

中国における亜麻および産業用大麻の育種に関する研究の進展

Hua, K. Q., Yi, S. Z., Sheng, Q. C., Fu, W. Y., Xuan, Z., Xia, S. X., ... Bo, Y. Y. (2024). The Study Progress on Breeding of Flax and Industrial Hemp in China. *Journal of Natural Fibers*, 21(1).

<https://doi.org/10.1080/15440478.2024.2389159>

要約

中国における亜麻と産業用大麻の育種は 1950 年代に始まった。20 世紀末以降、関連育種技術の開発が加速している。現在の主な育種技術には、交配育種、突然変異誘発、遠隔交配、雄性不稔亜麻の利用、ハプロイド育種、雑種育種、組織培養、導入遺伝子、遺伝子編集、分子マーカー補助選抜などがある。多くの新しい育種技術があるにもかかわらず、交配育種は現在でも亜麻と産業用大麻の主要な育種方法である。本論文では、亜麻と産業用大麻の生産状況、育種の歴史、遺伝資源の収集、標準配合、育種方法、新品種について紹介した。亜麻と産業用大麻の育種におけるいくつかの問題を分析し、いくつかの提案を提出した。

キーワード

- [亜麻](#)
- [産業用大麻](#)
- [遺伝資源](#)
- [交配](#)
- [分子育種](#)
- [研究経過](#)

はじめに

亜麻 (*Linum usitatissimum* L.) と産業用大麻 (*Cannabis sativa* L.) は、古くから栽培されてきた植物である。亜麻は、グルジアでは 30,000 年前にすでに利用されていた (Kvavadze ら [2009](#))。また、中国ではすでに 5,000 年以上前から栽培されていた (Xiong [2008](#))。しかし、それは主に種子や油のためであった。繊維の亜麻は 1906 年に導入され、中国では 1936 年に加工用として栽培されるようになった。大麻は 8,500 年前に中国人によって収穫された可能性があり、おそらく少なくとも 6,000 年前から栽培されており、世界最古の作物のひとつである。その歴史の大半において、産業用大麻は茎繊維の供給源として、また油糧作物として最も重宝されてきた。Dai ([1989](#)) は、大麻の原産地は中国であり、その発見時期はおよそ地質学的に第三紀から第四紀の間であると考えている。新石器時代かそれ以前には栽培されていた。繊維用に栽培された大麻は西アジアとエジプトに伝わり、その後紀元前 1000 年から 2000 年の間にヨーロッパに伝わった。ヨーロッパでの栽培が広まったのは西暦 500 年以降である (Small [2015](#))。

亜麻と産業用大麻は、繊維や食用油だけでなく、健康食品や医薬品、複合材などにも利用される高品質な多目的産業作物である。近年、亜麻と産業用大麻の新しい用途が世界の産業界から広く注目されている。例えば、亜麻リグナンは医薬品産業において大きな可能性を秘めており、抗酸化、抗腫瘍、抗心血管疾患、骨粗しょう症予防、糖尿病予防などの効果が多くの研究によって証明されている (Li, Zhao ら [2024](#))。大麻の CBD (カンナビジオール) はカンナビノイドの非精

神作用成分であり、抗てんかん、神経系の保護、鎮痛、抗不安、不眠症の改善、抗炎症、抗酸化、アルツハイマー病の治癒、抗腫瘍、代謝と免疫の調節、心臓血管系の保護、肝臓の保護、記憶力の改善などの薬効がある。最新の研究結果では、CBDには肺線維症への介入と寛解効果があり、そのメカニズムはリノール酸代謝、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン生合成、アラキドン酸代謝、ナイアシン、ナイアシンアミド代謝に関係している可能性がある(孫 [2024](#))。つまり、亜麻と産業用大麻は重要な多目的工業作物なのである。育種は、これらの新しい用途にも注意を払う必要がある。

FAO(国際連合食糧農業機関)のデータによると、世界(全体)における亜麻の栽培面積と収量は、1961年には2,041,125 ha 696,579 t、2022年には256,541 ha 875,995 tである。2022年の亜麻作付面積は1961年の12.6%にすぎないが、収量は1961年の125.8%である。また、1ha当たりの収量は1961年が341.3kgであるのに対し、2022年は3,414.6kgと1961年の10倍である。世界における産業用大麻の作付面積と収量(合計)は、1961年が473,273ha299,919t、2022年が75,057ha247,064.39tである。2022年の大麻の作付面積は1961年の15.9%に過ぎないが、収量は1961年の82.4%である。また、1ha当たりの収量は1961年633.7kg、2022年3,291.7kgで、1961年の5.2倍である。単位面積当たりの収量の増加は、技術の進歩と生産性の向上によるものと考えられる。育種技術の進歩が主な要因のひとつである。2022年の産業用大麻の世界総生産量は1961年の生産量に迫る勢いであり、2022年の亜麻の世界総生産量は1961年の生産量を上回っている。これは、自然緑地環境保護に対する意識の高まりとその多用途化の拡大により、亜麻と大麻繊維の使用量が近年徐々に再開され、増加していることを示している。

現在、亜麻は主に甘粛省、新疆ウイグル自治区、黒龍江省、内蒙古自治区、河北省、山西省、寧夏省、雲南省などで、産業用大麻は主に黒龍江省、雲南省、内蒙古自治区、山西省、広西チワン族自治区、安徽省、山東省、河南省、甘粛省などで栽培されている。亜麻の作付面積は約37万haだが、2022年からの繊維価格の上昇により、2024年の亜麻と産業用大麻の作付面積は中国で大幅に増加する。中国の亜麻の単位面積当たりの収量は、東から西に向かって徐々に増加している。北東部の亜麻の茎葉収量は3.5~4.5t/ha、北西部は4.5~5.5t/ha、南東部は3.5~5t/ha、南西部は6~9t/ha、最高は10t/haに達する。種子収量は約400~1000kg/haである。

2000年以降、産業用大麻繊維は衣料用繊維に広く使用されるようになった。大麻の栽培面積は増加し始めた。現在、中国には約7万haの産業用大麻がある(繊維、種子、薬用大麻を含む)。

(2)中国北部で大麻を収穫した後、大麻の茎を直接畑に広げ、大麻の茎を防露処理し、大麻を亜麻の処理方法で処理する。繊維収量は約1500~2000kg/haである。(3)種子大麻の場合、種子収量は約1000-2000kg/haである。山西省は約1200~1500kg/ha、広西チワン族自治区は約1000~1300kg/ha、内モンゴルと陝西省は約1500~2000kg/haである。(4)薬用大麻、上部の葉と花序は約1500-2000kg/haである。

2000年(1月1日)から2022年(5月21日)までの検索結果の可視化分析をWoSのウェブサイトを通じて行った。発表論文数は国によって大きく異なり、1位はカナダとフランスの972論文、3位はアメリカの828論文、4位は中国の686論文(中国論文を除く)であった。科学研究が亜麻の生産に貢献することもあれば、その逆もある。その結果、上記の国々は世界の亜麻の主要生産国でもある(Gao, Chenら [2023](#))。同じ期間(2000年1月1日から2022年5月21日)に、中国語の「亜麻」または「亜麻仁」のタイトルを設定し、中国のCNKI(China National Knowledge

Infrastructure、www.cnki.net) において中国語で発表された科学論文を検索したところ、科学技術分野で 6252 件のレコードが見つかり、そのうち 4809 件が学術雑誌、556 件が論文であった。これは、中国の亜麻科学技術分野の論文がカナダやフランスをはるかに凌駕していることを示している。同期内に、中国語の「大麻」または「汉麻」または「火麻」というタイトルを設定し、CNKI において中国語で発表された科学論文を検索したところ、科学技術分野で 5120 件の記録が見つかり、そのうち 3015 件が学術雑誌のもので、1440 件が論文であった。これは、中国が亜麻と産業用大麻の研究分野で重要な地位を占めていることを示している。品種は産業の基礎であり、育種技術の進歩は優れた品種を選択する鍵である。本論文の目的は、中国の亜麻と産業用大麻の育種技術と成果をまとめ、育種技術の発展を促進し、中国と他の亜麻と産業用大麻生産国との交流を強化し、国際的な同業者が中国の亜麻と産業用大麻の育種と産業についてよりよく理解できるようにし、協力の機会を増やし、亜麻と産業用大麻の発展を促進し、人類に利益をもたらすことである。

亜麻と産業用大麻の育種の歴史的過程と成果

亜麻の商業的育種は 19 世紀初頭に始まった。オランダで最初に亜麻の育種が報告されたのは、1816 年頃、フリースラント州北部のテルナール (Ternaard) であった (Haan 1952)。しかし、亜麻の育種は 1950 年代に中国で始まり、過去 70 年以上にわたって育種が行われ、多くの新品種が育成されてきた。

中華人民共和国農業農村部 (MARA) は 2017 年 5 月 1 日に「非主要作物品種登録弁法」を公布した。2017 年から 2023 年まで、85 の亜麻品種が MARA に登録され、その一部は 2017 年以前に育成され、いくつかの省で登録された古い品種である。その中には、繊維用亜麻 25 品種、油用亜麻 51 品種、繊維・種子兼用亜麻 9 品種が含まれる。これらの品種は 16 の機関 (または企業) のものである。主な育種機関は以下のとおりである：(1) 黒龍江省農業科学院 (HAAS) の産業作物研究所 (IIC) は、22 の亜麻品種を MARA に登録している。(2) 甘肅省農業科学院作物研究所 (CRI) は、亜麻 15 品種を MARA に登録している。(3) 寧夏農林科学院桂園分院は MARA に亜麻 8 品種を登録している。(4) HAAS ロシア農業技術協力センターが亜麻 7 品種を MARA に登録。(5) 山西農業科学院高冷地作物研究所は、亜麻 6 品種を MARA に登録した。(6) 中国農業科学院 (CAAS) 畜産繊維作物研究所 (IBFC) は、亜麻 5 品種を MARA に登録している。(7) 内モンゴ農畜産科学院が亜麻 5 品種を MARA に登録。(8) 張家口農業科学院が亜麻 3 品種を MARA に登録。(9) 黒龍江省科学院大慶分院は亜麻 2 品種を MARA に登録した。

25 品種の繊維用亜麻において、茎葉収量は 4969.5~13434kg/ha であった。総繊維率は 25.5% から 37.48% である。株高は 76.9~117.3cm である。華北では出穂から技術成熟までの日数は 69~91 日で、華南では冬期に 3 品種の繊維用亜麻が試験され、出穂から技術成熟までの日数は 153~176 日である。最も高い茎収量は雲南省の Huaya No.15 の 13434 kg/ha である。51 種の亜麻の種子収量は 1283.8~2442.0kg/ha である。油分は 28.89% から 46.30% である。種子 1,000 粒の重量は 4.92~8.80g で、草丈は 48.4~78.4cm である。出穂から種子成熟までの日数は 87~113 日。

繊維と種子の両用亜麻 9 品種では、茎収量は 5139.0 から 7547.3 kg/ha、種子収量は 1144.5 から 1685.4 kg/ha であった。総繊維率は 28.78% から 33.60% である。油分は 35.91% から 41.26%。株高は 64.2~104.7cm。出穂から収穫までの日数は 70~101 日。

これらの品種は、次のような問題を解決した。第一に、収量が大幅に増加した。繊維亜麻の茎葉収量は 1200 kg/ha から 9000 kg/ha に増加し、例えば、Huaya No.3 の茎葉収量は 9350.0 kg/ha に達した (Kang ら、[2018](#))。第二に、繊維と種子の両方に利用でき、繊維、種子、観賞用にも利用できる多目的亜麻品種をいくつか開発した。例えば、Huaya No.6 の茎収量は 5000.0 kg/ha、繊維収量は 1185.3 kg/ha、種子収量は 1350.0 kg/ha で、花色は暖かみのあるピンク色で、人々を熱狂させる。立体花壇の観賞用植物としても利用できる (Kang ら、[2023](#))。第三に、亜麻の病害が抑制されている。例えば、中山 4 号 (王 [2016](#))、華亜 5 号 (康ら [2022](#)) などは、高い萎凋病、さび病、うどんこ病抵抗性を有する。第四に、品質が明らかに向上した。例えば、新品種華谷 4 号の繊維含量は 34.9% (Kang [2021](#))、新品種寧谷 9 号の油含量は 44.1% (Gao [2017](#)) である。これらは亜麻の育種における大きな成果である。

