

ヨーロッパシラカンバと道産カンバ類 3 種の交雑における果実の形質

森林総合研究所北海道支所 倉本 恵生
森林総合研究所 津田 吉晃・篠原 健司
王子製紙森林博物館 竹田 貴彦

はじめに

この 10 年間に遺伝子組み替え (genetically modified: GM) 樹木の開発が急速に進展しつつある(3,4)。環境変動や脱化石燃料への動き、さらには近年の資源高騰を背景に、高収量・高品質の木質資源生産の達成策として GM 樹木は強い注目を集めている(4,6)。しかし、遺伝子組み換え体(GMO)の開発利用が先行している農作物では、人体への安全性だけでなく、食物連鎖や物質循環および遺伝子流動を通じた自然生態系への影響、とりわけ生物多様性の減失が懸念されるようになった。そこで現在、GMO が自然生態系に与える影響についての事前評価が国際議定書と国内法で定められている(5)。

林木の GMO は、長期の育成期間と開放的な育成方法からみて、自然生態系へのインパクトは農作物よりも大きいと考えられる(3,4,6)。なかでも、交雑リスク周辺近縁在来種と交雑を起し、浸透性交雑や遠交弱勢を通じて在来種を遺伝的に汚染し絶滅に追い込む危険一は著しく大きいと予想されている(2,3)。しかし、林木に関する交配・遺伝に関する知識は農作物よりも少なく、潜在的な交雑リスクの評価や予防・対処策に関する研究は一部樹木を除き行われていない(3)。

日本国内では GM 樹木の開発がきわめて限定されているため(5,7)、国内主要樹種と近縁な外国産 GM 樹木が意図的・非意図的に導入される場合の交雑リスクが当面懸念される。その条件に最も適合する例としてカバノキ属があげられる。

カバノキ属ではヨーロッパシラカンバ (Silver birch: *Betula pendula*) から GMO が開発され(4,8,10)、世界の GM 樹木開発の主要な一角を占める。一方で日本国内には北日本を中心に多種が分布している。とくに北海道では 3 種のカンバが広範囲かつ普遍的にみられ、主要な構成樹種となっている。また、他の種類は希少種が多く、遺伝的な保全が急務となっている。したがって GM カバノキと日本産カンバとの潜在的な交雑リスクの評価はきわめて重要である。また、交雑果穂や種子を早期に判定し除去するための技術が求められる。

GM 樹木の野外における取り扱いには極めて制限されており、GM カバノキの交雑リスクの解明には、その母種である *B. pendula* (以下 Bpen) の花粉が在来種との間に交雑を起すかどうかを検証することが実際的かつ有効であると考えられる。検証の第一段階としてはまず果序および種子の形成を確認する必要がある。また、雑種強勢・弱勢によって交雑果序のサイズが同種交配のものとは大きく異なるような現象が認められれば、交雑果序を簡便に判定でき、雑種の早期発見に応用することができる。そこで、本研究では Bpen 花粉による北海道産主要在来種 3 種との交雑処理を行ない、果序および種子の形成を検証し、交雑果実の

サイズが同種交配のものとは異なるかどうかについて検討した。

調査方法

本研究では、北海道に在来の主要カバノキ 3 種 (シラカンバ、ダケカンバ、ウダイカンバ) を対象とし、これらの母樹に Bpen の花粉を用いた人工交雑を行なった。果序(種子)の形成と形質は、同種の他家受粉処理および自然交配を行ったものと比較することによって検討した。実験はカンバ類の開花量が多かった 2008 年に行った。

Bpen 花粉は王子製紙森林博物館 (北海道栗山町) に植栽された 1 母樹から採取されたものを用いた。在来カンバの母樹は、森林総合研究所北海道支所実験林および隣接する北海道農業研究センター (札幌市) のものを各種 2 本ずつ用いた。シラカンバとウダイカンバについては自然林に自生する個体を各 2 本選定した。ダケカンバについては調査地に自生個体が無いため、北海道支所構内に植栽された 2 個体を用いた。作業は、林冠観測タワー内にあるシラカンバ母樹 1 本を除いては、高所作業車を用いて行った。

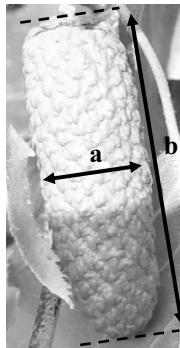
在来カンバの対象母樹 (計 6 本) について、雄花序を開花前 (4 月) に手で除去した枝に交配袋を装着し、花粉の流入を防いだ。また、雄花の開花の寸前に、雄花序の着生した小枝を採取し、森林総合研究所北海道支所内の温室で水挿しして花粉を放出させた。ここから花粉を収集精製し、他家受粉処理用の花粉として用いた。交雑処理に用いた Bpen の花粉も同様の手順で採取精製した。交配処理は花粉銃を用いて交配袋を装着した枝について行い、対象母樹の雌花の開花期間内に 2 回処理を行った。処理は、交雑授粉と他家授粉を行い、それぞれの処理には Bpen 花粉と、同種の別母樹の花粉を用いた。交配袋は、母樹の雌花序の開花が完全に終了するのを確認してから取り外し、交配した枝には識別のための標識札を取り付けた (5 月中旬~6 月上旬)。その後、果序が発達し種子が成熟する時期を待ち、果序が裂開して種子が放出される前 (8 月下旬) に交配枝に着生した果序をすべて採集した。また、比較のための自然交配果序として、無処理の枝を無作為に選んで果序を採集した。採集した果序は直ちに研究室内に持ち帰り、果序の幅と長さを、ノギスを用いて計測した (図-1)。また、交雑と同種交配の各組み合わせの果序を 1 個ずつ選び、内包されている種子 50 個を切断して充実しているかどうかを調べた。統計解析には R2.7.2(9)を使用した。

