

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 5 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2008～2011

課題番号：20241056

研究課題名(和文) ユビキタスジェノタイピングによる生物多様性ホットスポットの包括的  
生物保全研究課題名(英文) Biological conservation of biodiversity hotspots based on information  
from ubiquitous genotyping

研究代表者

井鷲 裕司 (ISAGI YUJI)

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：50325130

研究成果の概要(和文)：

生物多様性ホットスポットに生育する絶滅危惧植物を対象に、野生に生育する全個体の植物体の生育場所、繁殖状況、遺伝子型を明らかにすることで、絶滅危惧植物の状況を正しく評価し、適切な保全策を構築することを目的とした。本研究のアプローチにより、絶滅危惧種では、現存する個体数よりも遺伝的に評価した個体数が著しく少ない場合が多いことが明らかになった。また、種を構成する局所集団ごとに遺伝的分化しているため、それぞれを個別の保全対象とすべき種や、更新個体の遺伝解析により未知の繁殖個体の存在が明らかになった種など、生物保全上有用な情報が得られた。

研究成果の概要(英文)：

Genetic information can provide crucial information about regeneration processes such as clonal structure, gene flow, inbreeding depression and relatedness, which are important for conserving endangered species growing biodiversity hotspots. We determined the habitats and genotypes at microsatellite loci for all plant individuals growing in the wild. We call this research approach ubiquitous genotyping. We found that biological conservation could be aided by incorporating information from ubiquitous genotyping for several critically endangered plant species by evaluating genetic traits of plants and number of genets in the wild, determining appropriate locations for transplantation based on genetic structure and discovering unknown trees in the wild.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	12,000,000	3,600,000	15,600,000
2009年度	13,000,000	3,900,000	16,900,000
2010年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
2011年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
総計	39,000,000	11,700,000	50,700,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学・資源保全学

キーワード：遺伝的多様性、絶滅危惧種、生物多様性、生物保全、保全遺伝学、ホットスポット、小笠原諸島、阿蘇山系

## 1. 研究開始当初の背景

生物種は、いわゆる「絶滅の渦」として知られているプロセス、すなわち、乱獲、生育

地の破壊、汚染、人口学的揺らぎ、突発的イベント、近親交配による近交弱勢などが、個体群に複合的に作用し、絶滅に至ると認識さ

れている。絶滅の渦を構成するこれらの要素の中でも、遺伝的要因は、影響力の大きなものであると考えられており、集団内の遺伝的多様性、遺伝構造、集団間の遺伝的分化、交配様式などを知ることは、個体数が著しく減少した分類群の保全のためには、必要不可欠な事である。

小笠原諸島は典型的な海洋島、すなわち一度も他の島と地続きになったことのない島である。生物の移入に強い制約がかかっているため、少数の個体由来する集団から種分化と進化が起こってきたと考えられる。そのため、小笠原諸島固有の維管束植物種の割合は42%にも達するという独自の生態系が成立しており、東洋のガラパゴスとも呼ばれている。現在、開発や移入種などの影響を受け、約30%の種が絶滅危惧種となっている。更に、小笠原諸島においては絶滅危惧種の割合が高いだけでなく、絶滅危惧カテゴリーのより高度な、絶滅危惧I類の種が多いことも特徴である。現存する個体が、わずか数十～数百個体にまで減少してしまった種も少なくない。

阿蘇山系には、広大な草原が長期間にわたって維持されている。管理放棄による植生遷移や利用形態の変化によって、全国的に草原が急速に減少しつつある中で、阿蘇山系に維持されている草原は、多くの希少種に生育地を提供している。かつて、日本列島が中国大陸と地続きであった時代に連続的に分布していた種の中には、日本列島が日本海によって隔離された後も、草原に残存的に生育してきたものが多い。それらが、草原生態系の消滅と共に絶滅危惧種となっている中で、阿蘇山系はこのタイプの植物にとって、いわば最後の砦として機能している。この事を反映して、阿蘇山系に生育する希少種は、大陸と共通するが日本国内では分布がきわめて限定されているものが多いが、更に、阿蘇山系近辺で種分化したと考えられる固有の種もある。

