

人工交配家系を用いたヒノキ雄花着花性の遺伝性

坪村美代子・中田了五・武津英太郎 (森林総研林育セ)

要旨:ヒノキ花粉はスギ花粉とともに、花粉症の主要原因となっており、対策が求められている。これまでに、森林総合研究所林木育種センターでは、「花粉の少ないヒノキ」として、雄花着花性の低い品種を開発してきた。しかしながら、実生家系において、雄花着花性がどのように遺伝するのかということについてはこれまでほとんど明らかにされていない。そこで、ヒノキ人工交配家系をクローン化した材料を用いて、ジベレリン処理を行い、着花指数によりヒノキ雄花着花性の遺伝性を検討した。複数の交配セット、年次でそれぞれ遺伝率を推定した結果、分散分析から推定された狭義の遺伝率は 0.692、親子回帰から推定した狭義の遺伝率は 0.513 と高い値を示す交配セット・年次があった。一方で、遺伝率が推定されない交配セット・年次も存在し、今後検討を重ねる必要がある。

キーワード:ヒノキ, 雄花着花性, 遺伝性, 親子回帰, 人工交配家系

I はじめに

ヒノキ花粉はスギ花粉とともに花粉症の主要原因となっており(5)、対策が求められている。これまで、林野庁、都府県、林木育種センター等により、採種園等のヒノキ精英樹クローンの雄花着花性調査が行われてきた。その結果をもとに、精英樹クローンから雄花着花量の少ない、「花粉の少ないヒノキ」品種が選抜された(3)。これらの品種を普及させる際には、実生後代に親クローンの雄花着花性がどの程度遺伝するのか検証する必要がある。これまでに、採種園の親クローンと自然交配による実生次代検定林の自然着花の雄花着花性を調査した報告においてその遺伝率は高いことが示されている(1)が、まだ報告は少なく、さらに知見を得る必要がある。そこで本研究では、ヒノキ精英樹クローンの人工交配家系を用いて、雄花着花性の遺伝性を検討した。

II 材料と方法

森林総合研究所林木育種センター構内に植栽されているヒノキ人工交配家系 30 家系 117 クローン 272 個体とその交配親 10 クローンを供試材料とした。交配親クローンは、つぎ

木により増殖し、1995 年に交配園に植栽したものである。人工交配家系は6×6の片面ダイヤレル2セット(表-1)で構成されている。1家系(交配組合せ)から6実生個体を選び、クローン化した。2セット×15 家系×6クローン×3ラメートの540 個体を1996 年に植栽した。植栽配置は3ブロック構成とし、1ブロック内には1家系あたり2クローン×3ラメート6個体ずつを配置した。2007 年調査時のクローンあたりの生存ラメート数は、64 クローンが3ラメート、27 クローンが2ラメート、26 クローンが1ラメートであった。63 クローンでは全てのラメートが枯死しており、家系内の供試クローン数は表-1のとおりである。供試個体の平均樹高は 5.7m、平均胸高直径は 8.2cm であった。

2006 年と2007 年の6月上旬に、1個体につき枝3本ずつ、枝基部の樹皮を5cm 程度剥皮し、ジベレリンペーストを約1 ml ずつ、あるいは CMC 団子(ジベレリン 2.5mg 含む)を埋め込んだ後、ガムテープで切り口を塞いだ。交配親クローンについても、5~8ラメートずつ同様の処理を行った。2007 年と2008 年の3月中旬に、ジベレリン処理枝、無作為に選

表-1. 交配組合せ

表中の数字は供試クローン数

Aセット

母親\父親	札郷2	西多摩3	加茂1	額田4	箱根5	伊豆3
札郷2		4	6	4	6	5
西多摩3			5	3	3	3
加茂1				3	6	4
額田4					2	4
箱根5						2
伊豆3						

Bセット

母親\父親	伊豆3	児玉1	西川5	丹沢8	札郷3	札郷2
伊豆3		2	4	3	3	5
児玉1			3	4	4	3
西川5				3	5	3
丹沢8					5	4
札郷3						6
札郷2						

