

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03021

研究課題名（和文）長距離ジーンフローが卓越する針葉樹でなぜ高標高エコタイプが存在しうるのか？

研究課題名（英文）Why does high-altitude ecotype exist even in conifers with long-distance gene flow?

研究代表者

後藤 晋（GOTO, Susumu）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・准教授

研究者番号：60323474

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,010,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、十勝岳の600m、900m、1200mの3つの標高域において、繁殖個体と実生個体の遺伝的構成を調査し、高標高母樹に由来する種子の父親を分析し、標高間での交配の有無を検証した。さらに、交雑が起こった場合の次世代の形質についても調査した結果、1200mの集団は他の標高域と遺伝的に異なることが明らかになった。また、父親分析から、1200mの種子において他の標高域からの花粉流動が全体の20%程度であることが示された。交雑次世代は両親の中間的な性質を示し、標高間のジーンフローがまれであり、交雑次世代の適応度が低いいため、高標高エコタイプが維持されてい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

この研究の学術的意義は、遺伝子流動の制限がある場合に局所適応が発達するという一般的な理論に挑戦し、遺伝子流動の大きい針葉樹においても高標高のエコタイプが維持されるメカニズムを明らかにする点にある。狭い地理的スケールでも高標高のエコタイプが維持される理由は謎だったが、開花期のズレと交雑次世代の適応度の低さからエコタイプが維持されていることが支援された。社会的な意義として、高標高エコタイプは変動環境では維持されない可能性があることも示唆される。

研究成果の概要（英文）：This study investigated the genetic composition of breeding and offspring individuals at three elevations (600m, 900m, and 1200m) on Mt. Tokachi. It analyzed the paternity of seeds originating from high-elevation maternal trees and verified the occurrence of mating between elevations. Additionally, it examined the traits of subsequent generations in cases of hybridization. Results revealed genetic differentiation of the 1200m population from other elevations. Furthermore, paternity analysis indicated approximately 20% pollen flow from other elevations to seeds at 1200m. Hybrid offspring exhibited intermediate traits, suggesting rare gene flow between elevations and low fitness of hybrid generations, implying the maintenance of high-elevation ecotypes.

研究分野：森林遺伝育種学

キーワード：遺伝子流動 標高適応 中心辺境仮説 トドマツ cpSSRマーカー エコタイプ 不適応 雑種強勢

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

山岳地域では、標高に沿って環境が著しく変化する。マツ科針葉樹では花粉や種子を介したジーンフローが活発であるが、高標高域の分布上限の個体では分布中心の個体と比べて形態・生理形質が明瞭に異なることが知られている(高標高エコタイプ)。なぜ標高間でジーンフローが活発であるにもかかわらず、このようなエコタイプが存在するのだろうか。中心辺縁仮説では、分布中心から分布辺縁の環境に適応的でない遺伝子が流入することが指摘されている。そこで本研究では、研究材料とゲノム情報が整備されているマツ科針葉樹トドマツについて、標高適応に関する遺伝変異を検出するマーカーを開発し、1) 高標高エコタイプが保有する適応的遺伝子の頻度は他と異なるのか、2) 適応的遺伝子のジーンフローに方向性があるのか、3) 分布中心から分布上限にジーンフローが起こった個体の適応度は低下するのか、について明らかにする。

## 2. 研究の目的

本研究では、以下の5つの課題に取り組んだ。

### (1) 各標高域における個体群サイズの推定とサンプル採取(全員)

本研究では、すでに標高別に採取した実生が存在する十勝岳の600、900、1200m付近を調査対象地として、UAV画像に基づくランダムサンプリングから個体群サイズの推定を行い、花粉プールの遺伝的分化度、花粉散布距離の推定を行う。

### (2) ジーンフロー推定に適した遺伝マーカーの開発(石塚・北村・後藤)

本研究では、石塚らがゲノム解読した3個体のトドマツ葉緑体ゲノム情報を利用して、父性遺伝する葉緑体SSRマーカーを開発し、効率的に遺伝子流動を推定できるマーカーセットを開発する。

### (3) 各標高域に自生する成木のRNA-seqに基づく適応的SNPマーカーの開発(内山・久本)

十勝岳の標高別天然集団から各24個体(600m, 900m, 1200m)の針葉サンプルを採取し、RNA-seqを用いて非中立な遺伝子をピックアップする。

### (4) 分布上限由来の種子を用いたジーンフローの推定(後藤・北村・石塚)

種子・母樹・成木集団(分布上限と分布中心)を対象に、SSRマーカーを用いて遺伝子型を決定する。ここで、後藤らが考案したジーンフローの数値モデルを改良し、花粉による一方向性のジーンフローが起こっているかどうかを明らかにする。

