

スギ針葉のジテルペン炭化水素IV

(-)-カウレン,(+)-フィロクラデン,(-)-スクラレンの遺伝

誌名	日本林學會誌 = Journal of the Japanese Forestry Society
ISSN	0021485X
著者名	安江,保民 荻山,紘一 海老子川,悟 近藤,圭子 仁科,健
発行元	日本林學會
巻/号	60巻9号
巻号補足	
掲載ページ	p. 345-348
発行年月	1978年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



短 報

スギ針葉のジテルペン炭化水素 (IV)
(-)-カウレン, (+)-フィロクラデン, (-)-スクラレンの遺伝*

安江 保民**・荻山 紘一**・海老子川悟**

近藤 圭子**・仁 科 健***

YASUE, Moritami, OGIYAMA, Kōichi, EBISHIGAWA, Satoru, KONDO, Keiko & NISHINA, Ken: Diterpene hydrocarbons in *Cryptomeria japonica* needles (IV) The inheritance of (-)-kaurene, (+)-phyllocladene and (-)-sclarene J. Jap. For. Soc. 60: 345~348, 1978 The inheritance of main diterpene components, (-)-kaurene, (+)-phyllocladene and (-)-sclarene, in the leaves of Sugi (*Cryptomeria japonica*) was investigated. Sugi seedlings of fifty-eight combinations obtained from crossing among twenty clones were analyzed by gas-liquid chromatography for diterpene hydrocarbons. Experimental results indicate that the biosynthesis of the diterpenes in the leaves of Sugi is genetically controlled with *P* and *K* genes. The dominant gene *P* controls formation of (+)-phyllocladene through (+)-copalylpyrophosphate, and the recessive gene *p* controls the cyclization to an intermediate(-)-copalylpyrophosphate that can be converted to either(-)-kaurene or(-)-sclarene. A genotype having recessive *pp* and dominant *K* genes produces (-)-kaurene, on the other hand, a genotype having both recessive genes *ppkk* produces (-)-sclarene.

I は じ め に

植物成分として存在するテルペノイドには、種内において変異のある場合が知られており、針葉樹でもその例が報告されている(6)。これらのテルペノイドに見られる変異は、一般に遺伝的な特性と考えられており、その遺伝に関する研究がおこなわれている(2, 3, 5)。Mentha aquatica に含まれているモノテルペン類の生成には、Lm-遺伝子や C-遺伝子が関与しており、これらはリモネン、カルボン、メントールの生合成をコントロールすることが明らかにされた(4)。また、Cortaderia のトリテルペン類の発現には、遺伝子の関与が報告されている(1)。スギに認められるジテルペン炭化水素の質的変異もこれらの例のように、遺伝的な特性と考えられたので(7)、本研究は、3種の主ジテルペン炭化水素、カウレン、フィロクラデン、スクラレンの遺伝様式を明らかにすることを目的として実施した。

実験材料として使用した交雑苗は、この研究のために交雑、育苗されたものではなく、他の研究目的のために育成されたものであったために、研究に必要な組合せのすべてについて分析することはできなかった。しかし、多数の組合せによる交雑苗が育苗されていたため、各種組

合せの交雑苗について分析を実施することができた。その結果、主ジテルペンの発現は、*P*-遺伝子と *K*-遺伝子によって遺伝的にコントロールされていることを明らかにすることができた。

スギにおけるこのジテルペンの遺伝様式は、前記ハッカや、香料植物、芳香性花木、果実の育種の場合と異なっており、直接的な重要な意義をもっていない。しかし、ジテルペンが葉内において、スギの生育に対して生理的な影響を与えているとすれば、あるいはまた、生成に関与する遺伝子と連鎖する特性があるとすれば、それらの特性に対する標識として、利用することができるものと思われる。

II 実験材料および実験方法

実験に使用した交雑苗は、東北林木育種場奥羽支場において育成されたものである。母樹および花粉親として用いられたクローンは、つぎの20クローンで、()内にそのジテルペンタイプを示した。酒田-3(K)、鶴岡-1(K)、岩船-3(K)、秋田-1(K)、北秋田-10(K)、由利-3(K_s)、仙北-1(K_s)、東南置賜-5(K_s)、六日町-3(K_s)、東蒲原-4(K_s)、雄勝-17(KS)、高田-7(P)、中頸城-7(P)、鹿角-3(P)、新井市-1(P)、岩船-6(P)、長岡市-1

