

平成21年 5月 7日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19380082
 研究課題名（和文） 地域スケールにおける樹木の遺伝構造の解明と森林生態系管理への提案
 研究課題名（英文） GENETIC STRUCTURE OF TREE SPECIES IN LOCAL SCALE AND ITS APPLICATION FOR FOREST ECOSYSTEM MANagements
 研究代表者
 井出 雄二（IDE YUJI）
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
 研究者番号：90213024

研究成果の概要：

森林の遺伝的多様性の保全に資するため、ウダイカンバ、モミ、コナラ、ミズナラを対象として、（1）更新のタイプや更新段階の違い、（2）標高や傾斜など林分の立地条件、（3）遺伝子流動を阻害するような地形的隔離の3つの視点から遺伝的多様性への影響を研究した。その結果、林分の更新の様態、密度、立地環境などが繁殖を通じて次世代の遺伝的多様性に強い影響を及ぼすこと、同一地域でも気候や地形による隔離が遺伝構造を規定してことが明らかになり、これらを考慮した、森林生態系管理の重要性が示された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	6,500,000	1,950,000	8,450,000
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
総計	10,500,000	3,150,000	13,650,000

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・保全・遺伝的多様性

1. 研究開始当初の背景

これまで、わが国の多くの樹種について、その地理的な遺伝変異の存在様式、集団内の遺伝変異や遺伝構造、集団間の遺伝子流動等さまざまな角度から研究が行われ、種ごとの遺伝的多様性の全貌が明らかになりつつある。

研究代表者らは、これまで森林の遺伝的多様性の保全には、種の進化的背景を重視することと個別林分の遺伝的多様性維持が重要であると考え、広域にわたる種内の遺伝的変異の把握によるESU（Evolutional Significant Unit）の設定や、林分ごとの健全な交配の確保が不可欠であると考え研究

を進めてきた。

ところが、同一地域内における複数の林分の調査の結果、地域間におけるような大きな遺伝的多様性の違いはないにしろ、比較的狭い範囲においても、遺伝的多様性の内容は林分ごとにより異なっていることが認識された。

こうした事実から、実際の森林はさまざまな場所に更新を繰り返し、種はそのダイナミズムの中で維持されているため、単に個別林分において任意交配により種子が生産されるだけでなく、それらがさまざまな過程を経て一定地域内に健全に更新することが不可欠であり、樹木の遺伝的多様性保

全のためには、景観スケールでの遺伝的多様性の存在実態を理解した上で、具体的方策を講ずることが必要と考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、これまで研究代表者らが森林における遺伝的多様性の研究対象としてきた、ウダイカンバ、ミズナラ、モミを主要な対象として、それぞれの樹種の繁殖特性を踏まえて、3,000haから30,000haの景観スケールでの遺伝的多様性を生み出している要因を明らかにするとともに、それらの影響の程度について、特に明らかにすべき要因として以下の3項目について研究を行い、議論した。

- (1) 更新のタイプや更新段階(林齢)の違いが遺伝的多様性に及ぼす影響
- (2) 標高や傾斜など林分の立地条件と遺伝的多様性の関係
- (3) 遺伝子流動を阻害するような地形的隔離が遺伝的多様性に及ぼす影響

3. 研究の方法

(1)更新のタイプや更新段階の違いが遺伝的多様性に及ぼす影響

ウダイカンバ：更新タイプのことなるウダイカンバ天然林において個体位置と遺伝子型の関係を明らかにし、更新タイプ、立木密度別に遺伝構造や次世代への影響を明らかにする。

モミ：林齢や生育密度の異なる複数林分において、成木および実生の遺伝子型から、林分の発達プロセスと現世代および次世代の遺伝的多様性の関係を明らかにする。

(2) 標高や傾斜など林分の立地条件と遺伝的多様性の関係

ミズナラ：特定地域の異なる標高域のミズナラ林分からサンプルを採取し、遺伝的多様性の指標を算出し比較する。また、複数の傾斜の異なる林分を調査地として設定し、林分の遺伝構造を調査するとともに、実生についても遺伝構造を明らかにする。

