

土壤シードバンクを用いたアサザ個体群 再生に関する保全生態学的研究

高川晋一

東京大学大学院 農学生命科学研究科
生圏システム学専攻 保全生態学研究室

2006

第1章 序論	- 1 -
生物多様性の危機とその再生へのとりくみ	- 1 -
縮小した個体群の絶滅可能性	- 4 -
個体群再生の必要性	- 6 -
再生事業のための管理システム	- 8 -
個体群再生における土壌シードバンクの有効性	- 9 -
本研究の目的と論文の構成	- 12 -
第2章 アサザの現状と保全上の課題	- 14 -
アサザの生態的特性	- 14 -
日本における現状と霞ヶ浦の個体群	- 16 -
アサザ個体群の再生における課題	- 18 -
調査地および再生事業の概要	- 19 -
霞ヶ浦と再生事業	- 19 -
調査地	- 20 -
第3章 土壌シードバンクからの個体群再生のための定着セーフサイトの検証 .	- 28 -
はじめに	- 28 -
方法	- 29 -
野外実験	- 29 -
データ解析	- 31 -
結果	- 31 -
考察	- 33 -

第4章 近交弱勢が土壌シードバンクから再生した個体群に及ぼす影響	- 43 -
はじめに	- 43 -
方法.....	- 45 -
人工受粉実験.....	- 45 -
自殖および他殖子孫の適応度成分の測定.....	- 46 -
実生のサンプリングと適応度成分の測定.....	- 48 -
遺伝解析.....	- 49 -
結果.....	- 52 -
自殖および他殖子孫の適応度成分.....	- 52 -
シードバンクの遺伝的多様性と血縁関係.....	- 53 -
シードバンク由来の実生の適応度成分.....	- 54 -
考察.....	- 55 -
アサザの自家不和合性と遺伝的荷重.....	- 55 -
再生された個体群における遺伝的ボトルネックの影響.....	- 56 -
第5章 個体群再生に必要な生態学的情報の把握.....	- 71 -
はじめに	- 71 -
残存する土壌シードバンクの時空間分布.....	- 71 -
定着後の成長に水位条件が及ぼす影響.....	- 72 -
再生される個体群における花型の頻度.....	- 72 -
方法.....	- 74 -
残存する土壌シードバンクの時空間分布.....	- 74 -
定着後の成長に水位条件が及ぼす影響.....	- 74 -
再生される個体群における花型の頻度.....	- 75 -

結果と考察.....	- 76 -
残存する土壌シードバンクの時空間分布.....	- 76 -
定着後の成長に水位条件が及ぼす影響.....	- 77 -
再生される個体群における花型の頻度.....	- 78 -
第6章 順応的管理による個体群再生の試み.....	- 86 -
はじめに.....	- 86 -
順応的管理による事業の進め方.....	- 87 -
順応的管理 サイクル1.....	- 88 -
目標の設定と事業内容の選定.....	- 88 -
方法.....	- 89 -
結果および考察.....	- 91 -
順応的管理 サイクル2.....	- 93 -
目標の設定と事業内容の選定.....	- 93 -
方法.....	- 94 -
結果および考察.....	- 96 -
事業の成果と今後の課題.....	- 97 -
第7章 総合考察.....	- 108 -
順応的な生活史補完アプローチの有効性.....	- 108 -
土壌シードバンクの有効性.....	- 110 -
個体群再生における遺伝的要因の重要性.....	- 112 -
アサザ個体群再生への寄与と今後の課題.....	- 113 -

謝辭..... - 116 -

摘要..... - 118 -

引用文獻..... - 123 -

第1章 序論

生物多様性の危機とその再生へのとりくみ

地球上にはこれまで百数十万種以上の生物種が確認されており、実際には500万とも1000万以上ともいわれる数の生物種が存在しているとされる (Hawksworth 1991; Gaston 1991; WCMC 1992)。そしてそれらの種によって、多様な群集・生態系が構成され、生物間や生物と非生物環境との間での複雑で多様な相互作用が維持されている。また、それぞれの種には独自の進化の過程で形成された遺伝的多様性が内包されており、種内においても亜種間や個体群間、個体間といった各階層において多様な遺伝的変異が保有されている。「生物多様性」は、このような「生態系」「種・個体群」「遺伝子」といった階層性をもつ複合体に内包される要素や機能・プロセスの多様性・変異性を示す概念であり (鷲谷1999)、進化的プロセスを経て形成・維持される歴史的な実体である。

生物多様性は我々人間にさまざまな経済的・非経済的利益をもたらす生存基盤をなしている。生物多様性がもたらす恵みである生態系サービス (ecosystem service) は多岐にわたるが、大きく分けて4つの要素、すなわち食料や水、材、燃料、遺伝資源といった直接的に利用可能な資源の供給 (provisioning service)、気候調整や水質浄化、自然災害の抑制、病原菌や汚染の抑制といった環境調整 (regulation service)、文化や芸術、教育、レクリエーション、精神的な豊かさなどに寄与する恵み (cultural service)、そしてそれら3つのサービスを支持する物質循環や土壌形成、一次生産といった機能 (supporting service) があげられる (MEA 2005)。人間の技術で代替可能で貨幣換算が可能な範囲に限っても、生物多様性からの恵みは年間二千～六千兆円にのぼると試算されている (Costanza et al. 1997)。

しかし近年、人間活動による生物多様性の深刻な減少・喪失が地球レベルで進行し

ている。特に野生生物の生息生育地の破壊・消失は深刻である。例えば過去20年の間にマングローブ林の約35%、サンゴ礁の約20%が消失したほか、過去50年で地中海性灌木林の約70%、温帯草原の約70%、熱帯季節林の65%、温帯林の60%、亜熱帯草地の55%が消滅した (MEA 2005)。ウェットランドについても、過去100年間に北米では約70%、ヨーロッパで約50%、ニュージーランドや南オーストラリアでは約90%の消失が生じたとされる (Moser et al. 1996)。それに伴いこの400年間で1000種以上の種が絶滅し (Primack 2002)、7000種以上の動物、8000種以上の植物が絶滅の危機に瀕するなど (IUCN 2004)、地球上でこれまで生じたことのない規模での「大量絶滅」が生じている (Pimm & Sutherland 1998; 鷲谷1999; Primack 2002)。

このような生物多様性の急速な減少から、その保全の必要性は近年世界的にも広く認識されることとなった。1992年の国連環境会議では、地球レベルでの生物多様性の保全と自然資源の持続可能な利用を目的とした「生物多様性条約」が採択され、2005年までに188もの国が締結している (UNEP 2005)。

生物多様性の構成要素である「種」は、生態系とその機能・プロセスの基本的構成要素でもあり、それぞれの種や個体群には進化的プロセスを経て構成された遺伝子群が、機能的構造的関連を保ちつつ内包されている。生物多様性の不可逆な変化ともいえる種の絶滅を回避することは、生物多様性の保全において重要な意味をもつ。生物多様性条約においても、絶滅危惧種とその個体群の存続性の維持・回復が重要な目標の一つとして掲げられており、締約国には生物多様性の保全のための国家戦略の作成と、絶滅危惧種の保全・再生のための具体的施策の策定・実施が義務づけられている。

生物多様性条約に加盟していないアメリカ合衆国においても、1973年に成立した絶滅危惧種法 (ESA: Endangered Species Act) のもとで、比較的強力な絶滅危惧種保全・再生のための政策が実行されている。ESAにもとづいて絶滅危惧種に指定された場合、その種の個体群や生息地を脅かす行為のいっさいが規制され、絶滅危惧種リス

トからの除外 (delist) が可能な程度までその種の状態を回復させることが義務づけられる。2005年現在で約1100種の動物、約750種の植物が絶滅危惧種として記載されており、1000以上の回復計画が立案され、それらの多くが実行に移されている (USFWS 2005)。

オーストラリアやカナダにおいても、生物多様性条約の締結後にESAに準じた法律が施行されている。オーストラリアでは1999年に施行された環境保護・生物多様性保全法 (Environment Protection and Biodiversity Conservation Act) にもとづき約330種の動物、約250種の植物が絶滅危惧種に記載され、それぞれについて回復計画が策定されつつある (DEH 2005)。カナダでは2003年に成立した絶滅危惧種法 (Species At Risk Act) にもとづいて、動物約260種、植物約230種の絶滅危惧種についての回復計画が策定されている (Environment Canada 2005)。また、イギリスではそのような法律は存在しないものの、1992年の生物多様性条約締結以降、391の絶滅危惧種についての個体群再生のための行動計画 (Species Action Plan) が策定・実施されている (JNCC 2005)。

しかし、これらの回復計画の有効性については多くの議論があるところである (Schemske et al. 1994; Tear et al. 1995; Woinarski & Fisher 1999; Hoekstra et al. 2002; Clark et al. 2003; Male & Bean 2005)。アメリカのESAにもとづき計画・実施されている回復計画では、それぞれの種の事業に年間数万～数十万ドル、1989年から2002年の間に累計52億ドルもの資金が費やされている。しかし、再生事業の開始後に回復傾向が見られた種は10%にも満たず、十分な個体群の回復がみられ、リストから除外された種は2005年現在で17種のみという現状である (Male & Bean 2005)。

1992年に生物多様性条約を締結した我が国においては、2002年に生物多様性国家戦略が改訂され、自然と共生する社会を構築するための目標として、「生物多様性の保全」、「絶滅の危機に瀕した種の回復」、「持続可能な資源利用」の3つが明記された。また

過去に損なわれた生態系を再生することを目的とした「自然再生推進法」が2003年に施行されるなど、生物多様性の保全・再生に対する機運はこれまでにないほどに高まっている。しかし、個々の絶滅危惧種の保全に対する具体的施策やその実施状況については十分であるとは言えない。環境庁（2000）の作成したレッドリストには約2700種もの動植物が絶滅危惧種として記載されている。それにもかかわらず、種の保存法（「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律」）にもとづき国内希少野生動植物に指定され、捕獲の禁止や保護区の設定による保全が図られている種は2005年現在でわずか60種にすぎない。そのうち「保護増殖事業計画」が策定され、個体群のモニタリングや人工繁殖が実施されている種は、動物22種、植物13種のみである。

縮小した個体群の絶滅可能性

一般に、種の絶滅の原因としてあげられている主な要因は、生息生育地の破壊や分断・孤立化、乱獲や過剰採取、侵略的外来生物の影響、汚染等による環境悪化、地球温暖化などである（鷲谷 1999; Primack 2002）。特に個体群の直接的な喪失を招く森林伐採や焼き払い、埋め立て、灌漑といった人間活動による生息・生育地の破壊や改変は、種の絶滅や衰退をもたらす最も大きな要因として認識されている（Schemske et al. 1994; Lawler et al. 2002）。

絶滅危惧種の多くの個体群は、生息生育地の分断・孤立化の結果、本来よりも個体群サイズ（個体数）が縮小した状態で残存している（Wilcove et al. 1993）。個体群サイズの縮小は、気象変動や餌資源の変動といった環境変動、山火事や洪水・台風で代表されるカタストロフ、あるいは性比の偏りなどの個体群統計学的な変動といった、確率変動要因による絶滅の可能性を増大させることが知られている（Shaffe 1981; Menges 1991; Lande 1993）。また、個体群サイズの縮小は次にあげるような遺伝的要因による絶滅確率の上昇をもたらす。

- ・ 個体数の低下に伴う遺伝的多様性の減少による、環境変動への潜在的な適応能力の低下 (Barrett & Kohn 1991; Lande & Shannon 1996; Hoffman & Parsons 1997) や、病原菌の感染に対する抵抗力の低下 (Meagher 1999)。
- ・ 遺伝的浮動による弱有害突然変異の固定確率の上昇 (Lande 1994; Lynch et al. 1995)。
- ・ 交配相手数の減少や遺伝子流動の制限にともなう自殖・近親交配による近交弱勢の発現 (Charlesworth & Charlesworth 1987; Keller & Waller 2002)。
- ・ 自家不和合性を持つ植物種における、和合性のある交配相手数の減少による種子生産の失敗 (Imrie et al. 1971; DeMauro 1994; Reinartz & Les 1994)。

個体群サイズの縮小した残存個体群は、このように多様な要因による絶滅の危険性にさらされている。しかしより深刻なのは、それらの衰退要因が互いに絶滅を加速し合う「絶滅の渦 (extinction vortex, Gilpin & Soulé 1980)」が生じることである。たとえば、個体群サイズや個体密度が低いほど適応度が低下するという「アリー効果」が存在する場合、小さい個体群ほど個体群サイズの減少が加速される (Courchamp et al. 1999)。虫媒性の植物において、個体群サイズ・個体密度が小さいほどポリネーターの誘因力が低下し、花粉制限により種子生産が低下することで、さらに個体群サイズが減少して絶滅の危険性が高まること (Groom 1998) などがそれにあたる。また、小さい個体群では遺伝的浮動により有害遺伝子の固定が生じやすく、それによって個体群サイズがより低下することで、新たな有害突然変異がさらに固定・蓄積し、絶滅が加速されていく「突然変異メルトダウン」が生じるおそれもある (Lande 1994; Lynch et al. 1995)。個々の個体群が縮小・消滅することでメタ個体群構造が徐々に崩壊し、新たな個体群創出の機会や他個体群からの移入によるレスキュー効果が失われることでも、絶滅が加速されることが指摘されている (Hanski et al. 1996; Hanski & Gaggiotti 2004)。

個体群再生の必要性

絶滅危惧種の保全においては、上述の要因による絶滅を回避可能な個体群サイズ、つまり最小存続可能個体数 (MVP: minimum viable population, Menges 1991) に各個体群を維持・再生することが一つの重要な目標となる。これまでの理論的研究からは、MVPとなる有効集団サイズ (N_e : 近親交配や遺伝的浮動の影響を受ける実質的な繁殖個体の数) として、近交弱勢による絶滅の回避には50個体以上 (Soulé 1980)、突然変異メルトダウンの回避には100個体以上 (Lande 1994; Lynch et al. 1995; Whitlock 2000)、突然変異-浮動平衡 (mutation-drift equilibrium) の下での遺伝的変異の喪失を回避するには500から5000個体以上 (Franklin 1980; Lande 1995) が必要とされている。実際のMVPはこれらの N_e の10倍程度の個体数であるとされる (Frankham 1995a)。

102種の脊椎動物について確率変動性や致死遺伝子・密度効果を組み込んだ個体ベースモデルによる個体群存続可能性分析 (PVA: population viability analysis) をおこなったReedら (2003) は、40世代の存続可能性を確保するMVPは分類群に関わらず約7000個体であると報告している。Reed (2005) は、個体群サイズの低下に伴うアリー効果や近交弱勢が定量化されている11種の植物のデータを用いて、適応度成分の低下が生じない長期的に存続可能な個体群サイズは、およそ2000から5000個体であるとしている。203種、2800個体群の脊椎動物のデータを用いて、個体群サイズとその世代間分散との間の一般的な関係からMVPを概算した研究 (Reed & Hobbs 2004) からも、長期的な存続可能性が維持されるMVPは数千のオーダーであることが示されている。

実際の特定の種・個体群のMVPは、環境や個体群サイズの変動性、種の個体群動態や生活史特性・繁殖様式・行動特性・遺伝的荷重、有害遺伝子の遺伝的基盤などの要因によって異なると予想され、MVPの決定にはそれらをすべて考慮した個体群存続可

能性分析が必要となる (Menges 2000)。しかし、各国で絶滅危惧種のリストに記載されている種の個体群サイズの多くが1000個体以下であることを考慮すると (Wilcove et al. 1993; IUCN 2004)、これらの種はすでに何らかの衰退要因により絶滅の渦に巻き込まれている可能性が極めて高いと考えなければならない。したがって、それらの種の絶滅を回避するためには、個体群サイズの回復のための積極的な働きかけが不可欠である。クローン成長をおこなう植物の保全においては、生理的に独立な個体 (ラメット) の数ではなく、遺伝的に異なる個体 (ジェネット) の数の回復をめざさなければならない。

絶滅危惧種の保全の最終的な目標が、野外条件下で自立的に存続可能な個体群を再生することにあることを考慮すると、多くの場合「有性繁殖のプロセス」の健全性を保障することが最も基本的かつ優先的な課題であると考えられる。そのためには、種の生活史特性や繁殖様式、個体群構造、個体群動態といった基本的な生態学的情報の収集が不可欠である。そして個体群再生のアプローチとしては、個体群統計学的調査によって生活史において制限されている段階を認識し、その段階の環境要求性を明らかにするとともにそれを満たす条件を回復する、「生活史補完アプローチ」とも言える手法が有効であると考えられる (Pavrick 1994; Schemske et al. 1994; Heywood & Iriondo 2003)。

