

トピックス

～令和5年度主要成果の紹介～



●優良品種の開発等の推進

〔林木の新品種の開発〕



写真1 令和5年度に開発した優良品種等

左から、初期成長に優れた第二世代品種「カラマツ東育2-68」、関西育種基本区で初めて開発された精英樹由来の無花粉スギ品種「西育不稔3号」、ヒノキ特定母樹「特定5-11(ヒノキ九育2-10)」。

日本の人工林が成熟し、主伐・再造林が進む中で、「新しい林業」の実現に向けて初期成長が優れ、下刈り省力化によるコスト低減に貢献する優良品種が求められています。そこで、エリートツリーのなかで初期成長が特段に優れるスギ3系統、カラマツ2系統を初期成長に優れた第二世代品種として開発しました(写真1)。また、花粉発生源対策に資する品種として関西育種基本区から初となる精英樹由来の無花粉スギ3品種を開発しました。これらを含め、令和5年度には30の優良品種を開発しました。

〔エリートツリーの特性表と育種技術マニュアルの公表〕

現在、特定母樹の指定とその普及が進められています。更なる特定母樹の普及の促進に資することを目的として、九州育種基本区において特定母樹に指定されているスギエリートツリーの特性表を作成・公表しました。また、特定母樹指定システムを用いた採種園の新規の造成等が進められる中、原種苗木の増殖や採種園の整備・管理に関する知見を整理した育種技術マニュアルも作成し、公表しました(図1)。

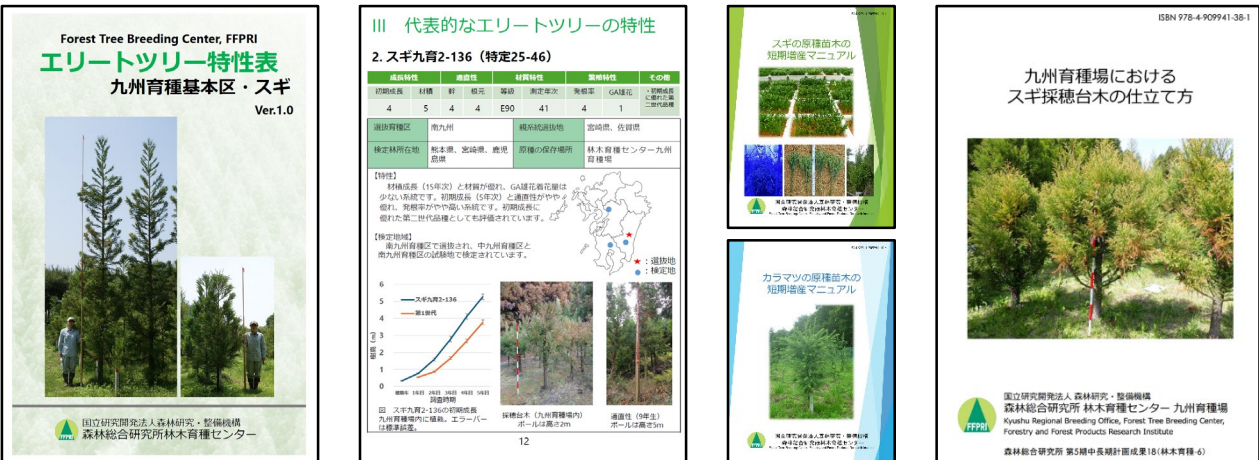


図1 令和5年度に作成・公表した特性表と育種技術マニュアル

左から、九州育種基本区のスギのエリートツリー特性表、スギとカラマツの原種苗木の短期増産マニュアル、九州育種場におけるスギ採穂台木の仕立て方マニュアル。

● 林木遺伝資源の収集・保存

〔深層学習を使った花粉発芽の自動認識〕

林木ジーンバンク事業では、収集した花粉について発芽検定により発芽率を測定しその結果をデータベースに記録し、長期保存を行っています。

花粉の発芽検定は、これまで人の目で花粉の発芽・未発芽を判断していましたが、今後のジーンバンク事業の効率化のため、花粉発芽試験の顕微鏡画像から深層学習を用いて発芽率の計測の自動化を試みました。

スギの花粉について複数枚の写真から花粉の発芽・未発芽を学習させ、それに基づいてテストデータを解析したところ、実用的な精度で発芽率が推定できそうだということが示されました。今後は実用化に向けた検討を進めていきます。

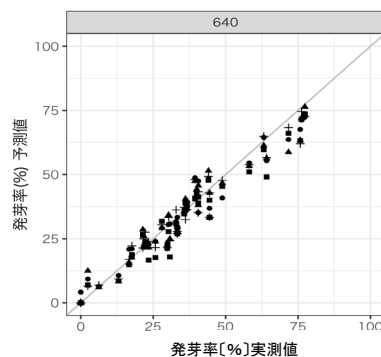
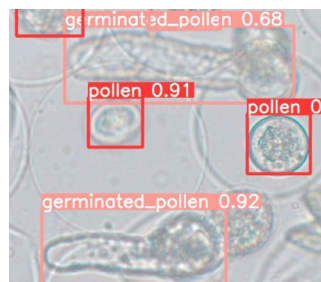


