

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：12611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K06394

研究課題名(和文) 日本海要素植物の進化史：ゲノムワイド多型を用いた比較分子系統地理によるアプローチ

研究課題名(英文) Evolutionary history of Japan Sea element plants: a comparative phylogeographic approach using genome-wide SNPs

研究代表者

岩崎 貴也 (Iwasaki, Takaya)

お茶の水女子大学・基幹研究院・講師

研究者番号：10636179

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)：本研究では、多雪で特徴付けられる日本海側地域に固有な植物群「日本海要素」の進化史の解明を目的とし、2種群についてゲノムワイド変異に基づく集団分化の歴史と生態ニッチモデリングによる分布域変化の推定を行った。解析の結果、スミレサイシン類では第四紀前半、ミスミソウ類では最終氷期中と分岐年代は大きく異なるものの、どちらでも最後に日本海要素の系統と太平洋側の近縁系統が分化していた。生態ニッチモデリングの結果も合わせると、第四紀中で日本海側気候が卓越した後のどこかのタイミングの氷期での分布の分断をきっかけとして、ニッチ分化を伴いながら日本海要素が太平洋側の系統から最近に分化した可能性が高いと思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本列島の狭い地理的範囲の中で積雪量が劇的に変化する日本海側気候は他地域ではほとんどみられない独特なものであり、その環境に適応して進化した可能性がある固有種群の集まりである日本海要素の進化史の解明は日本列島における生物多様性の形成過程を明らかにする上で大きな意義がある。本研究結果からは、第四紀で日本海側気候が卓越するようになった後に、太平洋側に分布する近縁な系統から日本海要素の系統がニッチ分化を伴って分化したことが示唆され、これは日本列島における第四紀種分化プロセスの一つの重要な例になると思われる。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to elucidate the evolutionary history of the Japan Sea Elements, groups of plants endemic to the Sea of Japan region, characterized by heavy snowfall. We estimated the history of population differentiation based on genome-wide SNPs and changes in distributional ranges, using ecological niche modeling for two species groups. The results showed that despite significantly different divergence times, with *Viola* diverging in the early Quaternary and *Hepatica* during the last glacial period, the Japan Sea Elements lineage and a related lineage on the Pacific side have differentiated most recently within each species group. Combined with the results of ecological niche modeling, it appears that the Japan Sea Elements differentiated from their closely related Pacific counterparts, with niche differentiation likely triggered by distributional fragmentation during a glacial period after the Japan Sea climate became dominant in the Quaternary.

研究分野：分子系統地理学

キーワード：日本海要素 地域固有種 種分化 多雪 分子系統地理 ゲノムワイドSNPs

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本列島の日本海側地域には、世界的にも有数の豪雪地帯が広がっている。この地域では、豪雪の日本海側気候に適応したと思われる、エゾツリバナやオオバクロモジなどに代表される 200 以上の地域固有植物種(変種含む)群「日本海要素」の存在が知られている。日本海要素には、近縁種が近隣地域に存在せず、遙か昔にどこかで起源したものが遺存的に日本海側で生き残っていると思われるシラネアオイのような種も含まれるが、多くの場合、太平洋側に姉妹種と思われる近縁種が分布する。興味深いことに、一部の日本海要素では、落葉広葉樹や草本では葉の大型化や葉の毛の増加、常緑樹では樹形の小型化・匍匐型化などが、共通の形態的特徴として知られており、それぞれ春先の雪融け水の有効利用、冬の多雪に対する物理的耐性などとして獲得した適応形質であると考えられている。姉妹種が太平洋側に分布し、かつこのような共通の形態的分化を示す種は、比較的新しい年代に日本海側気候に適応し、新固有として太平洋側地域から分化して進化した可能性が高い。一方で、日本海要素の方が古い起源で、太平洋側地域へと逆に進出した可能性も同時に考えられる。また、過去に訪れた氷期には対馬海流の流入が止まることで日本海側地域での積雪量の低下が起こったと考えられており、それが豪雪に適応した日本海要素にどのような影響を与えたのかも不明であった。日本海要素植物、あるいは日本海側にも分布する広域分布植物を対象としたこれまでの系統地理研究は、地理的な遺伝的分化のパターンを示すに留まっている場合が多く、地域間の分岐年代や有効集団サイズの変化、遺伝子流動など、この植物群の進化史の解明に直結する集団動態の歴史については、十分には明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、日本海要素の植物種とその姉妹種の組合せからなる複数種群を対象とし、ゲノムワイドな大規模遺伝データに基づくコアレセントシミュレーションを活用した集団遺伝学的解析、生態ニッチモデリングによる分布変化の推定などを行うことで、日本海要素植物がどのように近縁種から分岐したのかについて分岐年代を含めた詳細な集団動態を推定する。更に、得られた結果について分類群間比較を行うことで、日本海要素の成立に大きく寄与した進化メカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、日本海側地域の固有種スミレサイシン *Viola vaginata* を含むスミレサイシン類(スミレ科) 固有品種オオミスミソウ *Hepatica nobilis* var. *japonica* f. *magna* を含むミスミソウ類(キンボウゲ科)を解析対象に選び、日本全国から採集したサンプルについて遺伝解析を行った。スミレサイシン類については、葉緑体ゲノム全長を用いた系統解析、GRAS-Di 解析によるゲノムワイド変異解析を行った。ミスミソウ類については、ddRAD-seq・GRAS-Di 解析によるゲノムワイド変異解析を行った。

