

戦略的国際共同研究プログラム(SICORP)

日本－中国共同研究

終了報告書 概要

1. 研究課題名：「日華植物区系区の暖温帯林におけるキーストーン植物の系統多様化と遺伝的変異分布パターンの時空間解析」
2. 研究期間：2015 年 12 月～2019 年 3 月
3. 主な参加研究者名：
日本側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	井鷲 裕司	教授	京都大学 大学院農学研究科	研究総括
主たる共同研究者	阪口 翔太	助教	京都大学 大学院人間・環境学研究科	系統分化・景観遺伝解析
主たる共同研究者	玉木 一郎	講師	岐阜県立森林文化アカデミー	系統分化・デモグラフィ解析
研究参加者	高橋 大樹	大学院生	京都大学 大学院人間・環境学研究科	系統分化解析
研究期間中の全参加研究者数			18名	

中国側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	Yingxiong Qiu	教授	浙江大学 生命科学部	研究総括
主たる共同研究者	Pan Li	准教授	浙江大学 生命科学部	系統分化解析
研究期間中の全参加研究者数			10名	

4. 国際共同研究の概要

本研究は、日華植物区系において生態的に重要な植物種（キーストーン種）を対象にゲノム情報を解読することで、地球環境変動に対する植物応答の予測に繋げることを目的とした。具体的には、日本側はゲノム情報と生態ニッチモデリングに基づいて系統分化に影響した景観・気候要因を特定し、中国側は地域集団の動態解析を中心に研究を進める。本研究で両国の研究者が相互補完的に日本と中国に隔離分布する植物の遺伝解析を行うことで、高い多様性を誇る日華植物区系における系統分化・遺伝的多様性の創出と維持に関与した要因を究明できる。

日本と中国に隔離分布する 7 属の暖温帯性植物の分岐年代を分子マーカーから推定したところ、中新世後期から鮮新世にかけて系統が地域間分化したことが明らかになった。分化後の更新世に日本列島は幾度となく大陸と陸続きになったが、解析対象とした植物群が陸橋を通して再分散した証拠は見つからず、更新世を通して東シナ海周縁部で隔離され続けたことが示された。一方で更新世の気候変動は列島内で種内集団の地域隔離を促進したほか、生態的な隔離メカニズムも種分化要因として働いた可能性が示唆された。キク科やアブラナ科植物を対象としてゲノム解読では、気候要因や土壌型に関連する遺伝変異を抽出することができた。こうした候補遺伝子は、系統の生態的隔離や地域適応に関与した可能性があり、将来の環境変動下での植物集団の存続性の予測に応用できる知見として期待される。

5. 国際共同研究の成果

5-1 国際共同研究の学術成果および実施内容

日本列島の暖温帯植物は大陸と共通する要素を多く含むが、そうした隔離分布がどのような隔離メカニズム、どのような地質年代に形成されたのかは未だに知見に乏しい。そこで、本プロジェクトでは樹木から草本植物まで多くの植物群を対象に、地域間での系統分化パターンを分子マーカーを利用して調査することで、東アジアのフロラの地域性が生じた歴史的背景を理解することを目指した。

そのためにまず、近縁種間に広く適用可能な分子マーカーの開発を行った。葉緑体ゲノムは多くの植物系統間で保存性が高く、相同マーカーを利用できるのが特徴であるが、突然変異率が低いため、系統地理研究に必要な種内変異を確保するのが難しいという問題があった。本プロジェクトでは生組織からインタクト葉緑体を簡便に濃縮し、次世代シーケンサーで網羅的に塩基配列を解読する手法を開発したことで、多数のサンプルについて効率的に葉緑体ゲノム配列を決定できるようになった。これにより、分化度の低い種内系統を明確に検出し、核ゲノムマーカーと合わせてデータ解析を行うことで分布変遷史をより高い確度で議論することが可能になった。また核ゲノムマーカーについては、発現遺伝子断片に含まれる反復配列マーカー、トランスクリプトーム解析から得られた **SNP** マーカー、**RADseq** 法・**MIGseq** 法といったゲノム縮約解読法を適用することにより、ゲノムワイド多型情報を取得した。