* 本研究の要旨は第89回日本林学会大会で発表した。

** 山形大学農学部 Fac. of Agr., Yamagata Univ., Tsuruoka 997

*** 東北林木育種場奥羽支場 Ōu Branch, Tohoku For. Tree Breed. Sta., Higashine, Yamagata 999-34

表-1. スギ針葉中におけるジテルペン炭化水素の遺伝
Inheritance of diterpene hydrocarbons in *Cryptomeria japonica* leaves

No.	交 雑 組 合 せ Cross combination ♀ ♂			遺 伝 子 型 Genotype	No. 測定本数 examined	ジテルペンの分離 Segregation of diterpene			期待分離比 Expected ratio	χ^2	確 率 p
						K	P	S			
1	酒 田	3×秋 田	1	$ppKK \times ppKK$	27	27	—	—			
2	"	×岩 船	3		51	51	—	—			
3	"	Self			30	30	—	—			
4	鶴 岡	1 " "			20	20	—	—			
5	岩 船	3 " "			11	10	—	1			
6	秋 田	1×酒 田	3	$ppKK \times ppKk$	30	30	—	—			
7	"	×鶴 岡	1		11	11	—	—			
8	酒 田	3×仙 北	1		51	51	—	—			
9	"	×東南置賜	5		47	47	—	—			
10	鶴 岡	1×由 利	3		10	10	—	—			
11	"	×六 日 町	3	$ppKk \times ppKK$	50	50	—	—			
12	秋 田	1× " "			10	10	—	—			
13	由 利	3×酒 田	3		51	51	—	—			
14	"	×秋 田	1		10	10	—	—			
15	六 日 町	3×岩 船	3		51	51	—	—			
16	雄 勝	17×酒 田	3	$ppKk \times ppKk$	49	49	—	—			
17	由 利	3×仙 北	1		10	8	—	2	3:1	0.13	N. S.
18	"	× " "			33	28	—	5	3:1	1.71	"
19	"	×東南置賜	5		30	21	—	9	3:1	0.13	"
20	仙 北	1× " "			20	13	—	7	3:1	1.07	"
21	六 日 町	3×由 利	3	$ppKK \times PpKk$	15	14	—	1	3:1	2.96	"
22	"	×東南置賜	5		20	17	—	3	3:1	1.07	"
23	酒 田	3×高 田	7		50	33	17	—	1:1	5.12	0.05>p
24	"	×鹿 角	3		50	27	23	—	1:1	0.32	N. S.
25	"	× " "			50	26	24	—	1:1	0.08	"
26	岩 船	3× " "		$ppKK \times Ppkk$	50	21	29	—	1:1	1.28	"
27	酒 田	3×新 井 市	1		50	19	31	—	1:1	2.88	"
28	"	×岩 船	6		48	28	20	—	1:1	1.33	"
29	鶴 岡	1× " "			50	26	24	—	1:1	0.08	"
30	秋 田	1×新 井 市	1		10	6	4	—	1:1	0.40	"
31	由 利	3×高 田	7	$PpKk \times PpKk$	50	21	22	7	3:4:1	0.72	"
32	東 蒲 原	4× " "			10	2	5	3	3:4:1	3.27	"
33	仙 北	1×新 井 市	1		30	8	14	8	1:2:1	0.13	"
34	高 田	7×秋 田	1		50	29	21	—	1:1	1.28	"
35	"	×酒 田	3		49	20	29	—	1:1	1.65	"
36	"	×岩 船	3	$Ppkk \times ppKK$	50	23	27	—	1:1	0.32	"
37	岩 船	6×岩 船	3		51	34	17	—	1:1	5.67	0.05>p
38	"	×秋 田	1		10	7	3	—	1:1	1.00	N. S.
39	高 田	7×由 利	3		50	18	24	8	3:4:1	0.56	"
40	"	×仙 北	1		50	19	24	7	3:4:1	0.13	"
41	"	×東南置賜	5	$PpKk \times ppKk$	50	20	26	4	3:4:1	0.93	"
42	"	×六 日 町	3		10	4	4	2	3:4:1	0.67	"
43	新 井 市	1×仙 北	1		19	5	12	2	1:2:1	2.26	"
44	岩 船	6×由 利	3		50	18	22	10	1:2:1	3.28	"
45	"	×仙 北	1		10	3	4	3	1:2:1	0.40	"
46	高 田	7×新 井 市	1	$PpKk \times Ppkk$	51	11	36	4	1:6:1	4.36	"
47	"	×岩 船	6		50	3	37	10	1:6:1	3.95	"
48	新 井 市	1×高 田	7		20	1	17	2	1:6:1	1.27	N. S.
49	"	×中 頸 城	7		50	11	28	11	1:6:1	9.63	0.01>p
50	岩 船	6×高 田	7		39	7	26	6	1:6:1	1.55	N. S.
51	"	×鹿 角	3	$Ppkk \times Ppkk$	14	1	11	2	1:6:1	0.38	"
52	岩 船	6×新 井 市	1		10	—	7	3	3:1	0.13	"
53	"	× " "			33	1	24	8	3:1	—	—
54	北 秋 田	10×長 岡 市	1		50	50	—	—			
55	直江津市	1×秋 田	1		50	50	—	—			
56	中 頸 城	6×新 井 市	1	$ppkk \times Ppkk$	10	—	3	7	1:1	1.60	N. S.
57	"	× " "			33	—	20	13	1:1	1.48	"
58	長 岡 市	4× " "			12	—	4	8	1:1	1.33	"
59	酒 田	3 Open			33	32	1	—			
60	鶴 岡	1 " "		$ppKK$	34	33	1	—			
61	仙 北	1 " "			35	29	3	3			
62	由 利	3 " "			33	28	2	3			
63	雄 勝	17 " "			33	29	4	—			
64	中 頸 城	6 " "			36	25	1	10			
65	長 岡 市	1 " "		$ppkk$	33	26	—	7			

