内を4ブロックに分け、912個体からなる試験地を設定した（図－2）。

(2) 調査方法

一般造林地及び実生による次代検定林において、それぞれ植栽後5年及び7年次の樹高を調査した。一般造林地については、個体の位置情報として行・列番号を記録した。空間自己相関誤差を取り除いた樹高データ（後述）等を考慮して選定した個体及び4ブロック中1つのブロック内の全個体の、計291個体から針葉サンプルを採取し、Miyamoto et al. (2014) の方法に準じてSSR (Simple sequence repeats) 分析を行った。つまり、改変CTAB法（白石・渡辺, 1995）によってDNA抽出を行い、Multi

p

lex PCR kit (Qiagen Inc) を用いてPCRを実施した。分析に用いたSSR遺伝子座はMiyamoto et al. (2014) で使用したものと同様のものとした。なお、そのうちcjgssr175とCJS520は以後の親子解析での使用が困難と判断したため、本研究では結果を使用しなかった。電気泳動はABI PRISM 3130x1 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用い、GeneMapperソフトウェア (Applied Biosystems) を用いてアレルの同定を行った。

表－1 実生検定林に植栽した系統

精英樹ID	No	系統名	選抜県	種子採取地域	播種年	植栽本数
993	1	多賀 2	茨城県	群馬県	2008	20
1011	2	那珂 5	茨城県	群馬県	2008	20
1008	3	那珂 2	茨城県	群馬県	2008	20
895	4	上都賀 9	栃木県	群馬県	2008	20
900	5	南那須 2	栃木県	群馬県	2008	20
846	6	河沼 1	福島県	群馬県	2008	20
1004	7	多賀 1 4	茨城県	群馬県	2008	20
933	8	利根 6	群馬県	群馬県	2008	20
1203	9	西多摩3	東京都	群馬県	2007	20
1183	10	勝浦 1	千葉県	群馬県	2007	20
1176	11	北三原 3	千葉県	群馬県	2007	20
1178	12	周南 1	千葉県	群馬県	2007	20
1252	13	足柄下 6	神奈川県	群馬県	2007	20
1053	14	筑波 1	茨城県	群馬県	2008	20
804	15	東白川 9	福島県	群馬県	2007	20
948	16	群馬 4	群馬県	群馬県	2008	19
949	17	群馬 5	群馬県	群馬県	2008	20
1213	18	西多摩14	東京都	群馬県	2008	20
1264	19	愛甲 1	神奈川県	群馬県	2008	20
1265	20	愛甲 2	神奈川県	群馬県	2008	20
1269	21	津久井 3	神奈川県	群馬県	2008	20
930	22	利根 3	群馬県	茨城県	2007	20
948	23	群馬 4	群馬県	茨城県	2007	20
949	24	群馬 5	群馬県	茨城県	2007	20
895	25	上都賀 9	栃木県	茨城県	2007	20
1154	26	秩父県 5	埼玉県	茨城県	2007	20
1159	27	秩父県10	埼玉県	茨城県	2007	20
1136	28	比企 1	埼玉県	茨城県	2007	20



図－1 実生次代検定林 (林木育種場内)



図－2 一般造林地 (前橋市富士見町)

(3) 解析方法

親子解析として、最低4遺伝子座のSSRマーカーによる遺伝子型について、各個体が保有するアレルに矛盾のない品種を親とした。なお、親子解析の際に親クローンとして用いた個体は、ミニチュア採種園に導入している花粉の少ないスギ品種とした。

成長特性の系統評価のための解析には次の線形混合モデルを用いた：

$$y = XB + Zu + e$$

ここでは y は観察値のベクトル、 X は固定効果に関する計画行列、 b は固定効果のベクトル、 Z は変量効果に関する計画ベクトル、 u は変量効果のベクトル、 e は変量効果の残差ベクトルである。

本解析は2ステップに分けて実施した。まず1ステップ目として、一般造林地の5年次樹高について、固定効果を全体平均、変量効果である残差ベクトル $e = \xi + \eta$ (ξ は空間自己相関残差、 η は独立残差)、 $Z = 0$ として解析した。ここで空間自己相関残差とは、立地環境等により「空間的に近隣の個体は値が似ている」という現象を統計モデル中に相関係数として組み込んだ残差項をいう

(Dutkowski et al., 2002)。このステップにより、立地による成長の良し悪しの効果を個体ごとに検出した。個体の実測データからこの空間自己相関残差を差し引くことで、成長に対する立地の影響を取り除いた樹高データを作成した。