上記手法を用いて、日本と中国から十分な試料を収集できた暖温帯性植物 7 属の分岐年代を分子マーカーから推定したところ、中新世後期から鮮新世にかけて日中間で系統が分化していたことが明らかになった。分化後の更新世に日本列島は幾度となく大陸と陸続きになったが、解析対象とした植物群が陸橋を通して再分散した証拠は見つからず、更新世を通して東シナ海周縁部で隔離され続けたことが示された。更新世の気候変動は列島内で種内集団の地域隔離を促進した（例えばシイ属、イワユキノシタ属）ほか、生態的な隔離メカニズムもカンアオイ属やミツバツツジ節等で種分化要因として働いた可能性が示唆された。キク科やアブラナ科植物を対象としたゲノム解読では、気候要因や土壌型に関連する遺伝変異を抽出することができた。

本研究では、日中両国の研究者が日本と中国に隔離分布する植物の遺伝解析を行い、各地域の属レベルでの植物多様性が更新世よりも古い時代に創出、維持されてきたことを明らかにした。また記述的な生物多様性研究を超えて、地域系統の適応進化を遺伝子レベルで特定できたことで、地球環境変動に対する植物の応答に対してより正確な予想が可能になると期待される。

5-2 国際共同研究による相乗効果

本国際共同研究では日中の研究者が相手国研究者を受け入れ、野外調査の実施及び共同シンポジウムの開催を行った。4 年間のプロジェクト期間に日本側はのべ 23 名が中国 12 地域を訪問し、中国側は 3 度の来日で 4 地域を回って野外調査を行った。両国で収集した植物試料に基づいて遺伝分析を行った成果は、2 本の総説を含む 55 本の学術論文として出版、144 件の学会発表として報告した。人材育成という観点では、日本人若手研究者 3 名が学会奨励賞を受賞したほか、研究発表賞をのべ 9 名の大学院生が受賞した。本プロジェクトに参画した若手研究者の研究成果が各学会から評価されており、若手研究者のキャリア形成への貢献が期待される。

5-3 国際共同研究成果の波及効果と今後の展望

国際共同研究を進めるなかで、両国のプロジェクトメンバーのみならず関係する分野の研究者と交流をもつ機会を多数もつことができた。たとえば日華区系外の地域にも同種または近縁種が分布することがあり、北米やロシア、韓国人研究者との連携を図ることで網羅的な地理解析へと発展させることができた。研究期間終了後もこうした研究者ネットワークを介して情報交換を行っており、今後の新しい国際研究の萌芽となるものと考えている。

Strategic International Collaborative Research Program (SICORP)
Japan—China Joint Research Program
Executive Summary of Final Report

1. Project title : 「Spatial-temporal dimensions and underlying mechanisms of lineage diversification and patterns of genetic variation of keystone plant taxa in warm-temperate forests of Sino-Japanese Floristic Region (SJFR)」
2. Research period : Dec. 2015 ~ Mar. 2019
3. Main participants :
Japan-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Yuji Isagi	Professor	Graduate School of Agriculture, Kyoto University	Managing and designing the whole project
Co-PI	Shota Sakaguchi	Assistant Professor	Graduate School of Human and Environmental studies, Kyoto University	Phylogenetic / Landscape genetics analysis
Co-PI	Ichiro Tamaki	Lecturer	Gifu Academy of Forest and Culture	Phylogenetic / Demographic analysis
Collaborator	Daiki Takahashi	Student	Graduate School of Human and Environmental studies, Kyoto University	Phylogenetic analysis
Total number of participants throughout the research period:				18

China-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Yingxiong Qiu	Professor	Institute of Ecology, Zhejiang University	Managing and designing the whole project
Co-PI	Pan Li	Associate Professor	Institute of Ecology, Zhejiang University	Phylogenetic analysis
Total number of participants throughout the research period:				10

4. Summary of the international joint research

This research aimed to understand the responses of plant populations to global environmental changes by investigating genomic variations of ecologically important plant species (keystone species) in Sino-Japanese Floristic Region (SJFR). Japanese team's role was to identify the landscape/climatic factors which influenced plant lineage divergence utilizing genomic information and ecological niche modeling, while Chinese team focused on analyzing population genomic structure and historical demography. The researchers from both countries complementarily perform genetic analysis of the plants disjunct between China and Japan, to reveal the factors to generate and maintain the high plant species and genetic diversity in this region.

