

[粕屋演習林]A. 林木の育種に関する研究 : 1. バーオキシダーゼ・アイソザイムの新しい呈色反応法について

宮崎, 安貞
九州大学農学部附属演習林 : 講師

<https://doi.org/10.15017/1458313>

出版情報 : 演習林研究経過報告. 昭和45年度, pp. 44-45, 1971. 九州大学農学部附属演習林
バージョン :
権利関係 :



A 林木の育種に関する研究

1 パーオキシダーゼ・アイソザイムの新しい呈色反応法について

宮崎 安貞

ここ10数年の間に、植物酵素の研究はたいへん進展したが、とくに植物酵素の多型性 (polymorphism) に関する研究は遺伝・育種・樹病など多方面にわたって応用的研究の有効な武器のひとつになつてきた。

林木にはきわめて多数の種類の酵素が含まれていると考えられるが、現在のところパーオキシダーゼ酵素は個体の遺伝子型を示すのに充分な多型性を示すこと、安価にできることなどから林木のアイソザイムの研究に用いられることが多い。パーオキシダーゼの呈色反応では、従来は酢酸ベンジジンを使つてきた。しかしベンジジンはぼうこう癌の発癌物質である疑いがきわめて濃いことから、これが使用はできるだけ避けることが望まれている。実際、ベンジジンはすでにアメリカなどでは製造禁止となつている。

筆者は、以下に述べるような新しいパーオキシダーゼの呈色法を使つて試薬の最適濃度を調べた。その結果は良好だつたので報告する。

実験方法

スターチ・ゲル6本に用いる呈色液は150 ml とすれば、まず0-Dianisidine 73mgと、 β -naphthol 43mgを秤量し300 ml ビーカーに入れる。Aceton 15 ml を加えて前記の両粉末をとかす。これらはすぐとける。つぎに0.1 M Tris-acetic acid buffer, pH 4.0 を15 ml とつてビーカーに加え、蒸留水 118.5 ml でこれを薄める。3%の H_2O_2 液 1.5 ml をさらに加えてスターラーでよく攪はんしてゲル上に注ぐ。トリス緩衝液と3% H_2O_2 はあらかじめ調製しておいた方が便利である。実験法を要約して示せばTable 1.のとおりである。

Table 1. New peroxidase staining method

Stock solution

1. 0.1M Tris-acetic acid buffer, 4.0 of pH.
2. 3% H_2O_2 (1% containing Acetic acid)

Procedure (150ml solution)

1. o-Dianisidin 2mM..... 73mg
2. β-naphthol 43mg
3. Acetone 15ml
4. 0.1M Tris - HAc 15ml
5. H₂O 118.5ml
6. 3% H₂O₂ 1.5ml

Tris-buffer, pH 4.0

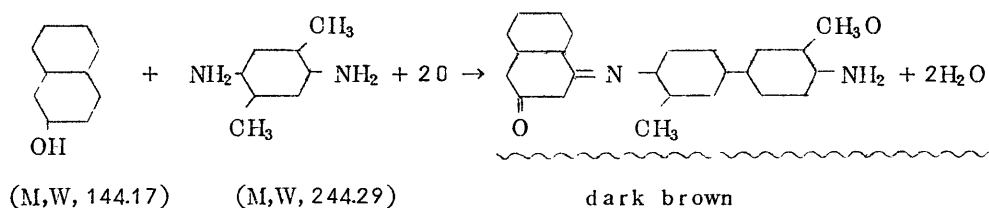
1. Tris 6.05g
2. CH₃COOH 30ml
3. H₂O (added to) 500ml

H₂O₂ solution

1. 30% H₂O₂ 10ml
2. CH₃COOH (100%) 1ml
3. H₂O 89ml

なお、呈色反応は下記のように進行する。

β-Naphthol o-Dianisidine



2 鳥取オキノヤマ天然スギの外部形質における変異

宮崎 安貞

オキノヤマ天然スギは古くから地元人工林用のアカざしあるいはアオざし苗木の給源として活用されてきたが、それとともに林木育種の母本材料として脚光を浴び、例えば関西林木育種場ではそのために約400系統が確保されている。九大粕屋演習林林木育種試験地では、昭和45年