

トドマツ交配種子によるアイソザイム遺伝様式

長 坂 寿 俊⁽¹⁾・河 野 耕 蔵⁽²⁾

Kazutosi NAGASAKA and Koozoo KOONO : Inheritance of Isozymes in Cross- and Open-Pollinated Seeds of Saghalin Fir (*Abies sachalinensis* MAST.)

要 旨

トドマツ精英樹クローンのダイアレル交配種子および自然交配種子の雌性配偶体と胚を用いてデンブレンゲル電気泳動法によりアイソザイムの遺伝様式を解明した。10酵素種におけるアイソザイム分析の結果では少なくとも14遺伝子座の42対立遺伝子によって支配されていることが明らかになった。雌性配偶体におけるアイソザイムバンドの分離により、リンゴ酸脱水素酵素 (MDH)、ホスホグルコムターゼ (PGM)、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP) およびグルコースリン酸イソメラーゼ (PGI) の4酵素種では2遺伝子座を、シキミ酸脱水素酵素 (ShDH)、グルタミン酸脱水素酵素 (GDH)、ダイアフォラーゼ (DIA)、アスパラギン酸アミノ転移酵素 (GOT)、蛍光性エステラーゼ (F-EST) およびアコニターゼ (ACO) の6酵素種においては1遺伝子座を明らかにした。また、*GDH* 遺伝子座には全く変異がなかったが、他の13の遺伝子座においては、いくつかの変異がみられた。多型的遺伝子座の割合は0.714であった。

I はじめに

トドマツ (*Abies sachalinensis* MAST.) は北海道の全域に天然分布しており、北海道の林業においては遺伝資源としても造林樹種としても重要な地位を占めてきた樹種の一つである。林木育種事業の進展にともなって、これまでに選抜されたトドマツ精英樹の本数は、1988年3月末現在で国有林および民有林等を合わせて925本になっている。また、これら精英樹系統による採種園はすでに198.5haの造成が完了し、採種園産種子による精英樹の次代検定が行われるとともに一般の造林事業用種苗の供給も行われている¹⁰⁾。

トドマツの遺伝変異については、これまで形態形質や成長形質に関する変異のほかには気象害、病害および野鼠被害に対する抵抗性がおもに研究され、これらの形質に関して地域性変異を含めた報告⁵⁾⁹⁾¹⁷⁾がいくつかみられる。一方、アイソザイム遺伝子を標識にしてトドマツを解析した例では、アイソザイムの器官特異性を論じた報告¹⁶⁾および地域変異や天然林の家系分析を試みた報告¹³⁾¹⁴⁾がみられるが、いずれも酵素種がパーオキシダーゼに限られていることや各バンドの遺伝子分析が行われないことなどにより、集団の遺伝解析には十分な応用ができなかった。

裸子植物の種子の雌性配偶体 (胚乳) は半数体であり母樹の対立遺伝子の片方が受け継がれるため、ヘテロ接合の遺伝子座においては対立遺伝子が1:1に分離することが期待され、針葉樹の雌性配偶体を用いたアイソザイム分析が有効な手段になる。そこで近年、針葉樹の集団の遺伝変異や遺伝構造を解明するために

(1) (2) 北海道林木育種場

雌性配偶体を用いた各種のアイソザイムの遺伝子分析が行われるようになってきた⁷⁾¹⁸⁾²⁴⁾。本研究はトドマツ集団の遺伝変異を解析するための標識遺伝子となりうるアイソザイムを探索するために、ダイアレル交配ならびに自然交配種子の雌性配偶体および胚を材料にして10酵素種のアイソザイムの遺伝様式を解明したものである。

なお、この研究の実行にあたり種々御指導と御助言をいただいた、関東林木育種場育種課長（元北海道林木育種場育種課長）柴花 茂博士、北海道林木育種場育種課長片寄 麟博士、および元森林総合研究所北海道支所向出弘正遺伝研究室長に厚くお礼を申し上げる。また、快くトドマツ自然交配種子を提供していただいた北海道立林業試験場黒丸 亮博士にも心からお礼申し上げる。

II 材料および方法

1981年5月に函館営林支局岩内営林署の発足採種園において、トドマツ精英樹12クローンを用いて行った144組合せの完全ダイアレルクロス交配による種子の一部を用いた。交配母樹に用いられた精英樹は、俄虫104、俄虫105、俄虫106、岩内105、岩内106、白老8、白老9、苫小牧3、苫小牧4、札幌101、余市3および大夕張102の12クローンであり、1981年9月に採取した種子は乾燥して精選後、実験に供するまで -20°C の貯蔵庫に保存した。また自然交配種子は発足採種園で1985年8月に採取した81クローンの母樹別種子および1985年9月に北海道立林業試験場の光珠内トドマツ精英樹クローン集植所で採取した99クローンの母樹別種子である。

