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

1	TTTTTTGTCC	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
351	CAAAAATAGA	ATATTCATTC	ATCAAAGCAT	TCACTCCATA	

表 2. 宮城県に生育するホトケノザの *trn* L (UAA) intron 領域の塩基配列

1	TTTTTTGTCC	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
351	CAAAAATAGA	ATATTCATTC	ATCAAAGCAT	TCACTCCATA	