

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：83811

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06816

研究課題名(和文) 宿主や繁殖様式の変化が介在した全寄生植物キヨスミウツボの遺伝的分化過程の解明

研究課題名(英文) Elucidation of genetic differentiation process of a parasitic plant, *Phacellanthus tubiflorus*, through changes of host and reproduction mode

研究代表者

早川 宗志 (Hayakawa, Hiroshi)

ふじのくに地球環境史ミュージアム・学芸課・准教授

研究者番号：80783828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：MIG-Seqおよび倍数性の結果から、キヨスミウツボは遺伝的に大きく3つのクレードに分かれる傾向が見いだされた。各クレードは、地理的な距離に由来する地域性よりもむしろ、2倍体、3倍体、4倍体という倍数性が対応していることが明らかになった。既報(中西ほか 2006)により、3倍体は、2倍体と4倍体の交雑によって生み出されていると考えられてきた。しかし、分布状況とMIG-Seqに基づくstructure解析の結果を併せて考えると、3倍体は少なくともF1雑種ではないことがわかった。以上の結果から、キヨスミウツボにおける2倍体、3倍体、4倍体の各々が独自の系統として種分化し始めていると推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物でありながら光合成能力を喪失して他の植物から栄養を得るという寄生植物における進化や種分化のパターンとプロセスは、多くの生態学者、進化生物学者が興味を惹いてきたテーマである。これを明らかにするためには、対象の寄生植物とその近縁種を比較する比較生物学的な方法が考えられる。しかしながら別種間の比較では、系統的に離れていることから正確な進化の過程を追うことは難しい。一方、キヨスミウツボは今まさに種分化を生じつつあると考えられることから、同種内の変異(極めて近い過去に起こった変異)に着目することで、系統的に離れた植物間の比較解析では得られない強固なロジックを導き出すことができると期待される。

研究成果の概要(英文)：Results of analyses of MIG-Seq and Flow Cytometry showed that *Phacellanthus tubiflorus* tended to be genetically divided into three clades. Each clade of *P. tubiflorus* corresponded to the polyploidy, i.e., diploid, triploid, and tetraploid, rather than a regionality derived from geographic distance. According to previous reports (Nakanishi et al. 2006), it has been thought that triploids of *P. tubiflorus* are generated by hybridization between diploids and tetraploids. However, from the distribution with the results of MIG-Seq, it was found that triploids of *P. tubiflorus* were at least not the F1 hybrids of them. These facts suggest that diploids, triploids, and tetraploids of *P. tubiflorus* may each begin to speciate as their own lineage.

研究分野：植物分類学

キーワード：寄生植物 キヨスミウツボ MIG-Seq 倍数性

1. 研究開始当初の背景

寄生植物とは、他の植物に寄生し、生活に必要な栄養分を吸収する性質をもつ植物であり、世界で 17 科約 4,000 種が知られている (Press and Phoenix 2005)。寄生植物は、主要バイオームのほぼ全てに出現し、雑草的にふるまうものまで存在することから、進化的に大きな成功をおさめている生活史特性のひとつといえる。宿主選好性の程度は種によって様々であり、特定の系統グループのみと関係をつづぐもの (例: ラフレシア属はブドウ科ミツバビンボウヅル属植物に寄生) から、異なる科に属する多数の種に寄生するもの (例: 様々な双子葉植物に寄生し時に農業被害をもたらすネナシカズラ属植物) まで幅広い。

寄生植物には、自身で光合成しつつ宿主に寄生する半寄生植物と、葉緑素を欠き、完全に宿主に依存してくらす全寄生植物が含まれる。全寄生植物ではしばしば形態の著しい特殊化が観察され、多くの研究者の興味を惹いてきた。花以外の器官がほぼ退化しているラフレシア属やヒドノラ属はその典型である。こうした特殊化ゆえに形態形質に基づく分類は進展していなかったが、近年の DNA 分析技術の発達に伴い、全寄生植物の進化に関する新知見が得られつつある。例えば、ラフレシア属では種間系統解析の結果、環境の異なる新たな生育地の宿主植物に寄生することで種分化が促進されてきたことが示唆されている (Davis et al. 2007)。また、様々な宿主植物に寄生するヤセウツボでは、実は種内に異なる宿主に依存する複数のレースが存在し、さらにレース間で遺伝的分化が生じていることがわかっている (Thorogood et al. 2009)。しかし、サンプリングの難しさゆえか、網羅的サンプリングに基づいて全寄生植物の系統地理情報を分析し、遺伝的組成と生態的特性との関係性を検討した事例は、極めて少ない。

