



# 林木育種情報

No.36  
2021.3

## 遺伝子組換えとゲノム編集による無花粉スギの作出

森林バイオ研究センター長 藤原 健

森林バイオ研究センターは、無花粉スギを作出するための技術開発に取り組み、科学研究費助成事業等の競争的資金を活用しながら研究を進めてきました。その過程で遺伝子組換えによって無花粉化したスギを開発し、それらの無花粉スギの野外栽培試験を3年間行いました。その結果、野外においても無花粉性が維持されること、肥大成長及び伸長成長が阻害されないことが確認され、設計したとおりの遺伝子組換えの効果が得られました。さらに、スギにおけるゲノム編集技術の開発に取り組みました。ゲノム編集技術は、DNAを狙った部位で切断し、その修復の過程で生じる塩基の欠失や挿入により遺伝子の機能を改変する技術で、2020年にはダウドナ博士とシャルパンティエ博士がノーベル化学賞を受賞した画期的技術です。この技術を利用し、花粉形成に関わる遺伝子を無効にすることによる無花粉化に取り組みました。まずは、ゲノム編集に必要なDNA切断酵素等の遺伝子の塩基配列をスギに合わせて調整し、ゲノム編集効率を向上させました。次に、雄

花で特異的に発現し、花粉形成に関与が推定される遺伝子を対象としたゲノム編集を行い、無花粉化できることを確認しました。なお、ゲノム編集により改変した生物の取扱いについては、外来遺伝子を持たないものは<sup>\*</sup>カルタヘナ法の規制対象外という整理がされています。また、ゲノム編集生物の利用にあたっては、詳細な情報を届け出ることになっています。現時点では、ゲノム編集に必要な酵素等の遺伝子をスギに導入していることから、外来遺伝子をもつ無花粉スギに相当し、野外に植栽することはできませんが、今後交配により外来遺伝子の除去を行い、野外植栽可能なゲノム編集無花粉スギを作出することにしています。

第5期中長期目標期間においてもこれまでの研究を発展させ、ゲノム編集技術の高度化を進めるべく努めて参りますので、引き続き皆様の御理解と御協力をよろしくお願い申し上げます。

※遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律

### 【紙面紹介】

令和2年度に開発した優良品種 …………… 2～3  
気候変動に適応し、花粉発生源対策にも資する  
品種を開発するための育種技術の開発…………… 4  
優れた造林特性を持つ  
アカシア種間雑種クローンの開発…………… 5

生息域外保存コレクションを用いた絶滅危惧種  
オガサワラグワの種子の生産と凍結保存…………… 6～7  
令和2年度林木育種成果発表会を開催…………… 8



国立研究開発法人 森林研究・整備機構  
森林総合研究所林木育種センター

Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute

## 令和2年度に開発した優良品種

### 1. はじめに

国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター（以下、林木育種センター）は、平成28年度からスタートした第4期中長期計画（平成28～32年度：5年間）において「第2世代マツノザイセンチュウ抵抗性品種、成長に優れた少花粉品種等の優良品種150品種の開発を行う」という目標を掲げて、優良品種開発のための調査・研究を進めてきました。

令和2年度は、マツノザイセンチュウ抵抗性品種、花粉症対策品種及び木質バイオマス生産量の大きいヤナギ品種、合計40品種を開発しました。

### 2. マツノザイセンチュウ抵抗性品種

アカマツ、クロマツでは長年にわたりマツ材線虫病による被害が続いており、北海道を除く全ての都府県に被害が及んでいます。その被害は減少傾向にあるものの、平成30年度の被害材積は依然として35万立方メートルと多く、猛威を振るっています。このマツ材線虫病被害の軽減に資するため、林木育種センターは昭和60年からマツノザイセンチュウ抵抗性育種に取り組み、令和元年度末現在で、アカマツで298品種、

クロマツで219品種のマツノザイセンチュウ抵抗性品種を開発してきており、当該品種の採種園からの抵抗性種子の生産により、抵抗性マツ苗木の生産・普及が進んでいます。

令和2年度は、関東育種基本区で1品種、関西育種基本区で1品種、九州育種基本区で10品種のマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ品種を開発しました（表-1）。このうち、九州育種基本区で開発したクロマツ10品種は、抵抗性品種同士の交配苗木から開発した第2世代品種で、従来よりも抵抗性レベルが高い抵抗性品種となっています。

