

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14778

研究課題名(和文) キク科植物の交配前隔離に関わるゲノム領域の特定

研究課題名(英文) Identification of genomic regions associated with prezygotic reproductive isolation in Asteraceae species

研究代表者

阪口 翔太 (Sakaguchi, Shota)

京都大学・地球環境学堂・助教

研究者番号：50726809

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：平行進化では共通の遺伝変異で類似表現型が生じたのか、異なる変異が関与したのか
が問題となる。アキノキリンソウはもともと秋に開花する植物だが、北海道の高山と蛇紋岩地では夏前に開花する
性質が進化している。本研究ではこの2生態型について早期開花性の遺伝基盤を特定し、その進化過程を解明
することを目的とした。蛇紋岩型で著しく分化したゲノム領域を調べたところ、2つの開花遺伝子が抽出された。
しかしこれらの候補遺伝子は高山型では分化していなかった。また共通圃場で2型間でも開花期のずれが確認さ
れ、開花遺伝子の発現にも時間差があったことから、早期開花性は高山と蛇紋岩地で別個の遺伝変異に基づいて
進化したと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では高い生態的多様性を示す植物を対象として、平行的な環境適応現象のゲノム基盤を調査した。その結
果、同じように早期開花性を示す集団であっても、別個の遺伝変異が開花期の変化に関与した可能性を示すこ
うであった。この成果は、生物が新規環境に遭遇した際の進化可能性を理解するうえで重要な貢献となる。

研究成果の概要(英文)：Parallel adaptation can occur by repeated use of identical genetic
variations or involvement of different variations. A polymorphic plant of Eurasian goldenrod
includes ecotypic populations which in common shows early-flowering in alpine and serpentine
habitats. This study aimed to identify genomic regions associated with the early-flowering habit of
two ecotypes to gain insights into the process of parallel evolution. Genome scan analysis detected
two candidate flowering-time genes that showed significant signals for serpentine populations, but
not for alpine populations. Common garden experiment detected some genetic differentiation in
flowering times between the two early-flowering ecotypes, which was further confirmed by time-series
transcriptome analysis. These evidences suggest that the early-flowering habits likely evolved
based on different genetic variations, selected independently in alpine and serpentine habitats.

研究分野：植物多様性学

キーワード：平行進化 ゲノム 開花期 キク科 環境適応

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物はいかにして迅速に環境適応できるのか。この問いを検証する上で注目されているのが、平行進化現象である。平行進化における環境適応機構を理解するうえでは、同一の遺伝変異が繰り返し選択されて類似した表現型が生み出されたのか、もしくは異なる変異が関与して同じような表現型が生じたのかを区別することが重要となる。キク科植物アキノキリンソウはもともと秋に開花する性質をもつが、北海道の高山帯と低地の特殊土壌地帯(蛇紋岩地帯)では夏前に開花する性質が短期間のうちに進化している。この2つの生育環境をつなぐ丘陵地には、通常型のアキノキリンソウが分布していることから、早咲き性に関係する同一の変異が通常型を介して高山と特殊土壌地帯で選択されたという仮説が考えられた。対して、開花期は多数の遺伝子が関わる大きなネットワークで制御されているため、高山と低地蛇紋岩地で別々の変異が選択された可能性も考えられる。そこで本研究では早咲き性を示す2生態型について、早期開花性に関連する変異を全ゲノム分析と時系列トランスクリプトーム分析によって特定し、集団内外での変異の保持状況を明らかにすることで、本種における環境適応機構を推定することを目指した。

2. 研究の目的

本研究では、多様な環境下で局所適応を示す植物・アキノキリンソウ(キク科)に着目し、生殖隔離と局所適応に重要な役割を担う隔離遺伝子を全ゲノム解析によって特定することで、本種における環境適応機構を推定することを目的とした。

3. 研究の方法

1) ドラフトゲノムの構築

研究対象種であるアキノキリンソウのゲノム参照配列を構築するため、ヘテロ接合度の低い八丈島産の1個体を PacBio および Illumina シークエンサーでゲノムシークエンスし、Canu でアセンブルを行った。得られたアセンブリを Illumina リードを使ってエラー補正したのちに、HiC法によるスキファールド解析を行った。

2) 全ゲノムリシークエンス解析

北海道に分布しているアキノキリンソウの生態型について、全ゲノムリシークエンス解析を行った。対象としたのは、通常型の遅咲き個体(旭川市と勇払郡の24個体)、蛇紋岩型の早咲き個体(旭川市と勇払郡の23個体)、高山型の早咲き個体(大雪山と富良野岳の標高2000m付近から23個体)の計70個体である。Illumina HiSeqX シークエンサーを利用してPE150bpのリードを、ゲノムサイズのx15-20の厚さで取得した。得られた塩基配列データを(1)で構築したドラフトゲノムにマッピングしてSNPを抽出した。早咲き性を示す蛇紋岩型と高山型において分岐自然選択を受けているゲノム領域を抽出するため、それぞれ通常型を比較系として自生地環境との関連解析を行った。