2ステップ目として、1ステップ目で作成した一般造林地データと、実生による次代検定林の7年次樹高データを合わせ、上述の線形混合モデルにより解析した。ここでの固定効果は全体平均、試験地(検定林または一般造林地)、植栽時の苗齢及び反復とし、変量効果は個体、個体の親×試験地の交互作用及び独立残差とし、個体モデル(栗延・久保田, 2012)により解析した。なお個体モデルでは、相加的血縁係数を組み入れて個体の変量効果を推定することにより、親及び子の育種価を同時に求めることができる(栗延・久保田, 2012)。なお、育種価は親としての優秀さを表すものである。なお、一般造林地の個体の親は、上述のSSRマーカーによる親子解析で決定した片親もしくは両親とした。以上の解析で得られる家系の効果は、親から子に相加的に遺伝する一般組合せ能力であり、親としての優秀さを表すものである。

2 苗畑調査

(1) 調査地

苗畑は、県内苗木生産者が苗木を育苗している、渋川市赤城町津久田(標高約515m)、渋川市横堀(標高約515m)及び北群馬郡榛東村大字広馬場(標高約405m)とした。

(2) 調査方法

ミニチュア採種園から2012年及び2013年に採取した種子をそれぞれ翌年春に播種し、1成長期後の2014年6～7月(生産者により異なる)及び2015年5月に苗高を計測するとともに、針葉のサンプリングを行った。なお、計測及び針葉のサンプリングは、2014年は苗木生産者毎に床替え時に選苗した大、中、小の各サイズからそれぞれ50本、25本、25本ずつ計100本、2015年は各サイズ32本ずつ計96本とし、3生産者の合計はそれぞれの年で300本と288本とした。DNA抽出、SSR分析及び親子解析の方法は1と同様とした。

(3) 解析方法

1に示すものと同様の方法で、個体の親を推定した。それぞれの調査年で大、中、小の各サイズに属する個体の個体サイズ指数を3、2、1とした。個体サイズ指数を説明する線形混合モデルを構築して解析した。本モデルは個体モデル(栗延・久保田, 2012)とし、全体平均、年次及び生産者の固

定効果、個体及び残差を变量効果で構成した。

なお、1及び2における親子解析には統計パッケージRの自作プログラムを、線形混合モデルによる解析はASReml 3 ソフトウェア (VSN International Ltd.) を用いて行った。

Ⅲ 結果及び考察

1 実生による次代検定林及び一般造林地

一般造林地及び次代検定林の樹高データを用いた解析の結果、親ごとの育種価を予測した(図-3)。今回の結果から、群馬県における成長に優れた品種は足柄下6、勝浦1及び那珂5であった。なお、利根6、西多摩3及び群馬4は下位品種であった。今回の解析では2か所の試験地の成長データを用いており、家系×試験地の交互作用を考慮した上で育種価を予測した。このことから、本解析で育種価の高かった親から生産された種苗は、異なる場所に植栽しても良好な初期成長を示すことが期待できる。課題としては、一般造林地を試験地として利用しているため、実生による次代検定林と関与している親のデータ数が乏しい品種が含まれている。一方で、多賀14や南那須2及び河沼1は、次代検定林と関与しているデータ数が10個体以上あることから、育種価の予測精度も上がり信頼性が高いことから異なる箇所においても初期成長はより期待できる。今後、育種価の予測精度をより上げるためには、さらに複数箇所の造林地を設定し調査することが望ましいと考える。

