

林木遺伝資源連絡会誌

～樹木の遺伝資源に関する情報・意見交換のための会員誌～

第2回現地検討会の開催

関東支部 高橋 誠（森林総合研究林木育種センター）

関東支部では、平成20年7月18日に、山梨県の協力のもと、第2回現地検討会を山梨県鳴沢村で開催しました。山梨県をはじめとする関東育種基本区の12県の関係機関や森林総合研究所林木育種センターなど22機関から37名が参加しました。

今回は、ブナ母樹林と広葉樹植栽地2箇所を見学しました。ブナ母樹林では、山梨県における広葉樹母樹林の設定状況や、母樹林から生産される苗木の遺伝的多様性をDNA分析技術を用いて明らかにする取り組みについての説明がありました。また、広葉樹植栽地では、大面積で枯死した富士山麓の森林を回復させるための企業や団体の共同参加による取り組みなどについての説明がありました。早期に森林を回復させる目的で、植栽されるブナなどの苗木には、植栽地周辺の林分から採種・育苗した苗木を用いることや、二ホンジカによる食害を予防するために生分解性の筒型シカ害防止ガードを使用していることが紹介されました。



ブナの有用広葉樹母樹林における現地検討会（山梨県鳴沢村）

東京大学田無試験地におけるアオキの 非自生タイプの自然定着とその影響

後藤 晋（東京大学大学院農学生命科学研究科）・
矢野 初美（（独）産業技術総合研究所）

近年、緑化において地域性種苗を用いることの重要性が指摘されています。しかし、造園や園芸などの商業分野では、植物材料の種子・苗木産地に注意が払われることが少なく、起源が不明な材料や地域的に異なる産地の材料が利用される場合も多いことが指摘されています。植栽地域とは遺伝的に異なる非自生タイプが自然定着し、繁殖を開始すると非自生タイプと自生タイプ間で交雑が生じる可能性があります。しかし、自然定着した非自生タイプが自生タイプと交雑可能なのどうかを実際に検証した例はそれほど多くありません。



写真 - 1. 自然定着した斑入りのアオキ

アオキは雌雄異株性の常緑低木で環境適応性が広く、雌では赤い実が美しいことから、都市域の公園や街路沿い、庭などでよく植栽されています。本種は耐陰性が強く、都市域の森林に自然定着し、その分布を拡大していることが知られています。東京都西東京市に位置する東京大学の田無試験地でも、アオキは各種試験林に自然定着し、その勢力を拡大している様子が観察されています。試験地内には明らかに園芸品種と思われる斑入りのアオキも自然定着しており(写真 - 1)、植栽個体からの侵入定着が起きていることが推測されます。

ところで、アオキの自然集団の葉緑体ハプロタイプには明瞭な地理的構造があり、関東地方では Ja が、東北、北陸、中国地方の日本海側、紀伊半島と四国東部の太平洋側では B1 というタイプが自生することが知られています (Ohi et al., 2003)。アオキの苗木は主にさし木増殖によって生産されますが、採穂する親木の遺伝タイプは必ずしも自生のものばかりではなく、非自生タイプも多く用いられます (矢野, 2005)。実際、関東地方には自生しない B1 タイプが、つくば市など関東地方の市街地や郊外の樹林地で自然定着していることが確認されています (Yano et al. 準備中)。本稿では、田無試験地におけるアオキの非自生タイプの定着とその影響について、遺伝解析と人工交雑実験 (矢野・後藤, 2009) の結果を元に考えてみました。

まず、田無試験地に自生する雌のアオキ 6 個体について、Ohi ら (2003) の方法を用いて、葉緑体ハプロタイプを決定したところ、4 個体は自生タイプの Ja でしたが、2 個体は非自生タイプの B1 でした。つまり、田無試験地でも、非自生タイプが既に自然定着していたわけです。自生タイプである Ja と非自生タイプである B1 は見た目には区別できず、開花時期にも大きな違いはありませんでした。このことは何らかの交雑阻害がなければ、両者の間で交雑が起こる可能性は否定できないことを意味します。

