

## 森林の孤立・分断化が多年生草本植物集団にもたらす遺伝的影響

生態環境科学専攻 生態遺伝学講座

博士後期課程 3年

山岸 洋貴 (指導教官 大原 雅)

### 1. はじめに

現在、世界各地で人間の活動に伴う森林の減少、孤立・分断化が進んでいる。森林の孤立・分断化は生育する動植物の個体数や生育地の減少をもたらすばかりではなく、残存した集団間の物理的な距離を増加させ、個体そのものや、花粉や種子などの移動を制限させる可能性がある。また生育地の分断化は、林内と周縁部との距離を縮まらせることからかつて林内環境だった場所が林縁環境へと変わり、これまでの土壤水分条件や光条件、生物相が大きく変化する。このような生物的・非生物的な変化は個体の死亡率の増加や適応度の低下をもたらす、残存した集団に大きな影響を与えると推測される。個体数の減少は、偶然に生じる様々な変化の影響を大きくし、死亡率の増加や遺伝的多様性の減少をもたらす。また集団間の遺伝的交流の制限は新たに対立遺伝子が生み出される可能性を減少させ、集団内の近親交配の頻度を増加させることから遺伝的多様性の減少に拍車をかけると推測される。多年生草本植物の場合、このような遺伝的多様性の減少は直ちに集団の維持に影響を与えるものではないが、長期間を経て深刻な影響をもたらすものと考えられる。北海道十勝平野はかつて大規模な森林に覆われていたが、18世紀末から行われてきた開拓により、現在ではわずかに小さな孤立林が点在するのみとなった。このため孤立林の林床を生育場所とする多くの植物集団は孤立・分断化され、これまで述べてきたような様々な影響を受けていると考えられた。孤立・分断化による影響について多年生草本オオバナノエンレイソウを用いて個体群統計学的・遺伝学的視点から研究が進められてきた (Tomimatsu & Ohara, 2002; 2003; 2004)。これらの研究から、結実率の低下や外的環境の変化が原因だと考えられる実生の加入量の減少などが明らかになった。また遺伝学的な面では大きい面積で残された森林ほど遺伝的多様性が大きいという傾向が見られた。しかし、遺伝的な多様性が今後どのように推移していくか予測するために必要である生育段階別の遺伝構造や、花粉媒介者や種子散布者などの生物相の変化が空間的遺伝構造にもたらす影響についてはまだ明らかになっていない。そこで本研究は、生育段階別の遺伝的多様性・遺伝的空間構造に対する孤立・分断化の影響を明らかし、詳細な孤立・分断化の多年生植物草本集団への遺伝学的影響について考察する。

### 2. 研究材料および方法

本研究で用いたオオバナノエンレイソウは北海道に広く分布する多年生草本である。花粉は主に甲虫により、また種子はアリにより運ばれ、遺伝子流動には媒介する昆虫の存在が非常に重要となる。オオバナノエンレイソウは外部形態から生育段階を4段階 (実生・1葉・3葉・開花) に区別でき、成長に沿った時間的な解析が可能である。しかし、開花個体はしばしば3葉段階に戻る事があり (Ohara & Kawano, 1986) 開花段階と・3葉段階の世代を明確に区別する事は困難である。したがって、本研究では同一生育段階として解析を行った。調査集団は Tomimatsu

& Ohara, (2002; 2003) から結実率の低下・高い近交係数・低い実生の加入率などの現象が観察された孤立林（帯広清川：林の面積 0.8 ha）とその対称として孤立化の影響がほとんど存在しない大きな林（広尾：30 ha）の 2 集団を選定した。まず遺伝的多様性を評価するため、林全体から生育段階別（約 50 個体ずつ無作為抽出）に葉組織を採取し、遺伝解析を行った。得られた対立遺伝子頻度から多型遺伝子座の割合、平均多型対立遺伝子数、ヘテロ接合度観察値・期待値（遺伝子多様度）・近親交配の程度を示す近交係数（表 1）、遺伝子型頻度から遺伝子型数・遺伝子型多様度・均衡度（表 2）を算出し、遺伝的多様性を評価した。また空間的遺伝構造の評価には、調査地内に設置した方形区（孤立林 16m × 2 m・大きな林 10m × 2m；それぞれ開花段階のみ方形区の周囲 1m を加える）の 2 cm メッシュ格子点状に存在する個体の遺伝子型・位置から空間的自己相関(Smouse & Peakall, 1999) による解析を行った。本研究の遺伝解析には個体の葉組織を使用した Shiraishi (1988) に基づく酵素多型解析を利用した。

