

スマレ科スマレ属の分類の再検討と葉の形態に関する研究

－ 形態的, 生物学的, 系統的種 の概念から ミヤマスマレ節の近縁関係, 進化傾向に迫る －



実施担当者 兵庫県立小野高等学校
教諭 藤原 正人

日本植物学会第86回大会 高校生企画 優秀賞

第46回兵庫県高等学校総合文化祭自然科学部門
最優秀賞 2023年度鹿児島総文出場予定

第20回高校生・高専生科学技術チャレンジ
(JSEC) 敢闘賞
令和4年度第7回はばたけ未来の吉岡彌生賞
優秀賞

1 動機及び目的

スマレ属の植物は形態的に大変似ており、特にミヤマスマレ節で顕著で、この節の詳細な研究は行われていない。私たちは代々スマレ属の研究を行ってきたが、今年度から視点を大きく変え、新たな研究方法も取り入れながら、この節の種同士の関係を明らかにすることにした。具体的には

- ・ コミヤマ, マルバスマレの節内での進化的傾向
- ・ 葉の形態が時期によって切れ込むように大きく変化するスマレらの関係
- ・ 人里に生育する大変よく似たスマレらの関係
- ・ 山間部の形態的によく似たスマレらの関係

など、この節の中でも特に似た形態をしている種に注目し、これらの種は遺伝的にまとまるのではないかと仮説を立てて研究を行った。

2 方法

現在、種 の概念は様々に定義されているが、今回の研究では「形態的種 の概念」「生物学的種 の概念」「進化学(系統学)的種 の概念」の3つを体系的に考慮し、分類の再検討を行った。成葉から5mm角の葉片を切り取り、CTAB法を用いてDNAを抽出した。PCR法で葉緑体 *matK* 領域, *trnL-F* 領域, 核 *ITS* 領域を増幅, 電気泳動で確認後, 精製した。精製物はDNA濃度を測定し, 濃度を調整, macrogen-Japanへシーケンス分析を依頼した。得られた結果は最尤法で解析し, 葉緑体DNAは *matK* 領域からハプロタイプネットワーク図と, *matK* 領域, *trnL-F* 領域を併せた系統樹(図1), 核DNAは *ITS* 領域の系統樹(図2)を作成した。また, 同じ節内では柱頭の先端の形状はほぼ同じとされているが, 再度観察を行った。新たな手法として, 果実期の成葉の, 葉の長さ, 幅, 葉の最大幅の位置等を測定して主成分分析を行い, 種ごとの違いを明瞭化し, 形態的観点から従来の分類を評価した。さらに, 文献から雑種の稔性等を調べた。

スミレの8種がただ一つのハプロタイプとなった。葉緑体 DNA の2領域での結果でも一つのグループに、核 DNA についてもブートストラップ値 100 でまとまっており、高い確率でこれらの種は限りなく同種に近い関係である。しかし、染色体数等を考慮すると全く同じ種であるとも言いきれない。よって、人里のスミレらは同じ種から分化したのではないかと考えている。

・山間部のスミレ

ハプロタイプネットワーク図を山間部のスミレらのみで作成すると、一つの種が幾つものハプロタイプをもっていたり、数種が一つのハプロタイプとなったりすることが分かった。また、シハイスミレ、マキノスミレ、フモトスミレ、ミヤマスミレ、ヒナスミレ等のスミレは、どちらの系統樹でもおおそ山間部に生育する種で大きくクレードを形成している。核 DNA では山間部のスミレ1と示した、主に深山に生育する種らと、山間部のスミレ2と示した、人里に生育する種らでクレードが分かれた。しかし、変異が多く、特に葉緑体 DNA の系統樹ではハプロタイプが多数みられるなど、種としてのまとまりは明確ではない。このことから、これらのスミレは頻繁に交雑して遺伝子を交換し、最近分化しつつあるグループではないかと考えている。

3-2 形態分析

柱頭の形態観察を行った結果、従来の形態的分類での通り、カマキリの頭のような扇状形をした準虫頭形～虫頭形、準突頭形～突頭形をしていた。しかし、それぞれの種で細長いものがあるなど、やや違いが見られた(図3)。

主成分分析については、ミヤマスミレ節の種全体を分析し、各種の形態の傾向を示した(図4)。累積寄与率はPC1とPC2で96.5%であり、グラフはデータの大部分を表していると言える。また、第一主成分得点は89.1%となり、主成分負荷量はL1が最も高いことから、葉の長さが最も区別の手掛かりとなることが分かった。しかし、全体的に曖昧な結果となり、グラフを見ると集合円が重なっているところも多く、葉の形態では明確に種が分けられていない。主成分分析によって、形態分類の困難さがより明らかになった。



