

少花粉スギミニチュア採種園における交配実態

The mating actual situation in miniature seed orchard of the few pollen

Cryptomeria japonica

中村 博一

I はじめに

Wheeler and jech(1992)は、適正な採種園経営として、①正確な植栽と管理、②外部からの花粉混入の回避、③自殖の防止、④種子に対する均等な寄与の4点が必要であることを指摘している。しかし、森口ら(2005)は、採種園の交配実態に関する研究報告をまとめ、採種園における外部からの花粉の混入が少ない場合でも30%程度、多い場合では80%に達することを示している。Tsubomura *et al* (2012)は、雄花の着花特性の遺伝率は極めて高いことを明らかにしており、この結果に従えば、雄花着花特性は確実に遺伝形質と言える。既存スギ人工林は成長量や形質を主眼として植栽されており、雄花着花量が多い個体が大部分であると考えられることから、採種園内に外部からの花粉が占める割合が高い場合には、そこから生産された種苗の雄花着花特性は外部花粉の影響を受けることで花粉症対策種苗として問題が生じる可能性が高い。Ozawa *et al*(2009)は、採種園内の交配は雄花着花量の多い個体の寄与率が高いことを明らかにしており、Wheeler and jech(1992)が指摘した4つの要因のうち、②と④については、採種園内に占める花粉の割合が交配に大きく影響することを示唆している。

少花粉スギは雄花着花量が少なく、また花粉症対策種苗はミニチュア採種園形式で生産されており、採種木の個体サイズも小さい。そのため、採種園内で流動する花粉量は少なくなり、既存採種園とは異なる交配実態を示す可能性が考えられることから、外部花粉の影響により、期待されるほど雄花着花量が低下しないことが考えられる。ミニチュア採種園形式が各地に造成され、花粉症対策品種の生産体制が整いつつあるが、生産された実生苗木の着花量や林業用種苗としての特性はこれまで十分評価されていない。採種園内における交配実態の調査や、得られた種苗の交配組み合わせ、種苗の特性などを早急に把握する必要がある。

そこで、群馬県林業試験場では、少花粉スギクローンで構成したミニチュア採種園の種子から生産した実生苗をDNA解析により、花粉親を特定し、ミニチュア採種園における交配実態の解明に取り組んだ。また、種子採取区画全体に簡易な被覆を行うことにより、外部花粉混入の軽減効果についても取り組んだ。なお、本研究は、国立研究開発法人森林総合研究所林木育種センター(以下、林木育種センター)を中心に、関東中部の10都県の林業試験研究機関及び宇都宮大学が共同で取り組む、新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「花粉症対策ヒノキ・スギ品種の普及拡大技術開発と雄性不稔品種開発」によって得られた成果である。

II 方法

1 交配実態調査

(1) 調査地

渋川市横堀の林木育種場内、標高約550mの南斜面に造成した少花粉スギ品種で構成しているミニチュア採種園を調査地とした。採種園の概要を表-1に、区画の配置を図-1に、構成しているクロ

ーンを表-2に示す。調査区画は、2010年がC区画、2011年はD区画。2012年はB区画及びE区画とした。

(2) 調査方法

2010年、2011年及び2012年ともに、同じ課題に取り組んだ、群馬県、埼玉県及び茨城県が共通して植栽している、那珂2号、群馬4号、利根6号の3クローン及び、茨城県と共通の周南1号、埼玉県と共通の西多摩14号、筑波1号の2クローンの合計6クローンを調査クローンとして設定した。各調査クローンは林縁を除きかつ調査区画内で隣り合わない箇所から3本ずつ選木した。

(3) DNA解析

花粉親を特定するため、採取した種子を、群馬県林業試験場内で2010年及び2012年の採取種子は調査クローン別に、2011年採取種子は、調査クローン別かつ個体別に発芽させた種子からCTAB法（白石・渡辺, 1995）によってDNAの抽出を行った。花粉親の特定には、シカの血縁関係調査に利用されているCervus3.0（Kalinowski *et al*, 2007）ソフトを使用し、最尤法により8種類のマイクロサテライト（以下、SSR）マーカーのうち、解析精度の高い4種類のSSRマーカーで特定されたDNA塩基配列の塩基数を対立遺伝子と仮定し、その比較により花粉親を決定した。なお、DNAの抽出及び解析は林木育種センターが行った。その結果、花粉親が花粉の少ないスギ品種であれば区画内交配とみなし、それ以外については外部花粉交配として評価した。また、調査クローンを中心とした場合、花粉親（父親）がどこに位置していた採種木が影響しているのかを調べるため、隣接木を1とし、逐次2、3、4として位置関係を確認した（図-2）。

