

論文内容の要旨

論文題目 Phylogenetic analyses of Crassulaceae based on DNA sequences and the systematic status of *Hylotelephium* and allied genera.

(ベンケイソウ科植物の DNA 塩基配列を用いた分子系統解析、および *Hylotelephium* 属とその近縁属の分類学的再検討)

氏名 黛 新造

<序論>

ベンケイソウ科 (Crassulaceae) は、約 1500 種からなり (Berger, 1930)、被子植物の中では中位の大きさの科である。オーストラリアとポリネシアを除くほぼ全世界に分布しているが、温帯または亜熱帯の乾燥した地域で著しい多様性を示す。この科の最大の特徴として、乾生的な形態 (葉の多肉化、発達したクチクラなど) をもつことがあげられる。代表的な CAM 植物としても知られ、生理学的な見地から多くの研究がなされている。

ベンケイソウ科は、多くの特徴的な形態をもち、科としてのまとまりはよく、分子系統学的研究からもその単系統性は支持されている (Van Ham 1994, Mort et al. 2001)。しかし、科内の分類体系については、亜科、属などの分類階級の設定およびそれらが含む範囲について様々な見解が提唱されているが、いずれも定説とはいえない状況にある。最も広く使われてきたのは、ベンケイソウ科を 6 亜科に分け、33 属を認める Berger (1930) の体系であるが、これが採用される理由はその包括性と実用性によるもので、人為的であることは多くの研究者が指摘されており、大幅な見直しが迫られている (Van Ham 1994)。

Berger が設けた 6 亜科のなかで、特にマンネングサ亜科 (Sedoideae) は分類体系について見解が最も大きく分かれており、多くの研究者により様々な分類体系が提案され、議論がなされてきた。マンネングサ亜科で提唱された様々な分類体系は大きく 2 つに集約される。一方は Berger (1930) のようにマンネングサ亜科の中に多数の属 (*Sedum*、*Orostachys*、*Rosularia*、*Pseudosedum* など) を区別する見解であり、他方は Fröderström (1930-35) に代表されるようにマンネングサ亜科の大多数の種を *Sedum* 一属に

包含する見方である (Table1)。こうした分類学体系の妥当性の検証には、マンネングサ亜科に属する種の系統上の位置付けが明らかにされる必要がある。

Van Ham (1994) は、Berger による全 6 亜科にわたる 19 属 44 種について葉緑体 DNA の制限酵素サイトの多型を用いた系統解析をおこなった。この結果、*Rhodiola* (イワベンケイ属) や *Hylotelephium* (ベンケイソウ属) に分類される種が狭義の *Sedum* (マンネングサ属) と系統を異にし、ひとつのクレード (*Telephium* clade) を形成する結果が得られ、マンネングサ亜科の多系統性、すなわち Fröderström のいう広義の *Sedum* の多系統性が示唆された。この結果は、葉緑体 *trnL-F* 遺伝子間領域の解析 (tHart, 1994)、および、より多数の分類群を用いた葉緑体 *matK* 領域に基づく系統解析 (Mort et al., 2001) によっても、ほぼ同様の結果を得ている。

マンネングサ亜科に分類される種群は世界中に広く分布し、科の分布範囲とほぼ重なるが、特に東アジア地域で多様な種分化が見られ、東アジア地域が分化・分散の中心であるといえる。広義の *Sedum* から分離された分類群のほとんどがアジアに分布している。アジア産マンネングサ亜科の分類学的位置付けはマンネングサ亜科、ひいてはベンケイソウ科全体の分類学的再検討に欠かせない。しかしながら、これまでの分子系統解析では、アジア産の種は少数しか取り扱われておらず、そのためもありマンネングサ亜科の系統関係は未だほとんど不明な状態にあった。

よって本研究では、分子系統解析を用いてアジア産マンネングサ亜科の科内での系統学的位置を明らかにし、これまでの分類体系で重要視されてきた形態学的形質の系統発生について考察をおこなったうえで、属レベルでの分類体系の構築の基礎を築くことを目的とした。

