

# 河川敷におけるカワラナデシコの繁殖に関する 生態遺伝学的研究

## 要旨

1. はじめに
  2. カワラナデシコの種子生産に関する調査
    - 2.1 種子生産と個体群維持の関係
    - 2.2 材料と方法
    - 2.3 結果
    - 2.4 種子生産と個体群の現況の関係に関する考察
    - 2.5 種子による集団の更新と保全
  3. カワラナデシコの遺伝的多様性に関する調査
    - 3.1 遺伝的多様性と個体群維持の関係
    - 3.2 材料と方法
    - 3.3 結果
    - 3.4 遺伝的多様性と個体群の現況の関係に関する考察
    - 3.5 遺伝的多様性の保全に関して
  4. おわりに
- 引用文献



## 要旨

カワラナデシコは、その名の通り、しばしば河川敷に集団を成立させている。しかし、近年、河川敷では以前ほど、カワラナデシコを見かけなくなっている。本研究では、カワラナデシコの集団の存続の観点から、生態学および集団遺伝学的解析を行った。

カワラナデシコは、主に種子生産により繁殖を行うので、集団の存続のためには、種子生産が正常に行われていることが重要である。本研究では、関東・中部地方の4河川の河川敷に成立している集団でカワラナデシコの種子生産を調査した。いずれの集団でも、カワラナデシコはある程度の種子生産を行っていた。もっとも環境的に好ましくないと考えられた多摩川の集団では、結実率が他の集団よりも低い傾向が見られた。ただ、この集団に存在する個体は大きいものが多く、多数の花をつけたために、個体あたりの種子生産が極端に少ないということにはなかった。種子の食害は、特に環境との間に相関がないようであった。

集団の遺伝的多様性は、集団の長期の維持のためには重要なパラメータである。そこで、本研究ではRAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 法を用いて、集団の遺伝的多様性を推定した。いずれの集団でも遺伝的多様性は小さくなく、遺伝的な点からの保全は特に急を要するものでないことが分かった。カワラナデシコの集団間分化は特に大きいことはなく、集団間である程度の遺伝的交流が起きていると推定された。

本研究では、比較的大きい集団を対象に解析を行ったが、絶滅の危機に瀕する小集団では、上記とは異なる結果になる可能性がある。今後、そのような集団での生態的および集団遺伝学的解析が必要であると考えられる。

## 1. はじめに

カワラナデシコ (*Dianthus superbis* var. *longicalycinus* (Maxim.) Williams) は、低地や山地の日当たりの良い草原や河原を好んで生える多年生草本である。この種は、いわゆる秋の七草として古くから日本では親しまれてきた。その名の通り、河原に群生することが多く、決して稀少な植物ではないと考えられてきた。いわゆるレッドデータブック<sup>1)</sup>には、記載されていないけれども、各県ごとのレッドデータブックには記載がある場合もある。たとえば、1998年に発行された、さいたまレッドデータブック<sup>2)</sup>では、カワラナデシコは、埼玉独自のカテゴリーによれば「絶滅危惧II類」として記載されており、その減少の要因としては、園芸・鑑賞用採取があげられている。埼玉県は、カワラナデシコの分布からすると分布の中心に位置し、本来は十分な個体が存在すると考えられるにもかかわらず、近年では個体が激減しているようである。また、宮崎県から2000年に発行された、宮崎県版レッドデータブック<sup>3)</sup>では、準絶滅危惧種にランクされており、その減少要因としては、管理放棄、遷移進行、採取、改修・改変などが挙げられている。手許で参照できるレッドデータブックの数は限られているので、国内全体を見渡した場合には、カワラナデシコが減少している地域は、これらの県だけにとどまらないと考えられる。

カワラナデシコは、鑑賞にも堪えうる植物であるので、園芸用の採取は無視できない減少要因であることは間違いない。しかしながら、大群生している個体全てを持ち去るという可能性はあまり小さくなく、その減少には、生育地の減少が大きく挙げられると思われる。たとえば、カワラナデシコと

