

果樹類の分布と探索

秋浜友也 (明治大学農学部)

ただいまご紹介いただきました明治大学の秋浜でございます。私は、過去20年の間に、アジアを中心とする遺伝資源探索に6回ばかり行きました。その中で最初の2回は、野生のイネを含むイネの調査だったので、こちらの片山先生とも、インド、スリランカは一緒した記憶がございます。

最近の遺伝資源探索は、果物専門でやっております。国連のFAOの中にIBPGRというのがあります。これは、International Board for Plant Genetic Resourcesの頭文字をとったもので、日本語訳では、国際植物遺伝資源理事会あるいは委員会と呼ばれております。IBPGRでは、果物の中でカンキツ類だけが、食糧問題とからめてビタミン源としての重要性から世界的規模で探索を行っております。その他の果樹類、たとえば、ドリアン、バナナ等、ローカル的に重要なものは、2、3の国の共同探索を行っております。カンキツ類の遺伝資源探索は、1983年からの5カ年計画プロジェクトとして日本で引き受けることになったわけです。

IBPGRのプロジェクトは、遺伝資源の探索・導入・保存・評価・利用の順序で進められ、人類共通の財産として利用されるようシステム化することにあります。この流れの中で、私は遺伝資源探索隊長を引き受けているわけです。この探索隊は、国際チームでアメリカ人、IBPGRのメンバー、現地の学者の混成チームなわけです。だから、一緒に歩きますと、言葉の問題、食事の問題等、いろいろな生活習慣の違いから来る問題を経験します。2年目を終って、おおよそ国際部隊とは、こういうものだということの見当が付いた次第です。

最近、バイオテクノロジー (biotechnology) のブームで企業がむきになっていますが、私はそこに落とし穴があると考えています。それは、先端技術がいくら進歩しても、人工遺伝子を造りだすよりは、現在ある有用な遺伝子を利用することにこそ価値があるということです。地球という星に人類が生まれて、何万年もの間、農業を営んで、その結果生み出した貴重な遺伝子を使わないで、一挙に人工的に作りだそうというのは、ナンセンスに近いものだと思います。そのような意味から、今に、遺伝資源の問題が大騒ぎになると信じています。

1. 科学的な探索収集とは：

毎年遺伝資源探索をやっていると、未知の世界に足をふみ入れるため、ともすると遊びに出かけるように思われがちですが、とても遊びどころではないと思います。そこで、これを何とかして学問にしたいということが年中頭を離れないわけです。

木本作物の収集は、1年生種子作物の場合と異なり、ほとんどの果樹類が遺伝的にヘテロ (hetero) であるため、種子を収集して播種すると、次世代で分離が起こります。現地で見つけた品種をそのままの姿で残すためには、どうしても穂木で収集する必要があります。ところが、幸にも、カンキツ類だけは、ある種のものには珠心胚種子であり、親品種と同じ個体を再現できるので、遺伝資源探索には大変都合なのです。

カンキツの仲間には多胚性と単胚性の種子があります。このうち、多胚性のものには、ライム *C. aurantifolia* Swingle, レモン *C. limon* Burm. f., グレープフルーツ *C. paradisi* Macfad, サワーオレンジ *C.*

aurantium Linn., スイートオレンジ *C. sinensis* Osbeck, ポンカン *C. reticulata* Blanco 等がよく知られています。これら多胚性種子は、卵細胞の回りにある、珠心細胞が胚発育過程で、猛烈な細胞分裂を開始して栄養繁殖によって完熟種子になるわけです。これを多胚現象といいます。この種子を収集してきて、播種しますと同じ栄養繁殖系のものが得られる利点があるわけです。

一方、単胚性のカンキツ類としては、ブタン *C. grandis* Osbeck 類や、キヌカワ、ハッサク、オタチバナ、ナルト、紀州ミカン、ナガキンカン等が知られています。これらのカンキツ類の種子は、雑種なので次世代で遺伝的分離が起こるため、どうしても穂木の収集が必要になります。

