

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：33501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K06150

研究課題名(和文) 森林の急激な環境変化が野生植物の生態的・進化的変化に与える影響

研究課題名(英文) Effects of rapid environmental changes on ecological and evolutionary processes in forest plants

研究代表者

森長 真一 (Morinaga, Shin-Ichi)

帝京科学大学・生命環境学部・准教授

研究者番号：80568262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：近年、日本の森林では、急激にシカの個体数が増加している。それに伴い、シカ嗜好性植物は減少し、一方で、シカ不嗜好性植物の個体数は増加し、これが生態系全体に影響している。そこで本研究では、センリョウ科のシカ不嗜好性植物2種を対象に、遺伝的な集団構造解析を実施した。日本各地の複数の集団から解析個体を採取し、次世代シーケンサーを用いて全ゲノムシーケンスと集団ゲノム解析を実施した。その結果、同所的なヒトリシズカとフタリシズカであっても遺伝的な距離が大きく離れており、少なくとも大規模な遺伝子流動は生じていないことがわかった。また、各種の遺伝的構造は、距離による隔離がはたらいていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シカの個体数増加は森林内に生育する植物の種構成に影響を及ぼし、観光や産業にも負の波及効果をもたらしている。特に、シカ不嗜好性植物は森林内で過度に増加するため、適切な個体群管理が必要となる。本研究課題で対象としたシカ不嗜好性植物の近縁2種は、花の形態的特徴に違いが見られるが、その一方で遺伝的な集団構造には際立った違いは見られなかった。このことは、森林内で増加するヒトリシズカとフタリシズカの個体群管理を実施する際には、同じような手法を適用できる可能性があることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：In recent years, the population of deer has been rapidly increasing in Japanese forests. In response, the number of deer-preferring plants has decreased, while the number of deer-unpreferring plants has increased, which has affected the ecosystem. In this study, we conducted a genetic population structure analysis of two species of deer non-preferring plants in Chloranthaceae. Analyzed individuals were collected from several populations across Japan, and whole genome sequencing and population genome analyses were conducted using next-generation sequencers. The results showed that the sympatric *Chloranthus quadrifolius* and *C. serratus* have a large genetic distance from each other, indicating that at least large-scale gene flow has not occurred. In addition, the genetic structure of each species was isolated by distance.

研究分野：進化生態学

キーワード：シカ不嗜好性植物 集団ゲノム解析

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

日本におけるシカの増加に伴う生態系の変化は、この数十年で深刻さを増し、特に森林科学的な観点から数多くの研究がなされてきた。また世界的には、環境変化に対する生物側の生態的・進化的な変化の把握が重要な研究課題となっている。近年では、生態系内での急速な進化的変化と、その変化に伴う生態的变化へのフィードバックに関する新たな概念も提唱されている。しかしながら、わずか数年単位で顕著に環境が変化する自然生態系は限られており、加えてゲノムワイドな遺伝解析もほとんど行われておらず、生態的变化の解明に対して、進化的変化の解明は相対的に遅れていた。

そこで本研究課題では、野外調査に加えて集団ゲノム解析を用いることで、応用科学的な観点からは「シカの増加が林床植物に与える影響の把握」を、基礎科学的な観点からは「生態進化ダイナミクスの実証」を目指すことを試みた。これらの研究成果は、シカの増加によって影響を受ける森林生態系のみならず、より広範な生物種・生態系を対象とした生態系モニタリングへと繋がっていくことが期待される。

2. 研究の目的

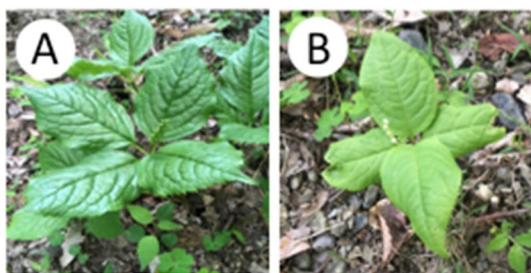
生物を取り巻く環境の変化は、森林伐採のように局所的なものから地球温暖化のように大域的なものまで様々であり、それに対して生物もまた常に変化し続けている。しかしながら、多くの場合、環境変化は緩やかに起こるため、生物側の変化を短期間で解析するのは非常に困難である。一方、数年という短い時間で環境が激変している自然生態系を対象にすれば、限られた時間の中でその変化を詳細に解析することができる。そのような急激な環境変化を解析できるのが森林生態系である。日本の森林においては、1970年頃より野生のシカが急激に増加をはじめ、それに伴って生態系が大きく変化し、その変化は産業や観光などにも負の波及的効果をもたらしている。

