

ISSN 0289-4025

RESEARCH REPORT
OF THE
OITA PREFECTURAL
FORESTRY RESEARCH INSTITUTE

No.10, October, 1984
Arita, Hita, Oita, Japan

研 究 時 報

第 10 号

大分県林業試験場

昭和59年10月

大分県日田市大字有田字佐寺原

大分県林業試験場研究時報・第10号 (1984年10月)

—目 次—

有用樹種の細胞遺伝学的研究 [XI]

- スギの不稔性を示す精英樹およびギガス型 (P)
の葉を持つ実生造林木の細胞遺伝学的研究— 佐々木義則 1

林木のアイソザイムに関する研究 [I]

- スギおよびヒノキ倍数体のアイソザイム— 佐藤 朗 11
 佐々木義則

伏込み環境がシイタケ子実体発生量に与える影響について 石井秀之 16

松尾芳徳

千原賢次

小山田研一

有用樹種の細胞遺伝学的研究 [XI]

— スギの不稔性を示す精英樹およびギガス型 の葉を持つ実生造林木の細胞遺伝学的研究 —

佐々木義則

要　　旨

全国から不稔性を示すスギ精英樹を収集し、体細胞染色体の観察を行ったところ、65クローンのうち、長野県産の下高井9号、兵庫県産の氷上5号、大分県産の日田16号、日田18号の4クローンが三倍体であり、他の61クローンはすべて二倍体であった。日田16号および日田18号は、核型等の点から、前者はヒノデスギ、後者はウラセバ尔斯ギと考えられた。詳細な観察が可能なプレパラートが得られた二倍体精英樹の41クローンにおいては、二次狭窄を有する染色体の数によって、0本および1本（ヘテロ型）の二つのタイプが認められ、前者が37クローン、後者が4クローンであった。また、スギ実生人工造林地から、ギガス型の葉を持つ10個体を選び、体細胞染色体を調べたところ、3個体は三倍体であり、これらのうち2個体は旺盛な生育を示していた。このことは、スギ実生林の中にもかなりの頻度で三倍体が出現することを示唆しており、また、精英樹の中に三倍体が多いことを裏づけるものと考えられた。

I はじめに

大分県産のスギさし木品種のヒノデスギおよびウラセバ尔斯ギが三倍体であることが発見されたこと（5）に端を発し、スギ精英樹の中からも多数の三倍体が見出されるようになった（3, 7, 8, 12~14, 16, 18, 21）。これらの三倍体は種子発芽率が著しく低く、また、外部形態としてはギガス型の葉を持つこと等が特徴的である（14）。

今回、さらに既往文献（文献名省略）に基づき、不稔性（種子発芽率が低いもの、結実量が少なく次代への寄与率の低いもの、 F_1 の生育不良を示すもの等）を示す精英樹を調べ、これらのクローンを全国から収集して体細胞染色体の観察を行った。また、スギの実生人工造林地から、ギガス型（巨大型）の葉を持つ個体を選び出し、外部形態による三倍体スクリーニングの可能性等を調べた。

本実験を遂行するにあたり、御指導いただいた宮崎大学農学部教授の黒木嘉久博士、および有益な御助言をいただいた国立林試の染郷正孝博士、大山浪雄博士、九州林木育種場の前田武彦博士に深謝の意を表する。また、スギ精英樹の穂木および貴重な情報等を提供していただいた東北林木育種場奥羽支場の寺田貴美雄氏、青森県林試十和田支場の辻村章氏、岩手県林木育種場の工藤博士氏、宮城県林試の田畠正紀氏、福島県林試の伊藤輝勝氏、茨城県林試の照山龍男氏、栃木県林業センターの高野栄一氏、山梨県林試の清藤城宏氏、長野県林指の武井富喜雄氏、富山県林試の沢田隆司氏、福井県総合グリーンセンターの原雅継氏、三重県林枝センターの久米懿氏、京都府林試の松本彦一氏、鳥取県林試の植田幸

秀氏、広島県林試の田辺紘毅氏、徳島県林業総合技術センターの有井俊夫氏、佐賀県林試の田中美実氏、スギ実生造林地の調査等に協力していただいた本県日田市の林業家・田中晋氏、同耶馬渓町の林業家・福田彰氏、九州林産株式会社湯布院営業所の斎藤那雄氏・日野鉄一氏の各諸氏に謝意を表する。

なお、本報の一部は第39回日本林学会九州支部大会（1983年10月）で発表した。

II 材料および方法

1. 材 料

実験に用いたスギ精英樹は表-1に示すとおりであり、1983年3月～6月に全国の18機

表-1 実験に用いたスギ精英樹

精英樹名	選抜地	材料収集場所	精英樹名	選抜地	材料収集場所
上 北2号	青森県	青森県林試	高 岡1号	富山県	富山県林試
三 戸3号	"	"	早 月1号	"	"
三 戸7号	"	"	小 原502号	"	"
三 戸8号	"	"	武 生1号	福井県	福井県総合グリーンセンター
南 津軽3号	"	"	敦 賀1号	"	"
南 津軽7号	"	"	敦 賀2号	"	"
南 津軽13号	"	"	芦 生5号	"	"
上 閉伊3号	岩手県	岩手県林木育種場	龟 山1号	三重県	三重県林業技術センター
上 閉伊5号	"	"	名 賀3号	"	"
東 盤井2号	"	"	京 都3号	京都府	京都府林試
氣 仙1号	"	"	八 頭1号	鳥取県	鳥取県林試
白 石2号	宮城県	宮城県林試	日 野5号	"	"
山 形2号	山形県	東北林育奥羽支場	日 野9号	"	"
相 馬3号	福島県	福島県林試	日 野10号	"	"
岩 瀬1号	"	"	日 野11号	"	"
岩 瀬2号	"	"	日 野12号	"	"
東 白川7号	"	"	佐 伯1号	広島県	広島県林試
東 白川10号	"	"	氷 上5号	兵庫県	"
双 葉2号	"	"	飾 摩8号	"	"
久 慈25号	茨城県	茨城県林試	那 賀7号	徳島県	徳島県林業総合技術センター
久 慈38号	"	"	那 賀20号	"	"
南 那須1号	栃木県	栃木県林業センター	那 賀22号	"	"
上 都賀6号	"	"	那 賀24号	"	"
上 都賀7号	"	"	藤 津1号	佐賀県	佐賀県林試
上 都賀9号	"	"	藤 津5号	"	"
西 多摩19号	東京都	山梨県林試	藤 津10号	"	"
上 高井14号	長野県	長野県林業指導所	藤 津29号	"	"
下 高井9号	"	"	伊 万里1号	"	"
下 高井16号	"	"	唐 津4号	"	"
長 水4号	"	"	唐 津8号	"	"
北 安曇1号	"	"	日 田16号	大分県	大分県林試
北 安曇9号	"	"	日 田18号	"	"
上高井曇10号	"	"	計65クローン		計18機関

関から計65クローンを収集した。また、ギガス型の葉を持つスギ実生人工造林木の選抜地および選抜個体数は、本県日田市殿町（田中晋氏所有林、樹齢27年生、0.2ha）から2個体、本県耶馬渓町（福田彰氏所有林、樹齢16年生、0.4ha）から5個体、本県九重町（九州林産株式会社所有林、樹齢8年生、0.3ha）から3個体の計10個体であり、1983年3月～4月に材料を収集した。いずれの精英樹および実生造林木もさし木苗を育成し実験に用いた。

