

キク科における網状進化の解析

副島 顕子 (大阪府立大学総合科学部)

伊藤 元己 (東京都立大学理学部)

はじめに

十分に分化した種あるいは分類群間で交雑が起こり、その子孫が更に子孫をつくっていくことができる場合、新しい種分化が起きる可能性がある。網状進化 reticulate evolution は、そのような交雑が関与した種分化で、特に植物ではその例が多く、進化上重要な役割を占めていると考えられる (Stebbins, 1950)。交雑が種分化につながるには、交雑由来物である雑種が継続的に生殖を続けることが必要である。Grant (1981) は雑種を安定させる生殖様式として、7つ挙げている (表1)。このうち、1と2は無性的な生殖様式、3から7が有性的な生殖様式であるが、遺伝子の組み替えや分離が起こって遺伝的な多様性を生じる可能性があるのは4から7の生殖様式である。この中で最も一般的で種分化に大きく貢献するのは、5の異質倍数性 amphiploidy と6の組み替えによる種分化 recombinational speciation であると考えられる。異質倍数性は交雑に続く倍数化によって雑種が安定するもので、複2倍体化、いわゆる異質倍数体形成のことであり、これは植物ではごく普通の現象として知られている。組み替えによる種分化 recombinational speciation は、交雑後に倍数化が起こらない、つまり2倍体であれば2倍体同士の交雑によって生じた雑種2倍体が2倍体のままで次世代を生産し続ける。この場合、F₁では同祖染色体がヘテロであるが、そのあとの子孫で遺伝子の組み替えが起こってホモの状態になることで、雑種の安定性が増大すると考えられる (図1)。

分子生物学的な手法が確立する以前は、ある種が交雑

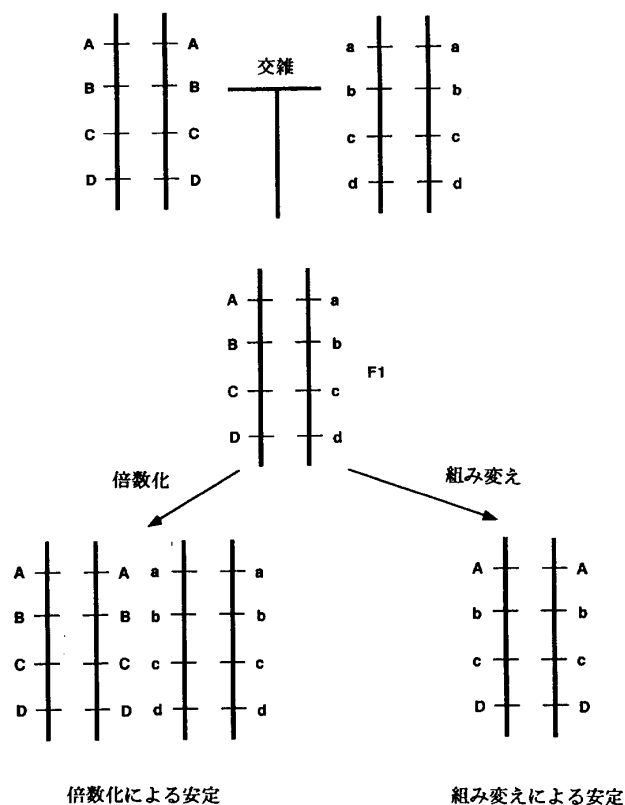


図1. 雑種の安定化の模式図

起源であることを主張するためには、推定両親種の交雑親和性や、形態または核型が中間的であるかどうかが議論されていた (Heiser, 1949; Suzuki, 1978, 1981)。近年、分子生物学的な手法によって交雑起源を推測できるというデータが増大している。ここでは異質

表1. 雑種を安定させる生殖様式 (Grant, 1981)

1. 栄養繁殖 vegetative propagation
2. 無配生殖 agamospermy
3. 染色体環を形成する永久ヘテロ permanent translocation heterozygosity
4. 減数分裂により正常な配偶子を形成する奇数倍数体 permanent odd polyploidy
5. 異質倍数性 amphiploidy
6. 組み替えによる種分化 recombinational speciation
7. 雑種の外生殖的隔離 hybrid speciation with external barriers

