

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23570112

研究課題名(和文) タチツボスミレ類における「種」の存在様式の解析

研究課題名(英文) Species concept in *Viola grypoceras* and its allies

研究代表者

植田 邦彦(Ueda, Kunihiko)

金沢大学・自然システム学系・教授

研究者番号：60184925

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000 円

研究成果の概要(和文)： タチツボスミレ類は日本で著しく分化したスミレ属の種群であるが、その範疇に諸説があった。本研究の目的はタチツボスミレ類における種同定の困難さの原因解明にあるが、まずは対象種を限定して比較検討するためその範疇の解明を試みた。従来本種群とする見解もある北米とヨーロッパの種を採取し、また、本邦産のエゾノタチツボスミレなど本種群の候補種を可能な限り集め、狭義の本種群とともに系統解析を行った。これらから、外見が極めて類似する「北米産ナガハシスミレ」は本邦産ナガハシスミレと大きく異なり、その他の北米、ヨーロッパ産の種群とともにすべてエゾノタチツボスミレ類に分類されるべきことが判明した。

研究成果の概要(英文)： *Viola grypoceras* and its allies are highly speciated group in Japanese archipelago. To elucidate their species concept, firstly, we tried to clarify the designation of true *V. grypoceras* species group and the putative closely related *V. acuminata* group.

Viola rostrata was considered to be distributed in both Japan and eastern N. America. Based on SSR analyses, we concluded that Japanese *V. rostrata sensu auct* is distinctly distinctive species and rather far from N American true *V. rostrata*. The other *Viola* species, which are classified into so-called *V. grypoceras* group, occurring in Europe and N America, should also be classified into *V. acuminata* group.

研究分野：植物系統分類学

キーワード：スミレ属 タチツボスミレ類 ナガハシスミレ 系統解析 植物地理 種分化 閉鎖花 開放花

1. 研究開始当初の背景

誰もが知る芭蕉の有名な句、「山路きてなにやらゆかし すみれ草」。すみれとあるので、スミレ属の何らかの種を特定せずに指すとも、また種としてのスミレと解する人もいるようだが、スミレは一般に人里のあぜ道のようなかなり人臭い環境の植物である。山路をたどってふと目に入った疲れを癒す植物がスミレとは考えにくく、これは山地にも普遍的に分布し、国内で最も普通なスミレ属の種であるタチツボスミレと解す説が正しいと思われる。

タチツボスミレ類は スミレ属植物の一群で、日本列島において大きく分化している種群である。特徴として、いわゆる有茎であることが挙げられる。

一般には、タチツボスミレ(ヒチトウスミレ、コタチツボスミレ、ケイリュウタチツボスミレの変種が知られる)、ツルタチツボスミレ(所属に諸説)、山陰型タチツボスミレ(未記載種)、テリハタチツボスミレ、オオタチツボスミレ、ナガバナタチツボスミレ、ニオイタチツボスミレ、イソスミレ、ナガハシスミレ(品種ミヤマナガハシスミレ)、アワガタケスミレが狭義のタチツボスミレ類として認識されている。

また、エゾノタチツボスミレ、アイヌタチツボスミレ、シマジリスミレ(未記載種)がごく近縁な種群とされており、全体として広義のタチツボスミレ類と認識されることが多い。また、その直近の外群としては、タデスミレとイブキスミレが挙げられることが多い。

スミレ属の系統解析は世界的に遅れているのが現状である。一言で言えば、分類群をまとめる形質が本当に意味のあるものかどうかの検討が遅れている。一方で、本属での分子系統学的解析はある程度以上の分類群ランクでは成功しているものの、下位ランクの範疇の確定や、種レベルの種間関係の解析では成果があがっていないと言わざるを得ない。一方、欧米で検討されてきた体系では日本のタチツボスミレ類の認識が非常に曖昧であり、せいぜい後述する北米産ナガハシスミレと同じものが日本にもあるという程度の立脚点から全てを語ってきた。また、日本ではスミレ属の研究はかなり広範に熱心に行われてきたが、国産のもの種レベルの認識に重点が置かれ、体系への言及は非常に少なく、またあっても欧米の種の検討がほとんどなされず、本邦産だけの議論で終わっているのが大半のものの現状であった。

