

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

4-2001 次世代DNAバーコードによる絶滅危惧植物の種同定技術の開発と分類学的改訂
(JPMEERF20204001)

令和2年度～令和4年度

Taxonomic Revisions of Threatened Plants Based on
Species Identification Technology Developed Using Nextgeneration DNA Barcodes

〈研究代表機関〉

一般社団法人九州オープンユニバーシティ

〈研究分担機関〉

東北大学
東京大学
国立科学博物館
人間環境大学
新潟大学
神戸大学
鹿児島大学
琉球大学

〈研究協力機関〉

なし

○図表番号の付番方法について

「Ⅰ．成果の概要」の図表番号は「0．通し番号」としております。なお、「Ⅱ．成果の詳細」にて使用した図表を転用する場合には、転用元と同じ番号を付番しております。

「Ⅱ．成果の詳細」の図表番号は「サブテーマ番号．通し番号」としております。なお、異なるサブテーマから図表を転用する場合は、転用元と同じ図表番号としております。

令和5年5月

目次

I. 成果の概要	3
1. はじめに（研究背景等）	
2. 研究開発目的	
3. 研究目標	
4. 研究開発内容	
5. 研究成果	
5－1. 成果の概要	
5－2. 環境政策等への貢献	
5－3. 研究目標の達成状況	
6. 研究成果の発表状況	
6－1. 査読付き論文	
6－2. 知的財産権	
6－3. その他発表件数	
7. 国際共同研究等の状況	
8. 研究者略歴	
II. 成果の詳細	
II－1 絶滅危惧植物の新種候補および絶滅危惧植物を含む同定が困難な群の分類学的研究・・・	8
（一般社団法人九州オープンユニバーシティ）	
要旨	
1. 研究開発目的	
2. 研究目標	
3. 研究開発内容	
4. 結果及び考察	
5. 研究目標の達成状況	
6. 引用文献	
II－2 絶滅危惧植物の種同定・新種記載のための次世代DNAバーコードの開発・・・	23
（東北大学）	
要旨	
1. 研究開発目的	
2. 研究目標	
3. 研究開発内容	
4. 結果及び考察	
5. 研究目標の達成状況	
6. 引用文献	
III. 研究成果の発表状況の詳細	32
IV. 英文Abstract	42

I. 成果の概要

課題名 4-2001 次世代DNAバーコードによる絶滅危惧植物の種同定技術の開発と分類学的改訂
 課題代表者名 矢原 徹一（一般社団法人九州オープンユニバーシティ研究部長）

重点課題 主：【重点課題13】生物多様性の保全に資する科学的知見の充実や対策手法の技術開発
 に向けた研究
 副： 選択していない。

行政要請研究テーマ（行政ニーズ） （４－３）絶滅危惧種の新種記載及び国内希少野生動植物の同定
 の簡便化に対応する DNA バーコード・ライブラリ
 の充実促進等に向けた研究

研究実施期間 令和２年度～令和４年度

研究経費

111,900千円（合計額）

（各年度の内訳：2020年度：39,964千円、2021年度：35,968千円、2022年度：35,968千円）

研究体制

（サブテーマ１）絶滅危惧植物の新種候補および絶滅危惧植物を含む同定が困難な群の分類学的研
 究（一般社団法人九州オープンユニバーシティ）

（サブテーマ２）絶滅危惧植物の種同定・新種記載のための次世代DNAバーコードの開発（東北大
 学）

研究協力機関

研究協力機関はない。

本研究のキーワード 絶滅危惧植物、分類学、DNAバーコード、次世代シーケンシング、MIG-seq解
 析、新種、種の保存法、レッドリスト

1. はじめに（研究背景等）

生物多様性条約第10回締約国会議で国際的に合意された愛知目標では、「2020年までに、既知の絶滅危惧種の絶滅及び減少が防止され、また 特に減少している種に対する保全状況の維持や改善が達成される」ことを目標12に掲げている。わが国ではこの目標達成のために、種の保存法に基づく国内希少野生動植物種（以下「国内特定希少種」）への指定を進めるなどの努力を行っている。また、環境省が事務局を担当するアジア太平洋生物多様性観測ネットワーク（APBON）でも、アジア版レッドリスト作成を将来的な目標として、絶滅危惧種に関する調査と評価をアジア規模で進めている。しかし、種数が多い維管束植物では、分類学的研究が完成されておらず、東南アジアでは少なくとも1000種が未記載であり、その多くは絶滅危惧種である。分類学的研究が進んだわが国ですら、毎年新種が発表されている。このような国内外の状況の下で、絶滅危惧植物に関する種同定を迅速かつ正確に行う技術の開発が急務となっている。

2. 研究開発目的

本研究では、東南アジアにおける新種割合の評価を行った先行研究の技術的成果を日本の野生植物

に適用し、わが国における未記載種を特定して新種として発表するとともに、分類学的な区別がむづかしい絶滅危惧種の同定を確実にする技術開発を進めることを目的とする。

3. 研究目標

全体目標	本研究の最終目標は、次世代シーケンサーを活用した新しいDNAバーコーディング法をわが国における維管束植物（とくに未記載種・分類学的区別が難しい種・絶滅危惧種・希少種）に網羅的に適用し、種識別の客観的根拠を提示することによって、レッドリストの改訂、および国内特定希少種指定に貢献することである。サブテーマ1では維管束植物種（目標値70%、3500種）のDNA分析用の試料・証拠標本の採集と分類学的再検討を実施し、サブテーマ2ではDNA分析用の試料のMIG-seq法による分析と、分析技術の改良を担当する。Future EarthのbioGenesis（分子系統学的アプローチを地球環境での生物多様性保全に適用するプロジェクト）科学委員会と連携し、最新のバーコーディング技術を用いた市民とのco-productionを推進する。また、本研究の成果は、民間による環境アセスメント事業に今後活用される見通しである。
------	---

サブテーマ1	絶滅危惧植物の新種候補および絶滅危惧植物を含む同定が困難な群の分類学的研究
サブテーマリーダー/所属機関	矢原徹一／一般社団法人九州オープンユニバーシティ
目標	全国の30以上の都道府県で野外調査を実施し、維管束植物種（目標値70%、3500種）のDNA分析用の試料・証拠標本の採集を行い、未記載種・分類学的区別が難しい種・絶滅危惧種・希少種の約300種について分類学的再検討を実施する。この結果をもとに、国内特定希少種指定種の候補を選定する（目標値300種）。アウトカムとして、このうち150種が国内特定希少種に選定されることを目標に、環境省への情報提供を行う。

サブテーマ2	絶滅危惧植物の種同定・新種記載のための次世代DNAバーコードの開発
サブテーマリーダー/所属機関	陶山佳久／東北大学
目標	MIG-seq法およびマルチDNAバーコーディング法をもとにした次世代DNAバーコーディング法を完成させ、広く利用可能な技術として公表する。またこの技術を用いて、サブテーマ1から提供される計3500種のDNA塩基配列データを取得し、分子系統樹を構築して、サブテーマ1に結果を提供する。さらに、国内特定希少種において野生品と栽培系統の区別が課題となっている少なくとも1種を対象として、簡易DNA識別マーカーを開発し、その有用性を示す。これらの作業により得られたDNA塩基配列データをデータベースとして構築し、このデータベースを利用して種同定を行うことができる検索システムを公開する。

4. 研究開発内容

本研究は、環境省レッドリストや種の保存法指定作業に貢献するために、わが国における未記載種を特定して新種として発表するとともに、分類学的な区別がむづかしい絶滅危惧種の同定を確実にする

技術開発を進めることを目的として実施された。申請書に記載した以下の3つの方法によって、わが国における未記載種の網羅的探索を行なった（サブテーマ1担当）。

（1）植物分類学者・地方植物研究者によりすでに知られている新種候補のリストを作成し、これらについて現地調査を行い、DNA分析用の試料と証拠標本を得る。

（2）ギボウシ属など、分類学的研究が遅れており、研究を進めれば新種が発見されることが確実視されるグループについて、全国調査を行い、分類学的研究を進める。

（3）絶滅危惧種を含む種多様性が高く、新種が発見が期待される地域（九州中南部、南西諸島、四国、紀伊半島、中部地方など）において全種調査を行い、新種を探索する。

これらの調査で得られたDNA分析用の試料を用いて、未記載種候補とその近縁種のDNA配列差を陶山佳久が開発したMIG-seq法により決定した（サブテーマ2担当）。さらにこの結果をもとに新種記載、および近縁種間の分類学的整理を進めた（サブテーマ1担当）。

5. 研究成果

5-1. 成果の概要

全国の42都道府県で野外調査を実施し、目標値の3500種をこえる約4000種の維管束植物について、DNA分析用の試料・証拠標本を採集した。これらのうち、新分類群候補が発見された40属約300種についてMIG-seq法により系統解析を行い、その結果にもとづいて分類学的再検討を進め、112の新種・20の新亜種を確認した。この新種・新亜種数は、本研究開始時点での予想を大きく超えた。さらに、すでに記載されているが、種レベルで区別されていない61種が再認識すべき独立種であることを明らかにした。これら193種・亜種についてレッドリストカテゴリーの暫定評価を行った。結果は、CR: 24, EN: 48, VU: 32, NT: 21, LC: 53, DD: 15、であり、絶滅危惧種・亜種（CR, EN, VU）は104（54%）であった。これらは国内特定希少種指定種の候補である。

5-2. 環境政策等への貢献

<行政等が既に活用した成果>

国内希少野生動植物種の指定候補とされているツシマアカショウマについて、アカショウマ属の分類を研究している専門家から、指定前にその独立性について慎重に検討すべきであるというコメントが寄せられた。このコメントを受けて、ツシマアカショウマとその近縁種についてMIG-seq法による系統解析を行い、ツシマアカショウマは西日本産のアカショウマ類ではなく、中部以北に分布する種に近縁な独立種であることを確認した。この研究結果を環境省に提供し、環境省ではこの研究成果にもとづいてツシマアカショウマを国内希少野生動植物種に指定する手続きを進めた。

<行政等が活用することが見込まれる成果>

園芸用に広く栽培されるギボウシ属において多くの新種が見つかり、その一部は自生地数・個体数が限定されていることから、得られた情報を環境省に提供し、保全対策について協議を進めてきた。2023年1月31日には、ギボウシ属の分類学的研究を進めてきた専門家2名と、本研究計画の代表者（矢原）に対して、環境省担当者同席のうえでヒアリングが実施された。法令による規制や保全策を実施するためには、学名の確定が必要であり、現在投稿中の論文がアクセプトされ、新種の学名が発表されることで、種の保存法にもとづく指定の必要性の検討を含め、必要な保全策の検討につながる。

現在、環境省植物レッドリストの改訂作業が進められている。この作業を担当している日本植物分類学会絶滅危惧植物問題専門委員会による判定会議（環境省担当者同席）に、本研究の成果を随時提供し、判定作業に貢献している。本研究の成果としてすでに発表されたブンゴギボウシ・キリシマギンリョウソウなどは、環境省植物レッドリスト改訂版に掲載される見通しである。

2017年の種の保存法改訂時の国会附帯決議において「2030年までに700種を指定する」という目標が

設定された。維管束植物ではこれまでに203種が指定されているが、さらに指定を進めるためには、絶滅危惧種とその近縁種の関係についての分類学的問題の解決が不可避となっている。上記の104の絶滅危惧種・亜種は、系統解析とその結果にもとづく識別形質の研究によって分類学的独立性が確認されている。これら104種・亜種のリストは環境省による今後の種指定作業に活用される見通しである。

5-3. 研究目標の達成状況

全体目標	目標の達成状況
本研究の最終目標は、次世代シーケンサーを活用した新しいDNAバーコーディング法をわが国における維管束植物（とくに未記載種・分類学的区別が難しい種・絶滅危惧種・希少種）に網羅的に適用し、種識別の客観的根拠を提示することによって、レッドリストの改訂、および国内特定希少種指定に貢献することである。サブテーマ1では維管束植物種（目標値70%、3500種）のDNA分析用の試料・証拠標本の採集と分類学的再検討を実施し、サブテーマ2ではDNA分析用の試料のMIG-seq法による分析と、分析技術の改良を担当する。 Future EarthのbioGenesis（分子系統学的アプローチを地球環境での生物多様性保全に適用するプロジェクト）科学委員会と連携し、最新のバーコーディング技術を用いた市民とのco-productionを推進する。また、本研究の成果は、民間による環境アセスメント事業に今後活用される見通しである。	<u>目標を大きく上回る成果をあげた。</u> サブテーマ1では目標値の3500種をこえる約4000種の維管束植物について、DNA分析用の試料・証拠標本を採集した。これらについて分類学的再検討を進め、130を超える新種・新亜種を発見した。この数は、本研究開始時点での予想を大きく上回った。その50%以上は絶滅危惧種・国内特定希少種指定候補である。サブテーマ2では、MIG-seq法の改良により、種・種内レベルでの高精度の系統解析を実現し、サブテーマ1の研究を支えた。さらに、これまで植物のDNAバーコードとして活用されてきた複数のDNA領域を次世代シーケンサーにより効率よく同時決定する技術（MPM-seq法）を開発し、論文を公表した。 bioGenesis科学委員会とは随時連絡をとっている。本研究で達成された分類学的再検討結果（新種・新亜種記載を含む）は今後の環境アセスメントにおいて必ず参照されるものになる。 なお、初年度前半には新型コロナウイルス感染拡大の下で旅行が制限され、調査範囲が限定されたが、初年度後半以降に集中的に調査を実施することで、当初の目標を上回る野外調査を実施した。日本全域をできるだけカバーするようにDNA分析用の試料・証拠標本を収集するため、レンタカー代の節約などによる研究資金の効率的運用につとめた、最終年度には九州オープンユニバーシティによる独自資金も活用して野外調査を実施した。

サブテーマ1目標	目標の達成状況
全国の30以上の都道府県で野外調査を実施し、維管束植物種（目標値70%、3500種）のDNA分析用の試料・証拠標本の採集を行い、未記載種・分類学的区別が難しい種・絶滅危惧種・希少種の約300種について分類学的再検討を実施する。この結果	<u>目標を大きく上回る成果をあげた。</u> 全国の42都道府県で野外調査を実施し、目標値の3500種をこえる約4000種の維管束植物について、DNA分析用の試料・証拠標本を採集した（九州オープンユニバーシティにおいて15334点、鹿児島

をもとに、国内特定希少種指定種の候補を選定する（目標値300種）。アウトカムとして、このうち150種が国内特定希少種に選定されることを目標に、環境省への情報提供を行う。	大学田金により2591点、人間環境大学藤井により435点、新潟大志賀により2577点を採集）。これらについて分類学的再検討を進め、112の新種・20の新亜種を発見した。この新種・新亜種数は、本研究開始時点での予想を大きく上回った。その50%以上はレッドリストに掲載が必要な絶滅危惧種であり、また国内特定希少種指定候補である。さらに、分類学的区別が難しい属の約400種について分類学的再検討を行い、すでに記載されているが、種レベルで区別されていない61種の存在を明らかにした。これら193種・亜種（112の新種・20の新亜種・61の新規認識種）を含む約300種・亜種の国内特定希少種候補をリストし、環境省への情報提供の準備を整えた。
---	--

サブテーマ 2 目標	目標の達成状況
MIG-seq法およびマルチDNAバーコーディング法をもとにした次世代DNAバーコーディング法を完成させ、広く利用可能な技術として公表する。またこの技術を用いて、サブテーマ 1 から提供される計3500種のDNA塩基配列データを取得し、分子系統樹を構築して、サブテーマ 1 に結果を提供する。さらに、国内特定希少種において野生品と栽培系統の区別が課題となっている少なくとも1種を対象として、簡易DNA識別マーカーを開発し、その有用性を示す。これらの作業により得られたDNA塩基配列データをデータベースとして構築し、このデータベースを利用して種同定を行うことができる検索システムを公開する。	<u>目標を上回る成果をあげた。</u> MIG-seq法の改良により、種・種内レベルでの高精度の系統解析を実現した。3年間で68科153属1291種32177サンプルのMIG-seq解析を行い、分子系統樹を構築し、サブテーマ 1 の研究を支えた。なお、初年度の段階で20種をこえる新種候補が発見されたため、3500種のDNA配列データを取得することよりも、新種をふくむグループにおいてより多くのサンプルを分析し、新種であることの結論づけを優先する方針に切り替えた（アドバイザー会合においてアドバイザーおよび環境省の了解を得た）。その結果、112の新種・20の新亜種が確認でき、環境行政により貢献できた。 当初目標では3500種について1 サンプルずつのDNAバーコード配列（計3500配列）を決定する計画だったが、上記の方針変更にもとづいて1種につき3～57サンプル（総計32177サンプル）についてMIG-seq配列を決定した。 また、これまで植物のDNAバーコードとして活用されてきた複数のDNA領域を次世代シーケンサーにより効率よく同時決定するマルチDNAバーコーディング技術（MPM-seq法）を開発し、論文を公表した。 さらに、特定国内希少野生動植物種の流通管理上で、野生品と栽培系統の区別が課題となっているアツモリソウ属の種について、系統識別・個体

	識別を行う技術開発を行ない、現存する栽培系統と野生系統の親子関係・クローン関係までも明らかにすることができた。 DNA塩基配列データは、論文発表したものについてはすべて公共のデータベースに登録して広く利用可能にした。さらにこれらのデータを用いた種同定検索システムを構築した。ただし、種同定検索システムについては、未発表データが多く含まれること、希少種の情報が含まれることなどを考慮し、研究期間内での公開は見送った。
--	---

6. 研究成果の発表状況

6-1. 査読付き論文

<件数>

25件（注：研究成果の発表状況の詳細に記載されているもののうち、サブテーマ1と2の業績リストで重複しているものは1件と数えた）

<主な査読付き論文>

- 1) Hirota SK, Yahara T, Kengo F, Sato H, Tagane S, Fujii S, Minamitani T, Suyama Y (2022) Molecular phylogeny and taxonomy of *Hydrangea serrata* complex (Hydrangeaceae) in western Japan including a new subspecies of *H. acuminata* from Yakushima. *PhytoKeys* 188: 49-71. (IF:1.3)
- 2) Hirota SK, Yasumoto AA, Nitta K, Tagane M, Miki N, Suyama Y, Yahara T (2021) Evolutionary history of *Hemerocallis* in Japan inferred from chloroplast and nuclear phylogenies and levels of interspecific gene flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 164: 107264. (IF:5.0)
- 3) Ito T, Kanemitsu H, Hoson T, Yahara T (2023) A new species of succulent plant discovered in limestone areas of Kyushu, Japan: *Sedum kawaraense* (Crassulaceae). *Phytotaxa* 587: 149-160. (IF:1.1)
- 4) Suetsugu K, Hirota SK, Nakato N, Suyama Y, Serizawa S (2022) Morphological, ecological, and molecular phylogenetic approaches reveal species boundaries and evolutionary history of *Goodyera crassifolia* (Orchidaceae, Orchidoideae) and its closely related taxa. *PhytoKeys* 212: 111-134. (IF:1.3)
- 5) Suetsugu K, Hirota SK, Hayakawa H, Fujimori S, Ishibashi M, Hsu TC, Suyama Y (2023) *Spiranthes hachiyoensis* (Orchidaceae), a new species within the *S. sinensis* species complex in Japan, based on morphological, phylogenetic, and ecological evidence. *Journal of Plant Research* 136: 333-348. (IF:3.0)
- 6) Suetsugu K, Hirota SK, Hsu T-C, Kurogi S, Imamura A, Suyama Y (2023) *Monotropastrum kirishimense* (Ericaceae), a new mycoheterotrophic plant from Japan based on multifaceted evidence. *Journal of Plant Research* 136: 3-18. (IF:3.0)
- 7) Suyama Y, Hirota SK, Matsuo A, Tsunamoto Y, Mitsuyuki C, Shimura A, Okano K (2022) Complementary combination of multiplex high-throughput DNA sequencing for molecular phylogeny. *Ecological Research* 37: 171-181. (IF:2.1)
- 8) Tagane S, Fujii S, Hirota SK, Naiki A, Yahara T (2022) *Hydrangea marunoi*