一方、個体群の縮小による遺伝的変異の喪失や近交弱勢・有害遺伝子の固定といった遺伝的要因に起因する影響は、たとえ何らかの保全対策により個体群サイズが回復したとしても、数世代から数百世代にわたり継続する可能性が指摘されている (Nei et al. 1975; Newman & Pilson 1997; Kirkpatrick & Jarne 2000; Miller & Hedrick 2001)。そのため、持続可能な個体群を再生するためには、遺伝マーカーなどを用いて遺伝的多様性や遺伝構造などの現状を把握するとともに、個体群縮小に伴う遺伝的な影響を正確に評価して必要に応じて保全対策管理を講じるなど、遺伝的側面も十分

考慮した管理を行うことが不可欠である (Frankham et al. 2002)。

再生事業のための管理システム

生物多様性の保全・再生のための事業では、管理の対象が生態系や生物種であるために、実施する対策に対する反応の予測は必ずしも容易ではない。そのため、モニタリングを通じて事業の効果を適切に評価することが不可欠であり (Block et al. 2001)、事業の計画・実施・モニタリング・評価という円環的プロセスを含む順応的な管理手法をとる必要がある (Comiskey et al. 2000; Stem et al. 2005)。

すでに述べたように、絶滅危惧種の再生のための事業を効果的に実施するためには、対象種の基礎的な生態学的知見が不可欠である。しかし多くの絶滅危惧種では、すでに本来の生育環境条件が損なわれ、健全な個体群が残存していないため、対象種の生態に関する十分な知見を得ることが困難な場合が多い。そのような状況において効果的に事業を実施するためには、最良の知見から導かれる仮説を検証する「科学的実験」と位置づけて事業の計画・実施・モニタリング・評価をおこない、得られた知見を新たな事業にフィードバックするという「順応的管理 (Adaptive management, Holling 1978; Walters 1986; Comiskey et al. 2000; Schreiber et al. 2004)」の手法が最も適切である。

これまで生物多様性の保全・再生を目的とした事業に順応的管理を適用した例としては、エバーグレイズ湿原 (DeAngelis et al. 1998; CROGEE 2003) やコロラド川 (Walters et al. 2000; Patten et al. 2001; USDI 2005) の生態系再生事業、北米西海岸の森林生態系の保全・自然資源管理を目的とした北西部森林計画 (Gray 2000; Stankey et al. 2003; Regional Ecosystem Office 2005) など、主に北米大陸での大規模な生態系再生事業があげられる。

絶滅危惧種の個体群再生事業においても仮説検証実験的なアプローチの有効性が

指摘されており (Pavlik 1994; Washitani 2001; Heywood & Iriondo 2003)、実際の適用例についても未だ多くはないものの、ニュージーランドの固有鳥コココの個体群再生事業 (Innes et al. 1999) などが近年報告されている。

個体群再生における土壌シードバンクの有効性

消滅・衰退した絶滅危惧植物の個体群を再生する手法として、これまでは主として種子の播種 (e.g. Pavlik et al. 1993; Walker & Powell 1999; Griffith & Forseth 2003) や栄養繁殖体の移植 (e.g. Budelsky & Galatowitsch 2000; Sinclair & Catling 2003; Liu et al. 2004) といった手法が用いられてきた。材料となる種子や植物体は、残存する他の個体群から採取されるのが普通である。しかし、同一種内にはしばしば遺伝的系譜が異なったり遺伝子流動が稀であることによって遺伝的分化が見られる個体群や、個々の生育地の局所環境に適応した生態型 (ecotype, Turesson 1922) が存在する。そのため、そのような進化的・遺伝的に意味のある管理単位 (ESU: evolutionary significant unit, Moritz 1994) が適切に認識されていないかぎり、他個体群からの個体の導入は、定着の失敗やメタ個体群スケールでの遺伝構造の崩壊、種の進化的プロセスの攪乱など、保全上のぞましくない結果を招く危険性がある (Moritz 2002; Hufford & Mazer 2003)。また、地上部個体群が残存している場合には、他個体群からの導入は、浸透交雑 (introgressive hybridization) を引き起こしたり、交雑を伴わない遺伝子型の置き換わり (cryptic invasion, Saltonstall 2002) による遺伝構造の崩壊を招くおそれがある。さらに、局所適応に関わる遺伝子や適応的形質に関わる遺伝子複合体 (coadapted gene complexes, Lynch 1991) が崩壊することによる「外交配弱勢 (outbreeding depression)」を引き起こす危険性もある (Hufford & Mazer 2003; Tallmon et al. 2004)。

上述したような他個体群からの導入に伴う遺伝的影響を回避し、持続可能な個体群

を再生しうる新たな手法として、「土壌シードバンク (soil seed bank)」の活用が考えられる。土壌シードバンクとは土壌中やリター中で発芽せず生存し続けている種子集団のことである。土壌シードバンクはその永続性によって大きく二つに区分され、種子散布後の次の発芽季節にすべて発芽・死亡するものを「季節的シードバンク (transient seed bank)」、一年以上の期間生存力を保って存続するものを「永続的シードバンク (persistent seed bank)」と呼ぶ (Thompson & Grime 1979)。一般的に土壌シードバンクの形成は、変動性の高い環境において局所絶滅を回避するための適応であると考えられており (Cohen 1966, 1967)、近年の実証的研究からも土壌シードバンクの存在は個体群の存続性に大きく影響を与えることが明らかにされつつある (Kalisz & McPeck 1992, Doak et al. 2002; Quintana-Ascencio et al. 2003; Adams et al. 2005)。

絶滅危惧種の個体群再生の材料としての有効性が期待されるのは「永続的シードバンク」である。永続的シードバンクを形成する種においては、たとえ「地上」個体群が消滅したとしても「地下個体群」ともいえる土壌シードバンクが残存している可能性がある。土壌シードバンクには、それを生産した地上個体群の遺伝的多様性が反映されている (Cabin 1996; Mahy et al. 1999; Koch et al. 2003; Shimono et al. 2006)。また過去の累積的な種子生産を反映しているため、時として地上個体群よりも高い遺伝的多様性を保有している場合もある (Levin 1990; McCue & Holtsford 1998)。そのため、個体群消滅後も残存する土壌シードバンクは、種の進化的プロセスの攪乱や外交配弱勢を招くことなく、失われた遺伝的多様性を含めて地上個体群を再生しうる有効な材料となることが期待される。特に牧草地や自然草地、乾燥地、湿地などの環境変動性の高い場所では永続的土壌シードバンクを形成する種が多いことが知られている (Baskin & Baskin 1998; Grime et al. 1981; Middleton 1999)。このような生育地に生育する絶滅危惧植物の個体群サイズと遺伝的多様性の回復には、土壌シードバ

ンクが有効な材料となる可能性がある。

しかし、これまで再生事業において実際に土壌シードバンクを活用した事例は、平野部の低湿地 (Brown & Bedford 1997) やプレーリーの湿地 (Madsen 1986; Galatowitsch & van der Valk 1996)、石灰岩草地 (von Blanckenhagen & Poschlod 2005)、河口部の塩性湿地 (Wienhold & van der Valk 1989) などの植生の再生を目的とした事業が中心であり、そこでは対象となる植生構成種の「種数」や「組成」にのみ焦点が当てられた。特定の絶滅危惧植物の個体群再生においては、アザミ属の *Cirsium pitcheri* (Rowland & Maun 2001) やチシマリンドウ属の *Gentianella germanica* (Fischer & Matthies 1998) において、シードバンクを用いた個体群再生の可能性が示唆されている。しかし、実際の活用例は著者が知る限りでは、アルプスの固有種であるマメ科の *Echinopartum albigicum* の個体群再生の事例 (Aparicio & Guisande 1997) が報告されているのみであり、その有効性や利用上の生態・遺伝学的な課題についての検討は未だ不十分である。

土壌シードバンクを活用した絶滅危惧植物の個体群再生を実施するためには、対象種の生育適地となる環境条件を回復することが必要となる。特に、セーフサイト (safe site, Harper 1977) や更新ニッチ (regeneration niche, Grubb 1977) とよばれる対象種の発芽・定着適地の環境条件を詳細に解明し、その条件を回復することが不可欠である。また、土壌シードバンクはその空間不均一性が高いことや (Thompson 1986)、種や環境条件により永続性が大きく異なることが知られるため (Baskin & Baskin 1998)、事前に空間分布や永続性に関する情報を収集することも必要となる。さらに、残存する土壌シードバンクが、個体群の消滅直前に残存した少数の個体間の交配に由来するのであれば、個体群再生の実施にあたっては、過去の個体群ボトルネックによる近交弱勢などの遺伝的影響の程度を評価することも重要である。

本研究の目的と論文の構成

これまで述べたとおり、絶滅危惧種の多くは「絶滅の渦」に巻き込まれているため、その絶滅を回避するには個体群再生のための積極的な働きかけが重要である。そのためには、個体群の存続に影響を及ぼす個体群統計学的・遺伝的要因を統一的に扱った研究が欠かせない。対象種の生態学的知見が不十分なもとでも効果的に個体群を再生するためには、現段階で存在する最良の知見にもとづいて順応的に再生のとりくみを実践し、それを通じて必要な知見の蓄積や具体的な再生手法の確立を図る必要がある。

本研究では、絶滅危惧植物の個体群再生のモデルケースとして、絶滅危惧植物アサザ (*Nymphoides peltata*) の保全生態学的研究を行った。多年性の浮葉植物アサザは、現在日本において絶滅の危険性が非常に高い状況にあり (環境庁 2000; 上杉 2004)、保全上重要であった茨城県霞ヶ浦の個体群も近年急速に衰退している (西廣ほか 2001)。一方、霞ヶ浦の一部の湖岸には個体群の再生に有効な材料となると思われる土壌シードバンクが個体群消滅後も残存しており (西廣ほか 2001)、それを用いて消滅した個体群を再生するための公共事業が2000年から開始されている (西廣・鷲谷 2003)。アサザにおいてはすでに遺伝マーカーが開発されており (Uesugi et al. 2005)、生態学的・遺伝的要因を統一的に扱った研究の実施が可能である。本研究では霞ヶ浦のアサザの個体群再生のとりくみと連携し、土壌シードバンクからの個体群再生に必要な生態・遺伝学的要因を解明するとともに個体群再生に有効な手法や手順を確立することを目的とした研究をおこなった。

本論文の第2章では、研究対象種であるアサザについて、これまで明らかにされている生態学的特性について整理した。また、本種の日本における危機的な現状と近年の霞ヶ浦の個体群の衰退状況について述べ、個体群再生に必要な課題を提示した。

第3章では、土壌シードバンクからの個体群再生に際して、生活史の制限段階となっている実生定着の段階の環境要求性を検証することを目的に、小規模な再生事業と

して実施した野外操作実験について記した。その実験では湖岸の多様な環境の下での実生の定着・成長を比較することで定着セーフサイトの環境条件を検証し、消滅した個体群の再生における土壌シードバンクの有効性を検討した。

第4章では、土壌シードバンクから再生する個体群に、過去の個体群ボトルネックに起因する近交弱勢が及ぼす影響を明らかにすることを目的とした研究について記した。研究においては、残存する土壌シードバンクを生産した親数や近親交配の程度を遺伝マーカーを用いて推定するとともに、シードバンク由来の実生の適応度成分を受粉実験により作成した自殖・他殖子孫のものと比較することで、近交弱勢の影響を定量的に評価した。

第5章では、個体群再生の材料となる土壌シードバンクの時空間分布や、異なる水位条件における定着後の成長様式、再生される個体群における花型頻度など、アサザの個体群再生の実践に先立って必要となる各生活史段階における基礎的な生態学的知見を得ることを目的とした調査・野外実験について記した。

第6章では、霞ヶ浦で実施されているアサザ個体群再生の公共事業に「順応的管理」を適用して実施した生態学的研究と個体群再生の実践の結果について記した。

第7章では、本研究を通じて明らかにされた個体群再生における土壌シードバンクや順応的管理・生活史補完アプローチの有効性、遺伝的要因の重要性について総合的に考察するとともに、持続可能なアサザ個体群の再生に向けての今後の課題について整理した。

第2章 アサザの現状と保全上の課題

アサザの生態的特性

本研究の対象種であるミツガシワ科アサザ属に属するアサザ (*Nymphoides peltata* (Gmel.) O. Kuntze) は、ユーラシア大陸の温帯域の比較的富栄養な湖沼・ため池に広く分布する多年性の浮葉植物である (写真2-1、Glück 1924)。アサザは近年、ラトビア (Latvian Environment Data Centre 2000)、ウクライナ (BSEP 1997)、リトアニア (Sinkevičienė 1999)、チェコ (Holub & Procházka 2000)、ベラルーシ (HCB NASB 2004) などの多くの東欧諸国において、絶滅危惧種もしくは野生絶滅種となっている。一方で、本来の分布域ではない北米やニュージーランドにおいては、侵略的外来種として在来生態系に与える悪影響が問題となっている (ISSG 2005)。

アサザの開花季節はおよそ6月から10月と長く、半日花を水面に咲かせる (van der Velde & van der Heijden 1981)。虫媒性の黄色い花にはミツバチ科やハナアブ科、チョウ類を中心とした多様な昆虫が訪花する (van der Velde & van der Heijden 1981; 丸井・鷲谷 1993)。

アサザは異型花柱性という繁殖システムを有しており、種子生産のためには異なる花型 (写真2-2、長花柱花および短花柱花) の間での花粉のやりとりを必要とする (Ornduff 1966)。アサザ属において異型花柱性はアサザ以外の数種でも確認されている。*N. indica* や *N. humboldtiana* では異型花柱性本来の強い自家同型不和合性を示す (Ornduff 1966; Sivarajan & Joseph 1993)。一方アサザでは、個体群によって程度は多少異なるものの自家不和合性の部分的な崩壊が認められる (Ornduff 1966; 丸井・鷲谷 1993; Wang et al. 2005)。茨城県の霞ヶ浦 (35° N、140° E) には、自家不和合性の等花柱花 (short-homostyle) モルフの存在も確認されている (写真2-2、丸

井・鷺谷 1993)。

アサザの種子は撥水性の種皮に覆われ浮遊性に富んでいることから、同一水系内においては水を介した長距離散布が可能であることが示唆されている (Smits et al. 1989)。種子には休眠性があり、永続的土壌シードバンクを形成する (Smits et al. 1990a)。種子の発芽は冷湿処理と変温条件により促進され、酸素分圧の低い水中では抑制されることが明らかにされており (Smits et al. 1990a; Nishihiro et al. 2004a)、春先の冠水しない裸地的環境で発芽・定着すると推測されている (鷺谷 1994)。

アサザの成熟個体は冠水条件では浮葉型として生育する。しかし、一時的な水位低下などの際には「陸生型 (写真2-3)」となり、非冠水条件でも生育が可能である (Tsuchiya 1988)。

また栄養成長としては、走出枝の伸長による旺盛なクローン成長をおこない (Brock et al. 1983a)、しばしば単一ジェネットが数ヘクタールの広い面積を占有する (Uesugi et al. 2004)。栄養散布体である切れ藻からの新たな個体の定着もしばしば認められ、同一水域内の異なる場所に同一ジェネットに由来する個体が生育することもある (Uesugi et al. 2004)。

アサザの遺伝子流動については、既に述べたとおり、同一水系内では種子や栄養繁殖体である切れ藻の分散によるさかんな遺伝子流動が生じている可能性が指摘されている (Smits et al. 1989; Uesugi et al. 2004)。また、送粉者であるイチモンジセセリの季節的移動 (城所 1992) に伴う花粉流動 (丸井・鷺谷 1993)、あるいは水鳥によるアサザの種子の付着散布 (Cook 1990) など、水系間を越えるような長距離の遺伝子流動が生じる可能性も指摘されている。

