

論文

「一心行の大桜」の樹種同定に関する研究*1

長野克也*2 · 前原峰雄*2 · 平尾知士*2 · 三嶋賢太郎*3 · 戸田義宏*3

長野克也・前原峰雄・平尾知士・三嶋賢太郎・戸田義宏：「一心行の大桜」の樹種同定に関する研究 九州森林研究 57：80-82, 2004
 熊本県白水村の「一心行の大桜」は、樹齢約400年ともいわれ、樹高17m、幹囲9.4mの巨樹で、平成3年には「ふるさと熊本の樹木」に登録されている。特に開花期には多くの花見客が集まり、今や観光資源としても重要なものとなっている。しかし、「一心行の大桜」の樹種判別においては、外部形態の調査からエドヒガン (*Prunus pendula* Maxim. f. *ascendens*) とヤマザクラ (*Prunus jamasakura* Siebold ex Koidz.) の中間の形質を呈するとされている。

そこで、今回 RAPD 分析を用いて種の同定を試みた。使用した100プライマーのうち26プライマーから89種類の多型バンドが得られた。得られたデータをもとに、遺伝的距離を算出して系統樹を作成し、類似性検定によってクリケットグラフを作成し解析を行った結果、「一心行の大桜」はヤマザクラの種内に含まれる結果を得た。さらに、「一心行の大桜」の8本の樹幹は同一個体と考えられた。

キーワード：「一心行の大桜」、樹種同定、RAPD 分析、エドヒガン、ヤマザクラ

I. はじめに

熊本県阿蘇郡白水村にある「一心行の大桜」(図-1)は、天正8年(1580)、島津氏との戦いで矢崎城(熊本県宇土郡三角町)において敗れた峯氏の菩提樹である。樹齢約400年、樹高17m、幹の周囲9.4m、枝張り東西21.3m、南北26.0mの巨樹である。平成3年には「ふるさと熊本の樹木」に登録されており、3月から4月の開花期には多くの人が集まる(4)。イベントや植木市等も開かれ、短い開花期にもかかわらず20~25万人が県内外から見学を訪れ、村の重要な観光資源となっている。しかし、「一心行の大桜」の樹種については、エドヒガンとヤマザクラの両説があり、未だ明確となっていない。エドヒガンとヤマザクラ両種は外部形態において比較的確な違いがあるとされている(2)。しかし、「一心行の大桜」は、外部形態が両種の特徴を併せ持つことから、種の同定に関して、これまで議論されてきた。

そこで、本実験では、(独)森林総合研究所多摩森林科学園の個体を基本木として RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 分析によって「一心行の大桜」の樹種の同定を試みた。また、「一心行の大桜」は根元で大きく5つに分かれ、そのうち3本が根元付近で2つにわかれ、合計8つに分かれた形態をしている。これは、過去の落雷によるものとされ、本来は1本の巨樹であるとされている。しかし、複数の個体からなる合体木である可能性も考えられることから、より詳細な情報を得るためにも「一心行の大桜」を8株と設定し、幹分かれを生じている各樹幹間の遺伝的類似性の度合いについても遺伝学的解析を実施した。

II. 材料と方法

エドヒガンとヤマザクラの両種はともにバラ科 (Rosaceae) サクラ属サクラ亜属 (*Cerasus*) に属しており、両種の違いとしては、樹皮や若枝の色、花卉のつき方、がく筒の形、葉と花の出る順序、葉における基部の形、成葉の色、鋸歯の形態等が挙げられ(2)、これらを起源とする品種を大別するときには、ヒガンザクラ群とヤマザクラ群としても区別されている(1)。今回、多摩森林科学園のエドヒガン3個体、ヤマザクラ3個体を対照木として、RAPD 分析によって樹種の同定を試みた。また、根元で幹が分かれている(図-2)ことから、「一心行の大桜」を仮に8つの樹幹からなると設定して樹幹内の遺伝的類似性についても解析を試みた。実験では、それぞれから採集した葉を用いた。DNA の抽出には、白石ら(3)による改良 CTAB 法を用いた。PCR (Polymerase Chain Reaction) 法の反応溶液組成は、2.5ng/ μ l 鋳型 DNA, 10mM Tris-HCl, pH8.3, 50mM KCl, 3mM MgCl₂, 200mM 各 dNTP, 0.25mM 各 プライマー, 0.5unit Amplitaq Stoffel Fragment Polymerase, (Perkin Elmer 社) とした。プライマーには、オペロン社製の RAPD primer kit A, C, H, M, U シリーズ各20種の計100プライマーを用いた。反応条件は94℃ 1分間の変成後、変成94℃・30秒間、アニーリング37℃・30秒間、伸長72℃・30秒間を1サイクルとして45回繰り返し、最後に72℃・7分間の伸長を行った。反応処理は、サーマルサイクラー (GeneAmp™ PCRSystem9600 PERKIN ELMER 社製) を用いた。PCR 増幅産物の泳動には、エチジウムブロマイドを含む

*1 Nagano, K., Maehara, T., Hirao, T., Mishima, K. and Toda, Y : Study on the classification of "Issingyo no oozakura" cherry tree

*2 九州東海大学農学部 Fac. Agric., Kyusyu Toukai Univ., Kumamoto 869-1404

*3 秋田県立大学木材高度加工研究所 Inst. Wood Tech., Akita Pref. Univ., Akita 010-195

1.2%アガロースゲルを用い、観察はUVトランスイルミネーター上で行った。得られたデータを基に、遺伝的距離をSMC (Simple Matching Coefficient) 法により算出した。系統樹は、遺伝的距離を基にUPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic) 法で作成し、クリケットグラフは類似性検定によって作成した。

Ⅲ. 結果および考察

使用した100プライマーのうち26プライマーから89種類の多型バンドが得られた。その結果、「一心行の大桜」とエドヒガン、ヤマザクラ間におけるそれぞれの平均遺伝的距離は、「一心行の大桜」とエドヒガン間が0.72, 「一心行の大桜」とヤマザクラ間が0.32, エドヒガンとヤマザクラ間が0.74であった。

別種であるエドヒガンとヤマザクラ間の平均遺伝的距離は「一心行の大桜」とエドヒガンの平均遺伝的距離に近い値を示した。また、エドヒガン内の平均遺伝的距離は0.11であり、「一心行の大桜」とエドヒガン間の平均遺伝的距離0.72と比較すると「一心行の大桜」はエドヒガンと別種であると考えられた(表-1)。

系統樹においても、それぞれ明確に異なるクラスターを形成し、「一心行の大桜」はヤマザクラが作るクラスターに近い位置に

あった(図-4)。

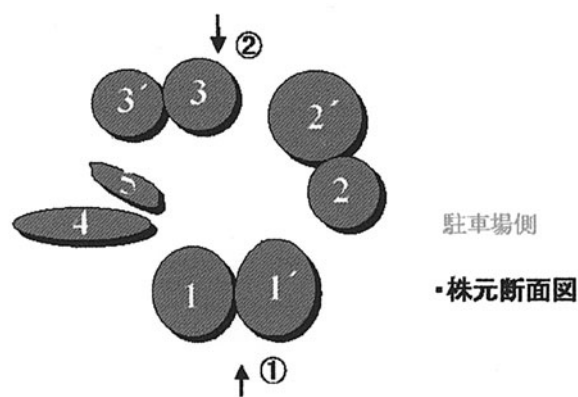
また、「一心行の大桜」とヤマザクラの平均遺伝的距離が0.32であり、ヤマザクラが種内で示した平均0.23よりも若干高い数値であった。しかし、多摩森林科学園のヤマザクラ内で最も遺伝的距離の遠いものは0.26, 「一心行の大桜」とヤマザクラで最も近いものは0.25であり、両者の遺伝的距離にほとんど差はみられなかった(表-1)。

クリケットグラフにおいても「一心行の大桜」とエドヒガン、ヤマザクラはそれぞれの集団を形成し、「一心行の大桜」はヤマザクラに近い位置であった。したがって、比較した対照木のヤマザクラが地理的に離れた場所に生育し、遺伝的交流の可能性が少ないこと等を考慮すると「一心行の大桜」はヤマザクラの種内に含まれると考えられた。

また、「一心行の大桜」内の8本の平均遺伝的距離は0.04, エ



図-1. 「一心行の大桜」の全体像



①から見た写真



②から見た写真

図-2. 「一心行の大桜」の株元断面図と株元の写真

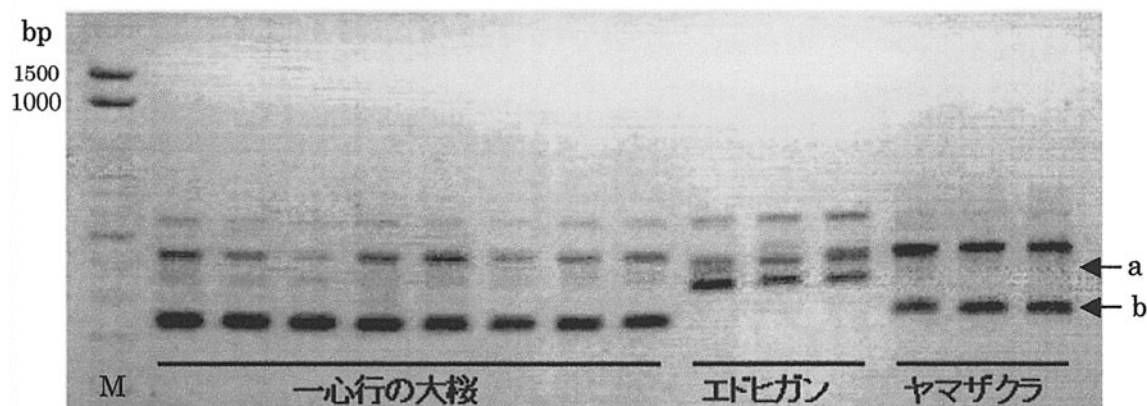


図-3. プライマー OPA - 5 によって得られた電気泳動像

(左からM: 100base-Pair Ladder, 「一心行の大桜」: 1, 1', 2, 2', 3, 3', 4, 5, エドヒガン: 1, 2, 3, ヤマザクラ: 1, 2, 3)

