

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07487

研究課題名(和文) 蛇紋岩植物の土壌適応とその土壌生態型の分断化選択はどのような遺伝的機構で起きたか

研究課題名(英文) What genetic mechanisms caused adaptation and disruptive selection of edaphic ecotypes?

研究代表者

西野 貴子 (Nishino, Takako)

大阪府立大学・理学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20264822

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：植物の局所適応は種分化研究の好例で、本研究では、サワシロギクの土壌生態型をもちい、その生態型の蛇紋岩耐性の実態の解明と遺伝的、分子生物学的な解析を行った。その結果、蛇紋岩土壌に侵入する前の湿地型にも蛇紋岩耐性が保持されており、蛇紋岩土壌の選択圧により、蛇紋岩耐性の強い個体が選択されてきたと推測される。また、蛇紋岩土壌に生育する集団同士でも、蛇紋岩耐性が異なることが明らかになった。そして、蛇紋岩土壌の適応にかかわる遺伝子の候補として、イオンチャンネル遺伝子などが検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

環境に不適応な生態型は、すぐに自然界から消えていくが、本研究のサワシロギクの中間型は不適応な状態で残っており、まさに今、蛇紋岩型が新しい種になろうとしているときであり、環境に不適応な中間型もあって、種分化の時間断面を見ることができる状態であることを明らかにしている。また、サワシロギクの蛇紋岩型は、シブカワシロギクという変種名で記載されており、環境省の絶滅危惧IBに選定されている。貴重な植物が進化の時間断面の研究に好適な材料となっていることから、学術的意義だけでなく、生物保全の啓蒙にも役割を果たすと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Local adaptation of plants are good examples of speciation studies. In this study, we used edaphic ecotypes of *Aster rugulosus* and researched its serpentine tolerance with genetic and molecular biological analysis. The serpentine tolerance is retained even in the wetland ecotype which is considered the archetype and the adaptive individuals with lower serpentine tolerance would be eliminated by the selection pressure of serpentine soils. It was also found that serpentine tolerance differs between populations growing on the separate serpentine area. Ion channel genes are detected as candidates of genes to promote serpentine adaptation.

研究分野：植物分類学

キーワード：種分化 蛇紋岩適応 土壌適応 生態型 キク科 蛇紋岩耐性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物の適応的種分化の中でも土性適応は、種分化研究の代表例である。特に蛇紋岩適応は研究例が多く、Bradshaw *et al.* (1965) や Kruckberg (1967) など比較生態的研究がなされてきた。

この蛇紋岩適応には、次のような3段階のステージがあると考えられる。

まずは蛇紋岩土壌への進入前の集団の個体が蛇紋岩耐性を保持している必要がある。その個体が蛇紋岩土壌に進入したとき、即座に蛇紋岩土壌に生理的耐性を個体が選択され、蛇紋岩耐性の弱い個体は生き残ることができない。その後、蛇紋岩耐性の高い個体が世代を重ねる中で、蛇紋岩土壌を含む環境要因による選択圧により、蛇紋岩耐性以外の適応的形質が徐々に集団に固定され、蛇紋岩土壌進入前の集団とは異なる生態的分化が生じると考えられる。(図1)。

本研究で材料とするサワシロギク *Aster rugulosus* Maxim. (キク科) は、日本の固有種で、平地にある酸性の貧栄養湿地に生育する湿地型と、変種のシブカワシロギク *A. rugulosus* var. *shibukawaensis* として扱われている超塩基性の蛇紋岩土壌に生育する蛇紋岩型が知られている。また、蛇紋岩土壌に生育しながらも、サワシロギクと変種のシブカワシロギクと中間のような形態を示す中間型の集団がシブカワシロギクの生育地の近くに点在している。