そこで、自生タイプと非自生タイプの間に何らかの交雑阻害があるのかどうかを確認するため、これらの雌 6 個体に対して、開花直前の 2008 年 4 月初旬にそれぞれ 2~7 個の交配袋をかけ(写真 - 2)、Ja と B1 の雄花を各母親の雌花に直接につける人工授粉実験を行いました (詳しくは、矢野・後藤, 2009 を参照)。

受粉時の花の数に対する 6 月末時点での受粉に

成功した花の数の割合を受粉成功率とすると、自生×自生（雌×雄）で平均 81.2%、自生×非自生で 75.3%、自生の自然受粉で 88.5%、一方、非自生×自生では 85.3%、非自生×非自生では 78.5%、非自生の自然受粉では 84.2%となりました。母樹によって異なるタイプ間の受粉成功率が低いものも認められましたが、ほとんどのタイプ間交配では自然受粉やタイプ内交配と同程度の受粉成功率が認められました（矢野・後藤、2009）。したがって、田無試験地においても、自然定着した非自生タイプと自生タイプの間で交雑が起きている可能性は十分あることが考えられました。



写真 - 2 . アオキ雌個体に袋がけした様子

しかし、その後の継続調査を行ったところ、6月末時点で受粉に成功した果実の多くがアオキノミタマバエによって寄生されていることが観察されました。最終的には、交雑組合せにかかわらず、



写真 - 3 . アオキノミタマバエによって寄生された果実

正常な果実になったものはわずかでした（写真 - 3）。田無試験地では、そもそも正常なアオキの果実を見ることが少なく、アオキノミタマバエによる果実寄生率がもともと高いことが考えられます。アオキノミタマバエによる果実寄生率は、森林によって大きく異なることが知られており、アオキにおいて自然状態で自生タイプと非自生タイプ間で交雑が起こり、その雑種が定着するには、自生タイプと非自生タイプの空間分布、アオキノミタマバエによる果実寄生率などが大きく関与すると考えられました。

自然定着や分布拡大が目で見えて分かる外来種と異なり、自生種では非自生タイプがいつの間にか自然定着し、交雑が起こる可能性があります。田無試験地のアオキについても、自然状態で交雑がどの程度生じているのか、交雑しているとすれば雑種個体のパフォーマンスはどうなっているのかなど、興味をもたれるところです。

引用文献

- Ohi, T., Kajita, T., and Murata, J. (2003) Distinct geographic structure as evidenced by chloroplast DNA haplotypes and ploidy level in Japanese *Aucuba* (Aucubaceae). *American Journal of Botany*. 90:1645-1652.
- 矢野初美・後藤晋（2009）造園・園芸利用種アオキにおける異なる葉緑体ハプロタイプ間の交雑．*東京大学演習林報告* 120:11-18
- 矢野初美・小沼明弘・芝池博幸・井手任（2005）アオキ(*Aucuba japonica* Thunb.)の遺伝的解析を通してみた緑化植物の流通の現状．*環境情報科学論文集*. 19:291-296.

絶滅危惧種ヤクタネゴヨウの人工交配による増殖

九州支部 大平峰子（森林総合研究所林木育種センター九州育種場）

はじめに

ヤクタネゴヨウは、屋久島および種子島のみで自生する五葉松です（写真・1）。近年、ヤクタネゴヨウは個体数が減少しており、環境省のレッドデータブックの絶滅危惧種 B 類に分類されています。九州育種場ではヤクタネゴヨウの生息域外保存を進め、これまでにつぎ木によって 150 クローン以上を成体で保存してきました。

自生地においては、本種の種子の充実率や発芽率は著しく低く、林内に後継稚樹がほとんど確認されないことが報告されています^{2),3)}。したがって本種の保存のためには、種子の充実率や発芽率を高め、健全な実生集団を創出できるようにすることが必要と考えられます。