IBPGR が現在実施している果樹類の遺伝資源収集の中で、学問的なまとめ方で収集しているのは、カンキツとバナナではないかと思えます。このうちバナナは、ゲノム構成を中心に収集分類が行われています。すなわち、バナナのゲノム、AA, AAA, BB, BBB, AB, AAB, ABBB 等がすでに収集されています。

カンキツ類の収集戦略は、われわれが直接現在の交雑育種に使うことのできる栽培種を土台にして、系統図あるいは系統樹を作成して family まで逆のぼり、そこから枝分かれする近縁属、近縁種までを含めて one set として保存しようとする作戦をたてました（写真）。

このような収集戦略で、1983年にタイ国の北・中央・南タイ、1984年には、東北タイ、マレーシア、サバ・サラワク州、ブルネイ等に赴きました。そして、これまでに、17属、29種、合計 237 品種の収集を終えたところです。

2. 現地での収集時の工夫

カンキツ遺伝資源で、将来必要となる遺伝子は、耐病性のうち特にかいよう病抵抗性遺伝子や、日本の温州ミカンにない芳香性、世界的に問題になってきたウイルス病抵抗性遺伝子等であります。

ところで、これらの果樹類は、ほとんどが実生繁殖によるものであり、また、果樹類のほとんどが遺伝的にヘテロであるため、耐病性や豊産性等については、現地で評価するのが大変むづかしいという問題があります。しかしながら、例えば耐病性があるかどうかということは、回りの木が病気やウイルスにやられていても、健全な木があれば、それは耐病性遺伝子を持っているだろうと推定して注目すべきです。また、果実の形質については、試食すれば直接重要性の判定が可能です。このように、雨期に水につかるところでは、耐水性の強い系統が残るだろうし、海岸地方のカンキツは耐塩性が強いだろうと思われまます。ところが一方、収量性だとか、将来バイオテクノロジーにどのように利用できるかなどは、とても木を見ただけではわからないのが現状です。

実際に品種改良を進める育種家は、昔から手元にいろいろな品種をたくさん持っておきたいと考える人が多いものです。それは、育種に熱心であるためです。したがって、遺伝資源収集にあたっては同様に、次から次へと材料を集めて、気が付いたら数がやたらにふくれあがり、帰国後の永久保存の足かせにもなりかねないのです。

私共の IBPGR のカンキツ探索隊は、以上のことを検討した結果、栽培種の収集に重点を置くことには違いないが、できれば、ファミリー内の血縁の材料は、その代表的なものを含めてワンセット (one set) を収集する戦略をきめました。これは、将来、耐病性等の新しい遺伝子が必要になったとき、バイオテクノロジーの進歩によって、利用できるようになるであろうことを推定して決定したものです。

ところが、この科学的戦略（自称）も始めてみると、意外に大変であることに気がきました。それは、カンキツ類の近縁属・種等の多くが熱帯降雨林（通称、ジャングル）にほとんどが自生していることがわかったのです。つまり、ボルネオ島のマレーシアのサバ、サラワク州、およびブルネイでは、探索に大変

困難をきわめました。そこで、今後は、栽培種と野生種を別々の探索隊によって収集することになりそうです。

一般的に、遺伝資源探索は、現地での栽培の状況を見て回らなければ、利用価値の高いものを手にすることができません。ところが、自動車で移動するので、その途中のものは見逃さざるをえません。幸い、南タイのカンキツ類は、樹枝に白いカビが生えていて、時速50~60 kmで走っているときでも、白樺の木にそっくりであり発見しやすかったのです。その理由は、むこうのカンキツはせんでいをしないので、茂りほうだいで、木の中心には太陽光がとどかず、果物は木の外側の表面にだけ実っている場合が多いようです。そうすると中心部にはカビが生えるわけです。しかし、この白カビは、木には害を与えないらしく、樹勢が悪いようなことはないのです。このようなことは、現地でしか遭遇できないことですが、現地で見つけた知恵だといっても過言ではありません。

現地で収集したカンキツは、写真で直ちに記録します。その場合、果実の縦割りと横割りの写真の外に、葉とできれば種子を入れて撮影をしておくと、後に品種の分類同定に大変役立ちます。これは、果実と同様、葉や種子の変異が大きいためです。