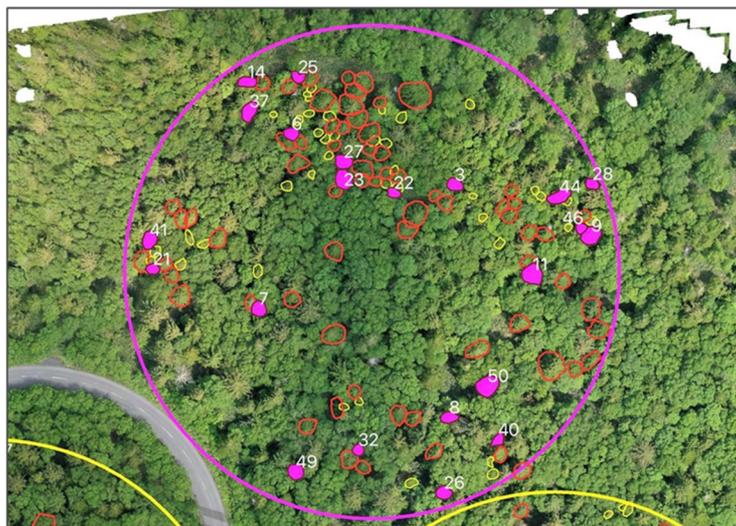
### (5) 標高間の交雑が次代に及ぼす影響の評価(種子田・津山・後藤)

高標高と低標高を相互交雑した試験地を利用して、標高間で交雑が起こった場合の次代の成長、枝や葉の形態生理特性を明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) 分布上限と分布中心からの個体群サイズの推定とサンプル採取(全員)

本研究では、すでに標高別に採取した種子から育成した実生がある十勝岳の600、900、1200m付近を調査対象地とした。UAV画像からトドマツの樹冠を抽出し、一定以上の樹冠面積を持つ個体を繁殖個体と仮定して、繁殖個体密度を推定した。さらに、繁殖個体からランダムサンプリングを行い、DNAおよびRNA解析用の針葉サンプルを採取した(図1)。これらの成木と母樹の遺伝子型からTWOGENER解析で花粉プールの遺伝的分化度、ソフトウエアPOLDISPで平均花粉飛散距離を推定した。さらにSTRUCTURE解析を行い、標高別の繁殖個体、実生の遺伝的組成を比較した。



**図1 . UAV 画像からトドマツ樹冠を抜き出し、対象地での調査個体のランダムサンプリング**

ピンクで囲った範囲が対象プロット(2ha)。プロット内、赤で囲った樹冠が繁殖サイズに達したと想定したトドマツ。黄色で囲った樹冠が非繁殖サイズとしたトドマツ。赤で囲った個体のうち、番号付きの塗りつぶし樹冠がランダムサンプリングの対象個体。

#### (2) ジーンフロー推定に適した遺伝マーカーの開発(石塚・北村・後藤)

トドマツの葉緑体 SSR マーカーを 38 個設計した。精英樹 32 個体を対象として多型分析を行うとともに、一部のマーカーについて、効率的な分析を可能とするマルチプレックス化を行なった。

#### (3) 各標高域に自生する成木の RNA-seq に基づく適応的 SNP マーカーの開発(内山・久本)

十勝岳の標高別(600m, 900m, 1200m)の天然集団から 24 サンプルをそれぞれ採取し、RNA-seq 解析を行った。ライブラリ作成には Fluidigm Advanta RNA seq kit を用い、Illumina HiSeq X (150bp×2)でリードを取得した。TodoFirGene をリファレンスとし、bwa でマッピングを行い、FreeBayes により多型検出を行った。outlier 検出には、R パッケージ 'pcadapt'を用いた。

#### (4) 分布上限由来の種子を用いたジーンフローの推定(後藤・北村・石塚)

標高別母樹の花粉プールの遺伝的異質性評価(TwoGener 解析)を行い、ソフトウェア PollenDisp で花粉散布距離の推定を行った。さらに、2024 年春に 600、900、1200m の母樹の開花期を調査し、開花期がオーバーラップするかどうかを確認した。さらに、高標高 10 母樹から種子を採取し、開発した cpSSR を用いてジーンフローの推定を行った。

