

[自主研究]

# 遺伝子解析を用いたミヤマスカシユリ保全法の確立

三輪誠 渡邊好美\* 嶋田知英 金澤光 小川和雄

## 1 目的

ミヤマスカシユリ(*Lilium maculatum* var. *bukosanense*)は、埼玉県西部にある武甲山に自生する野生のユリである。ミヤマスカシユリの自然個体群は、石灰石の採掘や、シカやサルなどによる食害によって悪影響を受け、自然状態ではほとんど見ることができなくなった。

環境省や埼玉県が編纂した「レッドデータブック」では、ミヤマスカシユリは、「ごく近い将来において野生での絶滅の危険性が極めて高い種(絶滅危惧ⅠA類)」としてリストアップされている。また、埼玉県では、「埼玉県希少野生動植物の種の保護に関する条例」に基づいて、ミヤマスカシユリを「県内希少野生動植物種」のひとつとして指定し、重点的に保護する方針を示している。

絶滅危惧植物であるミヤマスカシユリの保全を効果的に実施するためには、生育地での繁殖・交配様式や遺伝的多様性の状況などを把握するとともに、万が一に備えて、バックアップ体制を整備する必要がある。

平成19年度は、ミヤマスカシユリのバックアップ体制を整備するための一環として、平成18年度に採取した種子の発芽試験を実施した。また、生育地での繁殖・交配様式や遺伝的多様性の状況の把握に利用するため、昨年度に引き続き、マイクロサテライト(SSR)マーカーの開発に取り組んだ。

## 2 方法

### 2.1 ミヤマスカシユリの種子の発芽試験

平成18年度に、人工授粉により、44輪の花から得られた種子を用いて発芽試験を実施した。各花から得られた全ての種子を、それぞれクレハ園芸培土を詰めた蓋付きの角形ケースに播種し、環境制御室内で育成した。発芽が完全に終了した段階で発芽率を求めた。

### 2.2 SSRマーカーの開発

SSRとは、DNA中にある繰り返し配列のことで(例えば、(CA)<sub>n</sub>など)、それらの繰り返し数が個体によって異なることが知られている。この特性をマーカーとして利用したのがSSRマーカーである。実際にマーカーとして利用するためには、DNA中のSSR領域をPCR(Polymerase Chain Reaction)で増幅する必要がある。本研究では、練・宝月の方法(2004)を適用して、SSR領域をPCR増幅するためのプライマー対を設計し

た。また、それを用いてPCR増幅されたマーカーをポリアクリルアミド電気泳動にかけ、そのバンドパターンからマーカーの特性を調べた。

## 3 結果

### 3.1 ミヤマスカシユリの種子の発芽試験

播種してから約1ヶ月ほどで発芽が始まり、断続的に約7ヶ月ほど発芽が継続した。最終的に算出された平均発芽率は43(±17)%であった。

### 3.2 SSRマーカーの開発

練・宝月の方法(2004)を適用した結果、ミヤマスカシユリのDNA中にあるSSR領域を増幅するための7つのプライマー対が設定できた。これらのプライマー対を用いてPCR増幅されたSSRマーカーは、単一遺伝子座の共優性マーカーとしての特性を示すとともに、7から16の対立遺伝子を持ち、100塩基から200塩基程度の断片長として現れることがわかった(表1)。なお、増幅されたSSR領域には、主に(AG)<sub>n</sub>や(AC)<sub>n</sub>といった繰り返し配列が含まれた(表1)。

表1 開発したSSRマーカーの特性

マーカー名	SSR領域	対立遺伝子数	塩基数 (bp)
IP3-9(Ssp I /CA)	(TA) <sub>6</sub> (CA) <sub>6</sub>	7	229-256
IP3-4(EcoRV /CA)	(AT) <sub>40</sub> (AC) <sub>17</sub>	16	133-201
IP3-9(EcoRV /GA)	(AG) <sub>10</sub>	11	87-112
IP3-2(Hae III /GA)	(AG) <sub>21</sub>	10	163-189
IP3-49(Hae III /GA)	(AG) <sub>n</sub>	9	80-112
IP3-29(Afa I /CA)	(AT) <sub>24</sub> (CA) <sub>16</sub>	13	152-214
IP3-40(Afa I /CA)	(AC) <sub>4</sub> ...(AC) <sub>9</sub> (AT) <sub>7</sub>	8	144-178

## 4 今後の研究方向

今後は、採取した種子から、花を咲かせる個体を育成し、安定的に個体を維持・増殖できるバックアップ体制を整えた。また、開発されたSSRマーカーを用いて、武甲山のミヤマスカシユリ個体群における近交度について解析する予定である。

## 文献

練・宝月(2004) 日本林学会誌 86(2): 191-198.