

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07524

研究課題名(和文) 日本産アザミ属植物の系統解析と分類学的再検討

研究課題名(英文) Phylogenetic analysis and taxonomic review of *Cirsium* in Japan

研究代表者

上原 浩一 (Uehara, Koichi)

千葉大学・大学院国際学術研究院・教授

研究者番号：20221799

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はアザミ属植物について次世代型DNAシーケンサーを用いた遺伝解析と形態形質の計測をおこない、現在適用されている分類の妥当性を検討した。アザミ属の系統は、葉緑体ゲノムのシーケンス等を進めた結果、従来の節・亜節の区分とは一致せず、日本産のアザミ属は北海道の系統と、本州以南に分布する系統の2つに大別されることが示された。また、近縁種間で、形態形質を比較解析した結果、種の識別ができない例が見られたほか、カガノアザミ亜節の2倍体種についてRAD-seq法による解析では、集団内の遺伝的変異が大きく、種間変異には有意性が認められなかった。この結果からアザミ属全体の分類の再検討が必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アザミ属は、形態的に多様で、これまで日本国内で150種以上記載されたが、分類形質の変異が大きく種同定が難しいと考えられていた。今回、アザミ属の系統分類を目的に、次世代型DNAシーケンサー等を用いた遺伝解析と、種レベル、集団レベルの形態形質の検討を行った。その結果、外部形態による従来の種の記載の段階で、分類形質について、複数のサンプルを用いた検討が不十分だった可能性が示された。また、遺伝解析の結果も従来の種や亜節の区分が不明瞭だった。今後より広い範囲で、従来の節・亜節を超えたサンプリングと詳細な遺伝解析、形態形質の検討を行う必要性が示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed genetic analysis and morphological trait measurement on *Cirsium* plants using a next-generation DNA sequencer, and examined the validity of the classification currently applied.

As a result of proceeding with analysis by the sequence of the chloroplast genome, the strain of *Cirsium* does not match the conventional division of section and subsection, and the strain of *Cirsium* from Japan is distributed to the strain of Hokkaido and south of Honshu. It was shown that it is roughly divided into two strains. In addition, as a result of comparative analysis of morphological traits among closely related species, there were cases where the species could not be identified, and in the analysis by the RAD-seq method for diploid species of Reflexae, genetic variation within the population. The variation was large and no significance was observed for interspecific variation. From this result, it was considered necessary to reexamine the classification of the entire genus *Cirsium*.

研究分野：多様性生物学

キーワード：アザミ属

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

キク科のアザミ属(*Cirsium*)は、日本に約150種生育し、そのほぼ全てが日本固有種とされている。複数の倍数性や生育環境の幅広さによって、日本の気候や地理的環境に適応して多様化していったと考えられる。しかし、その記載された分類形質は非常に細かく多様で、種内でもばらつきが大きいために種同定が困難と言われていた。そこで次世代型DNAシーケンサーを用いた詳細な系統解析が必要とされた。

2. 研究の目的

本研究は次世代型DNAシーケンサーを用いたゲノムワイドな遺伝解析と形態形質の比較解析をあわせ、アザミ属植物の実態を明らかにするとともに、現在適用されている種分類の妥当性を検討することを目的とした。

