

速報

九州の雄性不稔遺伝子保有スギ交配家系における不稔遺伝子の保有度と成長特性との関連性^{*1}岩泉正和^{*2}・武津英太郎^{*3}・栗田 学^{*3}・福田有樹^{*2}・松永孝治^{*2}・倉原雄二^{*2}・久保田正裕^{*2}

岩泉正和・武津英太郎・栗田 学・福田有樹・松永孝治・倉原雄二・久保田正裕：九州の雄性不稔遺伝子保有スギ交配家系における不稔遺伝子の保有度と成長特性との関連性 九州森林研究 77: 187 – 190, 2024 九州地域において無花粉スギに対するニーズが高まってきており、成長等にも優れる優良無花粉スギ品種を効果的に開発していく必要がある。無花粉スギ品種の開発には、優良スギ系統と雄性不稔遺伝子保有スギ系統の交配家系の中から優良かつ不稔遺伝子を保有する個体を選抜する必要があるが、効率的な交配規模や選抜率等の検討に重要な、家系内での不稔遺伝子の保有度と成長等との関連性についてはまだ知見が十分でない。本研究では、九州育種基本区内のエリートツリー等と不稔遺伝子保有スギ系統間の交配家系を対象に、不稔遺伝子判定 DNA マーカーを用いて個体毎の不稔遺伝子の保有度（可稔ホモ／ヘテロ／不稔ホモ）を識別するとともに、九州育種場内および場外試験地に植栽後または育苗中のコンテナ苗における初期成長を評価した。その結果、いずれの交配家系においても、上記の不稔遺伝子保有度グループ間での成長特性（樹高および胸高直径）に有意な違いは見られなかった。このことから現時点では、家系内での不稔遺伝子の保有度と成長特性の間に関連性は認められず、交配により優良かつ不稔遺伝子を保有する個体を選抜できる可能性が示唆された。

キーワード：スギ、無花粉育種、交配家系、初期成長、マーカー選抜

I. はじめに

花粉症対策の一環として、森林総合研究所林木育種センターでは関係機関と連携して、成長等に優れた無花粉スギの開発を進めており、そのうち潜性（劣性）の雄性不稔遺伝子（以降、「不稔遺伝子」という。）をホモ接合型で保有する無花粉スギ品種についてはこれまで2021年度（令和3年度）末時点で関東・関西育種基本区から計18系統が開発されている（林木育種センター、2022）。九州育種基本区においても近年、各県等において無花粉スギに対する期待が急速に高まってきており、無花粉品種の開発と不稔リソース（育種素材）の整備を効果的に進めていく必要がある。これまで林木育種センターでは、不稔遺伝子を保有する精英樹等の探索を進め、そのうち九州育種基本区では、不稔遺伝子をホモ接合型で保有し不稔形質を発現する（不稔ホモ）系統は発見されていないものの、不稔遺伝子群の一つである *ms-1* 遺伝子をヘテロ接合型で保有する精英樹が2系統見いだされた。現在、それら九州産の不稔リソースおよび近隣地域産の不稔リソースを交配親として、優良無花粉スギ品種の開発を進めている。

優良無花粉スギ品種の作出過程では、優良系統等と不稔遺伝子を有する系統の交配家系の中から、優良かつ不稔遺伝子（ホモあるいはヘテロ）で保有する個体を選抜していく必要がある。一方で、成長等の特性と不稔遺伝子の間にもし非独立な関連性があれば、成長等の特性の改良と不稔形質の付与という、2つの育種目標の両立に支障をきたすことが懸念される。その関連性の有無により、不稔遺伝子を保有する優良個体の出現頻度が異なってくる

ため、家系あたりの必要個体数やそれを作成するための交配規模、選抜率等も異なってくると考えられる。このように、効果的かつ効率的に無花粉品種を開発する上では、家系内での不稔遺伝子の保有度（可稔ホモ／ヘテロ／不稔ホモ）と成長等の特性の関連性について把握することが重要であるが、これまで上記に関する体系的な知見は不十分である。