同様に河川敷に分布し、現在では個体数の減少が急速に進んでいるカワラノギク (*Aster kantoensis* Kitamura) の場合、その減少要因は、カワラノギクの集団が更新できる場所が極端に限られてきていることに他ならない<sup>4)</sup>。カワラノギクの場合、河川敷にさまざまな施設が建築されることにより、新たな個体群の形成が妨げられている。カワラナデシコは、カワラノギクほど分布が限定されておらず、また、その個体数も少なくなく、その集団の更新に関する環境要求性も高くないと考えられるが、生育環境そのものが破壊されている状況は決して少なくない<sup>5)</sup>。また、生育環境が維持されていても、その周囲の環境が悪化している場合には、花粉媒介者の減少などにより、種子生産が減少するなどの悪影響が及ぼされることがあり得る<sup>6)</sup>。

生育地の減少は、カワラナデシコの個体数の減少という目に見えるかたちで悪影響を及ぼすだけではない。個体数が減少すると、機会的浮動により、遺伝子の固定が起きやすくなり、本来は好ましくない有害な遺伝子が集団中に固定される可能性がある<sup>7)</sup>。また、個体数の減少は、近親交配を引き起こすことになり、その結果、劣性有害遺伝子のホモ接合体形成による発現が起き、種子が生産されても、集団全体の生存力が低下していく可能性がある<sup>7)</sup>。これらの効果は、生育地の破壊や種子生産の低下による集団の存続への悪影響に比べると、その効果は即効的でないと考えられているが、集団の衰退の一要因になりうることは間違いない。

本研究では、カワラナデシコの河川敷に存在している集団を用いて、種子生産がどの程度行われているのか、遺伝的多様性はどの程度維持されているのかなどについて検討し、カワラナデシコ個体群の存続に関する基本的な情報を与えることを目標とする。特に、都市部に近く環境的にあまり良好でない多摩川、荒川における集団と都市部から離れていて、周囲の環境も本来の状況とあまり変化がないと考えられる鬼怒川、千曲川流域の集団を比較して、開発の影響などがどの程度、カワラナデシコの集団に影響を及ぼしているのかについて、考察することとする。

## 2. カワラナデシコの種子生産に関する調査

### 2.1 種子生産と個体群維持の関係

カワラナデシコは、多年生草本であり、実験圃場などの環境では、発芽から早くて1年程度で開花する。野外での開花までの調査例はないが、おそらくは数年かかって開花するものと思われる。多回繁殖型の多年生草本ではあるが、実際には木本などと違って、それほど長命ではなく、種子生産後には、個体の生存力は低下して、やがて枯死すると考えられている。

カワラナデシコは、いわゆる栄養繁殖をほとんどせず、個体は株立ちになり、走出枝やむかごなどを作らない。そのため、次世代への更新は、ほとんど種子生産に頼っていると考えられる。結実後に、個体が衰退することを考えると、カワラナデシコの集団が永続的に維持されるためには、毎年、一定量の種子生産が行われなければならないことになる。

カワラナデシコの種子は、自個体の花粉が胚珠を受精させる自家交配によっても生産されるが、その生産は主に、昆虫による花粉媒介によって、他個体の花粉で胚珠が受精させられる他家受精によって行われるとされている<sup>8)</sup>。さらに、カワラナデシコは、同一集団中に雌株(雄機能を持たない)と両生株(雄機能も雌機能ももつ)の2つのタイプの個体から構成されていることが分かっている<sup>8)</sup>。雌株では、自家交配はあり得ないので、種子生産においては必ず、花粉媒介者の介在が必要となる。したがって、雌

株の種子生産は、その集団の花粉媒介者の存在の指標となりうると考えられる。

一方、カワラナデシコの種子を食害するゾウムシの1種が、集団によっては多数観察された。この昆虫が朔果内に存在している場合は、カワラナデシコの種子は食害されていて、種子は生産されていても、発芽に至るような健全な種子はほとんど残っていない。昆虫と植物の相互作用に関しては、花粉媒介者のみならず、種子食害者の影響も一般に無視できない。

本項では、カワラナデシコの種子生産がどの程度行われているのか、集団間によってどの程度の変異があるのか、種子食害者の影響はどうかなどについて調査し、生育環境との関係を論じることを目的とする。

## 2.2 材料と方法

### 2.2.1 調査に用いた集団

調査に用いたのは、いずれもカワラナデシコが河川敷に生育している集団で、個体数が50個体以上は存在しているものに限った。

集団Kは、栃木県今市市の鬼怒川の河川敷に成立している集団である。この集団の周りは、特に開発の影響を受けておらず、自然度が高いと考えられた。この集団の上流及び下流には、現在でもカワラノギクやフジバカマなどのような河川敷に生育する絶滅危惧植物の生育が見られる。

