

-20°Cの冷凍庫で10年間保存したスギおよびヒノキ種子の発芽率

生方正俊・平井郁明・加藤智子・栗田祐子（森林総研 林育センター）

要旨：2001年に日本全国から収集したスギ種子265系統およびヒノキ種子59系統について、保存前と保存10年後の発芽率を比較した。-20°Cの冷凍庫内に100ccのポリ容器に乾燥剤とともに封入した種子は、両樹種とも保存10年後においても顕著な発芽率の低下は認められなかった。10年間発芽率5%以上を維持したスギ種子は全体の85%，ヒノキ種子は89%であり、全く発芽しなかった系統は、スギ種子の1系統のみであった。以上のことからスギおよびヒノキの種子は-20°Cの冷凍条件で、10年間の保存が可能なことが明らかになった。

キーワード 種子 長期貯蔵 発芽試験 ジーンバンク事業

Abstract: For seeds of 265 *Cryptomeria japonica* strains and 59 *Chamaecyparis obtusa* strains collected throughout Japan in 2001, we compared germination rates before storage and those after 10 years of storage in small bottles with drying agent at -20°C. After storage, 85% and 89% seeds of *C. japonica* and *C. obtusa* strains showed germination rates greater than 5%. Seed germination of only one *C. japonica* strain was reduced to 0%. Thus, *C. japonica* and *C. obtusa* seeds can be stored for 10 years at -20°C.

Keywords seed, long-term storage, germination test, gene bank project

I はじめに

我が国の樹木種子の長期保存に関する研究例は少なく、北方樹種を対象とした報告(6)が、最も多くの樹種および長期にわたる保存を取り扱っている。これによると、-4°Cの冷凍保存、密封条件でトドマツやエゾマツで30年近く、カラマツ、アカエゾマツ、シラカンバで20年以上、ケヤマハンノキで15年以上保存が可能なことを示している。本州産の樹種を対象とした報告(3)では、3°Cの冷蔵および-10°Cの冷凍保存で、アカマツおよびカラマツの種子が22年以上保存可能であること、豊作年のヒノキが8年以上保存可能なことを示している。また、九州のスギ及びヒノキを対象とした報告(5)では、-10°C～-20°Cの冷凍保存でスギ種子が13年目で5.5%の発芽率を示すことやヒノキ種子には、16年以上保存可能な系統がある一方、8年目および9年目で発芽率が0%となる系統もあることを示している。樹木種子の長期保存の研究例が少ない理由として、我が国的主要造林樹種であるスギやヒノキは、ジベレリンによる着花コントロールが可能であり、計画的な種子生産ができること、アカマツ、クロマツ、カラマツといったマツ科の樹種は、経験的に種子の長期貯蔵が容易なことが知られていたことがあげられる。

森林総合研究所林木育種センター（以下、「育種センター」と示す。）では、1985年から林木を対象としたジーンバンク事業を行っている。事業発足当初は林木の特殊性（成育期間の超長期性や特性評価等）から成体保存を主とし、種子等生殖質の保存を従してきたが、1995年頃から種子等も特に利用（配布）の面から有効な保存形態になり得るとしてこの保存も積極的に行ってきた(2)。特に2000年に種子や花粉を保存するための専用施設が完成し、温度を厳密に管理した保存が可能となつたことから、2014年度末現在、約8,000点の種子を保存し、試験研究用として配布を行っている。多くの樹種、多くの系統を保存し利用に供することが求められているジーンバンク事業では、種子の保存可能期間が短いと、同じ系統の種子を頻繁に再収集する必要があり、非効率となる。そこで、林木育種センターでは、様々な種子の長期保存技術の開発を目指した試験研究を行っている。今回は、-20°Cの冷凍条件で10年間保存したスギ(*Cryptomeria japonica*)およびヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)の種子について、保存前後の発芽率を比較した結果を報告する。

II 材料と方法

Masatoshi UBUKATA, Fumiaki HIRAI, Tomoko KATO, Yuko Kurita (Forest Tree Breeding Center (FTBC), Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI), 3809-1 Ishi, Hitachi, Ibaraki 319-1301), Germination rates of *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa* seeds stored for 10 years at -20°C

