

山野草の保全遺伝学的研究：カンアオイ属ウスバサイシン節での事例

筑波大学山岳科学学位プログラム 1年 ○ 新^{あたらし} 真澄^{ますみ}
東北大学植物園 伊東^{いとう} 拓朗^{たくろう}
長野県環境保全研究所 尾関^{おせき} 雅章^{まさあき}
東北大学植物園 牧^{まき} 雅之^{まさゆき}
筑波大学MSC菅平 津田^{つただ} 吉晃^{よしかき}

要旨

日本の国土の多くは、陸上生物多様性の中心となる森林と、生物多様化の舞台として重要な山域が重なり合ったような環境から構成されています。日本の生物多様性に言及するうえで欠かせないこれらの地域に主に分布する植物を指して山野草と呼ぶことがあります。本研究ではこの山野草の中からウスバサイシン節に注目し、その遺伝構造を明らかにしました。また、結果に基づき、近年社会的にも注目の高まる生物多様性保全の推進に、国有林という環境を活用する方法について考察しました。

はじめに

近年のSDGsの広がりやCOP15の開催等が示す通り、社会的にも生物多様性を重視する傾向が高まっています。これを踏まえて日本の国土に目を向けると、世界の生物多様性ホットスポットの1つであること、またその多くが陸上における生物多様性の中心となる森林や生物の多様化の舞台として重要な山域から構成されていることが見えてきます。これらの要素から、日本の生物多様性およびその保全は非常に重要なものであり、これをテーマとするうえで適切な植物は森林・山域と関わりが深いものだと考え、本研究では山野草に注目することを決めました。山野草保全は、集団の存続に関して既に課題を多数抱える多くの山野草の維持にとって不可欠であるとともに、人間社会にとっても継続的な生態系サービスの提供といった大きなメリットをもたらす存在といえます。

本研究では山林を中心に全国的に分布するウマノスズクサ科カンアオイ属ウスバサイシン節に注目し、全国からウスバサイシン節の生葉・乾燥標本サンプルを収集し、1) 葉緑体DNAのSSRフラグメント解析に基づく遺伝構造の解明を行い、2) 遺伝構造評価の結果を踏まえ適切な保全策について検討します。特に保全策の検討については、国有林という環境をこれに活かさないかという視点での考察を行いました。

1 山野草の保全を推進すべき理由

山野草の保全を進めることで、人間社会は生態系サービスと呼ばれるサービスを無料で受けることができます。生態系サービスとは生態系から得られる恵みのことであり、TEEBの分類では供給サービス、調整サービス、生息・生息地サービス、文化的サービスの4つに分けられます(図1)¹⁾。山野草のもたらす生態系サービスについて具体的に考えると、植物自体や遺伝子を食料や薬用、観賞用として利用する供給サービスや、山野草およびそれを利用する生物により構成される特有の生態系全体を維持する生息・生息地サービスなどが挙げられます。多様な山野草の集団を保全することは将来的にもこれらのサービスが利用可能な状態を維持し続けることにつながり、人間社会にとってもメリットが大きいと言えます。

しかし現在、山野草は生息地および個体数の減少にさらされているものが少なくありません。土地開発などによる生息適地や個体数の減少¹⁾、売買や趣味を目的とした盗掘被害が減らないこと、シカなどによる食害の増加など、原因と考えられる要素も多数存在しています。山野草の多様性を維持するためには、これらの原因それぞれに適切に対処し、解決していく必要があります。

