葉緑体 DNA ハプロタイプ分析による在来草本植物 10 種の地域性評価

津田その子^{*1,2)}・小林 聡³⁾・富田基史³⁾・阿部聖哉³⁾
松木吏弓³⁾・河津かおり⁴⁾・花井隆晃⁴⁾・鈴木素弘²⁾・守谷栄樹²⁾
藤井義晴¹⁾

- 1) 東京農工大学大学院連合農学研究科 The United Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology
- 2) 中部電力株式会社 Chubu Electric Power Co., Inc.
- 3) 電力中央研究所 Central Research Institute of Electric Power Industry
- 4) 株式会社テクノ中部 Techno Chubu Company, Ltd.

摘要: 緑化資材として地域性種苗の利用が推奨されているが、吹付工事に必要な在来草本の種子はほとんど流通しておらず、地域性区分も決まっていない。このため本研究では、在来草本の地域性区分の基礎的知見を得ることを目的に、緑化に使用可能と考えられる在来草本 10 種を対象として、葉緑体 DNA 上の 5 領域 (約 3,500 bp) における種内変異とその地理的分布を調査した。ハプロタイプ分析の結果、カゼクサ、トダシバ、アシボソ、ヤマアワ、チガヤ、ネコハギの 6 種では、全国規模で分布するコモンハプロタイプと地域的な偏りを示す複数のハプロタイプを併せ持っており、地域性区分の検討が必要であると示唆された。一方残り 4 種は全国ほぼ均一で地域性が認められなかった。また、道路密度を指標の一つとし、この偏りに対する人為的影響の有無をアレリックリッチネスにより解析した結果、人の活動がハプロタイプの分布に影響を与えているとはいえないという結果が得られた。

キーワード: 地域性種苗, 草本植物, 葉緑体 DNA, ハプロタイプ分析, 系統地理, 人為的攪乱

TSUDA, Sonoko, KOBAYASHI, Soh, TOMITA, Motoshi, ABE, Seiya, MATSUKI, Rikyu, KAWAZU, Kaori, HANAI, Takaaki, SUZUMURA, Motohiro, MORIYA, Hideki and FUJII, Yoshiharu: **Phylogeographic study of 10 herbaceous plants native in Japan based on intraspecific chloroplast DNA variation.**

Abstract: Despite of growing public demand for revegetation using local seeds and seedlings, such local seeds are not available commercially for native herbaceous species and even there is no agreed definition of local seed zones. In this study, we investigated the intraspecific chloroplast DNA variations and their geographical distributions of 10 herbaceous plants including 9 grasses and 1 leguminosae native in Japan, as indicators of regionality to determine seed zones of the native herbaceous species. *Eragrostis ferruginea*, *Arundinella hirta*, *Microstegium vimineum*, *Calamagrostis epigeios*, *Imperata cylindrica*, and *Lespedeza pilosa* had both common haplotype being widespread in Japan and some haplotypes those distributions showed regionality, so that suggest us to have enough examinations and discussions when we would consider the regionality. On the other side, other 4 species showed mostly uniform geographical distributions throughout Japan. The statistical test did not show an impact of human activity to the present distribution of haplotypes of any species: allelic richness were not different significantly between sampling spots where surrounding road densities were high or low.

Key words: local seeds and seedlings, herbaceous plants, chloroplast DNA, haplotype analysis, phylogeography, anthropogenic disturbance

1. はじめに

近年の緑化工事では、生物多様性への配慮から『地域性種苗』の使用が推奨される傾向にある^{7-9, 11)}。植栽用の木本植物については、主な樹種に関し種苗の移動に関する遺伝的ガイドライン²⁾が平成 23 年に発行されたが、吹付工事で多用される草本植物については、国産の在来種子はほとんど流通

していない上、緑化地と採種地の遺伝的な差異を判断する情報がほとんど無いことから、地域性種苗を用いた緑化工事は事実上困難となっている^{6, 11)}。

植物の地域性を遺伝的に評価する手法としては、葉緑体 DNA 上の非コード領域の塩基配列にもとづくハプロタイプの地理的分布を比較検討するアプローチが、汎用性・再現性の観点からもっともよく用いられている¹⁹⁾。日本の在来種と

* 連絡先著者 (Corresponding author) : E-mail : Tsuda.Sonoko@chuden.co.jp

〒459-8522 名古屋市緑区大高町字北関山 20-1 20-1 Kitasekiyama, Ohdaka-cho, Midori-ku, Nagoya, 459-8522

