

山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関名	昭和大学 富士山麓自然・生物研究所
職名・氏名	講師・柿嶋聡 ㊞

1 研究テーマ

サトイモ科テンナンショウ属をモデルとした絶滅危惧植物の保全遺伝解析

2 研究の目的

本研究で扱うサトイモ科テンナンショウ属は、日本列島に分布する 53 種のうち、47 種が日本固有種であり、日本列島で多様化したグループであると考えられている（邑田ほか 2018, 日本産テンナンショウ図鑑）。固有種 47 種のうち、10 種が環境省の国内希少野生動植物種（種の保存法）に指定されているほか、国立公園特別地域の指定植物や都道府県などの自治体の希少野生動植物種として保護されている希少種が多くある。このような希少種の多くは、分断化された少数の集団が知られているのみであることが多く、保全策が求められている。しかし、テンナンショウ属には近縁な多数の種が知られるため、分類が困難であるとされてきた。そこで、本研究では、主として国内希少野生動植物種に指定されている希少種を対象に、ゲノムワイド SNP 分析を使用した分子系統学的解析を含む保全遺伝学的な解析を行うことで、種間の系統関係、各集団の遺伝的な分化や遺伝的な多様性を解明し、保全優先度の高い集団を選定していく。その結果を元に、ゲノムワイド SNP 分析を用いた保全遺伝学的な解析手法の有効性を検証することを目的とする。

3 研究の方法

日本産のテンナンショウ属は多くの種に分化しているにもかかわらず、遺伝的に近い種が多いことが知られている（Murata and Kawahara 1995, *The journal of phylogeography and taxonomy*）。葉緑体 DNA の塩基配列に基づく系統解析では、近縁種間の系統関係を推定するための十分な解像度を有しておらず、多くの種で一つの遺伝子型を共有しているケースもあることから（Ohi-Toma et al. 2016, *Botanical Journal of the Linnean Society*）、種内の遺伝的多様性を推定することは不可能である。一方、核 DNA のマイクロサテライト（SSR）マーカーによるフラグメント解析はすでに行われているものの、開発済みのマーカーの数が限られるなどの問題があった。そこで、本研究ではゲノムワイド SNP 分析の 1 種である MIG-seq 解析を行った。MIG-seq は、マーカー作成といった各研究材料の個別の事前準備は不要であり、いわゆる次世代型シーケンサーを使用して大量のデータを取得し、ゲノム全体を薄く広く読むことで、種内でも十分な解像度をもったデータを取得することが可能である。本研究では、国内希少野生動植物種に指定されている種を対象を絞り、すでに許

留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

可を得て採取済みのサンプルおよび新たに追加で採取するサンプルを使用し、MIG-seq を行った。十分な集団数、サンプル数のデータが得られた、アマミテンナンショウ 3 亜種 (亜種アマミテンナンショウ、オオアマミテンナンショウ、オキナワテンナンショウ) について、分子系統解析を行い、これまでの分類の妥当性を検証するとともに、保全すべき単位の推定を行った (図 1)。



図1. アマミテンナンショウの3亜種。A: オキナワテンナンショウ、B: アマミテンナンショウ、C: オオアマミテンナンショウ

4 研究の成果

MIG-seq データを用いて、アマミテンナンショウ 3 亜種の系統関係を推定したところ、亜種アマミテンナンショウとオオアマミテンナンショウは単系統群となり、オキナワテンナンショウとは明確に遺伝的な分化が生じていることが明らかとなった (図 2)。この結果はオキナワテンナンショウとそれ以外が分化した後、奄美群島内でさらに分化が生じていることを示している。今後、オキナワテンナンショウの分類学的な取り扱いについての検討が必要である。また、他の分類群と遺伝的な分化が大きく、個体数も少ないオキナワテンナンショウは、保全の重要度がきわめて高いことが示唆された。

