

論文内容の要旨

論文題目:

Speciation, phylogeny and systematics of the filmy ferns (Hymenophyllaceae)

(コケシノブ科シダ類の種分化・系統・分類)

氏名: 海老原 淳

序論

現生約 1 万種のシダ類(ferns)は、今日では種数の点でこそ種子植物と比較して少数派である一方で、種子植物には見られない多くの特性を備えた植物群である。本研究では、シダ類の中で最も特徴的な形態を示す群の一つであるコケシノブ科を材料に用い、大進化レベル(科内の進化傾向)から小進化レベル(種形成様式)にわたる研究を通して、シダ類の多様化機構の解明を目指した。

第 I 章: ホラゴケ属の系統解析

コケシノブ科は、約 650 種を含むとされる原始的な薄葉シダ類の一群で、一層へと退化した葉の細胞層によって特徴づけられる。世界の熱帯から温帯域にかけての陰湿な環境に分布する本科は、特殊化する方向(小型化・単純化)への形態進化を遂げた群であると言える。科内に認められる 2 大系統のうち、コケシノブ(*Hymenophyllum*)属については遺伝的にも形態的にも比較的均一な群であることが既に判明している一方で、形態的・生態的に多様なホラゴケ(*Trichomanes*)属に関してはその属内での進化過程は十分明らかにされていなかった。本研究では、世界各地からホラゴケ属の主要分類群を網羅的に収集し、葉緑体 *rbcL* 遺伝子を用いた分子系統解析を行った結果、特殊化方向への著しい平行進化を伴った科内の進化傾向が明らかになり、従来の見解とは大幅に異なった科内の単系統群が認識された。

第 II 章: コケシノブ科の分類再編

分類学は、系統学とは異なる視点に立って行われる学問でありながら、両者は実用上密接な関係にある。分類の混乱が系統学・進化学に関わる円滑な議論を妨げることすら珍しくない。第 I 章で得られた結果は既存のいずれの分類体系も自然なものではないことを強く示唆するものであったため、本章ではコケシノブ科全体を第 I 章の解析で得られた単系統群に対応した 9 属へと再編した。

第 III 章: 日本及び周辺地域産ハイホラゴケ群の網状進化

生物をユニットとして扱う傾向のある大系統の研究に対して、種形成現象の研究にあたっては実際の生物としての性質の解明が欠かせず、どのような群でも可能というわけではない。本章では、様々な点において種形成の解明に好適な条件を満たしていると考えられたハイホラゴケ群(*Vandenboschia radicans* complex)を用いて、日本における生物学的実体の解明を目的とした研究を行なった。本群は、汎世界的分布を示す種複合体の1つであるが、第 I 章の解析によって形態変異と対応しない葉緑体 *rbcL* 遺伝子配列の変異が検出され、過去の予備的な染色体観察によって複数の減数分裂異常の報告があるなど多くの課題を含み、さらには日本国内ほぼ全地域にわたって豊富な形態変異を示す株が分布するといった特長を持つ。

本研究では、各サンプルに対して(1)フローサイトメトリーを用いた倍数性解析、(2)核 *GapCp* 領域の SSCP 解析/配列多型分離による両親の系統の解析(一部サンプルに関しては、核 *Lfy*イントロン領域の配列も解析)、(3)葉緑体 *rbcL* 遺伝子を用いた母方の系統の解析 の3種の解析を組み合わせて行なうことによって、きわめて効率的に種複合体の実体を解明することを可能にした。

日本各地及び周辺国から採集した計 365 サンプルの解析結果を総合すると、日本産のハイホラゴケ群は、*V. radicans*、*V. radicans* と名づけた 3 系統のゲノムに対応する少なくとも3種の生物学的種(2倍体)を基に、交雑と倍数化を経たいわゆる網状進化によって形成された雑種複合体であることが強く示唆され、連続的な形態変異について矛盾の無い説明が可能になった。

第 IV 章: 日本産ハイホラゴケ群の分類再編

第 III 章で明らかにされた生物学的実体は既存分類とは大幅にかけ離れたものであった。そこで本章では、各ゲノム構成に対して適切な学名を与えることで実体を記述する試みを行い、8種4雑種、合計 12 分類群を認めることにした。これらの各分類群に充てられる命名規約上の正名を決定するためには、関連する学名の模式標本のゲノム構成を明らかにする必要があるが、古い年代の標本の DNA 情報を利用することは現実的には困難である。そこで、第 III 章で用いたサンプルの証拠標本で計測した「形態形質-ゲノム構成」の関係から判別関数を算出し、判別分析によって関連学名の模式標本の所属分類群を推定した。

第 III 章で解析したサンプルは、各分類群の分布特性を把握するのに必ずしも十分な数ではなかったが、各地の植物標本庫所蔵の計 2641 点の腊葉標本の産地情報を緯度経度データに変換した後、分類群毎に GIS ソフトウェアを用いて地図上にプロットすることにより、各分類群の分布域・分布頻度が推定された。

第 V 章: 日本産ハイホラゴケ群の配偶体集団の遺伝的多様性: 独立配偶体による雑種形成の検証

第 III 章で網状進化の過程が明らかにされた日本産ハイホラゴケ群ではあるが、有性生殖

型の生育しない地点から雑種が見出される例が多く、第 IV 章の分布解析によっても、不稔性と推定される雑種が有性生殖型を遥かに上回る生育頻度・分布域を示す傾向が、一層明確に示された。この雑種優占現象の常識的な解釈として (1)偶発的な無配生殖、(2)遺存分布の 2 つの可能性が当初考えられた。しかしながら、*GapCp* 遺伝子型のローカルな分布パターンは雑種個体が著しい多数回起源でその大半が F1 であることを示唆しており、無配生殖は少なくとも主要な生殖様式としては機能していない可能性が高まった。また人工的な環境下に雑種がしばしば生育する事実は、遺存分布の可能性を否定するものと考えられた。以上の状況から雑種優占現象の成立背景として何らかの未知の現象が関与する可能性が濃厚であったが、対立遺伝子の分布パターン・生育環境・北米・欧州産の本群植物において孢子体 (2n 世代) を形成せることなく微小な配偶体 (n 世代) のみで長期間生存する「独立配偶体」が報告されている事実、等を総合的に検討した結果、第 3 の仮説「独立配偶体からの配偶子供給による雑種形成」の提唱に至った。

本章ではこの仮説を検証するため、配偶体集団において、孢子体と同様の遺伝子マーカーを用いた遺伝的多様性の解析を行った。ハイホラゴケ群のマット状配偶体は数箇所の孢子体産地で生育が確認されたが、それらのうち伊豆半島下田市の石切り場跡に生じた集団(同所的な雑種孢子体集団は雑種 2 倍体/3 倍体、雑種起源 4 倍体から構成される)では、微細レベルで複数の系統の配偶体が絡み合うように生育していることを示す結果が得られた。さらに、核マーカーによって半数体(x)の可能性があると推定されたプロットから、配偶体を採集してその倍数性を測定したところ、確かに本調査地点にゲノム(ハイホラゴケ)の半数体配偶体が存在していることを示すデータが得られた。しかしながら、この半数体配偶体と一体となった生活環を持つと考えられる 2 倍性有性生殖型孢子体は、調査地点からは分布が見出せないばかりか、第 IV 章の分布解析結果によれば最も近い産地は約 200km 離れた紀伊半島であった。本配偶体が、栄養繁殖によって長期間遺存的に維持されてきたものか、あるいは孢子の長距離散布によって近年到達したものかを区別するのは困難であるが、孢子体から遠く離れて生育する半数性配偶体はいわゆる「独立配偶体」であると言える。本地点での独立配偶体の存在は、雑種孢子体集団が維持される機構の一部を説明するものであり、新仮説を支持する有力な状況証拠である。独立配偶体は、単独で孢子体を形成しないにもかかわらず、雑種親として孢子体形成に貢献可能であるのは、いわゆる雑種強勢によるものと考えられる。

第 VI 章: 地球規模でのハイホラゴケ属の種分化

ハイホラゴケ群を含むハイホラゴケ (*Vandenboschia*) 属では、日本で見出されたものと同様な複雑な種の実体が、日本産以外の植物にも存在することが予想されたため、世界各地から材料を収集し予備的な解析を行った。核 *GapCp* 領域の解析の結果、本属の多くの材料において大きく異なる複数の配列が 1 個体内に存在することが判明し、地球規模でも、多くの交雑/倍数化と長距離分散を伴った単純でない歴史を持っている可能性が示唆された。

総合考察

シダ類を含むシダ植物に見られる生活環は、孢子体(2n)と配偶体(n)のそれぞれが、互いに依存することなく生育可能である点で、陸上植物ではユニークな存在である。この性質を保有する植物では、同種の孢子体と比して広範囲の環境への適応能力を持つとされる配偶体の存在によって、「孢子体の分布」と「配偶体の分布」という分布の二重構造が形成され得る。本研究では、分布域が全くオーバーラップしない2種間において、配偶体を介した雑種形成が行なわれるという現象の存在が示唆された。このような特性は、“孢子体レベルでは異なった分布特性を示す2種”の間での異質倍数体形成(交雑/倍数化)を可能にすると推定される。本研究で明らかにされた複雑な網状進化、孢子体から独立して成育する配偶体の存在は、実際には氷山の一角であろうと推定され、シダ類では普遍的に存在する現象であろう。シダ類に見られる生活環の特性は、被子植物に比べて倍数体が著しく高い割合を占めるとされる、シダ類の種形成様式と深く関与していることが考えられる。