

令和 5 年 6 月 18 日現在

機関番号：33936

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03093

研究課題名(和文) 農地拡大が水生植物に与えたインパクトの分子植物地理学的手法を用いた評価

研究課題名(英文) Assessment of the impact of spreading agriculture on aquatic plants by phytogeographical methods

研究代表者

藤井 伸二 (Fuji, Shinji)

人間環境大学・環境科学部・准教授

研究者番号：40228945

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：イバラモ属植物の葉緑体DNAと核ITS領域の遺伝子解析を行った結果、移入種の存在、種間交雑の存在、隠蔽種の存在が示唆された。セキショウモ、アサザ、カヤツリグサ属についてMIGseq法を用いた遺伝子解析を行った結果、セキショウモとアサザについて地理的な遺伝的分化が示された。アサザでは従来の研究では不明だった地理的構造と人為的な移入集団の存在を明らかにすることに成功した。カヤツリグサ属については、これまで種内分類群とされていたものが独立種に相当するほど大きな遺伝的分化をしていることが判明した。これらの成果に基づいて、分類学的な整理を行いつつ、農耕が水生植物の遺伝構造に与えた影響の評価を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

形態的特徴に乏しいイバラモ属植物の同定に遺伝子情報が有効であることが示され、種同定における遺伝子情報利用の有効性と信頼性が検証された。広域分布種が多い水生植物では地理的分化は小さいと考えられてきたが、日本列島のような狭い地域内での地理的分化が示されたことに加えてアサザでは人為的移動が示唆された。次世代シーケンサーを用いたMIGseq法による地理的分化の解析の有効性が示され、今後のさらなる活用が期待される。これらの成果は、水生植物の保全において地理的な分化に注意を払う必要があること、さらに集団間分化の研究や保全事業の実施においては移入個体群の判別が必須であることを示している。

研究成果の概要(英文)：Genetic analyzes of the chloroplast DNA and nuclear ITS regions of *Najas* spp. suggested the existence of introduced species, interspecific hybrids, and cryptic species. Genetic analyzes using the MIGseq method for the genus *Vallisneria asiatica*, *Nymphoides peltata*, and *Cyperus* spp. showed that there was a geographical genetic differentiation in *V. asiatica* and *N. peltata*. In *Nymphoides peltata*, we succeeded in clarifying the geographical structure and the existence of an artificial immigrant population, which had not been clarified by previous studies. In *Cyperus* spp., it was found that the genetic differentiation regarded as an infraspecific taxa are so great that they are identical to independent species. Based on these results, we are evaluating the effects of agriculture on the genetic structure of aquatic plants and proceeding taxonomic treatments.

研究分野：植物分類学

キーワード：水生植物 農耕 人為的インパクト 遺伝的変異 交雑

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 水稲栽培の拡大は水生植物にどのようなインパクトを与えたか

水生植物には、溜池や水田などの農耕地に進出・繁栄しているものが多い。日本での水稲栽培は 2,500 年ほど前にはじまり、農業雑草とされる水生植物は自然湖沼や自然河川から農耕地に進出したと考えられる。イトトリゲモのようにもっぱら水田が個体群維持の重要な場となっている植物種も多く、農耕による人為的インパクトは植物をとりまく状況を一変させたと考えられる。遺跡発掘調査では、近世の水田においてトリゲモ類が優占していたことが明らかになっている。こうした農耕地における水生植物の進出と繁茂は、それまで水生植物が有していた過去の系譜(遺伝的な地理構造)を変化させたと考えられる。それぞれの水系や水域において成立していた地理的集団は、進出先の農耕地においてお互いに接触する。農耕地で起こった接触現象とそれに引き続く交雑現象を分子生物学的手法によって明らかにすることで、農耕の拡大が水生植物にもたらしたインパクトの評価が可能になる。

### (2) 農耕地に依存する植物の保全をどこで行うか

営農法の変化(水路のコンクリート化、除草剤使用、水田やため池の減少)により、かつては普遍的に繁茂していた水生植物の減少や地域絶滅がこの半世紀で急速に進行している。一方、自然湖沼においては水質悪化などによって水生植物の激減が起こっている。これらの植物を「どこで、どのように保全するか」が大きな課題である。例えば、自然湖沼のような原生的自然環境での保全が効果的なのかあるいは農耕地のような二次的自然環境での保全が効果的なのかは、当該生物の特性に加えて遺伝的な地理構造にたいしての十分な配慮が求められている。とくに、農耕地に強く依存する生物の保全においては、地理的分化と各地域集団における交雑の実態に基づいた「保全の場の探索」が求められている。

