

# 霧ヶ峰におけるイタドリ緑化導入個体による 地域個体群の遺伝的影響の分析

生物多様性緑化研究会

小林 達明<sup>1)</sup>・清水 かおり<sup>1)</sup>・上原 浩一<sup>1)</sup>

## Conservation of regional population of *Polygonum cuspidatum* in Kirigamine highland and influence of import plant for tree-planting

Research Group of Conservation Ecology for tree planting

Tatsuaki Kobayashi, Kaori Shimizu and Koichi Uehara

霧ヶ峰高原は古くから景勝地として知られる。本研究は霧ヶ峰高原において自生するイタドリの地域個体群と道路工事などに伴う緑化事業により外部より導入された個体との関係性を分子マーカーを用いて明らかにした。現在、著者らは国内各地でイタドリの調査を行っており、国内の遺伝的重要単位地図の作成を目指している。国内のイタドリの種内変異、地域性系統の中で霧ヶ峰のイタドリがどのような位置にあるのか解明を試みた。霧ヶ峰地区の自然地域周辺と自動車道路沿いなどで調査とサンプリングを行い、そのうち12地点の個体からDNAを抽出した。あわせて関東各県と新潟、岐阜、石川、富山、高知で採集した個体からもDNAを抽出し、葉緑体DNAの*rbcL*~*accD*領域、核DNAのITS領域のダイレクトシーケンスを行い系統樹を構築した。解析の結果、霧ヶ峰のイタドリは10ヶ所は単系統となったが、霧ヶ峰に隣接する諏訪市の人里地区の1ヶ所と、踊場湿原入り口の自動車道路沿いの個体は系統が異なっており、他地域から持ち込まれたものである可能性が示された。

### 1. はじめに

緑化事業は地球環境や地域環境の改善に重要な役割を担っている。しかし緑化により人為的に導入、植栽された植物はその地域に生きる在来の個体群に様々な影響を及ぼし、自然を守るはずだった緑化という行為が在来の生態系にダメージを与え自然を脅かしている例が報告されている。緑化事業の当初は外来種が使用され、侵略的外来種として生態系に大きな悪影響を与えた。1970年代からは生態系への影響に配慮し在来種が用いられるようになったが、それらも種内変異により地域ごとに独特の遺伝的形質を持つものも多く、そうした地域個体群が持つ独自の遺伝的特徴が他地域に由来する個体や栽培個体を用いた緑化事業により失われる可能性が

指摘された。

イタドリは日本と周辺のアジア地域に分布する大型多年生草本で、雌雄異株であり、昆虫によって広範囲で受粉し、翼のついた種子は風によって散布される。染色体数は $2n = 4x, 8x = 44, 88$ であることが報告されている (Beerling *et al.* 1994)。雌雄株どちらも繁殖力が強く (Iwata *et al.* 2006)、地下茎を伸ばして急速に生長し、群落を形成する (Wymer *et al.* 2007)。地下茎は横に15~20mまでに生長し (Locandro 1973、Conolly 1977)、茎の断片が0.7gほどあれば新しい植物体を形成できるといわれている (Brock and Wade 1992)。また、様々な生育環境に適応可能なことから、崩壊地のような不安定な土壌条件下における先駆植物とされている (Shiosaka and

1) 千葉大学大学院園芸学研究科：千葉県松戸市松戸648

Shibata 1993)。また、部分的に硫黄酸化物に抵抗する機能を持ち(Natori and Totsuka 1984)、大気が硫黄酸化物に汚染された草地における優占種のひとつで(Yosioka 1974)、日本では火山の溶岩地帯に早くから侵入するパイオニア植物でもある。

