

連続的に蓄積する遺伝的不和合性と側所的種分化

Speciation despite gene flow

when genetic incompatibility accumulates continuously

九州大学大学院 システム生命科学府 山口 諒

九州大学理学部 生物科学部門 巖佐 庸

Ryo Yamaguchi^a, Yoh Iwasa^b

^aGraduate School of System Life Sciences, Kyushu University

^bDepartment of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University

1. はじめに

種分化は生物学的種が 1 種類から 2 種類以上へと分化するプロセスであり、生物の種多様性の創出要因として重要である。一般的な種分化様式では、まず 1 種からなる集団の地理的分断が起こったのち、形成された 2 集団が独自の突然変異を蓄積することで生殖隔離が成立、すなわち種分化が達成される (Endler 1977; Avise 2000)。一方、集団間に移入と交配が起こる場合には遺伝子流動によって種分化は抑制される。これまでの代表的な数理モデルでは集団間の遺伝的差異の程度として遺伝的距離を導入し、遺伝的距離が突然変異によって増加、遺伝子流動によって減少する、バイアスのある一次元ランダムウォークとしてその動態が考察されてきた (Gavrilets 2000; Yamaguchi and Iwasa 2013)。これらのモデルでは、種分化は遺伝的距離が一定の閾値に到達した場合に起こり、閾値を超えていない場合は集団間で問題なく交配が成立すると仮定される。

実際の集団分化では完全に中立な遺伝子の蓄積よりも連続的に不和合成が蓄積する場合が多く、交雑個体の適応度が徐々に下がることで遺伝子流動自体も抑制されていく。近年、変異の蓄積に伴う適応度の減少程度は様々な種間あるいは形質依存的に調べられてきた (Gourbière and Mallet 2009)。不和合成の蓄積様式の例としては、1 つの塩基置換に対して一定の不和合成が徐々に蓄積していく linear model、変異が蓄積するにつれエピスタシスにより不和合成が急激に増大していく snowball model、変異蓄積の初期において顕著なエピスタシスがみられる slowdown model などがある。

一方で、それら不和合成の蓄積様式が種分化ダイナミクスに与える影響は研究されてこなかった。本稿ではまず中立遺伝子の仮定 (閾値モデル) を導入し、それを拡張するかたちで、遺伝的距離の上昇に応じて集団間の不和合成も連続的に増加していくモデルを紹介する。不和合成の蓄積様式としては上記 3 種類に加え、閾値モデルのステップワイズ関数を滑らかにしたシグモイド関数を取り上げる。遺伝的距離は確率過程として扱い、確率微分方程式および個体ベースモデルによる解析を行う。遺伝的距離はその初期において増加し、突然変異と遺伝子流動のバランスで決定される安定平衡点に到達するが、確率的に不安定平衡点に到達することでさらなる遺伝的距離の増加が引き起こされた。これは集団間の移入があってもなお集団の分化が促進されることを示しており、不和合性の蓄積様式を決める関数および確率的浮動が種分化のダイナミクスを大きく変えることが示唆される。

2. 閾値モデル

分断化直後の同種 2 集団を考え、集団間の遺伝的差異の程度として遺伝的距離 x を考える。この生物集団は世代間にオーバーラップが無く、Wright-Fisher 過程 (Crow and Kimura 1970) で有性生殖を行う一倍体生物で

あるとする。生殖隔離形質をコントロールする遺伝子座の数を l としたとき、2 集団間で異なる遺伝子座の割合が z ($0 \leq z \leq 1$) に相当する。この z がある閾値 z_c に到達した時に種分化が起こるとし、閾値以下である場合には集団間で問題なく交配が成立すると仮定する。集団間の交配成功確率を $w(z)$ とすると、

$$w(z) = \begin{cases} 1, & \text{for } z < z_c, \\ 0, & \text{for } z \geq z_c, \end{cases} \quad (1)$$

