

グイマツにおける着花促進処理のスクリーニング

森林総合研究所 林木育種センター北海道育種場 田村明・織田春紀・福田陽子・矢野慶介

林木育種センター東北育種場 玉城聡 林木育種センター 山田浩雄

はじめに

北海道の主要な造林樹種であるグイマツ、カラマツは豊凶差が大きく、ほとんど着花が見られない年もあるため、造林用種子を安定的に確保することが難しい。国内外のカラマツ属でも同様の問題が生じており、今まで様々な着花促進処理が試みられてきた。例えば、受光伐、枝や幹の環状剥皮、根切り、枝の下垂処理、日長処理、ホルモン処理である(1, 10, 12, 16)。しかし、未だ有効な着花促進法は確立されていない。有効な着花促進法が確立できれば、採種園産種苗の安定供給に貢献するだけでなく、新しいグイマツ雑種 F₁ 品種の開発や育種集団の次世代化を高速化できる。

カラマツ属で着花促進効果が高い方法としてホルモン処理や環状剥皮等が注目されている。ニホンカラマツにおけるホルモン処理による効果をレビューすると、GA₃ (ジベレリン A₃) (6), NAA (1-ナフタレン酢酸) (6) および GA_{4/7} (GA₄+GA₇) によるホルモン処理によって着花量が増加したことが報告されている(2)。一方、NAA, GA₃, GA₄, GA_{4/7} のいずれも効果がなかったとする報告もある(9, 10)。また根元にマルチシートを敷いたり(2)、枝基部での環状剥皮によって着花量が増えたとする報告があるが(9)、枝に環状剥皮しても効果がなかったとする報告もある(7)。

着花促進試験の結果が変動する理由としては、試験材料や処理時期が適切でなかったり、他の処理と併用しなかったことで、その効果が現れなかったことが考えられる。グイマツでは7月中旬頃には花芽のサイズが葉芽よりも大きくなり、7月下旬には雌雄を判別できる状況になる(17)。花芽の生化学的な分化は、組織分化が観察できる2~3週間前に始まっていると予想されており、ウエスタンラーチ (*L. occidentalis*) では、長枝が開葉した直後に着花促進処理を行うのが適切であるとしている(11)。また、原らはシロイヌナズナの花芽形成遺伝子 *LEAFY* と相同な *LgLFY* 遺伝子の発現が翌年の花芽になる芽で5月から高くなるとしていることから(5)、グイマツでは長枝が伸長し始める時期から7月中旬頃までに着花促進処理を行うと効果が上がる可能性がある。また、ヨーロッパカラマツ (*L. decidua*) の着花促進試験では、クローンによって効果が大きく異なるため、試験を行う場合には遺伝子型を考慮した方が良いとしている(12)。

本研究では、グイマツ3クローンを用いて、着花促

進効果が期待できる長枝の伸長時に、15種類の着花促進処理を行った。植物ホルモンは既存の研究で効果が認められた GA₃, GA_{4/7}, NAA を用いた。さらにこれらのホルモン処理と環状剥皮との併用や処理の方法についても検討したので報告する。

材料と方法

1) 試験地と材料

試験地は北海道育種場構内の第6カラマツ育種素材保存園である。着花促進を処理したクローンは狩場神社、生田原1および生田原2の3クローンである。狩場神社は1999年春につぎ木増殖し、2002年春に保存園に植栽した。生田原1と生田原2は2001年につぎ木増殖し、2003年春に保存園に植栽した。クローン当たりの供試個体数は11個体である。供試個体の樹高、直径および処理枝はそれぞれ平均8.4m(標準偏差0.8m)、平均11.0cm(標準偏差1.6cm) および平均2.7cm(標準偏差0.6cm)であった。表-1に各着花促進処理におけるクローン別供試枝数を示した。処理は一次枝に対して1箇所のみ行った。また処理した一次枝の地上高は、手で処理しやすい約1mから2mとした。同一処理内での処理枝は、クローン内でもランダムに設定した。ただし、同一個体内では同じ処理を重複して行っていない。