アイソザイム分析には、前もって低温湿層処理を $+2^{\circ}\text{C}$ で約2ヵ月間行ったあと室温で発芽させ、幼根が種皮から約5mm程度伸長した段階の種子を用いた。種子から分離した雌性配偶体と胚はそれぞれ、1% polyvinylpyrrolidone (MW 40,000) と0.06% 2-mercaptoethanolを含む130 μl のTris-glycine buffer (pH 8.3) 中で摩砕し、抽出液に浸したろ紙を11.5%のデンブングルに挿入して電気泳動を行った。

Table 1. ゲルおよび泳動用緩衝液系
Gel and electrode buffer system

buffer system	gel and electrode buffer
Tris-citrate (TC) buffer pH7.0	0.135M Tris 0.043M citric acid 1 : 15 dilution ratio for gel buffer
Tris-borate-EDTA (TBE) buffer pH7.5	0.09M Tris 0.26M boric acid 0.004M EDTA 1 : 10 dilution ratio for gel buffer
Ashton (Ash) buffer pH8.1	Stock solution I 0.191M boric acid 0.050M lithium hydroxide Stock solution II 0.051M Tris 0.008M citric acid I and II in 1 : 9 ratio for gel buffer I for electrode buffer

本研究では、シキミ酸脱水素酵素(ShDH)、リンゴ酸脱水素酵素(MDH)、グルタミン酸脱水素酵素(GDH)、ダイアフォラーゼ(DIA)、アスパラギン酸アミノ転移酵素(GOT)、ホスホグルコムターゼ(PGM)、蛍光性エステラーゼ(F-EST)、ロイシンアミノペプチダーゼ(LAP)、アコニターゼ(ACO)およびグルコースリン酸イソメラーゼ(PGI)の10酵素種の分析を行った。

ゲルおよび電気泳動にはTC、TBEおよびAsh³⁾の3種類の緩衝液系(Table 1)を使用した。通電はTC bufferでは2.5mA/cm²の定電流で、TBEおよびAsh bufferでは10V/cm²の定電圧で行い、泳動後にゲルを酵素種の数に応じてスライスし各酵素染色液で発色させた。各酵素の泳動に使用した緩衝液系と染色方法についてはTable 2によった。

Table 2. 酵素の分析に使用した緩衝液系と染色方法
Enzymes, buffer systems and references of staining methods

Enzyme	Buffer system	Reference for staining method
Shikimate dehydrogenase	TC	LINHART <i>et al.</i> ¹¹⁾
Malate dehydrogenase	TC	RUDIN & EKBERG ²²⁾
Glutamate dehydrogenase	Ash	VALLEJOS ²⁵⁾
Diaphorase	TBE	BREWER <i>et al.</i> ⁴⁾
Glutamate oxaloacetic transaminase	Ash	RUDIN ²⁰⁾
Phosphoglucomutase	TBE	SHAW & PRASAD ²³⁾
Fluorescence esterase	TC	YAZDANI & RUDIN ²⁷⁾
Leucine aminopeptidase	Ash	RUDIN ²¹⁾
Aconitase	TC	GURIES & LEDIG ⁷⁾
Phosphoglucose isomerase	TBE	GURIES & LEDIG ⁷⁾

III 結果と考察

1) シキミ酸脱水素酵素(ShDH)

ShDHでは活性が高く多型を示すゾーンが1つ検出された。ヘテロ接合クローンの雌性配偶体の分析では移動度でRf31~35の間に3本のバンドと不活性型のバンドを分離した(Fig. 1)。移動度の違いとしてあらわれるこれらのバンドはそれぞれが対立遺伝子に対応していると考えられ、いずれもメンデル遺伝である1:1の期待分離比に適合するところから(Table 3)、このゾーンは不活性型を含む4個の対立遺伝子からなるShDH遺伝子座に支配されていると考えられた。また対立遺伝子間には優劣性がなく、共優性で遺伝するアロザイムと考えられ、バンドパターンから判定した遺伝子型によると、ダイアレル交配種子の胚についての2対立遺伝子の組合せの分析ではモノマー型の遺伝様式であった(Table 4, Fig. 2)。

2) リンゴ酸脱水素酵素(MDH)

MDHでは互いに重なり合って出現すると思われる2つのゾーンが検出された。移動度の大きいゾーンMDH-1(Rf30~40)に比べると移動度の小さいゾーンMDH-2(Rf26~34)の方がバンドの活性が常が高く、しかも明瞭であった。MDH-1遺伝子座においては3本のバンド、MDH-2遺伝子座においては2本のバンドが期待分離比に適合して分離し、それぞれに対立遺伝子を持つ独立した2つの遺伝子座であると考えられた(Table 3, Fig. 1)。また、ダイアレル交配した種子の胚の分析ではモノマー型の遺伝様式であった(Table 4, Fig. 2)。

Table 3. トドマツの雌性配偶体におけるアイソザイムの分離

Observed segregation of allozyme variants in Saghalin fir haploid macrogametophytes, and goodness of fit to 1 : 1 ratio

