

ミツマタの倍数性育種 —高収量 6 倍体を産出する優良母樹の選抜—

関西育種場 遺伝資源管理課 山口秀太郎 竹田宣明※ 育種課 磯田圭哉※※ 河合慶恵
高島有哉 林木育種センター遺伝資源部 山田浩雄※※※ 保存評価課 玉城聡

1 はじめに

ミツマタ (*Edgeworthia chrysantha* Lindley) は、中国原産の落葉低木で、和紙原料として古くから栽培されており、紙幣用としても利用されている。しかし生産地の過疎化で生産量が減少（公益財団法人日本特産農産物協会 2024）し、現在、紙幣は原材料の 9 割をネパールからの輸入に頼っている（株式会社かんぼう 2017）ため、国産ミツマタの安定供給の確立が課題となっている。

ミツマタの栽培品種は 4 倍体であることが明らかにされている（中平 1954）が、4 倍体と人為 8 倍体との交配により育成した 6 倍体は、成長が良好で皮の収量が多いとされており（中平 1957, 中平・江藤 1958）、その活用が試みられた。しかし、確実に 6 倍体を得るためにはさし木増殖で生産する必要があるが、実生苗に比べ増殖に手間がかかることから普及が進まず、6 倍体は保存もされないまま現在に至っている（独立行政法人種苗管理センター 2009）。そこで我々は、高収量 6 倍体を産出できる 4 倍体と 8 倍体クローンを選抜し、それらによる採種園を作ることによって効率的に 6 倍体実生苗を生産することができるようになり、普及につながるのではないかと考えた。

このため本研究では、4 倍体と複数の人為 8 倍体との交配により新たに 6 倍体を作成し、6 倍体の産出率を明らかにするとともに、成長量調査を実施し母樹の評価を行うことで、高収量 6 倍体苗生産の可能性を探ることを目的とした。なお、本研究は第 5 期中長期計画の林木育種基盤の充実による多様な優良品種の開発の一環として行った。

2 材料と方法

2.1 8 倍体ミツマタの作出

はじめに、6 倍体ミツマタの親となる 8 倍体を人為

的に作出するために、2014 年から 2016 年の 6 月までに、岡山県と高知県及び徳島県から 13 個体のミツマタの自然交雑種子を採取した（表 1）。

表 1. ミツマタ種子採取地一覧

採取年	産地	個体数
2014年6月	岡山県英田郡西栗倉村	5
2015年6月	高知県香美市物部町久保影ヒカリ国有林11林班	1
・	岡山県美作市 阿草山国有林93い林小班	1
・	徳島県那賀郡那賀町	1
・	不明	1
2016年6月	高知県長岡郡本山町桑ノ川山国有林5林班	4

これらの種子をまきつけた後、人為 8 倍体を作成（岡村 2001）するため、根が 3mm 程度伸長した種子を順次、0.5%のホルヒチン溶液をしみこませた綿で被覆し、48 時間処理後に水洗いした。処理後の発芽種子はさらに育苗を行い、四国増殖保存園（高知県香美市）のスギ保存林の林床に植栽した。

ホルヒチン処理により得られた 165 個体の倍数性を明らかにするため、フローサイトメーターによって相対 DNA 量を測定した。各個体の葉から約 7mm 四方のサンプルを切り取ってプラスチックシャーレに静置し、染色液（Qstain UV ploidy, (株) サイトテックス）を 300 μ l 加えてカミソリで細かく刻み、細胞核を遊離させて染色した。この懸濁液に 200 μ l の染色液を追加し 30 μ m メッシュのフィルターで濾過して測定用試験管に移した。さらに、染色液を 1000 μ l 加え、プロイディアナライザー Quantum P（(株) サイトテックス）を用い DAPI 蛍光強度から相対 DNA 量を測定した。倍数性の判定方法としては、分析の結果出力される DAPI 蛍光強度のヒストグラムをもとに、ピークの相対的な位置関係から判定する必要がある。そのため、倍数性が既知のサンプルを対照として同時に分析し、出力結果から対照のピーク位置と比較することにより倍数性を判定した。

植栽した個体のうち 8 倍体の特徴（「葉が濃緑で厚く」、「葉の縁が波状」）をもつ 10 個体（表 2 母樹 No. 1-6、15-18）が 2019 年 3 月に開花したため、同時期に開花した任意の 4 倍体個体を花粉親に用いて人工交配を実施した。人工交配は除雄及び袋掛けはせず、ピンセットを用いて、花粉親となる 4 倍体の葯を挟み取り、8 倍体の特徴をもつ個体の雌しべに付着させる簡易な交配手法で行った。その後、人工交配によって得られた種子を 2019 年 6 月に播種・育苗した。また 8 倍体母樹の対照として 8 個体（表 2 母樹 No. 7-14）から、自然交雑種子を採取し、播種・育苗した。育苗した 18 母樹由来の実生苗 198 個体を 2022 年 4 月に山陰増殖保存園（鳥取県智頭町）のスギ保存林の林床へ植栽した。試験地造成にあたって、母樹間の成長を比較するため同一母樹由来の個体が隣り合わないようランダムに植栽した。成長比較試験地を造成後、母樹及び試験地の全個体の倍数性を確認するために同年 7 月と 8 月に葉を採取し、2.1 と同様に倍数性を分析した。

