



第4章

遺伝資源・バイオテクノロジーの
研究・事業での個別成果



4-1 標準樹種リストの作成と 林木育種センター保有の遺伝資源の評価

大谷雅人¹・宮本尚子¹・生方正俊¹・山田浩雄¹

1: 林木育種センター遺伝資源部

林木育種センターは、林木ジーンバンク事業の一環として、これまで膨大な数の遺伝資源を収集・保存してきました。今後は、より目的性・戦略性の高いサンプリングを展開していくことが望まれています。収集・保全戦略の新たな基準にすべく、全ての国産樹種および主だった海外樹種について、名称や分類、分布域等の情報をまとめた「標準樹種リスト」を作成いたしました。これをもとに林木育種センター各拠点における遺伝資源の成体での保存状況を整理したところ、国産樹種に関しては、既知種の3割、環境省第4次レッドリスト掲載種の2割をカバーできていることが分かりました。また、カバー率が一部の系統グループ（例：針葉樹、ブナ科）で特に高いこと、保存点数が多い種であっても生育環境を網羅したサンプリングが行われているとは限らないこと等、幾つかの重要な特色が明らかになりました。

1 背景と目的

林木ジーンバンク事業に伴う遺伝資源の収集・保存の進展

- ▶ 2015年春現在での保存系統数は約35,000に達しています。
- ▶ 保存にかかる労力は保存数に比例し、保存スペースも有限なので、今後は、より明瞭な目的・戦略の下で収集を進める必要があるといえるでしょう。

新たな収集・保存戦略の策定のためには、既に保存されている遺伝資源の評価が有効

2 取り組み内容

① 「標準樹種リスト」の作成

- ▶ 全ての国産樹種と主な海外樹種を対象に、各種名称や分類学的位置づけ、国内外の分布域等の情報をまとめたデータベースを作成しました。

② 林木育種センター各拠点における遺伝資源の保存状況の俯瞰

- ▶ 各拠点の成体パスポート*と標準樹種リストを照合し、表記ゆれや分類の解釈の相違を整理しました。
- ▶ 樹種ごとに収集・保存の進展状況を評価し、保存が進んでいる・遅れている系統グループを抽出しました。

3 得られた成果

① 標準樹種リスト

- ▶ 国産樹種1,482分類群（種・亜種・変種、ただし雑種を除外して計数）、海外樹種810分類群について整理できました。

② 保有されている遺伝資源の種数

- ▶ 国産樹種は70科172属405分類群（国産樹種全体に対するカバー率：64.8%、43.2%、27.3%）、海外樹種49科111属252分類群を保存済みです。
- ▶ 系統数の多い上位樹種の多くはスギ、ヒノキ、カラマツ等の針葉樹の主要育種対象樹種で占められており、ケ

ヤキ、ミズナラ等の有用広葉樹がそれらに続きました（図1）。

- ▶ 絶滅危惧種については、環境省第4次レッドリスト掲載樹種のうち64種（20.4%）がカバーされています。絶滅リスクランクは絶滅危惧IA類（CR）からIB類（EN）、II類（VU）、準絶滅危惧（NT）まで様々です（図2）。

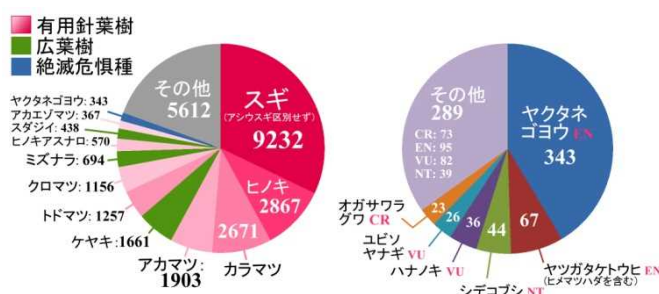


図1 センター各拠点で保存されている国産樹種の系統数の内訳

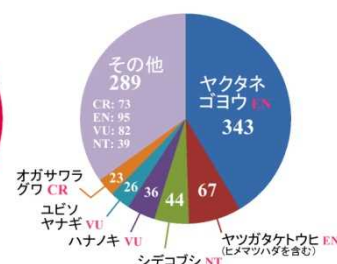


図2 センター各拠点で保存されている絶滅危惧種の系統数の内訳

③ 系統グループごとの保存カバー率の違い

- ▶ 科ごとの種のカバー率はマツ科で最も高く、ブナ科、ヒノキ科が続きました（図3）。針葉樹（球果植物門）は保存の達成度が高く、既知の科・属・分類群の100%、100%、82.7%をそれぞれカバーできています。

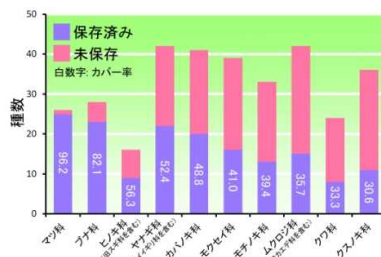


図3 保存の達成率が最も高い上位8科における分類群ベースのカバー率

（既知の国産樹種が15種以上の科のみで集計）

4 成果の活用と今後

林木育種センターが保有している遺伝資源のもつ特色の一端を明らかにすることができました。本研究で得られた知見を用いてさらに詳細な分析をすることで、今後は、より具体性・目的性の高い収集・保存のための戦略の立案を目指します。例えば、保存達成度の高い針葉樹について生育環境のカバー率をさらに底上げする、等の戦略が想定されます。

* については、巻末の用語集をご覧ください。



4-2 GIS技術を用いた林木遺伝資源の保存状況の可視化

宮本尚子¹・山田浩雄¹・生方正俊¹・那須仁弥¹・木村恵¹・大谷雅人¹

1: 林木育種センター遺伝資源部

有用で貴重な林木遺伝資源を効果的かつ効率的に収集・保存し、その利便性を向上させるためには、現在までの収集・保存状況の評価し、それらを「見える化」させておくことが大切です。そこで、林木ジーンバンク事業でつぎ木などにより樹木そのもの(成体)を保存している遺伝資源について、現在の収集・保存状況を整理・分析しました。樹木の生育に関係が深い気温や降水量などの気候条件を用いて、成体保存されている遺伝資源の収集地点と対象種の生育範囲との比較を行い、成体保存の少ない地域や気候条件をGIS*技術により地図上で可視化し、今後、収集・保存に重点を置く必要のある地域を明らかにしました。この結果は、林木遺伝資源の収集・保存計画の策定に活用されます。