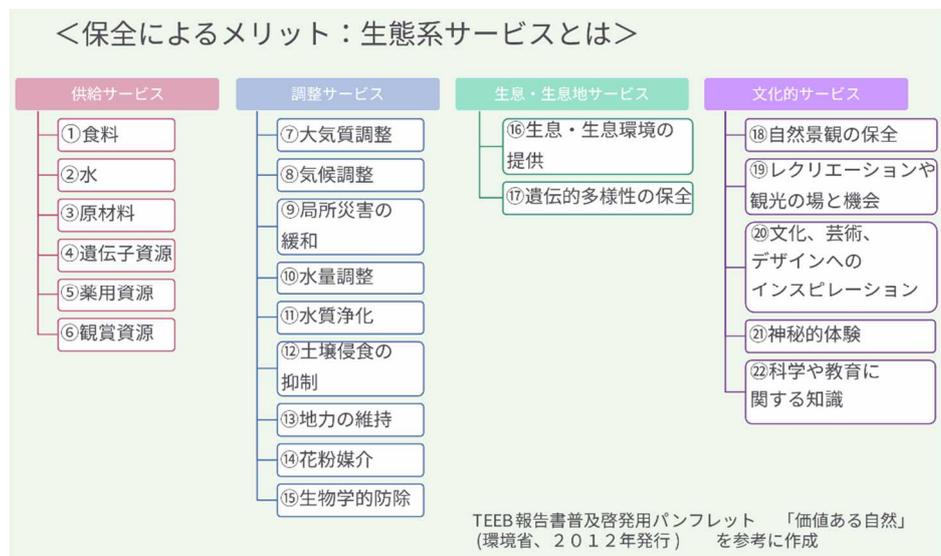


図1 生態系サービスの概要

また、観光客の過度な訪問を招いたり、私有地への侵入や無許可での採取をはじめとするマナーの悪い訪問客の存在が地域住民との間にトラブルを引き起こしたりなど、保全対策に取り組み始めた後にも課題が生じる可能性があります。保全推進を含め生き物と関わりながらの快適な生活を実現するためには、こうした問題の解決も不可欠と言えます。

2 研究対象について

本研究では、ウマノスズクサ科カンアオイ属に属するウスバサイシン節を対象としました。代表的な種はウスバサイシン (*Asarum sieboldii*) で、これは主にブナなど冷温帯林の林床に生息する草丈30cm程度の落葉性多年草です。花粉散布は藤田・藤山により自家受粉の可能性が指摘されており²⁾、種子散布については中西、前田によりそれぞれ近縁のカンアオイ類がアリや降雨を利用している³⁾、⁴⁾ことが示されていることから、ウスバサイシンも同様の様式をとっているものと推測されます。これらのことや実際の分布の様子(図2, 図3)から、ウスバサイシン節は移動分散の能力が低い分類群だと考えられます。



図2 近接する2個体のウスバサイシン
(長野県、高山村)



図3 点在するウスバサイシン
(長野県、筑波大学八ヶ岳演習林)

また、食用や園芸利用、漢方薬「細辛」の原材料としての利用など多様な面から供給サービスの提供元となっているほか、同じく絶滅危惧種指定を受け愛好家人気も高いヒメギフチョウの食草としても知られており、生息・生息地サービスや文化的サービスももたらしてくれるなど、保全によるメリットが大きい種群であると考えられます。一方で、インターネット上に市場が存在するほどの需要があること、マナーの悪い観光客や盗掘者等の存在、都道府県や環境省から絶滅危惧種として指定を受けていること⁵⁾、シカ等による食害事例の存在などから、ウスバサイシン節は個体数を減らす危険性にさらされており、保全が必要と判断できます。これらのことから、メリットの面でも課題の面でも、ウスバサイシン節の保全が重要だと考え、本研究の対象として適切であると考えました。

3 材料と方法

日本に分布するウスバサイシン節7種のうち、6種（ウスバサイシン、オクエゾサイシン (*A. heterotropoides* var. *heterotropoides*)、トウゴクサイシン (*A. tohokuense*)、ミクニサイシン (*A. mikuniense*)、クロフネサイシン (*A. dimidiatum*)、イズモサイシン (*A. maruyamae*)）から生葉144個体および乾燥標本85個体を収集し（表1、図4）、DNAサンプルを抽出しました。また、収集に際して、東北大学植物標本室、長野県環境保全研究所標本庫、筑波大学山岳科学センター菅平高原実験所から乾燥標本の貸借をさせていただきました。

抽出したDNAサンプルから、母性遺伝する葉緑体DNAのSSR (SSR; simple sequence repeat) に注目しました。SSRは塩基置換と比べて突然変異率が高いという特徴を持っており、詳細なハプロタイプを検出することが可能です。そのため本研究では、Weising and Gardner により開発された全植物に利用可能な葉緑体SSR10座⁶⁾のうち、予備実験において繰り返し配列の塩基数に多型が確認された4座に注目してハプロタイプ決定を行いました。また、ハプロタイプ決定の結果に基づき Bryant and Moultonの手法により Neighbor Net⁷⁾ を作成し、Meirmans and Hedrick の方法に従い F'_{ST} ⁸⁾ を計算することによって遺伝構造の評価を行いました。

