

関西支所研究発表会記録

森を守り育むための遺伝研究

日時：平成18年12月13日（水）

場所：京都市アバンティホール

遺伝子をつかって何ができるの？何がわかるの？

大西 尚樹（生物多様性研究グループ）

近年、遺伝学の発展に伴い生態学や林学の分野においても遺伝学的手法を取り入れた研究が多く行われるようになってきた。森林総合研究所関西支所でも遺伝学的手法を用いた研究は進められており、そのいくつかを紹介する。

1. この毛はだれの？

個体の遺伝情報を含んだDNAは、生命体のあらゆる組織内に存在する。植物では葉からDNAを取り出す（抽出する）ことが多い。ほ乳類では捕獲個体の場合、血液や筋肉などを利用すると質の良いDNAを抽出することができる。しかし、捕獲が難しい動物を材料とする場合、十分なサンプル数を得ることは困難である。そのため、いくぶん質は劣るが、捕獲を伴わずに回収できる材料からDNAを抽出する場合がある。まず、ツキノワグマの体毛を用いた例を紹介する。

四国ではツキノワグマの生息数が数十頭と推測されており、絶滅の危険性が指摘されている。ツキノワグマの生息調査には糞や足跡などの痕跡調査、ラジオテレメトリーを用いた行動圏調査などが古くから用いられてきた。しかし、痕跡調査は調査努力量に対して得られる情報が少なく、また調査者による調査能力の差が大きい。ラジオテレメトリーによる行動圏調査は、最初に捕獲をする必要がある。ツキノワグマは捕獲効率が悪い上に、地形が急峻な四国では捕獲および追跡における労力的なコストが高い。そこでヘアートラップと呼ばれる体毛を集める装置（図 - 1）を設置し、それにより回収された体毛から個体識別を行った。その結果、3頭の雄が確認され、うち1頭は捕獲されたことのない個体だった。このように、捕獲をすることなく体毛を集めることで個体情報を積み上げていくことが可能であることがわかった。

2. この糞はだれの？

糞も捕獲を伴わないサンプルとして多く用いられる。主に糞の表面にその糞をした個体の直腸粘膜が付着しており、それを用いてDNAを抽出することになる。また、糞にはその個体が食べた動植物の組織も含まれるため、「何を食べていたか」を調べることも可能である。ここではアマミノクロウサギを材料に現在進行している研究を紹介する。

鹿児島県奄美大島と徳之島にのみ生息するアマミノクロウサギは日本で最初に指定された特別天然記念物である。1974年の調査では奄美大島全域に生息域は広がっていたが、開発による森林の減少や1979年に放獣されたマングースの分布域拡大に伴い、生息域は分断・縮小化している。2002年の調査では奄美大島北部と南部に完全に分断され、生息頭数は2,000～4,800頭と推定された。アマミノクロウサギの保全には出来るだけ正確な生息頭数の把握が必要である。従来は一定区域内の糞の数からその区域の頭数を推定していたが、実際の1頭あたりの糞数がわからないので、推定値の幅が大きくなっていった。そこで遺伝学的手法を用いて糞の「落とし主」を特定した上で、一定区域内の生息個体数を数えることによって精度の高い推定ができると考えている。

3. 保全に向けた取り組み

このように遺伝子を使ってその持ち主をさがすことによって、従来の観察や捕獲を主としていた手法では難しかった個体推定が容易にできるようになってきている。しかし、実際の研究ではこのような「個体」に注目したものだけではなく、個体が集合した「個体群」に焦点をあてたものも多い。

本州西部のツキノワグマは個体群の分断化が進んでおり、遺伝的な劣化が懸念されている。そこで、遺伝的多様性を評価するために、本州西部の孤立個体群と中部の連続個体群の遺伝構成を比較した。その結果、本州西部の孤立個体群の遺伝的多様性は、中部の連続個体群に比べ低いことがわかった。この詳細については主要な研究成果（47ページ）を参照されたい。

