

スマイレ属の葉緑体 DNA を用いた分子系統解析に関する研究

藤原 正人 / 笠原 恵

1 研究目的

スマイレ属は市街地から里山、そして山地、高山帯に至るまで広く分布する。時には庭先に、また勝手に鉢の中に生育することもある。日本人にとってなじみのある植物で、具体的に花を識別することができなくてもその名前は小学校の頃から知られている身近な植物である。

日本にはスマイレ科の植物はスマイレ属しか分布していない。その形態はお互いによく似ているにもかかわらず細かく分類されており、しばしば分類は混同されている。分類の仕方にもよるが、日本には約 50 種類が生育しており、勤務している小野市内でも 10 種類以上が観察される。韓国産スマイレ属に関して、葉緑体 DNA を用いた詳しい研究がなされているが (Yoo ら, 2010)、日本産スマイレ属に関してはまだ属内を広く分析した報告はない。そこで葉緑体 DNA のうち matK 領域を用いて分子系統解析に取り組んだ。

この研究は小野高校科学総合コースの探究で生徒たちとともに取り組んだものであり、実際に教育現場で遺伝子解析実験として行った。

2 研究方法

(1) 標本採集

探究の授業時間に学校周辺で生徒とともに採集した。また、休日に市内の里山でも観察、採集に取り組んだ。見分けがつくようになると生徒自身が身近な場所や修学旅行先からも採取した。さらに登山に出かけた際に各地で採集した。採集したものは冷凍庫で保存した (表 1)。

(2) DNA 抽出

植物でよく使われる CTAB 法で DNA 抽出を行った。スマイレの葉、約 5 mm 角に CTAB 溶液を加え、バイオマッシャーですりつぶした。65°C で 30 分インキュベート後、クロロホルム-イソアミルアルコールを加えて混合、遠心分離して不純物を除いた。回収した上澄みに 2-プロパノールを加えて DNA を析出させ、70%エタノールで洗浄した。得られた DNA は TE に溶解させ、冷凍保存して後の実験に用いた。

(3) DNA の増幅および塩基配列の決定

植物バーコーディングで推奨されている葉緑体 DNA のうち matK 領域を用いて PCR 法で増幅を行った。プライマー、反応条件は植物バーコードオブイニシアチブにより薦められているものを用いた。プライマーの塩基配列、PCR 条件を表 2 に示す。

PCR 後、電気泳動で matK のバンドを確認、Nucleopin Gel and PCR clean-up (MACHEREY-

NAGEL)を使用してDNAを精製した。精製の終わったものはMacrogen Japanにシーケンス解析を依頼した。

(3) 塩基配列の解析

得られた塩基配列はMEGA 6、文献を使用して、最尤法(Maximum Likelihood method)により系統樹を作成し、解析を行った。

3 結果

得られた系統樹を図1に示す。ただし同種で塩基配列がほとんど同じものは代表的なものを1つ選んで系統樹を作成した。外群にはNCBIから*Melicytus ramiflorus* (DQ842612.1)と*Rinorea lanceolata*(DQ842610.1)を用いた。日本にはスミレ科の植物はスミレ属しか分布しないので、この2種も日本には分布しないものである。

キバナノコマノツメ(*Viola biflora*)、オオバキスミレ(*V. brevistipulata*)、コタチツボスミレ(*V. grypoceras* var. *exilis*)、アオイスミレ(*V. hondoensis*)は単系統となった。スミレサイシン亜節の種は一つのクレードにまとまった。この亜節とツボスミレ亜節のツボスミレ(別名ニョイスミレ、*V. verecunda*)、およびミヤマスミレ亜節のマルバスミレ(*V. keiskei*)はさらに一つのグループにまとまった。マルバスミレを除くミヤマスミレ亜節の種は単系統となり、さらに2つの系統に分かれた。タチツボスミレ亜節のスミレはPCR法で増幅できないものが多かったが、増幅され上手く塩基配列が読めた種は、タチツボスミレ(*V. grypoceras*)、ナガバノタチツボスミレ(*V. ovato-oblonga*)、オオタチツボスミレ(*V. kusanoana*)はミヤマスミレ亜節のクレード内に混在した(単系統となったコタチツボスミレを除く)。

シハイスミレ(*V. violacea*)では多種よりも大きな変異がある種が見られたので、里山から山地に生育し形態的によく似たヒナスミレ(*V. tokubuchiana* var. *takedana*)、フモトスミレ(*V. sieboldii*)、シハイスミレとその狭葉型変種マキノスミレ(*V. violacea* var. *makinoi*)で得られた個体のデータすべてを用いて系統樹を作成した(図2)。スミレ(*V. mandshurica*)とその変種アツバスミレ(*V. mandshurica* var. *triangularis*)の変異も近縁のノジスミレ(*V. yedoensis*)、コスミレ(*V. japonica*)の変異より大きかった。そこで生育場所が人里で、お互いに近縁種であるスミレ、ヒメスミレ(*V. confusa* subsp. *nagasakiensis*)、ノジスミレ、コスミレとスミレの変種2種(高山草原に生育するホコバスミレ(*V. mandshurica* var. *ikedaeana*))、海岸線に生育するアツバスミレではでも系統樹を作成した(図3)。なお、節や亜節の日本和名は浜栄助(1975) 原色日本のスミレ 誠文堂新光社による。

