

スギ雄性不稔個体の育種と早期育成法の開発

(県単課題 平成 18 ～ 22 年)

壽田 智久

渡邊 次郎

小澤 創

五十嵐 正徳\*

目 次

要 旨	2
I はじめに	2
II 材料と方法	2
1 新たな雄性不稔個体の作出	3
(1) 雄性不稔個体の遺伝様式の解明	
(2) 雄性不稔遺伝子の相同性の解明	
(3) 雄性不稔スギと精英樹の交配による雄性不稔個体の作出	
2 スギ黒点病菌によるスギ花粉飛散の抑制	4
(1) 暴露試験によるスギ黒点病菌の胞子飛散時期の推定	
(2) スギ黒点病菌の人工接種	
① 付着法による人工接種	
② 散布法による人工接種	
3 小型の挿し穂を用いた挿し木手法の検討	6
(1) 挿し穂のサイズ及び発根促進剤濃度と発根状況の関係	
(2) 挿し床の深さと発根状況の関係	
(3) 採穂台木への施肥と発根状況の関係	
III 結果と考察	7
1 新たな雄性不稔個体の作出	7
(1) 雄性不稔個体の遺伝様式の解明	
(2) 雄性不稔遺伝子の相同性の解明	
(3) 雄性不稔スギと精英樹の交配による雄性不稔個体の作出	
2 スギ黒点病菌によるスギ花粉飛散の抑制	9
(1) 暴露試験によるスギ黒点病菌の胞子飛散時期の推定	
(2) スギ黒点病菌の人工接種	
① 付着法による人工接種	
② 散布法による人工接種	

受付日 平成 23 年 4 月 15 日

受理日 平成 23 年 6 月 20 日

\*現会津農林事務所

3	小型の挿し穂を用いた挿し木手法の検討	13
	(1) 挿し穂のサイズ及び発根促進剤濃度と発根状況の関係	
	(2) 挿し床の深さと発根状況の関係	
	(3) 採穂台木への施肥と発根状況の関係	
IV	おわりに	14
V	謝辞	15
VI	引用文献	15

## 要 旨

林業面からの長期的スギ花粉症対策として、平成 15 年に西会津町のスギ造林地で発見された雄性不稔スギ「福島不稔 1 号」等を用いて、精英樹との交配により、新たな雄性不稔スギの作出を試みた。新たな雄性不稔スギの作出にあたっては、福島不稔 1 号及び福島不稔 2 号の雄性不稔形質の遺伝様式と他の雄性不稔スギとの雄性不稔遺伝子の相同性について確認し、富山不稔 1 号と同じ遺伝子支配により雄性不稔形質が発現していることが分かった。この結果を受けて、福島不稔 1 号 F<sub>1</sub> 系統と富山不稔 1 号 F<sub>1</sub> 系統の交配により得た F<sub>2</sub> 集団から、新たな雄性不稔個体を選抜した。

また、短期的対策として、スギ黒点病菌 (*Leptosphaerulina japonica*) の孢子飛散時期を暴露試験により推定し、自然条件下で感染が発生していると推定される時期に、付着法や散布法による人工接種試験を試み、散布法については接種時期、接種回数、接種源の種類、大豆油濃度、クローンによる枯死率の違いについて検討した。これらの試験の結果、*L.japonica* の人工接種によりスギ雄花を枯死に至らしめることが可能であり、接種適期は 11 月で、接種回数は 1 回で十分なこと、接種源としては *L.japonica* を 2 週間米ぬか・ふすま培地で培養した菌糸粒をグラインダーで破碎し、破碎した菌糸体に 0.003% Tween20 と 10% 大豆油を加えた懸濁液が有効であると思われる、また、雄花あるいは花粉の形態の違い等のクローンによる何らかの相違が雄花枯死率に影響を及ぼしていることが示唆された。

さらに、小型の挿し穂を用いた挿し木において、穂木サイズと発根促進剤濃度、挿し床の深さ、採穂台木への施肥と発根率や発根の状態について検討し、穂木サイズや IBA 水溶液濃度は発根率や根の状態と関わりが認められなかったが、深さの深いポットを用い、採穂台木への適正な施肥を行うことで、発根率を高める効果のあることが分かった。

## 1 はじめに

スギ花粉症は患者数が年々増加傾向にあり、平成 20 年 1 月～4 月の鼻アレルギー全国疫学調査によれば、花粉症を有する者は 29.8% に上ると報告されている。

このような状況を受けて、林野庁においても少花粉スギ等の品種開発等、花粉の少ない森づくりに向けた取り組みがなされている。<sup>1)</sup>

本県においても、林業面からの花粉症対策が望まれていることから、長期的、短期的な対策を取るべく、本研究課題に着手することとなった。

本研究課題において、長期的な対策としては、既存スギ林の花粉症対策苗への植え替えに供するための花粉症対策苗の作出を目指し、短期的な対策としては、既存スギ林からの花粉飛散を抑制するための技術開発を目指した。

具体的には、花粉症対策苗の作出については、平成 15 年に西会津町のスギ人工造林地において発見した 2 個体の雄性不稔スギ<sup>2)</sup>と富山県で発見された雄性不稔スギを用いて、精英樹との交配により新たな雄性不稔スギを作出をすることとした。また、スギ花粉飛散抑制技術については、平成 16 年に西会津町のスギ人工造林地で発見した黒褐色に変色枯死しているスギ雄花から、独立行政法人森林総合研究所森林微生物領域の窪野高德森林病理研究室長(現 独立行政法人森林総合研究所森林微生物領域長。以下、森林総研と呼ぶ。)により分離されたスギ黒点病菌 (*Leptosphaerulina japonica*) を用いて、開花前のスギ雄花への人工接種により人為的にスギ雄花のみを枯死に至らしめる技術の開発をすることとした。

さらに、新たな雄性不稔スギ個体の作出後に、速やかに効率的な苗木の生産を行うための技術として、小型の挿し穂を用いた挿し木手法について検討した。

## II 材料と方法

### 1 新たな雄性不稔個体の作出

#### (1) 雄性不稔個体の遺伝様式の解明

1992 年に全国で最初に発見された雄性不稔スギである富山不稔 1 号は、一对の劣性遺伝子に支配される核遺伝子型雄性不稔であり、この雄性不稔形質はメンデル遺伝することが明らかにされている。<sup>3)</sup>

一方、本県で発見されたスギ雄性不稔個体については、その雄性不稔形質がどのような遺伝様式であるのかは明らかになっていない。

そこで、本県で最初に発見された雄性不稔個体である福島不稔 1 号について、戻し交配により富山不稔 1 号と同様の一对の核遺伝子に支配される核遺伝子型雄性不稔であるのかどうかを確認した。

