

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：26401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570111

研究課題名(和文)染色体の形態や核型が大きく異なるハマボスのゲノム再編はどのようにしておきたのか

研究課題名(英文)How to occur genomic rearrangements in *Lysimachia mauritiana* showing wide-ranging intraspecific karyotype polymorphism

研究代表者

荻沼 一男(Oginuma, Kazuo)

高知県立大学・地域教育研究センター・教授

研究者番号：30106794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ハマボス(*Lysimachia mauritiana*)の種内染色体多型について、1)台湾の染色体多型の分布とその成因、2)南西諸島のトカラ列島宝島及び奄美諸島では、その分布、動態を明らかにした。3)南西諸島に分布する本種の染色体多型の成因を明らかにする目的で、5Sおよび45S rDNA、telomere DNAをプローブに用い、分子細胞学的分析(FISH法)を行った。1)と2)については、論文として公表した。3)については、先島諸島に分布する、 $2n=18(6m)$ がオリジナルな核型であることが判った。

研究成果の概要(英文)：Concerning to the intraspecific chromosomal polymorphism of *Lysimachia mauritiana*, 1) the distribution patterns of individuals, and the origin of species native to Taiwan; 2) the distribution patterns and their dynamics of individuals native to Takara Island of the Tokara group and several islands of the Amami group in the Ryukyu Archipelago, were investigated. 3) The origin of the chromosomal polymorphism of this species distributed in the Ryukyu Archipelago, was analyzed by FISH using probes 5S, 45S rDNAs and telomere DNA.

The results foregoing 1) and 2) were respectively published in 2012 and 2015. The origin of chromosomal polymorphism of this species is suggested to be $2n=18(6m)$ distributed in Sakishima group of the Ryukyu Archipelago.

研究分野：植物細胞分類学

キーワード：染色体再編・維持 染色体動態 種内染色体多型 種分化

1. 研究開始当初の背景

サクランソウ科ハマボッス (*Lysimachia mauritiana*)は、越年草で両半球の海岸やその岩上に広く分布している (Iwatsuki et al., 1993)。

本種の染色体数に関しては、日本、韓国、台湾及びハワイ産で $2n = 20$ ($n = 10$)が報告されていたが(e.g. Chuang et al., 1962; Carr, 1978; Tanaka & Hizume, 1978)、与那国島産ハマボッスでこれまでの染色体数と違った $2n = 16$ (Oginuma et al., 2004a)が報告された。この発見が起因となり、研究代表者らは、この8年間、南西諸島47島嶼210カ所に分布する2,968個体の核型分析を行った。その成果として、南西諸島では、少なくとも18サイトタイプが生育していることが明らかになった (Kono et al., 2008, 2010)。詳細な核型分析では100以上のサイトタイプに分類され、本種内での核型は非常に多様であるが、マーカー染色体 [主に染色体相対長5.4以上の大型の中部動原体型染色体(m)]の数で区別することによって以下の18型に集約した。

$2n = 20$ (5m) = 5m+2sm+1st+12t
 $2n = 20$ (4m) MR type = 4m+4sm+12t
 $2n = 20$ (4m) JM type = 4m+2sm+4st+10t
 $2n = 20$ (4m) HD type = 4m+2sm+14t
 $2n = 19$ (6m) = 6m+2st+11t
 $2n = 19$ (5m) = 5m+3sm+11t
 $2n = 19$ (4m) = 4m+1m+2sm+1st+11t
 $2n = 18$ (6m) = 6m+2sm+10t
 $2n = 18$ (5m) = 5m+1m+2sm+10t
 $2n = 18$ (4m) = 4m+2m+2sm+10t
 $2n = 17$ (7m) = 7m+2sm+8t
 $2n = 17$ (6m) = 6m+1m+1sm+1st+8t
 $2n = 17$ (5m) = 5m+2m+2sm+8t
 $2n = 17$ (4m) = 4m+1m+2sm+2st+8t
 $2n = 16$ (8m) = 8m+2sm+6t
 $2n = 16$ (7m) = 7m+2sm+1st+6t
 $2n = 16$ (6m) = 6m+2m+2sm+6t
 $2n = 16$ (5m) = 5m+2sm+3st+6t

種内での染色体多型は、裸子植物、ソテツ科の *Zamia loddigesii* で11型 (Vovides and Olivares, 1996)が、イネ科の *Triticum araraticum* で34型 (Badaeva et al., 1994)が報告され、その後、両種における染色体多型の成因の追究には、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション(FISH)法などの分子細胞学的手法が用いられている。ヒガンバナ科の *Lycoris* 属では、*L. radiata* で2型、*L. traubii* では3型のみが報告されている (Kurita, 1987)。

