

## 択伐施業林におけるカツラ集団の遺伝的多様性

国立研究開発法人森林総合研究所北海道支所 中西敦史・永光輝義・北村系子

### はじめに

天然林施業は非皆伐で生物多様性や生態系を保全しつつ木材生産が可能であるため、森林の持続的利用に有効な施業方法と考えられる<sup>(1)</sup>。また、北方林のエゾマツや広葉樹は人工林での育成が困難であるため、多様な樹種の木材生産といった観点からも天然林施業は重要と考えられる<sup>(1)</sup>。択伐をともなう天然林施業では、持続的な更新の確保と立木の保育および森林の保護により、常に小径木から大径木にかけてなだらかに減少する胸高直径階頻度分布、すなわち択伐林型を維持することが重要である<sup>(1)</sup>。

カツラ (*Cercidiphyllum japonicum*) は日本の冷温帯の溪畔林に生育する雌雄異株の落葉広葉樹で、成木は樹高 30m、直径 2m に達し、樹齢は数百年から 1000 年に及ぶ<sup>(1)</sup>。また、優良な散孔材で、建築材や家具材などに広く利用される<sup>(4)</sup>。カツラは沢に沿って長細く分布し、攪乱により更新するが、他樹種に比べ実生更新機会は少ない<sup>(8)</sup>。しかし、一度定着すると、萌芽を発生させることで、共存種に比べ長期間個体を維持することが可能である<sup>(8)</sup>。これらのことからカツラの持続的利用のためには、長期かつ大面積における動態を推定し、管理手法を検討する必要がある。

一方で、天然林施業による樹木の持続的利用のためには更新だけではなく、遺伝的多様性を確保する必要もあると考えられる。遺伝的多様性の喪失は環境変動に適應できる遺伝形質の減少や近親交配の増加と近交弱勢の顕在化をもたらすからである<sup>(2)</sup>。

現在の遺伝的多様性から保全箇所を明らかにするだけでなく、遺伝的変異から過去の個体群動態を推定することで、樹木集団の管理方法を検討できると考えられる。

本研究では遺伝的多様性を確保した天然林施業技術を検討するため、夕張広葉樹施業実験林におけるカツラを対象とし、集団の遺伝的多様性や空間遺伝構造などを明らかにする。

### 材料と方法

#### 1. 調査地

調査地は北海道夕張郡栗山町の夕張広葉樹施業実験林(以下実験林)<sup>(5)</sup>内に位置する。実験林は 1984 年に空知森林管理署管内の国有林 2513 林班全域および 2512 林班と 2514 林班の一部を含む地域に設置され、広葉樹および広葉樹林の特性を解明し、成長の増大、品質の向上を始め、森林の諸機能を最大限に発揮させることを目的に調査研究が実施されている<sup>(7)</sup>。実験林の林冠は、主にアサ

ダ、シナノキおよびイタヤカエデ類で構成され、林床はクマイザサが優占している<sup>(7)</sup>。実験林は 1919 年では原生林であることが確認されていて、1956 年までに 3 回の主要な択伐などにより総量約 10,000m<sup>3</sup> が収穫されてきた<sup>(5)</sup>。また、1986 年から全域を 8 区画に分けて回帰年 8 年の択伐が実施されている。対象樹種のカツラは実験林において育成樹種に定められ<sup>(5)</sup>、回帰伐第 1 施業期末では、直径 35cm 以上の立木本数の 5.6% を占める<sup>(7)</sup>。

#### 2. 野外調査

2016 年に実験林内の支流集水域を網羅するように 17.8ha の調査区を設定し、カツラについて調査した(図 1)。樹高 1.3m 以上の幹を持つ株について位置を GPS (GPSMAP<sup>®</sup> 64SJ, Germin Ltd) 用いて測定し、また各株の最大胸高直径 (DBH) を持つ幹 (以下主幹) および DBH20cm 以上の萌芽幹について DBH を測定するとともに、切株を確認することで主幹伐の跡を調査した。さらに、各株から遺伝実験用の葉を採取した。

#### 3. 遺伝実験

採取した葉から DNeasy<sup>®</sup> kit (QUIAGEN) を用いて DNA を抽出し、それらのマイクロサテライト部位を Isagi et al. (2005)<sup>(6)</sup> で開発されたプライマー 4 組を用いて PCR 増幅した。続いて、PCR 産物を ABI3130xl (Applied Bio System) を用いてキャピラリー電気泳動することで遺伝子型を決定した。