1

背景と目的

林木ジーンバンク事業

「育種素材の供給源の確保」、「絶滅に瀕している種の確保」等を目的に、遺伝資源としての林木を収集・保存する事業。

2015年度末現在で約2万6千系統の樹木そのものを増殖して保存園などで保存(成体保存)。

戦略的な収集が必要

林木遺伝資源の可視化手法の開発

現在までに収集・保存している林木遺伝資源を「見える化」して、収集・保存計画を策定。

2

取り組み内容

・現在保存している成体の遺伝資源

・対象種の分布データ、巨樹・巨木*データ

未
収
集
地
域

・収集地点を地図上に表示
・環境条件(気温・降水量等)の抽出・表示
・地理的な遺伝分化

成体保存されている系統の収集地点と対象樹種の生育範囲・環境条件を重ね合わせて、今後、収集が必要な地域を抽出。

4

成果の活用と今後

今回の結果は、林木遺伝資源の効果的で効率的な収集・保存計画の策定に活用できるだけでなく、一般に広く公開することで、遺伝資源の利用者が試験研究に用いる遺伝資源の来歴を地図上で具体的にイメージできるようになり、利便性の向上にも寄与するものと考えています。

3

得られた成果

① 地理的条件からの検討

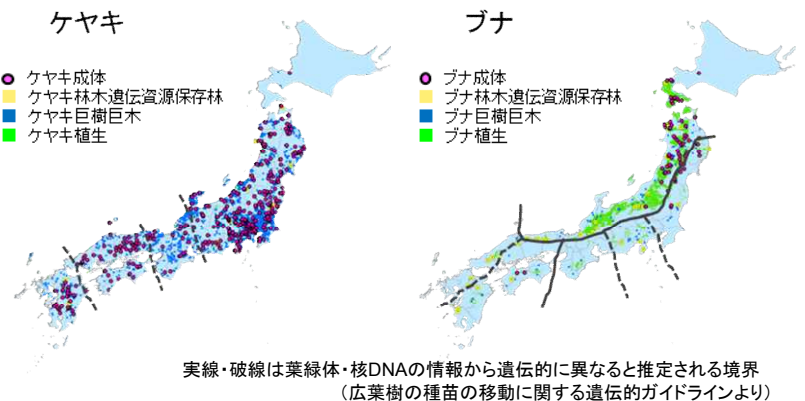


図1 ケヤキおよびブナの分布域と成体保存されている系統の収集地点(赤丸)

ケヤキは分布域を網羅するように収集・保存されているのに対し、ブナは北海道・東北に偏っています。ブナは北陸からも収集・保存した方がよいことが分かりました。

② 環境条件からの検討

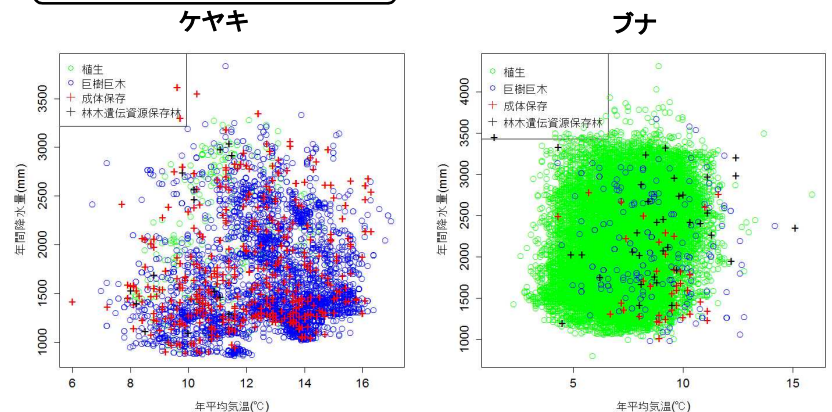


図2 ケヤキおよびブナの分布域と成体保存された系統の収集地点(赤)の年平均気温と年間降水量

ケヤキの収集・保存地点は均等ですが、ブナの収集・保存地点は、気温が高く降水量が少ない地域に偏っています。今後、気温の低い地域や降水量の多い地域からも収集・保存した方がよいことが分かりました

* については、巻末の用語集をご覧ください。



4-3 アカマツの地理的変異*の解明

岩泉正和¹・大谷雅人²・高橋誠³・津田吉晃⁴・津村義彦⁵

1: 関西育種場、2: 林木育種センター遺伝資源部、3: 林木育種センター育種部、4: 千葉大学、5: 筑波大学

アカマツ (*Pinus densiflora*) は主要な造林樹種のひとつですが、近年マツ材線虫病被害などによる天然資源の滅失、それに伴う遺伝的多様性の喪失が危惧されています。マツノザイセンチュウ抵抗性育種や生息域内外でのアカマツの遺伝資源保存の効果的な推進に資するためには、種内の地理的変異に関する知見が不可欠です。そこで、全国のアカマツ天然林を対象に、種内の遺伝的変異や、適応形質(繁殖特性: 球果形態)の変異について調査しました。

DNAマーカーを用いて地理的な遺伝的構造を解析したところ、緩やかで連続的な遺伝的変異が認められ、アカマツは大きく分けて 西南日本、中部日本、東北日本 の3地域間で遺伝的に異なっていることがわかりました。また、球果形態も地理的に異なり、東北日本ほど球果サイズや種子の充実率が大きい傾向が見られました。

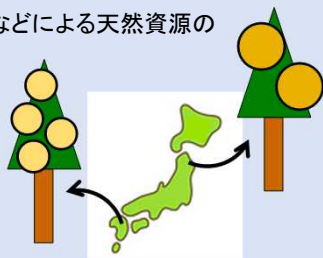
1

背景と目的

アカマツ: 我が国の主要な造林用針葉樹種

→ マツ材線虫病被害などによる天然資源の滅失の危惧

- ・ 抵抗性アカマツ品種開発の区分など
- ・ 生息域内外での遺伝資源保存戦略



種内の地理的変異に関する知見が不可欠

2

取り組み内容

分析試料のサンプリング

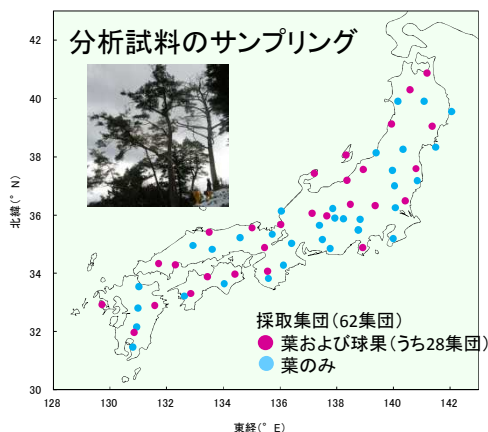


図1 調査したアカマツ天然林の位置

① DNAマーカーに基づく遺伝的変異
計1,883個体から針葉を採取



② 繁殖特性の変異(球果形態)
計628個体→サイズや種子の充実率等を測定



3

得られた成果

① DNAマーカーに基づく遺伝的構造

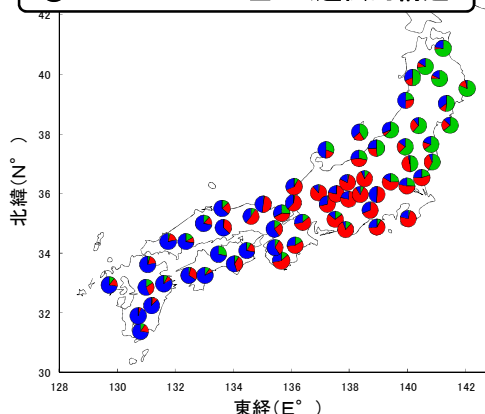


図2 DNA分析したアカマツ62集団における3つの遺伝的要素(異なる色で区別)の推定割合

(出典: 森林総合研究所主要成果選集2012)

