

マツノザイセンチュウ抵抗性クローンの諸特性 (V)

— クロマツの分類・同定 —

九州林木育種場 西村 慶二

1. はじめに

クロマツのマツノザイセンチュウ抵抗性個体は、関西・四国・九州の林木育種場管内で16個体が選定された。これらのクローンは0.12%以下¹⁾の高い選抜率によって選ばれたもので、長い年月と多大な労力を費やした貴重な育種母材料である。

これらの母材料は現在3育種場のクローン集植所に保存されており、各クローンの諸特性の把握及び遺伝様式の解明、抵抗性遺伝子の集積を行うなどの交配に用いられている。また、各県の採種園設定用のつぎ木苗生産にも利用されている。

選抜された個体の原種は遺伝子型としてさし木、つぎ木などの無性繁殖で保存される。しかし、マツ類は一般にさし木による増殖は難しく、もっぱらつぎ木に頼らざるを得ない。

つぎ木苗はさし木苗と異なりつぎ木後の管理しだいではつぎ穂部の枯死などによって台木部が成長し、目的とした個体と異なるものになるなど、さし木に比べてコンタミネーションの起こる確率が高い。また、マツ類は元々実生繁殖が主であることから、表現型によるクローン識別の手段が確立されておらず、外部形態による分類・同定は困難である。

このようなことから、(1)遺伝子の一時産物であるために環境の影響をほとんど受けない、(2)自然淘汰に対して中立であるために消滅する危険がない、(3)対立遺伝子間に優劣関係がないなど、品種識別に有効であるとされている同位酵素による分類・同定を行った。

本調査を進める上で、泳動方法、ザイモグラムの判読などについて終始ご指導、ご協力いただいた九州大学白石 進助教授、九州林木育種場田島正啓課長、藤沢義武育種研究室長に厚くお礼申し上げます。

2. 材料と方法

今回分類・同定を行ったのは1978年から1987年に

実施されたマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業において、関西林木育種場で1個体、同四国支場で7個体、九州林木育種場で8個体選定された計16個体である¹⁾。

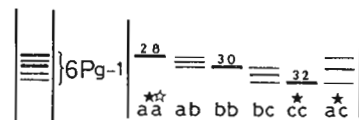
供試材料は、当場内のマツノザイセンチュウ抵抗性クローン集植所から1990年2月下旬に採取した針葉である。これを-20°Cのストッカーに保存して随時使用した。

電気泳動はポリアクリルアミドゲルを支持体とした、平板ポリアクリルアミドゲル垂直電気泳動法によった。今回調査した同位酵素は、これまでに針葉を供試組織として使用した場合に十分な活性が得られた酵素種²⁾である6-ホスホグルコン酸脱水素酵素(6PG)、シキミ酸脱水素酵素(ShD)、ロイシニアミノペプチダーゼ(Lap)、グリセリン酸脱水素酵素(G2D)、アスパラギン酸アミノ転移酵素(GOT)の5種類である。また、遺伝子型の同定は5酵素種7遺伝子座について行った。

供試材料の調整、抽出、染色と今回検出した酵素種ごとの各遺伝子座における泳動型から推定する遺伝子型は林木育種協会発行の「昭和63年度審査技術開発調査報告書(林木の同位酵素分析)²⁾に準じた。

3. 結果及び考察

調査の結果、GOTについてはバンドの検出が出来なかった。また、ShDを支配している一つの遺伝子座(Shd-1)についてもバンドが不鮮明であったために分類・同定の参考としなかった。残りの4酵素種5遺伝子座におけるバンドパターンと遺伝子型の対応は図1~4のとおりである²⁾。