スミレサイシン類では、日本海側地域に分布するスミレサイシン、近縁種で日本の太平洋側地域にのみ分布するナガバノスミレサイシン *Viola bissetii* とシコクスミレ *Viola shikokiana*、大陸から日本の太平洋側地域にかけて広く分布するアケボノスミレ *Viola rossii*、韓国と日本の中部地方フォッサマグナ地域に隔離分布するヒメスミレサイシン *Viola yazawana* の代表個体について、ゲノムスキミング法による葉緑体ゲノム全長約 15 万 bp の解読を行い、データベースで公開されている近縁種の配列情報と合わせて、RAXML-NG による分子系統解析、化石情報を用いて校正した BEAST による分岐年代推定を行った。また、各種の分布域を網羅するように選んだ合計 79 サンプルについて、GRAS-Di 法によるゲノムワイド SNPs の検出を行い、RAXML-NG や SNAPPER による分子系統解析、ADMIXTURE や NeighboNet による種内の遺伝構造解析を行った。その際には、phyloTools を用い、得られた系統樹上での気候ニッチの変化の推定も行った。さらに第四紀における氷期間氷期の気候変動の中で分布域がどのように変化してきたかを推定するために、各種について現在の分布データと気候データを元に MaxEnt による生態ニッチモデリングを行い、約 2 万年前の最終氷期最盛期の気候レイヤに投影することで、古分布の推定を行った。

ミスミソウ類では、日本海側地域に分布するオオミスミソウ、東日本の太平洋側にのみ分布するスハマソウ *Hepatica nobilis* var. *japonica* f. *variegata*、西日本に分布するミスミソウ *Hepatica nobilis* var. *japonica* f. *japonica*、瀬戸内海沿岸の山地から中部地方にかけて分布する 4 倍体のケスハマソウ *Hepatica nobilis* var. *pubescens* について、本研究プロジェクト前に実施していた 96 サンプルの ddRAD-seq 解析に加え、各種の分布域全体をカバーする 62 サンプルの GRAS-Di 解析を行い、ゲノムワイド SNPs を検出した。得られた SNPs 情報を元に、ADMIXTURE や NeighboNet による遺伝構造解析を行った。さらに、ddRAD-seq 法によって得られた SNPs 情報を用いて、DIYABC を用いた近似ベイズ法を用いたコアレセントシミュレーションによるシナリオの検証、分岐年代の推定を行った。また、ミスミソウ類全体を対象として生態ニッチモデリングを行い、最終氷期最盛期における古分布の推定も行った。

