

氏名(本籍)	おく いずみ ひさと 奥 泉 久 人 (山形県)
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	博 甲 第 851 号
学位授与年月日	平成 3 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
審査研究科	農 学 研 究 科
学位論文題目	アイソザイムによるスギさし木在来品種の系統分類
主 査	筑波大学教授 農学博士 大 庭 喜 八 郎
副 査	筑波大学教授 農学博士 菊 池 文 雄
副 査	筑波大学教授 理学博士 千 原 光 雄
副 査	筑波大学助教授 農学博士 荒 木 眞 之

### 論 文 の 要 旨

本研究はクローン混系と考えられてきたスギのさし木在来品種について、各品種内の個体別のアイソザイム遺伝子型を判定し、その異同によって分類を行い、各品種内に混合しているクローンの数および各品種間の類縁関係を明らかにすることを目的として実施した。

スギは、我が国の林業における最も重要な造林樹種の一つであり、スギの人工造林の開始は約500年間にさかのぼり、実生苗造林とじかざし造林が行われてきた。じかざし造林地帯では、スギのさし木品種が古い時代から成立して利用されていた。現在、主なスギさし木在来品種は、200～400年のさし木造林の歴史がある九州地方全域をはじめ、北陸地方の一部および千葉県山武町周辺で利用されており、各品種とも複数クローンが混合しているものと考えられてきた。そして、これらの多くが育種母材料として国立および都道府県の林業試験研究機関に収集・保存されている。従来、熟練者によって行われてきた品種およびクローンの識別は、針葉・枝条・樹幹等の形態的特徴、さらには結実性・成長型・さし木発根性・諸被害に対する抵抗性および造林上の諸特性の多数の形質のうち、その対象の品種・クローンに応じて特定の数形質を主体に、他は総合化した形での判定によってきた。しかし、これらの表現型には生育環境または樹齢等の違いによって変異がみられるため、一般の林業関係者にとっては正確なさし木品種の識別は容易ではなかった。また、材質や成長量など測定・検定を必要とする形質については短時間で簡単に品種を識別することは困難であった。このため、スギの遺伝育種の立場から、より確実で効率的な、品種およびクローンの同定・分類法の確立が望まれていた。

従来、アイソザイムのスギ品種の同定・識別、系統分類などへの応用では、パーオキソダーゼ、エステラーゼ等比較的に検出しやすい酵素種でのバンドパターン(ザイモグラム)を使った品種同定が広く行われてきた。最近、スギの針葉のアイソザイム遺伝子分析が行われ、10酵素種の計16遺伝子座

が明らかにされた。これによってスギでは個体別のアイソザイム遺伝子型を指標としてクローンの同定・識別が可能になった。

本研究で供試した材料は、国公立林業試験研究機関、11機関に集植されているスギさし木在来品種、104品種の延べ513個体である。これらは、九州地方・北陸地方・関東（千葉県）地方および山陰地方において古くから育成・利用されてきた品種およびその地方のスギ天然材から最近選抜された個体である。そして今後、スギの交雑育種の母材料となり、また遺伝資源保全の対象となるものである。

これらの個体から成長休止期に当年生針葉を採取し、その針葉の抽出上澄液を電気泳動にかけた。電気泳動はポリアクリルアミド7.5%分離ゲル・3.75%濃縮ゲルを支持体とし、泳動試料を4℃に保ちながら12.3mA/cm<sup>2</sup>の定電流を約150分間流して行った。クローンの同定・識別のために調査した酵素種は10酵素種（シキミ酸脱水素酵素、6-ホスホグルコン酸脱水素酵素、グルタミン酸脱水素酵素、ジアホラーゼ、メナジオンレダクターゼ、アスパラギン酸アミノ転移酵素、ホスホグルコムターゼ、ロイシンアミノペプチターゼ、アラニンアミノペプチターゼ、酸性ホスファターゼ）であった。これらの酵素で、すでに遺伝様式が明らかにされているアイソザイム9遺伝子座（*Shd-1*, *Shd-2*, *6Pg-1*, *6Pg-2*, *Dia-3*, *Mnr-1*, *Pgm-2*, *Lap*, *Aap-1*）および著者が検出した。3遺伝子座（*Gdh*, *Got-1*, *Got-2*）の合計12遺伝子座を分析し、各個体の遺伝子型を決定した。また、*Acp*については表現型（A型・B型）の違いを調べた。

分析した10酵素種の中で、品種分類の標識として利用可能な遺伝子座は8酵素種11遺伝子座（*Shd-1*, *Shd-2*, *6Pg-1*, *6Pg-2*, *Dia-3*, *Mnr-1*, *Got-1*, *Got-2*, *Pgm-2*, *Lap*, *Aap-1*）と*Acp*表現型であった。今回、分析した遺伝子座のうち対立遺伝子が多かったのは、5個の対立遺伝子が検出された*Lap*遺伝子座であり、そのため10種類の遺伝子型が認められ、分類の指標として利用性が高かった。*6Pg-1*, *Mnr-1*, *Got-1*の3遺伝子座では3個の対立遺伝子が検出され、それらの組合せによる遺伝子型頻度の偏りは大きくはなかった。しかもこれらの遺伝子座では、ほとんどすべての個体の電気泳動像においてバンドが鮮明に染色されたので、それぞれの遺伝子型を確実に判定することができた。このほか、*Dia-3*では、3種類の遺伝子型のみが検出され、各遺伝子型の出現頻度は（*Dia-3<sup>a</sup>/Dia-3<sup>a</sup>*）56.3%、（*Dia-3<sup>b</sup>/Dia-3<sup>b</sup>*）32.4%、（*Dia-3<sup>c</sup>/Dia-3<sup>c</sup>*）11.3%と頻度の偏りが少なかった。