### 3. 結果・考察

#### 3.1 遺伝的多様性の評価

遺伝解析の結果、孤立林では遺伝的多様性が低い事が示された（表 1, 表 2）。大きな林では遺伝的多様性がどの生育段階でもほぼ一定なのに対して、孤立林では生育段階によって変動し、開花段階に比べ実生・1 葉段階の遺伝的多様性が低い傾向が見られた（表 1, 表 2）。これらは孤立林では個体数が少ないために、偶然的に頻度の低い遺伝子座・対立遺伝子を持つ個体が死亡したり、部分的な繁殖が行われた事などが影響したものと考えられる。エンレイソウ属の開花個体の寿命が非常に長いこと (Ohara *et al.*, 2001) を考えると、このような変動は即時に集団全体に影響を与えるものではないかもしれない。しかし、このような状態が存続すれば、しだいに集団の遺伝的多様性が減少することが推測される。また遺伝子型頻度の偏りを示す均衡度は孤立林で低く（表 2）集団中の個体が特定の遺伝子型に偏っている事が明らかになった。これは、すべて

表 1 生育段階別遺伝的多様性

集団	生育段階	<i>n</i>	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>F<sub>is</sub></i>
孤立林 (清川)	SD	50	0.375	1.625	0.063	0.072	0.018
	1L	40	0.250	1.375	0.045	0.088	0.417*
	3L-FL	108	0.500	1.750	0.065	0.074	0.091
	mean		0.375	1.583	0.057	0.078	0.175
	(SE)		(0.072)	(0.110)	(0.006)	(0.005)	(0.123)
大きな林 (広尾)	SD	46	0.750	1.750	0.201	0.202	-0.010
	1L	51	0.750	1.750	0.156	0.191	0.160
	3L-FL	89	0.750	1.875	0.164	0.177	0.067
	mean		0.750	1.791	0.174	0.190	0.072
	(SE)		(0.000)	(0.042)	(0.014)	(0.007)	(0.049)

*n*, サンプル数; *P*, 多型遺伝子座の割合; *A*, 平均対立遺伝子数;

*H<sub>o</sub>*, ヘテロ接合度の観察 *H<sub>e</sub>*, ヘテロ接合度の期待値; *F<sub>is</sub>*, 近交係数;

SE, 標準誤差; \**P* < 0.05

の遺伝子座でホモ接合の遺伝子型の頻度が高いことが反映されており、このような偏りは、今後集団中の遺伝子型の単一化をさらに促進するものであると考えられた。

### 3.2 近交係数

ヘテロ接合度の観察値・期待値から算出された近交係数は、孤立林で高い値を示し(表 2)、Tomimatsu & Ohara (2003)と同様の結果であった。孤立林では、主に訪花昆虫相の変化によって花粉流動が不活発になり、近親交配の傾向が強くなっていることが推測された。また孤立林・大きな林でも生育段階によって近交係数が変動する事が明らかとなった。これらは各生育段階によって近交弱勢の発現が異なる事を示していると考えられた。

表2 生育段階別遺伝的多様性

集団	生育段階	<i>n</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>	<i>E</i>
孤立林 (清川)	SD	50	0.180	0.602	0.499
	1L	40	0.125	0.633	0.702
	3L-FL	108	0.120	0.676	0.646
	mean		0.142	0.637	0.616
	(SE)		(0.019)	(0.021)	(0.060)
大きな林 (広尾)	SD	46	0.348	0.902	0.863
	1L	51	0.333	0.928	0.925
	3L-FL	89	0.225	0.900	0.895
	mean		0.302	0.910	0.894
	(SE)		(0.039)	(0.008)	(0.018)

*n*, サンプル数; *G/N*, 遺伝子型/サンプル数;

*D*, 遺伝子型多様性; *E*, 均衡度;

### 3.3 空間的遺伝構造

孤立林では生物相が変化しに伴い種子や花粉の流動が不活発になり、より強い遺伝構造が生じる事が予測された。しかし、孤立林ではどの生育段階でも遺伝構造が見られなかった(図 1 a)。逆に、大きな林では 1 葉段階で遺伝構造が存在した(図 1 b)。この結果は、孤立林において種子や花粉の流動が活発になりランダムな構造が生じているのではなく、孤立林では遺伝的多様性が低いために集団内の個体間の遺伝的な差異が減少し、構造を検知しづらくなったものによると考えられる。

