

# 次世代 DNA バーコードによる南アルプス固有新種の探索

片岡 利文 (東京都立大学 牧野標本館)

## 1 研究の背景

日本列島には、キク科ヤマハハコ属 (*Anaphalis*) の 3 種、すなわちヤマハハコ、ヤハズハハコ、タカネヤハズハハコが分布しており、南アルプス一帯にもこれら 3 種が生育している。タカネヤハズハハコ (*Anaphalis alpicola*) は、日本アルプス (北アルプスおよび南アルプス) や早池峰山 (岩手県) に分布し、さらに北海道の一部にも隔離分布しているが、その分類学的取扱いにはいくつかの課題が残されている。タカネヤハズハハコには複数の異名が存在する。牧野 (1903) は *Anaphalis alpicola* として本種を最初に記載し、中井 (1930) および原 (1938) も同様にこの学名を採用した。一方で、清水 (1982) および邑田・米倉 (2024) は、本種を *Anaphalis lactea* とし、ユーラシア大陸産の分類群と同一のものとして扱っている。このように、タカネヤハハコが日本固有の分類群であるのか、あるいはユーラシア大陸産の分類群と同一であるのかについては、これまで明確な結論が得られていなかった。そこで本助成研究では、(1) 日本産タカネヤハズハハコがユーラシア大陸産の *A. lactea* と区別されるのか、(2) 南アルプスに生育するタカネヤハズハハコが分類学的に独立した存在であるのか、という 2 点について、分子系統解析学的手法を用いて検討した。

## 2 研究の方法

野外調査を行い、タカネヤハズハハコの生育地である本州の北アルプス、南アルプス、早池峰山、ならびに北海道の坊主山およびアポイ岳から、DNA 解析用の葉サンプルを採取した。植生への影響を最小限に抑えるため、解析には必要最小限のサンプル数を用いたが、各集団につき少なくとも 1 個体の証拠標本を採集し、標本として保存した。DNA 解析用の葉はシリカゲルにより乾燥させた。DNA は改良 CTAB 法により抽出し、核リボソーム DNA 領域である ITS および ETS を PCR により増幅し、塩基配列を決定した。得られた配列は DDBJ に登録した。系統解析には、ITS および ETS の結合配列を用い、GenBank から取得した既存配列を含めて解析を行った。配列のアラインメント後、最適な置換モデルを選定し、ベイズ推定法および最尤法の 2 手法により系統樹を構築した。さらに、*de novo* による SNP 検出を目的として MIG-seq 法を用いた。ライブラリーは既報の手法に従って作製し、Illumina MiSeq によりシーケンスを行った。得られた配列データは品質管理を行った後、Stacks を用いて SNP を検出した。SNP データは、低カウントアリアル、過剰なヘテロ接合度、低ジェノタイピング率を基準とする三段階のフィルタリングによって精選した。解析には、最尤法による系統樹推定、Neighbor-net ネットワーク解析、集団間 *F<sub>st</sub>* の算出、および ADMIXTURE による集団構造解析を用いた。

## 3 研究の成果

ITS および ETS 領域に基づく最尤系統解析の結果、本州の集団である狭義タカネヤハズハハコ (*Anaphalis alpicola* s.str.) と北海道の集団は、強い支持値のもとで単一のクレードを形成し、両者はそれぞれ明瞭なサブクレードとして区別された。一方、*A. lactea* は中国産 *A. souliei* と姉妹群を形成し、他の大陸アジア産種とともに別系統を構成した。これにより、*A. lactea* は *A. alpicola* s.str. および北海道集団からなるクレードとは近縁ではないことが示された。MIG-seq 法により SNPs を用いた解析を行った結果、本州の集団と北海道の集団との間には高い遺伝的分化が認められ、各分類群内の遺伝的分化は低かった。Neighbor-net 解析および最尤系統樹解析のいずれにおいても、両分類群は明瞭に分かれた 2 つのクラスター／クレードを形成し、最尤系統樹ではいずれも 100% の支持を受けた。ADMIXTURE 解析では  $K=2$  が最適とされ、2 つの遺伝クラスターはそれぞれ本州の集団と北海道の集団に対応した。以上の結果から、南アルプスにも生育するタカネヤハズハハコは日本固有の分類群であることが示され、特に一部の地域集団は明瞭な遺伝的分化を示すことから、新種として記載した。

## 4 研究の意義と展望

南アルプスは、日本列島の中でも高山植物の地理的分化が顕著な地域であり、最終氷期以降の隔離と進化を理解するうえで重要な生物地理学的フィールドである。本研究は、南アルプスに生育するタカネヤハズハハコを含む広域サンプリングと分子系統解析を行うことで、南アルプス集団が日本固有の狭義タカネヤハズハハコに属することを明確にし、日本産ヤマハハコ属の分類学的整理に貢献した。また、南アルプスは山塊間の分断が顕著で、集団の遺伝的分化が進行しやすい地域である。本研究の成果は、日本の高山植物における地域分化の理解を深化させるとともに、南アルプス地域の生物多様性評価や保全方策の科学的基盤を提供するものである。