

学 位 論 文 題 名

Landscape genetics of alpine plants:
analyses of genetic structure and gene flow mediated
by snowmelt gradients

(高山植物の景観遺伝学：雪解け傾度をもたらす遺伝構造と
遺伝子流動の解析)

学位論文内容の要旨

景観特性に対応した遺伝子流動の時空間パターンは、野生生物集団の遺伝的多様性や遺伝構造を強く規定する。遺伝子流動は互いの距離によって減少すること (isolation-by-distance) が理論的に示されているが、野外では単純な空間配置だけでなく、景観特性やそれに付随した生態学的要因が遺伝子流動を左右する。したがって野生集団における遺伝子流動の実態を理解するためには、集団遺伝学のみならず景観生態学的背景が重要となる。これらの2つ分野を組み合わせた景観遺伝学の目的は、遺伝変異の空間パターンに対する景観特性の影響を明らかにすることである。

本論文では、高山多雪地域の重要な景観要素である雪 (残雪パッチ) を景観特性として取り挙げ、雪によって生活史スケジュールが規定される高山植物の遺伝子流動と遺伝構造の解明を試みた。不均等な積雪分布によって生じた残雪パッチは、雪解け時期という明瞭な時間的環境傾度 (雪解け傾度) を引き起こす。したがって雪解け時期によって生育開始が規定される高山植物では、生活史スケジュールが異なるモザイク集団がコンパクトな地域内に点在する。雪解け傾度を持つ高山生態系は、景観遺伝学のモデル系として次の特徴を持つ。

- (1) 生活史スケジュールの異相によって訪花昆虫相が質・量ともに変化するため、開花フェノロジーの推移によって遺伝子流動がダイナミックに変化することが期待される。
- (2) 開花フェノロジーの異相によって花粉媒介による空間的遺伝子流動が制限されるため、集団間または集団内で雪解け傾度に沿った遺伝構造が生じる可能性がある。

(1), (2) のいずれとも開花フェノロジーの異相を介した景観特性の作用だと考えられるが、前者は短時間スケール、後者は長時間スケールでの発現効果である。本研究では、分子マーカーによる集団遺伝学的手法を用いて、時空間スケールに応じた景観特性の影響を考察した。第1章では、花粉媒介による現行の遺伝子流動 (contemporary gene flow) を取り扱うために高多型性を示すマイクロサテライト (SSR) を用いて、虫媒花の花粉遺伝子の散布パターンを定量化した。一方、第2, 3章では、数世代に渡る遺伝子流動 (historical gene flow) の影響をアロザイム変異に基づいた遺伝構造から検証した。第2章では詳細スケール (250m × 100m) の遺伝構造を、第3章では広域スケール (3km) の遺伝構造を対象にすることで、空間スケールに依存した景観特性の影響を議論することが可能となった。

第1章では、雪解け傾度によって訪花昆虫活性が変化するキバナシヤクナゲ (*Rhododendron aureum*) を材料に、花粉散布パターンの変動性を SSR によって検証した。2003 年に早期消雪プロ

ット(6月中旬開花)と晩期消雪プロット(7月下旬開花)を設定し、ポリネーターの訪花頻度および結実成功を調査した。その結果、晩期プロットでは早期の10倍以上の訪花が観察されたが、果実生産には違いが認められなかった。また予測に反して、訪花活性の高い晩期プロットで種子の稔実率および他殖率が減少し、二親性の近親交配が認められた。受粉実験の結果、キバナシヤクナゲは自家受粉でも果実は発育するが、稔実率は大きく低下した。花粉流動の大きさを推定するため、Two generation analysisを行ったところ、訪花活性の高い晩期プロットにおいて花粉流動が増加していた。さらに果実内の花粉親の同一度は、早期よりも晩期の方が低く、晩期において花粉親の多様性が増加していることが明らかになった。花粉散布パターン、二親性近親交配、ポリネーターの訪花特性などを総合すると、晩期プロットでの種子生産の低下は自家受粉の増加にともなう胚珠中絶率の増加に起因することが示唆された。

