

研究資料

林木花粉の屋外での生存期間

近藤禎二⁽¹⁾・谷口 亨⁽²⁾・渡邊敦史⁽¹⁾・栗田 学⁽¹⁾・大宮泰徳⁽¹⁾・福田陽子⁽¹⁾・板鼻直榮⁽³⁾

Teiji Kondo⁽¹⁾, Toru Taniguchi⁽²⁾, Atsushi Watanabe⁽¹⁾, Manabu Kurita⁽¹⁾,
Yasunori Ohmiya⁽¹⁾, Yoko Fukuda⁽¹⁾ and Naoei Itahana⁽³⁾

Survival period of some tree species pollen in outside condition

要旨：組換え林木の安全性を評価する上で、林木の生殖・繁殖特性を把握するために、今後組換えの対象と考えられるスギ、ヒノキ、アカマツ、コナラ、ドロノキ、シラカンバの6種について花粉の屋外での生存期間について調査した。採集した花粉はグラシン紙の袋に入れて屋外の百葉箱の中に吊し、ほぼ1週間おきに発芽率を調査した。スギでは、採集時の発芽率は84.2%であったが、徐々に低下していき、8週目頃からほとんど発芽しなかった。ヒノキの花粉は、採集時の発芽率は93.5%だった。1週目を過ぎるとスギと同様に50%を割ったがその後の落ち込みが急で、4週目にはほとんど発芽しなかった。アカマツの花粉は、採集時の発芽率は99.3%、6週目でも90%を上回る高い発芽率を維持した。その後8週目においても70%を越える発芽率がみられたが、花粉が水分を含みカビが発生したことから試験を継続できなかった。コナラの花粉は、採集時の発芽率は80%を越え、2週目でも発芽率が大きく落ちなかったが、3週目以降はほとんど発芽しなかった。ドロノキの花粉は、採集時の発芽率は約18%と低く、2週目には発芽しなかった。シラカンバの花粉は、採集時の発芽率は約35%あったが、2週目にはほとんど発芽しなかった。

(1) 林木育種センター

〒319-1301 茨城県日立市十王町伊師3809-1

Forest Tree Breeding Center

3809-1 Ishi, Juo, Hitachi, Ibaraki 319-1301 Japan

(2) 林木育種センター九州育種場

〒861-1102 熊本県菊池郡西合志町須屋2320-5

Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center

2320-5 Suya, Nishigoshi, Kikuchi, Kumamoto 861-1102 Japan

(3) 林木育種センター関西育種場

〒709-4335 岡山県勝田郡勝央町植月中1043

Kansai Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center

1043 Uetsukinaka, Shoo, Katsuta, Okayama 709-4335 Japan

1 はじめに

組換え林木の安全性を評価する上で、林木の生殖・繁殖特性を把握しておく必要があるため、わが国の重要な林業用樹種について解明を進めている。本報告では、今後遺伝子組換えの実施対象となる可能性のある樹種のうち、主要針葉樹としてスギ、ヒノキ、アカマツについて、広葉樹については樹種が多く特定が困難であるが、林業用に利用されることの多いコナラ属、ハコヤナギ属およびカバノキ属の中からコナラ、ドロノキ、シラカンバの3種を選び花粉の屋外での生存期間について調査した。なお、本研究は農林水産省農林水産技術会議が実施する「遺伝子組換え生物の産業利用における安全性確保総合研究」の一環として実施したものである。

2 材料と方法

スギ、ヒノキ、アカマツについては2003年に調査した。スギについては、林木育種センター（以下「センター本所」という）の交配園に植栽されている精英樹、足利1号、西川7号、久慈8号、水戸9号の4個体から花粉飛散時期の3月12日に直接花粉を採集した。ヒノキについては、交配園に植栽されている精英樹、鯉沢8号、加茂3号、野尻3号、恵那3号の4個体から雄花のついた枝を3月下旬に採取し、水ざしして雄花のついた枝をグラシン紙の袋で包んで花粉を採集した。アカマツについては、交配園に植栽されているマツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ、赤坂163号、阿南55号、宮島54号、宇和島39号の4個体から5月9日に雄花を採取し、グラシン紙の袋に入れ、種子乾燥室内に吊して乾燥させ花粉を採集した。

