

葉緑体全ゲノム分析によるミヤマスマイレ節の種間関係の検討

西角風香 (兵庫県立小野高等学校 生物部スマイレ班)

はじめに

スマイレ属ミヤマスマイレ節内のスマイレは形態的によく似ており、分類が難しい。本校スマイレ班ではこの節を中心に、この節の実態と系統進化の解明を目的として、分布調査を行い、葉の形態を分析、葉緑体 DNA、核 DNA の分析を行ってきた。現在ではさらに葉緑体全ゲノムの分析、生態ニッチモデリングを取り入れ、研究を進めている。今回、現在までに明らかになった内容について報告したい。

方法

本校スマイレ班は約 10 年前からスマイレ属の分布調査、葉の形態、柱頭の形態について研究してきた。また、葉緑体 DNA の *matK*, *trnL-F* 領域、核 DNA の *ITS*, *ETS* 領域の分析を行ってきた。今回はさらに、以下の方法で進めた研究について報告する。

- ① ミヤマスマイレ節を中心に 65 個体約 30 種のスマイレ種について、全 DNA の抽出、次世代シーケンス解析を依頼、戻ってきた raw data を用いて葉緑体 DNA 全ゲノムの解析の行い系統樹を作成した。
- ② 10 年間の分布調査の結果と GBIF、サイエンスミュージアムネットの分布データをもとに、worldclim の過去の気象データを用いて、生態ニッチモデリングに取り組み、過去の生育適地の変遷を推定した。

結果と考察

葉緑体全ゲノム分析の結果から、以下に上げる点で新しい事柄が明らかになった。

- 1, ニンジン状に葉が切れ込む種とヒカゲスマイレ
葉が切れ込むヒゴスマイレ (*Viola chaerophylloides* var. *sieboldiana*)、エイザンスミレ (*V. eizanensis* var. *eizanensis*) と単葉のヒカゲスマイレ (*V. yezoensis* var. *yezoensis*) について、葉緑体全ゲノムの分析でも一つのクレードにまとまり、同じ祖先種から進化してきた種であると推定された。ニッチモデリングでもこれらの種は最終氷期最盛期、完新世中期、現在と分布適地がほぼ重なり、交雑を繰り返しながら分布を広げてきたと考えられる。
- 2, ツクシスマイレとマルバスマイレ、コミヤマスマイレ
先輩たちの研究で葉緑体 DNA の *matK*, *trnL-F* 領域ではミヤマスマイレ節のマルバスマイレ (*V. keiskei*) とコミヤマスマイレ (*V. maximowicziana*) はツクシスマイレ (*V. diffusa*, ツクシスマイレ節) と同じクレードにまとまった。今回、葉緑体全ゲノムでもこれら 3 種はまとまり、葉緑体に関してはマルバスマイレ、コミヤマスマイレはツクシスマイレとほぼ同じ葉緑体遺伝子を持っていることが確認できた。生態ニッチモデリングでの分析から最終氷期最盛期にこの 3 種は同じ場所に分布していたと考えられ、この時代に浸透性交雑が起こり、現在は分布が異なるがよく似た葉緑体ゲノムを持つと考えられる。なお、今回の分析では、アマミスミレ (*V. amamiana*) もこのクレードにまとまっており、過去に浸透性交雑を起こしたと考えられる。
- 3, ヒメミヤマスマイレ (*V. boissieuana* var. *boissieuana*) とトウカイスミレ
山田, いがり (2023) の論文で形態的にこの 2 種は異なり、トウカイスミレが新種 *V. tokaiensis* として発表された。今回、核 *ITS*, *ETS* 領域、葉緑体全ゲノム分析においても別種であることが証明された。
- 4, ゲンジスマイレ (*V. variegata* var. *nipponica*) と愛媛県に自生するイヨゲンジスマイレ、中国大陸に生育するフイリゲンジスマイレ (*V. variegata* var. *variegata*) は葉緑体全ゲノム分析では異なったクレードに位置し、別種の可能性が考えられる。現在、核 *ITS*, *ETS* 領域で分析中である。

5, 生育場所ごとにクレードにまとまる。

ミヤマスマレ節の各スマレ種は生育場所ごとにクレードにまとまった。生育場所が同じスマレ種は交雑を繰り返しながら分布を広げ、現在のスマレ種が進化してきたと考えられる。そのため、形態的にも大変よく似ていると思われる。