<結果と考察>

1. マンネングサ亜科の系統学的位置付け

アジア産マンネングサ亜科のベンケイソウ科内での系統学的位置を明らかにするために、アジア産種を中心に 26 属 163 分類群 (種・亜種・変種を含む) をサンプリングし、葉緑体 *trnL-F* 遺伝子間領域および核 5.8S rRNA 遺伝子領域を含む ITS 領域を用いて系統解析を行った (Fig.1)。*trnL-F* 領域をもちいて科内でのおよその系統学的位置付けをしたうえで、ITS 領域を加えてさらに詳細な系統解析を行った (Fig.2,3)。その結果、以下のことが新たに明らかになった。

- ・ アジア産マンネングサ亜科は、① *Hylotelephium* (ベンケイソウ属)、*Orostachys* (イワレンゲ属)、*Meterostachys* (チャボツメレンゲ属)、*Sinocrassula* (テンジクイワレンゲ属) からなる系統 (*Hylotelephium* clade)、② *Phedimus* (キリンソウ属) 一属のみを含む系統 (*Phedimus* clade)、③ *Rhodiola* (イワベンケイ属)、*Pseudosedum* (マンネングサモドキ属) からなる系統 (*Rhodiola* clade)、④ *Rosularia* (トキワイワレンゲ属)、*Prometheum* (ヒイロイワベンケイ属) と少数の *Sedum* subg. *Sedum* (マンネングサ亜属) からなる系統 (*Leucosedum* clade)、および⑤エケベリア亜科を含む多数の *Sedum* subg. *Sedum* からなる系統 (*Acre* clade) の、5 つの大きな系統に位置付けられた。
- ・ *Telephium* clade に相当する①、②、および③の系統は、狭義の *Sedum* から遠い系統であることが示され、これらに含まれる分類群を *Sedum* から独立した分類群として扱うことが支持された。

- ・ アジア産種の網羅的な解析にもかかわらず、*Telephium* clade の単系統性は確認できなかった。

2. *Hylotelephium* とその近縁属間の系統解析

Hylotelephium clade には *Sedum* から分離された 4 属が含まれたが、このうち *Orostachys* が 3 つの系統に分かれ、それぞれが他の 3 属と単系統群をなし、既存のどの分類体系にも大きく反することが新たに明らかとなった。新たな分類体系を構築する必要性が示されたが、そのためには系統情報に不明瞭な部分があったので、これを補うために葉緑体 DNA の解析領域を広げ (*trnT-trnL* 5' exon-*trnL* 3' exon-*trnF* 領域)、核 ITS 領域とあわせて *Hylotelephium* clade 内のさらさらに詳細な系統解析を行った (Fig.4)。サンプリングについては、Eggl (2003) の体系にもとづき、属内分類群を可能な限り網羅した (Table 3)。

この解析の結果、*Hylotelephium* clade は次の 3 つのクレードに大別された。すなわち A) *Sinocrassula* と *Orostachys* sect. *Schoenlandia* を含むクレード、B) *Meterostachys* と *Orostachys* subsect. *Appendiculatae* を含むクレード、C) *Hylotelephium* と *Orostachys* subsect. *Orostachys* を含むクレードである。A) および B) のクレードは、既存の分類群がそれぞれ単系統群を形成し、その単系統性が強く支持された。しかし C) のクレードにおいては、*Orostachys* 亜節の単系統性は強く支持されたものの、*Hylotelephium* の単系統性については十分に確認できず、多系統群である可能性が残る。*Hylotelephium* 内には、いくつかの強く支持される系統群が認められたが、これまでのところそれぞれのグループを支持する形態学的特徴は認められない。

これまでの分類において重視されてきたロゼット葉、肉穂花序、子房の基部が離生するなどの形態は *Hylotelephium* clade 内で多数回、平行進化したことが推測され、これまでの分類体系のように、これらの形質のみで *Hylotelephium* clade 内に分類群を設けることは適切でないことが明らかになった。一方で、一輪生雄蕊は A) のクレードに限定的であり、このクレードを特徴づけている。また、B) と C) のクレードは葉の先の形態 (軟骨質状の突起の有無) により互いに区別でき、分類形質として有効といえる。これらの分類形質の組み合わせにより各クレードを互いに区別することができ、これらのクレードを分類群として新たな分類体系を構築することが可能である (Table 4)。

