



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	東アジアにおけるダイズ (Glycine max (L.) Merr.) の系統文化に関する進化遺伝学的研究
Author(s)	平田, 聡之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第3716号
Issue Date	1995-09-29
DOI	https://doi.org/10.11501/3106739
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/32779
Type	doctoral thesis
File Information	3716.pdf



東アジアにおけるダイズ(*Glycine max* (L.) Merr.)
の系統分化に関する進化遺伝学的研究

農学専攻 博士後期課程

平田 聡之

目 次	
第1章 緒 論	3
第2章 ダイズの系統分化に関する研究小史	5
第1節 生化学的標識	
第2節 形質	7
第3節 細胞質ゲノム	10
第3章 生化学的標識の多型と対立遺伝子頻度の分化	
第1節 緒 言	12
第2節 材料および方法	
1) 供試材料およびその類別	
2) 生化学的標識の評価	13
3) 遺伝的多様性および遺伝的距離	21
4) クラスター分析	
第3節 結果および考察	22
1) 各電気泳動像の特徴と遺伝子座	
2) ダイズにおける遺伝的多様性	30
3) 対立遺伝子頻度および遺伝的多様性の地域的分化 と各地域間の遺伝的距離	35
4) クラスター分析によるアイソザイム品種群の類別 とその地域的分化	47
5) 九州における夏ダイズ型と秋ダイズ型の系統分化と 日本ダイズの系統分化	57
第4章 形質の地域的分化	
第1節 緒 言	64
第2節 材料および方法	

1) 供試材料	64
2) 調査形質	
3) 表現型多様性の評価	68
第3節 結果および考察	69
1) 各形質における表現型の地域的分化	
2) 表現型多様性の地域的分化	78
3) 形質間の連関関係における地域的分化	79
第5章 細胞質ゲノムの多型と地域的分化	
第1節 緒言	87
第2節 材料および方法	
1) 供試材料	
2) 全DNAの抽出および精製	
3) 電気泳動およびサザンハイブリダイゼーション分析	89
4) プローブの調整	90
第3節 結果および考察	
1) cpDNAの多型	
2) mtDNAの多型	94
3) 細胞質ゲノム型の多型と地域的分化	103
第6章 総合考察	108
摘要	113
謝辞	117
引用文献	119

第1章 緒 論

ダイズ(*Glycine max* (L.) Merr.)は、交雑実験、細胞遺伝学的研究、形態形質、種子タンパク等の解析から、同じ*Soja*亜属に属する野生種であるツルマメ(*Glycine soja* Sieb. et Zucc.)を直接の祖先として進化したと考えられ(Fukuda 1933; Hymowitz and Singh 1987; Zakharova *et al.* 1989; Yanagisawa *et al.* 1991)、ツルマメの分布地域である東アジアで起源したものと思われる。その栽培の起源は少なくとも中国の「周」の時代(紀元前11世紀)まで遡ることができ(Hymowitz 1970; 王 1991)、ダイズは様々な伝統的な食品として多くの民族に利用されてきた。また、ダイズの根に共生している根粒菌は、畑地に不足しがちな窒素を空中から固定できることから、これらの地域でダイズと他作物を組み合わせた多様な栽培様式が発達している。このように、東アジアのダイズには、様々な食文化や栽培様式に起因する多様な在来種が存在しており、その系統分化を検討することは、意義深いであろう。

現在、ダイズ栽培が盛んなアメリカ・カナダ・ブラジルおよびアルゼンチンで供せられている品種の多くは、日本・中国など東アジアから導入された限られた系統から派生したものであり、その遺伝的背景が限定されている(Smith and Huyser 1987)。このことは、ダイズの更なる利用や安定生産にとって大きな問題である。ダイズにおいても、多くの作物と同様に、様々な地域に適応した在来種が重要な遺伝資源として、収集、保存され、利用されてきた。しかし、一般的に人為的な遺伝資源の保存量には限界があることから、近年では、より効率の良い遺伝資源の収集・保存を行うために、遺伝変異の多くを内在した最小の生殖質資源(core collection; 核コレクション)を構築する必要性が論じられてきた(Brown 1989)。東アジア

におけるダイズの系統分化に関する情報は、このようなダイズの遺伝資源の収集、保存の方法を確立するための資料としても重要である。

ダイズの起源地およびその伝播過程は、細胞遺伝(Newell and Hymowitz 1982; Hymowitz and Singh 1987)、生化学的標識(Hymowitz and Kaizuma 1981)、形質(Nagata 1959)および考古学的資料や民族学的研究(Hymowitz 1970; 王 1991; 杉山 1992)から論じられてきたが、未だに多くの研究者に受け入れられる定説はない。これは、ダイズが主要な畑作物であるのにも関わらず、その地域的分化に関する信頼性の高い研究例が少ないことが原因の1つと考えられる。また、ダイズの系統分化の解析は、それぞれ特定の観点に基づき行われ、イネ(*Oryza sativa*; Oka 1988)のように、多くの観点から総合的に評価されなかったことも、その原因の一つと考えられる。

本研究は、ダイズの起源地である東アジア(日本、中国、朝鮮半島および台湾)のダイズ在来種について、1)アイソザイムおよびトリプシンインヒビターを支配する遺伝子座の多型、2)多くの形質の多型、3)葉緑体ゲノム(cpDNA)とミトコンドリアゲノム(mtDNA)のRFLP(制限酵素断片長多型)による細胞質ゲノムの多型を観察し、これらの遺伝的情報の各地域内、地域間の変異に基づき、ダイズの系統分化の様相およびその起源と伝播について検討した。

第2章 ダイズの系統分化に関する研究小史

1 生化学的標識

ダイズにおいて生化学的標識を用いた核ゲノムの多型は、種子タンパク質(海妻・喜多村 1980)、アイソザイム(Kiang and Gorman 1983; Kiang *et al.* 1988; Perry and McIntosh 1991a)、トリプシンインヒビター(高木 1977; Hymowitz and Kaizuma 1979, 1981; 海妻ら1980; Wang *et al.* 1986; Zhao *et al.* 1993)、配糖体(Buttery and Buzzell 1976; 塚本ら 1993)、リボゾームDNA(Doyle 1988)およびその他の核DNAの配列(Keim *et al.* 1989; Skorupska *et al.* 1993)について報告されている。これらのうち、アイソザイムは多くの酵素のザイモグラムについて遺伝解析が行われ、多数の遺伝子座が同定されている。従って、多数の遺伝子座の変異を総合的に評価し得るアイソザイムの解析は、他の生化学的指標に比べ、系統間の遺伝的関係を評価する上で信頼性の高い結果を与えるものと期待される。

アイソザイムによるダイズの系統分化の研究は、Kiang and Gorman (1983)が、日本、中国、韓国およびロシアのダイズとツルマメで、13酵素における泳動変異体(electrophoretic mobility variants)の地域的分化を認めたのが始まりだと思われる。彼らは、韓国のツルマメが遺伝的多様性が高かったのに対し、ロシアのツルマメでは遺伝的多様性が低かったことを指摘した。更に彼らは、ダイズにおける遺伝的多様性の地域間差異がツルマメに比べ小さいこと、同一地域のダイズとツルマメの間で泳動変異体の頻度が異なっていることを指摘し、両者間の遺伝子流動が比較的小さいことを推測した。

Kiang *et al.*(1988)は、15酵素およびトリプシンインヒビターを支配する46遺伝子座について、韓国のダイズとツルマメの遺伝的多様性が特に高

いことを報告し、その原因として韓国のダイズがツルマメと近接した地域に栽培され、両者の間に遺伝子流動が生じていることを推察した。

Perry and McIntosh(1991a)は、世界各地のダイズ2236系統のLAP(ロイシンアミノペプチダーゼ)、SOD(スーパーオキシドジスムターゼ)、PGI(グルコースリン酸イソメラーゼ)およびPGD(グルコース6リン酸脱水素酵素)の4酵素を支配する7遺伝子座の変異を調査し、中国吉林省、中国中部および南部、韓国南東部沿岸で遺伝的多様性が高いことを報告した。また、彼らは、クラスター分析により日本、東南アジアおよび中国吉林省のダイズが遺伝的に類似しており、韓国は中国北部のダイズに類似した地域集団と、ヨーロッパのダイズに類似した地域集団に類別されることを指摘した。

これらに加え、ENP(エンドペプチダーゼ)を支配する*Enp*座についてDoong and Kiang (1987a)が、MPI(マンノース6リン酸イソメラーゼ)を支配する*Mpi*座についてChiang and Kiang(1988)が、ACO(アコニターゼ)を支配する5遺伝子座についてKiang and Bult(1991)が対立遺伝子頻度の地域的分化を認めている。

Hymowitz and Kaizuma(1979)は、日本ダイズにおけるTI(Kunitz型トリプシンインヒビター)を支配する*Ti*座の3対立遺伝子(*Ti-a*, *Ti-b*, *Ti-c*)とAM(アミラーゼ)を支配する*Sp1*座の2対立遺伝子(*Sp1-a*, *Sp1-b*)の地域分布の解析から、*Ti-b*が九州の早生ダイズである夏ダイズ型で約80%の頻度であったのに対し、九州の秋ダイズ型では約20%と低く、両者で異なることを報告した。更に、Hymowitz and Kaizuma(1981)は、両遺伝子座の解析を他の地域まで広げ、アジアのダイズが1)中国北部とロシア、2)中国中部と中国南部、3)朝鮮半島、4)日本、5)台湾と東南アジア、6)インド北部とネパールおよび7)インド中部の7つに類別されることを報告

した。この報告では、*Ti-b*が日本、朝鮮半島およびインドで10%以上の頻度で観察されたのに対し、中国および東南アジアでは数%であった。

その後、Zhao *et al.* (1993)は、中国の約10000系統について*Ti*座の対立遺伝子頻度を調査し、中国ダイズにおいて*Ti-b*が0.5%以下の極めて低い頻度で観察されることを報告した。

近年、遺伝情報の本質であるDNAを直接解析する技法が進歩し、ダイズにおいても核DNAの解析が行われている(Doyle 1988; Keim *et al.* 1989; Skorupska *et al.* 1993)。しかし、これらの研究結果は、ダイズとツルマメ間や、両者が属する*Soja*亜属と多年生野生種が属する*Glycine*亜属の間で多型を認めているが、ダイズ内では多型があまり認められていない。また、RFLPマーカを用いた遺伝解析が現在、進行しており、今後、これらRFLPやAFLP(増幅断片長多型)を標識とした、ダイズの系統分化の解析が進むものと思われる。

2 形質

福井・荒井(1951)によると、ダイズの形質の調査は、19世紀末から20世紀初頭に、粒大、粒色、臍の色、粒形など種子形態について行われ、さらに1930年代から茎長、毛茸、花色、莢などの形態形質について行われたと言う。これらの研究記録の多くは、入手が困難であり、本研究では検討を加えられなかった。その後、1950年代前後に、早晚性の分化が検討され、その中でも永田(1949, 1950)および福井・荒井(1951)の報告した開花習性の分化は、多くの研究者に引用されている。

永田(1949, 1950)は、東アジアの系統が開花日数短縮率(1ヶ月の播種期の遅延によって短縮される開花まで日数)、関係開花期間(開花まで日数に対する開花期間の比率)および関係生育日数(開花まで日数に対する生育日数の

比率)により8つの階級に類別されることを指摘した。それによれば、4-5月に播種し、7-8月に収穫される夏ダイズ型および6-7月に播種し、11-12月に収穫される秋ダイズ型がそれぞれ3群に、両者の中間的な特徴を示す中間型が2群に類別されている。更に永田(1949, 1950)は、夏ダイズ型の3群の地域分布に明確な差異を認め、夏ダイズ型のうち北海道の系統と九州の夏ダイズ型の一部の系統が開花日数短縮率および関係生育日数の小さいSI型(夏大豆第1型)に、中国東北部の系統がSI型と比較して関係開花期間と関係生育日数の大きいSIp型(夏大豆特殊型)に、本州北部、本州中部の一部の系統および九州の夏ダイズ型の大部分の系統がSI型と比較して開花日数短縮率と関係生育日数の大きいSII型(夏大豆第2型)に属することを報告した。

Nagata(1959)は、草型の解析結果を加えて、ダイズが中国中部を中心とした地理的分布の異なる4つの品種群(傾斜品種系)から成ることを認めた。それによれば、1)中国北部作物傾斜品種系は、中国中部から中国北部に、2)日本全季作物傾斜品種系は中国中部から朝鮮半島を経由して日本に至る地域に、3)日本短季作物傾斜品種系は中国中部または中国南部から台湾を通じ九州に至る地域に、4)インドシナ傾斜品種系は中国中部と中国南部から東南アジアに至る地域にそれぞれ分布し、1)が無限伸育型および長い関係開花期間と関係生育日数で、2)が有限伸育型、短い関係開花期間および長い関係生育日数で、3)が有限伸育型および短い関係開花期間と関係生育日数で、4)が蔓性で特徴づけられることを指摘した。また、Nagata(1959)は、日本では日本全季作物傾斜品種系と日本短季作物傾斜品種系が混在し、九州において、前者が秋ダイズ型、後者が夏ダイズ型として栽培されていることを指摘した。

更に、Nagata(1959)は、これらの結果から、ダイズが中国中部を起源とし、傾斜品種系の地域分布に沿って各地に広がったことを推定した。しか

し、前述したように、Hymowitz and Kaizuma(1979, 1981) は、九州の夏ダイズ型で頻度の高い *Ti-b* が、中国ではほとんど観察されず、韓国および日本に観察されたことから、Nagata(1959) が日本短季作物傾斜品種系より分化したとした九州の夏ダイズ型が韓国または日本を起源として分化したことを推定している。

福井・荒井(1951) は、ダイズ系統の早晚性を、開花まで日数で I から V 型の 5 段階に、結実日数で a から c の 3 段階にそれぞれ類別し、両者の組合せから 9 つの群(生態型)を類別した。彼らは、九州では夏ダイズ型が I 型または II 型に、秋ダイズ型が IV 型または V 型に属し、早晚性の明確な分化を認めたが、他の地域ではこのような分化を認めなかった。彼らは、九州で異なる生態型が認められた原因として、他作物との連作が行われていること、害虫であるサヤタマバエの発生が最盛期を迎える 7 月の開花を回避することを挙げている。

この福井・荒井(1951) の生態型の類別は、日本の育成系統の評価に広く使われているが、韓国の系統についても、同様な類別が陳ら(1982) によって行われている。陳ら(1982) は 韓国の 264 系統について生態型を同定し、韓国では II 型、III 型の頻度が高く、I 型または V 型は低頻度であることを指摘した。また、彼らは、用途により 3 つの系統群に類別し、もやし用で III 型および IV 型の、混飯用および一般用で II 型の頻度が高いことを示した。

Gai(1984) および Ren *et al.*(1987) は、中国各地で作期の異なる系統群を認め、中国北部では春播ダイズ型の 1 つの栽培型が、中国中部では春播ダイズ型と夏播ダイズ型の 2 つの栽培型が、中国南部では春播ダイズ型、夏播ダイズ型および秋播ダイズ型の 3 つの栽培型か更に熱帯性の冬播ダイズ型を加えた 4 つの栽培型が栽培されていることを指摘した。また、Ren *et*

al.(1987)は、南京による生育調査の結果から、春播ダイズ型、夏播ダイズ型、秋播ダイズ型の順に生育期間が長いことを指摘した。

近年では、Perry and McIntosh(1991b)が、ダイズ遺伝資源の遺伝変異を調査する目的で、17の形質について地域的分化の解析を行っている。彼らは、各形質における地域間の多様性の差異が小さく、全地域における形質間の多様性の差異が大きいことを指摘し、特に伸育型と毛茸色で多様性が高く、毛茸の有無で多様性が低いことを報告した。また、彼らはクラスター分析の結果から、日本と韓国が同じクラスターに類別され、両地域の表現型の頻度が類似していることを指摘した。

3 細胞質ゲノム

高等植物の細胞質ゲノムには、葉緑体DNA(cpDNA)およびミトコンドリアDNA(mtDNA)の2種のDNAが含まれている。これらは、多くの植物種で母性遺伝すると考えられることから、母系の系譜(maternal lineage)を推定するのに役立つ。

cpDNAでは、分子系統学的研究が盛んに行われており、200種を越える植物種で物理・遺伝子地図が報告されている(Palmer 1985)。Close *et al.*(1989)は、cpDNAの全域にわたる15クローンをプローブとしたRFLP分析から、*Soja*亜属の3つの種(*G. max*, *G. soja*, *G. gracilis*)のcpDNAが6つの型に類別され、これらのうち*G. max*と*G. soja*は、主に3つの型(I型, II型, III型)のいずれかを有していることを報告した。彼らは、耐虫性および耐病性の遺伝資源として利用され、ツルマメと類似した形態を有するダイズ系統の「Peking」がIII型を、「Nori I」に代表されるアメリカの古いダイズ品種がII型を、「Minsoy」に代表されるアメリカのダイズ近代品種の多くがI型を有することを認めた。

また、Close *et al.*(1989)は、その構造変化の多くが10から100bpの塩基の挿入ないし欠失により説明されることを指摘し、*G. max*と*G. soja*で認められた3つの型が、共通の祖先型から最小限の構造変化(制限酵素認識部位の挿入または欠失)で分化したという仮定のもとで、ツルマメで頻度の高いⅢ群から2ないし3回の構造変化によりⅡ群が生じ、Ⅱ型からLSC(大単一配列)左方域におけるClaI認識部位の挿入によりⅠ群が分化したと推測した。

長谷川(1991)も同様に、ダイズおよびツルマメのcpDNAが、LSC左方域およびIR(逆位反復配列)の一部の配列を含む「H2クローン」をプローブとしたRFLP分析により、3つの型に類別されることを報告した。

mtDNAにおける多様な構造変異についても、RFLP分析や塩基配列の解析により明らかにされている。

長谷川(1991)、久野(1992)および福士ら(1995)は、mtDNA由来の*cox II*および*atp6*をプローブとしたRFLP分析により、ダイズとツルマメのmtDNAに21種類のゲノム型を観察した。mtDNAの構造変異は、広範かつ複雑な再編成により生じていると考えられ、その分化過程を解析することが困難であるが、加藤(1993)は、ダイズおよびツルマメにおける*cox II*と*atp6*近傍の塩基配列と制限酵素切断点の解析から、長谷川(1991)が認めたmtDNA型のいくつかは、*cox II*と*atp6*の上流域に存在する相同配列の組換えにより説明されることを指摘した。

Grabau *et al.*(1992)は、ダイズ系統「Williams 82」のmtDNA由来の2.3kbpのHindⅢ断片をプローブとしたRFLP分析により、ダイズのmtDNAに「Lincoln」型、「Arksoy」型、「Bedford」型および「Soja-forage」型の4つの型を観察した。

第3章 生化学的標識の多型と対立遺伝子頻度の分化

1 緒言

生化学的標識の多くは、それらが直接には人為選抜の対象にはならず、また適応度に対してほぼ中立的であると考えられることから、分類群間の遺伝的關係を明らかにする上で有用である。本章では、アイソザイムおよびトリプシンインヒビターを支配する遺伝子座の対立遺伝子頻度をもとに、東アジアのダイズ在来種の系統分化について検討した。

2 材料および方法

1) 供試材料およびその類別

供試系統は、日本、中国、朝鮮半島および台湾より収集された在来種と純系分離品種の計1218系統である。各系統は、農林水産省農業生物資源研究所(日本の694系統、中国の46系統、朝鮮半島の158系統および台湾の16系統)、農林水産省熱帯農業研究センター(沖縄の3系統)、台湾国立中興大学の曾富生博士(中国の161系統と台湾の5系統)、北海道立十勝農業試験場(北海道の84系統、中国東北(黒竜江省、吉林省、遼寧省)の31系統)、山形大学農学部の笹原健夫博士(本州北部の枝豆用在来種の10系統)、雪印種苗株式会社(北海道および本州北部の枝豆用在来種の10系統)より分譲していただいた。尚、前述したKiang *et al.*(1988)、Perry and McIntosh (1991a, b)およびHymowitz and Kaizuma(1979, 1981)が供試したダイズ系統は、USDA(アメリカ農務省)から分譲されたものであり、交雑育種等により育成された系統が多く含まれる点で、在来種を研究の主体においた本研究と異なる。

日本の在来種は、農林水産省農業生物資源研究所発行の「植物遺伝資源配布目録」(1990)および導入資料に基づき、北海道、本州北部(新潟県と福島

県以北の本州)、本州中部(本州北部より南、福井県、滋賀県、三重県以北の本州)、本州南部(本州中部より南の本州)、四国、九州および沖縄の7地域に類別した。また、中国の255系統は、栽培地域が不明であった23系統を除き、Ren *et al.*(1987)の栽培地域の類別により、北部(北方春豆区; 黒竜江省、吉林省、遼寧省および甘肅省を含む)、中部(黄淮海大豆区; 河北省、山西省、陝西省、山東省、湖北省、河南省北部および江蘇省北部を含む)、南部(南方大豆区; 河南省南部、江蘇省南部、浙江省、湖南省、四川省および広東省を含む)の3地域に類別した。

2) 生化学的標識の評価

i) アイソザイム

調査した9酵素は、ACO、AP(酸性ホスファターゼ)、DIA(ダイアホラーゼ)、ENP、EST(エステラーゼ)、IDH(イソクエン酸脱水素酵素)、LAP、MPIおよびPGM(ホスフォゴルコムターゼ)である。各ザイモグラムは、デンプンゲル電気泳動法により評価した。

電気泳動は、3%しょ糖を含む12%デンプンゲルを支持体として行った。電気泳動に供試した試料は、吸水後2日目の種子の子葉の一部を切り取り、5℃に冷却した抽出用緩衝液(表3-1)を加え、摩砕したものである。電気泳動に用いた電極用緩衝液およびゲル用緩衝液は、ヒスチジン-クエン酸緩衝液(D緩衝液; Cardy and Beversdorf 1984)およびトリス-クエン酸緩衝液(T緩衝液; Second 1982)である(表3-2)。D緩衝液では、約200Vの定電圧で約6時間泳動したのち、ACO、AP、DIAおよびIDHの4酵素を、T緩衝液では、1ゲルあたり約25mAの定電流で約6時間泳動したのち、ENP、EST、LAP、MPIおよびPGMの5酵素をおのおの染色した。各酵素における染色液の組成および染色方法は表3-3に示した。各ゲルは染色した

表3-1 デンプンゲル電気泳動で用いた試料抽出液
の組成

組 成	分 量
0.1 M トリス塩酸緩衝液 (pH 7.5)	50ml
14M 2-メルカプトエタノール	50 μ l
EDTA ¹⁾	19mg
塩化カリウム	37mg
塩化マグネシウム	102mg
PVP ²⁾	2g

注) 試料あたり20から50 μ lを使用した。

1) EDTAは、エチレンジアミン四酢酸
二ナトリウムの略称である。

2) PVPは、ポリビニルピロリドンの略称である。

表3-2 デンブンゲル電気泳動で9酵素のザイモグラムの調査に用いた
電極用とゲル用の緩衝液の各組成

電極用緩衝液 (1回の泳動あたり約1lを使用)		ゲル用緩衝液 (1ゲルあたり200mlを使用)	
D緩衝液*	65mM L-ヒスチジン	16mM L-ヒスチジン	
(pH6.5)**	7mM クエン酸1水和物	2mM クエン酸1水和物	
T緩衝液	400mM トリスアミノメタン	15mM ヒスチジン塩酸塩	
(pH7.0)**	132mM クエン酸1水和物	9mM トリスアミノメタン	

注) 各値は、1lあたりの分量を示す。

*: D緩衝液のゲル用緩衝液は、電極用緩衝液を1/4に希釈したものである。

** 各緩衝液のpHは、T緩衝液のゲル用緩衝液ではトリスアミノメタンで、
他の緩衝液ではクエン酸1水和物で調節した。

表3-3 アコニターゼ、酸性ホスファターゼ、ダイアホラーゼ、
 エンドペプチダーゼ、エステラーゼ、イソクエン酸脱水素酵素、
 ロイシンアミノペプチダーゼ、マンノース6リン酸イソメラーゼ
 およびホスフォゴルコムターゼのザイモグラムの調査に用いた
 染色液の組成および染色方法

酵 素	組 成	分 量
ACO	0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0)	50ml
	cis-アコニット酸 (pH 7.5)*	100mg
	イソクエン酸脱水素酵素(NADP ⁺ 活性)	40unit
	β -NADP ⁺	10mg
	塩化マグネシウム	40mg
	MTT (メタノールに溶解後、使用)	5mg
	PMS (メタノールに溶解後、使用)	1.5mg
37℃暗黒下で1時間染色。		
AP	0.1M 酢酸緩衝液 (pH 5.0)	50ml
	α -ナフチルリン酸	30mg
	PVP	70mg
	塩化マグネシウム	40mg
	塩化ナトリウム	500mg
	ファストガーネットGBC塩	50mg
37℃暗黒下で30分間染色。		
DIA	0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0)	50ml
	2, 6 ジクロロフェノール インドフェノール	1mg
	β -NADH	30mg
	塩化マグネシウム	40mg
	MTT	10mg
37℃暗黒下で1時間染色。		
ENP	0.1M トリス-マレイン酸緩衝液 (pH 5.2)	50ml
	BANA (50% アセトンに溶解後、使用)	40mg
	塩化マグネシウム	40mg
	ファストガーネットGBC塩	50mg
37℃暗黒下で30分間染色。		
EST	0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0)	50ml
	α -ナフチル酢酸 (50% アセトンに溶解後、使用)	20mg
	n-プロパノール	1ml
	ファストブルー-RR塩	40mg
ファストブルー-RR塩を除く溶液に37℃で1時間浸した後、 ファーストブルー-RR塩を加え染色。		
β -NADH: β -ジホスホピリジンヌクレオチド、還元型		
BANA: N α -ベンゾイル-DL-アルギニン-P-ニトロアニリド、 塩酸塩		

*: cis-アコニット酸は1N NaOHでpH7.5に調整した。

表3-3 続き

酵 素	組 成	分 量
LAP	0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0)	50ml
	L-ロイシル- β -ナフチルアミド**	20mg
	ファストガーネットGBC塩	50mg
ファストガーネットGBC塩を除く溶液に室温で1時間浸した後、ファストガーネットGBC塩を加え染色。		
IDH	0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0)	50ml
	DL-イソクエン酸	40mg
	β -NADP+	10mg
	塩化マグネシウム	40mg
	MTT	5mg
	PMS	1.5mg
37°C暗黒下で1時間染色。		
MPI	0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0)	50ml
	マンノース-6-リン酸	40mg
	グルコース-6-リン酸脱水素酵素	40unit
	ホスフォヘキソゼイソメラーゼ	40unit
	β -NAD+	20mg
	MTT	5mg
	PMS	1.5mg
37°C暗黒下で1時間染色。		
PGM	0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0)	50ml
	グルコース-1-リン酸	20mg
	グルコース-6-リン酸脱水素酵素	40unit
	β -NAD+	20mg
	塩化マグネシウム	40mg
	MTT	5mg
	PMS	1.5mg
37°C暗黒下で1時間染色。		
β -NAD+: β -ジホスホピリジンヌクレオチド, 酸化型		
β -NADP+: β -ジホスホピリジンヌクレオチドリン酸, 酸化型		
MTT MTTテトラゾリウム		
PMS: フェナジンメトサルフェート		
** L-ロイシル- β -ナフチルアミドは、少量のジメチルホルムアミドに融解した後、蒸留水を加え20mg/lに調整後、使用した。		

後、水洗し、一部については50%のグリセロール溶液で固定し、ザイモグラムを調査した。

ザイモグラムの調査は、各系統あたり最低3粒の種子について行った。系統内で多型が観察された場合には、更に2から6粒の種子について調査し、系統内の対立遺伝子頻度を求めた。

ii) トリプシンインヒビター

TIの泳動変異体の同定は、高木(1977)の行ったポリアクリルアミドゲル電気泳動法による方法を参考にして行い、試料の調整は、Kollipara *et. al.* (1991)に従った。

各系統につき2ないし3粒の種子を粉碎した粉(約50mg)に200ulの抽出用緩衝液(表3-4)を加えた後、約1時間静置した。その液を5000rpmで10分間遠心して分画し、上清15 μ lに50%グリセロール12 μ l、0.5%ブロモフェノールブルー3 μ lを加え、電気泳動の試料とした。電気泳動は、濃縮ゲル5%、分離ゲル10%のポリアクリルアミドゲルを支持体として定電圧70Vで約40分間、その後定電圧200Vで約2時間半、行った。泳動終了後、染色液で15分間染色した後、脱染液で3回脱色(1回目は約3分間、2および3回目は約15分間)し、ガラス板上でセロハン紙に挟んで一晩乾燥し保存した。分析に用いたポリアクリルアミドゲル、電気泳動用緩衝液、染色液および脱染液の組成は表3-5に示した。

各試料で異型接合表現型が観察された場合は、必要に応じて同一系統から数粒の種子を、種子ごとに再度、調査した。異型接合性が観察された系統の各対立遺伝子の頻度は、対立遺伝子が系統内で均等に存在すると仮定し、決定した。

表3-4 アクリルアミドゲル電気泳動で用いた
試料抽出液の組成

組 成	濃 度
トリス塩酸緩衝液 (pH 7.5)	920mM
NaCl	23mM
PMSF*	0.5mM

注) 試料あたり200 μ lを使用した。

*: PMSFはフェニルメチルスルホニルオリド
の略称である。

表3-5 トリプシンインヒビターの泳動変異体の調査に用いた
 アクリルアミドゲル、電極用緩衝液、染色液および脱染液
 の各組成

溶 液	組 成	分 量
アクリルアミドゲル		
濃縮ゲル (5%, 10ml)	アクリルアミド	487mg
	N,N'-メチレンビスアクリルアミド	13mg
	0.125M トリス塩酸緩衝液 (pH 6.8)	10ml
	過硫酸アンモニウム	5mg
	N,N,N',N'-テトラメチルエチレン ジアミン (TEMED)	10 μ l
分離ゲル (10%, 25ml)	アクリルアミド	2435mg
	N,N'-メチレンビスアクリルアミド	65mg
	0.375M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.8)	25ml
	過硫酸アンモニウム	13mg
	TEMED	25 μ l
電極用緩衝液		
(pH 8.3, 500ml)	トリスアミノメタン	1.51 g
	グリシン	7.2g
染色液		
(0.15%, 50ml)	クマシーブリリアントブルー	75mg
	メタノール	25ml
	酢酸	5ml
	蒸留水	20ml
脱染液		
(250ml, 3回に分けて使用)	メタノール	75ml
	酢酸	25ml
	蒸留水	150ml

3) 遺伝的多様性および遺伝的距離

遺伝的多様性を示す指標として、1遺伝子座あたりの対立遺伝子数(N_a)、優占する対立遺伝子の頻度が99%を越えなかった多型的な遺伝子座の割合(99%水準で多型的な遺伝子座の割合; P_{99})およびNei(1973)の遺伝子多様度(H)を用いた。

