

## 磐梯山周辺地域に生育するシダ植物を対象とした 塩基配列データベースの構築

猪瀬礼璃菜（福島大学大学院・共生システム理工学研究科）・  
兼子伸吾（福島大学・共生システム理工学類）

### 要 旨

磐梯山周辺地域に生育するシダ植物の塩基配列データベースを構築することを目的とし、磐梯山周辺地域で採集されたシダ植物標本のリストを作成した。また、DNA データバンクから、リストに挙げられた種の *rbcL* 遺伝子、*matK* 遺伝子、*trnH-psbA* 遺伝子間領域の登録数リストを作成した。該当するシダ植物標本は 462 枚 91 種類であった。DNA データバンクには、*rbcL* 遺伝子は 363 件、*matK* 遺伝子は 65 件、*trnH-psbA* 遺伝子間領域は 152 件登録されていた。*matK* 遺伝子に関しては登録数が少ないため、今後のデータの蓄積が重要であると考えられる。

### I. はじめに

生物の種名の同定は、生物多様性に関する研究において必要不可欠な作業であるが、形態的あるいは生態的特徴だけでは同定が難しい種も存在する（伊藤, 2013）。DNA バーコーディングは、このような生物の識別を行う際に、有効な手法のひとつとされる（Hollingsworth *et al.*, 2009）。DNA バーコーディングでは、同定を行うサンプルの形態情報の比較ではなく、塩基配列情報を比較する。DNA バーコーディングを行う際の標準的な領域として、動物ではミトコンドリア DNA の *COI* 遺伝子が適しているが（Hebert *et al.*, 2003）、植物では *COI* 遺伝子の塩基置換速度が遅いため、葉緑体 DNA の *rbcL* 遺伝子や *matK* 遺伝子に決定された（Hollingsworth *et al.*, 2009）。他にも、変異に富み種レベルの同定に優れている *trnH-psbA* 遺伝子間領域も植物の DNA バーコーディングの候補として挙げられる（Hollingsworth *et al.*, 2009）。同定したいサンプルのミトコンドリア DNA や葉緑

体 DNA の塩基配列と、形態的特徴などから正確に同定された標本の塩基配列が一致または最も類似した場合、塩基配列情報を同定結果とすることができる（神保ら, 2008）。場合によっては、植物体全体を用いることなく、断片から同定を行うことも可能である。塩基配列情報を用いて正確な同定を行うためには、同定が正確な標本に基づく特定の領域の塩基配列情報が十分に蓄積される必要がある。

同定が難しい分類群の一つに、シダ植物が挙げられる。シダ植物は、同定に用いられる生殖器官の孢子囊群の構造が単純であることや、孢子囊群がない株では識別形質が極めて少ないことから、種子植物に比べ同定が難しいと考えられる。そのため形態の同定のみでなく、塩基配列から同定が行える DNA バーコーディングは有効であると思われる。

磐梯山周辺地域の植物相に関する研究は広木(1976), 馬場ら(1988), 富田(1997)によって報告されており、シダ植物に限っ

た報告は金田 (1985), 山田 (1988) によってされている (黒沢ら, 2014). しかし, いずれも標本に基づいておらず生育の確認や同定の確認は困難である. 一方で標本に基づいた研究は渡邊・黒沢 (2007), 桑島ら (2014) で報告されているが, 調査は休暇村裏磐梯周辺と限られている. 福島大学共生システム理工学類生物標本室 FKSE (以下, FKSE) には渡邊・黒沢 (2007), 桑島ら (2014) で引用された標本以外にも, 報告されていない磐梯山周辺地域に生育するシダ植物の標本も多数収蔵されている.

そこで本研究では, 磐梯山周辺地域に生育するシダ植物の塩基配列データベースを構築することを目的とする. 本稿では, FKSE に収蔵されているシダ植物標本のうち, 磐梯山周辺地域で採集された標本のリストの作成と DNA データバンクに登録されている種と遺伝子座のリストを作成した.

## II. 方法

2014年7月31日時点で確認できた FKSE に収蔵されているシダ植物標本 3019 枚から, 磐梯山周辺地域で採集されたシダ植物のリストを作成した. リストは磐梯山周辺地域に生育するシダ植物に限定するため, 標本のラベルの採集地の記載が, 福島県での郡区町村編制法の施行により, 行政区画として現在までに耶麻郡とされた地域に当たる猪苗代町, 北塩原村, 喜多方市, 西会津町, 耶麻郡, 磐梯町の標本を選出し, 標本枚数を計数した. 選出した種が, DNA データバンクに登録されているか確認するため, DNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/> 以下, DDBJ)

を用いて種を検索した. 検索した種のうち, Hollingsworth *et al.* (2009) で植物の DNA バーコーディングを行う場合の標準的な領域として決定された葉緑体 DNA の *rbcL* 遺伝子と *matK* 遺伝子, また, 候補として挙げられた *trnH-psbA* 遺伝子間領域の塩基配列の登録数を計数した.