次に、8酵素種11遺伝子座（*Shd-1*, *Shd-2*, *6Pg-1*, *6Pg-2*, *Dia-3*, *Mnr-1*, *Got-1*, *Got-2*, *Pgm-2*, *Lap*, *Aap-1*）の遺伝子型を標識として、104品種の計513個体を分類した。その結果アイソザイム遺伝子型の違いによって116グループに分類することができた。この分類と*Acp*表現型（A型・B型）によって各品種内の構成クローン数を調査した。ちなみに、これらの品種はさし木で繁殖されてきたため、品種内個体において遺伝子型が違えば異クローンであると確実にいえる。1品種あたり複数個体を分析したのは65品種であり、それぞれの品種別の供試個体数は2～27本であった。九州地方のスギさし木品種では、出現した遺伝子型の種類は非常に限られ、対立遺伝子の数も多くはなかった。複数個体を調査した九州地方の42品種のうち38品種が2～8クローンからなる複数クローン品種であった。また、複数個体を調査した北陸地方の19品種のうち16品種が複数クローン品種

であった。この地方の成立の古いさし木品種については、同じ遺伝子型の個体が多く、同一クローンと推定される個体が多かった。しかし、精英樹選抜育種事業において天然林から選抜され、さし木増殖され、その歴史が浅いものについては、品種内の個体間で同じ遺伝子型を示す個体がほとんどなかった。関東（千葉県）地方については、従来からサンプスギとされている品種（17個体）と近年育種母材料として収集された3品種、すなわちウシオ（27個体）、チョウコウジ（2個体）、ナミキ（5個体）の計4品種を分析・分類した。その結果、ウシオ19個体、チョウコウジ2個体、ナミキ4個体は、サンプスギ（11個体）と11遺伝子座について全く同一遺伝子型であり、前3品種にはサンプスギがかなり含まれていることが判明した。山陰地方については、精英樹選抜育種事業で天然林から選抜された育種母材料、4品種をそれぞれ2～3個体分析した。その結果、各品種内では同一遺伝子型を示した個体はなく、すべて異クローンであった。以上のように、アイソザイム遺伝子型による品種内の構成クローン数の推定はきわめて効率が高かった。

最後に、九州・北陸・関東（千葉県）・山陰の各地方のスギさし木在来品種98品種、総計507個体を既往の品種系統群に群別し、各個体のアイソザイム遺伝子型をデータとして判別分析をした。まず、従来の分類に従い、九州地方のスギさし木在来品種は、1)九州在来品種系統の①メアサ群、②ホンスギ群、③アヤスギ群、④ヤブクグリ群と2)移入品種系統の⑤オビスギ群および3)実生スギ由来のさし木品種群、すなわち⑥九州在来の実生スギ由来のさし木品種群および⑦吉野スギ由来のさし木品種群に分けた。さらに⑧北陸、⑨関東（千葉県）、⑩山陰の各地方のさし木品種の合計10品種群に区分した。アイソザイムの8酵素種11遺伝子座（*Shd-1*, *Shd-2*, *6Pg-1*, *6Pg-2*, *Dia-3*, *Mnr-1*, *Got-1*, *Got-2*, *Pgm-2*, *Lap*, *Aap*）の遺伝子型をデータとして判別分析を行い、遺伝的類縁関係を検討した。判別分析の結果、二つの正準変数（正準変数1と正準変数2）が有意であった。正準変数1（寄与率=0.4076）は、*6Pg-1*・*6Pg-2*・*Dia-3*等での対立遺伝子組成の違いが判別に大きく関与している変数であった。正準変数2（寄与率=0.2545）は、*Lap*・*6Pg-1*・*Got-1*等の関与が大きい変数であった。この二つの変数の累積寄与率は66.21%であった。この2変数を直交軸にとり各個体の散布図を作製し、各品種群の類縁関係を調べた。その結果、1)九州在来品種系統（①メアサ群、②ホンスギ群、③アヤスギ群、④ヤブクグリ群）と2)移入品種系統（⑤オビスギ群）は正準変数1によって、ほぼ完全に分別することができた。これは両系統の間に明白な遺伝的差異があることを示すもので、従来の分類で九州在来の品種と移入品種とが区別されていたことが支持された。また、関東（千葉県）地方品種群の個体の散布は北陸地方品種群の個体の散布とほとんど重なり、分別できなかった。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、従来、クローン混系と考えられてきたスギのさし木在来品種について、国及び公立の総計11林業試験研究機関に集植されている九州、山陰、北陸および関東（千葉県）の各地方産の104品種について513個体の針葉抽出液を試料としてアイソザイム分析を行い、個体のアイソザイム遺伝子型

によって品種内のクローン数を明かにし、各品種の類縁関係を調査する目的で実施した。スギさし木在来品種のクローン構成をアイソザイム遺伝子型で判定するという手法の開発、実際のクローン分析への応用結果、さらに判別分析による品種群の類縁関係の解析等はすぐれた研究成果である。また、このクローン分析の手法は、現実のスギさし木在来品種の成木林分へ適用すれば、きわめて効果的に遺伝・育種的な調査が可能である。すなわちクローン分析が完了した林分で品種内の異クローンの樹幹解析等によって、成長、環境反応性、各種被害に対する抵抗性、さらに樹齢効果等の特性を短時日の間に明かにすることができ、応用性も非常に高い。以上により本論文はすぐれた内容をもったものと評価される。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。