#### (5) 分布中心から分布上限へのジーンフローの影響評価(種子田・津山・後藤)

標高間で交雑した試験地を利用して、花粉親の標高が成長、針葉の形態生理特性に及ぼす影響を評価した。具体的には、樹高、胸高直径(DBH)、葉の SLA・縦横比、枝の主軸比・樹皮木部比を明らかにし、交雑次代のパフォーマンスを評価した。

### 4 . 研究成果

#### (1) 分布上限と分布中心からの個体群サイズの推定とサンプル採取(全員)

標高別母樹の花粉プールの遺伝的異質性評価(TwoGener 解析)の結果、1200m 集団は 600m 集団や 900m 集団と異なるが、600m 集団と 900m 集団の間では遺伝的に分化していないことが判明した。また、POLDISP による平均花粉散布距離(全 177 種子を解析)推定値は 1944m と、きわめて広範囲であった。標高別実生および繁殖個体の STRUCTURE 解析の結果、1200m の実生集団が他の標高とは遺伝的組成が異なるが、900m の実生集団に 1200m の繁殖個体集団のクラスターが混入していることが示された。

## (2) ジーンフロー推定に適した遺伝マーカーの開発(石塚・北村・後藤)

トドマツ葉緑体 SSR の 38 座について増幅を確認し、17 座をマルチプレックスで一度に PCR、ジェノタイピングできるように調整した。なお、十勝岳でサンプリングした 107 個体について 17 座のタイピングを行った結果、102 の遺伝子型を検出することができ、その解像度が高いことを実証した。

## (3) 各標高域に自生する成木の RNA-seq に基づく適応的 SNP マーカーの開発(内山・久本)

クオリティフィルタリングを行って残った 47,238 SNPs について、pacdapt 解析後、多重検定の補正を行い、413 座が outlier として残った。これらは、標高間で大きく遺伝的に分化している遺伝子座であり、標高適応に関わる遺伝子座も含まれている可能性がある。

## (4) 分布上限由来の種子を用いたジーンフローの推定(後藤・北村・石塚)

2023 年 5 月に開花期の調査を行った結果、600m と 1200m では明確な時期のズレが生じていたが、900m と 1200m ではそこまで明瞭な時期のズレは認められなかった。1200m に分布する母樹 10 本から球果を採取し、発芽した実生 364 個体に対して、マルチプレックス化できた葉緑体 SSR マーカー 17 座でタイピングを行った結果、外部花粉の割合が低く(8%)、自殖率が高い(約 20%)ことが判明した。すなわち、本研究の結果も分布中心から分布辺縁への遺伝子流動が活発に起こっているわけではないということを支持するものであった。

## (5) 分布中心から分布上限へのジーンフローの影響評価(種子田・津山・後藤)

標高別交雑試験地の低標高×低標高と低標高×高標高の個体群を対象に、成長・形態形質として、樹高、胸高直径(DBH)、樹皮木部比、主軸比、比葉面積(Specific Leaf Area; SLA)、針葉の縦横比について比較した。

樹高、胸高直径、SLA、縦横比は花粉親が高標高になると有意に低下したが、樹皮木部比と主軸比は有意に上昇し、高標高が花粉親になると、次代の形質が高標高に近くなることが判明した

上のように、トドマツでは当初の想定とは異なり、分布中心である中標高域から高標高域に遺伝子流動が活発に起こっているわけではなかった。その要因として、600m と 1200m では開花期がずれているために交配が起こらないこと、900m と 1200m では開花期が重なる場合もあるが、成木と実生集団の遺伝的組成の結果からみると、1200m から 900m への逆方向のジーンフローが生じた可能性が示された。1200m 母樹から得た種子の父性解析を行った結果、1200m では標高内交配がほとんどで、標高間交配はわずかであること、自殖が認められることが示された。さらに、標高間交雑で得られた次代のパフォーマンスは両親の中間型の形質を示し、自生地では交雑個体のパフォーマンスが低下するために、局所適応が狭い範囲で維持されることが示された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6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 2件）

