

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07489

研究課題名(和文) 樹木種の浸透性交雑を通じた適応的遺伝子の獲得プロセスの解明

研究課題名(英文) The process of adaptive introgression in forest tree species.

研究代表者

内山 憲太郎 (Uchiyama, Kentaro)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：40501937

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本州以南のモミ属3種(シラビソ、ウラジロモミ、モミ)42集団を対象に、ミトコンドリア(mt)・核DNA解析および分布予測モデルを用いて、種間の浸透性交雑の実態を調査した。核DNAの解析の結果、3種は明瞭に分化しており、現在の種間の遺伝的交流は限られていることが示された。一方でモミの北方集団のmtDNAハプロタイプは他の2種の主要ハプロタイプに置き換わっており、浸透性交雑の可能性が示された。これらの地域は、最終氷期最盛期の潜在生育域も重複していた。また、ゲノムワイドなDNA解析の結果、これらの集団では、他種に特異的な対立遺伝子も集団内に複数検出され、過去に浸透性交雑が起こった可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We combine an extensive survey of the mitochondrial (mtDNA) and nuclear genomes in 42 populations of the three Japanese *Abies* species (*A. firma*, *A. homolepis* and *A. veitchii*) with species distribution modelling (SDM). From the Bayesian clustering analysis showed that the three species were clearly separated. On the other hand, mtDNA haplotypes of the four northern populations of *A. firma* were completely replaced by two major haplotypes of *A. homolepis* and *A. veitchii*. The neighbor-net analysis and SDM suggests that the mtDNA capture through historical introgression among species were occurred in each geographic region. We hypothesize that climatic-induced range shifts during the Pleistocene/Holocene may have played an important role in the observed patterns of introgression of these species.

研究分野：森林生態遺伝

キーワード：浸透性交雑 モミ属 RAD-seq

1. 研究開始当初の背景

今後予想される温暖化により、生物種の潜在生育域は、現在より北方もしくは高標高域へと急速に変化することが予測されている。特に森林生態系の根幹をなす樹木種の分布シフトの成否は、森林生態系全体の健全性を左右する重要な問題である。しかしながら、樹木種の環境適応のメカニズムはほとんど明らかになっておらず、今後の温暖化での分布シフトに樹木種が対応できるかは不明である。一方で最終氷期以降(1万年前~)の温暖期にはかなりの速度(年平均100m前後)で分布を北上させたと考えられる樹種もあり、樹木の分布拡大には謎が多い。

一般に生物種が新たな環境へと適応するメカニズムには、集団内で保有している遺伝的変異によって適応する、新たな突然変異が生じることによって適応する、の2つが考えられるが、第3の可能性として分布拡大先の環境に既に適応している近縁種から適応的な遺伝子を獲得することができれば、これまでに考えられているよりも迅速な環境適応(進化)が可能であると考えられる。

植物種ではしばしば近縁種との交雑を通して、相手種のゲノムを自らのゲノム内に取り込む浸透交雑という現象が知られている。この浸透交雑は種にとって新規の遺伝子を獲得する機会でもある。浸透交雑を通して近縁種から適応的な遺伝子を獲得できれば、迅速な環境適応と分布拡大が可能となると考えられる。

実際に、気候変動等に伴う分布拡大時には、近縁種との交雑が起こりやすいことが知られており、草本種ではヒマワリにおいて交雑による耐塩性遺伝子の獲得やゲノムの混合による遺伝子間相互作用の効果が適応度を左右する例などが報告されている。樹木種では、マツ属やコナラ属で浸透性交雑が報告されているが、どのような遺伝子が取り込まれ、それらが適応的かどうかは未解明である。

2. 研究の目的

浸透交雑や種間交雑は、種の分化や多様化に大きく寄与していると考えられる。モミ属は世界各地で種間交雑の報告があり、日本のシラビソとウラジロモミ間においても、自然交雑が報告されている。本研究では、本州に分布するモミ属3種を対象に、近縁種間での交雑の実態を、各種DNAマーカーを用いて明らかにすることを目的とする。また、生態ニッチモデルを用いて、それぞれの種の過去の潜在生育域を推定する。さらに、ゲノム全域にランダムに散らばらせた数千のDNAマーカーを用いて、多種へと浸透したゲノムの領域を特定することを目的とする。

