

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（海外学術調査）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04607

研究課題名（和文）最隔離大洋島ハワイにおける生物多様性創出・維持機構の解明

研究課題名（英文）Study on the mechanism of biodiversity creation and maintenance in the most isolated oceanic islands, Hawaii

研究代表者

井鷲 裕司（Isagi, Yuji）

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：50325130

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,600,000円

研究成果の概要（和文）：多様な環境への適応進化が進行しつつあるハワイトモモを対象に、集中的な形態形質・生理特性の測定とゲノム解析を行った。著しい種内多型を示す葉形質に関しては、異なった環境に適応する複数の葉形質の組み合わせによって、ハワイトモモは幅広い環境に適応していた。ハワイトモモは形態形質によらず、島嶼レベルでそれぞれ大きく遺伝的に分化していたことから、その多型を形成する遺伝子はゲノムの一部であることが示唆された。コアレセンス理論に基づいた過去数百万年に及ぶ個体群動態の推定を行った結果、ハワイ諸島島内の異なった環境に生育する集団が、それぞれ独自の集団動態を経てきたことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界的な生物多様性ホットスポットであるハワイ諸島における生物多様性の創出過程を対象にして、環境適応に關与する生物形質や種内多形の形成過程を、野外調査と大規模な集団ゲノム解析で明らかにすることは、学術的に意義深い。きわめて大きな種内形態変異の理解は、被子植物全体にみられる多様な形態形質の進化の理解にもつながり、また、人為攪乱・気候変動に対する樹木集団の応用予測や、保全価値評価、合理的保全ユニットの設定等も可能にするものである。

研究成果の概要（英文）：Intensive measurements for morphological traits and physiological characteristics, and genome analysis were carried out for *Metrosideros polymorpha*, which is undergoing adaptive evolution to various environments in Hawaii islands. As for the leaf traits with remarkable intraspecific polymorphism, *M. polymorpha* was adapted to a wide range of environments by combining multiple leaf traits adapted to different environments. *M. polymorpha* was largely genetically differentiated at the island level regardless of its morphological traits, suggesting that the small part of genomes form the polymorphisms. As a result of estimating population dynamics over the past several million years based on coalescent theory, we found that the populations growing in different environments on the Hawaiian Islands have undergone unique population dynamics.

研究分野：分子生態学、森林生態学

キーワード：生物多様性 ゲノム解析 島嶼生態系 形態形質分化 デモグラフィ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 生物多様性が多面的な価値や意義を持つことが広く認識されてきたが、人為インパクトによって生物多様性は危機にさらされている。このような状況にあって、現存する生物多様性の創出過程や維持機構を理解することは、学術的な点だけにとどまらず、社会的にも意義がある。

(2) 大洋中において歴史的に一度も大陸と連結したことがない大洋島では、そこに到達した少数の個体から生態系が構築されるため、環境への適応進化過程や種分化過程が大陸の生態系より単純であり、生物多様性創出・維持機構に関わる詳細な解析が可能である。ハワイ諸島は地球上で最も大きな海洋である太平洋の中心に位置する、大陸から最も隔離された大洋島であり、著しい適応放散がみられる。更に、標高 4,000 m を超える島もあり、限られた面積の中に劇的な環境の変化があることや、北西にいくほど古い島が配置しているなど、進化研究に適した地理的条件がそろっている。ハワイ諸島では樹種数が少なく、優占種ハワイフトモモが海岸近辺から樹木限界の標高 2,500 m まで森林生態系の優占種として生育し、種内で著しい形態変異を示している。

(3) 世界的な生物多様性ホットスポットであるハワイ諸島における生物多様性創出過程について、特定の種内で進行しつつある分化過程をゲノムレベルで理解しすることで、人為攪乱・気候変動に対する樹木集団の応用予測や、保全価値評価、合理的保全ユニットの設定等が可能になる。また、きわめて大きな種内形態変異の理解は、被子植物全体にみられる多様な形態形質の進化の理解にもつながる。また、有用形質に着目した育種や森林保全にも活用できると考えた

### 2. 研究の目的

(1) 上記の点からハワイ諸島固有種のハワイフトモモには、自然条件下における進化・生態研究のモデル生物として、また生物多様性創出過程の解析対象として優れた特徴を持つと考え、詳細な形態・生理形質測定と多数個体の全ゲノム配列解読による多様性創出・維持機構の解明をめざすことにした。

