

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：84501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26440227

研究課題名(和文)送粉者を共有する単系統群の進化プロセスの解明

研究課題名(英文)speciation process of a monophyletic group shared pollinators

研究代表者

高野 温子 (Takano, Atsuko)

兵庫県立人と自然の博物館・その他部局等・研究員(移行)

研究者番号：20344385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：日本産アキギリ属の分子系統解析、野外調査による個々の種の性表現の確認、および送粉者調査を行った。分子系統解析の結果、ナツノタムラソウは地理的に離れた2つ(以上)の分類群に分けられることがわかった。またアキノタムラソウとヒメタムラソウは日本産の他種よりも中国本土の種と強い類縁性を示した。ナツノタムラソウやタジマタムラソウ等日本産固有種は古い時代に日本で地理的分化を遂げたのに対し、アキノタムラソウとヒメタムラソウは比較的新しい時代に日本に侵入してきた可能性がある。またアキノタムラソウは他の日本固有種と交雑していることもわかってきた。

研究成果の概要(英文)：Molecular phylogenetic analysis of Japanese *Salvia*, detection of pollinators, and sex expression of each Japanese species of subgen. *Allagospadonopsis*, *Salvia* (Lamiaceae) were conducted. Phylogenetic analysis revealed that *S. lutescens* var. *intermedia* was polyphyletic group, and needed to be revised taxonomically. Further phylogenetic analysis enlarged to East Asian *Salvia* together with Chinese collaborator clarified that *S. japonica* and *S. pygmaea* were more closely related to Chinese allies, not to Japanese ones. Other Japanese endemics formed a highly supported clade, apart from Chinese allies in the tree, suggested monophyletic origin of those endemics. Japanese endemics may be speciated allopatrically, and *S. japonica* and *S. pygmaea* enlarged their distribution to Japan after Japanese endemics were speciated.

Additional population analyses clarified that *S. japonica* has been hybridized with other Japanese endemics, *S. lutescens* var. *intermedia*.

研究分野：植物分類学

キーワード：種分化 シソ科 アキギリ属 分子系統解析 送粉者

### 1. 研究開始当初の背景

シソ科アキギリ属植物は特異な雄蕊の構造を持ち、これまで近縁種の花の色や形が変わることにより異なる送粉者を獲得し種分化が起こる例が知られていた。申請者は日本産アキギリ属全分類群を用いた分子系統学的解析を行い、分類群が亜属に対応した3つのグループにわかれることを示した。しかし種間関係の詳細は不明、また種内分類群が知られるナツノタムラソウは側系統群となり、分類学的再検討が必要という結果が得られた。また申請者は日本各地で未記載分類群と思われる植物を見出し、うち広島県からテリハナツノタムラソウという新分類群を発表した。これら新種や他の未記載分類群についても必要であった。

アキギリ属植物はその特殊な雄蕊の構造から送粉者との関係が注目され、共進化を研究した事例は過去に多くあった。しかしながら日本産アキギリ属植物の送粉者は分類群や季節が異なってもマルハナバチやハナバチが訪花しているという予備的観察結果が得られていた。

一方で日本産アキギリ属アキノタムラソウ亜属植物から雌性両全異株性が発見された。それ以前にアキノタムラソウが雌性先熟花であることは知られており、属内における性表現の多様さが明らかになってきていた。

### 2. 研究の目的

上記のような背景から、より精度を上げた系統関係の解明と野外調査に基づき、日本産アキギリ属植物が送粉者を変更するのではなく性表現を多様化することによって種分化を実現しているという仮説を検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

新分類群テリハナツノタムラソウ他分類群と解析する分子マーカーを増やしたより詳細な系統解析

雌性両全異株性が確認されたタジマタムラソウの近縁種について性表現の調査を実施

ナツノタムラソウやタジマタムラソウ、シマジタムラソウ等、送粉者が不明な分類群について有効な送粉者を明らかにする

1, 2, 3で明らかになった日本産アキギリ属内における性表現の多様性、および送粉者から、日本産アキギリ属の種分化の傾向を明らかにすること。

### 4. 研究成果

#### 分子系統解析

葉緑体3遺伝子(*ycf1-rps15*, *rbcl*, *trnL-F* IGS)、核2遺伝子(ITS, ETS)を用い、テリハナツノタムラソウ、ナツノタムラソウ各種内分類群等解析個体を増やして分子系統解析を実施した。その結果、テリハナツノタムラソウはタジマタムラソウと最も近縁であること、またナツノタムラソウ、シマジタム

