

【解 説】

林木育種の現場のABC (11) 次代検定林 (造成)

藤澤 義武^{*,1}

はじめに

林木育種では、精英樹など各種の育種素材について、多様な形質の遺伝的な変異を評価し、採種園、採穂園から不良な母樹を除く、優良な母樹クローンを加えるなどの改良を行う、あるいは優良品種を選ぶための基礎情報とする。形質評価は主に次代検定林を造成して行う。写真-1に九州におけるスギ次代検定林の例を示した。次代検定林は「精英樹選抜育種事業実施要領（昭和55年5月31日付け55林野造第82号林野庁長官通知、最終改正平成13年3月30日付け12林整研第174号）」に「…（次代検定）各精英樹から養成した

さし木苗及び実生苗の成長、その他を比較して遺伝質の優劣を検定する…」とあるのを根拠として造成されてきた。その後、検定林は「次代検定林」だけではなく、成長だけでなく、材質やその他、林業的に求められる各種形質を研究、評価、検定する基盤となるものであり、さらには、次代の精英樹を選抜するための母集団としても造成される。

今回より、林木育種の肝である特性評価の解説を開始することとし、まずはその基盤となる検定林の造成を解説する。検定林は形質を測定し、そのデータを解析することで遺伝的な変異を評価するのを主目的として造成される。そのため、統計処理が可能な試験設



写真-1 方形プロットで造成された次代検定林 (九州育種場提供)

* E-mail: yochan53@agri.kagoshima-u.ac.jp

¹ ふじさわ よしたけ 鹿児島大学農学部生物環境学科

計に基づくなど、配慮しなければならない事項がいくつかある。そこで、検定林の造成と検定林の試験設計に関する基礎的な知識を解説する。

検定林の種類と造成目的

精英樹選抜育種実施要領に示された「次代検定」の範疇に属する検定林として、①一般次代検定林、②地域差検定林、③遺伝試験林、④育種集団林がある(森林総合研究所林木育種センター 2007)。一般次代検定林は精英樹のクローン苗、実生苗によって造成し、性能を評価して採種穂園の改良、成長や材質に優れた系統の選抜などを目的とする。地域差検定林は、精英樹の苗木が同様な性能を示す植栽環境の範囲を知り、種苗の合理的な配付区域を定めることを目的とし、いくつかの精英樹クローンをセットにし、これを各地に植栽するものである。遺伝試験林は、精英樹の形質の遺伝様式や各種の遺伝母数を知ることを目的とし、精英樹や精英樹の交配家系で造成される。育種集団林は次世代の精英樹を選抜するための母集団とすることを目的とし、成長、材質などに優れた精英樹の相互間、あるいは精英樹と気象害、病虫害抵抗性個体との間の人工交配で育成された個体群で造成する。

この他、気象害抵抗性育種事業、地域病虫害抵抗性育種事業などで、寒害抵抗性や雪害抵抗性個体を被害発生現地で検定することを目的とした気象害抵抗性検定林、同様にマツノザイセンチュウ抵抗性やスギザイノタマバエ抵抗性個体を被害発生現地で検定するための検定林などが造成されている。

基本的な仕組み

実験計画法に基づく試験設計：検定林の造成にあたっては、そこから得られるデータによって、系統間差、さらには遺伝率、遺伝的獲得量などの遺伝的母数を解析できるように、実験計画法に従った試験設計を行う。実験計画法は農業の分野で研究・発展してきた統計の分野であり、データを統計的手法で解析できるよう、予め供試材料を配置するための技術である。この実験計画法の中核となるのが、フィッシャーの3原則である。

フィッシャー (Ronald A. Fisher) は、統計の父と呼ばれるこの分野の大家であり、初期はパブリックス

クルの教師などをしながら研究を続けていたが、ロザムステッド農事試験場の統計研究員として品種改良に関する試験データの解析業務に従事し、野外試験試験から得られる大量のデータの処理方法を研究する過程で、現在でも農林業分野の研究で常法となっている分散分析法と最尤法などの統計手法を確立し、野外試験の実験計画から解析にいたる統計解析の体系を作り上げた。検定林の造成、ひいては解析についても、この実験計画法に従って試験設計、検定林の造成を行う。そこから得られたデータは分散分析によって解析し、系統間の有意差の有無のみならず、期待成分から遺伝率などの重要なパラメータを得る。

