

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380075

研究課題名(和文) Genetic corridorとしての里山機能の解明

研究課題名(英文) Study on functions of SATOYAMA as Genetic corridor

研究代表者

井出 雄二 (IDE, Yuji)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：90213024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：樹木種の遺伝的多様性と遺伝子流動に対し、里山が果たしている役割は明らかでない。本研究では、埼玉県西部地域において互いに繁殖様式の異なる3樹種、コナラ、ウワミズザクラ、ウグイスカグラ集団の遺伝的多様性と遺伝構造を、核または葉緑体マーカーを用いて明らかにした。その結果、里山において各樹種の遺伝的多様性は十分保持されていた。一方、広範囲に生育している風媒重力散布樹種より点在している虫媒鳥散布樹種のほうが遺伝子流動の制限があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The functions of SATOYAMA on genetic diversity and gene flow of tree species are unknown. In this study, genetic diversity and structure for *Quercus serrata*, *Prunus grayana* and *Lonicera gracilipes*, which have different breeding systems, were clarified using nuclear or chloroplast DNA markers in west SAITAMA prefecture. The genetic diversity for each species were maintained in SATOYAMA. On the other hand, the gene flow were more limited in entomophilous and bird dispersal species, which were scattered in the forest, than wind pollinated and gravity dispersal species, which was widely distributed.

研究分野：森林遺伝育種学

キーワード：ジェネティック コリドー 景観遺伝学

### 1. 研究開始当初の背景

これまで、里山については独特の生物多様性の存在する景観として、その保全に関する様々な研究が行われている。樹木遺伝の分野においても、里山を主たる分布地とする希少種、例えばシデコブシ (Setsuko, 2007)、ハナノキ (佐伯, 2011)、サクラバハノキ (Miyamoto, 2001) などの保全にかかわる研究がおこなわれてきた。しかし、コナラやシデ類など里山の主たる構成種について、里山における遺伝的多様性の実態を明らかにした研究はほとんど行われていない。Erikson(2001)は、ごく普通に森林を構成する多くの樹木について、その遺伝的多様性保全に関する情報が不足しているとして、これらを Neglected species と呼んだが、里山の主たる構成種はまさにそのような状態に置かれている。このような種は、もともと個体数が少ない種と異なり、遺伝的多様性の減少が個体群の衰退につながりやすい。

申請者らは、これまでに山地のナラ類 (コナラ、ミズナラなど) やカバノキ属樹木 (ウダイカンバ、オノオレカンバ) について、山岳地形と遺伝的多様性の観点から研究を進め、それぞれの繁殖様式と遺伝的多様性の分布状態との間に密接な関係があることを明らかにしてきた。すなわち、比較的高標高域に分布するミズナラでは山稜など大きな地形が遺伝子流動を阻害し、地域間の遺伝的分化を引き起こす (Ohsawa et al., 2011) のに対して、低地に分布するコナラでは大きな地形より個別の立地環境による影響がより顕著であった (Ohsawa et al., 2006)。また、ウダイカンバでも大きな地形が集団間分化を引き起こす要因であった (Tasuda et al., 2010) のに対して、オノオレカンバではそれ以外に斜面の連続性が集団間分化を引き起こす要因と推定された (五十嵐ら, 2011)。これらは、繁殖様式の違いや生育適地の分布などが、種の景観レベルでの遺伝的分化に強い影響を与えているものと考察した。そのような観点から、里山地帯における樹木集団の遺伝的多様性の在り方もまた、樹種の繁殖様式と林分の空間的配置によって大きく異なるであろうと予想される。さらに、里山地域において遺伝子流動が活発に行われているならば、これらの林分は広域の遺伝子流動を保証する Genetic corridor として機能する可能性がある。これは、森林の分断化が進む現代の環境下において、里山景観のこれまで考えられてきた以外の機能として注目すべきと考える。実際、申請者らが福島県相馬地方の里地の分散したアカマツ林分について遺伝的多様性と遺伝子流動を調べた結果では、これら林分が十分に大きな遺伝子流動を担保しており、地域全体として高い遺伝的多様性が保たれていた (Ozawa et al., 2012)。

