

スギおよびヒノキ針葉のアイソザイムパターンの季節変化

林業試験場九州支場 白石 進
上 中 久 子

1. はじめに

林木にもザイモグラム法が応用され、遺伝・育種的研究分野に頻りに用いられるようになった。一般に動植物でアイソザイムパターンは、発生・発育段階によって変化することは認められているが、林木で調べられた報告は少ない。^{1, 2, 3, 4)}

そこで、我が国の主要樹種であるスギ、ヒノキについて、季節変化にともなう針葉のアイソザイムの変化をパーオキシダーゼ他3酵素種について調べた。

2. 材料と方法

供試木として11年生ヒノキと18年生スギ各3個体を、選り、クローネ北側中位に着生している針葉を採集し、 -20°C で冷凍貯蔵した。調査期間は53年1月から翌年2月までの14ヶ月間とし、毎月20日前後に行なった。泳動試料の調整は、当年葉 200mgを0.1Mトリス塩酸緩衝液、pH 7.5 (0.5Mスクロース, 10mMDTT, 1% Tween 80を含む)とポリクラールAT 250mgで抽出し、 0°C 、 $30,000\times 9$ で20分間遠心分離し、その上清をさらに60分間行なった。この上清をパーオキシダーゼとアスパラギン酸アミノ転移酵素では $5\mu\text{l}$ エステラーゼと酸性フォスファターゼで $10\mu\text{l}$ 用いて、アクリルアミドゲル垂直平板電気泳動法により、おおむねDavisの原法に従い、 4°C 、 $10\text{mA}/\text{cm}^2$ で約3時間行なった。

3. 結果と考察

供試木からの針葉の採取部位を決めるために、前記供試木のうちからスギ、ヒノキ各2本について、クローネの先端部、上部、中部、下部の北側と南側に着生している針葉のアイソザイムの比較を1月に行なった結果、活性の著しく弱いバンドの出現の有無とバンドの活性に部位間で多少の違いはあったが、おおむね同一のアイソザイムパターンを示したので、今回の採取箇所はクローネ北側の中位とした。

今回実験したうちのヒノキ1個体の4酵素種とスギ1個体のパーオキシダーゼの各月のアイソザイムを表1、表2に示した。検出されたバンドはRf値で表わし、その出現状態を活性の程度により、強い順に「3」、「2」、「1」、「t」の4段階に分類した。

以下酵素種別に季節変化を見ると、

パーオキシダーゼ：ヒノキでは、生長休止期の2、3月はバンド数が14本見られたのが、4、5月で多少減少し、生長期の6、7、8、9月では2~3本と著しい減少を示した。しかし、10月から生長休止期にむけて再び増加し、2、3月の水準に戻った。この傾向は他の2個体についても見られた。また、生長期に出現したバンドは生長休止期に比較的、活性の強いバンドが多かった。スギでは、新葉の展開が盛んな5月に著しく少なく、また6月、8月にバンド数が少なかった他は、違いはなく、ヒノキほどの大きな変化はなかった。

エステラーゼ：ヒノキでは、パーオキシダーゼ同様生長休止期にはバンド数が多く、安定しているが、生長期には減少し、バンド数の変動も見られた。スギにおいても、同じ傾向であった。

酸性フォスファターゼ：ヒノキ、スギとも、バンド数は年間を通じほぼ一定しており、今回の実験では季節変化は認められなかった。

アスパラギン酸アミノ転移酵素：ヒノキ、スギとも検出されたバンド数は各個体1~2本と少ないが、生長休止期に活性が高く、生長期には出現しないものが多く、出現しても活性は著しく弱かった。

以上、述べたように、当年生葉中の3酵素種で季節によるアイソザイム変化が認められ、生長休止期にバンド数が多く、生長期に減少することより、生長との関係が大きいものと思われる。しかし、今回の実験では各月とも一定量の針葉から抽出した泳動試料を用いているため、生長期の葉中蛋白質濃度が低かったことにより検出できなかったアイソザイムもあるものと思われるので、今後、泳動試料中の蛋白質量を一定にして調べる必要もある。

