

令和元年6月12日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06933

研究課題名(和文)セイヨウタンポポの定着・拡大における種間交雑とエピジェネティック変異の役割

研究課題名(英文) Roles of hybridization and epigenetic mutations in distribution expansion of common dandelion, *Taraxacum officinale*

研究代表者

伊東 明 (ITO, akira)

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：40274344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：無性生殖で殖える外来植物セイヨウタンポポの分布拡大における、形質可塑性、適応進化、エピジェネティック変異、雑種形成の影響を調べた。同じ緯度の個体は遺伝的に類似していたこと、異なる緯度の個体は異なる発芽・開花特性を示したことから、形質可塑性より適応進化が重要であることが示唆された。同じクローンの個体を高温で栽培したところエピジェネティック変異が増加し、変異が次世代に伝わったため、エピジェネティック変異の寄与も否定できなかった。様々な地域のセイヨウタンポポ集団と雑種タンポポ集団の遺伝的多様性に違いは見られず、雑種形成が地域集団の遺伝的多様性を増加させた証拠は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

セイヨウタンポポは世界中に分布を広げた侵略的外来植物である。無性生殖で殖える侵略的外来植物はセイヨウタンポポ以外にも多いため、セイヨウタンポポの分布拡大メカニズムの解明は、外来植物の対策に有意義である。本研究で、前適応とエピジェネティック変異の両方がセイヨウタンポポの分布拡大に貢献している可能性が示唆された。雑種形成の影響は未確定だが、他の無性生殖の侵略的外来植物でも同様のメカニズムが働いている可能性があるため、さらに調査を進めて有効な分布拡大の制御方法につなげる必要があるだろう。

研究成果の概要(英文)：We studied the roles of trait plasticity, adaptive evolution, heritable epigenetics and hybridization during the expansion of an invasive apomictic dandelion, *Taraxacum officinale*. Individuals at the same latitude were genetically similar, and individuals at different latitudes showed different germination/flowering characteristics, suggesting that adaptive evolution is more important than trait plasticity. When individuals of the same clone were grown at high temperature, epigenetic mutations increased, and the mutations were transmitted to the next generation, indicating a possible contribution of epigenetic mutations. No evidence was obtained for hybridization to genetic population diversity as no differences were found in the genetic diversity of *T. officinale* and hybrid populations.

研究分野：植物生態学

キーワード：外来種 保全 進化 植物 タンポポ エピジェネティック変異 雑種形成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 外来生物の定着・分布拡大メカニズムの解明は、保全生態学における重要課題である。最近の移入植物の研究から、移入先での急速な適応進化による「侵略性」の獲得が、以前考えられていた以上に重要であることが示唆されている。こうした急速な適応を可能にする要因として、「近縁在来種との雑種形成」による遺伝的多様性の増加と環境ストレス等の影響によって遺伝子発現に差が生ずる「エピジェネティック変異」がある。しかし、これら2つのメカニズムの研究の歴史はまだ新しく、実証例が限られているため、移入植物の拡大過程における役割には不明な点が多い。

(2) セイヨウタンポポは、ヨーロッパ～中央アジア原産の多年生植物で、ほとんどの個体が無融合生殖（無性生殖）で種子を生産する。そのため、移入後に遺伝的多様性を増加させることは難しく、移入先での適応進化のポテンシャルは低いと思われてきた。しかし、セイヨウタンポポの分布はすでに世界中の熱帯～温帯に広がっており、最近の研究から、本種の急速な環境適応においても「雑種形成」と「エピジェネティック変異」が重要である可能性が示唆されている。そのため、セイヨウタンポポは、これらのメカニズムの研究に適した植物といえる。

### 2. 研究の目的

セイヨウタンポポと雑種タンポポを用いた遺伝解析と栽培実験を行って、セイヨウタンポポが新たな環境に定着して分布を拡大する過程における「雑種形成」と「エピジェネティック変異」の重要性を明らかにすることを目的として、以下の3点について研究した。

(1) 異なる緯度の集団の発芽と開花の特性は遺伝的に決まっているか？

緯度の異なる集団のセイヨウタンポポは、発芽・開花の特性が異なることが知られている。こうした違いが起きるメカニズムには、「高い環境可塑性」と「集団間の遺伝的な違い」の2つが考えられる。セイヨウタンポポが新しい環境に適応進化したのであれば、それぞれの集団の個体は遺伝的に異なっていることが期待される。そこで、まず、同一環境下での栽培実験を行い、セイヨウタンポポと雑種タンポポの発芽・開花特性が遺伝的に決まっているかどうかを調べ、セイヨウタンポポで適応進化が起きているかどうかを検証する。