表-1. 各処理におけるクローン別の供試枝数

処理番号	処理名	生田原1	生田原2	刈場神社	計
1	スミセブン	2	3	3	8
2	GA ₃ (ペースト)	3	3	3	9
3	NAA (エタノール注入法)	1	2	2	5
4	NAA (ラノリンペースト)	4	6	6	16
5	GA _{4/7} (エタノール注入法)	3	3	3	9
6	GA _{4/7} (ラノリンペースト)	6	6	6	18
7	GA _{4/7} (点滴式)	2	3	3	8
8	GA _{4/7} +NAA (エタノール注入法)	1	3	3	7
9	GA _{4/7} +NAA (ラノリンペースト)	6	6	6	18
10	GA _{4/7} +NAA (点滴式)	1	2	3	6
11	スコアリングのみ	2	3	4	9
12	スコアリング+GA _{4/7} (点滴式)	3	3	3	9
13	スコアリング+GA _{4/7} (グリーンガード)	2	3	3	8
14	スコアリング+GA _{4/7} +NAA (点滴式)	3	3	3	9
15	スコアリング+GA _{4/7} +NAA (グリーンガード)	2	1	2	5
	無処理	11	11	11	33
		52	61	64	177

Akira TAMURA, Haruki ORITA, Yoko FUKUDA, Keisuke YANO (Forest Tree Breeding Center, Hokkaido Regional Breeding Office, Forestry and Forest Products Research Institute, 561-1 Bunkyoudai-midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-0815), Hiroo YAMADA (FTBC, FFPRI, 3809-1 Ishi, Hitachi, Ibaraki 319-1301), Satoshi TAMAKI (FTBC, Tohoku Regional Breeding Office, FFPRI, 95 Takizawa aza osaki, Takizawa, Iwate 020-0173), The screening of several cone induction treatments in *Larix gmelinii*.

2) 着花促進処理

スコアリングは 2013 年 5 月 23 日に行った。5 月 23 日は多く処理枝で長枝が伸長し始めた時点であった。また日照不足を補い、水ストレスをかけるため、同日に処理個体の根元付近の地表に光合成促進シートのパールライト (フタムラ化学株式会社) (4m×4m) を敷設した。5 月 23 日時点の積算温度 (2013 年 1 月 1 日からの日平均気温が 0°C 以上の日の日平均気温の総和) は 336°C だった。ホルモン処理は 2 回実施した。1 回目は 2013 年 6 月 4 日 (積算温度 503°C) に実施し、2 回目は同年 6 月 18 日 (積算温度 732°C) に実施した。1 回目の処理時の長枝長は平均 30mm (標準偏差 10mm), 2 回目の処理時の平均は 51mm (標準偏差 15mm) だった。これらの積算温度時にホルモン処理を行った理由は、グイマツ雑種 F₁ 採種園における豊凶データと気象データの解析結果から、グイマツでは積算温度が 500°C 以降 10 日間の平均日照時間が多く、積算温度が 550°C 以降 10 日間の平均気温が高いほど雌花の着花量が多くなる傾向があり、積算温度が 500°C から 700°C までの期間がグイマツの花芽分化にとって重要な時期と考えられたためである (15)。2 回目のホルモン処理は 1 回目の処理箇所より梢端方向へ 5cm 以上離れた箇所に処理した。またホルモン処理は 9 時から 12 時までの間に実施し、処理後は処理箇所をガムテープで被覆した。以下に各着花促進処理について説明する。

① スミセブン (処理 1)

電動ドリルを使って幅 3mm、深さ 1~2cm の穿孔を 1 箇所作り、ディスポシリンジを使って 10 倍に希釈したスミセブン P 液剤を 0.2cc 注入した。なお、スミセブンはアンチジベレリン剤である。

② GA₃ ペースト (処理 2)

カッターで 1 箇所、樹皮に切り込みを入れて剥皮し、1cm 長の GA₃ ペースト (GA₃7.5mg) を塗布した。

③ NAA (エタノール注入法) (処理 3)

穿孔を作る方法は処理 1 と同じである。ディスポシリンジを使ってエタノール濃度 80% に溶解した NAA 溶液を 0.2cc (NAA7.5mg) 注入した。

④ NAA (ラノリンペースト) (処理 4)

カッターで 1 箇所、樹皮に切り込みを入れて剥皮し、エタノールに溶解した NAA をラノリンに混合し、ディスポシリンジを使って NAA ペースト 0.1cc (NAA7.5mg) を塗布した。

⑤ GA_{4/7} (エタノール注入法) (処理 5)