結果

1) 果序および種子の形成：交雑処理 (Bpen 花粉による在来種との交配処理) においても果序の発達が認められた。果序の形成率 (雌花序に対する果序の割合) も 95~98% と高く、他家受粉処理や自然交配と変わらなかった。また一部

Shigeo KURAMOTO (Hokkaido Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI), Sapporo 062-8516), Yoshiaki TSUDA (Division of Forest Genetics, FFPRI, Tsukuba 305-8687), Kenji SHINOHARA, (Division of Molecular and Cell Biology of Trees, FFPRI, Tsukuba 305-8687), Takayoshi TAKEDA (Forest Museum, OJI Paper Group, Kuriyama 069-1508)
Fruit size traits of three birch species in Hokkaido hybridized with silver birch (*Betula pendula*) pollen.

の果序を採取して調べた交雑果序の充実率は、シラカンバで30~34、ダケカンバで10~18、ウダイカンバで8~12%と推定された。また、同種交配果序の充実率は、シラカンバで38~46、ダケカンバで14~18、ウダイカンバで20~32%と推定された。



a: 果序の幅
(2方向の平均)

b: 果序の長さ

図-1 カバノキ果序の形状と計測項目
(果序はシラカンバ母樹 1 (BP1) の例)

2) 果序サイズ: 果序サイズは樹種と母樹によって大きく異なったが、交配様式間では全く異ならなかった(図-2, $p > 0.05$, Tukey の多重比較)。交雑果序のサイズは同種交配果序(他家受粉と自然交配)と変わらず。また他家受粉と自然交配の間でも果序のサイズに差はみられなかった。

考 察

1) 交雑による果序と種子の形成: 交雑処理により果序の形成が観察され、得られた果序の中には外見上は種子も形成されていた。ヨーロッパ産のシラカンバ(*B. pendula* × *B.*

pubescens) では受粉や受精に関わらず種皮が発達することが報告されており(1), 日本産カンバ類でも同じように受粉や受精に関わらず果序および種子外形の形成が行なわれる可能性が高い。このことから、交雑リスクは果序の形成や種子の外観形成だけでなく、種子の充実を調べることによって評価されなければならないと考えられる。本研究では、少数の試料からであるが、Bpen との交雑処理においても充実種子が形成されることが示されており、Bpen の花粉によって在来種との間に交雑が起こる可能性が指摘される。*B. pendula* は日本産のカバノキ属の中ではシラカンバに近縁とされるため、シラカンバと容易に交雑すると考えられており、その危険性が裏付けられた。さらに実験の結果から、ダケカンバとウダイカンバとも交雑する可能性すら示唆された。GM カンバは材質や病害抵抗性に関連する物質の合成に関わる遺伝子を操作しており(8,10), 生殖に関わる遺伝子操作によって繁殖力を失わせた GMO は開発されていない。このため、日本国内において GM カンバの花粉が野外中に放出されれば、母種である *B. pendula* と同じく、在来種との間に交雑を起こしうると考えられる。

今回得られた充実率は少数の試料によるものであるため、種子の形成が起こりうることは指摘できても、その多寡を評価するためにはさらに詳細な検討が必要である。在来種 2 種を人為的に交雑交配させ充実率を調べた例(倉本ら, 準備中)では、シラカンバを雌親としダケカンバを花粉親とする組み合わせにおいて充実率が高く、逆の組み合わせではほとんど充実していないことが示されている。交雑によって得られる種子の充実率がどの程度であるかは、種間の違いや同種交配との比較を含めて重要な問題であり、今後の詳細な分析によって検討されなければならない。

