

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04510

研究課題名(和文) 林木育種は人工林の遺伝的多様性をどう変化させたのか

研究課題名(英文) How did forest tree breeding change genetic diversity of artificial forests

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(農学部)・教授

研究者番号：90213024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：わが国では、昭和30年代に始まった林木育種以前と以後で造林種苗は遺伝的に変化したと考えられる。そこで、静岡県天竜地方において成立年代の異なる林分の遺伝的多様性を、2種類の遺伝マーカー(SSR、SNP)を用いて比較し、以下のことを明らかにした。(1) 遺伝的多様性は調査した年代間で大きな変化は認められない。(2) 江戸時代植栽の超高齢林では、太平洋側天然林起源の系統が用いられていた。(3) 明治期には、多くが太平洋側天然林起源の系統の種苗が植栽されたが、初期には日本海側天然林起源の種苗も一部用いられていた可能性がある。(4) 精英樹系種苗は実際の林地でも確実に増加していた。

研究成果の概要(英文)：In our country, seedlings used before and after the forest tree breeding started from the 1950 's seem to be genetically changed greatly. With the aim of clarifying the influence of forest tree breeding on the genetic diversity of artificial forests, the diversity of nuclear genes in different Sugi stands in the Tenryu district of Shizuoka Prefecture, SSR and SNP markers were used for analysis. And followings were clarified; (1) There was no significant change in genetic diversity between the surveyed age. (2) In forests planted in the Edo period, strains originating in the natural forest of Pacific sea side were used. (3) In the afforestation during the Meiji era, many stocks were originated in the natural forest on the Pacific sea side, but in the early years there was also a possibility that some seedlings originating from the Japanese Sea side natural forest were also used. (4) The spread of selected tree (Seieijyu) seedlings was definitely progressing even in actual woodland.

研究分野：森林遺伝育種学

キーワード：遺伝的多様性 造林種苗 スギ 太平洋側天然林 日本海側天然林 林木育種 歴史的变化 天竜林業

1. 研究開始当初の背景

わが国には1,000万haを超える人工林が存在し、人工林資源の活用と再造林が資源政策上、温暖化対策上きわめて重要な課題となっている。今後、人工林の活用が進めば、当然、再造林面積も増加する。それにあたって考慮しなければならない事柄として、今後植栽される種苗は、一代目の造林に用いたものとは遺伝的背景が決定的に異なるという点がある。スギ・ヒノキの実生林業地帯の一代目造林では、種苗のほとんどが一般の造林地からの採取された種子から育成された実生苗であった。しかし、我が国では、昭和30年代初頭に、精英樹選抜とそれによって造成した採種園からの種子生産とを柱とする林木育種事業が開始され、今日、造林用種苗の大半がこうした精英樹採種園産種苗に置き換わっている。精英樹系種苗の成長特性等については、精英樹次代検定事業等によって逐次明らかにされてきており、育種の効果が計測されている。しかし、育種種苗がどのような遺伝的多様性を有しており、一代目造林における種苗の遺伝的多様性とどのように異なるのかという点に着目した研究はこれまでにない。

一般に粗放な実生造林では、種苗集団の遺伝的多様性が高いほど、成林に至るまでの様々なリスクに対して安全性が高いと考えられる。実際 Ledig & Kitzmiller(1992)は、遺伝的多様性こそが温暖化に対する最良のツールであるとしている。しかし、実際に人工林の遺伝的多様性について、今日的な手法を用いて評価した例は多くない。

研究代表者らは、ヒノキの実生人工林の遺伝的多様性をその採種源の母樹林と比較し、恣意的な採種に基づくと思われる遺伝的多様性の偏りを確認した(湯ら,1998)。すなわち、実生苗において採種源や採取方法によって遺伝的多様性は容易に変化する。こうしたことから、全国的に展開された精英樹選抜育種によってもたらされた苗木の遺伝的多様性は、在来の種苗の持っていた遺伝的多様性とは大きく異なっている可能性がある。

そこで、在来の種苗による造林地と精英樹系種苗による造林地に双方において遺伝的多様性を比較し、人工林の遺伝的多様性に林木育種がどのような影響を及ぼしているのかを明らかにすることが、将来世代の育種を議論する上で極めて有益と考える。

2. 研究の目的

本研究では、全国のスギ天然林のデータとの比較を通して、人工林の種苗の遺伝的系統を明らかにすること、種苗の流通、生産形態が人工林の遺伝的多様性におよぼす影響について明らかにすること、特に精英樹選抜育種事業が人工林の遺伝的組成について与えた影響を評価することを主たる目的とした。