4. 研究成果

スミレサイシン類と近縁種についての葉緑体ゲノムを用いた分子系統解析の結果、スミレサイシン節のうち、東アジアに広く分布するアケボノスミレと、日本固有種であるシコクスミレ、ナガバノスミレサイシン、スミレサイシンの3種は単系統を形成し、中でもアケボノスミレが約298万年前に最初に分岐したことが明らかとなった。韓国と日本の中部地方フォッサマグナ地域に分布するヒメスミレサイシンはこれまでスミレサイシン節に含められていたが、近縁なニョイスミレ節との分化よりもさらに前に分岐した種であり、韓国と日本に遺存的に隔離分布していることが分かった。次に、葉緑体ゲノムで推定したアケボノスミレと日本固有種3種の間に分岐年代を二次校正に用い、GRAS-Diで得られたゲノムワイドSNPsに基づくSNAPPERの分岐年代推定を行ったところ、アケボノスミレの次に分岐したのがシコクスミレで約198万年前、最後にナガバノスミレサイシンとスミレサイシンが約144万年前に分岐したことが推定された(図1)。これらの年代はいずれも第四紀の前半であり、大陸から日本にかけて分布を広げたアケボノスミレから分岐した後に、第四紀の氷期間氷期の気候変動の中で日本列島内での固有種の分化が起きたことが示唆された。生態ニッチモデリングでは、スミレサイシンは日本海側、ナガバノスミレサイシンは太平洋側のみに分布適地が推定され、日本海側-太平洋側で分布が分断されていた。さらに全個体を用いたRAxML-NGの系統樹上で気候ニッチの分化を推定したところ、スミレサイシンが太平洋側の姉妹種ナガバノスミレサイシンと分岐するタイミングで、積雪量と関係が深い冬季降水量に関するニッチだけが劇的に変化していた。得られた結果を総合すると、日本海要素のスミレサイシンと太平洋側のナガバノスミレサイシンは、第四紀中前半の氷期で日本海側と太平洋側に分布が分断された後、ニッチ分化を伴って種分化し、その後は独自の歴史を経てきたことが示唆された。古気候データからは120万年前頃に日本海側気候が卓越するようになったとされており、スミレサイシンが太平洋側の姉妹種ナガバノスミレサイシンから分化した年代(約144万年前)はこの年代にかなり近いことから、日本海側気候の卓越がスミレサイシンの分化のトリガーになった可能性が高いと思われる。

さらにSNAPPERによる分岐年代推定で、各種内での地域集団分化の年代も同時に推定したところ、アケボノスミレは韓国と日本の分化が約4万年前、シコクスミレは東西の分化が約25万年前、スミレサイシンは東西の分化が約10万年前、ナガバノスミレサイシンは九州~四国西部の変種フィリナガバノスミレサイシン *Viola bissetii* var. *kiusiana* と他の間の分化が約102万年前、東西の分化が約26万年前と推定された(図1)。別種レベルに分化していると思われるフィリナガバノスミレサイシンを除けば、種内の地域集団間の分化は浅く、最近の氷期間氷期サイクルの中で形成されたことが示唆された。特にアケボノスミレでは分化が浅く、ADMIXTUREやNeighborNetによる遺伝構造解析でも明瞭な分化がみられなかった。また、生態ニッチモデリングでは、最終氷期に日本・韓国・中国の間で広い分布適地があったこと、日本列島内でも現在よりも広い分布適地があったことが推定された。この結果はアケボノスミレにおける分岐年代推定結果や遺伝構造解析結果と矛盾せず、この種が広い範囲で遺伝子流動を維持しながら、長期間、集団を維持してきたことを示唆していると思われる。一方で、アケボノスミレから分岐した後に日本列島で分化したと考えられるシコクスミレ、ナガバノスミレサイシン、スミレサイシンの3種では、ADMIXTUREやNeighborNetによる遺伝構造解析で各種内の東西地域間に明瞭な遺伝的分化がみられた。生態ニッチモデリングでも、日本海側・太平洋側それぞれの地域内で推定された最終氷期の分布適地は各種の東西分化のパターンと対応していた。これらの結果から、数十万年以上前の古い影響は種内にあまり残っていないと思われるものの、比較的最近の10~26万年前頃以降の氷期・間氷期のサイクルによる各地域内での分布域の縮小・拡大が現在の遺伝構造を形成したことが示唆された。似た遺伝的分化の地理的模式は広域分布種でも報告されており、日本列島内の温帯林構成種に広く共通する種内分化プロセスである可能性が考えられる。

ミスミソウ類についてddRAD-seqとGRAS-Diによって得られたゲノムワイドSNPsに基づく分子系統解析・遺伝構造解析を行った結果、両解析はほぼ同じ結果を示した。NeighborNet解析では、4倍体変種であるケスハマソウは大きく他の2倍体品種群から分岐しており、交雑の様子はみられなかった(図2)。さらに、2倍体品種群の中では、東日本の太平洋側に分布するスハマソウと東日本の日本海側にオオミスミソウが遺伝的に近く、西日本集団(主にミスミソウ)との間で、東西の大きな遺伝的分化がみられた(図2)。西日本の中国地方日本海側ではある程度の量の積雪がみられ、分布しているミスミソウ類はオオミスミソウのように葉が大型化しているが、遺伝的には西日本に広く分布するミスミソウの集団と近縁であり、北陸のオオミスミソウとは大きく分化していた。東西集団間の境界は、日本海側では富山県付近、太平洋側では神奈川県付近でみられた。東西系統が混在する集団はみられなかったが、これらの間に生殖的隔離などがあるって別種レベルに分化しているかどうかについては、今後さらに検証する必要がある。2倍体品種群を対象としたDIYABC解析の結果からは、東日本集団と西日本集団が約15万年前頃に最初に分化し、最終氷期中である3-4万年前頃に東日本の中で日本海側のオオミスミソウと太平洋側のスハマソウ集団が分化したことが示唆された。ミスミソウ類の2倍体品種群全体を対象とした生態ニッチモデリングでは、最終氷期中に東西に分化した比較的大きな分布適地に加え、日本海側にも隔離されたわずかな分布適地が推定された。この結果から、氷期がこれらの品種群の分布域分断のきっかけになったと考えられる。

