

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20714

研究課題名（和文）日本におけるイチョウの初期伝搬過程の全容解明

研究課題名（英文）Elucidation of the Initial Dissemination Process of Ginkgo in Japan

研究代表者

上原 浩一（Uehara, Koichi）

千葉大学・大学院国際学術研究院・教授

研究者番号：20221799

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：イチョウ（*Ginkgo biloba*）はかつて世界中に分布していたがその後衰退し、日本国内では更新世を最後に途絶えた。その後中国南西部で生き延びたイチョウは平安時代以降に日本の全国各地に文化と共に広まったとされているが明確な伝播過程は明らかになっていない。イチョウはこのような生物学的、文化的背景から国内への伝来や伝播経路の研究が行われてきた。本研究では次世代型DNAシーケンサーを用いた最新のRAD-seq解析により日本に分布している幹周8m以上のイチョウ巨木の網羅的遺伝解析を行った。総数269サンプルを用いて解析を行い、個体ごとの詳細な伝播経路を含むイチョウの伝播過程の検討を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イチョウは最も原始的な性質を残した「生きた化石」のひとつで、人々に親しまれる植物である。現存するイチョウは中国原産で、平安時代ごろに日本に伝搬したと考えられ、人の手で日本中に広まった。日本は、早くに伝搬したことから、世界に広まったイチョウの伝搬を考える上で重要な位置にあり、また国内に多くの「巨木」が現存していることから、国内への伝搬を探ることも可能で、当時の人々の仏教とも絡んだ移動を考察する上でも重要である。本研究は国内のイチョウ巨木を網羅的にサンプリングし、その個体間の系統関係を明らかにするもので、最新の生物科学的技術や解析を用いて、歴史・文化史への貢献をめざすもので社会的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：Ginkgo (*Ginkgo biloba*) was once distributed worldwide but later declined and became extinct in Japan at the end of the Pleistocene. The ginkgo that survived in southwestern China is believed to have spread throughout Japan along with culture after the Heian period, although the exact process of dissemination remains unclear. Due to such biological and cultural backgrounds, research has been conducted on the introduction and dissemination routes of ginkgo in Japan. In this study, comprehensive genetic analysis was conducted on giant ginkgo trees with a trunk circumference of over 8 meters distributed in Japan using the latest RAD-seq analysis with next-generation DNA sequencers. A total of 269 samples were analyzed to examine the dissemination process of ginkgo, including detailed dissemination routes of individual trees.

研究分野：生物学

キーワード：イチョウ

## 1. 研究開始当初の背景

イチヨウは種子植物の中でソテツ類とともに最も原始的な性質を残した植物で、いわゆる「生きた化石」のひとつである。現存するイチヨウは中国原産と考えられ、10世紀後半に中国で栽培が始まり、日本への伝来は平安時代以降と考えられるが諸説あり、明確な時期はわかっていない。一般的に幹周の大きい巨木は、細い木に比べ高齢であり、日本国内のイチヨウ巨木も、イチヨウが日本に伝搬して間もない時期に植栽されたものと考えられる。それらイチヨウの巨木の詳細な系統関係を解析することで、中国から日本へ、そして国内各地へ広まったイチヨウの伝搬の道筋、中国から日本のどこに入り、どのような経路で全国に伝わっていったかを明らかにすることができる。

## 2. 研究の目的

本研究は、大量の遺伝子情報が得られる次世代型 DNA シークエンサーを用いて、日本国内のイチヨウの歴史的巨木を網羅的に解析し、巨木 1 本 1 本にわたる詳細な系統関係を完全解明することである。国内のイチヨウ巨木の系統関係が詳細にわかれば、各地に植栽されたイチヨウがどのような経路で広められていったか、その伝搬の道筋がわかる。当時の仏教や文化、人々の動きに密接に関わるイチヨウの初期国内伝搬プロセスを明らかにする。

本研究では、国内の幹周 8 m 以上のイチヨウ巨木サンプルを網羅して、片倉 (2019 修論) ではサンプル数の少なかった中華人民共和国の個体も追加し、より多くの個体を用いた詳細な伝播経路の推定を試みた。集団や個体レベルでの遺伝的変異の検出に幅広く用いられている RAD-Seq 解析 (Restriction-site associated DNA sequencing) を用いて解析を行った。

