Noritsugu Kuramoto, Nobuhiro Tomaru, Masahumi Murai and Kihachiro Ohba : Genetic Analysis of Four Isozyme Loci and a Linkage Relationship between Dwarf Gene(*dw*) and Leaf Whiting Gene in Summer(*swl*) of Sugi (*Cryptomeria japonica*). (English Summary on p. 384)

スギのアイソザイム遺伝子 4 座の遺伝子分析および矮性遺伝子 (*dw*) と夏期白緑葉遺伝子 (*swl*) の連鎖

倉本哲嗣¹⁾・戸丸信弘²⁾・村井正文²⁾・大庭喜八郎¹⁾

(¹⁾ 筑波大学農林学系, つくば市, 〒 305, ²⁾ 森林総合研究所, 稲敷郡茎崎町, 〒 305)

摘 要

スギ (*Cryptomeria japonica*) の針葉を用いて, 11 酵素種 (ADH, SoDH, G 2 DH, MDH, G 6 PD, GR, GK, ACP, FM, ACO, PGI) のアイソザイムの遺伝子分析を行った。その結果, 11 酵素のうち 4 酵素種 (MDH, G 6 PD, FM, ACO) においてそれぞれ 1 遺伝子座が同定された。MDH では 2 つのバンドゾーンが観察され, そのうち電気泳動度の小さいバンドゾーンのバンドではダイマー型の遺伝様式の遺伝子座 (*Mdh-1*) に支配されていることが明らかになった。G 6 PD, FM, ACO では 1 つのバンドゾーンが観察され, 遺伝子分析の結果, それぞれ 1 つの遺伝子座 (*G 6 p, Fm, Aco*) に支配されていることが明らかになった。なお, G 6 PD, FM ではダイマー型の, ACO ではモノマー型の遺伝様式であった。また, スギのさし木品種であるイワオ 11 の自殖家系を用いて矮性遺伝子座 (*dw*) と夏期白緑葉遺伝子座 (*swl*; 色素体変異を支配する遺伝子座で, 夏に針葉が白化) との間に連鎖関係があることが, 明らかになった。組換え価は 0.315 ± 0.05 で, 2 つの遺伝子座は相引の配列であった。

Key Words : sugi, *Cryptomeria japonica*, isozyme, genetic analysis, linkage.

緒 言

現在までに, 様々な針葉樹で主に胚乳を用いたアイソザイムの遺伝子分析が行われ, 同定されたアイソザイム遺伝子は連鎖分析や集団遺伝学的研究, クローン同定などの遺伝マーカーとして利用されている。

これまで主に胚乳がアイソザイム分析の対象となってきた要因は, 針葉樹では胚乳にフェノール化合物の含有量が少ないために酵素活性が阻害されずアイソザイム分析が容易であること (Neale *et al.* 1984), 種子の胚乳が母方由来の半数体であるため, 自然受粉種子を用いても

遺伝子分析が可能であり, 母樹の遺伝子型の判定と同時にアイソザイム遺伝子座間の連鎖分析が可能であること (Cheliak and Pitel 1985), などが挙げられる。

スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) では胚乳が小さいことから針葉を用いてアイソザイムの遺伝子分析が行われ, これまでに合計 13 酵素種 17 遺伝子座の存在が明らかになっている (Tsumura *et al.* 1989, 奥泉ら 1990)。しかしスギではアイソザイム分析を行う際, 酵素抽出時に酵素が失活したり, あるいは針葉中に含まれるフェノール性物質等による酵素の活性阻害などにより, 明瞭なザイモグラムを得ることができなかった。その後, 酵素の抽出液が改良された結果 (Uchida *et al.* 1991), より酵素が安定した状態でスギ針葉から酵素の抽出が行えるようになり, スギの針葉からも比較的明瞭なザイモグラムが得られるようになった。

