

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21380090

研究課題名（和文） 樹木の更新プロセスによる林分内遺伝構造の時系列的変化に関する研究

研究課題名（英文） Study on spatiotemporal changes of fine genetic structure along with regeneration processes of tree species.

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（和文）：樹木の更新プロセスのうち、(1)種子の二次散布、(2)異なるコホート、(3)個体間競争、がそれぞれ林分内遺伝構造に与える影響について、(1)ミズナラ、ヤチダモ、(2)ヒメシャラ、(3)ウダイカンバを用いて検証を行った。(1)では種子の二次散布を検出し、二次散布により散布距離が長くなっていることを示した。さらに(1)では二次散布により、(2)ではコホートの重なりによって遺伝構造が弱められる可能性が示唆された。(3)では家系内競争試験により、非兄弟間に比べて兄弟間の競争がより激しいため、一斉更新した稚樹の強い家系構造が実生成育の初期段階で解消されることが実証された。

研究成果の概要（英文）：We studied on effects of three different processes of tree regeneration on fine genetic structure within stand; (1) secondary seed dispersal, (2) overlapping of multi cohorts and (3) completion among individuals. (1) Distance of seed dispersal was prolonged by the secondary dispersal both in *Quercus crispula* and *Fraxinus mandshurica*. Then the genetic structure supposed to be weakened by the secondary seed dispersal. (2) Overlapped cohorts weakened the genetic structure within a stand of *Stewartia monadelphica*. (3) The competition among individuals was severer among siblings than among nonrelated individuals in a young plantation of *Betula maximowicziana*. Therefore, the strong genetic structure of naturally regenerated even-aged stand of *B. maximowicziana* will disappears in the early stage of its regeneration.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2010年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2011年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	8,700,000	2,630,000	17,030,000

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：森林生態・保護・保全・遺伝構造・散布様式

1. 研究開始当初の背景

樹木種の分子生態学的研究は、近年、急速に発展し、種の遺伝的多様性の大きさと分布の様態、集団間の遺伝子流動、交配様式とその

実態など様々な成果が上がっている。しかし、一方でその様な成果を具体的森林管理に取り入れることは、それほど進んでいない。申請者は、樹木種の遺伝的多様性を維持でき

る森林管理を実現するために、樹木種内の遺伝的多様性の解明、林分単位での交配や更新に伴う遺伝的多様性の変化、地域スケールでの遺伝的多様性の実態とそれを産み出している要因、伐採等人為的な行為が遺伝的多様性に及ぼす影響等について明らかにしてきた。特に、地域スケールでの研究の結果、林分の更新タイプや成熟段階の違いが、林分の遺伝構造を決定し、地域スケールでの遺伝的多様性の維持に大きな影響を与えること(Uchiyama et al., 2006)、標高や地形など立地条件が林分の遺伝構造と遺伝的多様性に明らかな影響を与えること(Ohsawa et al., 2007ab)、また、高い稜線などが遺伝子流動を妨げるバリアーとして働くこと(Ohsawa et al., 2008)等を明らかにした。

これらの結果に基づいて、健全な森林の維持には、地域スケールでの地理的、地形的要因を指標として管理区域を設定すること、個別林分の更新を図るとともに繁殖可能な集団の地理的な広がりを重視した更新プロセスを実現することが、樹木の健全かつ持続的な維持に重要であることを指摘した。

ところで、このような考え方に基づいて森林を管理してゆくとしても、実際の森林の更新はギャップあるいは林分単位で起きるので、個別林分の遺伝的多様性の在り方が、地域集団の遺伝的多様性を決定する大きな要因であることに間違いはない。

これまで、森林の遺伝的多様性を維持するためには、林分構成個体間の自由な交配と他林分の間との遺伝子流動が保障されることが重要であるとの指摘がなされ、交配実態の解明が盛んに行われてきたが、真に将来世代に貢献するのは、林分が成熟した状態において生存して繁殖に参加する個体である。

ところが、これまでの申請者らの研究によって、ウダイカンバやモミにおいては、個別林分の遺伝的多様性や遺伝構造は更新の様態(Uchiyama et al., 2006, 齊藤, 未発表)や林分の成熟段階によって変化することが明らかになっている。すなわち、森林の遺伝的多様性を保障する森林管理ためには、林分の成立と成熟の過程における遺伝的多様性の動態を理解した上で、好ましい様態を見出す必要があるものと考えられる。

林分の遺伝的多様性に影響を与える要因として、交配プロセス、種子散布、種子散布後の二次的な移動、埋土種子集団による多様性の蓄積(Honnay et al., 2008)、更新様式の違い(Uchiyama et al., 2006)、更新後の個体間競争、稚樹バンクにおけるコホートの輻輳(ふくそう)、立木密度の変化などが考えられる。しかし、それらのうち、種子の二次的移動、個体間競争、コホートの輻輳等に着目した研究は極めて少ない。

