

大雪山系等におけるエゾコザクラの遺伝的多様性の把握とその系統分類学的位置

澤田 円 (植物遺伝学)

【目的】

エゾコザクラ (図 1) は北海道の高山帯の雪田跡に群生するが、どの自生地でも密度が低く、北海道レッドデータブックで希少種として扱われている。希少種は今後の環境の変化によって消失する危険度の増す種である。遺伝的多様性は変化する環境へ対応するために重要であり、地域個体群の保全や復元には遺伝的多様性への配慮が必要である。そのためには地域個体群が自然回復できないほど減少する前に、それら個体群の遺伝的多様性の把握が不可欠である。また、これら地域個体群を保全・復元することは生物多様性の保護にもつながる。

そこで、本調査では大雪山の旭岳姿見の池と高原温泉、羅臼湖、富良野岳に自生するエゾコザクラの葉緑体ゲノム *trn L* (UAA) 3' exon - *trn F* (GAA) 領域と *atp B - rbc L* 領域の遺伝変異の有無を調べた。さらに、エゾコザクラの系統分類学的位置を検討した。

【方法】

材料は旭岳姿見の池、高原温泉、羅臼湖二の沼、富良野岳の登山道等の周辺に自生するエゾコザクラを 20 個体選び、各個体から葉を 1 枚採取した (図 2)。葉は SNET と Proteinase K を混合した溶液に浸漬させ、55°C で 1 時間加温し DNA を抽出した。抽出した DNA は、Wizard SV Gel and PCR Clean Up System を用いて精製し、鋳型 DNA とした。この鋳型 DNA を用い、PCR 法で *trn L* (UAA) 3' exon - *trn F* (GAA) 領域と *atp B - rbc L* 領域を増幅した。増幅した PCR 産物はアガロースゲルを用い電気泳動法 (100V, 20 分間) により分離した。目的の DNA 断片を回収・精製し、Big Dye Terminator ver1.1 Cycle Sequencing KIT を用いてシーケンス反応を行い、ABI 310 Genetic Analyzer で塩基配列を決定した。また、精度の低い塩基配列しか得られなかった個体はシーケンス反応液を Big Dye Xterminator Purification Kit を用いて精製し、塩基配列を決定した。得られた塩基配列は MEGA4 で遺伝変異の有無を調査した。一方、得られた塩基配列に DDBJ に登録された塩基配列を加え、TCS1.21 を用い、ハプロタイプネットワーク樹を構築し、エゾコザクラの系統分類学的位置を検討した。

【結果】

本調査では旭岳姿見の池の 17 個体、高原温泉の 14 個体、羅臼湖の 16 個体、富良野岳の 15 個体で塩基配列を決定できた。両領域で遺伝変異が検出され、その組み合わせから 5 種のハプロタイプが確認された (表 1, 2)。さらに、各調査地で存在するハプロタイプやその出現割合に差があることが明らかになった。また、本調査では 1 調査地から 20 個体を採取して、塩基配列を決定したところ、1 調査地から 1~5 個体の採取では検出できなかった遺伝変異を得ることができた。このことから、地域間の遺伝変異を比較する場合や地域個体群の保全や復元を念頭に置いた調査ではサンプル数が少ないと正確な結果が得られないことが示唆された。一方、各調査地の個体群を比較すると羅臼湖や富良野岳では遺伝変異が見られず、羅臼湖や富良野岳は旭岳姿見の池や高原温泉に比べ環境変化の影響を受けやすい状態であることが示唆された。

エゾコザクラ分類群の分類学的位置に関しては現在支持されているエゾコザクラを母種とし、3 亜種とする分類を否定する明確な根拠は見られないが、エゾコザクラを独立種とし、ハクサンコザクラとミチノクコザクラを亜種とした Smith and Fletcher (1948) の分類やエゾコザクラとハクサンコザクラを独立種、ミチノクコザクラをエゾコザクラの亜種とする分類も再考する余地が残された。



図1. 本調査で注目したエゾコザクラ.

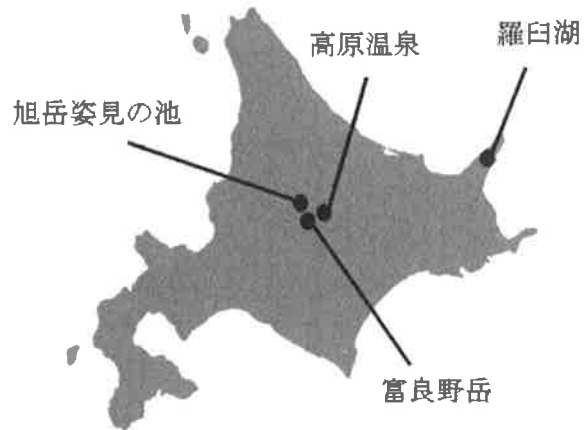


図2. エゾコザクラの遺伝変異の調査地.

表1. *trn* L (UAA) 3' exon - *trn* F (GAA) 領域で検出されたハプロタイプとその塩基配列

| | 44-48 | 210-214 | 263-266 |
|---------|---|-----------|-------------|
| ハプロタイプA | T A T A A | T C G T A | G G - - C C |
| ハプロタイプB | | | . . G C . . |
| ハプロタイプC | | | . . - - . . |
| ハプロタイプD | | | . . - - . . |
| ハプロタイプE | . . G . . | . . A . . | . . - - . . |
| 335-355 | | | |
| ハプロタイプA | A - - - - - | - - - - - | - - - - - C |
| ハプロタイプB | . - - - - - | - - - - - | - - - - - . |
| ハプロタイプC | . - - - - - | - - - - - | - - - - - . |
| ハプロタイプD | . - - - - - | - - - - - | - - - - - . |
| ハプロタイプE | . A T T T A T T G A C A T A G A C T C A . | | |

表中の・は同一であることを示し、-は欠失していることを示す.

表2. *atp* B - *rbc* L 領域で検出されたハプロタイプとその塩基配列

| | 212-218 | 531-542 |
|---------|---------------|-------------------------|
| ハプロタイプA | C C C C C T T | T T T A A T T T T C A A |
| ハプロタイプB | | |
| ハプロタイプC | | |
| ハプロタイプD | | |
| ハプロタイプE | . . T | . . G G A . . |
| 580-584 | | 621-624 |
| ハプロタイプA | T G T A T | C C - G A |
| ハプロタイプB | | . . - . . |
| ハプロタイプC | | . . - . . |
| ハプロタイプD | | . . C . . |
| ハプロタイプE | . . G . . | . . - . . |

表中の・は同一であることを示し、-は欠失していることを示す.