

スギのヤング率に関する QTL 解析*

倉本 哲嗣⁽¹⁾・近藤 禎二⁽²⁾・藤澤 義武⁽¹⁾・中田 了五⁽¹⁾・林 英司⁽¹⁾・後藤 陽子⁽¹⁾・柴田 洋⁽³⁾

Noritsugu Kuramoto⁽¹⁾, Teiji Kondo⁽²⁾, Yoshitake Fujisawa⁽¹⁾, Ryogo Nakada⁽¹⁾,
Eiji Hayashi⁽¹⁾, Yoko Goto⁽¹⁾ and Fukashi Shibata⁽³⁾

Detection of Quantitative Trait Loci for Wood Strength in *Cryptomeria japonica*

要旨:優れた材質形質を示す遺伝子を把握し、有用形質遺伝子と強く連鎖したマーカーを手がかりにした選抜育種法 (MAS; Marker Aided Selection) に必要な遺伝的基礎情報を得る目的で、スギの DNA マーカーによる連鎖地図の作成と、その連鎖地図を利用したヤング率をはじめとする材質関連遺伝子の QTL 解析を行った。連鎖地図の作成を行った結果、イワオスギでは合計 21 連鎖群 4 連鎖対 (合計 177 RAPD マーカー) からなる総地図距離 1756.4cM の連鎖地図が、ボカスギでは合計 12 連鎖群 7 連鎖対 (合計 129 RAPD マーカー) からなる総地図距離 1111.9cM の連鎖地図が作成できた。この連鎖地図を利用して、各種材質形質について QTL 解析を行った結果、ヤング率を支配する QTL が 15 座推定された。また、タッピング法およびぶら下がり法で測定されたヤング率を支配する QTL は、連鎖地図上の同じ領域に座乗する場合と、全く異なった領域にそれぞれ座乗する場合があった。また、生材比重や固有振動数を支配すると推定された QTL のいくつかは、ヤング率を支配する QTL と連鎖地図上の同様の領域に座乗した。このことは、ヤング率で表される幹の剛性は、多様な形質の複合した結果であり、連鎖地図上にヤング率や様々な形質の QTL を座乗させ、比較することによって、ヤング率の重要な遺伝的要因を明らかにできることを示唆している。

1 はじめに

ヤング率で示される材の剛性は、建築材の最も重要な性質のひとつで、材の強度とも関係が深い。一般に、容積密度は材の剛性を示す優れた指標となるが、スギの場合、容積密度と材の剛性を示す指標となるヤング率との相関関係が非常に低い。このため沢田¹⁹⁾ は、実用上の評価に直接結びつく指標としてヤング率を用いた材質の評価手法を提唱しており、また、新しい農林規格には針葉樹、精英樹製材の機械的等級区分製材としてヤング率が材質評価として取り入れられている。このような理由から、スギの育種を進める上でヤング率を考慮した育種戦略が今後必要となると考えられる。

(1) 林木育種センター 〒319-1301 茨城県多賀郡十王町伊師 3809-1

Forest Tree Breeding Center

3809-1 Ishi, Juo, Taga, Ibaraki, 319-1301 Japan

(2) 林木育種センター九州育種場 〒861-1102 熊本県菊池郡西合志町須屋 2320

Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center

2320, Suya, Nishigoshi, Kikuchi, Kumamoto, 861-1102 Japan

(3) 生物系特定産業技術研究推進機構 〒331-3587 埼玉県大宮市日進町 1 丁目 40 番地 2

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

1-40-2 Nissin, Omiya, Saitama, 331-3587 Japan

* この報告は、2000 年 10 月 Canadian Journal of Forest Research Vol.30¹²⁾に掲載された。

一方、これまでに行われてきた林木育種では、自然交雑によることが多かった。しかしこの育種方法では、気象害抵抗性や病虫害抵抗性、良質材、などの優秀な特性を持った交雑親を用いても自然交雑によっているため、複数の有用特性を保有した品種の作出効率が農作物に比べよくない。そのため、今後市場のニーズに応えた商品価値の高い新品種の作出を行うためには、各種有用特性を保有した精英樹などの間で人工交雑を行い、確実に目的とする複数の有用特性を保有した品種の作出を行う必要がある。但しこの人工交雑育種では新品種の作出および育種効果の検定に非常に長年月を要することから、今後は交雑育種による新品種の作出に要する育種年限の短縮が重要となる。今のところ育種年限の短縮法として、有用形質支配遺伝子と強く連鎖したマーカーを手がかりに、早期に有用形質を持った個体を選抜する方法(MAS; Marker Aided Selection)が有望である³⁾。MASの手法を利用した育種を効果的に行うには、多数の有用な特性を支配する遺伝子および遺伝マーカーから構成され、かつ正確な地図距離を示す連鎖地図の作成が必要である。これまでいくつかのスギの遺伝子について報告されているが、育種目標となる実用特性を支配する遺伝子に関する報告はほとんど無い。また林木の場合、育種の対象となる実用的な特性のほとんどは量的形質と考えられている。この量的形質を支配する遺伝子座であるQTL (Quantitative Trait Locus) は、その多くが1個の遺伝子の効果が小さいため、従来の統計遺伝学的解析では解明することができなかった。しかしDNA解析技術の進歩でDNAマーカーが多数検出できるようになり、そのマーカーを目印にして有用遺伝子が連鎖地図や染色体上のどこにあるか分かるようになってきた。

