

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06415

研究課題名(和文) 冬尺蛾における平行進化現象の理解に向けた生活史調節機構とその遺伝的基盤の解明

研究課題名(英文) Approach for mechanism of eclosion timing determination and its genetic basis: to reveal parallel seasonal divergence in Japanese winter moth

研究代表者

山本 哲史 (Yamamoto, Satoshi)

京都大学・理学研究科・助教

研究者番号：10643257

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：新しい生物種が誕生するプロセスを解明することは、進化生物学のもっとも重要な課題といえる。本研究では日本国内で新種形成のプロセスが進んでいると考えられるクロテンフユシャクの初冬型と晩冬型を対象に、飼育実験により両型が羽化タイミングを決定する機構を解明した。さらに高い精度のゲノムアセンブルを構築し、初冬型と晩冬型で羽化タイミングの違いに関連している遺伝子がZ染色体と考えられる染色体上に集中していることを明らかにした。本成果により、新種形成プロセスにおいては、自然選択だけでなく、ゲノム上の遺伝子位置など物理的な要因も重要である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Inurois属蛾類には初冬型と晩冬型が存在し、これらは繰り返し進化してきた。また初冬型と晩冬型は繁殖季節が異なるために互いに交尾できない。クロテンフユシャクは種内に初冬型と晩冬型が存在し種が分化する過程にあると考えられる。本種のゲノムを研究し、種分化に関わる遺伝子およびそれらのゲノム上の位置を明らかにした。生物進化では自然選択が重要な役割を果たすが、ゲノム上の遺伝子の位置によって進化可能性が変化するものと考えられる。本研究では、種分化に関連する遺伝子が同一染色体上で物理的に連鎖していることを明らかにするなど、属内で両型が繰り返し進化した背景にゲノム構造が関与している可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Understanding the process of speciation is one of the most important issues in evolutionary biology. In this study, we revealed the mechanism of eclosion timing determination in early- and late-winter of *Inurois punctigera* by rearing experiments. We also constructed a genome assembly with high contiguity and gene coverage. We found that the genes responsible for the difference in eclosion timing between early- and late-winter *Inurois punctigera* were concentrated on the possible Z chromosome. Our results suggest that not only natural selection but also physical conditions, such as the location of genes in the genome, are important for parallel divergence of eclosion time in *Inurois punctigera*.

研究分野：進化生態学

キーワード：季節適応 休眠 ゲノム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 冬季に繁殖を行う蛾類である *Inurois* 属では、初冬季に繁殖するタイプ(初冬型)と晩冬に繁殖するタイプ(晩冬型)があり、これら2つのタイプは羽化時期が異なる。日本産 *Inurois* 属であるクロテンフユシャクには、同種内に初冬型集団と晩冬型集団が存在しており、種分化の初期プロセスが進んでいる。*Inurois* 属の種間系統を考慮すると、同様の種分化様式が属内で何度も生じており、羽化時期の分化が本属の多様化を促した主要因だと考えられている。

(2) 種内に初冬型と晩冬型が存在するクロテンフユシャクのケースでは、羽化時期の2型が見られるのは高緯度もしくは高標高という寒冷な場所であり、比較的温暖な関東より西の平野部では、真冬を通して連続的に成虫が出現し繁殖を行う。このことから、真冬の厳冬環境が初冬型と晩冬型への分化を促す自然選択となっていると考えられる。一方で、*Inurois* 属と同様に冬季に繁殖を行う他のシャクガ類では、羽化タイミングの分化は見られない。同じような季節に活動し、同じような自然選択に晒されているにもかかわらず、*Inurois* 属のみで羽化時期の分化が繰り返す仕組みは分かっていない。

2. 研究の目的

(1) *Inurois* 属内において平行して羽化時期の分化が生じた仕組みを明らかにする。種内に羽化時期2型のあるクロテンフユシャクでは、少なくとも本州北部と九州高標高地域の2箇所ですべて初冬型と晩冬型の分化が生じたことが分かっている。そこで、とくにクロテンフユシャクに着目し、羽化時期の決定機構、およびその責任遺伝子を明らかにし、さらに、独立に分化した初冬型、晩冬型の系統を比較することで、系統間で遺伝的変異を共有しているかどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) クロテンフユシャクの初冬型と晩冬型を用いた人工飼育実験によって、これらのタイプがどのような環境要因によって羽化が促進されるかを明らかにする。

(2) ゲノムワイドな SNP をマーカーとして、羽化時期に関連するゲノム領域を特定する。そのために、クロテンフユシャクのリファレンスゲノム配列を構築し、本州北部および九州高標高地域の初冬型、晩冬型個体を複数の全ゲノムリシーケンスデータを得る。

