

日光白根山に生育しているコマクサの DNA 分析結果について

日光自然環境事務所では、日光国立公園日光白根山に生育が確認されているコマクサの由来を明らかにするため、日光白根山の 4 地点計 16 株及び尾瀬国立公園燧ヶ岳の 5 株のコマクサ試料を採取し、DNA 分析を行った。なお、DNA 分析作業は、金沢工業大学ゲノム生物工学研究所 堂本光子准教授に依頼した。

調査概要

◎対象地域

- ・日光国立公園日光白根山周辺部（栃木県日光市、群馬県利根郡片品村）4 地点
①ロックガーデン ②奥白根ガレ場 ③白根山砂礫地 ④前白根山
- ・尾瀬国立公園燧ヶ岳（福島県南会津郡檜枝岐村）：自生地

◎試料採取時期

- ・日光白根山：平成 24 年 7 月 19 日
- ・燧ヶ岳：平成 24 年 8 月 23 日

◎採取方法

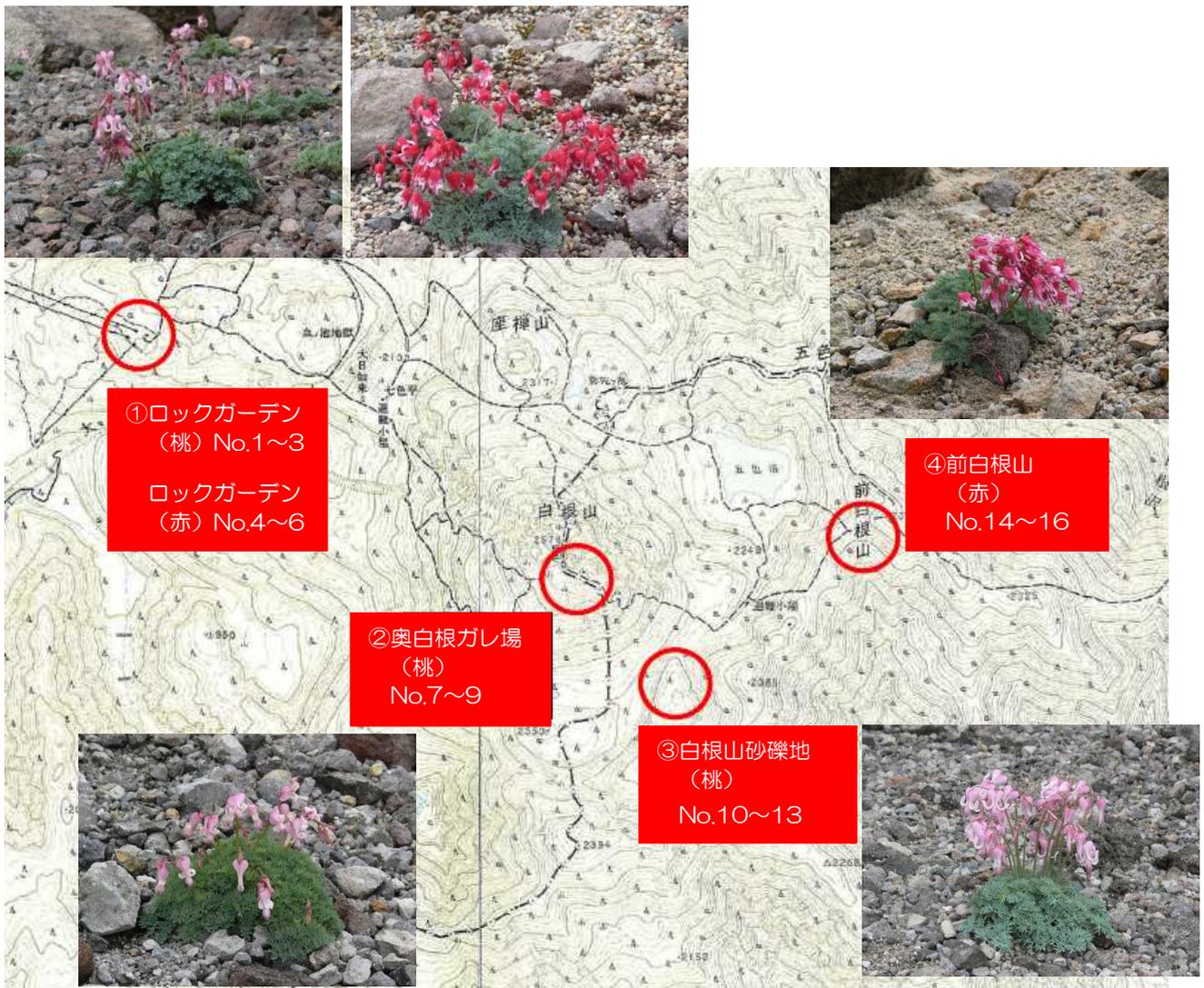
各地点毎に、コマクサ生体の新鮮な一葉（基部を刃物で切除）を最低 3 個体分確保した。確保する個体については、生育している地区をランダムに選択し、代表する有花個体とした（花の色が他と異なる場合は、代表としない）。当該個体に関しては、識別番号を付した上で、カメラにより花の色、付き具合、株の大きさ、株立ちの様子が判別できるように記録した。採取後は、試料を識別番号を記載したジップロック等の個装容器に入れ、アイスボックス等の冷蔵機能の高い容器で保存し、冷蔵温度帯で金沢工業大学に送付した。

