

速報

マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツの開花と葉フェノロジーの相関*1

松永孝治*2・栗田 学*2・武津英太郎*2・倉原雄二*2・倉本哲嗣*2

松永孝治・栗田 学・武津英太郎・倉原雄二・倉本哲嗣：マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツの開花と葉フェノロジーの相関 九州森林研究 71：55－58，2018 マツノザイセンチュウ抵抗性採種園産種苗の遺伝的な能力は母樹及び花粉親の影響を受ける。様々な生物的・非生物的要因が採種園産種子の花粉親の構成に影響を与えるが、採種園構成木の開花フェノロジーもその一つと考えられる。開花フェノロジーは、雄花や雌花を着生する樹齢に達するまで調査できないため、新たに開発された品種を用いて採種園を設計する際に考慮することができない。しかしながら、もし開花と葉フェノロジーの間に相関関係があるならば、若齢木の葉フェノロジーから、開花フェノロジーが推定できる可能性がある。ここでは、マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツのモデル採種園において、開花と葉フェノロジーの関係を調べたので報告する。

キーワード：クロマツ，フェノロジー，開花，葉，変異

I. はじめに

クロマツ (*Pinus thunbergii*) は飛砂や海風から農地や市街地を守るために海岸に植栽され、また、海岸の景観の重要な構成要素になっている。しかしながら、マツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) (以下、線虫) により引き起こされる材線虫病により、壊滅的な被害を受け続けている (林野庁, 2017)。森林総合研究所林木育種センターは関係機関と協力して材線虫病への対策の一環として、線虫に対するクロマツの抵抗性育種を実施しており、これまでに全国で183個体を抵抗性品種として選抜している (藤本ほか, 1989; 岡本ほか, 2006; 大平ほか, 2010 等)。これらの抵抗性品種は接ぎ木増殖され、クローナル採種園の構成木として利用される。クローナル採種園は、造林用の種苗を生産するために、優れた形質を持つ系統の接ぎ木等を集積しておく園地で、それらの植栽木が互いに種子親あるいは花粉親として貢献することで、遺伝的に改良された種子を生産することを想定している。現在、抵抗性マツの苗木は主に抵抗性クロマツのクローナル採種園から得られた自然受粉種子を育てて生産され、各地の海岸に植栽されている。

採種園産の自然受粉種子の家系構成は採種園を構成する系統やその空間配置の他、構成系統の着花性、開花フェノロジー等の繁殖特性によっても影響を受ける。例えば Erickson and Adams (1989) はダグラスファー (*Pseudotsuga minziesii*) の採種園において花粉親を分析して、開花フェノロジーの一致性が高いクローンが花粉親として貢献していることを示した。また、アカガシワ (*Quercus rubra*) の採種園において、早期に開花するクローンは採種園外からの花粉によって受粉する割合が高かったことが示されている (Alexander and Woeste, 2017)。

これまでに、マツ類の雌花の開花時の発達過程と受粉適期はすでに詳細に報告されており (萩行ほか, 1971; 斎藤ほか, 1979;

橋詰, 1981)、雄花の発育過程についても報告がある (萩行ほか, 1971; 橋詰, 1981 等)。クロマツの線虫抵抗性育種においても、開花フェノロジーのクローン間変異について重要性が認識されており、初期の抵抗性品種の開花フェノロジーについて2年間の調査が報告されている (戸田, 2004)。抵抗性クロマツの接ぎ木苗では植栽後5~7年程度で7~8割のクローンで雌花が、また5~7割のクローンで雄花が着花することが報告されており (戸田, 2004)、新品種を開発しても繁殖に関する形質を調査するためにはその後数年~10年程度必要となる。もし、開花フェノロジーを若齢木の何らかの形質から推定できるならば、新品種を採種園に導入する際の判断基準の一つとして利用できるだろう。

著者らは抵抗性品種の抵抗性クロマツ採種園において開花フェノロジーを調査する中で、開花に伴いマツの針葉が伸長することから、それらのフェノロジーの間に相関が認められるならば、まだ花のつかない若齢木の葉フェノロジーから開花フェノロジーを推定できると考えた。ここでは、まず、抵抗性クロマツ追加選抜品種の採種園において抵抗性品種の開花と葉のフェノロジーに相関関係があるかどうか調査した。次に、抵抗性クロマツ初期品種の壮齢木と3年生接ぎ木苗の間で葉のフェノロジーに相関関係があるかどうか検討した。

II. 材料と方法

1. 開花と葉フェノロジーの相関

熊本県合志市須屋にある森林総合研究所林木育種センター九州育種場 (以下、九州育種場) 内に2004~2007年に設定された抵抗性クロマツ追加選抜品種採種園 (10~12年生) に植栽された抵抗性クロマツ個体の接ぎ木 (表-1) を調査した。調査個体数は原則として各クローンにつき1ラメートであるが、3クローン (波方ク73, 唐津ク9, 佐土原ク8) については2ラメート調査

*1 Matsunaga, K., Kurita, M., Fukatsu, E., Kurahara, Y. and Kuramoto, N.: The correlated relationship between phenologies of flowering and needle flash in grafted trees of pine wilt disease resistant clones of *Pinus thunbergii* in a resistant clonal seed orchard.

