

研究資料 (Research record)

林木育種における人工交配に使用する花粉銃の作成

松永 孝治^{1)*}

要旨

林木育種事業では多数の系統を同時に扱う大規模な人工交配作業を行う。人工交配作業は対象樹種の開花時期に、袋かけ、花粉採集、花粉の注入といった一連の作業を集約的に行うため、効率的に作業を行う必要がある。花粉銃は花粉の注入作業に必要な道具の一つであるが、近年、製造販売が中止され、入手が困難になっている。そこで、市販の資材等を用いて花粉銃の自作を試みた。その際、花粉の注入作業の効率を向上させるために、花粉の保存、貯蔵に用いるプラスチック容器を花粉銃に直接取り付けることができるよう工夫した。この自作花粉銃の重量は従来のものより 0.6 ~ 7.7 g 重かったが、充填可能な花粉量は 1.9 ~ 2.8 倍、花粉の噴出量は 1.4 ~ 2.7 倍であった。この結果は、自作花粉銃によって有効な人工交配が行えることを示唆する。また、花粉の容器の脱着は容易であり、花粉の充填・補充作業が従来より簡略化されることが考えられた。

キーワード：花粉、作業効率、クロマツ、保存

1. はじめに

林木育種や森林遺伝の分野では次世代の母集団の作出や遺伝的な解析を行う実験材料を作出する際に、特定の系統の雌花に特定の系統の花粉を受粉させる人工交配を行う(栄花 1991, 近藤 2012, 倉本・藤澤 2013)。スギ(*Cryptomeria japonica*)・ヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)・アカマツ(*Pinus densiflora*)・クロマツ(*Pinus thunbergii*)等の人工交配では、まず雌花および雄花の開花前に、雌花が着生した枝から雄花を取り除き、残した雌花に不織布製の袋(交配袋)をかぶせて口を封じ、袋内への花粉の混入を防ぐ。その後、雌花の開花に合わせて、花粉銃を用いて、交配袋内に花粉を注入する。例えば森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター九州育種場におけるクロマツの人工交配では、雌花および雄花の開花に合わせて、交配袋の設置、花粉の採集、花粉の注入等の一連の作業を、年によって変動はあるが、2週間程度の短い間に集約的に行うため、効率的に作業を行う必要がある。

花粉銃は、人工交配に使用する道具の一つであり、ゴム球部を圧迫することで、容器に入れた花粉を空気とともに針先から噴出する構造を持つ(相田ら 1955, 野口ら 1991, Fig. 1)。以前は、花粉銃を社団法人林木育種協会から購入することができたが、2013 年 3 月末に同協会が解散してから、その製造販売は千葉県の民間企業に引き継がれた。その後、2021 年に同企業は花粉銃の製造販売を中止したとの情報が得られ、現在、花粉銃の新規の入手は困難な状況である。

林木育種分野で一般的に使用されてきた花粉銃は、外径 2.5 cm (内径 2.3 cm) 程度のガラス瓶に花粉を入れて使

用するが、花粉の保存容器の直径はガラス瓶の直径より大きいことが多いため、ガラス瓶への花粉の充填はロータ等を用いるなど慎重に行う必要がある。また、交配作業中に花粉を使い切った場合は、花粉を補充する必要があるが、屋外の補充作業は風によって花粉が飛散しやすいため、他系統の花粉が混入するリスクがある。そのため、簡単に花粉の充填と補充ができる花粉銃があれば、人工交配作業を効率化しつつ、他系統の花粉が混入するリスクを低減することができると考えられる。そこで、花粉の充填と補充が容易にできるように、花粉の貯蔵に使用している容量 25 ml や 50 ml のプラスチック製遠沈管を直接取り付けることができると考えられる。そこで、花粉の貯蔵に使用している容量 25 ml や 50 ml のプラスチック製遠沈管を直接取り付けることができると考えられる。そこで、花粉の貯蔵に使用している容量 25 ml や 50 ml のプラスチック製遠沈管を直接取り付けることができると考えられる。