そこで我々は、①スギのDNAマーカーによるより高密度の連鎖地図の作成、②その連鎖地図を利用して材質関連遺伝子のQTL解析、を行うことで、優れた材質特性を支配する遺伝子を把握し、MASに必要な基礎情報を得ようとしている。現在までにスギ材質関連遺伝子、とくに材の剛性を示すヤング率についていくつかの知見が得られたので報告する。

なお、本報告は生物系特定産業技術研究推進機構(生研機構)による「スギ材質関連遺伝子のQTL解析」プロジェクトの結果得られた成果の一部である。

2 材料および方法

2.1 分析対象の交雑家系

ボカスギ×イワオスギ交雑家系 F₁72 個体を連鎖地図の作成およびQTL解析の対象とした。この交雑家系は1972年に交雑された個体群である。ぶら下がり法によるヤング率の測定は1998年4月に行い、同年12月タッピング法によるヤング率の測定のために伐倒を行った。なお交雑親であるボカスギの材のヤング率はスギの平均的ヤング率に対して低く、イワオスギの材のヤング率は他のスギと比べて平均的な値である。

2.2 QTL解析を行った諸形質

本研究でQTL解析の対象としたヤング率の測定には2種類の方法を用いた。一つは近年一般化しつつあるタッピング法によるヤング率の測定、もう一つは、非破壊調査法であるぶら下がり法^{9),10)}による測定である。なお、タッピング法は縦方向の固有振動数を測定するため、材、この場合には丸太全体の平均のヤング率として測定値が得られるのに対し、ぶら下がり法は樹幹の外周部に位置する数年輪間の性質の影響を強く受けた測定値が得られる。この他、ヤング率を算出する際に使用する固有振動数、生材比重、胸高直径の諸形質についても、QTL解析を行った。

2.3 DNA 分析

DNA 解析に使用する DNA を抽出するため、平成 10 年 4 月～6 月にスギの新芽を採取し、新芽 1 g から CTAB 法により DNA を抽出した。DNA マーカーは RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) マーカーを用いた。RAPD 分析の方法は Williams ら²¹⁾ の方法を改変した。

RAPD マーカーの多型調査を、1160 種類の RAPD プライマーを対象に行った。多型調査には 8 個の F₁ 個体ならびに両親から抽出した DNA をサンプルとして行った。

2.4 連鎖地図の作成と QTL 解析

RAPD マーカーの多型性調査の結果、多型であった RAPD マーカーを対象に、ボカスギ×イワオスギ交雑家系全個体での遺伝子型の分離数を調査した。その結果をもとに、連鎖分析用コンピュータプログラムである MAPMAKER ver.3.0^{13), 16)} を用いて連鎖地図を作成した。連鎖群を区別する閾値は、LOD score = 4.0 とした。

連鎖地図作成の際のデータ解析法は、Pseudo-test cross 法⁴⁾ に基づいた。この考え方は見かけ上 DNA マーカーが 1:1 の戻し交雑型の分離比となるため、RAPD のような優性マーカーでも利用でき、その遺伝子型の分離様式から統計的にも非常に有利な結果となる。

さらに、構築した連鎖地図がどの程度ゲノムをカバーするのかを評価するため、連鎖分析の結果からスギのゲノム長を推定した。ゲノム長の推定は、Hulbert ら⁶⁾ の方法に基づいて行った。

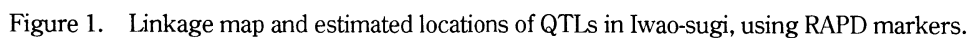
ボカスギ×イワオスギ家系を用いて作成した連鎖地図をもとに、ヤング率等の材質関連形質の QTL 解析を行った。QTL 解析には MAPMAKER QTL ver.1.1¹⁵⁾ を用いた。QTL 解析の閾値は、今回作成した連鎖地図のマーカー間の平均地図距離から、LOD score を求めることとした¹⁴⁾。

3 結 果

3.1 連鎖地図の作成

1160 種類の RAPD プライマーを用いて、RAPD マーカーの多型調査を行った。その結果、227 種類のプライマーから、イワオスギでは 200 マーカー、ボカスギでは 155 マーカーの合計 355 マーカーが多型であった。これらのマーカーを用いて連鎖地図の作成を行った結果、イワオスギでは合計 21 連鎖群 4 連鎖対 (合計 177 RAPD マーカー) からなる総地図距離 1756.4cM の連鎖地図が、ボカスギでは合計 12 連鎖群 7 連鎖対 (合計 129 RAPD マーカー) からなる総地図距離 1111.9cM の連鎖地図が作成できた (Figure 1,2)。なお、連鎖地図に座乗したマーカーのうち、イワオスギでは合計 11 連鎖群中の 30 マーカーで、ボカスギでは合計 13 連鎖群中の 45 マーカーで、遺伝子型の分離比が期待分離比 (1:1) に適合しなかった。

