

コケ植物における配偶体の形態的分類は 分子データによってどの様に裏づけられるか？

(課題番号 10640683)

平成10年度～12年度科学研究費補助金 (基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 山口 富美夫

(広島大学大学院理学研究科助教授)

コケ植物における配偶体の形態的分類は
分子データによってどの様に裏づけられるか？

(課題番号 10640683)

平成10年度～平成12年度科学研究費補助金 (基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 山口 富美夫

(広島大学大学院理学研究科助教授)

はしがき

コケ植物は生活の主体が半数体である配偶体からなり、陸上植物の中でも特異なグループである。そして、種レベルでの分類に際しても配偶体の形質を重視するという他の陸上植物とは全く異なった分類学的研究が行われてきた。

例えば、シラガゴケ属蘚類の配偶体の葉は、葉緑体をもつ通常の葉緑細胞と原形質を失った透明細胞からなる非常に特殊な構造をもつ。そのため、孢子体レベルでは近縁のシッポゴケ科 (Dicranaceae) と区別できないにもかかわらず、同様な葉の構造をもつ数属とともに独立したシラガゴケ科 (Leucobryaceae) として分類されている。Yamaguchi (1993) は本属の配偶体の形態を詳細に研究して分類学的再検討を行い、とくに生殖器官の形成位置に着目して、アジア産のものについて過去に記載された78タクサを19タクサにまとめた。しかし、形態的に分類されたタクソンが果たして遺伝的にどの程度分化しているのか、さらには系統的にはどのように位置付けられるのかは未解決である。

そこで、本研究は、分類学的に研究のすすんだシラガゴケ属蘚類のうち日本産の7種を主な材料とし、近年確立された分子系統解析やアロザイム多型解析の技術を用いて、配偶体の形態による分類および分類体系を分子レベルで再検討することを目標としている。合わせて、これまでに集団遺伝学的な研究がすすんでいるゼニゴケ目苔類、シラガゴケ属と同様に配偶体の形態変異が著しいハイゴケ目蘚類を材料とした。

本研究によって、形態的に多型で種としての独立性に疑問が残されていたシラガゴケ属蘚類2種について、形態の統計学的、集団遺伝学および分子系統学的解析結果から同一の種群とすべきであるとの結論を得た。その他、ゼニゴケ目苔類における同胞種の存在と遺伝的分化、ハイゴケ目の系統に関する新知見を得るなど、いくつかの顕著な成果を得た。

平成 13(2001)年 3 月 25 日

研究代表者 山口 富美夫

平成10年度～平成12年度科学研究費補助金基盤研究 (C) (2)

研究成果報告書

(1) 研究課題

コケ植物における配偶体の形態的分類は分子データによってどの様に裏づけられるか？

(2) 課題番号

10640683

(3) 研究代表者

山口 富美夫 広島大学大学院理学研究科助教授

(5) 研究協力者

坪田 博美	広島大学大学院理学研究科助手
井藤賀 操	広島大学大学院理学研究科大学院生
東 未佳	広島大学教育学部学生
松岡 達也	広島大学理学部学生
別宮 香織	広島大学理学部学生

(4) 研究経費

平成10年度	1,200千円
平成11年度	500千円
平成12年度	500千円
計	2,200千円

(5) 研究発表

ア. 学会誌等

1. Tsubota, H., N. Nakao, T. Arikawa, T. Yamaguchi, M. Higuchi, H. Deguchi & T. Seki. 1999. A preliminary phylogeny of Hypnales (Musci) as inferred from chloroplast *rbcL* sequence data. *Bryological Research* 7(8): 233-248.
2. Itouga, M., T. Yamaguchi, K. Kondo, D.-Y. Hong, S.-L. Zhou, T. Funamoto & H. Deguchi. 1999. Genetic differentiation within sibling species of *Conocephalum conicum* (Marchantiales: Hepaticae) in East Asia. *Bryological Research* 7(8): 249-256.
3. Itouga, M., T. Yamaguchi & H. Deguchi, 1999. Allozyme variability within and among populations in the liverwort *Conocephalum japonicum* (Marchantiales, Hepaticae). *Hikobia* 13(1): 89-96.
4. 磯野裕美・秋山弘之・山口富美夫. 1999. 九州及び琉球産ジャゴケ *Conocephalum conicum* (苔類, ジャゴケ科)における集団内・集団間の遺伝的変異性に関する研究. *Hikobia* 13(1): 97-112.

5. Tsubota, H., Nakao, N., Yamaguchi, T., Seki, T. & Deguchi, H. 2000. Preliminary phylogenetic relationships of the genus *Brotherella* and its allied genera (Hypnales, Musci) based on chloroplast *rbcL* sequence data. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 88: 79-99.
6. Itouga, M., Yamaguchi, T. & Deguchi, H. 2000. Genetic structure of *Lunularia cruciata* (Marchantiales, Hepaticae). *Hikobia* 13(2): 219-224.

イ. 口頭発表等

1. 井藤賀操・秋山弘之・山口富美夫・出口博則. 1999. 東アジアにおけるジャゴケ同胞種内の遺伝的分化. 日本植物分類学会第29回大会. 東京.
2. 中尾成身・坪田博美・山口富美夫・関太郎・出口博則・中野武登. 1999. *rbcL*遺伝子を用いた*Brotherella*(蘚類)の分子系統学的位置. 日本植物学会中国四国支部第56回大会. 高知.
3. Yamaguchi, T. & M. Higuchi. 1999. Distribution and speciation of the genus *Leucobryum* in Asia and the Pacific. XVI International Botanical Congress. St. Louis, U. S. A.
4. 井藤賀操・山口富美夫・出口博則. 1999. 琉球諸島に産する*Asterella*属の集団内および集団間の遺伝的多様性. 日本蘚苔類学会第28回大会. 和歌山.
5. 坪田博美・有川智己・中尾成身・山口富美夫・樋口正信・出口博則. 1999. 分子データを用いた蘚類シトネゴケ目(Hypnales)内の系統. 日本蘚苔類学会第28回大会. 和歌山.
6. 井藤賀操・山口富美夫・出口博則. 1999. ヒメジャゴケの遺伝的多様性と生殖. 日本植物学会第63回大会. 秋田.
7. 東未佳・山口富美夫・出口博則. 1999. 日本産ホソバオキナゴケ[*Leucobryum juniperoideum* (Brid.) C. Muell.]の形態変異と分布. 日本植物学会第63回大会. 秋田.
8. 坪田博美・秋山弘之・山口富美夫・出口博則. 2000. *rbcL*データを用いた蘚類ナガハシゴケ科(Sematophyllaceae)の系統関係. 日本植物分類学会第30回大会. 仙台.
9. 坪田博美・山口富美夫・出口博則. 2000. *rbcL*に基づく*Wikia*, *Trismegistia*(蘚類)の分子系統学的位置. 日本植物学会中国四国支部第57回大会. 広島.
10. Itouga, M., Yamaguchi, T. & Deguchi, H. 2000. Allozyme variability within and among populations in the liverwort. Workshop: Recent Researches on Environmental Biology and Biodiversity of Terrestrial Cryptogamic Plants, Ecological and Taxonomical Points of View. Center for Global Environmental Research, National Institute for Environmental Studies, Tsukuba.
11. Tsubota, H., Yamaguchi, T. & Deguchi, H. 2000. Molecular phylogeny of hypnlean mosses. Workshop: Recent Researches on Environmental Biology and Biodiversity of Terrestrial Cryptogamic Plants, Ecological and Taxonomical Points of View. Center for Global Environmental Research, National Institute for Environmental Studies, Tsukuba.

12. 坪田博美・山口富美夫・出口博則. 2000. 日本産トゲハゴケ属 (*Wijkia*, Sematophyllaceae) の分子系統学的位置. 日本蘚苔類学会第29回大会. つくば.
13. 井藤賀操・山口富美夫・出口博則. 2000. 酵素多型にもとづく日本産 *Reboulia hemisphaerica* の遺伝的構造. 日本蘚苔類学会第29回大会. つくば.
14. 山口富美夫・松岡達也・秋山弘之. 2000. ハワイ産ケゼニゴケ属苔類の倍数性と種分化. 日本植物学会第64回大会. 静岡.
15. 井藤賀操・山口富美夫・出口博則. 2000. 日本産 *Reboulia hemisphaerica* の集団内および集団間の遺伝的変異性. 日本植物学会第64回大会. 静岡.
16. 坪田博美・山口富美夫・出口博則. 2000. *rbcL* 遺伝子に基づいた Entodontaceae (蘚類) の分子系統学的位置. 日本植物学会第64回大会. 静岡.

(6) 研究成果

① 日本産シラガゴケ属蘚類の形態的多様性

シラガゴケ属はシラガゴケ科に属する蘚類であり, 世界で 189 種が報告されている(Wijk et al. 1959-1969 他). 日本のシラガゴケ属の多くは Bescherelle(1893, 1898)によって記載され, その後 Cardot(1900)らによって追加報告されたが, Iwatsuki(1977)および Iwatsuki and Noguchi (1979)によってそれらは 6 種にまとめられた. その際, 多くの種が *Leucobryum neilgherrense* M. H. Hal. の異名とされた. 山口・岩月(1988)は Iwatsuki(1977)および Iwatsuki and Noguchi (1979)によってまとめられた *Leucobryum neilgherrense* を *L. juniperoideum* (Brid.) C. Muell. の異名とし, さらに Yamaguchi(1993)はアジア産のシラガゴケ属の蘚類の分類学的再検討を行い, 日本から 7 種を報告した.

本研究に用いた *L. juniperoideum* (ホソバオキナゴケ)は, 日本では北海道から沖縄まで広く分布する蘚類である. 山地の木の根元や腐食土上・岩上などに白緑色の丸い塊を作って生育し(図 1), 茎は高さ 2~3 cm, わずかに枝分かれする. 葉は全体に平滑で先は次第にとがり, 葉基部の横断切片では中央部がくびれてその両腕の透明細胞が 5~8 層となってふくれ, 茎の中心束が未発達なことで他種と識別できる(Yamaguchi 1993). しかし, 植物体のサイズや葉形には変異が見られる. Yamaguchi(1993)は本種に近縁な種として *L. humillimum* Card. (ツクシシラガゴケ)を日本から報告しており, *L. juniperoideum* とは(1)葉はずんぐりとして厚ぼったく, 葉先は棍棒状になって先端が急にとがり, (2)茎に中心束が発達することで区別されるとしている. しかし, *L. juniperoideum* は非常に多様な種であり, 日本では *L. humillimum* との中間的な形態を示す植物体もみられる. Yamaguchi (1993)が日本から報告した *L. humillimum* が, 形態的に *L. juniperoideum* から種のレベルで分けることができるかも問題が残っている. 本研究では日本産の *L. juniperoideum* と *L. humillimum* との分類学的関係について, 配偶体の詳細な形態を統計学的手法によって解析し, 再検討することを試みた.

【材料】

広島県は, 温暖な瀬戸内海沿岸地域から冷温な北部山岳地帯にかけて, 気候的, 地理的にも様々な環境が存在する(図 3-5). そこで, 本研究では, 1998 年 3 月から 11 月にかけて広島県のほぼ全域から *L. juniperoideum* および形態的には Yamaguchi (1993)が報告した *L. humillimum* 的な特徴を示す標本 176 点を採集し形態測定を試料とした. 観察, 実験に用いた標本はすべて広島大学大学院理学研究科植物標本庫(HIRO)に収められている. 試料の採

集場所とそのリストを表 1 と図 2 に示した。

【方法】

採集した材料はすべて乾燥標本として保存した。本研究では、この乾燥標本のそれぞれから発育の良い 3 個体の配偶体を取り出し、もとの状態に戻るまで十分に水に浸した後に各部位の測定を行った。測定部位を図 6 に示した。各部位の形質は、以下の通りである。なお、各測定形質に付した A-W の記号は本文および図・表で統一して用いている。

- ① 葉を広げた状態での測定部位
 - A: 葉の長さ (・m)
 - B: 葉の最大幅 (・m)
 - C: 葉基部から最大葉腹部までの長さ (・m)
 - D: 葉先背面の細胞の長さ (・m)
 - E: 葉先背面の細胞の幅 (・m)
 - F: 葉身・葉縁部の細胞列数 (個)
 - G: 葉縁部(舷)の細胞列数 (個)
 - H: 葉身部の細胞列数 (個)
 - I: 葉身・葉縁部の幅 (・m)
- ② 葉基部横断切片での測定部位
 - J: 葉の幅 (・m)
 - K: 中肋部の幅 (・m)
 - L: 中心から中肋端までの幅 (・m)
 - M: 中心から最も厚い部位までの幅 (・m)
 - N: 葉身・葉縁部の幅 (・m)
 - O: 最も厚い部位での背面側透明細胞層数 (個)
 - P: 最も厚い部位での腹面側透明細胞層数 (個)
 - Q: 最も厚い部位での厚さ (・m)
- ③ 葉先部横断切片での測定部位
 - R: 最も厚い部位での厚さ (・m)
 - S: 背面側透明細胞の高さ (・m)
 - T: 腹面側透明細胞の高さ (・m)
 - U: 葉の幅 (・m)
 - V: 中心から端までの幅 (・m)
- ④ 茎の横断切片での測定部位
 - W: 中心束の有無

1 標本から 3 配偶体を抽出し、各配偶体の先端から約 0.5 mm の部位で葉を 1 枚取り出し、葉が水平に広がるようにカバーガラスをかけ測定形質の A-I を測定した。測定形質 D と E の細胞サイズは、葉の先端から約 0.2 mm の部位において 1 枚の葉から 3 細胞を測定した。測定形質 E-I では、葉の 1 細胞層部分のうち方形～長方形の細胞からなる部分を葉身部、線形の細胞からなる部分(舷)を葉縁部、葉身部と葉縁部を合せたものを葉身・葉縁部として扱い同様に測定した。

葉基部横断切片は葉の基部から約 0.2 mm の部位で作成し、測定形質 J-Q を測定した。葉基部横断切片では、背腹の大型透明細胞の間に一列の小型の葉緑細胞が並んでおり葉緑細胞は中央部でのみ台形となるので本研究ではこの葉緑細胞を葉の中心として扱った。

葉先部横断切片は葉の先端から約 0.2 mm の部位で行い、測定形質 R-V を測定した。葉先部の横断切片でも葉基部同様台形の葉緑細胞を中心として扱い、測定形質 R の葉の厚さは葉の中心で測定した。

中心束の有無は茎の中央付近での横断切片で測定し、評価は有・無・中間の 3 段階とした。「有」は茎の中央部の細胞壁が薄く細胞サイズも小さくなり、周りの皮層と明らかに区別のつくもの、「無」は細胞壁・細胞サイズ共に変化が無く、皮層と区別できないもの、「中間」は細胞壁は中心に向かって薄くなるが細胞サイズに変化の無い、もしくは細胞サイズは中心に向かって小さくなるが細胞壁は薄くならないものとした。

本研究では 1 標本から 3 配偶体を抽出したので、1 標本につき 3 組のデータが得られた。得られたデータを解析する際は、各標本の平均値を用いた。

【統計学的解析】

L. humillimum 的な形態を示す植物体を含めた *L. juniperoideum* - *L. humillimu* 種群の変異には各形態形質間で複雑な関係があると考えられ、変数の単純集計だけで互いの関係を把握することは困難である。そこで本研究では、多変量解析の 1 つである主成分分析を用いて多数の変数を分類・整理し、事象の単純化を試みた。今回測定によって得られたデータは、各標本ごとの平均値として扱い、統計処理ソフトエクセル統計 97(SSRI 社 1997)を用いて解析した。さらに、本研究では主成分分析による解釈をより確かなものにするため、同じく多変量解析の 1 つである判別分析を行い、Yamaguchi(1993)が *L. juniperoideum* と *L. humillimum* を分類する際に用いた形質の一つである中心束の有無による両種のグループ分けが適切であるか検討した。

【結果】

(1)形態測定

得られた 176 標本について 23 項目の形態測定を行った。測定形質 A-V における測定結果は表 2 に示した。

表 2 に示したように、観察する標本によって形質には大きな変異がみられた。ばらつきの大きさを表す変動係数(標準偏差/平均値)から変動率を求めたところ、ほとんどの形態測定項目で 15%以上の大きなばらつきであった。

茎の横断切片による中心束の有無の測定では、測定した 176 の標本のうち中心束が有るものは 85 点、無いものは 66 点、中間は 25 点であった。茎に中心束が無いものと有るものをそれぞれ図 7-9 に示す。図中の標本では、中心束の無いほうのシュートで葉先が針状にとがり、中心束の有るシュートで葉先が棍棒状になっている。このように形態に大きな変異が見られるため、これら典型的な 2 つの標本では両者は全く別種のように見えた。しかし、形態測定に用いる標本数を増やして行くと、両者に中間的な形質を示すものが多く観察され、形態の変異は連続していた。

葉の長さのうち、葉基部から最大葉腹部までの長さが占める割合を計算したところ、中心束無(以下①と記す)では 0.27、中間(以下②と記す)では 0.28、有(同③)では 0.31 であり、中心束の有るものほど葉の上部で幅が最も広くなることが分かった。葉横断面の幅と中心-葉端幅の比(中心-葉端幅 / 葉横断面の幅)は①、②で 1.00、③で 1.05 であり中心束の有るものの方が葉先部が丸まり、棒状になる傾向があった。また、中心束の有るものの方が、葉先部葉基部ともに葉が厚く、細胞もより方形に近くなる傾向も見られたが、これらの変異は連続的であると考えられた。変異の連続性については後述する各形質の多変量解析によって明らかにされた。

(2)形態変異と地理的分布との関係

中心束の有無と地理的分布との関係を調べるため、中心束の有無と各標本の採集場所について地図上にプロットした(図 10)。この図より、中心束のあるものは広島県沿岸域から県中央にかけての沿岸部に広く分布し、中心束のないものは県西北部の内陸部に多く分布している。中心束が中間のものに関しては、やや沿岸地域に多く見られる傾向があった。

(3)形態データの解析

(相関行列)

各変量間の相関行列は表 3 のようになった。相関係数(r)は、 F (葉身・葉縁細胞列数)と H (葉身部の細胞列数)、 I (葉身・葉縁部の幅)と H (葉身部の細胞列数)との間で 0.95, 0.80 と大きくなっている。一方で、 F (葉身・葉縁細胞列数)と G (葉縁部の細胞列数)、 I (葉身・葉縁部の幅)と G (葉縁部の細胞列数)では 0.18, -0.07 と値が 0 に近い。このことから、葉身・葉縁部の幅は葉身部の細胞列数と相関し、葉縁部の細胞列数の影響はほとんど受けていないことが分かる。また、 R (葉先部での葉の厚さ)と T (葉先腹面透明細胞高)、 R (葉先部での葉の厚さ)と S (葉先背面透明細胞高)、 K (葉基部の中肋幅)と L (葉基部の中心-中肋端幅)、 K (葉基部中横断面肋幅)と J (葉基部の葉横断面幅)、 K (葉基部中肋横断面幅)と B (葉の最大幅)、 K (葉基部中肋横断面幅)と M (葉基部の中心-最厚部幅)間の相関係数はいずれも 0.6 以上と大きくなっている。このことから、葉先部の葉の厚さは背・腹両側の透明細胞高と関係があり、葉基部中肋横断面の幅は、葉基部の中心-中肋端幅・葉基部の葉横断面幅・葉の最大幅・中心-最厚部の長さとの関係があることが分かる。他の相関係数を見ていくと F (葉身・葉縁細胞列数)と I (葉身・葉縁部の幅)の相関係数も $r = 0.78$ 大きい、 F (葉身・葉縁細胞列数)と I (葉身・葉縁部の幅)とは類似した変量であり、相関係数が大きくなることは当然の傾向である。主成分をより明確にするため、このように類似した変量は 1 つにまとめ係数の高すぎるところは除いて再解析した。

(主成分分析)

相関行列をもとに固有値と固有ベクトルを求めた(表 5)。固有ベクトル(主成分係数)はその変量の主成分への影響力を表しており、各主成分の解釈を行ううえで参考となる値である。さらに、主成分の意味付けのため因子負荷量を求めた(表 6)。因子負荷量とは、各変量と主成分の相関係数であり、各主成分が元の各変量とどれくらい関係があるかを示す値である。固有ベクトルと因子負荷量の値から、第 1 主成分は「葉の大きさや厚さ」、第 2 主成分は「葉の縁の大きさ」をであると解釈するのが適当である。しかしながら、第 3 主成分は解釈困難であった。

