

平成22年6月17日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19710201

研究課題名（和文） ストレス環境下における近交弱勢の個体群存続性への影響評価

研究課題名（英文） Effects of inbreeding depression to population viability under environmental stress

研究代表者

石濱 史子 (ISHIHAMA FUMIKO)

独立行政法人国立環境研究所・生物圏環境研究領域・研究員

研究者番号：80414358

研究成果の概要（和文）：乾燥化や富栄養化など環境の悪化が著しい、貧栄養湿地に生育する絶滅危惧植物、イヌセンブリの個体群存続性に近親交配・乾燥化・被陰の相互作用が及ぼす効果を、実験個体群および自生地での個体数調査に基づいて評価した。その結果、実生の段階では近交弱勢が乾燥ストレス下で強くなる傾向が見られた。その後の開花までのステージにおいてはそのような交互作用は見られなかったが、過湿により成長が著しく阻害される傾向、および自殖個体では近交弱勢により生存率・着花数ともに低下する傾向がみられた。

研究成果の概要（英文）：I evaluated the synergetic effect of inbreeding depression, soil moisture condition and light limitation on the population viability of an endangered wetland plants, *Swertia diluta* based on census in experimental and natural populations. The inbreeding depression and dry soil condition had synergetic negative effect on the survival of seedlings. No such synergetic effect was observed in the later growing stages, while excessive moisture inhibited growth and inbreeding depression caused decrease in survival to flowering stage and number of flowers per individual.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

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：近交弱勢、絶滅リスク評価、自殖性、ストレス、絶滅危惧植物、湿地、二年草、乾燥化

1. 研究開始当初の背景

生息地破壊などで小さくなってしまった野生生物の個体群では、近親交配が起りやすくなる。そのため、近親交配で起きる遺伝的

な異常である近交弱勢が、個体群の衰退に追い討ちをかける可能性が指摘されてきた。しかし、縮小した個体群では、偶然による繁殖の失敗や、物理的環境の悪化、花粉媒介昆虫の減少など、近親交配以外にも様々な要因が

作用する。そのため、他の要因に比べて近交弱勢の影響がどれくらい重要なのかは、長い間、論争的であった(Frankham 2005)。

近年、他殖性の生物(主に動物)では、近交弱勢が個体群の絶滅確率を 30%程度も上昇させるという報告があり(O' Grady ら 2006)、野生生物の絶滅リスクを予測する上で近交弱勢を考慮することの重要性が見直されつつある。しかし、現状では、近交弱勢が影響しそうなタイプ(他殖性)の生物だけに評価が偏っている。

自家受粉で種子を作る頻度が高い”自殖性”の植物は、他殖性の植物よりも近交弱勢が弱い傾向がある(自家受粉した場合、他殖性植物が平均 53%の適応度低下に対して、自殖性は 23%、 Husband & Schemske 1996)。そのため、評価が後回しにされているが、本当に影響が無視できるのかどうか判断できない状況である。

本課題では、近交弱勢の影響評価が不足している、1. ストレスの強い環境下での影響 (Reed et al. 2002)、2. 自家和合性植物での影響 (Frankham 2005)に着目する。

野外環境では、通常、栽培条件よりも近交弱勢が強く現れる(Cronokrak & Roff 1999)。遺伝的な異常を持つ、病弱な個体や成長が遅い個体は、手厚く保護された環境では生き続けられるが、病原体や光不足などのストレスが強い野外では生きられないからである。絶滅危惧植物は生息地の劣化によって強いストレスを受けている場合が多い。そのため、良好な栽培条件の整った温室での実験や、生息に最適な場所だけを選んでの野外実験では、実際に絶滅に瀕した野生個体群が経験するはずの近交弱勢の影響を、過小評価してしまう可能性が高い。

自家和合性植物は野生状態でもしばしば近親交配を行うため、有害遺伝子の一部が自然選択によって除去されており、近交弱勢が比較的弱い。しかし、どの程度弱い近交弱勢なら影響がないのか明らかではない。しかも、これまでの測定はストレスのない温室条件のものがほとんどである。自殖性の植物でも、ストレス環境下では従来考えられていたよりも強い近交弱勢を経験する可能性があるが、きちんとした評価が行われないうまになっている。

2. 研究の目的

研究対象のイヌセンブリは、貧栄養な湿地に生息する。2~数年生きる一回繁殖型の植物で、受粉が容易な花形態を持つリンドウ科の絶滅危惧種である。高い自家和合性があり、栽培条件ではほとんど近交弱勢が観察され