② 球果サイズの変異

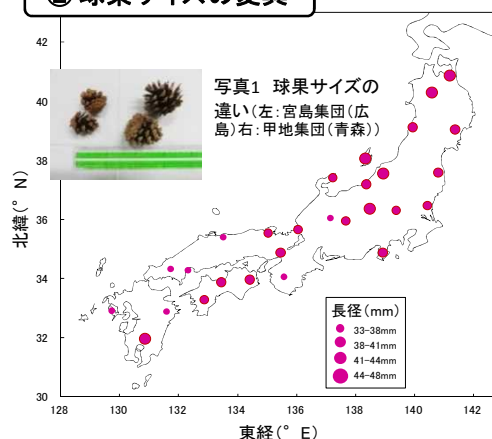


図3 球果形態を調査したアカマツ28集団における球果サイズ

西南日本—中部日本—東北日本にかけて緩やかで連続的な遺伝的変異

→ 集団形成や変遷の歴史的背景の違いに起因するアカマツの地域性を示唆

同様に緩やかな地理的変異
東北日本のほうが球果サイズ大

→ 多様な生息域間での気候環境などの違いに起因するアカマツの遺伝的または環境的応答を示唆

4

成果の活用と今後

得られた知見は、抵抗性マツ種苗の配布区域の妥当性の検討や、天然林の保存単位の設定などに資すると期待されます。現在、種苗移動や地球温暖化などのより実質的な影響を評価するため、上記変異に基づき選定した10集団の種苗を対象に、全国規模の広域産地試験を実施中です。

* については、巻末の用語集をご覧ください。

4-4 アカマツ生息域内保存林*における散布種子の遺伝的多様性 — 保存林スケールでの評価 —

岩泉正和¹・大谷雅人²・那須仁弥²

1: 関西育種場、2: 林木育種センター遺伝資源部

アカマツ (*Pinus densiflora*) は主要な造林樹種のひとつですが、近年マツ材線虫病被害などによる各地域集団の衰退、それに伴う遺伝的多様性の喪失が危惧されています。アカマツの天然資源を各地域内で確実に保存するためには、保存する地理的スケールの検討や保存林の設定面積などのガイドラインに資する知見が不可欠です。そこで、アカマツの生息域内保存林内の尾根上に断続して生育する9集団を対象に、DNAマーカーを用いて次世代(散布種子)の遺伝的多様性を解析し、集団サイズとの関係性を評価しました。その結果、散布種子の遺伝的多様性は、成木個体数が200未満の集団で低下しやすい傾向が見られました。また、種子の遺伝的組成は概ね200m範囲内の採取地点間で類似性が高く、この範囲内で遺伝的な交流の頻度が大きいことが示唆されました。

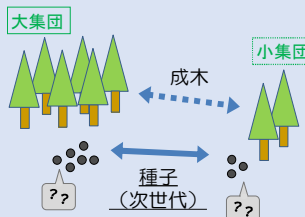
1

背景と目的

アカマツ：我が国の主要な造林用針葉樹種

→マツ材線虫病被害などによる各地域集団の損失が危惧

・集団サイズの減少や
近接集団の喪失などが
次世代の多様性に影響？



集団間での種子の遺伝的多様性の違い
や遺伝的交流の程度を理解する必要

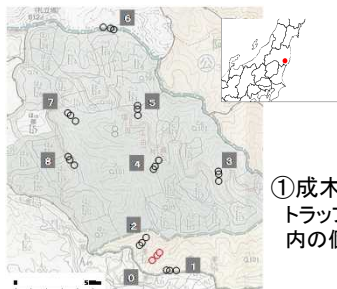
生息域内保存の指針づくりに資する
(保存林の設定面積、必要な林内の成木個
体数・近接集団数など)

2

取り組み内容

調査地：福島県いわき市の
アカマツ生息域内保存林

アカマツは主に尾根上に生育
→9集団を対象(約225ha範囲内)



①成木個体数の把握
トラップから100m範囲
内の個体数を計測

集団サイズ
に違い

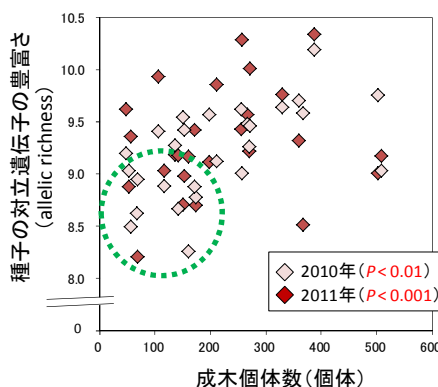
②散布種子の
収集・DNA分析
各集団3箇所、
計27地点



3

得られた成果

① 種子の遺伝的多様性

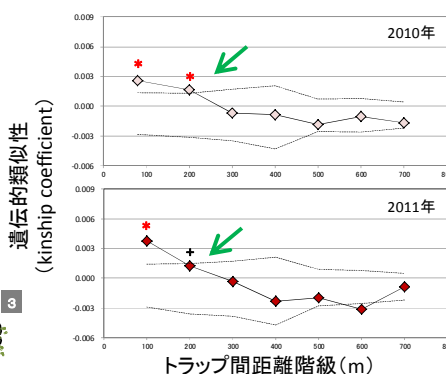


個体数200未満の小集団で種子の遺伝的多様性が低下しやすい

小集団では繁殖可能な個体数などが年により不足しやすい
⇔ある程度以上の集団サイズでは多様性が安定

図1 集団の成木個体数と散布種子の遺伝的多様性(対立遺伝子の豊富さ: allelic richness)の関係

② 種子の遺伝的類似性*



種子の遺伝的組成は
200m範囲内で類似性が高い

活発な遺伝的交流*
のある範囲を示唆

図2 種子のトラップ間距離階級毎の遺伝的類似性(kinship coefficient: 破線は95%信頼区間)

4

成果の活用と今後

生息域内保存林の設定面積はしばしば数ha程度と、アカマツでは1尾根程度のスケールであり、近接集団との遺伝的交流を考慮した管理が必要です。得られた知見は、例えば①保存林内の成木個体数を200以上維持する、②200m範囲内に近接する集団を確保する、といった具体的な管理指針を検討する上で有用と期待されます。

