

【解説】

シリーズ： 日本の森林樹木の地理的遺伝構造 (1)

スギ (ヒノキ科スギ属)

津村 義彦^{*1}

はじめに

スギ *Cryptomeria japonica* D. Don はスギ科に分類されていたが、近年の分子系統研究の結果、広義のヒノキ科として統合した方が妥当だと結論がでたため (Kusumi et al. 2000)、現在では広義のヒノキ科スギ属に属する種となっている。また近縁種と言われている中国の浙江省の天目山に分布する柳杉 (*C. fortunei*) がある。葉緑体 DNA の結果では柳杉と日本のスギと違いはない (Tsumura et al. 1995)。日本国内には主に日本海側に分布する変種のアシウスギ (*C. japonica* var. *radicans*) があると言われている。形態的にはアシウスギは針葉が短く枝がしなやかで雪を捕捉しにくい形態をしている。また多雪地帯では伏条更新を良く行っていることが明らかになっている (Taira et al. 1997; Moriguchi et al. 2001)。樹高は最大で 50m 以上になり、成長も早いため、わが国の最も重要な造林樹種となっている。わが国で最も樹高の高い個体 (58m) は秋田県の仁鮎水沢スギ植物群落保護林にあると言われている。また植林であるが高野山のスギ並木の中には樹高 50m を超える個体も見られる。大面積が残っている屋久島は巨樹スギが多く残っているが、樹高は 30m 前後の個体で「あばれスギ」が多い (屋久杉自然館 2002)。戦後の拡大造林の際に積極的に造林が行われたため、現在では日本の人工林面積約 1000 万 ha の約 45% をスギが占めている。

種子散布は重力と風力によるが、母樹から 200m 程度まで散布されている (Takahashi et al. 2008)。花粉散布は長距離におよび他の風媒の樹種と同様に遺伝的な混合が起こりやすい種である。

スギの天然分布は、北は青森県の鱒ヶ沢天然林から、南は鹿児島県の屋久島まで広範にわたっている。スギ天然林は日本海側に多く、湿潤な土壌を好むため、降水量

が多い地域に多く見られる (林 1960、図-1)。現在の天然分布は花粉分析の結果、4000 年ほど前に形成されたといわれている。それ以前の最終氷期 (約 1 万 5000 年前) には、いくつかの逃避地 (refugia) (伊豆半島周辺・若狭湾周辺・隠岐ノ島・屋久島など) に大きな集団が分布していたと考えられている (Tsukada 1982)。スギは古代から建築材料などとして各地で利用されてきた。そのため、天然林の伐採、保育などが積極的に行われてきており、現在では手つかずのスギ原生林はほとんど存在しない。広大なスギ天然林が残っている屋久島でも、山奥まで過去の伐採の形跡が残っている。現在、遺伝子保存林として指定されている森林は 212 カ所で、100 ヘクタール以上の屋久島、秋田県仁別、秋田県桃洞佐渡、大杉谷などの大きな森林を除くと、どれも数ヘクタールから数十ヘクタールの小さな森林しか残されていない (Tsumura 2011)。

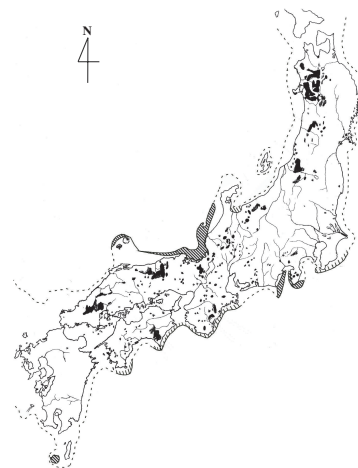


図-1 スギの天然分布 (林 1960) と最終氷期の逃避地および海岸線 (Tsukada 1982)

*E-mail: ytsumu@affrc.go.jp

¹つむら よしひこ 森林総合研究所

有用な樹種であるため精英樹選抜育種事業育種が昭和32年から始められ、スギでは成長や形質の優れた約3600個体が精英樹として主に人工林から選抜されている。これらを使って採種園や採穂園が造成され、造林用の苗木の生産が行われてきた。選抜された精英樹はさらに成長等の特性を評価するために次代検定林が造成され、その結果から第二世代の精英樹選抜が行われる(林木育種協会 2004)。造林の形態は西日本に多い挿し木造林と東日本に多い実生造林の形態がある。また使用される苗木生産に使われる母樹は地域によって異なるため、地域ごとのニーズにあった育種が望まれている。