考えられている草本についても、チガヤ、ススキ、ヨモギについて葉緑体 DNA ハプロタイプの地理的分布が報告されている^{17, 18, 22)}。

本研究では、これらの手法を参考にし、イネ科を主体とした複数の在来草本植物について、緑化用の種子を国内調達することを想定し、種子の移動可能範囲の指標を得るための基礎資料として、葉緑体 DNA ハプロタイプの地理的分布を調査した。また、草本植物は世代交代が早く、自動車等の移動に伴って種子が遠方に分散することによる遺伝的攪乱によって、本来のハプロタイプの地理的分布が既に失われている可能性もある^{11, 21)}。このため、得られた地理的分布が、生育地付近の道路密度の影響を受けているかを検討することにより、在来草本の地域性検討において人為的攪乱の影響を考慮する必要性の有無についても考察した。

2. 材料ならびに方法

2.1 供試植物

緑化資材として適する在来草本の選定にあたり、施工環境への適応性が高いことを重視し、過去に外来草本を主体とした吹付工事が行われた法面等に自然侵入し定着している在来植物に着目した。中部地域で過去に吹付工事が行われた法面等を平成 19 年～20 年に調査し、確認された 249 種の在来草本の中から、先駆植物の性質を有すること、生育量が多く種子等の採取が容易であることを主眼に在来草本緑化材料の候補植物 10 種を選定した。サンプルは、平成 24 年および 25 年 7 月～10 月に、中部地方を中心に東北・九州を含む 11～19 地点で、各植物とも 1 地点あたり 3～5 個体の葉を採取し、うち 1 個体で標本を作製した。サンプリング地点は、本来のハプロタイプの地理的分布を検討するため、自動車等の移動による人為的攪乱が少ないと考えられる郊外・里山環境を多く含むように設定した。また、本研究では候補植物の地域性が確認できるか否かを把握することを主眼とし、作業量を考慮して 1 種 40 個体前後を分析対象とした (表-1)。

2.2 プライマーの選定

本研究の対象とした植物のほとんどは、これまで葉緑体 DNA 多型解析の報告がないため、事前検討により、植物の系統地理学的研究において多型が検出できる領域としてよく用いられている *trn C-pet N*¹⁶⁾, *trn G intron*¹⁶⁾, *trn L intron*¹⁶⁾, *trn T-trn L*²⁰⁾, *rps 16 intron*¹⁶⁾を増幅するプライマーを選定した。選定にあたっては、実験の効率化を図るため、10 種 (イネ科 9 種・マメ科 1 種) の植物を同時に処理できることを重視し、共通に使用できるプライマーを優先した。

2.3 葉緑体 DNA の抽出, PCR 反応, シークエンス反応

葉緑体 DNA の抽出は、5 mm 角にカットしたサンプルを 65 °C で 1 時間乾燥させ Mixer Mill 300 (Qiagen) で粉碎、あるいは液体窒素で凍結させてハンディホモジナイザー ((株) ニッピ パワーマッシャー II) を用いて粉碎した後、DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用い、標準プロトコル

表-1 供試材料

Table 1 Plant materials

和名	学名 ^{*1}	略称	地点数	サンプル数
カゼクサ	<i>Eragrostis ferruginea</i> (Thunb.) P.Beauv.	E.f.	15	39
トダシバ	<i>Arundinella hirta</i> (Thunb.) Tanaka	A.h.	16	41
ヤマアワ	<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	C.e.	11	40
メヒシバ	<i>Digitaria ciliaris</i> (Retz.) Koeler	D.c.	18 ^{*2}	48
オヒシバ	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.	E.i.	15 ^{*2}	44
チガヤ	<i>Imperata cylindrica</i> (L.) Raeusch.	I.c.	19	41
ササガヤ	<i>Microstegium japonicum</i> (Miq.) Koidz.	M.j.	16	34
アシボソ	<i>Microstegium vimineum</i> (Trin.) A.Camus	M.v.	15	32
チカラシバ	<i>Pennisetum alopecuroides</i> (L.) Spreng.	P.a.	13	35
ネコハギ	<i>Lespedeza pilosa</i> (Thunb.) Sieb. et Zucc.	L.p.	11	28

