

ブナの保全単位の設定に関する保全遺伝学的研究

小山泰弘*

近年、ブナ等の広葉樹を地域の自然再生を目的として植栽される事例が増えている。しかし、ブナは葉面積などの形態や遺伝的な構造が日本海側と太平洋側で異なっている。日本海側と太平洋側では気象条件等が大きく異なるため、両者間で種苗を移動させると、植栽された環境に適合できない場合や、植栽個体と自生集団の交雑による将来の適応度が低下するなどの懸念があるが、実態が把握されていない。そこで、本研究では長野県におけるブナを植栽する場合に必要な管理区分である「保全単位」の設定を試みた。研究はまず、長野県のブナ天然林 30 集団と人工林 20 集団で葉緑体 DNA のハプロタイプを決定した。その結果、長野県内の天然林は明瞭な地理的な構造を持った 4 種類のハプロタイプが検出されたが、人工林では日本海側の多雪地域に分布するハプロタイプのみが検出され、太平洋側の寡雪地域に位置する人工林集団は、天然林集団の系統と異なる苗木が植栽されていた。次に、長野県を含む本州中央部のブナ天然林 25 集団で核マイクロサイトを遺伝マーカーとして地理的変異を調査したところ、日本海側と太平洋側の集団間に明瞭な遺伝的分化は認められず、緯度に沿った連続的な変異が生じていた。さらに、本州中央部のブナ天然林 38 集団で、適応的な表現形質である葉面積を測定したところ、日本海側と太平洋側の間で緯度に沿った連続的な変異となっていた。その上で、ブナ苗木の移植試験を行い、稚樹の生残と成長に及ぼす影響を調査した。その結果、日本海側のブナ苗木を寡雪地へ移植すると先枯れにより成長停滞が起き、太平洋側のブナを豪雪地へ移植すると雪害により成長阻害を受け、地域を越えた移植は成長に悪影響を及ぼしていた。これらの結果から、長野県におけるブナの保全単位は、長野県を南北に二分することが望ましいと判断し、長野県の広域行政圏に配慮した保全単位を設定した。

キーワード： ブナ、遺伝的多様性、保全単位、人工林、影響

目次

第 1 章 序論	47
1.1 わが国の造林と林業種苗の取り扱い	47
1.1.1 林業種苗法の制定に至る歴史的背景	47
1.1.2 林業種苗法の制定	48
1.1.3 広葉樹の造林	48
1.2 保全単位	49
1.2.1 種苗の移動制限に関するこれまでの研究	49
1.2.2 保全単位の必要性	50
1.2.3 保全単位の定め方	52
1.3 研究対象地域の長野県の森林	53
1.4 研究対象樹種のブナ	54
1.5 本研究の目的	55
第 2 章 長野県におけるブナ天然林集団の葉緑体ゲノムの地理的変異	59
2.1 はじめに	59
2.2 材料と方法	59
2.2.1 材料	59
2.2.2 葉緑体 DNA 分析	59
2.3 結果	60
2.4 考察	60
2.4.1 葉緑体 DNA ハプロタイプの地理的分布と分布境界	60

本論文は、名古屋大学博士学位論文である。

*現 林務部信州の木振興課

2.4.2	地域外からの苗木が植栽されている証拠	61
2.5	まとめ	62
第3章 本州中央部におけるブナ天然林集団の核ゲノムの地理的変異		
3.1	はじめに	65
3.2	材料と方法	65
3.2.1	材料	65
3.2.2	マイクロサテライト分析	65
3.2.3	データ解析	66
3.3	結果	67
3.3.1	全集団と集団内, 集団間の遺伝的多様性	67
3.3.2	集団間の遺伝構造	67
3.3.3	遺伝的多様性の地理的傾向	67
3.4	考察	67
3.5	まとめ	68
第4章 本州中央部におけるブナ天然林集団の葉面積の地理的変異		
4.1	はじめに	73
4.2	材料と方法	73
4.2.1	材料	73
4.2.2	葉面積の測定とデータ解析	74
4.3	結果	74
4.3.1	葉面積の地理的傾向	74
4.3.2	葉面積に影響を与える気象要因	74
4.3.3	集団の葉面積とクラスター1の割合との関係	74
4.4	考察	75
4.5	まとめ	76
第5章 日本海側と太平洋側間の移植がブナ稚樹の生残と成長に与える影響		
5.1	はじめに	80
5.2	材料と方法	80
5.3	結果	81
5.3.1	ブナ稚樹に発生した被害	81
5.3.2	ブナ稚樹の生残・枯死状況	81
5.3.3	ブナ稚樹の生残経過	82
5.3.4	被害別の発生状況	82
5.3.4.1	雪害	82
5.3.4.2	先枯れ被害	83
5.3.4.3	その他の被害	83
5.3.5	ブナ稚樹の樹高成長	83
5.4	考察	83
5.4.1	雪害の影響	84
5.4.2	先枯れの影響	84
5.4.3	そのほかの被害による影響	85
5.4.4	種苗産地の違いによる樹高成長への影響	86
5.5	まとめ	86

第6章 長野県におけるブナの保全単位の設定	93
6.1 はじめに	93
6.2 保全単位の設定方法	93
6.3 葉緑体ゲノムと核ゲノムの地理的変異から推定される日本海側・太平洋側ブナ集団の境界	93
6.4 日本海型・太平洋型ブナ林の境界	94
6.5 長野県のブナ保全単位の設定	94
6.6 展望と課題	95
摘要	98
謝辞	99
引用文献	99

第1章 序論

1.1 わが国の造林と林業種苗の取扱

1.1.1 林業種苗法の制定に至る歴史的背景

現在の日本の林業は、必要とする樹木の苗木を植栽し、下刈りや除伐、間伐などの保育を行った後に、伐採して収穫することが一般的である。しかし、古くから行われてきた林業では、樹木を植栽する造林はほとんど行われず、自然に生育していた樹木を伐採して利用することが中心であった。日本における最も古い造林の一つとして、平安時代の866年(貞観8年)に鹿島神宮造営用材のためスギ(*Cryptomeria japonica*) 4万株、クリ(*Castanea crenata*) 5,700株を植えた記録があるが(所 1980)、現在のような山地への造林が一般的に行われるようになったのは江戸時代の中期以降と考えられている(Totman 1998)。江戸時代中期以降に、各地で造林が行われるようになった背景は、それまでに行われてきた立木の伐採により、木材資源が枯渇したため、江戸幕府が伐採跡地への造林を奨励したためと考えられている(所 1980)。

明治時代に入ると、造林が本格的に行われるようになり、全国各地で造林面積が増加した。このため、造林に用いる苗木の需要が高まり、苗木生産量も急増した。造林樹種は、建築用材として利用価値が高く、加工性にも優れたスギやヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)などの針葉樹が中心であった。針葉樹の苗木は、スギなどでは挿し木苗も利用されたが、もっぱら種子による実生苗が中心であった。針葉樹の種子を求める声が大きくなったことで、種子を専門に集める業者(種子商)

が現れるようになった(佐藤 1950)。

ドイツなどでは、19世紀に若齢の母樹に結実した種子や、生育不良地に生育している矮小木など不良形質の母樹から採取した種子や、環境が異なる遠隔地の種子を販売するなど、良心的ではない種子商の存在が問題となった(Undseth 1929)。日本でも、同時代に種子や苗木の品質が安定しないことで、同様の問題があると考えられるようになり、苗木に利用される種子源が注目されるようになった(佐藤 1950)。樹木の種子生産は、多くの樹種で豊凶があるため、豊作年には優良木のみから種子採取を行ったとしても、不作年や凶作年には、不良な形質の母樹から採取を行うことや、遠隔地から種子を持ち込まざるを得ないことが考えられる。確かに、現在の日本でも法による規制が行われていない広葉樹の場合、採取効率を優先して種子を採取することが多い(小山 2005)。森林の育成は、極めて長期間にわたって行われるため、苗木の優劣は植栽しても短期間ではわからない場合が多い。特に種子の段階では、種子を見ただけで系統や形質を判断することは不可能で、枝葉の形状を区別することができる苗木の段階でも、木材としての材質や成長特性などの特性を判別することは難しい。さらに、苗木はサイズが小さく移動が容易に行えるため、産地・系統・採取源をごまかすことも簡単だと考えられている(塩谷 1973)。

林木の種苗は、こうした問題が起きたこともあり、苗木生産が多くなってきた大正中期には、国立林業試験場で種子鑑定が行われ発芽率や純度の測定が始まった。さらに1934年(昭和9年)には、

種子の採取に適した母樹及び母樹林が設定されるとともに、遠隔地からの種子や苗木の移入を制限する種子配給区域の設定が行われた(塩谷 1973)。

1.1.2 林業種苗法の制定

林業用の種苗は、母樹や種子の配給区域が設定されたことで、一定の規制を受けることとなった。その後、森林法の改正があった1939年に林業種苗法が制定され、林業に用いられる種苗の規制が強化された。林業種苗法では、主要な造林樹種として植栽されていたスギ、ヒノキ、アカマツ (*Pines densiflora*), クロマツ (*Pines thunbergii*), カラマツ (*Larix kaempferi*), エゾマツ (*Picea jezoensis*), トドマツ (*Abies sachalinensis*) の7樹種について、種子を採取するための母樹が指定されるとともに、種子の採取時期と苗木の配布区域の規制がかけられることになった。この時に定められた種苗の配布区域は、林業種苗法の制定以前に行われてきた産地試験の結果を参考にして、気候条件などの環境条件が同様な地域を一つのまとまりとした(佐藤 1950)。こうして制定された種苗配布区域は、スギで7区、ヒノキで3区、アカマツで3区、クロマツで2区に区分された。なお、カラマツ、エゾマツ、トドマツの3樹種は、天然分布域が狭いことなどから区域の設定は行われなかった。

林業種苗法が制定され、種苗の配布区域が定められたことで、広域的な種苗の流通には一定の歯止めがかかった。ところが、1960年代から進められた拡大造林政策により、人工造林が奥地へ進展するのに従い、造林地での気象害が多発するなど、不成績となる造林地が出現し、種苗の品質管理がさらに求められることになった(塩谷 1973)。

この時代は、林木の品種改良を行う林木育種事業が1956年から開始され、良好な成長を示す精英樹が全国各地で選抜され、精英樹クローンによる種子生産を行うための採種園造成が進められていた。そこで、林木育種事業の成果を踏まえて、遺伝的系統が明らかなものだけが植栽された採種園が種子採種源に指定されるとともに、種苗生産者の登録制度や、配布される種苗に産地系統表示を義務づけるなど、優良な種苗を安定的に供給することを目指して、1970年に林業種苗法が全面改定

された。この時に、種苗配布区域の見直しも行われ、旧法で規定された7樹種に加えて、リュウキュウマツ (*Pinus luchuensis*) も規制の対象樹種に指定されたが、その際、広葉樹は含まれなかった。

戦後の全国における造林面積の推移を見ると(林野庁 2011 ほか)、1950年からの復興造林に端を発し1960年代からは奥地林を開発した拡大造林が行われたことで、造林面積は毎年30万haを超えていたが(図1-1a)、その後は大きく減少し、2000年以降は年間3万ha程度の造林面積にとどまっている。造林樹種は大半が針葉樹で、広葉樹は常に少ないため(図1-1a)、林業種苗法では広葉樹の種苗配布区域は設定されていない。

1.1.3 広葉樹の造林

全国の造林面積の推移を見ると(図1-1a)、広葉樹の造林面積は針葉樹の造林面積と異なり、ほとんど横ばいになっているように見られる。そこで、広葉樹林だけを取り出して造林面積の推移を示したのが図1-1bである。これによると、過去、広葉樹を最も多く植栽したのが、戦後の復興期に当たる1950年代前半で、この時期には荒廃地の緑化を目的としてケヤマハンノキ (*Alnus hirsuta*) やヤシヤブシ (*Alnus firma*) などが大量に使用された。荒廃地の緑化が一段落した1960年以降は、全国における広葉樹の造林面積は常に横ばいの状態が続き、年間5,000ha程度の造林面積で推移している(林野庁 2011 ほか)。

針葉樹を含めた全体の造林面積が、1970年以降に減少を続けている中で、広葉樹の造林面積が横ばいを続けているということは、広葉樹造林は面積比としては増えていることになる。実際、林業種苗法が全面改定された1970年前後には、広葉樹の植栽面積は全体の1%程度だったが、現在ではおよそ13%を占めている。広葉樹の植栽比率が、5%を超えるようになったのは、1980年代の半ばからで、1990年代の後半からは10%以上を占めており、広葉樹の造林は1980年代から注目されてきた。

広葉樹造林が1980年代から注目された背景には、1980年代に起こった白神山地のブナ天然林伐採に対する反対運動に代表される、天然林の保全を求める自然保護運動がある(自然保護協会

1985)。白神山地では、天然生ブナ林の保護が叫ばれ、ブナ林の伐採につながると考えられた大規模林道の開発にストップがかかり、ブナ林の保全に向けた自然保護運動が活発になった。ブナ林の保全に向けた運動は、白神山地周辺だけにとどまらず、この時代にブナ林の伐採が盛んに行われていた東北地方をはじめ、全国各地に残るブナ林を守る運動へと拡大し、ブナ林の伐採見合わせが相次ぎ、各地のブナ林が保護されるようになってきた。それでも、全国各地に残されたブナ林の面積は、大型の野生動物などの保全を考えるにはまだまだ不足しているとの判断から、森林生態系としてのブナ林をより健全な状態で保全するために、失われたブナ林の再生が叫ばれるようになり、この一環としてブナの造林も行われるようになった。

1990年代以降になると、森林に対する国民の要望は、1990年代以降になると、木材資源の供給源という視点から、水土保持機能をはじめとした森林の公益的機能が高度に発揮されることを求めるようになった。これに合わせて、森林の整備も木材生産を目的とした針葉樹人工林一辺倒から、多様な樹種を交えた森林造成や森林の管理が求められるようになり、広葉樹への関心がさらに高まった。そして、1998年に行われた森林法の改正で、広葉樹林の適正な管理がうたわれるようになり、広葉樹の植栽面積の比率がさらに高まることとなった。

このような経緯から現在では、広葉樹林に対する国民の期待は高く、野生鳥獣の生息環境をはじめ景観の保全などの多面的な利用に向けて積極的な取組が進められている。林野庁でも、2006年9月に100年先を見通した森林づくりと国産材の復活を目指した新たな森林・林業基本計画を策定したことを受けて、「広葉樹林化」や「針広混交林化」が推進されるようになった（林野庁 2007）。このように、現在では年を経るごとに広葉樹林に対する期待や関心がより高くなり、広葉樹造林の需要もさらに増加していると考えられる。

1.2 保全単位

1.2.1 種苗の移動制限に関するこれまでの研究

樹木は、茎と根における二次成長により木部が肥大成長を続けるため（濱谷 2008）、長命性があ

り、高木性樹種の中には数百年にわたって生き続けるものがある（渡邊 1994）。樹木が、長期間にわたって生き続けるためには、気象条件や天敵など多くの環境条件に適応していることが必要である。しかし、植栽地の環境条件を理解することは、観測対象となる環境条件が多岐にわたることに加えて、現地の微地形や微気象にも左右されるため、正確に把握することは困難である。現実的な対応を考えると、樹木を植栽する場合は、環境条件の不適合をできるだけ避けるため、自生地由来の種苗を用いることや（Broadhurst *et al.* 2008）、植栽地にできるだけ近い場所で得られた種苗を用いることが望ましいと考えられている（Montalvo and Ellstrand 2000; McKay *et al.* 2005）。

しかし、多くの樹木における種子生産には豊凶があるため（渡邊 2000）、希望する時期に希望する量の種苗が確保できないことがあり、効率的に造林を行うためには、種苗の移動をある程度容認することが必要となってくる。しかし、遠隔地由来の種苗を用いた植栽を行うと、植栽場所の環境に適合しないことから植栽木の成長が停滞するなど環境不適合による影響が発生する可能性が指摘されている（Montalvo and Ellstrand 2000）。このため、種苗の移動は移植試験などの結果に基づいて、一定の根拠を持って制限すべきであると考えられてきた（Cambell 1991; Beaulieu *et al.* 2004 など）。日本の林業種苗法で定められている種苗配布区域は、温暖地域のスギを秋田県や山形県などの寒冷地域へ植えると成績が不良となる（柴田 1950）などの調査事例に基づき、気象条件が同様の地域同士をひとまとまりとしている（佐藤 1950）。実際、太平洋側産のスギを日本海側へ植栽すると、雪害を受けやすいとする報告がある（前田ら 1992）。長野県内でも、九州などの温暖地域産のスギを寡雪地域へ植栽した場合には良好な成長を見せ（片倉 1980; 武井 1974）、豪雪地域へ植栽した場合は、枝折れや幹折れなどの雪害が多発したが（片倉 1981）、同時に植栽した富山県産のタテヤマスギは被害がなかったことから（武井 1976）、長野県でも豪雪地域へは日本海側産の系統を植栽することが望ましいことがわかっている。

ところが、林業種苗法による配布区域の制限がない広葉樹の場合は、自由な生産流通が可能で、

全国へ流通している(茨城県 2005)。さらに広葉樹類の苗木生産量は、都道府県ごとに異なり、2004年度から2008年度までの5年間でみると(林野庁 2010 ほか)、生産量が最も多い北海道が全体の約30%を占めているほか、長野県や熊本県、宮崎県、鹿児島県、岡山県、福岡県、岩手県、広島県、大分県と続いている。これら上位10道県で、全国の広葉樹苗木生産量の80%を占めており、広葉樹苗木の生産地は寡占状態となっている。特に、東日本では、北海道と岩手県、長野県だけが上位10県に含まれるだけで、山形県や千葉県、静岡県などは広葉樹苗木の生産が報告されず、都道府県ごとの生産量には大きな開きがあり、広葉樹苗木が広域に流通していることを示唆している。

東日本で多くの広葉樹を生産している長野県では、苗木生産に使用している種子を専門業者から購入している事例や、公園などの原産地が全くわからない個体から種子が採取されていたことがわかっている(小山 2005)。すなわち、苗木の生産地が特定できたとしても、生産された苗木の種子源を把握することは、さらに難しい場合がある。このため、現実には植栽されている広葉樹は、その産地がわからないままに植栽されていると考えられ、植栽個体が健全に育たない可能性もある。さらに、植栽個体が、周辺の自生個体との間で交雑を繰り返してしまうことで、自生集団への遺伝的影響が危惧されており(津村・岩田 2003, 2006)、日本の広葉樹でも種苗の移動を制限する必要性が指摘されている(吉丸 2004)。

種苗の移動を制限するためには、何らかの根拠が必要である。しかし、広葉樹に関しては研究の歴史が浅く、針葉樹のような産地試験を行うことが難しい。そこで、それぞれの種が保有している遺伝的多様性を把握して、これを元に集団内及び集団間の遺伝的変異を調べることで、種苗の移動を制限しようとする試みが急速に進展してきた(津田 2011)。環境に影響されない中立マーカーは、個体の適応度の増減に影響を受けない集団の近親交配の程度や各集団のもつ遺伝的多様性を評価することが可能とされる(高橋・島谷 2003)。こうしたことから、日本の広葉樹でもブナ(*Fagus crenata*, Hiraoka and Tomaru 2009; Fujii *et al.* 2002 など)、ミズナラ(*Quercus mongolica* var.

crispula, Okaura *et al.* 2007, Ohsawa *et al.* 2011)、ヤマザクラ(*Cerasus jamazakura*, Tsuda *et al.* 2009)、ウダイカンバ(*Betula maximowicziana*, Tsuda and Ide 2005, 2010)などの広域に分布する主要な樹種について、全国レベルでの地理的変異が調査された。この結果を参考にして、広葉樹の種苗の移動に関する遺伝的ガイドラインも提案されており(森林総研 2011)、種苗の移動制限に向けた研究は加速している。さらに、希少種であるハナノキ(*Acer pycnanthum*, Saeki and Murakami 2009)や治山緑化樹として用いられるケヤマハンノキ(斎藤ら 2009)について、葉緑体DNAの変異をもとに異なる地域への種苗の移動を避けるべきではないかとの見解も示されており、中立マーカーを指標とした種苗の移動に関する提案はここ数年で急速に進みつつある。

しかし、中立マーカーによる遺伝的変異だけに注目すると適応的な差異が無視される可能性がある(Crandall *et al.* 2000)。環境による地理的な変異が核DNAの地理的変異では検出できない場合があることや(Bekessy *et al.* 2003)、葉緑体DNAの変異は、必ずしも表現形質との関係が高いとはいえないこと(Kremar *et al.* 2002)、中立な遺伝的変異と産地試験などで示された適応的な遺伝的変異には、直接的な関係が明確ではないといった指摘がある(McKay and Latta 2002)。このため、現在では中立マーカーによる遺伝的変異だけでなく適応的な遺伝形質も評価することが望ましいと考えられている(Cavers *et al.* 2004)。また、植栽される個体の適応性とそれによる自生集団への影響の両方を考慮した種苗流通への議論も生まれている(Lefèvre 2004)。

1.2.2 保全単位の必要性

同一種であっても、異なった環境下で生育している場合には、それぞれの環境に適応するように、種内の各集団は進化していると考えられる。先に述べたスギの事例では、異なる地域由来の苗木を植えたことで、環境不適合を起こしており、地域を越えた植栽には問題があることを示している(前田ら 1992)。これまでに述べてきた林業種苗法における種苗配布区域は、林業に用いる造林樹種を対象として、種苗の配布を制限してきた。木

材生産を行う場合には、植栽木は最終的に伐採されることから、伐採される時期まで健全に成長すれば重大な問題は発生しない。このため、林業種苗法で定めた種苗配布区域は、植栽木の環境不適合を回避することだけが考慮されている。

しかし、近年植栽される事例が増加している広葉樹の場合は、別の問題も考慮する必要がある。各地で行われているブナの植栽では、用材として利用することを目的に植栽されることは少なく、ブナ林の再生を目的としていることが多い。つまり植栽する個体は、地域の自然環境を復元（あるいは再生）させるための重要な役割を担っており、それによって再生されるブナ林を後世に残すことが求められる。ブナ林の再生を願ってブナを植える場合、もし周辺に残存している自生個体があると、植栽された個体との間の交配によって後継樹が生じることに注意を払わなければならない。

異なる環境で育ってきた個体が、地域の環境に適応した天然林集団と交配を行うと、子孫集団の中に天然林集団の遺伝子を受け継ぐ個体だけでなく、植栽個体の遺伝子を受け継ぐ個体も出現する。植栽個体の遺伝子を受け継ぐ個体が成長し、個体数が増加してしまうと、もともとの天然林集団の遺伝子を受け継ぐ個体が減少することが考えられる。こうなると地域に残された天然林集団の個体数が確保されたとしても、もともとの天然林集団が保有していた固有の遺伝子が減る可能性がある（松田 2002）。場合によっては、その地域にもともとあった天然林集団の保有する固有の遺伝子そのものが消失してしまう可能性もある（Hufford and Mazer 2003）。

また、地域の環境に適応してきた天然林集団に、異なる地域の異なる環境で育ってきた苗木が持ち込まれると、通常では起こりえない異なる地域の個体間での交配が起きてしまう。持ち込まれた苗木の産地の集団と自生個体の間に遺伝的分化があると、交配によって生まれた子世代は、両方の親世代よりも適応度が上がる場合もあるが、下がる場合もある（Frankham *et al.* 2002）。仮に子世代で適応度が上がったとしても、さらにその後代となる子孫集団で、適応度が下がる可能性がある（Hufford and Mazer 2003）。交配によって生じた後代の適応度が下がることを遠交弱勢と呼ぶが、

遠交弱勢はある環境に強く適応し、分散が限られる集団間で顕著であることから（Frankham *et al.* 2002）、樹木のように移動速度が遅く環境適応性の高い種では、遠交弱勢の危険性が高いと考えられる。もし、遠交弱勢が起きると、子孫集団において環境に適応できない個体が増加する可能性があり、結果として子孫集団が衰退するリスクが高まってしまう。つまり、由来のわからないブナを植えたことによって、ブナを保全するはずが逆に絶滅に追い込んでしまう可能性もあることになる。

そこで、自然環境の保全を目的とする場合は、植栽する樹木について、健全に育つだけでなく、植栽木と交雑した子孫集団でも、これまでに培ってきた地域の環境に適応した遺伝的特性や、遺伝的多様性が保全される必要がある。すなわち、地域に残るブナを保全するためには、植栽されたブナが健全に生育すれば終わりではなく、その先も見据えておくことが不可欠で、木材生産を目指す針葉樹の経済林とは目標が大きく異なっている。

このためには、現在成立している天然林集団の遺伝的構造を把握するとともに、植栽した場合の環境適応性を把握した上で、供給される種子や苗木が植栽場所に適応できる範囲を定めて、管理することが不可欠である。このように、それぞれの種の地域的なまとまりを大切にする考え方として「保全単位（conservation unit）」という管理区分が考えられている（Riddle and Hafner 1999）。保全単位は、遺伝的な分化がなく、適応性が異なる集団を一つのまとまりとしてとらえており、集団間で適応性が異なる場合は、別の保全単位として区別する必要がある。逆に適応性に差がなかったとしても、分布域が離れるなどで遺伝的分化がみられる場合は、やはり別の保全単位として区別する。このため、それぞれの保全単位を定めることで、地域にみられる遺伝的多様性及び固有性を維持していくことができる。そこで、本研究では、地域の自然環境を保全するための地理的範囲として、「保全単位」を取り扱うことにした。「保全単位」として定められる地理的範囲では、遺伝的多様性に影響を与える人為的な行為を制限することが求められるため、地域外からの種子や苗木の持ち込みを規制することになる。

種苗の持ち込みを制限するという点では、「保

全単位」と林業種苗法における「種苗配布区域」と類似しているが、基本的な考え方が異なっている。林業種苗法では、環境不適合による成長不良などの植栽木そのものへの影響を制限するため、植栽地で健全に成林できる地理的範囲を「種苗配布区域」として定めている。しかし、「保全単位」では、植栽地で健全に成林するだけでなく、次世代以降の集団の遺伝的な多様性が保全されることが種苗の移動制限の基準となる。現在行われているブナの植栽は、地域に残されたブナを将来まで保全していきたいという未来を見据えた長期的な視点に立っていることから、種苗配布区域ではなく、本研究で取り上げる「保全単位」の考え方を取り入れることが必要である。

1.2.3 保全単位の定め方

保全単位は、地域に認められた環境への適応性が失われないような管理単位であり、それぞれの地域に認められる遺伝的固有性を失わないことが求められている。地域ごとの遺伝的固有性は、長い歴史の中でそれぞれの生物が進化しながら獲得してきたと考えられることから、保全単位の設定も、地理的、進化的に区分できる単位で設定することが必要である (Riddle and Hafner 1999)。

保全単位については、当初から進化的に重要な単位 (evolutionarily significant unit; ESU) を定め、この単位を基準として管理すべきであると考えられてきた (Ryder 1986)。そこで、保全単位を定めるためには、まず地域の遺伝的固有性を評価する必要があり、環境に影響されない中立マーカを用いて明らかとなった遺伝的な違いを重要視する考え方が主流となった (Moritz 1995)。しかし、中立マーカによる遺伝的変異だけに注目すると、適応的な差異が無視されるとの指摘がある (Crandall *et al.* 2000)。Cavers *et al.* (2004) は、個体の適応性と関連する量的形質の地理的変異を最優先させることが重要であり、これに花粉などによる遺伝子流動の影響も考え、核ゲノムの中立マーカによる解析結果を加えるとともに、葉緑体 DNA の変化から歴史的な分布変遷も考慮することが望ましいとしている。現在では、種内の保全単位を定めるためには適応的な形質と中立マーカによる遺伝的変異の両面から検討するこ

とが最適であるとの見解が一般的になりつつある (戸丸 2008; 津田 2011)。

保全単位の区分に当たっては、明瞭な線で区分する方法と、種子源と植栽場所の関係を連続的な環境の違いなどを考慮して主に距離で区分する方法の2種類が考えられる (Ying and Yanchuk 2006; 津田 2011)。日本の林業種苗法で定められている種苗配布区域は、明瞭な線で区分する方法であるが、線を引かずに距離で区分する方法としては、種子の採取場所と植栽場所との位置について、緯度、経度、標高などにより移動先を制限することが提案されている (Ying and Yanchuk 2006)。具体的には、種子源を指定した場合に、どの植栽先であればどの程度枯死する可能性があるのかを地図で示す方法などが提案されている (Beaulieu *et al.* 2004)。

いずれの方法を用いるとしても、保全単位を定める目的は、種苗の適正な流通を図り保全単位外との移出入を避けることにある。日本で植栽される苗木は、公共事業であれば行政が発注し、受注した林業事業者が苗木生産者から種苗を購入して植栽する。また、環境保全を目的とした森林整備では NPO などの民間団体がその任に当たることもあり、様々な人の手を経て苗木が植えられている。このように植林に関わる組織が多岐にわたっていることを考えると、配布区域を定めるためには、研究者だけの理解ではなく、森林、林業に関わる多くの関係者が理解できるような区域の設定が不可欠である。日本の造林樹種では、明瞭な線で区分した種苗配布区域が設定されている。種苗配布区域と保全単位は、森林の管理目標は異なっているが、樹木を対象とした種子や苗木を移動させる場合の影響を考えた区域設定であることを考えると、距離などで区分するよりも明瞭な線で区分することが、日本では理解を得やすいと考えられる。

なお、保全単位の設定を行うと、広域的な種子や苗木の移動が制限され、苗木の種子源が限定されるとともに、生産された苗木の流通先も限定される。このため、現行の広葉樹苗木の生産流通システムそのものを見直す必要が生じるだけでなく、種子の採取や苗木の育成に関する手間が増大するため、生産コストが上昇する可能性が高い。上昇した生産コストを苗木価格に反映できれば良いが、