イタドリは種内変異に富み、いくつかの外部形態の変異が認められる(Makino 1961、Kitamura and Murata 1963、Kitagawa 1982)。例えば、高山帯に生育するイタドリは低地帯のものとは著しく異なり矮生型をしており(オノエイタドリ: Shiosaka and Shibata 1993)、北陸や東北に生育しているものは、葉の表面に毛のような突起がある(ケイタドリ: Inamura *et al.* 2000)。そのほかにも花色が赤いベニイタドリ、伊豆七島に見られるハチジョウイタドリなどの地域性系統が知られる。また、近縁種として本州日本海側と北海道に分布するオオイタドリが知られ、両種の雑種も存在する。イタドリは国内では在来種の緑化植物として、道路工事等で出来た裸地に人為的に導入・植栽されたが、現在ではそのことが、イタドリの地域個体群の特性を失わせる原因として問題視されている。

近年、生物多様性の保全は種レベルより小さい、地域個体群の遺伝情報を重視したESU (Evolutionary Significant Unit: 進化的重要単位) に基づいた遺伝子レベルの多様性の保全対策が必要になってきた。たとえ同種の植物を国内他地域から移植する場合であっても、移植される植物の遺伝的背景が異なる場合、交配により在来植物の地域的遺伝的特徴を失わせる結果となることが危惧される。

その一方でイタドリは、園芸植物として19世紀の英国に導入されて以来、現在はヨーロッパ各地、北米、オセアニアにまで分布を広げ、きわめて悪質な侵略的外来種と認識されている。

本研究では八ヶ岳中信高原国定公園中央に位置する霧ヶ峰高原において自生するイタドリの地域個体群と道路工事などに伴う緑化事業により外部より導入された個体との関係性を分子マーカーを用いて明らかにする。現在、著者らは国内各地でイタドリ・オオイタドリの調査を行っており、国内の遺伝的重要単位地図の作成を目指している。国内の

イタドリの種内変異、地域性系統の中で霧ヶ峰のイタドリがどのような位置にあるのかを明らかにしたい。

霧ヶ峰高原は古くから景勝地として知られ昭和14年に国指定天然記念物に指定されるなど環境保護が意識されつつもスキー場・道路建設など開発も行われ、一部にイタチハギなど外来種の定着も認められる。

当地においてイタドリは草原や湿地植生の構成要素として重要な役割を果たしているが、緑化により導入されたイタドリは地域個体群と同種であるため容易に交配可能であり、外来個体群の遺伝的影響が危惧される。本研究ではイタドリの地域性系統、緑化導入個体、交配が起こった集団を遺伝的に識別し、地域個体群への影響を明らかにすることを目的とする。

## 2. 材料と方法

2008年10月、2009年7月に霧ヶ峰において現地調査を行い霧ヶ峰高原に近接する諏訪湖周辺の市街地から、霧ヶ峰高原の中心である八ヶ島湿原周辺まで生育するイタドリ個体群の詳細な調査・サンプリングを行い、外部形態観察用のさく葉標本、葉の一部をDNAサンプル用に採集した。生態的特性の調査も同時に行った。霧ヶ峰高原では自動車道路沿いから八ヶ島原湿原、車山湿原周辺の自然地域まで21地点でサンプリングを行った(図1)。霧ヶ峰以外の地域では、共同研究者や研究協力者の協力を得て、これまでに25都県44地域から100以上のサンプルを得ているが、関東、中部、北陸のサンプルを中心にDNA抽出を行い、比較解析に用いた。

これらの各地点で採集したサンプルのうち各1~2個体の葉を、Micro Smash™ MS-100(TOMY)で粉碎後、BioSprint15 (QIAGEN)、QuiqkGene S (FUJIFILM)、DNeasy Plant Mini Kit(QIAGEN)を用いてDNA抽出を行った。

サンプリングにより得られたイタドリの葉からDNAを抽出し、各集団から葉緑体DNAの*rbcL*~*accD* 遺伝子間領域、核DNAのITS領域をダイレクトシーケンスにより塩基配列を解析した。

