

都産無花粉スギの普及に向けた新交配家系の作出

[平成 25～29 年度]

宮下千枝子・畑 尚子*・中村健一*・奈良雅代*^{*3}・平尾知士^{*2}・坪村美代子^{*2}・森口喜成^{*2,*4}・津村義彦^{*2,*5} (園芸技術科・*緑化森林科・*2 森林総研) ^{*3} 現大島支庁・^{*4} 現新潟大・^{*5} 現筑波大

【要 約】東京都および関東育種基本区の精英樹を育種素材に用いて無花粉（不稔）のヘテロ型個体を作成した。さらに、それらの後代から不稔個体を作成した。これらの個体は、多摩地域に適した不稔スギを普及するための採種園の母樹として有望である。

【目 的】

東京都では、花粉症対策として伐採跡地への花粉症対策品種の植栽を推進している。農総研ではこれまで、花粉症対策効果の高い品種である無花粉（不稔）スギの開発に取り組み、富山不稔個体を用いた交雑育種により、東京都精英樹の遺伝子を 25% 保有する不稔個体を作成した。本課題では、不稔スギの普及に向けて、多摩地域への適応性をさらに高めるため、東京都精英樹の遺伝子が 50% 以上のヘテロ型および不稔の家系を新たに作出する。あわせて、育種の効率化のため、不稔の選抜マーカー等の開発にも取り組む。

【成果の概要】

1. ヘテロ型家系の作出

1) 2012・2014 年交配による F₁ 個体の作出

多摩地域への適応性の高い新たなヘテロ型系統を作成するため、東京都および関東育種基本区の精英樹を主たる交配親に用いて、2012 年と 2014 年に交配を行った。種子親には関東型不稔スギ「大・中、中・大」系統の 44 個体 (*aa*, *a*=不稔遺伝子) を、花粉親には少花粉 3 品種を含めた東京都精英樹 21 品種 (*AA*) を用いた。計 51 組合せの交配を行い、38 系統、約 2500 個体を得た。この中から、交配組合せ、交配親の特性、苗の生育等をもとに総合的に判断して、有望な 22 系統 273 個体を選抜した (表 1)。このうち 14 系統 205 個体については、生育・材質等の特性評価のため、2017 年 3 月に日の出試験林に定植した。残りの系統・個体は、遺伝資源として立川圃場で維持することとした。

2) F₁ 個体の親子鑑定

ヘテロ型系統の作出にあたって適正な交配が行われたことを確認するため、DNA マーカーによる親子鑑定を行った。2012 年交配の F₁ 12 系統 67 個体および各々の両親を供試し、Tani *et al.* (2003, 2004) および Moriguchi *et al.* (2003) の開発したスギ SSR マーカー 6 種類 (Cjgssr077, CS1226, CJS0333, CS1525, CS1522, CJS0201) を用いて多型解析を行った。各個体の SSR 遺伝子型を決定し、両親と後代個体間で遺伝子型を比較し、親子関係の有無を鑑定した。その結果、いずれの F₁ 個体も各遺伝子座で両親由来のアリルを 1 個ずつ有し、親子間で矛盾はみられなかったことから、正しく交配されていることが確認できた (表 2 ; 一部データ)。したがって、作出されたヘテロ型個体はいずれも、理論的には東京都精英樹の遺伝子を 50%、関東精英樹の遺伝子を 100% 保有していることになる。

2. 無花粉家系の作出

多摩地域への適応性の高い不稔個体 (*aa*) を作成するため、2015 年にヘテロ型個体 (*Aa*)

間で交配を行った。交配親には、3年生のヘテロ型（関東型不稔×東京都精英樹）29個体、および、8年生のヘテロ型（富山不稔×東京都精英樹）21個体を供試した。本交配では、これまでの交配に比べて得られる種子数や実生数が少なかった。種子親に8年生と3年生個体を用いた場合の交配結果を比較すると、8年生のほうが明らかに種子量、発芽率ともに優れていた（図1）。このことから、本交配の成功率の低さは、若齢の3年生個体を用いたためであることが示唆された。なお、3年生個体では採取できる花粉量が少なかったが、花粉増量剤の石松子を用いることで少量の花粉でも交配可能となることが確認できた。