IBPGRでは、パスポート・データの記録法が全作物共通に作られており、旅行から帰ったら直ちに提出することが義務づけられて居ります。それには、採集地点の標高・主たる町からの距離・どのような観点から収集したのか・その土地の呼び名・品種の観察記録等です。

また、収集した遺伝資源のサンプリングサイトを表わす詳細な地図も報告しなければなりません。第1図は1984年にボルネオ島のサバ、サラワク、ブルネイで収集したマップです。

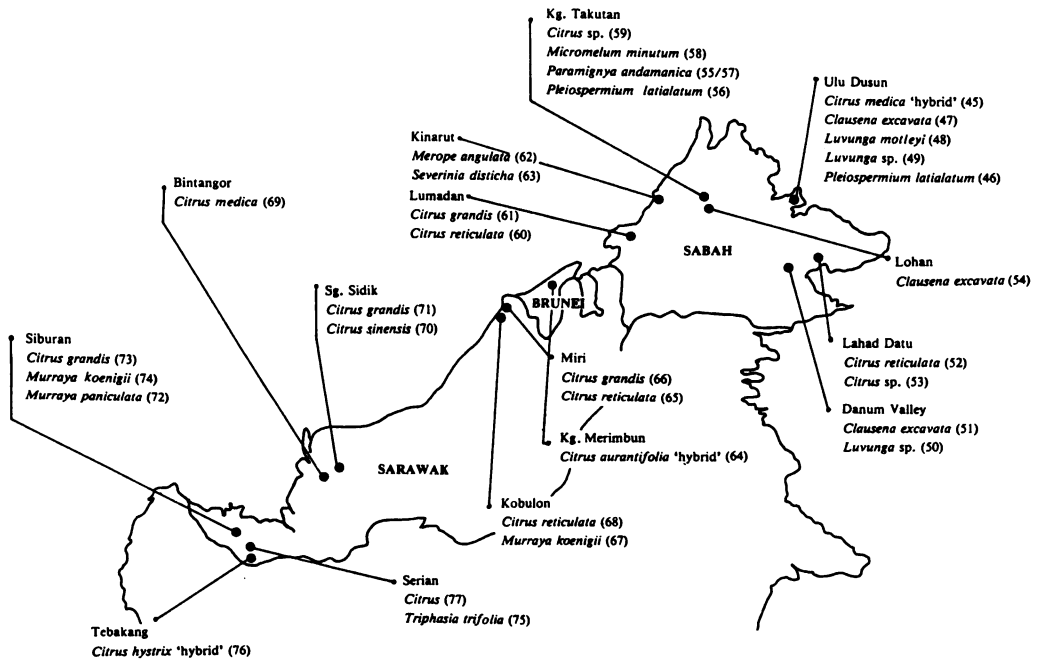


Fig. 1. Detailed citrus collection site map in Borneo Island.

3. 果樹類遺伝資源の保存

IBPGR では、1974年から1984年までの10年間に果樹類の遺伝資源の探索収集を積極的に行ってきました。第1表および第2表は探索を行った国名と樹種別点数を示しています。それによれば、熱帯果樹では9か国、11樹種、1911系統であり、温帯果樹では8か国、9樹種、557系統です。そのうち、特に多く集められているのが、カンキツ・バナナ・ドリアン・ブドウ・モモ等です。このような遺伝資源探索は、その後も毎年続けられており、人類全体の財産として永久に保存利用されて行くことになるでしょう。

遺伝資源の永久保存法は、開発途上国をはじめ、一般的には保存圃を整備し運営されるのですが、これ

Table 1. Results of tropical fruit tree collections by IBPGR

Fruit tree	Country (No. of strains)	Total
Cherimoya	Mexico (12), Sudan (7)	19
Papaya	Colombia (18), Mexico (10), Zambia (4)	32
<i>Citrus</i> spp.	Sudan (19), Mexico (18), Thailand (452)	489
Tree tomato	Colombia (31), Peru (3)	34
Durian	Indonesia (86), Malaysia (203), Philippines (85), Thailand (68)	442
Mangosteen	Thailand (59)	59
<i>Lansium</i>	Thailand (22)	22
Banana	Indonesia (333), Thailand (320)	653
Rambutan	Malaysia (68)	68
Passion fruit	Colombia (37)	37
Guava	Colombia (10), Sudan (46)	56

