

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580157

研究課題名（和文） 外来木本植物ニワウルシの分布の現状と遺伝マーカーを用いた分布拡大に関する研究

研究課題名（英文） Study on the distribution and the population expansion of *Ailanthus altissima*, an alien tree species, in Japan.

研究代表者

齊藤 陽子 (SAITO YOKO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：00302597

研究成果の概要（和文）：外来木本植物ニワウルシの日本における分布とその拡大様式について明らかにした。本種は、全国 47 都道府県に既に分布し、山梨県甲府盆地では 1 キロメッシュ 900 個(30 平方キロ)のうち 29.8% に分布していた。盆地内での分布は土地利用という人為的な要因により規定されていた。遺伝解析の結果、日本各地に主に 2 系統がランダムに導入されたと考えられた。甲府盆地内の小集団は互いに遺伝的に分化しており、少数の個体から各々の集団が成立したと考えられた。山口県周南市における林分の遺伝解析結果から、ニワウルシは最大長 50m の範囲でクローン繁殖をしていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The distribution and the population expansion of *Ailanthus altissima*, an alien tree species, in Japan were clarified. This species is distributed all 47 prefectures in Japan and 29.8% of 900 meshes of one square km in Kofu basin, Yamanashi Pref. Its growing location was defined by land utilization. Mainly two genetically different lineages were suggested to be introduced to each growing area, in Japan. The little populations in Kofu basin were genetically differentiated from each other and it suggests that small number of individuals were founder of each population in Kofu basin. In Shunan-city, Yamaguchi Pref, this tree species clonally propagated less than 50 m by root sucker.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：葉緑体 DNA シーケンス、核 S S R マーকার、ハプロタイプ、侵略的外来種、クローン繁殖

1. 研究開始当初の背景
人間社会が直面している環境問題のひとつに生物多様性の減少がある。外来種による生

態系の攪乱は、それを加速させる大きな脅威として認識されている。例えば動物の場合、捕食や病気の持ち込みによる在来種の減少

など、植物の場合は在来植生との競争や繁茂による土壌環境の改変などが挙げられる(日本生態学会、2002)。ニワウルシ(*Ailanthus altissima*)は明治期に日本に導入された中国原産の樹木であるが、現在でも緑化木として流通しており、近年、河川敷、道路の法面、農村、都市緑地など広範囲に逸出して生育しているのが観察される。本種は、ヨーロッパやアメリカ合衆国にも街路樹として導入された後、逸出し、生態系への脅威として認識されている(USDA、2006)が、日本国内においては、分布の実態や生態系への影響についてはほとんど研究されておらず(橋本、2006)、明らかになっていない。しかし、ニワウルシが北米と同様に日本の生態系への脅威である可能性は十分に考えられる。従って、本種の分布の現状を把握し、分布が拡大していった経過を推定することは、今後の管理を考えるために必須であり、在来生態系の保全上、非常に重要である。

また、外来種が引き起こす可能性のある環境コストや経済コストを回避するためには、外来種を導入しないことがもっとも経済的に効果が大きい(日本生態学会、2002)。それ故、すでに国内に導入されてしまった種であっても、現在分布していない別の地域への拡散を阻止することが重要である。日本国内での分布拡大を阻止するためにも、対象種の導入経緯や分布拡大機構を明らかにする必要がある。

一方、近年、遺伝マーカーの利用が安価で容易になったこと、また、データ解析手法の発展により、生物種の集団の由来をより正確に推定することが可能になってきた。この手法を外来種に適用すれば、国内の集団は複数の由来か、単一の由来か、またそれらは、原産地のどこ地域の由来か、など導入経緯にかかわる情報を得ることができる。さらに、林分単位で解析を行えば、クローン繁殖が中心であるか種子繁殖であるか、自殖であるか、他殖であるか、など分布拡大に寄与する繁殖様式などについても明らかにすることができる。

2. 研究の目的

本研究では、外来樹木種であるニワウルシを対象に、全国レベル・景観レベルおよび林分レベルで、分布の現状を把握する。また、ニワウルシが分布を拡大していった経路を、遺伝マーカーを用いて集団間の類縁関係や分布拡大様式を調べることにより、推定する。これらの結果から、木本外来種の管理について提言することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、(1)分布調査と(2)遺伝マーカーを用いた遺伝解析からなり、それぞれ調査スケ