穿孔を作る方法は処理 1 と同じである。ディスポシリンジを使ってエタノール濃度 80% に溶解した GA_{4/7} (7.5mg) を 0.2cc 注入した。

⑥ GA_{4/7} (ラノリンペースト) (処理 6)

ペーストの方法は処理 4 と同じである。ラノリンに GA_{4/7} (7.5mg) を混合したペーストを 0.1cc 塗布した。

⑦ GA_{4/7} (点滴法) (処理 7)

穿孔を作る方法は処理 1 と同じである。点滴チューブセット (トップ社) を用意し、穿孔に点滴針を固定し、GA_{4/7} (7.5mg) を溶解したアルコール濃度 5% の水溶液 75cc を滴下した。

⑧ GA_{4/7}+NAA (エタノール注入法) (処理 8)

穿孔を作る方法は処理 1 と同じである。ディスポシリンジを使ってエタノール濃度 80% に溶解した GA_{4/7} (7.5mg) と NAA (0.75mg) を 0.2cc 注入した。

⑨ GA_{4/7}+NAA (ラノリンペースト) (処理 9)

ペーストする方法は処理方法 4 と同じである。GA_{4/7} (7.5mg) と NAA (0.75mg) を混合したラノリンペーストを 0.1cc 塗布した。

⑩ GA_{4/7}+NAA (点滴法) (処理 10)

点滴の設置方法は処理方法 7 と同じである。GA_{4/7} (7.5mg) と NAA (0.75mg) を溶解したアルコール濃度 5% の水溶液 75cc を滴下した。

⑪ スコアリング (処理 11)

手鋸で 1 箇所、らせん状に 2~3 周、形成層まで切り込みを付けた。スコアリングは枝の基部から 5cm 離れた場所に処理した。なおスコアリングとは環状剥皮と違って、らせん状に樹皮を剥皮する方法である。

⑫ スコアリング+GA_{4/7} (点滴法) (処理 12)

処理 11 と同じ方法でスコアリングを行い、処理 7 と同じ方法で GA_{4/7} (7.5mg) が溶解した水溶液を作り、スコアリングした箇所から梢端方向に 5cm 以上離れた箇所に滴下した。

⑬ スコアリング+GA_{4/7} (グリーンガード) (処理 13)

処理 11 と同じ方法でスコアリングを行った。スコアリングした場所から梢端方向に 5cm 以上離れた箇所に処理方法 1 と同じ方法で穿孔を作り、処理 7 と同じ方法で作った GA_{4/7} (7.5mg) が溶解した水溶液 75cc をグリーンガードの容器 (90cc) (Zoetis 社) に入れ、これを穿孔に注入・固定した。

⑭ スコアリング+GA_{4/7}+NAA (点滴法) (処理 14)

処理 11 と同じ方法でスコアリングを行い、処理 7 と同じ方法で GA_{4/7} (7.5mg) と NAA (0.75mg) が溶解した水溶液 75cc を滴下した。

⑮ スコアリング+GA_{4/7}+NAA (グリーンガード) (処理 15)

処理 11 と同じ方法でスコアリングを行い、処理 13 と同じ方法で GA_{4/7} (7.5mg) と NAA (0.75mg) が溶解した水溶液 75cc が入ったグリーンガードの容器を固定した。

⑯ 無処理

着花量が多かった無処理の一次枝を 1 個体につき 1 本選び、後述する着花率を調査した。

3) 着花率

2014 年 5 月に、処理した一次枝からそれぞれ着花が多い二次枝を最大 10 本採取した。グイマツでは雌花と雄花の着生は主枝から二次分岐した枝のうち 3~5 年生の古い枝に集中するため (14)、採取した二次枝の 2 年~5 枝年次の各枝年次の葉芽数、雄花数、雌花数および枯芽数を、それぞれ 10 箇所調査した。全部で 1759 箇所の二次枝について着花率を調査した。雄花率は、雄花数 / (葉芽数 + 雌花数 + 雄花数) として計算した。雌花率も雌花数 / (葉芽数 + 雌花数 + 雄花数) として算出した。解析には 10 箇所の平均値を用いた。

4) 統計解析

以下の線形混合モデル方程式で各枝年次における雄花率、雌花率に対する固定効果 (全平均) の BLUE (Best Linear Unbiased Estimate) 値を推定した。また、変量効