本邦産の狭義のタチツボスミレ類の範疇には異論はそれほど無いが、海外のものが狭義の本種群に相当するのかどうかは検討すらほとんど行われていない。すなわち、広義のタチツボスミレ類のもう一方、エゾノタチツボスミレ類に分類されるべきものなのか、狭義のものに分類すべきなのか、についての定説はなく、また、そもそも広義の本

種群が存在するのか？また、存在しても欧米のものとエゾノタチツボスミレ類が同じとして扱ってよいものなのかどうかの研究すらほとんど無い。唯一の例外が北米産の「ナガハシスミレ」で、本邦産とまったく同一とする見解もあるほどで、多くの場合は変種関係として理解されており、したがって狭義の本種群に当然分類されることになる。

一方、同定が困難として一般に認識されているスミレ属植物のなかでも、タチツボスミレ類は特に同定が困難な一群である。環境によって形態がかなり変異に富むことが第一の要因であり、一見しただけでは同定出来ないことがよくある。加えて、雑種の多さが要因として挙げられる。タチツボスミレ類は基本的に繁殖は閉鎖花由来の果実からとされ、開放花はあまり結実しないのであるが、にもかかわらず多数の推定雑種個体が存在する。これらの推定雑種は基本的に花粉稔性が著しく悪く、推定はまず間違いのないところである。

そもそも、花は子孫を作るための生殖器官であり、春先に野でも山でもその花が咲き誇る様子を数多く見かけ、植物愛好家でなくてもその存在をよく知っているほどのスミレ属植物の花(この場合、視覚的な意味での花であり、すなわち開放花を指している)が基本的に繁殖にごくわずかな貢献していないこと自体が驚くべきことである。閉鎖花でほとんどの子孫を作っているのであれば、開放花の存在意義はなんなのであろうか。さらには、それにもかかわらず種の独立と存続に多大な悪影響を与える雑種が数多く存在しているのは、理解不能な状況である。

これらの状況はこの種群の種の意味について根源的な疑問を投げかけている。

2. 研究の目的

種の存在様式を解明する。

そのための第一義的な解析として、タチツボスミレ類における開放花の役割を評価し、一方で多数見かける雑種個体が存在する過程を探る。

本種群は、基本的には同定は本来は容易である。典型的なものを把握し、環境による変異を環境把握しながら除去していけば、十分に可能である。しかしながら慣れない場合や初めて訪れた地方などでは、実際には浸透性交雑由来の個体などによる境界線が不分明であることや、春季と夏季における葉形の相対に大きい差異、および日当たりや立地の斜度、水分条件、他種による被覆、などによる形態変化、などが合わさって同定を困難にしていると思われ、実際に体験しているところである。これらの要因を客観的に取り除く方法を考察する。

これらの一連の研究の基礎として、まず、タチツボスミレ類の範疇の確定を行い、同時に種間の系統関係を解明することが肝要で

ある。当面はこの解明に全力を注ぎ、タチツボスミレ類がどういう植物群出会えるかを把握し、そのうえで、種のありようを考える。

3. 研究の方法

スミレ属はその花の華麗さから愛好家が大変多く、そのためか、スミレ属全体の研究成果は論文ではなく、多くの著作として発表されてきた経緯がある。著作ではその性質上、標本の詳細な引用などがなく、微細な部分の再検討が困難である。したがって、タチツボスミレ類を再検討するにあたっては、一から標本庫で標本をすべて見直し、同定からやり直し、その結果としてまずは分布域や、生育環境の把握、そして開花期を把握して現地調査の資料とする必要があった。

そこで、京都大学と東京大学の各標本館では数日に渡って徹底的に全標本を検討した。また、幾つかの重要な標本の検討が必要であったため、千葉県立中央博物館の標本庫にも半日検討のため、赴いた。これらの調査により、ようやく国内での実際のタチツボスミレ類の有り様の出発点の情報が得られた。