ラソウ、ハルノタムラソウと共にクレードを形成することがわかった。またナツノタムラソウは関東と近畿に隔離分布するとされてきたが、関東の個体は本州中北部産のミヤマタムラソウやダンドタムラソウと、近畿の個体はウスギナツノタムラソウとクレードを形成した。つまりナツノタムラソウは関東と近畿に隔離分布するのではなく、関東と近畿で別系統群だということが明らかになった。関東と近畿の個体が別系統であることは、前者の個体が葯隔の基部がほとんどあるいは全く無毛であるのに対し、後者の個体は葯隔基部に白い毛が多数生えることから支持された(Takano 2017)。

現在ナツノタムラソウと認識されている植物群は、牧野富太郎によって1901年に記載された。ナツノタムラソウを関東に産する群と近畿に産する群の2群に分けるにあたり、どちらが牧野の記載した植物にあたるかを調査したところ、原記載論文には葯隔無毛とはっきり書かれていること、1912年に牧野がナツノタムラソウの学名を組み替えた時の記述に「ナツノタムラソウは花後花序が倒れて新しいシュートを形成する」とあり、この記述も関東産の植物と合致することから、ナツノタムラソウは関東産の個体に適用し、名前がなくなる近畿産の集団に新名を与えるべきと判断した。ところが現在ナツノタムラソウのレクトタイプに指定されているのは滋賀県比叡山産の標本であり、その標本個体は葯隔有毛で近畿の個体の特徴を持っていた。そこで現在レクトタイプの組み換えと近畿産の「ナツノタムラソウ」に新学名を提唱した論文を投稿しているところである(A. Takano, submitted to Acta Phytotax. Geobot.)。

本研究遂行期間中に、中国の研究者らと東アジア産アキギリ属の分子系統解析を共同で実施することになり、日本産アキギリ属の塩基配列データ取得および日本産アキギリ属が属する節の分類学的検討を担当した。日本と中国産アキギリ属約80種を含めた分子系統解析の結果、アキノタムラソウとヒメタムラソウは、中国大陸の近縁種群とクレードを形成し、ナツノタムラソウ、ハルノタムラソウ等他の日本産固有種はそれらとは異なるクレードを形成した(Hu, Takano et al., submitted to Annals of Botany)。アキノタムラソウは日本・朝鮮半島・中国東南部に分布する広域分布種であるが、Hu et al.の解析によれば、ナツノタムラソウ・ハルノタムラソウ等他の本州に産する固有種とは別起源であり、日本固有種が分化した後、比較的最近になってから日本に分布を広げたと考えられる。

ナツノタムラソウ・ハルノタムラソウ等の日本固有種は地域と花期を分けて生育しているのに対し、アキノタムラソウは現在本州に生育するアキギリ属の中で最も分布域が広く、様々な固有種と分布域を接する。花期

も初夏～晩秋と長く、送粉者も他種と変わらないことから生育地を接する他のアキノタムラソウ亜属植物との交雑可能性がある。そこでアキノタムラソウと近縁種間で本当に交雑が起こっているのか、両種間で繁殖干渉は起きているかを幾つかの地点で調べることにした。アキノタムラソウとナツノタムラソウが分布を接する大阪府大和葛城山域を調査地とした。両種の結実調査、人工授粉実験、送粉者の観察、種間で違いの見られる核 (ITS) 及び葉緑体 (*ycf1-rps15*) 領域の塩基配列決定を行った。結実調査の結果、アキノタムラソウは80%、ナツノタムラソウは約50%で後者が低かった。人工授粉実験の結果、アキノタムラソウでは同種花粉のみの授粉でも、同種他種混合の混合授粉でも結実率が60%前後あった。一方ナツノタムラソウは同種授粉でも混合受粉でも結実率が20%前後と低かった。両種に訪花する昆虫の種類はトラマルハナバチ、コハナバチ類、コシボソハナアブ類等で共通していた。ナツノタムラソウ24個体、アキノタムラソウ26個体の核ITSと葉緑体 *ycf-rps15* 領域の塩基配列を決定したところ、外部形態からナツノタムラソウと判断した全ての解析個体がアキノタムラソウ型 (以下アキ型) のITS塩基配列を持っていることが判明した。一方でアキノタムラソウは全てアキノタムラソウ型の配列であった。葉緑体領域ではおおむねアキノタムラソウはアキノタムラソウ型、ナツノタムラソウはナツノタムラソウ型 (以下ナツ型) を示したが、一部のアキノタムラソウにナツ型の遺伝子型、一部のナツノタムラソウ個体にアキ型の遺伝子型が見られた。大和葛城山のナツノタムラソウとされていた個体は全てアキノタムラソウとの雑種であり、雑種同氏またはアキノタムラソウとの交雑いずれにおいても結実が悪いという危機的状況であることが示唆された。葉緑体の遺伝子型はアキノタムラソウからナツノタムラソウへ、またその逆の双方向の変化が見られたが、これは祖先多型の影響もしくは戻し交雑の両方の可能性が考えられる。本事例ではまさにアキノタムラソウによるナツノタムラソウへの繁殖干渉を検出したと考えられる (高野・西田2016 学会発表)。