一般的に交配の成否には花粉の質に加えて花粉の量が重要であり、花粉が不足すると種子の収量が低下することが知られている(Webber 1995)。そのため、花粉銃は一定量以上の花粉を確実に噴出する必要がある。ここでは、この自作花粉銃で有効な交配作業が可能であるかどうか確認するため、また交配作業の効率化に貢献するかどうか明らかにするため、プラスチック遠沈管を簡単に脱着できるかどうか確認し、花粉銃本体の重量、充填可能な花粉量、花粉の噴出量を従来の花粉銃と比較した。また、自作した花粉銃の作成方法と資材の入手先を示した(Table 1)。

2. 材料と方法

2.1 資材の選定

花粉銃はゴム球(バルブ付き)、チューブ、L 字ガラス管、栓、注射針、花粉を入れる容器の 6 つの部品で構成

原稿受付：令和 4 年 8 月 4 日 原稿受理：令和 4 年 10 月 25 日

¹⁾ 森林総合研究所 林木育種センター 九州育種場

* 森林総合研究所 林木育種センター 九州育種場 〒 861-1102 熊本県合志市須屋 2320-5、E-mail: makoji@affrc.go.jp

Table 1. 花粉銃の作成に用いた資材と器具

資材・器具	メーカー	型番	規格	価格 (税込) ¹⁾	単価 / 花粉銃 1 個
ゴム球	KENZMEDICO	1098F221	バルブ外径 7 mm	715	650
シリコンチューブ	アズワン	S-6x10	内径 6 mm、外径 10 mm、10 m	5,280	16
L 字ガラス管	ケニス	1-126-0516	内径 6 mm、長さ 60 mm×60 mm、外径 7 mm	220	200
ラボランシリコン栓	アズワン	9 号	下径 25 mm、上径 30 mm、11 個入り	1,749	159
IMG シリコン・ライト栓	東京硝子器機	No.10-11	下径 28 mm、上径 35 mm、高さ 35 mm、10 個入り	3,410	341
特注注射針	翼工業株式会社	特注品	14G 外径 2.0 mm、長さ 80 mm、ロック基、先端 SB、12 本入り	7,920	660
ビオラモ遠沈管	アズワン	VIO-25B	外径 30 mm、高さ 75 mm、容量 25 ml、200 本入り	5,720	29
ガラス管カッター	アズワン	11-340		4,510	

1) 価格は筆者が 2017 年から 2021 年の間に購入・調査した価格である

される (Fig. 1)。

今回購入したゴム球のバルブの外径が 7 mm であったため (従来の花粉銃と同等、Table 1、Fig. 2A)、そのサイズに合わせてシリコンチューブ (内径 6 mm、外径 10 mm、Fig. 2B) と L 字ガラス管 (内径 6 mm、外径 7 mm、Fig. 2C) の規格を選定した。また、花粉を入れる容器として 25 ml ビオラモ遠沈管 (アズワン、Fig. 2D) や 50 ml フア

