

林木育種情報

No.5

2011.2



独立行政法人 森林総合研究所 林木育種センター

新たなステージに立つ林木育種

審議役 富永 茂

我が国の1千万ヘクタールに及ぶ人工林の令級構成はすでに35%が50年生以上であり、10年後にはそれが60%にもなる。これは我が国の人工林が「資源の整備期」から、本格的な「利用期」に到達しつつあることを示している。

最近、中国の旺盛な木材消費等に伴う世界の木材貿易の変化などから外材の安定確保に不安を抱いた大手木材業界は、国産材が価格競争力を持ってきたことなどもあって、足下の国産材に着目して一斉に国産材確保に動き出した。

また、住宅建築における木材の利用は、工法が多様化し、化粧的な利用から強度や性能を重視する方向に変化している。同時に乾燥や加工技術の進歩もあって、国産材も集成材や合板など様々な形で利用されてきている。

このように川下サイドは、生産性の向上や新たな需要に対応した、消費者のニーズに向き合った対応をしてきている。

しかしながら川上サイドの林業経営は、旧態依然とした森林施業体系から抜け出せていない。昨年林野庁が策定した「森林林業再生プラン」はそうした危機感からとりまとめられたものとも言える。

利用期に達した我が国の人工林において「伐ったら植える」林業経営が出来るようにするためには、伐出コストを引き下げることと併せて、造林に係る初期投資をいかに低減させる

かがポイントである。現に、伐採しても再造林を行わず、放棄してしまう事例が顕在化し全国的な問題となっている。

材質的に優れ、初期成長が飛躍的に良い苗木があれば、下刈り等の保育経費の節減になるばかりか、コンテナ苗化することにより、地拵えを省略して時期を選ばずに植栽でき、初期の造林経費を大幅に削減することが可能となる。今、林家からはこうした苗木が求められている。

育種センターでは、50年以上にわたって蓄積してきた貴重な林木遺伝資源と検定林データを活かしてそうした可能性を秘めた第2世代精英樹を開発しつつあり、さらに先行している海外に追いつくべく、育種技術の高度化、高速化により第三世代化も視野に入れた開発を進めている。

育種事業における第2世代化の議論はこれまで何度かされてきた。森林資源の充実や国産材指向の強まりと相まって、木材自給率50%という政策の方向性が明示された今こそ林木育種事業が新たなステージに立ち向かうチャンスである。

苗木の重要性を表す「苗木半作」という言葉が示すとおり、有用な苗木を作り出す林木育種が我が国の林業再生の切り札になると言っても過言ではない。林木育種に携わる者として、そうした認識を持って開発に係りたいと思う。

【紙面紹介】

育種の新たな局面を示す次世代育種促進研究会の開催 2

ドイツ・フランスの林木育種事情調査 6

遺伝子組換え林木の環境影響評価 10

林木育種におけるDNA分析技術(2)
- DNAの抽出法 - 12

育種の新たな局面を示す次世代育種促進研究会の開催

1. はじめに

平成21年12月に「森林・林業再生プラン」が公表されました。“コンクリート社会から木の社会へ”の標語のもと、今後10年間で国産材のシェア50%達成等を目指しており、林木育種分野も対応を進めていく必要があります。

一方、写真1と2に示したように、植栽2年目で樹高3mを越えるスギや植栽後、満4年で7mに達するほどに成長の早いスギがあります。これらは、一般に流通している山行き苗

ではありません。林木育種50年間の成果として、今まさに実用化されようとしている精英樹F₁の一部です。精英樹とは全国各地の山で成長や通直性等に優れた林木を選抜したものです。それらの中でさらに成長等に優れたもの同士を交配して育成したのが写真のF₁であり、全国88箇所の林分に植えられています。現在、F₁から成長等が格段に優れた第2世代精英樹の選抜を進めており、これらは優れた成長等によって下刈り期間、伐期の短縮などで収益改善に寄与することが期待できます。



写真1 満1年で樹高3m以上
(福岡県英彦山)



写真2 満4年で樹高7m
(茨城県城里町)

このような背景から、林木育種センターでは格段に優れた第2世代精英樹の性能を「森林・林業再生プラン」に活用することなどをねらい、次世代種苗の開発、さらには普及・活用の促進に着手しており、その適切な推進方策を検討するため、関係諸団体や林業関係者、学識経験者による「次世代育種促進研究会」を設置しました。これまでに2回の会合と1回の現地検討会を実施しており、それらの概要を紹介いたします。

