

タンポポ調査・近畿 2005 予備調査における雑種解析結果の途中結果

大阪市立大学 伊東 明・名波 哲

今回の予備調査では、以下の項目を主な目的に雑種に関する調査を実施しました。ここでは、2004年7月10日現在の分析状況とこれまでに得られた結果について、途中報告をします。なお、本報告は未だ途中段階の不完全なものですので、引用、転載等はご遠慮ください。

1. 森田竜義博士（新潟大）、芝池博幸博士（農業環境技術研究所）らの開発した、フローサイトメトリーとDNAマーカーによる雑種判定方法が、近畿のタンポポ調査でも有効であることを確認する。
2. 総ほう外片の反り返りの程度から雑種の割合を推定できるか？
3. 近畿の中でも地域によって雑種の割合は大きく違うのか？

これまでの分析状況

予備調査では、吹田市、堺市、大阪市（住吉区・東住吉区）の3地域の調査者の方々にご協力いただき、それぞれの地域から約100～200個体のセイヨウタンポポとアカミタンポポの葉と花茎を冷蔵宅配便で送ってもらいました。また、堺市の大泉緑地と兵庫県宍粟郡からもいくつかのサンプルを採取しました。

フローサイトメータによる分析は、すでに全てのサンプルについて完了しました。大阪市のサンプルについては、大阪市立大学理学部3回生の協力により、葉緑体DNA分析も完了できました。ただし、大阪市以外のサンプルについては、DNA解析が完了していませんので、この報告では、*雄核単為生殖雑種と雑種でないセイヨウタンポポの区別ができるいないことに気をつけてください。

*タンポポ雑種の種類と分析方法については、タンポポ調査近畿2005・大阪府実行委員会の講演資料（[タンポポ雑種の解析](http://www.nature.or.jp/shoko/Tampopo/Kinki_2005/KoenShiryo/index.htm)）をご参照ください。

これまでに得られた主な結果

既存のフローサイトメトリー法（芝池 2003、森田 2004）を用いて3つの雑種を識別できることが確かめられました。各個体から抽出した核に含まれるDNA相対量のピーク値は、個体によって明らかに異なっていました（図1）。

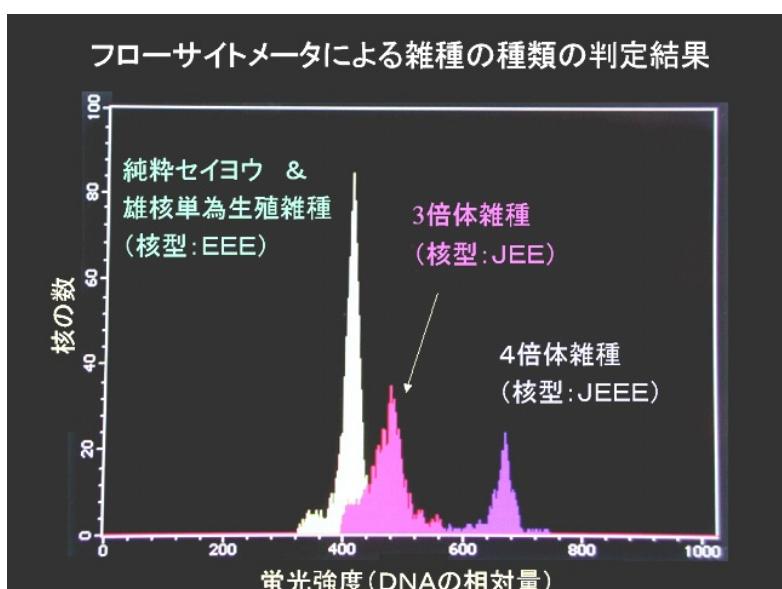


図1. 典型的な3個体から得られた核ひとつづつに含まれるDNA相対量の頻度分布。色の違いは個体の違いを示す。それぞれの個体のピーク値は明らかに異なっている。予想される各個体の核型をグラフ中に示した。