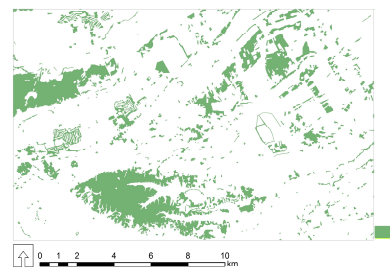
### 2. 研究の目的

本研究は、空間的に比較的分散して存在する里山が、樹木の遺伝的多様性維持にどのような働きを有するか、景観遺伝学的に明らかにすることを目的とする。里山が適度な距離と面積を持って分布することによって、林分間の遺伝子流動が一定程度に保たれるとすれば、森林地帯と森林地帯を遺伝的に結合する、“Genetic corridor (遺伝的回廊)”としての機能を果たすことにより、より大きな空間スケールにおける遺伝的多様性維持に大きな意味を持つと考えられる。また、そのため、まず、1) 研究対象地域において里山およびその背後に存在する森林の配置や規模を明らかにする。ついで、2) そのような景観において、異なる花粉散布および種子散布様式 (あわせて繁殖様式と呼ぶ) を有する複数の樹種を対象に、どのように遺伝的多様性が存在するのか、林分相互間においてどのような遺伝子流動が起こっているのかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

調査地は、埼玉県西部地域の川越市、三芳町、所沢市、狭山市、入間市、日高市、飯能市の南北約 30 km、東西約 40 km、武蔵野台地北部、入間台地を中心とし、関東山地東南縁とそれに連続する丘陵を含む範囲とした。調査地のうち 1880 年代に作成された迅速測図が存在する地域約 241.2 km<sup>2</sup> について、迅速測図上の樹林に関する凡例 (松、檜、雑、樺) の記載されたポイントを GIS 上にデータ化した。それぞれのポイントが現在どのような土地利用あるいは植生であるかを明らかにするため、1/25,000 現存植生図 (2000 年代) における当該ポイントの植生を抽出した。また、GIS 上で樹林パッチを抽出し、それぞれの面積を算出した。

図 調査地の樹林地分布 (現存植生図より作成)



対象樹種は、里山林を構成する最も主要な樹種である風媒重力散布高木のコナラ、虫媒鳥散布高木のウワミズザクラ、同じく虫媒鳥散布であるが林床低木のウグイスカグラとした。

#### <コナラ>

調査地内でコナラ 18 集団の成木および実生 (17 集団のみ)、それぞれ約 20 個体の葉を採取し、遺伝解析に供した。また、対照として自然林である秩父山地の 1 集団および他地域の里山林である滋賀県の 1 集団を用いた。遺

伝解析は、既存の核 SSR14 座について行い、各集団の遺伝的多様性の指標 ( $A_R$ ,  $H_E$ )、近交係数  $F_{IS}$  および集団間の分化の程度  $F_{ST}$ 、集団総当たりの分化 pairwise  $F_{ST}$  を求めた。また、集団の遺伝構造を明らかにするために、ストラクチャー解析を行った。遺伝的多様性の指標、近交係数および集団間分化の程度については、地形分類ごとに、あるいは成木集団と実生集団で異なるかどうかを検証した。さらに履歴によって異なるかどうか迅速測図上で松であった 6 林分と檜であった 3 林分の値を比較した。また、集団ごとに近隣樹木のパッチ数および樹林地面積を算出し、近隣樹林地数、近隣樹林地面積割合、周辺の 1 樹林地あたり面積と遺伝的多様性との相関分析を行った。

また、既存の葉緑体 SSR マーカー 6 座を用い、成木のみ各集団 8 個体解析を行った。各マーカーの断片長からハプロタイプを決定した。また、最節約法によりハプロタイプネットワークを作成した。

#### <ウワミズザクラ>

調査地内でウワミズザクラ集団 19 集団の各 1~25 個体の成木全 259 個体から葉を採取した。10 個体以上採取できた 13 集団のみ多様性解析に用い、その他は遺伝構造解析の際のみ用いた。解析には次世代シーケンサーを用いて開発した 4 つの核 SSR 遺伝子座と既存の遺伝子座 1 つの計 5 座を使用した。遺伝的多様性の指数 ( $A_R$ ,  $H_E$ )、さらに近交係数  $F_{IS}$  を求め求めた。これらの値を用いて遺伝的多様性に台地および丘陵の地形分類による偏りがあるかを検討した。また、集団間の分化の程度  $F_{ST}$ 、集団総当たりの分化 pairwise  $F_{ST}$  を求めた。遺伝構造をストラクチャー解析により検証した。

