

## 論文

## 展示林に植栽されているオビスギさし木品種群の RAPD 分析\*1

三樹陽一郎\*2

オビスギ群のクローン構成を把握するためには、まず品種の基準となる個体(群)を正確に決定する必要がある。本研究では複数の展示林から材料を採取し、13プライマー・14マーカースバンドでRAPD分析を行った。その結果、供試した149個体は23のDNA型に分類された。展示林の18の品種区(品種札の該当する植栽区域)のうち12品種区が単一のDNA型、6品種区が複数のDNA型で構成されていることが認められた。また、複数の品種区から同一のDNA型が検出され、異なる品種が混在した品種区のあることが示唆された。

## I. はじめに

オビスギ群は宮崎県飫肥地方及び同県東南部を中心にさし木造林が行われてきた品種群である。それらの品種は複数個体或いは単一個体からさし木によって増殖された分生個体群と考えられており(3)、これまでも各品種の識別・分類が行われている(4, 5)。さらに品種のクローン構成を正確に把握・管理するためには、まずDNAを利用した品種基準木の特定が必要と考えられる。そこで複数の展示林から材料を採取し、RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)マーカーを用いて、各品種におけるDNA型の決定を行い、その結果について検討したので報告する。

## II. 材料と方法

1. 供試材料: 供試材料は、宮崎県南那珂郡北郷町谷之城にある林齢36年生の町有展示林(以下、谷之城展示林)から、15品種区30個体、同町大野にある林齢22年生の町有展示林(以下、大野展示林)から、15品種区50個体及び宮崎県林業技術センター内の林齢10年生の展示林(以下、センター展示林)から、18品種区69個体、計149個体のそれぞれから当年葉を採取した。なお、谷之城展示林及び大野展示林は造成時に地元篤林家が品種選抜に携わっており、その一部は旧林業試験場を介し、センターの展示林に植栽された経緯がある。

2. DNAの抽出とPCR反応: 採取した葉約100mgを乳鉢で凍結粉碎し、DNA抽出キット「Plant Genomic DNA Extraction Mini(バイオジーン・バイオテック社)」で全DNAを単離した。PCR反応の諸条件は後藤ら(2)の報告に従った。プライマーは同報告の中からOPA-14, OPD-02, OPF-19, OPR-09, OPS-07, OPS-19, OPX-04, FB-04, 高田ら(6)が報告した中からOPO-08, さらにオペロン社製プライマー275種類をスクリーニングした中から極めて増幅効率が良くかつ再現性の高かった4種類(表-1)を選抜し、計13プライマー・14バンドを用いてDNA型を決定した。なお、サーマルサイクラーはTP3000(TaKaRa社)を使用した。

表-1. 今回のRAPD分析で新たに追加したプライマーの塩基配列とマーカーバンド

プライマー名	塩基配列(5'-3')	マーカーバンド(bp)
OP K-20	GTGTCGCGAG	580, 700
OP Q-04	AGTGCGCTGA	690
OP AG-04	GGAGCGTACT	370
OP AH-19	GGCAGTTCTC	640

## III. 結果と考察

DNA型に用いた14マーカーにおけるバンドの出現の有無から分類した結果を表-2に示す。供試した18品種区149個体は23タイプのDNA型に分けられた。各品種区ごとのDNA型数は12品種区が単一のDNA型個体で構成されており、6品種区が複数のDNA型個体で構成されていることが認められた。一方、各DNA型ごとの品種区の総数は最大で3品種区から同一のDNA型が検出されたが、DNA型No. 15の1タイプのみであった。続いて2品種区が3タイプ(DNA型No. 1, 7, 12), 1品種区が19タイプ認められた。

品種区別に述べると、キタゴウアラカワ, ハアラ, カラツキ, タノアカ, アオシマアラカワ, イボアカ, エダナガ, チリメントサ, ガリンの各品種区から採取した個体は単一のDNA型個体で構成され、かつ他の品種区とDNA型を共有していないため、品種固有のDNA型である可能性が高いと考えられた。

ヒダリマキ区(品種札がヒダリマキと表示され、その該当する植栽区域)の供試個体は2タイプのDNA型個体で構成され、他の品種区とDNA型を共有しておらず複合クローンと考えられた。