そこでスギについてクローン同定や連鎖分析などに利用可能な遺伝子座をより多くする目的で, 現在未調査の 11 酵素種, すなわちアルコール脱水素酵素, ソルビトール脱水素酵素, グリセリン酸脱水素酵素, リンゴ酸脱水素酵素, グルコース-6-リン酸脱水素酵素, グルタチオン還元酵素, グルコキナーゼ, 酸性ホスファターゼ, フマラーゼ, アコニターゼ, グルコースリン酸イソメラーゼについてアイソザイムの遺伝子分析を行った。また材料育成の段階でイワオ 11 の自殖家系で形態異常, 色素体変異が発現したので, これらの形質を支配する 2 遺伝子座間の連鎖分析を行った。

材料および方法

供試材料は, 筑波大学農林技術センター苗畑, および林木育種センターに植栽されているスギの精英樹 1 クローン, 在来品種 4 品種および各種形態, 色素性質の遺伝子を保有する 3 個体, 合計 8 母樹を交雑親として 1991 年から 1993 年に交雑した種子から得られた交雑家系苗である (Table 1)。交雑種子はガラス温室内にセットしたプラントベッドに播種し, 発芽後, 随時実験に供試した。なおスギの在来品種, 各種標識遺伝子を保有する個体は, 農林水産省放射線育種場においてクローン化され, 現在

Table 1. Crossed or selfed families derived from crossing of sugi plus trees and others

	♀	Family	♂	Number of seedlings	Year of crossing	Site of crossing
1.	Boka sugi ¹⁾	×	Kumotooshi ¹⁾	148	1992	Univ. of Tukuba
2.	Iiyama 9 ²⁾	×	Yore sugi ³⁾	125	1993	NFTBC ⁵⁾
3.	Kuma sugi 3 ¹⁾	×	Midori sugi (5) ⁴⁾	87	1991	Univ. of Tukuba
4.	Iiyama 9 ²⁾		selfed	96	1993	NFTBC ⁵⁾
5.	Iwao 11 ¹⁾		selfed	134	1991	Univ. of Tukuba
6.	Kumotooshi ¹⁾		selfed	70	1993	Univ. of Tukuba
7.	Midori sugi (5) ⁴⁾		selfed	192	1991	Univ. of Tukuba
8.	Yore sugi ³⁾		selfed	91	1991	Univ. of Tukuba

¹⁾ Local cutting cultivar²⁾ Plus tree³⁾ Horticultural cultivar⁴⁾ Individual with marker genes⁵⁾ National Forest Tree Breeding Center, Mito

森林総合研究所と筑波大学に保存されているものである。

アイソザイム分析は、津村ら (1990) の方法にもとづいた。実生苗全体を 90 mg 秤量し、液体窒素と共に乳鉢を用いてパウダー状になるまですりつぶし、これに抽出用緩衝液 1 ml とポリビニールポリピロリドン 70 mg を加えよく混ぜた。この粗抽出液を遠沈チューブにとり、4℃、15,000 rpm で 50 分間遠心分離し、上清を電気泳動用試料として用いた。電気泳動は、ポリアクリルアミドゲルを支持体とする垂直平板法を用い、泳動ゲルと濃縮ゲルの濃度および pH はそれぞれ 7.5%, pH 8.9, および 3.75%, pH 6.7 とした。濃縮ゲルについてはポリビニールピロリドンを 10% 添加した。上清試料の添加量は 1 泳動溝あたり 10 μ l とした。電気泳動条件は 4℃、9.5 mA/cm² の定温・定電流とし、約 180 分間電気泳動を行った。

本研究では、1 遺伝子座 (*Gk*) に支配されていると推定された 1 酵素種 (GK) と (Tsumura and Ohba 1993), 未分析の 10 酵素種を分析対象とした (Table 2)。各酵素種のアイソザイムの検出方法は津村ら (1990) の方法に従った。

遺伝子分析は、交雑親のバンドパターンから自殖家系や交雑家系における期待分離比を推定し、 χ^2 検定によって観測数の期待値に対する適合度を調査することによって行った。なお移動度の小さいバンドから順に *a*, *b*, *c*, ……の遺伝子記号を付けた。