戻し交配の種子親には平成 15 年に福島不稔 1 号母樹から採穂して育成した挿し木苗を当センター内圃場に平成 16 年に定植したクローン個体を用い、花粉親には平成 15 年に福島不稔 1 号母樹から球果を採取し、同年に播種した 5 年生自然交配苗を用いた。交配は平成 20 年に行い、同年 10 月に採種後、速やかに播種して翌春までは室内で、それ以降はビニールハウス内で育苗し、平成 21 年 7 月上旬に 100ppm のジベレリン水溶液を散布して着花促進し、同年 12 月中旬に雄花が着花した 34 本の戻し交配苗から、それぞれ雄花穂 1 房を採取して 70%エタノールで保存後、顕微鏡により花粉の有無について調査した。<sup>4)</sup>

#### (2) 雄性不稔遺伝子の相同性の解明

雄性不稔スギには、雄性不稔形質の発現時期が異なる幾つかのタイプのあることが知られている。<sup>4) 5)</sup> 本県で発見された福島不稔 1 号及び福島不稔 2 号が、既に発現ステージの明かとなっている富山県で発見された富山不稔 1 号、新潟県で発見された新大不稔 1 号、新大不稔 3 号、新大不稔 5 号のいずれかと同じ遺伝子支配により雄性不稔形質が発現しているかどうかを調べるため、福島不稔 1 号及び福島不稔 2 号と他県産雄性不稔スギの F<sub>1</sub> の交配により得た F<sub>2</sub> 集団について、(1) の手法による花粉稔性調査により、可稔個体と雄性不稔個体の分離比を調べた。

なお、富山不稔 1 号 F<sub>1</sub> と福島不稔 1 号及び福島不稔 2 号の交配苗は、当センター内で

平成 21 年に交配を実施して得た苗木を使用し、新大不稔 1 号、新大不稔 3 号、新大不稔 5 号 F<sub>1</sub> と福島不稔 1 号の交配苗については、新潟大学大学院自然科学研究科の平英彰教授より提供を頂いた苗木を使用した。福島不稔 2 号と新大不稔 1 号、新大不稔 3 号、新大不稔 5 号 F<sub>1</sub> との交配苗は得ることが出来なかった。

### (3) 雄性不稔スギと精英樹の交配による雄性不稔個体の作出

平成 21 年に福島不稔 1 号と本県産精英樹の南会津 2 号及び河沼 1 号の F<sub>1</sub> と、富山不稔 1 号と本県産精英樹の南会津 5 号、南会津 7 号及び西白河 3 号の F<sub>1</sub> を交配し、平成 22 年に F<sub>2</sub> 集団の花粉稔性調査を (1) の手法により行い、雄性不稔個体を選抜した。

また、同年に富山不稔 1 号と本県産精英樹の南会津 5 号、南会津 7 号及び西白河 3 号の F<sub>1</sub> 同士を交配し、同様に F<sub>2</sub> 集団から雄性不稔個体を選抜した。

## 2 スギ黒点病菌によるスギ花粉飛散の抑制

### (1) 暴露試験によるスギ黒点病菌の孢子飛散時期の推定

自然界において、スギ雄花が *L.japonica* に感染するのは、ある期間、飛散した孢子が当年形成された雄花等に付着するためと考えられるが、雄花を人為的に感染枯死させる手法を開発する上で、自然感染の時期を把握することは重要である。そこで、平成 19 年 9 月に *L.japonica* の罹病スギ雄花を発見した西会津町のスギ造林地において、約 20 年生の造林木から計 13 本の雄花着生枝を選び、各 2～3 本の枝を 5 つの処理区にそれぞれ分けて一定の期間だけ暴露する暴露処理を行った。それぞれの暴露期間以外は供試枝をポリ袋 (90cm × 70cm) で覆って、孢子による感染を防いだ。感染調査は雄花開花後の翌年 4 月に枯死雄花穂本数を各供試枝毎に計数して行った。

### (2) スギ黒点病菌の人工接種

#### ① 付着法による人工接種

不完全菌類である *L.japonica* の孢子が得られていないことから、*L.japonica* を 2 週間米ぬか・ふすま培地で培養した菌糸粒を接種源として、平成 19 年 10 月 29 日及び 11 月 24 日、平成 20 年 2 月 4 日に、当センター内遺伝資源保存園の 39 年生のスギの雄花穂を毎回 25 本ずつ供試して、接種源を直接雄花穂に付着させてビニールテープで覆う方法 (付着法) により、人工接種を行った。その後、雄花開花後の平成 20 年 5 月に接種時期別の雄花穂の枯死本数を計数し、枯死率を算出した。

#### ② 散布法による人工接種

実用的な花粉飛散抑制技術としての *L.japonica* の人工接種方法を検討するため、*L.japonica* を 2 週間米ぬか・ふすま培地で培養した菌糸粒をグラインダーで破碎し、破碎した菌糸体に 0.003% Tween20 のみを加えた懸濁液 (処理液 1) と、0.003% Tween20 と 15% 大豆油を加えた懸濁液 (処理液 2)、*L.japonica* を 2 週間 2% Malt 液体培地で振とう培養した菌糸体をグラインダーで破碎し、破碎した菌体に 0.003% Tween20 と 15% 大豆油を加えた懸濁液 (処理液 3) の 3 種の液状にした接種源をハンドスプレーによりスギ雄花に散布する方法 (散布法) を検討した。

検討した項目は、以下の a) から d) のとおり、接種時期、接種回数、接種源、大豆油



濃度の4項目である。

なお、接種源は全て、森林総研より提供いただいた西会津町のスギ造林地から平成19年に採取した罹病スギ雄花からの分離菌を使用した。

#### a) 接種時期の検討

平成20年7月上旬に当センター内に植栽されている5年生のスギ5個体を選び、雄花の着花促進を図るため、100ppm ジベレリン水溶液を散布した。その後、同年10月上旬に各個体2本の雄花着生枝を選び、着生している雄花穂本数を計数して、各個体の一方の枝には10月に、もう一方の枝には11月に、それぞれ処理液2を散布法により接種した。接種回数は10月接種、11月接種共に、月の中旬から約一週間おきに計3回とした。なお、接種後は約2週間、保湿のため供試枝をポリ袋で覆った。

平成21年1月中旬に、各供試枝の雄花穂の枯死数及び落下数を計数し、10月接種と11月接種の枯死率等の相違を検討した。

#### b) 接種回数の検討

平成20年7月上旬に当センター内に植栽されている5年生のスギ5個体を選び、a)と同様に着花促進を図った後、同年10月上旬に各個体2本の雄花着生枝を選び、着生している雄花穂本数を計数して、各個体の一方の枝には10月14日に1回、もう一方の枝には10月14日、10月22日、10月30日の計3回、それぞれ処理液2を散布法により接種した。接種後の処理及び枯死率等の調査はa)と同様に行い、1回接種と3回接種の枯死率等の相違を検討した。

#### c) 接種源の検討

平成20年7月上旬に当センター内に植栽されている5年生のスギ5個体を選び、a)と同様に着花促進を図った後、同年10月上旬に各個体3本の雄花着生枝を選び、着生している雄花穂本数を計数して、各個体の供試枝の内1本には処理液1を、もう1本には処理液2を、残りの1本には処理液3をそれぞれ10月14日から11月26にかけて6回に渡り、散布法による接種を行った。接種後の処理及び枯死率等の調査はa)と同様に行い、接種源による枯死率等の相違を検討した。

