

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2019

課題番号：15K14592

研究課題名（和文）拮抗する自然選択による集団内の遺伝的多様性維持：一見不適応な花形態は何を物語るか

研究課題名（英文）Understanding apparently maladaptive floral morphology as genetic diversity maintained through balancing selection

研究代表者

土畑 さやか（中川さやか）（Nakagawa, Sayaka）

京都大学・農学研究科・研究員

研究者番号：00750621

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：一回繁殖型とされてきたヤマジノギク種群（含ツツザキヤマジノギク）・近縁種カワラノギクにおいて、開花株の花茎基部に形成されたロゼット葉（開花株ロゼット）を見出した。これを介した多回繁殖および攪乱環境への適応の可能性を明らかにするために、開花株ロゼットの頻度調査・集団間比較、多回繁殖の有無の検証を行った。結果、攪乱環境に生育する集団で開花株ロゼットを介した多回繁殖が実際に生じていることが判明した。

また、ヤマジノギク種群・近縁種の遺伝的関係を明らかにするために、ddRAD-seq法によって得られたSNPsを用いて集団遺伝学的解析を行った。結果、従来の形態分類と遺伝的近縁さは一致しないことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヤマジノギク種群・カワラノギクは繁殖回数進化のよいモデルとなる可能性を示すとともに開花株ロゼットが保全上も重要な生活史上のステージであることを示した。

また、ヤマジノギク種群・近縁種は、日本固有分類群を含み、河原や蛇紋岩地、岩場や海岸といった多様な環境に適応している。本研究では、ツツザキヤマジノギクの近縁分類群との遺伝的関係が明らかになっただけでなく、ヤマジノギク種群・近縁種の生態的種分化研究や保全生態学研究の材料としての基盤を築くことができた。

研究成果の概要（英文）：Aster hispidus species complex and *A. kantoensis* have been considered biennial and semelparous. However, I had found aerial rosettes at the base of the flowering stems (hereafter referred to as post-flowering rosettes) in some of those taxa, which suggested the potential for iteroparity. I hypothesized that the post-flowering rosettes are adaptive in disturbed environments where most of the study species are distributed. Individual tracking and between-population comparison, I revealed that the post-flowering rosettes indeed contributed to reproduction in the next generation, and that the post-flowering rosettes were more frequently observed in disturbed habitats (e.g., floodplain and serpentine area).

Moreover, we performed population genetic analyses using SNPs obtained by ddRAD-seq method to reveal genetic relationships among *A. hispidus* species complex and related species. The results showed that traditional morphological classification is not consistent with genetic relatedness.

研究分野：多様性生物学

キーワード：集団内変異 集団間変異 四倍体 二年生草本 生活史 ロゼット

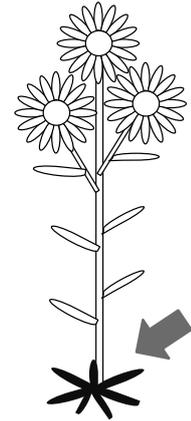
様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

生物を取り巻く環境は生物的環境・非生物的環境ともに多様であり、それが多様な自然選択圧となって地球上の生物多様性創出・維持の原動力となっている。代表者は、集団内に顕著な花形態変異が存在するツツザキヤマジノギク *Aster hispidus* var. *tubulosus*（以後「ツツザキ」と略）に着目し研究を行なっている（図上、Nakagawa & Ito 2013）。ツツザキは、長野県天竜川中流域にのみ固有に分布する（Shimizu 1997, 1998）。代表者のこれまでの研究により、集団内の花形態変異のうち、図上 A タイプ（以後、筒咲き個体）は図上 B タイプ（キク科通常型）より送粉者誘引の点では適応度上不利であるものの、河川敷の明るい環境で相対的に頻度が高いというパターンが見いだされている。



