

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：32663

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25340115

研究課題名(和文) 代表的抽水植物ヨシにおける環境動態と遺伝情報に基づく集団維持機構の解明

研究課題名(英文) Population maintenance mechanisms of an aquatic plant, *Phragmites australis*

研究代表者

金子 有子 (Kaneko, Yuko)

東洋大学・文学部・准教授

研究者番号：90280817

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：生態系修復に多用されるヨシについて、生育場である氾濫原環境の時空間変動と群落の遺伝的組成の観点から集団の更新維持機構を解明するため、琵琶湖地域を対象としてGISによる地形解析と倍数性解析を行った結果、20世紀以前の琵琶湖では、少なくとも5年に1度程度で洪水が発生し湖面積の約10%に相当する広範囲の氾濫原が維持されていたことがわかった。また、琵琶湖と淀川流域では集団遺伝構造が明瞭に異なり、優占する倍数性の生育環境の選好性や生活史形質と関連している可能性が示唆された。さらに、最適栄養繁殖率、病原菌伝播、二遺伝子座四対立遺伝子に関する数理モデルを構築し、クローナル植物の動態特性を示した。

研究成果の概要(英文)：We found that before the 20th century, a wide range of floodplain, which corresponds to about 10% of Lake Biwa's surface area at standard water level, had been maintained by the floods having a probability of occurring once every 5 years at least. We investigated the genetic structure of Lake Biwa and Yodo river populations, based on intraspecific variation of chromosome number. Moreover, we developed three mathematical models of clonal plants: (i) to obtain the optimal vegetative reproduction rate, (ii) to describe the propagation of pathogenic disease among clonal individuals, (iii) to calculate genetic composition with 2 loci and 4 alleles. The results of the former two models are published in international journals.

研究分野：植物生態学、保全生物学

キーワード：ヨシ 洪水攪乱 種内倍数性 数理モデル クローナル植物 クローン多様度 氾濫原 GIS解析

1. 研究開始当初の背景

ヨシ (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.) は世界及び国内に広く分布する大型の抽水植物である。しばしば大群落を発達させる水辺植生の代表的シンボルで、多様な生態系サービスを提供する物理的基盤として、生態系修復事業の数多くの事例で人為的に導入されてきた。応用生態工学等の幅広い分野で植栽工法、機能評価、資源利用等について数多くの研究が行われてきたが、生物種自体に関する国内研究は少なく、その生態特性や遺伝的特質は十分に解明されておらず、全国で盛んに実施されている生態系修復のためのヨシ植栽事業等において保全遺伝学的見地からの配慮はほぼ皆無であった。そこで、配慮事項の提示とその根拠となる研究が急務と考え、倍数性の違いを踏まえた生態研究を行うと共に、氾濫原の攪乱体制と環境制約下における集団動態を定量的に解析することの必要性から本研究を着想した。

(1) GIS 解析研究：琵琶湖からの唯一の自然流出河川である瀬田川に、南郷洗堰(1905年)が設置される前の琵琶湖の水位は、B.S.L. (琵琶湖基準水位) +2m 以上の高水位になることが珍しくなく、洪水災害が起りやすかった。特に 1896 年 9 月に発生した大洪水では、水位は B.S.L. +3.76m に達し、琵琶湖沿岸地域が大規模に浸水した(琵琶湖治水会 1968)。一方、水位変動によって繰り返される氾濫原の冠水は、水辺移行帯のヨシをはじめとした湿生植物の集団維持と世代更新に大きな役割を果たしてきたと考えられる。しかしながら、かつての攪乱の規模や頻度がどれくらいであったかは十分に評価されておらず、氾濫原植物に対する攪乱の役割を検討するため、高水位の発生頻度やそれともなう冠水域の分布・規模を定量的に把握する必要があった。