本課題は科学研究費助成事業「アカマツ天然集団の景観スケールにおける遺伝的動態の解明」によって実施されました。

* については、巻末の用語集をご覧ください。



4-5 スギコアコレクションの作成

宮本尚子¹・小野雅子²・渡辺敦史³・那須仁弥¹・大谷雅人¹・生方正俊¹・藤澤義武⁴

1: 林木育種センター遺伝資源部、2: 林木育種センター育種部、3: 九州大学、4: 鹿児島大学

日本を代表する針葉樹であるスギは、北海道から鹿児島県まで広く植栽され、地域や個体ごとに様々な変異を持っています。スギの持つ特性を明らかにし、新品種の開発等をより迅速に推進するためには、様々な分野の研究を関連づけ、効率よく研究を進める必要があります。少数の個体でスギ全体を代表できる共通の研究材料の整備・提供が欠かせません。そこで、林木ジーンバンク事業で保存しているスギ遺伝資源約3,600系統の持つ遺伝的な情報や元々の生育地の環境要因の情報を総合的に解析し、スギ遺伝資源全体を代表する品種・系統のセットである「スギコアコレクション」および「スギコアコレクション96」を作成しました。

1

背景と目的

ジーンバンク事業では

- ・有用かつ貴重な遺伝資源を収集・保存
(2015年度末現在で約3万5千系統を保存)
- ・新品種の開発・科学技術の発展に寄与するための研究材料を提供



コアコレクション

- ・少数で全体の変異を代表し、効率的に情報提供のできる**系統のセット**
(必要なサンプルサイズは研究目的により異なるため本取り組みでは2種類のコアコレクションを作成)
- ・様々な分野の研究を関連づける**共通の材料**

2

取り組み内容

スギ遺伝資源

精英樹
(3,579系統)

- ・情報の整理・重複の排除
- ・来歴地情報でグループ化

コアコレクション
(539系統)

- ・SNP*約5,300座の
遺伝子型情報
- ・メッシュ気候値*
- ・来歴地情報
でさらにグループ化

コアコレクション96
(96系統)

3

得られた成果

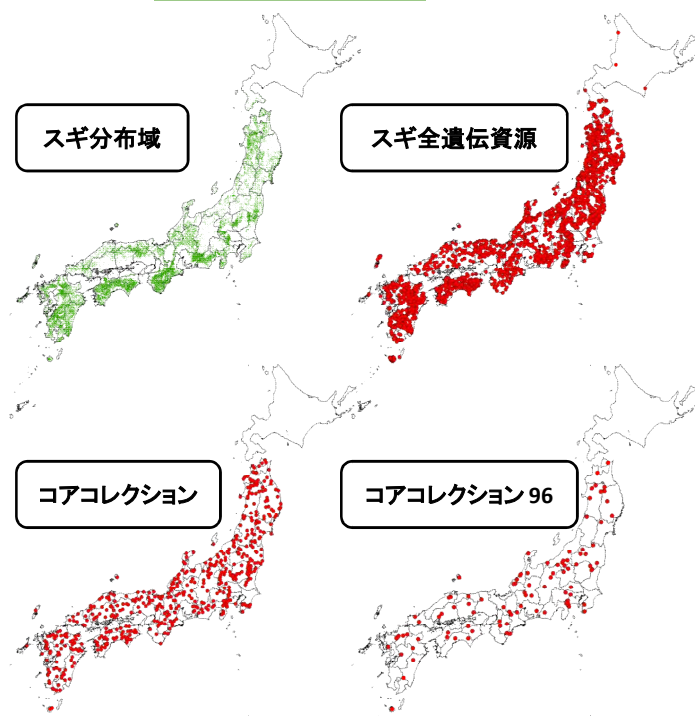


図1 スギの分布域(左上)およびスギ全遺伝資源・コアコレクション・コアコレクション96の来歴地

今回作成したコアコレクション・コアコレクション96では、評価した環境要因のうち、ほとんどの要因で母集団であるスギ遺伝資源3,579系統が**環境空間において占めている変異幅の8割以上を保持するコレクション**となっていること、また、**遺伝的に見ると母集団と同等の多様性を持つコレクション**であることが明らかになりました。

4

成果の活用と今後

今回作成したコアコレクションの情報を森林総合研究所のホームページ等により広く公開し、スギの品種開発等の様々な研究のスタンダード素材になるように利用促進を図っていきます。

* については、巻末の用語集をご覧ください。



4-6 種子等の長期保存技術の開発 —スギ、ヒノキとコナラ亜属種子について—

生方正俊¹・木村恵¹・栗田祐子¹・加藤智子¹

1: 林木育種センター遺伝資源部

種子の保存性は、植物種によって異なり、「乾燥に強く長期貯蔵が可能な種子(普通種子)」と「乾燥に弱く貯蔵が困難な種子(貯蔵困難種子)」の大きく2つのタイプに分類されます。今中期計画の成果として、普通種子であるスギおよびヒノキ種子の保存試験の結果、両樹種の種子とも-20℃の乾燥条件で、10年間は発芽率を維持することが分かりました。次に貯蔵困難種子であるコナラ亜属樹種の種子(堅果)の保存に関する問題点について文献等を用いて分析・整理し、温度や湿度などの保存条件を精査するとともに、虫害などの生物学的な害をいかに取り除くかがこれらの種子貯蔵の鍵となることが分かりました。これらの成果は、樹木種子の長期保存技術の開発に生かされ、林木遺伝資源の確実な保存と利用の促進に役立つことが期待されます。

1

背景と目的

植物の種子は、貯蔵性の観点から、表1の通り大きく2つに分類されます。

表1 貯蔵性からみた種子の区分

	乾燥耐性	低温耐性	樹種例
貯蔵困難種子 (リカルシトランド種子)	含水率20-30%以下で死亡	温度10-15℃で損傷	熱帯性樹種、コナラ亜属のドングリ等
普通種子 (オーソドックス種子)	含水率2-5%でも生存	温度0℃以下でも生存	スギ、ヒノキ、マツ類、カンバ類等

目的

- スギおよびヒノキの種子(普通種子)について10年間発芽率を維持できるかどうか明らかにする。
- コナラ亜属種子(貯蔵困難種子)について既存の文献等の情報を取りまとめ、取り扱いに関する問題点を明らかにする。

2

取り組み内容

① スギ及びヒノキ種子の保存試験

2001年種子の採取

-20℃の冷凍庫
乾燥剤とともに密封

2011年発芽率調査

発芽率比較



写真1 保存中の種子

② コナラ亜属樹種の種子の貯蔵に関する問題点の整理

2014年までに公表された文献等を利用して、コナラ属樹種などの難貯蔵種子の取り扱いに関する問題点を生理的要因と生物的要因の面からまとめました。

3

得られた成果

① スギ及びヒノキ種子の保存試験

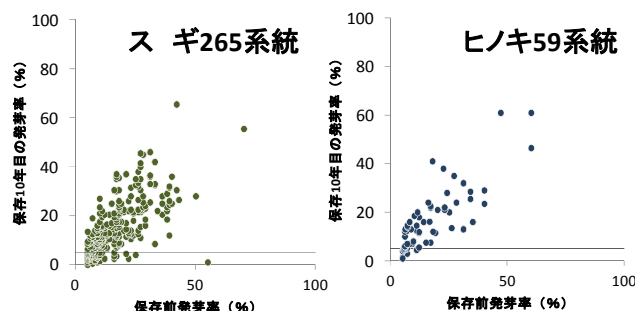


図1 保存前と保存10年後の発芽率の比較

- ・10年後に発芽率が0%になった系統
スギの1系統のみ、ヒノキなし
- ・10年後に発芽率が5%以下になった系統(図-1)
スギ40系統(15%)、ヒノキ7系統(11%)のみ