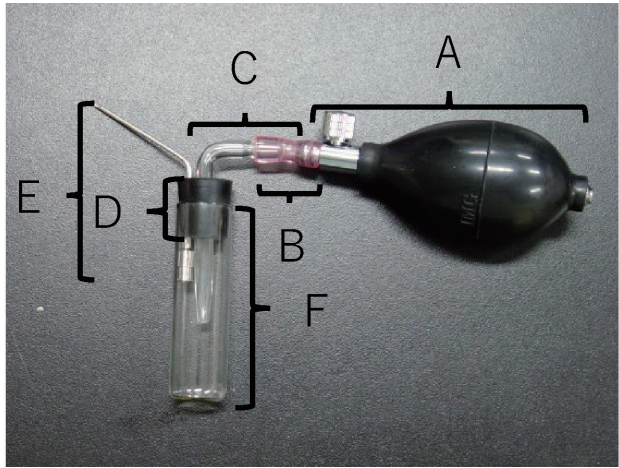


Fig. 1. 花粉銃とその構成部品

A：バルブ付きゴム球、B：シリコンチューブ、C：L 字ガラス管、D：栓、E：注射針、F：花粉容器

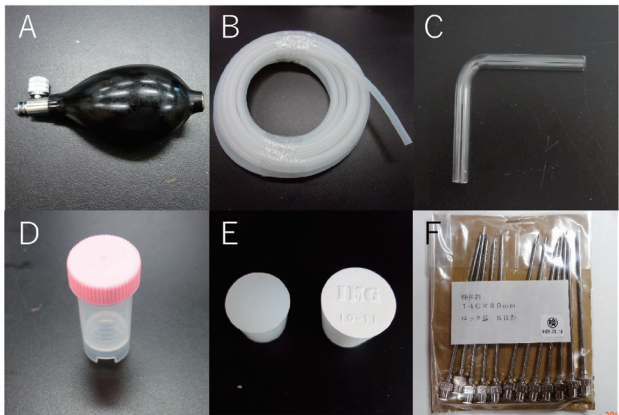


Fig. 2. 花粉銃の資材

A：バルブ付きゴム球、B：シリコンチューブ、C：L 字ガラス管、D：プラスチック製遠沈管 (25 ml)、E：栓 (左：シリコン栓、右：シリコン・ライト栓)、F：特注注射針

ルコンチューブ (FALCON) (どちらも外径 30 mm、内径 28 mm) 等を活用するため、それらに適合する栓として、加工しやすく比較的軽量のラボランシリコン栓 (9 号、アズワン、Fig. 2D) 及び、より軽量で柔らかいシリコン・ライト栓 (No.10-11、東京硝子器機) の 2 種類を用いた。一般的な理化学製品を扱う業者から購入可能な注射針は、針の内径が非常に小さく花粉銃に適さないため、工業用注射針を取り扱っている翼工業株式会社 (東京都荒川区) に外径 2.0 mm の注射針をオーダーメイドして購入した (Fig. 2F)。また、花粉銃の作成に用いた一般的な実験器具や工具を表にまとめた (Table 2)。

2.2 L 字ガラス管の加工

L 字ガラス管のゴム球側の管は、破損および花粉銃の重心の偏りを防ぐため短くした。まず、屈曲部分から

Table 2. 花粉銃の作成に用いた器具

用途	器具
ガラス管の加工	ガスバーナー
	ガラスカッター
	軍手
栓の加工	ピンセット
	電動ドライバ
	針金
シリコンチューブの切断	ハサミ

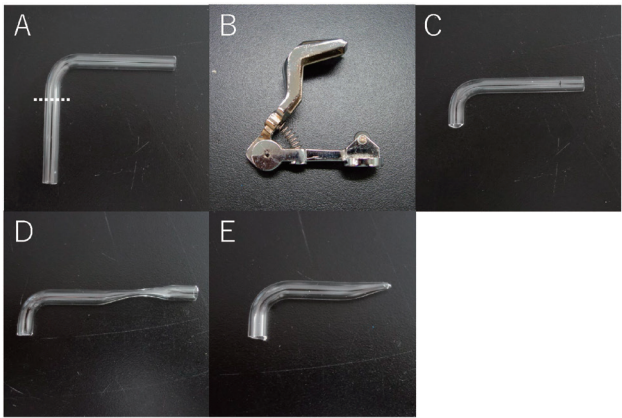


Fig. 3. ガラス管の加工

A：L 字ガラス管 (点線部で管を切断) B：ガラス管カッター、C：一方の管を切断した状態、D：もう一方の管を加熱しながら引き延ばした状態、E：細くなった部分で管を切断した状態

長さ 2 cm 程度の位置 (Fig. 3A) にガラス管カッター (Fig. 3B) で傷をつけ、力を加え切断した (Fig. 3C)。取り扱い時の怪我を防ぐため切断面をガスバーナーで加熱して滑らかに加工した。

