

令和元年5月30日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18714

研究課題名（和文）溪畔環境へ進出したツツジ属の種分化過程と適応に関する遺伝的基盤の解明

研究課題名（英文）Genetic background for adaptation to riparian environments in species of the genus *Rhododendron*

研究代表者

渡辺 洋一（Watanabe, Yoichi）

千葉大学・大学院園芸学研究科・助教

研究者番号：30763651

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：園芸植物として有名なサツキは日本原産であり、関東～近畿地方と屋久島の2地域の河川沿いに分布する特徴を有する。サツキの進化過程を推定した結果、2地域のサツキは系統的に最近縁ではなく、近縁なのはそれぞれ東日本と西日本に分布するヤマツツジであった。これは、サツキは少なくとも2回独立に進化した可能性を示しており、サツキに特徴的な生態は特徴的な生育環境に由来する自然選択によりもたらされたと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般に種は1つのグループ（単系統）を形成すると期待されがちだが、実際にはこの期待に反する平行進化と呼ばれる進化を伴う種が多いことが認知されてきている。本研究で対象としたサツキもこの例であり、進化と分類の齟齬に一石を投じるものである。

また、サツキは園芸植物としてよく利用される種であるため、2系統を確認したことで育種や野生集団の保全に大きく貢献するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：A popular horticulture plant, *Rhododendron indicum* is distributed along river in Kanto to Kinki districts and Yakushima Island of Japan in wild. By analysing evolutionary process of *R. indicum*, individuals in the two regions are not phylogenetically close, but close to *R. kaempferi*. It is suggested a possibility that *R. indicum* had been evolved from *R. kaempferi* at least twice. Its characteristic ecology may have been formed by natural selection due to riparian habitat, the species grows.

研究分野：森林遺伝

キーワード：平行進化 溪畔適応 ゲノムワイド MIG-seq 進化生態学 集団遺伝学 RNA-seq

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

ツツジ属は日本列島に 60 種以上が確認されている非常に種多様性の高いグループである。その生育範囲は幅広く、種により北海道の高山から南西諸島の亜熱帯地域と様々である。またマイクロハビタットも多様で、着生性の種もあれば乾燥に適応した種などが確認されている。このように多様なツツジ属には、河川沿いにしか生育しない種（溪流沿い植物）が知られている。溪畔環境と呼ばれるこのような環境に適応した野生種であるサツキとキシツツジはともに園芸品種の親としても利用される有用な種で、特にサツキは園芸品種として幅広く利用されている。これら 2 種は溪畔環境へ適応したために獲得したと考えられている特徴的な形質を有している。特に幅の細い葉は溪流沿い植物に共通して見られる形質であり、2 種の園芸品種としての価値を高めている。その一方で、このような進化がどのような過程により生じたかはわかっていない。

サツキは、本州の関東地方～近畿地方までと屋久島の 2 地域に隔離して分布する。その形態的な近縁種はヤマツツジであると考えられ、こちらは北海道から九州に至る広い範囲に分布している。この両種の分布は本州の関東地方～近畿地方で重複しているが、それぞれの生育環境が河川沿いと山地に分かれているためか両種を同所的に見る場所はほぼ知られていない。両種の雑種と思われる個体はハンノウツツジとして記述されているが、その実体は定かでない。一方、キシツツジは本州の中国地方と四国に分布する。その形態的な近縁種はモチツツジであると考えられ、こちらは本州の中部地方から近畿地方に分布している。この両種の分布は地理的に接しており、徳島の一部で近接して生育する以外は明瞭に分かれている。

2. 研究の目的

本研究では本種種の種分化・特定環境への適応の過程を明らかにするためにツツジ属に着目して研究を行い、サツキとキシツツジの両母種からの進化過程の推定と溪畔環境への適応における遺伝的な背景の理解を試みた。

3. 研究の方法

1) 葉緑体 DNA

対象種の系統関係を明らかにするため、サツキ、キシツツジの他に両種が含まれるツツジ属ヤマツツジ節の国内全 21 種のサンプルを収集し、葉緑体 DNA の塩基配列を決定し系統解析を行った。

