

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22770084

研究課題名（和文）キク科ハマベノギク属の形態的適応に関する発生遺伝学的背景

研究課題名（英文）Evolutionary developmental background of morphological adaptation 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）：キク科ハマベノギク属植物の葉の形態の関する適応進化を明らかにするために、西日本の日本海側の海岸地に適応したハマベノギクと四国と九州の太平洋側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、ハマベノギクはソナレノギクよりも葉は小さく、かつ薄くなっているにもかかわらず、細胞サイズはソナレノギクよりも大きいことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：To clarify adaptive leaf morphology of *Heteropappus hispidus* and its ecotypic subspecies, coastal species of *H. hispidus* ssp. *hispidus* distributed along seashore of Japan Sea in western Japan and *H. hispidus* ssp. *insularis* in Pacific ocean of western Shikoku and southeastern Kyushu were conducted using morphological and anatomical approaches. The morphological analyses revealed that the leaf of *H. hispidus* ssp. *insularis* has larger leaves than those of *H. hispidus* ssp. *hispidus*. Moreover, the anatomical analyses indicate that the epidermal cell of *H. hispidus* ssp. *insularis* is more decreased size than those of *H. hispidus* ssp. *hispidus*.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 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

様々な環境ストレスは、その下に置かれる植物の形態に大きな影響を与える。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

において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重要な器官である一方、表面積が大きく水分蒸散量が著しいために、環境に応じて適した形態が異なると考えられている。このような異なる環境下における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多様性生成の原因解明にも必須である。

これまでに申請者は、上記の環境適応戦略に関する形態学および遺伝学的研究として、キク科ハマベノギク属植物を対象植物群として研究を行ってきた。この属の広域分布種であるヤマジノギクに対して、海岸付近にのみ生育し、一般的な海岸適応形態である多肉化した葉をもつソナレノギクと、蛇紋岩地のみに生育し、狭葉化傾向を示すヤナギノギクを用いて解析を行った。その結果、ソナレノギクは葉の細胞サイズの増大による多肉化が、そしてヤマジノギクは細胞サイズの縮小と細胞数の減少による狭葉化が起きていることが明らかとなった。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。さらに、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、これらの中で遺伝的分化が非常に低いことが明らかとなった。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という結論を得た。

2. 研究の目的

本研究では、太平洋側の海岸地に適応しているソナレノギクと同様に日本海側の海岸地に適応しているハマベノギクを用いて、並行的に適応した海岸地適応の形態的相同性を検証するために、1)解剖学的研究により、ハマベ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)ハマベ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ハマベノギクおよびソナレ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ニ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。このようにしてハマベノギクおよびソナレ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。これらの結果をハマベノギクおよびソナレ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。

これとは並行してハマベノギクおよびソナレ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、ヤマジノギクを対照とした場合、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る多肉化が、またハマベノギクもソナレノギク同様に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る多肉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。しかし、ソナレノギクとハマベノギクで比較を行った場合、ハマベノギクの方が葉のサイズは小さいものの、細胞面積は大きくなることが明らかとなった。両種とも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り海岸地に適応することができたと考えられるものの、ハマベノギクの方がソナレノギクよりも多くの水分保持が可能であることが示唆された。また両種とも細胞サイズの増大に伴う細胞数の減少によって、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、これらの種間にほとんど変異は認められなかった。これらの結果から、ハマベノギクとソナレノギクの独立した海岸地適応が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 31 件)

- ①Muroi M, Hayakawa H, Minamiya Y, Ito K, Arakawa R, Fukuda T Comparative morphology and anatomy of floral symmetry in legumes (Fabaceae). Journal of Plant Studies, 査読有, 2012, 印刷中.
- ②Hayakawa H, Hamachi H, Ogawa K, Minamiya Y, Yokoyama J, Arakawa R, Fukuda T New records of *Drosera tokaiensis* subsp. *hyugaensis* (Droseraceae) from Kochi Prefecture, Japan. Botany, 査読有, 2012, 印刷中.
- ③Ohga K, Muroi M, Hayakawa H, Ito K, Yokoyama J, Tebayashi S, Arakawa R, Fukuda T Comparative morphology and anatomy of non-rheophytic and rheophytic types of *Adenophora triphylla* var. *japonica* (Campanulaceae). American Journal of Plant Science, 査読有, 2012, 印刷中.
- ④Hayakawa H, Barnor MT, Minamiya Y, Yokoyama J, Arakawa R, Fukuda T Nucleotide sequence variations in a medicinal species, *Dioscorea tokoro*

(Dioscoreaceae). Environment Control in Biology, 査読有, 2012, 印刷中.