プラスチック遠沈管側の管は先端を細く加工した。これはゴム球から押し出された空気が遠沈管内に放出される際の圧力を高め、注射針先端から花粉を効率的に飛散させるためである。ガラス管の先端から 1 cm のあたりをガスバーナーで十分過熱して、柔らかくなってからガラス管の先端をピンセットでつまみ、引っ張って細く伸ばした (Fig. 3D)。伸ばした部分の直径が、元の直径の半分程度になった際に、ガスバーナーから外し、冷却した。その後、ガラスカッターを用いて細くなった部分でガラス管を切断し (Fig. 3E)、切断部を加熱して滑らかに加工した。

2.3 シリコン栓およびシリコン・ライト栓の加工

シリコン栓およびシリコン・ライト栓を自立式のプラスチック遠沈管に差し込んで (Fig. 4A)、直径 4 ~ 4.5 mm 程度の木工用ドリルを取り付けたハンディ電動ドライバーを用いて、中央に穴をあけた (Fig. 4B, Fig. 4C)。

2.4 注射針と L 字ガラス管の取り付けと仕上げ

注射針の中に針金を差し込んでから、栓の下側から注射針を差し込んだ (Fig. 5A, Fig. 5B)。これは、注射針内に栓の素材が充填されることを防ぐためである。その後、L 字ガラス管を栓の上側から屈曲部分の手前まで差し込んだ (Fig. 5C)。注射針を適当な位置で曲げ (Fig. 5D)、L 字管の反対側に長さ 2 cm 程度に切断したシリコンチューブとゴム球を取り付け、栓を 25 ml の遠沈管に取り付けた (Fig. 6)。

2.5 従来花粉銃との比較

自作花粉銃について、シリコン栓を用いた 5 個、シリコン・ライト栓を用いた 5 個、過去に購入した従来の花粉銃 10 個をそれぞれランダムに選び比較に用いた。ここでは自作花粉銃の花粉の容器として 25 ml の遠沈管を使用した。まず、組み立てた花粉銃本体の重量を電子天秤で測定した。次に充填可能な花粉の量を調べるため、花粉充填後の花粉銃全体の重量を測定し、花粉充填前の重量との差を求めた。この時、栓の下側から付き出た注射針の基部あるいはガラス管の先端から約 1 cm 離れた位置まで、十分に乾燥して冷蔵貯蔵していたクロマツ花粉を入れた。花粉銃から噴出する花粉の量を推定するため、花粉を 3 回噴出させる度に花粉銃全体の重量を測定して、噴出前の重量との差を求め、3 で割って 1 回当たりの噴出量を算出した。この噴出量は各花粉銃について 5 回測定し、5 回の平均値をその花粉銃の噴出花粉重量とした。従来の花粉銃と自作花粉銃の間で本体重量、充填可能な花粉の重量、および噴出花粉重量の中央値を比較するた