2. 研究の目的

本研究では、林分の更新プロセスにおいて、これまで十分その影響が評価されていない以下に示す事柄について、それらがどのように構成樹種の遺伝的多様性や林分内遺伝構造に影響するかについて研究し、個別林分における遺伝的多様性の維持機構について議論することを目的とする。

(1) 散布種子の二次的移動が更新林分の遺伝構造および遺伝的多様性に及ぼす影響
種子散布様式と遺伝構造の研究は多数あるが、一旦散布された種子が二次的に移動した場合にとる構造についての研究は少ない。ミズナラなどでは、動物散布が更新に重要な役割を果たしているが、その林分の遺伝構造への影響の議論はない。また、水辺林では、流水による二次的散布が遺伝子流動の活発化と遺伝構造の減衰をもたらすとされているが、わが国樹種での研究は少ない(Goto et al., 2006)。本研究では、重力散布+動物散布のミズナラと風散布+水流散布のヤチダモを例として、種子の二次的移動の影響を明確にする。

(2) 異なるコホートからなる林分における遺伝構造と遺伝的多様性の実態
耐陰性の強い種では、稚樹バンクを形成することがある。何年にもわたって形成された稚樹バンクは、年々の繁殖動態を反映して様々な遺伝的多様性をもったコホートの集まりとして成立していると考えられる。ヒメシヤラは、太平洋側ブナ林でブナと共存する比較的耐陰性の強い樹種であり、時にそのような集団を形成する。

本研究では、齢の異なるコホートの集まりが繁殖集団の遺伝的多様性のどのような影響を与えるかについて、伊豆半島のブナ-ヒメシヤラ林において、ヒメシヤラの年齢構造と遺伝構造の関係を調査することによって明らかにする。

(3) 個体間の競争が林分の遺伝構造と遺伝的多様性に及ぼす影響

ウダイカンバの「地がき」更新において、更新した稚樹集団の遺伝的多様性は極めて高く、母樹として期待した個体の次世代は極めて少なかった(Goto et al., 2004)。このような事象を説明する仮説として、実生発生後の強い家系内競争によって期待母樹の実生が選択的に死滅したことが考えられる。申請者らは、これまでに家系構成を変えたウダイカンバ植栽試験における生長経過から、このようなプロセスの証拠を見出している。しかし、これがウダイカンバ固有なものなのか、また、競争開始時期がいつなのかについては未解明である。

そこで、先駆樹種であるウダイカンバ、シラカンバ、遷移後期種であるミズナラ、ヒメシヤラについて、異なる家系構成からなる植栽

試験地を設定して、個体の成長、枯損を継続的に観察し、更新初期における家系内および家系間競争の様態を明らかにする。ウダイカンバについては東京大学北海道演習林に既設の試験地の調査も実施し、更新初期における家系間競争の樹種による違いについて議論する。

3. 研究の方法

(1) 散布種子の二次的移動が更新林分の遺伝構造および遺伝的多様性に及ぼす影響（二次移動）

ミズナラ:これまで集団の遺伝構造の調査において情報の蓄積があり(Ohsawa et al., 2008)、かつ、ネズミによる堅果の移動の影響の検出に適した平坦な地形を有する、東京大学富士演習林に調査地を設定した。平成21年夏に、ミズナラ林に、30m×30mの範囲に1.5m間隔の20×20の格子状の調査地を設置した。各交点441箇所に直径25cmのシードトラップを設置し、秋季に堅果およびシードトラップを回収した。翌年春、調査地に発生したミズナラの芽生えについて、宿存する堅果の果皮を採取してSSR分析を行い、芽生えの母樹を特定した。また、葉のSSR分析も行い、これに基づいた集団遺伝解析を行った。これによって、動物による二次的散布を把握し、その実生集団の遺伝構造に与える影響を把握した。

ヤチダモ:東京大学北海道演習林内の西達布川に沿って約300mの範囲で水没可能性のある中洲・寄り洲および水没可能性のない陸上にそれぞれ10箇所、合計20箇所に4m×4mの調査プロットを設けた。ヤチダモは複数年にわたり発芽する発芽遅延の性質を持っているため、林床の清掃を行い、発芽した実生が前年に散布された種子であることを保障した。調査プロットにシードトラップを設置し、秋季および冬季に種子を回収した。翌年夏季には調査地内の芽生えの葉をサンプリングした。また域内の全ての母樹の位置図を作成し、葉を採集した。種子は翼から、実生および成木は葉からDNAを抽出しSSR分析を行って、母樹を特定することにより種子散布距離を推定した。種子と芽生えの散布距離を比較することにより二次散布を検出した。また、母樹集団と実生集団の遺伝構造を把握した。観測機器を設置し調査地における河川の水位変動について経時的にデータを取得した。