各主成分を評価するため寄与率と累積寄与率をもとめた(表 4)。累積寄与率とは 1 番目から r 番目までの主成分によって原データの情報を全体の何%までが説明できるかという割合を表す。寄与率の大きさは固有値で評価される。また、固有値は主成分得点の分散を意味する。第 1 主成分から第 3 主成分で元の 23 の変量が持っている情報の約 54% が説明できた。また、元の 23 の変量を 3 つの新しい変量(z_1 , z_2 , z_3)に集約した時の情報の損失は 46% であった。累積寄与率は 80% 程度であるのが一般的であるので、今回得られた 3 つの主成分での累積寄与率の値は小さかった。

朝野(1996)は「累積寄与率がなかなか大きにならない」のは扱っている問題の構造が複雑だということを意味していると述べている。また、朝野(1996)によると、累積寄与率を大きくするには分析変量を似たもの同士のサブグループに分けて、グループごとに主成分分析をすればよく、分析変量が似ているかどうかは、固有ベクトル、あるいは、クラスター分析で判別できるとある。

(主成分得点)

得られた主成分をもとに、各標本の主成分得点を求めた(表 7)。第 1 主成分と第 2 主成分、第 2 主成分と第 3 主成分、第 1 主成分と第 3 主成分での各散布図を図 11-13 に示した。散布図によって、各主成分における各標本の位置づけが明確となる。散布図から、中心束の有無

についてデータ内での分布を調べた。図 11 では、主成分の第 1 主成分の値が正の側には中心束のあるものが、負の側には中心束の無いものがややまとまる傾向が見られた。また、図 12 では、第 1・第 3 主成分の値が正の側で中心束があり、負の側では中心束が無い傾向が見られた。このことから、中心束のあるものは厚ぼったくなる傾向にあると解釈できる。しかし、中心束のあるものと無いものでは、その分布に重なる部分が多く、2 つ以上のまとまりに分けるのは困難である。

(判別分析)

k 個($k \geq 2$)のグループが存在していて、どのグループに属するか分かっている観察対象について何らかのデータが得られているとする。この時、どのグループに属するか不明な対象が得られた場合、すでに収集されているデータに基づいてその対象が属するグループを予測するのが判別分析である。しかし、今回は判別分析をグループ化の検証、つまり主成分分析で得られた結論の裏付けを行うものとして用いた。

本研究では、線型判別関数とマハラノビスの距離を判別の基準として用いた。得られた判別係数、判別得点、マハラノビスの距離を表 8-11 に示した。判別率は 75%と低く(表 10)、度数分布表(図 14)からも、中心束のあるものと無いもので重なる部分が大いことも示されており、主成分分析の結果を支持する結果が得られた。

【考察】

主成分分析と判別分析の結果から、今回得られたシラガゴケ属の標本では 2 つのグループを認めることは困難である。また、形質として重要であると考えられる中心束の有無でグループ分けをすることも困難であり、1 つのグループとして認めるのが妥当であると考えられる。

L. juniperoideum の形態的変異が大きいことは Yamaguchi(1993)も指摘している。今回の測定でもばらつき相対的な大きさを表す変動係数(標準偏差/平均値)から変動率を求めたところ、ほとんどの部位で 15%以上と大きなばらつきがあることが認められた。また、判別分析の結果からも中心束の有無によってグループ分けできなかつたことから、中心束がなく葉先が細長い典型的な *L. juniperoideum* から中心束が発達し葉先が棍棒状に太くなる *L. humillimum* 的なものまで連続的に形態が変異すると考えられる。

本研究では、茎の中心束が発達する植物体は沿岸地域から県中央にかけて分布し、中心束の無いものは県北西部に比較的多く分布する傾向が認められた。この分布状況を広島県の年平均気温(図*)と比較したところ、中心束の有るものは年平均気温が 10°C 以上の温かい地域、中心束の無いものは 10°C 以下の地域に多く生育していることがわかる。また、年降水量と中心束の有無を比較したところ、年降水量が 2000 mm 以上の多雨地域に中心束の無いものが比較的多く生育していることが分かる。これらのことから、年平均気温が低く、年降水量が多い地域に中心束の無いものが生育し、年平均気温が高く、年降水量の少ない地域に中心束の有るものが生育する傾向があると考えられる。中心束とはコケ植物の通導組織である。したがって、中心束を発達させることによって、温暖で乾燥した気候により適応しているものと考えられる。また、中心束が発達している植物体では、葉先がずんぐりと短くなってより密な群落を形成する傾向があるが、これも乾燥に対する適応であろう。

②日本産シラガゴケ属蘚類の遺伝的分化

先の研究では *Leucobryum juniperoideum* (ホソバオキナゴケ) および *L. humillimum* (ツクシシラガゴケ) の生態および形態形質を詳細に解析し、ホソバオキナゴケが広く分布するのに対し、ツクシシラガゴケは海岸部の温暖で乾燥した地域に分布していることを明らかにした。また、Yamaguchi(1993)が両種の識別形質とした中心束の有無については、その発達が中間的な個体が出現し、その他の形態形質によっても両種は判別できないという統計学的な解析結果を

得た。そこで、次にホソバオキナゴケツクシシラガゴケ種群の遺伝的分化の程度を集団遺伝学的手法を用いて明らかにすることを目的として研究を行った。

【材料】

集団解析に用いる集団の採集を日本の北海道から九州、また韓国において行ない、12集団の試料を得た(表 12, 図 15)。野外で採取した試料はチャックつきポリビニール袋に入れ、研究室に持ち帰った。酵素を抽出するまで、試料を明 : 暗 = 12 : 12h, 室温 20°C で保管した。

【方法】

(1) 水平デンブengel電気泳動

冷やした乳鉢に土やごみのついていない配偶体の先端を 5-8 本入れ、抽出バッファー (Gottlieb 1981) を 0.8 ml と石英砂を加えてよくすりつぶした。抽出液に小さく切ったキムワイプをのせ、その上にろ紙片を置いて抽出液を吸い込ませた。すりつぶし液を吸いこませたろ紙片は 1.5ml チューブに入れて氷冷した。直ちに電気泳動を行わない場合は、-80°C で保存した。

アロザイム多型の検出のため、デンブengel電気泳動法を用いてアイソザイムを分離した。担体として 11.6%デンブengelを用いた(Soltis et al. 1983)。検出する酵素種の違いにより low-pH gel (Soltis #8) と high-pH gel (Soltis #10) の 2 種類のバッファーシステムを用いて泳動した。Low-pH gel は 520V で約 3 時間、high-pH gel は 200V で約 5 時間泳動した。

ゲルの染色は Soltis(1983) に基本的に従った。暗室でアガロースを直前に染色液に加え、ゲルにかけた。ゲルをインキュベーターに入れ 37°C で染色した。染色の結果、7酵素 12 遺伝子座(表 13)を検出した。

(2) アロザイムデータの解析

対立遺伝子の頻度を各集団で計算した(表 14)。対立遺伝子の頻度にもとづき、Nei(1972) の遺伝距離(D)、遺伝子同一度(I)、集団間変異(Hes, 表 15)、集団内変異(Hep, 表 16)、分集団内の平均遺伝子多様度(Hs)、全集団の遺伝子多様度(Dst)、集団間の遺伝子多様度(Ht)、遺伝子分化係数(Gst, 表 17)を求めた。得られた遺伝距離をもとに、解析ソフト MEGA(Kumar et al. 1993)を用いて、UPGMA 法及び NJ 法によるデンドログラムを作成した(図 16)。

【結果】

ホソバオキナゴケの 15 集団において 7 酵素 12 推定遺伝子座のアロザイム多型を解析した。各遺伝子座の対立遺伝子頻度を表 14 に示した。*6pg-1*, *mdh-1*, *-2*, *pgm-1*, *sod-1*, *-2* の 6 遺伝子座では複数の対立遺伝子が検出された。

ホソバオキナゴケ種内の遺伝的多様度(Hes)を表 11 に、集団内の遺伝子多様度(Hep)を表 16 に示した。ホソバオキナゴケの集団間の遺伝子の分化程度を表わす遺伝子分化係数(Gst) は平均 0.634 となった(表 12)。このことから、ホソバオキナゴケの集団間では、これまで算出された蘚類の Gst 値と比較すると、遺伝的に相当分化していると示唆される。

ホソバオキナゴケツクシシラガゴケ種群 12 集団間の遺伝距離の値から UPGMA 法を用いてデンドログラムを作成した(図 16)。その結果、典型的ホソバオキナゴケ集団、典型的ツクシシラガゴケ集団、両種の中間的形態を示す集団は、それぞれ独立したクラスターを形成しなかった。

【考察】

先行研究で形態的に判別できないとされたホソバオキナゴケとツクシシラガゴケは、アロザイム多型を用いた集団遺伝学解析によっても、それぞれの種が遺伝的にまとまった群を作ら

ず、独立した種とは認められないという結果を得た。この結果は、ツクシシラガゴケは乾燥と高温に適応した生態型であり、遺伝的には明瞭にホソバオキナゴケから分化しておらず、分類学的に両種を認めることはできない可能性が大きいことを示唆する。

③日本産シラガゴケ属蘚類の系統関係

これまでの研究によって、形態形質によってはシラガゴケ属蘚類の種レベルの分類が困難であるとの結果を得た。それでは、配偶体の形態形質では、シラガゴケ属蘚類の種レベルの分類や系統関係を示すことができないのであろうか。本実験では、日本産シラガゴケ属蘚類7種を材料に、核DNAにコードされているrDNA間に存在するITS領域を用いて系統解析を行った。

【材料】

実験に用いた材料とその採集データを表 18 に示す。実験には、野外から持ち帰った生の植物体、または標本庫に保管されていた乾燥標本を用いた。生の植物体の一部のものについては、採集後シリカゲルにより速やかに乾燥させたものを実験に用いた。抽出に用いた標本は、証拠標本として広島大学大学院理学研究科植物標本庫(HIRO)に保管されている。

【方法】

標本から実体顕微鏡下で目的の植物体だけを選別後、配偶体の緑色をした部分約 30 mg だけを切り取り実験に用いた。乾熱滅菌済みの乳鉢中に試料を入れ、液体窒素で凍結後、粉末になるまで破碎した。破碎後、CTAB 法(Murray & Thompson 1980; Arikawa & Higuchi 1999; Tsubota et al. 2000)によりDNAを抽出した。プロトコールはTsubota et al. (2000)に従った。

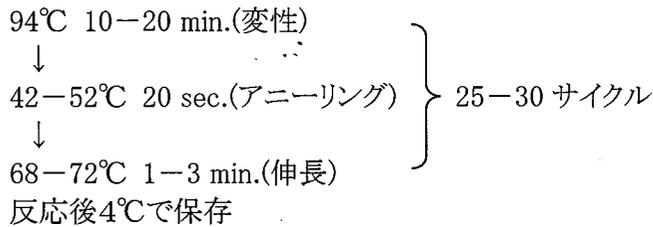
得られた試料から、目的の領域を polymerase chain reaction(PCR)法を用いて増幅した。本研究では、維管束植物において属内の系統関係を明らかにする場合によく利用される rDNA のスペーサーであるITS(internal transcribed spacer)領域を用いた。PCR 反応には DNA サーマルサイクラー(Thermal Cycler 9600, Perkin Elmer)を用いた。反応には本研究で新たに設計された蘚類用のプライマーを用いた。プライマーの設計は、近縁な分類群のデータが得られていないため、ヒメツリガネゴケ、ジャゴケ、イネなどの 18s rDNA, 26s rDNA の塩基配列をもとに新たに設計を行った。反応に用いたプライマーの一覧および遺伝子上の位置を図 17 に示した。プライマーの長さは、15-21 塩基であった。反応溶液の容量は 20 μ l, または 50 μ l で行い、組成及び PCR の条件は以下の通りとした。

<反応溶液の組成> (50 μ l 系)

sample DNA 20-100 ng
primers 1.0 μ M
Taq polymerase * 0.6 U
Tris-HCl(pH 8.0) 2.0 mM
KCl 10 mM
MgCl₂ 2.0 mM
dNTP 250 μ M

* : TaKaRa の Ex Taq polymerase を使用

<PCR の条件>



増幅した産物は泳動チェックし、SUPREC-02 フィルター(TaKaRa)でプライマー除去、または切り出し後 SUPREC-01 フィルター(TaKaRa)を用いて精製した。

精製した産物はジデオキシシークエンس法を用いて塩基配列の決定を行った。シークエンスには ABI(Perkin-Elmer)または Amasham(Pharmacia biotech)のシークエンスキットを用いた。シークエンス反応はサーマルサイクラーで行い、プライマーは PCR に用いたものと同じものを用いた。反応はそれぞれのキットの説明書に従って行った。蛍光色素でラベルした DNA 断片をエタノールで沈殿させ、乾燥した後、オートシークエンサー(ABI 373A, Perkin Elmer)を用いて解析した。解析によって得られたデータを合成し、ITS 領域の塩基配列のほぼ全長を決定した。逆鎖の配列は Sclean 2.53(Tsubota 1998-2000, <http://home.hiroshima-u.ac.jp/chubo/>よりダウンロード)を用いて、正鎖の配列に変換した。得られたシークエンスデータは手作業で誤りを訂正した後、エディタ上で配列し、C あるいは Perl で書かれた自作のプログラムにより、1本の配列に合成した。

得られた合計9OUT を用いてアライメントを行った。アライメントには多重整列プログラム ClustalW を用い、得られたアライメントの一部をマニュアルアライメントにより修正した。アライメントの後、ITS1 領域と ITS2 領域を抽出し、系統解析に用いた。

系統樹の作成は基本的に Tsubota et al. (1999) に従った。方法として、近隣結合法(Neighbor-joining (NJ) method, Saitou & Nei 1987), 最小進化法(Minimum-evolution (ME) method, Rzhetsky & Nei 1992, 1993), 最節約法(Maximum parsimony (MP) method, Fitch 1971)を用いた。近隣結合法および最小進化法における距離の推定には Kimura の 2-パラメータ法(Kimura 1980)を用いた。系統樹の作成には MeBoot 2.00(Tamura 1997-2000; <http://evolgen.biol.metro-u.ac.jp/pub/MolEvol/>)を用いた。得られた系統樹は、10,000 回ブートストラップ確率(Felsenstein 1985)により各枝の信頼性を評価した。

最節約法による系統樹の作成には Parsimony 1.00(Tamura 1998-2000; <http://evolgen.biol.metro-u.ac.jp/pub/MolEvol/>)を用いた。得られた系統樹は、1,000 回ブートストラップ確率により各枝の信頼性を評価した。また、複数の樹形が得られた場合、厳密合意樹によって樹形を評価した。

【結果】

シークエンスで得られた塩基配列は Patterson et al.(1998)と同じく 815bp 前後であったこと、ITS 領域の外側のプライマーを用いて 1 本の配列が得られたことから、ITS であると考えられる。ITS は ITS1 と ITS2 に分かれ、ITS2 の方が ITS1 より塩基配列が長かった(表 20, 21)。

NJ, ME, MP のいずれの解析方法によっても、また、ITS1 と ITS2 を個別あるいは総合して解析して系統樹のトポロジーは同様であった。NJ 法による解析結果を図 18 に示した。これにより、日本産シラガゴケ属蘚類の系統関係として次の3つのクレードが認められた: (1)ホソバオキナゴケ, ツクシシラガゴケ, シロシラガゴケ, (2)オオシラガゴケ, ジャバシラガゴケ, ムニンシラガゴケ, (3)アラハシラガゴケ。

【考察】

系統解析によって得られた3つのクレードは、Yamaguchi(1993)がアジア産シラガゴケ属蘚類の分類学的再検討を行った際に着目した形質によってもグループ分けできる。すなわち、(1)ホソバオキナゴケを含むクレード：生殖器官が主茎の先端に形成され、葉先の背面細胞が平滑なグループ、(2)オオシラガゴケを含むクレード：生殖器官が側枝の先端に形成され、葉先の背面細胞上端が突出するグループ、(3)アラハシラガゴケ：生殖器官が主茎の先端に形成され、葉先背面細胞も平滑だが、茎に明瞭な中心束を分化させるグループに分けられる。

形態学的、集団遺伝学的解析によって種レベルでの分類ができないと示唆されたホソバオキナゴケとツクシシラガゴケは同一クレードに含まれたが、他に北半球の冷温帯湿原に分布するシロシラガゴケも含まれた。これは Cardot(1901)によって詳細に研究されたシラガゴケ属蘚類の葉の横断面による形態が、かならずしも種レベルの分類を反映していないことを示唆するものであると考えられる。

④ゼニゴケ目苔類の遺伝的分化およびハイゴケ目蘚類の系統関係

これらの研究成果の一部は論文(添付論文1~6)として公表された。

④まとめ

蘚苔植物の分類は主に配偶体の形態形質によっている。顕微鏡下で観察される細胞レベルの形態は、ときに研究者によっては微細な基準が設けられ、分類学上の最小単位タクソンを認識する際に、細分化しすぎる可能性があることを本研究は示唆するものである。その例が、ホソバオキナゴケ、ツクシシラガゴケ、シロシラガゴケの関係であろう。ただし、これら3種の分類学的位置づけを決定するにはさらに試料を増やし、また、分子系統解析に用いる遺伝子の種類を増やす必要があると考える。それでも、本研究によって詳細に検討された日本産シラガゴケ属蘚類のうち、ホソバオキナゴケとツクシシラガゴケはそれぞれ独立したタクソンを成し得ないことが強く示唆された。

形態上細分化しすぎるタクソンがある一方で、ゼニゴケ目苔類のように、形態的には見分けがつかないが遺伝的には種子植物での種あるいは属レベル以上の分化が認められる種群も存在することが示された。このことは、初期の陸上植物のグループに近いとされる蘚苔植物には、種子植物とは異なる進化傾向が存在することを示唆するものである。

蘚苔植物の形態形質による最小単位タクソンの分類には問題があることを本研究の結果から示したが、その一方で、配偶体の形態の一部は系統を反映していることも明らかになった。今後は、分子系統学的研究と比較形態学的研究を合わせて行い、蘚苔植物の形態進化を明らかにしていく方向で研究をすすめる必要がある。

⑤引用文献

Arikawa, T. & M. Higuchi (1999). Phylogenetic analysis of the Plagiotheciaceae (Musci) and its relatives based on *rbcl* gene sequences. *Cryptogamie, Bryol.* 20: 231-245.

朝野照彦. 1996. 入門多変量解析の実際. 192pp. 講談社, 東京.

Bescherelle, E. 1893. Nouveaux documents pour la flore bryologique du Japon. *Ann. Sci. Nat. s.r. 7, Bot.* 320-393.

Bescherelle, E. 1898. *Bryologiae Japonicae supplementum I.* *Journ. de Bot.* 12: 38-46, 280-300.

Cardot, J. 1900. *Recherches anatomiques sur les Leucobryacées: 1-84, 19 pl.*

Cherbourg.

- Cardot, J. 1901. Recherches anatomiques sur les Leucobryacées. Mem. Soc. Sci. Nat. Cherbourg 32: 1-84, pls. 1-19.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Fitch, W. M. 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. Syst. Zool. 20: 406-416.
- Gottlieb, L. D. 1981. Electrophoretic evidence and plant populations. Prog. Phytochem. 7: 1-46.
- 広島県・気象庁. 1998. 広島県メッシュ気候図. 広島県・気象庁, 広島.
- Iwatsuki, Z. 1977. Bryological miscellanies, XXIII-XXIV. J. Hattori Bot. Lab. 43: 357-364.
- Iwatsuki, Z. & Noguchi, A. 1979. Critical re-examination of Japanese mosses mainly described by Eikichi Ihsiba. J. Hattori Bot. Lab. 45: 365-373.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 16: 111-120.
- Kumar, S., Tamura, K. & Nei, M. 1993. MEGA: Molecular Evolutionary Genetic Analysis, ver. 1.01. Pennsylvania State Univ.
- Murray, M. G. & W. F. Thompson (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nuc. Acids Res. 19: 4321-4325.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. Amer. Nat. 106: 283-292.
- Patterson, E., S. B. Boles and A. J. Shaw. 1998. Nuclear Ribosomal DNA Variation in *Leucobryum glaucum* and *L. albidum* (Leucobryaceae): a Preliminary Investigation. The Bryologist 101(2): 272-277.
- Rzhetsky, A. & Nei, M. 1992. A simple method for estimating and testing minimum-evolution trees. Mol. Biol. Evol. 9: 945-967.
- Rzhetsky, A. & Nei, M. 1993. Theoretical foundation of the minimum-evolution method of phylogenetic inference. Mol. Biol. Evol. 10: 1073-1095.
- SSRI. 1997. エクセル統計 97 for Windows. 社会情報サービス, 東京.
- Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4: 406-425.
- Soltis, D. E., Haufler C. H., Darrow D. C. and Gastony G. J. 1983 Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of grinding buffers, and staining schedules. Amer. Fern J., 73, 9-27.
- Soltis, D. E., Haufler, C. H., Darrow, D. C. & Gastony, G. J. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. Amer. Fern J. 73: 9-27.
- Tsubota, H., N. Nakao, T. Arikawa, T. Yamaguchi, M. Higuchi, H. Deguchi & T. Seki (1999). A preliminary phylogeny of Hypnales (Musci) as inferred from chloroplast *rbcl* sequence

- data. Bryol. Res. 7: 233-248.
- Tsubota, H., N. Nakao, T. Yamaguchi, T. Seki & H. Deguchi (2000). Preliminary phylogenetic relationships of the genus *Brotherella* and its allied genera (Hypnales, Musci) based on chloroplast *rbcL* sequence data. J. Hattori Bot. Lab. 88: 79-99.
- Wijk, R. van der, W. D. Margadant & P. A. Florschuetz. 1959. Index muscorum, vol. 1 (A-C). Regnum Vegetabile 17: 1-548.
- Wijk, R. van der, W. D. Margadant & P. A. Florschuetz. 1962. Index muscorum, vol. 2 (D-Hypno). Regnum Vegetabile 26: 1-535.
- Wijk, R. van der, W. D. Margadant & P. A. Florschuetz. 1964. Index muscorum, vol. 3 (Hypnum-O). Regnum Vegetabile 33: 1-529.
- Wijk, R. van der, W. D. Margadant & P. A. Florschuetz. 1967. Index muscorum, vol. 4 (P-S). Regnum Vegetabile 48: 1-604.
- Wijk, R. van der, W. D. Margadant & P. A. Florschuetz. 1969. Index muscorum, vol. 5 (T-Z, Appendix). Regnum Vegetabile 65: 1-922.
- Yamaguchi, T. 1993. A revision of the genus *Leucobryum* (Musci) in Asia. J. Hattori Bot. Lab. 73: 1-123.
- 山口富美夫・岩月善之助. 1988. 日本産ホソバオキナゴケの学名. HIKOBIA 10: 235-238.