(Hydrangeaceae), a new species from Osumi Peninsula, southern Japan. PhytoKeys 211: 33-44. (IF:1.3)

- 9) Yahara T, Hirota SK, Kengo F, Sato H, Tagane S, Suyama Y (2021) Validation of *Hosta alata* (Asparagaceae) as a new species and its phylogenetic affinity. PhytoKeys 181: 79-93. (IF:1.3)
- 10) Yahara T, Hirota SK, Kengo F, Sato H, Tagane S, Suyama Y (2021) A new subspecies of *Stellaria alsine* (Caryophyllaceae) from Yakushima, Japan. PhytoKeys 187: 177-188. (IF:1.3)

6－2．知的財産権

特に記載すべき事項はない。

6－3．その他発表件数

査読付き論文に準ずる成果発表	0 件
その他誌上発表（査読なし）	4 件
口頭発表（学会等）	66 件
「国民との科学・技術対話」の実施	5 件
マスコミ等への公表・報道等	33 件
本研究費の研究成果による受賞	3 件
その他の成果発表	0 件

7．国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

8．研究者略歴

研究代表者

矢原 徹一

京都大学理学部卒業、理学博士、現在、九州オープンユニバーシティ研究部長

研究分担者

陶山 佳久

筑波大学大学院農学研究科修了、博士（農学）、現在、東北大学大学院農学研究科教授

Ⅱ．成果の詳細

Ⅱ－１ 絶滅危惧植物の新種候補および絶滅危惧植物を含む同定が困難な群の分類学的研究

一般社団法人九州オープンユニバーシティ 研究部	矢原 徹一
国立科学博物館 植物研究部	海老原 淳
国立科学博物館 植物研究部	奥山 雄大
人間環境大学 人間環境学部環境科学科	藤井 伸二
新潟大学 教育学部	志賀 隆
神戸大学 大学院理学研究科	末次 健司
鹿児島大学 総合研究博物館	田金 秀一郎
琉球大学 理学部海洋自然科学科	横田 昌嗣

【要旨】

サブテーマ1は、わが国における未記載種を特定して新種として発表するとともに、区別がむずかしい絶滅危惧種について分類学的研究を進めることを目的として実施された。具体的には、全国の30以上の都道府県で野外調査を実施し、維管束植物3500種のDNA分析用の試料・証拠標本の採集を行い、未記載種・分類学的区別が難しい種・絶滅危惧種・希少種の約300種について分類学的再検討を実施し、この結果をもとに、国内特定希少種の候補300種を選定することを目標に掲げた。この目標に対して、全国の42都道府県で野外調査を実施し、18360点、約4000種のDNA・証拠標本の採集を行ない、112の新種・20の新亜種を発見した。この新種・新亜種数は、本研究開始時点での予想を大きく上回った。その50%以上はレッドリストに掲載が必要な絶滅危惧種であり、また国内特定希少種指定候補である。さらに、分類学的区別が難しい属の約400種について分類学的再検討を行い、すでに記載されているが、種レベルで区別されていない61種の存在を明らかにした。これら193種・亜種（112の新種・20の新亜種・61の新規認識種）の国内特定希少種候補をリストし、環境省への情報提供の準備を整えた。

1. 研究開発目的

サブテーマ1では、わが国における未記載種を特定して新種として発表するとともに、区別がむずかしい絶滅危惧種について分類学的研究を進めることを目的とする。

2. 研究目標

全国の30以上の都道府県で野外調査を実施し、維管束植物種（目標値70%、3500種）のDNA分析用の試料・証拠標本の採集を行い、未記載種・分類学的区別が難しい種・絶滅危惧種・希少種の約300種について分類学的再検討を実施する。この結果をもとに、国内特定希少種指定種の候補を選定する（目標値300種）。アウトカムとして、このうち150種が国内特定希少種に選定されることを目標に、環境省への情報提供を行う。

3. 研究開発内容

九州オープンユニバーシティの調査チームでは、全国の42都道府県で野外調査を実施し、15334点の

DNA分析用の試料・証拠標本を採集した（図-1.1左）。これらの標本を採集する際に野外でカラー写真を撮影し、標本番号ごとにカラースライドを作成した（図-1.1右）。さらに、鹿児島大学田金が2591点、人間環境大学藤井が435点、新潟大志賀が2577点のDNA分析用の試料・証拠標本を採集した。これらの調査を通じて、目標値の3500種をこえる約4000種の維管束植物について、DNA分析用の試料・証拠標本を採集した。これらのDNA分析用の試料・証拠標本にもとづいて、未記載種・分類学的区別が難しい種・絶滅危惧種・希少種を含むギボウシ属・ハコベ属・アジサイ属・タネツケバナ属・ネコノメソウ属・ギンリョウソウ属・ネジバナ属などについてまず優先的にMIG-seqによる系統解析と形態的観察にもとづく研究を行い、個別に論文化を進めた。その後、未記載種候補を含む点で優先度が高いと判断される40属について重点的に研究を行い、MIG-seqによる系統解析結果を一括して報告する論文の執筆を進めた。

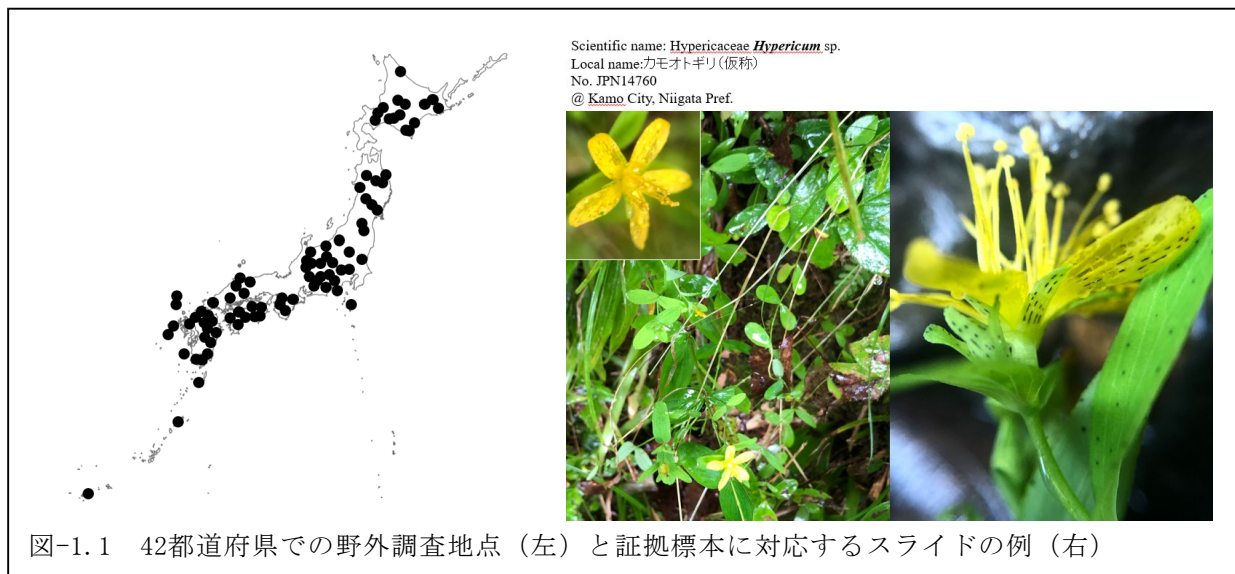


図-1.1 42都道府県での野外調査地点（左）と証拠標本に対応するスライドの例（右）

4. 結果及び考察

4-1. 新分類群の発表

(1) プンゴギボウシ (*Hosta alata* Hatusima ex Yahara) : 研究開発の最初のターゲットとして、大分県植物レッドリストに掲載されているが未記載のままであった本種について、現地調査で標本・DNA分析用の試料を採集し、MIG-seqによる系統解析と形態観察にもとづいて、新種として論文 (Yahara et al. 2021a) で発表した¹⁾。

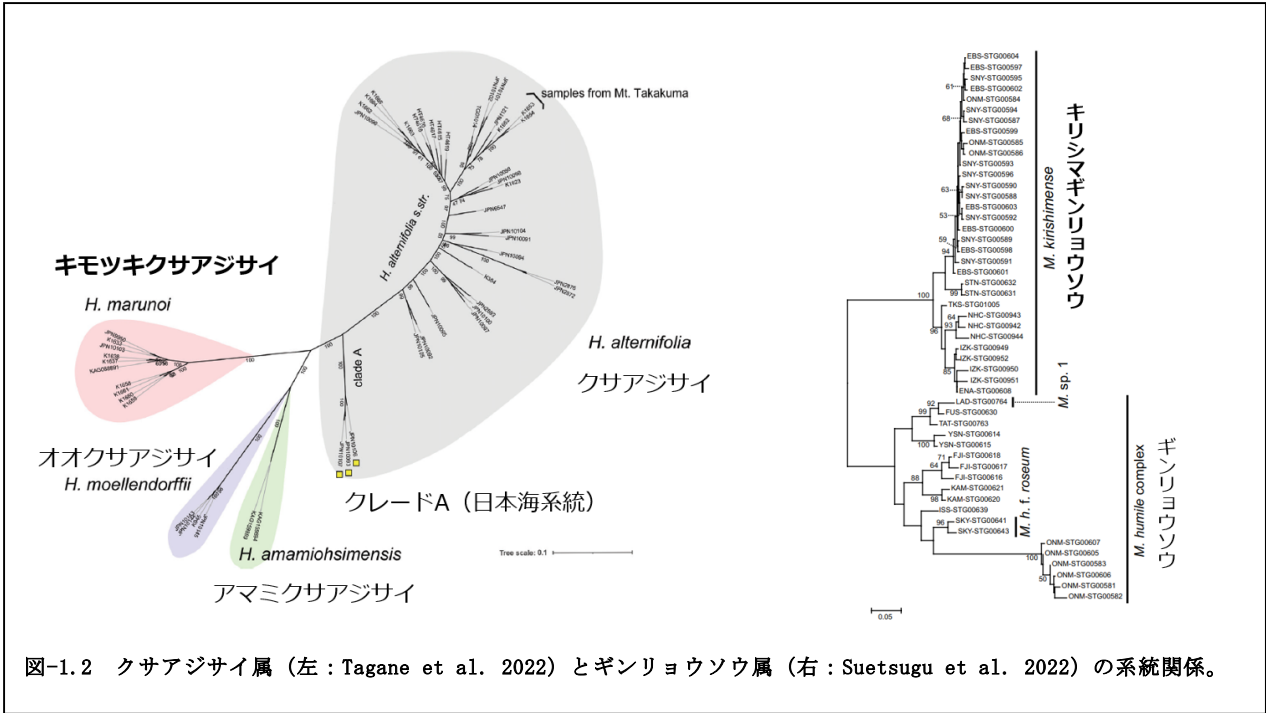
(2) ヤクシマルリアジサイ (*Hydrangea acuminata* ssp. *yakushimensis* Yahara & Tagane) : 屋久島ではヤクシマルリアジサイをはじめ、いくつかの未記載分類群候補が知られていた。研究開発の第2のターゲットとしてこれらを選び、調査・研究を進めた。MIG-seqによる系統解析と形態観察にもとづいて、ヤクシマルリアジサイをニシノヤマアジサイの新亜種として発表した²⁾ (Hirota et al. 2022)。

(3) ノミノキンチャク (*Stellaria alsine* ssp. *nana* K. Fuse & Yahara) : 屋久島調査において、ノミノフスマに類似の矮性植物を発見し、MIG-seqによる系統解析と形態観察にもとづいて、ノミノフスマの新亜種として発表した³⁾ (Yahara et al. 2021b)。

(4) カワラマンネングサ (*Sedum kawaraense* T. Ito & Kanemitsu) : 福岡県香春岳において未知のマンネングサ属植物が発見され、矢原が同定を依頼された（発見者は研究協力者の金光浩伸氏）。未記載種と判断されたが、中国大陸産の種との比較が必要なため、マンネングサ属の専門家である伊東拓郎博士（東北大学）に検討を依頼した。ITS配列による系統解析と形態観察にもとづいて、中国産の *S. lipingense* に近縁な新種として発表した⁵⁾ (Ito et al. 2022; 矢原は第4著者)。

(5) キモツキクサアジサイ (*Hydrangea marunoi* Tagane & S.Fujii) : 大隅半島においてクサアジサイとは異なる植物を発見し、MIG-seqによる系統解析（図-1.2左）と形態観察にもとづいて、新種として

論文 (Tagane et al. 2022) で発表した⁴⁾。



(6) キリシマギンリョウソウ (*Monotropastrum kirishimense* Suetsugu) : 霧島山などで知られていた花色が薄紅色のギンリョウソウ類似の植物について、研究分担者末次がMIG-seqによる系統解析 (図-1.2右) を行い、形態・開花期・寄生している菌類の違いを明らかにし、新種として論文 (Suetsugu et al. 2022) で発表した⁶⁾。

(7) ハチジョウネジバナ (*Spiranthes hachijoensis* Suetsugu) : 子房や花茎が無毛のネジバナ属植物に研究分担者末次が注目し、MIG-seqによる系統関係を行い、形態・開花期の違いを明らかにし、新種として論文 (Suetsugu et al. 2023) で発表した⁷⁾。

4-2. ギボウシ属における新分類群の発見・系統解析

ブンゴギボウシの新種としての独立性について検討するために、ギボウシ属の他の種との比較研究を進める過程で、ギボウシ属には多くの未記載分類群が存在することが明らかになった。このうち、四国産の4新種 (カムロギボウシ *H. longipedicellata*, ミナズキギボウシ *H. minazukiflora*, サムカゼギボウシ *H. samukazemontana*, タキミナズキギボウシ *H. takiminazukiflora*) と2新亜種 (オクスダレギボウシ *H. densinervia* ssp. *polynuronoides*, セトガワギボウシ *H. taiminazukiflora* subsp. *grandis*) を記載する論文を執筆し、PhytoKeys誌に投稿した⁸⁾ (Yahara et al. in review)。

これらの四国産ギボウシ属4新種は、九州産のヒュウガギボウシの変種として区別されているスダレギボウシ *H. kikutii* var. *densinervia* とザラツキギボウシ *H. kikutii* var. *scabrinervia*、および愛媛県東赤石山地に固有のシコクギボウシ *H. shikiiana* に近縁である (図-1.3)。加えて、ヒュウガギボウシの変種として扱われているトサノギボウシ・スダレギボウシ・ザラツキギボウシは、ヒュウガギボウシと近縁ではなく、3つの独立種であることが明らかになった (図-1.3)。

ヒュウガギボウシはサイゴクイワギボウシと姉妹関係であり、さらに(1)で述べたブンゴギボウシやその姉妹種ウバタケギボウシに近縁であることが判明した。さらに、ヒュウガギボウシに近縁な九州産の種について研究し、九州に2新種(図-1.3: *H. sp. 1*と*H. sp. 2*)があることを確認した。またスダレギボウシ・シコクギボウシなどに近縁な紀伊半島産の種について研究し、紀伊半島に1新種(図-1.3: *H. sp. 3*)があることを確認した。さらに、これまでイワギボウシ(広義)に含められてきたイワギボウシ(狭義)・サイゴクイワギボウシ・ヒメイワギボウシ・オヒガンギボウシはそれぞれ異なる単系統群に属す独立種であることを明らかにした(図-1.3)。ギボウシ属は園芸用に広く栽培されており、上記の新種を発表すれば、採集地による絶滅リスクの増大が懸念される。このため、環境省に情報を提供し、とくに産地が限定されている種について、保全対策を検討中である。

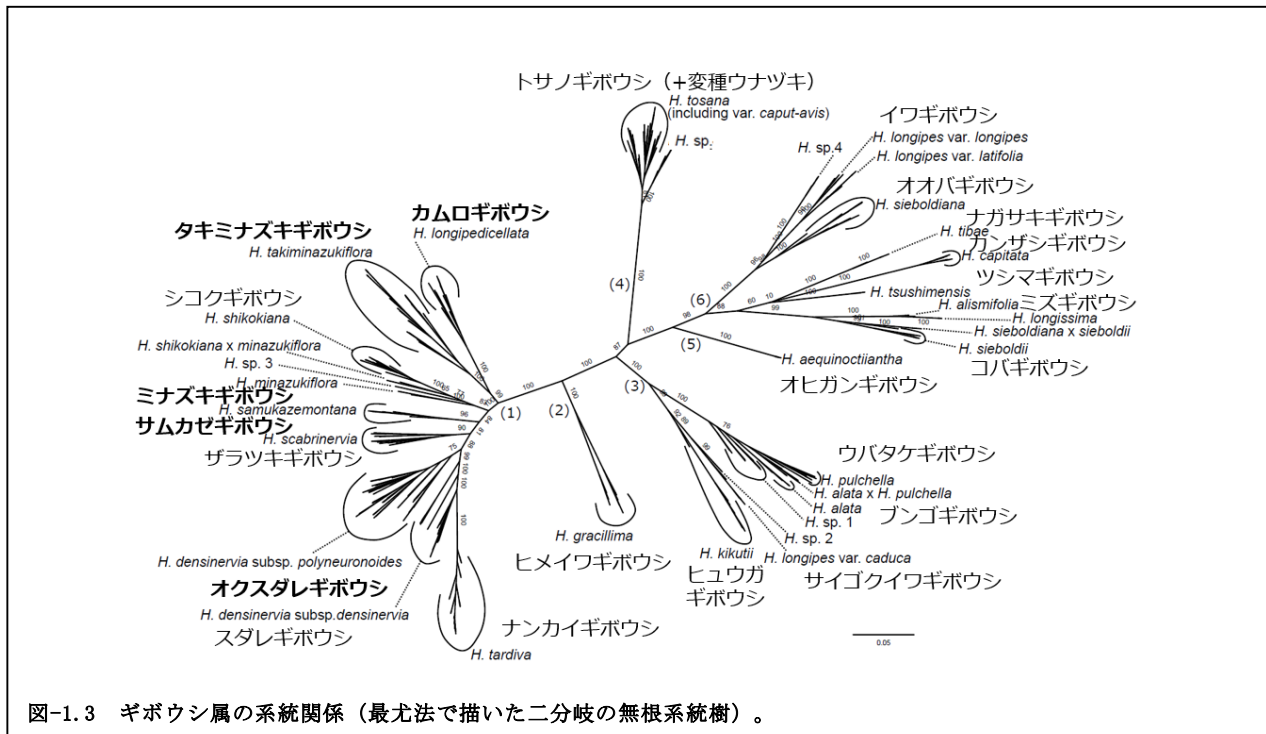


図-1.3 ギボウシ属の系統関係(最尤法で描いた二分岐の無根系統樹)。

4-3. 35属における系統解析と81新種・30新亜種の発見

3年間の研究を通じて、100をこえる新分類群が発見された。ギボウシ属の例のように、個々の属について論文を書く方法では、これだけの数の新分類群を数年間のうちに論文として発表することは困難だと判断された。そこで、未記載種候補を含む点で優先度が高いと判断される40属について集中的に研究を行い、MIG-seqによる系統解析結果を一括して報告する論文を準備した⁹⁾(Hirota et al. in preparation)。原稿を2023年1月に完成させたが、結論を補強する追加解析の必要が判明した。この追加解析を2-3月に実施し、4月から原稿改訂作業を進めている。6月中には投稿できる見通しである。

MIG-seqによる系統解析においては、図-1.3(ギボウシ属)のような二分岐の系統樹を最尤法で推定する方法に加えて、網状の系統関係を許容する系統ネットワークをSplitsTree法で推定した。一例として、フジバカマ属(*Eupatorium*)のSplitsTreeを図-1.4に示した。種内の2倍体・倍数体の関係とこれまで考えられてきた「ヒヨドリバナ2倍体」と「ヒヨドリバナ倍数体」は系統ネットワークで異なる位置をしめた。「ヒヨドリバナ倍数体」のサンプルはフジバカマ*E. japonicum*とヨツバヒヨドリ*E. glehnii*を結ぶネットワークの先端に位置している。このことから、「ヒヨドリバナ倍数体」は「ヒヨドリバナ2倍体」が倍化した同質倍数体ではなく、フジバカマとヨツバヒヨドリの交雑に起源する異質倍数体であると判断された。また、形態的特徴からサワヒヨドリ*E. lindleyanum*とヒヨドリバナ*E. makinoi*の交雑起源と推定されているミツバヒヨドリ*E. tripartitum*は、サワヒヨドリとヒヨドリバナをつなぐネットワークの上に位置した。このように、SplitsTree法を用いることで、交雑起源かそうで

