

# ヤクスギ著名木の RAPD 分析\*1

近藤 禎二\*2 · 佐々木峰子\*2

## I. はじめに

ヤクスギは世界遺産に指定されるなど世界的に注目されてきた。そこで、ヤクスギ著名木 (I) について、DNA 解析法の一つである RAPD 分析を用いて、個体識別の確立および系統関係の解明に取り組んだ。

## II. 材料と方法

材料にはヤクスギ著名木のうち九州育種場にすでに収集し保存している、太古杉、縄文杉、夫婦杉 (夫と妻)、大王杉、翁杉、川上杉、仏陀杉、愛子杉、七本杉、奉行杉、弥生杉、紀元杉、モッチョム太郎、万代杉の15クローンを用いた。DNA の抽出は針葉に含まれる多量の多糖類を除くためにポリエチレングリコールで処理する方法を用いた (2)。PCR 反応液は、15  $\mu$ l の反応液中に、 $\times 10$  パッファー 1.5  $\mu$ l, 50mM 塩化マグネシウム 0.6  $\mu$ l, 100mM dNTP 1.0  $\mu$ l, 5  $\mu$ M プライマー 0.6  $\mu$ l, Taq ポリメラーゼ (ペーリンガー) 0.3U, 滅菌水 11.1  $\mu$ l とした。反応には96穴のポリカーボネート製のプレートを用い、増幅はアステック社の PC-800 で、PCR 反応は、94 $^{\circ}$ C 1 分のあと、94 $^{\circ}$ C 1 分、45 $^{\circ}$ C 1 分、72 $^{\circ}$ C 2 分を40回繰り返した後、72 $^{\circ}$ C 1 分処理した。

## III. 結果と考察

表-1 に10種類のプライマーで得られた14本のバンドについて各クローンの保持状況をまとめた。今回用いたバンドの15クローンにおける保持率は、最大で93.3%、最小で20.0%、平均58.1%であった。15クローン相互のバンドの不一致数を表-2 に示した。識別については、15クローンすべてを識別でき、不一致数では14本のバンドのうち、クローン間での違いは、最大で11本、最小で1本であった。クローンごとのバンドの不一致数の平均値は愛子杉 (6.4)、川上杉 (6.3) で大きく、平均は5.0

であった。それぞれの組み合わせごとにとみると、まず、不一致数が最も小さいものは、値が1の、縄文杉と仏陀杉および太古杉であった。このうち太古杉は縄文杉の近くにあるが仏陀杉はかなり離れて成育している。つぎに、値が2の、縄文杉と奉行杉はやや近く、夫婦杉の夫と妻とは3 m の間隔で枝で結ばれている。値が3であったのは、モッチョム太郎と万代杉、奉行杉と仏陀杉、太古杉および七本杉、愛子杉と仏陀杉、弥生杉と紀元杉および翁杉、翁杉と万代杉の組み合わせであった。一方、不一致数が最も大きいものは、値が11の、愛子杉と夫婦杉の夫であった。愛子杉は著名木の中では孤立した位置にあり、特に夫婦杉の夫との不一致数が大きかったが、他のクローンとの不一致数も大きかった。値が9のものである、大王杉と夫婦杉の夫、川上杉と仏陀杉および紀元杉があり、いずれもそれほど離れて成育していなかったが不一致数では違いが大きかった。愛子杉と夫婦杉の妻は夫と同様に違いが大きかった。値が8であったのは、翁杉と仏陀杉、太古杉および愛子杉、川上杉と太古杉、縄文杉および奉行杉、愛子杉と紀元杉および七本杉、大王杉と仏陀杉の組み合わせであった。不一致数の大小は互いの成育場所の遠近と概ね関係がありそうであったが、中には成育場所が近いのに大きな不一致数を示すものがあった。

## 引用文献

- (1) 屋久杉自然館：屋久杉巨樹・著名木, pp.63, 1993
- (2) 河原孝行ほか：日本植物分類学会報, 11, 13~32, 1995

\*1 Kondo, T. and Sasaki, M.: RAPD analysis of famous trees of Yakusugi

\*2 林木育種センター九州育種場 Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center, Suya, Nishigo-shi, Kikuchi, Kumamoto 861-1102

