

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：58001

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26840130

研究課題名(和文) 倍数化を伴う二型花柱性から雌雄同株性への進化過程の解明

研究課題名(英文) Polyploidization and evolution of the polygamous breeding system from distyly

研究代表者

渡邊 謙太 (Watanabe, Kenta)

沖縄工業高等専門学校・技術室・技術専門職員

研究者番号：50510111

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)：本研究では二型花柱性を主とするアカネ科ボチョウジ属において、雌雄異花同株を含む特異な性表現を有する可能性が考えられたナガミボチョウジについて、その性表現と繁殖の実態を明らかにし、その進化的背景を解明することを目的として調査を進めた。その結果、ナガミボチョウジは雌雄異花同株や雌株等を集団内に含む雑居性という複雑な性表現を有し、主にハエ類やハチ類により送粉されていることが明らかになった。近縁種との系統関係にはなお不明な部分が残されたものの、最も近縁で側所的に生育するボチョウジが4倍体であることなどを考慮すると、8倍体に倍数化したことが現在見られる性表現の進化に関与した可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the breeding system and its evolutionary pathway of *Psychotria manillensis* in the Ryukyu Islands. I found *P. manillensis* had polygamous breeding system mainly with monoecious, female, and some male and hermaphroditic individuals, and it was pollinated mostly by flies and wasps. Most species in the genus *Psychotria* are distylous, and distyly is thought to be an ancestral character of the genus. It is a first discovery of monoecism not only in the genus *Psychotria* but also in all heterostylous species group. It is difficult to explain the evolution from distyly to monoecy only by plant-pollinator interactions. *P. manillensis* is octoploid, and its closely related ally, *P. rubra* is tetraploid. If we put this ploidy levels into consideration, the evolution of monoecism in *P. manillensis* can be linked to polyploidization.

研究分野：進化生態学

キーワード：Psychotria polyploidy heterostyly Ryukyu Islands breeding systems polygamous monoecy

1. 研究開始当初の背景

被子植物の雌雄性（性表現）は非常に多様であることが知られている。その中でも異型花柱性（heterostyly）は、植物が他殖を促進するために発明した極めて巧みな進化的工夫であり、その進化や生態は世界中の研究者の注目を集めてきた。2種類の異型花柱性のうち、より一般的な二型花柱性（distyly）は、両性花でありながら、雌蕊が雄蕊よりも長い長花柱花（L, Long-styled morph）と雌蕊が雄蕊よりも短い短花柱花（S, Short-styled morph）の二型の花をつける株が集団中に共存し、それぞれの型は遺伝的に決定され、一般に異なるタイプ同士で相互に受粉しないと結実しないことが知られている。この二型花柱性は、遺伝的に非常に複雑なシステムであるが、被子植物のいくつかの分類群で独立して進化したと考えられている。一方、二型花柱性が他の性表現に進化する（崩壊する）こともしばしば報告されてきた。この二型花柱性の崩壊パターンとして、どちらか一方の型が失われる、あるいは雄蕊と雌蕊の長さが等しい等花柱花などの単型になる例がよく知られている。より珍しいパターンとして、雌雄異株（dioecy）への進化の例もいくつか報告されてきた。しかし、これまで雌雄異花同株（monoecy）のような、異なる性の花を同じ個体内につけるような性表現への進化は全く報告がなかった。

二型花柱性種を含む最大の分類群の一つに、アカネ科ボチョウジ属（*Psychotria*）がある。ボチョウジ属は熱帯を中心にアジア、アフリカ、中南米と太平洋の島々に広く分布し、1600種以上を含む大きな属である。そのうち、日本からは、琉球列島と小笠原諸島から5種が知られている。この5種のうち3種はそれまでの研究代表者らによる研究により、二型花柱性であることが確かめられていた（Kondo et al. 2009 等）。また琉球列島に分布するボチョウジは、二型花柱性から雌雄異

株へ進化したと考えられた（Watanabe et al. 2014a）。さらに、同じく琉球列島に生育するナガミボチョウジでは、予備的な観察から、形態的には雌花、雄花、両性花のような花が認められ、複数の異なるタイプの花が時として同じ株内に見られることが確認された。これは少なくとも集団中に雌雄異花同株を含む可能性を示唆しており、これまで二型花柱性のグループからは確認されていない特異な性表現の発見である可能性があった。

2. 研究の目的

本研究ではナガミボチョウジの性表現と繁殖の実態を明らかにし、その上でこの性表現が祖先形質と考えられる二型花柱性からどのように進化してきたのか、その進化過程を明らかにすることを目的とした。