(2) 発芽・開花特性の緯度による違いに遺伝するエピジェネティック変異が関与しているか？

異なる環境への適応のメカニズムには、古典的な遺伝的変異による形質変化に加え、DNAメチル化などの変異が次世代に伝わることで起きるエピジェネティック変異が関係している可能性がある。そこで、異なる緯度のタンポポの発芽・開花特性の違いがエピジェネティック変異で生じている可能性を栽培実験で検証する。

(3) 雑種形成で遺伝的多様性は増加するか？

新しい環境への急速な適応には集団内に高い遺伝的変異があることが重要である。雑種形成は遺伝的変異の増加に貢献すると考えられる。そこで、雑種が形成されている地域と形成されていない地域の集団の遺伝的多様性を比較し、雑種形成が集団内の遺伝的多様性を高めているか検証する。

### 3. 研究の方法

(1) 異なる緯度の集団の発芽・開花特性は遺伝的に決まっているか？

北海道（江別市）、沖縄（石垣市）、大阪の緯度の異なる集団から、頭花の形態からセイヨウタンポポと判断した個体の果実（種子）を採取し、フローサイトメータで核DNA量を計測してセイヨウタンポポと雑種を判別した。各集団の種子を15、20、30のインキュベータで約7か月間水耕栽培し、発芽率と開花率を測定した。発芽と開花に及ぼす栽培温度の影響が集団間で異なれば、これらの特性が遺伝的に決まっていることが示唆される。

(2) 発芽・開花特性の緯度による違いに遺伝するエピジェネティック変異が関与しているか？

上述の栽培実験で育てたセイヨウタンポポ個体の遺伝的変異（DNA配列の違い）とエピジェネティック変異（DNAメチル化の違い）をAFLP（増幅断片長多型）とMS-AFLP（メチル化感受性増幅断片長多型）で調べた。また、エピジェネティック変異が次世代に伝わるかどうかを調べるために、栽培実験で育てた個体が生産した種子から育てた個体（次世代）についても同じ計測を行った。得られたバンドの有無からDice距離を算出してサンプル間の遺伝的距離を計算し、クラスター解析を行ってサンプル間の遺伝的関係を解析した。

(3) 雑種形成で遺伝的多様性は増加するか？

二倍体の有性生殖タンポポが自生している日本（雑種が形成される地域）と有性生殖タンポポが自生していないオーストラリア（雑種は形成されない）の複数の集団からセイヨウタンポポと雑種タンポポのサンプルを採取して雑種判別をした後、マイクロサテライトマーカー（SSR）を用いて各集団の遺伝的多様性を比較した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 異なる緯度の集団の発芽・開花特性は遺伝的に決まっているか？

江別（高緯度）の個体の発芽率には、温度による違いは見られなかった。一方、石垣（低緯度）と大阪（中緯度）の個体の発芽率は、低温（15℃）より高温（20℃、30℃）で有意に低かった。ただし、高温による発芽率の低下の程度は、石垣では小さく、大阪だけ顕著に大きかった。石垣と江別には雑種がおらず、実験に用いた大阪の個体の約 7 割が雑種であったことから、高温による発芽抑制には雑種化が大きく寄与していることが示唆された。

日本の在来タンポポが持つ高温による発芽抑制の特性は、背の高い草本が多い日本の草地への適応的特性とされており（Washitani & Ogawa 1989）、セイヨウタンポポが日本の草地へ侵入するためには、この特性を獲得することが有利になると考えられている。高温での発芽抑制の獲得に雑種化が重要であるとすると、雑種形成に不可欠な在来二倍体タンポポが分布していない北海道や沖縄では、セイヨウタンポポは草地へ進出できていないのかもしれない。

一方、開花した個体の割合（開花率）では、石垣（低緯度）と大阪（中緯度）の個体では温度による有意な違いは見られず、江別（高緯度）の個体では高温で開花率が有意に低かった。30℃では江別の個体は全く開花しなかった。