3. *Hylotelephium* clade 内における種子の表面構造と新たな分類体系

これまで用いられてきた分類形質を組み合わせることにより *Hylotelephium* clade 内の各クレードが特徴付けられるが、一般的に葉の先の形態は属レベルの分類群の表徴形質としては微細な形態であるといえる。現に A) 系統において多数回発生しており、分類形質として安定性にかける。新分類体系の構築にはより安定した形質による支持が必要である。

'tHart (1980)、Knapp (1994)、Gontcharova (1999) により、ベンケイソウ科内において種子の表面構造が属レベルでの指標形質としての有効であることが示唆されている。そこで、*Hylotelephium* clade に含まれる種群について種子表面構造の観察を SEM によりおこない、新分類体系の分類形質としての妥当性を検証した。その結果、*Hylotelephium* clade 内では縦溝型、不明瞭型、網目型、格子型の 4 つの型が認められ (Fig.5)、それぞれ A)、B)、および C) 内の 2 つの系統に特徴的であり、新分類体系の妥当性を支持する結果となった。

Table1. これまで提唱されてきた主なマンネングサ亜科内の分類体系

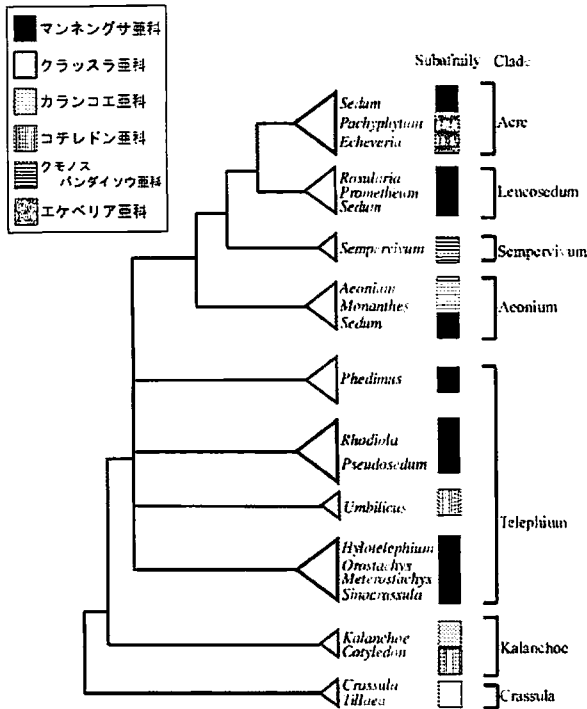
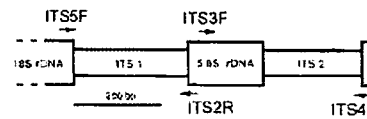
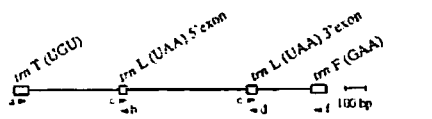
Berger (1930)	Fröderström (1930-35)	Borissova (1969)	Ohba (1978)	t'Hart (1982)	t'Hart (1995)
<i>Sedum</i>	<i>Sedum</i>	<i>Sedum</i>	<i>Sedum</i>	<i>Sedum</i>	<i>Sedum</i>
<i>Sinoerasula</i>	<i>Pseudosedum</i>	<i>Pseudosedum</i>	<i>Pseudosedum</i>	<i>Pseudosedum</i>	<i>Pseudosedum</i>
<i>Pseudosedum</i>		<i>Orostachys</i>	<i>Orostachys</i>	<i>Orostachys</i>	<i>Orostachys</i>
<i>Orostachys</i>		<i>Rosularia</i>	<i>Rosularia</i>	<i>Rosularia</i>	<i>Rosularia</i>
<i>Rosularia</i>		<i>Rhodiola</i>	<i>Rhodiola</i>	<i>Rhodiola</i>	<i>Rhodiola</i>
<i>Hypogophyllum</i>		<i>Clemensia</i>	<i>Sinoerasula</i>	<i>Hylotelephium</i>	<i>Hylotelephium</i>
<i>Sempervivella</i>			<i>Hylotelephium</i>	<i>Perrierosedum</i>	<i>Perrierosedum</i>
<i>Afrosivella</i>			<i>Perrierosedum</i>	<i>Promethium</i>	<i>Promethium</i>
<i>Monanthella</i>			<i>Meterostachys</i>	<i>Phedimus</i>	<i>Phedimus</i>
			<i>Promethium</i>		