そこで、つぎ木によって保存している成体で人工交配の試験を行いました。その結果、種子の充実率を高めて、多数の種子および実生苗を得ることができましたので、その結果を紹介します。



写真・1．屋久島に自生する個体

人工交配と種子の特性

1 開花調査

人工交配に先立ち、ヤクタネゴヨウの開花調査を

行いました。九州育種場内でヤクタネゴヨウの開花の推移を観察したところ、雄花が保護鱗片を破って姿を現す開花の始まりはおおよそ4月下旬でした。花粉の飛散が5月上旬～中旬に観察され、雌花もこの時期に受粉適期となり（写真・2右）、5月下旬には全て開花が終了しました。九州ではクロマツの開花が4月中旬～下旬、アカマツの開花が4月下旬～5月上旬に見られますので、ヤクタネゴヨウはクロマツ・アカマツ両種より開花期間が遅いことが分かりました。

また、クローンによって開花期に差があり、一部のクローンは開花期がかなり遅いことが明らかとなりました⁴⁾。開花の遅いクローンは、比較的早い時期に開花したクローンとの交配の機会が減少するため、前年に花粉を採取して人工交配を行うことによって、様々な組み合わせを作り出すことができると考えられました。



写真・2．雌花の開花推移

左：雌花が保護鱗片を破る直前の状態。この段階で交配袋をかける。

中央：少し種鱗・包鱗が見える状態。

右：受粉適期。この時に花粉を吹き付ける。

2 人工交配

調査したクローンのうち、雌花または雄花の着生量が多いクローンを対象として、人工交配を行いました。交配手法は、基本的にアカマツ・クロマツの人工交配の手法に準じて、以下のように行いました。

まず、雌花に窓つきのスギ用交配袋を被せます。木化した前年枝の針葉を除去し、剥き出しになった枝に綿をまきつけ、伸び始めた当年枝を丸ごと袋で

覆い、袋の口をビニタイで縛ります。この作業は、花粉が飛散する前の4月下旬ごろに行います。このとき、雄花が着生している場合は、雄花を除去します。この段階では雌花は保護鱗片に包まれているか、少し種鱗・包鱗が見える程度です(写真・2左・中央)。

次に、花粉を集めるために5月上～中旬に雄花を採取します。雄花が鱗片を破ってから花粉の飛散に至るまで、年やクローンにもよりますが1～2週間かかります。採取のタイミングは、花粉が飛び始める直前(雄花を指で潰して水気が出ないが、飛散していない)から飛散し始めの数日間程度です。

雄花は、シュートごと折り取るか、雄花のみを摘み取って採取します。採取した雄花はグラシン袋に入れ、風通しのよい日陰か室内で乾燥させます(写真-3)。花粉飛散直後の雄花であれば、1～2日干せば花粉が採取できました。ただし、保存用の花粉は十分乾燥させる必要があるため、1～2週間干しておく必要があります。



写真・3．グラシン袋を用いた雄花の乾燥
雄花を干して乾燥し、花粉を採取する。ここではグラシン袋の中に入れた不織布製の三角コーナー袋に雄花を入れた。乾燥すると花粉のみがグラシン袋の底に落下してくる。

グラシン袋内に花粉が貯まったら花粉を精選します。ステンレス製の花粉採集器を使用しますが、ストッキングや不織布製の三角コーナー袋などでも代用できます。グラシン袋の端を切り、集めた花粉をこれらの容器でふるうことによってごみを取り除きます。精選した花粉は50ml程度の容器で保存しますが、乾燥させるためにシリカゲルと一緒に入れてお

くか、シリカゲルを入れたデシケーター内でしばらく保存します。

精選した花粉を花粉銃(写真-4)に入れ、人工受粉の作業を行います。雌花の開花前期～中期(写真-2右)に、2日おきに2～3回、花粉銃によって交配袋内の雌花に花粉を吹き付けます。この時、交配袋の窓で花粉が雌花にかかることを確認しながら行います(写真-5)。交配袋の取り外しは、雌花の開花が終了し、花粉が完全に飛散し終わったところを見計らって5月下旬～6月上旬に行います。