中国の産業用大麻の育種は比較的遅れている。1950 年代、科学研究者たちは育種に取り組み始め、当初の主な仕事は「南方品種を北方に植える」ことだった。1961 年に初めて報告された。安徽省の魯安範馬を黒龍江省に導入して植えたところ、繊維の収量が地元品種に比べて 49.1% ~ 67.2% 増加した (Sun, Chen, and Sun [1961](#))。1960 年から 1961 年にかけて遼寧省に安徽省産の魯安範馬、河南省産の具志桂馬、山東省産の萊蕪水干範馬を植栽したところ、繊維収量は 1690.5、1472.3、1302.2 kg/ha で、地元品種に比べてそれぞれ 173.8%、131.1%、103.9% 増加した (Zhao and Liu [1963](#))。安徽省の魯安範馬と河南省の求肥クイマを北方 (陝西省、山西省、河北省、遼寧省、黒龍江省など) に導入すると、1951 年から 1964 年にかけて収量が 30% から 90% 増加した (Yu [1965](#))。

第二段階は交配で、その後、いくつかの新しい育種法が適用され始めた。1960 年代から 1970 年代にかけて、系統的な育種が始まり、「武昌 40 号」、「東寧 9 号」、「来遠 195 号」などの品種が育成された。その後、産業用大麻栽培の減少に伴い、これらの品種は徐々に生産から姿を消し、1990 年代には育種作業はほぼ停止した。これは産業構造の調整と大麻栽培の禁止と密接な関係がある。21 世紀に入り、産業用大麻産業の急速な発展に伴い、中国は産業用大麻の育種を重視するようになった。産業用大麻の育種は、湖南省、雲南省、黒龍江省、安徽省などに集中している。2000 年以前にも大麻の品種改良は行われていたが、正式な品種登録はされていなかった。2001 年に雲南省で雲麻 1 号が登録され、産業用大麻の品種登録が開始され、雲南省、黒龍江省、安徽省、山西省を中心に登録されている。

産業用大麻は MARA の非主要作物品種登録リストに含まれていない。産業用大麻の品種は MARA に登録する必要はない。産業用大麻の品種は、MARA で登録する必要はなく、各州で登録することができる。大麻のデリケートな性質から、産業用大麻品種は黒龍江省、雲南省、安徽省、山西省でのみ登録されている。2001 年以降、各省で登録された産業用大麻の品種は 120 種を超え、黒龍江省では 50 種以上、雲南省と安徽省ではそれぞれ 30 種以上である。これらの品種は 30 以上の機関によって育成されたが、主な産業用大麻の育成機関は以下の通りである：(1) IBFC は、安徽省、雲南省、黒龍江省で 30 以上の産業用大麻品種を登録している。(2) 雲南省農業科学院工業作物研究所は、雲南省で約 14 品種の産業用大麻を登録した。(3) 黒龍江省では、IIC と黒龍江省科学院大慶分院がそれぞれ 10 品種以上の産業用大麻を登録している。(4) 山西農業大学工業作物研究所 (山西省農業科学院) は、山西省で約 5 品種の産業用大麻を登録した。120 種の産業用大麻のうち、繊維用大麻が約 60 種、種子用大麻が 25 種、薬用大麻が 23 種、薬用・繊維用、薬用・種子用、繊維・種子用が 12 種である。120 品種のうち、ほとんどの品種が雌雄異株

で、3品種が雌雄同株、3品種がすべて雌性化株であり、雌株比率は95%以上である。大部分は慣行品種であり、ハイブリッド品種は4種である。出穂から種子成熟までの日数は85~200日である。出穂から技術的成熟までの日数は82~140日。1,000粒の種子重量は13.4~29.0gである。2019~2023年には50%の産業用大麻品種が育成された。草丈は1.45~4.1mで、茎収量は約8777~11469kg/ha、繊維収量は約1470~2134kg/ha、韌皮収量は1935~3143kg/ha、種子収量は約1014~1633kg/haである。THC(テトラヒドロカンナビノール)含有量は約0.011%~0.27%、薬用大麻品種のCBD含有量は約0.7%~6.63%である。種皮の色は比較的灰色で、主に粗脂肪28.73%-42.84%、タンパク質含有量20.7%-33.39%、薬用品種の花序と頂葉の収量は1606-2240.1kg/haである。

遺伝資源

遺伝資源コレクション

亜麻の遺伝資源保存の研究は1950年代に始まり、その主な目的は遺伝資源の収集と同定であった(Wang 2008)。遺伝資源の主な任務は、地方品種の収集である。1978年に最初の中国亜麻遺伝資源目録が作成され、570のアクセッションが含まれている。その中には、中国の408の地方品種と著名な系統が含まれ、ロシア、スイス、スウェーデン、ルーマニアなど海外15カ国からの162の系統が含まれている。これらの亜麻遺伝資源は亜麻育種の重要な基盤であり、中国の亜麻育種において重要な役割を果たしている。その後、亜麻遺伝資源の収集は強化され続け、その量は拡大し続けている。現在までに、約5951の亜麻アクセッションが中国のNational Bast Fiber Crops Germplasm Mid-term Genebank(戴ら 2017)に保管されている。このうち、3746の亜麻の遺伝資源が国家作物ジーンバンクに保管されている。

中国には豊富な産業用大麻の遺伝資源がある。第七次五カ年計画(1986~1990年)期間中、中国は保存のための遺伝資源の同定と増殖、およびその主な特徴の同定を実施した。17省から134の地方産業用大麻品種を収集する。134の地方産業用大麻品種は、その生育期間によって、早生(100~139日)、中生(140~189日)、晩生(190~250日)の3種類に分けられる。品種の産地における繊維生産量の観点から見ると、灌漑条件下での山東省の秀真、河北省涿県の大白猪、浙江省の桂馬、陝西省の漢城間、甘粛省の青秀真、寧夏省の燕莎の繊維収量は1350~1800kg/haであり、その他の地域の品種は乾耕栽培で1050~1200kg/haである(Sunら)。2010年12月現在、すでに334の産業用大麻の遺伝資源が国家韌皮繊維作物遺伝資源中期ジーンバンクに保管されており、そのうち42は海外から導入されたものである。334種の産業用大麻のうち、229種が長期安全保存のために国立作物ジーンバンクに保管されている(Daiら 2012)。そして2020年12月現在、国家韌皮繊維作物遺伝資源中期ジーンバンクには1300以上の産業用大麻の遺伝資源が保存されている(Yuら、2021)。10年の間に、約1000の産業用大麻の遺伝資源が国家韌皮繊維作物遺伝資源中期ジーンバンクに追加された。

標準処方

中国は亜麻と産業用大麻の遺伝資源評価と品種登録のための基準を定めている。亜麻(*Linum usitatissimum L.*)のDescriptors and Data Standardは2006年に発表された(Wang and Su 2006)。また、大麻(*Cannabis sativa L.*)の記述子及びデータ標準も2006年に発行された(Su and Dai 2006)。中華人民共和国の工業規格 エリートおよび希少遺伝資源の評価規格-亜麻

(*Linum usitatissimum* L.) (NY/T3759-2020) は 2020 年 11 月 12 日に公布され、2021 年 4 月 1 日に施行された。黒龍江省の産業用大麻の遺伝資源の評価基準は 2022 年 7 月 7 日に公布され、2022 年 8 月 6 日から実施された。中華人民共和国の業界標準識別性、均一性および安定性試験実施ガイドライン-亜麻(*Linum usitatissimum* L.) (NY/T2562-2014) および識別性、均一性および安定性試験実施ガイドライン-大麻(*Cannabis sativa* L.) (NY/T2569-2014) は、中国農業部によって 2014 年 3 月 24 日に公布され、2021 年 6 月 1 日に実施された。この規格の制定は、亜麻及び産業用大麻の遺伝資源及び育種研究において促進的な役割を果たしている。

遺伝資源に関する研究

農学的形質の評価、ストレス抵抗性の評価、輸入遺伝資源の評価などを含む、遺伝資源の総合的評価。農業形質の包括的な評価は、遺伝資源の開発と利用の基礎を提供する。そのため、中国の科学者は亜麻と産業用大麻の遺伝資源について、農学的形質の広範な評価を行ってきた。例えば、Wang ら (2010) は雲南省で 150 の海外産亜麻の遺伝資源を調査した。その結果、試験した亜麻の遺伝資源はすべて 4 つのクラスターに分類された。各クラスターの特徴は異なっている。クラスター I: 草丈が高く、繊維含量と収量が高いが、宿根に抵抗性がない。クラスター II: 草丈は低く、繊維含量と収量は低いが、宿根に強い。クラスター III: 収量は低いが、宿根とうどんこ病に強い。クラスター IV: 草丈は最も高く、収量は 4 クラスターの中で最も高い。クラスター III と IV は収量が高く、宿根とうどんこ病に対して抵抗性がある。これらは亜麻の育種プロセスにとって良い材料である。Kang ら (2011) は、亜麻の多胚性遺伝資源の保存、遺伝的特徴、形態学、細胞学、分子生物学、および技術革新利用について研究した。115 の多胚性遺伝資源が作出された。草丈、繊維含量、多胚形成率が異なる 19 系統が選抜された。この研究は、亜麻の多胚性形質を維持し、強化し、利用する上で一定の意義がある。Qu ら (2019) は、河北省で 33 カ国 170 種の亜麻遺伝資源の 9 つの農学的特性を分析した。その結果、試験した遺伝資源の農学的特性は大きな差異と豊富な変異があることが示された。李ら (2017) は、黒龍江省で国内外の亜麻遺伝資源 300 種の主な農業特性を分析・評価した。その結果、茎収量が最も高い遺伝資源 2068 は 10314kg/ha、繊維収量が最も高い遺伝資源ソビエト 91 は 1753.5kg/ha、総繊維含量が 34.8%の遺伝資源 5092、種子収量が最も高い遺伝資源 5082 は 1767kg/ha であった。この結果は、優れた亜麻の遺伝資源を利用し、高収量の親を選抜するための基礎となるものである。Li ら (2023a) は、新疆ウイグル自治区で 379 の亜麻の遺伝資源について、うどんこ病に対する抵抗性の遺伝的分析を行った。その結果、うどんこ病に対して高抵抗性のものが 1 つ、抵抗性のものが 8 つあった。Guo ら(2015)は 27 ヶ国 342 種の亜麻遺伝資源を pH9.5、可溶性塩含量 1.5%の混合塩溶液で試験した結果、湖南省で 5 種の強い耐塩・耐アルカリ性の高い遺伝資源が得られた。Xie ら(2023)は 243 種の亜麻遺伝資源を合成評価し、6 種の高耐性、28 種の耐乾燥性を示した。Guo ら (2011) は、より高い乾燥ストレス耐性がある BM001 を選抜し、BM001 が乾燥抵抗性品種の育種に利用できることを示した。Zhao ら (2022) は、123 の種子大麻から 12 の農学的形質の表現型データを収集した。表現型データに基づいて、主な農学形質の変動係数、多様性指数、相関、主成分、クラスター分析を行った。その結果、変動係数は 7.2%~125.6%であり、1 株当たりの種子重量と単位当たり収量が最大の変動係数であり、開花日が最小の変動係数であった。実験は広西チワン族自治区で実施され、北方品種は光周の影響を受け、草丈が非常に低くなった。草丈の変動幅は 9.4~145.5cm、種子収量の変動幅は 1.5~