3. 研究の方法

本州以南に分布するモミ属4種のうち、系統の遠いオオシラビソを除いたシラビソ、ウラジロモミ、モミの3種、計42集団を解析

対象とした。

(1) 核マイクロサテライトマーカーによる解析

モミ属で開発されている16座の核マイクロサテライトマーカーを用いて、3種42集団824個体のサンプルの遺伝子型を決定し、各集団の遺伝的多様性の指標を求めた。また、集団間の遺伝的関係性について、集団間の遺伝距離に基づくネットワーク解析、個体単位のクラスタリング解析により、遺伝構造の解析を行った。

(2) ミトコンドリアDNAシーケンス解析

上記の42集団について、各集団8個体前後、計365個体について、ミトコンドリアゲノムの5つの領域(matR, nad1, nad5, cox1 and rps3)、計1390bpについて塩基配列を決定した。各個体の配列情報をもとに、ハプロタイプを決定し、ハプロタイプネットワークを作成した。

(3) 潜在生育域の推定

3種の潜在生育域を一般化加法モデルにより推定した。説明変数には最寒月の最低気温、暖候期の平均気温、降水量、寒候期の降水量を用いた。推定は現在および最終氷期最盛期それぞれについて行い、年代間での分布の重なり(程度(LGMから現在までの分布の移動距離))を推定した。また、それぞれの年代における、種間の分布の重なりを推定した。

(4) 制限酵素サイトの網羅的解析による浸透交雑の推定

ゲノムワイドなDNA多型情報を取得するため、制限酵素断片配列の網羅的解析(ddRAD: double digest RAD-seq)を行った。対象には、核およびミトコンドリアDNA解析から過去に浸透交雑の可能性があると推定された4集団及び純粋な集団6集団の計10集団69個体を用いた。モミ属のゲノムサイズは13Gb以上と極めて大きいため、複数の制限酵素組み合わせを供試し、最も情報量の多い制限酵素組み合わせを決定し、データを取得した。作成したライブラリは、イルミナ社のHiSeq2500シーケンサーを用いて100bpペアエンドで塩基配列情報を取得した。取得したデータから個体間の多型サイトを検出し、各種に特異的な対立遺伝子の特定、種を超えて浸透しているゲノムの断片の特定を行った。

4. 研究成果

(1) 核マイクロサテライトマーカーによる解析

3種の種内の遺伝的多様性の指標はシラビソで最も高く($H_s = 0.346$)、モミ(0.328)、ウラジロモミ(0.299)と続いた。また、集団間の遺伝的分化度はシラビソ($F_{ST} = 0.069$)

が最も高く、ウラジロモミ(0.051)、モミ(0.048)の順であった。それぞれの種内の各集団の遺伝的多様性の分布は、分布中心付近で高く、周縁で低下する傾向にあったが、一部モミの北方の集団で高い遺伝的多様性を持つ集団が認められた。集団間の総当たりの遺伝的分化度に基づくネットワーク図を図1に示す。また、個体単位のクラスタリングの結果を図2に示す。いずれの解析においても3種は明瞭に分化しており、識別可能であることがわかった。このことより、現在の種間の遺伝的交流はほとんど起こっていないことが示された。一方で、ミツミネ集団の個体は、モミとウラジロモミの中間に位置し、この集団の個体がこれら2種の交雑個体であることが示された。また、ミトコンドリアDNA解析から浸透交雑の可能性があると推定された集団については、ネットワーク上で相手種に近い位置にプロットされ、ネットワークの形状からも浸透交雑の影響が示唆された。

