

1. 研究の目標及び研究成果の概要

課題名：侵入帰化植物による植物多様性に対する遺伝子汚染のリスク評価のための基礎的研究

研究機関名：独立行政法人農業環境技術研究所

任期付研究員氏名：芝池 博幸

【研究目標】

近年、輸入穀物等に混入して侵入した帰化植物が農耕地を介して農村地域に蔓延し、在来の近縁種との交雑による遺伝子汚染の危険性が増大している。このような遺伝子汚染は在来植物の遺伝子組成を改変するだけでなく、種そのものの絶滅も招きかねず、わが国独自の植物群落における多様性に対して著しい悪影響を及ぼす深刻な問題となっている。

本研究では、DNAの塩基配列の違いに基づく種特異的分子マーカーを開発し、侵入・帰化植物の遺伝的特性の評価や交雑個体の検出を行い、侵入・帰化植物と在来の近縁種との間で発生する遺伝子汚染の実態を明らかにする。同時に、生理生態的特性の解析から侵入・帰化植物の定着・分散の機構を解明し、遺伝子汚染のリスク評価のための基礎的知見を得る。そのために、(1)侵入・帰化植物からの遺伝子汚染の実態把握、(2)侵入・拡散パターンの生態遺伝的解析、(3)侵入・帰化植物の定着・分散機構の解明、等の研究を行う。

【研究成果】

本研究は、わが国における侵入・帰化植物による遺伝子汚染について、最初の全国規模の調査研究である。とりわけ、農業生態系の主要構成種であるタンポポ属植物を材料とした研究では、侵入種と交雑した雑種個体を検出するための各種分子マーカーの開発により、雑種形成の際の遺伝子の流れ、雑種個体の繁殖、雑種後代の形成など、遺伝子汚染の発生から拡散に至るまでの過程を解析し、雑種個体の拡散様式の解明に必要な多くのデータを得た。さらに、雑種タンポポの簡便・迅速な識別法の開発を基に、環境省が5年毎に実施する「身近な生きもの調査」と連携協力して、雑種タンポポの類別とその拡散状況について全国レベルでの実態を把握した。

一方、近年、わが国の飼料畑等において蔓延する外来雑草の一つとしてイチビを取り上げた研究では、飼料畑で急増する系統や輸入穀物に混入していた系統、さらにアメリカ農務省が遺伝子資源として収集・保存する世界各地の野生及び栽培系統を用いた包括的な解析により、現在、国内で強害化する系統は、米国や豪州産の系統と遺伝的に近縁で、生態的には極めて繁殖力の強い侵入系統が侵入・拡散していることを明らかにした。また、押し葉標本からのDNA抽出法の確立により、博物館や大学等に収蔵されている標本資料を活用し、侵入系統の侵入時期を特定することも可能にした。

このほか、圃場毎に発生・増殖を繰り返す薬剤抵抗性雑草や全国規模で分布拡大を続ける畦畔雑草など、多様な時空間スケールで展開する農業生態系構成種の定着・分散機構の解析や、雑種個体の分布と生育地の土地利用との対応関係にみられるような、遺伝子汚染に及ぼす人為的影響の側面からの解析も試み、遺伝子汚染のリスク評価に資する基礎的知見を集積した。

これらの研究成果をもとに、現在、タンポポ属植物をモデル植物とした、遺伝子汚染の発生・拡大過程を解析するための数理モデルの構築と、その検証のためのモニタリング・データの蓄積が進行している。

2. 研究実施計画

課題名：侵入帰化植物による植物多様性に対する遺伝子汚染のリスク評価のための基礎的研究

研究機関名：独立行政法人農業環境技術研究所

任期付研究員氏名：芝池 博幸

①研究の意義・目的・必要性

生物多様性条約の締結や科学技術会議 24 号答申「ライフサイエンスに関する研究開発基本計画」にみられるように、生物多様性保全や生態系保全が重要課題として位置づけられている。