表1 各種の生葉・乾燥標本のサンプル数をまとめた表

	生葉 (個体)	乾燥標本 (個体)
ウスバ	120	16
ミクニ	8	1
トウゴク	8	51
オクエゾ	8	13
クロフネ	0	2
イズモ	0	2

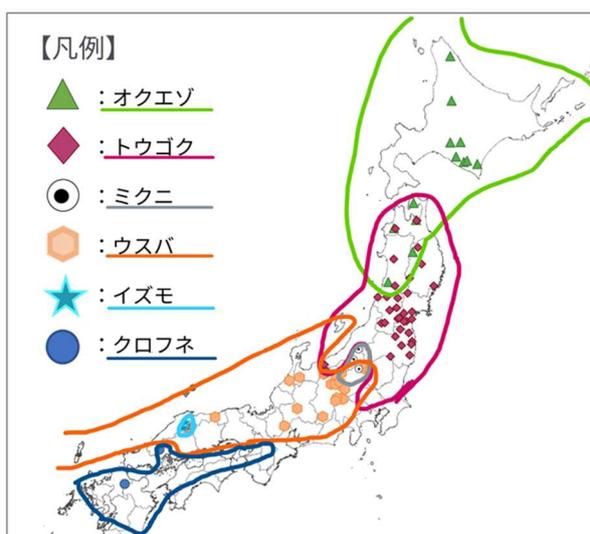


図4 各種のサンプル採取地点を示した地図 (線は種ごとのおよその分布域を示したもので、Yamaji et al., 2007を参考に作成)

4 結果と考察

ウスバサイシン節6種から、13のハプロタイプを検出しました（図5）。そのうち、4がウスバサイシンに、2がオクエゾサイシンに、2がトウゴクサイシンに固有のハプロタイプでした。

F'_{ST} は0～1の値をとり、1に近い値をとるほど分化が進んでいることを示すものです。これについては、6種平均で0.825と1に近い値をとったことから考えると、葉緑体DNAレベルでも種分化が進んでいるといえます。また、 F'_{ST} については、オクエゾサイシンとトウゴクサイシンなど特定の種間で値が小さくなる事例があり、その例では異種間でハプロタイプ共有という現象が起こっていることを確認しました（表2，図6）。この現象の存在から、これら2種の祖先種が既に複数のハプロタイプを持っていたという祖先多型か、これら2種の間で過去に交雑と戻し交配が繰り返されたことにより遺伝子が一方から他方に導入され広がっていく浸透交雑のいずれかが起こっていたことが示唆されました。

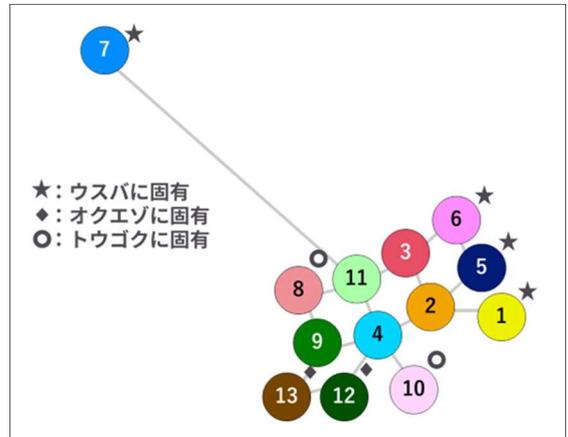


図5 実験の結果をもとに作成した Neighbor Net

表2 種間の F'_{ST} の値をまとめた表

	ウスバ	ミクニ	トウゴク	オクエゾ	クロフネ	イズモ
ウスバ	0.000					
ミクニ	0.953	0.000				
トウゴク	0.918	0.492	0.000			
オクエゾ	0.985	0.081	0.295	0.000		
クロフネ	0.984	0.000	0.265	0.000	0.000	
イズモ	0.164	1.000	0.530	0.805	1.000	0.000

