

## 動的な森林更新下での林床草本の遺伝的集団構造の決定機構

Genetic population-structure of forest-floor herbaceous plants under dynamic forest-canopy regeneration.

研究代表者 東京都立大学理学研究科 助手 工藤 洋  
Assistant Professor, Department of Biological Sciences, Graduate  
School of Science, Tokyo Metropolitan University  
Hiroshi KUDOH

Genetic population-structures of forest floor plants, *Pteridophyllum racemosum* and *Cacalia adenostyloides* were examined in a wave-regenerating forests. The results indicated that there are considerable gene flow within and among local populations of herbaceous plants in the forest. This high degree of gene flow can be attributable to accelerated turnover rates of herbaceous populations which was forced by a cyclic regeneration of canopy trees.

### 1. 研究目的

植物集団における遺伝的空間構造は、タンパク多型やDNA多型のマーカの利用によって解析が可能となってきた。植物の場合、固着性であるがゆえに交配の相手が近接する個体に限られること、また繁殖器官の形成が局所的な環境の影響を大きく受けることのために、特定の遺伝変異が集団内のある範囲に局在するという集団構造をもつことが明らかになってきている。このような遺伝構造をもつ植物集団が、環境変動の中でどのようにして、遺伝構造を変化させ遺伝的変異を保持するかを明らかにすることに内外の研究者の注目は集まりつつある。

本研究では、森林の更新が林床植物の遺伝的集団構造に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、北八ヶ岳の縞枯れ林の林床に生育する林床植物集団を用いて、集団の遺伝構造をアイソザイム多型を調べることで解

析した。縞枯れ現象は本州中部亜高山帯針葉樹林で見られる森林の更新様式である。縞枯れ林では成熟林分、稚樹の密生した更新林分、立枯れ林分が 100m ほどの間隔で帯状に連続して現れる。縞枯れは山の斜面に対して一定方向から吹き付ける恒常風によって引き起こされると考えられている。この縞状の森林更新はこれまでに多くの研究者の関心を集め、縞が 23 年の間に約 80m も移動するという非常にダイナミックな現象であることが明らかにされてきている。林冠構造が変化すると林床の環境は大きく変化するので、縞枯れに伴う周期的な環境変化が要因となって林床植物の遺伝的空間構造の形成に大きな変化をもたらすと予想される。

### 2. 研究経過

#### 2.1. 方法

アイソザイム多型のスクリーニング

縞枯れ林に生育する草本6種について、アイソザイム多型のスクリーニングをおこなった(表1)。採取した葉を実験室まで4°Cで持ち帰り、アクリルアミドゲル電気泳動法にて検出した。その結果、カニコウモリとマイヅルソウにおいて、予定した材料のオサバグサで見つかった多型酵素数4を上回る、5酵素において多型が検出された。そこで、オサバグサにあわせてカニコウモリにおいても集団遺伝構造の解析をおこなうことにした。

#### オサバグサの分析

縞枯れ山南西斜面の山頂付近から斜面に沿って約420mにわたって40~60mおきに10の調査地点を設けた。各調査地点において、互いに1m以上離れるように、オサバグサ40個体から葉を採取した。計400個体分のオサバグサのサンプルを研究室に持ち帰り、4酵

素5遺伝子座の遺伝子型を解析した。

#### カニコウモリの分析

カニコウモリは縞枯れ林のうち主に立ち枯れ林分のみ生育している。そこで山頂側より1~3本目の立ち枯れ帯に計7の調査地点を設けた。各立ち枯れ帯の間は110~180m離れており、同じ立ち枯れ帯の中の調査地点間は30~60m隔たっている。各調査地点において、個体間の距離が2m以上になるように格子状に60個体のカニコウモリを選び、葉を採取した。計420個体分のカニコウモリのサンプルを研究室に持ち帰り、4酵素5遺伝子座の遺伝子型を解析した。

#### データ解析

オサバグサに関しては各調査地点の対立遺伝子頻度と遺伝子型頻度より、WrightのF統計量( $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ,  $F_{IS}$ )を計算した。カニコウモリに

