

[多摩地域における広葉樹林の遺伝情報を踏まえた種苗育成に関する研究]

ミズナラにおける多摩地域と他地域の遺伝子型の判別について

畑 尚子・新井一司・菅原 泉^{*1}・久保田将之^{*2}・松下範久^{*2}
(緑化森林科・^{*1}東京農大・^{*2}東大)

【要 約】 ミズナラの葉を用いて葉緑体 DNA の *trnH-psbA* 遺伝子間領域の解析をすることにより、多摩地域に自生する個体と、遺伝的に異なる地域の個体を簡便に判別できる。

【目 的】

東京都多摩地域では、人工林を皆伐した後、花粉の少ないスギ・ヒノキに加え、広葉樹の植栽も行われており、他地域の苗木も多く植栽されている。遺伝的に異なる地域由来の苗木の植栽が続いた場合、遺伝子攪乱が起こるとともに、多摩の広葉樹林の衰退につながる可能性がある。このうち、ミズナラは、葉緑体および核 DNA の多数の遺伝子領域の解析により、日本における種苗流通のゾーニングが提唱されている (図 1)。ここでは、多摩地域の高標高域に多く自生する高木であるミズナラにおいて、遺伝的に異なる苗木の導入を防止するため、多摩地域に自生するミズナラが上記のゾーニングにおける北方タイプであることを確認するとともに、他地域の苗木が多摩地域と同じ北方タイプであるかどうかを DNA 解析により簡便に判別する。

【方 法】

1. 葉の採取：2016 年 6 月に東京都多摩地域の東京農業大学奥多摩演習林にて、ミズナラの葉を採取し、その場でシリカゲル入りの袋に入れ乾燥、保存した。また、図 1 において東京都と同じ北方タイプに属する地域のうち、地理的に離れているサンプルとして日本海側の富山県のミズナラの葉を、東京都と異なった南方タイプに属する地域のうち、地理的に近いサンプルとして愛知県のミズナラの葉を同 10 月に採取した。
2. DNA 解析：乾燥したミズナラの葉を 5 mm 四方切り取り、DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen 社) を用いて DNA の抽出を行い、葉緑体 DNA の *trnH-psbA* 遺伝子間領域を PCR 法にて増幅した。その後、増幅産物の塩基配列をダイレクトシーケンス法にて決定した。

【成果の概要】

1. 葉緑体や核 DNA の遺伝子型の決定には、多数の遺伝子領域の解析が必要であるが、ミズナラのゾーニングにおいて多摩地域と同じタイプに属するかどうか、葉緑体 *trnH-psbA* 遺伝子間領域の解析のみで判別できる。そこで、決定した葉緑体 *trnH-psbA* 遺伝子間領域の配列を Okaura *et al* (2007) による全国の遺伝子型 (表 1) と比較した結果、多摩地域で採取した 6 個体分のサンプルは、北方タイプの塩基配列を有していた。富山県のサンプルについても、北方タイプの塩基配列を有していた。一方、愛知県のサンプルは、南方タイプの塩基配列を有していた。富山県の苗木は多摩地域へ導入可能だが、愛知県の苗木は導入すべきでないことを確認した。
2. まとめ：ミズナラの葉を用いて葉緑体 DNA の *trnH-psbA* 遺伝子間領域の解析をすることにより、東京都多摩地域に自生する個体と、遺伝的に異なる地域の個体を簡便に判別した。



図1 ミズナラの種苗流通ゾーニング^aと本研究における葉の採取地
 a) 広葉樹の種苗の移動に関する遺伝的ガイドライン (2011) 森林総合研究所による。

表1 日本におけるミズナラの葉緑体 DNA の遺伝子型

遺伝子型 ^a	塩基番号												タイプ ^b	
	4	4	6	1	1	1	1	1	1	2	2	3		4
	4	5	7	1	3	5	7	7	7	1	7	9	3	
				3	7	3	4	6	7	9	4	6	8	
I・II	T	A	-	G	A	C	-	T	A ₃	T	A ₉	T	A	北方
III・IV	・	・	-	・	・	・	-	・	・	G	・	・	・	
V	・	・	-	・	・	・	-	G	・	・	A ₁₀	・	・	
VI	・	・	-	・	・	・	-	・	・	・	A ₈₋₁₀	・	・	
VII	G	・	-	・	・	・	-	・	・	・	・	G	C	南方
VIII	・	・	-	A	・	・	-	A	A ₁₋₃	・	A ₉₋₁₀	・	・	
IX	・	・	-	・	C	・	-	・	・	・	・	・	・	

a) Okaura *et al*(2007)による遺伝子型。配列は *trnH-psbA* 遺伝子間領域である。
 “・”は遺伝子型 I・II と同じ塩基を表し，“-”は塩基の欠失を表す。
 b) 森林総合研究所(2011)によるタイプ分け。

表2 採取したミズナラの葉緑体 DNA の解析結果

採取地	No.	塩基番号												遺伝子型 ^a	タイプ ^b	
		4	4	6	1	1	1	1	1	1	2	2	3			4
		4	5	7	1	3	5	7	7	7	1	7	9	3		
					3	7	3	4	6	7	9	4	6	8		
東京都 (多摩地域)	1	T	A	-	G	A	C	-	T	A ₃	T	A ₉	T	A	I・II	北方
	2	・	・	-	・	・	・	-	・	・	・	・	・	・	I・II	北方
	3	・	・	-	・	・	・	-	・	・	・	・	・	・	I・II	北方
	4	・	・	-	・	・	・	-	・	・	・	・	・	・	I・II	北方
	5	・	・	-	・	・	・	-	・	・	・	・	・	・	I・II	北方
	6	・	・	-	・	・	・	-	・	・	・	・	・	・	I・II	北方
富山県	1	・	・	-	・	・	・	-	・	・	・	・	・	I・II	北方	
愛知県	1	・	・	-	・	・	・	-	・	G	・	・	・	III・IV	南方	

※配列は *trnH-psbA* 遺伝子間領域である。“・”は遺伝子型 I・II と同じ塩基を表し，“-”は塩基の欠失を表す。

a) Okaura *et al*(2007)による遺伝子型。 b) 森林総合研究所(2011)によるタイプ分け。