

平成 22 年 6 月 15 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20770012

研究課題名（和文） 多様な立地環境に適応した高山植物のエコタイプ分化の起源

研究課題名（英文） The origin of ecotype differentiation in an alpine plant to adapt heterogeneous environments.

研究代表者

平尾 章 (HIRAO AKIRA)

信州大学・山岳科学総合研究所・研究員

研究者番号：20447048

研究成果の概要（和文）：エコタイプとは同じ種に属しながら、異なる環境に適応して遺伝的分化を遂げたもののことであり、生物多様性を生み出す供給源となる。高山植物ミヤマキンバイでは、風衝地と雪田という対照的な立地環境に適応したエコタイプの分化が、複数の山岳地域で多発的に生じていることが明らかになった。「天空の島々」のように互いに隔離されながらも平行進化的にエコタイプ分化が生じているミヤマキンバイは、生物多様性の創出メカニズムを研究する上で有用なモデル系となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Conspecific organisms are frequently comprised ecotypes, which are genetically differentiated to adapt contrasting environments. The alpine plant, *Potentilla matsumurae*, includes the two most different ecotypes from fellfield and snowbed environments. This study shows that the ecotype differentiation of *P. matsumurae* multiply occurred across several mountains in the Japanese archipelago. The parallel ecological divergence across the mountain sky islands is a model system to reveal initiative source for biodiversity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生態・環境

キーワード：系統地理、エコタイプ、高山生態系、立地環境、遺伝分化

1. 研究開始当初の背景

高山生態系は、厳しい気候条件に加えて、氷期・間氷期の気候変動という地史的影響を強く受けていること、多様で微細な立地環境

で構成される、という特徴をもつ。異なる立地がもたらす環境ストレスの違いは、生物にとって選択圧として働くため、多様なハビタットに生育する生物ではエコタイプの分化が生じることがある。日本の高山帯は世界的

にも稀な強風と多雪によって、風衝地と雪田という対照的な立地環境が成立するが、高山植物であるミヤマキンバイ (*Potentilla matsumurae* Th. Wolf) では、これらの異なるハビタットに適応して風衝地型と雪田型のエコタイプに遺伝的分化していることが明らかになっている。古気候学や古環境学の知見によると、日本列島の積雪環境が最終氷期以降に大きく変化していることが示されており、現在の風衝地と雪田環境の成立年代は異なると考えられる。したがってミヤマキンバイのエコタイプの分化年代や分布パターンに地史的背景が反映されていると可能性がある。高山生態系は、地球環境変化に最も脆弱な生態系であるといわれている。立地環境に起因する自然淘汰の地史の変遷に関する知見を得ることは、今後の地球環境の変化に対する生物の応答を考える上でも大きな意義がある。

2. 研究の目的

異なる立地環境に適応した高山植物ミヤマキンバイのエコタイプの起源と分布パターンを明らかにするために、次の3つの項目について研究を行った。

(1) エコタイプの分布

文献調査によると、ミヤマキンバイは北海道から東北・本州中部まで広く分布するが、雪田植生での分布は北海道および本州中部地方の日本海側のみで記録が限られていた。網羅的な現地調査を行うことで、2つのエコタイプの分布パターンの確認を行った。

(2) 共通圃場実験による表現型の変異

野外で見られる表現型の差異が遺伝的変異を含んでいるかどうかを明らかにするために、同じ環境で栽培したエコタイプの表現型を測定する。またエコタイプ間の交雑性を明らかにするために交配実験を行った。野外条件下では開花フェノロジーの異相による交配前隔離が生じているが、栽培株を用いた受粉実験によって、受粉後の交配障壁を検証し、生物学的な種分化の有無を検証する。

(3) エコタイプの遺伝的分化の起源

天空の島々のような山岳地域に飛び石状に隔離分布しているミヤマキンバイが、いつ、どのようにして異なる立地環境に適応してエコタイプ分化したのかを明らかにするために以下の2つの仮説をDNA解析によって検証する。

- ① 複数の地域で、風衝地型と雪田型の分化が多発的に生じた。
- ② 風衝地型と雪田型の分化起源は古く、別々に分布を広げた。

分子マーカーとしては、葉緑体 DNA と核 DNA の多型性を組み合わせて解析し、1 遺伝子に基づいた系統解析がもたらす進化史解釈の不完全性に留意した。

3. 研究の方法

(1) エコタイプの分布

ミヤマキンバイの分布域全域（北海道から東北、本州中部）において、対象種が認められた立地環境のタイプ（風衝地または雪田）と群落構成種を記録し、草丈、葉サイズ、花茎数などの形態を測定した