筆者らは、サワシロギク(湿地型)、蛇紋岩型のシブカワシロギク、そして中間型を含む20集団をもちいてアロザイム分析により予備的な遺伝的分化を調べた。その結果、図2に示すように、サワシロギクの分布の中心から離れている北海道は、集団間分化が進んでいるが、そのほかの地域では、集団間分化に大差はないことがわかった。さらに、蛇紋岩土壌に生育している蛇紋岩型や中間型は、湿地型のサワシロギクの集団分化と変わりなく、遺伝的には蛇紋岩型集団は湿地型集団と同程度の遺伝的類似度でありながら、生態的分化が劇的に生じたとみなされることを明らかにしている。また、中間型は病害虫に罹患しやすく、結実率や発芽率などから、湿地型や蛇紋岩型よりも適応度が低い状態にあると考えられ、このことはサワシロギクの生態型では、分断化選択が働いていることを示唆している。

2. 研究の目的

これまでの予備的な結果から、サワシロギクの生態的分化が急激に生じ、蛇紋岩耐性が生態型集団間で大きく異なることが予想される。

そこで、まずは各生態型集団における蛇紋岩耐性の実態を明らかにする。特に土壌条件の選択圧が大きくかかると予想される発芽から幼若個体の定着に着目し、対照として、安定した生長段階で移植実験を行い、蛇紋岩土壌の影響の評価を行う。

さらに、各生態型で発現の異なる遺伝子群を各器官に探索し、蛇紋岩適応に関与する遺伝子群を特定する。その遺伝子データから自然選択の検出と、その強度の検定を行う。また、蛇紋岩土壌に進入時に即時の順応を可能にした生理的順応に関与する遺伝子群と、蛇紋岩土壌に定着後、世代を重ねながら分化した繁殖特性などに関わる遺伝子群に区別し、進化速度の比較を行う。さらに各生態型での遺伝子の発現量を照らし合わせる。

以上のような分子情報から、植物の蛇紋岩適応のプロセスの仮説を実証し、サワシロギクの各生態型の選択圧の強さと分化の時期を推定し、分断化選択を受けていることを分子レベルで明らかにすることが目的である。

3. 研究の方法

各生態型の実態について、発芽から、その実生幼個体の定着までの蛇紋岩耐性の評価は、植物の3生態型(湿地型、蛇紋岩型、中間型)の生育地から瘦果を採取し、コントロールとしての栽培用土、湿地土壌、蛇紋岩土壌の3土壌にそれぞれ9通りの組合せで播種し、生残率と成長度合いを求めた。さらに、同じ9通りの組合せをもちいて、蛇紋岩土壌における阻害要因を調べた。また、栄養成長段階での蛇紋岩耐性の評価は、各生態型の生育地から、ロゼット状態の個体を採