表1. 縞枯れ更新林に生育する草本6種におけるアイソザイム多型のスクリーニング。

種名	オサバグサ	カニコウモリ	マイヅルソウ	ゴゼンタチバナ	ミツバオウレン	アキノキリンソウ
酵素名	<i>Pteridophyllum racemosum</i>	<i>Cacalia adenostyloides</i>	<i>Mianthemum dilatatum</i>	<i>Charmaep ericlymenum</i>	<i>Coptis trifolia</i>	<i>Solidago vigauera</i>
6Pgdh	+	++	++	-	+	++
Aco	+	-	-	-	-	-
Acp	-	+	++	++	-	++
Adh	-	-	-	-	-	-
Amy	--	-	-	-	-	-
Dia	--	-	-	-	-	-
Dod	--	-	-	-	-	-
Est	++	++	++	+	--	-
Fum	--	-	-	-	-	-
G2dh	++	-	-	-	-	-
G6p	-	+	-	--	--	+
Gk	--	--	--	-	-	-
Got	+	++	++	-	++	-
Gr	--	-	-	-	-	-
Idh	+	-	-	-	--	--
Lap	+	++	-	-	+	++
Mdh	-	-	-	-	-	-
Mdh2	-	--	--	-	-	-
Me	-	+	+	--	+	--
Mr	-	-	--	-	-	-
Pgi	-	-	-	++	-	-
Pgm	++	-	-	-	-	+
Shdh	++	++	++	--	-	+
Sodh	--	--	--	-	-	-
Tzo	-	-	-	-	-	-
++	4	5	5	2	1	3
+	5	3	1	1	3	3
-	5	7	8	6	5	4
--	6	3	4	3	3	2

++, バンド有 (多型); +, バンド有 (固定); -, バンド判読困難; --, バンド無

関しては、同様に F 統計量( $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ,  $F_{IS}$ )を計算するとともに、各調査地点内の遺伝子型の空間分布を空間自己相関分析により解析した。

## 2. 2. 結果

### F 統計量

オサバグサにおいてもカニコウモリにおいても全ての F 統計量において有意に正の値が得られた (表 2)。全ての F 統計量でオサバグサの方がカニコウモリよりも高い値を示した。

表 2. 縞枯れ山南西斜面縞枯れ林におけるオサバグサとカニコウモリの F 統計量の結果。オサバグサについては 5 遺伝子座のカニコウモリについては 6 遺伝子座の平均値が示されている。

種	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$F_{IS}$
オサバグサ	0.161	0.031	0.133
カニコウモリ	0.095	0.008	0.014

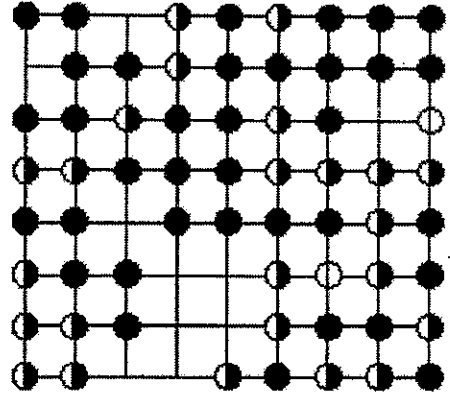
### カニコウモリ集団内の空間構造分析

7 調査区 6 遺伝子座に関して、遺伝子型の空間マップが得られた (図 1)。それぞれの対立遺伝子について、空間自己相関分析をおこなった。全ての調査区・遺伝子座において、遺伝子型はほぼランダムに空間に配置されていた (図 1)。Moran's  $I$  の値は総じて低く、有意な空間自己相関は検出されなかった (図 2)。

## 2. 3. 考察

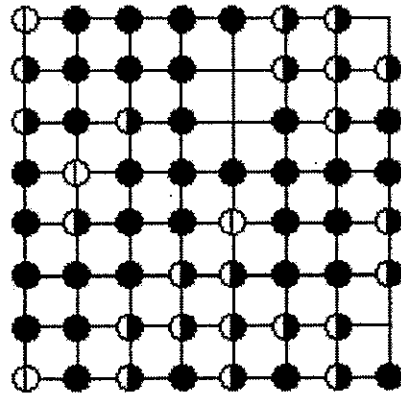
F 統計量のうち  $F_{IT}$  は対象調査区全体をひとまとめにしたときのハーディ/ワインバー