表-1 ヤクスギ著名木のバンドの保持状況

| プライマー | 分子量  | 太古杉 | 縄文杉 | 夫婦杉<br>(夫) | 夫婦杉<br>(妻) | 大王杉 | 翁杉 | 川上杉 | 仏陀杉 | 愛子杉 | 七本杉 | 奉行杉 | 弥生杉 | 紀元杉 | モッチョム<br>太郎 | 万代杉 | 出現頻度  |
|-------|------|-----|-----|------------|------------|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|-----|-------|
| M-02  | 800  | 0   | 0   | 0          | 1          | 1   | 1  | 1   | 0   | 1   | 0   | 0   | 1   | 0   | 0           | 0   | 0.400 |
| N-08  | 1080 | 1   | 1   | 1          | 1          | 1   | 1  | 1   | 0   | 0   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0           | 1   | 0.800 |
| N-14  | 2000 | 0   | 1   | 1          | 1          | 0   | 1  | 1   | 1   | 0   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0           | 1   | 0.667 |
| O-20  | 900  | 1   | 1   | 1          | 1          | 0   | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1           | 1   | 0.933 |
|       | 760  | 0   | 0   | 1          | 1          | 0   | 0  | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | 1   | 0           | 0   | 0.267 |
| P-10  | 550  | 1   | 1   | 0          | 0          | 0   | 0  | 0   | 1   | 1   | 0   | 1   | 0   | 0   | 0           | 0   | 0.333 |
|       | 500  | 1   | 0   | 1          | 1          | 1   | 1  | 1   | 0   | 0   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1           | 1   | 0.800 |
| P-17  | 850  | 0   | 0   | 0          | 0          | 1   | 1  | 1   | 0   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1           | 1   | 0.467 |
|       | 800  | 0   | 0   | 1          | 1          | 0   | 0  | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0           | 0   | 0.200 |
| R-16  | 1700 | 0   | 0   | 0          | 0          | 0   | 1  | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0           | 1   | 0.200 |
|       | 1150 | 1   | 1   | 1          | 1          | 1   | 1  | 0   | 1   | 0   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1           | 1   | 0.867 |
| G-10  | 500  | 1   | 1   | 0          | 1          | 1   | 0  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 1           | 1   | 0.733 |
| G-11  | 600  | 1   | 1   | 1          | 1          | 0   | 0  | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 1   | 1   | 1           | 1   | 0.733 |
| Q-20  | 1000 | 0   | 1   | 0          | 0          | 1   | 1  | 0   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1           | 1   | 0.733 |
| 平均    |      |     |     |            |            |     |    |     |     |     |     |     |     |     |             |     | 0.581 |

表-2 バンドの不一致数

|         | モッチョム<br>太郎 | 仏陀杉 | 太古杉 | 紀元杉 | 万代杉 | 縄文杉 | 奉行杉 | 夫婦杉<br>(夫) | 七本杉 | 愛子杉 | 大王杉 | 弥生杉 | 翁杉 | 川上杉 | 夫婦杉<br>(妻) | 平均値 |     |
|---------|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|-----|----|-----|------------|-----|-----|
| モッチョム太郎 | 0           | 4   | 4   | 4   | 3   | 5   | 5   | 7          | 4   | 4   | 4   | 5   | 6  | 7   | 7          | 4.6 |     |
| 仏陀杉     | 4           | 0   | 4   | 5   | 5   | 1   | 3   | 7          | 6   | 3   | 8   | 4   | 8  | 9   | 7          | 4.9 |     |
| 太古杉     | 4           | 4   | 0   | 4   | 5   | 1   | 3   | 5          | 6   | 6   | 6   | 5   | 8  | 8   | 5          | 4.7 |     |
| 紀元杉     | 4           | 5   | 4   | 0   | 5   | 5   | 5   | 3          | 4   | 8   | 6   | 3   | 6  | 9   | 5          | 4.8 |     |
| 万代杉     | 3           | 5   | 5   | 5   | 0   | 4   | 4   | 6          | 3   | 7   | 5   | 4   | 3  | 4   | 6          | 4.3 |     |
| 縄文杉     | 5           | 1   | 1   | 5   | 4   | 0   | 2   | 5          | 5   | 5   | 7   | 4   | 7  | 8   | 6          | 4.3 |     |
| 奉行杉     | 5           | 3   | 3   | 5   | 4   | 2   | 0   | 6          | 3   | 7   | 5   | 4   | 5  | 8   | 6          | 4.4 |     |
| 夫婦杉(夫)  | 7           | 7   | 5   | 3   | 6   | 5   | 6   | 0          | 5   | 11  | 9   | 4   | 7  | 6   | 2          | 5.5 |     |
| 七本杉     | 4           | 6   | 6   | 4   | 3   | 5   | 3   | 5          | 0   | 8   | 4   | 5   | 4  | 7   | 5          | 4.6 |     |
| 愛子杉     | 4           | 3   | 6   | 8   | 7   | 5   | 7   | 11         | 8   | 0   | 6   | 7   | 8  | 7   | 9          | 6.4 |     |
| 大王杉     | 4           | 8   | 6   | 6   | 5   | 7   | 5   | 9          | 4   | 6   | 0   | 5   | 4  | 7   | 7          | 5.5 |     |
| 弥生杉     | 5           | 4   | 5   | 3   | 4   | 4   | 4   | 4          | 5   | 7   | 5   | 0   | 3  | 6   | 4          | 4.2 |     |
| 翁杉      | 6           | 8   | 8   | 6   | 3   | 7   | 5   | 7          | 4   | 8   | 4   | 3   | 0  | 5   | 7          | 5.4 |     |
| 川上杉     | 7           | 9   | 8   | 9   | 4   | 8   | 8   | 6          | 7   | 7   | 7   | 6   | 5  | 0   | 4          | 6.3 |     |
| 夫婦杉(妻)  | 7           | 7   | 5   | 5   | 6   | 6   | 6   | 2          | 5   | 9   | 7   | 4   | 7  | 4   | 0          | 5.3 |     |
| 平均      |             |     |     |     |     |     |     |            |     |     |     |     |    |     |            |     | 5.0 |