

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、個体サイズにより年毎に性転換する植物であり、花序の匂いでハエ類を集めることで送粉される。日本列島に分布するテンナンショウ属 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ものの、遺伝的な背景についてはほとんど明らかとなっていない。さらに、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い、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、保全優先度の高い分類群や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 phytogeography 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、テンナンショウ属において核 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 (Nishizawa et al. 2005)、開発済みのマーカーの数が限られることや、系統関係の推定には向いていないという問題があった。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 (Suyama and Matsuki 2015) 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。MIG-seq は、PCR を利用した手法であるため、他のゲノムワイド SNP 分析よりも準備が必要な試薬類が少なく、使用する DNA の質や量があまり良くななくてもデータ取得が可能という利点がある。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)。

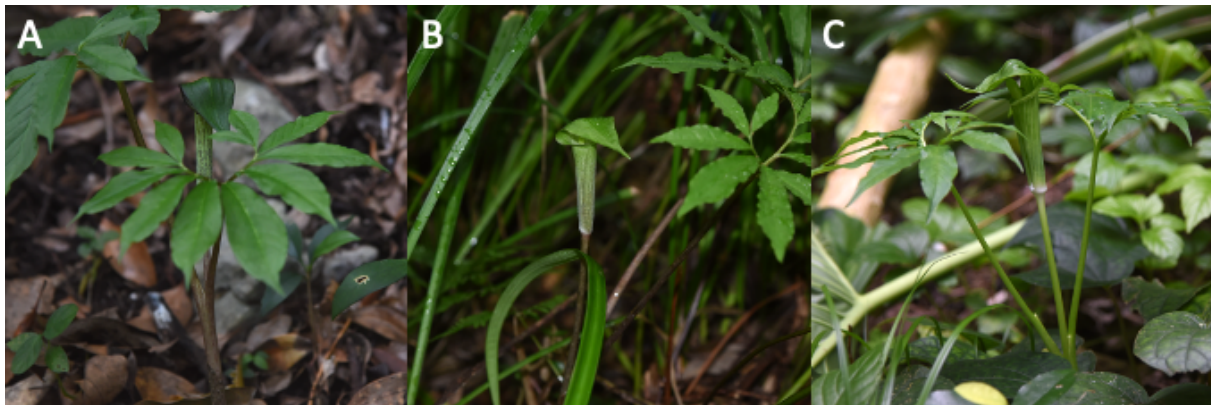


図1. アマミテンナンショウの3亜種。A: オキナワテンナンショウ、B: アマミテンナンショウ、C: オオアマミテンナンショウ

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である一方、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に、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を別種として区別することも含め、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い、分布域も狭く、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。