4 考察

日本産スミレ属を柱頭の形態的特徴で分類したものを図4に示す(浜1975)。また、韓国産のスミレ属を8つの葉緑体DNA(*atoB-rbcL*, *atpF-H*, *matK*, *psbA-trnH*, *psbK-I*, *rpl16*, *rpoCl*, *TrnL-trnF*)で解析、作成された系統樹を図5に示す(Ki-Oug Yoo, Su

-Kil JANG 2010)。

キスマレ節(x=6)のオオバキスマレ(*V. brevistipulata*)とキバナノコマノツメ節(x=6)のキバナノコマノツメ(*V. biflora*)とアオイスマレ(*V. hondoensis*, x=10)が近い場所に位置したことについては Yoo らの韓国産スマレの結果とよく似ている。タチツボスマレ(x=10)のコタチツボスマレ(*V. grypoceras* var. *exilis*)も Yoo らの結果と同様に上記3種と近い位置となった(図1下部と図5)。しかし、本研究では他のタチツボスマレ亜節のタチツボスマレ(*V. grypoceras*)、ナガバノタチツボスマレ(*V. ovato-oblonga*)、オオタチツボスマレ(*V. kusanoana*)は無茎種のミヤマスマレ節の一部と塩基配列がほとんど一致し、同じクレード内に混在する結果となった(図1上部)。タチツボスマレ節は有茎種であり、形態的にも染色体数もミヤマスマレ節とは異なっている。また、タチツボスマレとその変種コタチツボスマレに差が出た点も矛盾している。今回の研究では多くのスマレで PCR 法による増幅が不調だった。特にタチツボスマレ亜節のスマレに多く不調が見られた。葉に含まれている多糖類やポリフェノールが増幅を妨げている可能性もある。また、用いたプライマー部分に変異があることが分かってきており、プライマーを設計してもう一度分析し直す予定である。また、Yoo らの実験同様、他の葉緑体 DNA 領域でも実験するべきであると考えている。

スマレサイシン亜節(x=12)のスマレサイシン(*V. vaginata*)、ナガバノスマレサイシン(*V. bissetii*)、アケボノスマレ(*V. rossii*)、シコクスミレ(*V. shikokiana*)は一つのグループにまとまった。ツボスマレ亜節のツボスマレ(*V. verecunda*)が近い位置にあることは Yoo らの結果と一致しているが、マルバスマレ(*V. keiskei*)はミヤマスマレ亜節に分類されているスマレであり検討が必要である。日本産スマレ属にはマルバスマレに近縁とされているスマレが他にもあり、それらとともに再検討するつもりである。なお、スマレサイシン亜節は無茎種で地下茎が発達するグループで、ツボスマレは有茎種である。

ミヤマスマレ亜節のスマレは日本では種類数も個体数も多く、形態的に大変よく似通っている。また、開花期と果実期とで大きさが異なり、エイザンスミレ(*V. eizanensis*)の様に開花期と果実期で葉の形態が大きく違う種もある。同種でも形態的に変異が大きい種もあり、分類が難しいグループである。Yoo らの結果では単系統にまとまっているが、本研究ではタチツボスマレ亜節が混在したのは先述したとおりである。また、帰化種であるニオイスマレ(*V. odorata*)も混在しており、再調査が必要となっている。

里山から山地に生育するヒナスミレ(*V. tokubuchiana* var. *takedana*)、シハイスミレ(*V. violacea*)とその変種マキノスマレ(*V. violacea* var. *makinoi*)、フモトスマレ(*V. sieboldii*)は形態的によく似ており、特に小野市内の里山で見られるシハイスミレ(紅紫色の花)、フモトスマレ(白花)は花がないと生徒には区別が難しい。葉緑体 DNA の matK 領域ではミヤマスマレ亜節のクレードの中に散在し、同種でも他種より大きな変異があるハプロタイプが見られる(図2)。これらのスマレは分類の再検討が必要か

もしれない。特に 18 と 54, 58 のシハイスミレ, マキノスミレは塩基配列の差が種間を越えて大きく、むしろ、matK では別種のように見える。これらの種を今後様々な地域で分析を進めたいと考えている。

スミレ (*V. mandshurica*) とその変種、海岸性のアツバスミレ (*V. mandshurica* var. *triangularis*) および高原に生育するホコバスミレ (*V. mandshurica* var. *ikedaeana*)、別種のコスミレ (*V. japonica*)、ヒメスミレ (*V. confusa* subsp. *nagasakiensis*)、ノジスミレ (*V. yedoensis*) についてはスミレの 2 変種を除いて人里のスミレで、時には校庭に、通学路の歩道の片隅等でも見られる身近なスミレである。これらのスミレも形態的によく似ている近縁種である。先の里山のシハイスミレらと同様に、種間における塩基配列の違いより、種内変種であってもアツバスミレのように生育地・生育環境の異なった種内変種の塩基配列の違いの方が大きい可能性がある。

