

イロハモミジ, ヤマザクラの葉緑体 DNA 変異とその地理的分布

清水建設(株) 正会員 ○米村 惣太郎
中部大学 森 高子, 白子 智康, 南 基泰

1. はじめに

生物多様性には、遺伝子、種、生態系の3つのレベルがあり、遺伝子の多様性を保全することは種の存続や地域の固有性等、生物多様性を維持するために重要である。緑化においても地域の遺伝子の攪乱を防ぐため、学会等で「地域性在来緑化植物」の利用について検討が進められている¹⁾。また東京都でも、生物多様性に配慮した植栽を目指して、「植栽時における在来種選定ガイドライン」を発表し、地域性系統の種子や苗木の利用を推進しようとしている。地域性に配慮した緑化を行うためには、緑化に用いる植物種の遺伝的情報を把握する必要があり、その地域区分の解明や判別技術の開発が求められている。そこで今回、今後も公園や企業緑地等の植栽に多く用いられると考えられるイロハモミジ (*Acer palmatum*) とヤマザクラ (*Cerasus jamasakura*) を対象とし、葉緑体 DNA 変異とその地理的分布について検討を行ったので報告する。

2. 材料および方法

2. 1 分析対象植物

イロハモミジはムクロジ科カエデ属の落葉高木であり、日本では福島以南の本州、四国、九州に分布し、朝鮮半島、中国、台湾にも見られる。種子は翼果で、風によって散布される。ヤマザクラはバラ科サクラ属の落葉高木であり、宮城、新潟以西の本州、四国、九州に分布し、朝鮮半島、台湾にも見られる。種子は核果で、動物の被食により散布される。分析の対象とした樹葉試料は、2012年5月～2013年11月にかけて福島県～鹿児島県から採取した。

2. 2 分析対象 DNA

樹木の持つ遺伝情報を把握するためには、細胞内に存在する遺伝情報の総体である DNA を解析する必要がある。植物の DNA には、核 DNA、葉緑体 DNA およびミトコンドリア DNA が存在する。このうち葉緑体 DNA の構造および遺伝子の塩基配列は異種間での保存性が高いが、遺伝子間領域などでは種内変異も見られ、これらの DNA 多型が系統地理学的研究によく用いられていることから、本検討では葉緑体 DNA を分析対象とした。

2. 3 分析方法

葉緑体 DNA の分析方法の主な手順は次の通りである。採取した葉を液体窒素に浸漬し、粉碎した後、DNeasy Plant Mini kit (QIAGEN) を用い、全 DNA を抽出した。精製された DNA の遺伝子および遺伝子間領域を増幅させるため、葉緑体 DNA の遺伝子間領域もしくはイントロン (非翻訳領域) を増幅する各ユニバーサルプライマー (Forward および Reverse) および MightyAmp DNA Polymerase Ver. 2 (TaKaRa) を用いて、PCR (Polymerase Chain Reaction) 反応液を調整した。PCR 反応には、DNA サーマルサイクラー (Gene Amp PCR system 9700, Applied Biosystems) を用いた。PCR 産物の確認後、QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて精製した。精製された PCR 産物は、CEQ DTCS Quick Start Kit (BECKMAN COULTER) を用いて、Dye Terminator Cycle Sequence 法により、シーケンス反応を行った。シーケンス反応液をエタノール沈殿により精製した後、シーケンス産物をマルチキャピラリー DNA 解析システム (CEQ2000XL, BECKMAN COULTER) 付属のプロトコールに従い、シーケンス解析 (DNA 配列の決定) を行った。決定された DNA 配列は、MEGA5.2 (Tamura et al., 2011²⁾) を用いてアライメント (Alignment: 配列比較) を行い、DNA 多型 (塩基置換) によってハプロタイプ (葉緑体 DNA の塩基配列に基づくタイプ、遺伝子型) を決定した。また、分析結果から BARRIER ver. 2.2³⁾ を用いて、遺伝的境界の探索を行った。

キーワード 葉緑体 DNA, ハプロタイプ, 地理的分布, イロハモミジ, ヤマザクラ

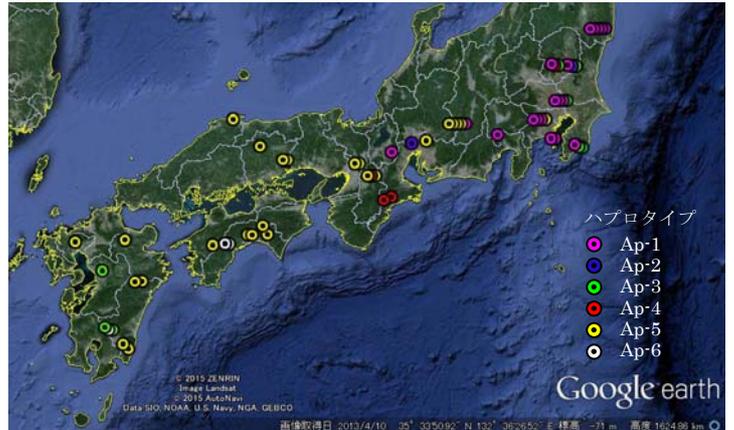
連絡先 〒135-8530 東京都江東区越中島3丁目4-17 TEL 03-3820-6950