わが国では、長い歴史の中で「手つかずの自然」に比べ、「農業との関係を持つ自然」のウェイトが圧倒的に高い。近年、輸入穀物等に混入して侵入した帰化植物が農耕地を介して農村地域に蔓延し、在来の近縁種との交雑による遺伝子汚染の危険性が増大している。遺伝子汚染が生じる可能性のある種は形態的に酷似していることが多く、形態的特徴により遺伝子汚染の発生を見極めることは難しい。そのため、交雑個体の検出には遺伝的特徴をマーカーとした手法を開発し、遺伝子汚染の懸念される種を対象とした実態把握とリスク評価が緊急の課題となっている。

本研究では、近年発達の著しい分子生物学的手法を導入することにより、侵入・帰化植物による遺伝子汚染の検出手法を確立し、そのリスク評価のための基礎的知見を得、わが国の植物多様性の保全に貢献することを目的としている。

②研究計画・内容

従来の外部形態の比較研究からでは、侵入・帰化植物に含まれる遺伝的多様性の定量化や遺伝子汚染の実態を解明することはほぼ不可能であった。しかし、近年の急速な分子生物学的手法の発達により、少量のサンプルからでも、短時間にしかも大量のDNAの塩基配列情報を取り出すことが可能になり、種間あるいは個体間にみられる遺伝的な変異を、形態形質に代わる識別形質として利用することが現実的な段階に入った。

本研究では、これらの分子生物学的手法を活用することで、侵入・帰化植物の動態を侵入・定着・拡散の過程から追跡し、在来の近縁種との遺伝子流動やその結果生じる交雑個体の広がりを把握する手法を確立する。また、生理生態的特性の解析から、侵入・帰化植物の定着・分散機構を解明し、雑種形成から現在の分布域が形成されるまでの過程を総合的に理解することで、遺伝子汚染のリスク評価のための基礎的知見を得る。

③研究の目標

1. 侵入・帰化種からの遺伝子汚染の実態把握：DNAの塩基配列の解析から、帰化種と在来近縁種の識別が可能な分子マーカーを作成し、遺伝子汚染が発生している個体群を特定するとともに、雑種個体や両親種の分布様式やそれらの生態的特性を調査する。
2. 侵入・定着・拡散パターンの生態遺伝学的解析：近年、分布の拡大が顕著な帰化種について、個体間の遺伝的類似性の比較等の解析から、海外からの侵入経路や国内における定着・分散パターンを明らかにする。
3. 侵入・帰化植物の定着・分散機構の解明：侵入・帰化植物やその遺伝子を取り込んだ雑種個体が生育する立地環境の特性を評価すると共に、雑種個体と両親種の繁殖様式を比較（雑種後代の形成を含む）し、それらの定着・分散を決定づける要因の解明を試みる。

④ポンチ絵

3. 所要経費の推移

課題名：侵入帰化植物による植物多様性に対する遺伝子汚染のリスク評価のための基礎的研究

研究機関名：独立行政法人農業環境技術研究所

任期付研究員氏名：芝池 博幸

(単位：百万円)

9年度	10年度	11年度	12年度	13年度	合計
12	13	13	3	3	45

(四捨五入の関係で、合計が合わないことがある。)

4. 研究成果

課題名：侵入帰化植物による植物多様性に対する遺伝子汚染のリスク評価のための基礎的研究

研究機関名：独立行政法人農業環境技術研究所

任期付研究員氏名：芝池 博幸

①研究成果

1. 侵入・帰化種からの遺伝子汚染の実態把握

ここでは、多様な植物群で発生する遺伝子汚染を検討するために、過去数10年から100年程度の間に侵入や導入が報告されたタンポポ属植物やイチビ、稻作の伝来に随伴して帰化したと考えられる畠畔雑草のチガヤ、さらにごく最近に発生が報告された水田雑草のアゼナ属植物にみられる薬剤抵抗性系統などについて、近縁の種や系統間で生じる遺伝子流動の様子を解析した。交雑個体の識別には、核及び葉緑体DNAの塩基配列、核型（染色体の形や数）、DNA含量（重さ）などの解析により開発した、各種の種特異的分子マーカーを用いた。