(2) 遺伝解析研究：ヨシは世界的に 12 倍体までの種内倍数性を持つことが知られており、欧州では 4 倍体と 6 倍体が海岸と内陸ですみ分けていることや、北米では倍数性によって生態特性や個体サイズが異なること等が明らかにされていた。琵琶湖 淀川水系では 8 倍体(染色体数 96 本)と 10 倍体(染色体数 120 本)が報告されていたが、欧米のような倍数体間の生態特性の比較研究は行われていなかった。予備的研究では琵琶湖水系では 8 倍体、10 倍体が主要な倍数性として再確認され、倍数体の分布調査からは、琵琶湖本湖岸の集団では 10 倍体、内湖や河川沿いの集団では 8 倍体が優占する傾向や優占する倍数性とクローン多様性の関係性が見いだされ、倍数性が集団動態や生態系サービスの発現に影響する重要な遺伝的要素である可能性が示唆されていた。

(3) 数理解析研究：栄養繁殖によって二次元的に株を増やすクローナル植物を対象とする数理モデルでは、1980 年代から二次元仮想空間を考慮したシミュレーションモデルが

よく使われてきた。しかし、ヨシに特有な栄養繁殖の方法や、クローンによって増殖する生物への病原菌伝播の影響、集団内の遺伝的構成を考慮したモデルに関する研究は殆どなされてきておらず、そのような数理モデルを新たに開発する必要があった。

2. 研究の目的

(1) GIS 解析研究：ヨシの生育場である氾濫原環境の時空間変動を明らかにするため、近代的観測データだけでなく史料等を利用して推定された琵琶湖の長期的水位変化から高水位の発生頻度を検出する、また、湖岸堤等の浸水防止設備がなかった時代の冠水域を地盤高データから推定し、水位変動に伴う冠水域の分布と規模を明らかにする、さらに、近年の航空写真解析から、湖岸堤整備後の最大・最少水位を検出し、現状で起こり得る水位変化における冠水・干出域も求めることを目的とした。

(2) 遺伝解析研究：現存するヨシ群落の倍数性を分析し、各倍数体の群落に特有の成長・繁殖戦略や生態系サービスが存在するかを明らかにすることを目的として、特に群落の安定性に大きな影響をもつ堆積環境の違いに着目した。まず、明らかに堆積環境の異なる琵琶湖湖岸域と淀川流域に成立する集団間の比較を行い、その結果を参照し、土砂堆積に伴い成立する内湖についてヨシ集団の遺伝解析を進めることを目的とした。特に、内湖成因との関連を評価することで集団維持メカニズムの類型化を試みた。

(3) 数理解析研究：まず、栄養繁殖様式の生活史パラメータ依存性の検討を一つ目の目的とした。ヨシは、ラメットが密集するファンクス型とよりばらばらにラメットが配置するゲリラ型の二様式の空間構造を持っている。そこで、各様式の有利さが個体の生育段階の死亡率(いわゆる生活史パラメータ)にどのように依存しているかを解析した。また、病原菌の毒性の強さと栄養繁殖率に依存した集団の存続可能性を検討することを二番目の目的とした。クローンによって増殖する植物では、遺伝的に均一な個体の集団であるため、病原菌が伝播した時に集団が絶滅する可能性が高いと考えられている。病原菌の毒性の強さと栄養繁殖率の間の関係を明らかにした。さらに、三番目の目的として、栄養繁殖率の大きさが近交弱勢や遺伝的多様性の低下によって集団の絶滅要因となる可能性の検討を行った。

3. 研究の方法

(1) GIS 解析研究

鳥居川水位観測(1874年~)が始まる前の歴史的な水位変動については、膳所藩の観測記録史料データ、洪水事象として記録された史料を用いて庄ほか(2000)が推定したピーク水位値を用いた。

