

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02240

研究課題名（和文）環境適応遺伝変異の空間モデリングによる主要高木種11種の将来気候下でのリスク評価

研究課題名（英文）Assessing future climate risks for 11 major tree species using spatial modeling of adaptive genetic variations

研究代表者

内山 憲太郎（Uchiyama, Kentaro）

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

研究者番号：40501937

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：温暖化による樹木種への影響を評価するため、日本の主要な高木種11種の自然集団を対象に、ゲノム全域から抽出した適応変異と、気候変数との関係を空間モデリングの手法を用いて解析し、適応変異の地理的分布を明らかにした。次いで、将来気候下において、現在の適応変異の分布がどこどの程度乱されるかを予測した。その結果、適応変異を説明する主要な気候変数および自然選択が強く働いている地域は樹種により異なっていた。また、それを反映するように、将来気候下での適応度低下が予測される地域も、分布の南端、北方、低地、系統の境界等、樹種ごとに多様であり、温暖化の影響は樹種によって異なる地域で生じ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

固着性の樹木種は、生育環境への遺伝的適応を起こしている例が多く、その背景には環境応答に関わる遺伝変異（適応遺伝変異）が存在する。この適応遺伝変異は、樹木種の保全や利用を考える上で重要であるが、その実態はほとんど明らかになっていない。本研究では、日本の主要高木種11種の適応遺伝変異の地理的分布を初めてゲノムワイドに明らかにした。この結果は、広域に分布する樹木種の環境適応を理解する上で極めて有用な情報である。また、本研究では将来気候下での各樹種の適応度低下を実際の地理空間上で予測しており、これは温暖化緩和策や保全計画の立案のための基礎情報として利用可能である。

研究成果の概要（英文）：To assess global warming's impact on tree species, we analyzed the relationship between adaptive genetic variation, identified from genome-wide data, and climatic variables in natural populations of 11 major Japanese tall tree species. Spatial modeling helped map these variations' geographical distribution and predict their future shifts under climate change. Our findings reveal that the primary climatic variables influencing adaptive variation, as well as the regions experiencing strong natural selection, vary significantly across species. This implies varying adaptability challenges for each species with future climate scenarios. The forecasted adaptability decline across different areas -northern and southern distribution limits, lowlands, and genetic boundaries- indicate that global warming's impacts will likely manifest differently across tree species. This underscores the necessity for species-specific conservation strategies to mitigate the adverse effects of climate change.

研究分野：森林遺伝育種

キーワード：環境適応 適応遺伝変異 空間モデリング 温暖化影響予測 環境応答 適応度

1. 研究開始当初の背景

樹木は、その世代時間の長さから気候変動に対して脆弱であると予想されており (Kremer et al. 2012)、樹木の気候変動への応答予測は、森林生態系保全上の喫緊の課題である。しかし、実際に樹木がどの程度の環境変動を許容できるかは不明な点が多い。その理由として、樹木では環境制御試験が難しく、分布域外への移植試験も限られていることなどがある。そのような中、環境応答に関わる遺伝子の探索に力が注がれてきた (Eckert et al. 2010)。しかし、実際に検出された適応遺伝変異を、将来気候下での樹木の応答の「予測」に利用するには、新たな空間モデリングの枠組みが必要であった。すなわち、適応遺伝変異と環境との関係を実際の地理空間上でモデリングし、気候変動による適応度の低下を予測する手法の開発である。現在までにいくつかの手法が提案され、作物の遺伝資源リスク評価などに利用されている (Aguirre-Liguori et al. 2019)。適応遺伝変異と環境との関係がモデル式上で明らかにできれば、ある環境値に対する適応的な遺伝子型の確率密度が予測できる。ゲノム全体から環境応答に関わる多数の遺伝子座の確率密度が得られれば、それを適応度と読み替えることもできるだろう。図 1 に示すように、現在の環境において適応的な遺伝子型 (□) と将来環境で必要となる遺伝子型 (■) との間には乖離がある。この遺伝子型間の対立遺伝子頻度の差は "genetic offset" と呼ばれ、これが大きくなるほど、将来環境での適応度は低下し、リスクは高くなる。本研究は、この適応遺伝変異の空間モデリングの手法を広域に分布する樹木種の将来環境でのリスク評価に取り込む新たな試みである。理論上は、局所適応の程度が強いほど、genetic offset は大きくなるため、樹木のように局所適応の程度が強い生物種では、この手法による予測は重要な意味を持つと考えられる。特に分布の端などでは、厳しい環境の下、しばしば強い局所適応が認められる。そのような地域では、気候変動により、従来考えられていたよりも深刻な影響を受けるかもしれない。

