

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H03721

研究課題名(和文) 東北アジアにおける草原性植物群の変遷史からみた日本列島フロラの成立過程の解明

研究課題名(英文) The origin and evolutionary history of the flora of Japanese Archipelago through on the phylogeographic analyses of grassland plants in the Northeast Asia

研究代表者

藤井 紀行 (Fujii, Noriyuki)

熊本大学・大学院先端科学研究部(理)・准教授

研究者番号：40305412

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：東アジア地域の草原植物の主要な構成要素である「満鮮要素」に焦点を当てた分子系統地理学的な研究を行った。特に次世代シーケンサーを用いたRAD-seq解析やMIG-seq解析を行って、ゲノムワイドなSNP情報を収集した。解析した種はキスミレやオキナグサ、オカオグルマなど約14種の満鮮要素植物を東アジア地域(中国、ロシア、韓国、日本)から集団サンプリングを行い解析に用いた。解析の結果多くの種において、大陸と日本集団間で遺伝的な分化が示され、系統解析や集団動態解析から大陸から日本へ進入したとする分布変遷仮説が支持された。これらの結果は従来の満鮮要素の分布変遷仮説を支持するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本列島には面積的には小さいながらも多くの草原環境が存在し、そこを住处とする草原生の植物群が知られている。満鮮要素はそうした植物群であり、日本列島の西南部から朝鮮半島、中国、極東ロシアにかけて分布する植物であり、比較的最近の寒冷期に大陸から日本に入り込んだとする仮説が提唱されている。本研究ではそれらの仮説検証を主要な目的として行われたものである。日本列島の多様な植物相がどのように成立したのか、その一端を明らかにする点において学術的意義がある。さらに満鮮要素の植物の多くは絶滅危惧種としてリストされている。それらを保全するための基礎的情報として社会的な意義もある。

研究成果の概要(英文)：We investigated the molecular phylogeography of the major components of grassland plants in the East Asian region, focusing on the "Mansen elements". In particular, genome-wide SNP information was collected by RAD-seq and MIG-seq analyses using next-generation sequencers. Approximately 10 species of the Mansen elements plants, including *Viola orientalis*, *Pulsatilla cernua*, and *Tephrosieris integrifolia*, were analyzed by population sampling from the East Asian region (China, Russia, Korea, and Japan) for the analysis. The results of phylogenetic and population demographic analyses showed genetic differentiation between continental and Japanese populations in many species, supporting the migration history that these species were introduced to Japan from the continent. These results support the traditional migration history hypothesis of the Mansen elements.

研究分野：系統地理学

キーワード：草原生植物 満鮮要素 分布変遷過程 日本列島 起源 生物多様性 集団構造 集団動態解析

1. 研究開始当初の背景

日本列島は小さな島国ながら、約 6,000 種も維管束植物が知られ、非常に高い種多様性がみられる地域である。この多様な植物相(フロラ)がどのように成立してきたのかを明らかにする研究は様々な分類群や地域において行われているが、今回対象とした草原生の植物群である満鮮要素はほとんど解析されたことがなかった。

さらに分子遺伝学的手法の発達により、ゲノム全体から遺伝情報を抽出する手法が開発され、比較的安価にかつ簡単に実施できる状況ができつつあった。従来手法では種内レベルの集団間の関係を解像度高く示すことは困難であったが、次世代シーケンサーを用いたゲノムワイドな SNP (一塩基多型) の抽出が可能となり、精度高く集団間の関係を推定できるようになってきた。

2. 研究の目的

満鮮要素の植物の多くは、日本列島(北海道を除く)から朝鮮半島、中国、極東ロシアにかけて分布しており、大陸集団と日本集団の形態的な差異が小さいことから、比較的最近の寒冷期に大陸から日本に進入してきたとする分布変遷仮説が提唱されていた。しかしこの仮説を検証した研究はこれまで皆無であった。そこで本研究ではこの満鮮要素の起源や分布変遷仮説を検証することを目的として、次世代シーケンサーを用いた ddRAD-seq 法や MIG-seq 法による解析を行い、分子系統地理学的解析を行った。

