

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06825

研究課題名(和文) 二型花柱性ボロボロノキ(ボロボロノキ科)の送粉様式と分布拡大過程に関する研究

研究課題名(英文) Evolutionary differentiation and pollination system in distylous tree, *Schoepfia jasminodora* (Schoepfiaceae)

研究代表者

菅原 敬 (Sugawara, Takashi)

独立行政法人国立科学博物館・植物研究部・客員研究員

研究者番号：10226425

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)：東アジアの日本、台湾、中国等に分布する二型花柱性ボロボロノキにおける送粉様式の多様化とその進化過程を解明するために、九州から南西諸島のいくつかの集団を対象に送粉様式、花香成分、遺伝的分化についての調査を進め、以下のような成果を得た。1)送粉は、南西諸島の集団では主に夜行性の小型ガ類によって、九州の集団では夜行性の小型ガ類とマルハナバチ類等によって行われる。2)花香の主成分はフェニールプロパノイドで、九州と南西諸島の集団間には大きな違いがない。3)九州と南西諸島の集団間には、明瞭な遺伝的分化が確認できる。4)送粉者の違いは花香成分とは一致しないが、遺伝的分化の境界とは一致する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、二型花柱性という特異な繁殖システムをもつボロボロノキの送粉様式、花香成分、遺伝的分化について解析し、その送粉様式や遺伝的特性が地理的分布に対応して変化していることを示した成果である。このような例は二型花柱性植物ではあまり報告がなく、特にガ媒花的植物においては学術的にも興味深い成果である。そもそも本種の繁殖様式については、雌雄異株と捉えられるなど、その繁殖の実態が正しく理解されていなかった側面がある。送粉様式を含めた繁殖様式の実態解明は、希産地域での本種の保全を進めていく上でも意義のある成果と考える。

研究成果の概要(英文)：To understand the actual condition of pollination and genetics in a distylous species of *Schoepfia jasminodora*, we investigated flower visitors, composition of floral volatiles and genetic differentiation by using several populations occurring in Japan. 1) It was confirmed that the populations from Nansei Islands were pollinated by small night moths while the populations from Kyushu District were pollinated by small night moths and bumblebees. 2) Floral volatiles were mainly composed of phenylpropanoid and did not differ among the populations of Kyushu District and Nansei Islands. 3) STRUCTURE analysis indicated that the populations of Kyushu District were clearly differentiated from the populations of Nansei Islands. 4) The pollination system matched a genetic differentiation, but did not coincide with a composition of floral volatiles.

研究分野：植物分類学、送粉・繁殖生物学

キーワード：ボロボロノキ 二型花柱性 送粉様式 花香成分 遺伝的分化 ガ媒花 ハナバチ媒花

1. 研究開始当初の背景

二型花柱性とは、雄蕊と雌蕊の高さが相互に異なる“短花柱花”と“長花柱花”を別個体につける現象で、花粉媒介者に強く依存した外交配を促進する複雑な繁殖システムである (Barrett, 1992)。二型花柱性の進化は現在でも解明出来ない進化学上の大きな課題であるが、アカネ科やサクラソウ科など 26 科の植物で報告されている。ボロボロノキ科については中南米産の種で二型花柱性が報告されているが、東アジア産の種については報告例がなく、ボロボロノキ (*Schoepfia jasminodora*) が申請者らの研究で初めて具体的に確認された例である。加えて、奄美大島集団と熊本集団での予備調査から、2 集団間で送粉昆虫と花香成分に大きな違いが確認された。奄美大島集団では花粉媒介者が夜行性の小型ガ類のみであるが、熊本集団では小型ガ類に加えて日中マルハナバチ類が送粉に関与し、またその花香成分はハナバチ類の誘引に関与するオイゲノールを多量に含んでいた。これは、奄美大島では確認できない成分であり、本種が地域集団間で生態的分化を起こしていることを示唆する事実である。