ないかを判別することができる。この方法を用いて、甌島で発見されたコシキヒヨドリ *E. sp. 1* と奄美大島で発見されたアマミヒヨドリ *E. sp. 2* は、「ヒヨドリバナ倍数体」やミツバヒヨドリのように、種間をむすぶネットワークでなく、他種とは独立したクラスターを形成しているので、雑種起源ではない未記載種だと判断された。

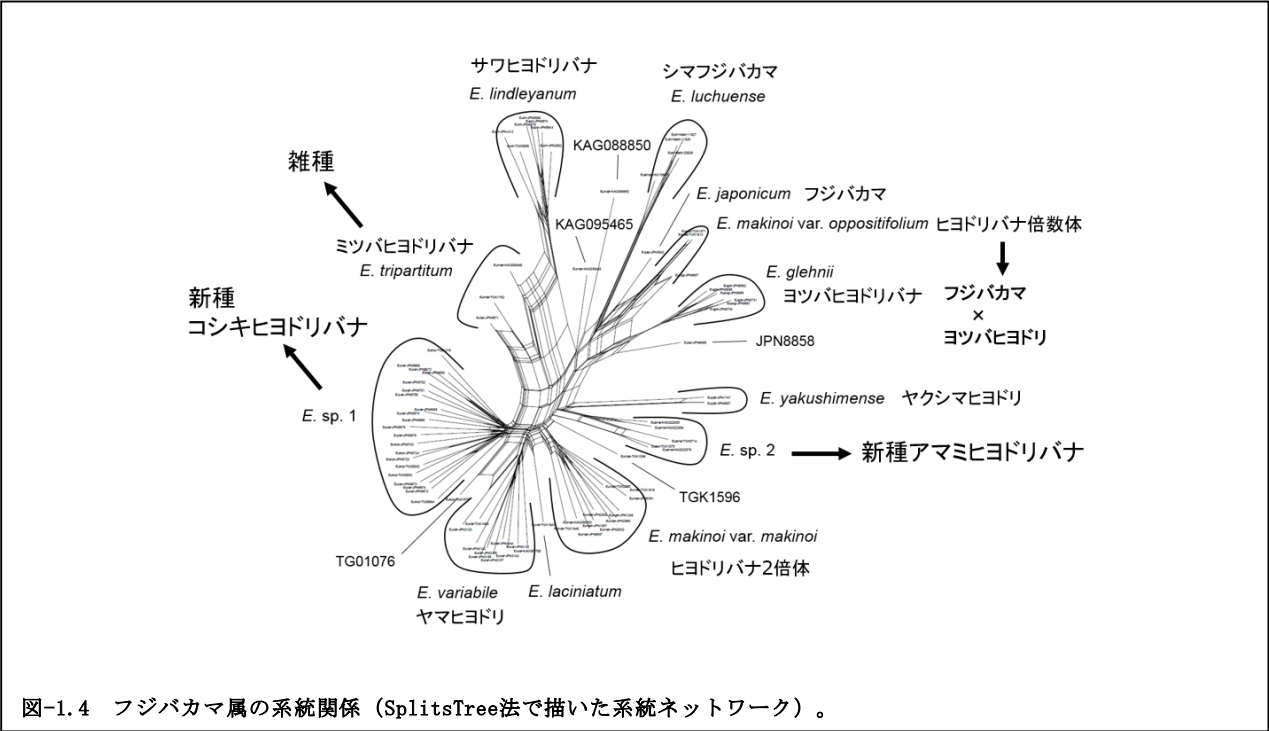


図-1.4 フジバカマ属の系統関係 (SplitsTree法で描いた系統ネットワーク)。

このような方法で、40属についての系統解析を行い、その結果を図が95枚ある長い論文にまとめ、ページ制限のないオンラインジャーナルとして評価が高いPLOS ONE誌 (IF=3.75) に投稿準備中である。40属の中で、とくに新種が多かった属の結果について以下に紹介する。

トダシバ属 *Arundinella*

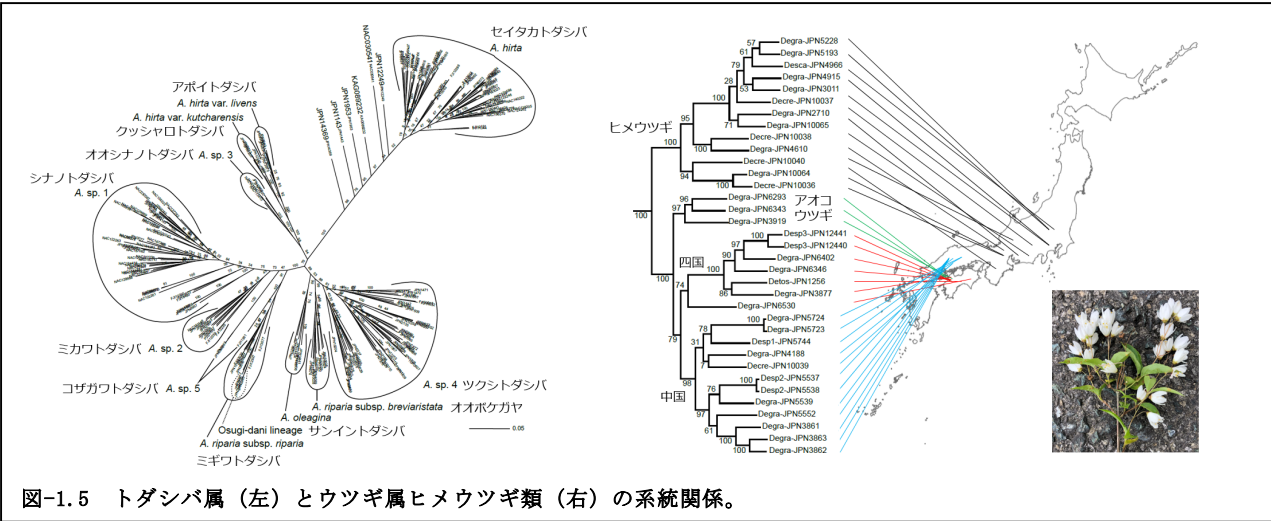


図-1.5 トダシバ属 (左) とウツギ属ヒメウツギ類 (右) の系統関係。

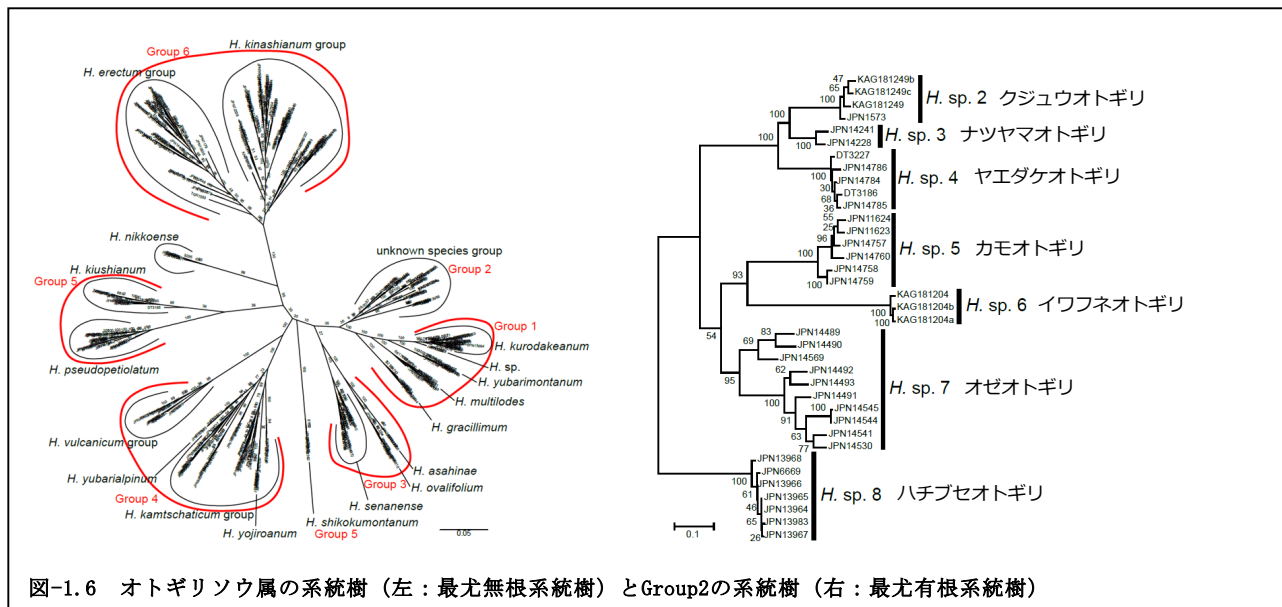
トダシバ属の日本産植物は2種1亜種 (セイタカトダシバ *A. hirta*、ミギワトダシバ *A. riparia* subsp. *riparia*、オオボケガヤ *A. riparia* subsp. *breviaristata*) に分類されてきた。全国各地から集めたサンプルをMIG-seq法で分析した結果、これらのほかに、5つの未知種 (シナノトダシバ *A. sp. 1*、ミカワトダシバ *A. sp. 2*、オオシナノトダシバ *A. sp. 3*、ツクシトダシバ *A. sp. 4*、コザガワトダシバ *A. sp. 5*) が確認された (図-1.5左)。このうちオオシナノトダシバ *A. sp. 3* は、長野県自然環境

研究所所蔵の標本からDNAサンプルを採取し、分析した結果、未知種であることがわかった。その後、標本が採集された場所を調査したが、再発見できなかった（河岸工事やシカの採食により自生地が消失したと推測された）。その後、長崎県対馬市白嶽の岩場で採集された植物がDNA分析の結果、オオシナノトダシバだとわかった。対馬と長野県に隔離分布していることから、大陸系の遺存種である可能性を検討した結果、中国で記載された *A. flaviatilis* Hand. -Mazz. と同定された。また、ツクシトダシバは *A. anomala* Steud. と同定された。シナノトダシバ、ミカワトダシバ、コザガワトダシバは未記載種と判断された。さらに、トダシバのシノニムとされている3つの分類群（サンイントダシバ *A. oleagina* Honda、アポイトダシバ *A. hirta* var. *livens*、クッシャロトダシバ *A. hirta* var. *kutcharoensis*）は独立種であること、アポイトダシバとクッシャロトダシバはオオシナノトダシバに近縁であることが明らかになった。これらのうち以下の種は絶滅危惧種である：コザガワトダシバ（EN）、オオシナノトダシバ（CR）、アポイトダシバ（EN）、クッシャロトダシバ（EN）、サンイントダシバ（VU）。

ウツギ属 *Deutzia*

MIG-seqにもとづく系統解析（図-1.5右）の結果、「ヒメウツギ」に同定されている四国・中国産のウツギ属植物は、本州産ヒメウツギ *D. gracilis* ではなく四国産アオコウツギ *D. ogatae* と姉妹関係にあることから、未記載種であると判断された。四国系統と中国系統は遺伝的にも形態的にも明瞭に分化しており、それぞれ独立種として記載するのが妥当だと判断された。また、ヒメウツギの変種とされているナチウツギ *D. gracilis* var. *pauciflora* は、ヒメウツギではなくウラジロウツギに近縁な独立種であることが確認された。ナチウツギは自生地が限定され、自生地周辺はシカの採食圧が高いため、絶滅危惧種と考えられる。また、ウツギ *D. crenata* のシノニムとされているビロードウツギは独立種 *D. heterotricha* であることが確認された。

オトギリソウ属 *Hypericum*



オトギリソウ属全体の系統解析（図-1.6左）の結果、7つの単系統群（Group 1～6、およびニッコウオトギリ *H. nikkoense*）が認められた（図-1.6左）。このため、それぞれについて系統解析を行った結果、Group 2は7新種からなる未知の群であることが判明した（図-1.6右）。7新種はいずれも分布が限定されており、絶滅危惧種と考えられる。これほど多くの種が見過ごされてきた理由は、これらの種がいずれも小型であり、他種との判別がむづかしく、しかも分布が限定されているためと考えられる。オトギリソウ属ではこのほかにも、夕張岳で4新種（Group 1から1新種、Group 4から3新種）、

ジグサ var. *erythrostigmatica* Koji Itoとして扱われてきた。日本全国および韓国で採集したスイレン属植物を対象にMIG-seq解析および形態解析を行った結果、この2つの分類群は遺伝的にも形態的にも明確に異なる別種であり、エゾベニヒツジグサを*N. tetragona*、ヒツジグサを*N. pygmaea* (Salisb.) W.T.Aitonとして扱うべきと結論した。また、これら2種間の交雑が雨竜沼湿原（北海道）において生じていることを確認した。

ヒルムシロ科については、日本において確認されている全ての分類群と同定が確定しないヒルムシロ属植物を対象にMIG-seq解析を行った。ヒルムシロ属は属内で複雑に種間交雑が生じており、国内において15の雑種分類群がこれまで報告されている。今回の調査によって、新規に6つの雑種を確認した。すなわち、コバノヒルムシロ*Potamogeton cristatus*×エゾヒルムシロ*P. gramineus*（青森県）、ヒルムシロ*P. distinctus*×エゾヒルムシロ（福島県）、ヒルムシロ×ヒロハノエビモ*P. perfoliatus*（新潟県）、フトヒルムシロ*P. fryeri*×ヤナギモ*P. oxyphyllus*（山形県）、オヒルムシロ*P. natans*×ホソバミズヒキモ*P. octandrus*（北海道）、イヌイトモ*P. obtusifolius*×ヤナギモ（青森県）である。ヒルムシロ属植物は旺盛な栄養繁殖を行うため、長期間集団が維持される可能性が高い。今後、これらに対して形態調査や分布調査を行い、それぞれを雑種分類群として記載する予定である。

ミクリ属（ガマ科）では、これまで確認されている13分類群を全国各地から収集して解析を行った。これまで、日本国内においてミクリ属植物の雑種はほとんど認識されておらず、その分布域も不明であったが、MIG-seq解析の結果、6つの交雑由来と思われる系統を確認した。すなわち、ホソバウキミクリ*Sparganium angustifolium*×ウキミクリ*S. gramineum*、エゾミクリ*S. emersum*×チシマミクリ*S. hyperboreum*、ミクリ*S. erectum*×オオミクリ*S. eurycarpum* subsp. *coreanum*、ヤマトミクリ*S. fallax*×ナガエミクリ*S. japonicum*、タマミクリ（もしくはホソバタマミクリ）*S. glomeratum*×ウキミクリ*S. gramineum*である。これらのうち、ヤマトミクリ×ナガエミクリ以外は新規に確認された組み合わせであった。また、ヤマトミクリ×ナガエミクリの雑種集団は新潟県と山形県にかけて分布していることが明らかになった。

タヌキモ属（タヌキモ科）では、種内に複数系統を内包している可能性が指摘されてきたヒメタヌキモ*Utricularia minor*を中心に解析を行った。MIG-seq解析に加えて、形態形質、花粉稔性の調査を行った結果、日本国内には*U. minor*、これとは別種にあたる未記載種、この2種間の交雑によって生じた父母の組み合わせが異なる2系統が分布していることが明らかになった。この未記載種は西日本に分布しており、オニヒメタヌキモ*U. polyacantha*（新称）として記載する予定である。ヒメタヌキモは現在、環境省のRLでは準絶滅危惧種に指定されている。未記載種の記載後、ヒメタヌキモ、オニヒメタヌキモともに絶滅危惧II類以上として扱うべきである。

4-5. シダ植物における系統解析

分類学的に問題が残されていたシダ植物の種について、特にレッドリストの関係する種を優先して材料収集と系統解析、および倍数性や孢子稔性の検討を行った。

日本新産種として石垣島からユビコケシノブ*Hymenophyllum digitatum*を過去に採集された標本に基づいて報告した。旧熱帯に広域分布する種で、台湾からは報告されていたが、日本では亜属レベルでの新産となった。1集団のみが知られることから絶滅危惧種（CR）として追加すべきである。台湾固有種とされていたウライハチジョウシダ*Pteris wulaiensis*は、核DNAマーカーの結果から日本新産が見出され、標本の検討から和歌山・長崎・宮崎・鹿児島県の各県に分布することが明らかになった。絶滅危惧種に該当するか否かを判定するため、今後詳細に個体数の情報を収集する必要がある。ハナワラビ類2倍体のMIG-seq解析から、アカハナワラビに2つの系統が存在することが示唆され、学名を持たない隠蔽種を記載する準備を進めている。

オニマメヅタは日本では島根県と屋久島のみに記録があり、絶滅危惧種（CR）として扱われている。しかし、野生絶滅した島根県産は、栽培個体の解析から3倍体不稔性であることが判明した。また屋久島産も最大の現存個体群は3倍体不稔性（真のオニマメヅタとマメヅタの雑種）であることが明らかになった。真のオニマメヅタは愛好家が栽培する株として現存するだけであり、野生絶滅に近い状態であることが判明した。

日本ではトカラ列島のみに分布し、情報不足（DD）としてレッドリストに掲載されていたハクウンシダ *Spicantopsis hancockii* を、近縁種と共にMIG-seq解析を行った。その結果、トカラ列島産は台湾のハクウンシダとは異なり、シシガシラ（LC）に含まれることが明らかになった。したがって、ハクウンシダはレッドリストから削除すべきである。

4-6. 新種・新亜種・再評価種のレッドリストカテゴリー評価

本研究の成果を植物レッドリスト改訂や種の保存法の下での種指定に生かすために、新種・新亜種・再評価種（図鑑類で他種のシノニムにされているか、あるいは変種・品種などに扱われているが、MIG-seq解析と形態の再評価により独立種であることが判明した種）について、現地調査により得られた情報にもとづいてレッドリストカテゴリーの暫定評価を行った。

図-1.8：新種と判定された112種のレッドリストカテゴリーの暫定評価

Genus	属名	Species	和名	評価
Acer	カエデ属	Acer sp. 1	ハヤチネミネカエデ	DD
Aegopodium	エゾボウフウ属	A. gifuensis, nom. nud.	ギフセントウソウ	LC
Aegopodium	エゾボウフウ属	A. kiushiana, nom. nud.	ツクシセントウソウ	LC
Aegopodium	エゾボウフウ属	A. koshikiensis, nom. nud.	コシキセントウソウ	EN
Aegopodium	エゾボウフウ属	A. tsushimensis, nom. nud.	ツシマセントウソウ	CR
Allium	ネギ属	A. sp. 1	ツシマヤマラッキョウ	CR
Allium	ネギ属	A. sp. 2	ツシマノビル	EN
Anaphalis	ヤマハハコ属	A. sp.	ホンシュウヤマハハコ	LC
Anemone	ニリンソウ属	A. sp. 1	ハクバニリンソウ	EN
Anemone	ニリンソウ属	A. sp. 2	トヤマイチゲ	DD
Anemone	ニリンソウ属	A. sp. 3	ハクバイチゲ	DD
Angelica	シシウド属	A. sp. 1	コシキノダケ	CR
Angelica	シシウド属	A. sp. 2	アカイシボウフウ	EN
Angelica	シシウド属	A. sp. 3	ユウバリトウキ	CR
Aralia	タラノキ属	A. yakushimensis, nom. nud.	ヤクシマタラノキ	LC
Artemisia	ヨモギ属	A. montana 2	ダイセンヨモギ	VU
Artemisia	ヨモギ属	A. sp. 1	コシキヨモギ	EN
Arundinella	トダシバ属	A. sp. 1	シナノトダシバ	LC
Arundinella	トダシバ属	A. sp. 2	ミカワトダシバ	LC
Arundinella	トダシバ属	A. sp. 5	コザガワトダシバ	EN
Asarum	カンアオイ属	A. hiuganum, nom. nud.	トイミサキカンアオイ	EN
Asarum	カンアオイ属	A. toimisakiensis, nom. nud.	ヒュウガガンアオイ	EN
Boehmeria	カラムシ属	B. gracilispicata, nom. nud.	オオバコアカソ	LC
Boehmeria	カラムシ属	B. izumoensis, nom. nud.	イズモヤブマオ	CR
Boehmeria	カラムシ属	B. sp.	ラセイタクサコアカソ	EN