日本の7地域間、中国の3地域間、日本、中国、朝鮮半島と台湾の4地域間および九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型間の遺伝的分化の度合いは、99%水準で多型的な遺伝子座より算出したNei(1973)の遺伝子分化係数(G_{ST})を用いて評価した。 G_{ST} は、分類群の対立遺伝子頻度の平均値より求めた全体の遺伝子多様度(H_T)に対する分類群間の遺伝子多様度($D_{ST}=H_T-H_S$; H_S は、各分類群の遺伝子多様度の平均値を示す)の割合で表される。

各地域間、九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型間および後述するクラスター分析により類別したアイソザイム品種群間の遺伝的距離は、根井(1990)の標準遺伝距離により評価し、群平均法により分類群間の系統樹を作成した。

4) クラスター分析

調査した系統は、各遺伝子座の対立遺伝子の頻度を変数とし、SASのFASTCLUS手法(1985)により、遺伝子型組み合わせの類似したアイソザイム品種群に類別した。

地域間および九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型間の対立遺伝子頻度およびアイソザイム品種群の頻度の有意性を、 χ^2 検定により評価した。また、異なる2遺伝子座間の変異の連関を、系統内で優占する遺伝子型をその系統の代表的な遺伝子型とした独立性に関する χ^2 検定により評価した。尚、優占する対立遺伝子の頻度が50%以下の系統はこの解析より除外した。

3 結果および考察

1) 各電気泳動像の特徴と遺伝子座

観察された9酵素のザイモグラムとトリプシンインヒビターの電気泳動像およびそれらの関与遺伝子座の遺伝子型を図3-1(AからJ)に示した。本研究で観察された泳動変異体は、後述する6個の泳動変異体を除き、すでに遺伝解析がなされており、16遺伝子座が同定されている(Hymowitz and Hardly 1972; Hilderand *et al.* 1980; Gorman *et al.* 1983; Griffin and Palmer 1987; Doong and Kiang 1987a, b; Bult and Kiang 1989; Kiang and Bult 1991)。遺伝子座および対立遺伝子の表記は、*Aco5*についてはKiang and Bult(1991)に、その他の15遺伝子座についてはSoybean Genetics Committee(Palmer *et al.* 1987; Buzzell 1988)に従った。各遺伝子座は、その多くが互いに独立遺伝するが、*Ap*、*Lap1*と*Ti*の間(Hilderand *et al.* 1980; Kiang 1987; Kiang and Chiang 1987; Yu and Kiang 1990, 1993)および*Enp*と*Est1*の間(阿部ら 1993)に連鎖が報告されている(表3-6)。

供試した全系統を通じ、調査した16遺伝子座で既に同定されている36個の対立遺伝子と遺伝解析のなされていない6個の泳動変異体(DIA3型、ENP4型、IDH6、7および8型、LAP3型)が観察された。後者の6個の泳動変異体のうち、ENP4型はダイズで(Doong and Kiang 1987a)、LAP3型はツルマメで(Abe *et al.* 1992)報告されている。本研究では、彼らに基づき、ENP4型は*Enp*座の*d*対立遺伝子に、LAP3型は*Lap1*座の*c*対立遺伝子に支配されると仮定した。他の4個の泳動変異体については報告例がなく、各泳動変異体の特徴および推定される関与対立遺伝子について以下に記した。

表3-6 過去に報告されたゲイズにおけるアイソザイムおよびトリプシンインヒビターを支配する
16遺伝子座間の連鎖関係

遺伝子座	<i>Aco1</i>	<i>Aco2</i>	<i>Aco3</i>	<i>Aco4</i>	<i>Aco5</i>	<i>Ap</i>	<i>Dia1</i>	<i>Enp</i>	<i>Est1</i>	<i>Idh1</i>	<i>Idh2</i>	<i>Lap1</i>	<i>Mpi</i>	<i>Pgm1</i>	<i>Pgm2</i>
<i>Aco2</i>															
<i>Aco3</i>	I ^(8,11)	I ⁽⁸⁾													
<i>Aco4</i>	I ⁽⁸⁾	I ⁽⁸⁾	I ⁽⁸⁾												
<i>Aco5</i>		I ⁽¹¹⁾													
<i>Ap</i>	I ^(8,11)	I ^(6,8,11)	I ^(6,8,11)	I ⁽⁸⁾	I ⁽¹¹⁾										
<i>Dia1</i>	I ^(8,11)	I ^(6,8,11)	I ^(6,8,11)	I ⁽⁸⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾									
<i>Enp</i>	I ⁽⁸⁾	I ^(7,8,11)	I ⁽⁸⁾	I ^(7,8)		I ^(7,8,11)	I ^(2,3,11)								
<i>Est1</i>		I ^(9,11)			I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ^(2,11)	L ⁽¹⁰⁾							
<i>Idh1</i>	I ^(8,11)	I ^(8,11)	I ⁽¹¹⁾	I ⁽⁸⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ^(2,8,11)	I ^(7,11)	I ^(9,11)						
<i>Idh2</i>	I ⁽⁸⁾	I ^(8,11)	I ⁽⁸⁾	I ⁽⁸⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ^(8,11)	I ^(7,11)	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾					
<i>Lap1</i>		I ⁽¹¹⁾				L ^(5,11)	I ^(2,11)	I ⁽¹¹⁾		I ^(2,11)	I ^(2,11)				
<i>Mpi</i>		I ^(9,11)			I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾		I ^(9,11)	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾				
<i>Pgm1</i>		I ⁽⁹⁾				I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽³⁾	I ⁽⁹⁾	I ⁽²⁾	I ⁽²⁾	I ^(2,3)	I ⁽¹¹⁾		
<i>Pgm2</i>		I ⁽¹¹⁾			I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	I ⁽¹¹⁾	
<i>Ti</i>						L ^(1,5,11)	I ⁽¹¹⁾				I ⁽¹¹⁾	L ^(4,5)			

Iは独立関係を、Lは連鎖関係を示す。

各数字は、報告例を示す。(1 Hildebrand *et al.* 1980、2 Kiang and Chiang 1985、3 Kiang *et al.* 1985、4 Kiang and Chiang 1987、5 Kiang 1987、6 Doong and Kiang 1987a、7 Doong and Kiang 1987b、8 Griffin and Palmer 1987、9 Bult and Kiang 1989、10 阿部ら 1993、11 Yu and Kiang 1993)

DIA3型：3本のバンドで構成され、泳動起点から1番目のバンドが*Dia1-b*の最も泳動距離の短いバンドと、2番目のバンドが*Dia1-b*の最も泳動距離の長いバンドと、3番目のバンドが*Dia1-a*の最も泳動距離の長いバンドとそれぞれ同程度の泳動距離を示した。Gorman *et al.*(1983)は、*Dia1*座が4量体酵素を支配する2つの遺伝子座から成る複合体であり、各々のバンドは遺伝子座内、遺伝子座間のサブユニットから形成されると推測した。しかし、本研究で認められたDIA3型は、四量体よりも、むしろ二量体酵素のサブユニットより構成されると考えられ、本研究では、この泳動変異体を、*Dia1*座の異なる対立遺伝子、*Dia1-c*に支配されると仮定した。

IDH6型：3本のバンドで構成され、それぞれの泳動変異体は、IDH4型の3本のバンドのうち泳動距離が中間のバンド、IDH1型の泳動距離が最も短いバンドおよび両バンドの中間点と同程度の泳動距離を示した。Gorman *et al.*(1983)とKiang and Gorman(1985)は、IDHが*Idh1*および*Idh2*に支配される二量体の酵素であり、泳動距離の最も長いバンドが*Idh2*に支配されるサブユニットの同型二量体、泳動距離の最も短いバンドが*Idh1*に支配されるサブユニットの同型二量体、両者の中間の泳動距離示すバンドが両遺伝子座に支配されるサブユニットの異型二量体であると指摘した。本研究で認められたIDH6型は、彼らに従い、*Idh2*の*a* 対立遺伝子および*b* 対立遺伝子に支配される同型二量体の中間の泳動距離を示す同型二量体を支配する*Idh2*の*c* 対立遺伝子が関与していると仮定した。

IDH7型：IDH6型の三本のバンドのうち、泳動距離が最も長いバンドと中間のバンドの中間点とほぼ等しい泳動距離を示す一本のバンドで構成される。Gorman *et al.*(1983)とKiang and Gorman(1985)は、IDH3型の一本のバンドは、*Idh1-b*と*Idh2-a*に支配される同型二量体の泳動距離が接近していることから、両遺伝子座内、遺伝子座間で構成される3つの二量体が

ほぼ等しい泳動距離に集中することにより生じると推察している。このことおよびIDH3型と6型の比較から、IDH7型の泳動変異体は、*Idh1-b*と*Idh2-c*の支配される2つの同型二量体および1つの異型二量体がほぼ等しい泳動距離に集中した結果、生じたと考えられた。

IDH8型：IDH1型の下位のバンドと泳動距離が等しい一本のバンドで構成される。この泳動変異体は、*Idh2*に座乗し、*Idh1-a*とほぼ同等の泳動距離を示す泳動変異体、または、非活性の泳動変異体を支配する対立遺伝子が関与していると考えられ、*Idh2-d(n)*に支配されるとした。

異型接合と考えられた泳動変異体は、ACO、AP、ENP、IDH、MPI、PGMおよびTIで認められた。しかし、これらのうち、ACO12型は中国系統の「斎黄10号」で、TI5型は日本系統の「松福」で、調査した全ての種子に観察されたことから、異型接合の対立遺伝子組合せが原因したとは考えられない。従って、ACO12型とTI5型は、関与遺伝子座の遺伝子型を「不明」とした。これら以外の異型接合型の泳動変異体は、これらが観察された系統の別種子で同型接合型の泳動変異体が認められたことから、異型接合の対立遺伝子組合せに原因すると考えられた。

IDH5型は、*Idh1*が*a* 対立遺伝子および*b* 対立遺伝子の異型接合型で*Idh2*が*b* 対立遺伝子の同型接合型、*Idh1*が*a* 対立遺伝子の同型接合型で*Idh2*が*a* 対立遺伝子および*b* 対立遺伝子の異型接合型、*Idh1*および*Idh2*が*a* 対立遺伝子および*b* 対立遺伝子の異型接合型の3通りの遺伝子型が想定される。このザイモグラムをもつ系統の遺伝子型は、同じ系統内における他種子で同定された遺伝子型を参照して、決定した。

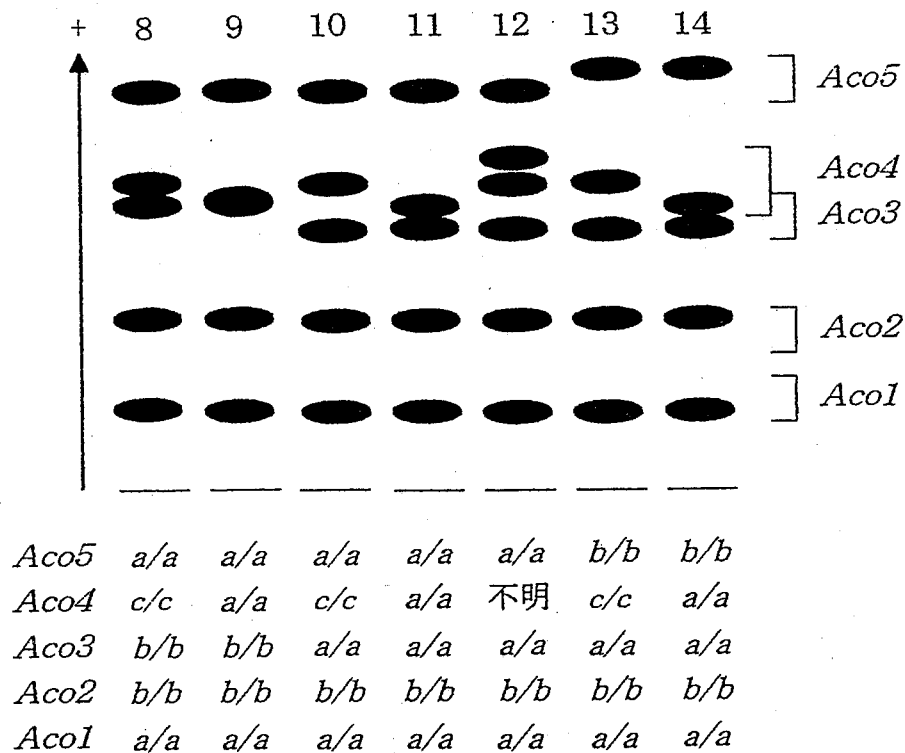
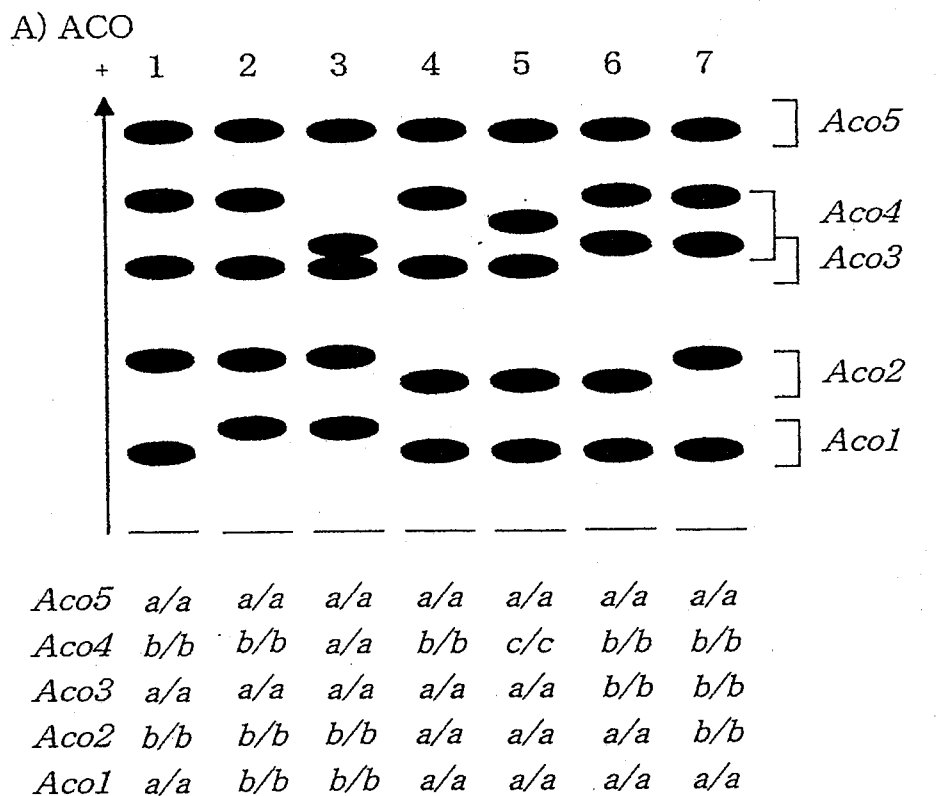


図3-1 ダイズ在来種において観察された9酵素のザイモグラム型とトリプシンインヒビターの電気泳動像の型および各型における関与遺伝子座の遺伝子型

各数字はザイモグラム型または電気泳動像の型を示す。
「不明」は、遺伝子型が同定できなかった(本文を参照)

A) ACO

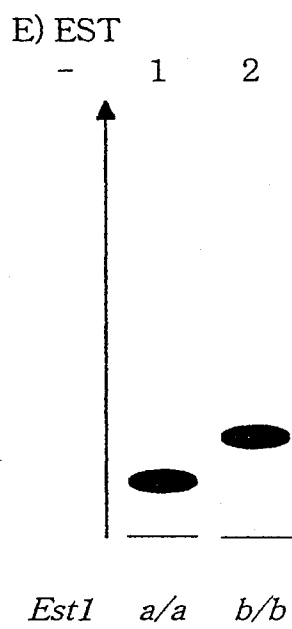
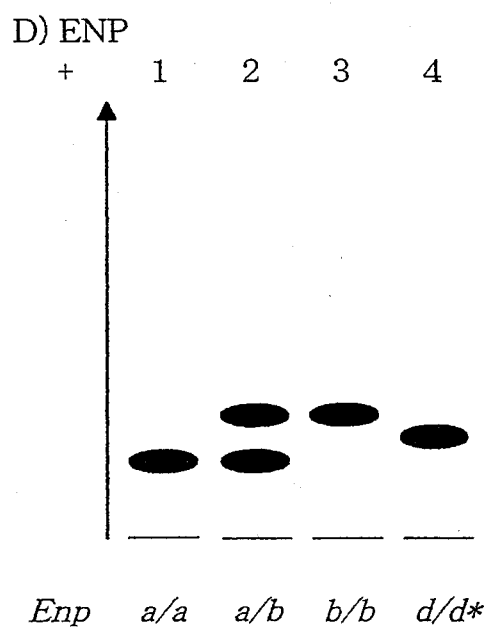
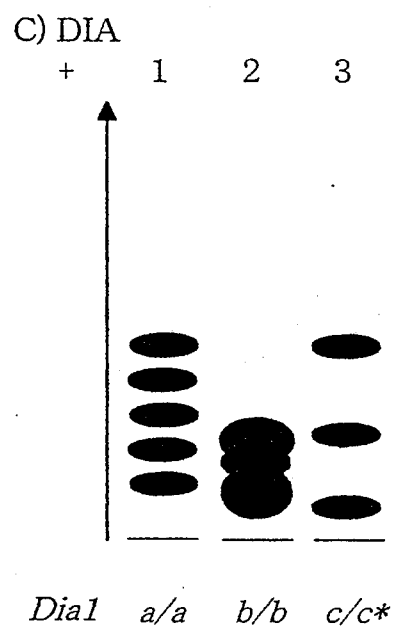
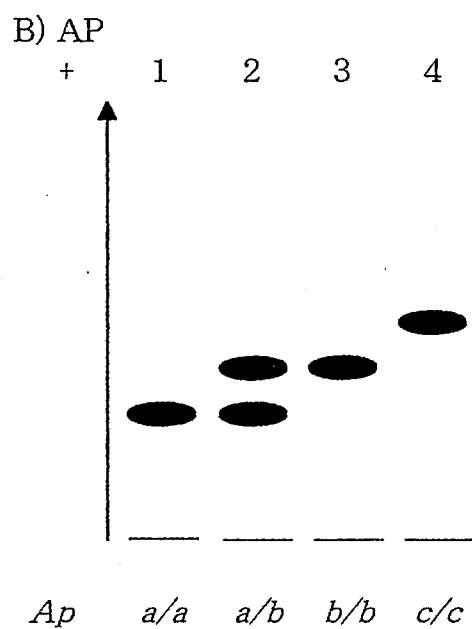


図3-1 続き
 *は、推定した遺伝子型を示す。
 B) AP
 C) DIA
 D) ENP
 E) EST

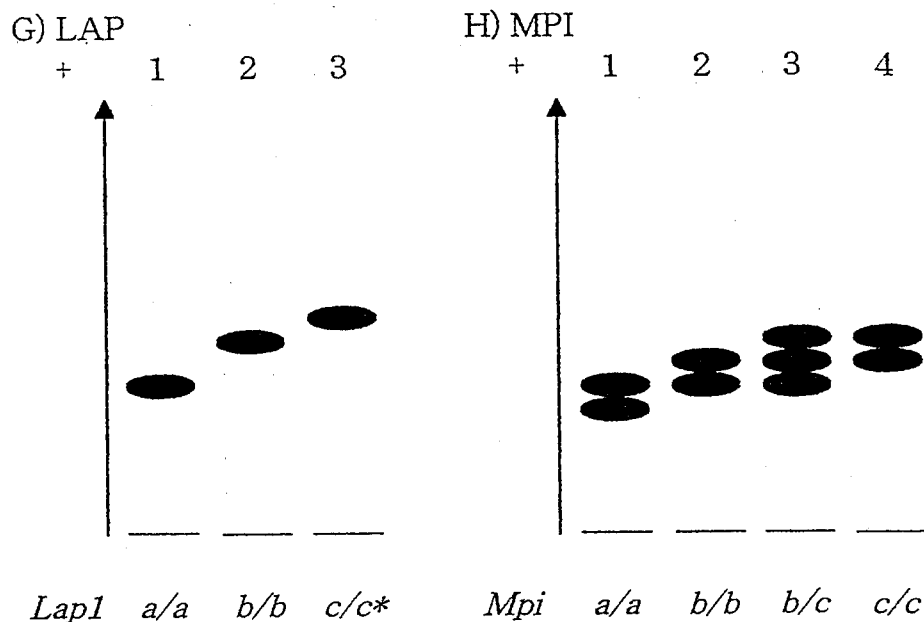
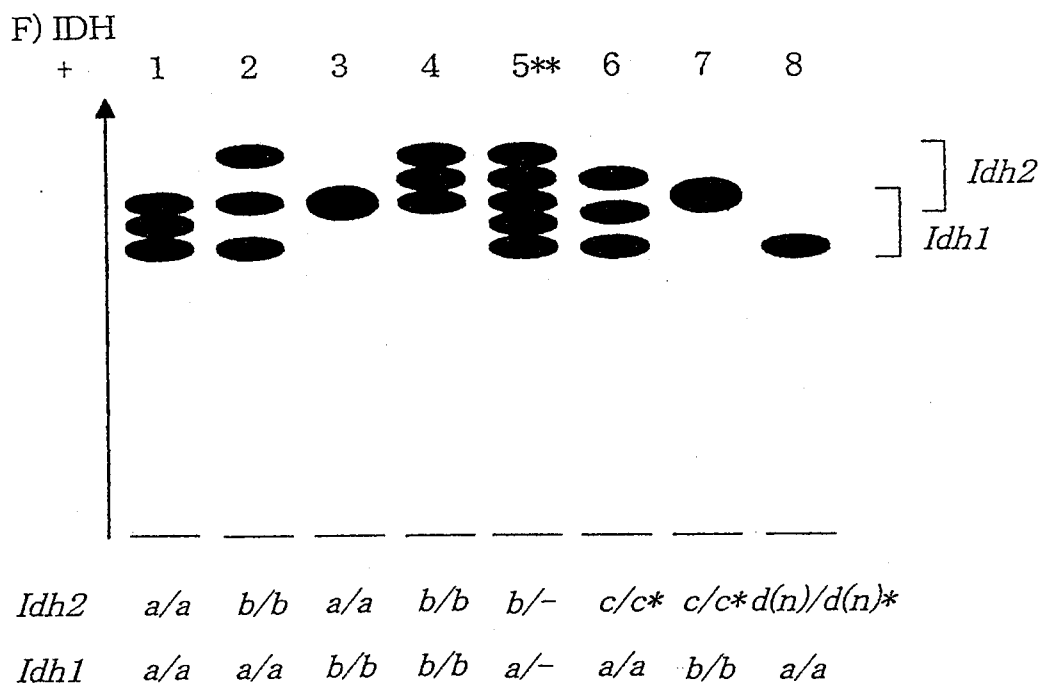


図3-1 続き

** このザイモグラム型の遺伝子型は、この型が観察された系統の他種子の遺伝子型を参照して一部分の遺伝子型を決定した(本文を参照)。

F) IDH
G) LAP
H) MPI

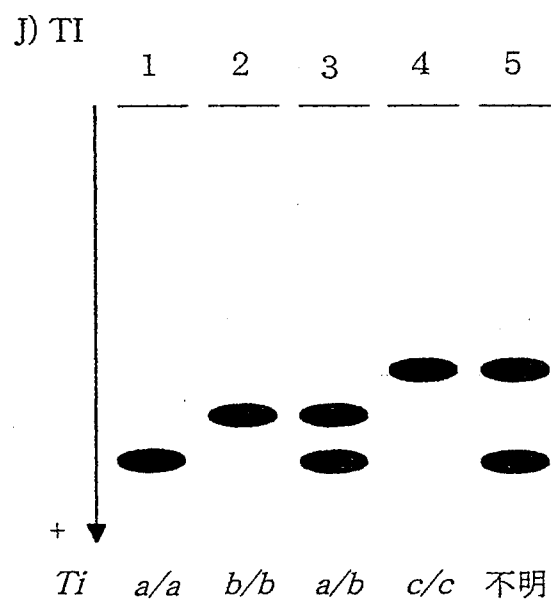
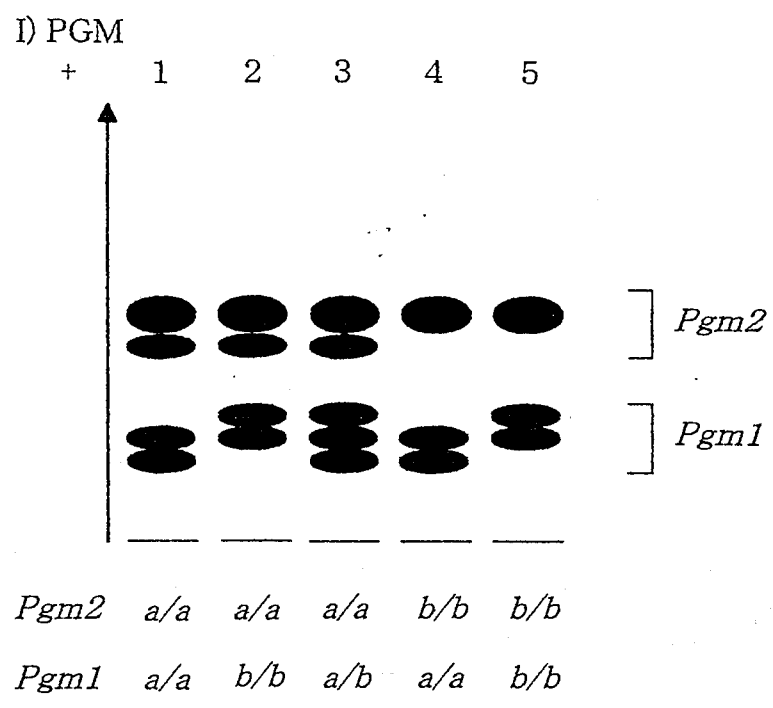


図3-1 終わり
I) PGM
J) TI

2) ダイズにおける遺伝的多様性

供試した全系統における、各遺伝子座の対立遺伝子頻度と遺伝子多様度を図3-2に示す。調査した16遺伝子座のうち、*Idh2*で最も多い4つの対立遺伝子が観察され、ついで*Aco4*、*Ap*、*Dia1*、*Enp*、*Lap1*、*Mpi*および*Ti*の7遺伝子座で3つの対立遺伝子が、残りの8遺伝子座で2つの対立遺伝子が観察された。これらのうち、*Aco1*、*Aco2*、*Aco3*、*Aco5*、*Lap1*および*Pgm2*は、優占する対立遺伝子の頻度が高く、多型性の低い遺伝子座であり、*Dia1*、*Enp*、*Idh1*、*Mpi*、*Pgm1*および*Ti*は、遺伝子多様度が0.400を越えた高度に多型的な遺伝子座であった。

本研究で供試した1218系統について、16遺伝子座で求めた1遺伝子座あたりの対立遺伝子数(N_a)は2.56、99%水準で多型的な遺伝子座の割合(P_{99})は0.875、遺伝子多様度(H)は0.264であった(表3-7)。これら全ては、Kiang *et al.*(1988)が東アジアのダイズ857系統について46遺伝子座より求めた値($N_a=1.43$, $P_{99}=0.457$, $H=0.140$)やPerry and McIntosh (1991a)の報告した世界各地のダイズ2236系統について7遺伝子座の対立遺伝子頻度をもとに計算した値($N_a=2.11$, $P_{99}=0.429$, $H=0.159$)よりも大きく、Kiang *et al.*(1988)が東アジアのツルマメ136系統について46遺伝子座で求めた値($N_a=2.00$, $P_{99}=0.622$, $H=0.150$)、Yu and Kiang(1993)が韓国のツルマメ6集団の35遺伝子座で求めた値($N_a=2.10$, $P_{99}=0.771$, $H=0.215$)、さらにはHamrick and Godt(1990)が報告した自殖性植物123種の平均値($N_a=1.69$, $P_{99}=0.418$, $H=0.124$)や高等植物473種の平均値($N_a=1.96$, $P_{99}=0.505$, $H=0.149$)に比べても大きかった。これらの結果から、本研究で供試した系統には高い遺伝的多様性が存在すると考えられた。

また、本研究で得られた N_a および P_{99} の値は、安藤(1993)の報告した日本と東アジアのツルマメにおける対立遺伝子頻度の結果から、本研究と同

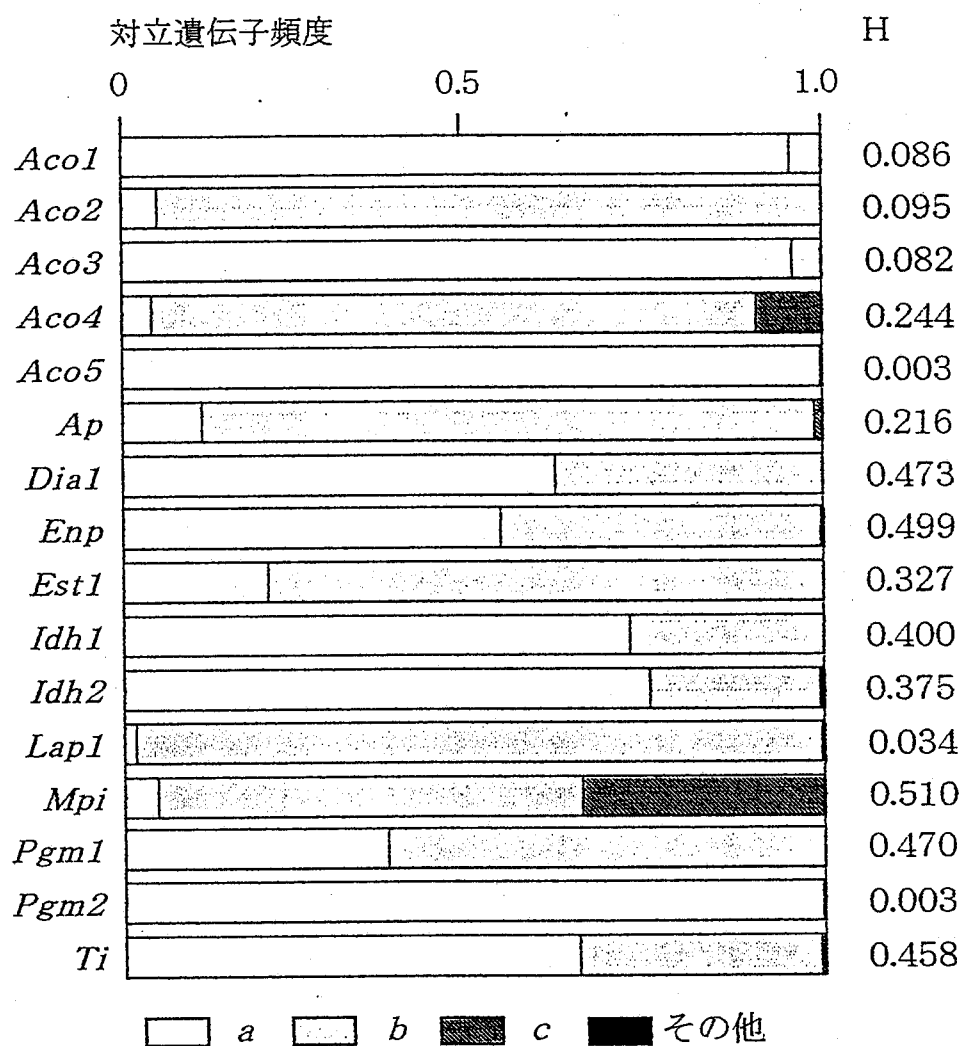


図3-2 日本、中国、朝鮮半島および台湾のダイズ在来種における
アイソザムおよびトリプシンインヒビターを支配する
16遺伝子座の対立遺伝子頻度と遺伝子多様度(H)

