

平成 21 年 6 月 8 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18380099  
 研究課題名（和文） 湿地林を構成する希少木本種の繁殖と更新に及ぼす遺伝的荷重の影響の解明  
 研究課題名（英文） Studies on effects of the inbreeding load on reproduction and regeneration of rare tree species grown in wet lands.  
 研究代表者  
 石田 清（ISHIDA KIYOSHI）  
 弘前大学・農学生命科学部・准教授  
 研究者番号：10343790

研究成果の概要：絶滅危惧種シデコブシについて、個体数が減少した孤立小集団では近交弱勢が生じて子孫の生存率が低下していること、さらに、生息地面積が減少して交配個体間距離が短くなると二親性近親交配の頻度が高まり、子孫の生存率が減少することを明らかにした。また、シミュレーションモデルによる検討により、シデコブシは孤立小集団になると近交弱勢によって種子生産が減少するが、その度合いは集団間の遺伝子流動があれば軽減されることを示した。一方、絶滅危惧種ハナノキの集団では、交配距離が長くなると子孫の成長量が減少することを明らかにした。この樹木の集団では、人為的なく乱によって遠方個体との交配が生じると、異系交配弱勢が生じて適応度が減少する可能性が高いことを指摘した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2007 年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2008 年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	13,300,000	3,990,000	17,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：林学、林学・森林工学

キーワード：森林生態・保護・保全・生態遺伝学

## 1. 研究開始当初の背景

個体数が減少した集団や近親交配の程度が増加した集団では、遺伝的な要因によって次世代個体の適応度（生存率と繁殖量）が減少する。この適応度の減少は主に劣性有害遺伝子によって生じ、小集団の存続可能性を低下させる要因となる。本研究では、この劣性有

害遺伝子に起因する適応度の低下を「遺伝的荷重」という。開発や園芸採取によって多くの種が絶滅の危機に瀕している今日、希少種の絶滅リスクに及ぼす遺伝的荷重の影響を明らかにすることが緊急の課題となっている。特に、木本種は世代あたりの突然変異率が高く、遺伝的荷重が大きくなりやすいことから

(Lynch and Walsh 1998)、孤立し小集団となりやすい希少木本種を保全するためには、遺伝的荷重の実態を明らかにする必要がある。

希少種の存続可能性に及ぼす遺伝的荷重の影響を明らかにするためには、次世代個体の適応度と集団サイズ・交配様式との関係を明らかにする必要がある。また、希少種の絶滅リスクを評価するためには、シミュレーションによる遺伝的荷重の長期予測も必要となる。

## 2. 研究の目的

わが国の平野部や都市近郊に分布する湿地に生育する希少植物は、開発にともなう湿地の消失・断片化によって孤立小集団となりやすく、今後、世代を重ねるごとに遺伝的荷重が増加し、絶滅リスクが増していくと予想される。本研究では、湿地に生育する希少木本種を対象とし、繁殖と更新に現れる遺伝的荷重を明らかにし、これらの遺伝的荷重が絶滅リスクに及ぼす影響を推定する。

研究対象は、東海地方を中心とする周伊勢湾地域の小規模湿地（以下、東海低湿地という）に分布する木本種である。東海低湿地は小規模なものが多く、開発によって縮小・消失が進行している（石田 2005）。このため、東海低湿地の希少木本種の遺伝的荷重に及ぼす小集団化の影響を明らかにすることが喫緊の課題となる。

本研究では、絶滅リスクが異なると予想される希少木本種—小高木シデコブシ（総計約1万個体）と高木ハナノキ（総計約500個体）に焦点をあてる。これらの樹種は、繁殖・生育特性についての情報が蓄積されている。この知見に遺伝的荷重についての情報を加え、湿地性希少木本種の絶滅プロセスとそのメカニズムを理解することを本研究の目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) シデコブシ集団の遺伝的荷重の解析

①シデコブシの小集団の種子生産に現れる遺伝的荷重を推定するため、岐阜県土岐市の大集団と孤立小集団のペアを対象とし、2種類の交配（集団内交配と集団間交配）を行った。

②近隣個体との交配によって生じる近交荷重を推定するため、土岐市の大集団では自家受粉も行った。さらに、この集団の各個体および種子からDNAを抽出してマイクロサテライト分析を行い、集団の血縁構造と他殖率を推定した。これらのデータを用いて胚段階の生存率に現れる近交荷重を求めた。

