

琉球大学学術リポジトリ

Sequoiadendron giganteum の染色体に関する研究(林学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 馬場, 繁幸, Baba, Shigeyuki メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4014

Sequoiadendron giganteum の染色体に関する研究*

馬場 繁 幸**

Shigeyuki BABA: The chromosomal study of *Sequoiadendron giganteum* (LINDL.) BUCH.

Summary

Chromosomes of *Sequoiadendron giganteum* were studied with the following results:

1. Chromosome number of somatic cell was $2n=22$, and ten pairs were m-types, centromere located at median region, and one pair was sm-type, centromere located at submedian region.

2. The smallest pair had specific structure shown at proximal region near centromere. This region shown was weakly stained or partially stained by the Feulgen method. In this region, there were a few small dots at prophase and early metaphase, and one stained dot at late metaphase and meta-anaphase. The region couldn't be distinguished from the centromere clearly.

3. The proximal region of the smallest pair was stained darker than others by using the modified Ag-I method. It was recognized that nucleolar organizing region (NOR) was located at this region. Number of nucleolus at resting stage was two at the maximum, and corresponded to the number of NOR.

はじめに

スギ科 (Taxodiaceae) は、世界に9属13種と分類され²⁸⁾ その多くは極めて林業的に有用である。これまで、スギ科に関する細胞学的研究は、多くの研究者によって行われているが^{3, 4, 9, 14~24)}、それぞれの研究が2, 3あるいは個々の種または属を対象としており、系統的にスギ科を扱ったものは少ない。筆者は、スギ科およびその近縁種について、細胞分類学的な観点から研究を推めている。その一環として、*Sequoiadendron giganteum* (LINDL.) BUCH. の染色体の特徴を明らかにした。

この種は、近縁種と考えられる *Sequoia sempervireus* (D. DON) ENDL. と同属とし、*Sequoia gigantea* (LINDL.) DECNE. と分類されていたこともある⁵⁾。しかし現在では、その形態学および発

* 本論文の一部は第38回日本林学会九州支部大会 (1982, 熊本), 第94回日本林学会 (1983年, 盛岡) で発表した。

** 琉球大学農学部林学科

琉球大学農学部学術報告 30: 615~620 (1983)

生学的差異から両種を区別し、それぞれ1属1種とすることが多い。

S. giganteum の染色体数が $n=11$ であることは Buchholz²⁾ によって、 $2n=22$ であることは Jensen ら⁶⁾、黒木¹⁰⁾、Schlarbaum ら²¹⁾ によって明らかにされている。また、Schlarbaum ら²¹⁾ は、予期せぬ結果として、動原体に近い中央部分が、わずかに染色されるか、負の異常凝縮性質 (negative heteropycnotic nature) を示す特徴的な染色体を1対観察している。しかし、その染色体の機能については、言及していない。

近年、染色体の各種の分染法が確立されるにともない、林木の染色体についても、分染が試みられているが、その成功例はまだ少なく、その分染法の改良とその応用が望まれている。筆者は、分染法の1つである Ag-I 法⁸⁾ を用い、Schlarbaum ら²¹⁾ が指摘した1対の特徴的な染色体の機能について、新たな知見を得た。

本研究にあたり、有益な御助言をたまわった琉球大学農学部諸見里秀幸教授には、お礼を申し上げる。

材料および方法

S. giganteum の種子は、U.S. Forest Tree Seed Center から提供を受けた。この種子を発芽させ、育苗した1,2年生の苗木の根端を材料とした。

採取した材料を、0.002 モル 8-オキシキノリン (10°C , 24時間) で前処理、70%エタノールと酢酸混液 (3:1) で固定した。このように処理した材料を次の2法で染色した。

第1法

1 規定塩酸 (60°C , 10分) で加水分解、フォイルゲン染色

第2法

- 1) 1 規定塩酸 (60°C , 10~12分) で解離
- 2) 水洗
- 3) おしつぶし法により暫定プレパラート作成
- 4) 市販のジクロルジフォルメタンのスプレーで凍結後、あるいはブンゼンバーナの弱い炎の上で乾燥後、カバーガラスを剥離
- 5) 1 昼夜乾燥
- 6) 50%硝酸銀水溶液 (50°C , 2~3時間) で染色
- 7) 水洗後、1 昼夜乾燥