ヘテロ型個体間で計41組合せの交配を行った結果、24系統が得られた。このうち、健全に生育した15系統642個体について、2018年2月に花粉の有無を調査し、稔性を判定した（表3）。その結果、13系統190株の不稔個体を得られた。このうちの7系統117個体を、2018年3月に日の出試験林に定植し、残りの系統・個体は遺伝資源として立川圃場で維持することとした。なお、作出された不稔個体はいずれも、理論的には東京都精英樹の遺伝子を50%、関東精英樹の遺伝子を75~100%保有している。

3. マーカーの探索と評価

1) 不稔性の識別マーカー

不稔個体の作出を効率化するには、不稔の識別マーカーの開発が有効である。そこで、2010年交配のF₂ 3系統を用いて、不稔遺伝子近傍の96のSNPマーカーの中から有望なマーカーのスクリーニングを行った。SNP解析で絞り込んだ6マーカーについて、不稔個体の識別が可能か検証したところ、1マーカーで識別できるものはなかった。次に、2つのマーカーで識別可能な組み合わせを検討したところ、1系統では estSNP00204 と estSNP02428 または estSNP03040 または SNPg09575 の組合せが有望と考えられた。この系統で供試した33個体では、これらの組合せによる識別精度は100%であった。

2) 材質の早期選抜指標

応力波伝播速度（V_p）は、材質強度を示す丸太の動的ヤング率と高い相関があり、スギでは10年生の若齢木でも強度推定に利用できることや遺伝率が高いことが報告されている。V_pを10年生未満でも利用できれば、交雑育種の早期選抜指標となり得る。そこで、若齢木の材質評価の基礎資料とするため、実生個体集団のV_pを10年生まで継時的に調査した。鉢栽培の2007年交配の実生個体集団（31個体）では、7~9年生時のV_pが10年生時と高い相関を示した（図2）。このことから、7年生程度の若齢木においても、V_pを材質評価指標として利用できることが強く示唆された。

【残された課題・成果の活用・留意点】

1. 本課題で作出されたヘテロ型個体および不稔個体は、理論的には東京都精英樹の遺伝子を50%、関東精英樹の遺伝子を75~100%保有し、多摩地域への適応性が高いと推測される。これらの個体は都産の不稔スギを普及するための採種園の母樹として有望である。今後は日の出試験林に植栽した個体について成長や材質を調査し、選抜を進める予定である。
2. 不稔性の識別マーカーについては、不稔遺伝子により近いSNPマーカーをスクリーニングすることで、多くの系統で利用可能な汎用性の高いマーカーを開発できる可能性がある。また、応力波伝播速度については、地植えの若齢木についても同様の試験を行うことで、より実用性の高い材質評価指標を作成できると考えられる。

【具体的データ】

表1 関東型雄性不稔スギと東京都精英樹との交配によるヘテロ型系統の作出(2012・2014年交配)

交配組合せ		系統名	交配年	個体数 ^c	個体数内訳	
♀(aa) ^a	♂(AA) ^b				日の出 ^d	立川 ^e
大・中-31	西多摩1号	1201	2012	4		4
大・中-160	西多摩2号	1401	2014	18	15	3
大・中-28		1210	2012	6		6
大・中-91	西多摩3号	1402	2014	18	15	3
大・中-149		1403	2014	18	15	3
大・中-93		1405	2014	18	15	3
大・中-95	西多摩5号	1406	2014	18	15	3
大・中-49		1202	2012	7		7
大・中-53	西多摩6号	1203	2012	6		6
大・中-77	西多摩8号	1205	2012	2		2
中・大-5	西多摩9号	1413	2014	18	15	3
大・中-135	西多摩13号	1416	2014	18	15	3
大・中-103	西多摩14号	1418	2014	10	10	
大・中-128	西多摩16号	1420	2014	18	15	3
大・中-25	西多摩17号	1208	2012	2		2
大・中-42	西多摩19号	1209	2012	1		1
大・中-70	西多摩20号	1210	2012	1		1
大・中-57	西多摩22号	1423	2014	18	15	3
大・中-112	西多摩24号	1426	2014	18	15	3
大・中-106	南多摩2号	1429	2014	18	15	3
大・中-120	南多摩3号	1430	2014	18	15	3
大・中-126	南多摩5号	1431	2014	18	15	3
合計				273	205	68

a) 「大・中-」および「中・大-」は、関東育種基本区のヘテロ型品種「大井7号, 中4号」を2008年に交配して得られた不稔個体。b) 西多摩2号・3号・14号は少花粉品種。c) 2017年12月時点での維持個体数。d) 2017年3月に日の出試験林に植栽。e) 立川圃場内で維持。