スギでは成木が枯死してしまうような病害はないが、スギカミキリやスギザイノタマバエはスギの材に被害を与える穿孔性害虫である。また赤枯苗は主に苗木が枯死に至る病気である。この他にも多くの病害が知られている。造林木では根元曲がりや冠雪害などの雪害や凍害、寒風害及び凍裂などで材に被害が出る気象害が知られている。

スギはわが国の樹木では最も多くの遺伝情報の蓄積があり、多くのEST (Expressed Sequence Tag) 情報の蓄積(Ujino-Ihara et al. 2000, 2003, 2005; Futamura et al. 2008)、DNA マーカーの開発が行われており(Tani et al. 2004; Moriguchi et al. 2009; Uchiyama et al. 2012; Ueno et al. 2012)、高密度な連鎖地図の構築も行われている(Tani et al. 2003; Moriguchi et al. 2012)。

本論ではわが国でもっとも重要な林業樹種であるスギのもつ遺伝的多様性及び天然林の遺伝構造について解説をする。

遺伝的多様性

スギの遺伝的多様性はこれまでにアロザイム、マイクロサテライト、CAPS (cleaved amplified polymorphic DNA)、SNP (single nucleotide polymorphism) などの遺伝マーカーで調査されてきた(Tsumura and Ohba 1992; Tomaru et al. 1994; Takahashi et al. 2005; Tsumura and Tomaru 1998; Tsumura et al. 2007; Tsumura et al. in press)。アロザイム、マイクロサテライト、CAPS 及び SNP では平均ヘテロ接合度がそれぞれ0.178、0.770、0.322 及び0.311であった。アロザイムデータは多くの蓄積があり他種との比較が可能で、スギは樹木の中では平均値よりも少し高い遺伝的多様性があることが明らかになっている(Hamrick and Godt 1989)。DNA データに関してはまだ十分な研究の蓄積がないので、比較は簡単にはできない。塩基配列レベ

ルでの比較は行われており、スギの塩基多様度 (θ) は0.00383 (Kado et al. 2003, 2008) でマツ科の針葉樹や被子植物に比べ低い値を示した(Savolainen and Pyhäjärvi 2007)。アロザイムレベルでは他の樹種と同等か高い遺伝的多様性を持っているが、DNA の塩基配列レベルでは必ずしも高い変異性を持っていないと言うことは過去に集団サイズの縮小が起こったことを示している。



図2 スギ天然林29 集団の遺伝的多様性 (平均ヘテロ接合度 H_e)