なお、筆者が行ったパーオキシダーゼを用いたアイソザイムパターンによる分類でもスミレ、アリアケスミレ、コスミレ、ヒメスミレなどは非常によく似たバンドパターンを示して一つのグループに、ヒナスミレ、シハイスミレ、マキノスミレ、フモトスミレ、エイザンスミレなどは、また別のバンドパターンを示し、一つのグループにまとまっており、今回と結果が良く一致している (藤原 1984)。

今後、一部の近縁種間や種内の変異に注目して、生育場所による塩基配列の変異を詳しく調べたいと考えている。また、Yoo らの文献にはない日本産のスミレも多数あり、未調査の種の採集・調査分析を進めたいと考えている。

今回の研究では約半数のスミレで DNA の PCR 法による増幅ができなかった。今後、プライマー III によるプライマーの設計が急務であると考えている。また、いずれ葉緑体 DNA の他の領域による解析にも取り組んでいきたい。

本研究は科学総合コースの 2 年生、「探究」授業の 2 時間を中心に 5 人の生徒とともに行った。実際にはそれだけの時間でできたわけではなく、放課後等の時間を利用して 1 年の歳月をかけて行った。専門「生物」の内容に含まれるものも多くあり、生徒の理解の手助けになり、教科の授業だけでは理解しにくい実際の研究について理解が進んだと思われる。授業内の実験ではなかなか取り組むことはできないことだが、今回の研究に参加した生徒中心にリーダーとなって授業では生徒各個人の ALDH2 の分析に取り組んだ。また、今後 MEGA6 を用いて web 上のデータを使っての系統樹の作成や、園芸種のスミレ属を用いて簡単な系統樹を作れないかなど、教材に利用することも考えている。

5 引用文献

Ki-Oug Yoo, Su-Kil JANG (2010) Infrageneric relationships of Korean

Viola based on eight chloroplast markers. *Journal of Systematics and Evolution* 48(6):474-481 (2010)

Pierre Taberlert, Ludovic Gjelley, Guy Pautou and Jean Bouvet (1991)

Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17:1105-1109, 1991

Japanese Barcode of Life Initiative 日本バーコードオブライフ・イニシアチブ
<http://www.jboli.org/protocol/>

橋本保(1967) 日本のスミレ 誠文堂新光社

浜栄助(1975) 原色日本のスミレ 誠文堂新光社

井波一雄(1978) グリーンプックス 38 スミレの観察と栽培 ニュサイエンス社

糸山泰一(1982) 日本の野生植物草本II 離弁花類 pp220-233 平凡社

三木順一(1984) スミレ辞典 基本種、交配種、外来種、栽培法付 枳の葉書房

藤原正人(1984) スミレ属のアイソザイムパターンによるグループ分け
pp110-112, 第46巻3号 日本科学協会

いがりまさし(1996) 山溪ハンディ図鑑6 日本のスミレ 山と溪谷社

山田隆彦(2010) スミレハンドブック 文一総合出版

市川 博(2015) 近畿地方のスミレ類ーその分布と形態ー スミレ愛好会

6 謝辞

ご指導とご助言をいただいた京都大学生態学研究センター、岩崎貴也先生、九州大学理学院生物科学部門 生態科学研究室の遠山弘法先生、兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学研究センターの方々に深く感謝いたします。

