

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04602

研究課題名(和文) 熱帯雨林樹木の集団遺伝解析による氷河期レフュジア拡大の解明

研究課題名(英文) Post-glacial expansion of Southeast Asian tropical rainforest inferred from population genetic analysis of multiple tree species

研究代表者

上谷 浩一 (Kamiya, Koichi)

愛媛大学・農学研究科・准教授

研究者番号：80638792

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：東南アジア熱帯雨林は、第四紀の周期的な寒冷化と海水準の変化によって面積や分布が大きく変動した結果、地域間での生物多様性や地理的分布に大きな違いが形成されてきた。本研究では、複数樹種の遺伝的変異を調査することによって、現在の東南アジア熱帯雨林が最終氷期の後どのように分布を拡大してきたのかを明らかにすることを目的とした。本研究の結果、ボルネオ島とマレー半島の集団間で高い遺伝的分化があること、マレー半島集団はほとんど遺伝的に分化しておらず、これらの集団は最終氷期後に急速に分布を上げたこと、そして氷河期の頃に陸地化していた南シナ海西南部にも氷河期の熱帯雨林レフュジアが存在していたことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

氷河期の熱帯雨林縮小期から現在までの熱帯雨林拡大の歴史は、現在の熱帯雨林多様性の解明、保護を優先すべき地域の特定に貢献する。氷河期には陸地化し熱帯雨林植生が広がっていたと考えられる南シナ海西南部の離島集団に集団固有の遺伝的変異が見つかったことから、この地域に残存する熱帯雨林の保護が優先されるべきである。また、集団間の遺伝的分化に関する情報は、植林の際の種苗移動ガイドラインの設定などに役立てることができる。

研究成果の概要(英文)：Tree species diversity and the geological distribution in Southeast Asian tropical rainforests have been affected by glacial and interglacial periods during the Quaternary. This study aims to understand how the tropical rainforest species extended their distribution since the Quaternary glaciation based on the analyses of genetic variation in populations of multiple tree species. The results indicates that there is substantial genetic differentiation between Boneo and the Malay Peninsula, less genetic differentiation among populations within the the Malay Peninsula, and the island population at the southern portion of the South China Sea is genetically distinct from populations of Borneo and the Malay Peninsula.

研究分野：集団遺伝学，森林遺伝育種学

キーワード：東南アジア熱帯雨林 遺伝的変異 系統地理 フタバガキ科 葉緑体DNA マイクロサテライト

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

東南アジア熱帯雨林の面積と分布の歴史は、過去の気候変動や海水面変動による陸地面積変化の影響を受けていることが知られている。最終氷期における東南アジア熱帯雨林の分布は、地形学、古生物学や生物地理学、また最近では地球システムモデルを取り入れた生態モデリングなどの複数の研究によって推定されている。しかしこれらの研究には、氷河期に広がっていたと考えられるサバンナ植生と熱帯雨林の面積と分布に相違点がある。過去の熱帯雨林の分布変遷を理解することは、熱帯雨林の種多様性の起源を明らかにすることや、保護を優先すべき地域の特定に役立つ。同種内における遺伝的変異の程度やその地理的分布は、その種が経験した集団の拡大や縮小の歴史を反映している。したがって、熱帯雨林構成種の遺伝的変異パターンから過去の環境変動によって熱帯雨林そのものの面積や分布がどのように変化してきたのかを推測することができる。

2. 研究の目的

本研究では、東南アジア熱帯雨林を構成する複数種の遺伝的変異パターンを明らかにし、その結果から過去の森林動態を明らかにすることによって、氷河期レフュジアの位置を推定することを目的とした。

3. 研究の方法

フタバガキ科 7 種 (*Dipterocarpus oblongifolius*, *Shorea accuminata*, *S. albida*, *S. curtisii*, *S. dasyphylla*, *S. leprosula*, *S. parvifolia*) および非フタバガキ科 3 種 (*Dyera costulata*, *D. polyphylla*, *Aquilaria malaccensis*) の集団サンプルを東南アジア各地の熱帯雨林で採取した。これら集団について、葉緑体塩基配列、各塩基配列、マイクロサテライト、および MIG-seq を含む DNA マーカーを使った集団遺伝学的解析をおこなった。