アイソザイム分析の対象とした交雑家系のうち、イワオ 11 の自殖家系で矮性形態個体と、針葉が夏期に白緑化する個体の 2 種類の変異体の分離が観察された。この夏期白緑葉の分離については大庭・村井 (1969) が報告し、矮性苗の分離も確認している。また矮性形態、夏期白緑葉の 2 形質を支配する遺伝子は共に劣性遺伝子であるため、優性型 (正常型) 個体と、劣性型 (矮性形態、夏期白緑葉) 個体の期待分離比は 3:1 となる。2 形質それぞれの分離個体数の期待分離比に対する適合度を χ^2 検定によって調査した。ついで 2 形質を支配する遺伝子座間の連鎖分析を行った。2 つの形質が劣性遺伝子

Table 2. Enzymes studied and their abbreviation and Enzyme Commission Reference Number

No.	Enzyme	Abbrev.	E. C. No.
Oxidoreductase			
1.	Alcohol dehydrogenase	ADH	1.1.1.1
2.	Sorbitol dehydrogenase	SoDH	1.1.1.14
3.	Glycerate-2-dehydrogenase	G2DH	1.1.1.25
4.	Malate dehydrogenase	MDH	1.1.1.37
5.	Glucose-6-phosphate dehydrogenase	G6PD	1.1.1.49
6.	Glutathion reductase	GR	1.6.4.2
Transferase			
7.	Glucokinase	GK	2.7.1.2
Hydrase			
8.	Acid phosphatase	ACP	3.1.3.2
Lyase			
9.	Fumarase	FM	4.2.1.2
10.	Aconitase	ACO	4.2.1.3
Isomerase			
11.	Phosphoglucose isomerase	PGI	5.3.1.9

支配であることから、正常型個体：矮性型個体：夏期白緑葉型個体：矮性型かつ夏期白緑葉型個体の期待分離比は 9:3:3:1 となるが、観察された分離個体数が期待分離比に対して有意な差が見られた場合には連鎖関係があるとして組換え価を算出した。組換え価の算出には、Bailey (1961) の計算方法を応用した大庭ら (1992, 1993, 1995) の計算方法およびそのコンピュータプログラムを利用した。

結 果

1. アイソザイム遺伝子座の決定

調査したアイソザイム 11 酵素種の内、アルコール脱水素酵素 (ADH)、ソルビトール脱水素酵素 (SoDH)、グリセリン酸脱水素酵素 (G 2 DH) の 3 酵素種では明瞭なザイモグラムが得られなかった。またグルタチオンレダクターゼ (GR)、グルコキナーゼ (GK)、酸性ホスファターゼ (ACP)、グルコースリン酸イソメラーゼ (PGI) の 4 酵素種では明瞭なザイモグラムが得られたが、多型は観察されなかった。一方、リンゴ酸脱水素酵

素 (MDH), グルコース 6 リン酸脱水素酵素 (G 6 PD), フマラーゼ (FM), およびアコニターゼ (ACO) の 4 酵素種で酵素多型が検出された. その 4 酵素種について遺伝子分析を行った.

(1) リンゴ酸脱水素酵素アイソザイム (MDH)

MDH では 2 つのゾーンが観察された. Rf 0.22 ~ Rf 0.24 付近のゾーンでヨレスギの自殖家系および飯山 9 × ヨレスギの交雑家系で分離が観察された (Fig. 1, Fig. 2). ヨレスギではヘテロ接合型 (a/b , Fig. 1, Fig. 2) の, 飯山 9 ではホモ接合型 (a/a , Fig. 1, Fig. 2) のバンドパターンが観察された. この結果からヨレスギ自殖家系で a/a , a/b , b/b のそれぞれのバンドパターンが 1:2:1, 飯山 9 × ヨレスギの交雑家系で a/a と a/b のそれぞれのバンドパターンが 1:1 の分離頻度であることが推定された. 観察数の期待分離比に対する適合度を χ^2 検定を用いて調べた結果 (Table 3), 期待分離比に適合し, MDH の Rf 0.22 ~ Rf 0.24 付近のゾーンの 2 つのバンドは 1 遺伝子座の対立遺伝子に支配されていることが明らかになった. Rf 0.35 付近のゾーンでは明瞭なザイモグラムは得られなかった. この結果 MDH は少なくとも 1 つの遺伝子座 (*Mdh-1*) によって支配されていることが明らかになった. また *Mdh-1* はダイマー型の遺伝様式であり, 遺伝子型はヨレスギで a/b , 飯山 9

で a/a であった.