Table2. 本研究で採用したマンネングサ亜科の分類体系 (Ohba1978, 2000) と各属の種数と主な分布域

属名	種数	主な分布
<i>Sedum</i>	c.470	N hemisphere, S America, N Africa
<i>Orostachys</i>	c.15	C-E Asia
<i>Hylotelephium</i>	c.30	N hemisphere
<i>Rhodiola</i>	c.60	Himalaya, Siberia, Europe, N America
<i>Phedimus</i>	c.20	Asia, Europe
<i>Sinoerasula</i>	c.5	Himalaya
<i>Meterostachys</i>	1	E Asia
<i>Pseudosedum</i>	c.10	C Asia
<i>Rosularia</i>	c.20	E Europe - Himalaya, Altai
<i>Promethium</i>	c.8	E Europe, Central Asia
<i>Perrierosedum</i>	1	Madagascar

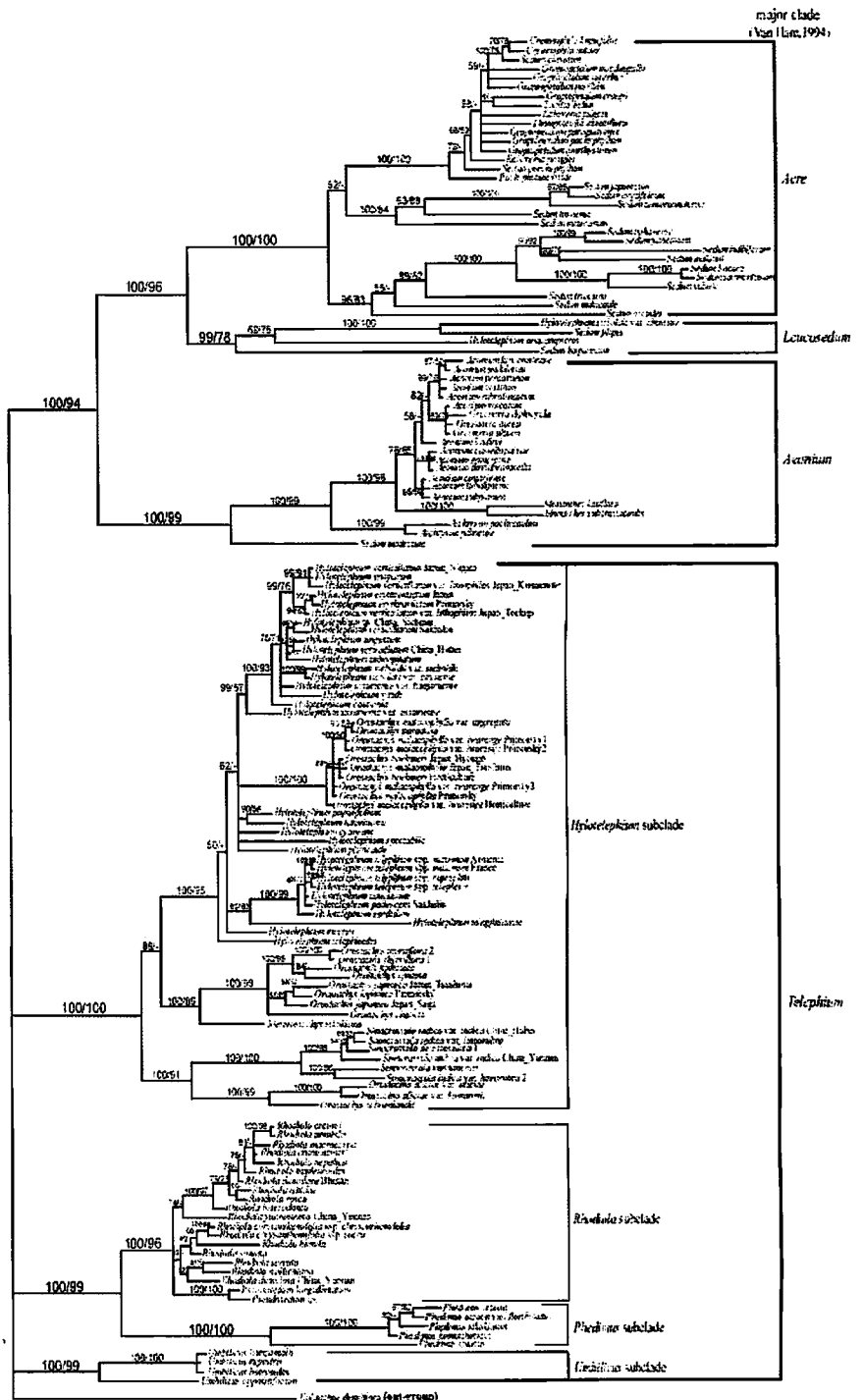
Fig.1 本研究で解析した遺伝子領域

葉緑体DNAについては、マンネングサ亜科の科内での系統解析では葉緑体*trnL3'exon*と*trnF*の遺伝子間領域を、*Hylotelephium* clade内の系統解析には*trnT*から*trnF*までの全領域を用いた。核DNAについては、両解析においてITS1、ITS2および5.8S rRNA遺伝子領域をもちいて解析を行った。



↑ Fig.2. ベンケイソウ科163分類群について葉緑体*trnL*遺伝子間領域を用いた系統解析の結果の略図

右にVan Ham(1994)で認められたクレードとの対応を示す。Van Ham(1994)、t'Hart(1994)、Mont et al.(2001)とほぼ同様の樹形となったが、Telephium cladeは4つのsubcladeに分かれ、その単系統性は再現されなかった。