### 3. 花粉症対策品種

日本人の約4割がスギ・ヒノキ花粉症に罹患していると言われています。このため、林野庁では花粉発生源対策の一環として、花粉症対策苗木の植栽を進めています。林木育種センターでは、花粉発生源対策に貢献するため、令和元年度までに花粉症対策品種として、成長等が優れている精英樹の中から少花粉スギ147品種、低花粉スギ60品種及び少花粉ヒノキ55品種、さらに無花粉スギ7品種を開発し、採種徳園に導入するための原種を都府県に配布してきました。



写真1 熊本(合志)クロマツ42号

表-1 マツノザイセンチュウ抵抗性品種

育種基本区	番号	品種名
関東	1	千葉(白子)クロマツ1号
関西	2	岡山(勝央)クロマツ1号
九州	3	熊本(合志)クロマツ41号
	4	熊本(合志)クロマツ42号
	5	熊本(合志)クロマツ43号
	6	熊本(合志)クロマツ44号
	7	熊本(合志)クロマツ45号
	8	熊本(合志)クロマツ46号
	9	熊本(合志)クロマツ47号
	10	熊本(合志)クロマツ48号
	11	熊本(合志)クロマツ49号
	12	熊本(合志)クロマツ50号

現在、植栽されている花粉症対策品種の大半は少花粉スギや低花粉スギですが、今後は無花粉スギの普及が進むことが期待されています。成長等が優れ、林業的にも魅力がある無花粉スギの品種を増やしていくことが、無花粉スギの普及を推進する上では重要です。今年度は東京都、神奈川県、富山県、静岡県、林木育種センターが共同で「心晴れ不稔2号」を、富山県、東京都、林木育種センターが共同で「立山森の輝き1号」から「立山森の輝き10号」の10品種を開発しました(表-2)。これら11品種は初期成長、材質、さし木発根性といった特性が、これまでの精英樹と同等以上の特性となっています。

表-2 開発された無花粉スギ品種

育種基本区	番号	品種名
関東	1	心晴れ不稔2号
関西	2	「立山森の輝き」1号
	3	「立山森の輝き」2号
	4	「立山森の輝き」3号
	5	「立山森の輝き」4号
	6	「立山森の輝き」5号
	7	「立山森の輝き」6号
	8	「立山森の輝き」7号
	9	「立山森の輝き」8号
	10	「立山森の輝き」9号
	11	「立山森の輝き」10号

#### 4. 木質バイオマス生産量の大きいヤナギ品種

持続可能な開発目標、SDGsの一環として、森林資源を循環利用する取組が世界的に進められています。日本では林野庁等が「地域内エコシステム」として森林資源を地域内で持続的に循環させる仕組みづくりに取り組んでいます。北海道ではヤナギに着目した取組が行われていますが、その理由としてヤナギ類は、年間のバイオマス生産量がヘクタール当たり10トンを超えることが期待される樹種であるためです。そのうち、オノエヤナギとエゾノキヌヤナギは北海道内の河川沿いを中心に上流域から下流域まで広く分布します。

表-3 木質バイオマス生産量の大きいヤナギ品種

育種基本区	番号	品種名
北海道	1	オノエヤナギ北育1号
	2	オノエヤナギ北育5号
	3	オノエヤナギ北育9号
	4	オノエヤナギ北育10号
	5	オノエヤナギ北育13号
	6	オノエヤナギ北育15号
	7	オノエヤナギ北育16号
	8	オノエヤナギ北育27号
	9	オノエヤナギ北育30号
	10	エゾノキヌヤナギ北育9号
	11	エゾノキヌヤナギ北育20号
	12	エゾノキヌヤナギ北育22号
	13	エゾノキヌヤナギ北育23号
	14	エゾノキヌヤナギ北育32号
	15	エゾノキヌヤナギ北育201号
	16	エゾノキヌヤナギ北育212号
	17	エゾノキヌヤナギ北育214号



写真2 エゾノキヌヤナギ 北育32号

北海道育種場はこの2樹種を対象として平成21年から調査を開始し、今年度、オノエヤナギ9品種、エゾノキヌヤナギ8品種、合計17品種を開発しました(表-3)。バイオマス生産量の大きいヤナギ品種の開発は、林木育種センターでは初めてのこととなります。