アサザは広い面積にわたって優占群落を形成することから (写真2-1)、浮葉植物群

落としての生態系機能についてもその重要性が注目されてきた (van der Velde 1981)。中・富栄養な水域においては高い物質生産力と葉の回転率を示すため (van der Velde et al. 1979; Brock et al. 1983a; Tsuchiya et al. 1990)、有機物や栄養塩の水中への供給源として機能することが示唆されている (van der Verlde et al. 1982; Brock et al. 1983b; Marion & Paillisson 2003)。また、アサザには他の水生植物と同様に「換気 (ventilation)」と呼ばれる通気システムが備わっており、葉から取り込んだ空気を水中の茎や根に供給する (Gross & Mevi-Schutz 1987)。その過程で空気が根から湖底に放出され、近傍に好氣的な土壌条件が形成される (Smits et al. 1990b; Gross 1996)。それに加えて走出枝伸長により湖底が安定化されることで、アサザ群落内には二枚貝や無脊椎動物などにとって好適な生息環境が形成される (Brock & van der Velde 1996)。さらに、広範囲に展葉して湖面を物理的に覆うことで、湖岸植生帯への波浪の影響を軽減する機能を果たす (林ほか 2002)。

日本における現状と霞ヶ浦の個体群

日本においてアサザはかつて北海道から九州までの各地の湖沼やため池に普通に見られた種であるが (表2-1)、埋め立てや護岸工事による生育地の直接的な破壊、水質悪化などにより分布域が著しく縮小し、現在では絶滅危惧Ⅱ類として記載されている (環境庁 2000)。さらに、最近の全国的な踏査の結果は、レッドデータブックが示す以上に深刻な状況を明らかにしている (上杉 2004)。現在全国に残存するアサザ個体群はわずか67にすぎず、種子生産に必要な短花柱花・長花柱花の両花型が同一個体群に確認されるのは茨城県の霞ヶ浦だけであることが明らかとなった (上杉 2004)。さらに、多型性の高いマイクロサテライトマーカーを用いた遺伝解析の結果からは、それら67個体群を構成している個体数はわずか61ジェネットであり、同一水系内のほとんどの個体群が単一のジェネットから構成されていることが明らかにされている

(上杉 2004)。このことは、ほとんどの個体群はすでに野生絶滅に近い状況にあり、全国での個体数と遺伝的多様性の現状をみる限り、本種の絶滅の可能性は非常に高いものと判断される(第1章)。

霞ヶ浦の個体群には複数花型からなる局所個体群が1996年まで湖内に3ヶ所残存し(西廣ほか 2001)、確認されるジェネット数も全国で最も多い(上杉2004)。したがって、霞ヶ浦の個体群は日本におけるこの種の保全上のきわめて重要な個体群であるといえる。また霞ヶ浦では、NPOや流域の地元住民・漁業林業組合・行政・研究者らのパートナーシップの下に、流域の生態系の保全・再生を目的とした市民活動「アサザプロジェクト」が1990年代から展開されており(鷲谷・飯島 1996)、アサザはその象徴種となっている。

しかしこの霞ヶ浦の個体群も、湖の水位を水門操作によって冬季に上昇させるという新たな水位管理が開始された1996年頃から急激に衰退し、わずか4年間で局所個体群の半数以上が消滅し、面積にして約90%が消失した(西廣ほか 2001、図2-1)。また近年の遺伝解析の結果からは、霞ヶ浦に残存する個体数(ジェネット数)はわずか19個体にすぎないことが明らかにされている(Uesugi et al. 2005)。

霞ヶ浦に生育するアサザは、湖内の複数の地点に分かれて存在し(以下、それぞれを局所個体群とする)、種子や花粉・切れ藻による局所個体群間での稀な遺伝子流動を介して「メタ個体群」を形成している。霞ヶ浦の個体群は、単一花型・単一クローンからなるために種子繁殖が困難な多数の局所個体群と、複数花型・複数ジェネットからなり健全な種子生産が可能な少数の局所個体群から構成されている(西廣ほか 2001; Uesugi et al. 2004)。メタ個体群はしばしば局所個体群の頻繁な絶滅・新生を伴う動態を示すが、近年霞ヶ浦でみられた局所個体群の同調的かつ急速な消滅・衰退は、メタ個体群全体の衰退を強く示唆している。19個体という現状の個体群サイズは、確率論的・決定的要因により個体群が絶滅することを予測しなければならない水準を

さらに下回っている（第1章）。特に、種子生産が可能な複数花型からなる個体群が、1996年以降わずか1ヶ所を残してすべて消滅した（西廣ほか 2001）ことは、個体群の存続性にとって大きな問題となる。

一方で、一部の湖岸の土壌中には、過去に生産されたと思われる永続的土壌シードバンクが残存していることが明らかになっている（西廣ほか 2001）。永続的土壌シードバンクはすでに消滅した個体群の遺伝的多様性を回復しうる唯一の材料である（第1章）。さらに、その中に複数花型の間の適法受粉で生産された種子が含まれていれば、遺伝的な多様性を保有し、種子生産が可能な個体群を、土壌シードバンクから再生できる可能性がある。しかし2000年時点までの霞ヶ浦では、土壌シードバンクに由来すると思われる実生の出現が毎年春に確認されるものの、個体群統計学的な調査からはこれらは定着に至る前にすべて死亡しており、土壌シードバンクが浪費され続けていることが明らかとなっていた（Marui 1993; 西廣ほか 2001）。

アサザ個体群の再生における課題

以上述べたように、アサザは絶滅の危険性が非常に高い状態にあり、日本におけるこの種の保全のためには霞ヶ浦の個体群の存続可能性を維持・回復することが重要である。霞ヶ浦のアサザ個体群の絶滅を回避するためには、この種の生態・遺伝学的特性を把握するとともに、早急に個体群の再生を実践することが急務である。そのためには、発芽・実生定着・成長・開花・種子生産といった、有性繁殖に関わる一連の生活史段階の環境要求性を解明し、それを保障することが必要である。事業の不確実性を最小限にとどめつつ効果的に個体群の再生を実現するためには、作業仮説の構築に必要となる最低限の生態学的情報を収集するとともに、仮説検証のための「科学的実験」と位置付けて順応的に再生を実施することが重要であろう。また、残存する土壌シードバンクは失われた遺伝的多様性を保持していると考えられる一方で、個体群の

消滅直前に生存していた少数の親間の交配に由来する可能性が高いと考えられる。そのため、個体群統計学的な知見とあわせて、過去の個体群ボトルネックに起因する遺伝的な負の影響についても同時に評価していくことが必要である。

調査地および再生事業の概要

霞ヶ浦と再生事業

本研究の調査地が存在する霞ヶ浦（図2-1）は、関東平野東部（36° N、140° 30' E）に位置する日本で二番目に大きい淡水湖であり、その湖面積は220km²、平均水深は約4mである。「霞ヶ浦」という名称は、西浦、北浦、外浪逆浦の3つの湖面と、それらをつなぐ河川（北利根川・鰐川・常陸利根川）から構成される水域全体を指して用いられる。また霞ヶ浦は最下流で利根川と合流し、逆水門を経て太平洋へとつながっている。

霞ヶ浦では1975年以降、最下流の常陸川水門によって水位管理がなされている（Nishihiro et al. 2004b）。人為的な水位管理が行われる以前の霞ヶ浦の水位は、降水量の季節的変動に合わせて、冬から春にかけて低下し、夏から秋にかけて上昇するという季節的な変動パターンを有していた（図2-2）。しかし、流域の洪水対策を目的に常陸利根川の河道拡張が行われた1951年ごろから水位の変動幅は減少し、1975年からは水門によって湖水位は年間を通じてほぼ一定に保たれるようになった。さらに1996年からは「霞ヶ浦総合開発」計画にもとづく水位管理が開始され、管理水位をこれまでより10cm高く維持し、10月から3月まではさらに20cm高く維持するという水位操作が実施されるようになった。

すでに述べたとおり、この水位操作が開始された頃から湖内のアサザ個体群の急激な衰退が確認された。このアサザの衰退がきっかけとなって、2000年には地元NPO、行政、生態学や河川工学・湖沼学の研究者などの多様な主体からなる検討会（霞ヶ浦

の湖岸植生帯の保全に係わる検討会)が構成され、冬期の水位上昇の操作が暫定的に停止されたほか、アサザ個体群の再生を含む湖岸植生帯の再生事業が湖内の11ヶ所で開始された(西廣・鷺谷2003; Nishihiro et al. 2006)。この事業の実施主体は国土交通省であるものの、検討会での議論を通じた事業の計画や、研究者・NPO・流域市民・小学校との協働の下での管理・モニタリングの実施など、多様な主体の参画によって事業が進められている。また、生態学を中心とした各分野の研究者は、再生事業計画の提案や事業後のモニタリング、その結果の科学的評価、それを踏まえた新たな事業計画の提案などを通じて、事業に主体的に参加している。

調査地

本研究は、霞ヶ浦の南西部(稲敷市)の湖岸で行った(図2-1)。この「江戸崎入り」と呼ばれる場所には、かつて湖岸に沿って複数花型(長花柱花・短花柱花・等花柱花)からなるアサザの局所個体群が存在していたが(西廣ほか2001)、1996年頃から急速に衰退し、1998年には消滅した。残存する土壌シードバンクに由来すると思われるアサザの実生の出現が個体群消滅後も確認されるが、これらはすべて定着に失敗している(Marui 1993; 西廣ほか 2001)。

この入り江の鳩崎地区とよばれる湖岸では、上述した湖岸植生帯再生事業のうち、特に土壌シードバンクからのアサザ個体群の再生を目的とした事業が実施されている(西廣・鷺谷2003)。2002年の2月には、ヨシ原の水際約300mの範囲において、浸食で失われた湖岸の緩勾配地形が湖底の砂を用いて回復され、粗朶をもちいた消波構造物が植生帯の前面に湖岸線と平行に設置された(第6章)。

表2-1 絶滅危惧植物アサザの日本における過去の分布情報と、各県における現在の状況。過去の分布については、各都道府県の地方植物誌等の文献を参考に作成した。現在の状況は、国のレッドデータブック（環境省 2000）から引用し、○は生育を、△は現状不明・文献情報を、×は絶滅を示している。

都道府県	環境庁 (2000)	過去の生育地	文献
青森県	○	小川原湖	大滝・石戸（1980）
岩手県	△	都南見前	村井ほか（1971）
秋田県	○	伊豆沼・小泉沼	村松（1932）
山形県	△	酒田市・余目榎木・山形市・ 南陽町白竜湖	結城（1992）
宮城県	○	小牛沼・伊豆沼	水沢（1940）
福島県	○	猪苗代湖	斉藤（1987）
栃木県	△		橋本（1968）
埼玉県	○	県下の池沼	伊藤（1998）
茨城県	○	霞ヶ浦・北浦・手賀沼・神池・ 牛久沼・板倉沼・行人沼	鈴木（1979）
群馬県	×	邑楽郡	群馬県高等学校教育研究会生物部 会（1987）
千葉県	○	佐原新島・松戸・市川・手賀 沼・印旛沼	千葉県生物学会（1975）
東京都		赤羽	檜山庫三（1965）
神奈川県	△	登戸・平塚	神奈川県植物誌調査会（1988）
長野県	○	木島平・諏訪 諏訪湖全域	鈴木（1965） 諏訪の自然誌・植物編編集委員会 （1981）
静岡県	○	長田・藤枝高州・掛川・磐田 鶴ヶ池	杉本（1975）
岐阜県		全県的	岐阜県の植物刊行会（1966）
愛知県	○	名古屋市	愛知県高等学校生物教育研究会 （1971）
新潟県	×	下越水田・柿崎町潟湖	中村（1925）
富山県	×	十二町潟・黒部市生地	太田ほか（1983）

表2-1 つづき

都道府県	環境庁 (2000)	過去の生育地	文献
石川県	○	県中部 (大海川から)	里見 (1983)
福井県	△	-	奥山 (1964)
三重県	△	県下普通 伊賀	三重県生物調査委員会 (1951) 黒川 (1939)
滋賀県	○	堅田町・彦根市彦根城	北村 (1968)
京都府	×	巨椋池	三木 (1937)
和歌山県	○	安原・宮村・岡崎	宇井 (1929)
大阪府	○	諏訪ノ森・東豊中・岡町・阿武山・吹田市山田・上野芝	堀勝 (1962)
兵庫県	○	淡路町・加古・明石・篠山・横田	紅谷 (1971)
岡山県	○	-	奥山 (1964)
愛媛県	△	松山市・大洲市・御荘町平城	山本 (1978)
徳島県	○	市場池・浦の池・新開池・内谷川・津田町小流・阿南関池	阿部 (1990)
高知県	△	県下全	山中 (1978)
福岡県	△	北九州曾根・福岡・志摩芥屋・広川	福岡県高等学校生物研究部会 (1975)
佐賀県	○	佐賀県平野一帯	馬場 (1964)
長崎県	△	壱岐奥山春季	外山 (1980)
大分県	○	下津民	山本 (1953)
熊本県	×	各地に分布	熊本記念植物採取会 (1969)
宮崎県	×	新富町	南谷 (1992)

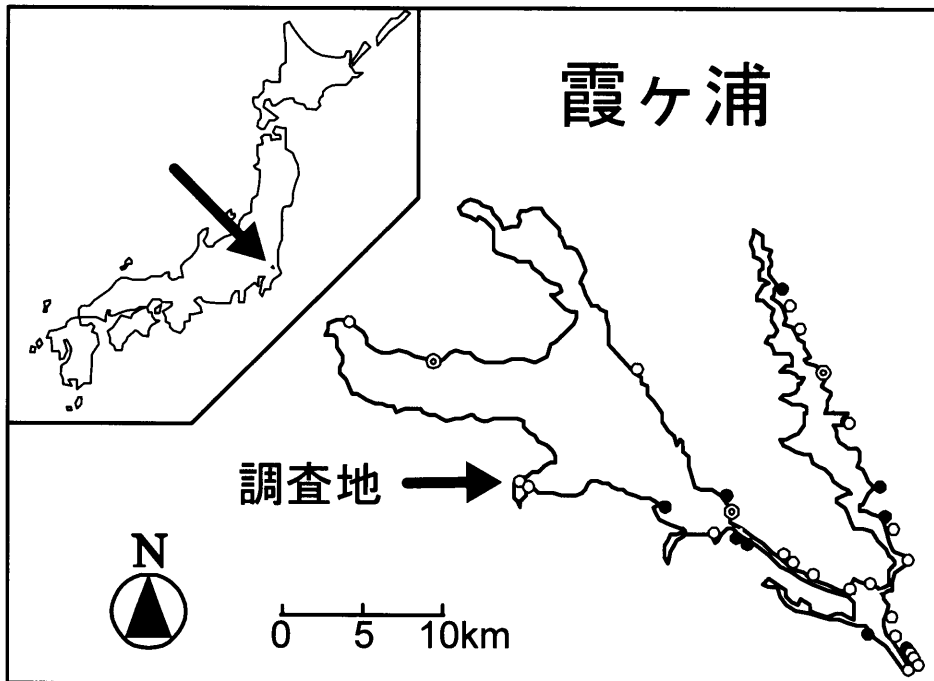


図2-1 霞ヶ浦のアサザ個体群と、調査地の位置。地図内の○は1996年から2000年の間、◎は2000年から2005年の間に消滅した個体群を示し、●は2005年の時点で現存する個体群を示す。1996年から2000年までの衰退状況は、西廣ほか（2001）にもとづき作図した。