(3)遺伝子流動を阻害するような地形的隔離が遺伝的多様性に及ぼす影響

ミズナラ、コナラ：特定の地理的まとまりのある地域において、それぞれ複数の林分を設定し、それぞれ遺伝的多様性を調査する。各地域内および地域間の比較から、山岳地形の遺伝的多様性への影響を評価する。

4. 研究成果

(1)更新のタイプや更新段階の違いが遺伝的多様性に及ぼす影響

林分の個体密度がウダイカンバ(*Betula maximowicziana*)の雌雄繁殖成功に及ぼす影響

東京大学北海道演習林の、ウダイカンバの個体密度が大きく異なる(1.9~300本/ha)林分において、個体密度が本種の雌雄繁殖成功におよぼす影響について評価した。

まず、樹上種子とシードトラップで補足した散布種子の有胚率および発芽率を測定し、成木の個体密度が種子の有胚率および発芽率におよぼす影響を、一般化線形混合モデルにより検討した。さらに、樹上種子950個、および散布種子940個の芽生えについて11座のマイクロサテライトマーカーを用いて遺伝子型を決定し、これらから他殖率および有効花粉親数(Nep)を算出した。また、樹上種子の遺伝子型から推定した花粉プールと散布種子の、空間的な遺伝構造も評価した。表1に結果の一部を示す。

散布種子は、最も個体密度の高い林分と最も個体密度の低い林分においての有胚率および発芽率が有意に低かった。GLMMの解析の結果、散布種子に関してはhaあたり120本において有胚率および発芽率が最も高くなること示された。複数遺伝子座における他殖率の推定値は、個体密度に関係なく全体に高かった(tm=0.995)。対照的に、Nepは最も個体密度の低い集団で低かった。散布種子の集団内遺伝構造は個体密度の低い2林分において有意な集中分布が認められ、このことは低密度化による種子散布範囲(seed shadow)の重なり程度の低下による構造化が生じているためと思われる。

これらのことから、高密度で林分内に同一樹種が存在することで、遺伝的多様性の高い種子が必ずしも生産されるわけではなく、種子の遺伝的多様性を高く保つために最適な密度が存在することが示された。すなわち、一斉更新したウダイカンバ林では、次世代の遺伝的多様性を高く保つためには、間伐などにより適当な密度を実現することが重要であるといえる。

表-1 調査集団のウダイカンバ密度と他殖率および有効花粉親数

林分	森林型	ウダイカンバ密度 (ha ⁻¹)	林分密度 (ha ⁻¹)	他殖率 (tm)	有効花粉親数 (Nep:1/2 Φ _{FT})
M33	混交	1.9	517	0.989	6.0
M104	"	14.3	645	0.990	7.7
PF71	一斉	90.6	471	0.998	9.1
PF28	"	300.0	1996	0.991	5.7
全体				0.995	7.0

成熟程度の異なるモミ (*Abies firma*) 林の繁殖特性

東京大学千葉演習林内の成熟段階の異なる5つのモミ同齡林分において、成木約100個体から針葉を、うち林分内に実生が認められた4林分から当年生実生96個体を採取し、核マイクロサテライトマーカー9座および葉緑体マイクロサテライトマーカー3座により遺伝的多様性および集団間の分化程度を評価した。

表2に結果の一部を示す。

成木では核DNAで見た場合、成熟した林で遺伝的多様性が高かったが、葉緑体DNAでは一定の傾向が見られなかった。これは、調査面積が広い林分ほど多くの母樹由来の個体から構成されていることを示している。一方、花粉飛散距離は、種子散布距離より大きいと、寄与する父親の数は面積に関わらず同程度であったと考えられる。すなわち、遺伝的多様性の違いは、林分の成熟段階による違いではないと推察された。