2. 研究の目的

日本の主要高木種 11 種を対象に、ゲノムワイドな DNA 多型情報を用いて、(1) 様々な環境軸に対する適応遺伝変異の分布を明らかにし、(2) 適応遺伝変異の空間モデリングから、種の分布に最も強く影響している環境要因の抽出を行い、(3) 将来気候下でのリスク評価を行う。これらを通して、様々な生活型や繁殖様式の樹種において、どういった環境要因が分布に強く影響し、気候変動下での遺伝資源消失のリスクが高いかを、実際の地図上で明らかにする。

3. 研究の方法

日本の主要高木種である、スギ、ヒノキ、モミ、ブナ、ミズナラ、アラカシ、スダジイ、ツブラジイ、オオヤマザクラ、カスミザクラ、ウワミズザクラ、タカネザクラの各 15~32 集団、1 集団あたり 8~20 個体を解析に用いた (表 1)。各種のゲノムサイズに応じて、2 組の制限酵素を選び、ddRAD-seq (double digested RAD-seq (Peterson et al. 2012)) 法によりライブラリを作成し、次世代シーケンサー (HiSeq X, Novaseq X plus : Illumina 社) により、150bp×2 のペアエンドで塩基配列を取得した。dDocent パイプライン (Puritz et al. 2014) を用いて、ド

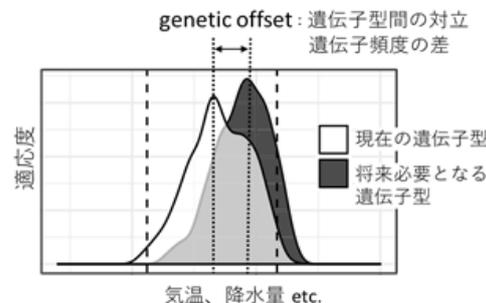


図 1. 気候変動による最適な遺伝子型の変化

ド ラフトゲノムへのマッピングおよび多型検出を行い、vcftools (Danecek et al. 2011) によりフィルタリングを行った。得られた数千~数万 SNP について、各集団の遺伝的多様性を hierfstat (Goudet 2005) により評価した。また、plink (Purcell et al. 2007) により SNP 間の連鎖不平衡の高い座 ( $r^2 > 0.8$ ) を除去し、集団構造解析 (popCluster: Wang 2022) を行った。次いで、全 SNP を用いて、LFMM2 (Caye et al. 2019) を用いて気候データ (Bioclimatic variables : WorldClim 2 (Fick and Hijmans 2017)) との関連解析を行い、環境適応候補遺伝子を検出した。多重共線系の影響を除くため、19 の気候変数は PCA 解析により次元

表 1. 解析に用いたサンプルおよび SNP の詳細

種名	集団数	サンプル数	検出された SNP 数	LD pruning 後の SNP 数	クラスター数	LFMM2 解析で	pcadapt 解析で
						検出された SNP 数	検出された SNP 数
スギ	22	249	31676	16113	4	181	260
ヒノキ	22	263	8446	4742	3	69	103
モミ	21	244	6476	4311	3	58	20
ブナ	24	365	4302	2585	3	19	103
ミズナラ	32	480	27805	17268	4	39	376
アラカシ	22	325	20724	12155	3	13	221
スダジイ・ツブラジイ	21	328	34170	15714	2	84	5
タカネザクラ	24	329	12134	5731			
ウワミズザクラ	20	229	2476	1356			
カスミザクラ	15	125	1848	1538			
オオヤマザクラ	21	229	1778	1487			

を下げ、合計で 85% 以上の説明力を保持する 2~4 の PC 軸までを解析に用いた。また、環境データを用いず、遺伝データのみから、非中立な遺伝子座 (outlier) を検出する pcadapt 法 (Luu et al. 2017) も行った。LFMM2 で得られた適応候補遺伝子を対象に、Gradient Forest 解析 (Ellis et al. 2012) を行い、各遺伝子のア

