

令和3年度白滝ジオパーク研究助成報告書

北海道大学大学院環境科学院 塩谷 悠希

研究課題名:「キク科植物ミミコウモリ類における無性生殖の進化的意義」

1. 研究の背景

植物はほとんどの種が有性生殖を行う一方で、無性生殖の手段をもつものも少なくない。無性生殖を頻繁に行う集団は、有性生殖を主に行う集団と比較したとき、個体・集団内の遺伝的多様性が減少しやすく、近交弱勢や環境変動の影響を強く受けるリスクがある。その一方で、環境ストレスが強く、有性生殖が維持できない場所であっても個体を存続させることができる利点がある。どのような環境下で植物の無性生殖が進化するかを解明することは、進化生態学の主要な目的の1つである。

植物の無性生殖は、これまで染色体倍数性と関連づけられて議論されることが多かった。染色体(DNA とタンパク質が結合して折り畳まれた構造)は通常、真核生物の細胞内に 2 セット存在するが(2 倍体)、染色体の倍数化が生じることで 4 セット(4 倍体)になることがある。この染色体の倍数化は植物の多くの分類群で確認されているが、倍数化した集団では 2 倍体集団よりも無性生殖が促進される傾向があることが報告されてきた(Van Drunen and Husband 2019)。しかし、倍数化がどのようなメカニズムを通して無性生殖を促進しているかについてはほとんど解明されていない。

本研究は無性生殖の適応的な意義と、倍数化が無性生殖にもたらす影響を解明することを目的とした。対象種は種内に 2 倍体と 4 倍体の集団をもつキク科植物ミミコウモリ *Parasenecio kamtschaticus* var. *kamtschaticus* である(図 1A)。先行研究では、道東と道北に 4 倍体、道南から道東の太平洋沿岸に 2 倍体のミミコウモリが生育していることが報告されている(Nakagawa 2006; Kudo and Hirao 2020)。そして道央の亜高山帯にはミミコウモリの亜種コモチミミコウモリ var. *bulbifera* が生育している。コモチミミコウモリは 4 倍体のみが報告されており、葉腋部分に「むかご」と呼ばれる器官を作ることで無性生殖を活発に行うことが特徴である(図 1B)。本研究は特に以下の問いに注目して行われた。(1)無性生殖の程度は環境傾度に沿って変化するか?(2)4 倍体は 2 倍体よりも無性生殖が促進されているか?

2. 材料と方法

ミミコウモリは体高 50-70 cm ほどの多年生草本であり、分布は東アジア(中国東部、韓国、日本)に限られている。日本では東北地方・北海道に分布し、低地～亜高山の林床に生育する。一方、コモチミミコウモリはミミコウモリよりも体高が低く、北海道にのみ分布する亜種である。大雪山系や増毛山系などの亜高山～ハイマツ帯に生育し、むかごによって無性生殖を行うことが最大の特徴である。

2. 1. 標高傾度に沿った無性生殖のパフォーマンスの変化

もし無性生殖の進化が周囲の厳しい環境条件によって引き起こされるなら、環境条件の変化に従って無性生殖の頻度も変わると考えられる。本研究では、無性生殖に影響を及ぼす環境条件として標高傾度に注目した。標高傾度は、気温・積雪量の変化を生み出し、標高間での異なる環境ストレスを形成する。コモチミコウモリが生育している場所のうち、遠軽町平山、新得町沼ノ原、増毛町暑寒別岳は幅広い標高帯にコモチミコウモリが分布しており、標高傾度に沿った無性生殖のパフォーマンスの変化を検証するのに最適な場所である。この 3 山域で 2021 年の 8-9 月にかけて以下のような調査を行った。(1) 各山域を約 150 m 毎の標高クラスに分け、各クラスで $1 \times 1 \text{ m}^2$ の方形区を 3 つランダムに設置した。(2) 方形区内に出現したすべてのコモチミコウモリ個体について、体高、花数、むかご数を測定した。(3) 測定した項目について、標高間の変化を一般化線形混合モデル (GLMM) で解析した。