そこで本研究課題では、森林生態系内に生育する複数のシカ不嗜好性植物を対象に、野外調査と集団ゲノム解析によって、急激な環境変化が野生植物の生態的および進化的な変化に与える影響について明らかにすることを目的とした。また研究対象には、日本全国に広く分布するセンリョウ科チャラン属のシカ不嗜好性植物であるヒトリシズカとフタリシズカを選定した。近縁な2種を対象とすることで、ゲノム解読やデータ解析を効率的に行うことができ、また、形態的な違いが遺伝的な集団構造の違いに与える影響を明らかにできると考えた。なお、ゲノム解読済みのシカ不嗜好性植物が見つからなかったため、日本の広域分布種である上記2種を研究対象とした。

3. 研究の方法

(1) 研究対象とサンプリング

センリョウ科チャラン属ヒトリシズカ (*Chloranthus quadrifolius*, 右図A)とフタリシズカ (*Chloranthus serratus*, 右図B)を対象に、関東を中心としつつ日本各地の複数の集団から解析個体の採取を行った。複数年に渡ってサンプリングを実施し、2種合わせて269個体を採取した。加えて、同一集団における異なる年の生育個体についても採取した。



(2) ゲノム解析と分布調査

それぞれの種において、採取した個体の中から1個体ずつを用いて、複数の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を実施した。加えて、葉組織においてRNAを抽出し、トランスクリプトーム解析を実施した。取得した発現遺伝子の配列を用いて、ゲノムアッセブリの効率化を試みた。ゲノムデータとトランスクリプトームデータを利用しつつ、2種合わせて96個体を対象に縮約的手法による集団ゲノム解析を実施し、ヒトリシズカとフタリシズカにおける集団構造の違いを解析した。さらにシカの個体群密度が異なる関東5箇所の森林を対象に、複数回の植物分布調査を実施し、シカの個体群密度とシカ不嗜好性植物の在不在や開花期間などとの関連性について分析した。

4. 研究成果

(1) ゲノムアッセブリー

ヒトリシズカとフタリシズカを対象に、それぞれ1個体からゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンサー-DNBSEQを用いた150bpのペアエンドシーケンス解析を行った。トリミング後に得られた総DNA配列は、ヒトリシズカについては約119Gbp(約8億リード)、フタリシズカについては

約 100Gbp (約 6.5 億リード) となった。ショートリードシーケンサーでの解析と共に、オックスフォードナノポア社の MinION を用いたローグリードシーケンス解析も実施した。ヒトリスズカでは約 4Gbp (約 31 万リード)、フタリスズカでは約 2Gbp (約 17 万リード) のロングリードを取得した。

これらのデータをそれぞれの種ごとに統合してハイブリッドアセンブリを行ったところ、両種ともに同精度のコンティグを作成することに成功した。また、ヒトリスズカとフタリスズカは同じチャラン属の非常に近縁な 2 種であるが、ゲノム配列には違いが見られ、トランスクリプトームデータを用いた異種間マッピングを行うと、そのマッピング率に違いが見られることも分かった。

(2) 集団ゲノム解析

関東を中心に日本各地から採取したフタリスズカとフタリスズカを対象に、DNBSEQ シーケンサーを用いた縮約的手法による集団ゲノム解析を行った。この解析に用いた個体は同じ場所における異なる年に採取したものも含まれており、遺伝的構造の時間的変化を追跡できるサンプルセットとなっている。シーケンスにより、ヒトリスズカについては 1 個体あたり約 310Mbp (約 154 万リード)、フタリスズカについては 1 個体あたり約 250Mbp (約 127 万リード) の配列を取得した。各個体について、アダプターなどをトリミングしてマッピング等を行い、クラスター解析や系統解析などを行った。

2 種を合わせて解析したところ、ヒトリスズカとフタリスズカでは遺伝的に異なるクラスターを形成し、同所的に生育する場合でも少なくとも大規模な遺伝子流動は生じていないことがわかった。ただし、部分的には遺伝子流動が生じている可能性があり、全ゲノムによる詳細な解析も検討する必要があるかもしれない。加えて、ヒトリスズカとフタリスズカには複数の新種が含まれている可能性も指摘されており (矢原ほか 2024 新種候補植物図鑑速報版 1)、より広範囲かつより大量サンプルでの解析も必要になると考えられる。