#### <ウグイスカグラ>

調査地内でウグイスカグラ 8 集団各 1~6 個体、全 29 個体、また外群として山梨県山中湖村 1 集団 3 個体から葉を採取した。次世代シーケンサーで得たウグイスカグラ葉緑体 DNA シーケンスを元に設計した 2 領域 1266bp についてこれらの塩基配列を決定した。各個体の塩基配列を比較し、塩基置換および欠失を元にハプロタイプを決定した。また、最節約法によりハプロタイプネットワークを作成した。

### 4. 研究成果

#### <コナラ>

全ての成木集団の遺伝的多様性を示す指数は高い値 ( $H_E=0.739$ ,  $A_R=5.64$ ) であり、集団間の分化の程度は成木で  $F_{ST}=0.001$  と著しく低かった。実生集団は成木集団より有意に  $A_R$  が低く ( $H_E=0.736$ ,  $A_R=5.49$ )、また集団間分化の指数が  $F_{ST}=0.006$  とやや高かった。ストラクチャー解析では  $K=1$  が妥当であると考えられた。台地、丘陵、山地といった地形

区分と、以前マツ林であったかナラ林であったかの林分の履歴は、集団の遺伝的多様性と関係がなかった。一方、周辺樹林地の分布と多様性との間には関係を見ると、周辺樹林地の数が多いほど成木の遺伝的多様性が高くなったが、実生ではそのような関係は見られなかった。また、ストラクチャー解析で  $K=2$  とした場合、特に遺伝的多様性が高い 1 集団において他の集団では稀なジーンプールに割り振られる割合が高く、この集団に特有な履歴が存在していたため遺伝的多様性が高いのであろうと考えられた。この集団を除いた場合、遺伝的多様性と周辺樹林地数との間に相関関係は見られなかった。



図 K=2 としたときのストラクチャー解析の結果 で囲った集団は、遺伝的多様性が高かった集団。

葉緑体ハプロタイプは全部で 7 つ検出された。対象地では遺伝的に近い 2 ハプロタイプのみが検出され、滋賀集団との共有はなく、地理的に近い秩父集団とで共有が見られた。このことから、調査地は在来の葉緑体遺伝子が保存されていると考えられた。

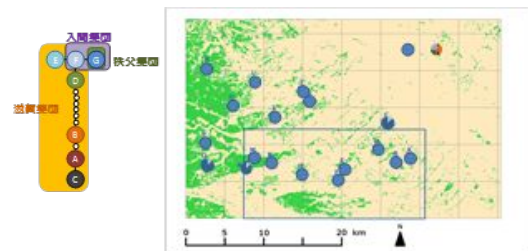


図 検出された葉緑体ハプロタイプのネットワーク(左)と調査地内での分布(右)

以上より、当該地域の里山はコナラの高い遺伝的多様性が一様に保持される場として働いていると考えられる。現在成立しているコナラ集団は、十分な遺伝子流動の結果、成立したものと考えられる。一方、実生において遺伝的多様性の低下と遺伝的分化の進行の可能性が検出された。すなわち調査地のコナラ集団は、将来的には遺伝子流動の制限により遺伝的多様性が減少する可能性がある。これは、現在の里山林の配置では十分な遺伝子流動が担保されていないためと考えられる。一方で、実生集団は限られた期間の交配の結果である。そのため交配に参加した個体数が限られており、それによりこの現象が生じた可能性も否定できず、必ずしも次世代の成木集団において遺伝的多様性が減少するとは言いきれない。また、実生集団の遺伝的多様性と周辺樹林地の分布とに関連がなかったことは後者の可能性を支持する。したがって、現在の里山林の分布は、コナラ集団の遺伝子

流動の障害となっている可能性が高い。

#### <ウワミズザクラ>

全集団とも近交係数が0より有意にずれてはおらず任意交配集団であると考えられた。遺伝的多様性の指数は、台地集団が  $H_E=0.638$ ,  $A_R=5.32$  丘陵集団が  $H_E=0.699$ ,  $A_R=5.42$  であった。 $H_E$  は台地集団に比べ丘陵集団で有意に高かった。台地上は人間活動が盛んなところである。したがって、この立地区分には人為の影響の強さも関係しているため、人為が遺伝的多様性に影響している可能性が示唆される。一方で、集団の地理的な位置など他の条件が影響している可能性もある。集団全体の分化の程度は  $F_{ST}=0.079$  で有意ではなかった。一方、pairwise  $F_{ST}$  は78組中70組で有意であった。このことから集団間に遺伝子流動の制限があることが分かった。また、ストラクチャー解析の結果、 $K=2$  が最適とされた。この時ジーンプールの分布に地域的な偏りが見られ、遺伝構造が存在した。他の集団と異なるジーンプール割合を持つ集団は、江戸時代に新田開発がなされ人為的に平地林が造成された「三富新田」と呼ばれる地域に位置していた。ウワミズザクラは人為的に植栽されるとは考えづらいので、平地林が造成された後に周辺林地から限られた数の種子が移入してきたことにより、周辺とは異なる遺伝的組成になったと考えられる。しかし、近年起こった移入によりこの遺伝構造が形成されたと考えられるため、今後この構造が解消される可能性もある。これらのことから、ウワミズザクラは調査地内では遺伝子流動の制限があると考えられる。

