

rbcL 遺伝子塩基配列情報に基づくカバノキ科5属の系統関係の解明

九州大学農学部 梶原 秀高・山口奈桜子
白石 進
三重大学生物資源学部 渡邊 定元

1. はじめに

カバノキ科 (*Betulaceae*) 植物は多くの樹種が造園樹として用いられているほか、治山を目的とする植林が行われていることや、建築材、家具材等の用材として用いられていることなど、林業・林産業上の有用樹種である。このカバノキ科植物は雌雄同株の落葉広葉樹で6属約120種からなり、主に北半球の温帯に分布しているが、ハンノキ属の一部の種は南米の熱帯地域にも分布し、多様な環境に適応している分類群である。

他の植物同様、カバノキ科もまた、従来、形態形質をもとに分類が行われてきた。カバノキ科を構成する6属は、カバノキ属、ハンノキ属からなるグループとハシバミ属、クマシデ属、アサダ属、ハシバミモドキ属からなるグループの2つに分けられている¹⁾。これらの2グループの分類群は、族、亜科や独立した科として扱われ、研究者によって分類体系が異なっている。さらに、後者のグループの中で、クマシデ属とアサダ属を独立させ、ハシバミ属とは異なる族とする報告も見られる。このようにカバノキ科は、族または亜科レベルでの分類において十分解明がなされていない。

近年の分子生物学的手法の進歩にともない、DNA塩基配列情報から多くの樹種の系統関係を解明する試みがなされている。カバノキ科植物の分類や系統進化を解明する目的で、葉緑体DNAの遺伝子領域や核DNAのスペーサー領域の塩基配列情報を利用した研究がすでに報告されている^{2,3)}。

本研究では、特に日本に自生するカバノキ科植物のうち、5属7種を対象として、葉緑体DNA上にコードされている *rbcL* 遺伝子 (1,309bps) の塩基配列を決定し、系統関係の解明を行った。

2. 材料と方法

本研究では、供試樹種として東京大学農学部秩父演習林で採取されたカバノキ科5属7種を用いた (表-1)。改良CTAB法⁴⁾により成葉から全DNAを抽出し、GE-

NECLEAN III Kit (Bio101, Inc.) で精製を行った。得られた全DNAを鋳型として、*rbcL* 遺伝子の一部 (1,309bps) をPCR (Polymerase Chain Reaction) により増幅し、そのPCR産物はGENECLEAN IIIを用いて精製した。さらにこれを鋳型として nested PCR を行い、増幅産物は1.5%アガロースゲルで電気泳動した。各断片をゲルから回収した後、QIAEX II (QIAGEN) で精製した。これらを鋳型として DNA Sequencing Kit (Perkin Elmer Applied Biosystems) を用いてシーケンズ反応を行い、自動蛍光シーケンサー (Applied Biosystems 373A) によって塩基配列の決定を行った。得られた塩基配列は、PHY-LIP3.51c⁵⁾ で解析を行い、近隣結合法 (neighbor-joining method)⁶⁾ により、系統樹を作成した。なお、outgroupとして *Shorea albida*, *Cornus controversa* を用いた。

3. 結果と考察

カバノキ科5属7種の塩基配列を比較した結果、*rbcL* 遺伝子の1,309bpsのうち、32サイトで塩基置換が観察された。表-2には各樹種間で観察された塩基置換数を示した。カバノキ属のシラカンバとオノオレカンバとの間の塩基置換は1サイト、ハンノキ属のヤシャブシとケヤマハンノキ間は2サイトであり、属内における塩基置換数は小さい値を示した。カバノキ亜科のカバノキ属とハンノキ属間での塩基置換数は、シラカンバとヤシャブシ、シラカンバとケヤマハンノキ間で11サイト、オノオレカンバとヤシャブシ、オノオレカンバとケヤマハンノキ間で10サイトであった。一方、ハシバミ亜科のハシバミ属、クマシデ属およびアサダ属間では、ツノハシバミとサワシバ間で11サイト、ツノハシバミとアサダ間で8サイト、サワシバとアサダ間で5サイトであった。さらに、カバノキ属・ハンノキ属 (カバノキ亜科) と他の3属 (ハシバミ亜科) 間の塩基置換数は17~22と、亜科内における観察値よりも大きな値となった。

