



## 研究トピックス

### アカマツ種子の父親と母親を見分ける: 針葉樹種子の遺伝様式の利用

林木育種センター 遺伝資源部 岩泉 正和

#### 1 はじめに

アカマツは、青森県下北半島から鹿児島県屋久島までの冷温帯から暖温帯にかけて分布し、その多くは尾根筋などの日当たりが良くやせた土地に先駆的に優占して生育する、日本の代表的な針葉樹です。アカマツ天然林の遺伝資源を永続的に保存していくためには、天然林内の遺伝的多様性や遺伝的構造を把握し、これらの変化をモニタリングする必要があります。

集団の遺伝的多様性を評価し、その推移を予測していく上では、その遺伝的な変化をもたらす集団内外での遺伝子の流動、つまり花粉及び種子の飛散の状況を把握することが不可欠です。そのために、林内に散布された種子などを対象に、これらの親候補の個体を周囲の成木の中から探し出すのですが、花粉と種子という二種類の遺伝子の流動を区別して評価するためには、親候補となった個体が父親なのか母親なのかを見分ける必要があります。

アカマツをはじめとした針葉樹の種子は、その組織が、(a)母親の遺伝子をそのまま受け継ぐ種皮 $2n$ 、(b)母親のいずれか一方の遺伝子と、父親のいずれか一方の遺伝子を受け継ぐ胚 $2n$ 、(c)母親のいずれか一方（胚と同一）の遺伝子を受け継ぐ大配偶体 $n$ （いわゆる「胚乳」）の3つから成り立っています（横山、1975；図 - 1）。このことから、これらの3つの組織を別々にDNA分析することによ

り、種子の遺伝子中から父親由来と母親由来の遺伝子を見分けることで、父親と母親を区別して特定できることが考えられます。そこで本報では、実際にアカマツの種子をその組織別にDNA分析して、親から子への、針葉樹に特有の遺伝様式が、アカマツにおいて明確に確認できるかどうか確かめました。

#### 2 材料と方法

茨城県日立市にある林木育種センター本所構内に植栽されているアカマツ精英樹のうち、長野福島101号および東三河1号の2系統を母樹として、各系統から針葉を採取し、DNAを抽出しました。また、両系統から自然交配の球果を採取し、系統当たり32個の充実種子を分析に用いました。

分析用の各種子は、写真 - 1 に示すように組織別に分割し、そのうち外種皮(a)、胚(b)、大配偶体(c)の3つの組織について、別々にDNAを抽出しました。

抽出した母樹および種子各組織のDNAサンプルは、Watanabe et al. (2006) が開発した6つのマイクロサテライト遺伝子座を用いてDNA分析を行いました。母樹の針葉では全6遺伝子座、一方、種子の各組織では、長野福島101号については5遺伝子座、東三河1号については残りの1遺伝子座を用い、その遺伝子サイズを決定しました。そして、得られた母樹と種子各組織の遺伝子サイズデータを遺伝子座ごとに比較しました。

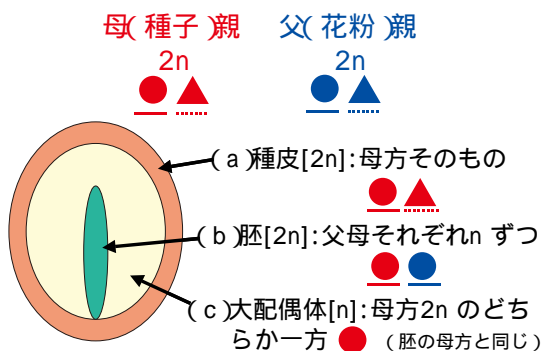


図 - 1 針葉樹種子の各組織における両親からの遺伝様式例として胚において母親から、父親からの対立遺伝子を受け継いだ場合を示す。

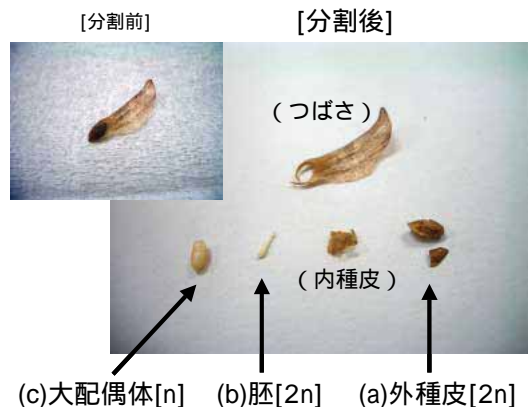


写真 - 1 組織別に分割したアカマツ種子

### 3 結果

表 - 1 に、遺伝子座ごとの母樹と種子各組織の遺伝子サイズデータを、また図 - 2 には、母樹と種子各組織のマイクロサテライト分析における、遺伝子サイズの波形データを示します。

まず外種皮(a)については、分析可能であった全ての種皮サンプルの遺伝子型はそれぞれの母樹の遺伝子型と一致しました。このことから、種皮は母親の遺伝子型をそのまま受け継ぐ組織である、ということが、今回のアカマツ種子におけるマイクロサテライト分析においても確認ができました。

