

速報

MuPS によるスギさし木在来品種アヤスギのクローン構成比の推定^{*1}草野僚一^{*2}

キーワード：MuPS, さし木品種, アヤスギ, スギ

I. はじめに

九州地方は、古くからスギのさし木造林が行われており、さし木品種が多く存在する（宮島，1989）。

その一つであるアヤスギは、熊本県を含む九州北部地方を代表するスギのさし木在来品種であり、樹幹が通直完満で根元曲がり少なく、幹曲がりがないという優れた特性を持っているとされており、また、心材色が赤褐色で建築材として賞用されている（宮島，1989）。このような優れた特徴のために、熊本県内でも北部地方を中心に広く造林され、県内スギ造林面積の約46%を占めるなど（東，1995）、重要な造林品種である。近年、品種を生かし、成果を見込んだ製品の改良・品種管理を行うことにより有利な経営戦略の展開を図る「品質管理型林業」が提唱されているが（藤澤，1995，1999）、九州地方の在来品種は地域や時代により異なる呼称をされており、異名同種、同名異種のもがあるとされている。さらに環境や樹齢の違いにより表現型に変異があるため、呼称や形態から品種を識別することは困難だとされており（宮島，1989）、実際に呼称や形態の違いによる混乱のため一つの品種が複数のクローン（DNA タイプ）により構成されていることが報告されている（高田・白石，1996；後藤ほか，1999；草野ほか，2006）。

アヤスギを用いて「品質管理型林業」を推進するには、このような品種内の不均一が妨げになると考えられる。アヤスギについては、高田・白石（1996）による大分県、宮崎県、鹿児島県の個体を用いた調査により、少なくとも2つのDNAタイプで構成されていることが報告されている。また、後藤ほか（1999）による福岡県八女郡と熊本県小国町の個体を用いた調査によれば単一のクローンの品種であった。高田・白石（1996）による調査は熊本県内の個体を対象としておらず、また、後藤ほか（1999）による小国町の調査は、1林分のみであり、熊本県内のアヤスギDNAタイプの詳細な構成比の推定はなされていない。そこで今回、簡便で一度に多くの情報が得られ、再現性が高く（久枝ほか，2003）、既に九州産精英樹と在来品種のデータベースが構築され

ており、品種の同定が容易な MuPS（Multiplex-PCR of SCAR markers）を用いてアヤスギ DNA タイプの構成比の推定に取り組んだ。

II. 材料と方法

熊本県内 6 市町村の17林分から、地域の篤林家立会いのもと、アヤスギと思われる151個体の針葉を採取し（表-1）、材料とした。

針葉は、採取後シリカゲルで2週間程度乾燥させた後、KIT 1号（草野ほか，2005）により破碎し、Plant Genomic DNA Mini Kit（VIOGENE 社）を用いてDNAの抽出、精製を行い、鋳型DNAとした。

MuPSの反応溶液（10.0 μ l）は、20ng 鋳型DNA、1 \times PCR Buffer、2.5mM MgCl₂、0.2mM 各dNTP、スギ用MuPS primer mix set（林木育種協会）、0.25units/10 μ l Platinum Taq DNA Polymerase（Invitrogen 社）である。サーマルサイクラーはMyCyclerTM（BIO RAD 社）を使用し、PCRの反応条件は久枝ほか（2003）の方法に従った。反応終了後、PCR産物を2.0%アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色した後、UVトランスイルミネーターでバンドパターンを検出した。検出したDNAタイプは、出現順にそれぞれ番号を付けるとともに、久枝ほか（2003）のMuPS型と比較を行った。

III. 結果

分析の結果、アヤスギは18のDNAタイプに分類され（表-2）、その内「2型」というDNAタイプが全体の71.5%を占めており、その他のDNAタイプの出現数は数個体ずつであった（表-2）。久枝ほか（2003）のMuPS型と比較を行った結果、「2型」は、アヤスギとされているものと同じバンドパターンを示していたが、アヤスギ林分の中に他品種の混入がみられた（表-2、表-3）。また、地域や年代によるバラツキもみられ、特に

^{*1} Kusano, R.: The estimation of the clone component ratio of a cutting cultivar 'Ayasugi' using MuPS (Multiplex-PCR of SCAR markers) in *Cryptomeria japonica*