トサアカ区は全品種区の中で最も多い4タイプのDNA型で構成されていた。そのうちDNA型No. 9, 13, 20の3タイプは他の品種区と共有しておらず、複合クローンの可能性が考えられた。残る1タイプのDNA型(No. 15)は、ハンゴロ区における供試個体すべてが示すDNA型と同一であった。谷之城展示林のトサアカ区にハンゴロが混入していることはアイソザイムによる分析(1)でも確認されているので、DNA型No. 15を示した1個体は

\*1 Mitsugi, Y.: RAPD analysis of cutting cultivars of the Obi-sugi group in *Cryptomeria japonica* sample plantations

\*2 宮崎県林業技術センター Miyazaki Pref. Forestry Tech. Cent., Saigou, Miyazaki 883-1101

混入によるものと考えられた。

ゲンベエ区は3タイプ (DNA型No. 7, 15, 21) のDNA型個体で構成されていた。このうちDNA型No. 21は他の品種と共有していないため、ゲンベエ固有のDNA型であると考えられる。DNA型No. 7及びNo. 15はオビアカ区及びハングロ区のDNA型と一致した。この両区は単一のDNA型個体で構成されていることから、この2つのDNA型はオビアカ、ハングロそれぞれ固有のDNA型である可能性が高い。これらのことから、ゲンベエ区には何らかのミスによりオビアカとハングロが混入したと推察された。

クロ区は供試した9個体のうち、8個体はすべて同じDNA型 (No. 19) で他の品種区との共有は認められなかったが、1個体だけがトサグロ区と同一のDNA型 (No. 1) を示した。この1個体は大野展示林内に植栽されているが、樹高が全体の個体群と比較して極めて低く、補植の際、クロ区に何らかのミスでトサグロが植栽されたものと推察された。また、これらのことからトサグロ区の全個体が保有するDNA型No. 1は、トサグロ固有のDNA型であると考えられる。

ヒキ区は3タイプのDNA型個体で構成されていた。このうちDNA型No. 5及びNo. 6は他の品種区との共有は認められなかったが、DNA型No. 12はミゾロギ区の一部の個体と一致した。一方、ミゾロギ区は谷之城展示林及びセンター展示林の供試個体は同一のDNA型で構成され、他の品種区ともDNA型を共有していなかった。しかし、大野展示林の供試個体はヒキ区のDNA型No. 12と一致した。ヒキとミゾロギの明確な評価を行うには、さ

らに詳細な調査が必要である。

今回の分析から、一部に品種の混在が確認された。オビスギ品種展示林は品種の代表的な個体が集植されており、遺伝資源として貴重な林分である。これらの個体(群)は品種整理、品種別試験等に活用でき、遺伝的正確性はさらに重要なものとなってくる。このため、植栽ミスや品種札の表示ミス等によるノイズを排除した品種のクローン構成の解明が急務であり、さらにDNA型のデータ蓄積を図る計画である。

本研究にあたり、九州大学農学部の白石進博士及び福岡県森林業技術センターの宮原文彦氏には貴重なご助言を頂いた。ここに厚く謝意を表します。

## 引用文献

- (1) 深江伸男・細山田典昭 (1977) 日林九支研論 30 : 85-86.
- (2) 後藤 晋ほか (1999) 日林誌 81 : 187-193.
- (3) 宮島 寛 (1989) スギの林業品種. (九州のスギとヒノキ, 275pp, 九州大学出版会, 福岡). 29-34.
- (4) 奥泉久人・大庭喜八郎 (1990) 日林誌 72 : 501-507.
- (5) 佐藤敬二ほか (1971) 宮崎県. (九州地方におけるスギ在来品種とその特性に関する調査研究報告書, 293pp, 熊本営林局, 熊本). 49-62.
- (6) 高田克彦・白石 進 (1996) 九大演報 75 : 1-14.

表-2. 供試個体のRAPD マーカーによる分類

DNA型 No.	品 種 区 名																			品 種 区 の 個 体 数
	トサグロ	キタゴウアラカワ	ハラ	オビアカ	カラツキ	タノアカ	ハングロ	イボアカ	エタナガ	チリメントサ	ガリン	クロ	ヒタリマキ	ミゾロギ	ヒキ	ゲンベエ	トサアカ			
1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
2	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
4	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
5	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
6	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
7	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
8	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
9	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
11	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
12	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
13	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
14	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
15	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
16	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
17	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
18	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
19	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
21	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
22	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
23	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
DNA型数	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	4	4	1
個体数	9	8	9	9	9	9	7	4	10	9	9	8	9	10	7	10	4	10	9	9

(2001年11月26日 受理)