今回, スギの MDH では 1 つの遺伝子座が明らかになったが, 多くの針葉樹で MDH は 3 ~ 4 つの遺伝子座が報告されている (El-Kassaby 1981, King and Dancik 1983, Cheliak and Pitel 1985, Furnier *et al.* 1986, Strauss and Conkle 1986, Ernst *et al.* 1987, Shiraishi 1988, Na'im *et al.* 1989).

Fig. 1. Isozyme staining patterns observed and their genotypes for 4 loci of 4 enzyme systems. Rf indicates the migrational distance relative to that of the bromophenol blue front.

Fig. 2. Zymograms showing banding patterns of *Mdh-1*, *G6p*, *Fm*, *Aco*.

Table 3. Number of genotypes observed and tests for goodness of fit to expected ratios by χ^2 test

Locus	Family	Parent genotype	Genotype			χ^2	P
			a/a	a/b	b/b		
<i>Mdh-1</i>	Yore sugi (selfed)	a/b	24	49	12	5.3765	0.0680
	Iiyama 9 × Yore sugi	$a/a \times a/b$	51	41		1.0870	0.2971
<i>G 6 p</i>	Midori sugi (5) (selfed)	a/b	59	112	20	21.6283	<0.01
	Kumã sugi 3 × Midori sugi (5)	$a/a \times a/b$	46	41		0.2874	0.5919
<i>Fm</i>	Midori sugi (5) (selfed)	a/a	192			—	—
	Kuma sugi 3 × Midori sugi (5)	$a/a \times a/b$	49	38		1.3908	0.2383
<i>Aco</i>	Boka sugi × Kumotooshi	$a/a \times a/b$	67	65		0.0303	0.8618
	Kumotooshi (selfed)	a/b	22	38	8	6.7059	<0.05

(2) グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G 6 PD)

Rf 0.21 ~ Rf 0.25 の間に 1 つのゾーンが検出され (Fig. 1, Fig. 2), ミドリスギ (5) 自殖家系, クマスギ 3 × ミドリスギ (5) 交雑家系で分離が観察された. ミドリスギ (5) ではヘテロ接合型 (*a/b*, Fig. 1, Fig. 2) の, クマスギではホモ接合型 (*a/a*, Fig. 1, Fig. 2) のバンドパターンが観察された. このことからミドリスギ (5) 自殖家系では *a/a*, *a/b*, *b/b* のそれぞれのバンドパターンが 1:2:1, クマスギ 3 × ミドリスギ (5) 交雑家系では *a/a* と *a/b* のそれぞれのバンドパターンが 1:1 の分離頻度であると推定された. 観察数の期待分離比に対する適合度を χ^2 検定を用いて調べた結果, ミドリスギ (5) 自殖家系では期待分離比に対して有意な差がみられたが, クマスギ 3 × ミドリスギ (5) 交雑家系については期待分離比に対してよく適合した (Table 3). 以上の結果から G 6 PD を支配する 1 つの遺伝子座 (*G 6 p*) が明らかになった. ミドリスギ (5) の遺伝子型は *a/b* で, クマスギ 3 の遺伝子型は *a/a* であり, *G 6 p* の遺伝子座の遺伝様式はダイマー型であった.

今回スギでは G 6 PD は 1 遺伝子座が検出されたが, 他の針葉樹でも 1 遺伝子座が明らかになっている (Cheliak *et al.* 1984, Boyle and Morgenstern 1985, Cheliak and Pitel 1985, Shiraishi 1988, Lewandowski *et al.* 1992).