次に分子レベルでの情報と、繁殖行動の解析を行った。

先ず行うべきはタチツボスミレ類の範疇を定めることで、これができる初めてタチツボスミレ類での種を語ることができることになる。そこで、最大の懸案で、従来はほとんど手をつけられていなかった、欧米の本種群関連種を検討した。日本産種は科研費申請以前の通常の研究過程で狭義のタチツボスミレ類はすべてを、関連種群ではエゾノタチツボスミレとタデスミレとは、不十分なものの、入手済みであった。

最初に検討すべきは、欧米の本種群関連種問題に極めて大きい影響を与えてきた、北米産の「ナガハシスミレ」の解析である。このため、北米産で従来本種群に関係すると言われてきた数種と北米産「ナガハシスミレ」とを同時に採取可能な地域で、かつ、煩雑な採取許可が不要な場所を検討し、カナダで採取することとした。現在日本のスミレ学を牽引している、プロの植物写真家であり、スミレについての最も信頼できる冊子を出版している、いがりまさし氏にご同行いただいた。さて、国立公園は当然としてその他の保全地域などの網がいっさいかかっていない場所を検討し、また、現地の植物に詳しい方にご案内いただいて、幸い、3種と北米産「ナガハシスミレ」とを採取することができた。

次にヨーロッパ産数種を得ることを試みた。これも同様に、いっさい採取許可のいらぬ場所での調査を考え、普通に山野の道端で問題なく調査できる場所を探し、スウェーデンが好適であるとの結論となった。スウェーデン中部、南部の各地の郊外を探索し、数種を得ることに成功した。

次にエゾノタチツボスミレ類である。これが最大の問題で、この類がタチツボスミレ類

に完全に内包されるのか、近接するのかで根本的に種群の認識が変わってくるし、また、本研究の最終的な目的での解析対象が決まることになる

先ず最初に手がけたのは、研究協力者の協力が得られるタイミングの問題もあり、オキナワスミレと「シマジリスミレ」とである。これらは沖縄本島の中中部と南端との、極めて限られた地域の隆起琉球石灰岩上からのみ知られているもので、前者はある程度情報があるが、後者はほとんど無い上に未記載種である。生育環境がまったく同じ上に、一見した外観はすべて非常に似通っている。ただし、一点、従来のスミレ属の分類において重視されていた形質の一つである、柱頭の形態がかなり違ふとされ、それによって前者はウラボスミレ類、後者はエゾノタチツボスミレ類とする見解があった。しかし、重ねていうが、両者は特殊な生育環境も柱頭以外の外観も極めてよく似ている。これらの採取は一般にはまったく知られていない生育場所のため、いがり氏の同行を仰いだ。なお、オキナワスミレは沖縄県の保全地域の中にのみ生育するため、採取許可を正規に取得しての採取である。これらは両種ともに無事に採取することができた。一方で、以前からエゾノタチツボスミレと同列に扱われてきたアイヌタチツボスミレ（品種のアポイタチツボスミレを含む）は本州では実質的に採取できず、北海道でも道北の特定の場所ではしか容易には採取できないため、これも研究協力者のいがりまさし氏の同行をあおいで採取した。アイヌタチツボスミレを問題なく採取できるのは北海道大学の演習林が最適とのことであったため、採取許可を取得した上で、入林し、これも採取に成功した。また、その手塩演習林近く的一般林で、本州日本海側での分布がほとんどであるナガハシスミレが著しい隔離分布していることがいがり氏から知らされたため、その場所も探索し、無事にこの著しい隔離分布のナガハシスミレも入手することができた。

これらの材料を、DNA 配列の比較による分子系統樹作成と、マイクロサテライトマーカーによる類縁度の解析とを行い、検討することとした。

なお両者ともすでに従来ある程度の試行をしており、十分な経験を積んでいたが、問題は前者で、従来の解析では狭義のタチツボスミレ類では差異がほぼ無いに等しく、系統解析は実質上、無理であった。後者ではかなりの程度の解像度で解析が可能であった。

今回得られた種を新たな OUT として用い、全体を再度洗い直し、再試行を試みた。

種の存在様式そのものを探る直接的な解析は、やはり開放花と閉鎖花との繁殖絵の貢献度を丁寧に詳しく見るのが第一歩であろう。そこで、とにかくマーキングをして徹底的にはりついて観察する方法をまずとった。なお、これまでに、単純な雑種の場合は