集団Aは、埼玉県熊谷市の荒川河川敷に成立している集団である。この集団は、荒川と反対側に運動公園が出来ているものの、集団自体は、あまり人間の介入は見られず、遊歩道が見られる程度である。カワラナデシコの個体数はかなり多く、調査者が25年前に観察した状況とあまり変わっていないように見受けられた。同所的に生育する植物には、カワラケツメイのような河川敷に特徴的に見られる植物があり、自然度は低くない。しかし、約200m×100mのカワラナデシコが密度濃く分布している場所の外側には、ほとんどカワラナデシコは見られず、かなり孤立した集団と思われる。

集団Tは、東京都日野市の多摩川河川敷に成立する集団である。この集団の下流には、以前は大きなカワラノギクの集団が存在していたが、現在は衰退してしまっている。河川敷に立ち入る人が非常に多く、カワラナデシコの個体の多くが踏みつけにあっており、生育状況は良くない。周囲に残存する種には、河川敷固有の種も見られるので、以前は環境的にも良く、自然度は高かったものと思われるが、現在は、荒れた環境である。個体数は少なくなく、大きな個体も見られるが、逆に小さい個体は少なく、種子生産による更新があまりうまくいっていないように感じられる。

集団Cは、長野県川上村の千曲川の河川敷に成立している集団である。他の集団と比べて、上流域にあたるため、河自体が狭く、河川敷も狭いが、カワラナデシコの個体密度は高い。周囲は、堤防の外に高原野菜の畑がある他は、あまり人手が入っておらず、自然度は高いと思われる。

### 2.2.2 種子生産の調査

上記の4集団について、カワラナデシコの開花期に、性型（雌株か両生株か）を確かめた上でプラスチックテープで番号を付けた。開花期終了後に、数回にわたって現地を訪れて、できるだけ全ての種子を回収するようにした。種子生産数は、結実率（＝結実した花数/開花総数）、個体あたりの種子生産数（＝個体全ての種子数）によって示した。また、ゾウムシの1種による食害が認められたので、食害を受けている朔果の割合を別に求めた。

## 2.3 結果

### 2.3.1 結実率

各集団の結実率を、個体あたりに平均した値を、両性個体と雌個体に分けて、表2.1に示す。結実率が最も高かったのは、両性個体、雌個体ともに荒川の集団で、2割以上の花が種子をつけた。続いて、鬼怒川の集団の結実率が高く、千曲川の集団がそれに続いた。結実率が最も低かったのは、多摩川の集団で、両性個体、雌個体ともに5%以下の花が種子をつけた。

雌個体の結実率と両性個体の結実率には、強い相関があり、両性個体が多く結実する集団は、雌個体も多く結実する傾向がはっきりしている。

表2.1 各集団の結実率 (カッコ内は標準偏差)

集団	両性個体	雌個体
鬼怒川	0.189 (0.163)	0.172 (0.185)
荒川	0.197 (0.211)	0.259 (0.188)
多摩川	0.048 (0.040)	0.027 (0.029)
千曲川	0.100 (0.174)	0.101 (0.174)

### 2.3.2 食害率

各集団における花あたりの食害率を、両性個体と雌個体に分けて、表2.2に示す。鬼怒川の両性個体は、調べた個体では食害を受けているものは見られなかった。鬼怒川の集団と荒川の集団は、食害を受けている頻度が、他の集団よりも両性個体、雌個体ともに低かった。一方、多摩川の個体と千曲川の両性個体は、多くの花がゾウムシによる種子食の被害を受けていて、特に千曲川の両性個体は、約半分が食害を受けていた。千曲川の雌個体は、両性個体に比較すると、食害を受けているものが少ない傾向にある。

表2.2 各集団の食害率 (カッコ内は標準偏差)

集団	両性個体	雌個体
鬼怒川	0.000 (0.000)	0.036 (0.059)
荒川	0.096 (0.081)	0.019 (0.037)
多摩川	0.294 (0.106)	0.306 (0.159)
千曲川	0.485 (0.267)	0.077 (0.212)