イワオスギならびにボカスギの連鎖地図のデータを元に、スギのゲノム長を推測した。その結果、イワオスギで作成した連鎖地図のデータから推定されるスギのゲノム長は、2614.8cM (LOD score = 3.0), 2868.0cM (LOD score = 4.0), 2988.1cM (LOD score = 5.0) となり、平均で約 2820cM となった。一方、ボカスギで作成した連鎖地図のデータから推定されるスギのゲノム長は、2363.4cM (LOD score = 3.0), 2790.7cM (LOD score = 4.0), 3136.3cM (LOD score = 5.0) となり、平均で約 2760cM となった。以上の結果から、スギのゲノム長は、約 2800cM であると推定される。よって、今回作成したイワオスギ、ボカスギそれぞれの連鎖地図はスギのゲノムの約 62% および 40%



A total of 177 linked markers were distributed among 25 linkage groups. Four linkage groups that consisted of only two markers were not included in this figure. The markers are listed on the right and map distances in cM are shown on the left. One asterisk (*) and two asterisks (**) designate markers with distorted segregation ($0.01 < P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively). One hundred nineteen RAPD markers with confirmed map positions were assigned to 21 linkage groups, covering 1756.4 cM. Bars to the left of the linkage groups correspond to 2.0 LOD support intervals for the QTL locations. Arrows extending from bars indicate the most likely QTL positions estimated using MAPMAKER/QTL analysis (Table 1). *MOEB* (Modulus of Elasticity measured by the bending method); *MOET* (Modulus of Elasticity measured by the Tapping method); *FVF* (Fundamental Vibration Frequency); *WD* (Wood Density in green condition); *D* (Diameter)

