

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23310167

研究課題名(和文)小笠原諸島の自然再生における保全遺伝学的問題に配慮した植栽手法の研究

研究課題名(英文)The study of restoration planting considered about conservation genetics matter in the Bonin Islands

研究代表者

加藤 英寿(Kato, Hidetoshi)

首都大学東京・理工学研究科・助教

研究者番号：50305413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,300,000円、(間接経費) 3,390,000円

研究成果の概要(和文)：小笠原諸島は独自性の高い生物相を有するが、その自然環境は過去の開発や侵略的外来種の影響により荒廃しつつある。劣化した自然環境を再生させるために在来樹を植栽する際は、地域集団の遺伝的変異を攪乱しないよう種苗配布区域の選定を慎重に考慮しなければならない。本研究では数種の植栽候補種を対象に、核DNAマイクロサテライトマーカーを用いて集団遺伝学的解析を行った。その結果、多くの樹種は列島間や島間で遺伝的に分化していたが、シマホルトノキなど一部の種においては、同一島内の異なる環境条件下で遺伝的分化が認められた。また、種苗の配布区域を選定する際には、階層的な分子分散解析が役立つことを示した。

研究成果の概要(英文)：The Bonin Islands are endowed with a unique biodiversity, although the native ecosystem has been seriously damaged by past human activities and invasive alien species. It is necessary to choose source populations carefully for revegetation in degraded areas, in order to reduce the risk of genetic disturbance. We conducted population genetic analyses of several native tree species using nuclear DNA microsatellite markers. The analysis of population structure suggested that the population of many species could be differentiated genetically into different island groups and/or islands, while few species such as *Elaeocarpus photiniifolius* is divided into genetically differentiated groups associated with the different environmental conditions within the same island. The hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) could be practical for selecting regional division of source population.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学

キーワード：生物多様性保全 生態系修復 自然再生 遺伝構造

1. 研究開始当初の背景

東京の南南東約 1000km に位置する小笠原諸島は、4 つの列島(北から智島・父島・母島・火山列島)約 20 の島々から構成され、過去に大陸と陸続きになったことのない典型的な海洋島である。大陸から遠く隔離されてきたこれらの島々には、独自の進化を遂げた固有種が数多く生息する。特に被子植物や陸産貝類の中には、少数の祖先が多様な環境に進出して種分化する「適応放散」と呼ばれる進化現象が数多く見られる。

申請者は、これまで小笠原諸島における固有維管束植物の種分化過程を解明するため、外部形態の変異や分子系統学的・集団遺伝学的解析などを行ってきた。これらの研究により、多くの植物種内に複雑な遺伝構造(遺伝的変異が空間的に不均一に分布していること)の存在が明らかになってきた。例えば小笠原固有種テリハハマボウ(アオイ科)は、葉緑体 DNA の変異が諸島内に多数確認され、父島列島と母島列島の間に共通する変異は見られなかった(Takayama et al. 2005)。また小笠原固有種オオバシロテツ(ミカン科)は、マイクロサテライト多型分析の結果、遺伝的に分化した 3 群が認められた。このうち 2 群に属する集団は父島・母島列島内にモザイク状に分布し、生育地が隣接することもあるが、生育環境の違いや開花時期のずれにより生態的に分化したと推察される。他にもヒメフトモモ(フトモモ科)やオガサワラビロウ(ヤシ科)、ムラサキシキブ属(クマツヅラ科)、タブノキ属(クスノキ科)植物などにおいて、種内に複雑な遺伝構造が確認され、外部形態に基づく分類学的な単位と遺伝構造に基づく集団の単位が一致しない事例が非常に多いことが明らかとなった(Fujita et al. 2002 など)。

小笠原諸島は独自性の高い生物多様性と地質学的重要性から、2011 年に世界自然遺産に登録された。しかしながら過去の開発や様々な侵略的外来種の影響により、その自然環境は著しく荒廃している。例えば、野生化したノヤギは植物の枝葉を食害して枯らし、種子を食害するクマネズミは植物の繁殖を妨げ、アカギやモクマオウなどの侵略的外来植物は繁茂して在来種を衰退させつつある。そのため在来植生は急速に減少し、数多くの固有生物が絶滅危惧種となっている。

そのような危機的状況から、近年、自然再生を目的とした外来種駆除事業が本格化しており、多くの島でノヤギの駆除に成功し、さらに困難なクマネズミの駆除も着手されている。またアカギやモクマオウなどの外来植物も、伐採・枯殺による駆除事業が急速に進行している。しかし、ノヤギの食害によって裸地化した場所や、外来植物を駆除した場所は、そのまま放置しても在来植生はほとんど回復せず、表土が流出するか、成長の早い外来植物に再び覆われてしまう可能性が高い。そこで、小笠原在来の植生回復を促進す

るため、外来種駆除と平行して在来樹の増殖と植栽が検討され、一部の地域においては既に実施されている。

小笠原諸島の生物多様性の学術的価値は、「海洋島生態系における進行中の進化の過程を代表する顕著な見本」(環境省「世界自然遺産条約推薦書」から抜粋)であるとされている。前述のように、小笠原諸島は海洋島という特殊環境故に、同じ樹種であっても島間・島内で遺伝的分化が生じていることが多く、複雑な集団の遺伝構造が進化的過程の一断面を示している可能性が高い。植栽という行為は、人為による種苗の移動や集団内の遺伝子頻度や空間構造に変化をもたらすことから、長い歴史をかけて形成されてきた集団構造を攪乱し、結果として小笠原の学術的価値を失わせてしまう危険性がある。そのため、小笠原諸島世界自然遺産候補地科学委員会や個別事業の検討会において、植栽の是非がたびたび議論されてきた。このように、植栽に関する検討が注目を集めるとともに、議論の基盤となる科学的データ・情報の蓄積が急務とされていた。

2. 研究の目的

本研究ではまず、植栽候補種を選定し、植栽を伴う保全事業が検討・実施されている島々について、環境条件などを基に地域区分する。次に、植栽候補種を各地区から集団サンプリングして、集団の遺伝的多様性や空間的遺伝構造を明らかにする。そしてこれらのデータを基に、各樹種について植栽が引き起こす遺伝構造への影響を推定する。また、過去に植栽が実施された地域においても、同様に集団遺伝構造の解析を行い、自然集団と比較する。これらの結果をまとめて、植栽の影響による進化・保全遺伝学の問題を解決するための具体的道筋(ガイドライン)を提案することで、より適正な保全・再生計画に直接的に貢献することを本研究課題の最終的な目標とする。

3. 研究の方法

(1) 調査対象種の選定

植生回復のための植栽の有力候補となる樹種として想定される条件は、植栽による遺伝的攪乱が生じにくいことである。つまり、諸島内に広く分布し、生育環境の選択性が比較的広く、種子や花粉による遺伝子流動が頻繁に生じていて、集団間の遺伝的分化が小さいことが挙げられる。この条件に該当する可能性が高い種としてヒメツバキ *Schima wallichii* subsp. *mertensiana*、シマホルトノキ *Elaeocarpus photiniifolius*、ヤロード *Ochrosia nakaiana*、シャリンバイ *Rhaphiolepis indica* var. *umbellata*、アカテツ *Planchonella obovata* などを植栽候補種として選定した。

(2) 調査地と材料のサンプリング

本研究では、植栽を含む保全事業が検討さ

れている聳島列島・父島列島・母島列島の各島において調査を行った。

これらの島々について、植生や基盤環境をもとに島内を区分し、調査地(集団)を設定した。そして、植栽候補種の DNA 抽出用の葉サンプルを、各調査地から約 30 個体ずつ採取した(30 個体は統計解析に必要な個体数)。調査集団の数は島の面積や樹種の分布域によって異なるが、父島と母島では 5-10 箇所の集団、それ以外の島では 2-5 箇所の集団の収集を目標とした。サンプリングの際には、すべての個体について GPS による緯度経度情報(GIS データ)を記録し、採取した葉サンプルはシリカゲルで乾燥して保存し、必要に応じて DNA を抽出して遺伝子解析に用いた。

(3) 遺伝マーカーの探索

各植栽候補種について、種内の遺伝的変異の程度を明らかにすることができる核マイクロサテライトマーカーの探索を行った。候補種の一部は先行研究でマーカーが開発され報告・公表されていたが、それ以外の樹種については遺伝マーカーの開発を試みた。

核マイクロサテライトマーカーの開発は従来コストと手間を要したが、近年、次世代シーケンサーを用いることで、容易にマーカーを開発できるようになった。この方法は、生きた植物体の中で発現している RNA を大量に抽出・収集して、次世代シーケンサーによる解析にかけ、膨大な数のシーケンス情報を得て、その中からマイクロサテライト配列を含むシーケンスを探索し、それに基づいてマーカーの開発を進めるものである。得られたシーケンス情報をもとにプライマーを設計し、スクリーニング作業(多型性の確認やヌルアレルの有無の確認)を行なった上で、有効な解析を実施できる遺伝子マーカーを選定する。各種につき、10 遺伝子座以上のマーカーを目標に開発を進めた。

(4) 遺伝子解析の実施

有効な集団遺伝学的解析を実施できる遺伝マーカーが開発された種を対象として、サンプリングした葉から DNA を抽出して各集団の各個体の遺伝子型を決定した。この遺伝子型データをもとに、集団の遺伝的多様性の程度(N_a , N_e , H_o , H_e , F_{is})、集団間の遺伝的分化(G_{st} , F_{st})などについて、基本的な解析結果をとりまとめるとともに、AMOVA や主座標分析・STRUCTURE 解析などによる遺伝構造の評価を行った。

4. 研究成果

各種の解析結果を以下に示す。

(1) ヒメツバキ

小笠原諸島内の分布をカバーするように、16 集団計 444 個体を 13 遺伝子座の核マイクロサテライト (EST-SSR) マーカーを用いて解析した。16 集団全体の遺伝的分化 (F_{st}) は 0.055 であり、有意な遺伝的分化を示した。集団ペア間の地理的距離と遺伝的分化の程度の間にはマージナルではあったが有意な

相関関係が認められた。主座標分析と STRUCTURE 解析の結果は、父島列島と母島の集団がそれぞれまとまる傾向が見られ、母島島内の集団間でも遺伝的分化が認められた。

(2) シマホルトノキ

小笠原諸島内の分布をカバーするように、19 集団 639 個体を用いて 24 遺伝子座の核マイクロサテライト (EST-SSR) マーカーによる集団遺伝学的解析を行った。さらに、シマホルトノキが島の中で様々な環境に生育している父島において、開花期調査と土壌水分量、植生高の測定を行った。その結果、父島列島内における生育環境間の遺伝的分化 ($0.005 \leq F_{ST} \leq 0.071$) は、生育環境内の遺伝的分化 ($0.001 \leq F_{st} \leq 0.070$) より大きく、父島・母島列島間での遺伝的分化 ($0.033 \leq F_{st} \leq 0.121$) より小さかった。父島列島内では、空間構造とは独立して、生育環境に対応した遺伝的分化の存在が明らかになった。さらに、父島の遺伝的に分化したグループ間では、開花期にずれがあり、土壌水分量と植生高にも差がみられた。これらのことから、シマホルトノキにおいて、父島列島で 2 つの遺伝的に分化したグループが側所的に分布しており、それらの間では開花期のずれにより遺伝子流動が制限されていることが明らかとなった。

(3) ヤロード

小笠原諸島内の分布をカバーするように、18 集団計 547 個体を 6 遺伝子座の核マイクロサテライト (SSR) マーカーを用いて解析した。遺伝的分化および遺伝構造は、列島間では有意に分化し、列島内島間や島内集団間では部分的な分化が認められた。例えば父島内および母島内の集団ペア間の Pair-wise F_{st} を比較すると、父島では集団ペアの 33%、母島では集団ペアの 83% が有意に分化していた。STRUCTURE 解析の結果は、聳島列島、父島列島、母島列島の列島間でそれぞれまとまる傾向が見られた。

(4) シャリンバイ

小笠原諸島内の分布をカバーするように、20 集団計 651 個体を 11 遺伝子座の核マイクロサテライト (SSR) マーカーを用いて解析した。遺伝的分化および遺伝構造はヤロードと同様に、列島間では有意に分化し、列島内島間や島内集団間では部分的な分化が認められた。例えば父島内および母島内の集団ペア間の Pair-wise F_{st} を比較すると、父島では集団ペアの 14%、母島では集団ペアの 67% が有意に分化していた。STRUCTURE 解析の結果は、聳島列島、父島列島、母島列島の列島間でそれぞれ明瞭な遺伝構造が見られた。

(5) アカテツ

アカテツとその変種のコバナアカテツを含めて、小笠原諸島内の分布をカバーするように 21 集団計 563 個体を 12 遺伝子座の核マイクロサテライト (SSR) マーカーを用いて解析した。その結果、聳島・父島列島の集団と母島列島の集団がまとまる傾向が見られ

た。兄島と父島（父島列島）及び姪島（母島列島）の乾燥した山域には樹高が低く、葉が小型化したコバノアカテツの集団が存在するが、それらが遺伝的にまとまる傾向は認められなかった。つまり、アカテツとコバノアカテツは今回用いた核 SSR では識別できず、分類群間の遺伝的な差よりも列島間の遺伝的な差の方が大きいという結果が得られた。

以上の結果を基に、地域性系統の種苗配布可能な区域を（1）列島ごとに区分、（2）島ごとに区分、（3）島内の集団構造に配慮した区分、というように階層的に区分し、分子分散解析（AMOVA）を行った結果、多くの樹種において、より細かく区分するほど区分間遺伝分散の割合が大きくなる傾向が認められた。つまり現在の集団遺伝構造を維持するには、まず島ごとに区分した上で、島内の遺伝構造の違いに配慮した区分を種苗配布区域として採用することが望ましいと言える。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 6 件）

Setzuko, S., Uchiyama, K., Sugai, K., Hanaoka, S. and Yoshimaru, H. (2012) Microsatellite markers derived from *Calophyllum Inophyllum* L. (Clusiaceae) expressed sequence tags. *Am. J. Bot.* 99(1):e28-e32. (査読有り)

Setzuko, S., Uchiyama, K., Sugai, K. and Yoshimaru, H. (2012) Rapid development of microsatellite markers for *Pandanus boninensis* (Pandaceae) by pyrosequencing technology. *Am. J. Bot.* 99(1):e33-e37. (査読有り)

Setzuko, S., Uchiyama, K., Sugai, K. and Yoshimaru, H. (2012) Isolation and characterization of EST-SSR markers in *Schima mertensiana* (Theaceae) using pyrosequencing technology. *Am. J. Bot.* 99(1):e38-e42. (査読有り)

Sugai, K., Setzuko, S., Uchiyama, K., Murakami, N., Kato, H. and Yoshimaru, H. (2012) Development of EST-SSR markers for *Elaeocarpus photiniifolia* (Elaeocarpaceae), an endemic taxon of the Bonin Islands. *Am. J. Bot.* 99(2):e84-e87. (査読有り)

Katoh, S., Ohi-Toma, T., Murakami, N. and Kato, H. (2012) Development of microsatellite markers from four *Pittosporum* taxa (Pittosporaceae) endemic to the Ogasawara (Bonin) Islands with cross-amplification in Ogasawara *Pittosporum* and *P. tobira*. *Conservation Genet. Resour.* 5:185-190. (査読有り)

Sugai, K., Setzuko, S., Nagamitsu, T.,

Murakami, N., Kato, H. and Yoshimaru, H. (2013) Genetic differentiation in *Elaeocarpus photiniifolia* (Elaeocarpaceae) associated with geographic distribution and habitat variation in the Bonin (Ogasawara) Islands. *J. Plant Res.* 126: 763-774. (査読有り)

〔学会発表〕（計 14 件）

Sugai, K., Murakami, N. and Kato, H. (2011) Genetic structure of *Symplocos* (Symplocaceae) in the Bonin (Ogasawara) Islands using microsatellite markers. XVIII International Botanical Congress (Melbourne, Australia, 2011.7.23-30)

Tsuneki, S., Murakami, N., Yoshida, K., Kato, H. (2011) Detecting initial stage of ecological speciation in the genus *Persea* on the Bonin Islands, Japan. XVIII International Botanical Congress (Melbourne, Australia, 2011.7.23-30)

Yamamoto, R., Sugai, K., Kato, H., Kaneko, S. and Isagi, Y. (2012) Population genetics of common plant species for proper management of genetic diversity in the Bonin Islands. Joint Meeting of The 59th Annual Meeting of ESJ & The 5th EAFES International Congress (Otsu, Japan, 2012.3.17-21)

Setzuko S., Ohtani M., Sugai K., Kato H. and Yoshimaru H. (2012) Genetic structure of *Terminalia catappa* in the Bonin Islands. Joint Meeting of The 59th Annual Meeting of ESJ & The 5th EAFES International Congress (Otsu, Japan, 2012.3.17-21).

加藤英寿 (2012) 小笠原の生態系を守るとはどういうことか。日本生態学会第 59 回大会 (大津, 2012.3.17-21)

須貝杏子・鈴木節子・村上哲明・加藤英寿・吉丸博志 (2012) 小笠原諸島の固有木本種にみられた明瞭な遺伝構造 シマホルトノキにおける事例。日本植物分類学会第 11 回大会 (大阪, 2012.3.23-25)

常木静河・加藤英寿・吉田圭一郎・村上哲明・野外集団における自然選択の検出～小笠原産タブノキ属植物を材料として～。日本進化学会第 14 回大会 (東京, 2012.8.21-9.24)

須貝杏子・鈴木節子・永光輝義・村上哲明・加藤英寿・吉丸博志 (2013) シマホルトノキにおける生育環境に応じた遺伝構造と分化維持要因。日本生態学会第 60 回大会 (静岡, 2013.3.5-9)

鈴木節子・永光輝義・須貝杏子・加藤英寿・吉丸博志 (2013) 小笠原諸島に広域に分布するタクノキの遺伝構造。日本生態学会第 60 回大会 (静岡, 2013.3.5-9)

須貝杏子・鈴木節子・永光輝義・村上哲

明・加藤英寿・吉丸博志(2013)小笠原諸島父島列島におけるシマホルトノキの生育環境に対応した遺伝的分化.日本植物分類学会第12回大会(千葉, 2013.3.14-3.17)

鈴木節子・永光輝義・須貝杏子・加藤英寿・吉丸博志(2013)小笠原諸島のテリハボクの攪乱された遺伝構造.第2回日本森林遺伝育種学会大会(東京, 2013.11.8)

須貝杏子・鈴木節子・永光輝義・村上哲明・加藤英寿・吉丸博志(2014)父島列島のシマホルトノキにおける遺伝的に分化したグループ間の遺伝子流動.日本生態学会第61回大会(広島, 2014.3.14-18)

山本良介・須貝杏子・加藤英寿・兼子伸吾・井鷲裕司(2014)小笠原諸島における適切な遺伝的多様性管理のための広域分布植物の集団遺伝解析.日本生態学会第61回大会(広島, 2014.3.14-18)

鈴木節子・永光輝義・須貝杏子・大谷雅人・加藤英寿(2014)小笠原諸島に分布するアカテツとコバノアカテツは核マイクロサテライトマーカーによって識別可能か?.第125回日本森林学会大会(大宮, 2014.3.28-30)

6. 研究組織

(1)研究代表者

加藤 英寿 (KATO Hidetoshi)

首都大学東京・大学院理工学研究科・助教
研究者番号: 50305413

(2)研究分担者

吉丸 博志 (YOSHIMARU Hiroshi)

独立行政法人森林総合研究所・多摩森林科学園・園長

研究者番号: 20353914

山本 節子 (SETSUKO Yamamoto)

独立行政法人森林総合研究所・森林遺伝研究領域・主任研究員

研究者番号: 70456622

井鷲 裕司 (ISAGI Yuji)

京都大学・(連合)大学院農学研究科・教授

研究者番号: 50325130