### 2.3.3 個体あたりの種子生産数

各集団の個体あたりの種子生産数を、両性個体と雌個体に分けて表2.3に示す。個体あたりの種子生産は、両性個体では鬼怒川集団が最も多く、雌個体では荒川集団が最も良かった。一方、千曲川集団は、両性個体、雌個体ともに種子生産量が最も少ない値を示し、特に両性個体はほとんど種子を生産していないことが明らかとなった。

両性個体と雌個体の種子生産量を比較すると、鬼怒川集団では、両性個体の方が多くの種子を生産したが、他の3集団では、雌個体の方が多くの種子を生産していた。

表2.3 各集団の個体あたりの種子生産数 (かっこ内は標準偏差)

集団	両性個体	雌個体
鬼怒川	97.2 (151.4)	76.4 (89.1)
荒川	72.2 (77.4)	167.3 (208.3)
多摩川	36.8 (32.9)	64.6 (79.0)
千曲川	2.7 (4.4)	60.6 (110.3)

## 2.4 種子生産と個体群の現況に関する考察

雌個体は、自家交配による種子生産が出来ないために、必ず花粉媒介者による訪花を受ける必要がある。逆にいうと、雌株の結実率が高い集団は、花粉媒介者が十分に存在するということになる。この観点からすると、自然度の高い環境にある鬼怒川の集団や荒川の集団などが雌株の結実率が高く、環境的に荒れていると見なすことができる多摩川の集団の結実率が低いのは妥当であると考えられる。一方で、自然度の高い環境にある千曲川の集団で、雌株の結実率がそれほど高くなかったのは、意外な結果である。この調査地では、カワラナデシコの花粉媒介を行うと思われるキアゲハやタテハチョウなどが、比較的頻繁にカワラナデシコの花を訪れているのを観察できた。一つの可能性としては、他の集団と違って高地にあるために、開花結実後の低温などにより、受精は行われたものの種子生産が十分に行われない状況が生じたのかもしれない。本研究では、一シーズンだけの観察であるために、年変動の影響を考慮することが出来ない。

両性個体は自家交配を行うことが出来るものの、主に花粉媒介者の訪花による他家交配に頼っていると考えられるので、雌個体の結実率が高い集団では訪花昆虫が豊富に存在し、両性個体も高い結実率を示したものと思われる。

訪花昆虫と同様に種子生産に影響を及ぼすと考えられるのは、食害昆虫である。カワラナデシコでは、ゾウムシの一種が種子を食害し、この昆虫が朔果に入り込んでいる場合には、種子がほとんど残っていない。食害の影響は集団によりばらつきが大きい傾向になった。環境の自然度が高いと考えられる千曲川の集団がもっとも強い食害を受けており、環境的に良好でないと考えられる多摩川の集団がそれに続いた。このことを考えると、食害については、集団の存在する環境の自然度の影響を受けていると考えられるよりも、集団ごとの食害者の発生状況に依存すると考える方が妥当である。食害者の発生も、年変動する可能性があり、一シーズンだけの観察では、永続的な傾向を明らかにするのは難しい。

個体あたりの種子生産は、カワラナデシコの集団の存続のためには最も重要である。いずれの集団でも、量に違いがあるにせよ、種子生産が行われており、埼玉県和田島ヶ原のサクラソウのように、ほとんどの個体が種子を生産していない<sup>6)</sup>というような状況にはなかった。当然のことながら、結実率が低く、食害の程度が高い集団では、個体あたりの種子生産量が少ない傾向にあるが、多摩川の集団は、結実率も低く、食害の程度も高かったにもかかわらず、1個体あたりのサイズが大きく、つける花の数が多数であったために思ったよりも多くの種子を生産した。千曲川の集団は、両性個体においては、食害率が極めて高く、種子までになったものは少なかった。

以上の結果を考えると、現状では、カワラナデシコの種子生産は、少ない集団はあるものの、行われており、種子生産がなされないために集団が絶滅するというような危険性は今のところないと考えられる。しかし、本研究で用いた集団は、カワラナデシコの集団のごく一部であり、集団のサイズも比較的

大きい。集団によっては、個体数が少ないために訪花昆虫の利用効率が低い、血縁交配が高い頻度で起きるなどの理由で十分な結実が行われていない可能性もある。今後、さらに多数の集団について、モニタリングを行って、カワラナデシコの集団の更新が十分に行われているかどうかを確かめる必要があるものと思われる。

