

日本産樹木における DNA バーコード分類システムの開発

森林遺伝研究領域	吉丸 博志、吉村 研介、鈴木 節子、津村 義彦
木材特性研究領域	能城 修一
多摩森林科学園	勝木 俊雄
林木育種センター遺伝資源部	大谷 雅人
北海道支所	河原 孝行
関西支所	藤井 智之

要 旨

日本産樹木は 1,100 種以上ありますが、葉緑体 DNA 上の 3 領域の塩基配列情報を用いる DNA バーコーディングにより、約 75% の樹種の同定が可能となりました。樹木の個体のどの組織も同じ DNA をもっていますので、根、材、種子、葉の断片など形態だけでは識別しにくい材料の同定など幅広い応用が考えられます。

DNA バーコーディングとは

DNA バーコーディングは、特定の遺伝子領域の短い塩基配列情報（DNA バーコード）を用いて生物種の同定を行う方法です。既知の生物種について DNA バーコード領域の塩基配列を調査して、同定の基準となる塩基配列情報（リファレンスバーコード）を取得することにより、新たなサンプルがどの種であるか、またどの種に近いかを推定できるようになります。植物については、葉緑体 DNA の *rbcl* 部分塩基配列（約 600 塩基）と *matK* 部分塩基配列（約 840 塩基）を DNA バーコードとして用いることが、2009 年の第 3 回国際 Barcode of Life 会議で決定されました。

日本産樹木の標本試料収集

日本産樹木は約 1,100 種（変種まで数えると約 1,300 種）と言われていています。これらについて、さく葉標本と DNA 試料をセットにした収集を行い、6,997 個体、1,037 種（変種も数える）を収集しました（図 1）。1 つの種についてなるべく複数の地域から個体を収集することに努めましたが、これにより同じ種でも地域による違いがある可能性をチェックすることができ、また人為的ミスも発見しやすくなります。

日本産樹木の DNA バーコーディング

収集した DNA 試料について、*rbcl*、*matK* に加えて、*trnH-psbA* 遺伝子間領域の塩基配列（約 152 ないし 983

塩基）を解析しました。後者を加えた理由は、近縁種の識別効率を高めるためで、実際に 2007 年の第 2 回国際 Barcode of Life 会議ではこの領域も推奨されており、多くの国でこの領域の情報も蓄積されています。

対象とする DNA バーコード領域を実験室で大量に増幅した後に塩基配列を解析しますが、非常に広い範囲の分類群を調べるため、分類群によっては増幅の効率が低くなる場合があります。例えば、*rbcl* で 92.4%、*matK* で 66.5%、*trnH-psbA* で 87.5% の増幅成功率でした（表 1）。塩基配列情報を比較して、種の識別効率をまとめた結果、*rbcl* と *matK* では 63% の種が、さらに *trnH-psbA* も加えた場合には 74% の種が DNA バーコードにより識別できました（図 2）。残りの 26% の種は近縁種との区別ができなかったものです。

DNA バーコーディングでは植物の様々な組織から抽出される DNA について解析できますので、既知の樹木に関するデータベースの構築により、苗、材、根、種子、葉の断片など形態だけでは確定しにくい材料で樹種を識別することが可能となります。

本研究は、科学研究費補助金「森林資源保全のための樹木遺伝子バーコードの基盤構築と有効性に関する研究（20248017）」による成果で、東北大学鈴木三男教授、九州大学館田英典教授、東京大学伊藤元己教授との共同研究です。また、各地の大学演習林などのご協力もいただきました。

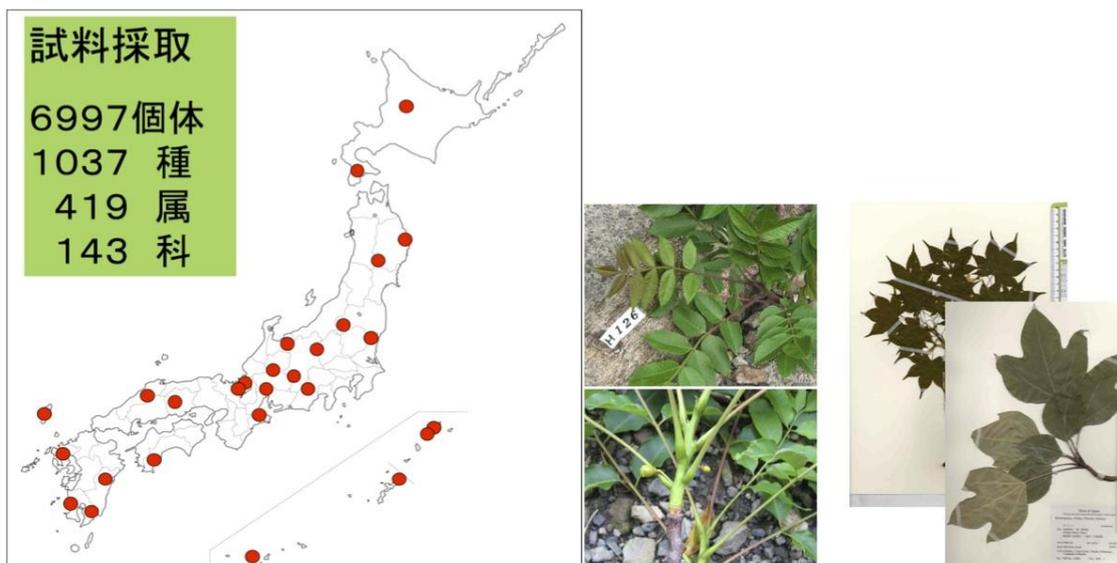


図1 国内の広い範囲から樹木のさく葉標本と DNA 試料の収集

表1 3領域の DNA バーコードについて DNA の増幅が成功した割合

	供試した 個体数	増幅できた 個体数	増幅の 成功率(%)	塩基配列を解析できた			
				個体の数	種の数	属の数	科の数
<i>rbcl</i>	6997	6466	92.4	6001	976	397	140
<i>matK</i>	3844	2557	66.5	2454	615	255	101
<i>trnH-psbA</i>	6945	6075	87.5	5104	930	381	133

DNA の増幅の成功率は、*rbcl* で 92.4%、*matK* で 66.5%、*trnH-psbA* で 87.5% でした。ここから塩基配列を解析できた種数はそれぞれ、976 種、615 種、930 種でした。

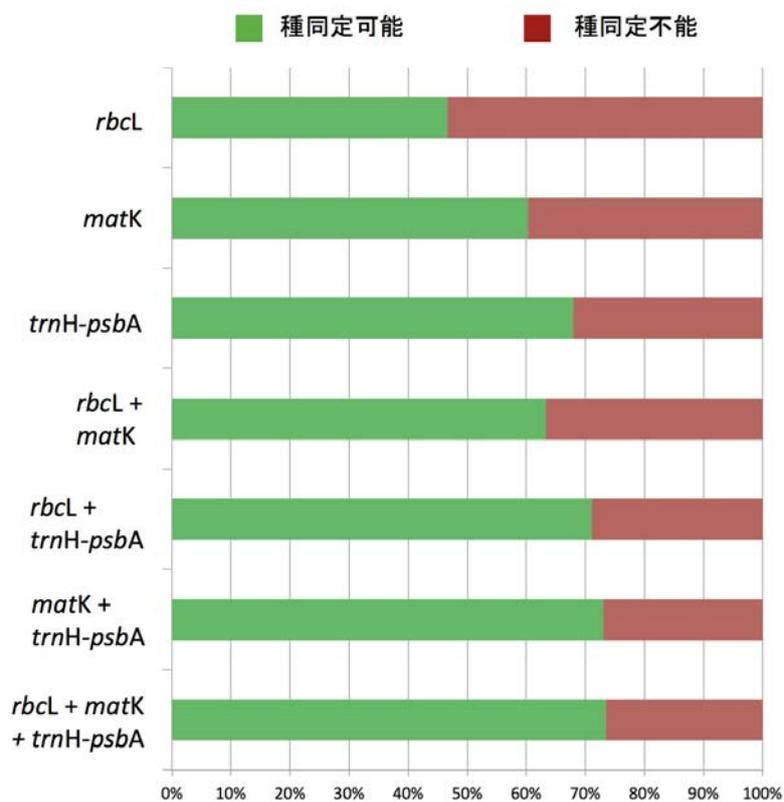


図2 DNA バーコーディングによる日本産樹木の識別効率
3箇所の領域を用いることにより、識別効率は約 74% になります。