研究の途上で、ツツザキ集団において開花株の花茎基部に形成されたロゼット葉*（以後、開花株ロゼット：図下矢印）を発見した。ツツザキは二年生草本とされ、通常開花個体は晩秋に一回繁殖した後は枯死するとされてきた。しかし、開花株ロゼットは花茎が折れた場合や繁殖に失敗した場合に翌年の繁殖を保障するものとなるため、開花株ロゼット形成が花形態変異と相関するならば、一見不適応と考えられる筒咲き個体の適応度上昇への影響も期待された。この開花株ロゼットが攪乱を受けやすい河原環境への適応的な形質であるかどうか理解するためには、同様の形質がツツザキを含むヤマジノギク種群**内変種においても見られるかを明らかにすることが重要であると考えられた。



*ロゼット葉：地表に密着して越冬する葉

**ヤマジノギク種群 (*A. hispidus*)：キク科シオン属の分類群で、ツツザキを含めて 5 変種からなる。これらのうち、東アジアの草地に広域分布するヤマジノギク var. *hispidus* 以外の 4 変種は日本固有であり、河原、蛇紋岩地、海岸の岩場・砂浜といった多様な環境に適応しており、表現型も多様である。

2. 研究の目的

本研究では上述の背景を踏まえて、下記二つの研究を行なった。

(1) 二年生草本（一回繁殖型）の開花株ロゼットを介した多回繁殖

ツツザキにおいて開花株ロゼットが攪乱を受けやすい河原環境への適応的な形質であるかどうか理解するために、生育環境が異なるヤマジノギク種群内 3 変種（ツツザキ、ヤマジノギク（生育環境：草原・河原）、ヤナギノギク var. *leptocladus*（蛇紋岩地））および同属近縁種カワラノギク *A. kantoensis*（河原）を対象に、① 開花株ロゼット頻度と生育環境の相関の有無、② 開花株ロゼットを介した多回繁殖の有無、③ 多回繁殖を考慮した推移行列モデル、を明らかにすることを目的とした。

(2) ヤマジノギク種群および近縁種の遺伝的関係

ツツザキは形態的特徴からヤマジノギク種群とされているものの、ヤマジノギク種群間および同属近縁種との関係は明らかになっていない。また、代表者は三重県の河原に生育するヤマジノギク集団においても長野県ツツザキと類似の花形態変異を確認しており、この三重“筒咲き”ヤマジノギク集団と長野ツツザキ集団の遺伝的関係に特に着目した。この両集団は約 200km 隔離されているが、河原環境に生育するという共通点があり、花形態が攪乱環境適応の何らかの反映である可能性があるためである。本研究では、ツツザキの起源や花形態の攪乱環境適応との関連

を明らかにするために、ヤマジノギク種群 5 変種、さらに類似の形態・生育環境をもつ近縁種カワラノギク、ハマベノギク *A. arenarius* をも含めて、遺伝的関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 二年生草本（一回繁殖型）の開花株ロゼットを介した多回繁殖

① 開花株ロゼット頻度と生育環境の相関の有無

開花株ロゼット形成頻度の集団間変異から、多回繁殖の適応的意義を明らかにできると考えた。ツツザキは河原環境に生育しており、ヤマジノギク種群の他変種とは生育環境が異なる。このことから、開花株ロゼットは河原という攪乱環境に特有の形質であると予想し、二年生草本ヤマジノギク種群のヤマジノギク（生育環境：草地）、ツツザキ（河原）、ヤナギノギク（蛇紋岩地）と近縁種カワラノギク（河原）を材料に、各集団の開花株ロゼット頻度と生育環境の相関の有無を調べた。

② 開花株ロゼットを介した多回繁殖の検証

これは一回繁殖型の二年生草本であるヤマジノギク種群に多回繁殖の可能性を与える形質であり、開花株ロゼットが実際に翌年の繁殖に寄与しているかを確認する必要がある。①の頻度調査により、開花株ロゼット形成率が比較的高かったカワラノギク・ツツザキヤマジノギクを対象にした追跡調査を行った。

③ 多回繁殖を考慮した推移行列モデル

開花株ロゼットを形成することによる多回繁殖は、種子を介した翌年の繁殖と比較して、集団の増殖率にどのように貢献するだろうか。生活史の中にこの多回繁殖を考慮した推移行列モデルを作成し、解析的にパラメーターの感度分析を行った。