林分内に更新した実生では、成熟林分において、自殖に由来する個体が多い傾向が認められた。これは、成木の個体間距離が離れているため、十分に他個体の花粉を受け取れないことによるものと考えられた。また、成熟林分では、ほとんどの交配が林分内の個体の花粉由来で起こっていると推察された。一方、比較的若い2林分では、面積が狭いため林分外からの頻繁な花粉流動が行われているが、種子散布は林内に限られていた。

以上より、モミの成熟段階による遺伝的多様性および繁殖の特徴およびそれを導く要因が示された。特に、繁殖を通じて次世代の遺伝的多様性に影響を与えることから、林分の面積が管理上重要な要素であることが示された。

表-2 調査林分の密度と核および葉緑体 SSR 遺伝子座における遺伝的多様性

林分	面積 (m ²)	密度 (ha ⁻¹)	成木実生の別	核 SSR			葉緑体 SSR
				H _E	A _r	F _{IS}	A _r
NG	570	1772	成木	0.659	9.7	-0.011	46.8
NA	190	484	成木	0.671	10.2	0.045	42.0
KJ	260	373	実生	0.657	9.6	0.050	39.9
			成木	0.665	9.5	0.050	38.9
MN	830	110	実生	0.648	9.5	0.030	27.0
			成木	0.689	10.4	0.034	43.0
DO	490	22	実生	0.676	9.4	0.059*	31.0
			成木	0.693	10.3	0.030	38.4

	実生	0.683	10.0	0.079*	32.0
全体		0.679	10.5		57.6

H_E:ヘテロ接合体率の期待値、A_r:対立遺伝子多様度、F_{IS}:近交係数、*:F_{IS}の0からの差が有意であることを示す

まとめ

以上のように、集団の遺伝的多様性は、樹種によりそのパターンは異なるものの、集団内の成木密度に関連した、遺伝流動パターンによって強く規定されており、次世代集団の遺伝的多様性維持のためには、適切な林分密度の管理ならびに、面積の確保が必要であることが示された。

(2) 標高や傾斜など林分の立地条件と遺伝的多様性の関係 (レビュー)

山地における垂直及び水平方向の傾度に沿った植物種の遺伝的多様性のパターン

集団内の遺伝的多様性が標高に応じて変動するパターンには4タイプのもので報告されている。標高と遺伝的多様性について解析された42の研究例のうち、11例において、中標高域の遺伝的多様性がそれ以上やそれ以下のものに比べて高い結果となった。これは地理的に中央に位置する集団は、周縁の集団にくらべて、より適した環境にあるためと考えられる。一方、より標高の高い集団ほど標高の低い集団に比べて遺伝的多様性が低いという例が8例、逆に、標高の高い集団ほど遺伝的多様性も高い例も10例報告されている。残りの12例では、標高と遺伝的多様性の間に傾向は認められていない。また、ゲノムサイズ、染色体数、遺伝マーカーのサイズの違いなどの結果から、約半数の報告において標高による遺伝的分化が報告されている。さらに、現地での観察、産地試験により、標高に応じた形態の変異も非常に多くの例で報告されている。これらには、遺伝的組成の変動とは関係ない場合も含まれている。山岳地形は低標高域に生育する種にとっての遺伝的障壁となりうるが、一方で高標高域に生育する種にとっては移動の経路となりうると考えられた。

秩父山地におけるコナラ (*Quercus serrata*) 集団の標高および地形と遺伝的多様性

山地における二次林のコナラ集団の遺伝的多様性に影響を与える要因を解明するために、核マイクロサテライトマーカー7座を用い、コナラ15集団の集団内および集団間の遺伝的多様性を評価した。対象とするコナ

ラ集団は秩父山地の標高 140m から 1200m に位置する。

集団内の遺伝的多様性については、表 3 に示すように、ヘテロ接合度の期待値が 0.766 から 0.837 であった。最も高い値を示した 2 つの集団は、河川および湖に隣接した水辺集団であった。一方、最も低い値を示した 2 つの集団は、山頂および尾根に生育する集団であった。ヘテロ接合度の観察値は、0.638 から 0.844 であり、同様に水辺に近い集団は値が高く、山頂や尾根に生育する集団は低かった。水辺の土壌は湿潤であり、山頂や尾根部は乾燥しやすい。これらのことから、土壌水分不足がコナラ林の成立と更新を妨げ、乾燥した場所での集団の遺伝的多様性を減少させていることが示唆された。