2. 方 法

良く伸長した根端（5～10mm）を採取し、0.002モルの8-オキシキノリン水溶液に浸漬し、12±1°Cで24～48時間の前処理を行った。その後、エチルアルコールと酢酸の混合液（容積比2:1）に浸漬し、12±1°Cで24～48時間固定した。その後、1N・HCLを用い、室温下で1～3日間加水分解を行った。塩基性フクシン液で染色後、押しつぶし法によってプレパラートを作製した（5, 10）。1クローンあたり5～20枚のプレパラートを観察した。染色体数を主体にして検鏡したが、染色体の重なりが少なく、個々の染色体の観察が可能な場合は、二次狭窄等の染色体構造についても調べた。なお、二次狭窄を有する染色体は、染郷（17）が報告している第VI染色体に相当するものである。

実生人工造林地から見出された三倍体については、1983年9月に樹高、胸高直径等を測定した。

III 結 果

1. 不稔性を示すスギ精英樹の体細胞染色体

スギ精英樹65クローンの体細胞染色体を観察した結果は表-2に示すとおりであった。これらの中で、長野県産の下高井9号、兵庫県産の水上5号、大分県産の日田16号、日田18号の4クローンは $2n=33=3X$ の三倍体であった（写真-1～写真-4）。他の61クローンはすべて $2n=22=2X$ の二倍体であった。詳細な観察が可能なプレパラートが得られた精英樹について、二次狭窄を有する染色体の有無を調べたところ、二倍体の41クローンでは、鳥取県産の八頭1号、佐賀県産の藤津1号、藤津10号、唐津8号の4クローンは1本のみ保有しており（写真-5～写真-8），残りの37クローンにおいては二次狭窄は観察されなかった（写真-9～写真-11）。三倍体の4クローンでは、日田18号にのみ二次狭窄を有する染色体が2本認められた（写真-4）。

2. ギガス型の葉を持つスギ実生造林木の体細胞染色体

ギガス型の葉を持つ実生造林木の10個体においては、日田市からの1個体、耶馬渓町からの1個体、九重町からの1個体の計3個体が、それぞれ $2n=33=3X$ の三倍体であり（写真-12～写真-14），他の7個体はすべて $2n=22=2X$ の二倍体であった。三倍体の3個体においては、二次狭窄を有する染色体は観察されなかった。

実生造林地での三倍体の生長を、それぞれの周囲木と比較した結果は表-3に示すとおりであり、3個体の中では、日田市産が最も生長旺盛であり、九重町産も比較的良好であったが、耶馬渓町産は周囲木とほぼ同程度であった。

確認された三倍体の葉形は写真-15に示すとおりであり、実生林からの三倍体は精英樹等に比べて葉が太く長い傾向が認められ、特に、九重町産の三倍体はこの傾向が著しかった。実生林から見出された三倍体の樹形は、写真-16～写真-18に示した。

表-2 スギ精英樹別の体細胞染色体数および二次狭窄を有する染色体数

精英樹名	選抜地	染色体数	S.C.	精英樹名	選抜地	染色体数	S.C.
上北2号	青森県	2n=22=2X	0本	高岡1号	富山県	2n=22=2X	-本
三戸3号	"	"	-	早月1号	"	"	0
三戸7号	"	"	-	小原502号	"	"	-
三戸8号	"	"	0	生1号	福井県	"	0
南津軽3号	"	"	-	敦賀1号	"	"	-
南津軽7号	"	"	-	敦賀2号	"	"	-
南津軽13号	"	"	0	芦生5号	"	"	0
上閉伊3号	岩手県	"	0	山龟1号	三重県	"	0
上閉伊5号	"	"	0	名京3号	"	"	0
東盤井2号	"	"	0	八日都3号	京都府	"	-
氣仙1号	"	"	0	日頭1号	鳥取県	"	1
白石2号	宮城県	"	-	野5号	"	"	0
山形2号	山形県	"	0	野9号	"	"	0
相馬3号	福島県	"	-	野10号	"	"	0
岩瀬1号	"	"	-	野11号	"	"	0
岩瀬2号	"	"	0	野12号	"	"	-
東白川7号	"	"	-	佐伯1号	広島県	"	0
東白川10号	"	"	0	水上5号	兵庫県	2n=33=3X	0
双葉2号	"	"	-	飾磨8号	"	2n=22=2X	0
久慈25号	茨城県	"	0	那賀7号	徳島県	"	0
久慈38号	"	"	-	那賀20号	"	"	0
南那須1号	栃木県	"	-	那賀22号	"	"	0
上都賀6号	"	"	-	那賀24号	"	"	0
上都賀7号	"	"	0	藤津1号	佐賀県	"	1
上都賀9号	"	"	-	藤津5号	"	"	0
西多摩19号	東京都	"	0	藤津10号	"	"	1
上高井14号	長野県	"	0	藤津29号	"	"	-
下高井9号	"	2n=33=3X	0	伊万里1号	"	"	0
下高井16号	"	2n=22=2X	0	唐津4号	"	"	0
長水4号	"	"	0	唐津8号	"	"	1
北安(候)1号	"	"	0	日田16号	大分県	2n=33=3X	0
北安(候)9号	"	"	0	日田18号	"	"	2
上高井(候)10号	"	"	0	計65クローン			

(注) S.C. : 二次狭窄を有する染色体の本数, 一印は不詳を示す。

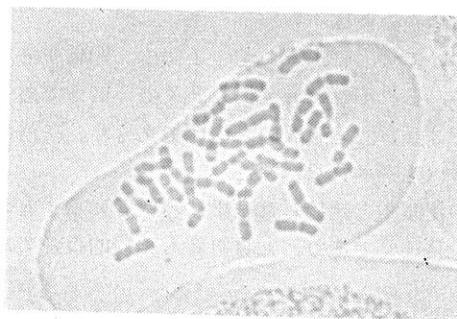


写真-1 長野県産スギ精英樹・下高井9号の体細胞染色体
(2 n = 33 = 3X)

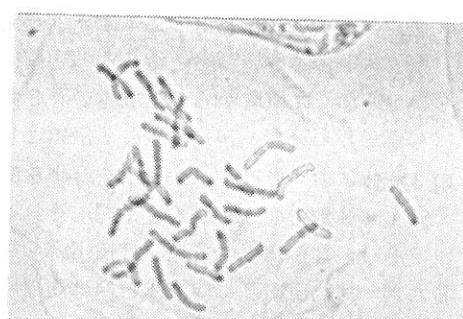


写真-2 兵庫県産スギ精英樹・水上5号の体細胞染色体
(2 n = 33 = 3X)

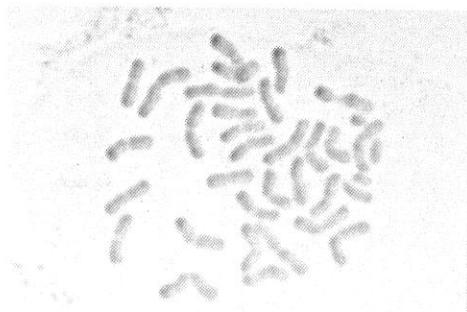


写真-3 大分県産スギ精英樹・日田16号の体細胞染色体 ($2n = 33 = 3X$)



