

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07853

研究課題名(和文) 現存有名クロマツ植栽林の遺伝的保全のための採種戦略の確立

研究課題名(英文) Development of the seed-collection strategy for gene conservation of a old planted population of Japanese black pine

研究代表者

岩泉 正和 (Iwaizumi, Masakazu G.)

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 等

研究者番号：50391701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、現存クロマツ林内での成木の遺伝的多様性が次世代に担保されるために必要な種子プールの得かた(採種戦略)について検討した。福岡市の有名松原「生の松原」において、成木集団および多数母樹から採取した種子プールを対象に、SSRマーカー7座に基づき遺伝的多様性を評価した。その結果、母樹家系間では、採種母樹の胸高直径が小さい家系ほど種子プールの遺伝的多様性が高い傾向が認められた。多様性モデリングにより、採種母樹数の増加と得られる種子プールの遺伝的多様性の関係を解析したところ、概ね30母樹以上の種子プールがあれば現存する成木集団の遺伝子プールを担保可能なことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の実施により、現存クロマツ林内の遺伝子保存のための採種母樹の選定方法や、現存する成木集団の遺伝的多様性を担保するための適正な採種母樹数について、具体的な指針や数字を提示することができた。植栽林に対して遺伝子保全の観点から具体的な指針を導入・提示した事例は日本では過去にほとんど存在せず、本取り組みは学術的・実用的観点からも事実上初めての試みであったと言ってよい。また今後他の主要樹種においても、クロマツと同様に天然資源が滅失し遺伝子保存の必要性が生じる可能性があり、本研究はそのような事態のパイロットケースとしても貢献できる。

研究成果の概要(英文)：The seed collecting strategy required for maintaining genetic diversity of current adult tree population to the next generation was considered in an old planted population of Japanese black pine (*Pinus thunbergii*). In the 'Ikinomatsubara' stand in Fukuoka city, 279 adult trees and seed pools collected from 70 mother trees (1,618 seeds in total) were genotyped using seven nuclear microsatellite markers. Allelic diversity was significantly higher in seed pools collected from mother trees with smaller sizes in DBH than those from larger mother trees. The random resampling programming, to evaluate the increase of allelic diversity of whole seed pool with an increasing number of mother trees collected, showed that seed collection from about 30 or more mother trees would achieve gene conservation of the adult tree population.

研究分野：森林遺伝・育種

キーワード：クロマツ 有名松原 植栽林 遺伝子保存 採種戦略

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

クロマツ林は海岸飛砂防備や海岸植物群落・生態系の維持創出、更には白砂青松等の日本古来の景観創成にも寄与する我が国の重要な森林資源である。しかしクロマツ林はマツ材線虫病により天然資源がほぼ滅失し、現在は有名松原等の嚴重に保護された植栽林(人工林)を残すのみとなった。これまで、遺伝子保存の主眼とされてきた天然集団についてモニターする上では、DNA 親子解析等を用いて集団内での花粉や種子の飛散状況を調査し、遺伝的交流の程度について評価することが有効であり(アカマツ天然集団の遺伝子流動に関する既往成果: Iwaizumi et al. 2007; 2010; 2013 他) その知見から、適正な集団の個体数や生育密度の確保についての検討(保存林の設定面積等)がなされてきた。しかしクロマツの遺伝子保存は今や上記の植栽林資源に託されており、種子の採取・保存や育成させた種苗の植栽といった人為的維持・更新を適正に介在させることでしか、各集団の遺伝的存続はなし得ない。クロマツの場合、これまでの天然林樹種での視点もさることながら、種子採取から種苗植栽という過程の中で現存する遺伝的変異をいかに担保できるか? という、もう一つの視点も必要であり、新たな遺伝子保存の体系を確立することが課題である。

2. 研究の目的

本課題では、現存クロマツ林内での成木の遺伝的多様性が次世代に担保されるために必要な種子プールの得かた(採種戦略)について検討した。林分内の多数母樹から種子を採取し、核 SSR マーカーを用いた集団遺伝学的な評価により、採種母樹間での種子プールの遺伝的多様性の違いやその要因等について検討した。さらに、多様性モデリング等の解析手法を用いて、採種母樹数の増加に伴う次世代の遺伝的多様性の推移をモニターした。そして、成木集団の遺伝的多様性を担保するための具体的な母樹の選定基準や最低限の採種母樹数等を見い出すことを目標とした。以上の知見により、現存する各地域のクロマツ林の遺伝子保存のための適正な手法の開発に資した。