スギ、ヒノキの種子は**10年間保存**が可能

② コナラ亜属樹種の種子の貯蔵に関する問題点の整理

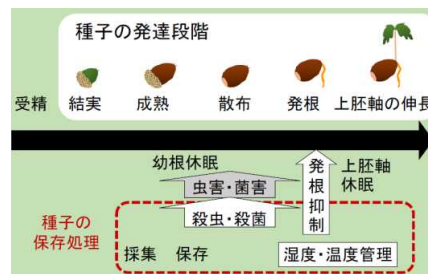


図2 コナラ亜属種子の発達段階と保存処理の模式図

種子を長期間保存するためには、種子が生理的な活性を保てる温度と湿度において、いかに生物学的な害(虫害、菌害)を取り除くかが重要であると考えられました。

4

成果の活用と今後

これらの研究成果は、貯蔵困難種子の長期保存技術の開発や普通種子の保存技術の改良等に生かされ、林木遺伝資源の確実な保存と利用の促進に役立つことが期待されます。



4-7 絶滅が危惧される小笠原固有樹種 —オガサワラグワの保全—

大谷雅人¹・生方正俊¹・板鼻直榮²

1: 林木育種センター遺伝資源部、2: 西表熱帯林育種技術園

オガサワラグワ (*Morus boninensis*) は、小笠原諸島の限られた地域にのみ自生するクワの仲間です。かつては諸島内の湿った高木林を構成する主要な樹種のひとつでしたが、戦前までの大規模な伐採により、その個体数をいちじるしく減らしました。近年では外来樹種シマグワとの交雑による実生更新の困難さも懸念されており、同諸島の在来の高木の中では、最も高い絶滅のリスクに晒されている種のひとつです。林木育種センターでは、2001年以降、本種の保全・再生のための取り組みを多方面から進めてきました。残存木および実生の継続的なモニタリングを行うとともに、組織培養による残存木の系統保存、栽培下での純粋なオガサワラグワ実生苗の生産、および母島における培養苗と実生苗の現地植栽試験などを行い、保全・再生の基礎となる成果をおさめることができました。

1

背景と目的

希少植物の包括的保全のためには、**生息域内・生息域外の双方**において、多面的な保全策を講じる必要があります。オガサワラグワの場合、小笠原諸島の特殊性も考慮すると、対処すべき課題は以下のように要約することができます。



2

取り組み内容

関東森林管理局、小笠原野生生物研究会などとの連携により、以下のような取り組みを行いました。



- ▶ 弟島は残存木の枯死率が低く、多くの実生が見られる唯一の生息域
- ▶ 同島の実生が純粋なオガサワラグワであるか、残存木の遺伝的性質を受け継いでいるかを検証



- ▶ 栽培温室の鉢上げ苗において自然結実をたびたび確認
- ▶ 育苗し、純粋なオガサワラグワであるかを検証



- ▶ 林木育種センターで冬芽を培養し、系統保存
- ▶ 一部を発根、馴化後に温室で保存



- ▶ 母島産の実生苗・培養苗を母島の国有林内に植栽、成長などをモニタリング

3

得られた成果

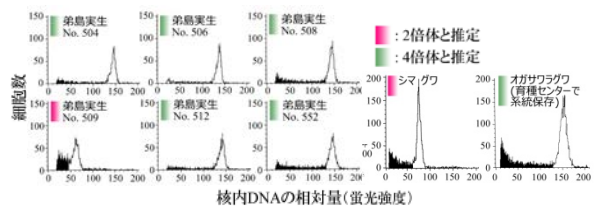


図1 フローサイトメーターによる弟島実生の倍体性分析の結果の一部（オガサワラグワは4倍体*、シマグワは2倍体）

弟島で確認されたほぼ全ての実生と、栽培下で得られた全ての実生苗は純粋なオガサワラグワ

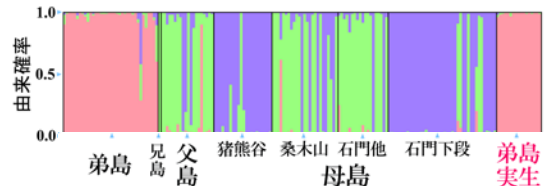


図2 小笠原諸島各島の残存木と弟島の実生の遺伝的性質（色が同じであれば遺伝的に似ている）

弟島のオガサワラグワ実生は同島の残存木と遺伝的に類似

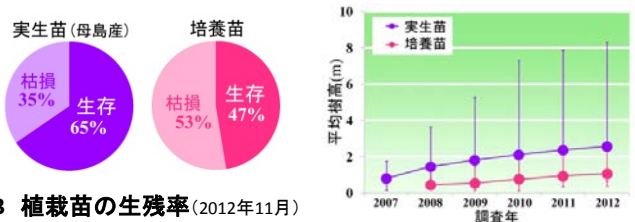


図3 植栽苗の生残率(2012年11月)

図4 植栽苗の樹高の推移

母島に植栽した苗は7年後も約半数が生存、一部個体は樹高10m近くにまで成長

4

成果の活用と今後

オガサワラグワについて、弟島で健全な実生更新が進みつつある可能性が示唆されました。また、栽培下での純粋な実生苗育成も含めた包括的な生息域外保存*が十分に可能であることが分かりました。今後は、未保存個体の収集・保存を行うとともに、効率的な技術の開発や、父島への野生復帰の試みを進めていく予定です。

* については、巻末の用語集をご覧ください。

4-8 稀少樹種の大量結実とジーンバンク収集 トガサワラとシコクシラベ

岩泉正和¹・磯田圭哉¹・檜木野俊昭¹・笹島芳信¹

1: 関西育種場

森林総合研究所林木育種センターでは、絶滅の危機に瀕する稀少樹種の生息域外保存に向けた取り組みを行っています。関西育種基本区では特に、トガサワラとシコクシラベの2樹種を対象に、育苗技術の確立のため、生育試験の材料となる種子の収集を試みてきました。両樹種ともに結実周期がほとんど知られていないことから、これまで十分な種子を収集することが出来ませんでした。2014年は、両樹種ともに近年の中では最も大量の結実が観察されました。この貴重な結実年を受けて、最大限多くの集団にわたり種子の収集に取りくんだ結果、トガサワラは6集団の計116個体、シコクシラベについては2集団の計75個体から多数の種子を収集することができました。得られた種子は遺伝資源として、実生の生育試験やその他保全のための各種試験研究材料に活用されることが期待されます。

1

背景と目的

稀少樹種の生息域外保存のために

・クローンによる個体保存

・実生後代による集団保存

育苗技術の確立必要

育苗技術の確立のため 種子の収集を行う必要

チャンス!