写真-4 大分県産スギ精英樹・日田18号の体細胞染色体 ($2n = 33 = 3X$)
←: 二次狭窄を有する染色体

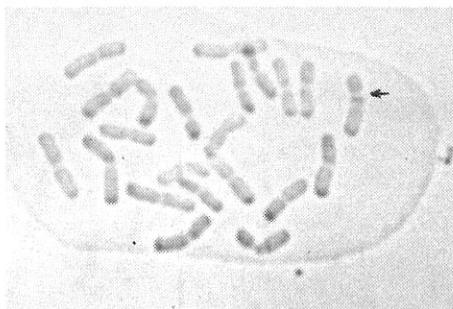


写真-5 鳥取県産スギ精英樹・八頭1号の体細胞染色体 ($2n = 22 = 2X$)
←: 二次狭窄を有する染色体

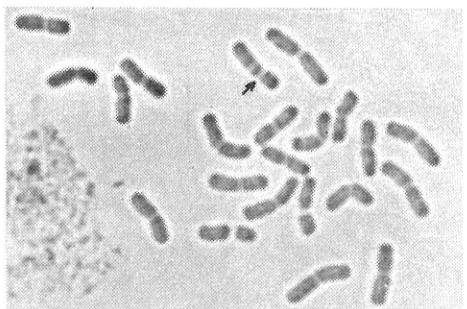


写真-6 佐賀県産スギ精英樹・藤津1号の体細胞染色体 ($2n = 22 = 2X$)
←: 二次狭窄を有する染色体

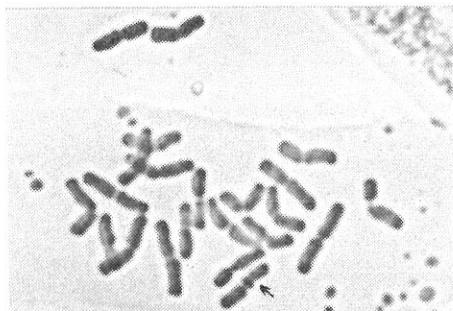


写真-7 佐賀県産スギ精英樹・藤津10号の体細胞染色体 ($2n = 22 = 2X$)
←: 二次狭窄を有する染色体

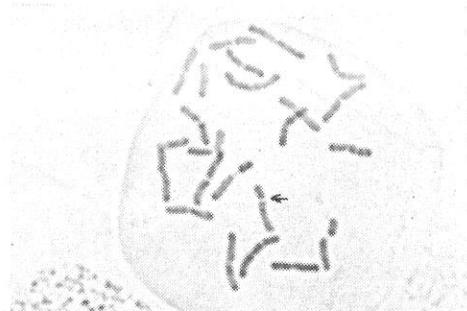


写真-8 佐賀県産スギ精英樹・唐津8号の体細胞染色体 ($2n = 22 = 2X$)
←: 二次狭窄を有する染色体

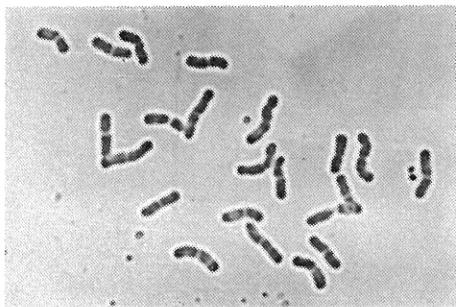


写真-9 山形県産スギ精英樹・山形2号の体細胞染色体 ($2 n = 22 = 2 X$)
二次狭窄を有する染色体はなし

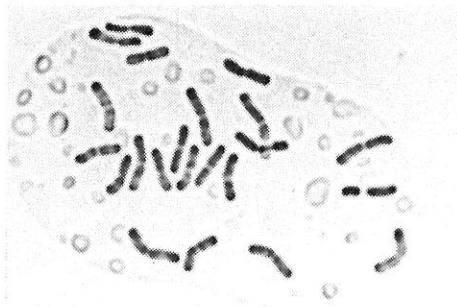


写真-10 三重県産スギ精英樹・名賀3号の体細胞染色体 ($2 n = 22 = 2 X$)
二次狭窄を有する染色体はなし

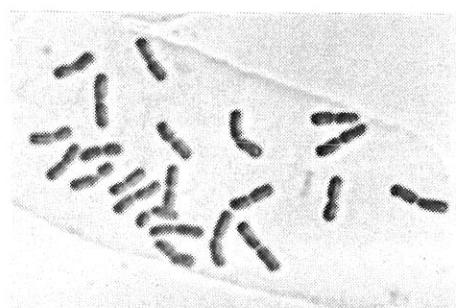


写真-11 佐賀県産スギ精英樹・伊万里1号の体細胞染色体 ($2 n = 22 = 2 X$)
二次狭窄を有する染色体はなし

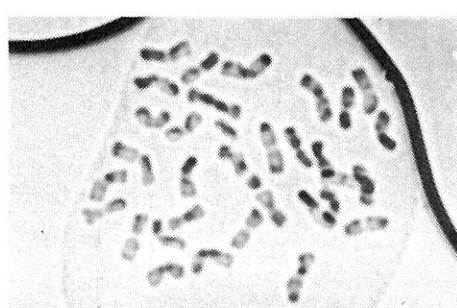


写真-12 大分県日田市のスギ実生林から見出された三倍体の体細胞染色体
($2 n = 33 = 3 X$)



写真-13 大分県耶馬溪町のスギ実生林から見出された三倍体の体細胞染色体
($2 n = 33 = 3 X$)

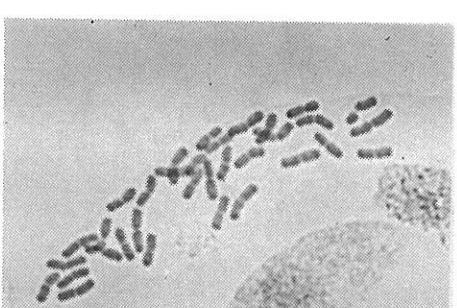


写真-14 大分県九重町のスギ実生林から見出された三倍体の体細胞染色体
($2 n = 33 = 3 X$)

表-3 スギ実生造林地から見出された三倍体の生長

選抜地	樹齢	三倍体		周囲木		
		樹高 m	胸高 直徑 cm	調査 本数	樹 高 m	胸 直 徑 cm
日田市	年生	27	15.5	30	131±1.5	16.8±3.4
耶馬溪町	16	9.4	8.1	27	9.4±1.5	10.7±2.9
九重町	8	4.0	11.2	45	3.0±1.2	8.0±3.5 7.7

注) 九重町のみ根元直徑を測定した。

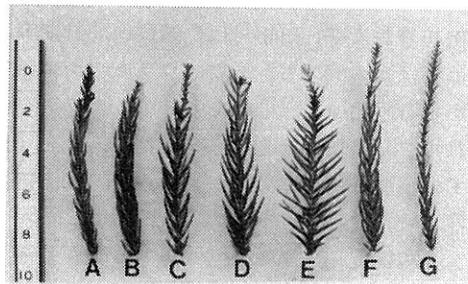


写真-15 スギの精英樹および実生造林木の三倍体の葉形

A: 氷上5号, B: 下高井9号, C: 日田市産3X
 D: 耶馬溪町産3X, E: 九重町産3X
 F: ヒノデスギ(3X), G: クモトオシスギ(2X)