果の予測値としてクローン、処理、クローン内個体、処理とクローンの交互作用の各変量効果の BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) 値を予測した。

$$y = X \cdot b + Z \cdot a + e$$

ここで、 y は雄花率、雌花率の測定値ベクトル、 b は固定効果のベクトル、 a は変量効果のベクトル、 e は誤差を表わす。 X は固定効果のデザイン行列、 Z は変量効果のデザイン行列である。この解析には解析ソフト ASReml 3.0 (VNI international 社) を用いた。

各変量効果の分散成分を REML 法 (制限付き最尤法) で推定し、表現型分散に占める割合を算出した。なお、表現型分散は、全変量効果の分散成分の合計値とした。着花促進処理の有意性を評価するため、全平均と処理を固定効果、クローン、クローン内個体、処理とクローンの交互作用を変量効果とした分散分析を行った。この解析には統計ソフト SPSS ver12.0 (SPSS 社) を用いた。有意水準 5% 以下で有意差が認められた場合は、Bonferroni の多重比較検定を使って各処理の平均値に統計的な差があるかどうかを検定した。

結果と考察

1) 着花率に対する着花促進処理の影響

図-2 に着花率に対する各要因の寄与率を示した。雄花率の変動に対する各要因の寄与率は、いずれの枝年次においてもクローンが最も大きかった (2~5 枝年次の平均値は 43.7%)。また着花促進処理の効果も大きかった (2~5 枝年次の平均値は 15.0%)。雌花率の場合、着花促進処理の効果は雄花の場合より小さかったが、いずれの枝年次においても処理の効果が見られた (2~5 枝年次の平均値 5.8%)。フランスで行われたニホンカラマツの着花促進試験の場合、雄花率の変動に影響する要因として遺伝子型 (47.9%)、個体内変動 (16.7%)、処理日 (3.2%)、処理 (1.9%) であり、雌花率の場合、遺伝子型 (45.3%)、処理 (8.1%)、個体内変動 (5.1%)、処理日 (4.4%) だった (2)。グイマツにおいてもクローンの違いが大きく影響しており、着花促進試験を行う場合は遺伝子型を考慮した方が良くと考えられる。また着花率には着花促進処理も影響し、着花率を高める上で重要な要因であることが示唆された。

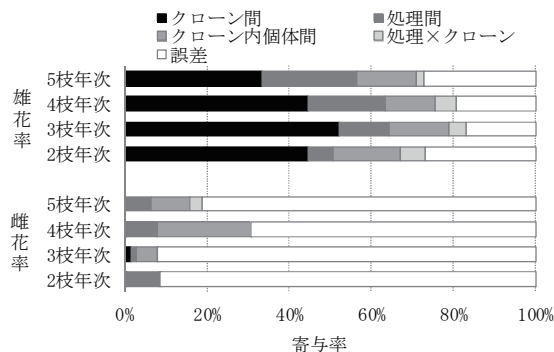


図-1. 着花率に対する各要因の寄与率

3) 着花促進処理の評価

表-2 に各枝年次における分散分析の結果を示した。3 枝年次の雌花率を除く全枝年次の雄花率と雌花率に

おいて 5% 水準以下で着花促進処理間に有意差が認められた。

表-2. 各枝年次における処理効果の分散分析結果

	2年	3年	4年	5年
雄花率	*	**	**	**
雌花率	*	n. s.	*	*

注) **: 1%水準で有意差あり。*: 5%水準で有意差あり。
n. s. : 有意差なし。

図-2 に着花促進処理別の各枝年次における雄花率の BLUP 値と全平均の BLUE 値の合計値を示した。GA_{4/7} が関与した処理 5~10 は GA_{4/7} が関与しない処理に比べて雄花率が高いように見えた。また GA_{4/7} にスコアリングを併用するとさらに高くなるように見えた。統計的に無処理より平均値が高かった部位は処理 12 の 5 枝年次と処理 14 の 4 枝年次だった。これらの処理は、スコアリングに GA_{4/7} を併用する方法である。ウエスタンラーチ (*L. occidentalis*) では、長枝が伸長したときに GA_{4/7} と環状剥皮を併用することによって雌花が増加したとしている (12)。ニホンカラマツにおいても GA_{4/7} と環状剥皮の併用によって雌花量が増加する傾向があることが報告されている (8)。今回の試験でも、GA_{4/7} にスコアリングと組み合わせたことによって着花量が増えた可能性がある。