2. 研究会の目的と構成

研究会の設置目的は、①第2世代精英樹の選抜と活用についての関係機関を総合したロードマップの作成、②第2世代精英樹の採種園・採穂園の造成計画の策定、③第2世代精英樹の苗木生産、供給体制の確立、④第3世代精英樹開発の推進について検討するものであり、これに関係する各分野から適任者を選出し、検討委員として委嘱しました。森林遺伝、育種、造林技術、木材利用の各分野の大学教官等研究者4名、林業種苗生産事業者1名、さらに需要側からは篤林家及び林業会社

3名、計8名を検討委員に選任しました。また、事務局は林木育種センターが担当し、林野庁及び都道府県はオブザーバー参加としました。

3. 第一回研究会の実施

第一回研究会は平成22年7月5日に開催されました。検討課題は第2世代精英樹の活用及び第3世代精英樹開発の促進であり、これまでの林木育種の取り組みと成果、海外の林木育種との比較及び林業を取り巻く現状と都道府県に対する林木育種に関するアンケート調査結果等の資料をもとに、活発な論議が行われました。その概要を次に示します。

優れた成長は再造林放棄地の解消等に寄与するとの第2世代精英樹への期待の高まりがあり、その一方で、成長だけではなく材質にも留意して品種開発を進めて欲しいとの意見もありました。これに対して、事務局から成長、材質の双方に着目して開発を進めていること、材質は育種効果が高いことなどが説明されました。また、せっかく良い品種が開発されてもそれを選択して入手できないので、



写真3 第一回研究会における審議の様子

これに対応できる体制が必要との要望もありました。

また、山行き需要に適切に応じた生産計画を立てられるように、どのような品種を生産すれば良いのか、情報を共有できる体制が必要である、第2世代精英樹専用の収穫予測表を作成すれば、その優れた性能を需要者側が理解できるので、普及の促進につながっていくなどの提言がありました。

一方、スギにはスギの特徴があるので、海外のように成長だけを目指すのではなく、多様な用途に対応した育種も大切なのではないかと意見がありました。同様に、花粉対策品種やマツノザイセンチュウ抵抗性品種など日本に特有の育種も大切にしてもらいたい、地球温暖化への対応も必要である、次世代化は早生樹も対象に含めることを考える価値がある等の意見も出されました。

このように、多様な意見が出されましたが、第2世代精英樹の画期的に優れた成長は現時点で最も優先順位が高く、第2世代精英樹が充実すればそれらを素材として多様なニーズへ対応して行くとの認識で一致しました。また、事務局からは育種についての新たな評価技術の導入など次世代育種の促進に向けて体制強

化を図っていることが紹介されました。

参加者からは、林業や林木育種は暗い時代が続いてきた中であって、格段に優れた第2世代、第3世代の開発が進んでいることについて、ようやく光明が見えたとの感想をいただきました。

4. 第二回研究会及び現地視察の実施

第一回研究会での検討結果を受け、第2世代精英樹の活用を促進する新たな原種・種苗の生産・普及体制を検討課題として、平成22年10月6日に開催され、原種・種苗の供給体制に関する現状と海外との比較等の資料をもとに、活発に論議されました。また、研究会に先立ち、第2世代候補木、採種園や苗畑の現地視察を実施しました。研究会では都道府県の意見を参酌するため、茨城県と福岡県の育種事業担当者に第2世代精英樹種苗をどのように捉えているのかを紹介していただきました。それらの概要を次に示します。

茨城、福岡両県の育種担当者から第2世代精英樹種苗の優れた成長に対する期待が述べられるとともに、原種の円滑な供給が要望されました。



写真4 “満4年で樹高7m”スギF1検定林の視察
(茨城県城里町)

一方、研究会ではコンテナ苗が大きな話題となりました。コンテナ苗は欧米では当たり前になり普及しており、造林の効率化等で一定の成果を得ています。これに対して、我が国での適用には改善点も多いとされるものの、造林初期におけるメリットが大きいので、導入する価値があるとの考えが多勢を占めました。また、効果的に普及していくためには持続的に啓蒙していくことが重要であるとの指摘もありました。これまでも、当初だけ注目され、先細りしていった例があり、同様の轍を踏まないようにすべきとの懸念を示したものです。