ールにより、①全国レベル ②景観レベル ③林分レベルの3つに分かれる。それぞれの具体的内容は、以下のとおりである。

(1) 分布調査

①全国レベル: 県単位で文献により日本各地でのニワウルシの分布拡大状況を把握した。
②景観レベル: 山梨県の甲府盆地一帯約900km²の踏査を行い、分布の有無を調査した。ニワウルシの生育制限要因となる調査地の標高、地質、温量指数などの環境要因と現在および過去の土地利用(森林・農地・河川敷・市街地など)という人為的要因とニワウルシの有無を2進木解析により分析した。また、ニワウルシ有のメッシュの連結数を求め、分布集中域を特定し、集中域ごとに分布規定要因を分析して、景観レベルでのニワウルシの分布の特徴を把握した。

(2) 遺伝マーカーを用いた遺伝解析

①葉緑体 DNA マーカーのスクリーニング: Shaw et al. (2005)を参考に、葉緑体 DNA の非翻訳領域 20 カ所のユニバーサルプライマーを用意し、各領域でニワウルシ個体間の多型の有無があるかを確認した。

②全国レベル

ア) 葉緑体ハプロタイプの分布: 中国南東部 4 地点および日本各地 64 地点から採取したニワウルシ 449 個体を対象とした。約 2400bp の葉緑体 DNA をシーケンシングし、各個体のハプロタイプを決定し、ハプロタイプネットワークを推定した。

イ) 核 DNA からみた遺伝構造: 日本におけるニワウルシの植栽 6 集団および野生化 12 集団から採取した計 388 個体を対象とした。上記(2)葉緑体 DNA マーカー 3 座(本研究で開発したマーカーで、詳細は 4. 研究成果に記載)と、既に開発されていた核 SSR マーカー 9 座を用いて、各個体の葉緑体ハプロタイプと核ジェノタイプを決定した。核ジェノタイプのデータをもとに、遺伝構造解析を行った。

③景観レベル: 山梨県の甲府盆地に設定した上記分布調査のメッシュのうち様々な土地利用に散らばるように設定した約 20 メッシュの中で林分 1 つずつから、全 435 個体サンプリングし、上記(2)②イ)と同じ葉緑体 SSR3 座および核 SSR9 座で解析を行った。これにより、甲府盆地内での系統数や、地域による系統の偏りの有無、さらに、ニワウルシ林分の遺伝的多様性の高さや集団間の遺伝的分化程度などを明らかにし、甲府盆地全体にどのようにニワウルシが拡大していったかを推定した。

④林分レベル: 山口県周南市には、ニワウルシの逸出個体が大小様々なパッチを形成していた。その中から 31 パッチを選び、計 82 個体のニワウルシを採取した。各個体について、核 SSR マーカー 9 座を用いて、ジェネット解析および血縁関係の推定を行った。

4. 研究成果

(1) 分布調査

①全国レベル：文献調査の結果、全 47 都道府県に分布していることが明らかとなった。
②景観レベル：甲府盆地では、1km²メッシュ 900 個中の 29.8% にニワウルシが観察された (図 1)。調査地全体を対象にした 2 進木解析の結果では、ニワウルシの分布は 1976 年の土地利用によって制限されていた。

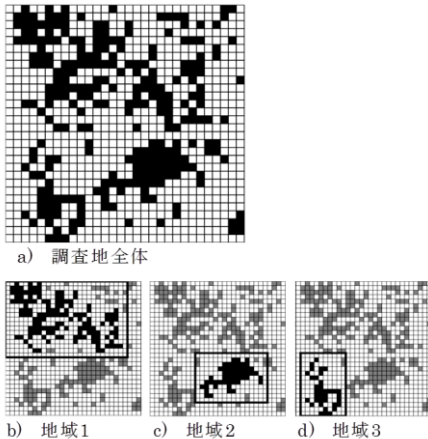


図 1 甲府盆地(30km×30km)におけるニワウルシの分布の現状と分布集中地域(■がニワウルシが生育する 1km メッシュ)

