

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07571

研究課題名(和文) 近縁な種間でみられる収斂進化の遺伝的基盤

研究課題名(英文) Genetics of convergent evolution in relative species

研究代表者

三村 真紀子 (Mimura, Makiko)

岡山大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：60451689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：地球上の多様な環境に多くの生物が適応し生息しており、近縁な関係にある種が異なる気候帯に分布していることもある。このように多様な環境に種分化していく遺伝的なメカニズムはなにか。私たちは、アジアで多様な気候帯へ分化しているキイチゴ属 *Idaeobatus* 亜属を用いて、その背景を検証した。結果、キイチゴ属は寒冷な気候帯から温暖な気候帯へ種分化を繰り返しており、異なる系統グループで温帯から亜熱帯地域への種分化が起きていることがわかった。さらに、ゲノム情報を解析から、多様化に種間の遺伝子浸透が関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、多様な環境に種分化を繰り返して異なる環境へ進出していく背景として、他種や祖先種がもつ遺伝資源の再利用に着目している。多様な気候帯へ分布し、アジアで多様化しているキイチゴ属 *Idaeobatus* 亜属は、冷温帯から亜熱帯へ種分化を経た進出が起きていることを明らかにした。ゲノム解析から種間に交雑の痕跡が示唆されたため、キイチゴ属の多様化に遺伝子浸透が関わっているのかもしれない。地球規模の環境変動において強靱に应答し多様に分布する種群において、他種や祖先種がもつ遺伝資源の多様性の重要性を提唱する。

研究成果の概要(英文)：We see abundant species diversity in diverse environments on Earth. Even closely related species diverged distributed in different climatic zones. What are the genetic mechanisms behind such species diversification? We tested this question using the subgenus *Idaeobatus*, a genus of raspberries, which has speciated into a variety of climatic zones in Asia. We found that the genus *Idaeobatus* has repeatedly speciated from cold to warm climatic zones, and that speciation from temperate to subtropical climates has occurred in different phylogenetic groups. Furthermore, genome re-sequencing data suggest that introgression among species might be involved in species diversification.

研究分野：生態遺伝学

キーワード：種分化 遺伝子浸透 祖先多型 キイチゴ属 亜熱帯

1. 研究開始当初の背景

(1) 近縁種間で多様な環境に繰り返し進出することがある。これは、どのような遺伝的メカニズムで起こっているのだろうか。近年、異なる種において似た局所的環境への適応に同じ遺伝子セットの変異が関わっている例が報告され始めた。この現象は、質的な形質だけでなく、耐寒性のような量的な形質においても確認されている (Yeaman et al. 2016, Science)。しかし、その変異の由来は明らかではない。似た環境への適応に同じ遺伝子が関与するとすれば、種間で同じ効果を持つ異なる変異が独立して起きるよりも、共有する祖先の変異や他種に起こった変異の再利用が、多様な種分化で主要な役割を果たしたかもしれない。

(2) これまでの研究から、側所的に分布する種が気候変動によって、生育地が接触するとき、交雑による遺伝的な交流が起こり (Mimura et al. 2014, BMC Evol Biol)、選択下にあると推定される遺伝子領域が他種に急速に浸透していることが示された。さらに、数百万年程度の分岐では、生殖隔離が完全ではないことが多く、近縁種間の種間交雑は、比較的頻繁に交雑が起こることが知られている。そこで、自然交雑が見られる分類群の収斂進化には、分岐後の他種からの遺伝子浸透が関与している可能性に着目した。多様に分岐し、繰り返し似た環境に種分化している分類群では、たとえ系統的に離れた近縁種であっても、浸透交雑由来の適応に関連する遺伝子を共有しているのではないだろうか。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、頻繁に交雑しアジアで多様な種分化をとげたキイチゴ属を対象とし、仮説「近縁種に見られる収斂進化には、同じ遺伝子が関与しており、種間の遺伝子浸透が関わる」を検証する。これにより、多様な環境に適応し多様化した分類群の生物多様性成立のメカニズムの解明を目指す。