低緯度の個体で高温での開花抑制の程度が小さいのは、低緯度地域で繁殖期間を伸ばすための適応とされており（Yoshie 2014）、外来種であるセイヨウタンポポが日本に移入した後に、遺伝的に移入先の環境に適応した開花特性をもつ個体が選択される適応進化が起きたことが示唆される。雑種の存在しない石垣でも高温による開花抑制が見られたことから、この過程に雑種化は必須ではないと思われる。様々な開花特性を持つ遺伝的に多様なセイヨウタンポポが日本に移入し、その中から移入先の気候に適応した開花特性を持つ個体が数を増やす「全適応」が起きていた可能性が高い。ただし、この実験だけでは、高温による開花抑制がエピジェネティック変異によって獲得された可能性も否定できない。

##### (2) 成長・開花特性の緯度による違いに遺伝するエピジェネティック変異が関与しているか？

AFLP で得られた遺伝的変異のデータに基づいたクラスター解析の結果、栽培した個体、そこから得た種子から育てた個体ともに、栽培温度の違いにかかわらず、同じ地域の集団のサンプルは同じクラスターに含まれた。ただし、大阪から得られた個体は 2 つのクラスターに分かれ、一方は江別の個体と同じクラスターに属した。この結果は、各集団のセイヨウタンポポが遺伝的に異なっていること、温度条件を変えて栽培しても親子間に遺伝的な変異は生じないことを示している。親子間で遺伝的に変異が生じないのはセイヨウタンポポが無融合生殖で無性的に種子を生産しているためである。

MS-AFLP で得られたエピジェネティック変異に基づいたクラスターでは、同じ地域集団のサンプルが同じクレードに固まる傾向は見られず、遺伝的に近い個体でもエピジェネティック変異の違いがあることが示された。一方、種子から育てた個体は母親と同じクラスターに属する傾向が見られたことから、エピジェネティック変異が次世代（種子）に引き継がれていることが示唆された。また、サンプル間のエピジェネティック変異の違い（Dice 距離）は、低温（15℃、20℃）で栽培した個体間に比べ、高温（30℃）で栽培した個体間で大きく、高温によるエピジェネティック変異の促進が示唆された。

以上の結果は、高温によって促進され、次世代に引き継がれるエピジェネティック変異の存在を示しており、セイヨウタンポポの新しい環境への適応にエピジェネティック変異が関与している可能性（Verhoeven et al. 2010）が示唆される。ただし、AFLP の結果から、異なる緯度の個体間は遺伝的（DNA 塩基配列）に違いがあることも分かったため、緯度による発芽・開花特性の違いは、特定の遺伝子型のクローンが選択されたことで生じた前適応である可能性も高い。エピジェネティック変異の寄与を明らかにするためには、同じクローンで新しいエピジェネティック変異が起きた個体の生態的特性を詳しく調べる必要がある。

##### (3) 雑種形成で遺伝的多様性は増加するか？

SSR データに基づいた主座標分析の結果、セイヨウタンポポと雑種タンポポの間で遺伝的多様性に大きな違いは認められなかった（図 1）。この結果は、二倍体有性生殖タンポポが分布している地域（本州）でもしていない地域（北海道、沖縄、オーストラリア）でも基本的に同じであった。一方、同じ地域の集団の個体は遺伝的に類似している傾向が見られた。これは、ある地域には似た系統のセイヨウタンポポが生育していることを示唆する。

