

熱帯アカシアのバイオテクノロジー*

鈴木 史朗**

Tree biotechnology of tropical *Acacia**

Shiro Suzuki**

概要

熱帯アカシアは、旺盛な成長性が注目され、熱帯性の早生樹として、東南アジアを中心に大規模に植林されてきた。しかし、病害や材質などの改良すべき欠点も報告されており、今後、生産性を増大させるためには、これらの欠点を克服するための樹木バイオテクノロジーの発展が不可欠である。現在、熱帯アカシアのバイオテクノロジーとして、マイクロプロパゲーション、EST解析、形質転換・個体再生に関する報告があるが、今後、形質転換・個体再生の高効率化や次世代シークエンサーによるトランスクリプトーム解析などの基盤整備が行われるとともに、病虫害抵抗性や成長性のような産業的に重要な形質を担う遺伝子の機能解析が優先的に進むと期待される。

1. はじめに

熱帯アカシアとは、熱帯地方に生育するマメ科の *Acacia* 属樹木を指すが、熱帯の人工造林木として重要な *Acacia mangium*、*A. auriculiformis*、*A. crassicarpa* と、これらの種間雑種を含んでいる。

A. mangium、*A. auriculiformis*、*A. crassicarpa* は、いずれもクイーンズランド州（オーストラリア）、ニューギニア島（インドネシア及びパプアニューギニア）や、モルッカ諸島（インドネシア）にかけて自生する種で、20～30 m に達する常緑高木である。*A. mangium* は、インドネシアなどでは、熱帯雨林が伐採された後に生じるチガヤの生育するような日当たりの良い草原に先駆的に進出するパイオニア植物であり、比較的排水の良い土壌を好んで生育し、湛水状態では生育が悪いとされている。*A. auriculiformis* は、*A. mangium* よりも水分を好み、川や沢沿いに生育し、群落を作って自生することは少ないが、*A. mangium* と同様にチガヤの生育するような草原でよく生育する。*A. crassicarpa* は、クイーンズランド州では海浜や海沿いの平野に生育しているため、塩害に強いとされており、他の場所では、粘土がちで排水が悪い泥炭湿地のような場所でも生育する。なお、種間雑種としては、*A. auriculiformis* と *A. mangium* との交雑種 (*A. auriculiformis* × *mangium*) がよく知られており、*A. mangium* の通直な幹と良好な成長性、*A. auriculiformis* の心材腐朽耐性と硬くて重い材（比重 0.6）の形質を併せ持ち、アカシアハイブリッドと通称されている。以上の種は、インドネシア西部（スマトラ島など）、マレーシア、ベトナム、ラオス、タイ、インドなど、東南アジアから南アジアにかけて、本来自生地ではない地域においても多く植林されている。

これらの熱帯アカシアは、旺盛な成長性が注目され、熱帯性の早生樹として、各々の植林地の土壌や環境に適した種が選択され、大規模に植林されてきた。しかし、病害や材質などの改良すべき欠点も報告されており、今後、生産性を増大させるためには、これらの欠点を克服するための樹木バイオ

*2011年9月26日受理

**〒611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学生存圏研究所森林代謝機能化学分野

E-mail: shiro-s@rishi.kyoto-u.ac.jp

テクノロジーの発展が不可欠である。

樹木バイオテクノロジーとは、樹木を対象としたバイオテクノロジーを意味する。ここで、植物分野におけるバイオテクノロジーは、大きく分けてオールドバイオテクノロジーとニューバイオテクノロジーに分けられる。オールドバイオテクノロジーとは、組織培養技術を基盤としたマイクロプロパゲーション、再分化、細胞培養などが中心である。一方、ニューバイオテクノロジーは、遺伝子情報を活用し、遺伝子操作を基盤とした遺伝子組換え技術による形質改変が中心である。なお、ゲノム情報の整備によって可能となる DNA マーカーを利用した交雑による育種 (DNA マーカー育種) もまた、植物バイオテクノロジーに含まれる。