成長比較試験地において 2023 年 11 月に植栽後 2 成長期の成長量を測定した。成長量の測定は樹高と根元径の他に、和紙の原料として使用する場合の収穫量に影響する樹皮の面積を調査した。樹皮面積は各節の直径と節間までの枝長を測定し樹皮面積とした（図 1）。



得られたデータから、下式の線型混合モデルを用いて、母樹及び倍数性の成長に関する遺伝的能力を予測した。

$$Y_{ij} = \mu + f_i + p_j + fp_{ij} + e_{ij}$$

ここで、 Y_{ij} は i 番目の母樹の j 番目の倍数性の集団の測定値、 μ は全体平均、 f_i は i 番目の母樹の変量効果、 p_j は j 番目の倍数性の変量効果、 fp_{ij} は i 番目の母樹の j 番目の倍数性の変量効果、 e_{ij} は i 番目の母樹の j 番目の倍数性の集団の残差である。

以上の統計解析は R における lme4 パッケージの lmer 関数を用いた。

3.1 8倍体及び6倍体ミツマタの作出

コルヒチン処理により得られた 165 個体の倍数性を分析した結果、40 個体が 8 倍体（人為 8 倍体）と判定された。倍数性を調査した際、分析した 165 個体の中には個体内のサンプルの採取位置によって蛍光強度のピーク位置が変動する個体、1 サンプルの分析の結果 2 か所にピークが出現する個体（図 2）など、同一個体内に異なる倍数性の細胞が混じっている「キメラ」と考えられる個体があった。

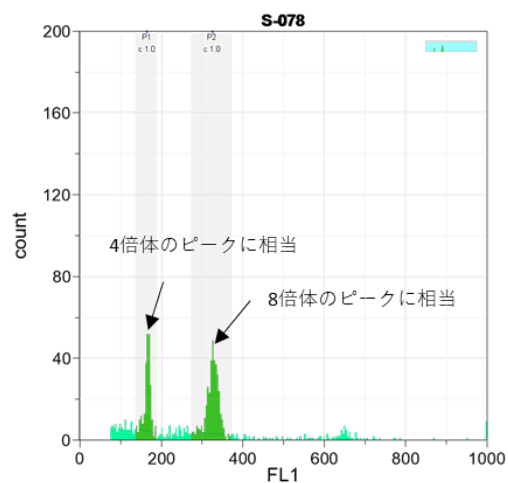


図 2. 1 サンプルの中で、ピークが 2 か所出現する個体の分析結果

そこで、成長比較試験地の母樹の中でキメラと考えられる個体については、追加調査として1株から2箇所または3箇所から葉を採取し、それらの倍数性を分析した。

その結果、母樹の倍数性は6個体が8倍体、9個体が4倍体、1個体が7倍体、2個体がキメラと判定され、人工交配に用いた10個体のうち6個体が8倍体であることが確認できた（表2 母樹 No. 1-4、6、16）。

さらに、成長比較試験地に植栽した個体の倍数性を分析した結果、85 個体の 4 倍体、106 個体の 6 倍体及び 3 個体の 8 倍体が作出できたことを確認した（表 2）。母樹の倍数性別の子の倍数性の産出率については表 3 のとおりで、4 倍体の花粉を用いて簡易な人工交配を行った結果、8 倍体母樹からの 6 倍体の産出率は 94% と高かった一方、8 倍体の産出率は 4% と低かった。

表 2. 成長比較試験地の倍数性の判定結果及び交配手法

No.	母樹		産出された子の倍数性				合計
	倍数性の判定	交配手法	4倍体	6倍体	8倍体	未分析	
1	8倍体	人工交配		4		1	5
2	8倍体	人工交配		1			1
3	8倍体	人工交配		28			28
4	8倍体	人工交配		24	3		27
5	キメラ	人工交配		7			7
6	8倍体	人工交配		4			4
7	4倍体	自然交雑	6	2			8
8	キメラ	自然交雑	13	11			24
9	4倍体	自然交雑		2			2
10	4倍体	自然交雑	18	2		1	21
11	4倍体	自然交雑	20	3		1	24
12	4倍体	自然交雑	6	4			10
13	4倍体	自然交雑	10	2			12
14	4倍体	自然交雑	4	1			5
15	7倍体	人工交配		2			2
16	8倍体	人工交配		5			5
17	4倍体	人工交配	2	1			3
18	4倍体	人工交配	6	3		1	10
合計			85	106	3	4	198