両種群で得られた結果を日本海要素の起源に着目してまとめると、スミレサイシン類では、第

四紀前半の日本海側気候の卓越に伴い、日本列島全体の日本海側に生育する種と太平洋側に生育する姉妹種との間の分化が起きたことが示唆された。一方で、ミスミソウ類では、東日本でのみ最終氷期中に日本海側の品種と太平洋側の品種の間での分化が生じたことが示唆され、同じ日本海側要素でもその分岐年代は大きく異なっていた。ただし、どちらの場合でも、日本海側要素に当たる系統は、各種群内で他から最後に分化したという歴史は共通していた。また、生態ニッチモデリングから、氷期において日本海側-太平洋側間で分布の分断があったことが示唆されている。これらの結果を総合すると、種群によって分岐年代は異なるものの、第四紀中で日本海側気候が卓越した後のどこかのタイミングの氷期における分断をきっかけとして、ニッチ分化を伴いながら日本海側要素が最近に分化した可能性が高いと思われる。今後は、クロモジ類やツリバナ類など他の種群を対象にしてさらに解析を進め、今回の結果と比較することで、この歴史シナリオを検証していく必要がある。

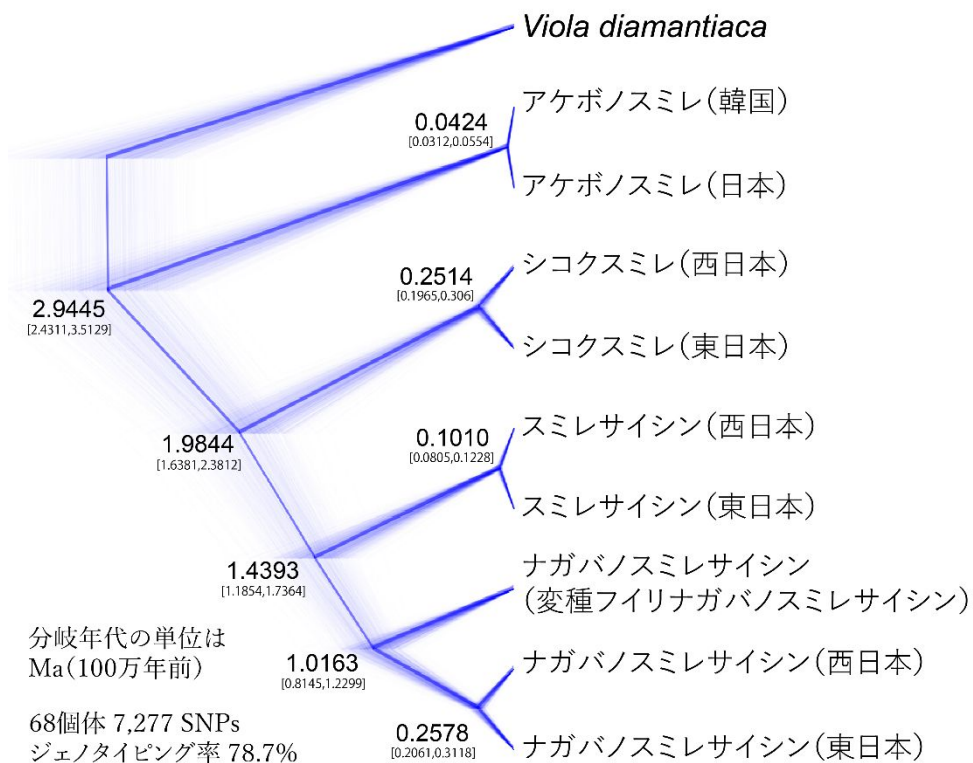


図1. ゲノムワイド SNPs を用いた SNAPPER によるスミレサイシン類の分子系統解析と分岐年代推定の結果.