3. 研究の方法

福岡県福岡市に所在する有名松原「生の松原」(九州大学演習林)において、現存する成木集団の遺伝的多様性を評価するため、集団内のクロマツの生育範囲を網羅する形で、279 個体から針葉を採取した(図-1)。核 SSR マーカー7 座(開発済み)に基づき、成木集団の DNA 分析を行った。遺伝子保存や植栽による更新のための、次世代の遺伝的多様性を評価するため、上記成木集団内の様々な個体サイズ級から 70 母樹を選定・採種し、母樹家系別に、種子プールの DNA 分析を成木集団と同様に行った。

また、種子プールの遺伝的多様性の高い採種母樹について検討する上で、多様性の違いに影響しうると考えられる各母樹周辺の林分構造(本数密度、個体サイズ等)について把握するため、クロマツ林の生育範囲を 5×25m のプロットに区分し、各プロットの全クロマツ個体(胸高直径 5cm 以上)を対象として毎木調査を進めた(九州大学の課題と連携)。

4. 研究成果

(1) 採種母樹間での種子プールの遺伝的多様性の違い

成木集団および各母樹由来の種子プールの遺伝子型データを取得し、遺伝的多様性の解析・評価を行った。種子プールの遺伝的多様性は、採種母樹の胸高直径と有意な負の相関を示し、小径木ほど種子プールの遺伝的多様性が高い傾向が認められた(図-2)。またこれまでの林分構造データとの照合から、母樹周辺 5 プロット(25×25m)の平均個体サイズが小さい母樹ほど種子プールの遺伝的多様性が高い傾向が見られた(解析母樹数が少ないため、今後林分構造データを蓄積し解析可能母樹を追加する)。

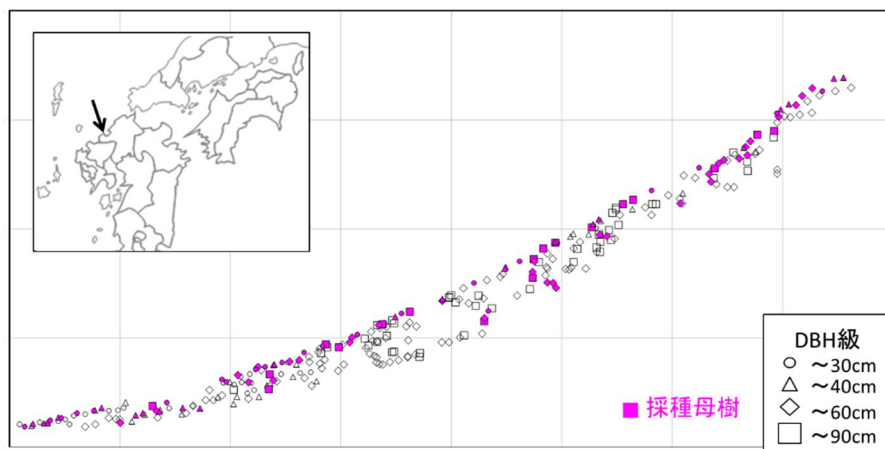


図-1 調査を行った福岡市の有名松原「生の松原」の位置と、サンプリングした成木集団(279 個体)およびそのうちの採種母樹(70 個体)

小径木ほど種子プールの遺伝的多様性が高いという傾向は、小径木ほど受粉する花粉親の多様性が高いことを示しており、大径木では花粉生産量が大きいことにより自家花粉が干渉しやすいことが考えられる他、上記した林分構造の違い(年齢や個体密度)が花粉親の多様性に関係する可能性も考えられた。

(2) 採種母樹数の増加にともなう種子プールの遺伝的多様性の推移

繰り返し抽出プログラミング計算により、採種母樹をランダム選定した(各母樹数あたり100回試行)ときの母樹数の増加と得られる種子プールの遺伝的多様性の関係を解析したところ、遺伝子多様度(HS)では10母樹、対立遺伝子の有効数(n_e)ではおよそ30母樹以上で、成木の遺伝的多様性を上回りかつ種子プールの遺伝的多様性が頭打ちになる傾向が見られた(図-3、表-1; 成木集団のサンプリング数が少ない可能性があるため、今後必要があれば追加サンプリングを行う)。一方で、対立遺伝子数(n_a)では31母樹以上で成木の遺伝的多様性を上回ったが、それ以上母樹数を増加させても種子プールの遺伝的多様性は上昇し続け、頭打ちにならなかった。