以上のように染色した材料をプレパラートに作成し、光学顕微鏡を用いて観察した。染色体の測定は主として2,200~3,000倍程度に拡大した顕微鏡写真によったが、直接マイクロメータによるものも併用した。染色体の相同対の決定は、拡大した顕微鏡写真を切り抜き、組合わせるとともに、長さ、腕長比などの特徴に基づいて行った。染色体の動原体の位置に基づく命名法は、Levan ら¹²⁾ によった。

結果および考察

S. giganteum の体細胞染色体数は $2n=22$ (Fig. 1) であり、これまでの報告^{6, 10, 21)} と一致していた。染色体の長さ、腕長比およびその特徴から、それぞれの相同対を決定すると Fig. 2 のように組合わせることができた。相同対の10細胞平均の相対長、腕長比は Table 1 に示した。なお、観察した10細胞は、同じ分裂中期であっても、それぞれの分裂の時期がわずかつ異なる。つまり細胞ごとに染色体の短縮割合が違っており、染色体の実測値 (絶対長) では比較できない。したがって、細胞ごとの染色体の長さの総和を200 (半数染色体長の総和を100) とし、相対長で表示してある。

Jensen ら⁶⁾ は、そのデータを記載していないが、10対が中部あるいは次中部型で、残り1対が次端部動原体型の染色体であると述べている。黒木¹⁰⁾ は、中部型7対、次中部型4対と報告している。こ

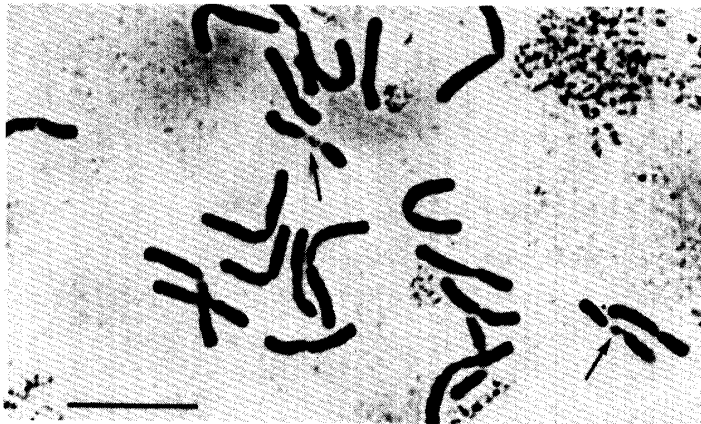


Fig. 1. Photomicrograph of somatic chromosomes stained by the Feulgen method. The specific pair with weakly stained or partially stained proximal region is shown by arrow. Bar; 10 μ .

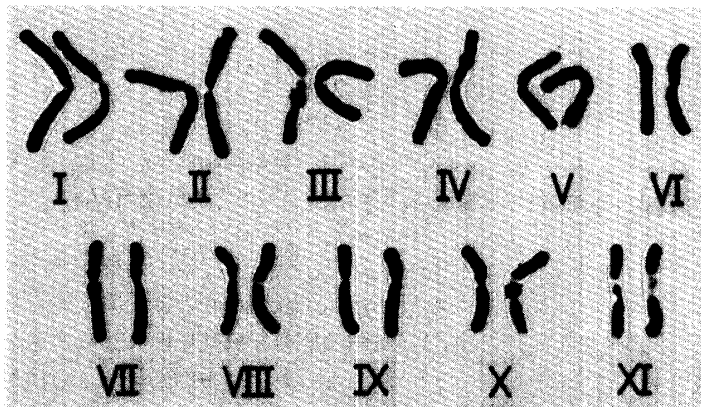


Fig. 2. Eleven pairs of somatic chromosome complement are arranged in order of length in the cell of Fig. 1.