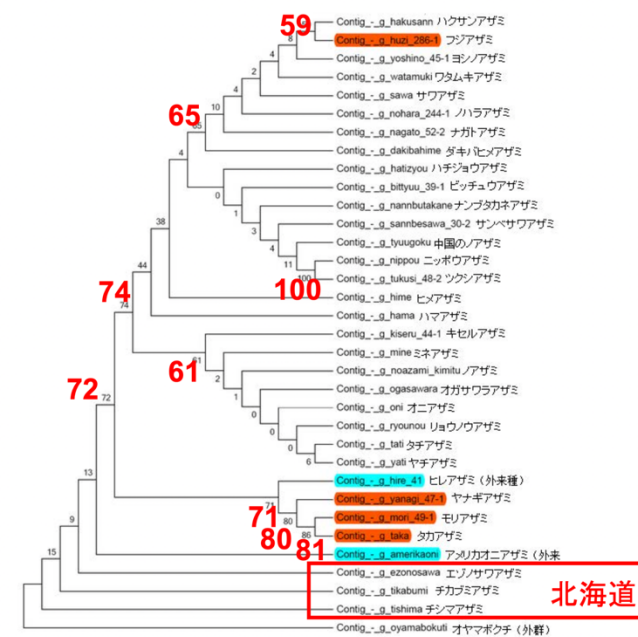
3. 研究の方法

本研究は下記の3つの研究をおこなった。

- (1) 日本国内のアザミ属内の系統関係:葉緑体DNA各領域のシーケンス、次世代型DNAシーケンサーを用いたRAD-seq法、および葉緑体ゲノムシーケンス解析による解析をおこなった。
- (2) 別種として記載された近縁種における分類形質の検討:フジアザミとテマリフジアザミ、アズマヤマアザミとカズサヤマアザミについて形態形質の測定と分類形質としての妥当性を検討した。
- (3) 亜節レベルの分類の妥当性の検討:カガノアザミ亜節の2倍体種について広域にサンプリングを行い形態学的形質とMIG-seq法を用いた遺伝解析を行った。

4. 研究成果

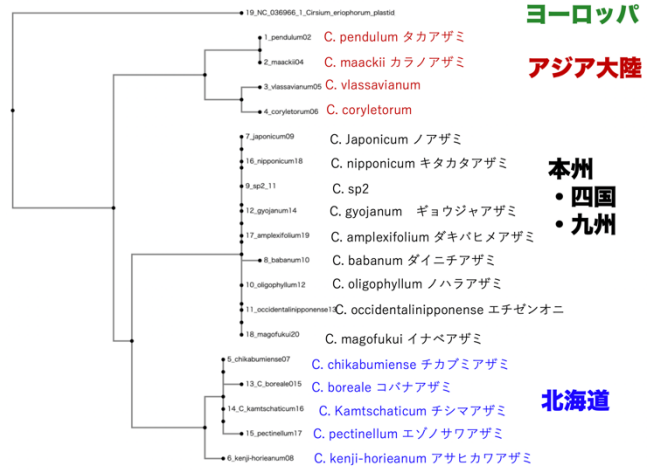
(1) 日本国内の節・亜節の系統関係について、葉緑体DNA約1500bpのシーケンスおよび次世代型DNAシーケンサーを用いたMIG-seq法で解析をおこなった。また、アザミ属各系統の葉緑体ゲノムのシーケンス(ゲノムスキミング法、約15万塩基)も行った。それらの結果、これまで形態的特徴で分けられた節、亜節の区分とは一致せず、日本産のアザミは北海道に分布する系統と、本州以南に分布する系統の2つに分かれることが示された。



アザミ属の系統樹 (葉緑体DNA約1500bp)

(2)フジアザミとテマリフジアザミ、アズマヤマアザミとカズサヤマアザミについて形態形質を測定と分類形質としての妥当性を検討した。

フジアザミとテマリフジアザミ：本州中部に分布するフジアザミの6集団と、白山に分布する地域固有種テマリフジアザミについて頭花の長さ、総苞の大きさ、総苞の幅、総苞片の列数、総苞片の長さ、総苞片の幅を計測し、解析したところ集団間に有意差が認められたが、フジアザミとテマリフジアザミの種



アザミ属 18種 約15万塩基による系統樹

間に有意差は認められなかった。本研究に用いたサンプルの形質と記載された形質の比較を行ったところ、記載されたフジアザミの総苞片の長さが 20-30 mm、記載されたテマリフジアザミの総苞片の長さが約 10 mmであるのに対し、計測したテマリフジアザミの総苞片の長さは 18-32 mmであり、フジアザミと重なった値を示した。他にも花冠の長さ、総苞の長さなど記載の範囲に収まらない形質が多くみられ、結果としてフジアザミとテマリフジアザミの形態は明瞭に区別することはできなかった。

