

平成29年2月13日
国立研究開発法人 森林総合研究所
国立大学法人 九州大学



九州大学



国立研究開発法人

森林総合研究所

Forestry and Forest Products Research Institute

無花粉スギ「爽春」の無花粉遺伝子を有したスギを 高い精度で検出できる DNA マーカーを開発

ポイント

- ・ 無花粉スギ「爽春」の無花粉遺伝子を高精度に検出できる DNA マーカーを開発。
- ・ 優れた無花粉スギの開発に必要な、花粉は形成するが潜在的に無花粉遺伝子を持っている個体の探索も可能に。
- ・ この DNA マーカーの活用により、成長に優れた無花粉スギなど、無花粉スギの改良をスピードアップ
- ・ 今後、花粉が飛散しない多様なスギの開発を推進。

概要

国立研究開発法人森林総合研究所（理事長 沢田治雄）と九州大学（総長 久保千春）は、スギの品種改良に要する期間を大幅に短縮することを目的として、大量の DNA マーカー（注1）を開発しました。これらの DNA マーカーを用いて品種開発に用いる系統を分析したところ、1つの DNA マーカーが無花粉スギ「爽春」の無花粉遺伝子を高い精度で検出できることが分かりました。交配実験から無花粉遺伝子の有無が予め分かっている190個体を分析し、全ての個体で無花粉遺伝子の有無と DNA マーカーのマーカータイプが合致し、現段階で100%の判定精度となっています。

現在、無花粉スギ「爽春」と他の優良なスギを交配することにより成長等が優れた無花粉スギの開発を進めていますが、この DNA マーカーを活用して無花粉遺伝子を有する個体を高精度に特定することにより、無花粉スギの品種改良がこれまで以上に効率的になり、改良のスピードを早めることができます。今回の成果を活用し、林業や森林づくりに大きく貢献する多様な無花粉スギの開発を推進していきます。

予算：農林水産技術会議委託プロジェクト研究「農林水産分野における気候変動対応のための研究開発」のうち「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」

問い合わせ先など

（研究に関すること）

研究推進責任者：森林総合研究所 林木育種センター 育種部長 星 比呂志
研究担当者：九州大学大学院農学研究院 准教授 渡辺 敦史
森林総合研究所 林木育種センター 育種部 育種第一課長 高橋 誠

（報道に関すること）

広報担当者：森林総合研究所 林木育種センター 育種企画課 調整係長 小野 雅子
TEL：0294-39-7002 FAX：0294-39-7306 e-mail: ikusyukikakug@ffpri.affrc.go.jp
九州大学 広報室
TEL：092-802-2130 FAX：092-802-2139 e-mail: koho@jimu.kyushu-u.ac.jp

本資料は、森林総研においては林政記者クラブ、農林記者会、農政クラブ、茨城県政記者クラブ、日
立市役所記者クラブに配布しています。九州大学においては、九州大学記者クラブに配布します。

背景・経緯

スギ花粉症は昭和 38 年、日光市で初めて報告されました。その後、花粉症の発症率は全国的に増加し、現在では国民の 3 割が罹患しているとも言われ、我が国の大きな社会問題の一つになっています。林業分野におけるスギ花粉症対策の基本は、花粉発生源を減少させることです。そのため、森林総合研究所は、都市部に影響を及ぼす花粉発生源の特定、薬剤や森林管理による花粉抑制技術の開発、精英樹（注 2）を品種改良の母材料とした少花粉スギと無花粉スギの開発等に取り組んできました。

現在、森林総合研究所林木育種センターが開発したスギの花粉症対策品種として、少花粉品種が 142 品種、低花粉品種 11 品種、無花粉品種は 3 品種（注 3）あるものの、花粉発生源を減少させつつ、林業の成長産業化を後押ししていくためには、さらに成長等が優れた少花粉品種や無花粉品種の開発等を推進し、このような品種を魅力ある苗木として森林づくりに活用してもらう必要があります。

このような花粉症対策品種を短期間に効率的に開発するためには、少花粉スギ、低花粉スギや無花粉スギの特性に関わる遺伝子を保有している個体を高い精度で識別できる DNA マーカーの開発が必要となっていました。

成果

森林総合研究所林木育種センター 星比呂志 育種部長と九州大学大学院農学研究院 渡辺敦史 准教授は、無花粉スギ「爽春」（図 1）の無花粉遺伝子を高い精度で検出できる DNA マーカーを開発しました。これは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」で得られた研究成果です。