*2 森林総合研究所林木育種センター九州育種場 Kyushu Regional Breed. Office, Forest Tree Breed. Ctr., For. & Forest Prod. Res. Inst., Koshi, Kumamoto 861-1102, Japan

表-1. 調査したクロマツ接ぎ木の詳細

品種の種別	樹齢	調査クローン数	雌花着花クローン数	雄花着花クローン数
初期16品種	10 or 12	4	4	3
追加選抜1期	12	17	16	14
追加選抜2期	10	16	16	8

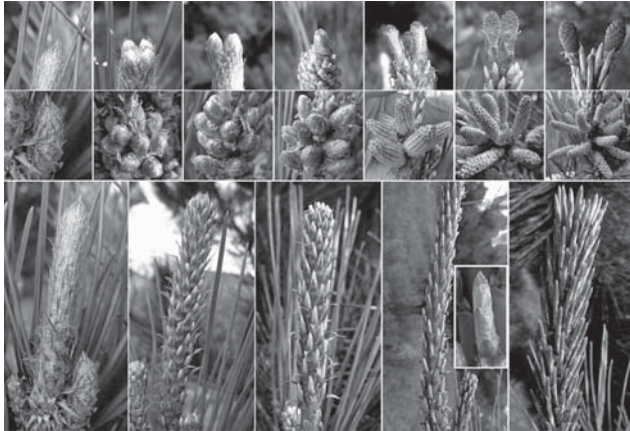


写真-1. 雌花, 雄花及び葉の発育段階

主上段: 雌花, 中段: 雄花, 下段: 葉. 各段について左端が段階0で右に行くほど発育段階が進む. 針葉の段階3の写真は, 一つの短枝の先端から針葉が露出している様子を拡大した写真を含む. 詳細は本文参照

した. 調査時の樹高は4~5m程度であった. 各ラメートについて樹冠の中層部で南東と南西方向に延びた枝をそれぞれ1本選び, 2016年4月4日から2~3日ごとに5月7日まで, 雌花及び雄花の開花について, 既報(斎藤ほか1979; 橋詰, 1981)を参考としながら, 外部形態によって0~6の7段階に分けて記録した(写真-1). 雌花の各段階は, 0: 冬芽内の雌花の芽鱗が見えない, 1: 芽鱗が確認できる, 2: 芽鱗が冬芽の先端から完全に露出している, 3: 芽鱗の先端から雌花の鱗片が露出する(開花開始), 4: 約半数の鱗片が露出する, 5: すべての鱗片が露出する(満開), 6: すべての鱗片間の空隙が見えない(閉花)とした. 雄花の各段階は, 0: 冬芽内の雄花の芽鱗が見えない, 1: 芽鱗が確認できる, 2: 芽鱗が割れ雄花の鱗片が露出する, 3: 芽鱗と露出した鱗片が同程度の大きさになる, 4: 鱗片が伸長し球形から卵型でなくなる, 5: 裂裂して花粉の飛散が始まる(花粉飛散), 6: 花粉の飛散が終わる, とした. 葉は同年4月16日から2~3日ごとに5月7日まで外部形態によって0~4の5段階に分けて記録した. 葉の各段階は, 0: 冬芽(長枝, シュート)内の短枝が見えない, 1: 長枝の鱗片葉(茶色)から短枝の鱗片葉(白い爪状, 葉束鞘)が露出する, 2: 短枝の鱗片葉が伸長し, 縦横比が2対1を超える, 3: 短枝の鱗片葉の先端から針葉が露出する, 4: すべての短枝から針葉が露出する, とした.

雌花・雄花・葉のそれぞれの発達段階は判別が容易な段階と容易でない段階があった. 例えば, 雌花の段階2から段階3への変化は白色の芽鱗の先端からピンク~赤(時々黄色)の鱗片が露出するため, 判別が非常に容易である. 一方で, 雌花の段階1から2, あるいは3から4は連続的な変化であるため判断に主観が入

る余地がある. そこで, ここでは判断の容易さ, 調査時の客観性, および繁殖における重要性を考慮して, 雌花の段階3(開花開始), 段階5(満開), 段階6(閉花), 雄花の段階5(花粉飛散), 葉の段階3, 段階4を取り上げ, 雌花・雄花・葉のそれぞれについて, 調査開始日を0として各段階に達するために要した日数を算出した. なお, 1ラメート内の調査枝2本の両方において, 各発育段階に達した場合に, 当該ラメートがその発育段階に達したことにした.