この様に、小笠原諸島と阿蘇山系は植物群集の起源や維持機構は著しく異なるものの、生物多様性ホットスポットであるという点では共通しており、適切な保全策を早急に講ずることが望まれる。これらの生物多様性ホットスポットに生育する絶滅危惧種の状況を理解し、その保全と回復を行うためには、残存個体を対象とした大規模かつ詳細な遺伝解析が必要である。

## 2. 研究の目的

自然環境に対する人為インパクトの増大に伴って、多くの生態系で生物多様性が低下しつつある。本研究では、現存する個体が、数十、あるいは数百個体にまで減少した種が集中して分布し、生物保全が急務となってい

る生物多様性ホットスポットとして、小笠原諸島と阿蘇山系を調査サイトとして取り上げる。これらのサイトに残存する絶滅危惧植物のうち30種について、すべての個体を対象に遺伝子型を決定し、遺伝子型の包括的モニタリングに基づく新たな生物多様性保全のアプローチを試みる。生育地に残存する種内の全個体の遺伝子型を決定することを本研究ではユビキタスジェノタイピング(ubiquitous genotyping)と呼ぶ。

ユビキタスジェノタイピングを行う事によって、絶滅危惧種の種内に保持されている遺伝的多様性、遺伝構造、ジーンフロー、集団の遺伝的分化、交配様式と近交弱勢の有無等に関する評価を行う。また、ただ単一の種を対象とするにとどまらず、地史的履歴の異なる研究サイトに生育する、絶滅危惧状況、生活史戦略、進化的履歴の異なる多数の種を解析対象にする事により、生物多様性保全に関してより一般的な理解を得ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

多くの絶滅危惧種が集中して生育するホットスポットである小笠原諸島と阿蘇山系において、個体数が数十～数百程度にまで著しく減少した絶滅危惧種を対象に、包括的な全個体サンプリングと遺伝子型の決定を行う。その結果得られたデータをもとに、残存個体群が保持する遺伝的多様性、遺伝的分化、遺伝子流動、交配様式等を明らかにし、生物多様性保全における新たなアプローチの構築を目指す(図1)。

研究は、(1)個体レベルの具体的な生育状況調査、(2)遺伝マーカー(マイクロサテライト)開発、(3)全個体サンプリング、(4)全個体の遺伝子型決定、(5)各種遺伝解析と総合評価の段階に従ってすすめた。

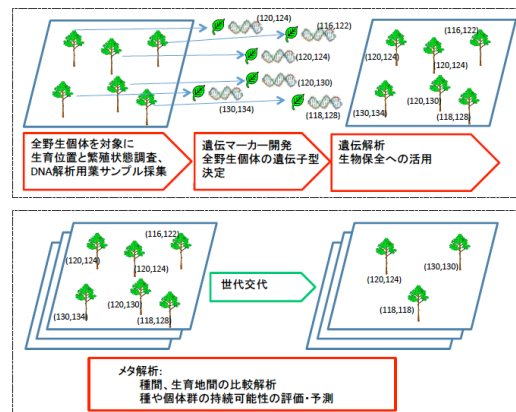


図1. ユビキタスジェノタイピングによる絶滅危惧植物の保全アプローチ

## 4. 研究成果

### (1) 阿蘇山系

阿蘇山系の半自然草原に生育する絶滅危惧植物(ハナシノブ、マツモトセンノウ、ヒゴタイ、オグラセンノウ、ツクシクガイソウ、タマボウキ、ヒメユリ、ヤツシロソウ、ケルリソウ、ハナカズラ)についてユビキタスジェノタイプピングを試み、以下の主要成果を得た。

阿蘇山系のみに残存して生育するハナシノブでは、地域集団間で有意な遺伝的分化が認められ、空間的遺伝構造が検出された。また、埋土種子から復元した集団は、既存の集団にはない対立遺伝子を保持していた一方で、これまで、保全を目的として維持されてきた栽培集団の遺伝的多様性は野生集団よりも低い事が明らかになった。

