

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月 10日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究C

研究期間：2009～2011

課題番号：21570086

研究課題名（和文）異なる生育環境における、同じ2種間の交雑は異なる進化生物学的結果をもたらすか？

研究課題名（英文）Do natural hybridizations between the same species in different habitats lead to different evolutionary consequences?

研究代表者

牧 雅之 (MAKI Masayuki)

東北大学・大学院生命科学研究所・准教授

研究者番号：60263985

研究成果の概要（和文）：植物では種間交雑はまれな現象ではない。種間交雑は多くの場合、交雑を起こす2種間の接触地域で起こることになるが、その環境は必ずしも同一ではなく、異なる環境になっている場合も少なくない。種間交雑がその後、どのような進化生物学的意義をもたらすかは交雑で生じた個体の生存力に依存すると考えられるので、同じ2種間で生じた交雑であっても、異なる環境下で起きた場合には交雑起源個体の生育に違いが生じて、異なる進化生物学的結果をもたらす可能性がある。本研究では、自然交雑が見られる複数の種間において、異なる環境がどのような進化的結果をもたらすかを明らかにした。種間交雑によって、遺伝子の流動が異なる2種間で生じると考えられるが、そのパターンは交雑が起こっている地域と母種の位置的関係によって大きく異なった。また、集団を形成する個体の表現型構成も交雑が起こっている地域によって、大きく異なった。これらのことは、同じ2種間の交雑であっても、交雑が起きる場所によって、ことなる進化的結果をもたらす可能性を示唆する。

研究成果の概要（英文）：Natural hybridization is not a rare phenomenon in plants. Interspecific hybridization is expected to occur in contact zones where two parental species co-occur. However such contact zones may not be similar in environmental condition, leading to different evolutionary consequences because the different environmental conditions likely influence the fitness of the individuals originated from natural hybridization even between the same species pairs. In this study, I addressed the question if natural hybridizations between the same species in different habitats lead to different evolutionary consequences. In a few hybridizing species pairs examined, gene flow patterns between the species were largely different among the populations. The patterns in phenotypic constitution in populations were also largely different among the populations. These differences may suggest that the hybridization between the different habitats results in different evolutionary consequences.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類  
キーワード：種分化・交雑・進化

### 1. 研究開始当初の背景

植物では一部の動物に比べて、交雑現象は広く見られる。そのため、多くの生物学者の関心を引いてきた。1970年代までは、種間交雑は進化生物学上「ノイズ」に過ぎないという見解もあったが、1990年代に入ってから種間交雑が植物の進化に関して、きわめて重要な役割を果たしているといういくつかの重要な研究が発表されてきている。しかし、これまでの研究では、種間交雑の現象記載的研究が圧倒的に多く、交雑集団がどのように維持されているのかという点に注目した実証的な研究はまだそれほど多くない。

種間交雑がしばしば2種の分布域における複数の接触点で生じていることは割合普通に知られているにもかかわらず、そのような異なる接触点で生じた交雑集団がどのように変化していくのかについての研究はきわめて少ない。特に異なる環境下で交雑が生じた場合、交雑個体および両親種個体への淘汰圧は当然違ってくると考えられるので、同じ2種間で生じた交雑集団が同じような進化過程を辿るとは限らず、むしろ異なった集団構成となっていく可能性が高い。このような観点からの研究はあまり類例がない。

### 2. 研究の目的

これまでの研究で、メギ科イカリソウ属のトキワイカリソウとバイカイカリソウの2種は中国地方の広範囲にわたり種間交雑を起こしていることが分かってきた。トキワイカリソウタイプの集団は日本海側に、バイカイカリソウタイプの集団は瀬戸内海側に見られ、中国山地の南側には両種の形態的・遺伝的特徴をさまざまな組み合わせであわせもつ集団が見られる。この理由としては、2種もしくは一方の種の分布拡大に伴い遺伝子流動が現在起きつつあることと、日本海側気候と瀬戸内海側気候の環境勾配によって生じているという2つの理由があると思われるが、後者の要因を引き起こす環境の違いは単純ではなく、交雑集団の今後の進化について議論することは容易ではない。

1で述べたような異なる環境下で生じた交雑集団がどのような進化的過程を辿るかを明らかにするためには、交雑する2種の生育環境の違いが比較的単純であり、母種間で遺伝子流動が十分に起こり得るような交雑集団を用いることが望ましいと考えられる。

本研究では、複数の交雑を生じている種間の異なる地域で、遺伝子流動のパターンの違いがどのように生じているか、集団を構成する個体の表現型の違いがどのように違うかを、分子マーカーや形態的形質を用いた集団解析を行って検討した