である。時間経過に伴う集団間での突然変異の蓄積は、遺伝子座あたりの突然変異率 u を用いて

$$\Delta z = \begin{cases} \frac{1}{l}, & \text{with probability } 2ul(1-z)\Delta t, \\ 0, & \text{with probability } 1 - 2ul(1-z)\Delta t, \end{cases} \quad (2)$$

のように表せる。同じ突然変異は存在せず、集団間ですでに異なる対立遺伝子を持っている遺伝子座に変異が起こっても遺伝的距離は増加しない。また各集団サイズ N は $N \ll 1/u$ を満たし、常に単型であると仮定する (Kimura and Ohta 1969a)。

続いて集団間で移入が起こった場合の遺伝的距離の変化を考える。一方の集団から他方へ移入が起こり、なおかつ移入個体が交配に成功した ($z < z_c$) とすると遺伝的距離は減少する。移入成功率を m 、移入個体数を N' とした移入先におけるその割合 $\varepsilon = N'/(N+N')$ とおくと、移入イベントによる遺伝的距離の減少は

$$\Delta z = \begin{cases} -\frac{k}{l}, & \text{with probability } 2m \binom{lz}{k} \varepsilon^k (1-\varepsilon)^{lz-k} \Delta t, \\ 0, & \text{with probability } 1 - \sum_k 2m \binom{lz}{k} \varepsilon^k (1-\varepsilon)^{lz-k} \Delta t, \end{cases} \quad (3)$$

である。中立対立遺伝子の固定確率は集団内での初期頻度 ε に等しい (Kimura 1968)。 m は十分に小さいとし、両方向同時の移入は考慮しない。また移入先集団に侵入した対立遺伝子はすぐに固定して集団は単型に保たれる (Kimura and Ohta, 1969b)。これらの確率過程は3つの確率性: 突然変異が起こるタイミング、移入が起こるタイミング、移入個体の遺伝子が相手集団に広まるかどうか、を含む。遺伝的距離のダイナミクスがこれら各要素のポアソン過程へのシンニングであることを用いて、以下で確率微分方程式を用いた記述を行う。

遺伝的距離の変化はその増加 $\Delta z_{\text{accumulation}}$ と減少 $\Delta z_{\text{migration}}$ に分解できるので、

$$\Delta z = \sum_{i \in A, B} (\Delta z_i)_{\text{accumulation}} + \sum_{j \in AB, BA} (\Delta z_j)_{\text{migration}} \quad (4)$$

である。ここで2つの集団について各集団を A および B とし、 i は突然変異の起こる集団、 j は移入の起こる方向を示す ($A \rightarrow B$ であれば AB)。まず遺伝的距離の増加について、集団 A において集団 B とシェアしている対立遺伝子に突然変異が起きる過程はポアソン分布に従うので、

$$(\Delta z_A)_{\text{accumulation}} = u(1-z)\Delta t + \sqrt{\frac{u(1-z)}{l}} \Delta W_A \quad (5)$$

を得る。但し W_A は平均 0、分散 Δt に従う確率変数である。同様にして集団 B において突然変異が蓄積する場合も求まる。続いて移入イベントによる遺伝的距離の減少を考える。ある時間 Δt の間に集団 A から B へ M 回移入が成功したとすると、この時の成功回数 M は平均 $m\Delta t$ のポアソン分布に従う。さらに各移入イベント時の遺伝的距離の減少は二項分布 $B(z, \varepsilon)$ に従う。ここで一度の移入イベントによる変化量の時系列 Y_h ($h = 1, \dots, M$) を考える。このとき、

$$(\Delta z_{AB})_{\text{migration}} = \sum_{h=1}^M Y_h \quad (6)$$

であり、時間 Δt における遺伝的距離の減少は複合ポアソン分布に従う。すなわち

$$\begin{aligned} E[(\Delta z_{AB})_{\text{migration}}] &= E[M]E[Y_h] \\ &= m\Delta t \cdot z\varepsilon \end{aligned} \quad (7)$$

$$\begin{aligned} \text{Var}[(\Delta z_{AB})_{\text{migration}}] &= E[m] \left(\text{Var}[Y_h] + E[Y_h]^2 \right) \\ &= m\Delta t \cdot \{z\varepsilon(1-\varepsilon)/l + (z\varepsilon)^2\} \end{aligned} \quad (8)$$

