

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22668

研究課題名(和文)形態で識別できない植物群マムシグサの訪花キノコバエ相に基づいた再分類

研究課題名(英文) Re-classification using species composition of fungus gnat pollinators for *Arisaema serratum* s.l. that cannot be distinguished from each other based on morphology

研究代表者

松本 哲也 (Matsumoto, Tetsuya)

岡山大学・環境生命科学学域・特任助教

研究者番号：80876243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：日本列島で急速に多様化したサトイモ科テンナンショウ属は、種ごとに異なるキノコバエを送粉者として利用する。この種特異的関係には、花の外見よりも香りが重要だと考えられている。そうであれば、形態に基づき分類されてきた既知種から、見た目は同じだが送粉者の異なる隠蔽種が見つかると思われた。そこで、岡山県全域に分布する広義マムシグサ50集団680個体を対象に、訪花キノコバエ相に基づいた隠蔽種の探索、隠蔽種間での形態比較と遺伝的分化の評価を行った。その結果、形態では区別できないが異なる送粉者を利用する2タイプが見いだされた。遺伝的な分化は認められたが連続的であり、種分化のごく初期段階だと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

花の形態すなわち外見は、これまで重要な識別形質の一つとして、多くの植物分類群で用いられてきた。実際に、植物は多様な花のかたちを進化させることで、それぞれ異なる送粉者に適応してきた。送粉者の違いは系統間での遺伝的交流を抑制するため、種分化を駆動する重要な要因だとみなすことができる。しかし、送粉者の誘引手段は視覚だけではない。とりわけ嗅覚を利用して送粉者を誘引する場合、必ずしも種分化の過程で花形態の種間差が生じるとは限らず、形態に基づくこれまでの分類方法では種多様性の過小評価を招く危険性がある。本研究は、現にこの問題が存在することを示した数少ない事例であり、分類の方法論に新たな視点をもたらした。

研究成果の概要(英文)：The genus *Arisaema* (Araceae) has rapidly diversified in the Japanese archipelago and each species selectively attracts different fungus gnat pollinators. This species-specificity is caused by floral odor rather than flower appearance. If so, several cryptic species attracting different pollinators may be included in a known species which has been delimited using morphology. Therefore, (1) a search for cryptic species based on fungus gnat pollinator assemblage, (2) morphological comparisons and (3) evaluation of genetic differentiation between the cryptic species were conducted for 680 plants in 50 populations of *Arisaema serratum* s.l., that is widely distributed across Okayama Prefecture, western Japan. As a result, *A. serratum* included two distinct types that selectively attracted different fungus gnats but were indistinguishable based on morphology. Genetic differentiation was detected but was continuous between them. Thus, they seemed to be at a very early stage of speciation.

研究分野：送粉生態学

キーワード：テンナンショウ属 植物分類学 送粉者シフト 種分化 生殖的隔離

## 1. 研究開始当初の背景

およそ 5,600 種もの植物が分布する日本列島は、全世界でも最も生物多様性が高い地域の一つに数えられている一方 (Mittermeier et al., 2004), 全植物種の実に 30 %ほどが絶滅の危機に瀕している (環境省, 2020). 生物多様性を保全するためには、まず対象地域に分布する種を正確に同定し、その数を把握しなければならない (プリマック・小堀, 1997). 伝統的に多くの植物種は、形態的特徴に基づき他種とは異なる独立種として認識されてきた (形態的種概念). なかでも花の形態は重要な識別点となる. なぜなら花形態の違いは、依存する花粉運搬者 (送粉者) が他種と異なる、つまり他種とは花粉のやり取りをせず同じ種同士でのみ繁殖を行う独立した生物 (生物学的種概念) という証拠となり得るからである (Ramsey et al., 2003). しかし、嗅覚 (Hentrich et al., 2010) や聴覚 (von Helversen & von Helversen, 1999) といった、視覚以外の手段で送粉者を誘引する植物の場合、送粉者の異なる種間でも花形態では区別できず (Peakall et al., 2010), 結果として種多様性が過小評価されてしまう可能性がある.