昔桑畑であった農耕地周辺にはニワウルシが分布するメッシュが多く、これは桑畑に過去ニワウルシを植栽したことやその土地の環境がニワウルシの生育に適していたことから分布の維持・拡大がなされてきたと考えられた。さらに、それぞれ異なった地形および土地利用の特徴を持つ 3 か所の分布集中地域が特定され (図 1)、3 地域でニワウルシが存在するメッシュの 83.6% を占めた。各分布集中地域における 2 進木解析の結果は、いずれも土地利用が要因として選択されたものの、選択された土地利用の条件は異なっており、各集中地域で異なる分布拡大のプロセスを持つ可能性が示唆された。以上から、調査地におけるニワウルシの分布は、生育を制限する環境的な要因よりも導入プロセスや土地利用変化による生育場所の形成という人為に影響を受けていることが明らかになった。そのため、甲府盆地においては、今後、耕作放棄や道路建設などの土地利用変化により現在分布しない土地へ新たにニワウルシが侵入する可能性は高い。一方、調査地内においてニワウルシが分布していない地域はほとんどが森林である。森林の周辺に多くのニワウルシが分布する現状では、なんらかの攪乱イベントをきっかけに分布拡大が進む可能性があり、今後のモニタリングが不可欠である。

(2) ①葉緑体 DNA マーカーのスクリーニング:

20 領域中 12 領域で PCR での増幅が認められた。特に、4 か所の領域で比較的多くの個体間変異が認められた。さらに、この中の 2 領域には計 3 か所のサイズ変異があることも明らかとなった。

②全国レベル

ア) 葉緑体ハプロタイプの分布：中国南東部を含む計 68 地点のニワウルシから葉緑体ハプロタイプは 6 タイプ (H1~H6) が検出された (図 2)。日本のニワウルシからは、系統が異なる 3 つのハプロタイプ (H1、H2、H3) が検出された (図 3)。特に、H1 と H3 のハプロタイプを持つニワウルシの個体数が多く、両ハプロタイプは日本全国から確認された (図 3)。また、一部の地域では両ハプロタイプが同所的に確認された (図 3)。

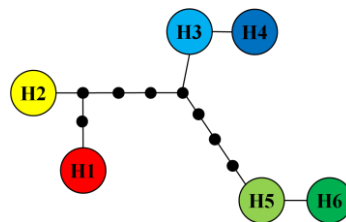


図 2 ニワウルシの葉緑体シーケンスによるハプロタイプネットワーク

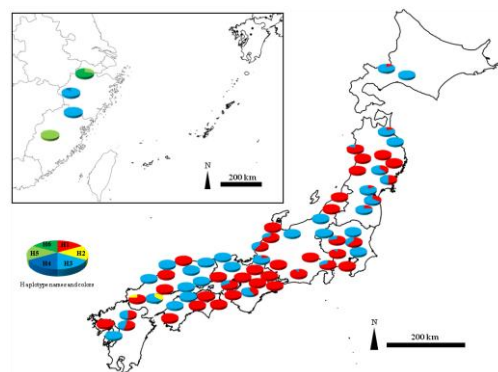


図 3 ニワウルシの葉緑体ハプロタイプの分布

イ) 「(2) ①葉緑体 DNA マーカーのスクリーニング」で確認された葉緑体 DNA のサイズ変異 3 か所を比較することで、日本の 3 ハプロタイプ (H1、H2、H3) が識別可能であることが明らかとなったので、それらのサイズ変異部分に特異的な葉緑体プライマーを 3 セット開発した。それらの葉緑体プライマーを用いた解析から、ハプロタイプ H1 と H3 が確認された。STRUCTURE によるクラスタリングを実行したところ、異なるハプロタイプを持つ個体間には明瞭な遺伝構造の差があることを確認した (図 4)。

また、全国スケールで地理的遺伝構造は不明瞭であった。これらのことから、遺伝的に隔



図4 核DNAデータによる個体のクラスタリングと葉緑体ハプロタイプの関係

離された2地域の集団に由来するニワウルシが日本に導入され、各地で急速に広まった背景が明らかとなった。

③景観レベル：甲府盆地では、全国で優占しているのと同じ葉緑体ハプロタイプが検出された。盆地内では葉緑体ハプロタイプの分布に地理的傾向および土地利用による偏りは見られなかった(図5)。また、核遺伝子の多様性は全国集団と同程度であった。このことから、遺伝的背景の異なる2系統の種苗が盆地全体に導入されたと考えられた。また、核SSRデータをStructure解析したところ、クラスターは2つであると推定された。各個体が割り振られたクラスターと葉緑体ハプロタイプとの間に関係はなかった。このことは全国集団とは異なり、甲府盆地内では2系統の種苗間でも頻繁に交配が行われていると推察された。さらに、集団間の遺伝的分化の程度を *pariwise Fst* で検証したところ、190組中164組が有意となった。一方AMOVAでは、地域間、土地利用間に遺伝的に有意な差はなかった。このことから遺伝的にばらばらな少数の種苗が地域、立地を問わず導入されたと考えられた。