#### 4. データ解析

GPS で得られた各株の位置を示す緯度・経度座標を日本測地系、系番号 12 を用い、さらに真東を x 軸および真北を y 軸となるように平面直角座標に変換した。

住吉 (2007)<sup>(12)</sup> で用いたデータを再解析した結果、カツラの繁殖個体の最小サイズが 25.1cm であったことから、DBH25.1cm 以上の幹を持つ株を成木、持たない株を稚樹と定義した。さらに、DBH25.1cm 以上の幹を持たない株のうち、大きな切株を持ち、過去の主幹伐が確認された 2 株 (切株直径 50cm 以上) は成木とした。

成木および稚樹の遺伝子型を用いて以下の解析を実施した。

1) 成木と稚樹のそれぞれの生育段階について遺伝的多様性を示すパラメータである対立遺伝子数、ヘテロ接合度の観察値 ( $H_0$ ) と期待値 ( $H_e$ ) および近交係数 ( $F_{IS}$ ) を算出した。さらに、プログラム Genepop<sup>(10)</sup> を用いてマルコフ連鎖法により、各遺伝子座における  $F_{IS}$  の H-W 平衡からの偏りを検定した。

2) 成木と稚樹間の遺伝的分化を分子分散分析 (AMOVA) で検定した。

Atsushi NAKANISHI, Teruyoshi NAGAMITSU, Keiko KITAMURA (Hokkaido Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute, Sapporo 062-8516)

Genetic diversity of *Cercidiphyllum japonicum* population in a selection cutting forest

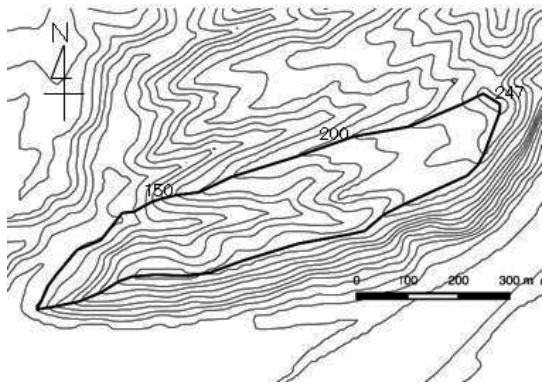


図-1 調査地の位置

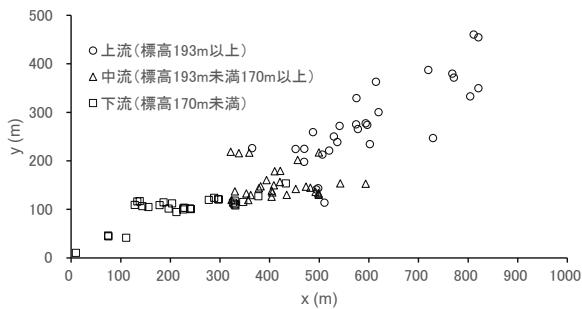


図-2 分集団毎の株の空間分布

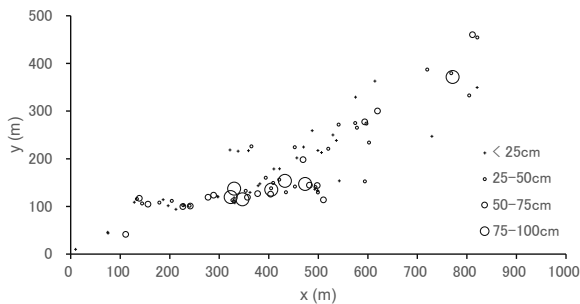


図-3 主幹胸高直径階級毎の株の空間分布

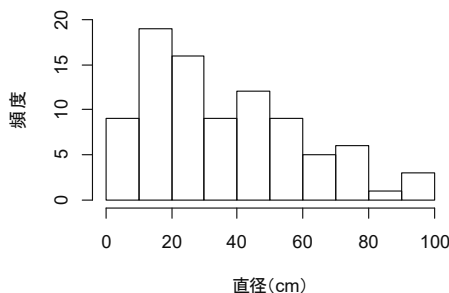


図-4 主幹の胸高直径階級頻度分布

3) 成木と稚樹のそれぞれの生育段階における空間遺伝構造 (SGS) を以下のように評価した。全株で算出した遺伝子頻度をリファレンスとして用い、各2個体間の血縁係 [ $F_{ij}$  (同祖係数) <sup>(9)</sup>] を算出した。次にSGSの強さの指数である  $S_p$  <sup>(13)</sup> を  $S_p = b / (F_1 - 1)$  で算出した。ここで  $b$  は、 $F_{ij}$  の2個体間対数距離に対する回帰の傾きを示し、また  $F_1$  は

