

平成 21年 3月 17日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 ~ 2008

課題番号：19570097

研究課題名 (和文) カヤツリグサ科スゲ属植物の分子系統解析と分類学的再検討

研究課題名 (英文) Molecular phylogeny and systematic revision of *Carex* (Cyperaceae)

研究代表者

星野 卓二 (HOSHINO TAKUJI)

岡山理科大学・総合情報学部・教授

研究者番号：10122392

研究成果の概要：

カヤツリグサ科スゲ属植物 213 種の核および葉緑体遺伝子を解析し、現在広く採用されている形態に基づく分類体系と比較した。日本から韓国および中国東北部に分布するタガネソウ節が祖先型であり、属または亜属に分類できることが明らかになった。スゲ属植物の染色体は、異数的に染色体数が増加する方向に進化したことが明らかになった。また、節の分類が分子系統から強く支持されたものと、分類体系を見直す必要がある節が明らかになり、新しい分類体系が提案された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
年度	0	0	0
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・分類

キーワード：系統

1. 研究開始当初の背景

カヤツリグサ科スゲ属植物は日本で 250 種以上が記載されており、高等植物の中では属内の種数が最も多く、そのうち約半数は日本特産であることが報告されている (秋山 1955)。スゲ属は花や葉の形態が単純で、しかも種間で似ており、亜属や節の分類に関しては研究者により大きく異なっていて未だ統一された見解はない。

国内外における分子系統学的研究には、日本産のものは 15 種しか含まれておらず、日本に生育するスゲ属植物の分子系統学的研

究の報告はない。日本固有種を多く含む分類群の分子系統を明らかにすることにより、スゲ属植物の亜属および節の分類対して重要な知見が得られるものと考えられる。

2. 研究の目的

本研究ではスゲ属植物の分子系統と染色体進化に関する次の 3 項目を明らかにする。

(1) 核リボゾーム遺伝子と葉緑体遺伝子の解析

核リボゾーム遺伝子 ITS と ETS 領域および葉緑体遺伝子 *trnT-L-F* 領域の塩基配列を決

定する。

(2) 染色体進化のモデルの提案

核リボソームおよび葉緑体遺伝子をもとにした分子系統と染色体を比較し、スゲ属植物の種分化にともなう染色体進化のモデルを提唱する。

(3) 分類学的再検討

本研究で得られた塩基配列をもとに最節約法や最尤法を用いて分子系統樹を作成し、亜属や節の形態分類との比較を行う。また、公開されている国外のスゲ属植物の核リボソームおよび葉緑体遺伝子も参考にし、分子系統に基づいたスゲ属の亜属や節の新しい分類体系を構築する。

3. 研究の方法

(1) スゲ属植物の採集

日本産のスゲ属植物の内、DNAを抽出していない種類を採集する。これらの中には生育地が限られており採集が困難な分類群もある。これらに関しては、研究分担者の協力を得て採集する。また、染色体数や核型が明らかにされていない種類に関しても、日本各地より採集する。

(2) DNAの抽出および解析

①DNAの抽出：生植物 0.1g または乾燥標本 0.03g から Amersham Biosciences Co. の Nucleon Phytopure plant and fungal

extraction's kit を用いて DNA を抽出する。

②核リボソーム遺伝子の塩基配列の決定：GeneAmp PCR System 2400 (Perkin Elmer Co.) 用いて、核リボソーム遺伝子 ITS (Internal Transcribed Spacer)、ETS (External Transcribed Spacer) および葉緑体遺伝子 *trnT-L-F* 領域を増幅する。PCR 産物を精製後、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer によってダイレクトシーケンシングを行い塩基配列を決定する。

③分子系統学的解析：CLUSTAL W を用いてマルチプルアライメント解析を行ない、データマトリックスを作成する。さらに、得られたデータマトリックスから MEGA version 2.1 を用いて系統樹を作成する。系統解析には、系統解析には、国外で公開されているスゲ属植物の塩基配列も加える。

(3) 染色体の解析

①根端の採取および前処理：成長の良い根端の先端を約 5mm 採取し、0.002M 8-オキシキノリンで 16°C、5 時間処理する。

②固定と染色：根端を固定液（エタノール：酢酸=3:1）に浸し、-20°C で 24 時間以上固定し、フクシン亜硫酸液に根端を浸し、室温で 1 時間染色する。その後、2%ペクチナーゼ、2%セルラーゼの酵素混合液で 37°C、1 時間処理する。

③プレパラート作成と顕微鏡写真撮影：根端細胞の特に濃く染色されている部分を取り

出し、1%アセトオルセインを加え押しつぶし法によりプレパラートを作成する。中期染色体の画像を、ニコンデジタルカメラ DXM1200F を用いて取り込み、核型を解析する。

(4) 分子系統と分類群の比較

スゲ属植物は、亜属や節の分類に関して研究者により意見が異なり定説はない。本年度得られた分子系統の結果にもとづき、スゲ属植物の亜属や節の分類の再検討を行う。さらに、染色体数や核型の解析結果と分子系統を比較し、連続した種間異数体が、どのような機構により生じたかを明らかにする。

4. 研究成果

(1) 分析した分類群

日本各地より採集した、スゲ属植物 213 分類群の核リボソーム遺伝子 ITS、ETS 1f 領域を解析した。また、185 分類群に関しては、葉緑体遺伝子 *trnL*, *trnL-F* 非コード領域を解析した。さらに、スゲ属に近縁な *Cymophyllus*, *Kobresia*, *Schoenoxiphium*, *Uncinia* 属の 4 属 7 種も含めた。また、外群にはホタルイ属、ワタスゲ属、ミネハリイ属を用いた。

(2) 解析した遺伝子領域と塩基数

核リボソーム遺伝子

ITS (internal transcribed spacer)	596 – 621 サイト
系統解析に使用したデータセット	337 サイト
ETS 1f (external transcribed spacer)	580 – 622 サイト
系統解析に使用したデータセット	442 サイト

葉緑体遺伝子

<i>trnL</i> 956 – 1051 サイト	
<i>trnL</i> intron	系統解析に使用したデータセット
	439 サイト
<i>trnL-F</i> intergenic spacer	系統解析に使用したデータセット
	133 サイト

(3) 分子系統と亜属の分類

スゲ連の 5 属は単系統となり、その中に次の 4 つのクレードが認められた。

①スゲ亜属タガネソウ節：小穂は複数で有柄、葉幅が広く、染色体数が $2n=12$ とスゲ属内で最も少ない。

②原始スゲ亜属：小穂は 1 個。

③マスクサ亜属：小穂は複数でほとんどが無柄、花序は穂状、前葉はない。

④スゲ亜属とハナビスゲ亜属：小穂は複数でほとんどが有柄、花序は総状または円錐状。

近縁4属(*Cymophyllus*, *Kobresia*,

Schoenoxiphium, *Uncinia*)は、原始スゲ亜属と同一クレードに含まれ入れ子状になっており Kükenthal の見解は支持されなかった。また、ミヤマジュズスゲ節が *Kobresia* や *Uncinia* と同じクレードに含まれたが、小穂軸（花序の側枝）が果胞の中から出る点で共通しており、分類に小穂軸の形態は重要であると考えられる。

タガネソウ節がスゲ連の基部で独立したクレードを形成することが明らかになった。国外の種を加えた400種の核リボソームおよび葉緑体遺伝子 *trnL*, *trnL-F* の非コード領域を用いた解析でも同様な結果が得られていることから、タガネソウ節は亜属レベルの分類群として区別できることが明らかになった。

(4) 分子系統と節の関係

最尤法で系統解析し、得られた分子系統から、日本産スゲ属植物の節の分類体系を検討した。Ohwi (1936) は日本産のものを50節に、秋山 (1955) は56節に、小山 (1962) は14節、勝山 (2005) は52節に分類した。このように研究者により節の分類は異なっている。そこで、今回得られた系統樹と節の対応を検討した。

その結果、スゲ属で最も種数が多いヌカスゲ節は、①ホンモンジスゲ類、ミヤマカンスゲ類、カンスゲ類、②アオスゲ類の2クレードに分かれた。この2クレードは、小穂のつきかたや雌鱗片の芒の長さで区別できる。

また、①のミヤマカンスゲ類には、ヒエスゲ節のキノクニスゲとセキモンズゲが含まれたが、小穂や果胞の形態も似ており、この2種はヌカスゲ節に移すことが望ましいと考えられる。

次に、アゼスゲ節は、①小穂が下垂するグループと②小穂が斜上するグループの2クレードに別れた。ヒカゲスゲ節は4つのクレードに分かれ多系統である可能性が高いと考えられる。

節の分類が強く支持されたものは次の7節であった。タガネソウ節、ハクサンスゲ節、ヒエスゲ節、タマツリスゲ節、イワカンスゲ節、ナキリスゲ節、サツマスゲ節。

(5) 分子系統に基づき柱頭の分化

スゲ属植物の柱頭は、2岐と3岐の2種類

がある。スゲ属植物の分類体系では柱頭の分岐数は重要な形質であり、2岐の分類群は瘦果がレンズ形で、3岐は3稜型であり形態が大きく異なる。本研究で得られた分子系統樹からスゲ属植物の柱頭は3岐が祖先型で、3岐から2岐への分化が少なくとも3回生じたことが明らかになった。

(6) 染色体の進化

スゲ属植物は非局在型動原体を有し、種間、種内異数体が高頻度で観察される。本研究により、最も少ない染色体数 $2n=12$ を持つタガネソウ節で最も祖先型であることが明らかになった。また、真正スゲ亜属においても、染色体数が① $2n=30\sim 40$ 前後の比較的少ないグループと② $2n=70$ 前後の多いグループに分かれた。この2グループは節もしくは亜節レベルでまとまっており、スゲ属植物の進化と染色体の分化に関連が認められた。スゲ属植物の染色体は、異数的に染色体数が増加する方向に進化したことが明らかになった。

(7) 今後の課題

分子系統に基づく染色体の進化に関しては、スゲ属で最も少ない染色体数 $2n=12$ をもつタガネソウ節が最も祖先型であり、染色体数が増加する方向に進化したと推定された。しかし、真正スゲ亜属に関しては十分な検討ができなかった。今後は、節レベルでの比較を行なうことにより、非局在型動原体を持つ染色体の進化に関する新しい知見が得られると思われる。

本研究では、日本に生育する主なスゲ属植物の遺伝子解析が終了した。今後は、国外の分類群を含めて分子系統を構築することにより、固有種を多く含む日本のスゲ属植物の進化が明らかにできると考えられる。

スゲ属植物は日本で最近急激に分化した分類群を多く含み、地域固有種が多い。分子系統樹とそれぞれの種の地理的分布を統合した分子系統地理学的な解析により、日本の頭花植物の種分化のモデルが構築できると考えられる。

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18件)

① M. J. Waterway, T. Hoshino and T. Masaki, Phylogeny, Species richness, and ecological specialization in Cyperaceae Tribe Cariceae, *The Botanical Review*, 75, 138-159, 2009, 査読有.

② Katsuyama, T., A new species of the genus *Carex* (Cyperaceae) from Yakushima Island, Japan, *Journal of Japanese Botany*, 84, 8-12, 2009, 査読有.

③ 矢野興一・浅間(尾崎)聡子・正木智美・勝山輝男・池田博・星野卓二, 岡山県産クロミノハリイ(カヤツリグサ科)とその保全について, *莎草研究*, (14), 9-16, 2009, 査読有.

④ Katsuyama, T., Two new species of *Carex* (Cyperaceae) from the Ogasawara (Bonin) Islands, Japan, *Journal of Japanese Botany*, 83, 331-338, 2008, 査読有.

⑤ 田中徳久・勝山輝男, 標本データによる神奈川県における帰化植物の分布拡大, *神奈川県立博物館研究報告(自然科学)*, (37), 31-358, 2008, 査読無.

⑥ 矢野興一・山本伸子・池田博・任焯卓・孫炫徳・星野卓二, 韓国のスゲ属植物 I, *莎草研究*, (13), 55-60, 2008, 査読有.

⑦ 池田博・山本伸子・狩山俊悟・小林禰樹・星野卓二, 岡山県で50年ぶりに採集されたクロタマガヤツリ, *莎草研究*, (13), 1-7, 2008, 査読有.

⑧ 矢野興一・勝山輝男・星野卓二, 日本産カヤツリグサ科スゲ属植物の細胞学的研究 I, *莎草研究*, (13), 9-21, 2008, 査読有.

⑨ 平原友紀・嶋村正樹・星野卓二, テクノビット樹脂を用いたカンガレイ(*Schoenoplectus triangulatus*(Roxb.) Sojak)の胚の形態学的研究, *莎草研究*, (13), 51-54, 2008, 査読有.

⑩ 勝山輝男, 沖縄本島でトックリスゲ *Carex rhynchaenium* を見出す, *植物地理・分類研究*, 54, 154-156, 2007, 査読有.

⑪ 勝山輝男, 九州中央山地のケヒエスゲ, *すげの会ニュース*, (14), 7-8, 2007, 査読無.

⑫ 津坂真智子・木村陽介・矢野興一・山本伸子・狩山俊悟・榎本敬・池田博・星野卓二, 岡山県に自生する絶滅危惧植物の染色体数, *Naturalistae*, (11), 15-30, 2007, 査読有.

⑬ O. Yano and T. Hoshino, Karyomorphological studies of four species of Japanese *Scleria* (Cyperaceae), *Cytologia*, 72(3), 275-278, 2007, 査読有.

⑭ 平原友紀・矢野興一・星野卓二, 絶滅危惧種ビャッコイ(*Isolepis crassiuscula*)の染色体と葉緑体遺伝子の解析, *分類*, 7(1), 23-30, 2007, 査読有.

⑮ T. Hirahara, T. Katsuyama and T. Hoshino, Suprageneric phylogeny of Japanese Cyperaceae based on DNA sequences from chloroplast ndhF and 5.8S nuclear ribosomal DNA, *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 58, 57-68, 2007, 査読有.

⑯ O. Yano, K. Ito and T. Hoshino, Cytological studies of the genus *Carex* (Cyperaceae) in the Osumi Islands (Kagoshima Prefecture) II. Chromosome counts of four species collected from the Kuroshima Island, *The Journal of Japanese Botany*, 82, 106-111, 2007, 査読有.

⑰ O. Yano, T. Nanami, K. Ito, H. Ikeda and T. Hoshino, Cytological studies of the genus *Carex* (Cyperaceae) in the Osumi Islands (Kagoshima Prefecture) I. Chromosome counts of five species collected from the Yakushima Island, *The Journal of Japanese Botany*, 82, 29-33, 2007, 査読有.

⑱ 宮澤誠治・高橋英樹, 北海道産スゲ属植物の地理分布パターン解析への試み, *北方山草*, (24), 71-76, 2007, 査読有.

[学会発表] (計13件)

① 星野卓二・正木智美・勝山輝男・M. J. Waterway, 日本産スゲ属植物の分子系統と節の分類, 日本植物分類学会, 2009年3月14日, 仙台.

② 勝山輝男, ネパール・ムスタンのスゲ属植物, ヒマラヤ植物研究会, 2008年12月13日, 東京大学総合研究博物館.

③ 雪江祥貴・正木智美・星野卓二, スゲ属タガネソウ節5種の系統解析, 日本植物学会中国四国支部, 2008年5月17-18日, 広島大学.

④ 星野卓二・矢野興一, ヒメカンスゲの種内異数体の系統地理, 第19回すげの会全国大会(佐賀大会), 2008年5月3日, 佐賀県唐津市呼子ロッジ.

⑤ 勝山輝男, スゲ属の節の学名について, 第19回すげの会全国大会(佐賀大会), 2008年5月3日, 佐賀県唐津市呼子ロッジ.

⑥ 平原友紀・星野卓二, 葉緑体 rbcL 遺伝子に基づくカヤツリグサ科の花序の進化, 日本植物学会, 2007年9月, 野田市.

⑦ 正木智美・吉岡里恵・星野卓二, スゲ属タガネソウ節(*Carex*, Sect. *Siderosticatae*)における倍数性と種分化, 日本植物学会中国四国支部大会, 2007年5月, 鳥取市.

⑧ 矢野興一・星野卓二, スゲ属タイワンスゲの系統地理学的研究, 日本植物学会中国四国支部大会, 2007年5月, 鳥取市.

⑨ 平原友紀・星野卓二, 葉緑体 rbcL 遺伝子を用いたカヤツリグサ科の分子系統学的研究, 日本植物学会中国四国支部大会, 2007年5月, 鳥取市.

⑩ 正木智美・星野卓二, 対馬のスゲ属植物, 第18回すげの会全国大会(高知大会), 2007年6月9日, 高知県津野町天狗荘.

⑪ 勝山輝男, 南西諸島の“ナガボスゲ”は *Ca*

rex dolichostachya Hayataではない, 第18回すげの会全国大会(高知大会), 2007年6月9日, 高知県津野町天狗荘.

⑫ 星野卓二、正木智美、Marcia J. Waterway, 日本産スゲ属植物の分子系統学的解析と亜属の分類, 日本植物分類学会, 2007年3月, 新潟市.

⑬ 矢野興一、星野卓二, 葉緑体DNAによるヒメカンスゲ(*Carex conica* Boott)種内異数体の地理的変異, 日本植物分類学会, 2007年3月, 新潟市.

[図書] (計 1件)

① Teruo Katsuyama, Kodansha Scientific Ltd., Tokyo, Flora of Mustang, Nepal, 431-471, 2007.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

星野 卓二(HOSHINO TAKUJI)
岡山理科大学・総合情報学部・教授
研究者番号: 10122392

(2) 研究分担者

高橋 英樹(TAKAHASHI HIDEKI)
北海道大学・総合博物館・教授
研究者番号: 30299177

池田 博(IKEDA HIROSHI)
東京大学・総合博物館・准教授
研究者番号: 30299177

勝山 輝夫(KATUSYAMA TERUO)
神奈川県立生命の星・地球博物館・
学芸部・専門学芸員
研究者番号: 20214356

(3) 連携研究者

無し