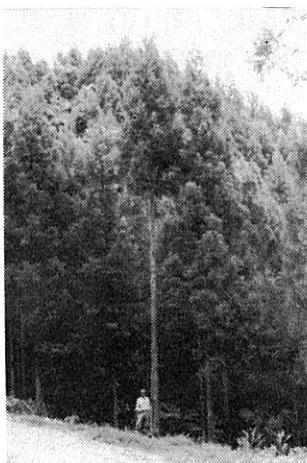


写真-16 日田市産のスギ三倍体の樹形



写真-17 耶馬溪町産のスギ三倍体の樹形

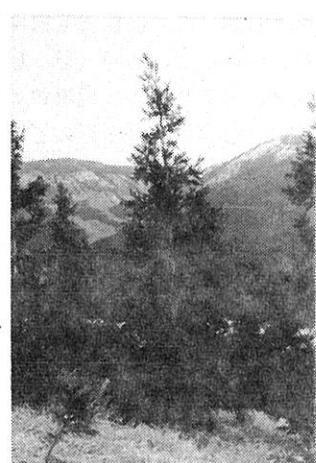


写真-18 九重町産のスギ三倍体の樹形

N 考 察

スギのさし木品種および精英樹の三倍体については、不稔性原因の究明過程から、松田ら(5)が2クローン、染郷ら(16, 18)が3クローン、田畠ら(21)が1クローン、筆者ら(12~14)が19クローン、また、DNA量(相対量)の研究過程から、近藤ら(2, 3)が1クローン、森ら(7)が1クローン、向井ら(8)が1クローン、計28クローンが報告されている。二次狭窄を有する染色体を1本のみ保有するヘテロ型の二倍体に関しては、染郷ら(19)が2クローン、戸田(22, 23)が2クローン報告しており、いずれも異常な減数分裂をするとされている。筆者ら(13, 14)も前報で不稔性を示すスギ精英樹の中にヘテロ型が8クローン存在することを報告した。スギ実生造林地からの三倍体については、斎藤ら(9)が1個体発見しているが、その生長は不良であったとしている。

前報(12~14)に引き続き、不稔性を示すスギ精英樹の体細胞染色体を調べたところ、65クローンのうち、4クローンは三倍体であった。これらの三倍体の中で、大分県産の日

田16号および日田18号は、選抜地、針葉等の外部形態、アイソザイム（15）等の比較から、前者はヒノデスギ、後者はウラセバ尔斯ギであろうといわれていたが、体細胞染色体の上からも両品種は三倍体であり、二次狭窄を有する染色体に関しては、日田16号では認められず、日田18号で2本観察され、筆者ら（11）が報告したヒノデスギおよびウラセバ尔斯ギの核型と同じであった。従って、日田16号はヒノデスギ、日田18号はウラセバ尔斯ギと考えられる。

二次狭窄を有する染色体を1本のみ保有するヘテロ型の二倍体精英樹は、前回（13, 14）において26クローン中8クローン、今回では41クローン中4クローン見出され、合計すると67クローン中12クローンとなる。二倍体のヘテロ型クローンの二次狭窄（第VI染色体）の遺伝様式については染郷ら（20）の報告があり、佐賀3号（佐賀県産）の自殖家系苗では、二次狭窄を有する染色体の数によって、0本（A型）、1本（B型）、2本（C型）の三つのタイプが認められ、タイプ別苗木の本数分離比は理論値の1:2:1とほぼ一致し、生長はB型（ヘテロ型）が最も旺盛であったという。また、二次狭窄に関してヘテロ型（B型）の二倍体精英樹は異常な減数分裂をすることが報告されている（6, 19, 22, 23）。従って、前回（13, 14）および今回見出されたヘテロ型の二倍体精英樹の12クローンは、ヘテロシス現象および減数分裂異常を伴っている可能性があり、このことが不穏性につながっているものと推察される。

前回（13, 14）および今回に観察を行った不穏性を示す二倍体のスギ精英樹67クローンにおいては、A型およびB型のみ認められ、C型は観察されなかった。これは、C型（二次狭窄を有する染色体を2本保有）は、A型およびB型よりも穏性が高いか、または、精英樹としては選抜されにくいくことを示唆していると考えられる。

スギ実生造林地から選抜したギガス型の葉を持つ10個体においては、3個体が三倍体であり、これらのうち、2個体は生長が良好であった。このことは、スギ実生林の中にはかなりの頻度で三倍体が出現することを示唆しており、また、スギ精英樹の中に三倍体が多いこと（3, 7, 8, 12~14, 16, 18, 21）を裏づけるものと考えられる。三倍体の成因に関しては、最近、菊池ら（1）が興味ある報告をしている。すなわち、特定のスギ二倍体の自殖家系の中に高頻度（77.4%）で三倍体が出現するという。通常の自然交配においてもかなりの自殖が予想されることから、スギ三倍体精英樹の出現には、このような現象も関与している可能性が高いと考えられる。

V おわりに

穏性が低いスギ精英樹の中には、三倍体および二次狭窄に関してヘテロ型の二倍体が観察されたことから、体細胞染色体の数的および構造的異常が不穏性原因の一つになっているものと考えられた。全国の精英樹の中には、不穏性を示すクローンがまだかなり存在しているようであり、これらのクローンについては、早急に細胞学的観察を実施する必要がある。また、確認された三倍体等の染色体異常クローンは、採種園から除外し、さし木等による増殖を考慮する必要があると考えられた。

従来、三倍体のスクリーニングは、不穏性（5, 12~14, 16, 18, 21），DNA量の測定（2, 3, 7, 8）によってきたが、葉形等の外部形態からもある程度の推定は可能と思われた。

スギのさし木品種および精英樹の中の三倍体総数は、今回の結果も含めると（日田16号および日田18号は除く），30クローンに達する（3, 5, 7, 8, 12~14, 16, 18, 21）。三倍体精英樹は次代検定林において比較的良好な生育を示している（14）。従って、スギにおいては人為三倍体の育成といった倍数性育種の可能性が大きいものと推察された。

引　用　文　獻

- (1) 菊池秀夫・佐々木義則・森節子：スギの自殖家系にみられた倍数体の出現例，94回日林論，269-270，1983
- (2) 近藤禎二：スギの核DNA量について，33回日林関東支論，79-80，1981
- (3) ———・半田孝俊・大谷賢二：スギ実験採種園のなかの三倍体クローン，93回日林論，573-574，1982
- (4) 黒木嘉久：主要針葉樹の核型に関する研究，宮崎大演報，5, 103PP, 1969
- (5) 松田清・宮島寛：スギさし木品種の染色体数，日林誌，59(4), 148-150, 1977
- (6) ———：スギの三倍体と減数分裂，林木の育種，116, 23-24, 1980
- (7) 森節子・岡田幸郎・古田喜彦：立山スギ小原5号の細胞学的研究，91回日林論, 219-220, 1980
- (8) 向井謙・岡田幸郎・古田喜彦：佐賀県におけるスギ精英樹32系統の成熟花粉当りDNA量，29回日林中支講，121-124，1981
- (9) 斎藤雄一・橋詰隼人：造林地で選抜されたスギの三倍体に関する研究，鳥取大演報，1, 21-55, 1958
- (10) 佐々木義則：針葉樹の核型に関する研究，大分林試研報，7, 103PP, 1976
- (11) ———・黒木嘉久：有用樹種の細胞遺伝学的研究〔V〕，ヒノデスギおよびウラセバ尔斯ギの核型，日林九支研論，34, 101-102，1981
- (12) ———・———：有用樹種の細胞遺伝学的研究〔VII〕，スギ精英樹にみられる三倍体，日林九支研論，35, 71-72，1982
- (13) ———・———：有用樹種の細胞遺伝学的研究〔VIII〕，低稔性を示すスギおよびヒノキ精英樹の細胞学的観察，日林九支研論，36, 93-94，1983 a
- (14) ———：有用樹種の細胞遺伝学的研究〔IX〕，低稔性等を示すスギおよびヒノキ精英樹の細胞学的観察，大分林試研時報，6, 1-20, 1983 b
- (15) 佐藤朗：スギ精英樹日田16号および日田18号のアイソザイム，未発表，1984（私信，1984）
- (16) 染郷正孝・伊藤信治：スギ精英樹中頸城5号の染色体数，32回日林関東支論，61-62, 1980 a
- (17) ———：スギの核型の変異，91回日林論，213-214，1980 b
- (18) ———・伊藤信治・金川侃：スギの精英樹にみられる自然三倍体（岩船7号，新治1号），33回日林関東支論，81-82，1981
- (19) ———・菊池秀夫・佐々木義則：スギ精英樹西川2号の細胞学的特性，34回日林関東支論，93-94，1982
- (20) ———・———・———：スギ精英樹・佐賀3号の自殖にみられる第6染色体の行動，94回日林論，237-238，1983

