

【解 説】

ゲノミックセレクションによるユーカリの選抜育種

新屋 智崇^{*,1,3}・福田 雄二郎¹・陶山 健一郎¹・岩田 英治¹・南藤 和也¹・
林 和典²・Antonio C. Rosa²・Matias Kirst³・河岡 明義¹

はじめに

ユーカリは、オーストラリア大陸およびその周辺島原産の早生樹で、600種類以上存在している。優れた環境適応能力によって、熱帯、温帯地域など幅広い地域で植栽されている重要な樹種である (Ladiges et al. 2003)。ユーカリの産業植林の面積は、世界中で拡大しており、産業植林の活発なブラジルでは、60万ヘクタール以上の植林地がある (図-1)。

ユーカリは、主に紙パルプの原料や、家具、建築材料として利用されており、最近では、バイオリファイナリー利用など、再生可能な資源としての需要も高まってきた。紙パルプの原料を目的として植栽されている場合の、ユーカリの主な育種目標は、成長性や、木材性質の向上であり、木材に含まれる成分として、セルロース含量、ヘミセルロース含量の高い個体が望まれる。一方で、リグニン含量の高い個体は、エネルギー用途に適している (White 1987)。このように、用途に適した優良個体の開発が求められ、それらの形質を育種目標に育種が行われている。

ユーカリの選抜育種

ブラジルでの産業植林におけるユーカリの選抜育種では、はじめに、親個体の開花、種子の生産に約3年を要する。その後、得られた種子を播種し、実生苗を用いて樹形や成長性で選抜を行う実生林試験を実施する。



図-1 ユーカリの植林地

次に、実生林試験で選抜された個体の挿し木増殖を行い、作成したクローン苗を用いて、クローン適性試験を実施し、実生林試験の再現性を確認する。最後に、クローン苗を用いて数十個体を一つの単位とした試験植林で、最終選抜を行い、事業用クローンを選抜している (図-2)。しかしながら、それぞれの選抜試験には4～6年を要し、それらを3回実施する必要があるため、事業用クローンを選抜するまでに、12年以上の長い期間がかかることが課題となっている。

DNA マーカーを利用した選抜

この課題を克服するため、目的形質の量的形質遺伝

*E-mail: t-shinya@nipponpapergroup.com

¹ しんやともたか、ふくだゆうじろう、すやまけんいちろう、いわた えいじ、なんとう かずや、かわおかあきよし
日本製紙 (株) 研究開発本部基盤技術研究所植林研究室

² はやしかずのり、アントニオローサ Amapa Florestal e Celulose S.A. (AMCEL), Forest Research Division, Brazil

³ しんやともたか、マティアスキースト University of Florida, School of Forest Resources and Conservation, USA

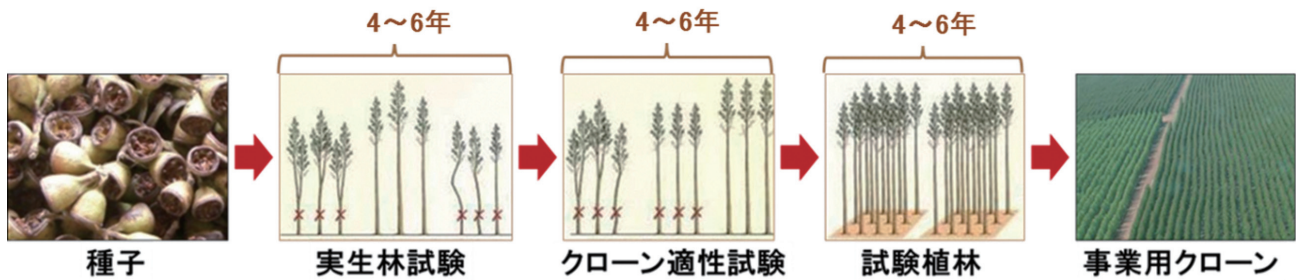


図-2 ユーカリの選抜育種の流れ

子座 (QTL: Quantitative Trait Locus) と連鎖した DNA マーカーを利用して、その DNA マーカーから形質データを予測し、育種期間の短縮を目指すマーカー選抜 (MAS: Marker Assisted Selection) の導入が期待されている。これまでに多くの QTL の探索、QTL マップの作成が行われている。

ユーカリにおいては、QTL の探索に関して、多くの研究が行われており *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* (Gion et al. 2011)、*E. globulus* (Thamarus et al. 2004, Freeman et al. 2009)、*E. nitens* (Thumma et al. 2010)、*E. tereticornis* (Li et al. 2015) において、成長性、容積重、パルプ収率、リグニン含量、シリンギル/グアイアシル比、セルロース含量、抽出物含量、繊維長、マイクロフィブリル傾角などに関係している多くの QTL が報告されている。