◎分析方法

母系、父系の両方の遺伝子を含む核遺伝子であり植物での DNA 鑑定によく用いられる ITS (Internal Transcribed Spacer) 領域を用いてコマクサの塩基配列を解析、DNA 鑑定を行った。手順は以下の通り。

- i) DNA 抽出
- ii) プライマー設計
- iii) ITS 領域の増幅 (PCR)
- iv) 塩基配列の決定

図 日光白根山のコマクサ試料の採取場所



先行研究の自生コマクサの塩基配列で変化が見られた6ヶ所(変異a~f)及び今回の解析で新たに変化が見つかった1ヶ所(変異g)の計7ヶ所の塩基配列について表に示す。

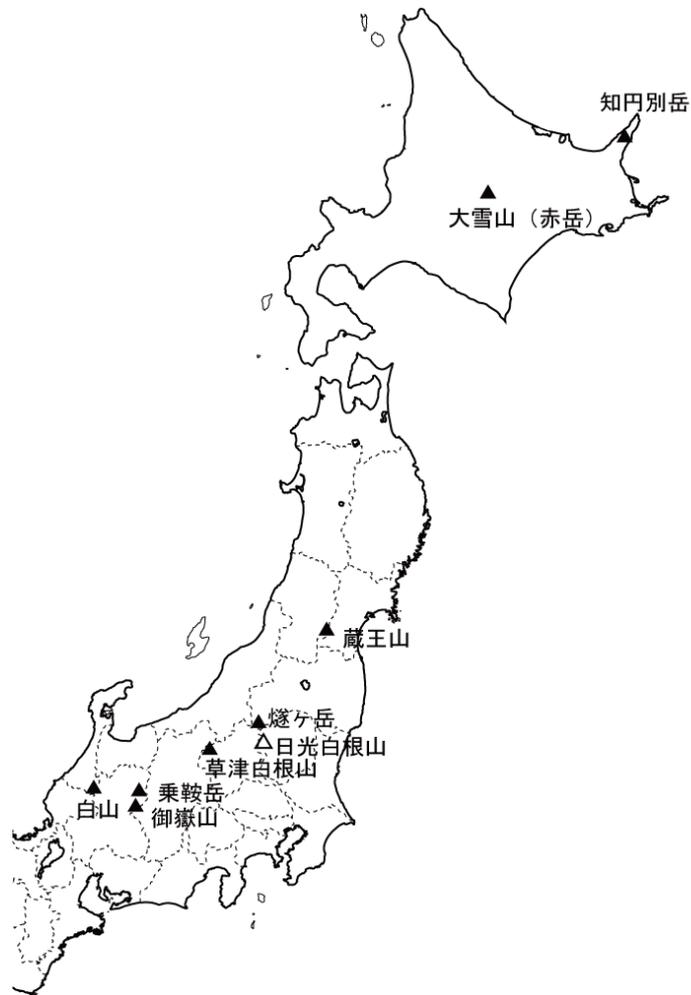
表 日光白根山のコマクサのa~gの塩基配列(ITS領域における変異)

