

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22405004

研究課題名(和文) 日本発侵略的外来植物の分布拡大に伴う適応進化、侵略性発現に関する研究

研究課題名(英文) Study of adaptiogenesis with expansion of distribution of invasive alian species from Japan

研究代表者

上原 浩一 (UEHARA, Koichi)

千葉大学・園芸学研究科・准教授

研究者番号：20221799

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円、(間接経費) 4,410,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、日本と近隣のアジア地域に自生し、19世紀以降欧米に人為的に導入され悪質な侵略的外来種として問題になっているイタドリ、オオイタドリが、どのような過程を経て侵略的外来種となったか、その伝搬経路と侵略性獲得のメカニズムを明らかにすることを目的とした。日本、韓国、台湾の自生地域、欧州、北米の侵入地域で調査を行い、葉緑体DNAのrbcL-accD領域、核DNA ITS領域を比較した。その結果、ITS領域で6グループに、rbcL-accD領域で5グループに分かれた。侵入地域のイタドリは塩基配列が同一で、同じ起源であり、日本の日本海側に分布するグループに相関があることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：This research is a Japanese knotweed which grows wild in the Japan and its surrounding area, will be artificially introduced into the West after the 19th century. Now, Japanese knotweed and its allied species Giant knotweed, and Bohemian knotweed has been a problem as invasive alien species. We investigated in the wide area in the natural habitat, Japan, South Korea, and Taiwan. And also sampled invasion area England and Europa, East and West Coast of North America. We compared DNA sequence of rbcL-accD region of chloroplast DNA, and ITS region of nuclear DNA. There are 5 groups of rbcL-accD region of chloroplast DNA, and divide into 6 groups in ITS region of nuclear DNA. The both european and american invasive Japanese knotweed have same sequence of rbcL-accD and ITS region. It is considered that both European and American invasive Japanese knotweed are same origin from Japan (Japan sea side region). The invasive Giant knotweed is also related with Giant knotweed from Japan.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：資源保全学

キーワード：侵略的外来種 系統進化

## 1. 研究開始当初の背景

本研究は、日本と近隣のアジア地域に自生し、19世紀以降欧米に人為的に導入され悪質な侵略的外来種として問題になっているイタドリ (*Polygonum cuspidatum*, 英名 Japanese knotweed)、オオイタドリ (*P. sachalinense*)、スイカズラ (*Lonicera japonica*, 英名 honeysuckle) が、どのように欧米に伝播・分布拡大し、侵略性を示すようになったか、侵略的外来種の形成機構を分子系統学・植物生態学・化学生態学的に解明し、今後の侵略的外来種抑制のための基盤情報を得ることを目的としている。そのために、日本およびアジアの自生地域の、詳細な系統学・生態学・化学生態学的解析を行うとともに、欧米の侵入地域の調査と解析を行い、両者を比較することで侵略的外来植物の分布拡大と、それに伴う適応進化、侵略性発現機構を明らかにし、その抑制の方策を示す。

## 2. 研究の目的

日本およびアジアの自生地域のスイカズラ、イタドリ、オオイタドリの種内変異、地域個体群の生物学的特性を詳細に明らかにするとともに、人為的に導入されたヨーロッパ、北米、オセアニアでこれらの調査を行い、日本・アジア自生・分布域の、どの地域の系統が、どのような経路で欧米に伝播したか、どのような進化プロセスを経て侵略性を発現するようになったかを、明らかにする。

