

スギ科樹木の染色体に関する研究 (Ⅱ)

— NOR染色について —

琉球大学農学部 馬場 繁 幸
山 盛 直

1. はじめに

筆者らは、主として細胞分類学的観点から、スギ科およびその近縁種の染色体に関する研究を行っている。これまでの観察では、スギ科の多くには、動原体(1次くびれ)に近い部分が長くくびれる特徴的な型の染色体が種によっては1対あるいはそれ以上あることがわかっている¹⁾。また、セカイアオスギ(*Sequoiadendron giganteum*)の体細胞分裂中期の染色体では、Ag-I法を用いてのNOR染色⁴⁾で、特徴的な長くくびれる部分のみが濃染される染色体が1対2本見られ、その部分がNORと機能しているものと考えられている²⁾。

本報では、これまで筆者らが用いていたAg-I法²⁾に若干の改良を加えたので、その改良点と改良法を用いた2~3の染色例について報告する。

2. 材料および方法

供試樹種は、スイショウ(*Glyptostrobus pensilis*)、ラクウショウ(*Taxodium distichum*)、メキシコラクウショウ(*T. mucronatum*)の3種であり、メキシコラクウショウのみが3倍体(2n=33)、残りの2種は2倍体(2n=22)であった。

これら3樹種の1~3年生のさし木苗あるいは実生苗の根端を材料とし、これまで同様^{1,2)}、8-オキシキノリンで前処理、70%エタノールと酢酸(3:1)で固定した。その後、1N塩酸で加水分解、無色塩基性フクシン(シッフ試薬)で染色(フォイルゲン染色)した。

このように用意を整えた材料をプレパラートに作製し、光学顕微鏡を用いて観察・測定した。なお、封かんには市販のマニキュアエナメルを用いた。検鏡後、適当な分裂細胞の多いプレパラートのみを、次の手順でAg-I法を用い銀染色した。

- 1) 封かん剤をきれいに取り除く。
- 2) 弱いブンゼンバーナーの炎にプレパラートをかざし、乾燥後カバーガラスを剝離。
- 3) 1昼夜乾燥。
- 4) 50%硝酸銀水溶液を用い、50℃で約3時間インキュベート。

- 5) 水洗後、1昼夜乾燥。

以上のように銀染色したものを、カーギル油で再封入し、光学顕微鏡で観察した。

3. 結果と考察

中国東南部原産のスイショウについては、これまで染色体数、核型等に関する報告はない。今回の観察結果では、体細胞染色体数は2n=22で、これまでに報告されている他のスギ科と同数であった。また、スイショウにも、これまでスギ科の多くで報告¹⁾されているように動原体に近い部分が長くくびれる特徴的な型の染色体が1対2本あることがわかった(写真-1)。このことから、細胞分類学的に見て、この特徴的な型の染色体をもっていることがスギ科の特徴であることが示唆され、スギ科のマーカー染色体とも考えられるが、今後さらに残りのスギ科および近縁種について、十分な核学的検討を加え、この点を明らかにしたい。

スイショウの体細胞分裂中期の染色体をAg-I法で銀染色すると、長くくびれた特徴的な形の部分のみが濃染される染色体が1対2本観察され(写真-2)、この染色体の濃染部分がAg-NORと考えられる。また、スイショウの核小体の個数は1~2個、最大個数2個(写真-3)で、NORの数と核小体の数は一致していた。

ラクウショウとメキシコラクウショウ(3x)には、特徴的な型の染色体が、それぞれ1対2本、1対3本あることがわかっている¹⁾。Ag-I法で両種の体細胞分裂中期の染色体を銀染色すると、長くくびれた特徴的な形の部分のみが濃染され(写真-4, 5)、このことから、両種についても特徴的な部分がAg-NORと考えられる。核小体の個数は、ラクウショウが最大個数2個(写真-6)、メキシコラクウショウが最大個数3個(写真-7)で、両種ともNORの数と核小体の数は一致していた。

Ag-I法は、Bloomら³⁾によって改良された染色法で、銀染色後の観察を容易にするため酢酸オルセインあるいはギムザ液で染色(二重染色)されることもある。筆者らは、Ag-I法で染色された染色体の観察効率を高めることに主眼を置き、最初にフォイルゲン染

色を行い、一度検鏡後、適当な分裂細胞の多いプレパラートのみを選び出しAg-I法で銀染色を行う二重染色を試みた。その結果、これまでのように単独で銀染色を行うよりも、極めて効率的に銀染色された染色体が検鏡できるとともに、染色体にコントラストが付き観察しやすくなった。また、これまで、カバーガラスの剥離にドライアイスあるいはジクロロジフォルメタンのスプレー等を併用することもあったが、弱いブゼンバーナーの炎にプレパラートをかざし、乾燥後カバーガラスを剥離する方法を用いた方が、剥離が極めて容易で、しかもAg-I法での銀染色の染色性が良い傾向が見られた。

今回は、3種のスギ科についてのみAg-I法を用いて銀染色を試み、スギ科に特徴的と思われる型の染色体の特徴的な部分の機能について言及したが、今後さらに残りのスギ科についても銀染色を試みたいと考えている。

引用文献

- (1) 馬場繁幸：日林九支研論 36, 91 ~ 92, 1983
- (2) ————：疏大農学報 30, 615 ~ 620, 1983
- (3) Bloom, S. E. and C. Goodpasture: Hum. Genet. 34, 199 ~ 206, 1976
- (4) 黒田行昭編：培養細胞遺伝学実験法, 104 ~ 105, 共立出版, 東京, 1981

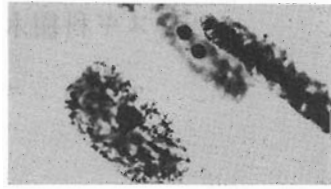


写真-3. スイショウの核小体

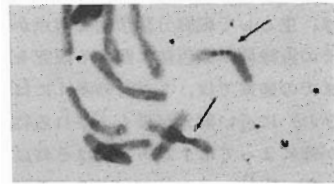


写真-4. Ag-I法により濃染されたラクウショウの染色体 (矢印は濃染部分)

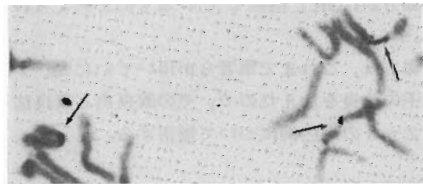


写真-5. Ag-I法により濃染されたメキシコラクウショウの染色体 (矢印は濃染部分)



写真-1. スイショウの体細胞染色体 (矢印は特徴的な型の染色体)

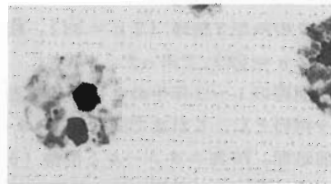


写真-6. ラクウショウの核小体



写真-2. Ag-I法により濃染されたスイショウの体細胞染色体 (矢印は濃染部分)

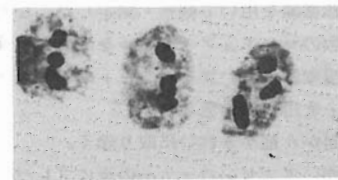


写真-7. メキシコラクウショウの核小体