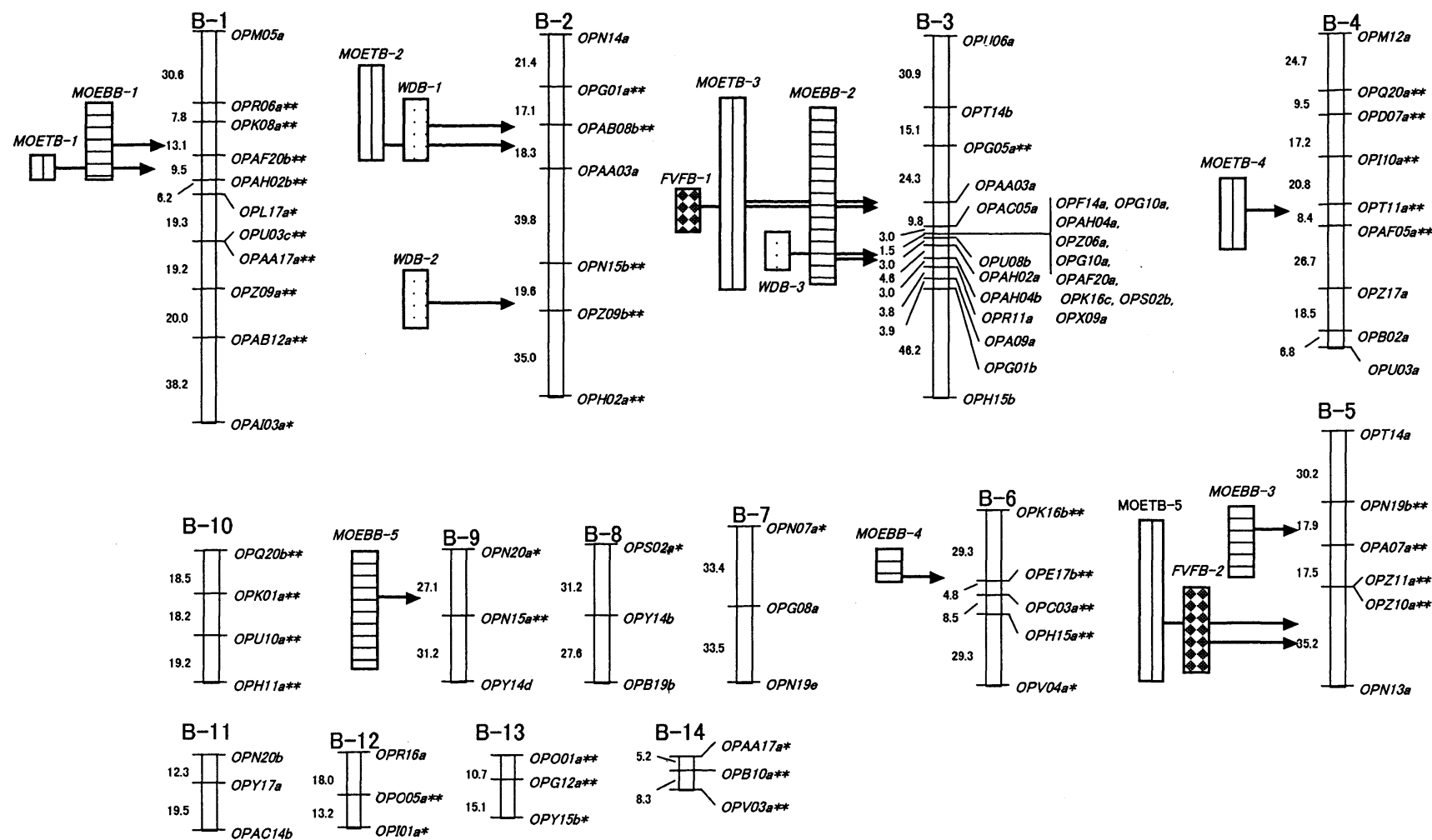


Figure 2. Linkage map and estimated locations of QTLs in Boka-sugi, using RAPD markers.

A total of 177 linked markers were distributed among 21 linkage groups. Seven linkage groups that consisted of only two markers were not included in this figure. The markers are listed on the right and map distances in cM are shown on the left. One asterisk (*) and two asterisks (**) designate markers with distorted segregation (0.01 < P < 0.05 and P < 0.01, respectively). Ninety eight RAPD markers with confirmed map positions were assigned to 14 linkage groups, covering 1111.9cM. Bars to the left of the linkage groups correspond to 2.0 LOD support intervals for the QTL locations. Arrows extending from bars indicate the most likely QTL positions estimated using MAPMAKER/QTL analysis (Table 2). *MOEB* (Modulus of Elasticity measured by the bending method); *MOET* (Modulus of Elasticity measured by the Tapping method); *FVF* (Fundamental Vibration Frequency); *WD* (Wood Density in green condition)

をカバーするといえる。

連鎖地図のマーカー間の平均地図距離がイワオスギの連鎖地図で 14.7cM、ボカスギの連鎖地図で 13.2cM であった。この結果をもとに、Lander と Botstein の論文¹⁴⁾ の図 4 を参考して QTL 解析の閾値を求めた結果、QTL 解析の閾値を LOD score = 2.4 以上となった。

3.2 QTL 解析の結果

3.2.1 ヤング率の QTL

イワオスギとボカスギで作成した連鎖地図を用いて、ヤング率等の材質形質の QTL 解析を行った。イワオスギでは、ヤング率に関する QTL は合計 5 座推定された (Figure 1, Table 1)。そのうち、ぶら下がり法で測定したヤング率を支配すると推定される QTL は 4 座で (MOEBI-1 ~ 4)、それぞれの QTL が持つ表現型分散に対する寄与率は 19.5 ~ 30.3% であった。これら 4 座の QTL 全体で表現型分散に対する寄与率を求めたところ 44.1% となった。タッピング法で測定したヤング率を支配すると推定される QTL は 1 座で (MOETI-1)、この QTL が持つ表現型分散に対する寄与率は 19.7% であった。

ボカスギでは、ヤング率に関する QTL が合計 10 座推定された (Figure 2, Table 2)。そのうち、ぶら下がり法で測定したヤング率を支配すると推定される QTL は 5 座で (MOEHB-1 ~ 5)、それぞれの QTL が持つ表現型分散に対する寄与率は 20.2 ~ 37.2% であった。これら 5 座の QTL 全体で表現型分散に対する寄与率を求めたところ、41.7% となった。一方、タッピング法で測定したヤング率を支配すると推定される QTL は 5 座で (MOETH-1 ~ 5)、それぞれの QTL が持つ表現型分散に対する寄与率は 20.3 ~ 33.8% であった。これら 5 座の QTL 全体で表現型分散に対する寄与率を求めたところ 44.8% となった。

以上のように、スギのヤング率を支配する QTL は、合計 15 座推定された。

Table 1. Location and magnitude of effect of QTLs controlling traits related to module of elasticity and other traits in Iwao-sugi, as determined by interval mapping analysis using MAPMAKER-QTL

Trait ¹⁾	QTL	Linkage group	Marker interval	QTL ²⁾ position	LOD Peak	%Var. ³⁾ expl.	Multiple estimate (%)
MOEB	MOEBI-1	I-1	OPA08a-OPAB18b	0.0	2.8	19.5	44.1
	MOEBI-2	I-2	OPO02c-OPO06a	14.0	2.9	30.3	
	MOEBI-3	I-4	OPAD06b-OPAG02a	22.0	2.5	24.5	
	MOEBI-4	I-8	OPAK10a-OPA07z	22.0	3.3	29.9	
MOET	MOETI-1	I-3	OPT09z-OPAB12a	8.0	2.9	19.7	—
WD	WDI-1	I-2	OPAB04a-OPO02c	0.0	3.5	20.8	—
FVF	FVFI-1	I-3	OPT09z-OPAB12a	12.0	4.5	30.6	—
D	DI-1	I-3	OPT09z-OPAB12a	16.0	4.6	26.8	—