以上の結果から、 HS 、 n_e に基づく場合、おおむね30母樹以上の種子プールがあれば現存する成木集団の遺伝子プールをカバーできることが示唆された。一方で、遺伝的多様性の統計量によって傾向が異なり、 n_a が頭打ちしないのは頻度のごく低い対立遺伝子(レアアレル)を新たにカウントし続けることに起因していると考えられた。しかし、SSR 遺伝子座の突然変異率($10^{-3} \sim 10^{-5}$)から考えると、レアアレルは比較的新たに供給されやすく、むしろ集団内の変異を形作る主要な対立遺伝子(メジャーアレル)の数や組成の担保(偏りが無いように保存する)の観点では、 HS や n_e での担保率のほうが重要であるとも考えられた。

(3) まとめ - クロマツ松原の遺伝子保存に向けて -

本研究の実施により、現存クロマツ林の遺伝子保存のための採種母樹の選定方法について、大きな示唆を与える結果を得た。小径木ほど種子プールの遺伝的多様性が高いという傾向から考え

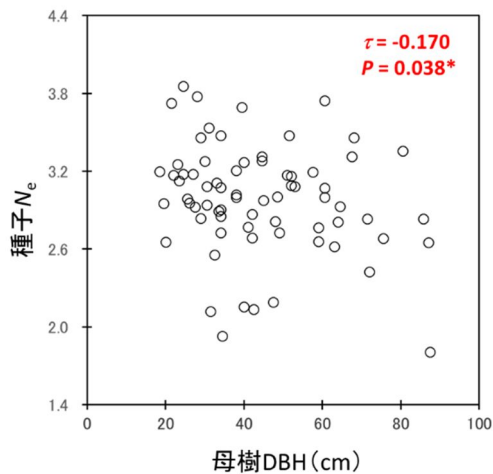
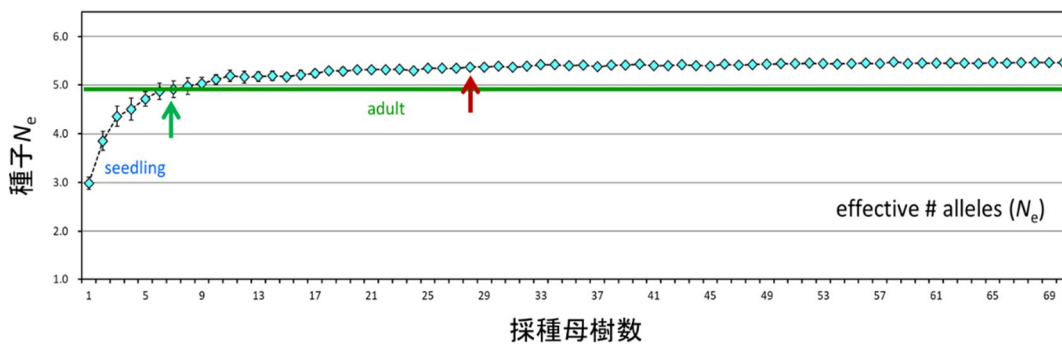


図-2 採種母樹の胸高直径(DBH)と種子プールの遺伝的多様性(対立遺伝子の有効数: N_e)の関係

表-1 採種母樹数の増加にともなう種子プールの遺伝的多様性の成木集団に対する統計量別の担保率

	成木(279個体)に対して			備考
	95%	100%	105%	
N_a	24母樹	31母樹	42母樹	あまり頭打ちしない
HS	3母樹	8母樹	※	※102%までで頭打ち
N_e	5母樹	7母樹	11母樹	30母樹(110%)程度でほぼ頭打ち
全種子プール(70母樹)に対して				
	90%	95%	98%	備考
N_a	40母樹	54母樹	62母樹	あまり頭打ちしない
HS	3母樹	4母樹	9母樹	9母樹でほぼ頭打ち
N_e	8母樹	14母樹	28母樹	28母樹でほぼ頭打ち