*1 分類は原則「日本イネ科植物図譜」¹⁴⁾および「日本の野生植物草本 II 離弁花類」¹⁵⁾の見解に従った *2 ソウル1地点 (1サンプル) を含む

に従った。PCR 反応は抽出した DNA 溶液を 0.5 μ l (濃度約 11 ng/ μ l) 使用し、1 μ g BSA (終濃度 0.01 %), 4 % DMSO, 0.5 unit ExTaq Hot Start Version (Takara Bio), 20 μ M プライマー (各 0.1 μ l) を含む 10 μ l の反応液で行い、95 °C で 4 分の予備加熱後 94 °C 30 秒, 60 °C 60 秒, 72 °C 60 秒のサイクルを 30 回繰り返し、最後に 72 °C 10 分の最終伸長させる温度条件で行った。PCR 増幅後、同じプライマーで Big Dye Terminator ver. 3.1 Cycle Sequence Kit (Applied Biosystems) を用いてダイレクトシークエンスを行った。シークエンス反応後 Clean SEQ (日本ジェネティクス) を用いた磁気ビーズ法で精製し、3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) で塩基配列を決定した。

2.4 ハプロタイプの分類

シークエンスデータは BioEdit ver.7.2.5³⁾を用いて多重配列アライメントを行った。ハプロタイプの区分にあたっては単一塩基繰り返し配列中の挿入欠失は無視した。得られたハプロタイプの地理的分布を比較検討するとともに、塩基置換と複数塩基の挿入欠失をいずれも 1 イベントとしてハプロタイプネットワーク図を作成した (TCS ver.1.21¹¹⁾)。ネットワーク図において、ハプロタイプ間の仮想ハプロタイプあるいは多塩基の挿入欠失のイベント内容をもとに、種内でグルーピングが妥当と考えられる箇所を持つものについては、その区分を破線で示しアルファベット小文字で区別した。

2.5 地理的分布に対する人為的な移動影響の検討

各サンプリング地点を中心とする半径 100 m, 250 m, 500 m, 1,000 m 内の道路総延長および道路密度を算出し、全国平均より大きい値の場所を A 区分, 小さい値の場所を B 区分とした。A 区分は自動車等の往来が多く種子が自然散布距離を超えて移動する可能性が高い場所, B 区分は自動車等の往来が少なく植物が自然分布を保っているという条件をモデル化したものである。A 区分, B 区分のアレリックリッチネスをそれぞれ ARA, ARB としたとき、各種について地点のラベルを無作為に入れ替えて ARA-ARB を計算する操作を 999 回実施し、両者に差がない状態の帰無分布を得た。この分布と実際のデータから得られた ARA-ARB の値を比較

し、アレリックリッチネスに対する人為的な移動の影響の有無を検定した。

3. 結果

3.1 在来草本 10 種のハプロタイプと地理的分布

多型検出に用いた 5 組のプライマーセットは、合計で 3,297 ~ 3,709 bp の領域をカバーしており、いずれのプライマーでも 5 種以上で種内の多型を検出できた。ハプロタイプ分析の結果を表-2 に、その地理的分布およびハプロタイプネットワ

ーク図を図-1 に示す。ササガヤは多型を示さなかった。メヒシバ、チカラシバは、コモンハプロタイプ I が全国に分布し、1 塩基置換で区別され本州でわずかに確認されたハプロタイプ II も同じグループとみなされた。メヒシバは韓国の 1 個体を入手し比較したが国内とは全く異なるタイプであった。一方オヒシバは 5 つのハプロタイプに分かれたが、九州の 1 個体を除き韓国も含めて同じグループとなった。以上から、ササガヤ、メヒシバ、チカラシバ、オヒシバについては、国内における地理的な分化の傾向は認められなかった。カゼクサ、

表-2 在来草本 10 種の葉緑体 DNA 上 5 領域で検出された多型サイトおよびハプロタイプグループ

Table 2 Polymorphic sites in the aligned sequences of the five cpDNA regions and grouping of the haplotype of each plant species