であるから、 W_0^{AB} および W_1^{AB} をそれぞれ独立で平均 0、分散 Δt に従う確率変数とすると

$$(\Delta z_{AB})_{\text{migration}} = - \left(m\Delta t + \sqrt{m\varepsilon z} \Delta W_0^{AB} + \sqrt{\frac{mz\varepsilon(1-\varepsilon)}{l}} \Delta W_1^{AB} \right) \quad (9)$$

を得る。同様にして集団 B から集団 A への移入も定式化できる。よって遺伝的距離のダイナミクスは

$$\begin{aligned} \Delta z &= \left(u(1-z)\Delta t + \sqrt{\frac{u(1-z)}{l}} \Delta W_A \right) + \left(u(1-z)\Delta t + \sqrt{\frac{u(1-z)}{l}} \Delta W_B \right) \\ &\quad - \left(m\varepsilon z\Delta t + \sqrt{m\varepsilon z} \Delta W_0^{AB} + \sqrt{\frac{mz\varepsilon(1-\varepsilon)}{l}} \Delta W_1^{AB} \right) \\ &\quad - \left(m\varepsilon z\Delta t + \sqrt{m\varepsilon z} \Delta W_0^{BA} + \sqrt{\frac{mz\varepsilon(1-\varepsilon)}{l}} \Delta W_1^{BA} \right) \end{aligned} \quad (10)$$

のようになる。ここで W_A 、 W_B 、 W_0^{AB} 、 W_0^{BA} 、 W_1^{AB} 、 W_1^{BA} はそれぞれ独立で平均 0、分散 Δt に従う確率変数であり、最初と 2 番目の括弧内は各島内の突然変異蓄積による遺伝的距離の増加である。3 番目の括弧内は集団 A から集団 B へ移入が起きた場合の遺伝的距離の減少を表す。4 番目の括弧内は同様にして集団 B から集団 A への移入時に対応する。すべての確率性を無視した場合は以下のような Yamaguchi and Iwasa(2013) の決定論モデルに帰着される。

$$\Delta z = 2u(1-z)\Delta t - 2m\varepsilon z\Delta t \quad (11)$$

$\Delta t \rightarrow 0$ として、 $z(0) = 0$ の初期条件で微分方程式を解くと

$$z(t) = \frac{u}{u+m\varepsilon} (1 - \exp[-2t(u+m\varepsilon)]) \quad (12)$$

を得る。平衡状態における遺伝的距離の値 z^* は

$$z^* = \frac{u}{u+m\varepsilon}. \quad (13)$$

遺伝的距離が任意の種分化の閾値 z_c ($z_c > 0$) に到達するまでの待ち時間 τ は

$$\tau = \begin{cases} \frac{z^*}{2u} \ln \left(\frac{z^*}{z^* - z_c} \right), & \text{for } z_c < z^*, \\ 0, & \text{for } z_c \geq z^*, \end{cases} \quad (14)$$

と計算される。決定論近似の場合は、閾値が平衡値以下の時にのみ種分化が達成され、それ以外の時には種分化は起こらないことを示している。

3. 拡散近似

前章の決定論近似とは異なり、式 (2) および (3) で表される遺伝的距離の離散確率過程は閾値が平衡値以上の場合にも確率的に到達することが可能である。本章では先の離散確率過程を連続に近似することで、遺伝的距離の確率密度分布および平衡値以上も含む任意の閾値への平均到達時間を定式化する。

3.1 定常分布

遺伝的距離の確率密度関数を $p(z, t)\Delta z = \Pr[z < z(t) < z + \Delta z]$ とすると、これは以下のコルモゴロフの前進方程式（フォッカー・プランク方程式）を満たす。

$$\frac{\partial p(z, t)}{\partial t} = - \frac{\partial}{\partial z} (M(z)p(z, t)) + \frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial z^2} (V(z)p(z, t)) \quad (15)$$