2000 年に林木のジーンバンク事業において種子や花粉といった生殖質を保存するための施設である遺伝資源管理棟が完成した。この施設内に設置した研究用の汎用冷凍庫（三洋電機製 MDF-U332）を-20°Cに設定し種子の保存に用いた。供試した種子は 2001 年秋にスギは北海道から熊本県までの 10 箇所、ヒノキは茨城県から高知県までの 5 箇所で採取され、各地の育種場および林木育種センターで風選器や篩により精選したものである。

精選した種子は、2002 年 1 月から 3 月にかけて恒温器で発芽試験（25°C, 28 日間）を行った。試験は、100 粒ずつ 2 回繰り返しで行った。繰り返しの平均を保存前発芽率とした。さらに系統ごとに千粒重を測定した。

発芽試験の終了した種子のうち発芽率が 5%以上のスギ 265 系統およびヒノキ 65 系統を 2002 年の 4 月に-20°C の冷凍庫内に入れ保存試験を開始した。両樹種の種子は、系統ごとに小型のポリエチレン製密封角容器（容量 100cc）に直接入れ、葉包紙に包んだシリカゲルとともに密封した。

2012 年 3 月から 6 月にかけて、保存開始後 10 年目の発芽試験を行った。試験の条件は、保存開始前と同様であるが、発芽活性を高めるため、試験前に一昼夜流水につける処理を行った。保存前と 10 年目の発芽率を比較し、スギおよびヒノキの種子の保存性について検討した。さらに、保存前発芽率が 10 年目の発芽率に影響するかどうか明らかにするため、保存前発芽率を 4 段階に分け（10%未満、10~20%、20~30%、30%以上）、保存前後の発芽率を比較した。また、種子の重さと発芽率の関係を検討した。

III 結果と考察

1. スギ種子 スギ種子の保存前および保存 10 年目の発芽率の関係を図-1 に示す。全体の保存前の発芽率は平均 17.0%（最高 70%，最低 5%），保存 10 年目は平均 15.7%（最高 65.5%，最低 0%）となった。一般的のスギ種子の平均発芽率は、26%程度(8)であるが、本試験では、保存前発芽率と保存可能年数との間に関係があるかどうか、言い換えれば何%以上の種子であれば何年保存が可能か検討するため、保存前発芽率の低い系統も貯蔵試験に含めたことから、全体の発芽率が低くなっている。発芽率 5%以上の種子を活性のある種子、5%未満を失活した種子とすると、10 年間で発芽率が 5%未満となり失活した系統数は 40 系統（全体の 15%）であり、全体の 85%の系統は、5%以上の発芽率を示し活性を維持した。なお、発芽率が 0%と全く発芽しなくなったも

のは、1 系統のみであった。

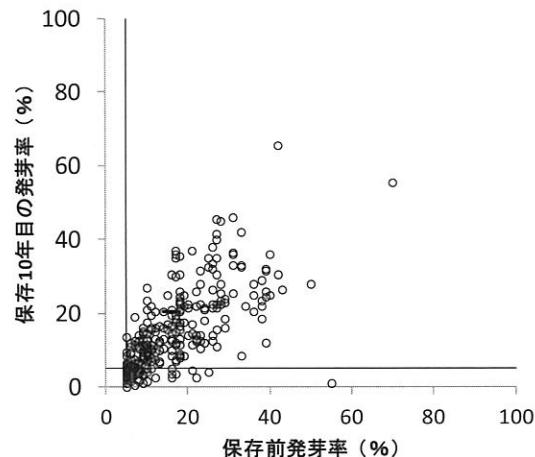


図-1. スギ種子の保存前後の発芽率の関係
Fig.1 Relationship between germination of *Cryptomeria japonica* seeds before and after 10 years of storage

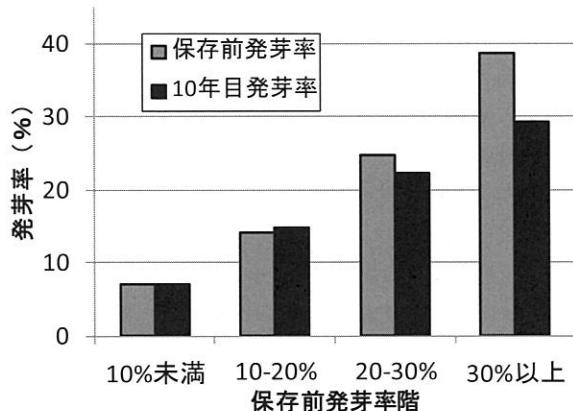


図-2. スギ種子の保存前後の発芽率の比較
Fig.2 Comparison of germination rates of *C. japonica* seeds before and after 10 years of storage

