

平成 22 年 6 月 14 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19570089

研究課題名 (和文) 亜熱帯島嶼域における維管束植物の倍数性とその進化的意義に関する研究
 研究課題名 (英文) Studies on polyploid speciation in vascular plants and its evolutionary meanings on subtropical islands.

研究代表者

傳田 哲郎 (DENDA TETSUO)

琉球大学・理学部・准教授

研究者番号：50284948

研究成果の概要 (和文)：琉球列島に分布するニガナ属 (キク科)、スイカズラ属 (スイカズラ科)、アジサイ属 (ユキノシタ科) などを対象に、雑種の形成や倍数化を伴う種分化の過程を形態、染色体、分子情報などを用いて解析した。本研究の結果、雑種が分布を拡大して親種を駆逐しているケースなどが確認され、閉鎖的な島嶼環境下における多様性の形成に、雑種形成や倍数化が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：Hybrid and polyploid speciation within the Ryukyu Archipelago were analyzed based on morphological, cytological and molecular data. Studies on plant taxa such as the genus *Ixeris* (Compositae), *Lonicera* (Caprifoliaceae) and *Hydrangea* (Saxifragaceae) suggested an importance of such a speciation process to increase plant diversity within the closed insular environment.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：植物・進化・染色体・倍数性・琉球列島・雑種

1. 研究開始当初の背景

倍数体は被子植物全体の 35～80%、シダ植物では 95% を占めるとされており、多くの研究者によって古くからその進化的重要性が指摘されてきた。従来は細胞遺伝学的、生態学的、生理・生化学的データに基づいた研究が中心であったが、近年の分子遺伝学的・

分子生態学的手法の急速な発達により、多くの分類群で倍数体の形成過程が明らかにされてきた他、倍数化によるゲノムの再構成や遺伝的多様性形成のメカニズムについても多くの知見が得られている。こうした状況の中、倍数体の進化的重要性はこれまで以上に重視され、多くの研究者の注目を集めるよう

になってきていた。

植物における倍数体の研究は北半球の温帯域を中心におこなわれ、多くの重要な成果が得られてきた。例えば、現在の北極地方は多数の高次倍数体の存在によって特徴づけられる最も“polyploid-rich”な地域の一つとされ、倍数体の進化的重要性を探求する上で重要なフィールドである。高緯度地域になるに従って倍数体の出現頻度が上昇することは長年知られてきた。北極地方の植物相は、大規模な気候変動の中で生じた分布域の分断と拡大の過程において、北極要素と温帯要素が融合と分離を繰り返しながら形成されてきたものである。現在では、この過程で多くの種間交雑が起こり、その後生じた倍数化によって、多数の新しい種が形成されてきたと考えられている。

温帯域における研究の発展とは対比的に、亜熱帯域に生育する植物の倍数性に関する研究は、ほとんどおこなわれていないのが現状である。我々の研究室では「琉球列島産維管束植物における二次的種分化と多様性の創出 (H15~17年度, 科研費・若手研究B)」に関する一連の研究において、生育環境の異なるキク科ニガナ属種間の二次的接触による交雑とその後の倍数化により、島嶼集団内に形態的・生態的多様性が形成されている事例を明らかにするとともに、他の多くの琉球列島産維管束植物群に倍数性が存在することを確認した。ニガナ属や、イラクサ科のクニガミサンショウズルでは、倍数体形成が時間的・空間的に独立して繰り返し起こった可能性が示唆されており、このことが、閉鎖的な島嶼環境下における新たな遺伝的組合せの創出や、形態的・生態的多様性の形成に重要な影響を与え、亜熱帯島嶼域の植物相における多様性形成の重要な基盤の一つとなっているのでは無いかと考えた。

渡邊 (1987) は、日本列島のような島嶼環境では二次的接触が起こりやすく、倍数体が効果的に形成される可能性があるとして指摘している。多様な生育環境がモザイク状に分布する琉球列島の島嶼においても同様の可能性が考えられるが、これまで琉球列島産維管束植物の倍数性に関する研究は少数産地・少数個体を用いた倍数レベルの記載的報告にとどまっていることが多く、亜熱帯島嶼域における倍数体の進化的重要性に関する評価という観点では新たな展開が見られないのが現状である。

