

課題番号	3	分野名	環境保全	予算区分	県単
研究課題名	地域希少種等の保全に関する研究				
担当者名	谷山 奈緒美			研究期間	平成19～23年度
<p><b>1 研究のねらい</b> シラネアオイは、北海道から本州中部の亜高山帯に自生する1科1属1種の日本固有種であり、和名の由来になるほど日光白根山にはシラネアオイが群生していたが、シカの食害でその個体数が激減した。そのため、日光白根山のシラネアオイ群落の保全を目的とし、葉片培養による増殖技術、種子の長期保存方法、及び葉緑体DNAを用いた系統分析について検討する。</p> <p><b>2 研究の達成目標</b> ①葉片培養により培養した苗の段階的な順化試験を行い、一連の増殖技術を確立することで白根山での順化率の向上を図る。 ②種子採取後の保存方法別に発芽試験を行い、効果的な長期保存方法を検討する。 ③葉緑体DNAを用いた系統分析により日光白根山個体群と他地域との比較を行い、遺伝的な保全の指標を得る。</p> <p><b>3 研究計画及び進捗状況等</b></p>					
年度	研究計画		進捗状況（成果等）		備考
H19	①葉片培養試験 ②種子保存方法の検討 ③葉緑体DNAを用いた系統分析		①赤沼試験地、東大植物園日光分園（以下、日光分園）、及び中宮祠試験地において、順化試験を行った。 ②冷蔵（4℃）、及び冷凍（-24℃）保存による種子を用いて発芽試験を行った。 ③4遺伝子領域においてダイレクトシーケンスを行い、10地域を比較したが、差異は認められなかった。		
H20	①葉片培養試験 ②種子保存方法の検討 ③葉緑体DNAを用いた系統分析		①赤沼試験地では培養苗の良好な生育が見られず、日光分園、及び中宮祠試験地では順調な生育が見られた。 ②冷蔵による保存可能な期間は、2ヶ年程度であることが分かった。 ③16遺伝子間領域において10地域を比較した結果、2領域で変異が確認できた。		
H21	①葉片培養試験 ②種子保存方法の検討 ③葉緑体DNAを用いた系統分析		①日光分園、及び中宮祠試験地で育苗した順化苗を白根山へ植栽した。 ②冷凍保存では3年保存の種子の発芽が確認できた。 ③4遺伝子間領域において11地域を比較した結果、変異を確認し、そのうち1ヶ所をCAPSマーカージ化できた。		
H22	①葉片培養試験 ②種子保存方法の検討 ③葉緑体DNAを用いた系統分析		①白根山へ順化させた苗のうち、日光分園より大型であった中宮祠試験地の苗に良好な生育が見られ、苗の大型化が順化率の向上に関係していると考えられた。 ②冷凍保存では4年保存の種子の発芽を確認し、種子の休眠を打破するためには、5℃で60日程度の春化処理が必要であると考えられた。 ③2遺伝子間領域において17地域を比較した結果、変異を確認し、1領域では北と南に変異が分かれる傾向が見られた。福島県以南の個体についてはすべて同じ遺伝子型となった。		
H23	①～③とりまとめ		下記のとおり		

#### 4 当該年度の試験研究概要

##### 方 法

##### ① 葉片培養試験

平成21・22年6月に白根山へ植栽した日光分園と中宮祠試験区で育苗した苗各10本ずつについて、植栽した時期と同時期の6月にその生育状況と葉面積を調査し、段階的な順化試験の効果について検討した。

##### ② 種子保存方法の検討

-24℃保存の平成18・20年産の種子を40粒ずつ用いて発芽試験を行った。各40粒のうち20粒は、500ppmのGA<sub>3</sub>溶液に24時間浸漬後ろ紙上に播種し、10/20℃、12/12h、暗/暗の条件で30日、その後5℃、24h暗条件で60日経過後、10/20℃ 12/12h、暗/暗条件で30日観察し、種子長より発根長が長いものを発芽とした。

##### ③ 系統分析

葉緑体DNAを用いて2遺伝子間領域 (trnS-G, trnK) においてダイレクトシーケンスを行った。供試体は白根山のほか栃木県5地域、北海道2地域、群馬県2地域と岩手県、秋田県、山形県、新潟県、福島県、富山県、長野県各1地域、計17地域の個体を比較した。