表 3. 母樹の倍数性と産出された子の倍数性の関係

母樹の倍数性	子の倍数性			
	4倍体	6倍体	8倍体	未分析
4倍体	72 (76%)	20 (21%)	0 (0%)	3 (3%)
8倍体	0 (0%)	66 (94%)	3 (4%)	1 (1%)
7倍体	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
キメラ	13 (42%)	18 (58%)	0 (0%)	0 (0%)

※表中の数字は産出数、()内は割合を示す
 ※※交配手法は表 2 に示す

ミツマタの栽培品種については、自家不和合性による不稔現象が確認されている（中平 1953）ことから人為 8 倍体においても、自殖種子が少ないため 8 倍体の産出率が低かったと考えられる。

本研究では、8 倍体の花数が限られていたため、8 倍体は母樹のみの利用とし、人工交配を実施した。このような 8 倍体花粉が少ない中では、8 倍体花粉が 4 倍体母樹と自然交雑している可能性は低いと考えていた。しかし、4 倍体母樹からも 6 倍体が一定数産出されていた（表 2、表 3）。これは、8 倍体花粉が自然交雑下で効果的に受粉に関与できたためと考えられる。この結果から今後、4 倍体と 8 倍体を混在させた状態

で自然交雑させた場合に、母樹の倍数性によって 6 倍体の産出率に影響があるか検証すべきと考える。

3.2 成長比較試験

成長比較試験地における植栽後 2 成長期の平均樹高は 67.86cm、平均根元径は 10.61mm、平均樹皮面積は 192.9 cm²であった。また、樹高は最大値 132cm、最小値 15cm、根元径は最大値 25.34mm、最小値 4.42mm 及び樹皮面積は最大値 1220.78 cm²、最小値 23.73 cm²であった。倍数性別に比較すると 4 倍体は平均樹高 64.63cm、平均根元径 10.22mm、平均樹皮面積 178.95 cm²、6 倍体は平均樹高 74.51cm、平均根元径 11.45mm、平均樹皮面積 224.99 cm²、8 倍体は平均樹高 60.67cm、平均根元径 9.31mm、平均樹皮面積 121.69 cm²となった。植栽後 2 成長期の樹高、根元径、樹皮面積について、倍数性ごとの育種価を線形混合モデルにより予測した結果（図 3）、6 倍体の順位が高く、6 倍体は成長が良好とした過去の調査（中平 1957, 中平・江藤 1958）と同様の傾向を示した。

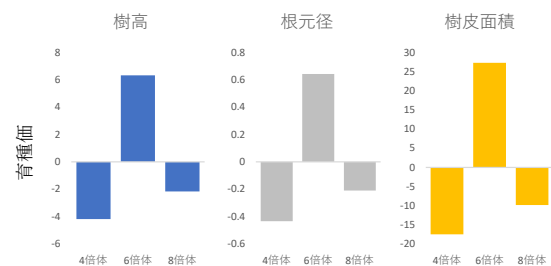


図 3. 植栽後 2 成長期の倍数性別の育種価

次に、それぞれの母樹ごとに成長量を比較するために、母樹及び倍数性別の樹高と根元径及び樹皮面積の平均を表 4 に示す。さらに、樹皮面積について、母樹と倍数性ごとの育種価を線形混合モデルにより予測した結果、母樹 13 と母樹 8 由来の 6 倍体の順位が高かった（図 4）。一方、母樹 3 や母樹 5 由来の 6 倍体は順位が低く、6 倍体がすべてよいわけではないことが唆示された。このことから、6 倍体を産出する優良母樹の選抜が重要であることが示された。加えて、今回の結果では、4 倍体である母樹 13 から産出された 6 倍体の育種価の順位が高かったことから、4 倍体を母樹とした方が高成長になる可能性を否定できない。このため今後、4 倍体と 8 倍体の正逆交配を実施し、母樹の倍数性による成長量の違いについて明らかにする必要