一方、都道府県の予算、要員数の現状を考えるなら、採種園の造成・運営の広域連携を検討していくことも必要であるとの意見がありました。しかし、都道府県によっては温度差があるので、全国の林業者が同じように恩恵を得られるような体制を考える必要があるとの指摘がありました。

このように、第二回研究会では、第2世代精英樹の優れた性能を活用するためには原種・種苗の供給体制の構築が重要であるとの認識で一致しました。

現地視察会は研究会の前日に実施され、検

討委員、オブザーバー参加機関等が植栽満4年で樹高7mに達したスギF₁個体が生育するF₁検定林、スギミニチュア採種園、民間苗畑を視察しました。実施に当たっては、茨城森林管理署、茨城県及び茨城県林業種苗協同組合の協力を得ており、この場を借りて各機関にお礼を申し上げます。「百分は一見にしかず」、参加者は一様にF₁の成長の良さに驚嘆されるとともに、次世代育種への期待をより強くされ、実物の展示の効果と重要性を認識させられました。

5. 今後の動き

2回の研究会を重ね、第三回研究会ではいよいよ中間報告の取りまとめに向けた検討を実施することとなります。平成23年1月19日の開催に向けて準備が進められているところです。

本研究会が持続した勢いとなるように各分野においてアクションを起こすべく、働きかけを強めています。大きな流れを作っていくために、全国の林木育種関係者の協力に期待するところです。

(育種部 育種第一課 藤澤義武)



写真5 スギミニチュア採種園と民間苗畑の視察
(茨城県林業技術センター) (茨城県那珂市)

ドイツ・フランスの林木育種事情調査

1. はじめに

明治以後、日本が主として政策と経営面で規範としたドイツ林業については、近年その生産性の高さに注目が集まっています。さらに、隣国フランスでは、良質な広葉樹材を生産することで有名で、南部には世界で最も面積の広いフランスカイガンショウの人工林が広がっています。今回、2010年7月に、この二国の林木育種事情を調査する機会に恵まれましたので、その概要を報告致します。

2. ドイツ

1) ドイツの森林・林業

ドイツは工業の盛んな先進国であり、人件費も高く、また小規模な森林所有者が多数存在しているなど、日本と共通した点が多くみられます。また、森林面積は約1,100万haと日本の人工林面積とほぼ同じです。しかし、ドイツでは木材生産量が増加しつつあり、2007年の丸太の生産量はEU第二位で、76,728千m³と日本の4倍以上です。

効率的な林業を支えているのは、成熟した林分と長伐期施業、森林資源調査に基づく計画的な生産、間伐と天然下種更新による植林費用の低減、高密度に張り巡らされた路網、林業用機械の汎用化、森林所有者が製材会社に直接販売する流通システム等が挙げられます。

全森林面積のうち、ドイツトウヒ、ヨーロッパアカマツなどの針葉樹林が58%を占めますが、近年は広葉樹林への転換あるいは混交林化が進められています。戦後、木材生産を拡大するために針葉樹が植えられたものの、風害や雪害の発生、さらに1980年代に酸

性雨被害が甚大化したことによって自然保護への要求が高まり、「自然に近い林業」の導入が推進されたためです。そのため、皆伐を規制して択伐を行う、天然更新を促す、植栽する地域産の種子や在来樹種を使用するなどの施業が行われ、本来のドイツの自然状態の森林、すなわち広葉樹優勢の状態へ誘導しようとしています。なお、天然更新は全更新の80%を占めています。

2) ドイツの育種

ドイツでは連邦制をとっており、連邦政府はいわゆる「小さな政府」です。そのため、林木育種においても連邦政府の研究機関(Institute of Forest Genetics、以下FG。農林水産研究所Johann Heinrich von Thunen-Institutの一つ)は国際的な研究、技術開発及び州間の調整を行い、実質的な育種事業は州政府の研究機関が行うという体制がとられています。なお、採種園の設定から種苗生産までは州政府と民間会社の双方が実施していますが、採種園の設定・管理は州政府が主体、採種及び育種種苗の生産・販売は民間会社が主体で実施しています。州政府は主として州有林用の種苗を供給し、民間会社は州有林、私有林の双方に種苗を供給しています。

おおまかな育種の流れは、まず産地試験による樹種・産地の選定、次いで樹種内の家系あるいは個体の選抜というオーソドックスなものです。国外からの樹種の導入にも意欲的で、バイエルン州の種子センターでは日本のウダイカンバの種子を入手できないかと相談されました。産地試験林及び次代検定林の結果に基づき、種苗配布区域が細かく設定されています。現在はほとんどの樹種で世代促進による育種は行われていないようで、検定済

