

Genetic diversity, mating system, and conservation of a Mexican subalpine relict, *Picea mexicana* Martínez

富田 基史*

2005 年 1 月 12 日

1 Introduction

集団のサイズが小さくなると、近親交配がおこり、遺伝的多様性の低下や絶滅の危機にさらされる。特に、他殖を行う集団では近交弱勢によって、繁殖能力の低下がおこり集団サイズが減少するので、加速度的に絶滅が進む。集団の分断化は、gene flow を低下させ、genetic drift によって失われた遺伝子の回復をおこにくくするが、いくつかの種では分断化とそれにもなう近親交配、遺伝的多様性の低下を乗り越えて、氷河期 refugia から集団を回復してきたことが知られている。

Mexican spruce (*Picea mexicana* Martínez) は、Madre Oriental 山脈および Madre Occidental 山脈の上に隔離分布している。*Picea* L. 属は、一般的に他殖性であると言われており、Mexican spruce も genetic drift による遺伝的多様性の低下と自殖による近交弱勢の影響を受けて、絶滅する恐れがある。このような背景から、Mexican spruce の個体群が遺伝的に劣化した状態に状態におかれているか検証することは、この種の保全に重要である。

Mexican spruce は、IUCN で絶滅危惧種に分類されており、その 2 つの分布域のうち 1 つは約 25 年前にほぼ消失したとされている。しかしながら、Ledig et al. (2002) は、Mexican spruce の分布域は少なくとも 3 つあり、1975 年の山火事でほぼ絶滅したとされる Madre Oriental 山脈の一部である Sierra la Marta の個体群についても、標高の高い地域に $DBH \geq 10\text{cm}$ で 1000–2000 個体が生存していると推測している。他の個体群については、Sierra el Coahuilón で約 1000 個体、Cerro Mihinora で数百個体程度としている (Table 1)。

Sierra el Coahuilón および、Cerro Mihinora の個体群は、Sierra la Marta の個体群と同様に危険な状態にあり、Sierra el Coahuilón でも 1996 年に山火事が発生している。Cerro Mihinora では、1985–1997 年の期間において、放牧による更新稚樹の食害が進んでいた。

(中略：主に分類学上の変遷など)

Mexican spruce は、山火事や温暖化などの外的要因によって絶滅の危機にあることは確かであるが、遺伝的な要因による絶滅の危険性は明らかにされておらず、また遺伝的多様性や他殖率なども調べられていない。さらに、これらの個体群が過去に気候が温暖であった時期の bottle neck の影響を今でもうけているのか、それとも下限状態にあるのかもはっきりしていない。そこで、Ledig et al. (2002) は Mexican spruce の保全策

* 造林学分野 3 年, motoshi@sea.plala.or.jp

を検討するために、他殖率・自殖率を推定して、自殖が更新に影響するかどうか、そして近年の bottle neck の影響を検討した。

2 Materials and methods

種子の豊凶が著しいため、前述の 3 つの個体群において球果を 1988–1997 の間にそれぞれ 1–2 回サンプリングし、大配偶体と胚についてアイソザイムの電気泳動を行った。大配偶体については、1 個体あたり平均して 6–15 個解析が行われ、大配偶体の遺伝子型から、着目した遺伝子座における親個体の遺伝型を推定した。^{*1}

大配偶体と胚は、種子を発芽させて、小根がでてきた段階で単離された。集団あたりの解析した親個体数 N は 22–36 ($2N = 44$ –72) であり、交配システムの解析に用いる大配偶体–胚の対は、それぞれ 137–159 対/24 子集団^{*2}(Cero Mohinora), 201–223 対/22 子集団 (Sierra el Coahuilón), 384–427 対/27 子集団 (Sierra la Marta) であった。

Starch gel 電気泳動によるアイソザイム解析の結果から BIOSYS というプログラムを用いて、多型遺伝子座の割合、遺伝子座あたりの対立遺伝子数、ヘテロ接合度の不偏推定量、固定指数 (F_{IS} , F_{IT}), Nei の遺伝的距離が推定され、式 1 を用いて F_{ST} が推定された。集団間の遺伝的隔離度は、世代あたりの移住数 N_m を用いて推定され、 N_m は以下の式 2 で推定された。その他、有効個体群サイズの制限 (BOTTLENECK), 他殖率 t_s, t_m (MLTR, MLTF, Ritland (2004) など) などが計算された。

