

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K06379

研究課題名(和文) コバイモ類の種分化：花形態と系統の不一致の要因・独特な分布パターンの成因を探る

研究課題名(英文) Speciation of *Fritillaria* sect. *Japonica*: Investigating the causes of discordance of floral morphology evolution and phylogeny, and the causes of formation of unique distribution patterns of species

研究代表者

布施 静香 (Fuse, Shizuka)

京都大学・理学研究科・准教授

研究者番号：30344386

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：コバイモ類(ユリ科)は、日本固有種のみから構成される。本植物群は、形態観察に加え、サンガー法による塩基配列解析に基づいた母系統の推定とMIG-seqによるゲノムワイド解析に基づいた遺伝的多様性の推定によって、従来の8種2雑種ではなく、8種2種内分類群3雑種から構成されると考えられた。これは、過去の交雑によって成立したグループと、同じ親種の組み合わせであっても現在も頻繁に交雑しているグループを区別して取り扱う必要性を示している。また、染色体基本数が $x=11$ と 12 の両方の系統において筒形の花が祖先的だと推定された。その祖先型の筒形の花を持つホソバナコバイモ等において訪花昆虫相が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コバイモ類(*Fritillaria* sect. *Japonica*)は日本の早春を彩る可憐な植物であるが、その多くが絶滅危惧種であり、生育環境の減少と盗掘被害によってこのままでは今後ますます個体数が減少すると予想される。本研究は、現在自生するコバイモ類の分類を再検討し、多様化に直接関与したであろう花形態の進化の方向性を示し、訪花昆虫など植物の繁殖に関わる知見を示した。これらは、植物の種分化に関する研究のみならず、コバイモ類の保全に大きく貢献する。

研究成果の概要(英文)：*Fritillaria* sect. *Japonica* (Liliaceae) is composed only of species endemic to Japan. Based on morphological character observation, maternal lineage estimation through plastid sequence analysis by Sanger method, and genetic diversity estimation through genome-wide analysis by MIG-seq, this plant group is now considered to consist of eight species, two infraspecific taxa, and three hybrids, rather than the previously recognized eight species and two hybrids. This indicates that the two plant groups should be treated independently: one was established by ancient hybridization; the other is being produced by ongoing hybridization, although the parent combination of the former is the same with that of the latter. Additionally, in both lineages with basic chromosome numbers of $x=11$ and $x=12$, tubular flowers were estimated to be ancestral. The flower-visiting insect fauna was clarified for a few species including *Fritillaria amabilis* Koidz., which has tubular flowers.

研究分野：植物系統分類学

キーワード：コバイモ節 花形態 分子系統 訪花昆虫 日本固有 絶滅危惧植物 スプリング・エフェメラル

1. 研究開始当初の背景

コバイモ類は、ユリ科バイモ属コバイモ節 (*Fritillaria* sect. *Japonica*) の多年生草本で、8種2雑種の全てが日本固有である。コバイモ類の開花個体の草丈は10cm程度と小さく、葉は必ず5枚、1個体につき花は1つしかつけない。また、典型的な“春植物”で、早春の約4週間で展葉から開花、結実、種子散布までを行い、晩春には地上から姿を消して地下部の鱗茎のみとなる。コバイモ類はカタクリなどと同様、早春に出現する昆虫の花粉源および蜜源と考えられるが、それは同時に早春に活動する限られた昆虫しか送粉者になりえない事を示している。

コバイモ類の花の形は、3タイプが認識でき、分類形質としてよく用いられてきた(図1)。

申請者らの予備的なDNA塩基配列解析により、この3タイプの花形は必ずしも系統を反映したものでないことが示唆された(図2)。この予備的なDNA解析は、コバイモ類に2つの系統(染色体基本数が $x=11$ と $x=12$ の系統)が存在し、それぞれの系統に分かれた後に3タイプの花形(筒形、鐘形、傘形)が分化したことを示している。さらに、地図上に花形をプロットしてみると、系統にかかわらず、筒形の花を持つ種は西日本に分布し、鐘形の花を持つ種は東日本を中心に分布する傾向が見られた。そして、傘形花をもつ種は西日本・東日本に分かれてそれぞれ局所的に分布することが示された(図3)。これは、コバイモ類が分布を拡大する際、地域間の昆虫相の違いや訪花昆虫の行動の違いが局所的種分化を引き起こし、生態的種分化へとつながった結果を示しているかもしれない。近年、生態的種分化は理論的に洗練されてきたが、日本の生物を対象とした実証研究は動物・植物を含めて決して多くない。本研究は日本で多様化した植物群を用いて、その種間および集団間の系統関係をDNA解析によって明らかにした上で、訪花昆虫相を調査する。そして、林床や林縁に生育する春植物の種分化機構の解明と国内の植物を対象とした生態的種分化の実証研究の基盤構築を試みる。