表 1. 形態測定に用いたシラガゴケ属蘚類の採集地一覧

サンプルNo.	採 集 地	証拠標本 (HIRO)	
		採 集 者	標本番号
1	安芸郡熊野町 呉地	M. Higashi	228
2	安芸郡倉橋町 須川神社	M. Higashi	245
3	賀茂郡河内町 竹林寺	M. Higashi	320
4	賀茂郡河内町 入野	M. Higashi	309
5	賀茂郡黒瀬町 宗近柳国	M. Higashi	256
6	佐伯郡吉和村 冠山	M. Higashi	481
7	呉市 吉松山	M. Higashi	170
8	呉市 吉松山	M. Higashi	223
9	呉市 吉松山	M. Higashi	224
10	呉市郷原町 二級峡公園	M. Higashi	276
11	呉市郷原町 二級峡公園	M. Higashi	277
12	呉市枳原町 神山峠	M. Higashi	233
13	呉市和庄町 三峰山	M. Higashi	429
14	広島県沼隈郡沼隈町能登原 阿伏兎観音	M. Higashi	141
15	広島市安佐南区沼田町吉山 大原	M. Higashi	380
16	広島市安佐南区八木町 渡場	M. Higashi	388
17	広島市安佐北区安佐町 久地	M. Higashi	375
18	広島市安佐北区安佐町 飯室	M. Higashi	373
19	広島市安佐北区安佐町毛木 総田原	M. Higashi	384
20	広島市安佐北区白木町三田 小椿 神目神社	M. Higashi	394
21	広島市東区福田町 三田ヶ峠	M. Higashi	391
22	高田郡甲田町下小原 権現谷山	M. Higashi	419
23	高田郡高宮町佐々部 和佐田	M. Higashi	414
24	佐伯郡吉和村 東山溪谷	M. Higashi	339
25	佐伯郡宮島町宮島 青海苔浦	M. Higashi	148
26	佐伯郡佐伯町 虫所山	M. Higashi	336
27	山県郡加計町加計 深山峡	M. Higashi	362
28	山県郡芸北町 西八幡原	M. Higashi	353
29	山県郡芸北町滝山川 黒滝洞門	M. Higashi	358
30	山県郡芸北町東八幡 雲耕	M. Higashi	356
31	山県郡戸河内町 那須	M. Higashi	346
32	山県郡戸河内町 板ヶ谷	M. Higashi	349
33	山県郡筒賀村上筒賀 坂原	M. Higashi	343
34	山県郡豊平町戸谷 才谷	M. Higashi	366
35	神石郡油木町下帝釈峡 まぼろしの滝	M. Higashi	167
36	神石郡油木町下帝釈峡 まぼろしの滝	M. Higashi	166
37	神石郡油木町下帝釈峡 まぼろしの滝	M. Higashi	165
38	双三郡三良坂町 長田一反	M. Higashi	162
39	双三郡三和町上坂木 市場	M. Higashi	155

表1. (続き)

サンプルNo.	採 集 地	証拠標本 (HIRO)	
		採 集 者	標本番号
40	竹原市 小梨町	M. Higashi	313
41	竹原市 小梨町	M. Higashi	314
42	竹原市吉名町 吉名駅	M. Higashi	124
43	竹原市吉名町 吉名駅	M. Higashi	126
44	竹原市仁賀町 有屋谷	M. Higashi	174
45	竹原市西野町 赤坂	M. Higashi	312
46	東広島市鏡山広島大学キャンパス 山中池	M. Higashi	460
47	東広島市高屋町貞重 日南	M. Higashi	324
48	東広島市高野町 小谷	M. Higashi	306
49	東広島市西条町 下三永	M. Higashi	41
50	東広島市西条町下三永	M. Higashi	40
51	東広島市西条町上三永 在家神社	M. Higashi	172
52	東広島市西条町上三永 在家神社	M. Higashi	173
53	東広島市西条町大沢 (蚊無峠付近)	M. Higashi	297
54	佐伯郡吉和村 冠山	M. Higashi	482
55	廿日市市原 極楽寺	M. Higashi	327
56	豊栄郡豊栄町乃美 日南	M. Higashi	153
57	豊田郡安芸津町三津 榊山神社裏参道	M. Higashi	122
58	豊田郡安芸津町三津蚊無 蚊無奥生活環境保全林	M. Higashi	204
59	豊田郡安芸津町大芝島 大芝東	M. Higashi	198
60	豊田郡安芸津町大芝島 大芝北	M. Higashi	194
61	豊田郡安芸津町風早 金剛山林	M. Higashi	47
62	豊田郡安芸津町風早 金剛山林	M. Higashi	49
63	豊田郡川尻町 川尻	M. Higashi	285
64	豊田郡川尻町野呂山 国民宿舎野呂ロッジ	M. Higashi	282
65	豊田郡本郷町南方 楽音寺	M. Higashi	210
66	豊田郡本郷町南方 楽音寺	M. Higashi	211
67	佐伯郡西能美島 宇根山	M. Higashi	483
68	安芸郡倉橋町 桂浜神社	M. Higashi	248
69	安芸郡倉橋町 桂浜神社	M. Higashi	249
70	安芸郡倉橋町 須川神社	M. Higashi	243
71	安芸郡倉橋町 長谷	M. Higashi	241
72	広島市安佐北区 宇賀峡	M. Higashi	484
73	賀茂郡黒瀬町市飯田 海老根山ふもと	M. Higashi	273
74	賀茂郡黒瀬町宗近柳国 黒瀬ダム付近	M. Higashi	227
75	呉市 吉松山	M. Higashi	171
76	呉市仁方本町 (二) 仁方駅付近	M. Higashi	281
77	呉市枳原町 神山峠	M. Higashi	232
78	広島県沼隈郡沼隈町能登原 阿伏兎観音	M. Higashi	140

表 1. (続き)

サンプルNo.	採 集 地	証拠標本 (HIRO)	
		採 集 者	標本番号
79	高田郡甲田町糠地 中迫	M. Higashi	417
80	佐伯郡湯来町 天上山	M. Higashi	254
81	三原市 仏通寺	M. Higashi	181
82	竹原市 小梨町	M. Higashi	127
83	東広島市鏡山広島大学キャンパス 山中池	M. Higashi	452
84	東広島市鏡山広島大学キャンパス 山中池	M. Higashi	455
85	東広島市西条町大沢 (蚊無峠付近)	M. Higashi	295
86	比婆郡西坂町油木 (県民の森) 伊良谷一伊良谷山	H. Tsubota	2005
87	福山市金江町金見 福山少年自然の家付近	M. Higashi	133
88	福山市金江町金見 福山少年自然の家付近	M. Higashi	134
89	豊田郡安浦町 三津口	M. Higashi	291
90	豊田郡安芸津町三津蚊無 蚊無奥生活環境保全林	M. Higashi	209
91	豊田郡川尻町 川尻	M. Higashi	287
92	安芸郡音戸町 波多見	M. Higashi	235
93	安芸郡音戸町 波多見	M. Higashi	237
94	安芸郡熊野町 呉地	M. Higashi	230
95	安芸郡熊野町出来庭 筆の里工房	M. Higashi	449
96	安芸郡倉橋町 長谷	M. Higashi	240
97	賀茂郡河内町 竹林寺	M. Higashi	319
98	賀茂郡河内町 入野	M. Higashi	308
99	賀茂郡黒瀬町 宗近柳国	M. Higashi	255
100	賀茂郡黒瀬町市飯田 海老根山ふもと	M. Higashi	274
101	賀茂郡黒瀬町宗近柳国 黒瀬ダム付近	M. Higashi	226
102	呉市 上長迫町	M. Higashi	435
103	呉市 上長迫町	M. Higashi	436
104	呉市 上長迫町	M. Higashi	437
105	呉市警固屋町 警固屋	M. Higashi	425
106	呉市焼山町 堀切峠	M. Higashi	439
107	呉市焼山町 堀切峠	M. Higashi	441
108	呉市仁方本町 (二) 仁方駅付近	M. Higashi	278
109	呉市仁方本町 (二) 仁方駅付近	M. Higashi	280
110	呉市和庄町 休山	M. Higashi	431
111	広島市安芸区阿戸町 四方寺迫	M. Higashi	298
112	広島市安芸区阿戸町 四方寺迫	M. Higashi	299
113	広島市安芸区矢野町 絵下山	M. Higashi	442
114	広島市安芸区矢野町 絵下山	M. Higashi	443
115	広島市安佐北区安佐町 飯室	M. Higashi	372
116	広島市安佐北区白木町古屋 正地 一 甲田	M. Higashi	398
117	広島市安佐北区白木町三田 吉永 明神社	M. Higashi	397

表 1. (続き)

サプルNo.	採 集 地	証拠標本 (HIRO)	
		採 集 者	標本番号
118	広島市佐伯区五日市町石内 原田	M. Higashi	377
119	広島市佐伯区五日市町石内 原田	M. Higashi	379
120	高田郡吉田町多治比 中原	M. Higashi	409
121	高田郡向原町坂 門出	M. Higashi	424
122	高田郡八千代町 土師	M. Higashi	404
123	高田郡八千代町上根 龍山神社	M. Higashi	401
124	高田郡美土里町桑田 塩見	M. Higashi	411
125	佐伯区五日市町 下河内	M. Higashi	331
126	佐伯区五日市町 下河内	M. Higashi	332
127	佐伯郡宮島町宮島 青海苔浦	M. Higashi	142
128	佐伯郡宮島町宮島 青海苔浦	M. Higashi	146
129	佐伯郡宮島町宮島 大元公園一下室浜	M. Higashi	46
130	佐伯郡宮島町宮島 大元公園一下室浜	M. Higashi	42
131	佐伯郡佐伯町玖島 玖島中村	M. Higashi	117
132	佐伯郡佐伯町玖島 玖島中村	M. Higashi	115
133	佐伯郡湯来町 天上山	M. Higashi	252
134	佐伯郡湯来町菅澤 黒谷	M. Higashi	335
135	三原市 幸崎町	M. Higashi	130
136	三原市 幸崎町	M. Higashi	131
137	三原市 仏通寺	M. Higashi	184
138	三原市和田町 筆影山	M. Higashi	213
139	三原市和田町 筆影山	M. Higashi	215
140	三原市和田町筆影山 (竜王山側)	M. Higashi	217
141	三原市和田町筆影山 (竜王山側)	M. Higashi	218
142	三原市和田町筆影山 (竜王山側)	M. Higashi	216
143	山県郡豊平町阿坂 橋詰	M. Higashi	367
144	双三郡三良坂町 長田一反	M. Higashi	161
145	双三郡三和町上坂木 市場	M. Higashi	156
146	竹原市 小梨町	M. Higashi	128
147	竹原市仁賀町 有屋谷	M. Higashi	177
148	竹原市西野町 赤坂	M. Higashi	310
149	東広島市鏡山 広島大学キャンパス	M. Higashi	39
150	東広島市鏡山広島大学キャンパス 山中池	M. Higashi	38
151	東広島市鏡山広島大学キャンパス 山中池	M. Higashi	462
152	東広島市鏡山広島大学キャンパス 山中池	M. Higashi	469
153	東広島市鏡山広島大学キャンパス 山中池	M. Higashi	478
154	東広島市高屋町貞重 日南	M. Higashi	322
155	東広島市高野町 小谷	M. Higashi	304
156	東広島市高野町 大畠	M. Higashi	301

表 1. (続き)

サプ No.	採 集 地	証拠標本 (HIRO)	
		採 集 者	標本番号
157	東広島市高野町 大島	M. Higashi	302
158	廿日市市宮内 大歳大明神付近	M. Higashi	120
159	廿日市市宮内 大歳大明神付近	M. Higashi	119
160	廿日市市宮内 大歳大明神付近	M. Higashi	118
161	廿日市市原 極楽寺	M. Higashi	329
162	尾道市浦崎町 灘組	M. Higashi	137
163	尾道市浦崎町 灘組	M. Higashi	138
164	豊栄郡豊栄町乃美 日南	M. Higashi	151
165	豊田郡安浦町 三津口	M. Higashi	288
166	豊田郡安浦町 赤向坂	M. Higashi	293
167	豊田郡安浦町 赤向坂	M. Higashi	294
168	豊田郡安芸津町三津 榊山神社裏参道	M. Higashi	123
169	豊田郡安芸津町三津蚊無 蚊無奥生活環境保全林	M. Higashi	207
170	豊田郡安芸津町大芝島 大芝東	M. Higashi	197
171	豊田郡安芸津町大芝島 大芝北	M. Higashi	185
172	豊田郡瀬戸田町高根島 高根	M. Higashi	220
173	豊田郡瀬戸田町高根島 高根	M. Higashi	221
174	豊田郡川尻町野呂山 国民宿舎野呂ロッジ	M. Higashi	284
175	豊田郡本郷町 善入寺	M. Higashi	316
176	豊田郡本郷町 善入寺	M. Higashi	317

表 2. シラガケ属蕨類植物体の形態測定値の集計

	W1 中心束無し			W2 中心束中間			W3 中心束有り			全 体		
	平均値	標準偏差	変動率 ¹	平均値	標準偏差	変動率	平均値	標準偏差	変動率	平均値	標準偏差	変動率
A 葉の長さ (μm)	4388.79	609.40	13.89	4691.20	745.26	15.89	4394.12	586.98	13.36	4434.32	628.88	14.18
B 葉の最大幅 (μm)	954.26	148.98	15.61	1051.02	130.93	12.46	1079.87	131.78	12.20	1028.67	150.20	14.60
C 葉基部一最大葉幅部長 (μm)	1206.60	194.26	16.10	1336.60	178.01	13.32	1360.01	174.03	12.80	1299.16	196.16	15.10
D 葉先背面の細胞長 (μm)	42.55	7.34	17.26	43.38	6.80	15.67	38.01	7.66	20.16	40.47	7.80	19.28
E 葉先背面の細胞幅 (μm)	14.48	2.88	19.90	15.86	2.06	13.01	16.35	2.72	16.64	15.58	2.84	18.20
F 葉身・葉縁細胞列数 (個)	9.07	1.79	19.71	8.80	1.28	14.57	8.61	1.63	18.91	8.81	1.66	18.85
G 葉縁部の細胞列数 (個)	1.53	0.47	31.03	1.60	0.47	29.46	1.42	0.48	34.25	1.48	0.48	32.62
H 葉身部の細胞列数 (個)	7.49	1.69	22.61	7.20	1.42	19.69	7.20	1.63	22.72	7.31	1.64	22.37
I 葉身・葉縁部の幅 (μm)	111.90	21.73	19.42	109.55	19.72	18.00	114.53	20.51	17.91	112.84	20.94	18.56
J 葉横断面幅 (基部) (μm)	530.61	98.85	18.63	576.48	102.47	17.78	566.39	80.86	14.28	554.41	93.09	16.79
K 中肋横断面幅 (基部) (μm)	429.95	69.58	16.18	460.81	81.26	17.63	468.05	59.99	12.82	452.73	69.34	15.32
L 中心一肋端幅 (基部) (μm)	263.37	40.97	15.56	286.82	42.71	14.89	296.76	44.74	15.08	282.83	45.76	16.18
M 中心一最厚部幅 (基部) (μm)	146.31	26.59	18.18	162.21	33.68	20.76	162.97	29.75	18.26	156.61	30.29	19.34
N 一細胞層部幅 (基部) (μm)	109.84	24.51	22.31	101.96	16.50	16.18	108.27	19.73	18.22	107.96	21.41	19.83
O 背面透明細胞層 (基部) (個)	2.86	0.34	11.98	2.87	0.43	15.07	2.93	0.24	8.08	2.89	0.31	10.85
P 腹面透明細胞層 (基部) (個)	2.17	0.42	19.31	2.17	0.33	15.10	2.27	0.37	16.47	2.22	0.39	17.52
Q 葉の厚さ (基部) (μm)	94.75	19.39	20.47	98.40	20.27	20.60	105.42	21.50	20.39	100.42	21.15	21.06
R 葉の厚さ (先部) (μm)	71.05	7.68	10.81	75.71	7.08	9.34	77.62	8.14	10.49	74.88	8.39	11.21
S 葉先背面透明細胞高 (1/4.1μm)	6.10	1.00	16.40	6.41	0.81	12.58	6.63	1.00	15.15	6.40	1.01	15.74
T 葉先腹面透明細胞高 (1/4.1μm)	11.23	1.30	11.60	12.05	1.16	9.60	12.27	1.45	11.84	11.85	1.44	12.18
U 葉横断面幅 (先部) (μm)	111.62	29.25	26.20	128.14	27.68	21.60	127.66	29.85	23.38	121.71	30.35	24.94
V 中心一葉端幅 (先部) (μm)	111.30	20.03	17.99	128.30	23.33	18.18	134.01	25.14	18.76	124.68	25.38	20.35
(件数)	66			25			85			176		

¹ 変動率 = 変動係数 × 100

表3. 測定された各変量間の相関行列

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	
A 葉の長さ	1.000																							
B 葉の最大幅	0.413	1.000																						
C 葉基部-最大葉幅部長	0.643	0.575	1.000																					
D 葉先背面の細胞長	0.458	0.081	0.068	1.000																				
E 葉先背面の細胞幅	0.105	0.314	0.334	0.031	1.000																			
F 葉身・葉縁細胞列数	0.004	-0.085	-0.248	0.084	-0.401	1.000																		
G 葉縁部の細胞列数	-0.067	-0.064	-0.155	0.101	-0.008	0.181	1.000																	
H 葉身部の細胞列数	0.034	-0.058	-0.194	0.054	-0.395	0.949	-0.100	1.000																
I 葉身・葉縁部の幅	0.069	0.125	-0.045	0.080	-0.216	0.775	-0.066	0.802	1.000															
J 葉横断面幅(基部)	0.179	0.647	0.143	0.013	0.082	0.048	0.028	0.056	0.171	1.000														
K 中肋横断面幅(基部)	0.241	0.794	0.263	0.035	0.207	-0.134	-0.038	-0.117	0.014	0.870	1.000													
L 中心-中肋端幅(基部)	0.284	0.795	0.330	0.023	0.237	-0.111	-0.088	-0.085	0.056	0.713	0.877	1.000												
M 中心-最厚部幅(基部)	0.231	0.612	0.308	-0.008	0.177	-0.141	-0.169	-0.095	0.019	0.535	0.658	0.708	1.000											
N 一細胞層部幅(基部)	0.035	0.053	-0.046	0.076	-0.138	0.514	-0.023	0.515	0.612	0.085	-0.054	-0.057	0.036	1.000										
O 背面透明細胞層(基部)	0.363	0.442	0.333	0.013	0.080	0.062	-0.085	0.097	0.103	0.166	0.286	0.345	0.205	0.074	1.000									
P 腹面透明細胞層(基部)	0.331	0.457	0.235	0.001	0.064	0.155	-0.113	0.179	0.150	0.392	0.403	0.485	0.413	0.178	0.434	1.000								
Q 葉の厚さ(基部)	0.367	0.587	0.358	0.086	0.212	-0.114	-0.083	-0.099	-0.022	0.354	0.517	0.642	0.406	-0.036	0.568	0.644	1.000							
R 葉の厚さ(先端)	0.259	0.487	0.421	-0.054	0.479	-0.306	-0.036	-0.282	-0.132	0.250	0.346	0.318	0.198	-0.158	0.128	0.136	0.265	1.000						
S 葉先背面透明細胞高	0.161	0.382	0.365	-0.079	0.290	-0.247	-0.105	-0.210	-0.127	0.182	0.245	0.220	0.189	-0.098	0.118	0.089	0.186	0.755	1.000					
T 葉先腹面透明細胞高	0.264	0.412	0.337	-0.019	0.464	-0.249	0.018	-0.239	-0.094	0.220	0.308	0.288	0.145	-0.155	0.099	0.128	0.237	0.884	0.367	1.000				
U 葉横断面幅(先端)	0.181	0.326	0.407	-0.039	0.465	-0.289	0.073	-0.295	-0.097	0.133	0.211	0.190	0.106	-0.102	0.130	0.040	0.153	0.546	0.414	0.474	1.000			
V 中心-葉端幅(先端)	-0.138	0.414	0.281	-0.439	0.362	-0.355	-0.040	-0.343	-0.186	0.277	0.358	0.293	0.207	-0.194	0.150	0.005	0.143	0.484	0.329	0.440	0.398	1.000		
W 中心束有無	-0.004	0.381	0.355	-0.274	0.299	-0.128	-0.113	-0.083	0.061	0.172	0.250	0.333	0.249	-0.028	0.092	0.119	0.233	0.357	0.244	0.329	0.238	0.408	1.000	

