

高山生態系における消雪時期の変動と植物集団の生態的・遺伝的分化について

生態環境科学専攻 生態遺伝学講座

博士課程 2 年 山岸 洋貴 (指導教官 : 大原 雅)

1. はじめに

植物は、動物とは異なり環境の変動に対して移動という手段で回避・緩和することが難しい。したがって、現存する植物集団の時空間構造ならびに遺伝的構造は、その種の持つ生活史と生育環境との相互作用を反映していると考えられる。高山生態系は豊富な積雪量と積雪分布の著しい不均一性により特徴づけられる動的環境である。高山では標高差により積雪分布に大きな差異が生じるほか、同じ標高であってもわずかな地形の不均一性が積雪分布を局所的に変化させている。この積雪分布の違いは消雪時期の差異をもたらし、ひいてはそこに生育する植物の生育期間の変動を生じさせる。特に開花フェノロジー (開花期間) の変動は繁殖に直接的な影響を及ぼす。たとえ、隣接している集団間でも局所的に開花フェノロジーが異なることにより、相互の花粉の流動が制限され、その結果遺伝的構造が生じる可能性がある。そこで本研究では標高差がもたらす消雪時期の変動と、局所的な地形の不均一がもたらす消雪時期の変動という 2 点に注目し、消雪時期という環境の変動が植物集団の遺伝的構造に与える影響を明らかにすることを目的とした。

2. 研究材料と方法

2.1 対象植物について

Erythronium grandiflorum はユリ科のカタクリの一種で、高山性草原に生育する多年生植物であり、北米コロラドロッキー山脈において広く分布する。この植物は種子により繁殖を行う。先行研究より自家和合性を持つが種子生産は主にマルハナバチを花粉媒介者とした他家受粉により行われている事が明らかにされている。植物における遺伝子流動は、種子と花粉の 2 通りが考えられる。*E. grandiflorum* の場合、種子の散布距離が非常に短いことからマルハナバチによる花粉の移動距離が遺伝子流動の主たる要因と考えられる。

2.2 調査地及びサンプリング方法

2.2.1 標高差がもたらす遺伝的構造

標高差による消雪時期の変動に起因する開花フェノロジーの差異がカタクリ集団の遺伝的構造に与える影響について明らかにするため、広範囲の標高にカタクリが生育しているアメリカコロラド州 Crested Butte 近郊の山を調査地とした。標高が異なる 3230m (High), 3070m (Middle), 2930m (Low) の 3 地点を調査集団として選定した。2002, 2003 年にそれぞれ

れの集団からランダムに酵素多型解析を行うための親個体の葉を 30~50 個体分サンプリングした。また、携帯型 GPS を用い大まかな集団の位置を調べた。

2.2.2 地形の不均一性がもたらす遺伝的構造

地形の不均一により消雪時期が変動し開花フェノロジーが局所的に異なることが遺伝的構造に与える影響について明らかにするためにコロラド州 Nederland 近郊の 4th of July mine trail 標高 3400m 地点に 250m×70m の調査区を設置した。この調査区の中では地形の不均一性により局所的に積雪分布の異なりがみられた。5 月後半から 6 月後半にかけて雪解けが進行し、これにあわせて開花フェノロジーが異なるカタクリの小集団 22 パッチが存在した。2002, 2003 年にこの 22 パッチすべてからランダムに酵素多型解析に用いるため親個体の葉を約 30 個体分サンプリングし、パッチの位置関係を地図に記録した。また 22 パッチを開花フェノロジーの早いものから Early, Middle, Late の 3 つのカテゴリーに分け解析に用いた。

2.3 遺伝解析及び統計方法

採取された生葉は日本に持ち帰り -80 にて凍結保存した。遺伝解析には Shiraiishi (1988) に基づく酵素多型解析を利用した。実験に先だち 14 酵素を試したが、実際の解析には明瞭な泳動像が得られた 8 酵素 10 遺伝子座 (*AAT*, *ADH*, *DIA*, *GDH*, *LAP-1*, *LAP-2*, *6PGD*, *PGI-1*, *PGI-2*, *SKDH*) を用い解析を行った。しかし、標高差がもたらす消雪時期変動を検討するための 3 集団間における解析については、遺伝子座 *ADH*, *LAP-1* の泳動像が不明瞭であったため、解析から除外した。集団・パッチ間の遺伝的構造を評価するために *F* 統計量 (Weir & Cockerham, 1984) を算出した。計算にはコンピュータソフト FSTAT ver.2.9.3 (by Goudet, <http://www.unil.ch.izea/software/fstat.html>) を使用した。