難点: 結実の豊凶差大
豊凶周期が未解明

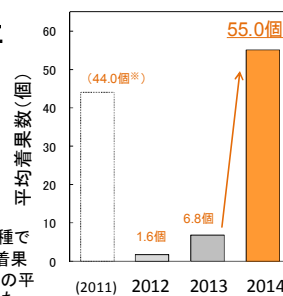
しかし 2014年 大量結実

② シコクシラベ

- ・マツ科モミ属の常緑針葉樹 本州シラベの変種
- ・四国のわずか3山頂周辺にのみ遺存的に分布
- ・地球温暖化などによる集団の滅失が危惧



～2013年



※2011年は採種できた個体のみ着果数を計測し、その平均値を示しました。

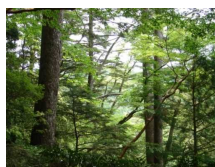
図2 石鎚山集団におけるモニタリング個体の着果量の推移

2

取り組み内容

① トガサワラ

- ・マツ科トガサワラ属の常緑針葉樹
- ・紀伊半島と四国の一部地域にのみ隔離分布
- ・伐採・拡大造林などにより天然資源が減少



～2013年

表1 2013年までのトガサワラ種子収集実績

集団 \ 年次	2005年	2009年	2013年
紀伊半島			
大又	-	-	-
三之公	-	8	-
大塔山	-	6	-
川又親音	-	10	2
四国			
魚梁瀬	-	-	-
安田川山	-	-	-
西ノ川山	1	1	-
計	1	25	2※

→ 隔年で少数個体からしか得られなかった

2014年

図1 2014年におけるトガサワラ種子の収集実績



紀伊半島で98個体、四国で18個体の計116個体から採種

2014年



過去最多の計75個体から採種

図3 2014年度におけるシコクシラベ種子の収集実績

3

成果の活用と今後

これまでの小規模な育苗試験の結果などから、特にトガサワラでは、発芽や当年次での成長が遅く床替に弱い傾向が見られています。当該年度で得られた両樹種の種子を利用して、関西育種場では、播種からの据置期間などの育苗方法の検討のための生育試験に着手しました。将来的には生息域外保存試験地を設定し、原産地と異なる環境下での保存の可否を検討していく予定です。



4-9 遺伝子組換えによる花粉発生制御技術

小長谷賢一¹・谷口亨¹・栗田学²

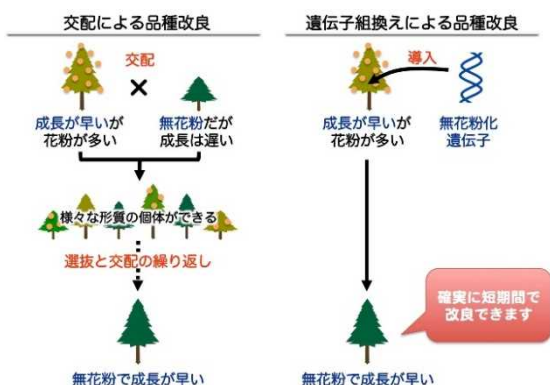
1: 森林バイオ研究センター、2: 林木育種センター育種部

林業分野におけるスギ花粉症対策としては、花粉発生源を減少させることが重要です。現在、無花粉スギ等の花粉症対策品種が開発されていますが、これまで森林所有者等に受け入れられてきた地域になじんだ品種を無花粉化していくためには、交配育種による膨大な時間を必要とする問題があります。このため、新たな手法として、遺伝子組換えにより花粉発生を抑制する技術を開発することに成功しました。開発された遺伝子組換えスギは野外栽培試験を実施するため、隔離ほ場^{*}における栽培等の承認申請（第一種使用規程承認申請）を文部科学大臣及び環境大臣へ行いました。2014年11月17日に、本栽培試験は生物多様性に影響しないと判断され、第一種使用規程の承認を得ました。2015年4月より隔離ほ場栽培を開始し、実用化に向けた安全性の検証を行っています。

1

背景と目的

遺伝子組換えでは目的となる遺伝子のみを導入するため、従来の交配と比べて確実に短期間で品種改良できます。本研究では遺伝子組換えによってスギを無花粉化させる技術を開発しました。



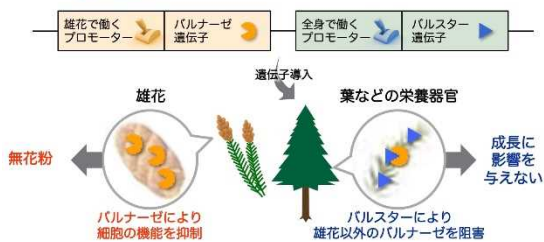
2

取り組み内容

どのように無花粉化させるか。

導入した遺伝子

- バルナーゼは細胞の活動に必要なRNAを分解
- プロモーターは特定の場所で遺伝子を働かせるスイッチ
- バルスターはバルナーゼの働きを阻害



パチルス菌^{*}が持つバルナーゼ遺伝子を雄花で働かせて無花粉化させます。雄花以外で働いてしまうバルナーゼはバルスター遺伝子で阻害し、成長への影響を防止します。

アグロバクテリウム（細菌）^{*}を用いて遺伝子導入します。



3

得られた成果

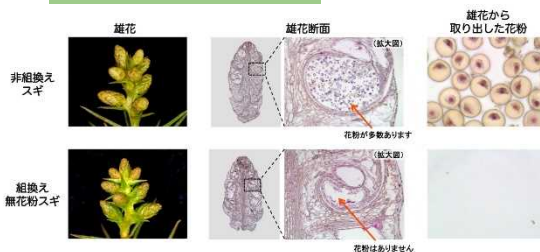


図1 遺伝子組換えスギの雄花と花粉

遺伝子組換えスギは非組換えスギと同様に雄花を着花します。しかし、雄花断面を観察すると花粉は検出できませんし、雄花を潰しても花粉は全く出てきません。（出典：森林総合研究所主要成果選集2013）



図2 袋がけした雄花の開花期の様子

非組換えスギ(左)は袋の中が黄色い花粉で満たされますが、遺伝子組換えスギ(右)は花粉が観察されません。



図3 隔離ほ場へ植栽した遺伝子組換えスギ（2015年4月9日）

4

成果の活用と今後

遺伝子組換え技術による花粉症対策品種の開発は、今後十分に時間をかけて効果と安全性の検証を行った後に、将来的には花粉症対策の選択肢の一つとなり得ると考えています。

本研究は、林野庁「遺伝子組換えによる花粉発生制御技術等の開発事業」および農林水産省新農業展開ゲノムプロジェクト「遺伝子組換えの産業利用における安全性確保総合研究」の支援を受けました。

^{*} については、巻末の用語集をご覧ください。

4-10 クロマツにおけるマツノザイセンチュウに対する抵抗性メカニズムの解明

平尾知士¹・渡辺敦史²

1: 森林バイオ研究センター、2: 九州大学

マツノザイセンチュウ抵抗性育種を促進するため、マツノザイセンチュウ感染時に発現する遺伝子の発現解析を行い、クロマツ抵抗性の分子機構の一端を明らかにしました。現在、マツノザイセンチュウ抵抗性育種では、クロマツで154品種、アカマツで221品種が抵抗性品種として開発されていますが、本研究の推進によって得られた発現遺伝子を分子マーカーとして利用することで、様々な線虫系統に対する抵抗性反応の調査や今後新たに開発されるより強い抵抗性品種の評価に利用できます。

