

東京大学秩父演習林のウダイカンバ集団のアロザイム変異

加戸恵理世*¹・沢田晴雄*²・五十嵐勇治*²・蒲谷 肇*³・井出雄二*¹

Allozyme Variations in *Betula maximowicziana* Regel. Populations at Chichibu Mountains

Erize KADO*¹, Haruo SAWADA*², Yuji IGARASHI*², Hajime KABAYA*³ and Yuji IDE*¹

I. はじめに

ウダイカンバ (*Betula maximowicziana* Regel.) は、優良材を生産するカバノキ科の落葉高木で、北海道・南千島 (国後島)・本州 (岐阜県以東) に分布し、肥沃な山地に生育するパイオニア樹種である。本種は、林内では光の量が足りないために生育できない (小山, 1998) が、山火事など大規模な攪乱が起きた裸地で一斉更新し大規模な純林を形成する (高田ら, 1989) ため、地域の森林生態系を維持する上で重要な樹種である。一般に、森林の健全な更新と生育のためには、母樹集団内でランダムな交配が行われ、森林全体の遺伝的多様性が保たれる必要があるが、カバノキ属樹木の遺伝的変異に関する研究は、わずかに *Betula pendula* Roth. のアロザイムに関する研究 (HATTEMER *et al.*, 1990; WANG, 1995) や HOWLAND ら (1995) による *B. pendula* および *Betula pubescens* Ehrh. の DNA の変異に関する研究がある程度で、ウダイカンバの集団の遺伝的多様性に着目した研究はない。

埼玉県秩父郡大滝村の東京大学秩父演習林 (以下、秩父演習林とする) の 28 林班では、イヌブナを主林木とする林分の皆伐跡地に、ウダイカンバが優占する林が形成されている。本研究では、このウダイカンバ集団の遺伝的変異の実態を明らかにするため、まず、ウダイカンバに適用できるアロザイムマーカーの開発を行った。次いで、取得したマーカーを用いて、この集団とその周辺林分に存在する成木集団の遺伝的変異を比較し、ウダイカンバの更新と遺伝的変異の関係について考察した。

II. 材料と方法

調査地

秩父演習林内に、2ヶ所の調査地を設定した (図-1, 表-1)。調査地 A は、標高 1200~1350 m, ツガ・ミズナラが優占し、ウダイカンバがわずかに混交する林分の一部で、面積は約 4 ha である。この林分のウダイカンバの樹齢は 50 年以上と推定される (東京大学農学部附属演習林, 1980)。調査地 B は、標高 1200~1250 m, 約 10 年生のウダイカンバのほぼ純林で、面積は約

*¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科生圏システム学専攻

*¹ Department of Ecosystem Studies, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

*² 東京大学大学院農学生命科学研究科附属科学の森教育研究センター秩父演習林

*² University Forest in Chichibu, The University of Tokyo

*³ 東京大学大学院農学生命科学研究科附属科学の森教育研究センター千葉演習林

*³ University Forest in Chiba, The University of Tokyo

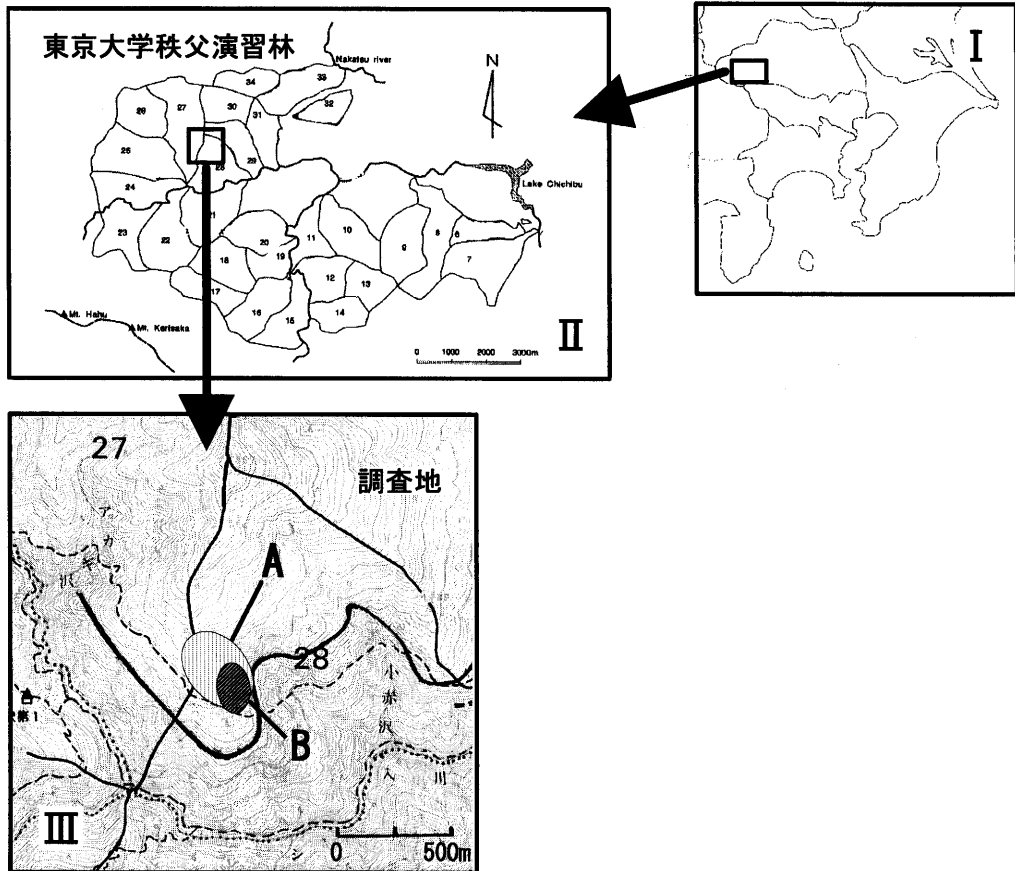


図-1 調査地
(図中の数字は林班を示す)