Locus	Plus tree	Genotype	Segregation	χ^2	<i>P</i>
<i>ShDH</i>	NAYORO-5	<i>a/b</i>	4 : 8	1.33	0.25-0.20
	TOMAKOMAI-3	<i>b/c</i>	11 : 7	0.89	0.50-0.30
	BIHUKA-5	<i>b/o</i>	6 : 6	0	1.00
<i>MDH-1</i>	TOMAKOMAI-2	<i>a/b</i>	4 : 2	0.67	0.50-0.30
	GAMUSHI-105	<i>b/c</i>	38 : 40	0.05	0.90-0.80
	SHIRAOI-9	<i>b/c</i>	31 : 29	0.07	0.80-0.75
<i>MDH-2</i>	GAMUSHI-105	<i>b/c</i>	45 : 33	1.85	0.20-0.10
	OYUUBARI-102	<i>b/c</i>	34 : 32	0.06	0.90-0.80
<i>DIA</i>	RUMOI-103	<i>a/b</i>	6 : 6	0	1.00
	NAYORO-8	<i>b/c</i>	5 : 7	0.33	0.75-0.50
	BIHUKA-1	<i>a/c</i>	4 : 8	1.33	0.25-0.20
	YOICHI-4	<i>b/o</i>	8 : 4	1.33	0.25-0.20
<i>GOT</i>	HAKODATE-2	<i>b/o</i>	6 : 6	0	1.00
	HAKODATE-7	<i>a/b</i>	5 : 7	0.33	0.75-0.50
	BIHUKA-1	<i>b/c</i>	8 : 4	1.33	0.25-0.20
<i>PGM-1</i>	YOICHI-7	<i>a/b</i>	6 : 6	0	1.00
	SHIRAOI-6	<i>b/c</i>	4 : 8	1.33	0.25-0.20
<i>PGM-2</i>	YOICHI-3	<i>a/b</i>	17 : 22	0.64	0.50-0.30
	YUUBARI-1	<i>b/c</i>	7 : 5	0.33	0.75-0.50
<i>F-EST</i>	OYUUBARI-102	<i>b/c</i>	37 : 29	0.97	0.50-0.30
	GAMUSHI-2	<i>a/b</i>	20 : 19	0.03	0.90-0.80
	RUMOI-103	<i>b/o</i>	6 : 6	0	1.00
<i>LAP-1</i>	IWANAI-105	<i>b/c</i>	70 : 68	0.03	0.90-0.80
	SHIRAOI-9	<i>a/b</i>	31 : 29	0.07	0.80-0.75
	BIHUKA-105	<i>b/o</i>	6 : 6	0	1.00
<i>LAP-2</i>	GAMUSHI-104	<i>a/b</i>	7 : 9	0.25	0.75-0.50
<i>ACO</i>	ASAHIKAWA-3	<i>a/b</i>	6 : 6	0	1.00
	RUMOI-103	<i>b/o</i>	6 : 6	0	1.00
	HAKODATE-7	<i>b/c</i>	4 : 8	1.33	0.25-0.20
<i>PGI-1</i>	IWANAI-105	<i>a/b</i>	66 : 76	0.70	0.50-0.30
<i>PGI-2</i>	ASHIBETSU-103	<i>a/b</i>	2 : 4	0.67	0.50-0.30
	SHIRAOI-9	<i>b/c</i>	29 : 31	0.07	0.80-0.75

Table 4. トドマツ交配種子の胚におけるアイソザイムの分離

Segregation of allozyme genotypes in embryos of controll-pollinated seeds

Locus	Cross	Parental genotypes	Segregation						χ^2	<i>P</i>
			<i>aa</i>	<i>ab</i>	<i>ac</i>	<i>bb</i>	<i>bc</i>	<i>cc</i>		
<i>ShDH</i>	SHIRAOI-9×TOMAKOMAI-3	<i>bb</i> × <i>bc</i>	—	—	—	11	7	—	0.89	0.50-0.30
	TOMAKOMAI-3×OYUUBARI-102	<i>bc</i> × <i>bb</i>	—	—	—	11	7	—	0.89	0.50-0.30
<i>MDH-1</i>	GAMUSHI-104×SAPPORO-101	<i>bc</i> × <i>cc</i>	—	—	—	—	12	6	2.00	0.20-0.10
<i>MDH-2</i>	GAMUSHI-104×TOMAKOMAI-4	<i>ab</i> × <i>ab</i>	6	10	—	2	—	—	2.00	0.50-0.30
	YOICHI-3×SAPPORO-101	<i>bb</i> × <i>aa</i>	—	18	—	—	—	—	0	1.00
<i>PGM-2</i>	YOICHI-3×TOMAKOMAI-3	<i>ab</i> × <i>aa</i>	10	8	—	—	—	—	0.22	0.75-0.50
<i>F-EST</i>	GAMUSHI-105×GAMUSHI-105	<i>bc</i> × <i>bc</i>	—	—	—	12	16	8	1.33	0.75-0.50
	TOMAKOMAI-3×OYUUBARI-102	<i>bb</i> × <i>bc</i>	—	—	—	18	18	—	0	1.00
	TOMAKOMAI-4×SHIRAOI-8	<i>bc</i> × <i>bb</i>	—	—	—	16	20	—	0.44	0.75-0.50
<i>LAP-1</i>	SHIRAOI-9×IWANAI-105	<i>ab</i> × <i>bc</i>	—	9	15	10	11	—	1.84	0.75-0.50
<i>PGI-1</i>	IWANAI-105×SHIRAOI-9	<i>ab</i> × <i>ab</i>	12	23	—	10	—	—	0.20	0.95-0.90
<i>PGI-2</i>	IWANAI-105×SHIRAOI-9	<i>bb</i> × <i>bc</i>	—	—	—	21	24	—	0.20	0.75-0.50