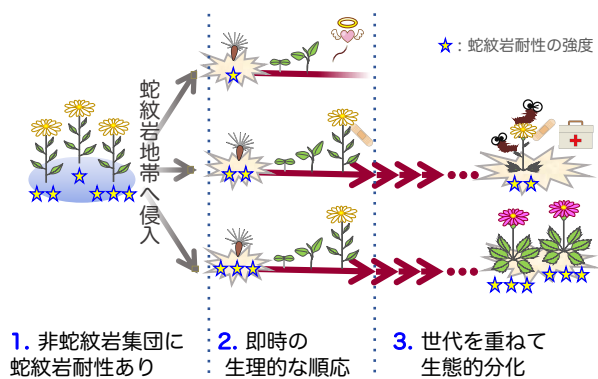


図1 蛇紋岩適応のプロセス

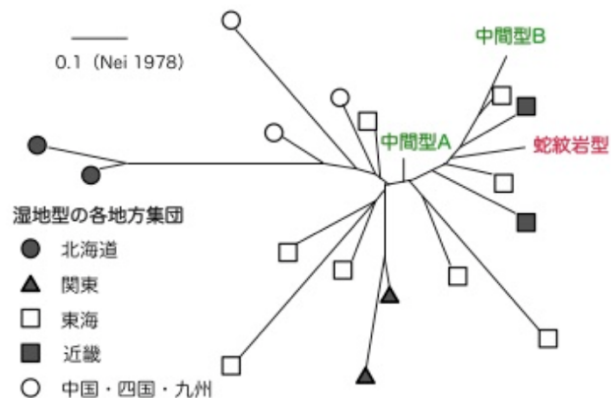


図2 各生態型集団の遺伝的分化

集し、共通圃場のハウス内で各土壌に移植し、開花まで栽培した。

蛇紋岩適応に関わる遺伝子の探索は、各生態型を半年ほど生育地の土壌で栽培したのち、葉と根から RNA を抽出し、次世代シーケンサ HiSeq2000 にて RNA-seq を行った。その後、各リードをマッピングし、特異的に発現している遺伝子の探索を行った。

4. 研究成果

図 3 に 3 タイプの土壌に播種した瘦果の生残率を各生態型別に示す。蛇紋岩型のみ、本葉展開まで 8 割の個体が達するが、湿地型と中間型は同じような傾向を示し、中間型は蛇紋岩土壌に生育しているにもかかわらず、蛇紋岩土壌では本葉展開に至るのは 3 割を切っていた。しかし、湿地型でも生残している個体があったということは、蛇紋岩適応の前の状態と考えられる湿地型は、潜在的に蛇紋岩耐性を保持していることを裏付けている。

同じような生態型と土壌の 9 通りの組合せで、蛇紋岩土壌のストレス要因を検証した発芽実験では、蛇紋岩土壌の貧栄養や乏しい保水力が要因ではなく、蛇紋岩土壌に含まれる水溶性物質が成長阻害要因であることがわかった。そこで、蛇紋岩土壌を特徴つけるニッケル濃度の異なる培地に瘦果を播種したところ、ニッケルの濃度耐性は、湿地型 < 中間型 < 蛇紋岩型となることが明らかになった。

一方、ロゼット段階での各土壌への相互移植を行った後の共通圃場栽培実験では、湿地型で 3 割の個体が初期段階で枯死したものの、その後は生残した。しかし成長が著しく悪く、湿地型と中間型では、蛇紋岩土壌への移植個体に開花したものはなかった。蛇紋岩型では半数の個体が開花し、栄養生長段階でも蛇紋岩土壌の阻害があると判断された。

また、蛇紋岩型や中間型を湿地土壌や栽培用土に移植しても、地下茎の伸長は生育地と同じ状態だったため、地下茎の伸長は遺伝的に固定された形質と考えられる。

蛇紋岩適応に関わる遺伝子の探索について、RNA-seq の結果は、蛇紋岩型と湿地型の葉の比較では、光合成系の遺伝子やイオンチャンネルにかかわる遺伝子がリストされ、イオンチャンネルの遺伝子は根でも差が見られた。しかし、この発現量の差が機能的な差になるのかなど、まだ多くの疑問が残されており、さらなる解析が必要である。

