

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570024

研究課題名(和文)種分化関連ゲノム領域に作用する自然淘汰の解析

研究課題名(英文) Analysis of natural selection operating upon genomic regions concerning species differentiation

研究代表者

高見 泰興 (Takami, Yasuoki)

神戸大学・人間発達環境学研究科・准教授

研究者番号：60432358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：種分化に関わる表現形質と、その背景にある遺伝領域にはたらく淘汰の検出を目指して研究を行った。材料であるオオオサムシ亜属では、交尾器形態が種分化に関与する主要な表現形質である。種間の接触域集団からのサンプリングを行い、生殖隔離に起因する自然淘汰の検出のためのデータ収集を進めた。加えて、交尾器形態の種間差をもたらすと考えられる性淘汰の実験的測定を行った。その結果、近縁なマヤサンオサムシとイワキオサムシの間で、交尾器形態にはたらく淘汰の形が大きく異なることを見いだした。さらに、2種の分布データをGISとニッチモデリングによって解析した結果、環境適応に関する自然淘汰の証拠も見いだした。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to reveal natural selection operating upon phenotypic traits and their genomic regions concerning speciation. Our special target was divergent genital morphologies in *Ohomopterus* ground beetles. We sampled adult individuals from populations located in interspecific contact areas, and proceeded the construction of phenotypic and genotypic dataset for the above-mentioned aim of the study. In addition, we conducted experimental evaluation of sexual selection operating upon genital morphologies. As a result, we detected divergent sexual selection in closely related species with divergent genital morphologies, *Carabus maiyasanus* and *C. iwawakianus*. Furthermore, we analyzed distributional data of these two species using GIS and ecological niche modeling. As a result, we detected evidences for that natural selection concerning environmental adaptation is also operate in the contact area of these species.

研究分野：進化生態学

キーワード：種分化 交尾器形態 生殖隔離

## 1. 研究開始当初の背景

種分化は、生物多様性を生み出す根源的過程である。かつて種分化は、地理的隔離による遺伝子流動の減少と、遺伝的浮動による分集団の遺伝的分化が原因であると考えられてきた。しかし今世紀に入り、自然淘汰や性淘汰によって生じる形質分化が、種分化を押し進める原動力であることが実証されつつある。しかし、「種分化形質」を支配する遺伝子の特定と、それに作用する淘汰の解明は、未だ緒にいたばかりである。

申請者らはこれまで、日本固有のオオオサムシ類を用いて種分化メカニズムの解明を進めてきた。研究には二つの大きな課題がある。「局所適応と形質分化」に関しては、地理的な分集団内で生じる淘汰と、それによる形質分化（主に交尾器形態）の解明を行ってきた。これまでに、交尾器形態の多様化における精子競争の重要性と、交尾器形態を支配する遺伝子座のゲノム内配置（QTL マップ）を明らかにしてきた。現在は、交尾器形態に作用する淘汰の測定と、関連遺伝子の特定を目指して研究を進めている。

「集団の二次的接触」は、形質を分化させた集団が、独立した種に分化するか否かが決まる段階である。形質分化が雑種形成をさまたげれば種分化に至るが、交雑による遺伝子流動が強ければ分集団は再び融合する。ここでカギとなるのは、雑種形成に対してはたらく淘汰である。これに関して、形態の不一致によって雌雄の交尾器が破損し、雑種形成がさまたげられること（機械的隔離；雑種形成に対する負の淘汰）、交配後隔離が弱い場合、ミトコンドリア DNA 等には淘汰が働かず広く浸透することを明らかにしてきた。一般に、生殖隔離の関連遺伝子には、種間の浸透をさまたげるような淘汰が働くとされる。しかし、申請者の最新の解析結果では、交尾器形態の異なるイワキオサムシとマヤサンオサムシの交雑帯で、交尾の際に傷つきにくい形態（細く短いオス交尾器、広く深いメス交尾器）に関わるアリルが有利となり、それらが積極的に浸透している複数の例が発見された。この結果は、従来の考え方は単純すぎる仮定である可能性を示している。よって、種分化の仕組みをゲノムレベルで理解するには、生殖隔離に関わる遺伝子に働く淘汰を、より詳細かつ広範に調べる必要がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、オオオサムシ類近縁種の二次的接触域ではたらく自然淘汰を（1）表現型レベルと（2）ゲノムレベルの両面から明らかにする。二つの異なるレベルの結果を比較することで、表現型レベルでは見過ごされやすい自然淘汰の作用と進化的反応を、個々の遺伝子のレベルで詳細に解明する。形質分化と二次的接触の様式が異なる（交雑～側所分

