

【解説】シリーズ

日本の森林樹木の地理的遺伝構造 (6)

ヒノキ (ヒノキ科ヒノキ属)

松本 麻子^{*1}

はじめに

ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa* (Sieb. et Zucc.) Endl.) は、ヒノキ科ヒノキ亜科ヒノキ属に属する常緑針葉樹であり、その分布は日本と台湾のみであるとされる。ヒノキ林の日本における森林面積は針葉樹ではスギに続いて広く、林野庁資料によると平成24年3月31日現在、全森林面積の約10%にあたる260万ヘクタールであるという(林野庁2012)。ヒノキは材として優れているため、有史以前から利用され、飛鳥時代以降は神社・仏閣やその他大きな建築物に使われてきた。16世紀後半には、すでに木曾や高知のヒノキ林は知られており、17世紀初頭には、大仏閣の建立やその後の幕府への強制的献納などのためしばしば大規模の伐採が繰り返されていた。そのため、天然林では原始林は存在しないと言っても過言ではなく、ほとんどが二次林である(佐藤1971)。江戸時代までは、木曾地方を中心とした飛騨山脈南部や紀伊半島南部山地、四国山脈、九州南部山地に多かったと記録されているが、明治以降は比較的大面積の天然林では分断化や個体数の減少が進んでしまった。さらに、天然更新は目立って進んでおらず、現存する天然林は、極めて貴重な遺伝資源となっている。

日本でのヒノキ天然林の現在の分布は、本州中部(福島県いわき市)から九州(鹿児島県屋久島)に及ぶ(林1960)。さらに四手井ら(1974)に従って細かく記述すると、日本海側での分布は稀で、石川県、岐阜県北部、長野県北部、栃木県北部、群馬県北部、福島県北部を結ぶライン以南ならび以西に限られ、著しく太平洋側に偏っている。寒冷地域に分布はみられず、岩石地の尾根の上や土壌の浅いところ、隆起準平原上のポドゾル化土壌など、悪条件である立地に生育している。

しかしながら、これは、やせ地や酸性土壌を好んで生育分布しているというよりは、好条件環境では生長が早い樹種との競争に負け、その結果悪条件に追い上げられたと考えられている。ヒノキは森林面積が最も広い針葉樹であるスギとある程度までは分布区域が重なっているが、太平洋側日本海側にも生育できるスギに対し、ヒノキはその適応範囲がかなり限られている。その要因の一つとして、耐雪性が低いことが考えられる。スギや同じヒノキ亜科のアスナロやクロベなどと比べると、ヒノキは積雪による被害を受けやすく、また、寒害や雪害が原因となって引き起こされると言われる漏脂病への感受性が極めて高いため、その分布域が限られたと考えられる。また、気候条件としては、ヒノキの分布に降水量が影響していることは確かであるが、年間降水量ではなく、その季節的な配付状態に支配されるようである。特に、生育期間(夏季)に雨量が多いことが分布条件として必要とみられている(河田1940)。

このように現在では貴重になってしまったヒノキ天然林の保全・管理は重要であることは理解できるが、特定の林分において様々な調査研究は行われてはいるものの、分布域を網羅した体系的に行われた研究はほとんどない。本稿では、これまでに行われた遺伝学的研究成果を紹介すると同時に、近年行われた分布域を網羅した遺伝解析による天然林の遺伝的多様性ならびに遺伝構造について解説する。

