

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19H03300

研究課題名(和文) 標高上下間での植物の遺伝的分化と、送粉昆虫が分化の維持に果たす役割

研究課題名(英文) Genetic differentiation of plants between upper and lower elevations and the role of pollinating insects in maintaining differentiation

研究代表者

市野 隆雄 (Itino, Takao)

信州大学・学術研究院理学系・教授

研究者番号：20176291

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)： 標高上下間での適応分化が遺伝的分化につながるかを、中部山岳域に分布する4種のマルハナバチ媒植物について検証した。ウツボグサ、オドリコソウ、キバナノヤマオダマキでは、標高ごとの主要送粉者の違いに起因する送粉者サイズの集団間変異に、花サイズが対応していた。この3種では標高上下間の遺伝的分化は検出されず、山域ごとの遺伝的なまとまりが検出された。キツリフネでは、狭域での標高上下間で花期などの形質が明瞭に分化した「早咲き型」と「遅咲き型」が側所分布しており、遺伝的にも両型が分化していた。花期の分化には遺伝的基盤があった。キツリフネでは標高傾度に沿った適応分化と遺伝的分化に関連性が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

標高に伴う側所的な2型の分化が本研究成果により示された。繁殖時期(花期)の違いが2型の側所分化を維持する機構として重要であることも示され、標高間種分化という未開拓の研究分野にとって嚆矢とも見なすべき成果が得られたといえる。この標高間分化の発見は、従来よりも細かい保全単位で山地性植物を保全すべきであるといった政策の見直しにつながりうる基礎情報となる。

研究成果の概要(英文)： We tested whether adaptive differentiation between upper and lower elevations leads to genetic differentiation in four bumblebee-pollinated herbaceous species distributed in the Japanese Alps.

In *Prunella vulgaris*, *Lamium album* and *Aquilegia buergeriana*, flower size corresponded to inter-population variation in pollinator size due to differences in the main pollinators at different elevations. No genetic differentiation between upper and lower elevations was detected in these three species, and genetic differentiation was detected among mountain ranges.

In *Impatiens noli-tangere*, the "early-flowering type" and the "late-flowering type," in which the flowering time and other morphological traits were clearly differentiated between the upper and lower elevations in a narrow range, were parapatrically distributed, and the two types were genetically differentiated. In *I. noli-tangere*, adaptive differentiation to altitude was associated with genetic differentiation.

研究分野：進化生物学

キーワード：標高種分化 草本植物 送粉昆虫 遺伝分化 生態型

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

種分化の過程と、種分化につづく姉妹種の共存機構の解明は、進化生態学の中心的な研究課題である。近年、分断淘汰によって起こる種分化(生態的種分化)が注目されている。これは環境勾配上での分断淘汰によって2型が生じ、それが生殖隔離を通じて側所的な種分化に至るものであり、標高上下間でも起こることが理論的に予測されている。標高による環境勾配は地球上で普遍的であることから、このような「標高種分化」は種分化の重要な機構の一つである可能性がある。

中部山岳域に分布するマルハナバチ媒植物であるヤマホタルブクロでは、花サイズが標高上下で大きく異なり、それが(標高上下で異なる)優占マルハナバチ種の体サイズに対する適応であることを我々は明らかにした。さらにサラシナショウマでは、形態および標高分布の異なる3送粉型が存在し、その間で別種レベルの遺伝的分化が起こっていることを見いだした。これらのことから、サラシナショウマ以外の植物種についても、花形質の分化だけでなく、標高上下間での遺伝的分化の可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、標高上下間で花サイズが大きく変異していることがわかっているマルハナバチ媒植物について、遺伝的分化の有無を明らかにする。また、その遺伝的分化がどのような機構で維持されているかを評価する。標高上下間の分化の普遍性と、分化の維持メカニズムを明らかにすることが本研究の目的である。

従来、標高傾度に沿った連続的な形態変異は、さまざまな生物種において知られている。一方、標高傾度に沿って中立遺伝子の変異が見られるとする研究も多い。しかし、前者と後者がリンクしており、かつ遺伝的変異に明確なブレイクがあることを示した研究はほとんどない。

中部山岳域において、マルハナバチ媒植物の花サイズが標高の上下で大きく変異することを我々は明らかにした。特にヤマホタルブクロでは、送粉マルハナバチ類の種構成が標高上下で大きく異なっていること、それにともなって送粉ハチサイズが標高上下で異なり、それが、花サイズの大小に影響していることを示した。さらに、サラシナショウマでは、3送粉型の間で別種レベルの遺伝的分化が起こっていることを見いだした。本研究では、サラシナショウマ以外の植物種について、標高上下間で遺伝子流動が制限されているかどうかを明らかにし、その制限メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