Cardamine	タネツケバナ属	H. chichibuensis, nom. nud.	チチブタネツケバナ	NT
Cardamine	タネツケバナ属	H. neoensis, nom. nud.	ネオタネツケバナ	EN
Cardamine	タネツケバナ属	H. sapporomontana, nom. nud.	サッポロコンロンソウ	EN
Chrysosplenium	ネコノメソウ属	H. gomadanmontana, nom. nud.	ミドリネコノメ	VU
Chrysosplenium	ネコノメソウ属	H. sefuriense, nom. nud.	コイワボタン	EN
Clinopodium	トウバナ属	C. sp. 1	コケクルマバナ	VU
Clinopodium	トウバナ属	C. sp. 2	ライザンクルマバナ	EN
Clinopodium	トウバナ属	C. sp. 3	キシシマクルマバナ	NT
Clinopodium	トウバナ属	C. sp. 4	カワタビトウバナ	DD
Deutzia	ウツギ属	D. gracilis 2	トサノヒメウツギ	LC
Deutzia	ウツギ属	D. gracilis 3	キビノヒメウツギ	LC
Elatostema	ウワバミソウ属	E. sp. 1	テリハオオバサンショウソウ	VU
Elatostema	ウワバミソウ属	E. sp. 2	ヒュウガサンショウソウ	VU
Elatostema	ウワバミソウ属	E. sp. 3	ミヤコンジョミズ	LC
Elatostema	ウワバミソウ属	E. sp. 4	タチサンショウソウ	CR
Elatostema	ウワバミソウ属	E. sp. 5	ミヤザキサンショウソウ	NT
Elatostema	ウワバミソウ属	E. sp. 6	ツルキミズ	CR
Eupatorium	フジバカマ属	E. sp. 1	コシキヒヨドリバナ	NT
Eupatorium	フジバカマ属	E. sp. 2	アマミヒヨドリバナ	LC
Eupatorium	フジバカマ属	E. sp. 3	オオサケバヒヨドリ	LC
Hosta	ギボウシ属	H. hidakariaria, nom. nud.	キイスダレギボウシ	DD
Hosta	ギボウシ属	H. hinokageana, nom. nud.	ヒノカゲギボウシ	VU
Hosta	ギボウシ属	H. kagamiriparia, nom. nud.	カガミギボウシ	VU
Hosta	ギボウシ属	H. kiiriparia, nom. nud.	ケイリュウコバギボウシ	VU
Hosta	ギボウシ属	H. longipedicellata, nom. nud.	カムロギボウシ	VU
Hosta	ギボウシ属	H. minazukiflora, nom. nud.	ミナヅキギボウシ	EN
Hosta	ギボウシ属	H. osuzuensis, nom. nud.	オスズギボウシ	EN
Hosta	ギボウシ属	H. samukazemontana, nom. nud.	サムカゼギボウシ	VU
Hosta	ギボウシ属	H. sp.	キイウナヅキギボウシ	DD
Hosta	ギボウシ属	H. takiminazukifulora, nom. nud.	タキミナヅキギボウシ	VU
Hydrangea	アジサイ属	H. marunoi Tagane & S.Fujii	キモツクサアジサイ	VU
Hydrangea	アジサイ属	H. sp.	ユキグニクサアジサイ	LC
Hydrangea	アジサイ属	H. sp.	シコクノリウツギ	EN
Hydrangea	アジサイ属	H. sp.	シンタマアジサイ	LC
Hypericum	オトギリソウ属	H. sendaica, nom. nud.	センダイオトギリ	VU
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 1	ダイセツヤチオトギリ	CR
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 10	ユウバリコオトギリ	CR
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 11	ユウバリオトギリ	NT
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 12	コシキオトギリ	EN
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 13	タカボッチオトギリ	EN
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 2	クジュウオトギリ	CR
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 3	ナツヤマオトギリ	VU
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 4	ヤエダケオトギリ	VU
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 5	カモオトギリ	CR
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 6	イワフネオトギリ	CR
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 7	オゼオトギリ	NT

Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 8	ハチブセオトギリ	VU
Hypericum	オトギリソウ属	H. sp. 9	ユウバリタカネオトギリ	CR
Hypericum	オトギリソウ属	H. yubarimontanum, nom. nud.	ユウバリヤマオトギリ	NT
Impatiens	ツリフネソウ属	I. sp.	ツクシハガクレツリフネ	EN
Impatiens	ツリフネソウ属	I. sp.	キュウシュウツリフネ	CR
Lophatherum	ササクサ属	L. sp. 1	リュウキュウササクサ	DD
Lophatherum	ササクサ属	L. sp. 2	ヤエヤマササクサ	DD
Microstegium	アシボソ属	M. sp. 1	ミカワアシボソ	EN
Microstegium	アシボソ属	M. sp. 2	イズアシボソ	DD
Monotropastrum	ギンリョウソウ属	M. kirishimense Suetsugu	キリシマギンリョウソウ	CR
Oplismenus	チヂミザサ属	O. sp. 1	イノハエチヂミザサ	EN
Oplismenus	チヂミザサ属	O. sp. 2	アマミチヂミザサ	EN
Oplismenus	チヂミザサ属	O. sp. 3	フウケツチヂミザサ	EN
Peucedatum	ボタンボウフウ属	P. sp. 1	ダイセツボウフウ	LC
Peucedatum	ボタンボウフウ属	P. sp. 2	ユウバリミツバボウフウ	LC
Pilea	ミズ属	P. sp. 1	オオアオミズ	DD
Ribes	スグリ属	R. fujisanense S. Sakag. & Mit. Oishi	フガクヤシャビシャク	EN
Rosa	バラ属	R. sp.	キリシマイバラ	DD
Scutellaria	タツナミソウ属	S. sp.	ウバタケタツナミソウ	EN
Sedum	マンネングサ属	H. kawaraense T. Ito & Kanemitsu	カワラマンネングサ	EN
Spiranthes	ネジバナ属	S. hachijoensis Suetsugu	ハチジョウネジバナ	LC
Stellaria	ハコベ属	S. sp. 1	ツクシコハコベ	LC
Stellaria	ハコベ属	S. sp. 2	ミズナシハコベ	LC
Stellaria	ハコベ属	S. sp. 3	サンインサワハコベ	LC
Stellaria	ハコベ属	S. sp. 4	アツバサワハコベ	NT
Stellaria	ハコベ属	S. sp. 5	サンベサワハコベ	LC
Stellaria	ハコベ属	S. sp. 6	ツクシサワハコベ	NT
Swertia	センブリ属	S. sp. 1	シライワアケボノソウ	CR
Swertia	センブリ属	S. sp. 2	コシキシロセンブリ	EN
Swertia	センブリ属	S. sp. 3	キイヒナセンブリ	CR
Swertia	センブリ属	S. sp. 4	サイゴクセンブリ	VU
Swertia	センブリ属	S. sp. 5	ホングウセンブリ	EN
Utricularia	タヌキモ属	U. polyacantha, nom. nud.	オニヒメタヌキモ	VU
Weigela	タニウツギ属	W. sp. 1	イシヅチウツギ	LC
Weigela	タニウツギ属	W. sp. 2	ツルギベニウツギ	LC
Weigela	タニウツギ属	W. sp. 3	キンキヤブウツギ	DD
Weigela	タニウツギ属	W. sp. 4	キビノヤブウツギ	DD
Weigela	タニウツギ属	W. sp. 5	ダイセンニシキウツギ	VU
Weigela	タニウツギ属	W. sp. 6	ウバタケウツギ	EN
Weigela	タニウツギ属	W. sp. 7	ヘイケベニウツギ	CR
Weigela	タニウツギ属	W. sp. 8	ニシノタニウツギ	LC

図-1.9：新亜種と判定された20種のレッドリストカテゴリーの暫定評価

Genus	属名	Species	和名	評価
Aegopodium	エゾボウフウ属	<i>A. micrantha</i> subsp. <i>hyugaense</i>	ヒュウガセントウソウ	VU
Angelica	シシウド属	<i>A. acutiloba</i> subsp. <i>sapporomontana</i>	エゾトウキ	EN
Chloranthus	チャラン属	<i>C. serratus</i> subsp. <i>yakushimensis</i>	ヤクシマフタリシズカ	LC
Clinopodium	トウバナ属	<i>C. multicaule</i> subsp. <i>amatiense</i>	アマギヤマトウバナ	CR
Clinopodium	トウバナ属	<i>C. multicaule</i> subsp. <i>daisenense</i>	ダイセンヤマトウバナ	EN
Clinopodium	トウバナ属	<i>C. multicaule</i> subsp. <i>shikokianum</i>	シコクヤマトウバナ	EN
Clinopodium	トウバナ属	<i>C. micrantha</i> subsp. <i>occidentale</i>	ニシノイヌトウバナ	LC
Clinopodium	トウバナ属	<i>C. coreanum</i> subsp. <i>dotoense</i>	ドウトウクルマバナ	LC
Clinopodium	トウバナ属	<i>C. coreanum</i> subsp. <i>kiushianum</i>	キュウシュウクルマバナ	NT
Hosta	ギボウシ属	<i>H. densinervia</i> subsp. <i>polyneuronoides</i>	オクスダレギボウシ	LC
Hosta	ギボウシ属	<i>H. grcillima</i> subsp. <i>tosayamensis</i>	トサヤマギボウシ	EN
Hosta	ギボウシ属	<i>H. takiminazuiflora</i> subsp. <i>grandis</i>	セトガワギボウシ	CR
Osmorhiza	ヤブニンジン属	<i>O. aristata</i> subsp. 1	シラカワヤブニンジン	LC
Osmorhiza	ヤブニンジン属	<i>O. aristata</i> subsp. 2	コシジヤブニンジン	LC
Swertia	センブリ属	<i>Swertia bimaculata</i> subsp. 1	ツクシアケボノソウ	LC
Swertia	センブリ属	<i>Swertia bimaculata</i> subsp. 2	シコクアケボノソウ	LC
Swertia	センブリ属	<i>Swertia bimaculata</i> subsp. 3	オオアケボノソウ	LC
Weigela	タニウツギ属	<i>Weigela floribunda</i> subsp. 1	シナノヤブウツギ	NT
Weigela	タニウツギ属	<i>Weigela</i> sp. 1 subsp. 1	エヒメヤブウツギ	NT
Weigela	タニウツギ属	<i>Weigela</i> sp. 2 subsp. 1	ツルギヤブウツギ	NT

図-1.10：再評価の結果、独立種と判定された61種のレッドリストカテゴリーの暫定評価

Genus	属名	Species	和名	評価
Acer	カエデ属	<i>A. matsumurae</i> Koidz.	ヤマモミジ	LC
Acer	カエデ属	<i>A. nanbuanum</i> Koidz.	ナンブコハモミジ	LC
Acer	カエデ属	<i>Acer pictum</i> subsp. <i>dissectum</i> (Wesm.) H. Ohashi	エンコウカエデ	LC
Acer	カエデ属	<i>Acer pictum</i> subsp. <i>mayrii</i> (Schwer.) H. Ohashi	アカイタヤ	LC
Acer	カエデ属	<i>Acer pictum</i> subsp. <i>savatieri</i> (Pax) H. Ohashi	モトゲイタヤ	LC
Aegopodium	エゾボウフウ属	<i>Chamaele decumbens</i> var. <i>gracillima</i> H. Wolff	ヒナセントウソウ	NT
Aegopodium	エゾボウフウ属	<i>Chamaele decumbens</i> var. <i>micrantha</i> Masam.	ヤクシマセントウソウ	VU
Allium	ネギ属	<i>A. virgunculae</i> var. <i>koshikiense</i> M.Hotta et Hir.Takah.	コシキイトラッキョウ	VU
Allium	ネギ属	<i>A. virgunculae</i> var. <i>yakushimense</i> M.Hotta	ヤクシマイトラッキョウ	CR
Anaphalis	ヤマハハコ属	<i>A. yakusimensis</i> Masam.	ヤクシマウスユキソウ	CR
Angelica	シシウド属	<i>A. longiradiata</i> var. <i>yakushimensis</i> (Masam. et Ohwi) Kitag.	ヒナボウフウ	EN
Angelica	シシウド属	<i>A. stenophylla</i> var. <i>varens</i> Kitagawa	トカチトウキ	EN
Aralia	タラノキ属	<i>A. canescens</i> Sieb. & Zucc.	ビロードタラノキ	LC
Aralia	タラノキ属	<i>A. ryukyuensis</i> var. <i>inermis</i> (Yanagita) T. Yamaz.	シチウトタラノキ	LC
Arundinella	トダシバ属	<i>A. fluvialis</i> Hand.-Mazz.	オオシナノトダシバ	CR
Arundinella	トダシバ属	<i>A. hirta</i> var. <i>kutcharoensis</i> Tatewaki	クッシャロトダシバ	EN
Arundinella	トダシバ属	<i>A. hirta</i> var. <i>livens</i> Honda	アボイトダシバ	EN
Arundinella	トダシバ属	<i>A. oleagina</i> Honda	サンイントダシバ	VU
Arundinella	トダシバ属	<i>A. riparia</i> subsp. <i>breviaristata</i>	オオボケガヤ	LC
Boehmeria	カラムシ属	<i>B. formosana</i> Hayata	タイワントリアシ	EN
Boehmeria	カラムシ属	<i>B. nakashimae</i> Yahara	ゲンカイヤブマオ	EN
Clinopodium	トウバナ属	<i>C. coreanum</i> subsp. <i>stoloniferum</i> Yonek.	オオクルマバナ	EN
Corydalis	キケマン属	<i>C. lineariloba</i> var. <i>capillaris</i> (Makino) Ohwi	ヒメエンゴサク	NT
Deutzia	ウツギ属	<i>Deutzia gracilis</i> var. <i>pauciflora</i> Sugim.	ナチウツギ	EN
Deutzia	ウツギ属	<i>Deutzia heterotrachia</i> Rehder	ビロードウツギ	LC
Hosta	ギボウシ属	<i>H. cathayana</i> Nakai ex F.Maek.	アキカゼギボウシ	EN
Hosta	ギボウシ属	<i>H. clavata</i> F.Maek.	ムサシノギボウシ	EN
Hosta	ギボウシ属	<i>H. densa</i> F.Maek.	ケヤリギボウシ	EN
Hosta	ギボウシ属	<i>H. kikutii</i> var. <i>densinervia</i> N.Fujita & M.N.Tamura	スダレギボウシ	NT
Hosta	ギボウシ属	<i>H. kikutii</i> var. <i>scabrinervia</i> N.Fujita & M.N.Tamura	ザラツギギボウシ	VU
Hosta	ギボウシ属	<i>H. rohdeifolia</i> F.Maek.	オモトギボウシ	EN
Hydrangea	アジサイ属	<i>H. alternifolia</i> var. <i>hakonensis</i> (Ohba ex H.Ohba) Hasseg. et Katsuy.	ハコネクサアジサイ	EN
Hydrangea	アジサイ属	<i>H. paniculata</i> var. <i>velutina</i> Nakai	ビロードノリウツギ	EN
Hypericum	オトギリソウ属	<i>H. kinashianum</i> var. <i>yuhudakense</i> Y. Kimura	ユフダケオトギリ	VU
Lophatherum	ササクサ属	<i>L. gracile</i> var. <i>cochinchinensis</i> A. Camus	ハナビササクサ	NT
Microstegium	アシボン属	<i>M. boreale</i> Ohwi	キタササガヤ	LC
Microstegium	アシボン属	<i>M. willdenowianum</i> Nees	ヒメアシボン	VU
Oplismenus	チヂミザサ属	<i>O. formosanus</i> Honda	オオエダウチチヂミザサ	DD
Oplismenus	チヂミザサ属	<i>O. imbecillis</i> (R.Br.) Roem. & Schult	ホンバチチヂミザサ	DD
Oplismenus	チヂミザサ属	<i>O. japonicus</i> (Steud.) Honda	コチヂミザサ	LC
Oplismenus	チヂミザサ属	<i>O. microphyllus</i> Honda	チャボチヂミザサ	LC
Oplismenus	チヂミザサ属	<i>O. patens</i> Honda	オオバチチヂミザサ	EN
Osmorhiza	ヤブニンジン属	<i>O. montana</i> Makino	ミヤマヤブニンジン	LC
Persicaria	タデ属	<i>P. thunbergii</i> subsp. <i>hastatotriloba</i> (Meisn.) Sugim.	オオミゾソバ	LC
Persicaria	タデ属	<i>P. erectominor</i> f. <i>viridiflora</i> (Nakai) I. Ito	アオヒメタデ	VU
Persicaria	タデ属	<i>P. oreophyllum</i> (Makino) Ohwi	ヤマミゾソバ	LC
Persicaria	タデ属	<i>P. posumbu</i> var. <i>stenophylla</i> (Makino) Yonek. et H. Ohashi	ホンバハナタデ	LC
Peucedanum	ボタンボウフウ属	<i>P. multivittatum</i> var. <i>linearilobum</i> Tatew.	エゾノハクサンボウフウ	CR
Pilea	ミズ属	<i>P. hamaoi</i> f. <i>yakushimensis</i> (Hatus.) Tateishi	ヤクシマヒメミズ	VU
Rosa	バラ属	<i>R. multiflora</i> var. <i>adenochaeta</i> (Koidz.) Hiyama	ツクシイバラ	NT
Scutellaria	タツナミソウ属	<i>S. indica</i> var. <i>satokoae</i> Wakasugi et Naruh.	ホクリクタツナミソウ	LC
Scutellaria	タツナミソウ属	<i>S. laeteviolacea</i> var. <i>kurokawae</i> (H.Hara) H.Hara	イガタツナミソウ	VU
Scutellaria	タツナミソウ属	<i>S. pekinensis</i> var. <i>transitra</i> (Makino) H. Hara	ヤマタツナミソウ	VU
Stellaria	ハコベ属	<i>S. diversifolia</i> f. <i>angustifolia</i> M. Mizush.	ホンバサワハコベ	VU
Stellaria	ハコベ属	<i>S. diversifolia</i> f. <i>robusta</i> M. Mizush.	オオサワハコベ	NT
Viola	スミレ属	<i>V. verecunda</i> var. <i>semilunaris</i> Maxim.	アギスミレ	NT
Viola	スミレ属	<i>V. verecunda</i> var. <i>subaequiloba</i> (Franch. et Sav.) F. Maek.	ヒメアギスミレ	VU
Viola	スミレ属	<i>Viola violacea</i> var. <i>makinoi</i> (H.Boissieu) Hiyama ex F.Maek.	マキノスミレ	LC

以上の評価の結果、CR: 24, EN: 48, VU: 32, NT: 21, LC: 53, DD: 15、であり、絶滅危惧種・亜種 (CR, EN, VU) は104 (54%) であった。これらは国内特定希少種指定種の候補である。

5. 研究目標の達成状況

以下のとおり、4つの数値目標すべてについて、目標を達成した。

目標	達成状況
全国の30以上の都道府県で野外調査を実施	全国の42都道府県で野外調査を実施
維管束植物3500種のDNA分析用の試料・証拠標本の採集	維管束植物約4000種のDNA分析用の試料・証拠標本の採集
約300種について分類学的再検討を実施	約350種について分類学的再検討を実施
国内特定希少種指定種の候補300を選定	新種・新亜種・再評価種から上記の104種・亜種を選定し、さらに植物レッドリストのCR種を中心に分類学的実態が明確な約200種を選定した。

申請書において、「代表者が把握しているだけでも約20種の新種候補があり、おそらく50種程度の新種候補がすでに知られている」ことを指摘した。研究開始当時は、これら50種程度の新種を記載することを想定していた。しかし、全国42都道府県での野外調査を通じて、さらなる未知種の発見が相次ぎ、40属についてのMIG-seq解析・形態比較の結果、112種・20亜種もの新分類群の存在が明らかになった。他方で、既知の新種候補については、本研究開発に参加していない他の研究者との調整が必要であるため、本研究において研究対象とすることを避けた場合が多い。したがって、表にあげていない新種候補が約20種ある。さらに、全国42都道府県での野外調査を通じて、40属以外の属において、さらに多くの新種候補を発見している。これらについての解析を3年間の助成期間中に進めることはできなかったが、約4000種15334点のDNA分析用の試料・証拠標本は、今後の研究に活用できる重要な資産である。

6. 引用文献

- 1) Yahara T, Hirota SK, Kengo F, Sato H, Tagane S, Suyama Y (2021a) Validation of *Hosta alata* (Asparagaceae) as a new species and its phylogenetic affinity. *PhytoKeys* 181: 79-93.
- 2) Hirota SK, Yahara T, Kengo F, Sato H, Tagane S, Fujii S, Minamitani T, Suyama Y (2022) Molecular phylogeny and taxonomy of *Hydrangea serrata* complex (Hydrangeaceae) in western Japan including a new subspecies of *H. acuminata* from Yakushima. *PhytoKeys* 188: 49-71.
- 3) Yahara T, Hirota SK, Kengo F, Sato H, Tagane S, Suyama Y (2021b) A new subspecies of *Stellaria alsine* (Caryophyllaceae) from Yakushima, Japan. *PhytoKeys* 187: 177-188.
- 4) Tagane S, Fujii S, Hirota SK, Naiki A, Yahara T (2022) *Hydrangea marunoi* (Hydrangeaceae), a new species from Osumi Peninsula, southern Japan. *PhytoKeys* 211: 33-44.
- 5) Ito T, Kanemitsu H, Hoson T, Yahara T (2023) A new species of succulent plant discovered in limestone areas of Kyushu, Japan: *Sedum kawaraense* (Crassulaceae). *Phytotaxa* 587: 149-160.
- 6) Suetsugu K, Hirota SK, Hsu T-C, Kurogi S, Imamura A, Suyama Y (2022) *Monotropastrum kirishimense* (Ericaceae), a new mycoheterotrophic plant from Japan based on multifaceted evidence. *Journal of Plant Research* 136: 3-18.
- 7) Suetsugu K, Hirota SK, Hayakawa H, Fujimori S, Ishibashi M, Hsu TC, Suyama Y (2023) *Spiranthes hachijoensis* (Orchidaceae), a new species within the *S. sinensis* species complex in Japan, based on morphological, phylogenetic, and ecological evidence. *Journal of Plant Research* 136: 333-348.

