

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03830

研究課題名(和文) 国内外来種コブシが希少種シデコブシの存続に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of a domestic exotic species, *Magnolia kobus*, on the persistence of a rare species, *M. stellata*

研究代表者

戸丸 信弘 (Tomaru, Nobuhiro)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：50241774

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,700,000円

研究成果の概要(和文)：シデコブシの自生地周辺にはコブシは分布しないが、植栽個体や逸出した個体が存在することがあるため、両種の間で交雑が生じている可能性がある。この交雑を介してシデコブシの絶滅リスクが高められている恐れがある。本研究では、国内外来種コブシとの交雑が希少種シデコブシの存続に及ぼす影響を評価した。調査の結果、種間交配によって雑種が形成されていること、さらにシデコブシと雑種の戻し交配によりコブシからシデコブシへ遺伝子浸透が生じる可能性があること、コブシや雑種からの送粉により繁殖干渉を受けて純粋なシデコブシの種子数が減少することなどが明らかとなり、コブシはシデコブシの存続に悪影響を及ぼすことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

樹木の遺伝子汚染を明らかにした研究はあまり見当たらない中で、様々な技術・手法を用いてシデコブシとコブシの交雑をもたらす遺伝子汚染の可能性を指摘した点に学術的意義が見出される。東海地方の湧水湿地では落葉広葉樹が芽吹く前に、シデコブシの美しい花が一斉に開花し、早春の里山を彩る。シデコブシは湿地保全をアピールする象徴的な種である。コブシとの交雑がシデコブシの絶滅リスクを高めることが明らかになったため、コブシを安易に植栽することやコブシが逸出することの危険性を社会に知らしめることは、シデコブシの保全に繋がるだけでなく、象徴種であることから樹木の外来種問題や関連する問題を社会に周知するよい機会にもなる。

研究成果の概要(英文)：*Magnolia kobus* (MKO) is not naturally distributed around the habitat of *M. stellata* (MST). However, because there are planted or escaped MKO trees, interspecific hybridization between MST and MKO may occur. The extinction risk of MST may be increased through this hybridization. In this study, we evaluated the effects of an invasive species, MKO, on the persistence of a rare species, MST. This study revealed that hybrids were formed by interspecific hybridization and furthermore backcrossing between MST and hybrids could give rise to introgression from MKO and MS, and that reproductive interference via pollen flow from MKO or hybrids could decrease the number of purebred seeds for MST. The findings suggest that MKO may adversely affect the persistence of MST.

研究分野：森林遺伝学

キーワード：保全遺伝学 コブシ節 マイクロサテライト 外来種 雑種形成 遺伝子浸透 繁殖干渉 絶滅リスク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

「外来種」とは本来の自生地から人間活動によって自生地以外の地域に導入された生物であり、外来生物あるいは移入種とも呼ばれる。外来種はその起源によって、国外外来種と国内外来種に分けられる。外来種は、競争、捕食、病害、交雑、あるいは栄養塩動態や生物間相互作用などの生態的過程の改変により在来種を絶滅させる場合があり、生物多様性に深刻な影響を与える主要因の1つとなっている (Millennium Ecosystem Assessment 2005)。

そのうち、交雑を介して外来種が在来種の存続を脅かす問題は、一般には動物の例がよく知られているが (たとえば、外来種のタイワンザルやアカゲザルと在来種ニホンザルの交雑。村上・鷲谷 2002)、当然、植物でも起こりうる。外来種が導入された地域に近縁な在来種が存在するとそれらの間で交雑が生じる恐れがあり、この交雑を介して在来種の存続が脅かされる。そのメカニズムには以下の3つが考えられる。

(1) 在来種が繁殖の際に、外来種との交雑によって繁殖干渉を受けて繁殖量が減少させられる (子孫の数が減らされる。高倉ら 2010)。

(2) 在来種の生育地で雑種が高い適応度 (生存力や繁殖力) を示し、雑種によって生育地が侵略される。

(3) 雑種が在来種と戻し交雑を繰り返すことにより、外来種から在来種へ遺伝子浸透が生じて、在来種の遺伝的固有性が失われる (遺伝子汚染、Allendorf et al. 2001)。