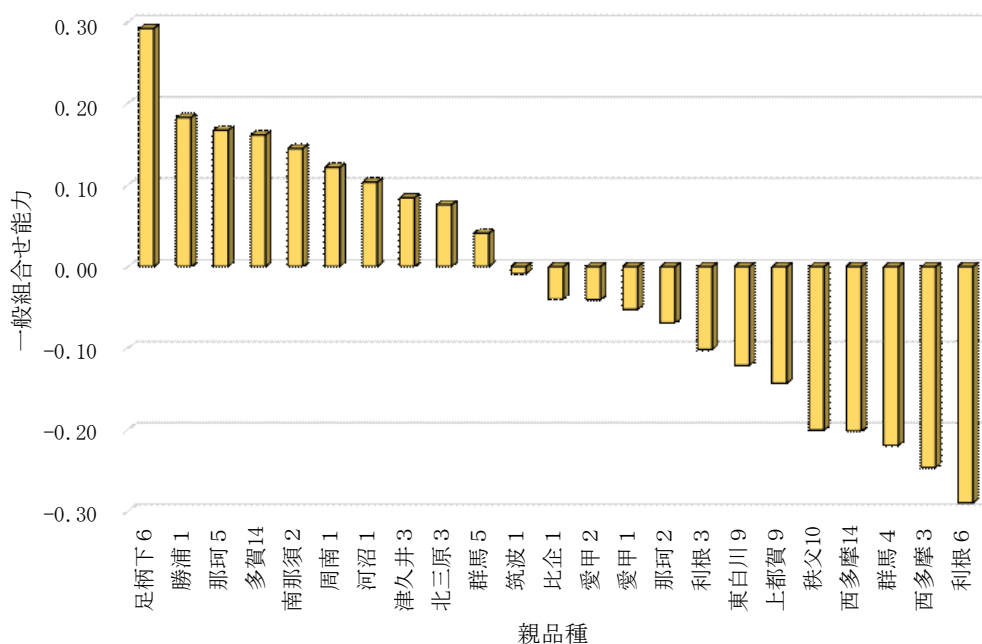


図-3 親ごとの樹高における初期成長の一般組合せ能力

2 苗畑調査

2014年及び2015年のそれぞれの調査年において、SSR分析結果に基づく親子解析により決定したサンプル個体群に関与する親の構成割合を図-4に示す。構成する親クロンのうち、割合が上位のものは、2014年では北三原3、南那須2及び上都賀9、2015年では群馬4、群馬5及び津久井3であり、年によって親の構成割合が異なった。これは、採種園の構成が区画毎に違うことや、種子および花粉生産量がクロンごとに年変動するためと考えられる。

図-5に苗畑における個体サイズ指数の系統ごとの育種価と、一般造林地と次代検定林のデータから予測した親の育種価との関係を示す。苗畑における個体サイズ指数と一般造林地及び次代検定林における樹高の育種価には弱い正の相関(0.162)が認められた。このことは、苗畑で成長に優れた系統は植栽地でも成長量が多い傾向にあることを示唆するものといえる。現在、苗畑における選苗により、成長の良好な苗木を山出し苗から除外している。本研究の結果から、影響としては小さいものの、こうした選苗は植栽地における苗木の初期成長性を抑制することにつながる可能性があるため、今後留意すべきと考えられる。