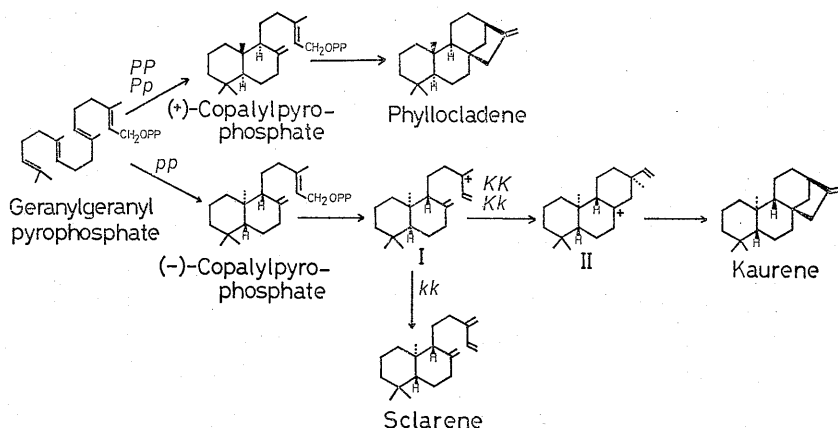


図-1. ジテルペン炭化水素の生合成
Biosynthesis of diterpene hydrocarbons

(S), 中頸城-6(S), 直江津市-1(S), 長岡-4(S)。交雑苗は49年, 50年, 51年の4月に, それぞれ前年ジベレリン処理によって着花したクローンについて, 交雑が実施され, それぞれ翌年4月に播種育成されたものである。分析苗は播種当年の10月から11月の間に抜き取った当年生のものである。苗の根部を切り放し, 茎と針葉を分けることなく, そのまま切断して分析用試料とした。苗の重量は0.05gから2gときわめて少量であったため, 前報(8)と同様に処理した後, SiO_2 カラムの溶出液を濃縮して, ガスクロマトグラフィーで分析した。分析本数は一組合せについて50本として実施したが, 苗が十分得られなかったものについては, 50本以下となった。