DNA塩基配列の解析はABI PRISM 3100 Genetic Analyzer(Applied Biosystems)を用い、得られたサンプルの塩基配列データは、AutoAssembler (Applied Biosystems)を用いてアッセンブルし、コンセンサスシーケンスデータを作成した。このデータを用い、GENETYX-WIN Version 4.0.2を使用してアライメントを行い、その後、PAUP\*4.0bを用いてMP法(最節約法)による系統樹を構築した。また、ブートストラップ法による統計学的検定も行った。

### 3. 結果

#### (1) 葉緑体DNA

葉緑体DNAについては関東及び中部地方、伊豆大島、高知県の13地点から、各1個体ずつの計13サンプルを用い、*rbcL*~*accD*領域のダイレクトシーケンスを行い約1,400bp中の1,334bpの塩基配列を確定した。これをアライメントすると共に比較解析し、17ヶ所に変異を見いだした。そこで、得られた配列

をPAUP\*4.0bを用いて最節約法系統樹を構築した(図2)。外群には塩基配列データベースから*P. weyrichii*を用いた。

#### (2) 核DNA

関東及び中部地方(万座、谷川岳、須坂、甲府、日光、松戸、君津、江ノ島、富士山)、伊豆大島、北陸地方(長岡、富山、石川)、東海地方(岐阜)、高知県四万十の18地点から、各1~2個体ずつの計29サンプル、および霧ヶ峰地区の12地点(19個体)のサンプルを用い、核DNAのITS領域のダイレクトシーケンスを行った。約700bp中の560bpの塩基配列を用いてアライメントすると共に比較解析し、36ヶ所に変異を見いだした(図3)。得られた配列をPAUP\*4.0bを用いて近隣結合法(核DNA系統樹1:図4)および最節約法系統樹を構築した(核DNA系統樹2:図5)。外群には塩基配列データベースから*P. aviculare*を用いた。また、調査サンプリング時に採集したオオイタドリ(万座d)も解析に加えた。



図1 霧ヶ峰のイタドリ採集地点  
霧ヶ峰付近のイタドリ採集地点を示す

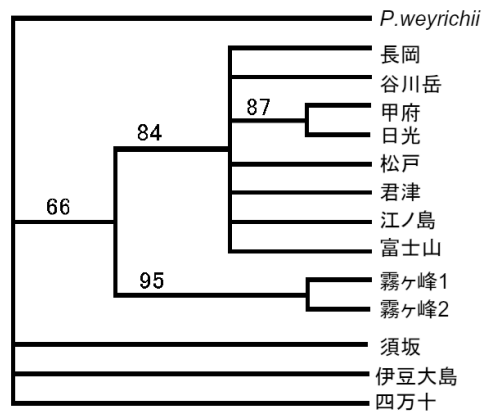


図2 葉緑体DNA系統樹(再節約法)  
再節約法による葉緑体DNAの*rbcL*-*accD*領域を用いた分子系統樹

#### 4. 考察

##### (1) 葉緑体DNAの系統解析

葉緑体DNAの最節約法系統樹では、大きく2つのクレードi、iiに分かれた(図2)。クレードiは、新潟県長岡と関東周辺の個体群で構成され、ブートストラップ値は84%であった。クレードiiは霧ヶ峰の個体で構成され、ブートストラップ値は95%であった。

伊豆大島と高知県四万十は核DNAの解析結果と同様に明確に分類できなかった。また、長野県北部須坂も主なクレードから外れ、単独で系統樹の基部から分枝した。この結果は、Inamuraら(2000)の先行研究において、長野県小県郡の個体群のみが周辺地域の系統から外れた結果と一致している。

この葉緑体DNAの解析結果では、長岡市と関東周辺に分布する系統と霧ヶ峰高原に分布する系統が存在することが判明した。また、この結果はInamuraら(2000)の先行研究結果とほぼ一致し、さらにその結果に関東地域の個体群の系統を加えることができた。

##### (2) 核DNAの系統解析

核DNA系統樹1(図4)では、大きく2つのクレードI、IIに分かれた。クレードIは、新潟県長岡と長野県須坂、富山、石川で構成され、ブートストラップ値は100%であった。クレードIIは霧ヶ峰～富士山の長野県中部から関東地域周辺の個体群で構成され、ブートストラップ値は57%の支持であった。