Miyoko Tsubomura, Ryogo Nakada, Eitaro Fukatsu (Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute, Juo-cho, Ishi 3809-1, Hitachi, Ibaraki, 319-1301) Inheritance of male flower setting in control-pollinated families of hinoki (*Chamaecyparis obtusa*)

んだ無処理枝それぞれ3本ずつの着花指数を目視により評価した。着花指数の評価は、1次枝における雄花の着生している3次枝の割合で、林野庁が発行した平成9年度雄花着花性に関する調査実施要領(8)をベースとして、以下のように改良した基準に基づいて行った。

- 指数0: 全く雄花が着生していないもの
- 指数1: 1/4 未満の枝に雄花が着生しているもの
- 指数2: 1/4~1/2 未満の枝に雄花が着生しているもの
- 指数3: 1/2~3/4 未満の枝に雄花が着生しているもの
- 指数4: 3/4 以上の枝に雄花が着生しているもの
- 指数5: 3/4 以上の枝に雄花が着生しており、非常に多いもの

なお、予備調査により CMC 団子およびジベレリンペーストによる着花量の違いは認められなかった。3本の枝の着花指数の平均値をその個体の値とし、枯れ枝は解析から除いた。親クローンについては、ラメートの着花指数を平均し、以後の解析に用いた。交配家系については、各ラメートの値を平均し、それを各クローンの値とし、以後の解析に用いた。これらの指数の結果を用いて、ヒノキの雄花着花量についての遺伝率の推定を、家系間の分散分析による方法と、親子回帰による方法で行った。

分散分析には次の線形モデルを仮定した(10)。

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + G_j + G_k + S_{jk} + RC_{ijk} + E_{ijkl}$$

ここで Y_{ijkl} : i ブロックの j (母親) k (父親) の交配組合せの l 番目のデータ(クローン平均値), μ : 全体平均, B_i : i ブロックの効果(固定効果), G_j : j 番目の母親の一般組合せ能力(変量効果), G_k : k 番目の父親の一般組合せ能力(変量効果), S_{jk} : j 番目の母親と k 番目の父親の特定組合せ能力(変量効果), RC_{ijk} : ブロック i と親の組合せ jk との交互作用, E_{ijkl} : 誤差, である。上記線形モデルにしたがって、最尤法により各効果の分散成分を求めた。計算は、統計パッケージ SAS の Mixed プロシージャ(6)により行い、プログラムは XIANG ら(10)に従って記述した。求められた分散成分を用いて、以下の式により狭義の遺伝率を求めた。

$$h^2_i = 4 * \sigma^2_G / (2 \sigma^2_G + \sigma^2_S + \sigma^2_{SxB} + \sigma^2_E)$$

ここで、 σ^2_G は一般組合せ能力の分散、 σ^2_S は特定組合せ能力の分散、 σ^2_{SxB} はブロックと親の組合せの交互作用分散、 σ^2_E は誤差分散を示す。遺伝率の標準誤差は、Delta 法により求めた(4)。

親子回帰では、両親の着花指数の平均値に対するその家系内のクローンの平均値の回帰における回帰直線の傾きより狭義の遺伝率を求めた(2)。

また、一元配置分散分析、相関係数の算出、親子回帰における回帰直線の傾きの検定および標準誤差の算出には統計パッケージ R(7)を用いた。

III 結果

2007 年、2008 年の親クローンの平均着花指数を図-1に示した。2007 年はすべての調査個体で自然着花が認められなかった。ジベレリン処理によるクローンの着花指数の範囲は A セット、B セットともに 0.75~2.00 と小さかった。2008 年は無処理枝にも5クローンで雄花の着生が認められた。無処理、ジベレリン処理の着花指数の範囲はそれぞれ 0.00~2.29, 1.46~3.96 であった。ジベレリン処理枝について、クローンを要因とした一元配置の分散分析を行った結果、2007 年は1%水準で、2008 年は5%水準で有意なクローン間差が認められた。2008 年に無処理で着花が認められたクローンにおいて、ジベレリン処理と無処理の間のピアソンの積率相関係数は 0.863 ($n = 5, p = 0.059$)であった。また、全クローンにおいて、Spearman の順位相関係数は 0.873 ($n = 10, p < 0.001$)であった。一方、年次間では、ジベレリン処理枝について有意な相関は認められなかった。