布～共存）複数の近縁種ペアを比較し、自然淘汰の強さや形と、種分化の進行度との関係を解明することを目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) 表現型レベルの解析：

交尾器形態に作用する自然淘汰の検出

二次的接触域においてはたらく自然淘汰は、形態のミスマッチによって交尾器が傷つき、繁殖適応度が低下することによって生じる。これを検出するために、繁殖前の集団と繁殖後の集団で交尾器形態を比較し、交尾器が破損した個体の頻度（自然淘汰の強さ）と、正常個体における形質分布の変化（自然淘汰の形や方向）を検討する。

交尾器形態に作用する性淘汰の検出

性淘汰はそれぞれの種内ではたらく、交尾器形態の種間分化をもたらすと考えられる。近縁種間で異なる形の淘汰がはたらいっているかを実測するため、メスが多回交尾する状況下で、雌交尾器内で生じる精包置換の正否に關与する交尾器形態の変異を検討する。

二次的接触域の環境に起因する自然淘汰の検出

二次的接触域の形成と維持には、交尾器形態の不一致により生じる淘汰に加えて、各種が外部環境へ適応した結果として生じる淘汰もはたらく。近縁種間の接触域ではたらく環境依存の自然淘汰を検出するため、GIS に基づく生息地環境の定量と生態ニッチモデリングによる統計的評価を行う。

### (2) ゲノムレベルの解析：交尾器関連遺伝子に作用する自然淘汰の解析

遺伝子レベルで働く自然淘汰は、単一の遺伝子機能に作用するだけではなく、ゲノム内の他の遺伝子との相互作用に対しても働く（エピスタシス淘汰）。このような効果を検出可能なゲノムクライム解析を行い、個々の遺伝子に作用する淘汰の強さと形を、ゲノム組成と関連させつつ定量する。調査する遺伝子座は、交尾器形態 QTL 近傍のマーカー遺伝子座とし、中立と考えられる非連鎖マーカー遺伝子座を対照として加える。

## 4. 研究成果

### (1) 表現型レベルの解析：

交尾器形態に作用する自然淘汰の検出

3年間を通じて、以下の回数の現地調査を行い、繁殖期前後のサンプルを得た。

- ・ウガタオサ孤立個体群：8回
- ・タキハラオサ孤立個体群：8回
- ・イナオサ交雑由来個体群：3回
- ・アゲマツオサ交雑由来個体群：2回

これらのサンプルについては、現在形態の測定を進めている。

これに加えて、アオオサーシズオカオサ共存域個体群について、種間交配実験に基づく生殖隔離の定量を行った。その結果、種間分化した交尾器形態による機械的生殖隔離が、種間の主要な隔離機構であることを明らかにした(論文発表)。

#### 交尾器形態に作用する性淘汰の検出

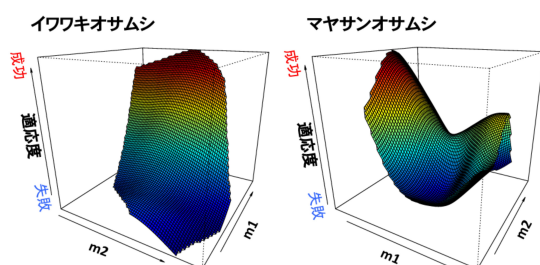
マヤサンオサムシ(神戸個体群)とイワワキオサムシ(鈴鹿個体群)を用いて、2回交尾実験による精包置換成功率の推定と、それに関わる交尾器形態変異の特定を行った。

陰茎と交尾片の各部位を直線距離によって測定し、精包置換との関連を選択勾配分析によって検討したところ、両種ともに陰茎が長い方が精包置換率が高いことが明らかになったが、交尾片には有意な選択は検出されなかった。

