

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24770081

研究課題名(和文)ゲノム情報を利用した交雑種分化メカニズムの解明

研究課題名(英文)A study on the hybrid speciation mechanism in plants using genome information

研究代表者

菊地 賢(Kikuchi, Satoshi)

独立行政法人森林総合研究所・森林遺伝研究領域・主任研究員

研究者番号：10353658

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：雑種形成は、植物の種分化を促す重要な要因のひとつとして注目されている。種間交雑を頻繁に生じるヤナギ属植物について、複数の核遺伝子を解析し、雑種形成が進化に及ぼす影響を検証した。ユビソヤナギはネコヤナギとエゾヤナギの中間的な形態を持つが、系統解析の結果、これら3種の系統的独自性は高く、ユビソヤナギは雑種由来ではなかった。ただし、これら3種の間には、種分化後に遺伝子流動が生じている可能性が示唆された。一方、*Vetrix*亜属や*Chamaetia*亜属に属する国産ヤナギ属植物の多くは複雑なネットワークを形成し、種分化後の頻繁な種間交雑によって網状進化を遂げている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Hybridization in plants is now considered as one of the important factor which promotes speciation. We examined reticulate evolution in the genus *Salix*, by investigating phylogenetic relationships among Japanese willow species in the subgenus *Vetrix* and *Chamaetia* based on multiple nuclear genes. Phylogenetic network analysis did not support the hypothesis for diploid hybrid speciation of *S. hukaoana* which had been suspected of being derived from diploid hybrid between *S. gracilystyla* and *S. rorida*, although the phylogenetic incongruence in a few loci suggested introgression among them after speciation. In contrast, the other species displayed more complex evolutionary histories including reticulate events, and suggested that reticulate evolution has occurred extensively in the genus *Salix*.

研究分野：保全遺伝学、系統地理学、生態遺伝学

キーワード：網状進化 雑種種分化 系統解析

1. 研究開始当初の背景

雑種由来の系統が種として進化する「雑種分化」は、近年、植物の種分化を促す重要な要因のひとつとして注目されている。そのなかで、雑種形成時に染色体倍加をとまわらない「二倍体雑種分化 homoploid hybrid speciation」という種分化プロセスについては、詳細な研究が少なく、その理解は進んでいない。

ヤナギ科植物は、雑種形成を頻繁に行うことで知られている。またヤナギ科植物は、*Popula tricarpa* の全ゲノム解読をはじめとして、ゲノム解析が進展している分類群でもある。そのため、ゲノム情報を利用した系統解析によって、雑種形成がヤナギ属の種分化に及ぼす影響を解明することが可能である。

日本には 30 種程度のヤナギ属植物が自生している。このなかで、本州北部に遺存的に分布するユビソヤナギ (*Salix hukaoana*) は、二倍体ゲノムを持ち、(1)形態的にエゾヤナギとネコヤナギそれぞれに類似点を持つこと、(2)本州中部地方と北海道に隔離分布するエゾヤナギの分布に隣接する分布を示すこと、(3)エゾヤナギとネコヤナギはともにヤナギ属のなかでは開花が早く、両種の間には雑種形成が報告されていること、などから、ユビソヤナギがエゾヤナギとネコヤナギの二倍体雑種起源である可能性が高いと考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、国産ヤナギ属植物を対象に、*Populus* 属のゲノム情報を活用して系統解析をおこない、容易に種間雑種を形成するヤナギ属において、雑種形成を通じた種間の遺伝子交流が系統分化に及ぼす影響を検証することを目的とする。

特に、雑種由来の可能性が高いユビソヤナ

ギ (*Salix hukaoana*) を対象に、ネコヤナギとエゾヤナギの雑種に由来する雑種起源説を検証したうえで、homoploid hybrid speciation による種分化プロセスを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、国産ヤナギ属植物のうち *Vetrix* 亜属、*Chamaetia* 亜属、およびケシウヤナギ・オオバヤナギを含む 22 種のうち 20 種を対象とし、野外や植物園より試料を採集した。特に、ユビソヤナギ、エゾヤナギ、ネコヤナギについては、分布域全域をカバーする 4 ~ 8 集団から標本を採取した。

まず、葉緑体遺伝子間領域と 2 つの核遺伝子低コピー領域 (PGI, ncpGS) を用いて、国産ヤナギ属植物を対象に系統解析をおこなった。このとき、葉緑体遺伝子間領域の PCR 増幅にはユニバーサルプライマーを用い、PGI 領域、ncpGS 領域については、同じヤナギ科の *Populus* 属のゲノムデータベースを利用して PCR プライマーを設計した。