Genetic estimates of divergence times of seven plant genus revealed that isolation of

Chinese and Japanese lineages dated back to late Miocene to Pliocene. Although Japanese islands were repeatedly connected to Asian continents via land bridges during glacial periods in Pleistocene, we did not find genetic evidences that the lineages subsequently migrated into alternative territories. On the other hand, climate changes during Pleistocene together with ecological isolation mechanisms were inferred to have promoted the intraspecific divergence within Japanese islands. Genomic sequencing of some plant groups including Asteraceae and Brassicaceae identified genetic variations in association with local climate and edaphic conditions. These candidate genes may have contributed to ecological isolation and environmental adaptation of the regional lineages, which are expected to be utilized for predicting the population survivability under changing environments.

5. Outcomes of the international joint research

5-1 Scientific outputs and implemented activities of the joint research

Japanese flora of warm-temperate forests includes many components common with that of Asian continents, yet it is not well understood how and when disjunct distributions have been shaped. This research surveyed genetic divergences of various plant groups including trees and forbs, to understand the historical backgrounds of regional differentiation in SJFR.

To this end, we have developed novel molecular markers which can be applicable to related plant species. Chloroplast genomes are highly conserved among plant lineages and can provide many homologous markers, but, due to low mutation rate, there have been difficulties to obtain as many polymorphic markers as to reveal intraspecific genetic structures of plants. We newly developed a simplified method to enrich intact chloroplasts from small amounts of plant tissues, which can be combined with high-throughput sequencing technology to efficiently recover the whole chloroplast genome sequences. This enabled us to determine genetic variations in chloroplast genomes even within a single species. Genome-wide nuclear markers were also developed for better understanding of population demography, which included simple sequence repeats and single nucleotide variations in expressed gene regions, and the markers identified by reduced-representation sequencing (e.g. RADseq and MIGseq).

Genetic estimates of divergence times of seven plant genus revealed that isolation of Chinese and Japanese lineages dated back to late Miocene to Pliocene. Although Japanese islands were repeatedly connected to Asian continents via land bridges during glacial periods in Pleistocene, we did not find genetic evidences that the lineages subsequently migrated into alternative territories. On the other hand, climate changes during Pleistocene together with ecological isolation mechanisms were inferred to have promoted the intraspecific divergence within Japanese islands (e.g., *Castanopsis* and *Tanakaea* species for the former cases, and *Asarum* and *Rhododendron* sect. *Brachycalyx* for the latter cases). Genomic sequencing of some plant groups including Asteraceae and Brassicaceae identified genetic variations in association with local climate and edaphic conditions.

Overall, in this joint research program, Chinese and Japanese researchers collaborated over population genetic analyses of disjunct plant genera among the countries, to reveal the regional disjunctions in the surveyed groups had been shaped well before the Pleistocene, and maintained *in situ* during the period with dynamic climate changes. Our research also identified candidate genes underlying adaptive evolution of regional lineages, which are expected to be utilized for predicting the population survivability under changing environments.

5-2 Synergistic effects of the joint research

In this joint research, Chinese and Japanese teams mutually supported the field surveys in our own countries and held international symposiums to discuss the outcomes of respective working packages. Over the research project, 23 Japanese visited 12 provinces/regions of China for field works, while Chinese team visited 3 times Japan to perform plant collections in 4 regions. The collected samples were analyzed by each team, and the outcomes have been presented as collaborated works: 55 scientific papers

(including 2 review papers) and 144 presentations in scientific symposiums and meetings. The quality of the joint research were evaluated by scientific communities as such 3 early-career Japanese researchers won the awards for young scientists from two scientific societies and 9 graduate-school students were awarded for their excellent presentations.

5-3 Scientific, industrial or societal impacts/effects of the outputs

The participants had opportunities to develop research networks with not only the project members but other scientists with similar research interests. For some cases, the studied plant genera had extended distributions outside the SJFR, and researchers from other countries (e.g., US, Russia, South Korea) helped the team by providing the samples collected from their own countries, which enabled our studies to base on more exhaustive sampling. The researchers are still actively communicating over the research networks, and we expect these communications will develop into future opportunities for international collaborative researches.