遺伝的多様性

ヒノキの遺伝的多様性を評価する手法として、1980年代から90年代にかけて主流だったアロザイマー

*E-mail: asakon@ffpri.affrc.go.jp

¹ まつもと あさこ 森林総合研究所

カーが用いられ、天然林および人工林集団で調査されてきた(清藤ら 1987; 井出・勝木 1992; Uchida et al. 1997)。さらに、天然分布域の南端と北端である鹿児島県屋久島と福島県いわき市の集団を含む複数集団についても、アロザイムマーカーによって遺伝的多様性の調査が行われている(Shiraishi et al. 1987)。しかしながら、これらの報告では解析した天然林集団が分布域を広く網羅しているとは言い難く、分析に用いたマーカー数も限られていた。一方、1990年代の後半になると、PCR (polymerase Chain Reaction) 反応を利用した DNA マーカーの開発が行われるようになり、ヒノキにおいては、核 DNA の共優性マーカーである CAPS (Cleaved amplified polymorphic sequence) マーカーが開発され (Matsumoto and Tsumura 2004)、51 遺伝子座を用いたヒノキ天然林 25 集団 (図-1) で遺伝的多様性が評価された (Tsumura et al. 2007)。また、ほぼ同時期に、遺伝的多様性解析の主流として CAPS マーカーと同様に核 DNA の共優性マーカーであるマイクロサテライトマーカーが使われ始めた。このマイクロサテライトと呼ばれる単純な塩基配列の繰り返しを含む領域は、突然変異率が高いため一般的に変異性が高く、集団の歴史の最近のイベント、例えば、遺伝的浮動の効果やボトルネックなどの証拠をより敏感に検出できるとされ、比較的最近の集団の歴史を知るのに役立つと考えられる。さらに言うならば、対立遺伝子数が他の DNA マーカーよりも多いため、集団固有の対立遺伝子や、出現頻度が低い対立遺伝子なども検出される可能性があり、集団の特徴をより詳細に評価できるかもしれない。ヒノキでのマイクロサテライトマーカーの開発は、Matsumoto et al. (2006) や Iwaizumi et al. (2011) が報告している。筆者らは、Matsumoto et al. (2006) が開発したマイクロサテライトマーカー 13 遺伝子座を利用して、CAPS マーカーによる解析と同じヒノキ天然林 25 集団について、各個体の遺伝子型データを得た (Matsumoto et al. 2010)。

ヒノキ天然林の遺伝的多様性は、ヘテロ接合度や対立遺伝子の豊富さ (アレリックリッチネス) からみるとたいへん高く維持されていたが、分布の北端である福島県いわきの集団や南端に近い宮崎県小川の集団はヘテロ接合度がわずかに他の集団よりも低くなっていた (図-2)。このように、遺伝的多様性が分布の中心となる集団よりも分布の端の集団で低下することは集団遺伝学的な理論としても提唱されている (Tajima 1990)。この傾向は、先に述べたヒノキの CAPS マーカーによる解析でも同様に検出されている。一方、マ

イクロサテライトマーカーと CAPS マーカーの解析結果を比較すると、異なる点もある。例えば、南端の天然林集団である屋久島では、CAPS マーカーではヘテロ接合度やアレリックリッチネスが 25 集団中で最も低く遺伝的多様性が低いと評価された。対してマイクロサテライトマーカーでは、ヘテロ接合度やアレリックリッチネスの値で評価される遺伝的多様性は低かったものの、希な対立遺伝子数や集団固有の対立遺伝子数は高いレベルにあり、この集団が遺伝的に独特であることが示された。この結果は、マイクロサテライト



図-1 ヒノキ天然林 25 集団の位置と地域。1: 東北、2 - 4: 関東、4 - 6: 甲信越、7 - 13: 中部、14 - 17: 近畿、18 - 22: 中国・四国、23 - 25: 九州。Matsumoto et al. (2010) を改変。

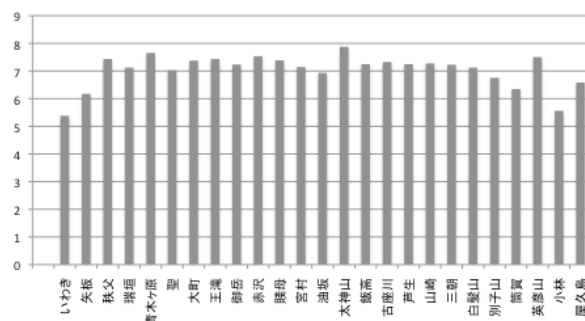


図-2 ヒノキ天然林 25 集団のアレリックリッチネスからみた遺伝的多様性。グラフ左が最も北端の集団: いわき、右が最も南端の集団: 屋久島。

マーカーの突然変異率が高いがゆえに検出されたものと考えられた。屋久島ではヒノキの個体密度はそれほど高くはないものの、依然として分布面積は広く、新たなマイクロサテライト変異が供給されるのに有効な集団サイズであったと推察される。また、分布面積が広く、個体数も多い中部地方などでは、遺伝的多様性も高い状態で保持されている集団が多いことが明らかになった。これらの地域では過去の氷期においてもある程度の有効な集団サイズと林分面積が維持されていたのではないだろうか。このように、ヒノキ天然林の現在の姿は、林分としては著しく分断化されてしまったものの、相対的に高い遺伝的多様性が依然として保持されていることが明らかになった。これは、天然林の分断化や個体数の減少が生じてから世代が経過しておらず、目に見えた遺伝的多様性の低下に至っていないためだと考えられる。しかしながら、他方では天然更新が十分成立していないこともあり、さらに個体数の減少が進むと、遺伝的多様性も影響をうける可能性が高い。