ヤナギ属 22 種について、これら 3 つの遺伝子領域について、ABI3100 Genetic Analyzer を用いて塩基配列を解析した。核遺伝子領域については、得られた塩基配列から、dnasp ソフトウェアを用いてハプロタイプの推定をおこなった。こうして得られた塩基配列情報から、MrBayes を用い、ベイズ法による系統樹を作成した。得られた個々の系統樹から、Splittree ソフトウェアを用い、網状系統樹 (Split network) を作成し、ヤナギ属の系統関係を調べるとともに、ユビソヤナギの雑種起源仮説を検証した。

次に、Hanley et al. (2006) が *Populus* 属の EST から設計したプライマのうち 26 組を用い、ゲノム全域を含む遺伝子領域について、遺伝子配列から系統解析を行った。ここでは上記

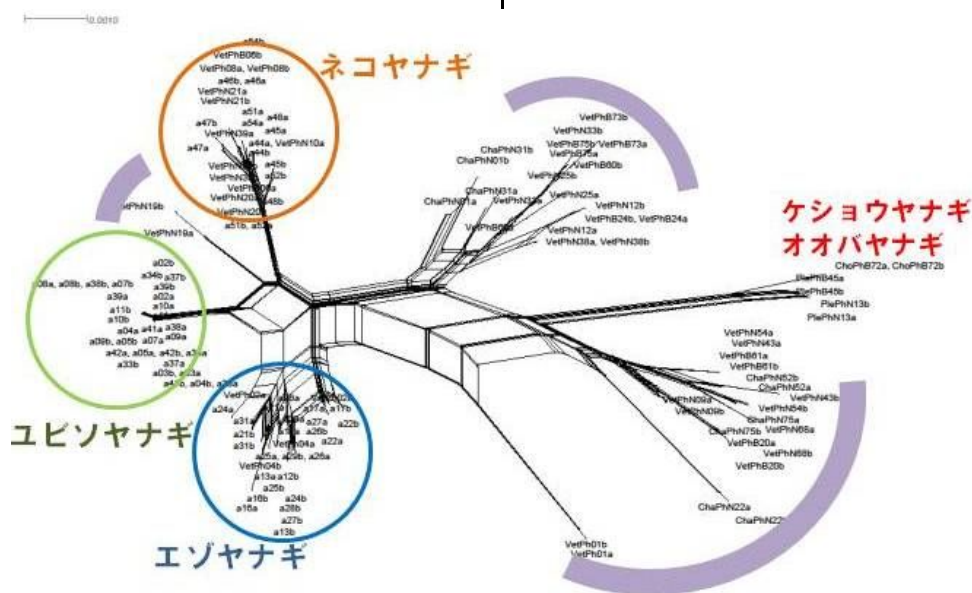


図 1 葉緑体遺伝子間領域、PGI 領域、ncpGS 領域を用いて作成した国産ヤナギ属 (*Vetrix* 亜属、*Chamaetia* 亜属、ケシウヤナギ・オオバヤナギ) の Consensus network。

22 種のうち、ユビソヤナギ・エゾヤナギ・ネコヤナギに加え、キツネヤナギ・バッコヤナギ・オノエヤナギの計 6 種を対象に、同様に MrBayes を用いてベイズ法による系統樹を作成した。こうして得られた多数の系統樹を SplitsTree を用いて統合し、網状系統樹 (Supertree) を構築した。

4. 研究成果

各遺伝子領域ごとに系統樹を構築したところ、遺伝子領域ごとに異なる系統樹が得られた。葉緑体遺伝子領域ではユビソヤナギがエゾヤナギをハプロタイプを共有する一方、核遺伝子 PGI 及び nspGS 領域では、ユビソヤナギはネコヤナギにより近縁であった。

3 遺伝子領域の系統樹から consensus network を作成した結果 (図 1) ユビソヤナギはネコヤナギ・エゾヤナギと近縁であり、その種分化の過程で交雑を起こしている可能性が示唆された。また、他の国産ヤナギ属では、多くの種が網状の系統樹を形成していた。これは、ヤナギ属では雑種形成を通じた網状進化が一般的であることを示唆していた。

ユビソヤナギ、ネコヤナギ、エゾヤナギの 3 種の進化をより詳細に解明するため、26 座の核遺伝子領域を用いて supernetwork を構築した (図 2)。その結果、3 種は明瞭に分岐し、系統的独自性を保っていることが明らかとなり、ユビソヤナギがエゾヤナギとネコヤナギの雑種分化によって進化したという雑種分化仮説は否定された。しかし、網状系

