

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2016

課題番号：26304013

研究課題名(和文) 環太平洋地域における周北極高山植物の起源とベーリンジア・レフュジア仮説の検証

研究課題名(英文) Analyses of origin of circumpolar arctic alpine plants ranging across Pacific rim and hypothesis testing of Beringea-refugia

研究代表者

瀬戸口 浩彰 (SETOGUCHI, Hiroaki)

京都大学・人間・環境学研究科(研究院)・教授

研究者番号：70206647

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,600,000円

研究成果の概要(和文)：アラスカ南部のキーナイ半島を中心とする地域、デナリ国立公園の南部の内陸部における海外調査を実施した。4地点における植物採取を行い、ミネズオウやエゾツツジなど日本列島にも共通して分布する高山植物(計35種)から、DNA解析に使用する試料を収集した(計419サンプル)。海外調査に加え、これまでの調査及び本年の調査で収集した試料からDNAを抽出し、核遺伝子における遺伝的多様性を解析した。本年度はアオノツガザクラに力を入れて解析を進め、日本列島の中部地方・北海道中部及び北海道東部からアラスカまでの3つの遺伝的グループに分かれることが明らかとなった。この成果は2017年3月の植物分類学会で口頭発表した。

研究成果の概要(英文)：Overseas surveys were conducted in areas centered on the Kenai peninsula in southern Alaska and inland in the Denali National Park. We gathered plants at 4 sites and collected samples used for DNA analysis from alpine plants (35 species in total) distributed commonly in Japanese archipelago such as Minnesota and Ezo Azalea (total of 419 samples). In addition to overseas surveys, DNA was extracted from samples collected in previous surveys and surveys this year and genetic diversity in nuclear genes was analyzed. This year, we found three genetic groups from Chubu region of the Japanese archipelago, middle part of Hokkaido and eastern part of Hokkaido to Alaska with emphasis on *Phyllodoce aleutica*. This result was orally presented at the Annual Meetings of Japanese Society for Plant Taxonomists on March 2017 at Kyoto University.

研究分野：植物の進化多様性科学

キーワード：周極要素植物 高山植物 ベーリンジア 植物系統地理 第四紀 レフュジア 気候変動

### 1. 研究開始当初の背景

第四紀の中後期は、地球が激しい気候変動による寒暖を繰り返した時期である。とりわけ陸地が多かった北半球では大陸氷床の発達によって、植生の多くが壊滅したとされる。しかしベーリング海周辺の内陸地域は、乾燥によって氷床が発達しなかったために、周北極高山植物の集団が維持され続けたとされる。これは「ベーリングシア・レフュジア」と呼ばれ、氷床分布データとフロラ比較に基づいて Hulten (1937) によって提唱され、広く認識されてきた。実際にアラスカ州内陸部の植物集団を用いた系統地理研究によっても、この仮説は支持されている (Abott 2000 など)。

しかし現在の植生では、内陸部よりも海岸沿いの地域 (アリューシャン列島やアラスカ南部の海岸沿い地域) において、周北極高山植物が多く生育している。この「湿潤な地域の周北極高山植物」の植生の分布を見ると北海道やサハリン、カムチャッカなどから弧を描くように連続しており、同じ地域の内陸部にある乾燥したベーリングシア・レフュジアではなくて、むしろ北海道にまで至る環北太平洋沿岸地域の集団に由来するのではないかという構想を持つに至った。また、同一種の中の比較でも、内陸部よりも海岸沿い地域の集団の方が遺伝的多様性も高いのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

北半球の高緯度地域と高標高地には、周北極高山植物が広く分布しており、その植生は地球の陸地面積でも高い割合を占める。第四紀中後期における気候変動期には、これらの植物はベーリングシア・レフュジアと呼ばれるベーリング海周辺の内陸地域に避難して存続を続け、ここを起源にして分布の再拡大をしたと考えられてきた。本研究は、内陸で乾燥したベーリングシア・レフュジアよりもむしろ海岸沿いの湿潤域の集団がレフュジアとして機能したこと、海岸沿い湿潤域のレフュジアの起源は、南側に位置する環北太平洋沿岸地域の集団に由来すること、この2点の仮説を検証することを目的とする。3年間の期間内に米国アラスカ州でサンプリングを進め、核ゲノムの遺伝子多型を解析することによって、分子系統地理や集団遺伝学の観点からこれらの仮説を検証する。

### 3. 研究の方法

3年間の期間内にアラスカ州の6カ所 (アリューシャン列島と沿岸部) にて、12集団から8種の植物を集団サンプリングした。各試料から核ゲノムの遺伝子：12種類の塩基配列を解析して遺伝子多型を検出した。比較に用いるアラスカ内陸部やカナダ、ロシア、日本のサンプルは、これまでに実施した海外学術研究で採集済みであるか、もしくは共同研