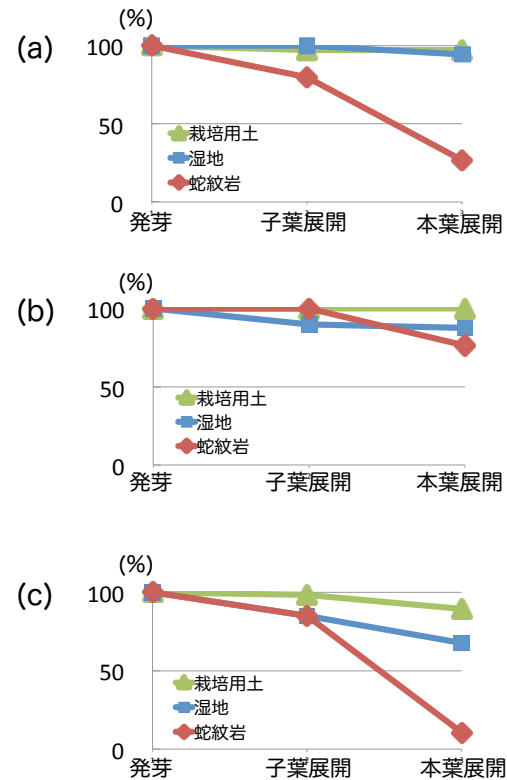


図 3 各土壌での実生幼個体の生残率
(a) 湿地型、(b) 蛇紋岩型、(c) 中間型

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 西野貴子、大久保理子、松田明莉、松尾朝子、川上敬弘、中山祐一郎、藤井伸二、福島慶太郎、阪口翔太、石川直子、井鷲裕司、伊藤元己
2. 発表標題 サワシロギクにおける生態型集団の遺伝的および生態的分化 -湿地から蛇紋岩への挑戦-
3. 学会等名 日本生態学会 第64回大会（早稲田）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西野貴子
2. 発表標題 サワシロギクにおける生態型分化
3. 学会等名 東北大学川渡共同セミナーセンター 研究セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takako Nishino, Sakaguchi, S., Naoko Ishikawa, Keitaro Fukushima, Yuji Isagi, Motomi Ito
2. 発表標題 Ecotypic adaptation to serpentine soil and acidic wetland in <i>Aster rugulosus</i>
3. 学会等名 XIX International Botanical Congress, Shenzhen（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真鍋遼，福島慶太郎，阪口翔太，石川直子，伊藤元己，西野貴子
2. 発表標題 サワシロギク生態型の発芽と生長における微生物の影響
3. 学会等名 日本植物分類学会第17回大会（金沢）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西野貴子, 真鍋 遼, 中村 剛, 福島慶太郎, 阪口翔太, 石川直子, 伊藤元己
2. 発表標題 サワシロギクの蛇紋岩適応に微生物は関与しているか
3. 学会等名 第65回日本生態学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真鍋遼, 岡野凌一, 徳本勇人, 福島慶太郎, 阪口翔太, 石川直子, 伊藤元己, 西野貴子
2. 発表標題 サワシロギクの蛇紋岩適応における微生物の作用と土壤細菌の菌叢解析
3. 学会等名 日本植物学会 第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真鍋 遼・岡野 凌一・徳本 勇人・福島 慶太郎・阪口 翔太・石川 直子・伊藤 元己・西野 貴子
2. 発表標題 サワシロギクの蛇紋岩適応における発芽時の土壤微生物の影響と土壤細菌のスクリーニング
3. 学会等名 日本植物学会第81回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takako Nishino, Shota Sakaguchi, Naoko Ishikawa, Motomi Ito
2. 発表標題 Ecotypic adaptation to serpentine soil and acidic wetland in <i>Aster rugulosus</i>
3. 学会等名 International Botanical Congress XIX (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西野 貴子、福島 慶太郎、阪口 翔太、石川 直子、伊藤 元己
2. 発表標題 サワシロギクの遺伝的構造の検証と蛇紋岩適応
3. 学会等名 日本植物学会 第80回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 T. Nishino*, R. Okubo, A. Matsuda, S. Sakaguchi, N. Ishikawa, M. Ito
2. 発表標題 An ecological comparison of ecotypic adaptation to serpentine and non-serpentine soils in <i>Aster rugulosus</i>
3. 学会等名 East Asian Plant Diversity and Conservation 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 真鍋 遼・岡野 凌一・徳本 勇人・福島 慶太郎・阪口 翔太・石川 直子・伊藤 元己・西野 貴子
2. 発表標題 蛇紋岩型および湿地型サワシロギク植物体と各生態型生育地の菌叢比較
3. 学会等名 日本植物分類学会 第16回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西野貴子、大久保理子、松田明莉、松尾朝子、川上敬弘、中山祐一郎、藤井伸二、福島慶太郎、阪口翔太、石川直子、井鷲祐司、伊藤元己
2. 発表標題 サワシロギクにおける生態型集団の遺伝的および生態的分化
3. 学会等名 日本生態学会 第64回大会
4. 発表年 2017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 分担 者	加藤 幹男 (Kato Mikio) (30204499)	大阪府立大学・高等教育推進機構・教授 (24403)	