写真1 顕微鏡画像上での花粉の発芽の自動認識
図1 発芽率の従来の方法と自動認識との比較

〔紀伊半島と四国に自生する希少樹種トガサワラの球果採取〕

希少樹種トガサワラの生息域内および生息域外保全の技術開発に向けた基礎情報を得るため、関西育種場は着果量のモニタリング調査を平成27年度から継続して実施してきました。

令和5年は平成29年度以来の7年ぶりの豊作年となったため、奈良県、和歌山県および高知県の自生集団から球果を採取しました。球果から分離・精選した種子はジーンバンクとして保存されるとともに、試験研究の材料として有効に活用される見込みです。



写真2 トガサワラの球果採取
左: 採取作業の様子 右上: 球果が着生した樹冠
右下: 採取した球果着生枝

〔ペットボトル馴化法(PB馴化法)によるオガサワラグワのクローン苗の生産〕

絶滅危惧種オガサワラグワの野生復帰に取り組んでいますが、オガサワラグワの培養苗を馴化する過程で多くの苗が枯死する問題がありました。このため、培養苗を島内で野外馴化する新しい技術として、使用済みの炭酸飲料用ペットボトルを再利用する「PB馴化法」を開発しました。

本法の開発によって、培養植物を扱うための設備が充実していない場所でも、培養植物から植栽用苗木を効率的に生産できるようになり、オガサワラグワの野生復帰に向けた事業においても実際に利用されています。

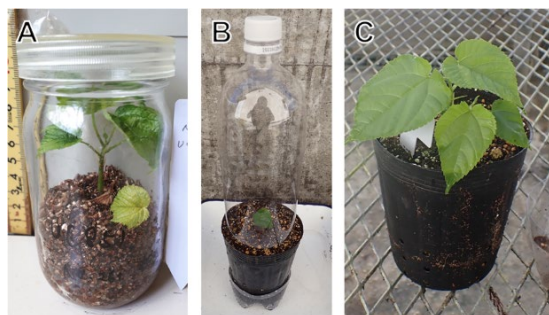


写真3 PB馴化法による培養苗の馴化
左(A): オガサワラグワの培養苗
中(B): ペットボトルから自作した道具を使った馴化
右(C): 野外環境に馴化した苗木

●指導普及・海外協力

〔都道府県等への講習・指導〕

令和5年度は、都道府県等からの要望に基づき、採種穂園管理技術などに関する164回の講習・指導を実施しました。関西育種基本区では、ヒノキミニチュア採種園の育成管理や、早生樹であるセンダンの剪定や仕立て方等の技術指導を行いました。関東育種基本区では、カラマツ種子の生産増強のため、協定締結を行っているカラマツ採種園内において、環状剥皮等の指導を行いました。また、事前にオンラインミーティングを実施して、質問等に対する回答を行ったり、ミーティング時に確認した採種園等の状況に対しての課内検討を行い、その後、出張者が現地で指導を行うという取組も行いました。



写真1 令和5年度に行った講習・指導

左から、センダンの剪定方法や仕立て方の指導(兵庫県)、カラマツ採種園での環状剥皮処理(関東森林管理局・群馬県)、オンライン ミーティングを利用した指導(群馬県)

〔モンゴルでの育種事情調査〕

令和4年度にモンゴル科学技術大学(MUST)の教員、学生を林木育種センターに招聘し、研修を実施した際に、モンゴル側から共同研究の提案があったことから、令和5年6月下旬に林木育種センター職員がモンゴルに出張し、共同研究の相手先であるMUST等の現状、研究体制、モンゴルの森林・林業の現状等について調査を行いました。

モンゴルは、降水量が少なく、非常に乾燥しており、草地が多く、森林率は約11%ですが、ロシア国境に近い北西部の山地等にシベリアカラマツ等が生育しています。モンゴルでは、これまであまり林木育種に係る研究を行ってきておりませんが、モンゴル側からはシベリアカラマツの林木育種に係る共同研究について強い要望が寄せられおり、今後どのような国際貢献ができるのか、検討しているところです。



写真2 モンゴルでの育種事情調査

左から、モンゴルの草地の状況、モンゴル北西部のシベリアカラマツの天然林の状況、MUSTの校舎

● バイオテクノロジーによる育種技術の開発

〔ゲノム編集スギにおける変異パターンの効率的解析手法の開発〕

ゲノム編集はゲノムDNA上の狙った遺伝子にピンポイントで変異を導入することができる技術です。森林バイオ研究センターではゲノム編集技術であるCRISPR/Cas9と呼ばれるシステムをスギに応用し、花粉形成に関与する遺伝子に変異を導入することで、無花粉スギの開発に成功しています。

