

タイワンブナの遺伝的変異

—ミトコンドリア DNA の解析から—

小池孝良（こいけたかよし）

はじめに

タイワンブナ、中国名では台湾山毛櫸 (*Fagus hayatae*) は、日本の植物学者・早田文蔵を記念して命名された。台湾と日本のブナ林の植生の詳細な種組成・植物社会学的研究から、タイワンブナは残存植物的とされた (Hukushima et al. 2005)。

日本のブナは、かつて個葉の大きさを基準に、オオハブナ（多雪地帯を中心に分布）とコハブナ（太平洋側の寡雪地帯）とに分類されていた。しかし、生殖器官の殻斗の形態が同じであり、保存性の高い葉緑体 DNA の分析結果からも、同一種であることがわかった (Fujii et al. 2002)。葉の構造と生理の変異 (小池・丸山 1997) は、実は、ミトコンドリア DNA の多型の変異と対応関係の高いことが示された (Koike et al. 1998)。生態的連続変異を示す広域分布種の例とも考えられる。

本邦ブナの遺伝的変異を調査する一環で (小池 1998, Koike et al. 1998)、台湾北部の達観 (拉々山: Lalashan) に自生するタイワンブナの遺伝的特徴を調査した (Kato et al. 2000)。本稿では、この変異の意味を考えてみたい。

台湾の山岳の特徴



写真-1. 台湾中興大学の恵蓀林場からの眺め
旧北海道帝国大学台湾演習林であった。傾斜が 45 度以上の場所が多く、2 千 ha 程度を観光地化して利用

今年、初めて台湾を訪問したが、急峻な山岳地形に、学生時代に何度か訪問した日本の中央アルプスの山々を思い出した。山頂は多くの場合、植被が無く、年降水量は、2500mm と豊富なため、浸食が続き、山崩れが頻発しているようである (写真-1)。また、戦前の日本帝国の最高峰は、旧称・新高阿里国立公園の新高山 (現在、玉山 3,978m、台湾の国家風景区=台湾国立公園) であった。九州くらいの島に、このような高い山々があるので、気温だけ見れば、冷温帯に属する部分も多い。そこにタイワンブナは分布する (写真-2)。



写真-2. 太平山 (Taiping-shan) からの眺望 (手前がタイワンブナ) 写真提供: 李 秀卿氏



写真-3. 太平洋側のブナ林 (神奈川県丹沢) 写真提供 (丹沢自然学校)

台湾の森林の印象としては、太平洋側のブナ林と似ている (写真-3)。すなわち、通直なブナはほとんど見られず風雪耐えてきた堂々たる風格の

個体も多い(写真-4)。また、地元の観光名所に



写真-4. 台湾・大平山のブナ老樹

写真提供：李 秀卿氏

ブナをシンボルとしている場所も多いそうである。

タイワンプナの調査を行った研究メンバーのもともとのねらいは、日本のブナとの関係を知ることであった。一方、私自身は、個体数が限られている個体の遺伝的変異を知りたいと願った。

分布の端っこの集団は、一般的に変異が小さくなる(北村 2011)。タイワンプナにも同じようなことが言えるかも知れない、と考えて調査を計画した。その概要を以下に紹介したい。

タイワンプナのサンプル採取

タイワンプナの名前にある早田文蔵(東京帝大植物学教授)は、1905年(明治38年)5月~1924年(大正13年)までの約19年間、台湾の植物の調査にうちこんだ。氷河期からの生き残りのようなこの植物の魅力を感じたのである。

当時、森林総合研究所北海道支所のSTA(科学技術庁)博士研究員、台湾出身であったLei(雷)博士の親族を頼って、調査の手がかりを探った。そして、国立・台湾大学生態・進化生物学(植物)の謝長富教授の研究の一環として、拉々山のタイワンプナの枝の採取許可を得た。実に様々な問題を克服して、拉々山から15個体から枝を採取して、その変異を調べた。

タイワンプナの新しく展葉したサンプルより全DNAを抽出し、ミトコンドリアDNAの制限酵素切断片長(RFLP)分析を行った(制限酵素:決まった配列の二重鎖DNAを認識してそれを切断する酵素の総称)。ここで、ミトコンドリアDNAとは、被子植物の大部分では、基本的に母親由来で遺伝し、遺伝子の組換えは生じないため、母系をたどる系統推定によく利用される。1細胞あたり約2000コピー存在し、検出感度が高

く、微量試料や汚染・分解した試料からも上手く全処理を行えば、検出することができる。葉緑体DNAに比べると突然変異が5~10倍起こりやすく、多型性が高い(Koike et al. 1998, Kato et al. 2000, Fujii et al. 2002)。

凍結乾燥させた葉のサンプルから目的とするDNAを取り出し、遺伝子工学の手法によって可視化して比較した(図-1. 手法の詳細は以下)。

【方法】凍結乾燥材料をCTAB(Cetyl trimethyl ammonium bromide:陽イオン界面活性剤によって精製する)法によってDNAを抽出した。この後、制限酵素(*Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III)によって分け、0.8%アガロースゲルを用いた電気泳動を行った。このゲルをサザンブロットによってナイロンメンブレン(Hybond N+, Amersham, U.K.)へ写した。これを高感度ケミルミネッセンス(Enhanced Chemiluminescence: ECL)法を用いて、ラベル化したプローブ(*Hind*III + *atp9* gene: *Bam*HI + *coxII* gene)を含む緩衝液中で42°Cの条件で一晩、ハイブリダイズ(核酸[DNAまたはRNA]の分子が相補的に複合体を形成する)した。この後、2度のリンスを行った材料を再びECL法によって可視化した。

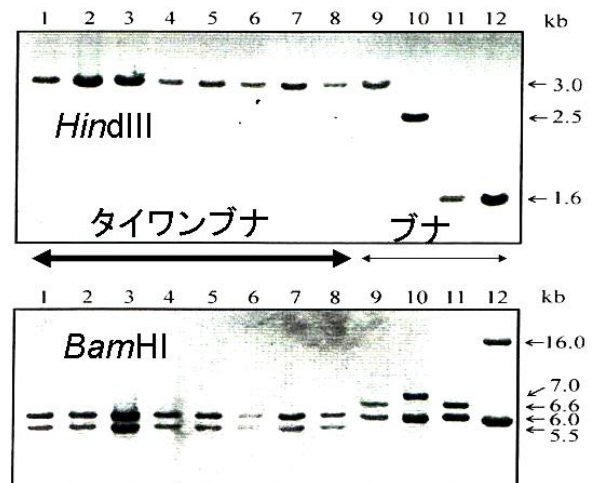


図-1. 全DNAの解析例(Kato et al.より改作)

図中の斜体文字は、用いた制限酵素を意味する。

*Hind*III: [AAGCTT] という配列を切る。

*Bam*HI: [5'-GGATCC-3'] という配列を認識して、これを [G / GATCC] というふうに切断する。

もちろん、当時、調査を許された拉々山1つの15個体での結果なので、この結果が全てという訳ではない。しかし、日本のブナに比べるとあまりに変異が無かった(図-1)。

変異の小さいタイワンブナ—拉々山の事例—

タイワンブナのミトコンドリア(mt)DNA を制限酵素 *Hind*III と *Bam*H I を用いて解析した結果からは変異の無いことがわかった(図-1)。これは何を意味するのであろうか。はじめに述べたが、植物の分布の端では、遺伝的変異の小さいことが多い。

少し身近な例から考えよう。家庭菜園で種まきをするときに、園芸品種トウモロコシと野趣あふれるハツカダイコンのタネを播く、と想像しよう。トウモロコシは発芽時期が見事に揃うが、ハツカダイコンは、だらだらと発芽する。トドマツのタネも同様な傾向を示し、発芽の期間が長い。品種改良を行うと言うことは、遺伝的な変異を小さくすることになる。そうすると、例えば春先に襲ってくる低温によって、揃って発芽する作物種では、全滅の可能性がある。発芽が揃わないことは、結局、絶滅を回避する生物の能力であると言えよう。

このように考えると、少なくとも拉々山のタイワンブナ個体群では変異がないことから、急激な環境変化には耐性が少ないと思われる。

一方、日本の西南部に分布するブナのミトコンドリア DNA 構造と酷似する事が判明した(Kato et al. 2000)。事実、葉のサイズは、日本の西南部の寡雪地帯のブナ個葉に似ている。第3紀最新世(鮮新期)にはブナ (*Fagus crenata*) とタイワンブナ (*Fhayatae*) の祖先種が日本列島南部で同所的に分布していたことが推定されている。

タイワンブナの遺伝的変異の調査の結果、明らかとなったミトコンドリアゲノムの類似性が、ブナとタイワンブナの2種間の交雑に起因するのか、あるいはこれら2種が一つの母系を共有することを示唆する (Kato et al. 2000)。Shen and Boufford (1988)が指摘するように、かつて湖北省西部で採集され *Fagus lucida* と命名された標本は、実は台湾で記載された *F. hayatae* と判明した。これらからタイワンブナは残存植物であり、かつては広く中国・日本南部で広く分布していたことが示唆された。

温暖化傾向が続く中で、窒素沈着量が増え、さらに対流圏オゾン濃度も増加してきた。このような変動環境にタイワンブナの将来に不安を覚える。

謝辞: 材料の採取に協力された雷 霆博士 (Ting Lei: 現・龍谷大学理工学部)、謝 長福教授 (Chang-Fu Hsieh, 国立台湾大学生態学及び進化学研究所・植物学分野) と mtDNA 解析を進められた北海道大学農学部・旧・工芸作物学研究室の加藤澄江博士、三上哲夫博士、島本義也教授ほかの皆様へ感謝する。また、タイワンブナの写真を提供下さった李 秀卿 (Show-chin Lee : 台湾・東京産業 KK)氏と丹沢自然学校にも、記して感謝の念を表す。

(北海道大学農学研究院)

引用文献

- Fujii, T., Tomaru, N., Okuyama, K., Koike, T., Mikami, T. and Ueda, K. (2002) Chloroplast DNA phylogeography of *Fagus crenata* (Fagaceae) in Japan. *Plant Systematics and Evolution* 232: 21-33
- Hukusima, T., Lu, Sheng-You, Matsui, T., Nishio, T., Liue, Chiung-Lien and Pignatti, S. (2005) Phytosociology of *Fagus hayatae* forests in Taiwan. *Rendiconti Lincei, Roma* 16:171-189
- Kato S., Koike, T., Lei, T.T., Hsieh, C.F., Ueda, K. and Mikami, T. (2000) Analysis of mitochondrial DNA of an endangered beech species, *Fagus hayatae* Palibin ex Hayata. *New Forests*19: 19-114.
- 北村系子(2011) 北限域低地ブナ林における遺伝的多様性. *北方林業* 63:178-181.
- 小池孝良(1998) ミトコンドリア DNA でみるブナ林の歴史. *遺伝* 52 : 42-46.
- 小池孝良・丸山 温 (1997) 個葉からみたブナ背腹性の生理的側面. *植物地理・分類* 46 : 23-28.
- Koike, T., Kato, S., Shimamoto, Y, Kitamura, K., Kawano, S. Ueda, K. and Mikami, T. (1998) Mitochondrial DNA variation follows a geographic pattern in Japanese beech species. *Botanica Acta* 111: 87-92.
- Shen, C.F. and Boufford, D.E. (1988) *Fagus hayatae* (Fagaceae) -A remarkable new example of disjunction between Taiwan and central China. *The Journal of Japanese Botany*, 63: 96-101.