

平成 21 年 4 月 20 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2007～2008
課題番号：19570080
研究課題名 (和文) 伊豆諸島に固有な植物の形態的, 生態的, 遺伝的分化に関する研究
研究課題名 (英文) Morphological, ecological and genetic study on the differentiation in the plants endemic to the Izu Islands.
研究代表者
牧 雅之 (MAKI MASAYUKI)
東北大学・大学院生命科学研究科・准教授
研究者番号：60263985

研究成果の概要： 島嶼は、大陸から地理的に隔離されているために、固有な生物種が進化しやすい状況にある。伊豆諸島にはいくつかの固有な植物群が知られている。これらの多くは、本州での対応種が容易に推定されるため、初期の種分化に関する研究のモデルとして用いることができる。本研究では、伊豆に固有な植物群とその対応種の分化について、形態学的、生態学的、遺伝学的観点から検討した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
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：生物多様性・分類

キーワード：種分化, 固有植物, 伊豆諸島, 遺伝的分化, 形態的分化

1. 研究開始当初の背景

(1) 島は、「進化の実験場」と呼ばれるように、しばしば固有な生物が進化していて、古くから生物学者の関心を引いてきた。島は、周囲を海で囲まれているために、他地域からの生物の移入が少ないので隔離的状况にあるうえ、大陸と比較して環境が特殊であることが多く、新しい種が進化する条件が整っているといえる。

(2) 伊豆諸島は、関東の南部海上に南北に連

なる 10 程度の島嶼からなる。本州から比較的近いこともあり、さらに南の海上に遠く離れて位置する小笠原列島と比較すると固有な植物の割合は多くはない。しかし、Ohba & Akiyama (2002) のサーベイによれば 18 種、21 変種の固有分類群が伊豆諸島には存在する。これらの固有植物のほとんどは本州における対応種が容易に推定できる。また、伊豆諸島は南北に長く連なる島嶼群であり、その物理的および生物的環境は本州から南下するにしたがい、

徐々に変化していることが分かっている。

(3) 伊豆諸島に固有に分布する植物で唯一研究が進んでいるのは、シマホタルブクロである。ホタルブクロと伊豆大島以南に分布するシマホタルブクロは遺伝的に大きく分化していることが先行研究で明らかになっている。さらに、伊豆諸島を南下するにつれてシマホタルブクロの花冠サイズは徐々に小型化していること、この変化には訪花昆虫相の違いが関与していること、大島より南の島の集団は自家和合性を獲得しており、南下するにつれて自殖率が上がっていくこと、また、南下するにつれて集団の遺伝的多様性が減少すること、などが明らかとなっている。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、Ohba & Akiyama(2002)において、伊豆固有分類群として扱われている種を対象に研究を進める。対象種の選定理由は、本州における対応種が推定されていて、しかも形態的分化が見られることが分かっているからである。ただし、その分化の程度と実態については、これまで詳しく解析されていない。

(2) これらの伊豆諸島に固有な植物群は、種分化の初期的段階にあると考えられる。まず、形態的分化の程度を定量的に行い、分化の程度を推定する。続いて、これらの形態的分化が訪花昆虫相によって引き起こされているという仮説を基に、訪花昆虫相を明らかにする。同時に交配様式についても検討する。さらに、伊豆諸島固有の種とその本州の対応種について遺伝的分化程度を推定する。

3. 研究の方法

(1) 研究試料の収集:本研究で対象とするニオイウツギ、ハチジョウイボタ、イズイワギボウシは、伊豆諸島全体に広く分布する。そこで、ニオイウツギ、ハチジョウイボタ、イズイワギボウシについて、分布する全ての島において開花期に花部とそれ以外の部分を採集し、花部はFAAにより固定して液浸標本として、それ以外の部分はさく葉標本として

持ち帰った。伊豆大島、新島、三宅島、八丈島のような大きな島は複数の集団をサンプリングした。

遺伝的分化を解析するために、上記のサンプリングと同時に葉を採集し、シリカゲルを封入したビニル袋に入れて保存しておいた。

比較対象として、本州のハコネウツギ、オオバイボタ、イワギボウシの集団サンプリングを上記と同様に行った。ハコネウツギとオオバイボタについては、千葉県、茨城県、静岡県沿岸部の集団を、イワギボウシについては、静岡県、埼玉県、茨城県の集団をサンプリングした。

(2) 訪花昆虫相の調査:3種の開花期に、花粉媒介を担っている昆虫相の調査を行った。開花期間中に全島で詳細な調査を行うのは、時間的な制約のために困難であったので、伊豆諸島北部の代表として伊豆大島、中部の代表として利島、新島、南部の代表として八丈島で重点的にデータを収集した。現地では、花に訪花し、花粉の媒介行動を行っている昆虫を全て採集し、種(困難なものは属レベルまで)を同定した。時間内に訪れる全ての昆虫を採集することで、ほぼ定量的なデータとして扱うことができると判断した。

(3) 形態分化の解析:花部ならびに栄養器官について、できるだけ多くの形質を計測し、本州の対応種との差異をそれらの値について統計的に処理した。一方、シマホタルブクロのような形態の変化が島間でみられるかどうかについても、統計的に処理を行った。単変量の計測解析では十分な傾向がみられない可能性もあるので、計測を行った全ての形質を用いて多変量解析も行う。解析は、花部と栄養器官の形質は別々に行った。これは、分化の要因となった淘汰圧を推定しやすくするためである。

