

論文

鹿児島県におけるスギさし木品種と精英樹20クローンの RAPD 分析*1

小山孝雄*2

小山孝雄：鹿児島県におけるスギさし木品種と精英樹20クローンの RAPD 分析 九州森林研究 57：77-79, 2004 鹿児島県におけるスギのさし木品種10品種とスギ精英樹特性表によりメアサとされる鹿児島県民有林選抜精英樹20クローンとの関係を明らかにするために DNA 分析を行った。その結果、さし木品種10品種はそれぞれ異なる DNA 型を示し、精英樹20クローンについては9クローンがメアサの DNA 型、11クローンがさし木品種とは異なる8種類の DNA 型を示した。この結果から、さし木品種10品種はそれぞれ異なる個体であることやメアサとされる精英樹20クローンは複数のクローンで構成されていることが示唆された。

キーワード：RAPD, スギ, さし木品種, 精英樹, メアサ

I. はじめに

鹿児島県では古くからスギのさし木造林が行われ、多数のさし木品種が育成されてきた。これらの中には、メアサのように、主として九州中・南部の広範囲にわたり古くから植栽されている品種や、ハライガワ、キジン、オドリ、ヤマダ、ヤマンカミグロなどのように、吉野杉などの実生系スギから選抜育成された品種などがあるとされている(4)。本県のさし木品種については、これまで外部形態による分類やアイソザイム分析、RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA) 分析による分類の結果から、識別・分類が行われている(4, 5, 8)。また、メアサとされる精英樹についても、複数のクローンから構成されていることの報告がある(2, 6)。しかしながら、本県のさし木品種と精英樹の関係については、明確にされていない。そこで本研究では、信頼性の高い RAPD マーカーを用いて、確実にスギのクローン識別を行う方法を確立し、鹿児島県におけるスギのさし木品種と精英樹の関係を明らかにすることを目的として、今回は、スギさし木品種10品種とメアサといわれる鹿児島県民有林選抜の精英樹20クローンについてクローン識別を行った。

II. 材料と方法

さし木品種については、鹿児島県内における主な在来品種とされるメアサ、イッポン、ヨシダ、オドリ、キジン、シママ、ハライガワ、ヤマダ、ヤマト、ヤマンカミグロの10品種で、鹿児島県林業試験場内の在来品種見本園に植栽されている各1個体を使用した。精英樹については、スギ精英樹特性表(3)の「在来品種との関係」でメアサとされる20個体で、林木育種センター九州育

種場の精英樹採穂園に植栽されている各1個体を使用した(表-1)。

DNA の抽出は、針葉200mg から、CTAB 法を改良した方法を用いて行った(7)。抽出した全 DNA は、Elu-Quik™ DNA 精製キット (Schleicher & Schuell 社) を用いて精製し、PCR の鋳型 DNA として用いた。分析における PCR 反応の諸条件は、後藤

表-1. 供試個体の概要 (精英樹)

精英樹名	選 抜 地	同一林分からの選抜
鹿児島1号	鹿児島県鹿児島郡吉田村大字宮之浦字井手山	
始良23号	鹿児島県始良郡蒲生町字米丸	
始良25号	鹿児島県始良郡蒲生町字白男	
始良26号	鹿児島県始良郡隼人町大字嘉例川字前板	
始良27号	鹿児島県始良郡始良町大字北山字管ヶ田	
始良29号	鹿児島県始良郡福山町大字嘉例川字長谷	A
始良30号	鹿児島県始良郡福山町大字嘉例川字長谷	A
始良31号	鹿児島県始良郡福山町大字嘉例川字長谷	A
始良35号	鹿児島県始良郡栗野町大字木場原	
始良42号	鹿児島県国分市敷根町大字上之段	B
始良49号	鹿児島県国分市敷根町大字上之段	B
肝属6号	鹿児島県肝属郡佐多町大字馬籠字鬼	C
肝属7号	鹿児島県肝属郡佐多町大字馬籠字鬼	C
肝属9号	鹿児島県肝属郡佐多町大字馬籠字鬼	C
川辺3号	鹿児島県川辺郡川辺町大字野崎字佐の山	
日置1号	鹿児島県日置郡山村大字東俣字紫ヶ迫	
薩摩7号	鹿児島県川内市青山町大字青山	D
薩摩11号	鹿児島県川内市青山町大字青山	D
薩摩16号	鹿児島県川内市青山町大字堀切	E
薩摩17号	鹿児島県川内市青山町大字堀切	E
計	20	

「スギ精英樹特性表」(3)による。「同一林分からの選抜」では、同一林分をアルファベットで示している。

*1 Koyama, T.: RAPD analysis of cutting cultivars and twenty plus tree clones of sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) in Kagoshima Prefecture

*2 鹿児島県林業試験場 Kagoshima Pref. Forest Exp. Stn., Kamo, Kagoshima 899-5302

表-2. 供試したさし木品種の RAPD マーカーの出現結果

No.	サンプル	(プライマー)													DNA 型
		A-04 (bp)	A-14	B-01	D-02	E-12	F-19	J-19	R-09	S-07	S-19	X-02	X-04	FB-4	
1	メアサ	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1010111011001
2	イッポン	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0011101010000
3	ヨシダ	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1010001111000	
4	オドリ	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0001101010001	
5	キジン	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0010101011101	
6	シママ	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1011111111001	
7	ハライガワ	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0010101011001	
8	ヤマダ	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0011101000000	
9	ヤマト	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1000111010000	
10	ヤマンカミグロ	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1010111000001	