表-1 少花粉スギミニチュア採種園の概要

区 画	造成年	面積(ha)	クローン数	植栽本数	植栽間隔(m)
A	2003	0.02	11	69	1.2×1.2
B	2004	0.03	14	150	1.2×1.2
C	2005	0.03	34	147	1.2×1.2
D	2005	0.03	31	127	1.2×1.2
E	2010	0.03	32	162	1.2×1.2
F	2011	0.03	31	155	1.2×1.2

※クローン数及び植栽本数は2013年時点

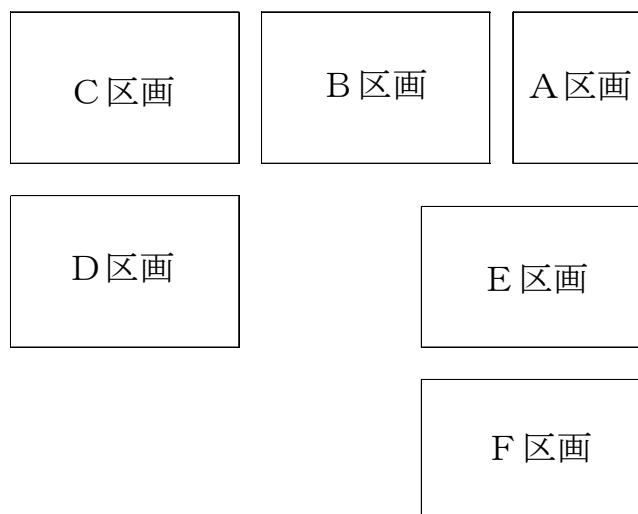


図-1 ミニチュア採種園区画別配置

表-2 ミニチュア採種園区画別構成クローン一覧

コード	No	系統名	A	B	C	D	E	F	計
993	1	多賀2	3	0	1	1	7	7	19
900	2	南那須2	9	0	4	4	6	5	28
782	3	南会津4	9	0	4	2	4	5	24
846	4	河沼1	8	0	2	3	5	6	24
1011	5	那珂5	1	0	0	0	6	6	13
804	6	東白川9	5	0	2	0	5	7	19
1008	7	那珂2	7	0	2	1	7	7	24
1004	8	多賀14	8	0	4	3	5	4	24
895	9	上都賀9	9	0	4	3	3	7	26
930	10	利根3	0	14	13	0	5	5	37
933	11	利根6	2	2	10	8	5	5	32
885	12	坂下2	8	23	9	5	0	0	45
1202	13	西多摩2	0	9	3	2	5	5	24
1175	14	北三原1	0	19	2	1	0	0	22
1176	15	北三原3	0	16	3	3	4	5	31
1178	16	周南1	0	10	4	4	4	4	26
1183	17	勝浦1	0	21	2	4	4	2	33
1174	18	鬼沼10	0	1	2	3	5	5	16
1148	19	比企13	0	2	2	1	4	6	15
1053	20	筑波1	0	7	2	4	5	0	18
1028	21	久慈17	0	12	0	0	0	0	12
948	22	群馬4	0	0	13	13	6	6	38
949	23	群馬5	0	0	12	15	6	4	37
1203	24	西多摩3	0	0	3	2	4	5	14
1213	25	西多摩14	0	0	4	4	5	6	19
1247	26	足柄下1	0	0	1	0	4	2	7
1252	27	足柄下6	0	0	7	4	5	5	21
1264	28	愛甲1	0	0	3	4	5	4	16
1265	29	愛甲2	0	0	3	4	5	5	17
1269	30	津久井3	0	0	3	3	6	3	15
1277	31	丹沢5	0	0	3	3	7	2	15
1292	32	片浦4	0	0	1	1	4	3	9
1293	33	片浦5	0	0	4	4	5	4	17
1277	34	北群馬1	0	7	6	8	6	9	36
1292	35	多野2	0	7	7	8	5	6	33
1159	36	秩父(県)10	0	0	2	2	0	0	4
計			69	150	147	127	162	155	810
クローン数			11	14	34	31	32	31	