## 2.5 種子による集団の更新と保全

現時点では、カワラナデシコは、全国的に見れば、絶滅の危機が差し迫っている種ではない。しかし、前述のように、地域によっては、カワラナデシコの個体数の減少は著しい。カワラナデシコでは、種子生産が行われることが集団の更新のために重要であり、その保全のためには、一定量の種子が作られていることが望ましい。そのため、危急的な状況にある集団では、訪花昆虫相の保護に気をつける必要があるものと思われる。特に生育地が分断化されたような場合には、訪花昆虫相が十分に保護されないような状況が生じやすい。また、種子生産がなされても、次の世代まで個体が存続していかないと集団は維持されない。現時点では、種子から成熟個体までにどの程度の死亡率があるのかが分かっていない。今後、カワラナデシコの保全を考える場合には、種子生産のみならず、生活史全体における死亡率や死亡要因を把握しておく必要があるものと思われる。

## 3. カワラナデシコの遺伝的多様性に関する調査

### 3.1 遺伝的多様性と個体群維持の関係

一般に集団が小さくなると、機会的浮動により、対立遺伝子の固定が起きやすくなる<sup>9)</sup>。この対立遺伝子が有害遺伝子である場合には、有害遺伝子が蓄積されていくことにより、集団の全ての個体が多数の有害遺伝子を保持することになり、集団全体として生存力が低下して絶滅に至る場合がある。あるいは、機会的浮動により遺伝的多様性が減少すると、その種（あるいは集団）は、突発的な病気の発生などの環境変動に耐えることが出来ずに、絶滅する可能性がある<sup>10)</sup>。

また、集団が小さくなると、血縁交配の程度が高くなり、仮に自家交配でなくても、自家交配と同じような効果が生じることがあり得る。この場合、劣性の有害遺伝子がホモ接合体になることにより、後代子孫に悪影響を及ぼし、状況によっては集団の存続が難しくなる。

生育地の悪化や種子生産の悪化は、急速に種を絶滅に追いやる可能性があるが、遺伝的多様性の減少の影響はそれよりも緩やかであると一般には考えられている。しかし、遺伝的多様性が種や集団の絶滅に与える影響については、まだ十分に評価されていないのが実情である。そのため、集団が小さくなり、絶滅の危惧がある場合には、その集団に遺伝的多様性がどの程度見られるのかを把握しておくことは重要である。

前項でみたように、カワラナデシコでは種子生産がある程度行われていることは明らかであるが、これらの集団は十分な遺伝的多様性を保持しているかどうかについては明らかではない。特に、周囲の環境が開発を受けていて、集団が孤立しているような場合には、集団間での遺伝子のやりとりが妨げられ、機会的浮動が生じやすくなることが分かっている<sup>11)</sup>。カワラナデシコの長期的な保全を考える場合に、遺伝的多様性が集団にどの程度、保持されているのかは基礎的な情報として重要であると考えられる。

本項では、前項で調査を行った集団について、DNAレベルの遺伝的多様性がどの程度存在するのかを、

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 法を用いて推定することを目的とする。RAPD法は、手法的に簡便で、多数の個体を同時に解析できる点で優れている。この手法を用いることで、カワラナデシコの集団に維持されている遺伝的多様性がどの程度あるのか、集団によつての違いがどれくらいあるのかなどについて、検討することとする。

## 3.2 材料と方法

### 3.2.1 解析を行った集団

前項で種子生産の解析を行った集団と同じ4集団である。これらの集団から、各個体から数枚の茎葉をサンプリングして、プラスチック製のジッパーつきバッグに封入して、氷中に保存しながら、東北大学の研究室に持ち帰った。収集したサンプルは実験を行うまでの間、 $-70^{\circ}\text{C}$ のディープフリーザーに保存し、DNA抽出の際に、取り出して用いた。集団全体からまんべんなくサンプリングを行うように留意し、サンプルごとの間隔は最低でも2メートルをあけるようにした。