核DNA系統樹2(図5)では、系統樹の信頼性が低く核DNA系統樹1のクレードIIが不明瞭になり、クレードIも含まれた。しかし、核DNA系統樹1でクレードIとなった新潟県長岡、長野県須坂、富山、石川の北陸日本海側地域で構成されるクレードが認められた、ブートストラップ値は、核DNA系統樹2では99%であった。そのほか、霧ヶ峰を含む関東地域周辺、伊豆大島、岐阜、高知県四万十はその分岐の信頼性が低く不十分で箒状となった。

高山地域、富士山のサンプルは低地サンプルの葉形とは異なり矮生型であった。このため、富士山は、低地サンプルとは分子系統的に区別されると推測した。しかしながら、本研究ではその系統に明確な

特徴を示すことは出来なかった。このことから、富士山の特徴的な葉形は、単に森林限界という特殊な生育環境に適応するために分化した生態型ではないかと考えられる。

今回の核DNAの系統解析では、長野県の中部から群馬県の谷川岳を境として北陸日本海側のイタダリの系統が一つのクレードにまとまることが判明した。しかし、分岐の信頼性は低く箒状になり、詳細な分類には至らなかった。

##### (3) 核DNAと葉緑体DNAの解析結果の比較

葉緑体DNAの系統樹(図2)と核DNAの系統樹(図4、5)を比較すると、図2で別なクレードに属している新潟県長岡と須坂が、図4、5では同じクレードを構成しており、核DNAと葉緑体DNAの系統樹における長岡の位置が異なっている。このようになった原因として、葉緑体遺伝子の浸透の可能性が考えられた。

葉緑体遺伝子の浸透は、同じ種であるが系統の異なる2つの個体の交雑により生じた種内雑種が、両親と同系統の個体との戻し交雑を繰り返していくことで、片方の系統の葉緑体遺伝子が、一方の系統の個体に入り込んでしまう現象である(綿野 2001)。葉緑体遺伝子は母性遺伝のため、系統の異なる父親(花粉親)と母親(胚珠親)が交配することで母親の葉緑体遺伝子が入り込んでしまう遺伝子浸透が起こる事が知られている。

このことから、今回の結果について考えると、長岡は、須坂と単系統であったが関東周辺の個体群との交配により、関東周辺の個体群の葉緑体遺伝子が浸透したと推測できる。しかし、現段階では解析集団や解析領域が少なく、また核遺伝子の浸透や水平伝播などの他の原因も考えられるため、原因については断言できない。サンプル数や解析領域を増やし、詳細な系統分布を把握することで明確にできるだろう。また、霧ヶ峰も図3では関東周辺とクレードを構成していたが、図2では関東周辺とは別のクレードを構成しており、核DNAと葉緑体DNAの系統樹における位置が異なっている。この原因についても、前述の長岡と同様に葉緑体遺伝子の浸透が考えられる。

(4) 霧ヶ峰のイタドリ

霧ヶ峰のイタドリは近隣結合法系統樹(図4)では霧ヶ峰b、d、g、h、k、q、sが単系統となり、霧ヶ峰aと霧ヶ峰m、t、霧ヶ峰i、霧ヶ峰oが別の系統となった。また、再節約法(図5)では霧ヶ峰b、d、g、h、k、m、o、q、s、tが単系統となったが霧ヶ峰aと霧ヶ峰iが別の系統となった。このうち霧ヶ峰m、tは自然地域にあり、比較的近い群馬県の万座と同じ系統になり地理的に近いため、遺伝的に近い系統が自然地域に分布している可能性が示唆された。霧ヶ峰oも自然地域であった。これらは再節約法系統樹(図5)では単系統となった。霧ヶ峰aと霧ヶ峰iは近隣結合法系統樹(図4)、再節約法系統樹(図5)でともに同じ結果が得られている。霧ヶ峰aは諏訪市から霧ヶ峰高原に上る市街地道路沿いにあり、人里地域であることと、霧ヶ峰地区から離れているため異なる系統になったと考えられた。自動車道路沿いで、人為的に造成された法面で生育していたため、造成の土に種子が入っていたか、あるいは緑化により他地域から種子が持ち込まれた可能性もある。一方、霧ヶ