集団間の遺伝的な分化程度は、 $F_{ST} = 0.013$ と低かったが、UPGMA 系統樹を作成したところ、山梨県側に位置する 5 集団はまとまった。重回帰分析を行ったところ、水平方向にも垂直方向にも距離による隔離は観察されなかった。

したがって、集団内の遺伝的多様性は生育している場所の地形の影響を受けるが、集団間の変異は地理的要因にはほとんど影響を受けない。さらに、これらの結果から 2 つのことが示唆された。一つ目は、山地の植物集団の遺伝的多様性を見積もりに必ずしも標高は有用な変数になるとは限らないこと。2 つ目は、秩父山地のような狭い地域の分化していない集団間でも遺伝的多様性の程度は異なるということである。

表-3 調査地の地形と遺伝的多様性の関係

地形	集団数	H_E
水辺	2	0.835±0.004
斜面	5	0.803±0.016
平坦地	2	0.797±0.018
尾根	5	0.794±0.018
山頂	1	0.766

H_E :ヘテロ接合体率の期待値

秩父山地におけるミズナラ(*Quercus crispula*)の標高に沿った遺伝的多様性と遺伝的分化

山岳地におけるミズナラの三次元の遺伝構造を明らかにするため、集団内及び集団間の遺伝的変異の度合い及び分布について、秩父山地に分布する 19 集団 (標高 850 ~ 1750m) を対象に、マイクロサテライトマーカー 7 座を用いて調査した。

その結果、表 4 に示すように中間標高域 (1000 ~ 1500m) の集団に比べ、低標高域集団 (1000m) では有意に、また高標高域集団 (1500m) では有意ではないが、ヘテロ

接合度期待値及び対立遺伝子多様度が低かった。

これらの結果は、低標高及び高標高域の集団が、当該種の分布可能な環境の限界に近い位置にある辺縁集団であったが故に、低い多様性しか維持できていないことを示唆するものである。

さらに、低標高域集団の低い多様性の原因の一つとして、歴史的な分布変遷も考えられた。他方、多重回帰分析の結果からは、水平軸・垂直軸の双方において、有意な「距離による隔離」は認められなかった。また、集団間分化も大変低く ($F_{ST} = 0.013$)、標高による遺伝的分化は検出されなかった。

表-4 調査地の標高と遺伝的多様性の関係

標高範囲(m)	H_E	H_O	Ar	F_{IS}
1000 以下	0.770	0.753	7.901	0.023
1000-1500	0.793	0.739	8.802	0.069
1500 以上	0.785	0.742	8.583	0.054

H_E :ヘテロ接合体率の期待値、 H_O :ヘテロ接合度の観察値
Ar:対立遺伝子多様度、 F_{IS} :近交係数

斜面傾斜の程度によるミズナラ(*Quercus crispula*)実生集団の遺伝構造の違い

成木から落ちた種子は傾斜地上を斜面下方に転がるため、異なる母樹の種子散布範囲は重なり合う。このため、山岳地における植物の種子散布パターンと遺伝構造は、平坦地におけるそれらと異なることが予想される。

本研究では、マイクロサテライトマーカー 6 座を用い、4 箇所の傾斜地に設定したプロットで、ミズナラの成木及び 1 年生実生の遺伝構造と種子散布パターンを調べた。また、成木に加え実生と実生の根に残存していた堅果の果皮の遺伝子型を決定することで、実生の親を探索した。

その結果、表 5 に示すように、急な傾斜地ほど、より広い範囲に渡る種子散布が行われ、実生の遺伝構造は弱い傾向にあった。すなわち、急傾斜は下方へのミズナラの種子散布を促進し、実生集団の林分内遺伝構造を弱めるといえる。