1) MOEB, Module of Elasticity by the Hanging method; MOET, Module of Elasticity by the Tapping method; WD, Wood Density; FVF, Fundamental Vibration Frequency; D, Diameter

2) Most likely QTL position corresponding to LOD peak, as estimated by MAPMAKER QTL;cM distance from left most marker of interval

3) Percentage of the phenotypic variation explained, as estimated by MAPMAKER QTL

Table 2. Location and magnitude of effect of QTLs controlling traits related to module of elasticity and other traits in Boka-sugi, as determined by interval mapping analysis using MAPMAKER-QTL

Trait ¹⁾	QTL	Linkage group	Marker interval	QTL ²⁾ position	LOD Peak	%Var. ³⁾ expl.	Multiple estimate (%)
MOEB	MOEBB-1	B-1	OPK08a-OPAF20b	10.0	2.82	22.5	
	MOEBB-2	B-3	OPAH04b-OPR11a	0.0	4.81	30.8	
	MOEBB-3	B-5	OPN19b-OPA07a	14.0	3.08	37.2	
	MOEBB-4	B-6	OPK16b-OPE17b	0.0	2.83	20.2	
	MOEBB-5	B-9	OPN20a-OPN15a	20.0	4.28	34.3	41.7
MOET	MOETB-1	B-1	OPAF20b-OPAH02b	4.0	2.90	20.3	
	MOETB-2	B-2	OPAB08b-OPAA03a	8.0	2.65	21.0	
	MOETB-3	B-3	OPAA03a-OPAC05a	0.0	6.10	33.8	
	MOETB-4	B-4	OPT11a-OPAF05a	18.0	3.56	32.7	
	MOETB-5	B-5	OPZ10a-OPN13a	4.0	3.17	21.5	44.8
WD	WDB-1	B-2	OPAB08b-OPAA03a	0.0	4.08	24.2	
	WDB-2	B-2	OPN15b-OPZ09b	14.0	2.71	20.0	
	WDB-3	B-3	OPAH04b-OPR11a	0.0	2.59	15.7	29.8
FVF	FVFB-1	B-3	OPU08a-OPAH02a	2.0	2.52	20.1	
	FVFB-2	B-5	OPZ10a-OPN13a	22.0	3.26	28.3	31.2

1) MOEH, Module of Elasticity by the Hanging method; MOET, Module of Elasticity by the Tapping method; WD, Wood Density; FVF, Fundamental Vibration Frequency

2) Most likely QTL position corresponding to LOD peak, as estimated by MAPMAKER QTL;cM distance from left most marker of interval

3) Percentage of the phenotypic variation explained, as estimated by MAPMAKER QTL

3.2.2 生材比重, 固有振動数および胸高直径の QTL

生材比重, 固有振動数, および胸高直径の形質を支配すると推定された QTL については以下の通りであった。

生材比重を支配する QTL はイワオスギで 1 座 (*WDI-1*) 推定され, この QTL が表現型分散に対する寄与率は 20.8% であった (Figure 1, Table 1)。一方, ボカスギでは 3 座推定された (*WDB-1* ~ 3) (Figure 2, Table 2)。これら 3 座の QTL が表現型分散に対する寄与率は 15.7-24.2% で, 全体での寄与率は 29.8% であった。

固有振動数を支配すると推定された QTL は合計 2 座推定された。イワオスギでは 1 座 (*FVFI-1*), ボカスギでは 2 座 (*FVFB-1*, 2) 推定された (Figure 1, 2, Table 1, 2)。

胸高直径を支配すると推定された QTL は, イワオスギでのみ 1 座 (*DI-1*) 推定された (Figure 1, Table 1)。

3.2.3 QTL の連鎖地図上での分布

QTL 解析の結果, ヤング率とその他の形質を支配すると推定された QTL のいくつかは, 連鎖群の同じ領域に座乗した。イワオスギでは 2 領域の QTL の集中分布が明らかになった (Figure 1 参照)。第 2 連鎖群上に座乗したの *MOEHI-2* と *WDI-1*, および第 3 連鎖群上の *MOETI-1*, *FVFI-1*, *DI-1* である。

また, ボカスギでは 4 領域の QTL の集中分布が明らかになった (Figure 2 参照)。第 1 連鎖群の *MOETB-1* と *MOEBB-1*, 第 2 連鎖群の *MOETB-2* と *WDB-1*, 第 3 連鎖群の *FVFB-1*, *MOETB-3*, *WDB-3*, *MOEBB-2*, 第 5 連鎖群の *MOETB-5* と *FVFB-2* である。

