

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H06178

研究課題名(和文) 交雑を起源とする生態的種分化の実験的再現およびその遺伝学的機構の解明

研究課題名(英文) Experimental reproduction of ecological speciation caused by inter-specific hybridization and elucidation of its genetic mechanism

研究代表者

松林 圭 (Matsubayashi, Kei)

九州大学・基幹教育院・助教

研究者番号：60528256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,400,000円

研究成果の概要(和文)：日本の植食性テントウムシについて、北海道南部に生息するルイヨウボタン専食種の集団が、同じく北海道に生息する別種のアザミ専食種とルイヨウボタン アザミ併用種との交雑に由来する、同倍数性雑種種分化で生じたことを明らかにした。また、これまで1種と目されてきたルイヨウボタン専食種は、全国で複数回独立に生じたことが判明した。北海道の2種を交雑させて作成した雑種F1の食性を調べたところ、両親種のどちらの食草も摂食するものの、アザミ上での生存率が有意に低くなることがわかった。北海道南部のルイヨウボタン専食種は、交雑の後に不適応なアザミへの忌避を進化させ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

今回、種間交雑が(1) F1以降の食性幅を変え、その後(2)特定の食草への特殊化が進む、という2段階の過程を経て種分化が起きることが示唆された。これまで雑種種分化はF1あるいはF2における超越分離で生殖隔離が生じるとされてきたが、交雑の時点(1)では大きな生殖隔離の成立には至らず、その後の選択によって生殖隔離ができていくことになる。

北海道南部のルイヨウマダラテントウが本州の同種とは独立起源のものであることが示されたことで、分類学的な同一種の中に異なる遺伝的・進化的背景を持った個体群が存在することが明らかになった。これによって保全の単位の見直しを提言することが可能になる。

研究成果の概要(英文)：In Japanese phytophagous ladybird beetles, we certified that a population of the blue cohosh specialist species in Southern Hokkaido is formed as homoploid hybrid speciation caused by hybridization between closely related thistle specialist species and generalist of blue cohosh and thistle in Hokkaido. The blue cohosh specialist species, which has been thought to be a single species has evolved independently multiple times throughout Japan archipelago. Artificial F1 hybrid offspring of the two parental species in Hokkaido could accept both parental host plants, while they demonstrated significantly reduced larval survivorships on thistle. These results indicate that the blue cohosh specialist species in Southern Hokkaido evolves avoidance against unfit thistle plant after hybridization.

研究分野：種分化

キーワード：雑種種分化 生態的種分化 寄主特異性 エコゲノミクス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

種分化は地球上の生物多様性を創り出した原動力であり、分類学・系統学・生態学・遺伝学などを含んだ学際的テーマの一つである。この分野では、異なる環境への適応によって集団間に生殖隔離が進化する“生態的種分化”(Schluter 2000. *Ecology of Adaptive Radiation*; Nosil 2012. *Ecological speciation*) が大きな注目を集めており、近年では次世代シーケンサーによるエコゲノミクスなどの手法と統合した“種分化ゲノミクス”の勃興によって、適応による種分化の遺伝的機構の研究がかつてない勢いで進められている。