(3) フマラーゼ (FM)

Rf 0.09 ~ Rf 0.13 の間に 1 つのゾーンが観察され (Fig. 1, Fig. 2), ミドリスギ (5) ではホモ接合型 (*a/a*, Fig. 1, Fig. 2) の, クマスギ 3 ではヘテロ接合型 (*a/b*, Fig. 1, Fig. 2) のバンドパターンが観察された. このことからクマスギ 3 × ミドリスギ (5) の交雑家系での期待分離比は *a/a* と *a/b* のそれぞれのバンドパターンが 1:1 の分離頻度であると推定された. 観察数の期待分離比に対する適合度を χ^2 検定を用いて調べた結果, 期待分離比に対して適合した (Table 3). この結果 FM を支配する 1 つの遺伝子座 (*Fm*) が明らかになり, クマスギ 3 の遺伝子型は *a/b*, ミドリスギ (5) の遺伝子型は *a/a* であった. また, *Fm* の遺伝様式はダイマー型であった.

Picea mariana, *Pinus thunbergii*, *Pinus attenuata* など

で FM の遺伝子支配について報告されている (Boyle and Morgenstern 1985, Shiraishi 1986, Strauss and Conkle 1986). いずれの報告においても 1 遺伝子座が検出されている.

(4) アコニターゼ (Aco)

Rf 0.35 ~ Rf 0.37 で 1 つのゾーンが観察され (Fig. 1, Fig. 2), ボカスギではホモ接合型 (*a/a*, Fig. 1, Fig. 2) の, クモトオシではヘテロ接合型 (*a/b*, Fig. 1, Fig. 2) のバンドパターンが観察された. このことからボカスギ × クモトオシ交雑家系で *a/a* と *a/b* のそれぞれのバンドパターンが 1:1, クモトオシ自殖家系で *a/a*, *a/b*, *b/b* のそれぞれのバンドパターンで 1:2:1 の期待分離比が推定された. 観察数の期待分離比に対する適合度を χ^2 検定を用いて調べた結果, クモトオシの自殖家系では適合しなかったが, ボカスギ × クモトオシの交雑家系では期待分離比に対してよく適合した (Table 3). 以上の結果から ACO を支配する一つの遺伝子座 (*Aco*) が明らかになった. クモトオシの遺伝子型は *a/b*, ボカスギの遺伝子型は *a/a* である. また, *Aco* の遺伝様式はモノマー型であった.

これまでに様々な針葉樹において ACO の遺伝子分析が行われた結果, 1 遺伝子座 (Guries and Ledig 1978, Adams and Joly 1980, King and Dancik 1983, Furnier *et al.* 1986, Strauss and Conkle 1986, Cheliak *et al.* 1987, Ernst *et al.* 1987, Muona *et al.* 1987) と 2 遺伝子座 (Cheliak and Pitel 1985, Hyun *et al.* 1987, Katheleen 1988) が報告されている.

2. 矮性遺伝子と夏期白緑葉遺伝子の連鎖

イワオ 11 の自殖家系で, 矮性形態個体と針葉が夏期に白緑化する個体の 2 種類の変異体の分離が観察され, 2 形質それぞれの分離数を χ^2 検定によって検定した (Table 4). その結果, それぞれの形質について優性型個体と劣性型個体が 3:1 に分離していることが明らかになった. さらに両形質間の連鎖の有無を検定した (Table 4). その結果, 期待分離比 9:3:3:1 に対して 1% 水準で有意差が見られ, 矮性遺伝子座と夏期白緑葉遺伝子座とが連鎖している事が明らかになった. 組換え価は 0.315 ± 0.05 で相引の配列であった.

Table 4. Segregation of phenotypes with dwarf and leaf whiting in summer in selfed family of Iwao 11

Total	Phenotype ¹⁾				$\chi^2_{D^{(2)}}$	$\chi^2_{S^{(3)}}$	$\chi^2_{L^{(4)}}$	Recombination value	S. D.
	DS	Ds	dS	ds					
134	77	14	24	19	0.010	3.592	14.889**	0.315	0.05

** Significant at 1% level of probability

¹⁾ Phenotypes: DS, not dwarf, normal leaf color; Ds, not dwarf, leaf whiting in summer; dS, dwarf, normal leaf color; ds, dwarf, leaf whiting in summer.