(1) キツリフネについて、長野県安曇野市の標高傾度に沿った山道沿いの調査地において、花期、葉形態、種子形態、茎上での花の位置などの形質を調べた。また、長野県の4山域31地点において、キツリフネの花期を確認するとともに葉サンプルを採取し、MIG-seq法を用いた集団遺伝解析を行なった。

安曇野市の調査地の標高890m(沢域)と1325m(尾根域)の実験圃場において、無機的環境のモニタリングを行うとともに、早咲き型、遅咲き型両エコタイプの相互移植実験を行った。また同調査地のキツリフネの分布域全てを網羅した9地点から約500個体の葉サンプルを採取し、MIG-seq法による集団遺伝解析を行った。さらに花期の遺伝性を検証するため、早咲き型個体と遅咲き型個体を、元々の生育場所から他方の型の生育している場所へ移植し、花期を確認する実験を行った。

(2) ウツボグサについては長野県3山域(乗鞍、美ヶ原、御岳山)の13集団について、花サイズと各集団を訪れる送粉者の口吻サイズを調査した。一方、核DNAのITS領域、6座のマイクロサテライトマーカーを用いた集団遺伝解析をおこなった。また、東日本各地から採取したウツボグサ葉サンプルについて、MIG-seq法によって探索したSNPsを用いた系統解析を行った。

(3) オドリコソウについては中部山岳域の2山域12集団、キバナノヤマオダマキについては同じく4山域16集団について、花サイズと送粉者サイズの関係調べた。オドリコソウは10種類のマイクロサテライトマーカーを用いて、キバナノヤマオダマキはMIG-seq法を用いて、それぞれ集団遺伝構造を解析した。

4. 研究成果

(1) キツリフネについて、長野県安曇野市の標高傾度に沿った山道沿いの調査地において、花期の早い早咲き個体(花期:6月~7月)と遅咲き個体(花期:7月下旬~9月)の2型が認められることを確認した。早咲き個体は高標高に、遅咲き個体は低標高に、それぞれ分布し、境界となる中間標高域では両者が同所的に分布している地点があった。

この山道の標高に沿って葉形態、種子形態、茎上での花の位置などの形質を調べ、早咲き型、遅咲き型の2型の形態形質が明確に異なっていることを明らかにした。また、中間標高の早咲き

型、遅咲き型の個体が同所的に存在している地点において、両型の中間的な形質をもつ個体は見られないこと、をそれぞれ明らかにした。これらの事実は、何らかの生殖隔離機構が2型間で働いていることを示している。

この花期の違う2型が広く長野県全域で認められるものか、また遺伝的分化を伴うものかどうかを確認するため、長野県の4山域31地点においてキツリフネ葉サンプルを採取し、MIG-seq法を用いてゲノムワイドなSNPs探索を行い、得られたデータについて集団遺伝解析を行った。その結果、長野県内だけでも様々な花期の変異(6、7、8月開花)が観察され、これらの花期の変異が異なる山域ごとに独立して生じたことが示された。また、各山域を単位とする遺伝的なまとまりが検出された一方、花期の異なる集団間での明瞭な遺伝的な構造は認められなかった。加えて、距離による遺伝的隔離の傾向が認められた。これらの結果は、花期の集団間変異は山域ごとに独立に生じ、同一山域の集団間では遺伝子流動が維持されていることを示している。ただ、一部の調査地域(松本市、安曇野市)では、距離的に近い2集団の間で遺伝的分化が大きいことを見出した。これらの距離的に近い隣接2集団の間では、花期が互いに大きく異なっていた。

このうち安曇野市の調査地において、キツリフネの早咲き型と遅咲き型の2型が乾湿への二極化した適応をしているという仮説をたて、標高傾度に沿った山道沿いの調査地において、標高上下(尾根域と沢域)における無機的環境のモニタリング、およびキツリフネ2型の尾根域と沢域間での相互移植実験を行った。その結果、標高890m(沢域)と1325m(尾根域)の無機環境の大きな違いは土壌水分量の乾湿であることが判明した。尾根域と沢域での2型の相互移植実験では、他種植物を除草した条件と、除草しない条件での実験を行った。両方の結果を比較した結果、標高890mの遅咲き型の生育環境では、土壌が湿潤で両タイプとも生長しやすい反面、他種草本との競争が激しい傾向が見られた。一方、標高1325mの早咲き型の生育環境では、土壌の乾燥により両タイプとも生長が制限され生存率も低い反面、他種草本との競争は少ない傾向が見られた。これらのことは、除草しない自然条件においては、乾燥が厳しくなる夏期以前に生長・繁殖して秋に枯死する早咲き型と、夏まで十分生長して秋に一気に繁殖する遅咲き型がそれぞれの元々の生育場所(ホームサイト)において有利であることを示唆している。