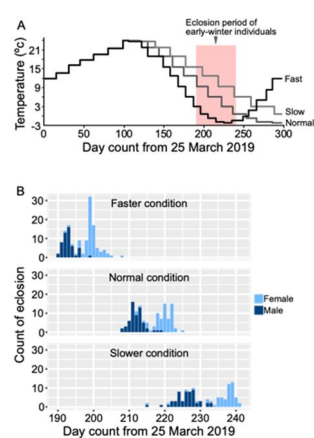
(3) 羽化時期に関連するゲノム領域において、初冬型アリルと晩冬型アリルの系統関係を明らかにし、実際の集団間の系統関係と比較する。

4. 研究成果

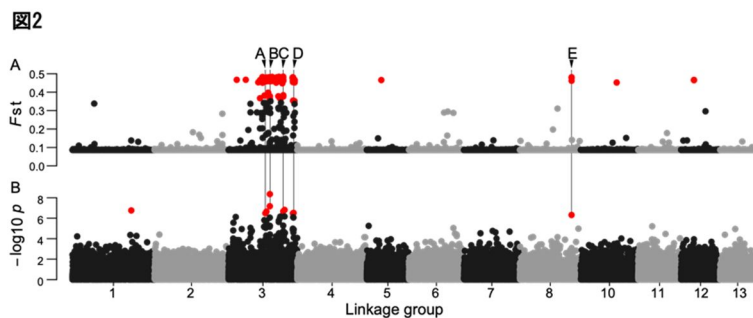
(1) クロテンフユシャクの初冬型および晩冬型を、実験供試個体の採集地である青森県の気温変化を模したインキュベーターで飼育した。温度変化は15日間隔を基本として、実験的に季節変化の早い環境(10日間隔で変化させる)と遅い環境(20日間隔で変化させる)でも飼育実験を実施した。その結果、初冬型はいずれの季節変化スピードにおいても、初冬型は気温の減少傾向が続く初冬期に羽化した。このことから、初冬型の蛹発生は季節変化スピードに依存していることが示唆された。真夏の高温期には蛹発生は休止状態となると考えられ、気温変化の早い処理区は真夏の高温期が短いため、より早く羽化したと考えられる(図1)。

一方、晩冬型は初冬型とは全く異なる羽化パターンを示した。まず、晩冬型は当初設定した一定間隔の温度変化では羽化しなかった。10日間隔で変化させた環境において、晩冬型は最も低い-2℃まで気温が下がっても羽化せず、さらに春に向けて温度を上げていき、最終的に初春ごろにあたる11℃となっても羽化しなかった。一方で、予備的に野外環境下に置いた個体は羽化したことから、数日間隔の季節的溫度変化以外に日周溫度変化が羽化を促すことが示唆された。そこで、羽化しなかった個体を日周溫度変化のあるインキュベーターと無いインキュベーターに分けて置いたところ、羽化率は日周溫度変化の有無によってそれぞれ90%、50%となり、また日周溫度変化条件下において羽化までの日数も短くなった。これらの結果から、晩冬型の羽化には初冬型の羽化よりも低い温度の経験と日周溫度変化が必要だと考えられる。詳細な羽化刺激の特定には、さらなる研究が必要となるが、本研究によって、初冬型と晩冬型で羽化時期が異なる至近的な要因に、羽化の刺激の違いがあることが明らかとなった。

図1



(2) 青森県で採集された晩冬型のクロテンフユシャクペアから採卵し、蛹まで飼育したメス1個体を用いて、リファレンスとなるゲノム配列を構築した。2種類の次世代シーケンサーを用いて、十分な量の長鎖DNA配列と短鎖DNA配列を取得し、コンピューター解析によりアセンブルを作成した。さらに、同じ青森県で採集した晩冬型クロテンフユシャクペアおよびそのF1世代78個体からRADマーカーを取得し、連鎖地図を作成した。この連鎖地図を用いて、ゲノムアセンブルをスキファールディングし、合計約1Gbpでそのうち85%が13本の連鎖群に集約された精度の高いリファレンスゲノム配列を得た。このリファレンスゲノムに、本州と九州の初冬型、晩冬型個体および2型に分離しない京都の個体から得た全ゲノムデータをマッピングし、ゲノムワイドなSNPマーカーを得た。このSNPマーカーをもとに、本州、九州、京都の3集団で共通して羽化時期に関連する6箇所のゲノム領域を特定した(図2:ただし6領域のうち連鎖群に乗った5領域のみを示している)。これら6領域のうち少なくとも4領域は同一の染色体上に存在しており、羽化時期を制御するという機能的類似性が同一染色体上への集中に関連している可能性がある。また、6領域のうち1つは初冬型において、遺伝子が欠失するという変異であった。