²⁾ χ^2 value for the segregation of normal and dwarf phenotypes (1 df)

³⁾ χ^2 value for the segregation of normal leaf color and leaf whiting in summer (1 df)

⁴⁾ χ^2 value for the segregation of phenotypes of random joint segregation (1 df)

考 察

今回調査した 11 酵素種のうち, MDH, G 6 PD, FM, ACO の 4 酵素種で明瞭なザイモグラムが得られ, かつそれぞれ 1 遺伝子支配であることが明らかになった. Tsumura *et al.* (1989), 奥泉ら (1990), および本研究によって, スギでは 17 酵素種 21 遺伝子座が明らかになった. これらのアイソザイム遺伝子座は, スギのクローン同定や集団遺伝学的研究, および連鎖分析などに利用可能である.

また今回遺伝子支配が明らかになった 4 酵素種以外の 7 酵素種では, 不明瞭なザイモグラムであったり, あるいは多型の検出ができなかった. 今後これらの酵素種の遺伝子分析を行うためには, 酵素の抽出液の改良や, 染色方法の改良, 複数の材料による多型の探索が必要である.

今回ミドリスギ自殖家系で G 6 p の遺伝子型の分離数が, 期待分離比に対して有意な差が認められたが, 同様の結果が *Pinus banksiana* (Cheliak *et al.* 1984) で報告されている. またクモトオシ自殖家系で Aco の遺伝子型の分離比が期待分離比に対して有意な差が見られた. またスギのこれまでに報告されているアイソザイム遺伝子座のうち, *Shd-2*, *6 Pg-1*, *Dia-3*, *Px-1*, *Pgm-1* の 6 遺伝子座で, いくつかの家系において遺伝子型の分離が期待分離比に対して有意な差があった (Tsumura *et al.* 1989). この原因として, これまでにスギ, アカマツ, ダグラスモミなどで推定された致死作用を発現する遺伝子座 (大庭 1979, Kanazashi *et al.* 1990, Orr-Ewing 1954, 1957, Savolainen *et al.* 1992, Sorensen and Miles 1982), あるいは生存力が弱い形態異常苗や色素体変異苗 (矮性, 白子苗, 淡緑苗, 黄子苗) 等の劣悪形質を発現する遺伝子座 (大庭・村井 1967, 1969, 1971) とアイソザイム遺伝子座が連鎖していることが考えられる.

今回イワオ 11 の自殖家系を材料として, この家系において発現した矮性の遺伝子と夏期白緑葉の遺伝子との連鎖関係が明らかになった. スギにおいて形態および色素に関する変異形質を支配する主働遺伝子座間の連鎖を明らかにしたのは今回が初めてである. これら 2 形態間の連鎖は, スギの連鎖地図作成の基礎情報となると考える.

謝 辞

本研究をまとめるに際し, 有益な助言と原稿の校閲をいただいた林野庁森林総合研究所の津村義彦博士に厚く御礼申し上げます.