じ遺伝子座について求めた値($N_a=2.84$, $P_{99}=1.000$; $N_a=3.26$, $P_{99}=1.000$)よりも小さく、Yu and Kiang(1993)の結果から本研究と同じ遺伝子座について再計算した値($N_a=2.44$, $P_{99}=0.938$)と同程度の大きさを示した(表3-7)。このことは、本研究で調査した遺伝子座に、特に多様性の高い遺伝子座が多く含まれていた可能性を示唆し、本研究で供試した系統の遺伝的多様性の正確な評価には、他の遺伝子座についても対立遺伝子頻度を調査する必要があると考えられた。

地域全体の遺伝子多様度(H_T)、地域内の遺伝子多様度(H_s)および遺伝子分化係数(G_{ST})について、1)日本の7地域間、2)中国の3地域間および3)日本、中国、朝鮮半島、台湾の4地域間で求めた結果を、表3-8に示した。

各遺伝子座において G_{ST} を比較したところ、*Aco1*と*Dia1*は日本の7地域間で、*Aco3*と*Lap1*は中国の3地域間で、*Est1*と*Ti*は日本、中国、朝鮮半島と台湾の4地域間で、*Enp*は日本の7地域間と日本、中国、朝鮮半島と台湾の4地域間で、*Idh2*はいずれの比較においても大きな値を示した。これらの遺伝子座では、対立遺伝子の地域分布に偏りが生じていることが認められ、特に、*Aco1*、*Dia1*および*Enp*が日本の特定の地域に、*Aco3*と*Lap1*が中国の特定の地域に、*Est1*および*Ti*が日本、中国、朝鮮半島または台湾のいずれかに、特定の対立遺伝子が集中していることが示された。

日本の7地域間、中国の3地域間および日本、中国、朝鮮半島、台湾の4地域間において、調査した16遺伝子座の G_{ST} を比較したところ、日本の7地域間($G_{ST}=0.075$)と日本、中国、朝鮮半島と台湾の4地域間($G_{ST}=0.083$)でほぼ等しく、中国の3地域間($G_{ST}=0.051$)で、両地域間より小さかった。また、本研究で調査した16遺伝子座のうち*Ti*を除く15遺伝子座について再計算した日本の7地域間の G_{ST} ($G_{ST}=0.070$)は、島本(1994)の報告した日本の9地域のツルマメについて共通する遺伝子座で求めた値と同程度であった。

表3-7 ダイズ、ツルマメおよび高等植物における1遺伝子座あたりの対立遺伝子数(N_a)、99%水準で多型的な遺伝子座の割合(P_{99})および遺伝子多様度(H)

種名	地域	供試数	調査した 遺伝子座 の数	N_a	P_{99}	H
ダイズ	東アジア ¹⁾	1218系統	16	2.56	0.875	0.264
	東アジア ²⁾	857系統	46	1.43	0.457	0.140
	世界各地 ³⁾	2236系統	7	2.11	0.429	0.159
ツルマメ	日本 ⁴⁾	447集団	16	2.81	1.000	-
	東アジア ⁴⁾	601集団	16	3.26	1.000	-
	韓国 ⁵⁾	6集団	35	2.10	0.771	0.215
	東アジア ²⁾	136系統	46	2.00	0.622	0.150
その他 (各値は種間の平均値) ⁶⁾						
自殖性種 (123種)		20.3集団	16.2	1.69	0.418	0.124
高等植物 (473種)		12.7集団	16.5	1.96	0.505	0.149

1)本研究の結果

2)Kiang *et al.*(1988)より引用した。

3)Perry and McIntosh(1991a)の結果より計算した。

4)安藤(1993)の結果より、本研究で調査した16遺伝子座について計算した。また、 Ti 座は、他の遺伝子座と供試数が異なり、日本では436集団を、東アジアでは482集団における結果を使用した。

5)Yu and Kiang(1993)より引用した。

6)Hamrick and Godt(1990)より引用した。

表3-8 日本の7地域、中国の3地域および日本、中国、朝鮮半島と台湾の4地域のダイズ在来種における、16遺伝子座の対立遺伝子頻度よりもとめた地域全体の遺伝子多様度(H_T)、地域内の遺伝子多様度(H_S)および遺伝子分化係数(G_{ST})

地域	日本(7地域)			中国(3地域)			全体(4地域) ¹⁾		
	H _T	H _S	G _{ST}	H _T	H _S	G _{ST}	H _T	H _S	G _{ST}
遺伝子座									
<i>Aco1</i>	0.114	0.093	0.187	-	-	-	0.038	0.036	0.040
<i>Aco2</i>	0.029	0.028	0.031	0.213	0.207	0.028	0.180	0.174	0.038
<i>Aco3</i>	-	-	-	0.308	0.262	0.150	0.126	0.116	0.082
<i>Aco4</i>	0.267	0.244	0.087	0.238	0.227	0.047	0.158	0.151	0.042
<i>Aco5</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ap</i>	0.190	0.181	0.049	0.171	0.166	0.030	0.172	0.168	0.021
<i>Dia1</i>	0.429	0.382	0.109	0.488	0.477	0.023	0.478	0.443	0.073
<i>Enp</i>	0.465	0.376	0.192	0.396	0.374	0.056	0.480	0.423	0.118
<i>Est1</i>	0.405	0.416	0.027	0.049	0.049	0.007	0.189	0.163	0.138
<i>Idh1</i>	0.393	0.366	0.068	0.476	0.470	0.014	0.423	0.414	0.021
<i>Idh2</i>	0.322	0.253	0.213	0.489	0.422	0.136	0.441	0.354	0.197
<i>Lap1</i>	-	-	-	0.145	0.165	0.123	0.043	0.042	0.032
<i>Mpi</i>	0.504	0.469	0.070	0.531	0.522	0.017	0.499	0.467	0.045
<i>Pgm1</i>	0.473	0.418	0.117	0.497	0.496	0.004	0.467	0.446	0.045
<i>Pgm2</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ti</i>	0.495	0.462	0.068	0.054	0.053	0.027	0.370	0.318	0.138
平均 ²⁾	0.320	0.296	0.075	0.313	0.297	0.051	0.290	0.266	0.083

-は、99%水準で単型的な遺伝子座を示す。

1) 日本、中国、朝鮮半島、台湾の間を示す。

2) H_Tおよび H_Sの平均値は、99%水準で単型的な遺伝子座を除外した遺伝子座からもとめた。G_{ST}は、H_Tおよび H_Sの平均値より再計算した。

以上のように、供試した全系統は、本解析を進めていくにあたり十分な遺伝変異が存在し、対立遺伝子頻度に地域的分化が生じていることが明らかとなった。

3) 対立遺伝子頻度および遺伝的多様性の地域的分化と各地域間の遺伝的距離

次に、各地域における対立遺伝子頻度および遺伝的多様性の地域的分化を検討し、各地域間の遺伝的距離を根井(1990)の標準遺伝距離により評価した。

i) 対立遺伝子頻度の地域的分化

各地域におけるアイソザイム遺伝子座および *Ti* 座の対立遺伝子頻度を表3-9に示した。日本、中国、朝鮮半島および台湾間で各遺伝子座の対立遺伝子頻度を比較したところ、*Aco5* および *Pgm2* を除く14遺伝子座において異なっていた。また、日本の7地域間では、*Aco3*、*Aco5*、*Lap1* および *Pgm2* を除く12遺伝子座において、中国の3地域間では、*Aco1*、*Aco5*、*Est1*、*Idh1*、*Pgm1* および *Pgm2* を除く10遺伝子座においてそれぞれ対立遺伝子頻度に差異が認められた。以下、各遺伝子座における対立遺伝子頻度の地域間差異の特徴を記した。

Aco1: *a* 対立遺伝子が日本、中国、朝鮮半島および台湾の4地域全てで優占し、日本以外の3地域では、*a* 対立遺伝子にほぼ固定していた。日本の7地域では、北海道で *b* 対立遺伝子が31%の頻度で観察され、北海道と他の6地域と大きく異なっていた。

Aco2: *b* 対立遺伝子が、日本、中国、朝鮮半島および台湾の4地域全てで優占し、日本の7地域では、四国および沖縄を除き、*b* 対立遺伝子に固定し

表3-9 日本の7地域、中国の3地域、朝鮮半島と台湾のダイズ在来種における16遺伝子座の対立遺伝子頻度(%)および
日本の7地域間、中国の3地域間と日本、中国、朝鮮半島、台湾の4地域間における χ^2 検定による対立遺伝子頻度
の差異の評価

地域 日本									中国					朝鮮 半島	台湾
遺伝子座	北海道	本州			四国	九州	沖縄	全体	北部	中部	南部	不明	全体		
対立 遺伝子	n=87	北部 n=228	中部 n=240	南部 n=60	n=20	n=138	n=11	n=784	n=93	n=53	n=86	n=23	n=255	n=158	n=21
<i>Aco1</i> a	69	94	95	100	100	99	100	93	99	100	100	100	100	99	100
b	31	6	5	0	0	1	0	7	1	0	0	0	-	1	0
					$\chi^2=95.1^{**}$ df=6				$\chi^2=1.50$ df=2					$\chi^2=25.5^{**}$ df=3	
<i>Aco2</i> a	0	0	1	0	5	0	5	-	20	9	8	37	15	10	14
b	100	100	99	100	95	100	95	100	80	91	92	63	85	90	86
					$\chi^2=17.5^{**}$ df=6				$\chi^2=6.74^*$ df=2					$\chi^2=102^{**}$ df=3	
<i>Aco3</i> a	100	100	100	98	100	100	100	100	100	80	63	81	82	99	93
b	0	0	0	2	0	0	0	-	0	20	37	19	18	1	7
					$\chi^2=6.18$ df=6				$\chi^2=41.4^{**}$ df=2					$\chi^2=157^{**}$ df=3	
<i>Aco4</i> a	1	8	7	19	20	18	36	10	0	0	2	4	1	10	0
b	99	92	93	81	80	81	64	90	94	76	91	87	89	90	100
c	0	0	0	0	0	1	0	-	6	22	7	9	10	0	0
不明	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	-	0	0
					$\chi^2=39.7^{**}$ df=12				$\chi^2=19.3^{**}$ df=6					$\chi^2=125^{**}$ df=9	
<i>Aco5</i> a	99	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	100
b	1	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	1	0
					$\chi^2=8.02$ df=6									$\chi^2=2.64$ df=3	

表3-9 続き

地域 日本										中国					朝鮮 半島	台湾
遺伝子座	北海道	本州			四国	九州	沖縄	全体	北部	中部	南部	不明	全体			
対立 遺伝子	n=87	n=228	n=240	n=60	n=20	n=138	n=11	n=784	n=93	n=53	n=86	n=23	n=255	n=158	n=21	
Ap	a	3	19	19	13	0	10	9	15	2	13	4	19	7	3	10
	b	97	81	80	87	100	90	91	85	91	85	96	81	90	96	90
	c	0	0	1	0	0	0	0	-	7	2	0	0	3	1	0
						$\chi^2=25.4^{**}$		df=12		$\chi^2=15.2^{**}$		df=4		$\chi^2=36.4^{**}$		df=6
Dia1	a	65	59	70	95	85	63	46	67	48	60	65	63	58	41	77
	b	35	41	30	5	15	37	54	33	52	40	35	37	42	59	23
	c	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0
						$\chi^2=37.9^{**}$		df=12		$\chi^2=6.00^{*}$		df=2		$\chi^2=41.9^{**}$		df=6
Enp	a	63	74	70	73	92	50	20	67	14	25	40	20	25	37	26
	b	37	26	30	27	8	50	80	33	84	75	60	80	74	62	74
	d	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	0
						$\chi^2=41.9^{**}$		df=12		$\chi^2=18.9^{**}$		df=4		$\chi^2=166^{**}$		df=6
Est1	a	22	37	22	23	27	41	35	30	4	1	3	0	3	4	6
	b	78	63	78	77	73	59	65	70	96	99	97	100	97	96	94
						$\chi^2=27.4^{**}$		df=6		$\chi^2=1.29$		df=2		$\chi^2=125^{**}$		df=3
Idh1	a	99	78	73	70	66	62	65	75	66	53	63	67	63	78	63
	b	1	22	27	30	34	38	35	25	34	47	37	33	37	22	37
						$\chi^2=42.9^{**}$		df=6		$\chi^2=2.64$		df=2		$\chi^2=17.4^{**}$		df=3
Idh2	a	74	85	84	87	100	90	38	84	61	19	25	41	38	91	57
	b	26	15	16	13	0	10	62	16	39	81	67	59	60	9	43
	c	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	2	0	0
	d(n)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-	0	0
						$\chi^2=32.6^{**}$		df=6		$\chi^2=45.6^{**}$		df=6		$\chi^2=259^{**}$		df=9

表3-9 終わり

地域 日本									中国					朝鮮	台湾	
遺伝子座	北海道	本州			四国	九州	沖縄	全体	北部	中部	南部	不明	全体	半島		
対立遺伝子	n=87	n=228	n=240	n=60	n=20	n=138	n=11	n=784	n=93	n=53	n=86	n=23	n=255	n=158	n=21	
Lap1	a	0	0	0	0	0	0	0	2	23	1	4	6	2	0	
	b	100	100	100	100	100	100	100	97	77	99	96	94	98	100	
	c	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	0	-	0	0	
$\chi^2=2.27$ df=6									$\chi^2=33.1^{**}$ df=4					$\chi^2=50.5^{**}$ df=6		
Mpi	a	0	0	0	0	0	1	9	13	27	23	36	21	1	5	
	b	82	50	55	47	40	66	51	61	63	65	42	61	74	63	
	c	18	50	45	53	60	33	39	26	10	12	22	18	25	32	
$\chi^2=75.1^{**}$ df=12									$\chi^2=11.3^*$ df=4					$\chi^2=226^{**}$ df=6		
Pgm1	a	72	26	33	30	52	19	36	55	56	49	56	53	37	25	
	b	28	74	67	70	48	81	64	45	44	51	44	47	63	75	
$\chi^2=79.1^{**}$ df=6									$\chi^2=0.86$ df=2					$\chi^2=35.9^{**}$ df=3		
Pgm2	a	0	-	-	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	
	b	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
$\chi^2=1.36$ df=6														$\chi^2=1.11$ df=3		
Ti	a	58	54	42	72	75	55	36	93	98	100	100	97	71	81	
	b	43	44	58	28	25	45	64	7	2	0	0	3	29	19	
	c	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
不明	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	
$\chi^2=38.3^{**}$ df=18									$\chi^2=6.66^*$ df=2					$\chi^2=174^{**}$ df=9		

nは、系統数を示す。対立遺伝子の「不明」は、遺伝子型が同定されなかったことを示す(本文を参照)。

各数字は、小数点以下を四捨五入した。一は、0.5%未満を示す。

各 χ^2 は、左から日本の7地域間、中国の3地域間および日本、中国、朝鮮半島、台湾の4地域間で評価した値を示す。

各dfは、自由度を示す。*は5%の有意水準で、**は1%の有意水準で地域間に対立遺伝子頻度の差異が認められた。

ていた。中国の3地域では、*a* 対立遺伝子が8%から20%の頻度で観察された。

Aco3 : *a* 対立遺伝子が4地域の全てで優占し、日本の7地域および朝鮮半島では、*a* 対立遺伝子にほぼ固定していた。中国の3地域では、*b* 対立遺伝子が北部で観察されず、中部と南部でそれぞれ20%と37%の頻度で観察され、北部とこれらの中で対立遺伝子頻度が大きく異なっていた。

Aco4 : *b* 対立遺伝子が4地域の全てで優占し、台湾では、*b* 対立遺伝子に固定していた。日本の7地域では、*a* 対立遺伝子が南部の4地域で18%から36%の頻度で観察され、中国では、*c* 対立遺伝子が中部で22%の頻度で観察された。

Aco5 : *b* 対立遺伝子が北海道の「茶小粒」および朝鮮半島の「PATTEN」で観察されたが、その他の系統は全て *a* 対立遺伝子に固定していた。

Ap : *b* 対立遺伝子が4地域の全てで優占した。日本の7地域および中国の3地域では、*a* 対立遺伝子が本州の3地域と中国中部で13%から19%、*c* 対立遺伝子が中国北部で7%の頻度でそれぞれ観察された。

Dial : *a* 対立遺伝子が台湾で77%の高頻度で、台湾以外の3地域(日本、中国および朝鮮半島)で41%から67%の頻度で観察された。日本の7地域では、*a* 対立遺伝子が本州南部と四国で95%と85%の高頻度で観察された。中国の3地域では、*a* 対立遺伝子が48%から65%の頻度で観察された。

Enp : *a* 対立遺伝子が日本で67%、日本以外の3地域で37%以下の頻度で観察され、日本と他の地域の間で大きく異なっていた。日本の7地域では、*a* 対立遺伝子が本州の3地域および四国で70%以上、*b* 対立遺伝子が沖縄で80%の高頻度で観察され、特に沖縄と他の6地域の間で対立遺伝子頻度が大きく異なっていた。中国の3地域では、*a* 対立遺伝子が14%から40%の頻度で観察された。

Est1 : *a* 対立遺伝子が日本で30%の頻度で観察されたのに対し、日本以外の3地域では、*b* 対立遺伝子にほぼ固定し、日本と他の地域の間で対立遺伝子頻度が大きく異なっていた。日本の7地域では、*a* 対立遺伝子が本州北部、九州および沖縄で35%以上の頻度で観察された。

Idh1 : *a* 対立遺伝子が日本および朝鮮半島で75%以上の高頻度で、中国および台湾で63%の頻度で観察された。日本の7地域では、*a* 対立遺伝子が北海道で99%、他の6地域で62%から78%の頻度で観察され、北海道と他の6地域の間で大きく異なっていた。

Idh2 : *a* 対立遺伝子が日本と朝鮮半島で80%以上の高頻度、中国と台湾で38%と57%の頻度で観察され、日本および朝鮮半島と中国および台湾間で対立遺伝子頻度が大きく異なっていた。日本の7地域では、*a* 対立遺伝子が沖縄を除く6地域で70%以上の高頻度、沖縄で38%の頻度で観察され、沖縄と他の6地域の間で大きく異なっていた。中国の3地域では、*b* 対立遺伝子が北部で39%、中部および南部でそれぞれ81%および67%の頻度で観察され、北部と他の2地域の間で大きく異なっていた。

Lap1 : *a* 対立遺伝子が中国で6%の頻度で観察されたが、中国以外の3地域では*b* 対立遺伝子にほぼ固定していた。中国の3地域では、*a* 対立遺伝子が中部で23%の頻度で観察され、中部と他の2地域の間で大きく異なっていた。

Mpi : *b* 対立遺伝子が4地域全てで優占し、特に朝鮮半島では74%の高頻度で観察された。また、*a* 対立遺伝子は中国中部と中国南部で23%以上、*c* 対立遺伝子は本州北部、本州南部および四国で50%以上の頻度で観察された。

Pgm1 : *a* 対立遺伝子が中国で53%、中国以外の3地域で25から37%の頻度で観察された。日本の7地域では、*a* 対立遺伝子が北海道で72%、他の6

地域で19%から52%の頻度で観察され、北海道と他の6地域の間で対立遺伝子頻度が大きく異なっていた。

Pgm2: *b* 対立遺伝子が本州北部の「白八石」と本州中部の「ネズミ」で観察されたが、その他の系統は全て *a* 対立遺伝子に固定していた。

Ti: *b* 対立遺伝子が日本で47%、日本以外の3地域で3%から29%の頻度で観察され、日本と他地域の間で大きく異なっていた。日本の7地域では、*a* 対立遺伝子が本州南部と四国で70%以上の高頻度、*b* 対立遺伝子が64%の頻度で観察された。*Ti* における遺伝子頻度の地域間差異は、Hymowitz and Kaizuma(1979, 1981)、Wang *et al.*(1986)およびZhao *et al.* (1993)によって報告されており、これらの結果においても、*b* 対立遺伝子が日本で50%程度、中国で数%の頻度で観察されている。

以上のように、日本、中国、朝鮮半島および台湾では、*Enp*、*Est1*および *Ti* で日本と他地域の間に、日本の7地域では、*Aco1*、*Idh1* および *Pgm1* で北海道と他の地域の間に、*Enp*、*Idh2* および *Mpi* で沖縄と他の6地域の間に、中国の3地域では、*Aco3* および *Idh2* で北部と他の2地域の間に対立遺伝子頻度の大きな差異が認められた。

ii) 遺伝的多様性の地域的分化

各地域における *Na*、*P₉₉* および *H* の値を表3-10に示した。日本、中国、朝鮮半島および台湾の間で各指標を比較したところ、いずれも、中国で最大値(*Na*=2.31, *P₉₉*=0.813, *H*=0.266)を示した。

日本の7地域で各指標を比較したところ、*Na* は本州南部(*Na*=1.69)と四国(*Na*=1.56)で、*P₉₉* は北海道と四国(それぞれ *P₉₉*=0.563)で、*H* は北海道(*H*=0.211)、本州南部(*H*=0.212)および四国(*H*=0.189)で他の地域に比べ小さかった。また、沖縄では遺伝子多様度(*H*)が0.276の値を示し、他の地域に比べ、著しく高かった。

表3-10 日本の7地域、中国の3地域、朝鮮半島および台湾のダイズにおける、アイソザイムおよびトリプシンインヒビターを支配する16遺伝子座でもとめた1遺伝子座あたりの対立遺伝子数(Na)、99%水準で多型的な遺伝子座の割合(P₉₉)および遺伝子多様度(H)

地 域		系統数	Na	P ₉₉	H
日本	北海道	87	1.75	0.563	0.211
	本州北部	228	1.81	0.688	0.243
	本州中部	240	2.00	0.688	0.242
	本州南部	60	1.69	0.688	0.212
	四国	20	1.56	0.563	0.189
	九州	138	1.81	0.625	0.242
	沖縄	11	1.75	0.688	0.276
	全体	784	2.31	0.688	0.248
中国	北部	93	2.06	0.750	0.224
	中部	53	1.94	0.750	0.261
	南部	86	2.00	0.688	0.241
	不明	23	1.81	0.688	0.266
	全体	255	2.31	0.813	0.266
朝鮮半島		158	2.13	0.750	0.209
台湾		21	1.75	0.688	0.221
全体		1218	2.56	0.875	0.264

Na、 P_{99} およびHが小さかった北海道、本州南部および四国は、遺伝的多様性が低い地域であると考えられた。これらの地域のうち、北海道では、本州の系統の一部から派生したことが知られており(佐々木 1988、砂田 1991)、びん首効果が生じたことが原因であると考えられた。

中国の3地域では、Naが北部($Na=2.06$)で、 P_{99} が北部と中部(それぞれ $P_{99}=0.750$)で、Hが中部($H=0.261$)でそれぞれ最大値を示した。また中国の3地域における各指標は、北部でHが低いこと($H=0.224$)を除き、日本の7地域の値(沖縄のHを除く)よりも大きかった。

このように、中国の遺伝的多様性は日本に比べ大きかったが、中国の3地域間における16遺伝子座の遺伝子分化係数(G_{ST})は、日本の7地域間よりも小さかった(表3-8)。このことは、中国における地域間の遺伝的多様性が、日本の7地域間に比べ低く、地域内の遺伝的多様性が高いことを示した。しかし、本研究において類別した中国の3地域は、日本において類別した地域に比べ著しく大きく、中国におけるダイズの地域的分化を検証するには、より多くの系統および地域について解析を行う必要がある。

iii) 各地域間の標準遺伝距離

各地域間における、16遺伝子座の対立遺伝子頻度に基づく標準遺伝距離を表3-11に、その結果から作成した系統樹を図3-3に示した。各地域における標準遺伝距離の平均値は、台湾で0.042の最小値を、中国中部で0.088の最大値を示した。

各地域間の標準遺伝距離は、本州北部と本州中部間の0.005から四国と中国中部間の0.143まで変異した。各地域間の標準遺伝距離は、地理的距離の関係とほぼ類似した傾向が認められたが、九州および台湾では標準遺伝距離が地理的距離と一致しなかった。即ち、九州では、近接する本州南部お

表3-11 アイソザイムおよびトリプシンインヒビターを支配する16遺伝子座の対立遺伝子頻度よりもとめた
日本の7地域、中国の3地域、朝鮮半島および台湾の各地域間における根井(1990)の標準遺伝距離

地域	日本							中国			朝鮮 半島	台湾	
	北海道	本州			四国	九州	沖縄	北部	中部	南部			
		北部	中部	南部									
本州北部	0.041												
本州中部	0.035	0.005											
本州南部	0.053	0.017	0.014										
四国	0.054	0.025	0.026	0.011									
九州	0.053	0.012	0.014	0.022	0.039								
沖縄	0.082	0.061	0.057	0.081	0.111	0.044							
中国北部	0.061	0.076	0.073	0.076	0.092	0.062	0.057						
中国中部	0.105	0.127	0.120	0.113	0.143	0.113	0.078	0.032					
中国南部	0.079	0.096	0.092	0.082	0.106	0.090	0.080	0.031	0.014				
朝鮮半島	0.039	0.034	0.032	0.046	0.058	0.025	0.056	0.023	0.079	0.061			
台湾	0.062	0.050	0.043	0.039	0.071	0.037	0.050	0.019	0.041	0.029	0.027		
平均値	0.060	0.050	0.047	0.051	0.067	0.046	0.069	0.055	0.088	0.069	0.044	0.042	0.057*

*: 全地域における標準遺伝距離の平均値

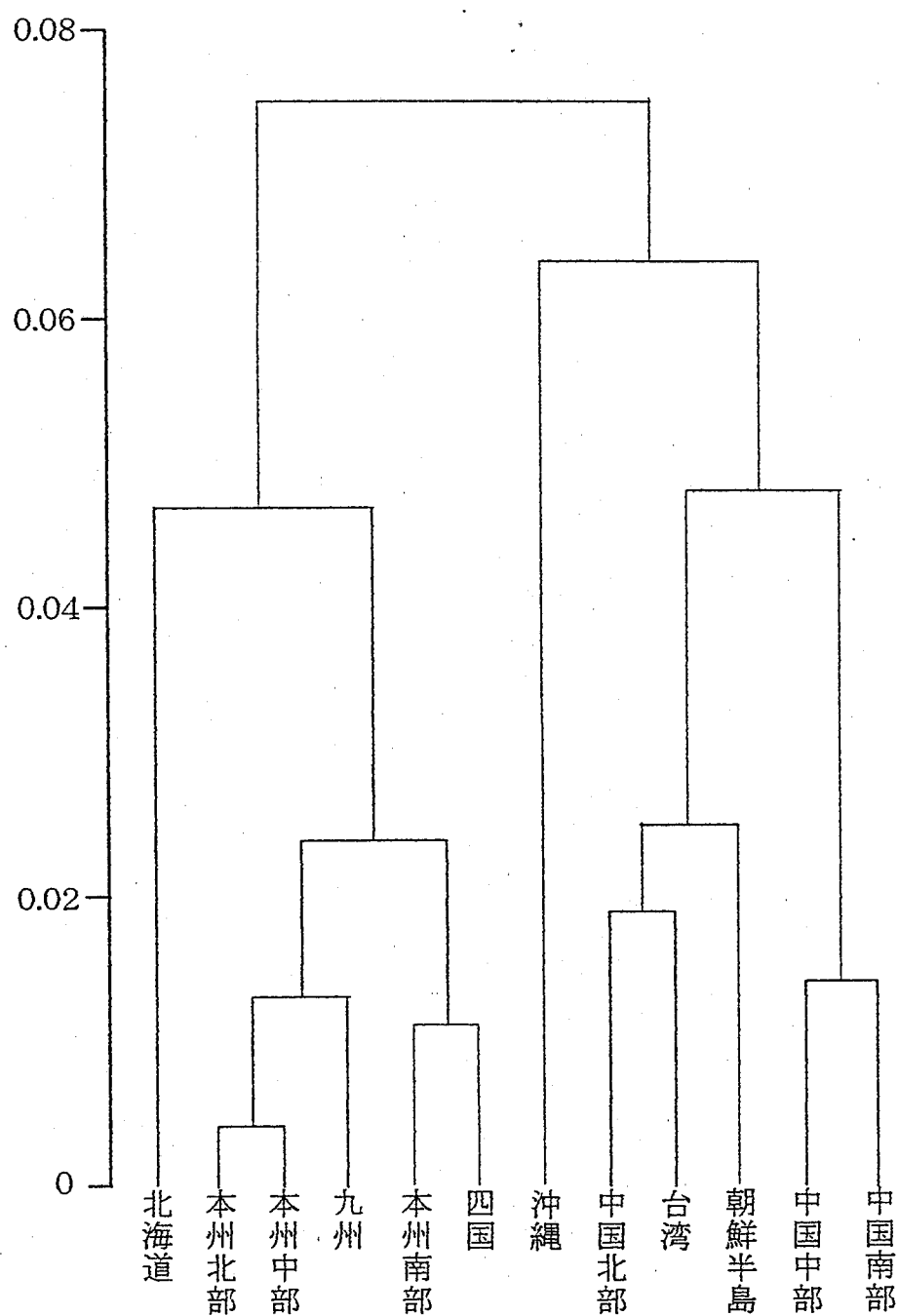


図3-3 日本の7地域、中国の3地域、朝鮮半島および台湾のダイズ
在来種におけるアイソザイムおよびトリプシンインヒビターを
支配する16遺伝子座の対立遺伝子頻度よりもとめた標準遺伝距離
に基づく系統樹

よび四国との標準遺伝距離がそれぞれ0.022および0.039であったのに対し、本州北部および本州中部との標準遺伝距離はそれぞれ0.012および0.014であった。台湾では、近接する中国南部との標準遺伝距離が0.029であったが、中国北部との標準遺伝距離が0.019であった。

日本の7地域では、本州中部と本州北部間の標準遺伝距離が0.005と極めて小さく、両地域は遺伝的に極めて類似していることが明らかとなった。同様に、本州中部、本州北部と九州間および本州南部と四国間の標準遺伝距離は0.015以下であり、本州中部、本州北部と九州および本州南部と四国は遺伝的に類似した地域であると考えられた。しかしながら、北海道および沖縄と日本の他地域間の標準遺伝距離は、北海道で0.035(本州北部との標準遺伝距離)から0.082(沖縄との標準遺伝距離)まで変異し、沖縄で0.044(九州との標準遺伝距離)から0.111(四国との標準遺伝距離)まで変異した。