全体的にわずかに染色された比較的不明瞭な部分となることが多い (Fig. 3 c~f)。染色体が短縮している中期の終りあるいは後中期では、中央部分も短縮しており、染色されるか、わずかに染色される1つの小粒として観察されるようになる (Fig. 3 g~i)。いずれの分裂時期においても、動原体の部分 (1次くびれ) をはっきりと識別することは困難である。このように、最短染色体の中央部分が分裂時期により一定の形を示さないことは、分裂の前期から後期への進行につれて、この部分に点在するいくつかの染色される、あるいはわずかに染色される小粒が、前期の終りから後中期では、折りたたまれるような形で1つの小粒となり観察されるものと推測されるが、今後さらに検討を加えたい。また、黒木¹⁰⁾はこの染色体の存在を指摘していない。前処理等により染色体を極端に短縮させた場合には、この特徴的な部分が不明瞭となり、1次くびれとの識別が困難となった結果と推測される。

戸田²⁶⁾は、同じスギ科のスギ (*Cryptomeria japonica*) の体細胞染色体の観察で、特異的な型の染色体、つまり染色体の中央部分が長くくびれてKöpfchen (乳首) および connecting fiber (連結糸) と大きな付随体をもつ染色体が1対あることを指摘している。また、Kondoら⁷⁾は、スギのCバンド

れらを、Levanら¹²⁾の命名法に従ってみると、前者のものは10対がm型、残り1対がsm型と推測され、後者のものは9対のm型、2型のsm型 (第VII, IX染色体) となる。また、Schlarbaumら²¹⁾は10対のm型、1対のsm型 (第X染色体) と報告している。筆者の結果では10対のm型、1対のsm型 (第IX染色体) であった (Table 1)。Schlarbaumら²¹⁾は、sm型を第X染色体と指摘しているが、わずか1細胞の観察のみであること、第IX染色体と第X染色体の長さには、さほど大きな差異がみられないことから、筆者が観察した第IX染色体と同一の染色体と考えられる。黒木¹⁰⁾はもう1対のsm型を第VII染色体に認めている。今回の観察結果では、この染色体は極めてsm型に近い腕長比を示しているが、m型の染色体として識別される。

Schlarbaumら²¹⁾により報告されるように、最短の第XI染色体の動原体に近い中央部分は、極めて特徴的な性質を示した (Fig. 1~3)。染色体が短縮していない前中期あるいは中期の初めでは、中央部分は長くくびれた不染部分か、わずかに染色される部分となり、いくつかの染色された小粒も観察される (Fig. 3 a, b)。中期では、この中央部分は

染色と蛍光染色で、染色体の中央部分に2次くびれをもつ付随体染色体を1対報告している。筆者の観察結果では、スギの Köpfchen および connecting fiber は *S. giganteum* の最短染色体の中央部分と同じく、時として一定の形を示さない傾向もあることから、同様の性質をもつものと推測される。また、同じスギ科の *Metasequoia glyptostroboides*, *Taiwania cryptomerioides*, *Taxodium distichum*, *T. mucronatum* でも1対あるいはそれ以上同様の性質をもつと考えられる染色体が観察され、この性質を示す染色体は、スギ科のマーカー染色体の可能性も示唆される¹⁾。

Table 1. Basic morphometric data on chromosomes of *S. giganteum* *

Chromosome pairs	Relative length			Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total length \pm S.D.		
I	6.49	6.13	12.63 \pm 0.39	1.06	m
II	5.86	5.22	11.08 \pm 0.43	1.12	m
III	5.56	5.03	10.59 \pm 0.33	1.11	m
IV	5.78	4.20	9.98 \pm 0.30	1.36	m
V	4.85	4.32	9.17 \pm 0.29	1.15	m
VI	4.69	3.90	8.60 \pm 0.25	1.22	m
VII	5.06	3.26	8.32 \pm 0.15	1.59	m
VIII	4.54	3.59	8.13 \pm 0.23	1.28	m
IX	4.89	2.88	7.77 \pm 0.19	1.70	sm
X	4.13	3.52	7.65 \pm 0.20	1.17	m
XI	3.42	2.67	6.09 \pm 0.19**	1.29	m

* Each value on this table is the mean value which is calculated with ten cells for each item.