キノコバエ類 (キノコバエ科・クロバネキノコバエ科) は被子植物 12 科 27 属の重要な送粉者であり (望月, 2021), 形態 (Katsuhara et al., 2017) や色 (Tremblay & Ackerman, 2007) ではなく、匂いで花を識別する可能性が示唆されている (Suetsugu et al., 2021). それでは、キノコバエ類に送粉される植物種には、形態では区別できない複数種 (隠蔽種) が混在するのだろうか.

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、キノコバエ類に送粉される植物で種多様性が過小評価されているか検証することである. そのためには、キノコバエ類が送粉する植物種を対象に、花へ訪れたキノコバエ類の種組成を広域的に調査し、隠蔽種を探索しなければならない. しかし多くのキノコバエ類は体長が 1 cm にも満たず (図 1), 野外で訪花行動を直接観察するのは困難である (Tremblay & Ackerman, 2007). そこで本研究では、サトイモ科テンナンショウ属

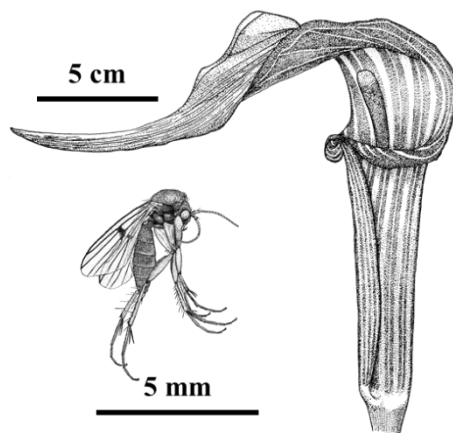


図 1. キノコバエ類と広義マムシグサ (Matsumoto et al., 2021 を改変)

に注目した. テンナンショウ属は匂いでおびき寄せたキノコバエ類をトラップ状の花 (図 1) で捕らえて花粉を付着させるため (Vogel & Martens, 2000), キノコバエ類の採取が比較的容易である (Matsumoto et al., 2021). さらに、花形態の似た種間でも訪れるキノコバエ類が異なるため (Matsumoto et al., 2021; Suetsugu et al., 2021), 隠蔽種が存在する可能性が高い.

## 3. 研究の方法

本研究は、テンナンショウ属の種多様性が特に高い地域である岡山県 (松本ほか 2018b) で実施された. 県内に広く分布する「遅咲き系広義マムシグサ (松本・高杉, 2022)」は、種の特徴と呼べる派生的形質が少ないため取り扱いが混乱しており (岡山県, 2022), 分

類学的な再検討が望まれる (松本ほか, 2018b). そこで, 岡山県全域の遅咲き系広義マムシグサ 50 集団 680 個体を対象として, ①訪花キノコバエ相, ②形態, ③遺伝解析の側面から隠蔽種の有無を検証した.

①訪花キノコバエ相: 県内の計 50 地点 (図 2) から任意に選んだ 5~26 個体の花序を 6~7 日間にわたって追跡し, 花に捕獲されたキノコバエ類を回収・同定した. これらのデータから, 遅咲き系広義マムシグサのなかに異なるキノコバエを誘引する「送粉者タイプ」が存在するか検証した.

②形態: 全個体の分類形質 17 項目 (図 3) を網羅的に計測し, 送粉者タイプ間で比較することで, これらが形態的に識別できるか検証した.

③遺伝解析: キノコバエ類の採取できた個体から葉断片を採取し, CTAB 法 (Doyle & Doyle, 1987) で DNA を抽出した. 各サンプルから MIG-seq 法 (Suyama & Matsuki, 2015) を用いて SNP データを取得し, STRUCTURE 解析 (Pritchard et al., 2000) によって送粉者タイプ間に遺伝的分化が認められるか検証した.

以上の調査から 2 つの送粉者タイプの存在が示唆されたとともに, 調査地数カ所から混生集団が見いだされた. そこで, 混生する状況下でタイプ間の遺伝的交流がどの程度抑制されているか推定するため, 生殖的隔離の定量評価を試みた. 先行研究で重要性が示されている隔離機構である空間的隔離 (分布標高の種間差), 季節的隔離 (開花時期の種間差), 送粉者隔離 (訪花昆虫相の種間差) を混生集団 1 カ所において網羅的に調査し, これらのデータから Matsumoto et al. (2021) の算出法に基づき各隔離機構の強度を計算した.