種分化ゲノミクスによる進展の一つとして、種分化初期での交雑に関する知見が挙げられる。交雑は分化途上の近縁種ないしは集団間で遺伝子を混ぜ合わせるため、古典的には分化を抑制するものと認識されていた。しかし分子遺伝学的解析の普及により、交雑によって多様化が促進される場合もあることが指摘されるとともに、交雑を起源として新しく種が生まれる“雑種種分化”(図1)の存在も疑われるようになってきた(Riesberg et al. 1995. *Nature*)。この雑種種分化では、交雑由来の種が親種と同所的に生じるため、交雑の後は速やかにその両親種と生殖的に隔離される必要がある。特に両親種と雑種間で染色体数の変化を伴わずに生じる“同倍数性雑種種分化 (homoploid hybrid speciation)”では、染色体数の違いによる交配後隔離が存在しないため、雑種起源の種が交雑を期に、両親種と生態的・行動的に隔離されることが条件となる (Rieseberg 1997. *Annu.Rev.Eco.Syst.*; Mallet 2008. *Nature*)。同倍数性雑種種分化では、ごく短期間(理論的には雑種第二世代目)で生態的・行動的な隔離障壁が発達するため、通常では数百世代以上を要する種分化の過程を実験的に観察できると期待されている (Ungerer et al. 1998. *PNAS*)。このような種分化様式は、動物ではチョウ (Gompert et al. 2006. *Science*; Mavárez et al. 2006. *Nature*) やミバエ (Schwarz et al. 2005. *Nature*) などの昆虫類、淡水魚 (Nolte et al. 2005. *Proc.R.Soc.Lond.B*; de Barbiano et al. 2013. *PNAS*) で知られているが、いずれも飼育が容易でない上、雑種種分化の時期が比較的早く、生殖隔離に関わる形質が複数存在するため、その遺伝的機構はいまだにほとんどわかっていない。

申請者は日本に生息する3種の植食性テントウムシ(マダラテントウ類)を材料として、種分化の遺伝的・生態的要因を調査してきた。この三種は、キク科のアザミ類を専食するヤマトアザミテントウ(以下ヤマト)、メギ科のルイヨウボタンを専食するルイヨウマダラテントウ(同ルイヨウ)、そして両方の植物を併用するジェネラリストのエゾアザミテントウ(同エゾ)から成る近縁種群である。種間には食性の違い以外の隔離要因が存在せず (Katakura et al. 1989. *Evolution*)、特に専食種であるヤマトとルイヨウは、異なる寄主植物を利用することで広い範囲で同所的に共存している(図2A, Katakura 1998. *Zool. Sci.*)。

このテントウ種群では、種分化の要因を異なる食草への特殊化だけに絞ることができるため、生態的種分化の好例として複数の総説 (Drés and Mallet 2002. *Philos.Tras. R.Soc.B*) や著書 (Coyne and Orr 2004. *Speciation*; Nosil 2012. *Ecological Speciation*) において紹介されてきた。申請者が行った50,000個以上のSNP(一塩基多型)に基づく系統解析の結果、(1)3種が最終氷期(12,000~70,000年前)以後に分化したこと、(2)ルイヨウが北海道と本州で独立に生じたこと、(3)北海道南部(道南)のルイヨウは同所的に生息するアザミ専食種のヤマトとジェネラリストのエゾとの交雑によってごく最近(2000~4000年前)生じたことが判明した。この3種は、すべての集団が同じ染色体数を示すことから、道南のルイヨウ集団が同倍数性雑種種分化の一例であり、さらに交雑をきっかけとしたルイヨウボタンへの特殊化によって、これとは独立にヤマトと分化した本州のルイ

ヨウ集団と生物学的に同じ種としてふるまう“平行種分化”の一例でもあることが示唆された。以上から、この種群では、これまでわずかしら報告されていない平行種分化が、同倍数性雑種種分化を含んだ形で成立している上に、生態的なジェネラリストとスペシャリストの交雑が別の新たなスペシャリストを生み出すという、極めて特異な現象が起きている可能性が高い。

2. 研究の目的

本研究計画では、雑種起源である道南のルイヨウ集団に着目し、その急速な生態的種分化を可能にした種間交雑の歴史的過程を精査するとともに、交雑によって起きた種分化を実験的に再現することで、寄主転換による種分化の遺伝的背景を明らかにすることを目的とした。目的は、(1) 種分化の歴史的背景の調査、および(2) 種分化の遺伝的機構の解明、の二つに大別される。