### (3) 農耕地に生育する水生植物の過去の地理的分化の推定

水生植物には広域分布種が多く、水鳥による長距離散布が想定されるために、地域的分化の程度は小さいと考えられてきた。例えば、本研究の材料であるトリゲモ類は世界の温帯～熱帯に、セキシウモはヒマラヤ以東の東アジアに、アサザはユーラシアの温帯域に、それぞれ広域分布する。一方、近年の遺伝子解析によってミズニラ、ミズワラビ、コウホネ、アカウキクサ、セキシウモにおいて隠蔽種(形態的に近似した未知種)の発見が相次いでいる(Takamiya 1999, 鈴木 2002, Les et al.2008, Maruyama & Watano 2010, Shiga & Kadono 2015)。F1 雑種であることが明らかにされたタヌキモでは、両親系統は国内に存在せず、大陸で生じた F1 が長距離散布によって国内に侵入してクローナルに広がっていると考えられている(Kameyama & Ohara 2006)。農耕地の水生植物についてその地理的な遺伝的分化を分子植物地理学的手法を用いて検討することで、日本列島において水生植物の分化や進化がどのように進行してきたかを明らかにすることができる。農耕の伝搬とともに急速に拡大した水田環境は、水生植物に新たな生育環境を提供することでそれまで水系や水域ごとに地理的に分断して存在した地域集団が接触し、そこで交雑を進める場として機能した可能性が高い。集団遺伝学的手法による遺伝子組成の解析を行い、その結果を過去の地理的分化と比較することによって農耕地集団の交雑の様子を明らかにすることができる。近年の解析方法の急速な発達により、多数の遺伝子座の解析とその統計的な解析方法が開発され、集団内や集団間の遺伝子組成を詳細に評価することが可能となった。遺伝子組成に基づいて各集団の交雑の様子を明らかにすることで、水田環境の成立と拡大が農業生態系の生物群にたいしてどのような遺伝的攪乱を与えたかを評価することができる。

## 2. 研究の目的

### (1) 水生植物地域集団の接触の場(交雑の場)としての農耕地機能の評価

約 2,500 年前から急速に拡大した農耕地環境が、そこに侵入してきた異なる地域集団の交雑の場としてどのように機能したかを評価とする。農耕地に繁茂する植物群としては、大陸から移入してきた史前帰化植物が代表的だが、日本列島在来の固有植物も存在する。在来植物には地理的種内分類群が知られており、そうした地域集団が農耕地で出会って交雑したことが想定される。地域集団間の地理的な障壁を取り除く場として農耕地が果たした機能を評価する。

### (2) 水生植物 3 群の生育環境と地理的分化

次の水生植物 3 群を研究材料とする。セキシウモ類(セキシウモ、ヒラモ、ネジレモ)は自然湖沼と農耕地の水路、アサザやカヤツリグサ属は水田と溜池、イバラモ類(イバラモ、ホッスモ、イトトリゲモ、オオトリゲモなど)は自然湖沼にのみ生育する種群と溜池や水田に生育する種群を含む。生育環境の中心が自然湖沼性の種群、農耕地性の種群、両方に普遍的な種群の計 3 群の 3 群を比較することで、農耕地が水生植物の遺伝的構造に与えた影響を評価する。

### (3) 化石試料と現生試料を用いた遺伝的構造の成立過程の推定

集団遺伝学的な手法を用いて、現生集団の遺伝子組成とその地理的な構造を明らかにする。その際、化石試料の分析から過去の遺伝子組成を明らかにすることで、現生集団の遺伝的組成の成立過程をより具体的に推定する。近世の農耕遺跡から多量の出土があるイバラモ属では、様々な種類が共産する。過去の農耕地での繁茂状態が比較的良好にわかっているイバラモ属植物は、農耕地の発達とそれとともなう水生植物の変遷を推測する上で鍵となる可能性がある。化石試料からの DNA 増幅は難しいことも多いが、多量に出土するイバラモ属では多数試料を解析することでその欠点を補うことができると考えられる。現生の自然湖沼、現生の農耕地、近世の農耕遺跡のイバラモ属植物を比較することで、農耕地で進行した遺伝的攪乱の過程についての推定が期待できる。

### (4) 地理的分化と農耕地集団における交雑の程度の推定

葉緑体 DNA を用いて過去 10~100 万年程度の地域集団間の地理的分化を明らかにし、核 DNA の SNP 情報によって 1 万年程度あるいはそれよりも短い期間に起こった集団内の遺伝子組成を明らかにする。核 DNA の解析によって複数の遺伝子型の混在が検出されれば、集団間の交雑が推定されることになる。また、葉緑体 DNA と核 DNA の組成構造に不整合のある場合にも交雑が推定される。本研究では、農耕地集団における遺伝子組成の不整合に着目し、交雑による遺伝子浸透の痕跡を検出する。

