

氏名	金澤弓子
学位(専攻分野の名称)	博士(造園学)
学位記番号	乙第911号
学位授与の日付	平成28年2月20日
学位論文題目	種子繁殖法による早咲きのサクラの品種形成に関する研究
論文審査委員	主査 教授・博士(農学) 鈴木貢次郎 教授・博士(農学) 高橋新平 教授・博士(生物環境調節学) 濱野周泰 教授・博士(農学) 坂田洋一 准教授・博士(学術) 亀山慶晃

論文内容の要旨

研究の背景と目的

サクラ属サクラ亜属 (*Prunus* subgenus *Cerasus*, 以下サクラ) は広く自家不和合性による他殖性であることが知られている。そのため種内変異が多く、300以上の品種がある。古来、人為的にも多く選抜されてきた結果、多数の品種が現存し、国内での品種数の多さは世界でも類を見ない。近年、数多くのサクラの品種についてDNAマーカーを用いた遺伝的組成の研究が行われ、従来は識別が難しかった栽培品種においても系統に関わる研究が進んできている。しかし、品種ができる間に生じる受粉や結実、種子発芽等の問題に関しては不明点も多く実務上の課題が残っている。例えば品種が作出される際の種間の交雑親和性や種子稔性の報告は限られている。またサクラの品種は短命のものが多くといわれ、近年、多くの品種が枯死している状況でもある。

本研究では‘染井吉野’ (*P. ×yedoensis*) の開花期(4月上旬、東京)を基準に、それより早い時期に咲くサクラを「早咲きのサクラ品種」とした。そして実際に早咲きのサクラ品種に類する個体を作出し、受粉や結実、種子発芽、生長の作出過程の諸問題と作出の確率を究明した。作出した雑種を「基準雑種」とし、原種の推定を行い、原種の候補種や早咲きのサクラ品種の遺伝的組成の解析を行った。

本研究の内容と論文の構成

本研究は、早咲きのサクラ品種(以下、既成品種とする)について、①文献及び生育地調査によって原種を推定する、②推定された原種間での交雑を行い、受粉から結実、種子発芽を経て生長に至る諸問題を明らかにする、③交雑して出来た個体を「基準雑種」とし、これを遺伝的組成の解析を行い検証する、④「基準雑種」を指

標として既成品種や原種に関する遺伝的組成の解析を行う、という段階を経ている。この過程で、現存する早咲きのサクラ品種の原種の推定及び花粉稔性や結実、種子発芽の特性、早咲きのサクラ品種のできる確率を求めた。

これらを明らかにするための本論文の構成は、I. 序、II. 材料及び方法、III. 結果、IV. 考察、V. 総合考察となっている。I. 「序」では「研究の背景と目的」と「研究のフロー」、「用語の定義」について述べた。II. 「材料及び方法」では、著者が本研究で行った実験、調査の方法と材料を述べた。III. 「結果」では著者が行った実験及び調査の結果として、「i. 原種候補種の推定」、「ii. 基準雑種の作出」、「iii. 基準雑種の検証」、「iv. 生存率と残存率の算定」を述べた。IV. 「考察」では、得られた結果から、「i. 既往知見及び生育地からみた早咲きのサクラ品種の原種の推定」、「ii. 基準雑種の作出過程にみる受粉から生長までの特性」、「iii. 形態と遺伝的組成による基準雑種の検証及び早咲きのサクラ品種の原種の推定」、「iv. 作出交雑種(基準雑種)の出来確率」、「v. 既成品種の作出に及ぼす受粉から種子発芽までの諸要因(相互関係)」を、既往知見等も含めて考察した。V. 「総合考察」では本研究の結果及び考察の総括を述べた。なお、本研究で扱うサクラの学名表記は文献に基づき *Prunus* を使用した。

調査及び実験の結果

1. 原種候補種の推定

既往知見より、既成品種として82の早咲きのサクラ品種を確認した。既成品種(現在品種として広く認知されているもの)の原種の候補として、カンヒザクラ (*P. campanulata*)、シナミザクラ (*P. pseudocerasus*)、エ