コバイモ類は6種が環境省のレッドリストに掲載されており、他の分類群も絶滅が心配されている。本研究は、送粉者を中心とした生態的調査を通じてコバイモ類の保護にも寄与することが期待される。



図1 コバイモ類に見られる3タイプの花形

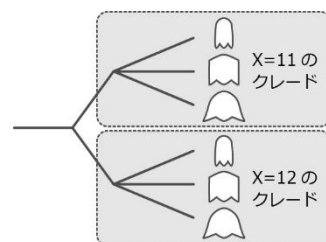


図2 予備的な解析によって得られた分子系統樹。3つの花形は $X=11$ 、 $X=12$ の両クレードで等しく見られる。

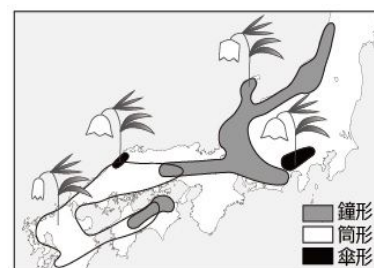


図3 花形の地理的まとまり。花形のまとまりは複数の異なる系統を含んでいる。

2. 研究の目的

1) コバイモ類の系統の解明

コバイモ類は、葉緑体DNAに基づく分子系統解析によって単系性が示されているが(Day et al. 2014)、種間の系統関係は明らかになっていない。そこで、本研究では、コバイモ類の種間の系統関係を明らかにし、さらに集団間の系統関係を明らかにする。これらにより、得られた系統関係を基にして、花形を含む形態の進化の方向性について議論する。

2) 花形と訪花昆虫との関連性の解明

コバイモ類の送粉者は、開花期間が短いせいか、断片的にしか知られていない(例えば Minagi et al. 2005)。そこで、本研究では、コバイモ類各種について訪花昆虫の種類と行動を調査する。

3. 研究の方法

1) コバイモ類の系統の解明

日本産コバイモ類全種について、日本全国の各集団から収集した植物を解析に用いた。本研究では材料植物の収集が研究精度を左右する鍵となるため、研究協力者らのご協力の元、各種法令を遵守して収集を進めた。

種間の系統関係の解明には、まず、サンガー法シーケンサーを用いて葉緑体11領域の塩基配列データを収集した。そして、分子系統樹を構築し、得られた系統樹に花形を含む形態形質を重ね合わせて形態進化の方向性を推定した。次に、次世代シーケンサーを用いてゲノム規模の一塩基多型解析(MIG-seq)を行い、集団間のDNAのネットワーク図を構築してコバイモ類のより詳細な系統関係を明らかにした。これにより、集団間の遺伝的交流の程度や、種内変異だと考えられている形態形質の系統的まとまりの有無を調査した。

2) 花形と訪花昆虫との関連性の解明

種分化機構の解明に重要だと思われる集団について、目視観察に加えて定点カメラとビデオカメラを仕掛け、訪花昆虫の行動調査を行った。また、訪花昆虫の同定のため、各集団の花の最盛期には現地で訪花昆虫の採集を行った。採集した昆虫は体表面にコバイモ類の花粉付着があるか顕微鏡下で確認した。収集した材料のうち生個体については花を解剖し、花形態の詳細な観察を行った。

4. 研究成果

1) コバイモ類の系統の概要

葉緑体系統樹の構築によって母系の系統を推定したところ、予備的な解析から大幅に解析個体数を増やしても染色体基本数が $x=11$ と $x=12$ の系統に大きく二分された。

$x=11$ グループには、ホソバナコバイモ、ミノコバイモ、イズモコバイモ、イワミコバイモが含まれ、 $x=12$ グループには、ヒゴコバイモ、トサコバイモ、コシノコバイモ、アワコバイモ、カイコバイモ、トクシマコバイモが含まれた。

$x=11$ グループと $x=12$ グループは、コバイモ類の系統の基部から大きく分かれ、しかも、 $2n=23$ の植物はこれまで報告されたことがないことから、両グループの間には遺伝的交流がないと考えられた。よって、MIG-seq では、より多くの遺伝子座を使用するために、それぞれのグループに分けて解析した。