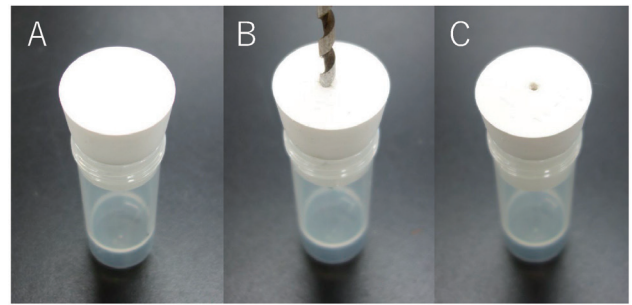


Fig. 4. 栓の加工

A：自立式のプラスチック遠沈管に差し込んだシリコン・ライト栓、B：ドリルで栓の中央に穴を開けている状態、C：穴のあいたシリコン・ライト栓

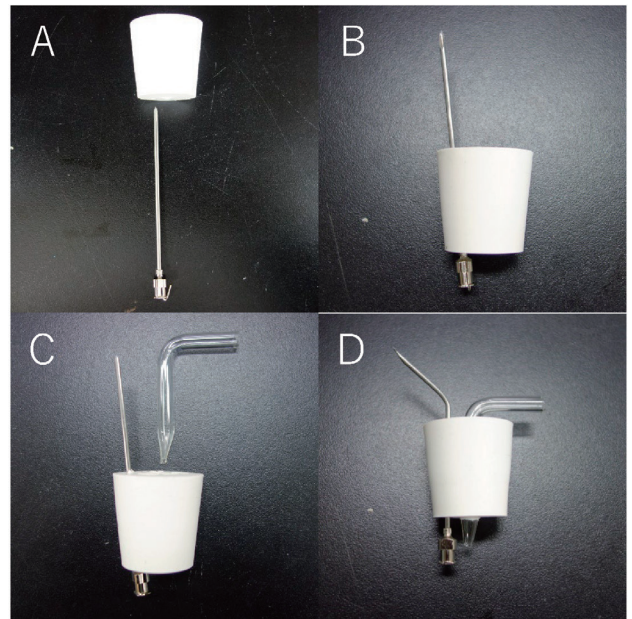


Fig. 5. 注射針と L 字ガラス管の取り付け

A：栓の下側より針金を入れた注射針を差し込む、B：注射針を通した状態、C：栓の上側より L 字ガラス管を差し込む、D：L 字ガラス管を通して、注射針を曲げた状態

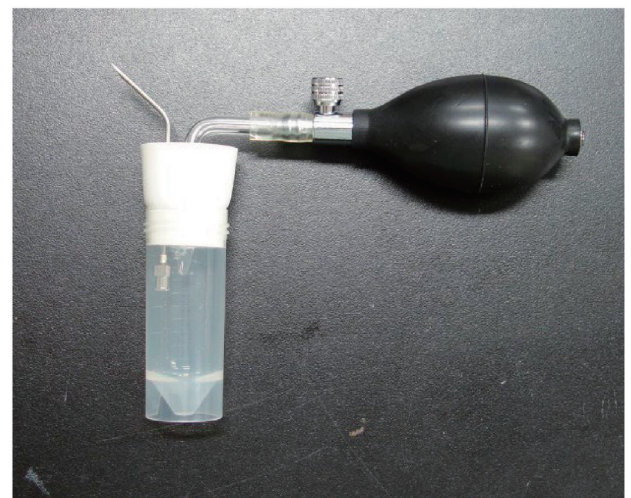


Fig. 6. シリコン・ライト栓を用いた自作花粉銃

め、クラスカル・ウォリス検定と 5% の有意水準の多重比較を行った。解析はソフトウェア Statistix9 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA) を用いた。

3. 結果

自作花粉銃を組み立てたところ、シリコン栓とシリコン・ライト栓のどちらを用いた場合も、プラスチック製の遠沈管を簡単に脱着することができた。また、ゴム球の圧迫によって針先から花粉を噴出させることができ、チューブの接合部及び、シリコン栓やシリコン・ライト栓の周りからの空気の漏れはなかった。

シリコン栓とシリコン・ライト栓を用いた自作花粉銃、及び従来の花粉銃の本体の平均重量 (\pm SD) はそれぞれ 84.3 (\pm 1.8) g と 77.2 (\pm 2.0) g、及び 76.6 (\pm 2.7) g であり、これらの中央値には有意な差があった (クラスカル・ウォリス検定、 $H = 10.75$ 、 P 値 = 0.005; Table 3)。多重比較の結果、シリコン栓を用いた自作花粉銃はシリコン・ライト栓の自作花粉銃と従来花粉銃に比べて中央値が有意に大きかった。

充填可能な花粉の平均重量はシリコン栓とシリコン・ライト栓の自作花粉銃、及び従来の花粉銃でそれぞれ 4.1 (\pm 1.1) g と 5.0 (\pm 0.2) g、及び 2.2 (\pm 0.6) g であり、これらの間で中央値に有意な差があった (クラスカル・ウォリス検定、 $H = 13.99$ 、 P 値 < 0.001)。多重比較の結果、2つの自作花粉銃は従来花粉銃に比べて充填花粉重量が大きく、有意に多くの花粉を入れることができた。