(3) 6領域のうち、初冬型で欠損する領域を除く5つの領域において、本州と九州の初冬型、晩冬型個体を用いて系統解析を実施したところ、これらの領域では地理的な系統関係を反映せず、初冬型と晩冬型はそれぞれ単系統となった(図3:領域Aの系統樹)。一方で、全ゲノムスケールでの系統解析では、九州の初冬型は同じ九州の晩冬型と単系統群を形成した(図4)。本州の初冬型と晩冬型はそれぞれ単系統群を形成したが、京都の個体は単系統群とならず、京都集団は過去に本州の初冬型と晩冬型との交雑を経験している可能性が示唆された。このように九州の初冬型と晩冬型の分化は、本州の分化とは独立して生じた進化イベントであることがわかった。また集団の分岐年代を推定した結果、本州が古い時代に分化したことに對して、九州での分化は比較的最近生じたイベントあることが示唆された。これらの結果から、九州における初冬型と晩冬型の分化は、本州のものとは独立なイベントであるにも関わらず、羽化に関連する遺伝子群に関して九州の初冬型と晩冬型は、それぞれ本州の初冬型や晩冬型と同一のアリルを有していることが明らかとなった。さらに、京都集団では早期に出現する個体ほど、6つの羽化時期関連領域において初冬型アリルを多く持ち、晩期に出現する個体ほど、晩冬型アリルを多く持つことも明らかとなった。このことから、古い時代に初冬型と晩冬型の遺伝子が成立して本州北部の羽化時期分化を促し、これらの遺伝子は温暖地では京都集団のように羽化時期の遺伝的スタンディングヴァリエーションとして保持されていることが明らかとなった。遺伝的スタンディングヴァリエーションを保持した地域集団は、気候の寒冷化に對して適応的な羽化時期の分岐が可能となる。系統推定の結果などから、九州の寒冷地集団における比較的新しい時代の初冬型と晩冬型の分化は、そのような遺伝的スタンディングヴァリエーションから分化に至ったことが明らかとなった。

図3 領域Aのみを图示

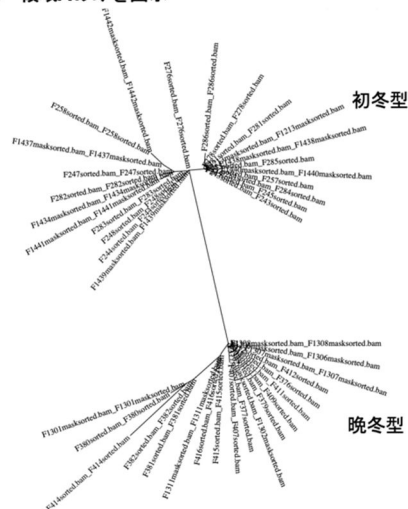
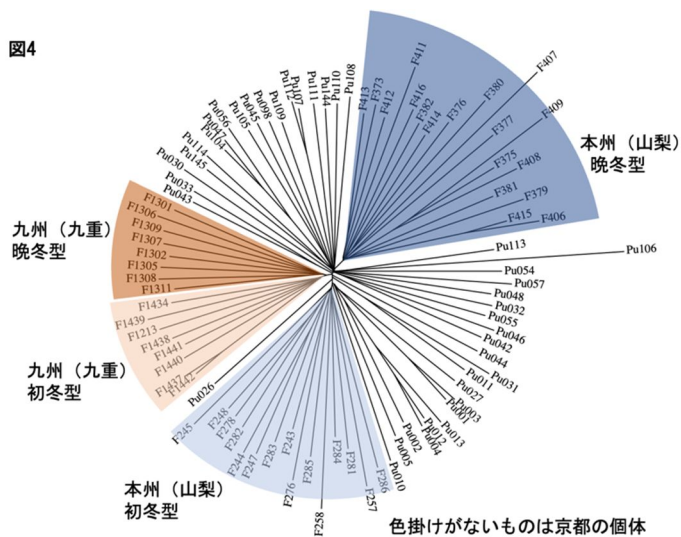


図4



色掛けないものは京都の個体

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Yamamoto S, Matsuhisa S	4. 巻 23
2. 論文標題 Population abundance gradient of <i>Inurois punctigera</i> along altitude.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Entomological Science	6. 最初と最後の頁 23,27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ens.12392	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山本哲史、工藤誠也、佐藤臨、池田紘士、藤澤知親、曾田貞滋
2. 発表標題 フユシヤク類の初冬繁殖型と晩冬繁殖型の原因となる生活史形質とその遺伝基盤の探索
3. 学会等名 日本進化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本哲史、工藤誠也、佐藤臨、池田紘士、藤澤知親、曾田貞滋
2. 発表標題 異時的種分化に関わる遺伝領域へのアプローチ
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本哲史、工藤誠也、佐藤臨、池田紘士、藤澤知親、野村翔太、曾田貞滋
2. 発表標題 初冬型および晩冬型フユシヤク類の生活史比較：平行種分化の謎に迫る
3. 学会等名 日本進化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本哲史、工藤誠也、佐藤臨、池田紘士、藤澤知親、野村翔太、曾田貞滋
2. 発表標題 クロテンフユシャクの季節性関連遺伝子：ゲノムワイド関連解析によるアプローチ
3. 学会等名 個体群生態学会、環境DNA学会合同大会
4. 発表年 2020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
---------	---------