

平成 22 年 5 月 27 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19380081

研究課題名 (和文) 樹木個体群における自然選択に対する遺伝適応の実態解明

研究課題名 (英文) Genetic adaptation of tree populations to natural selection

研究代表者 後藤 晋 (GOTO SUSUMU)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：60323474

研究成果の概要 (和文)：

北海道中央部において低標高 (300m) から山頂付近 (1400m) に天然分布するアカエゾマツ集団の針葉形態と生理特性を調べた結果、針葉形態では葉密度や個葉の厚み、生理特性では窒素に対するクロロフィル量に標高に応じたクラインが認められた。これらのクラインは、同一産地標高由来の種苗を 4 標高域 (530、730、930、1100m) に植栽した移植集団においても同様に認められたことから、表現型可塑性によるものであると考えられた。我々の研究グループは同じ山腹斜面に設定されたトドマツの標高間相互移植試験において、トドマツでは自生標高への強い遺伝適応がみられることを明らかにしているが、本研究により、アカエゾマツでは標高に対する遺伝適応の程度はトドマツよりも弱く、逆に表現型可塑性を發揮させていたことが明らかになった。次に、天然集団の遺伝的分化度をマイクロサテライトマーカーとアロザイムマーカーで評価するとともに、環境特異的な変異を示す遺伝子座の検出を試みた。遺伝的分化度では、マイクロサテライトマーカーよりもアロザイムマーカーの方が高く推定された。マイクロサテライト遺伝子座では環境に特異的な変異は検出されなかったが、アロザイム遺伝子座の一部で山頂付近の高標高集団にしか出現しない変異が観察された。既存研究では、山頂付近のアカエゾマツ集団に由来する種苗の成長が中標高産の種苗に比べて遅いことが指摘されていることから、山頂付近の矮化した集団は遺伝的に異なるエコタイプである可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

Natural populations of *Picea glehnii* distributes in various altitudes from lowland nemoral (300 m asl.) to alpine zone (1400 m asl.) in central Hokkaido. We investigated morphological and physiological traits of needles from these natural populations ranging from 300 m to 1400 m asl. Clines along the altitude were detected in both morphological (needle density and thickness) and physiological traits (the ratio of chlorophyll a+b / nitrogen). Since the similar clines were observed in altitudinal transplant replications (530, 730, 930, and 1100m asl.), phenotypic plasticity might be one of the causes of this altitudinal differences. We found that *Abies sachalinensis* showed strong local adaptation to the original altitudinal zones in the same mountainous slope through the reciprocal transplant experiments. Therefore, we concluded that the extent of genetic adaptation to altitude of *P. glehnii* was lower than that of *A. sachalinensis*. Subsequently, we used microsatellite and allozyme markers, in order to evaluate genetic differentiation among populations of *P. glehnii* and to detect non-neutral loci against natural selection along the altitude. The extent of genetic differentiation obtained by microsatellite markers was lower than that by allozyme markers. None of microsatellite loci were related to the environment. In contrast, certain allozyme variation was detected only in alpine population. Previous studies had revealed that seedling growth from dwarf populations in alpine zones was significantly lower than that from middle-altitude populations. These findings indicated that dwarf populations in alpine zones might be different ecotype from other populations of *P. glehnii* in central Hokkaido.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	5,900,000	1,770,000	7,670,000

研究分野：農学・

科研費の分科・細目：林学・林学・森林工学

キーワード：森林生態・保護・保全・適応的遺伝子

1. 研究開始当初の背景

永年性で多様な環境に生育する森林樹木種は様々な自然選択を受けながら集団を維持している。自然選択の帰結は現存する集団が保有する遺伝変異に反映され、集団間あるいは集団内の遺伝構造が形成されると考えられる。しかし、遺伝的分化度が低い樹木集団では、自然選択に対する遺伝適応の検出例が少なく、どのような自然選択に対して、どの程度のスケールで適応が起こるのかは明らかになっていない。山岳地帯では標高に応じて環境が著しく変化することから、標高に対する環境変異と遺伝適応の実態を評価することで、自然選択と遺伝適応の関係を明らかにできると考えられる。

研究代表者である後藤は、湿地帯、高山帯、火山礫帯など異質な環境下に隔離分布するアカエゾマツについて、高山帯の集団は樹型や針葉の形態形質が他とは明瞭に異なっていることから、標高に伴う温度や紫外線量の変異が自然選択となり、樹木集団の遺伝適応が起こっているのではないかと考えた。一方、共同研究者である北村は、これまで酵素多型を利用した集団統計遺伝学の研究を展開する中で、生育環境の微細な違いによって森林樹木種の遺伝構造が発達することに着目した。従来から自然選択に対して適応的な挙動を示す酵素種の存在が示唆されていることを考え合わせ、環境と相関の持つ酵素種を抽出できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、北海道中央部に位置する東京大学大学院農学生命研究科附属北海道演習林の大麓山南西斜面において、低標高(300m)から山頂付近の高標高(1400m)まで天然分