コナラ、ドロノキ、シラカンバについては2004年に調査した。コナラは、センター本所構内に自生している3個体から4月30日に雄花序を採取し、グラシン紙の袋に入れ、種子乾燥室内の日陰におき、当日夕方に実験室内のドラフトに移し、翌日の5月1日に花粉を採集した。ドロノキは、北海道育種場（北海道江別市）構内に生育している、王子、カサアブラ隣接天然木、B11564、B11582苦小牧No.1の4個体から4月28日に雄花序のついた枝を採取し、すぐにセンター本所へ送付されたものを4月30日に温室にて枝を水ざしし（写真-1）、5月2日に王子およびB11564の2個体、5月4日にカサアブラ隣接天然木および苦小牧No.1の2個体の開花した雄花（写真-2）から花粉を採集した。

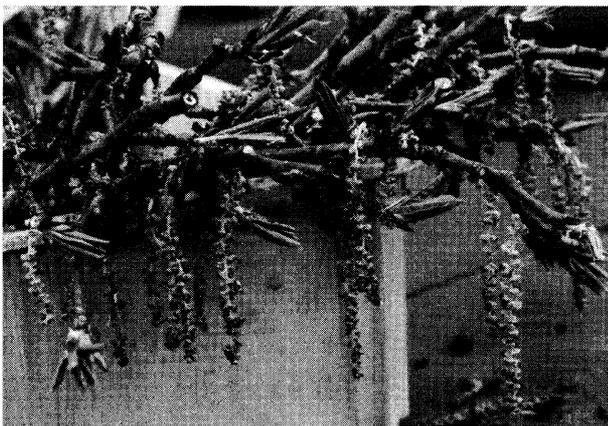


写真-1 温室内で水ざしした雄花序のついたドロノキの小枝

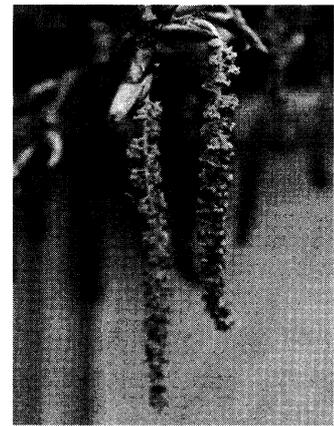


写真-2 ドロノキ雄花の開花

シラカンバは、北海道育種場構内に育成しているA5911-1, 美瑛102, JVⅧ-43の3個体について5月11日に雄花序のついている枝を採取し、すぐにセンター本所へ送付されたものを5月13日に温室にて枝を水ざしし(写真-3), 5月14日にA5911-1, 美瑛102, JVⅧ-43の3個体の開花した雄花(写真-4)から花粉を採集した。

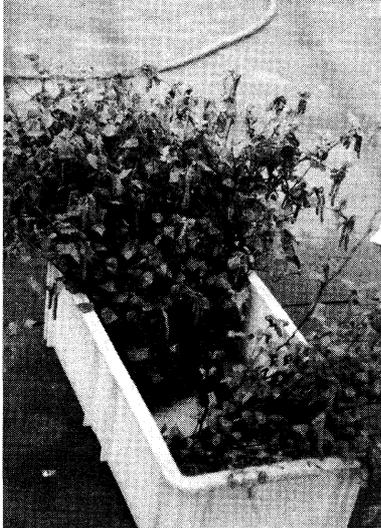


写真-3 温室内で水ざしした雄花序のついたシラカンバの小枝



写真-4 シラカンバ雄花の開花

採取した花粉はすぐに発芽試験を行うとともに、グラシン紙の袋に入れて屋外の百葉箱の中に吊し、その後ほぼ1週間おきに発芽率を調査した。発芽培地は、これまでの報告では、スギ^{5,7)}、アカマツ^{1,6,7)}ではショ糖5%、寒天1%、ヒノキ^{4,7)}ではショ糖10%、寒天1%が用いられていたが、橋詰⁴⁾によるとヒノキではショ糖濃度5%と10%との比較では10%の方が花粉管が長くなるものの発芽率には違いがないとしている。また、今回予備試験として両者を比較したところ、ほとんど同じ発芽率だった(データ示さず)ので、ヒノキを含む3樹種ともショ糖5%、寒天1%とした。コナラ、ドロノキ、シラカンバについては、予備試験においてショ糖を5%と10%とで比較したところこれら3樹種とも10%の方が発芽率が高く、コナラとシラカンバでは伸長した花粉管も長かったため10%とした(データ示さず)。発芽試験では、直径9cmのプラスチックシャーレに入れた培地の上に綿棒を使って花粉をまんべんなく散布し、パラフィルムでシールして照明していない温度25℃の培養室で5日間培養した。観察は、アセトカーミンで染色しシャーレあたり約100粒の花粉を3回繰り返しで光学顕微鏡によって行った。すぐに検鏡できないサンプルは冷蔵庫中で保存し適宜調査した。