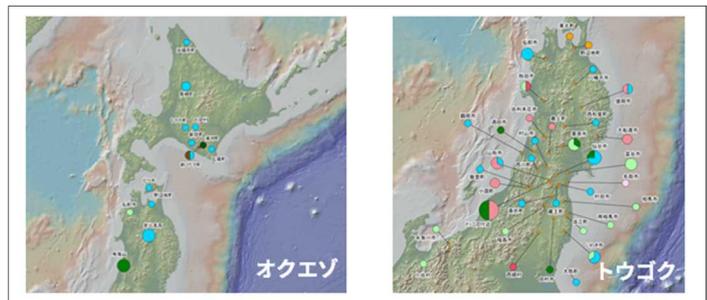


図6 種ごとにサンプル個体の採取地点と検出ハプロタイプを対応させた地図

ウスバサイシン1種に注目すると、7のハプロタイプを検出し、そのうち4が種に固有で、なおかつ局所的に分布するものであるという結果になりました。長野県の南部と北部でおおよそ異なるハプロタイプが分布する傾向がみられた（図7）ほか、固有ハプロタイプが検出されたうちの1地点である長野県高山村はFujii et al.、小山らによる先行研究からブナ (*Fagus crenata*) の太平洋系統の西北限地域である^{9), 10)}ことが示されており、本種のハプロタイプ分布に林冠構成種の分布変遷が影響している可能性が示唆されました。1地点から2個体以上のサンプルが得られた地点における F'_{ST} は平均0.817と高く、地域集団間の分化も進んでいることがわかりました。

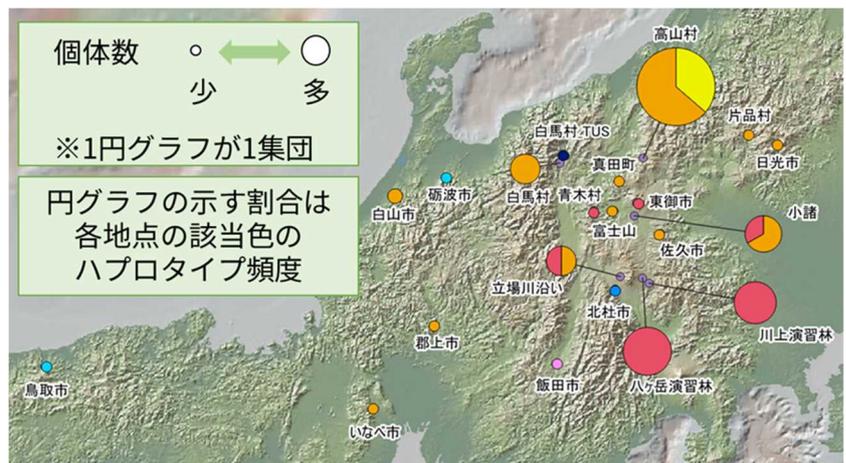


図7 ウスバサイシンのサンプル個体の採取地点と検出ハプロタイプを対応させた図

本研究の結果から、ウスバサイシン節には遺伝構造を踏まえた保全実施の必要性が高いといえます。ま

た、効果的な保全を進めるためには法的根拠を持つ保全策の策定も必要です。同時に、保全に関する情報を共有できるような環境の構築ができれば、ある地点で得られた情報を他の地点の保全実施の参考にすることも可能になり、全国的な保全の推進を手助けすることに繋がられます。

中部地域は、木本であるブナ、草本であるウスバサイシンなど複数の植物で域内に異なる系統が確認されていることから遺伝的多様性の高い保全上重要な地点と考えられ、域内に存在する国有林はこの貴重な遺伝資源を林内に抱えている可能性があります。また、森林に全く人手を入れずに放置すると遷移が進んでいきますが、これに対して国有林では継続的な管理がなされています。このことは、生育にある程度の定期的な攪乱を必要とする山野草の集団・系統の維持にとって望ましい影響を与える可能性があります。加えて、本研究の結果から、下層植生となる種が林冠構成種の分布変遷の影響を受ける可能性が示されました。このことから、林冠を形作る樹木を生産・収穫する林業において、その施業時の工夫が下層植生である山野草の個体数および系統の維持に好影響を与えるかもしれないと言えるのではないのでしょうか。これからますます生物多様性保全の重要度が高まると思われる昨今の状況から、国有林が木材という資源の獲得と生物多様性の保全とを両立できるような施業方法について積極的に発信していくことは、非常に有意義と言えるのではないかと考えました。