2) 核ゲノム

サツキとキシツツジの進化過程を復元するために、分布域を網羅する各種の集団サンプルを採取した。加えて、葉緑体 DNA の系統関係よりサツキ・キシツツジの近縁種と思われるヤマツツジ・モチツツジの集団サンプルを採取した。核ゲノム全体を網羅的に解析できる MIG-seq 法を用いて塩基配列を決定し (Suyama and Matsuki, 2015)、stacks を用いて SNPs の検出を行った。

3) トランスクリプトーム

集団解析によって明らかになった代表系統より葉サンプルを採取し RNA の抽出を行った。抽出 RNA よりライブラリ作成を行い、HiSeq2000 を用いてトランスクリプトーム配列の決定を行った。得られた配列について、深く読んだ 1 個体を用いて reference の作成を行い、残りの個体は bowtie2 を用いて作成した reference 配列に mapping した。

4. 研究成果

1) 葉緑体 DNA

葉緑体 DNA の 1934bp 塩基配列を用いた系統解析の結果、サツキに近縁であるのはヤマツツジ、キシツツジに近縁であるのはモチツツジであることが示唆された。これらは、形態

から推測される近縁種と一致している。サツキとヤマツツジはハプロタイプを共有していることが確認された一方で、キシツツジとモチツツジの間ではハプロタイプ共有は確認されなかった。

2) 核ゲノム

サツキとヤマツツジ、およびキシツツジとモチツツジについてそれぞれ SNPs の検出とデータ解析を行った結果、対照的なパターンが認められた。本州の関東地方～近畿地方と屋久島に分断して分布するサツキは、その分布に対応するように大きく2つの系統が認められた。しかし、これらは全体で単系統群とならず、それぞれ系統的に近縁なのは、地理的に近いヤマツツジの集団であった (Yoichi et al., 2018)。対照的に、キシツツジはモチツツジとは明確に区別される単系統群を形成し、先行研究で示されているように地理に対応した遺伝的構造を示した (Kondo et al., 2009)。

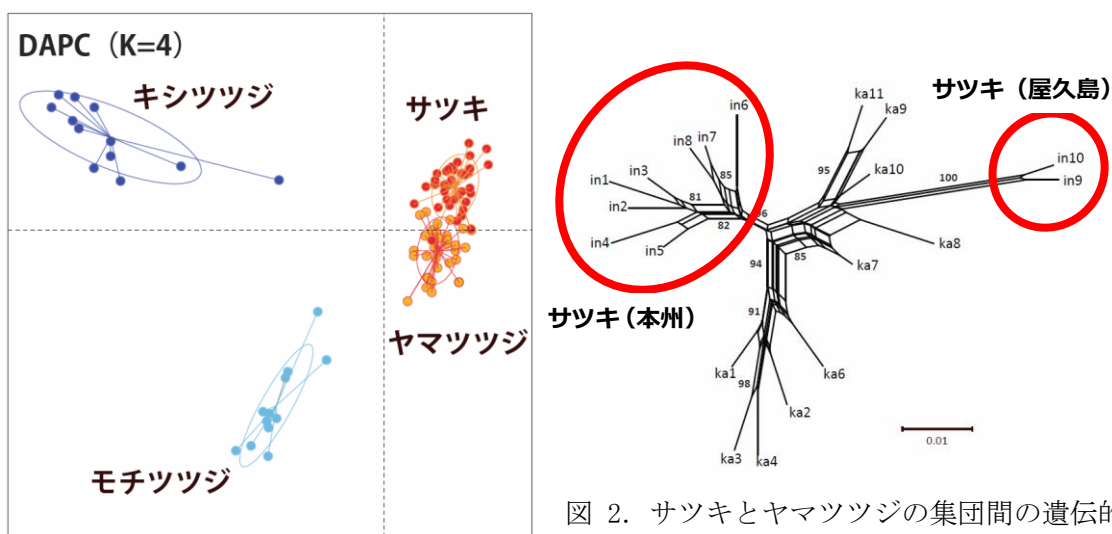


図 1. 対象 4 種の遺伝的関係

図 2. サツキとヤマツツジの集団間の遺伝的関係

異なる領域を用いた研究でも確認されているサツキの 2 系統は (遊川, personal communication)、サツキの進化が 2 回独立に生じた可能性を示唆している。ヤマツツジとの遺伝子浸透により系統関係が複雑になった可能性も考えられるが、デモグラフィ解析では 2 回の進化 (平行進化) のシナリオが支持された。

