

研究成果報告書（第28回学術研究助成）

2021年 4月 7日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団
理事長 野村 茂樹 殿

所属機関名 京都大学大学院人間・環境学研究科
職 名 修士2年
氏 名 長澤 耕樹

1. 研究課題

多雪環境における環境指標種トガクシソウの隔離分布成立過程の解明と保全遺伝学的研究

2. 共同研究者

- ・ 阪口翔太（京都大学大学院人間・環境学研究科 助教）
- ・ 増田和俊（京都大学大学院人間・環境学研究科 修士1年）

3. 研究報告

I. 研究の目的

大陸からの季節風と近海を流れる対馬暖流の影響で、日本は世界的に見ても有数の多雪地帯のひとつである。こうした多雪の影響を強く受ける地域では、ブナ林に代表されるような多雪環境に耐性を持つ特殊な植物群落が広がる。しかし、化石記録に基づく研究からは、約2万年前の最終氷期最盛期には現在の多雪地帯のほとんどの地域で、亜寒帯性の乾燥に適応した針葉樹林が広がっていたことが明らかとなっている。こうした気候の変化は多雪環境に生育する植物に大きな影響を及ぼし、実際にブナでは東北以北でまとまった群落として生育していなかったと言われている。しかし、多雪に依存する植物の過去の集団動態についてはほとんど研究が行なわれていないため、こうした植物が氷期の寡雪環境をいかに生き延びたのかについてはいまだに共通見解を得られていない。

トガクシソウは日本固有属であるメギ科トガクシソウ属唯一の種として、また日本人によってはじめて学名が与えられた植物として、日本を代表する植物である。本種は日本海側の多雪地帯に離散的に分布する遺存種で、ブナ林床下の積雪が遅くまで残る川沿いの斜面に生育するなど（図1）、そのハビタットは多雪に強く依存している。以上の特徴から、本種は多雪環境における環境指標種であり、現在の離散的な分布は過去の気候変動の影響を強く受けて成立したことが推察される。

そこで、本研究ではトガクシソウの現在の分布が、最終氷期以降の温暖化に伴う分布拡大によって形成されたものなのか、それとも最終氷期の逃避地に現在まで生存し続けたことによって形成されたものなのかを検証することを目的とした。また、本種は全国的に希少な種で



図 1 (A) トガクシソウ (B) 生育地の様子

あることから、絶滅の危険度が高い長野県・戸隠地域で地元の有志らによる域外保全が行なわれている。しかし、これらの保全活動では保全遺伝学的観点に立脚した活動が行なわれていないのが現状である。そこで、本研究では戸隠地域の域外保全株についても遺伝分析を行い、野生集団と比較することで、域外保全株の遺伝的状況を明らかにし、本地域の保全活動に貢献することをもうひとつの目的とした。

II. 研究の方法

トガクシソウの分布域を網羅するように、12集団から合計67個体を採集した(図2 A)。さらに、戸隠地域にて栽培されている域外保全株56個体からも葉を採取し、遺伝分析に供した。塩基配列の取得には、MIG-seq法(Suyama & Matsuki, 2015)を適用し、得られた塩基配列情報から以下の集団遺伝学的解析を行った。

- (1) 野生集団の遺伝構造の推定 (STRUCTURE v.2.3.3: Pritchard et al., 2000)
- (2) 野生集団間の遺伝的多様性の比較 (R package “hierfstat”: Goudet 2005)
- (3) 地域集団の過去の集団動態の復元 (IMa3: Chung et al., 2018)
- (4) 域外保全株の由来の推定 (PCA by R package “adegenet”: Jombart 2005)
- (5) 域外保全集団と野生集団の遺伝的特性の比較 (R package “hierfstat”: Goudet 2005)

III. 研究結果

■ トガクシソウ野生集団の集団遺伝学的解析【方法 (1) - (3)】

野生集団67個体を対象としたMIG-seqから得られたリードをアセンブルした結果、最終的に1091SNPs(single nucleotide polymorphism: 一塩基多型)が得られた。これらの遺伝データに基づき、野生集団の遺伝構造を推定した結果を図2(A)に示す。この結果からは、トガクシソウには南北2つの地域集団が存在することが示され ($K = 2$)、さらに南方集団では狭い地域に固有の遺伝クラスターが分布することが明らかとなった ($K = 3$)。また、遺伝的浮動の大きさを示す F_{ST} は南方集団で大きく(南: $F_{ST} = 0.20$, 北: $F_{ST} = 0.11$)、南方集団が遺伝的浮動の影響で分化したことが示唆された。次に、両地域集団で遺伝的多様性を比較したところ、南方集団で有意に遺伝的多様性が低いことが示された(南 $H_E = 0.21$, 北 $H_E = 0.26$; $p < 0.01$)。最後に、トガクシソウの現在の分布が最終氷期以降の分布拡大によるものなのか、最終氷期の逃避地に現在まで生存し続けたことによるものなのかを検証するため、2つの地域集団の分岐年代をフルベイズにより推定した。その結果、地域集団は10,678 (95% HPD: 7,834-13,921) 年前に分化したと推定され、両地域集団が最終氷期以降に分化したことが示唆された。

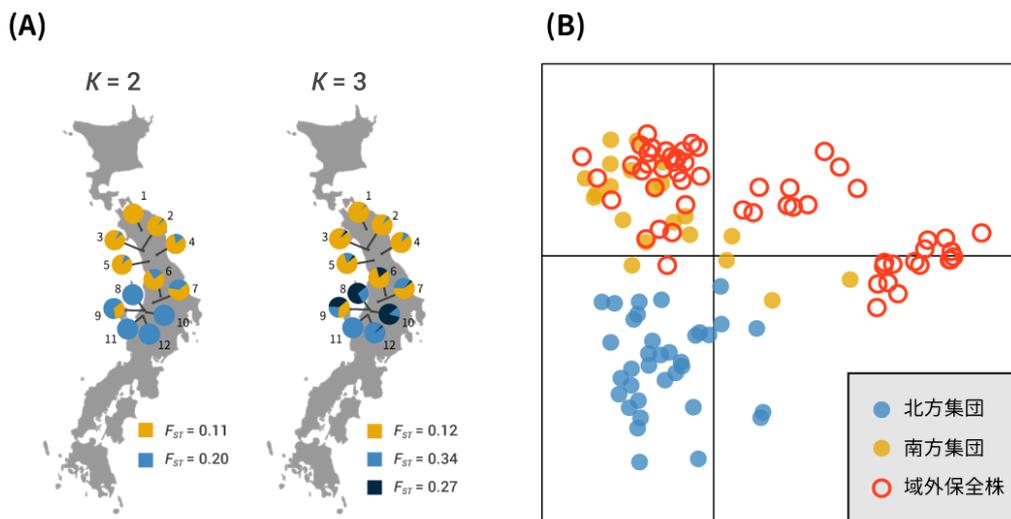


図 2 (A) STRUCUTRE (Pritchard et al., 2000) による遺伝構造の推定結果。それぞれの色が遺伝的なまとまりを示す。 F_{ST} は共通祖先からの分化の大きさを表す。(B) 野生集団と域外保全株の主成分分析の結果。域外保全集団は南方集団とまとまる。

■ 域外保全集団の遺伝的特性【方法 (4) - (5)】

野生集団と域外保全株の合計112個体を含めてアセンブルした結果、最終的に817SNPsを含むデータセットを得ることに成功した。このデータセットをもとに主成分分析を行ったところ、域外保全株は南方集団の近くにプロットされることが示され、戸隠地域の域外保全株が南方集団に由来することが示唆された(図2 B)。また、域外保全株は南方地域の野生集団を内包するようにプロットされたことから、戸隠における域外保全株は南方地域の複数集団に由来する可能性が考えられた。さらに、域外保全集団と南方地域の野生集団との間で遺伝的多様性を比較したところ、域外保全集団においてヘテロ接合度の観察値が有意に低く(野生集団 $H_0 = 0.25$, 域外保全集団 $H_0 = 0.20$: $p < 0.01$)、ホモ接合過剰であることが明らかとなった ($F_{IS} = 0.21$, $p < 0.01$)。

IV. 考察

■ トガクシソウの過去の集団動態

MIG-seqにより得た塩基配列情報に基づく集団遺伝学的解析から、トガクシソウには南北2つの地域集団が存在し、それらの地域集団が最終氷期以降に分化したことが明らかとなった。このことは、トガクシソウが最終氷期以降の温暖化に伴って分布を拡大させたことを示唆する。この時期には、温暖化に伴って大陸と日本列島との陸橋が消失し、対馬暖流が日本海へと流入したことで北方へと多雪環境が拡大していったことが推察される。そのため、トガクシソウもこうした多雪環境の拡大に伴って、北方へと分布を拡大させたと考えられる。また一方で、南方集団は遺伝的多様性が低く、比較的強い遺伝的浮動の影響を受けたことが示された。これは、温暖化に伴い、分布の南限にあたる南方地域で、生育適地の分断・縮小が生じ、集団が孤立化しやすかったためであると推察される。

■ 戸隠地域の域外栽培株の遺伝的特徴

野生集団と域外保全株を含めた主成分分析の結果から、戸隠における域外保全株は南方地域集団に由来することが明らかとなった。南方地域集団では集団の縮小・分断が起りやすく、絶滅の危険性が比較的高いことから、戸隠の域外保全集団はトガクシソウの保全上重要な集団であるといえる。一方で、域外保全集団では高い近交係数が示されたことから、域外保全集団内で自殖、もしくは近親交配が繰り返されている可能性が考えられる。こうした状況下では、将来的に近交弱勢が引き起こされる可能性があるため、今後、系統を維持する上では血縁関係などを考慮した交配の検討が望ましいと考えられる。

V. 成果発表

なし。

VI. 今後の課題

本研究の結果から、多雪環境指標種であるトガクシソウは、南方に存在した逃避地で氷期の寡雪環境を生き延びたことが推察された。この結果は、氷期にこうした逃避地で安定した積雪環境が存在した可能性を示唆するが、今後は生態ニッチモデリングにより、この逃避地の場所を推定する必要があると考えられる。また、多雪環境に依存的に生育する他種では、複数の地域に逃避地が存在した可能性が示唆されている (Nagasawa et al. in prep.)。こうした違いは各種の多雪環境への依存度の違いなどによって生じると考えられるが、今後はさらに解析対象種を増やすことで、多雪環境に依存的に生育する植物の過去の歴史から日本の過去の降雪にまつわる環境史の解明が可能になると期待される。