倍数体の例としてキク科のノコンギク *Aster ageratoides* subsp. *ovatus* についての筆者らの研究と、交雑後倍数化を起こさずに種が分化した例としてキク科のヒマワリ属 *Helianthus* についての Rieseberg と共同研究者による DNA を用いた研究を紹介する。

ノコンギクの起源について

ノコンギクはキク科シオン属 *Aster* に所属されている植物であるが、主に核型の特徴からヨメナ属 *Kalimeris* とシオン属の交雑由来であると言われている。シオン属とヨメナ属は冠毛の長さの違いで分けられ、シオン属は長い冠毛、ヨメナ属は短い冠毛をもっている。ノコンギクは長い冠毛をもち、同様の形態を示すシロヨメナ *Aster ageratoides* subsp. *leiophyllus* などと共にシオン属に入れられている。しかし、一見最も近縁なシロヨメナなどとは核型がはっきりと異なっている。

図2の上段は2倍体のシロヨメナの核型、中段はノコ

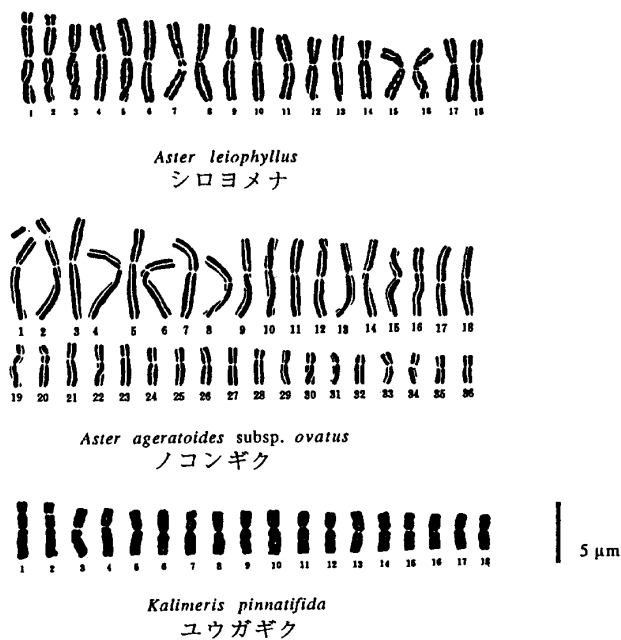


図2. シオン属およびヨメナ属とノコンギクの核型
シロヨメナ: Matsuda (1970), ノコンギク: Tara (1973), ユウガギク: Shindo (1964)

ノコンギク、下段はヨメナ属で2倍体のユウガギク *Kalimeris pinnatifida* の核型である。これまでの報告では、ノコンギクは $2n=36$ の4倍体であり、18本の長い染色体と18本の短い染色体をもっている (Tara, 1972)。また、二次狭搾をもつ染色体は4本あるが、長い染色体が2本、短い染色体が2本で核型からはノコンギクはあきらかに異質倍数性の複2倍体であると考えられる。一方、形態的にノコンギクに似ているシロヨメナ

には、2倍体から6倍体の倍数体系列が知られているが、どの倍数レベルにおいてもその核型は長い染色体のみから構成されていて、ノコンギクの核型のような染色体の長さにおける2型性は見られない。ヨメナ属の核型はシロヨメナの核型によく似ていて、ほぼ等しい長さの染色体からなる。しかし、ヨメナ属植物とノコンギクとの交配実験より、ヨメナ属植物の染色体はノコンギクの短い方の染色体と同じ長さであることが判明している (Tara, 1972)。このような核型の特徴から、ノコンギクは交雑起源の異質倍数体で、両親は長い染色体をもつシオン属と短い染色体をもつヨメナ属であると推定されている。

このノコンギクの起源についての仮説を検証するため、シオン属とヨメナ属の植物を用いてDNAによる系統解析を行なった。解析に用いたのはシオン属8種、ヨメナ属6種であり、シオン属ではノコンギク以外は全て2倍体を用いた。