レル頻度の変化を実際の環境空間上でモデリングした。また、温暖化後の気候条件下で、それらの適応遺伝変異がどの程度攪乱されるかを、genetic offset として計算し、地図上にマッピングした。将来気候データは WorldClim で公開されている複数の社会経済シナリオでの予測結果を利用した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 遺伝的多様性の地理的分布および遺伝構造解析

各樹種の解析データ詳細を表 1 に示す。ddRAD-seq により、各樹種数千～数万 SNP が得られた。遺伝的多様性はいずれの種も分布中心付近で高く、分布辺縁で低くなる傾向が認められた (図 2)。遺伝構造解析の結果、どの種においても 2~4 の明瞭な遺伝的クラスターが検出された (図 2)。検出されたクラスターの特徴として、屋久島が含まれる種では屋久島は常に独自クラスターを形成した。屋久島以外では列島に沿って、2~3 のクラスターに分割された。また、クラスター境界は種により異なり、別れ方は東西、南北、太平洋側と日本海側などとなった。また、minor な北方クラスターが検出された種も複数あり、氷期の北方集団の生き残りを反映していると予想された。

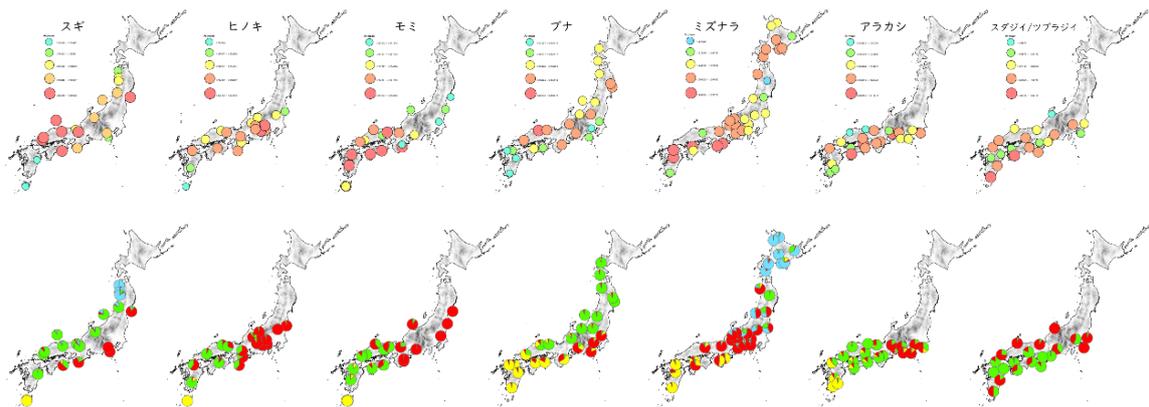


図 2. 各樹種の対立遺伝子多様度の分布 (上段) と検出された遺伝的クラスター (下段)

##### (2) 適応候補遺伝子の検出と遺伝構造

検出された全 SNP を対象に、気候データとの関連解析および outlier 解析を行い、表 1 で示す数の SNP を適応候補遺伝子として検出した。いずれの種でも数十～数百の SNP が検出された。適応候補遺伝子座と中立遺伝子座とのアレル頻度分布の差を図 3 に示す。暖色な地域ほど、適応候補遺伝子座と中立遺伝子座との差が大きいことを示している。これらの地域は、自然選択が強く働いている地域と想定される。スギでは日本海側の多雪地域、本州南端および九州の多雨地域が、ヒノキではあまり明瞭ではないが、屋久島およびその他地域の低地で、モミでは屋久島と九州内陸、本州山岳域で、ブナでは九州から中国地方および関東低地で、ミズナラでは九州、四国、日本海側の低地で、アラカシでは中部地方と九州、四国、紀伊半島で差が大きかった。スダジイ/ツブラジイでは明瞭な差は検出されなかった。