(育種部 育種第一課 倉本 哲嗣)

# 気候変動に適応し、花粉発生源対策にも資する品種を開発するための育種技術の開発

## 1. はじめに

近年、気候変動は国際的にみても大きな問題となっており、緩和策や・適応策の検討が進められています。IPCC（気候変動に関する政府間パネル）第5次評価報告書（平成26年11月公表）において、温暖化は疑う余地がないとされており、最も厳しい温室効果ガスの削減努力を行った場合においても想定される気候変動に対処するため、政府の「気候変動の影響への適応計画」（平成27年11月策定）及び「農林水産省気候変動適応計画」（同年8月策定）が策定されました。このような背景を踏まえ、森林総合研究所林木育種センターは、我が国の森林・林業分野における人工林の生産性と健全性を維持する観点から、農林水産技術会議委託プロジェクト研究「気候変動に適応した花粉発生源対策スギの作出技術開発」に取り組みました。

## 2. 環境適応性と雄花着花性の評価技術の開発とそれを活用した育種素材の作出

気候変動に適応し、花粉発生源対策に資するスギを作出するための育種技術の開発には、環境ストレスに対する応答性を評価できる表現型

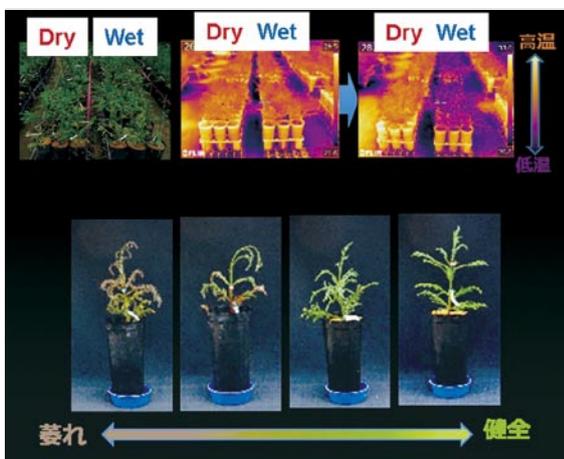


写真1 乾燥ストレス条件下での葉温上昇などの生理的变化（乾燥応答性）について赤外線サーモグラフィーを用いるなどして評価

解析技術や遺伝子解析技術を開発する必要があります。そのためプロジェクトではこれまで蓄積されてきた検定林の調査データを活用して、植栽されたスギ系統の環境応答性を評価する解析モデルを開発するとともに、人工的に環境制御した乾燥試験を実施して、赤外線サーモグラフィー等を活用した環境ストレス応答性を評価する技術を開発しました（写真1）。そして、制御環境下で乾燥試験を実施し、発現している遺伝子の中からストレス状態と相関のある遺伝子を抽出し乾燥耐性を評価するマーカーセットを構築しました。また、気候変動による雄花着花性への影響評価や花粉発生源対策に資するスギを判別するDNAマーカーの開発も進め、特に平成28年度に森林総合研究所林木育種センターと九州大学が開発した、「爽春」の無花粉遺伝子を高い精度で判定できるDNAマーカーで、全国のスギ育種素材の中から無花粉遺伝子をヘテロで有している21の系統を明らかにしました。

プロジェクトを通じて開発したこれらの一連の技術やマーカーを活用することにより、これまで困難であった環境適応性と雄花着花性の解析を踏まえた系統評価を行うことが可能となり、最終的には乾燥耐性に優れ花粉発生源対策に資するスギ育種素材を19系統作出することができました。これらの系統は今後の品種開発等に向けた育種素材として活用していきます。

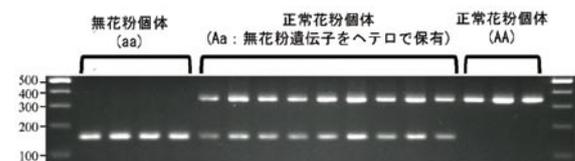


写真2 DNAマーカーによる無花粉スギ遺伝子保有状況の分析例

（育種部 育種第一課 倉本 哲嗣）

# 優れた造林特性を持つアカシア種間雑種クローンの開発

## 1. 東南アジアでのアカシア種間雑種クローンの植林の状況

東南アジアでは、持続可能な林産物生産への取組が進んでいます。安定して持続可能な林産物生産を可能にするためには、短伐期、多用途、病虫害に強い等の条件を兼ね備えた樹種を用いることが重要です。