峰iは伊豆大島の個体と同じクレードになった。これは踊場湿原入り口の自動車道路近くに位置しており、これも、緑化事業あるいは通行する自動車などに付着した種子がこの地域で発芽育成した可能性が考えられた。伊豆大島の個体と単系統になったことから、関東南部、伊豆地方から種子が持ち込まれた可能性が考えられた。いずれにしろ、系統樹の分枝が不明瞭であり、霧ヶ峰地域内の自生個体の変異である可能性も残されている。今後、解析塩基数を増やし、より正確で詳細な系統樹を作成し、検討する必要があると考えられた。

霧ヶ峰のイタドリは、今回解析した個体については地域内の大部分で単系統となり地域個体群であると考えられたが、自然地域の地域性系統にもいくつか変異があることがわかった。周辺部(霧ヶ峰a)と地域内の自動車道路沿いに(霧ヶ峰i)異なる系統の個体が認められた。特に霧ヶ峰i個体は踊場湿原の保護地域に隣接しており今後より詳細な生態遺伝学的調査、遺伝的解析と、対応が求められるものと考えられた。

	38	58	63	67	69-76	105	158	184	203	209	372	401	411	413	429	434	437	442	446	452	477	480	484	500	504	510-514	515	518	525	538	541	543	551
長岡-c	A	C	C	T	CTCCGCGG	A	T	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	A	A	T	G	A	G	G	A	TCGGG	T	T	C	C	-	C	T
谷川岳	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
万座-a	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	G	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T	
万座-c	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	G	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T	
万座-d	G	C	C	G	-----	A	C	G	C	G	A	T	T	G	C	G	C	G	C	G	C	G	A	A	G	-----	C	C	C	A	G	-	C
須坂	A	C	C	T	CTCCGCGG	A	T	A	T	A	A	T	G	C	T	G	T	A	A	T	G	A	G	G	A	TCGGG	T	C	C	C	-	C	T
霧ヶ峰-a	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	A	T	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T	
霧ヶ峰-b	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
霧ヶ峰-g	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
霧ヶ峰-h	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
霧ヶ峰-i	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	C	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	A	C	-	C	T
霧ヶ峰-k	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
霧ヶ峰-m	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T	
霧ヶ峰-o	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	A	C	-	C	T
霧ヶ峰-q	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
霧ヶ峰-s	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
霧ヶ峰-t	A	C	C	G	CTCCGCGG	G	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	G	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T	
日光	A	C	T	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
甲府	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	A	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	A	C	-	C	T
松戸	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
君津	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
江ノ島	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
伊豆大島	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	C	G	C	T	G	T	G	G	T	G	A	G	G	A	TCGGG	C	C	A	C	-	C	T
富山	A	C	C	T	CTCCGCGG	A	T	A	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	A	T	G	A	G	G	A	TCGGG	T	C	C	C	-	C	T
石川	A	C	C	T	CTCCGCGG	A	T	A	T	A	T	T	G	C	T	G	T	G	A	T	G	A	G	G	A	TCGGG	T	C	C	C	-	C	T
岐阜	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
富士山-a	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
富士山-c	A	T	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	T	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T
四万十-a	A	C	C	G	CTCCGCGG	A	C	G	T	A	A	T	G	C	T	G	T	G	G	T	G	A	G	G	A	TCGGG	C	C	C	C	-	C	T