林業用種苗は造林地に到達するまでに様々なプロセスを経るため、精英樹系種苗だ

けを追跡することはほとんど不可能である。そのため、精英樹系種苗の普及程度を目安に、特定地域の造林地において年代別に、その遺伝的多様性を比較することを考えた。静岡県天竜地方は、15世紀に遡る人工林育成の歴史があり、明治時代には金原明善による大規模な植林事業が行われるなど、日本有数のスギ林業地域であり、今日、民有林の人工林率は82%に達する。また、昭和31年の人工林率は61%であり、林木育種事業の歴史と歩みをともにして、人工林の拡大が図られた。また、スギ山行苗に占める精英樹系種苗の割合は、昭和50年代末には統計上100%に達し、以後、精英樹系以外の種苗は用いられていない。こうしたことから、人工林の林齢と用いられた種苗の遺伝的多様性を、明確に跡付けることができる。加えて、静岡県では古くから確認苗制度という、独自の種苗管理を行っており、造林に用いられる大部分の種苗は、県営採種によっており、他の、由来不明の苗木が混入する可能性が非常に低いこともあり、本研究の遂行に極めて有利な条件がそろっている。

そこで、本研究では、研究場所として静岡県天竜地域(図-1)を選び精英樹系種苗の普及によってスギ人工林の遺伝的多様性は、どのように変化したのかについてマイクロサテライトマーカーおよび一塩基多型(Single nucleotide polymorphism: 以後SNP)マーカーを用いて分析及び解析を行った。

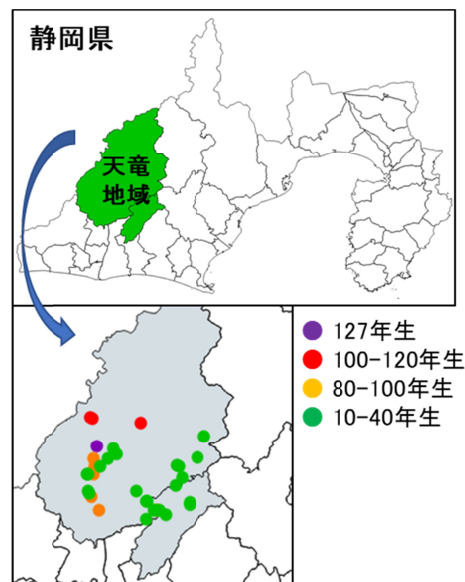


図-1 主な調査地の位置

3. 研究の方法

マイクロサテライトマーカーによる解析

静岡県浜松市天竜地域に植栽されたスギ人工林を対象に調査を行った。解析に用いた林分の林齢は、採種園からの種子生産によって成立したと考えられる20年生林分が6ヶ

所、40年生林分が7ヶ所である。比較として老齢社寺林4ヶ所も含め、計17ヶ所について解析を行った。

各林分に生育するスギ合計519本(林分あたり15~33本)から葉を採取し、改変CTAB法によりDNAを抽出した。これらのサンプルについて、スギの遺伝解析に用いられているSSRマーカー8遺伝子座(e.g. Kimura et al. 2013, 木村ら 2013)を用いて遺伝子型を特定した。

これらの遺伝子型のデータから遺伝的多様性の指標として対立遺伝子数(N_A)、ヘテロ接合度の観察値(H_o)と期待値(H_e)、対立遺伝子多様度(Allelic richness)を、遺伝的特性の指標として林分ごとのジェネット数、近交係数(F_{IS})を林分ごとに計算した。また林分間のNeiの遺伝距離(D_A , Nei et al. 1983)を用いた主座標分析により集団間の遺伝的な類似度を調べた。これらの値はGenAlex 6.41 (Peakall & Smouse 2006)およびFSTATv2.9.3.2 (Goudet 1995)を用いて計算した。

SNPマーカーによる解析

静岡県天竜地域の様々な林齢の人工林35林分、計1118個体から、針葉を採取した(図-1)。採取した針葉組織から改変CTAB法によりDNAを抽出し、実験に供試した。遺伝解析にはスギの11本の染色体全体に広く設計された288座のSNPを用いた。SNPのタイピングにはEP1 genotyping system(Fluidigm社)を用いた。得られた遺伝子型を元に、遺伝的多様性の指標として、各林分のヘテロ接合度の期待値、観察値、対立遺伝子多様度(Allelic richness)を算出した。