## III. 結果および考察

FKSE に収蔵されている磐梯山周辺地域で採集されたシダ植物標本のリストを作成した結果, 該当する標本は 462 枚 91 種であった (付表 1). 磐梯山周辺のシダ植物リストに挙げられた種を DDBJ で検索した結果, *rbcL* 遺伝子は 363 件, *matK* 遺伝子は 65 件, *trnH-psbA* 遺伝子間領域は 152 件登録されていた (付表 1). リストに挙げられた種のうち 15 種は 3 遺伝子座共に登録がなかった. *rbcL* 遺伝子と *trnH-psbA* 遺伝子間領域は, 比較的登録数が多いため標本からの解析を行い, データベースとの比較を行うことができる種が多い. しかし, *matK* 遺伝子に関しては登録数が少ないため, 今後のデータの蓄積が重要であると考えられる.

磐梯山周辺地域で採集された標本が 1 枚しかない種が 28 種あった. 標本が 1 枚しかない種に関しては, 他の地域で採集された標本を用いて解析を行ったり新たに採集したりする必要がある.

## 引用文献

- 馬場 篤・斎藤 慧・坂下 諭 (1988) 磐梯山・雄国の植物. 212p, 歴史春秋出版.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., Waard, J. R (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London*

- B: Biological Sciences, 270 (1512), 313-321.
- 広木 詔三 (1976) 裏磐梯泥流上の植物相, 名古屋大学教養部紀要 B (自然科学・心理学), 20, 37-62.
- Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spuge, J. L., *et al.* (2009) A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (31), 12794-12797.
- 伊藤元己 (2013) 植物分類学. 145p, 東京大学出版会.
- 神保宇嗣・吉武 啓・伊藤元己 (2008) DNA バーコーディングによる同定支援システムと JBOLI 構想 (<特集>エンドユーザからみた DNA バーコーディング), 日本生態学会誌, 58(2), 123-130.
- 金田善一 (1985) 裏磐梯のシダ, 日本シダの会会報, 2(63,64), 3-4.
- 黒沢高秀・根本秀一・首藤光太郎 (2014) 裏磐梯高原の維管束植物相研究の成果と課題, 福島大学理工学群共生システム理工学類共生のシステム, 14, 165-171.
- 桑島和斗・首藤光太郎・兼子伸吾・黒沢高秀 (2014) 休暇村裏磐梯 (福島県北塩原村) の植物相磐梯山噴火 125 年後の泥流上の湿地, 湖沼, リゾート施設周辺の植物, 福島大学理工学群共生システム理工学類共生のシステム, 14, 154-164.
- 富田國男 (編) (1997) 裏磐梯自然ハンドブック. 190p, 自由国民社.
- 山田恒人 (1988) 裏磐梯五色沼遊歩道のシダ植物, フロラ福島, 6, 21-22.
- 渡辺優樹・黒沢高秀 (2007) 裏磐梯レンゲ沼・中瀬沼遊歩道周辺の植物相と花暦, シロヤナギ, 29, 21-50.

付表 1. FKSE に収蔵されている磐梯山周辺地域で採集されたシダ植物の標本数  
と、DDBJ に登録されている *rbcL* 遺伝子, *matK* 遺伝子, *trnH-psbA* 遺伝子の  
件数.