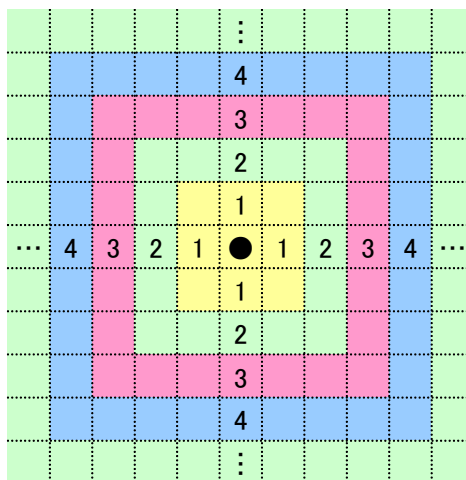


図-2 調査木を中心とした植栽位置の確認

●を採種木とし、隣接木を近い位置から1とする。

2 簡易被覆による外部花粉の軽減効果

外部花粉の影響を軽減する方法を検討するため、2011年2月1日に上面にブルーシートによる簡易被覆をA区画に設置した(図-3、図-4)。その後、2011年6月25日に撤去した。2011年10月15日に調査木から球果を採取し、精選した種子については交配実態調査と同様に、DNA解析を行い花粉親を特定した。また、調査木の花粉飛散時期を確認するため、2011年2月下旬から雄花が着生した枝を棒で叩き、目視により花粉飛散状況を観察した。なお、対照区は同時期に種子を採取したD区画とした。



図-3 簡易防除施設施行状況



図-4 簡易防除施設設置状況

III 結果及び考察

1 交配実態調査

2010年、2011年及び2012年のミニチュア採種園における交配実態を表-3に示す。年度により変動があるが、外部花粉率を示す区画外交配率は、46.2%~68.9%で、3か年の平均は56.7%であった。この結果は、森口ら(2003)の報告と同様な傾向であった。また、周囲のスギ花粉飛散量を見るため、ミニチュア採種園側に設置してある、花粉自動計測器「環境省花粉観測システム(愛称:はなこさん)」のデータを図-5に示す。花粉自動計測器は、ダラム型花粉捕集器から得たデータと比較し高い相関を得ており、花粉飛散量モニタリングにおける有用性は高いと報告されている(畔上ら, 2011)。年度別のスギ花粉空中飛散量をみると、2011年が2010年及び2012年と比較し圧倒的に高く、ミニチュア採種園の外部花粉率の傾向と同様であった。このことから、採種園の交配は周囲のスギ花粉飛散数が影響している可能性があり、花粉飛散量が多い年は外部花粉率が高く、花粉飛散量の少ない年では外部花粉率が低くなることが示唆された。採種園内交配に寄与する花粉親のクローンを明らかにした結果、調査木を中心とした1列目と2列目までの採種木で全体の約80%を占めており、5列目まで行くと全体の約98%であった。このことにより、採種木を中心として、5列目までに位置する採種木が花粉親として寄与しており、特に1列目から2列目までに位置する採種木が花粉親として強く寄与していることが示唆された(図-6)。

表-3 ミニチュア採種園における年度別交配実態

区画	区画内交配率 (%)	外部花粉交配率 (%)
2010年 (C区画)	44.9	55.1
2011年 (D区画)	31.1	68.9
2012年 (B・E区画)	53.8	46.2
平均	43.3	56.7