みの第一世代の採種園から種子が供給されています。

例外として、バイオマス生産用のポプラ・ヤナギ類の育種が活発に進められています。ドイツの農林省が出資するFastWOODという早生樹育種プロジェクトでは、前述したFGのほか、各州の研究機関、大学等が参画しており、中心となってプロジェクトを推進している北西ドイツ森林研究所（Nordwest-Deutsche Forstliche Versuchsanstalt, NW-FVA）で話を伺うことができました。このプロジェクトでは、まずポプラ類の種間交雑を行い、成長・耐霜性が優れた雑種を創出します（写真-1）。



写真-1 ポプラの種間雑種の成長比較

実生群から特に形質の優れた個体を選抜し、畑に直ぎしてクローン検定を行います。発根性、再萌芽性、バイオマスの収量、耐霜性及びさび病抵抗性の評価を行い、優良クローンを品種として決定します。交配から5～6年で開発が可能であり、最大18トン（乾燥重量）/ha・年を収穫できる品種を開発したとのことでした。

3) 普及体制

ドイツでは、品質が高い種苗を生産して森林全体の生産性を向上するため、Forstvermehrungsgutgesetz (FoVG) という法律を

規定し、地域ごとに推奨される品種を28の樹種ごとに示しています。ここで育種種苗は以下の3カテゴリーに分類されます；

tested: 後代検定試験で優れた成績を示す親から供給されたもの

qualified: 精英樹から構成される採種園から供給されたもの

selected: 野外において優れた表現型を示す親から供給されたもの

販売される種苗がいずれのカテゴリーに属するのか、またどの採種源から供給されているかは、販売される種苗のカタログ上で明記されています。しかし、カテゴリーによって種苗の価格はほとんど変わりません。また、ある研究者は「育種された種苗の価値が造林者に理解されず、なかなか利用されない」と嘆いていました。このことは、特に天然更新が主に行われる樹種において顕著であるとのことでした。

3. フランス

1) フランスの森林・林業

国土面積5,501万haのうち、28%の1,555万haが森林であり、このうち60%が広葉樹林、35%が針葉樹林で占められています。木材生産量はEU第三位ですが（2007年）、用材の比率は47%と低く、薪炭用材等の比率が53%と高いのが特徴です。

フランスでは、ナラ・ブナ類の広葉樹林が平地を中心として広範に形成されています。これらの森林では大木が散在し、皆伐一斉造林は部分的・局所的で、小面積皆伐や天然更新が行われています。また、東部地域では異齡林が多く、単木択伐に近い択伐施業が行われています。広葉樹の伐期は長く、200～250年です。また、人工林・天然林という概念がなく、ほぼ全ての森林は何千年も人の手が入っている「準天然林」とであるとされています。

一方、針葉樹の面積は約35%と少ないのですが、木材生産量の67%を占めます。全樹種で最も多く植栽されているのはフランスカイガンショウ、次いでダグラスファーです。この両樹種に対しては育種が盛んに行われています。フランスカイガンショウの造林は広葉樹のそれとは異なり、伐期が短く（アキテーヌ地方で35～40年）、育種種苗を用いた一斉造林が行われています。

2) フランスの育種

フランスは一極集中型の政治体制をとっており、林木育種に関する研究及び事業は、全て国の研究機関であるINRA (Institut National de la Recherche Agronomique) が実施しています。INRAは公的な研究機関として1946年に設立され、林業だけでなく農業、食料、栄養、環境、土壌等の研究を運営する研究機関です。この機関には21の支部があり、そのうち林木育種に携わっているのはオルレアン、ボルドー・アキテーヌ及びアビニヨンの3カ所です。3カ所で樹種が重ならないよう分担し、オルレアンが林木育種全体の統括を行っています。

INRAオルレアンはパリの約130km南西に位置します。ここではダグラスファー、カラマツ属、ヨーロッパアカマツ、セイヨウトネリコ、セイヨウミザクラ、ポプラ・ヤナギ類の育種が行われています。セイヨウトネリコ、セイヨウミザクラでは、ヨーロッパ各地の林分から表現型に優れた個体が集められ、次代検定林によって評価が行われています。セイヨウトネリコでは、フランス内で29の検定林が設定され、580の自然受粉家系が植栽されています。優れた形質を示した個体は採種園で増殖され、野外に植栽されます。セイヨウミザクラでは天然林が希少なものになりつつあるため、木材生産及び果樹用の家系をDNAマーカーで同定し、花粉あるいは種子が天然の林分の遺伝的構造に影響を与えない