この塩基配列情報をもとにして、近隣結合法により系統樹を作成した (図-1)。樹形の信頼性を検討するため、ブーツストラップ確率を算出した結果、91~100%

Hidetaka KAJIWARA, Naoko YAMAGUCHI, Susumu SHIRAIISHI (Fac. of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka 812 - 8581) and Sadamoto WATANABE (Fac. of Bioresources, Mie Univ., Tsu 514 - 8507)

Phylogenetic relationships among five genera in *Betulaceae* based on *rbcL* sequences

と各分岐の信頼性は高いと考えられた。今回の結果から、カバノキ科はカバノキ属とハンノキ属が1つのクラスターを形成し、ハシバミ属・クマシデ属及びアサダ属が別のクラスターを形成することが明らかとなった。各クラスターは従来の形態を指標とした分類におけるカバノキ亜科とハシバミ亜科のそれぞれに相当するものであった。また、ハシバミ亜科内では、クマシデ属とアサダ属が近縁であり、ハシバミ属はクマシデ属、アサダ属の姉妹群であることが示された。今回判明した日本に自生するカバノキ科5属における属間の関係は、Bousquetら²⁾による主にアメリカ大陸に分布する5属の系統関係と一致した。

今回、*rbcL* 遺伝子の塩基配列情報によりカバノキ科5属の系統関係が明らかにされたが、カバノキ科の1属であるハシバミ亜科のハシバミモドキ属は含まれておらず、今後、これを加えたカバノキ科全6属の系統関係

の解明が必要である。

引用文献

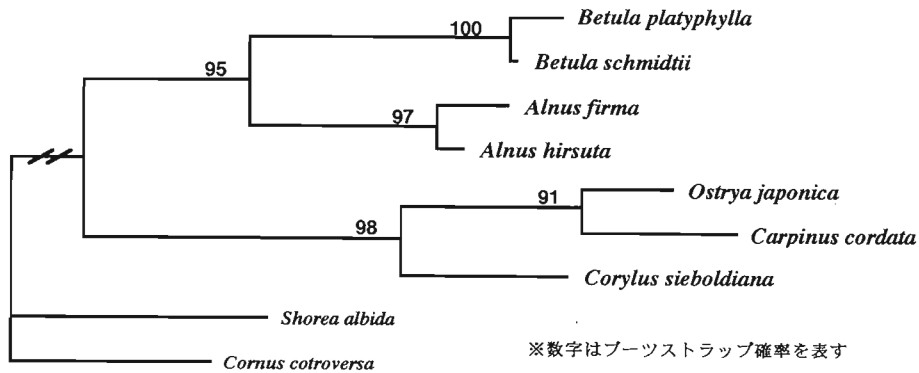
- (1) 渡邊定元：週刊朝日百科，植物の世界，8，98-119，朝日新聞社，東京，1995
- (2) BOUSQUET J. *et al.* : Mol. Biol. Evol. 9，1076-1088，1992
- (3) SAVARD L. *et al.*:Mol. Phylogenet. Evol. 2，112-118，1993
- (4) 白石進・渡辺敦史：日林誌，77，429-436，1995
- (5) FELSENSTEIN, J. : PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3. 51, Univ. Washinton, Seattle, 1993
- (6) SAITOU, N. and NEI, M. : Mol. Biol. Evol., 4，406，1987

表-1 供試樹種

学名	和名
<i>Betula platyphylla</i> SUKATCHEV var. <i>japonica</i> (MIQ.) HARA	シラカンバ
<i>Betula schmidtii</i> REGEL	オノオレカンバ
<i>Alnus firma</i> SIEB. et ZUCC.	ヤシャブシ
<i>Alnus hirsuta</i> TURCZ.	ケヤマハンノキ
<i>Corylus sieboldiana</i> BLUME	ツノハシバミ
<i>Carpinus cordata</i> BLUME	サワシバ
<i>Ostrya japonica</i> SARG.	アサダ

表-2 各樹種間での塩基置換数

種名	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>B. platyphylla</i>	-						
2 <i>B. schmidtii</i>	1	-					
3 <i>A. firma</i>	11	10	-				
4 <i>A. hirsuta</i>	11	10	2	-			
5 <i>C. sieboldiana</i>	19	18	19	17	-		
6 <i>C. cordata</i>	22	21	22	20	11	-	
7 <i>O. japonica</i>	21	20	21	19	8	5	-



※数字はブーツストラップ確率を表す

図-1 近隣結合法によるカバノキ科5属7種の系統樹