

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月10日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22770021

研究課題名（和文）異なる環境に適応分化する2種間の遺伝子浸透とニッチ変化過程の解明

研究課題名（英文）Introgression and niche dynamics in two ecologically divergent species

研究代表者

三村 真紀子（MIMURA MAKIKO）

九州大学・大学院理学研究院・特任助教

研究者番号：60451689

研究成果の概要（和文）：異所的種分化によって異なる環境に適応した2種が、気候変動によってその分布を変化させるとき、分布域末端の集団は、環境の変化や他種との交雑など進化的なダイナミクスを経験すると考えられる。本研究では、(1) 亜熱帯および温帯にそれぞれ生育する系統的に非常に近縁なキイチゴ2種の過去の分布変遷、(2) 他種との接触による交雑の開始と適応的な浸透交雑について検証した。まず標本データと気象データに基づいた種の分布域予測、および西日本計9集団におけるコアセセンス解析から過去の気候変動に対する分布域変遷を検証した。その結果から、亜熱帯性キイチゴは最終氷期以後に分布を北上させ現在の南限である屋久島に到達した一方、温帯性キイチゴは、分布が隔離されながら、現分布域の南限である屋久島集団を最終氷期以前から保っていたことが推測された。さらに現在の分布が交わる屋久島では2種間の遺伝子流動が検出された。気候変動による分布域変遷が、近縁種の分布域の接触と交雑を促したと考えられる。さらに詳細に屋久島内の集団を解析したところ、標高帯に沿った連続的な交雑帯が形成され浸透交雑が起こっていることが分かった。交雑帯において、幾つかの遺伝子は中立的に予測されるよりも早いスピードで亜熱帯種から温帯種に浸透していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The margins of a species' range might be most vulnerable under climate changes, but it may also undergo significant evolutionary change due to drastic population dynamics, e.g. contacts with new species. We tested (1) differences in range shift and its consequences, along with past climate change, in two closely related but ecologically distinct *Rubus* species (*R. palmatus* and *R. grayanus*) and (2) asymmetric introgression between these two species at the contact zone. We studied nine populations in total from southern and northern margins of two species. Coalescent analysis based on 12 putatively functional gene sequences together with niche modeling during GLM, suggested that the southernmost populations of *R. palmatus* perhaps persisted since before the Last Glacial Maximum (LGM). Conversely, the *R. grayanus* populations diverged relatively recently and likely represent young outposts of a northbound range shift. Significant introgression was only detected between *R. palmatus* and *R. grayanus* on Yakushima Island, where the margins of the species' ranges overlapped parapatrically. Structure analysis in ten populations on the contact zone on the island suggests gradual introgression along the altitudes. Further investigation is in progress to test whether any gene under selection is moving from one to another species faster than neutral expectation. We conclude that introgression between these relatives has recently taken place at these marginal populations induced by climate changes. Introgression could increase the evolutionary potential at the margins of the species' range under extreme environments in the species' niches.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生態・環境

キーワード：分布変遷、気候変動、浸透交雑

1. 研究開始当初の背景

(1) 気候変動は、種の分布域を変化させると予測されており、生物どうしの隔離と接触の機会を増加させる。異所的種分化により異なる環境に適応した2種が2次的に接触した場合、しばしば種間交雑による交雑帯が生じる。交雑帯は様々な生物で古くから知られてきたが、それが適応進化の機構として重要であると考えられるに至ったのは最近である。

(2) 異所的に分化した2種の種間交雑は、突然変異と異なり、雑種個体内に何百何千という遺伝子の新しい組み合わせを一代で作り出す。雑種個体では、平均適応度はしばしば低いが、新しい環境へより適した個体が発見される可能性も高く、進化速度は早いとも予測される。しかし、交雑帯に関するこれまでの研究は、中立マーカー（自然選択に対して中立的な遺伝子領域にある分子マーカー）の拡散過程を調べたものが多く、適応に関与する機能遺伝子の浸透について調べた研究はわずかであった。

(3) 気候変動によって生物種はこれまでと異なる環境を経験する。しかし、もし気候変動が分布域の接触を促し、別の環境に適応した近縁種の遺伝資源にアクセスする機会が増大するとしたら、それらの遺伝資源を利用した迅速な進化が可能となるかもしれない。これまで過去の交雑を示唆する事例研究が発表されてきており、このような交雑による遺伝資源の共有が、変動する環境に生物が迅速に反応してきたメカニズムの一つだと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、温帯と亜熱帯にそれぞれ異所分布し、屋久島で分布域が接触しているキイチゴ属の近縁種 (*Rubus palmatus*, *R. grayanus*) を用いて、仮説「異なる環境に異所適応した近縁種間の機能遺伝子の浸透は、親種の分布域外への適応進化を可能にする」を検証するために以下の議題に取り組んだ。