(2) 共通圃場実験

5 山岳地域（大雪山、羊蹄山、幌尻岳、槍ヶ岳、木曾駒ヶ岳）の風衝地と雪田からミヤマキンバイの種子を採取し、2 週間の冷湿処理後の種子を 25°C のインキュベーターで発芽させた。その後、ポットに移植した株を長野県松本市の圃場（標高：600m）にて生育させた。葉サイズなどの表現型は1年目の秋に測定した。また2年目には花芽をつけた株を対象に開花フェノロジーを記録した。また同型エコタイプおよび異型エコタイプの間で受粉実験を行った。

(3) エコタイプの遺伝的分化の起源

各山岳地域の風衝地と雪田から採取した葉サンプルから DNA を抽出し、葉緑体 DNA および核 DNA の遺伝的多型に基づいて、系統地理学的な解析を行った。

葉緑体 DNA については、*trnT-trnL* 領域および *rpl20-rps12* 領域の約 1500bp の塩基配列を決定し、ハプロタイプを検出した。分析したサンプルは 20 山岳地域 280 個体である。プログラム MrBayes を用いてベイズ法に基づいた系統樹を作成し、ハプロタイプの系統関係を推定した。外群にはウラジロキンバイ (*Potentilla nivea* L.) を用いた。またプログラム TCS を用いて最節約法に基づいたハプロタイプ・ネットワークを作成した。

核 DNA については、Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) を用いて、遺伝的多型を検出した。選択的増幅には 6 プライマーセットを使用した。分析したサンプルは 6 山岳地域の 11 集団から合わせて 287 個体である。集団間の系統関係の解析には、あらかじめゲノム・スキャンによって非中立的な挙動を示す遺伝子座を取り除くようにし、Nei の遺伝距離に基づいて無根の NJ 系統樹を作成した。ゲノム・スキャンについては、プログラム Dfdist(Beaumont & Balding, 2004) を用いて、対象の 11 集団を組み合わせた全 55 ペア集団について実施した。

4. 研究成果

(1) エコタイプの分布

風衝地型は、ミヤマキンバイの分布域全域で認められたのに対して、雪田型は北海道と本州中部の日本海側の山岳に限られていることが確認された(図1)。雪田型が分布する山岳の風衝地にはミヤマキンバイが認められた。東北地方の日本海側では飯豊山や月山、八甲田山などにおいて雪田植生が認められるが、雪田環境にミヤマキンバイは認められなかった。例外的に鳥海山では、山頂直下の千蛇谷雪渓跡地にミヤマキンバイが分布することが明らかになった(図2)。



図1 ミヤマキンバイのハビタットと分布

- : 風衝地だけに分布
- : 風衝地と雪田の両方に分布



図2 鳥海山千蛇谷雪渓(上)に生育するミヤマキンバイ(下)

(2) 共通圃場実験

5つの山岳地域から採取したミヤマキンバイの種子を共通圃場で生育させた結果、どの山岳地域に由来しても、雪田型は風衝地型に比べて葉サイズが大きくなった(図3)。共通圃場内における表現型の差異は、遺伝的に異なるエコタイプの存在を示す。また同一エコタイプであって葉のサイズ分布は山岳地域間で異なっており、自然淘汰圧の地域間差異を反映していると考えられる。

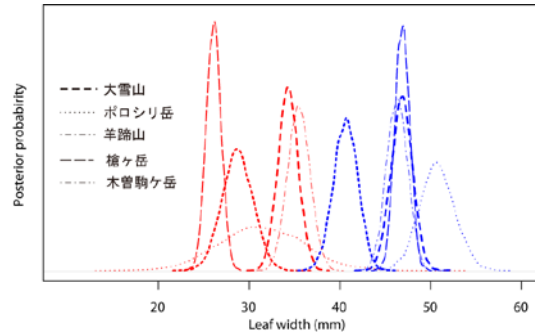


図3 風衝地型(赤)と雪田型(青)の葉サイズ分布

開花パターンをエコタイプ間で比較したところ、雪田型は風衝地型よりも開花開始のタイミングが早い傾向を示した。また開花期間は雪田型で短めであったのに対して、風衝地型では長くなる傾向を示した。