統樹作成の閾値を下げた (15% 以下の遺伝子座にしか見られない分岐パターンを網状系統樹に反映させた) とき、この 3 種は網状の系統樹を形成した。すなわち、これら 3 種は古い時代に分岐したが、種分化後に種間交雑を介した遺伝子交流をおこなっている可能性が高いことが示唆された。一方、オノエヤナギ、バッコヤナギ、キツネヤナギは網状の系統樹を示し、これら 3 種では網状進化が生じていることが示された。

このように、ヤナギ類のように種間交雑を生じやすい植物において、その進化史や分類学的位置づけを解明するうえで、ゲノム情報を利用した複数核遺伝子の解析による網状系統樹の作成が有効な手段であることが示された。

< 引用文献 >

Hanley S, Mallott M, Karp A (2006) Alignment of a Salix linkage map to the Populus genomic sequence reveals macrosynteny between willow and poplar genomes. *Tree Genet Genomes* 3: 35–48.

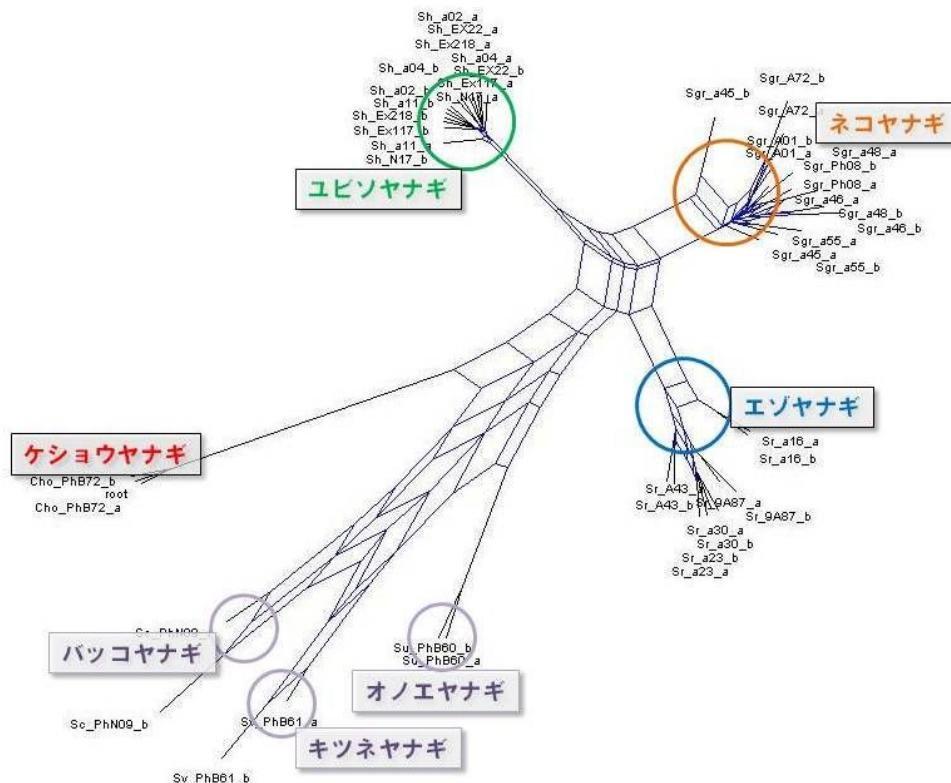


図 2 核遺伝子 26 領域を用いて作成したユビソヤナギ・ユビソヤナギ・エゾヤナギ・ネコヤナギおよびキツネヤナギ・バッコヤナギ・オノエヤナギの supernetwork。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

菊地賢、鈴木和次郎、只見川流域、とくに小戸沢のユビソヤナギの遺伝的多様性とその保全、只見の自然 只見町プナセンター紀要、Vol.1、2012、pp.7-11

Kikuchi S and Suzuki W, Conservation of a threatened riparian tree *Salix hukaoana*, IUFRO World Series Volume 30: Asia and the Pacific Workshop Multinational and Transboundary Conservation of Valuable and Endangered Forest Tree Species. 2012、94-97

〔学会発表〕(計1件)

菊地賢、鈴木和次郎、ヤナギ林のジーンフロー、第61回日本生態学会大会、2014年3月15日、広島国際会議場(広島市)

6．研究組織

(1)研究代表者

菊地 賢 (KIKUCHI, Satoshi)

独立行政法人森林総合研究所・森林遺伝研究領域・主任研究員

研究者番号：10353658