(2) ハワイ諸島において多様な環境に適応進化している八樹木ワイフトモモを対象に、生育地における集中的な形態形質・生理特性の測定とゲノム解析を行うことで、種内多型の実態を詳細に記述するとともに、生育環境と外部形態を異にする集団について、多様性創出・維持機構に直接的に関わる形質や原因遺伝子の特定、集団のデモグラフィ推定を行うことで、生物多様性創出の基本的な過程である、種内の多型創出と種分化について解析を行う事を目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) サンプルングおよび形質測定：ハワイ諸島において、著しい形態変異を伴う適応進化を行いつつあるハワイフトモモを対象に、複数の島嶼における多様な生育環境(標高、降水量、土壌)を網羅するように3年間にわたって試料採集を行った。研究の年次進行に従って、1年目にはハワイ島、2年目にはオアフ島、3年目にはカウアイ島とマウイ島で採集を行った。採集に際しては、1つの個体群において20個体を対象に、樹高、変種型、生育環境、生育地の緯度経度を記録した。また、それぞれの個体の上部から採集した被陰されていないシュートから、形質測定および遺伝解析用の葉試料を採取した。形質測定の対象とした形質は、葉の厚さ、トライコーム量、含水率、葉面積、窒素濃度、炭素濃度、同位体比である。

(2) ゲノム解読：ゲノム解読用のDNAは2017年にはハワイ大学ヒロ校の分子生物学実験室で抽出を行い、日本に持ち帰った。また、2018年および2019年にはシリカゲル乾燥した葉試料を持ち帰り、国内の実験室でDNA抽出を行った。研究グループによってすでに解読済みのハワイフトモモ全ゲノム情報は継続して質の向上を目指すと共に、参照ゲノムとして用い、新規ゲノム解読と解析に活用した。適応的遺伝子座に関しては、多個体の形質情報とゲノム情報のバイオインフォマティクス解析によって、適応進化に重要な意味を持つ形質と遺伝子座の特定を試みた。また、中立遺伝子座に関しては、異なった歴史を持つ種内分類群の過去数百万年に及ぶ集団サイズの変遷や移入の歴史をコアレセント理論によって解析した。

### 4. 研究成果

(1) プロジェクト1年目である2017年度には、6月26日から8月10日にハワイ島に滞在し、ハワイフトモモの分布域を網羅するように、様々な環境に生育する24集団を選定し、環境測定を行うと共に、形質測定およびゲノム解読用の資料を採集した。研究調査地点を設置した。それぞれのサイトにおいて約40個体、総計927個体から、形質測定とゲノム解読に用いる葉サンプルを採集した。プロジェクト2年目である2018年度には、7月13日から7月23日にオアフ島、マウイ島、カウアイ島を訪れ、多様な環境で適応進化して生育しているハワイフトモモの生育地調査を行うとともに、予備的サンプルングを行った。この調査では、現地の研究者とのネットワークを確立し、後に行う詳細な試料採集と解析に適している調査地の絞り込みを行った。7月の予備調査に基づき、2018年10月20日から10月28日にオアフ島において現地の行政機関(DOFAW)から許可を得て、島南部のコオラウ山地と、島北部のカアラ山において、複数の標高で調査地を設定し、それぞれ20個体のハワイフトモモ解析試料を採集した。プロジェクト3年目である

2019年には、7月21日から28日にカウアイ島、2月23日から3月2日にマウイ島において、調査と試料採集をおこなった。各島では、それぞれ2つの標高トランセクトを設定し、各トランセクトにおいて3ヶ所以上でサンプリングを行った。各地点では20個体のハワイフトモモについて、樹高、変種型、生育環境、生育地の緯度経度を記録した。採取した試料は、室内で、葉の形状や重量、トリコーム量、虫瘤の数などの形質測定を行った後、遺伝分析と化学分析のために持ち帰った。2017年度より開始した本研究の前年度に行った採集と、本研究による2020年2月までの最終により、ハワイ島で52集団、オアフ島で9集団、カウアイ島で6集団、マウイ島で6集団を訪問し、環境計測、形質測定、ゲノム解読用試料の採集を行った。なお、研究試料は、米国国立公園およびハワイ州野生生物森林保全局からの許可を得て採取し、米国農業局による検疫認証を受けて持ち帰った。本課題を通じて、ハワイ諸島の主要島におけるハワイフトモモ集団のサンプリングを完遂することができた。