③交配実験で得られたデータを用いてシデコブシの大集団が孤立小集団化した後の結実率の世代変化をWright-Fisherモデル (Ewens 2004) で計算した。このモデルを基に種子移入モデルを構築し、1世代あたり成木1個体あるいは2個体分に相当する遺伝子が移入した場合の結実率の世代変化も計算した。

### (2) ハナノキ集団の遺伝的荷重の解析

岐阜県のハナノキ集団を用いて集団内・集団間交配を行った。集団内交配は中津川市の集団で行い、近距離交配・中距離交配・長距離交配を行った（個体間距離 50m 未満・50～100m・100m 以上）。交配で得た果実を計測して、交配距離が結果率・結実率に及ぼす影響を解析した。栽培実験も行い、発芽率・実生の成長量と交配距離との関係を解析した。

## 4. 研究成果

### (1) シデコブシ集団の遺伝的荷重

①シデコブシの種子生産に及ぼす小集団化の影響

結果率については、小集団では集団内交配の値が集団間交配の値よりも低かったが、大集団では交配タイプ間の明瞭な差は認められなかった（図1）。一方、種子重については、小集団では交配タイプ間の明瞭な差が認められない一方で、大集団では集団内交配の値が集団間交配の値よりも 1.2 倍重かった

(図2)。これらの結果から、シデコブシの小集団の結果率には遺伝的荷重(遺伝的浮動による子孫の適応度の減少)が現れ、胚生存率が減少していることを示した。さらに、シデコブシの小集団への集団間交配は、遺伝的荷重を軽減する保全管理効果を持つが、大集団への集団間交配は種子重に異系交配弱勢(遠方個体間の子孫に現れる適応度の減少)をもたらし、種子重を軽くするという弊害をもたらす危険性があることを示した。

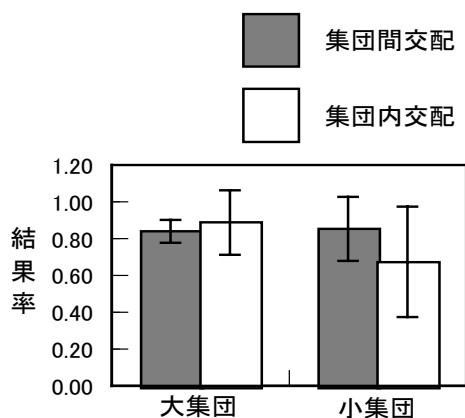


図1 シデコブシの結果率に及ぼす集団間交配の影響

平均値と標準偏差を示す。受粉処理の効果は有意でないが(分散分析;  $P > 0.05$ )、受粉処理×集団の交互作用は有意(分散分析;  $P < 0.05$ )。

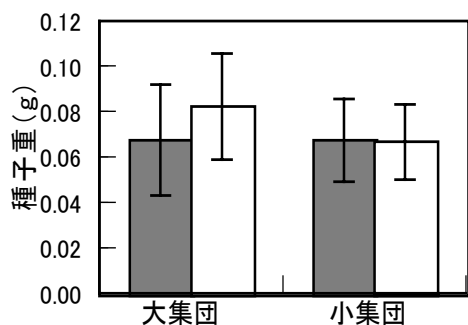


図2 シデコブシの種子重に及ぼす集団間交配の影響

受粉処理の効果, 受粉処理×集団の交互作用両方ともに有意(分散分析  $P < 0.05$ )。

## ②シデコブシの繁殖に及ぼす近親交配の影響

交配・栽培実験の結果, 自殖子孫の胚生存率と生存率に大きな近交弱勢が現れることが明らかとなった(図3)。一方, マイクロサテライト分析から, 血縁関係のある成木個体間の距離は最長で10m程度と推定された(図4)。これらの結果に基づいて交配距離と子孫の生存率との関係を推定した結果, 生育地が縮小して交配個体間距離が5m以下になると, 次世代の初期生存率が小集団よりも約20%低くなると推定された(図5)。以上の結果から, シデコブシでは, 生育地が縮小して交配距離が短くなると, 次世代の生存率が近親交配の影響で低くなることを明らかにした。