ようにモニタリングが実施されています。

ダグラスファーは国外から導入されています。北アメリカ・カナダの西海岸で育種された種子を用いて1985年までに15カ国、108カ所の産地試験が行われました。1985年以降は、ベルギー、スペイン、フランス、ドイツ、イタリア及びイギリスがプロジェクトを実施し、約1,000家系の育種集団を検定林ネットワークで評価し、600クローンを選抜する予定です。また、後代検定により一般組み合わせ能力を推定し、採種園を構成するクローンから200クローンの選抜も計画されています。なお、これらの選抜の際に、できるだけ短期間で選抜を行うため、農場用地で2～6年の検定と林地での11年の成長を比較しています。その結果、家系のランキングの相関係数が平均0.6程度であることが明らかになっています。

ドイツ同様、ポプラ・ヤナギ類の育種も盛んです。写真-2は、さび病菌の6種類のレースを接種して、抵抗性の検定を行っているところです。イタリア及びベルギーと共同でプロジェクトを進め、2009年にはポプラ2種の全ゲノム解析を完了し、遺伝子組み換えポプラを作出するなど、先進的な取組みもなされています。



写真-2 さび病菌抵抗性の検定

フランス南部に位置するINRAボルドー・アキテーヌには、古くからフランスカイガン

ショウの育種を実践しているピエトロン研究支所があります。ワインで有名なこの地方に広がるランド平原は、18世紀末に着手された排水事業によって人工的に森林化された土地です。現在は貧栄養・強酸性の砂地であり、ここで健全に成長できる高木樹種はフランスカイガンショウだけです。見渡す限りの純林が広がっていました(写真-3)。かつて伐期は60年程度でしたが、育種により成長が促進され、現在の伐期は35~40年です。生産量は11m³/ha・年で、痩せた砂地としては非常に生産性が高いと言えるでしょう。



写真-3 フランスカイガンショウの人工林

フランスカイガンショウの育種事業は1926年に開始され、まず産地試験(フランス本土・コルシカ島・スペイン・ポルトガル・モロッコ)が行われました。試験の結果、フランス本土産の成育が早いことが明らかになり、1960年代に成長及び樹形に優れた635個体(G0世代)が選抜されました。これらを母集団として循環選抜が行われ、2000年代にはG3世代の選抜に達しています。現在はサブライン方式への移行が行われ、G1世代を中心として使用するクローンを絞り込み、10~20のサブラインに分けています。各サブライン内で交配し、優れたクローンを選抜する方式になっています。

一方、採種園は第三世代までが整備されています。ただし、採種園の世代は育種集団のそれとは関係はなく、第三世代の採種園はG1世代の40クローンの交配家系が用いられてい

ます。採種園の周囲の林分が全てフランスカイガンショウであるため、採種園はPolycrossの実生採種園方式を採用しています。すなわち、選ばれた家系の花粉を混合して人工受粉します。第三世代の採種園から生産される種苗の材積の遺伝獲得量は、非選抜の種苗と比較して+40~45%と予想されています。

3) 普及体制

INRAが担当するのは品種の開発までであり、採種及び苗木生産は民間会社が担当します。ドイツと同様に、種苗の販売カタログで「tested」「qualified」「selected」のカテゴリー区分がなされます。人工植栽率の高いフランスカイガンショウについては、育種種苗が好んで使われるとのことでした。

4. 終わりに

ピエトロン研究支所で、日本で行っているマツ材線虫病に対する抵抗性育種事業を紹介したところ、各樹種の抵抗性、選抜に使用するマツノザイセンチュウの系統及び病原性、抵抗性打破の可能性等の質問が挙がりました。ポルトガルで被害が拡大していることから、フランスまで被害が北上するのは時間の問題だと捉えているそうです。フランスカイガンショウの育種や造林のシステムはスギと通ずるところが多々あるように思いましたので、情報交換を行いつつ、研究及び事業の発展に資する連携が可能なのではないかと思います。

最後に、この貴重な機会を与え、全行程において支援して下さった佐藤隆課長、大門誠海外育種情報主幹はじめ、海外協力部の皆様に対して厚く御礼申し上げます。また、同行させて頂いた東北育種場の星比呂志育種課長に深く感謝致します。