4 考 察

4.1 連鎖地図

スギの連鎖地図を作成した結果、ボカスギでは総地図距離 1111.9cM (21 連鎖群 84 マーカー) の連鎖地図が、イワオスギでは、総地図距離 1756.4cM (25 連鎖群 119 マーカー) の連鎖地図が作成できた (Figure 1,2)。これまでに報告されているスギ連鎖地図ではその総地図距離が 887.3cM (13 連鎖群 91 マーカー) であった¹⁷⁾。すなわち、今回作成した連鎖地図は、地図距離の合計では既報のスギ連鎖地図をはるかに凌駕している。したがって本研究で作成した連鎖地図は、様々な有用形質の遺伝分析を行う際により高い確率で遺伝子の連鎖地図上の位置を同定することが可能であり、今後 MAS を利用したスギ育種に必要な連鎖地図の基礎として優れていると考えられる。一方、本研究で作成した連鎖地図のマーカー間の平均地図距離は、13.2cM ~ 14.7cM であった。既報のスギ連鎖地図は、そのマーカー間の平均地図距離が 9.8cM であったことから、今回作成した連鎖地図のマーカー間の平均地図距離は、Mukai らの連鎖地図の平均地図距離に比べて大きくなる結果となった。しかし、RFLP マーカーなどによって 10 ~ 20cM 単位でゲノムを分割することによって、効率よく QTL 解析ができることから¹⁴⁾、本研究で作成した連鎖地図は、今後スギの各種形質を支配する QTL 解析に充分利用可能と考えられる。しかし、今回の結果からスギのゲノム長は約 2800cM と推定されたこと、ボカスギおよびイワオスギのそれぞれの総地図距離は、スギゲノムの約 40%, 60% のみをカバーすることから、新たに ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), STS (Sequence Tagged Site) といった各種マーカーを用いて、より充実した飽和連鎖地図を作成し、より育種学的、遺伝学的研究に貢献できるようにする必要がある。

本研究で作成した連鎖地図では、期待分離比に適合しなかったマーカーが複数観察された (イワオスギ: 30 マーカー, ボカスギ: 45 マーカー)。これまでにスギでは、胚致死遺伝子などの遺伝マーカーの分離比異常をもたらす致死要因に関する研究が、複数報告されている^{7), 11), 18)}。また、既報のスギの連鎖地図においても、分離比異常のマーカーが観察されており、この分離比異常の原因は、胚致死遺伝子との連鎖によって生じていると推測している¹⁷⁾。本研究で作成した連鎖地図上に存在する分離比異常のマーカーも、何らかの致死要因と連鎖していためると推測される。なお、このように、致死要因若しくはその他の要因との連鎖によって生じると推測されるマーカーの分離比異常がいくつかの樹種で観察されている^{1), 2), 20)}。

4.2 QTL 解析

本研究では、ヤング率を支配する QTL が合計 15 座明らかになった (Figure 1,2, Table 1,2)。その内訳は、ぶら下がり法で測定したヤング率を支配する QTL が合計 9 座、タッピング法で測定したヤング率を支配する QTL が 6 座である。ボカスギではぶら下がり法およびタッピング法で測定したヤング率を支配する QTL が連鎖地図上のほぼ同じ様な領域で同定された。これから言えることは、全く異なった 2 つの測定法で測定したヤング率も、遺伝的に同じものに支配されていることを示唆している。しかし、QTL マッピングだけではそうとは言い切れないため、今後、生化学的、物理的実験を行うことにより、この遺伝的背景を明らかにしていく必要がある。一方、全く異なった 2 つの測定法で測定したヤング率を支配する QTL のうち、連鎖地図上で全く異なった位置に推定された例があった。今回ヤング率の測定に用いた方法には、以下のような特徴がある。ぶら下がり法は、測定法の性質上、成熟材の外周部分の剛性を反映している。タッピング法の場合には、成熟材、未成熟材とともに含んだ幹全体の平均的な材の

剛性を表す値となる。それ故、ぶら下がり法、タッピング法を支配する QTL の連鎖地図上の位置が異なっているのは、それぞれの測定法が測る部位の違いを反映しているものと考えられる。

生材比重や、固有振動数を支配すると推定された QTL は、ヤング率を支配する QTL とイワオスギで 2 領域、ボカスギでは 4 領域、連鎖地図の同様の領域で推定された (Figure 1,2, Table1,2)。このことは、ヤング率は生材比重や固有振動数といった形質がヤング率の要因のひとつであることを意味している。すなわち、ヤング率で表される幹の剛性は、多様な形質の複合した結果であり、連鎖地図上にヤング率や様々な形質の QTL を座乗させ、比較することによって、ヤング率の重要な要因を明らかにできるものと考えられる。

一般的に樹木では、材の剛性と容積密度は非常に強い相関がある。しかしスギの場合には他の樹木に対して低い容積密度を持ち、かつヤング率と容積密度の間には弱い相関しかない。さらに今回の結果では、イワオスギ、ボカスギそれぞれでヤング率を支配する 3 座の QTL が生材比重を支配すると推定された QTL と連鎖地図上で異なった領域で存在した。これらの物理的、遺伝学的解析の結果は、スギでは生材比重がヤング率に部分的にしか影響していないことを示唆している。