3. 研究の方法

上記の目的のために、(1) 日本における 3 種テントウムシの野外集団について ddRAD-seq による分子集団遺伝学的な解析を行い、種分化全体の概要と雑種種分化がいつ何回起きたかを明らかにした。また(2) 両親種を交配させて雑種を作り、それぞれの食草で育成して雑種種分化の過程を再現すると同時に、2 世代に渡って複数の食草利用能力を測定することで種分化の際にそれぞれの食草利用形質が及ぼす効果を調査した。さらに(3) 種分化に大きく寄与するテントウムシ成虫の摂食選好性を決定している器官とその発現遺伝子のプロファイリングを進めた。(4) これらすべての過程に寄与するゲノムのリファレンスデータを得るために、Chicago method に基づく全ゲノムシーケンスを行ってテントウムシのゲノム情報を得た。

4. 研究成果

・各項目についての成果概要を以下に要約する。

(1) 日本全国における 3 種テントウムシ野外集団計 432 個体を用いた系統解析の結果、この 3 種が最終氷期以降に分化した非常に若い種群であること、エゾとヤマトの 2 種はそれぞれ比較的まとまったクラスターを形成することが判明した。一方、ルイヨウについては全国で少なくとも 3 回独立に進化した多系統の種であった。食性を見ると多系統的に成立したルイヨウはすべてルイヨウボタンのスペシャリストであることから、この平行種分化にはルイヨウボタンへの適応が関与していることがわかった。

(2) 雑種由来の種の両親種の集団を複数地点から採集して掛け合わせ実験を行い、生殖隔離を定量化するとともに、雑種 F1 を作成してその食性などを調査した。雑種由来の種と比較して、雑種 F1 は明らかに多型性が高く、成虫は両親種のどちらの食草についても摂食することができた。一方、幼虫の生存率に関して、F1 はアザミ上で著しく低い結果となった。F2 を用いた食性テストでも、当初想定した以上にアザミ上での生存率が下がる現象が見られたが、これが雑種形成後にルイヨウボタンのスペシャリストが進化するひとつの原因になっていると推測される。特定の食草上で生存率が極端に低かったことにより、QTL 解析を十分に行うサンプルが得られなかったため、F2 世代 144 個体を用いた連鎖地図の作成と mRNA を用いた発現比較を併用する方向に計画を切り替えた。

(3) 各植物からの抽出液をゲルに塗布した系を用いた摂食選好性テストの結果、アザミとルイヨウの2種の植物に対して、エゾとヤマトはそれほど強い選好性・忌避性を示さなかった（例外的にエゾがルイヨウボタン抽出液に対して選好性を示した）一方で、ルイヨウは北海道と本州の集団それぞれがアザミに対する強い忌避を示した。また、触角・小顎髭・前脚ふ節のそれぞれを除去した成虫個体でテストしたところ、この忌避性は主に触角によって感知されていることが判明した。各種10個体についてこれらの部位それぞれからmRNAを抽出して発現遺伝子の比較を行った。

(4) 雑種起源種の親種であるヤマトとエゾの雑種F1個体について、Chicago methodに基づく全ゲノムシーケンスを行ったところ、N50が3.8Mbとなる約3500個のcontigsを得られた。重複のないリードの合計は本種テントウムシゲノムの85%程度をカバーしている。このリファレンスゲノムを用いて、上記で行っているゲノム解析の結果を踏まえつつ、より詳細に種分化の遺伝学的な背景を調査する。

・ 科研プロジェクト全体の成果概要を以下に要約する。

日本の植食性テントウムシについて、北海道南部に生息するルイヨウボタン専食種の集団が、同じく北海道に生息する別種のアザミ専食種とルイヨウボタン-アザミ併用種との交雑に由来する、同倍数性雑種種分化で生じたことを明らかにした。また、これまで1種と目されてきたルイヨウボタン専食種は、全国で複数回独立に生じたことが判明した。北海道の2種を交雑させて作成した雑種F1の食性を調べたところ、両親種のどちらの食草も摂食するものの、アザミ上での生存率が有意に低くなることがわかった。北海道南部のルイヨウボタン専食種は、交雑が生じた後で不適応なアザミへの忌避を進化させていることが示唆された。