永田(1950, 1959)は、日長反応性の解析から、九州で夏ダイズ型と秋ダイズ型が、南日本で主に秋ダイズ型が、北日本で夏ダイズ型と秋ダイズ型から分化した早生ダイズが栽培されていることを指摘し、沖縄の系統は台湾由来の系統と九州由来の夏ダイズ型の系統が混合していることを指摘している。本研究で得られた標準遺伝距離の結果では、日本の7地域は1)北海道、2)本州北部、本州中部と九州、3)本州南部と四国および4)沖縄の4つのに類別され、永田の示した夏ダイズ型と秋ダイズ型の地域分布の結果と適合していた。夏ダイズ型と秋ダイズ型の系統分化は、後に詳細に解析するが、日本ダイズの系統分化は、これらの分化と密接に関連していることが示唆された。

日本の7地域と中国の3地域、朝鮮半島および台湾との標準遺伝距離を比較したところ、沖縄で台湾との標準遺伝距離が0.050と最も小さかったが、

沖縄を除く6地域では、朝鮮半島との標準遺伝距離が最も小さかった。特に、沖縄を除く日本の6地域は、朝鮮半島との標準遺伝距離が0.025(九州と朝鮮半島間)から0.058(四国と朝鮮半島間)までの値を示し、全ての地域で沖縄との標準遺伝距離(0.044から0.111)よりも小さかった。日本の7地域と標準遺伝距離が最も大きかった地域は、沖縄で中国南部(0.080)であったが、沖縄を除く6地域では、中国中部(北海道との0.105から四国との0.143)であった。また、標準遺伝距離に基づく系統樹では、供試した系統は1)沖縄を除く日本の6地域、2)沖縄および3)中国、朝鮮半島と台湾の3群に類別された(図3-3)。

Nagata(1959)は、4つの異なる傾斜品種系の分布から、沖縄を除く日本のダイズは、1)中国中部または中国北部から朝鮮半島を通じた経路および2)中国中部または中国南部から直接または台湾を通じた経路により伝播したことを指摘している。本研究で得られた標準遺伝距離の結果は、沖縄を除く日本の6地域と朝鮮半島間の標準遺伝距離が小さく、朝鮮半島と中国北部間の標準遺伝距離(0.023)が小さかったことから、Nagata(1959)の示した1)の伝播経路を強く支持した。またNagata(1959)は、2)の経路のうち中国から直接日本に伝播した経路が主要であると推測しているが、本結果では、沖縄を除く日本の6地域と中国中部および中国南部間の標準遺伝距離(0.079から0.143)は、台湾との標準遺伝距離(0.037から0.062)よりも大きかった。このことは、台湾を経由する経路が主要である可能性を示唆した。

4) クラスター分析によるアイソザイム品種群の類別とその地域的分化

各地域における個々の遺伝子座の対立遺伝子頻度の結果およびそれらに基づく遺伝的多様性と標準遺伝距離の結果から、ダイズに明確な地域的分

化が生じていることが明らかとなった。次に、複数の遺伝子座における遺伝子型組合せについて地域的分化を検討した。

調査した16遺伝子座における2遺伝子座間の連関関係について、遺伝子型の同定された1170系統で評価した結果を表3-12に示した。表3-6で示したように、本研究で調査した遺伝子座の多くが独立遺伝すると考えられたが、2遺伝子座間の連関は、評価した120の組合せのうち51の組合せで認められた。このことは、ダイズでは特定の遺伝子型組合せを持つ系統群が分化していることを示唆した。

遺伝子型組合せの類似した系統群を類別する目的で、各系統における対立遺伝子の頻度を変数として、SASのFASTCLUS手法(1985)による解析を行った。この手法では、以下に示す3つの過程を通じて系統群の類別が行われる。

1. 指定した系統群数の代表する対立遺伝子頻度組合せを決定し、それぞれに、類似した対立遺伝子頻度組合せを有する系統が併合され、系統群を形成する。
2. 併合された系統群において、代表する対立遺伝子頻度組合せが再計算され、更に新しく代表した対立遺伝子頻度組合せに類似した系統が系統群に併合される。
3. 2の過程を繰り返し、最終的に供試した全系統を指定した系統群数に類別する。

この解析では、適切な系統群の数を決定することから、試験的に類別する系統群の数を10、15、20および25に設定して解析を行った。これらの全ての系統群数の解析より、系統群間の対立遺伝子頻度の差異および系統群数の関係から、20の系統群に類別した結果を基に、以下の解析を進めた。

表3-12 日本、中国、朝鮮半島および台湾のダイズ在来種のアイソザイムおよびトリブシンインヒビターを支配する16遺伝子座における独立性 χ^2 検定による2遺伝子座間の連関関係の評価

における独立性 χ^2 -検定による2遺伝子座間の連鎖関係の評価

遺伝子座	<i>Aco1</i>	<i>Aco2</i>	<i>Aco3</i>	<i>Aco4</i>	<i>Aco5</i>	<i>Ap</i>	<i>Dia1</i>	<i>Enp</i>	<i>Est1</i>	<i>Idh1</i>	<i>Idh2</i>	<i>Lap1</i>	<i>Mpi</i>	<i>Pgm1</i>	<i>Pgm2</i>															
自由度	df	df	df	df	df	df	df	df	df	df	df	df	df	df	df															
<i>Aco2</i>	2.90	1																												
<i>Aco3</i>	2.48	1	0.97	1																										
<i>Aco4</i>	4.44	2	10.7**	2	3.16	2																								
<i>Aco5</i>	0.10	1	0.10	1	0.09	1	25.8**	2																						
<i>Ap</i>	1.31	2	6.16*	2	1.80	2	6.04	4	0.28	2																				
<i>Dia1</i>	0.53	2	0.08	2	2.63	2	15.6**	4	0.11	2	10.5**	4																		
<i>Enp</i>	31.0**	2	16.6**	2	6.56*	2	24.1**	4	0.02	2	38.7**	4	64.2**	4																
<i>Est1</i>	1.96	1	15.9**	1	13.6**	1	15.1**	2	0.52	1	5.80	2	0.28	2	23.1**	2														
<i>Idh1</i>	11.0**	1	0.77	1	1.13	1	12.1**	2	0.76	1	4.32	2	6.60*	2	6.37*	2	0.05	1												
<i>Idh2</i>	10.2*	3	1.91	3	10.2**	3	43.2**	6	0.81	3	10.6	6	10.5	6	49.7**	6	33.3**	3	6.31	3										
<i>Lap1</i>	0.97	2	0.12	2	37.8**	2	22.5**	4	0.35	2	22.3**	4	0.35	4	19.3**	4	5.31	2	5.20	2	37.9**	6								
<i>Mpi</i>	5.52	2	11.7**	2	53.6**	2	78.4**	4	1.24	2	12.7*	4	27.1**	4	52.1**	4	35.9**	2	13.1	2	101**	6	73.4**	4						
<i>Pgm1</i>	24.8	1	8.20**	1	0.01	1	2.58	2	0.14	1	10.6**	2	29.7**	2	5.20	2	9.44**	1	-	1	20.3**	3	2.42	2	1.35	2				
<i>Pgm2</i>	0.10	1	0.10	1	0.09	1	4.66	2	-	1	3.11	2	0.11	2	0.42	2	1.05	1	0.51	1	0.63	3	0.04	2	0.29	2	0.14	1		
<i>Ti</i>	39.7**	2	5.90	2	25.6**	2	12.6*	4	1.10	2	54.8**	4	2.18	4	50.2**	4	22.1**	2	0.35	2	48.5**	4	11.2	4	32.5**	4	0.43	2	1.10	2

-は、0.01未満を示す。

*は5%の有意水準の、**は1%の有意水準の連関を示す。

i)アイソザイム品種群の特徴

各対立遺伝子の頻度によって類別された20の系統群は、主にアイソザイム遺伝子座の遺伝子型組合せを反映していることから、アイソザイム品種群と名付けた。20アイソザイム品種群は、主に表3-13で示した10遺伝子座の対立遺伝子頻度で区別された。

標準遺伝距離に基づくアイソザイム品種群の系統樹を図3-4に示した。類別した20アイソザイム品種群は、系統樹における位置関係から、AからGの7品種群に類別した。これら7品種群内のアイソザイム品種群は、表3-13で示した10遺伝子座のうち、主に*Dia1*、*Enp*、*Idh1*、*Idh2*、*Pgm1*および*Ti*で優占した対立遺伝子が共通していた。以下、各AからGの7品種群の特徴を示した。

A品種群：A₁およびA₂品種群で構成され、*Aco3-a*、*Dia1-b*、*Mpi-b*、*Pgm1-b*および*Ti-b*が優占することで特徴づけられた。

B品種群：B₁、B₂およびB₃品種群で構成され、*Aco3-a*、*Ap-b*、*Enp-b*、*Est1-b*、*Mpi-b*、*Pgm1-a*および*Ti-a*が優占することで特徴づけられた。

C品種群：C₁およびC₂品種群で構成され、*Aco3-a*、*Ap-b*、*Dia1-b*、*Est1-b*、*Idh1-a*、*Idh2-a*、*Pgm1-b*および*Ti-a*が優占することで特徴づけられた。

D品種群：D₁およびD₂品種群で構成され、*Aco3-a*、*Ap-b*、*Dia1-a*、*Est1-b*、*Idh1-b*、*Mpi-b*および*Pgm1-b*が優占することで特徴づけられた。

E品種群：E₁およびE₂品種群で構成され、*Ap-b*、*Dia1-a*、*Enp-b*、*Est1-b*、*Idh1-a*、*Idh2-b*、*Pgm1-b*および*Ti-a*が優占することで特徴づけられた。

表3-13 クラスター分析により類別された20アイソザイム品種群における
対立遺伝子頻度が大きく異なった10遺伝子座で優占した対立遺伝子

品種群	A1	A2	B1	B2	B3	C1	C2	D1	D2	E1	E2	F1	F2	F3	F4	G1	G2	G3	G4	G5
系統数	45	33	105	55	60	51	135	48	88	32	18	29	74	46	55	84	111	40	52	57
遺伝子座																				
<i>Aco3</i>	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Ap</i>	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b
<i>Dial</i>	b	b	a	b	b	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Enp</i>	b	a	b	b	b	a	b	b	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Est1</i>	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a
<i>Idh1</i>	b	a	a	b	b	a	a	b	b	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Idh2</i>	a	b	a	a	b	a	a	b	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Mpi</i>	b	b	b	b	b	c	b	b	b	b	a	b	b	c	b	c	b	b	c	c
<i>Pgm1</i>	b	b	a	a	a	b	b	b	b	b	b	a	a	a	a	b	b	b	b	b
<i>Ti</i>	b	b	a	a	a	a	a	a	b	a	a	b	a	b	b	a	b	a	a	b

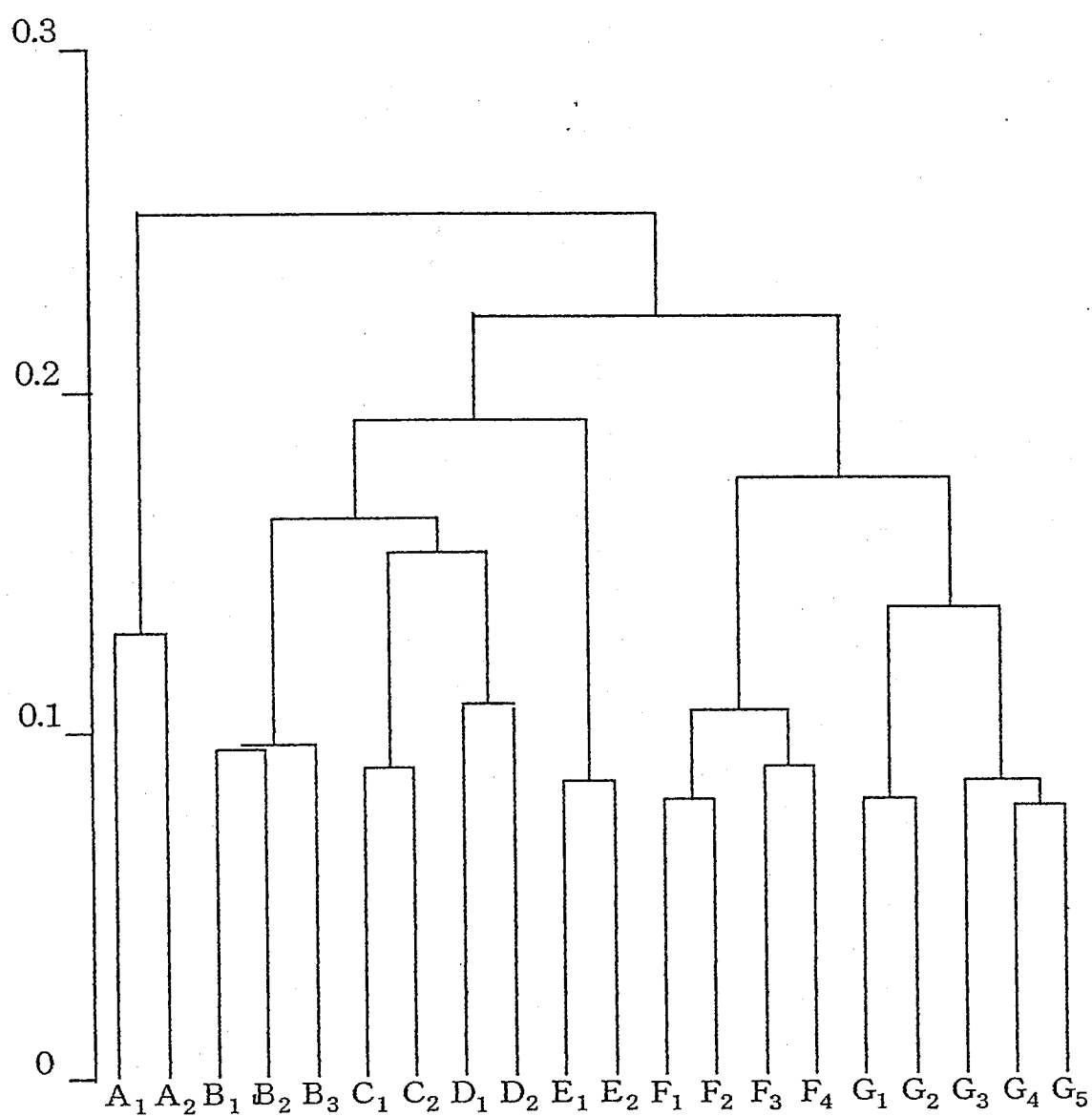


図3-4 クラスター分析により類別された20アイソザイム品種群における16遺伝子座の対立遺伝子頻度よりもとめた標準遺伝距離に基づく系統樹

F品種群：F₁、F₂、F₃およびF₄品種群で構成され、*Aco3-a*、*Dia1-a*、*Enp-a*、*Est1-b*、*Idh2-a*および*Pgm1-a*が優占することで特徴づけられた。

G品種群：G₁、G₂、G₃、G₄およびG₅品種群で構成され、*Aco3-a*、*Ap-b*、*Dia1-a*、*Enp-a*、*Idh1-a*、*Idh2-a*および*Pgm1-b*が優占することで特徴づけられた。

20アイソザイム品種群の標準遺伝距離を表3-14に示した。AからG品種群における、各品種群内のアイソザイム品種群間の標準遺伝距離の平均値は、E品種群の0.087からG品種群の0.117まで変異した。これらの値は、前述した地域間における標準遺伝距離の平均値(0.057、表3-11)よりも大きく、AからGの同じ品種群に属するアイソザイム品種群間においても、各遺伝子座の対立遺伝子頻度が大きく異なっていることが示された。

ii)各地域におけるアイソザイム品種群の頻度

各地域における各アイソザイム品種群の頻度を表3-15に示した。日本の7地域間、中国の3地域間および日本、中国、朝鮮半島、台湾の4地域間の全てにおいて、AからGの品種群の頻度に差異が認められ、また、20アイソザイム品種群の頻度においても異なっていた。

日本の7地域では、北海道でB₁、B₃、C₂、F₂およびF₄品種群が、本州北部でC₁、G₁およびG₅品種群が、本州中部でF₂およびG₂品種群が、本州南部でD₂、G₁、G₂およびG₄品種群が、四国でD₂、F₂、G₁、G₃およびG₄品種群が、九州でA₁、D₂およびG₂品種群が、沖縄でA₁、B₁およびC₂品種群がそれぞれ高い頻度で認められた。

本州北部と本州中部間では、前述したように標準遺伝距離は小さく、各遺伝子座の対立遺伝子頻度は類似していたが、本州北部で10%および16%の頻度で認められたC₁およびG₅品種群は、本州中部では3%および6%の頻

表3-14 クラスター分析で類別した20アイソザイム品種群(A₁からG₅)の間におけるアイソザイムおよびトリプシンインヒビターを支配する16遺伝子座の対立遺伝子頻度よりもとめた標準遺伝距離

品種群	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	B ₃	C ₁	C ₂	D ₁	D ₂	E ₁	E ₂	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄	G ₅
	45	33	105	55	60	51	135	48	88	32	18	29	74	46	55	84	111	40	52	57
A ₂	.131																			
B ₁	.253	.328																		
B ₂	.207	.334	.096																	
B ₃	.316	.305	.096	.097																
C ₁	.257	.216	.189	.225	.198															
C ₂	.145	.204	.101	.140	.159	.090														
D ₁	.175	.235	.121	.102	.101	.181	.111													
D ₂	.154	.185	.231	.156	.241	.123	.193	.108												
E ₁	.333	.244	.098	.253	.128	.168	.158	.105	.216											
E ₂	.406	.421	.142	.269	.161	.284	.231	.142	.328	.087										
F ₁	.221	.176	.157	.130	.158	.207	.239	.211	.127	.213	.389									
F ₂	.351	.364	.084	.143	.158	.127	.202	.236	.174	.170	.289	.080								
F ₃	.249	.283	.205	.206	.270	.184	.284	.358	.179	.360	.426	.132	.114							
F ₄	.256	.282	.161	.261	.271	.243	.277	.347	.218	.268	.440	.086	.097	.090						
G ₁	.266	.286	.124	.223	.277	.104	.176	.185	.120	.153	.202	.220	.112	.131	.201					
G ₂	.186	.159	.131	.250	.282	.126	.140	.182	.101	.124	.283	.126	.123	.183	.104	.081				
G ₃	.152	.210	.197	.268	.292	.141	.179	.204	.145	.187	.353	.147	.138	.251	.176	.168	.103			
G ₄	.294	.357	.213	.253	.333	.176	.298	.293	.190	.271	.356	.194	.105	.171	.245	.107	.193	.086		
G ₅	.114	.209	.216	.253	.361	.153	.184	.245	.162	.288	.327	.243	.208	.139	.247	.086	.157	.106	.078	
平均値	A=0.131	B=0.096	C=0.090	D=0.108	E=0.087	F=0.100	G=0.117													

.202*

アイソザイム品種群の下に示した数字は系統数を示す。

注) 平均値は、AからG品種群内のアイソザイム品種群でもとめた。

* 全アイソザイム品種群における標準遺伝距離の平均値

度であり、本州中部で10%および16%の頻度で認められたF₂およびG₂品種群は、本州北部では4%および7%の頻度であった。このことから、対立遺伝子頻度が類似した本州北部と本州中部において、異なった遺伝子型組合せを有する系統群が定着していると考えられた。

また、北海道における各遺伝子座の対立遺伝子頻度は、ビン首効果による機会的浮動により他の日本の地域と異なつたと考えられたが、北海道で10%以上の頻度で認められたB₁、B₃、C₂およびF₄品種群は、北海道のダイズの主要な導入先であると考えられる本州北部では4%以下の頻度であり、本州北部で10%以上の頻度で認められたC₁、G₁およびG₅品種群は、北海道では6%以下の頻度であった。このように、北海道のダイズ在来種は、北海道と本州北部のアイソザイム品種群の頻度は大きく異なっており、北海道にダイズが導入された後に、北海道で特異的な遺伝子型組合せを有する系統群が定着したと思われる。

中国の3地域でアイソザイム品種群を比較したところ、中国北部でB₁、B₂、C₁およびD₁品種群が、中国中部でB₁、B₃、D₁およびE₂品種群が、中国南部でB₁、B₃およびE₁品種群が高い頻度で認められた。このように、中国北部と中国中部でB₁およびD₁品種群の頻度が、中国中部と中国南部でB₁およびB₃品種群の頻度が、中国南部と中国中部でB₁品種群の頻度が高いことで共通しており、アイソザイム品種群の頻度の差異が小さいことが示された。この結果は、中国の3地域間のG_{ST}が、日本の7地域間に比べ小さかった結果と一致した。

Gai(1984)およびRen *et al.*(1987)は、中国で4つの栽培型(春播ダイズ型、夏播ダイズ型、秋播ダイズ型、冬播ダイズ型)の地域分布が異なっていることを認めているが、Ren *et al.*(1987)の結果では、これらの栽培型の生育期間は、必ずしも明確に区別されないことが示されている。このことか

表3-15 日本の7地域、中国の3地域、朝鮮半島と台湾におけるクラスター分析により類別されたアイソザイム品種群の頻度(%)および日本、中国、東アジアの各地域間における χ^2 検定による7品種群(AからG)の頻度の差異の評価

品種群 系統数	地域 日本								中国					朝鮮 半島	台湾
	北海道	本州			四国	九州	沖縄	全体	北部	中部	南部	不明	全体		
		北部	中部	南部											
	87	228	240	60	20	138	11	784	93	53	86	23	255	158	21
A ₁	0	2	5	0	0	18	17	5	0	0	0	0	0	1	5
A ₂	0	6	4	0	0	6	0	4	0	0	0	0	0	1	0
B ₁	10	3	7	8	0	4	18	6	19	13	14	17	16	9	23
B ₂	1	1	4	5	5	2	9	3	13	4	5	9	8	8	0
B ₃	10	1	0	0	0	1	9	2	8	28	21	22	18	1	5
C ₁	6	10	3	3	0	1	0	5	0	6	3	4	3	4	0
C ₂	10	3	6	2	0	9	18	6	30	4	7	4	14	34	0
D ₁	0	-	1	3	0	1	0	1	11	17	9	9	11	5	19
D ₂	0	9	8	12	10	12	0	8	2	0	6	0	3	8	10
E ₁	0	2	2	2	0	0	0	1	1	9	15	9	8	1	0
E ₂	0	0	0	2	0	0	0	-	1	11	7	13	6	0	5
F ₁	0	6	4	2	0	3	0	4	1	0	0	0	0	0	0
F ₂	13	4	10	2	20	5	0	7	1	4	9	9	5	4	5
F ₃	7	4	7	2	5	2	0	5	3	0	0	0	1	3	0
F ₄	30	4	1	2	5	1	0	5	1	0	0	0	0	9	0
G ₁	2	11	9	16	20	4	9	9	6	2	1	4	4	1	18
G ₂	3	7	16	21	5	17	0	11	2	2	1	0	2	8	5
G ₃	3	6	3	3	10	5	9	5	1	0	1	0	1	1	0
G ₄	3	6	4	13	20	7	0	6	0	0	1	0	0	1	0
G ₅	0	16	6	2	0	2	9	7	0	0	0	0	0	1	5
日本(7地域間) $\chi^2=177.9^{**}$ 中国(3地域間) $\chi^2=31.5^{**}$ 全体(4地域間) $\chi^2=411.5^{**}$															
自由度 df=36 df=10 df=18															

各数字は、小数点以下を四捨五入した。一は、0.5%未満を示す。

**：全ての地域間において1%の有意水準で7品種群の頻度の差異が認められた。

ら、特定の栽培型の系統が、年次や地域によって異なる栽培型で使用され、栽培型間で遺伝変異が混合している可能性が示唆された。中国では、異なる栽培様式の多様化がダイズの変異保有に働き、地域間分化が進化しなかった可能性も強く示唆される。

以上のように、各地域においてアイソザイム品種群の頻度に明確な差異が認められ、各地域に異なっていた遺伝子型組合せをもつ系統群が分化していることが明らかとなった。また、アイソザイム品種群による解析では、対立遺伝子頻度が類似した本州北部と本州中部においても、遺伝子型組合せの異なる系統群が分化していることが示された。

5)九州における夏ダイズ型と秋ダイズ型の系統分化と日本ダイズの系統分化

前述したように、Nagata(1959)は、九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型が異なる経路で日本に伝播したことを推定しており、日本ダイズの系統分化を検討する上で、両者の系統分化を検証することが重要である。本項では、アイソザイムおよびトリプシンインヒビターを支配する16遺伝子座の対立遺伝子頻度から、九州における夏ダイズ型と秋ダイズ型の系統分化および日本ダイズの系統分化について検討を加えた。また、九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型の類別は、第4章で後述する福井・荒井(1951)の開花期による生態型の類別の調査に従い、生態型Ⅰ型およびⅡ型を夏ダイズ型、Ⅳ型およびⅤ型を秋ダイズ型とした。

九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型において、多型の認められた11遺伝子座の対立遺伝子頻度および遺伝子分化係数(G_{ST})を表3-16に示した。九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型間では、*Ap*、*Dial*、*Enp*、*Est1*、*Mpi*、*Pgm1*および*Ti*の7遺伝子座の対立遺伝子頻度に差異が認められた。特に、*Dial*、

Enp、*Est1*および*Ti*の4遺伝子座では、 G_{ST} が*Est1*の0.173から*Dial*の0.542までの大きな値を示した。これら遺伝子座では、夏ダイズ型で*Dial-b*、*Enp-b*、*Est1-a*および*Ti-b*、秋ダイズ型で*Dial-a*、*Enp-a*、*Est1-b*および*Ti-a*がそれぞれ優占した。高木(1977)およびHymowitz and Kaizuma(1979)も、九州の夏ダイズ型で*Ti-b*、九州の秋ダイズ型で*Ti-a*の頻度が高いことを報告している。

九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型における、アイソザイム品種群の頻度を表3-17に示した。7遺伝子座の対立遺伝子頻度で異なっていた九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型は、アイソザイム品種群の頻度においても明確に区別された。夏ダイズ型では、 A_1 、 A_2 および C_2 品種群が高頻度で認められたが、秋ダイズ型では、これらの品種群のうち A_1 品種群のみが1.4%の頻度で認められた。また、秋ダイズ型で高頻度で認められた D_2 、 G_2 および G_4 品種群は、夏ダイズ型ではそれぞれ6.9%、6.9%および1.7%の頻度で認められた。

九州の夏ダイズ型および秋ダイズ型と各地域間の標準遺伝距離を表3-18に示した。九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型間の標準遺伝距離は0.122であり、ほぼ日本と中国間の遺伝的距離に匹敵した。九州の夏ダイズ型と各地域の標準遺伝距離は、沖縄で0.052と最も小さく、中国中部で0.179と最も大きかった。九州の秋ダイズ型では、四国との標準遺伝距離が0.003で最も小さく、中国中部との標準遺伝距離が0.117で最も大きかった。

九州における夏ダイズ型と秋ダイズ型の系統分化は、日長反応性(Nagata 1959)、早晚性(福井・荒井 1951)および*Ti*の対立遺伝子頻度(高木 1977; Hymowitz and Kaizuma 1979)について認められているが、本解析で調査した16遺伝子座のうち7遺伝子座の対立遺伝子頻度およびアイソザイム品種群の頻度においても、明確に認められた。特に夏ダイズ型で39.7%の

表3-16 九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型における多型
が認められた11遺伝子座の対立遺伝子頻度、
各遺伝子座の遺伝子分化係数(Gst)および
 χ^2 検定による対立遺伝子頻度の差異の評価

栽培型		夏ダイズ型	秋ダイズ型	Gst	χ^2
遺伝子座		n=58	n=70		
対立 遺伝子					
<i>Aco1</i>	<i>a</i>	0.966	1.000	0.018	2.49
	<i>b</i>	0.034	0.000		
<i>Aco4</i>	<i>a</i>	0.121	0.226	0.019	2.41
	<i>b</i>	0.879	0.774		
	<i>c</i>	0.000	0.000		
<i>Ap</i>	<i>a</i>	0.172	0.043	0.044	5.88*
	<i>b</i>	0.828	0.957		
<i>Dia1</i>	<i>a</i>	0.224	0.949	0.542	71.5**
	<i>b</i>	0.776	0.051		
<i>Enp</i>	<i>a</i>	0.183	0.760	0.334	42.5**
	<i>b</i>	0.817	0.240		
<i>Est1</i>	<i>a</i>	0.661	0.247	0.173	22.3**
	<i>b</i>	0.339	0.753		
<i>Idh1</i>	<i>a</i>	0.566	0.655	0.008	1.07
	<i>b</i>	0.434	0.345		
<i>Idh2</i>	<i>a</i>	0.856	0.941	0.020	2.63
	<i>b</i>	0.144	0.059		
<i>Mpi</i>	<i>b</i>	0.810	0.590	0.058	7.24**
	<i>c</i>	0.190	0.410		
<i>Pgm1</i>	<i>a</i>	0.052	0.314	0.115	14.0**
	<i>b</i>	0.948	0.686		
<i>Ti</i>	<i>a</i>	0.241	0.782	0.292	37.5**
	<i>b</i>	0.759	0.218		

nは、系統数を示す。

*は5%の有意水準で、**は1%の有意水準で対立遺伝子
頻度が異なっていた。

表3-17 九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型における
観察された17アイソザイム品種群の頻度
および χ^2 検定による6品種群(AからG)の
頻度の差異の評価

栽培型 アイソザイム 品種群	夏ダイズ型 n=58	秋ダイズ型 n=70
A ₁	0.397	0.014
A ₂	0.138	0.000
A	0.535	0.014
B ₁	0.000	0.085
B ₂	0.000	0.042
B	0.000	0.127
C ₁	0.017	0.014
C ₂	0.172	0.000
C	0.199	0.014
D ₁	0.017	0.014
D ₂	0.069	0.141
D	0.086	0.155
F ₁	0.017	0.042
F ₂	0.000	0.099
F ₃	0.034	0.014
F ₄	0.000	0.014
F	0.051	0.169
G ₁	0.000	0.070
G ₂	0.069	0.239
G ₃	0.017	0.085
G ₄	0.017	0.113
G ₅	0.034	0.010
G	0.137	0.417
		$\chi^2=71.2^{**}$
		n=128
		df=5

nおよびdfは、系統数および自由度を示す。

**：1%の有意水準で異なっていた。

表3-18 九州の夏ダイズ型および秋ダイズ型
と九州を除く日本の6地域、中国の
3地域、朝鮮半島および台湾の間に
おける16遺伝子座の対立遺伝子頻度
よりもとめた標準遺伝距離

栽培型	夏ダイズ型	秋ダイズ型
地 域	n=58	n=70
北海道	0.120	0.053
本州北部	0.067	0.022
本州中部	0.074	0.020
本州南部	0.120	0.003
四国	0.151	0.010
沖縄	0.052	0.092
中国北部	0.113	0.077
中国中部	0.179	0.117
中国南部	0.169	0.084
朝鮮半島	0.071	0.044
台湾	0.099	0.044
秋ダイズ型	0.122	

頻度で観察されたA₁品種群は、沖縄、九州を除く10地域において5%以下の頻度であり、北海道、本州南部、四国および中国では認められなかった。その一方、秋ダイズ型で高頻度で観察されたD₂、G₂およびG₄品種群は、夏ダイズ型で計15.5%の頻度で認められた。これらのことは、九州の夏ダイズ型において特異的な遺伝子型組合せを有する系統群と九州の秋ダイズ型と類似した遺伝子型組合せを有する系統群が混合していることを示した。