我々がおこなった予備的調査の過程において、琉球列島内で倍数体形成が繰り返し起こり、その後、周辺地域へ同心円状に分布域を拡大していったと推定される事例が見出された。このことは、面積において日本全体のわずか 1% 程度を占めるに過ぎない琉球列島が倍数体進化のホットスポットとなっ

ている可能性を示唆するものであり、亜熱帯島嶼域における倍数体の進化的重要性を再評価するためにも、当地域においてさらに詳細な研究を展開していく必要があると考えるにいたった。

2. 研究の目的

本研究課題では前述のような状況を踏まえ、琉球列島の植物相や島嶼性・気候的特徴と倍数体の出現要因とを関連づけて検討し、亜熱帯島嶼環境下における倍数体形成の進化的意義と多様性創出機構としての重要性について評価することを最終的な目標とした。具体的には、(1) 琉球列島産維管束植物の詳細な細胞地理学的調査をおこない、より多くの植物種について倍数体の地理的分布パターンを明らかにすること、(2) 分子生物学的な手法を用いて異質倍数性や倍数体の多所的形成の実態を明らかにするとともに、倍数体と祖先的二倍体集団における遺伝子多様度の違いを明らかにすること、(3) 倍数体と祖先的二倍体間の生育環境の違いを生理・生態学的観点から明らかにすること、の3点を目的とした。

3. 研究の方法

(1) オジシバリ倍数性複合体の環境ストレス耐性

倍数化に伴う内陸→海浜という生育環境の変化と環境ストレス耐性の関係を生理・生態的な観点から明らかにする。親種とオオジシバリ複合体の各サイトタイプについて、生育地での環境測定データをもとに検討した条件に従って栽培実験をおこない、高温・強光ストレス、塩ストレス、乾燥ストレス耐性について比較した。

(2) 他分類群を対象とした細胞地理学的調査

倍数体の存在が確認されているユキノシタ科などの分類群を対象とし、細胞地理学的情報の集積を進める。同時に、染色体数が未知の分類群を対象とした倍数体の探索をおこなった。

4. 研究成果

(1) オジシバリ倍数性複合体の環境ストレス耐性

オオジシバリ *Ixeris debilis* (キク科ニガナ属) は本来内陸の湿った土壌を好む植物だが、琉球列島では海岸砂浜に多く出現し、九州以北のオオジシバリとは生育環境が異なっている。本研究では、琉球列島産オオジシバリが砂浜環境に適応している理由の一端を明らかにすることを目的として、形態解

剖学的、生理学的な調査をおこなった。琉球列島産オオジシバリは、ハマニガナとの交雑を起源として、複雑な倍数性複合体を形成していることが知られている。解析には、琉球列島産オオジシバリ（六倍体・八倍体）と九州以北産オオジシバリ（六倍体）に加え、同属で海浜植物であるハマニガナ（二倍体）を用いた。

野外（日向）で採集した個体と強光条件下で栽培した個体について葉と地下茎の形態を比較した結果、琉球列島産オオジシバリ（六倍体・八倍体）は九州以北産オオジシバリと比べ、柵状組織が発達した厚い葉と、髄柔組織が発達した太い地下茎を持つことが明らかとなった（図1）。

