

令和元年5月28日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04827

研究課題名(和文)植物の生態型分化機構研究：アキノキリンソウ群多様化の比較ゲノム解析

研究課題名(英文) Studies on ecotypic speciation mechanism in plants: Comparative genomic analysis in *Solidago virgaurea* group

研究代表者

伊藤 元己 (Ito, Motomi)

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：00193524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：日本列島で大規模な生態的種分化を遂げているアキノキリンソウ群について、種分化メカニズムを解明する目的で全ゲノム情報を用いた解析を行った。その後、各生態型についてリシーケンスを行ない、マッピング・変異検出を行った。その結果、蛇紋岩土壌と非蛇紋岩土壌の集団間では、 Mg^{2+} 、 K^{+} 、 NO_3^{-} 、重金属等のイオントランスポーターおよび開花遺伝子の遺伝的分化度が高くなっていることが明らかになった。これに対し、高山型と林床型の比較では開花遺伝子の分化度は低く、蛇紋岩型から見つかった候補遺伝子が高山型の早咲き化に関与していない可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種分化研究において、環境への適応の結果、並行的に同じような分化が起きる生態的種分化は、多くの研究例は系統解析に留まっていた。大規模な生態的種分化が起きている植物において、生態学的、遺伝学的、系統学的アプローチでその全容をゲノムレベルで解析ができ、非モデル植物群において種分化現象からその遺伝的バックグラウンドまで解明できたことは大きな学術的成果であり、今後の本分野の研究の先駆けとなるものである。

研究成果の概要(英文)：We have read total genome sequences for the purpose to clarify the mechanism of speciation for the *Solidago* which has undergone large-scale ecological speciation in the Japanese archipelago. Then, resequencing was performed for each ecotype, and mapping and mutation detection analyses were performed. As a result, it was revealed that the genetic differentiation of ion transporters such as Mg^{2+} , K^{+} , NO_3^{-} and heavy metals, and flowering related genes is high between populations of serpentine soil and non-serpentine soil. On the other hand, in the comparison of alpine type and forest floor type, the degree of differentiation of flowering genes is low, and candidate genes found from serpentine types may not be involved in early-flowering of alpine type.

研究分野：多様性生物学

キーワード：生態型分化 アキノキリンソウ ゲノム解析 種分化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

種分化は生物の多様性拡大の重要なプロセスの1つである。ダーウィン以来、適応進化による種分化の研究は数多くの研究が行われてきたが、初期の研究は各種群の形態的変異や生態的・生理的特性などの記述がほとんどであった。近年、分子情報を使用した種間や種内の遺伝的変異や系統関係の解析が可能になり、適応進化により種分化を遂げた生物群について、進化学的研究がされてきた。しかし、従来の研究は分子情報を遺伝的マーカーとして用いたものがほとんどであり、実際にどのような原因遺伝子の遺伝的变化により種分化がもたらされたか(至近要因)や、その際に働いた進化的駆動力(自然選択など)は何か(究極要因)というような進化メカニズムにまで踏み込んだ実証研究は少数である。特に野生植物の適応進化による種分化プロセスにおいて重要と考えられる、生態学的、生理学的特性に関する詳細な進化研究例は、モデル植物であるシロイヌナズナおよび近縁種の研究以外では極めて少ない。

適応進化による種分化プロセスの研究は、強い選択圧を受けている異なる生態環境下に生育する近縁種、可能なら同種内で比較可能な生物を研究対象として選択し、ゲノム全体を比較することで可能になると考える。そこで本研究では、日本を含む東アジア地域で顕著な生態的種分化を起こしているキク科アキノキリンソウ群を対象にして、どのような選択圧により、それぞれの生態環境への適応進化が起きているかを明らかにすることを目的とする。