国際共同研究における主要な研究成果リスト

1. 論文発表等

＊原著論文（相手側研究チームとの共著論文）

・査読有り：発表件数：計 4 件

1. Cao Y-N., Comes H. P., Sakaguchi S., Chen L-Y., and Qiu Y-X., “Evolution of East Asia’s Arcto-Tertiary relict *Euptelea* (Eupteleaceae) shaped by Late Neogene vicariance and Quaternary climate change”, BMC Evolutionary Biology, 2016, 16(1), 66 DOI: 10.1186/s12862-016-0636-x
2. Chen C., Lu R., Zhu S-S., Tamaki I. and Qiu Y-X., “Population structure and historical demography of *Dipteronia dyeriana* (Sapindaceae), an extremely narrow palaeoendemic plant from China: implications for conservation in a biodiversity hotspot”, Heredity, 2017, 119(2), 95 DOI: 10.1038/hdy.2017.19
3. Kaneko S, Matsuki Y, Qiu Y-X, Isagi Y, “Chloroplast DNA sequencing and detailed microsatellite genotyping of all remnant populations suggests that only a single genet survives of the critically endangered plant *Rehmannia japonica*”, Journal of Plant Research, 2017, 130(1), 117-124 DOI: 10.1007/s10265-016-0873-5
4. Sakaguchi, S., Kimura, T., Kyan, R., Maki, M., Nishino, T., Ishikawa, N., Nagano, A., Honjo, M., Yasugi, M., Kudoh, H., Li, P., Choi, H-J., Chernyagina, O. and Ito, M. “Phylogeographic analysis of the East Asian goldenrod (*Solidago virgaurea* complex, Asteraceae) reveals hidden ecological diversification with recurrent formation of ecotypes”, Annals of Botany, 2018, 121(3), 489–500 DOI: doi: 10.1093/aob/mcx182

・査読無し：発表件数：計 0 件

該当なし

＊原著論文（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの論文）

・査読有り：発表件数：計 47 件の内、6 件掲載

1. Isagi Y, Oda T, Fukushima K, Lian C, Yokogawa M, Kaneko S, “Predominance of a single clone of the most widely distributed bamboo species *Phyllostachys edulis* in East Asia”, Journal of Plant Research, 2016, 129(1), 21-27 DOI: 10.1007/s10265-015-0766-z
2. Tamaki I, Tani S, Setsuko S, Ueno S, Wadasaki N, Tomaru N. “Reduced incompatibility in the production of second generation hybrids between two *Magnolia* species revealed by Bayesian gene dispersal modeling”, American Journal of Botany, 2017, 104(10), 1546–1555 DOI: 10.3732/ajb.1700138
3. Sakaguchi, S., Horie, K., Ishikawa, N., Nagano, J.A., Yasugi, M., Kudoh, H. and Ito, M., “Simultaneous evaluation of the effects of geographic, environmental and temporal isolation in ecotypic populations of *Solidago virgaurea*”, New Phytologist, 2017, 216(4), 1268-1280 DOI: 10.1111/1442-1984.12196
4. Sakaguchi, S., Takahashi, D., Setoguchi, H., and Isagi, Y., “Genetic structure of the clonal herb *Tanakaea radicans* (Saxifragaceae) at multiple spatial scales, revealed by nuclear and mitochondrial microsatellite markers”, Plant Species Biology, 2018, 33(11), 81-87 DOI: 10.1111/1442-1984.12196
5. Takahashi, D., Setoguchi, H., Molecular phylogeny and taxonomic implications of *Asarum* (Aristolochiaceae) based on ITS and matK sequences, Plant Species Biology doi: 10.1111/1442-1984.12189.
6. Watanabe Y., Kawamata, I., Matsuki, Y., Suyama, Y., Uehara, K., Ito, M., “Phylogeographic analysis suggests two origins for the riparian azalea *Rhododendron indicum* (L.) Sweet.”, Heredity, 2018, 121(6), 594-604 DOI: 10.1038/s41437-018-0064-3