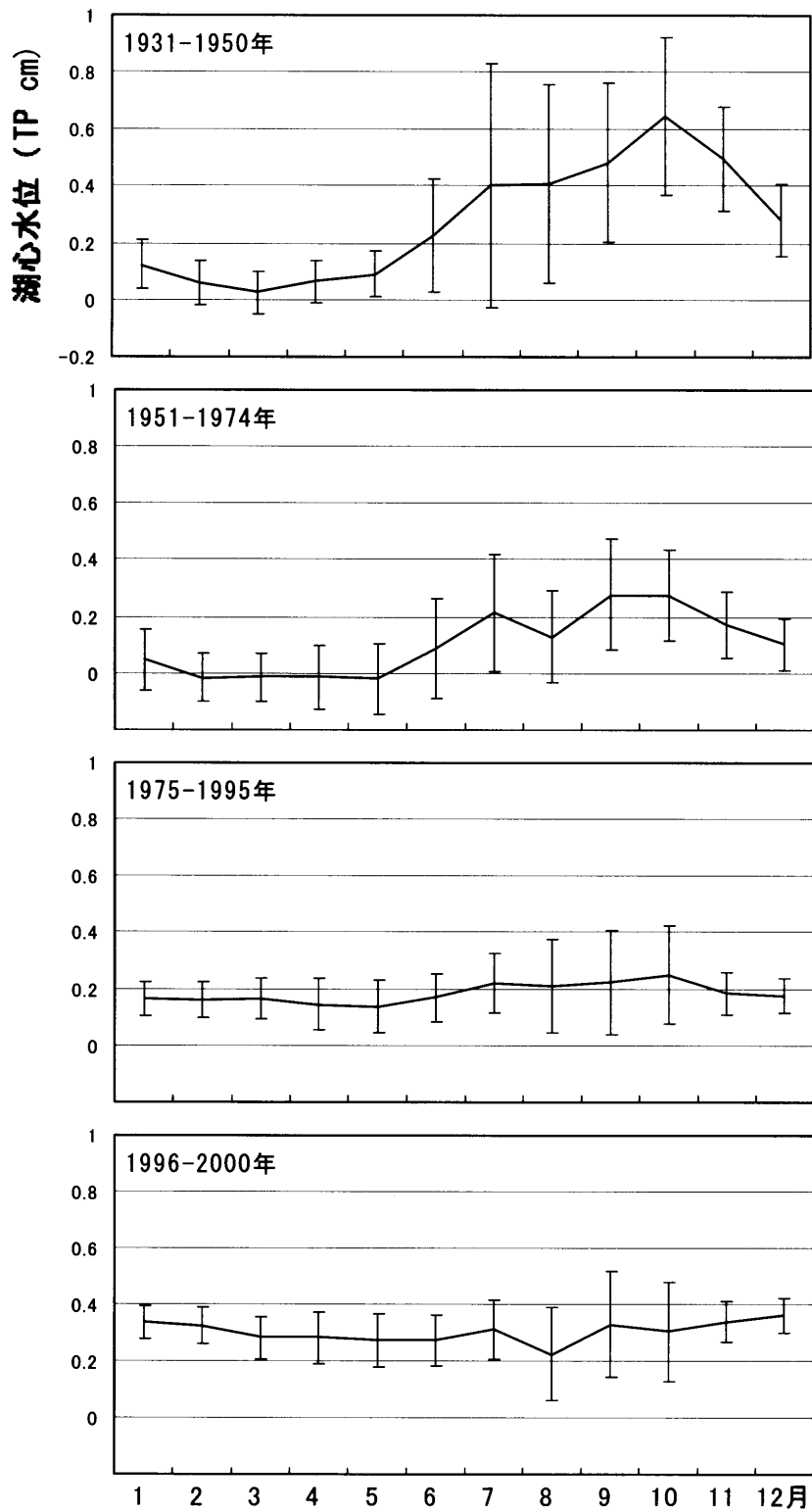


図2-2：過去70年間における霞ヶ浦の水位変動パターン。水位は霞ヶ浦（西浦湖心）の日平均水位を月ごとに集計した。折れ線のエラーバーは標準偏差を示す。



写真2-1：開花期後期のアサザ個体群の様子。写真は2003年10月における茨城県麻生町の個体群の様子。

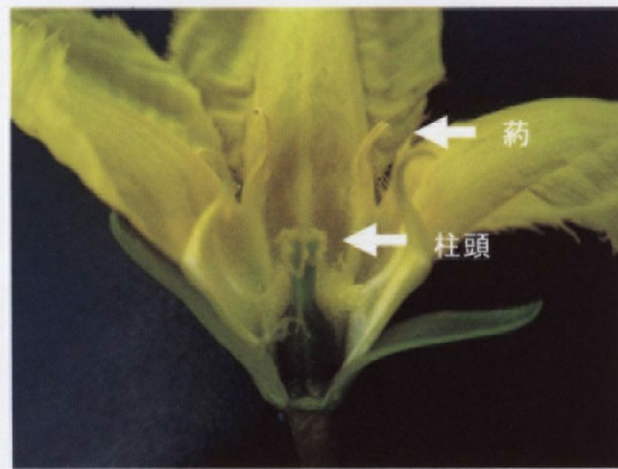
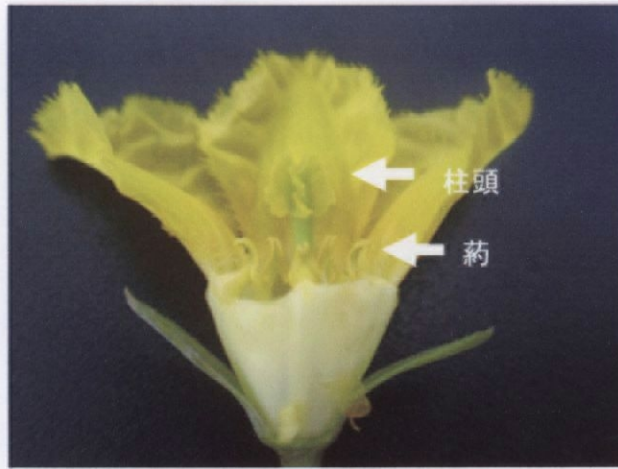


写真2-2 : アサザの花型。上から順に、長花柱花、短花柱花、等花柱花を示す。



写真2-3：非冠水条件において陸生型で生育するアサザ。

第3章 土壌シードバンクからの個体群再生のための定着セーフサイトの検証

はじめに

前章で述べたとおり、絶滅危惧種アサザの保全上重要な霞ヶ浦の個体群は、1996年ごろから急激に衰退した（西廣ほか 2001; 上杉 2004）。一部の湖岸には、個体群消滅後も土壌シードバンクに由来する実生の出現が春先に確認されているが、これらはすべて定着に至る前に死亡することが明らかになっている（西廣ほか 2001）。アサザの生活史を完結させ、個体群の再生を図るためには、生活史において現在最も強い制限段階となっていると思われる実生定着のプロセスを回復することが必要である。

一般的に、発芽・実生定着に必要とされる「セーフサイト (Harper 1977)」の分布はその場の微環境のあり方に強く支配され、セーフサイトの要件をなす環境条件は種によって大きく異なるため (Moore & Keddy 1988; Coops & van der Velde 1995; Jordan & Hartman 1995)、その解明には種ごとに詳細な検討が必要である。しかし、アサザに関してはすでに個体群動態が健全に維持されるような生育条件が失われており、現状の分析からセーフサイトの環境条件を把握することは困難である。そのため本章の研究では、既存の知見から導かれる仮説を検証する「科学的実験」として順応的に再生を実践することで、それを検証することを試みた。

固着性の植物は一般に、実生定着に適した微環境を検出して休眠解除・発芽するような発芽特性を進化させている (Grime et al. 1981; Moore & Keddy 1988)。したがって、休眠・発芽特性はその種のセーフサイトの環境条件を推測する上で重要な手がかりを与える。アサザは、冷湿処理や変温条件により休眠解除や発芽が促進される一方で、水中では発芽が強く抑制されるなど (Smits et al. 1990a; Nishihira et al. 2004a)、春期の冠水しない裸地的環境を検出して発芽するのに適した特性を有してい

る。水位操作が行われる以前の霞ヶ浦では春先に季節的な水位低下が生じていた (Nishihiro et al. 2004b) ことから、アサザの発芽・実生定着セーフサイトは「春先の水位低下で湖岸に露出する裸地的環境」であったと推測されている (鷲谷 1994)。

本章では、アサザの実生が現在でも出現している霞ヶ浦の鳩崎地区の湖岸において、上記のセーフサイトに関する仮説を検証しつつ、実際にアサザの実生定着を促す事を目的とした小規模な再生実験を実施した。現在の湖岸では利水のための水位管理により春先の季節的な水位低下は生じない。そこで、実生の定着に影響を及ぼすと思われる波浪条件や冠水期間、光条件の変異幅を人為的な処理により拡張し、セーフサイトの条件を含むと思われる多様な環境条件を湖岸に用意し、その下でのアサザの実生の生存と成長を比較することで仮説を検証した。

方法

野外実験

実験は、アサザの個体群再生のための事業が実施されている霞ヶ浦南西岸の鳩崎地区と、それに隣接するヨシ原においておこなった。

2002年の4月に水際にそって計55個の方形区 (0.3×0.3m) を設置し (図3-1)、冠水条件や波浪条件、光条件を次に述べる方法でコントロールした。冠水条件については方形区を多様な比高 (TP 7.2–42.0cm) に設置することで調整した。また、水際から方形区までの距離 (0.0–8.3m) および、消波構造物の有無 (25方形区を消波構造物内に設置、図3-1) の2つの条件を調整することで、冠水時における波浪による物理的影響の程度を変化させた。光条件については、事前の調査からヨシ原内の光条件は変異幅に乏しく一様に低いことが示された (図3-2)。そのため、消波構造物の有無が異なる各10方形区 (計20方形区) において抽水植物の定期的な刈り取りを実施し、実験期間を通じて2週間に一度の頻度で周辺1m²の抽水植物を地上高20cmの高さで刈り取る

ことで、光利用性を高めた。

実験は2004年4月中旬に開始した。4月に調査地の湖岸で出現したアサザの実生の空間分布は著しく不均一であり、ほとんどの調査区では環境要因が実生へ与える影響を検証するのに十分な数の実生が出現しなかった。そこで、周辺で採取した実生を移植することで、各方形区内の実生数を均一化した。実生の移植に際しては、まず調査地区の湖岸約500mの範囲から本葉数が0~2枚の実生を物理的損傷を与えないように注意深く掘り起こし、水溶性のポット（直径7cm、高さ9cm、fertile社、フランス）に実生を土ごと移植し、ポットごと各調査区に10から15個体ずつ移植した。

実験開始の4月中旬から実生が定着ステージに達したと思われた8月末まで2週間ごとに、各方形区の実生の生存率を記録した。また、毎月中旬に生存個体の根元直径（ D mm）をノギスを用いて測定し、事前の栽培実験から得た以下の回帰式を用いてそのバイオマス（ W mg）を推定した。

$$W = 4.213 \times D^3 \quad (R^2 = 0.97, P < 0.0001, n = 50)$$

実生の死亡が認められた際には、実生の様子やその状況から死亡要因を可能な限り推測し、次の3つのカテゴリー、すなわち（1）物理的損傷：葉や茎への断続的な損傷、砂の堆積や基質の浸食による消失、（2）枯死：乾燥傷害による死亡、（3）不明、に分類して記録した。

各方形区の環境条件として、比高、水際からの距離、消波の有無、冠水率、光条件、の5項目を次のように測定して記録した。比高は、増水により全方形区が冠水した日に、方形区の水深とその日の湖心水位（国土交通省提供）から算出した。冠水率は、実験開始から調査日までの期間においてその方形区が冠水していた日数の比率とし、各方形区の比高と水位データより算出した。消波の有無は、粗朶を用いた消波構造物が各方形区の設置されているヨシ原の湖側に設置されているか否かで表した。光条件は、散乱光条件下での地表付近における相対光量子密度（rPPFD: relative

photosynthetically active photon flux density) を用いて評価した (Washitani & Tang 1991)。測定にはLI-190SBセンサーを接続したデータロガー (LI-1400、LI-COR 社) を用い、毎月中旬に各方形区内の9ヶ所の地表面高における相対光量子密度を測定し、その月平均値を光条件の指標として用いた。

データ解析

環境要因が (a) 実生の「初期段階」における生存率と (b) 「定着段階」における生存率に及ぼす影響を検証するために、(a) 実生のおよそ半数が死亡した5月29日の生存率と、(b) 実生の本葉数が5枚以上となり定着段階に達したと判断できた8月22日の生存率、を用いた解析をおこなった。

まず、初期段階および定着段階における生存率と、各環境要因との間のピアソンの相関係数を計算した。いくつかの環境要因の間には強い相関関係があることが予測されたため、バリマックス回転を用いた主成分分析 (PCA: principal components analysis) によってそれらの環境変数を複数の無相関な変数に統合した。そして方形区ごとに算出された環境変数の各主成分 (PC) のスコアを独立変数とし、それらが各方形区の生存率に及ぼす影響について重回帰分析をおこなった。なお、消波の有無はダミー変数を用いて表現し、それぞれに1 (消波有)、0 (消波無) の値を与えて解析した。なお、生存率は解析に先立ってアークサイン変換を施した。すべての統計解析はSAS JMP (version 5.1.1) を用いておこなった。

結果

調査対象とした実生の死亡の多くは、方形区の冠水直後に観察された。実生の死亡要因のうち最も多かったのは「物理的損傷」によるものであり、その比率は死亡した実生全体の78.6%にのぼった。

初期段階の実生の生存率は、比高、水際からの距離、冠水率の3変数と有意な相関が認められた。一方、実生の定着段階における生存率は、比高、消波の有無、冠水率、光条件の4変数との有意な相関関係が認められた（表3-1）。

いくつかの環境変数間には強い相関関係が認められた（表3-1）。主成分分析によりこれらの環境変数は無相関な3つの主成分に統合され、それら3主成分は初期および定着段階における全環境変数の分散のそれぞれ92.7%、93.4%を説明した（表3-2）。それぞれの主成分の各環境要因への因子負荷量は、初期段階および定着段階で同じ傾向を示していた。いずれの時期においても、第一主成分（PC1）は方形区の比高および水際からの距離と強い正の相関、冠水率と強い負の相関関係にあり、PC1の値が大きいほど「冠水しにくい」ことを示していた。また第二主成分（PC2）は消波の有無と強い相関、水際からの距離と弱い相関を示し、PC2の値が大きいほど「冠水時の波浪の影響が弱い」ことを示していた。第三主成分（PC3）は光条件とのみ強い正の相関関係を示していた。

重回帰分析の結果、環境要因を表す3主成分すべてが実生の生存率に有意な影響を与えていた（初期段階、 $R^2 = 0.590$ 、 $P < 0.0001$ ；定着段階、 $R^2 = 0.743$ 、 $P < 0.0001$ ）。しかし、個々の主成分の説明力は初期段階と定着段階で異なっていた（表3-3）。初期段階においては、PC1が最も実生の生存率に強く影響しており全分散の50%を説明し、PC1が高いほど生存率が高いという関係が見られた（図3-3）。続いてPC3の説明力が強く、PC2の説明力はわずか（ $P = 0.045$ ）であった。

一方、定着段階の生存率にはPC3と、次いでPC1が強い影響を与えていた（表3-3）。初期段階の場合に比べてPC2の説明力はやや高くなっていたが、3主成分の中ではやはり最も小さかった。75%以上の高い定着率は、PC1が-0.2以上でPC3が0.7以上の値、すなわち、冠水率が30%未満で光条件（相対光量子密度の月平均値）が50%以上の値を示す方形区においてのみ確認された（図3-4）。これらの定着に成功したジェネット

の数は計136であった。

また、定着個体のバイオマス（log変換値）と、光条件の間には強い正の相関関係が認められた（ $R^2 = 0.879$ 、 $P < 0.0001$ ；図3-5）。さらに、定着段階の生存率と、個体のバイオマスの方形区平均値との間にも非線形な正の関係が認められ、バイオマスの平均値が約40mg以下の方形区では生存率が極端に低かった（図3-5）。定着したすべての個体は、浮葉型ではなく非冠水条件で陸生型（Tsuchiya 1988）として生育していた。

考察

湖岸に設定した多様な環境条件の下でのアサザの実生の生存率と成長を比較した本章での研究の結果から、アサザの実生定着セーフサイトは、実生の定着期に至るまで冠水しにくく被陰されない裸地的環境であることが示された。この結果は、実生定着に関する仮説、すなわち、アサザの実生更新のためのセーフサイトは春先の自然な季節的水位低下で湖岸に露出する裸地的環境であるとする仮説を支持する。

実生の初期生存率は消波構造物等による波浪の緩和の程度にかかわらず、冠水の影響を最も強く受けていた。これは、生活史初期段階の実生が、冠水時に生じるリターや基質の堆積・浮動等による物理的損傷に弱いことに起因すると考えられる。一方、光条件が十分な場所でのみ定着が認められたことは、波浪による攪乱への十分な耐性を得るには良好なバイオマス蓄積が必須であることを示していると思われる。

しかし、水位管理によって春先の水位が高く維持されている現在の湖岸では、本章で検証されたセーフサイトの条件を満たす場所は皆無といってよい。現在アサザの発芽はヨシ原の内部に限定されているが、現状の水位管理条件下ではヨシ原内部のほとんどの場所の冠水率が高いことに加え（Nishihiro et al. 2004b）、ヨシの成長とともに光利用性は春先から急激に悪化するからである（図3-2）。以上のことは、湖沼生態

系において重要な生態系プロセスである季節的水位変動パターン (Keddy & Reznicek 1986; Rea & Ganf 1994; Schneider 1994; Coops & van der Velde 1996; Budelsky & Galatowitsch 2000; Nishihiro et al. 2004a, b) を回復することがアサザの自立的な実生更新にとって不可欠であることを示唆する。

