

兵庫県に自生するサギソウの遺伝的多様性 - ランダムプライマーを用いたサギソウ個体識別技術の応用研究 -

高見陽々樹・根本謙佑・岩本知優・倉本彩聖・坂西優妃・佐々木滉斗・野村駿斗
(兵庫県立農業高等学校 生物工学科)

はじめに

降水量の少ない兵庫県では古くからため池が数多く造成され、その周辺では希少な生物が豊かな植生をはぐくんできた。しかし近年、開発や改修工事によってため池の埋め立てが進んだことで、これらの生物の多くが絶滅の危機に瀕している。このような状況から私たちは保護団体や植物園と連携し、ため池の環境と密接にかかわる絶滅危惧種サギソウ(写真1)の調査に取り組んできた。環境省が発行する「希少野生動植物種保存基本方針」では、自生地の保護を進めるにあたり遺伝的多様性の状況を明確にすることが重要であると指摘している。そこで、生物多様性の観点からサギソウの保護を進めるための指標を得る必要があると私たちは考えた。



写真1 サギソウ
Pecteilis radiata

研究の目的

1. 兵庫県内各地に自生するサギソウについて個体レベルでの多様性を証明する。
2. 近年指摘されている自生地への園芸品種や市場流通個体の誤った善意による移植が招く遺伝子攪乱の有無を確認する。
3. 江戸時代以降に伝統園芸植物として発展してきたサギソウ園芸品種の成立に及ぼす兵庫県産個体の影響を検証する。

仮説と方法

1. わずかなサンプルからもランダムプライマーを用いたPCR技術を応用することでDNAを増幅(図1)し、サギソウにおいても個体識別が可能であるという仮説を立てた。このため約104万通りある10塩基配列のランダムプライマーの中から、利用可能なオペロン社製ランダムプライマーを用いて、DNAの変性を94℃ 30秒、アニーリングを45℃ 30秒、DNAポリメラーゼによる再合成を68℃ 2分に設定しこれを40サイクルおこなうことでDNAの増幅を試みた。
2. 自生地へ園芸品種や市場流通個体の移植が行われることで、個体間の交雑による遺伝子攪乱の発生が懸念されている。そこで、園芸品種や市場流通個体のDNAと自生個体のDNAを比較することで遺伝子攪乱の有無を確認できるという仮説を立てた。このため、RAPD法を用いて増幅したDNAのバンドパターン結果から系統樹の作成をおこなった。
3. 江戸時代以降に伝統園芸植物として発展してきたサギソウ園芸品種の成立には、国内の主要な自生地のひとつである兵庫県産個体の影響が存在すると推測した。このため、兵庫県産個体の影響をRAPD法により検証することが可能であるという仮説を立てた。そこで、現在まで国内に伝承される園芸品種と兵庫県内の自生個体について系統樹の検証をおこなった。



図1 サギソウ DNA の検出手順

結果

1. ランダムプライマーを用いたPCRを行ったところ、OPE6・OPE16・OPE17・OPE20・OPR8・OPR10の6種類でサギソウDNAの特定領域を増幅できることを確認した。このDNA増幅産物のアガロースゲル電気泳動の結果、県内に自生する個体間でバンドパターンの差が検出でき(写真2)、個体識別が可能で多様性を証明できた。

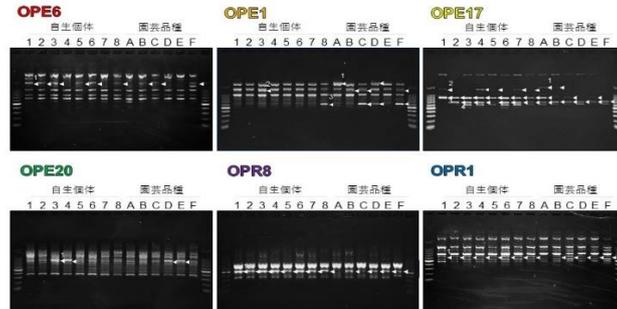


写真2 RAPD法によるサギソウDNAの多型

2. 園芸品種や市場流通個体と自生個体のバンドパターンから系統樹(図2)を作成して比較をおこなった。この結果、園芸品種に特有のバンドが兵庫県内に自生する個体からは全く観察されなかったことから、現在のところ調査した自生地において遺伝子攪乱はおこっていないことを確認した。さらに無根系統樹(図3)は、自生個体が少なくとも3種類の遺伝的なグループに分類されることを裏付けている。
3. 6種類のサギソウ園芸品種の成立に与えた、兵庫県産個体の影響をRAPD法により検証したところ、姫路市西部の自生個体に特有のDNA領域が園芸品種“おぼろ月”の成立に深く関与していることが示唆された。一方で、無根系統樹からは園芸品種“金星”が、兵庫県内の自生個体群から遺伝的距離が遠い個体が用いられたことを示している。

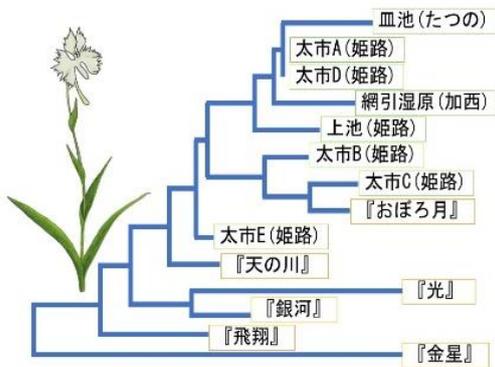


図2 サギソウ 有根系統樹

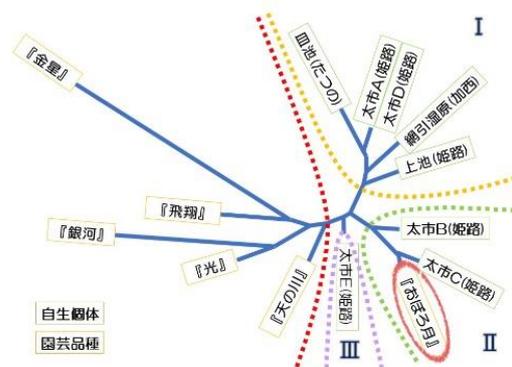


図3 サギソウ 無根系統樹

考察とまとめ

一連の実験結果から、県内自生地における多様性は適切な保全活動によって維持されていることが示唆された。また、今回得られたサギソウの遺伝情報をもとに調査を定期的実施することで、遺伝的多様性の状況を明確にした上での保全活動を継続していくことが重要であると考察した。さらに、今回の取り組みはこれまで解明されてこなかった伝統園芸植物のルーツを解明する手がかりを得る技術開発に繋がった。今後、サギソウと同様の状況にある生物について、調査対象を拡大することで兵庫県内の自然環境保全に寄与できる知見が得られるものと考えられる。