写真・4．花粉銃

ゴム球を手で握って空気を送り込むと、針の先から花粉が飛散する。



写真・5．窓付きの交配袋をかけた様子
花粉銃の針を交配袋に刺し、雌花に花粉がかかることを窓で確認しながら受粉を行う。

3 種子の生産と発芽率

ヤクタネゴヨウの球果および種子は、クロマツの

それと比べてかなり大きいサイズです(写真-6,7)。



写真-6. 球果

左: ヤクタネゴヨウ 右: クロマツ



写真-7. 種子

上: ヤクタネゴヨウ 下: クロマツ

交配した翌年の9月上~中旬に球果を採取します。採取した球果を涼しい場所で乾燥させて種鱗を開かせた後、ピンセット等を用いて種子を取り出します。

次に、充実種子のみを選別するために100%エタノールに種子を入れ、浮かんだ種子を取り除きます¹⁾。その後、沈んでいる充実種子を素早く回収して完全にエタノールを飛ばし、冷蔵庫に入れて翌春の播種時期まで保存します。

人工交配による種子の生産性を評価するため、球果あたりの種子数、充実率、球果あたりの充実種子数を表-1に示しました。また、人工交配を自殖、地域内交配および地域外交配に区別しました。ここでいう地域とは、屋久島内で分断された3つの自生地を意味し、地域内交配は同じ自生地内の個体間で交配した組み合わせ、地域間交配は異なる自生地の個体間での組み合わせとしました。さらに、対照として2001~2002年に自生地(屋久島)で採取した球果を調査しました。

球果あたりの種子数の平均値は、人工交配によって得られた球果で24.8-39.8粒となり、自生地である屋久島で採取した球果の4.8-5.4粒に比べて多い値でした。また、この値は保存園内の自然受粉の家系10.7粒と比較しても多く、人工交配による受粉機会の増加によって多数の種子が結実すると考えられました。

種子の充実率の平均値は、他殖である地域間交配及び地域内交配で49-69%と高い値を示しました。これに対し、自殖の種子の充実率は1-12%と低く、これらは屋久島で採種した種子の22-30%より低い値でした。すなわち、人工交配した自殖家系では、球果あたりの種子数は多いのですが、シイナが多く充実種子が少ないという特徴が見られました。一方で、前述したように屋久島で採取した球果は種子数が少なく、充実率は他殖の交配家系より低い値を示

表-1. ヤクタネゴヨウの人工交配及び自然受粉による球果に含まれる種子数、充実率及び発芽率の平均値

採種年	組み合わせ	家系数	球果あたりの種子数 (粒)	充実率 (%)	球果あたりの充実種子数 (粒)
2004	人工交配 自殖	3	24.8	1%	0.3
2004	人工交配 地域間交配	12	37.4	69%	25.9
2004	人工交配 地域内交配	4	38.4	49%	18.7
2003	人工交配 自殖	4	25.6	12%	3.1
2003	人工交配 地域間交配	8	33.1	56%	18.5
2003	人工交配 地域内交配	7	39.8	59%	23.5
2003	自然受粉 場内保存園	12	10.7	40%	4.3
2002	自然受粉 屋久島3地域	16	5.4	30%	1.6
2001	自然受粉 屋久島3地域	20	4.8	22%	1.1

しました。したがって、自生地では受粉の機会が少
ないうえに、ある程度の自殖が起こっているのでは
ないかと考えられました。

球果あたりの充実種子数の平均値は、地域間交配
及び地域内交配で、18.5-25.9 粒でした。この値は
自殖・保存園内及び屋久島での自然受粉家系と比較
すると著しく高い値を示しました。また、自殖家系
の値は低く、2004 年に採種したものはわずか 0.3 粒
でした。