ボロボロノキは、中国大陸南東部、台湾、そして日本の琉球列島を経て九州北部にまで分布する落葉低木である。東アジア地域にボロボロノキを含めた 4 種が分布することを考慮すると、日本への分布拡大は琉球列島を経て広がってきた可能性が高い。その分布拡大の過程で、九州に達した集団はマルハナバチ類が生息する環境下で新たな送粉者マルハナバチ類を獲得し、そしてそれを誘引するよう花香成分に変化が生じた可能性がある。しかし、中国大陸や台湾には九州同様にマルハナバチ類が生息するため、マルハナバチ類が生息しない琉球列島においてガ媒花に特化した可能性も否定できない。ボロボロノキが日本列島へ分布を拡大する過程で、その送粉様式や花香成分をどこで、どのように変化させたのか、本研究課題の重要なテーマである。

2. 研究の目的

上で述べてきたように、ボロボロノキの奄美大島集団と九州熊本集団では、送粉昆虫が異なり、またそれに対応するように花香成分にも大きな違いが見られるようである。送粉昆虫の変化は種分化や繁殖様式の変化に結びつく重要な要因である。そのため、分布の北端 (九州) で新たな種への分化が進んでいる可能性もある。そこで本研究では、中国大陸南東部、台湾、そして琉球列島から九州北部に分布する二型花柱性ボロボロノキについて、その地理的分布域を考慮しつつ、まず集団間の花粉媒介者の違い、花香成分の違い、遺伝的分化の実態を解明し、集団遺伝学的手法による系統地理学的解析と併せて、分布拡大の過程で送粉様式がどこで、どのように変化してきたのか、多様化のプロセスを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 各集団における二型性の解析

本種の地理的分布域をできるだけカバーできるよう広範囲の複数の集団を対象に調査を進めた。すでに調査済みの鹿児島県奄美大島集団と熊本県玉名集団に加えて、新たに鹿児島徳之島集団、沖縄県恩納村集団において、その花形態の二型性の実態を把握するための形態解析、そして二型個体の野外比率を把握するための調査を行った。

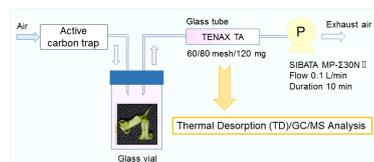
(2) 各集団の送粉様式の調査

本種の地理的分布域を考慮し、新たに鹿児島県知覧集団、鹿児島県徳之島集団、沖縄県座間味島集団において送粉様式の調査を行った。送粉様式の調査は、開花期に生育地において、日中は目視とビデオカメラの設置による訪花昆虫の調査と記録を進めた。また夜間はライト点灯による目視、そして赤外線ビデオカメラ (ケンコー-DVSA10FHDIR) とインターバルカメラ (リコー WG-30RD) を併用した訪花昆虫の調査と記録を行った。

(3) 各集団の花香成分の解析

九州の 2 集団 (熊本玉名集団と鹿児島知覧集団) と南西諸島の 4 集団 (鹿児島奄美集団、鹿児島徳之島集団、沖縄恩納村集団、沖縄座間味集団) について花香成分の解析を行った。開花期、野外から採集した花の香りをダイナミックヘッドスペース法により Tenax チューブに捕集し、その後 Thermal Desorption により熱脱離し、GC-MS により化合物を分析した (図 1 参照)。

図 1. 花香の捕集、及び花香成分解析のための DHS-TD-GC/MS 法 (蔵屋 2021)



(4) 集団間の遺伝的分化の解析

九州北部から南西諸島にかけての 25 集団 100 個体について解析を進めた。野外の生育個体

から採集した葉をシリカゲルで乾燥し、その後サンプルから DNA を抽出し、それを用いて MIG-seq 法で集団の遺伝的解析を進めた。また、東アジア産近縁種を外群として、本種野外集団について系統解析を行った。

なお、当初上記 (1) から (3) の調査・解析は、台湾や中国大陸の集団についても行う計画であったが、コロナ禍の影響によりこれらの地域に出張することができず、調査を進めることはできなかった。

4. 研究成果

(1) 日本列島の集団はいずれも二型花柱性

調査した集団は、いずれも長花柱花個体と短花柱花個体の二型性を示す二型花柱性で、雄しべの高さと雌しべの高さは二型花間で相互に対応していることが確認された。また、各集団において長花柱花個体と短花柱花個体の割合は、多少変化するものの、ほぼ 1 : 1 の割合にあることが統計上も確認された。