(2) ヤマジノギク種群および近縁種の遺伝的関係

本研究では、ヤマジノギク種群（ツツザキ、ヤマジノギク、ヤナギノギク、ソナレノギク var. *insularis*、ブゼンノギク var. *koidzumianus*）に加えて、類似の形態・生育環境をもつ同属近縁種カワラノギク、ハマベノギク *A. arenarius* を材料とし、日本・韓国の 19 集団・計 95 個体からゲノム DNA を抽出し、ddRAD-seq 法によって塩基配列を得た。TASSEL 3.0 UNEAK pipeline(Lu *et al.*2013)を用いて、2718 SNPs を取得した。さらに、当該材料が全て四倍体であることから、各遺伝子座のアリル構成を特定する(例えば AABB と AAAB の識別)ために、R パッケージ polyRAD (Clark *et al.* 2019) を用いた。得られたデータセットを用いて集団遺伝学的解析を行った。

4. 研究成果

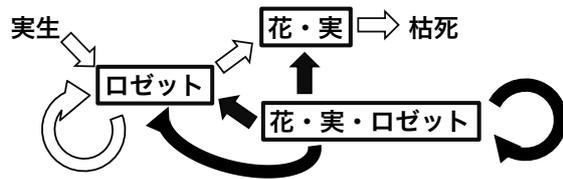
(1) 二年生草本（一回繁殖型）の開花株ロゼットを介した多回繁殖

① 開花株ロゼット頻度と生育環境の相関の有無の調査

ヤマジノギク種群のヤマジノギク、ツツザキ、ヤナギノギクと、近縁種カワラノギクにおいて、開花株ロゼットの存在が明らかになった。2016~2018 年に上記分類群の計 9 集団を調査した結果、開花株ロゼットを持つ開花個体の割合に 0%~25%の間で集団間変異が見出され、草原環境で低く、河原や蛇紋岩地において高い傾向がみられた。ツツザキにおいて、個体の花形態と開花株ロゼット形成確率との間には相関が見出されなかった。

② 開花株ロゼットを介した多回繁殖の検証

集団内の開花株ロゼット形成率が比較的高かったカワラノギク・ツツザキを対象に、2016年秋の開花期から追跡調査を行った結果、カワラノギクは48%、ツツザキは31%が2017年翌春まで生存した。2017年の晩秋・開花期に、ツツザキの開花株ロゼットは生育地の冠水の影響により追跡できなかったが、カワラノギクの開花株ロゼットは「開花・結実」、「開花・結実+ロゼット形成」、「ロゼットのまま」を示した。これらの結果から、開花株ロゼットを介した多回繁殖が実際に行われていること、集団内の多様な生活史（図、黒矢印が本研究で明らかになった経路、白抜き矢印は既知の経路）が明らかになった。



③ 多回繁殖を考慮した推移行列モデル

生活史の中にこの多回繁殖を考慮した推移行列モデルを作成し、解析的にパラメーターの感度分析を行ったところ、開花株が開花株ロゼットを介して翌年も繁殖する確率の変化は、開花株の種子を介してロゼットになる確率の変化よりも集団の増殖率に対して大きな影響を及ぼすことがわかった。これは、種子から開花に至るまでの生存率が低いことに起因する。

これらの結果は、ヤマジノギク種群・カワラノギクが、開花株ロゼットを介した多回繁殖を行っていることを示した。さらに、当該分類群が繁殖回数進化のよいモデルとなる可能性を示すとともに開花株ロゼットが保全上も重要な生活史上のステージであることを示している。

(2) ヤマジノギク種群および近縁種の遺伝的關係

これまでツツザキは、河川敷に生育することや、変異の中に等長の冠毛***を含むことなど形態的に酷似していることから、関東河川敷に生育する近縁種カワラノギクとされるなど区別が曖昧であった。本研究により、ツツザキとカワラノギクは遺伝的に区別できることが明らかとなった。長野・ツツザキ集団および三重・筒咲きヤマジノギク集団が系統的に独立であるとは明確には示されなかった。愛知・高知のヤナギノギクはそれぞれ異なる遺伝的クラスターに所属した。これは Yokoo *et al.* (2009) を支持する結果である。さらに愛知のヤナギノギクは、むしろ関東に生育する別種カワラノギクと遺伝的に近いことが示された。ハマベノギクにおいても2つの遺伝的クラスターがあることが示された。

