

令和 6 年 4 月 13 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K05745

研究課題名(和文)法面緑化に使用される在来植物の遺伝的地域性に関する研究

研究課題名(英文)Genetic regionality of native plant species used for slope revegetation works

研究代表者

今西 純一 (IMANISHI, Junichi)

大阪公立大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：80378851

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：生物多様性の保全上重要な地域の緑化では、在来種を使用するだけでは十分ではなく、その遺伝的多様性にも配慮する必要がある。そこで、法面緑化によく使用される在来植物であるメドハギ、コマツナギ、ヨモギ、チガヤを対象に、日本国内における種内の遺伝的多様性を把握し、その遺伝的変異の地理的分布を明らかにした。また、自然生育地の個体と、緑化法面の個体、緑化用種子から育成した個体との遺伝的差異の程度を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

緑化植物の自然生育地における地理的遺伝構造は国内外ともに研究例が多いとは言えない。本研究は日本で法面緑化によく使用される4種を対象に次世代シーケンサーを用いて遺伝的変異を詳細に検討した、緑化分野における先駆的な研究である。本研究の結果は緑化における遺伝的多様性への配慮の必要性を示唆するものであった。また、遺伝的多様性に配慮した緑化における種子の採取地域の決定に重要な科学的知見を提供した。

研究成果の概要(英文)：In revegetation of areas important for biodiversity conservation, it is not sufficient to use only native species, but it is also necessary to consider their genetic diversity. We investigated the genetic diversity within species of *Lespedeza cuneata* var. *cuneata*, *Indigofera pseudotinctoria*, *Artemisia indica* var. *maximowiczii*, and *Imperata cylindrica*, which are native plants commonly used for slope revegetation, in Japan, and clarified the geographical distribution of genetic variation among these species. The extent of genetic differences between individuals in natural habitats, individuals on revegetation slopes, and individuals grown from seeds for revegetation were also clarified.

研究分野：緑化学

キーワード：在来種 緑化 遺伝的多様性 生物多様性保全 生態系マネジメント

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

生物多様性の保全上重要な地域の法面緑化には在来植物の使用が求められている。しかし、遺伝的多様性への配慮の必要性が社会に十分に浸透していないため、地域性系統の植物の種子を使用するための予算が確保されておらず、在来種による緑化が行われる場合でも安価な外国産種子が採用される場合が多い。実際、在来種の種子の 99% 近くが中国を中心とした海外から輸入されているという統計情報も存在する。しかし、地理的に離れた地域の種子の使用は、その地域にうまく根づくことができず緑化に失敗したり、もともとその地域に生育している個体と交配し、その地域に適応していない遺伝子を持ち込む遺伝的攪乱をもたらしたりする可能性がある (McKay *et al.* 2005; Breed *et al.* 2018)。このような状況にもかかわらず、これまで在来緑化植物の遺伝的差異の程度や遺伝的変異の地理的分布についてはほとんど調べられてこなかった。

## 2. 研究の目的

法面緑化によく使用される在来植物のメドハギ (*Lespedeza cuneata* (Dum.Cours.) G.Don var. *cuneata*)、コマツナギ (*Indigofera pseudotinctoria* Matsum.)、ヨモギ (*Artemisia indica* Willd. var. *maximowiczii* (Nakai) H.Hara)、チガヤ (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch.) の 4 種を対象に、日本国内における種内の遺伝的多様性を把握し、その遺伝的変異の地理的分布を明らかにすること、自然生育地の個体と、緑化法面の個体、緑化用種子から育成した個体との遺伝的差異の程度を明らかにすることを目的に研究を行った。

## 3. 研究の方法

(1) メドハギについて、日本全国の自然生育地や緑化法面に生育するメドハギ類の個体、および、日本産あるいはアメリカ産、中国産の種子から育成したメドハギ類の個体を対象に遺伝解析を行った。370 個体のメドハギ類 (45 集団、167 個体の自然生育地のメドハギを含む) のトータル DNA (主に核 DNA) から MIG-seq 法 (Suyama & Matsuki 2015; Suyama *et al.* 2022) によって 773 の一塩基多型 (SNPs) のデータを取得した。また、354 個体のメドハギ類 (45 集団、161 個体の自然生育地のメドハギを含む) の葉緑体 DNA の 2 領域から 16 ハプロタイプ (自然生育地のメドハギのみでは 10 ハプロタイプ) を特定した。