(九州育種場 主任研究員 大平峰子)

遺伝子組換え林木の環境影響評価

1. はじめに

遺伝子組換えは、通常の育種方法では達成困難な形質の付与を可能とします。この組換えによる育種のメリットを利用し、1996年より遺伝子組換え作物の商業栽培が始まり、その栽培面積や栽培国は増加しています。現在、農業大国アメリカにおける作付け面積ベースでの組換え作物の比率はトウモロコシでは86%、大豆では93%、ワタでは93%とこれらの作物の大半を占めるようになっていきます。

作物に比較して交配を行うために長い期間を要し、また、樹体の巨大な林木の育種に遺伝子組み換えの手法を導入するメリットは大きいと考えられます。遺伝子組換え林木の商業栽培は中国での害虫耐性ポプラのみですが、野外栽培試験の実施例は多数あります。



図1 隔離ほ場で生育する組換えポプラ

一方、人間活動の増大が、環境を悪化させ、その結果、生物の多様性が損なわれていることが指摘されています。そこで、組換え生物を屋外で栽培する際には、遺伝子組換え生物が環境に変化をもたらし、その結果、生物多様性に対して望ましくない影響があるかどうかをあらかじめ確認しなければなりません。私たちは、2007年よりポプラの一種であるギ

ンドロの組換え体の野外栽培試験を行っています(図1)。この例を参考に組換え林木の環境影響評価について紹介します。

2. 環境影響評価の方法

まず、遺伝子組換えの対象とした種(宿主と呼びます。)の繁殖様式、近縁種との交雑性、生育環境など生理的、生態的特性を文献情報などにより整理します。次に組換えた遺伝子により宿主の生理的、生態的特性が変化するかどうかを導入遺伝子の性質から考察し、また、具体的実験データを収集します。その後、遺伝子組換え植物は生物多様性に何らかの影響を及ぼす可能性を持っているか?育てる環境でその影響が起こりうるか?その影響が起きた場合、どのような結果となるか?これらを考えた後に総合的に評価を下します。その際、下記の4項目について考えます。

①競合における優位性：生存競争に勝ち、周囲に生育する野生動植物の生育に影響を与えるか?②有害物質の産生性：植物は他の植物や微生物の生育に影響を及ぼす物質を体内に蓄積したり分泌することが知られているが、これらが非組換え体に比較して増加しているか?③交雑性：野生植物と交雑するか?④その他の性質(①~③以外に環境への影響を評価すべき項目がある場合)。

評価は学識経験者により審査され、承認されます。この評価の方法は、農作物を念頭に置いた方法で、現在までに150件ほどが承認されました。林木も農作物の方法に準じた評価が可能であり、8件が承認されています。なお、ここでの件数は主に「イベント」といわれるものに数えられています。ポプラの場合は、2イベントが審査されたので2件になり

ます。

3. 組換えポプラの評価の例

今回のポプラの場合は、キシログルカンと呼ばれる細胞壁にある多糖の一種を特異的に分解する性質を付与するための遺伝子を導入しました。植木鉢で育てた場合、組換えポプラのセルロース含量と材の密度が高くなり、パルプ原料としての適正が向上したと考えられました。それでは、ポプラの隔離ほ場栽培の申請の際に行った生物多様性影響評価について紹介します。

①競合における優位性

組換えポプラは、セルロース含量と材の密度が高くなり、葉はやや小さく緑色が濃いことが非組換えポプラと異なっていました。しかし、これらのことにより生存競争能力が高くなっているとは考え難いと判断しました。

②有害物質の産生性

ポプラは有害物質を産生する樹種ではありません。導入した遺伝子は、有害物質やアレルギー物質を作りません。根から分泌する物質の他の植物(図2)や微生物への影響や体内に蓄積する物質の他の植物に与える影響を実験により調べましたが、非組換えポプラと有意差は認められませんでした。

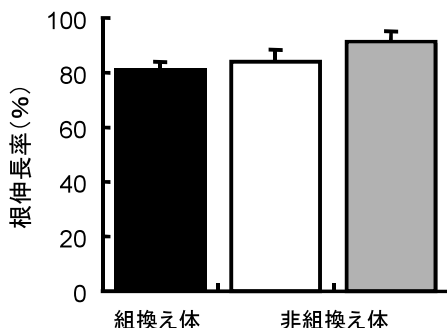


図2 レタスの根の伸長阻害の比較
(プラントボックス法)