北から南 (1-29) の集団に並んでいる (Tsumura et al. 2007 を改変)。

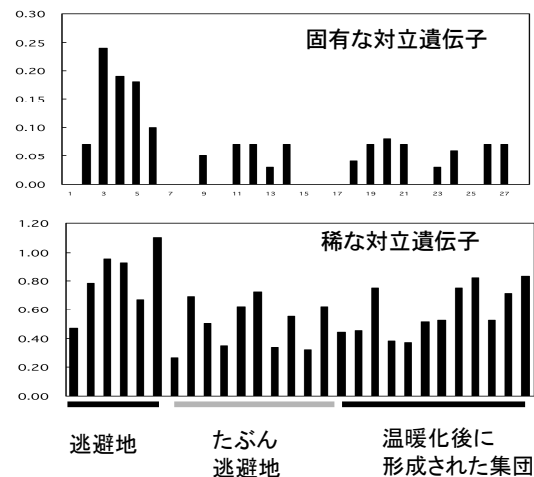


図3 スギ天然林の遺伝的多様性 (稀な対立遺伝子と固有対立遺伝子)。

最終氷期の逃避地 (Tsukada 1982) の集団が現在でも高い遺伝的多様性を保持している (Takahashi et al. 2005 を改変)。

地域的な違いを見ると西日本の集団が東日本の集団よりも遺伝的多様性が高い傾向にある(図-2、Tsumura et al. 2007)。また最終氷期の逃避地と考えられる伊豆半島周辺、若狭湾周辺、隠岐の島、屋久島の天然集団は稀な対立遺伝子や固有対立遺伝子レベルでは現在でも相対的に高い遺伝的多様性を保持している(図-3)。これは最終氷期から現在まででは、スギではそれほど多くの世代が経ていないのと、ある程度の集団サイズが維持されてきたためであると考えられる(Takahashi et al. 2005)。特に屋久島のスギ天然林は本土の集団に比べて遺伝的多様性が高い(Tsumura et al. 1997; Takahashi et al. 2005)。これはスギ天然林の大部分が維持されてきた結果であると考えられる。

地理的遺伝構造

スギ天然林をアロザイム、マイクロサテライト、CAPS および SNP で分析した結果、集団間の遺伝子分化係数はそれぞれ $G_{ST}=0.040$ 、 $F_{ST}=0.028$ 、 $G_{ST}=0.050$ 、 $F_{ST}=0.0391$ であり、マーカーにかかわらず低い遺伝的分化をしめした(Tomaru et al. 1994; Takahashi et al. 2005; Tsumura et al. 2007; Tsumura et al. in press)。スギの天然林 29 集団の分析ではいわゆる日本海側に分布するウラスギと太平洋側に分布するオモテスギが明瞭に遺伝的分化をしていた(図-4)。これまで形質や分布状況から言われていたオモテスギとウラスギが分化していたことが遺伝的データで裏付けられたことになる。

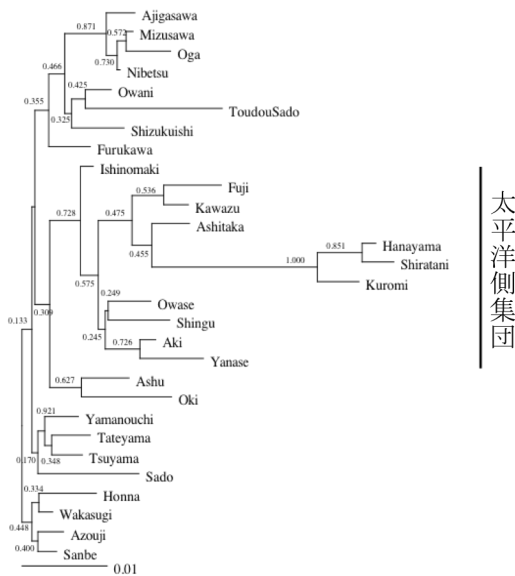


図-4 スギ天然林 29 集団の集団系統樹 (Tsumura et al. 2007 を改変)

最近では集団間の遺伝構造を表すのに STRUCTURE 解析 (Pritchard et al. 2000) が良く用いられる。スギ 14 集団を SNP1026 遺伝子座で解析した結果を用いて STRUCTURE 解析したところ、 $K=2$ (ΔK が最大) でオモテスギとウラスギ集団が明瞭に分化していた(図-5)。しかし九州の宮崎県の鬼の目集団はウラスギ系であることが明らかとなった。また $K=7$ (尤度が最大) ではウラスギ系がさらに北部の 2 集団と南部の 5 集団が分かれ、オモテスギ系では屋久島集団が本と集団と分かれた。これは 148 の CAPS 遺伝子座の STRUCTURE 結果 (Tsumura et al. 2007) よりも、より遺伝的な分化が明瞭になっていた。これまでにアロザイム 12 遺伝子座、マイクロサテライト 11 遺伝子座、CAPS13 遺伝子座でスギ天然林の遺伝的分化の調査をした際は、ウラスギとオモテスギの明瞭な分化は検出できなかった。しかし CAPS マーカーの 142 遺伝子座で調査をした際にこの二変種の遺伝的分化が検出された。また桁多い 1026 遺伝子座を用いた場合は、その遺伝的な分化をさらに明瞭に検出することができた。これはスギのような花粉による遺伝子流動が多く遺伝的に分化していない種はある程度の多数な遺伝子座で調査しないと本来の遺伝的な違いは検出できないことを示しているかも知れない。マイクロサテライトなどの 1 遺伝子当たりの対立遺伝子が多いマーカーではもう少し少ない遺伝子座でも構造の検出が可能であろう。すなわち 1026 遺伝子座の SNP では二対立遺伝子/遺伝子座が大半であるので約 2000 の対立遺伝子で解析したことになる。マイクロサテライトで平均 20 対立遺伝子/遺伝子座があるとすると 2000 対立遺伝子のマーカーで解析する場合は、遺伝子座の総数は 100 遺伝子座と言うことになり、SNP の 1/10 で同程度の解像度の結果が得られることになる。