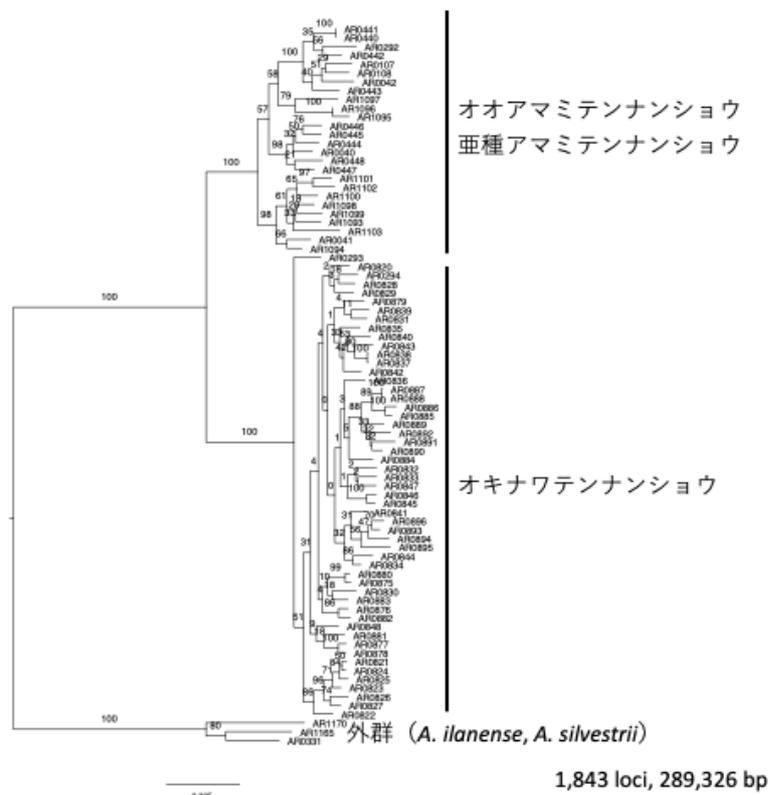


図2. アマミテンナンショウ3亜種の系統関係。MIG-seqデータを元にRAxML-NGv. 1.1.0 (Kozlov et al., 2019)を用いて最尤系統樹を作成。

留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

奄美群島内のアマミテンナンショウの遺伝的な分化を検討するため、亜種アマミテンナンショウの奄美大島集団と徳之島集団、オオアマミテンナンショウ、新たに発見された亜種不明のアマミテンナンショウ（図中では *Arisaema* sp. と記載）について、MIG-seq データを用いて、ネットワークを作成した（図3）。その結果、亜種アマミテンナンショウの奄美大島集団と徳之島集団は単系統にまとまらず、オオアマミテンナンショウや亜種不明のアマミテンナンショウとそれぞれが遺伝的に分化しているということが明らかとなった。この結果は亜種アマミテンナンショウおよびオオアマミテンナンショウについて分類学的な再検討が必要であることを示しており、保全案を策定する際には、亜種アマミテンナンショウの奄美大島集団と徳之島集団、オオアマミテンナンショウ、新たに発見された亜種不明のアマミテンナンショウの4つを単位として考慮すべきであることが示唆された。以上の結果から、MIG-seq を用いたゲノムワイド SNP 分析は保全遺伝学的解析においてきわめて有用であることが示された。

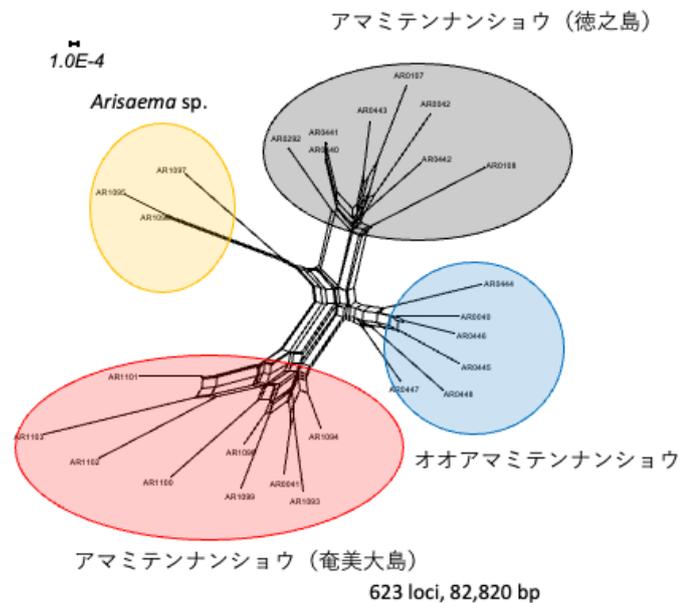


図3. 亜種アマミテンナンショウとオオアマミテンナンショウを対象にしたネットワーク。SplitsTree4ver. 4.18.2 (Huson and Bryant, 2006)を用いて uncorrelated P distance法によりNeighbor-Net networkを作成。

5 今後の展望

本助成で得られたデータを元に、アマミテンナンショウの各亜種・各集団を対象に集団遺伝学的な解析を行い、遺伝的多様度や近交係数などを算出することで、優先的に保全すべき集団を検討していく予定である。また、アマミテンナンショウ以外の絶滅危惧種（ホロテンナンショウ、イナヒロハテンナンショウなど）についてもすでに MIG-seq データの取得を開始しており、さらに集団・サンプルを追加することで、アマミテンナンショウと同様に系統分類学的な解析や集団遺伝学的な解析を行うことを計画している。これらの結果を踏まえて、より適切な保全遺伝学的な解析手法を検討していく。

6 研究成果の発信方法（予定を含む）

本事業で得られた研究成果は、日本植物学会第87回大会、第55回種生物学シンポジウムおよび日本植物分類学会第23回大会でポスター発表、第71回日本生態学会大会で口頭発表を行い、報告した。また、本事業の関連成果を論文で発表しており（Kakishima et al., 2023, *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany* 49: 105–114）、本事業で得られた研究成果についても、国内外の雑誌において論文発表を行うとともに、ホームページなどで紹介することで、広く情報発信を行う予定である。

留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。