噴出花粉重量はシリコン栓とシリコン・ライト栓の自作花粉銃、及び従来の花粉銃でそれぞれ 0.029 (\pm 0.010) g と 0.057 (\pm 0.009) g、及び 0.021 (\pm 0.007) g であり、これらの間で中央値には有意な差があった (クラスカル・ウォリス検定、 $H = 11.25$ 、 P 値 = 0.004)。多重比較の結果、シリコン・ライト栓の自作花粉銃の噴出花粉重量は従来の花粉銃より大きかった。

4. 考察

本論で作成した自作花粉銃は、一般的な 25 ml のプラスチック遠沈管を花粉の容器として使用できた。そのた

め、同じ口径の遠沈管に収集・貯蔵した花粉を、花粉銃の容器に移し替えることなく使用することが可能となり、交配作業を効率化できると考えられた。

自作花粉銃を、従来の花粉銃と比較したところ、自作花粉銃の本体重量は 0.6 ~ 7.7 g 重く、充填可能な花粉の重量は 1.9 ~ 2.8 倍、花粉の噴出量は従来の花粉銃の 1.4 ~ 2.7 倍であった。これらの結果から自作花粉銃は従来の花粉銃に比べて、本体重量が増加したものの、花粉を格納・噴出する機能は同等か向上しており、交配作業に使用できると考えられた。花粉銃に充填可能な花粉の量が 1.9 ~ 2.8 倍であったことは、一つの交配袋に用いる花粉量が一定であると仮定すれば、花粉の補充回数が少なく済むことを示唆する。また一回当たりの噴出花粉量は従来の花粉銃と比べて 1.4 ~ 2.7 倍であったことから、交配袋に花粉を注入する作業は少なくとも従来と同等以上の効率で実施できると考えられた。

自作花粉銃の花粉の噴出量が従来の花粉銃より多い傾向があった理由として、用いた針の太さの違い (自作花粉銃は外径 2.0 mm、従来花粉銃は 1.6 mm)、ガラス管の加工の具合 (花粉容器側の管が細く加工してある方が、容器内に吹き出す空気の圧力が高まると考えられる)、花粉保存容器の直径が異なるために生じた保存容器内の空間の違い等が影響した可能性が考えられる。シリコン・ライト栓はシリコン栓より多くの花粉を噴出する傾向があった。その理由は明らかになっていないが、今回の結果からは、シリコン・ライト栓の花粉銃はシリコン栓のものより軽く、噴出花粉量も多い傾向があるため、相対的に優れていると考えられた。なお、結果は示していないが、どちらの自作花粉銃も、従来の花粉銃と同様に容器に入った花粉をほとんど最後まで使いきることができた。

クロマツのように小さい苗木で利用可能な着花促進技術が十分に開発されていない樹種は、人工交配を行う場合、屋外の大きな個体に交配袋を設置して花粉銃によって交配する方法が主流である。また、スギ等では鉢植えした苗木等を用いて、交配袋や花粉銃を必要としない施設内交配も行われているが (大谷・大庭 1984)、特別な施

Table 3. 自作花粉銃と従来花粉銃の比較

花粉銃の種類		調査数	平均値 ± SD (最小値 - 最大値)					
			本体重量 (g) ¹		充填花粉重量 (g) ^{1,2}		噴出花粉重量 (g) ^{1,3}	
新式花粉銃	シリコン栓	5	84.3 ± 1.8	a	4.1 ± 1.1	a	0.029 ± 0.010	ab
			(82.1 - 86.5)		(2.9 - 5.6)		(0.015 - 0.043)	
	シリコン・ライト栓	5	77.2 ± 2.0	b	5.0 ± 0.2	a	0.057 ± 0.009	a
			(75.7 - 80.6)		(4.7 - 5.3)		(0.041 - 0.063)	
従来花粉銃		10	76.6 ± 2.7	b	2.2 ± 0.6	b	0.021 ± 0.007	b
			(71.4 - 80.5)		(1.3 - 3.2)		(0.008 - 0.033)	
<i>P</i> 値 ⁴			0.005		< 0.001		0.004	