引用文献

- (1) 松浦 堯, 真鍋忠久, 田中京子: 北方林業, 23(1), 28~31, 1971
- (2) ConkIe, M.T.: For. Sci., 17, 494-498, 1971
- (3) 田島正啓, 宮崎安貞, 宮島 寛: 日林九支論, 27, 78-80, 1974
- (4) Kelley, W.A. & R.P. Adams: Amer. J. Bot., 64, 1092-1096, 1977

表-1 ヒノキのアイソザイム変化

酵素種	バンド名	リ	53.1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	54.1	2	
P O D	R f	29	1	1	1	1	t	—	—	—	—	l	l	l	l	l	
		33	1	1	1	1	1	1	1	1	t	l	l	2	2	2	
		35	3	3	3	2	2	t	—	—	—	l	l	3	3	3	
		37	1	l	l	l	l	1	—	—	—	—	t	t	l	l	l
		40	—	t	l	l	l	1	—	—	—	—	—	—	t	t	t
		42	t	t	t	t	l	—	—	—	—	—	t	l	l	l	l
		45	—	—	t	t	t	t	l	l	l	l	l	2	2	2	2
		46	2	2	2	2	2	—	—	l	l	l	l	l	l	l	l
		49	1	1	1	t	l	—	—	t	—	—	—	t	—	—	
		61	—	t	—	—	—	—	—	—	—	—	t	t	t	l	l
		63	t	t	t	—	—	—	—	—	—	—	t	l	l	l	l
		66	1	1	1	1	l	—	—	—	—	—	l	t	l	2	
		69	3	3	2	2	2	—	—	—	—	l	2	2	3	3	
		90	3	2	2	1	—	t	—	—	l	l	3	2	2	2	
	92	1	1	1	t	—	—	—	—	—	t	l	t	l	l		
	バンド数	12	14	14	13	11	4	2	5	4	10	13	15	14	14		
E s t	R f	44	2	2	2	2	2	3	3	2	2	2	2	2	2	2	
		47	1	1	—	—	—	t	l	—	l	l	t	—	l	l	
		49	t	t	—	—	—	—	—	—	—	t	—	—	t	t	
		57	2	1	1	1	—	t	t	t	—	t	—	l	2	2	
		61	t	t	t	—	—	—	—	—	—	—	—	t	l	l	
		70	2	1	1	—	—	—	—	—	—	t	t	l	2	2	
		73	1	1	t	—	—	—	—	—	—	—	—	l	l	l	
		バンド数	7	7	5	2	1	3	3	2	2	5	3	5	7	7	
A c p	R f	39	1	1	1	1	t	l	l	l	l	l	l	l	l	l	
		42	1	1	1	1	t	l	2	1	l	l	2	l	l	l	
		44	—	—	—	—	—	l	2	1	2	1	2	t	t	t	
		46	—	—	—	—	—	t	l	l	t	l	t	t	t	t	
		53	2	2	2	2	3	2	3	2	2	2	2	2	2	2	
		バンド数	3	3	3	3	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
G O T	R f	44	t	t	t	t	t	—	—	—	—	l	l	l	2	3	
		45	3	3	3	1	t	—	—	—	—	t	t	l	2	3	
		バンド数	2	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	

表-2 スギのアイソザイム変化

酵素種	バンド名	リ	53.1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	54.1	2
P O D	R f	39	1	1	1	1	2	t	t	—	t	t	t	t	t	t
		41	1	2	1	1	1	t	t	2	t	l	t	l	2	2
		42	2	2	2	2	—	t	l	t	2	2	2	2	2	2
		45	2	1	1	1	—	—	t	—	l	l	l	l	l	l
		47	1	2	2	1	—	t	l	—	l	l	l	l	l	l
		49	3	3	3	2	—	l	3	1	2	2	2	3	3	3
		59	3	3	3	2	—	—	2	—	t	t	t	2	3	3
		76	1	1	t	l	—	—	l	l	l	—	t	t	t	t
		80	1	1	1	2	—	—	l	l	l	l	t	l	l	l
		バンド数	9	9	9	9	2	5	9	5	9	8	9	9	9	9

P O D : パーオキシダーゼ E s t : エステラーゼ A c p : 酸性フォスファターゼ
 G O T : アスパラギン酸アミノ転移酵素