

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03020

研究課題名(和文)植物化石由来のDNA配列から復元する最終氷期以降の亜高山帯性樹木の生存・絶滅過程

研究課題名(英文) Survival and extinction of subalpine trees since the last glacial, reconstructed by fossil derived DNAs

研究代表者

渡辺 洋一 (Watanabe, Yoichi)

千葉大学・大学院園芸学研究院・助教

研究者番号：30763651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：数万年におよぶ日本の森林の分布変遷が現在の森林や個々の樹種にどのように影響しているか明らかにする一端として、亜寒帯性針葉樹種を対象に化石と現生個体のDNA変異の関係を解明することを試みた。コメツガを対象とした研究では、最終氷期最寒冷期(約2万年前)の地層から出土した化石のDNA配列がコメツガと一致したことを確認した。また、カラマツ北限集団を対象とした研究ではカラマツは単系統群を形成したが、他種との遺伝子浸透の可能性を検証する解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の生物の分布は過去の気候の変化や地理的な変化に対応して形成されたものであり、今後も生物の分布は変化し続ける。このような変化の中で生物は局所的な絶滅と生存を繰り返し、その結果として現在の生物多様性の地理分布が形成されている。過去の気候の変化とそれに伴う分布の変化を理解することは、今後さらに進むと予想される温暖化による生物への影響を評価する上でも重要である。

研究成果の概要(英文)：As part of clarifying how changes in the distribution of forests in Japan over tens of thousands of years have affected current forests and individual tree species, we will study the relationship between fossils and DNA mutations in modern individuals of subarctic coniferous species. tried to elucidate In a study on Japanese hemlock, we confirmed that the DNA sequences of fossils excavated from strata from the last glacial maximum (approximately 20,000 years ago) matched those of Japanese hemlock. In addition, although larch formed a monophyletic group in the study on the larch northern limit population, we are proceeding with the analysis to verify the possibility of gene infiltration with other species.

研究分野：森林遺伝学

キーワード：化石DNA マツ科 古分布 分布変遷 最終氷期

1. 研究開始当初の背景

生物の分布は中長期的な気候の変動を受けて変化(移動)しつつづけている。至近に生じた気候の大きな変化としては約 2 万年前の最終氷期最寒冷期があげられ、この時期には関東平野にカラマツやトウヒなどの亜寒帯性針葉樹が生育していた。このような気候の変化の中で植物は局所的な絶滅と生存を繰り返し、その結果として現在の生物多様性の地理分布が形成されている。過去の気候の変化とそれに伴う植物分布の変化を理解することは、今後さらに進むと予想される温暖化による生物への影響を評価する上でも重要である。その一方で、過去の植物分布の推定は産出が局所的かつ種同定の困難な植物の遺体(化石)から得るという手法に依存している。

近年、種同定の困難さや種内系統の移動を推定する研究のために、大型遺体(化石)から DNA を抽出し、DNA 配列の変異から種同定や種内系統の認識を行い現生の個体と比較する手法開発が現在の技術革新を利用しながら進んでいる。このような研究によって、過去の分布変化に伴う交雑が現生の集団に反映されているなど新たな知見が得られている。例えば、現生ヒト属はヒト 1 種であるが、化石人類としてネアンデルタール人などが知られている。これら 2 種の化石は同所的に産出することがなかったため、共存したとする根拠が薄かった。一方で、化石から DNA を抽出して現生人類の DNA 変異と比較することで、現生人類の一部系統はネアンデルタールと交雑していたことが判明した (Green et al., 2010)。

2. 研究の目的

申請研究は、植物分布の長期的な変化(変遷)を解明するための一助として、植物を対象に植物の古分布の推定を行い、大型遺体(化石)から DNA の抽出を試み、これらを現生の個体と比較することで、過去の分布変遷が現生の森林や個別の種にどのように影響を及ぼしているか解明することを目的とする。