- 1) 同じ列の同じ文字列は中央値が有意に異なることを示す
- 2) 花粉銃に充填可能な花粉の重量
- 3) 花粉銃のゴム球を一回圧迫した場合に噴出される花粉の重量
- 4) クラスカル・ウォリス検定の P 値

設を使用せず、多数の系統間の交配を行う際には、今後も花粉銃は重要なツールであると考えられる。林木育種における人工交配作業は多数の系統の花粉を同時に扱う複雑な作業である。本論で紹介した花粉銃は交配作業の簡略化に有効であると考えられた。

謝 辞

森林総合研究所林木育種センター遺伝資源管理課分類同定研究室の武津英太郎室長には花粉銃の作成にご協力頂いた。森林総合研究所林木育種センター関西育種場の河合慶恵主任研究員には花粉銃の入手先に関する情報を提供頂いた。森林総合研究所林木育種センター九州育種場の堀之内佐恵子様、宮崎忍様には実験の補助をして頂いた。厚く御礼申し上げる。

引用文献

- 相田 二三夫・藤原 茂正・返田 助光 (1955) 桑の人工交配用花粉銃の試作とその実験. 日本蚕糸学会誌, 24, 306-310.
- 栄花 茂 (1991) 交雑育種事業化プロジェクト実施報告—プロジェクト計画と技術開発10か年の成果—. 林木育種場研究報告, 9, 1-14.
- 近藤 禎二 (2012) 4. 林木育種の体系. 井出 雄二・白石 進編 “森林遺伝育種学”. 文栄堂出版株式会社, 167-188.
- 倉本 哲嗣・藤澤 義武 (2013) 講座：林木育種の現場のABC (5) 人工交配技術—スギ—. 森林遺伝育種, 2, 154-157.
- 野口 常介・川村 忠史・板鼻 直栄 (1991) アカマツにおける種内交配作業の工期と貯蔵した交配種子の苗木生産. 林木育種場研究報告, 9, 47-81.
- 大谷 賢二・大庭 喜八郎 (1984) 簡易なビニールフレームを用いたスギの人工交配. 日本林学会大会発表論文集, 95, 289-290.
- Webber J. E. (1995) Pollen management for intensive seed orchard production. *Tree Physiology*, 15, 507-514.

Developing a pollen gun for artificial crossing in forest tree breeding

Koji MATSUNAGA^{1)*}

Abstract

A large-scale artificial crossing utilizing a large number of lines is conducted for forest tree breeding. It is essential to efficiently perform all procedures in artificial crossing including bagging, pollen collection, and injection of pollen during flowering in the target tree species. A pollen gun is an instrument utilized for artificial crossing. However, the discontinuation of production by manufacturers has made it difficult to obtain the pollen gun in recent years. Thus, a pollen gun was constructed using commercially available materials in this study. To improve work efficiency, the new pollen gun was constructed using a plastic centrifuge tube for pollen storage that could be directly attached to the gun. It was 0.6–7.7 g heavier than the conventional gun, but the amount of pollen that could be stored was 1.9–2.8 times greater; moreover, the amount of pollen ejected was 1.4–2.7 times more than the conventional gun. The results suggest that this pollen gun is effective for usage in artificial crossing. The newly developed pollen gun is expected to improve work efficiency as it is easy to fill and refill it with pollen.

Key words : pollen, work efficiency, *Pinus thunbergii*, storage

Received 4 August 2022, Accepted 25 October 2022

1) Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center (FTBC), Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI)

* Kyushu Regional Breeding Office, FTBC, FFPRI, 2320-5 Suya, Koshi, Kumamoto 861-1102, JAPAN; E-mail: makoji@affrc.go.jp