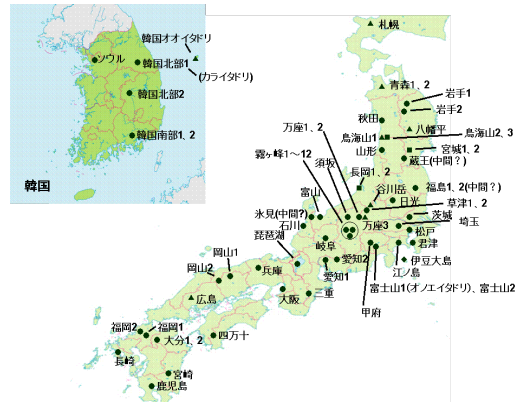
## 3. 研究の方法

日本およびアジアの、自生地域のスイカズラ、イタドリ、オオイタドリの各地域個体群について、外部形態観察用のさく葉標本、DNA解析用に1集団あたり30個体程度の若い葉を採集する。各地域の個体形態的特長を比較するとともに、これまでの葉緑体DNAの *rbcl*-*accD* 領域に加え、核DNAのITS領域の塩基配列を解析し、地域個体群間の系統樹を作成する。核DNAと葉緑体DNAを比較することで、浸透性交雑など種間関係を明らかに出来る。また、分子系統樹を基に、各地域個体群の形態的特徴を比較し、種内変異を明らかにする。採集したDNAを用いて、スイカズラ、イタドリ、オオイタドリそれぞれに使用できるマイクロサテライトマーカーを開発する。これを用いて各地域個体群の遺伝的多様性と生殖様式を明らかにする。以上のような、日本とアジアの自生地域の形態・遺伝・系統データを基盤として、ヨーロッパ、北米、オセアニアにおいて調査を行い、侵略的外来種の系統、生殖様式、集団の遺伝的多様性を解析する。日本およびアジア自生地域の各地域個体群と、欧米の侵略的外来植物を詳細に比

較し、これらの起源が日本なのか、他のアジア地域なのか、またその伝搬経路を明らかにする。また、侵略的外来種となる過程で、短期間に遺伝的分化が起こっているのか、自然選択や遺伝的浮動、創始者効果などの影響、あるいは独特な進化機構があるのか、侵略的外来種の形成機構、進化を明らかにする。

日本国内は各地に生育するイタドリ (*P. cuspidatum*) を材料として用いた。イタドリには、主に東北・北陸地方に生育するケイタドリ (*P. cuspidatum* var. *uzensis*)、高山に生育する矮性型のオノエイタドリ (*P. cuspidatum* var. *compacta*)、伊豆諸島に生育するハチジョウイタドリ (*P. cuspidatum* var. *terminalis*) も含まれる。北海道、東北にみられるオオイタドリ (*P. sachalinense*) も用いた。

海外調査等で、自生地域のアジアでは韓国、台湾、侵入地域は、北米東部、西海岸、英国、ドイツ等で植物採集、調査等を行い、イタドリ、オオイタドリ、両種の雑種 (アイイタドリ)、スイカズラ、クズをサンプル採集した。



日本、韓国サンプル地図

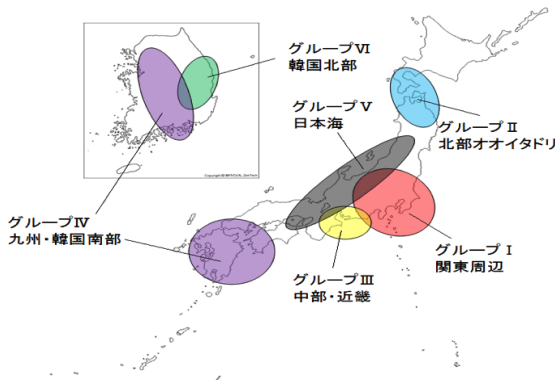
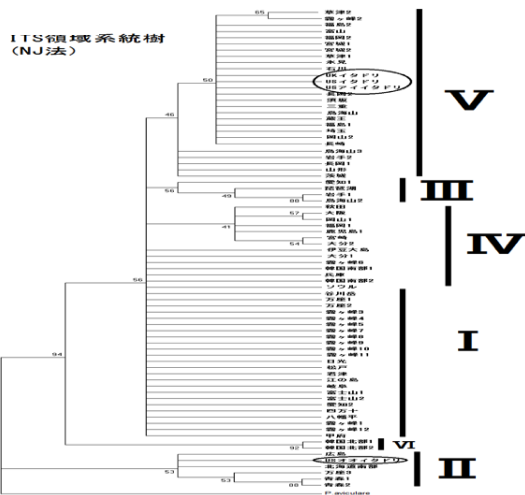
採集した葉を、CTAB法によりDNA抽出を行った。その後、核DNA ITS領域、葉緑体DNA *rbcl*-*accD* 領域についてそれぞれPCR増幅、ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzerを用いてシーケンスを行い、結果を比較した。