(2) 送粉様式において、九州の集団と南西諸島の集団は基本的に異なる

先行調査において、南西諸島の一部である奄美大島集団では、その送粉者が夜行性の小型ガ類であることが確認されていたが、今回調査した鹿児島県徳之島や沖縄県の集団においても同様の送粉者が確認されたことから、南西諸島の集団は基本的には夜行性の小型ガ類を花粉媒介者としていることが判明した (図 2 参照)。一方、九州の集団では夜行性の小型ガ類に加えて日中ハナバチ類、特にマルハナバチ類が送粉者になっていることが確認された (図 3 参照)。

図 2. 鹿児島県奄美大島集団において夜間花粉を媒介する小型ガ類



図 3. 熊本県玉名集団において夜間花粉を媒介する小型ガ類 (左)、日中花粉を媒介するコマルハナバチ (中)・セイヨウミツバチ (右)



(3) 花香成分において、九州の集団と南西諸島の集団の違いは見られない

集団内の二型花、すなわち長花柱花 (L) と短花柱花 (S) の間に花香成分の違いは認められず、いずれの集団でも花香成分としてフェニールプロパノイド類が最も多く、その主要な成分はオイゲノールであった (図 4 参照)。なお、このオイゲノールはハナバチ類の誘因に関与することが報告されている成分である。

先行研究で指摘された九州の集団と南西諸島の集団との間の花香成分の違いは、今回の解析では見られず、むしろ九州及び南西諸島の 5 集団の花香成分は互いによく類似し、集団間には大きな違いのないことが判明した (図 4 参照)。

なお、今回の研究結果が先行研究と一致しなかった点については、野外から花香を捕集する操作において、先行研究では何らかの問題があった可能性がある。

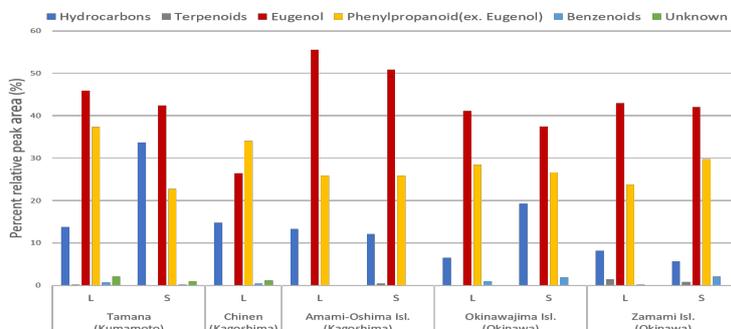


図 4. 九州と南西諸島の 5 集団における長花柱花 (L) と短花柱花 (S) の花香成分の比較

(4) 九州と南西諸島の集団間で遺伝的分化が生じている

STRUCTURE 解析の結果 (図 5 参照)、ならびに SNP データに基づく主成分分析の結果から、日本列島のボロボロノキには地理的な遺伝構造が見られ、九州の集団と南西諸島の集団は明確に区別されること、そして南西諸島の集団では、北部から南部へ遺伝的変異が連続的に変化することが判明した。九州と南西諸島集団間の遺伝的差異は、日中の花粉媒介者であるマルハナバチ

類の分布境界、すなわちマルハナバチ類は九州には生息するが、南西諸島の島々には生息しない、という実態と一致する結果でもある。しかし、これら二つの地域集団が遺伝的に異なり、連続性が認められないということは、単純に南から北への分布拡大では説明できない可能性もある。

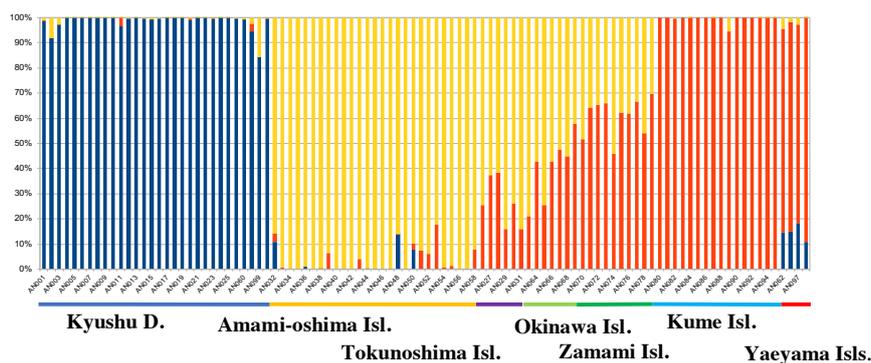


図5. STRUCTURE 解析の結果 (K=3)

