

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：35302

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25840136

研究課題名(和文) 原始的なスゲ属植物の種分化および生活史特性の解明

研究課題名(英文) Speciation and phenological analyses of ancestral Carex (Cyperaceae)

研究代表者

矢野 興一 (YANO, Okihito)

岡山理科大学・生物地球学部・講師

研究者番号：60582757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：被子植物の中で多様化した分類群の一つとされるカヤツリグサ科スゲ属植物の原始的な種群と考えられているタガネソウ節について、系統分類学的関係、染色体進化、生活史特性を明らかにした。その結果、タガネソウ節を含めて葉の幅が広いHemiscaposae節やSurculosae節がスゲ属の祖先的な系統位置になり、強く単系統性を示すことがわかった(タガネソウ節クレード)。また、タガネソウ節クレードの染色体数は $2n=12$ か $2n=24$ のスゲ属のなかでも大型で少ない染色体数を持つことがわかった。さらに、風媒花がほとんどのスゲ属において、タガネソウ節クレードの一部の分類群に虫媒花があることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Carex L. (Cyperaceae) is one of the largest genera of flowering plants and is known as a predominantly wind-pollinated genus based on the floral characters. In Carex, section Siderostictae is thought to be an ancestral group. This study aimed to clarify the phylogenetic relationships, chromosomal variations and ecological features within the section Siderostictae and allies. Our results indicate that a monophyletic Siderostictae clade, including the sections Hemiscaposae, Siderostictae and Surculosae, as the earliest diverging group in Carex. Low chromosome numbers, $2n=12$ or $2n=24$, with large sizes were observed in Siderostictae clade. We also observed that a honeybee, *Apis cerana heimifeng*, made frequent visits to the inflorescences and collected pollen grains from Carex scaposa in the Siderostictae clade.

研究分野：植物系統分類

キーワード：系統分類 系統進化 カヤツリグサ科

1. 研究開始当初の背景

カヤツリグサ科スゲ属 (*Carex* L.) は世界に 2000 種以上が分布し、被子植物の中で最も多様化した分類群の一つである。しかしながら、スゲ属は外部形態が単純な構造をしているために分類が難しい分類群であり、系統や分類体系については 1909 年以来進んでいない (Kükenthal, 1909)。しかし、近年の分子生物学的手法の発展に伴い DNA の塩基配列情報を取り入れた系統解析が進められつつある (Waterway et al., 2009; Global *Carex* Group, 2015)。

植物の多様性を認識する基礎として、全ての種を網羅するような系統分類学的研究は重要であるが、その一方で、分化の初期段階でどのような形態学および細胞学的・遺伝学的変異が起こり、どのような環境条件下で多様化したのかを明らかにすることも、植物の多様性を明らかにするために必要と考えられる。

スゲ属で最も原始的な種群と考えられているのが、東アジアに固有なスゲ属タガネソウ節である。タガネソウ節は、スゲ属の中でも葉の幅が特に広く、スゲ属で唯一の大型の染色体で最も少ない染色体数 ($2n=12$ と $2n=24$) を持つことで特徴づけられている。申請者は、これまでに外部形態・染色体・DNA 分析を融合したアジア産スゲ属の系統進化的・細胞学的・分類学的研究を進めてきており、このうち、東アジア産タガネソウ節全 12 種のうち 9 種の解析もおこなった。その結果、タガネソウ節 9 種はすべて染色体数 $2n=12$ か $2n=24$ を持ち、スゲ属で最も原始的な系統的位置になることが明らかになった (Yano et al., 2014)。

ところが、タガネソウ節と同様に東アジア固有のスゲ属 *Hemiscaposae* 節および *Surculosae* 節の数種も系統解析に含めたところ、それらも染色体数 $2n=12$ か $2n=24$ を持ち、系統解析の結果でもタガネソウ節と

同じクレードに含まれることがわかってきた。この *Hemiscaposae* 節および *Surculosae* 節も葉の幅が広く、原始的なスゲ属の特徴をもっているが、スゲ属の分類形質で重要な花序の形態がまったくタガネソウ節の仲間とは異なっているために、これまで別の節として扱われてきた。

スゲ属の中で葉の幅が広く、染色体数 ($2n=12$ と $2n=24$) を持つ種群が原始的なスゲ属であるとの見解に達しているものの、花序の形態変異はどのような影響によるものなのか、いったい分化の初期段階でどのような変異が起こったのか、その結果としてどのような生活史特性を持っているかという点に関しては、これまでほとんど研究されていない。

2. 研究の目的

本研究は、原始的なスゲ属について、生態学的、形態学的、細胞学的、遺伝学的手法を用いて、生活史特性を把握し、どのように多様化してきたのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