価格に転嫁できない場合は、生産そのものを辞めてしまうことで、苗木が入手できなくなる場合もある。また、保全単位が細かく設定されていると、苗木の品質管理にも手間がかかることから、行政などが指導を行う場合の管理コストも増大する。さらに、中立な遺伝的差異があったとしても、適応的な差異が必ずしもあるとは限らないため、保全単位を設定する場合に、細かい管理単位を定めることが適切ではない場合もある（戸丸 2008）。

1.3 研究対象地域の長野県の森林

本研究の研究対象地域とした長野県は、本州中央部に位置し、全国第4位の県土面積 13,562km²を有し、このうち78%に当たる 10,595km²が森林となっている。

長野県の周囲は、岐阜県や富山県、新潟県などの8県に囲まれ、海岸線を有しないが、飛騨山脈をはじめとする3,000m級の山岳地帯が存在するため、標高差が大きい。また、県土が南北に長いため、県の北部と南部では気候区分が大きく異なり、日本海側に位置する北部は多雪地帯に属する裏日本気候区で、太平洋側に位置する南部は表日本気候区に当たる（関口 1959）。さらに、長野県の中部は、隣接する山梨県とともに降水日数が少なく、降水量と蒸発散量の関係から気候を区分したThorntwaite (1948) が示した余剰水分量も少ないことなどから、表日本気候区の一つである「西関東地方気候区」と区分されている（関口 1959）が、「中央高地式気候」と呼ばれることが多い。本研究では、長野県中部から山梨県にかけての本州中央部の内陸部の気候区については「中央高地式気候」と呼ぶことにする。

林業種苗法で定められた種苗の配布区域は、過去の成長試験の結果を踏まえながらも法的根拠に基づいた管理を行う観点から、原則として都道府県の境界を区域の境界と定めるように考えられていた（佐藤 1950）。しかし、同一県内でありながら気候条件が大きく異なり、県内であっても気候的な見地から県を分断するような区域設定がされており、長野県もこれに該当し、スギ、ヒノキ、クロマツの3種で、県内を二分している（図 1-2）。この区分は、長野県内を10に区分した広域行政圏（図 1-3）と一致しており、スギ・ヒノキ・クロ

マツで示された種苗配布区域（図 1-2）は、北信、長野、北安曇地方事務所の管轄区域とそれ以外の地方事務所の間で区分されており、行政指導を行う面からの配慮がされている。長野県における苗木生産も、この移動制限に則って整備されており、長野県で植栽されることが多いアカマツ、カラマツ、スギ、ヒノキの4樹種のうち、スギは県北部選抜の精英樹クローンを用いた採種園を北部に、ヒノキには県南部及び長野県周辺の太平洋側都県産の精英樹クローンで構成された採種園を南部に設定し、県内全域で流通できるように配慮されている。

長野県では、寒冷地域に適応したカラマツを中心とした造林が明治期以降に積極的に行われたことで、全国でも有数のカラマツ造林地帯となっており、現在でも長野県民有林における人工林面積の半分がカラマツである（長野県 2011a）。カラマツは、天然分布域が狭かったこともあり、種苗配布区域は全国一円が一つの区域でまとめられている。現在、造林に利用されているカラマツ種子は、全国各地で選抜された精英樹のクローンによって複数か所に造成された採種園で生産されていることが多い。

一方、広葉樹の植栽面積は（長野県 2011b ほか）、全国の場合（図 1-1b）と同様に、1950年代には砂防緑化樹を中心として一定量の広葉樹が植栽されていたものの、その後はほとんど植栽されなかったが、1980年代の後半から増加し、特に2000年前後に多い（図 1-4）。2000年前後に植栽されている広葉樹は、ミズナラやコナラ（*Quercus serrata*）などのナラ類が約半数を占め、次いでクリ、ケヤキ（*Zelkova serrata*）、ブナの順になっている（小山・岡田 2006）。このうち、ナラ類やクリ、ケヤキは、キノコ類の原木や家具用などの木材利用を目的とした需要があり、長野県でも1980年代からナラ類やケヤキの生産に向けた試験研究が行われてきた（片倉 1987；片倉・奥村 1989-1；片倉・奥村 1989-2）。一方、ブナの植栽については、1986年に国有林で伐採計画が持ち上がった長野県北部の飯山市にある鍋倉山のブナ林の保護問題が発端である。鍋倉山では、ブナ林を伐採した後にはリゾート開発を行うとの話も出たものの、1990年に伐採及びリゾート開発の計画が白紙撤

回された(飯山市 1991)。こうした運動を発端として、水源地域に多く生育しているブナを植栽しようとする機運が高まり、戸隠村(現長野市戸隠)や鬼無里村(現長野市鬼無里)、奈川村(現松本市奈川)などでは、地域の自然保護関係者が行政を巻き込んでブナ林の再生に向けた事業が展開され、ブナの植栽が積極的に進められた。長野県でも、1999年の長野県植樹祭ではブナが植栽され、さらに2003年度から2005年度には「県有林撫(ぶな)の森づくり大作戦事業」と称する、針葉樹人工林を強度に間伐しブナに代表される広葉樹を導入することを目的とした事業も行われた。

このように、県有林や市町村有林など公的な森林を中心として、行政や自然保護運動を実施するNPO法人や市民団体などを巻き込み、ブナの植栽が積極的に実施されている。1996年から2009年までの14年間のブナの植栽面積は、長野県内の民有林だけで123haあまりに達している。

1.4 研究対象樹種のブナ

研究対象としたブナ(写真1-1)は、ブナ科ブナ属の落葉広葉樹で、北海道南部から本州・四国を含め、九州鹿児島県の高隈山まで、日本全国に天然分布する日本の固有種である(福嶋ら 1995; Horikawa 1972)。最大樹高30mを超える高木性樹種であり、ブナを上木とする群落の優占種となることがあり、冷温帯落葉広葉樹林を代表する樹木の一つである(福嶋・岩瀬 2005)。

ブナは、雌雄同株ではあるが花の性を別にする単性花で、通常40~50年生以上になると花を咲かせる(橋詰 1987)。雄花序(写真1-2a)は下垂し、風散布により花粉を散布させ、雌花序の包葉が夏季に肥大して果実(写真1-2b)を包み殻斗となる。秋には殻斗に包まれた2個の種子が落下(写真1-2c)する。開花結実は周期的ではなく、年変動が大きく、豊作年には300~1,000個/m²もの種子を生産するが、凶作年はほとんど種子を生産しない(中静 2009)。

ブナ林の群落構造では、日本海側の多雪地帯では大面積の純林状の森林を形成するが(日本海型ブナ林; 写真1-3a)、太平洋側の少雪地帯では純林状のブナ林は少なく、他樹種との混交林を形成することが多い(太平洋型ブナ林; 写真1-3b; 福

嶋・岩瀬 2005)。冬季の降水量が多い日本海側と、冬季に乾燥する太平洋側ではブナ林に見られる植物相が大きく異なり、群落構造に違いがあることが知られている(福嶋ら 1995; 藤田 1987)。

調査対象地とした長野県は、全県でブナが生育している(小山ら 2002)。しかし、ブナの分布を細かくみると(図1-5)、集団で成立するブナ林は、県の北部では広く見られるものの、そのほかの地域では少なく、赤石山脈周辺にまとまったブナ林が存在していることを除けば、単木的にしか確認されておらず、分布にも偏りがある。また、ブナの植栽は、北部でも行われているが、大面積のブナ林が少ない長野県の中部から南部にかけて多い傾向がある(小山・岡田 2006)。

ブナの集団(個体群)には、地理的な変異があることが指摘されており、特に葉面積の変異は古くから知られていた。このため、かつては、葉面積が大きい日本海側の系統はオオバブナ(*Fagus crenata* form. *grandifolia*)、太平洋側の系統はコハブナ(*F. crenata* var. *undulata*)として区別してきた(林 1969)。しかし、葉面積の地理的変異が連続的であるとした研究により(萩原 1977)、現在は分類上の区別は行っていない(米倉・梶田 2003)。

しかし、ブナ集団に地理的な変異があるということ、多くの研究が行われており、葉面積以外にも北方のものほど直径の割に樹高が高いことや(日浦 1996)、種子のサイズが東北日本で小さく南西日本で大きいこと(Hiura *et al.* 1996)、種皮の厚さが太平洋側で厚く、日本海側で薄いこと(Maruta *et al.* 1997)、柵状組織の層数が日本海側と太平洋側で異なる(小池・丸山 1998)など、形態的な違いが認められている。加えて、分布域全体のブナを産地別に植栽した試験では開葉時期は北海道産で早く、次いで北陸産、四国九州産、関東産の順に異なることや(橋詰ら 1996; 布川・塚原 2005)、太平洋側のブナで雪圧害の発生率が高い可能性があることなど(林野庁 2001)、地理的変異に遺伝的な支配がある可能性が示唆されている。

ブナ集団の地理的変異は、遺伝的な変異に関しても研究が進められている。分布域全体を網羅した集団を対象として、アロザイム(Takahashi *et al.*

1994; Tomaru *et al.* 1997), ミトコンドリア DNA (Tomaru *et al.* 1998; Koike *et al.* 1998), 葉緑体 DNA (Fujii *et al.* 2002; Okaura and Harada 2002) 及び核マイクロサテライト (Hiraoka and Tomaru 2009) の遺伝マーカーを用いた集団遺伝学的な研究が行われており, 地理的変異のパターンが明らかにされている。核マイクロサテライト (Hiraoka and Tomaru 2009) やミトコンドリア DNA (Tomaru *et al.* 1998), 葉緑体 DNA (Fujii *et al.* 2002; Okaura and Harada 2002) 等の解析により, 日本海側と太平洋側の間に遺伝的な分化があることが確認されており, 形態的な変異と同様に遺伝的にもブナには日本海側と太平洋側の間に変異が認められている。なお, 全国的な地理的変異だけでなく, 地域レベルでの遺伝的変異としては, 静岡県 (片井ら 2011) や関東山地 (Kobashi *et al.* 2006) で明らかにされている。このほか, 小集団化したブナの遺伝的変異に関する研究が富山県 (Ohkawa *et al.* 1998) や能登半島 (Kitamura *et al.* 2008) で行われ, 遺伝的変異の減少が確認されている。

1.5 本研究の目的

近年, 広葉樹への関心の高まりなどで, ブナなどの広葉樹を植栽する事例が増加してきている。しかし, これまでにも述べてきたように, 広葉樹の種苗は林業種苗法の適用外であるために, 種苗配布区域による種苗流通の制限がなく, 全国各地へ広く流通しているものと思われる。

植栽された広葉樹の成長阻害などについては, 全国的に研究事例が増加しつつあるものの (林野庁 2001 など), 広葉樹の種子源が不明瞭であるため (小山 2005), 産地による影響が含まれている可能性があるが, 定かではない。

ブナのように広域で分布する種では, たとえ同じ種であっても, 異なる地域で形態的・生理的な形質に違いがあり, それが遺伝的な支配を受けているのであれば, それぞれの地域で成立している集団は, 地域の環境に適応し独自に進化してきたと考えられる。このため, 自生地とは異なる場所へ植栽すると, 環境不適応に伴う成長不良などが発生する可能性があるだけでなく, 将来的には地域外個体との交配による遺伝的攪乱などの問題が

懸念される。北海道から九州まで全国各地に広く分布するブナには, 葉面積や樹型, 種皮厚などの表現形質の地理的変異だけでなく, 中立な遺伝的変異も地理的な変異を示すことが報告されている。それらの地理的変異は, 日本海側と太平洋側の間で変異の幅が大きく, 両地域にまたがる長野県では県内に大きな変異が認められる可能性が高い。したがって, 長野県内でブナの種苗を移動させた場合でも, 何らかの影響が発生する可能性が考えられる。

長野県では, 2003 年から 2005 年にかけて「県有林ブナの森大作戦」と称して, ブナの植栽が多く実施されてきた。それ以前にも 1990 年代からブナの植栽が進められてきたが, いずれの場合でも地理的変異を考慮した植栽は行われておらず, 長野県におけるブナ人工林の研究 (小山ら 2002; 小山・岡田 2006) でも, 種子源に踏み込んだ研究は行われていない。

そこで本研究では, 本州中央部の長野県とその周辺に分布するブナ天然林集団を研究材料として, ブナの保全単位の設定を試みることを目的とした。そのために以下の 4 つの調査を行った。

(1) 中立な遺伝的変異である葉緑体 DNA 多型を遺伝マーカーとしてブナ天然林集団の地理的変異を調査した。その際, ブナ人工林集団も調査し, 植栽苗木の由来についても調査した (第 2 章)。

(2) 中立な遺伝的変異である核マイクロサテライト変異を遺伝マーカーとしてブナ天然林集団の地理的変異を調査した (第 3 章)。

(3) ブナ天然林集団において, 適応的な表現形質と考えられる葉面積の地理的変異を調査した (第 4 章)。

(4) 日本海側と太平洋側の間でブナ苗木の移植試験を行い, 植栽された稚樹の生残と成長に及ぼす影響を調査した (第 5 章)。

以上の調査によって得られたデータをもとに, 既存の植生データも考慮して, 長野県におけるブナ保全単位の設定を試みた (第 6 章)。

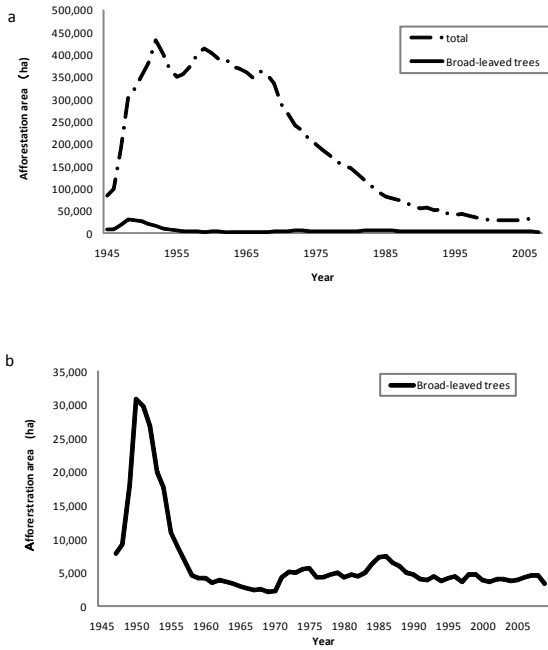


図 1-1 日本における第二次世界大戦後の造林面積の推移 (林野庁 2011)
Changes in afforestation areas after World War II in Japan.
(a) the total and broad-leaved trees and (b) broad-leaved trees only. Scales on the vertical axis are different between (a) and (b) (Forestry Agency 2011).

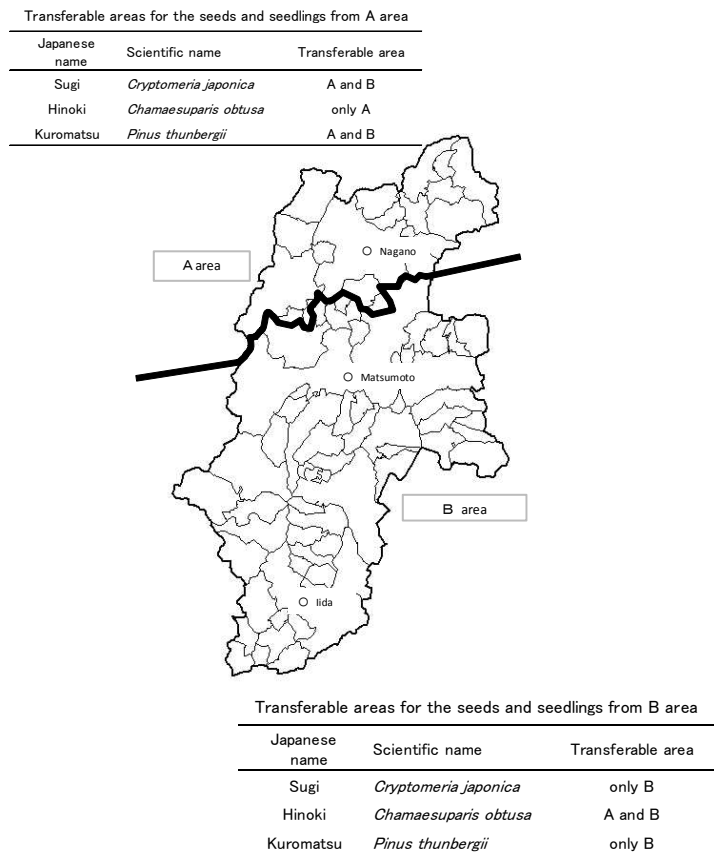


図 1-2 林業種苗法で定められた長野県の種苗配布区域
Transfer zones of seeds and seedlings in Nagano Prefecture, defined by Forestry Seeds and Seedlings Law.



図 1-3 長野県の広域行政圏の区分

Division of large municipal areas in Nagano Prefecture.

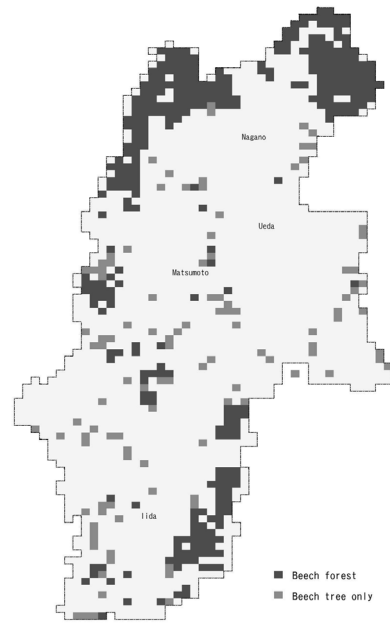


図 1-5 長野県内のブナ分布 (小山ら 2002)

Distribution of *Fagus crenata* in Nagano Prefecture (Koyama *et al.* 2002).

1/25,000 topographical maps are divided into 16 mesh fractions, and the distribution of beech forests and beech trees is shown by mesh.

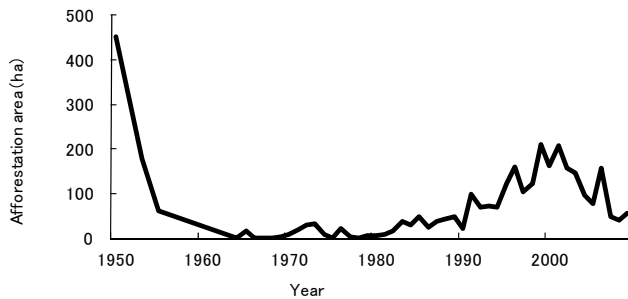


図 1-4 長野県民有林の広葉樹造林面積の推移 (長野県 2011b)

Changes in afforestation area of broad-leaved trees in private forests in Nagano Prefecture (Nagano prefecture 2011b).

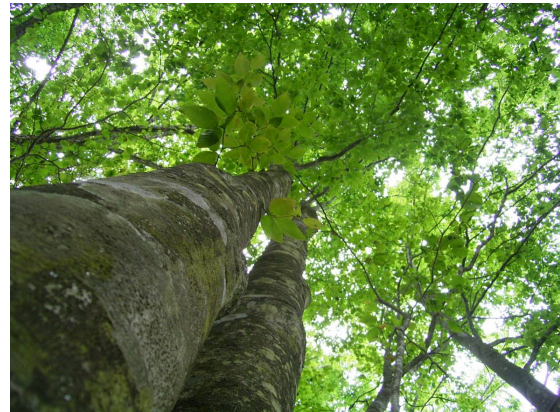


写真 1-1 ブナ

A tree of *Fagus crenata*.

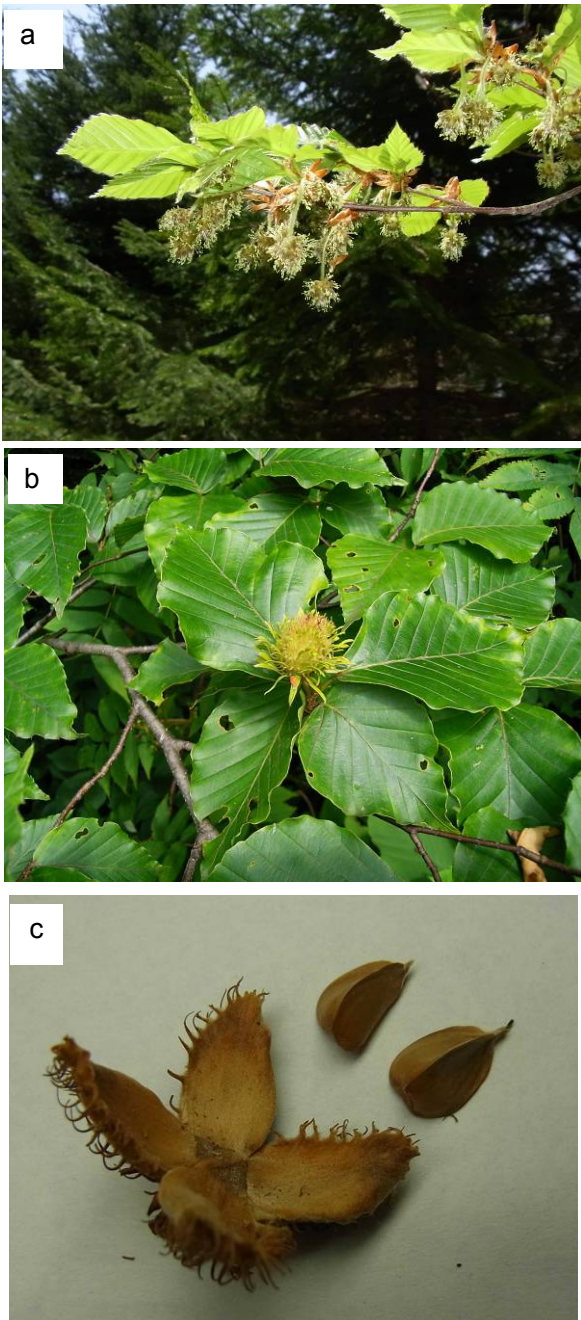


写真 1-2 ブナの繁殖器官

Reproductive organ of *Fagus crenata*.

(a), male flowers; (b), a fruit; (c), a cupule and seeds.

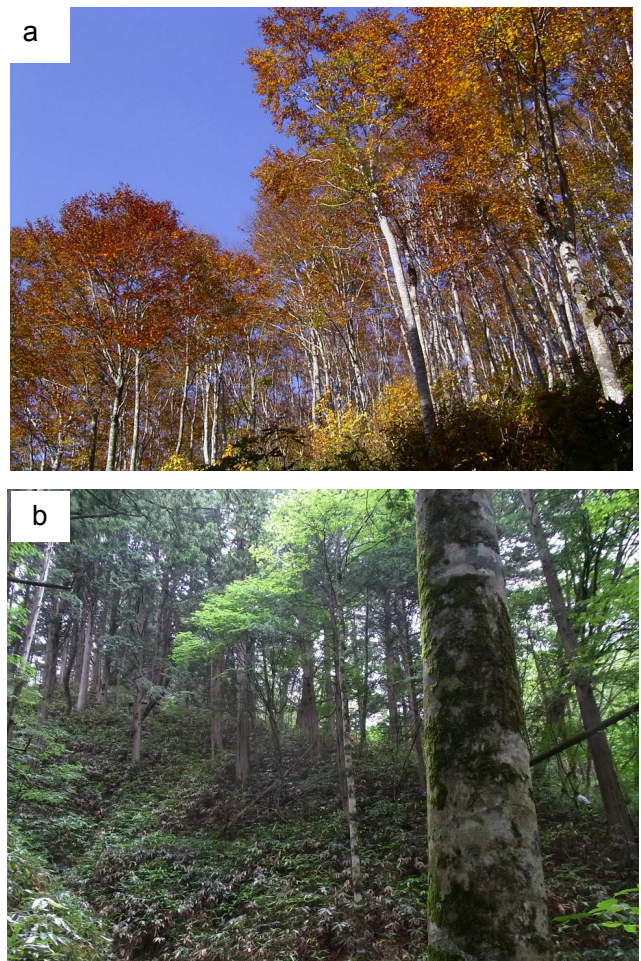


写真 1-3 長野県の (a) 日本海型 (栄村) と (b) 太平洋型 (木祖村) のブナ林

The Japan Sea type (a; Sakae vil.) and the Pacific type (b; Kiso vil.) of beech forests in Nagano Prefecture.

第2章 長野県におけるブナ天然林集団の葉緑体ゲノムの地理的変異

2.1 はじめに

造林に用いられる苗木の種子源は、可能な限り植栽地に近い種子源から採種したものをを用いることが望ましい (Montalvo and Ellstrand 2000; McKay *et al.* 2005)。一方で、遠隔地由来の種苗が用いられると、成長が停滞するなど植栽場所の環境への不適合による影響が発生する可能性や (Montalvo and Ellstrand 2000)、遺伝子攪乱により子孫集団の存続に重大な影響を与える可能性 (Hufford and Mazer 2003) が指摘されており、日本でも造林面積が多い針葉樹では、林業種苗法により種苗配布区域が設定されている (佐藤 1950)。

一方で、近年造林されることが多くなっている広葉樹は、林業種苗法の適用外であるため、全国に流通しており (茨城県 2005)、苗木の種子源 (産地) がわからない場合も多い (小山 2005)。このため、過去に植栽されたブナでも種子源を特定することは難しく、仮に種苗の納入業者が特定できたとしても、種子源をたどることが困難な場合も多い。

被子植物の樹木では、一般に葉緑体ゲノムが母性遺伝すると考えられ、ブナ科樹木でも葉緑体ゲノムが母性遺伝することが確かめられている (Dumolin *et al.* 1995)。母性遺伝する葉緑体ゲノムでは、種子散布が限られていると、しばしば種内において強い地理的構造が形成される

(Newton *et al.* 1999)。種の分布域全体において、葉緑体ゲノムにこのような地理的構造がある場合には、葉緑体 DNA の変異にもとづいて植栽個体の産地を追跡することが可能である (Honjo *et al.* 2008)。

ブナでは、これまでの研究 (Fujii *et al.* 2002) により分布域全体で 13 種類の葉緑体 DNA ハプロタイプが検出され、それらの地理的分布に強い構造があることがわかっている。しかし、Fujii *et al.* (2002) の研究では、日本全国の天然林 45 集団を対象としているが、長野県周辺の調査集団数が少ないため、長野県を中心とした詳細な地理的構造は把握されていない。そこで、本章では長野

県のブナ集団を対象に、中立な遺伝的変異である葉緑体 DNA 多型を遺伝マーカーとしてブナ天然林集団の地理的変異を明らかにすることを目的とした。加えて、ブナ人工林集団も調査し、実際に地域外からの苗木が持ち込まれて、人工林が造成されているかどうかを明らかにすることも目的とした。

2.2 材料と方法

2.2.1 材料

長野県全域のブナ天然林を網羅するように、集団として成立しているブナ天然林 30 集団 159 個体を対象とした (図 2-1, 表 2-1)。試料の採取は 2004 年から 2006 年にかけて行い、各集団において個体間距離が 50m 以上離れた 5 個体以上のブナ成木から新鮮葉を採取した。一方、ブナ人工林集団は、長野県内で 1990 年から 2004 年にかけて植栽された 3 年生から 17 年生の 20 集団 136 個体を対象として (図 2-2, 表 2-2)、各集団から最低 5 個体以上の新鮮葉を採取し、供試試料とした。

2.2.2 葉緑体 DNA 分析

採取した新鮮葉のうち約 40mg を試料として用い、CTAB 法 (Murray and Thompson 1980) を若干改変した方法により全 DNA を抽出した。

Fujii *et al.* (2002) は、ブナの分布域全体を網羅した 45 集団 109 個体について、葉緑体ゲノムの trnL-trnF と matK を含む trnK の 2 領域

(GeneBank 登録番号 AB046492 から AB046504, AB046508 から AB046520) の 3278 塩基対について、その塩基配列を決定し、得られた一塩基多型

(single nucleotide polymorphism; SNP) と挿入・欠失の 2 種類の多型をもとに 13 の葉緑体 DNA ハプロタイプ (A~M) に分類している。本研究では、Fujii *et al.* (2002) が類別した 13 のハプロタイプのうち、8 つのハプロタイプ (A~H) に着目して、6 か所の SNP と 4 か所の挿入・欠失を選び、供試個体のハプロタイプを決定した (表 2-3)。

SNP 分析では、まず Taberlet *et al.* (1991) のプライマー c と f により葉緑体ゲノムの trnL-trnF の遺伝子間領域を PCR 増幅し、Johnson and Soltis (1994) のプライマー 3914F と 2R により trnK 領域を PCR 増幅した。その後、2 領域の PCR

産物を混合し、アルカリリン酸塩 (Shrimp) による未反応 dNTP の不活性化及びエキソヌクレアーゼ I による未反応プライマーの分解を行った後、これを鋳型として一塩基伸長反応を行った。1 塩基伸長反応は、SNaPshot Multiplex Kit (Applied Biosystems) を用いた。反応条件はメーカーの説明書に従った。SNP 分析に用いたプライマー (M. Takahashi *et al.* 準備中) は、表 2-4 のとおりである。なお、複数の SNP を同時に検出するため、プライマーの 5' 末端に T の塩基を適当な数付加した。一塩基伸長反応の産物を ABI3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を使用してキャピラリー電気泳動を行い、GENOTYPER ver. 3.7 (Applied Biosystems) で SNP の塩基を決定した。しかし、この SNP 分析では、全てのハプロタイプを特定することが難しいため、SNP 分析だけでハプロタイプが特定できなかった個体を対象として、挿入・欠失の確認によりハプロタイプを特定した。M13-tailed primer 法 (Schuelk 2000) により、forward プライマーの 5' 末端側に M13 配列 (5'-TGTAACGACGGCCAGT-3') を付加し、表 2-4 に挙げたプライマー (M. Takahashi *et al.* 未発表) 及び蛍光ラベルした M13 (-21) forward primer を用いて、対象の領域を PCR 増幅した。PCR 反応液の組成及び反応条件は、Fukatsu *et al.* (2005) 及び Isoda and Watanabe (2006) に従った。増幅断片の長さは ABI3100 Genetic Analyzer と GENOTYPER (Applied Biosystems) を用いて測定した。これら SNP 分析と挿入・欠失分析の結果を組み合わせることで、最終的に供試個体のハプロタイプを決定した。