4. 研究成果

(1) フタバガキ科樹木集団の遺伝的変異

マイクロサテライトマーカーを使って、フタバガキ科 7 種の集団内の遺伝的変異量を推定した (表 1)。遺伝的変異量を示すヘテロ接合度は、0.277-0.828 の範囲であった。河川沿いのみに分布する *Dipterocarpus oblongifolius*、北ボルネオの固有種である *Shorea albida*、北ボルネオの狭い範囲に分布する *S. curtisii*、希少種である *S. dasyphylla* などの、分布域の狭い種や特殊な生態分布を持つ種では、遺伝的多様性が低い傾向がみられた。

表 1 各種・各集団のヘテロ接合度

種	集団	ヘテロ接合度
<i>Dipterocarpus oblongifolius</i>	ボルネオ	0.419
	スマトラ	0.688
<i>Shorea accuminata</i>	マレー半島	0.739
	ボルネオ	0.277
<i>S. albida</i>	ボルネオ	0.277
	マレー半島	0.788
<i>S. curtisii</i>	ボルネオ	0.571
	スマトラ	0.410
<i>S. dasyphylla</i>	スマトラ	0.828
	マレー半島	0.728
<i>S. leprosula</i>	ボルネオ	0.718
	スマトラ	0.784
<i>S. parvifolia</i>	マレー半島	0.773
	ボルネオ	0.747

(2) 氷河期後の熱帯樹木集団の分布拡大

種の分布域を網羅した *Shorea curtisii* 24 集団を対象に、葉緑体、核 DNA の塩基配列変異、およびマイクロサテライト変異を調査した。すべての DNA マーカーを使った解析で、マレー半島とボルネオ集団の間に強い遺伝的分化が認められた (図 1)。葉緑体 DNA の解析から、これら 2 地域集団の分岐した年代は 464 万年前 (新第三紀更新世後期) と推定された。マレー半島集団は、ボルネオ島集団とは対照的に、集団間の分化がほとんど見られず、最近急速な集団サイズの増加があったことが示された。葉緑体 DNA 塩基配列から推定された集団サイズ拡大時期は 6 万 7 千年前から 7 千 300 年前であり、これは最終氷期の時期とほぼ一致した。この結果は、マレー半島に現在のような熱帯雨林植生が成立したのは最終氷期以降であり、それまでは第四紀の寒冷化の影響を受け、サバンナ植生が広がっていたという従来の説と矛盾しない。

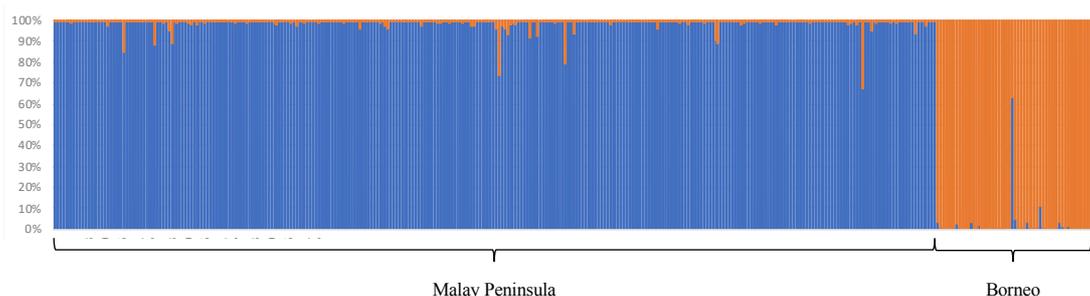


図 1 *Shorea curtisii* にみられる地域集団間の遺伝的分化 (STRUCTURE 解析)

一方で、ボルネオ島集団間には有意な遺伝的分化が観察された。このことは、北ボルネオ地域には氷河期の間にも安定した熱帯雨林が存在していたという説を支持する。このように、本研究によって、種多様性が著しく高い東南アジア熱帯雨林に生息する樹木の遺伝的多様性の地理的分布や遺伝構造は地域によって異なっており、これは過去に起こった全球規模での気候変動や海水面の変化に起因すること、そして熱帯雨林の歴史は現存する生物種の遺伝的変異を解析することによって推論可能であることが示された。