Table 2. Results of temperate fruit tree collections by IBPGR

Fruit tree	Country (No. of strains)	Total
<i>Sicratera</i>	Colombia (6)	6
Walnut	Pakistan (32)	32
Apple	Pakistan (32)	32
<i>Maulitia</i>	Peru (6)	6
<i>Physalis</i> spp.	Colombia (7), Ecuador (5) Peru (8)	20
Peach	Pakistan (116), Yemen (1), Ecuador (88), Bhutan (5)	210
Pomegranate	Pakistan (6), Sudan (3)	9
Brambles	Colombia (13)	13
Grapes	Pakistan (37), Yemen (1), Greece (191)	229

には、栽培保存管理のために膜大な労力・経費・圃場が必要となります。そこで、永久保存用のベースコレクションは、一方で成木による保存をしながら、*in vitro*による茎頂の超低温保存を進めて行くことが決まりました。植物遺伝資源が試験管の中に封じ込められれば、狭いスペースで多くの材料を保存できるし、ウイルス病その他の感染の心配もなくなることが予想されるので、IBPGRの音頭とりで先進諸国からスタートすることになったのです。

落葉果樹類の超低温保存法を簡単に述べるとおよそ次のようになります。①1月頃の厳寒期に休眠中の冬芽を採取する。②消毒後クリーンベンチで茎頂(1 mm程度の生長点を含む分裂組織)を切りだす。③凍結防御物質DMSO(ジメチルスルホキシド)を添加した液中に1時間ぐらい浸漬する。④ -5°C 、 -15°C 、 -40°C と順次ゆっくりと温度を下げて行き、液体窒素(-196°C)に浸漬する。このまま永久保存を続ける。⑤加温は液体窒素から急速に温湯 37°C に入れる。⑥よく洗浄してから培養を開始する。

茎頂の低温保存法は、現在急速に発展しつつある組織培養技術の中で、植物体再生の過程でカルスを経由しないため、遺伝変異の生ずる心配がないのでIBPGRで取り上げるようになったのです。しかしながら、遺伝資源保存の意味を拡張して、たとえ遺伝変異は生じても遺伝子の次世代継承を考え、生殖質、つまり、花粉・種子等の保存研究も現在では大変進んでまいりました。これらの方法を次に紹介したいと思います。

果樹花粉(モモ・ナシ・リング等)の永久保存法を次の手順で行います。①開花1日前の蕾を収集する。②開やく器 24°C 、1昼夜で開やくし花粉を集める。③凍結乾燥(予備凍結 -20°C 、乾燥時間30分)してビンに入れる。④ -20°C 以下で貯蔵する(液体窒素 -196°C ならもっと保存期間の延長が可能)。⑤交配直前に恒温槽(90%RH、 5°C 、6時間)で花粉を元の状態にもどしてから使用する。

このような方法で落葉果樹類は花粉の長期貯蔵が可能となり、実際に、アメリカ・ニュージーランド等に貯蔵花粉を航空便で送って交配を行った結果、高い着果率を得ています。この仕事は、実は遺伝資源保存のために始めたのですが、育種に役立つ結果となりました。というのは、地球の裏側では開花期がちょうど反対の季節になるが、花粉を貯蔵することによってこれまで不可能だった交配組合せができるようになりました。また、今まで穂木で外国から導入しますと、植物防疫法によって隔離栽培を2年行って、それから開花を待って交配を行うので、新しい雑種タ子が得られるまで数年かかったものが、直接交配ができるので育種年限が大幅に短縮できるというメリットができたわけです。

第3表は、農林水産省の行った共同研究、「永年生木本作物の有用生殖質の長期保存と利用に関する研究(1980)農林水産技術会議事務局」から引用したものです。このように、植物生殖質(栄養体・花粉・種子)の長期保存法は確実に進歩してきました。