#### d) 大豆油濃度の検討

表-1 大豆油濃度別試験の処理区と供試苗の概要

処理液	接種回数	供試苗本数(本)	供試苗の総着生雄花穂本数(本)
処理液A (接種源 <sup>注)</sup> +0.003%Tween20+1%大豆油)	1回	3	38~48 平均42.3
	2回	3	45~132 平均82.0
処理液B (接種源+0.003%Tween20+5%大豆油)	1回	3	22~41 平均30.0
	2回	3	28~36 平均33.0
処理液C (接種源+0.003%Tween20+10%大豆油)	1回	3	21~63 平均36.7
	2回	3	24~58 平均40.3
処理液D (接種源+0.003%Tween20+15%大豆油)	1回	3	52~70 平均58.3
	2回	3	36~64 平均46.0
処理液E (0.003%Tween20)	1回	3	30~57 平均41.3
	2回	3	27~45 平均38.3
処理液F (接種源+0.003%Tween20)	1回	3	41~62 平均54.7
	2回	3	29~36 平均32.7
処理液G (0.003%Tween20+15%大豆油)	1回	3	30~61 平均45.0
	2回	3	22~37 平均30.0

注) 接種源は全て*L.japonica*を2週間、米ぬか・ふすま培地で培養した菌糸粒をグラインダーで破砕したものを用いた。

平成 21 年 7 月上旬に、当センター内のビニールハウス内でポット育苗した 4 年生のスギ実生苗 42 個体に a) と同様に着花促進を図り、同年 10 月下旬に各個体毎に着生している雄花穂本数を計数した。その後、表-1 に示したように、処理液 2 の大豆油の濃度を変えるなどした 7 種類の処理液を用いて、同年 11 月 7 日にそれぞれ 6 個体ずつに散布法により接種し、さらに同年 11 月 30 日に半数の個体に同じ接種源を用いて 2 回目の接種を同様に行った。接種後はポリ袋での覆いはせずにビニールハウス内で養生し、平成 22 年 3 月上旬に a) と同様の枯死率等調査を行って、最適な大豆油濃度について検討した。

#### e) クローン別の枯死率の相違の検討

平成 21 年 7 月上旬に、当センター内のビニールハウス内でポット育苗した 3 年生のスギ精英樹挿し木苗 3 クローン (石城 2 号、田村 2 号、西白河 3 号)、各クローン 10 個体ずつの計 30 個体に、a) と同様に着花促進を図った。同年 10 月下旬に各個体毎に着生している雄花穂本数を計数し、同年 11 月 6 日に全ての供試個体に処理液 2 を散布法により接種した。その後、各クローン半数の 5 個体ずつ、計 15 個体については、同年 11 月 30 日に第 2 回目の接種を 1 回目と同様に行った。接種後の管理及び枯死率等の調査は、d) と同様に行った。

### 3 小型の挿し穂を用いた挿し木手法の検討

#### (1) 挿し穂のサイズ及び発根促進剤濃度と発根状況の関係

平成 21 年 5 月 26 日に、12 個体のポット育苗したスギ 2 年生実生苗の 1 次枝を枝の基部から各 4 本ずつ合計 48 本の穂木を採取した。穂木は 3 日間流水に基部を浸して水揚げした後、穂作り (斜め切り返し) を行い、更に 3 日間水揚げ後、各穂木の生重及び穂長を測定した。その後、速やかに IBA 水溶液に浸漬して、24 時間後に鹿沼土小粒を入れた直径 6cm、高さ 7.5cm のビニールポットに挿し付け、外側にピアレスフィルムを張った二重ビニールハウス内で養生した。灌水はミスト装置により、9 月 30 日までは 5 時から 17 時まで 30 分おきに 1 分間、10 月 1 日から 10 月 31 日までは同じ時間帯に 1 時間おきに 1 分間、11 月 1 日からは 9 時から 17 時まで 2 時間おきに 1 分間行った。その後、同年 11 月中旬に掘り取って、発根の有無、発根している場合は一次根の本数及び最長根長、根部の絶乾重量をそれぞれ測定した。

なお、IBA 水溶液の濃度は、100ppm、200ppm、400ppm、水道水のみ 4 処理区とし、各個体から採取した穂木をそれぞれ 1 本ずつ供した。

#### (2) 挿し床の深さと発根状況の関係

平成 21 年 5 月 26 日に、2 個体のポット育苗したスギ 2 年生実生苗の 1 次枝及び 2 次枝を各 24 本ずつ合計 48 本の穂木を採取した。挿し付け前の処理は、穂作りの際に全て長さを 5cm に統一したことと、IBA 水溶液の濃度は 100ppm に統一したこと以外は、(1) と同様に行い、挿し付けに用いる容器として、一つは直径 6cm、高さ 7.5cm のビニールポットを、もう一つは直径 4cm のビニールホースを長さ 18cm に切ったものを用い、それぞれに同量の鹿沼土小粒を入れて挿し付け床として、同年 6 月 2 日に挿し付けた。養生、灌水、

掘り取り時期及び掘り取り後の調査は（１）の項目に加えて、地上部の長さ及び根部以外の絶乾重量の測定も行った。

### （３）採穂台木への施肥と発根状況の関係

平成 21 年 6 月上旬から、24 個体のポット育苗したスギ 2 年生実生苗を 8 個体ずつ 3 つのグループに分け、一つのグループには 3～4 日間隔（3 日施肥区）で、もう一つのグループには 10 日間隔（10 日施肥区）でハイポネックス（N:P:K=6:10:5）1000 倍液を 50ml ずつ施用し、残りのグループには 3～4 日間隔で水道水のみ（無施肥区）を施用して（この他に、灌水は適宜行った。）、同年 7 月 15 日に各個体から 1 次枝を 4 本ずつ穂木を採取した。採取した穂木は、水揚げを 5 日間とした以外は挿し付け前の処理を（２）と同様に行い、同年 7 月 27 日に鹿沼土小粒を入れた直径 6cm、高さ 7.5cm のビニールポットに挿し付けた。養生、灌水、掘り取り時期及び掘り取り後の調査も（２）と同様に行った。

また、同一の時期に県内産精英樹河沼 1 号、南会津 4 号、東白川 9 号のポット育苗した 3 年生挿し木クローン苗を各 3 個体ずつ計 9 個体供試し、各クローン 1 個体ずつをそれぞれ 3 日施肥区、10 日施肥区、無施肥区に割付け、穂長を 10cm に調整した以外は、前述の実生苗と同様に挿し木、養生、灌水、掘り取り時期及び掘り取り後の調査を行った。ただし、前述の実生苗よりも個体サイズが大きく、育苗していたポットも大きかったことから、ハイポネックス 1000 倍液の毎回の施用量を 300ml とした他、挿し穂の長さを 10cm に統一した。