近年、*ms-1* 遺伝子の保有度（可稔ホモ／ヘテロ／不稔ホモ）を DNA マーカーで判定できる手法（坪村ほか、2019）が確立し、交配家系に対してマーカー選抜（MAS）を行うことで効率的に不稔遺伝子を保有する個体を選抜することが可能になった（三嶋、2019）。そこで本研究では、この技術を利用して、九州育種基本区内のエリートツリー等と雄性不稔遺伝子保有スギ系統間のいくつかの交配家系を対象として、不稔遺伝子の保有度を DNA マーカーにより個体毎に判定するとともに、植栽後の試験地や、植栽前のコンテナ苗における個体の初期成長について調査した。両者の関連性を解析し、今後の無花粉スギ育種の推進のための効率的な作業工程等について検討した。

II. 材料と方法

1. 供試材料と調査・分析

不稔遺伝子の保有度と成長特性の関連性にかかる調査・分析は、九州育種場（熊本県合志市）内に設定した2箇所の優良無花粉スギ選抜試験地（調査地 A、B）と、宮崎県えびの市に設定した場外試験地（調査地 C）に植栽されている、不稔遺伝子保有スギ系

^{*1} Iwazumi, M.G., Fukatsu, E., Kurita, M., Fukuda, Y., Matsunaga, K., Kurahara, Y., and Kubota, M : Relationship between genotype at the male-sterile gene locus and growth traits in some artificial-pollination families of Japanese cedar in Kyushu.

^{*2} 森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター九州育種場 Kyushu Regional Breed. Office, Forest. Tree Breed. Ctr, For. & Forest Prod. Res. Inst., Forest Res. Man Org., Koshi, Kumamoto 861 - 1102, Japan.

^{*3} 森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター Forest. Tree Breed. Ctr, For. & Forest Prod. Res. Inst., Forest Res. Man Org., Hitachi, Ibaraki 319 - 1301, Japan.

統を親に持つ一部の人工交配家系を対象として行った。あわせて、九州育種場内でコンテナ育苗中の同様の交配家系についても対象とした（調査地 D）。九州育種場内の調査地 A（2019 年 3 月植栽）では不稔遺伝子の保有度の異なる 2 交配家系（家系 1：可稔ホモ×ヘテロの 1 家系 10 個体，家系 2：ヘテロ×不稔ホモの 1 家系 21 個体）を対象として，3 成長期後の 2021 年 12 月に初期成長特性として樹高と胸高直径を測定した。同場内の調査地 B（2020 年 3 月植栽）でも 2 交配家系（家系 3～4：ヘテロ×ヘテロ，家系あたり 39～40 個体）を対象として，3 成長期後の 2022 年 12 月に同様に樹高と胸高直径を測定した。場外の調査地 C（2019 年 3 月植栽）は 7 ブロックで構成されており，4 交配家系（家系 5～8：可稔ホモ×ヘテロ，家系あたり 12～39 個体）を対象として，3 成長期後の 2021 年 11 月に樹高を測定した。調査地 D（コンテナ）では，2022 年 2 月に育苗箱に播種してマルチキャビティーコンテナへ移植し育苗を行い，1 成長期後の植栽前の 2022 年 12 月に 3 交配家系（家系 9～11：可稔ホモ×ヘテロ，家系あたり 63～69 個体）について苗高を測定した。また，以上の交配家系の各個体について，針葉から DNA を抽出し，不稔遺伝子判定 DNA マーカー（坪村ほか，2019）を用いてゲル電気泳動により不稔遺伝子の保有度を判定した。

2. 解析方法

各家系について不稔遺伝子の保有度別に個体をグループ分けし，その保有度グループ間での成長特性の違いについて，R（R Core Team, 2020）のカスタマイズパッケージである EZR version 1.40（Kanda, 2013）を用いて解析した。家系間で保有度の組合せの異なる調査地 A（場内）については，保有度グループを固定効果として線形モデルに基づき家系別に分散分析を行い，グループ間差を F 統計量により検定した。調査地 B（場内）および調査地 D（コンテナ）については，保有度の組合せが共通しているため 2～3 家系を統合して解析し，家系，保有度グループ，家系と保有度グ