2.4 開花フェノロジーの効果の検討方法

植物は動物のように移動することができないので、集団間の遺伝的構造の形成には花粉と種子による遺伝子流動が重要である。花粉や種子の移動能力には制限があるため地理的な距離による集団間の遺伝子流動の隔離が生じ、遺伝的構造を生み出すことがわかっている。本研究では消雪時期に起因した開花フェノロジーの異なりによる花粉の移動制限による効果と地理的距離の効果の両方について検討した。局所的に存在した 22 パッチを用い、そのパッチ間の遺伝的距離 (genetic distance : 各パッチ間の F_{ST}) とフェノロジー距離 (Phenological distance (Fig.1)) とパッチ間の地理的距離 (geographic distance : パッチの位置関係を示した地図上から算出した最小直線距離) の相関関係を partial Mantel test (Fig.3) を行うことによって求めた。ここで用いたフェノロジー距離とは、開花フェノロジーの差異を数的に距離として評価するために定義したものである。ここでは、開花フェノロジーのカテゴリー (Early, Middle, Late) 間の差異を表

す。同じカテゴリーに属するパッチ間のフェノロジー距離を 0、開花時期が隣接するパッチ間 (Early - Middle, Middle - Late 間) を 1、開花フェノロジーが最も異なるパッチ間 (Early-Late 間) を 2 としたものである。

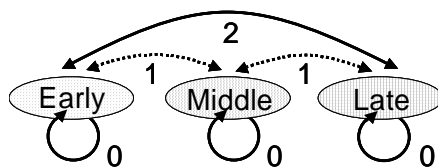


Fig.1 Definition of phenological distance

3. 結果及び考察

3.1 標高差がもたらす遺伝的構造

標高差により開花フェノロジーが異なる 3 集団では酵素多型分析の結果、8 遺伝子座のうち 6 遺伝子座 (*AAT*, *DIA*, *GDH*, *6PGD*, *PGI-2*, *SKDH*) において多型がみられ、多型遺伝子座の割合 (*P*) の平均は 62.5%であった (Table 1) しかし、標高が一番高い High 集団のみ 6 多型遺伝子座のうち 3 遺伝子座にしか多型が見られなかった。ここで集団間の遺伝的構造を *F* 統計量で評価した結果、集団間の分化を示す値である F_{ST} は集団間に有意な遺伝的分化の存在を示し (Fig.2) さらに各集団間の遺伝的分化の程度を示すパッチ間の F_{ST} (Table 2) は High 集団とその他の集団の間において有意な遺伝的分化を明らかにした。この遺伝的構造には花粉媒介者であるマルハナバチの活動を考慮すると、開花フェノロジーの効果とともに大きな地理的距離の効果が遺伝的構造に影響を与えていると考えられた。

Table 1 Sample size, genetic diversity estimates, inbreeding coefficients (F_{IS}) for 3 populations

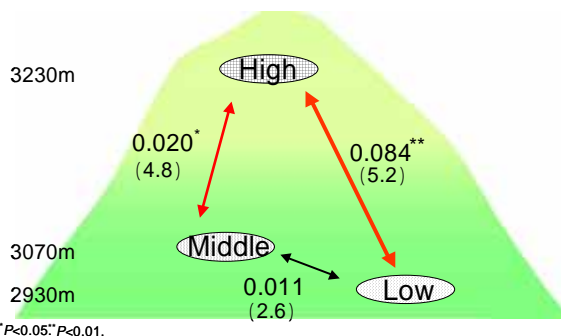
Population	Phenology	<i>n</i>	<i>P</i>	A_p	<i>A</i>	H_o	H_e	F_{IS}
Irwin 3230	Late	23	37.5	2.67	1.63	0.092	0.091	0.007
Kebler 3070	Middle	36	75.0	2.67	2.25	0.139	0.167	0.181
Crested 2930	Early	23	75.0	2.83	2.38	0.196	0.228	0.163
Mean			62.5	2.72	2.08	0.142	0.162	0.117
(SE)			(12.5)	(0.05)	(0.23)	(0.030)	(0.040)	(0.055)
Overall		82	62.5	2.64	2.08	0.142	0.162	

n, sample size; *P*, percent polymorphic loci; A_p , mean number of alleles per polymorphic locus; *A*, mean number of alleles per locus; H_o , observed heterozygosity; H_e , expected heterozygosity (gene diversity); F_{IS} , Weir and Cockerham's(1984) estimates of inbreeding coefficient; SE, standard error.