図3 核 DNA ITS 領域の変異

核 DNA の ITS 領域に認められる変異

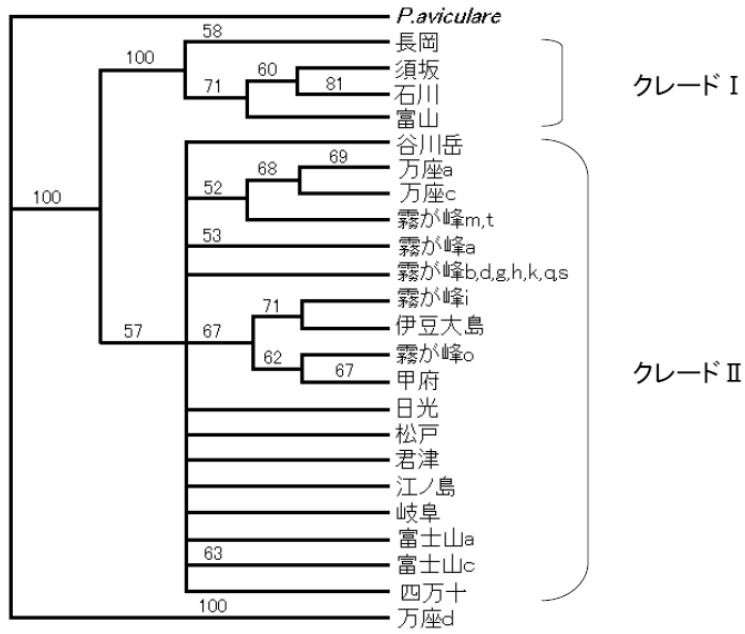


図4 核DNA系統樹1(近隣結合法)  
近隣結合法による核DNAのITS領域を用いた分子系統樹

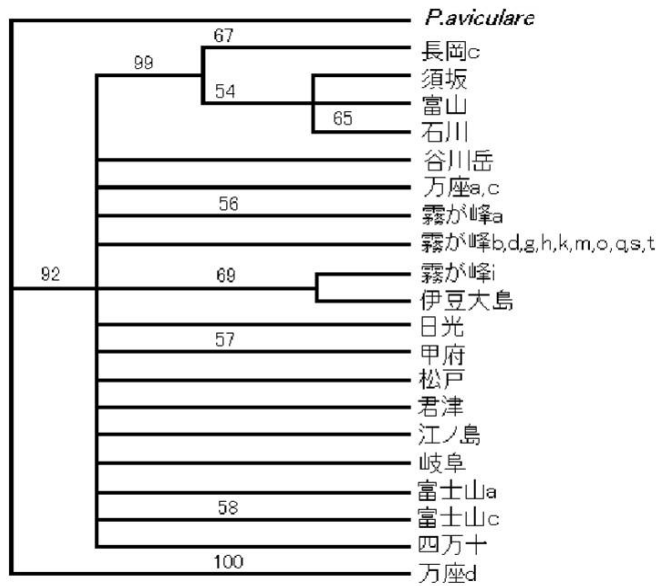


図5 核DNA系統樹2(再節約法)  
再節約法による核DNAのITS領域を用いた分子系統樹

## 5. 今後の展望

本研究では、確定できた核DNAの塩基配列がまだ短く系統樹の信頼性が低かった。今後他の領域のシークエンスを行い、データ量を増やしていく必要がある。それと平行し、国内全域のイタドリの遺伝的解析を行うことで、イタドリの進化的重要単位 (ESU) の地域的区分が確立し、イタドリの地域性系統の保全、人為的に導入され定着したイタドリ個体の識別と、その起源の推定、地域性系統との交配の実態が明らかになるものと考えられる。