フィッシャーが実験計画法の根幹としたのが、先述した3原則であり、①反復の原則、②無作為化の原則、③局所管理の原則、の3項目である。統計で裏付けられた信頼性の高い結果を得るためには、これらを満たした実験計画に従ってデータを集め、解析しなければならない(井出・白石:2012; 栗延・久保田 2012)。まず、3原則の考え方を解説する。

フィッシャーの3原則：成長など各種の形質は、栽培することで測定、評価ができる。そこから得られる形質の測定結果、すなわち、表現型がどの程度遺伝的な要因によって支配されているのかを我々は知りたいのである。そこで、林業の分野では、対象とするクローンや家系をまとめて林地に植栽、育成することで形質を評価していくこととなるが、林地は一様に見えたとしても、土壌の厚み、肥料分、水分などの環境条件は林地の各所で大きく変異しているであろうことは当然のことであり、各系統の成長は遺伝的要因に加え、林地の環境要因の影響を受けながら成育した結果である。そこで、環境要因の影響を除去しなければならず、各系統の植栽数を一つではなく複数とし、さらには、供試する全系統を一組とし、これを複数回くり返すことで、環境の要因を平準化するとともに、系統の違い、すなわち遺伝的要因による変異と環境要因による変異とを区分するようにする。これが、①反復の原則であり、繰り返しごとの供試系統の配置について、特定の系統が似通ったような環境へ配置されること、例えば、特定の系統がすべての反復で林縁に近いところに配置されるようなことを避け、全くの無作為に配置する配慮が、②無作為の原則である。無作為の原則は測定時にも適応され、例えば、特定の検定林について、複数年間、調査を継続する際、常に特定の経路をたどって測定するのを避けることも、無作為化であ

る。一方、例えば、反復ごとの測定を特定のチームに割り当てることで、複数のチームを入れることによる測定者間の誤差を防ぐなどの配慮を行うのが、③局所管理の原則である。さらに、局所管理の原則では、光合成能など測定に時間がかかる場合、一日の測定可能数で評価対象をいくつかの組に分割し、それらの測定順序を反復と見なし、無作為に割り振ることもこれに相当する。

検定林の基本的構造：目的の達成に十分な機能を発揮できる検定林にするため、フィッシャーの3原則に従った構造を持つことが基本である。すなわち、プロットと呼ばれる小区画を設け、それぞれのプロットに1系統ずつ、供試材料を割り付ける。供試する全系統をそれぞれのプロットに割り付けた一つの組を反復、あるいはブロックとし、これをさらに複数回、通常、3回以上繰り返す。すなわち、供試材料が40系統あればこれらを40プロットに割り付け、これをブロックとして3ブロック以上用意する。また、各ブロック内におけるプロットの配置は無作為に割り付けるのはもちろんのことである。

造成目的によっては、プロットの配置、ブロック数などの設定を調整する必要があるが、基本的な構造に違いは無い。

検定林の造成の実際

造成準備：検定林の造成にあたって、配慮しておく事項を示す。

まずは、検定林造成の事業規模、すなわち、供試したい系統の数や供試数、植栽密度、さらにはこれらから導かれる造成に必要な林地の面積などを把握しなければならない。逆に、利用できる林地の場所や面積などが予め決まっている場合、これを基に供試系統数、それぞれの系統の供試数などを逆算することとなる。近年は収穫量が減り、更新面積が国有林と民有林を合わせても2万5千ヘクタール（平成24年度：民有林が約2万ha、国有林が約5千ha）しかない現状では、多くの場合、確保できる林地の面積などから検定林の規模が予め決まってしまうのが実情であろう。

ただし、造成を想定する際、地図上に標記された造成用地は、その全ての面積を検定林に使うことはできないことに留意しておかなければならない。利用可能区画の周辺部は、まだ伐採されていない林分や、沢筋、崖などに隣接していたりすることで、検定林の造成には適さなかったり、現状では植栽可能であっても、崩壊の危険などによって長期間にわたって維持していくのが難しい場合が多い。さらに、トラクター集材が主流となったために、林内は集材道が縦横に走っていることが多く（写真-2）、これらは土壌が圧縮され