また、修学旅行後もスミレの研究材料を送り届けてくださった種子島の方々にお礼申し上げます。

表1 遺伝子解析に用いたスミレ属のスミレ

No	種名(標準和名)	学名	採集場所	緯度	経度
1	ノジスミレ	<i>Viola yedoensis</i>	西脇市野村町1813-54	34° 59'N	134° 57'E
2	スミレ	<i>Viola mandshurica</i>	西脇市野村町1813-54	34° 59'N	134° 57'E
3	アリアケスミレ	<i>Viola betonicifoliavar. albescens</i>	小野市浄谷町	34° 31'N	134° 34'E
4	ニオイスミレ	<i>Viola odorata</i>	三木市志染町青山1-1	34° 77'N	135° 04'E
5	タチツボスミレ	<i>Viola gryoceras</i>	三木市志染町青山1-1	34° 77'N	135° 04'E
6	アリアケスミレ	<i>Viola betonicifolia var. albescens</i>	小野市中島町	34° 51'N	134° 56'E
7	スミレ	<i>Viola mandshurica</i>	小野市福岡町	34° 50'N	134° 28'E
8	ナガバノタチツボスミレ	<i>Viola ovato-oblonga</i>	小野市福岡町	34° 51'N	134° 53'E
9	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	小野市福岡町	34° 50'N	134° 32'E
10	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	小野市福岡町	34° 51'N	134° 53'E
11	ナガバノタチツボスミレ	<i>Viola ovato-oblonga</i>	小野市福岡町	34° 51'N	134° 53'E
12	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	西脇市谷町	34° 59'N	134° 57'E
13	フモトスミレ	<i>Viola sieboldii</i>	西脇市谷町	34° 59'N	134° 27'E
14	オオバキスミレ	<i>Viola brevistipulata</i>	滋賀県高島市マキノ町野口	35° 32'N	136° 05'E
15	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	滋賀県高島市マキノ町野口	35° 32'N	136° 05'E
16	マキノスミレ	<i>Viola violacea var. makinoi</i>	滋賀県高島市マキノ町野口	35° 32'N	136° 05'E
17	オオバキスミレ	<i>Viola brevistipulata</i>	滋賀県高島市マキノ町野口	35° 32'N	136° 05'E
18	マキノスミレ	<i>Viola violacea var. makinoi</i>	滋賀県高島市マキノ町野口	35° 32'N	136° 05'E
19	オオバキスミレ	<i>Viola brevistipulata</i>	滋賀県高島市マキノ町白谷	35° 32'N	136° 02'E
20	フモトスミレ	<i>Viola sieboldii</i>	滋賀県高島市マキノ町白谷	35° 32'N	136° 02'E
21	タチツボスミレ	<i>Viola gryoceras</i>	滋賀県高島市マキノ町白谷	35° 32'N	136° 02'E
22	オオバキスミレ	<i>Viola brevistipulata</i>	滋賀県高島市マキノ町白谷	35° 32'N	136° 02'E
23	マキノスミレ	<i>Viola violacea var. makinoi</i>	滋賀県高島市マキノ町牧野	35° 31'N	136° 02'E
24	スミレサイシン	<i>Viola vaginata</i>	滋賀県高島市マキノ町牧野	35° 31'N	136° 02'E
25, 26	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	豊岡市城崎町今津、来日岳	35° 37'N	134° 48'E
27, 28	スミレサイシン	<i>Viola vaginata</i>	豊岡市城崎町今津、来日岳	35° 37'N	134° 47'E
29, 30	コミヤマスミレ	<i>Viola maximowicziana</i>	神崎郡市川町上牛尾、岩戸神社	35° 01'N	134° 50'E
31	アオイスミレ	<i>Viola hondoensis</i>	神崎郡市川町上牛尾、岩戸神社	35° 01'N	134° 50'E
32	コスミレ	<i>Viola japonica</i>	神崎郡市川町上牛尾、岩戸神社	35° 01'N	134° 50'E
33	マルバミスミレ	<i>Viola keiskei</i>	西脇市野村町1813-55	34° 59'N	134° 57'E
34, 35	ヒメスミレ	<i>Viola confusa subsp. nagasakiensis</i>	小野市西本町、小野小学校前	34° 50'N	134° 56'E
36	ヒメスミレ	<i>Viola confusa subsp. nagasakiensis</i>	小野市神明町、小野小学校東歩道	34° 50'N	134° 56'E
37	コスミレ	<i>Viola japonica</i>	加東市上滝野、五峰山	34° 57'N	134° 57'E
38, 39	ヒメスミレ	<i>Viola confusa subsp. nagasakiensis</i>	小野市中島町、図書館横庭	34° 51'N	134° 56'E
40	ヒメスミレ	<i>Viola confusa subsp. nagasakiensis</i>	小野市垂井町、住吉神社駐車場	34° 50'N	134° 56'E
41	エイザンスミレ	<i>Viola eizanensis</i>	神崎郡神河町根宇野、笠形山	35° 04'N	134° 49'E
42	シコクスミレ	<i>Viola shikokiana</i>	神崎郡神河町根宇野、笠形山	35° 04'N	134° 50'E
43	ヒメスミレ	<i>Viola confusa subsp. nagasakiensis</i>	西脇市野村町1813-40	34° 58'N	134° 57'E
44	スミレサイシン	<i>Viola vaginata</i>	養父市奈良尾	35° 22'N	134° 32'E