(1) 気候変動により異所分布している近縁種が新たに接触するか (2) 分布域が接触する場所では、交雑および浸透交雑が生じているか (2) 中立的に予測されるよりも早く他種へ浸透する機能遺伝子はあるか。

3. 研究の方法

(1) 対象近縁種間の系統関係を明らかにするために、対象2種の葉緑体遺伝子 (*rbcL*, *trnH-psbA*) 領域の塩基配列を決定した。これらと *Rubus Idaeobatus* 亜属に属する12種 (および外群1種) の葉緑体遺伝子 (*rbcL*, *trnH-psbA*) 領域の塩基配列 (森林総合研究所) をもとに、RAxML を用いて最尤法系統樹を作成した。

(2) 西日本における2種の分布域の動態

① 生態学的ニッチモデリング

GBIF から得た標本位置データを用いて、現在と過去 (およそ2万年前) の分布を気象情報に基づいて予測した。現在および過去の気象情報は、Worldclim のデータベースから入手した。該当域で相関性の低い7つの Bioclimate variables を採用し、Mexent を用いてモデリングを行った。

② コアレセント解析

西日本および南西諸島等に生育する *R. palmatus* および *R. grayanus* の計9集団を対象とした。Roche FLX を用いて EST ライブラリーを作成した。作成した EST ライブラリーをシロイヌナズナの RNA を参照配列としてブラスト検索 (blastx) を行い、ホモログ (e-value 10^{-20} 以下) と判定された12核機能遺伝子のプライマーを設計した。該遺伝子の配列を決定した。Isolation with Migration model に基づいたコアレセント解析 IMA2 プログラム (Hey and Nielsen, 2007, PNAS) を用いて、種内集団間の分岐年代、集団サイズおよび移住率の推定を行った。また、種間集団間の分岐年代、集団サイズおよび移住率の推定を行った。

(3) 分布域末端における2種間の浸透交雑

分布域の南限 (*R. palmatus*) と北限 (*R. grayanus*) が交わる屋久島の標高帯にて、10集団を採集し、浸透交雑の度合いを交雑帯上の SNP の回帰曲線解析 (introgress, Gompert and Buerkle, 2009, Molecular Ecology) を行った。上記の12遺伝子の配列情報を用いた。

(4) 栽培法の確立：交雑帯から個体を採集し、九州大学にて栽培および株分け (クローン)

による増幅を行った。

4. 研究成果

(1) 葉緑体遺伝子(*rbcL*, *trnH-psbA*)に基づく最尤法系統樹によると、対象 2 種は日本に生息する *Rubus* 属 *Idaeobatus* 亜属のなかでも比較的近縁な関係にあることがわかった。系統内では、比較的最近分化が起こり、それぞれ異なる気候帯(温帯と亜熱帯)に分布していることが明らかとなった(図 1)。

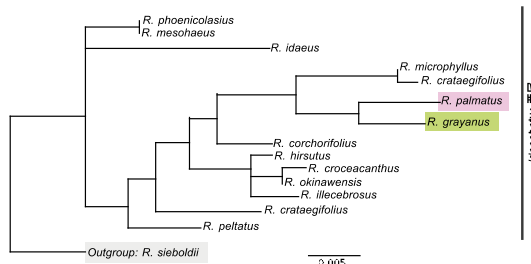


図 1. 葉緑体 DNA(*rbcL* および *trnH-psbA*) に基づく最尤法系統樹

(2) GBIF データベースから *R. palmatus* (273 位置データ) および *R. grayanus* (13 位置データ) の情報を抽出し、ニッチモデリングを行った。現在の分布を概ね推定できたが、*R. grayanus* の場合は、多少過大評価される傾向にあった。参照位置データの少なさと種の分布の制限が気象条件以外のものによるためと考えられる。また過去の分布域推定では、*R. palmatus* は各地に分化する複雑な分布域変遷を遂げたと思われたのに対し、*R. grayanus* は一旦奄美大島・沖縄諸島に分布域境界を南下させたと考えられた。