科名	種名	学名	FKSE 標本数 (枚)	DDBJ 登録数 (件)	遺伝子座		
					<i>rbcL</i> (件)	<i>matK</i> (件)	<i>trnH- psbA</i> (件)
ヒカゲノカズラ	ヒメスギラン	<i>Huperzia miyoshiana</i>	2	4	2	1	1
ヒカゲノカズラ	ホソバトウゲシバ	<i>Huperzia serrata</i> var. <i>serrata</i>	10	0	0	0	0
ヒカゲノカズラ	ヒロハノトウゲシバ	<i>Huperzia serrata</i> f. <i>intermedia</i>	1	0	0	0	0
ヒカゲノカズラ	スギカズラ	<i>Lycopodium annotinum</i>	2	10	9	0	1
ヒカゲノカズラ	ヒカゲノカズラ	<i>Lycopodium clavatum</i>	9	8	6	0	2
ヒカゲノカズラ	アスヒカズラ	<i>Lycopodium complanatum</i>	5	3	2	0	1
ヒカゲノカズラ	マンネンスギ	<i>Lycopodium dendroideum</i>	6	2	2	0	0
ヒカゲノカズラ	タカネヒカゲノカズラ	<i>Lycopodium sitchense</i> var. <i>nikoense</i>	10	0	0	0	0
イワヒバ	クラマゴケ	<i>Selaginella remotifolia</i>	2	3	2	0	1
ミズニラ	ヒメズニラ	<i>Isoetes asiatica</i>	4	10	10	0	0
ミズニラ	ミズニラ	<i>Isoetes japonica</i>	3	5	4	0	1
トクサ	スギナ	<i>Equisetum arvense</i>	14	32	21	6	5
トクサ	ミズドクサ	<i>Equisetum fluviatile</i>	6	10	8	1	1
トクサ	トクサ	<i>Equisetum hyemale</i>	1	40	17	17	6
トクサ	イヌスギナ	<i>Equisetum palustre</i>	3	11	6	3	2
トクサ	イヌドクサ	<i>Equisetum ramosissimum</i>	1	6	2	3	1
ハナヤスリ	オオハナワラビ	<i>Botrychium japonicum</i>	1	7	6	0	1
ハナヤスリ	ヤマハナワラビ	<i>Botrychium multifidum</i>	3	4	2	0	2
ハナヤスリ	エゾフユノハナワラビ	<i>Botrychium multifidum</i> var. <i>robustum</i>	6	2	1	0	1
ハナヤスリ	ナガホノナツノハナワラビ	<i>Botrychium strictum</i>	1	6	4	1	1
ハナヤスリ	フユノハナワラビ	<i>Botrychium ternatum</i>	5	3	3	0	0
ハナヤスリ	ナツノハナワラビ	<i>Botrychium virginianum</i>	3	11	8	1	2
ハナヤスリ	コヒロハハナヤスリ	<i>Ophioglossum petiolatum</i>	2	10	4	5	1
ハナヤスリ	コハナヤスリ	<i>Ophioglossum thermale</i> var. <i>nipponicum</i>	1	1	1	0	0
ハナヤスリ	ヒロハハナヤスリ	<i>Ophioglossum vulgatum</i>	7	11	8	1	2
ゼンマイ	ゼンマイ	<i>Osmunda japonica</i>	11	44	27	1	16
ゼンマイ	ヤマドリゼンマイ	<i>Osmundastrum cinnamomeum</i> var. <i>fokiense</i>	7	2	2	0	0
キジノオシダ	ヤマソテツ	<i>Plagiogyria matsumurana</i>	1	0	0	0	0
コバノイシカグマ	イヌシダ	<i>Dennstaedtia hirsuta</i>	4	2	1	0	1
コバノイシカグマ	オウレンシダ	<i>Dennstaedtia wilfordii</i>	4	2	1	0	1
コバノイシカグマ	イワヒメワラビ	<i>Hypolepis punctata</i>	1	3	2	0	1
コバノイシカグマ	ワラビ	<i>Pteridium aquilinum</i> subsp. <i>japonicum</i>	12	0	0	0	0
チャセンシダ	トラノオシダ	<i>Asplenium incisum</i>	23	4	3	0	1
チャセンシダ	コタニワタリ	<i>Asplenium scolopendrium</i>	13	6	5	0	1
シシガシラ	オサシダ	<i>Blechnum amabile</i>	5	3	2	0	1
シシガシラ	ミヤマシシガシラ	<i>Blechnum castaneum</i>	1	3	2	0	1
シシガシラ	シシガシラ	<i>Blechnum niponicum</i>	12	2	1	0	1
オシダ	シノブカグマ	<i>Arachniodes mutica</i>	1	2	1	0	1
オシダ	リョウメンシダ	<i>Arachniodes standishii</i>	5	4	3	0	1
オシダ	ヤブソテツ	<i>Cyrtomium fortunei</i>	1	30	13	0	17
オシダ	オシダ	<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	19	13	6	0	7
オシダ	ベニシダ	<i>Dryopteris erythrosora</i>	2	16	12	0	4
オシダ	シラネワラビ	<i>Dryopteris expansa</i>	6	27	18	4	5
オシダ	ミヤマベニシダ	<i>Dryopteris monticola</i>	3	4	2	0	2
オシダ	トウゴクシダ	<i>Dryopteris nipponensis</i>	4	3	2	0	1
オシダ	ミヤマイタチシダ	<i>Dryopteris sabae</i>	2	2	1	0	1
オシダ	タニヘゴ	<i>Dryopteris tokyoensis</i>	22	9	6	1	2
オシダ	オクマワラビ	<i>Dryopteris uniformis</i>	3	8	6	0	2
オシダ	タニヘゴモドキ	<i>Dryopteris x kominatoensis</i>	2	0	0	0	0
オシダ	アイノコクマワラビ	<i>Dryopteris x mituii</i>	1	0	0	0	0
オシダ	ホソバナライシダ	<i>Leptorumohra miqueliana</i>	13	3	3	0	0
オシダ	アイアスカイノデ	<i>Polystichum longifrons</i>	1	2	1	0	1
オシダ	イワシロイノデ	<i>Polystichum ovatopaleaceum</i> var. <i>coraiense</i>	4	2	1	0	1
オシダ	サカゲイワシロイノデ	<i>Polystichum ovatopaleaceum</i> var. <i>coraiense</i> x <i>P. retrosopaleaceum</i>	1	0	0	0	0
オシダ	ツヤナシイノデ	<i>Polystichum ovatopaleaceum</i> var. <i>ovatopaleaceum</i>	5	1	1	0	0
オシダ	サカゲイノデ	<i>Polystichum retrosopaleaceum</i>	9	2	1	0	1
オシダ	ジュウモンジシダ	<i>Polystichum tripterum</i>	19	4	3	0	1
ヒメシダ	ハリガネワラビ	<i>Thelypteris japonica</i>	7	2	1	0	1
ヒメシダ	イワハリガネワラビ	<i>Thelypteris musashiensis</i>	1	2	1	0	1
ヒメシダ	ヒメシダ	<i>Thelypteris palustris</i>	16	9	6	1	2
ヒメシダ	ミヤマワラビ	<i>Thelypteris phegopteris</i>	2	0	0	0	0
ヒメシダ	ミズシダ	<i>Thelypteris pozoi</i> subsp. <i>mollissima</i>	3	0	0	0	0
ヒメシダ	オオバシヨリマ	<i>Thelypteris quelpaertensis</i>	2	2	1	0	1
ヒメシダ	ミドリヒメワラビ	<i>Thelypteris viridifrons</i>	3	2	1	0	1