湖岸堤等の浸水防止設備がなかった時代

の冠水分布の推定については、地盤高の分布から冠水域を推定することとした。微細な凸凹が把握できる詳細な地盤高データとしては、近年の圃場整備の影響ができるだけ小さいほうが好ましいと考え、1982、1983年に作成された「数値地図 25000（土地条件）西日本」（国土地理院編、2006）に収録されている地盤高線データを用いた。このデータから、GISを用いて約250m間隔の地盤高メッシュデータを作成した。水位 B.S.L.0m の湖岸線の位置は、地形図に基づくこととみなすことにするが、現在の地形図は、干拓、埋立ておよび湖岸整備により人為的に改変されているため、現在の地形図ではなく、1890年代の地形図を用いた。

近年における冠水・干出状況と水位との関係と比較するために、1995年、2002年に撮影された航空写真（滋賀県、1995；独立行政法人水資源機構琵琶湖開発総合管理所、2002）をオルソ画像化し、汀線の変化を把握した。

(2) 遺伝解析研究

サンプリング：琵琶湖地域の各集団から各々25～30個体の葉試料を採取した。採集は湖岸、川岸に沿って行い、採集箇所をGPSで定位した。葉サンプルはプラスチックパックに入れ、分析まで超低温槽で保存した。

倍数性解析：葉試料を切断または液体窒素破砕し、緩衝液を加え、核懸濁液を作成した。核は一般的な方法に従いDAPI染色し、DNA量をフローサイトメトリーで分析した（Doležel et al. 2007）。内部標準として既に染色体数を確認した8倍体および10倍体の核サンプルを同時に計測し、サンプルの倍数性を決定した。

遺伝解析：葉サンプルからゲノムDNAを抽出し、マイクロサテライトマーカー5遺伝子座（*PaGT4*、8、9、12、16；Saltonstall 2003）について、シーケンサーを用いて核DNAの遺伝子型を決定し、クローン判別を行った。推定されたクローン構成からクローン多様性（G/N）、ファージャーの均等性指数をクローンの豊富さの指数として計算した（Arnaud-Haond et al. 2007）。クローンのマイクロサテライト遺伝子型での対立遺伝子の有無を(0,1)でコードし、主成分分析を行い、クローン間、集団間の遺伝的分化を評価した。

(3) 数理解析研究

上記3つの目的を達成するために、3つの数理モデルを開発した。一つは、二次元格子モデルを用いて、サイズが小さいが伝播距離が長い個体を繁殖する様式とサイズが大きく分散距離が短い繁殖の様式を仮定して、どちらが有利かを評価するモデルである。平均場近似を用いた微分方程式モデルも併用して解析解も求める。もう一つは、やはり二次元格子状におけるシミュレーションモデルを用いた。異なる栄養繁殖率を持つクローナル植物集団に異なる毒性を持つ病原菌が伝

搬した結果、どのような組み合わせの平衡点に到達するかを検討した。さらに、集団の遺伝的組成を考慮した二遺伝子座四対立遺伝子モデルを構築した。集団内の遺伝的構成や生活史過程の効果を外挿した動態モデルであるため、遺伝子頻度の計算およびホモ接合度の計算を行なう。近交弱勢係数を導入したモデルも構築した。このモデルの開発によって、近交弱勢の影響後の遺伝子頻度分布および個体数分布の計算を行うことが可能になり、個体群増加率も算出することができる。

4. 研究成果

(1) GIS解析研究

庄ほか（2000）の結果に、1875年からは鳥居川水位観測所等のデータを追加し、1718年から2013年までのピーク水位を見ると、1900年以前は頻繁に+1.5mを越えていた（図1）。その発生頻度は、表1に示すとおり最低でも56回と推定されたが、1900年以降の近代では一度もない。これは、ピーク水位が不明な年を考慮すると、5年に1度程度の割合で大きな水位上昇をもたらす洪水が発生していたことを表す。

