

課題番号 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」

体系的番号: JPMEERF20204001

重点課題: 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

行政ニーズ: 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

研究代表者: 矢原徹一

研究実施期間: 2020～22年度(令和2～4年度)

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



研究代表者 矢原徹一

## 研究開発目的

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つ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

## 研究目標

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。

# 研究体制：サブテーマ1とサブテーマ2

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

全国360地点で野外調査を実施  
全種を識別して採集



試料の提供

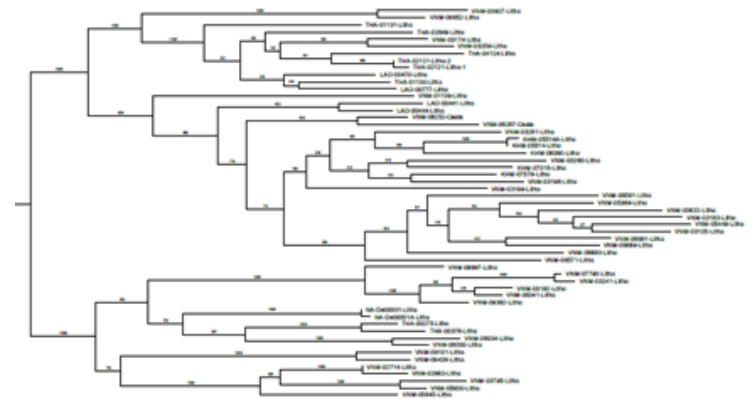


系統樹の提供

分類が困難な絶滅危惧植物を含む日本自生種の分類の網羅的再検討

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

ゲノム全体のDNA多型を利用したMIG-seq法による分子系統解析



3500種(日本自生種の70%)の次世代DNAバーコードデータの開発

最終目標: 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

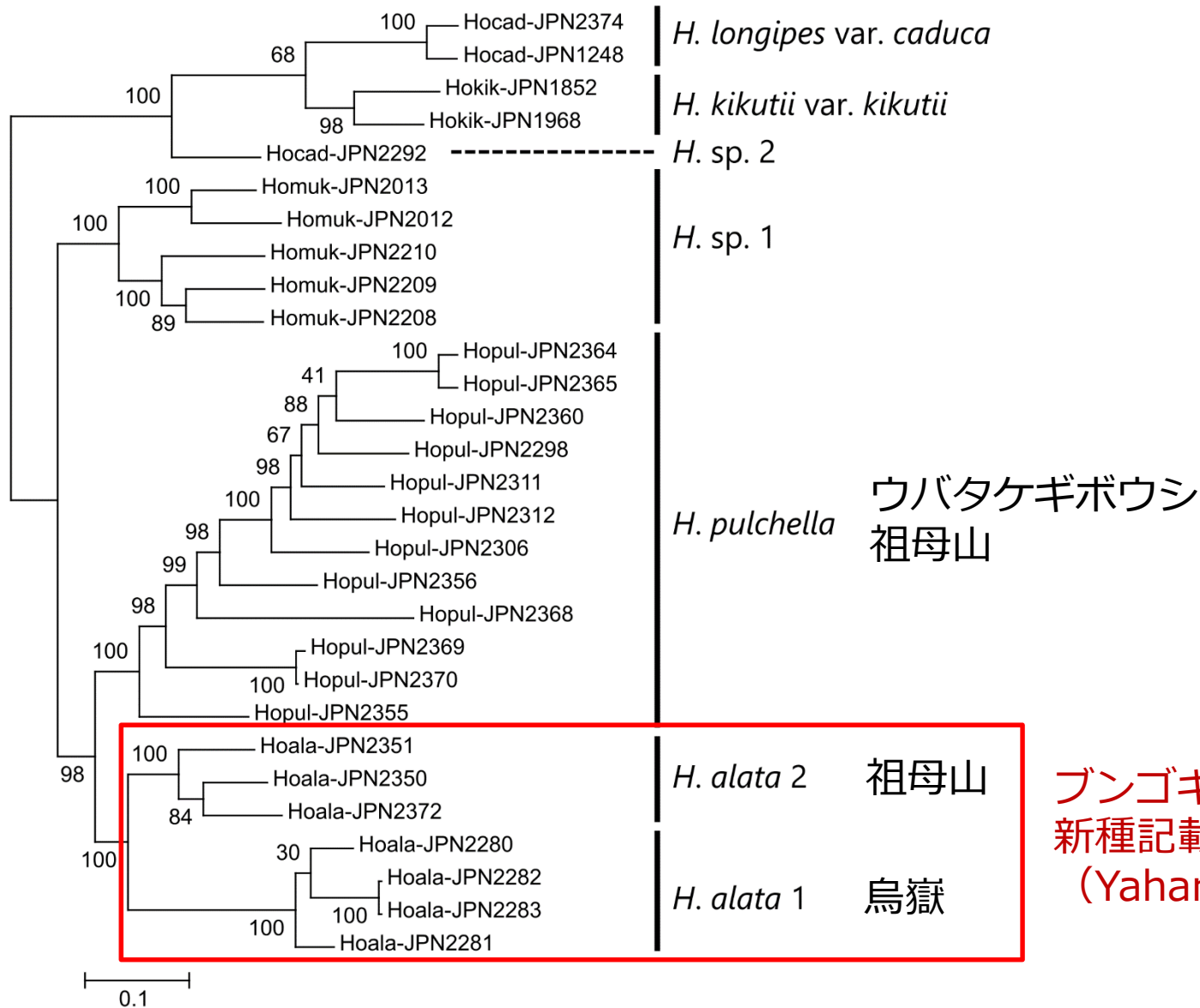
Scientific name: Asparagaceae *Hosta alata* Hatus. nom. nud.