解析の結果、帰化種と在来種の種間交雫、亜種間交雫、栽培系統と野生系統間の交雫、薬剤抵抗性系統と感受性系統間の交雫など、遺伝的な分化の程度の異なる多様な植物群間において発生する遺伝子流動を検出することができた。なかでも、大規模な遺伝子流動が生じていると想定されたタンポポ属植物とチガヤについては、全国からサンプルを収集し、交雫個体の地理的分布の解明を試みた。

タンポポ属植物では、環境省が行う「身近な生きもの調査」との連携により、全国から採集した870個体のサンプルについて雑種判定を行い、雑種個体の分布図を作成した。その結果、セイヨウタンポポと日本産タンポポの交雫により生じた雑種個体は、北海道から九州南部まで広範囲に分布し、関東・東海や京阪神地域では雑種個体が極めて高い密度で分布していることが判明した。雑種個体は遺伝的特性からさらに4倍体雑種、3倍体雑種、雄核単為生殖雑種の3型に分けられた。これら3型の分布域を比較すると、4倍体雑種及び3倍体雑種は日本産タンポポに近い分布域を示す一方で、雄核単為生殖雑種はセイヨウタンポポと類似した分布域を示すことが明らかとなった。

チガヤについては国内約300地点から収集した系統を解析した結果、これまで分類学的に亜種として扱われることのあったチガヤとケナシチガヤが遺伝的にも異なるグループであることを明らかにしただけでなく、両亜種の分布の移行帯に位置する東北北部において、数10キロメートル単位のかなり大きな交雫帯が形成されていることを明らかにした。

2. 侵入・定着・拡散パターンの生態遺伝学的解析

ここでは、海外からの侵入経路や国内における定着・分散パターンを明らかにする目的で、近年、飼料畑を中心に急速に分布域を拡大しつつあるイチビを材料に、海外からの進入経路や国内における分布拡大の様子について、個体の遺伝的類似性の観点から解析した。また、押し葉標本から抽出したDNAを解析することにより、これまでに日本へ侵入した外来系統の侵入時期や侵入量などに関して過去の歴史を復元することを試みた。

日本国内で採集されたイチビや、アメリカ農務省に遺伝子資源として保存されていた世界各地から採集された野生及び栽培系統の核及び葉緑体DNAの塩基配列を解析し、イチビの系統識別に有効な分子マーカーを作成した。これらの分子マーカーを用いて、イチビの遺伝的類縁関係を

解析した結果、世界的に見るとイチビは栽培系統と野生系統、そして両系統の雑種の3大系統から構成され、国内の飼料畑等で急増している系統や輸入穀物に混入していた系統、さらにその原産国で採集された系統は遺伝的に極めて近縁で、同一の野生系統に属することが明らかとなった。このことから、現在国内で強害化する系統は、米国や豪州産の野生系統に由来することが強く示唆された。また、これらの系統の生態的特性を明らかにするために、栽培実験を行った結果、これらの野生系統は短い生活史や高い種子生産により極めて繁殖力が高く、人間活動に伴って拡散しやすい生態的特性をもつことを明らかにした。

ここまで解析に用いたサンプルのほか、博物館や大学に収蔵されている過去100年にわたって採集されたイチビの押し葉標本からもDNAを抽出し、それらの系統識別を行うと同時に、標本の記載事項（採集日や採集地など）に基づき、それぞれの系統の分布域の変遷を時系列的に復元することを試みた。その結果、第二次大戦前に採集された標本に占める野生系統の頻度は20%強であるのに対して、戦後に採集された標本ではその割合が60%以上に急増していることが明かとなった。また、雑種系統の侵入地点は全国的であるものの、分布域の連続性ではなく、分布拡大の初期状態に止まっていることなどが明らかとなった。

3. 侵入・帰化植物の定着・分散機構の解明

「1. 侵入・帰化種からの遺伝子汚染の実態把握」で発見された雑種タンポポについて、3型の雑種タンポポの生育地と都市化の状況の対応関係を検討し、それらの定着・分散機構を明らかにすることを試みた。また、雑種タンポポの繁殖特性を解析し、雑種タンポポ集団の動態の解明も試みた。