ループの交互作用を固定効果とした線形モデルに基づき分散分析を行い，同様に F 統計量による検定を行った。調査地 C（場外）についても 4 家系を統合して解析し，家系，保有度グループ，家系と保有度グループの交互作用を固定効果として，ブロックの違いをランダム効果として考慮した線形混合モデルに基づき分散分析を行い，各固定効果について F 統計量により検定した。以上の F 統計量による検定には lmerTest パッケージ（Kuznetsova *et al.*, 2017）を用いた。

Ⅲ. 結果と考察

1. 場内試験地における不稔遺伝子保有度と成長特性の関連性

調査地 A における家系 1（可稔ホモ×ヘテロ）および家系 2（ヘテロ×不稔ホモ）における 3 成長期後の樹高および胸高直径を，DNA マーカーで判定した不稔遺伝子保有度グループ間で比較したところ，いずれの家系でも統計的に有意な違いは認められなかった（図-1）。調査地 B における家系 3～4（ヘテロ×ヘテロ）では，DNA マーカーで不稔遺伝子保有度を判定した結果，いずれの家系でも可稔ホモ，ヘテロおよび不稔ホモの 3 グループが検出された。2 家系における 3 成長期後の樹高および胸高直径を 3 つの不稔遺伝子保有度グループ間で比較したところ，いずれの家系においてもグループ間での有意な違いは認められなかった（表-1，図-2）。

以上の結果から，様々な交配種別の（可稔ホモ×ヘテロ，ヘテロ×不稔ホモ，ヘテロ×ヘテロ）家系において，家系内での不稔遺伝子の保有度の違いによる初期成長の明瞭な差は認められなかった。このことから，優良系統と雄性不稔遺伝子保有スギ系統間の交配により，優良かつ不稔遺伝子を保有する個体を作出できる可能性が示唆された。関東育種基本区のスギ精英樹と不稔個体の間から作出された F2 家系においても，可稔個体と不稔個体のグループ間で初期成長に有意な差が見られなかったことが報告