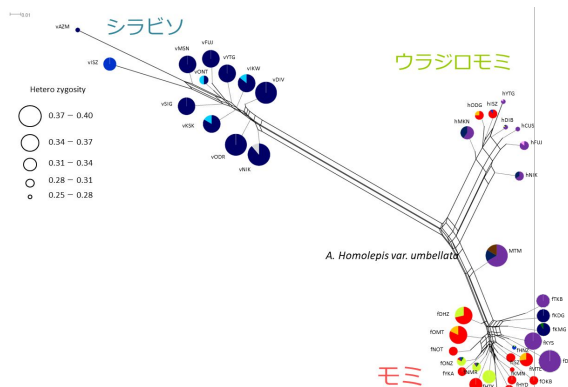


図1. 集団間の遺伝距離 (Nei 1972) に基づくネットワーク図

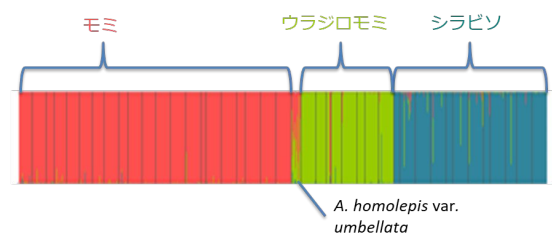


図2. STRUCTURE 解析により検出された遺伝的クラスター

(2) ミトコンドリア DNA シークエンス解析

3種の解析の結果、12種類のハプロタイプが検出された。ハプロタイプ間の関係を図3に示す。また、各集団のハプロタイプ頻度を図4に示す。シラビソ、ウラジロモミ、モミではそれぞれ3、6、7種類のハプロタイプが検出された。検出されたハプロタイプは3種で共有されており、特にそれぞれの種の分布の端の集団のハプロタイプが他種の主要なハプロタイプへと置き換わっていた。それらの集団では、核DNAのネットワーク解析においても他種に近い枝に位置し、過去に交雑が起こった可能性が示唆された。

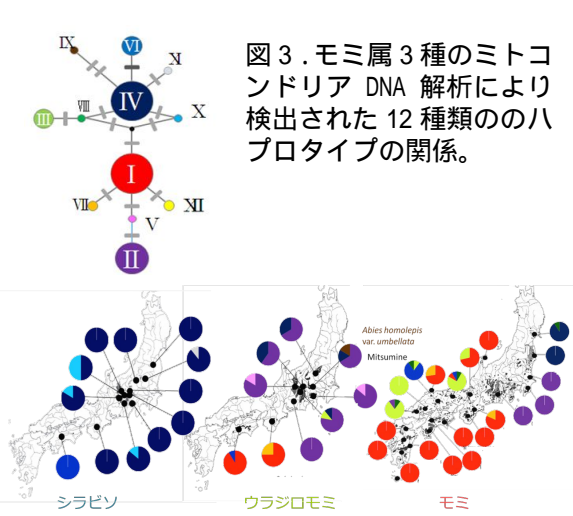


図3. モミ属3種のミトコンドリア DNA 解析により検出された12種類のハプロタイプの関係。



図4. モミ属3種のミトコンドリア DNA ハプロタイプの分布。モミの北方集団において、ウラジロモミ、シラビソの主要なハプロタイプへの置換が生じている。

(3) 潜在生育域の推定

最終氷期最盛期の潜在生育域の推定の結果、最も温暖な環境に分布するモミでは、現在よりも分布が大きく南西に移動していた可能性が示された。一方で、高標高域に分布するシラビソでは水平方向の移動はわずかであり、垂直方向への移動が起こっていたと考えられた。中間の標高域に分布するウラジロモミは、3種のなかでもっとも水平方向への移動の割合が大きいと推定された。潜在生育域の水平方向への移動距離が大きい種ほど遺伝的多様性は低い傾向にあり、最終氷期後の分布変遷の大小が、種の遺伝的多様性に影響している可能性が示唆された。モミとウラジロモミの現在および最終氷期最盛期の潜在生育域の重なりを図5に示す。ミトコンドリアDNA解析においてウラジロモミからの浸透交雑が推定されたモミの北方集団が分布する地域では、最終氷期最盛期においても分布が重複していることが示され、ウラジロモミの集団が極端に縮小していた時期において両種が共存していた可能性が示された。