(4) マイクロサテライトマーカーの開発:本研究で対象とする植物群は、分化してからの時間がそれほど長くない可能性があり、植物の系統解析に良く用いられる葉緑体DNAやITS領域には十分な変異がみられないと予測された。そこで、超変異的マーカーとしてマイ

クロサテライトDNAの変異を用いる。マイクロサテライト領域は単純な塩基配列(たとえば、GAGAGAGAGAGAGAGAGAのように)が繰り返し並んだ部分で、繰り返し数の違いに大きな変異がある場合が多い。この変異を利用するためには、当該の領域を特異的に増幅するプライマーを植物種ごとに設計する必要がある。サンプリングした葉試料からトータルDNAを抽出し、制限酵素処理後、適度な長さの断片を切り出して、両端にアダプタをつけた。このDNAとビオチンをつけた反復配列DNAをハイブリダイズさせた後、ストレプトアビジン付加の磁気ビーズを反応させる。これにより、反復配列を含むDNA領域が選択的に取り出せるので、アダプタ配列をもとにしたPCRの後、TAクローニングを行い、塩基配列を決定して、目的の配列を増幅するプライマーを設計した。

(5) 遺伝的分化と遺伝的多様性の解析：開発されたマイクロサテライトプライマーを用いて、各集団の個体の遺伝子型を決定する。決定された各個体の遺伝子型をもとに、伊豆諸島固有分類群と本州対応種との間の分化を多変量解析の一つ Principal Coordinate Analysis を用いて解析した。これにより、シマホタルブクロで見られたように、伊豆諸島固有分類群と本州対応種が遺伝的に分化しているかどうかを検討した。さらに、伊豆諸島を南下するに従って遺伝的多様性が減少する傾向が、今回対象とする3種においても見られるかどうかを検討するために、集団の遺伝子頻度をもとに、集団遺伝学的パラメータを計算した。

4. 研究成果

伊豆諸島は海洋島であり、本州と陸続きになったことはないと言われている。しかし、伊豆諸島と本州の間の地理的距離は短く、多くの植物種が共通して分布している。一方、伊豆諸島に固有な植物種もいくつか知られており、これらの多くは、本州の対応種と比較して、花の大きさが小さくなっている傾向が見られる。これは、伊豆諸島の昆虫相が本州と比較

して貧弱であるためではないかと考えられている。

研究対象とした種は、ニオイウツギ、イズイワギボウシ、ハチジョウイボタの3種である。これらの花の形態を測定したところ、いずれも本州からの距離が大きくなるにつれて、花冠長サイズの減少が見られた。しかし、花冠長以外の部分におけるサイズの変化は小さく、必ずしも垂直メトリックな分化を示していないことが分かった。

また、訪花昆虫を現地で観察したところ、本州から離れるに従って、訪花する昆虫の種類、量ともに減少した。これらのことから、伊豆諸島に固有に見られる植物の花冠長サイズが小さくなっている要因には、訪花昆虫相の違いが影響を及ぼしていると推定された。

また、伊豆諸島の植物は、本州から島伝いに移住した個体から構成されていると考えられる。そこで、本州からの距離にしたがって、各島の集団の遺伝的多様性が減少しているという仮説をたて、集団遺伝学的手法を用いて、検証を行った。遺伝的多様性の推定には、超変異的であるマイクロサテライトマーカーを用いた。まず、マイクロサテライト領域を単離し、塩基配列を決定後、プライマーを設計した。このプライマーを用いて、フラグメント解析を行い、個体の遺伝子型を決定した。3種ともに、本州の対応種とは遺伝的な分化が見られ、これらの種が伊豆諸島に移住してから、ある程度の時間が経過していることが推定された。また、いずれの種においても本州からの距離が大きくなるにつれて、集団の遺伝的多様性は減少し、伊豆諸島の各島の集団は本州から飛び石的に分布を拡大し、各島でビン首効果を受けたために、南に行くほど、遺伝的多様性が減少したと推測した。

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4件)

1. Matsumura, S.-I., Yokoyama, J., Fukuda, T. and Maki, M. 2009. Origin of the disjunct distribution of flower colour polymorphism within *Limonium wrightii* (Plumbaginaceae) in the Ryukyu Archipelago. *Biological Journal of the Linnean Society* 97: in press. (査読有り)
2. Kodama, K., Yamada, T. and Maki, M. 2008. Development and characterization of 10 microsatellite markers for the semi-evergreen tree species, *Ligustrum ovalifolium* (Oleaceae). *Molecular Ecology Resources* 8: 1008-1010. (査読有り)
3. Yamamoto, H., Yamada, T. and Maki, M. 2008. Isolation and characterization of microsatellite markers from the hosta species *Hosta albomarginata* (Liliaceae). *Molecular Ecology Resources* 8: 185-187. (査読有り)
4. Yamada, T. and Maki, M. 2008. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Weigela coraeensis* (Caprifoliaceae). *Molecular Ecology Resources* 8: 155-157. (査読有り)

〔学会発表〕(計1件)

1. 竹原正貴, 山城考, 牧雅之. 2009. 核DNA・葉緑体DNAの塩基配列に基づいた, 日本産グミ属の系統解析. 日本植物分類学会第10回大会. 2009年3月14日, 仙台市東京エレクトロンホール宮城

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧 雅之 (MAKI MASAYUKI)

東北大学・大学院生命科学研究科・准教授

研究者番号: 60263985

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者