- ⑤Saito M, Hayakawa H, Minamiya Y, Muramatsu Y, Hirata A, Ueda R, Matsuyama K, Ohga K, Yokoyama N, Muroi M, Ito K, Arakawa R, Fukuda T Conservation genetics of coexisting native *Ligustrum japonicum* Thunb. and non-native *L. lucidum* Aiton (Oleaceae). Journal of Phytogeography and Taxonomy, 査読有, 2012, 印刷中
- ⑥Ito K, Yokoyama N, Kumekawa Y, Hayakawa H, Minamiya Y, Nakaishi K, Fukuda T, Arakawa R, Saito Y Effects of inbreeding on variation in diapause duration and early fecundity in the Kanzawa spider mite.. Entomologia Experimentalis et Applicata, 査読有, 2012, 印刷中
- ⑦Ueda R, Minamiya Y, Hirata A, Hayakawa H, Muramatsu Y, Saito M, Fukuda T Morphological and anatomical analyses of rheophytic *Rhododendron ripense* Makino (Ericaceae). Plant Species Biology, 査読有, 2012, 印刷中.
- ⑧Muramatsu Y, Matsuyama K, Hayakawa H, Minamiya Y, Ito K, Arakawa R, Fukuda T Correlation between sex stages and leaf numbers in *Arisaema tosaense* Makino (Araceae). American Journal of Plant Science, 査読有, 3巻, 2012, 114-118.
- ⑨Hayakawa H, Tunala, Minamiya Y, Gale S, Yokoyama J, Ito K, Arakawa R, Fukuda T

- Comparative study of leaf morphology in *Aster hispidus* Thunb. var. *leptocladus* (Makino) Okuyama (Asteraceae). American Journal of Plant Science, 査読有, 3 卷, 2012, 110-113.
- ⑩ Fukuda T, Song IJ, Ito T, Nakayama H, Hayakawa H, Minamiya Y, Arakawa R, Kanno A, Yokoyama J Comparing with phylogenetic trees inferred from cpDNA, ITS sequences and RAPD analysis in the genus *Asparagus* (Asparagaceae). Environment Control in Biology, 査読有, 50 卷, 2012, 13-18.
- ⑪ Minamiya Y, Yokoyama J, Fukuda T On the terrestrial earthworm fauna of Yamagata Prefecture, northeastern Japan. Bulletin of Yamagata University Natural Science, 査読無, 17 卷, 2012, 1-10.
- ⑫ Yamada Y, Hayakawa H, Minamiya Y, Ito K, Shibayama Z, Arakawa R, Fukuda T Comparative morphology and anatomy of rheophytic *Aster microcephalus* (Miq.) Franch. et Sav. var. *ripensis* Makino (Asteraceae). Journal of Phytogeography and Taxonomy, 査読有, 59 卷, 2011, 35-42.
- ⑬ Tanaka M, Wali U, Nakayashiki H, Fukuda T, Mizumoto H, Ohnishi K, Kiba A, Hikichi Y Implication of an aldehyde dehydrogenase gene and a phosphinothricin N-acetyltransferase gene in diversity of *Pseudomonas cichorii* virulence. Genes, 査読有, 3 卷, 2011, 62-80.
- ⑭ Ito T, Konno I, Kubota S, Ochiai T, Sonoda T, Hayashi Y, Fukuda T, Yokoyama J, Nakayama H, Kameya T, Kanno A Production and characterization of interspecific hybrids between *Asparagus kiusianus* Makino and *A. officinalis* L. Euphytica, 査読有, 182 卷, 2011, 285-294.
- ⑮ Montoya-Alvarez AF, Hayakawa H, Minamiya Y, Fukuda T, Lopez-Quintero CA, Franco-Molano AE Phylogenetic relationships and review of the species of *Auricularia* (Fungi: Basidiomycetes) in Colombia. Caldasia, 査読有, 33 卷, 2011, 21-32.
- ⑯ Fukuda T, Song IJ, Ito T, Nakayama H, Hayakawa H, Minamiya Y, Kanno A, Yokoyama J Phylogeography of *Asparagus schoberioides* Kunth (Asparagaceae) in Japan. American Journal of Plant Science, 査読有, 2 卷, 2011, 781-789.
- ⑰ Fukuda T, Song IJ, Ito T, Hayakawa H, Minamiya Y, Kanno A, Nakayama H, Yokoyama J Nucleotide sequence variations in a medicinal relative of asparagus, *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merrill (Asparagaceae). American Journal of Plant Science, 査読有, 2 卷, 2011, 765-775.
- ⑱ Hayakawa H, Hamachi H, Matsuyama K, Muramatsu Y, Minamiya Y, Ito K, Yokoyama J, Fukuda T Interspecific hybridization between *Arisaema sikokianum* and *A. serratum* (Araceae) confirmed through nuclear and chloroplast DNA comparisons.