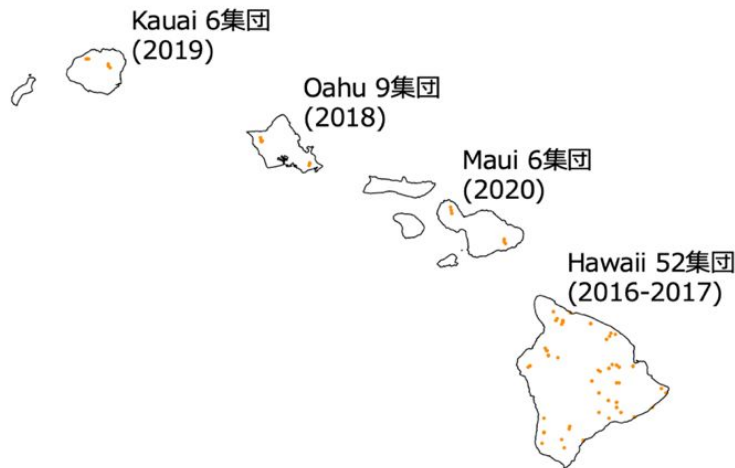


図1 本研究(2017~2019年度)によって解析したハワイフトモモ集団

(2) ハワイ諸島内の多様な環境に生育するハワイフトモモは著しい形態変異を示していた。葉面積あたりの葉重(leaf mass per area)は100 ~ 500 ( $\text{g m}^{-2}$ )の範囲にあったが、この変異は世界に分布する1964種の常緑性樹木で観測された幅の大きさに匹敵するものである(図2)。ハワイフトモモの葉の形質と生育環境との関係を解析したところ、葉のサイズは気温と乾燥度と、トリコーム量は気温、乾燥度、土壌の古さと、葉身の厚さは気温、土壌の古さ、乾燥度と相関が高いことが明らかになり、これらの形質の組み合わせによって、ハワイフトモモの幅広い環境適応が実現されていることが示唆された(図3)。

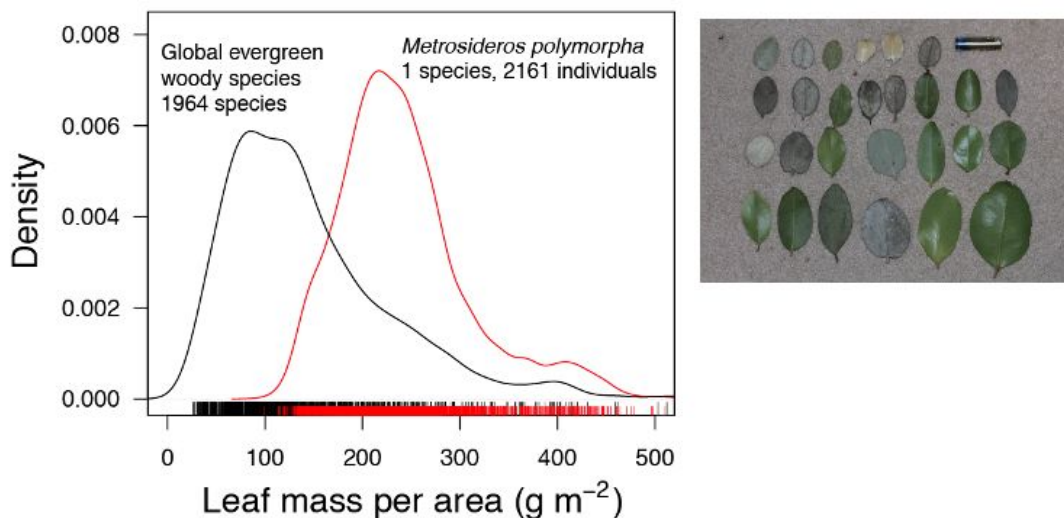


図2 ハワイフトモモの重要な葉形質の一つである Leaf mass per area の分布。左図：ハワイフトモモには世界の1964種の常緑樹木に匹敵する変異幅が認められる。右図：ハワイフトモモの葉の変異。すべて葉の裏側から撮影している。