ドヒガン (*P. pendula* f. *ascendens*), ヤマザクラ (*P. jamasakura*), オオシマザクラ (*P. lannesiana* var. *speciosa*), マメザクラ (*P. incisa*), キンキマメザクラ (*P. incisa* var. *kinkiensis*) が挙げられた。そのうちカンヒザクラは、既成品種原種の候補 (以下、原種候補種) として約半数で挙げられた。

既成品種はカンヒザクラと品種 (雑種, 変種を含む) の雑種と推定されているものが最も多く確認され (11 品種, 13%), 次いでカンヒザクラとオオシマザクラの雑種と推定されているものが 10 品種で確認された (12%)。カンヒザクラとヤマザクラの雑種と推定されているものは 6 品種であった (7%)。全 82 品種のうちオオシマザクラが原種に含まれていると推定された品種は 21 品種であったが (26%), そのうちの約 57% にあたる 12 品種で早咲きタイプのオオシマザクラが原種候補として挙げられた。また、既成品種の生育地を文献と踏査によって調べ、カンヒザクラの雑種と推定される品種は、関東以南の沿岸地に多く生育していることを確認した。

2. 原種候補種による交雑試験 (基準雑種の作出)

前項 1 より既成品種原種として、カンヒザクラとヤマザクラ, オオシマザクラ, オオシマザクラ (早咲き性) (*P. lannesiana* var. *speciosa* cv.) の 4 種の可能性があると推定されたため、これら 4 種を用いて基準雑種の作出を試みた。基準雑種の作出は受粉, 結実, 発芽, 生長の各段階に分けて検討し, この各段階別の特徴を調べて結果を述べた。

「受粉」では、はじめに交雑に用いた原種の受精能力を調べるため、花粉充実率と花粉粒径, 花粉管発芽率について調べた。その結果、花粉充実率は、原種候補種 4 種のどの個体においても約 80% 以上の比較的高い値を示し、4 種の差は認められなかった。オオシマザクラ及びオオシマザクラ (早咲き性) の花粉粒径は、カンヒザクラ, ヤマザクラに比べてやや小さい傾向を示した。花粉管発芽率は種によって異なり、オオシマザクラ 14%, ヤマザクラ, カンヒザクラ 7%, オオシマザクラ (早咲き性) 1% を示した。また、ヤマザクラ, オオシマザクラのいずれの花粉も 9 ヶ月後では約 1/2~1/3 にまで発芽能力が低下した。

次に交雑試験を行った。交雑試験は、カンヒザクラ及びもう一方の原種としてのヤマザクラ, オオシマザクラ, オオシマザクラ (早咲き性) を用い、これらの正逆 6 通りの組合せを行った。その結果、カンヒザクラとヤマザクラ, カンヒザクラとオオシマザクラ, カンヒザクラとオオシマザクラ (早咲き性) の組合せの正逆 6 通り

全てにおいて結実が認められた。しかし、その結実率は、交雑した種の組合せの違いによる差が認められ、♀オオシマザクラ (早咲き性) × ♂カンヒザクラ 18.0%, ♀オオシマザクラ × ♂カンヒザクラ 5.7%, ♀カンヒザクラ × ♂オオシマザクラ (早咲き性) 5.1%, ♀ヤマザクラ × ♂カンヒザクラ 3.7%, ♀カンヒザクラ × ♂オオシマザクラ 2.6%, ♀カンヒザクラ × ♂ヤマザクラ 0.7% の順となった。

発芽の段階として挙げるサクラ品種の種子発芽特性については定量的な知見が少ない。そこで交雑試験で得られた基準雑種の種子が高い確率で発芽できるように、前段階として原種候補種及び既成品種の種子を用いて発芽特性の検証を行った。原種候補種及び既成品種の種子発芽率は、オオシマザクラ (早咲き性) 100%, ‘熱海桜’ 68%, オオシマザクラ 50%, ヤマザクラ 41%, カンヒザクラ 19% を示した。また、これと同じ温度条件下 (5℃) では、エドヒガン及びシダレザクラ (*P. pendula* f. *pendula*) の種子発芽率は 7% と低かった。種子発芽に及ぼす温度と光, 水分条件を調べた結果、オオシマザクラ (早咲き性) の種子発芽は低温 (5, 10℃) において高い発芽率が示された。また、採取直後に約 20℃ の温度条件に置床し 10 ヶ月後に低温 (10℃) に移した場合、高い発芽率 (95%) を示すことがわかった。さらに種子含水率 6% の乾燥種子では発芽しなかった。