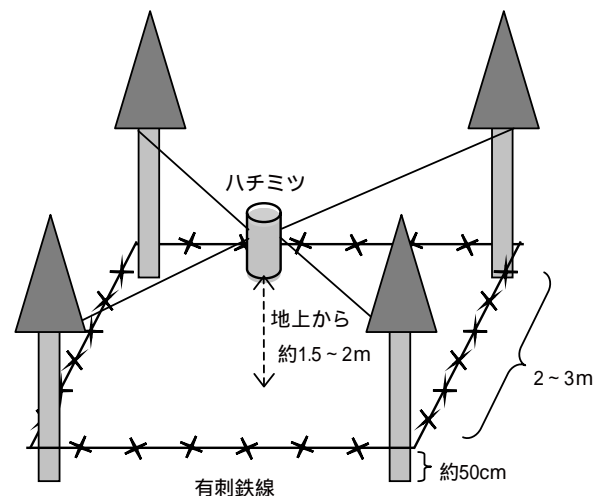


図 - 1 ヘアートラップのイメージ

絶滅危惧種シデコブシの現状と遺伝的管理の可能性

石田 清（森林生態研究グループ）

1. 希少種の絶滅リスクを高める近交弱勢

人間の活動によって自然環境が変化し続けている今日、大量の生物種が絶滅の危機に晒されている。わが国の場合、シダ植物と種子植物の約2割にあたる1,665種が絶滅危惧種に指定されており、その5割が里地里山に生息している。これらの絶滅危惧種の多くは、現在でも開発や自然遷移、園芸採取などの人為的要因によって減少し続けている。生態系の機能や地域固有の生物多様性を維持するために、こうした希少植物を保全管理することが急務となっている。

絶滅が危惧される植物を保全するためには、個体数減少の影響を明らかにしておく必要がある。これまでの研究によると、個体数が減少した小集団では花粉不足や近親交配が生じると考えられている。特に雌雄同体植物では、個体密度が低下すると究極の近親交配といえる自殖（自家花粉による種子形成）の頻度が高くなりやすい。また、個体数が少ない状態で世代交代が続くと個体間の血縁度が高まるため、小集団では他殖（他家花粉による種子形成）によっても近親交配が生じる。これらの近親交配は子孫の生存率や成長量を減少させる。この現象は近交弱勢と呼ばれ、劣性有害遺伝子（ホモ接合体となった時に大きな有害効果をもたらす遺伝子）が原因となって生じる。近交弱勢は小集団の絶滅リスクを高めると考えられており、希少種を保全管理するためには、個体数が減少するとどの程度近交弱勢が現れるのかを予測しておく必要がある。ここでは東海地方の湿地に生育する絶滅危惧種シデコブシの研究事例を通して、個体数が少ない樹木集団の繁殖や近交弱勢の実態を紹介するとともに、そのような樹木を対象とした遺伝的保全管理の方法について解説する。

2. 絶滅危惧種シデコブシの現状

シデコブシは、東海地方の低湿地（湧水湿地）に生育するモクレン科の小高木である。早春に美しい花を咲かせることから地元の市民に親しまれているが、総個体数が約1万個体と少ないうえ、湿地開発などによって個体数が減少し続けている。環境省が行ったシミュレーションによると、シデコブシは300年後に絶滅すると予測されており、絶滅危惧II類に指定されている。東海地方の低湿地にはシデコブシのみならず、ハナノキやミカワバイケイソウなど、この地域に分布の中心を持つ植物が十数種生育している。シデコブシを保全することは、これらの希少種・固有種を保全することにもつながる。

シデコブシが生育する低湿地の多くは100～400m²と小さく、丘陵地帯の谷底に点々と分布している。これらの湿地は樹高の高いクヌギ・コナラ林などの里山林に囲まれていることが多い。このように個々の生育場所が小規模なため、シデコブシの集団（湿地ごとの個体の集まり）も小さなものが多い。これまでの調査によると、シデコブシの集団の約75%は100株以下の小集団である。小規模な低湿地はより乾燥した森林に遷移していくため、個々の湿地の寿命は100年から1,000年程度と比較的短いとみられている。このためにシデコブシの集団の存続期間も短いと考えられる。ただし、新たな湧水の出現に伴って湿地が形成されることがあるため、流域や地域といった広いスケールで見れば、シデコブシは集団の新生と消失が両方ともに起こる状態で集団数を維持してきたと思われる。しかしながら、この地方の谷底の多くで貯水池造成や湿地開発、治山工事などが行われている今日では、新たな低湿地は形成されにくくなっている。このために集団の新生も困難になっていると考えられる。シデコブシの個体数・集団数を維持していくためには、放置すれば遷移によって消失する運命にある小規模な低湿地を維持管理していく必要がある。