(5) 今後の課題

今回の調査で、これまで全く研究対象とされることのなかった二型花柱性ボロボロノキについて、少なくとも日本産についてはその送粉様式、花香成分、遺伝的分化の実態を明らかにすることができた。特にガ媒花的二型花柱性の花とマルハナバチ類との関係については興味深い実例を示すことができた。しかし、中国大陸や台湾等の集団については、コロナ禍の影響もあり、それらの実態を解明することができなかったことは残念である。本種の分布の中心が暖温帯域にあることを考えると、日本列島への分布拡大の過程で送粉様式にも変化が生じた可能性が高いが、それを実証するためにも台湾や中国大陸に産する集団について上述 3 項目の調査が必要不可欠である。今後これらの地域での調査を継続的に進め、本種における送粉様式を含めた多様化のプロセスを解明していきたい。

<参考文献>

- Barrett S.C.H. (1992) Heterostylous genetic polymorphism: Model system for evolutionary analysis. In: Barrett S.C. H.(ed.) *Evolution and Function of Heterostyly*. pp. 1-29, Springer Verlag, London.
- 藏屋英介 (2021) 琉球列島に生育する月桃の香气特性とその多様性. *Aromatic Research* 22(2): 144-154.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Kenta Watanabe, Akira Shimizu and Takashi Sugawara | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Polygamous breeding system identified in the distylous genus <i>Psychotria</i> : <i>P. manillensis</i> in the Ryukyu archipelago, Japan. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Peer J. | 6. 最初と最後の頁 1-17 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7717/peerj.12318 | 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 Okuyama Yudai, Goto Nana, Nagano Atsushi J, Yasugi Masaki, Kokubugata Goro, Kudoh Hiroshi, Qi Zhechen, Ito Takuro, Kakishima Satoshi, Sugawara Takashi | 4. 巻 126 |
| 2. 論文標題 Radiation history of Asian <i>Asarum</i> (sect. <i>Heterotropa</i> , <i>Aristolochiaceae</i>) resolved using a phylogenomic approach based on double-digested RAD-seq data | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Annals of Botany | 6. 最初と最後の頁 245 ~ 260 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/aob/mcaa072 | 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 該当する |
| 1. 著者名 菅原 敬 | 4. 巻 43 |
| 2. 論文標題 小笠原の植物の進化を垣間見る～性表現の多様性をめぐって | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 東京都立大学小笠原研究年報 | 6. 最初と最後の頁 103 ~ 111 |
| 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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Hoshino, Y., Watanabe, K., Chen, C. -F., Takaso, T. and Sugawara, T. | 4. 巻 94 |
| 2. 論文標題 Distyly and reproductive nature of <i>Guettarda speciosa</i> L. (<i>Rubiaceae</i>) occurring in Taiwan and Japan | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Japanese Botany | 6. 最初と最後の頁 342-353 |
| 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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

〔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 菅原敬、内貴章世、渡邊謙太、柿嶋聡、藏屋英介、荻原弘貴 |
| 2. 発表標題 二型花柱性ボロボロノキの送粉様式と花香成分・遺伝的変異との関連 |
| 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 宮川彩花 & 菅原敬 |
| 2. 発表標題 小笠原固有種オシラタマカズラの二型花柱性とその繁殖に関する研究 |
| 3. 学会等名 日本植物分類学会第19回大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 東京都立大学小笠原研究委員会 | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 朝倉書店 | 5. 総ページ数 196 |
| 3. 書名 世界自然遺産 小笠原諸島 | |

〔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 | 内貴 章世 (Naiki Akiyo) (30393200) | 琉球大学・熱帯生物圏研究センター・准教授 (18001) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 | 渡邊 謙太 (Watanabe Kenta) (50510111) | 沖縄工業高等専門学校・技術室・技術専門職員 (58001) | |

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 |
|---------|---------|
| | |