3 結果と考察

スギ、ヒノキ、アカマツの花粉の発芽試験の結果を図-1に示した。3種の針葉樹のうち時期的に一番早く採集したのがスギの花粉で、2003年3月12日に採集した時点の平均発芽率は84.2%であった。その後、1週目を過ぎると50%を割り、徐々に低下していき、8週目頃からほとんど発芽しなかった。発芽率がゼロになったのは早い個体で50日目、遅い個体で71日目、平均62日目であった。ヒノキの花粉は、4月9日に採集した時点の平均発

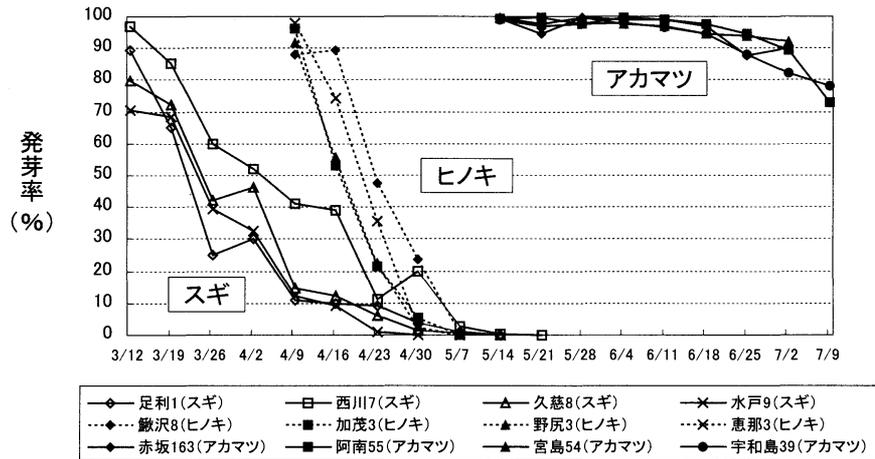


図-1 屋外で保存したスギ、ヒノキ、アカマツ花粉の発芽率の推移

芽率は93.5%だった。1週目を過ぎるとスギと同様に50%を割ったがその後の落ち込みが急で、4週目には3個体とも発芽率がゼロになった。アカマツの花粉は、5月14日に採集した時点の平均発芽率は99.3%，6週目でも90%を上回る高い発芽率を維持した。その後発芽率が落ちてきたものの8週目においても調査が継続できた2個体では70%を越える発芽率がみられた。花粉は水分を含みやすく、8週目には2個体で、さらに9週目には残り2個体で花粉同士がくっついて塊になった状態になり、カビが発生したことから試験を継続できなかった。室温下での生存期間については、スギ55日、ヒノキ22日、アカマツ55日であることが報告されている⁷⁾。今回の結果では、スギおよびヒノキではやや日数が長くなったものの、両種とも発芽率が減少していくパターンがよく似ていた。アカマツは今回の方が生存期間が長く、カビの発生によって試験が継続できなくなる50日目あるいは57日目においても70%以上の発芽力を有しており、既報⁷⁾と異なる減少のパターンを示した。Duffield and Snow³⁾はストロブマツとレジノザマツの花粉の保存について温度4段階(0℃, 4℃, 30℃, 室温)と湿度4段階(0%, 10%, 25%, 50%)の組合せで試験し、湿度50%, 温度が0℃あるいは4℃であれば1年後でも80%以上の発芽力を保持し、湿度が0%あるいは10%ではいずれの温度でも発芽率がほぼゼロになることを明らかにした。ストロブマツでは、室温、湿度25%では1年後でも発芽力を保持していた。さらに、Duffield²⁾はストロブマツを含む7種のマツについて同じ湿度条件と温度3段階(0℃, 10℃, 2℃)で組み合わせて試験を行い、300日を越える保存において湿度75%ではほとんど生存できないこと、種によって最適の温度と湿度が異なることを明らかにした。2003年のセンター本所構内での気温と湿度のデータを図-2に示した。