兵庫県三田市にもナツノタムラソウとアキノタムラソウが接する場所があり、大和葛城山と同様の調査を行った。人工授粉実験の結果、アキノタムラソウは同種間の交配より同種他種混合花粉による交配の結実率が低い有意差はみられなかった。ナツノタムラソウは同種花粉でも同種他種混合花粉でも結実率はかわらなかった。アキノタムラソウもナツノタムラソウも対照より実験操作している個体の結実率が低かったため、実験操作が結実率を下げている可能性も考えられた。開花期は一部重複し送粉者は共有されていた。遺伝子解析はアキノタムラソウ25個体、ナツノタムラソウ21個体、これら個体を

採集した場所から1km程離れた水系の異なる場所で採取したナツノタムラソウ4個体を用いて行った。アキノタムラソウは葉緑体は全てアキ型だったが、核遺伝子は7個体でアキノタムラソウとナツノタムラソウの両方の波形が見られた。ナツノタムラソウは葉緑体は調べた21個体全てがアキノタムラソウ型を持っており、核遺伝子は1個体のみナツノタムラソウとアキノタムラソウの両方の波形がみられた。両種が接する調査地から1km程離れた場所で採取したナツノタムラソウ4個体は、葉緑体も核遺伝子もナツ型を示した。三田の集団でも両種間で遺伝子交雑が生じていることは明らかになったが、繁殖干渉の効果は不明であり、更なる解析が待たれる。ただ三田市の集団が大和葛城山の集団とは異なる交雑の方向性や遺伝子型のパターンを示したことから、交雑の方向性や繁殖干渉の有無は、集団の成立状況、周辺の植物相や動物相により変りうることを示唆している。

滋賀県でもアキノタムラソウとナツノタムラソウが数百mの距離で分布を接している場所があり、三田市や大和葛城山と同様ナツノタムラソウ30個体とアキノタムラソウ10個体の遺伝解析を行った。結果、核も葉緑体もナツノタムラソウはナツ型、アキノタムラソウはアキ型を示し、未だ交雑は起こっていないことが示唆された。この調査地では最近の開発工事によりアキノタムラソウが持ち込まれ、ナツノタムラソウと分布を接することになったと考えられ、未だ交雑は起こっていないと思われる。

#### 性表現および送粉者の調査

タジマタムラソウ 兵庫県および京都府の4集団 (竹野町、豊岡市日高町、養父市関宮町、京丹後市大宮町) で性表現および送粉者を調査した。4集団のうち竹野町と関宮町では両性個体と雌個体を確認した。養父市と京丹後市の集団では両性個体のみ確認した。訪花昆虫はツヤハナバチ、クロマルハナバチ、コシボソハナアブ、ヒラタアブ等共通していたが、集団により昆虫の訪花頻度が異なった。関宮町ではツヤハナバチの訪花が圧倒的に多く、京丹後市大宮町ではクロマルハナバチの訪花が他を圧倒した。

ハイタムラソウ 滋賀県余呉町1集団で性表現の確認および送粉者の調査を行った。性表現は両性個体のみが確認された。送粉者はヤマトツヤハナバチ、トラマルハナバチ、コシボソハナアブ類の訪花を確認した。

ダンドタムラソウ—静岡県熱海町泉の2集団で性表現および送粉者の調査を行った。両集団に両性個体と雌花個体が確認された。集団中における雌株頻度は低いものの (7.3%, 22.5%)、両性株と雌株が存在することからダンドタムラソウも雌性両全性異株であることが明らかになった。訪花昆虫はコシボソハナアブ、コハナバチ、トラマルハナバチだった。

ナツノタムラソウ 関東および近畿6集団(神奈川県箱根町、同県山北町、兵庫県三田市、奈良県御所市、滋賀県大津市、高知県土佐町)で性表現と訪花昆虫の調査を行った。神奈川県と高知県の集団で雌個体が観察され、雌性両全性異株であることが示唆された。一方で兵庫県・奈良県・滋賀県の集団では調査個体の全てが両性株であった。主な送粉者は、集団に関わらずコハナバチ、コシボソハナアブ、トラマルハナバチであったが、やはり集団によって訪花回数の多い訪花昆虫が異なる傾向がみられた。