第2章では、詳細な空間スケールでの遺伝変異パターンを検証するために、同一雪田に設置した250m×110mプロット内でエゾコザクラ(*Primula cuneifolia*)のアロザイム遺伝子型に基づいた遺伝的自己相関解析を試みた。空間的および時間的(開花フェノロジー)尺度のどちらを用いても有意な遺伝的自己相関が認められたが、そのパターンは異なっていた。空間的尺度によれば、自己相関は30m以内で認められ、それ以上ではランダムな空間パターンを示した。一方、フェノロジカルな尺度では、開花期が重なる5日以内で低いレベルながらも有意な自己相関が認められた。そして自己相関はフェノロジカルな距離の増加によって減衰した。一般に、倍数体である種子は散布距離が短い、半数体である花粉は遠くへ運ばれやすい。尺度によってパターンが異なる理由は、空間的自己相関では花粉と種子による遺伝子流動の効果が現れるのに対して、フェノロジカルな自己相関では花粉による効果のみが現れたからだと考えられる。花粉媒介による遺伝子流動が及ぶ範囲は数十m内に留まるが、有効な遺伝子の交換が起きていることが示唆された。

第3章では、同所的に分布する雪田草本植物3種：ハクサンボウフウ(*Peucedanum multivittatum*)、エゾヒメクワガタ(*Veronica stelleri*)、ミヤマリンドウ(*Gentiana nipponica*)を対象に、分集団間の遺伝構造に対する雪解け傾度の効果をアロザイム変異により検証した。3kmスケールでの対象地域集団の遺伝変異を各階層レベル(分集団内、分集団間、分集団グループ間、地域集団全体)に分割して評価すると、全遺伝変異の約95%は分集団内で保持されており、残りを上位レベル(分集団間および分集団グループ間)で保持していた。開花フェノロジーが分離しているにも関わらず、分集団間の遺伝的分化は穏やかなレベルにあり、有効な遺伝子流動が生じていることが推察された。そして各々の分集団は景観特性としての地理的配置または雪解け傾度の影響を受けて、階層的なメタ個体群を形成していた。しかし同所的に共存する草本種であっても、階層的遺伝構造は異なっていた。雪解け傾度に沿った階層構造を示す種では、傾度に沿った対立遺伝子頻度のクラインが生じており、このクラインが階層構造に寄与したと考えられる。遺伝子頻度クラインは、開花フェノロジーの不完全な隔離によって飛び石的に生じた遺伝子流動または雪解け傾度による自然淘汰の結果であると考察した。

景観遺伝学に基づいた本論文の特色は、遺伝的多様性に対する景観特性の影響を時空間スケール別に検証しようと試みたことである。景観特性は、まず短時間スケールでの遺伝子流動に直接に作用する(第1章)。集団の遺伝構造の発達は、幾世代に渡る遺伝子流動の蓄積効果に大きく規定されるが、詳細スケールの遺伝構造は花粉媒介による遺伝子流動の影響を受けていることが示唆された(第2章)。そして広範囲な空間スケールでは、遺伝構造が地理的距離またはフェノロジカルな距離の影響を受けており、同所的に存在する種でも集団間の遺伝構造が異なることが示された(第3章)。雪解け傾度の存在は、高山生態系において高山植物の遺伝的多様性維持に貢献していることが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主査	助教授	工藤	岳
副査	教授	甲山	隆司
副査	教授	大原	雅
副査	助教授	露崎	史朗

学位論文題名

Landscape genetics of alpine plants: analyses of genetic structure and gene flow mediated by snowmelt gradients

(高山植物の景観遺伝学：雪解け傾度をもたらす遺伝構造と
遺伝子流動の解析)

景観特性に対応した遺伝子流動の時空間パターンは、野生生物集団の遺伝構造を強く規定する。集団遺伝学と景観生態学の横断分野である景観遺伝学の目的は、遺伝変異の空間パターンに対する景観特性の影響を明らかにすることである。本論文は、高山多雪地域の重要な景観要素である雪（残雪パッチ）を景観特性として取り上げ、雪によって生活史スケジュールが規定される高山植物の遺伝子流動と遺伝構造の解明を試みたものである。高山では、生育場所の消雪時期の季節的変動（雪解け傾度）に応じて、開花フェノロジーが異なる集団がモザイク状に存在する。雪解け傾度を持つ高山生態系は、景観遺伝学のモデル系として次の特徴を持つ。