## 4. 研究成果

### 核DNA ITS領域の解析

ダイレクトシーケンスの結果、約700bp中の559bpの塩基配列を確定し、93ヶ所で変異を見出した。これを用いて系統樹を構築したところ、大きく6グループに分かれた。グループは、関東、長野中部から東海地域計23地点、及び八幡平(岩手県)と四万十(高知県)で構成される(関東周辺系統)。グループは、北海道、青森、万座、広島の日本オオイタドリと韓国北部で構成される(オオイタドリ系統)。オオイタドリは、他のイタドリグループから遺伝的に離れてクレードを形成した。グループは、東北地域の一部

計 3 地点、愛知、及び琵琶湖で構成される。グループ は、九州南部から中国、近畿地方計 9 地点、秋田、及び韓国南部、ソウルで構成される（西日本系統）。グループ は、東北から北陸地域、関東地域の一部計 19 地点、及び三重、岡山、九州北部 2 地点の個体で構成される（東北・日本海系統）。グループ は、ソウルをのぞく韓国東北部で構成される。また、イギリスのイタドリ 2 個体、アメリカのイタドリ 10 個体について核 DNA の ITS 領域約 700bp 中、約 550bp の塩基配列を確定し、19 か所で変異が確認された。侵略的外来種として欧米に分布するイタドリはアメリカ、イギリスのイタドリとアメリカ産雑種はグループ に、アメリカ産のオオイタドリはグループ に含まれた。



葉緑体 DNA *rbcl-accD* 領域の解析

ダイレクトシークエンスの結果、約 1400bp 中の 1319bp の塩基配列を確定し、139ヶ所で変異を見出した。これを用いて系統樹、ハプロタイプネットワークを作成したところ、大きく 3 グループに分かれた。グループ A は、北陸から長野中部、関東地域計 29 地点、及び北海道、青森、八幡平、蔵王、広島、で構成される（関東周辺系統）。グループ B は、九州南部から四国、中国、近畿地域計 7 地点、及び岐阜、愛知、伊豆大島で構成される（西日本系統）。グループ C は、東北から長野北部、関東の一部計 15 地点、及び石川、琵琶

湖、三重、九州北部で構成される（東北・日本海系統）。グループ D は近畿地方と韓国東北部の個体が含まれる。グループ E は青森、北海道のオオイタドリが含まれていた。

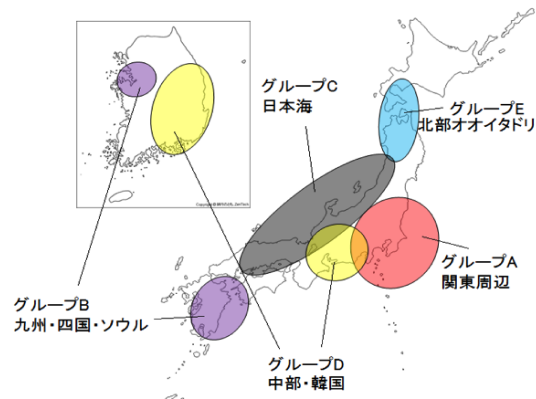
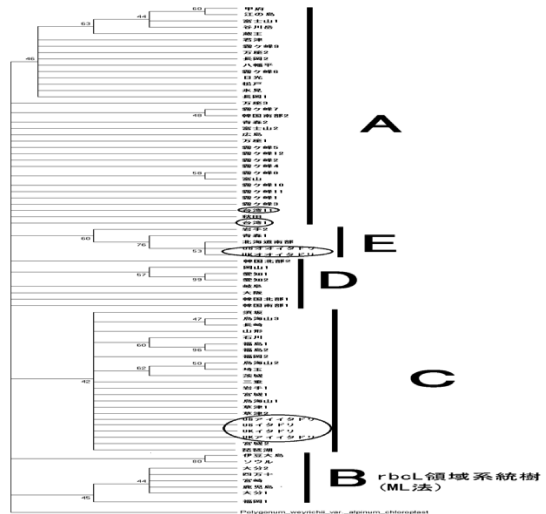


