

【目的】

エゾコザクラはサクラソウ科サクラソウ属の多年生草本である。エゾコザクラは分布地域が限定され分布密度も低いこと、繁殖様式が他殖であることから、北海道レッドデータブックに希少種として掲載されている。希少種は環境変化によって絶滅の危険性が増す種である。絶滅が心配される種の保全活動では環境変動への適応に必要とされる遺伝的多様性への配慮が重要である。遺伝的多様性に配慮した保全活動を進めるには、個体群が減少する前に地域的な遺伝的多様性の把握が不可欠である。

そこで、本研究では先行研究で調査個体数の少ない利尻山、羅臼岳と未調査地である余市岳、ニセイカウシュツペ山、函岳に自生するエゾコザクラの葉緑体 DNA *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、地域的な遺伝的多様性の把握を試みた。また、先行研究で明らかにされたエゾコザクラの二つのグループに対する分布境界を再検討した。

【方法】

材料は利尻山、羅臼岳、余市岳、ニセイカウシュツペ山、函岳に自生するエゾコザクラ (図 1) を 20 個体選び、各個体から葉を 1 枚採取した。採取した葉は抽出までの間 -80°C で保存した。保存した葉を SNET とプロテナーゼ K を混合した抽出液で加温抽出を行い、Wizard SV Gel and PCR Clean Up System を用いて精製したものを DNA テンプレートとした。この DNA テンプレートを用いて PCR 法により *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 0.8% アガロースゲルを使用し 100V, 20 分間で電気泳動により分離した。目的の DNA 断片を回収・精製し、Big Dye Terminator ver1.1 Cycle Sequencing KIT を用いてシークエンス反応を行い、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】

本研究では利尻山で 4 個体、羅臼岳で 5 個体、余市岳で 11 個体、ニセイカウシュツペ山で 13 個体、函岳で 18 個体の塩基配列が決定できた (表 1, 表 2)。決定された塩基配列は各調査地域内では同一で、各調査地域の個体群内に遺伝変異は存在しなかった。このことから利尻山、羅臼岳、余市岳、ニセイカウシュツペ山、函岳に自生するエゾコザクラの地域的な遺伝的多様性は著しく低く、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。

一方、各調査地域で確認された塩基配列を比較した結果、利尻山、羅臼岳と函岳の塩基配列が一致した。同様にニセイカウシュツペ山と余市岳の塩基配列も一致した。また、これらの塩基配列と先行研究で明らかになっている二つのグループの塩基配列を比較すると、利尻山、羅臼岳と函岳の塩基配列は利尻・知床山系グループと、ニセイカウシュツペ山と余市岳の塩基配列は大雪山・日高山系グループと類似した。このことは両グループの分布境界が大雪山山系と北見山地の中間にあることを示唆し、両グループの分布境界をより明確にした (図 2)。



図 1. 本研究で注目した
エゾコザクラ.

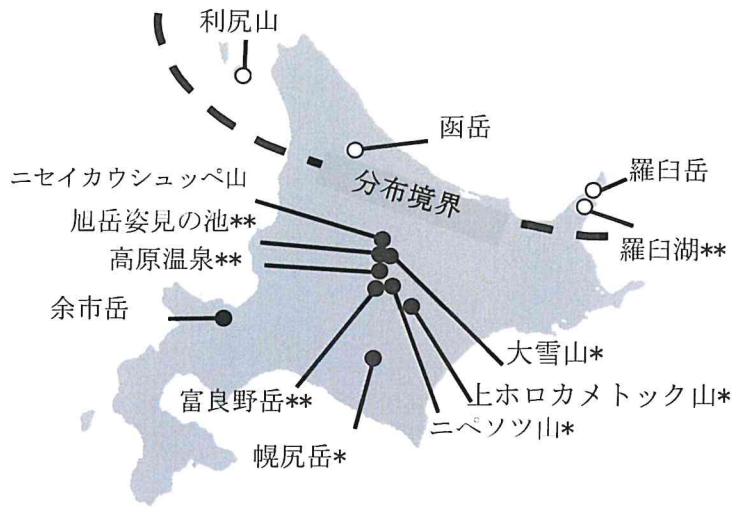


図 2. エゾコザクラにおける葉緑体 DNA ハプロタイプに基づく
分布境界.

*は Fujii *et al.* (1995, 1999) を示す.

**は澤田ら (2016, 2017) を示す.

●は大雪山・日高山系グループを示す.

○は利尻・知床山系グループを示す.

表 1. *trn L* (UAA) 3' exon - *trn F* (GAA) 領域で検出された塩基配列の差異

調査地域	配列のポジション																				
	46	212	336																	354	
利尻山	G	A	A	T	T	T	A	T	T	G	A	C	A	T	A	G	A	C	T	C	A
羅臼岳	G	A	A	T	A	T	A	T	T	G	A	C	A	T	A	G	A	C	T	C	A
余市岳	T	G	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ニセイカウシュツペ山	T	G	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
函岳	G	A	A	T	T	T	A	T	T	G	A	C	A	T	A	G	A	C	T	C	A

利尻山の塩基配列に比較して— は挿入・欠失していることを示す.

表 2. *atp B* - *rbc L* 領域で検出された塩基配列の差異

調査地域	配列のポジション				
	214	533	539	540	582
利尻山	T	G	G	A	G
羅臼岳	T	G	G	A	G
余市岳	C	T	T	C	T
ニセイカウシュツペ山	C	T	T	C	T
函岳	T	G	G	A	G