これらの結果からサクラ属の種子の発芽環境条件を設定し、基準雑種の種子発芽率の違いをみた。その結果、発芽率は交雑した種の組合せの違いによって差があり、カンヒザクラとオオシマザクラ (早咲き性) の組合せ、カンヒザクラとオオシマザクラの組合せ、カンヒザクラとヤマザクラの組合せの順に発芽率が高かった。また、花粉親, 種子親の雌雄逆の組合せの違いによっても種子発芽率の差が認められ、カンヒザクラが花粉親となる場合に結実した種子は、カンヒザクラが種子親として結実した種子に比べ高い発芽率を示した。

3. 基準雑種の検証

著者が交雑し、作出した「基準雑種」について、目的とする原種で交雑されていることを検証すると同時に、これを指標として原種候補種や既成品種に関する形態や遺伝的組成を比較するため、種子, 葉の形態, 及び遺伝的組成を調べた。基準雑種の種子の形態をみた結果、カンヒザクラを種子親とした個体の種子は、カンヒザクラを花粉親とした個体の種子に比較して長径及び短径にばらつきが少なく、細長い形状を示す傾向が見られた。基準雑種原種であるカンヒザクラの花の形態の違いについては、種の同定にも関わってくる。そこで、沖縄県と

台湾で採取したカンヒザクラの花弁を比較した。その結果、沖縄のカンヒザクラの花弁は、台湾のカンヒザクラに比較し長径と短径の比率の個体差が大きいことが示唆された。

AFLP 分析の結果、基準雑種が目的とする原種の交雑で作出されていたことを確認した。また遺伝的組成の検証を行い主座標分析 (PCoA) 及び STRUCTURE 解析を行った結果、基準雑種を作出する際に原種として用いた種は 3 つの異なる遺伝的組成が示され、カンヒザクラ、ヤマザクラ、オオシマザクラに分けられた。オオシマザクラ (早咲き性) はこれら 3 つの遺伝的組成とは異なり、カンヒザクラとオオシマザクラの遺伝子が含まれること、すなわち、この 2 種の雑種であることが示唆された。次に、AFLP 分析による基準雑種の検証後、原種候補種、特にカンヒザクラの地域集団ごとの遺伝的組成を調べ、基準雑種を指標として既成品種の遺伝的組成をみた。その結果、カンヒザクラは、中国、台湾、日本 (沖縄) の地域集団ごとに異なる遺伝的組成が示された。また、日本の既成品種は、その多くが日本のカンヒザクラに由来していること、台湾の既成品種は、その多くが台湾のカンヒザクラに由来することが示唆された。ただし、中国や台湾のカンヒザクラの中には日本の系統の遺伝子を保有するものもみられた。由来に不明点のある既成品種 14 品種について、カンヒザクラとオオシマザクラの雑種が 5 品種、カンヒザクラとヤマザクラの雑種が 4 品種、原種の変異個体が 3 品種であることを明らかにした。また残りの 2 品種はそれぞれ複数の遺伝的組成を有しており、同品種の中にも異系統が含まれることが示唆された。

4. 生存率と残存率の算定

カンヒザクラを花粉親とし、種子親をヤマザクラ、オオシマザクラ、オオシマザクラ (早咲き性) としたいずれの場合でも、結実した種子は発芽し、発芽から 4 年を経ても生存が認められた。一方、カンヒザクラを種子親とした場合では、花粉親をヤマザクラまたはオオシマザクラとした交雑では結実が認められたが種子は発芽せず、花粉親をオオシマザクラ (早咲き性) とした交雑で結実した種子のみが発芽し、発芽より 4 年を経ても生存が認められた。基準雑種に関して結実した果実 (種子) に対する発芽後 4 年経過した時点の生存個体の割合 (生存率) は、♀カンヒザクラ×♂オオシマザクラ (早咲き性) で 42.6% となった。また、花粉親をカンヒザクラとした交雑試験では、♀ヤマザクラ×♂カンヒザクラ 1.5%、♀オオシマザクラ×♂カンヒザクラ 9.1%、♀オオシマザクラ (早咲き性) ×♂カンヒザクラ 22.8% と