・査読無し：発表件数：計 0 件

該当なし

＊その他の著作物（相手側研究チームとの共著総説、書籍など）：発表件数：計 0 件
該当なし

＊その他の著作物（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの総説、書籍など）：発表件数：計 4 件

1. 分担執筆者：阪口翔太，東アジア温帯林構成植物の歴史生物地理，「中尾佐助 照葉樹林文化論」の展開 — 多角的視座からの位置づけ 第 7 章 東アジア温帯林構成植物の歴史生物地理…ISBN： 978-4-8329-6820-2
2. 渡辺洋一，高橋修，ツツジ・シャクナゲ ハンドブック 出版社：文一総合出版、発行日 2018/04 ISBN: 978-4-8299-8138-2
3. 井坂友一，岩崎貴也. 日本列島を舞台にした生物系統地理学の現在. 『生物科学』 70 巻 1 号 pp.2-6. 2019. ISBN: ZASSI54018039
4. 岩崎貴也，奥山雄大. 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. 『生物科学』 70 巻 2 号 pp.112-123. 2019. ISBN: ZASSI54018040

2. 学会発表

＊口頭発表（相手側研究チームとの連名発表）
発表件数：計 11 件（うち招待講演：9 件）

＊口頭発表（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表）
発表件数：計 67 件（うち招待講演：14 件）

＊ポスター発表（相手側研究チームとの連名発表）
発表件数：計 2 件

＊ポスター発表（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表）
発表件数：計 64 件

3. 主催したワークショップ・セミナー・シンポジウム等の開催

1. 中美生物多样性双边学术研讨会、主催者：傅承新，邱英雄、開催場所：中国，杭州，浙江大学、2016/10/19-2016/10/22、参加人数 80 名程
2. 生物群横断系統地理ワークショップ、主催者：岩崎貴也，阪口翔太、開催場所：日本，京都市，京都大学、2016/10/29～2016/10/30、参加人数 150 名程
3. Impacts of volcanic activity on bird pollination system in an island ecosystem、主催者：王仲朗、開催場所：中国、昆明、昆明植物研究所、2017/1/21、参加人数 100 名程
4. Evolution and ecology of Japanese Camellia、主催者：王仲朗、開催場所：中国、昆明、昆明植物研究所、2017/2/1、参加人数 100 名程
5. Evolution and ecology of Japanese Camellia、主催者：Joeri S. Strijk、開催場所：中国、南寧、廣西大学、2017/3/3、参加人数 100 名程
6. 蛇紋岩地帯における植物多様化に迫る —自然史・生物地理・適応—、主催者：阪口翔太、開催場所：日本，東京，早稲田大学、2017/3/18、参加人数 130 名程
7. 島嶼生態系生物多様性ホットスポットの進化・保全ゲノミクス、主催者：井鷲裕司、

- 陶山佳久、開催場所：日本，東京，早稲田大学、2017/3/18、参加人数 200 名程
8. International Academic Conference on the Formation Mechanism of Plant Diversity in East Asia and Conservation of Endangered Plants、主催者：邱英雄、井鷲裕司、開催場所：中国・浙江省・杭州、2017/6/24-26、参加人数 100 名程
 9. Plant phylogeography in East Asia、主催者：Goro Kokubugata/Ying-Xiong Qiu、開催場所：中国・広東省・深圳、2017/7/28、参加人数 200 名程
 10. 系統地理学と地質学からせまる日本列島の生物多様性形成史、主催者：井坂友一、岩崎貴也、開催場所：日本，札幌、2018/3/16、参加人数 50 名程
 11. The 2nd International Academic Conference on the Formation Mechanism of Plant Diversity and Conservation of Endangered Plants in East Asia、主催者：井鷲裕司、邱英雄、開催場所：日本，京都市、2018/11/4、参加人数 50 名程
 12. 第 50 回種生物学会 企画シンポジウム、主催者：阪口翔太、川北篤、開催場所：日本，八王子市、2018/12/9、参加人数 200 名程