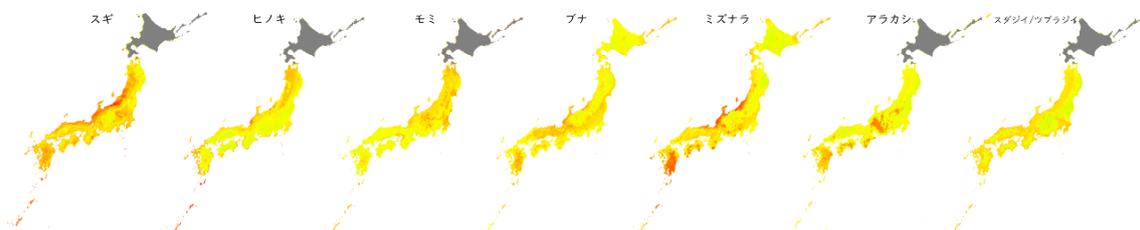


図 3. 適応候補遺伝子と中立遺伝子の遺伝構造の差 暖色な地域ほど差が大きい

##### (3) 適応候補遺伝子の空間モデリングと将来気候下での適応度低下予測

上記 (2) で検出された適応候補遺伝子座と、19 の bioclimatic variables を用いて、Gradient Forest 解析(GF)を行った。これは機械学習法の 1 種であり、環境軸上でのアレル頻度の非線形な変化を捉えることができる。まず、19 の気候値全てを使用してモデルを作成し、各環境値の重要度をランキングした。次いで、Variance Inflation Factor (usdm: Naimi et al. 2014)を用いて 19 の気候変数間の多重共線性を評価し、相関の高いものを除いた。ただし、GF は変数間の相関に比較的頑健であるとされるので(Ellis et al. 2012)、GF の一次解析において重要度が高くランキングされた変数に関しては、VIF が高い場合でもモデルに含めた。種ごとに選抜した 10 前後の気候変数を用いて、再度 GF 解析を行った。適応候補遺伝変異に対する気候変数の重要度は、種によ

り異なった。例えばスギでは、最も重要度が高い変数は最寒四半期の平均気温 (bio11) であり、続いて最湿月の降水量 (bio13)、最暖四半期の降水量 (bio18)、最乾月の降水量 (bio14)、降水量の季節性の順で降水量関連の変数が上位となった。一方、共通する変数が上位となる場合もあり、例えばモミとアラカシでは最暖四半期の降水量が、ヒノキとブナでは気温の季節性が最も重要度が高かった。図 4 にスギの GF モデルにおける、上位 4 つの気候変数の累積重要度曲線を示す。赤波線の適応候補遺伝子では、黒線の中立座に比較して非線形な変化を示す点があることがわかる。例えば、bio11 では 4°C 付近、bio13 では 400mm 付近、bio18 では 1000mm 付近などである。これらはそれぞれの環境軸上での適応候補遺伝子のアレル頻度が大きく変化している点と予想される。これらの情報は、それぞれの環境軸内において、どういった遺伝子型を持てば、適応的かを理解する助けとなるだろう。図 5 に 2090 年 (ssp5-8.5) における genetic offset の分布を示す。genetic offset が大きくなると予測された地域は、樹種ごとに異なっていた。スギとヒノキでは西日本の低地と関東、モミでは東日本において、ブナでは系統の境界付近において、ミズナラでは中部から紀伊半島にかけて地域および北海道を含む北方において、アラカシでは分布域全域において、スダジイ/ツブラジイでは西日本の内陸と東日本において高い値が予測された。種により影響を受ける地域が異なること背景には、種の環境要求性の違い、分布域の違いによる環境ストレスの違い、過去の集団サイズの増減などの歴史的な分布変遷など、様々な要因が関わっていると予想されるが、温暖化による影響は、種ごとに地域も異なる形で生じてくる可能性を示唆していると考えられた。