キツリフネの花期の遺伝性を検証するため、早咲き型個体と遅咲き型個体を、元々の生育場所から他方の型の生育している場所へ移植する実験を行った。その結果、花期は生育場所に関わらず維持されることが判明し、花期に遺伝基盤があることが示された。また、2型間の交雑については、人工授粉によるF1個体の作成が可能であること、F1個体の花期は2型の中間であることを、それぞれ明らかにした。

この標高傾度に沿った山道沿いの調査地において、キツリフネ約500個体の集団遺伝解析を行った結果、早咲き型と遅咲き型の形質分化に対応した遺伝分化が存在すること、両型間の遺伝子流動がほとんど起こっていないことを、それぞれ明らかにした。

(2) ウツボグサについては、長野県3山域(乗鞍、美ヶ原、御岳山)の13集団について、各集団を訪れる送粉者の口吻長が、その集団の花筒長に影響することを明らかにした。一方、核DNAのITS領域、マイクロサテライトマーカー6座を用いた解析をおこなったが集団遺伝構造の解像度は低かった。

MIG-seq法によって探索したSNPsを用いた系統解析の結果、東日本のウツボグサは大きく二つの系統に分けられた。そのうち長野県のほとんどの集団を含む一つの系統においては単系統性が支持され、距離による遺伝的隔離の傾向が認められた。もう一方の系統では北海道と長野県の集団が近縁になるなど地理的に明瞭な遺伝構造が見出されなかった。

生態情報(花サイズや訪花者など)と、MIG-seqによる集団遺伝構造との対応を調べたところ、長野県の集団は他地域のものから遺伝的に区別され、花サイズが大きく、マルハナバチによる訪花が主であることが明らかになった。これは中部山岳域において優占するマルハナバチに適應した集団が、他地域の低標高域で小型のハナバチに送粉を頼る小型の花の集団から、形態的、遺伝的に区別されることを示している。

(3) オドリコソウとキバナノヤマオダマキの両種とも、長野県のどの山域でも大型の訪花者が訪れる植物集団は花サイズが大型であり、小型の訪花者が訪れる植物集団は花サイズが小型であった。

オドリコソウではマイクロサテライト領域を用いて、キバナノヤマオダマキではMIG-seq法によって探索したSNPsを用いて、それぞれ集団遺伝解析を行った結果、当初予想していた標高上下間の遺伝的分化は検出されず、山域間の顕著な遺伝的分化が検出された。