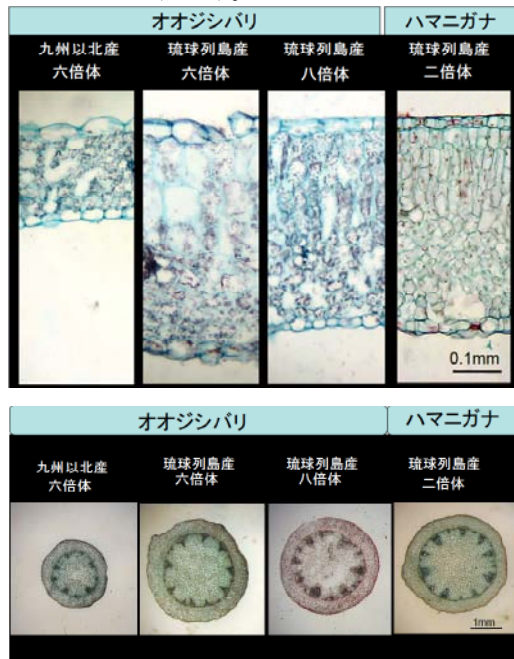


図1 野外個体の葉（上）と地下茎の断面（下）

強光条件と弱光条件下で栽培した個体を比較した結果、琉球列島産オオジシバリの葉は強光条件下で著しく厚くなり、大きな形態的可塑性を示したが、こうした性質は九州以北産オオジシバリには見られなかった。形態的可塑性は自然選択を介した進化の対象となりうるとする見解もあり、可塑性を持つことが琉球列島産オオジシバリの生存にどのような影響を与えているかという問題は進化生物学的に興味深い課題であり、今後さらに研究していく必要がある。

光合成の最大収率（Fv/Fm）を比較した結果、いずれの分類群においても強光条件下のP. M. 12:00にFv/Fm値の低下が見られた。分類群間でP. M. 12:00のFv/Fm値を比較すると、九州以北産オオジシバリが最も小さい値を示した。Fv/Fm値の低下は光合成系への光傷害が生じていることを示している。今回の結

果は、琉球列島産オオジシバリは九州以北産オオジシバリと比べ、強光阻害を軽減する能力が高いことを示している。

一般に、厚い葉は強光により生じる光合成の光阻害を緩和し、発達した髄柔細胞は貯水組織として乾燥ストレスに対する抵抗性を高める効果があると考えられている。琉球列島産オオジシバリに見られる厚い葉や太い地下茎は強光・乾燥条件下で生育するうえで有利に働くと考えられ、砂浜環境に適応している要因の一つとなっていると考えられる。

（2）ヒメスイカズラの染色体数に関する研究

ヒメスイカズラは中・南琉球の八つの島のみ分布する当地域の固有分類群である。基本変種であるスイカズラとは、厚く小さな葉を持つこと、花が小さく花冠の表面に腺毛を密布することなどにより区別される。侵略的外来種として海外でも問題となっているスイカズラとは異なり、ヒメスイカズラの生育地は海岸近くにある石灰岩崖上の風衝地に限られている（Fig. 1）。本研究では、ヒメスイカズラの起源を解明するための第一段階として本分類群の染色体に関する解析をおこない、染色体数や核型を初めて報告した。

沖縄島、伊江島、与那国島から採集したヒメスイカズラすべてが染色体数 $2n=36[2n=36=4m+28sm(2SAT)+4st]$ の四倍体であった。一方、比較のために解析したスイカズラはすべて $2n=18[2n=18=2m+14sm(2SAT)+2st]$ の二倍体であった（Fig. 2）。

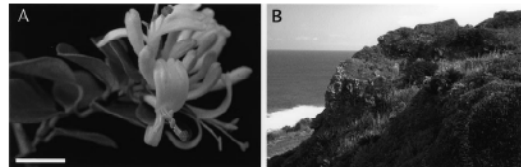


Fig. 1 — The flower and typical habitat of *Lonicera japonica* var. *myagasakiensis*. A. Flower (Thindabana, Yonaguni-jima); B. Typical habitat (Ya-baru 1, Ie-jima). Details of localities are listed in Table 1. Scale bar in A is 1 cm.

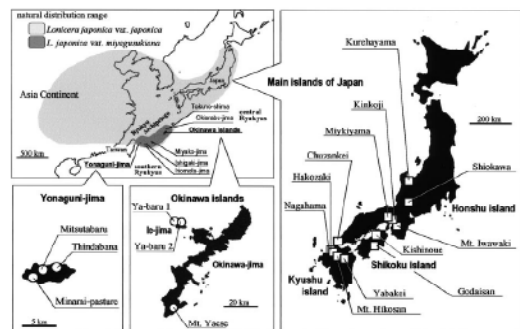


Fig. 2 — Maps showing the distribution ranges and sampling localities for the two varieties of *Lonicera japonica* examined. Distribution ranges were drawn based on HARA (1983), YANG and CHU (1998), and HSU and FU (2005). Sampling localities are indicated by circles for *L. japonica* var. *myagasakiensis* and by squares for *L. japonica* var. *japonica*. Details of localities are listed in Table 1.