そのような条件を満たす造林樹種の一つとして、アカシヤマンギウムとアカシヤアウリカリフォルミスの種間雑種(以下、アカシヤ種間雑種)が近年ベトナムを中心とした東南アジアで植栽面積を増やしています。現状では、アカシヤ種間雑種は自然交配由来の個体群から見出された優良個体をクローン化して造林に用いています。ACIARによって2013年に纏められた報告によると、アカシヤ種間雑種クローンの利用が盛んなベトナムでは、12クローンが事業的な造林に用いられているとされています。

## 2. 西表熱帯林育種技術園での人工交配技術の開発

アカシヤ種間雑種の人工交配に関する研究は、林木育種センターの技術開発課題として2006年～2010年までの間に西表熱帯林育種技術園で実施されました。

アカシヤ種間雑種の人工交配技術はすでに確立されていましたが、その方法では花粉の収集と除雄作業に時間を要することと、交配親の受粉適期が限られることから、得られるアカシヤ種間雑種は非常に限られていました。

西表熱帯林育種技術園で開発した人工交配技術は、花粉の収集と受粉作業に同一のプラスチックチューブを用い、除雄を省略することで従来の人工交配技術に比べアカシヤ種間雑種を効率的に創出できる点が優れています。

## 3. 人工交配技術を用いたベトナムでの種間雑種クローンの開発

開発した人工交配技術の有効性を実証するために2013年～2022年までの共同研究契約を王子グリーンリソース(株)と締結し、ベトナム

のビンディン省で人工交配技術を用いて優良なアカシヤ種間雑種クローンの開発に取り組んでいます。

現在までの共同研究の進捗の概要は、以下の1)から4)のとおりです。

- 1) 人工交配技術を用いてアカシヤ種間雑種個体群を創出して、優良個体の表現型選抜をするための実生試験林を3年間にわたり順次3か所造成。
- 2) 植栽後3年を超えた実生試験林から優良個体を選抜。
- 3) 選抜した個体から萌芽枝を採取してさし木増殖を行い、2回に分けて4か所のクローン検定林を造成。
- 4) 先行して造成したクローン検定林2か所について、植栽後3年目までの調査結果を解析して、優良候補クローンの絞込み。

共同研究契約期間の最終年度には、残りの2か所のクローン検定林を解析し、優良クローンを確定する予定です。

開発された新たなクローン品種が実際にベトナムの造林事業で採用されることになれば台風や病虫害による被害の軽減や木材の安定生産に寄与することが期待されます。また、人工交配技術を用いた更なる優良品種の開発に向けた機運が盛り上がることも期待されます。



写真左 選抜した優良個体 写真右 クローン検定林の様子

(海外協力部 西表熱帯林育種技術園  
千吉良 治)

# 生息域外保存コレクションを用いた 絶滅危惧種オガサワラグワの種子の生産と凍結保存

## 1. はじめに

林木育種センターでは、様々な樹木を生息域内・外で保全する林木ジーンバンク事業を実施しています。本事業では有用な樹木と絶滅危惧種等の希少な樹木の保存に取り組んでおり、目的に応じて種子や花粉、苗木等の多様な形態で林木遺伝資源を保存しています。

本稿では、希少樹木保全の一環として実施した絶滅危惧種であるオガサワラグワの種子の生産と保存について紹介します。

## 2. 絶滅危惧種オガサワラグワ

小笠原諸島には、絶滅の危機に瀕するオガサワラグワ (*Morus boninensis*) という小笠原に固有の樹木が生育しています。オガサワラグワは、環境省レッドリスト2020において“近い将来に野生絶滅のリスクが極めて高い種”として絶滅危惧IA類に類別されています。過去には、小笠原諸島の湿性高木林を代表する樹木の一つでしたが、現存する天然木は150本未満と個体数が極端に少なく、現在も減少しています。また、アカギなどの外来種の侵入によってオガサワラグワの生育地が著しく縮小しています。

さらに、父島と母島では純粋なオガサワラグワの種子生産がほとんどないといった、保全上



写真1 ビニールチューブを使った花粉採取の様子

の大きな問題があります。有人島である父島と母島には、戦前に養蚕のためのシマグワ (*M. acidosa*) が導入され、現在は野生化して島内の広域に多く生育しています。シマグワはオガサワラグワと交雑します。そのため、純粋なオガサワラグワの種子生産がシマグワとの交雑によって阻害されており、自然環境下での更新が非常に困難です。