これらの結果は、従来の形態分類と遺伝的な近縁さは一致しないことを示すものであった。

***等長の冠毛：キク科シオン属は、小さな花である舌状花（周辺部の花）と筒状花（中心部の花）の集合した花序（頭状花序）を持つ。カワラノギクは冠毛長が舌状花と筒状花で長く等しいという特徴を持つのに対し、ヤマジノギク種群は冠毛長が舌状花は短く筒状花は長いという特徴（異冠毛）を持つ。

<引用文献>

Nakagawa S., Ito M., (2014) "Variation in floral morphology within a population of *Aster hispidus* var. *tubulosus*." (Asteraceae, Astereae)." *Plant Species Biology*. 29(3):287-293. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12027>

Shimizu T. (1997) *Flora of Nagano Prefecture*. Shinanomainichi Press, Nagano. (In Japanese.).

Shimizu T. (1998) New names proposed in "Flora of Nagano Prefecture" published in December 1997. *The*

Journal of Phy- togeography and Taxonomy 46: 113–116.

Clark LV, Lipka AE and Sacks EJ (2019) “polyRAD: Genotype Calling with Uncertainty from Sequencing Data in Polyploids and Diploids” *G3* (Bethesda). 2019 Mar; 9(3): 663–673.

Lu F, Lipka AE, Elshire RJ, Glaubitz JC, Cherney J, *et al.* (2013) “Switchgrass genomic diversity, ploidy and evolution: novel insights from a network-based SNP discovery protocol.” *PLoS Genet* 9: e1003215.

Yokoo, T., Kobayashi, S., Oginuma, K., Fujikawa, K., Mitsui, Y., Ikeda, H., & Setoguchi, H. (2009).

“Genetic structure among and within populations of the serpentine endemic *Heteropappus hispidus* ssp. *leptocladus* (Compositae).” *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(4), 275-284.

<https://doi.org/10.1016/j.bse.2009.04.012>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中川 さやか、土畑重人、井鷲裕司、伊藤元己
2. 発表標題 カワラノギク・ヤマジノギク種群における開花株ロゼット を介した部分的多回繁殖
3. 学会等名 種生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎 皆実、中川 さやか、副島 顕子
2. 発表標題 遺伝解析・形態解析によるヤマジノギク群の分類学的検討
3. 学会等名 日本植物分類学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川 さやか、土畑重人、井鷲裕司、伊藤元己
2. 発表標題 二年生草本カワラノギク・ヤマジノギク種群の開花株ロゼット(続報)
3. 学会等名 日本植物分類学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川 さやか、土畑重人、井鷲裕司、伊藤元己
2. 発表標題 カワラノギク・ヤマジノギク種群における開花株ロゼットを介した多回繁殖
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川さやか, 土畑重人, 井鷲裕司, 伊藤元己
2. 発表標題 二年生草本カワラノギク・ツツザキヤマジノギク開花株ロゼットの追跡
3. 学会等名 日本植物分類学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎皆実, 中川さやか, 副島顕子
2. 発表標題 キク科シオン属ヤマジノギク群の遺伝解析と形態解析による分類学的検討
3. 学会等名 日本植物分類学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川さやか, 土畑重人, 井鷲裕司, 伊藤元己
2. 発表標題 キク科シオン属二年生草本におけるロゼットを持つ開花個体と生育環境
3. 学会等名 日本植物分類学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中川さやか, 土畑重人, 井鷲裕司, 伊藤元己
2. 発表標題 攪乱地適応か? ツツザキヤマジノギク・カワラノギク開花個体のロゼット
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中川さやか、土畑重人、山崎皆実、阪口翔太、倉田正観、伊東拓朗、永野惇、瀬戸口浩彰、井鷲裕司、副島顕子、伊藤元己
2. 発表標題 多様な環境に適応したキク科ヤマジノギク種群および近縁種の遺伝的關係
3. 学会等名 日本植物分類学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	伊藤 元己 (Ito Motomi)		
研究協力者	井鷲 祐司 (Isagi Yuji)		
研究協力者	土畑 重人 (Dobata Shigeto)		