布するアカエゾマツ集団を対象に一連の研究を行った。

1) 天然集団に温度、水分、光条件等のデータロガーを設置して、標高に応じた環境変異を定量的に評価した。

2) 天然集団から任意に選んだ個体の針葉形態、生理特性を測定し、形態形質や生理特性の各パラメータが、標高に応じたクラインが認められるかどうかを検討した。

3) 同一産地標高(690m)から異なる4標高(530、730、930、1100m)に植栽した移植集団において、天然集団と同様に針葉形態と生理特性のクラインを示すかどうかを検討した。

4) 2つの種子産地標高(690mと1080m)の種苗を1か所(400m)に植栽した産地試験地において、次世代の生存と成長に産地標高が及ぼす影響を調べた。

5) マイクロサテライトマーカーとアロザイムマーカーを用いてアカエゾマツ天然集団間の遺伝的分化度を測定するとともに、環境特異的な変異を示す遺伝子座の検出を試みた。

3. 研究の方法

3.1 天然集団の環境条件の計測

300mから1400mまでの標高域において、9つのアカエゾマツ天然集団を選出し、各集団の大気温度および湿度を、地上から約2mの高さに設置した温湿度計によって測定した。8月下旬に、採土円筒で土壌を採取し、体積含水率、pH、C/N比を測定した。また、2008年9月上旬、林外の曇天条件下で、光合成有効光量子束密度(PPFD)および紫外線B量を測定し、(紫外線B量)/(PPFD)か

ら、紫外線率を算出した。

3.2 針葉形態および生理特性の測定

前述した9集団から無作為にアカエゾマツ天然個体をそれぞれ20個体選定した。7~8月に、各個体の樹高の1/3程度の高さにある日当たりのよい1年生シュートを採取した。各個体の1年生シュート3本について、針葉数とシュート長を測定し、(針葉数)/(シュート長)から葉密度を算出した。また、複数の1年生シュートからランダムに針葉を採取し、LIA32により葉面積を測定した。葉面積測定後、60℃のドライオープンにて48時間乾燥させ、絶燥重量を測定し、(葉面積)/(葉重量)から Specific leaf area (SLA) を算出した。さらに、複数の1年生シュートからランダムに10本針葉を採取し、形状解析ソフト SHAPE を用いて、針葉の形状の測定を行った。

各個体の1年生シュートからランダムに葉を採取し、葉の窒素濃度、葉のC/N比、葉のクロロフィルaとbの総量及び比率を測定した。採取した葉は60℃のドライオープンにて48時間乾燥させ、絶燥重量を測定し、NCアナライザーによって炭素、窒素濃度を定量した。また、一部の葉は採取直後にDMSOに浸透し、60℃のドライオープンにて48時間抽出を行い、分光光度計によって抽出液中のクロロフィルaおよびb量を定量した。

3.3 標高別試験地の解析

同一種子産地標高(690m)から種子を採取し、標高530m、730m、930m、1100mに植栽した標高別造林試験地を対象に、各植栽地から20個体を無作為に選定し、天然集団と同様に形態形質と生理特性を測定した。

3.4 産地標高が次世代苗の成長に及ぼす影響の解明

異なる2つの産地標高(690mと1080m)に由来する種苗を苗畑で育成し、同一標高(400m)に植栽した産地試験地において、9年生苗の樹高と根本径を測定し、次世代苗の成長に産地標高が及ぼす影響を調べた。

3.5 遺伝的分化度と非中立遺伝子座の検出

標高300mから1400mの天然集団を対象に7遺伝子座のマイクロサテライトマーカー、8酵素種10遺伝子座のアロザイムマーカーを用いて集団遺伝学的解析を行った。マイクロサテライト分析では、キアゲン社のDNeasy Plant Mini Kitを用いてDNA抽出を行い、7マイクロサテライト遺伝子座においてPCR増幅を行い、ABI社のシーケンサー3100を用

いて遺伝子型の決定を行った。アロザイムマーカーは、代謝系に関わる酵素多型を調べるため、8酵素種10遺伝子座(Acp, G6p, G3p, Mdh, Got2, Got3, Pgi, Pgm1, Pgm2, Tzo)におけるアロザイム変異の解析を行った。アロザイム変異の解析では、酵素粗抽出液をアクリルアミド垂直電気泳動法によって分画し、活性染色によって遺伝子型を読み取り対立遺伝子頻度を計算した。

いずれも得られた対立遺伝子頻度より、遺伝的分化の程度をコンピュータープログラムFSAT ver. 2.9 (Goudet 2002)で遺伝的分化度を求めた。また、環境特異的な変異を持つ遺伝子座の検出を行った。