(3) *R. palmatus* 5 集団、*R. grayanus* 4 集団(図 2) 計 110 個体から 12 遺伝子領域(5,113bp、計 196SNP、種間固定 12SNP) の配列情報が得られた。今回は 2 集団モデルのみを用いて解析した。*R. palmatus* は関西の 2 集団間(pBZ、pKG)をのぞいて、集団間の分岐年代がおおよそ 5 万 8 千年前から 11 万年前に分岐したと予測された。これは最終氷期の終焉(おおよそ 1 万 8000 年から 2 万年前) よりも長い。とくに現在の南限集団である屋久島集団は九州集団と高い分化を示し、*R. palmatus* の南限集団は、最終氷期以前にも孤立して集団を維持していた可能性が示唆された。これはニッチモデリングの結果にも合致する。また、*R. grayanus* の集団間の分岐年代は、北方集団間になるにつれて浅くなり、現在の北限である屋久島・種子島集団と最終氷期に適当な気象環

境を維持していたと推測された奄美大島集団の分岐は、おおよそ 1 万 6 千年前から 8 千年前ほどであると推定された。最終氷期以後の気温上昇に伴って *R. grayanus* は分布域を北方に拡大し、屋久島において *R. palmatus* の分布域に接触したと考えられる。

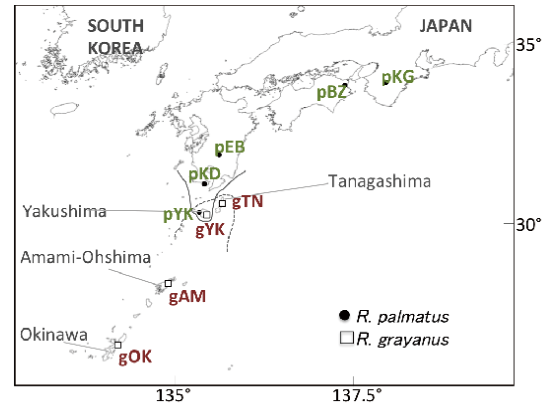


図 2. 対象集団 (● *R. palmatus*, □ *R. grayanus*)

(4) 対象 2 種の分布域が接触している屋久島の標高帯の集団において 12 遺伝子の配列を解析(STRUCTURE 解析)した結果、標高帯に沿って浸透交雑が起こっている事が明らかになった(図 3)。中間的な標高帯では比較的低標高では *R. grayanus* に、比較的高標高では *R. palmatus* に戻し交配が起こっていた。

さらに葉緑体遺伝子(*trnH-psbA* 遺伝子間領域)を調べたところ、おもに *R. grayanus* が種親になりやすいことが分かった。開花

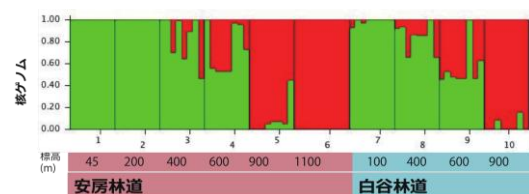


図 3. 屋久島の標高帯に沿った STRUCTURE 解析の結果。低標高の集団(1, 7)にリュウキュウイチゴ、高標高にモミジチゴ(6, 10)が生育する。

時期のずれ、生理的要因、集団動態のいずれが原因かについて検討している。

(5) 標高帯において全遺伝子配列を用いた個体ごとの hybrid index と SNP ごとの hybrid index を回帰解析したところ、他の遺伝子よりも交雑帯を *R. grayanus* から *R. palmatus* へ早く浸透する遺伝子が検出された。これらの遺伝子変異が、自然選択下にあるか否かを検証するために、全ゲノムからの変異解析を行っている。

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)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 三村真紀子、野生ラズベリーの分布域ダイナミクスと適応的浸透交雑の検証、新学術領域「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」領域会議 イブニングセミナー、2013年3月11日、鹿児島
- ② Makiko Mimura, Testing adaptive introgression in wild raspberry, 4th Joint Symposium GCOE Asian Conservation Ecology, 9 Feb, 2013, Fukuoka, Japan.
- ③ Makiko Mimura, Misako Mishima, Martin Lascoux, Tetsukazu Yahara, What happens when the rear and leading edges of two species meet? Joint Meeting of the 59th Annual Meeting of ESJ and the 5th EAFES International Congress, 20 March, 2012, Ostu, Japan
- ④ 三村真紀子、三島美佐子、矢原徹一、異所適応したキイチゴ属2種の多様性解析、第122回日本森林学会大会、2011年3月25日、静岡

6. 研究組織

(1)研究代表者

三村 真紀子 (MIMURA MAKIKO)

九州大学・大学院理学研究院・特任助教

研究者番号：60451689