シデコブシの花は両性花であり、雌蕊と雄蕊を30～50個ずつ着ける。個花は10日間ほど開花するが、花の中では雌蕊と雄蕊が機能する時期が異なっており、雌蕊は雄蕊よりも早く機能する。このために一つの花の中で自殖が起こることはない。しかしながら、個々の花芽の開花は同調しないので、自家花粉が他の花に運ばれて自殖が生じる可能性がある。ここでは、以上のような生態的特性を持つシデコブシについて（1）花粉不足と自殖、及び自殖で生じる近交弱勢の実態、そして（2）自殖以外の近親交配で生じる近交弱勢について検討した研究事例を紹介する。これらの結果をふまえて（3）シデコブシの小集団を長期間維持するための保全管理について考察する。

3. 繁殖量を減少させる花粉不足と近交弱勢

シデコブシの繁殖に及ぼす花粉不足と自殖の影響を明らかにするため、愛知県春日井市の大集団（2003年の開花個体

数245個体)と三重県四日市市の小集団(同29個体)で交配実験と遺伝分析(種子を用いたマイクロサテライト分析)を行った。その結果、花粉不足の程度(花粉不足が原因で死亡した胚珠の割合)は小集団の方が大集団よりも大きいことが明らかとなった(図-1; Hirayama *et al.*, 2007)。このために受精直後の段階でみると、小集団の子孫数(花あたりの胚数)は大集団の値の約3分の1となっていた。この小集団では、個体数の減少をもたらした環境変化(スギ植栽木による被陰)が訪花昆虫の行動にも影響し、花粉不足をひき起こしたのかもしれない。こうした強度の花粉不足は、小集団の潜在的な繁殖力を低下させている可能性が高い。たとえば、攪乱によって成木数が減少した時には、種子生産量が少ないために元の個体数に回復するまでに長時間かかる可能性がある。自殖率については、小集団・大集団両方ともに0.5~0.6と高く、集団間の差は明瞭でなかった。この高い自殖率は、花粉媒介昆虫が同一個体内の花間を移動する頻度が高いことを示している。また、開花個体数と自殖率との間に強い関係がないこともわかる。

それでは、自殖はシデコブシにどのような影響をもたらすのだろうか?そこで、自殖子孫と他殖子孫を栽培して受精直後から実生期までの生存率を測定した結果、自殖子孫は他殖子孫よりも低い生存率を示すことが明らかとなった(図-2)。実生段階までの自殖子孫の積算生存率は他殖子孫の値の僅か16%であった。さらに、種子および成木の遺伝子型データを用いた分析により、大部分の自殖子孫は成木に成長するまでに死亡すると推定された。これらの結果は、シデコブシの集団についても、自殖すると子孫の生存率が大きく減少することを示している。