## III 結果と考察

### 1 新たな雄性不稔個体の作出

#### （１）雄性不稔個体の遺伝様式の解明

福島不稔 1 号の戻し交配苗 34 個体の花粉稔性調査の結果、表－2 のとおり可稔個体 19 個体と雄性不稔個体 15 個体に分離した。 $\chi^2$  検定の結果、1:1 の分離比に適合し、福島不稔 1 号は富山不稔 1 号と同様に一对の核遺伝子支配による核遺伝子型の雄性不稔スギであると推定された。

表－2 福島不稔 1 号戻し交配苗の花粉稔性調査の結果

系統名	調査個体数 (本)	観察された個体数(本)		$\chi^2$
		可稔	雄性不稔	
福島不稔 1 号 × 福島不稔 1 号自然交配	34	19	15	0.471 *

\* :  $\chi^2$  検定 5%水準で期待値に適合した。

#### （２）雄性不稔遺伝子の相同性の解明

福島不稔 1 号及び福島不稔 2 号と他県産雄性不稔スギの F<sub>1</sub> との交配により得た F<sub>2</sub> 集団の花粉稔性調査の結果、福島不稔 1 号と富山不稔 1 号の各 F<sub>1</sub>（花粉親はそれぞれ南会津 5 号、南会津 7 号、西白河 3 号）の各 F<sub>2</sub> 集団の可稔個体と雄性不稔個体の分離比は、それぞれ 61:55、41:42、38:27 となり、 $\chi^2$  検定の結果、いずれも 1:1 の分離比に適合した。また福島不稔 1 号と新大不稔 1 号自然交配苗、新大不稔 3 号自然交配苗、福島不稔 5 号自然交配苗の各 F<sub>2</sub> 集団の可稔個体と雄性不稔個体の分離比は、それぞれ 57:3、64:47、

125 : 6 となり、 $\chi^2$ 検定の結果、新大不稔 3 号自然交配苗とのF<sub>2</sub>家系のみで 1 : 1 の分離比への適合が見られた。また、福島不稔 2 号と富山不稔 1 号のF<sub>1</sub> (花粉親は南会津 5 号) のF<sub>2</sub>集団の可稔個体と雄性不稔個体の分離比は 67 : 70 となり、 $\chi^2$ 検定の結果、1 : 1 の分離比に適合した。

これらの分離比の結果から、福島不稔 1 号、福島不稔 2 号ともに富山不稔 1 号、新大不稔 3 号と同じ遺伝子支配により雄性不稔形質が発現していると推定できた。したがって、成長等の形質に優れた精英樹との交配により雄性不稔スギの改良を図る場合には、福島不稔 1 号、福島不稔 2 号、富山不稔 1 号、新大不稔 3 号と県内精英樹のF<sub>1</sub>個体を近交弱勢が生じない組み合わせで交配することが望ましい。

表-3 福島不稔 1 号及び福島不稔 2 号と他県産雄性不稔スギF<sub>1</sub>の交配家系の花粉稔性調査結果

雄性不稔個体のクローン名	花粉親としたF <sub>1</sub> 等系統名	調査個体数 (本)	観察された個体数(本)		$\chi^2$
			可稔	雄性不稔	
福島不稔 1 号	富山不稔 1 号 × 南会津 5 号	116	61	55	0.310 *
福島不稔 1 号	富山不稔 1 号 × 南会津 7 号	83	41	42	0.012 *
福島不稔 1 号	富山不稔 1 号 × 西白河 3 号	65	38	27	1.862 *
福島不稔 1 号	新大不稔 1 号 自然交配	60	57	3	48.605
福島不稔 1 号	新大不稔 3 号 自然交配	111	64	47	2.604 *
福島不稔 1 号	新大不稔 5 号 自然交配	131	125	6	108.099
福島不稔 2 号	富山不稔 1 号 × 南会津 5 号	137	67	70	0.066 *

\* :  $\chi^2$  検定 5%水準で期待値に適合した。

### (3) 雄性不稔スギと精英樹の交配による雄性不稔個体の作出

雄性不稔遺伝子の相同性の確認が出来たことから、県内精英樹と福島不稔 1 号及び富山不稔 1 号のF<sub>1</sub>個体同士の交配によるF<sub>2</sub>集団の花粉稔性調査をした結果、表-4 に示したように、福島不稔 1 号F<sub>1</sub>と富山不稔 1 号F<sub>1</sub>の交配組み合わせでは合計 47 個体、富山不稔 1 号F<sub>1</sub>同士の交配組み合わせでは 61 個体の雄性不稔個体を得ることが出来た。可稔個体と雄性不稔個体の分離比も、 $\chi^2$ 検定の結果、3 : 1 に適合していた。

表-4 作出した雄性不稔スギの交配組み合わせと花粉稔性調査の結果

種子親としたF <sub>1</sub> 等系統名 (個体番号)	花粉親としたF <sub>1</sub> 等系統名 (個体番号)	調査個体数 (本)	観察された個体数(本)		$\chi^2$
			可稔	雄性不稔	
福島不稔 1 号 × 南会津 2 号 (B485)	富山不稔 1 号 × 西白河 3 号 (D103)	32	23	9	0.167 *
福島不稔 1 号 × 河 沼 1 号 (B460)	富山不稔 1 号 × 南会津 7 号 (D101)	22	18	4	0.545 *
福島不稔 1 号 × 河 沼 1 号 (B463)	富山不稔 1 号 × 南会津 5 号 (D102)	1	1	0	0.333 *
福島不稔 1 号 × 河 沼 1 号 (B465)	富山不稔 1 号 × 西白河 3 号 (D103)	29	20	9	0.563 *
福島不稔 1 号 × 河 沼 1 号 (B468)	富山不稔 1 号 × 南会津 7 号 (D101)	63	51	12	1.190 *
福島不稔 1 号 × 河 沼 1 号 (E73)	富山不稔 1 号 × 南会津 7 号 (D101)	55	42	13	0.055 *
富山不稔 1 号 × 南会津 5 号 (D102)	富山不稔 1 号 × 南会津 7 号 (D101)	59	43	16	0.141 *
富山不稔 1 号 × 南会津 5 号 (D102)	富山不稔 1 号 × 西白河 3 号 (D103)	32	27	5	1.500 *
富山不稔 1 号 × 南会津 7 号 (D101)	富山不稔 1 号 × 南会津 5 号 (D102)	53	34	19	3.327 *
富山不稔 1 号 × 南会津 7 号 (D101)	富山不稔 1 号 × 西白河 3 号 (D103)	68	47	21	1.255 *

\* :  $\chi^2$  検定 5%水準で期待値に適合した。



## 2 スギ黒点病菌によるスギ花粉飛散の抑制

### (1) 暴露試験によるスギ黒点病菌の孢子飛散時期の推定

表-5に各処理区の暴露期間と枯死雄花穂の発生状況を示した。I区では3本(3/376=感染雄花穂本数/総調査雄花数)、II区では1本(1/163)、III区では4本(4/323)、V区では2本(2/144)、それぞれ枯死雄花穂が確認されたが、試験期間を通じて暴露させなかったIV区では枯死雄花穂は確認されなかった。