Local name: ブンゴギボウシ (大分県RDB: EN、環境省RDB未掲載)

No. JPN2280 @Mt.Karasudake Bungo-oono City, Ooita, Japan



# ギボウシ属



ブンゴギボウシ  
新種記載論文を发表  
(Yahara et al. 2021)

# 四国産ギボウシ属4新種 2新亜種

トサノギボウシ (+変種ウナヅキ)

*H. tosana*  
(including var. *caput-avis*)

イワギボウシ

*H. longipes* var. *longipes*  
*H. longipes* var. *latifolia*

セトガワギボウシ

*H. takiminazukiflora* subsp. *grandis*

*H. sp.*

*H. sp.4*

オオバギボウシ

*H. sieboldiana*

タキミナズキギボウシ

*H. takiminazukiflora*

カムロギボウシ

*H. longipedicellata*

ナガサキギボウシ

*H. tibae*

シコクギボウシ

*H. shikokiana*

ガンザシギボウシ

*H. capitata*

ツシマギボウシ

*H. tsushimensis*

ミスギボウシ

*H. alismifolia*

*H. longissima*

*H. sieboldiana* x *sieboldii*

*H. sieboldii*

コバギボウシ

オヒガンギボウシ

*H. aequinoctiantha*

ウバタケギボウシ

*H. pulchella*

*H. alata* x *H. pulchella*

*H. alata*

*H. sp. 1*

*H. sp. 2*

ブンゴギボウシ

*H. kikutii*

*H. longipes* var. *caduca*

ヒユウガギボウシ

サイゴクイワギボウシ

ミナズキギボウシ

*H. samukazemontana*

サムカゼギボウシ

*H. scabrinervia*

ザラツキギボウシ

*H. densinervia* subsp. *polyneuronoides*

オクスダレギボウシ

*H. densinervia* subsp. *densinervia*

スダレギボウシ

*H. gracillima*

ヒメイワギボウシ

ナンカイギボウシ

*H. tardiva*

論文投稿中 (2022年12月22日~)  
