

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22570085

研究課題名（和文） 広域分布種と関連地域固有種に関する系統地理学的解析

研究課題名（英文） Phylogeographical study on widely-distributed and local endemic species

研究代表者

池田 博（IKEDA HIROSHI）

東京大学・総合研究博物館・准教授

研究者番号：30299177

研究成果の概要（和文）：

バラ科キジムシロ属キジムシロ群に含まれる広域分布種と、それらから派生したと考えられる地域固有種について、形態学的・細胞遺伝学的・分子遺伝学的解析をおこなった。解析の結果、1) キジムシロ群植物は全て2倍体(2n=14)である、2) *P. freyniana* var. *sinica* は、別の種として取り扱うべきである、3) ヒメツルキジムシロは雑種ではなく、独立した種と考えられることが判明し、4) *P. koreana* とキジムシロ、ヒメキジムシロとテリハキンバイとの雑種を見出した。

研究成果の概要（英文）：

This study aims to clarify the process of speciation on the local endemic species which might be derived from widely-distributed species in *Potentilla fragarioides* group (Rosaceae). 11 species in the *Potentilla fragarioides* group were analysed.

As a result, it is clarified that 1) all the species in the *P. fragarioides* group are diploids (2n=14), 2) *P. freyniana* var. *sinica* is not merely a variety of *P. freyniana*, but it is a clearly independent species, 3) although *P. yamanakae* has been treated as a hybrid, it has turned to be a good species, 4) two hybrids, hybrid between *P. koreana* and *P. fragarioides*, and between *P. riparia* and *P. yamanakae*, are discovered.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：系統地理・バラ科・キジムシロ属・広域分布種・地域固有種・DNA・分類

1. 研究開始当初の背景

被子植物の多様性は、少数の祖先種がさまざまな環境に適応して進化・多様化した結果

に由来するものであると考えられる。

被子植物の多くの系統群で、広域分布種が分布が限られている類似種（地域固有種）と

姉妹群を形成することが知られており、日本でも多くの例が知られている (館岡 1983 参照)。そのような地域固有種は、広域分布種から進化したと考えられるが、その分化の過程にはいくつかの可能性が考えられる。仮に、広域分布種 X に形態的に類似した北海道の A と本州太平洋側地域の B、C、日本海側地域の D、九州の E、F が存在した場合、1) いずれも X から独立に派生したのか (分断型)、2) X または X に由来する Y が分布を拡大する過程で地域固有的な別種になったのか (分散型) のいずれかである可能性が高い。広域分布種が地域固有種を生み出すメカニズムを明らかにすることは、被子植物の進化に関する重要な知見を与えると考えられる。

申請者は、これまで主にヒマラヤ・中国を中心としたバラ科キジムシロ属 (*Potentilla* L.) の分類学的研究を進めてきた (Ikeda 1989, Ikeda & Ohba 1992, 1993a, b, 1995, 1996a, b, 1999, Ikeda & Wu 1998, Ikeda et al. 2002)。その過程で、日本産キジムシロ属植物についても検討を進めてきた (池田 1997, 池田ほか 2005a, b)。その結果、キジムシロとその仲間 (キジムシロ群: *P. fragarioides* group) がこの問題の解決に最もふさわしい分類群であると考えられた。キジムシロ群は、広域分布種と地域固有種、その中間的な分布域を示す種、さらには隔離分布する種など、さまざまな分布パターンを示す種群である。すなわち、キジムシロとミツバツチグリは北海道から九州、朝鮮半島、中国、ロシアと広い分布域をもつ広域分布種である一方、エチゴキジムシロとエチゴツルキジムシロは本州日本海側の、ヒメツルキジムシロは四国と九州の、ピロウドキンバイは朝鮮半島の比較的限られた地域に分布する (Naruhashi 2001, Ikeda & Im 2001)。また、ヒメヘビイチゴは北海道から本州日本海側、ツルキンバイは本州太平洋側に分布している一方、テリハキンバイは両者の空白地帯を埋めるように近畿から本州西部に分布する (池田 1997) など、地域的に分布の偏りを示す種も存在する。さらに、ツルキジムシロは、北海道から九州、韓国済州島に分布するものの、その分布は隔離的である。なお、キジムシロ群の種については分類学的取り扱いが学者により異なり、分類学的再検討も必要である。