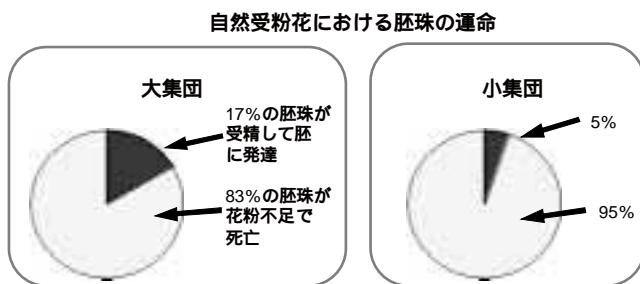


図-1 自然受粉花における胚珠の運命愛知県春日井市(大集団)と三重県四日市市(小集団)(実線)の生存率についての推定値を示す。

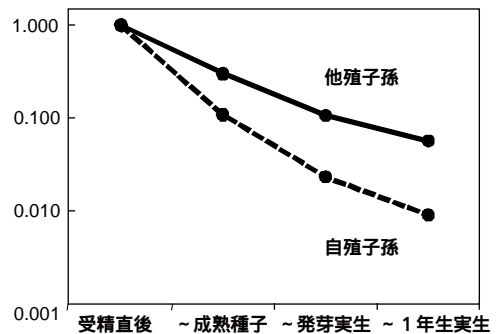


図-2 自殖子孫(点線)と他殖子孫

4. 自殖以外の近親交配によって生じる近交弱勢

これまでの理論的な研究によると、小集団で世代交代が続くと個体間の血縁度が高まり、他殖子孫にも近交弱勢が現れるようになって考えられている。シデコブシの小集団では、自殖以外の近親交配によってどの程度生存率が減少しているのだろうか。上述の交配実験で得られた他殖子孫の生存率についてみると、やはり小集団の方が大集団よりも低く、小集団では自殖以外の近親交配で生じる近交弱勢によって他殖子孫の生存率が減少していると推定された。そこで、劣性有害遺伝子頻度の世代変化を表すシミュレーションモデルを用いて、シデコブシの大集団が攪乱などの外的要因によって小集団化したときに他殖子孫の生存率がどの程度減少するのかを計算した。その結果、シデコブシの小集団についても世代を重ねるにつれて生存率が減少していくこと、さらに、繁殖個体数が少ない集団ほど生存率の減少度合いが大きいことが示された(図-3)。この生存率の減少は50個体以下の集団で顕著であった。例えば、大集団が10個体の小集団に縮小し、この個体数で世代交代が続いた場合には、10世代後の生存率は初期世代の値の約30%に減少することが示された。このシミュレーションでは、小集団化した後の繁殖個体数は一定(若齢木の死亡が密度依存的に生じる)と仮定したが、近交弱勢によって繁殖個体数も減少するようになれば、長期的には集団は消失してしまうはずである。近交弱勢による生存率の低下が繁殖個体数の減少を介して絶滅リスクを高めているのかどうかを明らかにすることは、今後の重要な課題である。

これまでの研究によると、小集団化によって生じる近交弱勢は、他集団からの遺伝子移入(花粉や種子の移入)があれば緩和されると予想されている。愛知県瀬戸市のシデコブシでは、最大で約400m離れた他集団から花粉が運ばれると推定されている(Setsuko *et al.*, 2007)。それでは、集団間の遺伝子流動はシデコブシの近交弱勢を弱めるだろうか。そこで、岐阜県土岐市の大集団と小集団を対象として集団間交配と集団内交配(集団内での他家受粉)を行い、その結果

率（果実数 / 花数）を調べた。その結果、大集団では集団間交配と集団内交配の値に明瞭な差が認められなかったが、小集団では集団間交配の方が集団内交配よりも高い結果率を示した（図 - 4）。この結果は、小集団に現れる近交弱勢が遺伝子移入によって緩和されていることを示しており、上記の予想を支持している。シデコブシの近交弱勢に及ぼす遺伝子移入の影響をシミュレーションモデルを用いて計算した研究でも、1世代あたり成木1個体分に相当する遺伝子が他集団から移入する場合には、10～25個体の集団であれば、遺伝子移入が無い場合よりも10世代後の生存率が10～50%増加することが示されている。

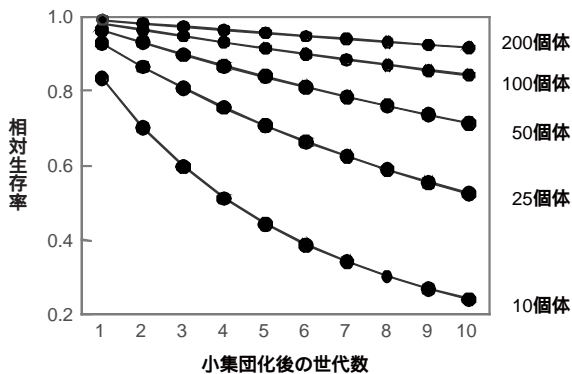


図 - 3 個体数の減少によって生じる近交弱勢右側に示した個体数は小集団化後の繁殖個体数を表す。交配実験で得られたデータに基づいたシミュレーションを行い、無限大の集団の生存率を1とした時の相対値を計算した。