- ↑ 種子が成木の値を超えたところの母樹数
- ↑ 全種子データでの値の98%を超えたところの母樹数 (ここでほぼ頭打ち)

図-3 母樹のランダム選定プログラミングによる、採種母樹数の増加にともなう種子プールの遺伝的多様性(対立遺伝子の有効数: N_e)の増加の傾向

ると、実は遺伝子保存に関しては「優良個体等（大径木）の遺伝子保存」と「集団の効率的な遺伝子プールの保存」とで、採種戦略が異なるかもしれないことに注視する必要がある。一方で、現存する成木集団の遺伝的多様性を担保するための適正な採種母樹数に関しては、既往の種子プールの遺伝的多様性評価の研究では注視されてこなかった、具体的な指針や数字を提示することができた。

上記のような保全戦略の検討は、遺伝子保存を目下その自然の推移に委ねているような他の天然生の主要樹種では想定され得なかったものである。植栽林に対して遺伝子保存の観点かつ具体的な指針を導入・提示した事例は日本では過去にほとんど存在せず、本取り組みは学術的・実用的観点からも事実上初めての試みであったと言ってよい。

今後他の主要樹種においても、クロマツのように、天然林が滅失し遺伝子保存を各地域の人工林資源に依存する必要が生じる可能性がある。本研究はそのような事態のパイロットケースとも位置づけられ、今回得られた知見は今後生じうる人工林樹種の実践的な保全戦略の一つとして適用可能であり、我が国の包括的な森林遺伝資源保全に資することができる。さらに現在、課題代表者（岩泉）はマツ材線虫病に抵抗性を有する抵抗性マツの選抜・開発（マツノザイセンチュウ抵抗性育種事業）に携わっており、本研究での成果を基礎的な知見として、今後、遺伝的変異に配慮した抵抗性マツの開発（遺伝的変異の異なる各地域での品種開発目標数の検討等）や抵抗性種苗の適正な植栽方法（有名松原への導入方法等）に向けた検討へ発展できると期待される。

< 引用文献 >

Iwaizumi, M.G., Watanabe, A., Ubukata, M. 2007. Use of different seed tissues for separate biparentage identification of dispersed seeds in conifers: confirmations and practices for gene flow in *Pinus densiflora*. *Can J For Res* 37: 2022–2030.

Iwaizumi, M.G., Takahashi, M., Watanabe, A., Ubukata, M. 2010. Simultaneous evaluation of paternal and maternal immigrant gene flow and the implications for the overall genetic composition of *Pinus densiflora* dispersed seeds. *J Hered* 101: 144–153.