スギの品種改良にはこれまで長い年月を要してきましたが、ゲノムの情報を活用して品種改良に要する期間を大幅に短縮する技術を開発するために、スギの針葉や木部、雄花等から遺伝子の塩基配列情報を収集して、その情報を元に約 7 万の DNA マーカーを開発しました。これらのうちの **1 つの DNA マーカーが無花粉スギ「爽春」の無花粉遺伝子を高い精度で検出できる DNA マーカーであることが分かりました。**

「爽春」の無花粉という特性は、1 つの遺伝子で決められています。この遺伝子で無花粉となるタイプを a とし、無花粉にはならない通常タイプを A とすると、「爽春」では、その遺伝子が無花粉となるタイプのホモ接合（a a）となっています。通常個体では、この無花粉遺伝子が A A か A a となっています。無花粉遺伝子がヘテロ接合（A a）の個体では、通常個体と同様に正常に花粉が作られ、無花粉タイプ（a）のホモ接合（a a）の時にだけ無花粉の性質が現れます。ヘテロ接合の個体では正常に花粉が作られるため、通常、外見からは無花粉遺伝子を持った個体であることが分かりません。あらかじめ、無花粉遺伝子のホモ接合（a a）と分かっている 42 個体の無花粉個体について DNA マーカーで塩基のタイプを分析したところ、全ての個体で T T タイプとなり、148 個体の正常に花粉を作る個体では、T C または C C タイプとなっていました。また、あらかじめ、無花粉遺伝子がヘテロ接合（A a）であることが分かっている 98 個体では、DNA マーカーを用いた塩基タイプの分析結果が全て T C タイプとなっており（図 2）、**この DNA マーカーで塩基のタイプを調べることで、無花粉遺伝子を保有している個体かどうかを判定することができ、現段階で 100% の判定精度となっています。**実際に、この DNA マーカーを用いてスギ精英樹（注 2）の 1,063 個体を分析し、T C タイプを有する個体（無花粉遺伝子をヘテロで有する可能性がある個体）を探索しました。T C タイプであった 8 個体中の 3 個体の花粉を用いて、無花粉スギ等と交配したところ、交配して得られた苗木の中から無花

粉個体がみつかりました。このことから、今回開発した DNA マーカーは、無花粉遺伝子をヘテロで保有している個体（花粉は形成するが潜在的に無花粉遺伝子を持っている個体）を新規に探索することに活用できることが分かりました。

成果の意義と今後の展望

森林総合研究所林木育種センターでは、成長等の特性が優れた新たな無花粉スギの開発を進めています。今回開発した DNA マーカーの活用により、無花粉スギの改良が効率的になり、改良のスピードを早めることができます。無花粉スギの品種改良を効果的に推進するためには、無花粉遺伝子を保有しているスギのリソースの拡充が重要となりますが、今回の開発した DNA マーカーは、無花粉遺伝子を保有している新規個体の探索に役立てることができます。今般、爽春と精英樹の交配により、成長にも優れた無花粉スギを開発したところですが、今後とも無花粉スギとの交配や、その交配によって得られた後代の個体間での交配、それらの個体の成長試験等に取り組み、花粉が飛散しない多様な無花粉スギの開発を進めます（解説参照のこと）。

用語の解説

- (注 1) DNA マーカー：生物が持つ遺伝情報を規定している膨大な量の DNA（デオキシリボ核酸）の内、特定の部位の DNA で、特定の形質に関与する遺伝子の存在を示唆するものとして使われるもの。
- (注 2) 精英樹：成長の早いこと、幹が通直であること、病気や虫の害がないこと等を基準に全国の森林から選抜した個体。
- (注 3) 少花粉スギ：平年では雄花が全く着かないか、又は極めて僅かしか着かず、花粉飛散量の多い年でもほとんど花粉を生産しない特性及び林業用種苗として適した特性を有するスギ
- 低花粉スギ：雄花の着生量が相当程度低い特性及び林業用種苗として適した特性を有するスギ
- 無花粉スギ：花粉を全く生産しない特性及び林業用種苗として適した特性を有するスギ

本成果の発表

以下の学会で成果を発表しました。

- ・郷田乃真人（九大院生資環）・坪村美代子・栗田学（森林総研林育セ）・田村美帆・渡辺敦史（九大院農）：爽春家系における雄性不稔個体識別マーカーの開発．森林遺伝育種学会第4回大会（平成27年11月、ポスター発表、東京大学）
- ・三嶋賢太郎・坪村美代子・平尾知士（森林総研林育セ）・田村美帆（九大院農）・栗田学・能勢美峰・花岡創・大平峰子・井城泰一・三浦真弘・平岡裕一郎・高橋誠・星比呂志（森林総研林育セ）・渡辺敦史（九大院農）：Discovery of putative causative genes for male sterility of Japanese cedar and development of marker for marker assisted selection (MAS) of the trait using quantitative trait locus analysis in high-density linkage map based on expressed sequence tags (ESTs) (ESTに基づく高密度連鎖地図での QTL 解析を用いたスギ雄性不稔の推定原因遺伝子の発見と MAS のためのマーカー開発)．(平成29年1月、ポスター発表、Plant and Animal Genome Conference XXV、San Diego、USA)