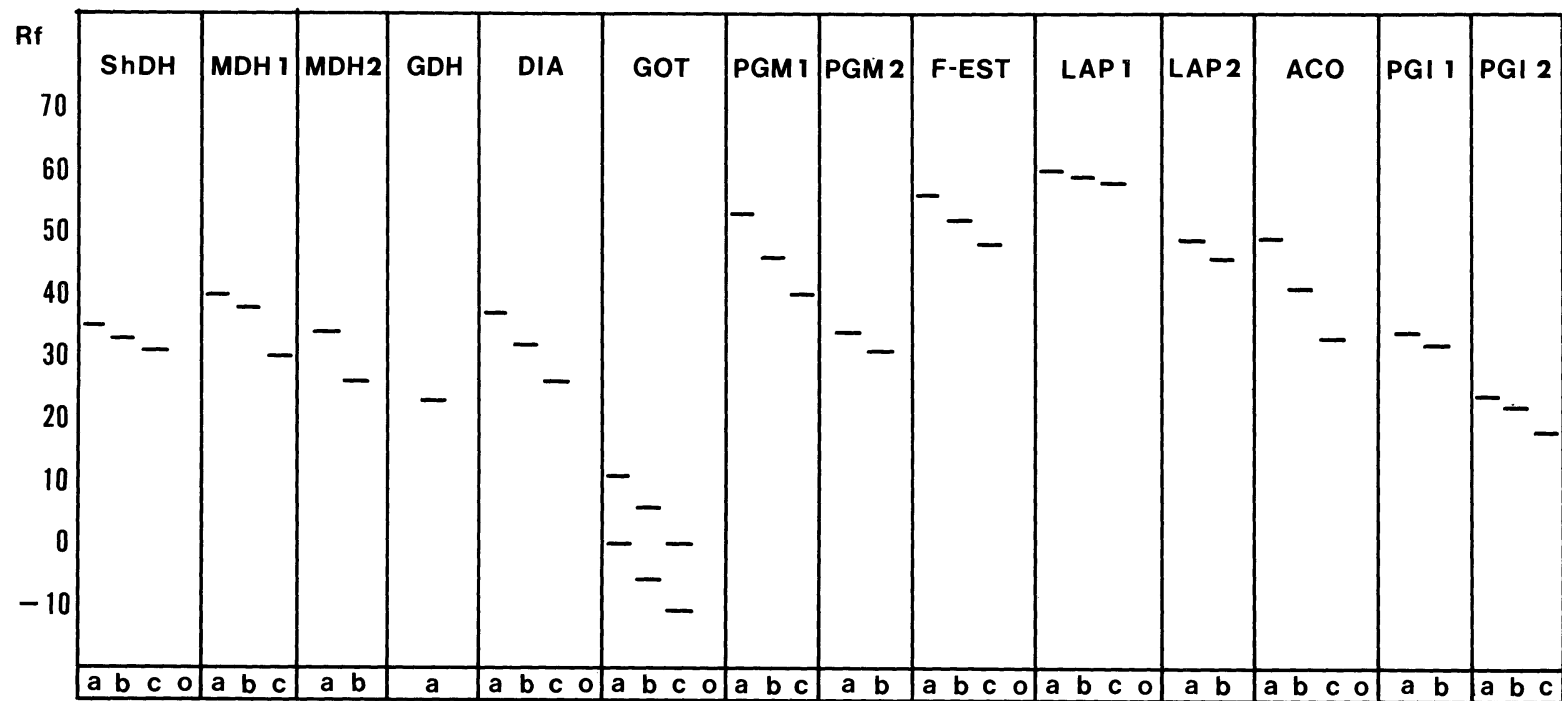


Fig. 1. トドマツの14遺伝子座における雌性配偶体のアイソザイムバンドパターンとそれらの対立遺伝子

Megagametophyte isozyme banding patterns and their allelic designations for 14 loci in Saghalin fir. Rf is the migrational distance relative to the distance of the bromophenol blue front.