### 3.2.2 DNA抽出

植物体から、改変2×CTAB法を用いて全DNAの抽出を行った<sup>12)</sup>。2mlチューブに2×CTAB溶液(2% Hexadecyltrimethylammonium bromide, 1.4M NaCl, 100mM Tris-HCl (pH8.0), 20mM EDTA·Na) 800  $\mu\text{l}$ と2-メルカプトエタノール16  $\mu\text{l}$ を入れよく混和し、恒温器で $60^{\circ}\text{C}$ に保温しておく。植物体から葉を2-3枚取り、乳鉢に入れ、その中に液体窒素を入れて乳棒ですりつぶし粉碎した。その粉末を取り、保温しておいた抽出バッファーに入れよく懸濁し、 $60^{\circ}\text{C}$ で1時間穏やかに揺らしつつ保温した。その後、クロロホルム/イソアミルアルコール(24:1) 800  $\mu\text{l}$ を加え、10分間ゆっくりと混和した後、12000rpm、 $4^{\circ}\text{C}$ で10分間遠心分離した。この操作を2回繰り返した後、2/3容のイソプロパノールを加え、 $-20^{\circ}\text{C}$ で約1時間静置した。その後、12000rpm、 $4^{\circ}\text{C}$ で10分間遠心して上清を取り除いた後、沈殿をTE (10mM Tris-HCl / 1mM EDTA-pH8.0) 200  $\mu\text{l}$ に溶解した。これに1/10容の3M酢酸ナトリウムと2.5倍容の100%エタノールを加え、 $-20^{\circ}\text{C}$ で約1時間冷凍保存した。12000rpm、 $4^{\circ}\text{C}$ で10分間遠心して上清を除き、70%エタノール120  $\mu\text{l}$ で洗浄した後、沈殿を減圧乾燥して、100  $\mu\text{l}$ のTEに溶解したものを試料とした。

### 3.2.3 RAPD解析

RAPD解析は、Williams et al<sup>13)</sup>の原法にしたがい、OPERON社製のランダムプライマーを用いて行った。まず、安定したバンドの増幅が可能なプライマーを選択するために、合計で120のプライマーのスクリーニングを行った。このうち、バンドが安定して得られたプライマーのみを用いて、引き続き各集団を対象とした解析を行った。

全DNA 50-100  $\mu\text{g}$ を用いて、各サンプルにつき全量10  $\mu\text{l}$ でPCRを行った。増幅には、rTaq DNA Polymerase (宝酒造)を用いた。反応液をよく混和した後、ミネラルオイルを2滴加え、QTP-1型クイックサーモパーソナルにセットし反応させた。反応条件は、 $94^{\circ}\text{C}$ で3分間熱変性させた後、 $94^{\circ}\text{C}$  1分、 $37^{\circ}\text{C}$  2分、 $72^{\circ}\text{C}$  3分のサイクルを30回行い、最後に $72^{\circ}\text{C}$ で15分間伸長反応させた。電気泳動は1×TAEバッファーを用いて、2%アガロースゲルで行なった。ゲルはあらかじめEthidium Bromide (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )を加えておき、泳動後、UV照射下でRAPD産物を観察した。バンドの増幅は複数回行い、再現性のあるバンドのみを対象として、以降の解析を行った。

RAPDによって得られた再現性のあるバンドのうち、分類群内で一定の傾向を示したバンドをマーカーとして選び、頻度解析に用いた。塩基配列の突然変異の結果として生じるバンドの有無をもとに、1 = バンド有、0 = バンド無のバイナリデータに変換した。そして、集団ごとにRAPDバンドの頻度を求めて比較を行なった。

得られたRAPDバンドを基に、対立遺伝子を推定して対立遺伝子頻度  $p_i$  を求めた。遺伝的多様性指標 ( $H$ ) を Shannon's diversity index<sup>14)</sup> を用いて求め、集団間で比較した。

### 3.3 結果

用いたプライマーの配列と集団ごとに検出されたバンド数を表3.1に示す。

表3.1 用いたランダムプライマーと検出されたバンド数

プライマー (配列)	鬼怒川	荒川	多摩川	千曲川
OPN8 (ACCTCAGCTC)	4	4	4	5
OPG3 (GAGCCCTCCA)	3	3	3	3
OPO2 (ACGTAGCGCT)	8	7	10	6
OPE3 (CCAGATGCAC)	4	4	7	4
OPN9 (TGCCGGCTTG)	10	9	9	9
OPK14 (CCCGCTACAC)	1	1	2	2
OPM6 (CTGGGCAACT)	7	8	7	6
OPK16 (GAGCGTCGAA)	4	4	5	5
合計	41	40	47	40