次に大配偶体(c)については、分析可能であった全てのサンプルの半数型は、それぞれの母樹における遺伝子型のうちの、いずれか一方の対立遺伝子と一致しました。

また胚(b)については、分析可能であった全てのサンプルにおける遺伝子型のうちの一方が、同じ種子における大配偶体の半数型、および母樹におけるいずれか一方の対立遺伝子と一致しました。よって、胚におけるもう一方の対立遺伝子が、花粉親由来のものであると判断することができました。

以上のことから、DNAのマイクロサテライト分析により、アカマツ種子各組織の、両親からの遺伝様式をきちんと確認することができました。よって、アカマツ天然林において自然散布された種子の、父親と母親の両方を特定する際には、種子を組織別にDNA分析することが有効であると確認されました。

表 - 1 分析した2母樹6遺伝子座における、母樹および種子各組織の遺伝子サイズデータ

系統		長野福島101号										東三河1号	
遺伝子座	Pdms009	Pdms011	Pdms030	Pdms039	Pdms221	Pdms065							
母樹の遺伝子型 [2n]	144 171	121 134	112 116	142 146	175 177	149 190							
(a) 外種皮 [2n]													
遺伝子型	144 171	121 134	112 116	142 146	175 177	149 190							
(分析可であった種子数)	(32)	(31)	(32)	(22)	(29)	(30)							
(b) 胚 [2n] と (c) 大配偶体 [n]													
種子1 胚	140 171	119 134	112 116	126 146	177 181	149 149							
大配偶体	171	134	116	146	177	149							
種子2 胚	136 144	134 136	112 112	146 146	177 181	149 190							
大配偶体	144	134	112	146	177	190							
種子3 胚	136 144	134 138	116 116	126 142	175 177	149 153							
大配偶体	144	134	116	142	175	149							
種子4 胚	144 164	134 138	112 114	142 142	175 175	149 149							
大配偶体	144	134	112	142	175	149							
種子5 胚	154 171	121 132	112 116	126 146	177 177	147 149							
大配偶体	171	121	112	146	177	149							
種子6 胚	140 171	134 136	114 116	146 146	175 177	151 190							
大配偶体	171	134	116	146	177	190							
(分析可であった種子数)	(32)	(32)	(32)	(26)	(32)	(30)							

大配偶体と胚については、例として6種子のデータを記載した。Pdms009座における赤字が母方由来の遺伝子、青文字が父方由来の遺伝子を示す。

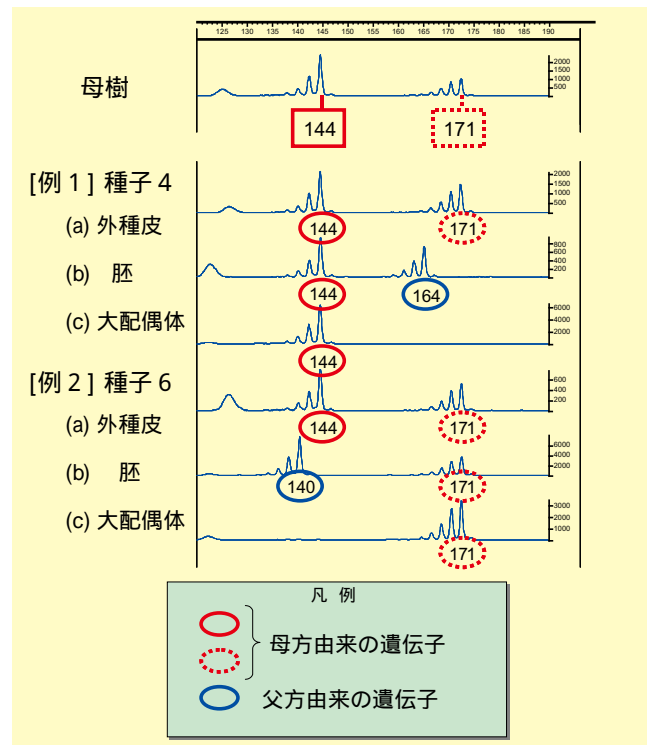


図 - 2 母樹と種子各組織のマイクロサテライト分析における遺伝子サイズの波形データ  
例として、Pdms009座における種子4および種子6のデータを記載した。

### 4 実践：天然林への応用

今回の確認を踏まえ、現在、私たちは、福島県いわき市にある阿武隈高地森林生物遺伝資源保存林内のアカマツ天然林を対象に固定試験地を設定し、試験地内のアカマツの成木個体および自然散布される種子を対象に、DNA分析を行っているところです。集団内外での遺伝子の流動の状況を把握するために、各散布種子の父親と母親を試験地内の親個体の中から探し出し、父親または母親が特定されなかった種子を割り出すことで、試験地外部の父親または母親由来の花粉や種子がどれくらいの割合で入ってきているのかを検証します。この花粉や種子の流入量を、集団外からの新たな遺伝子の供給量と考えることにより、集団の遺伝的多様性の維持のメカニズムなどを解明することが可能ではないかと考えています。

### 引用文献

- 横山敏孝 (1975) 林業試験場研究報告, 277: 1-20.  
Watanabe, A., Iwaizumi, M. G., Ubukata, M., Kondo, T., Lian, C., and Hogetsu, T. (2006) Molecular Ecology Notes, 6: 80-82.