- (21) 田畠正紀・北上彌逸：スギ精英樹の染色体異常クローン（遠田2号）について，日本東北支誌，33，99-100，1981
- (22) 戸田義宏：スギの核型IX，スギの減数分裂，染色体，II-21-22，611-614，1981
- (23) ———：スギの核型について(XV)，一九州地方のスギ(5)ー，93回日林論，213-214，1982

林木のアイソザイムに関する研究〔I〕

—スギおよびヒノキ倍数体のアイソザイム—

佐藤朗・佐々木義則

要　　旨

近年、全国で多数発見されたスギ・ヒノキ倍数体のパーオキシダーゼアイソザイムの調査を行った。スギ倍数体($3^{\bullet}X$, $4 X$)、ヒノキ倍数体($3 X$, $4 X$)とも二倍体同様アイソザイムパターンに多様性が見られたが、倍数性のちがいによるパターンの差異はあまりなかった。バンド数は、スギで6~11本、ヒノキで10~12本が認められた。スギ三倍体において、ほぼ同一のパターンを示す2クローンがあり、精英樹名は異なるが同じクローンであることが考えられた。ヒノキ2倍体から幹変りにより生じた四倍体では、双方がほぼ同一のパターンを示した。

I　　は　じ　め　に

近年、スギ・ヒノキの精英樹や実生個体の中から多くの倍数体が発見され(2, 4, 5, 7, 8, 15~24)、倍数体の林業的価値が再認識されるようになった。また、林木のアイソザイムはクローンの同定等に利用され、針葉樹、広葉樹を問わず多くの研究報告がなされている。しかし、林木の倍数体についてのアイソザイムの研究は、ヒノキ精英樹富士2号(6)の他はあまりないようである。そこで、今回、いくつかの倍数体についてアイソザイムを調べたので報告する。

本研究を遂行するにあたり、指導を賜わった宮崎大学農学部教授の黒木嘉久博士、実験方法等について指導を賜わった九州林木育種場の西村慶二氏、有益な助言を賜わった国立林業試験場の大山浪雄博士、材料を提供いただいた多くの方々に深謝の意を表する。

なお、本報の一部分は、第39回日本林学会九州支部大会で発表した。

II　材料および方法

実験に用いた倍数体を表-1に示す。供試クローンは1981年から1982年にかけて全国から収集し、それらよりさし木苗を育成した。実験材料はこれらのさし木苗から1983年1月に採取し、 -20°C で冷凍保存した当年生針葉を用いた。

実験方法はデンプンゲル電気泳動法で、九州林木育種場の方法(3)に準じたが、緩衝液系、泳動電圧は西村らの方法(10)によった。染色の終了したゲルは、約12時間水洗した後、透過光により、発現したバンドの位置、活性の観察、写真撮影を行った。なお、発現したバンドの(-)側のものは明瞭でなかったので、観察および比較は(+)側のみについて行った。

表-1 実験に用いたスギおよびヒノキ

樹種	クローン名	倍数性	文献	樹種	クローン名	倍数性	文献
ス	クモトオシスギ	2 X	13	ス	村上市 4号	3 X	16
	ヤブクグリスギ	2 X	14		中頸城 5号	3 X	21
	ヒノデスギ	3 X	5		岩船 7号	3 X	22
	ウラセバルスギ	3 X	5		岩船 8号	3 X	16
	藤津 28号	3 X	8		東南置賜 4号	3 X	16
	対馬 6号	3 X	16		東南村山 4号	3 X	16
	玖珂 1号	3 X	16		遠田 2号	3 X	23
	阿哲 3号	3 X	16		大曲 1号	3 X	16
	真庭 5号	3 X	16		耶馬渓町産 3 X*	3 X	18
	洲本 1号	3 X	16		日田市産 3 X*	3 X	18
	上浮穴 6号	3 X	16		Cr-7 *	4 X	17
	三好 10号	3 X	16		Cr-38 *	4 X	17
	那賀 11号	3 X	16		耶馬渓町産 4 X*	4 X	20
	木津 2号	3 X	16		日田市産 4 X*	4 X	15
ギ	輪島 6号	3 X	16	ヒ	ナンゴウヒ	2 X	12
	小原 5号	3 X	7		久原 1号(親木)*	2 X	19
	東加茂 1号	3 X	16		富士 2号	3 X	4
	大井 5号	3 X	2		三次 4号	3 X	16
	久慈 30号	3 X	16		久原 1号	4 X	19
	佐渡 1号	3 X	16		倍数体 No.3*	4 X	24
	村上市 2号	3 X	16		耶馬渓町産 4 X*	4 X	15

注) *には正式な名称はない。

III 結 果

スギ、ヒノキの二倍体、三倍体、四倍体のバンド数および総括性の平均値と範囲は、表-2に示すとおりである。バンド数、活性ともバラツキが大きく、平均値では倍数性の違いによる差異はほとんど認められなかった。

スギにおいて三倍体間のパターンを比較すると、バンド数、総括性、バンド位置とともに大きな差異が認められたが、阿哲3号と真庭5号のパターンは極めて類似しており（写真-1）、村上市2号、村上市4号、岩船7号、岩船8号のパターンも比較的類似していた（写真-2）。四倍体においても、バンドの活性、位置等に差異が認められた。

ヒノキにおいて、三倍体の富士2号と三次4号を比較すると、バンド数、総括性に大きな差異はなかったが、バンドの位置に差が認められ、三次4号ではヒノキ特有の位置だけにバンドが発現し、富士2号では、ヒノキに特有のバンドとサワラに特有のバンドがともに認められた。また、四倍体についても、バンドの数、総括性に大きな差異はなかったが、バンドの位置に差異が認められた。なお、久原1号親木（2 X）とそれより幹変りにより生じた久原1号（4 X）のパターンは、個々のバンドに多少活性の差が見られたが、バンドの数、位置は同じであり、ほぼ同一のパターンであった（写真-3）。

表-2 スギおよびヒノキ, 二倍体, 三倍体, 四倍体のバンド数と総活性

樹種	倍数性	調査 クローン数	バンド数		総活性	
			平均	Min.~Max.	平均	Min.~Max.
スギ	2 X	2	7.50	7 ~ 8	23.50	22 ~ 25
	3 X	2	9.20	6 ~ 11	27.50	21 ~ 37
	4 X	4	9.25	8 ~ 10	28.25	24 ~ 33
ヒノキ	2 X	2	10.00	9 ~ 11	25.50	23 ~ 28
	3 X	2	10.50	10 ~ 11	27.00	27 ~ 27
	4 X	3	11.00	11 ~ 11	28.33	26 ~ 31