葉緑体DNAについて17の制限酵素を用いてRFLPs (制限酵素切断断片長多型) 解析を行なった結果、74

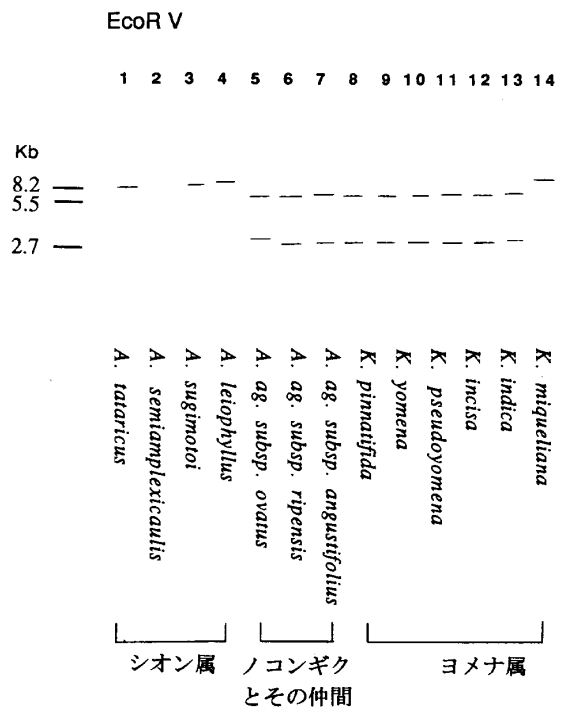


図3. EcoRVにより切断し、タバコの葉緑体DNAの一部をハイブリダイズさせたバンドパターン(伊藤・副島 未発表)

A. tataricus: シオン, *A. semiamplexicaulis*: イナカギク, *A. sugimotoi*: アキワギク, *A. leiophyllus*: シロヨメ, *A. ag. subsp. ovatus*: ノコンギク, *A. ag. subsp. ripensis*: タニガワノコンギク, *A. ag. subsp. angustifolius*: ホソバノコンギク, *K. pinnatifida*: ユウガギク, *K. yomena*: ヨメナ, *K. incisa*: オオユウガギク, *K. indica*: コヨメナ, *K. miqueliana*: オオバヨメナ。

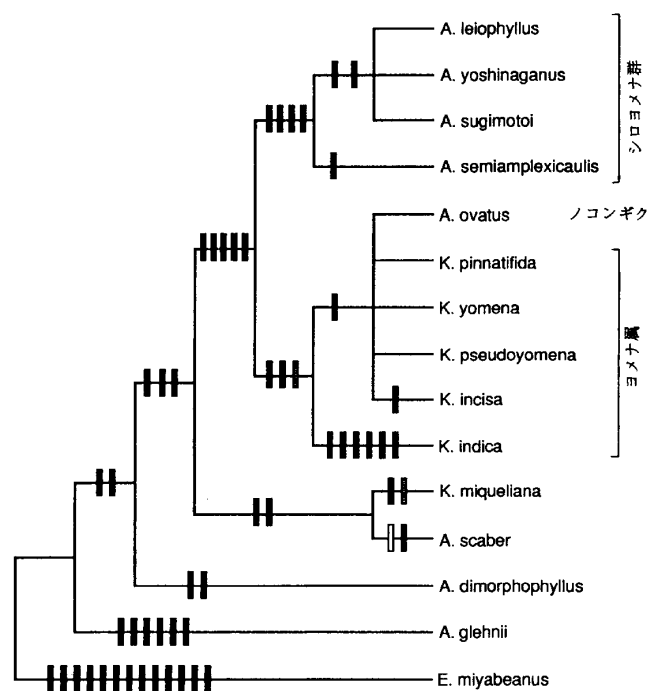


図4. シオン属とヨメナ属についての葉緑体 DNA による系統樹 (伊藤・副島 未発表)

黒：共有派生形質，白：平行進化形質，横縞：逆転
A. leiophyllus: シロヨメナ, A. yoshinaganus: シコクシロギク, A. sugimotoi: アキワギク, A. semiamplexicaulis: イナカギク, A. ovatus: ノコンギク, K. pinnatifida: ユウガギク, K. yomena: ヨメナ, K. pseudoyomena: カントウヨメナ, K. incisa: オオユウガギク, K. indica: コヨメナ, K. miqueliana: オオバヨメナ, A. scaber: シラヤマギク, A. dimorphophyllus: タテヤマギク, A. glehnii: ゴマナ, E. miyabeanus: ミヤマノギク.