### (3) 非フタバガキ科樹種の地域間分化

キョウチクトウ科のジェルトン (*Dyera costulata*, *D. polyphylla*) および、ジンチョウゲ科のマラッカジンコウ (*Aquilaria malaccensis*) の集団サンプルをインドネシア各地で採取し、葉緑体 DNA 塩基配列変異を解析した。

ジェルトンには、内陸に分布する *D. costulata* と泥炭湿地林で優占する *D. polyphylla* の 2 種が知られているが、これら 2 種は葉緑体によって区別することができた。*D. costulata* から 4 (A, B, C, D), *D. polyphylla* から 2 のハプロタイプ (B, D) が見つかった (図 2)。*D. costulata* では、スマトラ島とカリマンタン集団では異なるハプロタイプにほぼ固定していたが、一部のハプロタイプは集団間、または種間で共有されており、種間交雑が起こっている可能性が示唆された。種間交雑を明らかにするために、核 ITS 領域の塩基配列を決定した。その結果、2 種間で異なる 8 の塩基サイトが見つかった。*D. polyphylla* の葉緑体タイプを示す 9 個体の ITS 配列は、これら 8 サイトでヘテロ接合となっており、これらの個体が 2 種間の雑種由来であることが示された。また、*D. costulata* と同定された 1 個体は、葉緑体、ITS ともに *D. polyphylla* タイプであったことから、稔性のある雑種個体による浸透性交雑の可能性も示唆された。

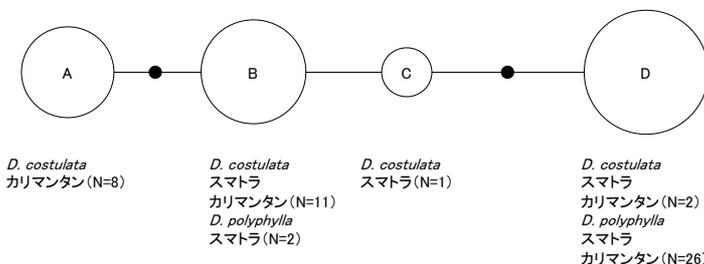


図 2 ジェルトン 2 種の葉緑体ハプロタイプネットワーク

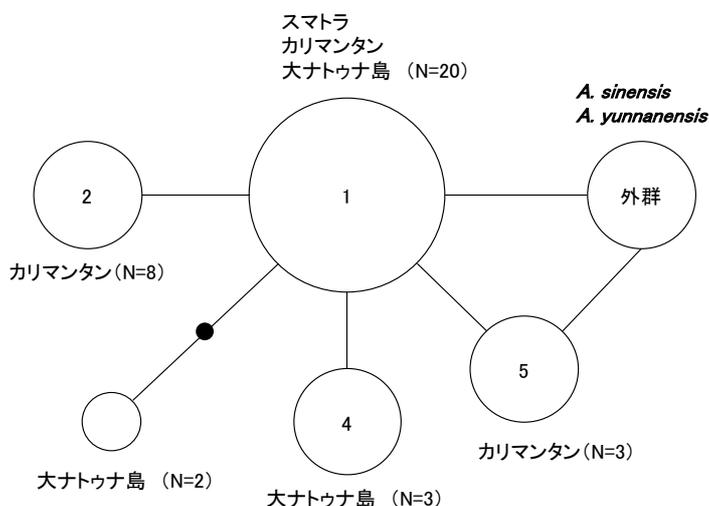


図 3 ジンコウの葉緑体ハプロタイプネットワーク

インドネシアで採取したマラッカジンコウ 6 集団の葉緑体 DNA の塩基配列変異を解析した。その結果、5 カ所の多型サイトによって、5 ハプロタイプが検出された。ハプロタイプネットワークから 6 集団すべてで見つかった最も頻度の高いハプロタイプ 1 が祖先型であると考えられた。スマトラとその周辺の 4 集団はすべてハプロタイプ 1 に固定していた。一方、大ナトゥナ島とカリマンタン集団では複数のハプロタイプが混在し、それらのほとんどは集団に固有であった (図 3)。これらの結果から、スマトラ集団は氷河期後の熱帯雨林拡大によって成立した比較的新しいものであること、スマトラとカリマンタン集団間には高度な遺伝的分化が見られること、氷河期の頃に陸地化していた南シナ海西南部にも氷河期の熱帯雨林レフュージアが存在していたことが示唆された。