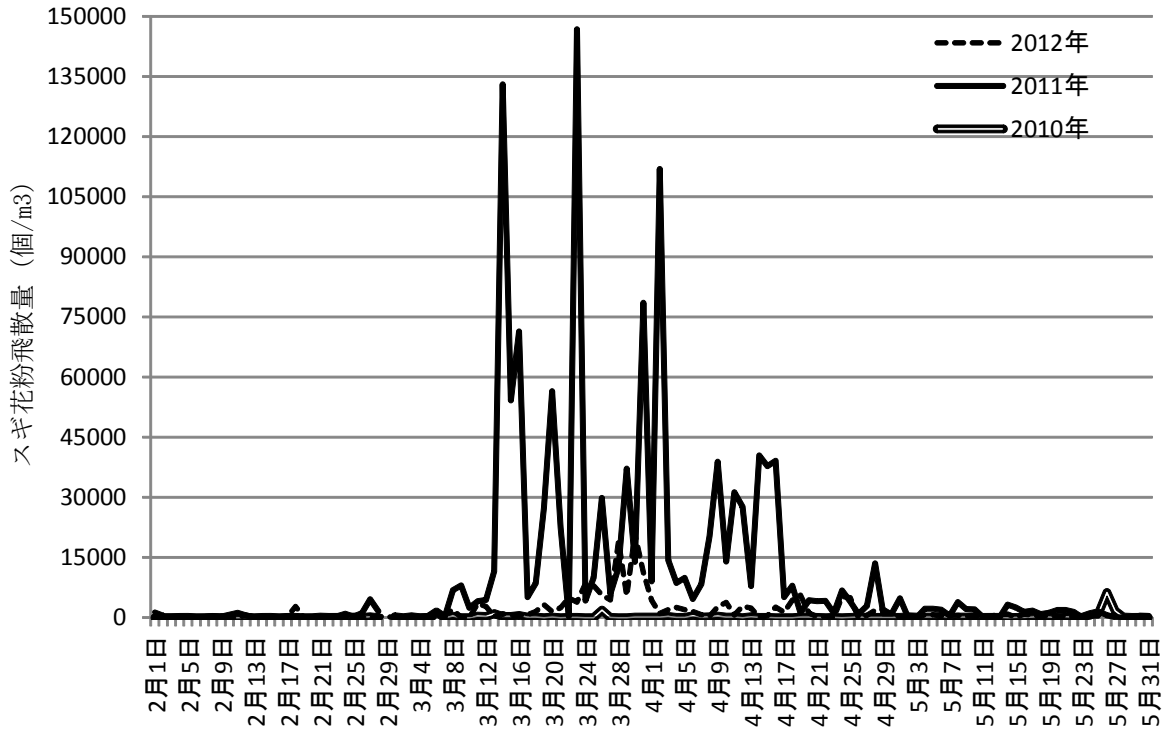


図-5 花粉自動計測器によるスギ花粉空中飛散量

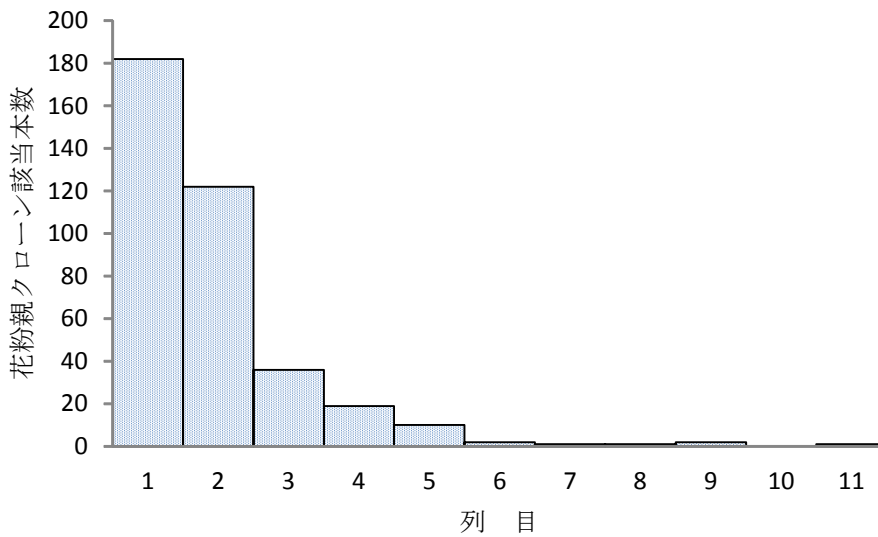


図-6 調査木を中心とした花粉親に寄与する距離

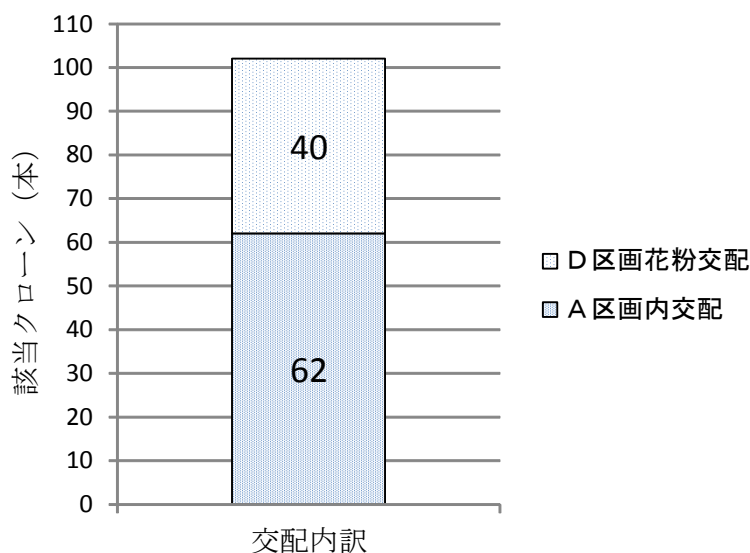
2 簡易被覆による外部花粉の軽減効果

簡易な被覆をしたA区画と被覆をしていないD区画の交配実態を表－4に示す。外部花粉率については、A区画が57.9%、D区画が68.9%で、簡易な被覆をすることにより、被覆をしない場合よりも11.0%外来花粉率が軽減された結果であった。しかし、DNA解析による結果の評価は、花粉親が花粉の少ないスギ品種であれば区画内交配と見なし集計していたため、再度、A区画内での交配とされた花粉親について確認した所、構成クローン以外のクローンが102本のうち40本花粉親として集計されていた（図－7）。したがって、実際におけるA区画の区画内交配は62本、区画外交配は180本となることから、外部花粉交配率は74.3%と、被覆をしていないD区画と比較し高い結果となった。