エコタイプ間の交雑性を明らかにするために交配実験を行った結果、種子が稔実することが確認された。雑種一代目以降の繁殖成功については今後の課題である。

(3) エコタイプの遺伝的分化の起源

葉緑体DNAからは全部で25のハプロタイプが検出された。同じ山岳地域の風衝地と雪田からは共通するハプロタイプが検出されたが、雪田に特有のハプロタイプは1つの例外を除いて認められなかった。ハプロタイプの系統関係を推定すると、エコタイプの違いに関わらず、本州中部系統と北方(北海道・東北)系統に大別されることがベイズ系統樹の信用確率から支持された。これは本州中部系統と北方系統では独立してエコタイプ分化が生じたことを意味する。

また風衝地で検出されたハプロタイプは変異に富むのに対して、雪田特有のハプロタイプはほとんど存在しないこと、雪田型はメジャーなハプロタイプにしか生じていないこと、ある山岳地域の雪田で見つかったハプロタイプは同じ山岳地域の風衝地にも存在するというパターンが認められた(図4)。これらのパターンは、風衝地型から雪田型への

分化の方向性を示唆する。

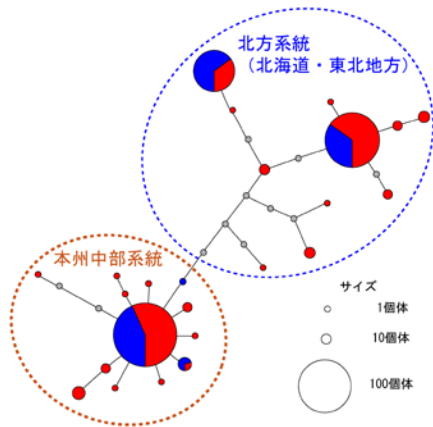


図4 ハプロタイプ・ネットワーク図
 ●：風衝地で検出されたハプロタイプ
 ●：雪田で検出されたハプロタイプ

核DNAのAFLP解析からは537の多型的遺伝子座が検出された。ゲノム・スキャン法によって非中立的な挙動を示す遺伝子座を取り除き、各山岳地域のエコタイプ集団間の系統関係を推定した結果、葉緑体DNAの結果と同様に、本州中部系統と北方系統の2大系統が支持された(図5)。さらに本州中部

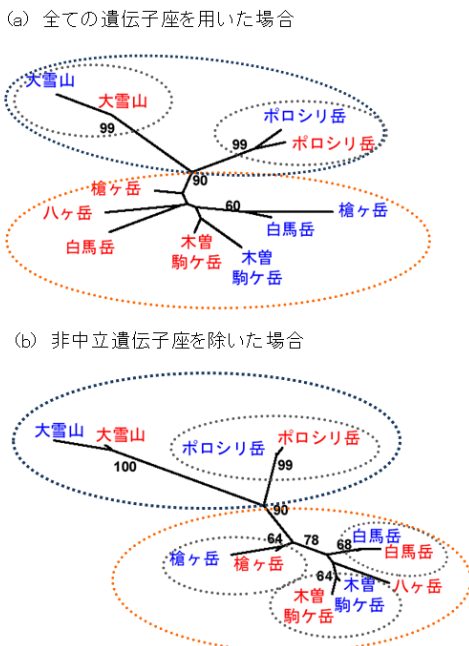


図5 AFLP 遺伝子座に基づいたNJ 系統樹

地方の槍ヶ岳や白馬岳、木曾駒ヶ岳、または北海道の大雪山やボロシリ岳といった山岳地域の間でエコタイプの系統関係を検討した結果、同一山岳地域で同じ系統にまとまる

ことが示され、各山岳地域で多発的なエコタイプ分化が生じていることが示唆された(図5)。

次に、同じ山岳地域内で風衝地型集団と雪田型集団間の遺伝的分化の程度を推定したところ、遺伝的分化の程度は小さく(F_{ST} でおおよそ0.05前後)、非中立的挙動を示す遺伝子座は全体の僅か数パーセントであった(図6)。もし異所的分化が生じたとすると、ゲノム全体に遺伝的分化が蓄積しているはずであり、この結果は立地環境に起因する自然選択によって、同一山岳地域内における側所的なエコタイプ分化が生じた可能性を示唆する。