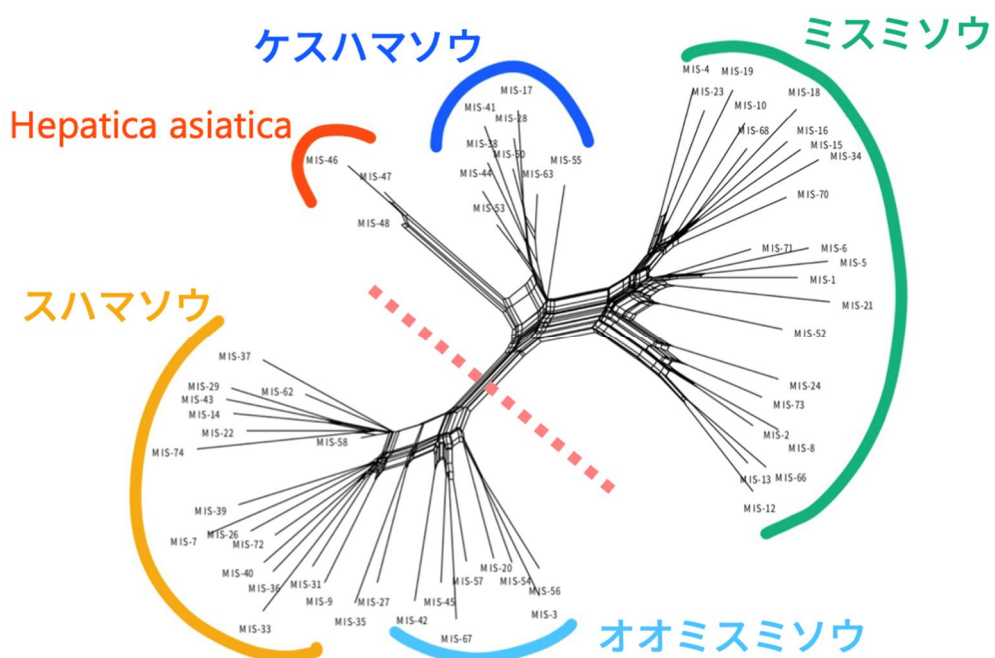


図2. ゲノムワイド SNPs を用いたミスミソウ類についての NeighborNet 解析の結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 岩崎貴也, 小玉あすか, 松尾歩, 陶山佳久, 大西亘, 尾関雅章, 中浜直之, 山本薫	4. 巻 30
2. 論文標題 さく葉標本DNAのMIG-seq法による利用可能性・解析手法の検討	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Journal of Kanagawa University	6. 最初と最後の頁 89-96
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 岩崎貴也, 奥山雄大	4. 巻 70
2. 論文標題 DNAシーケンス「革命」がもたらす日本列島における植物系統地理・系統進化研究の新展開	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生物科学	6. 最初と最後の頁 112-123
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 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 井坂友一, 岩崎貴也	4. 巻 70
2. 論文標題 日本列島を舞台にした生物系統地理学の現在	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生物科学	6. 最初と最後の頁 2-6
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 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8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 高橋弥生, 藤原正人, 尾関雅章, 岩崎貴也
2. 発表標題 地域固有種に注目したスミレサイシン節の系統分化と集団動態の解明
3. 学会等名 日本植物分類学会第22回大会(千葉)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩崎貴也
2. 発表標題 植物標本DNAのMIG-seq法による利用可能性・解析手法の検討
3. 学会等名 日本生態学会第67回全国大会シンポジウム S29. 分子生態学における博物館標本の活用（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takaya Iwasaki
2. 発表標題 Comparative phylogeographic study of deciduous broad-leaved trees and their forest floor herbs in Japan
3. 学会等名 The 10th East Asian Plant Diversity and Conservation Symposium 2023（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yayoi Takahashi, Su-Kil Jang, Masato Fujiwara, Masaaki Ozeki, Takaya Iwasaki
2. 発表標題 Molecular phylogenetic and phylogeographic study of subsect. <i>Vaginatae</i> (Violaceae) species in East Asia
3. 学会等名 The 10th East Asian Plant Diversity and Conservation Symposium 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋弥生, Su-Kil Jang, 藤原正人, 尾関雅章, 岩崎貴也
2. 発表標題 スミレサイシン類の多様化プロセスの解明: 地理的隔離とニッチシフトの影響に着目して
3. 学会等名 日本植物学会第23回大会(仙台)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 高橋弥生, 藤原正人, 尾関雅章, 岩崎貴也
2. 発表標題 スミレサイシン節5種は日本の氷期間氷期をどう生き残ってきたか:生態ニッチモデリングと集団動態解析から
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会(札幌)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

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		
韓国	Gangneung-Wonju National University		