** Length of the proximal region of this pair is not included in these measurements.

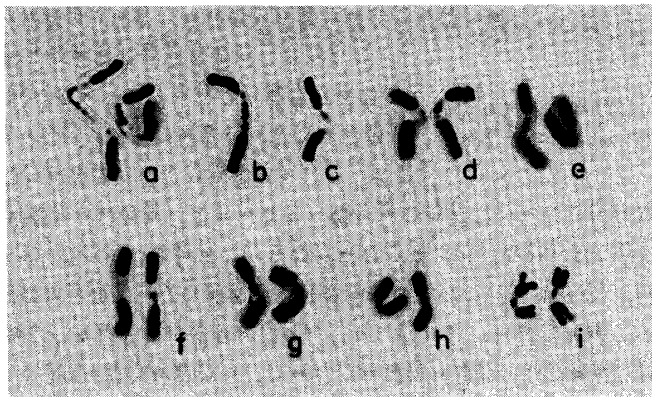


Fig. 3. The specific chromosomes with weakly stained or partially stained proximal region from eight cells.

Only one chromosome is shown in b and c, because the other one is not in the photomicrograph.

S. giganteum の最短染色体の特徴的な部分の機能を明らかにするため、Ag-I法を用い染色体上の核小体形成部 (nucleolar organizing region 以下 NOR と略す) の染色を試みた。染色体の中央部分のみ黒褐色～黒色に濃染され、他の染色体部分が褐色～黄褐色に淡く染色されることから、容易に識別される染色体が1対みられた (Fig. 4)。染色体の特徴的な部分が短縮している場合には、1つの大きな濃染部として長くくびれている場合には、少なくとも2つの濃染部に分れている。いずれの場合でも、動原体である1次くびれと、NORである2次くびれとを明確に識別することは困難である。しかしながら、Ag-I法で濃染

することから、この特徴的な部分が、NOR として機能していることは明らかと言える。

NORをもつ染色体が1対、2本みられることから、当然これに対応する数の核小体の存在が考えられる。静止核内の核小体は容易に融合し、その数を減じるが1～2個、最大2個観察され (Fig. 5), NOR の数と一致する。



Fig. 4. Photomicrograph of somatic chromosomes stained by the Ag-I method. The specific pair with the darker stained proximal region is shown by arrow.

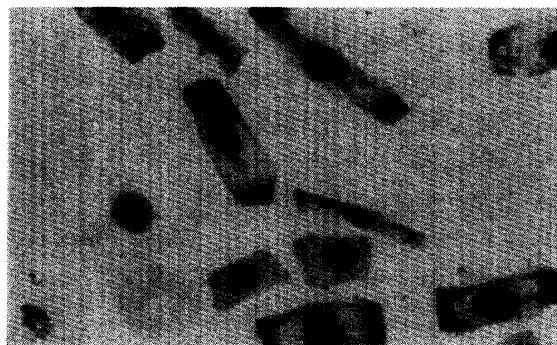


Fig. 5. Nucleoli of somatic cell at resting stage.

林木の染色体の分染については、種々の試みがなされている^{7, 11, 13, 17, 22, 25, 27)}とは言え、まだその緒についたばかりである。今後さらに技術的改良を加え、その応用範囲を広げる必要がある。また、系統的に種をとらえ、細胞分類学的に種の類縁関係を考えて行きたい。

摘 要

スギ科の細胞分類学的研究の一環として、*Sequoiadendron giganteum* の染色体を観察した。体細胞染色体数は $2n = 22$ であり、10対のm型、1対のsm型染色体であった。sm型染色体は、長さの順に配列すると第IX染色体であった。最短染色体の動原体に近い中央部分は、特徴的な性質を示し、前中期あるいは中期の初めでは、長くくびれた不染部分といくつかの染色されるか、わずかに染色される小粒として観察された。中期の終りあるいは後中期では、この部分は短縮しており、不染部分と染色されるか、わずかに染色される1つの小粒となっていた。この特徴的な中央部分は、Ag-I法で濃染することから、NORとして機能していることがわかり、NORと核小体の数は一致していた。