枯死雄花穂数の発生状況から推定すると、10月から12月下旬まで孢子飛散が続き、この期間に雄花への感染が起こったものと思われた。窪野ら<sup>6)</sup>は本試験と同じ試験地において*L.japonica*の子実体形成過程調査を行い、本菌の子嚢殻形成が10月に初めて観察されたことから、10月前後から子嚢胞子の飛散が開始されていると推定しており、本試験においてもそれを裏付ける結果が得られた。

なお、枯死雄花からの菌類の分離を森林総研に依頼した結果、*L.japonica*が分離されたことから、*L.japonica*の感染による枯死と判断した。

枯死雄花穂の認められたいずれの処理区においても、自然感染により枯死した雄花穂本数は僅かであったが、試験地周辺の状況を見ても*L.japonica*の自然感染雄花は散見される程度であり、

本試験結果を併せて考えると、自然状態における感染は多くはないものと推定された。

表-5 *L. japonica*の暴露試験結果

処理区	暴露期間	供試枝の総着生雄花穂本数(本)	枯死雄花穂本数(本)
I区	9/19~10/31	376	3
II区	11/1~11/28	163	1
III区	11/29~12/27	323	4
IV区	暴露なし	235	0
V区	9/19~12/27	144	2

### (2) スギ黒点病菌の人工接種

#### ① 付着法による人工接種

枯死雄花穂の調査の結果を表-6に示した。10月29日接種では45.0%、2月4日接種では15.8%の枯死率であった。11月24日接種のものについては、途中で強風により供試枝が折損したため、データは得られなかった。

表-6 付着法による人工接種の結果

接種日	接種雄花穂本数(本)	枯死雄花穂本数(本)	枯死率(%)
2007/10/29	20	9	45.0
2007/11/24	20	—	—
2008/2/4	19	3	15.8

11月24日接種の結果が得られなかったことから、確かなことは言えないが、暴露試験により推定された自然状態での感染時期である10月に比較的高い感染率が認められる結果となった。

#### ② 散布法による人工接種

##### a) 接種時期の検討

調査結果を図-1及び図-2に示した。平均雄花枯死率は10月接種が47.5%、11月接種が41.0%と、若干10月接種が上回ったが、大きな相違は見られなかった。また、平均雄花落下率は10月接種が28.1%、11月接種が3.6%と、11月接種の方が落

下する雄花の割合が少なかった。

スギ黒点病菌に感染した雄花では、感染翌年の10月に本菌の子嚢殻形成が確認されており<sup>6)</sup>、新たな感染源になると考えられる。このため、本菌の人工接種によりスギ花粉飛散抑制を図る場合には、雄花は油脂類等の影響による枯死・落下ではなく、人工接種翌年の自然感染の増加をも考慮して、出来る限り感染枯死を増やすのが最善と思われる。

本試験では、確実に感染させることを狙って、それぞれ月の中旬以降に3回に渡って接種したため、感染させるのに適した、あるいは雄花の落下を出来る限り引き起こさない詳細な時期は不明であるが、上記の理由から雄花落下率の低い11月が接種適期と考えられた。

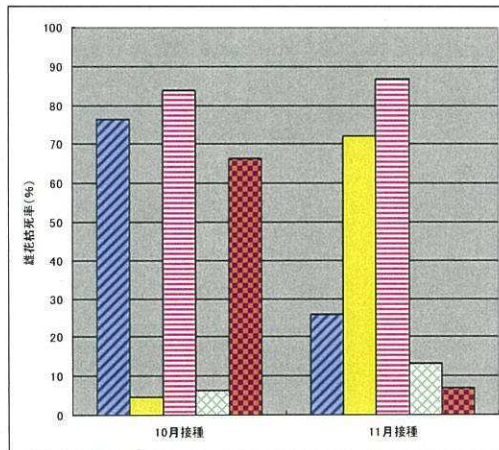


図-1 時期別接種による雄花枯死率

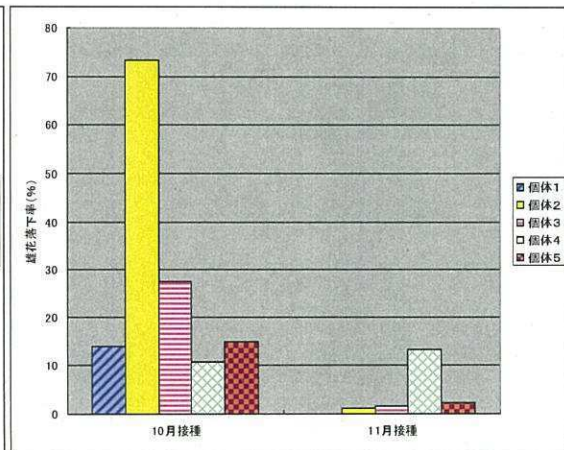


図-2 時期別接種による雄花落下率

b) 接種回数の検討

調査結果を図-3及び図-4に示した。平均雄花枯死率は1回接種が58.5%、3回接種が87.9%と平均値では3回接種が上回ったが、統計的に有意な差は認められなかった。また、平均雄花落下率は1回接種が12.9%、3回接種が13.2%と大差なかった。したがって、接種回数は1回で十分であると思われる。

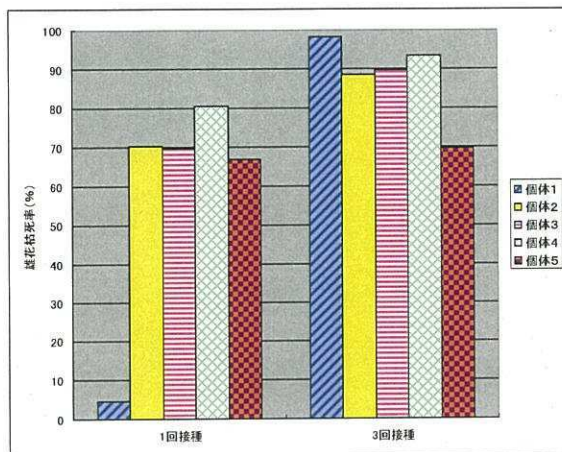


図-3 接種回数別接種による雄花枯死率

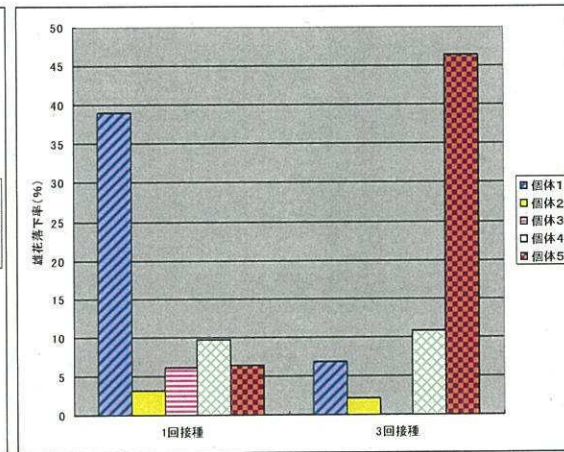


図-4 接種回数別接種による雄花落下率

c) 接種源の検討

調査結果を図-5及び図-6に示した。平均雄花枯死率は処理液1が1.3%、処理



液 2 が 87.6%、処理液 3 が 0.2%と、処理液 2 のみが高い雄花枯死率を示した。また、雄花落下率でも同様に処理液 2 が 9.23%と比較的高い数値を示したが、処理液 1、処理液 3 はそれぞれ 0%、0.3%とほとんど雄花の落下が発生していなかった。

