

平成 22 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20770068

研究課題名 (和文) キク科ハマベノギク属の環境適応に関する進化発生学的研究

研究課題名 (英文) Evolutionary developmental study of *Heteropappus* species (Asteraceae)

研究代表者

福田 達哉 (FUKUDA TATSUYA)

高知大学・教育研究部自然科学系・准教授

研究者番号：00432815

研究成果の概要 (和文)：葉の形態に関する適応進化を明らかにするために、蛇紋岩地に適応したヤナギノギクと海岸地に適応したソナレノギクを普通種であるヤマジノギクとともに形態分化の解剖学的背景を明らかにした。その結果、ヤナギノギクは細胞の数および大きさを減少させることによって細葉を形成することが明らかとなり、またソナレノギクに関しては、細胞数は減少させているものの細胞サイズを増大させることによって、多肉葉を形成していることが明らかとなった。

研究成果の概要 (英文)：The comparative study of leaf morphology in *Heteropappus hispidus* and its ecotypic subspecies, *H. hispidus* ssp. *leptocladus* in serpentine soils and *H. hispidus* ssp. *insularis* in the coastal area, were conducted using morphological and anatomical approaches. The morphological analyses revealed that the leaf of *H. hispidus* ssp. *leptocladus* was more miniaturization and stenophyllization, and *H. hispidus* ssp. *insularis* has larger leaves than those of *H. hispidus* ssp. *hispidus*. Moreover, the anatomical analyses indicate that the leaf of *H. hispidus* ssp. *leptocladus* caused by decreased size and number of the cells but *H. hispidus* ssp. *insularis* also decrease the cell number though the cell size was increased.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2008 年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 2009 年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 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、生物多様性・分類

キーワード：蛇紋岩地帯、海岸地帯、適応進化

1. 研究開始当初の背景

光、温度、水といった環境ストレスは、その下に置かれる植物の形態に様々な影響を与える。植物が多様な環境に対して形態的な適応を遂げることは、植物の生存戦略

を考える上で最も重要な要素の一つである。このような環境適応において、特に光合成の場である葉は、光などの環境シグナルの受容部位としても最も重要な器官であるにも関わらず、葉からの水分蒸散量が著しい

ために、環境に応じてその形態を変化させると考えられている。したがって異なる環境下における葉形態の比較および発生の制御機構を明らかにすることは、植物の環境適応戦略を理解するためばかりでなく、植物の形態形成の仕組みの理解あるいは植物の形の多様性をもたらした原因の解明にも必須であると考えられる。キク科ハマベノギク属は、ヤマジノギク、ヤナギノギク、ソナレノギク、ハマベノギク、ブゼンノギクの1種4変種に分類される。このうち、ヤナギノギクとソナレノギクは高知県固有の植物群である。ヤナギノギクは県内の蛇紋岩地に特異的に見られ、広範な分布を示すヤマジノギクと比べると狭葉型を示すのに対し、ソナレノギクは県南西部に位置する柏島の海岸線のみに見られ、多くの海岸植物に見られる葉がへら形という特徴を持つ。このような形態的特徴は、葉の多様性を考察する上で有用な植物群であると考えられる。

2. 研究の目的

近年のモデル植物の研究から、葉の形態を支配する遺伝的背景が明らかになりつつある。このようなモデル植物の情報を野生植物に応用することは、形態的な環境適応戦略を遺伝子レベルで解明することにつながる。また、具体的に明らかになった候補遺伝子のアミノ酸や発現をヤナギノギクやソナレノギクを用いてモデル植物と比較解析をすることで、形態分化の遺伝的背景を議論することが可能である。そこで本研究では、ヤナギノギクおよびソナレノギクの形態分化とモデル植物で明らかになっている現象との相同性を検証するために、1)解剖学的研究により、ヤナギノギクおよびソナレノギクに固有の形態を生み出している構造的基盤を明らかにすること、2)ヤナギノギクおよびソナレノギクの遺伝的分化を集団遺伝学的解析によって明らかにすることを目的として研究を行う。

3. 研究の方法

開花個体サイズまで成長したヤマジノギク、ソナレノギク、およびヤナギノギクの葉および茎を用いて解剖学的研究を行う。それぞれの葉を FAA で固定した後に、葉の透明化を行う。透明化された葉をサフランにより染色したサンプルの向軸側に関して、葉軸に対して一定の向きで顕微鏡を撮り、その写真をもとに無作為に抽出した10個の細胞を、1細胞ずつ中心を通るように6方向の長さに関してデジタルノギスで測定し、計測値をもとに平均的な細胞の大きさを求める。同様の過程を背軸側についても行う。このようにしてヤマジノギク、