人工交配家系においては、2007 年は無処理枝には全く雄花着花が認められず、2008 年も 2%の個体にしか雄花着花が見られなかった。人工交配各セットの家系間と家系内のジベレリン処理による着花指数のバラツキを図-2に示した。2007 年、2008 年ともに家系内変異が大きく、家系を要因とした一元配置の分散分析を行った結果、家系間差は 2007 年の A セットでのみ5%水準で認められた。また、A セットでは

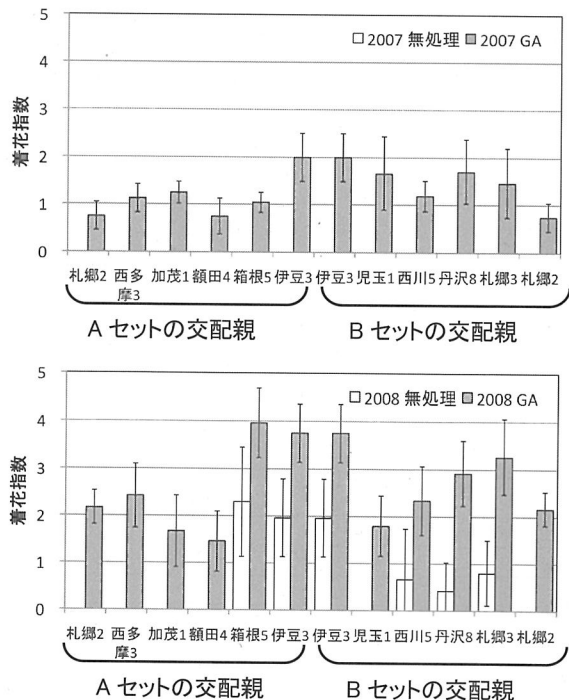


図-1. 2007 年、2008 年の親クローンの平均着花指数。バーは標準偏差を、GA はジベレリン処理を示す。伊豆3、札郷2は両セットに用いられている

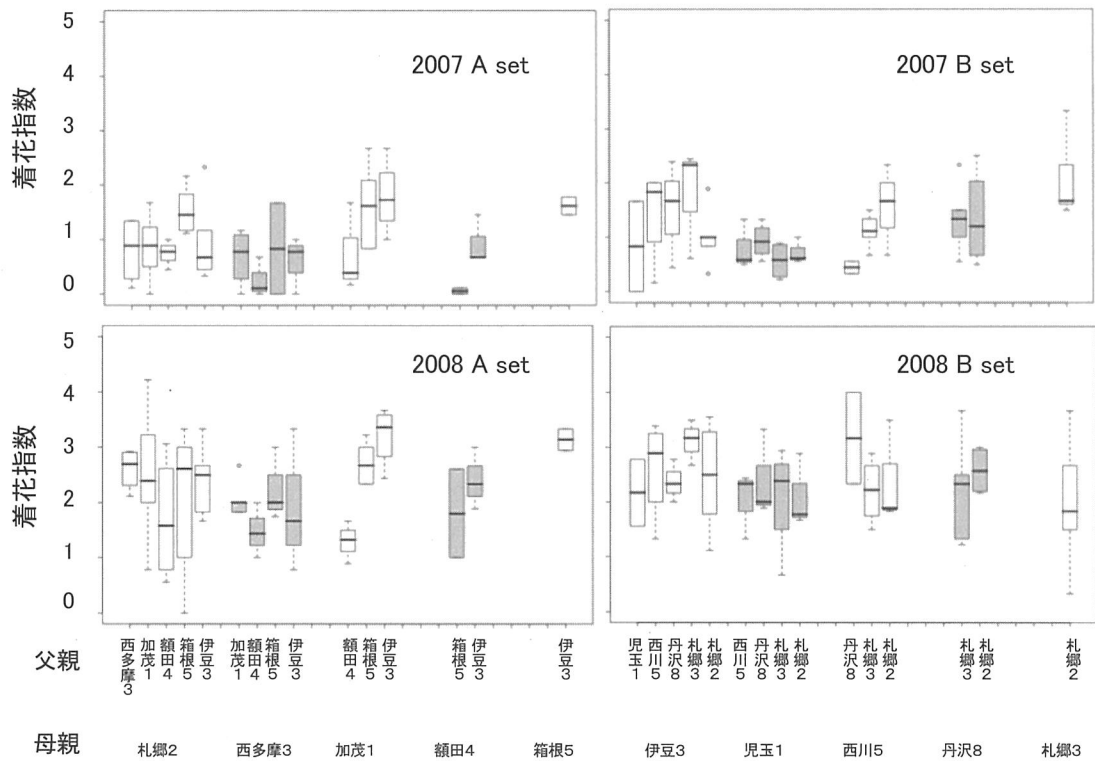


図-2. 人工交配家系のジベレリン処理による着花指数

ボックス内の太線は中央値、ボックスの上端は上側四分位、下端は下側四分位、上側のヒゲは、第3四分位からボックスの長さ(第1四分位と第3四分位の間隔)×1.5の範囲内の最大値、下側のヒゲは第1四分位からボックスの長さ×1.5の範囲内の最小値、点はずれ値を示す

年次間で相関が認められた ($n = 15, r = 0.75, p < 0.01$) が、B セットでは年次間に有意な相関は認められなかった。

人工交配家系の分散成分の割合および狭義の遺伝率を 図-3 に示した。家系間差が認められた 2007 年 A セットでは 遺伝率(± 標準誤差)は 0.692 ± 0.424 となり、高い値が推定された。一方で、2008 年 B セットでは一般組合せ能力の分散成分の推定値が 0 となったため、遺伝率は 0 と推定された。遺伝率の標準誤差は大きく、遺伝率の推定精度が高くないことを示した。