4300.5kg/haであった。Yuら(2021)は、中国、モロッコ、ヨーロッパ諸国から収集した198の産業用大麻の遺伝資源における14の農業的・品質的形質に関する表現型の変異を分析した。その結果、国産あるいは外国産の産業用大麻の遺伝資源は比較的豊富な遺伝的多様性を有しており、14形質の変異係数は4.79%~64.45%であった。最も高い変動係数はCBD含量であった。これらの研究から、亜麻および産業用大麻は、豊富な遺伝資源の種類、高い変動係数、特殊な遺伝資源を有しており、育種親の選択の幅が広いが、育種目的に基づいた慎重な選択が必要であることが示された。

繁殖方法

系統的な繁殖

ほとどの研究によれば、商業栽培されている亜麻品種間の自然交雑の割合は通常低く、3%未満であるが、時折高い割合(5%~6%)が記録されている(Dillman 1938)。もちろん、これらの割合は、不要な花粉源からの距離が長くなると減少し、筒状花よりも大輪の円板状花を持つ品種間で高くなる(Dillman 1938)。産業用大麻のほとどの品種は雌雄異株であり、少数の品種は単株であるが、雌花と雄花があるため自然交雑しやすい。そこで系統育種によって、既存の品種や系統、古い地方品種から育種目標に合致した新品種を選抜することができる。この方法は簡単で省力的、かつ迅速であるため、現在でも中国の亜麻や産業用大麻の育種家に用いられている。MARAに登録された85品種の亜麻のうち、バヤ5号、フアヤN0.15、ジウヤ2号、ニンギヤ15号、ヘイヤ30号など。この方法で9つの亜麻品種が開発された。この方法で育成された亜麻品種の割合は10.6%である。産業用大麻の公式登録品種120種のうち、少なくとも20種が系統育種法によって開発された。この方法で育成された産業用大麻品種の割合は、中国で約16.7%である。つまり、現在でも系統育種は有効な育種方法である。

交配

交配は最もポピュラーな方法である。最も頻繁に用いられる変異創出技術は、種内交配である。交配の目的は、異なる植物系統に見られる望ましい形質を、交配によって1つの植物系統にまとめることである。中国では亜麻の交配育種に関する理論的研究は比較的少ない。Wangら(1991)は、亜麻の一般的な結合能力効果は比較的高く、遺伝子の相加効果が存在することを示しており、交配育種は効果的であると考えている。遺伝的關係が遠い品種の方がより優れた組合せ能力効果を示す。したがって、組合せを選択する際には、親が遠い関係にある組合せを選択することが重要である。Zhangら(2022)の研究によると、F₂世代集団における産業用大麻のほとどの農業形質の平均値は両親の間であったが、F₂世代集団における農業形質のばらつきは大きかった。10の農学的形質の変動係数(CV)は10%以上であった。10種の農学形質の一般化遺伝率の変動幅は29.51%から82.58%であった。株高と枝長の一般化遺伝率は80%を超えていた。したがって、交配育種では、各形質の遺伝率と変動係数に基づいて、適切な世代で適切な選抜を行うことができる。交配育種は、中国における亜麻および産業用大麻の育種に最も一般的に用いられている方法である。MARAに登録されている85種の亜麻品種のうち70種、産業用大麻品種の60%がこの交配法によって育成されたものである。つまり、交配育種は現在中国で亜麻と産業用大麻の育種に最も広く用いられている方法なのである。

誘発突然変異

野生種の遺伝子プールや他の品種からの遺伝的変異の導入だけに頼るのではなく、化学物質や物理的放射線によって誘発される突然変異の導入という方法もある。誘発突然変異は中国では1960年代から利用されていた。亜麻の突然変異育種の初期には、 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 線 (200-500Gy) の $\text{Co-}\gamma$ 線が用いられた。その結果、繊維含有率の高い亜麻や早熟な亜麻が得られた。平家4号や平家6号が育成された。その後、亜麻および産業用大麻に対する変異原の種類と投与量が研究された。 γ 線以外にも、化学物質、抗生物質、宇宙線などの誘発方法が研究され、使用された。Yuら (2013) は、 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 線 (200Gy、350Gy、500Gy) と EMS (エチルメタンスルホン酸塩) (0.2%処理30時間、0.3%処理24時間) を用いて亜麻種子に突然変異を誘発した。その結果、物理的および化学的突然変異誘発後、亜麻は葉色、葉形、草丈、分枝、茎の太さ、花色、花形、不稔性などの様々な形質を持つ変異体を得ることができ、 M_1 、亜麻変異体ライブラリーを構築するための良い基礎を築いた。ZhaoとWang (2021) は、 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 処理した油脂亜麻仁を用いると、発芽エネルギー、発芽率、草丈、技術的長さ、1カプセルあたりの種子、1000種子重量、油分、リノール酸、オレイン酸、パルミチン酸の含量がすべて対照よりも低くなることを見いだした。亜麻仁の最適照射線量は1029Gyであった。 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 線を照射した種子では、エリート物質が約10%から21%出現した。突然変異体の損傷はしばしば陰性であるため、突然変異育種には十分な突然変異集団が必要である。Wangら (2023) は、油脂亜麻品種 Longya No.10 の種子を0.20%のEMSで24時間処理し、草丈、生育期間、うどんこ病抵抗性および他の特性において野生型対照との明らかな差異を有する22の亜麻突然変異体を M_8 世代でスクリーニングした。Wang, Zhao, and Hou (2022) は、種皮の色が異なる亜麻種子はEMSに対する反応が異なると考えている。褐色亜麻種子の処理条件は、0.6%EMS、4時間または2時間であり、淡黄色種子の処理条件は、0.3%EMS、4時間である。Liu, Yang (2023) は、0.9%EMS処理油脂亜麻品種 Longya No.10 種子を18時間使用し、約10万個体の M_1 集団を得た。 M_2 個体群では、植物型、花型、葉型、開花時期に様々なタイプの変異が観察された。安定した遺伝を持つ32の脂肪酸極値変異体を得られた。亜麻の主要生産地(甘粛省蘭州市)での圃場実験の結果、9つの変異体が育種的価値を持ち、2つの高油分変異体(2.95%-3.33%増加)、2つの高オレイン酸含有変異体(4.24%-7.45%増加)、5つの高リノレン酸含有変異体(5.09%-7.51%増加)が得られた。 M_2 の集団からALS耐性除草剤変異体R10をスクリーニングした。抵抗性試験の結果、R10は593.92 g ai./haのTBM(トリベヌロン-メチル)に耐性を示し、TBMに対して高い抵抗性を示した(Liu, Zhang, ら.) Wangら (2016) は、衛星によって運ばれたEMSと宇宙環境突然変異誘発の組み合わせによって Zhongyama 4 を育種した。

実験の結果、産業用大麻種子の品種によって、 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 放射線に対する感受性が異なることが示された。ほとんどの大麻品種の種子に適した $^{60}\text{Co-}\gamma$ 放射線は100Gyから200Gyであった(Jiangら .2017)。Chengら (2020) は、EMS突然変異誘発によって、新しい高CBD産業用大麻品種である Zhonghanma No.1 を育成した。Jiang (2016) の研究結果によると、産業用大麻種子「霍麻1号」、「葛亮」、「金道15号」のEMS処理の適切な濃度はすべて1.5%で、適切な時間はそれぞれ8時間、6時間、8時間であった。また、EMSは胚根と胚軸の成長を抑制する作用があることもわかった。また、Fengら (2020) の研究結果によると、EMSの体積分率は2.5%、処理時間は7.5時間が Fenma 3.に適した突然変異条件であった。

以上の研究結果から、物理的環境、化学的環境、空間的環境が亜麻や産業用大麻に変異原性を及

ぼすことがわかった。育種目的に沿った標的変異誘発を実現することはできないが、その変異率は高く、短時間で高い確率の変異を得ることができ、実際に様々な有益な変異を発生させて新品種を育成することができ、育種プロセスを効果的に短縮することができる。したがって、亜麻と産業用大麻の突然変異育種には明るい展望がある。

種間交雑

亜麻栽培種 (*Linum usitatissimum*) に比べ、野生亜麻種は一般に、一株当たりの莢や種子の数が多く、リグナン含量が高く、ストレスや病気に強いなど、優れた形質を持っている。種間交雑は、野生種の必須遺伝子を利用するための良い方法である。しかし、遠隔交雑は不和合性を引き起こしたり、種子が得られないことがある。特に亜麻では、異種間の生殖障害が深刻で、正常な雑種種子を得ることが困難である。花粉とスティグマが不和合性であるために交雑が不可能な場合、プロトプラスト融合技術、次いで融合産物の再生、あるいは胚救出技術その他の方法によって、種間雑種が得られるかもしれない。亜麻の遠隔交雑培養のプロトプラスト培養と単離された未成熟胚は、培地と培養条件の選択の研究段階にある。中国の一部の育種家は、さまざまな技術を試み、種間交雑の成功例を達成し、一定の成果を得ている。

2003 年以来、ミ・ジュン氏は亜麻の遠隔交配に関する研究を行っており、実験を通じて総合的な交配技術を獲得してきた。主な技術的ポイントは(1)優れた形質と結合能力を持つ栽培種を雌親に、野生の亜麻を雄親に選ぶ。(2)野生の亜麻の場合、花芽を取り除き、開花時期を延期し、開花時期を合わせるように促進する必要がある。(3)交配前に、発育が正常で健康で病気がない母株を選び、1 株あたり 3~5 個のよく発達した花芽を残し、残りはすべて摘み取る。(4)開花前日の午後 4 時から午後 6 時まで、花卉の 1/3 が萼片に露出している花芽を選び、すべての葯を取り除く。(5) 開花 2 日目の午前 7 時~10 時に父方の花粉を白い容器に採取し、ピンセットで葯をつかんで母方の花粉をそっと付着させる。翌朝、調製した成長調整剤を注射器で卵巣周辺に滴下し、3~5 日間続ける (Mi 2004)。

Wang ら(2007)は、*Linum usitatissimum*×*Linum perenne* の種間交雑を行った。1 回受粉、反復受粉、反復受粉+植物成長調整剤の 3 つの交配技術を採用し、微分干渉コントラスト顕微鏡を用いた卵子全染色クリアー法によって、*Linum usitatissimum*×*Linum perenne* の胚乳と胚の発達を調べた。その結果、「1 回受粉」では胚乳と胚はほとんどの胚嚢に形成されなかったが、「反復受粉」と「反復受粉+植物成長調整剤」では、胚乳と胚はほとんどの胚嚢に発見されたが、その発育過程は自家受粉した *Linum usitatissimum*(CK)よりも遅かった。植物成長調整剤の使用は、卵巣の成長を刺激し、落下を遅らせることができ、種子の形成に有利であった。その結果、反復受粉+植物成長調整剤 (100ml の溶液に 60mg の GA3、90mg の NAA、20mg の 2,4-D) は、亜麻の種間交雑不和合性を克服する効果的な方法であることが示された。種間交雑の真偽は、SSR 分子マーカーによって同定された (Zhang ら、2012)。干ばつに強い亜麻品種 Jizhangya No.1 は、この方法を用いて育種された (Qu ら、2018)。遠隔交配技術の利用は比較的限られており、さらなる研究が必要である。これまでのところ、この方法は亜麻の育種にのみ適用されており、中国の産業用大麻にはまだ適用されていない。