前述したようにNagata(1959)は、九州の夏ダイズ型が主に中国から直接日本に伝播したことを推定したが、Hymowitz and Kaizuma(1979, 1981)は、*Ti-b*の頻度から、九州の夏ダイズ型が朝鮮半島または日本に起源していると推察した。本結果では、九州の夏ダイズ型で高い頻度で認められたA₁、A₂およびC₂品種群のうち、A₁およびA₂品種群が中国で認められず、朝鮮半島でもそれぞれ1%の頻度であった。更に、九州の夏ダイズ型と中国の3地域、朝鮮半島および台湾間の標準遺伝距離が大きいこと(朝鮮半島の0.071から中国中部の0.179)から、九州の夏ダイズ型は、日本にダイズが伝播した後、日本で確立したと考えられた。

一方、九州の秋ダイズ型は、北海道、九州および沖縄を除く日本の4地域間の標準遺伝距離(0.003から0.022)が小さく、日本における主要な系統群であると考えられた。特に、九州の秋ダイズ型と本州南部および四国間の標準遺伝距離が0.003および0.010と極めて小さく、またアイソザイム品種群の頻度も類似していたことから(表3-15)、本州南部と四国は九州の秋ダイズ型とほぼ同質な遺伝子型組合せをもつ系統群で構成されていると考えられ、Nagata(1959)の示した日本全季作物傾斜品種系(秋ダイズ型)の分布と一致した。

以上のように、本章では、各遺伝子座の対立遺伝子頻度、標準遺伝距離およびアイソザイム品種群の頻度の解析から、日本、中国、朝鮮半島およ

び台湾のダイズ在来種は遺伝的多様性が高く、また、明確な系統分化が生じていることが明らかとなった。特に日本では、1)北海道、2)本州北部、3)本州中部、4)九州の秋ダイズ型、本州南部および四国、5)九州の夏ダイズ型および6)沖縄の6地域で異なる系統群が分化していると考えられた。

第4章 形質の地域的分化

1 緒言

種子形態、開花特性、生育形態および収量特性などの形質に観察される地域的分化には、気候や土壌条件など環境適応性に関わる遺伝的要因に加え、経済、歴史、民族、食文化などの多くの社会的要因が関与している。これらの形質は、栽培における選択の対象となり、稀な変異であっても、何らかの利点があれば、積極的に利用されたと考えられる。また、その特性に直接的に利益がない場合でも、優良系統の標識や特殊な用途に利用された場合も考えられる。本章では、ダイズ在来種の形質の多型を調査し、それらの地域的分化について検討した。

2 材料および方法

1) 供試材料

前章に供試した系統について、諸形質を調査した。各形質において、表現型が同定された系統数を表4-1に示した。

2) 調査形質

調査した形質は、種子形態に関する5形質(粒大、種皮色、鞍掛、臍の色、粒形)、開花期、莢色、毛茸色、葉形および伸育型の5形質の計10形質である。

種子形態の調査は、分譲を受けた種子から未熟な種子を除く平均的な種子について行った。粒大は、分譲された種子より100粒重を推定し、100粒重が10g未満を極小粒型、10g以上20g未満を小粒型、20g以上30g未満を中粒型、30g以上40g未満を大粒型、40g以上を極大粒型として5段階に類別した。種皮色は黄、淡緑、緑、濃緑、淡褐、褐、赤褐、濃褐および黒の9段

表4-1 日本の7地域、中国の3地域、朝鮮半島および台湾のダイズ在来種において種子形態に関する5形質(粒大、種皮色、鞍掛、臍の色、粒形)、開花期、花色、毛茸色、葉形および伸育型の各形質で表現型が同定された系統数

地域	形質 粒大	種皮色	鞍掛	臍の色	粒形	開花期	花色	毛茸色	葉形	伸育型	全形質*
北海道	87	87	87	87	85	87	87	87	87	87	85
本州北部	227	227	227	227	208	221	218	218	210	161	144
本州中部	239	239	239	239	214	232	235	230	232	191	156
本州南部	58	58	58	58	53	51	60	60	54	38	26
四国	20	20	20	20	19	17	19	19	17	15	11
九州	137	138	138	138	125	129	135	132	116	94	66
沖縄	11	11	11	11	9	10	10	10	10	7	6
計	779	780	780	780	713	747	764	756	726	593	494
中国北部	93	93	93	93	79	92	91	90	91	91	74
中国中部	53	53	53	52	52	52	51	50	51	51	47
中国南部	86	86	86	86	86	83	83	82	83	80	76
不明	23	23	23	23	21	23	23	22	23	23	21
計	255	255	255	254	238	250	248	244	248	245	218
朝鮮半島	158	158	158	158	146	154	151	148	152	151	138
台湾	21	21	21	21	16	15	14	15	15	8	8
計	1213	1214	1214	1213	1113	1166	1177	1163	1141	997	858

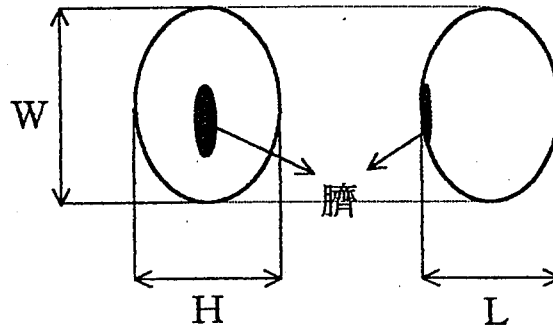
* 全ての形質で表現型が同定され、優占する表現型の頻度が50%を越えた系統数。

階に類別した。鞍掛は、なし、褐、赤褐および黒の4段階に、臍の色は、黄および緑を白目、淡褐および褐を褐目、暗褐および黒を黒目として3段階にそれぞれ表現型を類別した。粒形は、図4-1Aに示したように、臍を中心に垂直方向の種子長(L)、平行方向の種子の最大幅(W)および種子の厚さ(H)から、視覚的にL/Wで丸み(円、中、楕円)を、L/Hで厚み(厚、中、薄)を判別して、円-厚型、円-中型、中-厚型、中-中型、中-薄型、楕円-厚型、楕円-中型および楕円-薄型の8段階に表現型を類別した(図4-1B)。また、視覚的に粒形の識別が困難であった系統は、1系統あたり3-5粒についてL、W、Hの値を測定し、比率をもとめ、評価した。尚、円-薄型は観察されなかった。

開花期、花色、毛茸色、葉形および伸育型の5形質は、1992年における北海道大学農学部附属農場での圃場試験および1992年と1994年におけるポット試験により調査し、各地農業試験場の資料を参考にして評価した。参考にした資料は、農林水産省東北農業試験場の「国内の主なダイズ品種および在来種(東北、北陸、北海道地域等)の特性」(1983)、「大豆試験成績書」(1984-1993)および1961-1963年 生育調査(農林水産省東北農業試験場刈和野試験地 私信)、農林水産省九州農業試験場の「大豆試験成績書」(1985)、北海道立十勝農業試験場の「北海道立十勝農業試験場資料 第11号 大豆保存品種、系統の来歴および特性」(1988)である。

各栽培試験では、1992年の圃場試験で431系統、1992年のポット試験で139系統、1994年のポット試験で212系統を供試した。各栽培試験の条件は、1992年の圃場試験では、5月28、29日にペーパーポットに系統あたり約10粒播種し、6月9日に北海道大学農学部附属農場精密圃場に株間約15cm×畝間50cmで定植し、栽培した。1992年のポット試験では、6月10日に直径25cmの植木鉢に系統あたり約5粒直播して温室で栽培した。

A)



L: 臍から垂直方向の長さ
W: 臍に平行方向の最大幅
H: 厚さ

B)

	$L/H \leq 1.17$	$1.17 < L/H \leq 1.35$	$1.35 < L/H$
$L/W \geq 0.96$	円-厚	円-中	該当する系統なし
$0.96 > L/W \geq 0.84$	中-厚	中-中	中-薄
$0.84 > L/W$	楕円-厚	楕円-中	楕円-薄

図4-1 ダイズ種子における、幅に対する長さの比率と厚さに対する長さの比率に基づく粒形の8つの表現型の類別

A) 評価した種子の長さ、幅、厚さ

B) 各表現型における種子長と種子幅間および
種子長と種子の厚さ間の比率

1994の年ポット試験では、中国の在来種161系統は5月19日から26日に系統あたり約4粒をジフィーポットに播種後、6月7日に直径25cmの植木鉢に定植し、野外で栽培した。また日本の在来種52系統は、6月9日に1系統あたり約2-10粒をペーパーポットに播種後、6月21日に植木鉢に定植し同じく野外で栽培した。各栽培試験は標準施肥条件で行い、アブラムシ駆除のため数度薬剤散布を行なった。

開花期は、福井・荒井(1951)の定義した開花まで日数に関する生態型(I-V型)に基づき類別した。各系統の生態型は、各地農業試験場の資料により生態型の明らかな系統を同時に栽培し、比較検討して同定した。花色は白花と紫花の2段階に、毛茸色は白毛、淡褐毛、褐毛および濃褐毛の4色と密度が著しく低く毛茸色の判別がつかなかった表現型を無毛として計5段階に、葉形は長葉と円葉の2段階にそれぞれ表現型を類別した。伸育型は、茎頂部の花芽が開花した後、茎の伸長が止まるものを有限型、2-3節分化して止まるものを半無限型、止まらないものを無限型とした。

3)表現型多様性の評価

各形質の表現型多様性は、Shannon and Weaver(1949)の多様性指数(H')を用いて求めた。個々の形質における H' は以下の式で求めた。

$$H' = -\sum_{i=1}^n p_i \log_2 p_i$$

ここで n は特定の地域で観察された各形質の表現型の数、 p_i は i 番目の表現型の頻度を表している。

各形質における表現型の頻度の地域間差異および各形質間の連関関係は、 χ^2 検定により評価した。また、各形質間の関連は、調査した10形質全てにおいて表現型が同定された系統を供試し、優占する表現型を各系統の代表

する表現型として解析した。また、優占した表現型が50%以下の頻度であった系統は、解析から除外した(表4-1)。

3 結果および考察

1)各形質における表現型の地域的分化

各地域における各表現型の頻度とその地域間の差異を χ^2 検定により評価した結果を表4-2に示した。種子形態に関する4形質(粒大、種皮色、臍の色および粒形)、開花期、花色、毛茸色および伸育型の8形質において、日本、中国、朝鮮半島および台湾の4地域間に差異が認められた。また、日本の7地域では10形質全てに、中国の3地域では、粒大、鞍掛、花色および伸育型を除く6形質にそれぞれ地域間差異が認められた。以下、各形質における表現型の頻度の地域間差異および各形質に関与する遺伝子座を記す。

粒大：日本と朝鮮半島で中粒型が、中国で小粒型が、台湾で極小粒型および小粒型が、それぞれ優占した。日本の7地域では、沖縄で極小粒型が、北海道および本州北部で大粒型および極大粒型の系統が多く認められた。

種皮色：日本、中国、朝鮮半島および台湾の4地域で黄色が優占したが、台湾では黒色の頻度が比較的高かった。日本の7地域と中国の3地域では、沖縄および中国南部で薄緑が、北海道、本州北部、本州中部および沖縄で緑が、四国で褐色が、北海道、中国中部および中国南部で黒色が他の地域と比べ高い頻度で認められた。Perry and McIntosh(1991b)は、日本、中国、朝鮮半島および東南アジアで黄色が優占し、朝鮮半島では、褐色が17%の比較的高い頻度で観察されることを報告しているが、本研究で朝鮮半島に観察された淡褐、褐色および濃褐色の頻度は、計4%であった。この相違は、Perry and McIntosh(1991b)の供試材料がUSDAから選別された系統であり、本研究と異なっていたことが原因と考えられた。

表4-2 日本の7地域、中国の3地域、朝鮮半島と台湾のダイズ在来種における10形質の表現型の頻度(%)および日本の7地域間、中国の3地域間と日本、中国、朝鮮半島、台湾の4地域間における χ^2 検定による表現型の頻度の差異の評価

形質	表現型	地域 日本								中国					朝鮮半島	台湾
		北海道	本州			四国	九州	沖縄	全体	北部	中部	南部	不明	全体		
			北部	中部	南部											
粒大	極小粒	1	-	2	2	0	4	45	2	5	9	15	9	10	6	33
	小粒	22	19	32	19	40	61	45	32	65	74	68	69	68	30	53
	中粒	60	52	48	62	50	26	10	47	26	17	16	22	20	58	14
	大粒	11	21	18	14	10	7	0	15	3	0	1	0	2	4	0
	極大粒	6	8	-	3	0	2	0	4	0	0	0	0	0	2	0
$\chi^2=205.0^{**}$ n=779 df=24										$\chi^2=9.27$ n=232 df=6				$\chi^2=226.0^{**}$ n=1213 df=12		
種皮色	黄	71	62	73	79	75	79	37	70	84	59	60	83	71	67	47
	薄緑	1	4	4	2	5	1	18	3	2	8	13	0	7	13	10
	緑	17	12	10	5	5	5	18	10	4	4	3	4	4	8	5
	濃緑	0	7	5	0	0	0	0	4	0	6	0	0	1	1	0
	淡褐	1	5	0	0	0	1	0	2	2	6	6	4	4	1	0
	褐	0	5	3	2	10	1	0	3	4	4	5	0	4	3	5
	濃褐	0	0	0	0	0	1	18	1	0	0	0	0	0	1	0
	赤褐	0	1	1	3	5	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	黒	10	4	4	9	0	11	9	6	4	13	13	9	9	6	33
$\chi^2=170.8^{**}$ n=780 df=48										$\chi^2=27.3^{**}$ n=232 df=12				$\chi^2=84.9^{**}$ n=1214 df=24		
鞍掛	なし	99	100	99	98	95	98	100	99	100	100	100	100	100	98	100
	褐	0	-	0	0	0	1	0	-	0	0	0	0	0	0	0
	赤褐	0	0	0	0	5	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0
	黒	1	0	1	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0
$\chi^2=49.4^{**}$ n=780 df=18										$\chi^2=6.62$ n=1214 df=9						

表4-2 続き

形質	表現型	地域 日本								中国					朝鮮	台湾
		北海道	本州			四国	九州	沖縄	全体	北部	中部	南部	不明	全体	半島	
			北部	中部	南部											
臍の色	白目	5	19	15	9	10	5	0	13	45	14	1	17	22	37	10
	褐目	67	46	45	55	60	46	27	48	38	53	59	61	49	35	29
	黒目	28	35	40	36	30	49	73	39	17	33	40	22	28	28	61
		$\chi^2=40.1^{**}$ n=780 df=12								$\chi^2=54.9^{**}$ n=231 df=4					$\chi^2=69.7^{**}$ n=1213 df=6	
粒形	円-厚	20	15	8	19	21	5	0	12	16	0	1	10	7	14	0
	円-中	25	17	16	8	0	10	11	15	5	2	0	10	3	29	6
	中-厚	25	25	20	20	26	14	11	21	32	21	23	32	27	9	19
	中-中	28	32	43	39	43	55	56	40	27	32	41	29	32	40	50
	中-薄	1	2	5	6	5	6	0	4	0	4	1	0	1	2	0
	楕円-厚	0	0	1	2	0	0	0	-	10	8	7	0	8	0	0
	楕円-中	1	5	4	4	5	8	22	5	9	27	26	19	20	5	25
	楕円-薄	0	4	3	2	0	2	0	3	0	6	1	0	2	1	0
		$\chi^2=81.3^{**}$ n=713 df=42								$\chi^2=46.1^{**}$ n=217 df=14					$\chi^2=185.6^{**}$ n=1113 df=21	
開花期	I	99	12	4	2	6	7	0	18	67	8	0	35	30	1	13
	II	1	56	32	16	12	36	50	35	17	37	14	17	20	39	13
	III	0	31	37	22	18	5	10	23	13	31	35	35	26	49	20
	IV	0	1	18	48	46	23	20	15	2	13	19	9	11	10	7
	V	0	0	9	12	18	29	20	9	0	12	31	4	13	1	47
		$\chi^2=678.4^{**}$ n=747 df=24								$\chi^2=139.0^{**}$ n=227 df=8					$\chi^2=132.9^{**}$ n=1166 df=12	
花色	白花	22	38	36	26	29	25	60	32	52	51	40	62	49	26	32
	紫花	78	62	64	74	71	75	40	68	48	49	60	38	51	74	68
		$\chi^2=16.9^{**}$ n=764 df=6								$\chi^2=3.15$ n=225 df=2					$\chi^2=28.4^{**}$ n=1177 df=3	

表4-2 終わり

形質	表現型	地域 日本							中国					朝鮮半島	台湾	4地域間
		北海道	本州			四国	九州	沖縄	全体	北部	中部	南部	不明	全体		
			北部	中部	南部											χ^2
毛茸色	白毛	16	39	42	38	53	34	20	36	68	45	37	64	52	64	47
	淡褐毛	0	12	5	9	13	10	0	8	6	11	2	14	6	9	6
	褐毛	75	48	50	52	34	51	80	53	25	43	60	23	40	27	47
	濃褐毛	0	0	-	1	0	5	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	無毛	9	1	3	0	0	0	0	2	1	2	0	0	1	0	0
$\chi^2=95.4^{**}$ n=756 df=24									$\chi^2=26.3^{**}$ n=222 df=6					$\chi^2=57.5^{**}$ n=1163 df=12		
葉形	円葉	83	99	99	96	100	97	100	97	91	98	99	96	96	99	100
	長葉	17	1	1	4	0	3	0	3	9	2	1	4	4	1	0
$\chi^2=66.6^{**}$ n=726 df=6									$\chi^2=6.84^*$ n=225 df=2					$\chi^2=3.50$ n=1141 df=3		
伸育型	有限	100	97	92	100	86	91	43	94	24	29	22	43	26	72	25
	半無限	0	1	2	0	7	4	0	2	7	12	6	4	7	1	0
	無限	0	2	6	0	7	5	57	4	69	59	72	52	66	27	75
$\chi^2=66.2^{**}$ n=593 df=12									$\chi^2=3.08$ n=222 df=4					$\chi^2=425.6^{**}$ n=997 df=6		

小数点以下の数字は四捨五入した。-は、0.5%未満を示す。

各 χ^2 は、左から日本の7地域間、中国の3地域間および日本、中国、朝鮮半島、台湾の4地域間で評価した値を示す。

各nおよび各dfは、 χ^2 検定で評価した各地域の系統数および自由度を示す。

**は1%の有意水準で、*は5%の有意水準で地域間の表現型の頻度に差異が認められた。

種皮色に関与する遺伝子座は、*G*座、*I*座、*R*座、*O*座、*T*座および*W1*座の6つが認められており、それぞれの遺伝子座における計14対立遺伝子により、黄、鈍黄、緑、褐、赤褐および黒の6色の表現型が確認されている(Woodworth 1921; Williams 1952; Specht and Williams 1978; Palmer and Stelly 1979)。本研究では、黄色と鈍黄色の区別がつかなかったことから、黄色として同一の表現型に類別した。また、上記以外の淡緑、濃緑、淡褐および濃褐の4色の表現型は、育成系統の特性検定の項目に含まれるが、その関与遺伝子座は明らかでない。

鞍掛：鞍掛が観察される系統は、全ての地域において5%以下の頻度であった。日本の7地域では、沖縄で鞍掛が認められなかったが、北海道、本州中部および本州南部で黒、本州北部で褐、四国では赤褐、九州で褐および黒の鞍掛が観察された。

鞍掛は、種皮色を支配する6遺伝子座(*G*座、*I*座、*R*座、*O*座、*T*座、*W1*座)のうち*G*座を除く5遺伝子座(Woodworth 1921; Specht and Williams 1978; Palmer and Stelly 1979)および4つの突然変異遺伝子(Williams 1958; Barnard and Weiss 1973; Rode and Bernard 1975)に支配されることが報告されている。これらのうち*I*座、*R*座、*O*座、*T*座および*W1*座は、*I*座で*i-r*対立遺伝子が同型接合の時、鞍掛を生じ、他の4遺伝子座により、本報告で類別した褐、赤褐、黒および「なし」の4つの表現型が決定される。本結果において、鞍掛が低頻度であったことから、ダイズにおいて*i-r*対立遺伝子は稀であることが示唆された。

臍の色：日本および中国で褐目が、朝鮮半島で白目が、台湾で黒目が優占したが、全ての地域で高度に多型的であった。日本の7地域と中国の3地域では、中国北部で白目が、九州および沖縄で黒目がそれぞれ高頻度で観察された。Perry and McIntosh(1991b)は、日本で白目と褐目が、中国およ

び朝鮮半島で白目が、東南アジアで褐目が優占することを報告しているが、本結果では、日本および中国で白目が、台湾で褐目がそれぞれ13%、22%、29%の頻度でのみ観察された点で異なっていた。これは、臍の色が連続的な変異を示し、中間的な表現型が存在したこと、本研究の表現型の類別において、暗褐色を黒目に類別したことが原因であると考えられた。

臍の色は、種皮色に関与する6遺伝子座のうちG座を除く5遺伝子座が関与し、黄、鈍黄、褐、赤褐、灰色、黒の6色の表現型が認められている(Woodworth 1921; Specht and Williams 1978; Palmer and Stelly 1979)。本報告で類別した3色の表現型は、白目が黄および鈍黄を、褐目が褐および赤褐を、黒目が灰色および黒を含んでおり、*I*座、*R*座、*W1*座および*T*座の4遺伝子座によって決定される。

粒形：厚み(L/H)に関して明確な地域的分化が認められず、丸み(L/W)に関して地域的分化が認められた。日本、中国、朝鮮半島および台湾の4地域全てで中型が優占したが、朝鮮半島では円型が、中国および台湾では橢円型が比較的高い頻度で認められた。日本の7地域と中国の3地域では、北海道および本州の3地域で円型が、中国中部および中国南部で橢円型が他の地域より頻度が高かった。

円型の頻度が北方地域で、橢円型の頻度が南方地域で高いことから、後述した開花期とともに、粒形と生育期間が関連している可能性がある。粒形は、莢の形状および種子と莢の生育過程に強く依存していると考えられることから、粒形を決定づける遺伝的、環境的要因の解析にはこれらの形態形成に関する解析が必要と思われた。

開花期：北部の地域では、早生型(I型およびII型)が、南部の地域で晩生型(IV型およびV型)が高い頻度で観察された。開花期の地域的分化に関する研究は、Nagata(1950)、福井・荒井(1951)、陳ら(1982)およびPerry and

McIntosh(1991b)によって報告されており、本結果と同様な結果が得られている。

開花期に関与する遺伝子座では、今までに*E1*から*E5*座が同定されており、これらのうち*E3*座と*E4*座は、日長反応性に関与していることが明らかとなっている(Bernard 1971; Buzzell and Voldeng 1980)。しかしながら、本研究で用いた5段階の生態型(福井・荒井 1951)の遺伝子型は不明であり、その同定には日長反応性を含めた詳細な遺伝解析が必要である。

花色：日本、中国、朝鮮半島および台湾の全てで紫花が優占したが、中国では多型的であった。日本の7地域と中国の3地域では、沖縄、中国北部および中国中部で白花が、他の地域で紫花が優占したが、北海道、本州南部、四国および九州を除き、多型的であった。Perry and McIntosh(1991b)は、日本、朝鮮半島、東南アジアおよび中国北部で紫花の頻度が高く、中国中部で多型的な変異が存在することを報告し、本結果とは、中国北部に白花が52%の頻度で観察されたことで異なっていた。これは、本研究で供試した中国北部の系統に育種母材となる系統が多く含まれ、交配育種の指標となる白花が多く含まれたことが原因と考えられた。

花色を支配する遺伝子座では、種皮色および臍の色に関与し、優性遺伝子で紫花となる*W1*座(Woodworth 1921; Hartwing and Hinson 1962)、*W1*座が優性遺伝子の場合に、淡紫、濃紫、赤紫、白に変更する3遺伝子座(*W3*座および*W4*座; Hartwing and Hinson 1962; *Wm*座; Buzzell *et. al.* 1977)および桃色にする突然変異遺伝子*wp* (Stephens and Nickell 1992)が確認されている。本報告で類別した花色は、種皮色および臍の色にも影響する*W1*座が主に関与している。

毛茸色：日本で褐毛が、中国および朝鮮半島で白毛が、台湾で白毛と褐毛がそれぞれ優占したが、これら全ての地域で多型的な変異が存在した。日

本の7地域と中国の3地域では、北海道、四国および中国南部で褐毛が、中国北部で白毛がそれぞれ高頻度で認められた。また無毛の系統は、特に北海道で他地域により多く認められた。Perry and McIntosh(1991b)も、本結果と同様に、日本および東南アジアで褐毛の頻度が高く、朝鮮半島および中国で白毛の頻度が高いことを報告している。

毛茸色では、種皮色および臍の色にも影響する *T*座が関与し、白毛は *T*座の劣性同型接合で、褐毛は *T*座と *Td*座の優性遺伝子で、淡褐毛は *T*座の優性遺伝子と *Td*座の劣性同型接合でそれぞれ発現することが報告されている(Woodworth 1921; Bernard 1975)。本結果の毛茸色の類別では、濃褐毛の遺伝的背景は不明である。

葉形：日本の7地域で地域間差異が認められ、北海道では、長葉が比較的高い頻度で観察された。葉形の分化は、Perry and McIntosh(1991b)の結果においてもほとんど認められず、本結果と同様であった。

葉形に関与する遺伝子座は、優性遺伝子で円葉となる *Lo*座(Domingo 1945)および劣性遺伝子の同型接合で長葉となる *Ln*座(Bernard and Weiss 1973)が明らかとなっている。本研究における葉形の類別は、*Ln*座の遺伝子型が関与している(Bernard and Weiss 1973)。

伸育型：有限型が沖縄を除く日本の6地域および朝鮮半島で70%以上の頻度で観察され、北海道、本州北部および本州南部では有限型にほぼ固定していた。一方、無限型は、沖縄、中国の3地域および台湾で57%から75%の頻度で認められた。Nagata(1959)も、本結果と同様に、沖縄を除く日本および朝鮮半島で有限型が、沖縄、台湾および中国で無限型が多いことを報告している。

伸育型の遺伝様式は、優性遺伝子で無限型となる *Dt1*座および *Dt1*座が優性遺伝子を有するとき、優性遺伝子で半無限型に変更する *Dt2*座が報告されている(Bernard 1972)。

以上のように、調査した10形質について明確な地域間差異が生じていることが明らかとなった。また、Perry and McIntosh(1991b)は、各地域における表現型の頻度からクラスター分析を行い、日本および朝鮮半島と中国および台湾が異なっ地域群に類別されることを報告している。本研究においても、日本および朝鮮半島と中国および台湾の間で、粒大、粒形および伸育型で表現型の頻度が異なり、同様な傾向が認められた。

前章で述べた16遺伝子座の標準遺伝距離に基づく系統樹では、朝鮮半島、中国および台湾は同じ群に類別された(図3-3)。これは、関与遺伝子座が少ない花色(*W1*座)、毛茸色(*T*座および *Td*座)、葉形(*Ln*座)および伸育型(*Dt1*座および *Dt2*座)では、同じ表現型を有する系統間で関与遺伝子座の遺伝子型がほぼ一致するが、他の6形質では、同じ表現型を有する系統においても関与遺伝子座の遺伝子型が異なっている可能性があることが原因と考えられた。例えば、本研究における種皮色の黄色の表現型を示す遺伝子型は、*G*座、*I*座、*R*座、*O*座、*T*座および *W1*座における128通りの同型接合の遺伝子型組合せのうち、44通りで発現することが明らかとなっている(Palmer and Kilen 1987)。また、形質の多くは、各地域において様々な基準により人為的に選択を受けたと考えられ、形質の関与遺伝子座の遺伝子型が共通する系統においても、独立した過程を経て生じた可能性もある。これらのことから、前章で述べた16遺伝子座における解析と異なり、各地域の表現型の頻度から地域間の遺伝的な類縁関係を正確に評価することが困難であると思われた。

近年における日本のダイズ育種では、白目の表現型が経済的価値を高めることから、重要な目標となっているが、本結果で供試した日本の在来種の多くは、褐目を有しており、過去において臍の色が選択の対象にならなかったと思われた。また、本結果では、無毛系統が北海道で比較的高い頻度で観察された。これは、無毛の系統が主要な害虫であるダイズシンクイガに対して耐性を有することが原因であると考えられたが(古谷 1975)、無毛系統は耐冷性が低いことから(三分一ら 1987)、現在その育成がほとんど行われていない。このように、本研究で供試したダイズ在来種は、現代のダイズ品種と表現型の頻度が完全には一致しておらず、時代において望まれる表現型が異なることが示唆された。

2)表現型多様性の地域的分化

各地域における調査した10形質の多様性指数(H')を表4-3に示した。日本、中国、朝鮮半島と台湾において各形質の多様性指数を比較したところ、日本で粒大と毛茸色が、中国で粒形、開花期、花色、葉形と伸育型が、朝鮮半島で臍の色と鞍掛が、台湾で種皮色が最も大きな値を示した。特に、粒大および伸育型では、日本と他の地域間に大きな差異が認められ、日本で粒大が最大値を、伸育型が最小値を示した。

日本では、ダイズの粒大が利用目的と強く関連しており、味噌用に中粒および大粒が、納豆用に小粒および中粒が、煮豆用に大粒が、青刈り用に極小粒がそれぞれ好まれて利用され、粒大の多様化をもたらしたと考えられた。また、日本において伸育型の多様性が低いことは、日本で有限型が望まれたことが原因と考えられた。

日本の7地域と中国の3地域の間で多様性指数を比較したところ、粒大が本州北部と本州中部で、種皮色と毛茸色が本州北部と中国中部で、鞍掛が

四国、臍の色が本州北部で、粒形が本州の3地域と中国中部で、開花期と伸育型が中国中部で、花色が中国北部と中国中部で、葉形が北海道と中国中部でそれぞれ大きな値を示した。このように、中国中部では、10形質中、7形質で高い表現型多様性を示し、遺伝的多様性が高いことが示唆された。

以上のように、各形質における表現型多様性に地域的分化が認められた。また、日本、中国、朝鮮半島と台湾の4地域間では中国で、日本の7地域と中国の3地域では中国中部で、表現型多様性の高い形質が多く、前章で述べた16遺伝子座の遺伝的多様性における結果と類似していた(表3-10)。

3)形質間の連関関係における地域的分化

i)日本、中国および朝鮮半島における形質間の連関関係の差異

日本、中国、朝鮮半島および供試全系統における10形質間の連関関係を図4-2に示した。図4-2の各線は、5%の有意水準で表現型組合せに連関が認められた形質組合せを示している。また、各形質の階級は、表4-2に示した表現型の順とし、連関の認められた形質間で、正の相関が認められたものを実線で、負の相関が認められたものを破線で示した。調査した45の形質組合せにおいて、系統全体では30組に、日本では23組に、中国では14組に、朝鮮半島では21組にそれぞれ連関が認められた。