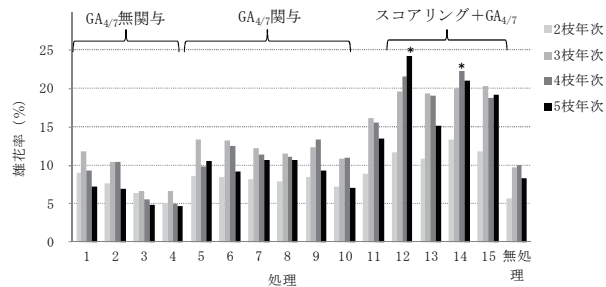


図-2. 各処理の各枝年次における雄花率
注) * は無処理に比べて5%水準で有意に高かった部位

図-3 に着花促進処理別の各枝年次における雌花率の BLUP 値と全平均の BLUE 値の合計値を示した。統計的には処理 11 の 4 枝年次および処理 12 の 2 と 5 枝年次が無処理に比べて有意に高かった。処理 12 は GA_{4/7} にスコアリングを組み合わせた方法である。この処理方法は雄花だけでなく雌花の着花量も増やす上で有効である可能性がある。

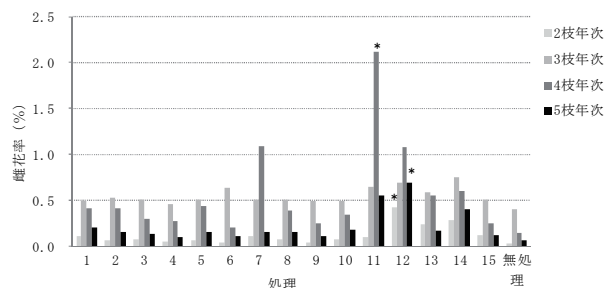


図-3. 各処理の各枝年次における雌花率
注) * は無処理に比べて5%水準で有意に高かった部位

今回の着花促進試験結果からスコアリングは雄花と雌花の着花量を増やせることが示された。スコアリングは環状剥皮と同じように針葉やシュートから根に向かう同化産物の流れを妨げると考えられる。葉芽に比

べて花芽形成には高濃度の栄養分が求められると考えられ(13), スコアリングによる栄養分の蓄積が着花率を高めた可能性がある。

GA_{4/7}のみを使った処理 5~7 間の着花率の平均値, GA_{4/7}と NAA を併用した処理 8~10 間の着花率の平均値に有意差が認められるかどうかを検定した。その結果, GA_{4/7}のみを使った処理 5~7 間には差が認められなかったが, GA_{4/7}と NAA を併用した処理 8~10 間の一部において平均値間に有意差が認められた(表-3)。具体的には雄花率, 雌花率のいずれかの枝年次において処理 10 は処理 8 または処理 9 よりも着花率が高かった。このことから, エタノール 80% に溶解しディスポシリンジで注入する方法(処理 8) やラノリンに溶解してペーストする方法(処理 9) よりもエタノール 5% の水溶液に溶解し, 点滴で滴下する方法が良いことが示唆された。ニホンカラマツとヨーロッパカラマツでは 5% のエタノール濃度の水溶液に 10mg の GA_{4/7} を溶解させ, これを枝に点滴式で滴下した結果, ニホンカラマツでは雄花と雌花, ヨーロッパカラマツでは雌花に着花促進効果が見られたとの報告がある(2)。点滴式によるエタノール濃度の低い GA_{4/7} 水溶液の長期間の供給とスコアリングとの組み合わせは, グイマツの着花率を高める上で有効であると考えられた。

表-3. GA_{4/7}+NAA で処理方法の平均差に有意差が認められた組み合わせ

着花率	枝年次	処理 (I)		処理 (J)		平均差 (I-J)
		番号	平均値	番号	平均値	
雄花率	3	8	5.3	10	21.5	-16.2
雄花率	4	8	3.7	10	23.6	-19.8
雄花率	5	8	3.9	10	26.6	-22.7
雄花率	5	9	6.1	10	26.6	-20.5
雌花率	2	8	0.0	10	0.8	-0.8