保全対策を環境省と協議中

# 新分類群の発表

ノミノキンチャク



Yahara et al. 2021



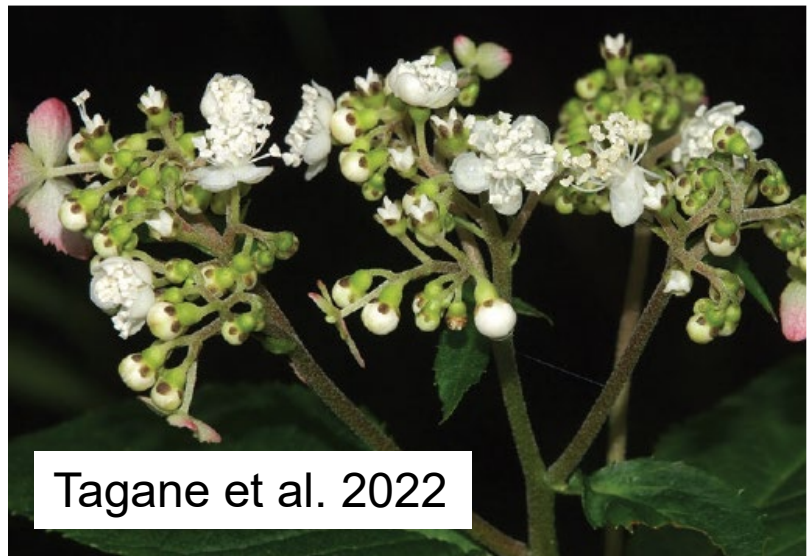
Hirota et al. 2022

ヤクシマルリアジサイ

カワラマンネングサ



Ito et al. 2023

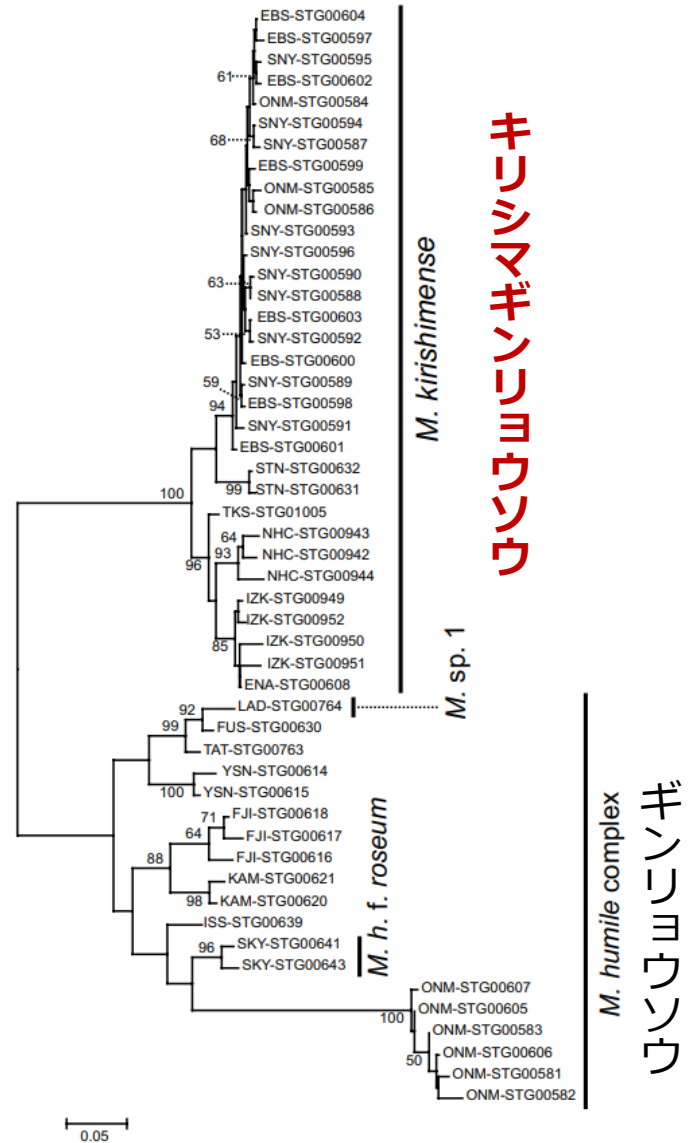


Tagane et al. 2022

キモツククサアジサイ

# 新種キリシマギンリョウソウの発表

## キリシマギンリョウソウの発表 Suetsugu et al. 2022

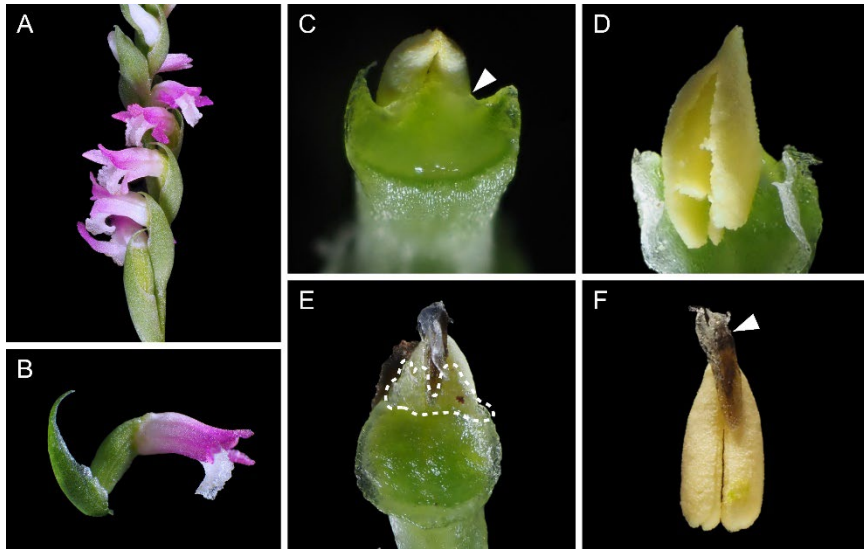




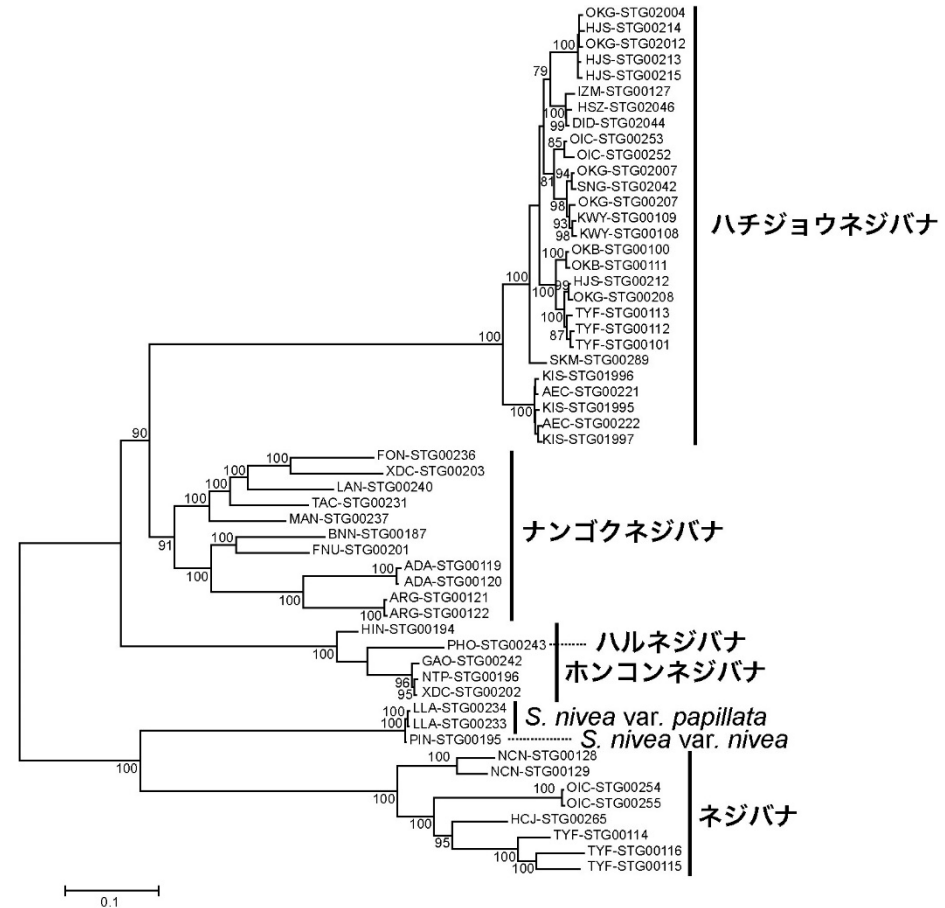
# 新種ハチジョウネジバナの発表

## ハチジョウネジバナの発表

Suetsugu et al. 2023



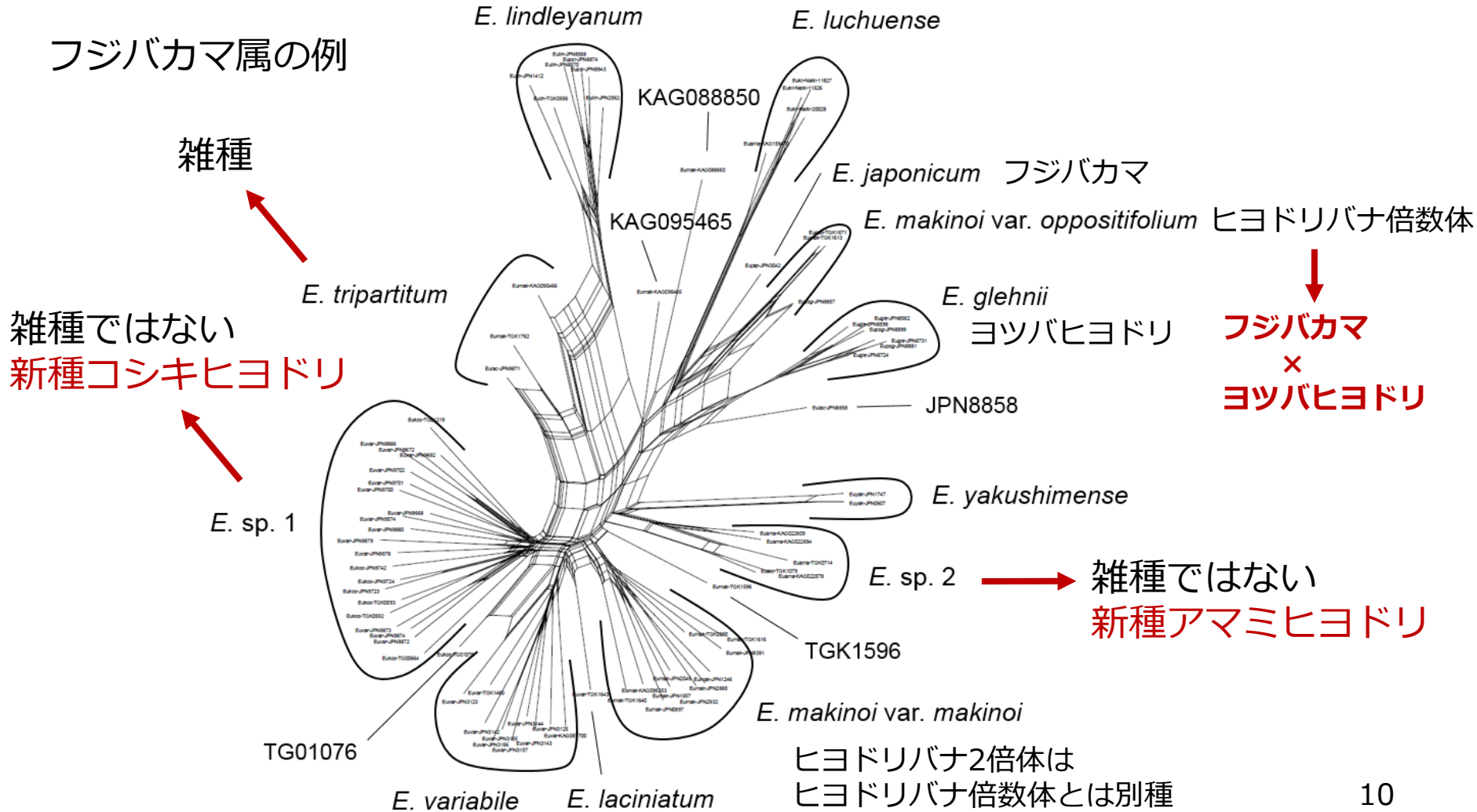
ハチジョウネジバナには小嘴体がなく、花粉と柱頭が接しており、自家受粉をする。  
ナンゴクネジバナには小嘴体（図Eの波線）があり、自家受粉が起こらない。