(2) 異なるコホートからなる林分における遺伝構造と遺伝的多様性の実態（コホートと遺伝構造）

伊豆半島の天城山のブナ・ヒメシャラ林において、林分構造の調査のために設定した約1.5haの調査地において、全てのヒメシャラの

年齢を、成長錐を用いて調査した。この調査地については全ての樹種の個体が既にマッピングされているので、それを用いて、ヒメシャラの年齢別空間分布を検討した。同時に、DNA分析用の葉をサンプリングした。ヒメシャラのDNAマーカーはこれまで報告が無く、また、予備的な検討の結果、ツバキ科樹木の既存マーカーも利用できない可能性が高いことが判明しているため、dual-suppression-PCR法(Lian and Hogetsu 2002)によるマイクロサテライト(SSR)マーカーの開発を行う。調査地内の全ヒメシャラ個体について、SSRマーカーを用いて遺伝子型を決定し、全体および年齢階層別の遺伝構造を明らかにし、更新段階ごとの変動について議論した。

(3) 個体間の競争が林分の遺伝構造と遺伝的多様性に及ぼす影響（個体間競争）

ウダイカンバ、シラカンバ、ミズナラ、ヒメシャラの種子、各樹種10家系を用いた実験および育苗を行う。育苗箱に家系の混合割合を変えて播種し、インキュベータ内で発芽させた芽生えの生育過程（伸長、枯損など）を観察する。また、同じ種子を東京大学田無試験地の苗畑に播種して、家系別苗木の育苗を行う。また、東京大学北海道演習林に2003年に設定したウダイカンバの家系間競争試験地において、成長、枯損を調査し、家系間競争の経時変化を追跡する。苗畑で育成した家系別苗木を、東京大学秩父演習林の苗畑に植栽して、成長及び枯損の推移を観察し、樹種ごとの家系間競争の程度を把握する。

以上の結果から、検討した更新プロセスの各イベントがそれぞれの樹種の遺伝構造にどのような影響を与えているかを整理する。現実の地域森林生態系は様々な樹種と生体プロセスの複合であるので、景観レベルでの森林管理に資するよう、これらの知見に基づいた統合的な管理指標を提案する。

4. 研究成果

(1) 散布種子の二次的移動が更新林分の遺伝構造および遺伝的多様性に及ぼす影響（二次移動）

ミズナラ:秋季には558個、翌春には381個のサンプルを回収できた。秋季の一次散布では、散布距離は 4.05 ± 2.01 mであったが、散布方向の偏りと母樹の樹冠より5m以上離れた散布もみられ、重力散布のみならず強風による風散布が示唆された。また、春季の二次散布を含む散布距離は 5.01 ± 3.07 mで二次的移動が検出されたが、二次散布による距離の伸びはあまり大きくなかった。この二次散布は動物によるものと考えられる。二次散布

により種子の散布距離が伸びたことは、林分内遺伝構造を弱めるが、距離の伸びが非常に小さかったため、その影響は限定的であると考えられた。また、秋季の散布種子の子葉と春季の発芽実生について遺伝分析をしたところ、調査区レベルでは二次的移動の前後で遺伝的多様性に差は認められなかった。これは、ミズナラ林内における実生更新についてDNAレベルの観点から捉えた場合、小動物による堅果の二次的移動は林分の遺伝的多様性へほとんど影響を与えない可能性を示唆している。

ヤチダモ：秋季および冬季で650個の一次散布種子を、初夏に実生387個体を回収した。一次散布距離は、洲プロットで38.04±37.43m、陸上プロットで47.39±56.46mであった。一方、二次散布距離は、それぞれ53.36±50.55m、44.89±32.67mであり、洲プロットでのみ一次より二次の散布距離が有意に長かった。また、陸上プロットでは、一次散布では母樹から0-20mに散布された種子が多かったが、実生は母樹から20-40mで最も多く捕捉された。このことから、陸上でも二次散布が起こっていることが考えられる。以上よりヤチダモの二次散布が確認された。洲では流水によって二次的に種子が運ばれ、陸上では雪上に落下した種子が風により再散布された可能性が考えられる。一方、ヤチダモの母樹の自己相関分析により、母樹の対立遺伝子が集中分布していることが明らかになった。距離階級を200mにした場合にも優位な集中分布が見られた。二次散布のほうが一次散布より種子の移動距離が長いから、林分内の遺伝構造を弱めていると考えられるが、成木の遺伝構造を消失させるほどの影響はないことが示された。むしろ、流水による二次散布には方向性があるため、対立遺伝子の集中分布の範囲を広くしていることも考えられた。