申請研究では、大型植物遺体の産出が比較的多いマツ科に着目して研究を行う。

3. 研究の方法

ツガ属を対象とした種同定および種内系統の認識

日本にはツガ属は 2 種存在する。ツガは中間温帯を中心に分布し、コメツガは亜寒帯を中心に分布する。DNA 配列を用いた化石の種同定を行うため、比較的明瞭な種間変異を有する領域を葉緑体 DNA より探索し、プライマーを設計した。加えて、種内変異を有する領域をミトコンドリア DNA より探索し、プライマーを設計した。これらのプライマーを用いて現生個体で配列決定を行った後、化石サンプルでも配列決定を行った(図 1)。



図 1 : DNA 抽出に利用したツガ属の化石。コメツガと同定している。

カラマツ属を対象とした種間分布変遷と種間動態の推定

日本固有種の亜寒帯性針葉樹であるカラマツは、最終氷期には低地に広く分布していた。加えてこの時期には近縁種であるグイマツも北方より分布を広げ現在の山形県・宮城県あたりまで南下していたことが化石記録より確認されている。この地域は現在のカラマツ北限であるがこの地域のカラマツは球果形態が他と異なることが知られている。この変異の原因として、過去の 2 種の分布接触に伴い交雑が生じていたのではないかと仮説が提唱されているが、確証には至っていない。そこで、化石記録の整理を行い、最終氷期におけるグイマツの南限とカラマツの北限を検証すると共に、ロシア・日本よりカラマツ・グイマツおよびその近縁種のサンプルを収

集して遺伝解析を行った。

4. 研究成果

ツガ属を対象とした種同定および種内系統の認識

ツガ属を対象としたプライマー設計を行い(表1、表2)、化石サンプルでの配列決定を試みた。その結果、葉緑体 DNA を対象に設計したプライマーは化石での増幅に成功し、コメツガの配列を有していることが確認された。種内変異の検出を期待してミトコンドリア DNA を対象に設計したプライマーは化石での増幅が成功せず、化石と現生の間の種内変異の検出には至らなかった。

表1：葉緑体 psbA-trnH 遺伝子間領域において再設計したプライマー

プライマー名	配列(5'-3')	長さ(bp)	領域内の変異	化石使用
psbA-trnH				
psbA-1f	CATTTGACAGAGGTCCACGA	101	1ヶ所	
psbA-1r	TTGTATGTGGGTCGGTCTGA			
psbA-2f	GGGTGCTTTAACCATTCAGC	100	2ヶ所	
psbA-2r	GGTCCCGAATTACCCAATTT			
psbA-3f	AAATTGGGTAATTCGGGACC	83	3ヶ所	
psbA-3r	TCGTGGACCTCTGTCAAATG			

表2：ミトコンドリア nad5 遺伝子内領域において再設計したプライマー

プライマー名	配列(5'-3')	長さ(bp)	領域内の変異	出典
nad5				
nad5-1f	CCGTATGTCCGAACAGGATC	174	3ヶ所	
nad5-1r	AAAGTGGTGGAGAGGGGAAT			
nad5-2f	CACGGCTCACCAACTTGATA	216	3ヶ所	
nad5-3f	ATTCCCCTCTCCACCACTTT	119	6ヶ所	
nad5-4f	AAGGGTAACAACCACCGTATG	188	6ヶ所	
nad5-5f	CACCGTATGTCCGAACAGG	176	6ヶ所	
nad5-6f	ACCGTATGTCCGAACAGGAT	175	6ヶ所	
nad5-r	GCAATGATGTGGTACCCCA			Cun <i>et al.</i> (2015)

カラマツ属を対象とした種間分布変遷と種間動態の推定

カラマツのサンプル採取に加え、極東に分布するグイマツを含むカラマツ属近縁種のサンプル採取をロシアの研究者と協力して行った(図2)。実験は核ゲノム全体の配列をランダムに読むRAD-seqを用い、得られた配列はカラマツのドラフトゲノムにmappingすることで変異の検出を行った。加えて、葉緑体ゲノムよりカラマツを中心に変異箇所を多数選抜したパネルを作成し、変異の検出を行った。解析の結果、葉緑体ゲノムでは、カラマツは単系統群を形成しグイマツとは変異を共有していなかった。一方で、核ゲノムでは、カラマツは単系統群を形成した上で、カラマツ北限集団が初期に分岐したパターンを示した。カラマツが本州の北から南へ分布を拡大した歴史を反映しているのか、グイマツなどとの微量な遺伝子浸透の結果であるのかを区別するために解析を継続している。