50m以内に位置する2個体間の平均  $F_{ij}$  を示す。SGSの有無については、1000回の無作為化により  $b$  の有意性を調べることで検証した。上記解析はSPAGeDi ver. 1.5 <sup>(3)</sup> を用いて実施した。

4) 全株を、それぞれおよそ同数になるように上流 (標高193m以上)、中流 (標高193m未満170m以上) および下流 (標高170m未満) の3つの分集団に分割し (図-2)、分集団間での遺伝的分化をAMOVAで検定した。また、各分集団の特有遺伝子 (private allele) の頻度を調べた。

## 結果

### 1. 空間分布およびサイズ構造

野外調査の結果、成木が56株、稚樹が33株で、全89株が確認され、それらは支流に沿って分布していた (図-2)。また、主幹のDBHが75cm以上の大径株は中流に集中する一方、ほとんどが稚樹で構成される、主幹のDBHが25cm未満の、小径株は支流全体に分布していた (図-3)。また、全89株における主幹のDBH階級頻度分布はおおまかなL字型を示した (図-4)。

### 2. 成木および稚樹の遺伝的多様性

成木および稚樹の各遺伝子座あたりの平均対立遺伝子数は、それぞれ14.5および13.3個、平均  $H_o$  はそれぞれ0.866および0.840、平均  $H_e$  はそれぞれ0.858および0.865で、両生育段階で遺伝的多様性に差は見られなかった (表-1)。また、成木および稚樹における平均  $F_{IS}$  は-0.009および0.030で、いずれの生育段階のいずれの遺伝子座においても  $F_{IS}$  のH-W平衡からの有意な偏りは検出されなかった。

### 3. 成木と稚樹の間の遺伝的分化

成木と稚樹の間の遺伝的分化をAMOVAで検定した結果、有意な遺伝的分化は検出されなかった。

表-1 成木および稚樹の遺伝的多様性

遺伝子座	解析 個体数	対立 遺伝子数	$H_o$	$H_e$	$F_{IS}$
成木					
MSCJ86	56	17	0.911	0.894	-0.019
MSCJ92	56	11	0.875	0.876	0.001
MSCJ93	56	16	0.839	0.793	-0.058
MSCJ95	56	14	0.839	0.869	0.035
平均		14.5	0.866	0.858	-0.009
標準誤差		1.1	0.015	0.019	
稚樹					
MSCJ86	33	15	0.909	0.894	-0.017
MSCJ92	32	11	0.813	0.878	0.074
MSCJ93	33	14	0.818	0.827	0.011
MSCJ95	33	13	0.818	0.862	0.051
平均		13.3	0.840	0.865	0.030
標準誤差		0.7	0.020	0.012	

$H_o$ : ヘテロ接合度の観察値,  $H_e$ : ヘテロ接合度の期待値,  $F_{IS}$ : 近交係数

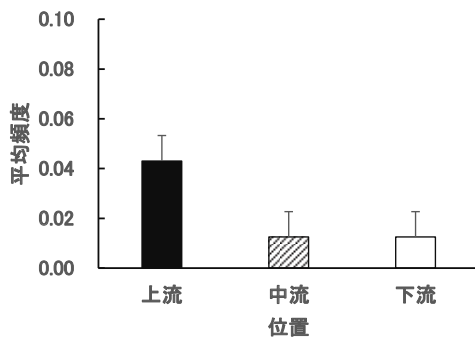


図-5 各分集団における特有遺伝子の平均頻度

上流：標高 193m 以上，中流：標高 193m 未満 170m 以上，  
下流：標高 170m 未満

#### 4. 成木および稚樹の空間遺伝構造

成木と稚樹のそれぞれの生育段階における空間遺伝構造 (SGS) を検証した結果，成木において有意な SGS が検出されたが ( $b = -0.011$ ,  $P < 0.005$ , 無作為化検定)，その程度は弱かった ( $S_p = 0.011$ )。一方，稚樹では有意な SGS が検出されなかった。

#### 5. 遺伝的変異の空間パターン

全株を上流 (29株)，中流 (30株) および下流 (30株) に分け分集団間での遺伝的分化を AMOVA で検定した結果，分集団間で有意な遺伝的分化が検出された ( $\Phi_{PT} = 0.025$ ,  $P < 0.05$ )。また，上流と中流間および上流と下流間で有意な遺伝的分化が検出されたが (Bonferroni 修正後，それぞれ， $\Phi_{PT} = 0.021$  および  $\Phi_{PT} = 0.043$ ,  $P < 0.05$  および  $P < 0.01$ )，中流と下流間では有意な遺伝的分化は検出されなかった。また，各分集団の特有遺伝子を調べた結果，上流では特有遺伝子の頻度が高いことが分かった (図-5)。