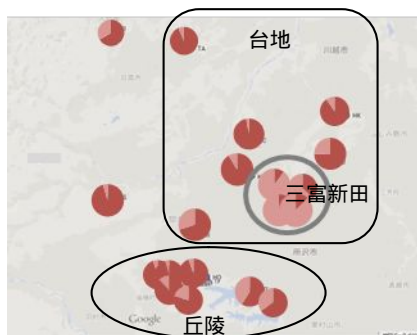


図 K=2 とした場合のストラクチャー解析による各集団のジーンプールの割合

#### <ウグイスカグラ>

全部で4個のハプロタイプが検出された。ハプロタイプ1(以下Hap1)は29個体で検出され、その他の3つのハプロタイプは各1個体でしか検出されなかった。ハプロタイプ間の遺伝的な関係は図の通りで、Hap1とその他のハプロタイプは1塩基置換であった。Hap2は外群でのみ検出され、Hap1は調査地ではすべての集団で検出されたが、Hap3,4はそれぞれ調査地内の異なる集団で検出された。希なハプロタイプHap3,4が検出された

のは台地上の集団であった。

これらのことから調査地集団と外群とは、もともと同一系統であったが、現在は種子を介した遺伝的交流が制限されている可能性が示唆された。一方で、ウグイスカグラは、cpDNAに変異が生じる程度の期間、調査地域に生育していたと考えられる。さらに、台地という比較的人間活動が活発な地域において、変異が保持されており、里山は人間活動が活発な空間であるが、ウグイスカグラにとって遺伝的多様性を維持する重要な空間であることが明らかになった。他方、Hap3,4はそれぞれ1つの集団でしか検出されず、集団間に種子散布を介した遺伝子流動がある証拠は得られなかった。また、ウグイスカグラは、里山林内でも生育していない場合がしばしば見られ、このことからウグイスカグラの種子による遺伝子流動は小さいと考えられた。ただし、ウグイスカグラが生育していないのは環境要因による可能性も否定できない。

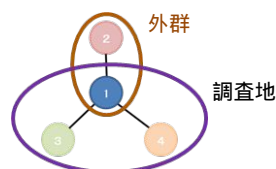


図 葉緑体ハプロタイプネットワーク

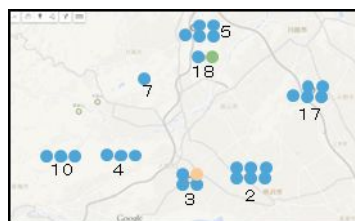


図 調査地域における葉緑体ハプロタイプの分布(数字は集団名)

以上のように、調査地の里山林の遺伝子流動は樹種により特徴が異なり、広範囲に生育している風媒重力散布樹種より点在している虫媒鳥散布樹種の方が遺伝子流動の制限があると考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計3件)

齊藤陽子・イダルゲデヌルジャニン  
ン・黒河内寛之・井出雄二(2015)埼玉県  
人間地域におけるウグイスカグラの  
cpDNAの多様性。第126回日本森林学  
大会。札幌

康才明・宮田智浩・齊藤陽子・井出雄二  
(2015)埼玉県所沢市周辺の里山における

ウワミズザクラの遺伝構造。第 126 回日本森林学会大会。札幌  
齊藤陽子・河原渉・康才明・高橋俊守・大久保悟・井出雄二(2014)埼玉県人間地域の里山を構成するコナラの遺伝的多様性。第 125 回日本森林学会大会。大宮

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井出雄二 (IDE, Yuji)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授  
研究者番号：90213024

### (2) 研究分担者

齊藤陽子 (Saito, Yoko)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教  
研究者番号：00302597

大久保悟  
独立行政法人農業環境技術研究所・生物多様性領域・主任研究員  
研究者番号：30334329