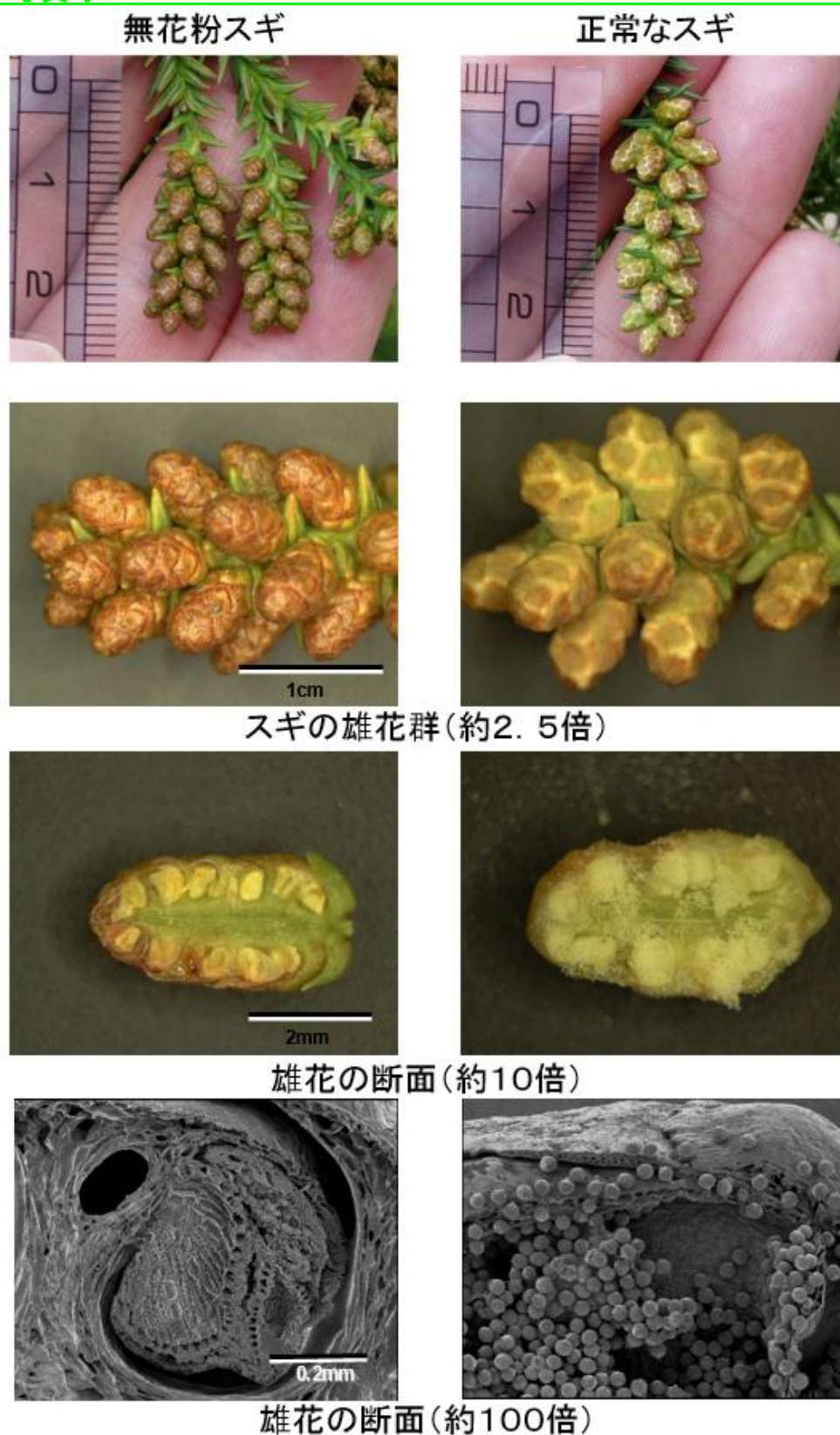
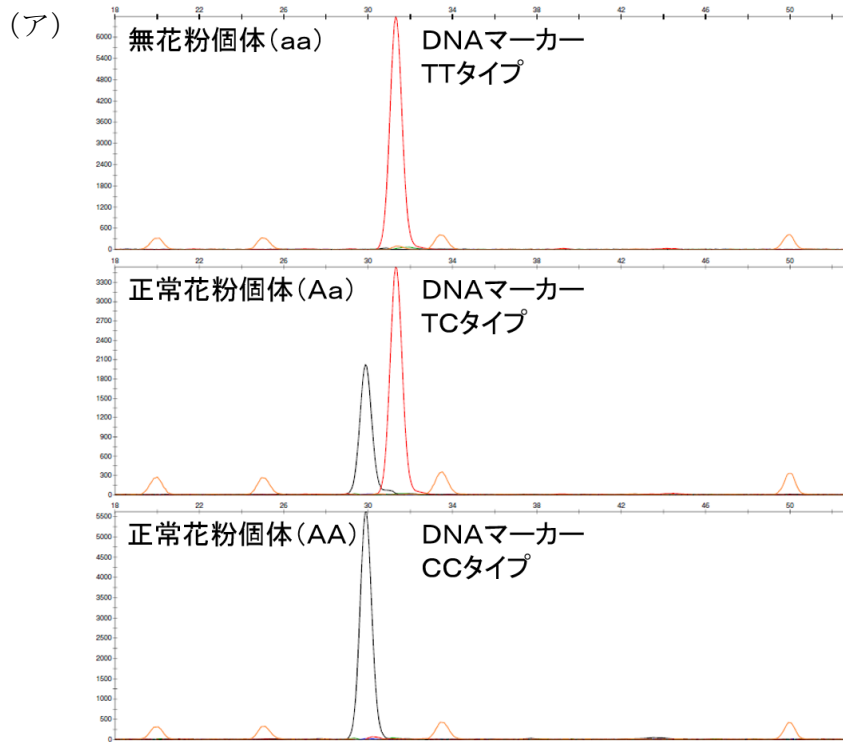