引用文献

- Adams, W. T. and R. J. Joly (1980) Genetics of allozyme variants in loblolly pine. *J. Heredity* 71 : 33-40.
- Bailey, N. T. J. (1961) Introduction to the mathematical theory of genetic linkage. Oxford University Press, London, 298 pp.
- Boyle, T. J. and E. K. Morgenstern (1985) Inheritance and linkage relationships of some isozymes of black spruce in New Brunswick. *Can. J. For. Res.* 15 : 992-996.
- Cheliak, W. M., K. Morgan, P. B. Dancik, C. Stobek, and F. C. H. Yeh (1984) Segregation of allozymes in megagametophytes of viable seed from a natural population of jack pine, *Pinus banksiana* Lamb. *Theor. Appl. Genet.* 69 : 145-151.
- and J. A. Pitel (1985) Inheritance and linkage of allozyme in *Larix laricina*. *Silvae Genetica* 34 : 142-148.
- , T. Skroppa and J. A. Pitel (1987) Genetics of the polycross. I. Experimental results from Norway spruce. *Theor. Appl. Genet.* 73 : 321-329.
- El-Kassaby, Y. A. (1981) Genetic interpretation of malate dehydrogenase isozyme in some conifer species. *J. Heredity* 72 : 451-452.
- Ernst, S. G., J. W. Hanover and D. E. Keathley (1987) Inheritance of isozymes in seed and bud tissue in masson pine (*Pinus massoniana* Lamb.). *Genome* 29 : 239-246.
- Furnier, G. F., P. Knowles, M. A. Aleksuk and B. P. Dancik (1986) Inheritance and linkage of allozymes in seed tissue of whitebark pine. *Can. J. of Genet. and Cytl.* 28 : 601-604.
- Guries, R. P. and F. T. Ledig (1978) Inheritance of some polymorphic isoenzymes in pitch pine. *Heredity* 40 : 27-32.
- Hyun, J. O., O. P. Rajora and L. Zsuffa (1987) Inheritance and linkage of isozymes in *Populus tremuloides* (Michx.). *Genome* 29 : 384-388.
- Kanazashi, A., T. Kanazashi and T. Yokoyama (1990) The relationship between the proportion of self-pollination and that of selfed filled seeds in consideration of polyembryony and zygotic lethals in *Pinus densiflora*. *J. Jpn. For. Soc.* 72 : 277-285.
- Katheleen, L. S. (1988) Segregation of allozyme loci in megagametophytes of Engelmann spruce and subalpine fir. *Genome* 30 : 103-106.
- King, J. N. and B. P. Dancik (1983) Inheritance and linkage of isozyme in white spruce (*Picea abies*). *Can. J. Cytl.* 25 : 430-436.
- Lewandowski, A., J. Burczyk and L. Mejnartowicz (1992) Inheritance and linkage of some allozymes in *Taxus baccata* L. *Silvae Genetica* 41 : 342-347.
- Muona, O., R. Yazdani and G. Lindqvist (1987) Analysis of linkage in *Picea abies*. *Hereditas* 106 : 31-36.
- Na'iem, M., S. Shimizu, Y. Tsumura, K. Uchida, T. Nakamura and K. Ohba (1989) Inheritance of isozyme variants of megagametophyte of Japanese red pine. *J. Jpn. For. Soc.* 71 : 425-434.
- Neale, D. B., J. C. Weber and W. T. Adams (1984) Inheritance