## 3. オガサワラグワの生息域外保存

小笠原諸島での危機的状況から、オガサワラグワの保全には、現地で生存個体を保護するだけでなく、生育地から隔離して保護する生息域外保存が必要です。

林木育種センターでは、組織培養によってオガサワラグワの現存個体のクローンを保存しています。また、組織培養によって作製したクローン苗も温室内で生息域外保存しています。それらのコレクションはおよそ100クローンあり、小笠原に現存する多くの個体を保存しています。生息域外保存コレクションの中には現地では既に枯死し、クローン苗でのみ現存する個体もあります。

## 4. 人工交配による種子の生産

温室内には、およそ300個体のオガサワラグワの苗木が生育しています。バックアップとして、同一クローンを2~3鉢ずつ管理しています。私たちは、それらを管理する中で、苗木の中に花を着ける個体を見つけました。しかも、雄株と雌株の両方で着花する個体を見つけました(オガサワラグワは雌雄異株)。そのため、人工交配によって純粋なオガサワラグワの種子生産が可能となると考えました。そこで、生息域外保存コレクションを用い、人工交配による純粋なオガサワラグワの種子生産に取り組みました。

温室内のオガサワラグワは、毎年、秋に開花します。雄株は9月下旬～11月上旬が、雌株は10月上旬～11月下旬が開花期です。2018～19年の開花期に、ビニールチューブ法を用いて人工交配を行いました。開花中の雄花序をビニールチューブ内へ入れて花粉を採取しました(写真1)。この花粉が付いたビニールチューブに雌花序を入れ、チューブを動かして受粉させました。人工交配後は、成熟した種子が採取できるまでに3～4ヵ月程度かかります。果実の発達具合を観察し、成熟して黒くなった果実から種子を摘出しました。得られた種子は、水選によって充実種子とシイナに選別し、充実種子(写真2A)の発芽試験を行いました。そして、人工交配によって得られたオガサワラグワの種子の発芽率は約70%でした。これらの結果から、人工交配によって発芽力を持ったオガサワラグワの種子生産が可能であることがわかりました。

### 5. 種子の凍結保存

種子の保存は、希少植物の保全技術の一つです。希少種だけでなく、様々な植物の種子が保存されています。オガサワラグワは、生育地での種子の採取が非常に困難ですが、温室内の生息域外保存コレクションを用い、人工交配によって種子生産が可能であることがわかりました。そこで、人工交配種子を用い、種子の凍結保存技術の開発に取り組みました。

氷点下温度で種子を凍結保存するためには、保存前に種子を乾燥処理し、含水率を十分に低下させる必要があります。細胞内に水分を多く含むと、凍結保存中に細胞内水分が凍結して氷晶を形成し、細胞が致命的な障害を受けるためです。

オガサワラグワ種子の凍結技術開発では、まず、乾燥しても種子が発芽力を維持できるかを調べました。人工交配によって得られた種子を相対湿度8%のデシケーター内で1週間乾燥処理しました。すると、乾燥前は40%程度だった種子の含水率が乾燥処理後には4%程度まで

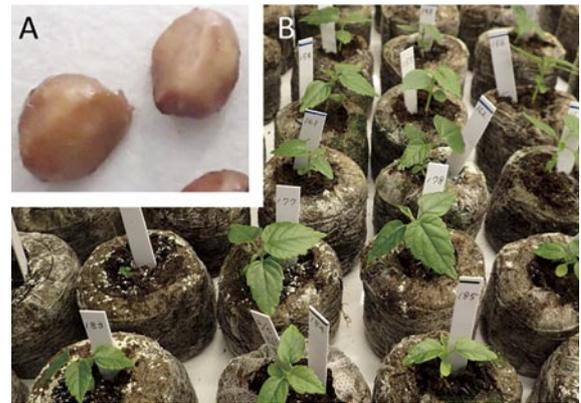


写真2 (A) 人工交配によって得られたオガサワラグワの種子と (B) 凍結保存した種子から成長した実生

低下しました。そして、乾燥種子の発芽率は約70%であり、新鮮種子と同程度でした。そのため、オガサワラグワの種子は乾燥しても発芽可能であることがわかりました。そこで、オガサワラグワの乾燥種子の凍結保存試験を実施しました。乾燥した種子を-170℃の凍結保存容器内で6ヵ月凍結保存し、室温で解凍し発芽率を調べました。そして、凍結保存した種子は約70%が発芽し、発芽後も正常に成長しました(写真2B)。これらの結果から、乾燥処理したオガサワラグワの種子が凍結保存可能であることがわかりました。