図1 無花粉スギと正常なスギの雄花の写真

左が無花粉スギ「爽春」の雄花で、右が正常なスギの雄花。正常なスギでは花粉の粒がみえるが、無花粉スギでは正常に発達した花粉はみられない。このため、無花粉スギでは雄花を形成するが、花粉は飛散しない。



(イ)

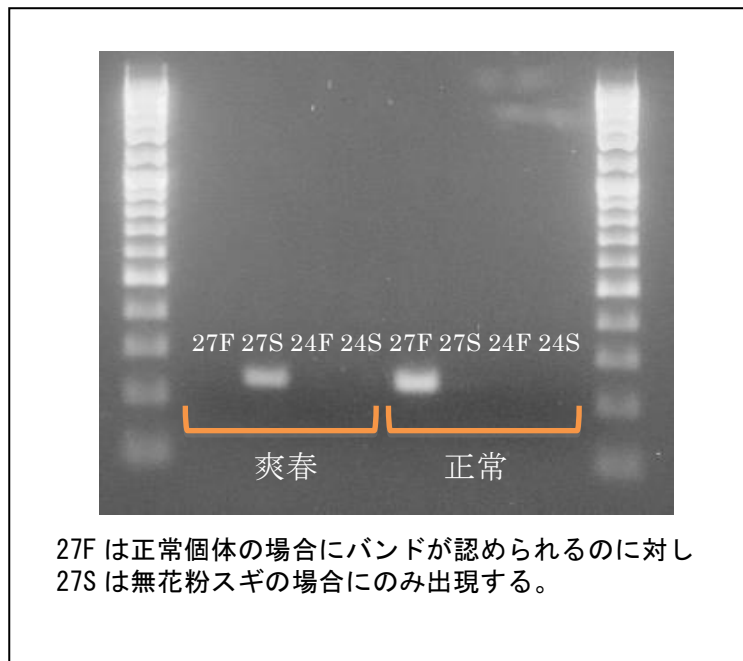


図2 DNA マーカーによる分析図

上段(ア)は、シーケンサーと呼ばれるDNA分析機器を用いてDNAマーカーのタイプを分析した時に得られる分析結果。多数の個体について短時間で分析するのに適した分析システム。下段(イ)は、アガロースゲルを用いた分析システムで得られる分析結果の例。廉価にDNAマーカーのタイプを分析するのに適している。今回は、用途に応じた2つのDNAマーカー分析システムを開発した。