2.3 結果

ブナ天然林 30 集団について、6 か所の SNP と 4 か所の挿入・欠失を調べることで、4 種類の葉緑体 DNA ハプロタイプ (B, D, E, F) が確認された (図 2-1, 表 2-1)。これらの 4 種類のハプロタイプは、北部にハプロタイプ B, 南西部にハプロタイプ D, 中部ではハプロタイプ E, そして東部ではハプロタイプ F が認められ、明瞭な地理的構造を有していた。また、30 集団のうち 27 集団は単一のハプロタイプで構成されていたが、N17, N20 と N26 の 3 集団では、2 種類のハプロタイプ

が混在していた。これらの 3 集団は、周辺に存在する 2 種類のハプロタイプに挟まれた場所に位置していた。

一方、ブナ人工林 20 集団では、2 種類のハプロタイプ (A と B) だけが確認できた (図 2-2, 表 2-2)。20 集団のうち 18 集団では A 又は B の単一ハプロタイプのみで構成されていたが、残りの 2 集団 (A8 と A10) は A と B の両方が混在していた。長野県内の天然林集団で確認されたハプロタイプ D, E, F の 3 種類は、本研究で調査した人工林集団では確認できなかった。

2.4 考察

2.4.1 葉緑体 DNA ハプロタイプの地理的分布と分布境界

全国のブナ天然林集団における葉緑体 DNA ハプロタイプを調べた Fujii *et al.* (2002) の調査では、13 種類のハプロタイプが接触しながらも、地理的に明瞭な区分があり、強い遺伝的な構造を有していることが明らかにされた。Fujii *et al.* (2002) が対象とした 45 集団のうち 3 集団は長野県に分布しており、D と E の 2 種類のハプロタイプは確認されていた。本研究では、長野県内の分布域を網羅する天然林 30 集団の調査を行ったことで、これまでは知られていなかった B と F が検出され、合計 4 種類のハプロタイプが確認され、それらの地理的分布は明瞭な地理的構造を示した。Fujii *et al.* (2002) によると、長野県周辺では B は新潟県や富山県などの日本海側に分布しているのに対し、F は群馬県や東京都、D は愛知県、E は静岡県などの太平洋側に分布しており、これらの分布につながるように長野県内にも分布していた。現在の生物種の多くは、第四紀に起きた地球規模の気候変動によって種内の遺伝的構造が作られてきたと考えられている (Hewitt 2000)。最終氷期最盛期以降のブナの分布拡大は、花粉学的な研究によって推定されており (塚田 1982 ; Tsukada 1982), 推定された分布拡大の歴史は、葉緑体 DNA ハプロタイプの遺伝的構造を説明することができる (Fujii *et al.* 2002)。最終氷期最盛期におけるブナは、長野県内のような標高の高い地域には分布できず、沿岸部などにあった何か所かの避難地 (レフュジア) で、僅かに存

在していたと考えられている（塚田 1982；Tsukada 1982）。Fujii *et al.*（2002）によると、4種類のハプロタイプのうちFは太平洋側系統であり、現在の分布も太平洋側にある。一方、ハプロタイプB, D, Eの3種類は日本海側の系統とされているが、Bが日本海側に分布しているのに対し、DとEは太平洋側に偏って分布していることから、今から2万年前の最終氷河最盛期には太平洋側に逃げ込んでいたと考えられる。本研究により、長野県内に天然分布しているブナの葉緑体DNAハプロタイプが、Fujii *et al.*（2002）が示した全国的な分布に対応して分布していたことは、最終氷期最盛期以降の温暖期に、周囲の沿岸部にあった避難地から長野県を含む内陸部へ分布拡大した結果であると考えられた。

本研究で調査した30集団のうち、複数（2種類）のハプロタイプが認められた3集団は、両者の分布境界に当たると考えられる。Kobashi *et al.*（2006）は、富士山周辺におけるハプロタイプの分布について詳細な調査を行い、ハプロタイプの分布境界を見つけて、一つのハプロタイプから別のハプロタイプへの入れ替わりは、およそ数kmという狭い範囲で起こることを指摘している。

2.4.2 地域外からの苗木が植栽されている証拠

調査した人工林20集団で最も多く認められたハプロタイプBは、天然林に分布しているハプロタイプであった。5か所の人工林（A1, A2, A3, A7, A8）は、周辺の天然林がハプロタイプBに属する地域に造成されていたが、他の人工林では、周辺の天然林でハプロタイプD及びEが分布している地域であった。一方ハプロタイプAは、人工林のみで確認されたものの、本研究で対象とした天然林では発見できなかった。本研究では、3か所の人工林（A8, A10とA5）でハプロタイプAを持つ個体がみられ、その周辺天然林のハプロタイプはB, E, Fであった。このように、植栽個体のハプロタイプと周辺天然林集団のハプロタイプが異なっていたことで、地域外種子を起源とする苗木が持ち込まれて、現実に植栽されていることがわかった。本研究で確認されたハプロタイプのうち、ハプロタイプD, E, Fは主に本州太平洋側の天然林に分布しており、ハプロタイプA, Bは、本州と

北海道の日本海側天然林に分布している（Fujii *et al.* 2002）。

本研究の結果を確認するため、長野県内でブナ苗木を生産している6名の生産者に聞き取り調査を行った。長野県内の種苗生産者は、ハプロタイプBに属する県の北部で種子を採集して、種苗を生産していたことがわかったが、長野県外の天然林でしか確認されていないハプロタイプAの種苗生産を把握することはできなかった。Fujii *et al.*（2002）によると、ハプロタイプAは、東北地方と北海道の天然林で確認されていることから、人工林に植えられたハプロタイプAの苗木は、これらの地域由来であると考えられた。すなわち、長野県の人工林でも遠隔地由来の広葉樹種苗が植栽されていることが確認でき、葉緑体ゲノムの系統地理学的情報が、産地不明の植栽苗木の起源推定に役立つことが証明された。

日本海側と太平洋側のブナ林は、豪雪と寡雪という積雪環境の違いにより区分されるが、核ゲノムの系統でも日本海側系統と太平洋側系統に区分されている（Hiraoka and Tomaru 2009）。Fujii *et al.*（2002）によると、ハプロタイプDとEは、日本海側の系統に属する（クレードI）としているが、核ゲノムの系統では太平洋側に区分される（Hiraoka and Tomaru 2009）。葉緑体DNAの系統が太平洋側（クレードII）に属しているハプロタイプFの集団は、核ゲノムの系統でも太平洋側の系統であった。多雪地域である本州の日本海側（ハプロタイプA又はB）又は北海道（ハプロタイプA）に由来する種苗は、冬季に少雪で乾燥しやすすい、周辺天然林のハプロタイプがD, E, Fである太平洋側の地域にも植栽されていた。核ゲノムの系統が異なる2つの系統が、積雪量などの環境条件が大きく異なる地域に存在しており（Maruta *et al.* 1997）、こうした個体を元来の環境から大きく離れた環境へ動かすことで、植栽木は本来持っていた環境への適応性が下がり、個体の成長に悪影響を及ぼす可能性がある（Montalvo and Ellstrand 2000）。これを立証するためには、日本海側の多雪地域と本州の太平洋側の寡雪地域との間で相互移植実験を行い、異なる系統を植栽することによる影響を観察する必要がある。

本研究で対象としたブナ人工林は、最も古いも

のでも約 20 年生であり、結実齢に達したものはなく、まだ成熟した林分ではなかった。とはいえ、全ての人工林でブナが生残していたことを考えると、植栽したブナも近い将来には成熟し、周辺の天然林との間で交配すると考えられる。長野県の中南部では、ブナ天然林は断片的に残されているか孤立している場合が多く見られ、広域に分布した天然林は多くない(小山ら 2002)。加えて、長野県の中南部で植栽されたブナのハプロタイプは、本研究で、天然林とは異なる日本海側系統の個体が導入されていたことが判明した。将来、これまでに植栽した人工林が成長し、周辺の天然林との間で個体間の交配が発生すると、天然林の集団に人工林の遺伝子が入り込み、遺伝的固有性の消失(遺伝子汚染)や遠交弱勢による絶滅リスクの増大が危惧される(Hufford and Mazer 2003)。

2.5 まとめ

長野県のブナ集団を対象として、中立な遺伝的変異である葉緑体 DNA 多型を遺伝マーカーとして、ブナ天然林集団の地理的変異を明らかにすると

もに、ブナ人工林集団の調査も行った。調査は、長野県内の分布域全体から天然林 30 集団 159 個体及び人工林 20 集団 136 個体を用い、葉緑体 DNA の 2 領域(trnL-trnF と trnK)で 6 つの一塩基多型と 4 つの挿入欠失を調べて、各個体のハプロタイプを決定した。その結果、長野県内の天然林からは明瞭な地理的な構造を持った B, D, E, F の 4 種類のハプロタイプが検出された。一方、人工林集団では、日本海側の多雪地域に分布する A, B の 2 種類のハプロタイプが検出された。人工林 20 集団のうち太平洋側の寡雪地域に分布する 15 集団は、周辺天然林のハプロタイプ(D, E, F)とは異なり、日本海側の多雪地域に分布するハプロタイプ A, B を保有する苗木によって造られていた。今回の結果から、長野県中南部の寡雪地域では、天然林の系統と異なる長野県北部の多雪地域由来の苗木が植栽されており、不適當な系統の苗を植えることによる影響が危惧された。

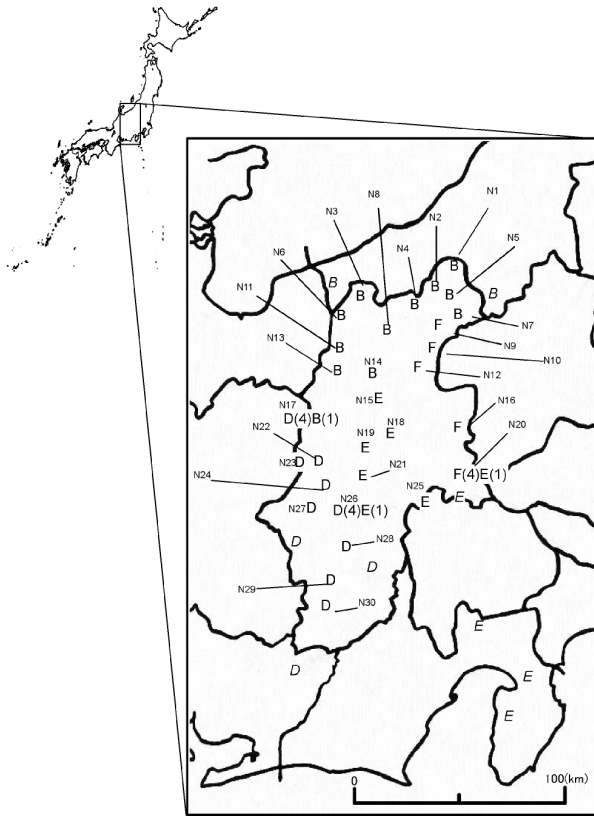


図 2-1 長野県において調査したブナ天然林集団の位置と検出された葉緑体 DNA ハプロタイプ
Locations of the studied natural populations of *Fagus crenata* in Nagano Prefecture and detected cpDNA haplotypes (cf. Table 2-1). Capital letters indicate haplotypes detected, of which those in italics were after Fujii *et al.* (2002). For the populations with two haplotypes, the number of individuals of each haplotype is shown in parentheses.

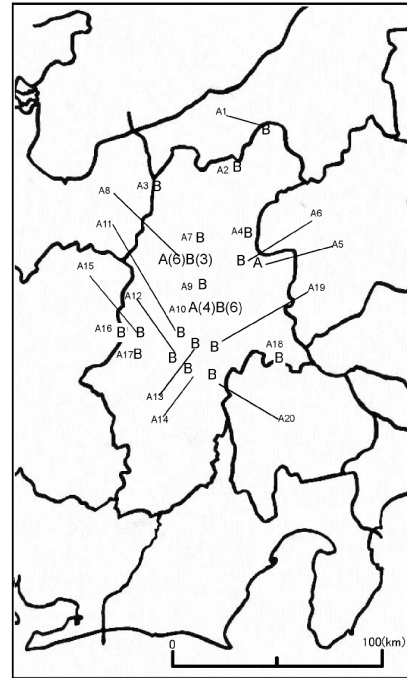


図 2-2 長野県において調査したブナ人工林集団の位置と検出されたハプロタイプ
Locations of the studied plantations of *Fagus crenata* in Nagano Prefecture and detected cpDNA haplotypes (cf. Table 2-2). Capital letters indicate haplotypes detected. For the plantations with two haplotypes, the number of individuals of each haplotype is shown in parentheses.

表 2-1 長野県において調査したブナの天然林集団 (N1-N30) の位置とサンプルサイズ

Location and sample size of the natural populations (N1-N30) of *Fagus crenata* examined in Nagano Prefecture.

Population /plantation ^a	Location	Latitude (N)	Longitude (E)	Altitude (m)	Sample size	Haplotypes ^b
N1	Nonomi Highland, Sakae	36°59'	138°32'	670	5	B
N2	Sinshu-ji Temple, Iiyama	36°55'	138°23'	310	5	B
N3	Kamaike, Otari	36°52'	137°58'	1,180	5	B
N4	Mt. Madarao, Shinano	36°50'	138°16'	1,250	5	B
N5	Kayanotaira Highland, Kijimadaira	36°50'	138°50'	1,460	7	B
N6	Minami-Otari, Otari	36°48'	137°52'	1,340	5	B
N7	Oku-Shiga Highland, Yamanouchi	36°48'	138°32'	1,400	5	B
N8	Togakushi Highland, Nagano	36°45'	138°04'	1,250	5	B
N9	Yamada Ranch, Takayama	36°40'	138°27'	1,640	5	F
N10	Yonago, Suzaka	36°35'	138°23'	1,270	5	F
N11	Uminokuchi, Ohmachi	36°35'	137°51'	900	5	B
N12	Ohbora, Ueda	36°30'	138°19'	1,270	6	F
N13	Mt. Minami-Takagari, Ohmachi	36°30'	137°53'	1,100	5	B
N14	Mt. Hijiri, Nagano	36°29'	138°02'	1,200	5	B
N15	Mt. Azumaya, Chikuhoku	36°25'	138°03'	1,380	10	E
N16	Uchiyama Ranch, Saku	36°14'	138°36'	1,260	5	F
N17	Aboh Pass, Matsumoto	36°12'	137°36'	1,600	5	D(4) B(1)
N18	Warusawa, Matsumoto	36°10'	138°06'	1,300	5	E
N19	Gofuku-ji Temple, Matsumoto	36°09'	138°01'	1,000	5	E
N20	Mt. Morai, Koumi	36°06'	138°32'	1,300	5	F(4) E(1)
N21	Mt. Kirito, Shiojiri	36°03'	137°56'	1,200	5	E
N22	Sakai Pass, Matsumoto	36°02'	137°42'	1,450	5	D
N23	Nomugi Pass, Matsumoto	36°02'	137°36'	1,500	5	D
N24	Mizukizawa, Kiso	35°59'	137°43'	1,230	5	D
N25	Kiyosato Highland, Hokuto	35°55'	138°25'	1,325	5	E
N26	Gonbei Pass, Shiojiri	35°52'	137°51'	1,550	5	D(4) E(1)
N27	Mt. Jolyama, Kiso	35°51'	137°41'	1,120	5	D
N28	Jinbagata Highland, Nakagawa	35°40'	137°59'	1,330	5	D
N29	Mt. Matsuzawa, Achi	35°24'	137°42'	1,400	6	D
N30	Jibuzaka, Achi	35°20'	137°40'	1,350	5	D

^aPopulations and plantations are represented by their codes.

^bFor the populations and plantations with two haplotypes, the number of individuals of each haplotype is shown in parentheses.

表 2-2 長野県において調査したブナの人工林集団 (A1-A20) の位置とサンプルサイズ

Location and sample size of plantations (A1-A20) of *Fagus crenata* examined in Nagano Prefecture.

Population /plantation ^a	Location	Latitude (N)	Longitude (E)	Altitude (m)	Sample size	Haplotypes ^b
A1	Hirataki, Sakae	36°59'	138°32'	680	5	B
A2	Mt. Madarao, Shinano	36°50'	138°16'	1,250	5	B
A3	Minami-Otari, Otari	36°48'	137°52'	1,000	5	B
A4	Takinori, Ueda	36°30'	138°23'	1,380	5	B
A5	Takinori, Ueda	36°30'	138°23'	1,340	5	A
A6	Sugadaira, Ueda	36°30'	138°21'	1,230	5	B
A7	Oooka, Nagano	36°29'	138°01'	1,100	7	B
A8	Oooka, Nagano	36°29'	138°00'	1,250	9	A(6) B(3)
A9	Yamabe, Matsumoto	36°12'	138°05'	1,400	5	B
A10	Yamabe, Matsumoto	36°12'	138°05'	1,370	10	A(4) B(6)
A11	Kataoka, Shiojiri	36°08'	138°00'	900	5	B
A12	Kataoka, Shiojiri	36°08'	138°00'	900	5	B
A13	Kataoka, Shiojiri	36°08'	138°00'	900	5	B
A14	Kataoka, Shiojiri	36°08'	138°00'	900	5	B
A15	Nagawa, Matsumoto	36°02'	137°38'	1,350	5	B
A16	Nagawa, Matsumoto	36°02'	137°38'	1,350	5	B
A17	Nagawa, Matsumoto	36°02'	137°42'	1,400	5	B
A18	Takatoya, Kawakami	35°55'	138°22'	1,390	20	B
A19	Chuuo-cho, Okaya	36°03'	138°02'	870	10	B
A20	Mt. Nyukasa, Fujimi	35°54'	138°11'	1,770	10	B

^aPopulations and plantations are represented by their codes.

^bFor the populations and plantations with two haplotypes, the number of individuals of each haplotype is shown in parentheses.

表 2-3 6つの一塩基多型 (SNP) と4つの挿入・欠失によって分類されるブナの葉緑体 DNA ハプロタイプ

Chloroplast DNA haplotypes of *Fagus crenata*, characterized on the basis of six single nucleotide polymorphisms (SNPs) and four insertions/deletions.

Haplotype ^a	SNP						Insertion/deletion			
	<i>trn K</i> intron			<i>trn L-trn F</i>			<i>trn K</i> intron		<i>trn L-trn F</i>	
	189 ^b	1754	2089	54	159	671	634-639	2359-2362	103-112	640-667
A	T	A	A	A	G	A				
B	T	C	A	A	G	A				
C	G	C	A	A	G	A				
D	T	C	A	C	G	A				
E	T	C	A	A	G	C	insertion			
F	T	C	A	A	A	C				deletion
G	T	C	T	A	A	C				deletion
H	T	C	A	A	A	C			deletion	deletion
I	T	C	A	A	A	C				
J	T	C	A	A	A	C		insertion		
K	T	C	A	A	A	C		insertion		
L	T	C	A	A	A	C		insertion		
M	T	C	A	A	A	C		insertion		

^aHaplotype names correspond to those used in Fujii *et al.* (2002).

^bNumbers denote the positions of the SNP or insertion/deletion on the regions of the *trn K* intron or *trn L-trn F*.

表 2-4 一塩基多型 (SNP) と挿入・欠失を検出するために用いたプライマーの塩基配列 (M. Takahashi *et al.* 準備中)

Sequences of the primers used for detecting single nucleotide polymorphisms (SNPs) and insertions/deletions (M. Takahashi *et al.* in preparation).

Primer	Detected polymorphism	Sequence ^a
<i>trn K</i> 189_F5N	SNP	CGGTCCAAAACCTTTGTTGAATCTTGACGCTAAAAA
<i>trn K</i> 1754_R3N	SNP	CTAGCATTGACTCCGCCACTGAAG
<i>trn K</i> 2089_R2N	SNP	CTTGACCGAATTCGGAACCTACTTTTT
<i>trn L</i> F054_F3N	SNP	CTTACCAAGTGATACTTCAAATTCAGAGAAACCTGGAATT
<i>trn L</i> F159_F2N	SNP	AAAGGATAGGTGCAGAGACTC
<i>trn L</i> F671_R1N	SNP	TACAATCAGATCCATTGTGAAAAGA
<i>trn K</i> -matK470	Insertion/deletion	F: GGGGATGAA'TGTGTAGAAA R: TGTAAAACGACGCGCCAGTCTGATCAACGGACTCTTT
<i>trn K</i> -matK2340	Insertion/deletion	F: GTTATGAGCCTTGIAAATG R: TGTAAAACGACGCGCCAGTGGGGACTCTAATAAGA
<i>trn L</i> - <i>trn F</i> 100	Insertion/deletion	F: CCTGAGCCAAATCCTATT R: TGTAAAACGACGCGCCAGTTCATGTATATAGGTTTATC
<i>trn L</i> - <i>trn F</i> 630	Insertion/deletion	F: TATCCGATCTCTCTTTTC R: TGTAAAACGACGCGCCAGTGGGACTCATCTTATTTT

^aF and R indicate forward and reverse primers, respectively.

第3章 本州中央部におけるブナ天然林集団の核ゲノムの地理的変異

3.1 はじめに

前章では、長野県内においてブナ天然林集団の葉緑体ゲノムの地理的変異を調査し、分布域全体の遺伝的構造と同様に、葉緑体ゲノムの日本海側と太平洋側の系統による明瞭な遺伝的構造が存在していることを明らかにした。しかし、葉緑体ゲノムは母性遺伝し、花粉流動を介した父系の影響を受けないため、現在成立しているブナ天然林集団の遺伝的な状況を正確に反映するためには、核ゲノムの地理的変異を調査しなければならない。一般に、葉緑体ゲノムは、分布の拡大縮小に関わる歴史的な変遷を示唆していると考えられることが多い。ブナは、核ゲノムの変異でも、日本海側と太平洋側で大きく異なっていることが報告されている (Hiraoka and Tomaru 2009)。母系の遺伝子を受け継いだ葉緑体ゲノムだけでなく、母系と父系の遺伝子を受け継いだ核ゲノムでも日本海側と太平洋側で異っていたのは、日本列島の中央に位置する脊梁山脈が地理的障壁となり、種子散布による移住だけでなく、花粉を介した遺伝子流動が限られた結果、遺伝的分化が生じたためと考えられる。

日本列島は、概してその中央部に脊梁山脈が発達しているが、本州中央部では、おおよそ南北方向に山脈が形成されており、山脈によって日本海側と太平洋側が分断されていない。脊梁山脈により、ブナの分布の拡大縮小が制限されたとすると、脊梁山脈による地理的障壁が少ない本州中央部では遺伝的分化が進みにくく、日本海側と太平洋側の系統間で交雑が生じやすかったと考えられる。しかし、第2章で示したように、この地域で母系の地理的分布を表す葉緑体 DNA ハプロタイプは、太平洋側のハプロタイプが本州中央部の内陸部まで深く入り込んでいるが、日本海側のハプロタイプとの間には、明瞭な地理的境界が認められた。したがって、脊梁山脈に分断されていない本州中央部でも、種子による遺伝子流動は制限されていたと考えられる。

ブナの種子は重力散布であるが、花粉は風散布のため、花粉の方がより広い範囲に飛散すると考

えられる。実際、種子と花粉の両方で飛散距離を推定した報告では (Oddou-Muratorio *et al.* 2010)、種子の飛散距離が 12m 程度であるのに対し、花粉の飛散距離は 79m 程度と長い。ブナと同様に風散布により花粉を飛散させるすぎでは、さらなる遠距離まで花粉が飛散することも指摘されている (Moriguchi *et al.* 2005)。したがって、本州中央部に分布するブナでは、花粉による遺伝子流動が大きければ、日本海側と太平洋側の集団間で核ゲノムの遺伝的分化が低くなる可能性があり、地理的な遺伝的変異が連続的になる可能性がある。

そこで、本研究では、本州中央部に位置する長野県及びその周辺地域を対象として、中立な遺伝的変異である核ゲノムのマイクロサテライト変異を遺伝マーカーとして、ブナ天然林集団の地理的変異を明らかにすることを目的とした。特に、脊梁山脈によって日本海側と太平洋側が明瞭に分断されていない当該地域において、分布域全体でみられた日本海側と太平洋側との間の遺伝的分化がみられるかどうかに関心を持って解析を行った。

3.2 材料と方法

3.2.1 材料

調査は、日本海側と太平洋側を分断する脊梁山脈が発達していない長野県とその周辺地域のブナ天然林集団を対象とした。特に、長野県及び山梨県の大部分は、年間降水量が少なく乾燥しやすい中央高地気候に属するため、これが含まれるように北緯 34° 40' ~ 37° 40' , 東経 137° 10' ~ 139° 10' の範囲を設定した。当該地域のブナ天然林 25 集団を対象として (図 3-1, 表 3-1)、近縁個体からの採取を避けるため 30m 以上の個体間距離において、集団当たり 15~64 個体 (平均 30.5 個体) の新鮮葉又は冬芽を採取した。なお、面ノ木峠 (集団番号 23) と天城山 (同 25) の 2 集団からは試料の採取を行わず、以前の研究 (Hiraoka and Tomaru 2009) の遺伝子型データをデータ解析に用いた。

3.2.2 マイクロサテライト分析

採取した試料を約 5 g 用い、CTAB 法 (Murray and Thompson 1980) を若干改変した方法により全 DNA を抽出した。核マイクロサテライトマーカーとし

て、Hiraoka and Tomaru 2009 が解析に用いた 14 座, *mfc5*, *mfc11*, *mfc12* (Tanaka *et al.* 1999), *sfc7-2*, *sfc18*, *sfc36*, *sfc109*, *sfc161*, *sfc195-2*, *sfc305*, *sfc378*, *sfc1063*, *sfc1105*, *sfc1143* (Asuka *et al.* 2004) を用いた。しかし, *sfc161* については増幅がうまくいかなかったため, データ解析には含めなかった。

マイクロサテライト遺伝子座の DNA は, Tanaka *et al.* (1999) と Asuka *et al.* (2004) が用いた条件に従って PCR 増幅した。得られた PCR 産物を ABI3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を使用してキャピラリー電気泳動し, GENESCAN ver. 3.7 と GENOTYPER ver. 3.7 (Applied Biosystems) を用いて遺伝子型を決定した。

3.2.3 データ解析

全集団における遺伝的多様性を評価するために, 各遺伝子座において対立遺伝子の総数 (A), 全集団の遺伝子多様度 (H_T), 集団内の平均遺伝子多様度 (H_S) (Nei 1987), ヘテロ接合度の観察値 (H_0) を計算した。これらの計算には FSTAT ver. 2.9.3.2 (Goudet 2002) を用いた。ハーディ・ワインバーグ平衡 (HWE) からの偏りを調べるために, SPAGEDi ver. 1.3 (Hardy and Vekemans 2002) を用い, 固定指数の一つである F_{IS} (Weir and Cockerharm 1984) を計算し, F_{IS} の 0 からの偏りの有意性を並び替え検定した。その際, シーケンシャルボンフェローニ補正して有意性を調べた。

集団内の遺伝的多様性の程度を評価するために, 各集団においてアレリックリッチネス (AR ; El Mousadik and Petit 1996), ヘテロ接合度の観察値 (H_0) 及び期待値 (H_E ; Nei 1987) を計算した。また, 各集団において各遺伝子座と全遺伝子座の固定指数 ($F_{IS}=1-H_0/H_E$) を計算し, HWE からの偏りを調べた。これは, 上記と同様に F_{IS} の 0 からの偏りの有意性を並び検定によりシーケンシャルボンフェローニ補正して調べた。以上の計算は FSTAT を用いて行った。

集団間の遺伝的分化程度を評価するために, 無限対立遺伝子モデル下で定義される F_{ST} (固定指数, Weir and Cockerharm 1984) 及び段階状突然変異モデル (stepwise mutation model) 下で定義される R_{ST} (Slatkin 1995; Michalakis and Excoffier

1996) を計算した。 F_{IS} と R_{ST} の 0 からの偏りの有意性を並び検定によりシーケンシャルボンフェローニ補正して調べた。これらの計算には SPAGEDi を用いた。また, F_{ST} の値は集団内の遺伝的多様性の程度に大きく依存するため, それが異なる種間や遺伝子座間では F_{ST} の値を比較することができない。そこで, 集団内の遺伝的多様性の程度に依存しないように標準化した統計量である G'_{ST} (Hedrick 2005) も計算した。

集団間の遺伝的構造を明らかにするために, 集団間の D_A 距離 (Nei *et al.* 1983) を算出し, これに基づき近隣結合法 (Saitou and Nei 1987) により集団系統樹の作成を行った。また, 系統樹の分岐の信頼性は, ブートストラップ確率を計算して評価した。以上の計算は, Population ver. 1.2.30 (Langella 2007) を用いて行った。さらに集団間の遺伝的構造を明らかにするため, STRUCTURE ver. 2.2 (Pritchard *et al.* 2000) を用いてモデルベースのベイズクラスタリング (STRUCTURE 解析) を行った。STRUCTURE 解析は, K 個のクラスター (祖先集団) の存在を仮定し, マルコフ連鎖モンテカルロ (MCMC) シミュレーションによりクラスター数 (K) を推定し, 各個体に 1 つあるいは 2 つ以上のクラスターを割り当てる。モデルとして, 混合モデル (admixture model) と対立遺伝子頻度相関モデル (allele frequency correlated model) を採用し, 供試個体の採取集団は事前情報としては使用しなかった。1 回の MCMC シミュレーションは 1 万回の事前テスト (Burn-in) の後に 1 万回の反復とし, 1~9 の K の値ごとにこのシミュレーションを 5 回ずつ行った。最適な K の値は, データの対数尤度 $\ln P(X/K)$ (Pritchard *et al.* 2000) 及び $\ln P(X/K)$ の変化率 (ΔK ; Evannno *et al.* 2005) をもとに決定した。また, STRUCTURE 解析により得られた各集団のクラスターの割合と集団の位置 (緯度, 経度) の関係を回帰分析で調べた。さらに, 集団のクラスター割合を空間補間し, クラスターの地理的分布を地図上に図示した。これは, 地理情報システムのアプリケーション ArcView ver. 10.0 (Esri) の追加モジュールである Spatial Analyst を用い, 「内挿補間」によって行った。内挿補間の方法は, 資料採取地点の情報を正確に表現できる方法とな

るスプライン (spline; Franke 1982) による空間補間とした。空間補間に当たっては、資料採取地よりも外側となる地域のデータも推定することができるようにレギュラスプラインを使用し、パラメータの設定は曲線の滑らかさに関するウェイトパラメータは標準的な設定である 0.1 とし、内挿するセルの計算に使用するポイントパラメータも標準的な設定である 12 とした。

最後に、集団の遺伝的多様性の地理的傾向を調べるために、集団の地理的位置 (緯度, 経度) と集団内の遺伝的多様性 (AR , H_E , F_{IS}) との関係を回帰分析で調べた。

3.3 結果

3.3.1 全集団と集団内, 集団間の遺伝的多様性

マイクロサテライト 13 遺伝子座の多型性は高く、対立遺伝子数はそれぞれの遺伝子座ごとに 18 ~ 48 個観察され、平均 26.7 個であった (表 3-2)。遺伝子座ごとの全集団の遺伝子多様度 (H_T) も集団内の平均遺伝子多様度 (H_S) も高く、平均して 0.854 と 0.835 であった。全遺伝子座の F_{IS} 13 座のうち 8 座は、有意に 0 からプラス側に偏っていた。

集団ごとのアレリックリッチネス (AR) は平均で 10.99, ヘテロ接合度の観察値 (H_0) と期待値 (H_E) は、平均して 0.773, 0.834 と遺伝的多様性も高かった (表 3-3)。 F_{IS} の値は、25 集団中 17 集団で 0 より有意に高くなった。しかし、各集団の遺伝子座で得られた 325 個の F_{IS} は、どの値も 0 からの有意な差は認められなかった。

集団間の相対的な遺伝的分化の程度を表す F_{ST} と R_{ST} は低かったが (全遺伝子座の推定値はそれぞれ 0.024 と 0.037), 4 座の R_{ST} 値以外は全て統計的に有意であった (表 3-2)。全遺伝子座で求められた G'_{ST} は 0.144 であった。

3.3.2 集団間の遺伝的構造

集団間の D_A 距離に基づく近隣結合法を用いた集団系統樹を作成したところ、集団間の明瞭な地理的構造は認められなかった (図 3-2)。しかし、概して、日本海に近い集団と太平洋側に近い集団が対局に位置し、両者のほぼ中間的な位置に内陸に分布する集団が位置しており、系統樹内の集団の位置は実際の地理的位置を反映したものに

なっていた。

次に、STRUCTURE 解析を行い、集団間の遺伝的構造を調べた。対数尤度 $\ln P(X/K)$ は K の増加に伴い単調増加した。しかし、 ΔK の値は、 $K=2$ の時に最大値を示していたことから、 $K=2$ のときが最も確からしい遺伝的構造を示すと判断した。各集団における各個体に割り当てられたクラスター 1 と 2 の割合を図 3-3 に示し、個体レベルでみたクラスターの構成割合を確認した。各個体のクラスター 1 の割合は、日本海側の集団で高く、逆に太平洋側の集団で低かった。

各集団のクラスター 1 の割合と地理的位置 (緯度, 経度) の関係を回帰分析によって調べた結果、緯度との間には有意な高い正の関係が検出された (図 3-4c, $y=0.3228x-11.151$, $R^2=0.7844$, $P<0.001$)。一方、経度との間では、有意ではなかった ($y=-0.1766x+24.872$, $R^2=0.1425$, $P=0.06$)。

集団のクラスター 1 の割合を空間補間した結果、クラスター 1 の割合は、日本海側から太平洋側にかけて連続的に低下しているものの、長野県西部の飛騨山脈周辺では東部の上信越地域に比べて高い傾向が観察された (図 3-5)。

3.3.3 遺伝的多様性の地理的傾向

集団内の遺伝的多様性の地理的傾向を検討するため、各集団の AR , H_E , F_{IS} と地理的位置 (緯度, 経度) との関係を回帰分析によって調べた。 AR と緯度・経度の関係では、どちらも統計的に有意ではなかったが、25 集団のうち AR が極端に低い 2 集団 (千枚岳 (20), 朝日 (2)) が存在しており (図 3-4a), この 2 集団を除外して再解析したところ、 AR と緯度との間に有意な関係が認められた ($y=-0.4102x+25.025$, $R^2=0.2711$, $P=0.006$)。一方、 AR と経度との間では有意ではなかった ($y=0.3309x-35.473$, $R^2=0.1101$, $P=0.09$)。 H_E と緯度・経度との関係はどちらも有意であり、経度との間 ($y=0.0248x-2.5902$, $R^2=0.1913$, $P=0.028$) よりも、緯度との間に強い関係があった (図 3-4b; $y=-0.024x+1.6974$, $R^2=0.2956$, $P<0.01$)。一方、近交係数 (F_{IS}) との間には、緯度方向でも経度方向でも有意な関係は認められなかった。

3.4 考察

葉緑体ゲノムの変異では、日本海側と太平洋側の系統による遺伝的な構造が明瞭であったが(第2章)、本研究で調べた核ゲノムの変異では、その遺伝的組成が日本海側と太平洋側の間で緯度方向に連続的に変化していた。分布域全体のブナ天然林 23 集団を対象とした解析では(Hiraoka and Tomaru 2009)、日本海側と太平洋側の方に明瞭な遺伝的分化が認められたが、本州中央部の天然林集団を対象とした本研究の解析では、そのような遺伝的分化は認められなかった。Hiraoka and Tomaru (2009) は、分布域全体を網羅するために、北海道から九州までの広域にわたりサンプリングを行ったが、本研究で対象とした本州中央部の集団数は少なく、特に内陸部に位置する集団のサンプリングは行われなかった。本研究では、日本海側と太平洋側の方に当たる内陸部の集団を含めて解析したことにより、日本海側と太平洋側の方の連続的な変化を見いだすことができたと考えられる。

本研究で調査した内陸部に位置する集団(11~14)は、葉緑体ゲノムでは太平洋側と判断したが、本研究の集団系統樹やSTRUCTURE解析の結果から核ゲノムでは日本海側の系統とも太平洋側の系統とも判断がつかなかった。調査対象とした長野県とその周辺地域は、脊梁山脈が南北に発達しており、日本国内の他の地域のように脊梁山脈が列島弧に沿って日本海側と太平洋側を分断するような地理的障壁とはなっていない。本研究により、葉緑体ゲノムでは太平洋側の系統である判断できた集団が、核ゲノムでは日本海側と太平洋側の方の中間的である結果が得られたことは、ブナの種子と花粉の飛散距離の違いがそのまま反映した結果であると考えられる。重力散布による種子の散布距離は、報告により異なるものの12m程度(Oddou-Muratorio *et al.* 2010)~30m程度(前田 1988)である。一方、ブナは風媒花であるために、花粉の散布範囲は、40m程度(Hanaoka *et al.* 2007)~79m程度(Oddou-Muratorio *et al.* 2010)とされ、種子の散布距離より長い。ブナと同様に風散布により花粉を飛散させるスギでは、受粉できる花粉飛散距離は、樹高3mのスギで10m程度(古越 1975)、樹高5mのスギでも最大で30m程度とされているが(半田・古越 1980)、5km以上

花粉が飛散する可能性も指摘されている(Moriguchi *et al.* 2005)。実際、周囲1km以上の範囲にブナの成木が1本しか観察されていない孤立木で、充実種子が採取できた事例(小山ら 2002)があり、ブナでも花粉による遺伝子流動は、かなり広い可能性がある。長野県における現在のブナの分布は、日本海側に近い北部では大面積の集団として成立しているが、中南部では点在しているため、個体数は北部で多く、中南部で少ない。一般に、個体数が多ければ飛散する花粉量も多いことから、長野県及びその周辺では、ブナが多く自生する日本海側からブナの分布が少ない太平洋側に向けて多くの花粉が飛散したことが考えられる。仮に、花粉による飛散が80m程度だったとしても、一世代で数十mの遺伝子の移住は可能であり、数十年で結実して次世代の種子生産ができるブナでも、世代を繰り返すことで、徐々に遺伝子の分布を拡大させて、より広い範囲へ拡大させることが可能である。すなわち、母系では太平洋側の系統に当たる内陸部の集団では、長い歴史の中で交配を繰り返すうちに、母性遺伝する葉緑体ゲノムでは太平洋側の系統を維持しつつも、核ゲノムでは花粉を介した遺伝子流動が生じて徐々に日本海側の遺伝子が入り込むこと(遺伝子浸透)により、現在みられるような日本海側と太平洋側の方の中間的な組成になったと推定される。

3.5 まとめ

日本海側と太平洋側の方に、明瞭な遺伝的な分化が認められた核ゲノムの変異が、脊梁山脈により分断されていない本州中央部ではどのような地理的構造となっているのかに焦点をおいて、中立な遺伝的変異である核ゲノムのマイクロサテライト変異を遺伝マーカーとして、本州中央部のブナ天然林 25 集団の地理的変異を調査した。その結果、調査した本州中央部のブナ集団では、日本海側と太平洋側の方の集団間に明瞭な遺伝的分化は認められなかった。また、葉緑体ゲノムの系統が太平洋側であるが、核ゲノムの系統が日本海側と太平洋側の方の中間的となっている集団が両者の方の中間的な地理的な位置に認められた。これらの地域では、日本海側の集団から太平洋側の方の集団へ花粉を介した遺伝子流動が生じて徐々に日本海側

の遺伝子が入り込むこと（遺伝子浸透）により、核ゲノムの遺伝的組成が、日本海側と太平洋側の

集団間の間になったと考えられる。

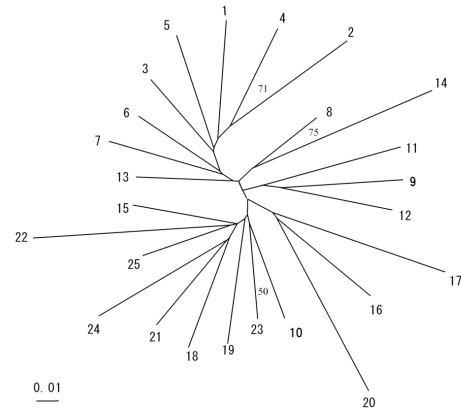
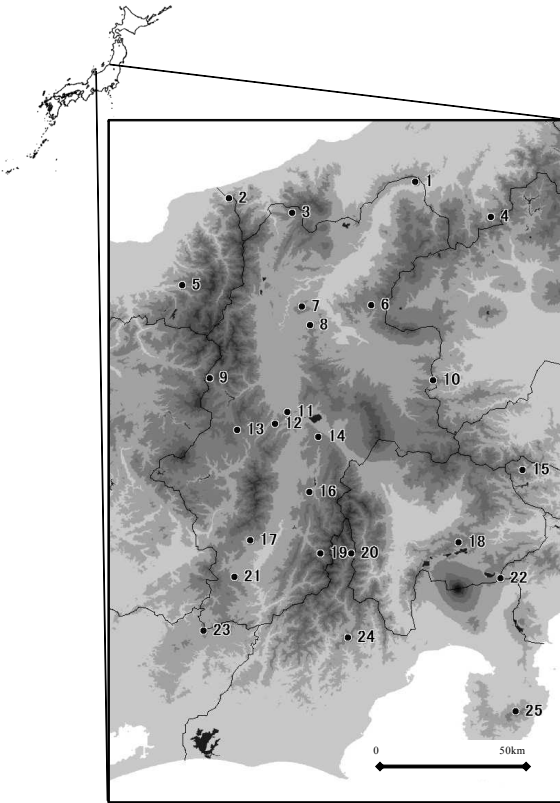


図3-2 ブナ天然林25集団における D_A 距離にもとづく近隣結合樹

Neighbor-joining tree based on D_A distances among the 25 *Fagus crenata* natural populations. Large and small numbers indicate the population numbers listed in Table 1 and bootstrap values $\geq 50\%$, respectively.

図3-1 本州中央部において核ゲノムの地理的変異を調査したブナ天然林25集団の位置
Locations of the 25 natural populations of *Fagus crenata* examined for geographic variation of nuclear genome in central Japan. Numbers indicate the population number listed in Table 1.

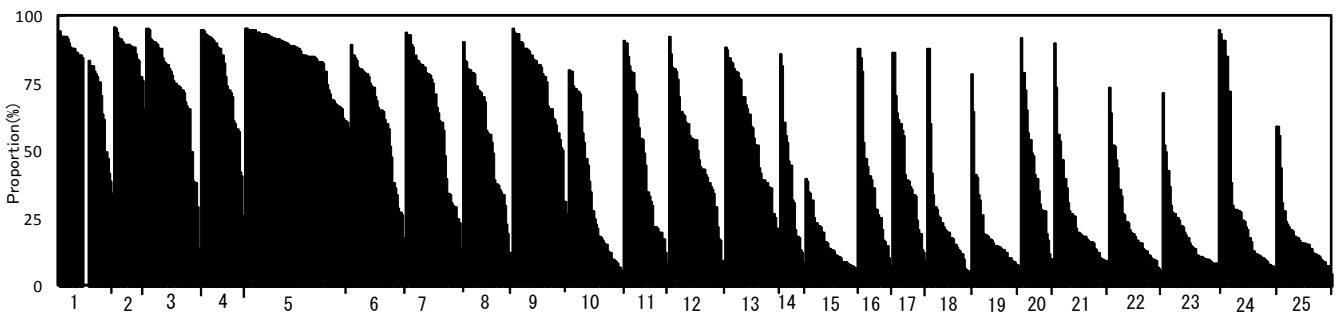


図3-3 ストラクチャー解析（クラスター数 $K=2$ ）によって得られたブナ天然林25集団における各個体のクラスター割合（黒はクラスター1、白はクラスター2）

Proportions of cluster memberships in each individual in the 25 *Fagus crenata* natural populations, obtained by STRUCTURE analysis with the number of clusters $K=2$ (black for cluster 1, white for cluster 2). Numbers indicate the population number listed in Table 1.

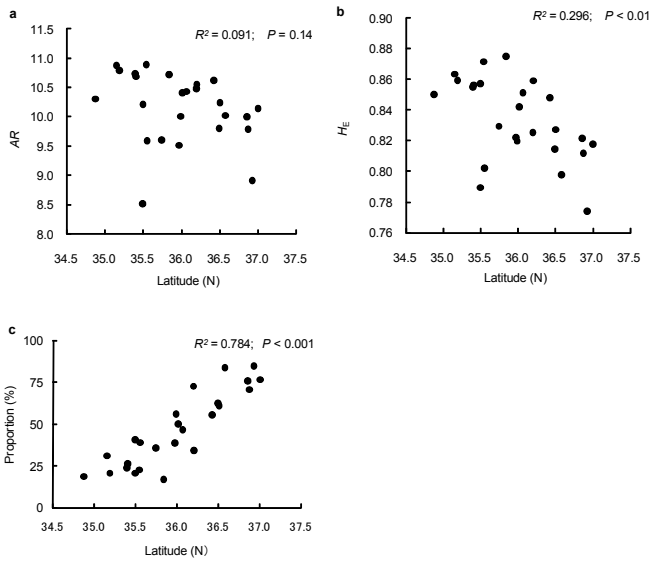


図 3-4 ブナ天然林 25 集団の緯度と (a) アレリックリッチネス (AR), (b) ヘテロ接合度 (H_E), (c) クラスター1 の割合との関係

Relationships between latitudes of the 25 *Fagus crenata* natural populations and their (a) allelic richness (AR), (b) expected heterozygosity (H_E), and (c) the proportions of cluster 1.

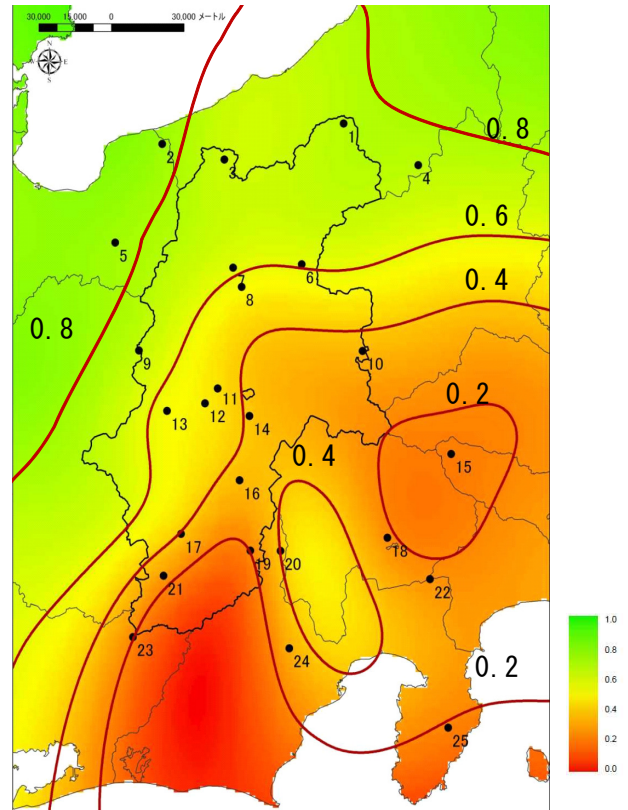


図 3-5 ブナ天然林 25 集団のクラスター1 の割合にもとづくスプライン補間によって得られたクラスター1 の地理的分布

Geographic distribution of cluster 1 obtained by spline interpolation based on the proportions of cluster 1 in the 25 *Fagus crenata* natural populations. Curves indicate isograms of the proportions of cluster 1.

表 3-1 本州中央部において核ゲノムの地理的変異を調査したブナ天然林 25 集団の所在とサンプルサイズ

Locality and sample sizes of the 25 natural populations of *Fagus crenata* examined for geographic variation of nuclear genome in central Japan.

Population number	Locality	Latitude (N)	Longitude (E)	Altitude (m)
1	Nonomi Highland, Sakae, Nagano	36°59'	138°32'	670
2	Asahi, Asahi, Toyama	36°55'	137°41'	380
3	Kamaike, Otari, Nagano	36°52'	137°58'	1,180
4	Mt. Naeba, Yuzawa, Niigata	36°51'	138°52'	800
5	Tateyama, Tateyama, Toyama	36°34'	137°28'	1,160
6	Ohbora, Ueda, Nagano	36°30'	138°19'	1,270
7	Mt. Hiji, Nagano, Nagano	36°29'	138°02'	1,200
8	Mt. Azumaya, Chikuhoku, Nagano	36°25'	138°03'	1,380
9	Abo Pass, Matsumoto, Nagano	36°12'	138°35'	1,600
10	Mt. Kabutoiwa, Saku, Nagano	36°12'	137°36'	1,260
11	Mt. Kiritoh, Shiojiri, Nagano	36°03'	137°56'	1,200
12	Narakawa, Shiojiri, Nagano	36°01'	137°53'	1,050
13	Mizukizawa, Kiso, Nagano	35°59'	137°43'	1,230
14	Mt.Moriya, Suwa, Nagano	35°58'	138°06'	1,630
15	Mt.Kumotori, Okutama, Tokyo	35°50'	139°01'	1,385
16	Mt.Tokura, Komagane, Nagano	35°44'	138°03'	1,630
17	Mt.Kazakoshi, Iida, Nagano	35°33'	137°47'	1,450
18	Mt.Kuro, Fujikawaguchiko, Yamanashi	35°32'	138°44'	1,340
19	Koshibu Valley, Oshika, Nagano	35°30'	138°06'	1,300
20	Mt.Senmai, Shizuoka, Shizuoka	35°30'	138°14'	1,450
21	Mt. Matsuzawa, Achi, Nagano	35°24'	137°42'	1,400
22	Mt.Mikuni, Oyama, Shizuoka	35°24'	138°55'	1,140
23	Mennoki Pass, Inabu, Toyota, Aichi	35°11'	137°34'	1,150
24	Nanatumine, Shizuoka, Shizuoka	35°09'	138°14'	1,320
25	Mt.Amagi, Izu and Kawazu, Shizuoka	34°52'	139°00'	1,250

表3-2 ブナ天然林25集団においてマイクロサテライト13遺伝子座のそれぞれで推定された遺伝的多様性の程度

Genetic diversity measures estimated at each of 13 microsatellite loci across the 25 *Fagus crenata* natural populations.

Locus	Allele size (bp)	A	H_T	H_S	H_O	F_{IS}^a	F_{ST}^a	R_{ST}^a	G'_{ST}
<i>mfc5</i>	272-330	31	0.943	0.934	0.870	0.058 ***	0.011 ***	0.006	0.142
<i>mfc11</i>	310-346	18	0.801	0.775	0.555	0.288 ***	0.039 ***	0.037 ***	0.151
<i>mfc12</i>	278-334	29	0.684	0.646	0.479	0.244 ***	0.060 ***	0.002	0.160
<i>sfc7-2</i>	135-177	21	0.846	0.825	0.809	0.019	0.023 ***	0.019 ***	0.148
<i>sfc18</i>	141-195	24	0.825	0.818	0.817	0.007	0.010 ***	0.005	0.051
<i>sfc36</i>	95-155	26	0.911	0.885	0.893	0.001	0.028 ***	0.027 ***	0.252
<i>sfc109</i>	91-187	48	0.966	0.958	0.859	0.096 ***	0.009 ***	0.032 ***	0.198
<i>sfc195-2</i>	169-193	21	0.739	0.710	0.631	0.106 ***	0.039 ***	0.075 ***	0.138
<i>sfc305</i>	159-207	27	0.921	0.895	0.830	0.079 ***	0.030 ***	0.150 ***	0.277
<i>sfc378</i>	213-257	19	0.865	0.856	0.815	0.054 **	0.010 ***	0.022 *	0.079
<i>sfc1063</i>	187-223	20	0.887	0.881	0.883	0.003	0.008 ***	0.030 ***	0.061
<i>sfc1105</i>	120-188	36	0.806	0.782	0.779	0.005	0.040 ***	0.028 ***	0.142
<i>sfc1143</i>	88-146	27	0.912	0.889	0.831	0.047 ***	0.020 ***	0.017	0.234
Average		26.7	0.854	0.835	0.773	0.072 ***	0.024 ***	0.037 ***	0.144

A , total number of alleles; H_T , gene diversity in the total population; H_S , average gene diversity within populations; H_O , observed heterozygosity; F_{IS} , fixation index; and F_{ST} and R_{ST} measures of relative genetic differentiation among populations under the infinite allele model and the stepwise mutation model, respectively; G'_{ST} , standardized measure of relative genetic differentiation among populations.

^a Deviations of F_{IS} , F_{ST} , and R_{ST} from 0 were evaluated by permutation tests with sequential Bonferroni correction.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

表 3-3 ブナ天然林 25 集団におけるマイクロサテライト 13 遺伝子座によって集団ごとに推定された遺伝的多様性の程度

Genetic diversity measures estimated using 13 microsatellite loci in each of the 25 *Fagus crenata* natural populations

Population number	<i>n</i>	<i>AR</i>	<i>H_O</i>	<i>H_E</i>	<i>F_{IS}</i> ^a	
1	30	10.15	0.743	0.818	0.093	**
2	20	8.91	0.748	0.774	0.035	
3	33	9.78	0.760	0.812	0.065	**
4	26	10.00	0.749	0.822	0.090	**
5	64	10.02	0.737	0.798	0.077	**
6	33	10.24	0.791	0.827	0.045	
7	34	9.80	0.756	0.814	0.073	**
8	30	10.62	0.785	0.848	0.076	**
9	34	10.48	0.740	0.825	0.105	**
10	33	10.55	0.810	0.859	0.058	*
11	27	10.43	0.752	0.851	0.118	**
12	34	10.41	0.749	0.842	0.112	**
13	33	10.01	0.742	0.820	0.096	**
14	15	9.51	0.763	0.822	0.074	
15	32	10.72	0.856	0.875	0.022	
16	21	9.61	0.767	0.829	0.076	*
17	21	9.59	0.707	0.802	0.122	**
18	26	10.89	0.824	0.871	0.055	
19	30	10.22	0.812	0.857	0.054	*
20	20	8.51	0.755	0.789	0.044	
21	33	10.68	0.783	0.856	0.087	**
22	32	10.73	0.750	0.855	0.125	**
23	34	10.79	0.848	0.859	0.013	
24	35	10.88	0.785	0.863	0.092	**
25	33	10.30	0.818	0.850	0.038	
Average	30.5	10.99	0.773	0.834		

n, sample size; *AR*, allelic richness for standardized samples of 26 gene copies; *H_O*, observed heterozygosity; *H_E*, expected heterozygosity; *F_{IS}*, fixation index

a Deviations of *F_{IS}* from 0 in each population were evaluated by permutation tests with sequential Bonferroni corrections.

* *P*<0.05; ** *P*<0.01.

第4章 本州中央部におけるブナ天然林集団の葉面積の地理的変異

4.1 はじめに

前章までは長野県を中心とした本州中央部におけるブナ天然林集団の地理的変異について、中立な遺伝的変異の面から検討した。その結果、長野県内でもブナ天然林集団には、葉緑体ゲノムと核ゲノムに地理的な変異があり、特に葉緑体ゲノムは日本海側と太平洋側の集団間で明瞭に異なっていた。

最も古くから知られているブナの地理的変異は葉面積の変異である。分布域全体で葉面積の変異を調べた萩原(1977)は、20万分の1地勢図(約2,000 km²)を比較単位として、日本列島の南から北及び西から東に向かってブナの葉面積が大きくなる傾向があるとした。葉面積の変異は、産地試験でも確認されたことにより(小池・丸山 1998)、遺伝的に固定された変異であると考えられている。

ブナの葉の環境応答特性を、日本海側の多雪地帯と太平洋側の寡雪地帯で比較したところ、寡雪地帯のブナは多雪地帯のブナに比べて強光をうまく利用でき、夏季の高温などに対して気孔調節能力が高く、葉の乾燥耐性も高いことがわかり(小池・丸山 1998)、気象条件の違いによる環境応答特性の違いが、葉面積の変異に関連していると考えられる(小池 2008)。

ところが、今回調査対象とした本州中央の内陸部は、年間降水量が少ない中央高地式気候に当たり、雪も雨も少ないことから、全国的に見ても乾燥しやすい環境である。もし、ブナ葉面積の変異が乾燥による影響などの気象条件によって変化するならば、本州中央部では、ブナの葉面積は多雪地帯に当たる北部の日本海側で大きく、中央高地式気候に属する内陸部では小さくなると思われる。南部の太平洋側は、内陸部と積雪環境は大きく変わらないが、降水量は多くなるため、葉面積は北部の日本海側よりは小さいものの、内陸部より大きくなると思われる。

一方、第3章で調べた核ゲノムの地理的変異は、日本海側から太平洋側にかけて連続的に変異し、内陸部では両方の系統が交雑した可能性が指摘さ

れた。もし、遺伝的な交雑による影響が大きければ、内陸部のブナは、日本海側の個体と太平洋側の個体との中間的な大きさになる可能性がある。

以上のことから本章では、日本海側、太平洋側、内陸部の全てを含む長野県を中心とした本州中央部のブナ天然林集団において、適応的な表現形質と考えられる葉面積を調査し、葉面積がどのような地理的変異を示すのかを明らかにすることを目的とした。加えて、葉面積と気象条件との関係について調べることにより、葉面積の地理的変異を説明する気象条件を明らかにすることも目的とした。

4.2 材料と方法

4.2.1 材料

葉面積の調査は、第3章と同様に本州中央部の北緯 34° 40' ~ 37° 40' , 東経 137° 10' ~ 139° 10' の範囲に分布するブナ天然林集団を対象とした。特に、少雪少雨に当たる長野県中部のブナ天然林集団の葉面積が、多雪地帯の日本海側や少雪多雨の太平洋側のものと比較してどのようになっているのかに注目したため、長野県中部ではできるだけ多くの集団を対象にした。その際、長野県中部ではブナ林が少なく(図 1-5)、ブナが優占する集団だけでは集団数が確保できなかったため、ブナが点在して認められる集団も含めた。当該地域のブナ天然林 38 集団を対象として(図 4-1, 表 4-1)、各集団において 30m以上の個体間距離において健全な林冠到達木 5~10 個体を選び、各個体の根元において、ランダムに 100 枚の落葉を採取した。ただし、ブナが点在し、個体数が非常に少ないため、5 個体を確保するのが難しい集団では 3~4 個体の根元から落葉を採取した。

ブナ個体の根元から採取した落葉を材料とした理由は、以下のとおりである。ブナの葉面積は、個体内の変異が大きく、陽葉で小さく、陰葉で大きい傾向があり、シュート内でも先端と中央部では葉面積が異なる。このため、樹高が高い天然林集団では、葉の採取条件を揃えて、統計的な処理が可能な均質な生葉のサンプリングを行うことが難しい。しかし、当該個体の葉は、秋に一斉に落葉するため、母樹の根元には当該個体の様々な部

位の葉が集まると考えられる。しかし、地上で落葉採取すると、目的とする個体以外の個体が混入する可能性がある。実際、鳥取県大山のブナ林で、結実木の根元で種子を収集し、母樹を推定したところ、直上にある母樹から落下した割合は70%程度にとどまり、30%程度は周辺母樹由来であったことから(武田裕一 私信)、種子よりも軽い葉であれば、周辺個体から混入はさらに多いことが予測できる。しかし、本章で対象とする葉面積の変異は、集団ごとにどのような地理的変異を持っているのかを解析する事が目的である。たとえ周辺個体の葉が混入したとしても、個体の根元には当該母樹由来の落葉が多いと考えられ、周辺個体も同一集団内であることから、複数個体で集計すれば当該集団の平均的な葉面積が算出できると判断した。

4.2.2 葉面積の測定とデータ解析

採取した落葉は、パーソナルコンピュータと光学スキャナで画像処理後、ソフトウェア LIA for WIN 32 ver. 0.376β1 (山本 2003) を用いて葉面積を測定した。

葉面積と気象条件の関係に関する重回帰分析では、気象庁が編集したメッシュ気候値(気象庁 2002)をデータとして用いた。気象庁のメッシュ気候値には、気温、降水量、最深積雪深、日照時間、日射量の5項目が約1 km²で区切られた三次メッシュのデータとして1971年から2000年までの30年間の平均値がまとめられている。気温因子は、ブナの分布域と大きく関係している温量指数(吉良 1948)、降水量因子は着葉期に当たる生育期間(5-10月)の降水量、光因子は開葉後から冬芽が形成されるまでの6-8月の日照時間合計を用いた。なお、日照時間と日射量は関係が深いため日射量は使用しなかった。さらに、集団の位置情報として標高を含めた。葉面積(LA)を目的変数として、温量指数(WI)、生育期間降水量(GR)、夏季日照時間(SL)、最深積雪深(SD)、標高(AL)の5変数を説明変数として、変数増加法と変数減少法の両方で重回帰分析を行い、AICと自由度修正済みの決定係数からモデルを選択した。

葉面積の地理的変異と核ゲノムの地理的変異との関係を把握するため、第3章で明らかとなっ

た核ゲノムのクラスター1の割合(図3-3)と葉面積との関係を回帰分析で調べた。第3章で実施した核ゲノムの地理的変異の解析では、本州中央部の25集団を対象としたが、このうち葉面積の測定を行ったのは、16集団であった(図4-2)。そこで、本解析ではこの16集団のみを対象とした。

4.3 結果

4.3.1 葉面積の地理的傾向

本研究で対象としたブナ天然林38集団における葉面積の調査結果を表4-2に示した。集団ごとの平均葉面積は、最も大きかった野々海高原(2)の30.78cm²と、最も小さかった天城山(38)の10.92cm²の間で3倍程度の差が認められた。各集団の平均葉面積と緯度との関係では、高緯度である日本海側ほど大きく、低緯度になる太平洋側ほど小さくなっており、その関係は統計的に有意であった(図4-3, $y=7.2911x-242.05$, $R^2=0.5428$, $P<0.001$)。一方、平均葉面積と経度との間には関係は認められなかった。

集団内のブナの葉面積は、表4-2に示すように最大値と最小値の差が非常に大きく、どの集団でも非常に小さな葉が含まれていた。集団の葉面積の変動係数と、平均葉面積と関係があった緯度との関係を調べたところ、有意な関係が認められた(図4-4, $y=2.4565x-55.678$, $R^2=0.1089$, $P=0.043$)。

4.3.2 葉面積に影響を与える気象要因

重回帰分析の結果(表4-3)、変数減少法において、全変数から標高と生育期降水量の2変数を除く条件で、AICの値が最も低くなり、自由度修正済の決定係数も最も高くなったことから、温量指数(WI)と最深積雪深(SD)、夏季日照時間(SL)の3者を選択するモデルが最適と判断し、関係式は、 $LA=0.033483SD+0.053873SL-0.23081WI$ となった。

4.3.3 集団の葉面積とクラスター1の割合との関係

集団の葉面積と第3章で明らかとなった核ゲノムのクラスター1の割合との関係をみると、葉面積が15cm²以下の小さな葉面積を持つ集団では、クラスター1の割合が25%以下となることが多

く、葉面積が 25cm² 以上の大きな葉面積を持つ集団は、クラスター 1 の割合が 70%以上となることが多かった。また、葉面積が 20cm² 程度と中間的な大きさとなる集団のクラスター 1 の割合は中間的な値を示した。回帰分析の結果、葉面積とクラスター 1 の割合の間には有意な正の相関が認められ、両者は密接な関係があると判断できた (図 4-5, $y=7.2911x-242.05$, $R^2=0.532$, $P=0.0013$)。

4.4 考察

本研究で測定した葉面積は、日本海側から太平洋側に向けて、緯度に沿った連続的な変異が認められたが、経度方向にはこのような関係は見られなかった。全国的に見ると、東北日本から南西日本にかけての連続的な変異が確認されており (萩原 1977), 本州中央部では緯度方向で同様の傾向が示された。

ブナは、日本海側と太平洋側で葉面積が異なるだけでなく (林 1969), 個葉サイズも異なっている (小池・丸山 1998)。太平洋側のブナは葉面積が小さいが、この原因として乾燥にさらされるために小さな葉が最適であるだけでなく (日浦 1996), 葉を厚くして単位面積当たりの細胞内小器官を多くするとともに、維管束の間隔を狭くすることで光合成産物を速やかに葉中へ転流できることから、強光の利用能力が高い (小池・丸山 1998)。さらに、乾燥に対して気孔の開閉がより鋭敏にできるため、葉の乾燥耐性が高く小さく厚い葉を形成していると考えられている (Kitaoka and Koike 2005)。一方、日本海側は、開芽時期に残雪があり利用可能な水分が多いために葉を大きくすることができる (日浦 1996), 乾重当たりの葉の光合成速度は日本海側と太平洋側で違いがない (小池・丸山 1998)。日本海側のブナ林は、純林となることが多く林床が暗くなる。そこで、暗い林床でも稚樹期の成長を促進させるため、限られた光合成産物を効率よく生産するような環境順化として、葉面積を大きくしたと考えられている (小池 2008)。また、ブナの葉は、前年の光条件によって陽葉と陰葉が形成されることから (Uemura *et al.* 2000), 前年の着葉期に受けた環境条件が葉面積に反映すると考えられる。

前年の着葉期の環境条件が葉面積の大小に影

響するとすれば、開芽期に積雪がある日本海側や、着葉期に当たる夏の降水量が多い太平洋側よりも、降水量が少なく乾燥しやすい内陸部が最も葉面積が小さくなると思われる。しかし、今回の研究では、内陸部に当たる長野県中部の集団 (たとえば牛伏寺 (14), 霧訪山 (17), 楢川 (18), 守屋山 (21)) の葉面積が 20~25 cm² と日本海側と太平洋側の中間的な値を示しており、乾燥すればするほど葉面積が小さくなるような傾向は見られない。

さらに、葉面積に影響を与えている気象要因との関係でも、最深積雪深が大きいほど葉面積が大きくなる傾向は認められたが、夏の日照が長いほど葉面積は大きく、夏の降水量と葉面積には関係が見られなかったため、乾燥しやすい場所で葉面積が小さくなるとは判断できなかった。このように、調査地の中でも最も乾燥しやすい内陸部に位置する長野県中部のブナ葉面積が、より湿潤な太平洋側よりも葉面積が小さくなったことは、葉面積の大小が必ずしも乾燥条件とは一致しないことを示唆する。

また、葉面積に最も大きな影響を与えていた気象要因として、温量指数が上げられ、葉面積との間で負の関係があったことは、寒冷地ほど葉面積が大きく、温暖地域ほど葉面積が小さいことを意味しており、萩原 (1977) が指摘した東北日本ほど葉面積が大きく、南西日本に行くにつれて葉面積が小さくなるとした結果と一致している。しかし、ブナは日本海側の多雪地域では、雪の影響で分布域が温暖地域へ拡大することが知られており (Tanaka and Taoda 1996), 長野県では北部ほど温暖な地域でブナが成立している。一方で、長野県中部から南部の地域ではブナ林が少なく、ある程度の群落がまとまっているのは人家から離れた標高が高い地域に限られる。つまり、本州中央部にみられるブナ林は、南部では温量指数が低い場所に多く、北部では温量指数が高い場所に分布している。こうしたことから、今回の重回帰分析の結果だけでは、温量指数が葉面積に影響を与えたかどうかは判断できなかった。

ブナの葉面積は、日本海側から太平洋側にかけて緯度との間に関係があり、緯度方向での連続的な変異が認められた核ゲノムの変異と比較した場合でも高い相関があった。特に、核ゲノムの変異

では、長野県中部のブナは、日本海側の系統と太平洋側の系統が交雑している可能性を示唆している。今回の結果を見ると、長野県中部のブナ葉面積は、日本海側と太平洋側の中間的な値を示しており、大きな葉を持つ日本海側の系統と小さな葉を持つ太平洋側の系統が、本州中部の内陸部で交雑を繰り返して、葉面積の変異に反映していた可能性が考えられる。

長野県中部は、今回の調査地の中でも最も乾燥する環境であり、環境条件の影響が大きければ葉面積はもっとも小さくなることが予想されたが、こうした関係は認められなかった。一方で、核ゲノムの変異との間で強い関係が得られたことで、葉面積の変異は遺伝的な影響が関係していることが示唆される。すなわち、本州中央部におけるブナの葉面積は、生育した環境による影響だけでなく、遺伝的な影響を大きく受けていると考えられる。

る。

4.5 まとめ

適応的な表現形質と考えられるブナの葉面積の地理的変異を調べるため、本州中央部のブナ天然林 38 集団で葉面積を測定した。特に、長野県中部では集団数を増やして測定を行い、葉面積の変異に起因する気象条件を調べるとともに、遺伝的な地理的変異との関係も調べた。その結果、本州中央部のブナ天然林集団の葉面積は、日本海側と太平洋側の集団間において、緯度に沿った連続的な変異となっていた。葉面積の変異に影響を与えている気象要因の解析では、温量指数との関係が高かったが、夏の降水量との関係は認められなかった。葉面積の変異と核ゲノムの変異の間には強い関係が認められたことから、葉面積の変異は遺伝的な影響が大きいと考えられる。

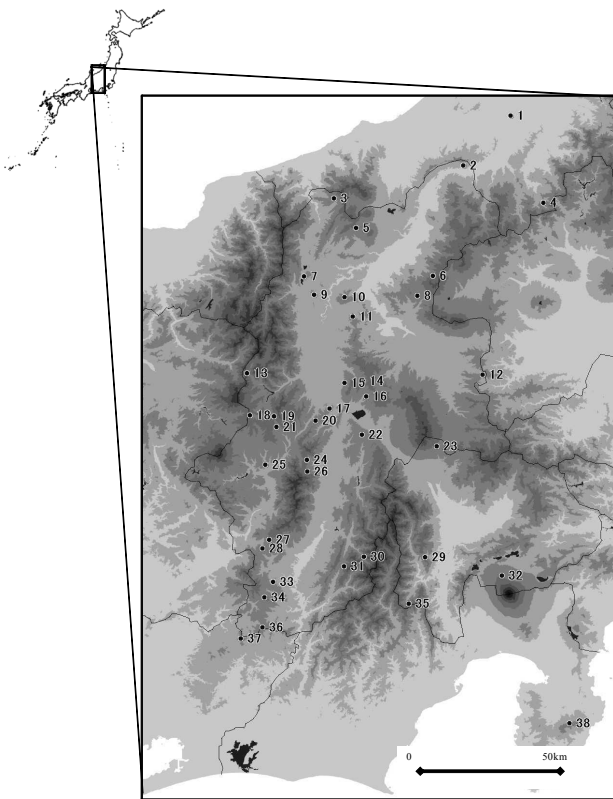


図 4-1 本州中央部において葉面積の地理的変異を調査したブナ天然林 38 集団の位置
Locations of the 38 natural populations of *Fagus crenata* examined for geographic variation of leaf areas in central Honshu. Numbers indicate the population numbers listed in Table 4-1.

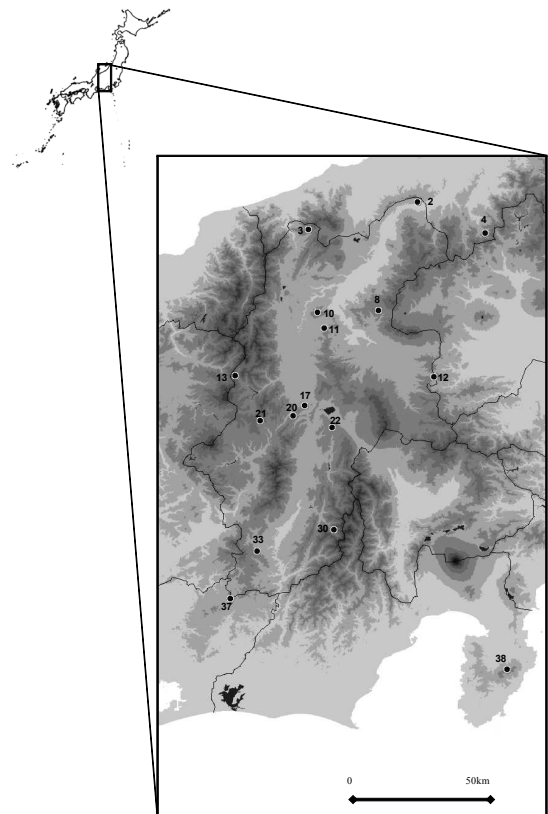


図 4-2 葉面積と核ゲノムの両方の地理的変異を調査したブナ天然林 16 集団の位置
Locations of the 16 natural populations of *Fagus crenata* examined for geographic variation of both leaf areas and nuclear genome.

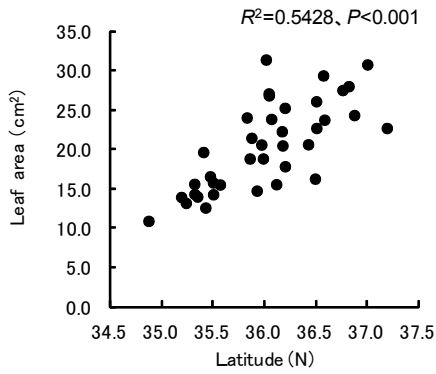


図4-3 ブナ天然林38集団における緯度と葉面積との関係

Relationships between the latitudes and leaf areas in the 38 *Fagus crenata* natural populations.

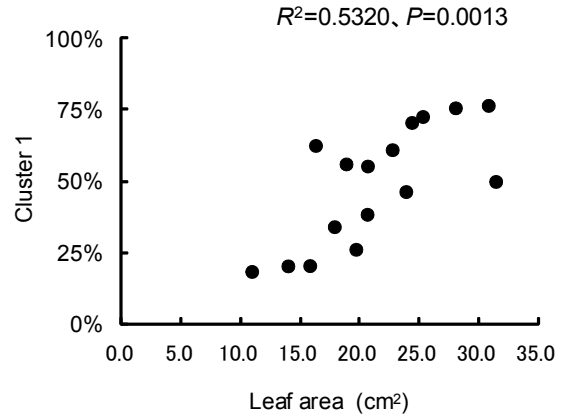


図4-5 ブナ天然林16集団における葉面積とクラスター1の割合との関係

Relationships between the leaf areas and proportions of cluster 1 in the 38 *Fagus crenata* natural populations. The proportion of cluster 1 in each population was obtained by STRUCTURE analysis with the number of clusters $K=2$ (see Chapter 3)

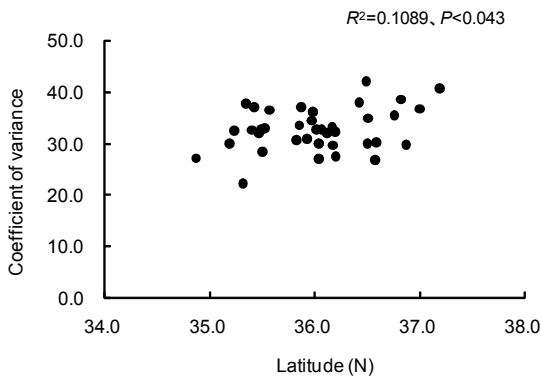


図4-4 ブナ天然林38集団における緯度と葉面積の変動係数との関係

Relationships between the latitudes and coefficient of variance in leaf areas in the 38 *Fagus crenata* natural populations.

表 4-1 本州中央部において葉面積の地理的変異を調査したブナ天然林 38 集団の所在
Locations of the 38 natural populations of *Fagus crenata* examined for geographic variation of leaf areas in central Japan.

Population number	Locality	Latitude (N)	Longitude (E)	Altitude (m)
1	Choan-ji Temple, Tohkamachi, Niigata	37.19	138.74	200
2	Nonomi Highland, Sakae, Nagano	37.00	138.53	670
3	Kamaike, Otari, Nagano	36.87	137.97	1,180
4	Mt. Naeba, Yuzawa, Niigata	36.82	138.72	800
5	Togakushi, Nagano, Nagano	36.76	138.07	1,200
6	Yonago, Suzaka, Nagano	36.58	138.39	1,200
7	Uminokuchi, Ohmachi, Nagano	36.57	137.84	850
8	Ohbora, Ueda, Nagano	36.50	138.33	1,270
9	Mt. Minami-takagari, Ohmachi, Nagano	36.50	137.89	1,150
10	Mt. Hjiri, Nagano, Nagano	36.49	138.02	1,200
11	Mt. Azumaya, Chikuhoku, Nagano	36.42	138.06	1,380
12	Mt. Kabutoiwa, Saku, Nagano	36.20	138.61	1,260
13	Abo Pass, Matsumoto, nagano	36.20	137.59	1,600
14	Warusawa, Matsumoto, Nagano	36.17	138.10	1,350
15	Gofuku-ji Temple, Matsumoto, Nagano	36.17	138.02	1,010
16	Shimosuwa, Shimosuwa, Nagano	36.11	138.11	1,350
17	Mt. Kiritoh, Shiojiri, Nagano	36.06	137.95	1,200
18	Nomugi Pass, Matsumoto, Nagano	36.04	137.61	1,500
19	Sakai Pass, Matsumoto, Nagano	36.04	137.71	1,500
20	Narakawa, Shiojiri, Nagano	36.01	137.89	1,050
21	Mizukizawa, Kiso, Nagano	35.98	137.72	1,280
22	Mt. Moriya, Suwa, Nagano	35.97	138.09	1,630
23	Kiyosato, Hokuto, Yamanashi	35.92	138.42	1,350
24	Gonbei Pass, Ina, Nagano	35.87	137.86	1,650
25	Johyama, Kiso, Nagano	35.85	137.68	1,180
26	Nishikoma, Ina, Nagano	35.83	137.86	1,350
27	Ohdaira, Iida, Nagano	35.56	137.69	1,330
28	Seinaiji Pass, Achi, Nagano	35.53	137.66	1,200
29	Jikkoku Pass, Hayakawa, Yamanashi	35.50	138.37	1,490
30	Koshibu Valley, Ohshika, Nagano	35.49	138.10	1,300
31	Kami, Iida, Nagano	35.47	138.02	1,460
32	Mt. Fuji, Narusawa, Yamanashi	35.42	138.69	1,550
33	Mt. Matsuzawa, Achi, Nagano	35.40	137.71	1,400
34	Jibuzaka, Achi, Nagano	35.34	137.67	1,400
35	Mt. Gyoda, Hayamakwa, Yamanashi	35.32	138.29	1,750
36	Mt. Chausu, Neba, Nagano	35.23	137.67	1,150
37	Mennoki Pass, Toyota, Aichi	35.19	137.57	1,150
38	Mt. Amagi, Izu and Kawazu, Shizuoka	34.87	139.00	1,250

表 4-2 ブナ天然林 38 集団における葉面積の測定値
Leaf area measures of the 38 *Fagus crenata* natural populations.

Population number	Sample size	Total leaves	Leaf area (cm ²)				
			Average	Max	Min	SD	CV ^a
1	10	1,609	22.71	69.69	3.00	9.12	40.8
2	10	1,100	30.78	80.01	2.82	11.25	36.7
3	7	805	24.35	50.50	6.91	7.26	29.8
4	8	1,478	28.02	89.19	0.08	10.83	38.5
5	6	640	27.53	67.70	7.78	9.74	35.6
6	4	1,030	23.77	53.25	0.33	7.17	30.3
7	9	1,271	29.38	60.95	3.49	7.72	26.8
8	10	1,000	22.71	55.90	2.93	7.90	34.9
9	10	2,039	26.10	62.42	1.62	7.86	30.1
10	8	931	16.28	44.79	0.04	6.76	42.0
11	5	384	20.64	52.09	0.08	7.88	38.0
12	5	549	17.86	34.37	1.31	4.92	27.5
13	6	718	25.27	54.50	7.44	8.17	32.3
14	6	840	20.50	40.32	0.23	6.13	29.7
15	10	1,101	22.29	49.50	3.49	7.40	33.2
16	3	330	15.57	35.14	4.82	4.98	32.0
17	6	766	23.86	56.69	0.06	7.78	32.7
18	10	1,063	26.85	51.05	1.25	7.25	27.0
19	10	1,077	27.10	54.41	5.11	8.14	30.0
20	5	570	31.40	65.58	9.17	10.24	32.7
21	9	1,000	18.84	46.10	2.28	6.83	36.2
22	5	373	20.61	43.36	6.76	7.00	34.5
23	5	1,051	14.75	36.16	3.59	4.57	31.0
24	5	608	21.46	56.20	3.49	7.84	37.0
25	8	890	18.84	43.29	4.33	6.28	33.6
26	6	540	24.05	51.44	7.19	7.37	30.7
27	10	1,113	15.54	45.43	2.31	5.61	36.5
28	6	1,160	15.63	39.30	3.88	5.13	33.0
29	4	440	14.29	35.69	5.10	4.03	28.4
30	5	657	15.79	42.11	4.42	5.14	32.7
31	5	604	16.58	37.60	4.41	5.28	32.1
32	10	2,391	12.61	37.33	0.04	4.56	37.1
33	5	538	19.66	40.02	4.38	6.30	32.6
34	8	762	14.01	35.36	1.91	5.25	37.7
35	4	440	14.34	32.36	6.95	3.21	22.3
36	9	960	13.20	40.23	3.22	4.34	32.5
37	5	446	13.96	33.25	1.59	4.20	29.9
38	5	575	10.92	26.04	1.69	2.97	27.2

^aCV indicates the coefficient of variance.

表 4-3 ブナ集団の葉面積に影響を与えている要因に関する重回帰分析結果
Results of multiple regression analysis on the factors affecting leaf areas of *Fagus crenata* natural populations.

Step-up procedure	R ²	R ^a	AIC	Constant
Snow depth	0.318	0.299	229	16.71
+Summer sunshine hours	0.482	0.452	220.6	-14.97
Step-down procedure	R ²	R ^a	AIC	Constant
All variables	0.549	0.478	221.3	17.36
-Altitude	0.527	0.469	221.1	-0.82
-Growing season rainfall	0.549	0.509	217.3	4.49

^aThe coefficient of determination corrected by the degree of freedom.

第5章 日本海側と太平洋側間の移植がブナ稚樹の生残と成長に与える影響

5.1 はじめに

前章までは、長野県を中心とする本州中央部のブナ天然林集団において、葉緑体ゲノムと核ゲノムの中立的な地理的変異（第2章及び第3章）及び適応的な表現形質と考えられる葉面積の地理的変異（第4章）について調査を行い、日本海側と太平洋側の集団間に葉緑体ゲノムでは明瞭な遺伝的分化が認められ、核ゲノムと葉面積では連続的な地理的変異が認められた。

日本で、最も多く植栽されているスギは、日本海側と太平洋側では針葉の形状が異なっていることから太平洋側のスギをオモテスギ、日本海側のスギをウラスギと呼んで古くから区分している（林 1960）。また、近年の研究で日本海側と太平洋側のスギは遺伝的にも異なっていることが確かめられている（Tsumura *et al.* 2007）。さらに、太平洋側のオモテスギを日本海側の多雪地帯へ植栽すると雪害等により健全な成長が見込めないことなどから（前田ら 1992）、林業種苗法で規定されている種苗の配布区域では太平洋側から日本海側への苗木の移動は制限されている。したがって、ブナにおいても、スギと同様の問題が発生する可能性が考えられる。

そこで、異なる環境に植栽された稚樹の生残と成長に与える影響を明らかにするため、日本海側ブナ集団と太平洋側ブナ集団で採取した種子から得られた苗木（稚樹）を用いて、日本海側と太平洋側の間で移植試験を実施した。

5.2 材料と方法

移植試験に用いたブナは、2005年秋に長野県下高井郡野沢温泉村（種子源の所在地記号、JS）と山梨県南都留郡山中湖村（同P0）のブナ集団で採取した。野沢温泉村のブナ集団は、一斉林を形成し日本海型のブナ群落の特徴を有している。また、第2章で調べた葉緑体ゲノムの系統では、日本海側に属する長野県下水内郡木島平村のカヤノ平高原や、長野県下水内郡栄村の野々海高原に近く、第3章で調べた核ゲノムの系統でも日本海側の系

統である長野県下水内郡栄村の野々海高原に近いことから、日本海側のブナ集団と判断した。一方、山中湖村のブナ集団は、ブナが点在する太平洋型のブナ群落の特徴を有し、葉緑体DNAハプロタイプが太平洋側のEとFが混在し（西川浩己 私信）、第3章で調べた核ゲノムの系統でも太平洋側の系統である静岡県駿東郡小山町三国山に近いことから、太平洋側のブナ集団と判断した。

野沢温泉村のブナ集団では、2005年秋に長野県松本市波田の種苗生産者が5～10本の母樹を対象木として、母樹のまわりに寒冷紗を敷き詰め、落下した種子を採取した。一方、山中湖村のブナ集団では、地元産の苗木を育成するために山梨県の山林種苗協同組合員が、5～10本の母樹を対象として、母樹のまわりにシートを敷いて落下した種子を採取した。種子の採種場所の位置と立地環境は図5-1及び表5-1のとおりである。

長野県松本市波田の種苗生産者は、自身で収集した日本海側産のブナ種子と、山梨県の山林種苗協同組合から購入した太平洋側産のブナ種子を2006年春に産地別に播種した。播種後の育苗管理に当たっても、種子産地別に生産する畑を変えて床替えを行い2009年春まで育苗させた。移植試験に用いた稚樹は、2009年5月に、日本海側産の苗木と太平洋側産の苗木を産地ごとに区分して購入した。

購入した苗木は、産地系統による成長差を調べるために長野県北部の下水内郡栄村の栄試験地（Sa）と、長野県中部の塩尻市片丘の塩尻試験地（Si）及び長野県東部の南佐久郡小海町の小海試験地（Ko）の3か所の試験地に植栽した（図5-1、表5-1）。

栄試験地周辺のブナ集団は、日本海型のブナ一斉林が広がり、第2章で調べた葉緑体ゲノムの系統でも第3章で調べた核ゲノムの系統でも日本海側であることから、日本海側のブナが成立する場所であると判断した。塩尻試験地周辺にはブナが少ないが、周辺のブナの群落構造から推定すると、ブナが点在する太平洋側のブナ林と考えられる。また、第2章で調べた葉緑体ゲノムの系統では太平洋側に属する松本市牛伏寺や塩尻市の霧訪山の集団から直線距離で数kmと地理的距離が近い。一

方、核ゲノムの系統では塩尻市の霧訪山や檜川の集団と地理的距離が近いが、両者の集団は系統的に太平洋側と日本海側のどちらとも判断できなかった。これらの結果から、塩尻試験地は、周辺に分布するブナ集団が遺伝的に太平洋側であるか日本海側であるか判断がつかない場所であった。小海試験地周辺のブナ集団は、ブナが点在するだけの太平洋型のブナ林と推定され、第2章で調べた葉緑体ゲノムの系統では太平洋側の系統であり、第3章で調べた核ゲノムの系統でも太平洋側に属すると判断される佐久市の兜岩山の集団よりも南方に位置することから、太平洋側のブナ集団が成立する場所であると判断した。

植栽試験は、2009年6月に開始し、全ての試験地で日本海側産の苗木と太平洋側産の苗木を単木交互に配置した。植栽本数は栄試験地と塩尻試験地では各100本ずつを植栽したが、小海試験地では日本海側51本、太平洋側54本とした。試験地は、3か所とも斜面中部で5度以下の緩傾斜地で、試験地の上方が開放されたギャップ内であった。3か所の土壌は、栄試験地が適潤性褐色森林土(BD型)であったが、塩尻試験地と小海試験地は適潤性黒色土(B1D型)であった。植栽に用いた苗木の苗高は30~40cmであり、試験地間及び種子産地間での違いはなかった。雑草木の繁茂による被圧の影響をできるだけ小さくするため、植栽木の左右に防草シートを敷設した。しかし、実際には栄村を中心として雑草木の繁茂が認められたことから、調査時には毎回手刈りによる草刈を行った。また、塩尻試験地の周辺ではニホンジカの個体数が増加し、被害が発生している(小山ら 2010)ほか、小海試験地の周辺でもニホンジカの食害が激しくなっていた。そこで、試験地では、ニホンジカやノウサギ等の獣害を防止するため、試験地の周囲をニホンジカの防護柵で囲み、獣害防除を行った。

移植試験の調査は、春先の成長開始期に当たる5~6月、一次伸長が終了した7月、当年の成長が完了した9~11月の年3回実施した。各回の調査では、調査個体の生死を判定し、枯死している場合は掘取って枯死原因を特定した。生存している場合は、個体の樹高(自然高)を測定するとともに、先端部の枯死や雪害による折損、病虫獣害

の発生などの被害の有無を記録した。

以上の調査は、植栽を行った2009年6月から二冬を経過した2011年9月までの2年3か月間にわたって実施した。

5.3 結果

5.3.1 ブナ稚樹に発生した被害

植栽を行った2009年6月から2011年9月までの調査で、稚樹の生存や成長に影響を及ぼすと考えられた被害として、「雪害(写真5-1, 5-2)」、「先枯れ(写真5-3)」のほかに、開芽後に発生した晩霜により新葉や主軸が枯死する「晩霜害(写真5-4)」、主軸が凍結して組織が壊死する「凍害(写真5-5)」、ノネズミによる根系食害などの「獣害」、昆虫類に主軸を加害される「虫害」の6種類の被害が観察された。

なお、雪害は冬期の積雪により主軸が折損した折損害(写真5-1)と、主軸の折損には至らなかったものの、雪圧で主軸が大きく傾き、45度以上に大きく曲ってしまう幹曲りの2種類であった。幹曲りを起こした稚樹の中には、雪圧で完全に横倒しになってしまっている稚樹もあった(写真5-2)。

また、先枯れは前年の秋に形成されていた冬芽が先端部だけ春になっても開芽せず、主軸の下部のみで開芽している現象であった(写真5-3)。先枯れが発生した個体では、冬芽が開芽しないだけでなく、主軸の先端部では水分通道が認められず枯死していたことから、冬季に樹体内の水分通道に障害が発生し、先端部が枯死した凍害の一種であると考えられた。

5.3.2 ブナ稚樹の生残・枯死状況

ブナ稚樹の生残・枯死状況を健全、被害あり(ただし枯死せず)、枯死の3段階に区分して、各試験地で種子産地別の被害割合としてまとめた(図5-2)。

栄試験地では、太平洋側産の稚樹で被害が多く、日本海側産の稚樹では被害が少なかった(図5-2上段)。枯死を含めた被害の多くは、主軸の折損や幹曲りなどの雪害によるもので、雪害以外の先枯れや晩霜害、虫害などは少なかった。

塩尻試験地では、太平洋側産の個体で被害が少なく、日本海側産の個体で被害が多かった(図5-2

中段)。塩尻試験地では枯死する個体は少なく、被害の多くは、先枯れによる梢端の一部枯死であった。先枯れによる被害は、太平洋側産の個体では15%と少なかったが、日本海側産の個体では、調査期間中に70%以上の個体が被害を受けていた。

小海試験地では、日本海側の個体でも太平洋側の個体でも20%以上が枯死していた(図5-2下段)。枯死原因の大半は凍害によるものであった。枯死に至らない被害としては、太平洋側産の個体よりも日本海側産の個体で被害が多く、日本海側産の健全個体は10%程度しか見られなかった。枯死に至らない被害の多くは先枯れによる被害で、この被害の発生割合が種子の産地で異なったため、種子産地による被害率が大きく異なり、日本海側産の被害率が高くなった。

5.3.3 ブナ稚樹の生残経過

調査期間におけるブナ稚樹の生残経過について、各調査地で種子産地ごとに区分してまとめた(図5-3)。栄試験地では、日本海側産の稚樹は98%が生き残ったが、太平洋側産の稚樹は17%が枯死したことで、生残率は83%となり、種子産地の違いによる生残率は異なった。塩尻試験地の生残率は、日本海側産が97%、太平洋側産で99%とほぼ全てが生き残り、種子産地による差は認められなかった。小海試験地では、枯死個体が多く発生し、生残率は日本海側産で69%、太平洋側産で78%と低かったが、種子産地による明瞭な差はなかった。

枯死の発生時期を見ると、栄試験地の太平洋側産の稚樹も小海試験地の稚樹も春先の調査で枯死が見つかることが多く、着葉期の枯死は少なかった。着葉期に認められた枯死も春先の調査で衰弱していた稚樹が、次の調査時に枯死していたことが多く、枯死に至る原因の大半は落葉してから翌春に開芽するまでの落葉期に発生していた。

枯死原因は、試験地ごとに異なっていた。栄試験地では、日本海側産の2個体と太平洋側産の17個体の合計19個体が枯死していたが、このうち17個体は雪折れにより地上部が失われたことによることから、枯死原因の90%は雪害によるものであった。

一方、日本海側産が16個体、太平洋側産が12個体と合計28個体の枯死が認められた小海試験

地では、主軸部が凍結した凍害が17個体観察された。また、春先に先端の主軸部分が枯死したものの根元付近だけが生き残っていたが、その後枯死した稚樹が7個体認められた。凍害も春先の主軸の枯死も落葉期に発生した寒さの害であることを考えれば、冬季の寒さによる被害は、28個体中24個体と全体の86%を占めていた。なお、凍害は太平洋側産で9個体、日本海側産で8個体が認められ、種子の産地による差はなかったが、先枯れの影響による7個体の枯死は、全て日本海側産であった。また、寒さの害以外の枯死原因はノネズミによる根系食害が3個体と、原因不明の枯死が1個体であった。

なお、塩尻試験地での枯死は、凍害が1個体、ノネズミによる根系食害が1個体認められたが、残る2個体の枯死原因は明らかにできなかった。

5.3.4 被害別の発生状況

5.3.4.1 雪害

雪害は、メッシュ気候値(気象庁2002)で最深積雪深が3m近く認められている豪雪地域にある栄試験地でのみ観察され、最深積雪深が30cm以下である塩尻試験地と小海試験地では、積雪の影響による被害は2年間とも観察されなかった(図5-4)。栄試験地における雪折れと幹曲がりを合わせた雪害の発生割合は種子産地で異なり、日本海側産では植栽当年に14%、翌年は19%であったが、太平洋側では植栽当年に78%、翌年は91%と産地間の差が明瞭であった。

栄試験地で観察された雪害のうち、調査期間中に主軸が折損したのは35個体で、このうち、30個体は太平洋側産の稚樹であり、栄試験地に近い日本海側産の稚樹は5個体にとどまった(図5-5a)。また、被害の大半は植栽当年の冬に発生しており、植栽翌年の主軸折損は3個体と少なかった。なお、主軸が折損した35個体のうち枯死に至ったのは、15個体で20個体は枯死せずに再生した。折損により枯死した個体は、1個体だけが日本海側産であったが大半は太平洋側産であった。

また、主軸の折損には至らなかったものの、雪圧で主軸が大きく曲がり、主軸の傾斜が鉛直方向から45度以上に大きく傾いた稚樹は、日本海側産で植栽当年に10個体、翌年に15個体にとどまり、

累積では 17 個体だったのに対し、太平洋側産の個体では、植栽当年に 50 個体、翌年も 63 個体で認められ、累積では 75 個体となった (図 5-5b)。

雪圧による幹折れは、植栽当年の冬と植栽翌年の冬では別の個体でしか発生していなかったが、幹曲がりには、植栽当年に発生し、その後回復したものの翌年の春に再度曲がっていた個体も認められた。植栽翌年の春の調査で、幹曲がりを受けた個体が、秋の調査まで雪害による傾きが回復するかどうかを調べたところ、植栽翌年春の調査で傾いていた 60 個体のうち、28 個体が秋までに直立し、雪害による傾きが回復していた。主軸が傾いた稚樹に占める回復した稚樹の割合は、太平洋側産の稚樹では 38%であったのに対し、日本海側の稚樹は 90%が秋までに回復しており (図 5-6)、日本海側の稚樹は、雪圧害を受けたとしても回復しやすいと判断できた。

5.3.4.2 先枯れ被害

先枯れは、全ての試験地で観察されたが、植栽当年の冬だけを見ると塩尻試験地と小海試験地で観察され、栄試験地では観察されなかった (図 5-7)。先枯れによる被害率を種子産地別に比較すると、栄試験地だけは太平洋側産の個体に被害が多くなっていったものの、単年度の被害率は 19%だった。一方で、塩尻試験地と小海試験地では日本海側産の個体で集中的に先枯れが発生し、特に小海試験地では各年の被害率が 50%以上となった。先枯れは、二冬の調査期間中の両年ともに発生した稚樹も認められたが、どちらかの年だけ被害を受けた稚樹もあった。2年間を通じた試験地ごとの累積被害発生率は、栄試験地で最も低く、小海試験地で最も高く、小海試験地に植栽した日本海側産の稚樹は、累積被害率が 80%に達していた。

5.3.4.3 その他の被害

晩霜害は、栄試験地と塩尻試験地で僅かに観察されたものの、先端の一部シュートが開芽直後に僅かに枯死しただけで軽微であった。

凍害は、小海試験地でのみ認められ、植栽翌年に 12 個体、植栽翌々年に 5 個体発生し、2年間の累積被害率は 15%に達した。凍害により枯死した

稚樹の種子源を見ると、日本海側産の稚樹で 9 個体、太平洋側産の稚樹で 8 個体となっており、産地による差は認められなかった。

病虫獣害は、ノネズミによる獣害が小海試験地で見られたほかに、栄試験地では虫害が観察された。小海試験地におけるノネズミの被害は、植栽翌年の春に根系食害を受けて、太平洋側産の稚樹が 3 個体枯死しただけで、植栽翌々年の春には被害がみられなかった。また、栄試験地で認められた虫害は、植栽翌々年にのみ発生したが、一部の主軸が僅かに食害されただけで、被害程度も軽微であった。

5.3.5 ブナ稚樹の樹高成長

植栽時(2009/6)から調査を終了させた植栽翌々年の秋(2011/9)までの樹高成長の推移を試験地ごとにまとめた (図 5-8)。植栽時から当年の秋(2009/11)までは、全ての試験地で、産地間での成長量の差は見られなかった。しかし、翌年春(2010/6)には、小海と栄試験地では、種子産地間で樹高差が認められた。栄では日本海側産の個体が良好に成長していたが、小海では太平洋側産の個体の成長が良かった。その後の調査では、全ての試験地で種子産地の違いによる樹高差が認められた (t -test, $P < 0.01$)。

樹高成長の差がどのような原因によるものかを推定するため、健全個体における樹高の年間成長量を比較したところ、植栽翌年の塩尻試験地においてのみ有意な差が認められたが、それ以外のケースでは、種子産地の違いによる樹高成長には差がなかった (図 5-9)。種子産地別の年間成長量に有意差があった植栽翌年の塩尻試験地では、健全個体の二次伸長が種子産地によって異なり、日本海側の稚樹における二次伸長量は平均 13.4cm であったが、太平洋側の稚樹では平均 22.2cm 伸長したため、年間成長量の差につながった。二次伸長量が 40cm 以上となる稚樹だけを見ると、太平洋側産では 11 個体認められ最大で 64cm にも達したが、日本海側産の稚樹は最大でも 32cm で、40cm 以上も二次伸長した稚樹はなく、大きく二次伸長した稚樹の有無が樹高成長の差になっていた。

5.4 考察

日本海側と太平洋側で採取した種子を起源とする苗木を県内3か所に移植させたところ、栄試験地では太平洋側の稚樹が日本海側の稚樹よりも多く枯死したが、塩尻試験地及び小海試験地では種子産地の違いによる生残率には差異が認められなかった。

また、植栽から2年3か月間に発生した生残や成長に影響する被害は、大きく分けて雪害、先枯れ、凍害、獣害の4種類であったが、種子の産地による被害発生率に差異が認められたのは、雪害と先枯れであった。主にこの被害発生率の差異により、樹高成長にも種子の産地による差異が生じていた。

5.4.1 雪害の影響

移植試験で確認された被害のうち、種子産地による違いが認められた雪害は、最深積雪深が3mに達する栄試験地でのみ発生し、そのほかの試験地では見られなかった。栄試験地で発生していた雪害は、太平洋側産の稚樹で顕著な被害が認められたが、日本海側産の稚樹では少なかった。太平洋側産の稚樹では、植栽から二冬を経過しただけで、90%以上の稚樹に幹曲がりや倒伏などの雪害が発生したため、健全な成長をした稚樹は非常に少なかった。

人工林でブナを植栽すると、植栽当年の冬に雪圧害による主軸の折損害を受けることがある(今井・飛岡 2000; 小山・岡田 2006)。主軸の折損率が10%を超えた事例は、苗高1m程度の大苗を用いた場合のみで、苗高50cm以下の苗木を用いた場合には0~1%にとどまり(今井・飛岡 2000; 小山・岡田 2006)、大きな苗木を植栽しなければ雪による折損は発生しないと考えられていた(小山・岡田 2006)。これらの報告では、苗木の起源までは記載されていないが、小山・岡田(2006)が調査を行った人工林では、第2章で葉緑体DNAハプロタイプの解析を行っており、どちらも日本海側産であった。

本研究の移植試験では、40cm以下の苗木を使用していることから、既往の結果から見れば、雪害はほとんど発生しないと考えられ、今回の試験でも日本海側産の稚樹では雪害による折損が5%と、これまでの報告に比べて顕著に高い数字とはいえ

なかった。しかし、太平洋側産の稚樹では、30%が雪による折損を受けており、これまでの報告よりも高い結果となった。一般に、ブナは雪圧害には最も強い樹種の一つとされており(紙谷 1993; Homma 1997)、雪害はほとんど受けないと考えられている。本研究でも、栄試験地に近い日本海側産の個体は、雪による折損も少なく、雪による幹曲がりが発生した場合でもその年の秋までには曲がりが回復することが多く、雪による影響は小さいと解釈できる。しかし、太平洋側産の稚樹を植えた場合には、雪による折損に加えて、幹曲がりを起こす個体も多く、さらに主軸が傾いた個体の半数以上が秋までに回復しないなど、太平洋側産の稚樹は、積雪地に植栽すると健全な成長が見込めない状態だった。これらの結果から判断して、日本海側産と太平洋側産のブナでは、雪に対する適応性に差があり、積雪が多い日本海側産のブナだけが、雪圧に耐えて折損しない特性を保有している可能性が考えられる。したがって、積雪地域へ寡雪地産のブナを持ち込むことは、成長阻害を起す重大な問題につながるものと判断できる。

5.4.2 先枯れの影響

先枯れによる被害は、寡雪寒冷地域の塩尻試験地と小海試験地では植栽翌年も翌々年も発生し、被害率が大きかったが、栄試験地では被害が認められない年があるなど被害率が低く、試験地によって先枯れの発生割合には差が認められた。先枯れの発生原因については明らかになっていないが、ヨーロッパブナ(*Fagus sylvatica*)では、冬季に樹体内の水分が凍結融解を繰り返すことで、木質部の水分通道が閉塞し、閉塞箇所から先端部が枯死する現象や(Lemoine *et al.* 1999)、冬季に減少した浸透係数が開芽前に回復しない場合に梢端部の枯死が発生することが知られている(Cochard *et al.* 2001)。ブナの場合には同様の現象は報告されていないが、水分通道能力が低下するとブナの枝枯れが起きることは指摘されており(原山ら 2011)、水分通道能力が低下すれば、枝枯れが起きることが予想される。今回の先枯れは梢端の枝が枯死しており、ヨーロッパブナで発生した現象によく似ていることから、ヨーロッパブナと同じような原因で発生したものと解釈でき

る。

ブナは、冬芽の時は高い耐凍性がある（酒井 1982）が、開芽時期に耐凍性が急激に低下する（櫻村 1978）。本研究で確認された先枯れが、樹体内の水分が凍結融解を繰り返すことで発生したとすれば、寡雪地域の塩尻試験地や小海試験地で被害が大きくなったことも理解できる。塩尻試験地や小海試験地は、積雪深が 30cm 以下と少なく、40cm 程度の稚樹でも冬季は寒風にさらされる。塩尻試験地や小海試験地周辺では、最低気温が -10°C を下回ることもある。一方、栄試験地では、最深積雪深が 3 m を超えており、12 月から 5 月までの約半年間は積雪に覆われる。このため、冬季は、外気温が氷点下になったとしても、稚樹のまわりが雪に覆われていれば、 0°C で維持されているため、氷点下になることがなく、樹体が凍結する可能性はきわめて低くなる。本研究でも先枯れは、積雪が少なく寒冷な塩尻試験地と小海試験地で多く発生した。寡雪寒冷地に生育するブナは、落葉期でも夜間の冷え込みにより樹体内にあった水分が凍結しやすく、昼間の日射で溶けるため、凍結融解が進みやすく被害が起きやすい可能性が考えられた。特に、本来はこの時期に積雪に覆われることが多い日本海側産の稚樹には、こうした凍結融解に対する適応性が低下していたと考えられる。

実際、種子産地別に先枯れを見ると、日本海側産の個体を寡雪寒冷地域に植栽した場合に多く、特に小海試験地では、日本海側産個体の 75% が先枯れ被害を受けた。このことから、日本海側産の個体を太平洋側に植栽すると先枯れ被害を受けやすくなると解釈できる。

さらに、先枯れの発生状況に産地間の差が明瞭になった一つとして、種子の産地による開芽時期の差が考えられる。ブナは、地域によって葉面積などの形態に変異があることが知られているが、全国のブナを同一か所に植栽した植栽試験地の結果によると、開芽時期にも産地間差があることが報告されている（橋詰ら 1996；布川・塚原 2005）。これによると、ブナの開芽が最も早いのは北海道産のブナで、次いで北陸、四国九州と続き、最後に関東地方産のブナが開芽するという。

最初に開芽する北海道産のブナと最後に開芽する関東産のブナでは、開芽時期におよそ 2 週間程

度の違いがあることが指摘されている（布川・塚原 2005）。今回の調査では、調査の間隔が長かったために開芽時期の違いを正確に追跡していないが、日本海側のブナが開芽しているにもかかわらず、太平洋側のブナは開芽前ということが多く、日本海側のブナは太平洋側のブナよりも早く開芽していたと推定できる。

開芽時期が早い場合には、それだけ早く水を揚げておく必要があり、水揚げの時期に一定の寒さが訪れると、梢端部で耐凍性の低下による障害が発生し、先枯れを起こすことが考えられる。このように日本海側産のブナの方が早く開芽したことが、日本海側産のブナが先枯れ被害を受けやすかった原因の一つと考えられる。

以上のことから、先枯れの発生を軽減するためには、太平洋側の寡雪寒冷地域では、太平洋側産の個体を選択することが望ましい。

5.4.3 そのほかの被害による影響

ブナの被害として、雪害や先枯れのほかに古くから報告されているのが、晩霜害である（櫻村 1978；黒田ら 2001；Kojima *et al.* 2003；長谷川・相浦 2009）。晩霜害は、ヨーロッパブナでも古くから知られており（Hauch 1909；Mathieu 1996）、被害を受けた個体が多幹化するなど成長に影響があることが報告されている（Ningre and Colin 2007）。国内でも晩霜害によるブナの枯死（黒田ら 2001）や成長阻害が発生する（長谷川・相浦 2009）ことがある。ブナの晩霜害は、開葉時期がミズナラなどに比べて早いことに加えて（Kojima *et al.* 2003）、開芽直後に耐凍性が低下することから（櫻村 1978）、ブナは他の広葉樹よりも晩霜害が発生しやすいと考えられている。しかし、本研究期間中には激しい晩霜害に出会わなかったため、種苗産地による差があるかどうかは判別できなかった。

また、凍害に関しても小海試験地で発生していたが、産地系統による差は認められなかった。しかし、ヨーロッパブナでは開葉時期の違いなどで霜害の受けやすさに違いがあることが指摘されており（Peik 1976）、日本のブナでも産地によって開芽時期に違いがある（橋詰ら 1996；布川・塚原 2005）ことなどから、種子産地によって晩霜害の

被害程度が異なる可能性も考えられるが、本研究では明確にならなかった。

このほか、ブナ人工林を植栽した場合に発生する病虫獣害のなかで、成長阻害要因となり得るような重大な被害としては、虫害と獣害が代表的で、病害については主立った報告はない。虫害の原因としては、コウモリガ(布川 2002; 小山ほか 2001) やクワカミキリ(岡田・永幡 1996; 山野辺・細田 2002; 布川 2006; 近藤 2008) などの穿孔性害虫が代表的で、獣害としてはノネズミ(小山ら 2002)、ノウサギ(山田ら 2004) などによる被害が報告されている。しかし、本研究ではノネズミによる根系食害が散見された程度で、産地間の差があるかどうかはわからなかった。

5.4.4 種子産地の違いによる樹高成長への影響

どの試験地でも種子産地の違いによって樹高成長は異なっていたが、健全個体のみを取り出した場合の樹高成長量は、植栽翌年の塩尻試験地での成長を除いて、種子産地間での差は見られなかった。植栽翌年に塩尻試験地で見られた種子産地間での成長差は、生残によるものではなく、40cm 以上にも大きく二次伸長した個体の有無によるものであった。ブナは、春先に伸びたシュートのみで一年間の伸長を終える Flush 型の成長をする(Kikuzawa 1983) とされ、シュートの伸長成長も生育初期の1か月前後でその伸びが終了することが多く(丸山 1978; 丸山・佐藤 1990)、ブナは二次伸長しないと考えられている。しかし、樹齢や環境条件によっては、本来二次伸長をしない種でも二次伸長が起きる(櫛田 2000) ことが知られており、ブナでは日長が長い時期に高温環境下で育つと、本来の特性を変えて、自由に伸長することがある(渡邊 1994)。改めて、植栽翌年の2010年の塩尻試験地の気温変化を見ると、日長が長い5~9月の月平均気温は、平年に比べて1~2℃高くなっており、記録的な猛暑であった。このため、通常的环境条件では起きないような二次伸長が発生したと思われる。なお、櫛田(2000)によると、南方産の個体ほど二次伸長しやすく、その場合の二次伸長量も大きくなるとされており、今回の種子源を見ると、より南方の産地である太平洋側産の個体が、特異的な気象条件下で二次伸長

をしやすくなった可能性が考えられ、通常的环境下ではまれな現象ではないかと解釈できる。

こうした特異的な気象条件による影響を除けば、樹高成長に大きな影響を与えていたのは、被害の有無であった。種子の産地によって、各試験地における被害の発生状況が異なっていたことが、樹高成長にも影響を与えたと判断できた。栄試験地では、太平洋側の個体で雪害による折損や倒伏が多かったため、春先に樹高低下が起こり、秋までに回復したとしても、その後の冬で再度被害を受ける。一方、日本海側の個体は、雪害をあまり受けないため、樹高成長が異なると推察される。

塩尻試験地や小海試験地で多く見られた先枯れによる被害率は、日本海側産の個体で高く、太平洋側産の個体では先枯れが少なかったことから、先枯れによる樹高低下の有無により、種子産地による樹高差が拡大していた。

調査した試験地ごとに、被害の発生状況は異なるが、3か所の試験地では落葉期に起きた被害が、種子産地間で異なった。このため、植栽時は同じ樹高であったにもかかわらず、冬を越すごとに樹高成長の差が拡大し、最終的に産地間での樹高差が生じたものと考えられる。

5.5 まとめ

異なる環境に植栽された稚樹の生残と成長に与える影響を明らかにするため、日本海側ブナ集団と太平洋側ブナ集団で採取した種子から得られた苗木(稚樹)を用いて、日本海側と太平洋側の間で移植試験を実施した。その結果、日本海側産の苗木を太平洋側へ植栽すると先枯れによる樹高低下が生じ、太平洋側産の苗木よりも樹高成長が悪かった。一方、太平洋側産の苗木を日本海側の豪雪地域へ植栽すると、雪害による主軸部の折損や曲がりが発生し、健全な成長が見込めない状況となっていた。日本海側産の苗木を日本海側に植栽した場合や、太平洋側産の苗木を太平洋側へ植栽した場合には、成長への重大な影響は観察されず、健全な成長を示した。これらのことから、ブナは原産地と同様の環境下へ植栽すれば健全に生育する可能性が高いが、産地と異なる環境へ植栽すると、落葉期に成長が阻害される可能性があることが示唆された。

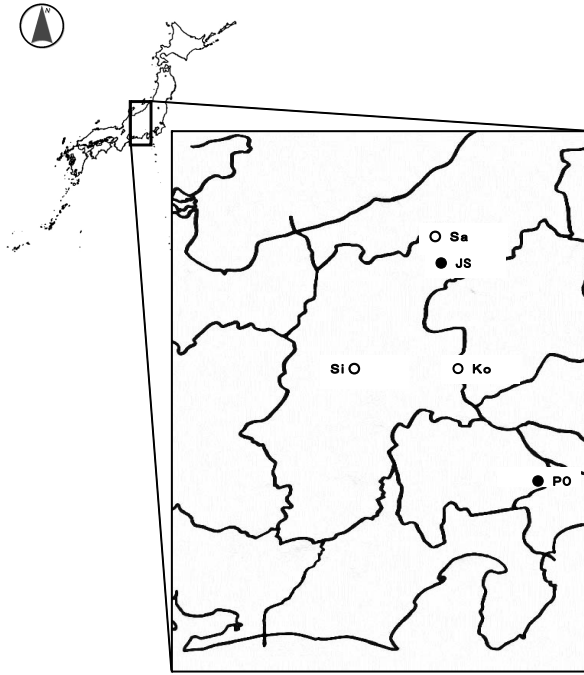


図 5-1 ブナ稚樹の移植試験地 (○) と種子産地 (●) の位置
Locations of transplant experiment sites (open circles) and seed provenances (solid circles) of *Fagus crenata* saplings. Alphabets indicate the site codes listed in Table 5-1.

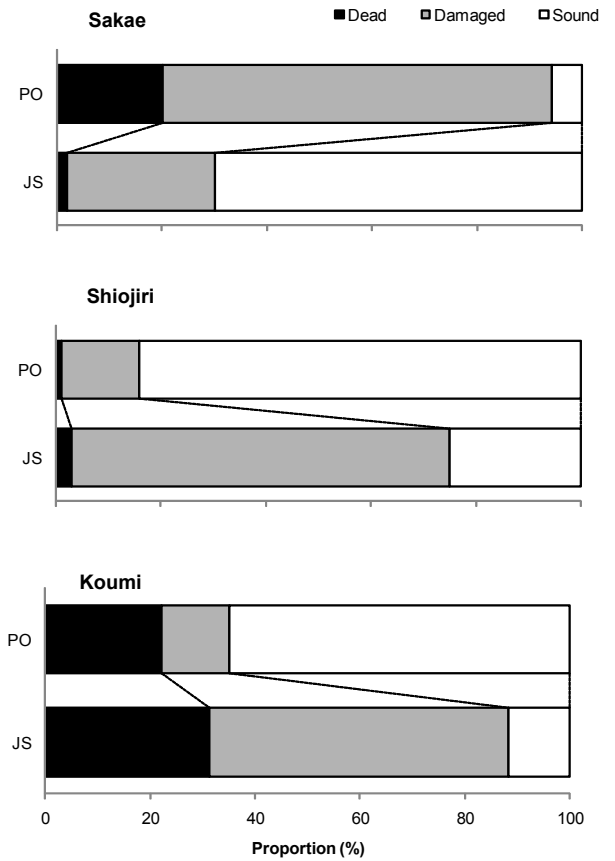


図5-2 3つの移植試験地における2つの種子産地 (JS, 日本海側; PO, 太平洋側) 由来のブナ稚樹の枯死, 被害, 健全個体割合
Proportions of dead, damaged, and sound saplings of *Fagus crenata* derived from two seed provenances (JS, Japan sea side; PO, Pacific side) in the three sites of transplant experiments.

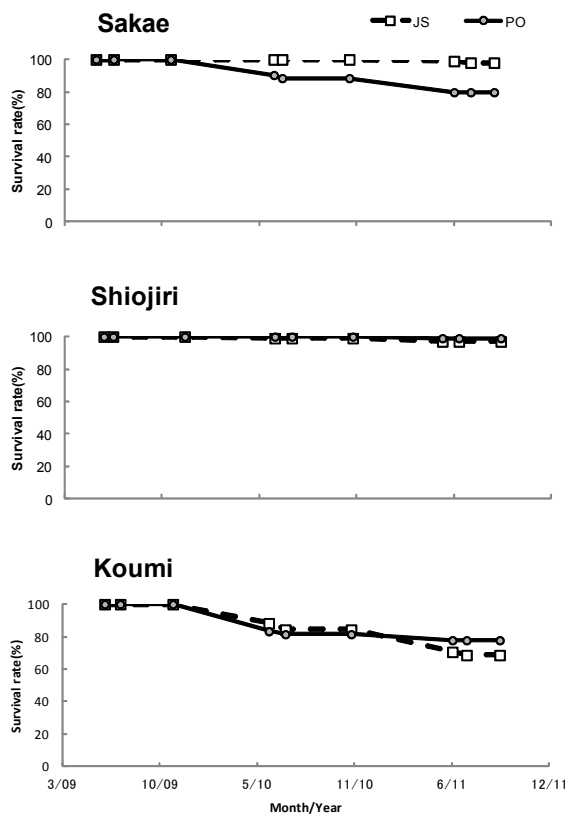


図5-3 3つの移植試験地における2つの種子産地 (JS, 日本海側; PO, 太平洋側) 由来のブナ稚樹の生残率

Survival rates of *Fagus crenata* saplings derived from two seed provenances (JS, Japan sea side; PO, Pacific side) at the three sites of transplant experiments.

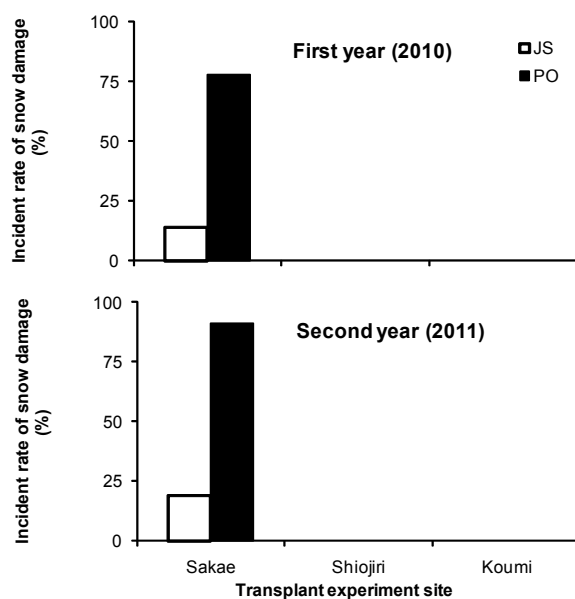


図5-4 3つの移植試験地における2つの種子産地 (JS, 日本海側; PO, 太平洋側) 由来のブナ稚樹の雪害発生率

Incident rates of snow damage to *Fagus crenata* saplings derived from two seed provenances (JS, Japan sea side; PO, Pacific side) in the three sites of transplant experiments.

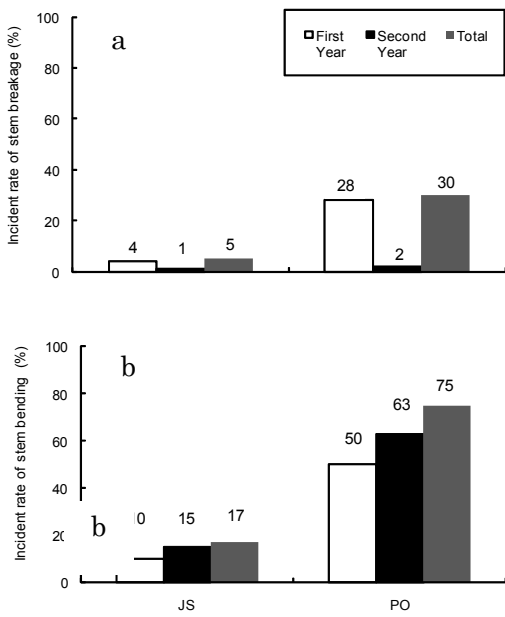


図5-5 栄移植試験地における2つの種子産地(JS, 日本海側; PO, 太平洋側)由来のブナ稚樹の(a) 幹折損と(b) 幹曲がりの発生率

Incident rates of (a) stem breakage and (b) stem bending of *Fagus crenata* saplings derived from two seed provenances (JS, Japan sea side; PO, Pacific side) at the Sakae transplant experiment site. Numbers on the bar graphs indicate the numbers of damaged saplings.

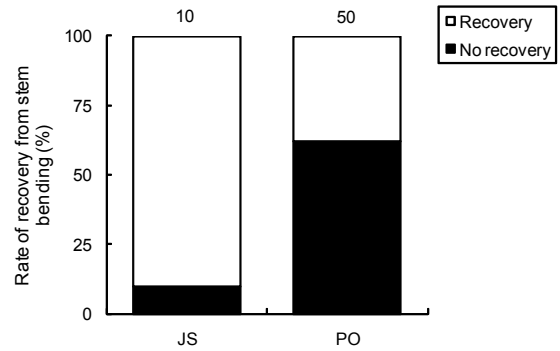


図5-6 植栽翌年(2010年)の春から秋までの栄移植試験地における2つの種子産地(JS, 日本海側; PO, 太平洋側)由来のブナ稚樹が幹曲がりから回復した率

Rates of recovery from stem bending of *Fagus crenata* saplings derived from two seed provenances (JS, Japan sea side; PO, Pacific side) at the Sakae transplant experiment site from spring to autumn in the next year (2010) after planting. Numbers on the bar graphs indicate the numbers of saplings with bended stems in the spring of 2010.

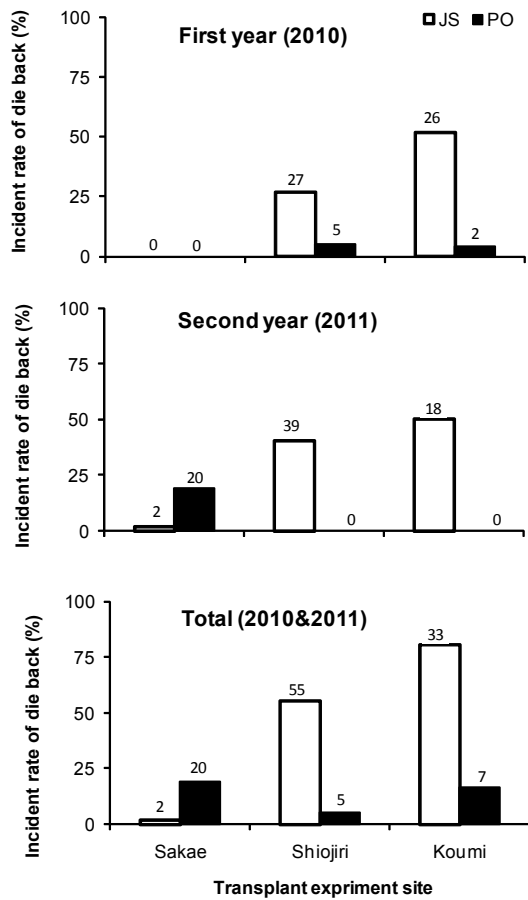


図5-7 3つの移植試験地における2つの種子産地 (JS, 日本海側; PO, 太平洋側) 由来のブナ稚樹の先枯れ発生率

Incident rate of die back of *Fagus crenata* saplings derived from two seed provenances (JS, Japan sea side; PO, Pacific side) in the three sites of transplant experiments. Numbers on the bar graphs indicate the numbers of die back saplings.

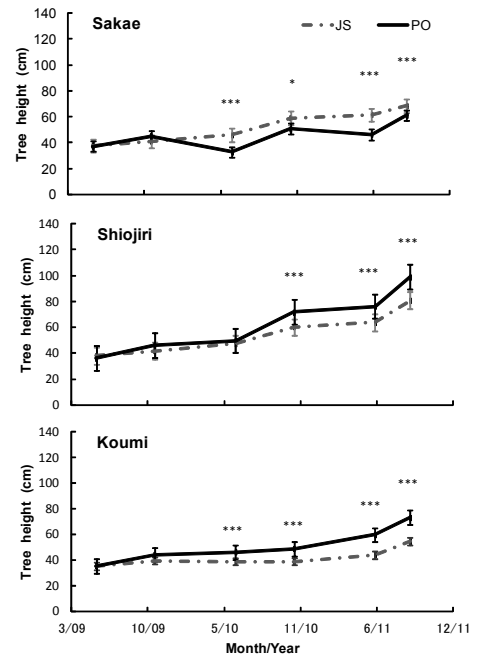


図5-8 3つの移植試験地における2つの種子産地 (JS, 日本海側; PO, 太平洋側) 由来のブナ稚樹の樹高成長

Tree height growth of *Fagus crenata* saplings derived from two seed provenances (JS, Japan sea side; PO, Pacific side) in the three sites of transplant experiments. Error bars show standard errors. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ (t -test).

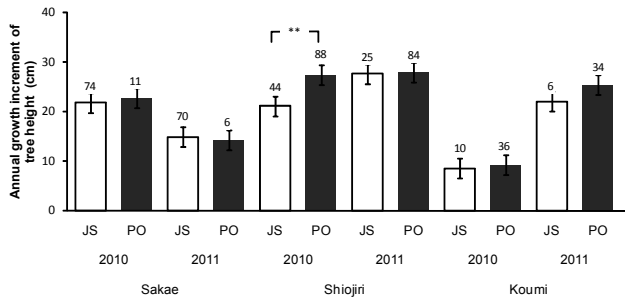


図5-9 3つの移植試験地における2つの種子産地 (JS, 日本海側; PO, 太平洋側) 由来のブナ稚樹 (健全個体) の年間樹高成長量

Annual growth increment in tree height of *Fagus crenata* sound saplings derived from two seed provenances (JS, Japan sea side; PO, Pacific side) in the three sites of transplant experiments. Numbers on the bar graphs indicate the numbers of sound saplings. Error bars show standard errors. ** $P < 0.01$ (*t*-test).

表 5-1 調査地の所在と気象条件
Locality and climate conditions of the study sites

Site code	Site name	Locality	Latitude (N)	Longitude (E)	Altitude (m)	Annual mean temperature (°C)	Coldest monthly mean temperature (°C)	Warmth index (WI)	Max snow depth (cm)
Transplant experiments									
Sa	Sakae	Sakae, Nagano	37°00'	138°31'	770	8.9	-3.2	73.4	287
Si	Shiojiri	Shiojiri, Nagano	36°08'	137°59'	860	9.4	-2.8	75.7	19
Ko	Koumi	Koumi, Nagano	36°06'	138°32'	1,310	7.5	-4.5	62.2	23
Seed provenances									
JS	Nozawa	Nozawaonsen, Nagano	36°55'	138°28'	1,100	6.7	-2.4	58.2	216
PO	Yamanaka	Yamanakako, Yamanashi	35°24'	138°53'	1,060	8.4	-5.6	63.9	43

Climate conditions were calculated based on data from Japan Meteorological Agency, <http://www.jma.go.jp/jma/menu/report.html>.



写真 5-1 雪害によるブナ稚樹の幹折れ
Stem breakage of a *Fagus crenata* sapling by snow damage.



写真 5-4 ブナ稚樹の晩霜害
Late frost damage to a *Fagus crenata* sapling.



写真 5-2 雪害によるブナ稚樹の幹曲がり
Stem bending of a *Fagus crenata* sapling by snow damage.



写真 5-5 枯死したブナ稚樹にみられた凍傷痕
A frostbite trace on the dead saplings of *Fagus c renata*.



写真 5-3 ブナ稚樹の先枯れ
Die back of a *Fagus crenata* sapling.

第6章 長野県におけるブナの保全単位の設定

6.1 はじめに

スギなどの針葉樹は、林業種苗法により種苗配布区域が定められ、地域を越えた種苗の移動が制限されているが、ブナなどの広葉樹は対象外のため法的規制がない。実際、長野県において調査したブナ人工林は、天然林集団の地理的変異を考慮することなく、遠隔地から持ち込まれた日本海側産の種苗のみで造成されていた(第2章)。しかし、ブナでは天然林集団の系統と異なる不適当な系統の苗木を植えると、生残や成長への負の影響が認められた(第5章)。このような状況が続けば、植栽した苗木が健全に育たないばかりか、将来、植栽個体と周囲の自生個体との間の交雑を通して遺伝子汚染が生じ、その結果、子孫集団において環境に適応できない個体が増加する可能性があり、そのような過程によって子孫集団が衰退するリスクが高まる可能性がある。

こうした負の影響を排除するため、それぞれの環境に適応し、遺伝的に分化していない集団が分布する範囲を一つのまとまりとする保全単位を定めることが必要である(Riddle and Hafner 1999)。保全単位の設定に当たっては、地域に残されたブナの自生集団との交雑による将来的な悪影響が起きないような危険回避を考えておくことも必要であり、植栽個体の生残・成長の問題だけでなく、地域のブナ天然林集団の保全も見据えた境界線を設定する必要がある。

そこで本章では、これまでに述べた各章の結果を踏まえ、既存の植生学的研究の結果も考慮して、長野県におけるブナの保全単位の設定を試みた。

6.2 保全単位の設定方法

保全単位設定後の施策の実効性を高めるために、保全単位は明瞭な境界によって区分されるのが適切であると考えられるため(第1章)、本研究では、林業種苗法で示した種苗の配布区域と同様に境界線を引く手法を採用することにした。また、保全単位の設定に当たっては、中立的な遺伝的変異に加えて、適応的な遺伝的変異も考慮すべきである(Crandall *et al.* 2000; Cavers *et al.* 2004; 津田 2011)。そこで、本研究では、本州中央部の

長野県とその周辺に分布するブナ天然林集団を対象として、第2章と第3章で中立的な遺伝的変異を明らかにし、第4章では適応的な表現形質であると考えられる葉面積の地理的変異を明らかにした。その上で、第5章では環境の異なる日本海側と太平洋側の間で稚樹を移植した場合の影響を明らかにした。これらの結果に加え、ブナを保全する目標としてブナが優占する森林への再生を求めている事例が多いことから、長野県における日本海型・太平洋型ブナ林の地理的分布(福嶋ら 1995; 林 1967 など)を考慮して、長野県におけるブナの保全単位を検討した。

6.3 葉緑体ゲノムと核ゲノムの地理的変異から推定される日本海側・太平洋側ブナ集団の境界

長野県のブナ天然林集団における葉緑体ゲノムの解析結果では、地理的分布の異なる4種類のハプロタイプが検出された。長野県の北部にみられたハプロタイプBは、東北地方の日本海側から山陰地方までの日本海側に分布しているが、長野県の中南部にみられたハプロタイプD, E, Fはいずれも太平洋側に分布している(Fujii *et al.* 2002)。Fujii *et al.* (2002)によると、4種類のハプロタイプのうちFは太平洋側系統であり、現在の分布も太平洋側にある。一方、B, D, Eの3種類は日本海側の系統とされているが、Bが日本海側に分布しているのに対し、DとEは太平洋側に偏って分布していることから、今から2万年前の最終氷河最盛期には太平洋側に逃げ込んでいたと考えられる。したがって、葉緑体ゲノムの地理的変異の観点から現在の長野県のブナ集団を日本海側と太平洋側の集団に区分すると、ハプロタイプのBとそれ以外に分けるのがよいと考えられる(図6-1a)。

本州中央部の長野県とその周辺のブナ天然林集団における核ゲノムの地理的変異は、日本海側と太平洋側の間で連続的な変異であった。この結果は、分布域全体において日本海側と太平洋側では明瞭な遺伝的な分化があるとする結果とは異なった(Hiraoka and Tomaru 2009)。これは、核ゲノムにおける日本海側系統と太平洋側系統の集団が接触する地域では、それらの間に遺伝子流動が生じ、遺伝的組成に勾配ができることを示すものと

考えられる。核ゲノムの地理的変異は連続的なため、境界を示すことは難しいが、便宜的に、ストラクチャー解析によって得られたクラスターが同等の割合となる0.5の等値線を示すと、長野県のほぼ中部から木曾谷の南を通る、県内を横断する線が得られた(図6-1b)。

6.4 日本海型・太平洋型ブナ林の境界

日本のブナ林の群落構造は、日本海型のブナ・チシマザサ群団と太平洋型のブナ・スズタケ群団に区分される(福嶋ら1995)。長野県における両者間の境界は、おおむね図6-2に示すとおりであり、この境界線は最深積雪深50cmと近似する(土田1987)。積雪の多寡がブナ林の群落境界を定めているということは、日本海側の多雪地帯と太平洋側の寡雪地帯の間でのブナの移動は好ましくないとした、今回の移植試験の結果とも関連していると考えられる。さらに、図6-2で示した境界は、葉緑体ゲノムの地理的変異から示された日本海側と太平洋側のブナ集団の境界とも近似する(図6-1a)。

長野県においてブナ林の境界が、葉緑体ゲノムの地理的変異から示された境界と近似し、移植試験の結果とも関連しているとするれば、この境界はブナの保全単位を考える上で重要な境界となり得る。そこで、図6-2に示されたブナ群落の境界付近に成立するブナ集団について、本研究の調査結果と植生調査の結果を合わせて、どこまで厳密な境界を設定することができるのかについて検討した。

図6-2で示された境界線付近において、本研究で葉緑体ゲノムと核ゲノムの両方を調査したのは、上田市大洞、長野市聖山、筑北村四阿屋山、松本市安房峠の4か所である。4か所の核ゲノムの遺伝的組成はクラスター1の割合が4か所とも50%を超え、やや日本海側の系統であったが、葉緑体ゲノムの系統では長野市聖山のみが日本海側の系統に属し、松本市安房峠が両者の混生地域、上田市大洞と筑北村四阿屋山は太平洋側の系統であった(表6-1)。

植生調査の結果では、上田市大洞のブナ林は太平洋型とされる一方で(林1967)、日本海型の系統に近いとされる場合もあり(井田・川上2002)、

研究者によって解釈が異なっている。長野市聖山(川上1998)と筑北村四阿屋山(横内・横内1986)では、それぞれ太平洋型と日本海型のブナ林に典型的に出現する植物種が混生していた。松本市の安房峠に近い松本市安曇の島々谷(横内・横内1988)では、長野県北部の種組成と一致しており、安房峠も日本海型のブナ林の相観を呈しているため、日本海型のブナ林と考えられる。

このように、境界付近のブナ林の中には、日本海型と太平洋型の区別が難しい群落も認められた。今回は調査対象とはしなかったが、上田市焼山にあるブナ林は、既存の群落構造のいずれにも該当しないという見解が示されており(松田・土田1984)、日本海型・太平洋型ブナ林の境界は厳密なものではなく、一定の幅を持った緩やかな境界であると解釈できるであろう。

6.5 長野県のブナ保全単位の設定

以上の議論からすると、長野県におけるブナの保全単位は、長野県の中部を境界として日本海側と太平洋側の2つに分けられると考えられる。また、境界付近では遺伝的な区分と植生区分のそれぞれに曖昧な場所がみられることから、厳密な境界ではなくより実効性に配慮した境界がよいと考えられる。中南米に生育するセンダン科の高木性落葉樹である *Cedrela odorata* の保全単位の設定では、進化の概念に加えて、行政的な配慮も検討し、国境を境としている(Cavers *et al.* 2004)。林業種苗法の種苗配布区域も、原則として都道府県単位で区分されている(佐藤1950)。長野県の種苗配布区域については、スギ・ヒノキなどで県境ではなく県内に境界が設定されているが、この境界も県の広域行政圏と一致しており、これにより行政処分を行うことが容易である。

長野県におけるブナ林の境界は、葉緑体ゲノムの地理的変異から示される境界とおおよそ一致し、多雪地と寡雪地間での種苗の移動を避けるべきとした移植試験の結果とも関連しており、重要と考えられる。そこで、ブナ林の境界(図6-2)と、現実に行政が運用している林業種苗法に示された針葉樹の種苗配布区域を比較したところ(図1-2)、飛騨山脈に近い松本地方事務所管内を除けば、ほぼ一致していたことがわかった。

松本地方事務所管内には、移植試験を行った塩尻試験地があり、葉緑体ゲノムの系統と移植試験の結果から太平洋側の系統を植栽することが望ましいと判断できる。しかし、飛騨山脈に近い松本市安曇（旧安曇村）や安曇野市では、葉緑体ゲノムや核ゲノムの系統が日本海側に属すると考えられ、ブナ林の種組成でも日本海型と考えられた。これらの結果を踏まえると、松本地方事務所管内は、原則として太平洋側に含まれるが、飛騨山脈に近い安曇野市及び旧南安曇郡安曇村（松本市安曇）は、日本海側に含めることが適切と判断される。

これらの結果を総合して、長野県のブナ保全単位は、松本地方事務所の管内を分断し、北部と南部に区分するように設定すべきであるとする（図 6-3）。本区分では、日本海側に当たる北部地域を、長野県の長野地方事務所、北信地方事務所、北安曇地方事務所の管内に加えて、飛騨山脈北部を含むように、松本地方事務所管内の安曇野市及び旧南安曇郡安曇村（松本市安曇）、旧南安曇郡梓川村（松本市梓川）とした。一方、太平洋側に当たる南部地域を、佐久地方事務所、上小地方事務所、諏訪地方事務所、上伊那地方事務所、下伊那地方事務所、木曾地方事務所と、安曇野市及び旧南安曇郡の安曇村と梓川村（松本市安曇及び梓川）を除く松本地方事務所の管内とした。

なお、移植試験の結果でも明らかなように、保全単位の境界を越えた種苗の移動は、生残や成長への影響が大きだけでなく、ブナの自生個体との交雑によってもたらされる将来的な悪影響が生じないようにするためにも、避けるべきである。このため、長野県の北部は日本海側系統のブナを、南部は太平洋側系統の苗木を植栽する必要がある。

6.6 展望と課題

本研究では、本州中央部の長野県及びその周辺に分布するブナ天然林集団の中立的な遺伝的変異と適応的な遺伝的変異を詳細に調査することに加えて、移植試験を行うことで、長野県におけるブナの保全単位を設定した。現在全国各地でブナ林の保全活動が行われており、ブナを植栽する事例も多い。ブナは、地域を越えた植栽による成長への影響があることから、ブナの保全活動を行う際

には、保全単位を設定し、保全単位ごとに保全活動を行う必要がある。特に、ブナは日本海側と太平洋側の間での遺伝的変異が大きく、両者での種苗の移動を避けるべきであることから、長野県と同様に日本海側の多雪地域から太平洋側の寡雪地域までが含まれている岐阜県や兵庫県、福島県のような地域では、ほぼ同じ手法により県内を二分する保全単位を設定することが望まれる。

また、長野県内で植栽されている広葉樹は、ブナよりもコナラやミズナラなどのナラ類やケヤキ、クリが多いことから、これらの樹種についても保全単位を検討して設定することが必要であろう。

なお、今回定めたブナの保全単位を遵守するために最初に取り組むべき課題は、種子源の確保であろう。現在長野県が指定しているブナ種子の指定採取源は、県北部の日本海側に位置する小谷村の一か所で、南部の太平洋側では指定採取源が設定されていない。長野県のブナ保全単位が設定されたとしても、種子が確保できなければ、それは実際上の運用に重大な障害となる。種子源を設定する基準は、地域集団の遺伝的多様性が低下しないように、近親交配の可能性が少ない 30m 以上離れた母樹が 30 個体以上存在するような区域面積 3 ha 以上の大きな林分が望ましい（森林総研 2011）。そこで、実際の運用までに、少なくとも、長野県南部でこうした条件に合致する集団を確保し、指定採取源の指定を進めていく必要がある。

とはいえ、本研究で示したようなブナの保全単位を設定し、保全単位ごとに様々な保全活動を行えば、ブナ林が将来にわたって健全に保全されるとは限らない。特に、近年深刻化する地球温暖化の影響は重要な問題である。地球温暖化により気温が上昇すると、たとえば、ブナの重要害虫であるクワカミキリの分布域が拡大する可能性がある。クワカミキリは、温量指数 $85^{\circ}\text{C}\cdot\text{月}$ 以上となる温暖地域に生息し（小山・岡田 2004）、温暖地域にブナを植栽すると激害化することが知られている（山野辺・細田 2002）。このため、温暖化によりクワカミキリの生息域が拡大するとブナ林の存続に重大な影響が出ることが予測される。また、気温が上昇することでブナそのものの生残にも影響が出ることが予想されており、長野県の中南部にみられるブナは、地球温暖化が進行することで生

き残れない可能性が高いとされている (Matsui *et al.* 2004)。さらに、温暖化の影響で成長様式に変化が起きる可能性もある。第5章の塩尻試験地では、種子産地によってブナの二次伸長量に差があったが、これまでの研究によれば、ブナは一次伸長のみの成長が普通であり (Kikuzawa 1983; 丸山 1978; 丸山・佐藤 1990)、二次伸長はしないと考えられていた。もし温暖化等の影響で二次伸長が発生し、産地間差が生じるとすれば、今回設定した保全単位も、温暖化にあわせて変更する必要がある。

本研究では、長野県におけるブナの保全単位を提案することができたが、保全単位は一度設定す

ればそれで終了するわけではない。地球温暖化などによる環境条件の変化や、遺伝解析技術の進化など更なる研究の進展によって、適宜変更していくが必要になる。すなわち、保全単位は常に新しい情報を盛り込みながら更新を繰り返す順応的な管理が必要であると考えられる。日本の冷温帯地域を代表する固有種であるブナが、遠い将来まで健全な状態で保全し続けていくためには、今回設定した保全単位に縛られることなく、常に新しい情報を取り込みながら、最善の策を講じていく努力を永続的に続けていく必要があるであろう。

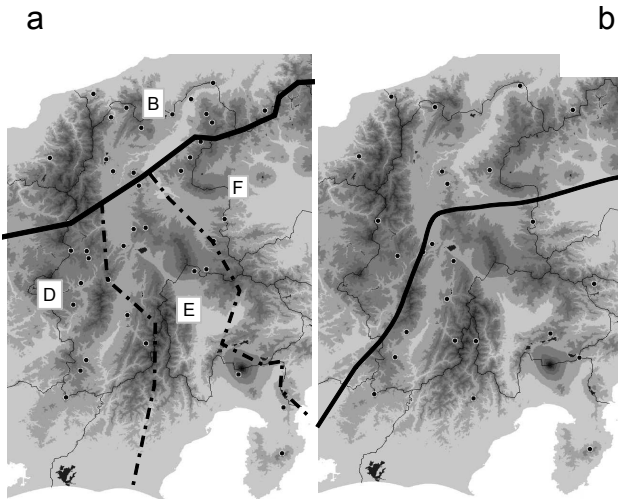


図 6-1 本研究で明らかとなった葉緑体ゲノム (a) と核ゲノム (b) の地理的変異から推定された長野県における日本海側・太平洋側ブナ集団の境界 (実線)

Boundaries (solid lines) between *Fagus crenata* populations on the Japan Sea and Pacific sides of Nagano Prefecture, inferred from geographic variations of chloroplast (a) and nuclear (b) genomes revealed by this study. Upper-case letters in (a) indicate chloroplast DNA haplotypes. A solid line in (b) is an isogram of the proportion of cluster 1 (0.5) obtained by STRUCTURE analysis with the number of cluster $K=2$ (see Chapter 3).

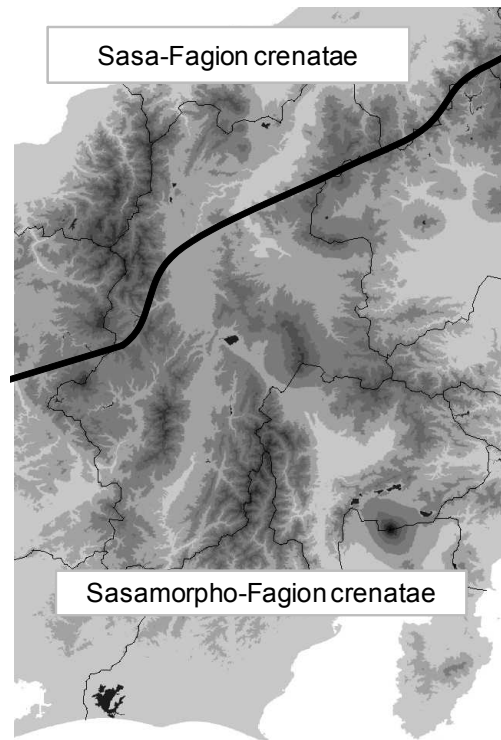


図 6-2 長野県における日本海型・太平洋型ブナ林の境界

A boundary between the Japan Sea and Pacific types of beech forests in Nagano prefecture.



図 6-3 長野県のブナ保全単位
Conservation units of *Fagus crenata* in Nagano prefecture.

表 6-1 推定された境界付近のブナ天然林 4 集団における葉緑体 DNA ハプロタイプとクラスター 1 の割合
Chloroplast DNA haplotypes and the proportions of cluster 1 in the four *Fagus crenata* natural populations existed on the inferred boundaries.

Locality	Latitude (N)	Longitude (E)	cpDNA		nSSR	
			Population number	Haplotype	Population number	Cluster 1 propotion (%)
Ohbora, Ueda, Nagano	36°30'	138°19'	N12	F	6	61.18
Mt. Hijiri, Nagano, Nagano	36°29'	138°02'	N14	B	7	62.67
Mt. Azumaya, Chikuhoku, Nagano	36°25'	138°03'	N15	E	8	55.46
Abo Pass, Matsumoto, Nagano	36°12'	138°35'	N17	D,B	9	72.77

The proportions of cluster 1 were obtained by STRUCTURE analysis with the number of cluster $K=2$ (see Chapter 3).

摘要

近年、広葉樹に関する期待や関心が高まり、ブナをはじめとした広葉樹の造林が増加する傾向にある。その広葉樹の造林に用いられる種苗は、林業種苗法などの法的規制がないために自由に流通している。しかし、植栽された個体が植栽地の環境に合わずに成長不良や枯死に至る、植栽個体と自生個体との交雑後代において遠交弱勢が発現し適応度が低下する、地域の遺伝的固有性が失われるなどのおそれがあることから、種苗の移動制限が必要であると指摘されている。遺伝的に分化した集団は混合されるべきではなく、個別の遺伝的管理が必要であると考えられている。このような管理の単位を「保全単位」という。現在成立している天然林集団の遺伝的な地理的変異を把握し、植栽した場合の環境適応性も把握した上で、保全単位を定めて管理することが望まれる。

本研究で対象としたブナは、北海道南部から九州まで分布する高木性落葉広葉樹であり、地域の自然再生のために造林される事例が増えている。ブナは、葉面積などの適応的な表現形質に地理的な変異が見られるだけでなく、中立な遺伝的変異にも地理的な傾向が見られる。特にブナに見られる地理的変異の多くは、日本海側と太平洋側の間で異なることが多いため、両者間での種苗を移動させると、上記に述べたような問題が発生する可能性がある。したがって、地理的スケールで中立的・適応的な遺伝的変異を詳細に把握することにより、保全単位を設定する必要がある。そこで本研究では、長野県とその周辺に分布するブナ天然林集団を研究材料として、以下の4つの調査を行うことにより得られたデータ及び既存の植生データを考慮し、長野県におけるブナの保全単位の設定を試みた。

まず、中立な遺伝的変異である葉緑体 DNA 多型を遺伝マーカーとしてブナ天然林集団の地理的変異を調査した(第2章)。その際、ブナ人工林集団も調査し、植栽個体の由来についても調査した。調査は、長野県内の天然林30集団と人工林20集団を対象として、葉緑体 DNA の2領域(trnL-trnF と trnK)において6つの一塩基多型と4つの挿入欠失を調べて、各個体のハプロタイプを決定した。

その結果、天然林集団ではB, D, E, Fの4種類のハプロタイプが検出され、それらの地理的分布は明瞭な構造を示すことがわかった。一方、人工林集団では、北海道や本州日本海側の多雪地域に分布するAとBの2種類のハプロタイプが検出された。人工林20集団のうち太平洋側の寡雪地域に位置する15集団はA, Bを保有する苗木によって造られており、天然林集団の系統と異なる多雪地域由来の苗木が植栽されていたことがわかった。

次に、中立な遺伝的変異である核マイクロサテライト変異を遺伝マーカーとして、本州中央部のブナ天然林25集団の地理的変異を調査した(第3章)。その結果、調査したブナ天然林集団では、日本海側と太平洋側の集団間に明瞭な遺伝的分化は認められず、日本海側と太平洋側の間で緯度に沿った連続的な変異が生じていることがわかった。日本海側の集団から太平洋側の集団へ花粉を介した遺伝子流動による遺伝子浸透が生じたことにより、内陸部の集団では核ゲノムの遺伝的組成が日本海側と太平洋側の集団の間になったと考えられる。

さらに、適応的な表現形質と考えられる葉面積について、ブナ天然林集団の地理的変異を調査した(第4章)。調査は、本州中央部のブナ天然林38集団で葉面積を測定するとともに、明らかとなった葉面積の地理的変異に関連する気象条件を調べた。その結果、本州中央部のブナ天然林集団の葉面積は、日本海側と太平洋側の間で緯度に沿った連続的な変異となっていることがわかった。葉面積の地理的変異に影響を与えている気象要因の解析では、温量指数との関係が高かったが、夏の降水量との関係は認められなかった。

ブナ苗木の移植試験を行い、稚樹(苗木)の生残と成長に及ぼす影響を調査した(第5章)。調査は本州中央部において、日本海側の豪雪地域と太平洋側の寡雪地域で採取された種子を用いて苗畑で苗木を育成し、両方の環境下へ植栽した。その結果、日本海側産の苗木を太平洋側へ植栽すると先枯れによる樹高成長の停滞が起き、太平洋側産の苗木よりも樹高成長が悪かった。一方、太平洋側産の苗木を日本海側の豪雪地域へ植栽すると、雪害による主軸部の折損や曲がりが発生し、日本

海側産の苗木よりも枯死率が高く、樹高成長が悪かった。しかし、日本海側産の苗木を日本海側に植栽した場合や、太平洋側産の苗木を太平洋側へ植栽した場合には、重大な成長影響は観察されず、健全な成長を示した。これらのことから、ブナは原産地と同様の環境下へ植栽すれば健全に生育する可能性が高いが、原産地と異なる環境へ植栽すると、冬期に成長が阻害される可能性があることが示唆された。

最後に、上記の研究で得られたデータをもとに、既存の植生データも考慮して、長野県におけるブナの保全単位を検討した。ブナの保全単位の設定に当たっては、針葉樹で導入されている種苗配布区域と同様に明瞭な境界を定めることが、保全管理の実効性が高いと考えた。中立マーカーによる遺伝的差異や葉面積の地理的変異、移植試験により明らかとなった適応的な差異、さらにはブナ林植生の差異に基づき、行政の最小単位である市町村よりも大きい広域行政圏をできるだけ分断されないように配慮し、長野県を南北に二分する保全単位を設定した。

謝辞

本研究を遂行するに当たり、実験から研究のとりまとめに至るまで、多大なるご支援とご指導を賜りました名古屋大学大学院生命農学研究科の戸丸信弘教授には心より感謝申し上げます。さらに、名古屋大学大学院生命農学研究科の肘井直樹教授、中川弥智子准教授、森林総合研究所森林遺伝研究領域の津村義彦領域長の各先生からはご専門の立場から有益な助言をいただきました。

森林総合研究所林木育種センターの高橋誠氏、武津英太郎氏の両氏には、研究データの解析を始め研究の遂行に当たり多くの適切なご指導をいただきました。また、森林総合研究所の田中信行氏、八木橋勉氏、右田千春氏、山梨県森林総合研究所の西川浩己氏、新潟県森林研究所の塚原雅美氏には、現地調査への協力を含め、適切なご助言とご指導をいただきました。森林総合研究所の大住克博氏、吉丸博志氏、杉村乾氏、金指あや子氏、熊本大学の藤井紀行氏、信州大学名誉教授の伊藤精晤氏と土田勝義氏には、日頃の研究活動の中で温かいご支援をいただくとともに数々のご助言をい

ただきました。

調査地の設定や現地調査につきましては、長野県林務部の三石和久氏、吉川達也氏、市原満氏、武田芳夫氏を始め、長野県内の各地方事務所職員の皆様と、百瀬苗圃の百瀬直明氏に多大なるご支援とご協力を賜りました。

実験の指導に関しては、名古屋大学大学院生命農学研究科森林生態生理学研究分野に在籍しておられた平岡宏一氏、成瀬友季氏、鈴木節子氏、中西敦史氏、玉木一郎氏、竹内智絵氏をはじめとした研究室の皆様にも多大なる協力を賜るとともに、山本進一氏、小川一治氏、松下通也氏、安部晃生氏をはじめとした皆様から適切な助言を賜りました。

長野県林業総合センター育林部長の近藤道治氏をはじめ、育林部の岡田充弘氏、戸田堅一郎氏、大矢信次郎氏、木材部の山内仁人氏、元林業総合センター所長の片倉正行氏、橋爪丈夫氏には日頃より多大なご指導、ご支援をいただきました。さらに、折橋睦子氏、市川万有美氏、鎌倉志津子氏には、データ整理のお手伝いをいただきました。上記の皆様には厚く御礼を申し上げます。

最後になりましたが、様々な形で私の研究に対してご指導、ご協力を賜った全ての皆様には心から感謝申し上げます。

引用文献

- Asuka, Y., Tani, N., Tsumura, Y., Tomaru, N. (2004) Development and characterization of microsatellite markers for *Fagus crenata* Blume. *Mol Ecol Notes*. 4:101-103.
- Beaulieu, J., Perron, M., Bousquet, J. (2004) Multivariate patterns of adaptive genetic variation and seed source transfer in *Picea mariana*. *Can J For Res*. 34:531-545.
- Bekessy, S. A., Ennos, R. A., Burgmann, M. A., Newton, A. C., Ades, P. K. (2003) Neutral DNA markers fail to detect genetic divergence in an ecologically important trait. *Biol Conserv*. 110: 267-275.
- Broadhurst, L. M., Lowe, A., Coates, D. J., Cunningham, S. A., McDonald, M., Veski, P. A., Yates, C. (2008) Seed supply for broadscale

- restoration : maximizing evolutionary potential. *Evol. Appl.* 1:587-597.
- Cambell, R.K. (1991) Soils, seed-zone maps, and physiography : guidelines for seed transfer of Douglas-fir in Southwestern Oregon. *For Sci.* 37: 973-986.
- Cavers, S., Navarro, C., Lowe, A.J. (2004) Targeting genetic resource conservation in widespread species: a case study of *Cedrela odorata* L.. *For Ecol Manage.* 197:285-294.
- Cochard, H., Lemoine, D., Améglo, T., Granier, A. (2001) Mechanisms of xylem recovery from winter embolism in *Fagus sylvatica*, *Tree Physiology.* 21:27-33.
- Crandall, K.A., Bininda-Emonds, O.R.P., Mace, G.M., Wayne, R.K. (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends Ecol Evol.* 15:290-295.
- Dumolin, S., Demesure, B, Petit R.J. (1995) Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor Appl Genet.* 91:1253-1256.
- El Mousadik, A., Petit. R.J. (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. *Theor Appl Genet* 92:832-839.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611-2620.
- Franke, R. (1982) Smooth interpolation of scattered data by local thin plate splines. *Comp. and Maths. with Appls.* 8:273-281.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. (2002) *Introduction to Conservation Genetics.* Cambridge University Press, Cambridge.
- Fujii, N., Tomaru, N., Okumura, K., Koike, T., Mikami, T., Ueda, K. (2002) Chloroplast DNA phylogeography of *Fagus crenata* (Fagaceae). *Plant Syst Evol* 23:21-33.
- 藤田昇 (1987) 日本海型のブナ林と太平洋型のブナ林の構造と組成. *種生物学研究* 10 : 1-13.
- Fukatsu, E., Isoda, K., Hirao, T., Takahashi, M., Watanabe, A. (2005) Development and characterization of simple sequence repeat DNA markers for *Zelkova serrata*, *Mol Eco Notes* 5:378-380.
- 古越隆信 (1975) 受粉様式の異なるスギ集団の遺伝的比較-採種園における交配実験の記録および附属資料集-, 関東林木育種場年報 12 : 239-500.
- Goudet, J. (2002) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3.2) . <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- 萩原信介 (1977) ブナに見られる葉面積のクラインについて. *種生物学研究* 1 : 39-51.
- 濱谷稔夫 (2008) 樹木学. 地球社. 425pp.
- Hanaoka, S., Yuzuhara, J., Aska, Y., Tomaru, N., Tsumura, Y., Kakubari, Y., Mukai, Y. (2007) Pollen-mediated gene flow in a small, fragmented natural population of *Fagus crenata*. *Can J Bot.* 85:404-413.
- 半田孝俊・古越隆信 (1980) スギ採種園の花粉動態に関する研究 (IV) -花粉源を高くしたことによる有効飛散距離の変化-. 関東林木育種場年報 15 : 165-173.
- 原山尚徳・矢崎健一・岡田充弘・石田厚 (2011) カツラマルカイガラムシが寄生したブナ苗木の水分通道. 関東森林研究 62 : 151-154.
- Hardy, O.J., Vekemans, X. (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol Ecol Notes* 2:618-620.
- 長谷川幹夫・相浦英春 (2009) 豪雪地のブナ人工林における若齢期の霜害と群落構造の関係. 富山森研研報 1 : 10-15.
- 橋詰隼人 (1987) 自然林におけるブナ科植物の生殖器官の生産と散布. *広葉樹研究* 4 : 271-290.
- 橋詰隼人・李廷鎬・山本福壽 (1996) ブナの開

- 芽期の産地および家系による差異. 日林誌 78:363-368
- Hauth, L. (1909) Die Wirkung des Spärfrostes in jungen Buchenwäldern, Forstwiss Cent. 31:307-322.
- 林一六 (1967) 菅平地方における植物遷移の研究 (1). 東京教育大学理学部付属菅平高原生物実験研究所研究報告 1:1-18.
- 林弥栄 (1960) 日本産針葉樹の分類と分布. 農林出版. 東京. 202pp.
- 林弥栄 (1969) ブナ. (有用樹木図説 (林木編). 誠文堂新光社. 472pp.) :196-197.
- Hedrick, P. W. (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* 59:1633-1638.
- Hewitt, G. M. (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405: 907-913.
- Hiraoka, K., Tomaru, N. (2009) Genetic divergence in nuclear genomes between populations of *Fagus crenata* along the Japan Sea and Pacific sides of Japan. *J Plant Res.* 122: 269-282
- 日浦勉 (1996) ブナの地理的変異とブナ林の種多様性の維持機構. 日生態会誌 46:175-178.
- Hiura, T., Koyama, H., Igarashi, T. (1996) Negative trend between seed size and adult leaf size throughout the geographical range of *Fagus crenata*. *Ecoscience.* 3: 226-228.
- Homma, K. (1997) Effects of snow pressure on growth form and life history of tree species in Japanese beech forest. *Journal of Vegetation Science.* 8:781-788.
- Honjo, M., Ueno, S., Tsumura, Y., Handa, T., Washitani, I., Ohsawa, R. (2008) Tracing the origins of stocks of the endangered species *Primula sieboldii* using nuclear microsatellites and chloroplast DNA. *Conserv Genet.* 9:1139-1147.
- Horikawa, Y. (1972) 日本植物分布図譜 Atlas of the Japanese flora, an introduction to plant sociology of East Asia. 学習研究社. 500pp.
- Hufford, K. M., Mazer, S. J. (2003) Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. *Trends Ecol Evol.* 18:147-155
- 福嶋司・高砂裕之・松井哲哉・西尾孝佳・喜屋武豊・常富豊 (1995) 日本のブナ林群落の植物社会学的新体系. 日生態会誌 45:79-98.
- 福嶋司・岩瀬徹 (2005) 図説 日本の植生. 朝倉書店. 154pp.
- 茨城県林業技術センター (2005) 茨城県内での広葉樹の生産状況. 茨城県林技セ資料 29: 1-48.
- 井田秀行・川上美保子 (2002) 菅平高原大洞地区に残存するブナ孤立林の森林構造. 長野県植物研究会誌 35: 16-19.
- 飯山市誌編纂専門委員会 (1991) 飯山市誌 自然環境編. 飯山市. 741pp.
- 今井三千穂・飛岡完治 (2000) 植栽環境の異なるブナの生長と生長阻害要因について. 中部森林研究 48:35-38.
- Isoda, K., Watanabe, A. (2006) Isolation and characterization of microsatellite loci from *Larix kaempferi*. *Mol Ecol Notes.* 6:664-666.
- Johnson, L. A., Soltis, D. E. (1994) matK DNA Sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. str. *Syst Bot.* 19:143-156.
- 紙谷智彦 (1993) 豪雪ブナ林地帯における薪炭林再生過程に関する生態学的研究. 新潟大農紀要 30: 1-108.
- 櫻村利道 (1978) ブナ, ミズナラ, およびコナラの春先における耐凍性の消失経過について. 吉岡邦二博士追悼植物生態論集:450-465.
- 片井秀幸・高橋誠・平岡宏一・山田晋也・山本茂弘・加藤公彦・袴田哲司・戸丸信弘 (2011) 葉緑体 DNA と核マイクロサテライト変異にもとづく静岡県内のブナ集団の遺伝的系統の推定. 日林誌 93:73-38.
- 片倉正行 (1980) 外来樹種導入試験. 昭和 54 年度長野県林指業報:7-8.
- 片倉正行 (1981) 外来樹種導入試験. 昭和 55 年度長野県林指業報:35-36.
- 片倉正行 (1987) 長野県のコナラ・クヌギ林の生長と心・辺材及び樹皮厚. 長野県林総セ研報

- 3:7-12.
- 片倉正行・奥村俊介 (1989-1) コナラ二次林の萌芽更新と成木林肥培. 長野県林総セ研報 5:1-13.
- 片倉正行・奥村俊介 (1989-2) ケヤキ人工林の成長, 長野県林総セ研報 5:14-22.
- 川上美保子 (1998) 長野県大岡村のブナ群落. 長野県植物研究会誌 31:7-9.
- Kikuzawa K. (1983) Leaf survival of woody plants in deciduous broad-leaved forests I Tall trees. Can. J. Bot. 61:2132-2139.
- 気象庁 (2002) メッシュ気候値 2000. 気象庁 CD-ROM.
- Kitamura, K., Kobayashi, M., Kodani J., Yada, Y. (2008) Genetic diversity of small isolated remnant beech (*Fagus crenata*) populations in the Noto Peninsula. Ann. Report Interdiscipl. Res. Inst. Environ. Sci. 27:23-33.
- Kitaoka, S., Koike, T. (2005) Seasonal and yearly variations in light use and nitrogen use by seedlings of four deciduous broad-leaved tree species invading larch plantations. Tree Physiology 25:467-475.
- 吉良竜夫 (1948) 温量指数による垂直的な気候帯のわかちかたについて. 寒地農学 2:143-173.
- Kobashi, S., Fujii, N., Nojima, A., Hori, N. (2006) Distribution of chloroplast DNA haplotypes in the contact zone of *Fagus crenata* in southwest of Kanto District Japan. J Plant Res. 119:265-269.
- Koike, T., Kato, S., Shimamoto, Y., Kitamura, K., Kawano, S., Ueda, K., Mikami, T. (1998) Mitochondrial DNA variation follows a geographic pattern in Japanese beech species. Botanica Acta. 11:87-91.
- 小池孝良・丸山温 (1998) 個葉からみたブナ背腹性の生理的側面. 植物地理・分類研究 46:23-38.
- 小池孝良 (2008) ブナの環境応答特性の地域変異-光合成機能と葉の形態・構造-. (寺澤和彦・小山浩正編著. ブナ林再生の生態学. 文一総合出版. 310pp.) 213-233.
- Kojima, H., Mariko, S., Nakamura, T., Hayashi, I. (2003) Bud burst process and late-frost experiments on *Fagus crenata* and *Quercus mongolica* ssp. *crispula*, Vegetation Science 20:55-64.
- 小山泰弘・岡田充弘・林博道 (2001) コウモリガの被害を受けたブナの成長. 中部森林研究 49:3-4.
- 小山泰弘・岡田充弘・古川仁 (2002) ブナを主体とした広葉樹人工林の初期管理技術の開発—冷温帯地域における広葉樹林施業技術の確立—. 長野県林総セ研報 16:1-22.
- 小山泰弘・岡田充弘 (2004) 長野県栄村のブナ林におけるクワカミキリの被害実態. 信州大学志賀自然教育研究施設研究業績 41:1-5.
- 小山泰弘 (2005) 長野県における広葉樹苗木の生産流通実態. 林木の育種特別号:17-19.
- 小山泰弘・岡田充弘 (2006) ブナを主体とする広葉樹林の造成管理技術の開発. 長野県林総セ研報 20:1-20.
- 小山泰弘・岡田充弘・山内仁人 (2010) ニホンジカの食害による森林被害の実態と防除技術の確立. 長野県林総セ研報 24:1-24.
- Kremar, A., Kleinschmit, j., Cottrell, J., Cundall, E.P., Deans, J.D., Ducousso, A., König, A.O., Lowe, A.J., Munro, R.C., Petit, R.J., Stephan, B.R. (2002) Is there a correlation between chloroplast and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oak?. For Ecol Manage. 156:75-87.
- 黒田吉雄・内田煌二・佐藤美穂 (2001) ブナ・ミズナラの開芽・開葉に与える晩霜の影響. 森林立地 43:75-82.
- 櫛田達矢 (2000) 樹木の休眠に関する研究. 三重大学生物資源学部演習林報告 24:1-105.
- 近藤啓子 (2008) 秋田県における海拔ゼロメートル地のブナ林でのクワカミキリ被害. 樹木医学研究 12 (1) :20-22.
- Langella, O. (2007) Populations 1.2.30: Population genetics software individuals or

- populations distances, phylogenetic trees.
<http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>
- Lefèvre, F. (2004) Human impacts on forest genetic resources in the temperate zone : an updated review. For Ecol Manage. 197:257-271.
- Lemoine, D., Granier, A., Cochard, H. (1999) Mechanism of freeze-induced embolism in *Fagus sylvatica* L. Trees. 13:206-210.
- 前田雅量・矢野進治・上山泰代・榎谷金治 (1992) 兵庫県におけるスギ在来品種の生育 (I) - 南但地方 31 年生品種試験地の生育状況 - . 兵庫県林試研報 38:54-64.
- 前田禎三 (1988) ブナの更新特性と天然更新技術に関する研究. 宇都宮大学農学部学術報告特輯 46:1-79.
- Maruta, E., Kamitani, T., Okabe, M., Ide, Y. (1997) Desiccation-tolerance of *Fagus crenata* Blume seeds from localities of different snowfall regime in central Japan. J For Res. 2:45-50.
- 丸山幸平 (1978) ブナ天然林 - とくに低木層および林床 - を構成する主要木本植物の伸長パターンと生物季節について. 新潟大演習林報告 11:1-30.
- 丸山幸平・佐藤智子 (1990) ブナ林の生態学的研究 (38) - ぬくみ平の夏緑林構成樹種の年生活様式について (予報) -. 新潟大演習林報告 23:49-84.
- Mathieu, D. (1996) Les consequences des gels Tardifs de mai 1995 sur les peuplements forestiers. Les cahiers du DSF. 1:22-23.
- 松田裕之 (2002) 野生生物を救う科学的思考とは何か? (種生物学会編. 保全と復元の生態学: 野生植物を救う科学的思考. 文一総合出版. 260pp.) 19-36.
- 松田行雄・土田勝義 (1984) 美ヶ原焼山のブナ林の群落学的研究. 長野県植物研究会誌 17:1-7.
- Matsui T., Yagihashi T., Nakaya T., Taoda H., Yoshinaga S., Daimaru H., Tanaka N. (2004) Probability distributions, vulnerability and sensitivity in *Fagus crenata* forests following predicted climate change in Japan. Journal of vegetation science. 15:605-614.
- McKay, J.K., Latta, R.G. (2002) Adaptive population divergence markers, QTL and traits. Trends Ecol Evol. 17:285-291.
- McKay, J.K., Christian, C.E., Harrison, S., Rice, K.J. (2005) "How local is local?" - A review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. Restor Ecol. 13: 432-440.
- Michalakis, Y., Excoffier, L. (1996) A genetic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference for microsatellite loci. Genetics 142:1061-1064.
- Montalvo, A.M., Ellstrand, N.C. (2000) Transplantation of the subshrub *Lotus scoparius*: testing the home-site advantage hypothesis. Conserv Biol. 14:1034-1045.
- 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 Genomes. 1:174-183.
- Moritz, C. (1995) Uses of molecular phylogenies for conservation, Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences 349:113-118.
- Murray, M.G., Thompson, W.F. (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acid Res. 8:4321-4325.
- 長野県林務部 (2011a) 長野県民有林の概況 長野県. 170pp
- 長野県林務部 (2011b) 平成 21 年度長野県林業統計書. 長野県. 80pp
- 中静透 (2009) ブナ (日本樹木誌編集委員会編. 日本樹木誌 1. 日本林業調査会. 760pp.) 577-590.
- Nei, M. (1987) Molecular evolutionary

- genetics. Columbia University Press. New York.
- Nei, M., Tajima, F., Tatenno, Y. (1983) Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J Mol Evol.* 19:153-170.
- Newton, A.C., Allnutt, T.R., Gillies, A.C.M., Lowe, A.J., Ennos, R.A., (1999) Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. *Tree* 14:140-145.
- Ningre, F., Colin, F. (2007) Frost damage on terminal shoot as a risk factor or fork incidence on common beech (*Fagus sylvatica* L.). *Ann For Sci.* 64:79-86.
- 布川耕一 (2002) ブナ植栽地におけるコウモリガの被害実態を下刈りによる防除試験. 新潟県森林研報 44:1-6.
- 布川耕市・塚原雅美 (2005) 産地別ブナの開葉時期. 新潟県森研報 46:19-22.
- 布川耕一 (2006) 産地別ブナの成長の差異とクワカミキリ被害. 57 回日林関東支論:239-240.
- Oddou-Muratorio, S., Bontemps, A., Klein, K.E., Chybicki, I., Vendramin, G.G., Suyama, Y. (2010) Comparison of direct and indirect genetic methods for estimating seed and pollen dispersal in *Fagus sylvatica* and *Fagus crenata*. *For Ecol Manage.* 259:2151-2159.
- Ohkawa, T., Nagai Y., Masuda J., Kitamura K., Kawano S. (1998) Population biology of *Fagus crenata* Blume I. Demographic genetic differentiations of lowland and montane populations in Toyama, central Honshu, Japan. *Plant Species Biol.* 13:93-116.
- Ohsawa, T., Tsuda, Y., Saito, Y., Ide, Y. (2011) The genetic structure of *Quercus crispula* in northeastern Japan as revealed by nuclear simple sequence repeat loci. *J Plant Res.* 124: 645-654
- 岡田滋・永幡嘉之 (1996) 兵庫県北部においてブナ生立木を加害するカミキリムシについて. 日林関西支論 5:151-154.
- Okaura, T., Harada, K. (2002) Phylogeographical structure revealed by chloroplast DNA variation in Japanese beech (*Fagus crenata* Blume). *Heredity* 88:322-329.
- Okaura, T., Quang, N.D., Ubukata, M., Harada, K. (2007) Phylogeographic structure and late Quaternary population history of the Japanese oak *Quercus mongolica* var. *crispula* and related species revealed by chloroplast DNA variation. *Genes Genet Syst.* 82:465-477.
- Peik, K. (1976) Auswirkungen von Spätfrostschäden auf das Höhenwachstum junger Buchen verschiedener Herkunft. *Allg Forst Jagdztg.* 147:142-146.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155:945-959.
- Riddle, B.R., Hafner, D.J. (1999) Species as units of analysis in ecology and biogeography: time to take the blinders off. *Global Ecol Biogeogr.* 8: 433-441.
- 林野庁 (2001) 冷温帯地域における広葉樹林施業技術の確立. 林野庁新技術地域実用化研究成果. 林野庁. 210pp.
- 林野庁 (2007) 平成 18 年度森林・林業白書. 日本林業協会. 294pp.
- 林野庁 (2010) 林業種苗の概要 平成 22 年 11 月. 林野庁. 18pp.
- 林野庁 (2011) 森林・林業統計要覧 2011. 日本森林林業振興会. 256pp
- Ryder, O.A. (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies, *Trends Ecol Evol.* 1:9-10.
- Saeki, I., Murakami, N. (2009) Chloroplast DNA phylogeography of the endangered Japanese red maple (*Acer pycnanthum*): the spatial configuration of wetlands shapes genetic diversity. *Diversity Distrib.* 15:917-927.
- 斎藤真己・長谷川幹夫・中島春樹 (2009) 富山県におけるケヤマハンノキ天然林の遺伝的分化に基づく種苗配布区域の検討と地域性種苗

- の生産体制の安定化. 日林誌 91:173-177.
- Saitou, N., Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 4:406-425
- 酒井昭 (1982) 植物の耐凍性と寒冷適応. 学会出版センター. 469pp.
- 佐藤敬二 (1950) 林木育種 (下巻). 朝倉書店. 483pp.
- Schuelke, M. (2000) An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nat Biotechnol.* 18:233-234.
- 関口武 (1959) 日本の気候区分. 東京教育大学地理学研究報告 3:65-78.
- 柴田信男 (1950) スギ林の造成と初期の撫育 (佐藤彌太郎監修. スギの研究. 養賢堂. 722pp.) 187-256.
- 森林総合研究所 (2011) 広葉樹の種苗の移動に関する遺伝的ガイドライン. 森林総合研究所. 20pp.
- 塩谷勉 (1973) 林政学. 地球社. 370pp.
- 自然保護協会 (1985) ブナ・シンポジウム資料集. (財) 日本自然保護協会. 128pp.
- Slatkin, M. (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139:457-462
- Tabelet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol Biol.* 17:1105-1109.
- Takahashi, M., Tsumura, Y., Nakamura, T., Uchida, K., Ohba, K. (1994) Allozyme variation of *Fagus crenata* in northeastern Japan. *Can J For Res.* 24:1071-1074.
- 高橋誠・島谷健一郎 (2003) 遺伝マーカーを用いた樹木集団内遺伝構造の空間解析手法. 統計数理 51:37-58.
- 武井富喜雄 (1974) 外来樹種導入試験. 昭和48年度長野県林指研報:54-57.
- 武井富喜雄 (1976) 外来樹種導入試験. 昭和50年度長野県林指業報:8-10.
- Tanaka, K., Tsumura, Y., Nakamura, T. (1999) Development and polymorphism of microsatellite markers for *Fagus crenata* and the closely related species, *F. japonica*. *Theor Appl Genet.* 99:11-15.
- Tanaka, N. Taoda, H. (1996) Expansion of elevational distribution of beech (*Fagus crenata* Blume) along the climatic gradient from the Pacific Ocean to the Sea of Japan in Honshu, Japan. In: *Climate Change and Plants in East Asia* (eds. K. Omasa, H. Taoda, M. Uchijima & M. Yoshino), 175-184. Springer-Verlag. Tokyo.
- Thorntwaite, C. W. (1948) An approach toward a rational classification of climate. *Geographical Review.* 38:55-94.
- 所三男 (1980) 近世林業史の研究. 吉川弘文館. 858pp.
- Tomaru, N., Mitsutsuji, T., Takahashi, M., Tsumura, Y., Uchida, K., Ohba, K. (1997) Genetic diversity in *Fagus crenata* (Japanese beech) influence of the distributional shift during the late-Quaternary. *Heredity.* 78:241-251.
- Tomaru, N., Takahashi, M., Tsumura, Y., Takahashi, M., Ohba, K. (1998) Intraspecific variation and phylogeographic patterns of *Fagus crenata* (Fagaceae) mitochondrial DNA. *Am J Bot* 85:629-636.
- 戸丸信弘 (2008) ブナ集団の遺伝的変異と遺伝的構造—地史的分布変遷の影響— (寺澤和彦・小山浩正編著. ブナ林再生の生態学. 文一総合出版. 310pp.) 187-211.
- Totman C. (熊崎実訳) (1998) 日本人はどのように森をつくってきたのか. 築地書館. 200pp.
- 土田勝義編 (1987) 長野県の植生. 信濃毎日新聞社. 長野. 276pp.
- Tsuda, Y., Ide, Y. (2005) Wide-range analysis of genetic structure of *Betula maximowicziana*, a long-lived pioneer tree species and noble hardwood in the cool temperate zone of Japan. *Mol Ecol.*

14:3929-3941.

Tsuda, Y., Kimura, M., Kato, S., Katsuki, T., Mukai, Y., Tsumura, Y. (2009) Genetic structure of *Cerasus jamasakura*, a Japanese flowering cherry, revealed by nuclear SSRs: implications for conservation. *J Plant Res.* 122:367-375.

Tsuda, Y., Ide, Y. (2010) Chloroplast DNA phylogeography of *Betula maximowicziana*, a long-lived pioneer tree species and noble hardwood in Japan. *J Plant Res.* 123:343-353.

津田吉晃 (2011) 森林樹木の遺伝的多様性保全と生態リスク. *日生態会誌* 60:349-359.

塚田松雄 (1982) Late Quaternary development of *Fagus* forest in the Japanese archipelago. *日生態会誌* 32:113-118.

Tsukada, M. (1982) Late Quaternary shift of *Fagus* distribution. *Bot Mag Tokyo.* 95:203-217.

津村義彦・岩田洋佳 (2003) 遺伝的変異性を考慮した緑化とは. *日緑工誌* 28:470-475.

津村義彦・岩田洋佳 (2006) 遺伝的データを用いた緑化のガイドラインとそれに基づく三宅島の緑化計画 (小林達明・倉本宣編. 生物多様性緑化ハンドブック. 地人書館. 340pp.) 77-89.

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.

Uemura, A., Ishida, A., Nakano, T., Terashima, I., Tanabe, H., Matsumoto, Y. (2000) Acclimation of leaf characteristics of *Fagus* species to previous-year and current-year solar irradiances. *Tree Physiology.* 20:945-951.

Undseth, O. (1929) Seed Selection a Fundamental of Silviculture. *Journal of*

Forestry 27:699-707.

渡辺隆一 (2000) 森の季節学. アリス館. 148pp.

渡邊定元 (1994) 樹木社会学. 東京大学出版. 450pp.

Weir, B. S., Cockerham, C. C. (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution.* 38:1358-1370.

山田耕司・中嶋敏祐・佐藤博雄 (2004) グラップルレーキを用いたブナ林の造成. 青森県農林総セ林試報告 平成15年度:70-73.

山本一清 (2003) LIA for Win 32 (LIA 32). Ver. 0.376 β 1. <http://www.Nagoya-u.ac.jp/~shinkan/LIA32/index.html>.

山野辺隆・細田浩司 (2002) 低地に植栽されたブナにおけるクワカミキリの高い生存率. *応動昆* 46 (4):256-258.

Ying, C. C., Yanchuk, A. D. (2006) The development of British Columbia's tree seed transfer guidelines: Purpose, concept, methodology, and implementation. *For Ecol Manage.* 227:1-13.

横内正・横内文人 (1986) 中部信州ブナ林の植生 (1) - 東筑摩郡北部 -. *長野県植物研究会誌* 19:7-9.

横内正・横内文人 (1988) 中部信州ブナ林の植生 (3) - 南安曇郡南部 -. *長野県植物研究会誌* 21:31-32.

米倉浩司・梶田忠 (2003-) 「BG Plants 和名-学名インデックス」 (YList). http://bean.bio.chiba-u.jp/bgplants/ylist_main.html

吉丸博志 (2004) 広葉樹の植林における遺伝子攪乱. *林業技術* 748:3-7.