

マイクロサテライトマーカーを用いた孤立林における樹木の更新過程の解明

関西支所 井鷲裕司

森林は多様な動植物に住みかを提供する生態系であるが、現存の森林は人為により少なからず分断されており、生物はこれまでに比べるとより小さな個体群に分かれて生存していると考えられる。このような状況は樹木の更新過程にどのような影響を与えるのであろうか？ この疑問に答えるためには、断片化した森林生態系において、花粉がどの程度飛散し、どの程度有効に配偶子として機能しているのか、種子がどの程度散布されているのか、分断化している森林の間で遺伝子の交換は起きているのか、といった項目を明らかにしなければならない。

上記のような研究を行うためには、個体識別や親子関係の推定が可能な解像度の高い遺伝マーカーが必要となるが、それに最もふさわしいのがマイクロサテライトマーカーと呼ばれるものである。G, A, T, Cの四つの塩基からなるDNAの塩基配列の中には、例えば、GAというように比較的短いモチーフ（1から6塩基）がGAGAGA GAGA GAGA…というように繰返して並んでいる場所があり、これをマイクロサテライトと呼んでいる。マイクロサテライト部位は真核生物のゲノム内には無数に存在し、それぞれの場所でモチーフの繰返し数が変異に富んでいるので、その繰返し数を分析することで、個体識別や親子判定、そして遺伝子の交流などを明らかにすることができる。

私たちは森林の孤立化が著しい関西地域において樹木の更新過程がどのように行われているか明らかにするために、シラカシを対象にマイクロサテライトマーカーを開発した(表1)。表1にプライマーとして示してある塩基配列を合成し、PCRという手法を用いれば特定のマイクロサテライト部位を数十万倍に増幅し、分析することができる。また、表1に示したマイクロサテライトマーカーはシラカシ用に開発したものであるが、近縁のコナラ属の種にも適用可能であった。

京都市伏見区で、孤立して存在しているシラカシ群集を対象に、更新過程をマイクロサテライトマーカーを用いて解析した。繁殖サイズに達していたすべての個体（93本）を含むように調査プロット（35×110m）を設定し、すべての繁殖個体からDNAを抽出し、マイクロサテライト部位の多型から遺伝子型を決定した。また、プロット中心部の林床に生育する稚樹を153本サンプリングし、繁殖個体と同様に遺伝子型を決定して、繁殖個体と稚樹との親子関係を明らかにした（図1）。

ドングリは主に重力によって散布されるが、親子間距離は予想以上に大きかった。また、両親ともプロット内にない個体が12本、片親がプロット内にない個体が77本あった。前者はプロット外で結実した種子が運ばれてきたもの、後者はプロット外からの花粉によってプロット内で受粉が行われたか、あるいはプロット内の繁殖個体が生産した花粉がプロット外の個体と受粉し、その後種子がプロット内に運ばれたもの、と考えられる。花粉や種子の移動により、林床の稚樹は1世代当たり33%の遺伝子を外部の個体から受け継いでおり、外見上は孤立している個体群が、遺伝的には他の個体群と活発に交流していることが明らかになった。今回の結果がどの程度一般的なものであるのか、さらに異なった繁殖様式を持つ樹木や、異なった孤立状態の個体群で研究を進めなければならぬ。

表1. シラカシのマイクロサテライトマーカー

遺伝子座	対立遺伝子数	ヘテロ接合度	PCR プライマー
QM55GA	17	0.92	ATTTGATATTGATGTTGTTT TGATGTAACATTGCTTAGAGT
QM33GA1	8	0.81	TGGGTTGACATTTTCATTTTCG GAAACGAATCATAAAGGAGAG
QM51GA1	7	0.77	ATCACCTCAAAAACCTAAAC TAGTGGGGTCAGTGTGGTTAG
QM57-3M	5	0.70	TGAGGAGGTTGGTGGAGAA ATGTGGAGGGCTAAGATT
QM69-2M1	4	0.63	CACAATCTGCCACATCATC GGATGGACGAAGAGAAGAT
QM67-3M1	5	0.74	TGGCTTATCCAATGTTTGGAT GCGTCGGTGGCGGCTTAGAGT
QM50-3M	4	0.55	CCGATTTCCCTTCCTGCT CGGGCTTTGGATACGGATTC
QM58TGT	4	0.55	GGTCAGTGATATTTTGTGGT AAATGATATTTGCTTGCTCA
QM63-2M3	3	0.16	TTATGTATATGCTGGTTCT GATTGAATGAGAAAAGAGTG

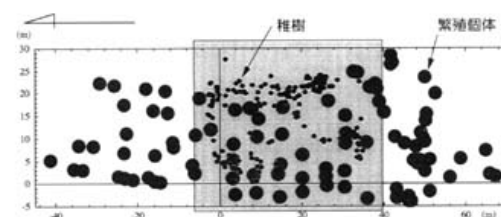


図 1. 調査対象の孤立化したシラカシ個体群
(京都市伏見区)