究を進めているオスロ大学、アンカレッジ大学、ロシア科学アカデミー極東研究所の研究者との間で融通した。これらのデータを総合して、集団の系統関係や遺伝的多様性を正確に (複数の核遺伝子マーカーを使うことによって、従来の葉緑体DNAだけのデータよりも質的に大きく向上する) 評価することができた。他地域と比べて遺伝的多様性が高く、独自の系統がある場合には、ベーリングシア沿岸部に周北極高山植物のレフュジアが存在したと考えられ、反対に、他地域 (北海道やカムチャッカ) と同様な系統があり遺伝的多様性が低い場合には、他地域からの移入に由来すると結論づけた。また、多くの一塩基多型 (SNP) を取得することが出来たので、分岐年代推定や集団動態をABCモデルやIMモデルを使うことによってベイズ法をベースにした推定を行った。さらにEcological Niche Modelingを適用して、LGMにおける分布予測を立てて、第四期末における周極高山植物の分布域変遷について考察を固めた。

### 4. 研究成果

数多くの周極高山植物をサンプリングして、またロシア・アメリカ・ノルウェーの共同研究者ともサンプルを融通し合うことによって全球的な資料を収集した。このうち、6種について国際誌への投稿にまで到達させることが出来た。これらの植物の間における共通の知見は、アラスカ沿岸部からアリューシャン列島を経てカムチャッカ半島に至るまでの広範囲なエリアに共通の遺伝構造を持つこと、これに対して日本列島の高山帯の集団は、異質な遺伝構造を保有していること、日本国内では北側と南側の集団に緩く分化していること、上記との遺伝構造は最終氷期最寒冷期 (LGM) の最中かその終わりかけの時期 (約16,000~10,000年前) に分化を起こしたことがIMモデル、ABCモデルを使ったベイズ推定によって明らかになった。また、その分化後には、2つのユニットの間で遺伝子流動が全くなく、独自の歴史を経てきたことがわかった。

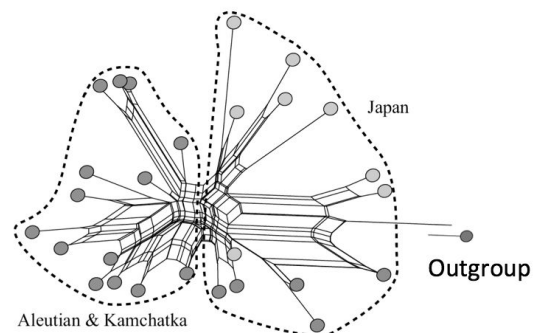
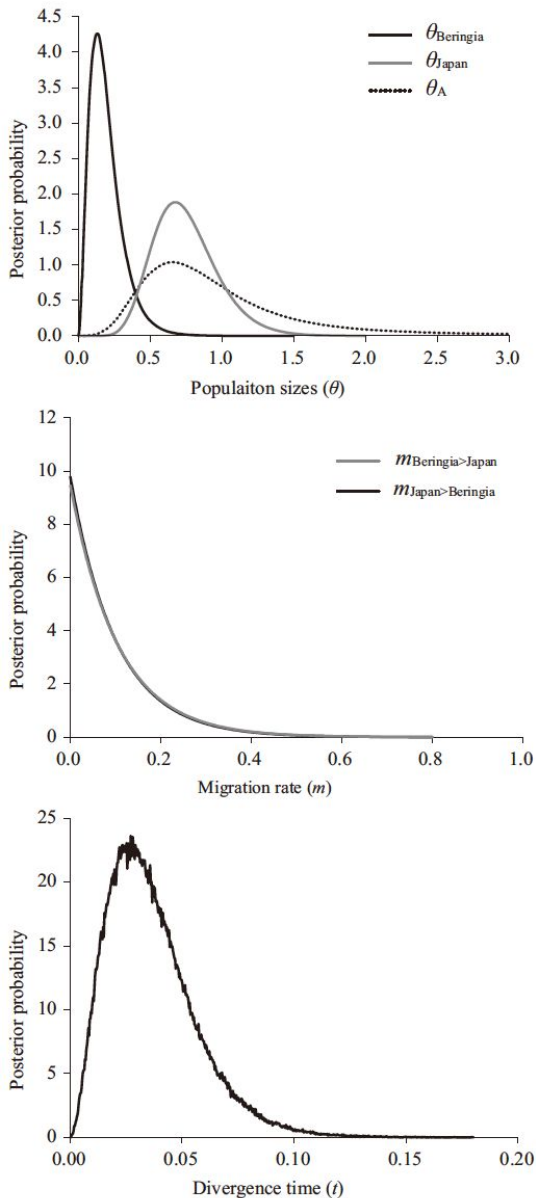