具体的にはまず、ナガミボチョウジの性表現を複数の集団で明らかにし、野外での送粉者と自然状態での繁殖状況を明らかにすることを目指した。

次に、二型花柱性の祖先種からの進化経路を明らかにするため、ボチョウジ属全体における系統的位置について分子系統解析により解明することを目指した。

さらに、この特異な性表現の進化を引き起こした要因と想定された倍数性の解明、及び側所的に分布する近縁種との種間関係の解明を目指した。

最後に、この性表現がナガミボチョウジに特有のものであるのかどうか、またそこに島という環境が影響しているのかどうかを明らかにするために、近隣の近縁種数種の性表現を明らかにし、さらに島における二型花柱性と二型花柱性から別の性表現への進化に関わる状況を世界の研究例の解析から明らかにすることを目指した。

3. 研究方法

(1) ナガミボチョウジの性表現の解明

沖縄島3集団と西表島2集団の合計5集団を対象に、花をサンプリングし、花の形態を計測し、機能と連動すると考えられる雌蕊の柱頭形状と雄蕊の葯の形状及び花粉の有無により花を分類した。また形態的に分類した花の雄機能、雌機能を受粉実験により確認した。

(2) ナガミボチョウジの送粉者の解明

上記性表現の調査を実施した集団において、ナガミボチョウジの訪花昆虫を調べ、送粉生態学的調査を実施した。

(3) ボチョウジ属における系統解析

琉球列島産のナガミボチョウジ、ボチョウジ、シラタマカズラ、小笠原諸島産オオシラタマカズラ、オガサワラボチョウジ、台湾産ボチョウジ属3種からDNAを抽出し、葉緑体DNAの*ndhF*, *atpB-rbcL*, *rbcL*, *trnT-F*, *rps16*の5領域、及び核DNAのITS, ETS領域について塩基配列を決定し、genebankに登録された近縁種の配列データと併せ、ボチョウジ属全体の分子系統解析を行った。

(4) 倍数性、及びDNA含有量の測定

琉球列島沖縄島に分布するボチョウジ属3種の倍数性について、根端の押しつぶし法による染色体の計数とPI染色を用いたフローサイトメトリーによるDNA含有量の推定を行い、それぞれの倍数性を推定した。

(5) 近縁種ボチョウジとの種間関係

しばしば側所的に生育し、上述(3)の分子系統解析から入手できたサンプルの中で最も近縁であることが示された同属種ボチョウジとの種間関係を調査した。これはボチョウジとの種間関係がナガミボチョウジの種分化や、その独特な性表現の確立に影響し

ている可能性が考えられたためである。具体的には、雑種形成の可能性と雑種体の分布の調査、土壌生育特性と発芽特性の比較を行った。

(6) 近隣に分布する近縁種の性表現の解明

小笠原諸島、台湾、ハワイに分布する日本産ボチョウジ属に近縁な同属種について、花形態と受粉実験により性表現(雌雄性)の解明を試みた。また、野外でどのように繁殖しているのかを明らかにするため、送粉者の調査を実施した。

(7) 島における二型花柱性種の分布と二型花柱性から始まる性表現進化に関する文献レビュー

これまでの研究代表者らの研究を中心として、島における二型花柱性種の分布と研究例について、文献をレビューし、二型花柱性が島において稀であるという定説を検討すると共に、ナガミボチョウジの進化の特殊性と島との関連についても検討した。

4. 研究成果

(1) ナガミボチョウジの性表現

ナガミボチョウジは、多くの花が雄花か雌花という単性花をつけるが、稀に両性花をつけることもわかった。株としては雌株・雌雄異花同株を中心として、雄株や両全性株を集団内に含む雑居性であることがわかった。

(2) ナガミボチョウジの送粉者の解明

ナガミボチョウジは主に近縁種のボチョウジと同じく、ハエ類とカリバチ類により訪花され、送粉されていることが明らかとなった。

(3) ボチョウジ属における系統解析

DNAによる系統解析では、第一にナガミボチョウジとボチョウジの近縁性が示され、さ

らにそれらが中国大陸またはフィリピン等の東南アジアからやってきたことが示唆された。しかし、特にフィリピンと中国の周辺種のサンプルの入手が困難だったため、その起源を特定するには至らなかった。

(4) ボチョウジとナガミボチョウジの倍数性、及び DNA 含有量の測定

染色体の計数は先行研究と一致し、ナガミボチョウジは、 $2n=84$ の 8 倍体、近縁種のボチョウジは $2n=42$ の 4 倍体であることが確認された。また琉球列島ボチョウジ属 3 種 (シラタマカズラ ($2n=22$)、ボチョウジ、ナガミボチョウジ) についての DNA 含有量は、それぞれ $2C=$ 約 1.9, 4.0, 6.9 (pg) と推定された。