Iwaizumi, M.G., Takahashi, M., Isoda, K., Austerlitz, F. 2013. 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. *Am J Bot* 100: 1896–1904.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 岩泉正和	4. 巻 91
2. 論文標題 アカマツの球果サイズにおける地理的変異	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 関西育種場だより	6. 最初と最後の頁 2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 岩泉正和	4. 巻 9
2. 論文標題 シリーズ 日本の森林樹木の地理的遺伝構造 (26) クロマツ (マツ科マツ属)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 森林遺伝育種	6. 最初と最後の頁 12-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.32135/fgtb.9.1_12	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 岩泉正和・玉城聡・磯田圭哉・久保田正裕	4. 巻 8
2. 論文標題 マツノザイセンチュウ抵抗性アカマツのハーフダイアルル交配家系に基づく抵抗性の組合せ能力の評価	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 森林遺伝育種	6. 最初と最後の頁 121-130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.32135/fgtb.8.3_121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iwaizumi, M.G., Ohtani, M., Takahashi, M.	4. 巻 24
2. 論文標題 Geographic cline and climatic effects on cone characteristics of natural populations of <i>Pinus densiflora</i> throughout the Japanese archipelago	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Forest Research	6. 最初と最後の頁 187-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13416979.2019.1603666	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩泉正和	4. 巻 7
2. 論文標題 県との連携による第二世代抵抗性アカマツ品種の開発	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 森林遺伝育種	6. 最初と最後の頁 159-161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩泉正和	4. 巻 88
2. 論文標題 全国のクロマツ有名松原の遺伝的多様性の解明	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 関西育種場だより	6. 最初と最後の頁 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩泉正和	4. 巻 -
2. 論文標題 西南日本地域における抵抗性アカマツの追加選抜の取り組み - 京都市金閣寺近郊から抵抗性アカマツが誕生 -	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 平成30年度森林・林業交流研究発表集録	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 杉本博之、大池航史、岩泉正和、磯田圭哉	4. 巻 21
2. 論文標題 マツ材線虫病被害進行地における抵抗性クロマツ品種植栽林の遺伝的構成	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 樹木医学研究	6. 最初と最後の頁 213-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwaizumi, M.G., Miyata, S., Hirao, T., Tamura, M., Watanabe, A.	4. 巻 408
2. 論文標題 Historical seed use and transfer affects geographic specificity in genetic diversity and structure of old planted <i>Pinus thunbergii</i> populations	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Forest Ecology and Management	6. 最初と最後の頁 211-219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2017.10.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩泉正和	4. 巻 25
2. 論文標題 第2世代抵抗性アカマツの開発	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 林木育種情報	6. 最初と最後の頁 2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩泉正和	4. 巻 1
2. 論文標題 県との連携による第二世代抵抗性アカマツ品種の開発	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 林木育種事業60周年記念シンポジウムプログラム	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 岩泉正和・河合慶恵・宮本尚子・那須仁弥・久保田正裕・Aziz Akbar Mukasyaf・田村美帆・渡辺敦史
2. 発表標題 クロマツ林遺伝子保存のための採種母樹と種子プールの遺伝的多様性評価
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mukasyaf, A.A., Iwaizumi, M.G., Tamura, M., Watanabe, A.
2. 発表標題 Genetic management of Japanese black pine populations: a case on Ikinomatsubara
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井城泰一・松永孝治・岩泉正和
2. 発表標題 複数箇所で実施した抵抗性クロマツ実生へのマツノザイセンチュウ接種試験
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩泉正和・宮下久哉・竹原正人・井城泰一・飯野貴美子・渡辺敦史・長谷川成一
2. 発表標題 東北日本の日本海側クロマツ林における詳細な集団遺伝学的解析
3. 学会等名 第8回森林遺伝育種学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松永孝治・平尾知士・栗田学・武津英太郎・久保田正裕・岩泉正和・井城泰一・大平峰子・山野遼太郎・高橋誠
2. 発表標題 マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ実験交配園における雄性繁殖成功距離に及ぼす雄花着花量の影響
3. 学会等名 第8回森林遺伝育種学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iwaizumi, M.G., Tsuda, Y., Tsumura, Y., Takahashi, M., Hirao, T., Watanabe, A.
2. 発表標題 Geographic clines in genetic diversity and variation in adaptive traits of two major pine species, <i>Pinus densiflora</i> and <i>Pinus thunbergii</i> , in Japan
3. 学会等名 IUFRO World Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩泉正和・三浦真弘・今野敏彦・飯田啓達・大久保典久・片桐智之・田中英夫・大池航史・杉本博之
2. 発表標題 抵抗性アカマツ採種圃種苗の性能：抵抗性ランク、系統配置、園齡による違い
3. 学会等名 第130回日本森林学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mukasayaf, A.A., Iwaizumi, M.G., Tamura, M., Watanabe, A.
2. 発表標題 Evaluation of the genetic structure of Japanese black pine stand on Ikinomatsubara Coast
3. 学会等名 第130回日本森林学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩泉正和・今野敏彦・飯田啓達・河合慶恵・三浦真弘・那須仁弥・磯田圭哉
2. 発表標題 アカマツ広域産地試験の岡山および高知における苗畑での2年生苗の成長特性
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩泉正和・河合慶恵・三浦真弘・松永孝治・小林玄・渡辺敦史
2. 発表標題 近畿・瀬戸内地域で新たに収集されたマツノサイセンチュウ系統の病原力評価
3. 学会等名 第68回応用森林学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩泉正和・大久保典久・飯田啓達・河合慶恵・三浦真弘・那須仁弥・磯田圭哉
2. 発表標題 アカマツ広域産地試験の岡山および高知における苗畑での実生の発芽特性
3. 学会等名 第65回日本生態学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国際学会「IUFRO World Congress 2019」での成果発表において、Best Poster Award（最優秀ポスター賞）を受賞した。

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	渡辺 敦史 (Watanabe Atsushi) (10360471)	九州大学・農学研究院・准教授 (17102)	