開花および葉フェノロジーのクローン間とクローン内ラメート間の変異を検討するために, 2ラメートを調査した3クローンについて, 主要な発育段階に達するために要した日数をラメートごとにとりまとめた.

雌花, 雄花および葉の間でフェノロジーの関連性を調べるため, 各クローンが各発育段階に達した日数について, 発育段階間の組み合わせの間で, Spearmanの順位相関係数を算出した.

2. 成木と若齢木間の葉フェノロジーの比較

2016年4月28日, 初期抵抗性6品種(三崎ク90, 波方ク37, 波方ク73, 土佐清水ク63, 吉田ク2, 津屋崎ク50)について, 九州育種場内に設定されたモデル抵抗性採種園内の26年生接ぎ木(以下, 成木)と隣接する苗畑に植栽された3年生接ぎ木苗(以下, 若齢木)の葉の発育段階を観察し, 上述の方法に従ってフェノロジーを記録した. 成木は各クローン2ラメートの各1枝, 若齢木は各クローン3~6ラメートの各1枝を調査して, 発育段階のクローン平均値を算出した. クラスカル・ウォリス検定によって発育段階のクローン間差について検定した. この6クローンの発育段階の平均値について成木と若齢木の間でSpearmanの順位相関係数を算出した.

なお, 本研究における解析にはStatistix 9を用いた.

Ⅲ. 結果と考察

雌花の開花開始, 満開および閉花はそれぞれ最も早いクローンで4月5日, 4月8日および4月19日に観察され始め, 4月12日, 4月16日および4月28日にすべてのクローンの雌花がそれぞれの発達段階に達した(図-1).

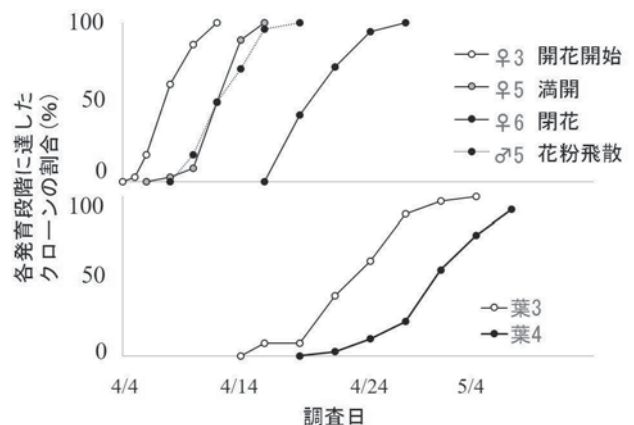


図-1. 抵抗性クロマツクローンにおける雌花, 雄花及び葉の主要な発育段階に達したクローンの累積割合の変化

雄花からの花粉飛散は4月10日に初めて観察され、最も遅いクローンは4月19日に観察された。葉の段階3は4月16日に観察され、最も遅いクローンは5月4日に観察された。葉の段階4は4月22日に初めて観察されたが、もっとも遅いクローンは調査期間中に段階4に達しなかった。あるクローンが特定の発育段階に達した後、すべてのクローンが同じ発達段階に達するまでの期間は雌花や雄花に比べて葉で長い傾向があった。

2ラメートを調査した3クローンについて、主要な発育段階への到達に要した日数はクローン間の変異に比べてクローン内で変異が小さい傾向があった(表-2)。

表-2. 2ラメート調査した3クローンにおける
主要な発育段階への到達に要した日数

クローン	ラメート	♀3 開花	♀5 満開	♀6 閉花	♂5 花粉 飛散	葉3	葉4
波方ク73	a	8	12	21	12	9	-
	b	8	12	21	15	9	-
唐津ク9	c	6	10	18	12	12	18
	d	6	10	18	10	9	21
佐土原ク8	e	4	8	15	8	9	12
	f	2	6	15	6	9	15

-は調査したラメートが調査期間中にその発育段階まで到達しなかったことを示す。

雌花は開花開始後、満開に達する前にすでに受粉可能であることが報告されている(斎藤ほか, 1979)。今回の結果において採種園内の最も花粉飛散が早いクローンが花粉を飛散し始めた時、3つのクローンにおいて雌花が満開に達していた。そのため、これらのクローンは採種園内のクローン以外を花粉親とするリスクが高いと考えられる。また、雄花の発育が最も遅いクローンは4月19日に花粉飛散を開始したが、最も雌花の発育が早いクローンは同じ日に閉花が観察されており、それらのクローン間では交配が起こる可能性が低いと考えられた。