ナガミボチョウジが同質倍数体か、それとも交雑由来の異質倍数体であるのか、更にはその母種の少なくとも一方がボチョウジであるのかについては、現在なお解析中である。

(5) 近縁種ボチョウジとの種間関係

雑種形成 受粉実験によりボチョウジとナガミボチョウジの間に雑種が形成され得ることが確認された。また野外でも実際に雑種とみられる中間的な形質を示すものが見つかり、DNA 配列と DNA 含有量の両方の調査によっても雑種であることが確かめられた。本研究で確認した雑種は花粉を作らず、また種子を生産していないため、不稔であると考えられた。

土壌適性 琉球列島に分布するボチョウジとナガミボチョウジの 2 種は異なる土壌に適應しており、そのことが 2 種が同じ島嶼内に生育することを可能にしていると考えられた。この土壌適性に関して、相互移植実験と栽培実験を実施した結果、ナガミボチョウジはほぼ全ての土壌に生育できるが、ボチョウジは石灰岩性の土壌に生育できないことがわかった。このことは、ナガミボチョウ

ジは、琉球列島全域に生育する潜在的能力があるが、ボチョウジの存在によりその分布を制限されている可能性を示唆している。

発芽特性 ナガミボチョウジとボチョウジはともに Morphophysiological Epicotyl Dormancy (形態生理上胚軸種子休眠性) を有することがわかり、より大きな種子を持つナガミボチョウジが、ボチョウジよりも発芽までにより多くの時間を要することがわかった。しかし、pH の違いによる発芽率や速度の違いは確認できなかった。

(6) 近隣に分布する近縁種の性表現の解明

小笠原諸島の固有種オガサワラボチョウジと台湾の離島、蘭嶼のコウトウボチョウジは形態的にも機能的にも二型花柱性を保っていることが明らかとなった (Watanabe et al. 2014b, 2015, 2018)。

ハワイのボチョウジ属 11 種は、単一の祖先種から種分化したことが知られており、二型花柱性から雌雄異株に進化した例として知られていたが、実際には、二型花柱性が一旦単形に崩壊してから二次的に雌雄異株化した可能性が高いことを明らかにした。

(7) 島における二型花柱性種の分布と二型花柱性から始まる性表現進化に関する文献レビュー

これまで全世界の主な海洋島から報告された二型花柱性植物はわずかに 11 例のみであった。島においては、一旦移入し定着することに成功したとしても、限られた送粉者との関係の中で、諸島内で他の性表現に進化するということが比較的良好に生じている可能性が示唆された。ただし、今回のナガミボチョウジに見られたような複雑な性表現については、他に例がなく、島という環境と直接結びついているかどうかは明らかにならなかった (Watanabe & Sugawara 2015)。

<引用文献(引用した文献のうち本研究の成果「主な発表論文等」に該当しないもの)>
Kondo Y, Nishide M, Watanabe K and T Sugawara (2007) *Japanese Journal of Botany*. 82. 251-258.

Watanabe K, Shimizu A and T Sugawara (2014a) *Plant Species Biology* 29 (2) 181-191.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9 件)

Watanabe K, Kato H, Kuraya E and T Sugawara (2018) Pollination and reproduction of *Psychotria homalosperma*, an endangered distylous tree endemic to the oceanic Bonin (Ogasawara) Islands, Japan. *Plant Species Biology*, 33 (1), 16-27. 査読有

Yoshii K, Watari M. Watanabe K, et al. (2018) On the occurrence probabilities of third year branching pattern models of *Psychotria* species on Okinawa Island. *沖縄高専紀要* 12: 47-54. 査読有

Sugai K, Watanabe K, Kato H and T Sugawara (2016) Development of SSR markers for *Psychotria homalosperma* (Rubiaceae) and cross-amplification in four other species. *Applications in Plant Sciences*, 4(5), 1500133. 査読有

Sugawara T, Watanabe K, Tabata M, Takaso T and A Shimizu (2016) Incompatibility and pollination of distylous *Psychotria serpens* (Rubiaceae) in the Ryukyu Islands, Japan. *Acta Phytotax. Geobot.* 67 (1). 37-45. 査読有

Watanabe K and T Sugawara (2015) Is heterostyly rare on oceanic islands? *AoB Plants* 7: plv087, 1-16. 査読有

Watanabe K, Yang TYA, Nishihara C, Huang TL, Nakamura K, Peng CI and T Sugawara (2015) Distyly and floral morphology of *Psychotria cephalophora* (Rubiaceae) on the oceanic Lanyu (Orchid) Island, Taiwan. *Botanical Studies*. 56: e10. 1-9. 査読有

渡邊 謙太, 須貝杏子, 向哲嗣, 加藤英寿, 菅原敬 (2015) オガサワラボチョウジにおける花序あたりの花数は列島間で異なる. *小笠原研究年報* 38: 97-101.