また、厳密に言えば、充実種子が交雑によって形成されたことを遺伝子解析によって確実に裏付ける必要がある。

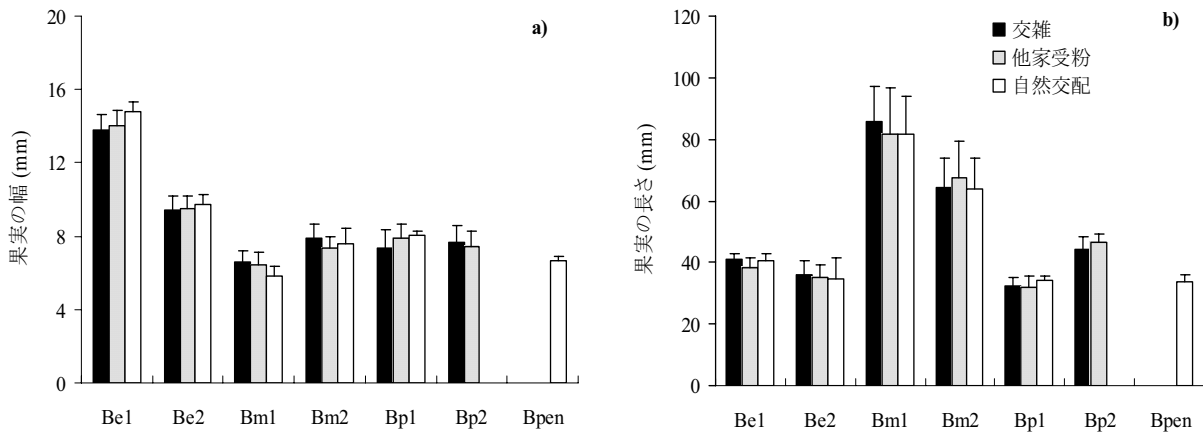


図-2 交配様式と果序サイズ。a) 果序の幅, b) 果序の長さ。
横軸は母樹 (Be:ダケカンバ, Bm:ウダイカンバ, Bp:シラカンバ,
Bpen:花粉親に用いた *B. pendula*, 数字は母樹番号を示す)

前述の在来種交雑において、シラカンバを花粉親としダケカンバを母樹とする組み合わせでわざわざ形成された充実種子はすべて混入花粉による同種交配によるものであることが遺伝子解析によって判明している。今回の実験の結果においても、さらに遺伝子解析を行うことによって、混入花粉による影響を除去することが求められる。

2)交雑果序のサイズ: 受粉から種子形成までの過程の様々な段階において、交雑が妨げられるような機構が存在する(3)。交雑の障壁機構の作用の結果、受精が充分でない場合は果序の発達が不良となり、種子の形成数が少なくなる場合には果序のサイズも小さくなるのが考えられる。しかし、ヨーロッパシラカンバ(花粉)と在来種(雌花)の交雑による果序が在来種の同種交配の果序に比べて小さいといった現象は確認されなかった。カバノキ属では受粉や受精に関わらず果序および種子外形の形成が行なわれる可能性が高いため(1)、果序のサイズは交配処理による受精率(すなわち充実率)の違いによらず、花序あたりに用意されていた雌花の数に依存していると考えられる。交配様式によって果序の大きさが異ならずむしろ樹種や母樹の間で大きく異なったという事実は、花の段階で内包されている胚珠数(潜在的な種子数)に比例して果序の発達する大きさが決定されていることを大きく示唆するものと考えられる。このことから、交雑果序の発達サイズは同種交配のものと同様ならず、果序サイズから交雑果序を判別することは難しいと判断される。したがって、別の基準や技術による雑種判別方法を開発する必要があることが強調される。

引用文献

- (1) Atkinson M. D. (1992) *Betula pendula* Roth (*B. verrucosa* Ehrh.) and *B. pubescens* Ehrh. J Ecol 80: 837-870
- (2) Burgess K.S., Morgan M. and Husband B. C. (2007) Interspecific seed discounting and the fertility cost of hybridization in an endangered species. New Phytologist 177: 276-284
- (3) Farnum P., Lucier A. and Meilan R. (2007) Ecological and population genetics research imperatives for transgenic trees. Tree Genet. Genomes 3:119-133
- (4) Frankenhuyzen K. and Beardmore T (2004) Current status and environmental impact of transgenic forest trees. Can. J. For. Res. 34: 1163-1180
- (5) 環境省ホームページ(日本版バイオセーフティクリアリングハウス)(2008) <http://www.bch.biodic.go.jp>, 2008.11.20
- (6) Halpin C., Thain S. C., Tilston E. L., Guiney E., Lapierre C. and Hopkins D. W. (2007) Ecological impacts of trees with modified lignin. Tree Genet. Genomes 3: 101-110
- (7) Mohri T., Mukai Y. and Shinohara K. (1997) Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Japanese white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*) Plant Sci. 127: 53-60.
- (8) Pasonen H. L., Vihervuori L., Sanna-Kaisa Seppänen S. K., Saarenmaa P. L., Ylioja T., Weissenberg K. and Pappinen A. (2008) Field performance of chitinase transgenic silver birch (*Betula pendula* Roth): growth and adaptive traits. Trees-Structure and Function 22: 413-421
- (9) R Development Core Team (2008) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>
- (10) Tiimonen H., Aronen T., Laakso T., Saranpää P., Chiang V., Ylioja T., Roininen H. and Häggman H. (2005) Does lignin modification affect feeding preference or growth performance of insect herbivores in transgenic silver birch (*Betula pendula* Roth)? Planta 222: 699-708