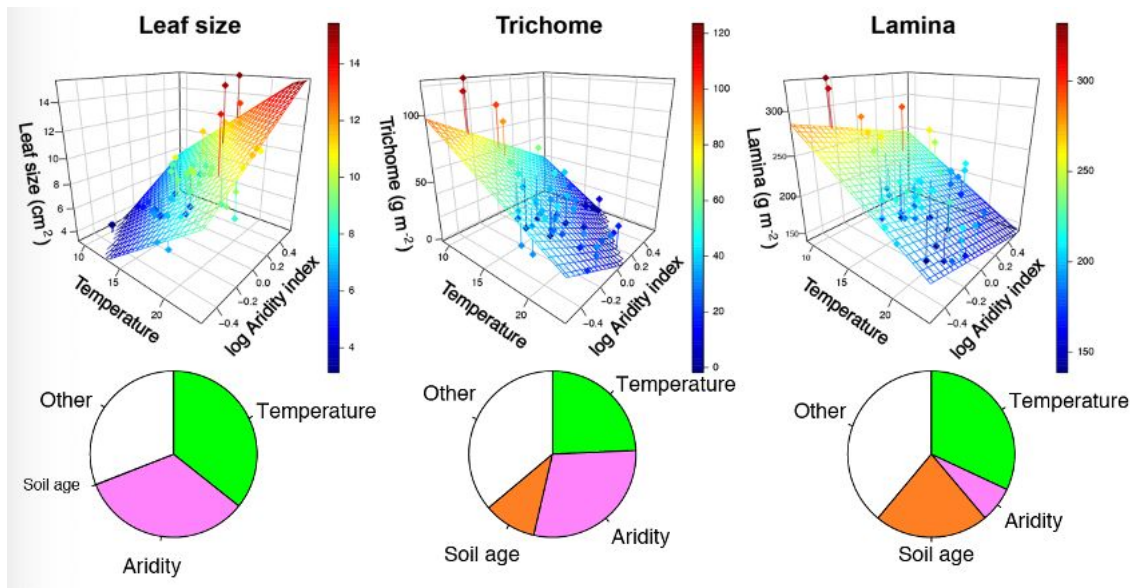


図3 ハワイフトモモの葉形質（左：葉サイズ、中：トリコーム量、右：）と環境要因との関係。上段は乾燥度、気温と形質の関係を、花壇は形質に及ぼす要因の大きさを示している。

これらの解析により、気温や降水量、土壌年代が形質に強い影響を及ぼす一方、集団の多様性は、環境の不均一性や環境要因による選択圧の強さによって説明できることが明らかになった。また、図3に示したような環境と形質の関係をGISに適用することで、ハワイ島全島レベルの形質多様性が解析できるようになった。

(3) 4つの島、73集団から採集したサンプルについてゲノム縮約解読を行うとともに、一部のサンプルについては全ゲノムシーケンスを行った。ゲノム解読では、1サンプルあたり平均13Gbの塩基配列情報を得た。ゲノムレベルの遺伝的変異のうち、中立遺伝子座における変異情報を用いて集団遺伝構造や遺伝的多様性について解析した。その結果、ゲノムレベルではハワイフトモモは形態形質によらず、島嶼レベルでそれぞれ大きく分化していた。すなわち、ハワイフトモモを構成する分類群は複数の島に分布するが、それらを特徴づける遺伝子はゲノムの一部であり、ゲノム全体としては島ごとに分化していることが明らかになった。