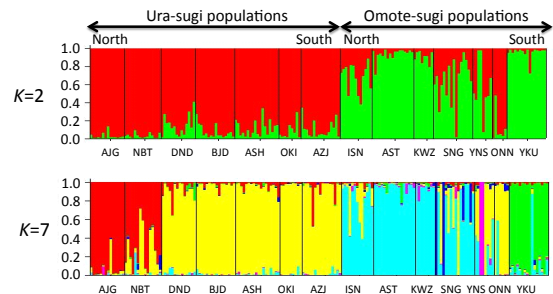


図-5 スギ 14 集団を 1026 遺伝子座の SNP 遺伝子型データの STRUCTURE 解析結果 (Tsumura et al. in press を改変)

スギの29集団を142遺伝子座で解析した際に連鎖不平衡 (Linkage Disequilibrium, LD) も同時に解析してみた。その結果、特定の集団で高いLDが検出された (図-6)。

有意な連鎖不平衡数が3000組み合わせを超える集団が4集団見られた (立山、新宮、安芸、屋久島)。これらの原因は集団の縮小、人為的な攪乱などが考えられる。本研究で用いた立山集団は狭い範囲で収集した可能性が考えられ、屋久島集団は屋久島内の2集団を混ぜて解析したためにワーランド効果の結果であると考えられる。その他の2集団は採集した天然林の集団サイズが小さかったためにLDが高く検出されたと考えられる。LDは現在の集団の履歴を知るために重要なパラメータである。スギのようなある程度集団サイズが大きく他殖率が高い樹種では一般的にLDは高くはならない。高くなる原因は集団の縮小、人的な攪乱、自然淘汰、集団の融合などが考えられるため、LDから集団の履歴を推測する可能性がある。

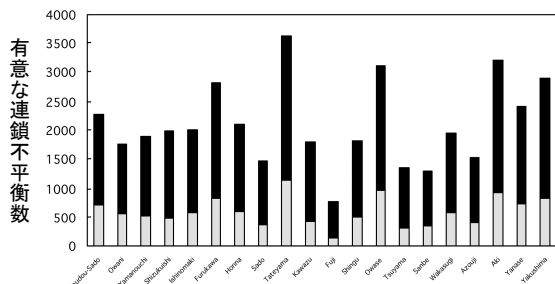


図-6 スギ天然林集団の有意な連鎖不平衡数。黒は1%レベルで有意、灰色は5%レベルで有意 (Tsumura et al. 2007 を改変)。

おわりに

スギの天然林で大面積が残っている箇所は少なく、秋田、立山、屋久島などは比較的大きな面積が現在でも保存されている。しかし、他のほとんどの天然林はわずか数ha規模の小さい集団ばかりである。またわが国のスギの人工林面積は全人工林の約45%も占めているため、天然林の周辺には必ず人工林が存在している。そのため現在の天然林を適切に管理したとしても人工林からの花粉流入は避けることができない。これは将来の天然林が人工林からの花粉流入で遺伝的な攪乱が起こる可能性を示

唆している。周辺の植栽された人工林の苗の由来が天然林の産地と異なる場合に問題となる。スギの花粉流入をスギの採種園で調査した結果、採種園から半径10km内にはほとんどスギの人工林がない場合でも有効な外部花粉の流入率は約30%以上もあることが明らかになっている (Moriguchi et al. 2005)。この場合に対処する方法はただ一つであり、それは現在の優良な天然林の生息域外保全である。有用な天然性の個体を挿し木で大規模に保全するしか方法はない。