表-5 斜面傾斜の違いによるミズナラの成木集団と実生集団の遺伝構造

プロット	A	B	C	D	
平均傾斜	31°	19°	9°	6°	
種子散布	水平	16.84	10.38	12.94	4.84
距離(m)	垂直	-5.07	-3.18	-0.14	-0.26
空間自己	成木	0.06	0.04	0.05	0.00
相関係数	p 値	0.128	0.029	0.078	1.000
(5m 範囲)	実生	0.04	0.05	0.12	0.10
	p 値	0.014	0.001	0.001	0.001

まとめ

以上、本研究では、林分の遺伝的多様性は、

当該地域における種の分布域や更新適地、更新場所の地形などの影響下に維持されていること、また、そのあり方は樹種により異なることを明らかにした。このことは、地域の森林の多様性維持において、樹種特性に応じた管理の必要性を示唆するものであり、今後、繁殖様式の異なる多様な樹種についての知見の蓄積の必要性が示された。

(3) 遺伝子流動を阻害するような地形的隔離が遺伝的多様性に及ぼす影響

木曾山地南部におけるミズナラ (*Quercus crispula*) の系統と遺伝的統計量のパターン
本研究では、ミズナラについて、遺伝的多様性を、異なる要素に分けて解析することにより、木曾山地南部において 18 のミズナラ集団の遺伝的多様性と遺伝的分化を明らかにした。

7つの核 SSR マーカーと 6つの cpSSR マーカーを用いた解析の結果、核遺伝子座において、標高に沿ったパターンがみられず、距離による隔離も見られなかった。それにもかかわらず、表 6 に示すように、cp マーカーにより北グループとされた集団では、中標高域でヘテロ接合度がピークを示した。一方、南グループの対立遺伝子多様度 (A_r) は標高が高くなるに従って減少した。それぞれの遺伝的推定量の特性を考慮すると、前者のパターンは従来の理論により説明でき、後者は過去の上方への移動により説明できる。一見不明瞭な結果の中に、地域集団内の遺伝的多様性の詳細なパターンが隠されていることが明らかになった。

表-6 調査林分の遺伝的多様性

林分	緯度	経度	標高(m)	N	H_e	A_r
北方系統集団						
1	35.57	137.66	850-900	19	0.688	6.286
2	35.75	137.86	1100-1200	21	0.711	6.465
3	35.68	137.86	1100-1200	23	0.738	6.319
4	35.59	137.67	1100-1200	24	0.693	6.017
5	35.81	137.74	1200-1300	21	0.724	6.535
6	35.77	137.87	1250-1350	22	0.735	6.492
7	35.72	137.77	1350-1450	20	0.745	6.506
8	35.76	137.85	1400-1550	20	0.726	6.228
9	35.64	137.86	1450-1550	23	0.740	6.868
10	35.58	137.71	1550-1650	21	0.703	6.300
南北系統混合集団						
11	35.42	137.57	850-950	21	0.750	7.062
12	35.41	137.60	1150-1250	24	0.720	6.748
13	35.55	137.70	1500-1600	25	0.716	6.187
南方系統集団						
14	35.33	137.60	750-800	20	0.756	7.327

15	35.57	137.77	1000-1100	21	0.736	6.907	-0.003
16	35.44	137.63	1050-1150	22	0.719	6.726	0.061
17	35.34	137.68	1500-1600	21	0.744	6.690	0.003
18	35.47	137.63	1550-1650	25	0.722	6.333	0.042

N : 標本数、 H_e : ヘテロ接合体率の期待値、 A_r : 対立遺伝子多様度、 F_{is} : 近交係数

まとめ

従来の理論では、集団内の遺伝的多様性の減少と集団間の違いの増加は個々の種の分布の端で生じることが予測され、温暖化のような歴史的な事柄は遺伝的構造に影響を与える。しかし、植物種の集団がこのような理論に従ったパターンを示さないことが多くの研究で認められている。このような場合でも、その遺伝的多様性を異なる側面から分析することによって、地理的要因の影響について一定の法則を見出すことが可能なことを本研究で示した。