1

背景と目的

- 一般のクロマツは、マツノザイセンチュウに対して感受性を示し、非常に枯れやすいといった特徴を持っています。
- 一方で、マツノザイセンチュウ抵抗性育種から開発された抵抗性品種は、マツノザイセンチュウが樹体内に侵入しても一般のマツに比べて枯れにくい特徴を持っています。
- 我々は、「マツノザイセンチュウの感染によってなぜ一般のマツは枯れやすいのか。また、なぜ抵抗性マツは枯れにくいのか。」という疑問に対し、「**遺伝子レベル**」から解明する研究を進めてきました。

2

取り組み内容

感受性クロマツ(一般のマツ)とクロマツ抵抗性品種(波方73号)に線虫1万頭を接種し、接種後1日目、3日目、7日目、14日目の幹からRNA*を抽出し、感受性クロマツと抵抗性品種とで発現している遺伝子の種類と量を比較しました(図1)。

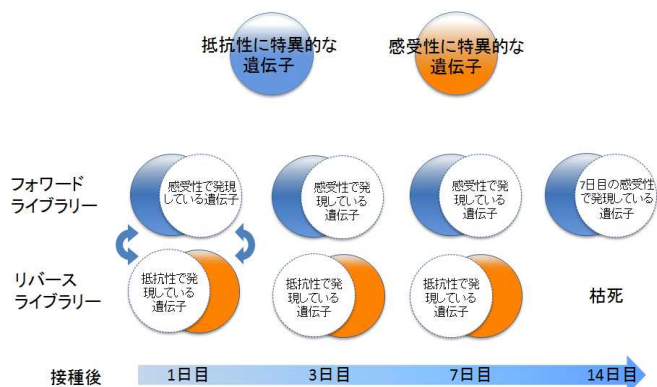


図1 cDNAサブトラクション法を使った遺伝子発現解析

各時系列において感受性クロマツと抵抗性品種のサンプル間で発現している遺伝子を差分化(引き算)することで、特異的に発現している遺伝子や発現量に差がある遺伝子を特定することができます。ここでは抵抗性で発現している遺伝子から感受性で発現している遺伝子を差分化したものがフォワードライブラリー、感受性で発現している遺伝子から抵抗性で発現している遺伝子を差分化したものがリバースライブラリーとしています。

3

得られた成果

- 感受性クロマツの特徴として、接種後1日目には感染特異的タンパク質(PRタンパク質)や抗微生物ペプチド(AMP)と呼ばれる生体防御関連遺伝子*が多く発現し、接種後3日目、7日目と日を経るごとにそれら遺伝子の発現量が増加しました(図2上段)。
- 一方で、抵抗性品種では感受性クロマツと同様にPRタンパク質やAMPが発現しますが、その発現量は感受性と比較すると低く(図2上段)、接種後7日目には活性酸素によって誘導されるペルオキシダーゼ(PR-9)の発現が増加し、14日目には細胞壁を強化する遺伝子(Extensin)が感受性に比べて格段に多く発現していることが分かりました(図2下段)。

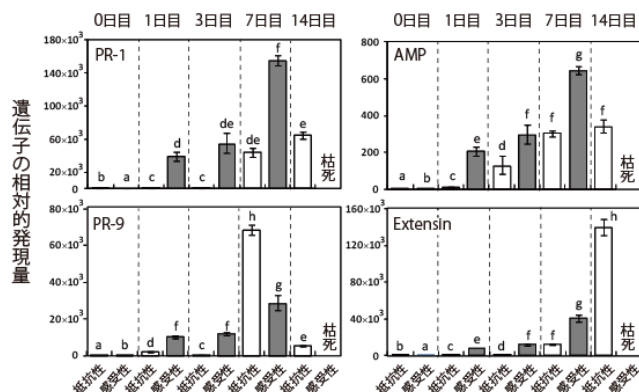
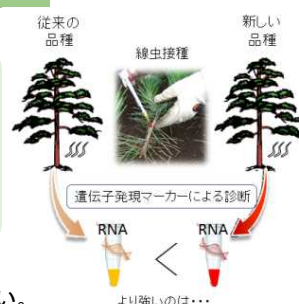


図2 感受性クロマツで特徴的な遺伝子(上段)と抵抗性クロマツで特徴的な遺伝子(下段)における遺伝子発現量の比較
線虫を接種していない時の発現量を1とした場合の遺伝子の相対的な発現量を示します。

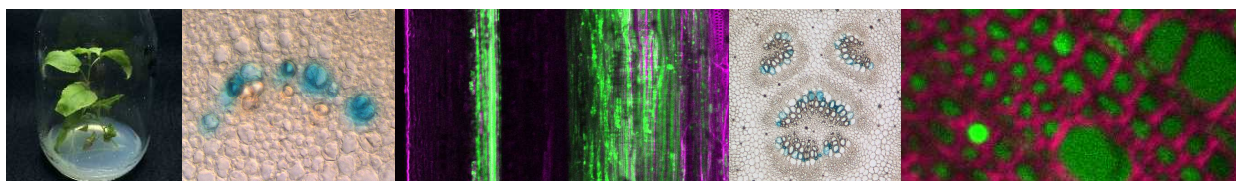
4

成果の活用と今後

本研究の推進によって得られた抵抗性に特徴的な発現遺伝子を分子マーカーとして利用することで、様々な線虫系統に対する抵抗性反応の調査や今後新たに開発されるより強い抵抗性品種の評価への利用に向けて検討する予定です。



* については、巻末の用語集をご覧ください。



4-11 木質の改変に利用可能な二次壁特異的プロモーターの同定—ポプラにおいて—

高田直樹¹・谷口亨¹

1: 森林バイオ研究センター

遺伝子組換え技術を利用することにより、樹木に目的の形質を短期間に付与することができます。しかし、遺伝子組換え体を作製すると、目的形質とは別に望ましくない影響が現れることがあります。その原因の1つとして、導入遺伝子が意図しない組織で発現・機能してしまうことがあげられます。この課題を解決するには、導入遺伝子を目的の組織のみで発現させる制御配列（プロモーター*）の利用が必要になります。本研究では樹木の木質改変を行うために、木部組織で強く発現するプロモーターの同定を行いました。その結果、モデル樹木であるポプラにおいて、二次木部*および師部繊維*で高い転写活性*を示す二次壁特異的プロモーターを5種類同定しました。

1

背景と目的

遺伝子組換え技術を利用することで、糖化性に優れた木質系バイオエタノールの効率的な製造に適した樹木の開発に取り組んできました。しかし、作製した組換え体では導入遺伝子が植物全体で発現・機能してしまうことにより、成長が劣るという問題が生じています。そこで、望ましくない影響を軽減し木質のみの糖化性を向上させるために、導入遺伝子を木部で発現させる制御配列（プロモーター）の利用が求められています。本研究では、**木部組織で高い活性を持つプロモーター**を同定し、その発現特性を詳細に解析しました。