また、サンプル全体のピーク値の頻度分布も3つのグループに分けられました（図2）。DNA量の最も小さなグループと中間のグループの境界は空白ではありませんでしたが、ほぼ全てのサンプルを「純粋あるいは雄核単為生殖雑種」、「3倍体雑種」、「4倍体雑種」と予測されるグループに分類することが可能であることが確かめられました。また、セイヨウタンポポとアカミタンポポによる違いはほとんどなく、どちらの種に対しても同じ様に利用できそうでした。

なお、葉よりも花茎をサンプルに用いる方が、種や花の形態のチェックができる点とサンプルが長持ちする点から、特に多人数での調査では、花茎をサンプルとして使う方が良いようです。

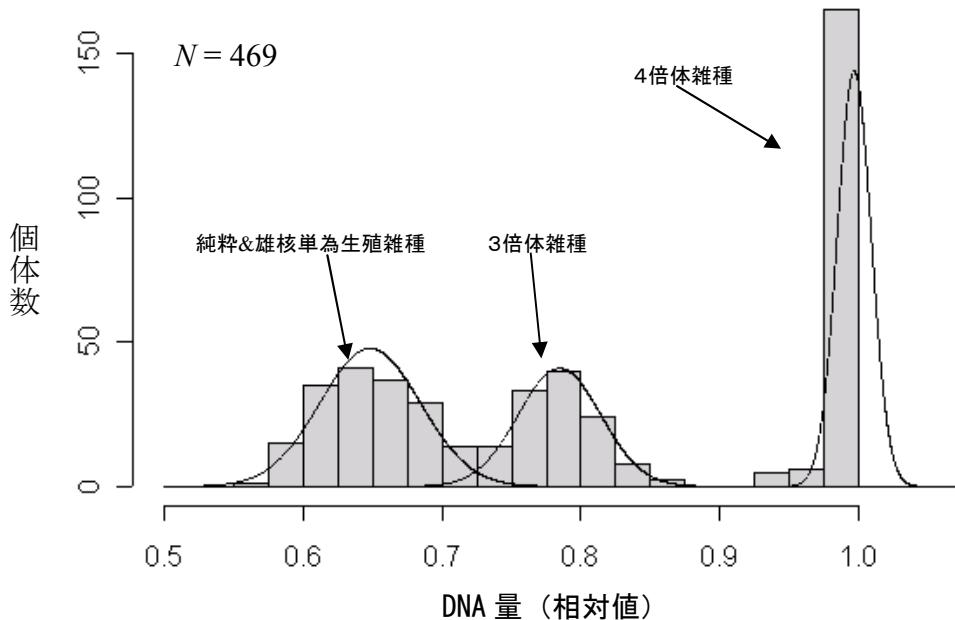


図2. 大阪のセイヨウタンポポ・アカミタンポポ 469 個体のフローサトメトリー結果

既存の葉緑体DNAによる雑種の判定（芝池 2003、森田 2004、Shibaike *et al.* 2002）も大阪市（住吉区・東住吉区）から得られたサンプルで有効であることが確かめられました（図3）。