地理的遺伝構造

各集団の遺伝的多様性の程度がCAPSおよびマイクロサテライトマーカーによる解析で明らかになったが、実は、マイクロサテライトマーカーで検出されたヒノキ天然林全体が保有する遺伝変異のうち、集団間に属する変異の割合は18.9% (遺伝子分化係数 $G'_{ST} = 0.189$) にすぎない。残る変異のほとんどは集団内の変異である。このような高い集団内変異、低い集団間変異の傾向は風媒の他殖性樹種では一般的だとされている (Hamrick et al. 1991)。核DNAのマイクロサテライト領域は機能的な遺伝子とは直接関係していないことが多く、したがって自然選択に対しては中立であるとみなす事が出来る。それでも、対立遺伝子の頻度分布から中立性が疑われる領域もあり、その場合、特定領域の結果が強調された遺伝構造検出されることを避けるために、その領域を除外して解析を行う必要がある。ヒノキ天然林集団の遺伝的關係についても、自然選択に対して中立とみなされたマイクロサテライトマーカー12 遺伝子座の遺伝子型データのみを用いて解析を行っている。集団間の遺伝距離を用いた集団の系統樹を作成してみると、分岐の信頼性は低かった。さらに、SAMOVA 解析 (Dupanloup et al. 2002) を行い、集団のグループ分けから遺伝的な分化程度が

最大になるような集団組合せ (グループ構造) を推定したところ、いわきの1 集団とそれ以外の24 集団という2 グループに分けた時に分化が最大になった。この場合のいわき集団のように、1 グループ1 集団という構成になる場合は、SAMOVA の定義では「構造がない」とみなされる。これら2つの解析の結果を考慮すると、ヒノキ天然林の集団間には明確な遺伝構造はないと言ってよい。

しかしながら、近年、集団の遺伝解析の手法で一般的に使われるようになったベイズ法による解析を行ったところ、弱いながらも遺伝的な構造が検出された。ベイズ法を基本とするクラスター解析プログラム、STRUCTURE (Pritchard et al. 2002) を用いて解析すると、全国のヒノキ天然林はおおよそ4つのクラスター (遺伝要素) に分けることができる (図-3; 松本 2012)。また、各クラスターが共通祖先から分化した後に経験した遺伝的浮動の大きさは F_{ST} で示され、ヒノキ天然林の4つのクラスターの各々は、0.1494、0.0812、0.0174、0.0949であった。いわきの集団はほぼクラスター1で占められ、 F_{ST} の値が高かったことから、過去に強い遺伝的浮動の影響を受けたことが示唆される。次いで、屋久島の集団は F_{ST} の値が0.0949のクラスター4が占めており、遺伝的浮動の程度がいわきに次いで大きかった。残る集団については、クラスター2と3が主要なクラスターで、その割合に分布域の南北方向の勾配が見られた。本シリーズの1回目で紹介されたヒノキ科に属するスギの場合を見てみると、少ないマーカー数では見られなかった遺伝的分化・構造が、多数のマーカーで解析することによって顕著化したという。その場合、スギで用いられたのはSNP (single nucleotide polymorphism) 1026 遺伝子座で1000 遺伝子座を超えるマーカー数である。1つのSNP マーカーから得られる対立遺伝子はおおむね2つであるのに対し、マイクロサテライトはその数倍~十数倍の対立遺伝子数が期待できるため、SNPの1/10程度のマーカー数で同程度の解像度が得られることになるというが、それでも約100 遺伝子座のマイクロサテライトマーカーが必要である。ヒノキはスギと同様に有用で重要な造林樹種ではあるが、ゲノム研究は進展中であり、開発されたDNA マーカーもまだ少ない。今後、大量のマーカーが開発されて解析を行うことができれば、これまでは検出できなかった遺伝構造が検出できるようになるかもしれない。

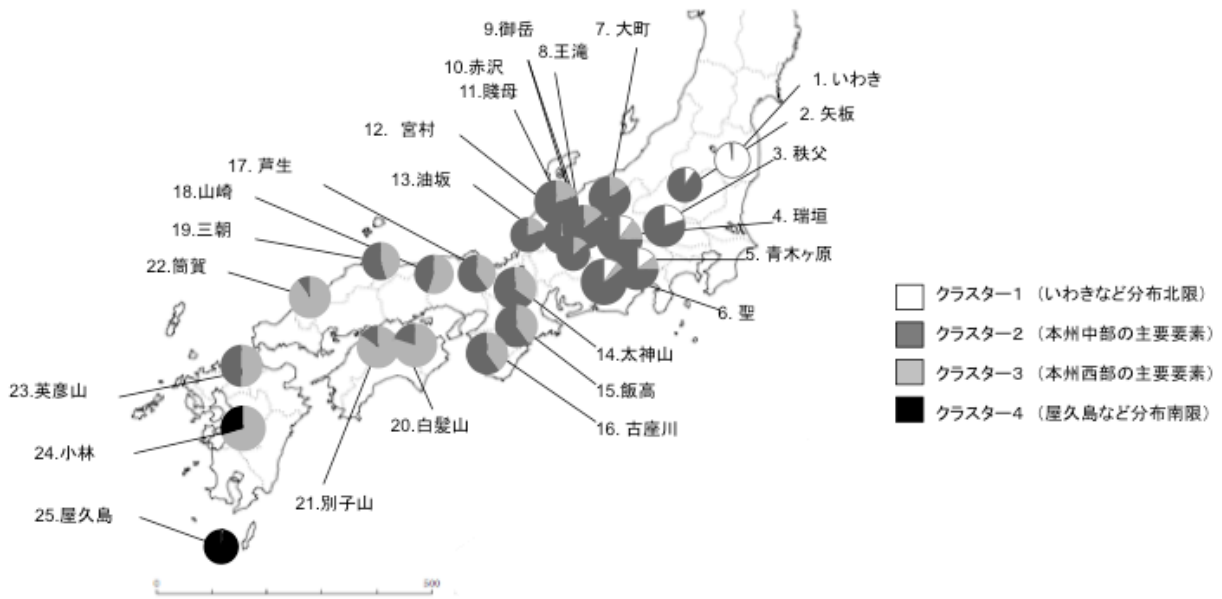


図-3 ベイズ法によるヒノキ天然林各集団の4つのクラスター（遺伝要素）の割合（松本 2012）。

おわりに

本稿で紹介したヒノキ天然林集団の遺伝的多様性と地理的遺伝構造は、全国 25 の天然林を対象として行った研究である。どのヒノキ林も現在では、貴重な天然遺伝子源として保護の対象となっている。分布域の北端のいわき集団は保護面積 10.6 ha の赤井岳国有林にある林木遺伝資源保存林で、林分内にある個体は 2004 年時点で 90 本、稚樹は 0 本という調査結果である。南端に近い九州・宮崎県的小林集団も同様に林木遺伝資源保存林で面積も 6.8 ha と小さい。また、南端の屋久島集団は、面積は 1143 ha と広いが成木密度はかなり低いという (Tsumura and Ohba 1993)。これらの天然林集団は、STRUCTURE 解析によりクラスターの構成が他集団と異なったことなどから、今後も個体数が減少しないように保全する必要があるだろう。野外観察の結果からも、多くの天然林では林床にほとんど実生がなく、天然更新が期待できないということが報告されている。また、木曾地方など比較的個体数が多く多様性が保持されている天然林についても同様で (Yamamoto 1993)、急速な多様性の低下は見られなくとも、各個体が遺伝子源として重要で、個体の枯死が多様な遺伝子資源を失うことに繋がる。よって、これらの集団についても、保全はやはり必要であろう。

ヒノキの起源およびその分布変遷については、遺伝学的研究からは迫り切れていない。今後、天然林集団の遺伝的評価は、自然選択に対して中立な遺伝マーカーによるものから、より集団の適応に関連する遺伝子解析へと移行するだろう。その成果は、先行研究や本研究で得られた過去の移住、遺伝的浮動などの集団の歴史を反映した中立な遺伝的変異で評価した遺伝構造を合わせ、日本におけるヒノキ天然林の成立過程を明らかにしてくれると期待する。さらに、遺伝構造を知ることが、現行の種苗配付区域や育種基本区の妥当性を評価するために重要な一つの要素となるかもしれない。日本全国の環境条件や天然分布の情報を基本に 1934年に有用針葉樹の種苗配付区域が、1980年には新たに制定された林木育種事業運営要領において、育種基本区が明示された。この2つはゾーニングには多少違いがあり、例えばヒノキよりも広域分布であるスギにおいては、たびたび種苗流通に問題が生じるなどしているようだ。しかしながら、天然林の遺伝構造の成果およびこれまでの次代検定林の詳細なデータ解析から、スギではゾーニングの妥当性が議論できる段階に至っている。長い年月で培われてきた天然林の遺伝構造をむやみに乱すことなく、かつ、十分な育種効果をあげるためにも、ヒノキ天然林の遺伝構造をより掘り下げることが、今後ますます重要になるとと思われる。