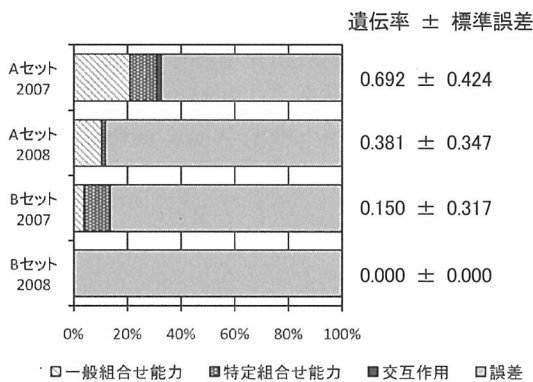


図-3. 人工交配家系の分散成分の割合及び推定された狭義の遺伝率

親クローンの両親平均値への家系平均値の回帰分析結果を表-2 に示した。親子回帰の傾きが有意な値を示したのは 2008 年の A セットのみであり、遺伝率(± 標準誤差)は 0.513 ± 0.199 と推定された。それ以外のセット、年次では回帰直線の傾きが有意ではなく、標準誤差も大きかった。

IV 考察

本研究の結果、分散分析から推定された遺伝率は A セットでは最大 0.692 と推定された。親子回帰から推定された遺伝率は、傾きが有意な値を示した A セットでは 0.513 と推定された。遠藤ら(1)の報告においても、分散分析から推定した遺伝率は 0.434 であり、本研究の結果も既報の報告と近い値を示し、ヒノキの雄花着花性にはある程度の遺伝性があることが認められた。

表-2. 親クローンの両親平均値への家系平均値の回帰分析より推定された狭義の遺伝率

年次	セット	親クローンの指数の変異幅	遺伝率 ± 標準誤差
2007	A	0.750-2.000	0.800 ± 0.458
2008	A	1.458-3.958	0.513 ± 0.199
2007	B	0.750-2.000	-0.265 ± 0.475
2008	B	1.792-3.750	0.341 ± 0.211

一方で、分散分析、親子回帰ともに2007年のAセットでも遺伝率が高く、2008年のBセットではほぼ0と推定され、年次、交配セットによって遺伝率の推定値は大きく異なっていた。これは、Bセットでは家系間変異が小さく、相対的に家系内変異が大きくなったことが原因であると考えられる(図-2)。交配親にはある程度の変異があるにも関わらず、家系間変異よりも家系内変異が大きくなった要因として、評価手法とサンプル数の問題が挙げられる。