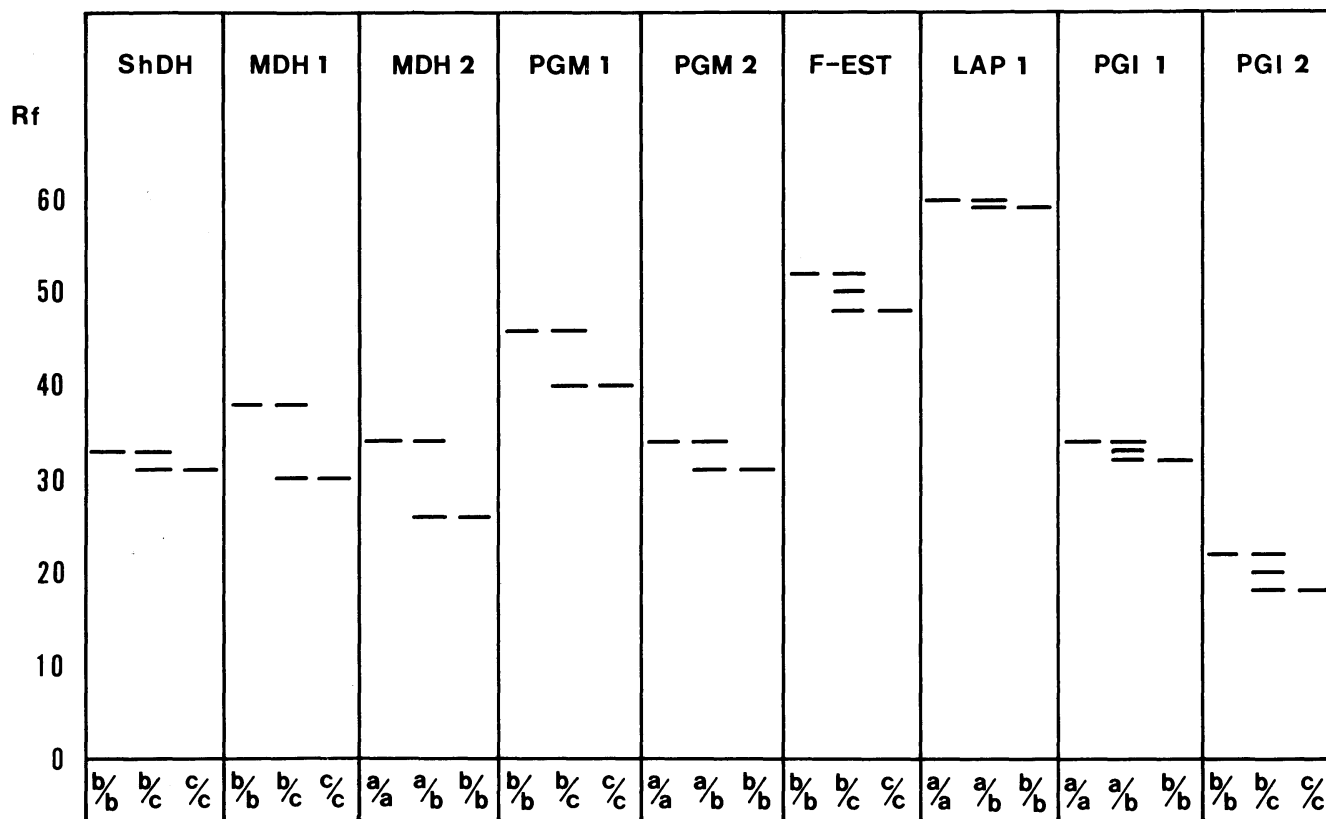


Fig. 2. トドマツの多型9遺伝子座における胚のバンドパターンとそれらの遺伝子型

Embryo isozyme banding patterns and their genotypes for nine polymorphic loci in Saghalin fir.

3) グルタミン酸脱水素酵素 (GDH)

GDHでは分析した全試料において全く変異がなく、明確な細い1本のバンドしか観察されず (Fig. 1), 単型的なGDH遺伝子座 (Rf23) が存在すると推定された。しかし、これについては117クローンを分析しただけであり (Table 5), 対立遺伝子がまったく無いとは言い切れない。HARTL²³⁾は、どのような大きな集団でも十分に時間をかけて調査すればどの遺伝子座にも、まれな対立遺伝子の存在が確認できる、と述べている。GDHに関して、*Pinus taeda*²⁾では1遺伝子座に5対立遺伝子が確認されているし、*Pinus thunbergii*²⁴⁾で37精英樹クローン中で変異を持つのは1クローンのみであったと報告されている。

4) ダイアフォラーゼ (DIA)

DIAでは雌性配偶体においてRf26~37のゾーンに3本のバンドと不活性型のバンドが観察された (Fig. 1)。各バンドの観察値は期待分離比に適合することから (Table 3), このゾーンは不活性型遺伝子を含む4対立遺伝子を持つDIA遺伝子座に支配されていると考えられた。しかし交配家系種子の胚では活性が非常に不十分であったので、胚による遺伝子分析は行わなかった。

Table 5. トドマツ精英樹クローンの対立遺伝子頻度
Allelic frequencies of plus tree clones of Saghalin fir