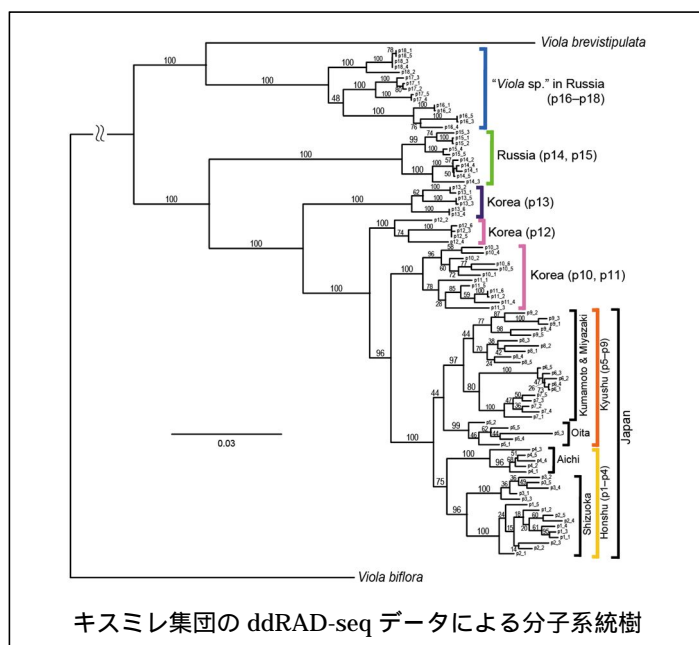
3. 研究の方法

満鮮要素植物の分布範囲である日本、韓国、中国、ロシアにかけてサンプリング調査を行い、満鮮要素とされる植物群約 14 種(オカオグルマ、オキナグサ、キスミレ、シオン、タカトウダイ、タムラソウ、ツチグリ、ノカラマツ、ヒゴシオン、ヒロハヤマヨモギ、ホソバシロスマレ、マツモトセンノウ、ミヤコアザミ、ヤツシロソウ(アイウエオ順))を対象に、DNA 解析用の集団サンプリングを行った。収集したサンプルを用いて、まずは葉緑体 DNA の非コード領域の塩基配列情報を用いて、ハプロタイプ解析を行った。次に ddRAD-seq 法や MIG-seq 法を用いたゲノムワイドな解析により SNP を抽出し、Structure 解析などによる集団構造解析、DIYABC 法により集団動態解析などを行い、集団の起源や分布変遷の歴史を推定した。さらには現在の分布情報をもとにした生態ニッチモデリング解析を行い、最終氷期最盛期(LGM)における分布適地の推定を行った。

4. 研究成果

本研究において、満鮮要素の代表的な種であるいくつかの種について系統地理学的な解析を行い、興味深い結果が得られた。ここでは紙面の都合上すべての種について成果報告はできないが、論文化を進めることができた以下の 3 種の研究成果について種ごとに列記する。

(1) キスミレ (*Viola orientalis*)