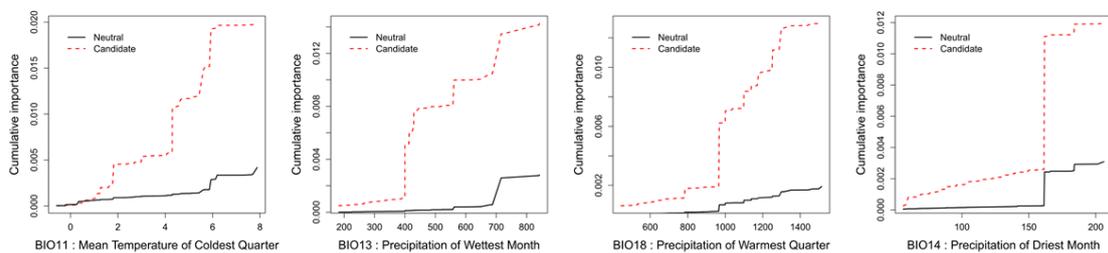


図 4. スギの GF モデルにおいて重要度の高かった 4 つの気候変数の累積重要度曲線 黒線が中立座、赤波線が適応候補遺伝子の結果を示す

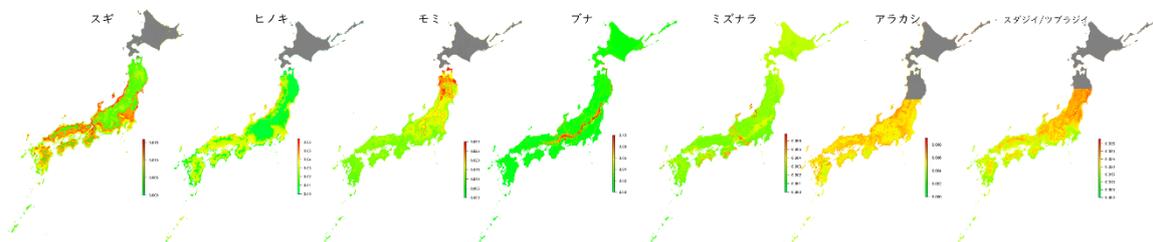


図 5. 2090 年時 (MIROC6、SSP5-8.5) の各樹種の Genetic offset

#### (4) まとめ

本研究では日本の主要高木種 11 種を対象に、分布域全域をカバーする自然集団からゲノムワイドに適応候補遺伝子座を抽出した。次いで、空間モデリングの手法を用いて、適応遺伝変異の地理的分布をモデリングし、将来気候下での適応度低下を予測した。その結果、適応変異を説明する主要な気候変数および自然選択が強く働いている地域は樹種により大きく異なっていた。また、それを反映するように、将来気候下での適応度低下が予測される地域も、分布の南端、北方、低地、系統の境界等、樹種ごとに多様であり、温暖化の影響は樹種によって異なる地域で生じる可能性が示唆された。このことは、気候変動の影響を緩和するためには、種ごとに個別の保全戦略が必要であることを示唆している。本研究を通して、多様な環境を含む日本列島において、どのような気候要因が主要森林構成種の選択圧となっているかの一端を明らかにすることができた。しかしながら、本研究で検討した手法では気温と降水量の変数しかモデルに含めておらず、土壌や地質、生物間相互作用といった他の重要な要因は検討できていない。また、検出できていない適応遺伝変異も残っていると考えられる。さらには、予測されている将来気候データにも不確実性が含まれていることは周知のことである。以上のように今後の検討課題も多く残されているが、気候変動は喫緊の課題であり、様々な不確実性を踏まえつつ、多面的なアプローチを継続する必要があるだろう。

<引用文献>

- Wang Jinliang (2022) Fast and accurate population admixture inference from genotype data from a few microsatellites to millions of SNPs. *Heredity* 129 (2):79-92
- Aguirre-Liguori Jonás A, Ramírez-Barahona Santiago, Tiffin Peter, Eguiarte Luis E (2019) Climate change is predicted to disrupt patterns of local adaptation in wild and cultivated maize. *Proceedings of the Royal Society B* 286 (1906):20190486
- Caye Kevin, Jumentier Basile, Lepeule Johanna, François Olivier (2019) LFMM 2: Fast and Accurate Inference of Gene-Environment Associations in Genome-Wide Studies. *Molecular Biology and Evolution* 36 (4):852-860. doi:10.1093/molbev/msz008
- Fick Stephen E, Hijmans Robert J (2017) WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology* 37 (12):4302-4315
- Luu Keurcien, Bazin Eric, Blum Michael GB (2017) pcadapt: an R package to perform genome scans for selection based on principal component analysis. *Molecular Ecology Resources* 17 (1):67-77
- Naimi Babak, Hamm Nicholas AS, Groen Thomas A, Skidmore Andrew K, Toxopeus Albertus G (2014) Where is positional uncertainty a problem for species distribution modelling? *Ecography* 37 (2):191-203
- Puritz Jonathan B, Hollenbeck Christopher M, Gold John R (2014) dDocent: a RADseq, variant-calling pipeline designed for population genomics of non-model organisms. *PeerJ* 2:e431
- Ellis Nick, Smith Stephen J, Pitcher C Roland (2012) Gradient forests: calculating importance gradients on physical predictors. *Ecology* 93 (1):156-168
- Kremer Antoine, Ronce Ophélie, Robledo-Arnuncio Juan J., Guillaume Frédéric, Bohrer Gil, Nathan Ran, Bridle Jon R., Gomulkiewicz Richard, Klein Etienne K., Ritland Kermit, Kuparinen Anna, Gerber Sophie, Schueler Silvio (2012) Long-distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change. *Ecology Letters* 15 (4):378-392. doi:10.1111/j.1461-0248.2012.01746.x
- Peterson Brant K, Weber Jesse N, Kay Emily H, Fisher Heidi S, Hoekstra Hopi E (2012) Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS one* 7 (5):e37135
- Danecek Petr, Auton Adam, Abecasis Goncalo, Albers Cornelis A., Banks Eric, DePristo Mark A., Handsaker Robert E., Lunter Gerton, Marth Gabor T., Sherry Stephen T., McVean Gilean, Durbin Richard, Group Genomes Project Analysis (2011) The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* 27 (15):2156-2158. doi:10.1093/bioinformatics/btr330
- Eckert A. J., Bower A. D., Gonz Lez-Mart Nez S. C., Wegrzyn J. L., Coop G., Neale D. B. (2010) Back to nature: ecological genomics of loblolly pine (*Pinus taeda*, Pinaceae). *Molecular Ecology*
- Purcell Shaun, Neale Benjamin, Todd-Brown Kathe, Thomas Lori, Ferreira Manuel AR, Bender David, Maller Julian, Sklar Pamela, De Bakker Paul IW, Daly Mark J (2007) PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics* 81 (3):559-575
- Goudet Jérôme (2005) Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes* 5 (1):184-186

