

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510330

研究課題名(和文) 遺伝解析と生態特性把握による雑種タンポポの起源地と拡大経路の推定

研究課題名(英文) Estimating origin and expansion process of hybrid dandelions in Japan with genetic and ecological analysis

研究代表者

伊東 明 (ITO, Akira)

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：40274344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：日本における雑種タンポポの形成地域と分布拡大過程を遺伝子解析と栽培実験で調べた。在来二倍体タンポポの葉緑体DNAに、カンサイタンポポとそれ以外の種のそれぞれでのみ見られるタイプが見つかり、雑種起源の推定に利用できることが示された。カンサイタンポポのみに見られる葉緑体を持つ雑種は少なく、セイヨウタンポポに見える個体に占める雑種の割合は西日本より東日本で高かった。栽培実験で、周囲の植生の違いによって雑種を持つ葉緑体と成長特性が異なることが示された。これらの結果は、母親である在来種の違いが雑種の形成、定着、分散に関係していることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：We studied origin and expansion process of hybrid dandelions in Japan with genetic analysis and cultivation experiment. We found unique cpDNA types to *Taraxacum japonicum* or other diploid native dandelions, indicating a possibility to use cpDNA for estimating origin of hybrids. We found only few hybrids that had unique cpDNA to *T. japonicum*. Proportion of hybrids in apparent exotic dandelions were higher in eastern than western Japan. The cultivation experiment showed that hybrids growing in different vegetation differed in cpDNA and growth features. These results suggest that difference in native dandelions that produced hybrids may influence the frequency, establishment and expansion of hybrid dandelions in Japan.

研究分野：植物生態学

キーワード：移入種 在来種保全 雑種 タンポポ 遺伝子汚染 葉緑体DNA ハプロタイプネットワーク

## 1. 研究開始当初の背景

外来種の分布拡大の防止は、在来生態系の保全のための重要な課題である。外来種が分布を急速に拡大する要因の一つに、近縁の在来種との交雑（雑種化）で、外来種が移入地の環境に適応的な形質を獲得することが指摘されている。日本における雑種タンポポの分布拡大過程は、そのモデルケースとなりうる格好の研究対象である。

これまでの研究から、雑種タンポポについて以下のことがわかっている。

(1) 日本国内のセイヨウタンポポに見える個体（以下、見かけのセイヨウタンポポと呼ぶ）の多くは雑種タンポポである。2010年の調査では、西日本の見かけのセイヨウタンポポの70%が雑種であった。

(2) 雑種タンポポは、交配相手である在来二倍体タンポポが分布していない地域にも多数みられる。また、無融合生殖で無性的に種子を生産するにもかかわらず、雑種タンポポには多くのクローンが存在する。これらは、過去に雑種の形成が多数回起き、形成された雑種が広く移動分散してきたことを示唆する。しかし、雑種形成の頻度と分布拡大過程の詳細はわかっていない。

(3) 雑種タンポポの生態的な特性はよくわかっていない。ただし、高温では種子が発芽しないという在来タンポポの持つ特性（高温休眠性）が一部の雑種で見られることが知られている。雑種タンポポの生態特性が、セイヨウタンポポより日本の環境に適応している可能性があるが、詳細はわからない。

以上の状況から、『雑種タンポポは、日本各地で頻繁に形成されて遺伝的、生態的多様性を獲得して日本の環境に適応しながら広範囲に移動、拡散してきた』という仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

本研究では、日本における雑種タンポポの形成地域と分布拡大過程を明らかにすることによって上記の仮説を検証することを目的とした。具体的には、次の2項目を目指す。

(1) 在来二倍体タンポポの葉緑体 DNA と核 DNA の地理的遺伝構造を明らかにする。その結果と雑種タンポポの地理的遺伝変異を比較することで、雑種の起源地（雑種の形成地）を推定する。

(2) 雑種タンポポの生態特性のクローン間の生態的特性を調べ、雑種拡大における生態特性の役割を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 在来二倍体タンポポ葉緑体 DNA の地理的遺伝構造

