

フローサイトメトリー分析によるアカメガシワの変異性の判別^{*1}

保坂 武宣^{*2} · 玉泉幸一郎^{*2} · 斎藤 明^{*2}

1. はじめに

林木では染色体の倍数化によって実用形質の改善が認められないことから、研究例が少ない。しかし、スギなどでは自然三倍体や異数体が存在し、成長の優れた個体も存在することが報告されている(3)。従って、自然界にはさらに倍数化したり異数化した個体を持つ種が存在する可能性がある。

本研究では、先駆性広葉樹種として知られるアカメガシワを対象として相対的なDNA量の測定を行った。アカメガシワの染色体数は、 $2n = 36$ と $2n = 72$ が報告(I)されており、今回はフローサイトメトリー(2)(Flow Cytometry: FCM)でこの2つが判別できるかについて検討した。

さらに、アカメガシワは実生と根萌芽による更新が知られており、生育地での分布状況から、更新様式の判定が可能かどうかについて検討した。

2. 材料および方法

1999年9月に、九州大学文系キャンパスのアカメガシワの生育地に、 $15m \times 80m$, $50m \times 80m$ の方形プロットを設置し、プロット内に生育している534個体の樹高、直徑および分布位置を調査した。

DNA量の測定には葉を用い、試料の採取後ただちに分析した。試料はプラスチックシャーレ上で5mm角に切り、試薬A液(植物用 High Resolution DNA Staining kit PARTEC社# 06-5-4004:核の単離溶液)を加えた後、さらに、カミソリで細かく刻んだ。切り刻んだ試料はセントリックスフィルタ($30\mu m$)でPA用サンプルチューブ内にろ過し、試薬B液(核の検出に用いる蛍光色素: DAPI)を加え、20分後に分析した。

測定にあたっては、プロット内に生育する母樹と思われる1個体を対照木とし、他の個体を測定木とし、対照木と測定木の葉を同時に分析しDNA量を比較した。

3. 結果と考察

1) DNA量

分析の結果、アカメガシワは3つのDNA量を持つ

ループに分けられることがわかった(図-1)。ここでは、それぞれをA, B, Cグループとしその測定例を図-2示した。図-2-(1)は測定木と対照木のDNA量が同じであったAグループ、図-2-(2)は対照木よりも小さいDNA量を持ったBグループ、図-2-(3)は対照木よりも小さいDNA量を持ったがその値がAグループとBグループの中間の値を示したCグループである。

図-1には、対照木のDNA量を1とし、これに対する各グループの頻度分布を示した。AグループとBグループには正規分布が見られ、AグループとBグループのほぼ中間にCグループがあった。各グループのDNA量はAグループを1とするとBグループは0.73, CグループはA, Bグループの中間の0.86であった。

この様にFCM法により簡便にアカメガシワのDNA量をグループ分けすることができた、しかも、3タイプあることが判明した。しかし、これらのグループとこれまでに報告されている染色体数との関係については、染色体の観察をおこなって判別する必要がある。

2) 分布状況

各グループの出現割合をプロット別に表-1に示した。プロット1では、Aグループが83%を占め、B, Cグループは7~9%で少なかった。プロット2ではA, Bグループがそれぞれ54%, 39%と多く、Cグループは7%と少なかった。また、各プロットにおける分布位置を図-3に示した。プロット1では、A, B, Cグループともに集中的な分布を示した。しかし、プロット2では、A, Bグループが集中的な分布を示したのに対し、Cグループはランダムに点在した。

さらに、樹高、根元直徑の関係をグループ別に図-4に示した。AとBグループには、大きな個体が認められたが、Cグループには大きな個体は存在しなかった。

この様に、A, Bグループが両プロットで集中的に分布し、根萌芽で更新したと考えられるのに対し、Cグループは特に小さな個体が多く、プロット2ではランダムに単独で生育していることから、A, Bグループの交配で形成された種子によって繁殖した個体群である可能性がある。

*1 Hosaka, T., Gyokusen, K., and Saito, A.: Discrimination of the variability in *Mallotus japonicus* with Flow Cytometric Analysis

*2 九州大学農学部 Fac.of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka 812-8581

これらの結果から、FCM法で判別したDNA量の分布は、アカメガシワの更新タイプの判定に利用できるものと考えられる。

引用文献

- (1) 北村四郎・村田 源: 原色日本植物図鑑木本編 [1], 335~336, 保育社, 東京., 1971
- (2) 三紫啓一郎・三位正洋: 細胞工学, 17(4), 609~615, 1998
- (3) 佐々木義則ほか: 日林九支研論, 50, 55~56, 1997