特に在来種が希少種の場合、上記の3つの影響が強まる。すなわち、希少種の繁殖力が低いと繁殖干渉の影響が大きくなり、生育地も限られているため生育地の侵略も容易で、さらに、遺伝子プールが小さいために遺伝子汚染の影響も大きく、遺伝的な固有性が容易に失われる恐れがある。わが国では、淡水魚において、特に国内外来種との交雑を介した遺伝子汚染によって多くの近縁在来種が深刻な状態にあると報告されている (河村 2015)。近年、このような国内外来種による遺伝子汚染は、在来種の絶滅リスクを高める脅威として強く認識されるようになった。

シデコブシ (*Magnolia stellata*) はモクレン科モクレン属の希少種である。日本には、その近縁種としてコブシ (*M. kobus*) とタムシバ (*M. salicifolia*) が存在する。シデコブシは、愛知、岐阜、三重という限られた地域にのみ分布するが、コブシは北海道、本州、九州、濟州島 (韓国) に広く分布し、タムシバも本州、四国、九州に広く分布する。興味深いことに、シデコブシの自生地周辺にはコブシが分布しない (植田 1987)。しかし、シデコブシが分布する地域でも他の地域と同様に、コブシは街路樹や庭木として好まれて植栽され、それらが繁殖して野外に逸出したコブシが普通に見られる。すなわち、それらの地域では、コブシは正にシデコブシに近縁な国内外来種なのである。モクレン属ではさまざまな種間で交雑が容易であることはよく知られている (Callaway 1994)。シデコブシの自生地の近くに、コブシの植栽個体や逸出した個体が存在すると、シデコブシとコブシの間で交雑が生じる可能性があり、シデコブシの絶滅リスクが高められている恐れがある。

2. 研究の目的

本研究では、国内外来種コブシとの交雑が希少種シデコブシの存続に及ぼす影響を明らかにする。具体的には、以下の3つの問題を明らかにして、その影響を評価する。

問題1: シデコブシとコブシの間で雑種形成が起こっているか? さらに、シデコブシと雑種の間で戻し交配が生じていて、コブシからシデコブシへ遺伝子浸透が起こりうるか?

問題2: シデコブシは、コブシとの交雑によって繁殖干渉を受けて繁殖量が減少するか?

問題3: シデコブシの生育地においてシデコブシよりも雑種の生存率や成長率が高いか?

コブシがシデコブシの存続に影響を及ぼしていることが示唆されるならば、シデコブシの保全の観点から、社会にコブシ植栽の問題を提起する必要がある。

3. 研究の方法

(1) 調査地

本研究では、シデコブシとコブシの間で交雑していることが疑われる2箇所を調査地とした。調査地1: 愛知県豊田市西中山町に位置する「昭和の森」。調査地内にはシデコブシの自生地が1箇所存在する。自生地周辺はかつて牧草地であったが、その後放棄され、1977年から1979年に愛知県によりコブシ194個体を含む合計83種66,853個体の樹木が植栽され、現在の樹林が造成された。

調査地2: 愛知県名古屋市守山区八竜緑地から尾張旭市森林公園までの範囲。八竜緑地と森林公園にはシデコブシが自生しているとされ、また、森林公園内にはコブシが植栽されている。

(2) 雑種の同定

調査地1 (約700m×約400m) と調査地2 (約7km×約2km) を踏査し、シデコブシ、コブシおよびそれらの中間的な形態を示す成木 (樹高 $H \geq 1.3\text{m}$) を発見次第、その位置を測量し、胸高周囲を測定した後、葉を採取した。なお、調査地2においてコブシの逸出個体群の存在が明らかとなったが、大きな個体群であったためランダムに60個体を選んで調査を行った。また、調査地1では、実生や稚樹が多数更新しているサイトに100m×100mのベルトトランセクトを設定し、シデコブシ、コブシおよび中間的な形態を示す稚樹・実生 ($H < 1.3\text{m}$) の位置と H 、地際直径 (D_0) を測定し、葉を採取した。

採取した葉からDNAを抽出し、核SSR21座 (調査地1) 22座 (調査地2) (Isagi et al. 1999;