なかでも、ナシ・ブドウの穂木は、1月頃採穂し、クロン・ルベロン等で消毒し、ポリエチレン袋に入れて -1°C ～ -3°C 位で、乾燥を防ぎつつ保存すれば、5年間寿命を保たせることができるようになったのです。またかわったところでは、チャの根の長期保存法が開発され、3月に採根(根の太さ10mm以上、長さ4cm以上)、水ゴケと共にポリ袋に入れ、 0°C ～ 5°C に保存すると5年以上確実に生存し、根から新しい植物体の再生が可能となりました。

また、果樹類の種子は、どちらかといえば、recalcitrant seed(保存のむずかしい種子)の仲間として現在とりあつかっている種子の仲間にはいりません。しかしながら、カキの種子でも、3日程度風乾してから、種子の含水率40%程度にし、 0°C で貯蔵することによって1.5年以上の保存ができるようになったのです。

Table 3. Duration of successful storage under various conditions of tree crops under appropriate conditions (AKIHAMA and NAKAJIMA, 1981)

Material	Tree Crop	Storage Conditions	Viability duration
Pollen	Peach and Japanese pear	Capped in glass-tubes and kept at below -20°C or immersed in liquid nitrogen; pollen from anthers dehisced at 25°C were freeze-dried at -20°C for 30 minutes	10 years
Pollen	Citrus	Enclosed in polythene bags containing silica gel and kept at -20°C	2 years
Seed	Japanese pear	Sealed in polythene containers and kept at below -1°C , after dehydrating by silica gel for 8 days	5 years
Seed	Japanese persimmon	Sealed in containers and kept at 0°C , after air drying for 3 days	1.5 years
Seed	Citrus	Enclosed in polythene bags or sealed in containers with moist sand and kept at 4°C	3 years
Callus	Apple	Capped in glass-tubes and immersed in liquid nitrogen, after pre-freezing at -25°C to -30°C	1 year (postulated)
Shoot tip	Mulberry	Subcultured every 1 month in MS+BA medium at 25°C under illumination	5 months
Scion	Japanese pear	Enclosed in polythene bags and kept at -1°C to -3°C , after collecting in January	5 years
Scion	Grape	Enclosed in polythene bags and kept at -1°C to -3°C , after collecting in January	5 years
Scion	Apple	Enclosed in polythene bags and kept at 0°C , after collecting in January	2 years
Scion	Citrus	Enclosed in polythene bags and kept at 5°C , after collecting from October to December	2.5 years
Unrooted cutting	Mulberry	Enclosed in polythene bags and kept at 2.5°C under 90% relative humidity, after collecting in February	2 years
Unrooted cutting	Tea	Enclosed in polythene bags and kept at 0°C to 2°C , after collecting from December to February	10 months
Rooted cutting (2 years old)	Tea	Enclosed in polythene bags wrapped in moist sphagnum and kept at 0°C to 5°C , after collecting from February to March	3 years
Grafted plant (1 year old)	Mulberry	Enclosed in experimental CA boxes with gas concentration of 80% N_2 , 15% O_2 and 5% CO_2 , and kept at 2.5°C	1 year
Root	Tea	Enclosed in polythene bags wrapped in moist sphagnum and kept at 0°C to 5°C , after collecting in March; roots of over 1 cm in diameter and of over 4 cm in length are preferable	5 years

4. おわりに

遺伝資源探索は、こまめに歩くので思わぬ発見もあります。つまり、ブントンの遺伝変異の大きさから、南タイが起源であるとの確信を得ました。

現地で、ミカン属の判定に、葉を太陽にすかしてみても、細胞間の油胞の有無を確かめたり、葉を折りまげて臭いを嗅いでカンキツ類独特の香り確かめたりする、探索の実際が身につきました。

改良品種の普及と人間による開発によって、いかにスピードで遺伝資源が消滅して行くかを実感できました。ますます、遺伝資源の重要性が身にしみてきました。

遺伝資源関連の仕事・研究は地味ではあるが、現時点で大変重要であり、バイオテクノロジーをさらに発展させるためには、遺伝資源がなくては人類の宝になり得ないと確信しております。