樹木の分野では、2006 年にポプラ (*Populus trichocarpa*)、2007 年にはブドウ (*Vitis vinifera*) のゲノム配列が公開され、2011 年現在、ユーカリのゲノムのドラフト配列が決定されている。ゲノム配列が明らかにされている実用植物のイネでは、ゲノムの配列を活用した機能解析と、DNA 組換え技術を使わない分子育種の方法である DNA マーカー育種が急速に発展してきており、樹木の育種分野においても同様な DNA マーカー育種が今後発展する可能性がある。

しかし、将来的に DNA マーカー育種によって、樹木の育種を効率的に行うとしても、その前段階で、樹木における遺伝子機能の検証が必要である。樹木における遺伝子機能の検証は、その遺伝子が通常より発現が変化した場合に、どのような表現型の変化を生じるのかを調べることによってなされる。従って、遺伝子の発現を人工的に制御した個体を作成する技術である形質転換・個体再生の技術は不可欠である。また、得られた優良個体を大量に増殖する様々な組織培養の技術も実用化に必須である。そこで、本稿では、熱帯アカシアにおける組織培養、遺伝子組換え、ゲノミクスなどの樹木バイオテクノロジーの要素技術の現況と、各樹種の特徴を踏まえた今後の樹木バイオテクノロジーの方向性について、議論することとしたい。

2. 熱帯アカシアの樹木バイオテクノロジーの現状

2.1 マイクロプロパゲーション・再分化系

これまで、*A. mangium* のマイクロプロパゲーションや再分化についてはいくつか報告がある。まず、マイクロプロパゲーションについてであるが、Nanda ら¹⁾は 10 年生の成熟した有節外植体を用いて Murashige & Skoog 培地で多芽体を誘導し、続いて発根培地に移植することにより確立しており、RAPD マーカーを用いた変異検定では変異は確認されなかったことを報告している。Bhaskar と Subhash²⁾は、8 年生の精英樹の有節外植体より同様にマイクロプロパゲーションを行っている。Xie と Hong³⁾は外植体を若返り (rejuvenation) させた多芽体より、試験管内個体再生系を確立している。一方、Douglas ら⁴⁾は、発芽させた苗の子葉の節を傷付け、そこから多芽体を得ている。Saito ら⁵⁾は側芽をもちいて多芽体を得ている。

一方、再分化についてであるが、不定胚形成 (somatic embryogenesis) についての報告が一報あるのみである。Xie と Hong⁶⁾は、*A. mangium* の未熟種子から胚分化能を有するカルス (embryogenic callus) を誘導し、体細胞胚発生を経由した個体再生系を報告している。

2.2 遺伝子導入

Xie ら⁷⁾は、*A. mangium* を用いて、*Agrobacterium* を介した安定形質転換を行い、形質転換体において外来遺伝子である GUS 遺伝子の発現を確認している。一方、一過的形質転換については、パーティクルガンを用いた Quoirin ら⁸⁾による報告がある。

Yang ら⁹⁾は *A. crassicaarpa* の偽葉 (葉柄が平たい葉のように変化した器官) 由来の外植体を用いて、*Agrobacterium* を介した安定形質転換により、ポプラの 4-coumarate CoA ligase プロモーターの下流に 4-coumarate CoA ligase 遺伝子のアンチセンス配列を接続したコンストラクトを導入している。

2.3 EST 解析

Wang らは、*A. mangium* の花から発現配列タグ (expressed sequence tags, EST) を作成¹⁰⁾していたが、

最近 Suzuki ら¹¹⁾ は、*A. mangium* のシュートと分化中の木部の平均化 cDNA ライブラリから作成した 8,963 個の EST を解析した。その結果、*A. mangium* の EST は、これまで解析されているマメ科植物（ミヤコグサ、タルウマゴヤシ、ダイズ）の EST の中で、ダイズの EST に対して相同性を示すものが最も多かったことを明らかにした。さらに、細胞周期、形態形成、木部分化、二次壁形成に関わる EST 配列を報告している。

Yong ら¹²⁾ は、*A. auriculiformis* × *mangium* の分化中の木部 (inner bark) の 3,182 個の EST を解析し、EST 配列を基に、リグニンおよびセルロース合成の酵素遺伝子 (PAL, CAD, COMT, CCoAOMT, CCR, C4H, CesA) について定量 PCR による発現解析を行っている。