お互いの核型は類似していたが、今回解析したヒメスイカズラとスイカズラの核型は、これまでに報告されている中国産の二倍体、

四倍体スイカズラとは異なっていた。こうした結果と、分布域が離れていることを考慮すると、ヒメスイカズラは琉球列島の中でスイカズラから分化した四倍体である可能性が示唆される。スイカズラや近縁種の核型や系統に関する情報はあまり多くないが、現段階ではヒメスイカズラがスイカズラとは異なる二倍体種から琉球列島周辺で派生した可能性は否定できない。

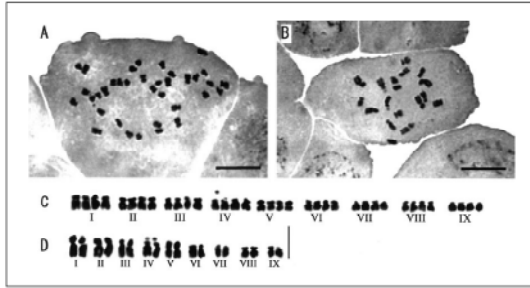


Fig. 3 — Somatic chromosomes at mitotic metaphase of *Lonicera japonica* var. *mysagrusubiana* and *L. japonica* var. *japonica*. A and C: *L. japonica* var. *mysagrusubiana* (Minami-bokuso, Yonaguni-jima Island); B and D: *L. japonica* var. *japonica* (Kurehayama, Toyama Pref.). Scale bars are 10 µm in A and B, and 5 µm in C and D.

(3) 琉球列島産イボタノキ属 (モクセイ科) の細胞学的研究

琉球列島産イボタノキ属の三種について細胞分類学的な調査をおこなった。琉球列島に固有のトゲイボタ、オキナワイボタの染色体数はいずれも $2n=46$ であった。この二種については今回が染色体数の初報告となる。

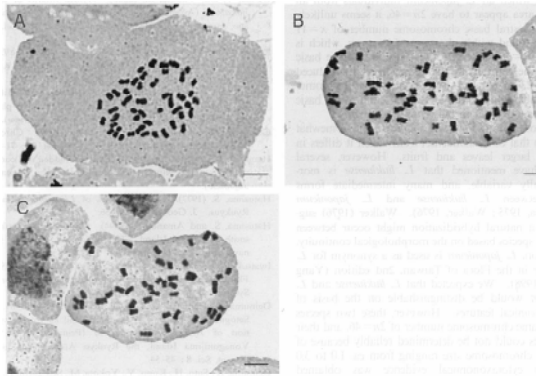


Figure 1. Somatic chromosomes at mitotic metaphase of three *Ligustrum* species in the Ryukyus. A: *L. tamaii* (Thiridashana, Yonaguni-jima Id.). B: *L. baishuense* (Nakumachiji-dake, Okinawa-jima Id.). C: *L. japonicum* (Guraikuno-saki, Tonaki-jima Id.). Scale bars are 5 µm.

モクセイ科で最も多く報告されている染色体基本数を考慮すると、上記二種はいずれも $x=23$ の二倍体であると考えられる。また、ネズミモチの染色体数はすべて $2n = 46$ であったが、この値は本種に関する過去の報告 ($2n=22, 44$) とは明らかに異なっていた。

(4) 四倍体リュウキュウコンテリギの起源について

中琉球の沖縄島固有であるリュウキュウコンテリギ (ユキノシタ科) の四倍体の起源解明に向け、染色体の調査と分子系統学的解析をおこなった。四倍体は調査をおこなった17 集団のうち3 集団のみで見つかった。一