なった。また、交雑 (受粉) した花の数に対する、結実、種子発芽を経て発芽後 4 年目に生存している個体数の割合 (残存率) は、♀ヤマザクラ×♂カンヒザクラ 0.2%、♀オオシマザクラ×♂カンヒザクラ 0.8%、♀オオシマザクラ (早咲き性) ×♂カンヒザクラ 3.2% となった。

考 察

以上の実験や調査の結果から、「1. 既往知見及び生育地からみた早咲きのサクラ品種の原種の推定」を行った。次いで、作出過程の問題とその要因を究明するために「2. 基準雑種の作出過程にみる受粉から種子発芽までの特性」を求めた。生長段階においては「3. 形態と遺伝的組成による基準雑種の検証及び早咲きのサクラ品種の原種の推定」を行い、「4. 作出交雑種 (基準雑種) の出来る確率」を求め、基準雑種の作出に影響を及ぼす諸要因、すなわち「5. 受粉から種子発芽、生長までの過程の相互関係」をみた。

1. 既往知見及び生育地からみた早咲きのサクラ品種の原種の推定

既往知見によれば既成品種の半数近くでカンヒザクラが原種候補種として挙げられていた。もう一方の原種には既存の品種が最も多く挙げられ、次いでオオシマザクラが挙げられた。カンヒザクラとオオシマザクラとの雑種に比べてカンヒザクラとヤマザクラとの雑種は 1/2 程度であった。また、原種候補種と既成品種の生育地、分布からも既成品種の原種としては、カンヒザクラとオオシマザクラやヤマザクラの可能性が高いと考えられた。

2. 基準雑種の作出過程にみる受粉から種子発芽までの特性

実験と既往の知見との比較によって原種候補種の花粉充実率は必ずしも高いとは言えないことがわかった。また花粉粒径と結実率との相関も認められなかった。さらに花粉管発芽率と結実率の関係から、花粉管発芽率が低い種であっても結実を可能とすることが示唆された。ただし、花粉を保存すると花粉管発芽率が低下することから、開花直後の受粉が望ましいことがわかった。

交雑試験の結果から、カンヒザクラとヤマザクラ、オオシマザクラ、オオシマザクラ (早咲き性) の正逆 6 通りの組合せ全てで結実が認められた。結実率は、交雑試験の種の組合せにより差が認められ、カンヒザクラとオオシマザクラ (早咲き性) の交雑、カンヒザクラとオオシマザクラの交雑、カンヒザクラとヤマザクラの交雑の順に結実率が高くなった。

種子発芽試験の結果、雑種であっても高い種子発芽率を示す可能性のあること、低温 (5, 10℃) で発芽率が

高くなること、暖温（20～25℃前後）を経て低温に置かれた場合に高い発芽率を示すこと、種子の乾燥によって発芽力を失うこと等から、自然環境下では夏季に湿ったリター下などの環境に置かれた種子が冬季前に発芽すると考えられた。この原種候補種の種子発芽条件で基準雑種の種子発芽率を求めたところ、交雑した種の組合せにより差が認められ、カンヒザクラとオオシマザクラ（早咲き性）の交雑で結実した種子は発芽率が高くなり、さらにカンヒザクラが花粉親の場合、種子親となる場合に比べて種子発芽率が高くなることが示唆された。

3. 形態と遺伝的組成による基準雑種の検証及び早咲きのサクラ品種の原種の推定

交雑試験の結果、種の組合せの違いによる種子形態の違いがみられた。これに既往知見を加えて比較した結果、カンヒザクラとの交雑によりできた雑種個体の種子では、種子親として交雑に使用した原種の種子と近い大きさとなった。既成品種の種子形態との比較でも、既成品種の種子形態は推定される原種の組合せでできた基準雑種の種子と近い大きさとなり、種子形態は品種の識別、既成品種の原種推定の一助になると考えられた。