のサイト変異を確認し、シオン属とヨメナ属をそれぞれ特徴づけるいくつかの変異が見つかった。図3は制限酵素 EcoRV で切断し、タバコの葉緑体 DNA の一部をハイブリダイズさせたバンドパターンで、シオン属とヨメナ属とで異なる変異を示している。ノコンギクのバンドパターンはシオン属のバンドパターンとは異なっており、ヨメナ属のバンドパターンと一致している。他の変異でも同様の傾向があり、ノコンギクの葉緑体ゲノムはヨメナ属のゲノムに一致する。

Wagner-persimony 法によって作成した葉緑体 DNA の系統樹では、ノコンギクはヨメナ属と同じクラスターにはいる (図4)。この結果は、1) ノコンギクがヨメナ属またはヨメナ属に至る系統から派生した、2) 葉緑体 DNA は母性遺伝すると期待されるので、ノコンギクがヨメナ属の植物あるいはその直接の祖先を母親とする雑種から起源した、というふたつの可能性を暗示している。

葉緑体 DNA はサイズが手頃で、プローブが確立しているなどの利点があるため、植物の系統解析に広く用いられてきた。しかし、葉緑体 DNA やミトコンドリア DNA などのオルガネラゲノムは通常母性遺伝するので、雑種では母親側のゲノムしか検出できない (図5)。このため、網状進化が起こった分類群の系統解析に用いるには不十分である。このような場合には、核遺伝子のようなメンデル遺伝をする遺伝子を用いた解析が必要となる。そこで、シオン属とヨメナ属の核のリボゾーム DNA を予備的に調査した (伊藤・副島 未発表)。その結果、リボゾーム DNA でもシオン属とヨメ

