

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：31308

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06322

研究課題名(和文) マメ科ハギ属の在来・外来集団の識別と分類学的再検討へのMIG-seq法の適用

研究課題名(英文) Application of MIG-seq analysis to distinguish native and exotic populations of *Lespedeza* (Leguminosae) and to taxonomic revision

研究代表者

根本 智行 (Nemoto, Tomoyuki)

石巻専修大学・理工学部・教授

研究者番号：50228293

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：日本産マメ科ハギ属の種を中心に、遺伝的変異をゲノム全体にわたり網羅的に解析できるMIG-seq法による系統解析を行った。それぞれの種は系統的にまとまった。しかし、ミヤギノハギ(広義)の種内分類群はそれぞれが系統的なまとまりを示し、種子形態の違いも加わり、ミヤギノハギ(広義)あるいはタイワンハギ(広義)とする見解を支持しなかった。また、園芸種は、ビッチュウヤマハギとケハギの雑種起源である可能性が示唆された。自然分布域外のハギ類の多くは自然分布域集団と系統的につながったが、一部、系統的に独立した外来らしき集団を検出した。サツマハギやクロバナキハギでは、隔離分布する集団間で遺伝的な相違が検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、日本産マメ科ハギ属の種を中心に、多数の個体を材料に、遺伝的変異をゲノム全体にわたり網羅的に解析した最初の研究である。少数の遺伝子領域を用いたこれまでの系統解析とほとんど矛盾しない結果が得られたと同時に、さらに詳細で解像度の高い系統関係を明らかにした。この結果は、ミヤギノハギ(広義)の種内分類群の系統的な独立性を支持し、ミヤギノハギやシロバナハギといった園芸種については、ケハギとビッチュウヤマハギが関与する雑種起源の可能性を示唆した。また、道路法面緑化を目的に本来の分布域外に導入されている由来や分類の不確かなハギ類についても、国内外来種・外国産在来種の判定および系統学的帰属を解明した。

研究成果の概要(英文)：Phylogenetic analyses focusing on Japanese species of *Lespedeza* (Leguminosae) were performed using the MIG-seq method, which allows comprehensive analysis of genetic variation across the entire genome. Most species formed clusters within each other. In *L. thunbergii* s.l. each intraspecific taxon showed a phylogenetic unity as an independent species. These results and seed morphology found did not support such taxonomic treatments as *L. thunbergii* s.l. or *L. formosa* s.l. It was also suggested that the horticultural species may have originated as a hybrid between *L. thunbergii* subsp. *patens* and *L. thunbergii* subsp. *thunbergii* f. *angustifolia*. Many *Lespedeza* species outside their natural distribution range were phylogenetically connected to populations in their natural distribution range, but in some cases, independent lineages seemingly exotic were detected. In addition, genetic differences were detected between isolated populations of *L. thunbergii* subsp. *satsumensis* and *L. melanantha*.

研究分野：植物系統分類学

キーワード：マメ科 ハギ属 ヤマハギ亜属 MIG-seq解析 ミヤギノハギ(広義) ビッチュウヤマハギ ケハギ 国内外来種

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。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本各地の道路法面で、在来種と同種あるいは近縁種とされるマメ科ハギ属植物やコマツナギ属植物の導入・帰化が各地から報告されていた。これらの種の中には「外来種」の他に、「外国産在来種」が含まれている可能性があり、この場合、国内在来種との識別は困難となり、在来植物集団への遺伝的な攪乱も懸念される。本研究では、国内で分布に地域的偏りがあり、本来の分布域集団とそれから外れている国内外来集団とを容易に特定できるミヤギノハギ(広義)に着目した。また、ミヤギノハギ(広義)には種内分類群の取り扱いに見解の相違が多く、分類学的課題も抱えている。これらの課題解決には、全ゲノムを網羅的に解析することができ、SNP(1塩基多型)の情報量が格段に多く得られ、解像度のより高い系統解析が可能なMIG-seq法(Suyama and Matsuki 2015; Suyama et al. 2022)が有効と考えられる。

