

文部科学省補助事業「ダイバーシティ研究環境実現イニシアティブ（牽引型）」

2019年度 連携型共同研究 成果報告書

研究課題名	ツバキ属植物の系統関係の再検討
研究代表者	植松 千代美（大阪市立大学 理学研究科 准教授）
共同研究者	岡崎 順子（大阪教育大学 教育学部 准教授）

研究成果

ツバキ属植物は近年ベトナムで発見された種も含め、4 亜属 20 節約 300 種が東南アジアから東アジアに分布しています（Hakoda 2008、桐野、2013）。それらの中には世界中で飲用されているチャや、種子から絞った油を食用や化粧品などに利用するヤブツバキやサザンカ、中国の油茶まで、様々な植物が含まれており、また鑑賞用としても古くから愛好されています。

一般には Chang & Bartholomew (1984) が形態形質に基づいて提唱した分類体系が採用されていますが、分子マーカーを用いて構築した系統樹(Vijayan ら, 2009 など)との間に矛盾が生じており、ツバキ属全体の系統関係の再検討が急務となっています。

2017～2018 年度の研究により葉緑体(cp)DNA の構造変異が、ツバキ属内の節や亜属単位での進化を跡づけるのに有効である可能性を示しました。またツバキ属においては高次倍数性種の存在が系統関係の推定を困難にしており、ツバキ属植物の倍数性を網羅的に把握する事が重要と考えました。

そこで本研究課題では、ツバキ属全体をほぼ網羅する 4 亜属 18 節について倍数性判定を行いました。また、ツバキ属植物の進化を跡づけるのに利用できる cpDNA の構造変異を計 6 個見出し、これらの変異の有無を指標として cpDNA のハプロタイプ分析を行い、ツバキ属における cpDNA の進化の道筋を推定しました。これらの結果を総合して、ツバキ属の進化の道筋を考察します。

今年度の研究にはツバキ属植物の 4 亜属 19 節 265 個体を用いた。倍数性解析には 206 個体を、cpDNA の構造変異検出には 265 個体を供試しました。

1. フローサイトメーターを用いた倍数性解析の結果、206 個体中 4 倍体が 23 個体、6 倍体が 16 個体、8 倍体が 1 個体となり、供試個体の 19.4%が倍数体でした。倍数体種は供試 18 節中 10 節で確認され、多くの節で倍数化が生じていることが確認できました。ただし供試した *Thea* 亜属の *Chrysantha* 節 77 個体内、74 個体が 2 倍体だったために、全体の倍数体種の割合が低くなりました。*Chrysantha* 節を含まない *Camellia* 亜属では倍数体種の割合が 37.5%、*Camellia* 節だけならば 41.4%でこの値は Hung ら (2013) の結果と一致していました。また供試個体から *Chrysantha* 節の個体を除いた場合の倍数体種の割合は 28.7%と、やはり高次倍数体種の割合が高いことが再確認されました。

2. Yang ら (2013) の報告に基づき、cpDNA 中に 30bp 以上の長さの挿入/欠失変異を 6 ヶ所見いだしました。本課題の供試個体がこれらの構造変異を持つか否かを PCR 法で調査しました。その結果、6 つの変異をどのような組み合わせで持つかにより、cpDNA

表 1. 各ハプロタイプが有する構造変異と各ハプロタイプに含まれる個体数

ハプロタイプ	個体数	構造変異					
		1	2	3	4	5	6
A	1	-	+	+	-	+	+
B	1	-	+	+	+	+	-
C	86	-	+	+	+	+	+
D	7	-	+	-	+	+	+
E	1	+	-	+	-	+	+
F	5	+	-	+	+	+	+
G	3	+	-	+	+	-	+
H	3	+	+	+	-	+	+
I	146	+	+	+	+	+	+
J	12	+	+	-	+	+	+

1～6 は cpDNA 上の 6 つの構造変異を表す。- は欠失型であることを示す。

ハプロタイプ A から J までの 10 タイプに分類できました (表 1)。各ハプロタイプが有する変異の組み合わせに基づいて、cpDNA の進化の道筋を推定すると次の様になります。即ち、いずれの欠失も持たないハプロタイプ I を基本型とすると、①の 400bp の欠失が生じてハプロタイプ C が、②の 433bp の欠失が生じてハプロタイプ F が出現、その後、③~⑥の小さな変異が起きてハプロタイプ I から H や J、ハプロタイプ C から A、B、D、ハプロタイプ F から E や G が派生したと推定しました。ツバキ属植物の cpDNA は①と②の大きな欠失を持つか、持たないかによってハプロタイプ I、C、F の 3 グループに分かれ、それぞれから小さな欠失が生じて派生型ができたと考えました。

ハプロタイプに構造変異が生じた順番すなわち cpDNA 構造の進化を推定する事は容易でしたが、これらのハプロタイプと亜属や節の関係は複雑でした。例えば 1 つの節の中にハプロタイプ I を持つ個体とハプロタイプ C を持つ個体が共存していました。この様に同一の節で異なるハプロタイプが検出された例は 19 節中 10 節にのぼりました。これは複数の節で、共通の cpDNA の欠失変異が生じたことを示しており、節のレベルでの進化の道筋 (順番) を追うことを困難にしています。今後新たなマーカーによる系統関係の再検討が待たれる所です。

cpDNA は一般には母性遺伝することから、倍数性個体は同じハプロタイプの母系から生じたと考えられます。今後は倍数性個体と母系候補種について、染色体の核型分析により、倍数化のメカニズムが解明されることを期待しています。

ツバキ属植物の系統関係の再検討は多くの研究者が必要と考えていますが、まだ十分に解明されていません。本課題で明らかにした 3 つの cpDNA ハプロタイプを足がかりとして、ツバキ属植物の系統進化の道筋を解明するための新たなマーカーや方法を模索して行きたいと考えています。