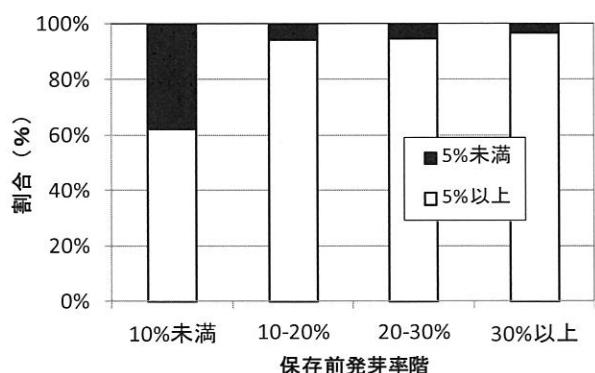


図-3. スギ種子の保存前発芽率階別の 10 年目で失活した系統の割合
Fig.3 Percentage of deactivated *C. japonica* strains after 10 years of storage

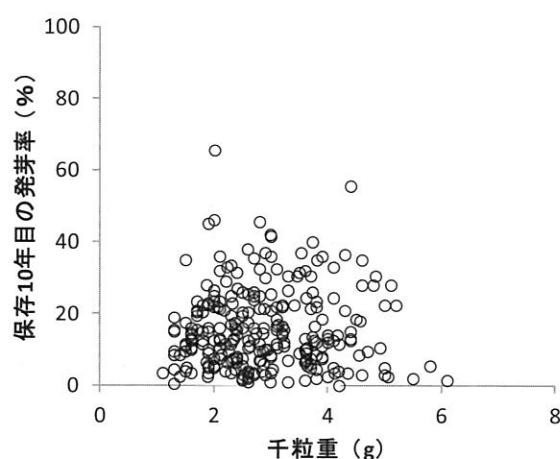


図-4. スギ種子の千粒重と保存 10 年目の発芽率との関係

Fig.4 Relationship between *C. japonica* seed weights and germination rates after 10 years of storage

保存前発芽率階別の保存前発芽率と保存 10 年目の発芽率との比較を図-2 に示す。保存前発芽率が低い系統も保存 10 年目においても同程度の発芽率を示していることが分かった。

保存前発芽率階ごとの失活した系統の割合を図-3 に示す。保存前発芽率が 10%未満の系統の約 38%が失活したのに対し、10%以上の系統では、失活した系統は 5%程度にとどまった。保存の安全性を考慮すれば、10 年程度種子を保存するためには、初期発芽率が 10%以上の種子が望ましいと言える。

千粒重と保存 10 年目の発芽率との関係を図-4 に示す。一般にスギ種子の千粒重は、2~4 g 程度(I)であるが、今回供試したスギ種子の千粒重は、1~6 g と変異幅が大きかった。千粒重が 2 g 未満の系統でも高い発芽率を示しているものがある一方、4 g 以上の種子の中にも発芽率が低いものもあり、種子重と保存 10 年目の発芽率との間に関係は見られなかった。同様に千粒重は、保存前発芽率とも、保存前後の発芽率との差とも関係は認められなかった。よって種子の重さと保存性には、関係がないことが分かった。

2. ヒノキ種子 ヒノキ種子の保存前および保存 10 年目の発芽率の関係を図-5 に示す。全体の保存前の発芽率は平均 16.5% (最高 60%，最低 5%)，保存 10 年目は平均 16.1% (最高 61%，最低 1%) となった。一般的ヒノキ種子の発芽率は、21~25%のものが多い(4)が、本試験では、スギと同様に保存前発芽率の低い系統も貯蔵試験に含めたことから、全体の発芽率が低くなっている。10 年間で発芽率が 5%未満となり失活した系統