ただし個体群再生のための応急処置的な対策としては、残存する土壌シードバンクが枯渇する前に、土木工学的な手法により「冠水の影響が少ない裸地的環境」を湖岸に整備するなどの方法で、土壌シードバンクから出現する実生の定着を促進することが必要である。本研究では実生定着セーフサイトの環境条件が検証されただけでなく、計136のジェネットの定着が実現した。これらすべての個体が有性繁殖段階まで生残するとは限らないものの、霞ヶ浦ではわずか19のジェネットしか残存していない現状 (Uesugi et al. 2005) を考えると、個体群サイズと遺伝的多様性の回復という双方の観点から大きな成果が得られたといえる。これまで土壌シードバンクは主に植生回復の材料として注目されてきたが (e.g., van der Valk et al. 1992; Middleton 1995; Vivian-Smith & Handel 1996; Pywell et al. 2002; Smith et al. 2002)、本章の成果は特定の絶滅危惧植物の個体群サイズと遺伝的多様性を再生するための材料としての土壌シードバンクの有効性を示唆するものである。

今回定着に成功した個体はすべて陸生型で生育していた。現在の水位管理下では過去の霞ヶ浦の水位変動パターンとは異なり定着後の水位上昇が生じないため、定着個体は浮葉型で生育することは難しい。そのため、定着後の水位条件が成長に与える影響を評価することが今後の課題である。これについては、第5章で検討する。また、過去の個体群縮小による遺伝的ボトルネックの影響が、個体群が再生されることで顕在化する可能性もあるため (Oostermeijer 2000, Oostermeijer et al. 2003)、再生される個体群における遺伝構造や個体群サイズについても配慮が必要であろう。これらの問題については、第4章および第5章において扱う。

表3-1 環境要因と、アサザの実生の初期段階（5月29日）および定着段階（8月22日）における生存率との相関行列。生存率はアークサイン変換を施した値を解析に使用した。数値はピアソンの相関係数（ r ）を示す。

	環境変数				
	比高	水際からの距離	冠水率	消波の有無	光条件
初期段階					
生存率	0.65***	0.51***	-0.73***	0.24	0.25
環境変数					
水際からの距離	0.63***				
冠水率	-0.86***	-0.60***			
消波の有無	0.13	-0.30*	-0.29*		
光条件	0.02	0.08	-0.04	0.01	
定着段階					
生存率	0.28*	0.22	-0.37**	0.31*	0.71***
環境変数					
水際からの距離	0.63***				
冠水率	-0.91***	-0.62***			
消波の有無	0.13	-0.30*	-0.26		
光条件	-0.13	-0.04	0.11	-0.01	

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; $n = 55$

表3-2 主成分分析（バリマックス回転）から得られた3主成分の各環境要因への負荷量。各環境変数について、3つの主成分のうち最も高い相関を示した値にアスタリスクを付した。

変数	因子負荷量					
	初期段階			定着段階		
	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3
比高(cm)	0.940*	0.087	-0.013	0.946*	0.098	-0.085
水際からの距離(m)	0.804*	-0.463	0.077	0.806*	-0.460	0.028
冠水率	-0.933*	-0.243	-0.017	-0.947*	-0.221	0.056
消波の有無	0.089	0.970*	0.012	0.083	0.971*	0.005
光条件	0.022	0.004	0.999*	-0.060	0.002	0.998*
固有値 (分散への寄与率)	2.41 (48.2%)	1.22 (24.4%)	1.01 (20.1%)	2.45 (49.0%)	1.21 (24.2%)	1.01 (20.1%)

表3-3 環境要因を表す主成分因子が実生の初期段階（5月29日）および定着段階（8月22日）の生存率に与える影響についての重回帰分析の解析結果。生存率はアークサイン変換値を用いて解析した。

独立変数	初期段階			定着段階		
	$R^2 = 0.590, F = 24.469, P < 0.0001$			$R^2 = 0.743, F = 49.039, P < 0.0001$		
	β	$std\beta$	P	β	$std\beta$	P
PC1	0.370	0.707	< 0.0001	0.152	0.366	< 0.0001
PC2	0.096	0.184	0.0449	0.110	0.265	0.0005
PC3	0.124	0.236	0.0110	0.304	0.734	< 0.0001
切片	0.718		< 0.0001	0.283		< 0.0001

β ; 偏回帰係数、 $std\beta$; 標準偏回帰係数、 $n = 55$

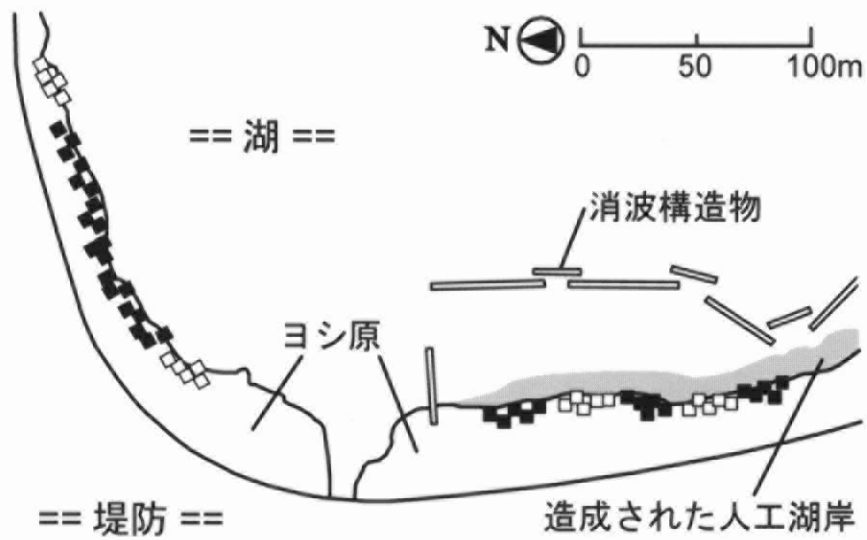


図3-1 調査地の模式図。ヨシ原の一部に消波構造物の設置と人工湖岸の造成が行われた。地図内の正方形は調査方形区を示し、□は抽水植物の刈り取りを実施した方形区、■は実施しなかった方形区を示す。

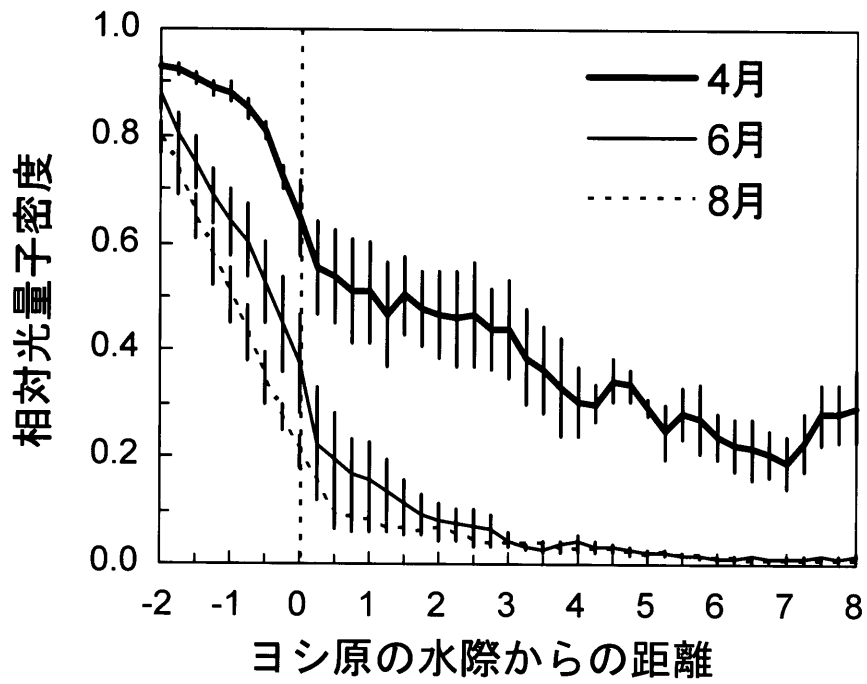


図3-2 再生事業地に隣接するヨシ原内部の相対光量子密度の季節変化。横軸は、ヨシ原の水際から内側への距離 (m) を示す。折れ線の各データポイントは5測線における平均値を表し、エラーバーはその標準誤差を示す。

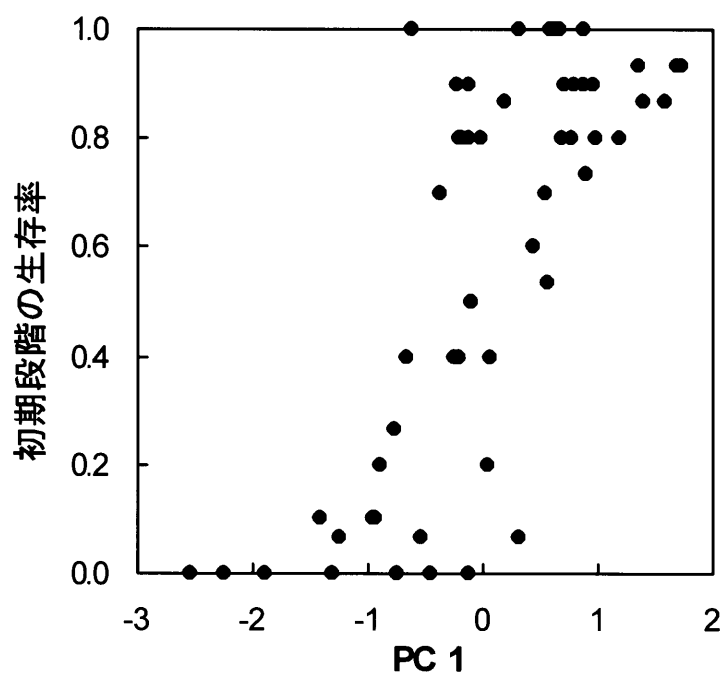


図3-3 実生の初期段階（5月29日）における生存率と、PC1のスコアとの関係。PC1は比高・水際からの距離と正の相関関係、冠水率と負の相関関係にある。

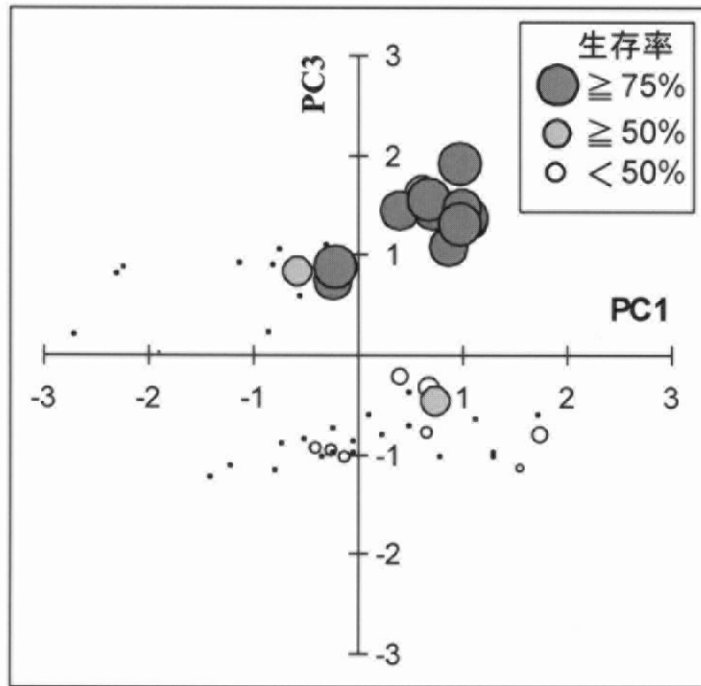


図3-4 PC1軸およびPC3軸と、実生の定着段階（8月22日）の生存率との関係。円の直径は実生の生存率を表す。黒い点は、生存個体がみられなかった方形区を示す。

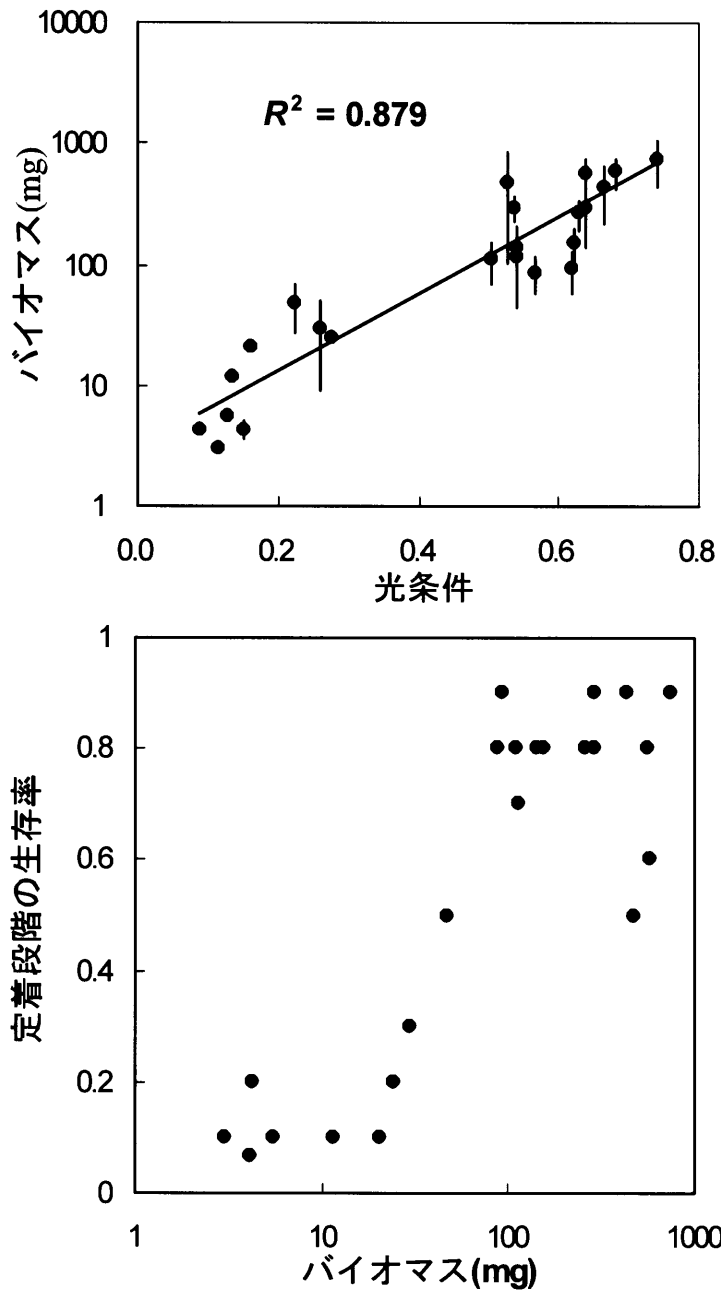


図3-5 定着段階における各方形区の生存個体の平均バイオマスと光条件（上）、およびバイオマスと生存率（下）との関係。エラーバーは標準誤差を示す。なお光条件は、4月から8月まで測定した相対光量子密度の平均値を表す。

第4章 近交弱勢が土壌シードバンクから再生した 個体群に及ぼす影響

はじめに

生育地の破壊・劣化・分断化により個体群サイズが縮小した個体群では、第1章で述べたとおり、遺伝的変異の減少による病原菌や環境変動への適応能力の低下 (Barrett & Kohn 1991; Lande & Shannon 1996; Hoffman & Parsons 1997)、有害遺伝子の固定・蓄積 (Lande 1994; Lynch et al. 1995)、近交弱勢の発現 (Charlesworth & Charlesworth 1987; Keller & Waller 2002) など、さまざまな遺伝的要因による絶滅の危険性が高まる。絶滅危惧植物の保全において特に注意を払わなくてはならないことは、このような遺伝的な負の影響は、分断・孤立化した個体群では、保全対策により個体群サイズが回復されたとしても長い期間持続する可能性があることである (Nei et al. 1975; Newman & Pilson 1997; Kirkpatrick & Jarne 2000)。

一般的に、遺伝的変異の減少による潜在的な適応能力の低下や、有害突然変異の固定・蓄積による突然変異メルトダウン (Lande 1994; Lynch et al. 1995) などの遺伝的要因は、数十世代から数百世代の長時間を掛けて徐々に個体群の存続性に影響を与える。しかしそれとは対照的に、自殖や近縁個体間の交配による近交弱勢はわずか数世代の短い期間で強い影響を及ぼしうる。