3) 共通圃場での開花期測定と時系列トランスクリプトーム解析

2019年3月頭から5月末の期間に、京都市内の共通圃場で(2)で解析した通常型(勇払郡産)、蛇紋岩型(勇払郡産)、高山型(富良野岳産)の開花頭花数を記録することで、開花期を調査した。同時に、週に1回のペースで遺伝子発現を調べるために葉組織のサンプリングを行った。トランスクリプトーム解析では、Lasy-seq法によってRNAseqライブラリを作成して、HiSeqXシークエンサーで網羅的に発現断片の解読を行った。得られた塩基配列データを、ヒマワリで作成されている開花遺伝子リストに対応する本種のエクソン配列にマッピングし、発現レベルを開花遺伝子ごとに推定した。

4. 研究成果

1) ドラフトゲノムの構築

PacBio リードに基づくアセンブリは全長=0.97 Gbとなり、ゲノムサイズの約90%に相当した。このアセンブリをインプットとして、HiC法によるスキファールド解析を行った結果、本種の染色体数(n=9)に対応する9つのスキファールドに約0.84 Gbの塩基配列を集約させることができた。この9つのスキファールドはゲノムサイズの約83%にあたり、緑色植物で進化的に保存されている遺伝子の約90%を含んでいたため、進化動態解析を行うためのドラフトゲノムとして十分な品質であると判断された。

2) 全ゲノムリシークエンス解析

3生態型(6集団)の全ゲノムリシークエンス解析を行い、それぞれの集団間の系統関係を推定したところ、高山型2集団は非常に近縁な関係にあり、低地の他集団から分化していた。低地

集団に着目すると、早咲き性を示す2つの蛇紋岩型集団は単系統にはならず、むしろ地理的に近接する通常型と遺伝的に近縁であり、蛇紋岩地への適応が地域ごとに生じたことが示唆された。

通常型(2集団)と蛇紋岩型(2集団)間での環境関連解析の結果、多数のイオン輸送体遺伝子群(カリウム、カルシウム、マグネシウム、硝酸イオン等)が有意な関連を示し、これらは遺伝子機能の点からも蛇紋岩土壌のアンバランスな土性への適応に関与していると考えられた。また地域ごとに生態型間で分化しているゲノム領域を解析したところ、開花期関連遺伝子としては旭川市の生態型間では植物ホルモン合成遺伝子が、勇払郡では開花期ネットワークの統合部にあたる遺伝子が高関連領域に含まれていた。いっぽう、同様の解析を通常型と高山型の間で行ったところ、主要な解析ピーク近傍には開花期関連遺伝子は検出されず、蛇紋岩集団で関連性を示した2つの開花期遺伝子も通常型と高山型の間ではほとんど分化していなかった。

3) 共通圃場での開花期測定と時系列トランスクリプトーム解析

共通圃場で3生態型の開花期を測定したところ、5月第1週目に高山型、5月3週目に蛇紋岩型、6月2週目に通常型が開花最盛期を向かえた。高山型と蛇紋岩型は通常型よりもひと月以上も早く開花したが、その2型間でも2週間の開花期のずれがあった。時系列トランスクリプトーム解析の結果、一定の発現量を示した開花期遺伝子が103個見つかった。発現データに基づきクラスタリングを行うと、期間の前半・中盤・後半で主に発現するクラスターに分かれ、開花期後半で発現した2遺伝子では3型の開花順に対応した発現パターンを示した。開花期遺伝子ネットワークのより上流に位置する遺伝子群では、3型間で明瞭な時間差をもって発現する遺伝子は検出されなかったことから、3型間での開花期の違いはネットワーク下流部における遺伝子の変異で生じている可能性が示唆された。