③交雑性

ギンドロは、ヤマナラシなどの野生植物と

交雑することが知られています。ポプラは開花までに10~15年を要するとされていますので、4年間の隔離ほ場での栽培期間中には開花しないと考えられます。仮に花芽が出来たとしても切除するなどして交雑を防止します。従って、試験栽培期間中に野生植物と交雑する可能性はないと判断しました。

④その他の性質

ギンドロを含むポプラは病虫害の被害を受けやすいことが知られています。前述のように組換えポプラの材や葉の性質は非組換えポプラと異なる点があるので、病虫害による被害程度が異なるかも知れません。被害が甚大になった場合は周辺の植物にも被害が広がるかも知れません。そのような可能性が生じると判断した場合は直ちに防除を行うので、周辺環境への影響はないと考えました。

これら①~④の評価を総合すると隔離ほ場で4年間組換えポプラを栽培しても環境への影響はないと評価し、栽培実験が承認されました。組換え植物の環境影響評価は、実験室での栽培、隔離ほ場での栽培、一般栽培と段階的に行われます。一般栽培を行うためには、隔離ほ場実験で得られたデータをもとに一般栽培した場合の環境影響評価を行わなければなりません。

4. 今後

隔離ほ場では、この組換えポプラの生育は非組換えポプラに比べ悪くなることが明らかになりました。実験室や温室とは異なり、野外では様々なストレスが働き、生育が悪くなったことを示唆するデータが出ています。この組換えポプラの欠点を改良するための具体的な策が見えてきています。隔離ほ場試験は、組換え林木の性質を正しく理解し、よりよい組換え林木を作るために必須であると考えています。

(森林バイオ研究センター 谷口 亨)

林木育種における DNA 分析技術 (2)

— DNA の抽出法 —

1. はじめに

DNA の抽出方法は対象とする植物種や実験内容によって異なります。それぞれの植物種が持つ成分（例えば、多糖類やポリフェノール類）や目的とする検出方法によって、前処理や精製の過程を行う必要があります。針葉樹類は特に草本植物と比較して多糖類やポリフェノール類を多く含むため、前処理でそれらの狭雑物を除く必要があります。ここでは針葉樹で行われている DNA 抽出方法を以下4つの工程に分けて、簡単にそれぞれのポイントを紹介します。

2. 細胞の破碎および前処理

細胞破碎の程度は取得できる DNA 量に大きく影響します。現在は2mlのチューブに直径3mm程のジルコニアボールやステンレスボール（写真-1）とサンプル（主に新芽や葉）を入れて、振とうすることで容易に多検体のサンプルを破碎しています。



写真-1 サンプル破碎用のチューブとボール
(左:ジルコニアボール、右:ステンレスボール)

破碎したサンプルは前処理として多糖類やポリフェノール類の除去を行います。これらの狭雑物はDNA収量の低下やクオリティーの低下を導くため、あらかじめそれらの狭雑物を除去しておく必要があります。

3. DNAの溶出

破碎した細胞や組織に界面活性剤を加えて、DNAの溶出を行います。界面活性剤は様々な種類がありますが、一般的には臭化セチルトリメチルアンモニウム (CTAB) が利用されています。

4. RNAおよびタンパク質の除去

溶出したDNA溶液にはRNAも含まれているため、RNA分解酵素を加えてRNAを除去します。さらに、過剰なタンパク質も除去するために、有機溶媒(フェノールやクロロホルム溶液)で除タンパクを行います。この工程で除タンパクされていないと、最終的にDNAの再溶解が困難となり、粘性の高いDNA溶液になります。

5. DNAの回収

除タンパクを行ったDNA溶液に酢酸ナトリウムなどの塩類を加え、エタノール類を加えることによってDNAを析出させます。さらに余分な塩類を除去するために70%エタノールによる洗浄を行い、DNAの乾燥を経て、水に再溶解します。この段階でDNA溶液の粘性が高い場合や着色が見られる場合には、DNAの精製を行います。

6. おわりに

現在、市販のキットを利用することで比較的簡単にDNA抽出を行うことができます。しかし、その半面でコストもかかります(少なくともマニュアル抽出の2倍以上)。実験の種類や規模に応じてキットもしくはマニュアルでのDNA抽出を検討して頂ければと思います。

(森林バイオ研究センター 平尾 知士)