質 疑 応 答

富永：カンキツの遺伝資源を種子で導入するとき、文旦類のような単胚性のものはどうお考えですか。

秋浜：ブントンは単胚ですから採集しても、雑種しか得られません。そこで穂木を収集する必要があるわけですね。最近では、日本製の冷蔵庫がどんな辺境へ行っても持っている人があるので、そこで氷を手に入れ、魚釣用のクーラーで穂木をビニールで包んで持って歩けます。国際空港のある街にきたとき、日本へ送りだせば、成田空港の植物防疫所経由で少くとも2～3日後には果樹試験場の隔離温室で接木が終っております。

質問者2：カンキツのオリジンは東南アジアなのでしょう。中国やインドにいろいろなカンキツ類があると本で読んだのですが？

秋浜：実は、中国の雲南、インドのアッサム、北ビルマ等が、もっともカンキツ類の種類が多く、本当のオリジンはこのあたりでしょう。しかし私共のミッションは、2次センターですけれども種類の豊富な東南アジアが探索の守備範囲なので、国際チームとしてできる地域から5年計画でスタートしました。ですから、タイ・マレーシア・インドネシア・フィリピンと続けている次第です。

質問者3：植物分類学上でいうカンキツの分類とは少し違う点があるように思うのですが。そのへんのお考えをお教え下さい。

秋浜：果物類には栽培学的な分類が多く、種がやたらに多いものがたくさんあります。カンキツ類もその点同様です。アメリカのスィングル先生と日本の田中先生の分類が、国によって違っているのです。タイやマレーシアは前者の分類法ですが、インドでは後者を使っています。国際ミッションで分類法についてはそれぞれ違いがありますが、そんなことの議論ばかりしては収集の能率が落ちますので、そのへんの議論はおいといて、遺伝資源の重要性の判断を優先させているわけです。

湯川：遺伝資源を穂木で採集する場合、害虫が付いていることも多いと思います。そのとき害虫の標本も採集するというようなことができますか。

秋浜：植物防疫所で虫が付いたら大変です。そこで穂木は現地で厳重に消毒して虫や病気が見当たらないようにチェックしております。興味もあり重要なこととも思うのですが、およそ35日間で5～6千キロ(km) 走りますので暇がありません。穂木や種子はホテルに帰ってから処理しますが、種子などは消毒後一晩かけて陰干して、乾燥不十分な場合は翌晩も紙に広げたりします。150点ほどの材料の管理で寝る間もないくらいです。

湯川：もちろん、おいそがしいのはわかりますが、このような情報の蓄積は、将来の遺伝資源の保存栽培のときにも役立つと思うわけです。アルコール標本にするとか、殺して持ち帰って頂けるとありがたいと

思います。

秋浜：確かにそうなんですけれども、国際部隊は大変です。カンキツの専門家，現地の試験場の技師，大学の先生等，英語と現地語と入りまじって，隊長として収集材料の聞きこみや隊の行動の指揮，会計処理等しておりますと，もう大変でして，5年プロジェクトが終了して，もう一度，出かける機会があれば余裕がでてくるかも知れません。どうもご要望に答えられませんすみません。



Fig. 2. Upper : A shaddock with red sarcocarp collected in South Thailand.
Lower : A citrus-related genus collected in Sabah, Malaysia.

Distribution and Exploration of Fruit Crops

Tomoya AKIHAMA

Faculty of Agriculture, Meiji University, Ikuta, Kanagawa, JAPAN 214

Through the mission to 14 nations during the 10 years of 1974 to 1984, International Board of Plant Genetic Resources (IBPGR) collected 2,468 varieties of fruit trees by the explorations.

For citrus family, a five-year collection project for genetic resources is being carried out in South-East Asia since 1983. This is because citrus family is especially valuable as vitamine resources. Up to now, explorations to Thailand, Malaysia, Brunei and Indonesia have been completed.

There are two types of citrus regarding the embryogenesis, monoembryonic and polyembryonic. Embryos of the latter are initiated from somatic cells of the seed parents, which means they are maternal clones. By this reason, these seeds represent very convenient subject of genetic resources collections.

For the permanent maintenance of genetic resources, cryopreservation of shoot apex and *in vitro* gene banks through tissue culturing have been develops to avoid troublesome virus infections.