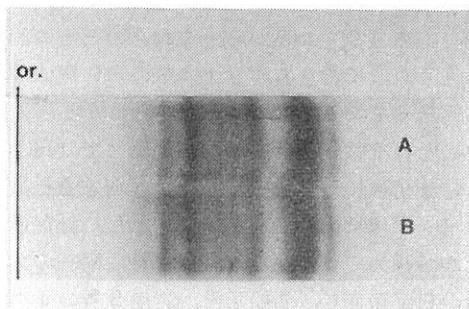


写真-1 スギ精英樹・阿哲3号 (A, 3 X), 真庭5号 (B, 3 X) のアイソザイムパターン

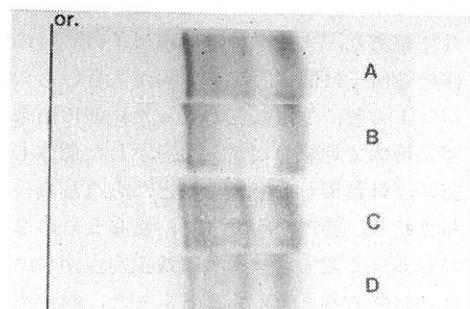


写真-2 スギ精英樹・村上市2号 (A, 3 X) 村上市4号 (B, 3 X), 岩船8号 (C, 3 X), 岩船7号 (D, 3 X) のアイソザイムパターン

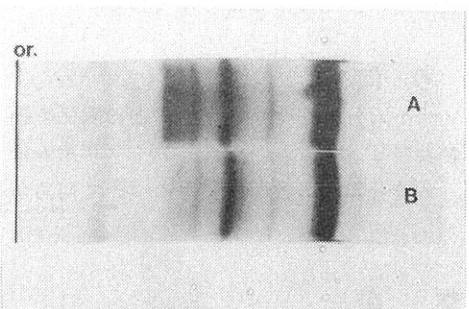


写真-3 ヒノキ, 久原1号親木 (A, 2 X), 久原1号 (B, 4 X) のアイソザイムパターン

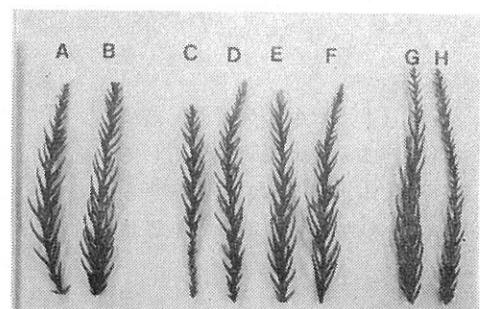


写真-4 ヤブクグリスギ (A, 2 X), ヒノデスギ (B, 3 X), 村上市2号 (C, 3 X), 村上市4号 (D, 3 X), 岩船7号 (E, 3 X), 岩船8号 (F, 3 X), 阿哲3号 (G, 3 X), 真庭5号 (H, 3 X) の針葉形

IV 考 察

草本植物の倍数体のアイソザイムは、コムギ（9）、*Tragopogon*属（11）、キスゲ属（1）等について報告されている。しかし、林木については、ヒノキ精英樹富士2号について核型およびアイソザイムの研究から、ヒノキのゲノムを2、サワラのゲノムを1含む異質3倍体であることが報告されている（6）他には詳しく調べられた例はないようである。

今回、いくつかの倍数体のアイソザイムを調べたが、染色体数に差異があり、DNA量にも違いがある（2、7、8）と推定される二倍体、三倍体、四倍体の間には、スギ、ヒノキともにバンド数、総活性に大きな差異が認められず、二倍体と倍数体を区別する何らかの特徴は認められなかった。従ってアイソザイムによる倍数体のスクリーニングはできないものと考えられる。また、久原1号親木（2X）と久原1号（4X）の間でパターンにほとんど変化が見られなかったことからも、染色体の倍数化によりパターンが大きく異なってくることはないものと考えられる。

三倍体、四倍体それぞれの個体間の比較では、スギ・ヒノキともにパターンに変異が認められた。比較的多くの観察を行ったスギ三倍体個体間では、バンド数に6～11本と大きな差があり、また、酵素は遺伝子の直接の産物である（9）ことから、これらの三倍体個体の遺伝子は個体ごとに変異が大きいものと考えられ、そのうちバンド本数の多い個体は、バンドの数、位置などが異った両親に由来する三倍体であるとも考えられる。しかし、スギ三倍体で近似のパターンを示した個体もあり、それぞれ選抜された地域が同じで（16、22）、針葉形も似ていることから（写真-4），三倍体にも地域的な系統が存在すると推察される。特に、阿哲3号、真庭5号の2クローンはほぼ同一のパターンを示し、針葉形等も非常に似ており、明確な識別点がないことから極めて近縁なクローンまたは同一のクローンであると考えられる。また、村上市2号、村上市4号、岩船7号、岩船8号の4クローンは互いに良く似たパターンを示し、選抜県も同じであることから系統的に近縁なものであると考えられる。

ヒノキ三倍体三次4号は、付随体染色体が3本ともヒノキ型であることが報告されており（16），アイソザイムの面からも、富士2号（6）とは異なり、ヒノキ型のパターンを示すことから、3組のヒノキのゲノムを持つ同質的な三倍体であると考えられる。

V おわりに

堀田（1）はキスゲ属の三倍体についてアイソザイム分析を行い、二倍体との関係を調べ、三倍体の由来を明らかにしているが、スギおよびヒノキにおいても、アイソザイムにより倍数体と二倍体の関係を明らかにできれば、系統分類、倍数性育種等について何らかの手がかりが得られるものと思われる。

引 用 文 献

- (1) 堀田満：ヤブカンゾウ、キスゲ属三倍体植物の起源、日本の植物・研究ノート, 242-256, 培風館, 東京, 1981
- (2) 近藤禎二ら：スギ実験採種園の中の三倍体クローン、93回日林論, 573-574, 1982
- (3) 九州林木育種場：スギ精英樹間人工交配共同試験実施要領（付：パーオキシダーゼザイモグラフ実験方法），九育業務資料，4, 28-35, 1976