構成クローン以外の花粉親は、対照区としたD区画の花粉が流動してきたと推測される。スギ雄花開花調査を目視による結果からも、花粉の飛び始めは、A区画、D区画ともに3月22日前後からであったのに対し、花粉の飛び終わりは、A区画が4月22日、D区画が4月6日と、簡易被覆をしたA区画の方が2週間程度長く飛散していた。簡易被覆の設置により、A区画では通常とは異なる飛散期間となり、交配適期における花粉のピークがずれたことが原因の一つと考えられる。なお、調査木における花粉親に寄与した採種木については、D区画同様に、簡易被覆をしたA区画においても近隣の採種木が影響していた（図－8、図－9）。

表－4 簡易被覆のあり・なし別採種園交配実態

区 画	解析数	区画内交配 クローン本数	区画外交配 クローン本数	外部花粉率 (%)
A区画（被覆あり）	242	102	140	57.9
D区画（被覆なし）	615	191	424	68.9



図－7 簡易被覆あり（A区画）における区画内交配内訳

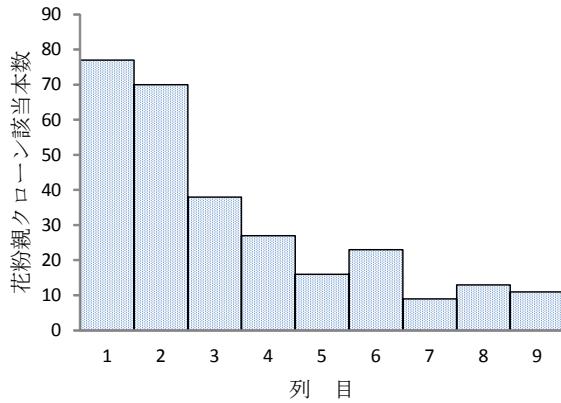


図-8 簡易被覆なし (D区画)