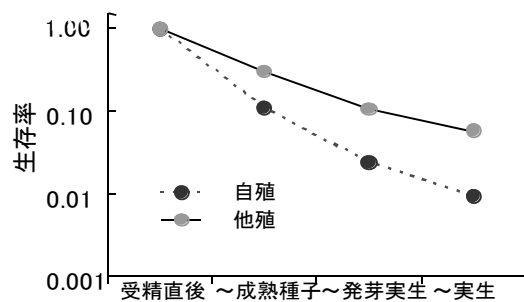


図3 シデコブシの実生期までの積算生存率

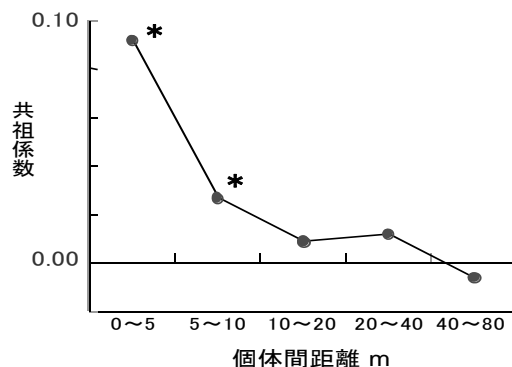


図4 シデコブシ集団内における個体間距離と共祖係数の関係

\* ; 0よりも有意に高い共祖係数。

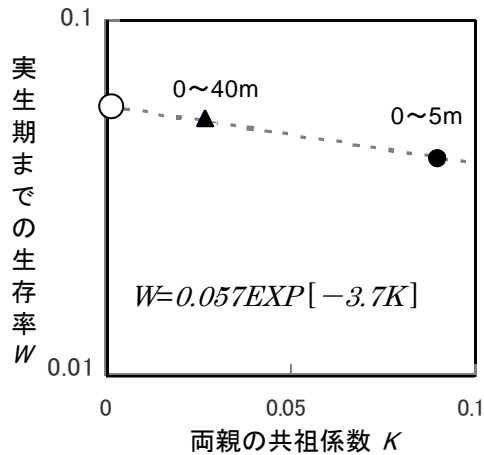


図5 シデコブシ集団における両親の共祖係数と子孫の生存率との関係。

図中の数値は両親の個体間距離を示す。白丸は、集団間交配が生じたときの予測値。点線と数式はMorton et al. (1956)のモデルによる予測式を示す。

### ③シミュレーションによる遺伝的荷重の予測

シミュレーションモデルにより、シデコブシの小集団の種子生産は、完全に孤立すれば個体数が維持できたとしても5世代後に10~30%減少することを示した(図6)。また、種子移入があると孤立している小集団よりも数世代後の種子生産が5~20%多くなる可能性も示した。この結果は、シデコブシの保全のためには、メタ個体群構造の維持、すなわち種子・花粉による遺伝子移入の維持が重要であることを示している。

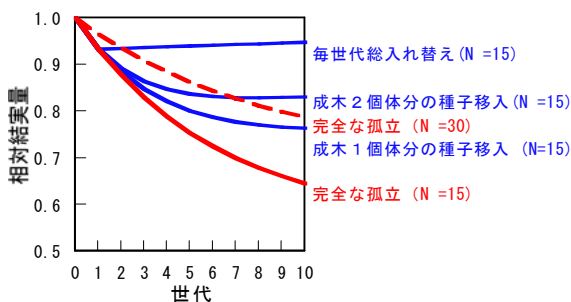


図6 孤立小集団化と種子移入がシデコブシの種子生産に及ぼす影響

(2) ハナノキ集団の遺伝的荷重の解析  
交配距離と結果率・結実率との間には明瞭な関係は認められなかった。当年生個体の樹高については、中距離交配子孫の方が長距離交配子孫よりも大きかった(表1)。2年生個体に関しては、樹高と交配距離の関係は明瞭でなかったが、地上部乾重は交配距離が長くなると軽くなる傾向が認められた(表1)。調査した適応度成分・形質値のうち、近距離交配子孫が中距離交配子孫よりも低い値を示した形質は発芽率のみであった。これらの結果に基づいて、ハナノキでは、近距離交配によって発芽率に近交弱勢が表れること、さらに、長距離交配によって地上部の成長に異系交配弱勢が現れることを示した。ハナノキは倍数体種であり、以上の結果は、倍数体種では近交弱勢が現れにくい一方で、大きな異系交配弱勢が現れやすいという予想

(Etterson et al. 2007) と矛盾しないものといえる。

表1 ハナノキ集団における交配距離クラス間の適応度成分(子孫の測定値)の比較

平均値に有意差があるケースは太字で示した(等分散性を仮定しないDunnnett testで検定)。近・中・遠は、それぞれ近距離交配子孫、中距離交配子孫、遠距離交配子孫を示す。

形質	平均値の差		大小関係
	中距離-近距離	中距離-遠距離	
結果率(逆正弦変換値)	0.103	0.074	近<中<遠
結実率(逆正弦変換値)	-0.080	-0.037	近<中<遠
発芽率(逆正弦変換値)	<b>0.146*</b>	0.083	近<中<遠
樹高(発芽当年)	-0.2	<b>10.8***</b>	近<中>遠
樹高(2年目)	10.7	<b>20.3***</b>	近<中>遠
地上部乾重	4.7	<b>13.3**</b>	近<中>遠