方、残りの集団では二倍体のみが確認された。調査した集団のうち、1 集団のみで四倍体と二倍体が混生しているのが確認された (Fig. 1)。

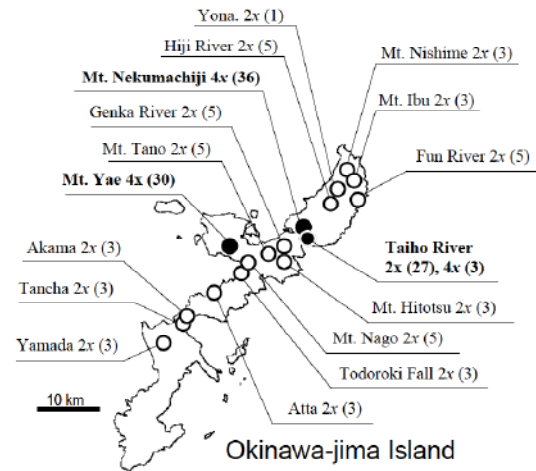


Fig.1 Sampling localities of *Hydrangea liukuensis* on Okinawa-jima Island. Open circles indicate the localities where only diploids were found. Closed circles indicate the localities where tetraploids were found with or without diploids.

リュウキュウコンテリギの二倍体と四倍体に近縁な4種 (*H. chinensis*, ヤクシマアジサイ *H. grosseserrata*, トカラアジサイ *H. kawagoeana*, ヤエヤマコンテリギ *H. yaeyamensis*) を加え、クサアジサイを外群として分子系統学的解析をおこなった。葉緑体DNAの*trnS-G*領域と、各DNAのITS領域を用い、最節約法(MP)と最尤法(ML)を用いて系統樹を作成した。

葉緑体DNAの系統樹では、二倍体と四倍体のリュウキュウコンテリギが単系統群となり、残りの近縁種と姉妹群となった。これとは異なり、核DNAの系統樹では四倍体リュウキュウコンテリギが *H. chinensis* と入れ籠になり、これにヤクシマアジサイ、トカラアジサイ、ヤエヤマコンテリギを加えたものが単系統群となった。このクレードは二倍体リュウキュウコンテリギで形成されたクレードの姉妹群となった (Fig. 2)。

葉緑体DNAと核DNAの系統樹の食い違いは、四倍体リュウキュウコンテリギが異質四倍体である可能性を示唆していると思われる。現在では沖縄島にリュウキュウコンテリギの近縁種は分布していないが、過去に生じた二倍体リュウキュウコンテリギと近縁種の種間交雑が四倍体リュウキュウコンテリギの創出に関与している可能性がある。