- 8) Yahara T, Hirota SK, Fujii S, Kokami Y, Fuse K, Sato H, Tagane S, Suyama Y (in review) Molecular phylogeny and taxonomy of *Hosta* (Asparagaceae), including five new species, *H. kagamiriparia*, *H. longipedicellata*, *H. minazukiflora*, *H. samukazemontana*, and *H. takiminazukiflora*, on Shikoku island, Japan. PhytoKeys, submitted.
- 9) Hirota SK, Yahara T, Sato H, Fuse K, Tagane S, Yokota M, Naiki A, Shagawa T, Hirata M, Myotoishi C, Javadi F, Nagahama A, Kanemitsu H, Minamitani T, Fujii S, Kokami Y, Kariyama S, Mihara N, Yatagai S, Hasegawa M, Naito A, Nakamura S, Watanabe A, Ozeki M, Kuroe M, Fujii R, Kurosawa T, Ueno Y, Mizunaga Y, Horie K, Suyama Y (in review) Unravelling hidden plant diversity: Finely resolved phylogeny using genome-wide SNPs revealed 81 candidate new species for 40 genera of Japanese vascular plants. PLoS ONE, submitted.

II-2 絶滅危惧植物の種同定・新種記載のための次世代DNAバーコードの開発

東北大学大学院 農学研究科

陶山 佳久

東京大学大学院 総合文化研究科

伊藤 元己

【要旨】

日本の野生植物における未記載種の特定および分類学的な区別が困難な絶滅危惧種等の同定を確実にするために利用できるDNA分析技術の開発を進めることを目的とした研究を実施した。その結果、ゲノムワイド塩基多型シーケンシング法である「マルチプレックスISSR（単純反復配列間領域）ジェノタイピング用シーケンシング法（MIG-seq法：Multiplexed inter-simple sequence repeat genotyping by sequencing）」を改良し、より高精度な分子系統解析技術を完成させた。また、複数の分子系統マーカー（DNAバーコード領域）を、次世代DNAシーケンシング技術を活用して効率よく同時決定する「マルチプレックス系統マーカー・シーケンス（MPM-seq：Multiplexed phylogenetic markers sequencing）法」を開発した。これらの技術を用い、日本の野生植物68科153属1291種の合計32177サンプルのDNA情報を取得して分子系統解析を行った。また、ごく近縁な系統間であっても正確に識別できるDNA分析技術も完成させ、それらを簡易に識別するためのDNA識別マーカーの開発手法も完成させた。これらの作業により得られたDNA塩基配列データの多くは公共のデータベースに登録されており、誰でも利用できる。さらにこれらのデータを用いた種同定検索システムを構築した。

1. 研究開発目的

日本の野生植物における未記載種の特定および分類学的な区別が困難な絶滅危惧種等の同定を確実にするための技術開発を進めることを目的とする。

2. 研究目標

MIG-seq法およびマルチDNAバーコーディング法をもとにした次世代DNAバーコーディング法を完成させ、広く利用可能な技術として公表する。またこの技術を用いて、サブテーマ1から提供される計3500種のDNA塩基配列データを取得し、分子系統樹を構築して、サブテーマ1に結果を提供する。さらに、国内特定希少種において野生品と栽培系統の区別が課題となっている少なくとも1種を対象として、簡易DNA識別マーカーを開発し、その有用性を示す。これらの作業により得られたDNA塩基配列データをデータベースとして構築し、このデータベースを利用して種同定を行うことができる検索システムを公開する。

3. 研究開発内容

未記載種の特定および分類学的な区別が困難な絶滅危惧種の同定を確実にするための技術として、次世代DNAシーケンシング技術を活用した新たな分析手法を開発して実用化した。具体的には、2015年に自ら開発して発表したゲノムワイド塩基多型シーケンシング法である「マルチプレックスISSR（単純反復配列間領域）ジェノタイピング用シーケンシング法（MIG-seq法：Multiplexed inter-simple sequence repeat genotyping by sequencing）」を改良し、種間・種内レベルでのより高精度な分子系統解析を実用化した。また、これまで植物のDNAバーコードとして活用されてきた複数のDNA領域を、次世代DNAシーケンシング技術を活用して効率よく同時決定する「マルチプレックス系統マーカー・シーケンス（MPM-seq：Multiplexed phylogenetic markers sequencing）法」を開発した。これらMIG-seq法およびMPM-seq法を組み合わせることにより、個体レベルから科レベルにわたる広い範囲の系統関係を分析できるコンビネーション技術として論文発表し、本研究において実用化した。

本研究で開発した技術を用いて、本研究期間においてサブテーマ1から提供された試料を主として68科153属1291種に及ぶ合計32177サンプルの解析を行って分子系統樹を構築し、サブテーマ1の研究を

支えた。

国内特定希少種の野生系統と栽培系統の区別など、種内の系統・品種・近縁種等、遺伝的な違いがごく限られた系統間であっても正確に識別できるDNA分析技術も完成させた。その実用例として、環境省信越自然環境事務所野生生物課から依頼されたアツモリソウ属植物の分析などを行い、その種識別やクローン識別、地域集団内遺伝構造、遺伝的多様性、分子系統関係などを明らかにして報告した。また、このような種内近縁系統を簡易に識別するためのDNA識別マーカーの開発手法も完成させた。

これらの作業により得られたDNA塩基配列データは、論文発表したものについてはすべて公共のデータベースに登録して広く利用可能にした。また、未発表のものについては独自のデータベースとして保存した。さらにこれらのデータを用いた種同定検索システムを構築した。ただし、種同定検索システムについては、未発表データが多く含まれること、希少種の情報が含まれること、現段階で該当する検索システムの直接的な一般利用が見込まれないことなどを考慮し、研究期間内での公開は見送ることとした。

4. 結果及び考察

4-1. 正確な分子系統解析のためのDNA分析技術開発

(1) MIG-seq法の改良

Suyama & Matsuki (2015)¹⁾によって自ら発表したゲノムワイド塩基多型シーケンシング法であるマルチプレックスISSR（単純反復配列間領域）ジェノタイピング用シーケンシング法（MIG-seq法：Multiplexed inter-simple sequence repeats genotyping by sequencing）を改良し、その改良点を明示した詳細なプロトコルとともに論文発表した（Suyama et al. 2022）²⁾（図-2.1右側）。これにより種間・種内レベルでのより高精度な分子系統解析を実用化した。主な改良点としては、(1)多数のゲノムワイド領域を増幅するためにPCR条件を変更したほか、(2)PCR産物の精製・均等化ステップを加えることで得られるデータ量が増大し、(3)サンプル識別のための識別配列をデュアル・インデックスに変更して正確性を向上させるなど、合計6項目において主要な変更を加えた。これらの改良により、得られるデータ量が増大し、より正確なデータ取得が実現できるようになった。

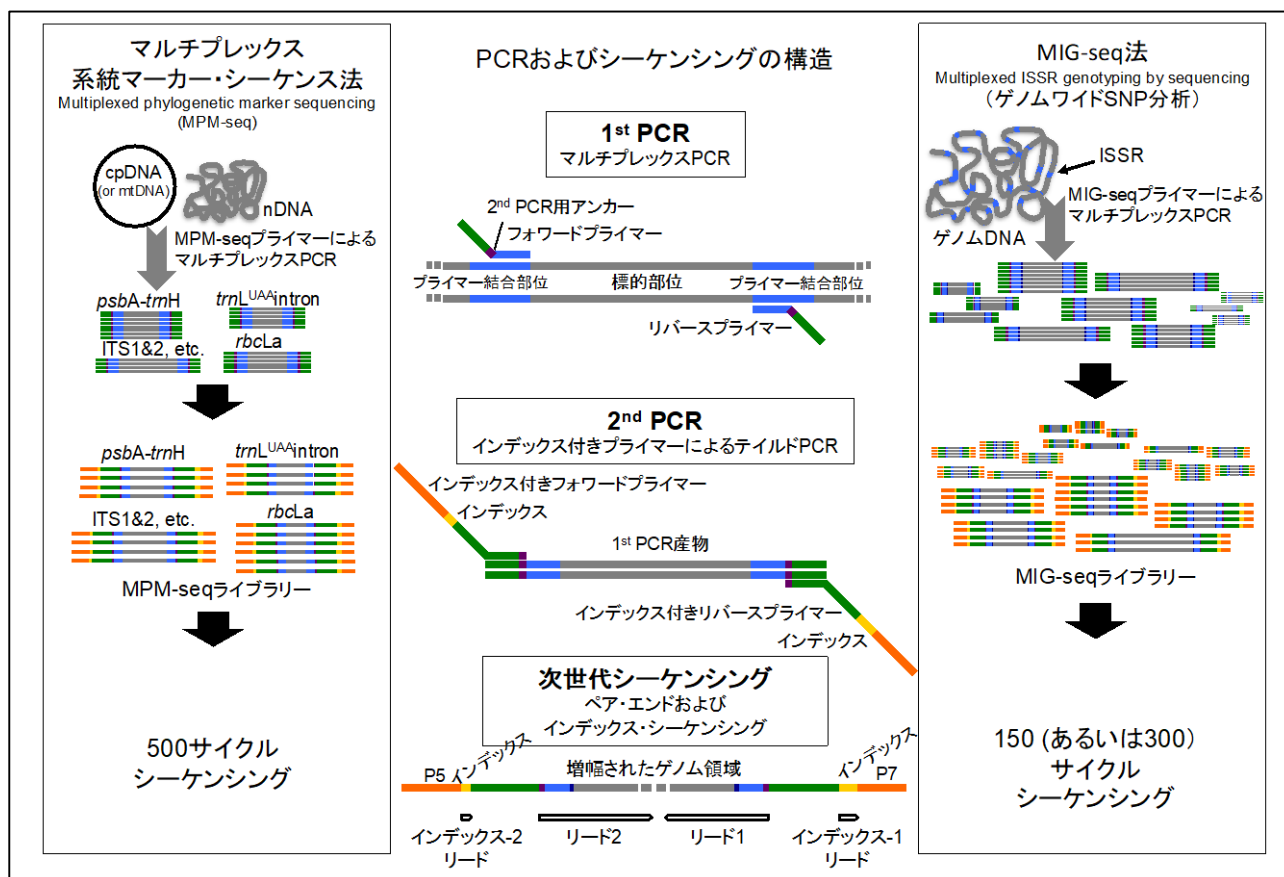


図-2.1：分子系統解析用コンビネーション技術である2つのマルチプレックス次世代シーケンス法の概略。左がマルチプレックス系統マーカー・シーケンス法 (multiplexed phylogenetic markers sequencing; MPM-seq) で、右がマルチプレックスISSRジェノタイピング用シーケンシング法 (multiplexed inter-simple sequence repeats genotyping by sequencing; MIG-seq)。(Suyama et al. (2022)²⁾ を改変)

(2) MPM-seq法の開発

複数の分子系統マーカー (DNAバーコード領域) を次世代シーケンシングによって効率的に読み取る技術として、「マルチプレックス系統マーカー・シーケンス法 (Multiplexed phylogenetic markers sequencing; MPM-seq)」を完成させた。すなわち、5領域のDNAバーコード領域 (*psbA-trnH*、*rbcLa*、*trnL^{UAA}intron*、ITS1およびITS2) をマルチプレックスPCRによって一度に増幅し、それらの配列をまとめて次世代DNAシーケンサーで解読する技術である。この技術を前述のMIG-seq法を組み合わせ、分子系統解析用のコンビネーション技術として完成させた (Suyama et al. 2022)²⁾ (図-2.1)。これにより、従来用いられてきた一般的な手法に比べ、早く・安く・簡便・正確に分子系統解析が可能となった。この技術の有用性を示すためのケーススタディとして、日本産モミ属樹種およびその近縁種群13種を対象とした分子系統解析を行なった (図-2.2)。その結果、遺伝学的な背景の異なる3つの系統樹、すなわち (a) 葉緑体DNA、(b) ITS (核DNA)、(c) ゲノムワイドSNPを対象とした系統樹を得ることができた。そのうちMIG-seq法による解析では、すべての分枝が高い再現率で得られ、極めて高精度な分子系統解析が可能であることを示しており、その結果は既存の分類学的情報とも一致していた (Suyama et al. 2022)²⁾ (図-2.1)。

なお、これら本研究による開発技術の発表論文 (Suyama et al. 2022)²⁾ は、発表誌である *Ecological Research* 誌の2022年論文賞を受賞したほか、2021~22年の当該誌最多被引用論文、発表年の最多ダウンロード論文、世界の当該分野における被引用論文数ランキングのトップ1%論文になるなど、関連分野において大きなインパクトを与えた。

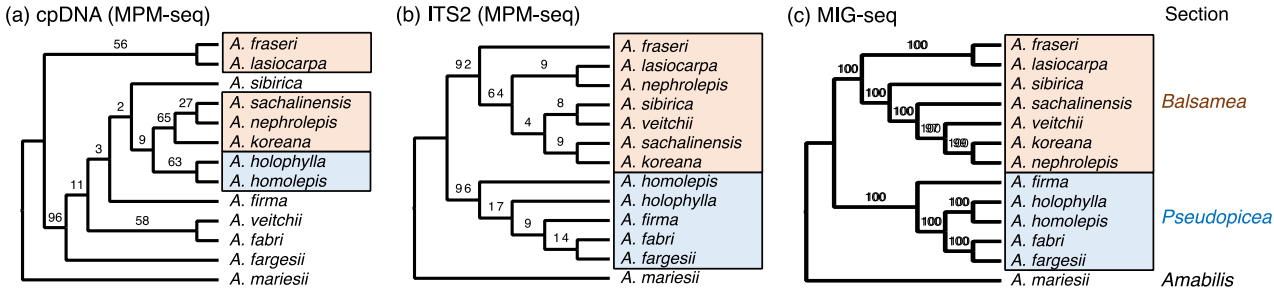


図-2.2：日本産モミ属の近縁種群13樹種における(a)葉緑体DNAの3領域(*psbA-trnH*, *rbcL*a, *trnL^{UAA}*intron) 1352bpの塩基配列、(b) ITS2領域384bpの塩基配列、(c) MIG-seq法により得られた6700のSNPをもとにして構築された最尤系統樹。節の区分(右端に記載)に適合し、50%より大きいブーティストラップ確率で支持されたクレードを四角で囲んだ。(Suyama et al. 2022²⁾を改変)

(3) 倍数体・雑種に分子系統解析を適用する技術的課題の解決

従来の分子系統あるいは集団遺伝学的な解析では、倍数体・雑種を解析することが一般に困難なため、本研究においてそれらの問題点を解決することとした。前項で開発した分子系統解析用マルチプレックス次世代DNAシーケンス法では、葉緑体DNA、ITS、ゲノムワイドSNPという3種類の異なる分子情報が得られる。このうち、葉緑体DNAについては解析結果の解釈時に片親遺伝であることを考慮すれば、倍数体については解釈可能なデータが得られるが、雑種については片親側のみの遺伝情報の解析となる。ITSについては、次世代シーケンシングによって得られる複数の配列データによって、異なるアレルの検出およびその構成解析が可能であり、倍数体・雑種の解析に適用可能である。ゲノムワイドSNP解析については、基本的な雑種系統の解析については適用可能であると考えられたため、そのことを示すケーススタディとしてシュスラン属における推定交雑種であるガクナンとその推定両親種(シュスランおよびミヤマウズラ)の解析を実施した。その結果、少なくともこれらの関係については明瞭にその遺伝的な位置付けを示すことができ、ガクナンが推定両親種との交雑種であると考えられた(図-2.3)。この成果については投稿論文として発表した(Suetsugu et al. 2021: サブテーマ1の成果としても記述)。

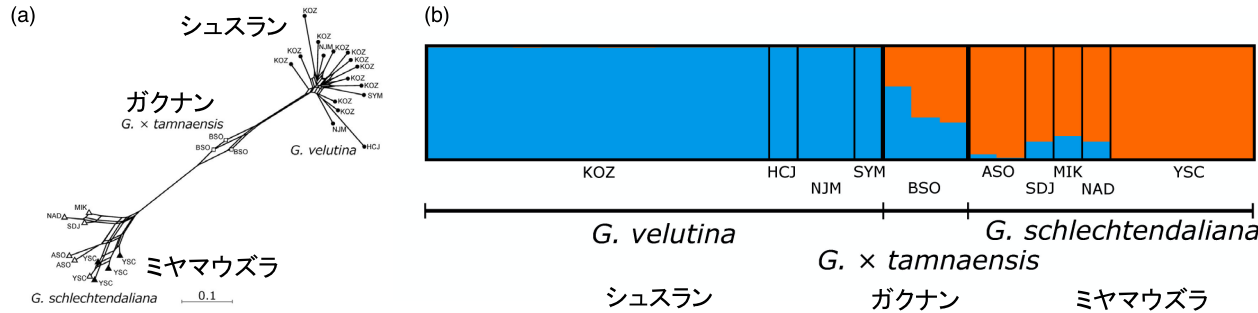


図-2.3：シュスラン属における推定交雑種であるガクナンとその推定両親種(シュスランおよびミヤマウズラ)を対象としたMIG-seq法により得られた895のSNPをもとにして構築された(a) Neighbor-Netネットワークおよび(b) 遺伝的集団構造(ストラクチャー)解析図。(Suetsugu, Hirota, Suyama 2021を改変)³⁾