それぞれの種ごとの遺伝的構造を解析したところ、集団ごとに異なるクラスターが形成されることがわかった。つまり、たとえ近隣の同種集団であっても、大まかに遺伝的クラスターを区別することができ、局所的なスケールでも距離による隔離がはたらいていた。またヒトリスズカとフタリスズカは、花の形態的な特徴に違いが見られるため、送粉者相の違いを通じて遺伝的構造に違いが見られることも予想されたが、実際には遺伝的構造に際立った違いは見られなかった。これらの結果は、シカ不嗜好性植物であるが故に森林内で増加するヒトリスズカとフタリスズカにおいて、その個体群管理を実施する際には、同じような手法を適用できる可能性があることを示唆している。

また異なる年に採取した同じ調査地由来の個体を利用した解析においても、遺伝的構造に際立った違いは見られなかった。ヒトリスズカやフタリスズカのように急激に個体数が増加する場合でも、ごく数年であれば大きな違いは見られないことが確認できた。今後は、より長期的な個体群動態の調査と遺伝的構造の解析が望まれる。

今回の解析では、全ゲノムでの解析ではなく、縮約的手法による遺伝マーカーとしての遺伝解析を実施した。一方で、もし全ゲノムでの集団ゲノム解析を実施できれば、個体群の拡大縮小あるいは移動に伴う、適応に関わる遺伝子座における対立遺伝子頻度の変動を追跡することも可能になると考えられる。

(3) 分布調査

シカの個体群密度が異なる関東 5 箇所の森林において、シカ不嗜好性植物を中心とした分布調査を実施した。10m x 1m のトランセクトを各調査地あたり 3~5 本を設定し、調査日に開花している植物種を同定した。また、調査地ごとのシン普森の多様度指数や調査地間の類似度などを計算し、クラスター分析や主成分分析も実施した。なお、シカの個体群密度については、環境省の公開データを用いた。

野外調査の結果、シカの個体群密度に比例して、開花植物の種数は減少し、多様度指数も減少することがわかった。また類似度に対しては、地理的な近さよりもシカの個体群密度の方が、より大きな影響を与えることがわかった。また、同一調査地における季節的な変化を調査したところ、シカの個体群密度が高い場所では、シカ不嗜好性植物の開花期間が短くなる傾向が見られた。この開花期間の短縮が、遺伝要因によるのか、環境要因によるのか、さらなる解析が必要と考えられる。

今回の解析では被子植物を対象に調査を行った。一方で、シダ植物やコケ植物などを含めることで、より詳細な考察を行えると考えられる。また、開花していない植物については同定が困難な部分もあったため、DNA バーコーディングや環境 DNA を用いることで、高い精度での種同定が可能になると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Yoshida Naofumi, Morinaga Shin-Ichi, Wakamiya Takeshi, Ishii Yuu, Kubota Shosei, Hikosaka Kouki	4. 巻 136
2. 論文標題 Does selection occur at the intermediate zone of two insufficiently isolated populations? A whole-genome analysis along an altitudinal gradient	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 183 ~ 199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-022-01429-1	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 Suzuki Miwa, Ohno Kaho, Sawayama Eitaro, Morinaga Shin Ichi, Kishida Takushi, Matsumoto Teruyo, Kato Haruhiko	4. 巻 32
2. 論文標題 Genomics reveals a genetically isolated population of the Pacific white sided dolphin (<i>Lagenorhynchus obliquidens</i>) distributed in the Sea of Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Ecology	6. 最初と最後の頁 881 ~ 891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mec.16797	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 Vaario Lu-Min, Asamizu Shumpei, Sarjala Tytti, Matsushita Norihisa, Onaka Hiroyasu, Xia Yan, Kurokuchi Hiroyuki, Morinaga Shin-Ichi, Huang Jian, Zhang Shijie, Lian Chunlan	4. 巻 81
2. 論文標題 Bioactive properties of streptomycetes may affect the dominance of <i>Tricholoma matsutake</i> in shiro	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Symbiosis	6. 最初と最後の頁 1 ~ 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13199-020-00678-9	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 Wang Qing-Wei, Daumal Maya, Nagano Soichiro, Yoshida Naofumi, Morinaga Shin-Ichi, Hikosaka Kouki	4. 巻 132
2. 論文標題 Plasticity of functional traits and optimality of biomass allocation in elevational ecotypes of <i>Arabidopsis halleri</i> grown at different soil nutrient availabilities	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 237 ~ 249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-019-01088-9	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 Ishizuka Wataru, Hikosaka Kouki, Ito Motomi, Morinaga Shin-Ichi	4. 巻 70
2. 論文標題 Temperature-related cline in the root mass fraction in East Asian wild radish along the Japanese archipelago	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 321 ~ 330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbs.18201	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17件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 須田峻・久保田涉誠・森長真一・土松隆志
2. 発表標題 集団ゲノム解析からみたハクサンハタザオの日本列島における集団構造と進化史
3. 学会等名 日本進化学会第25回沖縄大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉田直史・森長真一・白井一正・花田耕介・彦坂幸毅
2. 発表標題 Altitudinal adaptive divergence of low temperature tolerance in <i>Arabidopsis halleri</i>
3. 学会等名 日本進化学会第25回沖縄大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Bo ZHANG, Yiheng SHEN, Hiroshi OZAKI, Naofumi YOSHIDA, Shin-Ichi MORINAGA, Kouki HIKOSAKA
2. 発表標題 Genetic structure and differentiation history of a recent invader <i>Cardamine hirsuta</i> in Eastern Japan in relation to climate factors
3. 学会等名 日本生態学会第71回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 須田峻・久保田渉誠・森長真一・土松隆志
2. 発表標題 ハクサンハタザオの日本列島における進化史:集団ゲノム解析からみた分化と気候適応
3. 学会等名 日本生態学会第71回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 吉田直史・森長真一・彦坂幸毅
2. 発表標題 ハクサンハタザオの低温耐性の標高間変異:エコタイプ間比較およびF2集団の観察から見えてくる遺伝的背景
3. 学会等名 第53回種生物シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田直史・森長真一・彦坂幸毅
2. 発表標題 ハクサンハタザオの低温ストレス耐性の標高間変異:エコタイプ間比較および F2 集団の観察から見えてくる遺伝的背景
3. 学会等名 東北植物学会第12回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田直史・森長真一・石井悠・白井一正・久保田渉誠・花田耕介・彦坂幸毅
2. 発表標題 ハクサンハタザオの低温耐性の標高間変異:F2集団の形質・ゲノムから探る遺伝的背景
3. 学会等名 日本生態学会第70回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉田直史・森長真一・若宮健・石井悠・久保田涉誠・彦坂幸毅
2. 発表標題 F2個体の形質値分布から見るハクサンハタザオArabidopsis halleriの標高間変異
3. 学会等名 東北植物学会第11回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田直史・森長真一・若宮健・石井悠・久保田涉誠・彦坂幸毅
2. 発表標題 F2個体の形質値分布から見るハクサンハタザオの標高間変異
3. 学会等名 日本生態学会第69回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀧毅恒・尾崎洋史・吉田直史・森長真一・彦坂幸毅
2. 発表標題 Analysis of the genetic background of invasive species along latitude by using single nucleotide polymorphism information
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田直史・森長真一・若宮健・石井悠・久保田涉誠・彦坂幸毅
2. 発表標題 ハクサンハタザオの標高適応解析：中間標高帯における選択が適応分化に影響するか？
3. 学会等名 第52回種生物シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 代抒凝・小口理一・小黒芳生・森長真一・彦坂幸毅
2. 発表標題 近縁な在来種と侵入種における緯度傾度に沿った葉の機能形質の種内変異
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田直史・若宮健・鳥居怜平・小口理一・石井悠・藤井伸治・久保田涉誠・森長真一・花田耕介・河田雅圭・彦坂幸毅
2. 発表標題 ハクサンハタザオの標高適応解析 機能遺伝子の観点から
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田直史・若宮健・鳥居怜平・小口理一・石井悠・久保田涉誠・森長真一・花田耕介・彦坂幸毅
2. 発表標題 標高間変異は中間標高において中間的であるか否か：ハクサンハタザオの全ゲノム解析から
3. 学会等名 東北植物学会第9回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 代抒凝・小口理一・小黒芳生・森長真一・彦坂幸毅
2. 発表標題 近縁な在来種と侵入種における環境傾度に沿った葉の機能形質の種内変異
3. 学会等名 東北植物学会第9回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀧毅恒・尾崎洋史・吉田直史・森長真一・彦坂幸毅
2. 発表標題 Analysis of the genetic background of an invasive species, Cardamine hirsuta, along latitude by using single nucleotide polymorphism (SNP) information
3. 学会等名 東北植物学会第9回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田拓矢・五十嵐勇治・森長真一・平尾聡秀
2. 発表標題 石灰岩地に隔離分布する絶滅危惧種チヂブミネバリの遺伝構造
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会（誌上発表）
4. 発表年 2020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	平尾 聡秀 (Hirao Toshihide) (90598210)	東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・講師 (12601)	
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)	

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
---------	---------