Setsuko et al. 2005; 上野ら未発表)と葉緑体 SSR3 座(調査地 1 のみ)(Ueno et al. 2003)についてマイクロサテライト分析を行い、核 SSR の遺伝子型と葉緑体ハプロタイプを決定した。得られた遺伝子型データをもとにプログラム STRUCTURE2.3.4 (Prichard et al. 2000)と NewHybrids1.1beta (Anderson and Thompson 2002)を用いて、各個体の系譜クラス(シデコブシ、コブシ、および F_1 、 F_2 、シデコブシへの戻し交配、コブシへの戻し交配雑種)を推定した。また、 F_1 や戻し交配雑種では、母性遺伝する葉緑体のハプロタイプから雑種形成の際の母種を推定した。なお、得られた系譜クラスのデータを基に以下(3)から(7)の調査対象の成木を選定した。

(3) 開花フェノロジー

調査地 1 において花芽が確認された成木の中からシデコブシ 6 個体、コブシ 53 個体、 F_1 雑種 7 個体、 F_2 雑種 6 個体、コブシへの戻し交配雑種 17 個体を選定し、それらの開花フェノロジーを 3 月 18 日から 4 月 18 日まで 2 日から 3 日おきに調査した。

(4) 人工交配実験

2 年にわたってシデコブシとコブシを母樹とし、人工交配実験を行った。1 年目には種内交配、種間交配、混合花粉交配(シデコブシとコブシ)、自然交配の処理区を設け、2 年目には F_1 雑種花粉交配の処理区を加えるとともに、混合花粉交配の処理区には F_1 雑種の花粉も加えた。各処理区で母樹は 3 個体、父樹は 2~5 個体、処理した個花は平均 8.9 個であった。処理後に果実の生残・成長を記録し、8 月中旬に果実を回収して果実数・種子数を数え、結果率、結実率、雌性繁殖成功度を求めて、処理区間でそれらの値を比較した。また、シデコブシを母樹とした混合花粉交配で得られた種子から DNA を抽出し、核 SSR25 座の遺伝子型を決定し、プログラム CERVUS3.0.7 (Kalinowski et al. 2007)を用いて父性解析を行い、花粉親の父樹を特定した。

(5) 交配パターンの調査

調査地 1 では 2 年にわたって種子を採取し、父性解析を行って交配パターンを調査した。1 年目には、開花が確認された成木のうちシデコブシ 5 個体、コブシ 8 個体、 F_1 雑種 1 個体、 F_2 雑種 1 個体、コブシへの戻し交配雑種 4 個体を選定し果実を採取した。同様に、2 年目には、コブシ 6 個体、 F_1 雑種 3 個体、 F_2 雑種 3 個体、コブシへの戻し交配雑種 4 個体、系譜クラス不明 1 個体から果実を採取した。採取した果実の種子から DNA を抽出し、核 SSR21 座のマイクロサテライト分析を行い、遺伝子型を決定した。プログラム CERVUS3.0.7 (Kalinowski et al. 2007)を用いて父性解析を行い、種子の父樹を推定し、交配パターンを調べた。

(6) 葉・花形態の調査

調査地 1 において葉・花形態の調査を行った。(2)で各成木から採取した個葉(平均 9.7 枚)について葉身長、葉身幅、葉柄長を測定し、形状比(葉身長/葉身幅)を求めた。また、葉の画像をスキャナで取り込んで葉面積を測定した。開花が確認された成木の中からシデコブシ 6 個体、コブシ 16 個体、 F_1 雑種 3 個体、 F_2 雑種 6 個体、コブシへの戻し交配雑種 17 個体を選定し個花(平均 3.8 個)を採取し、花弁数、花弁長、花弁幅を測定した。また、雌蕊数と雄蕊数を数え、ランダムに選んだ雄蕊 10 個の長さを測定した。測定された葉と花の形態データについてシデコブシ、コブシおよび雑種間で差異があるかどうかを調べた。また、葉と花の両方の形態データが得られた個体を対象として、データを基準化して主成分分析を行った。主成分分析で得られた第 1 主成分得点を形態データの代表値とし、STRUCTURE 解析によって割り当てられたシデコブシのクラスター割合を遺伝データの代表値として、それらの関係をロジスティック回帰分析で調べた。

(7) 生残と成長の比較

調査地 1 において(2)で記録した成木およびベルトトランセクト内の稚樹・実生を対象に、生死を確認し、成木は胸高周囲、稚樹・実生は地際直径と樹高を再測定した。成木では、シデコブシ、コブシ、 F_1 雑種、第 2 世代雑種(F_2 、シデコブシへの戻し交配、コブシへの戻し交配雑種)ごとに 4 年間の生残率と胸高直径の相対成長速度(RGR)を算出して比較した。同様に、稚樹・実生では、シデコブシ、コブシ、 F_1 雑種、第 2 世代雑種ごとに 2 年間の生残率と地際直径および樹高の RGR を算出して比較した。