(2) コマツナギについて、日本全国の自然生育地や緑化法面に生育する個体、および、中国産種子と日本で採取した種子をもとに中国で生産し輸入した種子 (以降、逆輸入種子と言う) から育成した個体を対象に遺伝解析を行った。255 個体 (49 集団の自然生育地の個体を含む) のトータル DNA (主に核 DNA) から MIG-seq 法 (Suyama & Matsuki 2015; Suyama *et al.* 2022) によって 1,498 の一塩基多型 (SNPs) のデータを取得した。

(3) ヨモギについて、日本全国の自生地と緑化地から 588 個体の葉を採取した。また、2 種類の中国産緑化種子 (中国原産の輸入種子と、日本で採取した種子をもとに中国で生産し輸入した逆輸入種子) から育成した 96 個体から葉を採取した。葉から DNA を抽出し、MIG-seq 法 (Suyama & Matsuki 2015) によって得られた一塩基多型情報に基づいて集団遺伝構造を評価した。また、これらのうち 171 個体を実験圃場で栽培し、葉や頭花のサイズなどの形態を測定した。

(4) チガヤは、日本には遺伝的に分化した普通型および早生型の 2 生態型が存在する。普通型は東北地方南部以南では畦畔や河川敷などの草地に普通に分布し、早生型は東北地方では畦畔などに普通に見られるが、それより南では湿地に分布に限られる (Nomura *et al.* 2022)。日本全国の自生地から普通型 193 個体および早生型 95 個体の葉を採取し、ヨモギと同様に MIG-seq 法によって得られた一塩基多型情報に基づいて集団遺伝構造を評価した。

## 4. 研究成果

(1) メドハギについて、自然生育地のメドハギの地理的遺伝構造には南西から北東方向の遺伝的クライン (連続的変異) が見られ、北海道、東日本、西日本、九州の 4 地区に遺伝的に分化していた (図 1, Imanishi *et al.* 2023)。メドハギの中国産種子には他のハギ属植物の種子が混入していた。種子の中では、中国産種子由来のメドハギは日本の自然生育地個体と遺伝的に最も離れていた。アメリカ産種子由来のメドハギは日本の自然生育地個体と遺伝的に近かった。緑化法面では、アメリカ産種子の 1 系統が広く定着している可能性があるが、緑化法面におけるメドハギの遺伝的変異の地理的分布は自然生育地と異なっており、遺伝的攪乱のリスクがあることが明らかとなった。

メドハギの地理的遺伝構造を考慮して、地域性系統の種子供給のために日本の主要 4 島 (北海道、本州、四国、九州) については北海道、東日本、西日本、九州の 4 地区を区別すること、

遺伝的攪乱のリスクを考慮して外国産種子の使用は避けた方がよいことが明らかとなった。

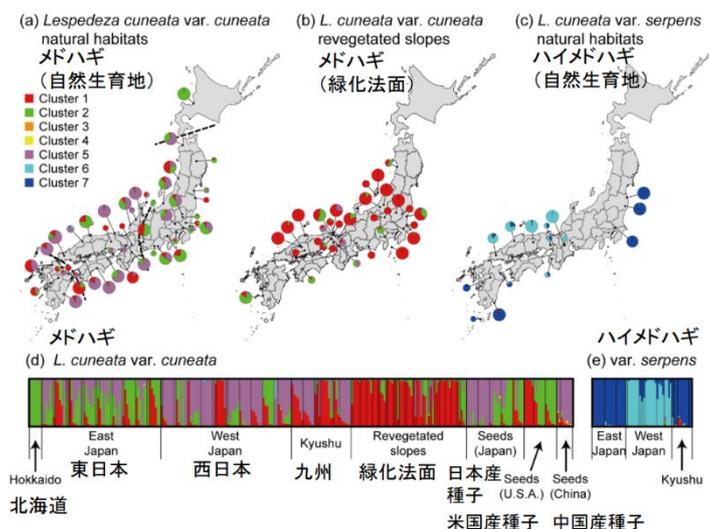


図1 メドハギ類の地理的遺伝構造

自然生育地のメドハギ (*Lespedeza cuneata* var. *cuneata*)、緑化法面、日本産及び米国産、中国産種子由来のメドハギ、自然生育地のハイメドハギ (*Lespedeza cuneata* var. *serpens*) を遺伝的組成にもとづいて7つの分集団(クラスター)に分けた時の各個体の分かれ方(d, e)、及び、自然生育地のメドハギ(a)と緑化法面のメドハギ(b)、自然生育地のハイメドハギ(c)における各クラスターの地理的分布