表1-1 葉緑体DNAの*rbcl-accD*領域における塩基配列の違い

	77	92	115	116	117	290	515	516	716	826	914	875	880	911	1042
イタ(イギリス)	T	T	T	T	T	T	A	G	T	C	A	C	T		
イタ(アメリカ産雑種)	T	T	T	T	T	T	A	G	T	C	A	C	T		
アイタ(イギリス)	T	T	T	T	T	T	A	G	T	C	A	C	T		
アイタ(アメリカ)	T	T	T	T	T	T	A	G	T	C	A	C	T		
オオイタ(イギリス)	C	T	T	T	T	A	-	-	A	G	A	C	G	C	
オオイタ(アメリカ)	C	T	T	T	T	A	-	-	A	G	A	C	G	C	
イタ(台湾)	T	T	T	T	T	A	-	-	A	G	A	C	G	C	
イタ(台湾1)	T	G	A	A	A	A	-	-	G	A	T	C	G	C	

表1-2 核DNAのITS領域における塩基配列の違い

	38	67	70	158	184	203	209	411	430	431	449	454	458	464	502	517	540	543	544
イタ(イギリス)	A	T	T	T	A	T	A	G	-	-	T	A	A	T	G	T	C	A	C
アイタ(アメリカ)	A	T	T	T	A	T	A	G	-	-	T	A	A	T	G	T	C	A	C
イタ(アメリカ産雑種)	A	T	T	T	A	T	A	G	-	-	T	A	A	T	G	T	C	A	C
オオイタ(アメリカ)	G	G	C	C	G	C	G	C	G	C	C	G	G	C	A	C	A	G	A

国外のイタドリはイギリスのイタドリ 54 個体、アメリカのイタドリ 12 個体、台湾のイタドリ 2 個体について、葉緑体 DNA の *rbcl-accD* 領域約 1400bp 中、約 1350bp の塩基配列を確定し、15 か所で変異が確認された（表 1-1）。なお、海外の個体については、イギリスとアメリカのイタドリと雑種イタドリはグループ C、韓国南部はグループ A、その他、韓国のイタドリはグループ B、イギリス及びアメリカのオオイタドリはグループ E に分類された。

今回得られたアメリカ、イギリスのイタドリは日本のものと比較して変異が非常に小さく、特にイギリス、アメリカのイタドリと、アイタドリは同じ塩基配列を示し、さらに両国間で変異が確認されなかった。このことからアメリカのイタドリも日本からイギリスに持ち込まれたイタドリを起源とするも

のであると考えられる。

本研究でアメリカのイタドリがイギリスのものと同じ起源である可能性があると推測できた。しかし北米のイタドリとオオイタドリは有性生殖によって雑種アイタドリを形成し、範囲を拡大しているという報告 (Gammon et al. 2007, 2010) があり、本研究の結果と異なる。今後はサンプル数、領域数を増やし、この可能性についてより正確なデータを確定させ、北米イタドリの起源を確定する。同時に今回滞ってしまった台湾のサンプルについて塩基配列を確定し、さらに国内においてまだ得られていない地域のイタドリについて解析を行い、国内のグルーピングを詳細かつ正確にする。そして日本やアジア分布域のイタドリの生物地理を明らかにするとともに、欧米の外来種イタドリとの関係を明らかにしていきたい。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Tanaka, N., Uehara, K., Murata, J. 2013 Evolution of Floral traits in relation to pollination mechanisms in Hydrocharitaceae. Early Events in Monocot Evolution 165-184 査読有

Uehara K. Saiki, K., Ando, T. 2013 *Veronicastrum noguchii* (sect *Plagiostachys*, Plantaginaceae), a new species from Japan. Acta Phytotax. Geobot. 63: 63-69 査読有

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

上原 浩一 (UEHARA, Koichi)  
千葉大学・園芸学研究科・准教授  
研究者番号：20221799

##### (2) 研究分担者

野村 昌史 (NOMURA, Masashi)  
千葉大学・園芸学研究科・准教授  
研究者番号：50228368

小林 達明 (KOBAYASHI, Tatsuaki)  
千葉大学・園芸学研究科・教授  
研究者番号：40178322

##### (3) 連携研究者

伊藤 元己 (ITO, Motomi)  
東京大学・総合文化研究科・教授  
研究者番号：00193524

吉武 啓 (YOSHITAKE, Hiraku)  
独立行政法人農業環境技術研究所・農業環境  
インベントリーセンター・研究員  
研究者番号：50517662