# 系統ネットワークの活用

二分岐の系統樹に加え、網状の進化を想定した**系統ネットワークを推定**することで交雑による進化の歴史を明らかにした

## フジバカマ属の例



# セントウソウは1種ではなく8種



ツクシセントウソウ 未記載種

ツシマセントウソウ  
未記載種 **CR**

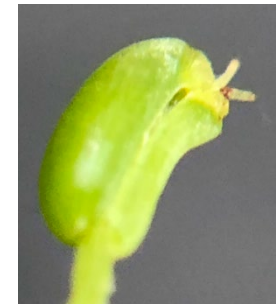
コシキセントウソウ  
未記載種 **EN**

ヒュウガセントウソウ  
未記載亜種

ヤクシマセントウソウ  
変種→独立種

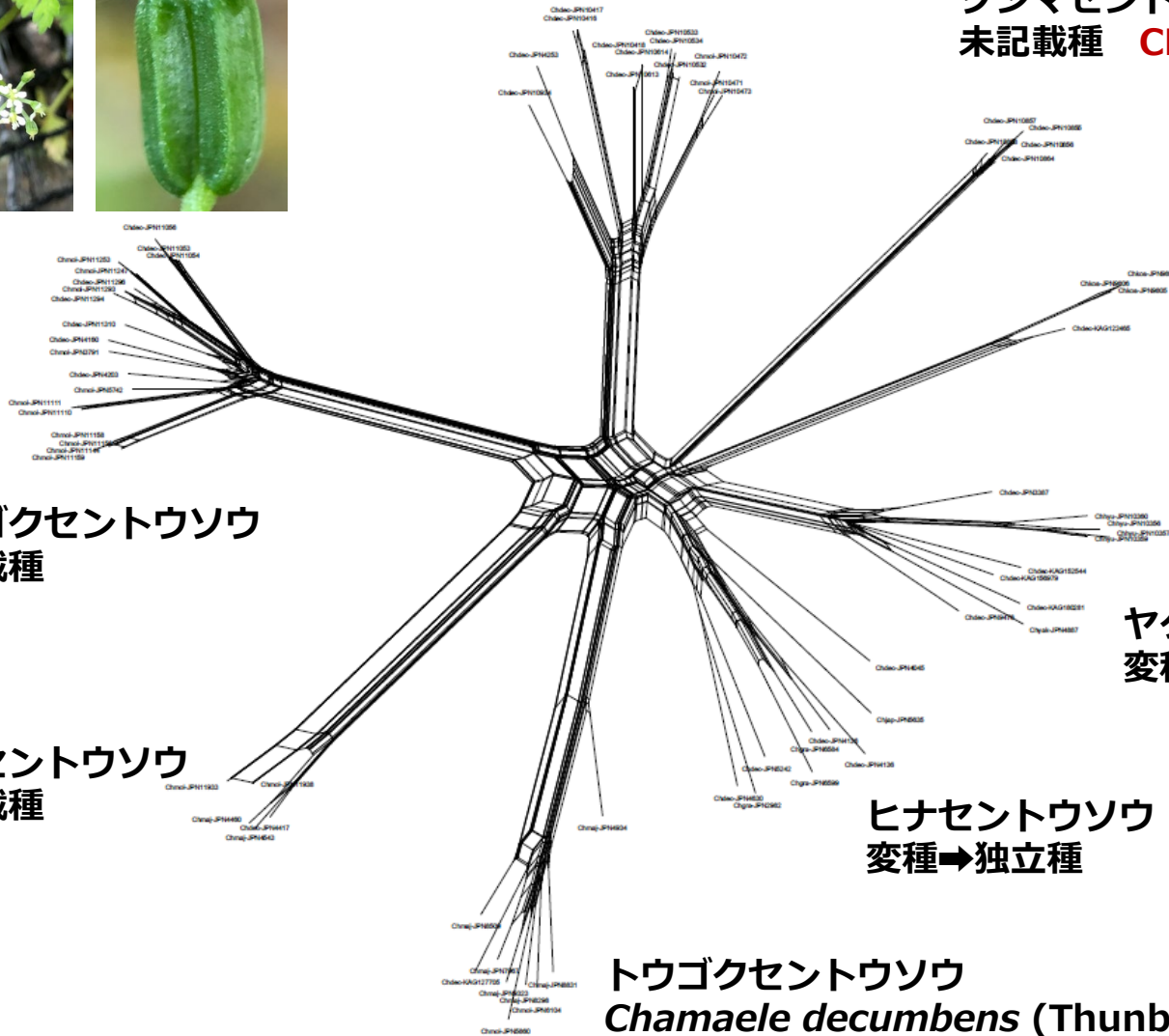
ヒナセントウソウ  
変種→独立種

トウゴクセントウソウ  
*Chamaele decumbens* (Thunb.) Makino



サイゴクセントウソウ  
未記載種

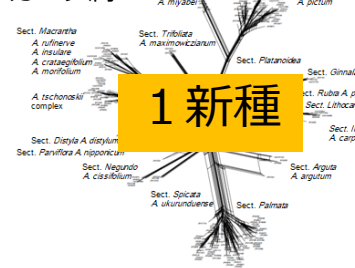
ギフセントウソウ  
未記載種



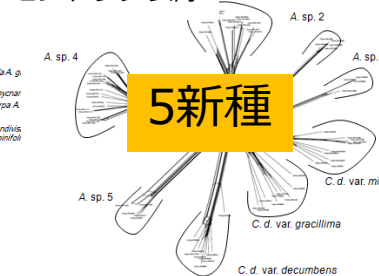
# 40属のMIG-seq解析で110新種20新亜種

## 40属のうち15属を例示

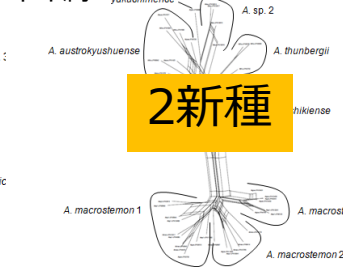
カエデ属



セントウソウ属



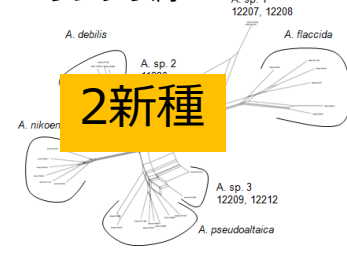
ネギ属



シシウド属



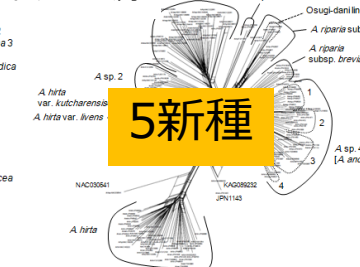
ニリンソウ属



ヨモギ属



トダシバ属



チャラン属



トウバナ属



キケマン属