カンサイタンポポ、カントウタンポポ、トウキタンポポ、シナノタンポポの分布域 59 集団から在来二倍体タンポポ計 180 個体の頭花と葉を採取した。頭花の形態（総苞内片の長さ、総苞外片の長さ、角状突起の大きさ）を計測し、葉緑体 DNA の遺伝子間 7 領域（計 3,572 塩基対）の塩基配列を決定した。得られた塩基配列データからハプロタイプネットワークを作成し、頭花の形態と葉緑体ハプロタイプの地理的変異を解析した。

(2) 在来二倍体タンポポ核 DNA の地理的遺伝構造

上記在来二倍体タンポポのサンプルから 12 集団 96 個体について、各 DNA のマイクロサテライト (SSR) 5 遺伝子座の遺伝子型をシーケンサーを用いて決定した。得られた遺伝子型データに基づいてベイズクラスター分析 (解析ソフト STRUCTURE) を行い、各集団の遺伝的分化と地理的変異を解析した。

(3) 雑種タンポポの分布と葉緑体 DNA の地理的変異

カンサイタンポポ、カントウタンポポ、トウキタンポポ、シナノタンポポの分布域 49 地点で在来種の近辺にある見かけのセイヨウタンポポ 393 個体から果実サンプルを採取した。葉緑体 DNA の *trnL-trnF* 領域の塩基長と核 DNA 量を計測し、セイヨウタンポポ、三倍体雑種、四倍体雑種に分類し、雑種比率の地理的分布を解析した。また、46 個体について葉緑体 DNA ハプロタイプを分析し、二倍体タンポポのハプロタイプと比較して、雑種形成地域と移動経路を推定した。

(4) 雑種タンポポの成長特性

大阪府内に広く見られた 6 クローンの雑種の成長特性を比較するため、インキュベータを用いた栽培実験を行った。実験には、SSR9 遺伝子座に基づいて判別した、三倍体雑種 4 クローンと 4 倍体雑種 2 クローンを用いた。各クローンの果実から育てた実生を温度 20℃、湿度 70%、全照 24hr のインキュベータで 7 か月間栽培し、葉数、葉面積、頭花数、花茎長、各器官（葉、根、花）の乾燥重量を測定した。データは一般化線形混合モデルを用いて解析し、各クローンの成長特性を比較した。また、各クローンの葉緑体 DNA ハプロタイプを調べ、母親となった在来二倍体を推定した。

## 4. 研究成果

(1) 在来二倍体タンポポ葉緑体 DNA の地理的遺伝構造

頭花の形態は連続的に変化していたが、クラスター分析 (k-mean 法) で 4 タイプに分類したところ、滋賀、三重、愛知を境に西側のみに分布する 1 タイプと東側に分布する 3 タイプが見られた (図 1)。東側に分布するタイプは空間的に重複域が大きい。太平洋側、

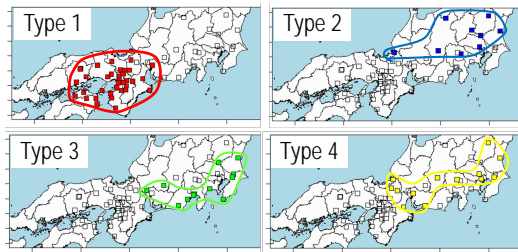


図 1. 頭花 4 タイプの分布 .

内陸側とその中間に分布するタイプに分けられた。それぞれの形態は、カンサイタンポポ、カントウ（トウカイを含む）タンポポ、シナノタンポポ、カントウとシナノの中間型に相当し、これまでの知見とほぼ一致していた。