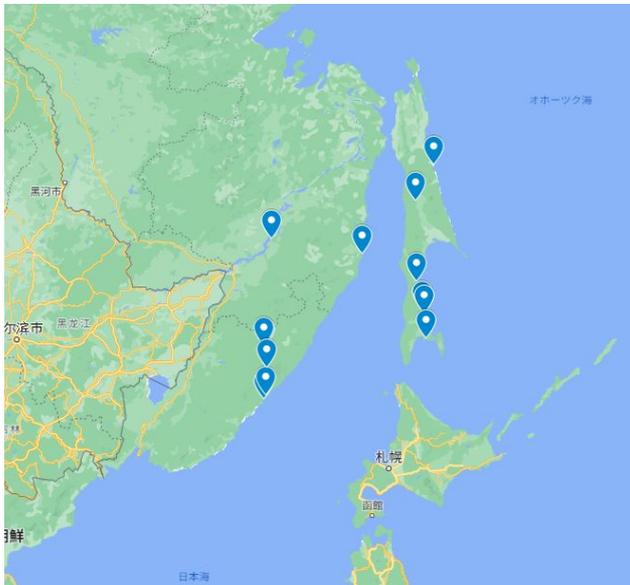


図2：ロシア極東部におけるカラマツ属のサンプル採取地点

引用文献

Cun, Y., Wang, X. (2015) Phylogeography and evolution of three closely related species of *Tsuga* (hemlock) from subtropical eastern Asia: further insights into speciation of conifers. *Journal of Biogeography* 42: 315-327.

Green RE, et al. (2010) A Draft Sequence of the Neandertal Genome. *Science* 328: 710-722.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Arata Momohara, Hisa Tsuji, Kiyohide Mizuno	4. 巻 56
2. 論文標題 A decrease in temperature during the late Middle Pleistocene interglacial stage (MIS 7.3) altered montane zone floral diversity: Plant macrofossil evidence from central Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geological Journal	6. 最初と最後の頁 851-865
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/gj.3833	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7件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北村颯太、石塚 航、内山憲太郎、渡辺洋一、戸丸信弘
2. 発表標題 カラマツとグイマツの天然林集団における葉緑体DNA 変異
3. 学会等名 第134回日本森林学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yun-Gyeong Choi, Ji-Hyun Park, Watanabe Yoichi, Sang-Hun Oh
2. 発表標題 Origin of <i>Daphniphyllum macropodum</i> Miq. (Daphniphyllaceae) on Ulleungdo Island
3. 学会等名 Annual meeting for the Korean Society of Plant Taxonomists
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡辺洋一、小出ひなた、郷園桃花、石田穂高、長澤耕樹、増田和俊、伊藤元己、阪口翔太
2. 発表標題 日本海側多雪地に固有な遺存種の生存史
3. 学会等名 第21回日本植物分類学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡辺洋一、松澤彩、玉木一郎、永野惇、Oh Sang Hun
2. 発表標題 日本海側多雪地環境への適応を伴う常緑広葉樹ユズリハの進化過程
3. 学会等名 第133回日本森林学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 蔡 惠美、松尾 歩、陶山 佳久、渡辺 洋一
2. 発表標題 多雪地植物ハイイヌガヤの遺伝的多様性と進化過程の推定
3. 学会等名 日本森林学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松江倫代、James RP Worth、百原新、渡辺洋一
2. 発表標題 化石DNA 解析にむけたツガ属における種間・種内識別に有用なDNA 領域の探索
3. 学会等名 日本森林学会大会
4. 発表年 2021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
研究 分担者	百原 新 (Momohara Arata) (00250150)	千葉大学・大学院園芸学研究院・教授 (12501)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	陶山 佳久 (Suyama Yoshihisa) (60282315)	東北大学・農学研究科・教授 (11301)	

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		
ロシア連邦	Botanical Garden-Institute	Far East Branch of the RAS	