南西諸島に自生するハマボッスを対象に種内での多様性をDNAレベルおよび染色体レベルで大規模に調査した結果、(1)DNA配列の差異は葉緑体DNAのイントロン1300塩基中6箇所のみ置換が認められ(置換率0.5%以下)、そのハプロタイプは南琉球から北琉球に向けて派生的であることが示唆さ

れた。これに対し、(2)染色体多型(染色体数とm-染色体の数で区別したタイプ、但し $2n = 20$ (4m)は全てのサイトタイプを示した)では18型のサイトタイプが確認された (Kono et al., 2008, 2010) (表1)。ハマボッスは複雑な染色体多型を持つ種子植物では極めて稀な種であることが明らかになった。また研究代表者は、台湾南部 (Oginuma et al., 2004b)、北マリアナ諸島、ハワイ諸島(荻沼未発表)で $2n = 20 = 4m+4sm+2st+10t$ の核型を持つハマボッスの存在を明らかにしている。

このことは、ハマボッスは日本の南西諸島の島嶼系におけるフロラの形成を知るために重要なだけでなく、種内で核形態学的変異が進化学上かなり短時間で生じる環境要因やそのメカニズムについて明らかにできる数少ない植物材料であることを意味している。

本種は、日本(南西諸島を含む)・韓国・台湾・フィリピンの他にも、アフリカに近いモーリシャス諸島、ニューカレドニア、フィジー、北マリアナ諸島、ハワイ諸島にも分布していることが報告されている。この事実は、本種が海流散布を行っていることを示唆している。フィリピン東部に端を発する「黒潮」の潮流は台湾東部、南西諸島を通り日本近海まで達している。本研究は、「黒潮」と本種の染色体多型との関連性についても明らかにできる数少ない植物材料であることを示唆している。

2. 研究の目的

日本の九州から北海道では単一タイプの核型を示すハマボッス(日本本土型)が、国内南西諸島に自生する本種では、染色体数の変異を含めた劇的な核型変異を伴った18種類の染色体多型(サイトタイプ)を示すことが近年の研究代表者らの研究でわかってきた。本研究では、ハマボッスの多様なサイトタイプがなぜ南西諸島でのみ生じているかを明らかにするために、(1)日本本土型および南西諸島で見つかったサイトタイプを材料に、それぞれのサイトタイプを特徴付けることが可能なDNA配列を選抜し、(2)選抜したDNAを蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション(FISH)解析のためのプローブとして、各サイトタイプの染色体多型の染色体上で可視化し、(3)核型変異に関与するDNAを特定して、特定地域において染色体の劇的な変異を引き起こす機構について推察する。

3. 研究の方法

(1)ハマボッスは越年草であるため、個体の維持が困難であり、新たに個体を採集する必要がある。研究代表者らは、サイトタイプの特定のための核型分析や、FISH解析のための材料のサンプリング地域を正確に把握し、決定する。

(2)試料のサンプリングを行った後、鉢植えに

し、採根・サイトタイプの特定を行う。
 (3) サイトタイプが決定した個体から更に採根を行い、既存のユニバーサルプライマーを用いて FISH 解析を行う。
 (4) FISH 法から、南西諸島に分布する 18 サイトタイプと台湾南部に生育する 1 サイトタイプの解析を目的とする。
 これまでの核型解析から、南西諸島中、中琉球（奄美大島、沖縄島など）では、1 採集地内で 2-5 型のサイトタイプが混在し生育している一方で、日本本土、南琉球（石垣島など）や台湾では、一採集地内でサイトタイプの混在率が極めて低く単一のサイトタイプ（日本本土型、南琉球型、台湾南型）のみが安定的に広範囲に生育しているため、これら 3 サイトタイプにおける特異的配列の解析を行う。

4. 研究成果

(1) Oginuma et al. (2004a) のデータと併せて、台湾全域（台湾周辺の島々含む）46 箇所のハマボッス 592 個体について核型分析を行った結果、台湾では 8 型のサイトタイプが自生することを見いだした。そのうち、4 型については台湾固有のサイトタイプである（Kono et al., 2012）。台湾では、一集団内は単一のサイトタイプで占められており、複数のサイトタイプが混在する地域は稀で、わずかに 4 箇所であった。また、一集団内で見られるサイトタイプも 2-3 型で、その混在率も南西諸島に比べて低いことが明らかになった（図 1）。