### 3. 研究の方法

研究対象としては、これまで野外集団で交雑を行っていることが分かっているいくつかの種群を選択する。これらの種群について、下記のようなデータを収集する。

#### (1) 形態計測による交雑集団の構成の解析

対象とする集団の個体から、開花期に最大葉1枚と開花直前の花を一つサンプリングする。葉については、腊葉標本として保存し、実験室に持ち帰って形態形質を計測する。花については、立体的形状のまま現地において多くの形質についてデジタルノギスを用いて計測する。測定後は紙封筒に入れて乾燥させ、花粉の稔性をコットンブルー溶液中で検鏡して調べる。葉と花の各形質をもとに、個体ごとに雑種指数を計算し、形態形質から見た集団構成の違いを集団間で比較する。

#### (2) 中立的遺伝子マーカーに基づいた交雑集団の遺伝的構成の解析

(1)でサンプリングした葉とは別に、DNA抽出用の葉をごく一部、各個体からサンプリングを行い、実験開始までディープフリーザで保存する。

各個体からDNA抽出後、葉緑体DNAの遺伝子間領域およびイントロン、核ITS領域の配列をPCR増幅した後、ダイレクトシーケンシングを行い、配列を決定する。また、すでに開発されたマイクロサテ

ライトプライマーがある場合には、これを用いて超変異領域の増幅を行い、ABI Genetic Analyzer 3100 で泳動して、Peak Scanner ソフトを用いて遺伝子型を決定する。得られた遺伝子型をもとに、中立的遺伝子マーカによる交雑集団の構成の違いを集団間で比較する。

#### 4. 研究成果

##### (1) オオバギボウシとコバギボウシの交雑集団

ギボウシ属のオオバギボウシとコバギボウシはともに国内に広く分布しており、しばしば両種が共存する場所も見られる。一般にコバギボウシの方がオオバギボウシよりも湿度の高い土壤に生育する。これら2種が共存する場所においてもその環境は一様ではなく、コバギボウシが好む湿性地からオオバギボウシが好む中湿地までがみられる。

これら2種が共存する場所で、交雑個体がどのような挙動を示すかを明らかにするために、花粉稔性、植物体サイズ、形態変異を土壤湿度の異なる複数のプロットにおいて比較した。その結果、湿度の高いプロットでは花粉稔性の低い個体が多く、湿度の低いプロットでは花粉稔性の高い個体が多く見られた。形態的データからは、これらの多くの個体は交雑起源と思われるが、その稔性には違いが見られ、繁殖能力が一樣ではないことが示唆された。形態的データに基づく雑種指数からは湿度の高いプロットにコバギボウシよりの交雑個体が多いが、湿度の低いプロットではオオバギボウシよりの交雑個体が多いことが明らかとなった。これらことから、2種間の交雑が起きて、必ずしも同じ集団構成にはならず、自然淘汰により、交雑個体の構成には違いが生じていることが示唆された。

##### (2) テンニンソウとミカエリソウの交雑 シソ科ミカエリソウ属

(*Leucosceptum*) は国内では2種が知られている。ミカエリソウ(*L. stellipilum* (Miq.) Kitamura et Murata) は本州(中部地方以西)・四国・九州にまで分布し、一方、テンニンソウ(*L. japonicum* (Miq.)

Kitamura et Murata) は北海道から九州まで幅広く分布している。これら2種は、外部形態的にいくつかの形質ではっきりと識別できる。この2種の分布が接触する地域では、2種の中間的な形態を示す個体がしばしば見られることが知られていた。高橋ら(2001)は、岐阜県周辺において、2種間の交雑に由来すると考えられる集団が多数存在していることを報告した。

形態的な解析の結果から、交雑集団には、ミカエリソウの形態を示す個体・テンニンソウの形態を示す個体・両親種の中間的形態を示す個体が存在し、これら3つのタイプの個体が集団ごとにさまざまな割合で含まれていることが分かった。交雑集団のうち3つの集団では、両親種に比べ葉裏の星状毛が有意に多い個体が見られた。この形質は、種間交雑で生じる個体でしばしば報告されている超越形質(transgressive characters)であると考えられる。

花粉稔性は、両親種集団では85~95%を示した。一方、交雑集団では、約40~95%を示したことから、交雑はF1世代に留まらないことが示唆された。

交雑集団を対象としたPCR-RFLPの結果では、岐阜県北部の集団の方が岐阜県南西部の集団よりも、核ITS領域における両親種のバンドパターンを併せ持つ個体(ヘテロ接合体)が多く見られた。このことから、岐阜県北部の集団は、岐阜県南西部の集団よりも、交雑集団が形成されてから時間が経っておらず、F1個体の頻度が高い可能性がある。岐阜県中南部から岐阜県南西部では、形態的・遺伝的解析および花粉稔性の結果から、純粋なミカエリソウ集団も存在することが示唆された。また、岐阜県東部の集団では、形態的・遺伝的にミカエリソウの形質を示すが、花粉稔性の低い集団が存在した。この集団では、ミカエリソウが種子親となって戻し交雑を繰り返すうちに、ミカエリソウの形態に固定された可能性がある。岐阜県西部のテンニンソウの形態を示した集団は、少数個体の核DNAにミカエリソウのバンドパターンが見られた。このことから、この集団においては、テンニンソウにミカエリソウの核遺伝子が浸透したことが考えられた。