Locus	Sample size	Allelic frequency			
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>o</i>
<i>SLDH</i>	149	0.017	0.970	0.003	0.010
<i>MCH-1</i>	149	0.003	0.346	0.651	
<i>MCH-2</i>	150	0.750	0.250		
<i>GDH</i>	117	1.000			
<i>DIA</i>	99	0.025	0.889	0.030	0.056
<i>GOT</i>	86	0.023	0.913	0.052	0.012
<i>PGM-1</i>	150	0.040	0.953	0.007	
<i>PGM-2</i>	121	0.930	0.070		
<i>F-EST</i>	149	0.003	0.708	0.286	0.003
<i>LAP-1</i>	111	0.131	0.721	0.121	0.027
<i>LAP-2</i>	34	0.868	0.132		
<i>ACO</i>	108	0.023	0.967	0.005	0.005
<i>PGI-1</i>	150	0.860	0.140		
<i>PGI-2</i>	149	0.003	0.886	0.111	

5) アスパラギン酸アミノ転移酵素 (GOT)

GOTでは2つのゾーンが検出できるが、移動度の大きいゾーンではバンドの出現が不明瞭であるため分析は行わなかった。移動度の小さいゾーン (Rf11~11) については原点を中心に陽極側と陰極側に分かれて2本ずつの組で移動する3組のバンドと不活性型のバンドが観察された (Fig. 1)。これらのバンド群はいずれも期待分離比に適合することから (Table 3), このゾーンは不活性型遺伝子を含む4対立遺伝子を持つGOT遺伝子座に支配されていると考えられた。しかし交配家系種子の胚の分析では活性が不明確であるために遺伝子分析は行わなかった。

6) ホスホグルコムターゼ (PGM)

PGMでは2つのゾーンが観察された。移動度の大きいゾーン (Rf40~53) では3本のバンドが観察された (Fig. 1)。これらのバンドはいずれも1:1の期待分離比に適合することから (Table 3), このゾーンは3対立遺伝子を持つPGM-1遺伝子座に支配されていると考えられた。また移動度の小さいゾーン (Rf31~34) には2本のバンドが期待分離比に適合して分離し, 2対立遺伝子を持つPGM-2遺伝子座に支配されていると考えられた (Table 3)。PGM-2遺伝子座においては交配種子の胚による分析からモノマー型の遺伝様式と考えられた (Fig. 2, Table 4)。また, PGM-1遺伝子座についてはダイアレル交配家系には遺伝子分析できる組合せがないが, 自然交配種子の胚による分析からPGM-2遺伝子座と同じモノマー型の遺伝様式であると推定された (Fig. 2)。

7) 蛍光性エステラーゼ (F-EST)

F-ESTでは移動度の異なる3つのゾーンが観察された。このうち移動度の大きいゾーンと中間のゾーンでは数本のバンドが分離するが, いずれも活性が非常に不安定であるため分析までには至っていない。移動度の小さいゾーン (Rf48~56) では3本のバンドと不活性型バンドが明確に観察でき (Fig. 1), 1:1の期待分離比に適合した分離がみられることから (Table 3), このゾーンは不活性型を含む4対立遺伝子を持つF-EST遺伝子座に支配されていることがわかる。また, 交配種子の胚による分析では, 雌性配偶体の分析時に分離した2本のバンドの中間に新しく雑種バンドが現れることから, このF-EST遺伝子座はダイマー型の遺伝様式であった (Fig. 2, Table 4)。同様の例は*Pinus sylvestris*²⁷⁾でも報告されている。

8) ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)

LAPでは2つのゾーンが観察された。移動度の大きいゾーン (Rf 58~60) では3本のバンドと不活性型バンドが観察された (Fig. 1)。これらのバンドは期待分離比に適合することから (Table 3), このゾーンは不活性型を含む4対立遺伝子を持つLAP-1遺伝子座支配と考えられた。ダイアレル交配家系による分析でも期待分離比に適合し (Table 4), 遺伝様式はモノマー型であった (Fig. 2)。また, 移動度の小さいゾーン (Rf46~49) には2本のバンドが期待分離比に適合して分離し, 2対立遺伝子を持つLAP-2遺伝子座に支配されていると考えられたが (Fig. 1, Table 3), 胚では活性が低く分析できなかった。

9) アコニターゼ (ACO)

ACOでは活性のあるゾーンが1つ検出された。Rf33~49の範囲で3本のバンドと不活性型のバンドがみられた。これらはいずれも期待分離比に適合して分離するため, 不活性型を含む4対立遺伝子によるACO遺伝子座の支配と考えられた (Fig. 1, Table 3)。胚ではバンドが不明瞭になり, 分析できなかった。

10) グルコースリン酸イソメラーゼ (PGI)

