

平成 21 年 4 月 15 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19570090

研究課題名 (和文) 種間交雑の促進機構と抑制機構

研究課題名 (英文) Ecological mechanisms to promote or suppress interspecific hybridization

研究代表者

林 文男 (HAYASHI FUMIO)

首都大学東京・理工学研究科・助教

研究者番号：40212154

研究成果の概要：近縁の2種が同所的に生息するようになると、急速に形質置換を引き起こすことがある。しかし、元来近縁な2種であるため、種間交雑が生じる可能性も高い。形質置換は2種の形態差を大きくするが、種間交雑は2種の形態差を小さくする。カワトンボとオオカワトンボが同所的に生息する29ヶ所の集団に対して2種間の形態差を調べた結果、形態の種間差が大きい場合と小さい場合が認められた。さらにこれら29集団の核 (ITS 領域) とミトコンドリア (COI 領域) の DNA 解析を行った結果、交雑が起こらず形質置換が生じている集団と、交雑が生じて形質置換が起こっていない集団があった。交雑が生じていない集団では、翅色の種間差が交雑を抑制するための機構として働いている可能性が高い。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2008 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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, 配偶行動, 種間交雑, 形質置換, 種内多型, 浸透的交雑, トンボ, DNA

1. 研究開始当初の背景

塩基配列に基づく系統解析は、今では多くの生物に適用され、これまで外部形態や生理的特性だけでは判然としなかった分類群の系統関係に関しても、議論可能な土台としての系統樹が提出されつつある。有性生殖を行う生物では、通常、ミトコンドリア DNA は細胞質に存在して母系的に伝達されるため、核 DNA とは異なる運命をたどる。とくに、種間交雑をおこした際、交雑個体が戻し交配

の条件下に置かれると、一方の種のミトコンドリア DNA がそのままそっくり他方の種の集団中に入り込んでしまう現象が起こり得る。これを、交雑にともなうミトコンドリア DNA の種間浸透と呼ぶ。核 DNA も交雑によって浸透するが、それは戻し交配を重ねると、確率的ではあるが、ほぼ完全に元の集団のもの置き換わってしまう。それに対して、ミトコンドリア DNA は、変化することなく集団中に固定されてしまう。両者の DNA の解

析を行う過程で、種間交雑に由来する集団の存在が動物においても広く認められるようになってきた。植物では、経験的に、種間交雑は常に意識されてきたが、動物でも、種間交雑が種分化や集団遺伝構造に頻繁に影響を及ぼしていることが再認識され始めるようになった。

しかし、種間交雑に由来する集団が、どのような選択圧を受けて存続していくのかはまだ明らかにはなっていない。最近の研究では、アリ類において、種間交雑が積極的に行われる進化的背景として、女王アリが他種の精子を利用して受精させると、2 種間の中間的な形態の働きアリが産出され、それがコロニーの競争力を増す（2 種間の中間的なニッチを利用できる）という可能性が指摘されている（Umphrey 2006）。アリ類では、女王アリが同種のオスおよび異種のオスと多数回交尾をすることによって、コロニー内に自種の働きアリと交雑由来の働きアリが共存することになる。たとえ異種のオスとのみ交尾をした場合でさえも、雄アリは単数（n）なので女王アリのゲノムは雄アリを通して次世代に伝えられる。もう一つの最近の研究では、中米の毒チョウの、配偶者認知が翅の色彩によって決まるため、中間的な色彩を有する交雑由来集団が存続する可能性が指摘されている（Mavares et al. 2006）。アリ類では、半数倍数性という特異な性決定システムとコロニー生活という特殊な背景があり、他の生物への拡張は容易ではないが、配偶者認知に基づき交雑由来集団が維持されるという仮説は一般化が可能であるかも知れない。

トンボ類でも、これまでの DNA 解析の研究から、種間交雑が頻繁に生じている事実が認められ、また、カワトンボ属 2 種に関して、これまでに予備的に調査を行った結果、交雑の頻度（ミトコンドリア DNA の共有率）と外部形態差に負の相関があり、交雑が抑制されている集団と交雑が顕著に進んで形態差が小さくなっている集団が存在する可能性を見いだした。カワトンボ属におけるこうした地域差は、種間交雑の進化的機構を解明するための野外モデル動物として最適であると考え、「種間交雑の促進機構と抑制機構」という研究計画を立案した。

2. 研究の目的

日本には、カワトンボ属 2 種（カワトンボとオオカワトンボ）が生息する。幼虫は水生昆虫で同一水系内の移動しか行わず、成虫の移動分散力も乏しく、通常は同一水系内に限られている。両種の分布は非常に密で（いわゆる普通種）、かつ、本州中部地方から九州北部にかけて共存している。予備的調査として、これまで共存域である新潟県から福岡県にかけて 10 集団（一つの水系集団を 1 集団