次に、各部位の形態変異を幾何学的形態測定学手法によってより詳細に定量することを試みた。物体の輪郭をとらえることができるセミランドマーク法を用い、得られたデータを薄板スプライン法と相対ひずみ解析によって数値化した。これらの数値について、再び精包置換率との関連を検討したところ、各部位に非線形な淘汰がはたらいていることが見いだされた。イワワキオサムシでは交尾片形態に方向性淘汰がはたらいていることに加え、交尾片のサイズには安定化淘汰、形状には分断淘汰が検出された。マヤサンオサムシでも交尾片に安定化淘汰が検出され、さらに交尾片と陰茎との間に相関した淘汰が検出された。

これらの結果から、以下の点が明らかになった。まず、交尾片のサイズには共通して安定化淘汰が検出されたことから、極端な交尾器サイズは不利であるという先行研究(Eberhard et al. 1998 等)の指摘を直接検証するデータを示すことができた。次に、より発達した交尾片を持つマヤサンオサムシで複数の部位間での相関した淘汰が検出されたことから、この種では陰茎と交尾片を組み合わせて精包置換を行っているらしいこと、さらに、交尾器形態の特殊化には、このような交尾器の使い方の変化(機能シフト)が関わっているらしいことを明らかにした。

2種の交尾器にはたらく性淘汰を可視化すると、より発達したマヤサンオサムシではより複雑な形の淘汰を見ることができた(下図)。このような種によって異なる形の性淘汰(多様化性淘汰)が交尾器の多様化を生み出し、種間の生殖隔離をもたらすことで種分



化を推し進めている可能性が示された。

#### 二次的接触域の環境に起因する自然淘汰の検出

マヤサンオサムシとイワワキオサムシの分布域全域からの在データを文献より収集し、GISを用いて生息環境の定量的評価を行った。その結果、2種の接触域の環境は両親種の環境の中間ではなく、高気温と低降水量に特徴づけられるオサムシにとって棲みにくい環境であることが明らかとなった。また、接触域では地形的湿潤度指数が高い地点に生息していることから、乾燥環境においてはより水の集まりやすい地点に集団が成立しやすいことが明らかとなった。この結果は、環境の谷(environmental trough)が交雑帯をトラップするという tension zone model (Barton & Hewitt 1985) の予測を支持する結果であった。

次に、それぞれの種の単独分布域と接触域について、MaxEntにより生態ニッチモデルを構築し、ENMToolsによって統計的に比較した。その結果、2種の間には一貫したニッチ分化が生じており、それは接触域においても維持されていた。また、種内では単独分布域と接触域の間でニッチが保持されている傾向が見られた。これは、2種間の生態的分化が接触域の動態に影響しているとともに、生殖隔離の一部としてはたらいていることを示唆するものであった。

以上の2点より、マヤサンオサムシとイワワキオサムシの種分化には、環境適応に関わる自然淘汰が関与していることが明らかとなった。

#### (2)ゲノムレベルの解析: 交尾器関連遺伝子に作用する自然淘汰の解析

(1)で示したように、野外調査によって得られたサンプルよりDNA抽出を進めている。当初はマイクロサテライト遺伝子座を用いた解析を行う予定であったが、研究期間中に次世代シーケンサーを用いた大規模解析の手法が急速に発展し、費用対効果の面でもより有利であると判断される状況になったため、RAD-Seq法による遺伝子型データ取得に切り替える決断を行った。

これまでにRAD-Seqライブラリ構築のための設備と試薬を準備し、ライブラリの調整を試験的に開始している。今後はこの作業を進め、当初の目的通りのゲノムクライン解析を行う予定である。

#### 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)

(雑誌論文)(計10件)

Uchida, K., Shinohara, T., Takahashi, S., Nakahama, N., Takami, Y. and Ushimaru, A. 2015. Rediscovery of *Celes akitanus* (Orthoptera,

Acrididae) from semi-natural grasslands in Japan. *Entomological Science*, in press. (査読あり)

Tsutsui, Y., Maeto, K., Hamaguchi, K., Isaki, Y., Takami, Y., Naito, T. and Miura, K. 2014. Apomictic parthenogenesis in a parasitoid wasp *Meteorus pulchricornis*, uncommon in the haplodiploid order Hymenoptera. *Bulletin of Entomological Research*, 104: 307-313. (査読あり) DOI: 10.1017/S0007485314000017