最近の系統地理学的研究においては、分子遺伝学的変異と細胞学的変異の双方を解析する必要性が認識されている。アオキ科アオキ (*Aucuba japonica*) の解析 (Ohi et al. 2001) や、カヤツリグサ科ヒメカンスゲ (*Carex conica*) の解析 (Yano, Ikeda et al., submitted) において、遺伝的変異体 (ハプロタイプ) と

倍数体または異数体の分布の解析から、氷河期の気候変動と最終氷期以降の温暖化が現在の分布を規定していることが示唆されている。キジムシロ群については、染色体数については、多くの種が 2 倍体であることが判明している (Iwatsubo & Naruhashi 1991, Ikeda & Im 2001, 池田ほか 2005a) もの、分子系統学的研究についてはこれまでおこなわれておらず、種間の系統関係についてはいまだ明らかにされていない。

2. 研究の目的

近年の分子生物学の発展により、被子植物の多くの系統群で、広域分布種がいくつかの地域限定的な種 (地域固有種) と姉妹群を形成することが明らかになってきた。それは、広域分布種がそれぞれの地域で地域固有種に分化した結果生じたものであると推定されている。広域分布種と複数の地域固有種が存在する場合、地域固有種は、1) いずれも広域種から独立に派生した (分断型) のか、2) 広域種または広域種に由来する別の種が分布を拡大する過程で地域固有的な別種になった (分散型) のかのいずれかである可能性が高い。しかしこれまでに解析された分類群は少なく、どちらがより一般的な現象なのかはまだ明らかになっていない。

バラ科キジムシロ属キジムシロ群には、広域種および広域種から派生したと考えられる地域固有種が多く知られており、この問題を解明するのに適当な種群であると考えられる。本研究は、キジムシロ群に含まれる広域分布種とそれらから派生したと考えられる地域固有種について、形態学的、細胞遺伝学的、分子遺伝学的解析を行ない、種分化の過程を考究することを目的とする。さらに、研究結果を反映したキジムシロ群の分類学的再検討を行なう。

3. 研究の方法

(1) 形態学的解析

集団内、集団間の変異を把握するために、1 集団につき、花のついた個体を 20~30 個体採集する。各個体を新聞紙に挟んで乾燥させ、押し葉標本にする。標本には採集地、採集日、採集者などの情報を記入したラベルを入れ、証拠標本とするとともに、外部形態を比較する。また、花を 70% アルコールで液浸標本とし、必要に応じて細かな花の形態の観察を行なう。

(2) 細胞遺伝学的解析

集団ごとに 5, 6 個体の生植物をビニールに入れて持ち帰り、富山大学の圃場で栽培する。新たに出てきた根の根端を 2-ハイドロキシキノリン溶液で前処理した後、固定液 (氷

酢酸:エチルアルコール=1:3)で固定する。染色体の観察には、固定した根端を水和し、60°C 1規定塩酸で解離した後、2%乳酸-プロピオン酸オルセインで染色し、押しつぶし法によりプレパラートを作成し、検鏡する。良好な体細胞分裂中期染色体像が得られた場合、写真撮影をおこない、核型分析をおこなう。

(3) 分子系統学的解析

現地で若い葉(約0.1g)を採取し、シリカゲルで乾燥させる。乾燥させたサンプルから、CTAB法によりDNAを抽出する。抽出したDNAを使い、PCR法により核および葉緑体DNAの目的領域を増幅させ、Dye-terminator cycle sequence法を用いて塩基配列を決定する。目的領域としては、葉緑体DNAに関しては、*trnK* intron-*matK*, *trnL-F*領域、核DNAに関しては、核リボソーム遺伝子ITSを解析する予定である。得られた塩基配列はアライメントをおこなった後にPAUP ver. 4.0b10 (Swofford 2003)を用いて系統樹を作成する。