これらの結果から、両種の花サイズは、地域ごとの平均的な訪花者サイズに適應して、山域間で独立に進化していることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Toji T, Yamamoto T, Kondo H, Shinohara Y and Itino T	4. 巻 136
2. 論文標題 Sympatric co-existence of two ecotypes of <i>Impatiens noli-tangere</i> (Balsaminaceae) with different morphology and flowering phenology.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 323-331
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-023-01444-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takahashi K and Itino T	4. 巻 100
2. 論文標題 Measurement of inbreeding depression in <i>Rhododendron kaempferi</i> : seed production, germination, juvenile survival, and growth.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Botany	6. 最初と最後の頁 359-365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/cjb-2021-0038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Toji T, Hirota SK, Ishimoto N, Suyama Y and Itino T	4. 巻 12
2. 論文標題 Intraspecific independent evolution of floral spur length in response to local flower visitor size in Japanese <i>Aquilegia</i> in different mountain regions.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ece3.8668	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Toji T, Ishimoto N, Egawa S, Nakase Y, Hattori M and Itino T	4. 巻 21
2. 論文標題 Intraspecific convergence of floral size correlates with pollinator size on different mountains: a case study of a bumblebee-pollinated <i>Lamium</i> (Lamiaceae) flowers in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Ecol Evol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12862-021-01796-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hattori M, Tamada Y and Itino T	4. 巻 154
2. 論文標題 Effect of pollinator size on seed set in <i>Lamium album</i> var. <i>barbatum</i> .	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 201-206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5091/plecevo.2021.1642	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Toji T and Itino T	4. 巻 55
2. 論文標題 Differences in the flower visitor behaviour on female and hermaphroditic flowers of <i>Cimicifuga simplex</i> .	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural History	6. 最初と最後の頁 1289-1298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00222933.2021.1946611	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toji T, Tokuda M, Yamamoto T, Nakase Y and Itino T	4. 巻 24
2. 論文標題 Discovery of cryptic diversity in phytophagous gall midges (Diptera:Cecidomyiidae) associated with different ecotypes of the perennial herb <i>Cimicifuga simplex</i> .	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Asia-Pacific Entomology	6. 最初と最後の頁 1010-1016
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.aspen.2021.09.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 田路翼, 市野隆雄	4. 巻 43
2. 論文標題 日本の中部山岳域におけるナギナタコウジュの分子系統: 高山生態型の発見とユーラシア大陸産ナギナタコウジュとの遺伝的差異.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 信州大学環境科学年報	6. 最初と最後の頁 28-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Toji Tsubasa, Itino Takao	4. 巻 35
2. 論文標題 Differences in sex expression and mating systems in three pollination morphs of <i>Cimicifuga simplex</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Species Biology	6. 最初と最後の頁 112 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1442-1984.12265	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Egawa Shin, Hirose Koyo, Itino Takao	4. 巻 35
2. 論文標題 Geographic changes in pollinator species composition affect the corolla tube length of self heal (<i>Prunella vulgaris</i> L.): Evidence from three elevational gradients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 819 ~ 825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1440-1703.12146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi K and Itino T	4. 巻 26
2. 論文標題 Comparison of flower-visiting behaviour of bumblebees and swallowtail butterflies to the Japanese azalea (<i>Rhododendron japonicum</i>)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pollination Ecology	6. 最初と最後の頁 32-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Toji Tsubasa, Ishimoto Natsumi, Itino Takao	4. 巻 11
2. 論文標題 Seasonal change of flower sex ratio and pollinator dynamics in three reproductive ecotypes of protandrous plant	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecosphere	6. 最初と最後の頁 e03251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ecs2.3251	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 江川信・市野隆雄	4. 巻 69
2. 論文標題 上高地におけるマルハナバチ属の体サイズの種間変異および標高間の種内変異	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New Entomologist	6. 最初と最後の頁 39-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 近藤輝留、田路翼、廣田峻、陶山佳久、市野隆雄
2. 発表標題 長野県安曇野市一山域で見られたキツリフネの生態型分化
3. 学会等名 第55回種生物学会シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 近藤輝留、田路翼、中瀬悠太、市野隆雄
2. 発表標題 キツリフネの開花時期の分化を伴った局所適応：相互移植実験による検証。
3. 学会等名 第54回種生物学会シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤輝留、田路翼、中瀬悠太、市野隆雄
2. 発表標題 キツリフネのエコタイプ間での開花時期の分化：相互移植実験による検証
3. 学会等名 2022年度日本生態学会中部地区大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田路翼, 廣田峻, 石本夏海, 中瀬悠太, 江川信, 中村駿介, 服部充, 陶山佳久, 市野隆雄
2. 発表標題 マルハナバチ属昆虫が駆動する花のサイズの山域間独立進化 -4種植物における共通点
3. 学会等名 日本昆虫学会第82回大会, (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤輝留, 田路翼, 中瀬悠太, 江川信, 塩見温士, 山本哲也, 市野隆雄
2. 発表標題 相互移植実験によって明らかになったキツリフネのエコタイプ間での形質分化
3. 学会等名 第70回日本生態学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤輝留, 江川信, 塩見温士, 山本哲也, 田路翼, 中瀬悠太, 市野隆雄
2. 発表標題 湿潤な沢と乾燥した尾根間の相互移植実験によって明らかになったキツリフネの局所適応.
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田路翼, 石本夏海, 江川信, 中瀬悠太, 服部充, 市野隆雄
2. 発表標題 一集団内において数年間維持されている花サイズの二峰性: 大小2種の送粉者への適応分化
3. 学会等名 第37回 個体群生態学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田路翼, 廣田峻, 石本夏海, 中瀬悠太, 江川信, 中村駿介, 服部充, 陶山佳久, 市野隆雄
2. 発表標題 送粉者サイズに応じた花サイズの山域間独立進化: 4種における実証
3. 学会等名 第53回 種生物学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tsubasa Toji, Natsumi Ishimoto, Yuta Nakase, Shin Egawa, Mitsuru Hattori, Takao Itino
2. 発表標題 Bimodal flower size distribution caused by disruptive selection through pollinator flower size preferences
3. 学会等名 第69回 日本生態学会大会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田路翼・石本夏海・江川信・中瀬悠太・市野隆雄
2. 発表標題 オドリコソウの集団内・集団間における花筒長の変異と訪花者サイズの変異の関係
3. 学会等名 日本生態学会中部地区大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田路翼・石本夏海・江川信・中瀬悠太・市野隆雄
2. 発表標題 一集団内における送粉者の行動の違いがもたらす花サイズの二峰性-オドリコソウを例に
3. 学会等名 第51回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toji T, Ishimoto N, Itino T
2. 発表標題 The effect of pollinator quality and quantity on sex ratio and self-breeding of three ecotypes of <i>Cimicifuga simplex</i>
3. 学会等名 第67回日本生態学会大会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石本夏海・田路翼・江川信・中瀬悠太・市野隆雄
2. 発表標題 オドリコソウの花サイズ変異は送粉者相と送粉者体サイズの地理的変異に影響される
3. 学会等名 第67回日本生態学会大会
4. 発表年 2020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	陶山 佳久 (Suyama Yoshihisa) (60282315)	東北大学・農学研究科・教授 (11301)	

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
---------	---------