近交弱勢の影響の強さは、個体群が保有する有害遺伝子の総量 (遺伝的荷重) に強く依存していることから、大きな遺伝的荷重を蓄積しがちな他殖性の多年性植物において特に強い影響が生じる可能性がある (Lande et al. 1994; Husband & Schemske 1996)。しかし、劣化した生育地に生育する多年生植物の個体群では、種子生産や実生更新が他の要因によって強く抑制されていることが多く (e.g. Oostermeijer et al. 1994a; Schmidt & Jensen 2000; Reed 2005)、現存する成熟個体は近親交配の影響を

受けていない過去の健全な交配に由来する残存個体である場合が多い (e.g. Oostermeijer et al. 1994b; Friar et al. 2000; Luijten et al. 2000)。このような個体群では、むしろ個体群の再生によって有性繁殖のプロセスが回復された後にはじめて、近交弱勢の影響が顕在化する可能性がある。しかし、このような影響は理論的には予測されるものの、野外植物個体群における実証的研究は未だ少ない (Oostermeijer 2000)。

本研究のフィールドである霞ヶ浦では、第2章で述べたように1996年からの急激なアサザ個体群の衰退への対策として、湖岸に残存する土壌シードバンクからの個体群の再生を目的とした事業が2000年から開始されている。霞ヶ浦ではアサザの実生更新が強く抑制されていたが (西廣ほか 2001)、第3章に記した研究では、発芽・定着適地となる「セーフサイト (Harper 1977)」の環境条件を湖岸に人為的に確保することで実生更新を実現することに成功した (Takagawa et al. 2005)。

土壌シードバンクはすでに地上個体群から失われた遺伝的多様性を保持している場合があるため (Levin 1990; McCue & Holtsford 1998; Koch et al. 2003)、消滅した個体群の再生における有効な材料として期待される。しかし、一般的に、土壌中の種子の生存力は時間の経過とともに低下する (Roberts & Feast 1973; Pywell et al. 2002)。そのため現在湖岸に残存する土壌シードバンクは、個体群の消滅直前に少数の親間の交配で生産された種子が大半を占める可能性が高く、個体群の再生後に近縁個体間の交配による強い近交弱勢が顕在化するおそれがある。さらに、アサザの自家不和合性は部分的に崩壊していることや (Ornduff 1966)、かつてこの場所には自殖性の高い等花柱花ジェネットが生存していたこと (丸井・鷲谷 1993) を考えると、土壌シードバンクから出現する実生個体の多くが自殖に由来する可能性がある。上杉 (2004) による先行研究からも、湖岸に残存する土壌シードバンクには自殖や近親交配に由来する種子が含まれていることが示唆されている。

本章では近交弱勢が土壌シードバンクから再生される個体群に及ぼす影響を評価することを目的にして、次のような実験を行った。まず、自殖および他殖由来の子孫を受粉実験により作成し、その生活史初期段階における適応度成分を比較することで、霞ヶ浦のアサザ個体群における自家不和合性と遺伝的荷重の程度を評価した。次に土壌シードバンクに由来する実生の適応度成分を受粉実験で得られた自殖・他殖由来の子孫と直接比較することで、適応度成分の変化（低下）の程度を定量的に評価した。さらに、多型性の高いマイクロサテライトマーカーを用いた遺伝解析を行うことで、残存する土壌シードバンクを生産した親の個体数や近親交配の程度を推定した。

方法

人工受粉実験

霞ヶ浦に残存する19ジェネット(ジェネットA~S)のうち、長花柱花4ジェネット、短花柱花6ジェネット、等花柱花1ジェネットの計11ジェネットを用いて受粉実験をおこなった(表4-1)。これらの実験材料は、2000年9月に系統保存を目的として湖の複数の自生地から採取され(Uesugi et al. 2004)、湖に近い実験圃場(水資源機構内の圃場)において水を張ったポリバケツ(直径54cm、高さ70cm)内で栽培・維持されているものである。そして、それらのラメットはすべてマイクロサテライト多型にもとづいて遺伝子型が明らかにされている(Uesugi et al. 2005)。

受粉実験は、2002年の8月から9月にかけて実施した。同一ジェネットのラメット(ジェネットあたり1~7ラメット)をそれぞれ「自殖」(ジェネット内交配)もしくは「他殖」(花型が異なるずれか1つのジェネットとの適法受粉)の受粉処理に割り当てた。また、異なる家系の果実間において母親の選択的中絶や資源分配の影響(Marshall & Ellstrand 1986)により子孫の適応度に差異が生じることを回避するため、各ラメットの花粉親には同一のジェネットのみを使用した。なお等花柱花ジェネットは自殖処

理にのみ用いた。アサザは半日花であるため(van der Velde & van der Heijden 1981)、人工受粉は柱頭が十分な稔性を保っていると思われる開花後4時間以内(およそ午前7時~11時)に次のような手順で実施した。

受粉対象となるラメットの柱頭に、花粉親のジェネットの葯を直接こすりつけて十分な量の花粉を添加し、それぞれの花柄に日付と受粉の交配家系を示したラベルを付した後、寒冷紗で作った袋(目合い 1.0 mm、5×5cm)で花を覆った。また、ラメットを栽培しているポリバケツも寒冷紗(目合い 1.0 mm)で覆い、訪花昆虫による花粉流動を防止した。受粉から一ヶ月経過して十分に種子が熟した後にそれぞれの果実を回収した。

その後の実験には受粉処理を10反復(10花)以上実施できた交配家系のみを使用することとし、その結果9の自殖家系と24の交配家系が準備された(表4-1)。得られた種子について、果実あたりの種子数をカウントした後、交配家系ごとに種子を混合して室温(20℃)で乾燥状態で保存した。

自殖および他殖子孫の適応度成分の測定

得られた自殖および他殖由来の子孫について、生活史の初期段階における適応度成分として、発芽能力、定着段階までの生存率、相対成長率およびバイオマスを、次の手順で測定した。

1) 各家系からランダムに250粒ずつ種子を選び、種子を蒸留水でよく洗浄した後、蒸留水で湿らせた濾紙を敷いたシャーレに50粒ずつ(5反復)播種し、2℃の暗条件(MEDICOOL、SANYO社)で8週間冷湿処理を施した。その後、恒温器(BioTRON、NKsystem社)を用いてアサザの発芽最適温度条件(24/12℃変温 12h交代、12h明暗交代、Marui 1993)の下で発芽させ、新たな発芽(幼根の出現)が見られなくなった2週間後の最終発芽率を記録した。

2) 発芽した種子から各家系50個体をランダムに選び、パーミキュライトを満たしたプラスチックトレイ (11×7×3.5 cm) に10個体ずつ (5反復) 移植して恒温器内の同一条件下で栽培し、本葉が2枚ほど出現した4週間後の生存率を記録した。

3) 各家系から5個体ずつランダムに選んでそれぞれポット (直径8×高さ8cm) に注意深く移植し、定着ステージ (本葉5枚程度) に成長するまでさらに5週間栽培した。2日おきに実生の生存を確認し、発芽から9週目までの生存率を記録した。

4) 発芽から5、7、9週目における各生存個体の根元直径 (D , mm) を測定し、先の実験で得られた以下の近似式を用いてそのバイオマス (W , mg) を推定した。

$$W = 4.213 \times D^3 \quad (R^2 = 0.97, P < 0.0001, n = 50)$$

5) 推定されたバイオマスを用いて、5から7週、および7から9週の間での相対成長率 (RGR) を算出した。

以上のようにして測定された各適応度成分における近交弱勢を、以下の式によって評価した。

$$\delta = 1 - (W_s / W_0)$$

ここで W_s は自殖子孫の適応度成分 (発芽率、4週目の生存率、4から9週目の生存率、バイオマス、RGR) を、 W_0 は他殖由来の子孫の適応度成分を表す。

受粉処理 (自殖および他殖) が個々の適応度成分に及ぼす効果を明らかにするため、混合モデル分散分析による統計解析をおこなった。モデルでは受粉処理を固定効果とし、家系の効果を変量効果として受粉処理にネストさせて解析をおこなった。なお種子数の分析についてのみ、固定効果を「他殖」、「長花柱花および短花柱花の自殖」、「等花柱花の自殖」の3要因として解析し、受粉処理による差の有意性 ($P < 0.05$) はTukey法により検定した。また、バイオマスの解析においては常用対数変換を施した値を用い、死亡した実生はデータセットから除いて解析した。なお発芽後4から9週における生存率については家系内の反復が存在しないため、1) 各受粉処理内の家系ごとの生

存率をサンプルとした分散分析と、2) 個体ごとのセンサスデータを用いた生存分析 (Kaplan-Meier法) により受粉処理の効果を検定した。すべての統計解析はSAS JMP (ver. 5.1.1) を用いておこなった。

実生のサンプリングと適応度成分の測定

2003年の4月に、アサザの個体群再生事業が実施されている霞ヶ浦南西岸の鳩崎地区と、隣接する二ヶ所 (古渡・稲荷鼻) のヨシ原から、湖岸に自然に出現したアサザの実生を採取した。かつてこれらの採取地点が存在する「江戸崎入り」と呼ばれる入り江には、長・短・等花柱花のすべての花型を含むアサザの局所個体群が湖岸に沿って点在していた (西廣ほか 2001; 土谷 私信)。この個体群は1998年に完全に消滅したが、その後も残存する土壌シードバンクに由来すると考えられる実生の出現が湖岸に沿って確認されている。

実生の季節的出現がピークを迎えた4月下旬に、確認された出現実生数の約30%にあたる個体を各地点から採取し、合計250個体 (鳩崎・古渡から各100、稲荷鼻から50個体) の実生を物理的損傷を与えないように注意深く回収した。これまでの野外観察と先の栽培実験の結果から、回収した実生はこの時点で発芽から約2週間経過していると推測できた。回収した実生は実験室に持ち帰り、発芽から2週間経過しているものとして、その後の生活史初期段階の適応度成分を上述した方法と同様に恒温器内の制御環境条件下で測定した。

まず、パーミキュライトを満たしたプレート (11×7×3.5 cm) に実生を10個体ずつ移植した。2週間後 (発芽から4週後) にランダムに選んだ190個体 (鳩崎・古渡から各76、稲荷鼻から38個体) の実生をそれぞれプラスチックポット (直径8×高さ8cm) に移植して、恒温器内で栽培し、発芽9週後まで2日ごとに実生の生存を記録した。また発芽後5、7、9週目のバイオマスを上記と同様の方法で根元直径から推定し、5から

7週、7から9週におけるRGRを同様に算出した。

栽培実験中、実生の頂芽が黄色くしおれた場合には実生が死亡したと見なし、遺伝解析のために個体を回収して -30°C の条件で保存した。栽培実験終了後すべての個体について植物体の一部を採取し、遺伝解析のために -30°C の条件で保存した。

測定された土壌シードバンク由来の実生の各適応度成分について、受粉実験由来の自殖および他殖の子孫の適応度成分と分散分析を用いて比較し、差の有意性 ($P < 0.05$) をTukey法によって検定した。なお4から9週の生存率についてはノンパラメトリックな生存分析 (Kaplan-Meier法) を用いて比較した。

遺伝解析

回収した実生の組織から、CTAB法 (Murray & Thompson 1980) を用いてDNAを抽出し、すでに霞ヶ浦のアサザ個体群において多型性が確認されているDNAのマイクロサテライト領域10座 (Uesugi et al. 2005, 表4-2) をPCR (polymerase chain reaction) によって増幅した。なお、PCRによるDNA増幅は、Applied Biosystems社のGeneAmp PCR System Model 9600または9700を用いておこなった。得られたマイクロサテライト領域のPCR産物について、オートシーケンサー (ABI PRISM 3100 genetic analyzer, Applied Biosystems社) を用いてDNA断片長を解析し、各実生の遺伝子型を決定した。

得られた実生の遺伝子型データを用いて、以下の解析を行った。まず、各サンプリング地点における各座での遺伝子型頻度のハーディー・ワインベルグ平衡からのずれを検定した。解析にはソフトウェアGENEPOP (Raymond & Rousset 1995) を用い、フィッシャーの正確確率検定によりずれの有意性 ($P < 0.05$) を検定した。次に、全実生サンプルおよびサンプリングサイトごとの実生について以下の遺伝的パラメーター、すなわち多型性のある座の率 (P)、座あたりの平均対立遺伝子数 (A)、多型性

のある座あたりの平均対立遺伝子数 (A_p)、サンプルサイズで標準化された平均対立遺伝子数である対立遺伝子多様度 (R_s , Petit et al. 1998)、ヘテロ接合度の観察値 (H_o)、近交係数 (F_{IS} , Weir & Cockerham 1984) を算出した。解析にはソフトウェアFSTAT (Goudet 2001) を用いた。なお F_{IS} の有意性は、ランダムマイゼーションにより個体間の対立遺伝子の交換を1000回施行することで検定した。また、遺伝子座間の連鎖不平衡についてもFSTATを用いて解析した。

次に、残存する土壌シードバンクを形成した個体群が遺伝的ボトルネックを経験したかどうかを、Cornuet & Luikart (1996) の統計手法を用いて検証した。この方法は、個体群が最近強いボトルネックを経験した場合、ヘテロ接合度に比べて対立遺伝子数が急速に減速するため、観察される対立遺伝子頻度から期待されるヘテロ接合度 (H_e) が、観察される対立遺伝子数から突然変異-浮動平衡 (mutation-drift equilibrium) の下で期待されるヘテロ接合度 (H_{eq}) に比べて大きくなることを利用する。解析にはソフトウェアBOTTLENECK (Piry et al. 1999) を利用し、無限対立遺伝子モデルの下での突然変異-浮動平衡を仮定し、5000回のランダムマイゼーションの施行後にウィルコクソン検定を用いてヘテロ接合度の超過の有意性を検定した。

次に、最尤法を用いて実生集団を同一血縁関係のグループごとに分割することで、残存する土壌シードバンクを生産した親の個体数を推定した。この解析には、Goodnightら (1999) の提唱したアルゴリズムを用いて作成されたソフトウェアKinGroup (Konovalov et al. 2004) を用いた。このソフトウェアは、まず選択された2個体のペアの血縁関係について、2個体の遺伝子型と集団の対立遺伝子頻度にもとづいて、帰無仮説と対立仮説 (例えば2個体が全きょうだいである場合と、血縁関係がない場合) の尤度比を算出する。次に、集団内のすべてのペアについて尤度比を算出し、想定しうるすべての集団分割パターンから全体の尤度比が最大となるような分割パターンを探索し、集団を対立仮説の同一血縁グループごとに分割する。本解

析では、3ヶ所の実生回収地点が隣接しており、また消滅した親集団の分布パターンからみてそれらの実生が遺伝的に同一の親を共有している可能性が高いと考えられたため、190サンプルをプールして解析をおこなった。そして、アサザの自家不和合性が弱いことや自殖性の等花柱花ジェネットが過去に確認されていたことから、対立仮説に“自殖もしくは全きょうだい（同じ2両親を共有するきょうだい）”を、帰無仮説に“半きょうだい（一方の親のみを共有するきょうだい）もしくは血縁関係なし”を採用して解析をおこなった。

アサザはしばしば栄養散布体の分散により同一ジェネットが水系内の離れた場所に生育している（Uesugi et al. 2004）。そのため、土壌シードバンクを生産した親個体と遺伝的に相同なジェネットが、湖の別の場所に残存している可能性がある。そこで、2000年頃まで湖に残存していた19ジェネットをそれぞれの実生の親候補として、実生ごとに親ジェネットの直接推定をおこなった。まず単純排斥法により実生と親候補の各遺伝子座の遺伝子型にもとづいて遺伝的に和合な親候補を選定し、その中から最尤法を用いて最も尤度の高い親を決定した。実生集団の対立遺伝子頻度をもとに10,000回のランダムイズを行って親子推定の信頼区間を推定し、信頼度80%以上の親候補を実生の親として決定した。解析にはソフトウェアCERVUS（Marshall et al. 1998）を用いた。この解析により実生の親として1個体が決定された場合は、同様の方法により19個体の親候補からさらにもう一方の親を推定した。

実生の対立遺伝子頻度の観察値からは、サンプリングサイトの近傍に現在でも残存している等花柱花ジェネットであるジェネットR（表4-1）の自殖子孫の優占が示唆された。そこで、この等花柱花ジェネットの自殖で生じる10座ごとの対立遺伝子頻度の期待値からの実生集団の対立遺伝子頻度観察値のずれの有意性を、フィッシャーの正確確率検定を用いて3サンプリングサイトごとに検定した。