各地域における形質間の連関は、日本では種子色、粒形、開花期と毛茸色の相互間およびそれらと他形質の間に、中国では臍の色、粒形、開花期と毛茸色の相互間およびそれらと他形質の間に、朝鮮半島では臍の色と粒形の相互間およびそれらと他形質の間にそれぞれ多く認められた。このように、形質間の連関には、地域特異性が認められ、各地域において異なる表現型組合せをもつ系統群が定着していると考えられた。しかし、これら

表4-3 日本の7地域、中国の3地域、朝鮮半島および台湾における表現型の
頻度よりもとめた10形質の多様性指数 (H' , Shanon-Weaver index)
の大きさ

地域	形質	粒大	種皮色	鞍掛	臍の色	粒形	開花期	花色	毛茸色	葉形	伸育型
北海道		1.59	1.28	0.09	1.14	2.13	0.09	0.76	1.05	0.66	-
本州北部		1.76	1.98	0.04	1.50	2.41	1.44	0.96	1.47	0.04	0.22
本州中部		1.63	1.51	0.10	1.46	2.32	2.02	0.94	1.40	0.05	0.45
本州南部		1.54	1.16	0.12	1.31	2.36	1.88	0.82	1.39	0.23	-
四国		1.36	1.29	0.29	1.30	1.95	2.00	0.87	1.40	-	0.70
九州		1.52	1.21	0.12	1.24	2.05	2.03	0.81	1.56	0.22	0.55
沖縄		1.35	2.19	-	0.85	1.66	1.76	0.97	0.72	-	0.99
日本全体		1.80	1.66	0.10	1.41	2.35	2.19	0.91	1.49	0.20	0.37
中国北部		1.29	1.05	-	1.48	1.82	1.33	1.00	1.19	0.43	1.12
中国中部		1.08	1.93	-	1.42	2.32	2.09	1.00	1.51	0.14	1.33
中国南部		1.30	1.81	-	1.05	2.01	1.92	0.97	1.10	0.09	1.07
不明		1.15	0.93	-	1.35	2.15	2.00	0.96	1.29	0.26	1.21
中国全体		1.27	1.57	-	1.49	2.37	2.23	1.00	1.33	0.26	1.18
朝鮮半島		1.52	1.66	0.14	1.57	2.17	1.49	0.82	1.23	0.10	0.94
台湾		1.42	1.78	-	1.27	1.70	2.01	0.91	1.29	-	0.81
全系統		1.76	1.69	0.09	1.48	2.43	2.19	0.93	1.46	0.20	0.97

-は、単型的であったことを示す。

の連関は、遺伝子の多面発現および遺伝子座の連鎖などの遺伝的要因によっても生じることが考えられる。

調査した形質のうち、着色に関する5形質(種皮色、鞍掛、臍の色、花色および毛茸色)は、花色と毛茸色の間を除いて、関与遺伝子座が重複(*G*座、*I*座、*R*座、*O*座、*T*座、*W1*座)している。花色-毛茸色間以外における種皮色、鞍掛、臍の色、花色と毛茸色の相互間の関連は、日本、中国および朝鮮半島の全ての地域で種皮色-臍の色間および臍の色-毛茸色間に正の関連が、日本と中国で種皮色-毛茸色間に正の関連が、日本で種皮色-花色間に負の関連が、朝鮮半島で種皮色-鞍掛間および鞍掛-臍の色間に正の関連が、臍の色-花色間に負の関連がそれぞれ認められた。しかし、これらの地域では、鞍掛-毛茸色間と鞍掛-花色間の関連が認められなかった。これらの関連は、各関与遺伝子座に推定される遺伝子型の表現型の関連と相反していない。上記の形質組合せのうち、花色または鞍掛を含む形質組合せにおいて関連が認められた地域が少なかったが、このことは、鞍掛が稀な表現型であったこと、花色を支配する *W1* 座は、*R* 座が優性遺伝子を持ち、*T* 座が劣性同型接合の場合のみに種皮色、鞍掛および臍の色に対して作用を及ぼすことが原因と考えられた(Specht and Williams 1978; Palmer and Stelly 1979)。

本解析で調査した形質における関与遺伝子座の連鎖は、主に毛茸色に作用する *T* 座と開花期に関与する *E1* 座の間に報告されている(Palmer and Kilen 1987)。また、阿部ら(1993)は、交雑実験から葉形と日長反応性に遺伝的関連を認めている。これらの形質組合せでは、毛茸色-開花期間で日本に負の関連が、開花期-葉形間で日本および朝鮮半島で正の関連が認められた。

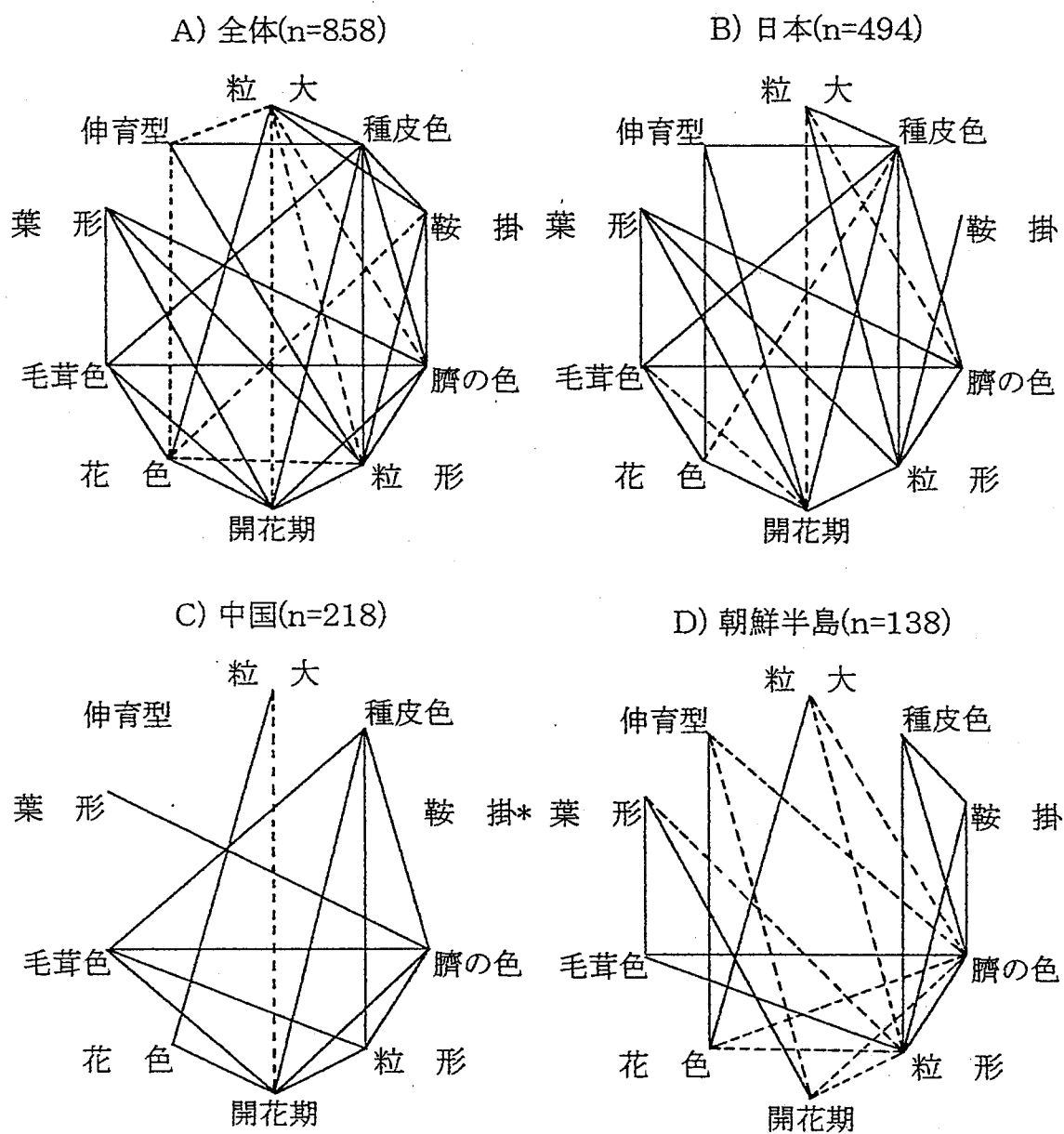


図4-2 日本、中国および朝鮮半島における独立性 χ^2 検定による10形質間の連関関係の評価

2形質間の表現型組合せの独立性の χ^2 検定(5%水準)で有意と認められたものを、実線(正の連関)または破線(負の連関)で示した。nは、調査した系統数を、*は、単型的であった形質を示す。

- A) 系統全体
- B) 日本
- C) 中国
- D) 朝鮮半島

以上に示したように、遺伝的に関連している形質間の多くは、日本、朝鮮半島および中国の多くの地域で等しい連関が認められている。他の形質組合せのうち、種皮色-粒形間と臍の色-粒形間の2組合せでは、全ての地域に共通して正の連関が認められたことから、遺伝的に関連している可能性がある。

これらの遺伝的な関連が原因と考えられた形質間の連関を除き、各地域で形質間の関連を比較したところ、日本で多くの連関が認められた。この結果から、日本で特定の表現型組合せを有する系統群が数多く定着していると考えられた。

ii) 日本における形質間の連関関係の地域的分化

日本における10形質間の連関を図4-3に示した。四国と沖縄は、形質間の関連が認められなかったので、図4-3より除外した。各線は、図4-2と同様である。図4-3に示した5地域において、各形質の連関に明確な地域間差異が認められた。以下、各地域における形質の連関の特徴とその成因を考察する。

北海道：粒大、種皮色、臍の色と花色の相互間およびそれらと他の形質間に連関が認められた。このことおよび前章で示した解析結果から、北海道では、限られた系統から特定の表現型質組合せをもつ系統群が確立したと考えられた。

本州北部：特に種子形態に関する形質間に連関が認められた。本州北部では、ダイズの食文化が特に多様化し、種子形態に対して強い選択が生じている。このことが、種子形態に関する形質間で連関が認められた原因と考えられた。

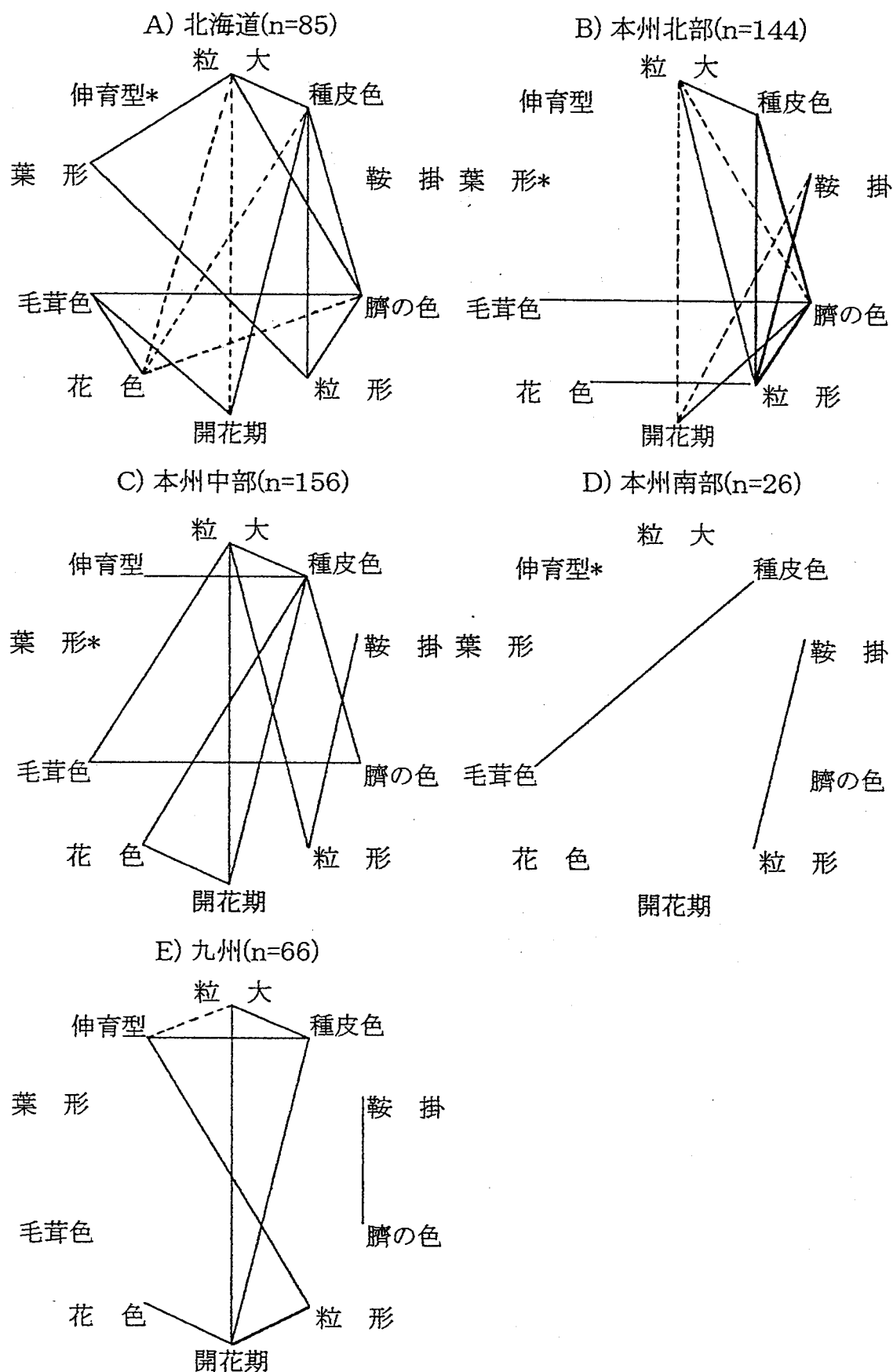


図4-3 日本の5地域における独立性 χ^2 検定による10形質間の連関関係の評価

注) 各線、nおよび*は、図4-2に従う

A) 北海道 B) 本州北部 C) 本州中部 D) 本州南部 E)九州

本州中部：粒大および種皮色と他形質間に連関が認められた。このことから、本州中部において、粒大と種皮色に関して表現型の異なる系統群が定着していると考えられた。

本州南部：種皮色-毛茸色間および鞍掛-粒形間に連関が認められた。本州南部では、本解析で供試した系統数は少なく、連関関係が正しく評価されていない可能性が考えられ、連関の成因については不明である。

九州：粒大、種皮色と開花期の相互間、粒大、種皮色と伸育型の相互間、開花期-花色間および粒型-伸育型間に連関が認められた。九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型の分化は、開花期とともに粒大においても認められており(永田 1950; 福井・荒井 1951)、本研究においても、夏ダイズ型で早生と小粒が、秋ダイズ型で晩生と大粒の頻度が高かった。また、九州では小粒で、種皮色が淡緑または黒、粒形が楕円型、無限伸育型の表現型をもつ青刈りダイズと考えらる系統が認められたことから、粒大、種皮色、粒形、開花期および伸育型内で連関が生じたと考えられた。

iii) 中国における形質間の連関関係の地域的分化

中国の3地域における10形質間の関連を図4-4に示した。中国の各地域における形質間の連関の地域間差異は、日本と比較して小さく、連関した形質組合せの数も少なかった。この結果に表現型の多様性が高かったことを合わせて、中国で、多様な系統が存在することを示した。このことは、前章で述べた16遺伝子座において、日本の7地域間に比べ、中国の3地域間でGstが低かった結果と一致していた(表3-8)。

以上のように、形質には明確な地域的分化が認められ、また地域間で形質の連関関係が異なっていたことから、各地域に特異的な表現型組合せを有する系統群が定着していると考えられた。

第5章 細胞質ゲノムの多型と地域的分化

1 緒言

ダイズの葉緑体(cp)DNAとミトコンドリア(mt)DNAは、母性遺伝に従うと考えられることから(Hatfield *et al.* 1985; Corriveau and Coleman 1988)、その変異体の追跡により、ダイズの母系の系譜(maternal lineage)をたどることが可能である。また、Close *et al.*(1989)、長谷川(1991)およびGrabau *et al.* (1992)は、ダイズとツルマメのcpDNAとmtDNAの構造変異が、RFLP分析により検出されることを報告している。本章では、cpDNAとmtDNAの多型をRFLP分析により解析し、ダイズにおける細胞質ゲノムの地域的分化について検討した。

2 材料および方法

1)供試材料

第3章で供試した系統から、生化学的標識の遺伝子型および栽培地域の異なる294系統を供試した。日本、中国、朝鮮半島、台湾の各地域および第3章で求めたAからGの品種群における系統数を表5-1に示した。

2)全DNAの抽出および精製

全DNAの抽出は、播種後1-3ヶ月の複数個体から集めた成葉または個体別に採取した成葉より、Doyle and Doyle(1990)の手法を一部変更して行なった。液体窒素中で凍結粉碎した約3gの摩砕試料を遠心管に入れ、20mlの抽出用緩衝液(2% 臭化セチルトリメチルアンモニウム(CTAB)、1.4M NaCl、20mM EDTA、100mM トリス塩酸緩衝液(pH 8.0))を加えた後、65℃の恒温槽に30分間、数度転倒混和しながら温浴し、室温に戻した。その後、等量のクロロホルム-イソアミルアルコール混合液(24:1)を加え、転

表5-1 九州を除く日本の6地域、中国の3地域、朝鮮半島、台湾
および九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型のダイズ在来種
における細胞質ゲノムの解析に供試した系統数とAからG
品種群における解析に供試した系統数

品種群 ¹⁾		A	B	C	D	E	F	G	計
地域および栽培型									
日本	北海道	0	4	5	0	0	8	1	18
	本州北部	4	2	7	4	0	14	14	45
	本州中部	2	5	5	3	0	11	19	45
	本州南部	0	3	2	2	1	2	11	21
	四国	0	0	0	1	0	3	3	7
	九州 夏ダイズ型	14	0	6	1	0	1	3	25
	秋ダイズ型	0	2	0	2	0	1	8	13
	不明	0	1	0	1	0	0	0	2
	沖縄	1	1	1	0	0	0	1	4
	計	21	18	26	14	1	40	60	180
中国	北部	0	9	10	5	1	3	2	30
	中部	0	7	0	3	4	2	2	18
	南部	0	9	2	3	7	2	2	25
	不明	0	2	0	0	1	1	0	4
	計	0	27	12	11	13	8	6	77
朝鮮半島		0	7	6	8	0	6	4	31
台湾		0	2	0	2	0	0	2	6
計		21	54	44	35	14	54	72	294

1) AからGの品種群は、第3章で示したアイソザイムおよびトリプシン
インヒビターを支配する16遺伝子座の対立遺伝子頻度より、
クラスター分析で類別した品種群である(表3-9を参照)。

倒混和したのち、3000rpmで10分間遠心し、抽出用緩衝液層を別の遠心管に回収した。回収した溶液に、15mlのイソプロパノールを加え混和し、DNAを析出させた後、遠心分離またはパスツール管でDNAを回収し、真空乾燥した。

真空乾燥したDNAは、洗浄液(76% エタノール、10mM 酢酸アンモニウム)を15mlを加え室温で約20分間静置して洗浄した後、回収し、再度真空乾燥して、2mlのTE緩衝液(10mM トリス塩酸緩衝液(pH 8.0)、1mM EDTA)に溶解した。完全に溶解したDNA溶液に、等量の4M 塩化リチウム溶液を加え、氷上で12から36時間、静置した後、3000rpmで20分間遠心し、高分子のRNAを沈降させ、上清を回収した。以下、エタノール沈殿したDNAを回収、真空乾燥し、1mlのTE緩衝液に溶解して全DNA標本とした。

3)電気泳動およびサザンハイブリダイゼーション分析

20 μ lの全DNA標本(約5 μ gのDNAが含まれる)を、4種の制限酵素(BamHI、ClaI、EcoRIまたはHindIII)で約12時間、分解した後、DNAをエタノール沈殿、真空乾燥し、5 μ lのDAI溶液(0.25% ブロモフェノールブルー、0.25% キシレンシアノールFF、15% フィコールType400)に溶かして電気泳動の試料とした。各試料は、0.5から1.0%のアガロースゲルを支持体としたサブマリン電気泳動法で分画した。使用したゲルおよび電極用緩衝液は1×TBE溶液(0.9M トリス硼酸緩衝液、4mM EDTA)である。

サザンハイブリダイゼーション分析は、ECLダイレクトDNA/RNA検出システム(アマシャム社製)のプロトコールに従い、ナイロンメンブランへのDNAの転写を約6時間、プローブとナイロンメンブラン上のDNAとのハイ

ブリダイゼーションを14時間から18時間、X線フィルムの感光を15分間から60分間、それぞれ行なった。

4) プローブの調整

使用したプローブは、cpDNAの解析では、テンサイ(*Beta vulgaris*) cpDNA由来の10.9kbpのHindⅢ断片(「H2クローン」, 貴島 1988; 図5-1)、mtDNAの解析では、マツヨイグサ(*Oenothera* sp.)の*atp6*遺伝子(FO-ATP合成サブユニット6)のコード域に含まれる約660bpのstyI断片(Schuster and Brennicke 1987; 図5-2)およびテンサイmtDNA由来の*cox II*遺伝子(シトクロム酸化酵素サブユニット2)の3'エクソン領域に相当する約400bpのHindⅢ-Sal I断片(Senda *et al.* 1991; 図5-3)である。各プローブの標識は、ECLダイレクトDNA/RNAラベリングシステムのプロトコールに従った。

本研究で使用した3種のプローブおよび制限酵素を用いたサザンハイブリダイゼーション分析では、既に長谷川(1991)、久野(1993)と福士ら(1995)がツルマメとダイズに多型を認めている。また「H2クローン」は、Glose *et al.* (1989)が指摘した、ダイズとツルマメの葉緑体ゲノムの構造変異が集中するLSC左方域およびIRの一部の配列を含んでいる(図5-1)。

3 結果および考察

1) cpDNAの多型

供試した294系統においてcpDNA由来の「H2クローン」をプローブとしたRFLP像を図5-4に、認められたcpDNA型で観察された系統数を表5-2に示した。本研究においても、長谷川(1991)が同じプローブと制限酵素の組合せにおいて、ダイズとツルマメに認めた3つのcpDNA型が観察された。

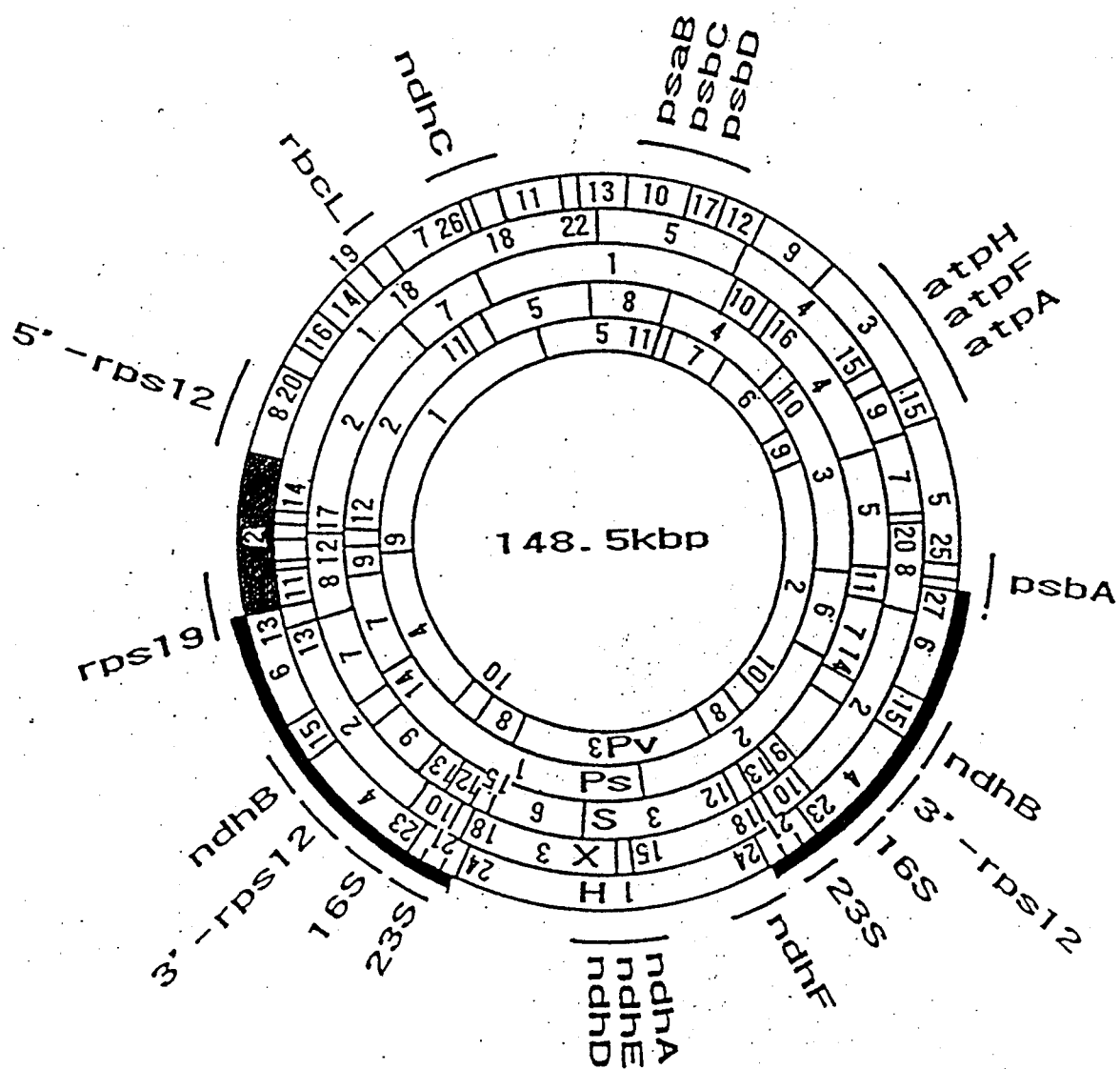


図5-1 テンサイcpDNAの制限酵素切断点物理地図とプローブとして用いた

「H2クローン」の領域（貴島 1988）

「H2クローン」の領域は黒く塗り潰した。

太い黒線で示した領域はIRを示す。

黒線は遺伝子領域を示す。

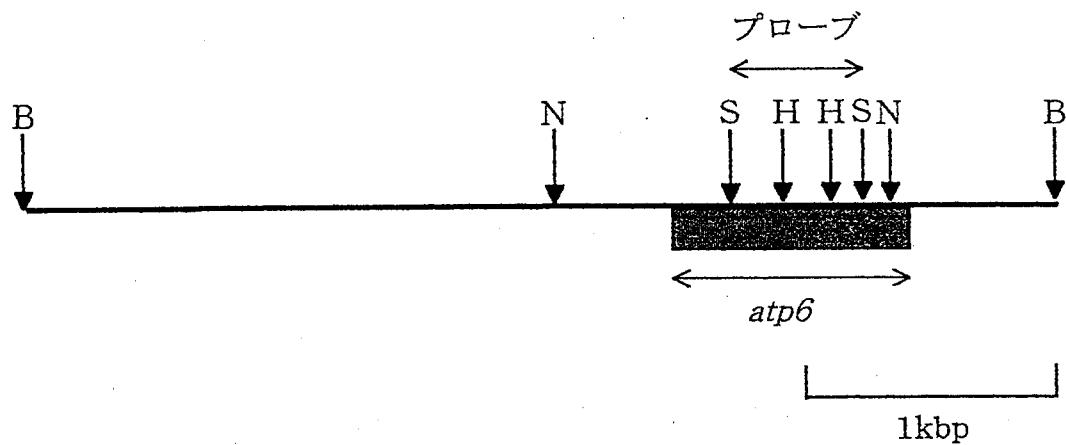


図5-2 プローブとして用いたマツヨイグサの *atp6* 遺伝子 *styI* 断片の領域とその近傍の制限酵素切断点地図(Schuster and Brennicke 1987)
 B、H、NおよびSは、それぞれBamHI、HindIII、NheIおよびStyIの制限酵素の切断点を示す(久野 1992を参照した)。

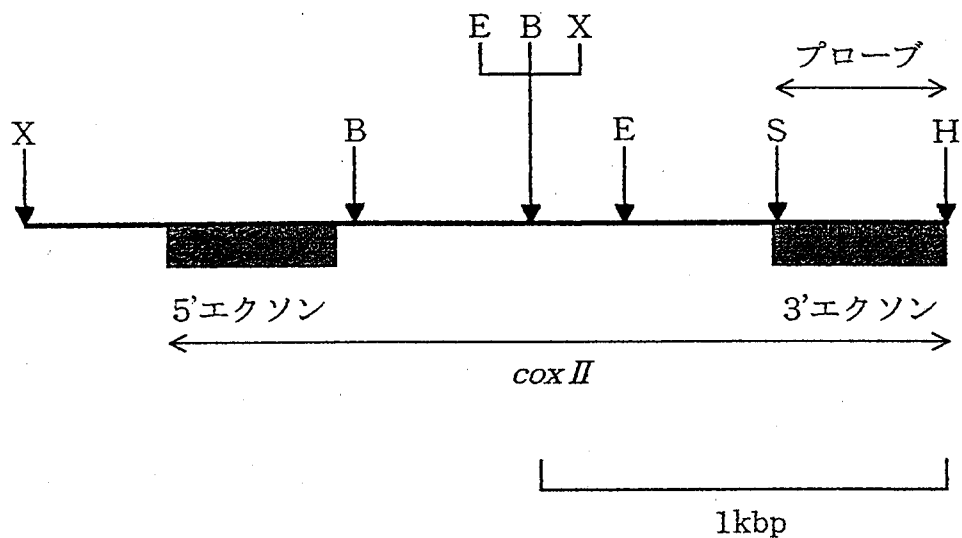


図5-3 プローブとして用いたテンサイの *cox II* 遺伝子3'エクソンの領域とその近傍の制限酵素切断点地図(Senda *et al.* 1991)。

B、E、H、SおよびXは、それぞれBamHI、EcoRI、HindIII、SalI およびXhoIの制限酵素の切断点を示す(長谷川 1991を参照した)。

全DNA標本は、「H2クローン」をプローブとしたRFLP分析で、EcoRIにより分解した場合に4.8kbpまたは2.5kbpのいずれかの断片にシグナルを示し、ClaI断片により分解した場合に3.5kbpの断片または1.1kbpと2.4kbpの2コピーの断片にシグナルを示した(図5-4)。これらの組合せから、供試系統のcpDNAは、1)4.8kbpのEcoRI断片および1.1kbpと2.4kbpのClaI断片を有する型、2)4.8kbpのEcoRI断片および3.5kbpのClaI断片を有する型、3)2.5kbpのEcoRI断片および3.5kbpのClaI断片を有する型、4)2.5kbpのEcoRI断片および1.1kbpと2.4kbpのClaI断片を有する型の4つが想定されたが、4)の型は観察されず、前の3者のみが観察された(表5-2)。また、中国の「永康鉄漿豆」では、上記した1)の型と3)の型の2つが観察され、系統内に多型が認められた。