2. 2. 倍数化が無性生殖にもたらす影響

無性生殖を活発に行うコモチミコウモリでは、先行研究で多くの個体群の倍数性が明らかにされたが、すべて倍数化した 4 倍体だった。このことはコモチミコウモリで倍数化が無性生殖の獲得に大きな影響を与えた可能性を示唆する。しかし、コモチミコウモリは亜高山～高山の高標高帯にのみ生育していることから、高標高帯の環境ストレスが無性生殖の獲得に関わった一方で、倍数化は偶然的な要素である可能性も考えられる。そこで本研究では、これまで無性生殖が報告されてこなかったミコウモリの個体群で 2021 年の 7-10 月にかけて以下のような調査を行い、倍数化が無性生殖を促進するかを検証した。(1) 低地の 4 倍体と 2 倍体、亜高山の 2 倍体個体群で、それぞれランダムに 50 個体以上を選択し、むかごの有無と直径を記録した (図 2A)。(2) 一般化線形混合モデルで、倍数性の違いがむかごの形成率に影響するかを解析した。この調査は、倍数化が無性生殖の獲得を促進しているという仮説から、「低地の 4 倍体は低地の 2 倍体より多くむかごを形成する一方、2 倍体は高標高の個体群であってもむかごを形成しない」という予測を立てて行われた。

3. 結果

3.1 標高傾度に沿った無性生殖のパフォーマンスの変化

平山、沼ノ原、暑寒別岳すべての山域で、コモチミコウモリの花数は標高の上昇と共に有意に減少していた (図 3, GLMM: $P < 0.05$)。一方、開花個体のむかご数・体高は標高の変化と関係が見られなかった (図 3)。また、標高が上昇するにつれて、体サイズ (体高) あたり生産する花数が減少する傾向が顕著に見られた一方で、体サイズあたり生産するむかご数はほとんど変化しなかった (図 4)。

3.2 倍数化が無性生殖にもたらす影響

低地の 4 倍体は、2 倍体よりも高い割合でむかごを形成する個体が集団に存在していた (図

2B、GLMM:P < 0.05)。また、2 倍体は亜高山の個体群でもほとんどむかごを形成していなかった。また、形成されていたむかごの直径を、2 倍体、低地の 4 倍体、そして平山・暑寒別のコモチミミコウモリで比較した結果、低地の 4 倍体はコモチミミコウモリほど大きなむかごは形成しないものの、2 倍体よりも有意に大きなむかごを形成することが明らかになった(図 5、Steel-Dwass 検定:P < 0.05)。

3.3 考察・今後の展望

コモチミミコウモリは、標高の上昇に伴い花生産が減少したものの、むかごの生産は減少が見られなかった。そのため、高標高帯では繁殖に占める無性生殖の割合が高くなっており、高標高における無性生殖の重要性が示唆された。一般に、有性生殖器官である花よりも無性生殖器官(むかごや塊茎など)の方が環境ストレスに対して耐性があることが知られている(Wang et al. 2018)。また、高山環境では生育できる期間が短いこと、訪花する昆虫の活性が低いことなどが原因で種子の結実が失敗しやすい(Kudo and Hirao 2020)。そのため、高山では低地と比べ無性生殖への優先的な資源の投資が起こりやすく、無性生殖集団の進化が促進される可能性がある。

また、ミミコウモリでは、低地の 4 倍体の方が 2 倍体よりもむかごの形成率が高く、むかご直径も大きいことが示された。本研究は初めて、典型的なコモチミミコウモリではないミミコウモリ個体群でのむかご生産を確認した。さらに、標高の高い亜高山の個体群でも 2 倍体はほとんどむかごを形成していないことが明らかになった。以上のことから、倍数化が無性生殖を促進した可能性が示された。倍数化は細胞のサイズを増大させたり(Ramsey and Ramsey 2014)、分裂組織のホルモンの発現パターンを変化させたりすることが知られている(Van Drunen and Husband 2018)。ミミコウモリ・コモチミミコウモリのむかごは葉の付け根の葉腋部に形成される。倍数化がミミコウモリのむかご生産を促進するメカニズムを解明するために、今後は葉腋部の構造変化に焦点を当てた研究が必要かもしれない。

