

氏 名(本 籍)	戸 ^と 丸 ^{まる} 信 ^{のぶ} 弘 ^{ひろ} (群 馬 県)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 957 号
学位授与年月日	平成 4 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の人工林および精英樹の遺伝的変異に関する研究
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 農学博士 山 口 彰
副 査	筑波大学助教授 農学博士 荒 木 眞 之

論 文 の 要 旨

スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) はわが国の最も有用な造林樹種の一つであり、現在人工林のうちスギが約451万ha(面積割合44%)を占めている。またスギの造林には実生苗、さし木苗が用いられている。さし木苗による造林は九州地方をはじめとする西日本のいくつかの地域で行われているが、他の多くの地域では実生苗による造林が主体である。一方1957年から精英樹選抜育種事業が開始され、約3,600本のスギ精英樹が登録されている。これらの精英樹の92%は人工林から表現型によって選抜されたものである。

本論文は、自然淘汰に対して中立と考えられるアイソザイム遺伝子を遺伝標識としてスギの実生人工林と精英樹の遺伝解析を次の遺伝育種観点から進めた。

- (1) スギという種が保有する遺伝的変異の大きさを推定するため遺存的に残っている天然林とともに、人工林も解析し、比較検討する必要がある。
- (2) スギの実生林分間には遺伝的な差があると推測されるが、それは林分が由来した採種源の遺伝子組成に違いがあることから生じると考えられる。
- (3) 精英樹は遺伝的に優れた事業用種苗を生産するだけでなく、将来の遺伝育種を進めるための育種母材となるものである。そして精英樹選抜は一林分から優れた表現型をもった一個体もしくは数個体を選ぶものであった。そこである地域内の林分と精英樹群の間の遺伝的な差異の有無、その程度を明らかにする必要がある。

前記の目的のため次の3通りのスギ材料を調査・分析した。①人工林の地域的な遺伝変異をみるため6地域(秋田県の阿仁と湯沢、山形県小国、富山県東部、静岡県天竜、奈良県吉野)に位置す

る44林分の2,417個体を調べた。②精英樹群の地域的な遺伝変異をみるため青森県から鹿児島県にわたる4育種基本区,15育種区で選抜された1,941個体を調べた。なお精英樹の解析では一つの育種区の精英樹をまとめて精英樹群として解析した。③人工林と精英樹の遺伝的關係をみるため茨城県の人工林14林分,1,330個体と精英樹93個体を調査した。

これらのスギ材料から成長休止期に針葉を採取し、凍結保存し、逐次電気泳動に供した。

アイソザイム分析は次の処方により実施した。すなわち採取した針葉を液体窒素で破碎し酵素抽出を行い、それを試料としてポリアクリルアミドゲル垂直平板電気泳動をした。電気泳動終了後、9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ダーゼ）について活性染色を行い、アイソザイム遺伝子を検出した。分析した遺伝子座は9酵素種を支配する総計12遺伝子座（*Shd-1*, *Shd-2*, *6Pg-1*, *6Pg-2*, *Gdh*, *Dia-3*, *Mnr*, *Got-1*, *Got-2*, *Pgm-2*, *Lap*, *Aap*）であった。

アイソザイムのバンドパターンから個体別に遺伝子型を読み取り、ついで林分ごとあるいは精英樹群ごとに遺伝子頻度を求めた。この遺伝子頻度から多型的遺伝子座の割合, 1遺伝子座あたりの対立遺伝子数, 平均ヘテロ接合度の観察値, 遺伝距離を求め、さらに主成分分析, 正準判別分析などの集団遺伝学的な解析を行った。

(1) スギ人工林のアイソザイム変異

調査したスギ人工林が保有する遺伝的変異量は、既往の報告によるスギ天然林のものと同程度かやや大きかった。この理由として、①スギ天然林はかつて保有していた遺伝的変異を人間の伐採によって失っている、②スギ人工林はその造成の初期には天然林から直接採取した種苗で造成されたと推測され、したがって人工林はかつての天然林が保有していた遺伝子群を保有している可能性がある、③複雑の産地（採取林分）の種子をもとに各地のスギ林分が造成された可能性が考えられること、が推測された。