PGIでは2つのゾーンが観察された。移動度の大きなゾーン (Rf32~34) には2本のバンドが期待分離比に適合して分離することから (Fig. 1, Table 3), このゾーンは2対立遺伝子を持つPGI-1遺伝子座に支配されていると考えられた。また, 移動度の小さいゾーン (Rf18~22) も, 同様にして3本のバンドが分離し, 3対立遺伝子を持つPGI-2遺伝子座に支配されていることが明らかになった (Fig. 1, Table 3)。これら2つの遺伝子座, PGI-1およびPGI-2においては, ヘテロ接合の胚の場合には各バンドの中間に雑種バンドがみられることから遺伝様式はダイマー型と確認された (Fig. 2)。ただ胚においては少々活性が劣るために雑種バンドを含んだ明瞭な3本のバンドが発現することはまれで, 雌性配偶体でみられた2本のバンドの位置の間に1本の帯状のバンドとして検出されることが多い。PGIがダイマー型であるということは*Pinus rigida*⁷⁾や*Pinus taeda*²⁾でも報告されている。

トドマツ精英樹クローンのダイアレル交配種子と自然交配種子を材料にして、おもにヘテロ接合体の種子の雌性配偶体におけるアイソザイムバンドの分離を検出することにより遺伝子座の解析を行った。調査した10酵素種では少なくとも14遺伝子座の42対立遺伝子によって支配されていることが明らかになった。10酵素種のなかでは*GDH* 遺伝子座のみが変異を持たなかったが、他の酵素種においてはすべて複数の対立遺伝子が見られ、1遺伝子座あたりの対立遺伝子数も不活性型遺伝子を含めて2～4個が検出された (Table 5)。しかし、最も多くみられる対立遺伝子の出現頻度が0.95以上である遺伝子座をすべて単型的な遺伝子座とみれば、*ShDH*, *PGM-1* および *ACO* の3遺伝子座も *GDH* と同じくトドマツでは単型的な遺伝子座と考えられる。また、これから求められる多型的遺伝子座の割合 (P^0) は、 $P=10/14=0.714$ であった。

天然林や人工林の集団における遺伝的変異の評価あるいは採種園での交配実態の解析などをアイソザイムを利用して研究する場合には、できるだけ対立遺伝子の数が多い多型的な遺伝子座を複数用いることが分析精度の向上につながると考えられている。林分集団のアロザイム変異を論じた報告ではLUNDKVIST¹²⁾が11遺伝子座で*Picea abies*林分の解析、PLESSAS¹⁹⁾が37遺伝子座で*Pinus radiata*林分の遺伝解析を行っているし、採種園に関する報告ではNAGASAKA *et al.*¹⁵⁾が18遺伝子座で、EL-KASSABY *et al.*⁹⁾が21遺伝子座でそれぞれ*Pinus sylvestris*採種園での花粉汚染率等の分析評価を行った。また、ADAMS *et al.*¹¹⁾も15遺伝子座で*Pinus taeda*採種園での自殖率等の解析を行っており、著者らが今回解明した14の遺伝子座についても、今後、トドマツの林分集団の遺伝的変異を解析するために十分応用できるものと考えられた。

また、Table 5 に示した*F-EST-a*や*ShDH-c*などのような出現頻度が0.005以下の対立遺伝子 (rare allele⁸⁾) は標識遺伝子としての利用が期待される。例えばYAZDANI *et al.*²⁶⁾は*Pinus sylvestris*の林分において母樹の個体からの距離と遺伝子の拡散との関係を特定のいくつかのアイソザイム標識遺伝子をもとにして解析できることを報告している。

引用文献

- 1) ADAMS, W. T. and JOLY, R. J. : Allozyme studies in loblolly pine seed orchards : clonal variation and frequency of progeny due to self-fertilization, *Silvae Genetica*, **29**, (1) , 1-4, (1980)
- 2) ADAMS, W. T. and JOLY, R. J. : Genetics of allozyme variants in loblolly pine, *J. Hered.*, **71**, 33-40, (1980)
- 3) ASHTON, G. C. and BRADEN, A. W. H. : Serum- β -globulin polymorphism in mice, *Aust. J. Biol. Sci.*, **14**, 248-254, (1961)
- 4) BREWER, G. J., EATON, J. W., KNUTSEN, C. S. and BECK, C. C. : A starch gel electrophoretic method for the study of diaphorase isozymes and preliminary results with sheep and human erythrocytes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **29**, 198-204, (1967)
- 5) 栄花 茂 : 北海道におけるトドマツの耐凍性に関する生態遺伝学的研究, *林育研報*, **2**, 61~107, (1984)
- 6) EL-KASSABY, Y. A., RUDIN, D. and YAZDANI, R. : Levels of outcrossing and contamination in two *Pinus sylvestris* L. seed orchards in northern Sweden, *Scand. J. For. Res.*, **4**, 41-49, (1989)
- 7) GURIES, R. P. and LEDIG, F. T. : Inheritance some polymorphic isoenzymes in pitch pine (*Pinus rigida* MILL.) , *Heredity*, **40**, 27-32, (1978)
- 8) HARTL, D. L. : Genetic diversity. In *Principles of population genetics*, Sinauer Associates, Massachusetts, 72-85, (1980)