→ Fig.3 *trnL*遺伝子間領域とITS領域の塩基配列を結合し、Bayes法に基づくMCMC解析によってえられた15000樹の50% majority consensus樹枝上の値の左はposterior probabilityを、右はMP法による1000回試行によるブートストラップ値を示す。Telephium cladeについては*Hylotelephium*などを含むクレード、*Rhodiola*と*Phedimus*を含むクレード、および*Umbilicus*からなるクレードの3つの系統に細別され、その単系統性は再現されなかった。

Table-3 *Hylotelephium*とその近縁属のサンプリング数

	Eggl (2003)による分類群数	解析数
<i>Hylotelephium</i>	26種2亜種5変種	22種2亜種4変種
<i>Orostachys</i>	12種1亜種3変種	10種3変種
<i>Meterostachys</i>	1種	1種
<i>Sinocrassula</i>	7種7変種	3種1変種



Hylotelephium sieboldii



Hylotelephium ussuriense var. *tsugaruense*



Orostachys malacophylla



Orostachys japonica
 (「日本の野生植物」より)



Meterostachys sikokiana



Sinocrassula yunnanensis



Orostachys schoenlandii

→Fig. 4 *Hylotelephium* clade内の系統関係
葉緑体 $trnT-trnL5'$ exon- $trnL3'$ exon- $trnF$ 領域遺
伝子間領域とITS領域の塩基配列(計 約1900bp)
を結合しBayes法に基づくMCMC解析によって得
られた15000樹の50% majority consensus樹。
枝上の値の左はposterior probabilityを、
右はMP法による1000回試行によるのブーツ
ストラップ値を示す。