写真-2 集材道が縦横に走る林地

ていることから、植栽環境としては極端に異なり、ブロック内あるいはプロット内の環境変異を大きくし、検定精度を著しく落とす。当然のことながら、事前に踏査し、検定林の造成に使える区画と面積を押さえておかねばならないが(写真-3)、一般的には地図に示された用地の半分程度を造成に使えば御の字であると心得ておいた方がよい。なお、検定林の造成予定箇所は、事前に打ち合わせて、地拵えを巻き落としによる枝条処理と全刈りの組み合わせで実施しておくのが理想である。しかしながら、近年の省コスト化の流れの中では枝条散布を選択することとなる。この場合、枝条が深く、植栽が困難な箇所が必ず存在するので、そのような箇所については、別途、チェーンソーなどでさらに細かく切断し、植栽できるような状態にするための余分の労力を用意して置くと良い。



写真-3 造成予定地の事前踏査 (九州育種場提供)

検定用の苗木の準備においては、検定の目的に応じた評価の基準となる対照系統を含めて準備しておくなければならない。例えば、精英樹のクローンあるいは家系の形質を評価する場合、在来種苗のさし木、あるいは実生苗が対照となるであろうし、2世代以降の精英樹の次代検定では親世代の精英樹、さらには、精英樹以前の在来種苗のさし木、あるいは実生苗を含めたセットが対照となる。また、各種の抵抗性を検定するための検定林では、抵抗性の規準となる対照系統に加え、感受性種苗を加えておくことを忘れてはならない。被害の発生と、被害の程度を確認できるようにしておかねばならないからである。

苗木の育成についての技術的な課題はここでは触れない。しかし、検定林から精度の高い結果を得るた

めには、苗木の仕立て本数を必要本数よりも十分に余裕をみて、多く用意しておく方がよい。少なくとも、2割程度余分に育成し、植栽の際に状態が良好な苗を選択して植え付けることができるようにしておく。また、余った苗木は検定林の周囲に補植用として植栽するもの良いだろう。

試験設計・計画：用地と規模が決まれば、いよいよ試験設計に入る。試験設計は限られた面積、供試系統と系統ごとの苗木本数、さらには用地の地況による制約に対応し、最大限の精度でデータが得られることをねらい、先に示したフィッシャーの3原則に沿って、検定する苗木の配置を決めることである。

系統を割り当てるプロットには、①方形プロット、②列プロット、③単木プロット、④不連続プロットがある(White et al. 2007)。方形プロットは縦横の通った方形の面に植栽するもので、その利点は例えば5×5の方形プロットで25本の供試木を植栽した場合、外周の1列を除いた3×3の9本は系統間競争を考慮しなくても良いことである。一方、列プロットとは複数の供試木を1列に並べてプロットを構成するものである。単木プロットとは1系統、1本でプロットを構成するものであり、これらでは必ず他の系統と隣り合うため、系統間競争の影響を考慮しなければならない。すなわち、反復ごとのプロットの配置を無作為にするのはもちろんのこと、反復数を多くして系統間競争の効果をできるだけ中立に近づけることを配慮しなければならない。図-1には4系統、各16本を供試することを仮定した場合の単木プロット、列プロット、方形プロット、不連続プロットの配置モデルを示した。

ここに示したように、単木プロットはブロックの配置の自由度が高い上に、反復数が多くなることによって先述した系統間競争の影響、あるいは環境変異の影響を平均化し、影響を小さくすることができるので、遺伝母数などをより正確に評価することが可能である。ただし、間伐や枯死などによってブロックごとに欠損プロットが発生する可能性が高く、この点において長期に検定林を維持していく場合には系統管理が難しい。系統管理をより完全にするためには個体毎の表示等を行ったうえで、定期的に保守するなどの余分の配慮が必要になろう。