^{*2} 熊本県林業研究指導所 Kumamoto Pref. Forestry Research Center, Kumamoto 860-0862

表-1. 地域別採取個体数

| 市町村名 | 林齢(年) | | | | | | | 計 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-----|
| | 1~10 | 21~30 | 31~40 | 41~50 | 51~60 | 61~70 | 71以上 | |
| 菊池市 | 10 | 10 | 10 | - | - | - | 2 | 32 |
| 山鹿市 | 10 | - | - | 10 | - | - | 10 | 30 |
| 阿蘇市 | - | 10 | - | - | - | - | 10 | 20 |
| 小国町 | - | - | 9 | - | 10 | 10 | - | 29 |
| 高森町 | - | - | 9 | - | - | - | - | 9 |
| 南阿蘇村 | - | 9 | - | 10 | 10 | - | 2 | 31 |
| 計 | 20 | 29 | 28 | 20 | 20 | 10 | 24 | 151 |

表-2. アヤスギ DNA タイプ別バンドパターン及び構成比

| DNA タイプ | バンドパターン | | | 個体数 (構成比:%) | 同一バンドパターンを示す精英樹等 |
|---------|---------|---------|--------|----------------|--------------------------------|
| | Aset | Bset | Cset | | |
| 1型 | 010110 | 1110111 | 010111 | 3(2.0) | - |
| 2型 | 010010 | 1110111 | 010111 | 108(71.5) | アヤスギ, 県藤津14, 県白杵12, 県阿蘇1, 県阿蘇5 |
| 3型 | 001110 | 1110111 | 110110 | 1(0.7) | - |
| 4型 | 011100 | 1110111 | 110110 | 2(1.3) | - |
| 5型 | 010010 | 1110111 | 110110 | 2(1.3) | - |
| 6型 | 010010 | 0110110 | 110110 | 1(0.7) | - |
| 7型 | 010010 | 0010101 | 010111 | 2(1.3) | - |
| 8型 | 011100 | 1110111 | 010111 | 3(2.0) | - |
| 9型 | 001110 | 1110111 | 110010 | 1(0.7) | - |
| 10型 | 001110 | 0010101 | 111111 | 1(0.7) | - |
| 11型 | 010010 | 0010101 | 111111 | 4(2.6) | - |
| 12型 | 010010 | 0000111 | 010111 | 1(0.7) | - |
| 13型 | 010010 | 1110000 | 010111 | 1(0.7) | - |
| 14型 | 010010 | 1100111 | 010111 | 4(2.6) | - |
| 15型 | 100100 | 1010011 | 011110 | 1(0.7) | - |
| 16型 | 010110 | 0100111 | 010111 | 1(0.7) | - |
| 17型 | 010010 | 0110111 | 010111 | 1(0.7) | - |
| 18型 | 011100 | 1110111 | 010101 | 1(0.7) | - |
| | 他品種 | | | 13(8.6) | キウラ, ホンスギ, ヤブクグリ, シャカイン |
| | 計 | | | 151(100.0) | |

*構成比は小数点第2位を四捨五入しているため, 全体の合計は100にならない。

*精英樹等のバンドパターンは, 久枝ほか(2003)を参考にした。

菊池地域の構成 DNA タイプ数が多かった(表-3)。他品種を除くと, アヤスギ全体の78.3%を「2型」が占めた(図-1)。

IV. 考 察

本研究の結果, アヤスギは18の DNA タイプに分類されたが, 「2型」が約8割と多数を占めたことや, その他の DNA タイプの出現数が数個体ずつであったことから, 熊本県内のアヤスギは, ほぼ単一クローンの品種であると考えられた。いくつかのアヤスギとされた林分の中に, 他品種の混入が見られたが, 同一林分の中にアヤスギも出現しており, そのような林分では, 品種が混植されていると思われる。また, 特に菊池地域の構成 DNA タイプ数が多かったことから, 該当地域におけるアヤスギについては, 今後より注意を払い分類を行う必要があると思われる。このような地域による DNA タイプのバラツキの原因として, 草野ほか(2006)は, シャカインを例として, 造林地を造成する際にさし穂を採取した採穂母樹数などの品種の成立過程が大きく影響するとしている。アヤスギについても同様の可能性が考えられるが, アヤスギとシャカインは品種の成立過程や時期が異なるとされて

おり(宮島, 1989), この点については今後詳細な研究が必要であると思われる。

本研究の結果, 熊本県内のアヤスギはほぼ単一クローンの品種であることが明らかになった。今後, 既に報告されているアヤスギの材質的な特性についての研究結果(東, 1995)の利用や, 既存採穂園の検証等を行うことにより, アヤスギの特性を生かした苗木生産や材の流通システムの構築が可能であると考えられる。