45	ヒナスミレ	<i>Viola tokubuchiana var. takedana</i>	養父市福定	35° 22'N	134° 32'E
46	オオタチツボスミレ	<i>Viola kusanoana</i>	養父市大久保	35° 22'N	134° 30'E
47	フモトスミレ	<i>Viola sieboldii</i>	養父市大久保	35° 22'N	134° 30'E
48	ニオイスミレ	<i>Viola verecunda</i>	養父市大久保	35° 23'N	134° 30'E
49	ホコバミスミレ	<i>Viola mandshurica var. ikedaeana</i>	養父市大久保	35° 23'N	134° 31'E
50	アケボノスミレ	<i>Viola rossii</i>	養父市大久保	35° 23'N	134° 32'E
51	ナガバノスミレサイシン	<i>Viola bissetii</i>	大津市坂本本町	35° 04'N	135° 50'E
52	ナガバノスミレサイシン	<i>Viola bissetii</i>	京都府京都市左京区八瀬秋元町	35° 04'N	135° 50'E
53	コタチツボスミレ	<i>Viola gryoceras var. exilis</i>	大津市坂本本町	35° 04'N	135° 51'E
54	マキノスミレ	<i>Viola violacea var. makinoi</i>	大津市坂本本町	35° 03'N	135° 51'E
55	キバナノコマノツメ	<i>Viola biflora</i>	静岡県静岡市葵区荒川岳	35° 29'N	138° 09'E
56	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	和歌山県田辺市本宮町久保野	33° 50'N	135° 45'E
57	タチツボスミレ	<i>Viola gryoceras</i>	和歌山県田辺市本宮町三越	33° 51'N	135° 43'E
58	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	和歌山県田辺市本宮町三越、発心門	33° 52'N	135° 43'E
59	タチツボスミレ	<i>Viola gryoceras</i>	和歌山県田辺市本宮町三越、発心門	33° 52'N	135° 43'E
60~63	フモトスミレ	<i>Viola sieboldii</i>	姫路市夢前町山之内、雪彦山	35° 04'N	134° 39'E
64~68	スミレ	<i>Viola mandshurica</i>	小野市来住町、女池そば	34° 50'N	134° 53'E
69~71	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	小野市福岡町	34° 50'N	134° 53'E
72~74	ヒメスミレ	<i>Viola confusa subsp. nagasakiensis</i>	小野市来住町、ゴルフ場近く公園	34° 50'N	134° 54'E
75~77	ニオイスミレ	<i>Viola verecunda</i>	小野市来住町	34° 50'N	134° 54'E
78~80	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	小野市下来住町	34° 49'N	134° 55'E
81~83	ナガバノタチツボスミレ	<i>Viola ovato-oblonga</i>	小野市下来住町	34° 49'N	134° 55'E
84~86	フモトスミレ	<i>Viola sieboldii</i>	小野市福岡町	34° 50'N	134° 53'E
87~89	シハイスミレ	<i>Viola violacea</i>	小野市黍田町	34° 49'N	134° 55'E
90~92	ノジスミレ	<i>Viola yedoensis</i>	滋賀県犬上郡多賀町霊仙	35° 17'N	136° 22'E
93~95	ニオイスミレ	<i>Viola verecunda</i>	滋賀県犬上郡多賀町霊仙	35° 17'N	136° 22'E
96~98	タチツボスミレ	<i>Viola gryoceras</i>	美方郡香美町村岡区和池	35° 42'N	134° 57'E
99~101	オオタチツボスミレ	<i>Viola kusanoana</i>	美方郡香美町村岡区和池	35° 42'N	134° 57'E
102~104	タチツボスミレ	<i>Viola gryoceras</i>	福岡県田川郡添田町英彦山	33° 29'N	130° 55'E
105~107	エイザンスミレ	<i>Viola eizanensis</i>	福岡県田川郡添田町英彦山	33° 29'N	130° 55'E
108~110	ノジスミレ	<i>Viola yedoensis</i>	福岡県福岡市西区元岡	33° 59'N	130° 22'E
111~113	ノジスミレ	<i>Viola yedoensis</i>	福岡県糸島市白糸	33° 48'N	130° 18'E
114~116	タチツボスミレ	<i>Viola gryoceras</i>	鹿児島県西之表市西之表7510-38	30° 74'N	131° 00'E
117~120	ノジスミレ	<i>Viola yedoensis</i>	鹿児島県熊毛郡屋久島町宮之浦	30° 43'N	130° 57'E
121~126	ノジスミレ	<i>Viola yedoensis</i>	鹿児島県西之表市西之表	30° 73'N	131° 03'E
127~129	ノジスミレ	<i>Viola yedoensis</i>	鹿児島県西之表市西之表16230-29	30° 72'N	130° 98'E
130~132	アツバミスミレ	<i>Viola mandshurica var. triangularis</i>	鹿児島県鹿児島市桜島横山町	31° 59'N	130° 59'E
133~135	タチツボスミレ	<i>Viola gryoceras</i>	鹿児島県西之表市西之表16230-29	30° 72'N	130° 98'E
136~138	アツバミスミレ	<i>Viola mandshurica var. triangularis</i>	鹿児島県鹿児島市桜島横山町	31° 59'N	130° 60'E
139,140	アツバミスミレ	<i>Viola mandshurica var. triangularis</i>	鹿児島県鹿児島市桜島横山町	31° 59'N	130° 59'E