種名(略称) ハプロタイプ	領域/ポジション 多型を示した塩基												サンプル 数(n)	グループ (G)	ハプロタイプ 多様度(H) ¹⁰	塩基多様度 (<i>n</i>) ¹⁰	備考:id(挿入欠失)の配列
チカラシバ (<i>P.a.</i>)	<i>trnG</i> 36																
I	A												33	a	0.1109	0.000030	
II	C												2	a	+/- 0.0696	+/- 0.000055	
メヒシバ (<i>D.c.</i>)	<i>trnC-petN</i>	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnT-trnL</i>				<i>rps16</i>									
I	606	759	624	324	8	257	261	292	508	281	288	686	45	a	0.1215	0.000553	* ¹ GATAA
II	C	id* ¹	G	G	G	T	-----	A	A	C	T	C	2	a	+/- 0.0632	+/- 0.000355	* ² CAAATGAAATTTCTA
III	T	-----	T	T	A	A	id* ²	G	G	T	C	T	1	b			ATTCTAATTCAAATT
オヒシバ (<i>E.i.</i>)	<i>trnL</i>	<i>trnT-trnL</i>				<i>rps16</i>											
I	515	313	450	725	764	781	370						34	a			* ³ TAGATAGAA
II	T	id* ³	-----	C	A	G	A						6	a	0.3901	0.000463	* ⁴ TTGTGTTTTTTTATTG
III	T	id* ³	-----	A	A	G	A						2	a	+/- 0.0863	+/- 0.000307	TT
IV	T	-----	-----	C	A	G	A						1	a			
V	G	id* ³	id* ⁴	C	C	A	A						1	b			
カゼクサ (<i>E.f.</i>)	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnT-trnL</i>														
I	259	297	87										29	a			* ⁵ AATTGAATAAAT
II	-----	A	G										6	b	0.4278	0.001422	
III	id* ⁵	A	T										3	b	+/- 0.0885	+/- 0.000791	
IV	-----	G	G										1	a			
トダシバ (<i>A.h.</i>)	<i>trnT-trnL</i>				<i>rps16</i>												
I	172	277	381	183									33	a			* ⁶ AAATAGGATTAGAAT
II	id* ⁶	G	G	A									4	b	0.3078	0.001921	ATGATTCTT
III	-----	G	G	G									1	a	+/- 0.0893	+/- 0.001022	
IV	id* ⁶	G	A	G									2	b			
ヤマアワ (<i>C.e.</i>)	<i>trnC-petN</i>	<i>trnT-trnL</i>	<i>rps16</i>														
I	238	225	456	526									27				* ⁷ AATTGAAAGAGTTTT
II	G	T	G	-----									4		0.5818	0.002096	
III	G	T	G	id* ⁷									4		+/- 0.0742	+/- 0.001108	
IV	A	T	G	id* ⁷									4				
V	G	A	G	-----									1				
チガヤ (<i>I.c.</i>)	<i>trnC-petN</i>	<i>trnL</i>	<i>trnT-trnL</i>				<i>rps16</i>										
I	480	576	636	107	282	33	395	461	614				20	a			* ⁸ GGTAAGTTAGGTAAA
II	A	id* ⁸	T	-----	T	G	-----	A	-----				6	b			AATAAACATG
III	A	id* ⁸	A	id* ⁹	T	G	id* ¹⁰	A	-----				6	c	0.7183	0.004216	* ⁹ GTTCT
IV	C	id* ⁸	T	id* ⁹	T	G	id* ¹⁰	C	-----				5	d	+/- 0.0597	+/- 0.002135	* ¹⁰ TTTT
V	A	-----	T	id* ⁹	G	T	id* ¹⁰	A	-----				2	b			* ¹¹ ATTAAGGATAGACTG
VI	A	id* ⁸	T	-----	T	G	id* ¹⁰	A	-----				1	a			ACAAAGTT
VII	A	id* ⁸	T	G	id* ¹⁰	A	id* ¹¹						1	c			
アンシボン (<i>M.v.</i>)	<i>trnC-petN</i>	<i>trnL</i>	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnT-trnL</i>												
I	206	369	378	485	565	685	12	180	195	234	296	27	550				* ¹² AATAAA
II	T	C	C	G	id* ¹²	G	T	A	T	T	A	G	A	8			
III	T	A	C	G	id* ¹²	G	T	A	T	T	A	G	A	1			
IV	G	A	T	T	id* ¹²	C	C	A	T	C	G	G	C	14	a		
V	T	A	C	G	-----	G	T	A	T	T	A	G	A	1		0.7399	0.001488
VI	T	A	C	G	id* ¹²	G	T	C	T	T	A	G	A	1		+/- 0.0566	+/- 0.000820
VII	T	C	C	G	id* ¹²	G	T	A	T	T	A	T	A	5			
VIII	T	C	C	G	id* ¹²	G	T	A	G	T	A	G	A	1			
VIII	G	A	C	T	id* ¹²	G	T	A	T	C	A	G	C	1	a		
ネコハギ (<i>L.p.</i>)	<i>trnC-petN</i>	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnT-trnL</i>				<i>rps16</i>									
I	118	336	397	615	334	152	229	417	462	483	678	751	853	875	323	567	* ¹³ TTTTTFAG
II	T	-----	T	A	-----	A	-----	A	-----	A	T	id* ¹⁷	A	C	-----	T	* ¹⁴ AAG
III	T	T	-----	T	A	-----	A	-----	A	-----	A	T	id* ¹⁷	A	C	-----	G
IV	T	T	-----	T	C	id* ¹⁴	-----	A	-----	A	T	id* ¹⁷	A	C	-----	T	* ¹⁵ TTCCATCTATTATC
V	A	C	-----	G	A	-----	id* ¹⁵	A	-----	A	T	-----	G	A	id* ¹⁸	T	AAAT
VI	T	T	-----	T	A	-----	A	-----	A	-----	A	T	id* ¹⁷	G	C	-----	* ¹⁶ ATTTGA
VII	T	T	-----	T	A	-----	A	-----	A	-----	A	A	id* ¹⁷	A	C	-----	* ¹⁷ AGAAT
VIII	T	T	-----	T	A	-----	A	-----	A	-----	C	T	id* ¹⁷	A	C	-----	* ¹⁸ TTTTGAATT
IX	T	T	id* ¹³	T	A	-----	A	-----	A	-----	A	T	id* ¹⁷	A	C	-----	
X	T	T	-----	T	A	-----	T	-----	A	-----	A	T	id* ¹⁷	A	C	-----