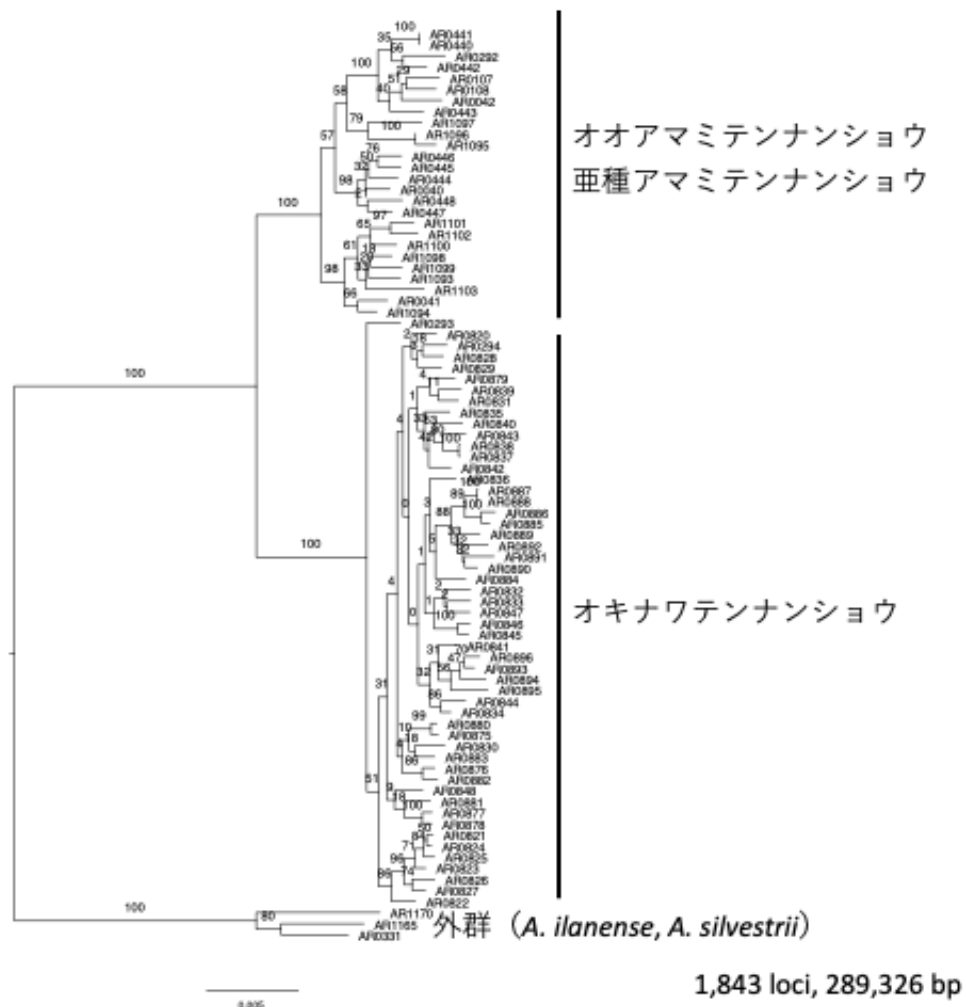


図2. アマミテンナンショウ 3 亜種の系統関係。MIG-seq データを元に RAxML-NGv. 1.1.0 (Kozlov et al., 2019) を用いて最尤系統樹を作成。

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いる。奄美群島のアマミテンナンショウについて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つを保全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。