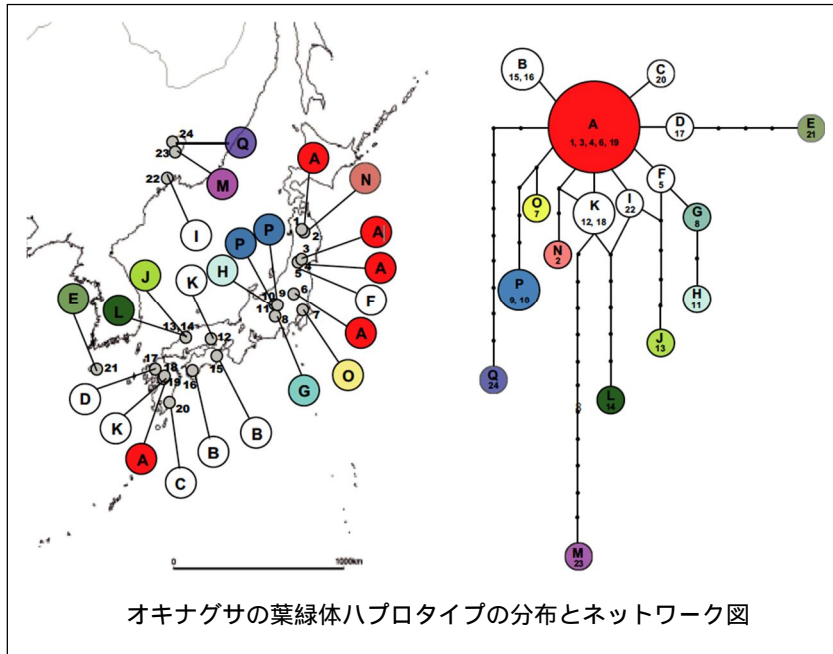


キスミレは満鮮要素の最も代表的な種であり、静岡県以西の日本、朝鮮半島、極東ロシアにかけての草原環境に生育する多年生植物である。ddRAD-seq 解析による SNP データを用いた系統解析により、日本集団の単系統性が示され、最近縁の集団が韓国南部の集団であること、最基部にはロシアの集団が位置した。この結果は、本種が大陸から日本へと分布を拡大させてきた分布変遷仮説を支持するものである。日本集団と韓国南部集団が系統的に近いことは、葉緑体 DNA のハプロタイプ解析からも支持された。さらに DIYABC 解析を用いた集団動態解析の結果、ロシア 韓国北部 韓国南部 日本集団と分岐するシナリオが選択され、系統樹の結果を支持するものであった。以上の結果は、Sata *et al.* (2021)

で論文にまとめることができた。

(2) オキナグサ (*Pulsatilla cernua*)

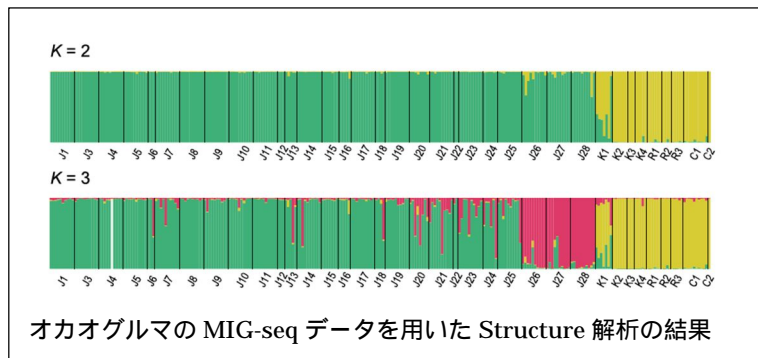
オキナグサも満鮮要素の代表的な種であり、キスミレよりも日本国内の分布域が広く、岩手県周辺まで広く分布している。本種においては、葉緑体 DNA およびマイクロサテライトマーカーを用いた解析がまず行われ、論文化された (Takaishi et al. 2019)。



解析では主要なハプロタイプおよびそれに近いハプロタイプが日本中に広がっていること、マイクロサテライトマーカーでは遺伝的な構造がみられなかったことから近年の急速な分布拡大仮説を支持する結果が得られた。その後、MIG-seq 法を用いた解析が行われた結果、キスミレ同様、日本集団が単系統群としてまとめられ、その最近縁集団として韓国のチェジュ島集団が位置し、ロシアや中国集団は最基部に位置した。これらの

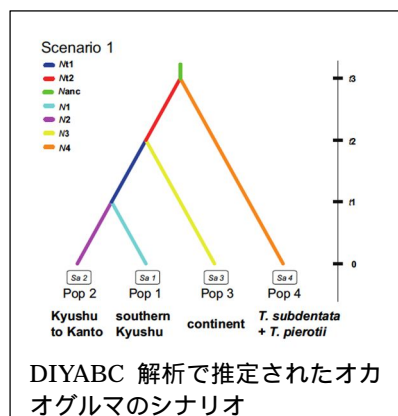
結果は、オキナグサの起源は大陸にあり、朝鮮半島を経由して、日本列島に進入してきたことを示唆している (日本植物分類学第 21 回大会にて発表)。

(3) オカオグルマ (*Tephrosia kirilowii*)



日本・韓国・中国・ロシアから集められたオカオグルマ 37 集団 413 個体を用いて、葉緑体ハプロタイプ解析、MIG-seq 解析によるデータを用いた系統解析、Structure 解析、DIYABC 解析、IM モデル解析、さらには過去の分布適地を推定する生態ニッチモデリング解析が行われた。系統解析や Structure 解析の結果、日本集団と大陸集団が明瞭に分化していることが示された。また日本国内では九州南部と他