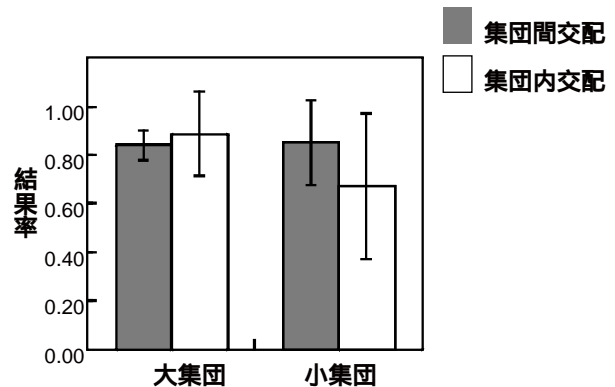


図 - 4 シデコブシの結果率（果実数/花数）岐阜県土岐市の大集団（189個体）と小集団（82個体）で行った交配実験の結果を示す。小集団では、集団間交配の値が集団内交配の値よりも有意に高い。

5. シデコブシの集団を長期間維持するための遺伝的保全管理

以上のように、シデコブシの小集団では、管理によって湿地を維持できたとしても世代交代を重ねる度に近交弱勢の程度が増加し、生存率が低下していく。この近交弱勢は他集団からの遺伝子移入があれば緩和されると考えられることから、全集団の7割以上を占める小集団を長期間維持するためには、地域・流域内の全集団を保全管理の対象とし、集団間の遺伝子流動を可能にする集団密度（集団間距離）を維持していくことが望ましい。

シデコブシの集団のなかには、集団間の距離が長いために他集団からの遺伝子移入が望めない孤立集団も多くみられる。孤立した小集団を長期間維持するためにとりうる管理方法の一つは、対象となる集団から採取した種子を苗畑などで育苗した後に現地に植栽するという更新補助作業である。このような更新補助作業や更新環境の改善によって次世代の個体数を増やすことができれば、近交弱勢を抑制できる可能性がある。保全管理によってシデコブシの繁殖個体数が倍増した場合に得られる効果をシミュレーションした研究では、個体数の倍増には、小集団化によって生じる近交弱勢の増加を抑制する効果があること、そしてこの効果は遺伝子移入（1世代あたり成木1個体分の遺伝子が他集団から移入する場合）の効果と同程度かそれ以上であることが示されている。ただし、少数の母樹から種子を採取して育苗・植栽すると、たとえ個体数が増加したとしても兄弟交配の頻度が高まり、管理しない場合よりも近交弱勢の程度が大きくなる恐れがある。更新補助のために育苗・植栽を行うときは、可能な限り全母樹から種子を採取して育苗することが望ましい。孤立小集団を保全管理するためのもう一つの方法として、近隣集団からの移植もあげられるが、この作業は遠交弱勢（遠方個体との交配によって子孫の生存率や成長量が減少する現象）と遺伝的攪乱（地域固有の遺伝子や遺伝子型の喪失）を起こす危険を伴うため、これらの弊害を防ぐためのガイドラインの作成が課題となっている。

引用文献

- Hirayama, K., Ishida, K., Setsuko, S. and Tomaru, N. (2007) Reduced seed production, inbreeding, and pollen shortage in a small population of a threatened tree, *Magnolia stellata*. *Biological Conservation* 136:315-323.
- Setsuko, S., Ishida, K., Ueno, S., Tsumura, Y. and Tomaru, N. (2007) Population differentiation and gene flow within a metapopulation of a threatened tree, *Magnolia stellata* (Magnoliaceae). *American Journal of Botany* 94:128-136.

遺伝的多様性を保全するための遺伝研究と森林管理

吉丸 博志（森林遺伝研究領域・生態遺伝研究室長）

1. 遺伝的多様性とは

生物多様性は遺伝子、種、生態系の三つのレベルの多様性から成り立っており、その保全には各レベルの多様性の理解が重要である。その中で遺伝子の多様性は、種の多様性のように現場ですぐ目に見えるというわけではなく、実験室での遺伝子解析などが必要なため、やや把握しにくいと感じられるかもしれない。遺伝的多様性は各生物種の中における個体間の遺伝的相違のことであり、各地域集団の中での個体間の相違と、分布範囲全体を見渡した時の地域集団間の相違、という二つの段階に分けて考えるとわかりやすい。