図1 エゾツツジにおける集団間ネットワーク

例えばツツジ科のエゾツツジでは、ベーリングアから日本の高山帯にまで広く分布するが、日本の高山帯の大多数の集団は独自のDNA型を保有しており、ベーリングアからアリューシャン列島を経てカムチャッカ半島に至る系統とは異なっていた(図1)。このことは、周極高山植物の重要なレフュジアがベーリングアだけではなく、低緯度で氷床に覆われなかった日本列島にも存在していたことを示唆している。エゾツツジにおけるこの2系統の分化は、最終氷期最寒冷期(LGM: Last Glacial Maximum)に相当する15,000年から10,000年にかけて分化したと推定された。また、分化後に両系統は二度と交わることなく独自の歴史を経てきたことが示唆された。過去の集団サイズとしては、ベーリングアよりもむしろ日本列島の系統の方が大きかったことが推定された(図2)。

図2 .IMモデルによるエゾツツジの過去の集団動態推定



同様の知見はエゾノツガザクラにおいても示唆されている(図3)。エゾノツガザクラは日本国内では北海道と千島列島にのみ分布するが、この日本の集団の遺伝構造は、ベーリングアからサハリンまでの集団とは明らかに異なる遺伝組成を保有していた。つまりエゾツツジと同様に、日本列島はベーリングアと同様に第四紀気候変動期において安定したレフュジアであったことを示唆している。興味深い知見としては、サハリンの一部に日本と同様な遺伝構造が存在していることである。これが日本から北上したものであるのか、それとも祖先多型の一部として存在するののかは、今後の詳細な研究が必要であろう。

図3 .エゾノツガザクラにおけるSTRUCTURE解析の結果.



以上のように、Hultenによって提唱され、広く認識されてきた「ベーリングア・レフュジア」は、確かにアラスカ州内陸部に存在したものの、その一方で遙かに低緯度に位置して氷床に覆われることがなかった日本列島が、これに相当する周極高山植物のレフュジアとして評価されるべきであると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計10件)

Ikeda, H., Setoguchi, H. Importance of Beringia for the divergence of two northern Pacific alpine plants, *Phyllodoce alutica* and *Phyllodoce glanduliflora* (Ericaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 査読あり (in press)

Hata, D., Higashi, H., Ikeda, H., Yakubov, V., Barkalov, V., Setoguchi, H. 2017. Phylogeographic insight into the Aleutian flora inferred from the historical range shifts of the alpine shrub *Therorhodion camtshaticum* (Pall.) Small (Ericaceae). *Journal of Biogeography*, 査読あり, 44: 283-293. DOI: 10.1111/jbi.12876

Kameoka, S., Sakio, H., Abe, H., Ikeda, H., Setoguchi, H. 2017. Genetic structure of *Hepatica nobilis* var. *japonica*, focusing on within-population flower color polymorphism. *Journal of Plant Research*, 査読あり, 130: 263-271. DOI: 10.1007/s10265-016-0893-1

Matsuda, J., Maeda, Y., Nagasawa, J., Setoguchi, H. 2017. Tight species cohesion among insular wild gingers (*Asarum* spp. Aristrochiaceae) on continental islands: highly differentiated floral characteristics versus undifferentiated genotypes. *PLOS ONE*, 査読あり, 12(3): e0173489 DOI: 10.1371/journal.pone.0173489

Takahashi, D., Sakaguchi, S., Setoguchi, H. 2016. Development and characterization of EST-SSR markers in *Asarum sakawanum* var. *stellatum* and cross-amplification in related species. *Plant Species Biology*, 査読あり, DOI: 10.1111/1442-1984.12156

Ikeda, H., Sakaguchi, S., Yakubov, V., Barkalov, V., Setoguchi, H. 2015. Importance of demographic history for phylogeographic inference on the arctic-alpine plant *Phyllodoce caerulea* in East Asia. *Heredity*, 査読あり, 116: 232-238. DOI: 10.1038/hdy.2015.95

Han, Q., Higashi, H., Mitsui, Y., Setoguchi, H. 2016. Lineage isolation in the face of active gene flow in the coastal plant wild radish is reinforced by differentiated vernalisation responses. *BMC Evolutionary Biology*, 査読あり, 16: 84 DOI:10.1186/s12862-016-0655-7

Ikeda, H., Yoneta, Y., Higashi, H., Eidesen, P.B., Barkalov, V., Yakubov, V., Brochmann, C., Setoguchi, H. 2015.

Persistent history of the bird-dispersed arctic-alpine plant *Vaccinium vitis-idaea* (Ericaceae) in Japan.

*Journal of Plant Research*, 査読あり, 128: 437-444. DOI: 10.1007/s10265-015-0709-8

Higashi, H., Ikeda, H., Setoguchi, H. 2015. Molecular phylogeny of *Shortia sensu lato* (Diapensiaceae) based on multiple nuclear sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 査読あり, 301: 523-529. DOI: 10.1007/s00606-014-1088-7

Ikeda, H., Higashi, H., Yakubov, V., Barkalov, V., Setoguchi, H. 2014. Phylogeographical study of the alpine plant *Cassiope lycopodioides* (Ericaceae) suggests a range connection between the Japanese archipelago and Beringia during the Pleistocene. *Biological Journal of the Linnean Society*, 査読あり, 113: 497-509. DOI: 10.1111/bij.12342

[学会発表](計10件)

1. 池田 啓, Valentin YAKUBOV, Vyacheslav BARKALOV, 瀬戸口 浩彰  
高山植物アオノツガサクラ (*Phyllodoce aleutica*) の系統地理：日本列島に起源した可能性のある分布形成の歴史  
日本植物分類学会第16回大会, 京都大学, 京都市, 3月9日~12日. 2017年

2. 池田 啓, Pernille Bronken Eidesen, Viachenslav Barkalov, Valentin Yakubov, Christian Brockmann, 瀬戸口 浩彰  
核遺伝子の塩基配列に基づく周北極-高山植物の系統地理  
日本植物分類学会第15回大会, 富山大学五福キャンパス, 富山市 3月5日~8日. 2016年

3. Qingxiang Han, Hiroaki Setoguchi  
Lineage isolation in the face of active gene flow in the coastal plant wild radish is reinforced by differentiated vernalisation responses  
日本植物分類学会第15回大会, 富山大学五福キャンパス, 富山市 3月5日~8日. 2016年

4. Wakabayashi, T., Anderson, S., Sato, S., Kawaguchi, M., Harada, K., Setoguchi, H.  
Genome-wide association study for flowering time in *Lotus japonicus*. *East Asian Plant Diversity and Conservation 2016*, August 23-25, University of Tokyo, Tokyo, Japan

5. Wakabayashi, T., Anderson, S., Sato, S., Kawaguchi, M., Harada, K., Setoguchi, H.  
Genome-wide association study for flowering time in *Lotus japonicus*. *日本進化学会*, 第18回大会, 東京工業大学, 8月25日~28日, 2016年

6. 池田 啓, Lovisa Gustafson, Christian Brochmann, 瀬戸口 浩彰

ミヤマタネツケバナ *Cardamine nipponica*  
の系統解析と PHYE の分子進化.  
P-025 日本植物学会第 79 回大会, 新潟市,  
9月5日~8日. 2015年

7. 若林智美, Stig Andersen, 佐藤修正, 川口  
正代司, 瀬戸口浩彰  
全ゲノム配列を使った日本産ミヤコグサの  
開花時期多様性に関わる遺伝的背景の比較  
日本植物学会第 79 回大会, 新潟市,  
9月5日~8日. 2015年

8. Wakabayashi, T., Anderson, S., Sato, S.,  
Kawaguchi, M., Harada, K., Setoguchi, H.  
“Comparison of genomic background of  
flowering time variation among *Lotus*  
*japonicus* in Japan based on whole-genome  
sequences”, Congress of European  
Society of Evolutionary Biology (ESEB  
2015), August 9-14, 2015, Lausanne,  
Switzerland.

9. 池田啓, 阪口翔太, Valentin Yakubov,  
Viachenslav Barkalov, 瀬戸口浩彰  
周北極-高山植物エンゾノツガザクラ  
*Phyllodoce caerulea* の系統地理.  
日本植物学会第 78 回大会, 明治大学, 生田,  
9月11日~14日. 2014年

10. 韓慶香, 瀬戸口浩彰  
Phylogeography of wild radish  
(*Rhaphanus sativus* L.) based on cpDNA  
variation and SSR analyses.  
日本植物学会第 78 回大会, 明治大学, 生田,  
9月11日~14日. 2014年

〔図書〕(計1件)

瀬戸口浩彰 イワウメ科. 日本の野生植物第  
四巻(分担執筆), 平凡社, 東京, 2017.  
(総ページ数 348)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:

取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://setolab.h.kyoto-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
瀬戸口 浩彰 (SETOGUCHI, Hiroaki)  
京都大学・大学院人間・環境学研究所・教  
授  
研究者番号: 70206647

(2) 研究分担者  
池田 啓 (IKEDA, Hajime)  
岡山大学・資源植物科学研究所・助教  
研究者番号: 70580405

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号:

(4) 研究協力者  
( )