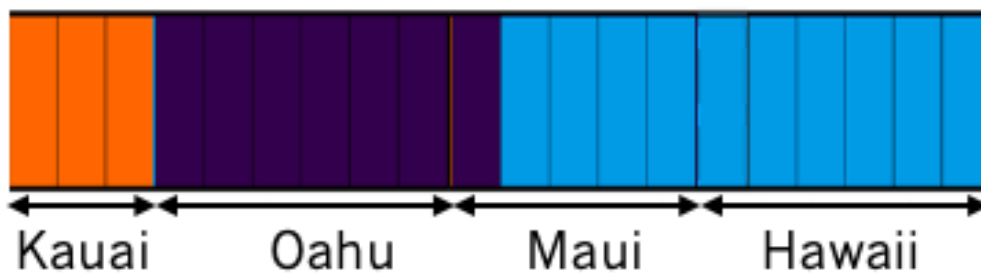


図4 STRUCTURE解析による集団遺伝構造。ハワイフトモモは形質によらず、むしろ島ごとに大きく分化していた。

(4) ゲノムレベルの遺伝情報をもとに、集団遺伝構造の解析や、コアレセンス理論に基づいた過去数百万年に及ぶ個体群動態の推定を行った。その結果、ハワイ諸島を構成する各島の歴史や、島内の異なった環境に生育する集団が、それぞれ独自の集団動態を経てきたことが明らかになった。例えば図5に示したハワイ島における3変種については、ハワイ島に移入後、それぞれが異なった環境に適応、分化する過程で異なった個体群動態を示している。最も低地に適応して大きな葉を持つ *Metrosideros polymorpha* var. *glaberrima* が生育適地面積の広さに対応して著しく集団サイズを増大させてきたのに対して、高地に適応した var. *polymorpha* の個体数が歴史的にも少なく維持されてきたことがわかった。同様の解析は、他の3島（マウイ島、オアフ島、カウアイ島）においても同様の解析を行い、変種ごとの個体群動態を明らかにすることができた。

