

数種のマツ属植物のアイソザイム

林業試験場九州支場 白石 進・上中久子
九州林木育種場 戸田忠雄

1. はじめに

アイソザイム手法は、林木の遺伝育種的研究にも多く用いられてきた^{1),2)}。我が国における現在までの研究のほとんどは、対象組織・酵素として針葉のパーオキシダーゼ・アイソザイムに関するものである。今後、アイソザイム手法を用いた研究をより発展させるためには、遺伝的変異をより適確にとらえる必要があり、そのためには、アイソザイムの遺伝様式を明らかにし、できるだけ多くの酵素、すなわち遺伝子座を対象としなければならない。とくに、集団遺伝学的方法を試みる場合には、このことが重要と考えられる。

そこで、その第一歩として、遺伝子支配の解析と多種の酵素の検出が容易な雌性配偶体(n)を供試組織として用い、マツ属7樹種の11酵素種について、各酵素の検出とそのザイモグラムについて調べた。

2. 材料と方法

供試した種子は、表一

表一 供試母樹

樹種	母樹数
クロマツ	3本
アカマツ	2
タイワンアカマツ	4
マンシュウクロマツ	1
テーダマツ	4
スラッシュマツ	1
リキテーダマツ(F1)3	

表二 調査酵素種

略号	酵素
1. ADH	アルコール脱水素酵素
2. α-GPDH	α-グリセロリン酸脱水素酵素
3. SDH	ソルビトール脱水素酵素
4. G2DH	グリセリン酸脱水素酵素
5. MDH	リンゴ酸脱水素酵素(NAD依存)
6. GDH	グルタミン酸脱水素酵素
7. TZO	テトラゾリウム酸化酵素
8. GOT	アスパラギン酸アミノ転移酵素
9. Acp	酸性フォスファターゼ
10. Amy	アミラーゼ
11. Lap	ロイシンアミノペプチダーゼ

1に示した7種18母樹から1980年10月に採取、低温保存しておいたものを用いた。各家系当り3個の種子を4℃の水に4時間浸漬し、さらに約4週間低温処理(4℃)を行なった後、各種子ごとに雌性配偶体を取り出し、約100μLの抽出液(50mMTris-HCl, pH7.5, 2mMDTT, 1mMNAD, 1mMNADP)を加え、ホモジナイズしたのち、7,000×g, 0℃, 20分間の遠心分離を行ない、その上清液を電気泳動に供した。泳動は、平板アクリルアミド垂直電気泳動法により、ほぼDavisの原法に従い、10mA/cm², 4℃の条件下で約3時間行なった。泳動後のゲルは、各々、染色液に浸漬し、表一2に示した11種類の酵素について調べた。

3. 結果および検討

調査した11酵素種のうち、α-GPDHが全ての樹種で、またSDHがスラッシュマツ、Acpがアカマツとマンシュウクロマツで検出できなかった他は、バンドが出現し、雌性配偶体が多数の酵素種を用いる場合に有用な組織であることが確認された。MDHは、今回用いた検出方法では過染色となり、バンドの判読が困難で、今後、改良が必要である。

α-GPDHとMDHを除く9酵素について、各樹種で出現したザイモグラムを図一に示した。このうち、Tzo, Amy, Acpは各個体の保持バンド数が多く、逆に、ADH, G2DH, Lap, GDHは少なかった。今回は、各樹種とも調査点数が少ないために、種内、種間変異については明らかにできなかったが、Acp, Amy, Lap, SDH等で、かなり多型的であることが推測された。また、二葉マツと三葉マツグループ間で、ADH, GOT, TzoのRf30~50に出現するバンドに違いが認められた。これらのバンドは、今後、二葉マツと三葉マツを分けるためのマーカー遺伝子として使える可能性がある。

今回は、調査した樹種数、各樹種の母樹数とも少なかったが、今後、マツ属植物においては、多くの酵素の検出が容易な雌性配偶体を用いて、多数の遺伝子座で対立遺伝子レベルの比較を行なうことにより、種の分類およびその系統関係等も、アイソザイムの面から明らかにできるものと思われる。