付表 1. (つづき)

科名	種名	学名	FKSE 標本数 (枚)	DDBJ 登録数 (件)	遺伝子座		
					<i>rbcL</i> (件)	<i>matK</i> (件)	<i>trnH-psbA</i> (件)
イワデンダ	イヌワラビ	<i>Anisocampium niponicum</i>	13	0	0	0	0
イワデンダ	ウスヒメワラビ	<i>Acystopteris japonica</i>	1	6	3	2	1
イワデンダ	エゾメシダ	<i>Athyrium sinense</i>	1	0	0	0	0
イワデンダ	カラクサイヌワラビ	<i>Athyrium clivicola</i>	2	3	2	0	1
イワデンダ	サトメシダ	<i>Athyrium deltoideofrons</i>	15	3	2	0	1
イワデンダ	タカネヘビノネゴザ	<i>Athyrium yokoscense</i> f. <i>alpicola</i>	3	0	0	0	0
イワデンダ	ヘビノネゴザ	<i>Athyrium yokoscense</i>	5	13	12	0	1
イワデンダ	ホソバイヌワラビ	<i>Athyrium iseanum</i>	1	2	2	0	0
イワデンダ	ミヤマヘビノネゴザ	<i>Athyrium rupestre</i>	2	3	2	0	1
イワデンダ	ミヤマメシダ	<i>Athyrium melanolepis</i>	1	3	2	0	1
イワデンダ	ヤマイヌワラビ	<i>Athyrium vidalii</i>	11	3	3	0	0
イワデンダ	イッポンワラビ	<i>Cornopteris crenulatoserrulata</i>	3	4	3	0	1
イワデンダ	ホソバシゲシダ	<i>Deparia conilii</i>	3	7	5	1	1
イワデンダ	ヤブシダ	<i>Deparia conilii</i> var. <i>angustata</i>	2	0	0	0	0
イワデンダ	シゲシダ	<i>Deparia japonica</i>	1	3	1	1	1
イワデンダ	オオヒメワラビ	<i>Deparia okuboana</i>	1	5	3	1	1
イワデンダ	ミヤマシゲシダ	<i>Deparia pycnosora</i>	2	2	1	1	0
イワデンダ	ウサギシダ	<i>Gymnocarpium dryopteris</i>	1	21	13	4	4
イワデンダ	イワウサギシダ	<i>Gymnocarpium jessoense</i>	1	9	4	4	1
イワデンダ	クサソテツ	<i>Matteuccia struthiopteris</i>	1	37	15	2	20
イワデンダ	コウヤワラビ	<i>Onoclea sensibilis</i> var. <i>interrupta</i>	7	3	2	0	1
イワデンダ	イヌガンソク	<i>Pentarhizidium orientale</i>	17	8	4	1	3
イワデンダ	イワデンダ	<i>Woodsia polystichoides</i>	1	7	5	1	1
ウラボシ	ノキシノブ	<i>Lepisorus thunbergianus</i>	1	9	8	0	1
ウラボシ	オシヤグジデンダ	<i>Polypodium fauriei</i>	1	5	3	1	1
ウラボシ	ミツデウラボシ	<i>Selliguea hastata</i>	1	0	0	0	0
デンジソウ	デンジソウ	<i>Marsilea quadrifolia</i>	4	5	4	0	1