まず前者の段階つまり各地域集団の中では、多数の個体が繁殖に関わることにより遺伝的多様性が保全される。少数の母樹だけではなく、なるべく多くの母樹が子孫を残せるようにすることが基本的に重要である。次に後者の段階つまり地域集団間の遺伝的相違は、地理的な隔離で遺伝子の交流が制限されることにより生じてくる。分布が連続的で花粉・種子の散布を広範囲に行っている場合、地域集団間の相違は小さい。逆に分布が断片化して花粉・種子の散布が限られる場合は、地域集団間の相違が大きくなる。このような相違の様相は、ヒトが関わる歴史より前の長い地史的期間における分布変遷に基づいて形成され、その上に近年の人間活動による分布地減少の影響が重なっている。遺伝的多様性の保全には、自然の営みによる分布変遷で形成された地域性を理解して、これを攪乱しない配慮が重要である。

本講演では、広域分布樹種や絶滅危惧樹種を例として、地域集団間の相違に関する遺伝研究の状況を解説した。

2. 広域分布樹種の遺伝的地域分化の事例

北海道南部から九州まで分布する広葉樹のブナ *Fagus crenata* は日本固有種で、日本海側の多雪地での分布が広く、太平洋側や西南日本では分布地が限られる。約2万年前の最終氷期最寒冷時には東北地方南部よりも南に分布し、その後温暖化に伴って北上したと考えられている。種子散布による遺伝子交流の指標となるミトコンドリアDNAの解析により、約9箇所の地域ゾーンに複雑に分かれていることが明らかとなった (Tomaru *et al.*, 1998, 2004など)。これは氷期の逃避地とそこから分布拡大した時の変遷の歴史を示唆している。現在、葉緑体DNAの解析によるさらに詳細な地域ゾーンの研究が進められている。

本州中部・近畿に分布する針葉樹のトウヒ *Picea jezoensis* var. *hondoensis* は、北海道からサハリン、極東ロシアにかけて広く分布するエゾマツ *P. jezoensis* の変種である。中国東北部と朝鮮半島には別変種のチョウセントウヒ *P. jezoensis* var. *koreana* が分布する。このように日本海を囲んで分布する変種群であるが、南限の本州近畿地方と朝鮮半島では断片化した小集団という現状であり、現在の様相からは日本海南部を介した日本と大陸のつながりは希薄である。いっぽう、本州東北地方には最終氷期に広く分布していたと考えられている。このような変種群について、ミトコンドリアDNAの解析を進めたところ、本州中部・近畿と北海道との間の相違が大きく、逆に本州中部・近畿と朝鮮半島との間の類似が明らかになってきた (Aizawa *et al.*, 2007など)。トウヒとエゾマツは、従来考えられていたよりはやや遠い関係であることを示唆している。

3. 絶滅危惧樹種の遺伝的地域分化の事例

本州中部の八ヶ岳と南アルプスのみに分布する針葉樹のヤツガタケトウヒ *Picea koyamae* は、日本固有種で絶滅危惧IB類である。母樹サイズの成木個体数は1,000程度と推測されている。最終氷期には東北地方にも広く分布したと考えられているが、その後の温暖化に伴い分布は急速に減退した。現在は多くの分布地がカラマツ植林地に囲まれている。ミトコンドリアDNAの解析では八ヶ岳と南アルプスとの間で明確な相違が検出され、別のグループとして保全する必要性が示唆されている。また八ヶ岳集団で遺伝的多様性が低いことが明らかになった (Katsuki *et al.*, 2004など)。

小笠原諸島のみに分布する広葉樹のオガサワラグワ *Morus boninensis* は、日本固有種で絶滅危惧IA類である。明治の開拓期における材利用のための過剰な伐採に加え、養蚕用に導入されたシマグワとの交雑により、純粋個体の激減が危惧される。昭和初期などに資源回復のための植栽も行われたが、それを含めても現存する純粋個体は3島合計で100数十程度にすぎない。核DNAの解析により、各島の中で本来固有の遺伝子を持っている個体群が明らかになってきた (Tani *et al.*, 2006)。今後これらの個体群を母材料とした復元が期待される。

4. おわりに

絶滅危惧樹種の遺伝的多様性保全については、各樹種の特長事情が大きな要因としてあるので樹種毎の対応が不可欠である。広域分布樹種の遺伝的地域分化については、分布変遷などがある程度共通する樹種があると思われるので、分布変遷や繁殖様式などによる代表的な樹種の解析事例の蓄積が重要である。