\*0.01 < P ≤ 0.05, \*\*0.001 < P ≤ 0.01, \*\*\* P ≤ 0.001

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計8件)

- ① Tamaki I., Ishida K., Setsuko S., and Tomaru N. Inter-population variation in mating system and late-stage inbreeding depression in *Magnolia stellata*. *Molecular Ecology*, Vol. 18, 2365-2374, 2009, 査読有
- ② 石田清、ホオノキ集団における近交弱勢の維持、林木の育種、231 巻、1-6、2009、査読無
- ③ Ishida K. Effects of inbreeding on the magnitude of inbreeding depression in a highly self-fertilizing tree, *Magnolia obovata*. *Ecological Research*, Vol. 23, 995-1003, 2008, 査読有
- ④ Setsuko S., Tamaki I, Ishida K. and Tomaru N. Relationships between flowering phenology and female reproductive success in the Japanese tree species *Magnolia stellata*. *Botany*, Vol. 86, 248-258, 2008, 査読有
- ⑤ 石田清、絶滅危惧種シデコブシの現状と遺伝的管理の可能性、森林総合研究所関西支所年報 48 巻、62-64、2007、査読無
- ⑥ Hirayama K., Ishida K., Setsuko S. and Tomaru N. Reduced seed production, inbreeding, and pollen shortage in a small population of a threatened tree, *Magnolia stellata*. *Biological Conservation* Vol.136, 315-323, 2007, 査読有
- ⑦ Setsuko S., Ishida K., Ueno S., Tsumura Y. and Tomaru N. Population differentiation and gene flow within a metapopulation of a threatened tree, *Magnolia stellata* (Magnoliaceae) .

*American Journal of Botany*, Vol. 94, 128-136, 2007, 査読有

- ⑧ 石田清、レッドリストの生き物たち 31 シデコブシ (絶滅危惧Ⅱ類)、森林技術 769 巻、36-37、2006、査読無

[学会発表] (計9件)

- ① 石田清、戸丸信弘、シデコブシの交配様式と後期近交弱勢の集団間変異: 集団サイズと集団の孤立が集団の存続に及ぼす影響、日本生態学会、2009年3月19日、岩手県立大学
- ② 石田清、戸丸信弘、シデコブシの繁殖と遺伝的変異に局所集団サイズとメタ集団構造が及ぼす影響、日本森林学会、2009年3月25日、京都大学
- ③ 石田清、金指あや子、菊地賢、絶滅危惧種ハナノキの繁殖に及ぼす交配距離の影響、日本森林学会、京都大学、2009年3月25日、京都大学
- ④ 井上みずき、石田清、谷尚樹、雌雄異株ヤチヤナギのクローン構造、日本森林学会、2008年3月25日、東京農工大学
- ⑤ 石田清、金指あや子、菊地賢、希少木本種における遺伝的荷重と異系交配弱勢、日本生態学会、2008年3月17日、福岡国際会議場
- ⑥ 戸丸信弘、シデコブシの生態遺伝学—遺伝子流動と近交弱勢—、日本生態学会、2007年3月20日、愛媛大学
- ⑦ 井上みずき、石田清、雌雄異株クローナル植物ヤチヤナギの性比とその分布、日本生態学会、2007年3月20日、愛媛大学
- ⑧ 石田清、戸丸信弘、愛知県渥美半島と三重県におけるシデコブシ集団の交配様式と後期近交弱勢の推定、日本森林学会、2007年3月30日、九州大学
- ⑨ 石田清、集団サイズと近親交配が近交弱勢に及ぼす影響—数理モデルによる世代変化の予測—、日本生態学会、2007年3月20日、愛媛大学

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石田 清 (ISHIDA KIYOSHI)  
弘前大学・農学生命科学部・准教授  
研究者番号: 10343790

(2)研究分担者

金指 あや子(KANAZASHI AYAKO)  
森林総合研究所・企画部・室長  
研究者番号：60353645

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

菊地 賢(KIKUCHI SATOSHI)  
森林総合研究所・森林遺伝研究領域・研究員  
研究者番号：10353658

井上 みずき(INOUE MIZUKI)  
秋田県立大学・生物資源科学部・助教  
研究者番号：80432342

(3)連携研究者

谷 尚樹(TANI NAOKI)  
森林総合研究所・森林遺伝研究領域・主任研究官  
研究者番号：90343798