表 4. 主成分分析における固有値と寄与率

	固有値	寄与率	累積寄与率
主成分1	6.699	0.291	0.291
主成分2	3.841	0.167	0.458
主成分3	1.977	0.086	0.544

表 5. 各主成分の固有値に対する固有ベクトル

	主成分1	主成分2	主成分3
A 葉の長さ	0.167	0.137	0.043
B 葉の最大幅	0.335	0.150	-0.013
C 葉基部-最大葉幅部長	0.244	-0.013	0.144
D 葉先背面の細胞長	-0.009	0.111	-0.073
E 葉先背面の細胞幅	0.199	-0.190	0.135
F 葉身・葉縁細胞列数	-0.140	0.397	0.260
G 葉縁部の細胞列数	-0.044	-0.029	0.013
H 葉身部の細胞列数	-0.124	0.407	0.270
I 葉身・葉縁部の幅	-0.047	0.387	0.340
J 葉横断面幅(基部)	0.236	0.200	-0.156
K 中肋横断面幅(基部)	0.301	0.144	-0.226
L 中心-中肋端幅(基部)	0.307	0.167	-0.224
M 中心-最厚部幅(基部)	0.243	0.140	-0.236
N 一細胞層部幅(基部)	-0.056	0.306	0.262
O 背面透明細胞層(基部)	0.165	0.170	-0.027
P 腹面透明細胞層(基部)	0.182	0.257	-0.109
Q 葉の厚さ(基部)	0.253	0.147	-0.179
R 葉の厚さ(先部)	0.275	-0.159	0.340
S 葉先背面透明細胞高	0.208	-0.123	0.259
T 葉先腹面透明細胞高	0.240	-0.136	0.304
U 葉横断面幅(先部)	0.200	-0.160	0.278
V 中心-葉端幅(先部)	0.212	-0.180	0.117
W 中心束有無	0.183	-0.036	0.192

表 6. 各変量の主成分に対する因子負荷量

	主成分1	主成分2	主成分3
A 葉の長さ	0.432	0.269	0.060
B 葉の最大幅	0.866	0.295	-0.018
C 葉基部-最大葉幅部長	0.632	-0.026	0.203
D 葉先背面の細胞長	-0.022	0.218	-0.102
E 葉先背面の細胞幅	0.514	-0.371	0.190
F 葉身・葉縁細胞列数	-0.363	0.778	0.366
G 葉縁部の細胞列数	-0.114	-0.058	0.018
H 葉身部の細胞列数	-0.321	0.798	0.379
I 葉身・葉縁部の幅	-0.122	0.758	0.478
J 葉横断面幅(基部)	0.611	0.393	-0.220
K 中肋横断面幅(基部)	0.780	0.282	-0.318
L 中心-中肋端幅(基部)	0.793	0.327	-0.314
M 中心-最厚部幅(基部)	0.628	0.274	-0.331
N 一細胞層部幅(基部)	-0.144	0.599	0.368
O 背面透明細胞層(基部)	0.428	0.333	-0.038
P 腹面透明細胞層(基部)	0.471	0.504	-0.154
Q 葉の厚さ(基部)	0.654	0.287	-0.252
R 葉の厚さ(先部)	0.712	-0.312	0.478
S 葉先背面透明細胞高	0.538	-0.240	0.364
T 葉先腹面透明細胞高	0.622	-0.267	0.428
U 葉横断面幅(先部)	0.518	-0.313	0.391
V 中心-葉端幅(先部)	0.550	-0.353	0.164
W 中心束有無	0.474	-0.071	0.270

表7. 各サンプルの主成分得点表

サンプル No.	主成分 1	主成分 2	主成分 3	サンプル No.	主成分 1	主成分 2	主成分 3	サンプル No.	主成分 1	主成分 2	主成分 3
1	-0.786	-2.168	-0.828	60	-0.822	-1.474	-0.568	119	0.759	0.365	2.277
2	-1.241	-0.906	-2.074	61	1.116	-1.259	-1.079	120	0.876	1.164	-0.525
3	-1.275	0.939	0.539	62	0.290	-1.286	-1.448	121	-0.184	0.780	1.604
4	-1.776	-0.415	-0.158	63	-0.582	0.702	-0.436	122	1.213	-0.578	3.812
5	-0.078	-0.208	-0.766	64	-1.338	-0.144	-0.560	123	0.068	0.588	-0.719
6	0.008	2.132	-0.661	65	-2.370	0.750	0.001	124	0.297	1.178	1.333
7	-1.003	0.030	0.296	66	-1.283	0.756	-0.093	125	1.889	-0.216	0.282
8	-1.195	0.882	-1.097	67	0.951	0.737	-1.241	126	1.480	0.788	-0.027
9	0.040	1.225	-1.757	68	-1.214	-0.174	-0.002	127	1.485	-1.437	0.742
10	-0.732	-1.532	0.102	69	0.268	-0.952	-0.612	128	1.725	-1.134	-0.522
11	-0.653	-0.121	0.236	70	-0.528	-0.466	0.124	129	-1.171	1.844	0.555
12	-0.428	-0.694	-0.345	71	0.546	0.655	0.511	130	0.118	-0.457	0.800
13	0.073	0.129	0.514	72	0.829	1.254	0.889	131	0.458	-0.641	3.372
14	0.418	1.538	-1.452	73	-0.004	1.041	-0.449	132	-0.264	-2.195	0.920
15	0.411	-0.598	0.107	74	0.494	-0.985	0.164	133	0.830	1.422	-0.603
16	-2.255	-0.401	-0.110	75	-0.028	-0.574	-0.240	134	0.531	-1.091	0.180
17	-0.559	0.340	-0.716	76	-1.300	-0.670	-0.484	135	-0.823	-0.531	0.053
18	0.924	-0.885	-0.190	77	0.046	-0.191	0.563	136	-1.191	-1.130	1.467
19	-0.723	1.098	0.407	78	-0.661	-1.292	-1.263	137	-0.940	0.635	-0.779
20	-1.278	0.657	0.280	79	2.621	0.805	-1.291	138	-0.144	-1.118	-0.774
21	0.276	-1.818	0.203	80	-0.457	0.901	0.653	139	0.881	-0.630	0.962
22	0.045	0.329	-0.098	81	-0.575	-0.727	-0.481	140	0.466	-1.100	-0.348
23	0.981	0.603	-1.839	82	-0.009	-1.601	0.915	141	0.268	-0.033	-0.425
24	-1.999	0.591	-0.909	83	0.670	-0.396	0.790	142	0.255	-1.799	0.433
25	-0.724	-0.964	-0.698	84	0.091	1.187	0.052	143	0.547	-0.072	-0.366
26	-0.489	1.099	-0.166	85	-0.878	0.231	1.205	144	-0.040	-0.015	0.006
27	-0.566	1.958	1.224	86	-0.481	-0.642	-0.735	145	0.523	0.525	0.359
28	-3.162	-0.362	0.234	87	0.683	-0.206	0.687	146	-0.008	-0.635	0.304
29	-1.574	0.653	0.394	88	-0.082	-0.380	0.537	147	1.349	0.934	0.031
30	-1.077	0.814	0.079	89	1.568	-1.287	-0.020	148	0.799	-0.864	-1.157
31	-1.984	0.999	-0.194	90	1.900	0.893	-1.871	149	-0.406	1.513	0.251
32	-2.666	-0.171	-0.862	91	-0.400	1.178	0.261	150	-0.076	0.996	0.033
33	-0.977	0.868	0.814	92	1.315	-0.655	1.475	151	0.730	0.092	0.576
34	0.476	-0.142	-0.686	93	2.599	-0.577	0.970	152	0.244	2.391	1.018
35	-1.057	-0.091	1.555	94	1.200	-0.683	-0.313	153	-0.777	-0.164	1.100
36	-1.834	-2.504	-0.196	95	1.364	0.954	-0.594	154	0.088	0.605	1.004
37	-1.215	-0.209	2.086	96	0.418	-0.529	-0.691	155	0.100	-1.904	-0.294
38	0.066	1.062	0.140	97	-0.926	-0.447	0.597	156	1.115	0.507	-2.052
39	-0.216	0.718	-0.729	98	-0.084	1.287	0.110	157	0.021	0.746	0.126
40	-0.161	-0.904	0.255	99	0.492	1.052	0.325	158	0.120	-0.754	-0.644
41	-1.234	-0.098	-0.605	100	0.612	1.570	-0.021	159	-0.329	-1.284	-1.369
42	-0.055	1.439	-1.968	101	0.538	1.177	1.025	160	-0.107	-0.887	-0.159
43	-0.221	0.932	-1.440	102	2.042	0.115	-0.425	161	0.480	-1.167	-1.639
44	-0.335	0.685	-0.139	103	0.897	-0.048	0.119	162	0.228	0.174	-0.241
45	-0.154	-1.002	-0.652	104	-0.100	-0.586	2.580	163	0.272	0.259	0.305
46	-0.423	-1.740	-0.718	105	-1.276	0.478	1.205	164	1.353	1.411	-2.426
47	1.091	-1.042	-1.263	106	1.495	-1.278	-0.095	165	0.521	0.690	1.245
48	-0.514	-0.233	-0.648	107	1.650	0.419	-0.870	166	0.406	-0.811	-0.193
49	0.186	-0.507	-0.186	108	-0.703	-1.478	-0.468	167	1.623	0.756	0.135
50	-1.799	0.601	-0.359	109	-0.180	-2.110	-0.679	168	0.580	0.923	0.829
51	-0.267	1.242	-1.370	110	1.972	0.641	1.509	169	0.492	0.043	0.670
52	-0.786	0.270	-2.483	111	-0.230	0.515	0.476	170	-1.185	-0.361	1.083
53	-0.796	1.155	1.149	112	-0.059	0.979	2.179	171	1.456	0.214	0.069
54	-2.132	0.440	0.481	113	0.850	-0.517	-0.371	172	0.063	1.110	-0.365
55	0.241	-1.849	0.120	114	0.868	-1.017	1.612	173	0.057	0.171	-2.066
56	0.561	2.275	-1.321	115	1.792	-0.433	0.317	174	0.774	-0.673	-0.182
57	0.253	0.989	1.136	116	-0.760	-0.283	0.125	175	0.195	-1.548	1.223
58	0.762	1.578	1.531	117	0.569	-0.414	0.496	176	-0.439	0.771	0.077
59	0.178	-0.151	-1.190	118	0.336	-1.441	0.559				

表 8. シラガゴケ属の各サンプルの 2 群の判別
 における各変量の判別係数

変量名	判別係数
A 葉の長さ	0.001
B 葉の最大幅	-0.002
C 葉基部-最大葉幅部長	-0.005
D 葉先背面の細胞長	0.040
E 葉先背面の細胞幅	-0.104
F 葉身・葉縁細胞列数	0.649
G 葉縁部の細胞列数	-0.701
H 葉身部の細胞列数	-0.852
I 葉身・葉縁部の幅	-0.010
J 葉横断面幅(基部)	-0.002
K 中肋横断面幅(基部)	0.015
L 中心-中肋端幅(基部)	-0.020
M 中心-最厚部幅(基部)	-0.008
N 一細胞層部幅(基部)	0.008
O 背面透明細胞層(基部)	1.278
P 腹面透明細胞層(基部)	0.695
Q 葉の厚さ(基部)	-0.015
R 葉の厚さ(先部)	0.028
S 葉先背面透明細胞高	-0.093
T 葉先腹面透明細胞高	-0.382
U 葉横断面幅(先部)	0.002
V 中心-葉端幅(先部)	-0.021
定数項	9.901
<hr/>	
F 値	3.715
自由度 1	22
自由度 2	153
P 値	0
マハラビスの平方距離	2.254
誤判別率	22.645 %

表9. 2群の判別における判別得点

サンプル No.	真の 群	判別 得点1	判別 群	マハラビス の距離1	マハラビス の距離2	サンプル No.	真の 群	判別 得点1	判別 群	マハラビス の距離1	マハラビス の距離2
1	1	2.589	1	23.761	28.938	45	1	-0.464	3	16.260	15.332
2	1	3.118	1	28.057	34.292	46	1	1.284	1	17.497	20.065
3	1	1.235	1	9.835	12.305	47	1	-1.728	3	13.485	10.030
4	1	3.102	1	18.054	24.259	48	1	0.265	1	35.102	35.631
5	1	2.310	1	14.344	18.964	49	1	-0.315	3	26.295	25.664
6	1	0.453	1	21.065	21.970	50	1	2.189	1	16.794	21.172
7	1	1.481	1	15.581	18.543	51	1	1.808	1	11.691	15.307
8	1	3.772	1	168.387	175.931	52	1	2.740	1	13.451	18.931
9	1	0.962	1	15.364	17.288	53	1	1.724	1	34.731	38.179
10	1	-1.556	3	25.444	22.331	54	1	2.303	1	14.699	19.305
11	1	0.532	1	23.647	24.711	55	1	-0.946	3	33.221	31.329
12	1	2.158	1	21.046	25.363	56	1	0.026	1	30.539	30.591
13	1	1.554	1	19.097	22.204	57	1	-0.500	3	29.509	28.509
14	1	-1.538	3	22.266	19.191	58	1	-2.575	3	28.570	23.421
15	1	-1.057	3	17.654	15.539	59	1	-0.525	3	14.656	13.606
16	1	2.287	1	18.523	23.097	60	1	1.043	1	14.992	17.079
17	1	1.617	1	14.390	17.624	61	1	1.904	1	39.572	43.380
18	1	-1.640	3	17.957	14.676	62	1	-0.391	3	17.353	16.571
19	1	1.589	1	13.659	16.837	63	1	0.726	1	9.492	10.943
20	1	-0.635	3	30.247	28.977	64	1	2.293	1	13.216	17.802
21	1	-0.835	3	26.256	24.587	65	1	3.576	1	26.677	33.829
22	1	-0.166	3	11.060	10.729	66	1	1.376	1	14.791	17.542
23	1	0.845	1	18.465	20.155	67	3	-1.205	3	38.050	35.639
24	1	3.037	1	17.647	23.722	68	3	1.154	1	11.016	13.325
25	1	0.615	1	16.212	17.443	69	3	1.294	1	23.221	25.810
26	1	1.063	1	15.708	17.833	70	3	-0.935	3	7.392	5.522
27	1	1.037	1	34.879	36.953	71	3	0.531	1	19.257	20.319
28	1	3.588	1	21.714	28.890	72	3	-1.641	3	37.308	34.027
29	1	2.533	1	11.867	16.933	73	3	-0.066	3	15.512	15.380
30	1	3.229	1	28.359	34.817	74	3	-1.903	3	22.818	19.013
31	1	2.372	1	11.253	15.997	75	3	-1.262	3	16.820	14.295
32	1	4.391	1	13.660	22.441	76	3	-1.243	3	30.893	28.407
33	1	1.045	1	12.685	14.775	77	3	0.093	1	24.753	24.939
34	1	0.244	1	21.129	21.617	78	3	-0.446	3	31.064	30.172
35	1	1.686	1	17.994	21.365	79	3	-0.618	3	27.382	26.145
36	1	1.569	1	23.974	27.111	80	3	0.262	1	18.244	18.768
37	1	-0.230	3	24.032	23.572	81	3	0.906	1	12.564	14.376
38	1	-1.348	3	16.420	13.725	82	3	-1.148	3	19.492	17.196
39	1	1.960	1	21.079	24.999	83	3	-0.961	3	51.109	49.187
40	1	1.639	1	13.801	17.079	84	3	-0.956	3	21.965	20.053
41	1	1.766	1	12.670	16.202	85	3	-0.658	3	17.184	15.868
42	1	2.541	1	21.542	26.624	86	3	-0.332	3	20.260	19.597
43	1	1.347	1	13.977	16.671	87	3	-0.939	3	20.543	18.665
44	1	2.291	1	19.424	24.005	88	3	-0.263	3	11.482	10.956

表9. (続き)

データ No.	真の 群	判別 得点1	判別 群	マハラビス の距離1	マハラビス の距離2	データ No.	真の 群	判別 得点1	判別 群	マハラビス の距離1	マハラビス の距離2
89	3	-0.313	3	20.137	19.511	133	3	-2.713	3	34.817	29.391
90	3	-1.139	3	32.804	30.525	134	3	-0.830	3	16.165	14.505
91	3	0.479	1	13.933	14.891	135	3	2.722	1	16.376	21.820
92	3	-3.984	3	33.902	25.934	136	3	1.118	1	17.029	19.266
93	3	-4.014	3	34.636	26.608	137	3	0.050	1	13.644	13.745
94	3	-3.199	3	37.718	31.321	138	3	0.850	1	16.777	18.477
95	3	0.464	1	11.971	12.900	139	3	-1.651	3	17.988	14.687
96	3	0.008	1	16.333	16.349	140	3	-1.693	3	19.973	16.588
97	3	0.937	1	35.870	37.743	141	3	-2.431	3	20.682	15.821
98	3	1.098	1	10.047	12.243	142	3	-1.099	3	20.877	18.680
99	3	-1.223	3	16.656	14.210	143	3	-2.238	3	19.133	14.656
100	3	-1.763	3	19.106	15.580	144	3	-0.134	3	8.893	8.625
101	3	-0.716	3	16.220	14.788	145	3	-0.406	3	36.981	36.169
102	3	-3.589	3	17.486	10.308	146	3	0.062	1	20.175	20.300
103	3	-1.233	3	15.004	12.538	147	3	-1.023	3	23.135	21.088
104	3	-1.860	3	15.714	11.994	148	3	-3.869	3	38.335	30.598
105	3	0.240	1	9.342	9.823	149	3	-1.976	3	36.389	32.437
106	3	-4.512	3	29.368	20.344	150	3	-1.284	3	14.782	12.214
107	3	-2.816	3	23.659	18.027	151	3	-1.696	3	15.341	11.949
108	3	0.317	1	10.745	11.378	152	3	-0.785	3	27.324	25.754
109	3	-1.462	3	18.547	15.623	153	3	0.418	1	14.848	15.684
110	3	-1.378	3	28.188	25.433	154	3	-3.555	3	23.467	16.357
111	3	-0.611	3	14.826	13.604	155	3	-1.958	3	19.724	15.808
112	3	0.185	1	24.804	25.174	156	3	-1.342	3	35.090	32.407
113	3	-0.754	3	14.430	12.923	157	3	0.348	1	21.192	21.888
114	3	-3.346	3	35.603	28.911	158	3	-1.663	3	21.028	17.702
115	3	-1.084	3	23.713	21.545	159	3	-0.237	3	15.980	15.506
116	3	-0.556	3	23.334	22.223	160	3	-1.874	3	18.690	14.941
117	3	0.061	1	32.767	32.889	161	3	-0.440	3	26.314	25.434
118	3	-1.131	3	34.768	32.505	162	3	-0.938	3	18.952	17.076
119	3	-3.692	3	27.111	19.726	163	3	-2.443	3	19.862	14.975
120	3	-0.560	3	11.007	9.887	164	3	-2.834	3	37.603	31.934
121	3	-1.553	3	36.981	33.875	165	3	-1.917	3	16.113	12.279
122	3	-4.319	3	35.605	26.967	166	3	-1.211	3	48.110	45.688
123	3	-0.768	3	11.617	10.082	167	3	-3.610	3	21.210	13.990
124	3	-2.434	3	24.300	19.433	168	3	-0.729	3	16.337	14.878
125	3	-3.659	3	30.922	23.604	169	3	-1.230	3	23.962	21.503
126	3	-2.301	3	28.457	23.855	170	3	0.129	1	9.242	9.499
127	3	-2.817	3	25.084	19.449	171	3	-4.816	3	44.480	34.848
128	3	-2.407	3	109.199	104.384	172	3	0.348	1	19.145	19.840
129	3	1.822	1	29.906	33.551	173	3	0.617	1	48.483	49.717
130	3	-1.002	3	30.345	28.341	174	3	-1.007	3	21.854	19.841
131	3	-3.361	3	32.154	25.433	175	3	-1.116	3	13.915	11.684
132	3	-0.972	3	15.230	13.286	176	3	1.394	1	10.820	13.607