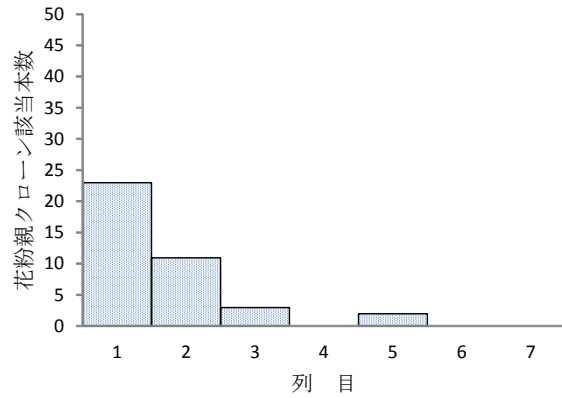


図-9 簡易被覆あり (A区画)

IV おわりに

ミニチュア採種園の交配実態について調査した結果、外部からの花粉混入率は46.2%~68.9%であった。少花粉品種で構成されているミニチュア採種園は、品種そのものが雄花の自然着花が少なく、ジベレリン処理によって強制的に雄花を着花させても、既存の採種園の報告と同程度であることから、外部花粉を軽減するためには、さらなる対策を講じる必要がある。経年変化では、2011年は、2010年と2012年と比較し、高い外部花粉率を示しており、周囲のスギ人工林からの花粉飛散量が影響している可能性が高いと考えられる。花粉自動計測器の値からも2011年はスギ花粉飛散量が多く、その影響が関与していることを裏付けている。また、採種木からの位置に近いほど花粉親としての寄与が高いことから、交配には採種園内に流動する花粉密度が密接に関与すると考えられる。

今回、簡易被覆による外部花粉の軽減効果について、期待した成果は得られなかったものの、改善点を見出すことができた。採種園周囲の花粉量や風向き、交配時期を明らかにし、扇風機などの人工的に送風するシステムを併用することにより、効果的な外部花粉の軽減につながると考えられる。簡易被覆による外部花粉の軽減手法は、花粉飛散時期だけ、簡易な支柱を立て、被覆すればよいことから、経費もそれほど高価ではなく、既に設置されたミニチュア採種園へも適用可能である。また、閉鎖型温室と異なり、湿度や温度による影響が野外とほとんど同一であり、受粉後の球果に対する高温障害などの危険性が少ない点では有効的であるが、大規模な採種園に適用することは困難であり、比較的小面積の対応となることが欠点である。今後この研究成果がスギ花粉症対策の一助となれば幸いである。

引用文献

畔上由佳・内山友里恵・笠原ひとみ・上田ひろみ・吉田徹也・宮坂たつ子・長瀬博・藤田暁(2011), 長野市における1992年から2010年までのスギ・ヒノキ科花粉飛散状況, 長野県環境保全研究所研究報告7, 57-61

Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC (2007), Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. Mol Ecol 16,1099-1106

森口喜成・後藤晋・高橋誠(2005), 分子マーカー情報に基づく採種園の遺伝的管理, 日林誌87, 161-169

- 森口善成・谷尚樹・平英彰・津村義彦(2003), 設計様式および立地環境の異なるスギ採種園における遺伝子流動の比較, 日本林学会大会学術講演集114, 370pp
- Ozawa H., Watanabe J., Chen H., Isoda K., Watanabe A. (2009) The impact of henological and artificial factors on need quality in a Nematobe-resistant *Pinus densiflora* seed oechard, *Silvae. Genet*58, 145-152
- 白石進・渡辺敦史(1995), *rbcL*遺伝子多型を利用したアカマツとクロマツの葉緑体ゲノム識別, 日林誌77, 429-436
- Tsubomura M., Fukatsu E., Nakada R., Fukuda Y. (2012), Inheritance of male flowerar producti on in *Cryptomeria japonica*(sugi) estimated from analysis of a diallel mating test, *Ann. For. Sci*69, 867-875
- Wheeler N. C. and Jech K. S. (1992), The use of electrophoretic markers in seed orchard resear ch, *New Forest*.6, 311-328