

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月28日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580188

研究課題名（和文） 実生採種園での循環選抜と改良効果の実証による広葉樹の新たな育種法の提案

研究課題名（英文） Demonstration of realized genetic gains by the recurrent selection in seedling seed orchards and its application for the breeding program of broad-leaved tree species

研究代表者

山田 浩雄（YAMADA HIROO）

独立行政法人森林総合研究所・林木育種センター北海道育種場・課長

研究者番号：90370832

研究成果の概要（和文）：

クヌギ精英樹クローンの自然交配家系（育種集団）を対象に、（1）実生採種園での循環選抜によって得られる改良効果の期待値と（2）実現値および（3）循環選抜による遺伝的多様性の低下について検討した。その結果、改良効果の期待値と実現値は良く一致し、F2家系集団の平均樹高はF1家系集団の平均樹高よりも有意に大きくなった。クヌギの育種を行う上で、実生採種園方式による改良方法が有効であった。しかし、育種集団の遺伝的多様性の低下が確認され、有効集団サイズを大きく保つことの重要性が示された。

研究成果の概要（英文）：

Realized genetic gains of initial height growth caused by recurrent selections of the seedling seed orchard for Kunugi (*Quercus acutissima*) plus trees were compared with predicted ones. The realized genetic gains were comparable to the predicted ones. The mean height of the F2 family population outperformed that of the F1 family population, and the gains were statistically significant. The results of this study confirmed the efficiency of the seedling seed orchard procedure for Kunugi plus trees.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：森林生産・育種・広葉樹

1. 研究開始当初の背景

循環選抜育種とは、交配、検定、表現型による選抜を繰り返して、希望遺伝子を集積する育種操作で、樹木（林木）などの他殖性植物の集団を改良するために広く用いられている方法である。成長量の向上を目標とする

循環選抜育種では、収穫期の表現型によって選抜を繰り返さなければならないが、樹木の成長には長い年月が必要なため、1回の選抜毎に選抜された優良木のクローン採種園を造成して、少しでも改良された造林用種苗を供給しながら、そのクローン採種園を利用し

て交配を行い、次代検定と次世代の選抜が繰り返される。

クローン採種園方式による循環選抜育種は、選抜された優良木のクローン化を行う必要があるため、クローン増殖が困難なブナ科などの有用広葉樹の育種を行う上では、大きな障害となっている。このような樹種では、実生採種園方式による循環選抜育種が有効であるが、今まで我が国の林木育種ではほとんど導入されてこなかった。

実生採種園では、選抜した優良木から採種し、その実生を用いて次代検定を兼ねて採種園を造成する。採種園内の不良木を間伐淘汰させて、次世代の優良木だけを残した後で種子生産を行い、次世代の実生採種園の造成を繰り返す。アカシアマンギュームなどの熱帯早生樹種では、実生採種園方式による循環選抜育種が事業規模で行われている。

一方、採種園からの次世代化のための種子採取は、優良木同士の交配を確実にするため、人工交配を行って採種することが望ましい。しかし、実生採種園では、次代検定の機能を兼ねることから、断幹等の施業を行うことができないため、物理的・労力的な問題から、採種園内の自然交配種子を採取して、次世代集団を作ることになる。循環選抜育種の改良効果を量的形質の遺伝モデルで考えると、相加遺伝分散は一般組み合わせ能力の分散に起因することから、自然交配種子による循環選抜で希望遺伝子を集積させていくためには、その改良効果が、採種園内の特定の優良木が花粉親になって実現されているのではなく、できるだけ多くの優良木が花粉親になって実現されるように管理することが重要となる。すなわち、循環選抜による遺伝的多様性の変化を把握し、近交係数の上昇を抑えることが必要である。

2. 研究の目的

本研究では、クローン増殖が困難な樹種の一つであるクヌギを対象として、今まで我が国の林木育種ではほとんど導入されてこなかった実生採種園を実験的に造成し、以下の3項目について研究を行い議論した。

- (1) 実生採種園での循環選抜による改良効果の推定
- (2) 実生採種園での循環選抜による実現された改良効果
- (3) 実生採種園での循環選抜による遺伝的多様性の変化

3. 研究の方法

- (1) 実生採種園での循環選抜による改良効果の推定

①F1 実生採種園

関西育種場四国増殖保存園内（高知県香美市）のクヌギ第1世代精英樹クローン集植所

(P) から得られたオープン種子 22 家系を用いて、同保存園内に F1 実生採種園を造成した。この F1 実生採種園は、播種後 1 成長期経過した苗木を用いて、2 回反復の乱塊法（4 本～9 本/1 プロット）で設定した。