表2 DNAバーコード法で使ったプライマーおよびPCR条件 (Japanese Barcode of Life Initiativeより)

(1)プライマー

1R_KIM r (matK 上流プライマー)	5'	ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGTTTC	3'
3F_KIM f (matK 下流プライマー)	5'	GTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG	3'

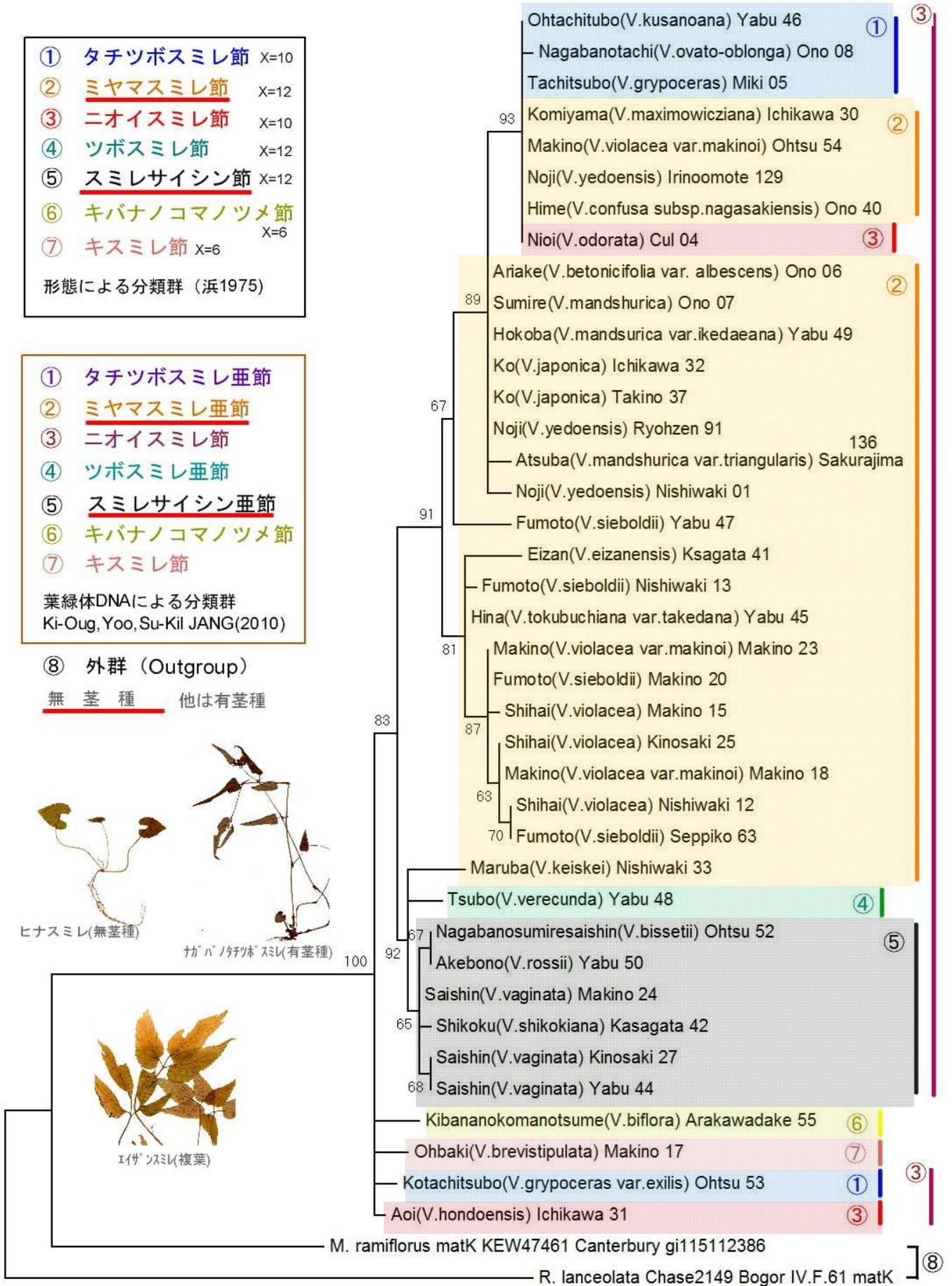
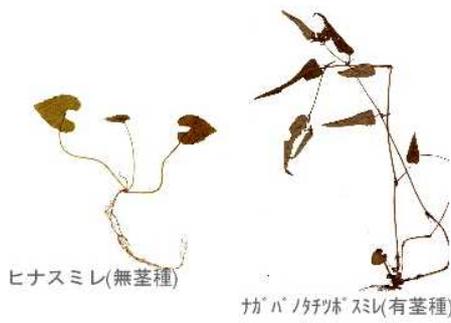
(2)PCR条件 (TAKARA ExTaq 使用)

94°C	1min	1cycle	
94°C	30sec	} 35cycles	
52°C	20sec		
72°C	50sec		
94°C	1min	1cycle	

- ① タチツボスミレ節 X=10
 - ② ミヤマスミレ節 X=12
 - ③ ニオイスミレ節 X=10
 - ④ ツボスミレ節 X=12
 - ⑤ スミレサイシン節 X=12
 - ⑥ キバナノコマノツメ節 X=6
 - ⑦ クスミレ節 X=6
- 形態による分類群 (浜1975)