一連の解析結果より、高山と蛇紋岩地で見られるアキノキリンソウの早期開花性については、同一栽培環境において2型間で開花期に差異を生じたこと、全ゲノムリシーケンス解析で抽出された開花期遺伝子が2つのハビタットで同じようには環境関連性を示さなかったことから、その遺伝的基盤は異なっている可能性が高いと考えられた。同じ遺伝的変異が平行的な適応に利用されるかどうかは、遺伝子ネットワークのサイズや個々の遺伝子の機能・効果の大きさや、集団動態などに依存すると考えられる。今回の研究で着目した植物の開花期は、遺伝子ネットワークに少なくとも約300個の遺伝子が関与しており、ネットワークの下流部に絞ったとしても相当量の変異が北海道内のアキノキリンソウ集団に存在していると思われる。よって、そうした遺伝的背景をもつ形質が異なる環境適応過程(高山環境、2箇所の蛇紋岩地への適応過程)で選択を受けた際に、別個の変異に基づいて類似した表現型を示した可能性は十分にあるのではないかと推察された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sakaguchi, S., Nagano, J.A., Yasugi, M., Kudoh, H., Ishikawa, N., and Ito, M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Genetic consequences of being a dwarf: Do evolutionary changes in life-history traits influence gene flow patterns in populations of the world's smallest goldenrod?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Botany	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/aob/mcaa062	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 Sakaguchi, S., Abe, A., Nagasawa, K., Takahashi, D., Setoguchi, H., Maki, M., Kyan, R., Nishino, T., Ishikawa, N. and Ito, M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Functional traits divergence in parallelly evolved rheophytic populations of <i>Solidago virgaurea</i> L. complex (Asteraceae)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Phytotaxonomica et Geobotanica	6. 最初と最後の頁 -
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 -
1. 著者名 Sakaguchi, S., Kimura, T., Kyan, R., Maki, M., Nishino, T., Ishikawa, N., Nagano, A., Honjo, M., Yasugi, M., Kudoh, H., Li, P., Choi, H- J., Chernyagina, O. and Ito, M.	4. 巻 121
2. 論文標題 Phylogeographic analysis of the East Asian goldenrod (<i>Solidago virgaurea</i> complex, Asteraceae) reveals hidden ecological diversification with recurrent formation of ecotypes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Botany	6. 最初と最後の頁 489-500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/aob/mcx182	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 該当する
1. 著者名 Echevarria, G., Baker, A.J.M., Boyd, R., van der Ent, A., Mizuno, T., Rajakaruna, N., Sakaguchi, S., Bani, A.	4. 巻 33
2. 論文標題 A global forum on ultramafic ecosystems: from ultramafic ecology to rehabilitation of degraded environments	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 517-522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11284-018-1611-3	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 該当する

1. 著者名 Sakaguchi, S., Horie, K., Ishikawa, N., Nishio, S., Worth, J., Fukushima, K., Yamasaki, M., and Ito, M.	4. 巻 107
2. 論文標題 Maintainance of soil ecotypes of <i>Solidago virgaurea</i> in close parapatry via divergent flowering time and selection against immigrants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Ecology	6. 最初と最後の頁 418-435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1365-2745.13034	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 該当する

〔学会発表〕 計7件(うち招待講演 3件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 阪口翔太, 堀江健二, 石川直子, 重信秀治, 山口勝司, 長谷部光泰, 永野惇, 瀬戸口浩彰, 久保田涉誠, 倉島治, 牧雅之, 木村拓真, 喜屋武隆太, 伊藤元己
2. 発表標題 アキノキリンソウの平行的な土壌適応に関わる隔離遺伝子群の進化
3. 学会等名 第19回日本植物分類学会
4. 発表年 2019年~2020年

1. 発表者名 三木綾乃, 瀬戸口浩彰, 堀江健二, 石川直子, 伊藤元己, 阪口翔太
2. 発表標題 超苦鉄質土壌内外におけるアキノキリンソウ(キク科)の Mg ²⁺ イオン輸送体遺伝子変異
3. 学会等名 第19回日本植物分類学会
4. 発表年 2019年~2020年

1. 発表者名 阪口翔太, 永野 惇, 石川 直子, 堀江 健二, 瀬戸口浩彰, 伊藤元己
2. 発表標題 多様な開花期を示すアキノキリンソウ生態型の時系列トランスクリプトーム解析
3. 学会等名 第67回日本生態学会
4. 発表年 2019年~2020年

1. 発表者名 阪口翔太
2. 発表標題 秋に咲かないアキノキリンソウの生態遺伝研究
3. 学会等名 第20回日本進化学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sakaguchi, S., Takuma Kimura, Ryuta Kyan, Masayuki Maki, Takako Nishino, Naoko Ishikawa, Atsushi J. Nagano, Mie N. Honjo, Masaki Yasugi, Hiroshi Kudoh, Pan Li, Hyeok Jae Choi, Olga A Chernyagina, Motomi Ito
2. 発表標題 Phylogeographic analysis of East Asian goldenrod (<i>Solidago virgaurea</i>) uncovered independent colonization to the Japanese islands and parallel ecotypic diversification
3. 学会等名 The 2nd International Academic Conference on the Formation Mechanism of Plant Diversity and Conservation of Endangered Plants in East Asia（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阪口翔太
2. 発表標題 アキノキリンソウ群における平行的な生態的多様化
3. 学会等名 第50回種生物学会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阪口翔太, 堀江健二, 重信秀治, 山口勝司, 長谷部光泰, 瀬戸口浩彰, 石川直子, 久保田涉誠, 倉島治, 牧雅之, 木村拓真, 喜屋武隆太, 伊藤元己
2. 発表標題 寒い高山と暑い蛇紋岩地で平行進化した早咲きアキノキリンソウのゲノム解析
3. 学会等名 第66回日本生態学会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------