雄性不稔性亜麻の利用

花冠の開いた雄性不稔植物を持つ育種系統を開発・選抜すれば、ハイブリッド亜麻品種を生産す

るシステムの開発につながるかもしれない。Bateson と Gairdner (者注 1921) は、1918 年に亜麻で細胞質雄性不稔が発見されたことを報告しているが、ハイブリッド亜麻品種には利用されていない。1975 年、内モンゴル農畜産科学アカデミーで、油麻'Yanza No.10'から不稔植物が発見された。優性遺伝子が制御する核不稔型であると考えられた。この亜麻は 18 の農業科学アカデミーで使用され、不稔型の繊維亜麻に転換された。この不稔性亜麻は、交配、戻し交配、回転交配選抜などの育種法で利用された。多くの優良系統が育種された (Wang 2001)。この雄性不稔亜麻の S62-500 と S135-350 の RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)分子マーカーは、亜麻の優性雄性核不稔遺伝子に連鎖する RAPD マーカーによって得られた(Gao, Zhang, and Siqin 2007)。Dang, Zhang, and She (2000) は 1998-1999 年に 5 種類の抗生物質 (Streptomycin, Penicillin, Rifampin, Erythromycin, Gacheomycin) を用いて亜麻種子を処理し、いくつかの雄性不稔変異体を得た。油麻系統 9410 の突然変異誘発処理により 3 つの不稔植物が得られ、それらの M₂ は稔性分離を示した。変異原性不稔は遺伝する可能性がある。彼らは別の実験を行い (Dang, Zhang, and She 2002)、すべての結果から、雄性不稔系統は、その感受性と温度感受性に基づく雄性稔性の変換を利用することにより、容易に維持・繁殖できることが示された。この安定した遺伝的雄性不稔材料の発見は、亜麻の遺伝的収量向上のためのトウライン系ヘテロシスの利用への道を開いた。

Zhang と Dang(2002)は、自然条件下におけるこの雄性不稔材料のヘテロシスと温度感受性の影響について研究した。その結果、温度が不稔性に重要な影響を与えることがわかった。ある温度範囲内では、高温は稔性を向上させ、結実および結実率を増加させるが、低温は稔性を低下させ、結実および結実率を減少させる。一方、温度に対する感受性の程度は材料によって異なることも判明した。雄性不稔系統 (5s-2,5s-3,20s,25s) を 30 品種/系統と交配し、F₁ 交配した組み合わせは収量が有意に増加し、平均生産量は 39.73%増加した。種子収量に最も影響したのは 1 株当たりの莢数で、次いで有効分枝数、千粒重であった。F₁ はまた、生育速度が速く、苗の段階で複数の枝と莢を持ち、成熟が早いという特徴を示している。彼らは、F₁ 世代の普通系統と温度感受性の雄性不稔系統の 2 系統の亜麻雑種の収量を試験した。その結果、2 系統の亜麻雑種は種子収量が有意に高かった。この交配種は、対照品種である Longya 8 に比べて種子収量を 42.29%~60.71%増加させた (Zhang and Dang 2005)。この温度感受性の雄性不稔性物質を用いて、Longyaza No.1~No.4 の 4 つの亜麻交配種が育成された。これまでのところ、この方法も亜麻の育種にのみ適用されており、中国の産業用大麻にはまだ適用されていない。

ハプロイド育種

通常、交配から亜麻の新品種登録までには 12~15 年を要する。亜麻のような自家受粉作物では、ハプロイド世代を使用した方が、かなり効率的な育種プログラムになると論じられてきた。

葯の培養

ドナー植物の遺伝子型は、植物における葯培養の効果に影響する重要な要因の一つである。Sun ら(1995)は、単核中期、単核後期、二核前期の微胞子がカルスや胚に誘導できると報告しているが、亜麻の葯培養には単核中期から後期の微胞子が最適であった。研究結果によると、花蕾の長さは 3~6mm、葯の長さは 0.6~0.9mm であり、これは亜麻の葯が単一核または境界まで単一核であることを意味し、亜麻の花蕾を効果的かつ正確に選抜するための基礎となる (Sun ら、1995)。Song (1996) は葯の培養を改良し、葯の低温前処理と二層 (液体と固体) 培地によって

植物の再生率を高めた。亜麻花蕾のカルス誘導率は、低温または培地に高濃度のスクロースを添加することで改善された。亜麻の花芽を 4°C で 1 日間処理し、H₁-H₁₄ 培地で培養した結果、カルス誘導率は未処理の花芽に比べて 3%~22% 有意に増加し、H₂ 培地では 50% 増加した。低温前処理を 3~5 日間行くと、カルス誘導率は程度の差こそあれ低下した(謝ら、[2009](#))。高濃度のスクロース (7.5%) で前培養した後では、カルス率はコントロールよりも高かった。中でも、高濃度スクロース前培養 2 日後の 6 系統のカルス率が最も高く、62.9% であった。前培養 7 日後では、カルス率が上昇した系統もあったが、下降傾向を示した系統もあった(Sun and Wang [2009](#))。亜麻の薬カルスは 4°C の低温で 3 ヶ月間保存できるため、カルスからの植物再生の誘導試験時間を延長できる。

Sun ら ([1979](#)) は、亜麻の薬培養に用いる 20 種類以上の基本培地 (Miller、H、B5、N6 など) を系統的にスクリーニングした。その結果、B5 培地を用いた場合の亜麻のカルス誘導率が最も高かった。Song ([2007](#)) は、二層培地を用いて亜麻薬のカルス誘導率を向上させ、亜麻薬培養のための特別な培地を開発し、亜麻薬のカルス誘導率を 46.2% まで向上させた。2008 年には、中国初の繊維亜麻新品種である双亜 13 号が薬培養によって育成された (Song [2008](#))。

多胚性亜麻の利用

現在、ほとどのハプロイド育種技術には、薬の培養や種間交雑などが用いられている。これらの方法は、高い技術要件と複雑な操作を必要とするだけでなく、特殊な調製や高価な化学薬品も必要とする。しかし、亜麻の多胚性種子からハプロイド胚を用いてハプロイドを作出する方法は、複雑な室内培養工程を必要とせず、簡便で経済的かつ効率的である。育種プロセスを加速させる効果的な方法である。亜麻には多胚現象が存在する。亜麻の双胚苗は 1929 年に初めて観察された (Kappert [1933](#))。中国では 1997 年から多胚性亜麻の利用研究が始まった。多胚性亜麻を用いて通常の亜麻と交配した場合、子実の多胚化率は 19.2% であった (Liu [1999](#))。双生児から得られるハプロイドは不稔性であるが、染色体を倍加させることで育種用の植物体や種子を得ることができる。Kang ら ([2011](#)) は、多胚性種子 × 非多胚性種子の F₁ において、多胚性種子の割合が 50% 以上であることを見出した。

多胚率および多胚型は年によって異なる。31 組の双子苗には、n·2n 組合せと 2n·2n 組合せがあるが、n·n 組合せは見られなかった。これら 31 組の双子苗のうち、26 組のハプロイド苗が出現し、双子苗にハプロイド苗が出現する頻度は 41.9% であった (Kang ら [.2011](#))。また、この方法によって高収量の DH 亜麻系統を得た。最高茎葉収量は 8009 kg/ha であった (Kang ら [.2014](#))。多胚性亜麻の利用によって、いくつかの優れた亜麻の遺伝資源や新品種が誕生した。例えば、亜麻の新品種 Huaya No.5 は、2016 年の冬に雲南省で作付けされ、収量試験の結果、2017 年の春に茎収量は 13095 kg/ha、種子収量は 1475 kg/ha であった。2018 年に黒龍江省で生産実証した結果、茎収量は 6611.1 kg/ha で、対照品種である平亜 16 号に比べ 6.4% 増加し、繊維収量は 1707.0 kg/ha で、対照品種に比べ 32.0% 増加した。総繊維率は 32.0% で、対照品種より 6 ポイント高く、良好な高繊維特性を示した (Kang ら、[2022](#))。

ハプロイド植物の同定と倍数化

亜麻花粉の倍加にはいくつかの方法がある。一つは低温倍加である。亜麻ハプロイド植物を 1-5°C の条件下に置くと、倍加率は 30% に達する。亜麻ハプロイド植物を 4-5 回培養すると、倍加率は 26% に達する。三番目はコルヒチンによる倍加である。コルヒチン濃度は 0.02%-0.03%、倍加時間は 8-12 時間、温度は 12-19°C である。倍加法は、ガーゼの一端を亜麻ハプロイド植物

の成長点に巻きつける。ガーゼのもう一方の端はコルヒチン溶液に浸す。10 時間後、ガーゼを取り除き、処理した亜麻ハプロイドの生長点を水で洗う (Sun ら、[1995](#))。コルヒチンの処理方法には他にもさまざまなものがある。適切な温度と湿度の条件下では、出芽段階で、上部を切断し、0.05%のコルヒチンで 24 時間処理した植物の生存率は 100%に達することができ([Kang 2004](#))、ハプロイド植物の 52.1%を倍加させることができる([Liu 1999](#))。異なる生態学的条件と遺伝子型のもとでは、ハプロ亜麻植物を 24-36 時間水に浸し、コルヒチンで処理することができる。コルヒチン濃度は 0.075%~0.2%で、処理時間は 12~24 時間である。今のところ、この方法は亜麻の育種にのみ適用されており、中国の産業用大麻にもまだ適用されていない。

組織培養

体細胞再生植物は広範な遺伝的変異を有し、これらの変異は初期再生において安定した遺伝性を有し、ほとどの親の特徴を保持することができる。本研究では、胚発生カルスを誘導するための摘出体として亜麻品種 "Longya No.10"の種子ブロックを用いた。その結果、2,4-D が亜麻の胚発生誘導段階において重要なホルモンであることが示された。暗黒条件下では、胚発生カルス誘導および継代過程における胚発生カルスの生成と増殖を促進することができ、NAA は胚発生カルスの発生を促進することができる (Xue ら、[2022](#))。

中国の科学者が組織培養によって亜麻の品種を育成した。彼らは胚軸からカルスを得、それを Y 線処理し、カルスから再生植物を得た。2 世代選抜の結果、06-3 系統が得られた。これは 2012 年に登録された亜麻の新品種である。Huaya No.9 も組織培養法で育成された。2023 年に中国の MARA に登録された。

中国では 1981 年に産業用大麻の組織培養研究が始まった。圃場の小苗や屋内で培養した無菌苗の茎葉を摘出植物として用いた。これらの苗は 23~28°Cの室内環境に置かれ、毎日 8~10 時間の光が照射された。培養 5-7 日後、茎の切り口と葉と培地の接触部分にカルス組織が形成され始めた。分化培養を 20~30 日~数ヵ月続けると、まずカルス組織の表面に緑色の芽が現れ、さらに分化して小苗になる ([Liu and Tang 1984](#))。ガラス化苗は、産業用大麻の組織培養に影響する重要な問題である。ホルモンレベル、温度、湿度などの実験を行う。その結果、産業用大麻のガラス化苗の主な原因は湿度であることがわかった。濃度 0.75%~0.8%の寒天粉末を使用し、通気性のある密封フィルムで培地 (MS+6-BA 1.5~3.0 mg/L' NAA 0.2~0.5mg/L) を包装し、殺菌した培地を密封する前に 5~8 分間冷却することで、培地の含水量とボトル内の湿度を下げることができ、産業用大麻組織培養におけるガラス化苗の問題を解決することができる ([Yin ら、2004](#))。

大麻の遺伝子形質転換、マイクロプロパゲーション、および遺伝資源の保存には、効率的な再生プロトコルが必要である。子葉を摘出片として用いる *in vitro* でのシュート再生のための迅速なプロトコルが [Cheng ら](#)によって報告された ([2016](#))。彼らは、MS(Murashige & Skoog)培地中の TDZ(thidiazuron)は、BA(N6-benzyladenine)や ZT(zeatin)よりも、子葉からの *in vitro* シュート誘導において効率的であると結論づけた。TDZ 0.4mg/L および NAA 0.2mg/L を含む MS 培地 (T4N2) では、誘導頻度 51.7%、シュート 1 本当たり 3.0 本という最良の結果が得られた。試験管内のシュートは、培養開始後 3-4 週間で 1.5-2 cm の高さまで成長した。このとき、馴化前の 4~5 週間、IBA (インドール-3-酪酸) 0.5~2 mg/L を添加した半強力 MS 培地では、シュートの約 80%が良好に発根した。2-3DAP (植え付け後日数) の若い子葉は、古い子葉 (5-6DAP)