ミヤマタムラソウ 福井県の1集団で調査を行った。両性個体のみが観察された。訪花昆虫は訪花回数の多い順にトラマルハナバチ、コシボソハナアブ、コハナバチの類だった。ウスギナツノタムラソウ 三重県伊賀市の1集団で調査を行った。両性株に混じってごく少数雌株を確認した。訪花昆虫はコハナバチ2種とヒラタアブ、トラマルハナバチだった。

シマジタムラソウ 三重県伊勢市1集団で調査した。両性個体のみを確認した。訪花昆虫はコハナバチ2種類とオドリバエを確認した。

ハルノタムラソウ 奈良県下北山村と上北山2集団で調査した。どちらの集団も両性個体のみ確認した。訪花昆虫はピロードツリアブ、ツヤハナバチ、クロマルハナバチ、コシボソハナアブ、ヒラタアブの類で共通していたが、個々の種の訪花頻度は集団で異なっていた。下北山村ではコシボソハナアブ、上北山ではツヤハナバチ類の訪花が一番多かった。

ヒメタムラソウ 沖縄県竹富町2集団で調査を行った。調査期間中が長くともれずまた開花個体も少なく、予備的な結果となってしまったが、雌蕊が先に開く雌性先熟、ないしは雌株が存在する可能性が示された。訪花昆虫は調査期間中に確認できなかった。

以上の結果、ナツノタムラソウとその変種、ダンドタムラソウ、ウスギナツノタムラソウに雌株が確認され、雌性両全性異株である可能性、一方でヒメタムラソウは雌性先熟である可能性が示唆され、アキギリ属植物は多様な性表現を示すことが明らかになった。また送粉者調査の結果、ハルノタムラソウのピロードツリアブやシマジタムラソウのオドリバエのように、個々の種でしか観察されなかった送粉動物がいた一方で、開花期が重複する種には、トラマルハナバチやコハナバチ類等同じ種類の昆虫が訪花していた。またナツノタムラソウやタジマタムラソウについては複数集団で送粉者調査を行ったが、集団毎に訪花頻度の高い昆虫が異なる結果となっていた。これらの結果は、送粉者が花サイズや開花時期の他、開花している個体数、アキギリ属植物と花サイズや開花期が重複し送粉者をとりあうような植物の有無、集団周りの動物相に強く影響を受けることを示して

いる。

日本産アキノタムラソウ亜属は分子系統学的解析より少なくとも2回、あるいは複数回日本列島に分布を広げた時期があると考えられる。古い時代に日本に渡ったアキノタムラソウ亜属植物はその後地理的に分化していった。最近になり、本州・四国・九州にはアキノタムラソウが、中～南琉球にはヒメタムラソウが分布を広げた。アキノタムラソウは分布を拡大する過程でナツノタムラソウやシマジタムラソウ等の他の日本固有種と分布を接し、送粉者が同じであることから場所によって両種の交雑が起こっていることも明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

山内健生・高野温子(2015)アキギリ属を訪花したハナアブ類とツリアブ類の記録, 人と自然, 26:71-74. (査読有)

[http://www.hitohaku.jp/publication/r-bulletin/NO26\\_009-1.pdf](http://www.hitohaku.jp/publication/r-bulletin/NO26_009-1.pdf)

Takano, A. 2017. Taxonomic study on Japanese *Salvia* (Lamiaceae): Phylogenetic position of *S. akiensis*, and polyphyletic nature of *S. lutescens* var. *intermedia*. *Phytokeys* 80: 87-104. (査読有)  
<https://doi.org/10.3897/phytokeys.80.11611>

高野温子・織田二郎 2017. ヒメシロネとシロネの雑種形成について. 分類 17(2): 173-178. (査読有)

〔学会発表〕(計4件)

高野温子(2015)ナツノタムラソウ(シソ科)のレクトタイプ再選定の提案. 第14回日本植物分類学会. 福島大学

高野温子(2015)日本産アキギリ属の分子系統解析2. 第14回日本植物分類学会. 福島大学

高野温子・西田佐知子(2016)アキノタムラソウとナツノタムラソウの繁殖干渉. 第15回日本植物分類学会. 富山大学

高野温子(2017)日本産アキギリ属アキノタムラソウ亜属の送粉者について. 第16回日本植物分類学会. 京都大学

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.hitohaku.jp/research/h-resea>

rch/2017.html#salvia

6. 研究組織

(1)研究代表者 高野温子  
(Atsuko Takano)  
兵庫県立人と自然の博物館・  
その他部局・研究員  
研究者番号：20344385

(2)研究分担者 なし  
(3)連携研究者 なし  
(4)研究協力者 なし