ここでは、比較的サンプル数の多い関東地方から採取された雑種タンポポを対象に、第2回自然環境保全基礎調査の表土改変状況調査（1945年、1960年、1975年の表土状況図）と1991年国土数値情報土地利用データを用いて、各サンプルが採集された立地の市街化の時期を特定した。関東地方で採集された388個体のタンポポのうち、セイヨウタンポポは6個体（1.6%）で、残りの382個体（98.5%）が雑種タンポポで、その内訳は、4倍体雑種が275個体（70.9%）、3倍体雑種が92個体（23.7%）、雄核単為生殖雑種が15個体（3.9%）であった。これらのうち個体数の多い4倍体雑種と3倍体雑種について、生育地が市街化された時期別に分布状況を比較した結果、4倍体雑種は埼玉県東南部から神奈川県東部にわたる市街化の時期がモザイク状に細かく入り乱れる地域と近年新しく市街地化された地域、特に千葉県西部に集中して分布することが明らかとなった。一方、3倍体雑種は東京都東南部から北部にかけての古い時期に市街地化された地域とそれを取り囲む郊外の新しく市街地化された地域に分布していることが明らかとなった。

このほか、3型の雑種タンポポをポットで育成し、それらの生殖様式について解析した結果、いずれのタイプの雑種個体も、その花粉種であるセイヨウタンポポの繁殖様式を受け継ぎ、無融合生殖（単為生殖の一種）による種子生産を行うことが明らかとなった（日本産タンポポは有性生殖による種子生産を行う）。また、4倍体雑種及び雄核単為生殖雑種は花粉を形成せず、雄性不稔であるのに対して、3倍体雑種は花粉形成能があり、日本産タンポポとの戻し交雑の花粉親として機能しうることが示された。さらに、この点を人工交配実験により確認したところ、3倍体雑種と日本産タンポポは交雑可能であることが示された。

②波及効果、発展方向、改善点等

生物多様性や生態系の保全方策の策定などと同様に、遺伝子汚染の防止方策を検討する場合においても、全国規模の実態把握が極めて肝要である。このとき、最も大きな障害となるのが、一定期間に全国からのサンプルを収集することである。本研究では、遺伝子汚染の発生が懸念される植物群を対象としたサンプルの網羅的な収集のために、市民参加型や専門家主導の各種調査との連携（タンポポ属植物やチガヤ）、ジーンバンクに保存される遺伝子資源や博物館や大学に収蔵される押し葉標本の活用（イチビ）、農林水産関係の試験研究機関間ネットワーク（アゼナ属植物）などのような、既存の研究資源を最大限に生かすことで、研究期間内に全国規模のサンプル収集を実現した。

なかでも、環境省が行う「身近な生きもの調査」との連携では、農業生態系から都市的環境に生育するタンポポ属植物を共通の材料とすることにより、サンプルの提供のみならず、雑種個体の判定結果の参加者へのフィードバックを可能にし、相乗的な研究成果を達成することができた（環境省・生物多様性センターのホームページを参照→<http://www.biodic.go.jp/mijika/ssm/tanpopo/tanpopo.html>）。「身近な生きもの調査」では概ね5年に1度定期的にデータの更新が行われることから、雑種個体の動態に関する時系列のモニタリングが可能である。侵入・帰化植物のような身近な植物をナショナル・スケールで調査する際には、市民参加型の自然環境調査などとの連携を視野に入れた研究計画の立案が重要である。

タンポポ属植物は私たちが最も身近に感じる植物の一つであるが、その生育環境は農業生態系から都市的環境まで幅広い。そのうち在来のタンポポは自然度の高い人里に分布の中心があるのに対して、帰化種であるセイヨウタンポポは土地改変の行われた都市的環境に分布の中心がある。このような両種の生育特性の違いから、ある地域にみられる両種の出現比率を、都市的環境の生物指標として利用することができる。しかし、「侵入・帰化種からの遺伝子汚染の実態把握」で報告したように、雑種タンポポが市街地を中心に高頻度で分布していることが明らかとなり、これまでセイヨウタンポポと見なしていた個体の分類学的根拠が失われたことで、タンポポ属植物の環境指標植物としての妥当性が揺らいでいる。この結果は一般市民からの関心も高く、新聞雑誌等でも報道がなされた（2002年7月13日土曜日 朝日新聞夕刊 参照）。