播種後 4 成長期経過時点における樹高成長データを基に、各プロット優良木 1 本～2 本（第 2 世代精英樹）を選抜した（家系内選抜）。

②F2 実生採種園

間伐を行った F1 実生採種園から得られたオープン種子 22 家系を用いて、同保存園内に F2 実生採種園を造成した。この F2 実生採種園は、播種後 2 成長期経過した苗木を用いて、3 回反復の単木混交（7 本/1 ブロック）で設定した。

播種後 6 成長期経過時点における樹高成長データを基に、各ブロックで 1 家系あたり優良木 1 本（第 3 世代精英樹）を選抜した（家系内選抜）。

③改良効果の推定

クヌギ F1、F2 実生採種園で第 2 世代精英樹および第 3 世代精英樹を選抜した時の樹高成長データを用いて分散分析を行い、次世代（F2、F3）に期待される遺伝獲得量を（A）式により推定した。

$$G = S_w \times h_w^2 = i_w \times \delta_w^2 \times \frac{(3/4)\delta_A^2}{\delta_w^2} \dots (A)$$

G: 遺伝獲得量, S_w : プロット内選抜差, h_w^2 : 家系の遺伝率
 i_w : プロット内選抜強度, δ_w^2 : プロット内変異の標準偏差, δ_A^2 : 相加的遺伝分散

(2) 実生採種園での循環選抜による実現された改良効果

①F1・F2 比較試験地

F1 実生採種園において、播種後 4 成長期経過時点における樹高成長データを基に、各プロット優良木 2 本～4 本を残して間伐し（上位 50%の家系内選抜）、間伐後に開花した家系の異なる 6 母樹からオープン種子（F2）を採取した。また、この F1 実生採種園産 F2 種子と同じ母樹系統の F1 種子を、クヌギ精英樹クローン集植所の 6 母樹から同時に採取した。

これら F1 と F2 のオープン種子 12 家系を用いて、関西育種場四国増殖保存園内に F1・F2 比較試験地を造成した。この F1・F2 比較試験地は、播種後 1 成長期経過した苗木を用いて、単木混交（1 家系あたり 5 個体～20 個体、計 200 本）で設定した。

②改良効果の期待値と実現値の比較

F1・F2 比較試験地の播種後 5 成長期経過時

点における樹高成長データを基に、F1 家系集団と F2 家系集団の平均樹高を比較して実現された遺伝獲得量を求めた。また、F1 実生採種園における 50%の家系内選抜による改良効果の期待値は (A) 式を用いて求めた。

(3) 実生採種園での循環選抜による遺伝的多様性の変化

①DNA 分析

クヌギ第 1 世代精英樹クローン集植所、F1 実生採種園、F2 実生採種園から個体毎に葉を採取して全 DNA を抽出した。これまでブナ科樹木で開発されているマイクロサテライト 7 遺伝子座 (QpZAG15、QpZAG110、QM69-2M1、QM50-3M、bcqm42、CsCAT14、CsCAT15) を用いて PCR 反応を行った。PCR 増幅産物はシーケンサーによるフラグメント解析を行い、マイクロサテライト対立遺伝子サイズを決定した。

②遺伝変異の解析

実生採種園での循環選抜による世代毎の遺伝的多様性の変化は、マイクロサテライト 7 遺伝子座におけるヘテロ接合体率の期待値、アレリックリッチネス、近交係数の変化で評価した。

4. 研究成果

(1) 実生採種園での循環選抜による改良効果の推定

F1 実生採種園の播種後 4 成長期経過時点における平均樹高は 334cm (255 個体) で、分散分析の結果、有意な家系間差が認められた ($P < 0.001$)。家系の遺伝率は 0.321 で、第 2 世代精英樹 (61 個体) を残して間伐することによる F2 世代での遺伝獲得量の期待値は 17.6cm と計算され、5.3%の改良効果が期待されると推定された。

一方、F2 実生採種園の播種後 6 成長期経過時点における平均樹高は 722cm (435 個体) で、分散分析の結果、有意な家系間差が認められた ($P < 0.001$)。家系の遺伝率は 0.122 で、第 3 世代精英樹 (66 個体) を残して間伐することによる F3 世代での遺伝獲得量の期待値は 15.7cm と計算され、2.2%の改良効果が期待されると推定された。