ただしここで、

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{1}{\Delta t} E[\Delta z] = M(z) = 2(1-z) - 2m\epsilon z \quad (16)$$

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{1}{\Delta t} E[(\Delta z)^2] = V(z) = \frac{2}{l} \{(1-z)u + m\epsilon z(1-\epsilon + \epsilon lz)\} \quad (17)$$

である。定常状態で分布 $\hat{p}(z)$ が存在するなら、 $\frac{\partial p(z,t)}{\partial t} = 0$ を満たす。よってコルモゴロフの前進方程式は z に関する常微分方程式に書き直すことができ、

$$0 = -\frac{d}{dz}(M(z)\hat{p}(z)) - \frac{1}{2} \frac{d}{dz}(V(z)\hat{p}(z)) \quad (18)$$

を得る。さらに変形して

$$2M(z) = \frac{1}{\hat{p}(z)} \frac{d}{dz}(V(z)\hat{p}(z)) \quad (19)$$

であることから、

$$\frac{2M(z)}{V(z)} = \frac{d}{dz} \ln(V(z)\hat{p}(z)) \quad (20)$$

とできるので、両辺積分することで以下のように定常分布を得る。

$$\hat{p}(z) = \frac{C_0}{V(z)} \exp\left(2 \int_z \frac{M(x)}{V(x)} dx\right) \quad (21)$$

ここで C_0 は $\hat{p}(v)$ を確率密度関数にする定数を表す。

3.2 平均待ち時間

続いて遺伝的距離の初期値 z_0 から種分化までの閾値 z_c までの平均待ち時間を定式化する。 $v(z, t) = \Pr(z \text{ hits fixation point within } t \mid z(0) = z_0)$ と定義すると、これは以下のコルモゴロフの後退方程式

$$\frac{\partial v(z, t)}{\partial t} = M(z) \frac{\partial v(z, t)}{\partial z} + \frac{1}{2} V(z) \frac{\partial^2 v(z, t)}{\partial z^2} \quad (22)$$

を満たす。さらに任意の閾値 z_c までの平均到達時間 $T(z)$ を以下のように定義する。

$$T \equiv E[\text{first passage time to } z_c \mid z(0) = z_0] = \int_0^\infty t \frac{\partial v(z, t)}{\partial t} dt. \quad (23)$$

コルモゴロフの後退方程式をこの $T(z)$ を含む形の方程式に変形する。(22) 式の両辺に $\frac{\partial}{\partial t}$ 、 $\times t$ 、 $\int_0^\infty$ を順に作用させると、

$$\int_0^\infty t \frac{\partial^2 v(z, t)}{\partial t^2} dt = \int_0^\infty t \frac{\partial}{\partial t} \left(M(z) \frac{\partial v(z, t)}{\partial z} + \frac{1}{2} V(z) \frac{\partial^2 v(z, t)}{\partial z^2} \right) dt. \quad (24)$$

ここで境界条件および初期条件として $v(z_c, t) = 1$ ($t > 0$)、 $v(z, 0) = 0$ ($0 \leq z < z_c$)、 $v(z, \infty) = 1$ に注意し、式 (24) 右辺の偏微分順序は可換であることを用いると、

$$1 + M(z) \frac{dT(z)}{dz} + \frac{1}{2} V(z) \frac{d^2 T(z)}{dz^2} = 0 \quad (25)$$

と $T(z)$ に関する常微分方程式を導くことが出来る。以降では (25) 式を $T(z)$ について解くことを考える。ここで $L(z) = -\frac{dT(z)}{dz}$ とおくと (17) 式は

$$1 - M(z)L(z) - \frac{1}{2} V(z) \frac{dL(z)}{dz} = 0 \quad (26)$$

と書き直せる。さらに $\frac{2M(z)}{V(z)} = R(z)$ とおいて

$$\frac{dL(z)}{dz} + R(z)L(z) = \frac{2}{V(z)} \quad (27)$$

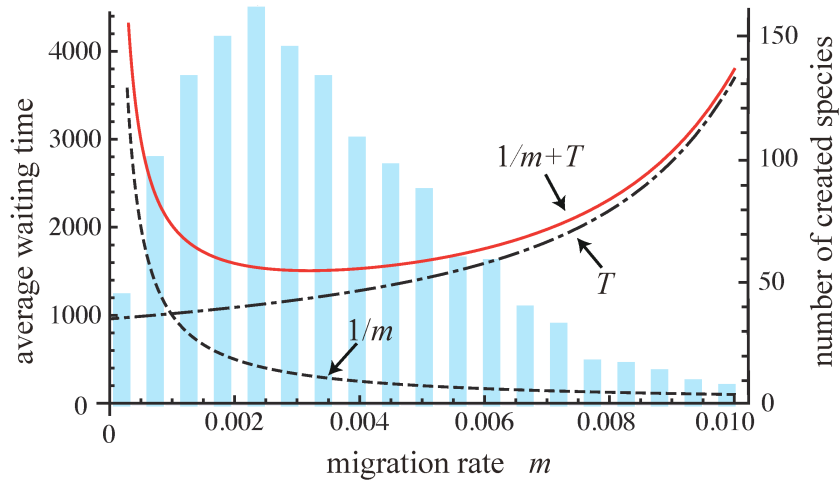


図1 種分化までの待ち時間 T 、新たな異所集団を作るための移入イベントのインターバル $1/m$ と種形成率。棒グラフは個体ベースモデルにおいて一定時間後に2つの島上で形成された種の合計数であり、 T と $1/m$ の和である実線が最も小さいところで効率よく種が形成されていると考えられる。

と変形したのち、両辺に $e^{\int R(z)dz}$ をかけて

$$\frac{d}{dz} \left(L(z) e^{\int R(z)dz} \right) = e^{\int R(z)dz} \frac{2}{V(z)}. \quad (28)$$

これを解いて

$$L(z) = \int_0^z \frac{2}{V(x)} e^{-\int_x^z \frac{2M(y)}{V(y)} dy} dx. \quad (29)$$

よって初期値 z_0 から閾値 z_c に到達するまでの平均待ち時間は

$$T = \int_{z_0}^{z_c} \int_0^z \frac{2}{V(x)} e^{-\int_x^z \frac{2M(y)}{V(y)} dy} dx dv \quad (30)$$

で表される。この定式化は個体ベースモデルから推定される種分化までの平均待ち時間とも一致する。

ここでは2集団が初めて別種になるまでの時間を定式化したが、さらに繰り返し起こる側所的種分化を考える。シナリオの例としては、2つの島に分断された2集団が存在し、側所的種分化によって2種になる。その後これらの種の性質によりさらなる移入が起これと、島では異なる2種が会うこととなるが、生殖隔離が成立しているため形質置換や棲み分けなどにより共存すると仮定する。するとその結果として新たな側所集団が形成され、次の側所的種分化の機会を生み出す。図1が示すように、移入頻度は繰り返し起こる側所的種分化において拮抗する2つの効果をもたらす。1つは移入頻度の増加による遺伝的距離の減少であり、これは種分化までの平均待ち時間（式(30)）を増加させる。2つ目は移入頻度の増加による側所集団創出機会の増加である。つまり、移入が全く起きなければ2種になるまでの時間は早いですがそれ以上の種形成は続かず、移入頻度が高ければ種分化自体が起これにくくなり、結果として中間の移入率において種形成率が最大化される。

4. 不和合性蓄積に関する拡張モデル

これまでの種分化閾値モデルは中立突然変異の蓄積とその遺伝子流動を考えてきた。その拡張として突然変異の蓄積が集団間の連続的な不和合性蓄積に貢献するモデルを考える。具体的には(1)で与えた集団間の交配成功確率 $w(z)$ を z の滑らかな単調減少関数とする。遺伝的距離の増加に従い集団間の交配成功確率は低下し、

遺伝子流動は抑制される。本稿では以下の4パターンの不和合性蓄積様式を取り上げる。

$$w(z) = \begin{cases} 1 - \left(\frac{z}{z_c}\right)^a, & \text{for } z < z_c, \\ 0, & \text{for } z \geq z_c, \end{cases} \quad (31)$$

式(31)は3パターンの不和合性蓄積様式を表現している: (i) $a = 1$ のとき、1つの突然変異がその起こる順序に関わらず同等に不和合性へ貢献する linear model、(ii) $0 < a < 1$ のとき、変異蓄積の初段階において不和合性の増加が大きい slowdown model、(iii) $a > 1$ のとき、変異の蓄積に従ってエピスタティックに不和合性が増加していく snowball model である。また閾値モデルの不和合性発現を滑らかにした (iv) sigmoid model を以下に定義する。

$$w(z) = \begin{cases} 1 - C_1 \frac{z^a}{z_0^a + z^a}, & \text{for } z < z_c, \\ 0, & \text{for } z \geq z_c, \end{cases} \quad (32)$$

このとき z_0 は不和合性を 50% とするような遺伝的距離の値であり、 $z_0 < z_c$ を満たすとともに、 a はシグモイド関数の勾配をコントロールする。 $C_1 = (z_0^a + z_c^a) / z_c^a$ であり、(i)~(iv) のすべての交配確率関数は $w(0) = 1$ および $w(z_c) = 0$ を満たす。実際にはある集団内の1個体に突然変異が起きた場合、その個体と集団内の他個体との遺伝的距離が $1/l$ であるが、ここでは遺伝子座数が十分に大きいとして $w(1/l) \approx w(0) = 1$ が成立するとする。この問題は個体ベースモデルを扱う場合には注意が必要であり、5章で議論する。

遺伝的距離の増加による遺伝子流動の抑制は、移入によって持ち込まれる対立遺伝子の減少として表される。Bengtsson (1985) は "gene flow factor" として移入個体の対立遺伝子が中立の場合に比べてどれだけ適応度が低いかを取り上げた (Gavrilets 2004)。これは本モデルにおける集団間の交配成功確率 $w(z)$ であり、以下のよう
に有効遺伝子流動量として ε_e を定義する。

$$\varepsilon_e = w(z)\varepsilon. \quad (33)$$

中立遺伝子モデルの式(3)において ε を ε_e としたのが連続的に不和合性が蓄積するモデルと対応する。

5. 不和合性蓄積様式と種分化動態

図2は各遺伝的不和合性の蓄積様式に対する遺伝的距離の動態を示す。linear model や sigmoid model のように安定平衡点と不安定平衡点が近い場合には、安定平衡点付近で浮動している遺伝的距離が確率的に不安定平衡点へ到達することで分化が促進される。これは変異の蓄積と遺伝子流動のバランスで安定平衡点が存在するものの、一定以上遺伝的距離が離れた場合には交配確率低下による遺伝子流動の減少によって分化が止まらなくなることを意味している。一方、slowdown model では変異蓄積の初期段階から遺伝子流動を減少させる効果が強いので、100% の分化までスムーズに到達する。また slowdown model では反対に、遺伝子流動が初期の変異蓄積によって妨げられることがほとんど無いため、遺伝的距離の動態が最初の安定平衡点に捕われてしまい、さらなる分化は引き起こされない。

個体ベースモデルによる集団内の遺伝的距離、つまり集団内における変異の多様性を見ると、変異の蓄積に伴う選択圧が弱い不和合性蓄積様式ほど大きな多様性が維持されていると分かる。具体的には $w(1/l)$ や $w(2/l)$ の時点で交配確率が大きく下がってしまうと、集団内でその変異を持つ個体は初期状態で必ず1個体であるため、その対立遺伝子が集団内に広がる可能性は低い。よって変異蓄積初期における適応度低下が大きい場合は各集団での分化自体が抑制されるため、集団間の遺伝的距離の増加も抑えられることになる。