### (4) 北ボルネオの泥炭湿地林で優占する固有種アラン (*Shorea albida*) の集団遺伝解析

北ボルネオには、この地域の固有種である *S. albida* が優占する独特な泥炭湿地林が成立する。この種の遺伝的変異および集団構造を明らかにするために、ブルネイ国内の 11 集団についてサンプルを採取し、各個体について 18 マイクロサテライト遺伝子座の遺伝子型を決定した。集団間で遺伝的多様性の程度を示すヘテロ接合度に大きな差はなかったが、複数の集団において過去の集団サイズの急速な拡大が示唆された。集団間の地理的距離と遺伝距離の間に有意な相関は見られなかった。STRUCTURE 解析の結果、2 つの遺伝的クラスターが認められた (図 4)。

*Shorea albida* 集団の遺伝的変異パターンは、新しく作られた泥炭湿地への移住と集団サイズの拡大過程、そして成熟した泥炭湿地林の分断化と消失の影響を受けていると考えられた。この結果、各集団で遺伝的浮動が働くことによって集団間の分化が生じると同時に、他集団から隔離されている一部の集団では近親交配が進行していると考えられた。ブルネイの *Shorea albida* は

2014 年の一斉開花によって多数の種子が生産された。野外調査において、複数の大木が生息する地点の林床でも実生がほとんど発見されなかったことから、本種の実生の多くが初期で枯死したと考えられ、更新がほとんどおこなわれていないことが示唆された。

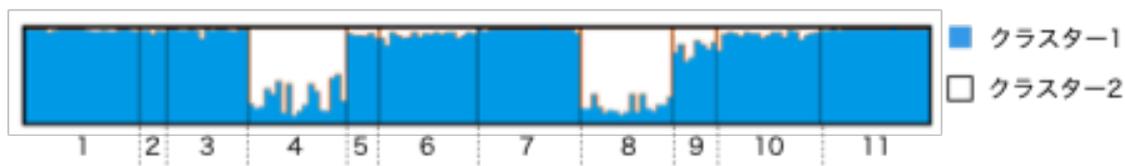


図 2 *Shorea albida* の集団構造 (STRUCTURE 解析)