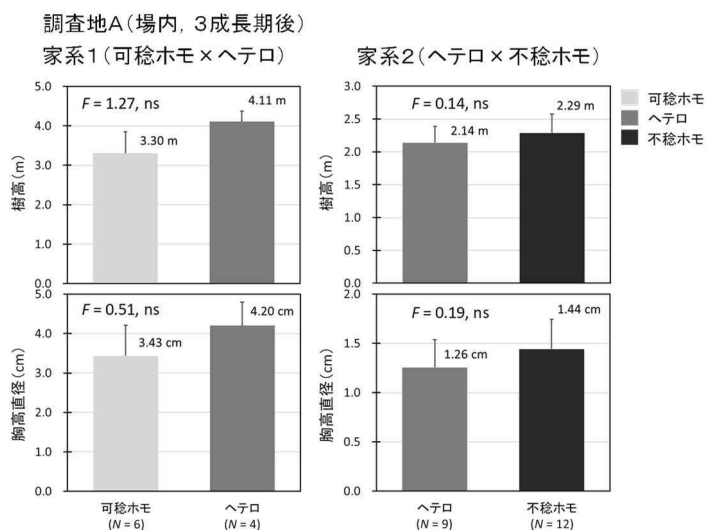


図-1. 調査地 A における家系毎の不稔遺伝子保有度グループ別の樹高および胸高直径
エラーバーは標準誤差を示す。ns： $P \geq 0.05$

調査地 B（場内，3 成長期後）
家系 3，4（ヘテロ×ヘテロ）

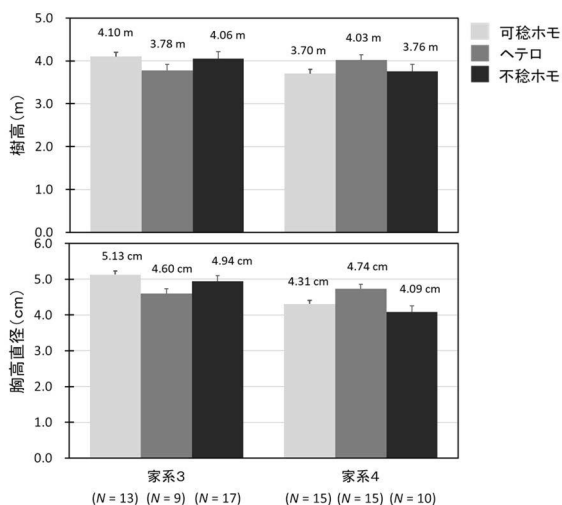


図-2. 調査地 B における家系毎の不稔遺伝子保有度グループ別の樹高および胸高直径
エラーバーは標準誤差を示す。

されており（坪村，2012），九州および近隣地域産の不稔リソースを用いた育種においても同様に，必要と想定される交配規模や家系あたりの個体数からそれほど逸脱なく，家系内選抜が可能であると考えられる。

2. 場外試験地およびコンテナにおける不稔遺伝子保有度と成長特性の関連性

調査地 C（場外）における家系 5～8 の 4 家系（可稔ホモ×ヘテロ）における 3 成長期後の樹高は，家系間，不稔遺伝子保有度グループ間の両要因において有意な違いは認められなかった（表-1，図-3）。また，家系と保有度グループの交互作用についても有意な効果は認められなかった。調査地 D（コンテナ）における家系 9～11 の 3 家系（可稔ホモ×ヘテロ）における 1 成長期後の苗高は，家系間では統計的に有意な違いが検出された一方で，不稔遺伝子保有度グループ，家系と保有度グループの交互作用による有意な効果は認められなかった（表-1，図-4）。

上記のような山地の植栽地または育苗段階での評価においても，初期成長には不稔遺伝子の保有度の違いによる影響は認められず，育苗段階の苗木の成長においては家系の違いによる効果のほうが明瞭に表れていた。各育種基本区では成長等に優れた優良無花粉品種を早期に開発するため，これまで主に場内等での植栽試験による短期間での選抜・交配を進めてきた（関東：坪村 2012；関西：河合，2023；など）。一方で今後，スギの育種において成長・材

質等の林業的形質を改良しながら，同時に不稔形質を併せ持つ系統を開発していくためには，次世代育種のサイクルに不稔遺伝子を導入し，育種集団の中で不稔遺伝子を有する優良系統を，無花粉品種として開発していく必要がある。今回は次世代精英樹候補木の選抜母集団として植栽されている育種集団林内の不稔遺伝子保有家系についても評価し，優良でかつ不稔遺伝子をヘテロ接合型で有する次世代精英樹候補木を選抜できる可能性が確認された。また，次世代育種にかかる試験地造成の上ではしばしば，植栽前の苗木段階で優良な個体を優先して植栽することが考えられるが，その際にも，選んだ優良個体の中に不稔遺伝子を保有する個体が期待した割合で含まれていることが重要となる。今回の結果から，コンテナでの成長上位個体の中にも一定の割合で不稔遺伝子を持つことが期待されることから，例えば，成長の良好な上位苗木についてのみ不稔遺伝子の保有度を確認し，不稔遺伝子を持つ優良個体を植栽地へ植栽して成長評価するといった，効果的な作業工程の可能性もあわせて示唆された。

IV. まとめ

今回，九州育種基本区内のエリートツリー等と雄性不稔遺伝子保有スギ系統間の交配家系を対象として，家系内の不稔遺伝子の保有度と初期成長の関連性について評価した結果，いずれの家系においても不稔遺伝子保有度グループ間での初期成長の違いは認

表-1. 調査地 B, C および D における樹高（苗高）および胸高直径の線形（混合）モデルに基づく分散分析表

調査地 B（場内，3 成長期後）：樹高

要因	MS	df	F	P
保有度	<u>0.068</u>	<u>2</u>	<u>0.28</u>	ns
家系	0.246	1	1.02	ns
保有度×家系	0.419	2	1.74	ns
残差	0.241			

調査地 C（場外，3 成長期後）：樹高

要因	MS	df	F	P
保有度	<u>0.014</u>	<u>1</u>	<u>0.14</u>	ns
家系	0.214	3	2.09	ns
保有度×家系	0.051	3	0.50	ns
残差	0.176			