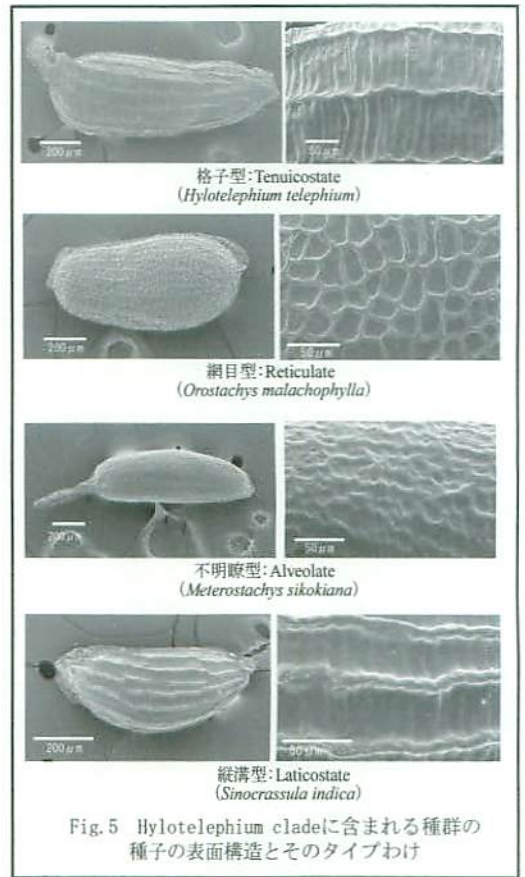
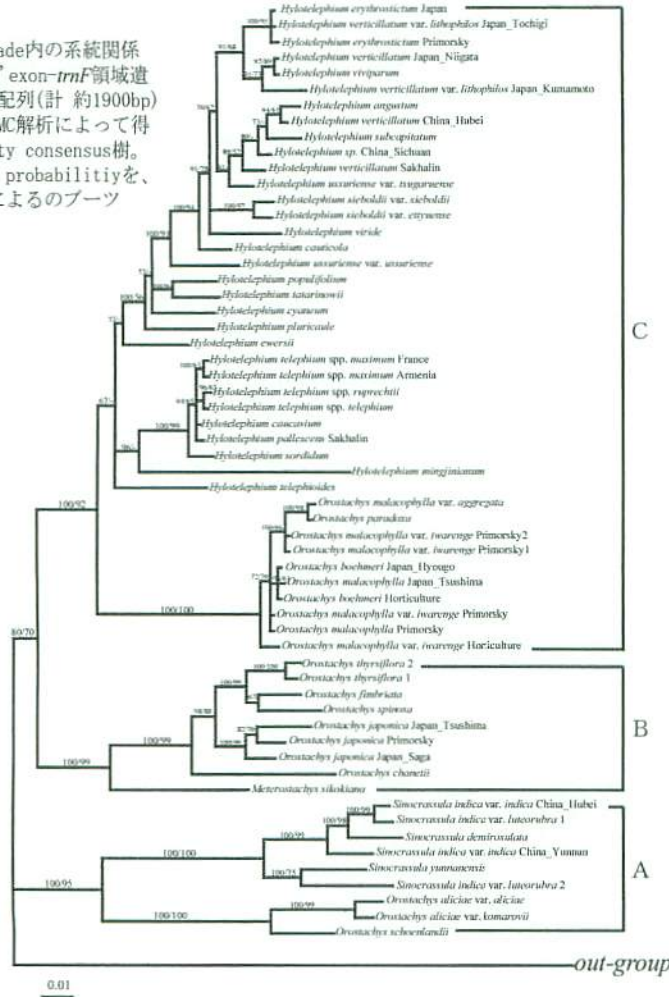


Fig. 5 *Hylotelephium* cladeに含まれる種群の
種子の表面構造とそのタイプ分け

Table. 4 これまで重要視されてきた分類形質と種子表面構造の派生状態、および提唱する新分類体系

	花序型	ロゼット葉	子房の基部	雄蕊の構成	葉先のツメ	種子の表面構造	新分類体系
<i>Hylotelephium</i>	散房花序	無	柄状に細まり 離生する	逆二輪雄蕊	無	格子型	<i>Hylotelephium</i>
<i>Orostachys</i> sect. <i>Orostachys</i> subsect. <i>Orostachys</i>	肉穂花序	有	柄状に細まり 離生する	逆二輪雄蕊	無	網目型	<i>Orostachys</i>
<i>Meterostachys</i>	散房花序	有	合着する	逆二輪雄蕊	有	不明瞭型	<i>Meterostachys</i>
<i>Orostachys</i> sect. <i>Orostachys</i> subsect. <i>Appendiculatae</i>	肉穂花序	有	柄状に細まり 離生する	逆二輪雄蕊	有	不明瞭型	<i>Acanthorostachys</i> genus nova
<i>Sinocrassula</i>	散房花序	有	合着する	一輪雄蕊	無	縦溝型	<i>Sinocrassula</i>
<i>Orostachys</i> sect. <i>Schoenlandia</i>	散房または 穂状花序	有	柄状に細まり 合着する	一輪雄蕊	有または無	縦溝型	<i>Kungia</i>