### 考察

#### 1. 遺伝的多様性

全 89 株における主幹の DBH 階級頻度分布はおおまかな L 字型を示していることから，択伐林型を維持していると考えられる。また，成木と稚樹間で遺伝的多様性に差は無く，両生育段階で  $F_{IS}$  の H-W 平衡からの有意なずれは検出されなかった。さらに，成木と稚樹間で遺伝的分化が検出されず，両生育段階では同じ遺伝的組成を有すると考えられる。以上のことから，現段階では更新および遺伝的多様性が確保されていると考えられる。一方で，分集団間の遺伝的分化が検出され，特に上流は中流および下流とは遺伝的組成が異なることから，遺伝的変異の空間的異質性が示された。さらに，上流では特有遺伝子の頻度が高いことから，上流域での保全の重要性が示唆された。しかし，遺伝的変異の空間的異質性パターンを詳細に明らかにするには，今後，複数の支流を含むより広い範囲の調査が必要である。

#### 2. 空間遺伝構造

成木と稚樹のそれぞれの生育段階における空間遺伝構造 (SGS) を検証した結果，成木では，有意な SGS が検出されたが，SGS の程度 ( $S_p$ ) は他の他殖性高木樹種に比べ

低かった<sup>(13)</sup>。距離に依存した種子散布パターンが SGS を生み出したと考えられるが，カツラの種子と花粉はいずれも風媒で長距離に散布されるため，SGS は弱まったと考えられる。他のカツラ集団において成木の SGS が検出されなかったことが報告されていることから<sup>(11)</sup>，集団によって種子と花粉を介した遺伝子散布パターンが異なると考えられる。

現在，調査地ではクマイザサが繁茂し，現在の更新が確保されているかは不明である。持続的更新および遺伝的多様性を確保した施業技術を開発するためには，今後，種子と実生を解析するとともに，定着個体群の動態を調べる必要がある。

### 謝辞

本研究を進めるにあたり，許認可などの事務手続きにご協力いただいた北海道森林管理局空知森林管理署紅葉山森林事務所の浅野瞬介森林官，調査地の情報をいただいた国立研究開発法人森林総合研究所北海道支所の石橋聡チーム長，技術的なご協力をいただいた同支所の津山幾太郎主任研究員に御礼を述べたい。

### 引用文献

- (1) 独立行政法人森林総合研究所北海道支所 (2011) 持続可能な北方天然林管理をめざして－択伐施業林における施業管理技術－。独立行政法人森林総合研究所北海道支所，札幌，30pp.
- (2) Frankham R, Ballou JD and Briscoe DA (2002) Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, 617pp.
- (3) Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. Mol Ecol Notes 2:618–620.
- (4) 橋詰隼人・中田銀佐久・新里孝和・染郷正孝・滝川貞夫・内村悦三 (1993) 図説実用樹木学。朝倉書店，東京，214pp.
- (5) 北海道営林局計画課 (1988) 夕張広葉樹施業実験林。北方林業 40: 29-33.
- (6) Isagi Y, Kudo M, Osumi K, Sato T and Sakio H (2005) Polymorphic microsatellite DNA markers for a relict angiosperm *Cercidiphyllum japonicum* Sieb. et Zucc and their utility for *C. magnificum*. Mol Ecol Note 5: 596-598.
- (7) 石橋聡 (2002) 北海道森林管理局 (本局) 管内の天然林施業実験林 (Ⅲ)－夕張広葉樹施業実験林－。北方林業 54: 251-254.
- (8) 久保美佐子 (2004) 溪畔域におけるカツラの生育立地と更新特性。山梨県森林総合研究所報告 24: 21-54.
- (9) Loiselle BA, Sork VL, Nason J, Graham C (1995) Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). Am J Bot 82:1420–1425.
- (10) Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. J Hered 86: 248–249.
- (11) Sato T, Isagi Y, Sakio H, Osumi K and Goto S (2006) Effect of gene flow on spatial genetic structure in the riparian canopy tree *Cercidiphyllum japonicum* revealed by microsatellite

analysis. *Heredity* **96**: 79-84.

(12) 住吉千夏子 (2007) 低頻度樹種カツラの遺伝子流動.  
広島大学総合科学部環境共生科学プログラム. 平成 18 年  
度特別研究論文.

(13) Vekemans X, Hardy OJ (2004) New insights from fine-  
scale spatial genetic structure analyses in plant populations.  
*Molecular Ecology* **13**: 921-935.