長谷川(1991)は、Close *et al.*(1989)がcpDNA I型を持つ品種として挙げた「Minsoy」が上記した1)の型を有し、cpDNA II型を持つ品種として挙げた「Noir I」、「Medium Green」、「Bioloxi」および「Palmetto」が2)の型を、cpDNA III型を持つ品種として挙げた「Peking」が3)の型を有したことを報告している。本研究における各cpDNA型の表記は、このことに基づき、1)4.8kbpのEcoRI断片および1.1kbpと2.4kbpのClaI断片を有するcpDNAをcp I型、2)4.8kbpのEcoRI断片および3.5kbpのClaI断片を有するcpDNAをcp II型、3)2.5kbpのEcoRI断片および3.5kbpのClaI断片を有するcpDNAをcp III型とした。

2)mtDNAの多型

mtDNA由来の*atp6*および*cox II*をプローブとしたRFLP像をそれぞれ図5-5と図5-6に、類別された各mtDNA型に観察された系統数を表5-3に示した。

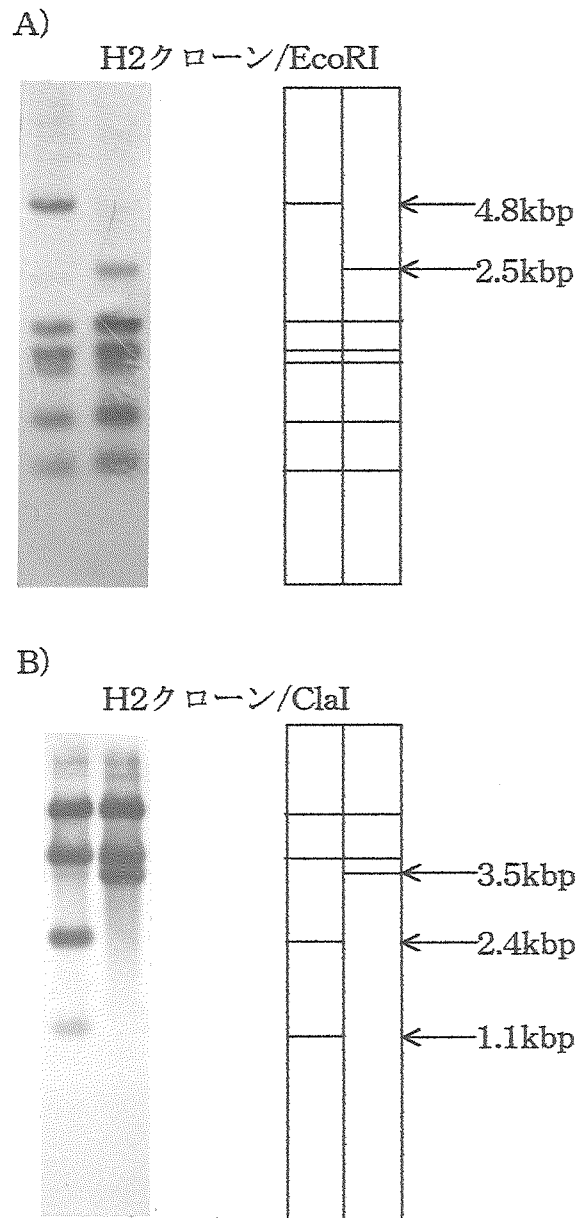


図5-4 ダイズにおける「H2クローン」をプローブとし、EcoRIとClaIを制限酵素として用いたサザンハイブリダイゼーションで観察されたRFLP像(左)とその模式図(右)

A)EcoRI断片で観察されたRFLP像とその模式図

B)ClaI断片で観察された各RFLP像とその模式図

左から順に、「坂本早生」(cp I 型)、「大谷地 2 号」(cp III 型)を示した。

cp II 型は、EcoRI断片で4.8kbpのバンドに、ClaI断片で3.5kbpのバンドにそれぞれシグナルを示すcpDNA型である(本文を参照)。

表5-2 ダイズ在来種における「H2クローン」を
プローブとしたRFLP分析で、各制限酵素の
断片長に観察された多型の組合せと各組合せ
に類別された系統数

EcoRI	ClaI		計
	3.5kbp	1.1kbp+2.4kb	
4.8kbp	35	221*	256*
2.5kbp	39*	0	39*
計	74*	221*	295*

*: 供試した294系統のうち、1系統で系統内に2型が認められたので、計295系統となった。

全DNA標本は、*atp6*をプローブとしたRFLP分析で、BamHIにより分解した場合に1)5.0kbpの断片、2)5.0kbpと2.4kbpの2コピーの断片、3)5.0kbpと2.9kbpの2コピーの断片、4)5.0kbpと12.0kbpの2コピーの断片にシグナルを示す4つのRFLP像が観察された(図5-5)。

また、全DNA標本は、*cox II*をプローブとしたRFLP分析で、HindIIIにより分解した場合に1)1.6kbpの断片、2)3.5kbpの断片、3)8.5kbpと10.0kbpの2コピーの断片に明確なシグナルを示す3つのRFLP像が、BamHIにより分解した場合に1)5.8kbpの断片、2)8.1kbpの断片、3)11.0kbpと15.0kbpの2コピーの断片に明確なシグナルを示す3つのRFLP像がそれぞれ観察された(図5-6)。これらの組合せから、*cox II*をプローブとした場合に9種の型が想定されたが、供試した系統は、1)1.6kbpのHindIII断片および5.8kbpのBamHI断片を有する型、2)3.5kbpのHindIII断片および8.1kbpのBamHI断片を有する型、3)8.5kbpと10.0kbpのHindIII断片と11.0kbpと15.0kbpのBamHI断片を有する型のいずれかを有していた。

長谷川(1991)、久野(1992)および福士ら(1995)は、本解析と同じプローブと制限酵素の組合せにより、ダイズとツルマメのmtDNAに21種類のゲノム型を認めているが、本研究で*cox II*/BamHIのプローブ/制限酵素の組合せにおいてシグナルが観察された5.8kbpおよび8.1kbpの断片は、彼らの報告では認められなかった。しかし、本研究のマーカーとして使用したmtDNAがI b型およびIVa型のツルマメは、*cox II*/BamHIのサザンハイブリダイゼーションで、ダイズと同じ5.8kbpおよび8.1kbpの断片にシグナルが観察されたことから、長谷川(1991)がツルマメで観察した*cox II*/BamHIのRFLP像のうち、6.2kbpおよび7.6kbpの断片は、本研究で認められた5.8kbpおよび8.1kbpの断片に相当していると考えられた。また、加藤

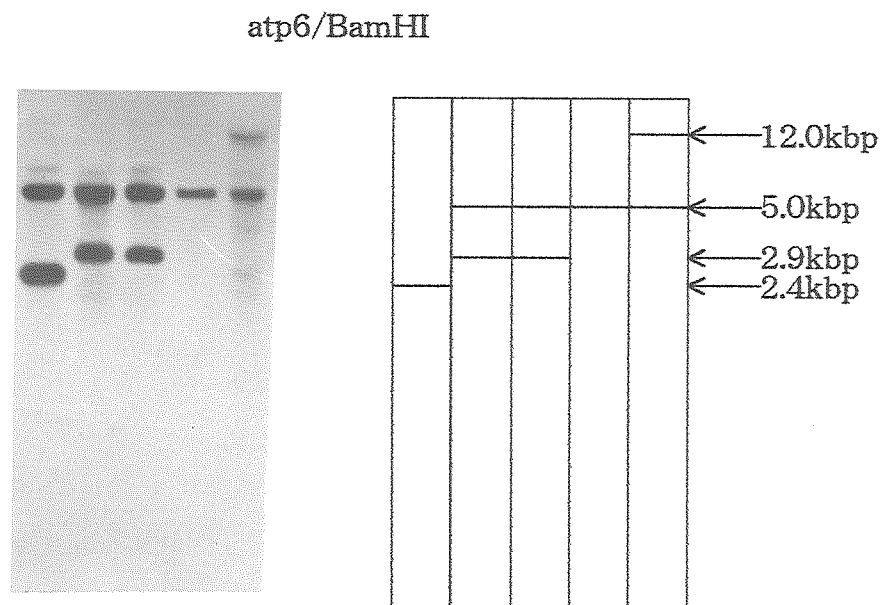


図5-5 ダイズにおける *atp6* をプローブとし、BamHI を制限酵素として用いたサザンハイブリダイゼーションのRFLP像(左)とその模式図(右)
 左から順に「PATTEN」(mtIVa型)、「赤鼠目大豆」(mtIVb型)、「白眉大豆」(mtIVb型)、「天草」(mtIVc型)、「南部」(mt I b型)を示す。
 括弧内はmtDNAを示す(本文を参照)。

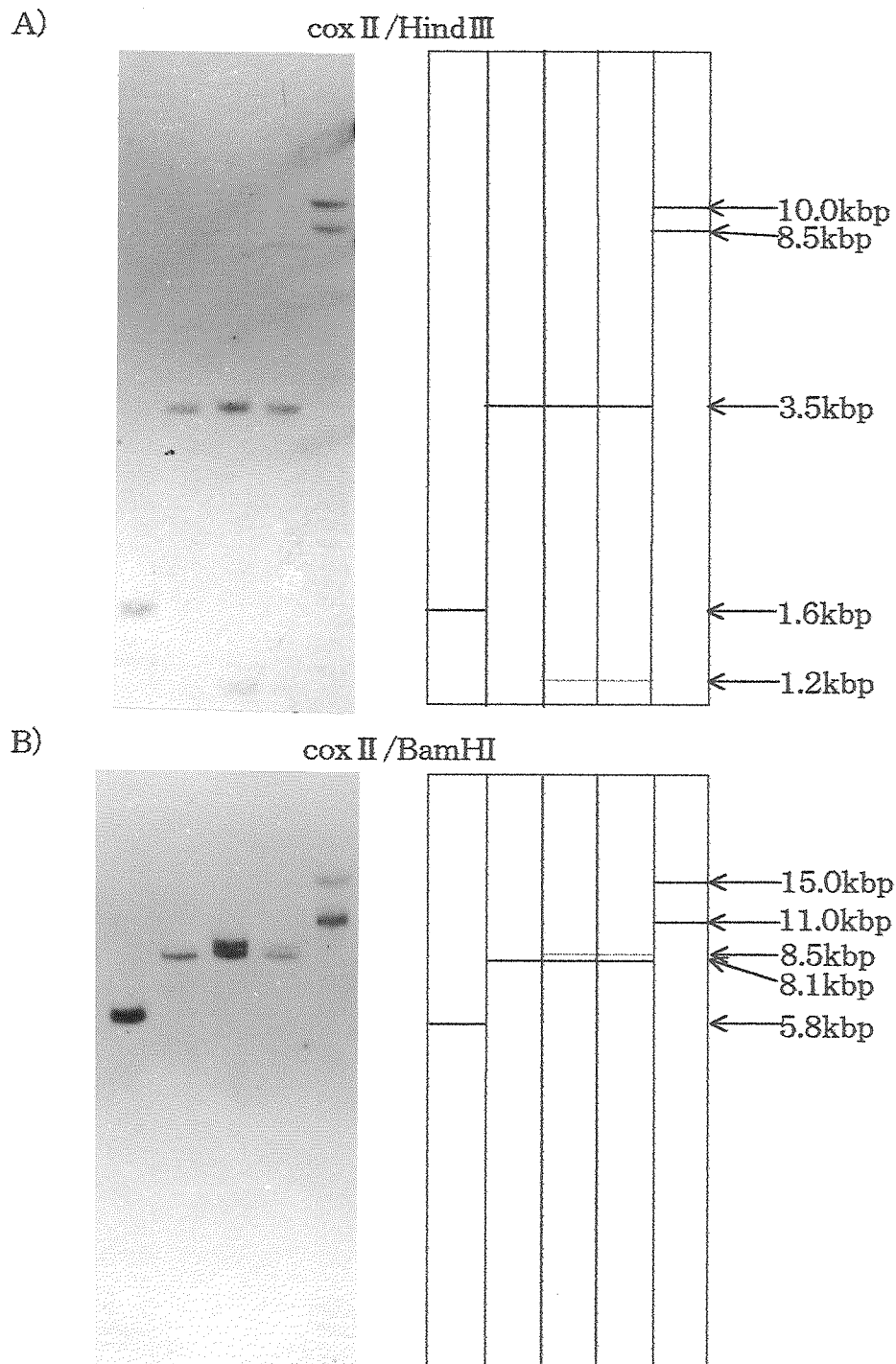


図5-6 ダイズにおける*cox II*をプローブとし、*Hind*IIIと*Bam*HIを制限酵素として用いたサザンハイブリダイゼーションのRFLP像(左)とその模式図(右)

A)*Hind*III断片で観察されたRFLP像とその模式図

B)*Bam*HI断片で観察されたRFLP像とその模式図

点線は、系統間で濃度の異なるバンドを示す。

左から順に「秋田大豆」(*mt I b*型)、「北京黒」(*mt IVa*型)、「白大豆」(*mt IVb*型)「春日在来」(*mt IVc*型)、「出来過1号」(*mt VI*型)を示す(本文を参照)。

(1993)がI b型のツルマメとIVb型のダイズのmtDNAからクローン化した *cox II* 近傍のDNA配列では、*cox II* を挟むBamHI認識部位間の長さが、本研究で*cox II*/BamHIのRFLP像で観察した5.8kbpおよび8.1kbpに相当していた。

本研究では、2プローブと2制限酵素の組合せで観察されたRFLP像から、ダイズのmtDNAは、1)*atp6*/BamHIで5.0kbpと12.0kbp、*cox II*/BamHIで5.8kbp、*cox II*/HindⅢで1.6kbp、2)*atp6*/BamHIで5.0kbpと2.4kbp、*cox II*/HindⅢで3.5kbp、*cox II*/BamHIで8.1kbp、3)*atp6*/BamHIで5.0kbpと2.9kbp、*cox II*/HindⅢで3.5kbp、*cox II*/BamHIで8.1kbp、4)*atp6*/BamHIで5.0kbp、*cox II*/HindⅢで3.5kbp、*cox II*/BamHIで8.1kbp、5)*atp6*/BamHIで5.0kbp、*cox II*/HindⅢで8.5kbpと10.0kbp、*cox II*/BamHIで11.0kbpと15.0kbpの断片を有する5つの型に類別された(表5-4)。これらは、長谷川(1991)、久野(1992)および福士ら(1995)が報告したI b型、IVa型、IVb型、IVc型、VI型に相当すると考えられた。これらのゲノム型は、cpDNA型と区別するために、各型の頭にミトコンドリアを示す「mt」をつけて、mtI b型、mtIVa型、mtIVb型、mtIVc型、mtVI型と表記した。また、cpDNAにおいて系統内多型の認められた中国の「永康鉄漿豆」は、mtDNAにおいてもmtI b型とmtIVb型の2つが観察された。

さらに、mtIVa型、mtIVbおよびmtIVc型を有する系統では、*cox II* をプローブとした場合に系統間で濃度の異なる断片(HindⅢで1.2kbpの断片、BamHIで8.5kbpの断片)においてもシグナルが観察された(図5-6および図5-7)。これらは、その大きさからツルマメで認められたmtDNAのⅢ型(加藤1993)に相当するRFLP像であると考えられた。このような2種類のmtDNAに由来すると考えられたRFLP像は、個体別に抽出した全DNA標本においても認められたことから、ダイズのミトコンドリアでは、少なく

表5-3 ダイズ在来種における *cox II* と *atp6* をプローブとし、BamHIとHindIIIで分解したRFLP分析で、各プローブに観察された断片長多型の組合せと各組合せに類別された系統数

プローブ		<i>cox II</i>			計
制限酵素	HindIII	1.6kbp	3.5kbp	8.5kbp+10kb	
	BamHI	5.8kbp	8.1kbp	11kbp+15kb	
BamHI					計
<i>atp6</i>	5.0kbp	0	48	12	60
	5.0kbp+2.4kbp	0	11	0	11
	5.0kbp+2.9kbp	0	208*	0	208*
	5.0kbp+12kbp	16*	0	0	16*
計		16*	267*	12	295*

*: 供試した294系統のうち、1系統で系統内に2型が認められたので、計295系統となった。

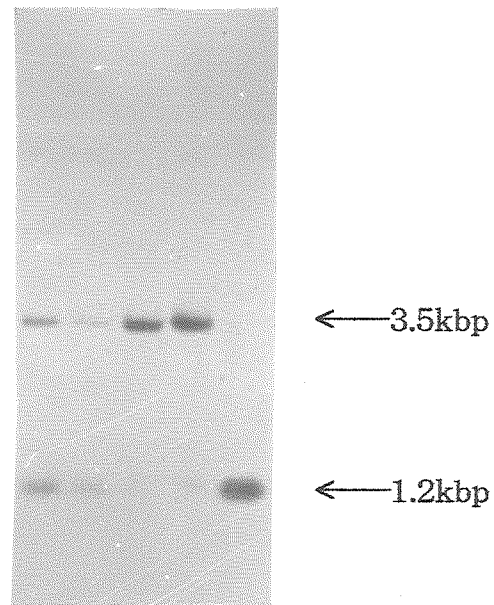


図5-7 cox II/HindIIIのプローブ/制限酵素の組合せにおける
ダイズのmtIVb型に観察されたRFLP像の多型
左から順に、「八白木豆(山形)」、「玉揃」、「平石」、
「新営大豆」、「COEONGU」を示す。

とも2種のサブリモン(Fauron and Havlik 1989)が存在すると考えられた。

3)細胞質ゲノム型の多型と地域的分化

cpDNA型とmtDNA型の組合せにより求めた細胞質ゲノム型および各細胞質ゲノム型に類別された系統数を表5-4に示した。この結果から、ダイズの細胞質ゲノムは、cpDNA型とmtDNA型の組合せにより、cp I +mtIVb型、cp I +mtIVc型、cp II +mtIVb型、cp II +mtIVc型、cp III +mt I b型、cp III +mtIVa型およびcp III +mtVI型の7つの型に類別されることが明らかとなった。

各細胞質ゲノム型で観察された系統数を比較したところ、cp I +mtIVb型が、供試系統の約70%で認められたのに対し、他のゲノム型の頻度は10%以下であった。特に、cpDNAで頻度の低かったcp III型を有した系統の全てが、mtDNAにおいても稀な型であるmt I b型、mtIVa型およびmtVI型を有したことが特徴的であった。

各細胞質ゲノム型に属する系統数の地域間の変動を表5-5に示した。主要な細胞質ゲノム型であったcp I +mtIVb型は、全ての地域で最も高い頻度で観察されたが、他の細胞質ゲノム型の多くは、以下に示すように地域分布に顕著な差異が認められた。

cp I +mtIVc型：北日本、四国および九州の夏ダイズ型で観察されたが、中国、朝鮮半島および台湾では観察されなかった。特に、北海道でこの細胞質ゲノム型を有する5系統のうち4系統は、第3章で求めた20アイソザイム品種群のうち、C₁品種群に類別された。

cp II +mtIVb型：本州北部、本州中部、中国南部および朝鮮半島で観察され、特定の地域への集中は認められなかった。この細胞質ゲノム型を有す

表5-4 ダイズ在来種におけるcpDNAとmtDNAのゲノム型の
組合せから類別した細胞質ゲノム型と各細胞質ゲノム型
で観察された系統数

ゲノム型	ミトコンドリア					計
	mt I b	mtIVa	mtIVb	mtIVc	mtVI	
葉緑体						
cp I	0	0	202*	19	0	221*
cp II	0	0	6	29	0	35
cp III	16*	11	0	0	12	39*
計	16*	11	208*	48	12	295*

*: 供試した294系統のうち、1系統で系統内に2型が認められた
ので、計295系統となった。

る系統は、生化学的標識に関しても変異しており、特定のアイソザイム品種群への偏りが認められなかった。

cp II +mtIVc型：北海道、四国、九州の夏ダイズ型および台湾を除く、多くの地域で認められ、特に中国で高い頻度で認められた。

cp III+mt I b型：北海道、本州北部、中国北部および中国南部で認められ、特定の地域への集中は認められなかった。北海道でこの細胞質ゲノム型を有する6系統のうち4系統は、F4品種群に類別されていた。

cp III+mtIVa型：中国北部、中国中部および朝鮮半島で認められたが、日本および台湾では、認められなかった。

cp III +mtVI型：本州、四国および九州の秋ダイズ型にそれぞれ認められたが、中国、朝鮮半島および台湾では認められなかった。この細胞質ゲノム型をもつ12系統のうち11系統は、G₂、G₃およびG₄品種群に類別されていた。

以上のことから、ダイズは、広範な地域で高い頻度で観察された主要な細胞質ゲノム型(cp I +mtIVb型)を有する系統群と低頻度で観察される細胞質ゲノム型を有する数種類の系統群に区別されることが明らかとなった。更に、ダイズの細胞質ゲノム型の分布には、地域特異性が認められ、主要な細胞質ゲノム型であるcp I +mtIVb型と約10%の頻度で認められたcp II +mtIVc型が広範な地域で、cp I +mtIVc型が日本の北部で、cp III+mtIVa型が朝鮮半島または中国で、cp III +mtVI型が日本の南部でそれぞれ認められ、cp II +mtIVb型とcp III+mt I b型は、不連続な特定の地域に認められた。

福士(1995および未発表)は、日本と韓国のツルマメにおいて、本研究で認めた細胞質ゲノム型のうち、cp II +mtIVb型が韓国で、cp III+mt I b型が日本の北部で、cp III+mtIVa型が日本の北部と韓国でそれぞれ高い頻度で観察されることを明らかにしている。このように、日本と韓国のツルマメに

表5-5 九州を除く日本の6地域、中国の3地域、朝鮮半島、台湾および九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型における各細胞質ゲノムに類別された系統数

		細胞質ゲノム型							
		cpDNA	cp I	cp I	cp II	cp II	cp III	cp III	cp III
		mtDNA	mtIVb	mtIVc	mtIVb	mtIVc	mt I b	mtIVa	mtVI
地域および栽培型									
日本	北海道		7	5	0	0	6	0	0
	本州北部		30	3	1	3	7	0	1
	本州中部		34	3	1	5	0	0	2
	本州南部		17	0	0	1	0	0	3
	四国		3	2	0	0	0	0	2
	九州 夏ダイズ型		19	6	0	0	0	0	0
	秋ダイズ型		8	0	0	1	0	0	4
	不明		2	0	0	0	0	0	0
	沖縄		3	0	0	1	0	0	0
	計		123	19	2	11	13	0	12
中国	北部		18	0	1	6	1	4	0
	中部		12	0	0	2	0	4	0
	南部		16*	0	1	7	2*	0	0
	不明		3	0	0	1	0	0	0
	計		49*	0	2	16	3*	8	0
朝鮮半島			24	0	2	2	0	3	0
台湾			6	0	0	0	0	0	0

*: 中国の1系統では、系統内に2つの細胞質ゲノム型が認められた。

におけるこれら3つの細胞質ゲノム型の地域分布は、cpⅢ+mtⅣa型が日本で頻度が高いことを除き、本研究で供試したダイズ在来種における地域分布とほぼ一致していた。更に、cpⅡ+mtⅣb型とcpⅢ+mtⅠb型は、本解析で供試した系統において観察された頻度が低かったこと、複数の地域に断続的に認められたことより、ツルマメからダイズに導入された細胞質ゲノム型である可能性が考えられた。特に、cpⅢ+mtⅠb型は、ダイズで主要な細胞質ゲノム型であるcpⅠ+mtⅣb型とcpDNAとmtDNAの両ゲノム型で異なっていたことから、ツルマメに由来した可能性が高いと考えられたが、*Soja*亜属における細胞質ゲノム型の分化過程が明らかとなっていない現段階では、この仮説を検証することは不可能であり、今後、cpDNAとmtDNAの構造変異を詳細に解析する必要がある。

第6章 総合考察

本研究は、日本、中国、朝鮮半島および台湾のダイズ在来種を供試して、生化学的標識、形質および細胞質ゲノムの多型を支配する遺伝的情報をもとに、ダイズの起源地である東アジアにおけるダイズの系統分化およびその起源と伝播過程について検討した。

日本、中国、朝鮮半島および台湾のダイズ在来種は、生化学的標識を支配する16遺伝子座より求めた遺伝的多様性を表す指標(N_a , P_{99} , H)が、他の植物種と比較して高く、また、日本の7地域間の遺伝子分化係数(G_{ST})は、島本(1994)の結果より算出した同地域におけるツルマメの値に匹敵した。このことから、東アジアのダイズ在来種には、多様な変異が存在し、地域的分化が生じていることが示された。ダイズの地域的分化は、これら生化学的標識の遺伝子座の対立遺伝子頻度に基づく解析に加え、生化学的標識の遺伝子型組合せに関する20のアイソザイム品種群の頻度、10形質の表現型の頻度、形質の連関関係においても認められた。これらのうち、アイソザイム品種群の頻度と表現型の連関関係は、地域間で顕著に異なり、これらの解析結果では、生化学的標識の関与遺伝子座より求めた標準遺伝距離の極めて小さかった本州北部と本州中部間においても差異が認められた。このことから、各地域において、特定の遺伝子型組合せを有するダイズが存在していることが示された。

福井・荒井(1951)、永田(1949, 1950)、Hymowitz and Kaizuma (1979)の指摘した九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型の分化は、本研究における生化学的標識を支配する4遺伝子座(*Dial*, *Enp*, *Est1*, *Ti*)の対立遺伝子頻度とアイソザイム品種群の頻度においても認められた。特に、九州の夏ダイズ型を特徴づけたアイソザイム品種群であるA₁品種群が、中国では観察されず、韓国においても極めて頻度が低かった。このことから、九州の

夏ダイズ型が、Nagata(1959)が示したように中国から直接または台湾を通じて日本に導入されたものではなく、日本で確立した系統群であると考えられた。また、日本の7地域間における標準遺伝距離とアイソザイム品種群の頻度の差異から、日本のダイズ在来種は、1)北海道、2)本州北部、3)本州中部、4)本州南部、四国と九州の秋ダイズ型、5)九州の夏ダイズ型、6)沖縄の6群に類別されたが、この結果は、永田(1949, 1950, 1959)が類別した夏ダイズ型(日本短季作物傾斜品種系)と秋ダイズ型(日本全季作物傾斜品種系)の地域分布の結果と適合しており、日本ダイズの系統分化が、夏ダイズ型と秋ダイズ型の分化に密接に関連していることが明らかとなった。

中国は、日本に比べ生化学的標識の遺伝的多様性や形質の表現型多様性が高く、多様な系統が存在すると考えられた。また、日本と比較して、遺伝子分化係数(G_{ST})が低く、アイソザイム品種群の頻度と形質の連関関係の地域間差異も小さかったことから、中国は地域内の遺伝的多様性が高いことが示された。しかし、本研究で供試した中国の系統と地域の数、日本に比べ少なかったことから、中国におけるダイズの地域的分化を詳細に検討するには、より多くの系統数と地域間で検討する必要があると考えられた。中国中部では、生化学的標識の遺伝的多様性を示す3つの指標(N_a 、 P_{99} 、 H)のうち P_{99} および H が最も大きく、10形質のうち7形質(種皮色、臍の色、粒形、開花期、花色、毛茸色、伸育型)の多様性指数が大きかったことから、遺伝的に多様な地域であることが明らかとなった。

ダイズの起源および伝播を検討するうえで、ツルマメがしばしばダイズの栽培されている傍らに生育していることから、ツルマメからの遺伝子流動を考慮する必要がある。ダイズとツルマメはともに自殖性であるが、遺伝的障壁は存在せず、容易に交雑種子が得られる。ダイズにおける雄性不稔系統の結実は、花粉親との距離に応じて1.4%から8.4%の頻度で生じる

ことか報告されており(Poehlman 1987)、低頻度ながら他個体への花粉の移動が生じている。従って、ツルマメとダイズ間で、交雑による遺伝子の交流が生じている可能性がある。本研究で供試した在来種では、種子重が10g以下で主茎が細く、蔓性を示すツルマメと類似した系統が少数ながら認められたこと、ダイズで頻度の低い2つの細胞質ゲノム型(cp II+mtIVb型、cp III+mt I b型)を有する系統が特定の地域で断続的に分布し、同じ細胞質ゲノム型をもつツルマメの分布と一致したことからダイズとツルマメ間の浸透交雑が考えられた。

しかし、現在栽培されているほとんどの系統は、ツルマメと形態が大きく異なり、また、ツルマメのもつ蔓性、硬実性および極小粒等の栽培に不適格な性質の多くは優性遺伝することから、近年におけるダイズとツルマメの一代雑種は、蔓性で極小粒型の系統が栽培されている南方地域を除き、栽培過程で淘汰されると思われる。このことから、ツルマメからダイズへの遺伝子の移入が、現在の形態を有するダイズが進化した以前に集中したと考えられた。杉山(1992)は、僧鑑真が753年に中国から日本に持ち込んだと考えられている正倉院に保存されているダイズの種子形態が、黒または茶の種皮色を有し、100粒重が7.9gの扁平な粒形であることを報告しており、少なくとも8世紀以前には、ダイズとツルマメ間の浸透交雑が生じていたものと思われる。

ツルマメは、タンパク質含量が高く、必須な脂肪酸であるリノレイン酸を多く含んでいることから(金子 1995)、食生活の貧しい古代に有用な栄養源として、人間に利用されていたことが考えられる。実際に、静岡県の上呂遺跡(紀元ごろ)では、ツルマメの出土が認められている(杉山 1992)。このことは、ダイズの細胞質ゲノムに7つの型が認められたことと合わせて、ツルマメからダイズへの進化が複数の地域で生じた可能性を示唆した。し

かし、1)調査したダイズの多くが一つの細胞質ゲノム型(cp I +mtIVb型)に集中したこと、2)この細胞質ゲノム型がツルマメで1%以下の頻度であったこと(福士ら 1995)、3)各地域間における生化学的標識の遺伝子座の標準遺伝距離がその地理的距離の関係とほぼ等しかったことから現在栽培されているダイズは一つの起源地に由来したと考えられ、各地域で利用されたと考えられるツルマメは、ダイズが伝播した過程で淘汰されたと思われる。

以上のことから、Vavilov (1926)の変異中心説に従い、遺伝的多様性が高かった中国中部を起源地とし、ダイズの栽培化と伝播に3つの段階があったことを推定した。

(1)ダイズの栽培化が生じる以前において、各地域でツルマメの積極的な利用、あるいは栽培がなされていた。

(2)中国中部でダイズの栽培化が生じ、各地域に伝播した。また、栽培化および伝播した初期において、ダイズとツルマメの明確な区別がなされず、場合によっては両者の混合集団が利用されていたと考えられ、相互利用やダイズとツルマメ間の遺伝子流動が生じていた。

(3)ダイズの伝播は、数度にわたり行われ、各時代ごとに新旧の系統群の混合、交雑および世代交代が生じた。

(3)の過程は、生化学的標識を支配する遺伝子座における標準遺伝距離が日本と朝鮮半島および台湾のダイズが比較的小さかったことを根拠としている。このことは、日本ダイズがNagata(1959)、Hymowitz and Kaizuma(1981)が示した伝播経路のうち朝鮮半島を通じた経路と、杉山(1992)が示したイネ(*Oryza sativa*)、カブ(*Brassica rapa*)、オオムギ(*Hordeum vulgare*)等とともに、照葉樹林文化(佐々木 1993)の伝播とともに中国または台湾から導入されたという仮説を支持した。しかし、現在栽培されている日本と台湾の系統は、種子重、粒形、開花期および伸育型