## 3. 研究の方法

日本国内の九州地方から東北地方にわたる幹周 8 m 以上のイチヨウ (*Ginkgo biloba*) 巨木を網羅しサンプルと、中国に生育するイチヨウ巨木 28 サンプルを加えた計 269 サンプルを用いた。日本に存在する幹周 8 m 以上のイチヨウ巨木を網羅することでイチヨウの伝播経路のより詳細な推定を行う。また、中国のイチヨウサンプル個体を加え、中国南西部を起源とするイチヨウの日本への伝達経路や方法についてもより詳細な推定を行った。次世代シークエンサーを用いた RAD-Seq 解析を行った。HiSeq2000 (Illumina) を用い、制限酵素 *EcoRI* と *BglIII* を利用してライブラリを作成して RAD-Seq 解析を行った。

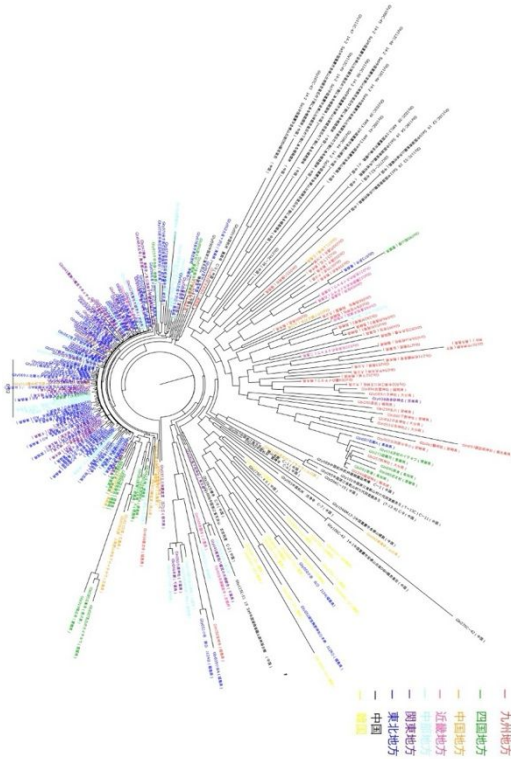
## 4. 研究成果

地方間の系統関係：母集団の遺伝子座を処理するために必要な各集団内の個人の最小割合 ( $r=0.75$ ) で得た 84262 の SNP を用いて最尤法でイチヨウの起源とされる中国をルートとして地方間系統樹を作成したところ、東北地方をはじめとして本州を南下するように地方に対して遺伝的に近い関係を示した。中国に対して韓国と九州地方は遺伝的に遠い関係を示したが、韓国と九州地方同士は遺伝的に近い関係を示した。韓国をルートとして示した地方間系統樹では、韓国から、九州地方、四国・中国地方、近畿地方、中部地方、関東地方、東北地方、中国と、西日本から東日本に向かうように遺伝的に近いものが続く結果となった。

個体間の系統樹：遺伝子座を処理するために必要な集団全体の中での個人の最小割合 ( $R=0.7$ ) で得た 47613 の SNP を用いて最尤法で無根系統樹を作成した (図)。東北地方と関東地方の個体には大きく地方のまとまりが見られた。そのほか、中国、韓国、九州地方、四国地方の個体にもまとまりが見られた。一方で中部地方の個体は集団の中でもさらに細かく分かれた。近畿地方の個体にはあまりまとまりはみられなかった。東北地方と関東地方の個体は非常に近い性質を示し、九州地方と四国地方も比較的近い性質を示した。これら二つのグループはそれぞれ遺伝的には遠い結果を示した。