Hayashi, N. and Takami, Y. 2014. Inhibition of female mating by male accessory gland substances in the ground beetle *Leptocarabus procerulus*. *Physiological Entomology*, 39: 12-18. (査読あり) DOI: 10.1111/phen.12042

岩崎貴也, 阪口翔太, 横山良太, 高見泰興, 大澤剛士, 池田紘士, 陶山佳久. 2014. 生物地理学とその関連分野における地理情報システム技術の基礎と応用. *日本生態学会誌*, 64: 183-199. (査読あり)

Kobayashi, Y., Niikura, K., Oosawa, Y. and Takami, Y. 2013. Embryonic development of *Carabus insulicola* (Insecta, Coleoptera, Carabidae) with special reference to external morphology and tangible evidence for the subcoxal theory. *Journal of Morphology*, 274: 1323-1352. (査読あり) DOI: 10.1002/jmor.20181

Yamamoto, J., Uchida, K. and Takami, Y. 2013. Colonization and persistence of urban ant populations as revealed by joint estimation of kinship and population genetic parameters. *Journal of Heredity*, 104: 639-648. (査読あり) DOI: 10.1093/jhered/est041

Kubota, K., Miyazaki, K., Ebihara, S. and Takami, Y. 2013. Mechanical reproductive isolation via divergent genital morphology between *Carabus insulicola* and *C. esakii* with implications in species coexistence. *Population Ecology*, 55: 35-42. (査読あり) DOI: 10.1007/s10144-012-0335-4

Tsuchiya, Y., Takami, Y., Okuzaki, Y. and Sota, T. 2012. Genetic differences and phenotypic plasticity in body-size between high- and low-altitude populations of the ground beetle *Carabus tosanus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 25: 1835-1842. (査読あり) DOI: 10.1111/j.1420-9101.2012.02568.x

奥崎穰, 高見泰興, 曾田貞滋. 2012. 同所的オオオサムシ亜属種間の体サイズ差の意味: 資源分割よりも必要とされる生殖隔離. *日本生態学会誌*, 62: 275-285. (査読あり)

Okuzaki, Y., Takami, Y., Tsuchiya, Y. and Sota, T. 2012. Mating behavior and the function of male genital spine in the ground beetle *Carabus clathratus*. *Zoological Science*, 29: 428-432. (査読あり) DOI: 10.2108/zsj.29.428

〔学会発表〕(計7件)

高見泰興・福原知彦・横山潤・河田雅圭  
「性的対立の人口学的帰結: 雌雄交尾器の不均衡が集団サイズを低下させる」日本進化学会第16回大会ワークショップ「適応進化の視点から高次の生態学的動態を再考する」(2014/8/21, 高槻)

高見泰興・福原知彦・横山潤・河田雅圭  
「性的対立の人口学的帰結: 雌雄交尾器の不均衡が集団サイズを低下させる」第61回日本生態学会大会(2014/3/14-18, 広島)

高橋颯吾・高見泰興「オオオサムシ亜属の雌雄交尾器形態変異に基づく進化仮説の検証」日本動物行動学会第32回大会(2013/11/29-12/1, 広島)

高見泰興・林直緒「クロナガオサムシの再交尾抑制をもたらす精液物質は濃すぎると効かない」日本動物行動学会第32回大会(2013/11/29-12/1, 広島)

丸山航・高見泰興「多様な交尾戦略を持つオオオサムシ亜属の雄の精子投資調節」日本動物行動学会第32回大会(2013/11/29-12/1, 広島)

丸山航, 高見泰興「イワキオサムシにおける雄の戦略的射精と父性獲得」第60回日本生態学会大会(2013/3/5-9, 静岡)

丸山航, 高見泰興「イワキオサムシにおける雌の交尾経験に対応した雄の投資調節」日本動物行動学会第31回大会(2012/11/23-25, 奈良)

〔図書〕(計1件)

高見泰興. 2013. オオオサムシ亜属の交尾器と交尾行動(pp. 43-88) / 精子束の多様性(pp. 89-94) / クロナガオサムシの交尾戦略(pp. 175-187). In 新オオサムシ学ー生態から進化までー(曾田貞滋編, 211 pp.). 北隆館, 東京.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高見 泰興 (TAKAMI, Yasuoki)

神戸大学・大学院人間発達環境学研究所・准教授

研究者番号: 60432358