- (4) 前田武彦: ヒノキとサワラの種間交雑におけるガンマ線照射の影響に関する研究, 放育研報, 5, PP. 87, 1982
- (5) 松田清ら: スギさし木品種の染色体数, 日林誌, 59 (4), 148-150, 1977 a
- (6) ———ら: 富士2号の倍数性と雑種性に関する研究, 88回日林論, 187-188, 1977 b
- (7) 森節子ら: 立山スギ小原5号の細胞学的研究, 91回日林論, 219-220, 1980
- (8) 向井謙ら: 佐賀県におけるスギ精英樹32系統の成熟花粉当たりDNA量, 29回日林中支講, 121-124, 1981
- (9) 西川浩三: 系統分化とアイソザイム, 育種学最近の進歩, 14, 71-76, 1974
- (10) 西村慶二ら: パーオキシダーゼアイソザイムの検出方法の検討, (1)デンプルゲル電気泳動法による検出, 90回日林論, 265-266, 1979
- (11) ROOSE M. L. and GOTTLIEB L. D.: GENETIC AND BIOCHEMICAL CONSEQUENCES OF POLYPLOIDY IN TRAGOPOGON, Evolution, 30, 818-830, 1976
- (12) 佐々木義則ら: 有用樹種の細胞遺伝学的研究(I), ナンゴウヒの核型について, 日林九支研論, 32, 149-150, 1979 a
- (13) ———ら: 有用樹種の細胞遺伝学的研究(II), クモトオシスギの核型について, 日林九支研論, 32, 153-154, 1979 b
- (14) ———ら: 有用樹種の細胞遺伝学的研究(III), ヤブクグリスギおよびエンコウスギの核型, 日林九支研論, 33, 177-178, 1980
- (15) ———ら: 有用樹種の細胞遺伝学的研究(VI), スギおよびヒノキの自然四倍体, 大分林試研時報, 5, 1-4, 1982 a
- (16) ———: 有用樹種の細胞遺伝学的研究(VII), スギおよびヒノキの精英樹にみられる三倍体, 大分林試研時報, 5, 5-13, 1982 b
- (17) ———ら: スギの四倍体, 未発表, 1982 c
- (18) ———ら: スギ・ヒノキの核型に関する研究, スギ人工造林地にみられる自然三倍体, 大分林試年報, 25, 42, 1983 a
- (19) ———ら: スギ・ヒノキの核型に関する研究, ヒノキ変異個体・久原1号の細胞学的研究, 大分林試年報, 25, 44, 1983 b
- (20) ———ら: スギ・ヒノキの核型に関する研究, スギおよびヒノキの形態異常木の細胞学的観察, 大分林試年報, 25, 45, 1983 c
- (21) 染郷正孝ら: スギ精英樹中頸城5号の染色体数, 32回日林関東支論, 61-62, 1980
- (22) ———ら: スギの精英樹にみられる自然三倍体(岩船7号, 新治1号), 33回日林関東支論, 81-82, 1981
- (23) 田畠正紀ら: スギ精英樹の染色体異常クローン(遠田2号)について, 日林東北支誌, 33, 99-100, 1981
- (24) 柳原利夫ら: 人工造林地において発見されたヒノキ倍数体の生長について, 5回日林中支講, 10-11, 1956

伏込み環境がシイタケ子実体発生量に与える影響について

石井秀之・松尾芳徳
千原賢次・小山田研一

要　旨

伏込み環境を人為的に乾・中・湿の3段階に分けた試験区を設定して原木を伏込み、2夏経過後に人工ほた場にはた起しを行い、シイタケ子実体発生量調査を行った。その結果、湿のシイタケ子実体発生量は、乾・中と比較して明らかに少なく、伏込み環境の影響が大きいことがわかった。

I はじめに

大分県のシイタケ原木の伏込み方式は、シイタケ原木の伐採跡地に伏込みを行う方式、いわゆる、裸地伏せ方式が主体である。この伏込み方式の伏込み環境については、長年の経験から「六乾四湿」（1）が良いといわれ、また、過去の試験結果からも「乾燥気味の伏込み環境の方が害菌の発生が少なく、ほた付も良い傾向にある」（2～4）ということまではわかっている。しかし、伏込み環境の違いにより、シイタケ子実体発生量（以下発生量とする）にどれだけの差が生じるのか、具体的な数値に至るまでの報告はなされていない。

そこで、伏込み環境を人為的に、乾燥気味（乾）、過湿気味（湿）および前2者の中間程度（中）の3段階に分けた試験区を設定して原木を伏込み、3年間にわたり発生量調査を行ったので結果を報告する。

II 材料および方法

供試原木は、大分県林業試験場場内（以下場内とする）の1株から3本の立木が立っている15年生のクヌギで、10株30本を供試した。この1株の3本を乾・中・湿のそれぞれの試験区に1本ずつ配置した。各試験区別の供試ほた木玉数および材積を表-1に示した。

作業工程は、昭和53年11月中旬に伐採、同54年1月中～下旬に玉切り、植菌、伏込みで、すべての作業を場内で行った。玉切りは長さ1m、使用種菌は森121号菌、植菌数は原木末口径(cm)の1.5倍程度とした。伏込みは場内の落葉広葉樹（ヘラ、クヌギなど）の疎林内に行った。各試験区別の伏込み方法は以下のとおりであった。

乾：鳥居伏せ、枕の高さ地上約70cm、笠木は直射日光が当らない程度に薄くかけた。

中：鳥居伏せ、枕の高さ地上約70cm、笠木は普通程度かけた。

湿：よろい伏せ、枕の高さ地上約50cm、笠木は厚くかけ、さらに、伏込み列の周囲を高さ約70cmのビニール・フェンスで囲み通風を不良にした。

上記各試験区の伏込み環境の違いをみるために水分蒸発量を調査した。

ほた起しは、昭和55年12月24日に行い、シイタケの発生条件を一定にするために一ヶ所にまとめて起した。使用したほた場は場内の人工ほた場で、遮光率80%の人工庇陰材料1枚張りであった。

発生量調査は各試験区の原木1個体ごとに行い、現在も発生量調査は継続中で、ほた木1代の発生量について調査する予定である。

なお、ほた起しの時点で、ほた木樹皮表面の害菌発生状況をほた木1本ごとに調査した。

表-1 供試ほた木玉数・材積および残存ほた木調査結果

	乾	中	湿
供試ほた木玉数(玉)	82	84	84
供試ほた木材積(m^3)	0.587	0.562	0.567
残存ほた木玉数(玉)	25	26	20
残存ほた木材積(m^3)	0.334	0.326	0.264

III 結果および考察

1. 結 果

害菌発生状況調査結果については、試験区別の害菌種類別発生本数率を表-2に示した。すなわち、クロゴブタケ、ニマイガワおよびダイダイタケなどの一般的害菌の発生が認められ、クロコブタケが各試験区共通して多く発生していた。

表-2 害菌発生状況調査結果(I) 本数率

	クロコブタケ	ニマイガワ	ヒメアカコブタケ	シトネタケ	ダイダイタケ	アナタケ
乾	79 %	35 %	15 %	11 %	12 %	0 %
中	82	12	7	13	17	2
湿	89	6	24	24	13	23

表-3 害菌発生状況調査結果(2)

発生した害菌がほた木表面に占める割合を0~5の6段階で表わした場合の平均被害程度、ほた木1本当りの害菌発生種類数、無被ほた木本数率およびダイダイタケ・アナタケなどの湿性害菌発生本数率を表-3に示した。すなわち、害菌の発生については全体的にみると、中が少なく、乾・湿の順であった。

平均被 害程度	ほた木1本 当り害菌發 生種類数	無被害 ほた木 本数率	湿性害 菌発生本 数率	
			%	%
乾	2.6	1.7	5	16
中	2.3	1.4	13	23
湿	3.2	2.0	4	39

各試験区別の水分蒸発量の測定は、昭和54年7月20日から10月8日までの間行った。その結果100 cm²当たりの水分蒸発量は乾が835g、中が635g、湿が435gで、伏込み地の水分環境に明らかな差があった。また、表-3の湿性害菌発生本数率から、各試験区の伏込み期間中の水分環境が変化していないことが推測される。