在来二倍体の 180 個体から 40 の葉緑体ハプロタイプが見つかった。得られたハプロタイプネットワークから便宜的に 7 グループに分類し、頭花形態との関係を見た（図 2）。A グループは形態タイプ 1（カンサイタンポポ型）のみだったが、他のハプロタイプグループは複数の形態タイプを含んでいた。ただし、D グループにはカンサイタンポポ型が極めて少なかったため、A グループの葉緑体を持つ雑種はカンサイタンポポを、D グループの葉緑体を持つ雑種はそれ以外の在来タンポポを母親として形成された雑種と推測できる。ただし、本解析には、残る在来二倍体タンポポのオキタンポポが含まれていないため、更にデータを追加する必要があるだろう。

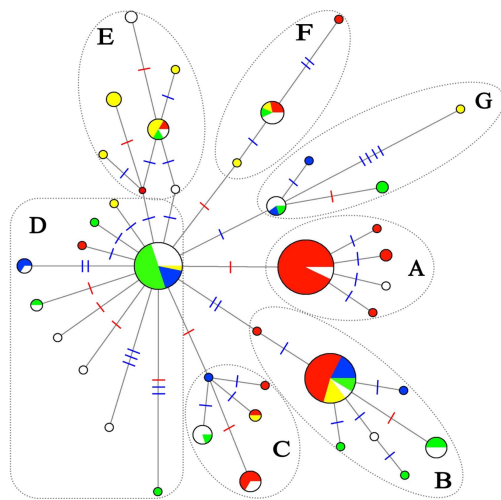


図 2 . 在来二倍体タンポポの葉緑体ハプロタイプネットワーク。青線は塩基置換、赤線は挿入/欠損を示す。円の大きさは個体数、色は図 1 に示した頭花形態タイプの個体割合を示す。白色は形態データの無い個体の割合。

(2) 在来二倍体タンポポ核 DNA の地理的遺伝構造

カンサイタンポポとカントウ（トウカイ）タンポポ 12 集団の STRUCTURE 解析の結果、SSR

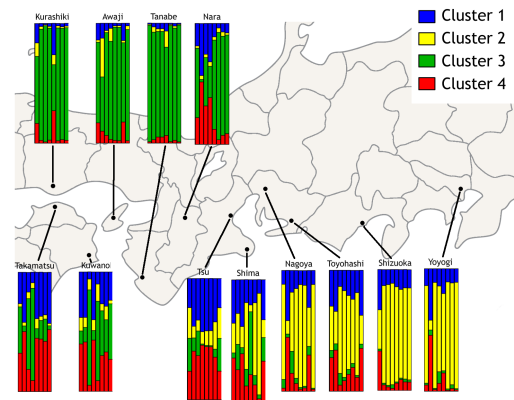


図 3 在来二倍体タンポポの STRUCTURE 解析結果 .

遺伝子には地理的変異が認められた（図 3）。カンサイタンポポは Cluster 3 の、カントウタンポポは Cluster 2 の遺伝子比率が高く、両種の遺伝的分化が支持された。ただし、カンサイタンポポとカントウタンポポの中間的な形態を示す三重県（津、志摩）の個体は、遺伝的にも東日本のカントウタンポポ集団とは異なる遺伝子組成を持っていた。また、四国のカンサイタンポポは、本州のカンサイタンポポに比べ Cluster 2 の遺伝子比率が低かった。今後は、シナノタンポポ、オキタンポポなど他の在来二倍体タンポポのデータを追加して、二倍体タンポポ全体の地理的遺伝変異を明らかにする必要がある。

(3) 雑種タンポポの分布と葉緑体 DNA の地理的変異

在来二倍体分布地域の見かけのセイヨウタンポポ 393 個体の内訳は、セイヨウタンポポ 64（16%）、三倍体雑種 182（46%）、四倍体雑種 147（37%）だった、雑種の割合には地域差があり、カンサイタンポポの分布域（近畿、中国、四国）では雑種（特に三倍体雑種）の割合が低く、カントウタンポポとトウカイポポの分布域（関東、東海）では雑種（特に三倍体雑種）の割合が高かった（図 4）。

