

2 酵素種のザイモグラムによるアヤスギ系精英樹の分類

九州林木育種場 西村 慶二

1. はじめに

九州育種基本区域内で選抜されたスギ精英樹 623 クローンについて、その林分の成立由来を見ると、実生系の精英樹 264 個体、さし木系 251 個体、不明 108 個体となっている。この中のさし木系クローンを表現型によって在来品種系統に分類したところ、139 個体について区分することが出来た。

在来品種については、造林、材質特性などがかなり解明されていることから、精英樹クローンと在来品種との類縁関係が明らかにされるならば、次代検定の目的のかなりの部分が達成されることになる。また、採種園管理上、使用クローンの選択、クローン配置、あるいは第二次精英樹の選抜対象林造成用の交配計画を立てる場合、近交係数の抑制などその意義は大きい。

このようなことから、現場においてはスギ精英樹と在来品種の類縁関係をより確かにするために、澱粉ゲルを支持体とした電気泳動法によってパーオキシダーゼ・アイソザイムの比較を九州各県と共同で実施してきた。

最近では澱粉ゲルに代わって、分離能、再現性、ゲルの強度・取扱い易さなどの点で優れるとされる、アクリルアミドゲルを支持体とした方法が多く利用されている。そこで、今回は澱粉ゲルによるザイモグラムがシャープでなかったアヤスギ、ホンスギ、アカバ系の精英樹 25 クローンと当該内に集植しているアヤスギ、星野ホンスギ、ニンジンバ、アカバホンスギ、矢部アカバ、アオバ、アオバホンスギについてアクリルアミドゲルを支持体にしたパーキオスターゼ (POD)、ロイシンアミノペプチターゼ (Lap) の 2 酵素種による分類を行った。泳動方法について終始ご指導頂いた筑波大学農林学系大学院生奥泉久人氏にお礼申し上げます。

2. 材料及び方法

供試材料は、当該内のスギ採種園から 1989 年 8 月中旬に採種し、5℃に調整した冷蔵庫で 1 週間水ざししたものをを用いた。

試料の調整は、冷蔵庫から取り出した試料から、針葉 100mg をすばやくハサミで切り取り、前日から 5℃の冷蔵庫で冷やしておいた乳鉢にいれ、これに液体窒素を満たし、乳棒を用いて細かく砕いた。パウダー状になった試料に 100mg のポリキュラー AT と 1ml の抽出緩衝液を加えて、タンパク質を緩衝液中に抽出した。得られた粗抽出液は高速遠心分離 (54600 × G, 0℃, 50 分間) し、上澄み液を電気泳動の試料として用いた。緩衝液、泳動方法、染色方法などは、白石の方法^{3, 9)} に準じた。

3. 結果および考察

1) ゲルの違いによる得失

これまでの実験結果から、澱粉ゲルとアクリルアミドゲルによるバンドの出現状況を見ると、澱粉ゲルに比べてアクリルアミドゲルのほうが優れている点として、1) Rf 値 20~30mm の範囲のバンドの分離能が良い、2) 再現性が高い、3) 保存し易い。欠点としては 1) 試料の調整が複雑、2) Rf 値の高い位置の分離が悪いなど一長一短があるようである。このようなことから、単一酵素種で品種同定を行うとしたら、Rf 値の高いところのバンドも比較的分離する澱粉ゲルが望ましいと思われる。しかし、少数の鮮明なバンド観察で多くの酵素種を調査するには再現性、保存性に優れているアクリルアミドゲルのほうが良いと思われる。

2) アヤスギ系精英樹の分離

図-1 にスギ精英樹 25 クローンと 7 在来品種の POD 及び Lap のザイモグラムおよび特性値¹⁾ を掲げた。

今回の実験では、POD の分離能が Lap バンドのそれに比べて良好だったので、POD バンドを主体にアルファベットと数字によって、精英樹クローンと在来品種のグルーピングを行った。アルファベットに割り付けたクローンの順位には特に意味はない。