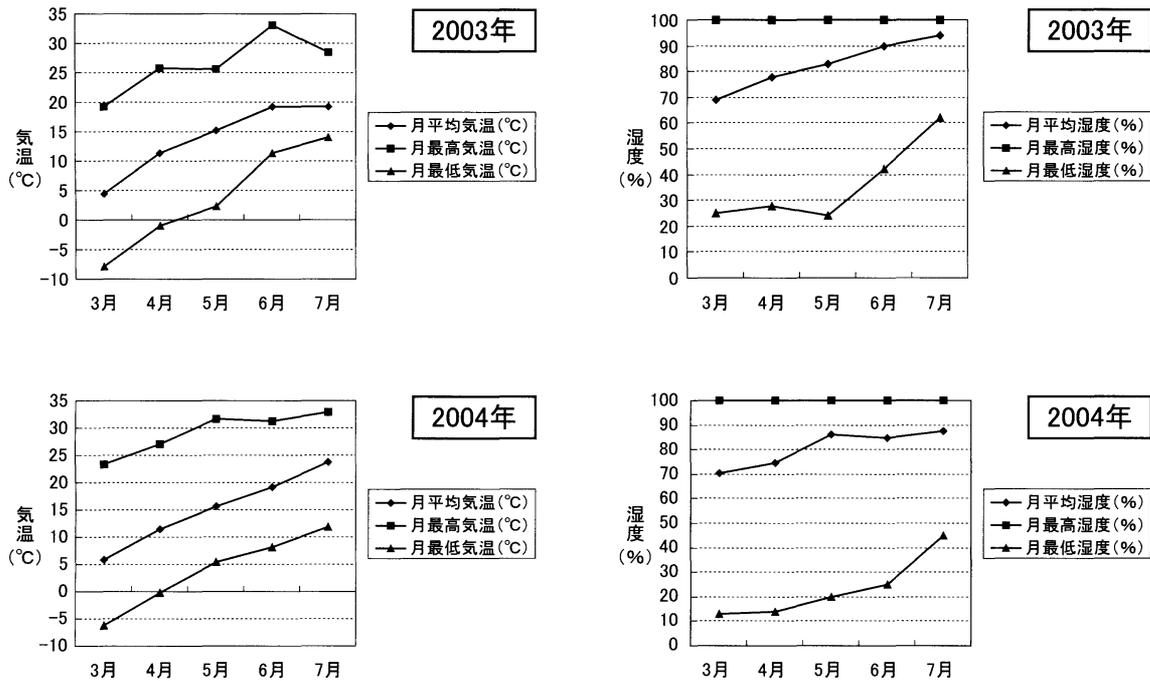


図-2 2003年および2004年の3月から7月までの月別の気温と湿度

この年は冷夏で7月になっても月平均気温が20°Cを越えなかったものの、4月以降は月最高気温が25°Cを、月平均湿度は70%を越え、月最低湿度もほぼ25%を越えていた。アカマツでは湿度が高い条件で保存しているにもかかわらず発芽率がそれほど落ちなかったことから、種としては湿度に耐性があると考えられた。

コナラの花粉は、5月1日に採集した時点の平均発芽率は80%を越え(写真-5)、2週目でも発芽率が大きく落ちなかったが、3週目以降はほとんど発芽せず(図-3)、アセトカーミンによる染色で核が染まらなくなった。花粉の発芽についてこれまでの研究は少ないが、コナラの発芽培地については、李ら⁸⁾が寒天1%、ショ糖20%の培地で採集時の発芽率を調べており、3個体の平均で54%であった。一方、今回の試験では3個体平均で82%と、より高い発芽率であったことから、今回用いた培地でも問題なかったと考えられた。ドロノキの花粉は、5月2日に採集した時点の平均発芽率は約18%と低く(写真-6)、2週目には発芽せず(図-4)花粉中の核がはっきりした輪郭を失ってきたものが多かった。シラカンバの花粉は、5月14日に採集した時点の平均発芽率は約35%あったが(写真-7)、2週目にはほとんど発芽しなかった(図-5)。3樹種とも採集時点ではよく乾燥していてさらさらに近い状態だったが、保存しているうちに水分を含みグラシン紙の袋の中で花粉同士がくっついて塊になった状態になった。2004年のセンター本所構内での気温と湿度のデータを図-2に示した。5月以降は月平均気温が15°Cを越え、月平均湿度も80%を越えていた。特に、高い湿度が花粉の吸湿をもたらしたと考える。