よりも再生頻度が有意に高いため、摘出植物としてより有用であることが観察された。彼らは、8品種の3DAP子葉をT4N2培地で培養し、その効率を試験した。再生頻度は35.7%から54.8%であり、遺伝子型に依存する部分もあるが、この再生プロトコルは有効であることが示された。彼らは、このプロトコルをマイクロプロパゲーションと遺伝資源保存のための代替法とみなしており、試験管内小植物体は形質転換システムの構築に適している可能性があるとしている。Zhangら(2021)は、発芽から約17日後の苗から採取した本葉、子葉、胚軸を用いた。また、発芽から約10日後、15日後、20日後、25日後に、ユンマ7号から未熟粒の胚軸を採取した。すべての胚軸をカルス誘導培地で培養した。未熟胚の胚軸の20%以上が5日以内に胚形成カルスを形成し、開花後15日目に採取した胚軸は、それ以前またはそれ以降に採取した胚軸に比べてより多くのカルスを形成した(平均31.08%)。開花15日後の未熟種子から採取した胚性胚軸の再生能力は、本葉、子葉、胚軸などの摘出物よりも有意に高く、6.12%に達した。現在、比較的完全な産業用大麻の再生システムが確立されている。

遺伝子導入

アグロバクテリウム媒介法

現代の遺伝子育種において、遺伝子工学技術によって外来遺伝子を植物に導入することは重要なアプローチである。アグロバクテリウムを用いた形質転換により、多くの遺伝子組換え植物が得られている。中国では1998年からアグロバクテリウムによる亜麻の遺伝子形質転換が研究され、再生植物が得られている。アグロバクテリウムを用いた亜麻への形質転換では、*Bar* 遺伝子と *vhb* 遺伝子が導入された。PCRの分子生物学的手法により、目的遺伝子が再生植物のゲノムに導入されたことが確認された(Wangら, 2004)。Wang,Zhouら(2000)は、亜麻苗の胚軸を用い、除草剤耐性 *Basta* 遺伝子と *GUS-INT* 遺伝子を標的遺伝子とし、アグロバクテリウムを介した方法により、トランスジェニック亜麻植物の再生と発根培養について研究した。アグロバクテリウム・ツメファシエンズによる亜麻の予備的トランスジェニック・システムが確立された。同年、Wang,Xuら(2000)は亜麻の遺伝子導入系の確立と亜麻の遺伝子形質転換におけるキチナーゼ遺伝子の研究を報告した。彼らは、抵抗性シュートの発根スクリーニングや葉の抵抗性試験を通じて、キチナーゼ遺伝子が亜麻ゲノムに入り込んだことを予備的に推測した。Kangら(2002)は、アグロバクテリウムを介した亜麻 Heiya No.11 および Heiya No.9 の除草剤耐性 *Basta* 遺伝子への形質転換実験を行い、形質転換カルス組織を得た。Chiら(2021)は、子葉節を摘出体とし、グリホサートをスクリーニングターゲットとした遺伝子形質転換系を用いた。胚軸を形質転換する従来の方法と比較して、育苗期間を2ヶ月に短縮することができ、陽性植物の同定方法も簡単で効率的であった。陽性亜麻苗の同定は、亜麻の再生芽と陽性検出のための対照の葉を切断する。葉を試験管に入れ、少量の水を加えて砕く。バーテストストリップを用いて、PAT(protein acyltransferase)タンパク質の発現を検出する。コントロールのWTの葉ではPATタンパク質は検出されなかったが、トランスジェニック再生苗ではPATタンパク質の発現が検出できた。ポジティブテストストリップを用いて再生芽からDNAを抽出し、*bar* 遺伝子特異的プライマーを用いてPCR増幅を行い、アガロースゲル電気泳動を行った。その結果、試験片が陽性であった形質転換体はすべて *bar* 遺伝子を導入していた。このシステムは、亜麻の分子育種および遺伝子関連研究を加速するための好条件を提供する。産業用大麻の遺伝的基盤は複雑であるため、中国では産業用大麻の遺伝子形質転換に関する研究は比較的少ない。*CsTHCA*

はTHC含量の調節に重要な役割を果たしている。Jiangら(2019)は、RT-PCR(逆転写ポリメラーゼ連鎖反応)によって産業用大麻からCsTHCAを単離した。CsTHCARNA干渉ベクターをpSKint中間ベクターで構築し、大麻のシュートチップに導入して遺伝子導入植物を得た。半定量的RT-PCR法によりTHCA(Tetrahydrocannabinolic acid)合成酵素遺伝子の発現を解析したところ、薄層クロマトグラフィーおよびSPEHPLC法を組み合わせることにより、CsTHCAの発現およびTHC含量が減少した。これらの結果から、CsTHCAは麻のTHC含量を正に制御していることが示唆された。現在のところ、中国ではこの方法を用いた遺伝子組み換え亜麻および産業用大麻の生產品種はまだ開発されていない。

花粉管経路と卵巣注入法

この方法の基本原理は、亜麻の受精過程において、精子核のクロマチンが卵核内で数時間から10時間以上分散し、融合した接合子も10~20時間の休息期間を経ることである。亜麻に外来DNAを導入する技術は、1993年から中国で研究された。亜麻植物からDNAを抽出する方法、花粉管経路を通じてDNAを導入する期間と方法、外因性DNAを導入した子孫の花色、草丈、種皮の色、宿根抵抗性の特性が明らかに変化した。これによって育種期間をほぼ半分に短縮することができ、しかも交配に不適合な遠い遺伝資源を利用することができる(Wang 2005)。Barは、花粉管経路を用いて亜麻への形質転換に成功した。T₁世代は、圃場でグルホシネート100 mg/Lを葉に散布してスクリーニングし、PCRによって抗グルホシネート植物のBar陽性を検出した。その結果、44個のT₁グルホシネート耐性植物が圃場で生存し、8個のBar陽性植物がPCR法で確認され、平均形質転換率は18.2%であった(Liら、2013)。

ウイルスによる遺伝子サイレンシング技術

VIGS(Virus induced gene silencing)技術は、植物の内在性遺伝子の発現を抑制することができ、植物遺伝子の機能検証に重要な役割を果たす。産業用大麻の遺伝子システムはまだ不安定であるため、大麻VIGSシステムの構築と最適化は、いくつかの遺伝子の機能を検証するために重要である。Liu, Yangら(2023)は、大麻のPDS(フィトエンデサチュラーゼ遺伝子)を報告遺伝子として用い、大麻の葉に注入するベクターとしてタバコレトウイルス(TRV)を用いてサイレンシング効果を調べた。また、大麻VIGSシステムの最適化も行った。その結果、産業用大麻品種Yunma7において、ODm=1.0のGV3101株を用いた葉裏注入法により、感染後24°Cで2-3週間培養した1週間苗で有意なサイレンシング効果が観察され、標的としたPDS断片サイズは960-1259 bpまたは126-425 bpであった。この結果は、産業用大麻の遺伝的機能に関する更なる研究、その後の遺伝子改良、品種育成の基盤となるものである。さらに、産業用大麻に最適化されたVIGSシステムは、他の植物におけるVIGS研究の参考となる。

分子マーカーの開発と応用

分子生物学の発展に伴い、亜麻や産業用大麻の品質、収量、抵抗性に関連する分子マーカーや遺伝子が徐々に開発され、亜麻や産業用大麻が分子育種の時代に入ったことを示している。

育種において遺伝的多様性を評価し適用するための重要なツールは分子マーカーである。遺伝資源の遺伝的「フィンガープリント」、あるいは交配親子間の遺伝的「フィンガープリント」は、育種コミュニティによって分子マーカー支援選抜に利用されるようになってきている。現在最も一般的に使用されている方法は、RAPD(ランダム増幅多型DNA)、SSR(単純配列反復)、SRAP(配列特徴増幅領域)、InDel(挿入-欠失)、ISSR(単純配列反復)、SNP(一塩基多型)

である。ほとどの分子マーカー技術が研究され、中国の亜麻と産業用大麻の育種に応用されている。

亜麻と産業用大麻の分子マーカーは、さび病、萎凋病、湛水抵抗性、大麻の性別に焦点を当てている。Chen ら (2001) は、RAPD 技術を用いて大麻の性決定に関連するマーカーを発見した。S401 プライマーを用いて、長さ約 2.5kb の雄性関連断片が生成された。この RAPD マーカーは SCAR マーカーに変換された。これは雌雄異株の大麻のスクリーニングに有利である。Su ら (2002) は、大麻に使用可能な 42 の RAPD プライマーをスクリーニングし、280 の任意の 10mer プライマーから安定した多型バンドを増幅した。Bo ら (2002) は RAPD 解析により、亜麻のさび病抵抗性遺伝子 *M4* に連結した分子マーカー OPA18₄₃₂ を取得し、特異的な PCR プライマーを設計し、*M4* 遺伝子の SCAR マーカーを開発した。Deng ら (2007) は、RAPD マーカーを用いて 10 の亜麻コレクションの遺伝的多様性を解析し、RAPD マーカーが亜麻の遺伝的多様性の解析に適用できることを認めた。Zhang ら (2007) は、RAPD マーカー S1377 が亜麻の湛水耐性遺伝子と密接に関連していることを発見し、RAPD-BSA (bulked segregant analysis) 法により 500 マーカーから選択した。

SSR マーカーの高い反復性、豊富な多型性、共優性、高い信頼性などの利点から、亜麻や産業用大麻に適した SSR プライマーも徐々に開発されてきた。Deng ら (2008) は、亜麻の磁気ビーズによる 97 の SSR 分子マーカーを開発した。濃縮ゲノムライブラリーを用いて、亜麻で 35 のマイクロサテライト遺伝子座が単離され、その特徴が明らかにされた (Deng ら、2010)。Wu ら (2017) は、縮小表示ゲノム配列決定を用いて、亜麻において 1574 の新規 SSR を開発した。Pan ら (2020) は、亜麻ゲノムの SSR マーカー 71,184 プライマー対をスクリーニングし、設計した。Gao ら (2014) は、大麻のトランスクリプトームに基づいて、3,624 個の EST (expressed sequence tags) から 4,577 個の SSR を同定した。Bian ら (2023) は、EST-SSR マーカーを用いて麻の遺伝構造を解析し、200 種の麻のフィンガープリントマップを構築した。この研究成果は、麻の雑種組み合わせ、マーカーを用いた改良、遺伝資源の保護、中核的な遺伝資源の収集のための分子基盤を提供するものである。

全ゲノム配列決定技術の普及により、亜麻および産業用大麻の分子マーカー研究が加速し、多数の新しい分子マーカーが開発されている。Jiang ら (2022) は、2つの系統 (87-3 と 84-3) の全ゲノムリシーケンスデータを亜麻参照ゲノムと比較することにより、合計 17,110 個の InDel マーカーを同定した。17,110 個の InDel マーカーから、亜麻ゲノム中に均等に分布する 90 個のプライマーを選択した。2つの亜麻アクセッションで 32 対の多型プライマーが検出され、多型率は 40.70%であった。Chen ら (2023b) は、合計 38,963,175 SNP 部位と 3,629,262 Indel 部位を取得し、このうち SNP 変異は全ゲノムに一様に分布していた。SNP マーカーの多様性、ヘテロ接合性、連鎖不均衡に基づき、1008 個の独立した SNP がスクリーニングされた。これらの SNP マーカーは染色体上に比較的一様に分布しており、産業用大麻ゲノム全体の変異を表している可能性がある。これらの SNP マーカーは、産業用大麻品種特有のフィンガープリントをマッピングするのに適している。そして、フィンガープリント地図を作成した。

大麻の性別の違いは、薬用大麻の花序の収量と CBD の収量に大きな影響を与える。そのため、研究者は大麻の性別を表示することを重要視し、近年、大麻の性別に関連する多くの分子マーカーを開発してきた。大麻の早期の性別の迅速なスクリーニングと識別方法を確立するために、Fang (2020) は性別特異的 SCAR マーカーを開発した。雌性 SCAR マーカーおよび雄性 SCAR