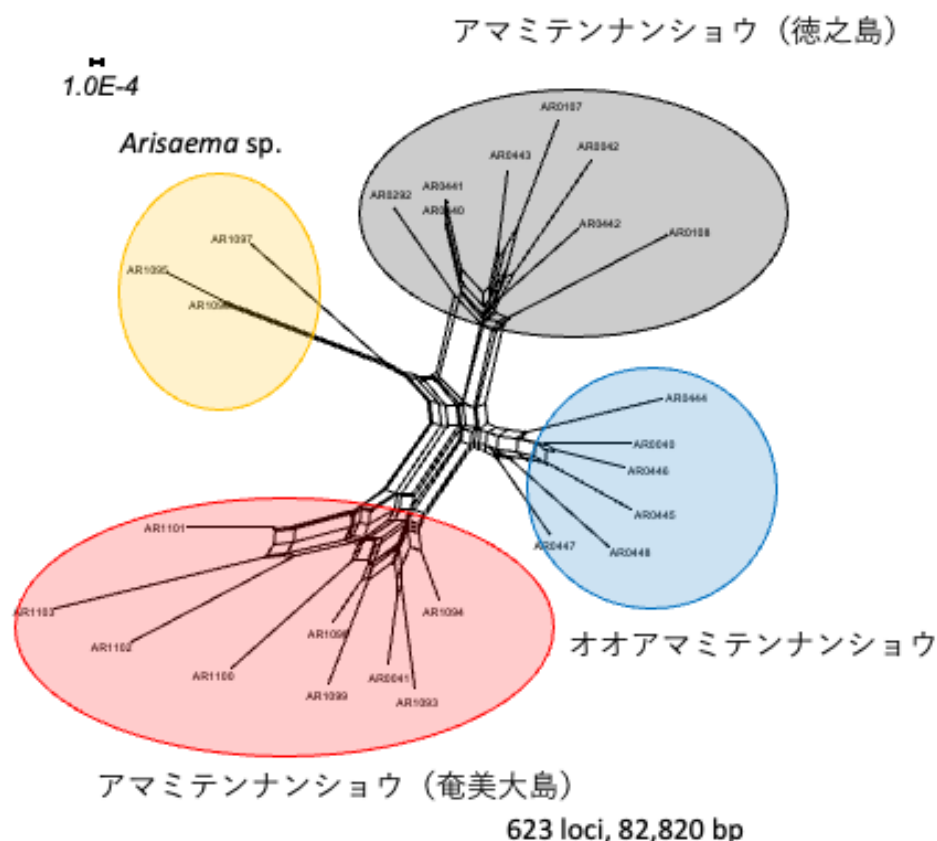


図3. 亜種アマミテンナンショウとオオアマミテンナンショウを対象にしたネットワーク。SplitsTree4ver. 4.18.2 (Huson and Bryant, 2006)を用いて uncorrelated P distance法によりNeighbor-Net networkを作成。

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、ヒュウガヒロハテンナンショウ、アマギテンナンショウ、オドリコ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、以下の学会で発表した。

1. 柿嶋 聡、末吉昌宏、大野順一、星山耕一、杉江喜寿、山根文人、奥山雄大、系統・形態・送粉者から解明するオオマムシグサ種群の多様性、日本植物学会第 87 回大会、P003-C、北海道（ハイブリッド）、2023 年 9 月
2. 柿嶋 聡、末吉昌宏、大野順一、杉江喜寿、山根文人、奥山雄大、オオマムシグサ種群の種分化における送粉者シフト、第 55 回種生物学シンポジウム、P52、愛知（ハイブリッド）、2023 年 12 月
3. 柿嶋聡、大野順一、阿部篤志、奥山雄大、アマミテンナンショウの 3 亜種の現状と保全に向けた遺伝解析、日本植物分類学会第 23 回大会、PB21、東北（オンサイト）、2024 年 3 月
4. 柿嶋聡、「ここまで分かった日本産マムシグサ節における適応放散的な多様化」、第 71 回日本生態学会大会、あなたの知らないサトイモ科植物の世界 2：系統・分布編、W17-3、横浜（ハイブリッド）、2024 年 3 月

また、関連した研究成果として、希少種ヤマグチテンナンショウに関する分類学的な研究を以下の論文（Kakishima et al. 2023）で発表しており、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

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。

1. *Satoshi Kakishima, Junichi Ohno, Koichi Hoshiyama, Fumito Yamane, Yoshihisa Sugie, *Yudai Okuyama. 2023. Rediscovery of *Arisaema suwoense* Nakai in Yamaguchi Prefecture reveals morphological differences from *A. izuense* Nakai. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany* 49: 105–114.

7 引用文献

1. Nishizawa, T., Watano, Y., Kinoshita, E., Kawahara, T., and Ueda, K. 2005. Pollen movement in a natural population of *Arisaema serratum* (Araceae), a plant with a pitfall-trap flower pollination system. *American Journal of Botany* 92: 1114-1123.
2. Murata, J. and Kawahara, T. 1995. Allozyme differentiation in *Arisaema* (Araceae) (3). *Arisaema serratum* group (sect. Pedatisecta). *The Journal of Phytogeography and Taxonomy* 42: 99–109.
3. 邑田仁, 大野順一, 小林禧樹, 東馬哲雄. 2018. 日本産テンナンショウ属図鑑. 北隆館, 東京.
4. Ohi-Toma, T., Wu, S., Murata, H. and Murata, J. 2016. An updated genus-wide phylogenetic analysis of *Arisaema* (Araceae) with reference to sections. *Botanical Journal of the Linnean Society* 182: 100–114.
5. Suyama, Y. and Matsuki, Y. 2015. MIG-seq: An effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Scientific Reports* 5: 16963.