表10. 中心束の有無によって分けられた2群の判別の結果(見かけの的中率)¹

判別群 \ 真の群	1	3
1(中心束無)	49	17
3(中心束有)	27	83

¹判別率 = 75.0 %

表11. 中心束の有無によって分けられた2群の度数分布表¹

階級値	真の群	
	1(中心束無)	3(中心束有)
-5		4
-4		10
-3	1	10
-2	6	33
-1	10	26
0	9	20
1	20	6
2	12	1
3	7	
4	1	
平均	1.127	-1.127
標準偏差	1.532	1.468

¹相関比 = 0.348

表 12. 集団遺伝学的解析に用いたシラガゴケ属蘚類の集団

集団	産 地	植物体の形態型	試料数
TSU	茨城県真壁郡真壁町筑波山北斜面	ホソバオキナゴケ型	12
ISH	石川県小松市片野	ホソバオキナゴケ型	10
KAR	島根県日野郡江府町烏ヶ山	ホソバオキナゴケ型	27
DAI	島根県日野郡江府町大山南斜面	ホソバオキナゴケ型	8
T01	広島県山県郡戸河内町黒山周辺	ホソバオキナゴケ型	33
T02	広島県山県郡戸河内町黒山周辺	ホソバオキナゴケ型	30
NOB	広島県三原市登町	ツクシシラガゴケ型	31
RYO	広島県三原市沼田東町両名	ツクシシラガゴケ型	37
KU1	広島県安芸郡倉橋町火山	中心束の形態からみて中間型	31
KU2	広島県安芸郡倉橋町須川神社	中心束の形態からみて中間型	30
K01	韓国京畿道ソウル市北岳山	ホソバオキナゴケ型	23
K02	韓国京畿道ソウル市北岳山	ホソバオキナゴケ型	19

表 13. 集団遺伝学的解析に用いた 12 遺伝子座

酵 素 名	遺伝子座
6-phosphogluconate dehydrogenase	<i>6pg1</i>
Malate dehydrogenase	<i>Mdh1</i>
	<i>Mdh2</i>
Aldolase	<i>Ald1</i>
Triosephosphate isomerase	<i>Tpi1</i>
Phosphoglucomutase	<i>Pgm1</i>
	<i>Pgm2</i>
	<i>Pgm3</i>
Phosphoglucose isomerase	<i>Pgi1</i>
	<i>Pgi2</i>
Superoxide dismutase	<i>Sod1</i>
	<i>Sod2</i>

表 14. 対立遺伝子頻度表

遺伝子座	対立 遺伝子	NOB	RYO	TO1	TO2	KU1	KU2	ISH	KO1	KO2	TSU	DAI	KAR
<i>6pg1</i>	<i>a</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>b</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Mdh1</i>	<i>a</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>b</i>	0.967	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<i>c</i>	0.033	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mdh2</i>	<i>a</i>	0	0	0	0.067	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>b</i>	1	0.941	1	0.900	1	1	1	0.750	1	1	1	1
	<i>c</i>	0	0.059	0	0.033	0	0	0	0.250	0	0	0	0
<i>Ald1</i>	<i>a</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Tpi1</i>	<i>a</i>	1	*	*	1	1	1	1	1	1	*	1	1
<i>Pgm1</i>	<i>a</i>	1	0.800	1	*	1	1	1	0	0	1	*	*
	<i>b</i>	0	0.200	0	*	0	0	0	1	1	0	*	*
<i>Pgm2</i>	<i>a</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	*	*
<i>Pgm3</i>	<i>a</i>	1	1	1	*	1	1	1	1	1	1	*	*
<i>Pgi1</i>	<i>a</i>	*	1	1	*	1	1	1	*	*	*	1	1
<i>Pgi2</i>	<i>a</i>	*	1	*	*	1	1	1	1	1	*	1	1
<i>Sod1</i>	<i>a</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>b</i>	0	0	0	0	0	0	0	0.913	1	0.500	0	0.111
	<i>c</i>	1	1	1	1	1	1	1	0.087	0	0.500	1	0.889
<i>Sod2</i>	<i>a</i>	*	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1	1
	<i>n</i>	*	*	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0

*: バンド未検出.

遺伝子座は表 1, 集団名は図 2 を参照.

表 15. ホソバオキナゴケの種内
遺伝子多様度 (*Hes*).

遺伝子座	<i>Hes</i>
<i>6pg1</i>	0.000
<i>Mdh1</i>	0.000
<i>Mdh2</i>	0.070
<i>Ald1</i>	0.000
<i>Tpi1</i>	0.250
<i>Pgm1</i>	0.375
<i>Pgm2</i>	0.250
<i>Pgm3</i>	0.375
<i>Pgi1</i>	0.500
<i>Pgi2</i>	0.375
<i>Sod1</i>	0.107
<i>Sod2</i>	0.250
平均値	0.213
標準誤差	0.048

表 16. ホソバオキナゴケの集団
内遺伝子多様度 (*Hep*)

集団	<i>Hep</i>
TO1	0.250
TO2	0.432
ISH	0.000
KO1	0.128
KO2	0.083
TSU	0.292
DAI	0.250
KAR	0.266
平均値	0.213
標準誤差	0.045

表 17. ホソバオキナゴケの遺伝子
分化係数 (*Gst*).

遺伝子座	<i>Gst</i>
<i>Mdh2</i>	0.170
<i>Pgm1</i>	1.000
<i>Sod1</i>	0.733
平均値	0.634
標準誤差	0.200

表 18. rDNA 中の ITS 領域塩基配列を求めるために用いた試料

		産 地	標 本 番 号
Lj2	<i>Leucobryum juniperoideum</i>	鹿児島県熊毛郡上屋久町	T. Yamaguchi 19021
Lh4	<i>Leucobryum humillimum</i>	鹿児島県熊毛郡上屋久町	T. Yamaguchi 18980
Lg1	<i>Leucobryum glaucum</i>	北海道根室支庁根室市	T. Yamaguchi 18774
Lb1	<i>Leucobryum bowringii</i>	鹿児島県熊毛郡上屋久町	T. Yamaguchi 18984
Ls1	<i>Leucobryum scabrum</i>	広島県佐伯郡宮島町	H. Tsubota 2093
Ls2	<i>Leucobryum scabrum</i>	鹿児島県熊毛郡上屋久町	T. Yamaguchi 18983
Lja1	<i>Leucobryum javense</i>	鹿児島県大島郡宇検村	T. Yamaguchi 18245
Lbn1	<i>Leucobryum boninense</i>	東京都小笠原支庁小笠原村	T. Yamaguchi 18398
Bro1	<i>Brothera leana</i> (out group)	台湾台中縣東勢鎮和平郷自由村	T. Yamaguchi 17748

表 19. シラガゴケ属蘚類 7 種の形態の比較

	雌花序 形成位置	葉の上部 背面細胞先端	葉形	中心束
ホソバオキナゴケ <i>Leucobryum juniperoideum</i> (Brid.) Müll.Hal.	主茎	平滑	狭披針形	—
ツクシシラガゴケ <i>Leucobryum humillimum</i> Cardot	主茎	平滑	狭披針形	±
シロシラガゴケ <i>Leucobryum glaucum</i> (Hedw.) Ångstr.	主茎	平滑	狭披針形	—
アラハシラガゴケ <i>Leucobryum bowringii</i> Mitt.	主茎	平滑	線形	+
オオシラガゴケ <i>Leucobryum scabrum</i> Sande Lac.	側枝	突出	狭披針形	—
ジャバシラガゴケ <i>Leucobryum javense</i> (Brid.) Mitt.	側枝	突出	狭披針形	—
ムニンシラガゴケ <i>Leucobryum boninense</i> Sull. et Lesq.	側枝	突出	狭披針形	—

Yamaguchi (1993) から改編.

表 20. ITS1 のアライメント結果

		1-----10-----20-----30
1	<i>Lj2</i> <i>Leucobryum juniperoideum</i>	CACACACACGC?ATCGTGGCAAACCC--TT
2	<i>Lh4</i> <i>Leucobryum humillimum</i>	CACACACA?GCAATCGTGGCAAACCC--TT
3	<i>Lg1</i> <i>Leucobryum glaucum</i>	CACA?ACACGCAATCGTGGCAAACCC--TT
4	<i>Lb1</i> <i>Leucobryum bowringii</i>	CACACACACGCAATCGTGGCAAACCC----
5	<i>Ls1</i> <i>Leucobryum scabrum</i>	CACACAC??GCA?TCGTGGCAA??CC--TT
6	<i>Ls2</i> <i>Leucobryum scabrum</i>	?A??A??CGCA?T?GTGGC?A??CC--TT
7	<i>Lja1</i> <i>Leucobryum javense</i>	CACACACACGCAATCGTGGCAAACCC--TT
8	<i>Lbn1</i> <i>Leucobryum boninense</i>	????????GCAATCGTGGCAAACCCCA?T
9	<i>Brol</i> <i>Brothera leana</i>	-----AAACAGAA?-GTGGCAAACCTG---

	-----40-----50-----60-----70-----80-----90
1	CTTTCAGAGAACCGAATGATTGT?C?CC-TT??ACTTTTGTG----GTGATCGACTGT
2	CTTTCAGAGAACCGAATGATTGTCCCCCTTGAACTTTTGTGGTTGGTGATCGACTGT
3	CTTTCAGAGAACCGAATGATTGTCCCC--T?GAACTTTTGTG----GTGATCGACTGT
4	CTTTCAGAGAACCGAATGATTGTCCCCCTTGAACTCTTGTG----G-GTTGGGTTGG
5	GTCTCAGAGAACCGAATGATTGTCCCC--TTGAACTTTTGTG----GTGATCGGCTGT
6	GT?T?AG?G??CG??G?TTGTCC?C?-T?G????TTTTGTG----GTGATCGGCTGT
7	GTCTCAGAGAACCGAATGATTGTCCCC--TTGAACTTTTGTG----GTGATCGGCTGT
8	?T?TCAG?TAACC??TGAT?GTCC?CC-TCAAACTTTTGTG----GT?ATCGGCTGT
9	CT?TCTGCC--TTGGCCCTTTGGCCCTG-GTGGGGCAGTATTAGAGAACCATTGATTGT

	-----100-----110-----120-----130-----140-----150
1	---GTTTCGTTGTTGG-GGCC-----
2	---GTTTGTGTGGG-GCG-----
3	---GTTCCGCCGTTGT-G-----
4	---GTTGGGTG-GATCGACC-----GTTTTG
5	CTTGTTTCGTTGTGGGCGGCCAACCTTCTTCTGCTCTGCCTCTTCCCTTGGCGAGTCCTT
6	CTTGTTTCGTTGTGGGCGGCCAACCTTCTTCTGCTCTGCCTCTT-CCCTTGGCGAGTCCTT
7	CTTGTTTCGTTGTGGGCGGCCAACCTTCTTCTGCTCTGCCTCTT-CCCTTGGCGAGTCCTT
8	CTTGTTTCGTTGTGGGC?GCCAACCTTCTT?TGCTCTGCCTCTT-CCCTTGGCGAGTCCTT
9	CCCCTTCGTTGGGGGACC-----AAGTCCCC

表 20. (続き)

	-----160-----170-----180-----190-----200-----210
1	-----TAAACCCCA--CGGCGAACG----AGTTC
2	-----AAGGCCCA--CGGCGAACG----AGTTC
3	-----G-GGCCCA--CGGCGAACG----AGTTC
4	TTGT-----GGGCGGCACACAACGAACGGGAGTCCACCAC
5	TTGTCAAGGAGAAGAAGGGGGG--CAGGGGAAGGCCACAACGGGCGGGG----AGTCC
6	TTGTCAAGGAGAAGAAGGGGGG--CAGGGGAAGGCCACAACGGGCGGGG----AGTCC
7	TTGTCAAGGAGAAGAAGGGGGG--CAGGGGAAGGCCACAACGGGCGGGG----AGTCC
8	TTGTCAAGGAGAAGAAGGGGGGGGCAGGGGAAGGCCACAACGGGCGGGG----AGTCC
9	CCCTC-----C-----GACCTGACCATT--GGTGGGCTGGGGAGCGG
	-----220-----230-----240-----250-----260-----270
1	CAC----CAACAAGAGGACCATA-ATAACATTATGGTTGCGCAATGCATCGACCCCTT-
2	CACC-ACCAACAAGAGGACCATA-ATAACATTATGGTTGCGCAATGCATCGACCCCTT-
3	CAC----CAACAAGAGGACCATA-ATAACATTATGGTTGCGCAATGCATCGACCCCTT-
4	CACCCACCAACAAGAGGACCATAACCACCTTAATGGTTGCGCAATGCATCGACCCCTT-
5	CAC----CAACAAGAGGGCCATA-CTAGCAT-ATGGTTGCGCAATGCATCGACCCCTTCA
6	CAC----CAACAAGA?GGCCATA-CTAGCAT-ATGGTTGCGCAATGCATCGACCCCTTCA
7	CAC----CAACAAGAGGGCCATA-CTAGCAT-ATGGTTGCGCAATGCATCGACCCCTTCA
8	CAC----CAACAAGAGGGCCAT-----GGTTGCGCAATGCATCGACCCCTTCA
9	GGCTTGGTGACCACAACACCCCA--CACCTTCAATGTTGCGCAATGCTTCAACACTTC-
	-----280-----290-----300-----310-----320-----330
1	CAATATGACTGAGTATAGAA-TCTCTCGATCGGGT-----GGGTTCG-----GGG
2	CAATATGACTGAGTATAGAA-TCTCTCGATCGGGT-----GGGTTCG-----GGG
3	CAATATGACTGAGTATAGAA-TCTCTCGATCGGGT-----GGGTTCG-----GGG
4	-AATATGACTGAGTATAGAAATCTCTCGATCGGGTTTTCTTGGGGGTTGGTTGTTGGGG
5	CAATGTGACTGAGTACAGAA-TCTCTCGATCGGGT-----GGGTTCG-----GGG
6	CAATGTGACTGAGT?TAGAA-TCTCTCGA?CGGG?T-----GGGTTCG-----GGG
7	CAATGTGACTGAGTATAGAA-TCTCTCGATCGGGT-----GGGTTCG-----GGG
8	CAATGTGACTGAGTATAGAA-TCTCTCGATCGGGT-----GGGTTCG-----GGG
9	-AATATGACTGAGTATAAAA----TAGAGGATACCC--C----GGGCGATC----GAG

表 20. (続き)

	-----340-----	350-----	360-----	370-----	380-----	390
1	GC---TTGCCCCCCC	----GACCCA	-----GACCCATCGACCGAGTTGTTGCAA			
2	GC---TTGCCCCCCC	---CGACCC	-----GACCCATCGACCGAGTTGTTGCAA			
3	GC---TTGCCCCCCC	----GACCC	-----GACCCATCGACCGAGTTGTTGCAA			
4	GCGTGAAAGCCCCCA	ACCCGACCCGAGAGGAGGACCCATCGACCGAGTTGTTGCAA				
5	-----TCGCCCCCG	----ACCC	-----GACCCATCGACCGAGTTGTTGCAA			
6	-----?CG?CCCCG	----ACCC	-----GACCCATCGACCGAGTTGTTGCAA			
7	-----TCGCCCCCG	----ACCC	-----GACCCATCGACCGAGTTGTTGCAA			
8	-----TCGCCCCCG	----ACCC	-----GACCCATCGACCGAGTTGTTGCAA			
9	---CGATCGATCGATC	----GAGTT	-----GTCTTTTGATCAA			----AAA

393

1	CA-
2	CAA
3	CAA
4	CAA
5	CAA
6	CAA
7	CAA
8	CAA
9	CAA

表 21. ITS2 のアライメント結果

		1-----10-----20-----30
1	Lj2 <i>Leucobryum juniperoideum</i>	CGCGACACCCACCGATCCACTCC-----
2	Lh4 <i>Leucobryum humillimum</i>	CCGCGACACCCACCGATCCACTC-----
3	Lg1 <i>Leucobryum glaucum</i>	CCGCGACACCCACCGATCCACTCC-----
4	Lb1 <i>Leucobryum bowringii</i>	CCGCGACACCCACCAATCCACTCTTCTGCC
5	Ls1 <i>Leucobryum scabrum</i>	CCGCGACACCCACCGATCCACAC-----
6	Ls2 <i>Leucobryum scabrum</i>	CCGCGACACCCACCGATCCACAC-----
7	Lja1 <i>Leucobryum javense</i>	CCGCGACACCCACCGATCCACAC-----
8	Lbn1 <i>Leucobryum boninense</i>	CCGCGGCACCCACCGATCCACAC-----
9	Brol <i>Brothera leana</i>	CCGCGACACCCACCAATCCTCCCCCTA--
		-----40-----50-----60-----70-----80-----90
1		----TACCACT---GAGAAGTGG-AGTGTGTTGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
2		----TACCACT---GAGGAGTG-----CTGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
3		----TACCGCT---GAGAAGTGG-AGTGTGTTGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
4		ACTTCTCTCATCGGGGGAGTGGTAGTGTGTGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
5		-----TCTCTCA---GTGGAGTG-----TTGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
6		----TCTCTCA---GTGG?GTG-----TTGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
7		----TCTCTCA---GTGGAGTG-----TTGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
8		----TCTCTCA---GTGGAGTG-----TTGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
9		A---CTTAACTTTAAGTTAAGTTAGTG---GGGGATCGAGTGGAAGTGGCCATCCGAA
		-----100-----110-----120-----130-----140-----150
1		TCGGGCAATGGTT-----ACCATTG--AACATTGGGTTGGCTGAAATGGAGGGAATTTG
2		TCGG-CAATGGTTTTTTATGCCATTG--AACATTGGGTTGGCTGAAATGGAGGGAATTTG
3		TCGG-CAATGGTT-----ACCATTG--AACATTGGGTTGGCTGAAATGGAGGGAATTTG
4		TGAG--AGTGATGA----TATTATT--ATCATTGGGTTGGCTGAAATGGAGGG?ATTTG
5		CGAG-TCGTGGTGAACCTACCATTG--AACGTTGGGTTGGCTGAAATGGAGGGAATTCG
6		CGAG-TCGTGGTGAACCTACCATTG--AACGTTGGGTTGGCTGAAA?GGAGGGAATTCG
7		CGAG-TCGTGGTGAACCTACCATTG--AACGT?GGGTTGGCTGAAATGGAGGGAATTCG
8		CGAG-TCGTGGTGAACCTACCATTG--AACGTTGGGTTGGCTGAAATGGAGGGAATTCG
9		CATATTAGTAGTACTCCGGGAGGTGAGAGCCCCCGATTACTTACACAGAGTTGGGTTG

表 21. (続き)

```

-----160-----170-----180-----190-----200-----210
1  GCCAAGTTGCCGGGG--ACACAGCCCGCGATTAGGTGATCCAATGC-----GCGTTGGT
2  GCCAAGTTGCCGGGG--ACACAGCCCGCGATTAGGTGATCCAATGC-----GCGTTGGT
3  GCCAAGTTGCCGGGG--ACACAGCCCGCGATTAGGTGATCCAATGC-----GCGTTGGT
4  GCCAACTTGGCGGGGGGACACAGCCCGCGATTAGGTGATCCAATGC-----GCGTTGGT
5  GCCAAGTTGGCGGGGG--ACACAGCCCGCGATTAGGTGATCCAATGC-----GCGTTGGT
6  GCCAAGTTGGCGGG?G--ACACAGCCCGCGA?TAGGTGATCCAATGC-----GCGTTGGT
7  GCCAAGTTG?CGGGGG--ACACAGCCCGCGATTAGGTGATCCAATGC-----GCGT?GGT
8  GCCAAGTTGGCGGGGG--ACACAGCCCGCGATTAGGTGATCCAATGCAATGCGCGTTGGT
9  GCTGAAATAGAGGGGA----ATATTCTCAAATTTTTTCGTCTCGGGCGCAGCCG--CGAT

