

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780171

研究課題名(和文)アカマツ天然集団の景観スケールにおける遺伝的動態の解明

研究課題名(英文) Simultaneous evaluation of paternal and maternal genetic dynamics of *Pinus densiflora* dispersed seeds at the landscape scale

研究代表者

岩泉 正和 (Iwaizumi, Masakazu G.)

独立行政法人森林総合研究所・林木育種センター関西育種場・主任研究員

研究者番号：50391701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：アカマツ天然集団の景観スケールにおける詳細な遺伝的連結性を明らかにするため、生息域内保存林内の近接した9集団を対象に、散布種子の遺伝的多様性と遺伝的異質性について雌雄の配偶子を正確に区別して解析した。雄性配偶子の遺伝的多様性はどの集団も一様に高く、景観内ではほぼ同質な遺伝的変異を示した。その一方で、雌性配偶子の多様性は成木個体数200未満の集団で低い傾向が見られたとともに、集団間での異質性がより高く、200m程度の範囲内で遺伝的により類似していた。以上の結果は、次世代の遺伝的多様性や他集団との活発な遺伝的交流を確保するための、保存林内の集団サイズや近接集団数等を検討する上での基礎的知見となる。

研究成果の概要(英文)：To evaluate detailed genetic connectivity among natural populations of *Pinus densiflora* at the landscape scale, genetic diversity and heterogeneity of both paternal and maternal gametes of the dispersed seeds were assessed separately and accurately for the adjacent 9 populations in an in-situ conservation forest. Allelic diversity of paternal gametes was generally high and the genetic composition was nearly homogeneous among populations within landscape. On the other hand, maternal gametes of the population with less than 200 adult trees had significantly low allelic diversity. Genetic compositions of maternal gametes were more heterogeneous among populations, and also showed a significant spatial autocorrelation within up to 200m. These results would be fundamental information to consider about the population size and the number of nearby populations in the conservation forest, which can secure genetic diversity of the next generation and also frequent interpopulation gene flow.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：アカマツ 遺伝子流動 景観 雌性配偶体

1. 研究開始当初の背景

主要な優占樹種では、地域(景観)内で数多くの集団が配されており、「景観間>景観内集団間>集団内」という複数の階層的な空間スケールでの遺伝的交流と遺伝的構造によって、地域特有の遺伝変異が保たれていると考えられる。これまで、主に欧米の広範に分布する広葉樹等では、間接的手法を用いて、特定の母樹から採取した種子の雄性配偶子の遺伝的変異の情報に基づいた、景観スケールでの花粉による遺伝的交流の解析が行われてきた(Austerlitz & Sork 2002 他)。しかし、次世代の集団を形づくる種子段階の遺伝子[2n]は、同数の雌雄の両配偶子[n]によって構成されていることから、特に種子散布力の高い樹種については、雄性配偶子(花粉+種子)による遺伝的交流の寄与だけでなく、雌性配偶子(種子)による遺伝的交流の寄与も正確に把握する必要がある。

アカマツ(*Pinus densiflora*)は日本国内で広範に優占する、風媒で風散布種子をもつ主要針葉樹の一つである。尾根沿いに優占して生育することが多く、断続して分布する尾根上の集団群によりひとつの景観が形成されている。しかし近年、マツ材線虫病被害による遺伝的多様性の減少が全国各地で危惧されており、各地域集団レベルでの遺伝的変異の保全が重要視されている。

2. 研究の目的

針葉樹種子については、種子の雌性配偶体(胚乳)が母親由来の半数体組織[n]であることから(横山 1975)、胚[2n]と雌性配偶体を別々にDNA分析することにより、雌雄の配偶子の遺伝的変異を正確に区別することが可能である(Iwaizumi et al. 2007)。この分析手法を用いて、Iwaizumi et al. (2010)では、アカマツの1集団スケールにおける正確かつ詳細な、雌雄両配偶子の集団外からの移入の状況を明らかにした。その結果、雄性配偶子は全体の6~7割、雌性配偶子についても約2割が移入配偶子であり、近隣の尾根に複数生育する集団群の存在と、それら集団等からの雌雄両配偶子による活発な移入が、対象集団の遺伝的多様性の維持に寄与している可能性が示唆された。

