

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：12604

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06149

研究課題名（和文）次世代シーケンサー導入による植物相調査の迅速化～ベトナム中部高原地帯を事例として

研究課題名（英文）Accelerating floral surveys by introducing next-generation sequencers ~ a case study of the central highlands of Vietnam

研究代表者

小栗 恵美子 (OGURI, Emiko)

東京学芸大学・教育学部・研究員

研究者番号：10608954

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ベトナム中部高原地帯ザライ省のKon Chu Rang自然保護区およびKon Ka Kinh国立公園で、ベルトトランセクト法による網羅的な維管束植物相調査を行い、DNAバーコーディングによる分子同定法と形態比較により、種を識別・同定した。野外調査は2019年8月と2022年12月に行い、計1,830点の標本を得た。2019年8月に採集したすべての標本について、葉緑体rbcLの部分配列を解読し、分子同定と形態比較により種同定を行った。その結果、Kon Chu Rang自然保護区において、Lasianthus（アカネ科）とLeptochilus（ウラボシ科）からそれぞれ新種を発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、種同定をより正確かつ効率よく行うために葉緑体rbcLのDNAバーコーディングを活用している。本研究により、限られた人員、予算、時間の中で、迅速かつ正確に維管束植物相の解明のためのワークフローを構築・提案できる。それは、本研究の現地共同研究機関であるベトナム生態学生物資源研究所が、将来的に、独自にベトナム全土の植生調査を進めていく際の標準的なワークフローとなり得る。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted an exhaustive survey of the vascular flora in the Kon Chu Rang Nature Reserve and Kon Ka Kinh National Park in Gia Lai Province, central highlands, Vietnam, using a standardized belt-transect method and characterized the vascular flora of the study area by using DNA barcoding and morphological comparisons to identify and characterize species. Field surveys in the Kon Chu Rang Nature Reserve and Kon Ka Kinh National Park were conducted in August 2019 and December 2022, obtaining a total of 1,830 vascular plant specimens. For all specimens collected in August 2019, partial chloroplast rbcL sequences were obtained and species identification was performed by molecular identification and morphological comparison. As a result, new species were discovered and described from *Lasianthus* (Rubiaceae) and *Leptochilus* (Polypodiaceae), respectively for the flora of Kon Chu Rang Nature Reserve.

研究分野：植物系統分類学

キーワード：植物多様性 植物分類 DNAバーコーディング 分子系統 ベトナム

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

ベトナムは、東南アジアのインドシナ半島東部に位置し、国土は南北に細長く、北は中国、西はラオス、南西はカンボジアと国境を接している。ベトナムはインド・ビルマ生物多様性ホットスポットの東端に位置し、生物多様性の豊かさは世界第16位を誇る (de Queiroz et al. 2013)。維管束植物はこれまで13,766種が確認されており (Canh & Hai 2010)、そのうち約10%が固有種 (Pilgrimm & Nguyen Duc Tu 2007)、約5%が絶滅危惧種 (IUCN 2012) であることが報告されている。維管束植物の種数に関しては、ベトナムの面積 (約33万km²) は日本 (約38万km²) より狭いが、倍近い種数が生育している。このように生物多様性が非常に豊かなベトナムには、21カ所の国立公園 (4カ所のASEAN遺産公園を含む) と51カ所の自然保護区が設置されている (Nguyen Huy Dzuug & Vu Van Dzung 2002)。

しかし、ベトナムはここ数十年の間で自国、あるいは国際的な市場において、動物・植物の取引における主要なハブ拠点になっており、(1) 絶滅の恐れのある生物の違法取引、(2) 近隣諸国への森林の輸出、(3) 食料や工業製品としての絶滅危惧種の過剰消費を活発化させているため、ベトナムの生物多様性は急激に損失した (Mott 2006)。このような現状の背景には、生物多様性がもたらす即時的換金性の高い生物資源への期待が先行する一方で、長期的な利益、すなわち生態系サービスに対する理解が国民の中に広まっていないことが挙げられる。