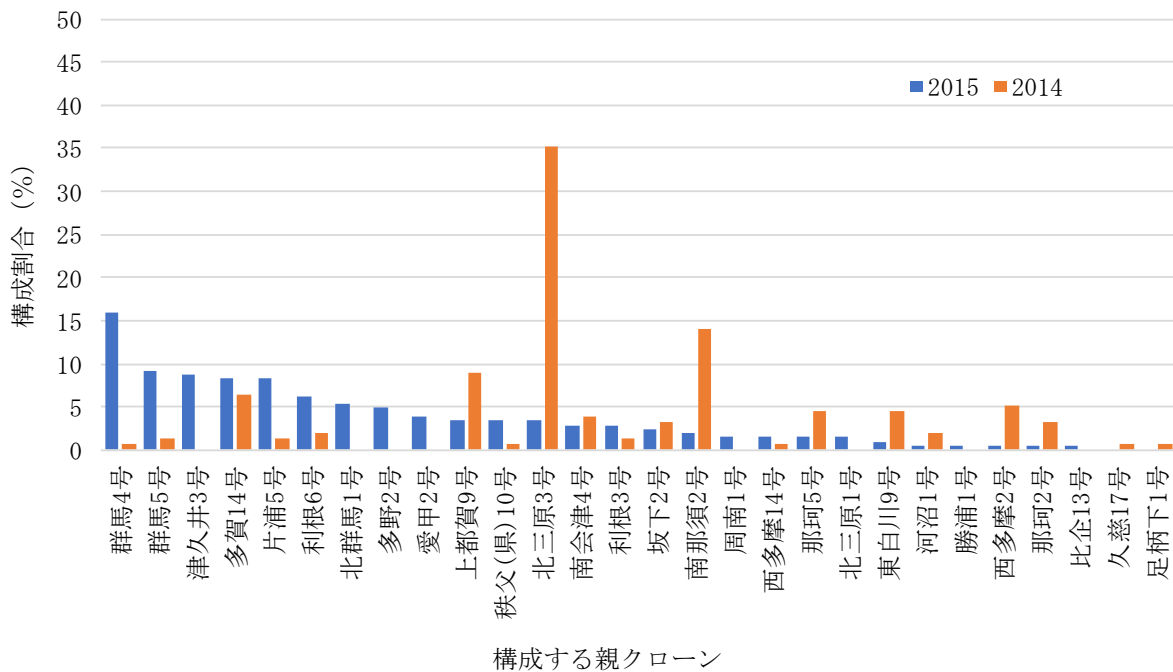


図-4 苗畑の個体における親構成割合

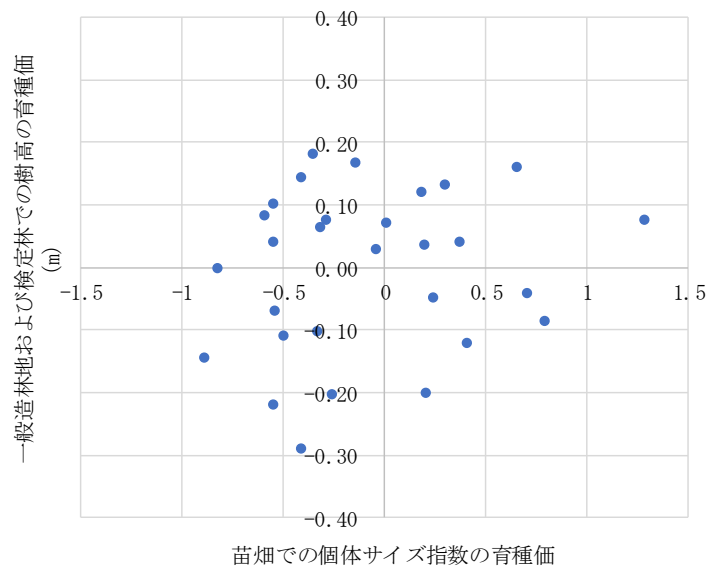


図-5 苗畑での個体サイズ指数の育種価と一般造林地と次代検定林のデータから評価した育種価との関係
 図中の数値は相関係数を表す。ns: t検定, $p > 0.05$

Ⅳおわりに

今回、実生による次代検定林と検定林ではないミニチュア採種園産の山行き苗木を植栽した一般造林地を検定林的に利用した。複数箇所を試験地としたBwBの手法を適用し育種価を予測しクローンの評価を行った。その結果から、育種値の高い親品種を用いて規に造成するミニチュア採種園等に導入すること、もしくは育種値が低い親品種を既存のミニチュア採種園から除去することにより生産される種苗の初期成長は従来よりも向上するものと期待できる。採種園の造成後、3年程度で種子生産が可能となるミニチュア採種園方式（林木育種センター東北育種場，2001）で管理することにより、早期に初期成長の優れた種子の普及が可能である。採種園に導入する親品種については、ジベレリン処理における雄花・雌花の着花性、種子生産量及び発芽率を中村（2015）が調査しているため、需給計画に基づき採種園に導入する親品種の本数、造成面積が試算できる。さらに、苗畑で成長に優れた系統は植栽地でも良好な成長を維持する傾向が弱いながらみられたことから、成長が良好な苗木を出荷しない現在の選苗方法を検討する必要性が示唆された。

今後、皆伐・再造林が進んでいくと考えられるため、安定的な種子生産体制を構築するとともに、初期保育費の多くを占めている下刈り期間の短縮に貢献できる、初期成長に優れた種苗を生産していくための取り組みを継続していきたい。

謝辞

試験地の提供について、森林所有者である今井善之輔氏、苗木生産者である吉田喜作氏、松下好氏及び齋藤隆氏に、また、試験地の情報提供、現地案内については赤城南麓森林組合の方々にご協力頂いた。この場をお借りして厚くお礼申し上げます。

引用文献

- Dutkowski G, Costa e Silva J, Gilmour AR, et al (2006), Spatial analysis enhances modelling of a wide variety of traits in forest genetic trials, Can J For Res 36, 1851-1870
- El-Kassaby YA・Lstiburek M(2009), Breeding without breeding, Genetics Research 91, 111-120
- 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・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, 140pp
- 中村博一 (2015), 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, 群馬県林業試験場研究報告19, 54-61
- 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