(2) 主に2倍体で構成される *Idaeobatus* 亜属は、寒冷帯から熱帯まで多様な環境に種分化しており、国内でも異なる系統グループにおいて亜熱帯地方へ進出した種が複数みられる。ここでは、1) キイチゴ属の系統関係の解明、2) キイチゴ属の形質比較、3) 異なる系統グループにおける交配親和性の検証、および4) 温帯-亜熱帯姉妹グループペアを含む *Idaeobatus* 亜属の全ゲノム比較による気候帯への適応における種間の遺伝子浸透の影響を評価し、近縁種間で多様な環境に適応していく種分化プロセスにおける種間交雑の役割を検証する。

3. 研究の方法

(1) 日本に自生するキイチゴ属 *Idaeobatus* 亜属の遺伝的背景を俯瞰するために、分子系統樹を作成した。日本国内から採集した22種の *Idaeobatus* 亜属からDNAを抽出し、DNAバーコーディング領域 (葉緑体DNAの3領域、およびITS領域) の配列を取得した。これらの配列データに加え、国外に自生するキイチゴ属5亜属10種の配列データをGenBankデータベースから収集し、国内の *Idaeobatus* 亜属の配列データと統合した。この配列情報を用いて、ベイズ法および最尤法系統樹を作成し、キイチゴ属の系統関係を検証した。

(2) 亜熱帯種・温帯種の形態的・形質的特性を比較検証した。開花期、葉形態、葉の面積あたりの重量 (LMA)、クロロフィル・カロテノイド含有量を計測した。

(3) 温帯-亜熱帯に分布する近縁種を姉妹系統とし、異なる系統グループ間の温帯-亜熱帯ペア (モミジイチゴ-リュウキュウイチゴ、ヒメバライチゴ-オオバライチゴ) の交配可能性を検証した。温帯-亜熱帯ペア種の系統内・系統間の正逆交配実験を行った。つぼみの段階で除雄した花に、他種の花粉を付着させ、その後の結実率を確認した。

(4) 温帯-亜熱帯種ペアを含む合計9種16系統の全ゲノムリシーケンスを行い、過去の遺伝子浸透の痕跡を検証した。Illumina High Xを用いて、ショートリードを得たあと、モミジイチゴのドラフトゲノムをリファレンスとしてBurrows-Wheeler Aligner (BWA)を用いてマッピングを行った。Genome Analysis Toolkit (gatk4)を用いてBroad InstituteのBest practiceに従い、変異を抽出した。これにより得られたSNPデータを用いて、種間の系統関係および遺伝子浸透の痕跡をABBA-BABAテストなどから検証した。先行研究による分子系統樹から、外群にはナワシロイチゴ (*R. parvifolius*) を使用した。

4. 研究成果

(1) 配列データによる分子系統解析を行い、キイチゴ属の系統樹を作成した。キイチゴ属のなかでもとくにアジアで多様化している *Idaeobatus* 亜属を含めた系統解析を行った先行研究は少なく、日本に自生する多くの *Idaeobatus* 亜属のキイチゴ属における系統関係を初めて明らかにした。 *Idaeobatus* 亜属はいくつかの系統グループに分けられ、単系統を示さなかった。 *Idaeobatus* 亜属はほぼ2倍体の種で構成されているが、他の亜属では、多くの種で倍数化がみられる。倍数化

による進化がキイチゴ属の系統関係の複雑さに影響していると考えられる。さらに、寒冷な気候帯から温暖な気候帯へ種分化を経ながら多様化していることが示された(図1)。この系統解析から、*Idaeobatus* 亜属がいくつかの系統グループに分けられること、*Idaeobatus* 亜属における亜熱帯気候への進出は、複数の姉妹グループ内で起こっていることを明らかにした。本成果は、学術雑誌にて発表された。また、現在、*Idaeobatus* 亜属以外の種数や系統を増やした系統解析が進められている。