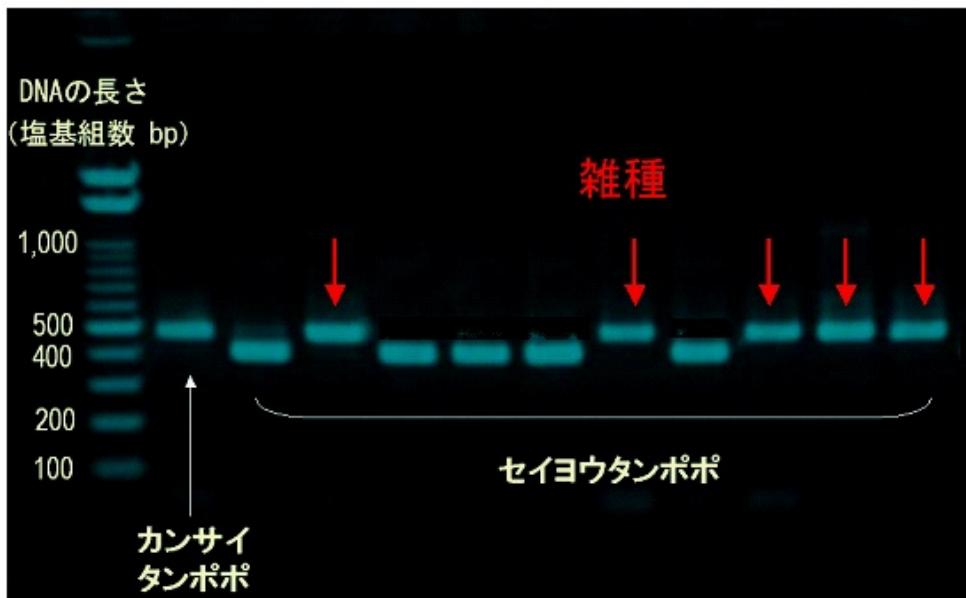


図3. 大阪市のカンサイタンポポとセイヨウタンポポ 11 個体の葉緑体 DNA の *trn* 領域の塩基対数。セイヨウタンポポ（10 個体）のうち、カンサイタンポポ（一番左側）と同じ大きな DNA を持つものが雑種と考えられる。

次に、総ほう外片の反り返りの程度と雑種の比率の関係について見てみました。吹田市、堺市、大阪市のサンプルをあわせて見たところ、森田先生らがカントウタンボボとセイヨウタンボボとの雑種で指摘されているように、見かけはセイヨウタンボボでも総ほう外片の反り返りが小さいもの(タイプ1やタイプ2)ほど雑種の割合が大きい傾向があることが確かめられました(図4)。つまり、総ほう外片がほとんど反り返らないセイヨウタンボボは、ほとんどが雑種であると見てよさそうです。また、堺市のサンプルで4倍体雑種と判定されたものは、すべて花粉がほとんど無い個体でした(木村進さんからの情報)。関東では、4倍体雑種は花粉をほとんどつくらないとの報告もあり、近畿でもその可能性が示唆されました。しかし、花粉がほとんど無かったサンプルには、4倍体以外のものもあり、4倍体以外が全て花粉をつくるとは言えそうにありません。