2) $x=11$ グループの系統

ホソバナコバイモ

ホソバナコバイモは $x=11$ グループで最初に分岐した。形態的には明らかに1つの種と認識できるが、葉緑体系統樹では側系統となった。また、MIG-seq データによるネットワーク図、ストラクチャー解析のいずれにおいても1つにはまとまらなかった。MIG-seq データにおいて、ホソバナコバイモが1つにまとまらなかった理由は、隔離分布がその原因かもしれない。隔離分布のため、少なくとも現在における遺伝子流動は極めて限定的と考えられた。

ミノコバイモ

ミノコバイモは、ホソバナコバイモの筒型の花被が鐘型へと変化したことにより生じたと考えられた。また、中国地方に生育するミノコバイモ類似植物は、ホソバナコバイモを種子親、ミノコバイモを花粉親とした雑種である可能性が高い。

イズモコバイモ

イズモコバイモはホソバナコバイモから分化した種であり、花被が筒形から傘形へと変化したことにより生じたと考えられた。

イワミコバイモ

イワミコバイモは鳴橋 (2018) によって雑種とされた植物であるが、その見解は本研究においても支持され、イズモコバイモを種子親、ホソバナコバイモを花粉親とした交雑の結果誕生した雑種であることが分かった。

3) $x=12$ グループの系統

ヒゴコバイモ

ヒゴコバイモは $x=12$ グループで最初に分岐した。形態的には明らかに1つの種と認識できるが、葉緑体系統樹では側系統となった。一方で MIG-seq データでは単一のクラスターを形成した。本種は限られた地域にしか自生しないことから集団間で十分な遺伝子流動が起きていると考えられた。

トサコバイモ

ヒゴコバイモから分化した種であると考えられた。

コシノコバイモ

コシノコバイモには2系統あることが推定された。そのうち1系統は、カイコバイモとの類縁関係が近く、カイコバイモの種内分類群として取り扱うのが適切であると考えられた。

アワコバイモ

アワコバイモはトサコバイモから分化した種であると考えられた。

カイコバイモ

カイコバイモはコシノコバイモから分化した種であり、花被が鐘形から傘形へと変化したことにより生じたと考えられた。

トクシマコバイモ

トクシマコバイモはトサコバイモとアワコバイモの雑種だと考えられている (鳴橋 2006)。本研究によって、“トサコバイモ”と呼ばれる植物の中に、過去の交雑によって成立し形態形質の種内変異が少ないグループと、同じ親種の組み合わせであっても現在も頻繁に交雑し、形態形質の種内変異が極めて大きいグループの2つの存在が明らかになった。これらは区別して取り扱う必要がある。

4) 訪花昆虫

コバイモ類の開花期間は緯度や標高によって若干異なるが、3月下旬~4月の短期間に集中する。本研究では、コシノコバイモ、ミノコバイモ、トクシマコバイモ、アワコバイモ、ホソバナコバイモについて訪花昆虫の調査を試みた。コバイモ類への昆虫の訪花は、天気が良く気温が高い日の日中に観察され、それ以外は訪花が殆ど確認できなかった。早春は日ごとの気温変動が大きく、いくつかの集団で十分量のデータ取得が困難であった。

トクシマコバイモの訪花昆虫(徳島県)

トクシマコバイモでは、ハチ目: *Andrena* 属2種(カグヤマメヒメハナバチ・雄、ヤヨイヒメハナバチ・雄)、ヒメバチ科1種、コマコバチ科1種、カメムシ目: ヨコバイ科 *Pagaronia* 属1種の訪花が観察された。

ホソバナコバイモの訪花昆虫(佐賀県)

ホソバナコバイモでは、ハチ目: *Andrena* 属2種(ヤヨイヒメハナバチ・雌雄、カグヤマメヒメハナバチ・雄)、*Halictus* 属1種(アカガネコハナバチ・雌)、*Sphcodes* 属1種(ヤドリコハナバチ属・雌)、*Nomada* 属1種(キマダラハナバチ・雄)、ハエ目: *Bombylius* 属1種(ピロウドツリアブ・雌雄)、*Empis* 1種(オドリバエ属・雄)、コウチュウ目: *Staphylinidae* 科2種(ハネカクシ科 spp.) が花の中に入り込み、いずれの種も体表面に花粉が付着している事が確認された。

一般に *Andrena* 属や *Halictus* 属では、有効な送粉者は花粉運搬毛を持つ雌個体とされるが、本研究では花粉運搬毛を持たない雄個体の体表面にも多くの花粉が観察された。ピロウドツリアブでは、ホバリングで吸蜜する以外に、花被の中に入り込む様子が観察され、体表面に花粉が確認された。ハネカクシ科は1つの花に複数個体が観察されることが多く、花粉を食べたり、交尾行動が観察された他、隣接する花に移動する様子が観察された。そして体表面には花粉が確認された。