花粉稔性が著しく落ちるため、外観で判断した推定雑種個体の花粉を調べる方法で、雑種個体を規定した。また、花だけでなく、成熟した果実においても開放花由来か閉鎖花由来かを確認できる特徴をつかんだため、かなりのデータが集積できた。

4. 研究成果

日本で繁栄を誇っているタチツボスミレ類が日本固有もしくはアジアの一部にわずかに分布するだけの準固有なのか、ヨーロッパや北米にも分布するという説が正しいのかは、タチツボスミレ類を理解する上で、極めて重要な基本的事項である。

古くからの問題点の一つは、タチツボスミレ類は日本に順固有な分類群と考えざるを得ないほど日本列島で分化しており、欧米のものは狭義のタチツボスミレ類とは異なるという仮説が有力であったが、最大の決定的な弱点は日本のナガハスミレが、北米のナガハスミレと全く同一分類群、もしくはせいぜい変種関係にあるという「事実」であった。この前提に立つ限り、日本列島に順固有ではなく、遠く太平洋をはさんで隔離分布していることになり、そもそものタチツボスミレ類の系統的位置の議論にも大きい影響を与えてきた。しかしながらこれほどの問題点でありながら、研究は行われてきていなかった。今回の申請研究で第一に行ったのがこの問題の解明であった。カナダでの調査で入念な事前調査と研究協力者のいがりまさし氏、ならびに現地の植物愛好家の竹田忠司氏のお世話で無事に開花期に現地を訪れ、押葉標本では観察できない生の花の詳細を観察することができた。確かに酷似した外形であるが、距の形態などから慣れれば区別は明確である。また生育環境が大きく違うこともわかった。さらには帰国後解析した結果、分子系統樹上も SSR 領域の解析からも、両者は明らかに異なる互いに独立した分類群であり、全くの別種であり、狭義のタチツボスミレ類ではなく、エゾノタチツボスミレ類に分類されるべきであることが判明した。

すなわち、他人の空似だったのである。結果、タチツボスミレ類を考察するときの問題点の重みが決定的に低くなった。なお、これにより、日本のナガハスミレを新独立種記載する必要が生じた。

最重要課題である、狭義のタチツボスミレ類の範疇の確定問題について述べる。このことが確定しない限り、先に進めない。

結論から述べると、狭義のタチツボスミレ類とエゾノタチツボスミレ類とははっきりと区別された。

次に、北米産ナガハスミレを除いた他の欧米産の結果は、すべてが狭義のタチツボスミレ類ではなく、エゾノタチツボスミレ類の系統群に入るべきであることが、分子系統樹からも支持され、SSR 解析ではかなり明らかに明示された。

したがって、長年の懸案であったタチツボスミレ類の問題は次のように整理された。

狭義のタチツボスミレ類は、日本およびわずかにアジア近隣地域に分布するだけであり、日本で爆発的に分化した固有もしくは順固有の系統群である。ここに、固有と言ったのは、日本で分化した後に分布を拡大して近隣地域に現在足を伸ばしていると考えた場合を指している。もともと東アジアに分布していて、日本列島でのみ著しく分化したとの結果が得られれば、準固有ということになる。今回はそのことに結論を出すまでの解析はできなかった。

分子系統学的な改正からもこの結論はある程度支持された。本申請研究に至る予備的な解析では、エゾノタチツボスミレ類を含む広義のタチツボスミレ類では、普遍的に種レベルの系統解析に用いられている DNA 塩基配列解析に基づく分子系統樹では解像度があまりに悪く、ほとんど系統解析ができないほどであった。そこで、今回はこれまでのデータも合わせ、徹底的に配列解析結果を見直し、丁寧にアラインメントも行い、外群も増やすなどして解析を行ったが、なお、大きい改善は見られなかった。しかしながら、イブキスミレとタデスミレとを外群にすることにより、少なくともタチツボスミレ類とエゾノタチツボスミレ類とが混じり合うことが無いことは確からしい結果となった。

これらを併せると、北米産ナガハスミレを含めても欧米にはエゾノタチツボスミレ類しか分布せず、狭義のタチツボスミレ類は東アジア、特に日本に限定された種群であることが確定された。