III 実験結果および考察

58組の組合せによる交雑苗および7クローンの自然受粉によるスギ苗についてジテルペンを分析し, その結果を表-1に示した。表中ならびに文中のK, P, Sは主成分であるカウレン, フィロクラデン, スクラレンを示すもので, KS, KS-タイプなどもKとして, またPS, PK, PKSなどのタイプもPとして表示した。

最初に, 正逆の交雑(No.1とNo.6, No.23とNo.35, No.31とNo.39, No.33とNo.43, No.47とNo.50)の場合, 出現するジテルペンの種類は正逆によって変わらず, また, それらの分離比も変わらないので, この遺伝は, 細胞質遺伝によるものではなく, 核内遺伝子によって支配されていると考えられる。つぎに, 表現型についての優劣性であるがK×Kの組合せにおいて, No.17からNo.22に見られるように, KとともにSが

出現し, また, No.54(K×S), No.55(S×K)の場合には, Sは認められず, Kのみが出現するのでKはSに対して優性であると考えられる。そして, No.46からNo.53のP×Pの交雑の場合には, PのほかKやSも出現するので, PはKならびにSに対して優性であると考えられる。

針葉中に存在するカウレンは, 図-1に示すように, メバロン酸から合成される geranylgeranylpyrophosphate が (-)-copalylpyrophosphate に閉環した後, カチオン-I, IIを経由して合成され, フィロクラデンは (+)-copalylpyrophosphate に閉環した後, カウレンの場合に相応するカチオンを経由して, 生合成されることが知られている。スクラレンは, 前報では, (+)-copalylpyrophosphate から合成されたとしたが, その後いくつかのS-タイプのスギからスクラレンを分離して, 旋光度を測定した結果, 旋光度はすべて(-)であるため, カウレンと同様の立体配置をもつ *ent*-系と推定された。したがって, このスクラレンは, 図のようにカチオン-Iのプロトン脱離によって生合成されるものと考えられる。

以上の生合成経路には, 二つの分岐点があり, これらの点に遺伝子が作用しているものと推定される。最初の段階は geranylgeranylpyrophosphate の閉環であり, この点に作用する遺伝子をPとすると, 前記の優劣性から, PP, Pp の場合にはフィロクラデンが, pp の場合には *ent*-系の生合成が進行し, カウレンもしくはスクラレンが生合成されるものと考えられる。この経路には第2の分岐点があり, ここに作用する遺伝子をKとすると, 優性遺伝子Kによって閉環反応が進行してカウレンが,

劣性遺伝子 k によって、プロトン脱離が優先してスクラレンが合成されると考えられる。

以上のような生合成経路と、遺伝子の関与を仮定すると、交雑親として用いた 20 クローンの遺伝子型は、表-1 のように示される。すなわち、酒田-3、鶴岡-1、岩船-3、秋田-1、北秋田-10 の 5 クローンは、表現型は K であり、交雑によって S を発現しないので、 $ppKK$ で表わされる。由利-3、仙北-1、東南置賜-5、六日町-3、東蒲原-4 は S を発現する場合もあるので、 $ppKk$ で表わされる（雄勝-17 は k 遺伝子をもつかどうか、この結果からは判断できないが、由利-3 など $ppKk$ の 5 クローンは、すべて K_S -タイプとして認められるので、 K_S -タイプであるこのクローンに対しても、同様の遺伝子型を想定し表示した）。高田-7、中頸城-7、鹿角-3 は交雑によって K ならびに S も発現するので、 P -遺伝子、 K -遺伝子に関してヘテロであり、 $PpKk$ で示される。岩船-6 と新井市-1 の交雑の場合（No. 53）には K, P, S の分離が見られる。しかし、K の出現は 1 本のみであり、他クローンとの交雑の結果も合わせ考えると、この K の出現には疑問がもたれる。これをなんらかのミスによるものとすれば、また、 S -タイプのクローンに新井市-1 を交雑したさい（No. 56, No. 57, No. 58）、K の発現が見られない点を考慮すると、新井市-1 と岩船-6 の両クローンの遺伝子型は $Ppkk$ で表わされる。 S -タイプである長岡市-1、中頸城-6、直江津市-1、長岡-4 の 4 クローンは、 P, K 両遺伝子に関して劣性ホモであるところの $ppkk$ で表わされる。