調査地 B（場内，3 成長期後）：胸高直径

要因	MS	df	F	P
保有度	<u>0.052</u>	<u>2</u>	<u>0.04</u>	ns
家系	4.385	1	3.47	ns
保有度×家系	2.911	2	2.30	ns
残差	1.264			

調査地 D（コンテナ，1 成長期後）：苗高

要因	MS	df	F	P
保有度	<u>0.0</u>	<u>1</u>	<u>0.00</u>	ns
家系	3111.5	2	64.27	**
保有度×家系	6.4	2	0.13	ns
残差	48.4	192		

** : $P < 0.01$; ns : $P \geq 0.05$

調査地 C（場外，3 成長期後）
家系 5～8（可稔ホモ×ヘテロ）

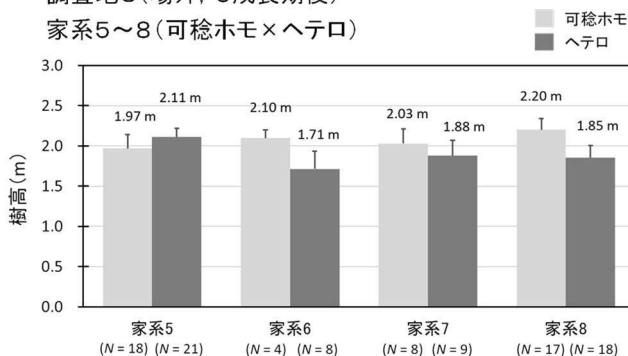


図-3. 調査地 C における家系毎の不稔遺伝子保有度グループ別の樹高
エラーバーは標準誤差を示す。

調査地 D（コンテナ，1 成長期後）
家系 9～11（可稔ホモ×ヘテロ）

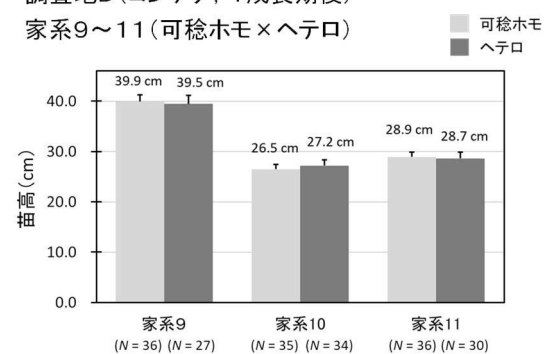


図-4. 調査地 D における家系毎の不稔遺伝子保有度グループ別の苗高
エラーバーは標準誤差を示す。

められなかった。このことから、優良系統と雄性不稔遺伝子保有スギ系統間の交配により、優良かつ不稔遺伝子を保有する個体を作成できる可能性が示唆された。今後、優良無花粉スギ系統の選抜・評価を効率的に進めていくためには、植栽または育苗家系における不稔遺伝子判定 DNA マーカーによる分析個体数やその分析タイミング等についても考慮する必要がある。さらなる交配家系の作出や育苗、成長等の評価・選抜を進めながら、効率的かつ効果的な無花粉スギ育種のシステム化を検討していくことが重要と考えられる。

最後に、今回報告した交配家系の作出や育苗、植栽試験地の設定・管理等に尽力いただいた林木育種センター九州育種場の歴代関係者の方々に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Kuznetsova *et al.* (2017) Journal of Statistical Software 82: 1 - 26
- Kanda Y (2013) Bone Marrow Transplantation 48: 452 - 458
- 河合慶恵 (2023) 関西育種場だより 100: 3
- 三嶋賢太郎 (2019) 林木育種情報 29: 2
- R Core Team (2020) R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org/>
- 林木育種センター (2022) 令和 4 年版 2022 年報
- 坪村美代子 (2012) 林木育種情報 9: 6 - 7
- 坪村美代子ほか (2019) 日林誌 101: 155 - 162
- (2023 年 11 月 8 日受付; 2023 年 12 月 21 日受理)