組換え林木の安全性を評価する上で林木の生殖・繁殖特性について把握しておくことが必要であるが、種が多岐にわたる林木では解明されていないことが多い。わが国では特に広葉樹の花粉について屋外での生存期間を調べた研究は見られないことから、遺伝子組換えの対象樹種については今後とも情報の蓄積が重要である。

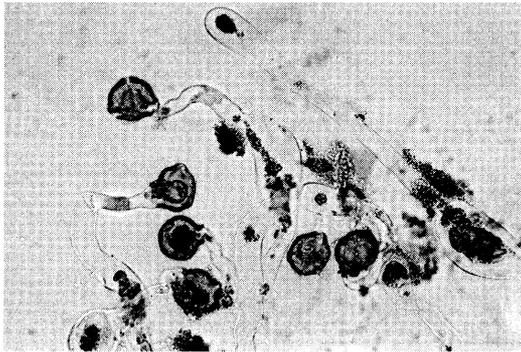


写真-5 コナラ花粉の発芽 (×200)

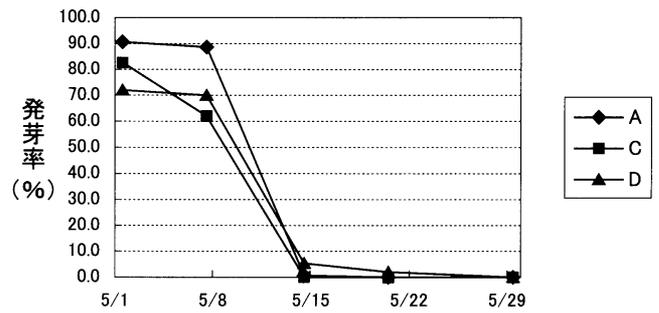


図-3 屋外で保存したコナラ花粉の発芽率の推移

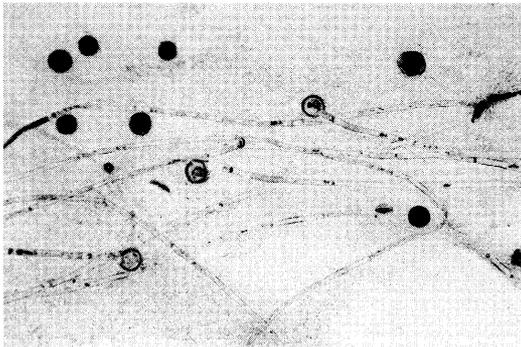


写真-6 ドロノキ花粉の発芽 (×100)

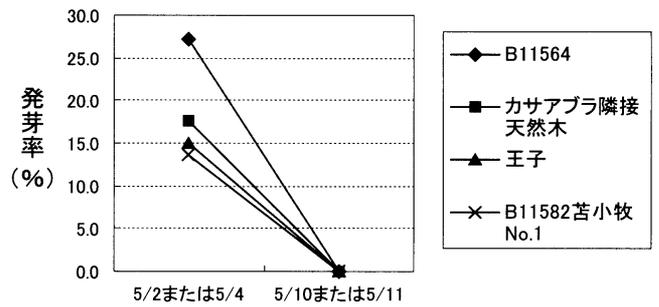


図-4 屋外で保存したドロノキ花粉の発芽率の推移

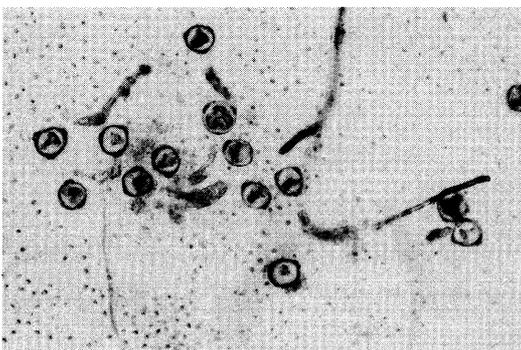


写真-7 シラカンバ花粉の発芽 (×200)