また、林分間の遺伝的分化の程度について、集団総当たりのNeiの遺伝距離を算出し、主座標分析を行った。計算にはFSTAT v2.9.4およびGenAlex 6.5を用いた。また、人工林の個体が、スギの自然集団内に認められる遺伝的系統のうちどの系統にあたるかを明らかにするため、STRUCTURE解析(Pritchard et al. 2000)を行った(STRUCTURE v2.3.4)。クラスター数10までの独立試行を各10回行い、1試行あたり5万回をburn-in period(初期値に依存する期間)として除き、10万回のマルコフ連鎖モンテカルロ(MCMC)を行った。

得られた結果からKを算出し、各試行の事後確率($\ln P(D)$)とともに最適クラスター数を評価した。STRUCTURE解析では、林分内の血縁構造が解析の妨げとなるため、採種圃産種苗が使用され始めた若齢人工林は解析から除外した。いずれの解析においても、森林総合研究所で保有している全国のスギ天然林18集団、計234個体のデータと合わせて解析を行い、結果を比較した。また、苗の母樹数が限られた場合に生じる苗同士の血縁度の増加を評価するために、各林分内における個体間の総当たりの血縁度を計算した。

精英樹選抜育種事業により、精英樹を親と

する種苗が造林に用いられるようになった。そこで、静岡県で登録されている51の精英樹クローンの遺伝子型を決定し、若齢林分の遺伝子型と比較することで、精英樹系種苗の普及の実態を調べた。

4. 研究成果

マイクロサテライトマーカーによる解析

TA04(20年生)とHA01(40年生)の2林分で複数本が同じ遺伝子型を示し、挿し木苗による種苗が存在することがわかった。

TA04は全てが同じジェネットであり、これらは少花粉品種である天竜8号と同じ遺伝子型であった。老齢林分として解析した春埜山大光寺寺叢と山住神社社叢においても同一ジェネットが複数みられた。春埜山の同一ジェネット個体は株立ちしており、同一個体であると考えられた。一方、山住神社のサンプルは離れている個体であった。SNPマーカーでの解析でも矛盾のない結果が得られており、これらの個体は挿し木苗が植栽されたものである可能性を示した。

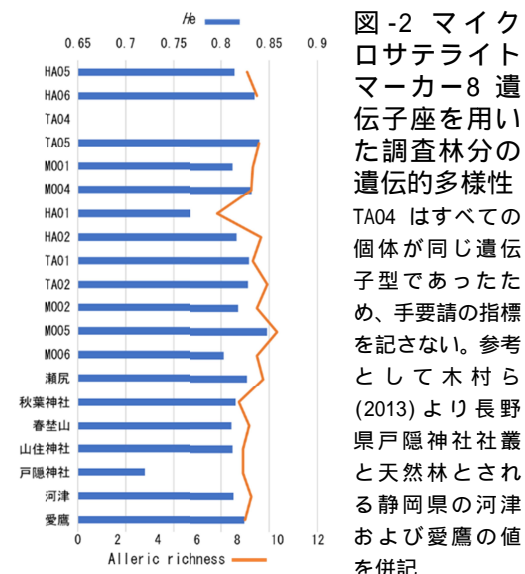


図-2 マイクロサテライトマーカー8遺伝子座を用いた調査林分の遺伝的多様性。TA04はすべての個体が同じ遺伝子型であったため、手要請の指標を記さない。参考として木村ら(2013)より長野県戸隠神社社叢と天然林とされる静岡県の河津および愛鷹の値を併記

林齢ごとの遺伝的多様性は平均値レベルでは大きな差はみられなかった(図-2)。多様性の指標は林分によってばらついており、若齢林のなかには40年生のMO05のように老齢林や天然林よりも高い多様性を示す林分もみられた。また、近交係数も林分ごとによって様々な値を示し、比較的近交係数の高い林分も存在した。

これら林分に対してNeiの遺伝距離を用いて主座標分析を行ったところ、比較的近交係数の高い老齢林3林分(秋葉神社、瀬尻国有林、山住神社)と近交係数と多様性の双方が低いHA01(20年生)は他の林分から離れた位置に配置された(図-3)。また、地域や林齢での天竜地域の人工林の遺伝的な特徴を調べた結果、遺伝的な多様性などの指標に大きな違いはみられなかったが、家系構造に起