ソナレノギク、およびヤナギノギクの葉の表皮細胞における細胞形態についての計測を行う。また、葉の断面構造を明らかにするために、FAA で固定した葉をエタノール系列で脱水およびキシレンに置換した後にパラフィンに包埋し、パラフィン切片を作成する。このようにして作製したパラフィン切片を染色した後に、透明化の際と同様の方法を用いて、葉の向軸側、背軸側の細胞の大きさについて計測する。透明化による結果とパラフィン切片による結果から、葉の細胞の平均的な立体的な大きさを向軸側および背軸側で算出する。これらの結果をヤマジノギク、ソナレノギクおよびヤナギノギクのそれぞれで比較することによって、葉の形態学的差異について明らかにする。

これとは並行してヤマジノギク、ソナレノギクおよびヤナギノギクの遺伝的分化についての調査を行う。それぞれの植物群の遺伝的多型を検出するために、DNA シーケンス法を用いる。それぞれの集団から数個体ずつを用いて DNA を抽出し、核 DNA 上の internal transcribed spacer (ITS) 領域と、葉緑体 DNA 上のプライマーを用いて PCR を行う。増幅サンプルに関しては随時塩基配列の決定を行う。決定した塩基配列の比較を行い、分子系統樹を作製する。

4. 研究成果

(1) 解剖学的研究結果から、ソナレノギクは葉の細胞数の減少と、同方向に対する細胞サイズの増大によって多肉化が、ヤナギノギクは細胞数の減少と細胞サイズの縮小によって狭葉化が起きていることが明らかになった。また、これらを実験温室内の同一実験環境下に移植して調査を行った結果、葉に関する形質は野外の状態とほとんど変化しないことが明らかとなった。蛇紋岩地に適応しているヤナギノギクの狭葉化のメカニズムは、溪流沿い植物に見られる形態分化パターンと類似していることが明らかとなり、これらの結果から、異なる環境において同様の適応形態進化を示すことが明らかとなった。また海岸地に適応したソナレノギクの場合、細胞サイズを増大させることで大量の水を保持することが可能になったと考えられる。また細胞サイズの増大に伴って細胞数を減少させることで極端な葉面積の増大を行う必要がなく、海岸地特有の強風といった物理的障害を回避することができたのではないかと考えられる。

(2) 遺伝的解析結果から、複数の葉緑体遺伝子と核遺伝子を用いた集団遺伝学的解析を行った結果、異種間にはほとんど変異は認められなかった。これらの結果から、ヤマ

ジノギクからソナレノギクとヤナギノギクがそれぞれ海岸地と蛇紋岩地に適応した背景には、葉形成の際の細胞の肥大期間や細胞数の増加期間が延長または短縮することによる形態形成し、また、それらは近年分化したものであるという結論を得た。このように急速に形態を分化させた背景に、それぞれの種間での形態変異に関して非常に少数の遺伝子によって起こっている可能性があることが明らかとなった。

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 8 件)

- ① Ito K, Nishikawa H, Shimada T, Ogawa K, Minamiya Y, Hayakawa H, Fukuda T, Arakawa R
Molecular identification of genotypes of *Pilophorus typicus* (Heteroptera: Miridae) in Japan using PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA. *Environment Control in Biology*, 査読有, 47巻, 2009, 191-195.
- ② Minamiya Y, Yokoyama J, Fukuda T
A phylogeographic study of the Japanese earthworm, *Metaphire sieboldi* (Horst, 1883) (Oligochaeta: Megascolecidae): inferences from mitochondrial DNA sequences. *European Journal of Soil Biology*, 査読有, 45巻, 2009, 423-430.
- ③ Minamiya Y, Yokoyama J, Fukuda T
On the earthworm fauna around Lake Izunuma-Uchinuma, northern Japan. *Wetland Researches*, 査読有, 3巻, 2009, 13-18
- ④ Matsumura S, Yokoyama J, Fukuda T, Maki M
Intraspecific differentiation of *Limonium wrightii* (Plumbaginaceae) on northwestern Pacific Islands: Rate heterogeneity in nuclear rDNA and its distance – independent geographic structure. *Molecular Phylogenetics and Evolution*,

査読有, 53巻, 2009, 1032-1036.

