

【解説】

講座：林木育種の現場の ABC (4)

実生苗の養成技術 -クロマツの人工交配技術-

倉本 哲嗣^{*1}・藤澤 義武²

人工交配の意義

林木では、有性繁殖で実生苗を養成し、これを造林等に供するのが一般的である。そのなかでも、人工交配技術は遺伝・育種学的分野における基本中の基本とも言える基盤技術である。人工交配とは特定の両親を人為的に受粉・受精させることで後代を得る技術であり、血縁関係を確実に管理できるのが最大の利点である。しかし、後日紹介する採種園方式などにくらべて、各段に多くの労力を必要とすることから、山行き苗の増殖に用いられることは希である。

育種では、主に品種改良を目的として、両親の長所を次代に受け継がせ、優れた能力を有した新しい品種を創出するのに利用され、遺伝研究では成長や材質、病害抵抗性などの形質がどのように後代に伝わるのかを理解するために、両親と後代の特性データの比較検討、さらには各種の遺伝パラメータの算出に利用される。この遺伝パラメータは、育種計画を策定する上で欠かすことのできない情報であり、林木育種の研究を進める上でも重要である。また、近年、DNA 分析技術の進歩によって、各種の DNA 分析方法が開発されているが、その技術を用いた育種技術の開発、特に長い年月を要する林木の育種期間の短縮に資する技術の開発においても、人工交配によって育成され、血縁関係を管理した実生材料が必要不可欠であることはいまでもない。

以上に示したことから、実生苗の養成技術を紹介するのにあたり、まずは人工交配技術から始めることとする。まずはクロマツの人工交配から紹介するが、これはマツは人工交配が比較的容易であること、マツノザイセンチュウ抵抗性品種の実用化が進む中で、

特に海岸保安林の再生等から、クロマツの重要性が高まっていること等による。

クロマツと人工交配

クロマツは潮風に強いことなどから、海岸部の環境への適応が良く、このため、古くから海岸林の造成に利用され、田畑や家屋などを飛砂の害や潮害から守ってきた。しかし、明治時代に始まった「松くい虫」と呼ばれる「マツ材線虫病」によるマツ林の被害は今や北海道を除く日本各地のマツ林で確認されている。特にクロマツは本病害に弱いことから、クロマツ海岸林の被害は甚大であり、クロマツの林が持つ防風、飛砂防止等の環境保全機能が損なわれるばかりでなく、有名松原が次々と姿を消すなど、景勝地の観光資源としての価値を低下させるなど、被害は計り知れない。この、マツ材線虫病に対して抵抗性を有する抵抗性品種の開発が昭和 53 年頃から始まっており、平成 25 年 3 月末で、クロマツの抵抗性品種が 128 品種、アカマツの抵抗性品種が 217 品種開発されている。

これまでの研究によってマツノザイセンチュウに対する抵抗性が遺伝的に支配された形質であること、それは幾つかの遺伝子によって支配されていることなどが推定された。このことは、抵抗性品種同士を人工交配することによって抵抗性に関与する遺伝子が後代に集積されることで、より強い抵抗性を持った品種を開発できることを示唆するものであり、このため、特にクロマツで抵抗性品種を両親とした人工交配によって血縁関係が明らかな後代の育成を進め、これらからより抵抗性の高い個体を選抜するとともに、こうして

*E-mail: norikura@affrc.go.jp

¹ くらもと のりつぐ 森林総合研究所林木育種センター九州育種場² ふじさわ よしたけ 森林総合研究所林木育種センター

育成した両親と後代の系を DNA 分析することで、抵抗性の遺伝子を特定するための作業が鋭意進められているところである。

クロマツの人工交配の実際

交配袋のとりつけ：人工交配では、雌花に花粉親以外の花粉が受粉しないよう他からの花粉を確実に遮断する必要がある。そのため、雌花が開花するまえに適切な時期を選択し、人工交配の対象とする枝について、雌花を残し、雄花を全て除去したうえで、不織布や紙で作った袋状の覆い、すなわち交配袋を当該する枝の主軸にかぶせて口を縛り、花粉親以外から飛翔してくる花粉を確実に遮断する。交配袋の材質は、当該樹種の花粉は通さないが通気性に優れ、さらには降雨によって濡れても破れない性質の紙、もしくは不織布を適当に選択して自作するか、市販のものを利用する。交配袋を雌花が着生した枝の主軸にかぶせ、袋の入り口は脱脂していない綿（脱脂綿とは異なり、吸湿しにくい）でふさぎ、ビニタイ（商品名：園芸用などに幅広く使用されている結束用品で、針金をビニールでコーティングしてあり、結束が容易であるとともに適度の耐候性がある。）で縛って袋を閉じる（写真-1）。



写真-1 交配袋を配置した様子

開花時期は、その年の気象条件や、個体によって異なるので（戸田 2004）、地域ごとに開花時期を事前に十分理解しておくとともに、各個体の進行状況を開花前から適宜観察し、袋をかける時期を決める。なお、

九州地域では4月の第一週から観察を始め、当年伸長し始めた軸が10 cm程度になり、雌花が軸の先端から少し顔を出した段階（写真-2）で交配袋を設置する必要がある。交配袋を取り付けた後にも主軸は成長するので、主軸の伸長成長に合わせて交配袋をずらしていく必要がある。



写真-2 雌花が軸の先端から少し顔を出した状態
軸の先端に出てきているのが雌花。

交配袋の取り付けに際しては、雄花（写真-3）を指で軸をこするようにして雄花を取り除く作業（除雄）を行う。除雄は、雄花が開花する前に行い、発達が十分でないときに除雄を行うと、雄花を取り残すことがあり、そのような場合には交配袋内で花粉が飛散し、自殖してしまうので、注意して作業を行う必要がある。



写真-3 クロマツの雄花
軸の側面についている球状のものが雄花。

花粉の準備：人工交配に際しては花粉親、すなわち父親となる個体から花粉を予め集めておく必要がある。この花粉を準備する法を次から示す。

雄花穂と花粉の採取：採取時期は雄花の外観的な発達程度を目安として決定する。クロマツの雄花は、まず保護鱗片を破り、緑色の雄花が外部に露出する。さらに進むと黄緑色から黄色になり、やがて開葯する。雄花の着生した当年伸長している軸（雄花穂）の採取時期は開葯寸前のものが最適である。一般的な見分け方は、雄花を指でつぶす方法である。これは雄花をつぶすと水分がほとんどなく、サラサラとしたパウダー状となっていることで確かめる方法である。ただし、クローンや個体、さらには同一個体内でも採取位置によって異なるので注意する。また、すでに花粉が飛散してしまった場合、採取できる花粉量がすくなくなるだけでなく、採取個体以外の花粉が混ざる可能性が高いので、これらからの採取は避ける。なお、雨天の翌日が晴天となり、気温が上昇した場合には急速に開葯が進行するので特に注意して対処する。

採取した雄花穂は、切口から浸出したヤニに花粉が付着することで、花粉採取量が減少する。このため、採取した雄花穂は軸を取り除き、雄花のみを通気性・乾燥性に優れたグラシン紙製の袋（花粉採取袋）に入れ、クリップで室内に吊し開葯させる。また、軸を取り除くのが面倒な場合は、タマネギネットあるいは炊事場の三角コーナーに使用するようなネットの中に雄花穂を入れ、これを採取袋内に入れることで穂に花粉が付着しないようにするのも効果的である。花粉採取袋に雄花を入れすぎたり、あるいは湿度が高いと、カビや細菌の発生及びそれによる花粉の固着が生じて、花粉の活性低下にもつながる。このため、採取袋には3～5割程度の雄花を入れ、エアコンのドライ運転を利用するなど、袋内の湿度が高くないように配慮するのが良い（写真-4）。

花粉の採取は、採取袋を振って袋の底に花粉が溜ったことを確認してから、花粉精選機のような目の小さいフルイで爽雑物を除去し行う。開葯が不十分な場合は袋の採集口を絶縁用ビニールテープでふさぎ再び開葯するのを待って、再度花粉を採集する。なお、花粉精選機のようなフルイが準備できないときには、使い古したナイロン製のストッキングのような目の細かい網でも代用できる。

採取した花粉は、薬包紙で包んだシリカゲルとともに試験管などに詰め、乾燥剤を入れたデシケーター内

で、よく乾燥させる。このとき十分に花粉を乾燥させないと、カビが発生し、花粉の質が低下してしまうので、花粉の湿気によって変色しなくなるまでシリカゲルの交換を繰り返す。十分に乾燥した後は、交配に使用するまでの間、家庭用冷蔵庫等で冷温保存する。