コモチミミコウモリ亜種は日本の北海道でのみ確認されているため、北海道内でミミコウモリから進化した可能性が高い。本研究の結果からその進化経路を推測すると、ミミコウモリが倍数化によって高い無性生殖の能力を獲得した後、亜高山・高山の有性生殖が制限される環境で大きなむかごを作る個体が選択され、コモチミミコウモリへの進化が生じたと考えられる。この経路は、Kudo and Hirao (2020)のアロザイム分析の結果と矛盾しない。現在、葉緑体 DNA の系統解析から、低地の 4 倍体のうちどの個体群がコモチミミコウモリの直接の祖先集団かを推定する作業を進めている。

遠軽町は、コモチミミコウモリが広い標高帯に分布する道内でも珍しい場所である。特に、丸瀬布鹿鳴の滝や山彦の滝周辺の隔離個体群は、分布域の中でも最も標高の低いものの 1 つと考えられる。滝周辺の冷温・多湿な環境が低地でのコモチミミコウモリの定着を可能にしたと考えられるが、これらの個体群がどのような進化的歴史をもっているのかは解明されていない。現在、これらの低地個体群を含めたコモチミミコウモリの系統解析を葉緑体 DNA の塩基配列

に基づいて進めており、どのように低地隔離個体群が形成されたのか、遠軽町の個体群は他の山域のコモチミコウモリと同一の起源であるか、について解明が進むことが期待される。

【参考文献】

- Kudo, G., and A. S. Hirao. 2020. Geographical distribution, genetic diversity, and reproductive traits of mixed polyploid populations in *Parasenecio kamtschaticus* (Senecioneae; Asteraceae). *Plant Syst. Evol.* 306:1-11. Springer Vienna.
- Nakagawa, M. 2006. Ploidy, geographical distribution and morphological differentiation of *Parasenecio auriculata* (Senecioneae; Asteraceae) in Japan. *J. Plant Res.* 119:51-61.
- Ramsey, J., and T. S. Ramsey. 2014. Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 369:15-19.
- Van Drunen, W. E., and B. C. Husband. 2019. Evolutionary associations between polyploidy, clonal reproduction, and perenniality in the angiosperms. *New Phytol.* 224:1266-1277.
- Van Drunen, W. E., and B. C. Husband. 2018. Immediate vs. Evolutionary consequences of polyploidy on clonal reproduction in an autopolyploid plant. *Ann. Bot.* 122:195-205.
- Wang, Z., L. Xie, C. M. Prather, H. Guo, G. Han, and C. Ma. 2018. What drives the shift between sexual and clonal reproduction of *Caragana stenophylla* along a climatic aridity gradient? *BMC Plant Biol.* 18:1-10. BMC Plant Biology.