本研究では、これらの詳細な直接的解析の知見を踏まえた上で、アカマツの複数の天然集団内に散布された種子を対象にマイクロサテライト(SSR)マーカーによるDNA分析

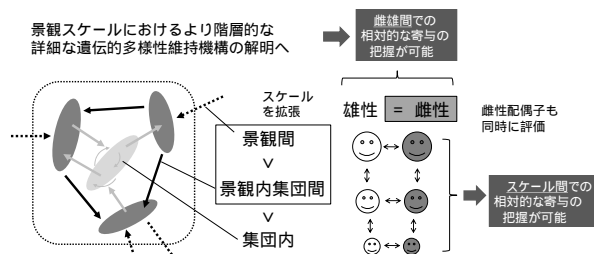


図 - 1 本課題の概念図

を行い、種子の雌雄配偶子の景観レベルおよび集団レベルでの遺伝的多様性と異質性を複数繁殖年次にわたり解析した。当該課題は、雌雄各配偶子による遺伝子流動の大きさやその遺伝的寄与の解明をより広域なスケールに進展させるため、従来雄性配偶子のみに対して行ってきた間接的な解析手法を、散布種子段階の雌雄を正確に区別した遺伝変異の情報で応用しようと取り組むものである(図-1)。

3. 研究の方法

阿武隈高地森林生物遺伝資源保存林(福島県いわき市)内に生育するアカマツ天然集団において、これまで詳細な遺伝子流動の解析を行ってきた1つの尾根上の集団(調査範囲: 150×250=3.75ha)とその周辺に生育する8集団の、計9集団を調査対象とした(調査範囲: 約225ha、図-2)。2010年および2011年の2年にわたり、9月上旬~12月下旬にかけて、各集団内に3箇所、20m、40m、60mの間隔で一直線上に種子トラップを設置し、9集団の計27地点において散布種子を収集した。各トラップから最大24種子ずつ、計1,264種子(2,528組織)を対象に、胚と雌性配偶体の組織別にDNAを抽出し、8SSR遺伝子座を用いて遺伝子型を決定した。そして、各トラップの雌雄配偶子グループの遺伝的多様性や異質性等に関する統計量を算出し、集団間や年次間、雌雄配偶子間での違いについて解析した。

4. 研究成果

(1) 雌雄配偶子の遺伝的多様性

遺伝的多様性の統計量である Allelic richness やヘテロ接合体率は、両年ともに概ね雄性配偶子グループのほうが雌性配偶子よりも高い値を示し、雄性配偶子は全体的に集団間・トラップ間の差が小さかった。一方で、雌性配偶子では集団間・トラップ間の差がより顕著であった。雌性配偶子のトラップあたりの Allelic richness は、両年ともに採取集団の成木個体数(集団サイズ)や100m範囲内の成木個体数と有意な正の相関が見

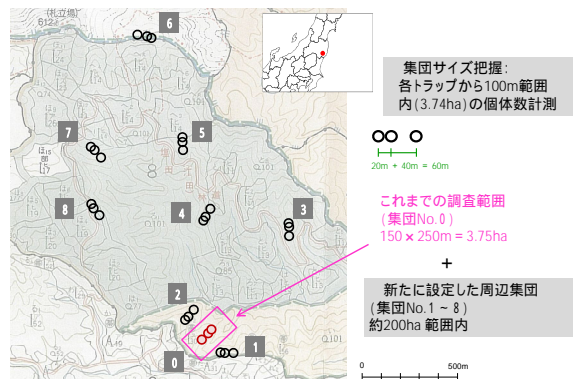


図 - 2 調査を行ったアカマツ天然集団群と散布種子の収集・DNA分析の実施箇所(3台×9集団=27箇所)