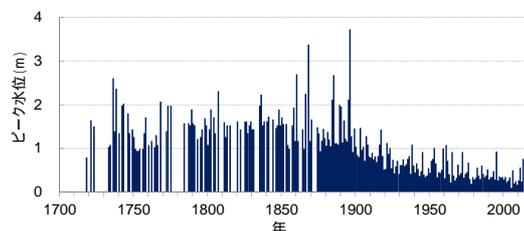


図1. 1718年から2013年までのピーク水位の変化 庄ほか（2000）の原図に、1875年から1991年までは鳥居川水位、1992年以降は琵琶湖平均水位に基づいて加筆・修正。

表1 ピーク水位の頻度（1718年～1900年）期間中の187年間のうち66年分のピーク水位は不明。

ピーク水位	頻度
+1m以上	105回
+1.5m以上	56回
+2m以上	14回
+3m以上	2回

地盤高の分布から推定される水位1.5m上昇時の冠水域面積は、琵琶湖面積の約9%に相当し、とりわけ南湖については、南湖面積の約16%に相当すると推定された（図2）。

一方、湖岸堤整備後の高水位（+0.88m）と低水位（-0.83m）を代表する1995年と2002年の汀線の位置を航空写真解析で把握した結果、冠水・干出域は琵琶湖全体で約0.4%であり、かつて湖の16%相当の冠水域面積を有した南湖においても、1%にも満たない状況に変化したことがわかった。このことから、18、19世紀の琵琶湖では、現在よりも高頻度

の洪水下で広範囲の氾濫原が維持されていたと考えられた。

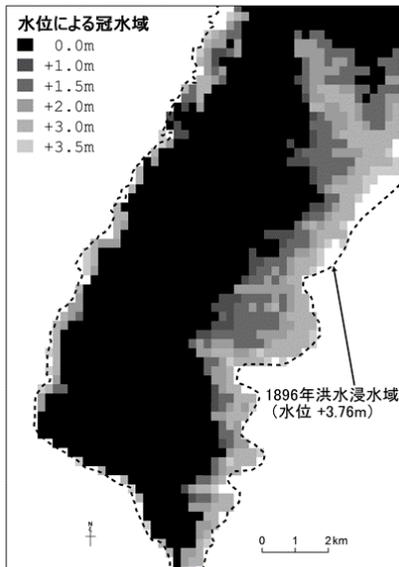


図2 南湖を例にした冠水域分布の推定結果

環境動態解析として観測史上最古にまで遡る過去の水位変動データを掘り起こし、GISを用いた緻密な微地形解析によって、百年オーダーでの生物生息環境の動態様式を推定しようとした試みは国内に類を見ず、生態系修復のために導入された植物群落の存続可能性を担保するために必要な自然攪乱環境をどの程度確保すべきかの目標値として、生態系修復における重要な指標となり得ると考えられた。

<引用文献>

琵琶湖治水会（編）琵琶湖治水沿革誌（第1巻）1968、琵琶湖治水会
庄建治朗、長尾正志、富永晃宏、古記録による琵琶湖歴史洪水の水位推定、水工学論文集、44巻、2000、371～376

(2) 遺伝解析研究

琵琶湖湖岸域と淀川流域に成立する集団間の比較

琵琶湖本湖岸の5集団、淀川流域の4集団でサンプル採集を行った(図3)。倍数性解析では、琵琶湖本湖岸では10倍体が、淀川流域では8倍体がそれぞれ優先し、明瞭に異なる倍数性構成を示した(図4)。琵琶湖岸の雄琴集団では9倍体が確認された。8倍体と10倍体の交配に由来すると考えられるが、種としては初報告である。

クローン解析では、マイクロサテライトマーカー5遺伝子座での遺伝子型を決定したところ、平均17.4対立遺伝子が確認された。集団内のクローンの広がりには顕著な差が見られ、琵琶湖本湖岸集団では数100m以上に渡る大きなクローンが観察されたが、淀川流域の集団ではクローンの広がりには限定的であった。クローン多様性は、淀川集団が琵琶湖本湖岸集団よりも高い値を示し、より多