マーカーはそれぞれ SCAR292 および SCAR500 と命名された。この 2 つのマーカーは供試材において単一のバンドしか示さず、大麻の性別を正確に識別することができる。Zhao ら(2021) は、プライマー ISSR839 が大麻の雄株と雌株で豊富な多型と明確なバンドを持つことをスクリーニングし、プライマー ISSR839 を用いて雄株と雌株間の遺伝的安定性を検出した。さらに、560 対の SRAP プライマーのうち、24 対のプライマーが雄雌 DNA プール間で異なるバンドを増幅することができ、そのうちのプライマー対 me11/em12 は雄 DNA プールから 1 431 bp の特異的断片を確実に増幅することができたが、対応する雌 DNA プールではこの断片を増幅することができなかった。大麻の雄形質に関連する特異的断片は、me11/em12 の位置に設計された SCAR の特異的プライマー HXF/HXR に基づいて SCAR 分子マーカーに変換されるであろう。この研究結果は、苗の段階で大麻の雄株と雌株を識別する技術的手段を提供し、雄株と雌株の割合を合理的に制御し、大麻の種子収量を増加させる可能性がある (Zhao ら、2021)。Pan、Li ら (2021) は、2 つのマーカー「Cs-I1-10」と「Cs-I1-15」が雄株で 2 つのバンド (398bp と 251bp ; 293bp と 141bp) を増幅できること、雌株では 389bp または 293bp のバンドが増幅されることを発見した。この 2 つのマーカーを用いて、雌性化品種と雌雄異株品種を区別することもできた。これらの性連鎖 InDel マーカーは、大麻の育種と生産に正確な性識別戦略を提供する。Tao ら (2022) は、InDel マーカーを用いて大麻の性に連鎖する 2 つのマーカー群 (Is-02 と Is-08) をスクリーニングした。この 2 つのマーカー群は、複数の大麻の遺伝資源 (370 bp または 272 bp) において、雌性シングルバンド型、雄性ダブルバンド型 (370 bp と 199 bp、272 bp と 100 bp) を明確かつ高い精度で増幅した。また、雌雄異株系統、全雌系統、単雌系統の大麻において 100% の検出精度で確認された。その結果、Is-02 と Is-08 は苗の段階で雌雄が不明な植物の迅速な同定に適していることが示唆された。本研究は、大麻の早期の雌雄識別のための技術的支援および薬用大麻のマーカー支援育種のための新しい分子マーカーを提供することができる。

遺伝子発現解析と同定

亜麻や産業用大麻の光周期、有効成分合成、繊維品質、セルロース、脂肪酸、ストレス耐性に関連する遺伝子がクローニング、同定、あるいは発現解析されている。大麻の光周期経路による開花調節における *FT* (開花遺伝子座 T) 遺伝子の役割を探るため、Li、Pan ら (2021) は、産業用大麻品種 Qingma 1 および Yunma 7 から PCR 技術を用いて *FT* 相同遺伝子 cDNA 配列をクローニングし、*CsHd3a* (*Cannabis sativa* Heading date-3a) と命名した。この遺伝子は葉で高発現し、根と茎ではほとんど発現しなかった。Pan、Tao ら(2021)は、大麻中の 5 つの *CBDAS*(カンナビジオール酸合成酵素)遺伝子を同定した。すべての *CsCBDAS* 遺伝子のプロモーターは、光応答に関連するシス作用エレメントに富んでいた。また、組織特異的な発現解析から、*CsCBDAS1* と *CsCBDAS2* は雌花で、*CsCBDAS4* と *CsCBDAS5* は根で優先的に発現することが示された。Liu ら(2021)は、麻には 9 本の染色体上に 30 メンバーの *C2H2* 遺伝子ファミリー (*CsC2H2-1-CsC2H2-30* と命名)が存在することを発見した。定量的リアルタイム PCR により、*CsC2H2-1*、*CsC2H2-5*、*CsC2H2-19* が、ダイクの雌花と苞葉で有意に発現していることが確認された。植物の *WRKY* 遺伝子は、複雑で古くから存在する亜鉛フィンガー転写因子の一群をコードしており、複数の生物学的プロセス、特に生物学的ストレスに対する防御の制御に関与している。Xin ら (2016) は、大麻において 23、15、14 の *CsWRKY* 遺伝子がそれぞれ干ばつ、

NaCl、Cd ストレスに応答することを見出した。興味深いことに、23 の干ばつストレス応答性遺伝子の発現はすべて上昇した。Wei ら (2022) は、種子大麻においてゲノムワイドレベルで 39 の *CsWRKY* を同定し、13 の *CsWRKY* 遺伝子は GA3 ストレスに応答し、繊維の発達に影響を与えるだけでなく、茎の成長と発達に重要な役割を果たす可能性があることを明らかにした。Huang ら (2023) は、大麻の 33 の *FLA* (Fasciclin-like arabinogalactan) 遺伝子ファミリーを同定した。これらの遺伝子ファミリーのプロモーター領域には、ホルモン応答、ストレス応答、光応答などの生物学的プロセスに関連する様々なシスエレメントが含まれていた。Yang ら (2021) は、大麻の 14 の *CsHDAC* (ヒストン脱アセチル化酵素) 遺伝子を発掘した。様々な器官におけるカンナビノイドの分布と *HDAC* 遺伝子の発現パターンを組み合わせることで、生理活性成分の生合成に関連する遺伝子を同定した。Yuan ら (2022) の研究によると、ほとんどの *CesA/CsI* (セルロース合成酵素/セルロース合成酵素様) 遺伝子は茎、根で主に発現し、葉では亜麻り発現しなかった。Guo ら (2022) は、産業用大麻の *CesA* 遺伝子ファミリーに 8 つのメンバーを同定し、それらは 5 つの染色体上に分布していた。*CesA* 遺伝子プロモーター領域には、光応答、ホルモン応答、ストレス応答エレメントが多く含まれており、*CesA* 遺伝子が植物の成長や環境ストレスを含む様々な生物学的プロセスに関与している可能性が示唆された。Chen ら (2022) は、産業用大麻において 12 のホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質 (*PEBP*) 遺伝子を同定した。プロモーターには主に光応答性シス制御エレメントと様々なホルモンシス制御エレメントが含まれていた。Guo ら (2017) は、合計 975 遺伝子を同定し、そのうち 708 (73%) の遺伝子がタンパク質をコードするアノテーションを持ち、葉茎に濃縮された遺伝子が多糖および細胞壁代謝のプロセスに積極的に関与していることを明らかにした。Pan ら (2023) は、産業用大麻ゲノム中に合計 32 個の *CsGRF* (成長調節因子) 遺伝子を同定した。*CsGRF* 遺伝子は、産業用大麻の成長と発達、および環境ストレスへの応答において重要な役割を果たしている。Cheng ら (2023) は、大麻ゲノム中に 11 個の *HAT* (ヒストンアセチルトランスフェラーゼ) 遺伝子を同定し、*CsHAT* 遺伝子がヒストンアセチル化を変化させることでカンナビノイド合成を制御している可能性を証明した。代謝過程、触媒活性、結合カテゴリーに関連する多数の遺伝子が、茎の皮に優位に発現していた。Yuan ら (2021) は、亜麻 *WRKY* 遺伝子ファミリーのゲノムワイドな特性解析を行い、102 個の *LuWRKY* 遺伝子を予測した。セルロース、ヘミセルロース、またはリグニン含量に関連する *LuWRKY* 遺伝子のほとんどは、茎、根で主に発現し、葉では少なかった。しかし、ストレス応答に関連する遺伝子のほとんどは葉で主に発現していた。Wang ら (2021) は、*L. usitatissimum* 品種 'Longya 10' から 5 つの *LuFAD2* (脂肪酸デサチュラーゼ) と 3 つの *LuFAD3* cDNA をクローニングし、*LuFAD2A* と *LuFAD3A* はそれぞれリノール酸とリノレン酸の蓄積に優勢な役割を果たしている。さらに、*LuFAD2A* および *LuFAD3A* は、リノレン酸レベルを増加させることによってジャスモン酸の生合成を促進し、その結果、植物の耐寒性が向上した。Li ら (2023b) は、相同性解析により 'Longya 10' 品種から *LuDMP-1* から *LuDMP-17* と名付けられた 17 の *LuDMP* (機能未知ドメイン 679 膜タンパク質) 遺伝子を同定し、9 つの染色体上に偏在していることを見出した。*LuDMP-17* のプロモーター領域にはホルモンおよびストレス応答性エレメントが含まれており、両遺伝子ともオーキシン (インドール酢酸、ナフトレン酢酸)、ジベレリン、ポリエチレングリコール、高温・低温処理下で転写レベルの上昇が認められた。Li Xin Ye (2023) は、亜麻品種 'Longya 10' から *LuAccD* (アセチル-CoA カルボキシラーゼサブユニット D 遺伝子) 遺伝子をクローニングし、種子中の脂肪酸の蓄

積を促進することができる。*LuAccD* の過剰発現は、ABA (アブシジン酸) 合成およびシグナル伝達経路を制御することにより、塩ストレスおよび浸透圧ストレスに対する種子の耐性を高めることができる。Wu ら (2023) は、リノール酸合成 α -リノレン酸経路の制御に重要な役割を果たす *LuFAD7* 遺伝子をクローニングし、その高発現はリノール酸から α -リノレン酸への変換を促進する。 α -リノレン酸の蓄積はリノール酸含量の減少につながる。Li, Wang ら (2024) は *LuWRI1a* 遺伝子をクローニングし、塩ストレスや乾燥ストレスによる亜麻の成長阻害に抵抗し、活性酸素種の除去能力を高め、膜脂質の酸化的損傷を減少させ、逆境ストレス応答遺伝子の発現を活性化することにより、亜麻耐性を強化した。Zhao, Li ら (2023) は、亜麻で同定された 14 の *PLA1* (ホスホリパーゼ A1) メンバーを同定し、さらに *LuPLA1* 遺伝子の相対発現が、ホルモン、干ばつ、高塩分、低温、高温によって誘導されることを確認した。Gao, Jiang ら (2023) は、亜麻のゲノムワイドで、11 個の *GA2ox* 遺伝子、4 個の *GA3ox* 遺伝子、8 個の *GA20ox* 遺伝子を含む合計 23 個の *GAox* を同定した。Qin ら (2023) は、合計 17 個の麻 *TCP* 遺伝子 (CsTCP1~CsTCP17) を同定した。大麻 *TCP* 遺伝子の発現は組織特異的で、葉と花で高発現であった。Li, Chi, ら. (2021) は、亜麻ゲノム中の *LEA* (late embryogenesis abundant) 遺伝子を同定した。合計 50 の *LEA* 遺伝子がゲノム中に見つかった。*LuLEA1* 遺伝子は、種子の大きさと脂肪酸含量を減少させることができる。Ye ら (2023) は、うどんこ病抵抗性の候補遺伝子を同定した。うどんこ病抵抗性形質に関連する候補領域は、主に二次代謝産物の生合成、輸送および異化、タンパク質輸送、シグナル伝達およびその他の生物学的プロセスに関与する 844 遺伝子を含んでいた。遺伝子アノテーション、代謝パスウェイ解析、文献解析により、11 遺伝子がアブラナのうどんこ病抵抗性に関与している可能性が示された。近年、中国は遺伝子発現解析と同定研究に力を入れている。これらの遺伝子の同定は、産業用大麻や亜麻の分子育種に技術的な裏付けを与えるだろう。しかし、これらの研究はまだ初期段階にあり、体系的な研究が不足している。将来的には、主要遺伝子に関する系統的な研究を実施すべきである。