られ、特に成木個体数が 200 未満の集団では、雌性配偶子の遺伝的多様性の低いトラップが多かった (図 - 3)。

(2) 雌雄配偶子の遺伝的異質性

雌性配偶子グループ間の遺伝的分化度 (F_{ST}) は、全体的に雄性配偶子のそれよりも高い値を示した。雌性配偶子は兩年ともに集団間・集団内トラップ間の両スケールにおいて有意な遺伝的差異が観察されたとともに (それぞれ平均 $F_{ST} = 0.030, 0.056$)、同一トラップにおける年次間の遺伝的差異は相対的に小さかった (平均 $F_{ST} = 0.007$)。また、同一トラップにおける雌雄間の遺伝的差異は雌性配偶子の集団間・トラップ間と年次間の中程度の値であった (平均 $F_{ST} = 0.011$)。

雌性配偶子に見られた遺伝的構造を空間自己相関解析により評価したところ、兩年とも 100 ~ 200m の範囲内で有意に遺伝的変異が類似していることが確認された (図 - 4)。

(3) 考察

雄性配偶子に認められた高い遺伝的多様性と比較的均一な遺伝変異から、約 200ha という広大なスケール内を花粉由来の配偶子は活発に流動していることが考えられた。

一方で、景観内でのアカマツ散布種子の雌性配偶子の遺伝的多様性は、周辺の成木集団

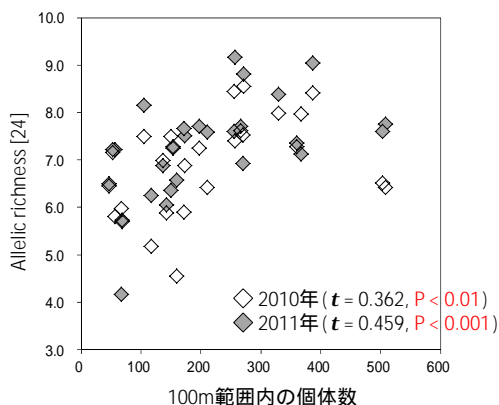


図 - 3 2010年および2011年の2カ年における散布種子の収集箇所での成木個体密度と雌性配偶子の遺伝的多様性の関係 (kendall 順位相関係数; t)

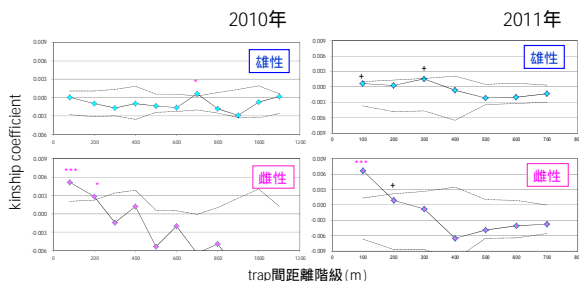


図 - 4 2010年および2011年の2カ年における散布種子の雌雄配偶子の空間的自己相関 (kinship coefficient : Loiselle et al. 1995)

サイズ等の影響をより大きく受けて変動する可能性が考えられた。配偶子の遺伝的異質性はこれまで、1集団内での詳細な雌雄配偶子間および年次間での評価が行われたが (Iwaizumi et al. 2013b) 今回、解析スケールを拡大したことにより、景観内では、集団間と集団内の両スケールでの雌性配偶子の異質性が最も大きいことが新たに明らかになった。また、空間自己相関の結果から、雌性配偶子による遺伝的交流は、採取集団内とその隣接する尾根の集団程度の範囲内 (~ 200m) で比較的活発であることが推察された。

以上のことから、散布種子段階の景観スケールにおける遺伝的多様性は、雄性配偶子による広範な遺伝的交流と、雌性配偶子による集団間と集団内という異なるスケールでの異なるレベルの遺伝的交流によって形づくられていることが考えられた。