【解説】

無花粉スギの品種改良の流れ

品種改良の基本は、望ましい特性を持つ個体同士を交配して、得られた後代個体の中から優れた個体を選抜し、優れた次世代をつくるために交配と選抜を繰り返すことです。

交配には種子親(♀)と花粉親(♂)が必要ですが、無花粉スギは花粉を生産しないため、交配の時に種子親として用います。また、種子親と花粉親の双方から無花粉遺伝子を受け継いで無花粉遺伝子が $a a$ にならないと無花粉の性質が表れないため、無花粉スギの品種改良には花粉親として成長がよいヘテロ接合 ($A a$) の個体 (ヘテロ個体) が必要です。無花粉スギとヘテロ個体を交配すると後代個体の約半分が無花粉の個体になります(図3)。この無花粉の個体の中から成長等が優れた個体を選抜します。

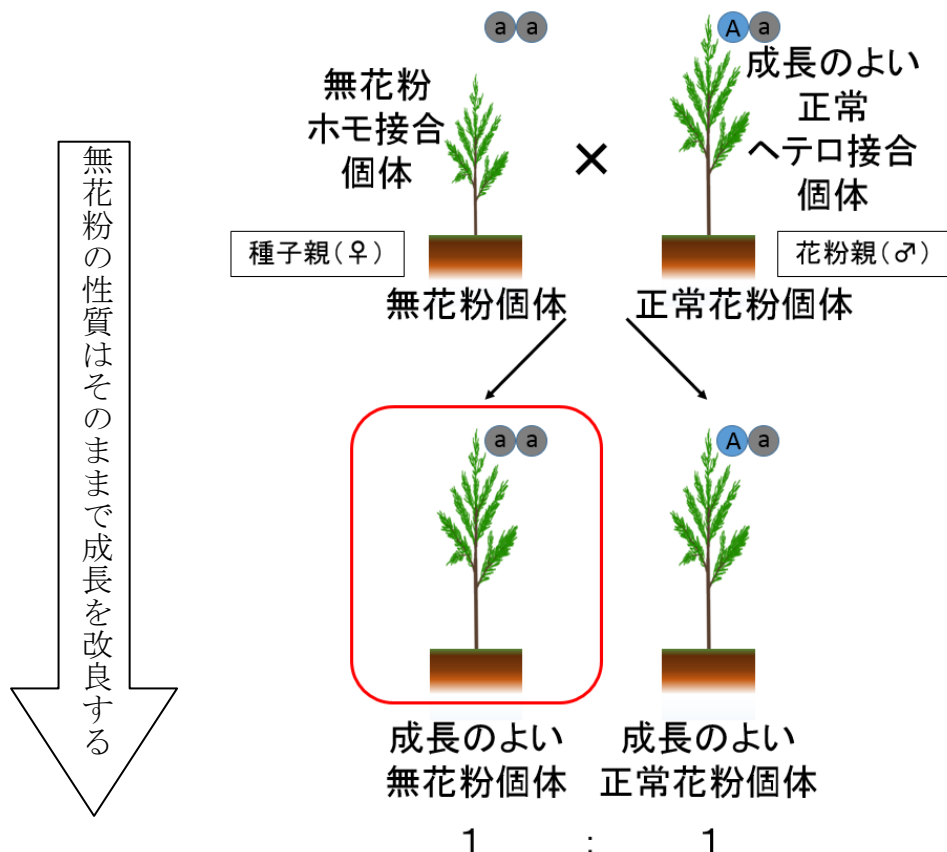


図3 無花粉スギ改良の理想形

無花粉個体と成長のよいヘテロ個体を交配すると、得られる後代個体には、無花粉個体と正常花粉個体がおおよそ1 : 1の割合で見られます。これらの中から成長のよい無花粉個体を選抜します(赤く囲った部分)。

選抜した無花粉スギに、さらに性質の優れたヘテロ個体を交配して、後代の中から優れた無花粉個体の選抜を行います。このように、交配と選抜を繰り返すことで無花粉スギの性能を高めていきます。これが、無花粉スギを改良するための最も効率的な流れですが、これまでは①改良のための花粉親を選ぶ際にどの個体がヘテロ個体であるかを外見から判断することができず、また、②交配により作出した個体の花粉の有無の判定にも長い時間と労力を要してきました(①については、ある個体がヘテロ個体かどうかを判定するのに追加的な人工交配を行う必要があり、このため、最短でも4年近い時間と50個体程度以上の人工交配苗木の育成及びそれらの無花粉個体かどうかの確認作業を要します、また、②については、苗木が育つまでの期間と着花促進処理と花粉の有無の判定作業に最短でも4年近い時間が必要となります)。今回開発したDNAマーカーを用いることで、①に必要な追加的な人工交配は不要となり、また、①と②いずれのケースでも短時間で(試料採取から分析完了まで概ね数日程度。)で、高精度(判定率100%)に判定することができるようになります。