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST}) \quad (1)$$

$$N_m = \frac{1 - F_{ST}}{4F_{ST}} \quad (2)$$

3 Results

解析した 18 遺伝子座のうち、8 個が少なくとも 1 つの集団で多型を示した (Table 2)。対立遺伝子の比率は、多くの遺伝子座において集団間でかなり違う値を示した。Hardy-Weinberg 平衡下のヘテロ接合度の期待値 H_e は、0.117–0.130 であり、多型遺伝子座の割合 P は 33.3–38.9%，遺伝子座あたりの対立遺伝子数 A は 1.4 だった。近交係数 F の平均は -0.094 であり、これは Wright の F_{IS} とほぼ同じ (-0.107) だった^{*3}(Table 3)。

Wright の F_{ST} は 0.069 ± 0.027 であり、Sierra la Marta と Sierra el Coahuilón の 2 集団間に限れば F_{ST} は 0.013 である。世代あたりの移住数 N_m は上記 2 集団間で 19.0、これらと Cerro Mohinora との間で

^{*1} 裸子植物の種子のうち、胚を除く栄養組織は 1 倍体で、母親側の大配偶体由来である。Ledig et al. (2002) は、1 個体につき複数の大配偶体の遺伝子型を調べ、そのすべてが同じ遺伝子型ならホモ、2 つの遺伝子型が検出されたらヘテロといった具合に、親個体の遺伝子型を推定した。大配偶体の割合が遺伝子型に関係ないと仮定すると、ヘテロ接合体をホモ接合体と間違えて推定する確率は、 $1/2^{n-1}$ (n は 1 個体あたりのサンプル数) である。この研究では、少なくとも 1 個体あたり 6 個以上の大配偶体について解析しているので、間違えて推定する確率は、0.03125 以下である。解析に針葉ではなく種子を使用する理由は、種子のほうが酵素活性が安定しており、保存性がよいためである。(種生物学会, 2001, 「2-1. アロザイム実験法」より)

^{*2} progeny array の和訳。適切な日本語の文献がなかったため正式な訳はわからない。たぶん half-sibs progeny array のことを指している。ここでは、同じ母個体由来の子 (種子) の集団。

^{*3} 前者の近交係数 F は、集団ごとの近交係数 $F_k = 1 - H_{ok}/H_{ek}$ を平均したものである。一方、後者の F_{IS} は、集団ごとのヘテロ接合度の平均から $F_{IS} = 1 - H_o/H_e$ と計算したものであり、各集団の F_{ISk} をヘテロ接合度 H_{ek} で加重平均したものに等しい (根井, 1990)。

3.1–3.4であった。Neiの遺伝距離 D は、Sierra la Marta と Sierra el Coahuilón の間で最小で、これらのどちらか一方と Cerro Mohinora の間で最大であった (Table 4,5)。

集団内のヘテロ接合度 H_e は、Cerro Mohinora と Sierra el Coahuilón の2個体群で、mutation-drift 平衡よりも有意に高く (Wilcoxon's sign-rank test; $p < 0.05$)、Sierra la Marta でも $p = 0.08$ であった (Table 6)。

複数遺伝子座にもとづく、推定他殖率 t_m は 0.590 (Sierra la Marta)–0.807 (Sierra el Coahuilón) であり、すべての集団で有意に自殖率が高かった (Table 7)。

4 Discussion

Mexican spruce の遺伝的多様度は、他の木本性固有種の値と比較しても高く、他殖性の固有種全般の平均値とほぼ同じであった。ヘテロ接合度の期待値 H_e は 0.125 で、これは裸子植物全般 (0.151)、風媒・他殖性の木本 (0.154) と比較してもほとんど変わらない。多型遺伝子座の割合 P は 35% で、他殖性の固有種全般の値 (54.4%) よりも低かったものの、木本のみの値 (26.3%) よりも高かった。

遺伝的多様性と集団サイズの間に関係は認められず、 H_e は3つの集団の中で一番大きな Sierra el Coahuilón で、一番低かった。また、多型遺伝子座はほとんどなく、過去に bottle neck が起こったことを示唆している。Hardy-Weinberg 平衡下でのヘテロ接合度の期待値 H_e が、mutation-drift 平衡に達した集団のヘテロ接合度 $H_e q$ よりも高いということは確かに過去の有効個体群サイズの縮小を示唆しているわけだが、一方で Hardy-Weinberg 比から外れている遺伝子座によって検定結果に偏りがでることがある。しかしながら、Hargy-Weinberg 比から外れているデータを除いても全体の検定に影響しなかったという報告もある。いずれにしても、標高が低かった Cerro Mohinora と Sierra el Coahuilón で過去の bottle neck の強度が強かった。温暖環境ではトウヒはより斜面の上部へ移動できるので、より標高の高い Sierra la Marta では他の2集団に比べて個体群縮小の影響が小さかったのだろう。