4. 研究成果

4.1 環境条件の変異

表1に環境条件と標高の関係を示した。標高に沿った明確な変異を示したのは温度、紫外線率であり、高標高域ほど気温が低く、紫外線率が高い傾向が見られた。一方、土壌の環境条件は標高との関係が明瞭でなく、土質の影響が強く反映されていると考えられた。

表1 天然集団の標高と環境条件

Stand name	Altitude (m)	Soil type	Temperature (C)	RH (%)	UVB ratio (%)	VWC (%)	Soil pH	Soil C/N
Peak	1459	Tuff	10.3	87.9	0.49	31.3	4.7	32
Alpine	1373	Tuff	11.1	86.9	0.41	22.2	4.8	29
C11	848	Tuff	13.5	86.9	0.42	18.7	4.7	29
C13	746	Swamp	13.9	88.0	0.39	62.1	4.8	28
Mae_u	699	Swamp	14.4	84.5	0.38	65.9	5.6	23
C90	684	Tuff	14.3	87.5	0.36	23.2	5.4	27
Mae_l	631	Swamp	14.9	85.2	0.34	50.0	5.2	37
C25	361	Tuff	16.0	84.9	0.37	19.6	5.9	31
C27	335	Tuff	16.1	84.9	0.27	8.7	5.4	35

4.2 形態形質の変異

図1に針葉形態の結果を示した。標高に沿った明確な変異を示したのはSHAPEの第一主成分、葉密度であり、天然集団と標高別試験地で明確な傾向の違いは認められなかった。SHAPEの第一主成分は主に葉の厚みを反映しており、高標高ほど厚い葉を密度高く展開していると考えられた。高標高域では気温が低いにもかかわらず紫外線量が多く、植物にとっては過剰な放射エネルギーが供給されている環境であると考えられる。このため、厚い葉を密度高くつけることで、葉の光阻害をある程度抑制していると考えられる。天然集団と標高別試験地で明確な傾向の違いが見られなかったことから、これらの標高に沿った針葉形態の変異は、主に環境条件に対する可塑性で生じていると考えられる。

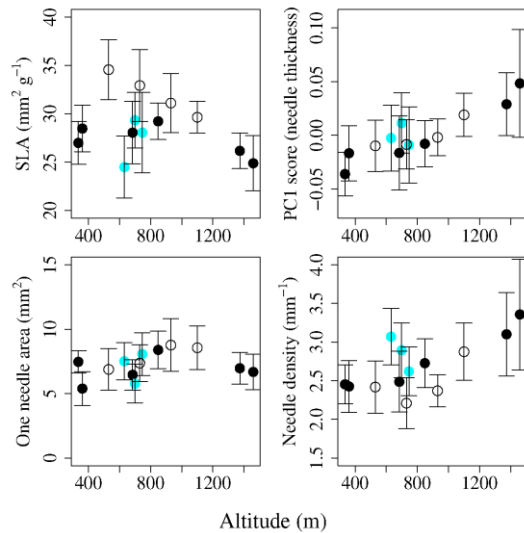


図1 標高と形態変異の関係 (●天然集団, ○移植集団)

4.3 生理特性の変異

図2に生理特性の結果を示した。標高に沿った明確な変異を見せたのはクロロフィルabの総量/窒素量であった。クロロフィル量は集光系への投資量であるから、窒素量に対するクロロフィル量は集光系への投資の割合を示すと考えられる。高標高域でクロロフィル量/窒素量が減少していたことは、高標高域では光を集めないようにしていることを示唆した。

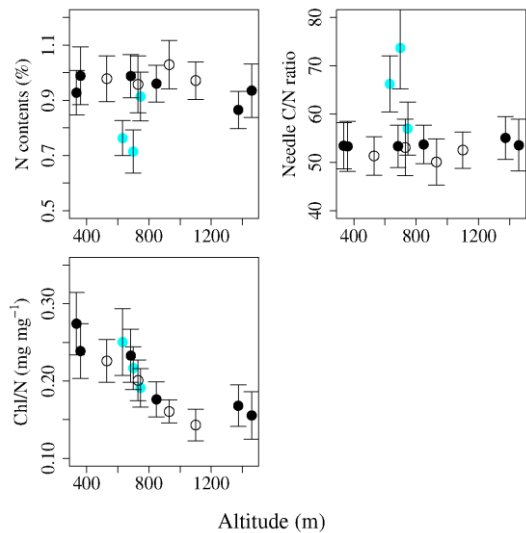


図2 標高と生理特性の関係 (●天然集団, ○移植集団)