2000年に入り、ベトナム政府直轄の研究所や拠点大学などが関係省庁や地方自治体と連携して、生物多様性の解明と保全、生物資源の開発と適正管理に関する研究や実務に力を注いでおり、政府からの支援も得られるようになってきている。しかし、保全対象地域に目を向けると、わずかな人員と予算で維持管理し、対策を実施していかざるを得ない状況におかれている。そのため、「どこに、どんな植物がどれくらい生育しているか」という地域の植物相の保全に不可欠な基礎情報が決定的に不足している。実際に研究分担者の田金が2011年-2018年にかけてベトナムにおいて植生調査を実施したところ、調査に入るたびにその地域でいくつもの新種を発見している。

そこで、我々は、陸上生態系の「基本骨格」となる維管束植物相に着目し、ベトナムの中でも特に生物多様性保全の緊急度の高い中部高原地帯をモデル地域として、ベトナム科学技術院・生態学生物資源研究所、Kon Ka Kinh 国立公園、および Kon Chu Rang 自然保護区と共同で、維管束植物相を解明する研究を開始した。ベトナム中部高原地帯は、1990年代まで、主に天然林によって広く覆われていたが、それ以降、急激かつ無秩序に森林伐採・植林地への転換が進んだため、2001年に Kon Chu Rang 自然保護区、2002年に Kon Ka Kinh 国立公園が設定され、地域の自然が保護されるようになった。現在、ザライ省の森林局は、今後、Kon Chu Rang 自然保護区を国立公園に昇格し、隣接する Kon Ka Kinh 国立公園と「緑の回廊」でつなぎ、一体として保全する計画を立てているが、それを実現するための、生物多様性の基礎情報をほとんど持っていない状況である。

2. 研究の目的

(1) ベトナム中部高原地帯ザライ省の Kon Chu Rang 自然保護区および Kon Ka Kinh 国立公園をモデル地域として、ベルトトランセクト法による網羅的な維管束植物相調査を行い、次世代シーケンサー (NGS) を用いた分子同定法と形態比較により、種を識別・同定し、種分類体系を更新する。

(2) 近隣地域との植物相の比較を行うことで、中部高原地帯の維管束植物相に見られる特徴を明らかにし、系統地理学的要因について考察する。

3. 研究の方法

(1) 野外調査

2019年8月と2022年12月に Kon Chu Rang 自然保護区 (15,900 ha、最高標高1,452 m) と Kon Ka Kinh 国立公園 (41,780 ha、最高標高1,748 m) で2週間程度の野外調査を行った。

各調査地において100 m x 5 m のベルトトランセクトを設置し、区域内に出現する維管束植物を網羅的に記録し、証拠標本を採集した。採集した全サンプルについて、生態写真を撮影し、DNA 抽出用サンプルとして、各標本が



ら葉を数枚採取し、シリカゲルで乾燥させた。

(2) 維管束植物相の解明

DNA 抽出用サンプルから CTAB 法で DNA を抽出した。陸上植物の標準的バーコーディング領域である葉緑体 *rbcL* と *matK* の塩基配列を DNA シーケンサーにより解読した。得られた塩基配列を問い合わせ配列として、塩基配列データベースから相同性をもつ配列を検索し、科・属レベルで同定した。相同性検索の結果をもとに、詳細な形態観察にもとづき種を識別し、同定した。

得られたサンプルの一部の分類群については、NGS を用いた一塩基多型検出法である MIG-seq 解析により系統樹を構築し、属内系統を明らかにし、種分類体系を構築した。

4. 研究成果

2019 年 8 月の野外調査では、100 m x 5 m のベルトトランセクトを Kon Chu Rang 自然保護区（以下、KCR とする）で 1 本（N14.47531°, E108.53761°, 920 m alt.）Kon Ka Kinh 国立公園（以下、KKK とする）で 1 本（N14.21000°, E108.31644°, 905 m alt.）設置し、そこから維管束植物をそれぞれ 258 点（ベルトトランセクト外から採集したものを合わせると合計 469 点）188 点（ベルトトランセクト外から採集したものを合わせると合計 387 点）を採集した。