ハナシノブは野生集団が5ヶ所、栽培個体群が2ヶ所で知られているに過ぎないが、野生集団のうちの2ヶ所は土地利用の改変により人工林になっていた。ハナシノブの残存7集団においては、集団サイズと遺伝的多様性に相関はなく、小さな集団も大きな集団と同等の遺伝的多様性を有していた。また、すべて集団は固有の対立遺伝子を持つため遺伝的多様性の保全にはすべての集団を保全することが重要だと考えられた。調査した7集団のうち、2集団は2011年に発見された埋土種子から再生した集団であるが、これらの集団は既存の集団にはない遺伝的組成であり、埋土種子によって遺伝的多様性を復元できる可能性が示唆された。

マツモトセンノウは残存する個体群の多くにおいて、低頻度で出現する対立遺伝子や固有の対立遺伝子が検出されたことから、本種の遺伝的多様性を維持する上で、各個体群を維持することが重要であることがわかった。また、集団間で遺伝的分化があったが、距離による隔離の効果は検出されなかった。これは、分断化に伴い遺伝的浮動の影響で分化が進みつつあることを示唆しており、草原の減少に伴い個々の集団サイズの縮小や局所的な集団の絶滅の影響している可能性がある。

ヒゴタイでは野生集団よりも栽培集団により高い遺伝的多様性が保持されているという意外な事実が判明した。ヒゴタイの栽培集団は1990年ごろに多数の野生集団から採取された種子から形成されたものである。従って、現在、栽培集団として管理されているヒゴタイには、現在よりも野生集団サイズが大きかった時代の遺伝的多様性が保持されており、今後の種の保全に活用すべきであることが明らかになった。

阿蘇山系に数ヶ所のみ野生集団が知られるタマボウキについて網羅的遺伝解析を行ったところ、集団内に存在するパッチ状の植物体は、そのほとんどが、単一のジェネット

で構成されており、パッチ間ではジェネットは異なっていた。この事は、パッチ内では地下茎の伸長により無性的に個体が維持されているが、パッチ間では種子による有性生殖を伴った更新が行われていることを示している。タマボウキの遺伝的な個体数は、従来認識されてきたものより少ないことが判明した。

オグラセンノウは西日本に分布が知られるが、阿蘇山系に最も多数の集団が分布している。阿蘇山系の集団について網羅的遺伝解析をおこなったところ、どの集団も比較的高い遺伝的多様性を保持していた。また集団の遺伝的分化については、Pairwise Fst 値による解析と STRUCTURE 解析ともに有意な集団間分化が示唆された。また、一つの集団を構成するラメットの多くは異なったジェネットであったことから、オグラセンノウは地下茎の伸長による栄養繁殖よりは、種子による繁殖を活発に行っていることが示唆される。このことは本研究で得られた集団内の遺伝的多様性の高さを維持している要因の一つと考えられる。

ツクシクガイソウについては、阿蘇山系の6集団が、すべて中程度の遺伝的多様性を保持していることが明らかとなった。また集団間には有意な遺伝的分化が認められた。また、本種はオグラセンノウとは対照的に、ジェネット数がラメット数よりも桁違いに少ないことから、保全上特に遺伝的な情報の把握が重要である。

以上のように、阿蘇山系の草原に生育する絶滅危惧植物の多くにおいて、草原の面積減少や分断化によって、遺伝的浮動による遺伝的分化が顕著になっている可能性が示唆された。これらの絶滅危惧植物の減少理由として草原の管理放棄と植林があげられる。草原の管理の再開や植林の伐採により、集団を復元することで遺伝的多様性の復元と遺伝子流動を再開させることが、これらの植物の遺伝的多様性の保全には重要と考えられる。

また、ハナシノブやヒゴタイを対象とした解析の結果から、埋土種子や栽培集団中には、過去の遺伝的多様性が保持されており、これらを有効に活用することで、野生集団の遺伝的多様性を復元できる可能性が示唆された。

### (2) 小笠原諸島

小笠原諸島に生育する絶滅危惧植物(アツバシロテツ、オオバシロテツ、シロテツ、ムニンゴシュユ、ウラジロコムラサキ、シマムラサキ、オオバシマムラサキ、タブガシ、オガサワラアオグス、コブガシ、コバトベラ、オオミノトベラ、シロトベラ、ハハジマトベラ、ウチダシクロキ、チチジマクロキ、ムニンクロキ、オオハマギキョウ)についてユビ

キタスジェノタイピングを試み、以下の主要成果を得た。

網羅的遺伝解析の結果、残存個体数が数百以下の希少種においても、広分布種集団とほぼ同レベルの遺伝的多様性が保持されていることが確認された。この意外な結果は、小笠原の希少種の多くが、人為や人為的に持ち込まれた外来種の影響で、比較的最近に急速に個体数を減らしたため、祖先集団が保有していた遺伝的多様性がまだ残存しているためと推測される。従って、希少種に関しては、現存する個体を有効に生かしながら個体群を回復させることで、祖先集団に近いレベルの遺伝的多様性を維持できる見込みがあることが明らかになった。

一方、広分布種の中には、島間だけでなく、同じ島内で遺伝的に明瞭に分化した群が認められた。特にオオバシロテツやオオバシムラサキ、オガサワラアオグスにおいては、遺伝的に分化した個体群が異なる生育環境に生育することや、開花時期がずれる傾向が確認された。つまり、これらの種内に認められた遺伝構造は、生育環境の選択性や季節的な隔離機構により遺伝的分化が維持されていると考えられる。よって広分布種については、既存の分類学的な単位にとらわれずに、様々な環境に生育する個体群を保全する必要がある。

トベラ属の分類群に関しては、オオミノトベラとシロトベラが隣接して生育する場所で交雑している可能性が高いことが確認された。

オオハマギキョウでは、数年前に2個体まで激減した履歴のある父島列島の東島集団において、他の集団と同レベルの遺伝的多様性が検出された。父島列島で東島以外にオオハマギキョウは確認されていないことから、埋土種子集団が存在する可能性、または未知の集団が周辺に存在する可能性が示唆された。

小笠原諸島のハザクラキブシは14個体からなる個体群と離散的に分布する5個体からなるが、離散個体に個体群内に見られない遺伝子が確認された。離散5個体は全て種子生産しない雄個体であるため、離散個体がもつ固有遺伝子を維持するためには、挿し木等によるクローンで増殖させるか、他個体と交配させて個体群復元を行うなどの対策が必要と考えられる。一方で、雌個体から種子を採取し、苗を遺伝解析では、既知の野生繁殖個体には見られない対立遺伝子が発見されたことから、周囲を精査したところ、数百m離れた場所から新たに12個体が発見された。この発見はユビキタスジェノタイピングによる生物保全アプローチの利点といえる。

ナガバキブシは1個体群63個体からなるが、遺伝構造に距離効果がみられなかった。

これまでナガバキブシが自生するエリアは島内でも比較的環境が安定していた場所と考えられてきたが、遺伝構造が見られなかったことから、過去に急速な個体群縮小が起きたことが考えられる。

#### 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14件)

- ① 井鷲裕司・兼子伸吾・水谷未耶・加藤慶子・伊津野彩子・高宮正之・志賀隆・増本育子・大竹邦暁、全個体遺伝子型解析による絶滅危惧植物の保全、DNA多型、20、148-152、2012、査読有。
- ② Kaneko S, Abe T, Isagi Y, Development of microsatellite markers for *Stachyurus macrocarpus* and *Stachyurus macrocarpus* var. *prunifolius* (Stachyuraceae), critically endangered shrub species endemic to the Bonin Islands, Conservation Genetics, 10、1865-1867、2009、DOI: 10.1007/s10592-009-9836-x、査読有。
- ③ Yokogawa M, Kaneko S, Isagi Y, Development of microsatellite markers for *Polemonium kiushianum* (Polemoniaceae), a critically endangered grassland plant species in Japan, Conservation Genetics 10、1445-1447、2009、DOI: 10.1007/s10592-008-9757-0、査読有。
- ④ 兼子伸吾・瀬井純雄・高橋佳孝・井鷲裕司、阿蘇地方および中国地方におけるヒゴタイ *Echinops setifer* Iljin の現状、保全生態学研究 14、119-123、2009、査読有。
- ⑤ Mori K, Kaneko S, Isagi Y, Murakami N, Kato H, Isolation and characterization of ten microsatellite loci in *Callicarpa subpubescens* (Verbenaceae), an endemic species of the Bonin Islands, Molecular Ecology Resources, 8、1423-1425、2008、DOI: 10.1111/j.1755-0998.2008.02194.x、査読有。
- ⑥ Kaneko S, Isagi Y, Nobushima F, Genetic differentiation among fragmented populations in an oceanic island: the case of *Metrosideros boninensis*, an endangered endemic tree species in the Bonin Islands, Plant Species Biology, 23、119-128、2008、DOI: 10.1111/j.1442-1984.2008.00213.x、査読有。
- ⑦ Abe T, Wada K, Nakagoshi N, Extinction threats of a narrowly endemic shrub, *Stachyurus macrocarpus* (Stachyuraceae) in the Ogasawara Islands, Plant Ecology, 198、169-183、2008、DOI: 10.1007/s11258-007-9393-7、査読有。

[学会発表] (計 34 件)

- ① Isagi Y., Kaneko S, Kato K, Izuno A, Mizutani M, Shiga T, Masumoto I, Ohtake K, Conservation of critically endangered plant species based on information obtained by the ubiquitous genotyping. The XVIII International Botanical Congress, 2011 年 7 月 26 日、Melbourne.
- ② Kaneko S, Abe T., Isagi Y., Conservation of a critically endangered shrub species *Stachyurus macrocarpus* var. prunifolius (Stachyuraceae) based on the ubiquitous genotyping approach. The XVIII International Botanical Congress, 2011 年 7 月 26 日、Melbourne.
- ③ 兼子伸吾・安部哲人・延島冬生・井鷲裕司、小笠原産希少樹種における断片化した集団間の著しい遺伝的分化 ―ムニンフトモモおよびハザクラキブシの遺伝的構造とその保全について―、第 122 回日本森林学会、2011 年 3 月 26 日、静岡。
- ④ 須貝杏子・加藤朗子・常木静河・森啓悟・加藤英寿、小笠原諸島における絶滅危惧植物保全のためのユビキタスジェノタイピング。第 58 回日本生態学会大会、2011 年 3 月 10 日、札幌。
- ⑤ 安部哲人・兼子伸吾・井鷲裕司、小笠原産固有キブシ属植物の集団遺伝学的研究、第 120 回日本森林学会、2009 年 3 月 28 日、京都。
- ⑥ 藤井紀行・瀬井純雄、阿蘇山系における絶滅危惧植物の現状と保全活動、第 56 回日本生態学会大会、2009 年 3 月 19 日、岩手。

[図書] (計 1 件)

- ① 井鷲裕司、絶滅危惧種の分子保全遺伝学、津村義彦・陶山佳久編「森の分子生態学 2」、文一総合出版、137-158、2012。

[その他]

受賞：

第 13 回 DNA 多型学会優秀研究賞受賞

「全個体遺伝子型解析による絶滅危惧植物の保全」、2011 年 12 月 2 日

ホームページ：

<http://www.forestbiology.kais.kyoto-u.ac.jp/isagi/y/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井鷲 裕司 (ISAGI YUJI)

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：50325130

### (2) 研究分担者

村上 哲明 (MURAKAMI NORIAKI)

首都大学東京・理工学研究科・教授

研究者番号：60192770

加藤 英寿 (KATO HIDEHISA)

首都大学東京・理工学研究科・助教

研究者番号：50305143

安部 哲人 (ABE TETSUTO)

森林総合研究所・九州支所・主任研究員

研究者番号：00353558

藤井 紀行 (FUJII NORIYUKI)

熊本大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：40305412