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Uchiyama Kentaro, Fujii Sayaka, Tsuyama Ikutaro, Tanaka Nobuyuki, Setsuko Suzuki, Kimura Megumi K., Suyama Yoshihisa, Tsumura Yoshihiko	4. 巻 19
2. 論文標題 Range shift and introgression of three Japanese Abies species: insights from population genetic data and species distribution modeling	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Tree Genetics & Genomes	6. 最初と最後の頁 41-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11295-023-01617-7	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 Ejima Atsushi, Uchiyama Kentaro, Mori Hideki, Tsumura Yoshihiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Genomic prediction of tree height, wood stiffness, and male flower quantity traits across two generations in selected individuals of Cryptomeria japonica D. Don (Japanese Cedar)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Forests	6. 最初と最後の頁 2097 ~ 2097
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/f14102097	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 内山憲太郎 (森林総合研究所)、中尾勝洋 (森林総合研究所関西支所)、津村義彦 (筑波大学)
2. 発表標題 スギの適応遺伝変異の空間分布と気候変動への応答可能性評価
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 内山憲太郎、韓慶民、楠本倫久、中尾勝洋、金谷整一、上野真義 (森林総合研究所)、陶山佳久 (東北大学)、津村義彦 (筑波大学)
2. 発表標題 産地試験地を用いたスギの環境適応遺伝子の検出
3. 学会等名 森林遺伝育種学会第10回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊原徳子、内山憲太郎、金谷整一（森林総合研究所）、陶山佳久(東北大学大学院農学研究科)、津村義彦(筑波大学生命環境系)
2. 発表標題 夏季の野外試験地におけるスギ針葉のトランスクリプトーム解析
3. 学会等名 森林遺伝育種学会第10回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内山憲太郎（森林総研）、中尾勝洋（森林総研関西支所）、加藤珠理（森林総研多摩森林科学園）、伊原徳子（森林総研）、上野真義（森林総研）、松本麻子（森林総研）、戸丸信弘（名古屋大学）、津村義彦（筑波大学）
2. 発表標題 日本の主要高木種の遺伝的適応：空間分布と温暖化影響予測
3. 学会等名 第135回森林学会大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 加藤珠理（森林総研多摩森林科学園）、内山憲太郎、松本麻子、河原孝行、吉丸博志（森林総研）、向井 譲（岐阜大学）
2. 発表標題 タカネザクラ集団の環境適応遺伝変異の空間モデリング
3. 学会等名 第135回森林学会大会
4. 発表年 2024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	津村 義彦  (Tsumura Yoshihiko)  (20353774)	筑波大学・生命環境系・教授    (12102)	

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	戸丸 信弘  (Tomaru Nobuhiro)  (50241774)	名古屋大学・生命農学研究科・教授    (13901)	
研究分担者	加藤 珠理  (Kato Shuri)  (90467217)	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)	

	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
研究協力者	上野 真義  (Ueno Saneyoshi)  (40414479)	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)	

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