(4) 分類学的再検討

現地で収集したサンプル(押し葉標本)をもとに、形態的比較を行なう。また、日本各地の標本庫の標本をチェックし、形態的変異の把握、地理的分布の把握をおこない、キジムシロ群に関する分類学的再検討を行なう。

4. 研究成果

(1) 各地から採集したサンプルを用いて染色体数を算定したところ、全ての種、全ての集団で $2n=14$ であった。倍数性や異数性は観察されなかったことから、キジムシロ群は2倍体レベルで多様化が起こったことが明らかとなった。

(2) 中国東部浙江省から記載された *P. freyniana* var. *sinica* は、ミツバツグリの変種として記載されたものである。2010年に浙江省を訪ね、*P. freyniana* var. *sinica* の野生集団を発見し採集した。染色体数は $2n=14$ で、核型にも *P. freyniana* との違いは見られなかったものの、全体の大きさ、葉の毛の付き方に違いがみられ、DNAの塩基配列の違いなどから、ミツバツグリの変種として扱うよりも独立種として扱う方がよいとの結論に達した。

(3) ヒメツルキジムシロは、テリハキンバイとツルキジムシロの雑種と考えられてきた。しかし、形態的特徴およびDNAの塩基配列を比較した結果、単なる雑種ではなく、独立した種と考えるのが妥当だという結論に達した。

(4) 研究を行う過程で、*P. koreana* とキジムシロ、およびヒメツルキジムシロとテリハキンバイの推定自然雑種を発見し、形態学的、細胞学的、分子遺伝学的に比較した結果、推

定雑種は確かに推定両親種の雑種であることが確認された。

(5) この研究の結果、キジムシロ群は、2倍体レベルで多様化を起こし、地域固有種は、広域固有種との類縁が強く、地域的集団の一部が地域固有種として成立したものと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計28件)

①Yamamoto, N., Ikeda, H. & Hoshino, T. 2012. Cytotaxonomical studies of flowering plants in Yakushima Island, Kagoshima Prefecture, Japan Part II: noteworthy taxa. *J. Phytotax. Geobot.* 60: 11-20. 査読有.

②Ikeda, H., Yamamoto, N. Kobayashi, T. & Murata, J. 2012. A new form of *Arisaema nambae* Kitam. (Araceae), an endangered aroid in western Japan. *J. Jpn. Bot.* 87: 398-401. 査読有.

③Ohashi, H., Tateishi, Y. & Ikeda, H. 2012. Retypification of *Mucuna japonica* Nakai (Leguminosae). *J. Jpn. Bot.* 87: 382-391. 査読有.

④ Fukuda, T. & Ikeda, H. 2012. Palynological analysis and taxonomic position on the genus *Mertensia* (Boraginaceae). *Botany.* 90: 722-730. 査読有.

⑤ Ikeda, H. & Shimizu, A. 2012. Lectotypification of *Clematis koreana* Kom. var. *umbrosa* Nakai (Ranunculaceae) from North Korea. *J. Jpn. Bot.* 87: 284-287. 査読有.

⑥Ohashi, Y., Kawakami, H., Shigeta, Y., Ikeda, H. & Yamamoto, N. 2012. The phenology of cherry blossom (*Prunus yedoensis* "Somei-yoshino") and the geographic features contributing to its flowering. *Int. J. Biometeorol.* 56: 903-914. 査読有.

⑦黒崎史平・池田 博・小林禎樹. 2011. 東京大学植物標本室 (TI) でみいだされた神戸市産のハマウツボ (ハマウツボ科) の古い標本. *兵庫の植物*, 21: 41-42. 査読無.

⑧黒崎史平・小林禎樹・池田 博. 2011. 東京大学植物標本室 (TI) でみいだされた淡路島産の古い標本2. *兵庫の植物*, 21: 35-40. 査読無.