- ⑤ Ogawa K, Arakawa R, Fukuda T
First record of *Spalangia gemina* Boucek and *S. nigroaenea* Curtis (Hymenoptera: Pteromalidae) in Japan. *Japanese Journal of Systematic Entomology*, 査読有, 15巻, 2009, 277-285.
 - ⑥ Ito K, Fukuda T
Molecular phylogeny of *Stigmaeopsis* spider mites (Acari: Tetranychidae) based on the Cytochrome Oxidase subunit I (COI) region of mitochondrial DNA. *Applied Entomology and Zoology*, 査読有, 44巻, 2009, 343-355.
 - ⑦ Matsumura S, Yokoyama J, Fukuda T, Maki M
Origin of the disjunct distribution of flower color polymorphism within *Limonium wrightii* (Plumbaginaceae) in the Ryukyu Archipelago. *Biological Journal of the Linnean Society*, 査読有, 97巻, 2009, 709-717.
 - ⑧ Ito T, Ochiai T, Fukuda T, Ashizawa H, Sonoda T, Kanno A, Kameya T
Potential of interspecific hybrids in the genus *Asparagus*. *Acta Horticulture*, 査読有, 776 巻, 2008, 279-284.
- [学会発表] (計 15 件)
- ① 伊藤桂、西川洋史、中平賢吾、児玉梨花、友田真文、島田拓治、小川浩平、福田達哉、荒川良
クロヒョウタンカスミカメの 2 系統間における塩基配列変異と生殖和合性. 日本応用動物昆虫学会・2010年3月28日・松戸.
 - ② 早川宗志、小林徹也、南谷幸雄、伊藤桂、宮崎彰、福田達哉、山本由徳
ウコンの高クルクミン含有系統の分子同定. 日本育種学会・2010年3月27日・京

都。

- ③ Hiroshi HAYAKAWA, Tetsuya KOBAYASHI, Yukio MINAMIYA, Katsura ITO, Akira MIYAZAKI, Tatsuya FUKUDA, Yoshinori YAMAMOTO
Development of DNA Marker to Identify Candidate Line Containing High Content of Curcumin in Turmeric. 日本作物学会四国支部会・2009年 11月28日・徳島。
- ④ 植田諒介、南谷幸雄、平田亜也、早川宗志、村松優子、齋藤倫広、福田達哉
ツツジの野生種（モチツツジとキシツツジ）の形態的比較. 日本育種学会四国支部会・2009年 11月28日・徳島
- ⑤ 齋藤倫広、早川宗志、南谷幸雄、村松優子、平田亜也、植田諒介、松山佳那子、大賀教平、横山菜々子、室井美和子、伊藤桂、福田達哉
トウネズミモチとネズミモチの自然交雑の可能性に関する遺伝的検証. 日本育種学会四国支部会・2009年 11月28日・徳島
- ⑥ 平田亜也、村松優子、南谷幸雄、早川宗志、福田達哉
落葉低木コバノハナイカダにおける雌雄の繁殖戦略の解明. 日本育種学会四国支部会・2009年 11月28日・徳島
- ⑦ 村松優子、早川宗志、南谷幸雄、平田亜也、松山佳那子、福田達哉
テンナンショウ属の種間における形態学的研究. 日本育種学会四国支部会・2009年 11月28日・徳島
- ⑧ 早川宗志、濱地秀徳、村松優子、平田亜也、南谷幸雄、松山佳那子、伊藤桂、横山潤、福田達哉
ユキモチソウ (*Arisaema sikokianum* Franch. et Savat.) およびアオテンナンショウ (*A. tosaense* Makino) (Araceae)

間の種間交雑. 日本育種学会四国支部会・2009年 11月28日・徳島

- ⑨ 南谷幸雄、福田達哉
日本産フトミミズ類の系統分類学的再検討. 日本土壌動物学会・2009年 6月7日・つくば。
- ⑩ 南谷幸雄、福田達哉
系統解析を用いたフトスジミミズとフキソクミミズの雑種推定. 日本動物学会中四国大会・2009年 5月16日・高知。
- ⑪ 伊藤桂、中平賢吾、友田真文、児玉梨花、福田達哉、荒川良
クロヒョウタンカスミカメ石垣個体群の発育日数に対する日長の効果. 日本応用動物昆虫学会・2009年 3月30日・札幌。
- ⑫ 南谷幸雄、福田達哉
シーボルトミミズを用いた系統地理学的研究. 日本生態学会・2009年 3月14日・盛岡。
- ⑬ 伊藤桂、横山潤、福田達哉
ササ・タケに生息するスゴモリハダニ属ハダニの系統解析. 日本ダニ学会・2008年 10月15日・韓国ソウル
- ⑭ 横山潤、福田達哉、糠塚ゆりか、三好一好、辻田有紀、小林史郎、遊川知久
サイハイラン（ラン科）とその地下部に内生する菌根菌との対応関係. 日本植物学会・2008年 9月14日・高知。
- ⑮ 野々村暢仁、康峪梅、櫻井克年、福田達哉
菌根菌がヘビノネゴザ・スズシロソウ群落のヒ素と重金属吸収に与える影響. 日本土壌肥料学会・2008年 9月8日・名古屋。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 達哉 (FUKUDA TATSUYA)
高知大学・教育研究部自然科学系・准教授
研究者番号：00432815