その点において、列プロットはプロットサイズをできるだけ小さくすることで、反復をある程度多く取ることができ、これによって単木プロットよりは不利な

単木プロット

3	2	4	3	2	1	1	4
4	1	2	1	3	4	3	2
4	3	3	2	1	4	2	1
1	2	4	1	3	2	3	4
2	4	3	4	1	3	2	3
3	1	2	1	4	2	1	4
4	3	3	2	4	1	2	3
1	2	4	1	3	2	4	1

方形プロット

1	1	2	2	3	3	4	4
1	1	2	2	3	3	4	4
3	3	4	4	1	1	2	2
3	3	4	4	1	1	2	2
2	2	1	1	2	2	3	3
2	2	1	1	2	2	3	3
4	4	3	3	4	4	1	1
4	4	3	3	4	4	1	1

列プロット

1	2	3	4	2	4	1	3
1	2	3	4	2	4	1	3
1	2	3	4	2	4	1	3
1	2	3	4	2	4	1	3
3	4	2	1	3	1	2	4
3	4	2	1	3	1	2	4
3	4	2	1	3	1	2	4
3	4	2	1	3	1	2	4

不連続プロット

1	4	2	3	1	4	2	3
3	2	3	1	3	2	1	4
4	3	1	4	2	1	3	1
1	2	4	2	3	4	2	3
2	4	1	4	4	2	1	4
3	1	2	3	2	3	2	1
1	3	4	1	3	2	4	3
4	1	2	4	1	1	3	4

図-1 各種プロットの模式植栽配置図

ものの、精度を向上できるうえに、間伐や各種の原因による枯死によってプロットが欠損することが少ないなどの利点もある。精度的には単木プロットよりも不利であるが、管理の面でははるかに有利となる。例えば、プロットの表示も列の先頭に表示するだけで良い。方形プロットは、先述の通りプロットを大きく取ることによって系統間競争を除くことができるが、ブロックサイズが大きくなり、反復数を多く取ることが難しい。そもそも、近年の造林事情で広い用地の確保が難しく、ひいては方形などの定型の試験地の設定が難しくなっている。現状では、ごく少数の系統を検定するような特殊な場合を除き、方形プロットを選択できる機会は少なくなっているであろう。

不連続プロットは例えば、反復を設けず、単木プロットをランダムに配置した場合などをこの範疇に入れることができよう。この場合、試験地設定の自由度は最も大きくなるが、例えば試験地の上部と下部、などの比較的大きな環境の変異をブロック間差としてとらえることはできない。また、特定の系統が比較的偏って配置され、結果が歪む可能性も有るので、供試系統数と系統ごとの供試数、さらには用地面積とのバランスを考慮し、適切に配置する必要がある。妥協策として、いくつかの群に分け、それぞれには複数の供試個体をランダムに配置し、最終的にはそれぞれの群をブロックとして取り扱って分析することが考えられる。また、系統管理では、群には系統ごとの複

数の個体を含むので、単木プロットよりもさらに系統管理が難しくなる。

これらプロットの特徴、検定の目的と用地の状況などを勘案し、図面上での系統、個体の配置を設計する。

植栽準備：苗木の準備も終了し、試験設計も完了すると、住宅建築の縄張りよろしく、造成予定地で植栽木の植栽位置の表示、いわゆる「点つけ」を行う。点つけは図面上の配置を造成現地に写し取る作業であり、傾斜角を考慮し、水平距離が図上の距離と一致するように植栽位置を決めて印をつける。印として、現地に散布された枝条を立てても良いが、資材費は不要なものの、資材収集に結構な手間がかかり、全体としては極めて効率が悪い。割り箸や竹箸の頭部に見やすくするための赤などに着色を行って用いるのが一般的である。割りばしは100円ショップで100膳入りのものを売っているので、3000本の点つけをしても、資材費は3000円＋ペンキ代となる。着色は箸の束をペンキ缶に突っ込んで行えば、手間もかからない。

点つけの際、水平距離をその都度測るのは、コンパスで傾斜角を出し、電卓で計算することになるので、あまりにも手間がかかって現実的では無い。そこで、まず用地全体を起伏が比較的少ないいくつかの区画へ区切る。次に、それぞれの区画で、斜面の上下方向の両辺にメジャーテープを置き、それぞれの植栽間隔の水平距離の位置をテープにビニールテープを巻き