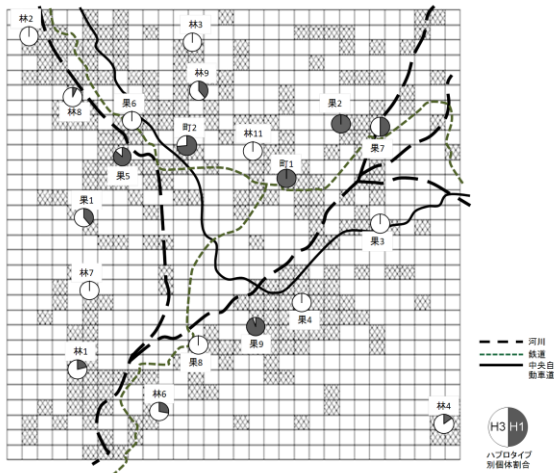


図5 甲府盆地における葉緑体ハプロタイプの分布

④林分レベル

核SSRマーカー9座を用いた個体識別能は0.999以上の高い値だった。82個体の解析から、42タイプの核ジェノタイプを検出した。同じ遺伝子型を持つラメットの集合体であ

るジェネットの大きさは最大50mに達しており、野外でニワウルシは活発に栄養繁殖で分布域を拡大していることが明らかとなった。また、42タイプの核ジェノタイプの中から49ペアで個体間の血縁関係が検出された。血縁関係の検出された個体間の距離は、大部分が数十～数百mであり、散布種子の広範囲への定着の実態が明らかとなった(表1)。

表1 周南市において検出された同じ遺伝子型を持つ個体間の距離

0～50m	50～100m	100～500m	500m～1km	1km～	合計
15	0	0	0	0	15

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

① Kurokochi, H., Saito, Y., Chuman, M., Ide, Y., Low chloroplast diversity despite of phylogenetically divergent haplotypes in Japanese populations of *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae), Botany, NRC research press, Vol. 91, pp148-154, 2013

[学会発表] (計8件)

- ① 中馬美咲、山梨県甲府盆地における外来樹木ニワウルシ (*Ailanthus altissima*) の分布状況、第57回日本生態学会、2010年3月18日、東京
- ② 中馬美咲、Population expansion of *Ailanthus altissima*, alien tree, and influence、第2回九大・東大合同シンポジウム GCOE アジア保全生態学、2011年2月5日、福岡
- ③ 中馬美咲、甲府盆地におけるニワウルシ群落の消長、第58回日本生態学会、2011年3月10日、札幌
- ④ 中馬美咲、甲府盆地における外来樹木ニワウルシの遺伝構造、第124回日本森林学会、2013年3月27日、盛岡
- ⑤ 黒河内寛之・齊藤陽子・中馬美咲・湯定欽・井出雄二 (2013) 「日本における外来樹木ニワウルシの遺伝構造と分布拡大過程」第124回日本森林学会大会(口頭)、岩手大学、3月
- ⑥ 黒河内寛之・齊藤陽子・井出雄二 (2012) 「個体間の血縁関係から推定した外来樹木ニワウルシの局所スケールにおける分布拡大過程」第1回森林遺伝育種学会大会(ポスター)、東京大学、11月
- ⑦ 黒河内寛之・齊藤陽子・中馬美咲・井出雄二 (2012) 「日本各地におけるニワウルシ植栽個体群および野生化個体群の遺

伝的多様性」第 123 回日本森林学会大会
(口頭), 宇都宮大学, 3 月

- ⑧ Kurokochi H, Saito Y, Chuman M, Tang DQ,
Ide Y (2012) “Artificial-admixed
chloroplast haplotypes of Ailanthus
altissima, an introduced tree, in
Japan.” 59th Annual Meeting of
Ecological Society of Japan, Mar, Otsu,
Japan

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齊藤 陽子 (SAITO YOKO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助
教

研究者番号 : 00302597

(2) 研究分担者

井出 雄二 (IDE YUJI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教
授

研究者番号 : 90213024

(3) 研究協力者

黒河内 寛之 (KUROKOCHI HIROYUKI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・特
任助教

研究者番号 : 00609000

中馬美咲 (CHUMAN MISAKI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・博士
課程