(2) コマツナギについて、自然生育地の個体には地域間に分化がみられた。中国産種子由来の個体は自然生育地の個体と遺伝的に異なるクラスターに分類された。緑化法面に生育する個体の多くは中国産種子と同じ遺伝的クラスターに属することが明らかとなった。

(3) ヨモギについて、自生地から採取した個体には、東日本と西日本間で遺伝的な分化がみられた。一方で、緑化地には、西日本地域であっても東日本個体と遺伝的に類似した個体が多かった(図2, Wagatsuma et al. 2022)。逆輸入種子由来の個体は東日本個体と近縁であったことから、東日本由来の緑化種子が日本全国の法面緑化に使用されていることが示唆された(図2)。

中国原産種子由来の個体は、日本の自生個体とは遺伝的に明瞭に異なるだけでなく(図2)、瘦果の形態や1頭花あたりの花数にも違いが見られた(図3)。これらの結果から、本研究で解析した中国原産個体は日本のヨモギとは異なる種であると考えられる。中国原産個体と近縁な個体が2か所の緑化地から見つかっており、日本にはもともと分布していなかったヨモギ属植物が定着していることが見いだされた。

日本のヨモギとは異なる種を持ち込むリスクがあること、その原産地を追跡するシステムが整備されていないことから、海外からの輸入種子を緑化に使用することは慎重に検討する必要がある。

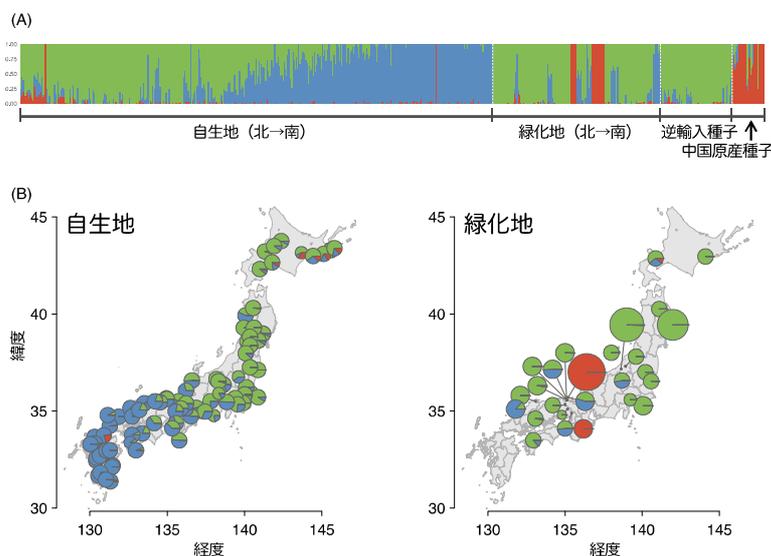


図2 ヨモギにおける集団遺伝構造

自生地、緑化地、逆輸入種子および中国原産種子由来の個体を遺伝的組成にもとづいて3つの

分集団（クラスター）に分けた時の各個体の分かれ方（A），および自生地（左下）と緑化地（右下）における各クラスターの地理的分布（B）

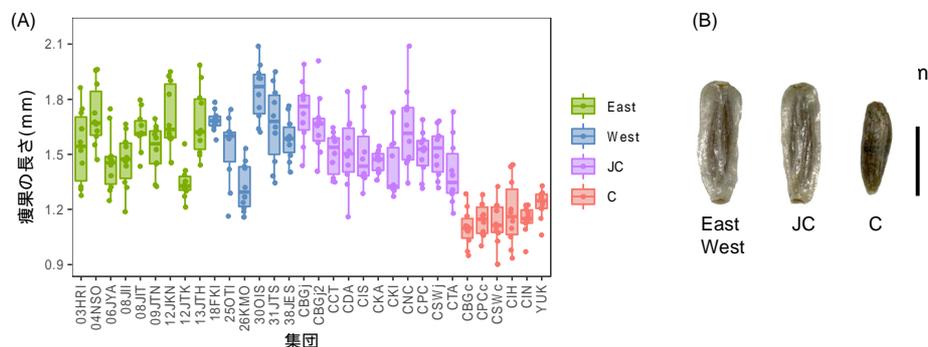


図3 瘦果の長さ（A）と瘦果の写真（B）

East：東日本集団，West：西日本集団，JC：逆輸入種子，C：中国原産種子

（4）チガヤについて，普通型は早生型よりも遺伝的多様性が高かった。普通型は奄美大島以南とそれより北の地域間で遺伝的分化が見られた。一方で早生型は，東北地方とそれ以外の地域間で遺伝的分化が見られた。

（5）緑化植物の自然生育地における地理的遺伝構造は国内外ともに研究例が多いとは言えない。そのような中で，本研究は日本で法面緑化によく使用される4種を対象に次世代型シーケンサーを用いて遺伝的変異を詳細に検討しており，緑化分野における先駆的な研究であると位置づけられる。また，遺伝的多様性に配慮した法面緑化はまだ一般的であるとは言えない中で，緑化法面に生育する個体の遺伝的変異の地理的分布は，自然生育地のそれとは異なっていることが明らかとなった。今後はより多くの緑化植物を対象に自然生育地における地理的遺伝構造を明らかにし，遺伝的多様性に配慮した緑化を促進するための学術的研究を進め，遺伝的多様性への配慮の必要性を社会に広く伝えて行く必要がある。

<引用文献>

Breed MF, Harrison PA, Bischoff A, Durruty P, Gellie NJC, Gonzales EK, *et al.* (2018) Priority actions to improve provenance decision-making. *Bioscience* 68: 510–516.

Imanishi J, Imanishi A, Suyama Y, Isagi Y (2023) Geographical genetic structure of *Lespedeza cuneata* var. *cuneata* in Japan: necessity of genetic considerations in slope revegetation. *Landscape and Ecological Engineering* 19: 583–596.

McKay JK, Christian CE, Harrison S, Rice KJ (2005) ‘How local is local?’—A review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. *Restoration Ecology* 13: 432–440.

Nomura, Y, Shimono Y, Mizuno N, Miyoshi I, Iwakami S, Sato K, Tominaga T (2022) Drastic shift in flowering phenology of F1 hybrids causing rapid reproductive isolation in *Imperata cylindrica* in Japan. *Journal of Ecology* 110: 1548–1560.

Suyama Y, Matsuki Y (2015) MIG-seq: An effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next generation sequencing platform. *Scientific Reports* 5: 1–12.

Suyama Y, Hirota SK, Matsuo A, Tsunamoto Y, Mitsuyuki C, Shimura A, Okano K (2022) Complementary combination of multiplex high-throughput DNA sequencing for molecular phylogeny. *Ecological Research* 37: 171–181.