各集団ともに検出されたバンド数は40～47本で、大きな違いはなかった。4集団をあわせると検出されたバンドは52本で、そのうち8本は全ての集団に固定していた。

これらのバンドをバイナリ変換して求めたShannonの遺伝的多様性指標 ( $H$ ) を表3.2に示す。

表3.2 Shannonの遺伝的多様性指標 ( $H$ )

	鬼怒川	荒川	多摩川	千曲川	平均
$H$	10.18	8.96	13.52	6.76	9.85

最も大きな値を示したのは、多摩川の集団で、千曲川の集団の約2倍の遺伝的多様性を保持していることが示唆された。4集団の平均のShannonの遺伝的多様性指標は、 $H = 9.85$  になった。

4集団全体のバンド頻度から、Shannonの遺伝的多様性指標を求めたところ、 $H = 13.40$  になった。これと、表3.2の平均値から、集団全体の遺伝的多様性が、各集団にどのように分割されて保持されているかが計算できる。集団分化は、 $G = 1 - (H_s/H_t)$  の式で与えられる。ここで、 $H_s$  は表3.2の集団平均のShannonの遺伝的多様性指標であり、 $H_t$  は4集団全体のバンド頻度から求めたShannonの遺伝的多様性指標である。この式を用いて計算すると、 $G = 0.264$  となり、集団間に維持されている遺伝的変異は約26%であると推定できる。

### 3.4 遺伝的多様性と個体群の現況の関係に関する考察

RAPD解析からは、各集団は決して少なくない遺伝的多様性を保持している。たとえば、同じナデシコ科の広分布域種であるオオバナミミナグサでは、集団平均のShannonの遺伝的多様性指標は4.38であり、9集団全体をあわせたShannonの遺伝的多様性指標は9.07である<sup>15)</sup>。カワラナデシコでは、集団平均で9.85、4集団全体で13.40であり、オオバナミミナグサよりもかなり大きな値を示している。したがって、現時点では、カワラナデシコの遺伝的多様性が小さくなっているというようなことはなく、野生植物としては十分な遺伝的多様性を保持しているといえる。

集団の遺伝的多様性と集団の環境の間には、明確な相関はないように思われる。たとえば、現時点で最も環境的に良好でないように思われる多摩川の集団がもっとも遺伝的多様性が高く、自然度では最も高いと考えられる千曲川の集団が最も遺伝的多様性が低い傾向にあった。

集団の遺伝的多様性は、その集団の成立過程や個体数の増減などの過去の動態に大きく依存することが知られている。たとえば、現時点で集団が大きい場合でも、成立する際に少数個体から出発すると保持されている遺伝的多様性は低くなる。河川敷のように環境が不安定で、集団が絶滅、再成立を繰り返すような場合には、このような状況は起きやすいと推測される。実際に、河川敷に固有なカワラノギクでは、集団の現存サイズと遺伝的多様性の間に相関が見られない<sup>16)</sup>。今回の調査は、十分成熟した個体からサンプリングを行っているため、それらの個体が成立したときの集団の特性を反映しているものと思われる。たとえば、最も遺伝的多様性が高かった多摩川の集団では、現在の環境はあまり好ましくないように見えるが、サンプリング個体が成立した時点では、個体群も大きく、カワラナデシコの生育にとって好ましい環境であったかもしれない。一方、千曲川の集団は、自然度が高い環境に生育しているように見えるが、この集団が成立したのは、比較的近年で、しかも少数個体から成立したのかもしれない。そのような状況では、他の集団からの遺伝的流動がないと、集団における遺伝的多様性は回復されないと考えられる。

カワラナデシコの集団間分化は、本研究で扱った4集団からは0.24と推定された。これまでに調べられている31種の集団間分化は0.29であり<sup>17)</sup>、カワラナデシコにおける値もだいたい同じ値である。カワラナデシコでは、花粉媒介をする動物は、チョウなどの比較的飛翔力がある昆虫なので、集団間の遺伝子流動は比較的大きい可能性があるといえる。

