

アカシア4種の葉緑体DNA 遺伝子間スペーサー領域の塩基配列多型

九州大学農学部 AYPBC WIDYATMOKO・白石 進

1. はじめに

現在、東南アジア、南アメリカ、アフリカ、オセアニアを中心に、パルプ原材料用として、ユーカリ属やアカシア属樹種の人工造林が盛んに進められている。アカシア属の中では、*Acacia auriculiformis*, *A. mangium*, *A. crassicarpa* と *A. aulacocarpa* が有用な樹種とされている。この4種は、アカシア属の3亜属のうち、Phyllodinae 亜属(約950種)に分類される。この亜属のほとんどがオーストラリアに分布している。そのうち、今回供試した4種を含む9種のみがパプアニューギニアとインドネシアにも分布している^{4,5)}。

将来的にアカシアの育種を効率的に進めて行くためには、これら4種の系統学的関係を明確にすることが重要である。これまで形態的・木材組織解剖学的な諸研究が行われてきた⁶⁾。種間雑種形成からは、*A. auriculiformis* と *A. mangium* が、また *A. crassicarpa* と *A. aulacocarpa* が近縁であるとの報告がなされている^{6,7)}。形態学的には、*A. crassicarpa* と *A. aulacocarpa* が一つのグループと考えられ⁸⁾、アイソザイム分析から、*A. auriculiformis* と *A. mangium* が非常に近い関係であると考えられている⁹⁾。しかし、DNAの分類・系統学的研究はほとんど行われていないことから、アカシア4種間の詳細な系統関係は未だ明

らかとなっていない。

そこで、本研究では、葉緑体DNAの *trnD-trnY* 遺伝子間スペーサー領域のDNA塩基配列を決定し、種間の比較を行った。

2. 材料及び方法

本研究では、全てオーストラリアCSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization)のシードバンクに保存されている種子を用いた(表-1)。*A. auriculiformis*, *A. mangium* と *A. crassicarpa* はそれぞれ1粒、また、最も遺伝的多様性が高いとされている *A. aulacocarpa*⁷⁾ については、種子内変異を確認するために産地を異にする3粒を使用した。

全DNAの抽出はSDS法を用いて行った。この粗抽出液はGENE CLEAN (III) Kitを用いて精製した。このDNAを鋳型として、葉緑体DNAの *trnD-trnY* 遺伝子間スペーサー領域をPCR増幅し、1.5%アガロースゲルで電気泳動した。目的の増幅産物フラグメントをゲルから切り出し、QIAEX II (QIAGEN)を用いて回収した。これを鋳型として、Thermo Sequenase pre-mixed cycle sequence kit (Amersham)でシークエンス反応を行い、自動蛍光シークエンサー (HITACHI 5500 Sequencer)により塩基配列を決定した。

表-1 供試個体一覧

樹種	種子ロット番号	国名*	種子産地
<i>A. auriculiformis</i> Cunn. ex Benth.	118359 - MHL 20	AUS	Lower Poscoe River, QLD
<i>A. crassicarpa</i> Cunn. ex Benth	13680 - JC 001503	PNG	Wemenever Prov
<i>A. mangium</i> Willd.	17946 - GJM 1110	AUS	Claudie River, QLD
<i>A. aulacocarpa</i> A. Cunn. ex Benth.	16946 - AK 000012	PNG	Balimo District
	13866 - BVG 02943	AUS	Garioch, QLD
	17739 - BG 000022	AUS	3K S Mt. Larcom, QLD

* AUS: オーストラリア; PNG: パプアニューギニア

3. 結果と考察

A. aulacocarpa 3個体の葉緑体 DNA の *trnD-trnY* 遺伝子間スペーサー領域の塩基配列は図-1のAのとおりである。3個体は同一の塩基配列を示し、種内変異は認められなかった。最も遺伝的多様性が高いと考えられている *A. aulacocarpa* においても、今回、種内変異が認められなかったことから、他の3種でも種内変異はないものと考えられる。他のアカシア3種の葉緑体 DNA の *trnD-trnY* 遺伝子間スペーサー領域の塩基配列は図-1のとおりである。*A. crassicarpa* の塩基配列は、*A. aulacocarpa* と完全に一致し、塩基配列長は531塩基対であった。一方、*A. auriculiformis* と *A. mangium* の2種の塩基配列は完全に一致し、塩基配列長は530塩基対であった。そのため、これらの4種は、塩基配列情報から2グループに分けられた。2グループ間には、265番目に一塩基の挿入/欠失(indel)が存在することが明らかとなった。

