

北海道におけるハマエンドウの遺伝的多様性

伊東 時子 (植物遺伝学)

【目的】

近年、日本の海岸環境は保全施設や風車建設などによって改変され、海浜植生が衰退し、景観の悪化が助長されている。このような中、海岸地域の生態系の保全と景観回復を目的とした海岸緑化が注目されている。緑化資材として導入する種苗は生物多様性の観点から、地域性種苗の利用が推奨されている。本研究で対象としたハマエンドウは全国に分布する海浜性の在来種であり、地域性種苗として海岸緑化への利用が検討されている。ハマエンドウを地域性種苗として用いるには種苗の移動可能範囲を検討する必要がある。すでに、本州以南では種苗の移動可能範囲の検討を目的としたハマエンドウの葉緑体ゲノムの遺伝変異が調査されている。しかし、北海道での報告は見られない。

そこで、本研究では北海道での種苗の移動可能範囲を検討するため、北海道に自生するハマエンドウの葉緑体ゲノム *psb A - trn H* 領域と *atp I - atp H* 領域の遺伝変異を調査した。

【方法】

材料は利尻富士町、苫小牧市、石狩市、奥尻町、長万部町、せたな町、浦幌町、雄武町、新ひだか町の海岸の砂地や岩場に自生するハマエンドウをそれぞれの地域ごとに 20 個体選び、各個体から複葉を 3~4 枚採取した (図 1)。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 *psb A - trn H* 領域と *atp I - atp H* 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。得られた塩基配列は MEGA4 で遺伝変異の有無を調査した。

【結果】

ハマエンドウの葉緑体ゲノム *psb A - trn H* 領域と *atp I - atp H* 領域を解析したところ、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)。各地域で出現するハプロタイプの種類とその出現割合は、利尻富士町ではハプロタイプ A : B が 1 : 2、苫小牧市、石狩市、新ひだか町、浦幌町では全個体がハプロタイプ A、奥尻町ではハプロタイプ A : D : E が 7 : 4 : 4、長万部町ではハプロタイプ A : C が 5 : 2、せたな町ではハプロタイプ A : D が 2 : 1、雄武町ではハプロタイプ A : C が 9 : 1、であった (図 1)。北海道における各ハプロタイプの出現割合はハプロタイプ A : B : C : D : E が 89 : 6 : 5 : 10 : 4 とハプロタイプ A の出現割合が最も高く、ハプロタイプ A が北海道の主要ハプロタイプであることが推測された。ハプロタイプ A は先行研究で北陸から東北に分布すると報告されたハプロタイプと一致することから、北海道と東北は同じ移動可能範囲であることが考えられた。一方、ハプロタイプ B, E は北海道に特有のハプロタイプで、それぞれ利尻富士町と奥尻町でのみ検出された。このことから、これらの地域への種苗移動は一定の配慮が必要であると考えられた。

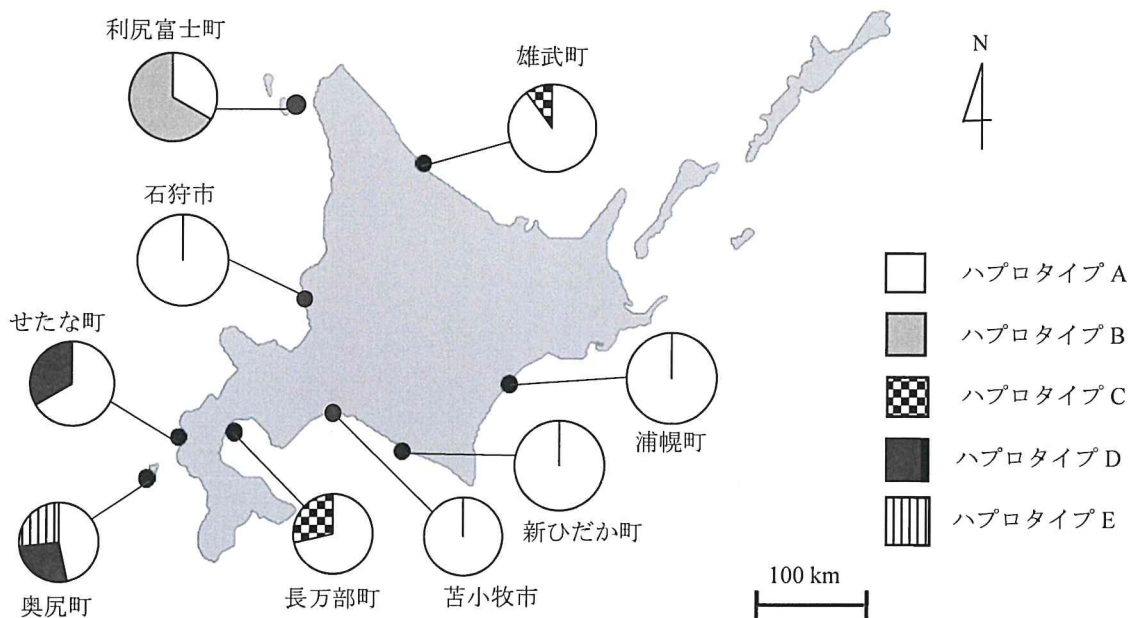


図 1. ハマエンドウの調査地域および葉緑体ゲノムのハプロタイプ.

表 1. ハマエンドウの葉緑体ゲノム *psb A - trn H* 領域での塩基配列の差異

	176	221	327	334	336	352		359	374	388	417	
ハプロタイプ A	T	A	G	T	A	CTT	AG	AA	G	A	G	G
ハプロタイプ B	C	C	T	G	C	-----	--	-	G	T	T	
ハプロタイプ C
ハプロタイプ D
ハプロタイプ E

表中の・はハプロタイプ A と同一であることを示し，-は挿入・欠失していることを示す。

表 2. ハマエンドウの葉緑体ゲノム *atp I - atp H* 領域での塩基配列の差異

	61	80	90	96	98	106		128	145	149	158
ハプロタイプ A	A	AG	A	A	-----	-----	A	A	CC	C	
ハプロタイプ B	G	CT	C	C	AAAGT	ATGCG	C	C	AA	T	
ハプロタイプ C	-----	-----
ハプロタイプ D	-----	-----
ハプロタイプ E	G	CT	C	C	AAAGT	ATGCG	C	C	AA	T	

	180	220	229		235	246	250	252			270					
	C	C	---	-	C	G	C	A	T	T	---	A	AAA	AA	A	A
	A	A	G	T	C	A	.	A	---	C	A	A	.	.	G	.
	.	.	---	-	.	T	.	.	.	---	---
	.	.	---	-	.	.	.	---	---	---	---	---	---	---	---	.
	A	A	G	T	C	A	.	A	---	C	A	A	.	.	G	.

表中の・はハプロタイプ A と同一であることを示し，-は挿入・欠失していることを示す。