林分間の遺伝距離の平均値は0.008と小さかったことから調査した人工林は地理的に遠く離れているにもかかわらず、全体的には均一な遺伝子組成をもっていた。しかし調査範囲の緯度で両極にある阿仁の林分と吉野の林分の間で求められた遺伝距離（平均0.019）は両者の遺伝的な差が若干大きいことを示した。また対立遺伝子頻度の地域間の差は統計的に有意であり、特に吉野地方で*6Pg-1^b*の頻度が、また阿仁（秋田）で*Dia-3^a*の頻度が高いという地域的な分布の偏りがみられた。主成分分析および正準判別分析の結果、これらの遺伝的差によっていくつかの地域の林分が判別できることを示した。ある採種源産の種苗が広い地域にわたって利用されることにより、各地域のスギ人工林の遺伝的組成は人為的攪乱が起こっている可能性がある。しかし植栽地域の環境条件とは大きな相違がある地域の採種源からえられた種苗は植栽地に適応できない場合がある。かつて吉野スギの種子が日本各地に導入され、各地で多くの不成績造林地が発生した事実がよくそれを証明している。本研究の結果はそのことを支持しているものと考ええる。すなわち各地域のスギ人工林は弱いながらも遺伝的な地域性を保持していると考えられる。

(2) スギ精英樹群で推定された遺伝的変異量は、先に述べたスギ人工林のものと同程度か、やや小さかった。また精英樹の地域的な遺伝変異の一部は先の人工林でみられたものと同様であり、 $6Pg-1^b$ の対立遺伝子頻度は九州地方の精英樹群で高いという地域的な分布の偏りがみられた。またそれ以外の頻度の低い対立遺伝子には地理的な分布の偏りがあった。また主成分分析の結果は、特に九州精英樹群と東北の精英樹群間に遺伝的な差が大きいことを示した。精英樹の遺伝的変異はある程度選抜された林分の遺伝的変異を反映していると推察された。

(3) スギの人工林と精英樹の遺伝的關係

茨城県内で選出された精英樹群で求められた遺伝的な変異量を表す3統計量（多型的遺伝子座の割合、1遺伝子座あたりの対立遺伝子数および平均ヘテロ接合度の観察値）の値は茨城県内で調査した14林分のものと大きな違いはみられなかった。対立遺伝子頻度を用いた不均一性の検定値では、検定を行った5座すべてで両者間に統計的な有意性はなかった。したがってこの3統計量と不均一性の検定結果から考えると、全体的には9遺伝子座においては精英樹と人工林はほぼ同様な遺伝変異を保持していると推測できる。

しかし検出した対立遺伝子数は比較した9遺伝子座において林分では合計33対立遺伝子を検出したが、精英樹ではそのうちの25対立遺伝子（76%）のみが検出された。この原因として「分析数の効果」、すなわち林分では合計1,330個体を分析したが、精英樹ではわずか94個体を分析しただけであったこと、および精英樹が高い選抜圧で選抜されたことに起因すると考えられた。精英樹群では選抜地域の林分がもつ頻度の低い対立遺伝子を失っており、したがって精英樹は選抜地域の林分の遺伝変異を完全に保持しているとは限らないことが示唆された。

以上の結果は将来のスギの遺伝育種学的研究を進める上で重要な基礎データになるものと考えらる。

審 査 の 要 旨

本研究はアイソザイム遺伝子を利用して、①スギの地域別の実生人工林間、②地域別の精英樹群間及び③一地域内の実生人工林と精英樹群の間の遺伝的差異を遺伝育種学的観点から集団遺伝学的手法を用いて調査分析したものである。実生人工林の遺伝変異量は天然林のそれと大差なく、多変量解析の手法を用いこれらの人工林間において特定の対立遺伝子頻度には地域的な分布の偏りがあることから判別可能な林分があることを示した。地域別の精英樹群においても、前記とほぼ同様な結果をえた。一地域（茨城県）内の実生林分と精英樹群については遺伝子頻度を平均的に比較する解析においては差異がないものの、林分において頻度の低い対立遺伝子が精英樹群で欠落する事実を示した。以上のスギ人工林の総合的な遺伝育種学的研究はわが国では初めてのものでスギの遺伝研究上、さらに将来のスギの育種実行、また計画立案上きわめて高く評価されるものである。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。