須貝杏子, 渡邊 謙太, 向哲嗣, 加藤英寿, 菅原敬 (2015) 小笠原諸島固有種オガサワラボチョウジの保全について(2). *小笠原研究年報* 38: 65-73.

Watanabe K, Kato H and T Sugawara (2014b) Distyly and incompatibility in *Psychotria homalosperma* (Rubiaceae), an endemic plant of the oceanic Bonin (Ogasawara) Islands. *Flora*. 209 (11). 641-648. 査読有

[学会発表](計 15 件)

宮城愛夏, 渡邊 謙太, 善岡祐輝, 井口亮 (2018) 琉球列島の森林に棲み分ける近縁低木2種における共生菌根菌の多様性評価. 日本生態学会(第65回大会)札幌コンベンションセンター.

渡邊 謙太 (2017) 島の植物に見る二型花柱性を中心とした性表現の多様化. (片岡奨励賞受賞講演) 種生物学会(第49回大会)すかつとランド九頭竜(福井)

渡邊 謙太 (2017) 小笠原諸島と琉球列島に生育する二型花柱性植物とその繁殖. 三学会合同沖縄例会(日本生態学会九州支部・日本動物学会九州支部・九州沖縄植物学会)琉球大学.

渡邊 謙太, 川満日向子, 西田琉弥, 井口亮 (2017) 琉球列島産ボチョウジ属植物3種の発芽特性: 上胚軸種子休眠は沖縄でも見られるか. 沖縄生物学会第54回大会. 琉球大学

渡邊 謙太, Adam WILLIAMS, Steve PERLMAN, Wendy KISHIDA, David LORENCE (2017) ハワイ産ボチョウジ属における雌雄異株性の進化. 日本植物分類学会台16回大会. 京都大学

Drake D, Akamine M, Graham R, Kroessig T, Krushelnicky P, Reynolds, L, Sahli H, Shay K, Watanabe K. (2017) Flower visitation by native and non-native bees: what do we know and what do we need to know? Pacific Entomology conference 2017. Honolulu, USA.

Watanabe K. (2016) Evolution of the breeding systems and floral traits in Hawaiian *Psychotria* and *Gynochthodes trimera* (Rubiaceae). UH Occasional talk, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii, USA

渡邊謙太 (2016) 島におけるボチヨウジ属の繁殖様式と進化. 種生物学会 (第48回大会) 北海道ビューホテル

Watanabe K. (2015) Breeding systems of genus *Psychotria* (kopiko, Rubiaceae) on the Ryukyu, Bonin and Hawaiian Islands. EECB Evolunch session, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii, USA

Watanabe K and T Sugawara (2015) Dioecism and Monoecism in two *Psychotria* species (Rubiaceae) in the Ryukyu Islands, Japan. Annual meeting of the association for tropical biology and conservation, 2015. Honolulu, Hawaii, USA

渡邊謙太, 庭野駿介, 仲尾錦, 金城和俊, 菅原敬, 井口亮 (2015) 琉球列島におけるボチヨウジ属近縁2種の土壌適応と雑種形成. 日本生態学会 (第62回大会) 鹿児島大学

井口 亮, 小島まり, 蔵屋眸, 渡邊謙太 (2015) 琉球列島産ボチヨウジ属の種間・種内における遺伝的変異を探る. 日本生態学会 (第62回大会) 鹿児島大学

Watanabe K and T. Sugawara (2014) Distyly, dioecy and monoecy in six species of *Psychotria* (Rubiaceae) in the oceanic and continental island groups in East Asia. An international conference on Island Evolution, Ecology, and Conservation 2014. Manoa, Hawaii, USA

渡邊謙太, T. Y. Aleck Yang, Tai-LiangHuang, 仲尾錦, 井口亮, 菅原敬 (2014) 台湾南東部緑島におけるボチヨウジ属3種の生育地接触と環境について. 沖縄生物学会 (第51回大会) 琉球大学

須貝杏子, 渡邊謙太, 加藤英寿, 菅原敬 (2014) 小笠原産ボチヨウジ属植物の繁殖生態に着目した域内保全手法の開発に向けて. 日本応用生態工学会 (第18回大会) 首都大学東京

[図書](計0件)

[産業財産権](計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 謙太 (WATANABE, Kenta)
沖縄工業高等専門学校・技術室
・技術専門職員

研究者番号: 50510111