雌花の開花、満開及び閉花に要した日数の間の相関係数は0.69~0.81となり、強い正の相関がみられた(表-3)。葉の段階3と段階4の間では0.74という強い正の相関関係が認められた。雌花と雄花の間の相関係数は0.48~0.62と中程度の正の相関が

表-3. 主要な発育段階間の相関関係

発育段階	順位相関係数 (P値)				
	♀3 開花	♀5 満開	♀6 閉花	♂5 花粉 飛散	葉3
♀5	0.8121 (0.0000)				
♀6	0.6943 (0.0003)	0.785 (0.0000)			
♂5	0.4849 (0.0198)	0.6169 (0.0021)	0.5023 (0.0155)		
葉3	0.4834 (0.0204)	0.6248 (0.0018)	0.5337 (0.0095)	0.5393 (0.0087)	
葉4	0.611 (0.0024)	0.6756 (0.0006)	0.4423 (0.0356)	0.4838 (0.0204)	0.7407 (0.0001)

n=23, Spearman の順位相関係数

認められた。葉と雌花、葉と雄花の相関係数はそれぞれ、0.44~0.68と0.48~0.54となり、中程度の正の相関が認められた。

3年生と26年生接ぎ木の葉の発育段階の全クローン平均値は3.27(クローン平均値の範囲:2.60~4.00)と3.08(2.00~4.00)であった(表-4)。若齢木における葉の発育段階の平均値はクローン間に有意な差が認められたが(クラスカル・ウォリス検定, 若齢木: $H=13.7336$, $n=30$, $P=0.0174$)、成木では有意差が認められなかった(クラスカル・ウォリス検定, 成木: $H=10.3016$, $n=12$, $P=0.0671$)。多重比較の結果, 若齢木と成木のどちらにおいても各クローン間に有意な差は認められなかった。葉の発育段階のクローン平均値について, 統計的に有意ではないものの, 若齢木と成木の間で正の中程度の相関が認められた(Spearman の順位相関, $\rho=0.5971$, $n=6$, $P=0.1750$)。

表-4. マツノサイセンチュウ抵抗性クロマツの接ぎ木の
若齢木と成木における葉の発育段階

クローン名	3年生		26年生	
	ラメート数	平均±SD	ラメート数	平均±SD
三崎90	5	3.40±0.55	2	4.00±0.00
波方37	5	3.40±0.55	2	2.00±0.00
波方73	6	3.00±0.00	2	3.00±0.00
土佐清水63	3	4.00±0.00	2	3.50±0.71
吉田2	6	3.50±0.55	2	4.00±0.00
津屋崎50	5	2.60±0.55	2	2.00±0.00

IV. おわりに

本研究は新たに開発したクロマツの抵抗性品種について、着花が始まる前に開花フェノロジーを推定するため、2つの調査を行った。一つ目の調査では採種園に植栽された10~12年生の抵抗性品種の接ぎ木において開花と葉のフェノロジーを調べ、両者の間に中程度の相関を認めた。二つ目の調査では、隣接する苗畑と採種園にそれぞれ植栽された3年生と26年生の抵抗性クロマツ接ぎ木の間で葉の発達段階に相関を認めた。これらの結果は若齢木の葉のフェノロジーと成木の開花フェノロジーが関連することを示唆する。本論では2つの調査に用いた品種のクローンが異なっており、直接若齢木の葉と成木の開花フェノロジーを比較することができなかった。今後は若齢木の葉と成木の開花フェノロジー直接比較できるように材料を育成するとともに、採種園内の交配実態に開花フェノロジーの変異がどの程度影響しているかを明らかにしていく予定である。

また、本研究の結果、針葉の発育過程では、短枝の鱗片葉から針葉が露出する過程が可視的に判別しやすく、葉フェノロジーのクローン間変異等を調べるために良い指標になると考えられた。

V. 謝辞

本研究では葉の各部の形態の名称について福岡教育大学の福原達人教授にご助言を頂いた。ここに深謝する。

引用文献

Alexander L and Woeste K (2017) PLoS ONE 12 : e 0171598
Erickson VJ and Adams WT (1989) Can J For Res 19 : 1248 - 1255
藤本吉幸ほか (1989) 林育研報 7 : 1 - 84
萩行治義ほか (1971) 46 年林木育種発表講演集 64 - 67
橋詰隼人 (1981) 鳥大農研報 33 : 34 - 40

岡村政則ほか (2006) 林育研報 22 : 35 - 50
大平峰子ほか (2010) 平成 22 年度版 林木育種センター年報 57 - 64
林野庁 (2017) 森林・林業白書 平成 29 年版, 289 pp. 林業統計
協会
斎藤幹夫ほか (1979) 林試研報 302 : 79 - 96
戸田忠雄 (2004) 林育研報 20 : 83 - 217
(2017 年 11 月 17 日受付 ; 2018 年 1 月 9 日受理)