4. 研究成果

(1) 雑種の同定

調査地 1 では成木が 356 個体、ベルトトランセクト内で稚樹・実生が 271 個体観察され、各個体の系譜クラスを推定した結果、表 1 のようになった。一方、調査地 2 では成木 238 個体が観察され、系譜クラス別の個体数はシデコブシ 104 個体、コブシ 79 個体、 F_1 雑種 21 個体、 F_2 雑種 16 個体、コブシへの戻し交配雑種 18 個体となった。以上の結果から以下のことが示される。

F_1 雑種の存在から、明らかにシデコブシとコブシの間で雑種形成が生じている。

F_1 雑種はシデコブシまたはコブシの葉緑体 DNA ハプロタイプを共有していることから、母樹がシデコブシで父樹がコブシの交配、およびその逆の組み合わせの交配が起きて F_1 雑種が生じている。

なると考えられる。

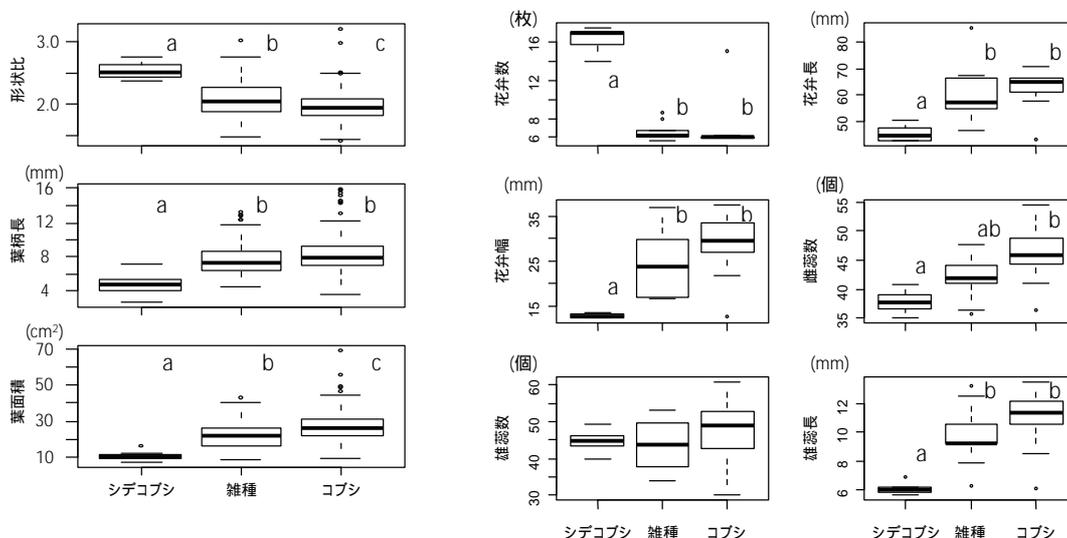


図2 調査地1に生育するシデコブシ、コブシおよび雑種間における葉(左)と花(右)の形態形質の比較。異なるアルファベットは有意に異なることを示す($P < 0.05$)。

(6) 生残と成長の比較

シデコブシ、コブシ、 F_1 雑種、第2世代雑種(F_2 、シデコブシへの戻し交配、コブシへの戻し交配雑種)の間で、成木と稚樹・実生のRGRには差がみられなかった。一方、成木の生残率には差がなかったが、稚樹・実生では F_1 雑種の生残率が高い傾向にあった(第2世代雑種には特に傾向なし)。さらに長期間調査する必要があるが、雑種は両種と同様に生残し、成長することが示唆される。

(7) まとめ

これまでに得られた研究成果から、コブシは繁殖干渉、種間交配による雑種形成、生育地の侵略を介してシデコブシの存続に悪影響を及ぼすことが示唆される。葉や花の形態で雑種を正確に識別することは困難なため、事前に種間交配が生じることを防ぐことが重要であり、そのためにはシデコブシの自生地近く(1km以内)にコブシを植栽しないことや逸出したコブシを発見したらすぐに伐採することが必要である。