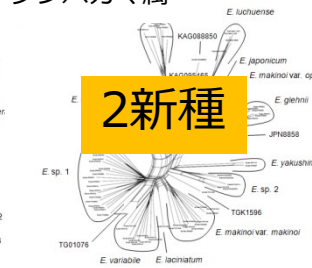
ウツギ属



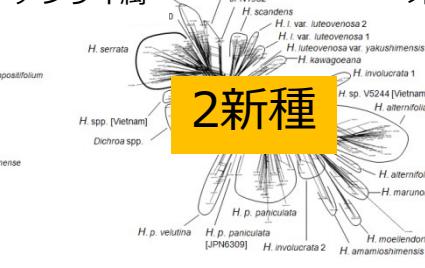
ウワバミソウ属



フジバカマ属



アジサイ属



オトギリソウ属



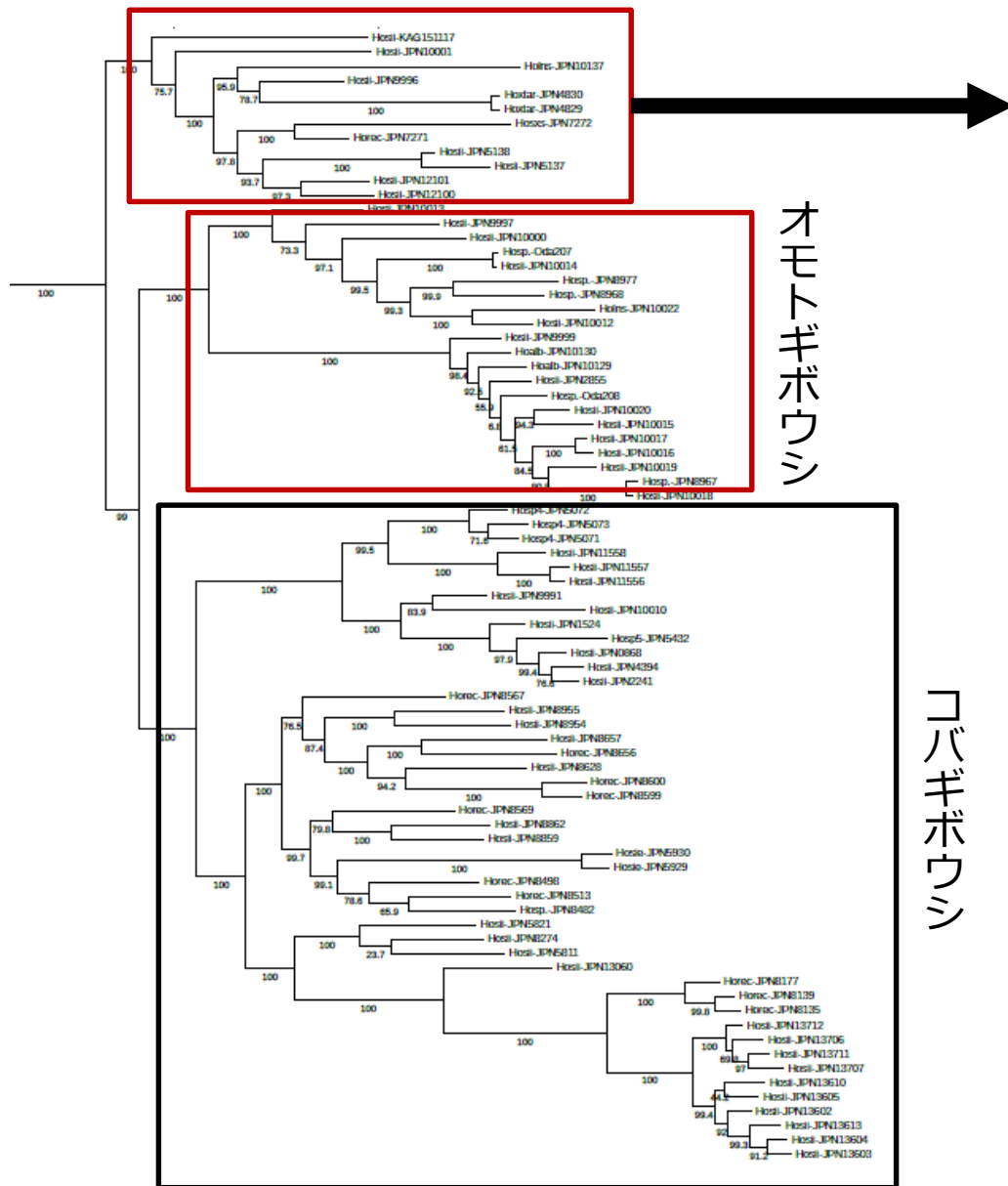
※112新種20新亜種のうち88新種17新亜種を報告

35属の分子系統解析（MIG-seq解析）により  
88新種17新亜種の発見を報告する論文

Shun K. Hirota<sup>1</sup>, Tetsukazu Yahara<sup>2</sup>, Hiroyuki Sato<sup>2</sup>, Kengo Fuse<sup>2</sup>, Shuichiro Tagane, Masatsugu Yokota, Akiyo Naiki, Takenori Shagawa, Mone Hirata, Chihiro Myotoishi, Firouzeh Javadi, Ai Nagahama, Hironobu Kanemitsu, Tadashi Minamitani, Seiko Fujii, Yasushi Kokami, Shungo Kariyama, Nami Mihara, Shigeaki Yatagai, Masahiro Hasegawa, Atsuko Takano, Asako Naito, Susumu Nakamura, Akio Watanabe, Masaaki Ozeki, Misako Kuroe, Ryoza Fujii, Mahoro Suzuki, Takahide Kurosawa, Yuki Ueno, Yuki Mizunaga, Kenji Horie, Wataru Onishi, Takashi Shiga, Daiki Takahashi, Yoshihisa Suyama<sup>1</sup>。