数は 7 系統 (全体の 11%) であり、全体の 89%の系統は 5%以上の発芽率を示し活性を維持した。なお、発芽率が 0%になった系統はなかった。

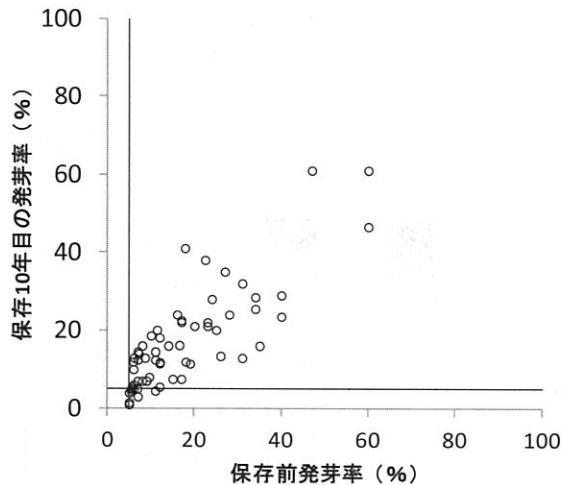


図-5. ヒノキ種子の保存前後の発芽率の関係

Fig.5 Relationship between germination of *Chamaecyparis obtusa* seeds before and after 10 years of storage

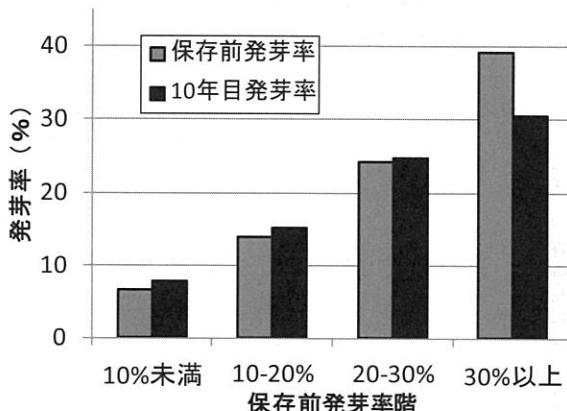
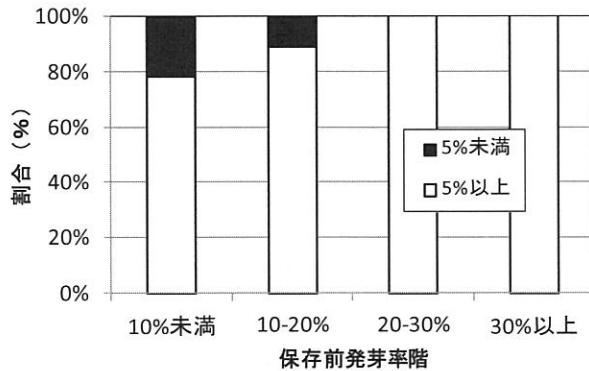


図-6. ヒノキ種子の保存前後の発芽率の比較

Fig.6 Comparison of germination rates of *C. obtusa* seeds before and after 10 years of storage

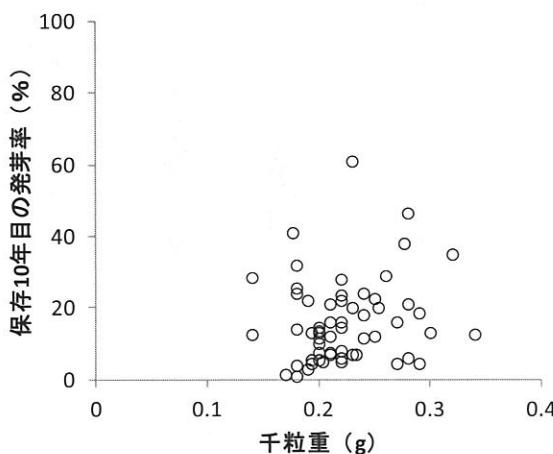
保存前発芽率階別の保存前発芽率と保存 10 年目発芽率との比較を図-6 に示す。スギと同様に保存前発芽率が低い系統も保存 10 年目においても同程度の発芽率を示していることが分かった。保存前発芽率階ごとの失活した系統の割合を図-7 に示す。保存前発芽率が 10%未満の系統の約 22%が失活したのに対し、10%以上の系統では、失活した系統は 6%程度にとどまった。特に保存前発芽率が 20%以上の系統は、全て活性を保っていた。保存の安全性を考慮すれば、10 年程度種子を保存するためには、スギ種子と同様に初期発芽率が 10%以上の種子が望ましいと言える。