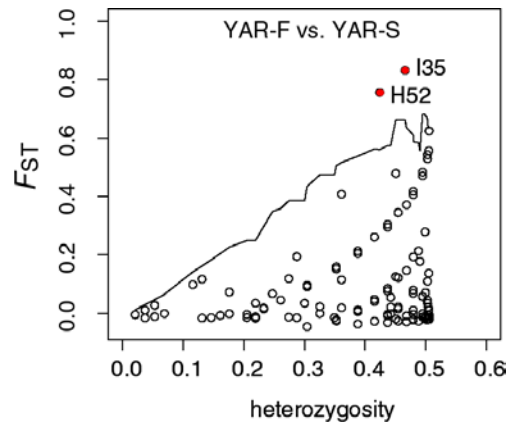


図6 同一山岳地域内のエコタイプ集団間を対象としたゲノム・スキャンの一例(槍ヶ岳の風衝地集団と雪田集団を示す)

まとめと今後の展望

高山植物ミヤマキンバイでは、異なるハビタットに適応したエコタイプ分化が複数の山岳地域で多発的に生じていることが明らかになった。「天空の島々」のように互いに隔離されながらも平行進化的にエコタイプ分化が生じているミヤマキンバイは、生物多様性の創出メカニズムを研究する上で、有用な材料になると考えられる。

日本に分布する多くの高山植物種において、本州中部系統と北海道・東北系統が異なることが共通のパターンとして認められている。さまざまな分類群に共通する系統パターンを説明する仮説として、氷期・間氷期の気候変動を通して本州中部系統が北海道・東北系統よりも先に日本列島に侵入したであろうこと(時間差侵入仮説)、本州中部山岳地域が高山植物のレフュージア(避難所)として機能したことが議論されている(例えば藤井ら 2009)。時間差侵入仮説をミヤマキンバイに当てはめるならば、本州中部系統が

北方系統よりも先に日本列島に侵入し、その後2つの系統で独立して風衝地型から雪田型へエコタイプが分化したというストーリーが推測される。

雪田型の分布は東北地方では認められなかったが、その理由として、東北地方は山地の標高が比較的低く、他の地域に比べて高山帯が小さく断片化されているため、遺伝的多様性および遺伝的分化ポテンシャルが失われた可能性が挙げられる。しかしながら、北海道、東北地方、本州中部地方の各集団の遺伝的多様性を比較しても、そのような傾向は認められなかった。典型的な雪田植物であるエゾコザクラの分布パターンを比較すると、東北地方では分布が認められないが、本州中部と北海道の雪田植生のみ分布するというミヤマキンバイの雪田型と共通のパターンが認められる。雪田環境の成立に関わる共通の地史的背景が関与しているのかもしれない。

東北地方の雪田にはミヤマキンバイの分布は認められないが、今回の研究では例外的に鳥海山の千蛇谷雪渓にてミヤマキンバイが確認された。1800年代初頭の鳥海山の噴火によって、この千蛇谷の植生は壊滅したと考えられるため、過去200年の間に周囲の風衝地に生息するミヤマキンバイが千蛇谷雪渓跡地に新たに移入したと考えられる。この雪田環境では遅い雪解けによって8月中旬以降に開花がずれ込んでいたのに対して周囲の風衝地では6月中旬に開花が認められ、立地環境の違いに起因する自然淘汰圧とエコタイプ間の繁殖隔離が生じていることが示唆されている。生物の環境適応が急速に起こり得るか、という問いを検証することができる対象を見出したことも、今回の研究成果だと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Hirao AS (2010) Kinship between parents reduces offspring fitness in a natural population of *Rhododendron brachycarpum*. *Annals of Botany* 105: 637-646. 査読有り
- ② Shimono Y, Watanabe M, Hirao AS, Wada N, Kudo G. (2009) Morphological and genetic variations of *Potentilla matsumurae* (Rosaceae) between fellfield and snowbed populations. *American Journal of Botany* 96: 728-737.

査読有り

[学会発表] (計4件)

- ① 平尾章, 下野嘉子, 和田直也, 成田憲二, 工藤岳 「ミヤマキンバイにおける平行進化的なエコタイプ分化」 第57回日本生態学会, 東京 (2010年3月16日).
- ② 平尾章, 下野嘉子, 成田憲二, 和田直也, 工藤岳 「ミヤマキンバイにおける多起源的なエコタイプ分化パターン」 第56回日本生態学会, 盛岡 (2009年3月19日).
- ③ 平尾章, 下野嘉子, 池田啓, 和田直也, 工藤岳 「高山植物ミヤマキンバイのハビタットに応じたエコタイプ分化の起源」 第10日本進化学会, 東京 (2008年8月22日).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平尾 章 (HIRAO AKIRA)

信州大学・山岳科学総合研究所・研究員

研究者番号: 20447048