<引用文献>

Allendorf FW, Leary RF, Spruell P, Wenburg JK (2001) The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in ecology & evolution* 16:613–22

Anderson EC, Thompson EA (2002) A model-based for identifying species hybrids using multilocus genetic data. *Genetics* 160:1217–1229

Callaway DJ (1994) *The world of Magnolias*. Timber Press

Isagi Y, Kanazahi T, Suzuki W, Tanaka H, Abe T (1999) Polymorphic microsatellite DNA markers for *Magnolia obovata* Thunb. and their utility in related species. *Molecular Ecology* 8:698–700

Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* 16:1099–1106

河村功一 (2015) 交雑がもたらす遺伝子汚染の実態: 雑種に隠された危険性 (特集 国内外来種問題: 遺伝子交雑と種の問題). *遺伝: 生物の科学* 69:116–122.

Millennium Ecosystem Assessment (2005) *Ecosystems and human wellbeing: current state and trends*, vol 1. Island Press

村上興正, 鷲谷いづみ (2002) 外来種ハンドブック. 日本生態学会編, 地人書館

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959

Setsuko S, Ueno S, Tsumura Y, Tomaru N (2005) Development of microsatellite markers in *Magnolia stellata* (Magnoliaceae), a threatened Japanese tree. *Conservation Genetics*. 6:317–20

高倉耕一, 西田佐知子, 西田隆義 (2010) 植物における繁殖干渉とその生態・生物地理に与える影響. *分類* 10:151–62

植田邦彦 (1987) モクレン科の分類・地理的概説. *植物分類, 地理* 38:339–48

Ueno S, Setsuko S, Kawahara T, Yoshimaru H (2005) Genetic diversity and differentiation of the endangered Japanese endemic tree *Magnolia stellata* using nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Conservation Genetics* 6:563–74

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tamaki, I., Kawashima, N., Setsuko, S., Lee, J. H., Itaya, A., Yukitoshi, K., and Tomaru, N.	4. 巻 132
2. 論文標題 Population genetic structure and demography of <i>Magnolia kobus</i> : variety <i>borealis</i> is not supported genetically	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 741 ~ 758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1007/s10265-019-01134-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tamaki, I., Tani, S., Setsuko, S., Ueno, S., Wadasaki, N., and Tomaru, N.	4. 巻 104
2. 論文標題 Reduced incompatibility in the production of second generation hybrids between two <i>Magnolia</i> species revealed by Bayesian gene dispersal modeling	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 American Journal of Botany	6. 最初と最後の頁 1546 ~ 1555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.3732/ajb.1700138	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tomaru, N., Wadasaki, N., Yukitoshi, K., Tamaki, I., Setsuko, S., and Ishida, K.
2. 発表標題 Effects of a native invasive species, <i>Magnolia kobus</i> , on the persistence of a rare species, <i>M. stellate</i> .
3. 学会等名 XXV IUFRO World Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和田崎直隆、村松正雄、戸丸信弘
2. 発表標題 景観スケールにおけるシデコブシとコブシの種間雑種の分布拡大
3. 学会等名 第130回日本森林学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和田崎直隆, 石田清, 戸丸信弘
2. 発表標題 シデコブシとコブシ間の人工授粉実験による繁殖干渉の評価
3. 学会等名 第129回森林学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 和田崎直隆, 玉木一郎, 鈴木節子, 戸丸信弘
2. 発表標題 シデコブシとタムシバの種間雑種における生態的・遺伝的特徴
3. 学会等名 第7回中部森林学会大会
4. 発表年 2017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	石田 清 (Ishida Kiyoshi) (10343790)	弘前大学・農学生命科学部・准教授 (11101)	
研究分担者	中川 弥智子 (Nakagawa Michiko) (70447837)	名古屋大学・生命農学研究科・准教授 (13901)	
研究協力者	行年 恭兵 (Yukitoshi Kyouhei)	名古屋大学・生命農学研究科・大学院生 (13901)	

6. 研究組織（つづき）

	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	和田崎 直隆 (Wadasaki Naotaka)	名古屋大学・生命農学研究科・大学院生 (13901)	
研究協力者	玉木 一郎 (Tamaki Ichiro)	岐阜県立森林文化アカデミー・准教授	
連携研究者	鈴木 節子 (Suzuki Setsuko) (70456622)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 (82105)	