## 文献

- Beerling D.J., Bailey J.P. and Conolly A.P. 1994. *Fallopia japonica* (Houtt.) Ronse Decraene (*Reynoutria japonica* Houtt.; *Polygonum cuspidatum* Sieb. and Zucc.). *J.Ecol.*, 82: 959-979.
- Brock J. H. and Wade R. M. 1992. Regeneration of Japanese knotweed (*Fallopia japonica*) from rhizomes and stems; observations from greenhouse trials. *Proceedings 9th International Symposium on the Biology of Weeds*: pp.85-94, Dijon, France.
- Conolly A. P. 1977. The distribution and history in the British Isles of some alien species of *Polygonum* and *Reynoutria*. *Watsonia*, 11: 291-311.
- Inamura A., Ohashi Y., Sato E., Yoda Y., Masuzawa T., Ito M. and Yoshinaga K. 2000. Intraspecific sequence variation of chloroplast DNA reflecting variety and geographical distribution of *Polygonum cuspidatum* (Polygonaceae) in Japan. *J.Plant Res.*, 113: 419-426.
- Iwata H., Kamijo T. and Tsumura T. 2006. Assessment of generic diversity of native species in Izu Islands for a discriminate choice of source populations: Implications for revegetation of volcanically devastated sites. *Conservation Genetics*, 7: 399-413.
- Kitagawa M. 1982. Polygonaceae. In Y.Satake, J.Ohwi, S.Kitamura, S.Watari T.Tomonari, eds., *Wild Flowers of Japan, Herbaceous Plants (Including Dwarf Subshrubs)*, Heibonsha Ltd., Tokyo (in Japanese): pp.14-26.
- Kitamura S. and Murata G. 1963. *Colored Illustrations of Herbaceous Plant of Japan*. Hoikusha, Tokyo (in Japanese).
- Locandro L. L. 1973. *Reproduction ecology of Polygonum cuspidatum*. Ph.D. thesis. Rutgers University, Newark, NJ.
- Makino T. 1961. *Makino's New Illustrated Flora of Japan*, Hokuryukan, Tokyo (in Japanese).
- Natori T. and Totsuka T. 1984. An evaluation of high resistance in *Polygonum cuspidatum* to sulphur dioxide (SO<sub>2</sub>). *Jpn. J. Ecol.*, 34: 153-159.
- Shiosaka H. and Shibata O. 1993. Morphological changes in *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. reciprocally transplanted among different altitudes. *Jpn. J. Ecol.*, 43: 31-37.
- 綿野泰行. 2001. 種を越えた遺伝子の流れ: ハイマツ-キタゴヨウ間におけるオルガネラDNAの遺伝子浸透, 種生物学会編, 森の分子生態学~遺伝子が語る森林のすがた~, 文一総合出版: 111-138.
- Wymer C. L., Gardner J., Steinberger Z. and Peyton D. K. 2007. *Polygonum cuspidatum* (Polygonaceae) genetic diversity in a small region of Eastern Kentucky. *J. Ky. Acad. Sci.*, 68(1): 89-95.
- Yoshioka K. 1974. Volcanic vegetation. In: *The Flora and Vegetation of Japan* (eds. Numata M.): pp.237-267. Kodansha, Tokyo.

Kirigamine highland is known from of old as scenic sites. This research clarified the relations of two with a molecular marker. This research clarified the relations of the regional population of *Polygonum cuspidatum* that grows naturally in Kirigamine highland and individual introduced from the outside by greenery business according to road works, with a molecular marker. Authors investigate conservation biology of *P.cuspidatum* in various places. Authors are aiming at making map of Evolutionarily Significant Unit of *P.cuspidatum* in Japan. We try to clarified that the phylogeny of *P.cuspidatum* in Kirigamine highland. We investigated the surrounding of a natural region, and along the motoring road of Kirigamine highland, and DNA has been extracted from the individual of 12 points. DNA is additionally extracted from the individual collected with each prefecture in Kanto, and Niigata, Gifu, Ishikawa, Toyama, and Kochi. We constructed phylogenetic tree using *rbcL-accD* region of chloroplast DNA, and ITS region of nuclear DNA. As a result of the analysis, ten places of *P. cuspidatum* in Kirigamine highland became a monophyletic group. As for the individual along the motoring road of the village district in Suwa City that is adjacent to Kirigamine highland and Odoriba marshland entrance, are different. It was possibility that it was the one that had been brought in from another region.