において大きく異なっていたことから、台湾から伝播した系統群(現在の台湾系統と類似した表現型をもつ系統群)は、朝鮮半島を通じて伝播した系統群と混合し、やがて淘汰されたものと考えられる。また、前述したように、8世紀以前のダイズも、ツルマメに類似したいくつかの表現型が存在していると考えられ、日本において現在の大粒および有限伸育型の系統群が確立するまでには、世代交代を繰り返し、その後、表現型組合せに関する分化が生じ、特定の遺伝子型組合せをもつ系統群が分化したと考えられる。

変異の中心地が中国中部であったことから、本研究ではNagata(1959)、Hymowitz (1970)および王(1991)が提唱したダイズの起源が黄河流域にあるという説を支持し、伝播過程を推定した。しかし、照葉樹林文化とともにダイズが伝播した可能性も考えられ、杉山(1992)が考察したように、中国北部は第二次の変異の中心地であり、栽培化が中国南部で確立した可能性も否定できない。これら起源地の推定には、同じ照葉樹林文化圏に属する東南アジア、インド北部のダイズ在来種の解析および同地域と中国のツルマメ集団の解析が必要であろう。

本論文で示された結果は、今後、東アジアのダイズ在来種を遺伝資源として保存、評価および利用する場合において有益な情報であろう。また、ダイズの遺伝的分化には、一次ジンプールを共有するツルマメが関与している可能性が示され、今後、ツルマメを含めた*Soja*亜属における核ゲノムと細胞質ゲノムの詳細な解析が、ダイズの起源と伝播過程についての有益な情報をもたらすものと期待される。

摘 要

本研究は、ダイズ(*Glycine max* L. Merr.)の起源地である東アジアにおける在来種の系統分化とその伝播過程を検討するため、日本、中国、朝鮮半島および台湾のダイズ在来種について、生化学的標識(1218系統)、形質(1214から858系統)および細胞質ゲノム型(294系統)の多型と遺伝的分化を解析した。以下に要約を記す。

1) 9酵素と1つの種子タンパク質を支配する16遺伝子座の遺伝子型を調査した結果、既に同定されている36個の対立遺伝子と本研究で新しく認められた4種のザイモグラム型より推定した3つの対立遺伝子(*Dia1-c*、*Idh2-c*、*Idh2-d(n)*)を含む、5つの推定した対立遺伝子が観察された。これらの対立遺伝子の頻度に基づく、16遺伝子座のNei(1973)の遺伝子多様度は、0.264の値を示し、Hamrick and Godt(1990)が報告した高等植物473種の平均値($H=0.149$)よりも大きく、ダイズに高い遺伝的多様性が存在することが示された。

日本、中国、朝鮮半島および台湾の4地域間で、16遺伝子座中14遺伝子座に対立遺伝子頻度の差異が認められた。3遺伝子座(*Enp*、*Est1*、*Ti*)は、日本と他の3地域の間で対立遺伝子頻度が大きく異なった。また、日本の7地域では、北海道と他の地域間が3遺伝子座(*Aco1*、*Idh1*、*Pgm1*)で、沖縄と他の地域間が3遺伝子座(*Enp*、*Idh2*、*Mpi*)で、中国の3地域では、北部と他の地域間が2遺伝子座(*Aco3*、*Idh2*)で対立遺伝子頻度がそれぞれ大きく異なった。各遺伝子座の対立遺伝子頻度に基づく、遺伝子分化係数(G_{ST})は、日本の7地域間に比べ、中国の3地域間で小さく、中国において地域内の遺伝的多様性が高いことを示した。

地域間における16遺伝子座の対立遺伝子頻度に基づく根井(1990)の標準遺伝距離は、地理的距離と類似した関係が認められたが、九州では、本州北部と本州中部との標準遺伝距離が小さかった。沖縄および北海道は、日本の他の地域との遺伝距離が大きく、これらの地域における特異的な系統分化が示唆された。

クラスター分析により類別した特定の遺伝子型組合せをもつ20種類のアイソザイム品種群の頻度は、明確な地域間差異が認められた。これらの地域間差異は、標準遺伝距離の極めて小さかった本州中部と本州北部間においても認められた。

九州の夏ダイズ型と秋ダイズ型間では、*Dia1*、*Enp*、*Est1*および*Ti*の4遺伝子座における G_{ST} が大きく、夏ダイズ型で*Dia1-b*、*Enp-b*、*Est1-a*および*Ti-b*、秋ダイズ型で*Dia1-a*、*Enp-a*、*Est1-b*および*Ti-a*がそれぞれ優占した。また、九州の夏ダイズ型では、他の地域では稀なアイソザイム品種群が高頻度で観察されたが、九州の秋ダイズ型は、九州、沖縄と北海道を除く日本の他の地域との標準遺伝距離が小さく、日本における主要な系統群であると考えられた。

2)日本、中国、朝鮮半島および台湾の4地域で種子形態に関する5形質と開花期、花色、毛茸色、葉型および伸育型の10形質の表現型の頻度を比較した。表現型多様性が低かった鞍掛と葉型には、地域による特徴が認められなかった。

粒大および伸育型では、日本と朝鮮半島で中粒型と有限型が、中国と台湾で小粒型と無限型が高い頻度で観察された。種皮色は、全てに地域で黄色が優占したが、中国中部、中国南部と台湾では黒色の頻度が高かった。臍の色、花色および毛茸色は、多くの地域で表現型が多型的であった。粒

形と開花期は、北方地域で円型と早生型が、南方地域で楕円型と晩生型が高い頻度で観察された。

各形質の表現型多様性は、日本で3形質が、中国で5形質が、韓国で2形質が、台湾で1形質がそれぞれ高く、生化学的標識の遺伝的多様性の結果と適合していた。また、生化学的標識の遺伝子多様性が最も高かった中国中部では、10形質中7形質で高い表現型多様性が認められた。

2形質間の連関は、共通の遺伝子座が関与する着色に関する形質間(種皮色、鞍掛、臍の色、花色、毛茸色)に加え、他の形質間においても認められた。これら連関の組合せには、地域特異性が認められ、各地域に特異的な表現型組合せをもつ系統群の分化が考えられた。日本では、その傾向が顕著であり、生化学的標識の遺伝子座における標準遺伝距離が極めて小さかった本州北部と本州中部においても連関が生じた形質組合せが大きく異なった。また中国の3地域では、連関の生じた形質の数が少なく、多様な系統が独立して分化していると考えられた。

3)ダイズの細胞質ゲノムは、cpDNAとmtDNAのRFLP分析により、7つの型に類別された。これらの細胞質ゲノム型のうち、cp I +mtIVb型は、全体の70%を占め、全ての地域の優占型であり、ダイズにおける主要な細胞質ゲノム型であった。他の6つの細胞質ゲノム型のうち4つは、特定の地域に分布が集中しており、cp I +mtIVc型が日本の北部で、cp III +mtIVa型が朝鮮半島と中国で、cp III +mtVI型が日本の南部でそれぞれ観察された。cp II +mtIVb型とcp III +mt I b型は、これらの細胞質ゲノム型を有するツルマメが分布する地域で観察され、ツルマメより浸透導入されたと考えられた。

4)以上の結果から、ダイズの起源と伝播過程を考察した。生化学的標識の遺伝的多様性と10形質の表現型多様性が高かった中国中部を起源として、生化学的標識の遺伝子座における標準遺伝距離の結果に従い、主に朝鮮半島から日本に伝播したものと考えられた。その後、特定の表現型組合せを有する系統群が分化する過程を通じ、遺伝子型組合せに関する分化が生じたと考えられた。細胞質ゲノム型の解析から、ツルマメがダイズの系統分化に影響を及ぼしたと考えられた。

謝辞

本研究の遂行と取りまとめにあたり終始懇切なる御指導を賜った北海道大学農学部教授島本義也博士に、心より感謝の意を表します。また、本論文において校閲の労をとられた北海道大学農学部教授中世古公男博士、北海道大学農学部教授佐野芳雄博士、北海道大学農学部助教授阿部純博士に厚く御礼を申し上げます。北海道大学農学部教授島本義也博士、北海道大学農学部助教授阿部純博士には、学部生時代より現在に至るまで実験の計画、解析にあたり多大なる御指導を承ったことを重ねて感謝いたします。北海道大学農学部教授中嶋博 博士、北海道大学農学部教授三上哲夫博士、北海道大学農学部助手大原雅博士には終始変わらず暖かい御指導と御助言を頂いたことを感謝いたします。本研究の遂行するにあたり、材料を御提供して頂いた農林水産省農業生物資源研究所、農林水産省熱帯農業研究センター、台湾国立中興大学の曾富生博士、山形大学農学部の笹原健夫博士、北海道立十勝農業試験場、雪印種苗株式会社に感謝の意を表します。

本研究の遂行するにあたり、さらに多くの人のご協力を承りました。竹田紀子女史には、事務的な手続きを始めとして、学生生活に関わる細かなことまで、終始、御助言と御援助を頂いたことを感謝いたします。三沢为一氏、稲垣千佳子女史には、私一人では至らないことが多かった圃場の管理に御尽力を頂いたことを感謝いたします。長谷川明彦さん(現ホクレン農業研究連合会勤務)と加藤澄恵さんには、細胞質ゲノム型の分析法を指導して頂いたことに感謝します。金子めぐみさん(現北海道立農業普及所勤務)と福士泰史君には、様々な実験、解析の手伝いを快く引き受けて頂いたことに感謝します。その他、今まで共に研究を行ってきた植物遺伝資源学研究

室(旧工芸作物学講座)の皆様や学会にて御意見、御助言を頂きました皆様に感謝いたします。

最後になりましたが、著者は日本学術振興会の平成4年度特別研究員(平成7年3月まで採用)として本研究を推進することができました。ここに記してご厚志に対する謝辞としたい。

引用文献

阿部 純・平田聡之・島本義也 1993. 早生ダイズの長日不感受性の変異
育雑. 43(別1): 267.

Abe, J., M. Ohara and Y. Shimamoto 1992. New electrophoretic mobility
variants observed in wild soybean (*Glycine soja*) distributed in Japan
and Korea. Soybean genet. Newsl. 19: 63-72.

安藤利夫 1993. ツルマメの自然集団に於ける遺伝分化の解析
北海道大学農学部農学科 卒業論文

番場宏治・高橋信夫・岡部昭典 1989. だいず保存品種の一次特性調査
In: 農林水産省東北農業試験場作物開発部大豆育種研究室・成分育種法研究室
平成元年度 大豆試験成績書 pp.153-163.

番場宏治・高橋信夫・岡部昭典 1990. 一次特性調査
In: 農林水産省東北農業試験場作物開発部大豆育種研究室・成分育種法研究室
平成2年度 大豆試験成績書 pp.164-185.

番場宏治・岡部昭典・高橋浩司・佐々木康司・鎌田精孝・佐藤英次・佐藤光晴・
高橋明浩・佐藤康孝 1991. 一次特性調査
In: 農林水産省東北農業試験場作物開発部大豆育種研究室・成分育種法研究室
平成3年度 大豆試験成績書 pp.155-174.

番場宏治・中村茂樹・高橋浩司・伊藤美輪子・佐々木康司・鎌田精孝
・佐藤英次・佐藤光晴・高橋明浩・佐藤康孝・金 皓瑛 1992.
大豆遺伝資源の特性評価 In: 農林水産省東北農業試験場作物開発部
大豆育種研究室・成分育種法研究室 平成4年度 大豆試験成績書 pp.115-125.

Bernard, R. L. 1971. Two major genes for time of flowering and maturity in
soybeans. Crop Sci. 11: 242-244.

Bernard, R. L. 1972. Two genes affecting stem termination in soybeans.
Crop Sci. 12: 235-239.

- Bernard, R. L. 1975. The inheritance of near-gray pubescence color. Soybean Genet. Newsl. 2: 28-30.
- Bernard, R. L. and L. M. Weiss 1973. Qualitative genetics
In: B. E. Caldwell (ed.) Soybeans : Improvement, Production, and Uses. ASA, CSSA and SSSA, Madison, Wisconsin pp.117-154.
- Brown A. H. D. 1989. Core collections : a practical approach to genetic resources management. Genome 31: 818-824.
- Buzzell, R. I. 1988. Soybean Genetics Committee Report - February 1988 minutes of meeting. Soybean Genet. Newsl. 15: 2-8.
- Buzzell, R. I., R. L. Buttery and R. L. Bernard 1977. Inheritance and linkage of a magenta flower gene in soybeans. Can. J. Genet. Cytol. 19: 749-751.
- Buzzell, R. I. and H. D. Voldeng 1988. Inheritance of insensitivity to long daylength. Soybean Genet. Newsl. 7: 26-29.
- Bult, C. J. and Y. T. Kiang 1989. Inheritance and genetic linkage tests of an esterase locus in the cultivated soybean, *Glycine max*. J. Hered. 80: 82-85.
- Buttery, B. R. and R. I. Buzzell 1976. Flavonol glycoside gene and photosynthesis in soybeans. Crop Sci. 16: 547-550.
- Cardy, B. J. and W. D. Beversdolf 1984. Identification of soybean cultivars using isoenzyme electrophoresis. Seed Sci. & Technol. 12: 943-954.
- Chiang, Y. C. and Y. T. Kiang 1988. Genetic analysis of mannose-6-phosphate isomerase in soybean. Genome 30: 808-811.
- 陳日斗・井之上 準・松本重男 1982. 韓国のダイズ品種における粒重、生態型および伸育型の変異について 日作紀. 51: 276-280.

- Close, P. S., R. C. Shoemaker and P. Keim 1989. Distribution of restriction site polymorphism within the chloroplast genome of the genus *Glycine*, subgenus *Soja*. Theor. Appl. Genet. 77: 768-776.
- Corriveau, J. L. and A. W. Coleman 1988. Cytological evidence for maternal inheritance of plastid DNA in the genus *Glycine* subgenera *Glycine* and *Soja*. Soybean Genet. Newsl. 15: 89-92.
- Domingo, W. E. 1945. Inheritance of number of seeds per pod and leaflet shape in the soybean. J. Agric. Res. 70: 251-268.
- Doong, J. Y. and Y. T. Kiang 1987a. Inheritance of soybean endopeptidase. Biochem. Genet. 25: 847-853.
- Doong, J. Y. and Y. T. Kiang 1987b. Inheritance of aconitase isozymes in soybean. Genome 29: 713-717.
- Doyle, J. J. 1988. 5S ribosomal gene variation in the soybean and its progenitor. Theor. Appl. Genet. 75: 621-624.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.
- Fauron, C. and M. Havlik 1989. The maize mitochondrial genome of the normal type and the cytoplasmic male sterile type T have very different organization. Curr. Genet. 15: 149-154.
- 福士泰史・山本 門・大原 雅・阿部 純・島本義也 1995. 日本および韓国に分布するツルマメの細胞質ゲノムの分化 育雑. 45(別1): 248.
- 福井重郎・荒井正雄 1951. 日本に於ける大豆品種の生態学的研究、(I)開花日数と結実日数による分類とその地理的分布 育雑. 1: 27-39.

- Fukuda, Y. 1933. Cyto-genetical studies on the wild and cultivated Manchurian soybeans (*Glycine max* L. Merr.). Japan J. Bot. 6: 489-506
- Gai, J. Y. 1984. Soybean cropping systems in south China. Topical Agri. Res. series, Japan 17: 73-79.
- Gorman, M. B., Y. T. Kiang, R. G. Palmer and Y. C. Chiang 1983. Inheritance of soybean electrophoretic variants. Soybean Genet. Newsl. 10: 67-84.
- Grabau, E. A., W. H. Davis, N. D. Phelps and B. G. Gegenbach 1992. Classification of soybean cultivars based on mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphisms. Crop Sci. 32: 271-274.
- Griffin, J. D. and R. G. Palmer 1987. Inheritance and linkage studies with five isozyme loci in soybean. Crop Sci. 27: 885-892.
- Hamrick, J. R. and M. J. W. Godt 1990. Allozyme diversity in plant species. In: A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler and B. S. Weir (ed.) Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources. Sinauer Associates, Sunderland, M. A. pp.43-46.
- Hartwing, E. E. and K. Hinson. 1962 Inheritance of flower color of soybeans. Crop Sci. 2: 152-153.
- Hatfield, P. M., R. C. Shoemaker and R. G. Palmer 1985. Maternal inheritance of chloroplast DNA within the genus *Glycine*, subgenus *Soja*. J. Hered. 76: 373-374.
- 長谷川 明彦 1991. ツルマメにおける系統分化に関する分子生物学的および生態遺伝学的研究 北海道大学農学部 修士論文
- Hildebrand, D. F., J. H. Orf and T. Himowitz 1980. Inheritance of an acid phosphatase and its linkage with the Kunitz-trypsin inhibitor in seed protein of soybeans. Crop Sci. 20: 83-85.

日野稔彦 1990. 豆類 大豆 *In*: 農業生物資源研究所 遺伝資源管理情報部 編集
植物遺伝資源配布目録 第3版 pp.639-756.

Hymowitz, T. 1970. On the domestication of the soybean.
Econ. Bot. 23: 408-421.

Hymowitz, T. and H. Hadley 1972. Inheritance of a trypsin inhibitor
variant in seed protein of soybeans. *Crop Sci.* 19: 107-109.

Hymowitz, T. and N. Kaizuma 1979. Dissemination of soybean (*Glycine*
max) seed protein electrophoresis profiles among Japanese cultivars.
Econ. Bot. 33: 311-319.

Hymowitz, T. and N. Kaizuma 1981. Soybean seed protein electrophoresis
profiles from 15 Asian countries or regions: Hypotheses on paths of
dissemination of soybeans from China. *Econ. Bot.* 35: 10-23.

Hymowitz, T. and R. J. Singh 1987. Taxonomy and speciation.
In: J. R. Wilcox (ed.) Soybeans : Improvement, Production, and Uses.
2nd. edition. ASA, CSSA and SSSA, Madison, Wisconsin. pp.143-179.

古谷義人 1975. 14. 食用作物 ダイズ *In*: 野口弥吉監修 農学大事典
1975増訂改版 pp.501-508.

異儀田 和典・岡部昭典 1984. だいず保存品種の一次特性調査
In: 農林水産省東北農業試験場作物第2部作物第3研究室・作物第4研究室
昭和59年度 大豆試験成績書 pp.157-162.

異儀田 和典・岡部昭典 1985. だいず保存品種の一次特性調査
In: 農林水産省東北農業試験場作物第2部作物第3研究室・作物第4研究室
昭和60年度 大豆試験成績書 pp.210-214.

- 異儀田 和典・酒井真次・岡部昭典 1986. だいず保存品種の一次特性調査
In: 農林水産省東北農業試験場作物第2部作物第3研究室・作物第4研究室
昭和61年度 大豆試験成績書 pp.152-164.
- 海妻矩彦・及川一也・三浦正弘 1980. ダイズの在来種群における *T*座対立遺伝子頻度分布の差異とその成因について 岩手大学農学部報告 15: 81-94.
- 海妻矩彦・喜田村 啓介 1980. 第2部 食用豆類の起源と分化 ダイズの起源と分化 育種学の最近の進歩 21: 43-52.
- 金子めぐみ 1995. ダイズ遺伝資源における子実成分の変異と遺伝
北海道大学農学部 修士論文
- 加藤澄恵 1993. 植物ミトコンドリアゲノム多型の進化的意義に関する研究
北海道大学農学部 修士論文
- Keim, P., R. C. Shoemaker and R. G. Palmar 1989. Restriction fragment length polymorphism diversity in soybean.
Theor. Appl. Genet. 77: 786-792.
- Kiang, Y. T. 1987. Mapping three loci on a soybean chromosome.
Crop Sci. 27: 44-46.
- Kiang, Y. T. and C. J. Bult 1991. Genetic and linkage analysis of aconitate hydratase variants in soybean. Crop Sci. 31: 322-325.
- Kiang, Y. T. and Y. C. Chiang 1985. Genetic linkage of biochemical and morphological trait in soybeans. Crop. Sci. 25:1025-1027.
- Kiang, Y. T. and Y. C. Chiang 1987. Genetic analysis of the *Lap2* locus in soybeans and tests of linkage with other loci. J. Hered. 78:131-132

- Kiang, Y. T. and M. B. Gorman 1983. Soybean *In*: S. D. Tanksley and T. J. Orton (ed.) Isozyme in plant genetics and breeding, Part B. Elsevier Science Publishing Co., New York pp.295-328.
- Kiang, Y. T. and M. B. Gorman 1985. Inheritance of NADP-active isocitrate dehydrogenase isozyme in soybeans. *J. Hered.* 76: 279-284.
- Kiang, Y. T., M. B. Gorman and Y. C. Chiang 1985. Genetic and linkage analysis of a leucine aminopeptidase in wild and cultivated soybean. *Crop Sci.* 25: 319-321.
- Kiang, Y. T., Y. C. Chiang, Y. J. H. Doong and M. B. Gorman 1988. Genetic resources of soybean germplasm. *In*: Crop Exploration and Utilization of Genetic Resources - Proceeding of an international symposium held at Changhua, Taiwan in 1986. Published by Taichung District Agriculture Improvement Station.
- 貴島裕治 1988. テンサイおよびその近縁種におけるオルガネラゲノムの変異性に関する分子生物学的研究 北海道大学農学部 博士論文
- Kollipara, K. P., J. M. Domagalski and T. Hymowitz 1991. A quick method of resolving soybean Kunitz trypsin inhibitor using polyacrylamide gel electrophoresis. *Soybean Genet. Newsl.* 18: 234-236.
- 久野 宏 1992. ツルマメの集団分化に於ける分子的解析 北海道大学農学部農学科 卒業論文
- 永田忠男 1949. 大豆の夏秋大豆性に関する研究 第1報 夏秋大豆性による大豆品種の分類 *日作紀.* 18: 131-134.
- 永田忠男 1950. 大豆の夏秋大豆性に関する研究 第2報 夏秋大豆性と他形質との相関 *日作紀.* 19: 147-151.

Nagata, T. 1959. Studies on the differentiation of soybeans in the world, with special regard to that in southeast Asia: 2. Origin of culture and paths of dissemination of soybeans, as considered by distributions of their summer vs. autumn soybean habit and plant habit.
Proc. Crop Sci. Jap. 28: 79-82.

中村茂樹・高橋浩司・小綿美輪子・佐々木康司・鎌田精孝・佐藤英次・佐藤光晴・高橋明浩・佐藤康孝 1993. 一次特性調査
In: 農林水産省東北農業試験場作物開発部大豆育種研究室・成分育種法研究室
平成5年度 大豆試験成績書 pp.96-103.

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations.
Proc. Nat. Acad. Sic. USA. 70: 3321-3323.

根井正利 1990. 第9章 集団間の遺伝距離 In: 五條堀 孝・斉藤成也 共訳
分子進化遺伝学 培風館 pp.180-217.

Newell, C. A. and T. Hymowitz 1982. Successful wide hybridization between the soybean and a wild perennial relative, *G. tomentella* Hayata.
Crop Sci. 22: 1062-1065.

Oka, H. I. 1988. Origin of Cultivated Rice.
Japan Scientific Societies Press, Tokyo.

王 書恩 1991. 中国大豆栽培の起源および変異についての調査
味噌の科学と技術 39: 49-53.

大庭寅雄・中村茂樹・中沢芳則 1985. 新導入品種の増殖および一次特性調査
In: 九州農業試験場作物第二部作物第3研究室 昭和59年度 大豆試験成績書
pp.88-99.

Palmer, J. D. 1985. Comparative organization of chloroplast genomes.
Ann. Rev. Genet. 19: 325-354.

- Palmer, R. G. and T. C. Kilen 1987. Qualitative genetics. *In*: J. R. Wilcox (eds.) Soybeans : Improvement, Production, and Uses. 2nd. edition. ASA, CSSA and SSSA, Madison, Wisconsin pp.143-179.
- Palmer, R. G., R. C. Shoemaker and B. D. Rennie 1987. Approved soybean gene symbols. Soybean Genet. Newsl. 14: 41-58.
- Palmer, R. G. and D. M. Stelly 1979. Reference diagrams of seed coat colors and patterns for use as genetic markers in crosses. Soybean Genet. Newsl. 6: 55-57.
- Perry, M. C. and M. S. McIntosh 1991a. Geographical patterns of variation in the USDA soybean germplasm collection: II Allozyme frequencies. Crop Sci. 31:1356-1360.
- Perry, M. C. and M. S. McIntosh 1991b. Plant genetic resources - Geographical patterns of variation in the USDA soybean germplasm collection: I Morphological traits. Crop Sci. 31: 1350-1355.
- Poehlman, J. M. 1987. Breeding Soybean *In*: Breeding Field Crops AVI Publishing, Westport, Connecticut. pp.422-450.
- Ren, Q., Gai, J. and Ma, R. 1987. A study on the ecological properties of the growth periods of the Chinese soybean varieties. Scientia Agricultura Sinica 20: 23-28. *In Chinese*.
- Rode, M. W. and R. L. Bernard 1975. Inheritance of a tan saddle mutation. Soybean Genet. Newsl. 2: 39-42.
- 酒井真次・岡部 昭典・菊池彰夫 1987. だいず保存品種の一次特性調査 *In*: 農林水産省東北農業試験場作物第2部作物第3研究室・作物第4研究室 昭和62年度 大豆試験成績書 pp.169-177.

酒井真次・岡部 昭典・菊池彰夫 1988. だいず保存品種の一次特性調査
In: 農林水産省東北農業試験場作物開発部大豆育種研究室・成分育種法研究室
昭和63年度 大豆試験成績書 pp.157-165.

SAS Institute 1985. FASTCLUS In: SAS user's guide: Statistics
version 5 edition. SAS institute Inc. pp.335-376.

佐々木絃一・土屋武彦・伊藤 武・白井和栄・紙谷元一・湯本節三 1988.
北海道立十勝農業試験場 大豆保存品種、系統の来歴および特性
北海道立十勝農業試験場資料 第11号

佐々木 高明 1993. 日本文化の基層を探る NHKブック 667 日本放送出版協会

三分一 敬・土屋武彦・伊藤 武 1987. 第1編 ダイズの育種 第4章 耐冷性
2.耐冷性と関連ある形質 In: 小島睦男編 わが国におけるマメ類の育種
明文書房 pp.243-249.

Schuster, W. and A. Brennicke 1987. Nucleotide sequence of the *Oenothera*
ATPase subunit 6 gene. Nucl. Acids Res. 15: 9092.

Second, G. 1982 Origin of the genetic diversity of cultivated rice
(*Oryza* spp.): Study of polymorphism scored at 40 isozyme loci.
Japan J. Breed. 57: 25-57.

Senda, M., T. Harada, T. Mikami, M. Sugiyama. and T. Kinashita. 1991.
Genomic organization and sequence analysis of the cytochrome oxidase
subunit II gene from normal and male-sterile mitochondria in sugar beet.
Curr. Genet. 19: 175-181.

Shannon, C. E. and W. Weaver 1949 The mathematical theory of
communication. Univ. Illinois Press, Urbana.

- 島本義也 1994. Genetic diversity of isozymic loci in natural population of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. *In*: 島本義也 ダイズ栽培種成立の分子生物学的および生化学的展開 平成5年度科学研究費補助金(一般B)研究成果報告書 pp.62-72.
- Skorupska, H. T., R. C. Shoemaker, A. Warner, E. R. Shipe and W. C. Bridges 1993. Restriction fragment length polymorphism in soybean germplasm of the Southern USA. *Crop sci.* 33: 1169-1176.
- Specht, J. E. and J. H. Williams 1978. Hilum color as a genetic marker in soybean crosses. *Soybean Genet. Newsl.* 5: 70-73.
- Stephens, P. A. and C. D. Nickell 1992. Inheritance of pink flower color in soybean. *Crop Sci.* 32: 1131-1132.
- Smith, K. J. and Huyser 1987. World distribution and significance of soybean. *In*: J. R. Wilcox (eds.) *Soybeans: Improvement, Production, and Uses*. 2nd. edition. ASA, CSSA and SSSA, Madison, Wisconsin pp.1-22.
- 杉山 信太郎 1992. 大豆の起源について 醸協 87: 890-899.
- 砂田 喜与志 1991. ダイズ 特性 *In*: 北海道における豆類の品種編集委員会編集 北海道における豆類の品種 増補版 財団法人日本豆類基金協会発行 pp.50-61.
- 高木 胖 1977. ダイズ種子タンパクにみとめられるトリプシンインヒビターの地理的多型 佐大農彙 42: 9-13.
- 塚本知玄・菊池彰夫・島本義也・金 鎮馨・原田久也・海妻矩彦・大久保 一良 1993. 大豆種子サポニン成分多型の地理的分布ならびにソヤサポゲノールA欠質変異体の同定 育雑. 43(別2): 161.
- Wang, Y., F. Li and R. Chang 1986. The distribution of the alleles of *Ti* and *Sp1* loci among chinese soybean (*G. max*) cultivars by seed protein electrophoresis. *Acta Agronomica Sinica* 12: 31-37. *In Chinese*.

Williams, L. F. 1952. The inheritance of certain black and brown pigments in the soybean. *Genetics* 37: 208-215.

Woodworth, C. M. 1921. Inheritance of cotyledon, seed-coat, hilum, and pubescence colors in soy-beans. *Genetics* 6: 487-553.

Yanagisawa, T., Tano, S., Fukui, K. and Harada, K. 1991.
Marker chromosomes commonly observed in the genus *Glycine*.
Thero. Appl. Genet. 81: 606-612.

吉田美夫・佐々木絃一・小山隆光・岡部昭典 1983. ダイズ品種に関する資料2
国内の主なダイズ品種および在来種(東北、北陸、北海道地域等)の特性
農林水産省東北農業試験場栽培第2部作物第4研究室

Yu, H. and Y. T. Kiang 1990. Re-examination of the recombination frequency between acid phosphatase and the Kunitz trypsin inhibitor loci in soybean. *Soybean Genet. Newsl.* 17: 106-108.

Yu, H. and Y. T. Kiang 1993. Genetic variation in South Korea natural populations of wild soybean (*Glycine soja*). *Euphytica* 68: 213-221.

Yu, H. and Y. T. Kiang 1994. Inheritance and genetic linkage studies of isozymes in soybean. *J. Hered* 84: 489-492.

Zakharova, E. S., S. M. Epishin and Y. P. Vinetski 1989. An attempt to elucidate the origin of cultivated soybean via comparison of nucleotide sequences encoding glycinin B₄ polypeptide of cultivated soybean, *Glycine max*, and its presumed wild progenitor, *Glycine soja*.
Theor. Appl. Genet. 78: 852-856.

Zhao, S., X. Liu and G. Lin 1993. Gene frequency of SBTI-A₂ allele in soybean(*G. max*) seed storage protein in China.
Soybean Genet. Newsl. 20: 45-47.