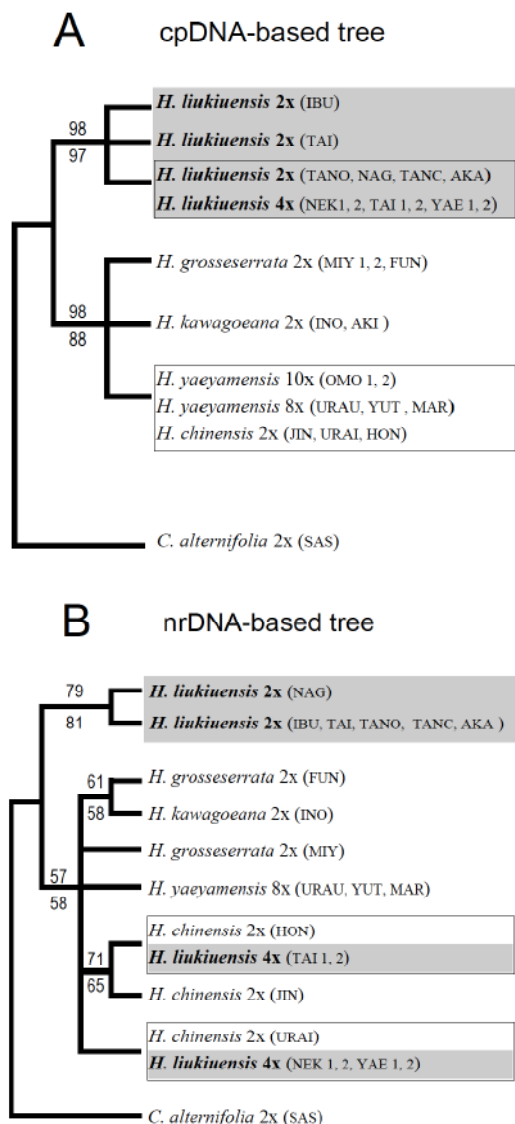


Fig.3 Molecular phylogenetic trees of the *Hydrangea chinensis* complex based on cpDNA and nrDNA nucleotide sequences. A: a single MP tree (TL: 35, CI: 1.000, RI: 1.000) based on the *trn S-G* region of cpDNA; B: a strict consensus of four MP trees (TL: 77, CI: 0.948, RI: 0.667) based on the ITS region of nrDNA. The same topology was obtained in the single resulting ML tree (Best-Fit Model: HKY, -lnL = 1179.27955) for cpDNA and in the strict consensus of two ML trees (Best-Fit Model: K80, -lnL = 1324.96933) for nrDNA. The numbers at each node represent bootstrap values (1000 replications) for both MP (above branch) and the ML (below branch) analyses.

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下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Denda T. 2009. On the origin of the tetraploid *Hydrangea liukiensis* (Saxifragaceae) from the Ryukyu Archipelago of Japan. Raffles Bulletin of Zoology (in press). (査読有り)
- ② Nakamura K., Denda T., Kameshima O. and Yokota M. 2007. Breakdown of distyly in a tetraploid variety of *Ophiorrhiza japonica* (Rubiaceae) and its phylogenetic analysis. Journal of Plant Research. **120**:501-509. (査読有り)
- ③ Denda T., Kojya A. and Yokota M., 2007. Chromosomal studies of insular endemic *Lonicera japonica* Thunb. var. *miyagusukiana* Makino (Caprifoliaceae) in the Ryukyu Archipelago of Japan. Caryologia. **60**: 332-337. (査読有り)
- ④ Denda T., Watanabe K. and Yokota M. 2007. Cytotaxonomical studies of the genus *Ligustrum* (Oleaceae) in the Ryukyus of Japan. Chromosome Science **10**: 37-41. (査読有り)

[学会発表] (計 5 件)

- ① 渡邊敬太・傳田哲郎・横田昌嗣 ヤブランとコヤブラン (スズラン科ヤブラン属) の染色体数と cpDNA ハプロタイプの地理的分布. 日本植物分類学会第 7 回大会・南大沢 (2008 年 3 月 21・22 日)
- ② 森重さやか・傳田哲郎・横田昌嗣 西表島で発見されたイワヒトデ属とヌカボシクハラ属の推定属間雑種について. 日本植物分類学会第 7 回大会・南大沢 (2008 年 3 月 21・22 日)
- ③ 水野拓・傳田哲郎・横田昌嗣 琉球列島産オオジンバリ (キク科) の形態解剖学的特性と海浜適応 (Morphoanatomic characteristics and coastal adaptation of *Ixeris debilis* (Asteraceae) in the Ryukyu Arcipelago of Japan). Annual report for 21st Century COE Program, University of the Ryukyus (2008 March 1)
- ④ Denda T. Incongruence between cpDNA- and nrDNA-based phylogenies suggests the allopolyploid origin of tetraploid *Hydrangea liukiensis* (Saxifragaceae), an endemic shrub distributed on Okinawajima Island in the central Ryukyus. Annual report for 21st Century COE Program, University of the Ryukyus (2008 March 1)
- ⑤ 杉山巳次・横田昌嗣・傳田哲郎 沖縄県

に生育するテンツキ属の形態と染色体数 (Morphology and chromosome number of the genus *Fimbristylis* inhabiting Okinawa Prefecture). Annual report for 21st Century COE Program, University of the Ryukyus (2008 March 1)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

傳田 哲郎 (DENDA TETSUO)

琉球大学・理学部・准教授

研究者番号: 50284948

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: