

速報

老松神社（福岡県瀬高町）多幹性イチョウ巨木のクローン分析*1

張 変香*2 · 中島康介*3 · 白石 進*2 · 矢幡 久*4 · 野田 力*5

張 変香・中島康介・白石 進・矢幡 久・野田 力：老松神社（福岡県瀬高町）多幹性イチョウ巨木のクローン分析 九州森林研究 57：219-220, 2004 福岡県瀬高町上長田の老松神社に生育するイチョウ巨木（推定樹齢400年）は、根元は1本であるが、胸高位置では7本の幹に分岐している。この多幹性イチョウの成立過程を明らかにするために、RAPD法を用いてクローン分析を行った。その結果、イチョウ巨木を構成するすべての幹は同一RAPDパターンを示したことから、これらは同一クローンであり、1個体が分岐して多幹になったものと考えられる。

キーワード：イチョウ, 巨木, クローン分析, RAPD

I. はじめに

福岡県瀬高町上長田の老松神社には、推定樹齢400年（-100～+50年）のイチョウ巨木が生育している。老松神社は、約400年前に創建され、その際に御神木としてこのイチョウが植栽されたと伝えられている（1）。

このイチョウは、根元は1本であるが、胸高位置では7本の幹からなる多幹性を示している（図-1）。樹高は25.0m、根元付近の幹周りは11.6m、枝張りは東西24.0m、南北28.5mである。最も太い幹の幹周りは約5mである。胸高（1.3m）位置（図-1（A））では、7本の幹が独立しているが、地際（図-1（B））では各幹が癒合しており、外見上は1本となっている。

多幹性イチョウの成立過程としては、（1）元々1個体であったものが、枝もしくは幹の分岐を繰り返し、多幹となった、（2）群状に植栽された複数の個体が、幹の肥大成長とともに癒合し、外見上1個体となった、等のことが考えられる。そこで、DNA分析の一つであるRAPD(random amplified polymorphic DNA)法（3）を用いて、この巨木を構成している7本の幹のクローン分析を行い、その成立を推測した。

II. 材料と方法

供試材料として、巨木を構成している7本の幹に着生した葉（No.1～7）を採取した（図-1（A））。また、対照として、九州大学箱崎キャンパス内の1個体（No.8）と福岡市東区内の街路樹の2個体（No.9, 10）からも葉を採取した。

葉からの全DNA単離は、改良CTAB法（2）を用いて行い、MagneSil(Promega)で精製して、PCRの鋳型DNAとした。PCR溶液組成（10 μ l）は、2.0mM MgCl₂, 0.2mM各dNTP, 1.5 μ Mプライマー, 0.25U PLATINUM *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen), 1 \times PCR Buffer, 10ng 鋳型DNAである。PCR条件は、はじめに94 $^{\circ}$ C・60秒の変性後、変性94 $^{\circ}$ C・30秒間、アニーリング50 $^{\circ}$ C・30秒間、伸長72 $^{\circ}$ C・60秒間を1サイクルとして、これを40回繰り返し、最後に72 $^{\circ}$ C・120秒間の伸長を行った。PCR産物をアガロースゲルで電気泳動した。

RAPD分析に用いたプライマーは、Operon社のOPD-02（5'-GGACCCAACC-3'）、OPD-18（5'-GAGAGCCAAC-3'）、OPE-20（5'-AACGGTGACC-3'）、OPS-11（5'-AGTCGGGTGG-3'）、OPY-16（5'-GGCCAATGT-3'）の5種類のプライマー塩基配列の3'端に3塩基を付加した13merのプライマー（192種類）を使用した。

III. 結果と考察

個体もしくはクローン識別には様々なDNA分析法が用いられているが、今回はRAPD法を使用した。まず、イチョウ巨木の1サンプル（No.1）と対照の3サンプル（No.8～10）の計4サンプルを用い、192種類のプライマーの中から、今回のクローン分析に有効なプライマーのスクリーニング（予備分析）を行った。192プライマーの大多数において、今回供試した4個体間で変異が認められなかった。この原因としては、（1）過去に受けたピン首効果によりイチョウ全体の遺伝的多様性が消失している、

*1 Zhang, D.X., Nakashima, K., Shiraiishi, S., Yahata, H. and Noda, T.: Clone analysis of the old multi-forked ginkgo in Oimatsu shrine, Setaka, Fukuoka Prefecture

*2 九州大学大学院農学研究院 Fac. Agrc., Kyushu Univ., Fukuoka 812-8581

*3 九州大学大学院生物資源環境科学府 Grad. Sch. Biores. Bioenv. Sci., Kyushu Univ., Fukuoka 812-8581

*4 九州大学熱帯農学研究センター Inst. Tropical Agrc., Kyushu Univ., Fukuoka 812-8581

*5 福岡県産業・科学技術振興財団 Fukuoka Indus. Sci. Tech. Found., Fukuoka 810-0001

(2) 中国を自生地とするイチヨウが我が国に導入された際の種子源が限られていた、などが考えられる。

予備分析で得られた泳動像を基に、変異性を有しかつバンドが鮮明である16プライマーを選んだ。これらのクローン分析に有用と評価された16プライマーを用いて、全サンプル (No.1~10) のRAPD 分析を行った。