以上のように、人工交配によって得られたヤクタ
ネゴヨウの球果は、自生地及び保存園での自然受粉
のものに比べて得られる種子数が著しく多い結果と
なりました。他殖の交配では充実率も高く、人工交
配により自生地のものに比べ約 20 倍の充実種子を
生産することができることが明らかとなりました。
なお、これら他殖の種子の発芽率は 80%以上と比較



写真・8．発芽した実生



写真・9．鉢上げした1年生苗

的高く、健全な実生を得ることができました(写真-

8, 9)。

おわりに

自生地において本種の後継稚樹が確認されないこ
との一因として、球果あたりの充実種子がごく少な
いこと、その理由として花粉を受粉する機会が少な
いことが考えられました。このような絶滅危惧種を
保存するための手段として、つぎ木で成体を保存し、
保存した個体同士で人工交配を行うことが有効であ
ることが示されました。今後は、人工交配によって
遺伝的多様性が高い実生集団を育成し、生息域外保
存によって種の保存に貢献したいと考えています。

引用文献

- 1) 千吉良治・羽野幹雄(1995)ヤクタネゴヨウの
種子の取扱いに関する研究．日林九支研論集
48：35-36．
- 2) 林 重佐・馬場秀隆・高橋泰子(1984)ヤクタ
ネゴヨウ松の絶滅抑止に関する森林育種学研究．
鹿大農学部演習林報告 12：67-77．
- 3) 金指あや子・中島 清(2000)稀少樹種ヤクタ
ネゴヨウの繁殖特性()—栗生地区における
種子生産の現状—．日本林学会大会学術講演集
111：261-262．
- 4) 大平峰子・倉本哲嗣・平岡裕一郎・岡村政則・
谷口亨・藤澤義武(2005)絶滅危惧種「ヤクタ
ネゴヨウ」の開花特性と人工交配．平成 16 年
度林育七年报：110-113.

【林木遺伝資源連絡会の活動状況】

<平成20年度活動報告>

平成20年度は、以下の活動を行いました。

平成20年6月 会誌(第3号)の発行
保存の情報(東北支部)
保全の情報(北海道支部)
6月 メールマガジン(第11号)配信
7月 各支部会の開催
 関西支部 (3日)
 九州支部 (10日)
 北海道支部(18日)
 関東支部 (23日)
 東北支部 (26日)
11月 メールマガジン(第12号)配信
平成21年 1月 メールマガジン(第13号)配信
平成21年 3月 メールマガジン(第14号)配信

この他、都道府県が保存している林木遺伝資源データベースの作成に着手するとともに、ホームページの更新を行いました。

<平成21年度活動計画>

平成21年度は、以下のような活動を行います。

- ・現地検討会の開催(関東支部)
- ・帝釈峡地域打合会の開催(関西支部)
- ・会誌の発行(第4号)
- ・メールマガジンの配信(第15~18号)
- ・会員が保存している林木遺伝資源データベースの作成を進める
- ・ホームページの更新

<名称の変更>

組織の再編等によりいくつかの機関で名称が変更となっています。詳しくは、林木育種センターホームページの林木遺伝資源連絡会の会員で確認願います。

《支部会開催のお知らせ》

平成21年度の各支部会は、以下の日程で開催される予定です。

北海道支部会(札幌市)	7月14日
東北支部会(盛岡市)	12月(予定)
関東支部会(浜松市)	8月3日
関西支部会(福井市)	7月8日
九州支部会(鹿児島市)	7月13日

平成21年6月22日発行

編集:林木遺伝資源連絡会事務局

(独立行政法人森林総合研究所林木育種センター遺伝資源部内)

〒319 1301 茨城県日立市十王町伊師 3809-1

TEL:0294-39-7012・7048、Fax:0294-39-7352、E-mail: idensigen@nftbc.affrc.go.jp

ホームページ:<http://labgl.tnftbc.affrc.go.jp/g-renrakukai/index.htm>

当会誌の記事・写真等の無断転載はご遠慮ください。