千粒重と保存 10 年目の発芽率との関係を図一 8 に示す。一般にヒノキ種子の千粒重は、2 ~ 3 g 程度(7)であるが、今回供試したヒノキ種子の千粒重は、1.2 ~ 3.5 g だった。スギ種子と同様に種子重と保存 10 年目の発芽率とに関係は見られなかった。同様に千粒重は、保存前発芽率とも、さらに保存前後の発芽率との差とも、同様に関係は認められなかった。よって種子の重さと保存性には、関係がないことが分かった。



図一 7. ヒノキ種子の保存前発芽率階別の 10 年目で失活した系統の割合

Fig.7 Percentage of deactivated *C. obtusa* strains after 10 years of storage



図一 8. ヒノキ種子の千粒重と保存 10 年目の発芽率との関係

Fig.8 Relationship between *C. obtusa* seed weights and germination rates after 10 years of storage

IV 終わりに

今回の結果から、スギおよびヒノキ種子については、-20°C の冷凍庫内にシリカゲルとともに密封保存することで 10 年間は保存が可能ということがわかった。さらに、今まで一般的に長期保存するためには、なるべく

貯蔵前発芽率が高い系統を用い、発芽率が低い系統は長期貯蔵に向かないと言われている(7)が、今回の結果から、保存前発芽率が 10%以下の種子でも半数以上の系統で 10 年間程度であれば保存可能なことがわかった。したがって、人工交配種子など貴重な種子で発芽率の低いものでも保存する意味があると考えられる。ただし、失活の危険性を考慮すると、両樹種とも保存前発芽率が 10%以上の種子が、長期保存に適しているといえる。

なお、今回供試した両樹種の種子は、そのまま同じ条件で保存を継続中である。今後 5 年程度の間隔で同様の発芽試験を行い、両樹種の保存可能期間を明らかにする予定である。

林木のジーンバンク事業では、試験研究用として様々な樹種の遺伝資源を、種子、花粉、穂木および苗木の形態で有料で配布している。スギやヒノキの種子も精英樹を中心にそれぞれ 1,200 系統および 600 系統保存している。これらが、森林・林業関係のみならず、様々な科学技術の発展に寄与できればと考えている。

最後に、埼玉県、神奈川県、静岡県および愛知県の 2001 年当時の林木育種の担当の方々に種子採取にご協力いただいた。心より感謝申し上げる。

引用文献

- (1) 浅川澄彦・勝田柾・横山敏孝・小林義雄 (1981) スギ属 (浅川澄彦・勝田柾・横山敏孝編, 日本の林木種子針葉樹編, 150pp, 林木育種協会, 東京), pp.90-101
- (2) 宮田増男・生方正俊・今井史夫・栄花茂(1990)ジーンバンク事業における種子保存の位置付けに関する一考察, 林木の育種「特別号」1990 : pp.1-3
- (3) 西川浩己・神戸陽一(2005)林木種子の長期貯蔵について, 林木の育種「特別号」2005 : pp.14-16
- (4) 小沢準二郎 (1958) 林木のタネとその取扱い, 林業技術叢書 19, 日本林業技術協会, 東京, 332pp
- (5) 佐々木義則(2001) スギ, ヒノキ長期貯蔵種子の発芽能力調査, 大分県林業試験場年報 : 43, pp.83-84
- (6) 砂川茂吉 (1992) 北方樹種の長期貯蔵とその発芽率, 林木の育種 : 163, pp.9-15
- (7) 鈴木久雄・小林義雄 (1981) ヒノキ属 (浅川澄彦・勝田柾・横山敏孝編, 日本の林木種子針葉樹編, 150pp, 林木育種協会, 東京), pp.105-114
- (8) 外山三郎(1944)林木の育種及其基礎研究 (第 4 報) 主要林木種子の平均発芽率, 日本林学会誌 : 26, pp.284-287