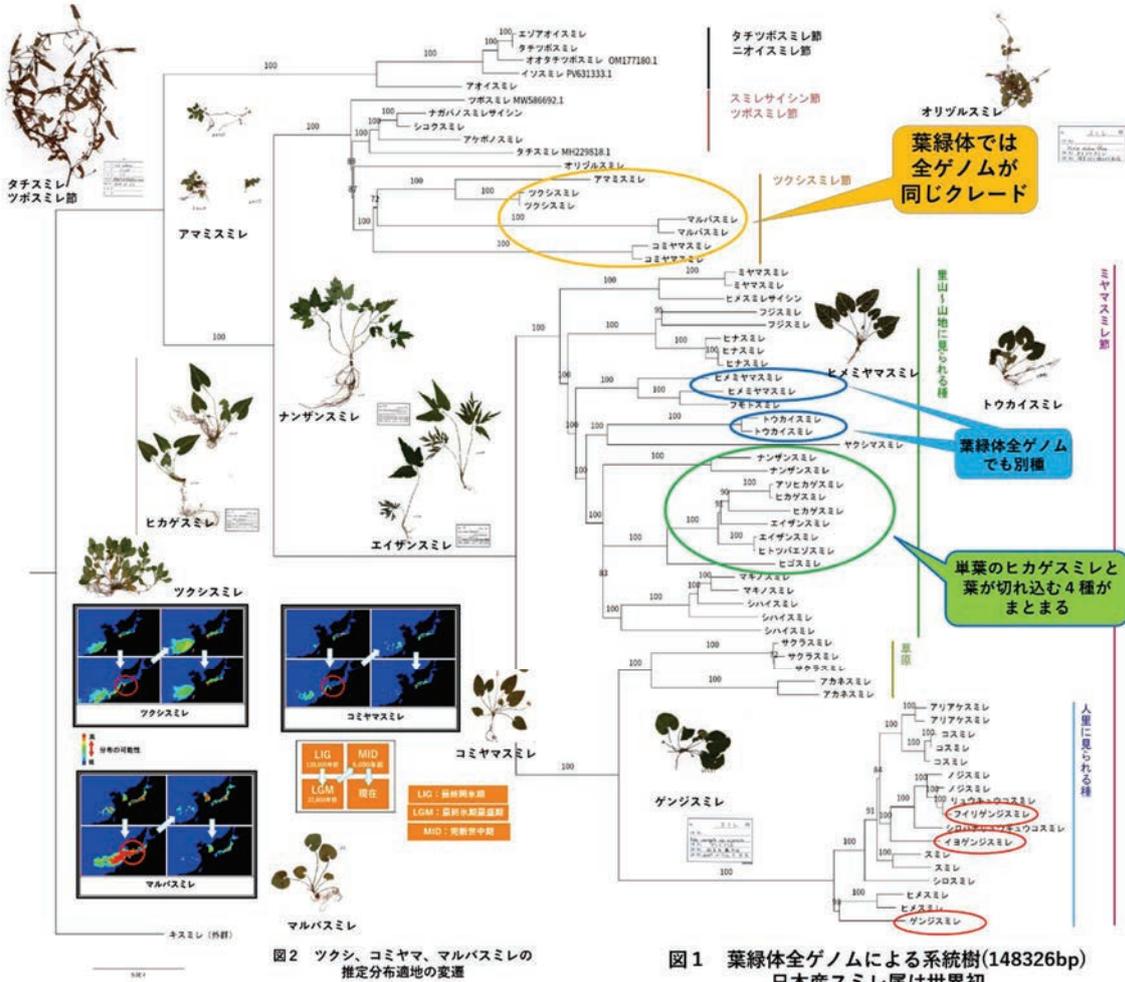


図2 ツクスミ, コミヤマ, マルバスマレの推定分布適地の変遷

図1 葉緑体全ゲノムによる系統樹(148326bp) 日本産スマレ属は世界初

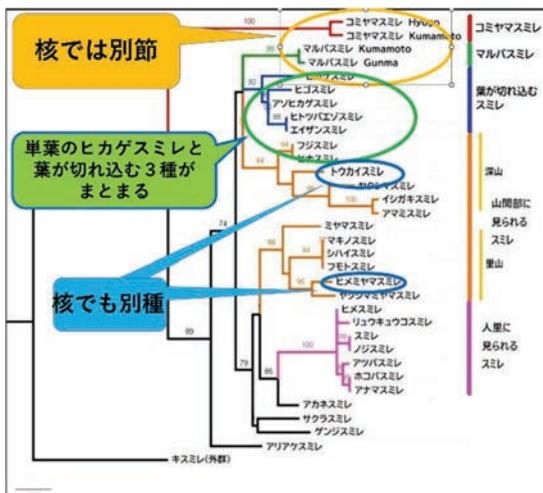


図3 核DNA ITS領域の系統樹(670bp)

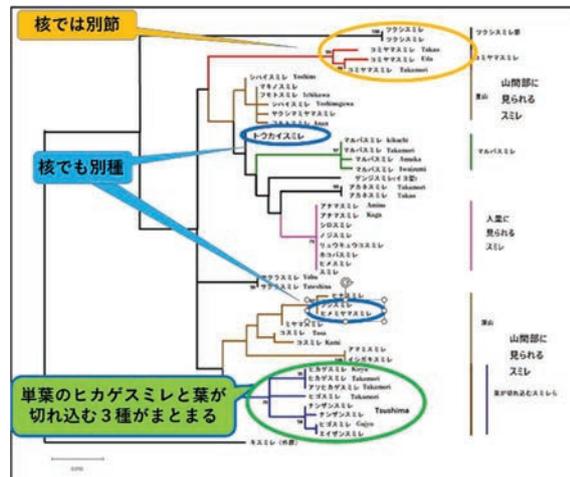


図4 核DNA ETS領域の系統樹(448bp)