くのクローンが集団内に存在していることが示された(図5)。



図3 琵琶湖淀川水系と調査集団の位置

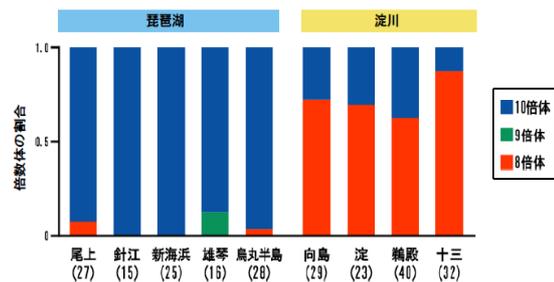


図4 各集団の倍数体の割合
括弧内の数字はサンプル数を示す。

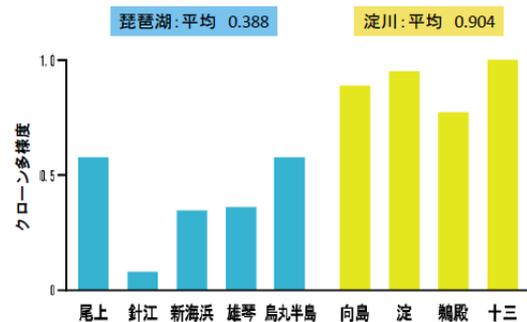


図5 集団間のクローン多様度の比較

対立遺伝子の有無に対する主成分分析の結果からは、琵琶湖と淀川の集団間の明瞭な遺伝的分化が確認された。琵琶湖集団のクローンは第一主成分で正の値を取るのに対して、淀川集団のクローンの多くは負の値を取っており、同一水系内においても遺伝子流動が妨げられている可能性が示唆された。

以上のことから、堆積環境の異なる琵琶湖集団と淀川流域の集団で明らかに異なる集団遺伝構造の存在が明らかになった。琵琶湖集団は10倍体が優勢し、より大きな、少数のクローンによって構成される。他方で、淀川集団は8倍体が優勢し、比較的小さなクローンが多数存在する。これらの違いは優先する倍数性の生育環境の嗜好性や生活史形質と関連している可能性が高く、琵琶湖-淀川

水系におけるヨシ集団の維持メカニズムには倍数性が重要な要因として関連しており、両集団に独自の遺伝構造の形成に大きく貢献していると考えられた。

内湖集団の遺伝解析と類型化の試み

琵琶湖内湖 12 集団でサンプル採集を行った。各内湖の成因については西野・浜端 (2005) の 5 種類 (A~E) で分類に従い考察した。倍数体構成では、8 倍体、10 倍体が主要な倍数体と認められ、集団ごとにいずれかが優占する傾向が認められた。成因との関係では、少なくとも A、B、C とされる内湖集団それぞれに 8 倍体、10 倍体が優占する集団が認められ、明確に関連付けることはできなかった。研究の過程で、神上沼集団では核 DNA 量から 12 倍体と推定されるサンプルが観察された。ヨシで 12 倍体はこれまでルーマニアで報告されているのみで、アジア地域での報告はない。今後、染色体数を検証することで新たな倍数性を確認できると期待された。西の湖は最大の内湖であり、100ha 以上のヨシ集団が分布しているが、この集団では 10 倍体が優占していることが確認できた。

遺伝解析では、集団のクローン多様度と 8 倍体の割合には弱い負の相関が認められた。統計的には有意ではなかったが ($p=0.145$)、8 倍体増加がクローン多様度の上昇と関連する傾向を支持していた。クローン多様度と内湖の面積、ヨシ群落の面積の相関は認められなかった。