発生量調査は、各試験区の原木1個体ごとに行い、ほた木材積1 m³当たりの発生個数と乾燥重量に換算した。伏込み環境別、株(個体)別に昭和56年春発生分から昭和58年春発生分までの発生量を表-4に示した。すなわち、伏込み環境別にみて、中の発生量(以下単に発生量とした場合は、ほた木材積1 m³当たりの乾燥重量を示す)を100とした場合に、乾は116、湿は41となり、湿の発生量が非常に少なかった。また、株(個体)別にみるとNo.3のように他の株(個体)より発生量の多い株(個体)が存在した。しかし、表-4の数値にもとづき、「伏込み環境」と「株(個体)」要因について、2元配置分散分析を行った結果は、「伏込み環境」要因については有意差が認められたものの、「株(個体)」要因については有意差は認められなかった。また、有意差の認められた「伏込み環境」要因の中では、乾・中と湿との間に有意差が認められ、乾と中の間には有意差は認められなかった。

表-4 伏込み環境別、株（個体）別発生量調査結果（1m³当り）

株 No.	乾			中			湿			平均		
	個数	乾重	1個当たり乾重	個数	乾重	1個当たり乾重	個数	乾重	1個当たり乾重	個数	乾重	1個当たり乾重
1	9288	18169	2.0	3590	6928	1.9	3131	7864	2.5	5336	10987	2.1
2	8005	15816	2.0	6563	14075	2.1	3117	6767	2.2	5895	12219	2.1
3	10474	21451	2.0	8905	20763	2.3	4458	11200	2.5	7945	17805	2.2
4	6596	15438	2.3	5990	12450	2.1	3919	8628	2.2	5502	12172	2.2
5	7669	15105	2.0	8616	15957	1.9	2827	5939	2.1	6371	12334	1.9
6	5905	12860	2.2	6314	15075	2.4	1758	5062	2.9	4659	10999	2.4
7	7138	15406	2.2	7344	15988	2.2	1148	2511	2.2	5210	11302	2.2
8	7623	16764	2.2	5552	12296	2.2	1439	3875	2.7	4871	10978	2.3
9	7431	15247	2.1	7123	15371	2.2	770	1447	1.9	5108	10688	2.1
10	7444	16188	2.2	4780	10840	2.3	1538	3610	2.3	4587	10213	2.2
平均	7761	16244	2.1	6478	13974	2.2	2411	5690	2.4			

昭和58年春発生分までの各試験区ごとの発生量の合計を各々100として、ほた起し後の発生量の変化を、秋・春と連続した発生時期ごとに3期に分けて調査した結果を表-5に示した。すなわち、乾は1・2期目の発生量が同じ程度でピークのない減少傾向、中は2期目に発生量のピークがある傾向、湿は1期目の発生量が少なく、2・3期目の発生量が同程度という傾向がうかがえた。

ほた木の残存状況を昭和58年11月10日に調査した結果を表-1に示した。すなわち、乾・中は同じ程度のほた木の残存があり、湿は乾・中と比較して残存がやや少なかった。残存ほた木の量を本数率でみると24~31%の残存率であるが、材積率では47~58%の残存率があり、材積の少ない、つまり、直徑の小さいほた木から腐朽していることがわかる。また、表示はしていないが、乾・中・湿のいずれの試験区においてもほた木の残存の少ない株（個体）が2株（個体）存在した。

2. 考 察

- (1) 伏込み地の水分環境（水分蒸発量）のコントロールは、今回の試験設定方法および結果から明らかなように、庇陰材料の多少により比較的容易に行うことができると考えられる。このことから、伏込み地の水分環境が、伏込み期間中の笠木の質的量的变化や伏込み地の雑草の繁茂などにより容易に変化すると推測され、下刈りや笠木の手入れなど伏込み期間中の管理が必要なことを意味している。
- (2) シイタケの発生量について、害菌の発生状況からみた場合、中は乾より害菌の発生は少ないが、シイタケの発生量は乾より少なく、害菌の発生の少ないことが直接シイタケの発生量の増加に結びつかなかった。しかし、湿性害菌の試験区分発生本数率とシイタケの

表-5 期間別発生率

	1期*	2期*	3期*
	%	%	%
乾	36.1	35.7	28.3
中	32.1	39.0	28.9
湿	10.4	45.2	44.4

* 1期 55年秋・56年春
2期 56年秋・57年春
3期 57年秋・58年春

発生量との関係は、前者が多いと後者は少ないという傾向が明らかである。このことから湿性害菌の発生を抑えること、つまり、伏込み環境を過湿にしないことが、シイタケの発生量の増加につながる重要な条件であり、害菌発生の減少にもつながるものと考えられる。(3) 湿のシイタケ発生量は、乾の35%, 中の41%と少なく、明らかな差があり、この差はほた木の残存本数およびほた木の状態（傷み具合）からみて、逆転できないものと考えられる。

(4) 原木について、今回の試験では、「株（個体）」要因別のシイタケ発生量については、有意差は認められなかったが、シイタケ発生量の多い株（個体）が存在した。その株（個体）のシイタケの発生量は、乾で平均値の32%増、中で平均値の49%増、湿で平均値の97%増を示した。また、どの試験区でもほた木の残存本数が少なく腐朽の早い、つまり「ほた流れ」の早い株（個体）が存在した。以上、2つほど原木の特性と考えられるものが存在したが、特に、「シイタケの発生量が多い」という特性をもった原木の存在の有無は非常に重要な問題で、現在、大分県では、昭和53年度から全国規模で開始された「シイタケ原木育種事業」により、クヌギ原木100個体を選抜し、それらの個体のシイタケ発生量調査を行っている。もし、この事業で、シイタケ発生量の多い個体の存在が確認されれば、その個体の増殖が必要だと考えている。

N おわりに

今回の試験では、伏込み環境を人為的に作り、環境別にシイタケの発生量調査を行った。しかし、この伏込み環境の差の中で数値的に把握されたものは水分蒸発量だけであり、伏込み列内の他の微気象要因、例えば、気温・湿度・通風の状態および降雨による伏込み木の濡れ方などについては調査されていない。さらに、シイタケ発生量の差については、伏込み環境の違いが害菌の発生に影響を与える、その発生した害菌の種類と被害程度により影響を受けたと考察したが、伏込み環境が原木内のシイタケ菌糸に対して、単にシイタケ菌糸体量の多少（ほた付の良否）を左右するだけでなく、子実体形成を促すような何らかの影響を与えることも考えられる。

以上のことから、今後、伏込み環境とシイタケ発生量との関係については、シイタケ発生量に影響を与える伏込み列内の微気象要因を明らかにするとともに、シイタケ発生量を最大にする最適条件を究明する必要がある。

引 用 文 献

- (1) 岩出亥之助：キノコ類の培養法, 322 PP, 地球出版, 東京, 1958
- (2) 黒田隆明：温暖地域におけるシイタケ栽培効果の解明 熊本県林指業務報告, 19, 32-34, 1980
- (3) 松尾芳徳ら：温暖地域におけるシイタケ栽培効果の解明, 大分県林試報告, 23, 37, 1981
- (4) 石井秀之ら：シイタケ原木の形質的特性による栽培効果の解明, 大分県林試報告, 22, 28, 1980

大分県林業試験場編集委員会

委員長	千原 賢次
委員	安養寺 幸夫
	松尾 芳徳
	川野 洋一郎
	佐々木 義則
	津島 俊治
編集幹事	佐々木 義則

大分県林業試験場研究時報 No.10, 1984

昭和59年10月9日 印刷

昭和59年10月15日 発行

編集 大分県林業試験場編集委員会

〒877-13 大分県日田市大字有田字佐寺原

TEL 0973 (23) 2146

(23) 2147

印刷所 川原印刷

〒877 大分県日田市上城内町 1281-3

TEL 0973 (22) 3571