今回調査した植食性テントウムシの事例においては、(1)種間交雑はF1以降の食性幅を変えることで急速に食草変更を促し、雑種が形成されたのちに様々な選択圧によって(2)特定の食草への特殊化が進む、という時系列的につながった2段階の過程を経て種分化が起きることが示唆された。これまで雑種種分化はF1あるいはF2における超越分離で生殖隔離が生じるとされてきたが、このテントウムシでは交雑の時点(1)では大きな生殖隔離の成立には至らず、その後の選択によって(2)のように後追いで生殖隔離ができていくことになる。これはこれまで考えられてきたよりも交雑を起源とする種分化が多様な過程を経て起きることを示している。

今回の調査で、北海道南部のルイヨウマダラテントウが本州の同種とは独立起源のものであることが示された。分類学的な同一種の中にも異なる遺伝的・進化的背景を持った個体群が存在することが周知されれば、例えば種を単位とした保全ではなく、ユニークな遺伝的背景を持つ個体群ごとに保全の単位とするなど、生態的資源の管理方法に影響を与えるものになりうる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4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 Matsubayashi K. W., Kohyama T. I., Kobayashi N., Yamasaki S., Kuwajima M., Katakura H.	4. 巻 30
2. 論文標題 Genetic divergence with ongoing gene flow is maintained by the use of different hosts in phytophagous ladybird beetles genus <i>Henosepilachna</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Evolutionary Biology	6. 最初と最後の頁 1110~1123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jeb.13071	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 松林 圭、藤山 直之	4. 巻 66
2. 論文標題 生態的種分化 - 適応の視点から多様化のメカニズムを探る -	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 561-580
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18960/seitai.66.3_561	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 Matsubayashi K. W., Kahono S, Hartini S, Haruo Katakura	4. 巻 22
2. 論文標題 Extremely divergent host plant acceptance with gene flow between sympatric host races of the phytophagous ladybird beetle <i>Henosepilachna diekei</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Entomological Science	6. 最初と最後の頁 404-412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ens.12382	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 山口、松林	4. 巻 69
2. 論文標題 種の境界：進化学と生態学、分子遺伝学から種分化に迫る - 序論と趣旨説明 -	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 145-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18960/seitai.69.3_145	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 松林 圭	4. 巻 69
2. 論文標題 種のちがいを量る	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 171-182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18960/seitai.69.3_171	査読の有無 無
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8件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Kei Matsubayashi
2. 発表標題 Adaptive radiation and evolution of isolation barriers caused by specialization to different host plants in a phytophagous ladybird beetle
3. 学会等名 The 33rd Annual Meeting of the Society of Population Ecology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松林 圭、Sih Kahono、片倉 晴雄
2. 発表標題 異なる寄主植物への適応で生じる雑種の適応度低下
3. 学会等名 第65回日本生態学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松林 圭
2. 発表標題 寄主変更が生み出す多次的ニッチ分化と生殖隔離
3. 学会等名 第64回日本生態学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松林 圭
2. 発表標題 種分化は地理変異に宿る!?多様化メカニズムに系統地理から迫る系統地理
3. 学会等名 第20回日本進化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松林 圭
2. 発表標題 植食性テントウ、エビラクナが問う“種”とは何か
3. 学会等名 信州昆虫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松林 圭
2. 発表標題 テントウムシの交雑を介した平行的な生態的種分化
3. 学会等名 種生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松林 圭
2. 発表標題 Dovetailでせまるテントウムシの全ゲノムシーケンスと種分化機構
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 松林 圭
2. 発表標題 やっかいなお隣さんが多様性を生み出す？
3. 学会等名 第67回日本生態学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 公益社団法人日本動物学会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 800
3. 書名 動物学の百科事典	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----