- (1) 訪花昆虫相が質・量ともに季節変化するため、開花フェノロジーの異なる集団で花粉による遺伝子流動がダイナミックに変化することが期待される（遺伝子流動の異質性）。
- (2) 開花フェノロジーの異相によって花粉媒介による遺伝子流動が制限されるため、集団間または集団内で雪解け傾度に沿った遺伝構造が生じる可能性がある（遺伝構造の階層性）。

第1章では、雪解け傾度によって訪花昆虫活性が変化するキバナシャクナゲを対象に、花粉散布パターンの変動性をマイクロサテライトにより検証した。早期開花プロット（訪花昆虫活性・低）と晩期開花プロット（訪花昆虫活性・高）を設定し、結実成功・花粉散布パターンを解析した。その結果、晩期プロットで訪花昆虫活性に応じた花粉流動および花粉親多様性の増加が認められた。一方、昆虫の活性が高かった晩期プロットで、稔実率や他殖率の減少と、二親性の近親交配が認められた。本種は自家和

合性が低いという結果から、晩期プロットでは空間的な花粉散布が促進されるが、一方で自家受粉の増加とそれともなう胚珠の中絶によって種子生産効率が低下することが示された。

第2章では、詳細な空間スケールでの遺伝変異パターンを検証するために、250m×110mの雪田プロット内でエゾコザクラのアロザイム遺伝子型に基づいた遺伝的自己相関解析を試みた。空間尺度を用いた遺伝的自己相関は、個体間距離が30m以内で生じていた。一方、時間的尺度を用いた解析では、開花時期の相違が5日以内の時に個体間の自己相関が検出され、開花時期の相違が増大するとともに自己相関のレベルは減衰した。すなわち、開花フェノロジーに沿った花粉散布が遺伝構造に寄与していることが示された。

第3章では、3kmスケールでの分集団間の遺伝構造を雪田草本植物4種（エゾコザクラ、ハクサンボウフウ、エゾヒメクワガタ、ミヤマリンドウ）のアロザイム変異を用いて解析した。開花フェノロジーが分離しているにも関わらず、分集団間の遺伝的分化は穏やかなレベルにあり、有効な遺伝子流動が生じていることが推察された。そして分集団は景観特性としての地理的配置または雪解け傾度の影響を受けて、階層的なメタ個体群を形成していた。しかし同所的に共存する草本種であっても、階層的な遺伝構造は異なっていた。雪解け傾度に沿った階層構造を示す種では、傾度に沿った対立遺伝子頻度のクラインが生じており、開花フェノロジーの不完全な隔離によって飛び石的に生じた遺伝子流動、または雪解け傾度による自然淘汰が示唆された。

景観遺伝学に基づいた本論文の特色は、高山生態系における雪解け傾度という景観特性の重要性を、時空間スケール別に検証したことである。景観特性は、まず短時間スケールでの遺伝子流動に直接作用していた（第1章）。集団の遺伝構造の発達には、幾世代に渡る遺伝子流動の蓄積効果に大きく規定されるが、詳細スケールの遺伝構造は花粉媒介による遺伝子流動の影響を受けていた（第2章）。そして広範囲な空間スケールでは、遺伝構造が地理的距離またはフェノロジー距離の影響を受けており、同所的に存在する種でも、集団間の遺伝構造が異なることが示された（第3章）。以上の研究により、消雪時期の変動が作り出す生育環境の変化は、開花スケジュールや花粉媒介昆虫の活性に変動をもたらす、花粉散布に伴う遺伝子流動の程度や方向性を規定し、結果として階層的な空間遺伝構造を生み出していることが明らかにされた。

申請者は、綿密な野外実験と最新の手法を取り入れた空間遺伝解析を基に、精力的かつ合理的に研究を遂行し、高山生態系というユニークな系に存在する高山植物の階層的な空間遺伝構造を明らかにした。得られた成果は、消雪時期の変動がもたらす様々な生態現象の統合的理解に役立つ、重要な知見を提供するものである。また、申請者は最新の解析手法を良く理解し、その適用の妥当性について慎重に検討し、必要に応じて改良できるすぐれた能力を有していると評価された。従って、審査員一同は申請者が博士（地球環境科学）の学位に相当する資格を有するものと判定した。