写真-4 雄花穂を花粉採取袋に入れた状態

花粉の貯蔵：クロマツを母樹としてアカマツとの種間交雑を行う場合、アカマツの雄花はクロマツの開花がおおむね終わった頃に開花することから、前年度にアカマツの花粉を予め貯蔵しておく必要がある。また、雄花着生はクローン、個体さらに年によって異なるので、計画に合わせた交配のために豊作年に花粉を大量に採取し、貯蔵しておくのがよい。

貯蔵に際しては、花粉を精選後良く乾燥させ、 -40°C の冷凍庫に貯蔵する。保存した花粉を使用する際には、冷凍庫から出したあと、結露して湿気を吸収しないように注意しながら乾燥状態で解凍すると、花粉の状態が良いようである。

冷凍貯蔵したマツの花粉が受粉後花粉管を発芽しなければ、受精させることができない。このため、交配に使用する前に花粉管の発芽を調査したほうが良い。冷凍貯蔵した花粉の花粉管発芽率について、戸田(1990)は、クロマツほかアカマツ、タイワンアカマツの花粉を対象に -40°C の超低温貯蔵を3年間行った結果をまとめている。この中で、花粉の花粉管発芽率は年々低下するが、貯蔵前に発芽率の高かったものが3年後にも高い値を示し、貯蔵当時と3年後の花粉の発芽率は相関係数 $r = -0.94$ と高い相関であることを示している。筆者らの経験では、平成15年に採取・冷凍保存した抵抗性クロマツの花粉は、7年後の平成22年の春の段階でも十分な花粉管の発芽を示すことを確認している。

なお、冷凍貯蔵した花粉は受粉までの間に輸送や短期再貯蔵が行われるが、そのような状況下における花粉管の発芽について戸田 (1990) は、室温、冷蔵ともに1週間以内であれば問題はないと結論づけている。

交配：人工交配を効果的に行う時期は、雌花に珠孔液の分泌が認められる段階が最もよいと考えられる (斎藤ら 1979 ; 橋詰 1981)。

しかし、交配袋内は外部よりも高温であるため雌花の発達が早いことが予想されること、日々の気象条件は一定でないこと、雌花の開花は、個体や環境条件によって異なることから、確実な時期を捉えることは難しい。可能であれば窓付の交配袋を使用して、花粉が雌花に確実にかかるようにする。また、交配は一度でなく2~3回行った方が確実である。幸いなことに、マツの花粉は降水による水分で破裂することはないので、雌花に珠孔液の分泌が始まろうとしているときに花粉を花粉銃で (写真-5) 注入しておき、1ないし2日おきに交配袋を揺すって袋内の花粉を飛散させ、雌花に受粉させてもよい。



写真-5 花粉銃による交配袋への花粉の注入

除袋：交配袋を取り付けたままにしておくと、軸の成長を阻害するだけではなく、せっかく受粉した雌花 (この段階になると球果状となる：写真-2) が交配袋に触れて損傷する。また、交配袋内の高温によって受粉した雌花の成長が停止し、落果することもある。よって、マツの雄花の開花が終わった頃を見計らって、交配袋をはずす。その後、雌花は受粉が完全ならば成長を続け、次の年の9~10月頃、交配種子を採取することが

できる。

人工交配によって得られたマツの種子について筆者らのこれまでの経験から、クロマツでは1球果当たり平均15個の種子を、アカマツでは20個の種子を得ることができる。また、その種子を精選したうえで、播種した場合、それらの種子の発芽率はおおむね90%を超える。種子の精選等については、別の機会に詳細を述べることにする。

なお、今回はクロマツでの人工交配を紹介したが、アカマツであっても、開花時期が異なることを除けばほぼ同じである。

参考文献

- 橋詰隼人 (1981) 林木の交配に関する基礎的研究 (IX) -アカマツ、クロマツの開花、受粉および人工受粉の適期について-。鳥取大学農学部研究報告 33: 34-40
- 斎藤幹夫・山本千秋・萩原訓・河野耕造・下平勝三 (1979) クロマツ雌球花の開花と受粉の適期。林業試験場研究報告 302: 79-96
- 戸田忠雄 (1990) マツ交配における花粉管理と交配技術。林木育種センター研究報告 8: 123-127
- 戸田忠雄 (2004) アカマツおよびクロマツのマツ材線虫抵抗性育種に関する研究。林木育種センター研究報告 20: 83-217