以上のような遺伝子型を、交雑親の 20 クローンにあてはめたさい、分析した 58 組の組合せにおいて、発現するジテルペンの種類と分離比は、すべて矛盾なく説明されなければならない。

測定した 58 組の交雑苗に見られるジテルペンの種類は、表-1 に見られるように、二つの例外を除いて、すべて期待されるものであった。例外として認められたものは、No. 5 の S、No. 53 の K の出現、それぞれ 1 本であった。これら期待外のジテルペンの出現は、この遺伝様式では説明しえないものであるが、前にも触れたように、本数も少なく、何らかのミスによるものとすれば、前述の仮定によく一致している。つぎにジテルペンの分離比は、 χ^2 値にいくぶん高いものも認められるけれども、全体として期待分離比によく一致した。したがって、主ジテルペンの形成には仮定したように、 P -遺伝子と K -遺伝子が関与しており、優性遺伝子 P によってフィロクラデンが形成され、劣性遺伝子 p をもち、優性遺伝子 K であればカウレンが、また劣性遺伝子 k であれば

スクラレンが形成されるものと考えられる。

この様式の場合、遺伝子型として 9 種存在するはずであるが、本研究では、結果的に 5 種についてのみ研究したことになる他のものについては未調査である。また、用いた 5 種の遺伝子型において、異なった組合せは 25 種となるが、このうちの 7 種については未調査である。今後これら組合せによる挙動についても研究し、この遺伝様式を確かめる必要があるものと思われる。なお、この研究では、基本的な 3 種のジテルペンの挙動についてのみとり扱って、複合型の発現については触れなかった。これらの発現もまた遺伝的なものと考えられるので、今後、解析に適したクローンを選択し、それらの交雑によって複合型の遺伝様式の研究を進める必要があると思われる。

本研究を実施するにあたり、多数の交雑スギ苗を提供していただいた東北林木育種場奥羽支場ならびに貴重なご意見をいただいた本学造林学研究室 須藤昭二先生、塚原初男先生、同園芸繁殖学研究室樋浦巖先生に厚くお礼申し上げる。なお、本研究は文部省科学研究費によって実施したものである。

引用文献

- (1) CONNOR, H. E. & PURDIE, A. W.: Inheritance of triterpene methyl ethers in *Cortaderia* (Gramineae). *Phytochem.* 15: 1937~1939, 1976
- (2) FORDE, M. B.: Inheritance of turpentine composition in *Pinus attenuata* $\times$ *radiata* hybrids. *New Zealand J. Bot.* 2: 53~59, 1964
- (3) LAWRENCE, L., BARTSCHOT, R., ZAVARIN, E. & GRIFFIN, J. R.: Natural hybridization of *Cupressus sargentii* and *C. macnabiana* and the composition of the derived essential oils. *Biochem. System. Ecol.* 2: 113~119, 1975
- (4) MURRAY, M. J. & HEFENDEHL, F. W.: Changes in monoterpene composition of *Mentha aquatica* produced by gene substitution from a high limonene strain of *M. citrata*. *Phytochem.* 12: 1875~1880, 1973
- (5) SQUILLACE, A. E.: Analyses of monoterpenes of conifers by gas-liquid chromatography. In "Modern methods in forest genetics" (MIKSCH, J. P., ed.) 120~147, Springer-Verlag, Berlin, 1976
- (6) VON RUDOLFF, E.: Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of North American conifers. *Biochem. System. Ecol.* 2: 131~167, 1975
- (7) 安江保民・萩山紘一・斎藤正志: スギ葉のジテルペン炭化水素. 日林誌 58: 285~290, 1976
- (8) ———・及川 徹・近藤圭子・仁科 健: スギ針葉のジテルペン炭化水素 (II) 日本海側北部地域におけるその分布. 日林誌 59: 221~224, 1977

(1978 年 4 月 5 日受理)