⑨Ikeda, H., Shimizu, A. & Sugawara, T. 2011. Authorship and typification of *Asarum lutchuense* and *Heterotropa lutchuensis* (Aristolochiaceae). *J. Jpn. Bot.*, 86: 242-244. 査読有.

⑩矢野興一・清水晶子・池田 博. 2011. 東京大学植物標本室(TI)に収蔵されている東京都産カヤツリグサ科植物目録 I. 小笠原諸島産カヤツリグサ科. 莎草研究, 16: 41-68. 査読有.

⑪井手真帆・今江正知・池田 博. 2011. アイラトビカズラ (マメ科) の日本における新分布. 植物研究雑誌, 87: 140-142. 査読有.

⑫池田 博. 2011. 東京大学総合研究博物館案内 211. おし葉標本・液浸標本・模型. 文部科学教育通信, 274: 裏表紙. 査読無.

⑬津坂真智子・山本伸子・池田 博・堤原健太・小林史郎・小川 誠・星野卓二, 2010. アオキ (アオキ科) の細胞地理学的研究 - 特に境界付近の分布について -. Naturalistae, 15: 13-22. 査読有.

⑭Sun, Y.-S., Ikeda, H., Wang, Y.-J. and Liu, J.-Q., 2010. Phylogeography of *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) in the Qinghai-Tibetan Plateau revisited: a reappraisal and new insight. Plant Ecology & Diversity, 3: 249-257. 査読有.

⑮Noshiro, S., Ikeda, H. & Joshi, L. 2010. Distinct altitudinal trends in the wood structure of *Rhododendron arboreum* (Ericaceae) in Nepal. IAWA Journal, 31: 443-456. 査読有.

⑯Yano, O., Ito, K., Katsuyama, T., Ikeda, H. & Hoshino, T. 2010. A karyomorphological study of *Carex omurae* and *C. phaeodon* (Cyperaceae). Journal of Japanese Botany, 85: 370-373. 査読有.

⑰Yano, O., Ikeda, H., Pendry, C. A. & Rajbhandari, K. R. 2010. Cytological studies of the Himalayan Cyperaceae II. Chromosome counts of four species collected from Far West Nepal. Journal of Japanese Botany, 85: 378-382. 査読有.

⑱Yano, O., Ikeda, H. & Hoshino, T. 2010. Phylogeography of the Japanese common sedge, *Carex conica* complex (Cyperaceae), based on chloroplast DNA sequence data, and chromosomal variation. American Journal of Botany, 97: 1365-1376. 査読有.

⑲矢野興一・清水晶子・池田 博. 2010. 東京大学植物標本室 (TI) で発見された *Eleocharis atropurpurea* (Retz.) J. et C. Presl var. *hashimotoi* Ohwi (カヤツリグサ科) のアイソタイプ. 莎草研究, 15: 25-28. 査読有.

⑳星野卓二・正木智美・中村松寿・市原和政・池田 博・狩山俊悟・榎本 敬・任 炯卓. 2010. 瀬戸内地方に隔離分布する絶滅危惧種アッケシソウの起源. 植物研究雑誌, 85: 180-185. 査読有.

㉑Yano, O., Ikeda, H., Rajbhandari, K. R. &

Himalayan Cyperaceae I. Chromosome counts of thirteen species collected from the Manaslu Himalaya in Central Nepal. Journal of Japanese Botany, 85: 157-165. 査読有.

㉒黒崎史平・池田 博・小林禎樹. 2010. 東京大学植物標本室(TI)で見いだされた神戸市産の古い標本. 兵庫の植物, 20: 73-74. 査読無.

㉓Ikeda, H. & Watson, M. F. 2010. Plant collecting around Mt. Manaslu in 2008. Newsletter of Himalayan Botany, 43: 11-13. 査読無.

㉔Ikeda, H., Noshiro, S., Pendry, C., Amano, M., Bhatta, G. D., Bhattarai, A. P., Dell, B., Tanaka, T., Wang, Y. J. & Yamamoto, N. 2010. Plant collecting in Doti and Bajhang districts in western Nepal in 2009. Newsletter of Himalayan Botany, 43: 1-10. 査読無.