2. 研究の目的

日本のアキノキリンソウ群は、4種・3亜種・2変種に分類されている。アキノキリンソウ・オオアキノキリンソウは野山に普通に見られる植物であるが、他の植物群は、それぞれ特殊な生態環境に生育するものであり、アキノキリンソウとは異なる形態的特徴を持つ。特に屋久島高山に固有のイッスンキンカは開花時の草丈が2~3cmという特異な形態を持つ。これらの形態的特徴は、共通圃場や相互移植実験でも維持され、遺伝的に決定されていることがわかっている。その大きな形態学的、生態学的、生理学的多様性とは異なり、群内の遺伝的多様性はたいへん小さいことが、研究代表者らのこれまでの研究で明らかになっている。このような比較的均質な遺伝的背景を持ち、多様な生育環境に適応進化して形態的にも大きく分化している植物群を対象にすることにより、適応進化に関与した遺伝的変異の特定と、その際の自然選択の働くプロセスの解明を、より明示的に行う事が可能である。

3. 研究の方法

本研究の最終目標は、アキノキリンソウ群における適応に関与した遺伝的変異の特定とその機能の解明、およびそれぞれの遺伝的変異が固定する自然選択プロセスの解明である。そのため 1)研究全体の基盤となる、アキノキリンソウの全ゲノム配列決定によるリファレンス作成; 2)リシークエンスによる、各生態型のゲノム決定とリファレンスとの差異の比較による候補遺伝変異の検出; 3)ゲノムワイドのFST統計量に基づくゲノムスキャンによる候補遺伝子の検出を行う。これにより生態的分化をもたらした原因遺伝的変異の特定(至近要因)、および進化的駆動力(究極要因)の解明をする。

4. 研究成果

アキノキリンソウのゲノム情報は、3種類のアセンブルが終了した。この3種類のデータに基づいて行った結果、CEGMAを用いて256種の保存的遺伝子の相同遺伝子を探索したところ、完全検出できたものが90%を占め、single-copy遺伝子を対象とするBUSCO解析では3つのリファレンスともに85%前後の検出率を記録した。

次に、最もN50が長くなったゲノム配列をリファレンスとして、Illumina PE150で20xのリシークエンスを

行なった。蛇紋岩型は、林床型と地質境界で隣接して分布している旭川市と勇払郡・坊主山の2ペア集団、高山型は大雪山系・赤岳の1,850m集団を解析した。蛇紋岩土壌と通常の土壌に生育する4集団のマッピング・変異検出を行った結果、蛇紋岩土壌と非蛇紋岩土壌の集団間では、Mg²⁺、K⁺、NO₃⁻、重金属等のイオントランスポーター周辺の遺伝的分化度が高くなっていた。また、蛇紋岩土壌の集団は早期開花性を持つことから、開花遺伝子の分化にも着目して解析を行ったところ、FTとGA2がアウトライヤーとして抽出された。こうした、自生地環境や表現型と関係する候補遺伝子は局所環境への適応に寄与している可能性が高いことが明らかになった。まこれに対し、高山型と林床型の比較では開花遺伝子の分化度は低く、蛇紋岩型から見つかった候補遺伝子が高山型の早咲き化に関与していない可能性がある。今後、高山型集団を増やして再解析することと、ドラフトゲノムの網羅度を高めることが課題である。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (計 8 件)