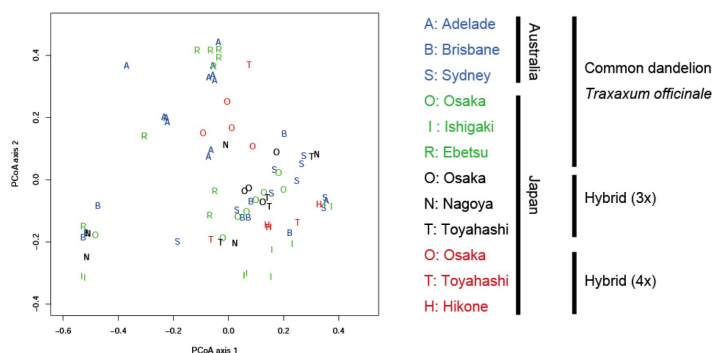


図 1. SSR データに基づいた日本とオーストラリアのセイヨウタンポポと雑種タンポポの個体の遺伝的關係（主座標分析）。

これらの結果は、雑種化による遺伝的多様性の増加がそれぞれの地域の環境へのタンポポの適応進化を促進したとする仮説を支持しない。むしろ、それぞれの地域に適するセイヨウタンポポのクローンが選択されたとする前適応の過程を支持しているように思える。ただし、これまでの我々の研究から、日本国内では、セイヨウタンポポと雑種タンポポの間に発芽、成長、開花の特性に違いがあることがわかっていること、オーストラリア、江別、石垣には雑種タンポポが生育していないことから、雑種タンポポの生育に適する微環境がセイヨウタンポポとは異なっている可能性は否定できない。オーストラリア、江別、石垣でセイヨウタンポポが生育する環境が大阪等の雑種の生育している環境と違うのか等、地域内でのタンポポの分布と微環境の関係を詳細に調べる必要があるだろう。

#### < 引用文献 >

Verhoeven KJF, Jansen JJ, van Dijk PJ and Biere A (2010) Stress-induced DNA methylation changes and their heritability in asexual dandelions. *New Phytologist*, 185: 1108–1118.

Washitani I and Ogawa K (1989) Germination responses of *Taraxacum platycarpum* seeds to temperature. *Plant Species Biology*, 4:123-130.

Yoshie F (2014) Latitudinal variation in sensitivity of flower bud formation to high temperature in Japanese *Taraxacum officinale*. *Journal of Plant Research*, 127:399–412.

#### 5 . 主な発表論文等

##### [ 雑誌論文 ] ( 計 2 件 )

今村 彰生・齋藤 輝志・**伊東 明** (2018) 北海道にも雑種タンポポが生育している可能性について. *旭川市北邦野草園研究報告* 6: 15-20. 査読無

Matsuyama S, Morimoto M, Harata T, Nanami S and **Itoh A** (2017) Clone diversity and genetic affinity in native *Taraxacum japonicum*, exotic *T. officinale*, and polyploid hybrid dandelions. *Conservation Genetics* 19: 181–191. doi: 10.1007/s10592-017-1014-y 査読有

##### [ 学会発表 ] ( 計 5 件 )

**伊東 明**・特 度恩・名波 哲 (2019) セイヨウタンポポと雑種タンポポの遺伝的多様性. 第 66 回日本生態学会年次大会, 神戸.

松山 周平, 松永 高広, 齋藤 優衣, 小玉 愛子, 今村 彰生, **伊東 明** (2019) 北海道における外来タンポポのクローン多様性. 第 66 回日本生態学会年次大会, 神戸.

**伊東 明**・渡中 実里・水貝 翔太・名波 哲・松山 周平 (2017) 雑種タンポポの環境適応：生育環境の異なる雑種クローンの成長特性. 第 64 回日本生態学会年次大会, 東京.

**伊東 明**・山口 陽子・高田 ころこ・名波 哲 (2017) 西日本における雑種タンポポの分布と土地利用の関係. 地域自然史と保全研究発表会 関西自然保護機構 2017 年度大会. 大阪.

特努恩・横山 亮介・三好 浩平・名波 哲・**伊東 明** (2016) 葉緑体 DNA を用いた雑種タンポポの起源地と分布拡大過程の推定. 第 63 回日本生態学会年次大会, 仙台.

##### [ その他 ]

**伊東 明**・山口 陽子・高田 ころこ・名波 哲 (2016) 西日本における雑種タンポポの分布状況と 5 年間の変化. 『タンポポ調査・西日本 2015 調査報告書』(タンポポ調査・西日本 2015 実行委員会編) pp. 40–43. <http://gonhana.sakura.ne.jp/tanpopo2015/>

#### 6 . 研究組織

##### (1) 研究協力者

研究協力者氏名：名波 哲

ローマ字氏名：(NANAMI, satoshi)

研究協力者氏名：松山 周平

ローマ字氏名：(MATSUYAMA, shuhei)

研究協力者氏名：渡中 実里

ローマ字氏名：(TONAKA, misato)

研究協力者氏名：特 努恩

ローマ字氏名：(TE, nueng)

研究協力者氏名：坂口 温子

ローマ字氏名：(SAKAGUCHI, atuko)

研究協力者氏名：山口 陽子

ローマ字氏名：(YAMAGUCHI, yoko)

研究協力者氏名：荻田 尚希

ローマ字氏名：(OGITA, naoki)