- 2倍体と4倍体
- 低地の林床
- 有性繁殖のみ



- 4倍体のみ
- 亜高山帯
- 無性生殖

図1: ミミコウモリ類の形態と生態的形質。A: ミミコウモリ、B: コモチミミコウモリ。

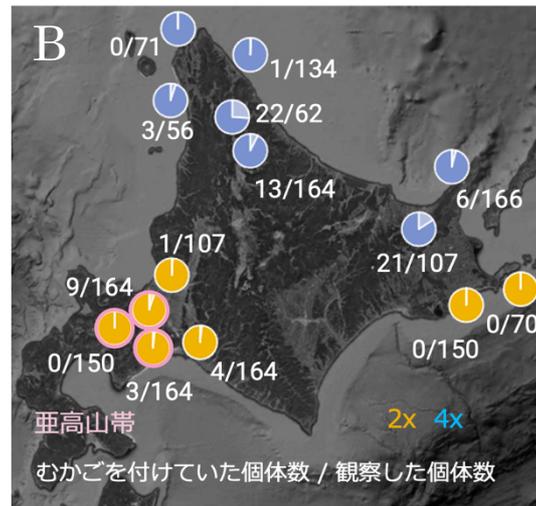
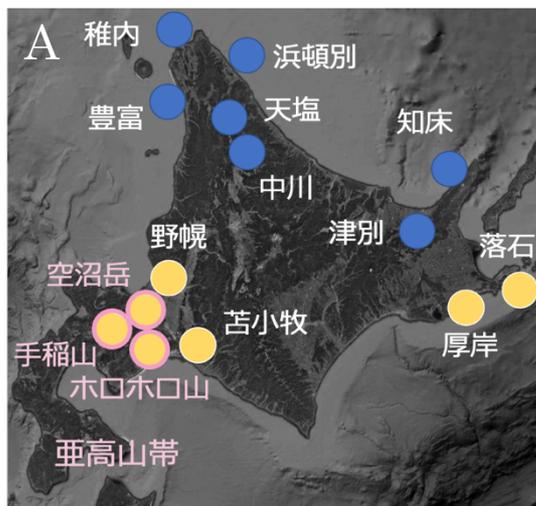


図2: ミミコウモリ個体群に占めるむかご形成個体の割合。A: 調査個体群の概要、B: 各個体群におけるむかご形成個体の割合。黄色は2倍体、青色は低地4倍体、ピンク色の縁は亜高山の個体群を表す。