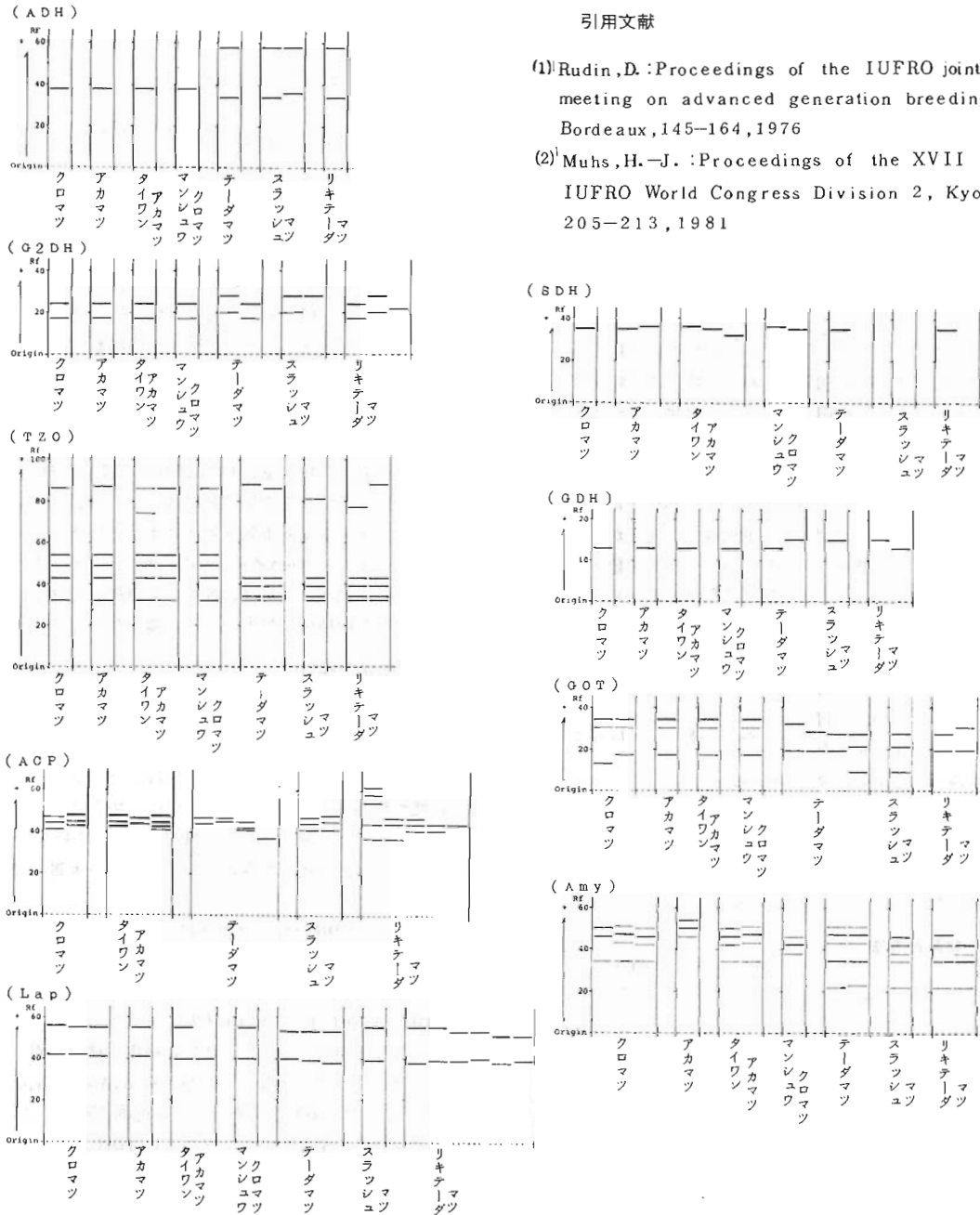


図-1 各樹種で出現した9酵素種のサイモグラム

引用文献

- (1) Rudin, D.: Proceedings of the IUFRO joint meeting on advanced generation breeding, Bordeaux, 145-164, 1976
- (2) Muhs, H.-J.: Proceedings of the XVII IUFRO World Congress Division 2, Kyoto, 205-213, 1981