### 3.5 遺伝的多様性の保全に関して

本研究で調査した4集団には、十分な遺伝的多様性が保持されていることが明らかとなった。しかし、今回調査した集団はいずれも集団サイズが比較的大きく、しかも分布の中心に位置している。絶滅が危惧される集団では、一般に集団サイズが小さく、かつ、集団が孤立している状況が多い。そのような場合には、今回推定されたような遺伝的多様性よりも、遺伝的多様性が低く維持されている可能性がある。絶滅の可能性がある集団では、実際にどの程度の遺伝的多様性が存在しているのかを個別に推定する必要があるものと思われる。

## 4. おわりに

本研究では、カワラナデシコの4集団において、種子生産を対象とした生態学的解析と、集団の遺伝的多様性を対象とした集団遺伝学的解析を行った。

植物の種子生産は、年変動が存在すると一般に考えられており、本研究のような一シーズンの解析だけでは不十分であると考えられる。今後の課題として、数シーズンに渡る解析が必要であると考えられる。

集団遺伝学的解析としては、今回用いた集団がいずれも比較的大きい集団であったことが問題点である。絶滅に瀕する集団は、多くの場合は少数個体からなるので、そのような小集団でどれくらいの遺伝的多様性が維持されているのかという問題は、今後の課題である。

さらに、遺伝的多様性と生態的特性の間にどのような関係があるかについても今後調査を行う必要があると考えられる。少数個体からなる集団では、遺伝的多様性が小さくなるばかりでなく、血縁個体間の交配が起きやすくなる。そのような場合には、近交弱勢とよばれる影響が生じ、子孫個体の生存力が低下する可能性がある。小集団化と個体の生存力の相関についての研究が行われることが、カワラナデシコの永続的な保全にも大きな貢献をすることは間違いないと思われる。

## 引用文献

- 1) 環境庁(編)(2000):改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物. 植物I(維管束植物)
- 2) 埼玉県(編)(2000):さいたまレッドデータブックー埼玉県希少野生生物調査報告書 植物編ー
- 3) 宮崎県(編)(2000):宮崎県の保護上重要な野生生物
- 4) 倉本宣・石濱史子・鷺谷いづみ・嶋田正和・可知直毅・井上健・加賀屋美津子・牧雅之・竹中明夫・増田理子.(2000):多摩川のカワラノギクのための緊急アピール. 保全生態学研究 5: 191-196.
- 5) 河野昭一(1988):滅びる河の生き物たち、Newton Special Issue 1, pp140-141.
- 6) 鷺谷いづみ(1992):異型花柱性植物の種子生産と送粉、井上健・湯本貴和(編)昆虫を誘い寄せる戦略、pp103-136.
- 7) Frankham, R., Ballou, J. D. and Briscoe, D. A. (2002) Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge
- 8) Sugawara, T., Nakamura, A., Kanbayashi, M., Hoshi, H. and Mikami, H. (1994): Floral and reproductive biology of gynodioecious *Dianthus superbus* L. var. *superbus* (Caryophyllaceae). Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 45, 23-31.
- 9) Hartle, D. L and Clark, A. G. (1988): Principles of Population Genetics. Sinauer, Sunderland.
- 10) Avise, J. C. and Hamrick, J. L. (1995): Conservation Genetics. Chapman and Hall, New York.
- 11) Lacy, R. C. (1987): Loss of genetic diversity from managed populations: Interacting effects of drift, mutation, immigration, selection, and population subdivision. Conservation Biology 1, 143-158.

- 12) Hasebe, M. and Iwatsuki, K. (1990) : Chloroplast DNA from *Adiantum capillis-veneris* L., a fern species (Adiantaceae) ; clone bank, physical map and unusual gene localization in comparison with angiosperm chloroplast DNA. *Current Genetics* 17: 359-364.
- 13) Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. (1990) : DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- 14) Lewontin RC. (1973) : The apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology* 6: 381-398.
- 15) Maki, M. and Horie, S. (1999) : Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers reveal less genetic variation in the endangered plant *Cerastium fisherianum* var. *molle* than in the widespread conspecific *C. fisherianum* var. *fisherianum* (Caryophyllaceae) . *Molecular Ecology* 8: 145-150.
- 16) Maki, M., Masuda, M. and Inoue, K. (1996) : Genetic diversity and hierarchical population structure of a rare autotetraploid plant, *Aster kantoensis* (Asteraceae) . *American Journal of Botany* 83:296-303.
- 17) Nybom, H. and Bartish, I. V. (2000) : Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3: 93-114.