

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 28 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440215

研究課題名(和文)大陸辺縁における異所的種分化過程の解明に向けて～シオガマギク属植物を用いて～

研究課題名(英文)Elucidation of allopatric speciation process in the continent marginal area using Pedicularis species

研究代表者

藤井 紀行 (Fujii, Noriyuki)

熊本大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：40305412

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：大陸辺縁における異所的種分化過程の解明に向けて、日本及び台湾に分布するシオガマギク属植物を用いて解析を行った結果、以下のような成果が得られた。まずヨツバシオガマの本州中部系統は日本の固有に分化した種であること(Fujii et al. 2013)、エゾシオガマは日本国内において少なくとも北海道・東北・本州中部系統の3系統に分化していること、白山に分布するタカネシオガマ似の集団はアジア大陸北東部に分布するホザキシオガマであること(Fujii et al. 2014)。九州固有種ツクシシオガマと台湾のタカネシオガマ似の集団は単系統となることなどが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify allopatric speciation process in the continent marginal area, the phylogeographic analyses using Pedicularis (Orobanchaceae) species were conducted. Through the studies, we were able to obtain the following outcomes. The central Honshu clade of *P. chamissonis* has been the endemic species that originated in Japan (Fujii et al. 2013). *P. yezoensis* were differentiated at least three major clades in Japan (Hokkaido, Tohoku, central Honshu clades). Relict distribution in Mt. Hakusan, Ishikawa Pref., was clarified in *P. spicata* (Fujii et al. 2014). The population of *P. refracta*, endemic to Kyushu region, were made monophyletic group with those of ser. *Verticillata* species in Taiwan.

研究分野：植物系統地理学

 キーワード：異所的種分化 白山 ホザキシオガマ 台湾 タカネシオガマ列植物 ツクシシオガマ エゾシオガマ
高山植物

1. 研究開始当初の背景

日本列島の植物相(フロラ)は、約6,000種もの維管束植物が知られ、そのうち約40%が固有種であることから、温帯地域においてかなり高い多様性を保持していると言える。この要因としては、日本列島の温暖多雨な現在の気候等の環境要因もあるが、氷河時代の気候変動や日本列島の形成過程などの歴史的な要因も大きく関わっていると考えられる。また日本列島のフロラはいわゆる「日華区系要素」に含まれていてアジア大陸の植物と高い関連性があることが知られていることから、多くの植物がアジア大陸から日本列島へ分布を拡大させた後、日本列島という隔離された場所で異所的な種分化を起こし、現在に至っているものと推定される。こうした仮説については古くから指摘されているが、客観的かつ具体的なデータから検証した研究例は少ない。そこで本研究では「異所的種分化」というキーワードをもとに研究を行うことを着想した。

2. 研究の目的

日本列島はアジア大陸の東端に位置し、面積的にはせまいながらも植物の高い種多様性を有している。この要因の一つとしては、大陸の端において異所的な種分化を起こし、多くの固有種が生じ、残されてきたことが考えられる。こうした仮説は古くから指摘されていたが、この仮説を客観的かつ具体的に示した研究例は少ない。そこで本研究では研究対象としてシオガマギク属(*Pedicularis*)植物を用いる。この属は中国南西域に高い種多様性を持ち、その中の幾つかの系統が日本列島へ入り込み、一部は種分化を起こしたと想定される一群であり、上記の仮説を検証するのに適当な植物群といえる。本研究ではシオガマギク属のタカネシオガマ列植物、エゾシオガマ、ヨツバシオガマの種群に着目し、分子系統地理学的な解析を行うことによって、大陸の辺縁においてどのような過程で分化してきたのかを推定することを目的とした。また本研究では植物地理学的な課題だけではなく植物分類学的な課題の解決も行った。

3. 研究の方法

本研究では上記の目的を達成するために以下の4つの種群を用いて解析を行った。

(1) 石川県白山におけるタカネシオガマ(*Pedicularis verticillata*)とされてきた集団の系統分類学的な位置を明らかにするために、葉緑体DNAと核DNAの遺伝情報を用いて、白山集団を含めたタカネシオガマ列近縁種群の分子系統解析を行った。また外部形態9形質を用いて、集団間・種間の分散分析および主成分分析を行った。

(2) (1)の研究を進める中で、台湾に生育するタカネシオガマとされる集団も本来のタ

カネシオガマの系統に入っていないことが明らかとなった。そこで台湾集団の正体を明らかにするために、台湾の南湖大山、合歡山、雪山の3山岳においてサンプリング調査を行った。その試料を用いて、分子系統解析および外部形態の比較解析を行った。