#### (5) 次世代シーケンス解析による遺伝的多様性の評価と集団構造解析

*Shorea curtisii* の 12 集団を対象に、MIG-seq による塩基配列多型の解析をおこなった。ボルネオ集団の塩基多様度は 0.00241 と推定され、サンガー法によって決定した 3 核遺伝子座の塩基多様度 0.00398 よりも低かった。マレー半島集団の塩基多様度は 0.00363-0.00406 と推定され、3 核遺伝子座の塩基多様度 0.00492-0.00917 よりも低かった。次世代シーケンス解析の結果、葉緑体、各塩基配列、マイクロサテライト同様、ボルネオ島集団の遺伝的多様性が低く、ボルネオ島とマレー半島間には高い遺伝的分化が見つかった。また、マレー半島 11 集団の STRUCTURE 解析の結果からも、マイクロサテライト同様、遺伝的構造は見られなかった。このことから、マレー半島の *S. curtisii* 集団は一つのレフュジア集団から最近急速に分布を拡大したと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kenzo Tanaka, Yoneda Reiji, Tanaka-Oda Ayumi, Azani Mohamad Alias	4. 巻 50
2. 論文標題 Growth performance and leaf ecophysiological traits in three Aquilaria species in Malaysia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 New Forests	6. 最初と最後の頁 699 ~ 715
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11056-018-09693-7	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 該当する
1. 著者名 SHABRINA HASYYATI, SIREGAR ULFAH J, MATRA DEDED, KAMIYA KOICHI, SIREGAR ISKANDAR Z	4. 巻 20
2. 論文標題 Short Communication: DNA extraction from stored wood of Falcataria moluccana suitable for barcoding analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biodiversitas Journal of Biological Diversity	6. 最初と最後の頁 1748-1752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.13057/biodiv/d200635	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 該当する
1. 著者名 Kenzo T, Ichie T, Kamiya K, Ngo KM, Lum SKY	4. 巻 31
2. 論文標題 ROOTING ABILITY OF LEAFY-STEM CUTTINGS OF HYBRID SHOREA (DIPTEROCARPACEAE)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JOURNAL OF TROPICAL FOREST SCIENCE	6. 最初と最後の頁 324 ~ 331
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26525/jtfs2019.31.3.324	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 該当する
1. 著者名 Kenzo Tanaka, Kamiya Koichi, Ngo Kang Min, Faizu Nik, Lum Shawn Kaihekulani Yamauchi, Igarashi Shuichi, Norichika Yuki, Ichie Tomoaki	4. 巻 435
2. 論文標題 Overlapping flowering periods among Shorea species and high growth performance of hybrid seedlings promote hybridization and introgression in a tropical rainforest of Singapore	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Forest Ecology and Management	6. 最初と最後の頁 38 ~ 44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.foreco.2018.12.038	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 該当する

1. 著者名 Lutz JA, Furniss TJ, Johnson DJ, Davies SJ et al.	4. 巻 27
2. 論文標題 Global importance of large-diameter trees	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Global Ecology and Biogeography	6. 最初と最後の頁 849 ~ 864
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/geb.12747	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 該当する