2. 研究の目的

- ①ハギ属全体についてMIG-seq解析を行い、分類群間の系統関係を明らかにする。
- ②ミヤギノハギ(広義)の国内在来種と外国産在来種の識別の可能性の検討、在来種の分布域内集団と域外集団の比較を行う。
- ③ミヤギノハギ(狭義)をはじめ、園芸種の起源となった野生種候補を推定する。
- ④形態形質も加え、ミヤギノハギ(広義)の分類学的再検討を行う。

3. 研究の方法

(1)材料:すでに解析を進めていた東日本(宮城県、福島県、新潟県、長野県)および西日本の一部地域(愛知県、三重県、滋賀県、京都府、兵庫県、岡山県)の試料・標本に加え、2021年度は九州(福岡県、佐賀県、熊本県、鹿児島県)でビッチュウヤマハギ、サツマハギを中心に109個体、新潟県からケハギを中心に51個体;2022年度は四国(徳島県、高知県)からビッチュウヤマハギを中心に96個体、鹿児島県からサツマハギを中心に140個体、山形県からケハギを中心に35個体;2023年度は熊本県および愛知県からクロバナキハギを中心に計30個体、富山県、岐阜県、石川県、福井県から54個体の試料・標本を収集した。

(2)方法

①MIG-seq解析

- ・DNA抽出:シリカゲル乾燥品をビーズ破砕機(μ T-12、タイテック)で粉碎後、DNA抽出キット(NucleoSpin Plant II, MACHEREY-NAGEL)を使用して、全DNAを抽出した。
- ・MIG-seq解析:Suyama and Matsuki (2015)、Suyama et al. (2022)に従い、配列を解析した。シーケンスした全サンプルを使い、最尤系統樹の構築とNeighbor-Net解析を行った。

②花粉染色性

サツマハギおよび近隣のハギ属数種について、染色液(ラクトフェノール・コットンブルー, Radford et al. 1974)を用い、花粉粒の染色性を観察した。

③種子形態

ビッチュウヤマハギおよびケハギの種子形態を樹脂切片(Technovit7100, Kulzer)を作製、トルイジンブルーOで染色し観察した。

4. 研究成果

(1)ハギ属全体へのMIG-seq解析の適用

ハギ属の2つの亜属、ハギ亜属(北アメリカ産種)とヤマハギ亜属(アジア産種)のMIG-seq解析の結果、アジア産種と北アメリカ産種では共有するSNPが少なく、同時に解析することができないことがわかった。しかし、それぞれの地域内の種間で系統解析を行った結果、各種はそれぞれクラス

ターを形成することが判明した。アジアに分布するシベリアメドハギ節では、染色体数 $2n=22$ と $2n=20$ の種群がそれぞれクラスターを形成し、節レベルの分類を支持した。MIG-seq法はこれまでの複数の遺伝子領域を用いた分子系統解析結果とも一致しており、MIG-seq法の有効性が確認できた。

(2) ヤマハギ亜属ヤマハギ節

① ミヤギノハギ(広義)の種内分類群

台湾ハギ、ケハギ、ミヤギノハギ(狭義)、ビッチュウヤマハギ、サツマハギはそれぞれがクラスターを形成し、系統的なまとまりを示した。しかし、ミヤギノハギ(広義)や台湾ハギ(広義)とする見解は支持せず、それぞれを独立種とする見解を支持した。

② ミヤギノハギ(広義)の園芸種

Neighbor-Net解析の結果、ミヤギノハギ(広義)の園芸種のほとんどがビッチュウヤマハギとケハギのクラスターの間中に位置し、両分類群の雑種起源である可能性が示唆された。