3. 熱帯 *Acacia* のバイオテクノロジーの課題と方向性

3.1 形質転換・個体再生系

どの熱帯アカシアにおいても、オールドバイオテクノロジーの範疇に含まれる、マイクロプロパゲーションによる同一クローンの分化個体の大量増殖は比較的容易であると考えられる。しかし、現在の *Agrobacterium* による安定形質転換系は、安定した形質転換個体が得られる確率が低く（数%）、また、馴化可能な形質転換体を得るまでに 1 年近く必要とする^{6,9)}。従って、現状では、機能の確定した一遺伝子を熱帯アカシアに導入するだけでも大変な手間暇がかかることから、今後、形質転換・個体再生の高効率化（10% 以上）と迅速化が必要である。

3.2 機能ゲノミクス

熱帯アカシアの遺伝子機能解析はほとんど手つかずといつてよい状態であり、ようやく EST が整備されてきた状況である¹¹⁻¹²⁾。しかし、最近、次世代シーケンサー (Roche 社 GS-FLX Titanium など) の登場により、大規模な EST 作成が極めて廉価となり、状況が一変してきており、産業的に重要な熱帯アカシアの EST が急速に整備される可能性がある。EST が整備されれば、個々の遺伝子に関する機能解析を行う段階となる。樹木に共通の生命現象については、ポプラやユーカリなどで研究が先行しているので、熱帯アカシアでは、産業的に重要かつ熱帯アカシアに特有の生命現象を担う遺伝子の同定が優先的に進むと期待される。

3.3 病虫害抵抗性

熱帯アカシアは強健で成長性が高いことから、早生樹として熱帯東南アジアで広く植林されているが、それでも種々の病虫害が報告されている¹³⁾。例えば、*A. mangium* は、白色のカビによる心材腐朽が報告されており、またマレーシアでは、17% もの *A. mangium* が *Corticium salmonicolor* による赤衣病による感染を受けていると報告されている。虫害としては、葉を食害する *Pteroloma blagiophelps* やイナゴによる食害がインドネシアの多くの植林地で報告がある。また、樹液を吸う *Helopeltis* はスマトラ島での主な害虫である。

A. auriculiformis については、病虫害による被害は少ない。インドネシアでは、さび病菌 *Uromyces digitatus* による成長阻害が、インドでは、*Ganoderma lucidum* による根腐れ病が報告されている。*Xinoylon* による若い茎の食害も報告がある。*A. crassicarpa* の場合、*Platypus xyleborus* や pin hole bore 等による食害が報告されている。

病虫害による熱帯アカシアの生産性低下を抑えるため、病原菌や害虫に対する殺菌・殺虫成分や忌避成分の産生は今後の育種目標として重要である。例えば、*A. auriculiformis* の心材には、*A. mangium* と比べ、抗菌性のフラボノイド化合物である teracacidin が蓄積するため¹⁴⁾、心材腐朽による被害が少ないとされていることから、材質に優れ、心材腐朽抵抗性の高いアカシアハイブリッドの分子育種は産業的に重要である。Teracacidin 合成に関わる遺伝子の同定を行い、teracacidin 含量とゲノムの遺伝子配列とを関係づけることが出来れば、DNA マーカーによって、心材腐朽抵抗性の高いアカシアハイブリッドを効率的に選抜することが出来ると期待される。

3.4 成長性

熱帯アカシアは概して成長が良いとされている。例えば、*A. mangium* は、定植後最初の 4~5 年で、年間胸高直径は 5 cm、高さは 5 m の増加が認められる。サバ州やスマトラ島では、定植後 1 年間に 3 m の高さに成長すると報告され、フィリピンでは 3 年間で平均 8.3 m、胸高直径は約 10 cm に達する。しかしながら、7~8 年目以降は、急速に成長速度が低下し、理想的な環境や定植後 20 年以上経過しなければ、直径 40 cm、高さ 30 m 以上を超えることは少ない¹³⁾。

A. auriculiformis は、*A. mangium* よりも成長性は劣り、通常の栄養条件では、定植後数年間は年間 2~4 m の高さの増加が認められる。*A. crassicarpa* は、前 2 種よりも高く成長しないが、それでも年間高さは 1.2 m ほどの成長速度で生育するとの報告がある¹³⁾。

成長速度は、木質バイオマスの生産性を評価する一つの尺度であり、成長性を増大させる育種は今後も大きな育種目標の一つであろう。熱帯アカシアは、多くの場合、パルプチップ用で定植後 7~8 年に伐採、製材用ではそれより長く、12~20 年後に伐採するとされているが、*A. mangium* に見られるように、7~8 年ごろから、成長速度が急速に低下するため¹⁵⁾、成長速度低下の機構を解明し、短期伐採可能な品種の開発が望まれる。

参考文献

- 1) Nanda, R. M., Das, O., and Rout, G. R., *In vitro* clonal propagation of *Acacia mangium* Willd. and its evaluation of genetic stability through RAPD marker, *Ann. Forest Sci.*, **61**, 381-386, 2004.
- 2) Bhaskar, P., and Subhash, K., Micropropagation of *Acacia mangium* Willd. through nodal bud culture, *Indian J. Exp. Biol.*, **34**, 590-591, 1996.
- 3) Xie, D., and Hong, Y., *In vitro* regeneration of *Acacia mangium* via organogenesis, *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, **66**, 167-173, 2001.
- 4) Douglas G. C., and McNamara J., Shoot regeneration from seedling explants of *Acacia mangium* Willd., *In vitro Cell Dev. Biol. Pl.*, **36**, 412-415, 2000.
- 5) Saito, Y., Kojima, K., Ide, Y., and Sasaki, S. *In vitro* propagation from axillary buds of *Acacia mangium*, a legume tree in the tropics, *Shokubutsu Soshiki Baiyo*, **10**, 163-168, 1993.
- 6) Xie, D. Y., and Hong, Y. Regeneration of *Acacia mangium* through somatic embryogenesis, *Plant Cell Rep.*, **20**, 34-40, 2001.
- 7) Xie, D. Y., and Hong, Y., *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of *Acacia mangium*, *Plant Cell Rep.*, **20**, 917-922, 2002.
- 8) Quoirin, M., Franche, C., and Koehler H., Transient expression of reporter genes introduced in tissues of two *Acacia* species using a biolistic method, *In vitro Cell Dev. Biol. Pl.*, **38**, 487-492, 2002.
- 9) Yang, M., Xie, X., Zheng, C., Zhang, F., He, X., and Li, Z., *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of *Acacia crassicarpa* via organogenesis, *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, **95**, 141-147, 2008.
- 10) Wang, X. J., Cao, X. L., Hong, Y., Isolation and characterization of flower-specific transcripts in *Acacia mangium*, *Tree Physiol.*, **25**, 167-178, 2005.
- 11) Suzuki, S., Suda, K., Sakurai, N., Ogata, Y., Hattori, T., Suzuki, H., Shibata, D., and Umezawa, T., Analysis of expressed sequence tags in developing secondary xylem and shoot of *Acacia mangium*, *J. Wood Sci.*, **57**, 40-46, 2011.
- 12) Yong, S. C. Y., Choong, C. Y., Cheong, P. L., Pang, S. L., Nor Amalina, R., Harikrishna, J. A., Mat-Isa, M. N., Hedley, P., Milne, L., Vaillancourt, R., and Wickneswari, R., Analysis of ESTs generated from inner bark tissue of an *Acacia auriculiformis* × *Acacia mangium* hybrid, *Tree Genet. Genomes*, **7**, 143-152, 2011.
- 13) Agroforestry Database, <http://www.worldagroforestrycentre.org>

- 14) Mihara, R., Barry, K. M., Mohammed, C. L., and Mitsunaga, T., Comparison of antifungal and antioxidant activities of *Acacia mangium* and *A. auriculiformis* heartwood extracts, *J. Chem. Ecol.*, **31**, 780-804, 2005.
- 15) Awang, K., and Taylor, D., *Acacia mangium* -growing and utilization-, MPTS Monograph Series No. 3, Winrock International and Bangkok, FAO, 1993.