2022 年 12 月の野外調査では、100 m x 5 m のベルトトランセクトを KCR で 1 本（N14.47706°, E108.55009°, 1,030 m alt.）KKK で 1 本（N14.21272°, E108.32182°, 905 m alt.）設置し、そこから維管束植物をそれぞれ 224 点（ベルトトランセクト外から採集したものを合わせると合計 522 点）162 点（ベルトトランセクト外から採集したものを合わせると合計 444 点）を採集した。2022 年 12 月に採集した標本および DNA 抽出用サンプルは、2023 年 6 月現在、日本に輸入されておらず、今夏には標本等が届く予定である。

(1) Kon Chu Rang 自然保護区および Kon Ka Kinh 国立公園における科の共通性

2019 年 8 月に KCR および KKK で採集された維管束植物標本 856 点（KCR: 469 点、KKK: 376 点）について、保護区ごとに形態および葉緑体 *rbcL* のバーコーディングの結果にもとづいて科レベルで分類した結果、KCR では 102 科、KKK では 97 科からなることが示された。そして、KCR および KKK で共通して出現した科は 73 科、KCR あるいは KKK で見られた科はそれぞれ 29 科、24 科だった。これは、KCR と KKK の間の距離が約 12 km と近いこと、種の組成が似ていると考えられる。

KCR および KKK で最も多く採集された科はアカネ科で、KCR からは 49 点（KCR で採集されたすべての標本の 10.4%）KKK からは 36 点（KKK で採集されたすべての標本の 9.6%）が採集された。一方、KCR で 2 番目に多く採集されたものはクスノキ科の 47 点（KCR で採集されたすべての標本の 10.0%）に対して、KKK では 15 点（KKK で採集されたすべての標本の 4.0%）だった。そして、KCR で 3 番目に多く採集された科はハイノキ科の 19 点（KCR で採集されたすべての標本の 4.1%）に対して、KKK では僅か 4 点（KKK で採集されたすべての標本の 1.1%）だった。また、KKK で 2 番目に多く採集された科はショウガ科の 20 標本（KKK で採集されたすべての標本の 5.3%）で、KCR からは 11 点（KCR で採集されたすべての標本の 2.3%）が採集された。そして、KKK で 3 番目に多く採集されたものはバンレイシ科の 17 点（KKK で採集されたすべての標本の 4.4%）で、KCR からは 15 標本（KCR で採集されたすべての標本の 3.2%）が採集された。

(2) アカネ科、クスノキ科、ハイノキ科の DNA バーコーディングによる属・種の識別

KCR および KKK で採集したアカネ科植物 80 点（KCR: 46 点、KKK: 34 点）クスノキ科植物 62 点（KCR: 19 点、KKK: 4 点）およびハイノキ科植物 23 点（KCR: 19 点、KKK: 4 点）について、DNA を抽出し、葉緑体 *rbcL* の DNA バーコーディング領域を解読した。得られた塩基配列を問い合わせ配列として、塩基配列データベースから相同性検索を行い、相同性の高い種を上位 5 種、抽出した。相同性検索の結果を参考にして、アカネ科、クスノキ科、およびハイノキ科の植物標本について形態にもとづく属、あるいは種の同定を行った。その結果、属までの同定は 98.8%、種の同定は 43.6%（72 点 / 165 点）完了することができた。葉緑体 *rbcL* の DNA バーコーディングによる相同性検索の結果と本同定結果を照合させると、科レベルでは 90%以上、属レベルでは約 70%と高い識別能力があることが示されたが、種レベルでは約 15%とその能力は低かった。

ベルトトランセクト法では、すべての維管束植物を網羅的に採集し、種組成や出現頻度を明らかにする方法であるため、この方法で採集された標本の多くは、花序あるいは果実が付いていないものであった。被子植物の種同定では、特に花序の形質が重要であるため、形態形質にもとづく同定は困難であった。