Bonferroni の多重比較検定の結果, 5% レベルで平均差が有意だった。

今後の課題

着花促進効果が高かった処理番号 12 を使って, 最適な濃度と時期に処理すれば更に効果が向上する可能性があると考えられる。処理濃度と時期の検討が必要である。また, 三上はカラマツの短枝の輪生葉を 6 月 3 日と 6 月 22 日に摘み取ると花芽の分化が著しく抑制されたことを明らかにし, 短枝における花芽分化には輪生葉が関与することを推測している(10)。また着花性のよい台木クローンに高芽接ぎをすると着花性がよくなることが知られている(4)。このことから, 何らかの着花促進物質が短枝の輪生葉で生産され, それが上方や短枝芽へ移動・集積して花芽が形成される可能性がある。Eysteinsson ら(3) は GA 自体が遺伝子のメチル化あるいは脱メチル化に影響し, 花芽形成を制御している可能性を指摘している。今後は花芽形成遺伝子も含めたホルモン物質の動態と着花の関係を調べ, カラマツ類の着花メカニズムを解明していくことが確実な着花促進処理技術を開発する上で必要であろう。

謝辞

本研究を実行する当り, 着花促進処理について有益なアドバイスを頂いた北海道立総合研究機構 林業試験場の黒丸亮氏と林木育種センター東北育種場の織部雄一郎氏に深く感謝申し上げます。また調査を補助して頂いた吉田美智子氏, 鶴飼裕子氏, 若山美奈子氏, 蛭

崎愛氏, 松村裕貴氏, 長谷川潤子氏, 千野裕美子氏, 田中昌子氏, 三浦あけみ氏, 松坂真紀子氏に厚く感謝申し上げます。またグリーンガードの容器を試験用に提供して戴いた Zoetis 社に感謝申し上げます。

引用文献

- (1) 浅川澄彦ら(1966) カラマツ採種林の本数密度と環状剥皮の結実促進効果, 日林誌 48 : 245-249
- (2) Bonnet-Masimbert M. (1982) Effect of growth regulators, girdling, and mulching of flowering of young European and Japanese larches under field conditions, Can. J. For. Res 12 : 270-279
- (3) Eysteinsson T. and Greenwood M. S. (1995) Flowering on long and short shoots of *Larix laricina* in response to differential timing of GA_{4/7} applications, Tree Physiology 15 : 467-469
- (4) 濱谷稔夫ら(1989) カラマツ類の高芽接ぎによる世代短縮と着花促進(II) 台・穂各クローンの着花性と高芽接ぎラメットの着花, 日林誌 71 (7) : 265-270
- (5) 原登志彦(2008) 戦略的創造研究推進事業 CREST 研究領域「植物の機能と制御」研究課題「寒冷圏における光ストレスと北方林の再生・維持機構」研究終了報告 : 1-66
- (6) 橋詰隼人(1967) カラマツ幼齢木の着花促進試験, 日本林学会誌 49 (11) : 405-408
- (7) 橋詰隼人(1973) 針葉樹の花芽分化, 花性分化とその調節に関する研究, 鳥取大学農学部演習林報告 7 : 1-139
- (8) 橋詰隼人(1985) マツ科樹種の着花促進に対するジベレリンの効果, 鳥大農研報 37 : 80-87
- (9) Katusta M. et al. (1981) Effect of Gibberellins on the Promotion of strobilus production in *Larix leptolepis* GORD. and *Abies homolepis* SIEB. Et ZUCC, Bull. For. For. Prod. Res. Inst 313 : 37-45
- (10) 三上進ら(1979) カラマツの着花促進, 林試研報 307 : 9-24
- (11) Owens J. N. and Simpson S. J. (1986) Pollen of conifers native to British Columbia, Can. J. For. Res 16 : 955-967
- (12) Owens J. N. (2008) The reproductive biology of Western larch, The forest genetics council of British Columbia and the inland empire tree improvement cooperative, extension note 08 : 80pp
- (13) Pharis R. P et al. (1987) The promotion of flowering in forest trees by Gibberellin A_{4/7} and cultural treatments : a review of the possible mechanisms, For. Ecol. Manage 19 : 65-84
- (14) 佐々木忠兵衛(1973) グイマツ特殊選抜個体の着花習性, 日林北支講 21 : 71-77
- (15) 田村明ら(2012) カラマツ類の着花に影響する要因の検討, 北海道の林木育種 55(1) : 19-22
- (16) 内山和子ら(2007) グイマツクローンの着果量に対する光条件と環状剥皮の影響, 北海道林業試験場研究報告 44 : 119-127