(3) 日本の固有種であるエゾシオガマ(*P. yezoensis*)の分子系統地理学的解析。エゾシオガマの近縁種は周北極地域に分布していることから古い時代に北方から日本列島に入り込んできたと想定される種である。エゾシオガマの葉緑体DNAを用いた先行解析からは、北海道・東北・本州中部に分かれる3つの系統が示唆されていた。そこでこの結果を再検証するために、解析集団数や個体数を増やし、さらに核ITS領域を用いた解析を行った。

(4) ヨツバシオガマ(*P. chamissonis*)における北方系統と本州中部系統の分類学的再検討。先行研究よりヨツバシオガマ内には北方系統と本州中部系統の2つの系統が存在し、両者が種レベルまで分化していることが示唆されていた。そこで本研究ではハーバリウムにおける標本調査を通して、両者の分布を明らかに、形態的な違いをはっきりさせて、分類学的な再検討を行った。

4. 研究成果

以下の4つの研究成果を得た。

(1) 石川県白山のタカネシオガマ似の集団は、分子系統解析の結果、アジア大陸東北部に広く分布するホザキシオガマ(*Pedicularis spicata*)と単系統性を示した(図1)。

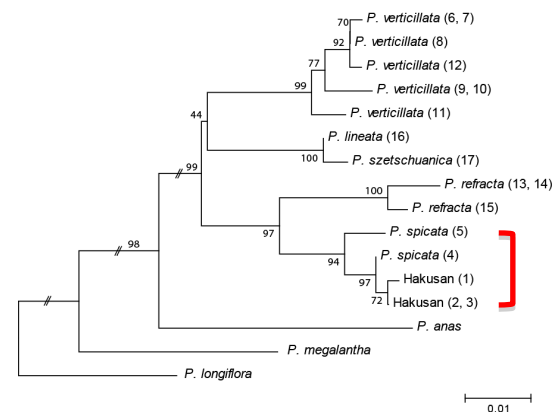


図1. 白山集団とホザキシオガマの単系統性を示すITS系統樹(Fujii et al. 2014より)

また外部形態を用いた解析においても、白山集団はタカネシオガマとは明らかに異なり、ホザキシオガマに近い形態を示した。以上の結果より、白山集団がホザキシオガマであると結論づけた。本種の分布は主にアジア大陸にあり、日本ではこれまで北海道十勝地方から報告されており、本州から初めての報告である。このように日本と大陸間で隔離分

布が見られる。このような分布は過去の寒冷期に本種が分布を拡大させ、その後一部の集団が日本に取り残され現在に至っているものと推定される。

(2) 台湾産タカネシオガマ列植物の系統的位置を推定するために、葉緑体 DNA および核 ITS 領域を用いた分子系統解析を行った結果、台湾集団はいわゆるタカネシオガマの系統に入らずツクシシオガマ (*Pedicularis refracta*) のサンプルと同じ系統に入ることが示された (図 1 参照)。ツクシシオガマは九州の高原に生育する日本固有種であるため、台湾集団の分類学的な取り扱いに関しては再検討する必要性が示された。



図 2 . 台湾南湖大山におけるタカネシオガマ列植物

そこで外部形態的な特徴に関して、ツクシシオガマやタカネシオガマを含めた近縁種と比較したところ、解析に用いた 9 形質中 7 形質において、台湾集団とタカネシオガマ間で有意差が見られた。一方、台湾集団とツクシシオガマ間では、花冠の長さにおいてのみ有意差が認められた。主成分分析においても台湾集団とツクシシオガマのサンプルは連続的に分布した。以上の系統解析と形態的調査の結果をふまえて、台湾集団の分類学的な取り扱いに関しては、ツクシシオガマの一変種 (*P. refracta* var. *transmorrisonensis* (Hayata) Hurus.) として扱うのが適当と結論づけた。この内容については日本植物分類学会第 15 回大会において口頭発表を行った。

(3) エゾシオガマを用いた分子系統地理学的解析。葉緑体 DNA を用いた解析では 20 集団 301 個体を解析した結果、先行研究と同様に、北海道系統・東北系統・本州中部系統の 3 系統が認められた (図 3)。谷川岳においては東北系統と本州中部系統の両方が混在しており、集団内多型が検出された。一方、核 ITS 領域を用いた解析では、東北地方南部～本州中部山岳にかけての飯豊山 (一部)・守門岳・雨飾山でまとまる系統が新たに見られ、合計すると 4 つの系統が認められた (図 4)。興味深い結果として、東北南部の飯豊山においては集団内に 4 種類の ITS タイプが検出され、しかも系統解析をした結果、それ