- of needle tissue isozyme in Douglas-fir. *Can. J. Cytol.* 26 : 459-468.
- 奥泉久人・大庭喜八郎・白石 進 (1990) スギのアスパラギン酸アミノ転移酵素アイソザイムの遺伝. *日林誌* 72 : 58-61.
- 大庭喜八郎・村井正文・杉村義一・斉藤幹夫・岡本敬三・渡辺操・野口常介 (1967) 林木の変異に関する研究 (III) クマスギと他のさし木スギ系統の交雑親和性, F_1 幼苗の生長およびクマスギで検出された2個の単一劣性遺伝子について. *日林誌* 49 : 361-367.
- (1969) イワオスギの自殖および他殖実生における葉緑素変異苗の発生と苗高生長について. *日林誌* 51 : 118-124.
- (1971) スギの白子苗および淡緑色苗を生ずる劣性遺伝子. *日林誌* 53 : 177-180.
- (1979) スギの胚致死遺伝子の検出. 90 回日林論 : 257-258.
- ・河崎久男・倉本哲嗣・津村義彦・戸丸信弘・内田煌二・中村 徹・奥泉久人・陶山佳久・モハマド＝ナイル・高橋 誠・高橋智恵美 (1992) スギゲノムの遺伝子及び RFLP の連鎖分析におけるアイソザイム遺伝子座の橋渡し方式に関する研究 1. 劣性標識遺伝子ホモ個体の利用と胚致死遺伝子による分離比の偏りの補正. *筑大演報* 8 : 139-273.
- ・——・——・戸丸信弘・津村義彦・内田煌二・中村 徹・奥泉久人・陶山佳久・高橋智恵美 (1993) スギゲノムの遺伝子及び RFLP の連鎖分析におけるアイソザイム遺伝子座の橋渡し方式に関する研究 2. 共優性遺伝子座間の連鎖分析における胚致死遺伝子による分離比の偏りの補正. *筑大演報* 9 : 35-139.
- ・——・——・——・荒木真之・内田煌二・中村 徹・奥泉久人・陶山佳久・戸丸智恵美 (1995) スギゲノムの遺伝子及び RFLP の連鎖分析におけるアイソザイム遺伝子座の橋渡し方式に関する研究 3. 致死遺伝子座と標識遺伝子座, RFLP 座および RAPD 座との組換え価の推定. *筑大演報* 11 : 85-157.
- Orr-Ewing, A. L. (1954) Inbreeding experiments with the Douglas-fir (*Pseudotsuga taxifolia*, (Poir.) Britton). *Forestry Chronicle* 30 : 7-16.
- (1957) A cytological study of the effects of self-pollination on *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. *Silvae Genet.* 6 : 179-185.
- Savolainen, O., K. Karkkainen and H. Kuittinen (1992) Estimating numbers of embryonic lethals in conifers. *Heredity* 69 : 308-314.
- Shiraishi, S. (1988) Inheritance of isozymes in Japanese Black pine, *Pinus thunbergii* Parl. *Silvae Genetica* 37 : 93-100.
- Sorensen, F. C. and R. S. Miles (1982) Inbreeding depression in height, height growth, and survival of Douglas-fir, Ponderosa pine, and Noble fir to 10 years of age. *Forest Science* 28 : 283-292.
- Strauss, S. H. and M. T. Conkle (1986) Segregation, linkage, and diversity of allozymes in knobcone pine. *Thor. Appl. Genet.* 72 : 483-493.
- Tsumura, Y., K. Uchida and K. Ohba (1989) Genetic control of isozyme variation in needle tissues of *Cryptomeria japonica*. *J. Heredity* 80 : 291-297.
- Tsumura, Y. and K. Ohba (1993) Genetic structure of geographical marginal populations of *Cryptomeria japonica*. *Can. J. For. Res.* 23 : 859-863.
- 津村義彦・戸丸信弘・陶山佳久・モハマド＝ナイル・大庭喜八郎 (1990) アイソザイム実験法. *筑大演報* 6 : 63-95.
- Uchida, K., Y. Tsumura and K. Ohba (1991) Inheritance of isozyme variants in leaf tissue of Hinoki, *Chamaecyparis obtusa*, and allozyme diversity of two natural forests. *Japan J. Breed.* 41 : 11-24.

Summary

Using leaf tissues of sugi (*Cryptomeria japonica*), the inheritance of 11 enzyme systems (Alcohol dehydrogenase (ADH), Sorbitol dehydrogenase (SoDH), Glycerate-2-dehydrogenase (G2DH), Malate dehydrogenase (MDH), Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), Glutathion reductase (GR), Glucokinase (GK), Acid phosphatase (ACP), Fumarase (FM), Aconitase (ACO), Phosphoglucose isomerase (PGI)) was investigated in 6 crossed and selfed families. One locus each for 4 enzyme systems (MDH, G6PD, FM, ACO) was identified as follows: MDH bands were observed in two zones. The bands in the slower electrophoretic mobility zone were controlled by one locus (*Mdh-1*) with dimeric inheritance. G6PD bands were observed in one zone. G6PD was under the control of a single locus (*G6p*) with dimeric inheritance. FM bands were observed in one zone, and this enzyme system was controlled by a single locus (*Fm*) with dimeric inheritance. ACO bands appeared in a single zone with a single locus (*Aco*) with monomeric inheritance.

In the selfed family of Iwao 11 (a clonal cultivar), a linkage relationship was observed between the loci of dwarf (*dw*) and leaf whiting in summer (*slw*) with a recombination value of 0.315 ± 0.05 in the coupling phase.

N. Kuramoto¹⁾

N. Tomaru²⁾

M. Murai²⁾

K. Ohba¹⁾

¹⁾ Institute of Agriculture and Forestry, University of Tsukuba, Tsukuba, 305

²⁾ Forestry and Forest Products Research Institute, Tsukuba, 305