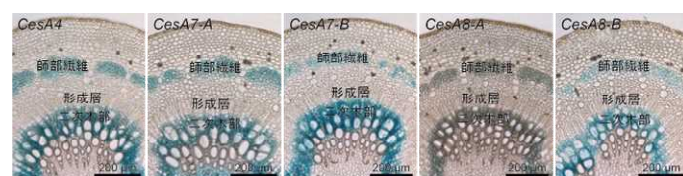


図2 レポーター遺伝子(GUS)を用いたセルロース合成酵素の発現特性(第10節間目の茎の横断面、青色部分が発現部位を示します)

セルロース合成酵素は主に二次木部と師部繊維で発現

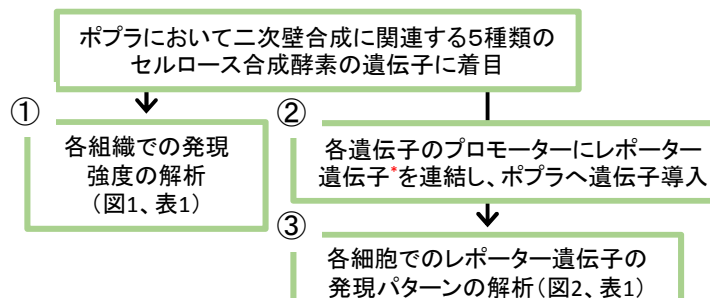
表1 5種類のセルロース合成酵素の各組織での発現強度

	CesA4	CesA7-A	CesA7-B	CesA8-A	CesA8-B
茎					
一次木部	+	+	+	+	+
木繊維(二次木部)	+++	+++	+++	++	+++
放射柔細胞(二次木部)	+++	+++	+++	++	+++
師部繊維	+++	+++	+++	+	+++
葉					
葉脈の木部	+	+	+	+	+
葉柄の木部	+	+	+	+	+
毛状突起	+		+	+	+
根					
維管束	+	+	+	+	+
根端	+	+	+	+	

発現強度: +++、強; ++、中; +、弱

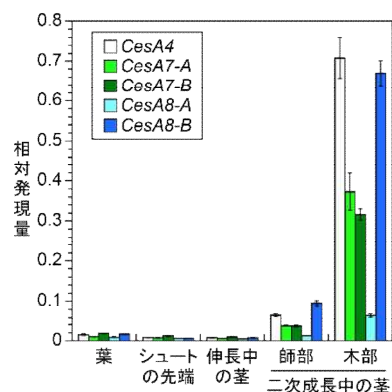
2

取り組み内容



3

得られた成果



5種類のセルロース合成酵素は主に二次成長中の木部組織で発現

図1 各組織でのセルロース合成酵素の相対発現量

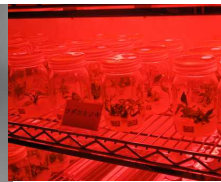
4

成果の活用と今後

本研究では5種類のセルロース合成酵素遺伝子のプロモーターについて、転写活性の組織特異性を解析しました。その結果、すべてのプロモーターが木部組織と師部繊維で強く発現しており、その発現強度は各プロモーター間で異なっていました。今回同定した**二次壁特異的プロモーター**を利用することにより、成長性を維持し高い糖化性を示す樹木の開発が可能になります。

詳しくは: Takata and Taniguchi (2015) Planta, 241:29-42
をご覧ください。

* については、巻末の用語集をご覧ください。



4-12 薬用系樹木カギカズラとワダツミノキの増殖技術の開発

谷口亨¹・石井克明²

1: 森林バイオ研究センター、2: 森林総研フェロー

生薬の自給率は11.7%と低く、国内栽培による自給率向上が必要です。本研究では、漢方薬の原料であるつる性の常緑樹木カギカズラ(*Uncaria rhynchophylla*)と抗がん剤原料を含有する鹿児島県奄美大島固有のワダツミノキ(*Nothapodytes amamianus*)の組織培養による増殖技術を開発しました。薬用成分含有率が高いなどの優良な形質をもつ個体の増殖に本研究の成果である組織培養技術を活用し、薬用樹木を栽培すれば栽培地域の活性化と薬用原料の自給率向上に資すると期待しています。また、組織培養は絶滅危惧種ワダツミノキの保全にも利用可能な技術です。

1

背景と目的

日本で使用されている漢方薬などの原料となる生薬は、22,006トン(264品目)であり、そのうち、日本産が11.7%、中国産が80.8%とされています。このように自給率が低いため、原料の安定確保の観点から、自給率を高める必要があります。

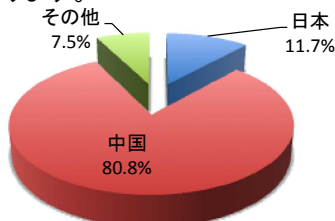


図1 生薬の生産国(H22年度)
(日本漢方生薬製剤協会による調査結果)

そこで、薬用成分含有率が高いなどの優良な個体を大量増殖するため、組織培養による増殖方法の開発に取り組みました。

2

取り組み内容

植物の育成に必要な栄養分などを含む培地で茎や芽などを人工的に培養して植物体を作る技術を組織培養と呼びます。カギカズラとワダツミノキについて組織培養による増殖技術の開発に取り組みました。

カギカズラ

つる性の常緑樹木で、中国南部と日本(房総半島以南～九州)に自生します。鉤形のつげを付けた茎を乾燥させたものは釣藤鉤(チョウトウコウ)と呼ばれる、神経過敏や不眠などの精神神経症状に効果がある漢方薬の原料です。また、高血圧症や認知症の改善に効果があるとされています。薬効成分はリコフィリンやヒルスチンなどのアルカロイドです。

ワダツミノキ

鹿児島県奄美大島に自生する高さ10m程度になる小高木で、2004年に新種として発表されました。環境省のレッドリストでは絶滅危惧IAに分類されています。葉や枝に含まれるアルカロイドの一種であるカンプトテンシンは、抗がん活性があり、がん化学療法に用いられる抗がん剤の原料となっています。

3

得られた成果



図2 カギカズラの組織培養

葉腋に発生する鉤(赤枠)を培養して伸びてきた小枝を発根させた植物体の写真です。



図3 ワダツミノキの組織培養

茎頂(赤枠)を培養して誘導した小枝の塊の写真です。小枝を切り取り、発根培地で培養すると発根し、植物体となります。

組織培養により、カギカズラとワダツミノキの苗木の増殖技術を開発しました。

4

成果の活用と今後

組織培養による増殖技術を優良個体のクローン増殖と栽培に活用することができれば、栽培地域の活性化と薬用原料の自給率向上に資すると期待しています。また、組織培養は絶滅危惧種ワダツミノキの保全にも利用可能な技術です。

本研究の一部は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「薬用系機能性樹木の生産効率化手法の開発」の成果です。