

## 形態形質と分子マーカーを利用した ツバキ属植物の多様性の評価と系統関係の解明

### 【代表者】

植松千代美 大阪市立大学 理学研究科 准教授

### 【共同研究者名】

岡崎純子 大阪教育大学 教育学部 准教授

### 【研究概要（申請書より抜粋）】

ツバキ属植物はツバキ科のなかでも最も大きな属で、ヒマラヤや日本、インドネシアまで、東南アジア一帯に広く分布し、チャやツバキ油、鑑賞用など人による利用も多い。200種以上とも言われる野生種の多くが中国とその周辺に分布し、研究も中国を中心に行われ、多様性の中心は中国南部からベトナム北部の国境付近と考えられてきた (Sealy 1958, Chang 1984, Tran Ninh 2002)。しかし 1990 年代以降ベトナムの調査が進み、南部で発見された新種約 20 種を含む約 70 種が報告され、ツバキ属植物の起源が当初推定より南である可能性が指摘されている (Orel 2006, Hakoda 2008)。本研究ではベトナムで近年発見された種を含むツバキ属全体の多様性を評価し、系統関係を明らかにすることを目的とする。また地域ごとの多様性を比較することで、多様性の中心すなわち起源地について考察を試みる。なお本申請課題の共同研究者である大阪教育大学・植物分類学分野の岡崎純子准教授とは 2009 年から理学部附属植物園内で生育が確認された絶滅危惧種の保全研究を共同で進め、成果を共著の論文や著書にまとめてきた経験を有している。

## 【研究成果（報告書より抜粋）】

ツバキ属植物はツバキ科の中で最も大きな属で、東南アジア一帯に広く分布し、Chang and Bartholomew(1984)によれば中国とその周辺だけでも4亜属20節200種以上の野生種が報告されている。多様性の中心は中国南部からベトナム北部の国境付近と考えられてきた(Sealy 1958, Chang 1984, Tran Ninh 2002)が、1990年代以降ベトナムから新種約20種を含む約70種が報告され(Tran Ninh 2002, Orel 2006, Hakoda 2008)、多様性の中心が当初想定されていたより南方のベトナム南部である可能性が指摘されている(Orel 2006, Hakoda 2008)。

ところで中国において200種以上、ベトナムにおいて70種にも及ぶツバキ属植物が記載されているが、その後、中国では種の見直しが進み、種数の絞り込みが進んでいることも視野にいれると、種間雑種を種として認定している可能性や、異名同種が含まれている可能性もある。

本研究ではベトナムで近年発見された種を含むツバキ属全体の多様性を評価し、系統関係を明らかにすることを目的とした。これらの解析を通じて、多様性の中心すなわち起源地についても考察を加えることを目指した。

### <供試材料>

本研究には16節88種102個体のツバキ属植物を供試した。その内訳は申請者がこれまでのベトナム探索で採集した14種16個体、久留米市世界のつばき館ならびに久留米ツバキ園より分譲を受けた73種84個体、伊豆大島ならびに岩手県で採集したヤブツバキ1種2個体で、Chang and Bartholomew(1984)による20節の8割を網羅している。

### <今期の成果>

#### I. 葉形態について

葉身の長さは26.5~189.9 mmと連続的に幅広く変異していた。また葉身の長さ/幅比も1.5~4.5と幅広い変異を示しており、ずんぐりした葉から細長い葉まで多様であった。葉形態についての主成分分析の結果、第一主成分として葉身の長さや幅などの大きさに関する形質が、第二主成分として葉身先端の形状や葉身の長さ/幅比、葉身基部の形状などの形を表す形質が、種の特徴を表す形質として重要であることが明らかになった。

#### II. 花形態について

花を採集できた64種67個体について、一般的な特徴(花の長径、短径、花のつき方(頂生か腋生か)、花色など)と、花を構成するパーツ(花弁、萼、小苞、萼苞、雄しべ、雌しべ、花柄など)の数や大きさ、毛の有無など、合計37項目の観察と計測を行い、主成分分析を行った。その結果、ツバキ属の4つの亜属は大きく原始ツバキ亜属とツバキ亜属、チャ亜属とヒメサザンが亜属の2つのグループに分けられた。原始ツバキ亜属は比較的大きな花弁や萼苞をもつ大きな花をつけ、雄しべの花糸や雌しべの花柱も長い傾向が認められ

た。一方、茶亜属とヒメサザンカ亜属はともに萼苞は持たず、萼と比較的小さな花弁から成る小さな花をつける点が共通していた。ツバキ亜属はこれらの中間に位置し、花の大きさに関してはチャ亜属やヒメサザンカ亜属よりも大きく、萼苞の数や大きさ、花糸や花柱の長さに関して連続的な変異を示した。

### III. 分子系統樹の構築

系統関係を DNA レベルで解明すべく、核の SSR マーカーを用いた解析を試みる中で、ツバキ属野生種には高次倍数体種が多数存在する可能性が示された。これについては次の項で詳述する。

SSR 解析の結果、2 倍体と推定された 38 種 43 個体と外群 1 種 1 個体について作成した系統樹は、ブートストラップ値が低く、同種の個体が異なるクレードに含まれるなどの問題点を含んでいた。これはマーカーの解像度が高すぎたためと考えられ、新たなマーカーの採用を検討している。また従来形態分類による 4 亜属が、分子系統樹でクレードごとにまとまらず、形態に基づく分類を必ずしも反映していなかった。申請者らとは異なる DNA マーカーを用いた Vijayan ら(2009)の先行研究でも同様の結果が示されており、ツバキ属においては形態分類と分子系統の間に齟齬が生じていると考えられた。

### IV. 倍数性推定

ツバキ属植物では染色体観察により高次倍数性が知られていたが、本研究でも多くの種が高次倍数体である可能性が示された。用いたマーカーがマルチアレルを検出した可能性もあり、さらに詳細な解析が求められるが、現時点では 4 つの SSR マーカーで得られた増幅ピーク数のうち、最大のピーク数  $n$  をもって  $n$  倍体と仮に推定した。その結果、2 倍体のほか、3 ~ 8 倍体の多様な高次倍数体種が存在する可能性が示された。ツバキ属では種内倍数性も報告されており、種の定義や系統進化を考える上で、高次倍数体出現のメカニズム解明は興味深い課題である。

### <総括と今後の展望>

申請者らはツバキ属全体の多様性を評価し、系統関係を明らかにすることを目的として今期の研究を行ってきた。半年という短い期間であったが、当初の予定以上の研究を遂行することができた。

これまでの結果をまとめると、葉ならびに花の形態は非常に多様で連続的に変異していた。一方、供試 88 種のうち 2 倍体種と推定された 38 種について構築した系統樹は必ずしも従来形態分類の結果を支持しておらず、これは先行研究と同様の結果となった。

ツバキ属全体を網羅した系統関係を明らかにするには、高次倍数性種の存在を無視することはできない。今後はフローサイトメーターによる核 DNA 量の測定や染色体観察にもとづく、より正確な倍数性の評価を行いたい。倍数体出現メカニズムの解明はツバキ属植物の進化の道筋を跡づける上で重要と考える。

また倍数性に左右されず、一般に母性遺伝することが知られている葉緑体 DNA のマーカーを用いて系統関係の推定を試みる。将来的には倍数性種の系統関係推定に適したマーカー

一の開発と、得られた結果の解析方法の検討が課題と考える。

アジアのツバキ属植物とかかわるようになって三年。高次倍数性は悩ましくも、面白い課題である。本研究助成のおかげで、普遍性のある興味深いテーマに取り組めたことに感謝している。