A



○, 遺伝子型 AA; ◐, 遺伝子型 AB;  
●, 遺伝子型 BB

B



○, 遺伝子型 AA; ◐, 遺伝子型 AB;  
●, 遺伝子型 BB

図 1. カニコウモリの各調査区内の遺伝子型の空間マップの例。A は調査区 1-a (山頂側より 1 番目の立ち枯れ帯の調査区の一つ) における遺伝子座 *Got* の遺伝子型分布、B は調査区 3-b (山頂側より 3 番目の立ち枯れ帯の調査区の一つ) における遺伝子座 *Got* の遺伝子型分布。7 調査区 6 遺伝子座について計 42 の図が得られた。

グ平衡よりのズレを表わし、0から正にずれ  
るほど、ホモ接合体が期待値よりも多いこ  
とを示す。正の  $F_{IT}$  が得られたことは、両種  
において、ランダム交配下で予測されるより  
もホモ接合体の割合が多いことを示している。  
ホモ接合体が多くなる理由は二つあり、一つ  
はサイト間のジーンフローが制限されている  
ときで、そのときは  $F_{ST}$  が正となる。もう一  
つは、それぞれのサイト内でランダム交配が  
行われていない場合で、そのときは  $F_{IS}$  が正

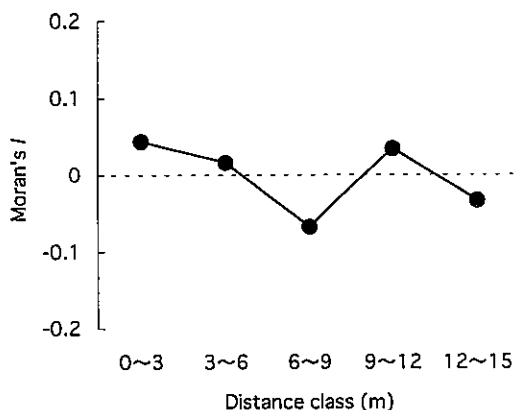


図 2. カニコウモリ調査区 1-a (山頂側より 1 番目の立  
ち枯れ帯の調査区の一つ) における遺伝子座  $G6t$  につい  
ての空間自己相関分析の結果。Moran's  $I$  はどの距離クラ  
スにおいても有意に 0 からずれていない。

にずれ。両種において、正の  $F_{IS}$  が得られ  
たので、両種は部分的に自殖をおこなってい  
ることが予想される。この結果は人工授粉実  
験の結果とも一致している。オサバグサの  $F_{ST}$   
値は調査地点間でごく弱い遺伝子頻度の分化  
が起きていることを示しており、ジーンフロ  
ーがある程度制限されていることを示した。  
一方、カニコウモリの  $F_{ST}$  値は 0.008 と極端  
に低く、広範囲でジーンフローがあることを  
示している。この結果は、本種の送粉様式と

種子散布様式をからは予想されない。これま  
での林床草本植物に関する同様の研究例では、  
数百 m の範囲でのランダムなジーンフロー  
を検出した例はない。今回の結果は、縞枯れ  
更新という森林更新様式によって説明される  
と考えられる。立ち枯れ林分のみで成立する  
カニコウモリ集団は、縞枯れ更新によって、  
常に消滅と生成を短期間に繰り返さざるを得  
ない。この短い集団の更新周期が大きなジ  
ーンフローをもたらしていると予想される。

### 3. 研究成果

縞枯れ更新林下における林床植物、オサバ  
グサとカニコウモリの集団遺伝構造を解析し、  
周期的な森林更新によって、林床植物集団の世  
代更新時間が短縮されることによって大きな  
ジーンフローが起きている可能性を示した。  
このことは、森林の更新パターンが林床植物  
の集団遺伝構造の決定に重要な役割を果たし  
ていることを示している。

### 4. 今後の課題と発展

非周期的な更新をおこなっている森林では、  
林床植物集団の世代更新時間が長いので、そ  
のような場所での林床植物の集団遺伝構造を  
明らかにする必要がある。

### 5. 発表論文リスト

Breeding system of *Pteridophyllum racemosum*  
Sieb. et Zucc. (Papaveraceae). Ozawa M., Hiroshi  
Kudoh H., Kachi N. *Plant Species Biology* (投  
稿中)

Accelerated gene flow between *Cacalia*  
*adenostyloides* populations under wave-  
regenerating forests. Sugisaka J., Kudoh H.,  
Kachi, N. (投稿準備中)