#### 4. 研究成果

広域的に訪花昆虫相を調査した結果, 異なるキノコバエ類を特異的に誘引する 2 タイプが見出された. 各タイプは大まかに高標高域と低標高域で棲み分けており, 中程度の標高域で混生していた. これら送粉者タイプ間では分類形質 15 項目に有意差が検出されたが ( $P < 0.05$ , U 検定), 変異は連続的で識別は困難だった. 集団遺伝構造には送粉者タイプの分布に対応した地理的勾配が検出されたものの, タイプ間での遺伝的分化は不明瞭で連続的だった. 混生集団でタイプ間での生殖的隔離を定

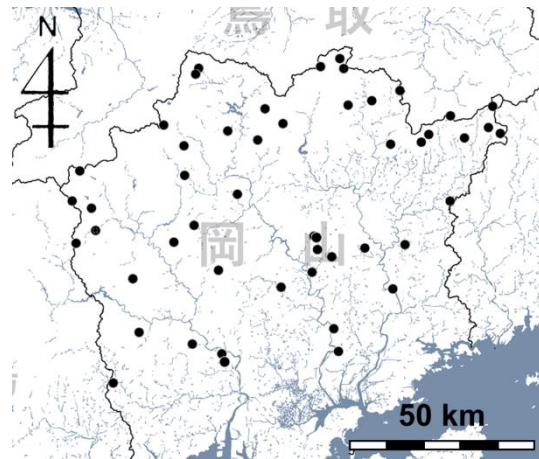


図 2. 調査地 (地理院地図 Vector で作図, <https://maps.gsi.go.jp/vector/>)

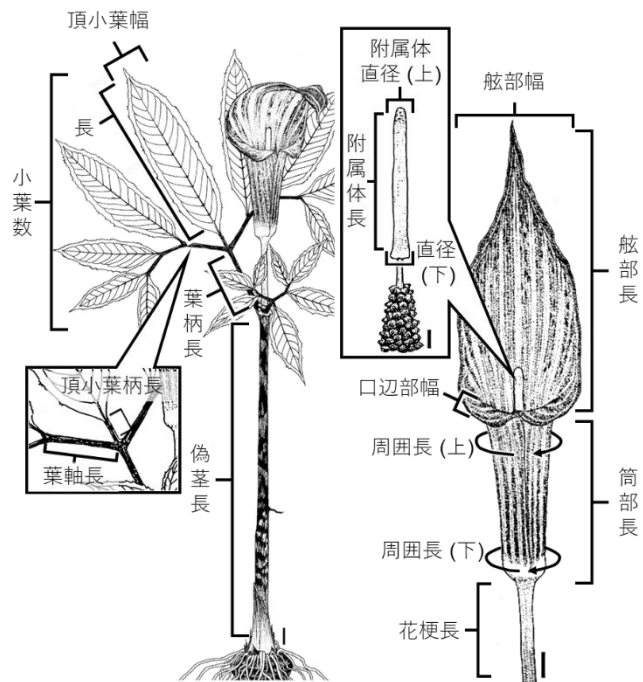


図 3. 分類形質 17 項目 (松本ほか, 2018a を改変)

量評価した結果、空間的・季節的・送粉者隔離が組み合わさることで種間送粉の約 85%が抑制されていた。ただし、Matsumoto et al. (2021) の示したテンナンショウ 20 ペアの平均値が 97%であることを踏まえると、タイプ間での隔離強度は独立種と解釈するには不十分である可能性がある。したがって、本研究で見出された送粉者タイプは、送粉者シフトに伴う種分化のごく初期段階にあると推察された。