ない。しかし、雌雄離熟という自家受粉を避ける花形態を持っており、ストレスがある野外条件では近親交配がデメリットをもたらすことが示唆される。草丈が低く、野焼きや刈り取りなどの管理が行われなくなったことによる遷移の進行、富栄養化に伴う高茎草本の侵入、開発による湿地の消失・乾燥化が主要な個体群の衰退要因である。従って、野生個体群での主なストレスは、被陰および乾燥と考えられる。また、近交弱勢とその他の環境要因の相互作用を評価するためには、モデルによるデータの統合が有効な手法である。これらのことから、以下の3つを研究期間内の目標とする。

(1) 野外のストレス条件下での近交弱勢の測定

被陰・乾燥条件が異なる立地に、自殖由来・他殖由来の実験個体群を作成し、生存・開花率と種子生産の調査を通じて、近交弱勢の強さ(自殖と他殖の繁殖成功の差)を測定する。

(2) 自然個体群での近親交配の実態把握

ストレス条件下において近交弱勢が個体群動態に影響を与えることが示唆された場合、自生個体群で実際にどれくらい近親交配が起こっているのかを推定する必要がある。そのためには遺伝マーカーによる交配パターンと血縁者の分布(遺伝構造)の調査が有効である。このような目的に適切な DNA マーカーであるマクロサテライトマーカーの開発を行う。

(3) 個体群動態モデルを用いた、近交弱勢による絶滅リスクの評価

1,2 の調査から得られたデータからモデルのパラメータを推定し、近交弱勢・環境劣化・これらの相互作用が個体群の絶滅リスクをどれくらい高めるか、定量的予測を行う。

3. 研究の方法

(1) ストレス環境下での近交弱勢測定のための実験個体群の作成

自然個体群の研究では、立地条件・近親交配の程度・個体群サイズなどは連動している場合が多く、それぞれの影響を独立に評価することが難しい。実験個体群を用いることで、こういった問題を回避できる。

以下の条件で設置した実験個体群において、生存率・成長率・開花率・開花数の調査を行った。

① 近親交配の程度

事前に人工授粉で作成した自家受粉・他家受粉種子を用いることで、他殖由来と自殖由来

の実験個体群を作成する。他殖由来と自殖由来の個体群の適応度の差が、近交弱勢の強さの推定値となる。人工授粉では6つの母系を用い、播種の際には母系ごとに各3つの繰り返しを設けた。

②ストレス条件

上記2つの遺伝的タイプの個体群を、被陰・乾燥の程度が異なる立地条件に、繰り返しを設けて作成する。被陰の程度は高茎草本の刈り取りもしくは寒冷紗によって制御し、乾燥条件は比高の高低で変化させる。

イヌセンブリは二年生草本であるので、発芽から開花までの生活史全体を把握するため、2年間の生存率・成長率・開花率・開花数の調査を行った。

(2)自生個体群での個体数動態および生息環境調査

実験個体群では、自生個体群と生存・成長率などが異なる可能性がある。現実的な個体数動態パラメータの推定を可能とするため、自生個体群で実生・ロゼットの生存率、開花率、開花数、種子生産量の測定を行った。調査は、イヌセンブリの関東地方の主な生息地の1つである、渡良瀬遊水地で行った。2ヵ所の局所個体群に各1つの4m×4mのコドラートを設置した。コドラート内の全ての実生・ロゼットに6月にマーキングを行い、実生については11月・翌6月の生存率、ロゼットについては開花期である11月に個体サイズ(根際直径)と着花数を調査した。このような調査を3年間に渡って行った。

(3)遺伝解析のためのマイクロサテライトマーカーの開発

近交弱勢の影響がストレス条件下で強く表れる可能性がある場合、野外での近親交配の状況を詳細に把握する必要がある。そのためには、遺伝マーカーによる血縁構造の分析が有効である。用いる遺伝マーカーとして、マイクロサテライトマーカーをマグネットビーズ法を用いて開発した。

(4)個体数動態モデルのパラメータ推定、絶滅リスク評価

様々な実験や調査のデータを統合し、個体数動態と遺伝的動態が相互作用した、個体群動態の全体像を把握するためには、個体数動態モデルによる評価が有効である。近交弱勢および環境条件の変化(遷移の進行、乾燥化)を考慮した個体数動態モデルを用いて、絶滅リスクに対する環境劣化・近交弱勢とその相互作用の影響を評価した。モデルのパラメータは、実験個体群および自