(2) 温帯-亜熱帯姉妹グループペアのひとつであるモミジイチゴとリュウキュウイチゴの形質比較を行ったところ、同一環境下においても、葉の厚さやカロテノイド含有量に統計的に有意な差が見られ、種の遺伝的特性が示された。また、種の分布域が側的に分布する場所では、遺伝子流動下でも種の形態的な境界(ここでは葉形態)が比較的明瞭に示されることがわかった。この成果は、学術雑誌にて発表された。さらに、開花期は、姉妹系統グループ間で異なり、モミジイチゴ(*R. palmatus*)、リュウキュウイチゴ(*R. grayanus*)、オオバライチゴ(*R. croceacanthus*)、ヒメバライチゴ(*R. minusculus*)の順で早かった。グループ間の開花期には、リュウキュウイチゴとオオバライチゴで一部重複が見られ、同一条件下では交配の機会が示唆された。

(3) 交配実験では、温帯-亜熱帯姉妹グループ内(モミジイチゴとリュウキュウイチゴ、ヒメバライチゴとオオバライチゴ)では、比較的容易に種子が形成された。キイチゴ属では、種間交配の親和性(結実率)に遺伝的距離との負の相関が見られた。しかし、系統が離れるほど結実率は低下するものの、異なる系統グループでも低頻度で交配可能であることがわかった。異なる姉妹系統グループ間では、リュウキュウイチゴとオオバライチゴおよびリュウキュウイチゴとヒメバライチゴの種間交配の結実が確認された(結実率はいずれも33%)。どちらも組み合わせもリュウキュウイチゴが花粉親となったときのみ結実した。内因的生殖隔離は現在でも完全には発達していないことが明らかとなった。

(4) 2つの温帯-亜熱帯姉妹系統グループペアを含む合計16系統のリシーケンスデータからクオリティ・コントロールを行ったSNPセットを得た。連鎖情報からSNPsのサブセットデータを作成し、PCA解析を行ったところ、系統間の遺伝的構造は、本研究で先行して作成した分子系統樹を反映した系統の近縁性を示した(図2)。

(5) 上記のゲノムデータを用いて、2つの温帯-亜熱帯姉妹グループペア(モミジイチゴ-リュウキュウイチゴ、ヒメバライチゴ-オオバライチゴ)の4種を対象に、ABBA-BABAテストを行った。ABBA-BABAテストは外群と3種が共有するSNPsの分布から祖先多型と浸透交雑の影響を評価する手法である。外群としてナワシロイチゴを用いた。ABBA-BABAテストの初期結果では、亜熱帯種間の非対称的な遺伝子浸透を示すシグナルが検出された。データの精度の確認とともに、どの遺伝子領域が浸透しているかをphyloNet解析などで検証し、環境適応と種分化における遺伝子浸透の役割を明らかにしていく。

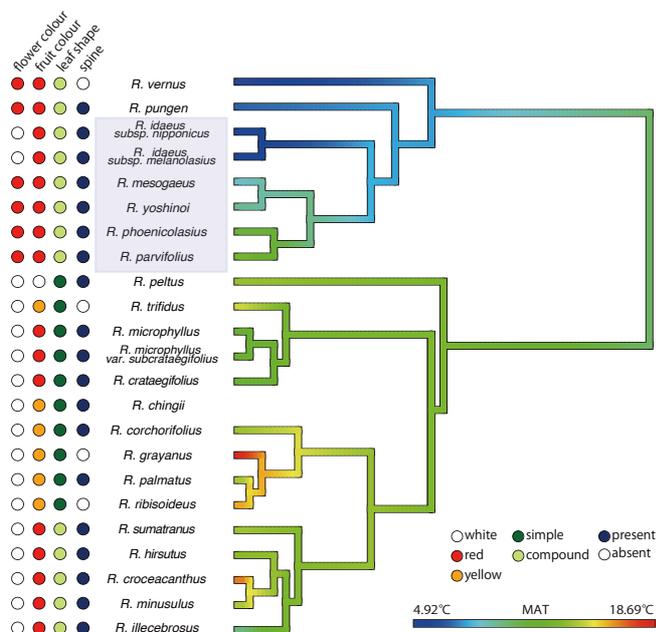


図1. 日本に自生する *Idaeobatus* 亜属のベイズ推定分子系統樹. 左側のパネルには、花色・果実色・葉形態・トゲの有無の形質タイプを示した. 系統樹上の色分けは、種の代表的 MAT (標本データベースから抽出した分布位置の平均年間温度) の祖先形質状態を最尤推定したもの. Okada et al. (2020) から改変.