Wagatsuma S, Imanishi J, Suyama Y, Matsuo A, Sato MP, Mitsuyuki C, Tsunamoto Y, Tominaga T, Shimono Y (2022) Revegetation in Japan overlooks geographical genetic structure of native *Artemisia indica* var. *maximowiczii* populations. *Restoration Ecology* 30: e13567.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Imanishi Junichi, Imanishi Ayumi, Suyama Yoshihisa, Isagi Yuji	4. 巻 19
2. 論文標題 Geographical genetic structure of <i>Lespedeza cuneata</i> var. <i>cuneata</i> in Japan: necessity of genetic considerations in slope revegetation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Landscape and Ecological Engineering	6. 最初と最後の頁 583 ~ 596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11355-023-00564-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Wagatsuma Satoshi, Imanishi Junichi, Suyama Yoshihisa, Matsuo Ayumi, Sato Mitsuhiko P., Mitsuyuki Chika, Tsunamoto Yoshihiro, Tominaga Tohru, Shimono Yoshiko	4. 巻 e13567
2. 論文標題 Revegetation in Japan overlooks geographical genetic structure of native <i>Artemisia indica</i> var. <i>maximowiczii</i> populations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Restoration Ecology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/rec.13567	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 1件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 野村康之・下野嘉子・永野惇・今西純一・富永達
2. 発表標題 チガヤ2生態型の遺伝的多様性およびゲノムサイズの比較
3. 学会等名 第55回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Imanishi, J.
2. 発表標題 Current status and challenges of biodiversity-friendly revegetation in Japan
3. 学会等名 The 13th Conference of the International Consortium of Landscape and Ecological Engineering (ICLEE), Jeju, Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Imanishi, J., Imanishi, A. and Isagi, Y.
2. 発表標題 Spatial distribution of <i>Indigofera pseudotinctoria</i> genetic variation: Relationship with potential habitats during the Last Glacial Maximum
3. 学会等名 The 13th Conference of the International Consortium of Landscape and Ecological Engineering (ICLEE), Jeju, Korea (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Imanishi, J., Imanishi, A., Suyama, Y. and Isagi, Y.
2. 発表標題 Spatial analysis on genetic variation of <i>Lespedeza cuneata</i> (Dum.Cours.) G.Don var. <i>cuneata</i> in Japan
3. 学会等名 The 12th Conference of the International Consortium of Landscape and Ecological Engineering (ICLEE), Online, Japan. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今西純一
2. 発表標題 地域性系統の植物材料の調達範囲設定の考え方(案)について
3. 学会等名 日本緑化工学会・日本景観生態学会・応用生態工学会3学会合同大会(ELR2022)自由集会, つくば国際会議場, 茨城.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今西純一
2. 発表標題 ヨモギの遺伝的地域性についての最新知見
3. 学会等名 日本緑化工学会・日本景観生態学会・応用生態工学会3学会合同大会(ELR2022)自由集会, つくば国際会議場, 茨城.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Junichi Imanishi, Ayumi Imanishi, Yoshihisa Suyama, Yuji Isagi
2. 発表標題 MIG-seq analysis of the genetic characteristics of Lespedeza cuneata in natural habitats, revegetated slopes and revegetation seeds
3. 学会等名 2021 International Consortium of Landscape and Ecological Engineering (ICLEE) Conference, Online, Taiwan. (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今西純一、今西亜友美、陶山佳久、井鷲裕司
2. 発表標題 MIG-seqによるメドハギの自生地生育個体・緑化法面生育個体・緑化用種子の遺伝的特徴の解析
3. 学会等名 第52回日本緑化工学会大会研究交流発表会，オンライン開催
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今西純一、今西亜友美、陶山佳久、井鷲裕司
2. 発表標題 緑化植物メドハギの遺伝的地域性について
3. 学会等名 2019年度日本造園学会全国大会，筑波大学筑波キャンパス，茨城
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今西純一、今西亜友美、陶山佳久、井鷲裕司
2. 発表標題 メドハギの葉緑体DNA変異の地理的分布について
3. 学会等名 2019年度日本景観生態学会第29回京都大会，京都先端科学大学太秦キャンパス，京都
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今西純一、今西亜友美、陶山佳久、井鷲裕司
2. 発表標題 メドハギの遺伝的地域性の検討状況について
3. 学会等名 第50回日本緑化工学会大会研究交流発表会，九州産業大学，福岡
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 我妻総、下野嘉子、今西純一、陶山佳久、松尾歩、満行知花、網本良啓、富永達
2. 発表標題 在来緑化植物ヨモギの形態および遺伝的組成の地理的変異と緑化法面における個体の由来
3. 学会等名 日本生態学会第66回全国大会，神戸国際会議場・神戸国際展示場，兵庫
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 我妻総、下野嘉子、今西純一、陶山佳久、満行知花、網本良啓、富永達
2. 発表標題 在来緑化植物ヨモギの外国産緑化個体と在来個体間の形態及び遺伝的組成の違い
3. 学会等名 第49回日本緑化工学会大会研究交流発表会，東京都市大学横浜キャンパス，神奈川
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今西純一、今西亜友美、陶山佳久、井鷲裕司
2. 発表標題 MIG-seqによるメドハギ類の緑化用種子および緑化法面生育個体の遺伝的特徴の解析
3. 学会等名 第49回日本緑化工学会大会研究交流発表会，東京都市大学横浜キャンパス，神奈川
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今西亜友美、今西純一、井鷲裕司
2. 発表標題 日本国内におけるコマツナギの遺伝的変異とその地理的分布
3. 学会等名 第49回日本緑化工学会大会研究交流発表会，東京都市大学横浜キャンパス，神奈川
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Imanishi, J., Imanishi, A., Suyama, Y. and Isagi, Y.
2. 発表標題 Analysis on genetic characteristics of Lespedeza cuneata utilized for revegetation works in Japan using MIG-seq
3. 学会等名 International Consortium of Landscape and Ecological Engineering (ICLEE) 9th Conference, Taichung, Taiwan (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	下野 嘉子 (SHIMONO Yoshiko)  (40469755)	京都大学・農学研究科・准教授  (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------