1. 著者名 田中憲蔵	4. 巻 99
2. 論文標題 フタバガキ科樹木の多彩な光合成と水利用特性	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 海外の森林と林業	6. 最初と最後の頁 23-28
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16件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 伊東明・奥野聖也・名波哲・殷亭亭・山倉拓夫・上谷浩一・中谷崇人・松山周平・Stuart Davies・Sylvester Tan・Mohiza B. Mohamad
2. 発表標題 ボルネオ熱帯雨林樹木の群集系統学 - 群集生態と進化をつなぐ試み
3. 学会等名 第28回日本熱帯生態学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小笠原実里・中谷崇人・上谷浩一・田中憲蔵・米田令仁・Mohamad Azani Alias・Shawn Lum・Rahayu Sukmaria Hj Sukri・Alex Cobb
2. 発表標題 DNA配列解析によって推定された広域分布するフタバガキ科複数種の地域間分化
3. 学会等名 第28回日本熱帯生態学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上谷浩一・田中憲蔵・米田令仁・名波哲・市栄智明・Shawn Lum・Mohamad Azani Alias
2. 発表標題 フタバガキ科ショレア属種間雑種の戻し交配による繁殖
3. 学会等名 第28回日本熱帯生態学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中谷崇人・小笠原実里・上谷浩一・伊東明・名波哲・田中憲蔵・米田令仁・Bibian Diway・Lucy Chong・Mohamad Azani Alias・Shawn Lum・Wang Khoon Meng・Rahayu Sukmaria Hj Sukri・Alex Cobb
2. 発表標題 フタバガキ科Shorea curtisiiの過去の集団動態
3. 学会等名 第28回日本熱帯生態学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Itoh A, Nanami S, Yin TT, Okuno S, Matsuyama M, Kamiya K, Nakatani T, Mohamad M, Tan S, Davies S
2. 発表標題 Species-specific drought effects: consequences for species and phylogenetic diversity of Bornean rain forest trees
3. 学会等名 The 55th Annual Meeting of Association of Tropical Biology and Conservation (ATBC) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊東明・名波哲・殷亭亭・奥野聖也・山倉拓夫・上谷浩一・中谷崇人・松山周平・Stuart Davies・Sylvester Tan・Mohiza B. Mohamad
2. 発表標題 ボルネオ熱帯雨林の生物多様性保全における系統多様性指標の有効性
3. 学会等名 第27回日本熱帯生態学会年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 武田紗季・名波哲・濱田稔史・山倉拓夫・上谷浩一・市榮智明・田中憲蔵・Mohiza Mohamad・伊東明
2. 発表標題 ボルネオ熱帯雨林におけるリュウノウジュとホソバリユウノウジュの間の浸透性交雑
3. 学会等名 第27回日本熱帯生態学会年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 武田紗季・名波哲・濱田稔史・山倉拓夫・上谷浩一・市榮智明・田中憲蔵・Mohiza Mohamad・伊東明
2. 発表標題 ボルネオ熱帯雨林におけるリュウノウジュとホソバリユウノウジュの雑種の戻し交雑による繁殖
3. 学会等名 第65回日本生態学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeda S, Nanami S, Hamada T, Yamakura T, Kamiya K, Ichie T, Tanaka K, Bibian D, Mohizah M, Itoh A
2. 発表標題 Interspecific hybridization as a mechanism for evolutionary rescue of emergent dipterocarp tree species in a tropical rainforest
3. 学会等名 The 8th East Asian Federation of Ecological Societies International Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中谷崇人・上谷浩一・伊東明・名波哲・田中憲蔵・米田令仁・Bibian Diway・Lucy Chong・Mohamad Azani Alias・Shawn Lum・Wong Khoon Meng・Nik Muhammad Majid・Rahayu Sukmaria Hj Sukri・Alex Cobb
2. 発表標題 東南アジアのフタバガキ科Shorea curtisii集団の遺伝的多様性と構造
3. 学会等名 第129回日本森林学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kamiya K, Ohkubo T, Hara M, Chai P, Jawa R.
2. 発表標題 Molecular phylogeography of <i>Trigonobalanus verticillata</i> (Fagaceae) with a population newly discovered from Borneo Highlands, Sarawak
3. 学会等名 11th Flora Malesiana Symposium (FM11) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ogasahara M, Cobb A, Ideris NKH, Sukri RS, Kamiya K
2. 発表標題 Predicting the historical demographic changes of peat swamp forests inferred from DNA sequence variation at multiple nuclear regions in <i>Shorea albida</i> populations
3. 学会等名 11th Flora Malesiana Symposium (FM11) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊東明・奥野聖也・名波哲・殷亭亭・山倉拓夫・上谷浩一・中谷崇人・松山周平・Stuart Davies・Sylvester Tan・Mohiza B. Mohamad
2. 発表標題 ボルネオ熱帯雨林樹木の群集系統学 - 群集生態と進化をつなぐ試み
3. 学会等名 第29回日本熱帯生態学会年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥野聖也, 名波哲, 伊東明, 上谷浩一, 松山周平, TAN Sylvester, Mohizah B. Mohamad
2. 発表標題 ボルネオ熱帯雨林樹木の種分化速度とニッチ多様化速度の関係
3. 学会等名 第30回日本熱帯生態学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊東明, 辰巳茉優, 荒井瑤史, 奥野聖也, 殷亭亭, 名波哲, 上谷浩一, 松山周平, 永野惇, 手塚あゆみ, 陶山佳久, 松尾歩, Sylvester TAN, Mohamad MOHIZAH
2. 発表標題 ボルネオ熱帯雨林の樹木における過去の種間交雑の可能性とそのニッチ進化への影響
3. 学会等名 第68回日本生態学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥野聖也, 殷亭亭, 名波哲, 伊東明, 上谷浩一, 松山周平, Sylvester TAN, Mohiza B. MOHAMAD
2. 発表標題 東南アジア熱帯雨林樹木の種分化速度と形質多様化速度のリンクと群集集合に対する影響
3. 学会等名 第68回日本生態学会年次大会
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	田中 憲蔵 (Tanaka Kenzo)  (30414486)	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	伊東 明 (Itoh Akira)  (40274344)	大阪市立大学・大学院理学研究科・教授  (24402)	

#### 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
---------	---------