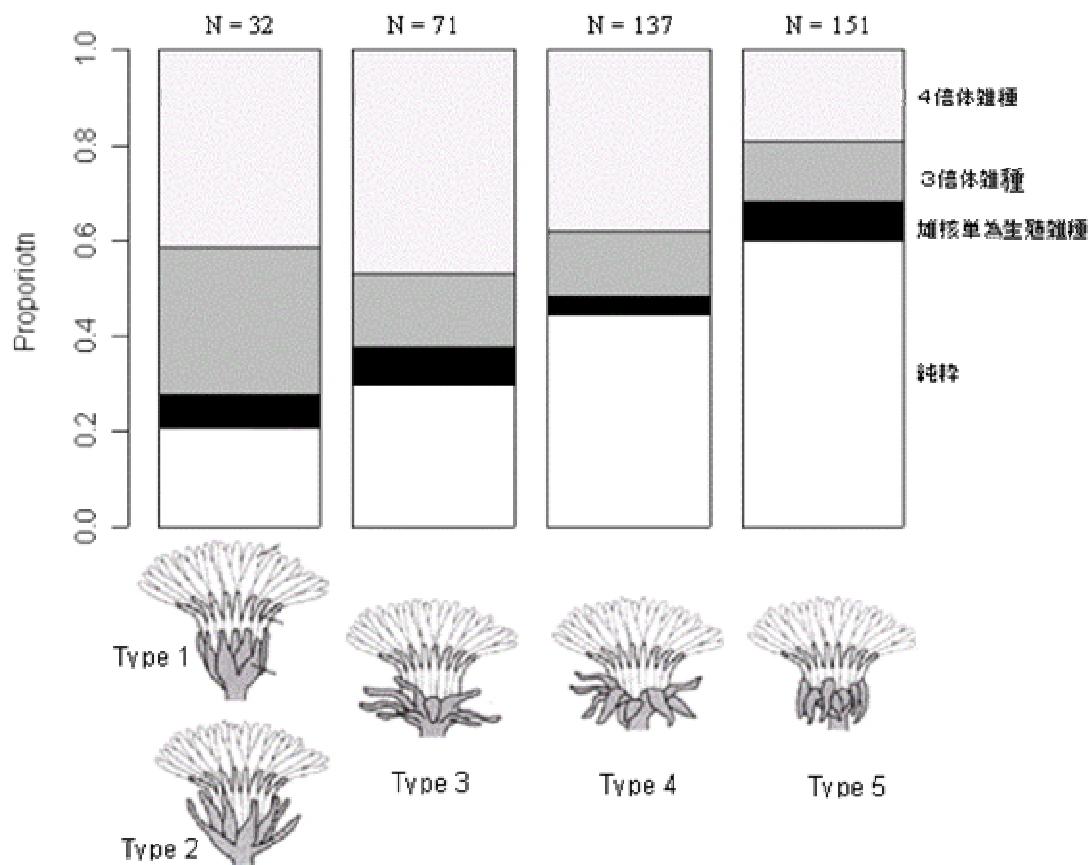


図4. 総ほう外片の反り返り程度の異なるセイヨウタンボボの雑種比率
(吹田、堺、大阪の全データをプールして集計した)

*吹田市と堺市のサンプルについては、DNA分析が未完ですので、雄核単為生殖雑種の割合は、実際にはもっと大きくなると予想されます。

この結果は、総ほう外片の反り返りの程度を使って雑種比率をある程度推定することができる事を示しているように思えます。しかし、吹田市、堺市、大阪市(住吉区・東住吉区)のそれぞれの地域について、図4と各地域の総ほう外片タイプの割合を使って計算した雑種比率は、実際の雑種比率とはずいぶん違ってしまいました(表1)。

表1. 3つの地域における雑種比率の推定値と実際の値

地 域	雑種の割合(雄核単為生殖雑種を除く)	
	総ほう外片タイプから計算した値	フローサイトメトリーによる実際の値
吹田市	54.9%	69.6%
堺市	58.4%	70.1%
大阪市	52.0%	43.9%

雑種比率の大小の順番は合っていますが、実際の雑種比率が大きい吹田市と堺市では、過少な値が推定されています。逆に、実際の雑種比率の小さい大阪市では、過大な推定値になっています。これは、なぜでしょうか？

それぞれの地域のサンプルをもう少し詳しく見てみると、総ほう外片の反り返りが同じでも、地域によって雑種の割合が大きく異なっていることがわかりました（図5）。大阪市は、どのタイプでも吹田市や堺市よりも、雑種の割合がずっと低くなっています。堺市と吹田市については、雄核単為生殖雑種が含まれていませんので、実際には大阪市との差は更に大きくなると思われます。つまり見た目が同じセイヨウタンポポでも、大阪市の方が雑種である可能性が小さいのです。一方、総ほう外片タイプの割合の3地域間での違いは、それほど大きくありませんでした（図6）。どの地域でもタイプ1やタイプ2の個体の数は少なく、ほとんどがタイプ4とタイプ5の個体です。このため、総ほう外片タイプの割合の違いより、同じタイプでの雑種比率の違いの方が、それぞれの地域の雑種比率を大きく左右することになってしまっていたのです。