因すると考えられる遺伝的な違いが見受けられた。

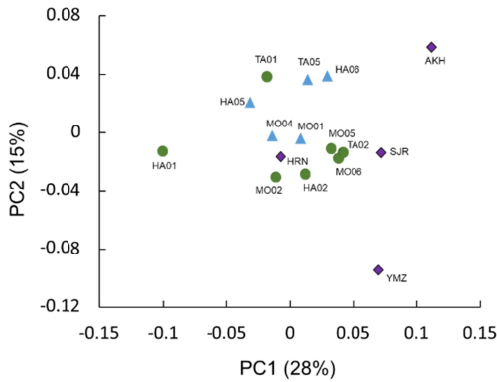


図-3 集団間の遺伝距離 (Nei ' s D) に基づく主座標分析の結果
20年生、40年生、老齢林

SNP マーカーによる解析
各林分の遺伝的多様性の指標を図-4 に示す。

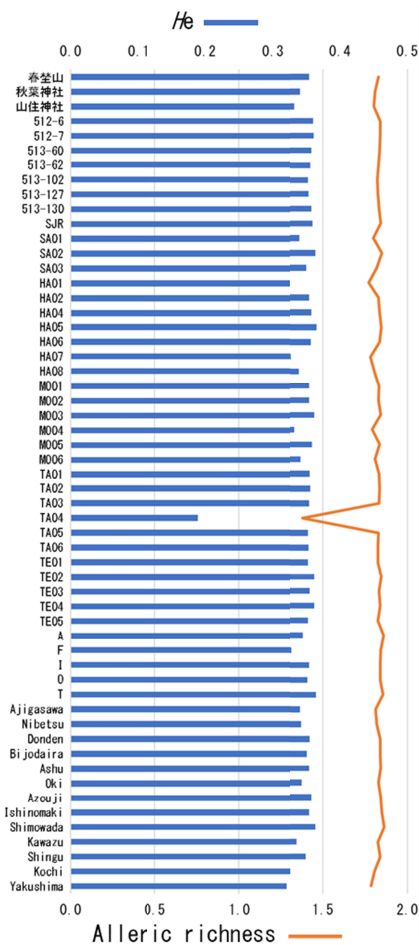


図-4 SNP による調査林分の遺伝的多様性

TA04 の 20 年生の林分は全ての個体と同じ遺伝子型となったため、以降の解析からは除外した。その他の林分ではいずれも天然林集団と遜色ない高い遺伝的多様性を示し、育種種苗の普及による林分レベルでの遺伝的多

様性の低下は認められなかった。天然林との比較において遺伝的多様性の低下が認められなかったこと理由として、個体選抜が主な作物と違い、林木では集団選抜が行われてきたため、選抜強度が比較的軽微であったこと、また、スギは近交弱勢が強く、個体内の遺伝的多様性ももともと高く保たれていることなどが考えられた。

集団間の遺伝距離を用いた主座標分析の結果を図-5 に示す。今回解析した人工林はいずれも太平洋側系統の天然林集団と近いクラスターにまとまり、これらの林分の遺伝的組成が、太平洋側系統に近いことが示された。一部、高齢人工林の林分が他の林分から離れた位置にプロットされたが、これはこの高齢林分のサンプル数が少ないことに起因すると考えられた。

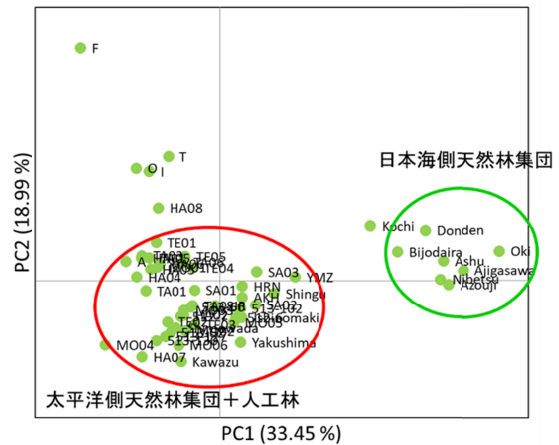


図-5. 集団間の遺伝距離 (Nei ' s D) に基づく主座標分析の結果

一方で、STRUCTURE 解析の結果、大半の個体が太平洋側クラスターに分類されたが、高齢人工林ならびに佐久間の普通母樹林の一部の個体は日本海側クラスターに分類された (図-6)。以上のことより、天竜地域の人工林造成には、主に太平洋側系統の種苗が用いられたが、古い時代には一部日本海側系統の種苗も用いられていたと考えられた。