```

```

-----210-----220-----230-----240-----250-----260
1  TGTG----CCCCCGGCGGGCT----CGAGGATTCCAAAGCAGGCGCCCCCTAGTACCT
2  TGTG----CCCCCGGCGGGCT----CGAGGATTCCAAAGCAGGCGCCCCCTTGTACCT
3  TGTG----CCCCCGGCGGGCT----CCTGGATTCCAAAGCAGGCGCCCC--TAGTACCT
4  TGTGGTCCCCCGGCGGGTGTGTAAAGGATTCCAAAGCAGGCGAGGCG--GCCCCC
5  TGTG----CCCCCGGCGGGCT----TAAGGATTCCAAAGCAGGCGCCCC--TAGTACCT
6  TG?G----CCCCCGGCG?GCT----TAAGGA?TCCAAAGCA?GCGCCCC--TAGTACCT
7  TGTG----CCCCCGGCGGGCT----TAAGGATTCCAAAGCAGGCGCCCC--TAGTACCT
8  TGTG----CCCCCGGCGGGCT----TAAGGATTCCAAAGCAGGCGCCCCCTAGTACCT
9  TAGGT--GATCCGAGCCATGCT----CGGAACTTACGACGCGCGTTGGTT--GTGTCC

```

```

-----270-----280-----290-----300-----310-----320
1  CTCCCCTC-TCTCCCCCTCTCTAACTAAGGAAGGGGGAAAAAAGGGAAGGGAGAAAGAG
2  CCCCTCT-----AGAGGGAAGGGAGCAAAGG
3  CTCCCCTC-TCTCCCC-TCTC?AACTAAGG--GGGGGAAAAGAGGGAAGGGAGAAAAAG
4  C-----TCTCTCCTAAAGCC-----AA?GCAAGGGGAGAAAAGGGGAAAA
5  T-TTACCCATCTCTCTTCCCC--CCCTTCAAGGGGGGAAGAGAAA?GGGGAAGGAAA
6  T--ACC--TCTCTCTTCCCC--CC-----AAGG?GGGAAGAGAA?AGGGGAAGGAAA
7  T--ACC--TCTCTCTTCCCC--CC-----AAGGGGGGAAGAGAAAAGGGGAAGGAAA
8  TATTACCCATCTCTCTTCCCC--CCCTTCAAGGGGGGAAGAAAAAAGGGGAAGGAAA
9  CCGGCCAGGTTGGATTGGATTC--CTAAGCAGGTTTTTCTCTCTCATAAAGAGAAAA

```

表 21. (続き)

-----330-----340-----350-----360-----370-----380
 1 GGGATCAGTCACGCATCAGACCTCTGATCAGAAAAGACTACCCGCTGAATTTAAGCATAT
 2 GGGATCAGTCACGCATCAGACCTCTGATCAGAAAAGACTACCCGCTGAATTTAAGCATAT
 3 GGGATCAGTCACGCATCAGACCTCTGATCAGAAAAGACTACCCGCTGAATTTAAGCATAT
 4 GGAA--GTCACGCATCAGACCTCTGATCAGAAAAGACTACCCGCTGAGTTTAAGCATAT
 5 ?GGA--AGTCACGCATCAGACCTCTGATCAGAAAAGACTACCCGCTGAGTTTAAGCATAT
 6 AGGA--AGTCACGCA?CAGACCTCTGA?CAGAAAAGACTACCCGCTGAGTTTAAGCATAT
 7 AGGA--AGTCACGCATCAGACCTCTGATCAGAAAAGACTACCCGCTGAGTTTAAGCATAT
 8 AGGA--AGTCACGCATCAGACCTCTGATCAGAAAAGACTACCCGCTGAGTTTAAGCATAT
 9 AAGA--GTTACGCATCAGACCTCTGATCAGAAAAGACTACCCGCTGAGTTTAAGCATAT

-----390-----400-----410-----420423
 1 CACTAAGCGGAGGAGAAGAAA?TAACCAGGATT?CCCTA?TAA
 2 CACTAAGCGGAGGAGAAGAACTAACCAGGATTTCCCTAGTAA
 3 CACTAAGCGG?GG?G?AG?AACTAACCAGGATTTCCCTAGTA?
 4 CACTAAGCGGAGGAGAAGAACTAACCAGGATTTCCCTAGT?A
 5 CACTAAGCGGAGGAGAA?AACTAA?CAGGATTTCCCTAGTAA
 6 CACTAAGCGGAGGAG?AGAACTAACC?GGATTTCCC?A?TAA
 7 CACTAAGCGGAGGA?AAGAACTAACCAGGATTTCCCTAGTAA
 8 CACTAAGCGGAGGAGAAGAACTAACCAGGATTTCCCTAGTAA
 9 CACTAAGCGGAGGAGAAGAACTAACCAGGATTTCCCTAGTAA



図1. シラガゴケ属蘚類の野外での生育状況. A, B. *Leucobryum juniperoideum* (Brid.) C. Muell. (ホソバオキナゴケ). A. 土上形成された群落(東広島市). B. スギの樹幹の基部に形成された群落(三原市).

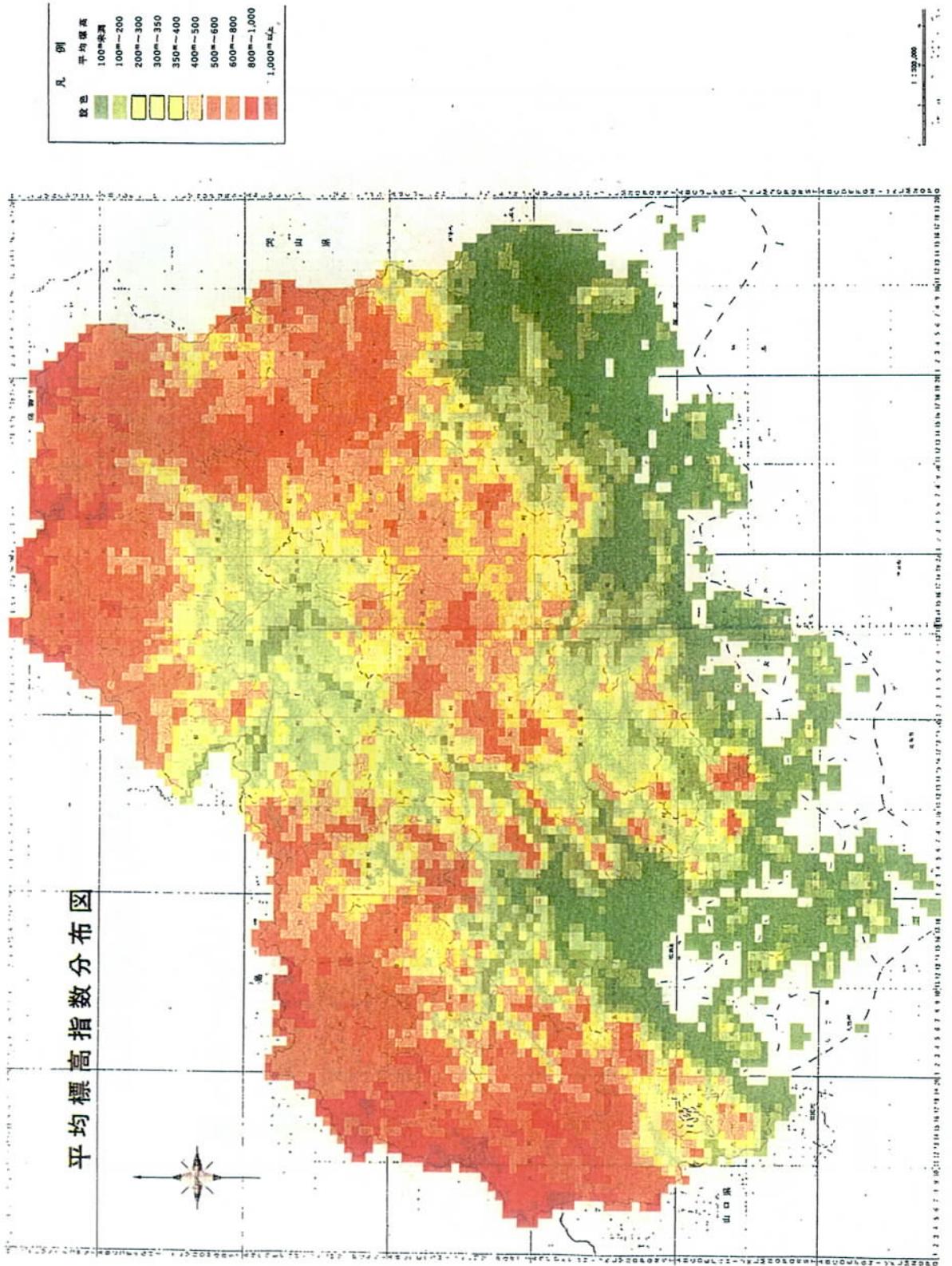


図3. 広島県の平均標高指数分布図（広島県・気象庁 1982 から引用）.

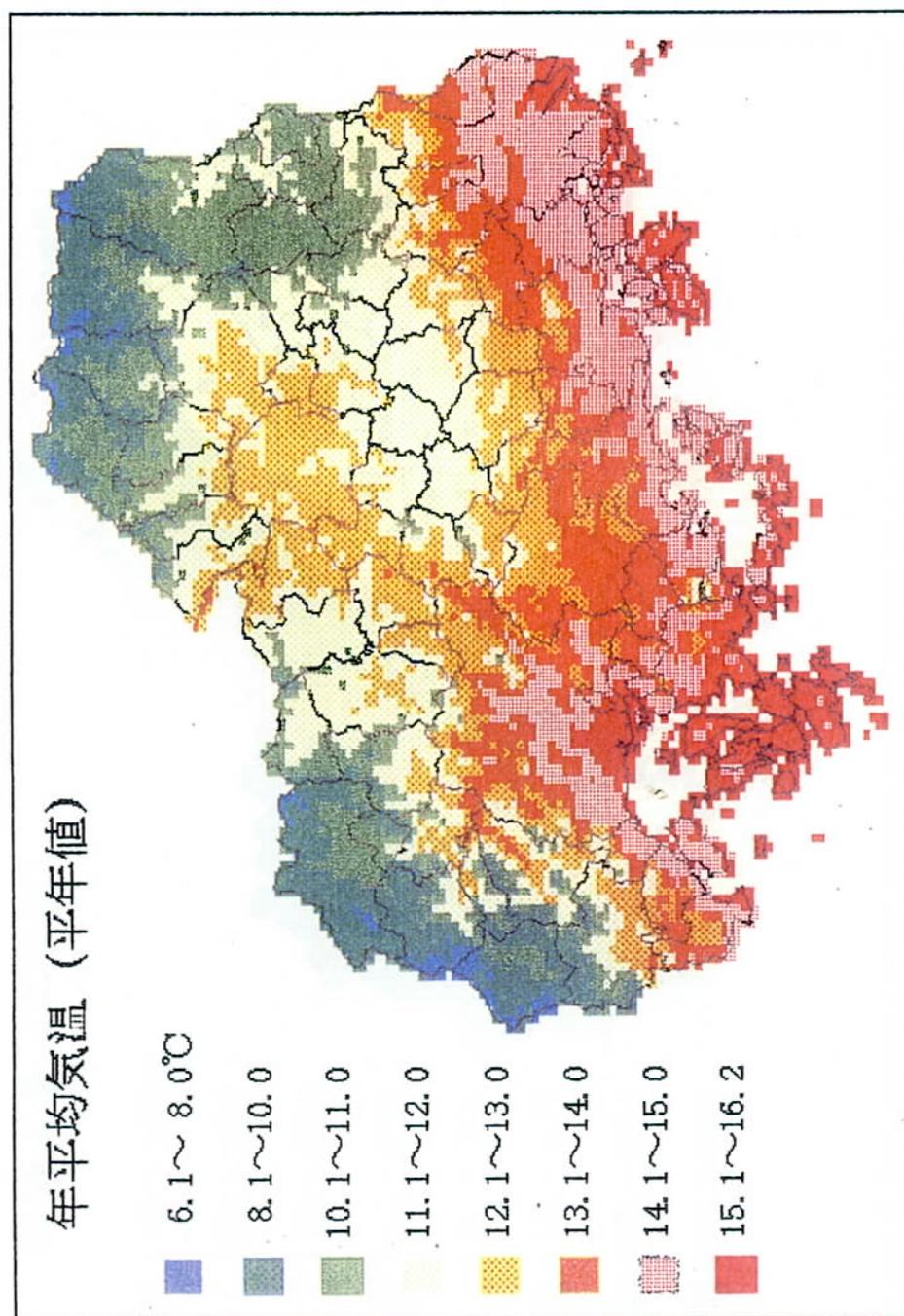


図4. 広島県の年平均気温の平均値 (1979-1997年; 気象庁 1998 から引用).

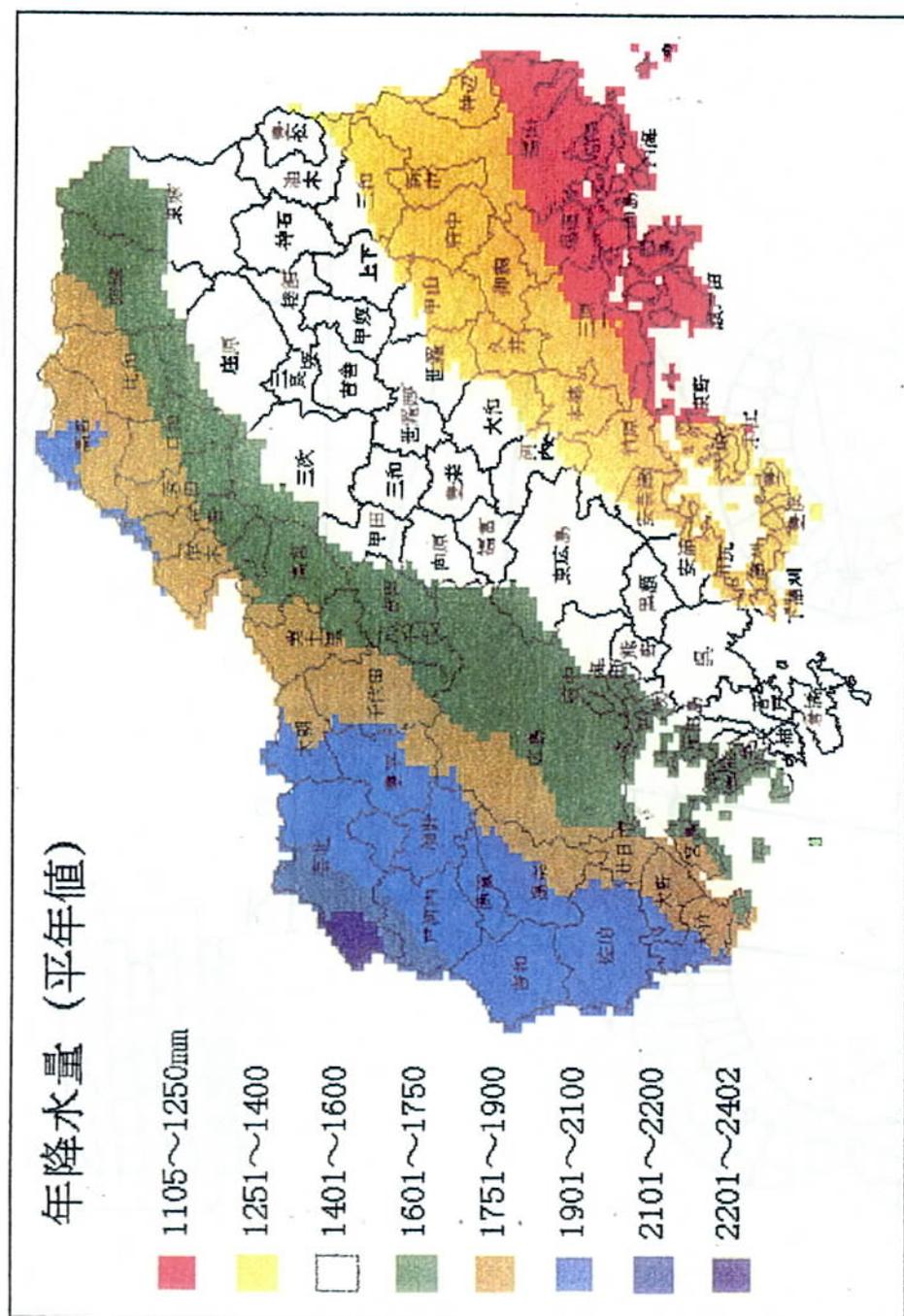


図 5. 広島県の年降水量の平均値 (1979-1997年; 気象庁 1998 から引用).

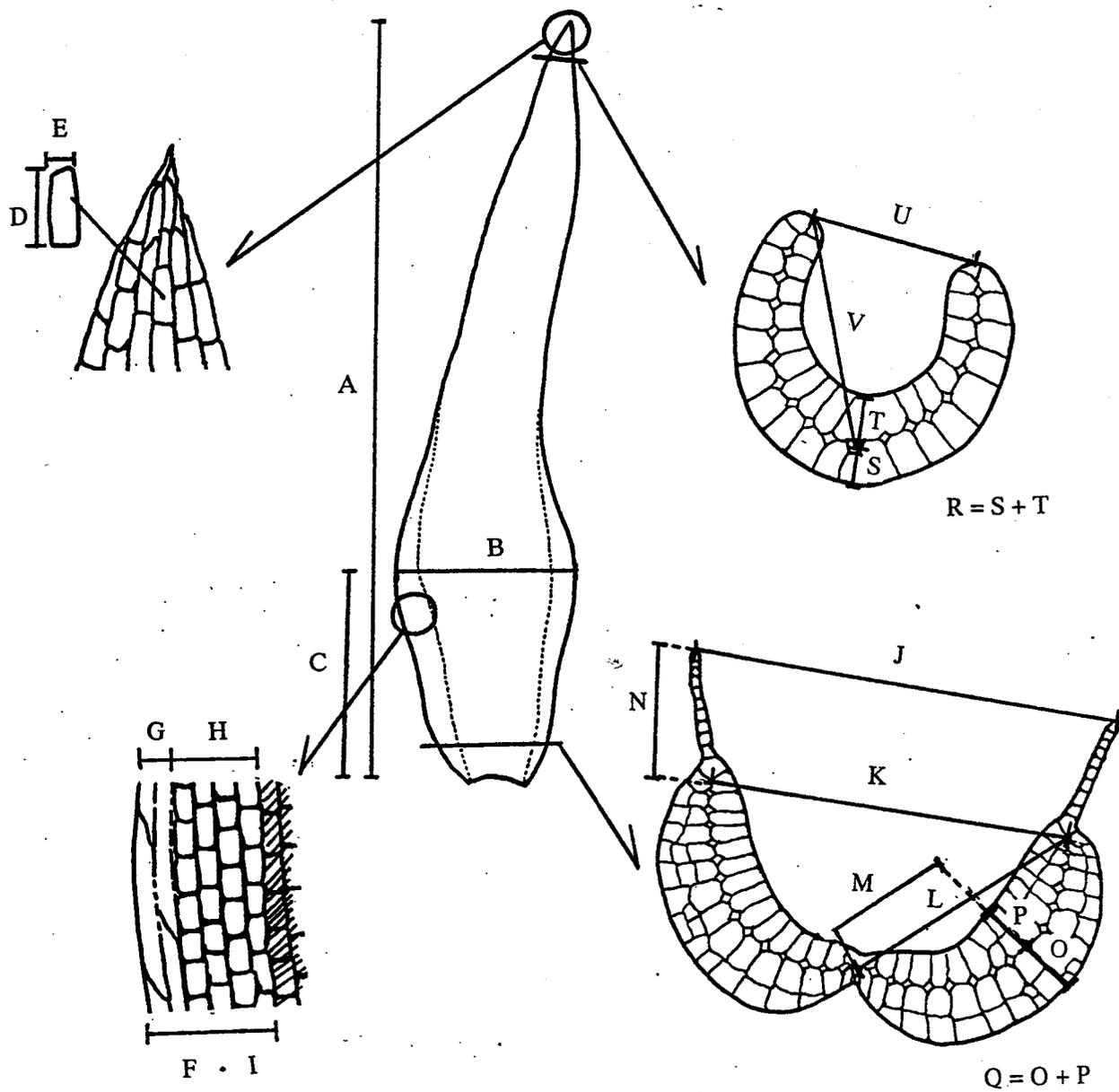


図 6. 形態測定部位. 測定部位 A-W については本文および表 2 を参照.