(4) 有性生殖系統と無性生殖系統を区別するDNA識別技術の開発

無性生殖系統を対象として次世代シーケンシングデータを取得する場合、この技術の弱点としての高いエラー率が障害となり、無性生殖系統を識別できない可能性がある。そこで、問題となるエラーを排除して高精度に無性生殖系統(クローン)を識別できる技術を開発した。この技術の有効性を示すため、クローン系統および極めて近縁な系統の識別が問題となっている生物種を対象としたケーススタディ

ィを実施した。その結果、同一個体由来である無性生殖系統については、それらが別サンプルであつてもほぼ100%のゲノム一致率を得ることができ、それらは自殖系統の別個体、親子・兄弟関係の別個体や、遺伝的に無関係の個体等と明瞭に識別することができた（図-2.4）。

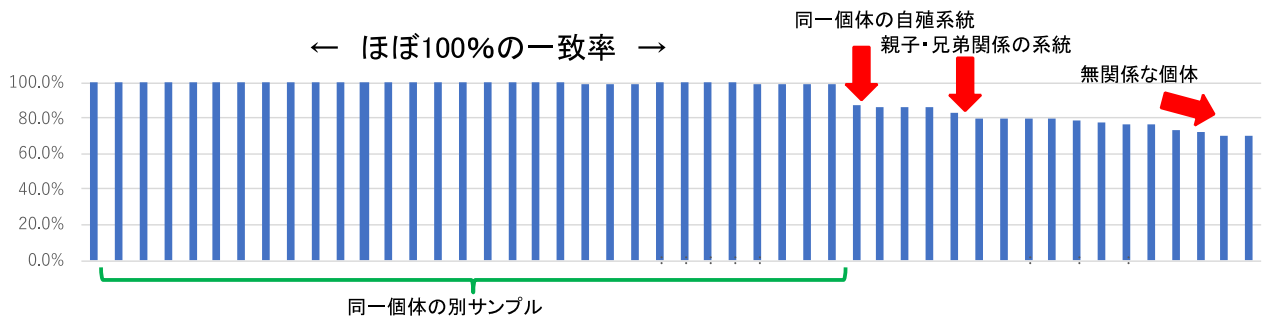


図-2.4：高精度に改良したMIG-seq法によって得られた配列情報をサンプル間で比較した。その結果、同一個体由来の別サンプルはほぼ100%一致し、自殖系統を含む別個体とは明確に識別できることを示した。（陶山ら、未発表データ）

4-2. DNA分析データの取得と分子系統解析

本研究期間においてサブテーマ1から提供されたサンプルを主とする68科153属1291種に及ぶ合計32177サンプルのDNA分析を行って分子系統解析を実施した。また、その結果をサブテーマ1に提供することによってその研究を支えた（詳細はサブテーマ1の成果を参照）。そのほかにも、独自の共同研究によって提供されたサンプルのDNA分析を実施して、日本の野生植物における未記載種の特特定などを行った。その一例として、形態およびMIG-seq分析による分子系統学的情報によってスグリ属の新種を明らかにし（図-2.5）、論文発表した（Sakaguchi et al. 2022）⁴⁾。

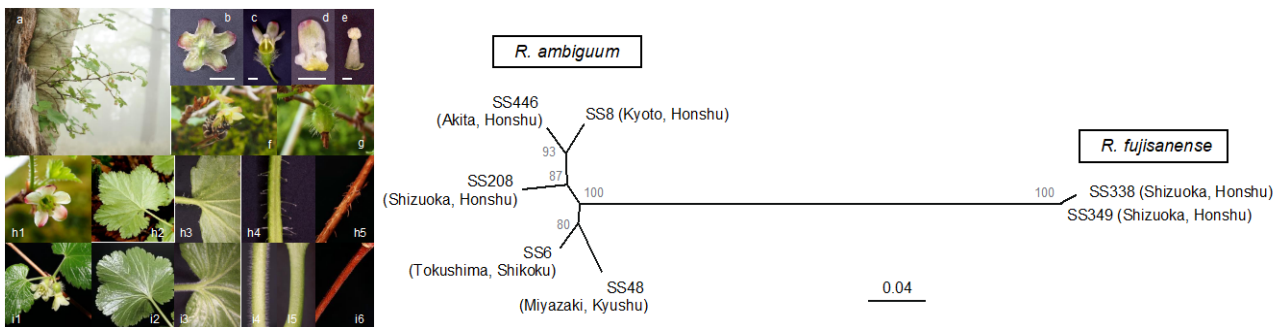


図-2.5：(a～h)フガクヤシャビシヤクの形態と (i) 近縁種であるヤシャビシヤクとの比較および、（右図）フガクヤシャビシヤクを対象としたMIG-seq分析によって得られた517のSNPデータにより構築された最尤系統樹。（Sakaguchi et al. 2022⁴⁾を改変）

4-3. 特定国内希少種の野生系統と栽培系統の区別などのための近縁系統識別技術の実証

(1) 特定国内希少種を対象とした識別技術の実証

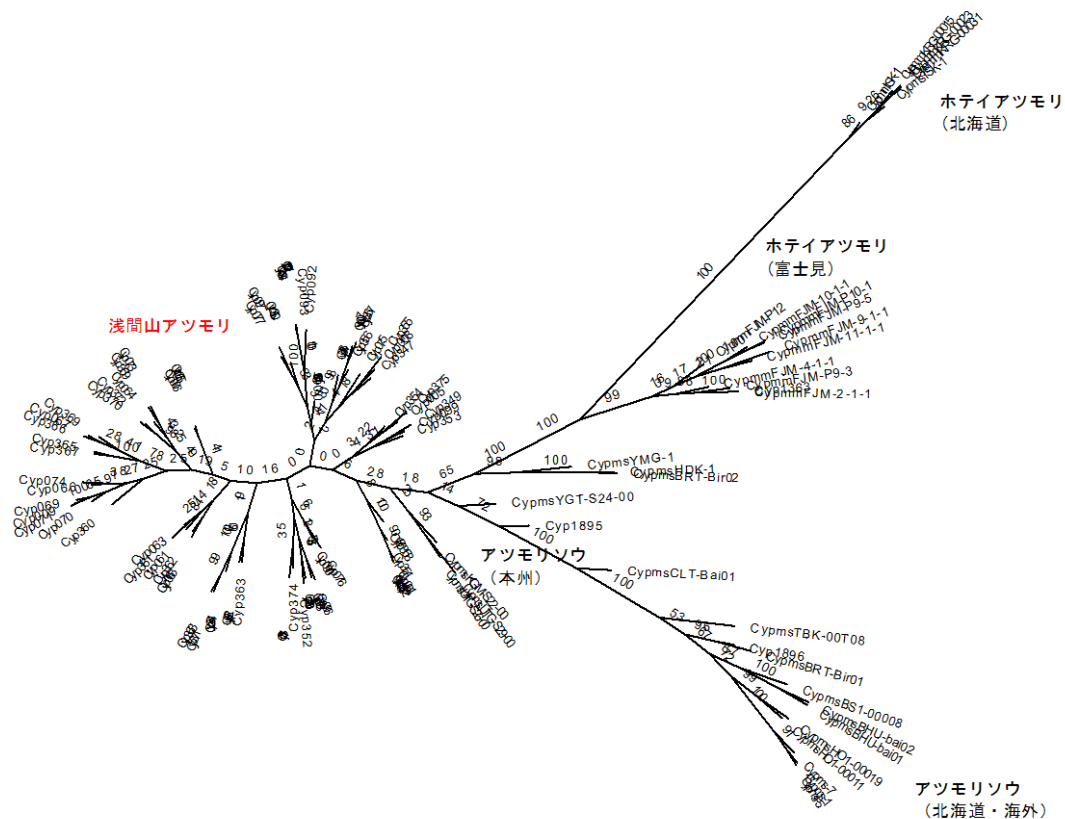
特定国内希少野生動植物種の流通管理上で、野生品と栽培系統の区別が課題となっている種について、MIG-seq法による系統識別・個体識別を行うことを想定して技術開発を行なった。その実証例として、本研究で開発した技術が、特定国内希少野生動植物種内の系統・品種・その近縁種等、遺伝的な違いがごく限られた系統間であつても正確に識別できることを示した。

実例の1つとして、長野県富士見町の依頼を受けて、その栽培系統の販売が行われているアツモリソウ属植物（特定第一種国内希少野生動植物種）である「釜無ホテイアツモリソウ（通称）」の分析を

行った。その結果、現存する栽培系統と野生系統の親子関係・クローン関係までも明らかにすることができ、技術開発目標である系統識別が可能であることを示した。

また、環境省信越自然環境事務所野生生物課から委託されたアツモリソウ属植物の分析を行い、その種識別やクローン識別、地域集団内遺伝構造、遺伝的多様性、分子系統関係（図-2.6）などを明らかにして報告した。解析結果の要約として、以下の5点について報告した。

1. 委託サンプルである浅間山のアツモリソウ属植物は、アツモリソウである可能性が極めて高いことがわかった。
2. 委託サンプルのクローン識別を行った結果、ごく限られた数のクローンのみが見つかり、当該地域の生育株は多数のクローン（個体）により構成されていると考えられた。
3. 浅間山のアツモリソウ属植物は、長野県内の他地域に分布するアツモリソウと近縁であり、アツモリソウ地域集団としての遺伝的系統が自生地において維持されていると考えられた。
4. 浅間山のアツモリソウ属植物集団内には、特段に大きな遺伝的な違い（クラスタリング）は認められなかった。
5. 浅間山のアツモリソウ属植物集団内では、極端な遺伝的劣化の兆候は認められず、適切な保全対策を講じることにより個体数を増加させることができる遺伝的ポテンシャルを有していると推定された。



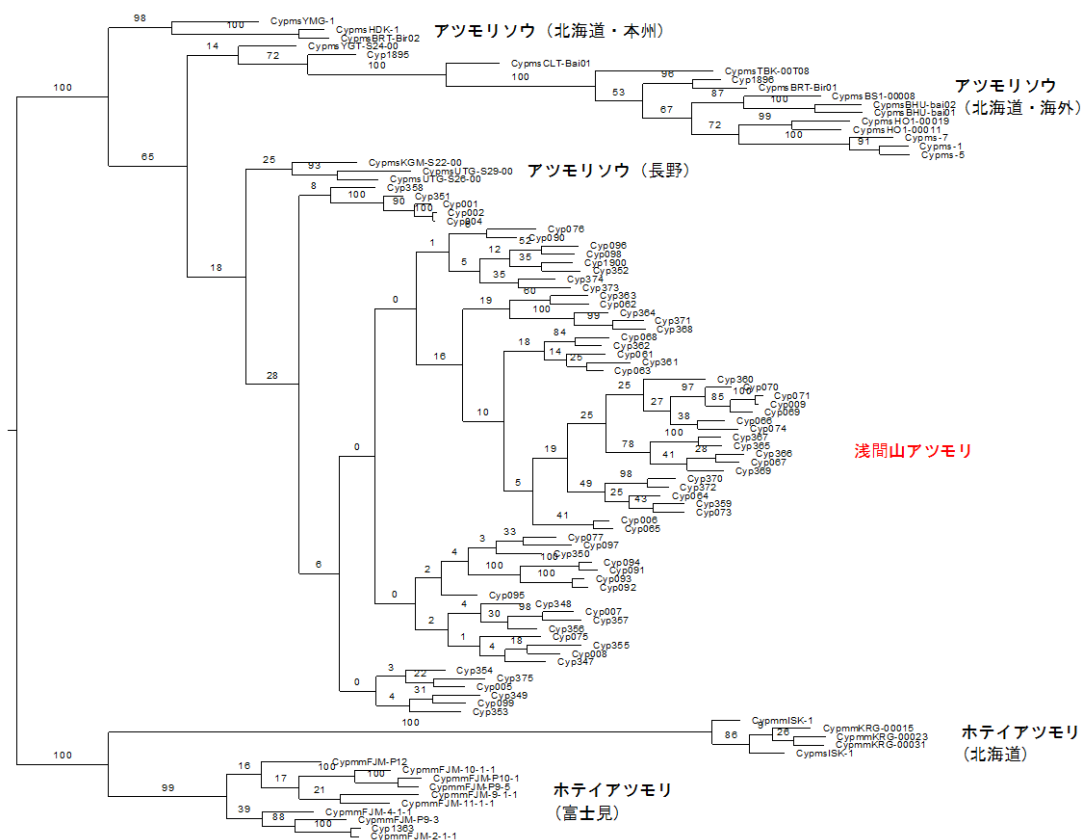


図-2.6：アツモリソウ属委託試料（浅間山アツモリ）および比較用試料（各地のアツモリソウおよびホテイアツモリ）を対象としたMIG-seq法により推定されたサンプル間の遺伝的関係を示す最尤系統関係図。上図が全体の関係性を示す無根の系統関係図で、下図はホテイアツモリのクレードをルートとして描画した系統関係図。枝上の数値はその枝の再現性を百分率で示すブートストラップ値。

そのほかにも、東北地方環境事務所野生生物課から委託されたチョウセンキバナアツモリソウについてもDNA分析を行い、解析結果の要約として、以下の5点について報告した。

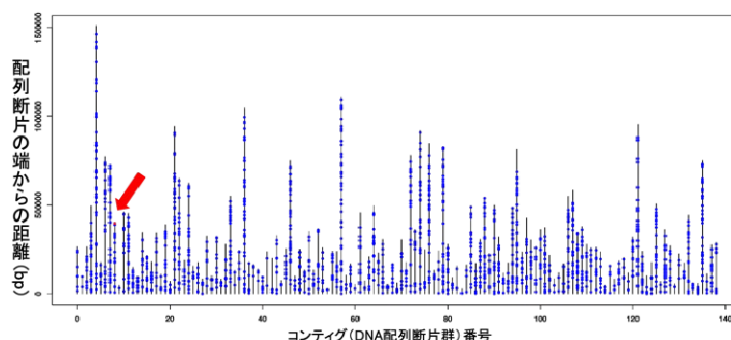
1. 北海道大学植物園で鉢植えとして栽培管理されている準野生株（シュート）のうち、分析委託された24鉢のクローン構成が明らかになった。
2. 自生株のクローン識別を行った結果、自生地内のクローン分布の概要が明らかになった。すなわち、自生地南側の群落の大半を占める1クローンと、その周辺のごく小規模な数クローン、および北側群落の小規模な数クローンによって構成されていた。
3. 北海道大学植物園の準野生株と、自生地由来のサンプルや近縁種等との遺伝的関係を調べたところ、本種はキバナアツモリソウとは明瞭に異なり、国内株は中国株とも違いが認められた。また、準野生株は国外系統との交配による後代である可能性も考えられたが、一方で現在は失われた自生系統由来である可能性が考えられた。
4. 現存する自生地の個体数（クローン数）は極めて限られているが、それらの間で近親交配を繰り返しているという証拠は得られず、個体内の遺伝的構成（多様性）としては危機的な状況に陥っていない可能性があると考えられた。
5. これまでに得られた情報から総合的に判断すると、北海道大学植物園における準野生株の保全遺伝学的重要性を否定することはできず、将来における自生地近隣への移植候補株としての可能性を想定した維持管理が必要であると考えられた。

(2) 簡易DNA識別技術の開発

特定国内希少野生動植物種の野生品と栽培系統等、ごく近縁な種内系統を簡便に識別するための技

術開発を実施した。前述(1)のとおり、MIG-seq法をそのまま用いるだけでも簡便に近縁系統を識別できることが実証されているが、図-2.7の上図のようにしてMIG-seq分析をすることにより、識別したい系統に特異的な変異配列を見つけ出すことができるため、その配列を特異的に増幅できるPCRプライマーセットを作出すれば、それを識別マーカーとして用いることができる。つまり、図-2.7の概念図下側に示した通り、①塩基配列分析によって増幅領域を読み取って識別する方法、②特異配列のみを増幅する特異的PCR増幅マーカーによって増幅産物の有無を電気泳動によって確認して識別する方法、そして③そのような特異的増幅産物をクロマト展開し、検査紙上に染色されたバンドとして目視判別できる簡易キットによって識別する方法を挙げることができる。

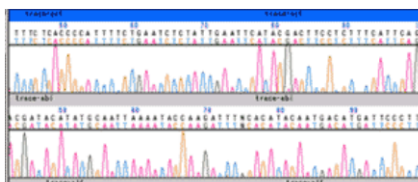
MIG-seq法によって検出された
多数のSNP情報から、識別したい
系統等に特異的な配列(変
異)を迅速に見つけ出す



特定のターゲット系統等にしかない配列例 ↓

ATGAAGGTAAATGTGAAGATATTGGTGAATAATGGAGTGAATAATAGGGACCATTTTAGGCCCAACAAACACACCAGAGAT.....

①塩基配列分析
(Gの前後を含めて読み取る)



②特異的PCRマーカー
(Gの場合だけ増幅するPCR)



③簡易キット化
(Gの場合だけ染色する)

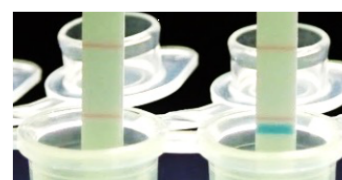


図-2.7：簡易DNA識別マーカーの作出概念図。MIG-seq法によって検出された多数の配列情報の中から、識別したい系統等に特異的な配列を検索し、その配列特異的（①の場合はその配列の前後を含めて増幅する）PCRプライマーを作出して、①塩基配列分析、②特異的PCR産物の電気泳動、③特異的PCR産物のクロマト展開（検査紙による簡易検査キット）により、簡易的な識別を行うことができる。

4-4. DNA塩基配列データベースの構築

本研究によって分析した68科153属1291種に及び合計32177サンプルのDNA塩基配列データは、論文発表したものについてはすべてDDBJ等の公共のデータベースに登録して再利用可能にした。未発表のものについては独自のデータベースとして保存した。種同定検索システムについては、MPM-seq法によって得られたITS領域の配列は、既存の種同定システムであるUNITE (<https://unite.ut.ee>) に順次登録を行っており、同システムを利用した検索が可能となる。また、そのほかの塩基配列データについては、UNITE のデータ入力・管理ワークベンチであるPluteF (<https://plutof.ut.ee>) で入力・管理・利用できるように開発チームに依頼して実行されたので、これらも将来的に利用可能になると思われる。ただし、これまでに得られたデータには今後詳細な解析が予定されている未発表のものが多く含まれること、希少種の情報が含まれること、現段階で該当する検索システムの直接的な一般利用が見込まれないことなどを考慮し、本研究期間内での公開は見送ることとした。

5. 研究目標の達成状況

MIG-seq法の改良により、種・種内レベルでの高精度の系統解析を実現した。3年間で68科153属1291種32177サンプルのMIG-seq解析を行い、分子系統樹を構築し、サブテーマ1の研究を支えた。なお、初年度の段階で20種をこえる新種候補が発見されたため、3500種のDNA配列データを取得することよりも、新種をふくむグループにおいてより多くのサンプルを分析し、新種であることの結論づけを優先する方針に切り替えた（アドバイザー会合においてアドバイザーおよび環境省の了解を得た）。その結果、112の新種・20の新亜種が確認でき、環境行政により貢献できた。

当初目標では3500種について1サンプルずつのDNAバーコード配列（計3500配列）を決定する計画だったが、上記の方針変更にもとづいて1種につき3～57サンプル（総計32177サンプル）についてMIG-seq配列を決定した。

また、これまで植物のDNAバーコードとして活用されてきた複数のDNA領域を次世代シーケンサーにより効率よく同時決定するマルチDNAバーコーディング技術（MPM-seq法）を開発し、論文を公表した。

さらに、特定国内希少野生動植物種の流通管理上で、野生品と栽培系統の区別が課題となっているアツモリソウ属の種について、系統識別・個体識別を行う技術開発を行ない、現存する栽培系統と野生系統の親子関係・クローン関係までも明らかにすることができた。

DNA塩基配列データは、論文発表したものについてはすべて公共のデータベースに登録して広く利用可能にした。さらにこれらのデータを用いた種同定検索システムを構築した。ただし、種同定検索システムについては、未発表データが多く含まれること、希少種の情報が含まれることなどを考慮し、研究期間内での公開は見送った。

6. 引用文献

- 1) Yoshihisa Suyama & Yu Matsuki (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.
- 2) 5. Yoshihisa Suyama, Shun K. Hirota, Ayumi Matsuo, Yoshihiro Tsunamoto, Chika Mitsuyuki, Atsuki Shimura, Kunihiro Okano (2022) Complementary combination of multiplex high-throughput DNA sequencing for molecular phylogeny. *Ecological Research* 37 (1): 171-181.
- 3) Kenji Suetsugu, Shun K. Hirota, Yoshihisa Suyama (2021) First record of *Goodyera × tamnaensis* (Orchidaceae) from Boso Peninsula, Chiba Prefecture, Japan, based on morphological and molecular data. *Taiwania* 66: 113-120.
- 4) Shota Sakaguchi, Mitsuru Oishi, Daiki Takahashi, Ayumi Matsuo, Shun K. Hirota, Yoshihisa Suyama, Hiroaki Setoguchi (2022) *Ribes fujisanense* (Grossulariaceae): a new species of obligate epiphytic gooseberry discovered in central Japan. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 73 (1): 49-56.