現地調査で生育環境や生活様式の観察・記録をおこなうとともに、形態学的・細胞学的・遺伝学的解析のためのサンプルを採取し、研究室にて解析をおこなった。

サンプリングは、中国浙江省・江蘇省・安徽省・広東省・雲南省・広西チワン自治区で行なった。

1) 外部形態

現地で採集した押し葉標本を用いて、外部形態を比較を行なった。

2) 繁殖特性の解析

現地で、花粉の送受粉様式について観察・記載をおこなった。

3) 細胞学的特性の解析

現地で根端を前処理液 (2mM 8-オキシキノリン) に浸した後、ニューカマー固定液で固定した。サンプルを持ち帰った後、押しつぶし法で観察した。スゲ属の根端細胞は硬くて、よく染色されないことから、塩酸、ペクチナーゼとセルラーゼの酵素混合液の2つの試薬を用いて解離し、染色にはシッフ試薬と酢酸オルセインを用いた2重染色をおこなった。

4) 分子系統学的解析

現地で若い葉を採取し、シリカゲルで乾燥させ、持ち帰ったサンプルを用いて、葉緑体・核 DNA 領域を PCR 法を用いて増幅し、サイクルシーケンサー法により DNA の塩基配列を調べた。目的領域としては、種間多型を検出している葉緑体 DNA の *trnL-F*、*rps16* 領域、核 DNA の nrITS、nrETS1f 領域を用いた。得られたデータを解析し、系統関係を明らかにした。

4. 研究成果

1) 分子系統解析

日本および中国から採集したタガネソウ節、*Hemiscaposae* 節および *Surculosae* 節 14 種を用いて系統解析を行なった結果、タガネソウ節 *Carex tronginn* 以外は、すべてスゲ属の祖先的と考えられる系統的位置になり、強く単系統性を示すことが明らかとなった (タガネソウ節クレード)。しかしながら、*Carex tronginn* は、スゲ属の中でも派生的な Major *Carex* クレードに含まれることが明らかとなった。本種において花序の形態が他のタガネソウ節と異なっており、外部形態学的にも支持される結果となった。

タガネソウ節クレード内の系統関係については、核 DNA の nrITS と nrETS1f から、葉の幅が狭いグループ、葉の幅が広い

グループ、の大きく2つの系統に分かれることが明らかとなった。一方、葉緑体 DNA の *trnL-F*、*rps16* 領域からはタガネソウ節クレード内の関係性は支持が弱く、詳細に解決されなかった。

2) 染色体解析

染色体観察をした結果、タガネソウ節クレードに属する種は大型で少ない染色体数 $2n=12$ か $2n=24$ を持っていることが分かった。従って、大型で少ない染色体数がスゲ属の中で祖先的な細胞学的特徴であると考えられた。

また、タガネソウや *Carex grandiligulata* は種内倍数性があることが分かった。一方で、*C. glossostigma* や *C. scaposa* は4倍体のみが今回確認できた。これらの染色体情報を系統樹上に示したところ、2倍体種から4倍体種へは一回の倍数性進化でなく、複数の分類群でそれぞれ倍数化していることがわかった。

さらに、タガネソウ節クレードの分布域を調査した結果、2倍体種はそれぞれ狭い範囲に分布しており、4倍体種は比較的広域に分布していることがわかった。従って、分布域拡大に伴って倍数化したと考えられた。

3) 繁殖特性の解析

スゲ属を含めてカヤツリグサ科植物は花序の外部形態からほとんどが風媒花植物であるが、しかし、タガネソウ節クレードの分類群のいくつかは、花序がピンク色から白色の目立つ色をしているものがある。そのなかで、*Carex scaposa* に関して、トウヨウミツバチの1亜種 *Apis cerana heimifeng* が本種の花序を頻りに訪れて花粉を集めていることが現地の生育地で確認できた。

また、ハチの花粉ポケットに集められた花粉や体に付着した花粉を観察したところ、

C. scaposa の花粉が 94.25%をしめ、そのほとんどは訪花していたスゲ属植物のものであることが判明した。このことから、*C. scaposa* の送受粉にはミツバチ類が重要な役割を果たしていると考えられた。したがって、*C. scaposa* はピンクから白色の花序を持つことから、鮮やかな色彩により昆虫を引きつけていることが示唆された。

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 13 件)

Yano O., Fuse S., Fujiki T., Tamura M.N., Yago M., Sueyoshi M., Yang Y.-P. and Ikeda H. (2015) Insect pollination of *Carex* (Cyperaceae) from Yunnan, SW China. *Journal of Japanese Botany* 90(6): 407-412. 査読有