現在主流となっているゲノム編集技術では狙った場所で生じる変異はランダムであるため、当初意図していなかった変異が生じることがあり、また、再生した個体が体細胞キメラ（変異パターンの異なる複数の細胞が混

ざっている個体）を示すこともあるため、ゲノム編集により改変されたゲノムDNAの配列情報を効率的に決定する手法の開発が求められていました。

そこで、キャピラリーシーケンサーと次世代シーケンサーによる解析を組み合わせた、効率的な変異パターンの解析手法を新たに開発しました。具体的にはゲノム編集の標的配列を含む遺伝子領域をPCR法により増幅し、まず一次スクリーニングとして遺伝子型のタイピングに用いられているフラグメント解析により塩基の挿入／欠損の有無を判定します（図1）。これにより変異の存在が推定された候補個体について、次世代シーケンサーによる二次スクリーニングを実施し、塩基配列レベルでの変異パターンを決定します。

なお、次世代シーケンス解析は安価に実施可能な小型のナノポアシーケンサー「Flongle」（Oxford Nanopore Technologies社）を適用しました（図2）。Flongleは1セル僅か67ドルで50億塩基以上のデータ取得が可能であり、これにより1サンプル2,000～5,000円の低コスト化が可能となりました。さらに、本解

一次スクリーニング

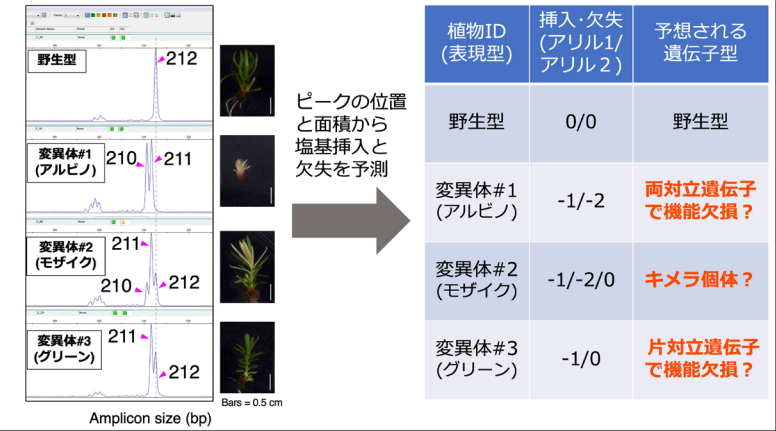


図1 フラグメント解析によるゲノム編集領域の遺伝子欠損・挿入の予測
葉緑素合成酵素遺伝子のゲノム編集個体をモデルケースとした解析例。
表現型系統（アルビノ、モザイク、グリーン）から代表的な1系統の結果を示す。

二次スクリーニング

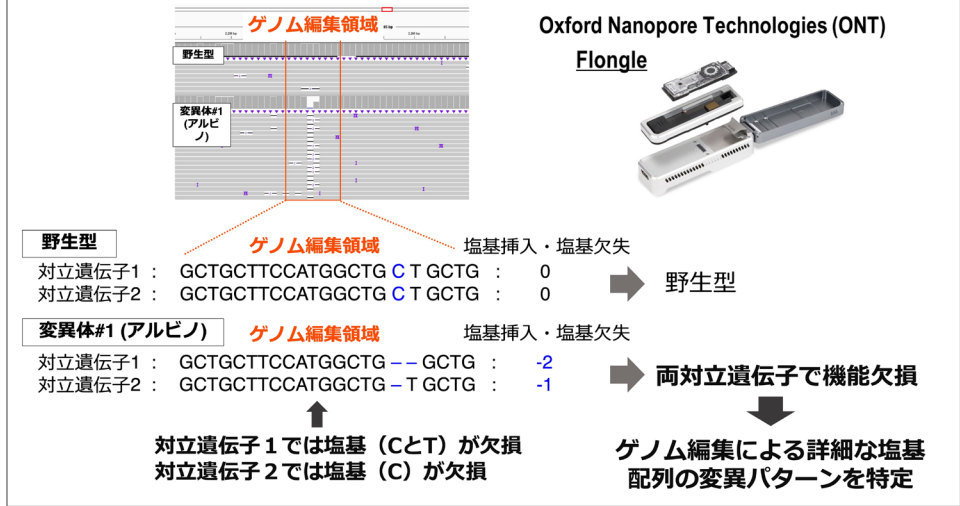


図2 ナノポアシーケンサーを用いたゲノム編集領域の遺伝子欠損・挿入の決定
ゲノム編集領域において詳細な遺伝子情報を取得できるため、正確に目的の変異体を選抜可能。

析手法により100個体以上の変異体群の中から目的の変異パターンを有する個体を1週間程度で選抜することが可能となりました。本解析スキームの詳細については林木育種情報No.43およびTree Physiology(2024) 44(2):tpad158をご参照ください。