また AFLP 分析の結果、基準雑種の遺伝的組成が明らかとなり、目的とする雑種個体が作出されていたことを確認した。同時に、オオシマザクラ（早咲き性）は、オオシマザクラとカンヒザクラの雑種であることが示唆された。既往知見ではオオシマザクラ（早咲き性）とオオシマザクラは外部形態では明らかな差異は認められず、開花期のみが異なるといわれていた。この結果と前項までの結果から、これらの2種間で花粉充実率や花粉粒径は似た傾向が示されるものの、花粉管発芽率、種子発芽特性、種子発芽後4年目の生存率は異なることがわかった。

また、基準雑種と原種候補種、既成品種の AFLP 分析の結果から、既成品種は (1) カンヒザクラとオオシマザクラの雑種、(2) カンヒザクラとヤマザクラの雑種、(3) 原種の種内変異個体、(4) 複数の遺伝的組成を示した品種、大きく4つのタイプに整理できた。ただし、原種であるカンヒザクラは日本（沖縄）と台湾、中国に生育する集団は遺伝的に異なっていること、また日本で生育していた既成品種は、その多くが日本のカンヒザクラに由来しており、台湾で生育していた既成品種は、その多くが台湾のカンヒザクラに由来していること

が示唆された。

4. 作出交雑種（基準雑種）の出来る確率

基準雑種を作出する交雑試験の結果、種子発芽後4年の生存率は、高い順に♀カンヒザクラ×♂オオシマザクラ（早咲き性）、♀オオシマザクラ（早咲き性）×♂カンヒザクラ、♀オオシマザクラ×♂カンヒザクラ、♀ヤマザクラ×♂カンヒザクラとなった。また、♀カンヒザクラ×♂オオシマザクラ、♀カンヒザクラ×♂ヤマザクラの交雑では種子発芽は認められなかった。本研究で用いたオオシマザクラ（早咲き性）を用いると比較的高い確率で雑種が出来るものと考えられた。

5. 受粉から種子発芽、生長の相互関係

基準雑種の作出過程から、結実率と種子発芽率には正の相関が認められ、種子発芽率と種子発芽後4年目の生存率についても正の相関が認められた。このことから、結実率の高い交雑の組合せから得られた種子で高い発芽率が期待できること、また種子発芽率が高いことを示した場合には、その後生長させた苗が比較的高い確率で得られやすいことが示唆された。

まとめ

本研究は、現存する早咲きのサクラ品種の形成過程を究明することを目的とし、既往知見や生育地の調査によって推定した原種候補種を用いて実際に早咲きのサクラ品種を作出した。そして5年に亘る作出の過程で受粉、結実、発芽の諸問題と作出できた個体の確率を究明した。作出した個体を「基準雑種」とし、既成品種の原種の遺伝的組成を解析した。本研究の結果から、早咲きのサクラ品種に類する個体はカンヒザクラとヤマザクラ、カンヒザクラとオオシマザクラ、カンヒザクラとオオシマザクラ（早咲き性）の交雑で作出できることを確かめた。

基準雑種の生存率から、カンヒザクラとヤマザクラの交雑で生長に至るまでの確率は極めて低いこと、カンヒザクラとオオシマザクラの交雑についてもこれに次いで確率が低いこと、オオシマザクラ（早咲き性）とカンヒザクラの交雑で比較的高い確率の生存率を求めることができることがわかった。これらの知見と過程は、これまで混乱していた多くのサクラ品種を整理できると共に、由来解明及びサクラ品種の作出のための基礎知見になる。

審査報告概要

本研究は、早咲きのサクラ品種の作出における受粉から結実、種子発芽の段階を経て生長に至る諸問題を究明することを主目的とし、9年間に亘る実験と観察、調査のまとめを報告したものである。

特に本研究では、既往知見や生育地の調査によって推定した原種候補種を用いて、実際に早咲きのサクラ品種に類する個体を作出した。この作出した個体を「基準雑種」とし、既成品種や原種の遺伝的組成の解析を行った。本研究の結果、早咲きのサクラ品種に類する個体

は、カンヒザクラとヤマザクラ、カンヒザクラとオオシマザクラ、カンヒザクラとオオシマザクラ（早咲き性）の交雑で作出出来ることを確かめると共に、その過程にある受粉や結実、種子発芽に関する新知見と、その作出できる確率や要因を得た。またこれまで不明であったサクラの種や品種の遺伝的組成も明らかにした。

よって、審査員一同は博士（造園学）の学位を授与する価値があると判断した。