(3) 東～東南アジアに分布する *Diplospora* 属（アカネ科）の系統解析

我々のこれまでのインドシナ地域における維管束植物相調査において、ベトナム・ラムドン省の Bidoup-Nui Ba 国立公園で新種と思われるアカネ科の植物を発見した。そこで新種

記載にあたり、東アジアから東南アジアに分布する本属植物 (KCR で採集した *Diplospora* 属植物 2 点を含む) について MIG-seq 解析により系統樹を構築し、属内系統を明らかにし、種分類体系を構築した。その結果、新種と思われるものは単系統群を示し、カンボジアおよびタイ産の本属植物と系統的に近いことが示唆された。現在は、系統樹の結果も併せて、新種記載を行っている。

(4) Kon Chu Rang 自然保護区で発見された新種

2019 年 8 月の KCR での野外調査で、新種を 2 種発見し、専門誌に発表した。

- ・ *Lasianthus konchurangensis* (アカネ科) (Ha et al. 2020).
- ・ *Leptochilus ornithopus* (ウラボシ科) (Fujiwara et al. 2023)

現在は、アカネ科の植物について新種記載を行っている。

近年、KCR からアカネ科の新種 *Ceriscoides glabra* (Binh et al. 2022) も報告されており、KCR にのみ分布する新種の報告が相次いでいる。このように、KCR は KKK には生育していない希少な種を多数含んでいる可能性があるため、少なくとも KCR の保護レベルを自然保護区以上に格上げすべきであると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 FUJIWARA TAO, QUANG BUI HONG, TAGANE SHUICHIRO, MURAKAMI NORIAKI, OGURI EMIKO	4. 巻 584
2. 論文標題 Leptochilus ornithopus (Polypodiaceae), a new hemiepiphytic fern species from central highlands of Vietnam	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Phytotaxa	6. 最初と最後の頁 149 ~ 160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11646/phytotaxa.584.3.2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 HA THI DUNG, QUANG BUI HONG, TRAN THE BACH, DO HAI VAN, THANH HUONG NGUYEN THI, THU HA BUI, TAGANE SHUICHIRO, OGURI EMIKO, NAIKI AKIYO, DANG VAN-SON	4. 巻 451
2. 論文標題 <p>A new species of Lasianthus (Rubiaceae), L. konchurangensis, from the Central Highlands of Vietnam</p>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Phytotaxa	6. 最初と最後の頁 161 ~ 168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11646/phytotaxa.451.2.6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 小栗恵美子・石坂あゆみ	4. 巻 49
2. 論文標題 小笠原諸島固有種ムニンヒサカキの保全に関連した生育状況	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 小笠原研究	6. 最初と最後の頁 169 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小栗 恵美子	
2. 発表標題 海洋島に自生する固有種の地理的起源と性表現の進化	
3. 学会等名 日本植物分類学会第85回大会（八王子）	
4. 発表年 2021年	

1. 発表者名 小栗恵美子、田金秀一郎、須貝杏子、陶山佳久、Bui Hong Quang
2. 発表標題 ベトナム中部高原地帯における維管束植物の多様性評価
3. 学会等名 日本植物分類学会第19回大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田金 秀一郎 (TAGANE Shuichiro) (10616080)	鹿児島大学・総合科学域共同学系・准教授 (17701)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	陶山 佳久 (SUYAMA Yoshihisa) (60282315)	東北大学・農学研究科・教授 (11301)	
研究協力者	須貝 杏子 (SUGAI Kyoko) (20801848)	島根大学・学術研究院農生命科学系・助教 (15201)	
研究協力者	藤原 泰央 (FUJIWARA Tao) (40932330)	独立行政法人国立科学博物館・分子生物多様性資料センター・特定非常勤研究員 (82617)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	永濱 藍 (NAGAHAMA Ai) (00964652)	独立行政法人国立科学博物館・植物研究部・研究員 (82617)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
ベトナム	ベトナム生態学生物資源研究所		