ゲノム変異と関連研究

亜麻の農学的形質に関連する候補遺伝子を同定するために、Xie ら (2018) はゲノムワイド関連研究 (GWAS) により進化傾向を定義し、亜麻の農学的形質に関連する候補遺伝子を同定した。224 品種からなる亜麻コレクションを SLAF-seq によって配列決定した。全アクセシオンから合計 346,639 の SLAF タグが開発され、各アクセシオンの平均配列決定深度は 7.19 であった。ゲノムワイドな変異の結果、油亜麻の遺伝的多様性が最も高く、繊維亜麻と油繊維亜麻の祖先であると考えられた。亜麻遺伝資源の収量関連形質の遺伝的変異を深く理解するために、Yi ら (2022) は、229 の亜麻遺伝資源を材料として、亜麻の収量関連形質に有意に関連する SSR マーカーを一般化線形モデル (GLM) および混合線形モデル (MLM) の関連解析によって探索した。30 組の SSR プライマーにより合計 365 のバンドが増幅され、36 の SSR マーカーが亜麻の 7 つの収量関連形質と GLM 相関解析により検出された。表現型変異の解釈率は 1.15%(Lu146)-7.75%(Lub747)であった。MLM 関連解析では 23 の SSR マーカーが検出され、表現型変異の解釈率は 2.26%(Lu203a)-7.16%(Lu291)であった。GLM および MLM では、Lu203a および Lua125a マーカーがそれぞれ 12 番染色体および 2 番染色体上に検出された。このことから、亜麻の SSR マーカーは収量関連形質とよく相関していると結論づけられた。Zhao, Yi ら (2023) は、GWAS 解析により、遺伝子 *LUSG00017705* (システイン合成酵素遺伝

子) が最も有意な SNP に最も近いことが判明し、この遺伝子の発現レベルは雄性不稔植物で稔性植物よりも有意に低かった。GWAS 解析で同定された有意な SNP のうち、コード領域に位置する SNP は 2 つだけであり、これら 2 つの SNP は *LUSG00017565* (システインプロテアーゼ遺伝子) がコードするタンパク質に変化をもたらした。この 2 つの遺伝子が亜麻の雄性不稔に関係している可能性が推測された。亜麻の雄性不稔の分子メカニズムが報告されたのは今回が初めてである。

Sun ら(2023)は、11 カ国 202 の大麻のアクセッションを用いて、発芽期の耐塩性に関する GWAS を実施した。762,634 個の高品質 SNP に基づき、耐塩性関連形質 (RGR-T1、RGR-T2、RSRL T1、RSRL-T2、RSW-T1、RSW-T2) と関連する 70 の SNP 遺伝子座が同定された。70 の SNP のうち、9 つを候補 SNP としてさらに解析し、9 つの SNP の上流および下流 100kb 以内に 55 の遺伝子がアノテーションされた。RNA-seq データおよび qRT-PCR の結果と合わせると、*XM_030641043.1*、*XM_030641906.1*、*XM_030648362.1*、*XM_030648308.1* および *XM_030646898.1* は、大麻の発芽時の耐塩性を制御する上で重要な役割を果たしている可能性がある。遺伝子と形質の関係はアソシエーション解析によって確立され、分子支援選抜育種の基礎となる。

転写因子

この転写因子は、植物の成長、発生、細胞の分化、二次代謝、その他の生物的ストレス応答において重要な調節役割を果たしている。Xiong ら(2021)は、大麻に 27 の *Dof* 遺伝子を同定し、*CsDof1-CsDof27* と命名した。いくつかの *CsDof* 遺伝子は茎や花の組織で特異的に発現している。Zhang ら(2021a)は、大麻ゲノム中に合計 44 個の *CsGRAS* 遺伝子を同定した。*CsGRAS4*、*CsGRAS13*、*CsGRAS15*、*CsGRAS17* および *CsGRAS44* は花に特異的かつ高発現しており、これらの *CsGRAS* がカンナビノイド生合成の制御に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。Chen ら (2023a) は、産業用大麻において 5 つの *CsALs* 遺伝子を同定し、同定された 5 つの AL 転写因子は DUF3594 ドメイン (PAL ドメイン) と PHD フィンガードドメインを含んでいた。Li,Wu ら (2023) は、産業用大麻に *CsGATA1-CsGATA21* と名付けられた 21 個の GATA 転写因子が含まれていることを発見した。これまでのトランスクリプトームデータに基づき、Yang ら (2024) は産業用大麻「Yunma 1」から RT-PCR により転写因子 NAC をクローニングし、*CsNAC62* (GenBank No.XM_030652694) と命名した。*CsNAC62* 遺伝子のコード配列は 1260bp で、419 個のアミノ酸をコードしている。*CsNAC62* の遺伝子発現は干ばつによって誘導される。ABI3 (ABSCISIC ACID INSENSEITIVE3)は、ABA シグナル伝達経路で機能する。Wang ら (2018) は、亜麻のゲノム中に ABI3 の 2 つのホモログを同定した。2 つの正常な転写産物である *LuABI3-1* と *LuABI3-2* は、種子の発生、発芽、成熟の間の ABA 調節経路において重要な役割を果たす。また、Liu, Wang ら (2023) は、亜麻品種'Longya 10'由来の *LuABI3-1* および *LuABI3-2* ホモログが、シロイヌナズナの種子貯蔵貯蔵庫の蓄積を制御する上で重要な役割を果たすことを発見した。*LuABI3-1* と *LuABI3-2* はともに転写因子として機能する。*LuABI3-1* または *LuABI3-2* のいずれかを過剰発現させると、種子の総脂肪酸および貯蔵タンパク質の含量が有意に増加したが、他の主要な農業形質は変化しなかった。さらに、*LuABI3-1* および *LuABI3-2* の両者は、*A. thaliana* の種子発芽および苗立ちにおける高塩ストレスおよびマンニトールストレスに対する耐性を向上させた。

CRISPR/Cas9 システムによる遺伝子編集

遺伝子編集とは、DNA 塩基を付加、除去、置換することにより、ゲノムの特定の標的 DNA 配列を改変するアプローチである。このシステムは、二本鎖切断を誘導するために、RNA 誘導型ヌクレアーゼである Cas9 を用いる。CRISPR/Cas9 システムは、標的遺伝子を正確に編集できる新しい遺伝子編集ツールである。Cas9 が介在する切断は細胞の DNA 修復機構によって修復され、遺伝子/ゲノムの改変を媒介する。植物の遺伝子編集に広く用いられている。Zhang, Jiamg ら (2019) は、油亜麻品種「Longya No.10」用の CRISPR/Cas9 遺伝子編集ベクターを構築した。CRISPR/Cas9 遺伝子編集技術を突破口として、Gene Bank に公開されている *FAD2* 遺伝子の塩基配列(DQ222824.1)に従い、sgRNA オンラインデザインソフトウェア CRISPR-P 2.0 を用いて *FAD2* 遺伝子のエクソンをミスリードした。エクソン領域の 2 つの断片が欠失の標的配列として選択された。ハイグロマイシンをスクリーニングマーカーとして、ゴールドゲートクロニング法により、「Longya No.10」の *FAD2* 遺伝子を標的とした CRISPR/Cas9 の遺伝子ノックアウトベクターを構築し、*pYLCRISPR/cas9-FAD2* と命名した。その後、*pYLCRISPR/cas9-FAD2* をアグロバクテリウムに導入し、その安定性を試験した。合計 15,000 個の「Longya No.10」の花を花粉管経路法で形質転換し、70,000 個以上の種子を収穫した。25 系統がハイグロマイシン耐性でスクリーニングされた (Zhang 2019)。Yang (2021) は、「Longya No.10」を材料として、亜麻「Longya No.10」の 4 つの遺伝子、ACCase サブユニット遺伝子 *accA*、*accB*、*accC* および *accD* をクロニングした。また、4 遺伝子がコードするタンパク質の脂肪係数は比較的高く、シグナルペプチドを持たず、分泌タンパク質には属さない。ロンギヤ 10 号」の 4 つの遺伝子、*accA*、*accB*、*accC*、*accD* の cDNA 断片のサイズは、それぞれ 2364、1173、1584、1137 bp であった。亜麻異種 ACCase サブユニット遺伝子の部位特異的編集、ベクター構築および遺伝子形質転換のための CRISPR/Cas9 システム。亜麻 CRISPR/Cas9 技術システムの確立に成功し、4 種類の CRISPR/Cas9 組換えノックアウトベクター CPB-CRISPR/Cas9-*accA*、CPB-CRISPR/Cas9-*accB*、CPB-CRISPR/Cas9-*accC*、CPB-CRISPR/Cas9-*accD* を凍結融解法によりアグロバクテリウム GV3101 に形質転換し、安定発現株を選抜した。また、「Longya No.10」はディッピング法により形質転換した。*accA* 遺伝子を形質転換した T₀ 世代カプセルは 394 粒で合計 64 個、21 個の陽性苗を得た。*accB* 遺伝子を導入した T₀ 世代のカプセルは合計 65 個、318 粒の種子が得られ、2 株の陽性苗が得られた。*accC* 遺伝子を導入した T₀ 世代のカプセルは合計 91 個、599 粒の種子が得られ、11 株の陽性苗が得られた。*accD* 遺伝子を形質転換したカプセルは 61 個で、367 粒の種子が得られ、3 本の陽性苗が得られた。Zhang ら (2021) は、大麻においてアグロバクテリウムを介した形質転換法を用いて遺伝子編集植物の作製に成功したことを初めて報告している。彼らは CRISPR/Cas9 技術を用いてフィトエンデサチュラーゼ遺伝子を編集し、最終的にアルビノ表現型を持つ 4 つの編集大麻苗を作製した。この遺伝子導入植物を増殖させ、T-DNA が大麻ゲノムに安定的に組み込まれることを検証した。摘出植物、品種、発生調節因子、遺伝子編集ツールを最適化することにより、アグロバクテリウムを介した形質転換のプロトコルを開発した。その結果、遺伝子編集材料を得ることに成功した。したがって、この方法は大麻遺伝子の機能ゲノミクスにおいて重要な役割を果たし、大麻の改良品種の生産における遺伝子編集の真の可能性を解き放つことができる。

遺伝子地図とゲノムアセンブリ

遺伝地図は、マーカー支援選抜 (MAS) ベースの育種や、参照支援染色体アセンブリにとって重要かつ貴重なツールである。特異的長さ増幅断片シーケンシング (SLAF-seq) は、一塩基多型の大規模な *de novo* 発見とジェノタイピングのための高解像度戦略である。Zhang ら (2018) は、亜麻の草丈と技術長に関する合計 19 の QTL (量的形質遺伝子座) を同定した。Gao ら (2018) は、粗脂肪とその成分に関連する 20 の QTL と、農学的形質に関連する 15 の QTL を含む、合計 35 の QTL 遺伝子座を検出した。遺伝地図は、QTL マッピング、MAS に基づく育種、および参照支援染色体組立てのための重要かつ貴重なツールである。また、Hu (2022) は、"RO×Y8" F₂ 分離集団の 144 の雌株をマッピング集団として用い、9 つの連鎖をカバーする 71 の SSR マーカーを含む遺伝連鎖地図を構築した。全長は 1260.69 cM であり、マーカー間の平均マップ距離は 17.76 cM であった。CBD 含量に関連する QTL は合計 2 つ検出され、それらは qcbd2-1 および qcbd9-1 と名付けられ、第 2 染色体と第 9 染色体に位置していた。Yi ら (2017) は、亜麻の高密度遺伝地図を構築するために、SLAF-seq を用いて F 集団 (2) の SNP マーカーを開発した。最終的な遺伝地図には、15 の連鎖群に 4,145 個の SNP マーカーが含まれ、長さは 2,632.94 cM であった。Wu ら (2018) の報告によれば、亜麻品種「DIANE」×「NY17」および両親植物から得られた 112 の F₂ 植物について、ハイスループットシーケンシングと特異的遺伝子座増幅断片 (SLAF) ライブラリー構築を行った。最終的に、2339 個の SLAF を 15 の連鎖群 (LG) からなる連鎖地図に整理した。遺伝地図の全長は 1483.25cM で、隣接マーカー間の平均距離は 0.63cM であった。HiFi および Hi-C シーケンスデータに基づいて、Sa ら (2021) は繊維亜麻 YY5 の染色体スケールの高品質ゲノムを構築した。これまでの亜麻のゲノムアセンブリと比較して、アセンブリの質は劇的に向上し、特に繰り返し領域のアセンブリが改善された。また、49,616 のタンパク質コード遺伝子と 52,207 の転写産物がアノテーションされた。遺伝子ファミリー解析の結果、亜麻ゲノムの特異的で急速に進化しているオルソグループは、油代謝、繊維合成、生物ストレスに対する抵抗性に関係している可能性があることが明らかになった。これらの新しいリソースは遺伝子研究を促進し、亜麻の遺伝子育種プロセスを加速させるだろう。Zhao, Yi ら (2023) は、"Neiya No.9" の高品質ゲノムアセンブリを報告し、亜麻ゲノムの 94.7% をカバーする 473.55 Mb のゲノムアセンブリが構築された。これらの配列は 15 本の染色体に固定されていた。合計 32,786 のタンパク質コード遺伝子がアノテーションされ、95.9% の完全な BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) が見つかった。高品質なゲノムアセンブリと明らかになった雄性不稔遺伝子は、亜麻育種のための強固な基盤となった。Gao ら (2020) は、PacBio 単一分子配列決定と Hi-C 技術を用いて、中国の野生型品種の大麻の最新のゲノム配列を作成した。彼らのアセンブルしたゲノムは約 808 Mb である。合計 38,828 のタンパク質コード遺伝子がアノテーションされ、そのうち 98.20% が機能アノテーションされた。これは、中国チベットに分布するの野生型品種に関する初めての包括的な *de novo* ゲノムを提供するものである。野生環境で大麻の長期生育により、これらの品種は高いヘテロ接合性を示し、より多くの遺伝情報を含んでいる。このアセンブルされたゲノムは、今後さらに大麻ゲノムを集中的かつ効果的に調査するための貴重なリソースでもある。Fang (2020) は、種子大麻の遺伝資源 Yushe を用いてゲノムを研究した。その結果、雄ゲノムのサイズは 776.71Mb、雌ゲノムのサイズは 810.64Mb であり、発表された繊維大麻や大麻のドラフトゲノムよりもわず