として、1 集団から両種合わせて約 30-50 個体を採集）を採集し、ミトコンドリア DNA 塩基配列、核 DNA 塩基配列および外部計測を行った。その結果、交雑が抑制されている集団（ミトコンドリア DNA ハプロタイプの種間での共有率がほとんどなく、外部形態の種間差が顕著）と促進されている集団（ハプロタイプの共有率が極めて高く、形態差が小さい）が認められた。そこで本研究では、共存域において、さらに多くの集団のサンプルを得て同様の解析を行い、(1) 交雑抑制集団と促進集団に分断するのか（ランダムに交雑が起こるとするとそれぞれの集団の交雑の程度の頻度分布は正規分布となり、ある程度交雑を起こしている集団がもっとも多く発見されると期待されるが）、(2) 配偶者選択はどれくらい正しく行われるか（野外において配偶行動の観察は容易）、(3) 種間交雑によって産下された卵の孵化率はどれくらいか、の 3 点を明らかにする。つまり、配偶者認知が不完全だと交雑が促進されるが（交雑によって交尾の機会が増え、その個体が集団中に増えていく）、雑種個体の生存率が低下するなどのコストをとともなうと、交雑は抑制されるだろう。これらの相反する選択圧が、交雑の程度にどのように作用するかを明らかにする。

3. 研究の方法

オオカワトンボ (*Mnais costalis*) とカワトンボ (*Mnais pruinosa*) について、それぞれが異所的に分布する場所として、徳島県阿南（カワトンボ単独生息地）、北海道札幌集（オオカワトンボ単独生息地）から成虫の採集を行った。また、これら 2 種が同所的に分布する場所（混在集団）として、香川県造田、愛媛県重信、千葉県小糸、神奈川県相模原、長野県飯山、長野県梁場、新潟県能生、長野県木崎、長野県軽井沢、富山県小矢部、石川県湯湧、石川県小松、滋賀県余呉、滋賀県朽木、滋賀県大石、三重県青山、愛知県慎原、静岡県浦川、岡山県和意谷、岡山県槻、鳥取県円谷、鳥取県発浄寺、鳥取県宇坪谷、鳥取県本泉、山口県黒岩、山口県小木原、大分県耶馬溪、福岡県石釜、佐賀県伊岐差の 29 から成虫の採集を行った。

採集個体はエタノール標本として、性別（オス、メス）と翅色（部分橙色型、全体淡橙色型、無色型）を判定し、頭幅、前翅長、縁紋の長さとお幅を測定した。筋肉組織から DNA を抽出し、核 DNA の ITS 領域の変異によって種を同定した（Hayashi et al. 2005）。また、ミトコンドリア DNA の COI 領域を解析し、そのハプロタイプを集団間と種間で比較した。

表1. オオカワトンボ(*Mnais costalis*)とカワトンボ(*Mnais pruinosa*)の各集団における翅色の組み合わせとCOIハプロタイプの共有性(類似性).