謝 辞

本研究を行うにあたり, 熊本県林業研究指導所 緒方久美子氏, 高田琢也氏, 田中裕次郎氏, 鹿本森林組合 池尻尚氏, (有) 鎗水企画 鎗水盛春氏, 熊本県指導林家 菅見生氏, 小川智英氏, 熊本県青年林業士 羽田誠次氏に多大なるご協力をいただいた。また, 九州大学 白石進教授, 森林総合研究所 森口喜成氏に有益な助言をいただいた。厚く感謝申し上げる。

表-3. 地域別 DNA タイプ別個体数ならびに構成比

| 市町村名 | 林分名 | 林齢 | 採取個体数 | DNA タイプ | | | アヤスギ DNA タイプ数 | 備考 |
|------|------|-------|-------|-----------|----------|---------|------------------|-------|
| | | | | 2型 | 2型以外 | 他品種 | | |
| 菊池市 | 菊池1 | 4 | 10 | 2 | 8 | - | 6 | |
| | 菊池2 | 27 | 10 | 5 | 5 | - | 4 | |
| | 菊池3 | 40 | 10 | 1 | 9 | - | 6 | |
| | 菊池4 | 71以上 | 2 | 1 | 1 | - | 2 | |
| 小計 | | | 32 | 9(28.1) | 23(71.9) | - | | |
| 山鹿市 | 山鹿1 | 7 | 10 | 6 | 4 | - | 2 | |
| | 山鹿2 | 47 | 10 | 3 | - | 7 | 1 | キウラ |
| | 山鹿3 | 70以上 | 10 | 10 | - | - | 1 | |
| 小計 | | | 30 | 19(63.3) | 4(13.3) | 7(23.3) | | |
| 阿蘇市 | 波野1 | 25 | 10 | 10 | - | - | 1 | |
| | 波野2 | 70以上 | 10 | 9 | 1 | - | 2 | |
| 小計 | | | 20 | 19(95.0) | 1(5.0) | - | | |
| 小国町 | 小国1 | 30~40 | 9 | 6 | 2 | 1 | 3 | ホンスギ |
| | 小国2 | 58 | 10 | 9 | - | 1 | 1 | ヤブクグリ |
| | 小国3 | 65~70 | 10 | 7 | - | 3 | 1 | ホンスギ |
| 小計 | | | 29 | 22(75.9) | 2(6.9) | 5(17.2) | | |
| 高森町 | 高森1 | 40 | 9 | 8(88.9) | - | 1(11.1) | 1 | シャカイン |
| 南阿蘇村 | 久木野1 | 28 | 9 | 9 | - | - | 1 | |
| | 久木野2 | 43 | 10 | 10 | - | - | 1 | |
| | 久木野3 | 60 | 10 | 10 | - | - | 1 | |
| | 久木野4 | 71以上 | 2 | 2 | - | - | 1 | |
| 小計 | | | 31 | 31(100.0) | - | - | | |
| 計 | | | 151 | 108(71.5) | 30(19.9) | 13(8.6) | | |

*他品種のバンドパターンは、久枝ら(2003)を参考にした。

* () 書きは構成比 (%) で、小数点第2位を四捨五入しているため、合計が100にならない場合がある。

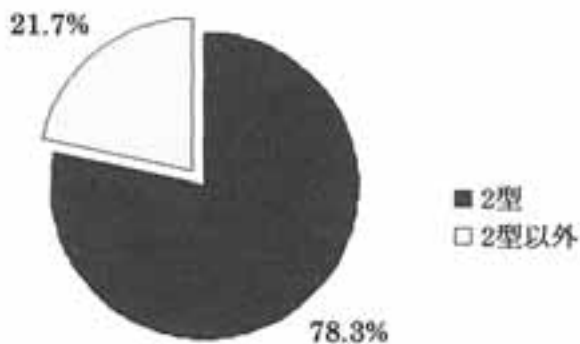


図-1. DNA タイプ別構成比 (他品種を除く)

引用文献

藤澤義武 (1995) 林木の育種「特別号」: 53-56.
 藤澤義武 (1999) 林経協月報 450: 2-25.
 後藤晋ほか (1999) 日林誌 81: 187-193.
 東正彦 (1995) 林木の育種「特別号」: 42-47.
 久枝和彦ほか (2003) 九大演報 84: 59-71.
 草野僚一ほか (2005) 九州森林研究 58: 150-152.
 草野僚一ほか (2006) 日林誌 88: 169-173.
 宮島寛 (1989) 九州のスギとヒノキ. 275pp, 九州大学出版会, 福岡.
 高田克彦・白石進 (1996) 九大演報 75: 1-14.
 (2006年11月17日受付; 2007年1月11日受理)