同一アルファベット内のクローン・品種は、特に POD バンドの出現が似通ったものである。その中でも特に Lap バンドと特性値の似通ったものを同一数字で示した。

グループ分け		在来品種及び 精 英 樹 名	POD. バンド					Lap. バンド	特 性 値						
今回	前回		A	B	C	D	EFGHI	ABCDEF	樹高	幹曲り	着果性	発根性	針葉型	冬葉色	
A 1		アヤスギ												3	
A 2	B	阿 蘇 1								1~5	3.3	1	5	2	4
A 3	B	阿 蘇 5								2	3.5	1	5	2	5
A 4		星野ホンスギ												3	
A 5		ニンジンバ												2	
A 6		アカバホンスギ												3	
A 7		矢部アカバ												2	
A 8	A	福 岡 署 1								5	2	1	5	2	5
A 8	A	福 岡 署 2								4	1	1	5	2	5
A 8	A	田 川 8												1	
A 9	A	甘 木 4								4	5	1	5	2	4
A 10		田 川 2												1	
A 11	A	八 女 10								5	3	1	5	2	6
A 11		田 川 1												1	
A 12		浮 羽 5								1	4	1	5	4	4
B 1		ア オ バ												?	
B 2		アオバホンスギ												2	
B 3		浮 羽 10								3	3	1	3	2	5
B 4		浮 羽 7								2	3	1	3	1	6
B 5	H	田 川 3												2	
B 6	A	佐 伯 6								4.7	2.7	1.7	5	2	6
C	F	八 女 9								4	5	3	3	4	6
D	E	唐 津 6								2	2.5	1	4	3	4
E		浮 羽 1												1	
F	B	浮 羽 8								4	4	1	3	2	4
G		浮 羽 6								2	4	1	1	2	4
H 1		浮 羽 9												1	
H 2	B	藤 津 14								3.5	2	1	5	2	6
I	G	浮 羽 2								1	5	1	1	2	2
J	C	白 杵 12								3	2.5	1	5	1	4
K	D	佐 伯 13								5	5	1	5	2	5
L	I	日 田 1								4.3	4.7	1	4	1	4

図-1 アヤスギ系在来品種と精英樹のPOD及びLapのバンド模式

また、前回澱粉ゲルを支持体としたPODバンドによるグループ分けも示している²⁾。

以上のグループ分けに基づいて、さらに当場内の樹木園、採穂園に定植されている個体を10月現在の針葉色、針葉型等の表現型によって観察したところ、Aグループにおいては県浮羽5、Bグループでは県浮羽10、県佐伯6が同一グループ内のものと異なり、またHグループの県浮羽9、県藤津14は互いに異なっていた。

各グループ内において、PODバンド、Lapバンド、特性値のすべてが似通ったものを同一数字で示しているが、これらのクローンは今回の観察結果から同一クローンである可能性が非常に高い。

一方、Bグループの県浮羽10、県佐伯6、グループの県浮羽8、Hグループの県浮羽9の針葉形態はAグループに近いものであった。

以上の結果からアヤスギ系精英樹はA、B、HとC~L

の12グループに分けることが出来た。この中で県浮羽5を除いたAグループの精英樹はアヤスギ系と断定出来そうであるが、他のものについては現在のところ在来品種への位置づけは困難である。また、Aグループ以外の精英樹で針葉形態がAグループに似ていた県浮羽8、9、10、県佐伯6についてはさらに詳細な調査を行う予定である。

引用文献

- (1) 九州地区林業試験研究機関協議会(育種部会): スギ精英樹特性一覧表, pp. 40, 1987
- (2) 九州林木育種場: 九州地区林業試験研究機関協議会(育種部会) 会議資料: pp. 12, 1976
- (3) 白石 進: 林木の育種, No. 142, 23~25, 1987
- (4) ————: 同上, No. 143, 34~38, 1987