全国の調査協力者との共著論文。図が95枚あるので  
ページ制限がないオンライン誌 Plos One に投稿。

# 記載後に見過ごされている種の例



ムサシノギボウシ  
*Hosta clavata* F. Maek.  
**EN** (シカ採食の影響大)

# 絶滅危惧種・亜種（暫定評価の結果）

	CR	EN	VU	その他	絶滅危惧
新種	18	29	19	46	66(59%)
新亜種	2	4	1	13	7(35%)
再評価種	4	15	12	30	31(52%)

国内特定希少種候補104分類群

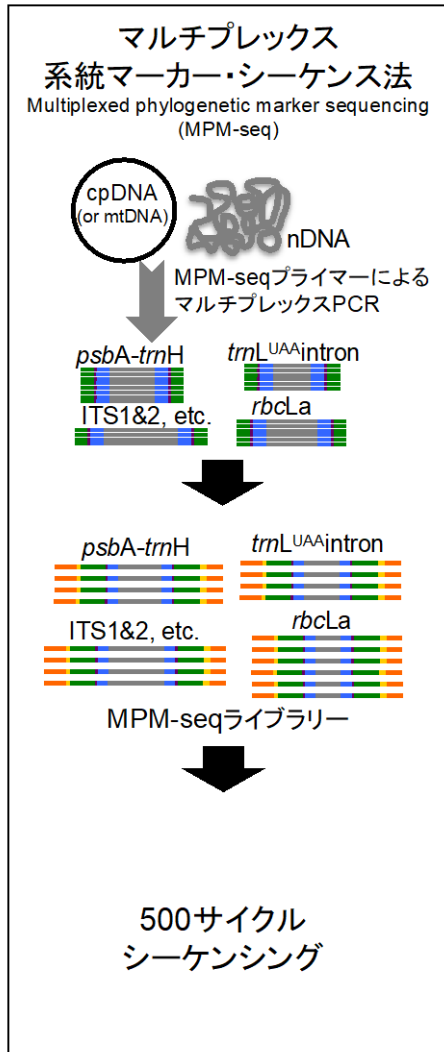
# 目標を大きくうわまわる成果をあげた

サブテーマ1 目標	達成状況
全国の <b>30</b> 以上の都道府県で 野外調査を実施	全国の <b>42</b> 都道府県で野外調 査を実施
維管束植物 <b>3500</b> 種のDNA 試料・証拠標本の採集	維管束植物 <b>約4000</b> 種の DNA試料・証拠標本の採集
<b>約300</b> 種について分類学的 再検討を実施	<b>約400</b> 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 <b>300</b> を選定	新種・新亜種・再評価種か ら <b>104</b> 種・亜種を選定
なし（ <b>約50</b> 種を想定）	<b>112</b> 新種・20新亜種 + 58再評価種