図-1 在来草本 10 種の葉緑体 DNA ハプロタイプの地理的分布およびハプロタイプネットワーク図 (国内で 3 ハプロタイプ以上確認された種を対象とし、ローマ数字はハプロタイプ、破線とアルファベット小文字はグループを示す。○は今回のサンプルに含まれないあるいは過去に失われた仮想ハプロタイプ、■は多塩基の挿入欠失があることを示す。種名下段は解析配列長)

Fig. 1 Geographical distributions and haplotype networks of cpDNA haplotypes of 10 native herbaceous plants (Roman numbers and superscript alphabetic small character shows haplotype and group, respectively.)

トダシバ、アシボソ、ヤマアワ、ネコハギでは、全国的に分布するハプロタイプ I と、地理的な偏りを示す複数のハプロタイプが確認された。カゼクサは、中部以西の太平洋側、トダシバは関東以西の日本海および太平洋両側にコモンハプロタイプ以外の複数のハプロタイプがあるが、それらは遺伝的に近くそれぞれグループ b にまとめられた。アシボソは、北関東以西で共通するⅢを中心としたグループ a が多数を占め、その他のタイプは明確なグループに分けられず各地に散在した。ヤマアワは、I 以外のタイプが主に日本海側に東北から九州まで広く分布するが、遺伝的な距離はいずれも近く明確なグループに分かれなかった。今回唯一ネ科以外で解析対象としたネコハギは、最も多くのハプロタイプが確認され、関東のみにみられるグループ a のほかは、ネットワーク図上で各ハプロタイプがそれぞれ派生的な位置づけを示し、明確な線が引きにくいことからグルーピングは行わなかったが、全国的に分布する I、東北中心のⅢとⅦ、山陰・日本海側のⅥ、Ⅸ、Ⅹ、九州中心のⅡ、Ⅳと地域的な特徴を示した。また、チガヤは、北関東以北に 2 つのハプロタイプからなるグループ b、関東以南に 5 つのハプロタイプからなる 3 つのグループを形成しており、両者は全く混在しておらず、既報と同様の結果を示した²²⁾。

3.2 地理的分布に対する人為的な移動影響

地理的な分布に偏りが見られた 6 種について、サンプリング地点を中心に半径 250 m 内の道路密度をもとに各地点を A 区分と B 区分に分け、区分間でアレリックリッチネスに差がないという仮定のもとに無作為化によって得られた ARA-ARB の分布および ARA-ARB の実測値を図-2 に示す。縦線