国により設定されている林木遺伝資源保存林などの保護林の中には、設定面積が数 ha (アカマツでは尾根 (集団) 一つ) 程度のもが多く、周辺の集団との遺伝的連結性に依存している可能性の高いアカマツのような樹種においては、そういった周辺集団についても「緩衝帯」として対象の保存林とともに管理していく必要があると考えられる。種子は 2013 年にも採取しており、本課題期間以降も、その 3 繁殖年次目の種子の分析や、各集団に生育する成木個体の遺伝的変異の評価を行うことも考えている。そして例えば、

- ・安定した高い次世代の遺伝的多様性を担保するため、保存林の集団のサイズ (成木個体数) を少なくとも 200 個体以上に維持する
- ・活発な遺伝的交流の範囲内に近接集団を確保するため、特に 200m 程度の範囲内で生育する他の集団についても、集団サイズの維持を図る

等といった、保存林のより具体的な管理指針の提示を可能とすべく知見を集積していく考えである。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

Iwaizumi, M.G., Takahashi, M., Isoda, K. and Austerlitz, F. : Consecutive five-year analysis of paternal and maternal gene flow and contributions of the gametic heterogeneities to overall genetic composition of *Pinus densiflora* dispersed seeds, American Journal of Botany, 査読有, 100, 2013, 1896-1904 .
Iwaizumi, M.G., Tsuda, Y., Ohtani, M., Tsumura, Y. and Takahashi, M. : Recent distribution changes affect geographic clines in genetic variation and structure in *Pinus densiflora* natural populations in Japan, Forest Ecology and

Management、査読有、304、2013、407-416。
岩泉正和：アカマツの樹冠内での着果パターン、関西育種場だより、査読無、69、2012、2。

Iwaizumi, M.G. and Takahashi, M. : Effects of pollen supply and quality on seed formation and maturation in *Pinus densiflora*, Journal of Plant Research、査読有、125、2012、517-525。

岩泉正和：アカマツの地理的変異 - DNA マーカーに基づく遺伝変異と繁殖形質の変異 -、林木育種情報、査読無、10、2012、4-5。

岩泉正和、磯田圭哉、久保田正裕、玉城聡、山野遼太郎：関西育種基本区におけるマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業 - 京都府から選抜した抵抗性アカマツの選抜経過 -、平成 24 年版林木育種センター年報、査読無、2012、54-57。

岩泉正和：抵抗性アカマツの次世代化、関西育種場だより、査読無、67、2012、3。

岩泉正和：雌性配偶体を利用して、アカマツ種子の父親と母親を区別する、関西育種場だより、査読無、65、2011、3。

岩泉正和：アカマツ天然集団における雌雄配偶子レベルでの遺伝子流動が種子散布段階の遺伝的多様性にもたらす寄与、林木の育種、査読有、239、2011、6-12。

〔学会発表〕(計 16 件)

那須仁弥、大谷雅人、宮本尚子、岩泉正和、千吉良治：苗畑における日本産アカマツの出芽経過の産地間変異、第 125 回日本森林学会大会、2014 年 3 月 28 日、大宮ソニックシティ(さいたま市)。

磯田圭哉、亀井幹夫、吉岡寿、石井哲、片桐智之、岩泉正和、松永孝治：マツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ現地適応試験地における生存率からの抵抗性評価、第 125 回日本森林学会大会、2014 年 3 月 28 日、大宮ソニックシティ(さいたま市)。

岩泉正和：次世代育種に向けて林木遺伝資源の視点から何を考える必要があるか?、第 125 回日本森林学会大会、2014 年 3 月 28 日、大宮ソニックシティ(さいたま市)。
山野遼太郎、久保田正裕、山口和穂、岩泉正和、磯田圭哉、平尾知士：アカマツさし木発根の遺伝性、第 125 回日本森林学会大会、2014 年 3 月 27 日、大宮ソニックシティ(さいたま市)。