位置(bp)	変異 a	変異 b	変異 c	変異 d	変異 e	変異 f	変異 g	各 primer での解析			
	30	55	118	136	284	315	538	5-1	3-2	5-3	3-4
1 ロック桃	C/T	C	A	C	CC	C	C	△	○	×	○
2 ロック桃	C/T	C	A	C	CC	C	C	○	○	×	○
3 ロック桃	C/T	C	A	C	CC	C	C	×	○	×	○
4 ロック赤	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	×	○	×	○
5 ロック赤	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	×	○	×	○
6 ロック赤	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	×	○	×	○
7 奥-桃	C/TCCT	C	A	C	CC/TT	C	C	×	○	△	×
8 奥-桃	C/TCCT	C	A	C	CC/TT	C	C	×	○	×	○
9 奥-桃	C/TCCT	C	A	C	CC/TT	C	C	×	○	×	○
10 砂-桃	C/T	C	A	C	CC	C	C	×	○	×	○
11 砂-桃	C/TCCT	C	A	C	CC/TT	C	C	△	○	×	○
12 砂-桃	C/TCCT	C	A	C	CC/TT	C/T	C	×	○	×	○
13 砂-桃	C/TCCT	C	A	C	CC/TT	C	C	×	○	×	○
14 前-赤	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	×	○	×	○
15 前-赤	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	×	○	×	○
16 前-赤	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	×	○	×	○

a~gの7箇所の塩基配列の変化を示した。 / は1個体が別々の配列をもつことを示した。 ○×は各プライマーで解析できたかを示した。 特徴的な変異部分を網掛けで示した。

さらに、尾瀬国立公園燧ヶ岳で採取されたコマクサ試料についても DNA 分析を実施し、「平成 22 年度グリーンワーカー事業 白山国立公園コマクサ対策事業」及び「平成 23 年度グリーンワーカー事業 白山国立公園コマクサ対策事業」で解析された全国各地で自然育成しているコマクサ試料の DNA 分析結果とあわせて、日光白根山のコマクサ試料との比較を行った。

図表 DNA 分析の試料採取位置



調査名	山名	採取地	自然公園	所在
平成 22・23 年度グリーンワーカー事業 白山国立公園コマクサ対策事業	知円別岳	北海道	知床国立公園	北海道
	大雪山 (赤岳)	北海道	大雪山国立公園	北海道
	蔵王山	宮城県	蔵王国定公園	宮城県・山形県
今回調査	燧ヶ岳	福島県	尾瀬国立公園	福島県
平成 22・23 年度グリーンワーカー事業 白山国立公園コマクサ対策事業	草津白根山	群馬県	上信越高原国立公園	群馬県
	乗鞍岳	岐阜県	中部山岳国立公園	岐阜県・長野県
	御嶽山	岐阜県	御嶽山県立自然公園 (岐阜県)	岐阜県

表 各地のコマクサの a~g の塩基配列 (ITS 領域における変異)

位置		変異 a	変異 b	変異 c	変異 d	変異 e	変異 f	変異 g	解析 株数
		30 bp	55 bp	118 bp	136 bp	284 bp	315 bp	538bp	
自生	知円別岳	C	C	A	C	CC	C	C?	3
	大雪山 (赤岳)	T	A or C	A	C	CC	C	C	2
	蔵王山	C/T	C	A	C	CC	C	C	1
	燧ヶ岳	C/TCCT	C	A	C	CC/TC	C	C	5
	草津白根山	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	3
	乗鞍岳	C/TCCT	C	A/T	C/T	CC/TC	C/T	C	3
	御嶽山	TCCT	C	A	C	TC	T	C	2
日光	①ロックガーデン(桃)	C/T	C	A	C	CC	C	C	3
	①ロックガーデン(赤)	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	3
	②奥白根ガレ場(桃)	C/TCCT	C	A	C	CC/TT	C	C	3
	③白根山砂礫地(桃)	C/TCCT	C	A	C	CC/TT	C or C/T	C	3
		C/T	C	A	C	CC	C	C	1
	④前白根山(赤)	C/TCCT	C	A	C	TC/CC	T/C	C/T	3
長野(市販)	T	C	A	C	CC	C	C?	2	

a~g の 7 箇所 の 塩基配列 の 変化 を 示 した。 右 端 に は 解 析 で き た 株 数 を 示 した。 / は 1 個 体 が 別 々 の 配 列 を も つ こ と を 示 した。 or は 個 体 に よ っ て 配 列 が 異 な る こ と を 示 した。 類 似 す る 配 列 を 同 色 で 網 掛 け した。

以上の結果から、以下のことが推測された。ただし、本解析はサンプル数が十分でないこと、解析できないプライマーがあったことから、十分な解析結果に基づくものではなく、あくまで推測の域である。

(ア) 日光白根山のコマクサの ITS 領域の遺伝子型は、少なくとも 3 種類以上ある。

(イ) ①ロックガーデンの桃色花と赤花の個体では ITS 領域の塩基配列が異なることから、両者の由来が異なる。

(ウ) ③白根山砂礫地のコマクサは同じ桃色花でも、少なくとも 2 種類の由来の異なるコマクサが混在している可能性がある。

(エ) ①ロックガーデン(赤)と④前白根山(赤)は、草津白根山のコマクサに由来する可能性がある。

(オ) ①ロックガーデンの桃色花と③白根山砂礫地の一部のコマクサは、蔵王山のコマクサに由来する可能性がある。

(カ) ②奥白根山ガレ場のコマクサは、配列が完全に一致する自生地のコマクサは無く、由来は推察できない。

文献整理及びヒアリング調査、DNA 解析の結果をまとめ、以下に示した。これらの結果をふまえて、日光白根山でのコマクサ生育の経緯を推測した。

表 日光白根山におけるコマクサに関する調査結果一覧

地点名	花色	文献の有無	移植情報の有無	ヒアリングから得られた産地等の情報	日光白根山産と各自生地のコマクサの ITS 領域遺伝子型の関係
①ロックガーデン	桃	昭和 11 年以前の文献にはコマクサ生育の記述無し	有	草津(おそらく草津白根山産)から購入	蔵王山と一致
	赤		有		草津白根山と一致
②奥白根ガレ場	桃		有	産地不明の園芸種 3 種(白・桃・赤)	不明
③白根山砂礫地	桃		有		不明
	桃		有		蔵王山と一致
④前白根山	赤			有?	不明?

- ・ ①ロックガーデンの赤花のコマクサ及び④前白根山の赤花のコマクサは、草津白根山に自生するコマクサと塩基配列が一致しており、ヒアリング情報の通り、移植したものが繁茂した可能性があるかと推測される。
- ・ ①ロックガーデンの桃色花のコマクサ及び③白根山砂礫地の桃色花のコマクサの一部は、蔵王に自生するコマクサと塩基配列が一致しており、蔵王山由来のコマクサが移植された可能性があるかと推測される。
- ・ ②奥白根ガレ場の桃色花のコマクサ及び③白根山砂礫地の桃色花のコマクサの一部は、現段階で明らかになっている全国の自生地のコマクサとは塩基配列は一致しなかった。なお、この地点については、園芸種の種子を播種したというヒアリング情報があった。
- ・ 今後の課題としては、特に、自生地の蔵王山のサンプル数の増加と、②奥白根ガレ場及び③白根山砂礫地の桃色花コマクサの由来検討が挙げられる。