表-3. 供試した精英樹の RAPD マーカーの出現結果

サンプル	A-04	A-14	B-01	D-02	E-12	F-19	J-19	R-09	S-07	S-19	X-02	X-04	FB-4	DNA 型が一致した さし木品種名等
	800	500	760	510	550	800	450	720	550	510	360	320	450	
鹿兎島1号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ
始良23号	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	精英樹間
始良25号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ
始良26号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ
始良27号	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
始良29号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ
始良30号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ
始良31号	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	
始良35号	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	
始良42号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ
始良49号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ
肝属6号	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	精英樹間
肝属7号	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	精英樹間
肝属9号	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	精英樹間
川辺3号	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	
日置1号	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	
薩摩7号	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	
薩摩11号	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
薩摩16号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ
薩摩17号	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	メアサ

ら (1) の方法に従って行った。PCR 反応液 (20 μ L) の組成は、10ng 鋳型 DNA, 10 \times PCR Buffer (10mM Tris-HCl, pH8.3, 10mM KCl), 0.20mM 各 dNTP, 0.25 μ M RAPD プライマー, 3.0mM MgCl₂, 1 ユニット Taq DNA ポリメラーゼ (*AmpliTaq* Stoffel Fragment, Perkin-Elmer 社) である。サーマルサイクラーは TaKaRa PCR Thermal Cycler MP (TP3000) を使用し、まず 94°C で 1 分間変性処理を行った後、変性 (94°C, 10秒)・アニーリング (36°C, 30秒)・伸長 (72°C, 1分) を 45 サイクル繰り返し、最後に 72°C で 7 分間の伸長反応を行った。得られた増幅産物は 2.0% アガロースゲルにより Mupid ミニゲル泳動槽を用い、0.5 \times TBE バッファー, 100V, 室温条件下で電気泳動を行った後、エチジウムブロマイド染色を行い、UV トランスイルミネーター上で DNA 多型を検出した。クローンの識別に用いた RAPD マーカーは、後藤ら (1) の報告で、5 回の PCR 反応で安定した増幅を示し、かつ、多型のある 13 種類のプライマー (OPA-04, OPA-14, OPB-01, OPD-02, OPE-12, OPF-19, OPJ-19, OPR-09, OPS-07, OPS-19, OPX-02, OPX-04, FB-04) による 13 バンドを用いて行い、2 回以上の PCR で再現性を確認した後、マーカーの有無を解析した。

Ⅲ. 結果と考察

スギさし木品種 10 品種の識別結果を表-2 に示した。マーカーが出現する場合は 1, 出現しない場合は 0 として、13 マーカーの組み合わせを各個体の DNA 型とした。DNA 型による分類を行った結果、10 品種それぞれが異なる DNA 型を示した。次に精英樹 20 クローンの識別結果を表-3 に示した。20 クローンの精英樹は 9 種類のバンドパターンの組み合わせに分かれ、家入 (2) の報告のとおり、さし木品種との関係では 9 クローンがメアサと同じ DNA 型を示し、その他のクローンは異なる DNA 型を示した。また、始良 23 号と肝属 6 号, 7 号, 9 号の 4 クローンについては、精英樹間で同一の DNA 型を示した。以上の結果から、スギさし木品種 10 品種はそれぞれ異なる個体であり、メアサ由来とされる精英樹は複数のクローンで構成され、このうち 9 クローンは、メアサと同一のクローンである可能性が示唆された。本研究でメアサと同一の DNA 型を示した 9 クローン、始良 23 号と肝属 6 号, 7 号, 9 号の 4 クローンのように、同一クローンから複数の個体が精英樹として選抜されている可能性が示唆されるものについては、将来的に整理することができると考えられる。

一方、精英樹選抜地におけるDNA型をみると、同一林分から選抜された精英樹間において、始良29号、30号と始良31号（A林分）、薩摩7号と薩摩11号（D林分）については、異なるDNA型を示したことから、同一林分内において複数品種が植栽されている可能性があることが考えられる。また、鹿児島中部である蒲生町から選抜された始良23号と鹿児島最南部の佐多町から選抜された肝属6号、7号、9号が同じDNA型を示したことから、異なる地域で選抜された精英樹で同一個体とみなされるものは、当時の選抜項目において特に優れたクローンを選抜した可能性が高いことが示唆された。よって、今後、次代検定林調査結果の解析を踏まえ、精英樹の整理について検討を行う必要がある。

本研究にあたり、熊本県林業指導所の家入龍二氏には有益なご助言を頂いた。また、精英樹の基準木特定並びにサンプル採取については、林木育種センター九州育種場の久保田権遺伝資源係長他職員の皆様方に多大なるご協力を頂いた。ここに厚く謝意を表します。

引用文献

- (1) 後藤晋ほか（1999）日林誌 81：187-193.
 - (2) 家入龍二（2003）日林誌 85：142-146.
 - (3) 九州地区林業試験研究機関連絡協議会育種部会（1998）スギ精英樹特性表，97pp.
 - (4) 宮島寛（1989）九州のスギとヒノキ，275pp，九州大学出版会，福岡，53-56，116-122.
 - (5) 宮崎安貞・宮島寛（1981）IUFRO 論文集XⅦ：214-217.
 - (6) 奥泉久人・大庭喜八郎（1990）日林誌 72：501-507.
 - (7) 白石進・渡辺敦史（1995）日林誌 77：429-436.
 - (8) 高田克彦・白石進（1996）九大演報 75：1-14.
- （2003年10月30日 受付；2004年1月5日 受理）