一方、「侵入・帰化植物の定着・分散機構の解明」では、関東地方に生育する雑種タンポポの立地環境について、表土改変の観点から詳細に解析したところ、雑種タンポポのタイプによって、土地利用の履歴の異なることが明らかになり、雑種タンポポを含めたより細かな環境スケールに対応する新たな環境指標性の確立への可能性が示唆された。その際、雑種タンポポの増加を促進した要因として市街地面積の増大が示されたが、その結果は市街地化により減少した農林地面積と表裏一体の関係にある。このように雑種タンポポの拡散過程を解明するためには、両親種間で生じる遺伝子流動や雑種個体の繁殖特性の解析のみならず、産業構造の変化を通じた表土改変、すなわち人為的インパクトを軽視してはならない。

今後は、本研究で確立された研究アプローチに沿った遺伝子汚染の網羅的な検索の積み重ねと、タンポポ属植物をモデル植物とした遺伝子汚染のリスク評価に向けた研究を深化させる必要がある。

5. 研究成果公表等の状況

課題名：侵入帰化植物による植物多様性に対する遺伝子汚染のリスク評価のための基礎的研究

研究機関名：独立行政法人農業環境技術研究所

任期付研究員氏名：芝池 博幸

1. 研究発表等

(1) 研究発表件数

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	1	2	22	25
国外	4	1	3	8
合計	4	3	25	33

(2) 原著論文による発表の内訳

1) 国内

(計1件)

1. 「身近な生きものの調査」を利用したタンポポ属植物の雑種分布に関する解析 平成14年
山野美鈴、芝池博幸、浜口哲一、井手 任 環境情報科学（印刷中）

2) 国外

(計4件)

1. Hybridization between European and Asian dandelions (*Taraxacum* section *Ruderalia* and section *Mongolica*). 2. Natural hybrids in Japan detected by chloroplast DNA marker. 2002. Shibaike, H., Akiyama, H., Uchiyama, S., Kawanishi, K., and Morita, T. Journal of Plant Research (in press).
2. Molecular genetic mapping and plant evolutionary biology. 1998. Shibaike, H. Journal of Plant Research 111: 383-388.

(3) 原著論文以外による発表の内訳

1) 国内

(計24件)

1. 日本産チガヤ(*Imperata cylindrica*)の分布と遺伝的類縁関係の解析 平成14年 芝池博幸、秋山 永、汪 光熙、富永 達 日本雑草学会第41回講演会要旨: p. 174-175
2. 拡がる雑種タンポポ 平成14年 芝池博幸、森田竜義 生物の科学「遺伝」 56(2): 16-18
3. 遺伝子汚染: 日本産タンポポとセイヨウタンポポの雑種形成 平成13年 芝池博幸、森田竜義 じっきょう・理科資料 Vol. 50: 1-5

4. 遺伝マーカーを用いたイチビ (*Abutilon theophrasti* Medic.) の系統識別 平成13年 黒川俊二、芝池博幸、秋山 永、渡辺 修、吉村義則、尾上桐子 日本雑草学会第38回講演要旨集 p. 102-103
5. 押し葉標本のDNA解析によるイチビの分布拡大様式の解明 平成13年 黒川俊二、芝池博幸、秋山 永、渡辺 修、吉村義則、尾上桐子 日本雑草学会第38回講演要旨集 p. 104-105
6. Molecular characterization of herbicide-resistance biotypes of *Lindernia micrantha*. 1999. Shibaike, H., Uchino, A., and Itoh, K. XVI International Botanical Congress Abstract p. 616

2) 国外

(計4件)

1. Genetic variation and relationships of herbicide-resistance and -susceptible biotypes of *Lindernia micrantha*. 1999. Shibaike, H., Uchino, A., and Itoh, K. The Brighton Conference, Conference Proceedings Volume I: p. 197-202.

2. 特許出願等

(計0件)

3. 受賞等

(計0件)