本研究では大量のデータが容易に得られる手法として、指数評価法を用いた。しかし、ヒノキにおいては、指数による評価は誤差が大きく、クローン内、家系内の変異を相対的に大きく評価してしまう場合があると考えられる。また、値の正規性や等分散性が見られないという問題点もあり、今後は評価手法および解析方法の検討も必要であると考えられる。

本研究の試験設計では、1家系内のクローン数は最大6であり、サンプル数が少ない(表-1)。交配親クローンは比較的均一な環境に植栽されていたが、交配家系が植栽されていた試験地は場所によって光環境が大きく異なっていた。このサンプルサイズおよび3反復では、環境の影響を取り除くことができず、家系内の変異が大きく評価された可能性が考えられる。

遠藤ら(1)は、試験地内での光環境が変化したことにより、家系内個体変動が大きくなり、家系間差、遺伝率が小さく評価される場合があることを示しており、本研究でも試験地内の光環境の違いにより家系内個体変動が大きくなったことが考えられる。これは、ヒノキの雄花着花性という形質が、微小環境の影響を受けやすく、形質としてバラツキが大きくなりやすい可能性を示している。スギの人工交配家系の雄花着花性を検討した研究においても、家系内個体変動はかなり大きく(9)、ヒノキにおいても同様の傾向が認められる可能性がある。今後は家系内個体数が多い材料を用いた試験設計において遺伝率の推定事例を重ねる必要があると考えられる。

本研究においては、雄花着花性は親クローン、交配家系両方において、年次間で同一クローンでもバラツキが大きかった。これは、雄花着花性が年次との交互作用があることを示唆しており、複数年の調査を行い、検討する必要があることを示している。

本研究ではジベレリンにより誘導された着花性について、その遺伝性の検討を行っている。ヒノキは自然着花するまでに長期間を要し、また成林した林の内部ではほとんど着花しない。また樹高が大きくなってから詳細な着花量を調査することは困難であることから、本研究ではジベレリン処理を行った枝においてヒノキの雄花着花性を検討した。本研究の結果、親クローンにおいて自然着花指数とジベレリン誘導着花

指数との間に高い相関が見られたことから、ジベレリン処理の結果をみることにより自然着花の遺伝性を推定できる可能性が示された。

ヒノキの雄花着花性の遺伝性に関する知見はまだ少なく、情報を蓄積していくことが重要である。今後は本研究で示された年次・環境の影響や家系内のバラツキの問題を検討し、交配設計や着花量の調査方法また結果の解析方法も含めてさらに研究を進めていく必要がある。

引用文献

- (1) 遠藤良太, 明石孝輝 (2003) ヒノキ採種園と次代検定林の着花状況から推定した遺伝率と育種効果. 日林誌 **85**: 241-244.
- (2) FALCONER, D.S. (1960) *Quantitative Genetics*. 171-172. The Ronald Press Company, New York
- (3) 河崎久男, 福田陽子, 武津英太郎, 高橋 誠 (2008) 関東育種基本区における花粉の少ないヒノキ品種の開発. 森林総合研究所林木育種センター 平成 18 年度年報 : 48-49.
- (4) LYNCH, M., WALSH, B. (1998) *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. 807-821. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts
- (5) 斎藤洋三, 井手 武, 村山貢司 (2006) 新版・花粉症の科学. 26-28. 化学同人, 京都
- (6) SAS INSTITUTE INC. (1996) *SAS/STAT Software: changes and enhancements (through release 6.11)*. SAS Institute Inc., Cary, N.C
- (7) R DEVELOPMENT CORE TEAM (2008) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- (8) 林野庁 (1997) 雄花着花性に関する調査報告書. 143-144.
- (9) 坪村美代子, 中田了五, 福田陽子 (2008) スギ人工交配家系の雄花着花性の家系内・家系間変異. 第119回日本森林学会大会学術講演集. CD-ROM
- (10) XIANG, B., LI, B. (2001) A new mixed analytical method for genetic analysis of diallel data. *Can. J. For. Res.* **31**:2252-2259.