キヨスミウツボは日本に自生もしくは帰化しているハマウツボ科の全寄生植物 7 種のうちの 1 種で、北海道から九州までの各地に広く分布する。国外では中国東北部、朝鮮、ロシア極東部、樺太など日本海を取り巻く地域に知られる。西日本では主に常緑広葉樹林の林内に発生するが、北海道ではカシワの疎林内でも報告がある (中西ほか 2006)。宿主は幅広く、ブナ科、マタタビ科、アジサイ科、シソ科など様々な系統群の木本植物に寄生する。

中西ほか (2006) は、兵庫県のキヨスミウツボ集団において、倍数性や生態的特性の異なる複数の系統を見出した。例えば、2 倍体の系統は花に香りがあり、雌蕊は長く花冠から超出し、マルハナバチにより外交配するのに対し、4 倍体の花は無香、雌蕊は雄蕊とほぼ同長か短く、主に自家受粉している。また、宿主も系統により異なり、2 倍体の系統はヒイラギ、ネズモチ、アジサイ、4 倍体の系統はウラジロマタタビへの寄生が確認された。さらに、集団によっては 2 倍体と 4 倍体の中間的な性質をもつ 3 倍体の系統も低頻度で見いだされ、不稔性と推測される異常な花粉の生成が確認された。兵庫県と福井県の 2 倍体・4 倍体を用いた AFLP 分析の結果、遺伝的分化の程度は 4 倍体系統における地域間、2 倍体系統における地域間、系統間の順で大きくなることが示唆されている (大和・平野 未発表)。以上の結果から、キヨスミウツボでは今まさに種分化が生じつつあると考えられる。日本のハマウツボ科の全寄生植物の中でも随一の生育環境の幅広さと、宿主となりうる植物の系統的多様性の高さは、こうした背景による可能性が高い。この点において、本種は全寄生植物の進化や種分化の過程を明らかにするうえでのケーススタディの対象として優れていると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、現在進行形の種分化の兆候が認められる全寄生植物キヨスミウツボを対象として、分布域をカバーする網羅的な系統地理解析および生態的特性の調査により、種内系統の進化の過程を明らかにすることを目的としている。中西ほか (2006) は、祖先型の 2 倍体系統から訪花昆虫がいない暗い環境に適応した 4 倍体系統が生じ、その後、各系統が独自に分布変遷を果たしたと考察した。しかし、現時点では詳細に系統地理学および生態学的解析が行われているのは、兵庫県の個体群に限られている。しかしながら、大陸を含む未調査の地域には、既知のものとは異なる遺伝的組成・生態的特性をもつ系統が存在する可能性がある。

また、キヨスミウツボの種内に倍数性、生育環境、宿主選好性、繁殖様式等の違いのある複数の系統が存在することは、少なくとも変種レベルで区別されるべき複数の分類群が存在することを強く示唆する。広範囲なサンプリングと高解像度の遺伝解析を行い、種内系統の進化の過程に関するロバストな結果を得ることで、その成果を分類体系に還元することも可能である。

本研究により、倍数化、宿主分化、繁殖様式に関連する各種形態的・生態的特性の分化がキヨスミウツボにおいて、いつどのように生じたかを明らかにすることができる。一切の光合成能力を持たない全寄生植物の系統地理研究の事例自体が少なく、まして種内での遺伝構造の発達に生育環境や宿主の違いに加えて倍数化イベントが絡んでいると推測されるケースについての知見は世界的にも例をみない。したがって、本研究で得られる知見は、植物における寄生性の進化の歴史の解明に寄与すると考えられる。

3. 研究の方法

現地調査・試料採取・生態的特性:

全国のサンプルを網羅するように、北海道、東北、関東、東海、近畿、中国、四国、九州地方の13か所からサンプリングを実施した。フローサイトメータを用いた核内DNA量の測定を行い、各サンプルの倍数性を判定した。さらに、遺伝分析用と証拠標本の開花シュートの採取を行った。採取対象のシュートは、10m程度の距離をおき、同一クローンの重複サンプリングがおきないようにした。自生地にて採取した証拠標本シュートを対象に、種子繁殖特性に関連する形質の測定・記録を行った。

遺伝解析・系統地理解析:

採取した遺伝分析用試料からDNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いたMIG-Seq分析を行った。MIG-Seq解析は、ゲノム内に数多く存在する単純反復配列に挟まれた領域をPCRによって増幅し、それら断片の塩基配列を次世代DNAシーケンサーで読み取る手法であり、ゲノムワイドで核ゲノム上の数千の単塩基多型情報を得ることができる。収集した単塩基多型情報を用いて、Structure解析および系統解析を実施した。

4. 研究成果

現地で生態調査を実施した静岡県の2倍体集団にはトラマルハナバチが訪花していることを確認した。同様に、六甲山のキヨスミウツボ個体群(2倍体集団)にもトラマルハナバチが多数訪花していることが報告されている(中西ほか 2006)。そのため、2倍体集団にトラマルハナバチが訪花するという本結果は、地理的に離れた集団においても一致していた。

各産地の倍数性に関してフローサイトメータで調査した結果、4倍体は、北海道、栃木県、岐阜県、近畿地方、愛媛県、高知県から、2倍体は、静岡県から、3倍体は、福島県、東京都、兵庫県、福岡県、大分県、鹿児島県から見いだされた。意外なことに、国内の複数地域から3倍体を得ることができ、2倍体や4倍体と同所的に生育していないケースがほとんどであった。

MIG-Seqの結果から、キヨスミウツボは遺伝的に大きく離れた3つのクレードに分かれる傾向が見いだされた。各クレードは、地理的な距離に由来する地域性ではまとまることはなかった。それに対して、2倍体、3倍体、4倍体という倍数性が各クレードと対応していることが明らかになった。これまで3倍体は、2倍体と4倍体の交雑によって生み出されていると考えられてきた(中西ほか 2006)。しかし、分布状況とMIG-Seqに基づくstructure解析の結果を併せて考えると、3倍体は少なくともF₁雑種ではないことがわかった。

以上の本研究で明らかになった結果から、キヨスミウツボにおける2倍体、3倍体、4倍体の各々が独自の系統として種分化し始めていると推測された。

<引用文献>

- Davis CC, Latvis M, Nickrent DL, Wurdack KJ, Baum DA, 2007. Floral gigantism in *Rafflesiaceae*. *Science* 315:1812.
- 中西収・小林禎樹・黒崎史平 2006. キヨスミウツボの生活-神戸市押部谷町木見新池での保全のとりくみから-. 108p. 兵庫県植物誌研究会.
- Press MC, Phoenix GK, 2005. Impacts of parasitic plants on natural communities. *New Phytologist* 166:737-751.
- Thorogood CJ, Rumsey FJ, Hiscock SJ, 2009. Host-specific races in the holoparasitic angiosperm *Orobanche minor*: implications for speciation in parasitic plants. *Annals of Botany* 103:1005-1014.
- 大和政秀・平野雅代 1999 未発表. キヨスミウツボの群落間多様性解析.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 早川宗志・石川美智子・佐藤政幸・末次健司	4. 巻 13
2. 論文標題 東限新産となる静岡県産ヤクシマヒメアリドオシラン（ラン科）	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 東海自然誌	6. 最初と最後の頁 127-130
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 藤井伸二・早川宗志・辻寛文	4. 巻 70
2. 論文標題 大分県産ハマネナシカズラの標本を見いだす	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 植物地理・分類研究	6. 最初と最後の頁 85-88
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18942/chiribunrui.0701-12	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0件

〔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	末次 健司 (Suetsugu Kenji) (70748839)	神戸大学・理学研究科・准教授 (14501)	

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