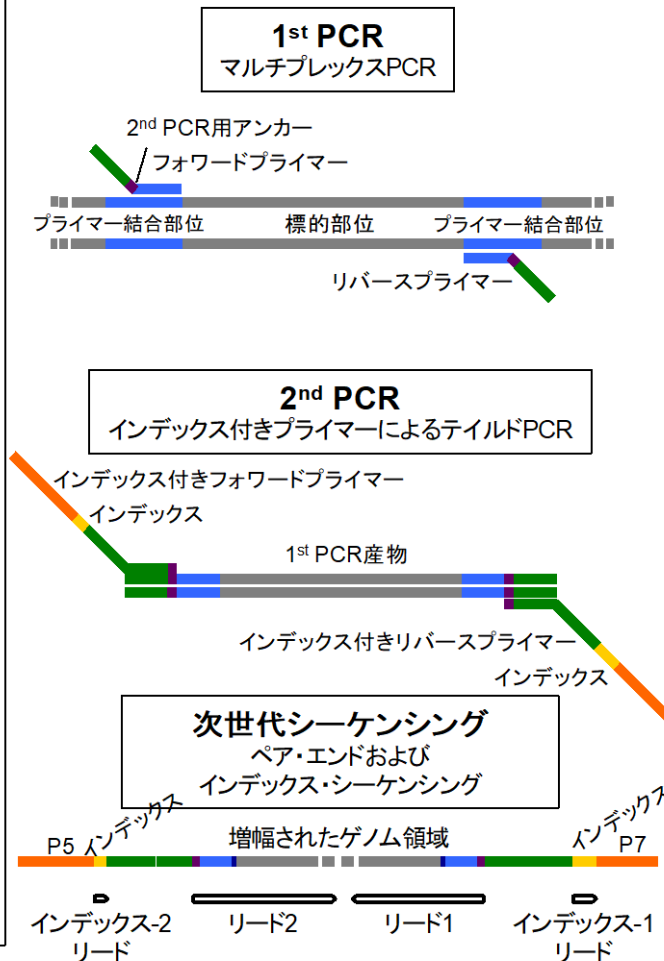


# サブテーマ2（陶山）：技術開発を完了

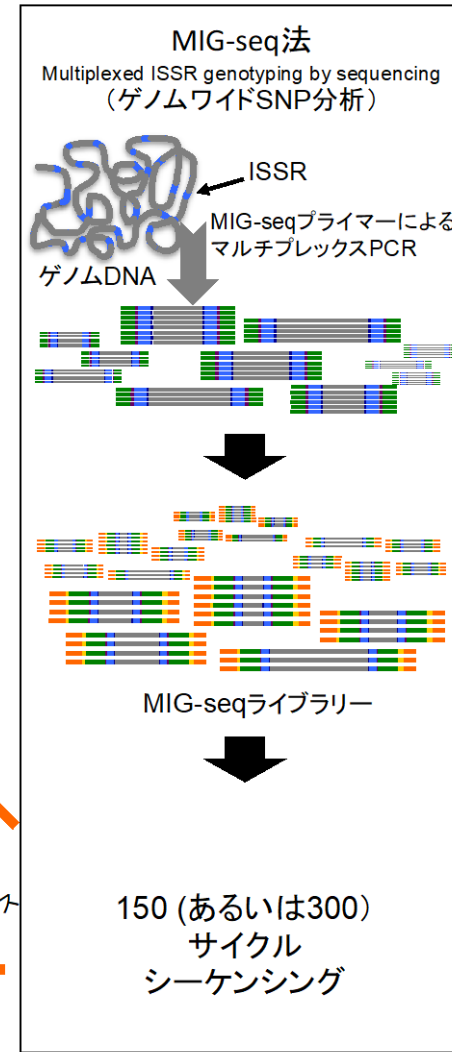
## 古典的バーコードの効率的配列決定



## PCRおよびシーケンシングの構造



## MIG-seq法の改良



# 目標をうわまわる成果をあげた

## サブテーマ2 目標

## 達成状況

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

MIG-seq法を改良して公表し、次世代DNAバーコーディング法としてサブテーマ1との共著論文で活用。新手法としてMPM-seq法を開発して公表。

3500種（**3500**サンプル）  
の分子系統樹を構築

1291種（**32177**サンプル）  
の分子系統樹を構築

野生品と栽培系統の区別が課題となっている種の簡易DNA識別マーカを開発

開発技術の適用事例として、アツモリソウ属の種について栽培品と野生系統の親子関係・クローン関係を解明。簡易DNA識別マーカの開発。

DNA塩基配列データベースを利用した種同定・検索システムを開発し公開

種同定検索システムを構築したが未記載種・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。

なし（約**50**種を想定）

**112**新種・20新亜種  
+ 58再評価種