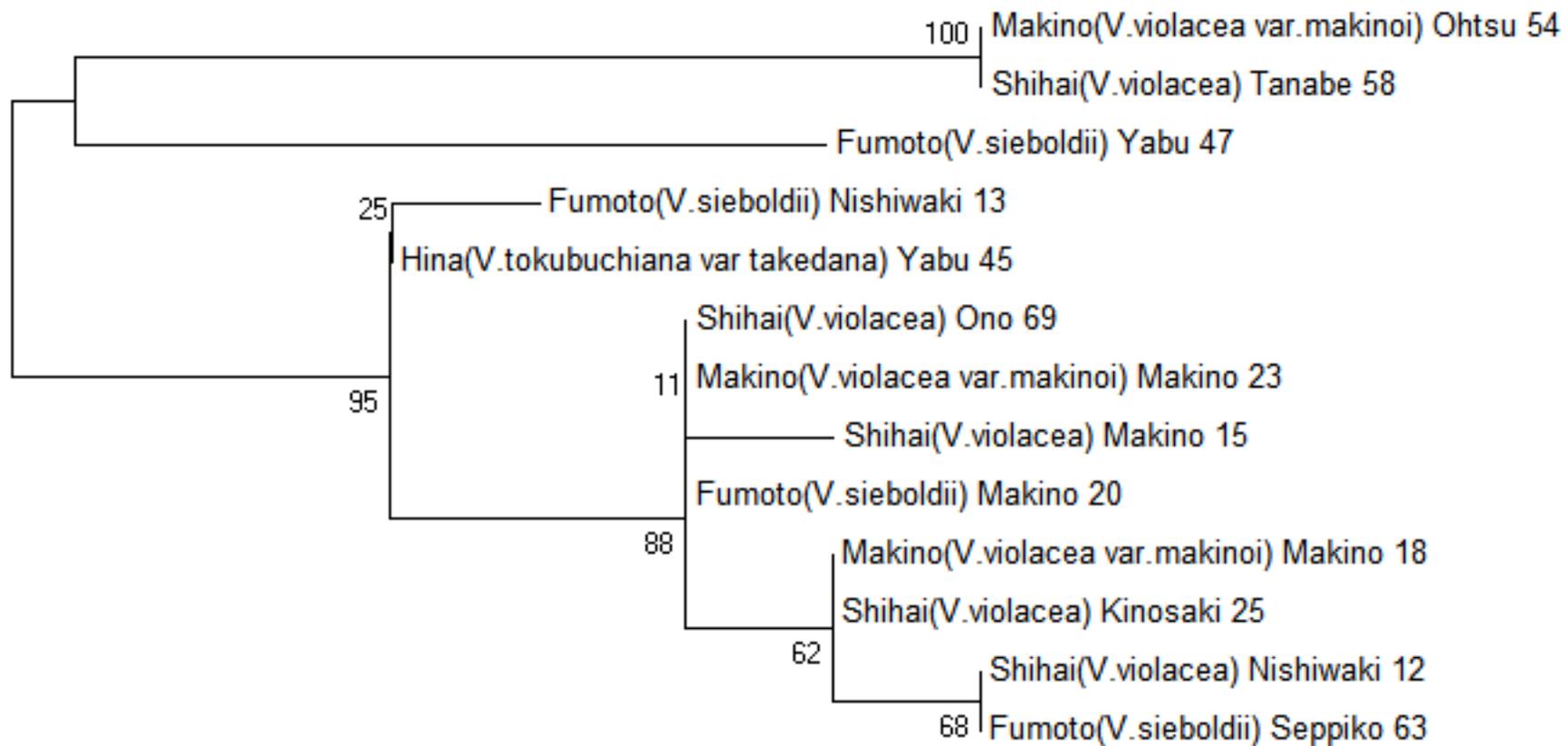
- ① タチツボスミレ垂節
 - ② ミヤマスミレ垂節
 - ③ ニオイスミレ節
 - ④ ツボスミレ垂節
 - ⑤ スミレサイシン垂節
 - ⑥ キバナノコマノツメ節
 - ⑦ クスミレ節
- 葉緑体DNAによる分類群
Ki-Oug, Yoo, Su-Kil JANG(2010)