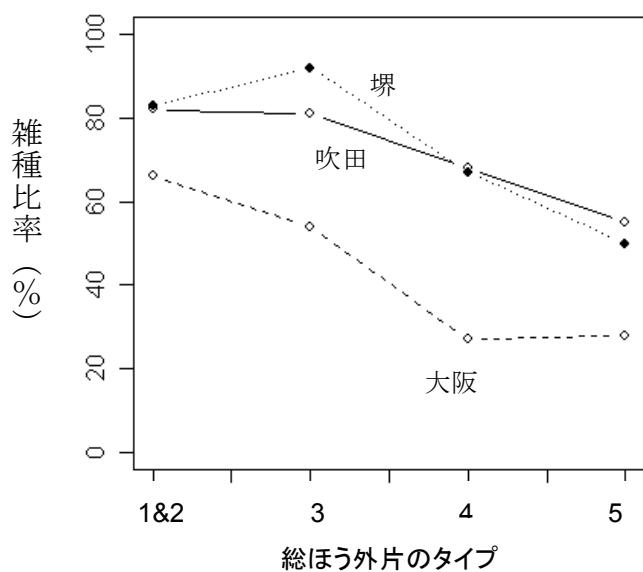


図5. 吹田市、堺市、大阪市(住吉区・東住吉区)それぞれでの外総苞片の反り返り程度と雑種比率の関係。吹田、堺の雑種比率には雄核単為生殖雑種は含まれない。総ほう外片のタイプについては図4を参照。

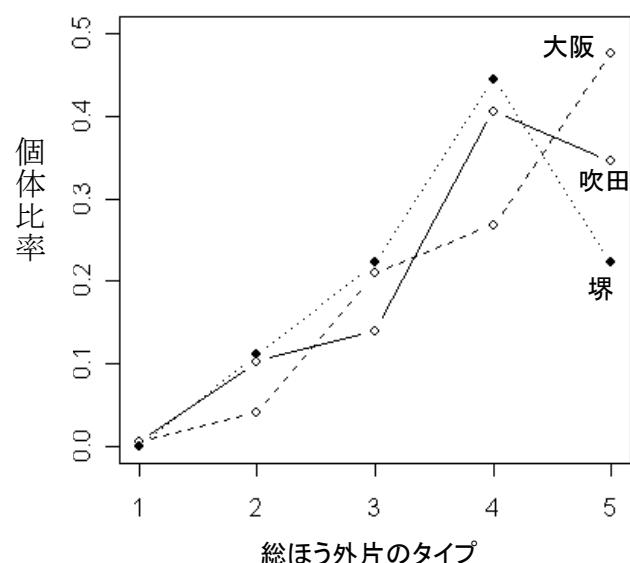


図6. 吹田市、堺市、大阪市(住吉区・東住吉区)それぞれでの総ほう外片の反り返り程度の分布。総ほう外片のタイプについては図4を参照。

これから課題

これまでの結果から、タンポポ調査で送ってもらった生のサンプルから雑種判定をすることが技術的に可能であることが確かめられました。

今後は、まず、DNA分析が終わっていない、吹田市と堺市のサンプルについてDNA分析を行い、雄核単為生殖雑種を確定する必要があります。

さらに、タンポポ調査で送付してもらった瘦果から苗を育て、それを材料にして雑種解析を行う手順を確立する必要があります。これによって、より多くの地域のサンプルについての雑種分析が可能になります。

これまでの結果から、総ほう外片の反り返り具合が同じであっても、堺市や吹田市のサンプルに比べて大阪市南部のサンプルの雑種比率が著しく小さいという、地域差が見られました。しかし、堺市と吹田市のデータは類似しており、大阪市南部だけが特殊なのかもしれません。そこで、こうした地域差が近畿全体でどの程度あるのかを更に調べておく必要があります。今後、より多くの地域のサンプルについて雑種分析を行わなくてはならないでしょう。瘦果から育てた苗による分析方法が確立できたら、予備調査で送られたきた瘦果を利用して、地域ごとの雑種分析を進めたいと考えています。

各地域で、図5のような雑種比率と総ほう外片タイプとの関係を表す基準がわかれれば、来年の本調査で得られる地域別の総ほう外片タイプの情報から、地域の雑種比率をかなりの精度で推定できるものと期待しています。