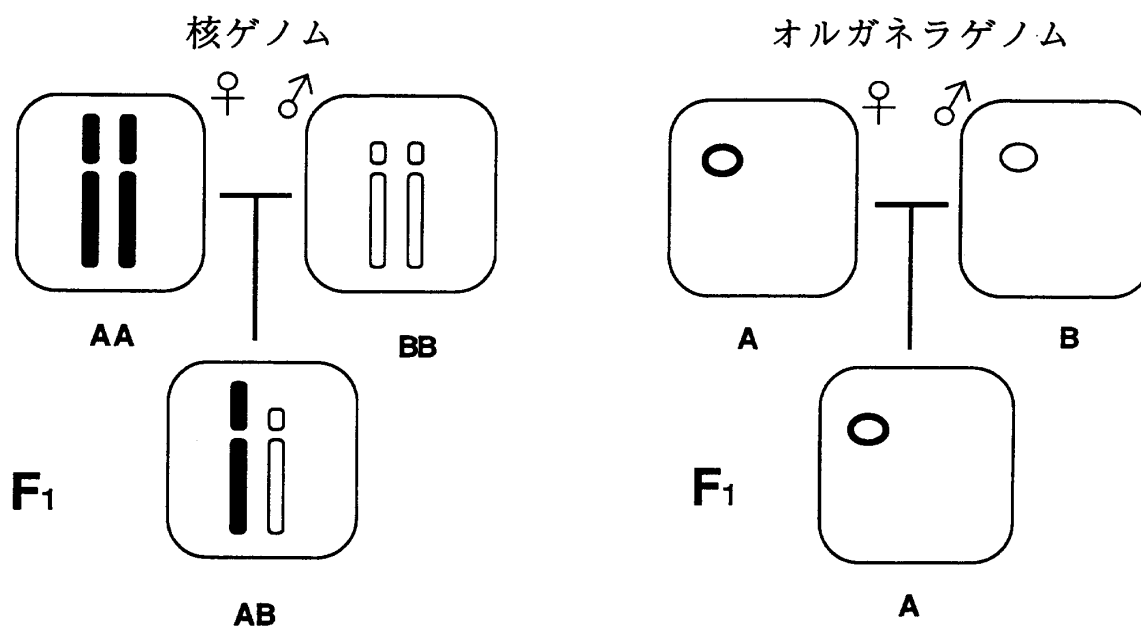


図5. 核とオルガネラゲノムの遺伝様式

ナ属を識別できる変異が見いだされたが、ノコンギクの変異は葉緑体 DNA と同様にヨメナ属のものと一致していた。

これら葉緑体 DNA とリボゾーム DNA のデータは、これまで唱えられてきたノコンギクの交雑由来説でなく、ノコンギクがヨメナ属から派生したかまたは共通祖先から派生したという説を支持するものである。しかし、この結論を受け入れると、ノコンギクの核型から強く示唆される異質倍数性の説明が困難となり、新たな解釈が必要となる。一方、アイソザイム多型の解析によると、ノコンギクはシオン属とヨメナ属の両方の変異を合わせもっており（森田・西野 未発表）、核型の特徴から推定されるのと同様にノコンギクの異質倍数性が示唆されている。

このような矛盾の原因として、ノコンギクは交雑由来

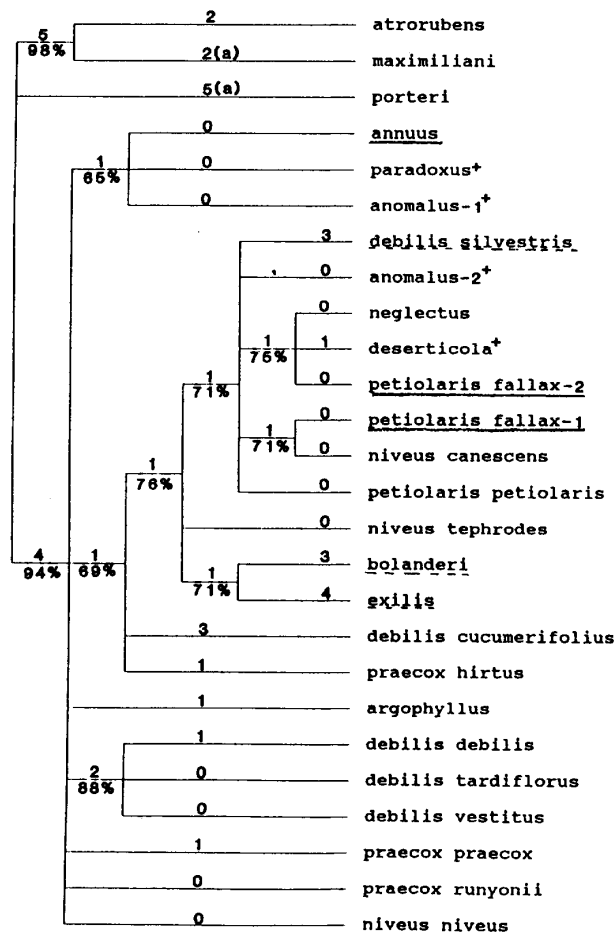


図6. 葉緑体 DNA によるヒマワリ節の系統樹 (Rieseberg, 1991)

+ : 多型なりボゾーム DNA をもつ種

下線 : *H. paradoxus* の推定両親種

破線 : 葉緑体 DNA とリボゾーム DNA の系統樹で異なる位置にくる種

枝の上下の数字は変異の数, ブーツストラップ法での再現率をそれぞれ表す

なのだが、交雑後にリボゾーム DNA の協調進化 concert evolution が起こり、シオン属に由来するリボゾーム DNA ゲノムが消失した可能性が挙げられる。しかし、この問題の解決には、シオン属とヨメナ属を区別する核遺伝子の変異を探し、その遺伝子がノコンギクにおいてどのように存在するのかを調べる必要がある。