本論文の一部は、昭和57年度文部省科学研究費補助金 (課題番号 57760122) によって行った。

引用文献

1. 馬場繁幸 1983 スギ科樹木の染色体について、日林九支研論 36 (印刷中)
2. Buchholz, J.T. 1939 The morphology and embryogeny of *Sequoia gigantea*, Amer. Jour. Bot., 26:93 - 101
3. Dark, S.O.S. 1932 Chromosomes of *Taxus*, *Sequoia*, *Cryptomeria* and *Thuja*, Ann. Bot., 46:965-977
4. Goodspeed, T.H. and Crane, M.P. 1920 Chromosome number in the Sequoia, Bot. Gaz. 96:348-349

5. Harlow, W.M. and Harrar, E.S. 1969 Text book of dendrology, 5th Ed., p191-207, McGraw-Hill Book Co., New York
6. Jensen, H. and Levan, A. 1941 Colchicine-induced tetraploidy in *Sequoia gigantea*, Hereditas, **27** : 220-224
7. Kondo, T. and Hizume, M. 1982 Banding for Chromosomes of *Cryptomeria japonica* D. Don, J. Jap. For. Soc., **64** : 365-368
8. 黒田行昭編 1981 培養細胞遺伝学実験法 p104 - 105, 東京, 共立出版
9. 黒木嘉久 1969 主要針葉樹の核型に関する研究 宮崎大演習林報告 **5** : 1 - 103
10. 黒木嘉久 1970 林木の核型に関する研究 (VI) ギゼントセコイアの核型およびギガントセコイアとメタセコイアの核型の比較 日林九支研論 **24** : 77-79
11. Kupila-Ahvenniemi, S. and Hohtola, A. 1977 Structure of chromosomes of Scotch pine, Hereditas, **87** : 185-188
12. Levan, A. and Sandbarg, A. A. 1964 Nomenclature for centromeric position on chromosomes, Hereditas, **52** : 201-220
13. Macpherson, P. and Filion, W. G. 1981 Karyotype analysis and the distribution of constitutive heterochromatin in five species of *Pinus*, J. Hered., **72** : 193-198
14. 松田 清, 宮島 寛 1977 スギさし木品種の染色体 日林誌 **59** : 148-150
15. 松本賢三 1933 スギ及び台湾スギの染色体数に就て 植物及動物 **1** : 1751-1756
16. Mehra, P. N. and Khoshoo, T. N. 1959 Cytology of conifers. I, Jour. Genet. **54** : 165-180
17. 森 節子, 岡田幸郎, 古田喜彦 1981 スギにおけるギムザ分染法について 92回日林論 : 261 : 262
18. 佐々木義則, 黒木嘉久 1982 有用樹種の細胞遺伝学的研究 (VII) スギ精英樹にみられる3倍体 日林九支研論 **35** : 71-72
19. Saylor, L.C. and Simons, H. A. 1970 Karyology of *Sequoia sempervirens* : Karyotype and Accessory chromosomes, Cytologia, **35** : 294-303
20. Sax, K. and Sax, H. J. 1933 Chromosome number and morphology in the conifers, Jour. Arnold., **14** : 356-375
21. Schlarbaum, S. E. and Tsuchiya, T. 1975 The chromosome study of Gigant Sequoia, *Sequoiadendron giganteum*, Silvae Genet., **24** : 24-26
22. Schlarbaum, S. E. and Tsuchiya, T. 1981 Differential reactivity to staining in tree chromosomes, J. Hered., **72** : 62-63
23. 染郷正孝 1980 スギの核型変異 91回日林論 : 213-214
24. Stebbins, G. L. Jr. 1948 The Chromosomes and Relations of *Metasequoia* and *Sequoia*, Science, **108** : 95-98
25. Tanaka, R. and Hizume, M. 1980 C banding treatment for the chromosomes of some gymnosperms, Bot. Mag. Tokyo, **93** : 167-170
26. Toda, Y. 1980 On the karyotype of *Cryptomeria japonica* D. Don (V) *Cryptomeria japonica* D. Don in Kyushu (1), J. Jap. For. Soc., **62** : 264-269
27. 戸田義宏 1981 スギの核型について (XIV) 低温処理による染色体の観察 92回日林論 : 263-264
28. 上原敬司 1977 樹木大図説 I, 7版, p 335 - 404, 東京, 有明書房