- American Journal of Plant Science, 査読有, 2 卷, 2011, 521-526.
- ①⑨ Hayakawa H, Hamachi H, Matsuyama K, Muramatsu Y, Minamiya Y, Ito K, Yokoyama J, Fukuda T Introgressive hybrids of *Arisaema sikokianum* and *A. tosaense* (Araceae) confirmed through nuclear and chloroplast DNA comparisons. American Journal of Plant Science, 査読有, 2 卷, 2011, 303-307.
- ②⑩ Minamiya Y, Hayakawa H, Ohga K, Shimano S, Ito MI, Fukuda T Variability of sexual organ possession rates and phylogenetic analyses of a parthenogenetic Japanese earthworm, *Amyntas vittatus* (Oligochaeta: Megascolecidae). Genes and Genetic Systems, 査読有, 86 卷, 2011, 27-35.
- ②⑪ Ito K, Yokoyama N, Hayakawa H, Minamiya Y, Yokoyama J, Fukuda T Molecular phylogenetic relationship of *Stigmaeopsis* spider mites (Acari: Tetranychidae) collected from Yamagata Prefecture. Bulletin of Yamagata University Natural Science, 査読無, 12 卷, 2011, 19-29.
- ②⑫ Hayakawa H, Muroi M, Hamachi H, Yokoyama J, Fukuda T Correlation of variation between leaves and floral characters in *Cymbidium goeringii* Rehb. f. (Orchidaceae). Journal of Japanese Botany, 査読有, 86 卷, 2011, 82-92.
- ②⑬ Minamiya Y, Ohga K, Hayakawa H, Ito K, Fukuda T Coelomic fluid: A non-invasive source of DNA in earthworms. Molecular Ecology Resources, 査読有, 11 卷, 2011, 645-649.
- ②⑭ Hayakawa H, Minamiya Y, Ito K, Yamamoto Y, Fukuda T Difference of curcumin content in *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) caused by hybridization with other *Curcuma* species. American Journal of Plant Science, 査読有, 2 卷, 2011, 111-119.
- ②⑮ Song SJ, Fukuda T, Ko SM, Ito T, Yokoyama J, Ichikawa H, Horikawa Y, Kameya T, Lee HY, Kanno A Expression analysis of an *APETALA1/FRUITFULL*-like gene in *Phalaenopsis* sp. 'Hatsuyuki'. (Orchidaceae). Horticulture, Environment, and Biotechnology, 査読有, 52 卷, 2011, 183-195.
- ②⑯ Nonomura N, Kawada Y, Minamiya Y, Hayakawa H, Fukuda T, Kang Y, Sakurai K Molecular identification of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing in *Athyrium yokoscense* of the Ikuno mine site in Japan. Journal of Japanese Botany, 査読有, 86 卷, 2011, 73-81.
- ②⑰ Hayakawa H, Kobayashi T, Minamiya Y, Ito K, Miyazaki A, Fukuda T, Yamamoto Y Development of a molecular marker to identify a candidate line of Turmeric (*Curcuma longa* L.) with a high curcumin content. American Journal of Plant Science, 査読有, 2 卷, 2011, 15-26.

㊸ Ito K, Nishikawa H, Shimada T, Ogawa K, Minamiya Y, Tomoda M, Nakahira K, Kodama R, Fukuda T, Arakawa R Analysis of genetic variation and phylogeny of *Pilophorus typicus* (Heteroptera: Miridae) in Japan using mitochondrial gene sequences. Journal of Insect Science, 査読有, 11巻, 2011, 14 (article 14 pages).

㊹ Hayakawa H, Hamachi H, Muramatsu Y, Hirata A, Minamiya Y, Matsuyama K, Ito K, Yokoyama J, Fukuda T Interspecific hybrid between *Arisaema sikokianum* Franch. et Savat. and *A. tosaense* Makino (Araceae) revealed from chloroplast and nuclear DNA comparisons. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica, 査読有, 61巻, 2010, 57-63.

㊺ Hayakawa H, Kobayashi T, Minamiya Y, Ito K, Miyazaki A, Fukuda T, Yamamoto Y Molecular identification of Turmeric (*Curcuma longa* L.) with a high content of curcumin. Journal of Japanese Botany, 査読有, 85巻, 2010, 263-269.

㊻ Nemoto T, Yokoyama J, Fukuda T, Iokawa Y, Ohashi H Phylogeny of *Lespedeza* (*Leguminosae*) based on chloroplast *trnL-trnF* sequences. Journal of Japanese Botany, 査読有, 85巻, 2010, 213-229.

[学会発表] (計 15 件)

① 早川宗志、松山佳那子、濱地秀徳、大賀教平、横山菜々子、横山潤、荒川良、福田達哉 テンナンショウ属植物ユキモチソウとアオテンナンショウにおける遺伝的交流について。日本植物分類学会・2012年3月23日・大阪。

② 室井美和子、早川宗志、伊藤桂、横山潤、福田達哉 マメ科植物の左右相称花形成に関する形態学的及び解剖学的研究。日本育種学会四国支部会・2010年11月25日・松山。

③ 室井美和子、早川宗志、濱地秀徳、松山佳那子、宮田晴希、大賀教平、村松優子、齋藤倫広、横山潤、福田達哉 シュンランの葉と花における形態変異の相関関係。日本育種学会四国支部会・2010年11月25日・松山。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 達哉 (FUKUDA TATSUYA)

高知大学・教育研究部総合科学系・准教授
研究者番号：00432815