ヒマワリ属における網状進化

交雑が関与する種分化として、交雑に引き続いて生じた倍数化によって雑種が安定する異質倍数体 amphiploid の例は多く知られるが、交雑由来の植物が両親種と同じレベルの倍数性のままで新しい種に発展していく例もいくつか知られている。キク科のヒマワリ属 *Helianthus* について Rieseberg (1990, 1991) と Rieseberg et al. (1990 a, b, 1991) が行なった研究はそのような例を分子生物学的手法で示したものである。

キク科のヒマワリ属には、2 倍体ではあるが、形態や分布域などから交雑に由来すると考えられる種がいくつかある。Rieseberg らは葉緑体 DNA と核のリボゾーム DNA の RFLPs を用いて北米産のヒマワリ属の系統解析を行なっている。図6はヒマワリ節 sect.

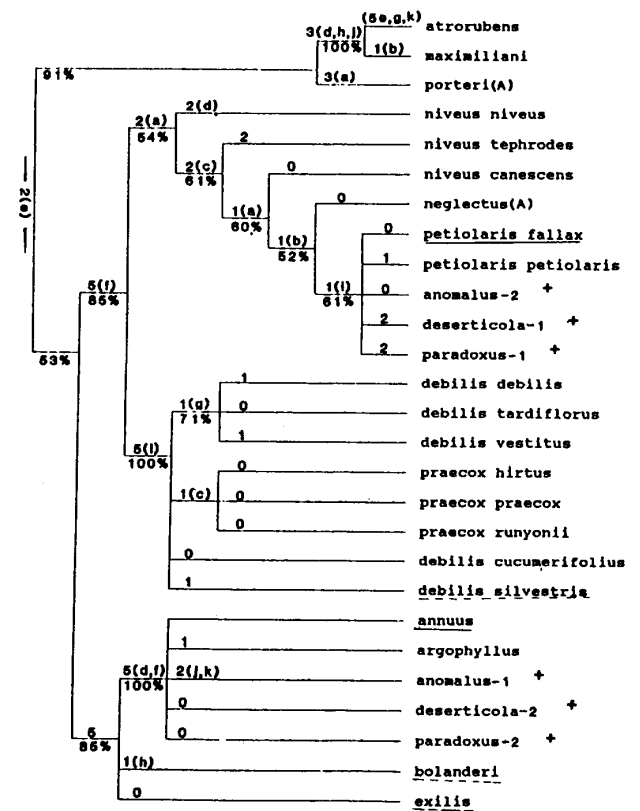
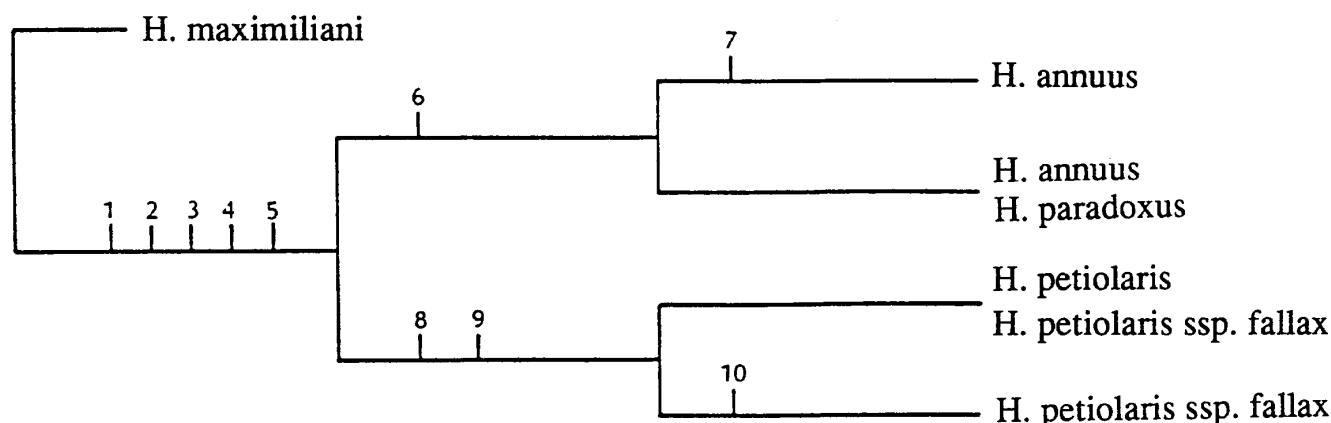


