北海道と宮城県に生育するホトケノザの葉緑体ゲノム trn L (UAA) intron 領域の比較

○佐々木勇輝 1・澤田円 2・我妻尚広 1,2・岡本吉弘 1,2 (1 酪農学園大学、2 酪農学園大学大学院) キーワード:ホトケノザ、葉緑体ゲノム

ホトケノザ(Lamium amplexicaule L.) はシソ科オドリコソウ属の多年性草本で原産地はヨーロッパとされているがユーラシア大陸や北アメリカ大陸などに広く分布し、いくつかの系統に分化している。日本では北海道以外に分布するとされている。明確な侵入時期は記録されていないが、有史以前に中国を経由し侵入した史前帰化植物と考えられている。しかし、北海道では1980年代から生育が確認され、北海道ブルーリスト(2010)には北見市、幌加内町、千歳市、札幌市周辺、小樽市、森町が記載され、北海道外来植物便覧(2016)では根室市、礼文島、函館市への分布拡大が記載されている。形態的には、本州に比べ北海道では閉鎖花が多く、葉が大きく、やや大型とされている(図 1)。北海道への侵入経路は北海道ブルーリスト(2010)では外国の芝生種子の混入により帰化した可能性が高いと記載され、北海道外来植物便覧(2016)では欧州(本州)原産と記されている。北海道の農業や生態系などへの影響の報告例は見られず、侵入経路は明確となっていない。一方、イチビやワルナスビなど多くの雑草の侵入経路が葉緑体ゲノムの遺伝解析とそれらの地域間比較によって明らかにされてきた。

そこで、本調査では北海道への侵入経路を明確にする第一歩として、北海道と宮城県に 生育するホトケノザの葉緑体ゲノム *trn* L (UAA) intron 領域を比較した。

【材料および方法】

供試材料は2016年5月13日と7月7日に江別市酪農学園大学構内と5月18日に宮城県で採取したホトケノザとした。各調査地から20個体を選び、3枚の葉を採取、-80℃で保存した。保存した葉は1×10㎜に切りSNETとProteinase Kを混合した溶液に浸漬させ、55℃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を用いてtrn L (UAA) intron領域をPCR法により増幅した。PCR産物は0.8%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・精製した。Big Dye Terminator ver1.1 Cycle Sequencing KITを用いて、シークエンス反応を行い、ABI 310 Genetic Analyzerで塩基配列を決定し、MAGA4を用いて遺伝変異の有無を調査した。

【結果】

採取した各 20 個体のうち、北海道では 13 個体の塩基配列を決定でき (表 1)、個体間に遺伝変異は見られなかった。また、宮城県では 12 個体の塩基配列を決定でき (表 2)、個体間に遺伝変異は見られなかった。北海道と宮城県のホトケノザの葉緑体ゲノム trn L (UAA) intron 領域の塩基配列を比較した結果、すべての塩基配列が一致した。このことから、今回調査したホトケノザは本州から侵入した可能性が高く、国内外来種であることが示唆された。

今後は、他領域の比較に加え、北海道の他地域や海外に分布するホトケノザと塩基配列を比較することで、北海道へのホトケノザの侵入経路をより明確にしたい。



図 1. 北海道 (左) と 本州 (右) に生育する ホトケノザの形態比較

表 1. 北海道に生育するホトケノザの trn L (UAA) intron 領域の塩基配列

351 CAAAAATAGA ATATTCATTC ATCAAAGCAT TCACTCCATA

表 1. 北海坦に生育するホトクノザの trn L (UAA) intron 領域の塩基配列							
1	TTTTTTTTCC	CTCTCTACCC	CAGCGCAATA	GTGTGGACGA	AACCTACTAA		
51	GTGATAACTT	TCAAATTCAG	AGAAACCCCG	GAATTAATAA	AAATGGGCGA		
101	TCCTGATCCA	AATCCTGTTT	TTTCAAAACA	AAGGTTCAAA	AAACGAAGGA		
151	AAGGATAGGT	GCAGAGACTC	AATGGAAGCT	GTTCTAACAA	ATGGAGTTGA		
201	CTGCGTTGGT	AGAGGAATCC	TTTCTATGGA	AACTTCAGAA	AGGATAACCG		
251	TATCTATCGA	ATACTATATC	AAATTATTAA	TGATGGCCCG	AATCCATATT		
301	TTTTAATATG	AAAAATAGAA	TAATTGGTGT	GAATTGATTC	TCTATTGAAT		
051	CAAAAATAGA	ATATTCATTC	ATCAAAGCAT	TCACTCCATA			
351	CAAAAATAGA	AIAIICAIIC	ATCHARGOAT	TOACTOCATA			
301	CAAAAATAGA	AIAIICAIIC	ATOMAMOMI	TOACTOCATA			
表 2.		δ ホトケノザの t					
			rn L (UAA) intro		AACCTACTAA		
表 2.	宮城県に生育す	るホトケノザの <i>t</i>	rn L (UAA) intro	n 領域の塩基配列 GTGTGGACGA	AACCTACTAA AAATGGGCGA		
表 2. 1	宮城県に生育す TTTTTTGTCC	るホトケノザの t	rn L (UAA) introi CAGCGCAATA	n 領域の塩基配列 GTGTGGACGA GAATTAATAA			
表 2. 1 51	宮城県に生育す TTTTTTGTCC GTGATAACTT	るホトケノザの t CTCTCTACCC TCAAATTCAG	rn L (UAA) introi CAGCGCAATA AGAAACCCCG	n 領域の塩基配列 GTGTGGACGA GAATTAATAA	AAATGGGCGA AAACGAAGGA		
表 2. 1 51 101	宮城県に生育す TTTTTTGTCC GTGATAACTT TCCTGATCCA	るホトケノザの t CTCTCTACCC TCAAATTCAG AATCCTGTTT	rn L (UAA) introi CAGCGCAATA AGAAACCCCG TTTCAAAACA	n 領域の塩基配列 GTGTGGACGA GAATTAATAA AAGGTTCAAA	AAATGGGCGA AAACGAAGGA ATGGAGTTGA		
表 2. 1 51 101 151	宮城県に生育す TTTTTTGTCC GTGATAACTT TCCTGATCCA AAGGATAGGT	るホトケノザの t CTCTCTACCC TCAAATTCAG AATCCTGTTT GCAGAGACTC	rn L (UAA) introi CAGCGCAATA AGAAACCCCG TTTCAAAACA AATGGAAGCT	n 領域の塩基配列 GTGTGGACGA GAATTAATAA AAGGTTCAAA GTTCTAACAA	AAATGGGCGA AAACGAAGGA ATGGAGTTGA		
表 2. 1 51 101 151 201	宮城県に生育す TTTTTTGTCC GTGATAACTT TCCTGATCCA AAGGATAGGT CTGCGTTGGT	るホトケノザの t CTCTCTACCC TCAAATTCAG AATCCTGTTT GCAGAGACTC AGAGGAATCC	rn L (UAA) introi CAGCGCAATA AGAAACCCCG TTTCAAAACA AATGGAAGCT TTTCTATGGA	n 領域の塩基配列 GTGTGGACGA GAATTAATAA AAGGTTCAAA GTTCTAACAA AACTTCAGAA	AAATGGGCGA AAACGAAGGA ATGGAGTTGA AGGATAACCG		