その他、幾つかの懸案事項を綺麗に解決した。

まずは長年の論争に決着をつける結果となった、ツルタチツボスミレである。本種は一見するとなよなよしたタチツボスミレが這っている様子であり、名前にそれが反映されており、タチツボスミレの変種として扱われることが多い。一方で花の形態などや、日本海側の山地上部にのみ見られることなどから、テリハタチツボスミレの変種とする考え方も根強い。今回の我々の解析からは、両者とはいずれも直接の関係はなく、新独立種として記載予定の「山陰型タチツボスミレ」から派生した独立種であるとの結論が得られた。さらに、どちらかといえば、エゾノタチツボスミレ類に入る結果となったが、詳細はさらなる解析が必要である。

次は、未記載種シマジリスミレと、稀産種オキナワスミレの位置付けである。既述のように、オキナワスミレは柱頭の形態などからウラジロスミレ類とされることが多く、一方でシマジリスミレはその外見も局限された生育環境からもまったくオキナワスミレそのもののように見えるが、柱頭の形態などからエゾノタチツボスミレ類とされることが

あった。両者が異なる分類群であることがはっきりした場合にはシマジリスミレを正規に記載せねばならないし、いずれにせよ、系統上の位置を明らかにする必要があった。今回の SSR の解析から、両者は同一分類群と言ってよいと結論された。柱頭の形態はある程度の変異があり、極端なものを従来は比較していた可能性があり、それ以外の点では酷似している見かけ通りの結果となった。また、系統的位置は明らかにエゾノタチツボスミレ類に入った。

まだ明確にしきれていない細かい問題は残ったものの、基本的な系統関係は解明され、初期の目的は達成された。

開放花と閉鎖花の問題はかなり課題が残ったままであったが、対象群が明確に絞れたので、今後の解析に目処がついたと考えている。

カナダ、沖縄本島ならびに北海道道北での調査に同行してくださり、研究協力者の立場で、これまでに培って来られた膨大な知識を惜しみなく提供してくださった、植物写真家でありスミレ属研究者であるいがりまさし（猪狩雅史）氏に深甚なる謝意を表する次第です。またカナダでは現地の植物愛好家竹田忠司氏には大変なお世話になりました。

貴重な稀産種オキナワスミレの採取許可をくださった恩納村ならびに沖縄県、また北海道大学天塩研究林では採取許可をいただいただけでなく、ヒグマの危険回避などのために職員の方が自生地に同行くださり、多大なお世話になりました。また、京都大学、東京大学および千葉県立中央博物館では長期に渡る標本調査を許可いただき、便宜を諮っていただきました。

これらの方々と機関に心よりお礼申し上げます。

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 0 件）

〔学会発表〕（計 5 件）

1) 須藤真由, 須山知香, 猪狩雅史, 植田邦彦 (2015Mar06) SSRs 解析でタチツボスミレ節とその関連種の系統関係を考察する 日本植物分類学会第 14 回大会（福島県福島市）

2) 山田龍之介, 須山知香, 猪狩雅史, 中川愛梨, 日比野恵子, 植田邦彦 (2015Mar06) タチツボスミレ類の分子系統学的解析 日本植物分類学会第 14 回大会（福島県福島市）

3) 日比野恵子, 猪狩雅史, 須山知香, 植田邦彦 (2014Mar21) タチツボスミレ類の分子系統学的解析 日本植物分類学会第 13 回大会（熊本県熊本市）

4) 須山知香, 中川愛梨, 猪狩雅史, 植田邦彦 (2013Mar15) ナガハシスミレの分類学的再検討 日本植物分類学会第 12 回大会（千葉県千葉市）

5) 須山知香, 中川愛梨, 猪狩雅史, 植田邦彦 (2012Sept16) タチツボスミレ類の分類学的再検討 4. 日本と北米大陸東部のナガハシスミレは同種か? 日本植物学会第 76 回大会（兵庫県姫路市）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植田 邦彦 (UEDA, Kunihiko)

金沢大学・自然システム学系・教授

研究者番号：60184925

(2) 研究分担者

須山 知香 (SUYAMA, Chika)

岐阜大学・教育学部・准教授

研究者番号：40464044