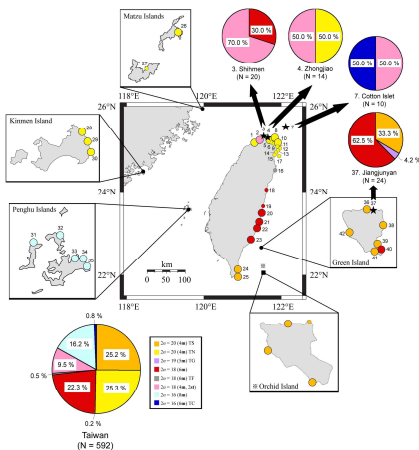


図 1 台湾における染色体多型と地理分布

(2) 一方、2013-2014 年の調査では、薩南諸島に属する島嶼のうち、宝島（6 箇所 238 個体）・奄美大島（13 箇所 245 個体）・加計呂麻島（5 箇所 58 個体）・徳之島（9 箇所 149 個体）に自生する本種の詳細な核型分析及び染色体多型の動態を調査した。

その結果、宝島では、一集団内で 11 サイトタイプが見られ、これは南西諸島内で最も高い混在率であった（図 2、Kono et al., 2013：発表論文の項目参照）。

宝島に隣接する残りの 3 島では、合計 15 サイトタイプが自生していることが分かり、

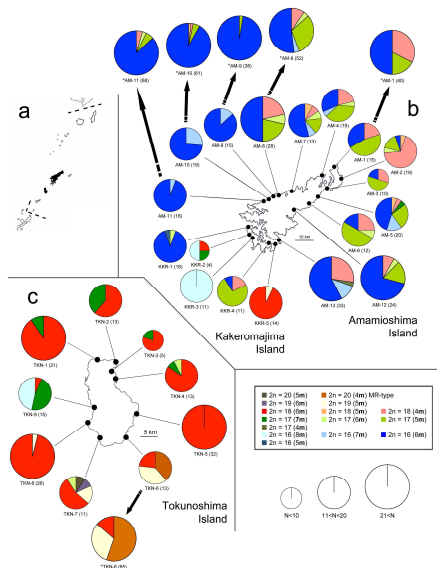


図 2 奄美大島・加計呂麻島・徳之島における染色体多型と地理分布

2 箇所を除き、一集団内では 2-6 型のサイトタイプが混在していることが明らかになった。また、数箇所で一集団内の染色体多型の動態を調査した結果、単一のサイトタイプに収斂していくと思われる地域がある一方で、染色体多型の増加が見られた地域もあり、本種においては、現在も染色体多型の増減が生じていることがわかった（図 2、Kono et al. 2015：発表論文の項目参照）。

(3) 上述した、台湾から南西諸島にかけて、安定的に広範囲に生育している 3 サイトタイプ（日本本土型、南琉球型、台湾南型）を含めた本種の染色体多型の成因を明らかにする目的で、5SrDNA、45SrDNA、Telomere DNA をプローブに用い、FISH 解析を行った。その結果、上記 3 サイトタイプの関係性は明らかにはならなかったが、少なくとも南西諸島に生育する染色体多型については、ロバートソニアン融合・切断・含動原体型逆位等で以下の多型が生じることが推察され、先島諸島にかけて分布する $2n = 18$ (6m) がオリジナルのサイトタイプであることがわかった。これらの結果は、現在、論文投稿準備中である。

$2n = 18$ (6m)	20 (4m) MR type
$2n = 18$ (6m)	20 (4m) HD type
$2n = 18$ (6m)	18 (4m) 16 (6m)
$2n = 18$ (6m)	16 (8m)

ハマボッスに見られるような大きな核型変異は、多くの場合、近縁な種の中で見られるものであり、同一種内の限られた自然集団内で見られるケースは、極めて稀である。このことから、ハマボッスは現時点において、ある核型から別の核型に移行する「移行期」にあると推察される。

今後は、調査地域を琉球諸島に広げ、調査

地点を増やし、さらに詳細な核型分析を行うことで、(1)どのようなサイトタイプが同一集団内に混在しているかを調査し、(2)核型変異の中でも拡大方向と収斂方向それぞれに関するDNA領域を新たに探索していく。

<引用文献>

Badaeva E.D., Badaeva N.S., Gill B.S. and Filatenko A.A. 1994. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* (Poaceae). *Pl. Sys. Evol.* 192: 117-145.

Carr G.D. 1978. Chromosome numbers of Hawaiian flowering plants and the significance of cytology in selected taxa. *Amer. J. Bot.* 65: 236-242.

Chung T.I., Chao C.Y., Hu W.W.L. and Kwan S.C. 1962. Chromosome numbers of the vascular plants of Taiwan I. *Taiwania* 8: 51-66.

Iwatsuki K., Yamazaki T., Boufford D.E. and Ohba H. 1993. (Ed.). *Flora of Japan*. Vol. IIIa. 482 pp. Kodansha, Tokyo.

Kono Y., Hoshi Y., Setoguchi H., Yokota M. and Oginuma K. 2008. Aneuploidy and karyotypic polymorphism of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) distributed in northern and middle parts in the Ryukyu Archipelago belonging to Kagoshima Prefecture, Japan. *Chrom. Bot.* 3: 89-93.

Kono Y., Hoshi Y., Setoguchi H., Yokota M. and Oginuma K. 2010. Aneuploidy and karyotypic polymorphism of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) distributed in middle and southern parts in the Ryukyu Archipelago belonging to Okinawa Prefecture, Japan. *Cytologia* 75: 3-8.

Kurita S. 1987. Variation and evolution in the karyotype of *Lycoris*, Amaryllidaceae IV. Intraspecific variation in the karyotype of *L. radiata* (L'Herit.) Herb. and the origin of this triploid species. *Cytologia* 52: 137-149.

Oginuma K., Hamada A., Sato H., Kono Y., Yokota M. and Setoguchi H. 2004a. Aneuploidy and karyotypic variation of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) in the Yonagunijima Island, the Ryukyu Archipelago, Japan. *Chrom. Sci.* 8: 45-54.

Oginuma K., Sato H., Kono Y., Yokota M., Setoguchi H. and Kokubugata G. 2004b. Karyomorphology of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) in the Orchid Island, Taiwan. *Chrom. Sci.* 8: 63-66.

Tanaka A. and Hizume M. 1978. Karyomorphological studies on species differentiation in some species of *Lysimachia*. *La Kromosomo* II-11-12:

301-312.

Vovides A.P. and Olivares M. 1996. Karyotype polymorphism in the cycad *Zamia loddigesii* (Zamiaceae) of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Bot. J. Linn. Soc.* 120: 77-83.

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3件)

Yoshiko Kono, Yoshikazu Hoshi, Hiroaki Setoguchi, Masatsugu Yokota and Kazuo Oginuma. 2015. Widespread cytotypic variation, cytogeography and dynamic analysis of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) on Amamioshima, Kakeromajima and Tokunoshima Islands in the Amami Group of the Ryukyu Archipelago, Japan. *Cytologia* 80: 193-202. (査読有)

Yoshiko Kono, Yoshikazu Hoshi, Hiroaki Setoguchi, Masatsugu Yokota and Kazuo Oginuma. 2013. Widespread cytotypic variation, cytogeography and dynamic analysis of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) on Takarajima Island in the Ryukyu Archipelago of Japan. *Chromosome Botany* 8: 47-52. (査読有)
DOI: 10.3199/iscb.8.47

Yoshiko Kono, Kuo-Fang Chung, Chih-Hui Chen, Yoshikazu Hoshi, Hiroaki Setoguchi, Chang-Hung Chou, Kazuo Oginuma and Ching-I Peng. 2012. Intraspecific karyotypic polymorphism is highly concordant with allozyme variation in *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae: Myrsinoideae) in Taiwan: implications for the colonization history and dispersal patterns of coastal plants. *Annals of Botany* 110: 1119-1135. (査読有)
DOI: 10.1093/aob/mcs192

[学会発表](計4件)

Kazuo Oginuma, Yoshiko Kono, Yoshikazu Hoshi and Masatsugu Yokota. Cytotypes of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) collected from two islands of the Daito group in the Ryukyu Archipelago, Japan. 国際染色体植物学会第9会大会 2014.11.22-23. 東京農業大学世田谷キャンパス(東京都・世田谷区)

Yoshiko Kono, Yoshikazu Hoshi, Hiroaki Setoguchi, Masatsugu Yokota and Kazuo Oginuma. Chromosome evolution of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae)

among nine cytotypes distributed in the Ryukyu Archipelago of Japan confirmed by FISH analyses. 国際染色体植物学会第8会大会 2013.11.23-24. 広島女学院大学(広島県・広島市)

Kazuo Oginuma, Megumi Nishiyama, Misato Maeda, Yoshiko Kono, Yoshikazu Hoshi, Hiroaki Setoguchi and Masatsugu Yokota. Dynamics karyotypic polymorphism in *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) collected from Takarajima Islands in the Ryukyu Archipelago, Japan. 国際染色体植物学会第7会大会 2012.10.13-14. 東海大学農学部阿蘇キャンパス(熊本県・阿蘇郡)

Kazuo Oginuma, Ai Kunimoto, Megumi Miyoshi, Yoshiko Kono, Yoshikazu Hoshi, Hiroaki Setoguchi and Masatsugu Yokota. Dynamics karyotypic polymorphism in *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) collected from three collection sites in Amamioshima Island in the Ryukyu Archipelago, Japan. 国際染色体植物学会第7会大会 2012.10.13-14. 東海大学農学部阿蘇キャンパス(熊本県・阿蘇郡)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荻沼 一男 (OGINUMA, Kazuo)
高知県立大学・地域教育研究センター・教授
研究者番号：30106794

(2) 研究分担者

星 良和 (HOSHI, Yoshikazu)
東海大学・農学部・教授
研究者番号：70332088