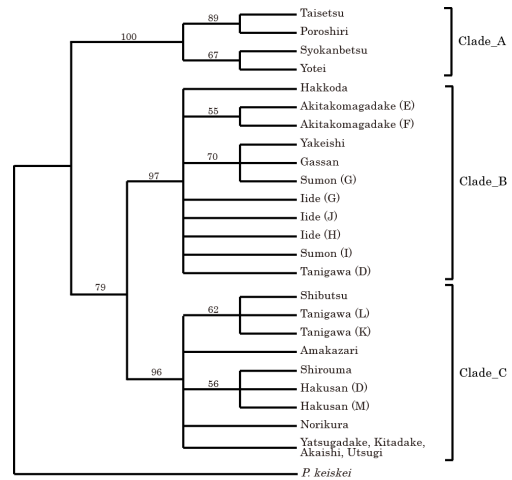


図 3 . エゾシオガマの葉緑体 DNA で示された 3 系統性 (MP 系統樹)

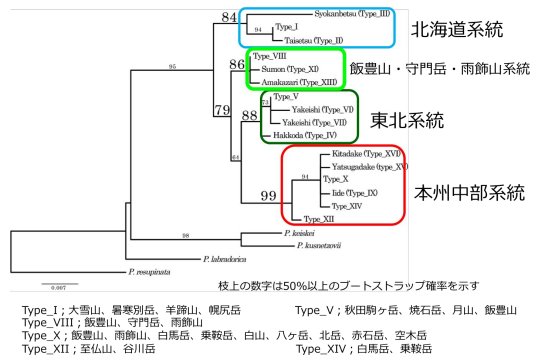


図 4 . エゾシオガマの核 ITS 領域で示された 4 系統性 (ML 系統樹)

らは北海道系統を除くすべての系統に属するものであった。以上の結果より、エゾシオガマの集団レベルでの分化過程を推定すると以下ようになる。まず北海道系統は葉緑体 DNA と ITS 領域の系統樹両方で支持され、しかも初期段階で分化していることが示された。このことよりまずは北海道の集団と本州の集団の間に地理的な障壁とともに遺伝的分化が生じたものと考えられる。次に核 ITS 系統樹から第 4 の系統が飯豊山・守門岳・雨飾岳の集団から検出された。しかも飯豊山集団からはこの第 4 の系統だけでなく東北系統や本州中部系統に属するタイプも検出された。したがって東北南部から本州中部日本海側の地域において、本州地域における初期のレフュージア (避難地) が存在したと考えられる。その後の寒冷化や温暖化を通して、そのレフュージアに残っていた集団から一部は東北地方、一部は本州中部地方へ分布域を拡大させた集団があり“東北系統”や“本州中部系統”へと分化していったと考えられる。第 4 の系統は葉緑体 DNA では検出されなかったが、これは集団間の浸透性交雑により葉緑体 DNA が置き換えられてしまった可能性が考えられる。

(4) ヨツバシオガマにおける北方系統と本州中部系統の分類学的再検討に関しては、北方系統を狭義の *Pedicularis chamissonis* とし、本州中部系統を *P. japonica* Miq. として扱うべきとの結論を得た (Fujii et al. 2013)。基準標本産地は石川県白山である。また分布に関しては狭義の *P. chamissonis* は、当初飯豊山までと考えていたが、実際には本州中部山岳からも観察された (図5)。したがってこの種は本州中部～アリューシャン列島まで北太平洋沿岸に広く分布することになる。一方、本州中部系統の *P. japonica* は分布の北限は山形県月山であり、それより北の山岳からは観察されなかった。したがって本種は月山～本州中部まで分布する日本固有種ということになる。これまでの先行研究の議論によると、本種はアリューシャン列島やカムチャッカ半島などの北方から侵入してきた系統が日本列島に取り残され異所的な種分化を起こした種であると考えられる。

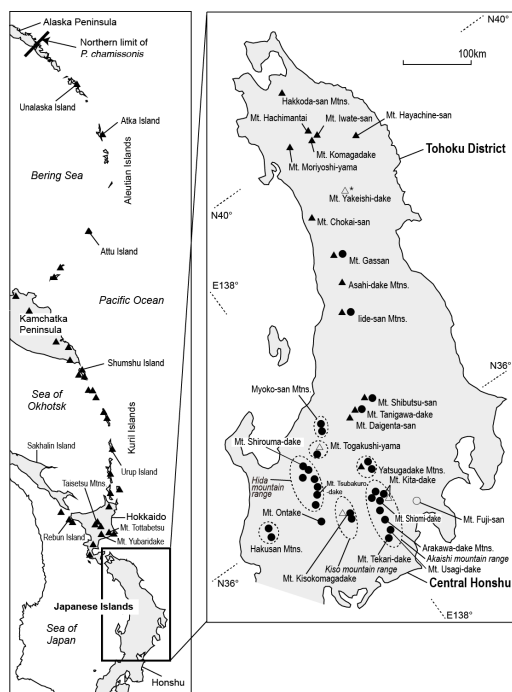


図5. 標本調査で明らかになった *Pedicularis chamissonis*()と *P. japonica*()の分布 (Fujii et al. 2013より)。

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)

Fujii, N., K. Ueda, Y. Watano & T. Shimizu. 2013. Taxonomic revival of *Pedicularis japonica* from *P. chamissonis* (Orobanchaceae). APG : Acta phytotaxonomica et geobotanica 63: 87-97. (査読有)
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009592964/>

Yamasaki, T., K. Ozeki, N. Fujii, M. Takehara, M. Yokogawa, S. Kaneko & Y. Isagi. 2013. Genetic diversity and structure of *Silene kiusiana* (Caryophyllaceae) in the Aso region, Kyushu, Japan, revealed by novel nuclear microsatellite markers. APG : Acta phytotaxonomica et geobotanica 63: 107-120. (査読有)
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009596183/>

Fujii, N., M. Teramoto, R. H. Ree, N. Shirai, C. Suyama, K. Ueda & H. Takahashi. 2014. Relict distribution in *Pedicularis spicata* Pall. (Orobanchaceae) : a new locality in central Honshu, Japan. APG : Acta phytotaxonomica et geobotanica 65: 75-87. (査読有)
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009832036/>

Fujii, N., S. Takasawa, M. Yokogawa, T. Yamasaki, K. Harada, S. Kaneko & Y. Isagi. Novel nuclear microsatellite markers reveal genetic diversity and structure of *Veronicastrum sibiricum* var. *zuccarinii* (Plantaginaceae) in the Aso region, Kyushu, Japan. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica (APG) (in press). (査読有)

[学会発表](計5件)

藤井紀行・山崎高志・小関圭一・竹原真理・横川昌史・兼子伸吾・井鷲裕司. 岡山県鯉ヶ窪湿原のオグラセンノウの遺伝的多様性と遺伝構造. 日本植物学会第77回大会. 北海道大学. 2013年9月13~15日. 要旨集P.207.

藤井紀行・寺本美穂子・Richard H. Ree・白井伸和・須山知香・植田邦彦・高橋英樹. ホザキシオガマ(ハマウツボ科)の隔離分布～本州中部白山における新産地報告～. 日本植物学会第78回大会. 明治大学. 2014年9月12~14日. 要旨集P.205.

藤川凌・出田翔・池田啓・藤井紀行. 日本産高山植物エゾシオガマの分子系統地理学的研究. 日本植物分類学会第14回大会. 福島大学. 2015年3月5日~9日. 要旨集PXX

清水翠・藤井紀行・伊藤元巳・朝川毅守・西田治文・須山知香・植田邦彦. アンデス山脈の高山植物 *Gunnera magellanica* の分子系統地理学的研究. 日本植物学会第79回大会. 朱鷺メッセ:新潟コンベンションセンター. 2015年9月6~8日. 要旨集P.189.

村山香織・藤井紀行・Richard H. Ree・

彭鏡毅・鍾國芳・游旨价．台湾におけるタカネシオガマ列植物の系統分類学的研究．日本植物分類学会第15回大会．富山大学五福キャンパス 2016年3月6日～8日 要旨集 P39.

〔その他〕

ホームページ等

http://www.sci.kumamoto-u.ac.jp/~biohome/staff/fujii/Fujii_HP/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤井 紀行 (FUJII Noriyuki)

熊本大学大学院自然科学研究科准教授

研究者番号：40305412

(2) 研究協力者

鍾 國芳 (CHUNG Kuo-Fang)

池田 啓 (IKEDA Hajime)

彭 鏡毅 (PENG Ching-I)

REE, Richard H.

白井 伸和 (SHIRAI Nobukazu)

須山 知香 (SUYAMA Chika)

高橋 英樹 (TAKAHASHI Hideki)

植田 邦彦 (UEDA Kunihiro)

綿野 泰行 (WATANO Yasuyuki)

游 旨价 (YU Chih-Chieh)