アズマヤマアザミとカズサヤマアザミ：カズサヤマアザミは、ナンブアザミ節カガノアザミ亜節に分類され、千葉県房総半島に分布する。従来ナンブアザミ節ヤマアザミ亜節のアズマヤマアザミとされてきたが、形態に違いが認められるとして門田 (2017) によって別種とされていた。本州(福島県～滋賀県、三重県)の太平洋側に分布する典型的なアズマヤマアザミは「穂状花序にほとんど無柄の頭花が直立～開出し、密集してつく」のに対し、カズサヤマアザミは「ややまばらな総状花序に短柄～長柄の頭花が直立～点頭し、ややまばらにつく」点で異なる。しかし、頭花の花序や花柄の長さ以外明確に区別する形質がなく、似た形態的特徴を持つため同定が難しい

本研究ではカズサヤマアザミとアズマヤマアザミの2種を区別する形質である頭花の花序、花柄の長さに注目して調査した。その結果、同じ集団内でも異なる花序が混在することがわかった。さらに標本を含めた分布を調べると、カズサヤマアザミの形質である総状の花序を持つ個体が関東の他地 域にも広くみられた。花柄の長さ、葉のとげの長さ、一カ所に集まる頭花数、頭花の長さ、総苞の長さ、総苞の幅の平均値を用いた主成分分析を標本種間、異なる花序間、千葉県内のグループ間で行うと、いずれも明確にまとまりをつくることはなかった。集団内に異なる花序が混在すること、主成分分析でまとまりがないこと、カズサヤマアザミは房総半島固有とされているが総状の個体は県外にも確認できることから、カズサヤマアザミとアズマヤマアザミは区別に十分な形態的差異がなく、カズサヤマアザミを独立した種ではないと推定される。

これまでの結果から、種を記載する際に 用いられた形質の変異の幅が十分に検討されておらず、連

続した形態的変異のなかで特徴的な個体や集団を捉え、十分な検討をおこなわないまま種を記載していた可能性があることがわかった。

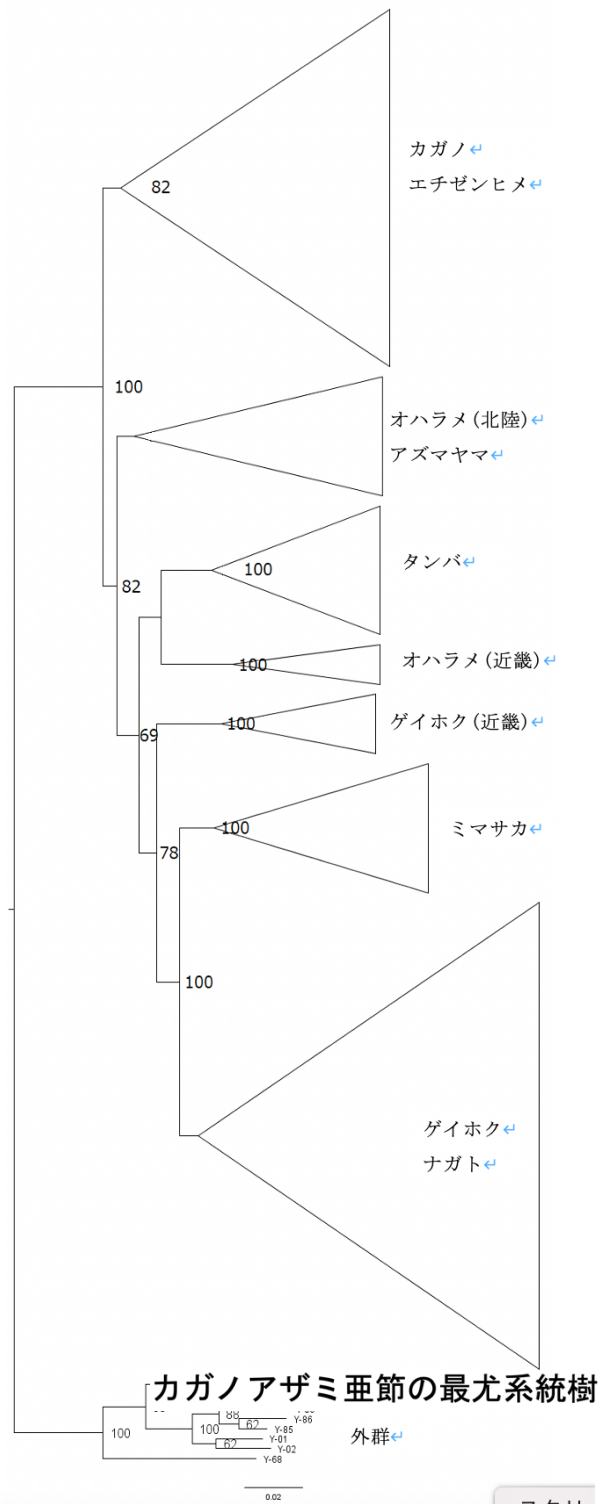
(3)カガノアザミ亜節の2倍体種について広域(富山県、石川県、滋賀県、京都府、兵庫県、鳥取県、島根県、広島県、山口県)にサンプリングを行い形態学的形質とMIG-seq法を用いた遺伝解析を行った。

MIG-seq法を用いた遺伝解析をおこなった結果、生育地の隔離に従って遺伝的変異が生じており、環境によって分類の指標とされる形態の変異がそれぞれで起きている可能性があることがわかった。また、DAPC解析によって2つのクラスターに分けられたが、1集団においてどちらのクラスターにも分類された集団が存在した。距離による隔離が有意に起こっていることから明確な2クラスターの遺伝的な差があるとは考えにくく、2クラスターを別種とするのは検討が必要である。

カガノアザミ亜節の系統樹の中でゲイホクアザミとナガトアザミが混合したクレードを形成し(ゲイホク・ナガトアザミクレード)、ミマサカアザミも含まれた。またカガノアザミのクレードにエチゼンヒメアザミが含まれた。カガノアザミ亜節以外の種も同時にMIG-seq解析を行った結果、亜節の分類が異なるアズマヤマアザミがオハラメアザミ群に含まれた。

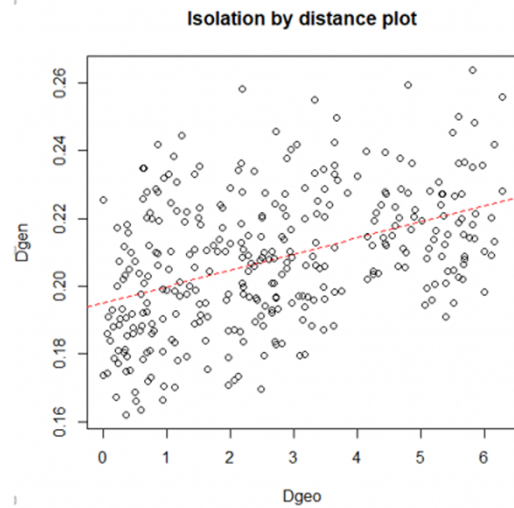
調査したカガノアザミ亜節の2倍体種では集団内の遺伝的変異が大きく、種間変異には有意性が見られなかった。加えて距離による隔離が認められ、今回用いたカガノアザミ属は地理的距離が離れるに比例して、遺伝的な変異が大きくなっていることが分かった。

そして各個体群の遺伝的な分化度をDAPC解析により調べた結果、カガノアザミ・オハラメアザミ・エチ



ゼンヒメアザミ・タンバアザミのグループと、ミマサ
カアザミ・ゲイホクアザミ・ナがトアザミから成るグル
ープの、2つのクラスターに大別された。

今回扱ったカガノアザミ亜節7種は主に総苞片の
列数・形状、頭花の付き方によって分類が行われ
ているが、計測の結果これらの分類形質と記載値
とのずれが確認された。また、比較のために解析
したヤマアザミ亜節のアズマヤマアザミが、オハラ
メアザミのクレードに含まれるなど、亜節レベルか
ら分類形質を見直す必要があると考えられ
た。本研究でもカガノアザミ亜節の調査対象種を
カガノアザミ亜節以外にも拡大し検討したい。



距離と遺伝的変異の相関

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	伊藤 元己 (Ito Motomi) (00193524)	東京大学・大学院総合文化研究科・教授 (12601)	
研究分担者	渡辺 洋一 (Watanabe Yoichi) (30763651)	千葉大学・大学院園芸学研究科・助教 (12501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関