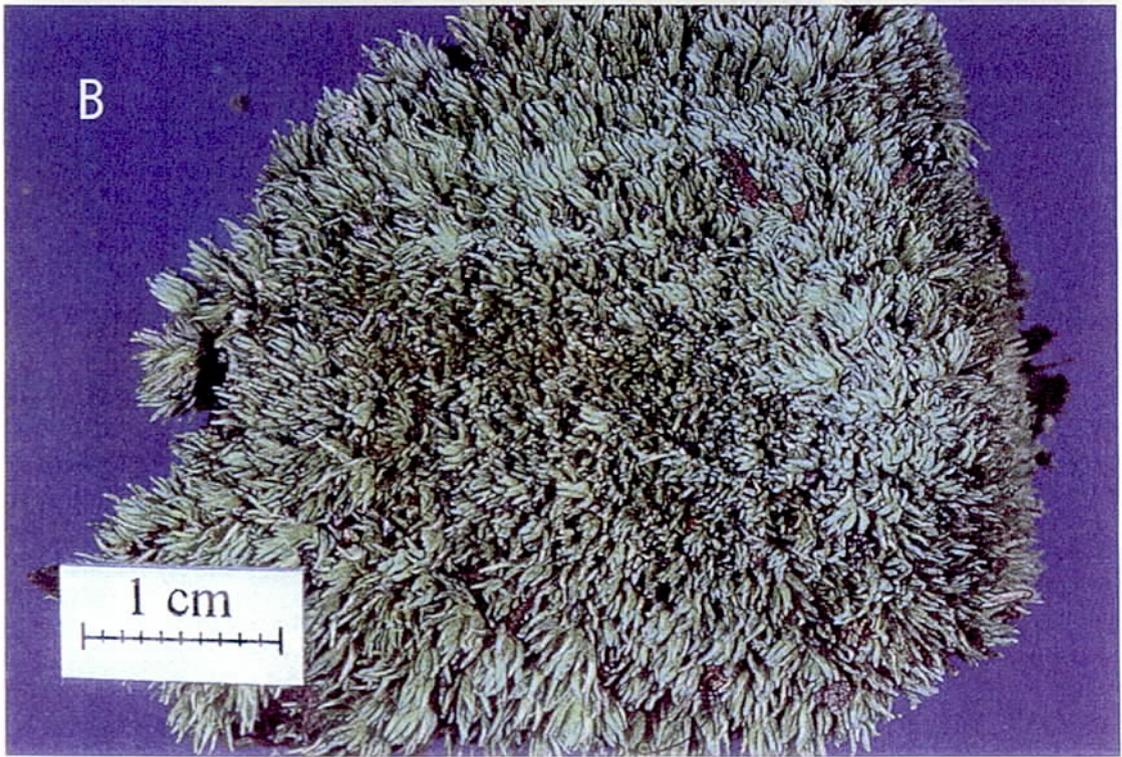


図 7. *Leucobryum juniperoideum* (Brid.) C. Muell. (ホソバオキナゴケ) の形態変異 - 植物体と群落. A. *L. juniperoideum* (典型) 形の植物体. 密な群落を形成するが, 葉が細長く先が尖るため柔らかい感じの群落となる. B. *L. humillimum* 形の植物体. 非常に密な群落を形成し, 葉が短く先が棍棒状になるため全体的に固い感じの群落となる.

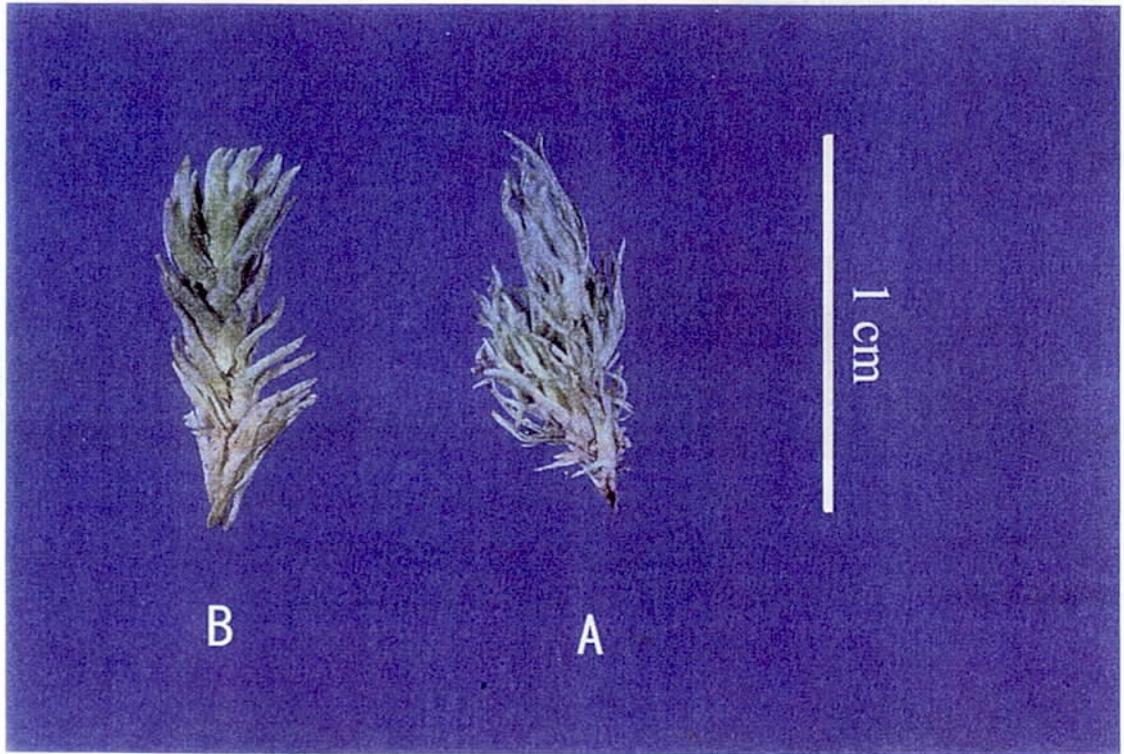


図 8. *Leucobryum juniperoideum* (Brid.) C. Muell. (ホソバオキナゴケ) の形態変異 - 植物体. A. *L. juniperoideum* (典型) 形の植物体. 葉の先部は細長くて狭く尖り, やや巻縮する. B. *L. humillimum* 形の植物体. 葉先が棍棒状になって先端が急に尖り, ほとんど巻縮しない.

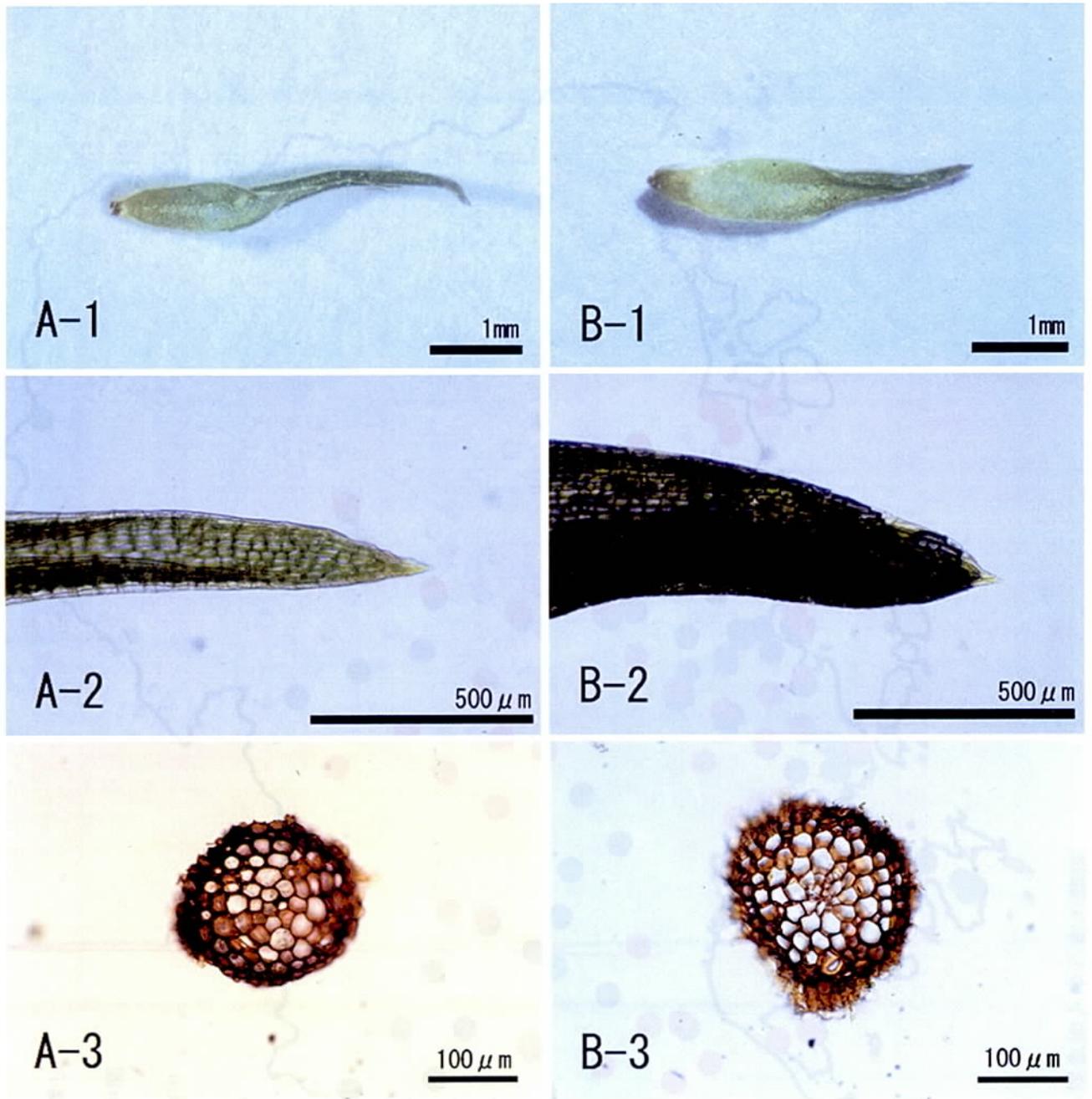


図9. *Leucobryum juniperoideum* (Brid.) C. Muell. (ホソバオキナゴケ) の形態変異 - 葉と茎.
 A. *L. juniperoideum* (典型) 形の植物体. A-1. 葉の全形. A-2. 葉の先部. A-3. 茎の横断面. 中心束がない.
 B. *L. humillimum* 形の植物体. B-1. 葉の全形. B-2. 葉の先部. B-3. 茎の横断面 (中心部に小形薄壁の細胞からなる中信束が発達).

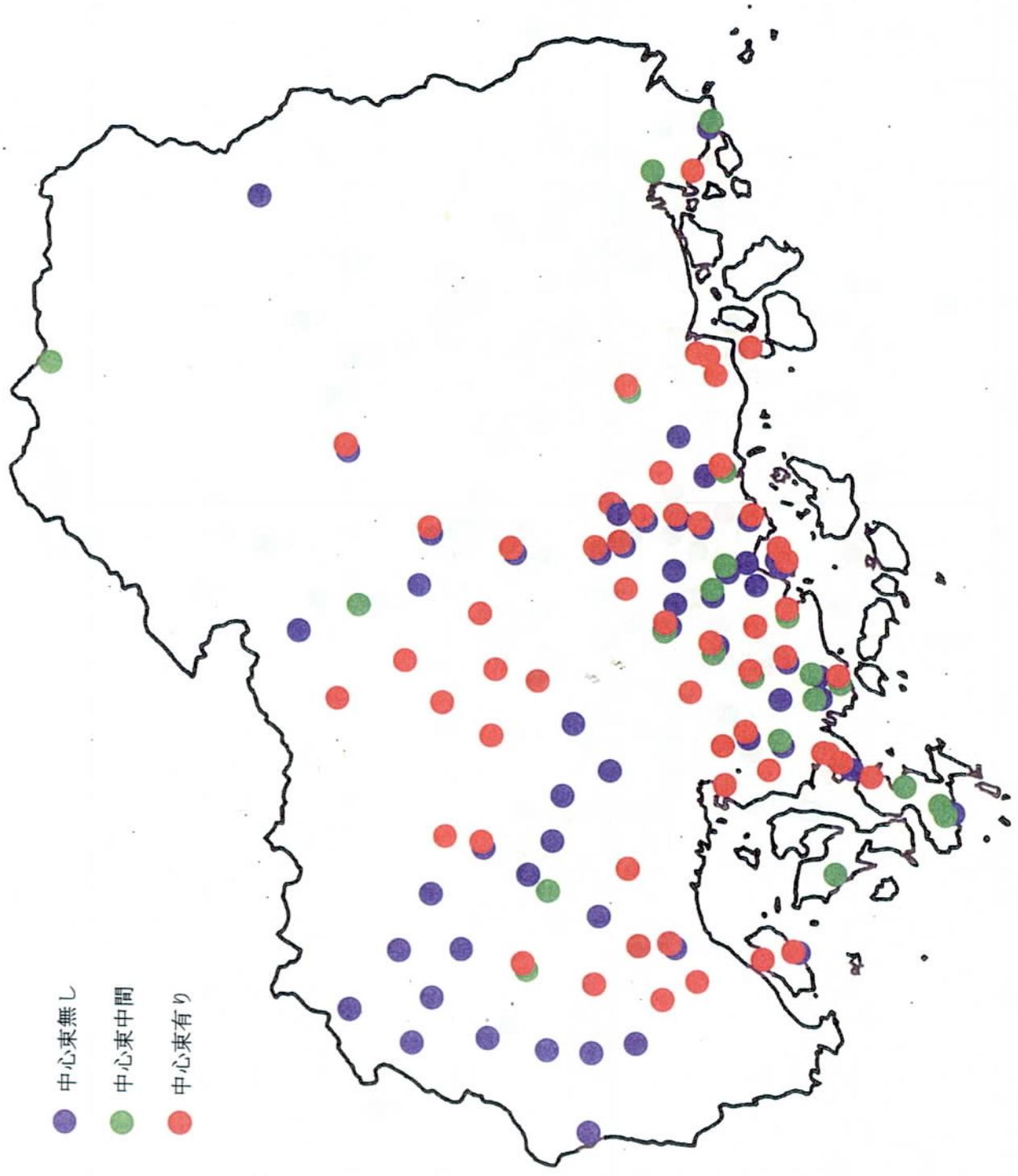


図10. サンプル採集地と中心東の関係.

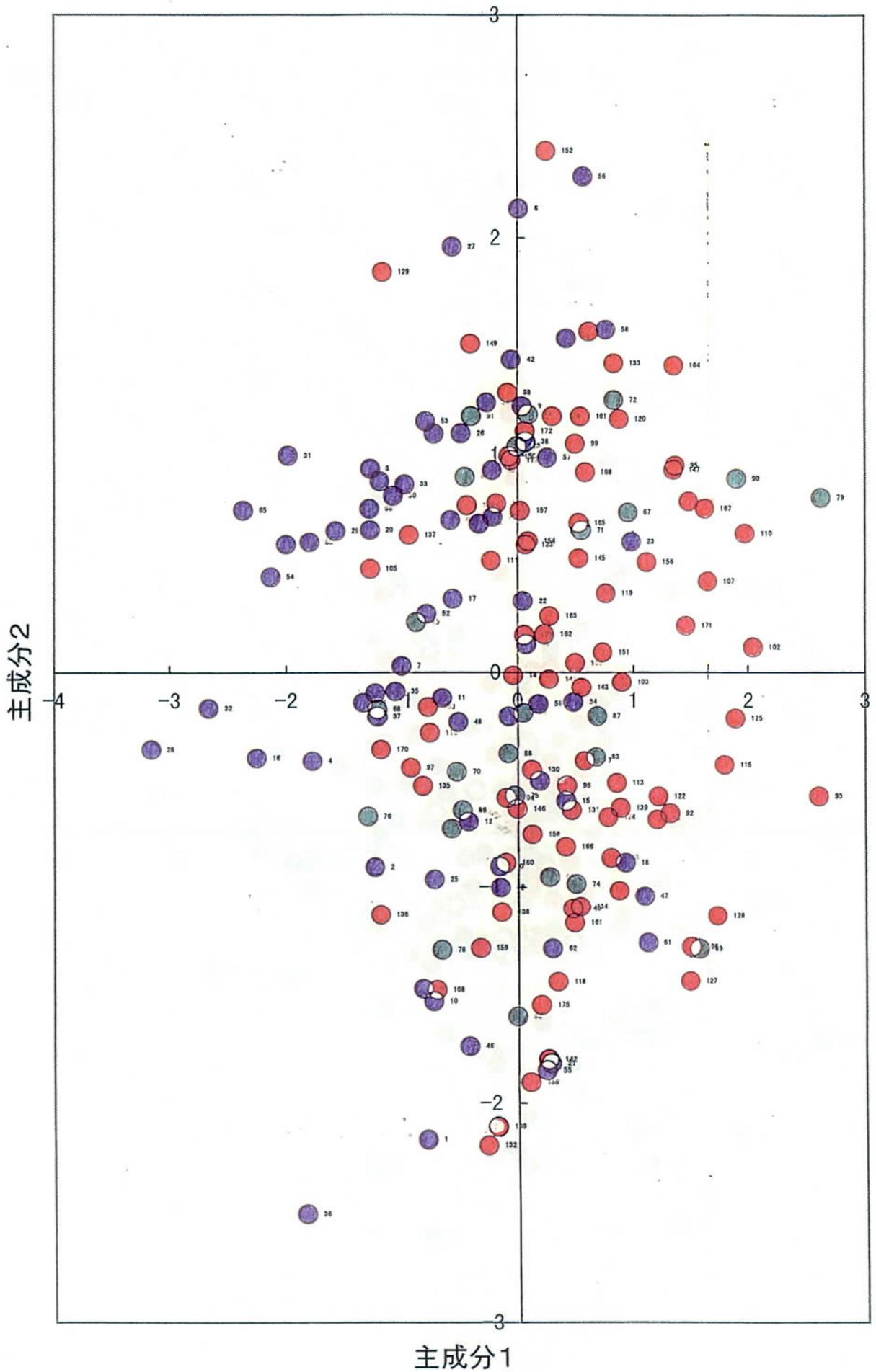


図 11. 主成分分析における第 1 主成分と第 2 主成分の関係。

●：中心束無し；●：中心束の発達が中間的；●：中心束有り。

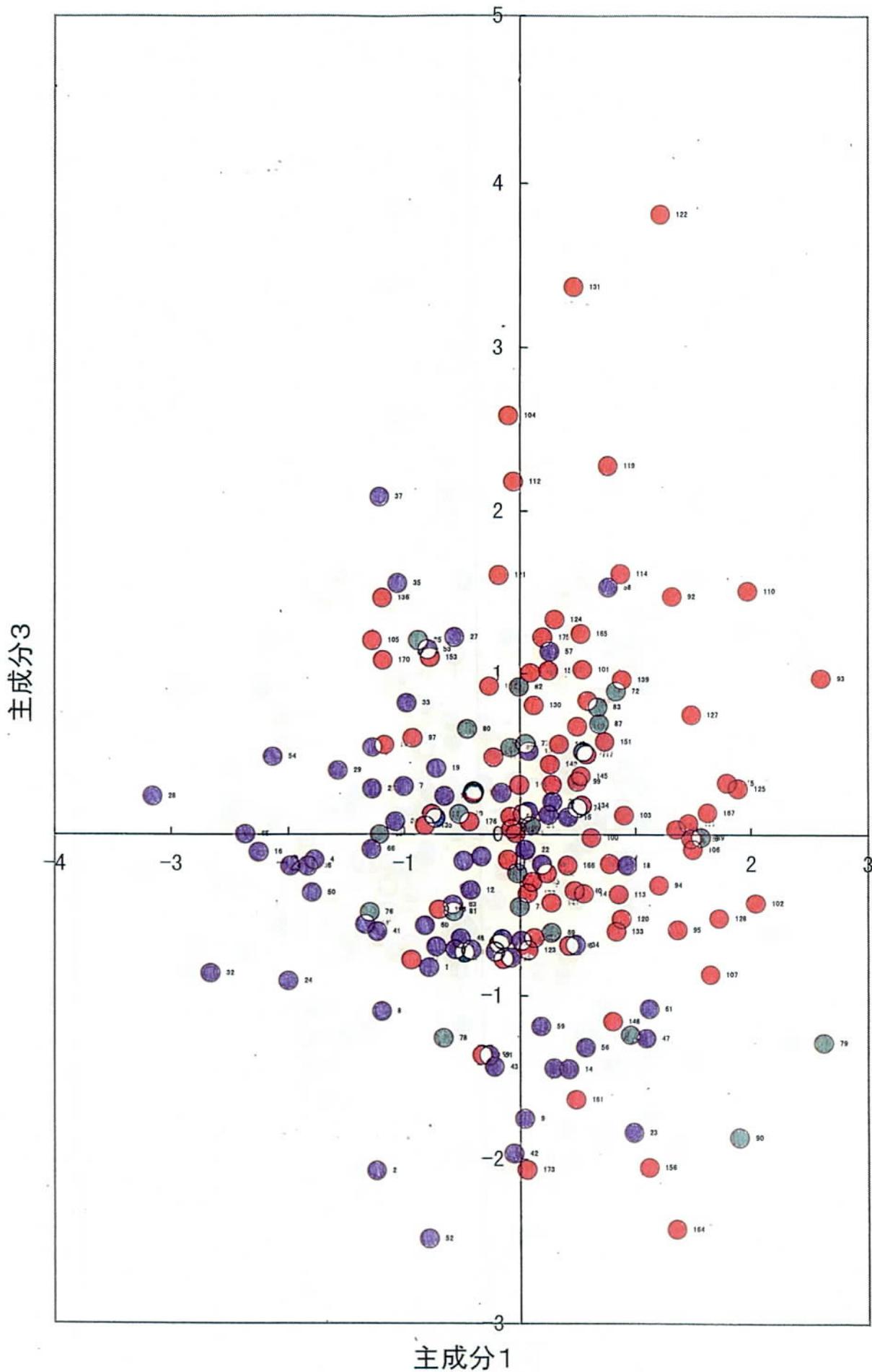


図 12. 主成分分析における第 1 主成分と第 3 主成分の関係。
 ●: 中心束無し; ●: 中心束の発達が中間的; ●: 中心束有り.