## 3. 研究の方法

### (1) 研究材料

下に示した水生植物 3 分類群を材料とする。これらの 3 分類群はその生育環境の嗜好性がそれぞれ異なっており、人為環境への依存度の高い種と依存度の低い種とを比較できる利点がある。セキショウモ類には地理的に異なる分類群が認識されており、本研究の材料に適していると考えられる。カヤツリグサ属は瘦果形態やサイズなどの形態による同定が難しいグループで、DNA によって形態形質の再検討を行う材料に適している。トリゲモ類は水田遺構から多量の化石が検出されており、化石 DNA の抽出材料に最適である。

- ・セキショウモ類：形態的・地域的な種内分化が存在（セキショウモ、ネジレモ、ヒラモ）。
- ・カヤツリグサ属：小形種には形態的に判別の難しい隠蔽種が存在する可能性がある。
- ・トリゲモ類：約 10 種。水田遺構から多量の化石が出土し、化石試料の分析材料として好適。

### (2) 解析方法

葉緑体 DNA の変異をサンガー法によって DNA オートシーケンサーで検出する。核 DNA については、SSR マーカー分析に加えて、次世代型 DNA オートシーケンサーを用いた MIG-seq (Suyama and Matsuki 2015) を必要に応じて用いる。種実化石から DNA を抽出して当時の集団の遺伝的構造の情報を得るとともに、耕作遺構の種実化石分析に基づいて古環境の推定と古生態の復元を行う。葉緑体 DNA と核 DNA を用いて、遺伝子ネットワークおよび分岐系統樹の構築とベイズクラスタリングを行い、集団間の遺伝的分化の度合いとその全国的な地理的構造を明らかにする。また、DNA の解析を通じて、形態観察では区別できなかった隠蔽種についての探索と検討を行う。ストラクチャー解析などの統計的手法を用いて、種間の交雑や集団間の遺伝子流動の解析を行う。各地域集団の成立由来について、合祖理論 (Coalescent theory) の種分化モデルに基づいたシミュレーション解析を行って遺伝構造の成立過程や移動分散過程を推定する。

### (3) 人為的インパクトの評価

各分類群の遺伝的な構造を比較することにより、地域集団の接触の場（交雑の場）として農耕地が果たした機能の評価を行う。そして、地理的分化とその後の遺伝的攪乱を経た農耕地依存の生物種を保全する効果的な方法について検討する。

(4) これらの成果については、論文を投稿中または作成中であるが、氾濫原環境に依存するカヤツリグサ科ホザキマスサの分類学的整理、農耕地と氾濫原環境の両方に生育するアブラナ科コカイタネツケバナ（コタネツケバナ）の認知経緯の整理については、それぞれの成果を論文として出版している。また、本研究の実施過程において、アイヌソモソモを岐阜県および岐阜県新産植物として、シロガヤツリを島根県新産植物として、それぞれ発見・報告した。

## 4. 研究成果

### (1) 成果の主な内容

イバラモ属植物の核 ITS 領域の遺伝子による系統樹構築を行った結果、日本国内における移入種の存在と隠蔽種の存在が示唆された。核 ITS 領域と葉緑体 DNA の遺伝子によるそれぞれの系統樹の不整合から、一部の種群において交雑の存在が示唆された。セキショウモとアサザについて MIGseq 法を用いた遺伝子解析を行った結果、地理的な遺伝的分化の存在が示された。その一方で、一部の集団では遺伝子型の今号が見られることから、地理的な分化の後に異なる遺伝子型の交雑が示唆された。セキショウモの地理的な遺伝的構造は形態学的に認知された種内分類群とは必ずしも一致しておらず、さらに詳細な検討が必要である。従来の研究では不明だったアサザの地理的構造と人為的な移入集団の存在を明らかにすることに成功した。カヤツリグサ属に

ついて MIGseq 法を用いた系統解析を行った結果、これまで種内分類群として認識されていた分類群が独立種に相当するほど大きな遺伝的分化をしていることが判明した。また、形態による同定がしばしば困難である要因の一つとして、雑種個体の存在が遺伝子解析によって示された。これらの成果に基づいて、分類学的な整理を行いつつ、農耕が水生植物の遺伝構造に与えた影響の評価を進めている。