図7. リボゾーム DNA によるヒマワリ節の系統樹 (Rieseberg, 1991)

記号、数字は図6と同じ

cpDNA による系統樹



rDNA による系統樹

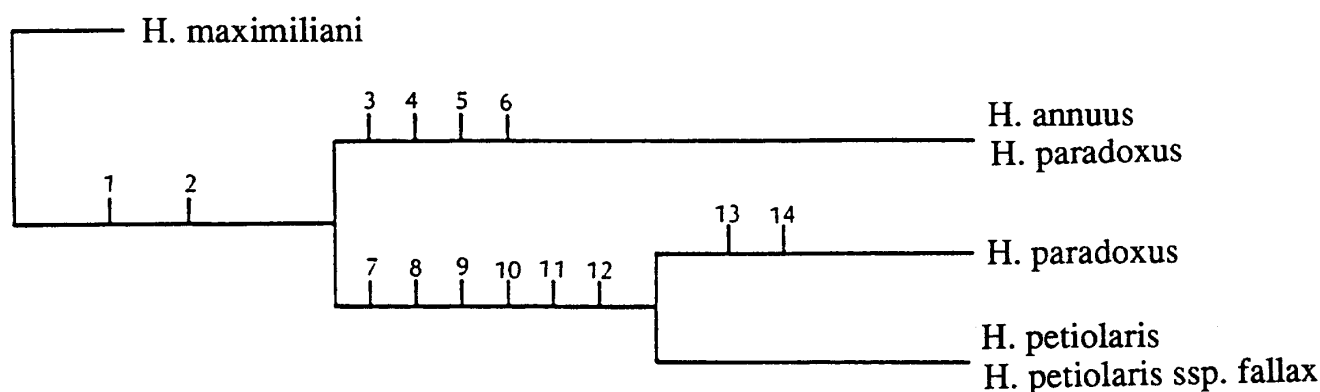


図 8. *H. paradoxus* とその推定両親種との系統関係 (Rieseberg et al., 1990 b)

Helianthus について葉緑体 DNA から書かれた系統樹、図 7 はリボゾーム DNA から書かれた系統樹である。 *H. paradoxus*, *H. anomalus*, *H. deserticola* のリボゾーム DNA は多型であり、この 3 種はリボゾーム DNA に関する系統樹の中で 2 ケ所に出現している。これは調べられた全ての個体の中に 2 種類のリボゾーム DNA が存在することを意味している。

Helianthus paradoxus, ヒマワリ *H. annuus* と *H. petiolaris* の 3 種はいずれも $2n=34$ で 2 倍体と考えられているが、生態的な特質や分布域などから、 *H. paradoxus* はヒマワリと *H. petiolaris* の交雑に由来する種であると推定されていた (Heiser, 1947)。ヒマワリと *H. petiolaris* は共に分布域が広く形態的な変異が大きい、いくつかの形態的な特徴や核型の特徴により、両者の区別は容易である。さらに、この両者の交配実験の結果は、 F_1 の花粉稔性が 10% 以下、 F_2 の花粉稔

性が 13~97% で、生殖的な隔離の存在を示唆している (Heiser, 1947)。

図 8 は葉緑体 DNA および核 DNA の RFLPs 解析の結果から得られた *H. paradoxus* の二つの系統樹である。枝に示した数字はそれぞれの枝における変異の種類を表わしている。 *H. maximiliani* は同じ属の一種であるが、ここでは外群として用いられている。推定両親種であるヒマワリと *H. petiolaris* は、葉緑体 DNA の 3 つのサイトチェンジ (図の 6, 8, 9) で区別され、核のリボゾーム DNA のデータから書かれた系統樹では 7 つのサイトチェンジと 3 つの断片長変異という合計 10 個の変異で区別される。 *H. paradoxus* の葉緑体 DNA の変異はヒマワリの変異に一致しているが、リボゾーム DNA に関しては 1 個体中に 2 種類のリボゾーム DNA のゲノムをもって、その一方はヒマワリのゲノムと同じ変異をもち、もう一方は *H. petiolaris* のゲノムと