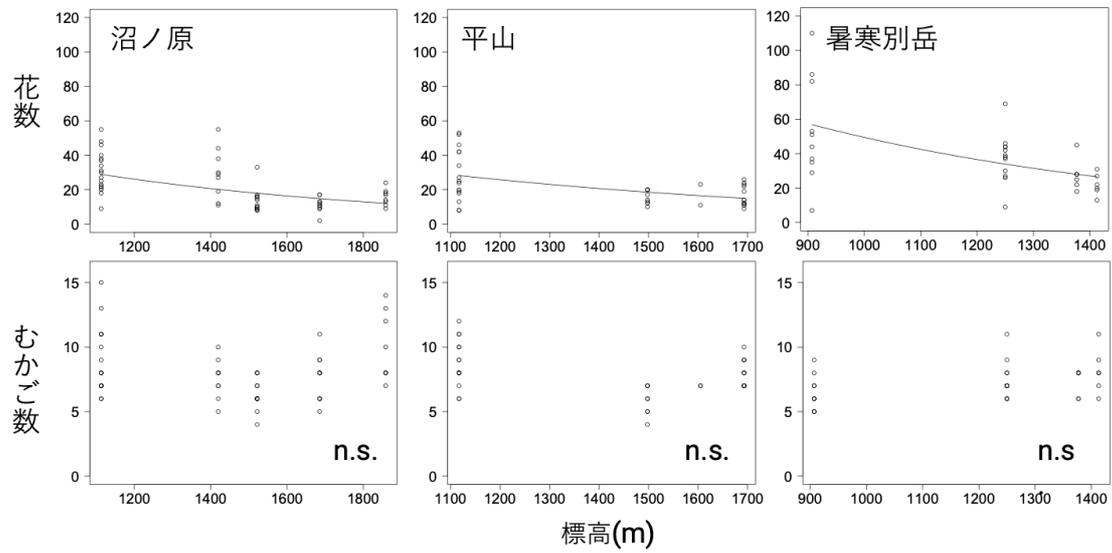


図3:各山域における、標高の上昇に伴う花数・むかご数の変化。実線は標高と生産数との間に有意な相関があることを、n.s.は相関がないことを示す。

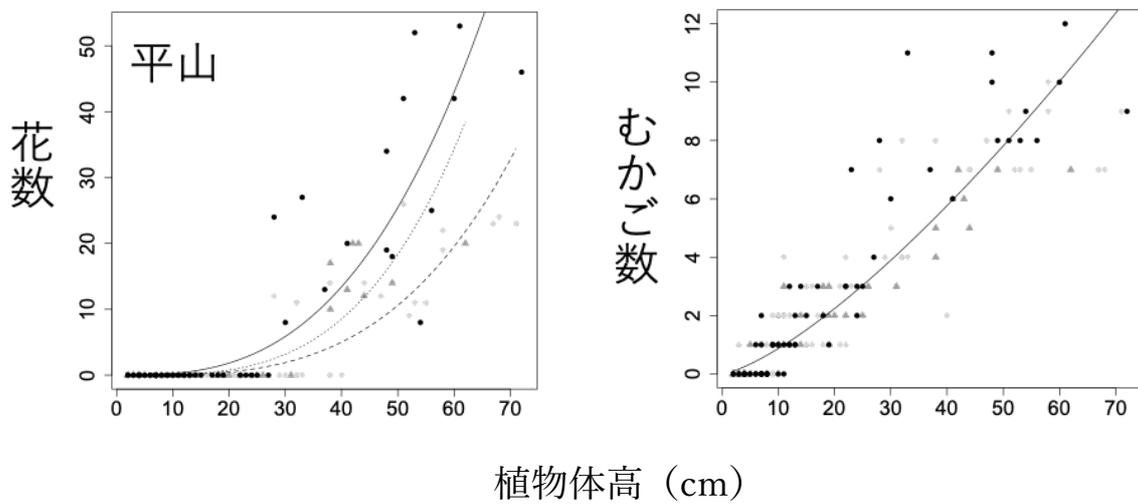


図4:体サイズ(体高)あたり生産する花数・むかご数の変化。3山域で同様の傾向だったため、平山の結果のみ図示されている。平山を3つの標高クラスに分けたとき(1100 m:実線、1500 m:点線、1600-1700 m:破線)、花数では標高が上昇すると体サイズあたりの生産数が減少する一方、むかご数ではクラス間で差が検出されなかった。

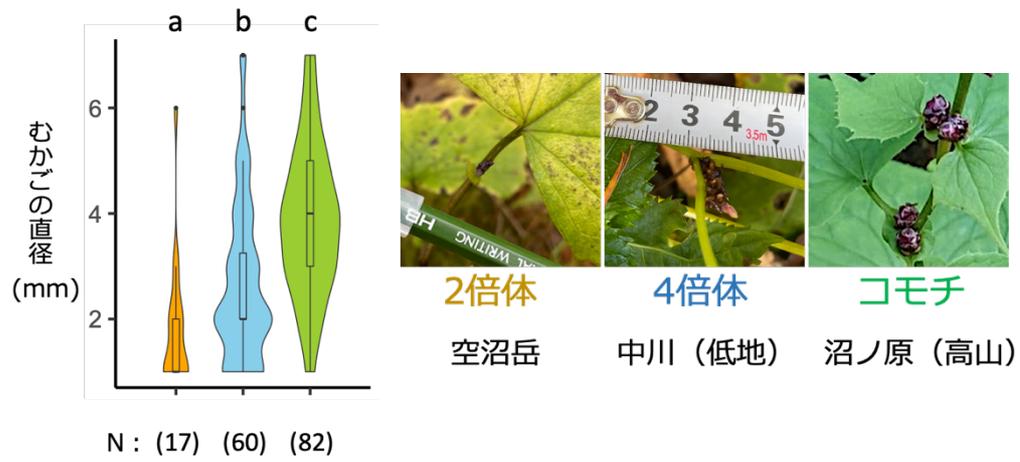


図5:各倍数性タイプのむかご直径と形態。黄色は2倍体、青色は低地4倍体、緑色は高山コモチミミコウモリを示す。a、b、cは異なるアルファベットのグループ間で有意な差があることを示す。Nはサンプル数。