その結果の一部を、図-2に示した。各泳動像の両端のレーン (M) はサイズスタンダード (New England Biolabs, 100 bp DNA Ladder) である。中央の10レーンは、左側の7レーン (1~7) が巨木の7サンプル (No.1~7) であり、図-1 (A) のサンプル番号に対応している。右側の3レーン (8~10) は、イチヨウの変異性を評価するために使用した対照3個体 (No.8~10) である。

対照として使用した3個体では、個体間でバンドパターンに違いが認められたのに対し、巨木イチヨウの7サンプル間には、変

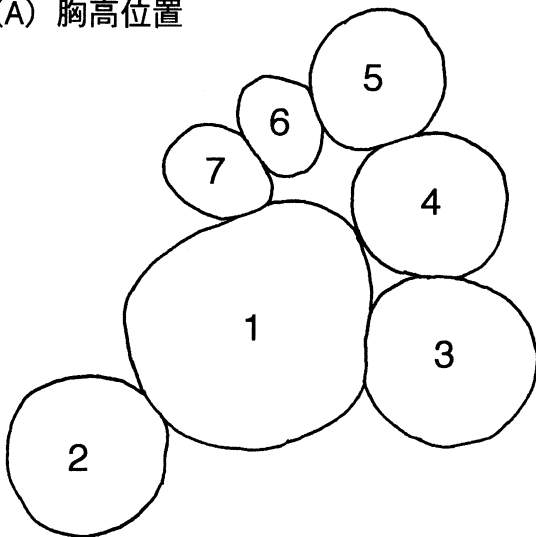
異が認められず、全サンプルが同一バンドパターンを示した。

これらの結果から、イチヨウ巨木から採取された7サンプルは同一個体由来である可能性が高いと考えられる。よって、老松神社のイチヨウ巨木は、別々に植栽された複数の個体が成長過程で癒合してできた合体木の可能性は低く、1個体が分岐して多幹になったものと思われる。

引用文献

- (1) 小河誠司・猪上信義 (2002) 瀬高町上長田老松神社イチヨウ巨木調査, 8pp.
- (2) 白石進・渡辺敦史 (1995) 日林誌 77: 429-436.
- (3) Williams, J. G. *et al.* (1990) *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535

(A) 胸高位置



(B) 根元付近

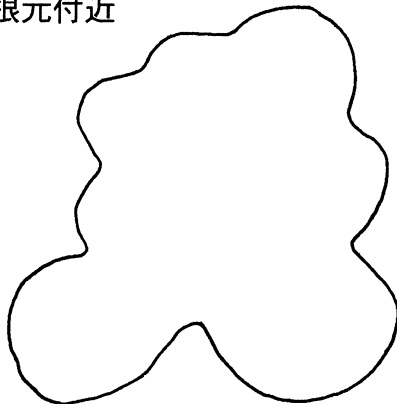


図-1. 胸高位置(A)および根元付近(B)の断面模式図 (小河・猪上 2002)

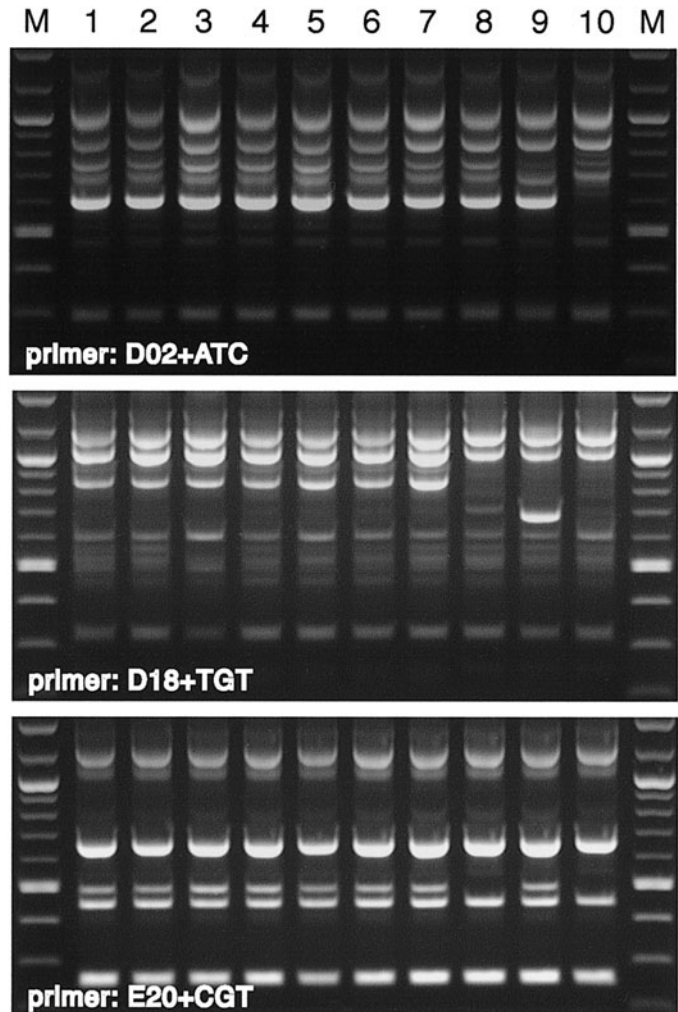


図-2. イチヨウ巨木の RAPD 分析の結果

(2003年11月10日 受付; 2004年1月5日 受理)