しかしながら、重要な形質の多くは、ゲノム全体に存在している小さな効果をもつ多数の QTL によって制御されていることが多く、MAS では、主要な QTL しか捉えることができないため、精度に劣ることがわかってきた。また、事前に QTL の探索が必要であるためコストが高くなることなどの課題もあり、樹木においては商業的な育種への利用には、至っていない状況である (Muranty et al. 2014)。

ゲノミックセレクションについて

近年、ゲノム解析技術の飛躍的な向上によるコストの低下によって、ゲノム全体に存在している小さな効果を持つ多くの QTL をとらえるゲノミックセレクション (Meuwissen et al. 2001) が実現可能になってきている。

ゲノミックセレクションでは、予測モデルを作成するために、はじめに、トレーニング集団の対象とする各形質データと、SNP データを取得する。次に、トレーニング集団にて、形質データと SNP データから、SNP マーカーの効果を推定し、テスト集団の SNP データからそれらの形質データの予測を行う。その後、テスト集団

の予測された形質データと実測データとの相関を予測能力として算出する。

ゲノミックセレクションは、MAS よりも予測能力が高いとされ、小麦において 13 種類の形質を対象にした実験で、13 形質の平均予測能力は、MAS で 0.46 であったのに対し、ゲノミックセレクションでは、0.59 に上昇し、28% 予測能力が向上するとの報告がある (Heffner et al. 2011)。

ゲノミックセレクションの応用例について

ゲノミックセレクションは、家畜や作物を中心に研究されており、乳牛において乳生産に関する形質や、オーツ麦や小麦などの作物の収量に関して報告がされている (Hayes et al. 2009; Asoro et al. 2011; He et al. 2016)。樹木に関しても、これまでに、多くのシミュレーションによる研究で、実験に使用する SNP マーカーの密度、トレーニング集団のサンプルサイズ、対象とする形質の遺伝率などで、予測能力がどのように変わるか調査した報告や (Grattapaglia et al. 2011; Iwata et al. 2011)、マツ、トウヒを実験材料に用いて、成長性や、木材性質などの形質を対象にした研究が行われている (Resende et al. 2012a; Isik et al. 2016; Lenz 2017)。樹木では、育種期間が長いことに加え、形質データを得られるまでに時間がかかるため、ゲノミックセレクションは、有効な手段であると考えられる。

ユーカリにおけるゲノム情報を利用した育種

ユーカリでは、2011 年に約 640 メガ塩基対の *E. grandis* の全ゲノムが解読され、ユーカリの持つ約 36,000 個の遺伝子の機能などの情報も公開されているなど (Myburg et al. 2014)、ゲノム情報を利用した育種が実施できるようになっている。

また、ブラジルの EMBRAPA (ブラジル農牧公社) が開発した SNP チップ EUChip60K は、ブラジルの植林会社などから集められたユーカリ 12 品種の合計 240 個体から得られた約 4,700 万個の SNP から、選抜した SNP をもとに作成されている (Silva et al. 2015)。ユーカリの 11 本の染色体に均一に存在する約 60,000 個の SNP が搭載されており、幅広いユーカリ品種で利用できる SNP チップとなっている。

ゲノミックセレクションの予測能力に影響を与える要素

ゲノミックセレクションの予測能力に影響を与える要因として、実験に使用する SNP マーカーの密度、対象とする形質の遺伝率、予測する統計モデルの選択など、様々な項目が影響を及ぼすことがわかっている。

ユーカリの育種現場で、必要とされるゲノミックセレクションでは、あらかじめ作成した予測モデルを用いて、未知サンプルの予測を行う必要があるが、その際に、予測モデルを作成したサンプル集団と、予測を行うサンプル集団の関係性が遠い場合には、サンプル集団間の連鎖不平衡のパターンが異なり、予測能力が低下することが知られている。

ブラジルで植林事業を行っている Cenibra 社、Fibria 社の実験材料を用いて、ゲノミックセレクションを実施した報告では、それぞれの植林地で作成した予測モデルを用いて、自社のサンプル集団を予測した場合、0.38 ~ 0.60 の予測能力で予測できている。しかしながら、他社の予測モデルを利用して予測する場合、予測能力は、ほぼ 0 となり、予測できないことが分かっている (Resende et al. 2012b)。

さらに、ゲノミックセレクションの予測能力を低下させる要因として、遺伝子型と環境との相互作用も重要であり、クローン増殖によって作成した同一のサンプル集団を用いた場合でも、予測モデルを作成した場所と環境の異なる場所に植栽されたサンプル集団では、予測能力が低下することもわかっている (Resende et al. 2012c)。

日本製紙が実施しているゲノミックセレクション

我々も、日本製紙の関連会社である AMCEL 社の育種されたユーカリを材料として、上述の EUChip60K を利用して、ゲノミックセレクションによるユーカリの選抜育種を検討している。