各形質を支配する QTL の表現型分散に対する寄与率を算出した (Table1,2)。まず、ぶら下がり法で測定したヤング率について、イワオスギで推定された 4 座の QTL は全体で表現型分散の 44.1% を説明できることが明らかになった。ボカスギで推定された 5 つの QTL は、全体で表現型分散の 41.7% を説明できることが明らかになった。タッピング法で測定したヤング率については、ボカスギで推定された 5 つの QTL で表現型分散の 44.8% を説明できることが明らかになった。最近の研究では、材の剛性を表す一つの指標値である容積密度の QTL がいくつかの樹木で報告されている。テダマツでは、Groover ら⁵⁾ が容積密度を支配する QTL 全体で表現型分散の 23% 説明できると報告している。Knott ら⁸⁾ は、同じくテダマツにおいて、複数の容積密度を支配する QTL を報告している。今回の報告では、材の剛性に関する遺伝的な報告の中では、これまでに報告されている結果に比較して、非常に大きな割合で説明できる QTL を明らかにできた。

本研究では、これまで様々な樹種で報告されている材質の QTL に関する報告よりもより大きな寄与率を持った QTL を明らかにすることができた。しかしながら、表現型分散に対する寄与率から見ると、表現型分散を全て説明できたわけではない。これには、以下のような理由が考えられた。①各種形質を支配する QTL のいくつかの座がホモの遺伝子型であったため、QTL の遺伝子型の分離が推定できなかった。②今回 QTL 解析のために作成した連鎖地図は推定されたスギのゲノム長を全てカバーしたわけではなかったため、いくつかの QTL が連鎖地図上で推定できなかった。③Pseudo-test cross の理論上、両親について作成された連鎖地図の相対関係が全く不明である。したがって、両親で推定された QTL のいくつかは共通である可能性がある。④いくつかの表現型分散が環境要因との交互作用によって生じていた。⑤解析に用いた家系の個体数が、統計上、微少な効果しか持たない QTL を推定するには少なかった。以上のような理由から、表現型分散の全てを説明できなかった可能性がある。

なお、今回得られたヤング率等の QTL 解析の結果を育種に利用できるようにするためには、QTL の普遍性、ならびに環境要因との相互作用等を明らかにするため、①他の交雑家系で QTL 解析を行うこと、②様々な育成環境下で育成した交雑家系を対象に QTL 解析を行い、環境要因を考慮した QTL の推定を行う、ことが重要である。

さらに、今回連鎖地図の作成には優性マーカーである RAPD マーカーを用いたことと、QTL 解析に用いた Pseudo-test cross の戦略が疑似戻し交雑型の遺伝様式であることから、以下のような問題がある。③交雑親であるイワオスギとボカスギの連鎖地図が統合できないこと、④ QTL 解析の結果は、育種効果を推定するのに最も重要である優性

効果と相加効果が分離できない。したがって、今後 STS, CAPS および SSR といった共優性マーカーを用いて連鎖地図の拡充と統合、さらに、より個体数の多い家系を QTL 解析に用いて、統計的誤差を排除していくことが重要である。

今回の QTL 解析の結果を拡充していくことは材剛性のメカニズムの解明、材の剛性と相関の高い遺伝マーカーの解明に有効であろう。そこで、今後はマイクロフィブリル傾角等のヤング率に最も影響する遺伝的、物理的、生化学的要因を解明していく予定である。

謝 辞

この研究を遂行するに当たり、森林総合研究所生物機能開発部津村義彦博士、同吉丸博志博士には貴重な意見をいただいた。DNA 連鎖地図を作成するに当たり、生研機構吉田孝子氏、前林木育種協会瀬島則子氏には、貴重な労をお取りいただいた。また、野外でのサンプル採取、ヤング率測定に際しては、林木育種センター九州育種場岡村政則氏、同東北育種場金山央子氏、林木育種センター谷口亨氏には、貴重な労をお取りいただいた。

以上の各位に心から御礼申し上げる。

引用文献

- 1) Bradshaw, H.D., Stettler, R.F. : Molecular genetics of growth and development in *Populus*. II . Segregation distortion due to genetic load. Theor Appl Genet 89, 551-558. (1994)
- 2) Echt, C.S. and Nelson, C.D. : Linkage mapping and genome length in eastern white pine (*Pinus strobus* L.) . Theor Appl Genet 94:1031- 1037. (1997)
- 3) 福田善通・矢野昌裕・福井希一：個体レベルの分子遺伝学。一分子マーカーの育種的利用－ 育種学最近の進歩 34:29-36 養賢堂，東京．(1993)
- 4) Grattapaglia D. and R.Sederoff : Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo- testcross: Mapping strategy and RAPD markers. Genetics 137: 1121-1137. (1994)
- 5) Groover, A., Devey, M., Fiddler, T., Lee, J., Megraw, R., Mitchel-Olds, T., Sherman, B., Vujcic, V., Williams, V. and Neale, D. : Identification of quantitative trait loci influencing wood specific gravity in an outbred pedigree of loblolly pine. Genetics 138: 1293-1300. (1994)
- 6) Hulbert S, T.Ilott, E.J Legg, S.Lincoln, E. Lander and R. Michelmore : Genetic analysis of fungus, *Bremia lactucae*, using restriction length polymorphism. Genetics 120: 947-958. (1988)
- 7) 河崎久男：スギにおける胚致死遺伝子の検出法に関する研究． 林育研報 8:1-67. (1990)
- 8) Knott, S.A., Neale, D., Sewell, M.M. and Haley, C.S. : Multiple marker mapping of quantitative trait loci in an outbred pedigree of loblolly pine. Theor Appl Genet 94: 810-820. (1997)
- 9) 小泉章夫・上岡恒司：立木の曲げ試験による材質評価（第 1 報）－樹幹曲げ剛性の測定－．木材学会誌 32 (9): 669-676. (1986a)
- 10) 小泉章夫・上岡恒司：立木の曲げ試験による材質評価（第 2 報）－半径成長に伴う樹幹曲げ剛性の変動－．木