F2 実生採種園の第 3 世代精英樹から生産される種苗は、第 1 世代精英樹から生産される種苗に比べて 7.5%の改良効果 (=F1 実生採種園の改良効果+F2 実生採種園の改良効果) が期待される。しかし、第 F2 実生採種園における家系の遺伝率は、F1 実生採種園に比べて低く、その改良効果の期待値も F1 実生採種園のその半分以下であった。改良効果を上げるためには、家系内選抜だけでなく家系選抜も考慮に入れる必要があると考

えられた。

(2) 実生採種園での循環選抜による実現された改良効果

F1・F2 比較試験地の播種後 5 成長期経過時点における F1 家系集団 (6 家系 108 個体) の平均樹高は 5.25m であったのに対し、F2 家系集団 (6 家系 66 個体) の平均樹高は 5.46m であった (図-1)。分散分析の結果、家系間差は有意ではなかったが、F1 家系集団と F2 家系集団の集団間差は有意であり、家系内選抜の効果が認められた。

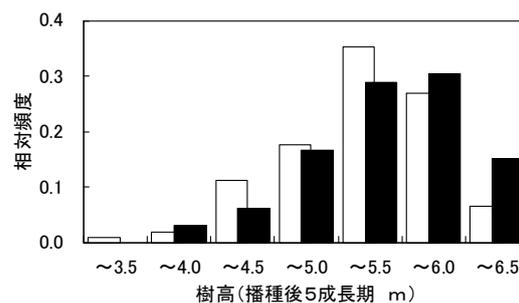


図-1 F1・F2 比較試験地における樹高階別の頻度分布図

■は F2 個体、□は F1 個体を示す。

F1 家系集団と F2 家系集団の樹高成長の差 (実現された遺伝獲得量) は 0.21m で、改良効果の実現値は 4.0%と計算された。また、F1 実生採種園における 50%の家系内選抜による改良効果の期待値は 3.4%と計算され、改良効果の期待値と実現値は良く一致した。今回の F1・F2 比較試験地は、F1 実生採種園を 50%間伐 (家系内選抜) した後に採種して造成した。さらに強度の選抜を行うことによる選抜差の増大によって、改良効果の向上が期待される。

(3) 実生採種園での循環選抜による遺伝的多様性の変化

クヌギ第 1 世代精英樹クローン集植所 (pop1)、F1 実生採種園の第 2 世代精英樹 (pop2)、F2 実生採種園の第 3 世代精英樹選抜前 (pop4)、F2 実生採種園の第 3 世代精英樹 (pop5) におけるマイクロサテライト 7 遺伝子座におけるヘテロ接合体率の期待値、アレリックリッチネス、近交係数 (F_{is}) の変化を表-1~3 に示す。実生採種園での循環選抜による第 1 世代 (pop1) から第 3 世代 (pop5) までの遺伝的多様性は、ヘテロ接合体率の期待値において 0.678 から 0.661、アレリックリッチネスにおいて 10.377 から 8.043 に減少した。また、近交係数 (F_{is}) は 0.025 から 0.065 に増加した。

遺伝的多様性は、突然変異がなく、外部との遺伝子の交流がない場合、世代を経る毎に

遺伝的浮動によって低下する。今回の第1世代から第3世代までの世代交代によって、ヘテロ接合体率の期待値が2.6%、アレリックリッチネスが22.5%低下した。優良個体は表現型値によって選抜されるが、循環選抜を行っていく上では、遺伝的多様性の変化も考慮して、その低下を抑えるように選抜を行う必要があると考えられた。

表-1 マイクロサテライト7遺伝子座におけるヘテロ接合体率の期待値の世代毎の変化

locus	pop1	pop2	pop4	pop5
ZAG15	0.744	0.718	0.727	0.736
CAT14	0.065	0.064	0.059	0.066
ZAG110	0.845	0.835	0.827	0.806
QM692	0.829	0.848	0.850	0.855
QM503	0.896	0.871	0.839	0.829
CAT15	0.722	0.792	0.787	0.794
bcqm42	0.648	0.621	0.581	0.539
All	0.678	0.678	0.667	0.661

表-2 マイクロサテライト7遺伝子座におけるアレリックリッチネスの世代毎の変化

locus	pop1	pop2	pop4	pop5
ZAG15	9.898	7.950	7.080	7.279
CAT14	2.000	2.000	1.977	1.994
ZAG110	13.896	12.930	11.439	11.332
QM692	15.842	14.861	12.602	12.598
QM503	15.000	11.927	11.183	11.555
CAT15	12.000	8.996	8.388	8.540
bcqm42	4.000	3.934	3.237	3.000
All	10.377	8.943	7.987	8.043

based on min. sample size of: 57 diploid individual:

表-3 マイクロサテライト7遺伝子座における近交係数 (Fis) の世代毎の変化

locus	pop1	pop2	pop4	pop5
ZAG15	0.171	0.141	0.248	0.254
CAT14	-0.026	-0.026	-0.030	-0.031
ZAG110	-0.026	-0.099	0.053	0.051
QM692	-0.066	-0.102	-0.040	-0.019
QM503	0.040	-0.054	0.016	-0.014
CAT15	0.028	0.011	0.075	0.096
bcqm42	0.022	-0.161	0.028	0.044
All	0.025	-0.044	0.059	0.065

(4) 総合考察

今回の研究では、クヌギ精英樹を対象に実生採種園での循環選抜(家系内選抜)によって得られる改良効果の期待値と実現値について検討した。その結果、改良効果の期待値と実現値は良く一致し、F2家系集団の平均樹高はF1家系集団の平均樹高よりも有意に大きくなった。クヌギ等のクローン採種園が造成が困難な広葉樹の育種を行う上で、実生採種園方式による改良方法が有効であることが確認された。

循環選抜では、突然変異や外部との遺伝子の交流がない限り、世代を経る毎に遺伝的浮

動によって遺伝的多様性が低下する。対立遺伝子のヘテロ接合体率は、世代を経る毎に $1/(2N)$ ずつ低下するが(N は有効集団サイズ)、今回の研究においても、ヘテロ接合体率の期待値とアレリックリッチネスは減少し、近交係数(Fis)は増加することが確認された。したがって、集団の遺伝的多様性の低下を防ぐためには、次世代候補(自然交配)の花粉親を同定して、有効集団サイズを大きく保つことが肝要である。

実生採種園では表現型によって不良木を間伐して家系選抜や家系内選抜を行うが、家系を考慮することを除けば、従来の森林施業で行われている定性間伐と近似した手法である。本研究と同様に、優良形質木から種子を採取して実生採種園を造成し、家系選抜や家系内選抜後に自然交配種子を採取することは、民間の苗木生産業者を含めた多くの林業関係者が比較的容易に行うことができるであろう。これまでの日本のスギやヒノキを対象とした林木育種事業は、クローン採種園による方法で行われてきているが、クローン増殖が困難な樹種やその他多くの有用広葉樹では、実生採種園による方法を採用することも有効な手段の一つと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ①山田浩雄、久保田正裕、磯田圭哉、クヌギ精英樹 F1 実生採種園の家系内選抜により実現された初期成長の改良効果、日本森林学会誌 93、2011、139-142 査読有
- ②山田浩雄、久保田正裕、クヌギ精英樹自然交配家系で観察された実現選抜効果と成長および台伐り効果の家系間差、平成20年版林木育種センター年報、2009、73-75 査読無

[学会発表] (計2件)

- ①山田浩雄・田村 明・阿部正信・久保田正裕：クヌギ精英樹家系の成長形質と容積密度の相関反応—間接選抜効果の予測—。第123回日本森林学会大会、2012.3.27、宇都宮大学(宇都宮市)
- ②山田浩雄・久保田正裕・磯田圭哉：クヌギ F2 実生採種園の間伐による第3世代精英樹の選抜。第122回日本森林学会大会、2010.4.4、筑波大学(つくば市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 浩雄 (YAMADA HIROO)

独立行政法人森林総合研究所・林木育種セ

ンター北海道育種場・課長
研究者番号：90370832

(2)連携研究者

栗延 晋 (KURINOBU SUSUMU)
独立行政法人森林総合研究所・林木育種セ
ンター遺伝資源部・部長
研究者番号：10370818

磯田 圭哉 (ISODA KEIYA)
独立行政法人森林総合研究所・林木育種セ
ンター関西育種場・室長
研究者番号：60391702

橋本 良二 (HASHIMOTO RYOJI)
岩手大学・農学部・教授
研究者番号：80109157

(3)研究協力者

久保田 正裕 (KUBOTA MASAHIRO)
独立行政法人森林総合研究所・林木育種セ
ンター関西育種場・課長

田村 明 (TAMURA AKIRA)
独立行政法人森林総合研究所・林木育種セ
ンター北海道育種場・室長

阿部 正信 (ABE MASANOBU)
独立行政法人森林総合研究所・林木育種セ
ンター北海道育種場・育種課