これまでに、*A. mangium* と *A. auriculiformis* の2種、及び *A. crassicarpa* と *A. aulacocarpa* の2種が近縁であることは報告されていた。今回、この2グループ間の葉緑体 DNA の *trnD-trnY* 遺伝子間スペーサー領域にわずかに1ヶ所の変異しか確認できず、両者の塩基配列がきわめて類似していることから、これら4種がきわめて近縁な関係にあることが明らかになった。

本研究で得られた結果は、今後のアカシア4種の育種計画にとって有効な基礎情報を提供するものと考えられ

る。例えば、*A. mangium* と *A. auriculiformis* の交雑育種を行うため、雑種採種圃の造成が進められている。一方、*A. crassicarpa* と *A. aulacocarpa* についても、雑種形成が確認されており、これから交雑育種に対し大きな期待が寄せられている。また、本研究で異なるグループに分けられた *A. aulacocarpa* と *A. auriculiformis* が親であると推定される自然雑種が発見されており⁷⁾、近縁なアカシア4種はお互いに雑種形成を行っている可能性もある。

今後は、さらに多くのDNA領域について塩基配列情報を収集することにより、熱帯地域の有用造林樹種とされているアカシア4種について、より詳細な系統関係が解明できるものと思われる。

引用文献

- (1) BRAIN, P. and MASLIN, B. R.: *Biochemical Systematics and Ecology*, 24, 379~392, 1996
- (2) KHASA, P. D., *et al.*: *Canadian Journal of Research*, 24, 1123~1132, 1994
- (3) MORAN, G. F., *et al.*: *Evolution*, 43, 231~235, 1988
- (4) PETTIGREW, C. J. and WATSON, L.: *Australian Journal of Botany*, 23, 833~847, 1975
- (5) ROSS, J. H.: *Bothalia*, 13, 389~413, 1981
- (6) SEDGLEY, M., *et al.*: *Australian Journal of Botany*, 40, 37~48, 1992
- (7) THOMSON, L. A. J.: *Division of Forestry, Australian Tree Seed Centre, Canberra*, 131pp, 1994

A	AATTGAACTA	CAATCCCAGG	AAAAAAGTGT	ACAGCATGCA	TATTCTTACG	ATTTTCATTCA	AACCTTTTTTC	70
B	
	71							140
	TATTTTGATT	TTAGATTAGA	ATTGTC TTGT	TCTAACTGGC	AGAGCGGGGA	CTAATATATT	GATATTGAGA	
	
	141							210
	TTTTTATTTA	TATGGATATA	CAC TTTAGCG	AGATCTACAC	GGATTACTAG	TAATCTGTTT	GTTATTTCCA	
	
	211							280
	AATCGATTGA	AGAAAATCAA	TCTTTCAATA	CAATAAATCA	ATGAAAATAA	AAAAAGAGTC	TCTTTTTTATT	
	
	281							350
	TAGACTTTAT	ACTTCCAGAT	CTTGATATGA	ATCTAGATCA	TTAGCAAGAT	CTGAATTTGT	GGAAAAAATG	
	
	351							420
	CGTAATAAAA	TAAATAGTGG	TAGGGATGTA	GCAGATTTTG	ATTCTTGTTGT	ATCAAAGTTC	ATTGGGCATT	
	
	420							490
	TCCGGAGAAC	AACAAACGGT	TACATCATT	CATGGTGGAT	CGGCAAATTA	TTGGGCCGAG	CTGGATTTGA	
	
	491							531
	ACCAGCGTAG	ACATATTGCC	AACGAATTTA	CAGTCCGTCC	C			
	

図-1 アカシア4種の葉緑体 DNA の *trnD-trnY* 遺伝子間スペーサー領域の塩基配列

A: *A. crassicarpa* と *A. aulacocarpa*

B: *A. auriculiformis* と *A. mangium*