本研究によって、ミカエリソウとテンニンソウの2種間で交雑が起きていることが

形態的・遺伝的に立証された。また、種間の遺伝子浸透が、両方向に起こり得ることも示唆された。集団によって交雑の起こり方が異なる場合には、集団ごとに異なる進化学的結果がもたらされる可能性がある。今後、交雑集団の遺伝的構成をさらに細かく解析し、ミカエリソウ・テンニンソウの交雑集団の動態を予測する研究が必要である。

### (3) グミ属 3 種の交雑

ナワシログミ亜属の 3 種、ナワシログミ (*E. pungens*)、オオバグミ (*E. macrophylla*)、ツルグミ (*E. glabra*) は、推定雑種として、オオナワシログミ (*E. × submacrophylla*) (ナワシログミ × オオバグミ)、ウラギンツルグミ (*E. × reflexa*) (ナワシログミ × ツルグミ)、アカバグミ (*E. × maritima*) (オオバグミ × ツルグミ) が記載されており、3 種間でそれぞれ交雑が起きていると推定される。

形態学的解析および遺伝学的解析の結果から、南あわじ市と牟岐町の集団は、ナワシログミとオオバグミの交雑と、ナワシログミとツルグミの交雑が起こっており、美波町、すさみ町、いわき市田人町の集団は、それぞれナワシログミとオオバグミ、ナワシログミとツルグミ、オオバグミとツルグミの交雑が起きていることが明らかとなった。また、雑種同士の交雑や戻し交雑が起きていることが明らかとなった。南あわじ市の集団では、オオバグミとナワシログミの両方向に遺伝子浸透が起きていると思われ、その他の交雑集団では、遺伝子浸透の方向性は非対称である可能性が示唆された。交雑集団において花粉稔性の低下は見られなかったため、雑種の適応度が極端に低下しているとは思われない。したがって、今後もナワシログミ亜属 3 種間での浸透性交雑は進むものと考えられる。今後、雑種が増え続けて雑種が優先する集団が形成されるのか、親種と雑種が混合した集団が維持されるのか、あるいは何らかの理由で雑種が集団から排除されるのかについては、雑種個体の適応度をより詳細に推定することで考察できると思われる。

### 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 5 件)

1. Horie, S., Suzuki, K. and Maki, M. 2012. Quantitative morphological analysis of populations in a hybrid zone of *E. diphylum* and *E. sempervirens* var. *rugosum* (Berberidaceae). *Plant Ecology and Evolution* **144**: in press. (査読有り)
2. Kikuchi, R. and Maki, M. 2011. Characterization of polymorphic microsatellite markers isolated from the relict perennial *Veratrum stamineum* var. *micranthum* Satake (Melantiaceae). *Conservation Genetics Resources* **3**: 507-509. (査読有り)
3. Maki, M., Yamashiro, T., Dohzono, I. and Suzuki, K. 2010. Molecular phylogeny of *Isodon* (Lamiaceae) in Japan using chloroplast DNA sequences: recent rapid radiations or ancient introgressive hybridization? *Plant Species Biology* **25**: 240-248. (査読有り)
4. Kikuchi, R., Pak, J.-H., Takahashi, H. and Maki, M. 2010. Disjunct distribution of chloroplast DNA haplotypes in the understory perennial *Veratrum album* ssp. *oxysepalum* (Melanthiaceae) in Japan due to ancient introgression. *New Phytologist* **187**: 879-891. (査読有り)
5. Maki, M., Kokubugata, G. and Yamashiro, T. 2010. Lack of allozyme diversity in populations of the endangered perennial *Senecio scandens* (Asteraceae) in Japan: comparison with a population in Taiwan. *Journal of Phytogeography and Taxonomy* **58**: 39-42. (査読有り)

[学会発表] (計 3 件)

1. 小林大輝・藤井伸二・石濱史子・牧雅之、渡良瀬遊水池におけるノダイオウと同属外来種の交雑における研究. 日本植物分類学会第 11 回大会 (大阪学院大学). 2012 年 3 月 23 日.
2. 竹原正貴・山城考・牧雅之. ナワシログミ、オオバグミ、ツルグミの交雑現象の形態学的・遺伝学的解析. 日本植物分類学会第 9

回大会 (愛知教育大学). 2010 年 3 月 26 日.  
3. 菊地諒・Pak Jae-Hong・高橋弘・牧雅之.  
マイクロサテライトマーカーをも用いたバ  
イケイソウの系統地理学的解析. 日本植物分  
類学会第 9 回大会 (愛知教育大学). 2010 年  
3 月 26 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧 雅之 (MAKI Masayuki)

東北大学・大学院生命科学研究科・准教授

研究者番号 : 60263985