#### 引用文献

- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11–15.
- von Helversen D, von Helversen O. 1999. Acoustic guide in bat-pollinated flower. *Nature* 398: 759–760.
- Hentrich H, Kaiser R, Gottsberger G. 2010. Floral biology and reproductive isolation by floral scent in three sympatric aroid species in French Guyana. *Plant Biology* 12: 587–596.
- Katsuhara KR, Kitamura S, Ushimaru A. 2017. Functional significance of petals as landing sites in fungus-gnat pollinated flowers of *Mitella pauciflora* (Saxifragaceae). *Functional Ecology* 31: 1193–1200.
- 環境省. 2020. 環境省レッドリスト 2020.  
<https://www.env.go.jp/press/107905.html> [2023.6.2. 確認]
- Matsumoto TK, Hirobe M, Sueyoshi M, Miyazaki Y. 2021. Selective pollination by fungus gnats potentially functions as an alternative reproductive isolation among five *Arisaema* species. *Annals of Botany* 127: 633–644.
- 松本哲也, 佐栞信也, 邑田仁. 2018a. 岡山県新産のホソバテンナンショウとミヤママムシグサ (サトイモ科). *植物研究雑誌* 93: 143–146.
- 松本哲也, 佐栞信也, 邑田仁. 2018b. 岡山県北部に産するマムシグサ群 (サトイモ科) の分類学的検討. *植物研究雑誌* 93: 253–268.
- 松本哲也, 高杉茂雄. 2022. 中国山地東部におけるホソバテンナンショウ (サトイモ科) の分布. *植物研究雑誌* 97: 290–297.
- Mittermeier RA, Gil PR, Hoffmann M, Pilgrim J, Brooks T, Mittermeier CG, Lamoreux J, da Fonseca GAB. 2004. Hotspots revisited. CEMEX, Mexico City.
- 望月昂. 2021. 日陰者の送粉者—キノコバエに送粉される植物の隠された多様性. In: 種生物学会 (編), 花と動物の共進化をさぐる—身近な野生植物に隠れていた新しい花の姿. 文一総合出版, 東京. pp. 93–117.
- 岡山県. 2022. 岡山県野生生物目録 2019 ver. 1. 3.  
<https://www.pref.okayama.jp/page/602836.html> [2023.6.2. 確認]
- Peakall R, Ebert D, Poldy J, Barrow RA, Francke W, Bower CC, Schiestl FP. 2010. Pollinator specificity, floral odour chemistry and the phylogeny of Australian sexually deceptive *Chiloglottis* orchids: implications for pollinator-driven speciation. *New Phytologist* 188: 437–450.
- プリマック RB, 小堀洋美. 1997. 保全生物学のすすめ—生物多様性保全のためのニューサイエンス. 文一総合出版, 東京.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus

- genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Ramsey J, Bradshaw HDJ, Schemske DW. 2003. Components of reproductive isolation between the monkeyflowers *Mimulus lewisii* and *M. cardinalis* (*Phrymaceae*). *Evolution* 57: 1520–1534.
- Suetsugu K, Sato R, Kakishima S, Okuyama Y, Sueyoshi M. 2021. The sterile appendix of two sympatric *Arisaema* species lures each specific pollinator into deadly trap flowers. *Ecology* 102: e03242.
- Suyama Y, Matsuki Y. 2015. MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Scientific Reports* 5: 16963.
- Tremblay RL, Ackerman JD. 2007. Floral color patterns in a tropical orchid: Are they associated with reproductive success? *Plant Species Biology* 22: 95–105.
- Vogel S, Martens J. 2000. A survey of the function of the lethal kettle traps of *Arisaema* (Araceae), with records of pollinating fungus gnats from Nepal. *Botanical Journal of the Linnean Society* 133: 61–100.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 松本哲也, 高杉茂雄	4. 巻 97
2. 論文標題 中国山地東部におけるホソバテンナンショウ (サトイモ科) の分布	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 植物研究雑誌	6. 最初と最後の頁 290-297
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.51033/jjapbot.97_5_11198	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平松勅悦, 松本哲也, 末吉昌宏, 宮崎祐子, 廣部 宗.
2. 発表標題 岡山県北部に分布する広義マムシグサにおける訪花昆虫相と形態に基づく隠蔽種の探索.
3. 学会等名 第52回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平松勅悦, 松本哲也, 柿嶋 聡, 宮崎祐子, 末吉昌宏, 廣部 宗.
2. 発表標題 岡山県北部に分布する広義マムシグサを対象とした隠蔽種の探索.
3. 学会等名 日本植物分類学会第20回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松本哲也, 平松勅悦, 柿嶋 聡, 宮崎祐子, 末吉昌宏, 廣部 宗.
2. 発表標題 岡山県産広義マムシグサを対象とした訪花キノコバエ相に基づく隠蔽種の探索.
3. 学会等名 日本植物分類学会第22回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松本哲也
2. 発表標題 テンナンショウ属の不思議な生態：送粉様式・性表現・適応放散に注目して
3. 学会等名 第70回日本生態学会大会
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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