State	Site	Locality	Area (km)	Species	Males with			Females with		Total	Hplotype similarity
					orange wings	hyaline wings	pale orang wings	hyaline wings	pale orang wings		
Allop.	A1	Sapporo, Hokkaido	1	<i>M. costalis</i>	10	14		6		30	0.000
	A2	Anan, Tokushima	3	<i>M. pruinosa</i>	8	18		6		32	
Symp. a	Sa1	Soda, Kagawa	2	<i>M. costalis</i>	4	3		1		8	0.000
				<i>M. pruinosa</i>	2	6		2		10	
	Sa2	Shigenobu, Ehime	1	<i>M. costalis</i>	7	2		3		12	0.996
				<i>M. pruinosa</i>	8	10		3		21	
	Sa3	Koito, Chiba	10	<i>M. costalis</i>	22	5		6		33	0.988
				<i>M. pruinosa</i>	9	5		1		15	
	Sa4	Sagamihara, Kanagawa	7	<i>M. costalis</i>	4	5		2		11	0.984
				<i>M. pruinosa</i>	5	8		3		16	
	Sa5	Iiyama, Nagano	3	<i>M. costalis</i>	7	1		3		11	0.971
				<i>M. pruinosa</i>	1	8		2		11	
	Sa6	Yanaba, Nagano	4	<i>M. costalis</i>	24	8		17		49	0.452
				<i>M. pruinosa</i>	1	9		2		12	
Sa7	Nou, Niigata	8	<i>M. costalis</i>	8	10		3		21	0.827	
			<i>M. pruinosa</i>		26		6		32		
Sa8	Kizaki, Nagano	2	<i>M. costalis</i>	37	14		10		61	0.086	
			<i>M. pruinosa</i>		12		6		18		
Sa9	Karuizawa, Nagano	2	<i>M. costalis</i>	4	1		?		5	0.982	
			<i>M. pruinosa</i>		24		3		27		
Symp. b	Sb1	Oyabe, Toyama	5	<i>M. costalis</i>	16			3	*	19	0.777
				<i>M. pruinosa</i>		10		1		11	
	Sb2	Yuwaku, Ishikawa	1	<i>M. costalis</i>	7			7	*	14	0.527
				<i>M. pruinosa</i>		6		1		7	
	Sb3	Komatsu, Ishikawa	1	<i>M. costalis</i>	21			2	10	33	0.000
				<i>M. pruinosa</i>		13		2		15	
	Sb4	Yogo, Shiga	2	<i>M. costalis</i>	15			4	6	25	0.000
				<i>M. pruinosa</i>		13		2		15	
	Sb5	Kutsuki, Shiga	2	<i>M. costalis</i>	5			1	3	9	0.710
				<i>M. pruinosa</i>		14		3		17	
	Sb6	Oishi, Shiga	2	<i>M. costalis</i>	24			1	14	39	0.125
				<i>M. pruinosa</i>		12		1		13	
Sb7	Aoyama, Mie	18	<i>M. costalis</i>	7				7	14	0.118	
			<i>M. pruinosa</i>		12		9		21		
Sb8	Makihara, Aichi	2	<i>M. costalis</i>	9				7	16	0.960	
			<i>M. pruinosa</i>		10		5		15		
Sb9	Urakawa, Shizuoka	3	<i>M. costalis</i>	5				*	5	0.974	
			<i>M. pruinosa</i>		14		7		21		
Symp. c	Sc1	Waidani, Okayama	3	<i>M. costalis</i>	9		1		3	13	0.848
				<i>M. pruinosa</i>	3	11		8		22	
	Sc2	Tsuki, Okayama	1	<i>M. costalis</i>	15	2	2	6	4	29	0.998
				<i>M. pruinosa</i>	7	8		3		18	
	Sc3	Endani, Tottori	4	<i>M. costalis</i>	5	3		6	2	16	0.000
				<i>M. pruinosa</i>	5	3		3		11	
	Sc4	Hasshoji, Tottori	5	<i>M. costalis</i>	8		1	7	2	18	0.000
				<i>M. pruinosa</i>	11	7		6		24	
	Sc5	Utsubodani, Tottori	1	<i>M. costalis</i>	2				3	5	0.000
				<i>M. pruinosa</i>	8	5		8		21	
	Sc6	Motozumi, Tottori	1	<i>M. costalis</i>	16	2		6	4	28	0.000
<i>M. pruinosa</i>				2	3		4		9		
Sc7	Kuroiwa, Yamaguchi	1	<i>M. costalis</i>	6	10		8	*	24	0.142	
			<i>M. pruinosa</i>	1	7		2		10		
Sc8	Ogihara, Yamaguchi	1	<i>M. costalis</i>	10	6	3	1	2	22	0.764	
			<i>M. pruinosa</i>	2	7		6		15		
Sc9	Yabakei, Oita	10	<i>M. costalis</i>	4	3	1	1	3	12	0.120	
			<i>M. pruinosa</i>	6	3		2		11		
Sc10	Ishigama, Fukuoka	1	<i>M. costalis</i>	12	2	3		2	19	0.000	
			<i>M. pruinosa</i>	3	12		4		19		
Sc11	Ikisa, Saga	2	<i>M. costalis</i>	3		1		7	11	0.000	
			<i>M. pruinosa</i>	24 ^a	16		11		51		

* 目撃あるいは文献からの記録

a, males with brown wings.

4. 研究成果

採集した 1152 個体の形態を測定し、その大部分の DNA 解析を行って表 1 を得た。

この表 1 からわかることとして、まず、香川県造田、愛媛県重信、千葉県小糸、神奈川県相模原、長野県飯山、長野県梁場、新潟県

能生，長野県木崎，長野県軽井沢の9集団では，カワトンボとオオカワトンボの2種ともオスが部分橙色型か透明型の翅を有しており，メスが透明型の翅を有していた，つまり，これら9集団では翅色に関して種間差がなく，通常，ミトコンドリアDNAであるCOIハプロタイプは2種の間で共有される頻度が高くなっていた。

次に，富山県小矢部，石川県湯湧，石川県小松，滋賀県余呉，滋賀県朽木，滋賀県大石，三重県青山，愛知県模原，静岡県浦川の9集団では，オオカワトンボのオスは部分橙色型のみを，カワトンボは透明型のみを有しており，オスの翅色に間して完全に種間での置換が生じていた。これらの集団では，メスに全体淡橙色型が少なからず出現する。COIの比較を行うと，集団によって同じハプロタイプを種間で共有する場合と共有しない場合が認められた。