表2 2012年交配のF₁個体およびその両親個体のSSR遺伝子型^a

個体名	遺伝子座 ^b					
	Cjgssr077	CS1226	CJS0333	CS1525	CS1522	CJS0201
♀ 大・中-31	104 ⁺ /164 ⁺	127 ⁺ /145 ⁺	250 ⁺ /268 ⁺	186 ⁺ /196 ⁺	211 ⁺ /220 ⁺	127 ⁺ /154 ⁺
♂ 西多摩1号 ^c	104 ⁻ /108 ⁻	141 ⁻ /204 ⁻	230 ⁻ /279 ⁻	196 ⁻ /200 ⁻	220 ⁻ /226 ⁻	115 ⁻ /137 ⁻
F ₁ 1201-1	104 ⁺ /108 ⁻	145 ⁺ /204 ⁻	230 ⁻ /268 ⁺	186 ⁺ /200 ⁻	211 ⁺ /220 ⁻	127 ⁺ /137 ⁻
1201-2	104 ⁺ /108 ⁻	141 ⁻ /145 ⁺	250 ⁺ /279 ⁻	196 ⁺ /200 ⁻	220 ⁺ /226 ⁻	115 ⁻ /154 ⁺
1201-3	104 ⁺ /108 ⁻	141 ⁻ /145 ⁺	268 ⁺ /279 ⁻	186 ⁺ /196 ⁻	220 ⁺ /226 ⁻	137 ⁻ /154 ⁺
1201-4	104 ⁺ /104 ⁻	127 ⁺ /204 ⁻	268 ⁺ /279 ⁻	196 ⁺ /196 ⁻	211 ⁺ /220 ⁻	115 ⁻ /154 ⁺
1201-5	104 ⁻ /164 ⁺	145 ⁺ /204 ⁻	268 ⁺ /279 ⁻	186 ⁺ /200 ⁻	211 ⁺ /226 ⁻	115 ⁻ /127 ⁺
♀ 大・中-77	102 ⁺ /124 ⁺	127 ⁺ /145 ⁺	250 ⁺ /268 ⁺	186 ⁺ /196 ⁺	211 ⁺ /220 ⁺	127 ⁺ /154 ⁺
♂ 西多摩8号 ^c	102 ⁻ /147 ⁻	135 ⁻ /155 ⁻	249 ⁻ /253 ⁻	202 ⁻ /238 ⁻	215 ⁻ /215 ⁻	93 ⁻ /107 ⁻ /159 ⁻
F ₁ 1205-1	124 ⁺ /147 ⁻	145 ⁺ /155 ⁻	250 ⁺ /250 ⁻	186 ⁺ /202 ⁻	211 ⁺ / <u>211</u>	93 ⁻ /127 ⁺ /159 ⁻
1205-2	102 ⁺ /102 ⁻	135 ⁻ /145 ⁺	250 ⁺ /250 ⁻	186 ⁺ /202 ⁻	211 ⁺ / <u>211</u>	107 ⁻ /154 ⁺
♀ 大・中-25	104 ⁺ /164 ⁺	127 ⁺ /127 ⁺	236 ⁺ /248 ⁺	186 ⁺ /200 ⁺	217 ⁺ /224 ⁺	93 ⁺ /121 ⁺ /156 ⁺
♂ 西多摩17号 ^c	98 ⁻ /102 ⁻	157 ⁻ /179 ⁻	253 ⁻ /279 ⁻	200 ⁻ /202 ⁻	215 ⁻ /215 ⁻	127 ⁻ /143 ⁻
F ₁ 1208-1	98 ⁻ /164 ⁺	127 ⁺ /157 ⁻	248 ⁺ /279 ⁻	200 ⁺ /202 ⁻	224 ⁺ / <u>224</u>	121 ⁺ /143 ⁻
1208-2	102 ⁻ /104 ⁺	127 ⁺ /179 ⁻	236 ⁺ /279 ⁻	186 ⁺ /200 ⁻	215 ⁻ /217 ⁺	121 ⁺ /127 ⁻

a) 解析したF₁個体のうち一部データを抜粋して示した。b) 表中の数値はアレルサイズ(bp), + は♀由来のアレル, - は♂由来のアレル, 下線はヌルアレルを示す。c) 林木育種センターデータベースより参照した。電気泳動時に数塩基のずれを生じることがあるため, 参照データと今回の解析データとの間の±1bpのずれは同一アレルと判断した。

表3 ヘテロ型個体間の交配系統からの雄性不稔個体の選抜(2015年交配)

系統名	交配組合せ ^a		個体数	判定結果 ^b	
	♀ (Aa)	♂ (Aa)		不稔	可稔
	交配組合せ(個体No.)	交配組合せ(個体No.)			
1505	大・中-49×西5 (1202-3)	大・中-28×西3 (1222-3)	1	1	0
1510	大・中-53×西6 (1203-2)	大・中-49×西5 (1202-3)	1	0	1
1511	大・中-53×西6 (1203-3)	富MS212×西21 (154)	1	0	1
1516	大・中-25×西17 (1208-2)	大・中-42×西19 (1209-1)	5	4	1
1518	大・中-70×西20 (1210-1)	富MS212×西21 (72)	3	2	1
1520	大・中-28×西3 (1222-1)	大・中-25×西17 (1208-2)	25	10	15
1522	大・中-28×西3 (1222-2)	大・中-77×西8 (1205-1)	8	3	5
1527	富MS212×西21 (143)	大・中-28×西3 (1222-3)	54	18	36
1528	富MS212×西21 (99)	大・中-28×西3 (1222-5)	17	4	13
1530	富MS212×西21 (87)	大・中-31×西1 (1201-4)	37	12	25
1531	富MS212×西21 (92)	大・中-49×西5 (1202-2)	98	18	80
1534	富308MS×西24 (123)	大・中-53×西6 (1203-8)	42	12	30
1538	富308MS×南5 (119)	大・中-49×西5 (1202-8)	18	3	15
1539	富308MS×南5 (131)	大・中-53×西6 (1203-6)	216	65	151
1541	富308MS×南5 (107)	大・中-25×西17 (1208-1)	116	38	78
合計			642	190	452

a) No.12○-○:2012年交配のヘテロ型個体。No.72~154:2007年交配のヘテロ型個体。富MS212, 富308MS: 富山不稔個体。西○, 南○: 西多摩○号, 南多摩○号の略。b) 2018年2月, 雄花の花粉の有無を調査して稔性を判定。

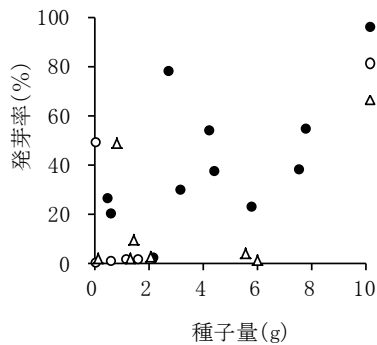


図1 交配親の樹齢が種子量および発芽率に及ぼす影響

発芽率は16週目の値。

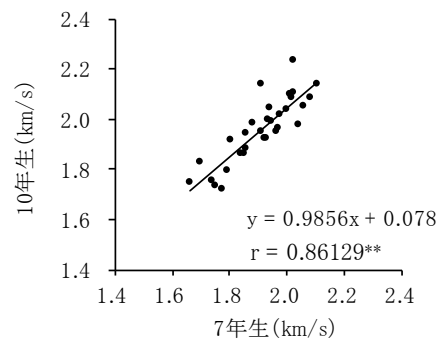


図2 7年生と10年生の応力波伝播速度の関係

図中の値は, 各年生での応力波伝播速度。rは相関係数。
** $p < 0.05$ (n=31)

【発表資料】

1. 平成 25~29 年度研究速報
2. 平成 28 年度 森林遺伝育種学会大会 (ポスター発表)