

1 丹沢大山の自然環境の保全に関する研究開発

- (1) 課題名 1-2 希少植物の保存技術の研究開発
A 丹沢山地に自生する希少植物の保全手法の研究
- (2) 研究期間 平成16～19年度
- (3) 予算区分 県単
- (4) 担当者 田村 淳・勝山輝男（生命の星・地球博物館）

(5) 目的

丹沢山地に自生する希少植物の分布はある程度把握されているものの、その個体数や生育環境、遺伝的変異といった生物学的情報が明らかにされている種はほとんどない。希少植物の保全のためには生物学的情報に基づいて保全対策をとることが重要である。そこで、平成19年度は、平成18年度に引き続き、環境省絶滅危惧種 A 類のヤシャイノデの増殖手法を試験した。また、環境省絶滅危惧 A 類のサガミジョウロウホトトギスの遺伝的多様性と集団の遺伝構造を把握することを目的として、マイクロサテライトマーカーを新規に作成した。なお、サガミジョウロウホトトギスの遺伝的多様性の解析に関しては、京都大学に委託して行った。

(6) 研究方法

1) ヤシャイノデ

丹沢山地内の2箇所の自生地において、胞子の成熟した時期に胞子を採取して胞子培養を試みた。

2) サガミジョウロウホトトギス

丹沢山地内の2箇所の自生地において、各個体から葉を1枚を採取して、冷蔵状態で実験室に運搬して、マイクロサテライトマーカーの開発に供した。そしてDNAレベルでの遺伝的多様性の解析、近親交配の程度、2集団間の遺伝子流動の見積もり、過去における集団のサイズの激減とこれに伴う多様性の消失（瓶首効果の有無）を検証した。

採取にあたっては、いずれも関係機関の許可をとって実施した。

(7) 結果の概要

1) ヤシャイノデ

増殖手法検討

1箇所の自生地で成熟個体から胞子を採取しに行ったところ、直前に斜面崩壊が発生した模様で、ヤシャイノデの成熟個体は埋まってしまった。そのため、もう1箇所の自生地に行って、成熟した1個体から胞子を採取した。採取した胞子は1週間程度日陰で乾燥させ、ピートモスとパーミキュライトの混合土を入れたポリポット100鉢に播いてみた。しかし、前葉体は全く発生しなかった。シダ栽培の専門家に依頼して実施した増殖試験でも前葉体は全く発生しなかったことから、手法の問題ではなく採取した胞子が未熟だった可能性がある。

2) サガミジョウロウホトトギス

2 集団から合計 175 個体からサンプルを採取し、このうち 169 個体を解析の対象としてマーカーを開発した。その結果、9 種類のマイクロサテライト遺伝子座を解析に用いることができると判明した。

得られた総アリル数は 137 であった。遺伝子座あたりのアリル数は 3 ~ 40 で、平均は 15.2 であった。ヘテロ接合度の期待値 (H_E) は 0.183 から 0.952 であり、観察値 (H_O) は 0.240 から 0.815 であった。Hardy-Weinberg 平衡 (HWE) からの偏りについては、遺伝子座 TI_3, 4, 5, 8, 9 の 5 座で認められた ($P < 0.05$)。作成した 9 遺伝子座は相互に独立したもので、連鎖はしていなかった (36 通りの遺伝子座の組み合わせに対して 420 permutations を実施)。従って、本研究でこの 9 個のマイクロサテライト遺伝子座を使用することに問題がないことが判った。

ヘテロ接合度の観察値と期待値は、A 地点と B 地点でそれぞれ 0.552, 0.529 (H_O) ; 0.706, 0.702 (H_E) であり、比較的高い数値であった。固定指数 F_{IS} はそれぞれ 0.217 と 0.246 であった。

AMOVA では、得られた変異のうちのわずかに 2.88% が A 地点と B 地点の間にあるだけで、残りの全てが集団の内部に帰属することが明らかになった。

同様の結果は集団間分化指数: $F_{ST} = 0.029$ と $R_{ST} = 0.032$ にも現れており、A 地点と B 地点の間では、僅かに 3 % 程度の分化しか存在しないことが明らかになった。つまり、2 集団の間にはかなりの遺伝子流動があることが示唆される結果になった。このことをさらに検証するために、A 沢と B 沢の間の移住率を BayesAss によって最尤推定した。B 沢から A 沢への移住率は 0.188 ± 0.09 、逆方向は 0.198 ± 0.09 であり、過去 3 世代のあいだに約 20% 弱の移住が双方向にあると推定された。

過去における瓶首効果の有無については、A 沢で 4 解析条件中の 3 条件において瓶首効果の痕跡が有意に認められた。一方で、B 沢では Sign test の SMM モデルだけで瓶首効果があったことが示唆された。

本研究で得られたサガミジョウロウホトトギスの遺伝的特性は、次の 3 点に要約される。

現存 2 集団は遺伝的多様性を高いレベルで残している。

2 集団は遺伝的にほぼ未分化であり、花粉 (や種子) の移動がある。

外交配に由来する種子繁殖によって現存集団が世代更新を続けている。

この結果は本種が保護されていくうえで望ましいものである。現存集団を盗掘から守って個体数を人為的に減らすことを回避すれば、理想的な状態で本種を維持することが出来るのではないかと思われる。個体数が特に少ないセドノ沢では個体数減少に注意が必要である。増殖・植戻しを企画するうえでは、2 集団を分けて対処する必要はなく、1 集団として扱うことに問題はないと判断される。

(8) 課題

これまでの成果をもとに、丹沢山地における希少植物の保護指針を作成する。

(9) 成果の発表

- ・田村 淳.丹沢山地の希少植物の現状と保全.遺伝 62(9).印刷中.
- ・Hiroaki Setoguchi • Yuki Mitsui • Hajime Ikeda • Naofumi Nomura • **Atsushi Tamura (2008)** Development and characterization of microsatellite loci in the endangered *Tricyrtis ishii* (Convallariaceae), a local endemic plant in Japan. Conservation Genetics (in press).