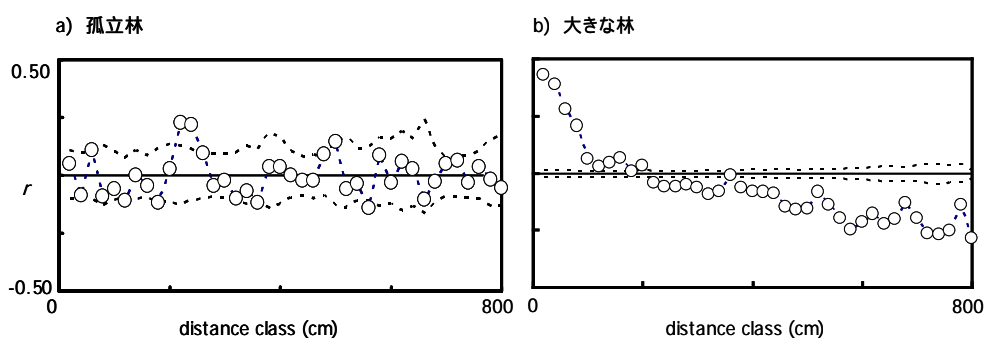


図1 1葉段階の空間的自己相関係数 (Smouse & Peakall, 1990) *r* は自己相関係数を表わす。

### 4. まとめ

本研究は、孤立・分断化による多年生植物集団の遺伝的影響を明らかにした。孤立林ではまず分断時に起こるボトルネックによって遺伝的多様性が減少していた。さらに孤立林では繁殖システムに何らかの影響が加わり、子世代の遺伝的多様性が減少していることが判明した。これらは親世代の寿命が長い為、すぐさま集団全体に影響をもたらすものではないが、徐々に遺伝的多

様性を減少させると考えられた。また、孤立林では大きな林に比べて近交係数が高った。このような孤立林では近親交配が進み、近交弱勢の効果による死亡率が増加する可能性がある。遺伝的空間構造に対する孤立林の影響は、遺伝的多様性が減少していることにより構造が検出しづらくなって明らかにする事ができなかった。しかし、孤立化に伴う林内環境の変化は遺伝的な空間構造に影響を与えうる生物相を変化させることが予測される事から、今後実際に種子散布や花粉流動についてさらに検討していく必要があると考えられる。

## 5 . 引用文献

Ohara, M & S. Kawano. 1986. Life history studies on the genus *Trillium* (Liliaceae) .stage class structures and spatial distribution of four Japanese species. *Plant Species Biology* 1:147-161.

Ohara, M. T. Takada & S. Kawano. 2001. Demography and reproductive strategies of a polycarpic perennial, *Trillium apetalon* (Trilliaceae). *Plant Species Biology* 16:209-217.

Smouse, E.P. & R. Peakall. 1999. Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* 82: 561-573

Shiraishi, S. (1988) Inheritance of isozyme variations in Japanese black pine, *Pinus thunbergii* Parl. *Silvae Genetica*. 37:93-100

Tomimatsu, H. & M. Ohara. 2002. Effects of forest fragmentation on seed production of the understory herb *Trillium camschatcense* (Trilliaceae). *Conservation Biology* 16: 1277-1285.

Tomimatsu, H. & M. Ohara. 2003. Genetic diversity and local population structure of fragmented populations of *Trillium camschatcense* (Trilliaceae). *Biological Conservation* 109: 249-258.

Tomimatsu, H. & M. Ohara. 2004. Edge effect on recruitment of *Trillium camschatcense* in small forests fragments. *Biological Conservation* 117: 509-519.

本研究は、「多年生草本集団の時空間分化に関する生態遺伝学的研究」の第2章に当たる。前年報告した(第1章 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)とともに多年生草本植物が多様な環境変動にどのように応答し、集団を維持していくかを明らかにすることを目的とする。

## 6 . 研究成果

### 【発表】

- ・ 日本生態学会発表(筑波) 2003  
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 2003  
Spatio-temporal genetic differentiation among *Erythronium grandiflorum* population in a sub-alpine environment.
- ・ 日本生態学会 (釧路) 2004  
オオバナノエンレイソウ集団の遺伝的時空間構造 ~ 連続林と孤立林の比較 ~
- ・ 進化植物研究会 2005  
消雪時期が高山性カタクリ集団にもたらす影響
- ・ 日本生態学会発表(大阪) 2005  
消雪時期が高山性カタクリ集団にもたらす影響

### 【投稿論文】

Yamagishi, H., T.D.Allison, M. Ohara. 2004. Effect of snowmelt timing on the genetic structure of an *Erythronium grandiflorum* population in an alpine environment. *Ecological Research* (In press).