生個体群での調査で得られた生存率・開花率のデータから推定した。

4. 研究成果

平成19年度は、均一な栽培環境および被陰・乾燥ストレスの程度を制御した野外実験個体群で近交弱勢の測定を行った。近交弱勢の測定は、人工授粉によって作成した自殖・他殖種子を播種し、その発芽・成長率を比較することで行った。野外実験では、ストレス条件として、被陰の程度を高茎草本の刈り取りにより操作し、乾燥条件は比高の高低で変化させた。

事前に行った室内の栽培環境では、自殖・他殖ともに発芽率は99.5%、半年後のロゼットを形成した段階での生存率はそれぞれ47%と43%と、有意な差はなく、成長率にも顕著な差はみられなかった。これは、良好な栽培条件ではロゼット形成の段階までには近交弱勢は起きないことを示す。これに対して、ストレス条件においた野外実験個体群では、夏場の乾燥と台風で冠水した影響で、発芽・ロゼット形成までの生存率は0.1%未満と、栽培環境に比べて著しく低かった。いずれの被陰・乾燥条件でも自殖・他殖間での生存率の有意な差はなく、野外のストレス条件下でも近交弱勢は検出されなかったが、攪乱によって生残個体が10個体に満たなかったために正確な計測ができなかった可能性があるため、継続実験が必要と考えられた。

平成20年度は、被陰・乾燥ストレスの程度を制御した圃場実験個体群で近交弱勢の測定を行った。近交弱勢の測定は、人工授粉によって作成した自殖・他殖種子を播種し、その発芽・成長率を比較することで行った。圃場実験では、ストレス条件として、被陰の程度を寒冷紗を用いて操作し(50%、80%)、乾燥条件は比高の高低(5, 25, 50cm)で変化させた。その結果、乾燥条件は実生の生存率に大きく影響し、比高が高く乾燥しているほど生存率が低く、さらに、自殖の個体で乾燥による生存率低下が大きいという傾向が見られた(図1)。母系および実験ブロックの効果をランダム要因として考慮した一般化線形モデルで統計解析でも、AICによるモデル選択でこの交互作用と比高・近親交配の程度を説明変数として含むモデルが選択され、統計的にも実生の生存率に対して近親交配と乾燥条件の交互作用が影響することが示された。このような傾向は、近交弱勢が乾燥ストレス下で強くなる可能性を示す。しかし、その後のロゼットの生存率においては、そのような乾燥条件と近親交配の交互作用は見