処理液 2 は雄花落下率が高いものの、雄花を感染枯死させるには有効な処理液であると考えられ、雄花落下の発生を抑制するために、添加する大豆油濃度の検討が必要と考えられた。

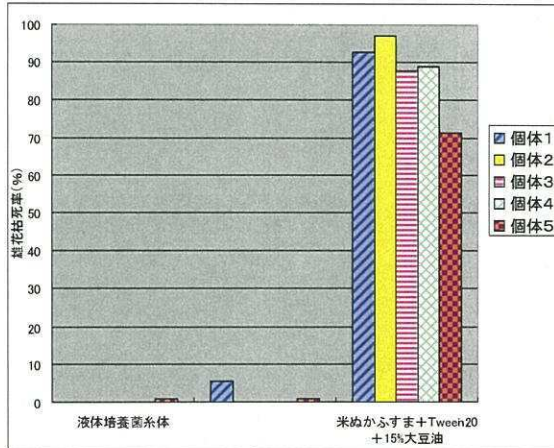


図-5 接種源別接種による雄花枯死率

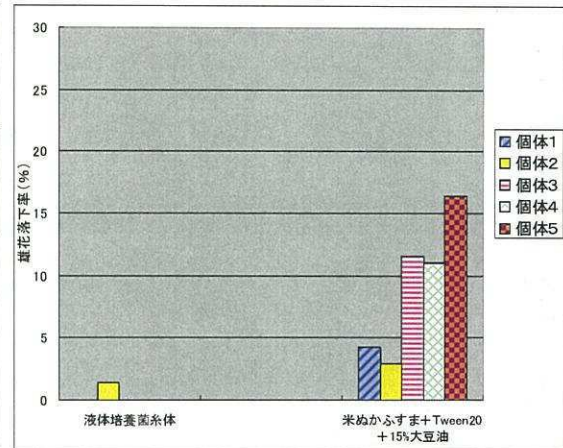


図-6 接種源別接種による雄花落下率

#### d) 大豆油濃度の検討

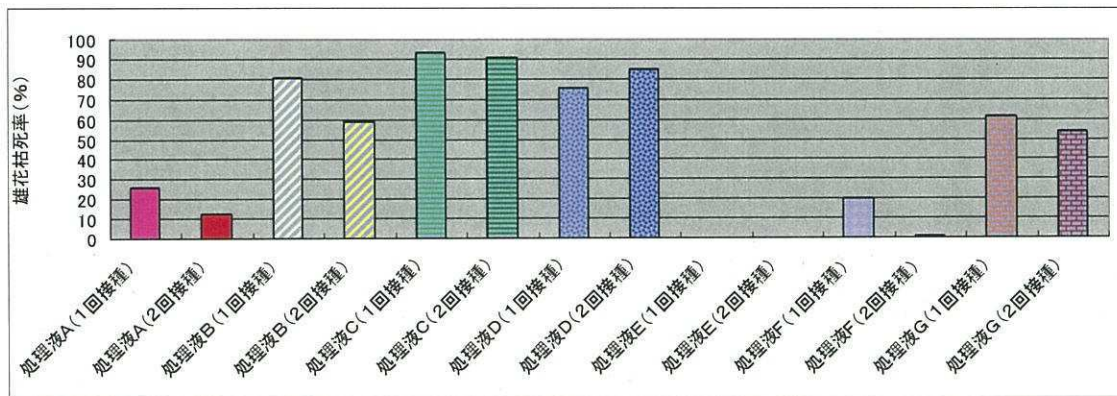


図-7 大豆油濃度別接種による雄花枯死率

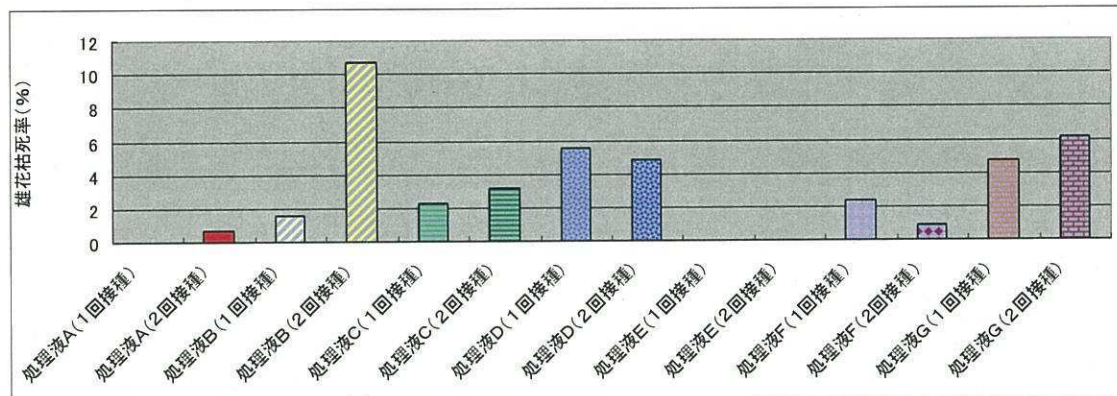


図-8 大豆油濃度別接種による雄花落下率

調査結果を図-7及び図-8に示した。雄花枯死率について、処理液の種類と接種



回数を要因とした二元配置の分散分析の結果、処理液の種類には有意差が認められ、接種回数には有意差が認められなかった。有意差の認められた処理液の種類では、1回接種、2回接種共に大豆油濃度 10%の処理液Cが最も平均雄花枯死率が高く 70%以上の枯死率を示した。処理液Cと他の処理液の雄花枯死率に有意差があるかどうかを最小有意差法により検定した結果、大豆油濃度 15%の処理液Dとの間以外に有意差が認められた。

また、処理液Cは比較的雄花枯死率の高かった処理液Bや処理液Dよりも雄花落下率が低かった。

これらのことから、保湿のために処理液に添加する大豆油濃度は 10%が適当と考えられた。

e) クローン別の枯死率の相違の検討

クローン別の雄花枯死率を図-9に示した。1回接種・2回接種とも石城2号が最も高く、田村2号が最も低かった。接種回数別の雄花枯死率は田村2号と西白河3号で2回接種の方が高かったが、石城2号では1回接種の方が高かった。クローンと接種回数を要因とした二元配置の分散分析の結果、クローン間に 5%水準で有意差が認められ、接種回数間には有意差が認められなかった。また、雄花落下率は図-10に示したとおり、クローン間、接種回数間ともに差が見られなかった。

以上のことから、同時期における雄花あるいは花粉の形態の違い等、クローンによる何らかの相違が枯死率に影響を及ぼしたことが示唆された。

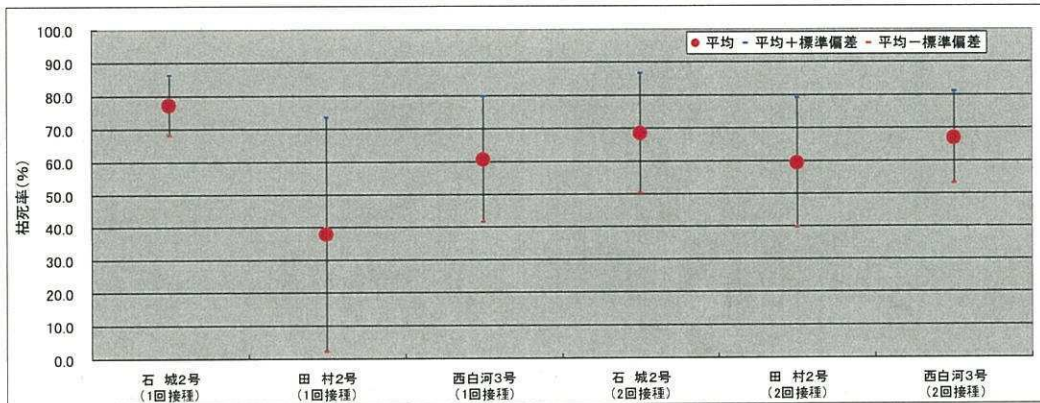


図-9 クローン別接種回数別接種による雄花枯死率

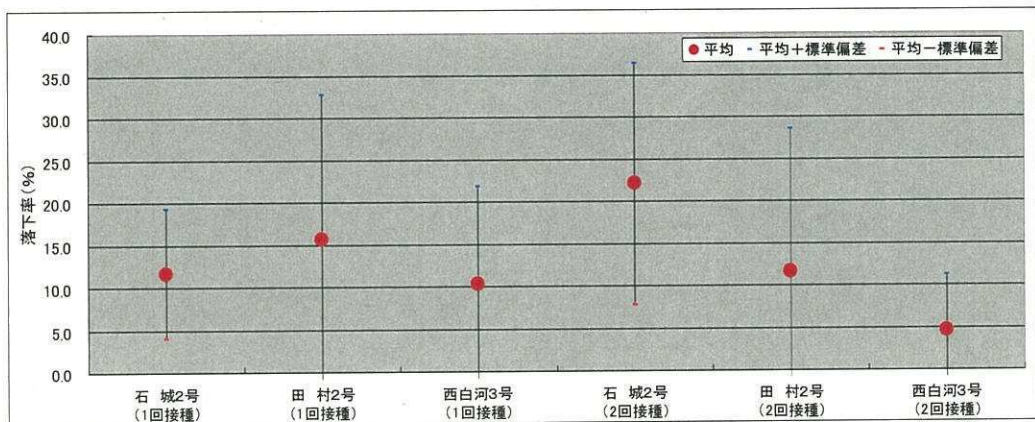


図-10 クローン別接種回数別接種による雄花落下率



### 3 小型の挿し穂を用いた挿し木手法の検討

#### (1) 挿し穂のサイズ及び発根促進剤濃度と発根状況の関係

表-7に試験結果を示した。供試した穂木は穂長が5.8cmから10cmまで、生重が0.195gから0.544gまでの範囲のものであったが、IBA200ppm区の1本を除き、全ての挿し穂で発根が認められた。一次根本数、最長根長、根部絶乾重量のそれぞれについて、IBA水溶液濃度を要因としてクラスカル・ウォリス検定を行った結果、いずれの項目でも有意差が認められた。sheffeの多重比較を行った結果では、一次根本数はIBA水溶液に浸漬したものと浸漬無しのものとの間に有意差が認められたが、IBA水溶液に浸漬したものとの間では濃度による違いは認められなかった。また、最長根長と根部絶乾重量では、IBA400ppm区とIBA無し区の間以外では有意差は認められなかった。穂木サイズと各測定項目との関係においても、特に相関は認められなかった。

したがって、今回供試した範囲での穂木のサイズやIBA水溶液濃度においては、発根の有無や発根状態との関わりはなく、7cm前後の挿し穂を用いて、一般的にスギの挿し木で行われているとおりの100ppmのIBA水溶液に浸漬をすれば十分であると思われる。

表-7 IBA水溶液濃度別の挿し木試験結果

IBA水溶液濃度	供試穂木 本数(本)	穂長 (cm)	挿し付け前 生重(g)	発根率 (%)	一次根 本数(本)	最長根長 (cm)	根部絶乾重量 (g)
100ppm	12	7.5 (5.8~10.0) <sup>1)</sup>	0.321 (0.221~0.483)	100	6.3 (1~15)	10.9 (6.4~17.9)	0.023 (0.007~0.037)
200ppm	12	7.4 (5.5~9.5)	0.341 (0.195~0.472)	91.7	9.0 (2~21)	10.1 (4.5~16.2)	0.024 (0.007~0.036)
400ppm	12	7.3 (6.0~9.7)	0.347 (0.215~0.544)	100	7.8 (2~19)	7.7 (0.9~15.1)	0.016 (0.005~0.025)
なし	12	6.9 (5.8~8.3)	0.314 (0.223~0.419)	100	1.3 (1~3)	17.9 (1.1~28.5)	0.050 (0.015~0.092)

1)( )内の数値は出現した範囲を示す。

#### (2) 挿し床の深さと発根状況の関係

発根率は7.5cmポットで8.3%、18cmポットで33.3%と、深いポットの方が発根率が高かった。7.5cmポットでは2本しか発根したものが無かったため、統計的な解析はできないが、表-8に示したように、最長根長と根部絶乾重量の平均値は18cmポットの方が大きく、一次根本数の平均値はほぼ同じ値であった。地上部の長さや根部以外の絶乾重量は、いずれも18cmポットの方が大きく、有意差が認められた。

表-8 挿し床(ビニールポット)の深さ別挿し木試験の結果

ビニールポット 高さ	供試穂木 本数(本)	穂長 (cm)	挿し付け前 生重(g)	発根率 (%)	一次根 本数(本)	最長根長 (cm)	地上部長さ (cm)	絶乾重量(g)	
								根部	根部以外
7.5cm	24	5	1.265 (0.759~1.667) <sup>1)</sup>	8.3	3 (3~3)	6.9 (6.3~7.4)	7.8 (5.7~10.2)	0.038 (0.037~0.038)	0.286 (0.116~0.778)
18cm	24	5	1.225 (0.845~2.759)	33.3	3.1 (1~5)	13.5 (2.3~21.7)	8.7 (6.8~10.3)	0.041 (0.005~0.081)	0.394 (0.174~1.087)

1)( )内の数値は出現した範囲を示す。

本試験において、深いポットの方が発根率が高かった理由としては、挿し床に静置した際の高さが幾分高くなったことや、同量の床土の場合、ポットの表面積が大きくなることで、初夏に挿し付けた今回の試験では床土の温度が浅いポットに比べて高くなったことが考えられる。また、地上部の長さや絶乾重量が18cmポットの方が大きかった原因も同様であると思われる。