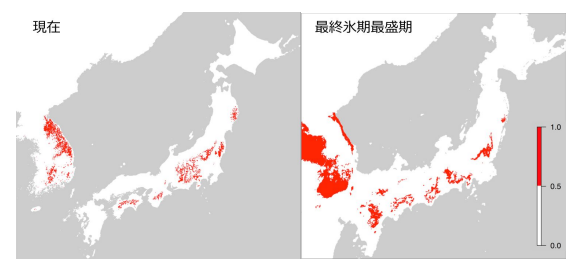


図5. モミとウラジロモミの現在と最終氷期最盛期の潜在生育域の重なり

(4) 制限酵素サイトの網羅的解析による浸透交雑の推定

4~8塩基認識酵素10種類を用いて、様々な組み合わせでデータを取得した結果、GCリ

ッチな 6 塩基認識酵素 2 種類を組み合わせたものにおいて最もよいデータが得られた。この制限酵素組み合わせを用いて、過去に浸透交雑が起こったと予想された 4 集団ならびに純粋な 6 集団を解析した結果、全個体間で 16,000 座を超える一塩基多型情報を検出された。そのうち、種を超えて共通な遺伝子座として検出され、アレルバランスなどの各種のフィルタリングを通過し、各個体のヘテロ接合を十分に認識できる 20 本のリードの深さがある遺伝子座に絞り込んだ結果、約 2,500 座が解析に使用可能であった。この中から、それぞれの純粋な種の集団特異的(種特異的)な対立遺伝子は 653 遺伝子座であった。これらの対立遺伝子について、過去に浸透交雑を起こしたと考えられる集団での分布を確認した結果、そのうちの 76 座が推定種を超えて特異的に検出された。これらの対立遺伝子は他種との浸透交雑を通してゲノムの中に取り込まれた可能性が高いと考えられた。特に集団内の遺伝子頻度が高い遺伝子座に関しては、何らかの理由で選択的に集団内に残された可能性が考えられた。

(5) まとめ

核マイクロサテライトマーカーおよび母性遺伝するミトコンドリア DNA シークエンス解析から、モミの北方 4 集団において過去に浸透交雑が起こった可能性が示された。また、それらの集団の分布する地域では、最終氷期最盛期においても種の分布が重複していた可能性が示され、過去のいずれかのタイミングで他種からの浸透交雑が起こった可能性が示された。ゲノムワイドな多型解析を通して、それらの集団では、他種特異的な対立遺伝子が複数検出されており、浸透交雑を通して、ミトコンドリアゲノムだけでなく、核ゲノムでも種を超えて特定の領域が浸透している可能性が示された。これらのゲノム領域の機能推定は今後の課題である。

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 0 件)

[学会発表](計 4 件)

UCHIYAMA Kentaro、Range shift and introgression of three Japanese Abies species : insights from genomic analysis and species distribution modelling、International Symposium of Korean National Arboretum: Conifer、2017 年

UCHIYAMA Kentaro、FUJII Sayaka、TSUYAMA Ikutaro、SUZUKI Setsuko、MORIGUCHI Yoshinari、KIMURA K Megumi、TSUMURA Yoshihiko、Range shift and

introgression of three Japanese Abies species : insights from microsatellite, mtDNA and species distribution modelling、The 15th International Conference on Ecology and Silviculture of Fir、2016 年

内山憲太郎、加藤珠理、上野真義、鈴木節子、須貝杏子、松本麻子、樹木種のゲノムワイド解析に向けたマーカー整備、第 127 回日本森林学会、2016 年

内山憲太郎、加藤珠理、上野真義、松本麻子、森林樹木種における効率的なゲノムワイドマーカーの開発、森林遺伝育種学会第 4 回大会、2015 年

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内山 憲太郎 (UCHIYAMA Kentaro)
国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員等
研究者番号: 40501937

(2) 研究分担者

津山 幾太郎 (TSUYAMA Ikutaro)
国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員等
研究者番号: 80725648

(3) 連携研究者

上野 真義 (UENO Saneyoshi)
国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員等
研究者番号: 40414479

(4) 研究協力者

津村 義彦 (TSUMURA Yoshihiko)
筑波大学生命環境系・教授
研究者番号: 20353774