スギの起源は古く鮮新世まで遡る (植村 1981)、その後日本列島が形成されるに従って日本海側と太平洋側の気候の違いができ、数百万年の間にそれぞれの気候に適応して遺伝的違いが形成されてきたと考えることができる。この長期間の自然淘汰の結果を私たちの時代のわずか数百年で壊してしまうことは大きな問題である。地域環境に適応的な遺伝子の解析も進みつつある (Tsumura et al. 2007 ; Tsumura et al. in press)。将来に渡って有用な遺伝資源を確保し、将来の遺伝研究や育種の事業に役立てるために大規模な生息域外保全を実施すべきであると考えている。

引用文献

Futamura N, Totoki Y, Toyoda A, Igasaki T, Nanjo T, Seki M, Sakaki Y, Mari A, Shinozaki K, Shinohara K (2008) Characterization of expressed sequence tags from a full-length enriched cDNA library of *Cryptomeria japonica* male strobili. *BMC Genomics* 9: 383

Hamrick JL, Godt MJW (1989) Allozyme diversity in plant species. In: Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS (eds) *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*, Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, pp 43-63.

林弥栄 (1960) 日本産主要針葉樹の分類と分布. *林誌研報* 48: 157

Kado T, Yoshimaru H, Tsumura Y, Tachida H (2003) DNA variation in a conifer, *Cryptomeria japonica* (Cupressaceae sensu lato). *Genetics* 164: 1547-1559

Kado T, Matsumoto A, Ujino-Ihara T, Tsumura Y (2008) Amounts and patterns of nucleotide variation within and between two Japanese conifers, sugi (*Cryptomeria japonica*) and hinoki (*Chamaecyparis obtusa*) (Cupressaceae sensu lato). *Tree Genetics and Genomics* 4: 133-141

Moriguchi Y, Ujino-Ihara T, Uchiyama K, Futamura N, Saito

- M, Ueno S, Matsumoto A, Tani N, Taira H, Shinohara K, Tsumura Y (2012) The construction of a high-density linkage map for identifying SNP markers that are tightly linked to a nuclear-recessive major gene for male sterility in *Cryptomeria japonica* D. Don. BMC Genomics 16; 13: 95
- Moriguchi Y, Matsumoto A, Saito M, Tsumura Y, Taira H (2001) DNA analysis of clonal structure of an old growth, isolated forest of *Cryptomeria japonica* D. Don in a snowy region. Canadian Journal of Forestry 31: 377-383.
- Moriguchi Y, Ueno S, Ujino-Ihara T, Futamura N, Matsumoto A, Shinohara K, Tsumura Y (2009) Characterization of EST-SSRs from *Cryptomeria japonica* Conservation Genetics Resources, 1: 373-376
- Moriguchi Y, Tani N, Ito S, Kanehira F, Tanaka K, Yomogida H, Taira H, Tsumura Y (2005) Gene flow and mating system in five *Cryptomeria japonica* D. Don seed orchards as revealed by analysis of microsatellite markers. Tree Genetics and Genomes 1: 174-183
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.
- 林木育種協会 (2004) 林木育種プロジェクト. 林木育種協会, 東京
- Savolainen O, Pyhäjärvi T (2007) Genomic diversity in forest trees. Curr Opin Plant Biol 10: 162-167
- Taira H, Tsumura Y, Tomaru N, Ohba K (1997) Regeneration system and genetic diversity of *Cryptomeria japonica* at different growing altitudes. Canadian Journal of Forest Research 27: 447-452
- Takahashi T, Tani N, Taira H, Tsumura Y (2005) Microsatellite markers reveal high allelic variation in natural populations of *Cryptomeria japonica* near refugial areas of the last glacial period. Journal of Plant Research 118: 83-90
- Takahashi T, Tani N, Niiyama K, Yoshida S, Taira H, Tsumura Y (2008) Genetic succession and spatial genetic structure in a natural old growth *Cryptomeria japonica* forest revealed by nuclear and chloroplast microsatellite markers. Forest Ecology and Management 255: 2820-2828
- Tani N, Takahashi T, Ujino-Ihara T, Iwata H, Yoshimura K, Tsumura Y (2004) Development and characteristics of microsatellite markers for sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) derived from microsatellite-enriched libraries. Annals of Forest Science 61: 569-575
- Tani N, Takahashi T, Iwata H, Mukai Y, Ujino-Ihara T, Matsumoto A, Yoshimura K, Yoshimaru H, Murai, Nagasaka M, Tsumura Y (2003) A consensus linkage map for sugi (*Cryptomeria japonica*) from two pedigrees, based on microsatellites and expressed sequence tags. Genetics 165: 1551-1568
- Tomaru N, Tsumura Y, Ohba K (1994) Genetic variation and population differentiation in natural populations of *Cryptomeria japonica*. Plant Species Biology 9: 191-199
- Tsukada M (1982) *Cryptomeria japonica*: Glacial refugia and late-glacial and postglacial migration. Ecology 63: 1091-1105
- Tsumura Y, Uchiyama K, Moriguchi Y, Ueno S, Ihara-Ujino T (2012) Genome scanning for detecting adaptive genes along environmental gradients in the Japanese conifer, *Cryptomeria japonica*. Heredity (in press)
- Tsumura Y, Kado T, Takahashi T, Tani N, Ujino-Ihara T, Iwata H (2007) Genome-scan to detect genetic structure and adaptive genes of natural populations of *Cryptomeria japonica*. Genetics 176: 2393-2403
- Tsumura Y (2011) *Cryptomeria*, In: Kole C (ed) Wild Crop Relatives: Genomics and Breeding Resources, Forest Trees. Springer, pp 49-64
- Tsumura Y, Ohba K (1992) Allozyme variation of five natural populations of *Cryptomeria japonica* in western Japan. Japanese Journal of Genetics 67: 299-308
- Tsumura Y, Ohba K (1993) Genetic structure of geographical marginal populations of *Cryptomeria japonica*. Canadian Journal of Forest Research 23: 859-863
- Tsumura Y, Tomaru N (1999) Genetic diversity of *Cryptomeria japonica* using co-dominant DNA markers based on sequenced-tagged site. Theoretical and Applied Genetics 98: 396-404
- Tsumura Y, Yoshimura K, Tomaru N, Ohba K (1995) Molecular phylogeny of conifers using PCR-RFLP analysis of chloroplast genes. Theoretical and Applied Genetics 91: 1222-1236
- 植村和彦 (1981) スギの祖先とその分布変遷. 遺伝 4: 74-79
- Uchiyama K, Ujino-Ihara T, Ueno S, Taguchi Y, Futamura N, Shinohara K, Tsumura Y (2012) Single nucleotide polymorphisms in *Cryptomeria japonica*: their discovery and validation for genome mapping and diversity studies. Tree Genetics and Genomes (in press)
- Ueno S, Moriguchi Y, Uchiyama K, Ujino-Ihara T, Futamura N, Sakurai T, Shinohara K, Tsumura Y (2012) A second generation framework for the analysis of microsatellites in expressed sequence tags and the development of EST-SSR

markers for a conifer, *Cryptomeria japonica*. BMC Genomics 16: 13: 136

Ujino-Ihara T, Yoshimura K, Ugawa Y, Yoshimaru H, Nagasaka K, Tsumura Y (2000) Expression analysis of ESTs derived from the inner bark of *Cryptomeria japonica* Plant Molecular Biology 43: 451-457

Ujino-Ihara T, Taguchi Y, Yoshimura K, Tsumura Y (2003) Analysis of expressed sequence tags derived from developing seed and pollen cones of *Cryptomeria japonica*. Plant Biology 5 : 600-607

Ujino-Ihara T, Kanamori H, Yamane H, Taguchi Y, Namiki N, Mukai Y, Yoshimura K, Tsumura Y (2005) Comparative analysis of expressed sequence tags of conifers and angiosperms reveals sequences specifically conserved in conifers. Plant Molecular Biology 59: 895-907

屋久杉自然館 (2002) 屋久杉. 巨樹・著名木. 屋久島町立屋久杉自然館, 屋久島