Mexican spruce の遺伝構造は、他の絶滅危惧植物に比べて不明瞭で、全体の多様性のうち集団間の多様性の割合は 6.9% であった*4。これは他殖性の固有種全般 (17.9%) や木本性の固有種 (14.1%) に比べても明らかに低い。Mexico に分布する他のトウヒ属と比較すると Chihuahua spruce (*Picea chihuahuana*) よりも低かった (25%) が、一方で、Martínez spruce (*Picea martínetzii*) は、147km も離れているにもかかわらず、Mexican spruce よりも分化の程度が低かった (2.4%)。Nei の遺伝距離 D を用いた分化の時期の推定によると*5、分化の時期はたった 950–9500 年前という結果であった。メキシコのトウヒ属は近年までより広範囲に分布しており、温暖化によって分布域が減少してきたことがわかっている。現在では、それらはごく限られた場所に隔離分布しているにすぎない。しかしながら、676km も離れた個体群の同士の移住数 N_m が 3.1–3.4 だったのは、近年の個体群の縮小の影響を受けて、過剰推定したものと思われる。 N_m は平衡状態に達するまで数百世代ほどかかるといわれている。距離の近い Sierra la Marta と Sierra el Coahuilón の間では、 N_m は 19.0 と予想通り高かった。

これらの3個体群ではいずれも他殖が優勢であったが、サイズの小さい Cerro Mohinora と Sierra la Marta の2個体群では、Sierra el Coahuilón に比べて有意に自殖率が高かった。他殖率 t_m の推定に使用した mixed-mating model は遺伝子座間の連鎖平衡状態*6を仮定するのに対して、推定に用いた遺伝子座は解析

*4 $F_{ST} = 0.069$ より。 F_{ST} は集団の分化の程度を表す指標として用いられる。

*5 $T = D/2\alpha$ (α : 単位時間あたりの突然変異の頻度, $\alpha = 10^{-5} - 10^{-6}$) (根井, 1990)

*6 遺伝子座同士の組み替え価が 50% である、つまり連鎖していない状態のこと

したサンプル数が少なく、実際の組み替え価の算出は困難であった。このため、上記の仮定を満たすかどうかは、せいぜい連鎖の程度は弱かったとまでしか判断できない。しかしながら、針葉樹同士では連鎖地図はあまり変化しないとされており、他の種の報告を見る限り、今回解析に使用した遺伝子座は連鎖していないと思われる。

連鎖の影響を受けない単一遺伝子座に基づく方法で推定された他殖率 t_s は、複数遺伝子座に基づく推定 t_m とほぼ同一であったが、常に t_s の方が小さい値になったので、連鎖の影響、あるいは近親交配の影響が考えられる。Cerro Mohinora では、この t_m, t_s の差は統計的に有意であった。

自殖や近親交配自体はホモ接合度の増加にはつながらないが、反対に調査した 3 つの集団では明らかにヘテロ接合度が高かった。平衡時の近交係数 F_e は他殖率から計算できるが^{*7}、複数遺伝子座に基づく他殖率の推定値 t_m を用いて計算した F_e は、実際の近交係数 F とは一致せず、この集団では平衡状態に比べてヘテロ接合度が高いことがわかった。これは自殖個体に対する淘汰圧が高いことを示唆しているものと思われる。集団の分化の程度の推定 (F_{ST}, D) が小さかったことは、似たような環境では遺伝子座に対して同じような淘汰圧がかかり、遺伝子頻度が安定してしまったのかもしれない。

5 Conclusions

18 遺伝子座の遺伝的多様性は、固有種の遺伝的多様性の平均値とほぼ同じで、遺伝的には“extinction vortex”の状態には置かれていないと考えられる。また、Mexican spruce もある程度自殖をしている可能性が示唆されたが、Chihuahua spruce や Martínez spruce ほどではなく、集団のヘテロ接合度は Hardy-Weinberg 平衡下の期待値とほぼ同じか、それよりも高いという結果になった。現在、Mexican spruce に対する最大の危機は、食害や山火事、温暖化であり、それぞれ適切な対策が必要である。遺伝的には、差し迫った状況ではないようだ。

参考文献

- Conner, J. K. and D. L. Hartl. 2004. A Primer of Ecological Genetics. Sinauer Associates, Inc, Massachusetts, USA.
- Ledig, F. T., P. D. Hodgskiss, and V. Jacob-Cervantes. 2002. Genetic diversity, mating system, and conservation of a Mexican subalpine relict, *Picea mexicana* Martínez. Conservation Genetics **3**:113–122.
- Ritland, K., 2004. Multilocus Mating System Program, MLTR, version 3.0. University of British Columbia. <http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs>.
- 根井正利. 1990. 分子進化遺伝学. 培風館.
- 種生物学会 編. 2001. 森の分子生態学. 文一総合出版.

^{*7} $F_e = (1 - t)/(1 + t)$. 近交弱勢がなく、近親交配が起こらない場合、 F と一致する (種生物学会, 2001).