自然交配由来で遺伝的多様性の高い half-sib の 931 個体と、人工交配由来で遺伝的多様性の低い full-sib の 244 個体の 2 種類の育種集団を利用し、5 種類の形質 (材積、容積重、 α セルロース含量、ヘミセルロース含量、クラーソンリグニン含量) について、実験に使用するサンプル集団の遺伝的な背景の違いによる予測能力を調査した。解析には、統計解析ソフトの R を利用し、rrBLUP パッケージを用いて、トレーニング集団とテスト集団をランダムに選び、100 回解析し、その平均値を得た。

その結果、自然交配由来 (half-sib) の個体群の予測能力は、0.13 (ヘミセルロース) ~ 0.3 (容積重) であったが、人工交配由来 (full-sib) の個体群では、0.37 (α セルロース) ~ 0.64 (容積重) と、人工交配由来のサンプル集団で、2 倍以上高い予測能力となり、サンプル集団の遺伝的多様性によって予測能力が大きく異なることが分かった (図-3)。

そのため、ゲノミックセレクションをユーカリの選抜育種に導入するためには、将来的に選抜を行う育種集団の遺伝的多様性を考慮して、予測モデルを作成することが重要である。2017 年から、作成した予測モデルを利用して、ゲノミックセレクションによる選抜育種を実施する予定としている。

また、予測能力を向上させるための更なる検討として、

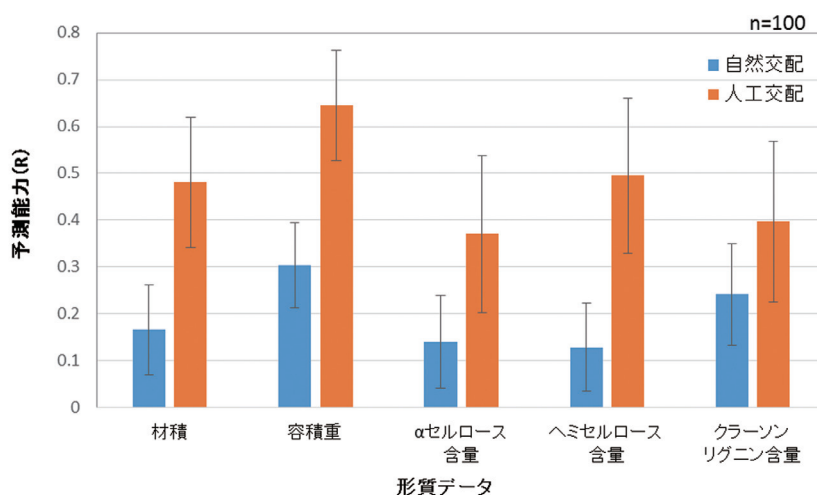


図-3 サンプル集団の違いによる予測能力

成長性、容積重、 α セルロース含量、クラーソンリグニン含量などに差のあるサンプルを実験材料に用いて、遺伝子の発現量をRNA-Seq法により調査しており(Shinya et al. 2016)、影響を与えている遺伝子が見つかっている。これらの遺伝子に存在しているSNPを利用することで、予測能力が向上する可能性があると期待している。

おわりに

これまで、ユーカリに関するゲノム情報を利用した育種技術について述べてきた。ゲノミックセレクションの実施には、近年のゲノム解析技術の向上によって、コストが大幅に低くなってきているものの、未だ高コストである。そのため、ゲノミックセレクションに関しては、商業的に価値の高い乳牛等の家畜の育種現場での利用にとどまっている現状である。

ユーカリを用いた植林事業では、植栽面積が大きく、クローン植林により、数クロンの精英樹を大量に増殖して植栽するため、ゲノミックセレクションで早期選抜した場合の効果が大きく、植物におけるゲノミックセレクションの実用化として、期待される。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、EMBRAPAのDario Grattapaglia氏に、ご指導と技術的なご協力を頂いた。また、当社が行った研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の「ゲノム育種及び高効率林業によるバイオマス増産に関する研究開発」の一環として実施した。厚くお礼申し上げます。

引用文献

Asoro FG, Newell MA, Beavis WD, Scott MP, Jannink JL (2011) Accuracy and training population design for genomic selection on quantitative traits in Elite North American Oats. *The Plant Genome* 4: 132–144
 Freeman JS, Whittock SP, Potts BM, Vaillancourt RE (2009) QTL influencing growth and wood properties in *Eucalyptus globulus*. *Tree Genetics & Genomes* 5: 713–722
 Gion JM, Carouché A, Deweer S, Bedon F, Pichavant F,