Table 2 Weir and Cockerham's (1984) estimates of Wright's *F*-statistics

	F_{IT}	F_{ST}	F_{IS}
Overall	0.174 (0.094)***	0.032 (0.006)***	0.147 (0.094)

Standard errors obtained by jackknifing are given in parentheses. *** $P < 0.001$.



* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

Fig. 2 Geographic distance (km) in parentheses and genetic distance (F_{ST}) between three populations at different elevations

3.2 地形の不均一性がもたらす遺伝的構造

3400m 地点で見られた地形の不均一性により開花フェノロジーが異なる 22 パッチを用いた酵素多型分析の結果 10 遺伝子座のうち 5 遺伝子座 (*LAP-2*, *6PGD*, *PGI-1*, *PGI-2*, *SKDH*) において多型がみられた。しかし多型遺伝子座の割合 (*P*) の平均は 28.2% と比較的低い値であった。調査区全体において F_{ST} は有意な値を示した (Table 3)。すなわち、250m × 70m という局所的なスケールの中にも遺伝的構造が存在することが明らかになった。

Table 3 Weir and Cockerham's (1984) estimates of Wright's *F*-statistics

	F_{IT}	F_{ST}	F_{IS}
Overall	0.108 (0.058)***	0.039(0.006)***	0.072(0.055)

Standard errors obtained by jackknifing are given in parentheses. *** $P < 0.001$.

3.3 開花フェノロジーの効果

Partial Mantel test を用いて検討した (Fig 3) ところ、パッチ間のフェノロジー距離と地理的距離との両方が遺伝的距離と有意に相関があることが示された。またフェノロジー距離と遺伝的距離の相関は地理的距離と遺伝的距離の相関に比べ弱かったことが明らかになった。つまり開花フェノロジーの効果は遺伝的構造を生じさせる要因の 1 つであるが地理的距離の効果よりも小さいことが示された。

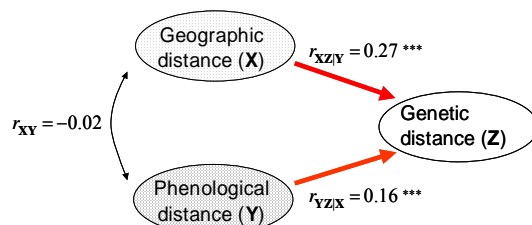


Fig.3 Path diagram showing partial correlations between the three distances

4. まとめ

高山において標高差によって生じる消雪時期の変動と、局所的であっても地形の不均一性で生じる消雪時期の変動の両方は、カタクリの開花フェノロジーを変化させ遺伝的構造が生じさせていることが判明した。局所的に存在する 22 パッチを用いた解析で遺伝的構造に対する開花フェノロジーの効果は地理的距離の効果より小さな値だが明らかになることができた。したがって、消雪時期の変動はそこに生育する高山植物の開花フェノロジーを変化させ、花粉による遺伝子流動を制限し、さらに地理的距離の効果も伴って多様な遺伝的構造を生じさせていることが明らかになった。

5. 今後の研究について

これまでの研究で高山生態系における集団・集団内パッチ間の遺伝的構造とその構造を生じさせる環境変動の1つを新たに明らかにすることができた。今後は実生を含めた若い世代にも着目し、遺伝的空間構造を解析することでさらに深い考察をする。さらには生態特性や生活史も考慮に入れ、カタクリ集団の成立・維持機構についても明らかにすることを目的とする。

2003 年度の研究発表

日本生態学会 (つくば)

開花フェノロジーが異なる高山性カタクリ (*Erythronium grandiflorum*) 集団の遺伝的分化

種生物学会 国際シンポジウム (札幌)

Spatio-temporal genetic differentiation among *Erythronium grandiflorum* populations in a sub-alpine environment.