以上のことから、内湖の堆積環境の差としてその成因に着目したが、琵琶湖本湖岸、淀川水系で見られたような明確な差異は見出すことができなかった。内湖の成因については複数の要因が関わる可能性も指摘されている。さらに、成立以降も人為的改変も含め、様々な変化を経ており、単純に成因との関連を評価するのは難しいと考えられた。西の湖集団は最大の内湖であるが、琵琶湖周辺で見ても最大規模の 100ha 以上に広がるヨシ群落を形成している。本研究の結果、西の湖では 10 倍体が優占しており、10 倍体が安定して生育することが西の湖集団さらには琵琶湖周辺のヨシ集団の維持に貢献していると考えられた。

保全生物学的視点からの配慮

水辺環境の創出や生態系サービスの発現を目的とする生態系修復としてのヨシ帯造成においては、植栽後の機能評価モニタリングに加え、生物集団としての健全さや自己持続性も評価することが重要である。保全生物学的視点 (種内倍数性等の遺伝特性、先駆種的生活史特性、他殖性等の繁殖特性、種子による世代交代様式等) から見た場合、琵琶湖地域のヨシ集団における遺伝的多様性や倍数体構成の特徴を踏まえると、植栽を行う際には、1) 実生更新を促すため、小規模な遊水地の配置等により有性繁殖の機会を増やす

努力をする、2) 他の遺伝系統を導入しないようにする際に地理的距離を遺伝的距離の指標としないように注意する、3) 異なる倍数体を同一集団に人為導入しないよう注意すること等の必要性が示唆された。

< 引用文献 >

Arnaud-Haond et al. (2007) Standardizing methods to address clonality in population studies. *Molecular Ecology* 16:5115-5139.
Dolezel J et al. (2007) Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols* 2:2233-2244
西野麻知子・浜端悦治 (2005) 内湖からのメッセージ 琵琶湖周辺の湿地再生と生物多様性保全. サンライズ出版, 彦根.
Saltonstall K (2003) Microsatellite variation within and among North American lineages of *Phragmites australis*. *Molecular Ecology* 12:1689-1702.

(3) 数理解析研究

伝播距離が長い繁殖様式と短い繁殖様式タイプの個体を仮定したモデルでは、一般に長距離伝播タイプが有利になる傾向があることがわかった。また、短距離伝播タイプが有利になる条件は、生育段階別の死亡率パターンが指数的に減少することであった。

病原菌伝搬モデルでは、植物の栄養繁殖率が低いときには中間の値の毒性を持つ型が優占することがわかった。また、高い繁殖力は植物の大域的な密度を減少させる。

二遺伝子座四対立遺伝子モデルでは、遺伝的組成が数十年で定常状態に達すること、遺伝的組成が栄養繁殖割合に依存して異なり、栄養繁殖割合が高いほどヘテロ個体が少なくなることがわかった。また、栄養繁殖割合と近交弱勢が相乗的に集団動態に作用するか、相殺的に作用するかについて評価する試みを行った。

前者二つのモデルの研究結果はすでに国際学術誌に発表した。このような数理モデルから、集団の遺伝構造と個体群存続可能性の関係の定量的検証が可能になった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 12 件)

Sakai Y, Takada T (2016) Pathogen Propagation Model with Superinfection in Vegetatively Propagated Plants on Lattice Space. *PLoS ONE* (in press) 査読有

金子 有子・佐々木 寧 (2016) 琵琶湖湖岸域における近年の植生変化について. 東洋大学紀要自然科学篇 60: 77-83. 査読無

Seki M, Yoshida T, Takada T (2015) A general method for calculating the optimal leaf longevity from the viewpoint of carbon economy, *Journal of Mathematical Biology*, 71:669-690 DOI:

10.1007/s00285-014-0830-7 査読有

井上栄壮・金子 有子・七里将一・永田貴丸・西野麻知子・石川可奈子・芳賀裕樹・中川 昌人・栗林実・廣田大輔・山中直・奥村陽子・一瀬諭・田中稔・藤原直樹・廣瀬佳則・東 善広・宮永健太郎・水野敏明・大久保卓也(2015) 南湖生態系の順応的管理方法に関する研究・滋賀県琵琶湖環境科学研究センター研究報告書 10:76-104. 査読無
http://www.pref.shiga.lg.jp/d/biwako-kanryo/lber/03yomu/03-01kankoubutsu/03-01-03research_report/no9/files/05_.pdf