図3 柱頭写真

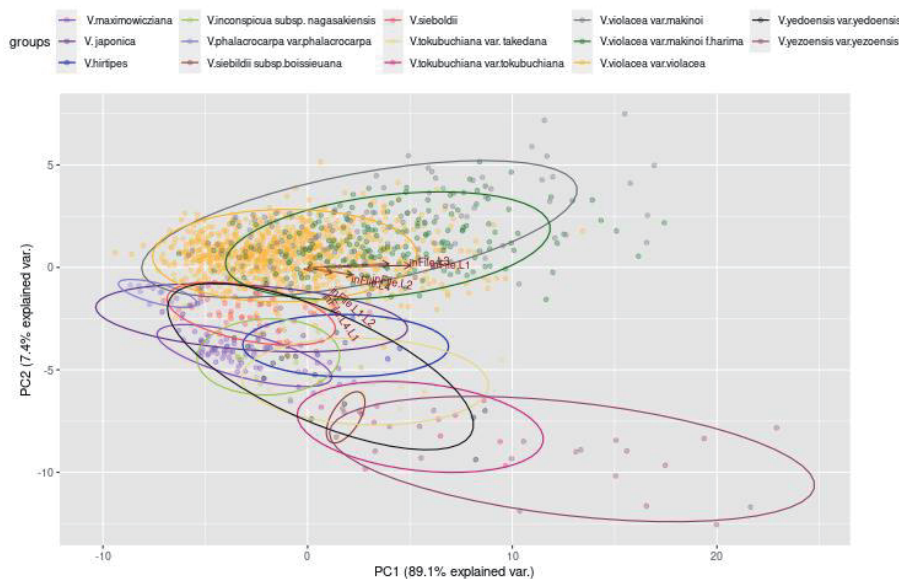


図4 葉の形態による主成分分析

3-3 雑種と稔性の統計的考察

ミヤマスミレ節内には63種の雑種が確認されている。その中には人工交配品もあるが、ほとんどの種で稔性は確認できていない。生殖的隔離があり、種としての安定が保たれているということである。しかし例外的なものもあり、例えばコスミレとアカネスミレとの間で稔性が確認されている。これらは、互いに形態的に大変似ており、生物学的観点からみればこれらの種は同種である。形態的に似た種間では生殖的隔離がなく別種として区別が出来なくなる可能性が高いと思われる。

4 まとめ

種の同定間違いなどが起こりやすいミヤマスミレ節であるが、今回行った系統解析、形態解析などを通して各種の近縁関係が明確化された。特に系統解析の結果については、非常に多いこの節内の種が形態や分布などの特徴によって大きく4つのグループに分けられた。このことによって、混沌としたミヤマスミレ節の分類がより簡素化でき、理解が容易になるのではないかと期待している。

5 展望

葉緑体DNA、核DNAも領域を増やして分析したい。よりたくさんサンプルを分析することによって、様々な類縁関係が明らかになってくると思われる。染色体数の観察等も進めていきたい。

さらに、本研究を通して同種であっても他と大きく違う遺伝的傾向を持つ種などもあることが明らかになりつつある。より詳細を調べ、貴重なものを明確にし、種の保護につなげていきたい。

謝辞

この研究は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の助成を受けて行われました。

また、

兵庫教育大学学校教育研究科 教授 笠原 恵 先生 助教 山本将也 先生
お茶の水女子大学基幹研究院自然科学系人間文化創成科学研究科 講師 岩崎貴也 先生
京都大学大学院人間・環境学研究所総合人間学部 教授 瀬戸口 先生 助教 阪口 先生
より御指導いただきました。

沖縄美ら島財団 総合研究センター 植物研究室 天野 様
環境省 新宿御苑管理事務所 温室第一課長 併任保護増殖専門官 関 様
国立博物館植物研究部 筑波実験植物園 国府方 様
咲くやこの花館 館長 久山 様

よりサンプルを提供いただきました。

この場を借りて、ご協力いただいた皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 大橋広好：“改訂新版日本の野生植物”巻3（平凡社）
- 2) Ki-Oug Yoo, Su-Kil JANG：“Infrageneric relationships of Korean Viola based on eight chloroplast markers”，（2010）.
- 3) 浜栄助：“原色日本のスミレ”（誠文堂新光社）
- 4) いがりまさし：“山溪ハンディ図鑑6 日本のスミレ”（山と溪谷社）
- 5) 「陸上植物のバーコーディング」<https://www.jboli.org/protocol/>