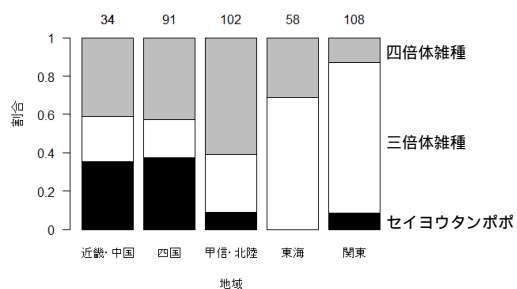


図 4 . 各地域のセイヨウタンポポと雑種タンポポの割合。上の数字はサンプル数。

見かけのセイヨウタンポポ 46 個体の葉緑体ハプロタイプを調べた結果、セイヨウタンポポのハプロタイプは、予想通り在来二倍体になかったものばかりであった。一方、三倍雑種のハプロタイプは在来二倍体に見られたものだったが、四倍体雑種のほとんどは在来

二倍体から見つからなかったハプロタイプ(Qグループ)を持っていた。そのため、今回の調査では四倍体雑種の母親となった在来種を推定することは出来なかったが、三倍体雑種については、ある程度起源地を推測することが可能になった。

三倍体雑種からは、カンサイタンポポのみに見られたAグループの葉緑体を持つ個体が1個体しか見つからず、このタイプのカンサイタンポポを起源とする雑種が少ない可能性が示唆された(図5)。一方、東日本の在来二倍体に多かったDグループを持つ雑種が四国からも見つかり、東日本で形成された雑種がすでに広い範囲に移動していることが示唆された(図5)。

今のところ解析個体数が少ないため、詳細な議論はできないが、今後、サンプル数を更に増やして、雑種タンポポの起源地域と拡大範囲を明らかにしていく予定である。また、四倍体雑種の起源を知るためには、四倍体雑種と同じタイプの葉緑体(Qグループ)を持つ在来タンポポを探索する必要がある。

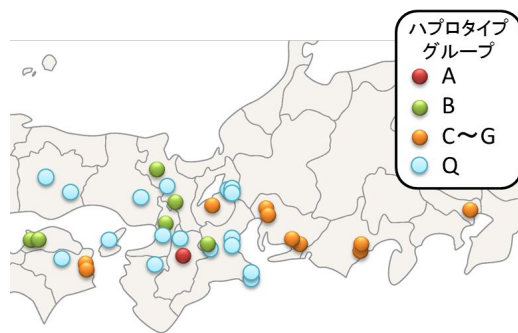


図5. 雑種タンポポの葉緑体 DNA ハプロタイプグループの分布。A~Gは図2に対応する。

#### (4) 雑種タンポポの成長特性

雑種6クローンの葉緑体ハプロタイプは、Aグループ2クローン(三倍体)、Bグループ2クローン(三倍体)、Qグループ2クローン(四倍体)であった。成長特性は同じハプロタイプ内で類似しており、ハプロタイプ間では異なっていた。これは、雑種の母親の違いが成長特性に影響していることを示唆する。

異なるハプロタイプの雑種が持つ成長の特徴を図6(下側)に模式図でまとめた。Bグループの雑種は、栄養繁殖への投資が相対的に大きく、繁殖投資が少なく背の高い花茎を着けた。A、Qの雑種は、繁殖器官への投資が小さく、繁殖への投資が大きかった。Aは多くの小さな頭花を、Qは大きな頭花を着けることで繁殖投資を大きくしていた。

大阪府内の12地点の調査では、在来種が混在する草地にはBグループの雑種が多く(70%)、都市公園等、裸地の多い場所にはA、Qグループの雑種が多かった(79%)。Bグループの雑種が、在来種の見られる草地に多い理

由として、栄養成長に多く投資して背の高い花茎を着けることが、背の高い種が多い日本の草地により適していることが考えられる。雑種タンポポは日本の環境に適した遺伝的特性を雑種化によって獲得することで分布を拡大してきた可能性が示唆される。

本実験の結果は、雑種の母親である在来種の違いが雑種の形成、定着、拡大過程に影響していることを示唆するものである。より詳細な議論には、カントウタンポポなど他の二倍体雑種との交配でできた雑種についても生態的特性を明らかにし、更に在来タンポポやセイヨウタンポポとの比較も含めて検討する必要があるだろう。

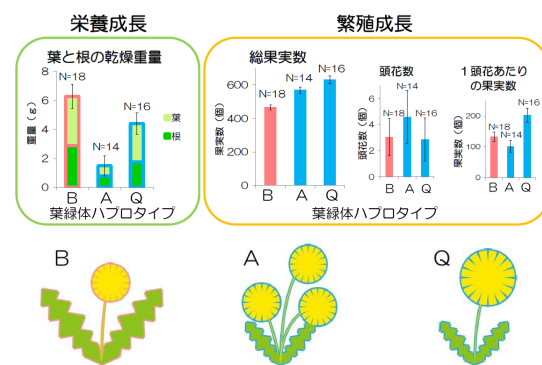


図6. インキュベータで栽培した葉緑体ハプロタイプが異なる雑種タンポポの栄養成長量(左上)と繁殖成長量(右上)の平均値と成長特性の模式図(下)。

#### 5. 主な発表論文等 (雑誌論文)(計0件)

#### (学会発表)(計7件)

- 特努恩・横山亮介・三好浩平・渡中美里・濱田稔史・谷山健太・名波哲・伊東明(2015) 葉緑体 DNA に基づいた在来二倍体タンポポの地理的遺伝構造と頭花形態の関係. 関西自然保護機構 2015 年度大会. 2015 年 3 月 1 日. 大阪市立自然史博物館(大阪府・大阪市)
- 松山周平・名波哲・伊東明(2014). 花粉を形成するセイヨウタンポポのクローン解析. 日本生態学会第 61 回大会. 2014 年 3 月 14 ~ 18 日. 広島国際会議場(広島県・広島市)
- 松山周平・名波哲・伊東明(2013) 京都周辺におけるカンサイタンポポと雑種タンポポの遺伝的多様性と類縁関係. 日本生態学会第 60 回大会. 2013 年 3 月 5 ~ 9 日. 静岡県コンベンションアーツセンター(静岡県・静岡市)
- 水貝翔太・伊東明・名波哲・松山周平(2013) 大阪周辺での雑種タンポポの遺伝的多様性. 日本生態学会第 60 回大会. 2013 年 3 月 5 ~ 9 日. 静岡県コンベンションアーツセンター(静岡県・静岡市)

松山周平・水貝翔太・森本美樹・名波哲・伊東明(2012)カンサイタンポポ、セイヨウタンポポ、雑種タンポポの遺伝的多様性と類縁関係．第44回種生物学会シンポジウム．2012年12月7～9日．奥琵琶湖マキノパークホテル(滋賀県・高島市)

[図書](計1件)

伊東明・松山周平(2014)植物園のタンポポ - 在来タンポポの保全と雑種問題 - . 植松千代美編「都市・森・人をつなぐ 森の植物園からの提言」京都大学学術出版会、京都、pp. 61-77.

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

伊東 明 (ITO, Akira)  
大阪市立大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：40274344

### (2)研究分担者

平山 大輔 (HIRAYAMA, Daisuke)  
三重大学・教育学部・准教授  
研究者番号：00448755

松山 周平 (MATSUYAMA, Shuhei)  
大阪市立大学・大学院理学研究科・  
博士研究員  
研究者番号：30570048

名波 哲 (NANAMI, Satoshi)  
大阪市立大学・大学院理学研究科・准教授  
研究者番号：70326247

### (3)研究協力者

渡中 美里 (TONAKA, Misato)  
大阪市立大学・大学院理学研究科・院生

特努恩 (TENUEN)  
大阪市立大学・大学院理学研究科・院生

三好 浩平 (MIYOSHI, Kohei)  
大阪市立大学・理学部・学生

水貝 翔太 (SUGAI, Shota)  
大阪市立大学・理学部・学生

横山 亮介 (YOKOYAMA, Ryosuke)  
大阪市立大学・理学部・学生