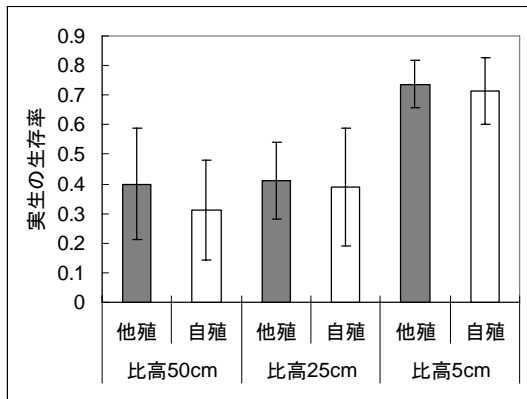


図1 イヌセンブリの実生の生存率に対する比高と近親交配の影響。比高が高いほど土壤が乾燥している。

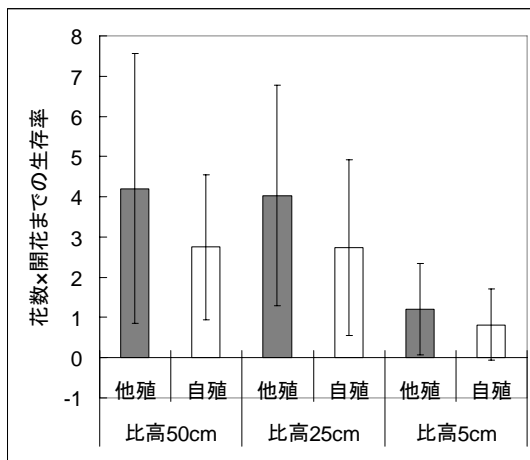


図2 イヌセンブリの繁殖成功(個体あたりの花数×開花までの生存率)における比高と近親交配の影響。

られなかった。また、もう1つの環境条件である被陰については、実験で設定した範囲(50%と80%)では影響が見られなかった。

2009年度は、被陰・乾燥ストレスの程度を制御した圃場実験個体群での近交弱勢の継続測定を行った。前年度の実生段階では、乾燥条件が生存率に大きく影響し、比高が高く乾燥しているほど生存率が低く、さらに、自殖の個体で乾燥による生存率低下が大きい傾向が見られていた。その後のロゼットの生存率および開花率・着花数においては、そのような乾燥条件と近親交配の交互作用は見られなかった。しかし、自殖個体では開花までの生存率や着花数が全体に低く、繁殖成功(個体あたりの花数×開花までの生存率)は他殖個体の66.7%と比較的大きな低下が見られた。自家和合性の高い自殖性植物であると考えられるイヌセンブリにおいても、無視できない程度の近交弱勢があることが明らかになった(図2)。

環境条件に関しては、最も低い比高5cmで個体サイズおよび着花数は大きな低下が見られ、過湿によるものと考えられた。これは、実生の生存率が比高5cmで最も高かった(図1)のとは対照的であり、実生の段階においても開花の段階においても、生存率等において大きな低下が見られなかった比高25cmが最も好適な生育環境と考えられた。このような生活史全体を通じての比高の影響が大きいという結果は、5~50cmという比較的狭い比高の幅であってもイヌセンブリの生存率に大きな影響があり、好適な生育環境は比高25cm前後程度とかなり限定的な条件であることを示している。したがって、湿地の乾燥化がイヌセンブリ個体群を大きく衰退させる可能性があるだけでなく、本来、イヌセンブリの生息適地は非常に限定された水分条件であり、このような微妙な比高条件を備えたため池の土手や田のあぜなどの生息環境が、圃場整備等による消失が続く場合、イヌセンブリの個体群存続性は著しく脅かされると考えられる。

被陰については、開花に対しても実験で設定した範囲では影響がなく、生活史を通じて影響が見られなかった。しかし、渡良瀬遊水地で行った広域分布調査では、高茎草本の草丈がイヌセンブリの生息確率に強い負の効果を及ぼすことが明らかとなっており、遷移の進行による極度の被陰は個体群の存続性を大きく低下させると考えられる。

以上の実験個体群での調査から、近交弱勢と環境条件の交互作用は実生の生存率というごく限られた成長段階でしか影響しないものの、個体群の存続性に対して、近交弱勢が単独で無視できない影響を及ぼす可能性が示唆された。そこで、野外での血縁構造や近親交配の実体把握に有効と考えられるマイクロサテライトマーカーを、マグネットビーズ法を用いて開発し、候補となる32座についてプライマー設計を行った。また、遺伝解析用のサンプルとして、関東地方の代表的な生息地である渡良瀬遊水地と、比較対象とするために関西地方のサンプルとして三重県尾鷲市付近において、実生およびロゼットの2つの成長段階で葉のサンプリングを行った。今後、これらの分析によって、血縁構造等を明らかにする予定である。

実験個体群での生存率は野外に比べて高い可能性があるため、より現実的な個体数動態パラメータの推定のため、渡良瀬遊水地の自生個体群においても個体数動態調査を2年間行った。この自生個体群の調査で得られた実生およびロゼットの生存率、および開花個体の種子生産数から推定された個体群の自然増殖率は、2カ所の調査地において、それぞれ1.01と1.08であり、増加も減少もしない

安定した個体数動態であることを示す1にほぼ近かった。この結果は、これらの調査地の個体群は、現在の環境条件においては将来の絶滅確率はほぼ0に近いことが明らかになった。しかし、これらの個体群で高い他家受粉が起きており、近親交配の影響がない状態である可能性もある。仮に、全く近交弱勢の影響がない状態でこの自然増殖率を示していると仮定し、将来、自殖に近い極端な近親交配が起きたと仮定すると、最大で今回の実験個体群で得られた66.7%の繁殖成功の低下が起きる可能性がある。このような仮定で将来の個体数動態を推定すると、わずか5年で個体数が1/3程度まで減少してしまう可能性がある。イヌセンブリは高い自家和合性を示すため、実際の自生個体群では、比較的高い頻度で自家受粉が起きており、その状態でも安定した個体数動態を維持している可能性が高く、このような極端な個体数減少は起きにくいと考えられるものの、今回の研究の結果は、イヌセンブリのような自殖性の高い種においても、近交弱勢の影響を考慮した評価が重要であることを示している。

5. 主な発表論文等

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石濱 史子 (ISHIHAMA FUMIKO)
独立行政法人国立環境研究所・
生物圏環境研究領域・研究員
研究者番号：80414358

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし