

【第3回森林遺伝育種学会賞受賞研究】

福島県のアカマツ林における遺伝的多様性の維持機構に関する研究

小澤 創^{*,1}

はじめに

この度は森林遺伝育種学会賞をいただき、誠にありがとうございます。ご推薦いただきました東京大学の後藤晋先生、九州大学の渡辺敦史先生、そして選考に携わっていただいた多くの先生方に厚く御礼申し上げます。また、本研究を進めるにあたり、東京大学の井出雄二先生、齊藤陽子先生、森林総合研究所の内山憲太郎博士、九州大学の渡辺敦史先生をはじめ、東京大学大学院農学生命科学研究科生圏システム学専攻、林木育種センター並びに福島県林業研究センターの多くの皆様にご指導、お力添えをいただきました。この場をお借りして心より御礼申し上げます。

今回受賞の対象となった研究は東京大学博士号（農学）請求論文としてまとめたものであります。本報告ではその研究のうち（Ozawa et al. 2009 ; Ozawa et al. 2012 ; Ozawa et al. 2013）、景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性と遺伝的構成を明らかにした研究（Ozawa et al. 2012）を中心に紹介させていただきます。

研究の背景

遷移初期木本種は植生遷移において草本期から木本期への移行の橋渡しをする樹種である（沼田 1966 ; Numata 1969）。一般に、攪乱後の初期に遷移初期種の頻度及び被度が増加し、その後、遷移が進行し、森林の階層構造が発達することで、森林の公益的機能は高まるとされる（藤森 2004）。

階層構造が発達した森林の生物多様性を保持するには、遷移を構成する各樹種の遺伝子流動の特性を理解することが必要である。すなわち、景観に分布する遷移初期種の集団の種子散布量及び種子散布距離、集団間の遺伝的なつながりなどを理解した上で、遷移を構

成する樹種の種多様性や遺伝的多様性を維持するように森林を管理することが、森林資源を利用しながら森林の生態系としての機能や構造も維持することにつながる（長池 2002）。

しかしながら、数 km のスケール（以後、景観スケールとする）を対象として遷移初期種の遺伝的多様性維持機構、特に、遺伝子流動の特性について明らかにした例はこれまでにない。そのため、遷移初期種が景観内で重要な役割を担っているにも関わらず、景観内にとどの程度の遷移初期種集団が存在し、それらをどのように管理すれば人為的な攪乱に対して適切に二次遷移が移行するののかという森林管理上の問題には答えられていない。

そこで、本研究では、遷移初期木本種の中で遺伝子流動の特性を解明するのに適した樹種として、アカマツ（*Pinus densiflora*）を取り上げた。そして、景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性や遺伝的構成に着目し、遺伝子流動の特性や遺伝的多様性の維持機構を明らかにしたい。さらに、本研究で得られる知見はアカマツの里山景観の構成種としての維持管理に対して科学的なデータを提供できると考えた。

アカマツ林は日本の里山景観の一部をなし（只木 1996）、古くから人間に利用され（例えば、小林 1957）、持続的に集団として景観内に分布し、公益機能の一部を担ってきたものの、分布の拡大と縮小（例えば、Zhou et al. 2002 ; 戸田 2004）を繰り返してきたと考えられる。

一方、アカマツは他のマツ属と同様に、日本の分布域を網羅した研究において、集団の遺伝的多様性は非常に高く（ $H_E = 0.805 \sim 0.894$ ）、集団間の遺伝的分化の程度も小さい（ $G_{ST} = 0.122$ ）ことが明らかになっている（Iwaizumi et al. 2013）。したがって、アカマツは分布の拡大と縮小を繰り返しながらも、高い遺伝的多様性を維持する機構を持っていると考えられる。

過去の研究で、景観スケールで流動する花粉の遺伝

* E-mail: ozawa_hajime_01@pref.fukushima.lg.jp

¹ おざわはじめ 福島県森林整備課

的多様性の高さが集団の遺伝的多様性の維持に重要な役割を担っていることが指摘されてきたものの、十分に明らかにされているとは言えない。

例えば、熱帯地方に分布する *Symphonia globulifera* の孤立集団において、集団外からの遺伝子流動が孤立していない集団よりも多いにも関わらず、集団外の遺伝子プールに貢献する親数が少ない(遺伝的多様性が低い)ため、実生の自殖率が高く、遺伝的多様性が低くなることが明らかにされている (Aldrich et al. 1998 ; Aldrich and Hamrick 1998)。この知見は流動する遺伝子の量が多くても、遺伝的な変異が低ければ、集団の遺伝的多様性は低下し、世代が経過すると集団の遺伝的分化が進む可能性があることを示している。

一般に、景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性は有効花粉親数 (N_{ep}) や最大交配父性数 (MLE (N)) などのパラメーターで推定されてきた (例えば、Fernández and Sork 2005 ; O'Connell et al. 2006, 2007)。しかしながら、この手法が適用可能な対象は親候補となる個体が限られるような極端に分断化された集団に限られている。

本研究の材料であるアカマツのように、同樹種集団が多く存在している場所では景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性や遺伝的構成は全く明らかにされていない。そのため、遺伝的多様性や遺伝的構成の評価とともに、評価手法の開発が求められている。

調査地の概要

本研究の調査地は阿武隈山地の北部(福島県相馬郡新地町)に設置された(図-1)。阿武隈山地は古くから牛馬の放牧が盛んであり、広大な草地が維持されていたことが知られている(例えば、安田 1962)。明治時代以降、エネルギーの多くを化石燃料に依存するようになると、多くの草地は放棄され、そこにアカマツ林が成立したとされる(例えば、小泉ら 2000)。

近年、分布を拡大させたアカマツ林は遷移の進行、都市化、マツ枯等によって急激に分断化されている(例えば、只木 1996 ; 山本 2001)。調査地でもアカマツ林の分断化は深刻である。調査地(4 km × 4 km の方形区)における 1974 年のアカマツ林の面積は 612 ha であったが、2004 年には 234 ha (1974 年の 62%) に減少していた。また、アカマツ林の平均面積は 5.9 ha/ 林分から 2.0 ha/ 林分に減少していた。この間、調査地内のアカマツ林を含めた森林面積はほとんど減少していなかったことから、アカマツ林の分断化の要因は維持管理の放棄による遷移の進行とマツノザイセンチュウによる集団的枯死であると考えられた。

この分断化がアカマツ集団の遺伝的多様性にどのような影響を与えているかを明らかにするために 1974 年に存在し、2004 年に残存していた 8 集団(pf1 ~ pf8)を調査対象とした(図-1)。集団の遺伝的な背景を把握す

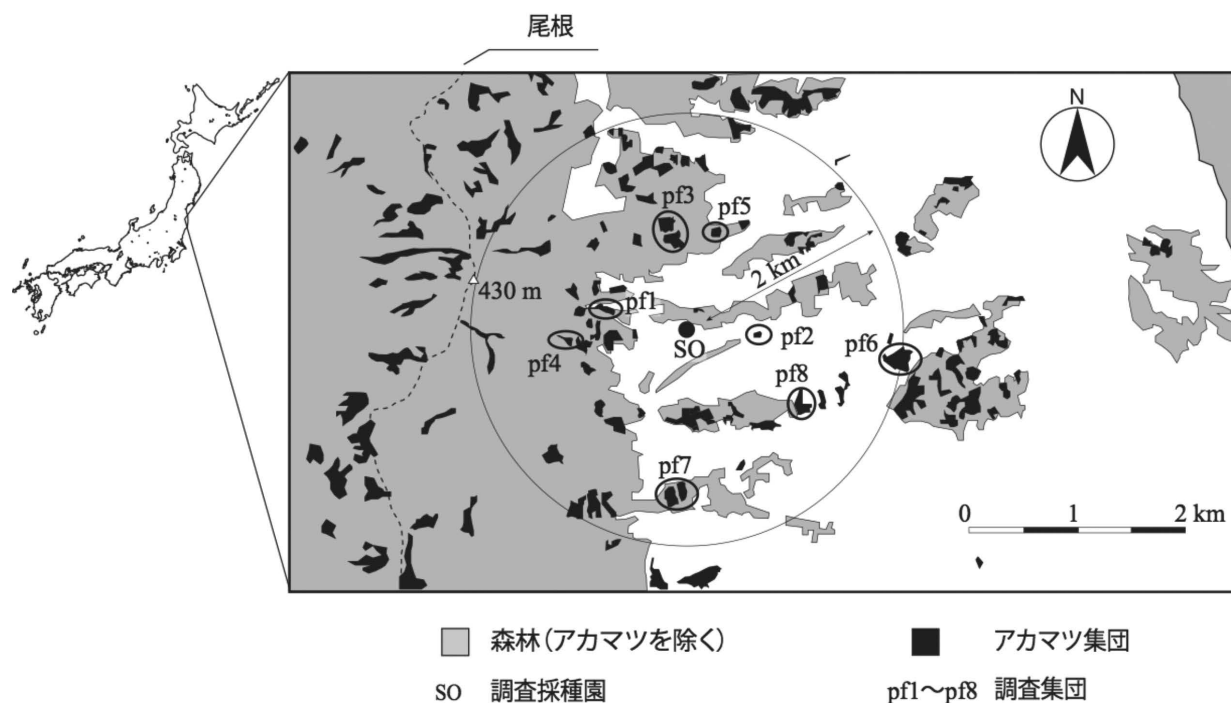


図-1 調査対象とした採種園およびアカマツ集団。Ozawa et al. (2012) を改変。

るために、各集団において相互に15 m以上離れた成木をランダムに30～60個体選定し、針葉を採取した。また、典型的なシードレインを得るために、2004年9～12月にシードトラップを設置して種子を採取し、そのうち、約70種子を分析に供した。これらの材料からDNAを抽出し、8つのマイクロサテライトの遺伝子座を用いて遺伝的多様性の評価を行った。

その結果、Neiの遺伝的多様度(H_E)は成木が $H_E = 0.849 \sim 0.879$ 、種子が $H_E = 0.854 \sim 0.884$ 、アレリックリッチネス(R)は成木が $R = 13.72 \sim 14.35$ 、種子が $R = 13.15 \sim 14.74$ であり、遺伝的多様性の程度は保護されたアカマツ林や天然のアカマツ林(Iwaizumi et al. 2007; Iwaizumi et al. 2013)と同じ程度であると判断された。また、種子の遺伝的多様性のパラメーターは成木と有意差は検出されず、集団の規模(面積と立木本数)と有意な相関関係は検出されなかったことから、集団の規模に関わらず、天然のアカマツ林と同程度の遺伝的多様性を持った種子集団が散布されていると判断された。これらのことから、調査集団は高い遺伝的多様性を持った種子を散布させる機構を持つことが示唆された。

花粉捕捉施設としてのアカマツ採種園の利用

調査地において花粉散布期間中に景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性がどのように変わるのかを評価するためには、花粉を継続的に直接捕捉する必要がある。時々刻々と流動する花粉を確実に捉えるには、採種園で作られる種子の父性アレルプールとして収集することが適切だと考えた。つまり、採種園を利用することで、景観スケールで流動する花粉を園外花粉として正確に識別することができ、しかも、異なる時期に採種園に飛来する園外花粉を容易に捉えることができる可能性がある。採種園は景観スケールで流動する花粉を捉える利点を4つ持っており、花粉捕捉施設として利用するためには、そのうち2つを検証することが必要である。

利点の第1は、採種園に植栽されている個体は種子採取を効率的に行うために樹高が5 m程度で管理されるので、花粉を捕捉する役割を担う雌花の開花過程を容易に調査できることである。第2は、植栽されている個体は採種園から遠く離れた場所で選抜されており、選抜地の気候に適応した開花特性が維持されていることである(例えば、Burczyk and Chalupka 1997)。採種園内の交配は雌花の受粉期間と花粉散布期間に時間的な差

が生じることが多く(e.g. Griffin 1982)、植栽木どうしの交配がなされない場合がある。採種園内の雄花と雌花の開花過程が植栽木で同調しないことは、理想的な採種園の条件(Wheeler and Jech 1992)から見ると不利であるが、景観スケールで流動する花粉を捉える場合は利点になる。つまり、雌花の受粉期間が植栽木によって数日間ずれるので、選抜地が異なる植栽木の雌花を利用して異なる時期に採種園に飛来する園外花粉を捉えることができる可能性がある。第3は、多くの採種園で園外花粉の流入が確認されることである(Stoeck and Newton 2002)。園外花粉の流入割合は採種園の規模、造成してから経過年数、周囲の同樹種林分の存在などにより2.2～71.2%の幅がある(例えば、Goto et al. 2002)。特に、造成からの経過年数が短い(言い換えれば「若い」)採種園は、採種園内で生産される花粉量が少ないため、採種園外からの花粉を受け入れやすい(Harju and Muona 1989)。したがって、若い採種園を利用して景観スケールで流動する花粉を量多く捕捉することができる可能性がある。第4には、クローン採種園の場合、採種園を構成するクローン数には限りがあり、採種園内の個体を遺伝子マーカーによって識別することが天然林に比べると容易であることである。これらの利点のうち、第2、第3は採種園が置かれている環境によって異なるため、景観スケールで流動する花粉を捉える施設として適切かどうかを検証する必要がある。

調査地において、採種園は8つの調査集団の中心に位置し、太平洋から約5 km内陸の平地に設置されている(37°51'N、140°53'E、海拔68 m)(図-1)。採種園から約2 km西には南北に山脈が通っており、採種園の半径2 kmの標高差は約400 mである。採種園の規模は700 m²であり、1998年にGiertych (1965)に基づいて設計された。採種園は東北地方から選抜されたマツノザイセンチュウに対する抵抗性を持つ16クローンで構成されており、その16クローンを接ぎ木でクローン化した採種木(ラメート、本研究では個体とする)が442本植栽されている。植栽間隔は3.5 m、2004年時点での植栽個体の樹齢は9年もしくは6年であった。

採種園の受粉期間と調査地の花粉散布期間の推定

調査地においてアカマツの花粉散布期間に流動する花粉を全期間にわたって捕捉するために、できるだけ調査対象の採種園から離れた地域で選抜されたクロー

ンを調査材料として選定する必要がある。そこで、調査地から北と西に離れた地域から選抜された3クローン、三本木5 (SaA、青森県)、刈羽102 (Ka、新潟県)、上閉伊101 (Km、岩手県)を選定した。また、アカマツの花粉散布期間を把握するために、できるだけ採種園に近い地域で選抜されたクローンを調査材料として選定する必要がある。そこで、調査地の南約60 kmの福島県いわき市で選抜された4クローン (I8、I23、I25、I91)を選定した。

採種園の受粉期間を明らかにするために、雌花の開花過程を把握した。2003年5月に3クローンからKmは3個体、SaAとKaはそれぞれ5個体を選定し、南向きの樹冠の高さ2.5 mから3.0 mの範囲に着生している雌花を1個体あたり最大5個選定した。雌花の開花過程はChung (1981)に従い、開花初期、開花中期、開花後期の3期に区分した。マツ属では開花中期に胚珠が交配することから、各クローンの受粉期間は、調査花のどれか一つでも開花中期に入った日を受粉期間の開始日とし、調査花が全て開花後期と確認された日の一つ前の調査日を受粉期間の終了日とした。

調査地の花粉散布期間を推定するためには雄花が花粉を散布させる日を把握する必要がある。そこで、4クローン (I8、I23、I25、I91) から19個体を選定し、南向きの樹冠の高さ1.0 mから3.0 mの範囲に着生した雄花を1個体あたり最大5花、全部で30花を選定し、花粉が散布された日を確認した。調査雄花が花粉を散布させた日から、調査地の花粉散布期間を以下のように推定した。一般的に、マツ林の花粉散布期間は約2週間とされ、マツ花粉が確認されてから、5～8日後に最も散布量が多くなる花粉散布盛期に達する (例えば、Eriksson et al. 1995)。調査対象の30花のうち、最も多くの花が花粉を散布させた日を調査地における花粉散布盛期に当たると判断し、その前後を含めた約2週間を花粉散布期間とした。

採種園の受粉期間を推定するために選抜された3クローンにおいて、SaAとKaでは調査個体に十分量の雌花が着生し、各個体あたり5花を調査することができたが、Kmでは調査個体番号1では2花、調査個体番号3では4花しか着生しなかったため、着生した全ての花を調査対象とした (図-2)。雌花の開花過程の開始はSaAが最も早く、Kaが最も遅かった。また、各クローンで選定された調査個体の開花過程はほぼ同時に進行し、クローン内の差はほとんどなかった。開花過程が最も早いSaAと最も遅いKaとの差は大きく、SaAが開花後期の時にKaは開花中期を示していた。また、Km

の開花中期の期間は短く、SaAの開花中期の終了時期とKaの開花中期の開始時期と重なっていた。したがって、KmとKaの雌花のフェノロジーは明確に区別できないものの、Kaの方が比較的遅いと判断された。各クローンの受粉期間はSaAが5月15日～22日、Kmが5月15日～26日、Kaが5月20日～26日と判断され、この採種園の受粉期間は5月15日～26日の12日間と判断された。

調査地の花粉散布期間を推定するために選定された4クローン30調査花が花粉を散布させた日は5月12日が1花、5月15日が5花、5月20日が24花であった (図-2)。したがって、最も多くの雄花が花粉を散布させた5月20日が調査地の花粉飛散盛期だと判断され、調査地の花粉散布期間は5月20日を中心とした2週間 (5月13日～26日前後)と判断された。

これらの結果から、この採種園を利用することで5月15日～26日までの12日間に流動する花粉を捕捉することができ、この受粉期間は調査地の花粉散布期間と十分に重なっていると判断される。そして、SaAの個体を利用することで花粉散布期間の比較的早い時期、KmとKaの個体を利用することで花粉散布期間の中期から後期に景観スケールで流動する花粉を捕捉することができると判断される。この3クローンが採種園外から飛来する花粉 (園外花粉) を十分に受け取っていれば、採種園を利用して景観スケールで流動する花粉を捕捉することができると判断される。

採種園に飛来する園外花粉

調査対象の3クローンがどれくらい園外花粉を受け取っているかを明らかにするために、種子の親子鑑定を行った。まず、5つのマイクロサテライトマーカーの遺伝子座を用いて採種園に植栽されている全個体の遺伝子型を確定した。次に、SaAから2個体、Kmから3個体、Kaから4個体を選定し、2004年秋に調査木あたり75～120種子を採取し、同じく遺伝子型を確定した。種子の花粉親鑑定は採種園植栽クローンを花粉親候補とし、配分法 (Gerber et al. 2000) により行い、種子の花粉親が採種園に植栽されているクローンではないと判定された場合、園外から飛来した花粉との交配である (景観スケールで流動する花粉を捕捉している) とした。

5つの遺伝子座と採用した配分法を用いることで示される花粉親の識別能力は十分に高いと判断される

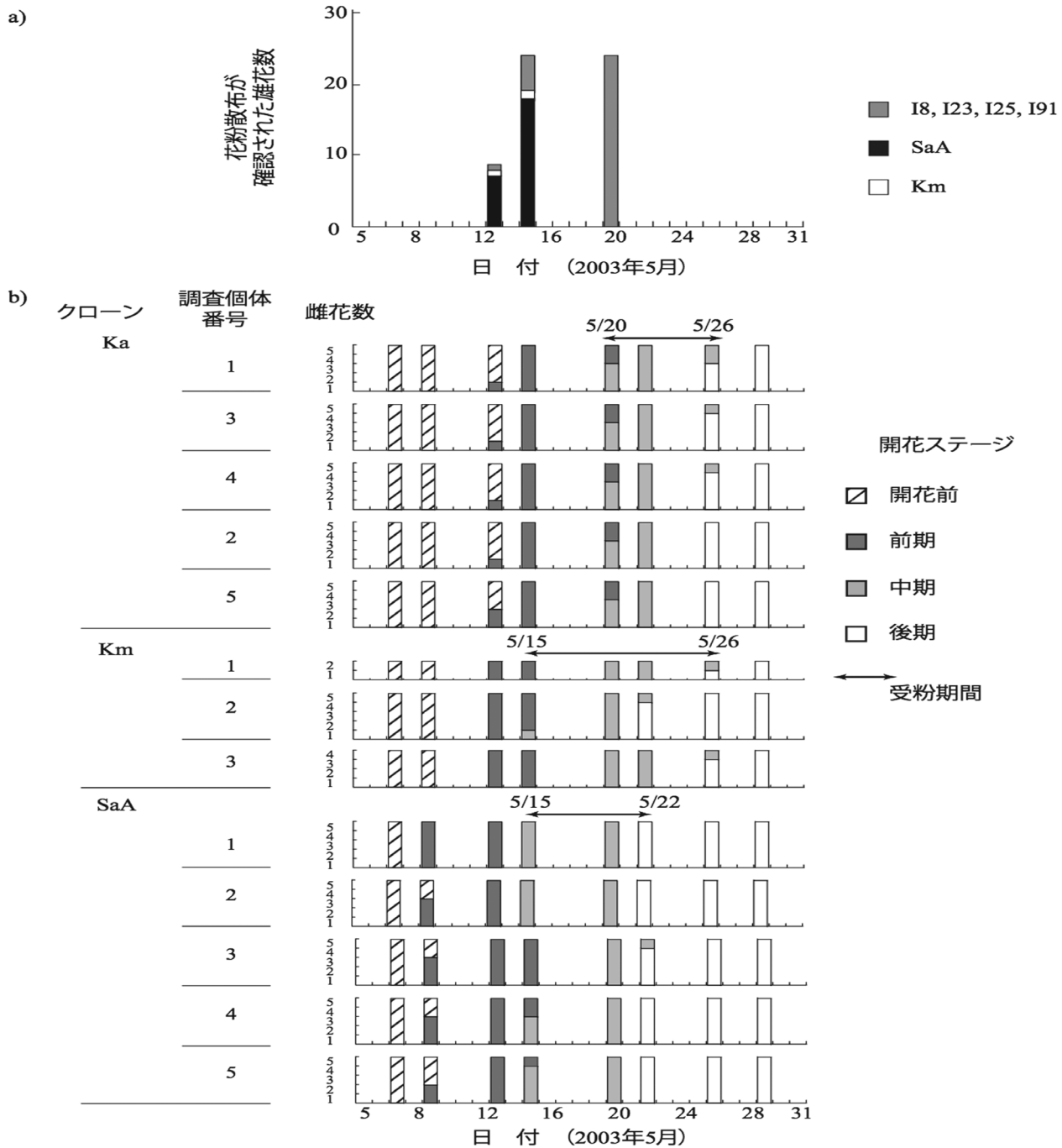


図-2 採種園における雄花 (a) および雌花開花の過程 (b)。Km の調査個体では雌花が着生しなかったため、着生した最大数 (調査個体番号 1 では 2 花、調査個体番号 3 では 4 花) の調査を行った。Ozawa et al. (2012) より作成。

(表-1)。タイプ1エラー率 (採種園内の親を採種園外の親として判定する確率) は 0.1 ~ 2.8% であり、タイプ2エラー率 (採種園外の親を採種園内の親として判定する確率) は 5.7 ~ 14.6% であった。閾値に設定された LOD 値で、親候補個体を真の親として正しく鑑定する割合は 88.1 ~ 92.4% であった。これらのパラメー

ターが示している鑑定能力のもとで、調査個体から得た種子の花粉親鑑定を行った。分析に供した種子のうち、花粉親が園外花粉である割合は SaA では分析種子の 82% 以上、Km では 88% 以上、Ka では 85% 以上であり、9 調査個体全体では 89.6% であった。

これらの結果から、3 クローン 9 調査個体とも採種

表-1 調査個体から得られた種子の花粉親の由来と配分法を用いた花粉親の識別能力の評価

クローン	個体識別記号	分析種子数	分析種子の花粉親の由来				花粉親の識別能力			
			園外		園内		閾値の LOD	エラー率 (%)		分析の 正解率 (%)
			No.	%	No.	%		Type I	Type II	
SaA	G	113	101	(89.4)	12	(10.6)	3.0	0.7	9.6	88.2
	N	96	79	(82.3)	17	(17.7)	3.0	1.1	9.9	90.4
Km	C	86	81	(94.2)	5	(5.8)	3.0	0.1	5.7	89.9
	H	80	73	(91.3)	7	(8.8)	3.0	2.0	8.4	88.2
	R	95	84	(88.4)	11	(11.6)	3.0	2.8	9.5	84.3
Ka	B	96	89	(92.7)	7	(7.3)	3.0	0.1	9.0	92.4
	F	120	113	(94.2)	7	(5.8)	2.9	0.1	10.6	91.6
	K	77	70	(91.0)	7	(9.0)	3.0	0.1	14.6	89.9
	S	116	98	(84.5)	18	(15.5)	3.0	0.8	10.5	88.1
合計		879	788	(89.6)	91	(10.4)				

Ozawa et al. (2009) より作成。

園外から飛来する花粉を非常に多く受け取っており、景観スケールで流動する花粉を十分に捕捉したと判断される。

景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性

3 クローン 9 調査個体が捕捉した 9 つの園外花粉の遺伝情報（各々を園外花粉プールとする）とアカマツ集団の 8 つの成木の遺伝情報（各々を遺伝子プールとする：園外花粉プールと同じ 5 つのマイクロサテライトの遺伝子座を用いて得たもの）の遺伝的多様性を R 、 H_E 、集団固有の対立遺伝子の多様度（ PR ）により評価した。花粉散布期間中に景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性の変化の有意性について検証するために、園外花粉プールの遺伝的多様性のクローン間差の有意性を分散分析（ANOVA）によって検定した。景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性と周囲のアカマツ集団の遺伝的多様性を比較するために、9 つの園外花粉プールを一つにしたものと 8 つの遺伝子プールを一つにしたものの遺伝的多様性の差の有意性を分散分析によって検定した。

調査地の花粉散布期間中に景観スケールで流動する花粉の遺伝的構成の変化の有意性について検証するために、園外花粉プールの遺伝的構成のクローン間差の有意性を AMOVA（Excoffier et al. 1992）によって検定した。このとき、同じクローンの園外花粉プールは反復として扱った。また、景観スケールで流動する花粉

とアカマツ集団の遺伝的構成の差の有意性について検証するために、9 つの園外花粉プールを一つのグループにしたもの（全園外花粉プールとする）と 8 つの遺伝子プールを一つのグループにしたもの（全遺伝子プールとする）を作成した。そして、この 2 グループ間の遺伝的構成の差の有意性を AMOVA で検定した。また、全遺伝子プールと各クローンの園外花粉プールの遺伝的構成の差を AMOVA で検定した。

9 つの園外花粉プールの遺伝的多様性は R では $R = 15.62 \sim 18.05$ であり、平均値は SaA が 16.51、Km が 17.36、Ka が 17.56 であった（表-2）。 PR では $PR = 0 \sim 0.39$ であり、平均値は SaA が 0.00、Km が 0.32、Ka が 0.05 であった。 H_E では $H_E = 0.890 \sim 0.906$ であり、平均値は SaA が 0.893、Km と Ka では 0.900 であった。これら 3 つのパラメーターはクローン間で有意差が検出されなかった。一方、8 つの遺伝子プールの遺伝的多様性は、 R では $R = 15.94 \sim 18.64$ 、 PR では $PR = 0.01 \sim 0.77$ 、 H_E では $H_E = 0.890 \sim 0.906$ であった。9 つの園外花粉プールと 8 つの遺伝子プールの遺伝的多様性は PR で有意差が検出され、 R と H_E では有意差は検出されなかった。

3 クローンの園外花粉プールの遺伝的構成には有意なクローン間差は検出されなかった（表-3）。全園外花粉プールと全遺伝子プールの遺伝的構成は有意差が検出された。また、3 クローンの園外花粉プールと全遺伝子プールの遺伝的構成を比較した場合、全てのクローンで有意差が検出された。

採種園の調査個体が捕捉した園外花粉プールの遺伝的多様性（ $R \geq 15.62$ 、 $H_E \geq 0.890$ ）はアカマツ集団の遺

表-2 採種園の調査個体が捕捉した園外花粉プールと調査集団の遺伝子プールの遺伝的多様性

材料	集団	クローン	個体識別 記号	分析数 <i>n</i>	遺伝的多様性		
					<i>R</i>	<i>PR</i>	<i>H</i> _E
園外 花粉プール		SaA	G	101	17.40	0	0.895
			N	79	15.62	0.00	0.890
			平均		16.51	0.00	0.893
		Km	C	81	17.22	0.21	0.898
			H	73	16.82	0.39	0.898
			R	84	18.05	0.36	0.903
		平均		17.36	0.32	0.900	
		Ka	B	89	17.54	0.00	0.906
			F	113	17.81	0.15	0.896
			K	70	17.46	0.01	0.901
			S	98	17.44	0.03	0.896
		平均		17.56	0.05	0.900	
		平均		17.26	0.13	^a 0.898	
成木の 遺伝子プール		pf1		53	18.58	0.50	0.897
		pf2		33	15.94	0.20	0.890
		pf3		37	17.91	0.23	0.902
		pf4		38	16.88	0.01	0.893
		pf5		32	16.35	0.01	0.874
		pf6		45	18.64	0.74	0.906
		pf7		29	16.40	0.40	0.898
		pf8		39	18.04	0.77	0.893
		平均		17.34	0.36	^b 0.894	

R : 平均アレリックリッチネス、*PR* : 平均プライベートアレリックリッチネス、*H_E* : 平均遺伝子多様度。*R* と *PR* は 58 遺伝子に調整して算出した。花粉プールの遺伝的多様性のクローン間差及び園外花粉プールと遺伝子プールの遺伝的多様性の差はボンフェローニ補正の下で、ANOVA によって検定した ($P < 0.05$)。数字の肩に記したアルファベットは有意差があることを示している。Ozawa et al. (2012) より作成。

表-3 AMOVA による園外花粉プールの遺伝的構成のクローン間差の検定と全遺伝子プール¹⁾と各クローンの園外花粉プールの遺伝的構成の差の検定

遺伝的構成の差の検定対象		変動の要因	自由度	平均平方	変動推定値	%	φ	P-value
園外花粉プールのクローン間		クローン間	2	2.418	0	0	-0.001	ns
		クローン内の調査個体間	6	2.993	0.009	0	0.004	<0.05
		調査個体内の花粉間	779	2.185	2.185	100		
園外花粉プールと 全遺伝子プール間	全園外花粉プール ²⁾ と全遺伝子プール	全花粉プールと全遺伝子プール間	1	4.647	0.003	0	0.001	<0.05
		全花粉プールと全遺伝子プール内	1516	2.252	2.252	100		
	Sa の園外花粉プール と全遺伝子プール	花粉プールと全遺伝子プール間	1	553.768	1.874	43	0.427	<0.05
		各花粉プールと全遺伝子プール間	1	4.689	0.025	1	0.010	<0.05
		花粉プールと全遺伝子プール内	908	2.488	2.488	57		
	Km の園外花粉プール と全遺伝子プール	花粉プールと全遺伝子プール間	1	747.392	2.052	45	0.450	<0.05
		各花粉プールと全遺伝子プール間	2	2.998	0.006	0	0.002	ns
		花粉プールと全遺伝子プール内	966	2.507	2.507	55		
	Ka の園外花粉プール と全遺伝子プール	花粉プールと全遺伝子プール間	1	961.416	1.921	42	0.415	<0.05
		各花粉プールと全遺伝子プール間	3	5.405	0.029	1	0.011	<0.05
		花粉プールと全遺伝子プール内	1098	2.675	2.675	58		

1) 全遺伝子プールは 8 つ集団の成木の遺伝子プールを一つのグループにしたもの。

2) 全園外花粉プールは 9 つの園外花粉プールを一つのグループにしたもの。ns : 有意差なし。φ 値の有意性は 1,000 回のランダム推定によって得た。Ozawa et al. (2012) より作成。

伝子プール ($R \geq 15.94$, $H_E \geq 0.890$) と有意差は検出されなかったことから、保護林や天然林と同程度であり、景観スケールで流動する花粉を構成しているアレルは非常に変異に富んでいると判断することができる。また、園外花粉プールの遺伝的多様性、遺伝的構成ともクローン間で有意差が検出されなかったことから、花粉散布期間中に景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性や遺伝的構成は変化しないとみなすことができる。

全園外花粉プールと全遺伝子プール、各クローンの園外花粉プールと全遺伝子プールの遺伝的構成には有意差が確認された。しかし、実際に遺伝的構成に差があるとは考えにくい。園外花粉プールと遺伝子プールは R や H_E では有意差が検出されず、 PR で有意差が検出されたことから、低頻度のアレルの差を遺伝的構成の差として検出したと考えられる。この差は分析に供したサンプル量に起因するものと考えられる。つまり、統計分析に供した花粉サンプルは実際に景観内に散布された全花粉のうちのほんの僅かではないため、園外花粉プールは遺伝子プールよりも低頻度のアレルが少なくなり、遺伝的構成に有意差が検出されたと考えられる。

結論として、景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性や遺伝的構成は花粉散布期間中に変化しないことが明らかになった。また、景観スケールで流動する花粉の遺伝的多様性は保護林や天然林と同程度であると考えられた。

アカマツ集団が分断化されたときに 遺伝的多様性を維持する機構

アカマツが放棄された草地に分布域を拡大させた後、種子の散布源となった親集団どうしや、親集団と分布域を拡大させた子集団は高い遺伝的多様性を持った花粉によって遺伝的につながっていると考えられる。

本研究で明らかになった景観スケールで流動する花粉が持つ遺伝的多様性の高さは、花粉散布期間中に対象景観に分布する集団に対して、集団にない遺伝子を供給する能力を持っていることを示している。特に、規模の小さい集団では、景観スケールで流動する花粉が集団内の成木から供給されなかった遺伝子の供給源になると考えられる。景観スケールで流動する花粉は集団の規模に関わらず多くの集団に飛来すると考えられるので、どの集団でもシードレインの遺伝的多様性

に貢献したと考えられる。その結果、シードレインの遺伝的多様性は天然林と同じレベルに維持されたと考えられる。

本研究や過去の研究によって得られた知見は、現在のアカマツ林を遺伝的多様性の保全の面から短期的には管理をする必要性はないということを示している。只木 (1996) は近代化によって森林資源が利用されなくなり、今まで遷移の進行が抑制されることで維持されてきたアカマツ林が衰退するのは、森林が極相に向かう自然の流れであると指摘している。太田 (2012) は、アカマツ林は衰退しても完全に消失することではなく、尾根筋に生育し続けるであろうと予測している。これらの知見から、現在まで遺伝的多様性が維持されてきたのは、人間の利用の程度がアカマツ集団の遺伝的なつながりの許容範囲内であり、アカマツが持つ遺伝的多様性を維持する機構が機能してきたためだと考えられる。

一方、長期的な観点からはアカマツ林の管理を考える必要があるだろう。Iwaizumi et al. (2013) は東日本と北日本のアカマツ集団は過去に急激な分布拡大によるボトルネックの影響を受けていることを明らかにし、人間の活動と土地利用の変化が遺伝的多様性や遺伝的構造に影響を与える要因となりうることを指摘している。アカマツ林の分断化が極端に進んだ場合、伐採跡地や再造林放棄地に遺伝的多様性が高い集団を定着させることができなくなる可能性や、侵入・定着する個体数が減少する可能性があり、景観の森林が持つ機能が維持できなくなることにつながる。さらには、アカマツを含めた里山景観の遺伝的多様性の低下にもつながる可能性がある。景観内において、アカマツの遷移初期種としての役割が果たせなくなるほど分断化されることは避けるべきである。

引用文献

- Aldrich PR, Hamrick JL (1998) Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. *Science* 281: 103–105
- Aldrich PR, Hamrick JL, Chavarriaga P, Kochert G (1998) Microsatellite analysis of demographic genetic structure in fragmented populations of the tropical tree *Symphonia globulifera*. *Molecular Ecology* 7: 933–944
- Burczyk J, Chalupka W (1997) Flowering and cone production variability and its effect on parental balance in

- a Scots pine clonal seed orchard. *Annals of Forest Science* 54: 129–144
- Chung M-S (1981) Flowering characteristics of *Pinus sylvestris* L. with special emphasis on the reproductive adaptation to local temperature factor. *Acta Forestalia Fennica* 169: 1–68
- Eriksson U, Jansson G, Yazdani R, Wilhelmsson L (1995) Effects of supplemental mass pollination (SMP) in a young and a mature seed orchard of *Pinus sylvestris*. *Tree Physiology* 15: 519–526
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491
- Fernández-MJF, Sork VL (2005) Mating patterns of a subdivided population of the Andean oak (*Quercus humboldtii* Bonpl., Fagaceae). *Journal of Heredity* 96: 635–643
- 藤森隆郎 (2004) 森林と地球環境保全. 丸善, 東京
- Gerber S, Mariette S, Streiff R, Bodenes C, Kremer A (2000) Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers for parentage analysis. *Molecular Ecology* 9: 1037–1048
- Giertych MM (1965) Systematic lay-outs for seed orchards. *Silvae Genet* 14: 91–94
- Goto S, Miyahara F, Ide Y (2002) Monitoring male reproductive success in a Japanese black pine clonal seed orchard with RAPD markers. *Canadian Journal of Forest Research* 32: 983–988
- Griffin AR (1982) Clonal variations in radiata pine seed orchard. I. Some flowering, cone and seed production traits. *Australian Forest Research* 12: 295–302
- Harju A, Muona O (1989) Background pollination in *Pinus sylvestris* seed orchards. *Scandinavian Journal of Forest Research* 4: 513–520
- Iwaizumi MG, 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*. *Canadian Journal of Forest Research* 37: 2022–2030
- Iwaizumi MG, Tsuda Y, Ohtani M, Tsumura Y, Takahashi M (2013) Recent distribution changes affect geographic clines in genetic diversity and structure of *Pinus densiflora* natural populations in Japan. *Forest Ecology and Management* 304: 407–416
- 小林準一郎 (1957) アカマツとブナ. 紙パルプ技術協会誌 11: 152–155
- 小泉 博、大黒俊哉、鞠子 茂 (2000) 草原、砂漠の生態. 協立出版, 東京
- 長池卓男 (2002) 森林管理が植物種多様性に及ぼす影響. *日本生態学会誌* 52: 35–54
- 沼田 真 (1966) 草地の状態診断に関する研究 II 一種類組成による診断一. *日本草地学会誌* 12: 29–36
- Numata M (1969) Progressive and retrogressive gradient of grassland vegetation measured by degree of succession. *Vegetatio* 19: 96–127
- O'Connell LM, Mosseler A, Rajora OP (2006) Impacts of forest fragmentation on the mating system and genetic diversity of white spruce (*Picea glauca*) at the landscape level. *Heredity* 97: 418–426
- O'Connell LM, Mosseler A, Rajora OP (2007) Extensive long-distance pollen dispersal in a fragmented landscape maintains genetic diversity in white spruce. *Journal of Heredity* 98: 640–645
- 太田猛彦 (2012) 森林飽和 国土の変貌を考える. NHK 出版, 東京
- Ozawa H, Watanabe J, Chen H, Isoda K, Watanabe A (2009) The impact of phenological and artificial factors on seed quality in a nematode-resistant *Pinus densiflora* seed orchard. *Silvae Genetica* 58: 145–152
- Ozawa H, Watanabe A, Uchiyama K, Saito Y, Ide Y (2012) Genetic diversity of *Pinus densiflora* pollen flowing over fragmented populations during a mating season. *Journal of Forest Research* 17: 488–498
- Ozawa H, Watanabe A, Uchiyama K, Saito Y, Ide Y (2013) Influence of long-distance seed dispersal on the genetic diversity of seed rain in fragmented *Pinus densiflora* populations relative to pollen-mediated gene flow. *Journal of Heredity* 104: 465–475
- Stoehr MU, Newton CH (2002) Evaluation of mating dynamics in a lodgepole pine seed orchard using chloroplast DNA markers. *Canadian Journal of Forest Research* 32: 469–476
- 只木良也 (1996) 森林環境科学. 朝倉書店, 東京
- 戸田忠雄 (2004) アカマツおよびクロマツのマツ材線虫病抵抗性育種に関する研究. *林木育種センター研究報告* 20: 83–218
- Wheeler NC, Jech KS (1992) The use of electrophoretic markers in seed orchard research. *New Forests* 6: 311–328
- 山本勝利 (2001) 里地におけるランドスケープ構造と

植物相の変容に関する研究. 農業環境技術研究所報告 20: 1–105
安田初雄 (1962) 本邦における放牧の地理学的研究. 福島大学学芸学部論集 13: 41–85

Zhou J, Naito K, Takahashi Y (2002) Secondary vegetation and succession of abandoned grazed grasslands in upland Southwest Honshu, Japan. *Vegetation Science* 19: 11–23