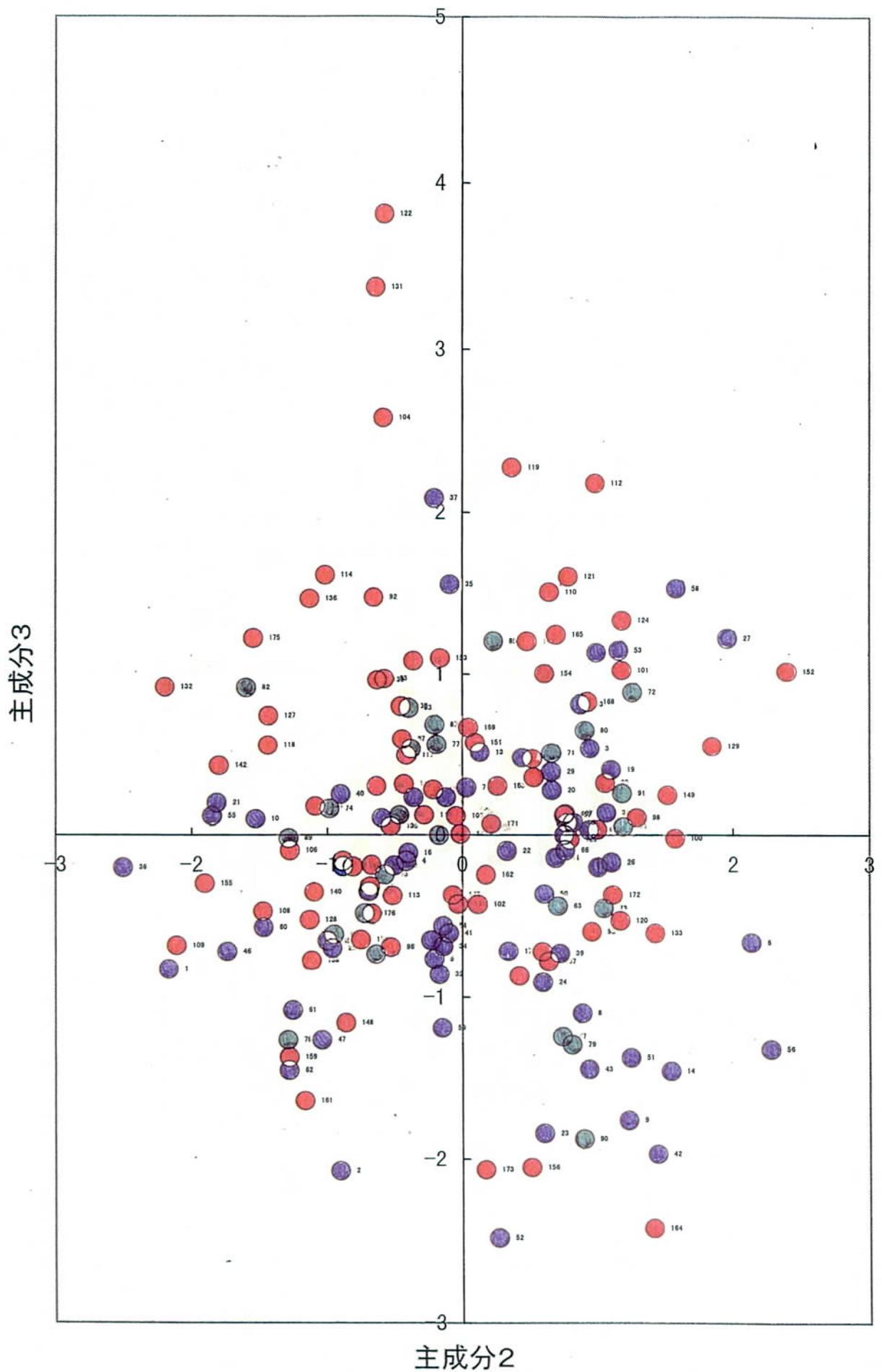


図 13. 主成分分析における第 2 主成分と第 3 主成分の関係。
 ●: 中心束無し; ●: 中心束の発達が中間的; ●: 中心束有り.

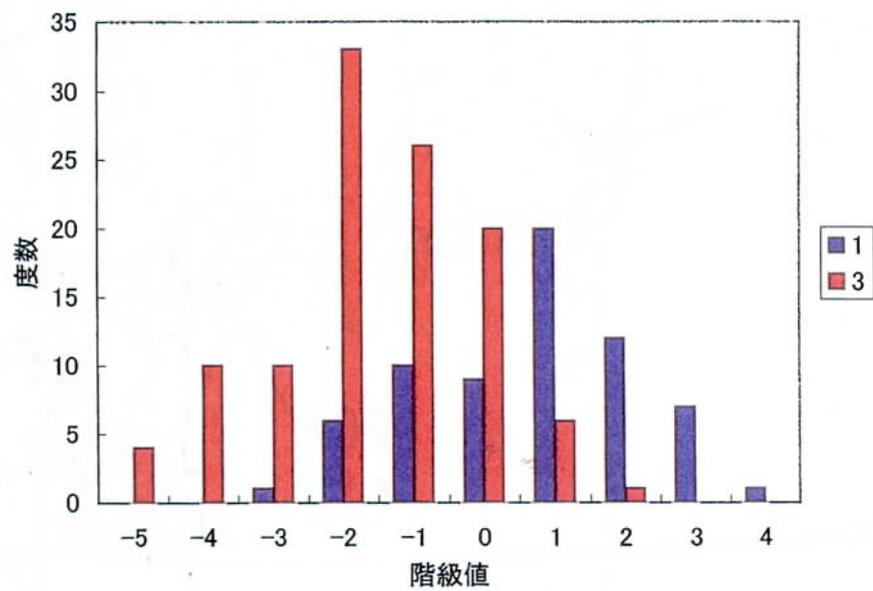


図 14. 中心束の有無によって分けられた 2 群の判別得点の分布.
 1 群は中心束の無いもの, 3 群は中心束の有るものを示す.

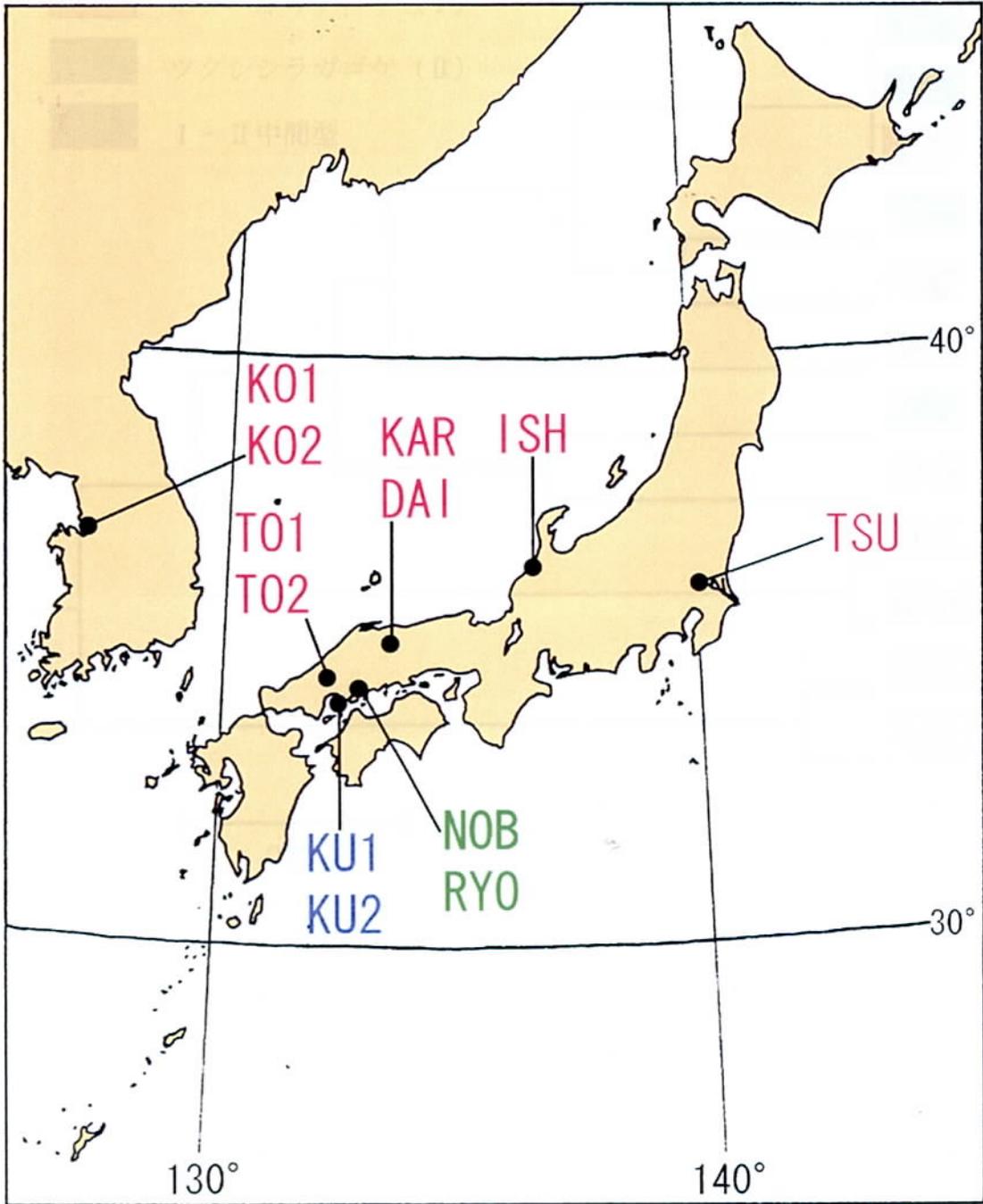


図 15. アロザイムの解析に用いた集団の採集地。
 赤の略号はホソバオキナゴケ型の、緑はツクシシラガゴケ型、青は中間型の集団を示す。
 集団の記号については表 12 を参照。

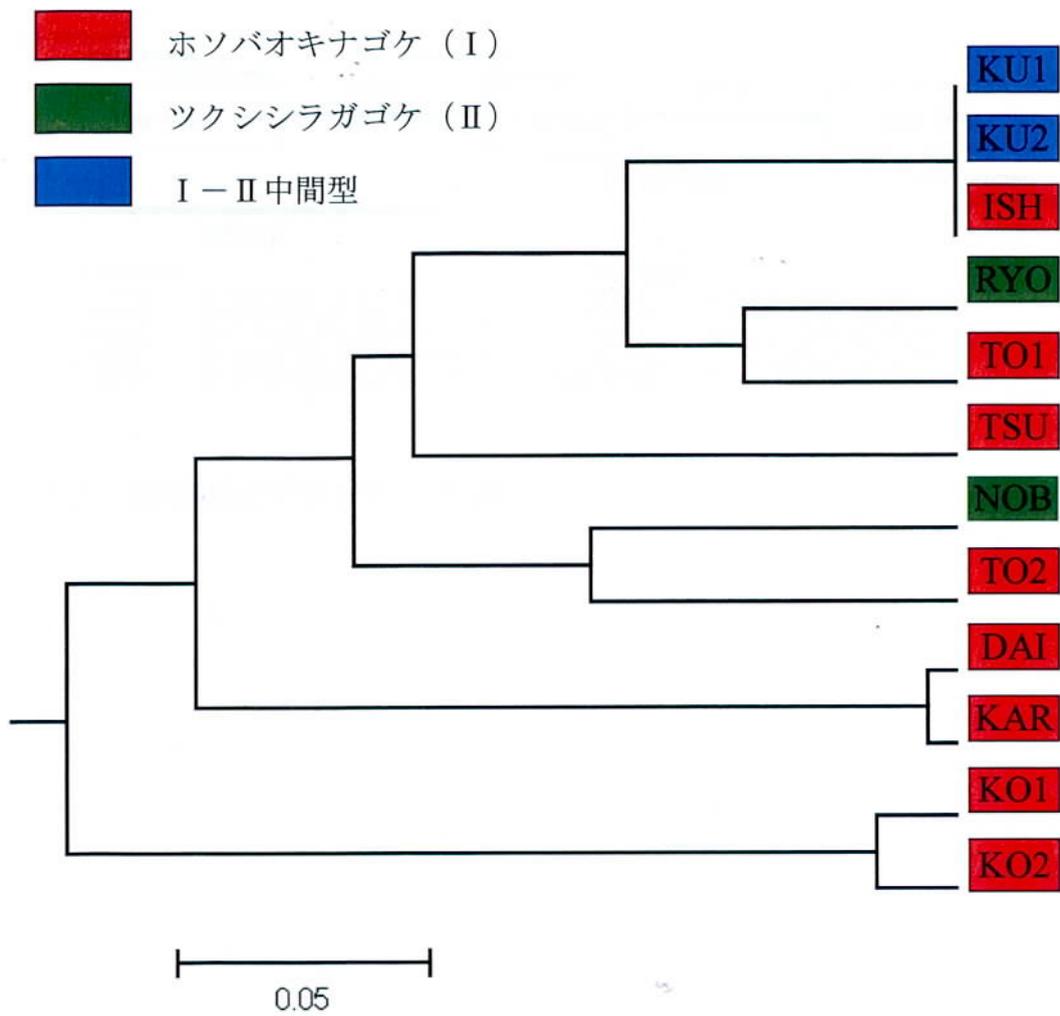


図 16. 集団間の遺伝距離 (Nei 1972) にもとづくホソバオキナゴケとツクシシラガゴケ各集団の UPGMA 樹形図.
 集団の記号については表 12 を参照.

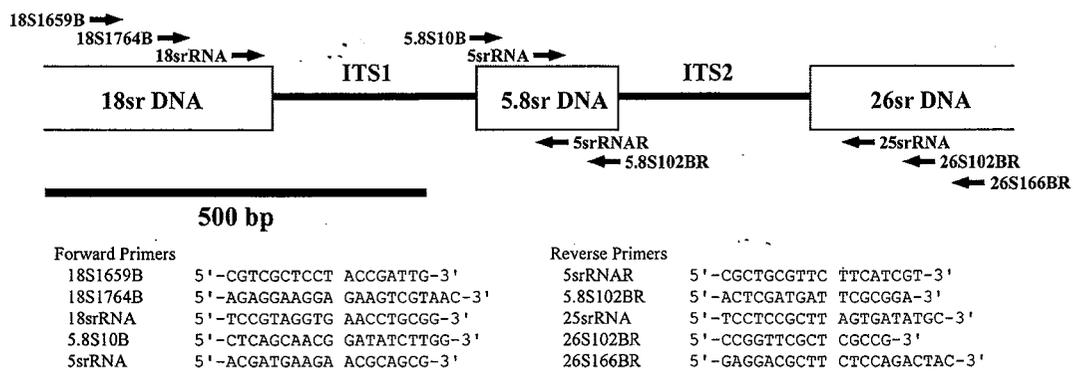


図 17. ITS 領域とプライマーの位置.

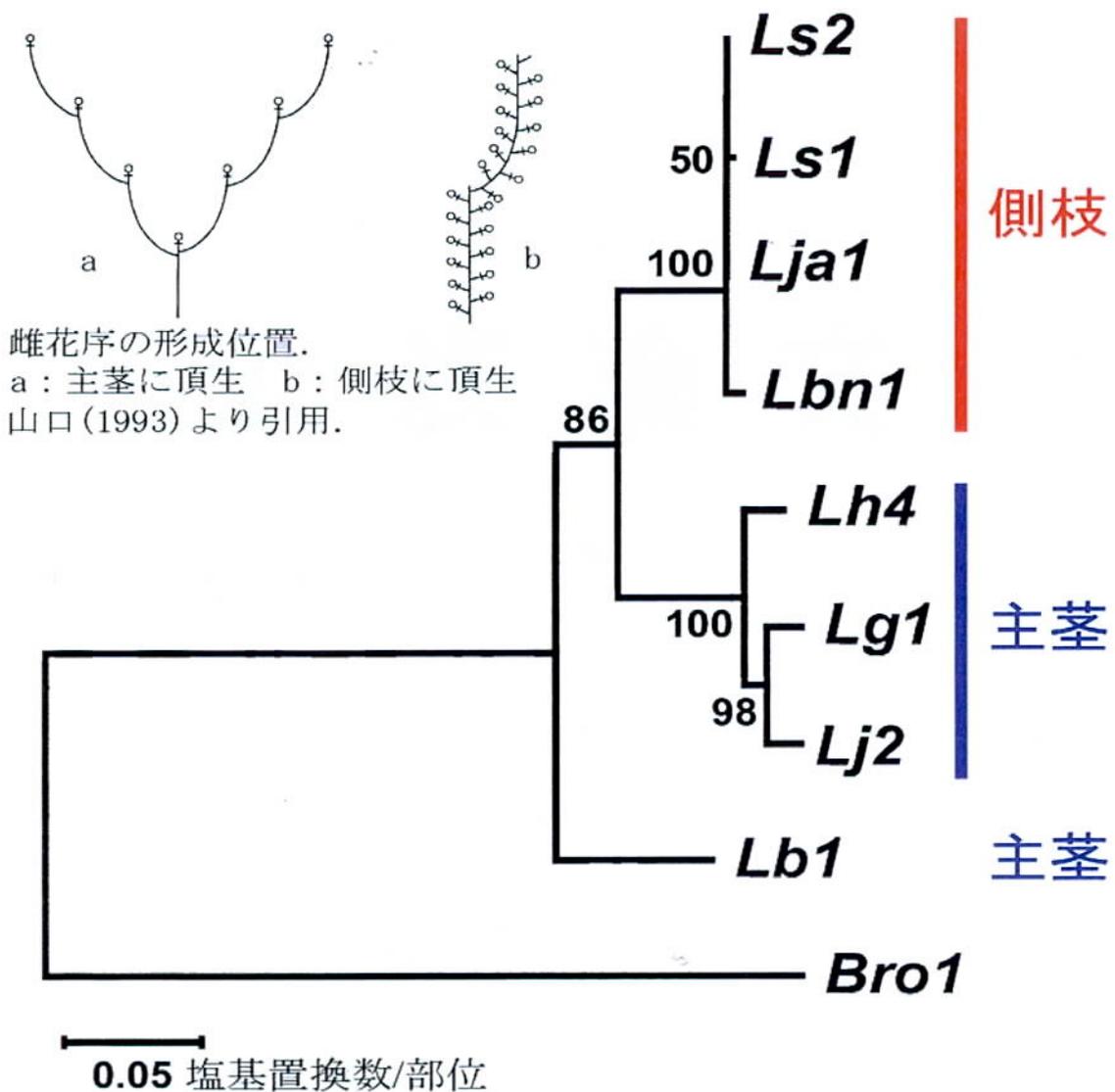


図 18. ITS1 と ITS2 の塩基配列から作製した近隣接合系統樹.

距離の推定には Kimura (1980) の 2 パラメーターモデルを用いた. 各枝の値は 10,000 回ブートストラップ確率を表わし, 50%以上の値のみを示した. 図右端の側枝, 主茎はそれぞれ雌花序が側枝および主茎の先端に形成されることを示す. 試料の記号については表 18 を参照.

公 表 論 文