- ⑧ 外群 (Outgroup)
- 無茎種 他は有茎種



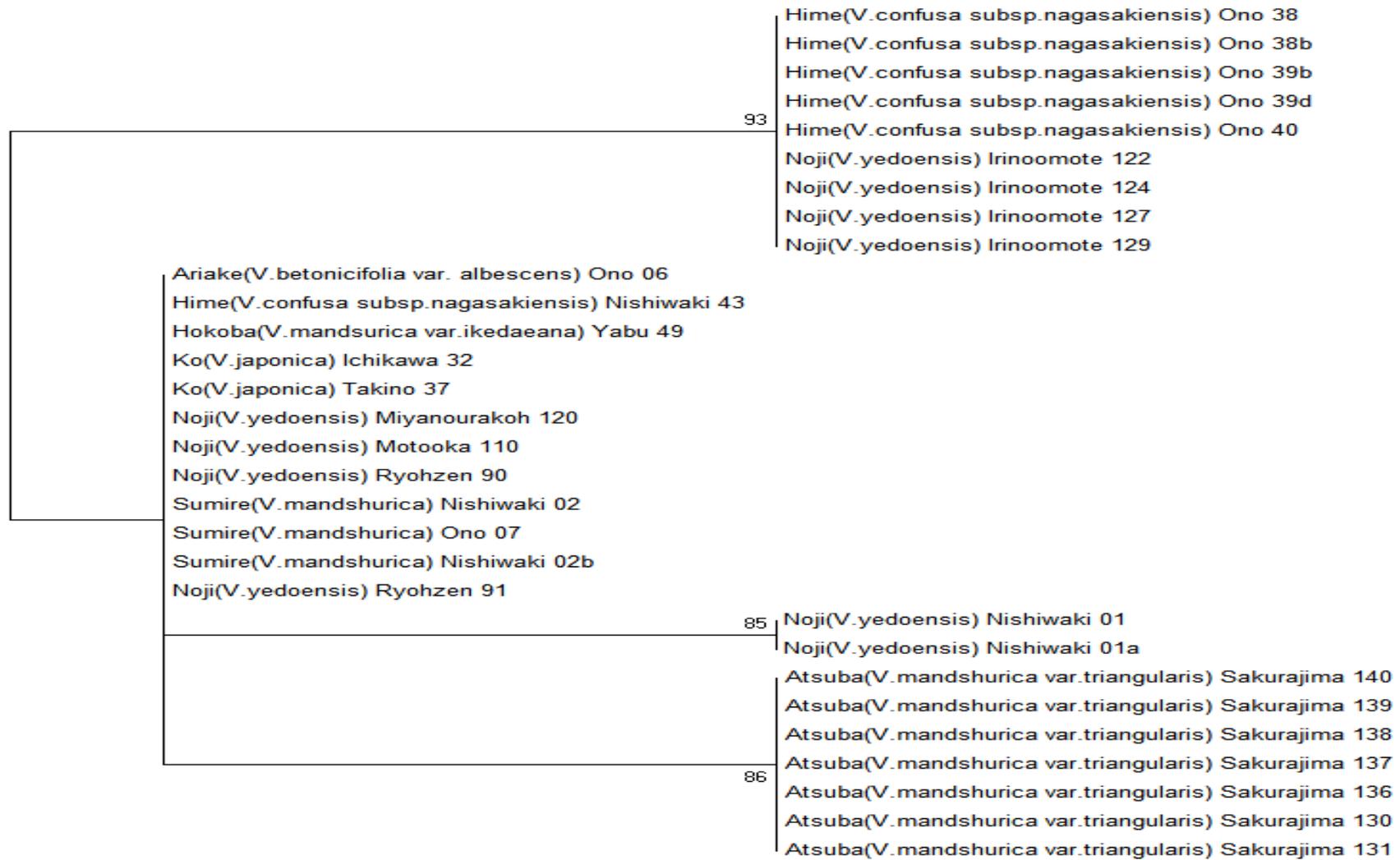
0.01

図1: matK領域のDNA解析結果



0.001

図2 シハイスミレとその変種マキノスミレ
ヒナスミレ, フモトスミレ



0.0005

図3 スミレ, ヒメスミレ, ノジスミレ, コスミレ

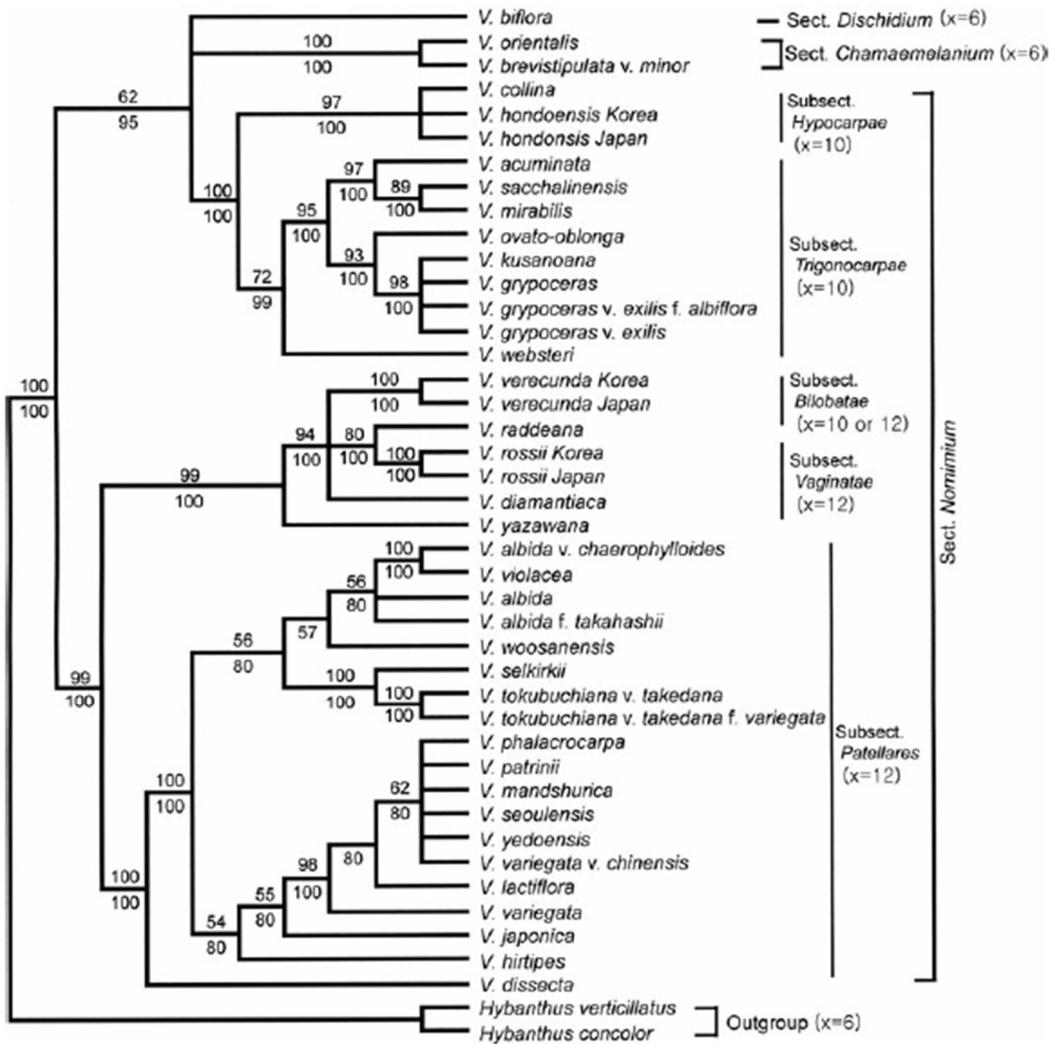


図5 8つの葉緑体DNAによる韓国産スミレ属の系統樹 Ki-Oug Yoo, Su-Kil JANG (2010) より