- 9) 畠山末吉：トドマツ産地間変異の地域性に関する遺伝育種学的研究，北林試報，**19**，1～92，(1981)
- 10) 北海道林木育種場：北海道林木育種場年報，35～38，(1989)
- 11) LINHART, Y. B., DAVIS, M. L. and MITTON, J. B.: Genetic control of shikimate dehydrogenase in ponderosa pine, Biochem. Genet., **19**, 641-646, (1981)
- 12) LUNDKVIST, K. : Allozyme frequency distributions in four Swedish populations of Norway spruce (*Picea abies* K.) I. Estimations of genetic variation within and among populations, genetic linkage and a mating system parameter, Hereditas, **90**, 127-143, (1979)
- 13) 松浦 堯：同位酵素によるトドマツの系統的変異の究明，北海道の林木育種，**15**(2)，15～19，(1973)
- 14) 松浦 堯・田中京子：アイソザイムによるトドマツ天然林の家系分析，86回日林講，276，(1975)
- 15) NAGASAKA, K. and SZMIDT, A. E. : Multilocus analysis of external pollen contamination of a Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seed orchard. In Lecture notes in biomathematics, **60**, Population genetics in forestry (ed. H. -R. Gregorius) , 134-138, (1985)
- 16) 中戸川 仁：トドマツのパーオキシダーゼ・アイソザイムの器官特異性，94回日林論，289～290，(1983)
- 17) 岡田 滋：北海道におけるトドマツ(*Abies sachalinensis* MAST.)の変異について，林育研報，**1**，15～92，(1983)
- 18) O'MALLEY, D. M., ALLENDORF, F. W. and BLAKE, G. M. : Inheritance isozyme variation and heterozygosity in *Pinus ponderosa*, Biochem. Genet., **17**, 233-250, (1979)
- 19) PLESSAS, M. E. and STRAUSS, S. H. : Allozyme differentiation among populations, stands, and cohorts in Monterey pine, Can. J. For. Res., **16**, 1155-1164, (1986)
- 20) RUDIN, D. : Inheritance of glutamate oxalate transaminase (GOT) from needles and endosperms of *Pinus sylvestris*, Hereditas, **80**, 296-300, (1975)
- 21) RUDIN, D. : Leucine-amino-peptidase (LAP) from needles and endosperms of *Pinus sylvestris* L. A study of inheritance of allozymes, Hereditas, **85**, 219-226, (1977)
- 22) RUDIN, D. and EKBERG, I. : Genetic structure of open-pollinated progenies from a seed orchard of *Pinus sylvestris*, Silvae Fennica, **16**, 87-93, (1982)
- 23) SHAW, R. C. and PRASAD, R. : Starch gel electrophoresis of enzymes, compilation of recipes, Biochem. Genet., **4**, 297-320, (1970)
- 24) SHIRAISHI, S. : Inheritance of isozyme variations in Japanese black pine, *Pinus thunbergii* PARL., Silvae Genetica, **37**, 93-100, (1988)
- 25) VALLEJOS, C. E. : Enzyme activity staining. In Isozyme in plant genetics and breeding, Part A (ed. S. D. TANKSLEY and T. J. ORTON) , Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 469-516, (1983)
- 26) YAZDANI, R., LINDGREN, D. and STEWART, S. : Gene dispersion within a population of *Pinus sylvestris*, Scand. J. For. Res., **4**, 295-306, (1989)
- 27) YAZDANI, R. and RUDIN, D. : Inheritance of fluorescence esterase and β -galactosidase in haploid and diploid tissues of *Pinus sylvestris* L., Hereditas, **96**, 191-194, (1982)

**Inheritance of Isozymes in Cross- and Open-Pollinated Seeds of
Saghalin Fir (*Abies sachalinensis* MAST.)**

Kazutosi NAGASAKA⁽¹⁾ and Koozoo KOONO⁽²⁾

Summary

Inheritance of isozyme variants was studied using haploid megagametophytes and diploid embryos of diallele-crossed and open-pollinated seeds of plus tree clones of Saghalin fir (*Abies sachalinensis* MAST.) by starch gel electrophoresis. It was demonstrated that allozyme variants in 10 enzyme systems were controlled by at least 42 alleles in 14 loci. The segregation of allozymes in megagametophytes of heterozygous tree revealed that the two zones of activity for malate dehydrogenase (MDH), phosphoglucomutase (PGM), leucine aminopeptidase (LAP) and phosphoglucose isomerase (PGI) showed that two loci control each of these enzymes. The segregation of allozymes in single zone of activity for shikimate dehydrogenase (ShDH), glutamate dehydrogenase (GDH), diaphorase (DIA), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), fluorescence esterase (F-EST) and aconitase (ACO) was each controlled by a single locus. We find no variation whatever at a *GDH* locus, but some variation at the other 13 loci. The degree of polymorphism in Saghalin fir was 0.714.

(1) (2) Hokkaido Forest Tree Breeding Institute