おわりに

日本産ウスバサイシン節7種中の6種において、計13のハプロタイプを検出し、種に固有のハプロタイプも複数検出されました。本研究にて対象とした6種では、葉緑体レベルでも種分化が進んでいるという結果が得られましたが、一部の種間では種分化の度合いを示す F'_{ST} の値が小さくなりました。これらの種間ではハプロタイプ共有が起こっており、これは祖先多型か浸透交雑のいずれかによるものである可能性があります。

ウスバサイシン1種に注目すると、7のハプロタイプを検出し、おおよそ長野県の南部と北部で異なるハプロタイプが分布する傾向が見られ、集団間の分化も進んでいました。固有ハプロタイプが検出された地点の1つである長野県高山村はブナ太平洋系統の西北限地域でもあり、本種のハプロタイプ分布が林冠構成種の分布変遷の影響を受けている可能性が示唆されました。

遺伝的多様性が高く保全上重要な地域と言える中部地方の生物多様性保全を進めるうえで、国有林は保全の拠点となり得る可能性を秘めています。既に林内に貴重な遺伝資源を内包している可能性があるほか、継続的な管理が行われていることから生育に攪乱が不可欠な山野草の集団・系統の維持にプラスの影響を与えている可能性があります。また、下層植生が林冠構成種の分布変遷の影響を受けることが示唆されたことから、林業施業時に工夫することで森林の下層に位置する山野草の保全も実現できる可能性があります。生物多様性保全の需要が高まる現状を踏まえると、国有林がこのような方法を積極的に発信することは非常に意義のあることだと言えるのではないのでしょうか。

本研究では、主に東日本に生育している種および個体を中心にサンプリングをしました。またサンプリング地点の中には、1地点につき1個体の標本に由来するデータしかないポイントも多く存在しています。これらのことから、今後の研究では西日本エリアの種や個体のサンプリングや、乾燥標本採取地点からの複数の生葉サンプルの取得などを通してサンプル数を拡充していくことが不可欠だと考えています。それから、より詳細な遺伝構造を明らかにし、ハプロタイプ共有の原因を探るためにも核DNAについてもデータ取得および分析を行う必要があると考えています。

末筆ではありますが、本研究を進めるにあたり多くの方々にご協力いただきました。お力添えくださったすべての方々に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 環境省. 価値ある自然 生態系と生物多様性の経済学：TEEBの紹介. 環境省自然環境局自然環境計画課生物多様性施策推進室, 2012, 16p.
- 2) 藤田・藤山. カンアオイ属4種の送粉様式. 日本生態学会大会講演要旨集. 2004, (J-STAGE), <https://doi.org/10.14848/esj.ESJ51.0.481.0>, (参照 2023-01-30)
- 3) 中西. 日本の暖温帯に分布するアリ散布植物. 日本生態学会誌. 1988, 38(2), p. 169-176. (J-STAGE), https://doi.org/10.18960/seitai.38.2_169, (参照 2023-01-30)
- 4) 前田. 奄美大島におけるカンアオイ類の分布と生活史. 鹿児島大学リポジトリ. 2013, (鹿児島大学), <http://hdl.handle.net/10232/20080>, (参照 2023-01-30)
- 5) 環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室. “【哺乳類】環境省レッドリスト2020”. 環境省. 2020. <https://www.env.go.jp/content/900515981.pdf>, (参照 2023-01-30)
- 6) Weising, K., Gardner, R. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome*. 1999, 42 (1), p. 9-19
- 7) Bryant, D. Moulton, V. Neighbor-net: an agglomerative method for the construction of phylogenetic networks. *Molecular Biology and Evolution*. 2004, 21 (2), p. 255-265
- 8) Meirmans, PG., Hedrick, PW. Assessing population structure: F_{ST} and related measures. *Molecular Ecology Resources*. 2011, 11, p. 5-18
- 9) Fujii, N., Tomaru, N., Okuyama, K., Koike, T., Mikami, T., Ueda, K. Chloroplast DNA phylogeography of *Fagus crenata* (Fagaceae) in Japan. *Plant Systematics and Evolution*. 2002, 232, p. 21-33
- 10) 小山, 泰弘. 長野県におけるブナ人工林の地理的変異とその影響. 長野県林業総合センター研究報告. 2011, 25, p. 45-64