#### (2) 成果のおもな意義

形態的特徴に乏しいイバラモ属植物の同定に核 ITS 領域の遺伝子配列による系統樹構築が有効であることが示され、種同定における遺伝子情報利用の有効性と信頼性が検証された。広域分布種の多い水生植物では地理的分化は小さいと考えられてきたが、日本列島のような狭い地域内での分化が示され、さらにアサザでは人為的移動が示唆された。地理的分化の解析においては、次世代シーケンサーを用いた MIGseq 法の有効性が示され、今後のさらなる活用が期待される。これらの成果は、水生植物の保全において地理的な分化にも十分に注意を払う必要があること、集団間分化の研究や保全事業の実施においては移入個体群の判別に注意しなければならないことが示された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 藤井 伸二、工藤 洋、梅原 徹、堀内 洋	4. 巻 69
2. 論文標題 コカイタネツケバナ(コタネツケバナ)[アブラナ科]の 発見から記載までの経緯	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 植物地理・分類研究	6. 最初と最後の頁 107 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18942/chiribunrui.0691-16	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 Ryudo Uemura, Akira Asakawa, Shinji Fujii, Ayumi Matsuo, Yoshihisa Suyama, Masayuki Maki	4. 巻 40
2. 論文標題 Can <i>Rumex madaio</i> (Polygonaceae) be threatened by natural hybridization with an invasive species in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nordic Journal of Botany	6. 最初と最後の頁 e03543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Shoda Shinya, Nasu Hiroo, Yamazaki Kohei, Murakami Natsuki, Na Geon-Ju, Ahn Sung-Mo, Yoneda Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 Dry or Wet? Evaluating the Initial Rice Cultivation Environment on the Korean Peninsula	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Agronomy	6. 最初と最後の頁 929 ~ 929
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/agronomy11050929	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 -
1. 著者名 那須浩郎	4. 巻 15
2. 論文標題 弥生時代の採集植物と栽培植物	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 人類誌集報	6. 最初と最後の頁 75 - 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 藤井伸二	4. 巻 68
2. 論文標題 アイヌソモソモ(イネ科)を兵庫県と岐阜県から記録する	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 植物地理・分類研究	6. 最初と最後の頁 143-145
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18942/chiribunrui.0682-11	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 那須浩郎・山本悦世・岩崎志保・山口雄治・富岡直人・米田穰	4. 巻 2018
2. 論文標題 津島岡大遺跡から出土した植物種子の再検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 岡山大学埋蔵文化財調査研究センター紀要2018	6. 最初と最後の頁 12-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 那須浩郎・山本悦世・岩崎志保・山口雄治・富岡直人・米田穰	4. 巻 2018
2. 論文標題 津島岡大遺跡から出土した植物種子の再検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 岡山大学埋蔵文化財調査研究センター紀要	6. 最初と最後の頁 12,26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 藤井 伸二	4. 巻 17
2. 論文標題 シロガヤツリの新変種	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 分類	6. 最初と最後の頁 99~100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18942/bunrui.01701-19	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 Shinji Fujii, Nobuhira Kurosaki	4. 巻 74
2. 論文標題 Morphological and Taxonomic Study of <i>Carex planata</i> var. <i>angustealata</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Acta Phytotaxonomica et Geobotanica	6. 最初と最後の頁 17,27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18942/apg.202215	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 -

[学会発表] 計5件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 軒原開・藤井伸二・伊東拓朗・松尾歩・陶山佳久・福岡豪・角野康郎・牧雅之
2. 発表標題 分子系統解析に基づく日本産イバラモ属の分類学的再検討
3. 学会等名 植物分類学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 那須浩郎・工藤雄一郎・佐々木由香・百原 新・谷口康浩
2. 発表標題 居家以岩陰遺跡から出土した縄文時代早期のヒエ属とマメ
3. 学会等名 日本植生史学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 軒原開, 藤井伸二, 牧雅之
2. 発表標題 環境DNAを用いた水草モニタリング手法の開発ー日本産イバラモ属の系統分類ー
3. 学会等名 日本植物分類学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 那須浩郎, 山田昌久, 高田秀樹, 佐野隆, 山口謙司・小林義彦・渡辺淑恵, 菅野紀子, 加藤早百合
2. 発表標題 ツルマメとヤブツルアズキの栽培実験 縄文時代の大型マメは何故大きくなったのか?
3. 学会等名 日本植生史学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 那須浩郎
2. 発表標題 植生史研究における種同定の現在と諸問題
3. 学会等名 第34回日本植生史学会豊橋大会公開シンポジウム「種の同定への挑戦：植物化石や植物遺体から種はどこまで認識できるのか？」(招待講演)
4. 発表年 2019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	牧 雅之 (Maki Masayuki)  (60263985)	東北大学・学術資源研究公開センター・教授  (11301)	
研究分担者	那須 浩郎 (Nasu Hiroo)  (60390704)	岡山理科大学・基盤教育センター・准教授  (35302)	

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
---------	---------