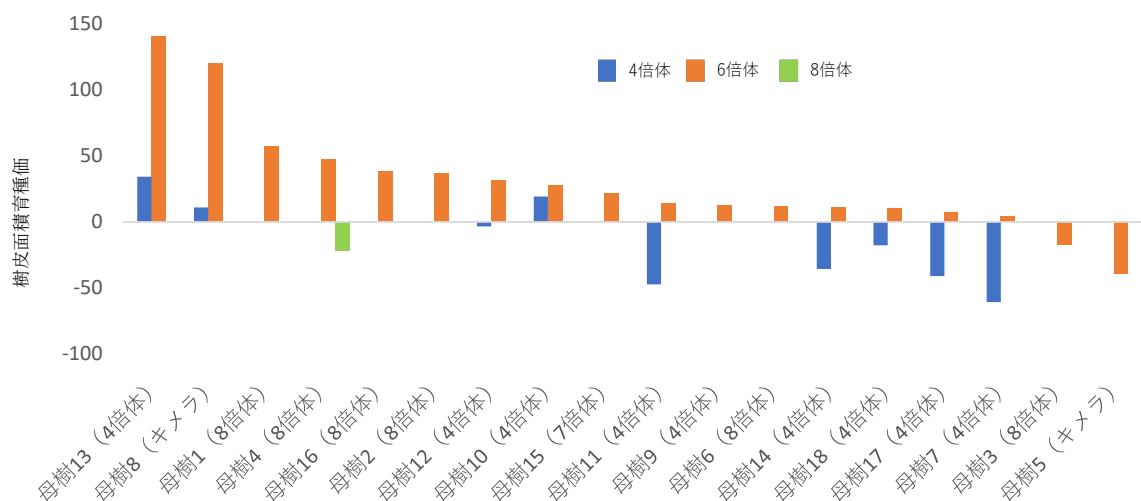


図 4. 母樹及び倍数性別の樹皮面積育種値（植栽後 2 成長期）

表 4. 母樹及び倍数性別の樹高、根元径、樹皮面積の平均値（植栽後 2 成長期）

母樹No	母樹の 倍数性	子の 倍数性	個体数	平均樹高 (cm)	平均根元径 (mm)	平均樹皮面積 (cm ²)
1	8倍体	6倍体	4	83.25	61.50	292.17
2	8倍体	6倍体	1	80.00	57.00	282.77
3	8倍体	6倍体	28	67.40	55.88	165.10
4	8倍体	6倍体	24	80.04	58.26	247.71
		8倍体	3	60.67	47.33	121.69
5	キメラ	6倍体	7	55.29	45.14	99.85
6	8倍体	6倍体	4	62.67	47.33	174.70
7	4倍体	4倍体	6	57.67	48.33	92.82
		6倍体	2	73.00	63.00	170.71
8	キメラ	4倍体	13	63.00	47.00	195.56
		6倍体	11	82.82	60.45	364.24
9	4倍体	6倍体	2	64.50	55.00	162.56
10	4倍体	4倍体	18	77.06	53.17	226.41
		6倍体	2	77.00	53.50	161.42
11	4倍体	4倍体	20	57.89	46.63	136.74
		6倍体	3	86.33	63.33	205.72
12	4倍体	4倍体	6	60.83	45.33	204.32
13	4倍体	4倍体	10	72.25	48.88	228.20
		6倍体	2	111.50	75.50	652.29
14	4倍体	4倍体	4	57.25	39.50	137.92
		6倍体	1	66.00	56.00	144.61
15	7倍体	6倍体	2	76.50	70.00	197.79
16	8倍体	6倍体	5	74.40	59.40	243.73
17	4倍体	4倍体	2	41.00	24.00	49.80
		6倍体	1	62.00	57.00	127.59
18	4倍体	4倍体	6	61.17	42.67	183.68
		6倍体	3	69.33	48.33	163.16

がある。これらの知見を蓄積することは、将来的に 6 倍体種子生産用の採種園を設計する際、母樹と花粉親の選定に資する有益な情報となると考えられる。

4 謝辞

本研究を進めるにあたり、関西育種場及び林木育種センター遺伝資源部の皆様には多大なご協力をいただ

いた。特に岡村政則氏には材料の作出など本研究の基盤の確立、近藤禎二氏には倍数性の分析にご尽力いただいたことに対して、心より感謝申し上げます。

5 引用文献

公益財団法人日本特産農産物協会（2024）地域特産作物（工芸作物、薬用作物及び和紙原料等）に関する資料，令和 4 年産，59

株式会社かんぼう（2017）ネパール国「みつまた」の栽培・加工技術の導入に係る案件化調査 業務完了報告書，20-30

中平幸助（1954）ミツマタの品種間雑種（F1）について．林業試験場研究報告，76，73-80

中平幸助（1957）ミツマタの人為 6 倍体について．育種学雑誌，7(2)，56-62

中平幸助・江藤利光（1958）ミツマタの人為 6 倍体の収量とせん維および紙質について．育種学雑誌，7(3)，29-32

独立行政法人種苗管理センター（2009）遺伝資源 栽培・特性調査マニュアル みつまた，11

岡村政則（2001）ミツマタの人為 8 倍体の育成．日林九支研論文集，54，67-68

中平幸助（1953）ミツマタの稔性について．育種学雑誌，2(3)，150-153