材学会誌 32 (11):860-867. (1986b)

- 11) 倉本哲嗣・戸丸信弘・村井正文・大庭喜八郎: スギのアイソザイム遺伝子座と矮性遺伝子座間の連鎖分析および致死遺伝子の検出. 育雑 47, 259-266. (1997)
- 12) Kuramoto N, T.Kondo, Y.Fujisawa, R.Nakata, E.Hayashi, Y.Goto : Detection of quantitative trait loci for wood strength in *Cryptomeria japonica*. Can. J. For. Res. 30 : 1525-1533. (2000)
- 13) Lander E.S., P.Green, J.Abrahamson, A.Barlow, M.Daly, S.E.Lincoln and L.Newberg: MAPMAKER :An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. Genomics 1:174-181. (1987)
- 14) Lander, E.S. and Botstein, D.: Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics 121:185-199. (1989)
- 15) Lincoln S, M. Daly, E. Lander : Mapping genes controlling quantitative traits with MAPMAKER/QTL1.1. Whitehead Institute Technical Report, 2nd edn. Whitehead Institute, Cambridge, Mass. (1992a)
- 16) Lincoln S, M. Daly, E. Lander : Constructing genetic Maps with MAPMAKER/EXP 3.0. Whitehead Institute Technical Report, 3rd edn. Whitehead Institute, Cambridge, Mass. (1992b)
- 17) Mukai Y, Y. Suyama, Y. Tsumura, T. Kawahara, H. Yoshimaru, T. Kondo, N. Tomaru, N. Kuramoto, M. Murai : A linkage map for sugi (*Cryptomeria japonica*) based on RFLP, RAPD, and isozyme loci. Theor Appl Genet 90 : 835-840. (1995)
- 18) 大庭喜八郎: スギの胚致死遺伝子の検出. 90回日林論:257-258. (1979)
- 19) 沢田 稔: 木材の力学的材質指標. 第29回木材学会特別講演要旨集:1-13. (1979)
- 20) Sorensen, F. : Linkage between marker genes and embryonic lethal factors may cause disturbed segregation ratios. Silvae Genet 16:132-134. (1967)
- 21) Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. : DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res 18:6531-6535. (1990)

Detection of Quantitative Trait Loci for Wood Strength in *Cryptomeria japonica*

Noritsugu Kuramoto ⁽¹⁾, Teiji Kondo ⁽²⁾, Yoshitake Fujisawa ⁽¹⁾, Ryogo Nakada ⁽¹⁾
Eiji Hayashi ⁽¹⁾, Yoko Goto ⁽¹⁾ and Fukashi Shibata ⁽³⁾

Summary : *Cryptomeria japonica* D.Don is one of the most important forest tree species in Japan. The progeny of a cross between the cultivars Iwao-sugi and Boka-sugi were analyzed using RAPD markers, with the pseudo-testcross strategy, to construct linkage maps of the parental cultivars. A total of 355 segregating loci were detected among 72 offspring: 200 and 155 markers being distributed in Iwao-sugi and Boka-sugi, respectively. In Iwao-sugi, 119 markers with confirmed map positions were assigned to 21 linkage groups covering 1756.4cM. In Boka-sugi, 84 markers with confirmed map positions were assigned to 14 linkage groups covering 1111.9cM. The framework map distance in Iwao-sugi and Boka-sugi respectively provides about 62% and 40% coverage of the total genome, estimated to be approximately 2800cM in length. Using genetic linkage maps constructed in this study, 15 QTLs were detected that are associated with the modulus of elasticity (MOE) - an important indicator of wood strength. QTLs for MOE explained about 45% of its total phenotypic variance. Some QTLs associated with different phenotypic traits were located on the same linkage groups. Some of the QTLs for MOE measured by two different methods (the bending method and the tapping method) were located independently on the different linkage groups.

-
- (1) Forest Tree Breeding Center
3809-1 Ishi, Juo, Tago, Ibaraki 319-1301 Japan
 - (2) Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center
2320 Suya, Nishigoshi, Kikuchi, Kumamoto 861-1102 Japan
 - (3) Bio-oriented Technology Research Advancement Institution
1-40-2 Nissin, Omiya, Saitama, 331- 3587 Japan