最後に、シードバンク由来の実生の適応度成分の低下が遺伝的要因（近交弱勢）に

起因するか否かを検証することを目的に、各実生の適応度成分の値とヘテロ接合度の観察値との関係を回帰分析により解析した。また、同一きょうだい家系に属する子孫のヘテロ接合度観察値の平均値は、その家系を生産した両親2個体の遺伝的な近縁度を反映していると考えられるため (Presciuttini et al. 2002)、KinGroupにより分割された血縁グループごとのヘテロ接合度観察値と適応度成分の平均値を用いた解析もおこなった。

結果

自殖および他殖子孫の適応度成分

果実あたりの種子数は受粉処理により有意に異なり ($df=2$, $F=119.71$, $P<0.001$, 図4-1)、長花柱花および短花柱花の自殖による種子生産数は他殖処理に比べて有意に低かった (適法受粉の3.3%)。しかし、すべてのジェネットで部分的な自家和合性が確認され (果実あたりの平均種子数 0.1~4.7)、稀に10粒以上の種子が生産されることもあった。一方、等花柱花の自殖処理では明らかな自家和合性が確認され、適法受粉の84.0%の種子が生産された。

自殖および他殖子孫の栽培実験の結果、自殖子孫における明らかな近交弱勢が、最終発芽率 ($P=0.006$, $\delta=0.05$)、5週目 ($P=0.005$, $\delta=0.46$) および7、9週目のバイオマス ($P<0.0001$, それぞれ $\delta=0.60$, 0.63)、RGR ($P<0.0001$, 5から7週目では $\delta=0.42$, 7から9週目では $\delta=0.32$) などの複数の適応度成分において検出された (表4-3)。4週目までの生存率における近交弱勢は検出されなかったものの、4から9週目までの生存率については自殖子孫における有意な低下がみられた (分散分析 $P=0.002$, $\delta=0.23$, 生存分析 $P<0.0001$)。いくつかの適応度成分においては交配家系の違いによる効果も有意ではあったが、その説明力は受粉処理の説明力に比べて小さいものであった (表4-3)

シードバンクの遺伝的多様性と血縁関係

マイクロサテライトマーカーによる土壌シードバンク由来の実生の遺伝解析の結果、10座のうち1座においては多型性を確認することができなかった。特に稲荷鼻のサンプルは、多型性のある遺伝子座数や対立遺伝子多様度が、他の地点からのサンプルに比べて低い値を示した(表4-4)。各遺伝子座における遺伝子型頻度のハーディー・ワインベルグ平衡からのずれの検定の結果、多型性のある座の25の検定のうち8つの検定(3つが鳩崎、5つが古渡)において、有意なずれが検出された。また実生の F_{IS} も、3地点をプールした際にはゼロから有意に正にずれていた(ボンフェローニ補正後 $P < 0.05$ 、表4-4)。遺伝子座間の連鎖不平衡は、先行研究(Uesugi et al. 2005)で報告されていた3ペアについては有意な連鎖は検出されなかったものの、多型性のある36ペアのうち11ものペアで有意な連鎖不平衡が検出された。ボトルネックの検定においても、シードバンク由来の実生は突然変異-浮動平衡から有意に分離していることが検出された(表4-4)。

KinGroupを用いた解析の結果、実生集団は異なる親ペアに由来する7つの血縁グループ(それぞれグループI~VII)に分割された(図4-2)。サンプリングサイト別にみると、鳩崎および古渡においてはそれぞれ4つ、稲荷鼻においては2つの血縁グループが認識された。このことは、ここで調査したシードバンク由来の実生の親となった個体の数は、鳩崎および古渡では4から8個体、稲荷鼻ではわずか2から4個体であったことを示している。さらに、血縁グループIに属する実生が古渡および稲荷鼻でそれぞれ86.8%、94.7%を占め、血縁グループIIに属する実生が鳩崎の65.8%を占めるなど、それぞれのサンプリングサイトでは単一の血縁グループが優占していることが明らかとなった(図4-2)。

また、単純排斥法による親子解析の結果、139個体(73.2%)の実生について現存19個体の親候補のなかにいずれか一方の親が認められた。最尤法を用いた両親推定にお

ける排斥率は76.78%、片親推定の際の排斥率は93.92%であった。信頼区間を考慮した推定の結果、127個体(66.8%)の実生について片親以上の親個体が決定された。それらの実生のうちでも、特に等花柱花ジェネットRを両親にもつ、つまりこのジェネットRの自殖に由来する子孫(R×R)が、3サイトすべてにおいて確認された。特に古渡と稲荷鼻ではジェネットRの自殖子孫がそれぞれの全実生の86.8%、94.7%を占めていた(図4-3)。各サンプリングサイトでの対立遺伝子頻度の観察値と、等花柱花ジェネットRの自殖の下での対立遺伝子頻度の期待値との差の検定結果からも、古渡と稲荷鼻では全10座において有意なずれが無いことが明らかとなった(表4-5)。一方鳩崎においては、77.6%(59個体)の実生が湖内に残存する19ジェネットにはみられない固有の対立遺伝子を持っていた。

シードバンク由来の実生の適応度成分

土壌シードバンクに由来する実生の適応度成分は、4から9週目の生存率については適法受粉由来の子孫と有意な差は見られなかった(log-rank test, $P=0.15$)。しかし、バイオマス(5、7、9週目)やRGR(5から7週、および7から9週)については、シードバンク由来の実生は他殖子孫に比べて有意に低い値を示した(図4-4)。バイオマスについては自殖子孫よりもさらに低い値を示していたが(図4-4)、自殖子孫の家系の中で最も適応度成分の低い等花柱花ジェネットRの自殖子孫と比較した場合には、有意な差は認められなかった(たとえば9週目のバイオマスのt-testでは $P=0.15$)。

個体ごとの適応度成分の値のヘテロ接合度の観察値への回帰分析の結果、5週目および9週目のバイオマスに対して、ヘテロ接合度による弱いながらも有意な効果が認められ、ヘテロ接合度が高いほどバイオマスが高い傾向が認められた(表4-6、図4-5)。血縁グループごとの平均値を用いた解析ではより明瞭な正の相関関係が認められ、特に生活史後半においてその関係性は強くなっていた(表4-6)。

考察

アサザの自家不和合性と遺伝的荷重

アサザの自家不和合性の強さは個体群やジェネットによって異なることが知られているものの (Ornduff 1966; Wang et al. 2005)、霞ヶ浦のジェネットを用いた受粉実験の結果、等花柱花における高い自家和合性と、すべての短・長花柱花ジェネットにおける部分的自家和合性が確認された。このことは、個体群の縮小により和合性のある交配相手数や花粉流動が制限された場合、自殖による急速な近交係数の上昇が生じる可能性を示している。等花柱花の自殖処理による種子生産が適法受粉に比べて有意に低下した結果 (図4-1) は、受精から種子生産の段階までに発現する近交弱勢が原因である可能性も考えられるが、これを不和合性による低下と分離して正確に評価するには、家系情報の明らかな個体間の交配や不和合な花型内の交配を組み込んだ系統だった受粉実験 (Eckert & Barrett 1994) が必要である。

自殖および他殖由来の子孫の生活史初期段階における適応度成分を比較した栽培実験の結果、特に成長に関する適応度成分において明らかな近交弱勢が認められた。ただし、この実験で測定された近交弱勢の大きさは、次に述べる要因を考慮するとおそらく過小評価であろう。

本章では恒温器内の制御環境の下で適応度成分の測定をおこなったが、一般的に近交弱勢の強さは (同一の有害遺伝子に起因していたとしても) その環境によって大きく異なり、野外のような厳しい環境においては制御条件下よりも強い近交弱勢が発現することが知られている (Dudash 1990)。アサザにおいては、近交弱勢がもたらすバイオマス蓄積の低下は、野外条件では冠水時の嫌気ストレスや波浪による物理的損傷に対する抵抗力の低下につながり (Weisner & Ekstam 1993; Lenssen et al. 1998; Middleton 1999; Takagawa et al. 2005)、生存率のより顕著な低下をもたらすと考えられる。また、今回の研究では生活史初期の適応度成分しか評価していないが、近交

弱勢は生活史全体を通じた累積的な効果として個体の適応度に影響し、特に成長後期ほど強い近交弱勢が発現することが多い(Husband & Schemske 1996)。アサザの種子生産はバイオマスに強く依存することが知られていることから (van der Velde et al. 1979)、成長後期や種子生産の段階もあわせた累積的な近交弱勢の影響はより大きなものとなると考えらる。

再生された個体群における遺伝的ボトルネックの影響

土壌シードバンクは、特定の絶滅危惧植物の個体群サイズ (Aparicio & Guisande 1997; Fischer & Matthies 1998; Rowland & Maun 2001) や遺伝的多様性 (McCue & Holtsford 1998; Mahy et al. 1999) を回復する材料としてその有効性が指摘されているが、土壌シードバンクから個体群を再生する際に過去の個体群ボトルネックがもたらす遺伝的影響の重要性を具体的に示した研究はまったくない。

本章での研究の結果、地上部個体群の消滅後も残存する土壌シードバンクは、自殖を含むごく少数の親個体の交配に由来することが明らかとなった。注目すべきことは、かつてこの入り江には湖岸に沿って複数花型からなる個体群が存在していたにもかかわらず、等花柱花ジェネットの自殖に由来する子孫が2ヶ所のサンプリングサイトで優占していたことである。今回の親子解析では、実生の多型性が低いために親推定の排斥率はやや低い値となっていた。しかし、単純排斥法からもほぼ同じ結果が得られたことや、この等花柱花ジェネットの遺伝子型と実生の対立遺伝子頻度観測値との正確率検定による比較の結果からも、シードバンクにおける等花柱花ジェネットの自殖子孫の優占が強く示唆された。土壌中における生存種子数の経年的な減少 (Roberts & Feast 1973; Pywell et al. 2002) を考慮すると、土壌シードバンクには最近に生産された種子が多く含まれているものと思われる。等花柱花ジェネットはたとえポリネーションや和合性のある交配相手数が限られても高い種子生産を維持することが可能

であり (Washitani et al. 1994)、個体群の消滅直前まで土壌シードバンクの形成に貢献していたのであろう。

栽培実験の結果からは、シードバンク由来の実生の適応度成分は、自殖由来の子孫と同程度まで低下していることが明らかとなった。遺伝解析から明らかになった実生個体群における自殖子孫の優占や、高い近交係数、適応度成分の値とヘテロ接合度観察値との相関関係 (Keller & Waller 2002; Balloux et al. 2004) から、この適応度の低下が近交弱勢の影響であることが強く示唆される。一方で、現在霞ヶ浦に残存している成熟個体群はむしろヘテロ過剰 ($H_o = 0.63$, $F_{IS} = -0.18$) を示している (Uesugi et al. 2005)。個体群の縮小にともなう生じる近親交配や自殖による近交弱勢の影響は、非遺伝的な要因により実生更新が強く抑制された状況では個体群の遺伝構造や平均適応度に反映されることはないため、むしろ保全対策によって実生更新が再開される際に十分考慮することが重要であることが示唆される。

再生された個体群における遺伝的要因がもたらす影響は、今後も継続する可能性が高い。土壌シードバンクにおいて単一の血縁グループが優占していたことから、次世代でのきょうだい間交配による近交弱勢の発現は避けられないだろう。さらに、検出された過去の個体群ボトルネックのサイズは、これまで理論的に提唱されてきた突然変異メルトダウンが生じる個体群サイズの閾値をはるかに下回っていることから (Lande 1994; Lynch et al. 1995)、既存および新たな有害突然変異の固定・蓄積も個体群の存続性を脅かす可能性がある。実際の野外個体群における影響の程度は、有害遺伝子の強さや性質、自然選択による有害遺伝子の個体群からの除去 (ページ) の効率などに強く依存するが、個体群サイズが極端に小さい状況においては遺伝的浮動や選択干渉の影響により有害遺伝子のページは効果的でなくなり (Hill & Robertson 1966; Keller & Waller 2002)、むしろ有害遺伝子の保有個体の死亡による個体群サイズの減少は確率的な個体群絶滅の危険性を増大するだろう (Frankham 1995b; Miller

& Hedrick 2001)。また、土壌シードバンクには等花柱花の自殖子孫が優占していたが、等花柱花ジェネットの優占が次世代以降も継続するならば、平均自殖率の上昇や異型花柱性の崩壊 (Charlesworth & Charlesworth 1979; Washitani 1996) が生じるおそれもある。

しかし、上述したような遺伝的な問題があったとしても、残存する土壌シードバンクは失われた地上部個体群が保有していた遺伝的多様性を回復しうる唯一の材料である。シードバンク由来の実生の一部からは地上部個体群には存在しない対立遺伝子を持つ個体が検出されたが、それらは残存する個体群からは失われた遺伝子セットをゲノム中に保有している可能性が高い (Schoen & Brown 1993; Bataillon et al. 1996)。失われた遺伝的多様性を少しでも多く回復するためには、残存する土壌シードバンクを活用した再生事業を今後も継続することが重要であろう。

そのためには、本章で明らかとなった遺伝的ボトルネックに伴う影響を回避するための方策が求められる。有効集団サイズの縮小にともなう有害遺伝子の固定・蓄積の影響を最小限にするためには、積極的な管理を行うことで個体群サイズを短期間で増加させることが重要である (Nei et al. 1975; Lande 1994; Kirkpatrick & Jarne 2000)。また、近交弱勢の影響を強く受けた土壌シードバンク由来の個体のみでは野外条件で持続可能な個体群を再生することが困難である場合には、他の地域から個体を導入することによる「遺伝的救済 (Madsen et al. 1999; Tallmon et al. 2004)」によって、すでに固定している有害遺伝子や自殖個体で発現している有害遺伝子の発現を抑制し、有効集団サイズと平均適応度の回復を図ることが必要かもしれない。しかし、そのような系外からの個体の導入は、霞ヶ浦個体群の遺伝構造 (Uesugi et al. 2004) の攪乱や、外交配弱勢 (Hufford & Mazer 2003; Tallmon et al. 2004) をもたらすといった危険性を有していることに注意を払う必要がある。本章でおこなった霞ヶ浦の残存ジェネットを用いた受粉実験の結果を踏まえて考慮すると、霞ヶ浦の同一湖盆内に生育

するジェネットやその花粉を人為的に導入することが、上記のような問題を回避しつつ遺伝的救済を実現する最適な方法であると思われる。

表4-1 人工受粉実験で作成した各交配家系の親ジェネット。アルファベットはそれぞれ親ジェネットの名称を示し、表中の数字は交配処理の反復数を示す。

花型	花粉親	胚珠親										
		A	B	M	O	H	J	K	L	N	P	R
長花柱花	A	-	-	-	-	14	-	-	21	-	13	-
	B	-	50	-	-	43	-	42	31	22	41	-
	M	-	-	27	-	48	22	23	33	20	27	-
	O	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-
短花柱花	H	-	20	25	-	78	-	-	-	-	-	-
	J	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-
	K	-	17	27	-	-	-	21	-	-	-	-
	L	15	41	37	-	-	-	-	34	-	-	-
	N	-	-	-	-	-	-	-	-	41	-	-
	P	-	25	37	-	-	-	-	-	-	39	-
等花柱花	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37

表4-2 アサザのマイクロサテライト領域において多型を示した遺伝子座と、プライマーの詳細。解析に用いたシードバンク由来の実生 ($n = 190$) と、霞ヶ浦の残存個体 ($n = 19$) の解析にもとづく。

遺伝子座	プライマーの塩基配列 (5'・3')	モチーフ	PCR産物のサイズ(bp)	対立遺伝子数
<i>Np152</i>	F: GTTTGGGGATTAGCGGATAG R: CCTAGATAAAGTTTCGGGGATG	(CA) ₁₃	153-163	2
<i>Np207</i>	F: CATTACCGCCTTTCGGAAAAGAGC R: ACTTGGATTGTGCATTCATGGAAATATC	(GA) ₂₃	147-177	7
<i>Np274</i>	F: AACAAAGAAAGGTTCCGGCTCGGA R: GAGACGTCGGTTTTGCCCTTAT	(AG) ₂₂ G(AG) ₆	149-178	5
<i>Np306</i>	F: TTTCTGGGTGTTTCATATTTTC R: GAAAAATCTTGGCACAAAAATTCAGC	(CT) ₁₀	179-204	2
<i>Np382</i>	F: GATCAGTCGACCCGGATTGT R: CCCACACCCGATGTATAATC	(CT) ₁₃ ATC(CT) ₅ AT(CT) ₄ AT(CT) ₅	155-214	7
<i>Np641</i>	F: GCAAAGATAACTCTGCAGAAATTTCTCC R: GTGGGTATACATGTGACGGGTACA	(CT) ₁₅	219-234	4
<i>Np694</i>	F: CGAAGAATCATAGCTCGGCTCTTAAC R: GATTTTCATCGGGAAAAGCAAAGGTC	(TC) ₁₄ (AC) ₁₃	147-186	5
<i>Np730</i>	F: GTCTGGAATCCAGCATTCGATGTC R: CATTCAAACTTGGAAAATGCAGCTT	(TC) ₁₅	142-166	4
<i>Np274-2</i>	F: AACAAAGAAAGGTTCCGGCTCGGA R: GAGACGTCGGTTTTGCCCTTAT	(AG) ₈	133-137	3
<i>Np382-2</i>	F: GATCAGTCGACCCGGATTGT R: CCCACACCCGATGTATAATC	(CT) ₃	127-129	2

表4-3 受粉処理と交配家系が子孫の適応度成分に及ぼす影響。数字は各適応度成分の平均値(±標準誤差)を示す。なお、家系内の反復がない4~9週の生存率については、受粉処理の効果についてのみの一元分散分析の結果を示す。

	受粉処理		δ	処理の効果		家系の効果	
	他殖	自殖		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
発芽率	0.961 ±0.009	0.910 ±0.015	0.053	8.79	0.006	2.63	<0.001
生存率 (0-4週)	0.977 ±0.005	0.974 ±0.010	0.003	0.07	0.786	1.42	0.097
生存率 (4-9週)	0.857 ±0.031	0.663 ±0.051	0.227	10.90	0.002	-	-
バイオマス mg (5週目)	20.39 ±1.65	11.10 ±1.37	0.455	9.01	0.005	1.93	0.006
バイオマス mg (7週目)	84.58 ±7.65	33.51 ±6.55	0.604	16.85	<0.001	1.60	0.040
バイオマス mg (9週目)	251.53 ±20.00	92.60 ±19.09	0.632	22.02	<0.001	1.72	0.022
RGR mg mg ⁻¹ day ⁻¹ (5-7週)	0.080 ±0.004	0.047 ±0.007	0.418	15.84	<0.001	1.22	0.224
RGR mg mg ⁻¹ day ⁻¹ (7-9週)	0.086 ±0.003	0.059 ±0.006	0.319	16.01	<0.001	0.89	0.632

表4-4 土壌シードバンク由来のアサザの実生のマイクロサテライト領域10座についての遺伝的統計量。略語はそれぞれ、4月下旬に湖岸で確認された実生発生数 (N)、遺伝解析に用いたサンプル数 (n)、多型性を示した遺伝子座の割合 (P)、座あたりの平均対立遺伝子数 (A)、多型性のある座あたりの平均対立遺伝子数 (A_P)、対立遺伝子多様度 (R_S)、ヘテロ接合度の観察値 (H_o)、近交係数 (F_{IS}) を示す。近交係数について、0から有意 ($P < 0.05$) にずれている値にはアスタリスクを付した。*Bottleneck*の値は、ボトルネック検定による P 値を示す。

サイト	N	n	P	A	A_P	R_S	H_o	F_{IS}	<i>Bottleneck</i>
鳩崎	263	76	0.9	2.80	3.00	2.68	0.44	0.04	0.004
古渡	251	76	0.9	2.40	2.56	2.27	0.35	0.04	0.020
稻荷鼻	94	38	0.7	1.70	2.00	1.70	0.35	-0.01	0.008
全体	608	190	0.9	3.10	3.33	2.77	0.39	0.17*	0.002

表4-5 フィッシャーの正確確率検定を用いた、各サンプリングサイトでの対立遺伝子頻度の観測値と等花柱花ジェネットの自殖の下での期待値とのずれの有意性の検定。解析は座ごとに行い、表には*P* 値を示す。

サイト	遺伝子座名									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
鳩崎	0.73	<0.001	<0.001	<0.001	1.00	0.88	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
古渡	0.95	0.50	0.50	0.56	1.00	0.82	0.18	0.17	0.33	0.16
稲荷鼻	0.52	1.00	1.00	0.25	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.52

表4-6 単回帰分析を用いた、シードバンク由来の実生の適応度成分とそのヘテロ接合度観察値との関係の解析結果。解析は個体ごとの値と（左）、分割法により推定された血縁グループごとの平均値（右）を用いて行った。

適応度成分	個体				血縁グループ			
	β	切片	R^2	P	β	切片	R^2	P
生存率（4-9週）	-0.800	34.247	0.001	0.683	2.782	32.292	0.026	0.729
バイオマスmg（5週目）	0.843	1.119	0.043	0.004	1.483	1.001	0.418	0.116
バイオマスmg（7週目）	0.601	1.982	0.015	0.103	2.250	1.419	0.768	0.010
バイオマスmg（9週目）	1.112	2.743	0.027	0.028	4.197	1.622	0.841	0.004
RGR mg mg ⁻¹ day ⁻¹ （5-7週）	-0.017	0.061	0.005	0.323	0.061	0.025	0.284	0.218
RGR mg mg ⁻¹ day ⁻¹ （7-9週）	0.039	0.051	0.020	0.058	0.137	0.013	0.596	0.042

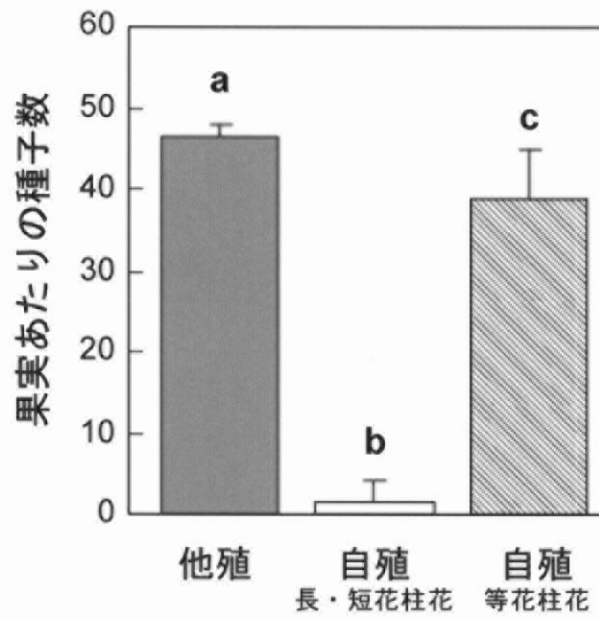


図4-1 受粉処理がアサザの種子生産に及ぼす影響。棒グラフの値は平均値 (±標準誤差) を示し、処理による差の有意性 ($P < 0.05$) はTukey法により検定した。

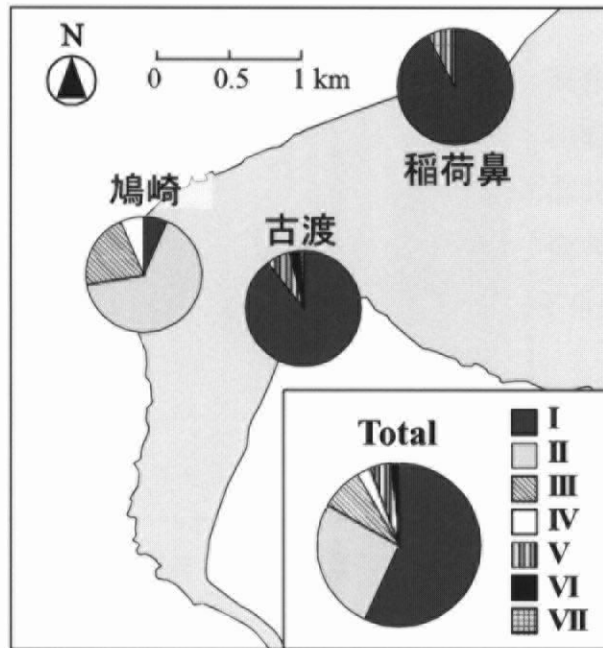


図4・2 遺伝解析により推定した、土壌シードバンクに由来する実生が属する血縁グループの数とその割合。なお、同一の血縁グループに属する個体は、共通する両親を持つ同一家系のきょうだいである。

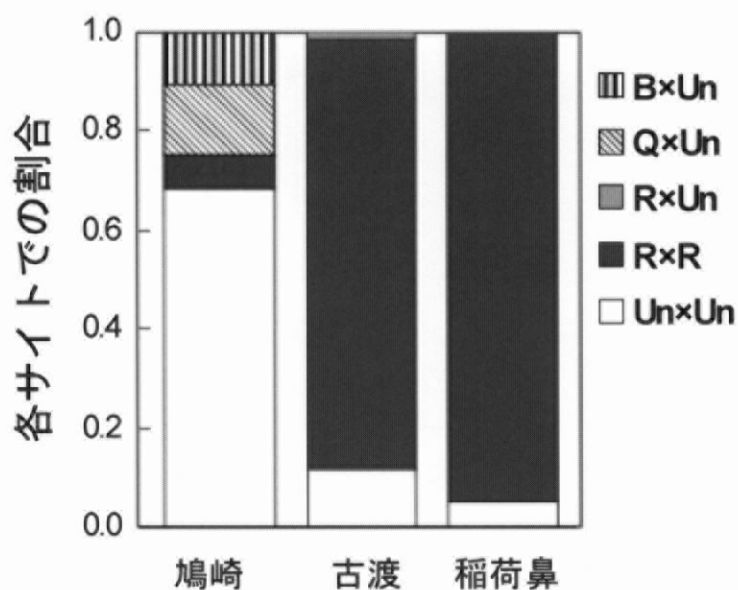


図4-3 マイクロサテライトマーカーを用いた親子解析により、シードバンク由来の実生の親として推定されたジェネットと、各サンプリングサイトにおけるその割合。アルファベットは親候補とした湖内の残存19ジェネットの名称 (AからS) を示し、“Un” はそれ以外の不明なジェネットを示す。

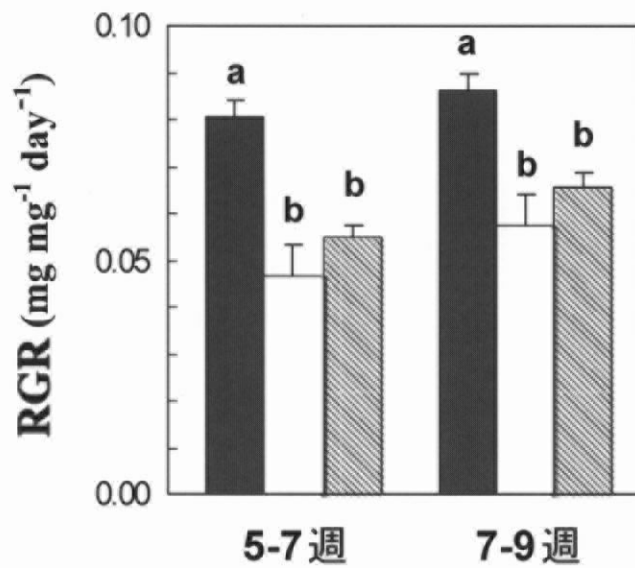
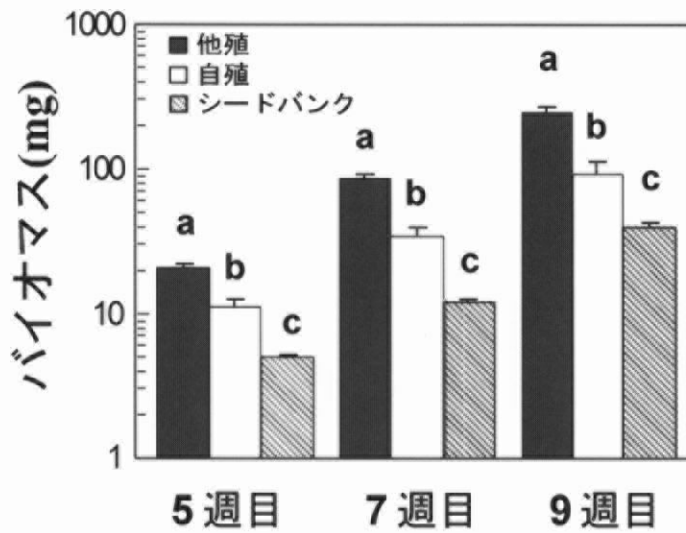


図4-4 自殖および他殖子孫と比較した、シードバンク由来の実生の適応度成分。棒グラフは各適応度成分の平均値（±標準誤差）を示し、差の有意性（ $P < 0.05$ ）はTukey法を用いて検定した。

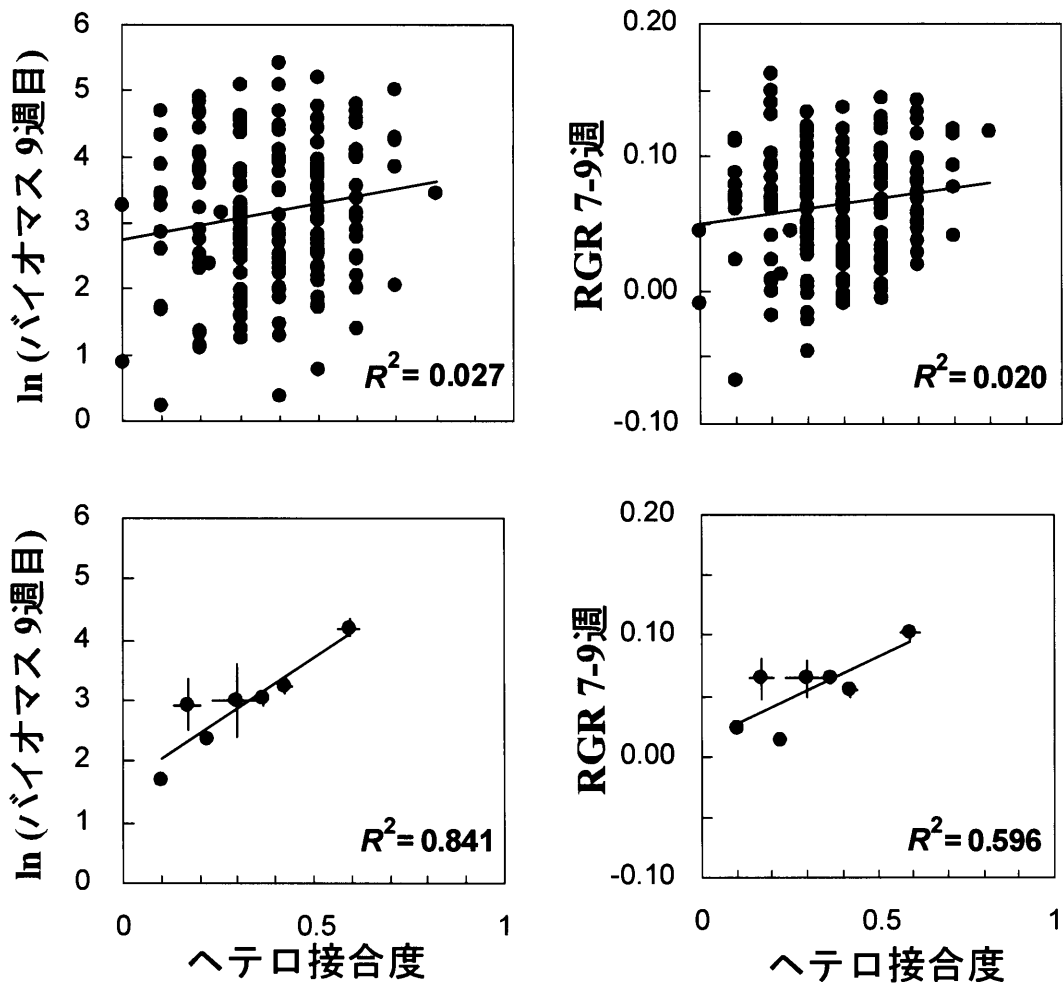


図4-5 実生の適応度成分と、マイクロサテライト領域10座におけるヘテロ接合度の観察値との関係。上のグラフは個体ごとの値、下のグラフは血縁グループごとの平均値(±標準誤差)を用いて示した。直線はその2変数間の単回帰直線を表している。