引用文献

- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11: 2571–2581
- Hamrick JL, Godt MJW, Mrawski DA, Loveless MD (1991) Correlations between species traits and allozyme diversity: Implications for conservation biology. In: Falk DA and Holsinger KE (eds) *Genetic and Conservation of Rare Plants*. Oxford University Press, New York, pp 75–86
- 林弥栄 (1960) 日本産針葉樹の分類と分布. 農林出版, 東京
- 井出雄二・勝木俊雄 (1992) 南アルプスに分布するヒノキ天然林のアイソザイム変異. 東京大学農学部演習林報告 88: 59–70
- Iwaizumi M G, Watanabe A and Isoda K (2011) Development of Highly Polymorphic Nuclear Microsatellite Markers for Hinoki (*Chamaecyparis obtusa*) *Silvae Genetica* 60: 62–65
- 河田杰 (1940) 四季を通ずる降水量の配布状況がスギヒノキの分布に及ぼす影響. 興林会, 東京
- Matsumoto A, Naoki T, Xin-Guo L, Tomaru N, Tsumura Y (2006) Development and polymorphisms of microsatellite markers for hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *Molecular Ecology Notes* 6: 310–312
- Matsumoto A, Tsumura Y (2004) Evaluation of cleaved amplified polymorphic sequences markers for *Chamaecyparis obtusa* based on expressed sequence tag information from *Cryptomeria japonica*. *Theoretical and Applied genetics* 110: 81–90
- Matsumoto A, Uchida K, Taguchi Y, Tani N, Tsumura Y (2010) Genetic diversity and structure of natural fragmented *Chamaecyparis obtusa* populations as revealed by microsatellite markers. *Journal of Plant Research* 123: 689–699
- 松本麻子 (2012) マイクロサテライトマーカーを利用したヒノキ天然林の遺伝的多様性の評価と遺伝構造. 林木の育種 245: 1–5
- Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P (2002) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959
- 林野庁 (2012) スギ・ヒノキ林に関するデータ. http://www.rinya.maff.go.jp/j/sin_riyou/kafun/data.html
- 佐藤敬二 (1971) 日本のヒノキ (上巻). 全国林業改良普及協会, 東京
- 清藤城宏・鈴木賢一・白石進 (1987) 富士山麓青木ヶ原におけるヒノキ天然林のアイソザイム変異. *日本林学会誌* 69: 359–361
- 四手井綱英・赤井龍男・斎藤秀樹・河原輝彦 (1974) ヒノキ林～その生態と天然更新. 地球社, 東京
- Shiraishi S, Kaminaka H, Ohyama N (1987) Genetic variation and differentiation recognized at two allozyme loci in hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *Journal of the Japanese Forest Society* 69: 88–93
- Tajima F (1990) Relationship between migration and DNA polymorphism in a local population. *Genetics* 126: 231–234
- Tsumura Y, Ohba K (1993) Genetic structure of geographical marginal populations of *Cryptomeria japonica*. *Canadian Journal of Forest Research* 23: 859–863
- Tsumura Y, Matsumoto A, Tani N, Ujino-Ihara T, Kado T, Iwata H, Uchida K (2007) Genetic diversity and the genetic structure of natural populations of *Chamaecyparis obtusa*: implications for management and conservation. *Heredity* 99: 161–172
- Uchida K, Tomaru N, Tomaru C, Yamamoto C, Ohba K (1997) Allozyme variation in natural populations of hinoki, *Chamaecyparis obtusa* (Sieb. et Zucc.) Endl. and its comparison with the plus-trees selected from artificial stands. *Breeding Science* 47: 7–14
- Yamamoto S (1993) Seedling establishment of *Chamaecyparis obtusa* in different microenvironments in the Akazawa Forest Reserve, central Japan. *Journal of the Japanese Forest Society* 75: 519–527