で示した ARA-ARB の実測値は無作為化によって得られた分布から大きく外れることなく、道路密度が多くても少なくともその地域のアレリックリッチネス度には差が見られないという結果を示した。なお、道路密度は幅員を考慮した値で長距離を移動する自動車等の往来を反映しやすいと考えられ、各サンプリング地点で A 区分と B 区分が比較的明確に二分できた 250 m の解析結果をここでは示したが、他の距離区分・指標による検定でも同様の結果となった。

4. 考察

本研究の結果、在来草本 10 種の種子の移動可能範囲の指標となる基礎的知見が得られた。ササガヤ、メヒシバ、チカラシバ、オヒシバについては、国内では地域性を区分する遺伝的差異は認められなかった。また、地域性に偏りが見られたその他 6 種においては、北関東以北でハプロタイプが単一となる種や異なる構成を示す種があり、少なくとも東北から北関東地域とそれ以南の地域間での種子の移動には注意する必要がある。

一方で、どの程度の遺伝的な違いで地域性を区分すべきかという点では議論の余地がある。例えば、オヒシバのグループ a はそれぞれ塩基置換あるいは挿入欠失 1 イベントの違いであるが、この変異が遺伝的に大きな意味を持つとみなせば、ハプロタイプ I のみの地域どうし以外は種子の調達範囲が限定されることになり、同一グループとして区別の必要がないとみなせば、ハプロタイプ V が存在する九州を除く全国各地から状態の良い種子が調達可能となる。既に地域性区分が示されている本本では、日本の地史と地理的分化の研究事例が多く報告されており^{4, 5, 12, 19, 23)}、草本の地史と地理的分化に同様の傾向が確認できれば、本本の知見を応用することで地域性区分の研究速度を速めることも期待できる。我々は今後、本本研究でレフュージアとされている地域を含めたサンプリング地点の拡充によって、本研究で言及できなかった地史的背景を考慮した地域性区分の検討を進める予定である。

さらに、本研究ではほとんどの種で全国に分布するコモンハプロタイプが確認されたが、草本と木本では生活史や分子進化速度が異なることに加え、人為的な種子の移動により自然分布が攪乱されている可能性が大きいこと、自然分布がどの程度保存されているかが保全の必要性を大きく左右することになる。本研究で地域差が認められなかった 4 種はいずれも世代交代の早い 1 年草で、人為的な拡散と相まって全国的に均一になった可能性もあるが、ササガヤと同属の 1 年草で生育環境も似ているアシボソは複雑なハプロタイプ分布を示しており、得られた分布が人為的攪乱を受けて構成されたものであるという傾向は見られなかった。そこでサンプリング地点の自動車等の往来の多少を指標として、往来が多い場所では他所からの持ち込みの可能性が高く、より多くのハプロタイプが存在するという仮説をたて、統計学的な検定を行ったが、道路総延長や道路密度の全国平均値による 2 区分では

図-2 半径 250 m 道路密度で区分した場合のアレリックリッチネス (ARA-ARB) の検定結果

Fig. 2 The result of bootstrap test of allelic richness (ARA-ARB) at road density in a rad. of 250 m

アレリックリッチネスで評価した遺伝的多様性に有意な差は検出できなかった。この解析精度を高めるためには、往來の多少と直接関係のある生育地周辺の交通量、長距離移動の要因として近隣で収穫される農作物や飼肥料への混入、より多くの地点とサンプル数での検定が必要であると考えている。このように、本結果の妥当性については一考の余地があるものの、これまでに自動車等近代の人為的な遺伝的攪乱要因と、植物の地理的な遺伝構造との関連性についての報告は確認できなかったことから、まずは本結果を足がかりとし、現在の分布が自然分布によるものとして、前述の地史的背景との関連性について今後検討を進めていきたい。

5. おわりに

ある植物について、現在の分布を保持することが、その種の遺伝的多様性の保持にどのくらいの意味をもつかという点は、地域性に配慮した緑化工事を推進する上で、時間、コストに関わる非常に大きな意味を持っている。環境に配慮した緑化を現実的に定着させていくためには、守るべきものはどの何なのかを明確に示すことが重要である。