Ⅲ. 研究成果の発表状況の詳細

(1) 誌上発表

<査読付き論文>

【サブテーマ1】

- 1) Ebihara A, Nakasone T (2022) *Hymenophyllum digitatum* (Hymenophyllaceae) in Ishigaki-jima Island, a new record for Japan. *Journal of Japanese Botany* 97: 323-328.
- 2) Ebihara, A, Chao YS, Kanemitsu H. (2022) The distribution of *Pteris wulaiensis* (Pteridaceae) in Japan. *Bulletin of National Museum of Nature and Science, series B* 48: 53-59.
- 3) Ebihara A, Tagane S, Hirota SK, Suyama Y, Nakato N, Kuo LY (2023) Resurrection of *Spicantopsis hancockii* (Blechnaceae) as an endemic species to Taiwan – Reidentification of *Spicantopsis* in the Tokara Islands, Japan. *Taiwania* 68: 148-154.
- 4) 藤井伸二・早川宗志・辻 寛文 (2022) 大分県産ハマネナシカズラの標本を見いだす. *植物地理・分類研究* 70(1): 85-88.
- 5) Fujii S, Kurosaki N (2023) Morphological and taxonomic study of *Carex planata* var. *angustealata*. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 74(1): 17-27
- 6) 藤井伸二・小室 隆 (2023) 島根県からシロガヤツリを記録する. *植物地理・分類研究* 71(1): 59-61 (印刷中)
- 7) Hirota SK, Yasumoto AA, Nitta K, Tagane M, Miki N, Suyama Y, Yahara T (2021) Evolutionary history of *Hemerocallis* in Japan inferred from chloroplast and nuclear phylogenies and levels of interspecific gene flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 164: 107264.
- 8) Hirota SK, Yahara T, Kengo F, Sato H, Tagane S, Fujii S, Minamitani T, Suyama Y (2022) Molecular phylogeny and taxonomy of *Hydrangea serrata* complex (Hydrangeaceae) in western Japan including a new subspecies of *H. acuminata* from Yakushima. *PhytoKeys* 188: 49-71. (IF:1.3)
- 9) Ito T, Kanemitsu H, Hoson T, Yahara T (2023) A new species of succulent plant discovered in limestone areas of Kyushu, Japan: *Sedum kawaraense* (Crassulaceae). *Phytotaxa* 587: 149-160. (IF:1.1)
- 10) Nishihara S, Shiga T, Nishihiro J. (2023) The discovery of a new locality for *Aldrovanda vesiculosa* (Droseraceae), a critically endangered free-floating plant in Japan. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity* (in press).
- 11) 佐藤広行 (2021) ミズバショウ (サトイモ科) の1新品種. *植物研究雑誌*. 96(4): 242-245.
- 12) 佐藤広行・長谷川榮・五十嵐博 (2022) チドリケマンの新産地とその背景. *植物地理・分類研究*. 70(1): 41-45.
- 13) 佐藤広行・内田暁友・藤田玲・中川博之・小笠原誠・嶋崎太郎・新田紀敏 (2022) キタササガヤとササガヤ (イネ科) の北海道での分布. *植物地理・分類研究*. 70(2): 121-125.
- 14) Suetsugu K, Hirota S, Suyama Y (2021) A new natural hybrid, *Goodyera* × *tanakae* (Orchidaceae) from Japan with a discussion on the taxonomic identities of *G. foliosa*, *G. sonoharae*, *G. velutina*, *G. ×maximo-velutina* and *G. henryi*, based on morphological and molecular data. *Taiwania* 66: 277-286. <https://doi.org/10.6165/tai.2021.66.277>
- 15) Suetsugu K, Hirota S, Suyama Y (2021) First record of *Goodyera* × *tamnaensis* (Orchidaceae) from Boso Peninsula, Chiba Prefecture, Japan, based on morphological and molecular data. *Taiwania* 66: 113-120.
- 16) Suetsugu K, Hsu TC (2021). Taxonomic notes on the genus *Eucosia* (Orchidaceae) in Japan and Taiwan. *Phytotaxa*, 520(2), 215-224. (IF:1.1)

- 17) Suetsugu K, Hirota SK, Nakato N, Suyama Y, Serizawa S (2022) Morphological, ecological, and molecular phylogenetic approaches reveal species boundaries and evolutionary history of *Goodyera crassifolia* (Orchidaceae, Orchidoideae) and its closely related taxa. *PhytoKeys* 212:111-134. (IF:1.3)
- 18) Suetsugu K, Okada H, Hirota KS, Suyama Y (2022) Evolutionary history of mycorrhizal associations between Japanese *Oxygyne* (Thismiaceae) species and Glomeraceae fungi. *New Phytologist*, 235 (3): 836-841.
- 11) Suetsugu K, Hirota SK, Hsu T-C, Kurogi S, Imamura A, Suyama Y (2022) *Monotropastrum kirishimense* (Ericaceae), a new mycoheterotrophic plant from Japan based on multifaceted evidence. *Journal of Plant Research* 136: 3-18. (IF:3.0)
- 12) Suetsugu K, Hirota SK, Hayakawa H, Fujimori S, Ishibashi M, Hsu TC, Suyama Y (2023) *Spiranthes hachijoensis* (Orchidaceae), a new species within the *S. sinensis* species complex in Japan, based on morphological, phylogenetic, and ecological evidence. *Journal of Plant Research* 136: 333-348. (IF:3.0)
- 19) Tagane S, Nakanishi H (2021) *Matsumurella chinensis* (Lamiaceae), new to the flora of Japan. *Journal of Japanese Botany* 93(3): 175-179.
- 20) Yahara T, Hirota SK, Kengo F, Sato H, Tagane S, Suyama Y (2021) A new subspecies of *Stellaria alsine* (Caryophyllaceae) from Yakushima, Japan. *PhytoKeys* 187: 177-188. (IF:1.3)
- 21) Yahara T, Hirota SK, Kengo F, Sato H, Tagane S, Suyama Y (2021) Validation of *Hosta alata* (Asparagaceae) as a new species and its phylogenetic affinity. *PhytoKeys* 181: 79-93. (IF:1.3)

【サブテーマ 2】

- 1) Ebihara A, Tagane S, Hirota SK, Suyama Y, Nakato N, Kuo LY (2023) Resurrection of *Spicantopsis hancockii* (Blechnaceae) as an endemic species to Taiwan – Reidentification of *Spicantopsis* in the Tokara Islands, Japan. *Taiwania* 68: 148-154.
- 2) Hirota SK, Yasumoto AA, Nitta K, Tagane M, Miki N, Suyama Y, Yahara T (2021) Evolutionary history of *Hemerocallis* in Japan inferred from chloroplast and nuclear phylogenies and levels of interspecific gene flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 164: 107264.
- 3) Hirota SK, Yahara T, Kengo F, Sato H, Tagane S, Fujii S, Minamitani T, Suyama Y (2022) Molecular phylogeny and taxonomy of *Hydrangea serrata* complex (Hydrangeaceae) in western Japan including a new subspecies of *H. acuminata* from Yakushima. *PhytoKeys* 188: 49-71. (IF:1.3)
- 4) Sakaguchi S, Oishi M, Takahashi D, Matsuo A, Hirota Sk, Suyama Y, Setoguchi H (2021) *Ribes fujisanense* (Grossulariaceae): a new species of obligate epiphytic gooseberry discovered in central Japan. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 73: 49-56.
- 5) Suetsugu K, Hirota S, Suyama Y (2021) A new natural hybrid, *Goodyera* × *tanakae* (Orchidaceae) from Japan with a discussion on the taxonomic identities of *G. foliosa*, *G. sonoharae*, *G. velutina*, *G. ×maximo-velutina* and *G. henryi*, based on morphological and molecular data. *Taiwania* 66: 277-286.
- 6) Suetsugu K, Hirota S, Suyama Y (2021) First record of *Goodyera* × *tamnaensis* (Orchidaceae) from Boso Peninsula, Chiba Prefecture, Japan, based on morphological and molecular data. *Taiwania* 66: 113-120.
- 7) Suetsugu K, Hirota SK, Nakato N, Suyama Y, Serizawa S (2022) Morphological, ecological,

and molecular phylogenetic approaches reveal species boundaries and evolutionary history of *Goodyera crassifolia* (Orchidaceae, Orchidoideae) and its closely related taxa.

PhytoKeys 212: 111-134. (IF:1.3)

- 8) Suetsugu K, Okada H, Hirota SK, Suyama Y (2022) Evolutionary history of mycorrhizal associations between Japanese *Oxygyne* (Thismiaceae) species and Glomeraceae fungi. New Phytologist 235: 836-841.
- 13) Suetsugu K, Hirota SK, Hsu T-C, Kurogi S, Imamura A, Suyama Y (2022) *Monotropastrum kirishimense* (Ericaceae), a new mycoheterotrophic plant from Japan based on multifaceted evidence. Journal of Plant Research 136: 3-18. (IF:3.0)
- 9) Suetsugu K, Hirota SK, Hayakawa H, Fujimori S, Ishibashi M, Hsu TC, Suyama Y (2023) *Spiranthes hachiyoensis* (Orchidaceae), a new species within the *S. sinensis* species complex in Japan, based on morphological, phylogenetic, and ecological evidence. Journal of Plant Research 136: 333-348. (IF:3.0)
- 10) Suyama Y, Hirota SK, Matsuo A, Tsunamoto Y, Mitsuyuki C, Shimura A, Okano K (2022). Complementary combination of multiplex high-throughput DNA sequencing for molecular phylogeny. Ecological Research 37: 171-181. (IF:2.1)
- 22) Yahara T, Hirota SK, Kengo F, Sato H, Tagane S, Suyama Y (2021) A new subspecies of *Stellaria alsine* (Caryophyllaceae) from Yakushima, Japan. PhytoKeys 187: 177-188. (IF:1.3)
- 23) Yahara T, Hirota SK, Kengo F, Sato H, Tagane S, Suyama Y (2021) Validation of *Hosta alata* (Asparagaceae) as a new species and its phylogenetic affinity. PhytoKeys 181: 79-93. (IF:1.3)

<その他誌上発表（査読なし）>

【サブテーマ1】

- 1) 田金秀一郎、布施健吾、佐藤広行、矢原徹一（2021）奄美大島におけるホソバナキミズの再発見 Nature of Kagoshima 49: 151-153.
- 2) 田金秀一郎（2021）鹿児島県におけるチャセンシダ科ヌリトラノオ（*Asplenium normale*）とナンカイヌリトラノオ（*A. serratifolium*）の分布．鹿児島植物研究会誌 10: 1-4.
- 3) 矢野興一、丸野勝敏、藤井伸二、田金秀一郎（2021）鹿児島県新産のコアゼテンツキ（カヤツリグサ科）．莎草研究 23: 7-12.

【サブテーマ2】

- 1) 陶山佳久（2023）MIG-seq 法を用いたゲノムワイドSNP 分析による森林遺伝学研究．森林遺伝育種学会誌12: 63-67.

（2）口頭発表（学会等）

【サブテーマ1】

- 1) 海老原淳、中藤成実、斉藤俊浩：日本植物学会第86回大会（2022）
「野生絶滅状態？ 日本産のオニマメツタ」
- 2) 石井壮佑、海老原淳、廣田峻、陶山佳久、佐橋紀男、綿野泰行：日本植物学会第86回大会（2022）
「高自殖性をもつハナヤスリ科オオハナワラビ属2倍体種群の分類学的検討」
- 3) 海老原淳、梶原秀高、中藤成実：日本植物分類学会第22回大会（2023）
「日本産エダウチホンダ属倍数体の再検討」
- 4) 佐藤広行、布施健吾、田金秀一郎、廣田峻、藤井伸二、陶山佳久、矢原徹一：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4?6日、オンライン）

「全国全種サンプリングとMIG-seqによる日本の野生植物の分類学的再検討 トダシバ属を例に」

- 5) 片岡利文、米岡克啓、藤原泰央、加藤英寿、廣田峻、陶山佳久、矢原徹一、村上哲明：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4?6日、オンライン）
「日本産ヤマハハコ属(キク科)の分類学的再検討」
- 6) Yuri Lee・廣田峻・陶山佳久・志賀隆：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1-5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「New insight into hybridization event in *L. japonica* and related species with special reference to physiological characteristics」
- 7) 渡辺蒔、瀬戸口浩彰、いがりまさし、堀江健二、内藤健、坪井勇人、長澤耕樹、増田和俊、渡辺洋一、藤井紀行、高橋大樹、矢原徹一、沢和浩、Andrey E. Kozhevnikov、Zoya V. Kozhevnikova、Hyoung-Tak Im、Su-Kil Jang、陶山佳久、松尾歩、石川直子、阪口翔太：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月15日、オンライン&千葉大学、千葉）
「全ゲノム解析で紐解くスミレ科オオバキスミレ群の適応放散史」
- 8) 鈴井朋弘、加藤将、廣田峻、陶山佳久、志賀隆：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1?5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「日本産ヒメタヌキモの分類学的実体の解明：形態変異及び遺伝的変異と種間交雑の関係」
- 9) 片岡利文、米岡克啓、藤原泰央、廣田峻、陶山佳久、矢原徹一、村上哲明：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1?5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「アポイハハコの正体」

【サブテーマ2】

- 1) 倉田正観、阪口翔太、廣田峻、倉島治、陶山佳久、西田佐知子、伊藤元己：日本植物分類学会第20回大会（オンライン、2021年3月8~10日）
「オオバナミツバフウロはミツバフウロの変種なのか？」
- 2) 西藤大朗、陶山佳久、松尾歩、池田啓、藤井紀行、副島顕子：日本植物分類学会第20回大会（オンライン、2021年3月8~10日）
「オキナグサの系統地理学研究」
- 3) 村上将希、上町達也、藤井伸二、伊東拓朗、松尾歩、陶山佳久、牧雅之：日本植物分類学会第20回大会（オンライン、2021年3月8~10日）
「ヤマアジサイ(広義)および近縁種ガクアジサイにおける遺伝的分化と分布変遷」
- 4) 竹下(村山) 香織、満行知花、松尾歩、渡邊幹男、岩崎貴也、陶山佳久、藤井紀行：日本植物分類学会第20回大会（オンライン、2021年3月8~10日）
「分子系統地理学解析で見えた襲速紀要素クサヤツデ、ヤハズアジサイの共通項と相違点」
- 5) 坂場友香、陶山佳久、松尾歩、藤井紀行、藤井伸二、副島顕子：日本植物分類学会第20回大会（オンライン、2021年3月8~10日）
「満鮮要素オカオグルマの分布変遷過程の考察」
- 6) 浅川彬、保尊大志、村上将希、伊東拓朗、松尾歩、陶山佳久、藤井伸二、牧雅之：日本植物分類学会第20回大会（オンライン、2021年3月8~10日）
「日本産イラクサ属の分子データに基づく新分類群の発見と系統地理学的検討」
- 7) 軒原開、藤井伸二、伊東拓朗、松尾歩、陶山佳久、牧雅之：日本植物分類学会第20回大会（オンライン、2021年3月8~10日）
「日本産イバラモ属の分子系統解析一見過ごされてきた日本新産分類群についての検討」
- 8) 恒成花織、伊東拓朗、横田昌嗣、芝林真友、陶山佳久、松尾歩、阿部篤志、内貴章世、瀬戸口浩彰、牧野能士、井鷲裕司：日本植物学会第85回大会（オンライン、2021年9月16-20日）
「日本に2度やってきた国内絶滅危惧種タイワンホトトギス個体群」
- 9) 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, Siqi Wang, 藤井紀行：日本植物学会第85回大会（オンライン、2021年9月16－20日）

「満鮮要素ヒロハヤマヨモギの分子系統地理学的研究」

- 10) 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, Siqi Wang, 藤井紀行：日本植物学会第85回大会（オンライン、2021年9月16－20日）

「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？」

- 11) 瀬尾明弘、松尾歩、前田綾子、陶山佳久、井鷲裕司：日本植物学会第85回大会（オンライン、2021年9月16－20日）

「絶滅危惧植物マルバテイショウソウ(キク科)の MIG-seq を用いた集団遺伝学的解析」

- 12) 岩崎貴也、谷川茜、阿部晴恵、綱本良啓、陶山佳久、高山浩司、加藤英寿、尾関雅章：日本植物学会第85回大会（オンライン、2021年9月16－20日）

「関東中部地方から伊豆諸島、南硫黄島、トカラ列島に生育するタマアジサイ類の分子系統地理解析」

- 13) 石川直子、四方貴士、中山祐一郎、阪口翔太、支倉千賀子、Alexey Shipunov、塚谷裕一、廣田峻、松尾歩、陶山佳久、池田博、伊藤元己：日本植物学会第85回大会（オンライン、2021年9月16－20日）

「ハクサンオオバコとオオバコの系統関係および遺伝的交流について」

- 14) 林雅貴、阪口翔太、福島慶太郎、石川直子、伊鷲裕司、陶山佳久、伊藤元己、西野貴子：日本植物学会第85回大会（オンライン、2021年9月16－20日）

「サワシロギク土壤生態型の遺伝子流動と集団動態」

- 15) 阪口翔太、長澤耕樹、増田和俊、渡辺洋一、沢和浩、堀江健二、高橋大樹、廣田峻、陶山佳久、柳田宏光、坂田ゆず、藤木大介、白井伸和、坪井勇人、阿部晴恵、水澤玲子、瀬戸口浩彰：日本生態学会第66回東北地区大会（オンライン、2021年11月20－21日）

「多雪植物群の比較系統地理分析」

- 16) Yoshihisa Suyama: Knowledge Sharing Seminar 2021 - Research Center for Biotechnology (National Research and Innovation Agency (BRIN), Indonesia), (Online, November 23, 2021) invited

“Next-generation biodiversity assessment using genome-wide SNP data by MIG-seq”

- 17) 陶山佳久、井鷲裕司：第53回種生物学シンポジウム（オンライン、2021年12月3－5日）

「希少種保全に応用できるゲノム解析技術とその適用プロジェクトの概要」

- 18) 倉田正観、阪口翔太、廣田峻、倉島治、陶山佳久、西田佐知子、伊藤元己：第53回種生物学シンポジウム（オンライン、2021年12月3－5日）

「中部山岳における広義エゾフウロのrefugia within refugiumは複数回移入によって形成された」

- 19) Suyama Y: CAPES-JSPS Molecular Ecology Workshop (Iriomote Station of the Tropical Biosphere Research Center, University of the Ryukyus, December 14-15, 2021)

“MIG-seq and MPM-seq: Combination of multiplex high-throughput DNA sequencing for molecular phylogeography and conservation genomics”

- 20) 佐藤広行、布施健吾、田金秀一郎、廣田峻、藤井伸二、陶山佳久、矢原徹一：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）

「全国全種サンプリングとMIG-seqによる日本の野生植物の分類学的再検討 トダシバ属を例に」

- 21) 片岡利文、米岡克啓、藤原泰央、加藤英寿、廣田峻、陶山佳久、矢原徹一、村上哲明：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）