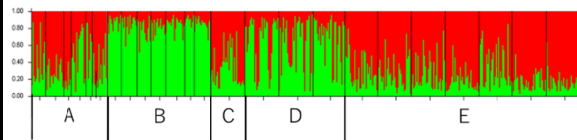


図-6 STRUCTURE 解析の結果 (K=2)
A: 太平洋側天然林、B: 日本海側天然林、
C: 瀬尻、D: 佐久間、E: 普通母樹林

林分内の個体間の血縁度の解析の結果、若齢林分において血縁度 0.25 以上の高い値を示す組が多く検出された。この林分内の高い血縁ペアの存在は、採種園産種苗が普及した結果、少なくとも片親を共通親とする半兄弟の種苗が林分内に多く含まれたことを反映

していると考えられた。

精英樹との遺伝的關係を解析した結果、年代が進むにつれて、精英樹系種苗の林地への植栽割合は増加しており、10年生では9割を超える林分で精英樹系種苗が確認された(図-7)。一方で、精英樹毎の寄与度を比較すると、多数の種苗の親として寄与している精英樹がいる一方で、ほとんど親として寄与していない精英樹も認められた。このことは、採種園における精英樹毎の着花特性やクローン構成の違いなどを反映していると考えられた。

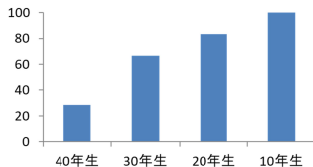


図-7 年齢別精英樹系種苗植栽林分の割合

以上まとめると、天竜地域のスギ人工林について以下のようなことがいえる。

- (1) 遺伝的多様性は調査した年代間では大きな変化は認められなかった。これはスギの持つ、種特性に加えて、天竜地域の人工林に用いられた種苗には比較的多くの親個体が寄与していたことが原因と考えられる。
- (2) 江戸時代に植栽された超高齢林では、主に太平洋側天然林に起源をもつ系統が用いられていた。また、一部、挿し木とみられる組み合わせがみられた。
- (3) 明治期の造林では、多くが太平洋側天然林に起源をもつ種苗の植栽であったが、初期には日本海側天然林を起源とする種苗も一部用いられていた可能性がある。
- (4) 精英樹系種苗の普及は実際の林地でも確実に進展していた。しかし、種苗に寄与した精英樹クローンは年代によって変化した。また、精英樹系種苗の利用により限られたクローンの寄与に基づく林分内個体間の近縁關係が多く認められるようになった。

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0件)

[学会発表](計5件)

岩崎 隼・内山憲太郎・木村 恵・袴田哲司・齊藤陽子・井出雄二 (2018) 精英樹系種苗の普及がスギ人工林の遺伝的多様性に与えた影響. 第129回日本森林学会

大会 F7.

木村 恵・内山憲太郎・岩崎 隼・齊藤陽子・井出雄二・袴田哲司・酒井 敦・大谷達也・岩泉正和・磯田圭哉 (2017) 遺伝的多様性と遺伝構造から探るスギ高齡林の更新様式. 第129回日本森林学会大会 P2-134.

岩崎 隼・内山憲太郎・木村 恵・齊藤陽子・袴田哲司・井出雄二 (2017) 静岡県天竜地域におけるスギ高齡人工林の遺伝的多様性. 第128回日本森林学会大会 P1-195.

木村 恵・内山憲太郎・袴田哲司・齊藤陽子・井出雄二 (2016) SSR 解析からみた静岡県天竜地域スギ若齡人工林の遺伝的特徴. 森林遺伝育種学会第5回大会 12.

井出雄二・内山憲太郎・袴田哲司・木村 恵・齊藤陽子 (2016) 静岡県天竜地域の高齡スギ人工林の遺伝的多様性. 第127回日本森林学会大会 E9.

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]
ホームページ等

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(農学部)・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(農学部)・助教

研究者番号: 00302597

木村 恵 (KIMURA, Megumi)

国立研究開発法人森林研究・整備機構 森林総合研究所・林木育種センター・主任研究員

研究者番号: 20436520

内山 憲太郎 (UCHIYAMA, Kentaro)

国立研究開発法人森林研究・整備機構 森

林総合研究所・樹木分子遺伝研究領域・主任研究員
研究者番号：40501937

袴田 哲司 (HAKAMATA, Tetsuji)
静岡県農林技術研究所・森林・林業研究センター・上席研究員
研究者番号：60502573