付けたり結びつけたりして表示する。そして、もう一本のメジャーテープを用意し、これには両辺間の傾斜角に従って、植栽距離の水平距離の位置をビニールテープ等で表示する。このテープの両端を両辺のそれぞれのテープの植栽位置にあわせ、テープを水平にぴんと張ったうえで順次上下方向へ動かし、その植栽位置の表示箇所へ表示用の箸などをさし付ける。写真-4はその様子を示したものであり、足下にはさし付けられた頭部を赤に着色した竹箸が見える。また、単木プロットなどでは植栽位置表示用の箸などにタグ等を付けることで植栽系統を表示する。点つけを行っていく過程では、切り株や岩の露出などで植栽できない箇所があるので。その際、植栽間隔の1/3程度の移動であれば、位置をずらして対応するが、それ以上の場合は欠測とした方が後の系統管理が楽である。点つけが終わった後は、当初の設計・配置図と照合し、違いがあれば現地を修正する、あるいは配置図を修正して植栽に備える。特に植栽位置をずらした箇所は配置図に表示しておく、後年、迷うことが無い。植栽後、配置図と現地との照合・確認を行わなければならないのは、言うまでも無い。

検定林の区画及び系統表示：植栽が終わった後は検定林設定時の測量杭を半永久的なプラスチック杭に置き換えると共に、外周、ブロック界などの所要所にプラスチックなどの杭を打ち込み、必要に応じ

てペンキ、タグなどで必要事項を表示する。また、プロットごとには系統の表示を行う。系統表示は方形プロットや列プロットではプロットの開始位置、列の先頭などに系統を表示したL杭などを打ち込むことで表示する(写真-5)。単木プロットの場合はブロック界などを杭で表示すると共に、各単木プロットの表示を行う必要がある。個体毎にタグを付けると確実であるように思うだろうが、タグは落枝などで失われやすいことに留意しておかなければならない。したがって、例えば5本おきとか決まった位置に杭を打ち、それはブロックの境界を示す杭とは色や形を変えるなどを配慮する方が、長期間管理できる可能性が高い。あるいは双方組み合わせるとより確実に系統を管理できるであろう。タグは定期的に管理し、脱落があれば付け替えるようにしなければならない。系統管理ができていない検定林は検定林としての用をなさなくなるので、このことを十分に考慮しておく。例えば、樹体内にICチップを埋め込むなどの新技術の開発に加え、DNAマーカー等も併用しつつ、系統管理を継続することが、将来の研究、成果につながっていく。検定林は計画当初の目的だけではなく、将来、どのような有益な情報をもたらす研究材料となるのか予測もつかない。現に、分子育種学に基づいた近年の森林・遺伝育種の研究成果は、先人が冒頭に示した事業実施要領に沿って、粛々と造成を進めて現在に至る各種の検定林を利用して得られたものである。



写真-4 メジャーテープを張って点付けの準備 (九州育種場提供)



写真-5 プロットを表示する杭 (九州育種場提供)

おわりに

検定林は当初の目的のみならず、選抜母集団、貴重な研究材料として、将来に向けての貴重な財産となる。したがって、試験設計のみならず、これからの長い利用・管理を効果的に進めるために、検定林の造成位置、系統表示、検定林へのアクセスの確保など配慮しておくことは無数にあるであろう。これを達成していくために、古い知見、経験に加え、発達する新たな技術を常に取り入れ、改良していかなければならない。検定林の造成は採種園、採穂園の造成に並ぶ大きな事業である。これを効果的に進めるために、関係者が知恵を出し合って、計画に、管理により良い技術を開発、取り入れる努力を継続させていく必要があろう。

引用文献

- 井出雄二・白石 進(2012) 森林遺伝育種学. 文永堂出版, 東京
- 栗延 晋・久保田正裕 (2012) 林木育種のための統計解析. 林木育種協会, 東京
- 森林総合研究所林木育種センター (2007) 関東育種基本区 次代検定林の調査・管理マニュアル. 林木育種推進関東地区協議会, 日立
- White TL, Adamus WT, Neale DB (2007) Forest genetics. CABI Publishing, Oxfordshire