㉕Yano, O., Ikeda, H. & Hoshino, T. 2010. Molecular and cytological studies of an interspecific hybrid in the genus *Schoenoplectus* (Cyperaceae). Acta Phytotaxonomica et Geobotanica, 60: 141-149. 査読有.

㉖池田 博・清水晶子. 2010. 東京大学総合研究博物館案内 190. 海外モバイル in 台湾. 文部科学省通信, 252: 裏表紙. 査読無.

㉗池田 博・清水晶子. 2010. 東京大学総合研究博物館と台湾との学術協力. ウロボロス, 15: 16-18. 査読無.

㉘池田 博. 2010. 特別展 ヒマラヤ・ホットスポット - 東京大学ヒマラヤ植物調査 50周年. ウロボロス, 15: 1-5. 査読無.

[学会発表] (計16件)

①Hoshino, T., Yano, O., Ikeda, H. & Jin, X.-F. 2013. Phylogeny of East Asian primitive *Carex* section *Siderostictae*, based on DNA sequence and cytological data. MONOCOTS V: 5th International Conference on Comparative Biology of Monocotyledons (The New York Botanical Garden & Fordham University).

②矢野興一・池田 博・JIN Xiao-Feng・星野卓二. 2013. スゲ属タガネソウ節の系統関係およびその染色体進化. 日本植物分類学会第12回大会(千葉大学).

③福田知子・A.A. Taran・V.V. Yakubov・高橋英樹・池田博. 2013. エゾクロクモソウ *Saxifraga purpurascens* 群(ユキノシタ科)の分類学的再検討. 日本植物分類学会第12回大会(千葉大学).

④山本伸子・池田 博・星野卓二. 2012. オミナエシ科オトコエシ (*Patrinia villosa* (Thunb.) Juss.) に関する細胞地理学的解析.

日本植物学会中国四国支部第 69 回大会(島根大学).

⑤池田 博・山本伸子・星野卓二. 2012. 奇妙な種内倍数性を示すオトコエシ(*Patrinia villosa* (Thunb.) Juss.) に関する細胞地理学的解析. すげの会第 23 回大会(宮崎県延岡市).

⑥赤井賢成・池田 博・藤川和美. 2012. キク科トキンソウ属の新植物: ホソバトキンソウ(新称). 日本雑草学会第 51 回大会(茨城県つくば市).

⑦赤井賢成・武浪秀子・沢 和浩・杉山多喜子・葛西英明・久米 修・志賀 隆・小川 誠・矢野興一・池田 博・吉岡俊人. 2011. ムラサキトキンソウ(仮称)の新産地と生育状況. 日本雑草学会第 50 回大会(東京大学農学部).

⑧赤井賢成・矢野興一・池田 博・小川 誠・吉岡俊人. 2011. キク科トキンソウ属の新植物: ムラサキトキンソウ(仮称)の分布と外部形態. 植物地理・分類学会 2011 年度大会(京都大学).

⑨大橋唯太・川上皓史・重田祥範・池田 博・山本伸子. 2011. 岡山平野におけるソメイヨシノのフェノロジー観測からみられた開花生長への地理的影響について. 日本農業気象学会 2012 年度全国大会(大阪府立大学).

⑩福田知子・Taran, A.A.・Okrugin, V.M.・高橋英樹・池田 博. 2011. エゾクロクモソウ-*Saxifraga purpurascens* 群(ユキノシタ科)の分類学的再検討. 日本植物分類学会第 11 回大会(大阪学院大学).

⑪矢野興一・池田 博. 2011. カヤツリグサ科ノグサ属ノグサの分類学的研究. 日本植物分類学会第 11 回大会(大阪学院大学).

⑫大橋唯太・川上皓史・重田祥範・池田 博・山本伸子. 2010. ソメイヨシノの開花と気温・黒球温度の地理的分布 - 岡山県岡山市の場合 -. 2010 年日本気象学会秋季大会(京都テルサ).