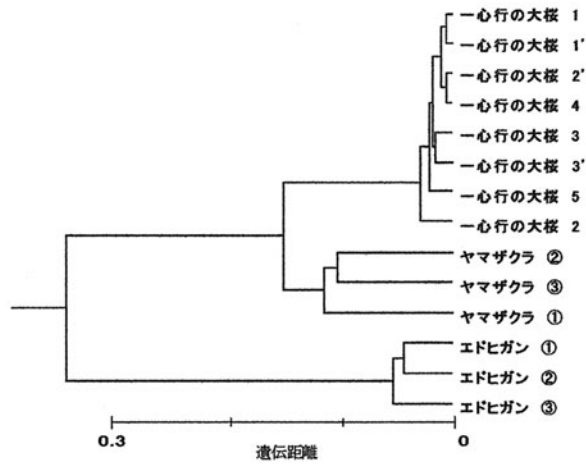


図-4. RAPD 分析による系統図

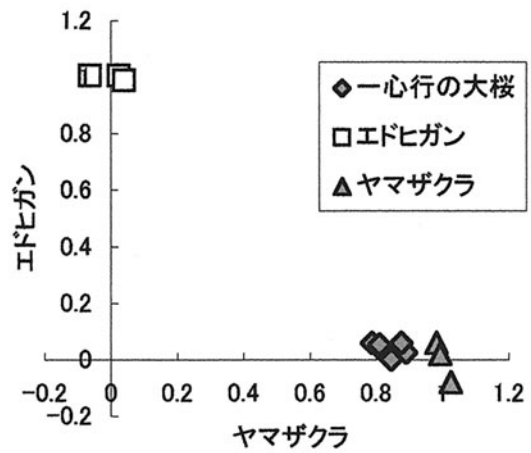


図-5. RAPD 分析によるクリケットグラフ

表-1. RAPD 分析によって得られた遺伝的距離

	一心行の大桜								エドヒガン			ヤマザクラ		
	1	1'	2	2'	3	3'	4	5	1	2	3	1	2	3
一心行の大桜														
1	—							0.04			0.72			0.32
1'	0.01	—												
2	0.05	0.06	—											
2'	0.02	0.01	0.07	—										
3	0.06	0.05	0.08	0.03	—									
3'	0.05	0.03	0.05	0.05	0.03	—								
4	0.03	0.02	0.08	0.01	0.02	0.03	—							
5	0.05	0.03	0.07	0.05	0.06	0.05	0.03	—						
エドヒガン														
1	0.74	0.73	0.74	0.72	0.71	0.70	0.71	0.74	—		0.11			0.74
2	0.72	0.71	0.72	0.70	0.71	0.70	0.71	0.74	0.09	—				
3	0.70	0.71	0.72	0.70	0.73	0.72	0.71	0.74	0.11	0.11	—			
ヤマザクラ														
1	0.29	0.30	0.25	0.32	0.30	0.27	0.30	0.27	0.79	0.83	0.76	—		0.23
2	0.34	0.33	0.32	0.34	0.33	0.29	0.33	0.32	0.70	0.72	0.70	0.23	—	
3	0.35	0.36	0.30	0.37	0.36	0.33	0.36	0.35	0.71	0.78	0.71	0.21	0.26	—

ドヒガン個体間が0.11であり、ヤマザクラ個体間が0.23であった。「一心行の大桜」樹幹内の遺伝的距離は、異なる個体間の距離であるエドヒガン、ヤマザクラ個体間の差に比べて、はるかに低い値を示した。

さらに、「一心行の大桜」8本の樹幹間すべての数値は極めて低く、「一心行」の8本の樹幹は同一個体の可能性が高いと考えられた(表-1)。

IV. まとめ

今回の実験で「一心行の大桜」はヤマザクラである可能性が極めて高いことが示唆された。また、「一心行の大桜」のクローン鑑定において、8株は同一個体の可能性が高いと考えられたが、各章は得られなかった。今後、より詳細な情報を得るためには、SSCPまたはSSR等の個体識別に有効なマーカーを用いた分析が必要と考えられる。

なお、本研究は2002年3月熊本県阿蘇郡白水村からの委託研究として実施したものである。また、エドヒガンおよびヤマザクラのサンプルに際して、協力頂いた独立行政法人森林総合研究所多摩森林科学園の三輪雄四郎園長に深く感謝いたします。

引用文献

- (1) 川崎哲也 (1992) 分類, (日本のサクラの種・品種マニュアル, サクラの品種に関する調査研究報告書編集委員会編, 448pp, 日本花の会, 東京), 1-26.
- (2) 大橋広好ほか (1989) サクラ属, (日本の野生植物 木本 I, 佐竹義輔ほか編, 321pp, 平凡社, 東京), 186-198.
- (3) 白石進・渡辺敦史 (1995) 日林誌 77: 429-436.
- (4) 渡辺典博 (1999) 一心行の大桜, (日本全国巨樹・巨木674本, 437pp, 山と溪谷社, 東京).

(2003年10月31日 受付; 2003年12月26日 受理)