(2) 異なるコホートからなる林分における遺伝構造と遺伝的多様性の実態（コホートと遺伝構造）

まず、使用可能なヒメシヤラの核SSRマーカーを6座開発した。伊豆天城山の調査地内で95個体の樹齢データと開発したマーカーを用いて遺伝子型データを取得した。このうち、130-181年前に集中的に加入した個体は68個体であった。全個体で遺伝構造を解析した場合、0-30mの距離階級で集中がみられるが、集中加入個体のみだとより距離階級の短い0-15mで集中していた。この違いの要因として、集中加入個体の母樹の樹高が低く種子の散布距離が短かった可能性が指摘できるが、より詳細な林分の履歴調査が必要である。いずれにせよ、コホートの混合によって集中分布の程度が弱められることを示すことがで

き、同一コホートは強い遺伝構造を持つ可能性が示唆された。

(3) 個体間の競争が林分の遺伝構造と遺伝的多様性に及ぼす影響（個体間競争）

実生段階の競争関係については、研究期間中の種子の結実が思わしくなく、2009年秋にミズナラの2011年秋にウダイカンバのそれぞれ家系別種子が採種できたのみであった。ミズナラの家系別種子は、家系内、家系間の競争関係の解析のため、東京大学田無演習林の苗畑に播種した。結果は、家系ごとの苗木の成長差が大きく、家系内競争を明らかにするため十分なデータを得ることができなかった。ウダイカンバについては、インキュベータ内には種子、実生の育成による家系内競争関係の解明を進めている。

東京大学北海道演習林に2003年に設定したウダイカンバ家系内競争試験地において成長量の観点から個体間競争について検討した。プロット内の家系構成が様々になるようウダイカンバの苗木を植栽した試験地において、中心に植栽された個体の胸高断面積とその周囲の植栽個体の兄弟比率との関係を調査した。調査は、2005-2008年および2011年に行った。2006年-2008年までの間は、着目する個体の周囲の個体の兄弟比率が高くなればなるほど胸高断面積が有意に小さくなる傾向が、年と共に強まってきていた。しかし、2011年には有意な差は検出されなかった。これは、林分の成立初期の立木密度が高い状況下では兄弟間競争がより活発で成長阻害が引き起こされるが、林分の成熟とともに兄弟比率の高い場所において成長の悪い個体が消滅した結果、立木密度が低下したこと。同時に、生残した個体の成長が一気に改善したことなどによると推測される。これは、試験地のウダイカンバが、初期の兄弟間競争の段階から、別次元の個体間競争関係へと移行したことを示すと考えられる。

以上の結果から、①ミズナラ、ヤチダモともに種子の二次散布は認められたが、林分内における次世代の遺伝構造への影響は限定的であると結論される。動物や水流による種子の二次散布は、むしろ林分外へ種子による遺伝子流動という面での、働きが大きい可能性がある。②また、ヒメシヤラの分析結果から、林分内に複数のコホートが存在することで、林分全体の遺伝構造が弱まり、次世代の遺伝的多様性維持に寄与するものと考えられた。③さらに、ウダイカンバの家系内競争試験においては、一斉更新した稚樹の強い家系構造が、非兄弟間に比べて兄弟間の競争がより激しいことにより、実生成育の初期段階で解消されることが実証された。

こうしたことから、樹木の更新において、次

世代の遺伝構造は基本的に種子散布により規定されるものの、その生育過程を通して、徐々に弱まってゆくこと。また、複数のコホートの存在によっても弱まることが考えられた。すなわち、次世代の遺伝的多様性を高く保つためには、単純に更新を保証するだけでなく、より多様な更新プロセスを実現するような管理が求められる。

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0件)

[学会発表] (計4件)

- ① 相原翔一・齊藤陽子・井出雄二 ヒメシヤラの遺伝的多様性の地理的変異 第122回日本森林学会大会 2011年3月25日～28日 静岡大学
- ② 齊藤陽子・坂上大翼・内山憲太郎・井出雄二 ヤチダモ (*Fraxinus mandshurica*) 種子の二次散布の検出 第122回日本森林学会大会 2011年3月25日～28日 静岡大学
- ③ Liu, C., Saito, Y., Ide Y. Secondary seed dispersal of *Quercus crispula* 第122回日本森林学会大会 2011年3月25日～28日 静岡大学
- ④ 宮田智浩・齊藤陽子・黒河内寛之・相原翔一・井出雄二 ヒメシヤラの系統地理学的研究にもとづく植栽個体の産地識別 第123回日本森林学会大会 2012年3月28日 宇都宮大学

[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]

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

(3) 研究協力者

黒河内 寛之 (KUROKOCHI HIROYUKI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：00609000

内山 憲太郎 (UCHIYAMA KENTARO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任研究員

研究者番号：40501937

坂上 大翼 (SAKAUE DAISUKE)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：90313080

刘 春苹 (LIU CHUNPING)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・特別研究生

研究者番号：なし