③ ビッチュウヤマハギの自然分布域外集団

ビッチュウヤマハギの国内での自然分布域を、Akiyama(1988)に従い、愛知県、岐阜県、福井県以西、九州北部までとし、それ以外の地域の集団は自然分布域外と見なしてMIG-seq解析結果に産地をプロットした。ビッチュウヤマハギに2つのクラスターが形成され、自然分布域の個体は両方のクラスターに分かれた。一方、分布域外の集団も、両方のクラスターに含まれ、分布域内と域外とで系統的な識別はできなかった。しかし、一部(新潟県妙高市、京都府京都市)の集団は、国内の分類群のいずれとも系統的につながらない独立したクラスターを形成し、国内未確認種の外来種の可能性が示唆された。

④ サツマハギの分類学的再検討

サツマハギには、独立種とする見解、ニシキハギの変種、ミヤギノハギの変種あるいは亜種、ビッチュウヤマハギの変種、ミヤギノハギ(広義)や台湾ハギ(広義)の亜種とする見解が提案されてきた。MIG-seq解析の結果は、独立種とする見解を支持した。また、薩摩半島集団・黒島集団と甬島列島集団とが別のクラスターを形成した。

薩摩半島ではサツマハギとキハギの雑種(Akiyama and Ohba 1983)やマルバハギとの中間型(丸野 2014)が報告されていることから、サツマハギの識別形質である花部形態、花序軸および茎の毛、小葉上面の毛の比較に加え、花粉の染色性(稔性指標の1つ)を検討した結果、サツマハギあるいは雑種と同定できる個体を判別することができた。特に、花部形態で交雑が疑わしい個体では、花粉染色性も低下する傾向が確認できた。また、甬島列島集団では花粉染色性の低下が目立っており、近接する種との交雑の影響が示唆された。このことが、薩摩半島との遺伝的な差につながっている可能性がある。

⑤ クロバナキハギにおける地理的変異

クロバナキハギは、朝鮮半島(韓国南部山地頂上付近)、日本(対馬、熊本県、愛知県)に隔離分布する種である。MIG-seq解析の結果、クロバナキハギは系統的なまとまりをもち、ヤマハギにより近縁であることが示された。また、五木村(熊本県)と新城市(愛知県)の集団間に遺伝的な差異がみられ、隔離分布により遺伝的分化が生じていることを示唆した。

(3) ビッチュウヤマハギとケハギにおける種子の形態および解剖学的比較

種子の形態・解剖学的特徴にもビッチュウヤマハギとケハギを識別する新たな形質を見いだした。両者は、種子の大きさや厚み、へその大きさが全く異なる。また、種皮の組織構造でも、長形厚壁異形細胞(macrosclereid)からなる柵状細胞層、骨状厚壁異形細胞(osteosclereid)からなる柱状細胞層に解剖学的相違点が見つかり、MIG-seq解析の結果を支持している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 根本智行・松尾 歩・廣田 峻・陶山佳久
2. 発表標題 MIG-seq法を用いたマメ科ハギ属の系統解析
3. 学会等名 日本植物分類学会第22回大会（千葉大会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 根本智行・佐々木 凌・丸野勝敏・田金秀一郎・松尾 歩・廣田 峻・陶山佳久
2. 発表標題 MIG-seq法を用いたマメ科ハギ属の系統解析(2): サツマハギの分類学的再検討
3. 学会等名 日本植物分類学会第23回大会（仙台大会）
4. 発表年 2024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	松尾 歩 (Matsuo Ayumi) (90868754)	東北大学・農学研究科・助教 (11301)	
研究分担者	陶山 佳久 (Suyama Yoshihisa) (60282315)	東北大学・農学研究科・教授 (11301)	

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	廣田 峻 (Hirota Shun)		
研究協力者	丸野 勝俊 (Maruno Katsutoshi)		
研究協力者	田金 秀一郎 (Tagane Shuichiro)		
研究協力者	渡邊 将人 (Watanabe Masato)		
研究協力者	佐藤 知輝 (Sato Tomoki)		
研究協力者	佐々木 凌 (Sasaki Ryou)		

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
---------	---------