以上のことから、深さの深いポットを用いた方が発根率を高め、発根や地上部の生育に

も有効と考えられた。

### (3) 採穂台木への施肥と発根状況の関係

実生苗を採穂台木とした挿し木の調査結果を表-9に示した。発根率は10日施肥区が最も高く100%であり、最も低かった無施肥区では82.1%であった。採穂台木毎の平均値を用いて、一次根本数、最長根長、地上部長さ、根部絶乾重量、根部以外の絶乾重量のそれぞれについて、各処理区を要因とした一元配置の分散分析をした結果、いずれの調査項目

表-9 採穂台木(2年生実生苗)への施肥間隔を変えた挿し木試験結果

施肥区	供試穂木 本数(本)	穂長 (cm)	挿し付け前 生重(g)	発根率 (%)	一次根 本数(本)	最長根長 (cm)	地上部長さ (cm)	絶乾重量(g)	
								根部	根部以外
3日施肥区	40	5	0.260 (0.203~0.380) <sup>1)</sup>	97.5	1.9 (1~4)	14.1 (0.4~27.7)	5.8 (5.1~6.8)	0.027 (0.001~0.047)	0.082 (0.040~0.122)
10日施肥区	40	5	0.265 (0.139~0.434)	100	3.9 (1~11)	9.5 (1.5~19.3)	5.8 (5.1~6.6)	0.020 (0.003~0.043)	0.088 (0.039~0.131)
無施肥区	40	5	0.302 (0.150~0.627)	82.1	2.9 (1~8)	5.7 (0.8~10.7)	5.4 (5.0~6.6)	0.010 (0.001~0.033)	0.097 (0.056~0.183)

1) ( )内の数値は出現した範囲を示す。

表-10 採穂台木(3年生挿し木苗)への施肥間隔を変えた挿し木試験結果

施肥区	供試穂木 本数(本)	穂長 (cm)	挿し付け前 生重(g)	発根率 (%)	一次根 本数(本)	最長根長 (cm)	地上部長さ (cm)	絶乾重量(g)	
								根部	根部以外
3日施肥区	30	10	1.071 (0.703~2.188) <sup>1)</sup>	53.3	3.9 (2~9)	6.2 (1.0~16.1)	11.0 (10.0~12.5)	0.017 (0.003~0.029)	0.301 (0.176~0.601)
10日施肥区	30	10	1.294 (0.697~3.179)	73.3	5.5 (1~31)	6.8 (0.7~14.0)	11.4 (10.0~12.2)	0.027 (0.003~0.058)	0.417 (0.243~1.097)
無施肥区	30	10	1.165 (0.759~1.912)	43.3	3.3 (1~18)	2.8 (0.2~6.6)	10.6 (10.0~11.4)	0.011 (0.001~0.036)	0.352 (0.215~0.599)

1) ( )内の数値は出現した範囲を示す。

においても有意差が認められた。最長根長、地上部長さ、根部絶乾重は3日施肥区>10日施肥区>無施肥区の順に高い値を示した。しかし、根部以外の絶乾重量では無施肥区>10日施肥区>3日施肥区の順に高い値を示し、一次根本数では10日施肥区>無施肥区>3日施肥区の順に、それぞれ高い値を示した。一次根本数は適正な施肥と思われる10日施肥区が最も高く、過剰と思われる施肥を行った3日施肥区は無施肥区を下回った。

次に挿し木クローン苗を採穂台木とした挿し木の調査結果を表-10に示す。やはり、実生苗を採穂台木とした時と同様に、発根率は10日施肥区>3日施肥区>無施肥区の順に高くなっていったが、全体に実生苗の場合よりも発根率は低かった。最長根長、地上部の長さ、根部絶乾重量は発根率と同様に、10日施肥区>3日施肥区>無施肥区の順に高い値を示した。一次根本数は最も発根率の高かった10日施肥区で幾分多いように見受けられたが、バラツキが大きく明確な差は認められなかった。

以上の結果から判断すると、通常よりも小型の穂木を用いて挿し木をする場合、採穂台木への適正な施肥(本試験の場合は10日施肥区)をすることは、根系の発達においては明確な効果が認められないが、発根率を高めるためには有効であると考えられた。

## IV おわりに

新たなスギ雄性不稔個体の作出では、人工交配の失敗等により当初予定していたよりも少数の個体数しか得ることが出来なかったが、一応、本県産精英樹と雄性不稔スギによる新たな雄性不稔個体が作出出来た。今後は、これらの作出した個体の初期成長調査等を実施して、造林用として供給できる個体の選抜を行う必要がある。

スギ黒点病菌によるスギ花粉飛散の抑制は、実用化までには至らなかったものの、大ま

かではあるが人工接種の適期を明らかにできた他、散布法による人工接種でもある程度のスギ雄花の感染枯死を引き起こすことに成功した。また、人工接種に用いる処理液に保湿のために添加する適正な大豆油濃度も明らかにできた。接種後にポリ袋で覆ったり、ビニールハウス内で管理する等、接種後、同菌が活着するまでの間の保湿の問題が残ったため、今後は、野外での暴露条件下においてもスギ雄花の感染枯死を引き起こさせる保湿性に富んだ処理液の改良が課題である。

小型の挿し穂を用いた挿し木手法の開発では、穂木のサイズと発根促進剤濃度、挿し床の深さ、採穂台木への施肥について検討し、挿し床として深いポットを使用することや採穂台木へ適正な施肥を行うことが、発根率を高めるのに有効であることを確認できたものの、良好な挿し木苗を得るには至らなかった。特に発根後、良好に根系が発達するために重要と考えられる一次根本数は、本試験において検討した方法では改善のヒントが得られなかったことから、今後、挿し床の通気性や発根後の施肥等について検討したい。

## V 謝辞

独立行政法人森林総合研究所森林微生物領域の窪野高德領域長には、本研究のスギ黒点病菌の暴露試験、人工接種、感染調査及び菌の再分離等において、多大なるご指導とご協力をいただいた。ここに、心より尊敬の念と感謝の意を表します。

元新潟大学大学院自然科学研究科の平英彰教授には、本研究において欠かせなかった多数の雄性不稔スギのF<sub>1</sub>個体をご提供いただいた。厚く御礼申し上げます。

## VI 引用文献

- 1) 林野庁 (2010) 森林・林業白書平成 22 年版. p46
- 2) 五十嵐正徳・渡邊次郎・小澤 創・斎藤 寛・平 英彰 (2004) 東北森林科学会誌. 9. 86-89
- 3) 平 英彰・斎藤真己 (2001) スギ雄性不稔の発現機構と遺伝様式. 林木の育種. 198. 16-17
- 4) 川名正史・吉井エリ・平 英彰 (2006) スギ雄性不稔の発現過程. 日林誌 88. 156-159
- 5) 吉井エリ・平 英彰 (2007) 「新大 1 号」「新大 5 号」におけるスギ雄性不稔性の発現過程と遺伝的特性. 日林誌 89. 26-30
- 6) 窪野高德・壽田智久・市原 優 (2008) 東北森林科学会第 13 回大会講演要旨集. 20