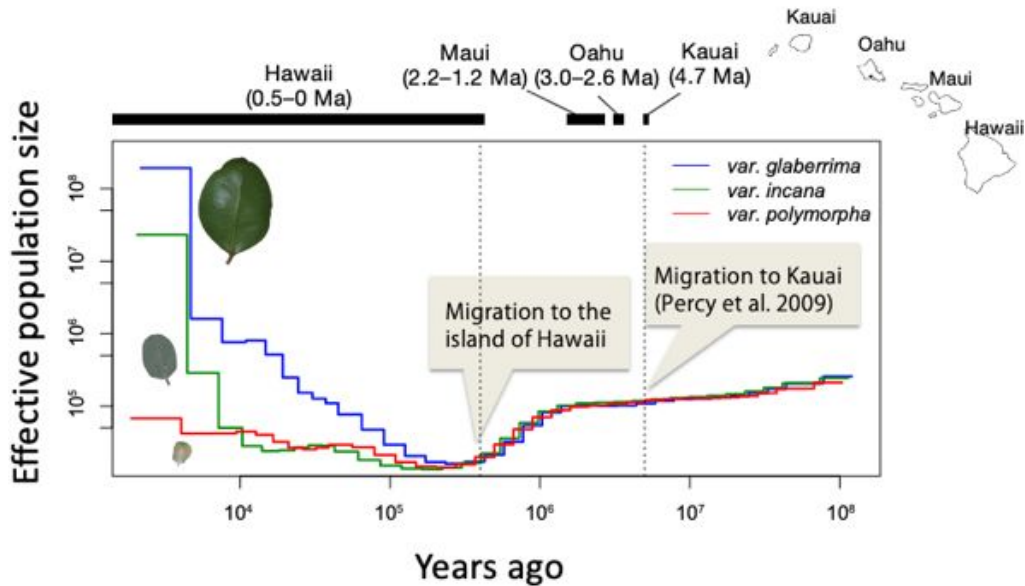


図5 ハワイ島におけるハワイトモモ3変種の歴史的個体群動態のPSMCによる推定

(5) 今後、本研究を通して網羅的に得られた、ハワイトモモの種内多型遺伝解析用の試料を対象に解析を進め、各島で見られる形質多型の遺伝的メカニズムや形質多型の由来と種内分類群の起源と変遷を明らかにする。ゲノム解読については改善を続けており、近縁分類群であるユウカリとのゲノムレベルでの詳細な比較解析も可能になったので、形質を支配する遺伝子座の解析においても展開が期待される。また、ハワイ諸島主要4島の様々な集団における、ハワイトモモの葉面積、葉形状、重量・面積比、含水率、トライコーム量、虫瘤の数などの形質データも整備したので、それぞれの場所の気候要因等も含めて解析を行い、形質の多様化における要因を明らかにしていく予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 井鷲裕司・兼子伸吾・安倍哲人・伊津野彩子・牧野能士	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 島嶼性固有植物の保全ゲノミクス	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 森林科学	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 伊津野彩子
2. 発表標題 一種で多様な生態ニッチを優占するハワイフトモモの全ゲノム解析
3. 学会等名 第50回種生物学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Onoda Y, Izuno A, Amaga G, Isagi Y, Kitayama K.
2. 発表標題 Metrosideros polymorpha on Hawaii islands: a model plant species for eco-evolutionary dynamics
3. 学会等名 Naito Conference（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Amada G, Onoda Y, Kitayama K.
2. 発表標題 Ecological significances of leaf trichomes in Metrosideros polymorpha (Myrtaceae)
3. 学会等名 Naito Conference（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甘田岳、小野田雄介、北山兼弘
2. 発表標題 ハワイフトモモにおける葉トライコームの適応的意義 環境によって異なる機能
3. 学会等名 第50回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甘田岳、北山兼弘、小野田雄介
2. 発表標題 ハワイフトモモにおける葉トライコームの適応的意義Part 5 葉面吸水と光合成生産
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊津野彩子、小野田雄介、甘田岳、小林慧人、向井真那、井鷲裕司、Elizabeth A. Stacy、Tomoko Sakishima、清水健太郎
2. 発表標題 著しい形質多型で広域ニッチを優占するハワイフトモモの全ゲノム解析
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊津野彩子、小野田雄介、甘田岳、井鷲裕司、清水健太郎
2. 発表標題 野生樹木における葉形質多型関連遺伝子の探索
3. 学会等名 第130回日本森林学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊津野彩子、小野田雄介、甘田岳、井鷲裕司、清水健太郎
2. 発表標題 ハワイフトモモの葉形質多型における遺伝的基盤の解明
3. 学会等名 第7回森林遺伝育種学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Izuno A, Kitayama K, Onoda Y, Tsujii Y, Amada G, Kobayashi K, Stacy EA, Sakishima T, Nagano AJ, Honjo MN, Kudoh H, Hatakeyama M, Shimizu-Inatsugi R, Isagi Y, Shimizu KK
2. 発表標題 Population genomics for the ecological divergence within a Hawaiian woody species.
3. 学会等名 The 2017 Congress of the European Society for Evolutionary Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊津野彩子、小野田雄介、甘田岳、小林慧人、井鷲裕司、Elizabeth A. Stacy, Tomoko Sakishima, 清水健太郎
2. 発表標題 一種で多様な生態ニッチを優占する樹木ハワイフトモモのゲノム解析
3. 学会等名 第6回森林遺伝育種学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊津野彩子
2. 発表標題 種内形質多様化により広域ニッチを優占するハワイフトモモのゲノム解析
3. 学会等名 第7回森林遺伝育種シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Onoda Y, Amada G, Izuno A et al.
2. 発表標題 Phenotypic diversity of Ohia: from local to the island
3. 学会等名 Hawaii Ecosystems meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Onoda Y
2. 発表標題 Metrosideros polymorpha in Hawaii; a model plant species for eco-evolutionary dynamics
3. 学会等名 横浜国立大学 形質-群集生態学セミナー (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊津野彩子, 小野田雄介, 甘田岳, 小林慧人, 向井麻那, 井鷲裕司, Elizabeth A. Stacy, Tomoko Sakishima, 清水健太郎
2. 発表標題 ゲノム情報から読み解くハワイフトモモの種内多様化プロセス
3. 学会等名 第67回日本生態学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Gaku AMADA, Kanehiro KITAYAMA, Yusuke ONODA
2. 発表標題 Ecological significances of leaf trichomes in Metrosideros polymorpha: multi-functionality is a driver of the large variation in leaf trichomes
3. 学会等名 日本生態学会第70回全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 甘田岳, 北山兼弘, 小野田雄介
2. 発表標題 ハワイトモモにおける葉トライコームの適応的意義 葉面濡れ促進効果
3. 学会等名 第51回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野田雄介
2. 発表標題 著しい多様性をもつハワイトモモの集団内・集団間の形質多様性のモデル化
3. 学会等名 Integrative Biology: World Tour
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井鷲裕司
2. 発表標題 ゲノム情報を活用した生物多様性保全
3. 学会等名 第28回DNA多型学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	小野田 雄介  (Onoda Yusuke)  (70578864)	京都大学・農学研究科・准教授    (14301)	