Kaneko Y, Takada T (2014) Pair-wise analyses of the effects of demographic processes, vital rates, and life stages on the spatiotemporal variation in the population dynamics of the riparian tree *Aesculus turbinata* Blume. *Population Ecology* 56 (1): 161-173. DOI: 10.1007/s10144-013-0399-9 査読有

東 善広(2014) 琵琶湖南湖における水位変動にともなう冠水分布変化の解析・環境情報科学論文集 28:149-154. 査読有
https://www.jstage.jst.go.jp/article/ceispapers/ceis28/0/ceis28_149/article/-char/ja/

Nakamaru M, Takada T, Ohtsuki A, Suzuki SU, Miura K et al. (2014) Ecological Conditions Favoring Budding in Colonial Organisms under Environmental Disturbance. *PLoS ONE* 9(3): e91210. DOI: 10.1371/journal.pone.0091210. 査読有

Ishihama F, Fujii S, Yamamoto K, Takada T (2014) Estimation of dieback process caused by herbivory in an endangered root-sprouting shrub species, *Paliurus ramosissimus* (Lour.) Poir., using a shoot-dynamics matrix model. *Population Ecology* 56: 275-288. DOI: 10.1007/s10144-013-0414-1 査読有

〔学会発表〕(計14件)

Elasticity analysis in random matrices, T Takada, 3rd Annual Meeting of Evolutionary Demography Society. (2015.10.6, Amsterdam, Holland)

東 善広、アユの産卵数の多い琵琶湖流入河川における河口地形の特徴析、応用生態工学会、2015年9月10日、日本大学工学部(福島県・郡山市)

東 善広、琵琶湖岸における河口地形の変化、日本地理学会、2015年3月28日、日本大学文理学部(東京都・世田谷区)

ランダム推移行列の弾性度解析、高田壮則、第62回日本生態学会(2015.3.21、鹿児島)

推移行列ビッグデータによる個体群統計学、高田 壮則、第30回個体群生態学会(2014.10.11、つくば)

植物での病気伝播モデルの解析、酒井佑禎・高田壮則、第11回「生物数学の理論とその応用」シンポジウム(2014.9.17、京都)

Analysis of effect of local and global density on reproductive pattern of clonal plant. Sakai Y, Takada T [JSMB/SMB 2014](#) (2014. 7. 29, Osaka)

中川 昌人、金子 有子、琵琶湖・淀川水系におけるヨシ集団の遺伝構造と倍数性の分布、日本植物分類学会第13回大会、2014年3月21日、熊本大学黒髪南キャンパス(熊本県熊本市)

東 善広、琵琶湖南湖における水位変動にともなう冠水分布変化の解析、日本景観生態学会、2013年6月29日、岩手大学工学部(岩手県・盛岡市)

〔その他〕ホームページ等

http://www.pref.shiga.lg.jp/d/biwako-kanryo/lber/03yomu/03-01kankoubutsu/03-01-03research_report/no1/no10bessatsu.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金子 有子 (KANEKO YUKO)
東洋大学・文学部・准教授
研究者番号: 90280817

(2) 研究分担者

東 善広 (AZUMA YOSHIHIRO)
滋賀県琵琶湖環境科学研究センター・総合解析部門・専門研究員
研究者番号: 50250254

高田 壮則 (TAKADA TAKENORI)
北海道大学・大学院地球環境科学研究院・教授
研究者番号: 80206755

中川 昌人 (NAKAGAWA MASATO)
岡山県農林水産総合センター・生物科学研究所・PD研究員
研究者番号: 60462206