考察：地方間の系統樹では、イチヨウの起源と推定されている中国大陸の集団をルートに指定したときに最も遺伝的に近いのは東北地方で最も遠いのは韓国と九州地方の集団になることを示していた。地方間系統樹の結果から、日本にイチヨウが伝来した経路は複数あるのではないかと考えた。中国起源のイチヨウが東北地方側から入り、その後拡散されたもの、中国起源のものが朝鮮半島を経由してその後九州地方に入り拡散されたもの、である。このことは韓国の集団をルートにとって地方間の系統樹を作成すると、九州地方、次いで四国地方、中国地方と西日本から東日本に向かうように遺伝的に近くなっていることから確かめられる。大陸からのイチヨウの日本への搬入ルートについては中国、朝鮮、琉球の三つの可能性が高いとされている (今野 2005) ことや、イチヨウは複数の産地から複数回に分けて持ち込まれたとみられる (津村 1999) ことから、上記の二つのルートを通った可能性は高いと推定できる。ただ、中国のイチヨウサンプルは 32 個しかなくそのうち朝鮮半島に近いものは少なく、大陸にある個体を網羅できたとは言えないのでより詳細な分析を行うにはさらにサンプルを増やして調査する必要がある。

個体間の系統樹をみると、東北地方、関東地方の個体の遺伝的距離が非常に近くなった。



一方で地方間系統樹では遺伝的距離が近いとみられた中国大陸の個体と東北地方の個体は遺伝的には遠いと示された。従来のマイクロサテライト解析にてクローンと判定された個体もいくつか含めて RAD-seq 解析を行った。そのうちクローンと判定されたものには東北地方の個体が多く、それらを系統樹で確認すると同じ枝の中に入っていないものが多くあった。これらのことは RAD-seq 解析がマイクロサテライト解析よりも多くの遺伝情報を用いてしまうことや、イチヨウという単一種の植物の中での違いを検出しようとするためにマイクロサテライト解析では検出しきれなかった遺伝的変異を検出してしまふからだと考えられる。そしてこれらのクローンと同等の距離に位置している関東地方と東北地方の個体は多くがクローンであると推定される。イチヨウには雌雄の区別があるために繁殖が他の植物より難しく多くは自然的に広まったものではなく、人々の手によって植えられていったものであると考えられる。また、イチヨウは他の植物に比べて挿し木での繁殖の難易度は低く、簡単に根付く。各地にのこるイチヨウの伝承にも僧の持っている杖をさしたところからイチヨウが根付いたというものが多くある（長田 2014）。また、銀杏が食物や薬として用いられること、イチヨウ自体が火気につよく植えておけ

ば家の燃焼から身を守ることに役立つ樹木だった（今野 2005）。これらのことから、東北地方や関東地方のイチヨウは多くが僧などによって植栽されていって増えたものであると考えられる。一方で九州地方をはじめとする西日本の個体の遺伝的距離は東方地方ほどのまとまりは見られない。このことから、朝鮮半島を経由して九州地方に入ってきたイチヨウはいくつか種類があり、その回数も多くあって、朝鮮半島から九州に向かう船の中から銀杏が見つかることもあり（堀 2005）、挿し木による伝播とともに種子による伝播も多くあったのではないかと思われる。

今回の研究では幹周 8m を超えるイチヨウの歴史的巨木を中心とした RAD-seq 解析によって、イチヨウの日本への、および日本での初期の伝播経路について一つの指針を示した。地方間系統樹では韓国の集団と九州の集団が遺伝的に近い形質を示し、中国の集団は他の地方と比べて東北地方と近い形質を示した。個体間系統樹では東北地方と関東地方、ついで中部地方の個体の多くが遺伝的に非常に近いという結果が見られた。これらの個体はクローンである可能性が高く、東北地方に存在する個体は多くが一つのイチヨウから挿し木などで増えていったと考えられる。九州地方をはじめとする西日本の個体の多くは遺伝的距離が東北などに比べて近くはなかった。東北、関東地方を中心として非常に祖先系統が一致する個体は、かつて東北地方に中国から伝来した個体が挿し木によって東日本に人為的に広まっていったことを示した。クラスター分析の中で周りの集団と違うグループに属する個体や、個体間系統樹で他の集団と遺伝的に近い形質を示した個体があったことは挿し木や種子を用いた人為的な拡散が多くあったことを示唆している。これらのことを踏まえ、イチヨウの伝播には東北、関東地方をはじめとして日本全国で挿し木等による人為的拡散の影響が非常に大きいと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------