##### 結果概要

##### ① 段階順化試験

平成21年に植栽した苗は15本のうち11本、平成22年に植栽した苗は5本のうち5本が生存していた。また、苗の葉面積は両試験区とも増大していることが確認できた。順化率向上のためには、培養苗を大型化させるための段階的な順化が必要であることが分かった。

##### ② 種子保存方法の検討

H18産・GA<sub>3</sub>未処理の種子のみが発芽し、-24℃保存では5年間保存できることが分かった。また、種子の休眠を打破するためには、5℃で60日程度の春化处理が必要であることが確認できた。

##### ③ 系統分析

2遺伝子間領域において新たな変異は認められなかったため、福島県以南の個体についてはすべて同じ遺伝子型であることが確認できた (図1)。

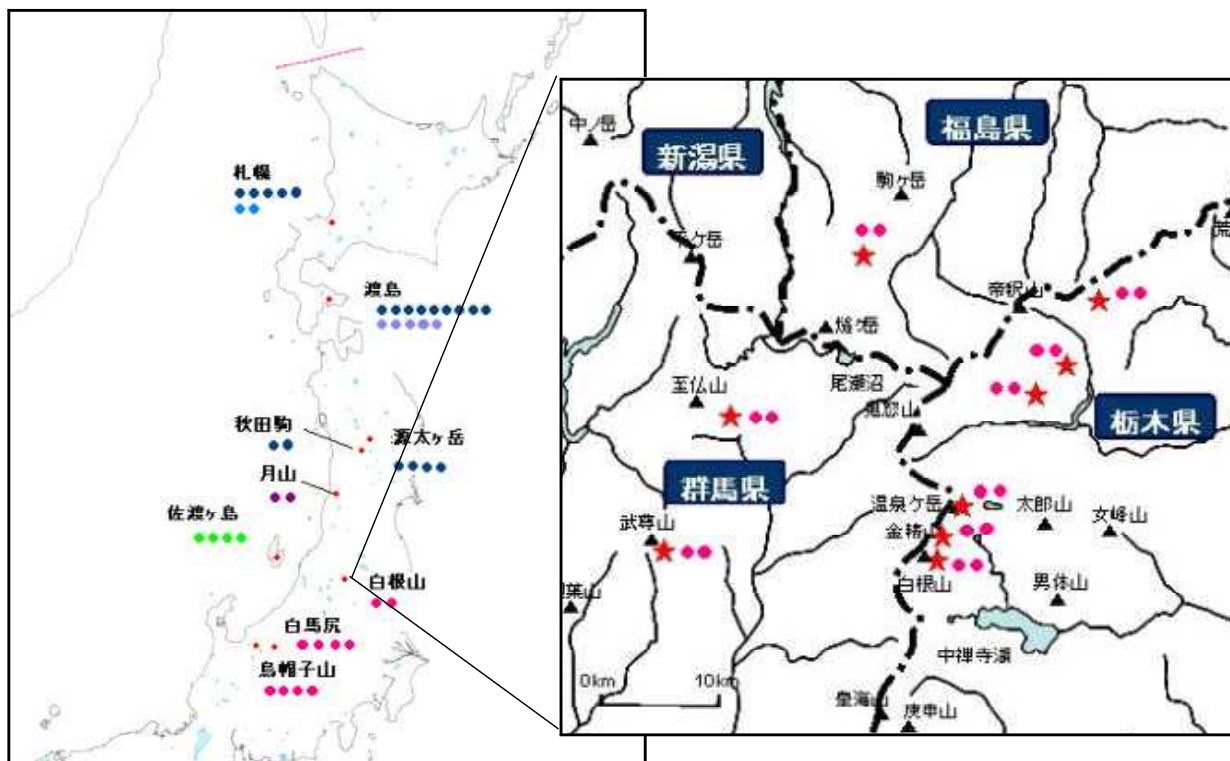


図1 葉緑体DNAを用いた系統分析 (trnS-G領域、及びtrnK領域の変異) による地理的分布図

★及び小さい●は供試体の位置を示し、大きい●の数は供試体数、同じ色は同じ遺伝子型を示す。