★: 引用文献²⁾で検出されていない遺伝子型
☆: 抵抗性クローンで検出されなかった遺伝子型
バンドの上の数値はRf値を表す

図-1 6Pg-1 遺伝子座における泳動型と遺伝子型

6Pgの遺伝子座では、出現したバンドは5本でこれらの組合せで出来る6種類のバンドパターンに対応する6遺伝子型のうちa/aを除いた5遺伝子型が出現した。

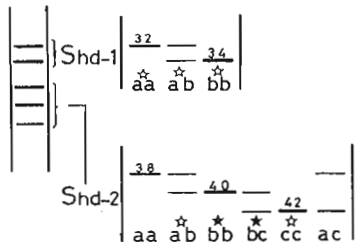


図-2 Shd-2遺伝子座における泳動型と遺伝子型

Shd-2によって出現したバンドは3本でこれらの組合せによって出来る6種類の遺伝子型のうちa/b, c/cの2遺伝子型を除いた4遺伝子型が出現した。

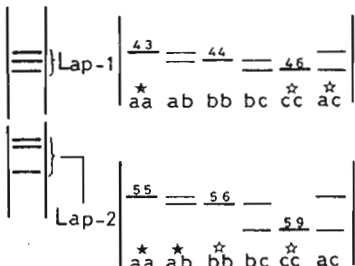


図-3 Lap-1, 2遺伝子座における泳動型と遺伝子型

Lap-1では出現したバンドは3本でこれらの組合せによって出来る6種類の遺伝子型のうちc/c, a/cの遺伝子型を除いた4遺伝子型が出現した。Lap-2では出現したバンドは3本でこれらの組合せによって出来る6種類の遺伝子型のうちb/b, c/cの2遺伝子型を除いた4遺伝子型が出現した。

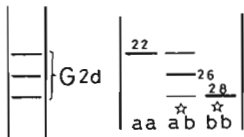


図-4 G2d遺伝子座における泳動型と遺伝子型

今回出現したG2d遺伝子座のバンドは1本だけで、それはRf値からa/aの遺伝子型であることが確認された。この遺伝子座においてすでに存在が確認されているa/b, b/bの2遺伝子型のもの1個体も存在しなかった。

調査したマツノザオセンチュウ抵抗性クローンの各遺伝子座における遺伝子型をタイプごとに並べ替えたものを表-1に示した。その結果、6Pg遺伝子の遺伝子型が不明であった小浜ク-24, 三崎ク-90の2クローンを除いた14クローンでは、1クローン1遺伝子型と

なり、クローン同定を行うことが出来た。

今回の場合には4酵素5遺伝子座のみでクローンの種類・同定を行ったがクロマツでは種子中の胚乳(雌性配偶体)を用いて19種類の酵素における遺伝子分析が行われ、既に37遺伝子座、120対立遺伝子が明らかにされている⁹⁾ことから、検出する酵素種を増やすことによって分類・同定の精度はより高くなるであろう。

このように、クロマツ抵抗性クローンの遺伝子型が同位酵素による電気泳動パターンから判読出来たことから、今後予想される抵抗性クローン種苗間のコンタミの検出や交雑苗の家系追跡が可能となった。

図-1~4に関東育種基本区内で選抜されたアカマツとクロマツ計20の精英樹クローンにおいて出現しなかった遺伝子型²⁾と、マツノザイセンチュウ抵抗性クローンで出現しなかった遺伝子型を示した。その結果育種基本区の遺伝子型の出現に違いが見られたが、これが地域性によるものか今のところ不明である。

表-1 マツノザイセンチュウ抵抗性個体の遺伝子型

クローン名	遺 伝 子 座					選 抜 機 関 名*
	6Pg	Shd-2	Lap-1	Lap-2	G2d	
大瀬戸ク-12	a/b	a/a	b/b	a/b	a/a	九州
大分ク-8	a/c	a/c	a/b	a/a	a/a	九州
川内ク-290	a/c	a/c	a/b	a/c	a/a	九州
津屋崎ク-50	b/b	a/a	b/b	a/a	a/a	九州
波方ク-37	b/b	b/b	a/b	a/b	a/a	四国
波方ク-73	b/b	b/b	b/b	b/c	a/a	四国
小浜ク-30	b/c	a/a	b/b	a/c	a/a	九州
志摩ク-64	b/c	-	b/b	a/a	a/a	九州
吉田ク-2	b/c	-	b/b	a/b	a/a	四国
土佐清水ク-63	c/c	a/a	a/a	a/a	a/a	四国
夜須ク-37	c/c	a/a	a/a	b/c	a/a	四国
田辺ク-54	c/c	b/c	b/b	b/c	a/a	関西
願娃ク-425	c/c	b/c	b/c	a/b	a/a	九州
小浜ク-24	-	a/a	a/a	a/a	a/a	九州
三崎ク-90	-	a/a	b/b	a/b	a/a	四国
三豊ク-103	-	b/c	a/b	a/c	a/a	四国

* 国立林木育種(支)場名

引用文献

(1) 藤本吉幸: 林木育種研報, 7, 1~84, 1989
 (2) 昭和63年度審査技術開発調査報告書(林木の同位酵素分析), pp. 54, 林木育種協会, 1989
 (3) SHIRAISHI, S.: Silvae Genetica, 37: 96~100, 1988