3) トランスクリプトーム

トランスクリプトーム解析では、24 個体から 12-21M リードを取得し、代表サンプルの denovo assemble によって 300bp 以上の長さの 54,876contig を取得し、これに mapping することで SNP を得た。このデータを用いて、本州のサツキに系統的に近い本州のヤマツツジと屋久島のサツキに系統的に近い九州のヤマツツジを 2 つのグループに定義し、両グループで共通して非同義置換が集中している遺伝子の探索を行っている。この解析は現在も進行中である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

1. [Yoichi W](#), Kawamata I, Matsuki Y, Suyama Y, Uehara K, Ito M (2018) Phylogeographic analysis suggests two origins for the riparian azalea *Rhododendron indicum* (L.) Sweet. *Heredity* 121: 594-604. doi: 10.1038/s41437-018-0064-3 査読有

2. [Yoichi W](#), Sakaguchi S, Ueno S, Tomaru N, Uehara K (2017) Development and

characterization of EST-SSR markers for the genus *Rhododendron* section *Brachycalyx* (Ericaceae). *Plant Species Biology* 32: 455-459. doi: 10.1111/1442-1984.12155 査読有

3. Yoichi W, Jin X-F, Peng C-I, Tamaki I, Tomaru N (2017) Contrasting diversification history between insular and continental species of three-leaved azaleas (*Rhododendron* sect. *Brachycalyx*) in East Asia. *Journal of Biogeography* 44: 1065-1076. 査読有

4. Tamaki I, Yoichi W, Matsuki Y, Suyama Y, Mizuno M (2017) Inconsistency between morphological traits and ancestry of individuals in the hybrid zone between two *Rhododendron japonoheptamerum* varieties revealed by a genotyping-by-sequencing approach. *Tree Genetics and Genomes* 13: 4 査読有

[学会発表] (計 7件)

1. 阪口翔太、高橋大樹、瀬戸口浩彰、山下由美、沢和浩、田村淳、玉木一郎、渡辺洋一、大石満、松尾歩、陶山佳久、井鷲裕司、「ヤシヤビシヤクの富士山集団における著しい遺伝的分化」、第18回日本植物分類学会大会、G4、首都大学東京(東京)、2019.03.

2. Yoichi Watanabe, Atsushi J Nagano, Sang-Hun Oh, Koichi Uehara, Harue Abe, "Evolutionary history and demographic consequence of adaptive radiation for rice azaleas (*Rhododendron tschonoskii* alliances)", 8th EAFES, P02-48, Nagoya, 2018.04.

3. 片倉慶子、河上友宏、渡辺洋一、藤井英二郎、上原浩一、「日本におけるイチョウ巨木の遺伝的変異の地域的特性」、第129回日本森林学会大会、P1-073、高知大学(高知)、2018.03.

4. 渡辺洋一、小野悦生、綱本良啓、陶山佳久、上原浩一、「類似分布を有する近縁ツツジ属2種の対照的な個体群動態史」、第129回日本森林学会大会、P2-130、高知大学(高知)、2018.03.

5. Keiko Katakura, Tomohiro Kawakami, Watanabe Yoichi, Eijiro Fujii, Koichi Uehara, "Regional characteristics in genetic variation and introduction history of *Ginkgo biloba*, inferred using giant old trees in Japan", XIX International Botanical Congress, T2-43, Shenzhen, 2017.08.

6. 渡辺洋一、永野惇、上原浩一、阿部晴恵、「広義コメツツジ類の系統地理解析から明らかになった高山への適応進化史」、第16回日本植物分類学会大会、K-2、京都大学(京都)、2017.03.

7. 森重剛志、渡辺洋一、伊藤元己、加藤俊英、陶山佳久、綱本良啓、満行知花、上原浩一、「次世代型シーケンサーを用いた日本におけるアザミ属(*Cirsium*)の系統解析」、第16回日本植物分類学会大会、P71、京都大学(京都)、2017.03.

[図書] (計 1件)

1. 渡辺洋一、高橋修(2018) ツツジ・シヤクナゲハンドブック, 文一総合出版

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。