4. 研究交流の実績（主要な実績）

【合同ミーティング】

- ・ 2016 年 4 月 24 日：キックオフミーティング、京都大学農学部総合館、京都、日本

【学生・研究者の派遣、受入】

- ・ 2016 年 8 月 18 日~8 月 28 日：相手国側研究員 4 名の国内野外調査に同行。
- ・ 2016 年 9 月 22 日~9 月 29 日：日本から研究者 3 名、学生 1 名が相手国に渡航し、相手側研究員と共に野外調査を行った。
- ・ 2017 年 10 月 12 日~10 月 16 日：日本から研究者 2 名が相手国に渡航し、相手側研究員と共に野外調査を行った。
- ・ 2018 年 5 月 20 日~5 月 27 日：日本から学生 1 名が相手国に渡航し、相手側研究員と共に野外調査を行った。

5. 特許出願

研究期間累積出願件数：0 件

6. 受賞・新聞報道等

*受賞（受賞名 受賞日：受賞者名）

1. 日本植物分類学会発表賞 2016/3/7：高橋大樹，寺峰 孜，阪口翔太，瀬戸口浩彰
2. 2016 年度高等学校科学研究优秀成果奖自然科学奖二等奖 2016/12/14：邱英雄
3. 森林遺伝育種学会奨励賞 2016/11/11：玉木一郎
4. 日本植物分類学会奨励賞 2017/3/9：阪口翔太
5. 森林遺伝育種学会奨励賞 2017/11/10：James R.P. Worth
6. 日本植物分類学会発表賞 2017/3/9：長澤耕樹，瀬戸口浩彰，牧雅之，福島慶太郎，井鷲裕司，陶山佳久，綱本良啓，阪口翔太
7. 日本植物分類学会発表賞 2017/3/9：亀岡慎一郎，崎尾均，阿部晴恵，阪口翔太，瀬戸口浩彰
8. 日本 DNA 多型学会優秀研究賞 2018/12/7：芝林真友，栗田和紀，横田昌嗣，阿部篤志，赤井賢成，國府方吾郎，遊川和久，長澤淳一，志内利明，市河三英，橋本季正，阪口翔太，寺峰孜，井鷲裕司

9. The student poster presentation prize for 2nd International Academic Conference on the Formation Mechanism of Plant Diversity and Conservation of Endangered Plants in East Asia, Kyoto. 2018/11/4: Seikan Kurata, Sakaguchi, S., Motomi Ito
10. The student oral presentation prize for 2nd International Academic Conference on the Formation Mechanism of Plant Diversity and Conservation of Endangered Plants in East Asia, Kyoto. 2018/11/4: Shan-Shan Zhu, Jing Zhao, Sakaguchi, S., Pan Li, Wu-Qin Xu, Rui-Sen Lu, Yuji Isagi, Ying-Xiong Qiu
11. 第 66 回日本生態学会ポスター最優秀賞 2019/3/18: 長澤耕樹, 瀬戸口浩彰, 牧雅之, 後藤隼, 福島慶太郎, 井鷲裕司, 陶山佳久, 綱本良啓, 松尾歩, 阪口翔太
12. 第 66 回日本生態学会ポスター最優秀賞 2019/3/18: 真鍋遼, 福島慶太郎, 阪口翔太, 石川直子, 伊藤元己, 西野貴子
13. 第 66 回日本生態学会ポスター優秀賞 2019/3/18: 孫田佳奈, 阪口翔太, 廣田峻, 綱本良啓, 陶山佳久, 赤井賢成, 瀬戸口浩彰

＊新聞報道（誌名 タイトル 掲載日, 掲載対象者）

1. 日本経済新聞 「京大, 花の咲く時期の違いで新しい植物が生まれることを解明」 2017/8/31 電子版, 阪口翔太
2. 財経新聞 「開花時期の違いが植物の進化を加速する」 2017/9/4 電子版, 阪口翔太
3. 朝日新聞 「野草 早咲きで進化」 2017/10/20 夕刊, 阪口翔太
4. しんぶん赤旗 「秋に咲かないアキノキリンソウ 進化の現場みえてきた」2017/11/27 日刊, 阪口翔太
5. 朝日新聞 「ゲノム解読 絶滅危惧種救え」 2017/12/22 日刊, 井鷲裕司
6. 朝日新聞 「生物多様性 ゲノムで守る」 2019/1/09 日刊, 井鷲裕司

7. その他

該当なし