4.4 産地標高が次代苗の成長に及ぼす影響

産地試験地において、9年生苗の樹高と根本径を測定し、産地標高の環境が次代苗の生

存や成長に及ぼす影響を検討した結果、いずれの成長形質も母樹間で有意な差があるものの、産地間で有意な差がなかった。このことから、次代苗の成長形質は種子産地標高の影響を受けないことが示された。

4.5 天然集団の遺伝的分化度と環境特異的な遺伝子座の検出

マイクロサテライトマーカーとアロザイムマーカーを用いて集団間の遺伝的分化度を調べた結果、マイクロサテライトマーカーで測定された集団間分化度 F_{ST} は0.03と低いものに対して、アロザイムの遺伝的分化係数 G_{ST} は0.09であり、マイクロサテライトマーカーに比べて高い値を示した。

また、マイクロサテライト遺伝子座では、環境特異的な変異を示す遺伝子座は認められなかったが、アロザイム遺伝子座では、高標高集団にしか出現しない変異が観察された。これらの変異が生育環境に適応したものであるかどうかは現時点では不明であるが、他のトウヒ属では生育温度との関連が認められている。観察された変異は、今後アカエゾマツでの酵素多型と生育環境との適応を明らかにする上で重要な知見となると期待できる。

4.6 結論

天然集団の環境を調べた結果、温度と紫外線が標高に沿って著しく変化し、自然選択の一因になっていることが示唆された。天然集団の針葉形態および生理特性を調査した結果、形態形質として葉密度や個葉の厚み、生理形質として窒素に対するクロロフィル量では標高に応じたクラインが認められた。これらのクラインは、同一種子産地の次代苗を異なる4標高域に植栽した標高別造林試験地でも同じ傾向が認められた。産地試験の結果においても、次世代の生存や成長に産地標高の影響は認められず、600mから1100mの標高域で見られるクラインは表現型可塑性によるものであることが示唆された。トドマツの標高間相互移植試験地では自生標高に強く適応遺伝していることが知られており、トドマツに比べてアカエゾマツでは標高に対する遺伝適応の程度が小さいと考えられた。

また、マイクロサテライトマーカーとアロザイムマーカーを用いて天然集団間の遺伝的分化程度を調べた結果、アロザイムマーカーの方が遺伝的分化度が高いという結果となった。また、マイクロサテライト遺伝子座では環境に特異的な変異は認められなかったが、アロザイム遺伝子座では高山帯にしか出現しない変異が認められ、アロザイムでは非中立的な遺伝子が含まれる可能性を示唆した。既存研究では、山頂付近産の苗木の成

長が中標高産の苗木に比べて遅いことが指摘されており、山頂付近の矮化した集団は遺伝的に異なるエコタイプになっている可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

Goto S, Iijima H, Ogawa H, Ohya K. 2009. Outbreeding depression caused by intraspecific hybridization between local and non-local genotypes in *Abies sachalinensis*. Restoration Ecology. doi: 10.1111/j.1526-100X.2009.00568.x

Goto S, Tsuda Y, Koike Y, Lian C, Ide Y. 2009. Effects of landscape and demographic history on genetic variation in *Picea glehnii* at the regional scale. Ecological Research, 24(6): 1267-1277

[学会発表] (計3件)

飯島勇人・北村系子・後藤晋: 高山・湿地・火山礫上に生育するアカエゾマツ針葉の形態および生理特性変異. 日本森林学会, 平成20年3月, 東京農工大学

飯島勇人・北村系子・石塚航・後藤晋: 標高の違いがアカエゾマツの針葉形態・生理・遺伝構造に与える影響. 日本生態学会, 平成21年3月, 岩手大学

後藤晋・小川 瞳・石塚 航・木村徳志・松井理生・岡村行治・大屋一美・道上昭夫: 種子産地の環境がアカエゾマツ次世代苗の生存と成長に及ぼす影響～湿地産 vs 高標高産の産地試験から～. 日本森林学会, 平成22年3月, 筑波大学

[図書] (計3件)

後藤晋. 2008. ウダイカンバ・シラカンバ・ダケカンバ. (北海道における林木育種と森林遺伝資源, 北海道林木育種協会編), pp149-158

後藤晋. 2008. ヤチダモ・アオダモ. (北海道における林木育種と森林遺伝資源, 北海道林木育種協会編), pp181-188

後藤晋. 2009. ジーンフロー研究の成果をどのように森林管理に活かすか? (北の森づくり Q&A 北方林業会そう率60周年記念誌, 北方林業会編, 201ページ), pp82-85

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

6. 研究組織

(1)研究代表者

後藤 晋 (GOTO SUSUMU)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号: 60323474

(2)研究分担者

北村 系子 (KITAMURA KEIKO)

独立行政法人森林総合研究所・北海道支所
森林育成研究グループ・研究員

研究者番号: 00343814