ホソバナコバイモの訪花昆虫を観察した集団は、本種の個体密度は高く、花間の移動距離が数 cm ~ と短いため、*Andrena* 属や *Halictus* 属の雄個体も体表から全ての花粉が脱落する前に次の花に到達できるかもしれない。よって、比較的長距離移動を伴う送粉は花粉運搬毛を持つ雌個体が担い、短距離の送粉は花粉運搬毛を持たない雄個体の他、労働寄生性のハチ類やハネカクシ等も関与しているかもしれない。また、長い口吻を持つピロウドツリアブも送粉に関わる可能性が示された。

コバイモ類は日本の早春を彩る可憐な植物であると同時に絶滅危惧植物であり、生育環境の減少と盗掘被害によって、このままでは今後ますます個体数が減少すると予想される。

本研究では、形態観察に加え、サンガー法による塩基配列解析に基づいた母系系統の推定と MIG-seq によるゲノムワイド解析に基づいた遺伝的多様性の推定によって、従来の8種2雑種ではなく、8種2種内分類群3雑種から構成される事が示された。そこで、今後は分類学的整理(新しく見いだされた分類群の記載)を行い、コバイモ類の多様性を分かりやすく示す必要がある。

また、染色体基本数が $x=11$ と $x=12$ の両方の系統において筒形の花が祖先的だと推定された。その祖先型の筒形の花を持つホソバナコバイモにおいて訪花昆虫相が初めて明らかになった。本研究の成果は、コバイモ類の種分化機構の解明のみならず、保全への寄与が期待される。

<謝辞>

本研究は多くの研究協力者のもと実施された。厚く御礼申し上げる。

<引用文献>

Day, P. D., M. Berger, L. Hill, M. F. Fay, A. R. Leitch, I. J. Leitch and L. J. Kelly (2014) Evolutionary relationships in the medicinally important genus *Fritillaria* L. (Liliaceae), *Molecular Phylogenetics and Evolution* 80: 11–19.

Minagi, K., T. Yoshiya & T. Hara (2005) Notes on flower visitors and fruit set in *Fritillaria ayakoana* Naruhashi (Monocotyledoneae: Liliaceae), *Bull. Shimane Nat. Museum of Mt Sanbe (Sahimel)*, 3: 57–60.

鳴橋直弘・和田賢次 2006. トクシマコバイモ *Fritillaria tokushimensis* (ユリ科) は自然雑種と考えられる. *植物地理分類研究*. 54 (1): 35–44.

鳴橋直弘 2018. ユリ科バイモ属の1新雑種, イワミコバイモ. *福井総合植物園紀要* 8: 1–6.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田村実・戸部博・布施静香
2. 発表標題 植物多様性への誘い 実際の植物を見て進化を考える
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会（京都）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 五島美穂・多田内修・渡邊誠太・高橋晃太郎・野田博士・田村実・布施静香
2. 発表標題 ホソバナコバイモ（ユリ科バイモ属）の訪花昆虫相
3. 学会等名 日本植物分類学会第21回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 五島美穂・鳴橋直弘・林一彦・木下覚・木下栄一郎・高山浩司・田村実・布施静香
2. 発表標題 MIG-seqデータと葉緑体系統樹を用いたコバイモ節（ユリ科バイモ属）の推定雑種と隔離分布植物の実態解明
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 五島美穂・木下覚・田村実・布施静香
2. 発表標題 四国産コバイモ節（ユリ科バイモ属）植物の訪花昆虫観察（予報）
3. 学会等名 第52回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 五島美穂・鳴橋直弘・林一彦・高山浩司・田村実・布施静香
2. 発表標題 MIG-seqデータと葉緑体系統樹との比較によるパイモ属コパイモ節（ユリ科）の遺伝的多様化の探究
3. 学会等名 日本植物分類学会第19回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 板谷圭悟・鳴橋直弘・林一彦・布施静香・田村実
2. 発表標題 日本産コパイモ節（ユリ科パイモ属）の分子系統解析
3. 学会等名 平成30年度（第7回）近畿植物学会講演会、キャンパスプラザ京都、京都。
4. 発表年 2018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	田村 実 (Tamura Minoru) (20227292)	京都大学・理学研究科・教授 (14301)	
研究 分担者	高山 浩司 (Takayama Koji) (60647478)	京都大学・理学研究科・准教授 (14301)	

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