森林の遺伝的多様性管理においては、慎重な解析によりその分布パターンの本質を解明することが重要である。

(4) 総合考察

本研究の各章において、地域スケールでの樹木の遺伝構造は、ミクロな立地環境、樹種の分布特性、集団のサイズなどに規定されて存在していること、また、地域集団の歴史的分布変遷の影響も大きいことが示された。

森林の持続的な維持にとって、その構成種の遺伝的多様性保全は、欠くべからざる要素であるが、こうした複雑性を理解した、適切な管理が必要とされる。

そこで、本研究の結果から、遺伝的多様性管理の上で必要な条件を以下のように取りまとめる。

種の分布変遷など歴史的要因によって生み出された、景観スケールの遺伝構造に配慮すること。
当該樹種の分布中心を、生態的特長および地域スケールの遺伝的多様性の賦存状況から判断し、保全のための中核地域とすること。
次世代の多様性を高く維持することのできる、遺伝子流動(交配・種子散布)を実現する、成木密度や林分面積を明らかにし、その実現や維持に努めること。
地域の全ての樹種について適切な条件を明らかにすることは不可能であるが、繁殖性別に、森林生態系に骨格を成す樹種をとりあげ、適切な管理を実行できれば、当該地域の森林保全の実を挙げることが可能と考える。一方、遺伝的多様性維持には、樹種の生態的特長に即した管理が重要であることも、

明らかになった。これまで、個別樹種の生態的特長は、一部を除いて十分に調べられているとはいえない。その様な特性の把握を進めることが、森林管理上必要である。

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5件)

Uchiyama, K., Goto, S. and Ide, Y. Effects of population density on male and female reproductive success in the wind-pollinated, wind-dispersed tree species *Betula maximowicziana*, Conservation Genetics. in press (DOI 10.007/s 0592- 08- 694- y) 査読あり

Ohsawa, T. and Ide, Y. Global patterns of genetic variation in plant species along vertical and horizontal gradients on mountains. Global Ecology and Biogeography 17, 2008, 152-163 査読あり

Ohsawa, T., Saito, Y., Sawada, H., and Ide, Y. Impact of altitude and topography on the genetic diversity of *Quercus serrata* populations in the Chichibu Mountains, central Japan. Flora 203, 2008, 187-196 査読あり

Ohsawa, T., Tsuda, Y., Saito, Y., Sawada, H. and Ide, Y. Altitudinal genetic diversity and differentiation of *Quercus crispula* in the Chichibu Mountains, central Japan International Journal of Plant Science 168, 2007, 333-340 査読あり

Ohsawa, T., Tsuda, Y., Saito, Y., Sawada, H. and Ide, Y. Steep slope promote downhill dispersal of *Quercus crispula* seed and weaken the fine-scale genetic structure of seedling populations. Annals of Forest Science 64, 2007, 1-8 査読あり

[学会発表](計2件)

内山憲太郎 幼樹期におけるウダイカンバの自己間引きメカニズム. 第120回日本森林学会大会 2008.3.27 東京農工大学

内山憲太郎 ウダイカンバにおける自己間引き現象の要因を探る. 第119回日本森林学会大会 2009.3.26 京都大学

6. 研究組織

(1)研究代表者

井出 雄二 (IDE YUJI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：90213024

(2)研究分担者

齊藤 陽子(SAITO YOKO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：00302597

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

(3)連携研究者

(4)研究協力者

内山 憲太郎 (UCHIYAMA KENTARO)

東京大学大学院農学生命科学研究科

大澤 隆文 (OHSAWA TAKAFUMI)

環境省中部地方環境事務所

津田 吉晃 (TSUDA YOSHIAKI)

独立行政法人森林総合研究所

澤田 晴雄 (SAWADA HARUO)

東京大学大学院農学生命科学附属演習林
愛知演習林