「日本産ヤマハハコ属(キク科)の分類学的再検討」

- 22) 軒原開、藤井伸二、伊東拓朗、松尾歩、陶山佳久、福岡豪、角野康郎、牧雅之：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「分子系統解析に基づく日本産イバラモ属の分類学的再検討」
- 23) 高添清登、伊藤元己、松尾歩、朴宰弘、陶山佳久、王思琪、副島顕子：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「倍数性複合体シロヨメナ群の成立過程の解明2-倍数体を含む遺伝構造の解析」
- 24) 内藤芳香、岩崎貴也、加藤将、首藤光太郎、陶山佳久、廣田峻、志賀隆：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「日本産スイレン亜属の系統地理学的解析」
- 25) 村上将希、伊東拓朗、浅川彬、山田孝幸、田金秀一郎、藤井伸二、松尾歩、陶山佳久、牧雅之：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「フシノハアワブキ(広義)の隔離分布形成過程の検証」
- 26) 保尊大志、伊東拓朗、藤井伸二、高橋大樹、松尾歩、陶山佳久、牧雅之：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「ヤマハハコ(広義)における地理的分化、生態的分化に関する分子系統学的解析」
- 27) 西原美佳、阪口翔太、長澤淳一、市河三英、廣田峻、陶山佳久、遊川知久、平塚健一、山下幸司、橋本 季正、矢部幸太、瀬戸口浩彰：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「絶滅危惧植物カンランの域外保全に向けた遺伝解析」
- 28) 阪口翔太、Alexey P Seregin、Elena Marchuk、John Semple、Li Pan、Yinqiong Qiu、瀬戸口浩彰、牧雅之、陶山佳久、廣田峻、石川直子、Olga Chernyagina、Hyeokjae Choi、中臺亮介、重信秀治、山口勝司、伊藤元己：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「標本ゲノミクスで明らかになった広義アキノキリンソウのユーラシア拡散史」
- 29) 長澤耕樹、瀬戸口浩彰、牧雅之、沢和浩、堀江健二、永野惇、陶山佳久、松尾歩、綱本良啓、阪口翔太：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「日本列島におけるスゲ属 2 節の種多様性形成要因の解明」
- 30) Jiaxin YU、瀬戸口浩彰、増田和俊、堀江健二、陶山佳久、廣田峻、阪口翔太：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「MIG-seq による日本産スミレ属タチツボスミレ亜節植物の系統関係の推定」
- 31) 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：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「満鮮要素オカオグルマの分布変遷史の解明」
- 32) 山本将也、長澤耕樹、伊東拓朗、陶山佳久、高橋大樹：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「京都御苑固有植物カワセミソウの進化的起源と姉妹種サギゴケの遺伝構造」
- 33) 西藤大朗、陶山佳久、松尾歩、藤井紀行、池田啓、岩崎貴也、Andrey E. Kozhevnikov、Zoya V. Kozhevnikova、Jae-Hong Pak、KyungChoi、Tian-Gang Gao、副島顕子：日本植物分類学会第21回大会（2022年3月4～6日、オンライン）
「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」
- 34) 阿部晴恵、上野真義、松尾歩、廣田峻、陶山佳久、三浦弘毅、Yunguang Shen、Monghuai Su、Zhong lang Wang：日本生態学会第69回大会（2022年3月14～19日、オンライン）
「ヤブツバキとユキツバキの分子系統地理」
- 35) Yoshihisa Suyama: The 10th Anniversary International Symposium of Japanese Society of Forest Genetics and Tree Breeding (November 12, 2022, Zoom webinar and on-site at AP Higashi-Shinjuku)
“Forest genetic studies using genome-wide SNP data by MIG-seq analysis. Forest Genetics

and Tree Breeding: past progress and future prospects”

- 36) 田口裕哉、高橋大樹、伊東拓朗、田金秀一郎、菅原峻太、小栗恵美子、阿部晴恵、陶山佳久：第54回種生物学シンポジウム（2022年11月26日、オンライン）
「オキナワハイネズを中心とした国内ビャクシン属種群の分子系統地理学的解析」
- 37) 友國秀斗、草竹恵実、柳洋介、前田綾子、狩山俊悟、廣田峻、陶山佳久、三村真紀子：第54回種生物学シンポジウム（2022年11月26日、オンライン）
「同倍数性のイカリソウ属はどのように種分化したのか？」
- 38) Harue Abe, Saneyoshi Ueno, Ayumi Matsuo, Shun K. Hirota, Hiroki Miura, Monghuai Su, Yunguang Shen, Yoshihisa Suyama, Zhonglang Wang: The 20th International Symposium on Integrated Field Science “Biodiversity and Phylogeography” (November 23, 2022, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan)
“Evolution of the genus *Camellia* based on the biological interaction and the historical background”
- 39) Shoki Murakami, Takuro Ito, Tatsuya Uemachi, Shinji Fujii, Ayumi Matsuo, Yoshihisa Suyama, Masayuki Maki: The 20th International Symposium on Integrated Field Science “Biodiversity and Phylogeography” (November 23, 2022, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan)
“Phylogeography of infraspecific differentiation of *Hydrangea serrata* (Hydrangeaceae), a widespread shrub species in the Japanese Archipelago”
- 40) Hiroya Taguchi, Daiki Takahashi, Takuro Ito, Shuichiro Tagane, Ryota Sugawara, Emiko Oguri, Harue Abe, Yoshihisa Suyama: The 20th International Symposium on Integrated Field Science “Biodiversity and Phylogeography” (November 23, 2022, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan)
“Phylogeography of *Juniperus* species (Cupressaceae) with a disjunct distribution in the island areas of Japan”
- 41) Mana Motomiya, Daiki Takahashi, Shuichiro Tagane, Akiyo Naiki, Kenta Watanabe, Takuro Ito, Yoshihisa Suyama: The 20th International Symposium on Integrated Field Science “Biodiversity and Phylogeography” (November 23, 2022, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan)
“Population genetic structure of a bamboo taxon, *Pleioblastus* Sect. *Pleioblastus*, in the Ryukyu Islands formed by geohistory and human activity”
- 42) Taishi Hoson, Takuro Ito, Shinji Fujii, Daiki Takahashi, Ayumi Matsuo, Yoshihisa Suyama, Masayuki Maki: The 20th International Symposium on Integrated Field Science “Biodiversity and Phylogeography” (November 23, 2022, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan)
“Molecular phylogenetic analyses of geographical and ecological speciation of *Anaphalis margaritacea*”
- 43) Yoshihisa Suyama: CAPES-JSPS Molecular Ecology Workshop (December 5-9, 2022, Instituto Alto Montana da Serra Fina - Itamonte, Minas Gerais, Brazil)
“Molecular ecology using genome-wide SNP data by MIG-seq analysis”
- 44) Mana Motomiya, Daiki Takahashi, Shuichiro Tagane, Akiyo Naiki, Kenta Watanabe, Yoshihisa Suyama: CAPES-JSPS Molecular Ecology Workshop (December 5-9, 2022, Instituto Alto Montana da Serra Fina - Itamonte, Minas Gerais, Brazil)
“Distribution of genetic diversity in evergreen broadleaved forests in the Ryukyu Islands”
- 45) Hiroya Taguchi, Daiki Takahashi, Takuro Ito, Shuichiro Tagane, Ryota Sugawara, Emiko

Oguri, Harue Abe, Yoshihisa Suyama: CAPES-JSPS Molecular Ecology Workshop (December 5-9, 2022, Instituto Alto Montana da Serra Fina - Itamonte, Minas Gerais, Brazil)

“Phylogeography of *Juniperus taxifolia* var. *lutchuensis* (Cupressaceae) with a disjunct distribution in the island areas of Japan”

- 46) 原田泰地、藤井伸二、山城考、田金秀一郎、松尾歩、陶山佳久、伊東拓朗、牧雅之：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「ため池減水裸地に優占するカヤツリグサ属植物に関する分子系統学的解析」
- 47) 村上將希、伊東拓朗、上町達也、藤井伸二、松尾歩、陶山佳久、牧雅之：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「日本産アジサイ属アジサイ節における異所的種分化過程の解明:いつ、どこで起きたか？」
- 48) 西藤大朗、陶山佳久、松尾歩、藤井紀行、池田啓、岩崎貴也、副島顕子（2023）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. 日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
- 49) 蕪木史弦、伊東拓朗、高橋大樹、游旨价、陶山佳久、井鷲裕司：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「東アジアで隔離分布する希少種ハコベマンネングサの種内系統解析」
- 50) 渡邊紅実、藤井伸二、山城考、高橋大樹、柿嶋聡、松尾歩、陶山佳久、伊東拓朗、牧雅之（2023）、日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「バラ科シモツケ属の分子系統学、系統地理学的解析」
- 51) 根本智行、松尾歩、廣田峻、陶山佳久（2023）日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「MIG-seq 法を用いたマメ科ハギ属の系統解析」
- 52) 倉田正観、阪口翔太、池田啓、廣田峻、倉島治、陶山佳久、伊藤元己（2023）日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「高山植物チシマフウロは東アジアに起源しベーリンジアへと分布を拡大させた」
- 53) 藤井紀行、陶山佳久、廣田峻、副島顕子、竹下香織、池田啓（2023）日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「MIG-seq データによる高山植物ハクサンイチゲの北方起源の検証」
- 54) Yuri Lee、廣田峻、陶山佳久、志賀隆（2023）日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「New insight into hybridization event in *L. japonica* and related species with special reference to physiological characteristics」
- 55) 渡辺 蒔、瀬戸口浩彰、いがりまさし、堀江健二、内藤健、坪井勇人、長澤耕樹、増田和俊、渡辺洋一、藤井紀行、高橋大樹、矢原徹一、沢和浩、Andrey E. Kozhevnikov、Zoya V. Kozhevnikova、Hyoung-Tak Im、Su-Kil Jang、陶山佳久、松尾歩、石川直子、阪口翔太：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「全ゲノム解析で紐解くスミレ科オオバキスミレ群の適応放散史」
- 56) 鈴井朋弘、加藤将、廣田峻、陶山佳久、志賀隆：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「日本産ヒメタヌキモの分類学的実体の解明:形態変異及び遺伝的変異と種間交雑の関係」
- 57) 江田悠河、阪口翔太、長澤耕樹、増田和俊、永野惇、陶山佳久、廣田峻、高橋大樹、Hyeok Jae Choi、Pan Li、Qingxiang Han、山下純、黒田有寿茂、瀬戸口浩彰：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）
「東アジアにおける塩生植物フクドの集団遺伝構造」
- 58) 片岡利文、米岡克啓、藤原泰央、廣田峻、陶山佳、矢原徹一、村上哲明：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）

「アポイハハコの正体」

- 59) 保尊大志、伊東拓朗、中村剛、藤井伸二、高橋大樹、陶山佳久、牧雅之：日本植物分類学会第22回大会（2023年3月1～5日、オンライン&千葉大学、千葉）

「礫河原環境に特異的に生育するカワラハハコの起源を探る」

- 60) 田口裕哉、高橋大樹、伊東拓朗、田金秀一郎、菅原峻太、小栗恵美子、阿部晴恵、陶山佳久（2023日本生態学会（2023年3月17～21日、オンライン、仙台、仙台市）

「日本の島嶼域に隔離分布するオキナワハイネズ近縁種群の分子系統地理学的解析」

- 61) 本宮万愛、高橋大樹、田金秀一郎、渡邊謙太、内貴章世、陶山佳久（2023）日本生態学会（2023年3月17～21日、オンライン、仙台、仙台市）

「琉球列島における照葉樹林構成種の遺伝的多様性の分布」

- 62) 高橋大樹、陶山佳久：日本生態学会（2023年3月17～21日、オンライン、仙台、仙台市）

「屋久島と鬼の目山系に隔離分布するシャクナンガンピ属2種の集団動態と保全遺伝解析」

- 63) 阿部晴恵、松尾歩、陶山佳久：日本生態学会（2023年3月17～21日、オンライン、仙台、仙台市）

「日本列島におけるホタルブクロ属の系統地理」

（3）「国民との科学・技術対話」の実施

【サブテーマ1】

- 1) 屋久島学ソサエティ第8回大会、テーマセッション「屋久島の植物多様性：最新の研究成果から」（主催：屋久島学ソサエティ、2020年12月13日、オンライン開催、視聴者約100名）での矢原・布施・佐藤・廣田・陶山による講演「新たに発見された屋久島固有植物」の中で研究成果（ヤクシマルリアジサイ・ノミノキンチャクなどの発見）について紹介
- 2) 第85回日本植物学会大会公開講演会『植物』からみた日本の世界自然遺産（主催：日本植物学会、2021年9月20日、東京都立大学南大沢キャンパスおよびオンラインのハイブリッド開催、観客約100名）での矢原による講演「屋久島における植物相研究と生態系管理」の中で研究成果（オオバタネツケバナ矮性型などの発見）について紹介
- 3) 屋久島学ソサエティ第10回大会テーマセッション「10年を振り返り、更なる発展を語り合う」（主催：屋久島学ソサエティ、2022年12月3日、オンライン開催、視聴者約100名）での矢原による講演「屋久島の生態系管理と植物研究」の中で研究成果（コケクルマバナなどの発見）について紹介
- 4) 第31回松下幸之助記念賞受賞講演会（主催：松下幸之助記念志財団、2023年2月4日、リーガロイヤルホテル大阪、参加者約150名）での矢原による講演「身近な植物も不思議だらけ 植物を知れば世界が違って見えてくる」の中で研究成果（MIG-seq解析にもとづく100以上の新種・新亜種の発見）について紹介
- 5) 日本生態学会第70回大会自由集会「日本の市民科学の拡大と課題解決への挑戦」（主催：日本生態学会、2023年3月20日、オンライン、参加者約100名）での矢原による講演「九州オープンユニバーシティがめざすオープンサイエンス」の中でアマチュアの植物研究者（市民科学者）の協力を得て日本の野生植物の分類を再検討するプロジェクトを進めていることと、その研究成果（MIG-seq解析にもとづく100以上の新種・新亜種の発見）について紹介

【サブテーマ2】

該当なし

（4）マスコミ等への公表・報道等

【サブテーマ1】

ホソバノキミズに関する新聞・テレビ報道

- 1) 共同通信社、2020年11月19日、「絶滅種、100年ぶり発見 奄美大島、小低木ホソバノキミズ」

- 2) 南日本新聞. 2020年11月19日、「100年ぶり絶滅種発見 小低木「ホソバノキミズ」 奄美大島で鹿児島大チーム」
- 3) 奄美新聞. 2020年11月20日、「100年ぶり奄美大島で「ホソバノキミズ」発見」
- 4) 朝日新聞. 2020年11月21日、「絶滅」の木・・・100年ぶり発見」
- 5) NHK情報WAVEかごしま. 2020年12月1日、「ホソバノキミズに関するニュース」
- 6) 朝日新聞鹿児島県版. 2020年12月27日、「奄美で100年ぶりに「絶滅」の木を発見」

キリシマギンリョウソウに関する新聞・テレビ報道

- 1) 共同通信 (2022. 12. 3)
- 2) 毎日新聞 (大阪・西部本社版夕刊7面; 2022. 12. 3)
- 3) 朝日新聞 (夕刊14面; 2022. 12. 2)
- 4) 読売新聞 (宮崎県版27面; 2022. 12. 1)
- 5) 宮崎日日新聞 (1面; 2022. 11. 30)
- 6) 南日本新聞 (25面; 2022. 11. 30)
- 7) 夕刊デイリー (1面; 2022. 11. 30)
- 8) MRT宮崎放送 (2022. 11. 30)
- 9) NHK宮崎放送 (2022. 11. 30)
- 10) 朝日新聞 (デジタル版; 2022. 11. 30)
- 11) 毎日新聞 (東京・中部・北海道本社版24面; 2022. 11. 30)

ハチジョウネジバナに関する新聞・テレビ報道

- 1) 読売新聞 (東京本社版夕刊10面; 2023. 4. 6)
- 2) 朝日新聞 (夕刊5面; 2023. 4. 6)
- 3) 読売新聞 (大阪本社版夕刊8面; 2023. 3. 28)
- 4) AFP通信 (2023. 3. 24)
- 5) 静岡新聞 (30面; 2023. 3. 18)
- 6) The Guardian (2023. 3. 17)
- 7) Popular Science (2023. 3. 17)
- 8) New Scientist (2023. 3. 17)
- 9) CNN (2023. 3. 17)
- 10) 朝日新聞 (デジタル版; 2023. 3. 17)

ムジナモ再発見に関する報道

- 1) 牧野富太郎博士の「押し水草」、自生地発見か 形はアナグマのしっぽ 朝日新聞デジタル 2023年4月19日 <https://www.asahi.com/articles/ASR4M462VR4LPLBJ001.html>
- 2) ムジナモ県内に自生 北陸中日新聞 朝刊 2023年4月19日
- 3) 県内のため池に国内唯一の自生群ムジナモ 北國新聞 朝刊 2023年4月19日
- 4) 「らんまん」主人公のモデル・牧野富太郎ゆかりのムジナモ自生地を発見 毎日新聞 2023年4月21日 <https://mainichi.jp/articles/20230421/k00/00m/040/128000c>

【サブテーマ2】

- 1) FM仙台「Morning Brush」内のコーナー「Forever Green Lab」(2021年6月11日、「日本の植物総点検プロジェクト」と題して環境研究総合推進費の取り組みを紹介)
- 2) FM仙台「Morning Brush」内のコーナー「Date fm SDGs ACTION」(2022年6月24日、「生き残った絶滅危惧植物」と題して絶滅危惧植物保全と環境研究総合推進費の取り組みを紹介)

(5) 本研究費の研究成果による受賞

矢原徹一：松下幸之助花の万博記念賞（2023年2月）

陶山佳久ほか：第23回Ecological Research論文賞（日本生態学会）：Yoshihisa Suyama, Shun K. Hirota, Ayumi Matsuo, Yoshihiro Tsunamoto, Chika Mitsuyuki, Atsuki Shimura, Kunihiro Okano (2022) Complementary combination of multiplex high-throughput DNA sequencing for molecular phylogeny (2023年3月)

田口裕哉ほか：日本生態学会第70回全国大会ポスター賞優秀賞（植物個体群・群落分野）：田口裕哉、高橋大樹、伊東拓朗、田金秀一郎、菅原峻太、小栗恵美子、阿部晴恵、陶山佳久：日本の島嶼域に隔離分布するオキナワハイネズ近縁種群の分子系統地理学的解析. 日本生態学会（2023年3月）

(6) その他の成果発表

該当なし

IV. 英文Abstract

Taxonomic Revisions of Threatened Plants Based on Species Identification Technology Developed Using Nextgeneration DNA Barcodes

Principal Investigator: Tetsukazu YAHARA

Institution: Kyushu Open University

W1-D310, Motooka 744, Fukuoka City, Fukuoka, JAPAN

Tel: 092-407-1700 / Fax: 092-407-1700

E-mail: tet.yahara@gmail.com

Cooperated by: Tohoku University, University of Toyo, National Museum of Nature and Science Tokyo, University of Human Environments, Niigata University, Kobe University, Kagoshima University, Ryukyu University.

[Abstract]

Key Words: DNA barcode, MIG-seq analysis, New species, Next generation sequencing, Red list, Species conservation act, Taxonomy, Threatened plants.

The aim of this study was to identify new species in Japan and describe them in order to support the Ministry of the Environment's Red List and Species Conservation Act. The study also aimed to develop techniques to identify threatened species that are difficult to distinguish taxonomically. The researchers employed three methods: studying known candidates of new species, investigating groups with potential for new discoveries, and examining areas with high species diversity and threatened species. Field surveys were conducted in 42 prefectures to collect DNA samples and voucher specimens of around 4,000 vascular plant species. Phylogenetic analyses using MIG-seq were conducted on approximately 300 species, resulting in the discovery of 112 new species and 20 new subspecies. Additionally, 61 species previously treated as synonyms or doubtful taxa were identified as independent species. A provisional assessment of Red List categories was made for these 193 species and subspecies, with 54% identified as threatened and potential candidates for designation as nationally endangered species. The findings showed that more new species were discovered than initially expected, highlighting the importance of continued taxonomic research.