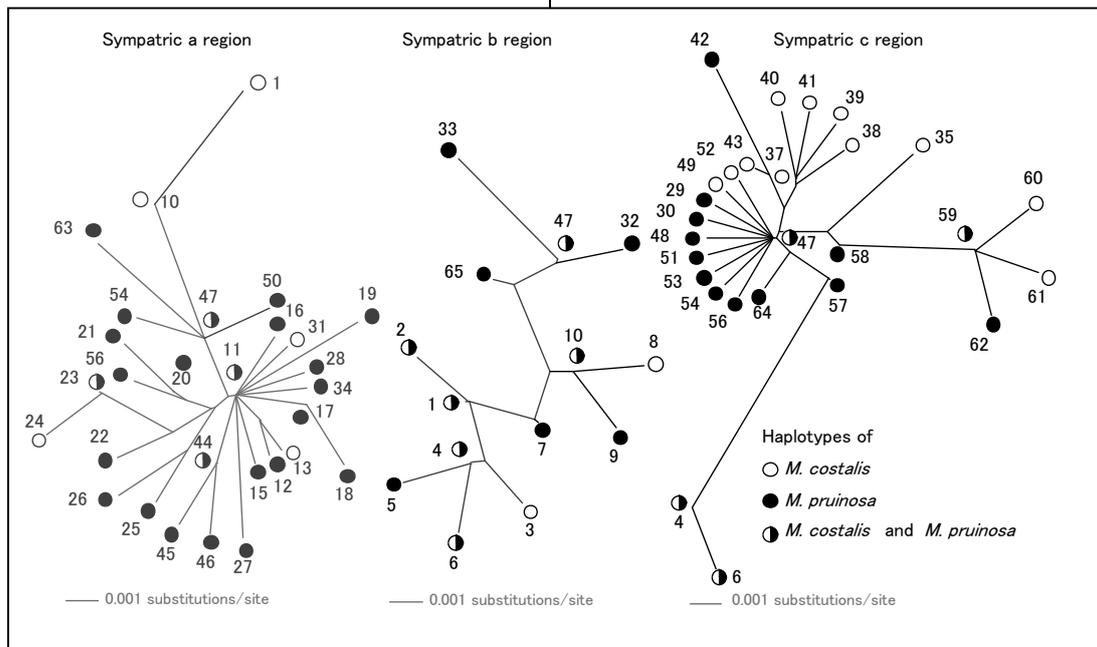
最後に，岡山県和意谷，岡山県槻，鳥取県円谷，鳥取県発浄寺，鳥取県宇坪谷，鳥取県本泉，山口県黒岩，山口県小木原，大分県耶馬溪，福岡県石釜，佐賀県伊岐差の11集団では，オオカワトンボのオスにも全体淡橙色型が出現することがあり，翅色の組み合わせがもっとも複雑となる。佐賀県伊岐差の集団を除くと，しかし，いずれも2種の間での翅色の置換は認められない。COIハプロタイプの種間での共有率は多くの集団で0となる。

に比べて，グループcでは2種の間でCOIハプロタイプがよく分離していることがわかる。

これらの集団の地理的分布をみると，九州などの西日本では2種間の遺伝的差異が大きく，もっとも複雑な翅色多型の組み合わせが認められるのに対し，関東や中部地方の東日本では2種間の遺伝的差異が不明瞭で種間の翅色多型に種間差がなくなっている。この両者の中間域では，翅色の組み合わせに種間差が生じ，遺伝的差異の大きい集団から小さい集団が連続的に見いだされた。このように，翅色は同所的集団において，2種の間での交雑を抑制する配偶行動上での有効な信号となっている可能性が高い。

今後，配偶実験を行うことによって，翅色が彼らの配偶相手の選択に実際にどのように貢献しているのかを野外実験において明らかにしなければならない。

図 1. 3つの地域グループにおけるミトコンドリアCOIハプロタイプの系統関係と，オオカワトンボ (*Mnais costalis*) とカワトンボ (*Mnais pruinosa*) における共有性。系統樹は無根のNJ樹。数字はハプロタイプ番号。



このように翅色の組み合わせで3つの集団グループ (Symp. a, b, c) が分離できた。集団ごとにCOIハプロタイプの種間での共有性をみたものが図1である。グループaやb

(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 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

(1) 林文男. 形質置換：カワトンボの種間交雑と種内多型. 日本進化学会第10回大会. 2008年8月24日. 東京.

〔その他〕

(1) ワークショップ「速い進化と遅い進化：進化の加速機構」を, 日本進化学会第10回大会(2008年8月24日, 東京)において主催.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 文男 (HAYASHI FUMIO)
首都大学東京・理工学研究科・助教
研究者番号：40212154

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし