

ガラパゴス諸島在来 *Passiflora* 属 4 種の系統的 위치づけ

生命科学研究室
0722040 滝沢 曜

1 緒言

ガラパゴス諸島 (英名: コロン諸島) は、エクアドル共和国に属する群島で、火山活動によって南米大陸から西に 1000km ほど離れた太平洋上に形成された海洋島である。海洋によって生物の移入が著しく制限されること、諸島内において生物の進化が起りやすい条件が整っていることなどの理由から独自の生物相を持ち、固有種数が多いことで知られている。



図 1. ガラパゴス諸島の位置。

本研究ではガラパゴス諸島に自生する在来 4 種の *Passiflora* 属内での系統的 위치づけを、葉緑体 DNA を用いて明らかにすることを目的とする。

2 材料と方法

2.1 材料

材料は、ガラパゴス諸島に自生する *Passiflora* 属 4 種 (内、固有種 2 種: *P. colinvauxii*, *P. foetida* var. *galapagoensis*, 在来種 2 種: *P. tridactylites*, *P. suberosa*) を用いた。サンプルは 1 種につき 1 枚の葉を採取し、葉の汁を FTA Elute (Whatman) に染み込ませ、シリカゲル内で保存した。これらの実験に用いた試料は、今後それぞれ *P. c* (Glp), *P. f* (Glp), *P. t* (Glp), *P. s* (Glp) と表記する。

図 2 (右上): ガラパゴス諸島に自生する *Passiflora* の 4 種の写真。A. *P. colinvauxii*, B. *P. foetida* var. *galapagoensis*, C. *P. suberosa*, D. *P. tridactylites*。



2-2 方法

FTA Elute ろ紙に吸着させたトータル DNA を THEROMO BLOCK ND-G962 (日伸理化) を用いて抽出した。PCR 反応液のプレミックス (trnL(e) - trnF(f) 領域のプライマー 2 種類) (表 1) を使用し、サーマルサイクラー (TaKaRa Bio) で増幅した。PCR 産物は ExoSAP-IT で精製し、BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystem) でラベリングした。精製したサンプルを Hi-Dye Formamid で溶解し、オートシーケンサー ABI3100 (Applied Biosystem) で泳動した。得られた塩基配列データは、解析ソフト ChromasPro v. 1.5 (Technelysium Pty Ltd, 2009) および Bioedit v. 7.0.5 (Hall & Therapeutics, 2005) でアッセンブルし、PAUP (version 4.0 beta vera) を用いて系統樹を作成した。作成した系統樹は TreeView v. 1.6.6 (Rod Page, 2001) を用いて出力した。

表 1: 使用したプライマー

領域	プライマー名	5'.....3'
trnLF	trn e	GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC
	trn f	ATT TGA ACT GGT AAC ACG AG
ITS	ITS 1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
	ITS 4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