かに小さかった。

これらの QTL マッピング、高密度遺伝地図、ゲノムアセンブリゲノムアセンブリのドラフトスケッチは、亜麻と産業用大麻の分子育種の基礎を確立するものである。

マイクロ RNA

マイクロ RNA(miRNA)は、生物学的および生物学的ストレスに対する応答において重要な役割を果たしており、多くの植物種でその性質が明らかにされている。そのため、中国でもこの分野の研究が行われている。Yu ら (2016) は、small RNA および dgradome ディープシーケンスを用いて、塩ストレス、アルカリストレス、および塩-アルカリストレス下で構築した亜麻ライブラリーを解析した。CK、AS (アルカリストレス)、AS2 (アルカリ塩ストレス)、NSS (中性塩ストレス) の各ライブラリーから、それぞれ 118、119、122、120 の既知の Lus-miRNA と、233、213、211、212 の新規 Lus-miRNA が単離された。Zhang ら (2020) は、開花後 5 日、10 日、20 日、30 日の初期種子から 4 つの small RNA ライブラリーを構築し、ハイスループット配列決定に用いて miRNA を同定した。114 の既知の保存 miRNA と 121 の新規 miRNA を含む、合計 235 の miRNA が同定された。その結果、Lus-miRNA156a を含むいくつかの miRNA が、種子形成過程と有意な相関があることがわかった。

亜麻仁の発育における miRNA の役割を調べるために、Xie ら (2021) は、発芽後 10、20、30 日の双葉 4 号の亜麻を研究材料として用いた。130 の既知の miRNA と 93 の新しい miRNA が同定された。既知の miRNA に対応する標的遺伝子 2401 個と新規の miRNA に対応する標的遺伝子 960 個の合計 3361 個の標的遺伝子が予測された。分解グループのシーケンシング結果を組み合わせると、miR156、miR171、miR164、miR408、miR398 を含む既知の miRNA と、新しい miRNA unconservative_scaffold 3872_46150 が、亜麻仁の発生において有意な発現差を示すことがわかった。そして、標的遺伝子に対応する miRNA によって負に制御され、亜麻仁の発生に寄与する可能性がある。Yu ら (2022) は、miRNA-seq を用いて、高繊維質亜麻品種 Agatha-MB と低繊維質亜麻品種 (WF) White Flower の中間茎組織の急速成長期 (RGP) と成熟緑色期 (MGS) における miRNA 発現プロファイルを探索し、亜麻茎繊維の発達に関連する miRNA を明らかにした。その結果、MGS の Agatha-MB-vs-RGP Agatha-MB および MGSWF-vs-RGPWF において、それぞれ 24 および 26 の既知 miRNA が有意な発現差を示すことが明らかになった。

以上の育種法とその応用から、従来の育種法は成熟し、十分に応用され、多くの価値ある品種を育成してきたことがわかる。分子育種法については多くの研究があるが、まだ初期段階にあり、十分に応用されておらず、実用化に向けて発展させる必要がある。

結論

中国では、亜麻と産業用大麻の育種に多くの成果が得られている。新しい育種方法が開発され、改良され、特に分子生物学に関連する育種技術の研究は、科学技術関係者からますます注目されている。多くの亜麻と産業用大麻の品種が育成された。亜麻と産業用大麻の品種がたくさん育成され、大麻の藁の収量、種子の収量、繊維の収量、CBD の収量が増加し、繊維の品質、耐病性、耐宿根性も改善された。しかし、亜麻と産業用大麻の品種改良には解決しなければならない問題があり、繊維の強度、柔軟性、油の収量、 α -リノレン酸、リグニンの含有量などの品質形質を改

善する必要がある。用途の継続的な拡大と繊維価格の上昇に伴い、亜麻と産業用大麻の作付面積は中国でさらに拡大するだろう。研究の進展と亜麻と産業用大麻の育種における実際の生産需要によると、議論の結果、亜麻と産業用大麻の断種に関するいくつかの結論が導き出された。

質の高い育種強化に注力

産業用大麻の繊維の粗さと紡績性の悪さ、亜麻の繊維強度の低さ、両者の繊維率の低さを踏まえ、迅速かつ効果的な育種方法を採用し、繊維率が高く、柔らかく、紡績性の良い産業用大麻、繊維強度の高い亜麻、収量の多い新品種を育成し、生産ニーズを満たし、産業の発展を促進すべきである。

耐塩性、耐乾燥性、耐宿根性品種の育種

新品種を育成し、適応性、耐塩性、耐アルカリ性、耐干ばつ性、耐宿根性を向上させ、乾燥した塩性アルカリ地帯での亜麻と産業用大麻の栽培を拡大し、南部の冬期休耕田の作付面積を拡大する。塩性アルカリ、干潟、乾燥痩せた土地での亜麻と産業用大麻の生産を発展させ、その栽培面積を拡大する。一方、塩類アルカリ土地、干潟土地、冬期休耕田の改良と利用を促進する。

繊維・種子兼用品種の育種と応用

亜麻繊維や大麻繊維複合材料の優れた機械的特性により、ガラス繊維、炭素繊維、その他の繊維複合材料に取って代わることができる。近年、亜麻・大麻繊維複合材料の研究と応用が盛んになっている。省エネルギー、排気ガス削減、軽量化、安全性、快適性が自動車産業の主な発展傾向になる中、亜麻・大麻繊維複合材料はプラスチックに取って代わることができ、すでに自動車産業の市場シェアの半分近くを占めている。亜麻・大麻繊維強化熱可塑性プラスチック複合材料は、優れた機械的特性と低コストを持つだけでなく、再生可能で生分解性があり、環境に優しい特性を持ち、製造時のCO₂排出量も少ない。複合材料における繊維の品質に対する要求は精密紡績のそれとは異なり、同時に中国の亜麻仁加工産業の急速な発展傾向にある。伝統的な亜麻仁油の加工に加えて、亜麻仁ペクチン、亜麻仁粉末、タンパク質粉末、亜麻仁油粉末、食品、リグニンなどが増加している。注目すべきは、総フェノール含量とフラボノイド含量の平均値、および繊維と油の亜麻仁種子間の総活性に有意差はなかったことである。亜麻繊維種子の細胞活性でさえ、亜麻仁よりも優れていた。これらの結果は、亜麻仁種子は亜麻仁種子と同様に高い生物学的価値を持つことから、機能性製品や栄養補助食品として貴重な候補となることを示唆している。このような生産開発の流れは、繊維と種子の二重目的を持つ亜麻と大麻の品種の応用に、かつてない機会を生み出している(Wangら.)。そのため、繊維と種子の両用品種の育種と応用を加速させるべきである。

分子生物学における実用的な新技術の研究強化

近年、中国では亜麻と産業用大麻に関する分子生物学的研究が急速に進んでいるが、目標が十分に集約されておらず、実用性が高くなく、育種への応用が不十分である。したがって、亜麻と産業用大麻の実用的な新しい分子生物学技術の研究を強化し、育種に迅速に応用できるようにする必要がある。

目的別品種育成法

亜麻と大麻の用途別品種の育種方法は基本的に同じであるが、具体的な育種技術にはまだ若干の違いがある。繊維用品種の主な選抜特性は、繊維含量、草丈、茎長、耐索性、繊維品質などである。種子用品種の選抜では、種子収量、油分含量、 α -リノレン酸含量、耐乾燥性、枝数、果実数、粒数などが重要な選抜項目となる。薬用大麻は、多枝、高花序収量、高 CBD 含量などの形質に注目すべきである。また、自家受粉作物である亜麻と交雑受粉作物である産業用大麻では、選抜方法に違いがある。亜麻は単一株選抜の方法に従って厳密に体系的に選抜することができるが、大麻は雌雄異株であるため、雌雄同株での体系的選抜は困難である。一般的に、 $F \cdot F_{12}$ は二重株選抜法を採用し、優秀な雄株と雌株を一株ずつ選抜し、一組の袋の中で受粉させる。 $F \cdot F_{34}$ は、不良個体や不良列を排除し、混植選抜を行うことができる。そして、 F_5 世代の後、形質識別性、均一性、安定性のみを持つ系統を同定し、他を排除する。

亜麻と産業用大麻品種の競争力強化

フランス、オランダ、アメリカ、カナダなど他国の品種との競争力を高めるためである。これまでの育種では、耐乾燥性、耐塩性、耐アルカリ性、耐病性、地域適応性に重点を置いてきた。将来的には、これらの形質を重視するだけでなく、亜麻と産業用大麻の品質、繊維含有量、油含有量を向上させ、薬用大麻の CBD、CBG、CBN 含有量を向上させ、亜麻と産業用大麻の育種におけるバイオテクノロジーの研究と活用を強化する必要がある。しかし、非常に重要なことは、新品种が本来の役割を果たせるように、種子増殖を強化することである。

特別な機能バリエーションの醸造

亜麻や産業用大麻の種子には、CBD、CBG、リグナン、 α -リノール酸、ペクチン、フラボノイド、環状ペプチドなど、人体に有益な有効成分が多く含まれている。そのため、特殊な機能を持つ品種を育成し、人間の健康に必要な貢献をする必要がある。

いずれにせよ、亜麻と産業用大麻の育種にはまだやるべきことがたくさんある。私たちは、中国の亜麻と産業用大麻の育種家と研究者が協力して、品質がよく、収量が多く、宿根や病気に強い、より優れた亜麻品種や、ペクチンが少なく（レッティングしやすい）、リグニンが少なく、繊維度が高い（柔らかい製品を生産できる）、強度が高く、表面が粗い（複合材料用）などの特殊な亜麻と産業用大麻品種を育種することを望んでいる。亜麻と産業用大麻の繊維は複合材料に使用できるため、炭素隔離に最適な作物であり、省エネルギー、炭素排出削減、気候変動への対応に有益である。私たちは、世界の科学技術者が協力して亜麻と産業用大麻のより良い品種を育成し、産業の発展を促進し、全人類に利益をもたらすことを願っている。