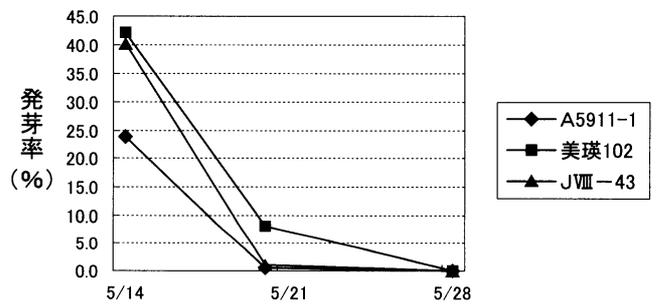


図-5 屋外で保存したシラカンバ花粉の発芽率の推

謝 辞

ドロノキおよびシラカンバ花粉の採取に当たっては、北海道育種場より雄花序のついた枝を送付いただいた。また、気象データは本所指導課よりいただいた。厚くお礼申し上げる。

引用文献

- 1) 岩川盈夫・渡辺 操：マツ属花粉の人工発芽試験，林試研報 173, 67-80 (1965)
- 2) Duffield, J. W.: Studies of extraction, storage, and testing of pine pollen, *Zeitschrift für Forstgenetik und Forstpflanzenzuchtung* 3, 39-45 (1954)
- 3) Duffield, J. W. and Snow, A. G. Jr.: Pollen longevity of *Pinus strobus* and *Pinus resinosa* as controlled by humidity and temperature, *Amer. J. Bot.* 28, 175-177 (1941)
- 4) 橋詰隼人：ヒノキおよびヒノキアスナロの花粉発芽について，鳥取大学農学報10, 31-34 (1968)
- 5) 橋詰隼人・岡田泰久：林木の交配に関する基礎的研究（Ⅲ）スギの花粉の発育と発芽，日林誌 52, 112-119 (1970)
- 6) 近藤禎二・菱沼政雄・田淵和夫：アカマツ花粉の貯蔵，林木の育種特別号, 12-14 (1990)
- 7) 斎藤幹夫・山本千秋：数種針葉樹花粉の室温下での生存期間，日林誌59, 33-35 (1977)
- 8) 李 延鎬・橋詰隼人・山本福壽：カシワ，コナラ，ミズナラおよびそれらの中間型個体の開花期，花粉の形態・稔性について，日林誌 78, 452-456 (1996)

「林木育種センター研究報告 No.22」正誤表

ページ	行	誤	正
目次	12	渡辺 敦史	渡邊 敦史
	35	戸田忠雄 ⁽¹⁾	戸田忠雄 ⁽²⁾
	35	Yoshitake Fujisawa and Tadao Toda	Yoshitake Fujisawa ⁽¹⁾ and Tadao Toda ⁽²⁾
	35	欄外 (未記入)	(2)日中協力林木育種科学技術センター計画 (安徽省松材線虫抵抗性育種センター担当) <u>The Japan-China Cooperation and Technology Center forest Tree Improvement Project</u>
	51	3 渡辺敦史	渡邊敦史
	60	下から6 渡辺敦史	渡邊敦史
	214	下から5 河野楯蔵	河野楯蔵
巻末「論文審査者」	2	宇都宮大学農学部 附属演習林	宇都宮大学農学部附属演習林助教授
同上	6	北海道立林業試験場林業経営部	北海道立林業試験場 林業経営部 主任研究員
同上	6	Makoto Kuromaru	Dr.Makoto Kuromaru
同上	9~10	東北大学大学院農学研究科附属 複合生態フィールド教育研究センター	東北大学大学院農学研究科 附属複合生態フィールド教育研究センター
同上	13	(未記入)	生物共生科学研究室助教授
同上	13	Tsugio Ohshima	日本森林技術協会 北海道事務所 主任研究員 Mr.Tsugio Ohshima