1. 著者名 Ishizuka W, Kitamura K, Hara T, Goto S	4. 巻 27
2. 論文標題 Characterization of the complete chloroplast genome of <i>Abies sachalinensis</i> and its intraspecific variation hotspots	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Forest Research	6. 最初と最後の頁 476 ~ 482
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/13416979.2022.2081294	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 後藤 晋	4. 巻 11
2. 論文標題 【特集】令和3年度森林遺伝育種学会賞「北海道における有用針葉樹トドマツの環境適応に関する研究とその遺伝研究基盤の構築」	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 森林遺伝育種	6. 最初と最後の頁 50-53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -
1. 著者名 Ishizuka Wataru, Kon Hirokazu, Kita Kazuhito, Kuromaru Makoto, Goto Susumu	4. 巻 36
2. 論文標題 Local adaptation to contrasting climatic conditions in Sakhalin fir ( <i>Abies sachalinensis</i> ) revealed by long term provenance trials	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 720 ~ 732
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1440-1703.12232	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 Tsuayama Ikutaro, Ishizuka Wataru, Kitamura Keiko, Taneda Haruhiko, Goto Susumu	4. 巻 11
2. 論文標題 Ten Years of Provenance Trials and Application of Multivariate Random Forests Predicted the Most Preferable Seed Source for Silviculture of <i>Abies sachalinensis</i> in Hokkaido, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Forests	6. 最初と最後の頁 1058 ~ 1058
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/f11101058	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Goto Susumu, Mori Hideki, Uchiyama Kentaro, Ishizuka Wataru, Taneda Haruhiko, Kono Masaru, Kajiya-Kanegae Hiromi, Iwata Hiroyoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Genetic Dissection of Growth and Eco-Physiological Traits Associated with Altitudinal Adaptation in Sakhalin Fir ( <i>Abies sachalinensis</i> ) Based on QTL Mapping	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 1110 ~ 1110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes12081110	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 北村系子・石塚 航・後藤 晋	4. 巻 10
2. 論文標題 日本の森林樹木の地理的遺伝構造 (31) トドマツ (マツ科モミ属)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 森林遺伝育種	6. 最初と最後の頁 44-48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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5件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 北村系子・中西敦史・石塚航・後藤晋・津山幾太郎・種子田春彦・久本洋子・内山憲太郎
2. 発表標題 十勝岳トドマツ天然林における高標高帯分布限界集団の遺伝的分化
3. 学会等名 森林遺伝育種学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石塚航・北村系子・中西敦史・津山幾太郎・種子田春彦・久本洋子・内山憲太郎・後藤晋
2. 発表標題 繁殖にみるトドマツ天然集団の標高間差
3. 学会等名 森林遺伝育種学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北村系子・中西敦史・石塚航・後藤晋・津山幾太郎・種子田春彦・久本洋子・内山憲太郎
2. 発表標題 十勝岳トドマツ天然林における高標高帯分布限界集団の遺伝的分化
3. 学会等名 種生物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後藤 晋
2. 発表標題 気候変動の時代における林木育種：今だからやれること、やるべきこと
3. 学会等名 第132回日本森林学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤 晋・小川 瞳・福岡 哲・木村徳志・田中延亮・福井 大：
2. 発表標題 長期測定データから気候変動が北方針葉樹3種の苗木の生存と成長に及ぼす影響を考える。
3. 学会等名 第133回日本森林学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 北村系子・石塚 航・後藤 晋	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ミドリ印刷	5. 総ページ数 -
3. 書名 第4章 各樹種の遺伝的多様性と地理的遺伝構造 7. トドマツ（マツ科モミ属）52-56.（日本における森林樹木の遺伝的多様性と地理的遺伝構造，戸丸信弘・内山憲太郎・玉木一郎・阪口翔太（編集），森林遺伝育種学会（監修））	

1. 著者名 福田 健二	4. 発行年 2021年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 210
3. 書名 樹木医学入門	

〔産業財産権〕

〔その他〕

後藤晋web <a href="http://www.gotos-web.sakura.ne.jp/">http://www.gotos-web.sakura.ne.jp/</a>
---

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	北村 系子 (KITAMURA Keiko) (00343814)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等  (82105)	
研究分担者	内山 憲太郎 (UCHIYAMA Kentaro) (40501937)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等  (82105)	
研究分担者	久本 洋子 (HISAMOTO Yoko) (60586014)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教  (12601)	

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	津山 幾太郎  (TSUYAMA Ikutaro)  (80725648)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等    (82105)	
研究分担者	石塚 航  (ISHIZUKA Wataru)  (80739508)	地方独立行政法人北海道立総合研究機構・森林研究本部 林業試験場・研究主任    (80122)	
研究分担者	種子田 春彦  (TANEDA Haruhiko)  (90403112)	東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・准教授    (12601)	

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