⑬池田 博. 2010. ヒマラヤの植物研究 - 過去・現在・未来 (招待講演). ヒコビア会 60 周年記念講演会(広島大学).

⑭山本伸子・黒沢高秀・池田 博・星野卓二. 2010. トウダイグサ科トウダイグサ属数種に関する細胞分類学的研究. 日本植物学会中国四国支部第 67 回大会(山口大学).

⑮Yano O. & Ikeda H. 2010. Phylogenetical position of the genus *Erioscirpus* (Cyperaceae) inferred from DNA sequence data. (招待講演). The 52nd Annual Meeting of the Society of Himalayan Botany (イギリス・エジンバラ植物園).

⑯赤井賢成・松岡成久・小川 誠・池田 博・吉岡俊人. 2010. キク科トキンソウ属の新植物: ムラサキトキンソウ(新称). 日本雑草学会第 49 回大会(福井県県民ホール).

〔図書〕(計 11 件)

①池田 博(監修). 2013. ポプラディア大図鑑 WONDA 植物. pp. 215. ポプラ社.

②もりちか(著)、池田 博(植物関係監修). 2011. いきものずかん 2. pp. 128. 角川グループパブリッシング.

③Watson, M. F., Akiyama, S., Ikeda, H., Pendry, C. A., Rajbhandari, K. R. & Shrestha, K. K. (eds.). 2011. Flora of Nepal, vol. 3. pp. 425. Royal Botanic Garden Edinburgh, Scotland.

④もりちか(著)、池田 博(植物関係監修). 2011. いきものずかん. pp. 128. 角川グループパブリッシング.

⑤池田 博・能城修一(編). 2010. ヒマラヤ・ホットスポット - 東京大学ヒマラヤ植物研究 50 周年. 226 pp. 東京大学総合研究博物館、東京.

⑥米倉浩司・秋山 忍・池田 博(分担執筆). 2010. 東京大学ヒマラヤ植物採集標本にもとづく新分類群. In: 池田 博・能城修一(編), ヒマラヤ・ホットスポット - 東京大学ヒマラヤ植物調査 50 周年. pp. 205-224. 東京大学総合研究博物館、東京.

⑦山本伸子・池田 博(分担執筆). 2010. ネパール・ヒマラヤ産種子植物の染色体数と倍数性. In: 池田 博・能城修一(編), ヒマラヤ・ホットスポット - 東京大学ヒマラヤ植物調査 50 周年. pp. 197-204. 東京大学総合研究博物館、東京.

⑧マーク F. ワトソン・コリン A. ペンドゥリ・池田 博(分担執筆). 2010. ネパール植物誌刊行への道のり. In: 池田 博・能城修一(編), ヒマラヤ・ホットスポット - 東京大学ヒマラヤ植物調査 50 周年. pp. 75-96. 東京大学総合研究博物館、東京.

⑨ケシャブ R. ラジバンダリ・池田 博(分担執筆). 2010. 東京大学とヒマラヤの植物. In: 池田 博・能城修一(編), ヒマラヤ・ホットスポット - 東京大学ヒマラヤ植物調査 50 周年. pp. 1-42. 東京大学総合研究博物館、東京.

⑩池田 博(分担執筆). 2010. バクチノキ、シロヤマブキ、ナガバヤクシソウ. In: 倉敷市立自然史博物館(編), 岡山県のレッドデータ生物. pp. 50 & 55. 倉敷市立自然史博物館、倉敷.

⑪朴 鍾郁・池田 博・清水晶子・大場秀章. 2010. 東京大学総合研究博物館標本資料報告 第 86 号. 東京大学総合研究博物館所蔵植物タイプ標本目録 第 12 部 タデ科. p. 34 + 131 pls. 東京大学総合研究博物館、東京.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 博 (IKEDA HIROSHI)

東京大学・総合研究博物館・准教授
研究者番号：30299177

(3)連携研究者

岩坪 美兼 (IWATSUBO YOSHIKANE)
富山大学大学院・理工学研究部・教授
研究者番号：10201344