これらの要因を総合的に考えると、以下の理由により linear model および sigmoid model で表される不和合性蓄積関数が種分化を促進しやすいと思われる。slowdown model では集団内の変異蓄積が抑制されることが多く集団間遺伝的距離の増加に結びつかない。さらに snowball model では集団内変異の蓄積は許されるものの、集団間の遺伝子流動が十分に抑制されず、分化が促進されない。これら2つの蓄積様式はそれぞれ集団内および集団間の異なる理由により種分化がほかの2つの蓄積様式よりも起きづらいと予想される。

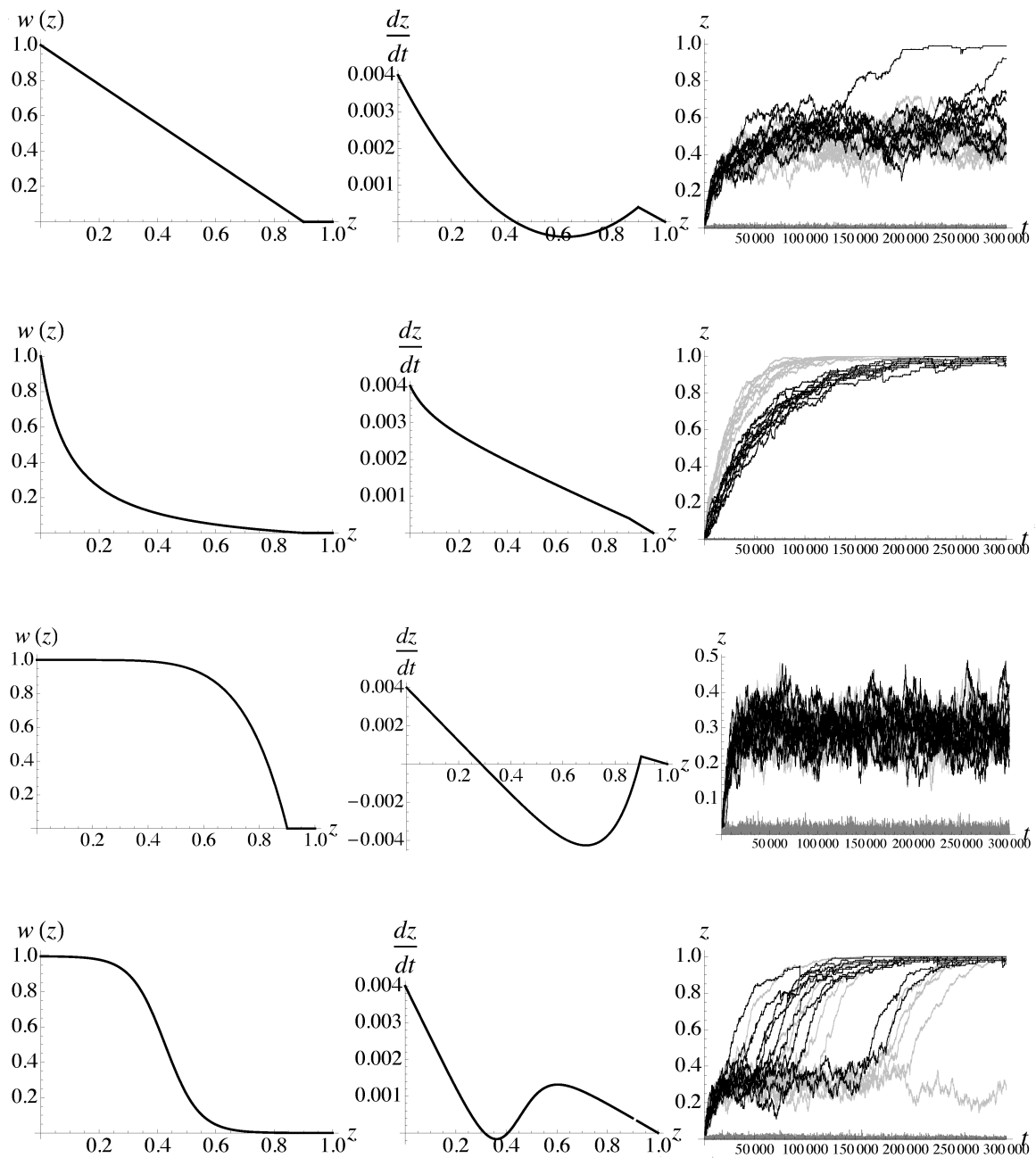


図2 不和合性の蓄積様式と種分化動態。1行目から順に、linear model($a=1$)、slowdown model($a=0.167$)、snowball model($a=6$)、sigmoid model($z_0=0.426, a=0.058$)。また1列目は遺伝的距離の増加に伴う交配確率関数、2列目は決定論近似による遺伝的距離の変化速度、3列目は世代に対する遺伝的距離の動態を示す。3列目において、黒線と横軸付近の灰色線は個体ベースモデル ($N=100$) による集団間遺伝的距離と集団内遺伝的距離を表し、黒線に沿う薄灰色線は確率微分方程式による集団間遺伝的距離を表す。その他のパラメータは $z_c=0.9$ 、 $u=0.00002$ 、 $m=0.005$ 、 $l=100$ 、 $\varepsilon=0.01$ である。

6. 考察と課題

本稿では種分化閾値モデルの拡張として、連続的に不和合性が蓄積するモデルを提示した。その結果、明示的に任意の閾値を与えたとしても、それ以前に不安定平衡点として分化の閾値の役割を果たす遺伝的距離の値が存在することが明らかになった。また、最終的に分化が促進され続けるかは不和合性の蓄積様式および確率性に大きく左右されることが予想される。

今後の課題としては、確率微分方程式で表される集団間遺伝的距離の動態に変異の蓄積速度の低下を取り込むことが挙げられる。例として図2の slowdown model における集団間分化のスピードについて、確率微分方程式による計算が個体ベースモデルのそれよりも明らかに速くなっているのは、集団内の突然変異に対する自然選択がはたらき、集団に単型を仮定する場合よりもその蓄積速度が遅いためであると考えられる。また分化のシナリオとして、ある時点で移入率が上昇するような地理的構造の変化があった場合に、分化が継続されるか、あるいは遺伝的距離が小さくなるかは興味深い問題である。本モデルの更なる解析によってこのような種分化の連続性に関わる問題が解明されることを期待したい。

7. 参考文献

1. Avise, J. C. 2000. *Phylogeography*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
2. Bengtsson, B. O. 1985. The flow of genes through a genetic barrier. In J. J. Greenwood, P. H. Harvey, and M. Slatkin, editors, *Evolution Essays in Honor of John Maynard Smith*, pages 31-42. Cambridge University Press, Cambridge.
3. Endler, J. A. 1977. *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
4. Gavrillets, S. 2000. Waiting time to parapatric speciation. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 2483–2492.
5. Gavrillets, S. 2004. *Fitness landscapes and the origin of species*. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ.
6. Gourbière, S. and J. Mallet. 2009. Are species real? The shape of the species boundary with exponential failure, reinforcement, and the “missing snowball”. *Evolutin* 64: 1-24.
7. Kimura, M. 1968. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* 217, 624–626.
8. Kimura, M. and Ohta, T. 1969a. The average number of generations until fixation of a mutant gene in a finite population. *Genetics* 61, 763–771.
9. Kimura, M. and Ohta, T. 1969b. The average number of generations until extinction of an individual mutant gene in a finite population. *Genetics* 63, 701–709.
10. Yamaguchi, R. and Y. Iwasa. 2013. First passage time to allopatric speciation. *Interface Focus* 2013 3: 20130026.