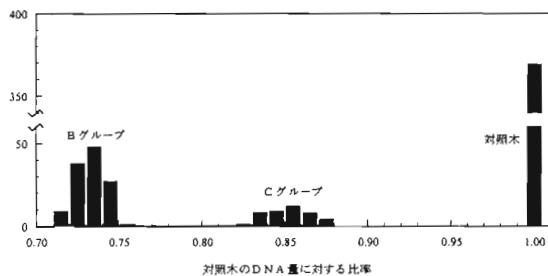


図-1 DNA量の頻度分布

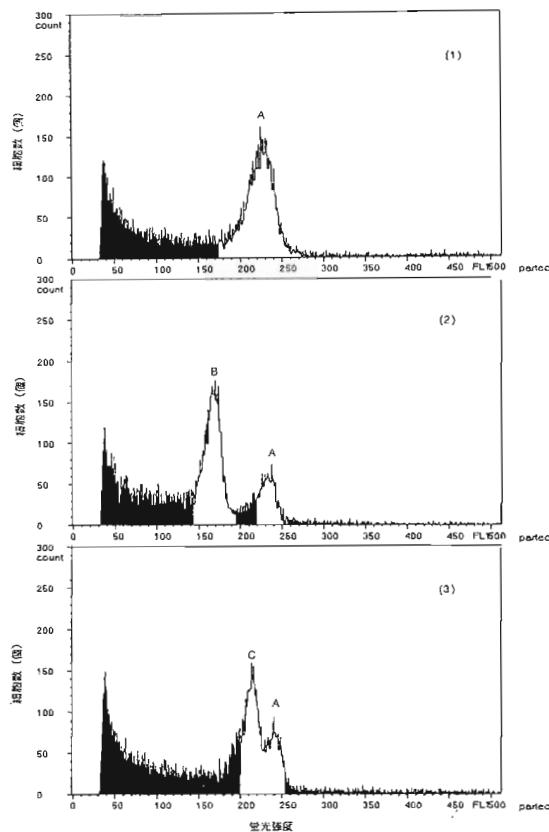


図-2 FCMによるアカメガシワのDNA量の測定例

- (1): 対照木と測定木が同じであったAグループ
- (2): 対照木のAグループとBグループ
- (3): 対照木のAグループとCグループ

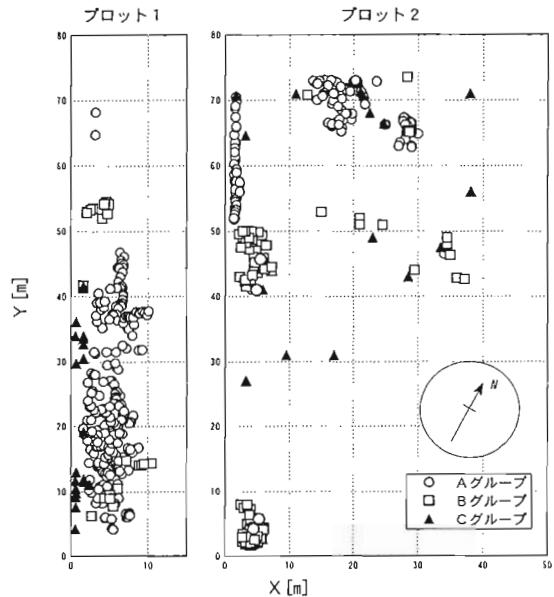


図-3 各プロットにおける分布位置図

破線は10mグリッド

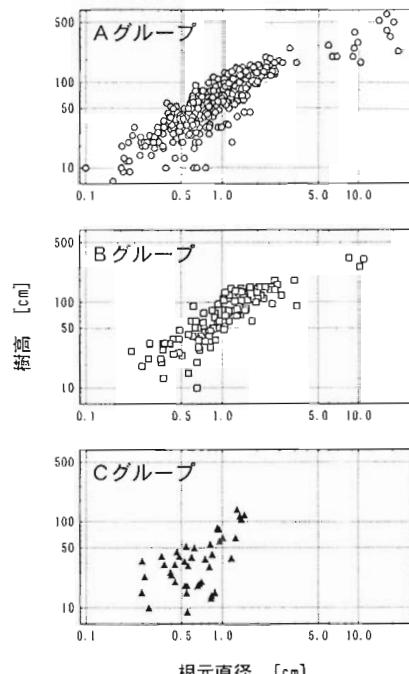


図-4 樹高と根元直径の関係(対数表示)

表-1 各プロットにおける出現割合

| | プロット1 | | プロット2 | | 計 |
|-------|-------|--------|-------|--------|------------|
| | 個体数 | (%) | 個体数 | (%) | |
| Aグループ | 225 | (83.7) | 144 | (54.3) | 369 (69.1) |
| Bグループ | 20 | (7.4) | 103 | (38.9) | 123 (23.0) |
| Cグループ | 24 | (8.9) | 18 | (6.8) | 42 (7.9) |
| 計 | 269 | (100) | 265 | (100) | 534 (100) |