引用文献

- Clement, M., Posada, D. and Crandall, K. A. (2000) TCS : a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9(10):1657-1660.
- 独立行政法人森林総合研究所 (2011) 第 2 期中期計画成果 20 安全・安心-11 広葉樹の種苗に関する遺伝的ガイドライン, 22 pp.
- Hall, T. A. (1999) BioEdit : a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95 / 98 / NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41:95-98.
- Iwasaki, T., Aoki, K. and Seo, A. (2006) Intraspecific sequence variation of chloroplast DNA among the component species of deciduous broad-leaved forests in Japan. *Journal of plant research*, 119:539-552.
- Iwasaki, T., Aoki, K., Seo, A. and Murakami, N. (2012) Comparative phylogeography of four component species of deciduous broad-leaved forests in Japan based in chloroplast DNA variation. *Journal of Plant Research*, 125:207-221.
- 環境省自然環境局国立公園課・国土交通省都市・地域整備局公園緑地課 (2008) 平成 19 年度地域性在来緑化植物の供給体制整備に関する検討業務委託調査報告書, http://www.mlit.go.jp/common/000030266_276.pdf (2014.2.2 参照) .
- 環境省自然環境局 (2014) 第 1 回自然公園における法面緑化指針策定検討会資料.
- 小林達明・倉本宣 (2006) 生物多様性緑化ハンドブック, 地人書館, 340 pp.
- 国土技術政策総合研究所 (2013) 国総研資料第 722 号 地域生態系に配慮したのり面緑化工の手引き, <http://www.nilim.go.jp/lab/bcg/siryou/tnn/tnn0722.htm> (2014.2.2 参照) .
- Nei, M. (1987) *Molecular evolutionary genetics*. 512 pp. Columbia University Press, New York.
- 日本緑化工学会 (2002) 生物多様性保全のための緑化植物の取り扱い方に関する提言, *日本緑化工学会誌*, 27(3) : 481-491.
- 大井哲雄 (2004) 葉緑体 DNA 多型からみる日本列島広域分布種の分布変遷, 小石川植物園講演会ニュースレター第 26 号, http://www.koishikawa.gr.jp/NLHP/NL26/NL26_5.html (2014.2.3 参照) .
- Ohsawa, T. and Ide, Y. (2011) Phylogeographic patterns of highland and lowland plant species in Japan. *Alpine Botany*, 121:49-61.
- 長田武正 (1989) *日本イネ科植物図譜*, 平凡社, pp.316-705.
- 佐竹義輔・大井次郎・北村四郎・亙理俊次・富成忠夫 (1982) *日本の野生植物 草本 II 離弁花類*, 平凡社, p.206.
- Scarcelli, N., Barnaud, A., Eiserhardt, W., Treier, U.A., Seveno, M., d'Anfray, A., Vigouroux, Y. and Pintaud, J.C. (2011) A set of 100 chloroplast DNA primer pairs to study population genetics and phylogeny in monocotyledons. *PLoS ONE*, 6(5):19954.
- Shimono, Y., Hayakawa, H., Kurokawa, S., Nishida, T., Ikeda, H. and Futagami, N. (2013) Phylogeography of mugwort (*Artemisia indica*), a native pioneer herb in Japan. *Journal of Heredity*, 104:830-841.
- Shimono, Y., Kurokawa, S., Nishida, T., Ikeda, H. and Futagami, N. (2013) Phylogeography based on intraspecific sequence variation in chloroplast DNA of *Miscanthus sinensis* (Poaceae), a native pioneer grass in Japan. *Botany*, 91:449-456.
- 種生物学会編 (2013) *系統地理学*, 文一総合出版社, 314 pp.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. and Bouvet, J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast. *Plant Molecular Biology*, 17:1105-1109.
- Wichmann, M. C., Alexander, M. J., Soons, M. B., Galsworthy, S., Dunne, L., Gould, R., Fairfax, C., Niggemann, M., Hails, R. S. and Bullock, M. (2009) Human mediated dispersal of seeds over long distances. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 276:523-532.
- 保田謙太郎・中山祐一郎・芝山秀次郎 (2003) 日本に分布するチガヤ (*Ipomoea cylindrica*) の葉緑体 DNA 変異, *雑草研究*, 48(別) : 168-169.
- 湯本貴和 (2005) 地域遺伝子資源研究の現状と地域性種苗のあり方, シンポジウム「地域遺伝子資源に配慮した一地域性種苗の諸問題」講演録, 森林再生支援センター, <http://www.crrn.net/sympo050723/yumoto.htm> (2014.2.3 参照) .

(2014.6.13 受理)