### 6. まとめ

生息域外保存コレクションを用いた絶滅危惧種オガサワラグワの種子生産とそれらの種子の凍結保存が可能となりました。オガサワラグワが現地で野生復帰できるよう、さらなる保全技術の開発が必要です。

### 7. 謝辞

本研究は、(独)環境再生保全機構の環境研究総合推進費(JPMEERF20184R01)によって実施されました。

(遺伝資源部 保存評価課 遠藤 圭太  
遺伝資源部 板鼻 直榮)

## 令和2年度 林木育種成果発表会を開催

令和3年2月24日(水)、令和2年度林木育種成果発表会を開催しました。今年度は新型コロナウイルス感染症拡大防止の観点からオンラインでの開催としたところ、国、都道府県、民間企業や研究所等から、約260名の方の申込みがありました(昨年度は東京開催で約120名参加)。

当日は、上所長の開会挨拶の後、宮崎大学農学部の伊藤哲教授から、「低コスト再造林の現実的課題と林木育種への期待」と題した特別講演、また、広島県立総合技術研究所林業技術センター涌嶋智次長から、「コウヨウザン材の利用」と題した特別報告をそれぞれいただきました。



(特別講演中の宮崎大学 伊藤教授)



(特別報告中の広島県林業技術センター 涌嶋次長)

特別講演の伊藤哲教授からは、育種と施業の位置付け、低コスト造林のポイントとして何を植えるか(系統)の重要性などについて、分かりやすく説明していただきました。

また、特別報告の涌嶋智次長からは、コウヨウザン製材品の性能、スギやヒノキと異なる特徴などについて分かりやすく説明していただきました。

続いて、林木育種センター・森林バイオ研究センター・育種場の研究者等から、次の7課題について発表しました。

### 表紙タイトル写真

ゲノム編集により雄花形成に関わる遺伝子を破壊したスギの苗です。特定網室において無花粉性の確認を行っています。

### ○令和2年度の品種開発

育種部 育種第一課 育種調査役 山野邊 太郎

### ○スギにおける気候変動適応に向けた育種技術の開発

育種部 育種第二課 育種研究室 主任研究員  
松下 通也

### ○花粉症対策のための技術開発研究と品種開発

育種部 育種第二課 育種研究室 主任研究員  
坪村 美代子

### ○トドマツエリートツリーの開発と特定母樹の指定

北海道育種場 育種課 育種課長 加藤 一隆

### ○用土不要の新たなさし木発根技術「エアざし」の開発

九州育種場 育種課 育種研究室長 栗田 学

### ○コウヨウザン研究の今後の方向性

遺伝資源部長 生方 正俊

### ○国産薬用樹木カギカズラの生産技術の開発

森林バイオ研究センター 森林バイオ研究室長  
小長谷 賢一



(発表中の林木育種センター 生方遺伝資源部長)

発表後の質疑応答では、コウヨウザンの系統による強度の違いや花粉症の可能性、ヒノキでのエアざしの可能性、カギカズラの採算性などについて質問があり、最近の林木育種の動向への関心の高さが伝わってきました。

今日、林業の成長産業化、地球温暖化対策、花粉発生源対策などの推進について、林木育種に対する社会的ニーズが益々高まっています。今回の成果発表会を本年度の取組の一つの区切りとして、参加いただいた皆様からの発表に対するご意見、ご要望等も踏まえながら、次のステップに向けてさらに研究開発を進めて行く考えです。

(企画部 育種企画課 福田 友之)

### 林木育種情報 No.36

令和3年3月26日発行

国立研究開発法人

森林研究・整備機構 森林総合研究所林木育種センター

〒319-1301 茨城県日立市十王町伊師 3809-1

TEL : 0294-39-7000(代) FAX : 0294-39-7306

ホームページ <https://www.ffpri.affrc.go.jp/ftbc/index.html>