Yano O., Ikeda H., Pendry C.A. and Rajbhandari K.R. (2015) Cytological studies on Cyperaceae in the Nepal Himalaya III. Chromosome counts of 18 species collected from Api Himal and adjacent areas, far western Nepal. *Journal of Japanese Botany* 90(4): 249-259. 査読有

Global *Carex* Group. (Waterway M.J., Ford K.A., Luceño M., Martín-Bravo S., Starr J.R., Wilson K.L., Yano O., Zhang S.R., Roalson E.H.他 28 名)(2015) Making *Carex* monophyletic (Cyperaceae, tribe Cariceae): a new broader circumscription. *Botanical Journal of the Linnean Society* 179(1): 1-42. DOI: 10.1111/boj.12298. 査読有

Jin X.-F., Ikeda H., Yano O., Chen W.-J. and Zhou Y.-Y. (2015) *Carex staintonii*, a new species of Cyperaceae from Nepal. *Journal of Japanese Botany* 90(2): 109-114. 査読有

矢野興一・池田 博・矢後勝也・金 孝鋒 (2015) アリサントマツリスゲ (カヤツリグサ科スゲ属) の虫こぶ。 *莎草研究* (19): 15-18. 査読有

Tanaka K., Yamawo A. and Yano O. (2015) Seed dispersal by ants in *Carex oxyandra* var. *oxyandra* (Cyperaceae) from Japan. *Journal of Japanese Botany* 90(2): 129-133. 査読有

Yano O., Katsuyama T., Ikeda H., Pendry

C.A. and Rajbhandari K.R. (2015) A new record of *Eleocharis uniglumis* (Link) Schult. (Cyperaceae) from Nepal. *Journal of Japanese Botany* 90(1): 58-60. 査読有

Yano O., Katsuyama T., Ikeda H., Watson M.F. and Rajbhandari K.R. (2014) Author citation for *Carex henryi* (Cyperaceae) revisited. *Journal of Japanese Botany* 89(4): 262-265. 査読有

Jin X.-F., Zhou Y.-Y., Hipp A., Jin S.-H., Oda J., Ikeda H., Yano O. and Nagamasu H. (2014) Nutlet micromorphology of *Carex* section *Rhomboidales* sensu Kükenthal (Cyperaceae) and its systematic implications. *Botanical Journal of the Linnean Society* 175(1): 123-143. DOI: 10.1111/boj.12149. 査読有

Yano O., Ikeda H., Jin X.-F. and Hoshino T. (2014) Phylogeny and chromosomal variations in East Asian *Carex*, *Siderostictae* group (Cyperaceae), based on DNA sequences and cytological data. *Journal of Plant Research* 127(1): 99-107. DOI: 10.1007/s10265-013-0578-y. 査読有

Yano O., Ikeda H., Pendry C.A. and Bhatta G.D. (2013) Insect pollination in Snow white sedge, *Cyperus niveus* Retz. (Cyperaceae), from Far West Nepal. *Journal of Japanese Botany* 88(2): 119-120. 査読有

矢野興一 (2013) スゲ属植物の系統進化・分類学的研究。小石川植物園後援会 ニュースレター (45): 2-5. 査読無

Yano O., Katsuyama T., Ikeda H., Watson M.F. and Rajbhandari K.R. (2013) Nomenclature and lectotypification of *Carex henryi* (Cyperaceae) with a new record from Nepal. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 63(3): 143-148. 査読有

[学会発表](計 4 件)

矢野興一・田村優希・西俣美咲・金 孝鋒・池田 博. 東アジア産スゲ属タガネソウ節の系統分類学的研究。日本植物分類学会第 15 回大会。富山 (2016 年 3 月 6 日)

矢野興一. 中国・雲南省産スゲ属 2 種の虫媒送粉について。第 61 回ヒマラヤ植物研究会。東京 (2014 年 12 月 20 日)

矢野興一. アジア産スゲ属植物の多様性とその進化。2014 年度日本植物分類学会講演会 (招待講演)。大阪 (2014 年 12 月 13 日)

Hoshino T., Yano O., Ikeda H. and Jin X.-F.
Phylogeny of East Asian primitive *Carex*
section *Siderostictae*, based on DNA
sequences and cytological data. 5th
International Conference on Comparative
Biology of Monocotyledons (招待講演).
New York (2013 年 7 月 11 日)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.big.ous.ac.jp/~yano/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

矢野 興一 (YANO Okihito)

岡山理科大学・生物地球学部・講師

研究者番号：60582757

(2)研究協力者

星野 卓二 (HOSHINO Takuji)

岡山理科大学・生物地球学部・教授

池田 博 (IKEDA Hiroshi)

東京大学・総合研究博物館・准教授

JIN Xiao-Feng

中国・杭州師範大学・教授