3. 分析結果

3. 1 ハプロタイプの地理的分布

1) イロハモミジ

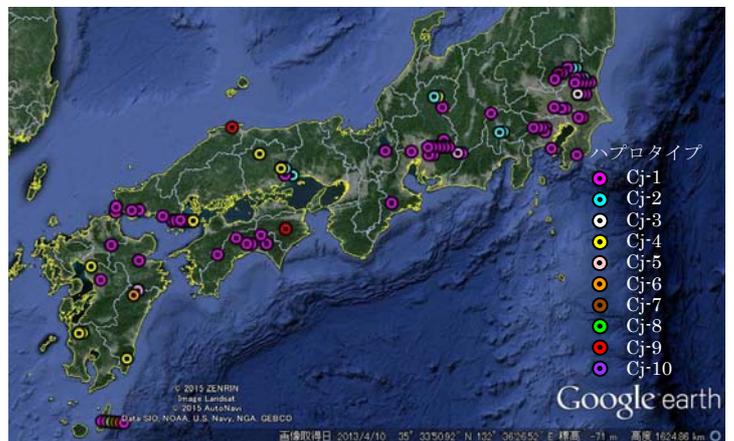
イロハモミジは 35 産地 67 サンプルについて 2 つの領域を組み合わせることによって、6 つのハプロタイプに分けることができた。このうちハプロタイプ 1 (Ap-1) はフォッサマグナ西縁 (糸魚川静岡構造線) から東に多く、ハプロタイプ Ap-5 はフォッサマグナ西縁から西に多く分布していた。そのほかのハプロタイプでは、Ap-4 が三重、奈良で、Ap-6 が宮崎、高知に分布していた。Ap-2 は栃木、愛知、熊本、Ap-3 は関東 3 県のほか、熊本、宮崎と広範囲に分布が見られた (図 1)。



©Google 図 1. イロハモミジのハプロタイプ分布図

2) ヤマザクラ

ヤマザクラは、45 産地 90 サンプルについて、イロハモミジとは一部異なる 2 つの領域を組み合わせることによって、10 のハプロタイプに分けることができた。このうちハプロタイプ 1 (Cj-1) は関東から九州までの広い地域に分布していた。Cj-2 は関東から岐阜、岡山に分布が見られ、Cj-3、Cj-10 は茨城からのみ、Cj-4 は岐阜、中国、九州、Cj-5~8 は九州に分布していた。Cj-9 は島根、徳島から得られたハプロタイプである (図 2)。



©Google 図 2. ヤマザクラのハプロタイプ分布図

3. 2 遺伝的境界の探索

BARRIER³⁾を用いて遺伝的境界を解析した結果、イロハモミジでは、遺伝的境界としてフォッサマグナ西縁辺りと熊本、宮崎と他の九州地域との合計二ヶ所が検出された。一方、ヤマザクラでは、関西西域辺りと兵庫西部、岡山、島根と他地域の間、また鹿児島、宮崎と他の九州地域との合計三ヶ所で検出された。

4. おわりに

葉緑体 DNA の 2 つの領域を組み合わせることで、イロハモミジでは 6 つ、ヤマザクラでは 10 のハプロタイプが検出された。それらから遺伝的境界を探索した結果、イロハモミジでは二か所、ヤマザクラでは三か所が検出された。地域の遺伝的多様性を保全するためには、これらの地域間では樹木の移動は望ましくなく、またハプロタイプから地域性を判別することが可能と考えられた。今後更に評価地点を加え、遺伝学的解析を行っていく予定である。なお、樹葉の採取では多くの人の協力を得た。心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 日本緑化工学会 (2002) 生物多様性保全のための緑化植物の取り扱い方に関する提言. 日本緑化工学会誌, 27 (3), 481-491
- 2) Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, D., Nei, M., Kumar, S. (2011) MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods, Molecular Biology and Evolution 28 : 2731-2739.
- 3) Manni F., Guerard E. and Heyer E. (2004) Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variations: How barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. Human Biology 76:173-190