その中で、リボゾームDNA遺伝子は多数の繰り返し構造からできているため、1細胞中に含まれる遺伝子のコピー数が多く、解析が容易であり、実際に多くの研究で使用されている。しかし、繰り返し構造は協調進化を起し易いことが知られている (Smith, 1974; Appels & Honeycutt, 1986; Nei, 1987)。協調進化は交雑に起因する多型性を急速に失わせ、いずれか片方の遺伝子に固定させる可能性がある。このため、リボゾームDNAは網状進化を起こして長い時間が経過した群の解析には必ずしも適していないと考えられる。ある遺伝子の変異が網状進化の解析に有効な役割を果たすかどうかは、偶然によって左右されるところである。今後、多数の核遺伝子の解析が容易となる技術の進歩が望まれる。

引用文献

- Appels, R. & R.L. Honeycutt 1986. rDNA: Evolution over a billion years *In*: S.K. Dutta (ed.), DNA Systematics p. 81-136. CRC Press, Boca Raton.
- Grant, V. 1981. Plant Speciation (2nd ed.). Columbia University Press, New York.
- Heiser, C. B. 1947. Hybridization between the sunflower species *Helianthus annuus* and *H. petiolaris*. *Evolution* 1 : 249-262.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York.
- Rieseberg, L.H. 1991. Homoploid reticulate evolution in *Helianthus* (Asteraceae): Evidence from ribosomal genes. *Amer. J. Bot.* 78 : 1218-1237.
- Rieseberg, L.H., S. Beckstrom-Sternberg & K. Doan 1990 a. *Helianthus annuus* ssp. *texanus* has chloroplast DNA and nuclear ribosomal DNA genes of *Helianthus debilis* ssp. *cucumerifolius*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 593-597.
- Rieseberg, L.H., S. Beckstrom-Sternberg, A. Liston & D.M. Arias 1991. Phylogenetic and systematic inferences from chloroplast DNA and isozyme variation in *Helianthus* sect. *Helianthus* (Asteraceae). *Syst. Bot.* 16 : 50-76.
- Rieseberg, L.H., R. Carter & S. Zona 1990 b. Molecular tests of the hypothesized hybrid origin of two diploid *Helianthus* species (Asteraceae). *Evolution* 44 : 1498-1511.
- Rieseberg, L.H. & D.E. Soltis 1991. Phylogenetic consequences of cytoplasmic gene flow in plants. *Evol. Trends Pl.* 5 : 65-84.
- Soltis, D.E., P.S. Soltis & J.J. Doyle 1991. Molecular Systematics of Plant. Chapman & Hall, New York.
- Smith, G.P. 1974. Unequal crossover and the evolution of multigene families. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 38 : 507-513.
- Stebbins, G.L. 1950. Variation and Evolution in Plants. Columbia University Press, New York.
- Suzuki, K. 1978. Biosystematic studies of Japanese *Epimedium* (Berberidaceae) (1) Variation of the populations in Shikoku (Part 1-2). *J. Jap. Bot.* 53 : 203-212; 225-231.
- Suzuki, K. 1981. Biosystematic studies of Japanese *Epimedium* (Berberidaceae) (2) Variation of the populations in Kyushu (Part 1-2). *J. Jap. Bot.* 56 : 9-16; 33-40.
- Tara, M. 1972. Cytogenetic studies on natural intergeneric hybridization in *Aster* alliances. I. *Aster ageratoides* subsp. *ovatus* (2n=36) x *Kalimeris incisa* (2n=72). *Bot. Mag. Tokyo* 85 : 219-240.
- Tara, M. 1973. Cytogenetic studies on natural intergeneric hybridization in *Aster* alliances. III. Natural hybrids *Aster ageratoides* subsp. *leiophyllus* (2n=36) x *A. ageratoides* subsp. *ovatus* (2n=36). *Hiroshima J. Sci., Ser.B., Div. 2*, 14 : 141-164.