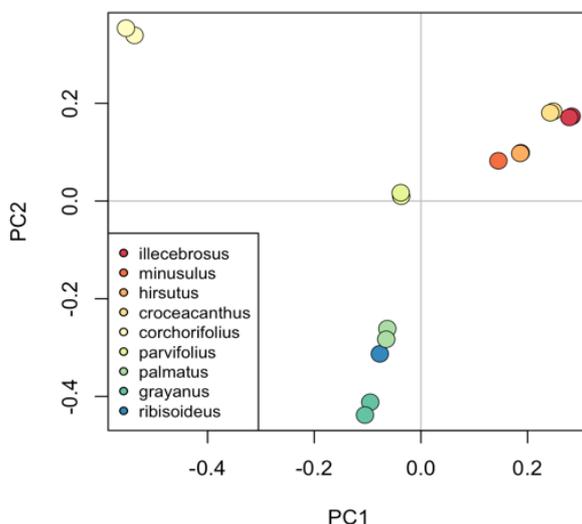


図2. リシーケンスデータによる主成分分析. LDを考慮した3,487個のSNPサブセットを用いた. ナワシロイチゴ(*R. parvifolius*)は、対象系統の外群として用いた近縁種.

(6) 本研究では、温帯から亜熱帯へ進出し多様化した近縁種において、遺伝子浸透の役割を検証した。キイチゴ属は、冷温な環境から亜熱帯地方へ進出しており、初期解析では、亜熱帯種間の遺伝子浸透が検出された。近年、種の多様化における種間交雑の役割が注目されており(Edelman et al. 2019 Science)、比較的頻繁に交雑する植物においてもこの傾向がみられるかを、今後さらに検証していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okada A., Kikuchi S., Hoshino Y., Kunitake H., and Mimura M.	4. 巻 264
2. 論文標題 Phylogeny and trait variation of Japanese Rubus subgenus Ideobatus.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientia Horticulturae	6. 最初と最後の頁 109150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scienta.2019.109150	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 -

1. 著者名 Mimura M. and Suga M.	4. 巻 10
2. 論文標題 Ambiguous species boundaries: hybridization and morphological variation in two closely related Rubus species along altitudinal gradients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 7476-7486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ece3.6473	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kitagawa R, Mimura M, Mori AS, Sakai A	4. 巻 35
2. 論文標題 Phylogenetic signals in the topographic niche of trees: Current and historical significance of habitat structure on the species arrangement pattern within East Asian rugged forests.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 613-624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1440-1703.12110	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 -

1. 著者名 Makiko Mimura, Tetsukazu Yahara, Daniel P. Faith, Ella Vazquez-Dominguez, Robert I. Colautti, Hitoshi Araki, Firouzeh Javadi, Juan Nunez-Farfan, Akira S. Mori, Shiliang Zhou, Peter M. Hollingsworth, Linda E. Neaves, Yuya Fukano, Gideon F. Smith, Yo-Ichiro Sato, Hidenori Tachida, Andrew P. Hendry	4. 巻 10
2. 論文標題 Understanding and monitoring the consequences of human impacts on intraspecific variation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Evolutionary Applications	6. 最初と最後の頁 121-139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/eva.12436	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三村真紀子・國武久登・今西弘幸・高橋颯太
2. 発表標題 広域分布するモミジイチゴの表現型可塑性と遺伝的分化
3. 学会等名 日本生態学会第67回全国大会（2020年3月、名古屋）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 酒井暁子・北川涼・森章・三村真紀子
2. 発表標題 保守的 / 派生的な地形ニッチ - 丹沢山地における樹種配列の系統シグナル分析より
3. 学会等名 日本生態学会第67回全国大会（2020年3月、名古屋）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三村真紀子
2. 発表標題 イチゴ属における種分化と二次接触のゲノム解析
3. 学会等名 第50回種生物学シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三村真紀子・重信秀治・山口勝司
2. 発表標題 気候変動は適応的浸透交雑をもたらすか Rubus 属における種間交雑
3. 学会等名 第129回日本森林学会大会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------