Charpentier JP, Bailleres H, Rozenberg P, Carocha V, Ognouabi N, Verhaegen D, Pettenati JG, Vigneron P, Plomion C (2011) Comprehensive genetic dissection of wood properties in a widely-grown tropical tree: *Eucalyptus*. *BMC Genomics* 12: 301–310
 Grattapaglia D, Resende MDV (2011) Genomic selection in forest tree breeding. *Tree Genetics & Genomes* 7: 241–255
 Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Goddard ME (2009) Invited review: Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *Journal of Dairy Science* 92: 433–443
 He S, Schulthess AW, Jiang Y (2016) Genomic selection in a commercial winter wheat population. *Theoretical and Applied Genetics* 129: 641–651
 Heffner EL, Jannink JL, Sorrells ME (2011) Genomic selection accuracy using multifamily prediction models in a wheat breeding program. *The Plant Genome* 4: 65–75
 Isik F, Bartholomé J, Farjat A, Chancerel E, Raffin A, Sanchez L, Plomion C, Bouffier L (2016) Genomic selection in maritime pine. *Plant Science* 242: 108–119.
 Iwata H, Hayashi T, Tsumura Y (2011) Prospects for genomic selection in conifer breeding: a simulation study of *Cryptomeria japonica*. *Tree Genetics & Genomes* 7: 747–758
 Ladiges PY, Udovicic F, Nelson G (2003) Australian biogeographical connections and the phylogeny of large genera in the plant family Myrtaceae. *Journal of Biogeography* 30: 989–998
 Lenz PRN, Beaulieu J, Mansfield SD, Clement S, Despons M, Bousquet J (2017) Factors affecting the accuracy of genomic selection for growth and wood quality traits in an advanced-breeding population of black spruce (*Picea mariana*). *BMC Genomics* 18: 335–352
 Li F, Zhou G, Weng Q, Li M, Yu X, Guo Y, Wang Y, Zhang X, Gan S (2015) Comparative genomics analyses reveal extensive chromosome colinearity and novel quantitative trait loci in *Eucalyptus*. *PLoS ONE* 10: e0145144
 Meuwissen T, Hayes B, Goddard M (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157: 1819–1829
 Muranty H, Jorge V, Bastien C, Lepoittevin C, Bouffier L, Sanchez L (2014) Potential for marker-assisted selection for forest tree breeding: lessons from 20 years of MAS in crops. *Tree Genetics & Genomes* 10: 1491–1510
 Myburg AA, Grattapaglia D, Tuskan GA, Hellsten U, Hayes RD, Grimwood J et al. (2014) The genome of *Eucalyptus*

- grandis*. Nature 510: 356–362
- Resende MFR, Muñoz P, Resende MDV, Garrick DJ, Fernando RL, Davis JM, Jokela EJ, Martin TA, Peter GF, Kirst M (2012a) Accuracy of genomic selection methods in a standard data set of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). Genetics 190: 1503–1510
- Resende MDV, Resende MFR, Sansaloni CP, Petrolí CD, Missiaggia AA, Aguiar AM, Abad JM, Takahashi EK, Rosado AM, Faria DA, Pappas GJ, Kilian A, Grattapaglia D (2012b) Genomic selection for growth and wood quality in *Eucalyptus*: capturing the missing heritability and accelerating breeding for complex traits in forest trees. New Phytologist 194: 116–128
- Resende MFR, Muñoz P, Acosta JJ, Peter GF, Davis JM, Grattapaglia D, Resende MDV, Kirst M (2012c) Accelerating the domestication of trees using genomic selection: accuracy of prediction models across ages and environments. New Phytologist 193: 617–624
- Shinya T, Iwata E, Nakahama K, Fukuda Y, Hayashi K, Nanto K, Rosa AC, Kawaoka A (2016) Transcriptional profiles of hybrid *Eucalyptus* genotypes with contrasting lignin content reveal that monolignol biosynthesis-related genes regulate wood composition. Frontiers in Plant Science 7: 443–455
- Silva OB, Faria DA, Grattapaglia D (2015) A flexible multi-species genome-wide 60K SNP chip developed from pooled resequencing of 240 *Eucalyptus* tree genomes across 12 species. New Phytologist 206: 1527–1540
- Thamarus KA, Groom K, Bradley A, Raymond CA, Schimleck LR, Williams ER, Moran GF (2004) Identification of quantitative trait loci for wood and fibre properties in two full-sib pedigrees of *Eucalyptus globulus*. Theoretical and Applied Genetics 109: 856–864
- Thumma BR, Southerton SG, Bell JC, Owen JV, Henery ML, Moran GF (2010) Quantitative trait locus (QTL) analysis of wood quality traits in *Eucalyptus nitens*. Tree Genetics & Genomes 6: 305–317
- White RH (1987) Effect of lignin content and extractives on the higher heating value of wood. Wood and Fiber Science 19: 446–452