集団の遺伝的分化も認められた。



さらに DIYABC 解析を用いた集団動態推定の結果、外群集団から大陸の集団が分岐し、その後日本集団内の分化が生じたシナリオ 1 が最も支持された。さらに IM モデル解析による分岐年代推定の結果、大陸集団と日本集団の分岐は約 2.52 万年前、日本内部の分岐は約 2.02 万年前と推定された。また生態ニッチモデリング解析の結果、LGM (約 2.2 万年前) における分布は、中国南東部の内陸部に加えて、日本列島の西太平洋沿岸に高確率で分布していた可能性が高いことが示された。以上の結果より、日本集団と大陸集団が分岐後、日本列島の西部の集団が氷期後の温暖化に伴って急速に分布を北上させた可能性が考えられた。特に九州南部には LGM において分布が限定された歴史があったと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 7件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sata Haruna, Shimizu Midori, Iwasaki Takaya, Ikeda Hajime, Soejima Akiko, Kozhevnikov Andrey E., Kozhevnikova Zoya V., Im Hyoung-Tak, Jang Su-Kil, Azuma Takayuki, Nagano Atsushi J., Fujii Noriyuki	4. 巻 134
2. 論文標題 Phylogeography of the East Asian grassland plant, <i>Viola orientalis</i> (Violaceae), inferred from plastid and nuclear restriction site-associated DNA sequencing data	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 1181 ~ 1198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-021-01339-8	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 Sakaba Tomoka, Soejima Akiko, Fujii Shinji, Ikeda Hajime, Iwasaki Takaya, Saito Hiroaki, Suyama Yoshihisa, Matsuo Ayumi, Kozhevnikov Andrey E., Kozhevnikova Zoya V., Wang Hongfeng, Wang Siqi, Pak Jae-Hong, Fujii Noriyuki	4. 巻 online
2. 論文標題 Phylogeography of the temperate grassland plant <i>Tephrosia kirilowii</i> (Asteraceae) inferred from multiplexed inter-simple sequence repeat genotyping by sequencing (MIG-seq) data	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 online
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-023-01452-w	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 Kaori Murayama-Takeshita, Mikio Watanabe, Noriyuki Fujii	4. 巻 71
2. 論文標題 Phylogenetic position, divergence time and ancestral distribution of <i>impatiens hypophylla makino</i> (Balsaminaceae)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Phytotaxonomica et Geobotanica	6. 最初と最後の頁 129-146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18942/apg.201919	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 Asuka Takaishi, Andrey E. Kozhevnikov, Zoya V. Kozhevnikova, Hajime Ikeda, Noriyuki Fujii, Akiko Soejima	4. 巻 9
2. 論文標題 Phylogeography of <i>Pulsatilla cernua</i> (Ranunculaceae), a grassland species, in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 7262-7272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ece3.5298	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 Kaori Murayama, Richard H. Ree, Kuo Fang Chung, Chih Chieh Yu, Noriyuki Fujii	4. 巻 70
2. 論文標題 Taxonomical review of pedicularis ser. Verticillatae (orobanchaceae) in Taiwan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Phytotaxonomica et Geobotanica	6. 最初と最後の頁 103-118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18942/apg.201822	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20件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 西藤大朗, 陶山佳久, 藤井紀行, 池田啓, 岩崎貴也, Andrey E. Kozhevnikov, Zoya V. Kozhevnikova, Jae-Hong Pak, Kyung Choi, Tian-Gang Gao, 副島顕子
2. 発表標題 MIG-seq解析を利用したオキナグサの分子系統地理学的研究
3. 学会等名 日本植物分類学第21回大会 (オンライン)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坂場友香, 陶山佳久, 松尾歩, 池田啓, 藤井紀行, 藤井伸二, 副島顕子
2. 発表標題 満鮮要素オカオグルマの分布変遷史の解明