1. Kurata S, Sakaguchi S and Ito M. 2019. Genetic diversity and population demography of *Geranium soboliferum* Kom var. *kiusianum*: A glacial relict plant in the wetlands of Japan, *Conservation Genetics*, in press. [査読有]
2. Sakaguchi S., Horie K., Ishikawa N, Nishio S, Worth JRP, Fukushima K, Yamasaki M, Ito M. 2019. Maintenance of soil ecotypes of *Solidago virgaurea* in close parapatry via divergent flowering time and selection against immigrants. *Journal of Ecology* 107(1): 418-435. [査読有]
3. Sakaguchi S., Kimura, T., Kyan, R., Maki, M., Nishino, T., Ishikawa, N., Nagano, AJ., Honjo, M., Yasugi, M., Kudoh, H., Li, P., Choi, H-J. Chernyagina, OA. Ito, M. 2018. Phylogeographic analysis of the East Asian goldenrod (*Solidago virgaurea* complex, Asteraceae) reveals hidden ecological diversification with recurrent formation of ecotypes. *Annals of Botany* 121(3): 489–500. [査読有]
4. Sakaguchi S., Horie K, Kimura, T., Nagano, AJ., Isagi, Y., Ito, M. 2018. Phylogeographic testing of alternative histories of single-origin versus parallel evolution of early flowering serpentine populations of *Picris hieracioides* L. (Asteraceae) in Japan. *Ecological Research* 33(3) 537-547. [査読有]
5. Keiko Kishimoto-Yamada, Junsuke Yamasako, Toshihide Kato, Masayuki U Saito, Motomi Ito 2017. Fauna of Cerambycidae (Insecta: Coleoptera) in Komaba Campus of the University of Tokyo, a highly urbanised area in Japan. *Biodiversity Data Journal* 5 e22296. [査読有]
6. Diego Tavares Vasques, Atsushi Ebihara, Motomi Ito 2017. The felt fern genus *Pyrrosia* Mirbel (Polypodiaceae): a new subgeneric classification with a molecular phylogenetic analysis based on three plastid markers. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 68(2) 65-82. [査読有]
7. Shota Sakaguchi, Naoko Ishikawa, Atsushi J. Nagano, Masaki Yasugi, Hiroshi Kudoh, Motomi Ito 2017. Simultaneous evaluation of the effects of geographic, environmental and temporal isolation in ecotypic populations of *Solidago virgaurea*. *New Phytologist* 216(4): 1268-1280. [査読有]
8. Shota Sakaguchi, Saneyoshi Ueno, Yoshihiko Tsumura, Hiroaki Setoguchi, Motomi Ito, Chie Hattori, Shogo Nozoe, Daiki Takahashi, Riku Nakamasu, Taishi Sakagami, Guillaume Lannuzel, B. Fogliani, Adrien S. Wulff, Laurent L’Huillier, Yuji Isagi 2017. Application of a Simplified Method of Chloroplast Enrichment to Small Amounts of Tissue for Chloroplast Genome Sequencing.

[学会発表] (計 5 件)

1. Kurata S, Sakaguchi S, Ito M. Genetic uniqueness and population demography of relict plants distributed in wetlands of semi-natural grassland. The 2nd International Academic Conference on the Formation Mechanism of Plant Diversity and Conservation of Endangered Plants in East Asia, 2018 年 10 月 Kyoto
2. 真鍋遼、福島慶太郎、石川直子、阪口翔太、伊藤元己、西野貴子. サワシロギクの蛇紋岩適応における微生物の作用と土壤細菌の菌叢解析. 日本植物学会第 82 回大会、2018 年 10 月、広島市
3. 阪口翔太、堀江健二、重信秀治、山口勝司、長谷部光泰、久保田涉誠、石川直子、瀬戸口 浩彰、伊藤元己. 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、第 66 回大会日本生態学会、(2019 年 3 月、神戸市).
4. 阪口翔太、堀江健、石川直子、永野惇、八杉公基、工藤洋、成田あゆ、井鷲裕司、伊藤元己. 開花期が異なる土壤エコタイプ間での遺伝子流動:キク科 2 属での検証. 日本生態学会第 65 回全国大会 (2018 年 3 月、札幌市)
5. 阪口翔太、堀江健二、石川直子、永野惇、本庄三恵、工藤洋、福島慶太郎、成田あゆ、山崎理正、井鷲裕司、伊藤元己. 早期開花性を獲得した蛇紋岩型アキノキリンソウの集団分化と局所適応. 日本生態学会第 64 回全国大会(2017 年 3 月、東京都新宿区)

[図書] (計 0 件)

[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:久保田 涉誠

ローマ字氏名:Kubota, Shosei

所属研究機関名:東京大学

部局名:大学院総合文化研究科

職名:助教

研究者番号(8桁):10771701

研究分担者氏名:阪口 翔太

ローマ字氏名:Sakaguchi, Shota

所属研究機関名:京都大学

部局名:大学院人間・環境学研究科

職名:助教

研究者番号(8桁):50726809

研究分担者氏名:牧 雅之

ローマ字氏名:Maki, Masayuki

所属研究機関名:東北大学

部局名:学術資源研究公開センター

職名:教授

研究者番号(8桁):60263985

(2)研究協力者

研究協力者氏名:石川 直子

ローマ字氏名:Ishikawa, Naoko

研究協力者氏名:西野 貴子

ローマ字氏名:Nishino, Takako

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。