岩泉正和、大谷雅人、那須仁弥、宮本尚子、中田了五、生方正俊：アカマツ散布種子の景観スケールにおける 2 年間の遺伝的多様性、第 61 回日本生態学会大会、2014 年 3 月 15 日、広島国際会議場(広島市)。

磯田圭哉、岩泉正和、山口和穂、久保田正裕、笹島芳信、祐延邦資：関西育種場におけるマツ材線虫病対策の取組みについて、平成 25 年度森林・林業交流研究発表会、2013 年 12 月 13 日、近畿中国森林管理局

(大阪市)。

岩泉正和、磯田圭哉、河合慶恵、村上丈典、篠崎夕子、宮本尚子、大谷雅人、那須仁弥：アカマツ広域産地試験における関西育種場で播種した実生の発芽特性、第 2 回森林遺伝育種学会大会、2013 年 11 月 8 日、東京大学(文京区)。

Iwaizumi, M.G., Ohtani, M., Tsuda, Y., Hiraoka, K., Miyamoto, N., Takahashi, M. and Tsumura, Y. Geographic clines in nuclear microsatellite diversity and structure and cone characteristic variation of *Pinus densiflora* natural populations in Japan、IUFRO Forest Genetics 2013、2013 年 7 月 24 日、Hilton Whistler Resort、Whistler、Canada。

磯田圭哉、杉本博之、岩泉正和、坂本庄生、岡村政則、河合貴之、松永孝治：抵抗性アカマツ検定林における被害木伐倒駆除の効果、第 124 回日本森林学会大会、2013 年 3 月 27 日、岩手大学(盛岡市)。

岩泉正和、大谷雅人、那須仁弥、平岡宏一、宮本尚子、高橋誠：アカマツ散布種子の景観スケールでの遺伝的異質性 - 雌性配偶体を利用した配偶子レベルでの解析 -、第 124 回日本森林学会大会、2013 年 3 月 27 日、岩手大学(盛岡市)。

磯田圭哉、平尾知士、岩泉正和、山口和穂、山野遼太郎、岡村政則、渡辺敦史：マツノザイセンチュウ抵抗性アカマツ検定林における父樹構成の解明、第 123 回日本森林学会大会、2012 年 3 月 28 日、宇都宮大学(宇都宮市)。

那須仁弥、大谷雅人、岩泉正和、宮下智宏、宮本尚子：楕円フーリエ記述子にもとづく主成分スコアを用いたアカマツ種子形状の地理的変異の評価、第 123 回日本森林学会大会、2012 年 3 月 28 日、宇都宮大学(宇都宮市)。

岩泉正和、大谷雅人、津田吉晃、平岡宏一、宮本尚子、高橋誠、津村義彦：核 SSR 分析に基づく日本国内アカマツ集団の遺伝構造の推定、第 123 回日本森林学会大会、2012 年 3 月 27 日、宇都宮大学(宇都宮市)。

岩泉正和、大谷雅人、那須仁弥、平岡宏一、宮本尚子、高橋誠：アカマツ天然集団の球果形質変異と核 SSR に基づく遺伝変異の関係、第 59 回日本生態学会大会、2012 年 3 月 18 日、龍谷大学(大津市)。

岩泉正和、高橋誠、矢野慶介、宮本尚子、大谷雅人、平岡宏一：アカマツの林木遺伝資源モニタリング試験地における成木、種子、実生段階の遺伝変異、第 62 回応用森林学会研究発表会、2011 年 11 月 19 日、鳥取大学(鳥取市)。

玉城聡、磯田圭哉、岩泉正和：マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業における家系内選抜(一次検定)時の接種データとクローン検定(二次検定)時の生存率との関係、第 17 回東北森林科学学会大会、2011 年 8 月

22日、秋田県生涯学習センター(秋田市)。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩泉 正和 (IWAIZUMI MASAKAZU)

独立行政法人森林総合研究所・林木育種センター
関西育種場・主任研究員

研究者番号：50391701