3. 学会等名 日本植物分類学第21回大会 (オンライン)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Haruna Sata, Midori Shimizu, Takaya Iwasaki, Hajime Ikeda, Akiko Soejima, Andrey E. Kozhevnikov, Zoya V. Kozhevnikova, Hyoung-Tak Im, Su-Kil Jang, Takayuki Azuma, Atsushi J. Nagano, Noriyuki Fujii
2. 発表標題 Phylogeography of the East Asian grassland plant, <i>Viola orientalis</i> (Violaceae), inferred from plastid and nuclear restriction site-associated DNA sequencing data
3. 学会等名 The 9th East Asian Plant Diversity and Conservation - Virtual Symposium 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江島 瑞貴, 島袋 誉, 副島 顕子, 岩崎 貴也, 池田 啓, 陶山 佳久, 松尾 歩, 竹下(村山) 香織, Andrey E. Kozhevnikov, Zoya V. Kozhevnikova, Tian-Gang Gao, Hongfeng Wang, Siqu Wang, 藤井 紀行
2. 発表標題 ヤツシロソウの阿蘇集団は最終氷期に大陸から渡ってきたのか?
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会 (オンライン)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩崎 寛太, 副島 顕子, 岩崎 貴也, 池田 啓, 陶山 佳久, 松尾 歩, 竹下(村山) 香織, Andrey E. Kozhevnikov, Zoya V. Kozhevnikov, Jae-Hong Pak, Kyung Choi, Hyoung-Tak Im, Tian-Gang Gao, Hongfeng Wang, Siqu Wan, 藤井 紀行
2. 発表標題 満鮮要素ヒロハヤマヨモギの分子系統地理学的研究
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会 (オンライン)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂場 友香(熊本大・院・自然科学)・陶山 佳久(東北大・農)・松尾 歩(東北大・農)・藤井 紀行(熊本大・院・先端科学)・藤井 伸二(人間環境大・環境科学)・副島 顕子(熊本大・院・先端科学)
2. 発表標題 満鮮要素オカオグルマの分布変遷過程の考察
3. 学会等名 日本植物分類学会第20回大会 (オンライン)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西藤 大朗(熊本大・理)・陶山 佳久(東北大・農)・松尾 歩(東北大・農)・池田 啓(岡山大・植物研)・藤井 紀行(熊本大・院・先端科学)・副島 顕子(熊本大・院・先端科学)
2. 発表標題 オキナグサの系統地理学研究
3. 学会等名 日本植物分類学会第20回大会 (オンライン)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤井紀行、小島彪、仁木教陽、平良玲央奈、竹下(村山)香織、陶山佳久、松尾歩、佐藤光彦、副島顕子、岩崎貴也、池田啓
2. 発表標題 MIG-seq解析から明らかとなった満鮮要素植物ツチグリの日本・大陸集団間の遺伝的分化
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会（名古屋オンライン）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤井紀行・藤本啓嗣・仁木教陽・辻畑征弥・岩崎貴也・池田啓・副島顕子
2. 発表標題 満鮮要素植物複数種の葉緑体DNAを用いた比較系統地理学
3. 学会等名 日本植物分類学会第18回大会（八王子）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 仁木教陽・藤本啓嗣・平良玲央奈・三山留莉乃・副島顕子・岩崎貴也・池田啓・藤井紀行
2. 発表標題 満鮮要素植物ツチグリとヒロハヤマヨモギにおける葉緑体DNAの地理的変異
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会（広島）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 山本隆聖・藤井紀行・陶山佳久・松尾歩・いがりまさし・高石あすか・副島顕子
2. 発表標題 シロスミレとその変種ホソバシロスミレの遺伝構造解析と分布遷過程の考察
3. 学会等名 日本植物分類学会第18回大会（八王子）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 佐多陽奈・清水翠・岩崎貴也・副島顕子・池田啓・東隆行・永野惇・藤井 紀行
2. 発表標題 キスミレの遺伝構造解析と満鮮要素の分布変遷に関する考察
3. 学会等名 日本植物分類学会第17回大会（金沢）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 工藤美由紀・藤井紀行・池田啓・藤井伸二・副島顕子
2. 発表標題 満鮮要素植物群の遺伝構造解析と分布変遷過程の考察
3. 学会等名 日本植物分類学会第17回大会（金沢）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>熊本大学大学院自然科学研究科理学専攻生命科学講座 植物多様性学 藤井研究室 http://www.sci.kumamoto-u.ac.jp/~biohome/staff/fujii/ 岡山大学資源植物科学研究所野生植物グループ http://www.cc.okayama-u.ac.jp/~botany/index.html</p>

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	副島 顕子 (Soejima Akiko) (00244674)	熊本大学・大学院先端科学研究部(理)・教授 (17401)	

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	岩崎 貴也 (Iwasaki Takaya) (10636179)	お茶の水女子大学・基幹研究院・講師 (12611)	
研究分担者	池田 啓 (Ikeda Hajime) (70580405)	岡山大学・資源植物科学研究所・准教授 (15301)	

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			
中国	中国科学院			
韓国	全南大学	韓国国立樹木園	慶北大学校	他1機関
ロシア連邦	ロシア科学アカデミー			
中国	中国科学院	東北林業大学		