表-1 サンプルを採取した調査地の概要

調査地	A	B
林班	27, 28	28
標高 (m)	1200~1350	1200~1250
面積 (ha)	約 4	約 0.3
ウダイカンバの樹齢 (年)	50 以上	約 10
サンプル木の数	34	46

0.3 ha である。この林は、イヌブナが優占する天然林 (梶ら, 1992) が 1990 年 12 月に皆伐された跡地に、ウダイカンバが一斉更新したものである。調査地 A に生育するウダイカンバ集団 A (以下集団 A とする) は、調査地 B に生育するウダイカンバ集団 B (以下集団 B とする) の母樹集団の一部を構成していると考えられる。各調査地の林分の構成を把握するため、2000 年 8 月に、調査地 A では 50 m×50 m、調査地 B では 10 m×10 m の方形区をそれぞれ 2 か所ずつ設置し、そのなかに生育する樹高 1.3 m 以上の樹木すべてについて胸高直径を測定し樹種を記録し

た (表-2)。

試料の採取と電気泳動

2000年3月に、調査地Aのウダイカンバ34個体、調査地Bのウダイカンバ46個体から、遺伝分析に供するための冬芽を枝ごと採取した (表-1)。採取した枝は約5cmの長さに切り分け、チャック付きポリ袋に個体ごとにまとめて入れた。これらは、保冷剤を入れたクーラーボックスの中に入れて実験室に持ち帰り、実験に使用するまで -80°C のフリーザーで冷凍保存した。

アロザイムの分析は、ポリアクリルアミドゲル垂直電気泳動法を用い、サンプルの抽出、染色法等は、津村ら (1990) の方法に従った。

まず、分析に用いることのできる酵素種の選定、および、遺伝子座の探索を行った。13酵素種について泳動、染色を試み、安定的に明瞭なバンドが得られたLAP (ロイシニアミノペプチターゼ) とDIA (ジアホラーゼ) の2酵素種を用いて、泳動像から遺伝子座をおよび対立遺伝子を推定した。

遺伝分析

推定した対立遺伝子に基づき、各個体の遺伝子型を推定し、それぞれの調査地におけるウダイカンバ集団の対立遺伝子頻度を求めた。また、それぞれの集団内でハーディ・ワインベルグの平衡が成り立つかについて、 χ^2 検定を用いて評価した。同様に、両調査地のウダイカンバ集団が同じ遺伝子組成であると仮定した場合の、それぞれの遺伝子型頻度の期待値を求め、観察値との間に差があるかについて評価した。

III. 結 果

遺伝子座の探索

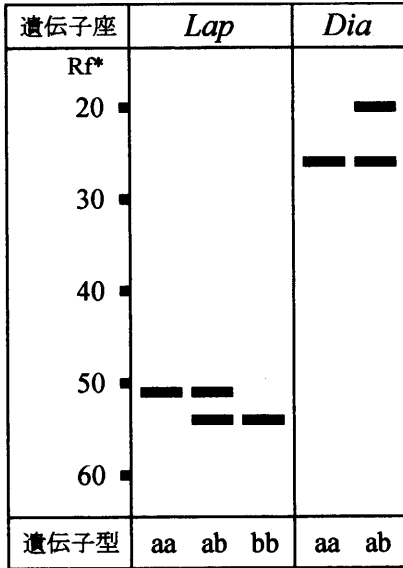
LAPとDIAについて泳動像から遺伝子座を推定した。なお、各バンドの識別には、原点 (分離ゲルの端) からマーカー色素までの距離を100とした相対移動距離 (Rf) を用いた。LAPでは、Rf51とRf54の2本のバンドが確認され、2つの対立遺伝子 (a, b) が推定された (図-2)。これらのバンドを支配する推定遺伝子座を *Lap* とした。DIAでは、Rf20とRf26の2本のバンドが確認され、2つの対立遺伝子 (a, b) が推定された (図-2)。これらのバンドを支配する推定遺伝子座を *Dia* とした。

表-2 植生調査を行った方形区の概要

方形区	A	B
地形	尾根および斜面	斜面
面積 (ha)*	0.5	0.02
密度 (本/ha)**	4856	11800
胸高断面積合計 (m^2/ha)**	49.6	5.9
ウダイカンバの密度 (本/ha)**	56	1750
ウダイカンバの胸高断面積合計 (m^2/ha)**	3.1	2.8

* 2つの方形区 (A: 50 m \times 50 m, B: 10 m \times 10 m) の合計

** 樹高1.3 m以上の全木について



*Rfは相対移動度を示す。

図-2 LapとDiaにおいて観察された泳動像

なお、Lapでは、調査地AおよびBから採取したサンプルのうち、それぞれ4個体においてバンドが検出されなかった。これらについては、何らかの理由により酵素が失活してしまったものとして、分析の対象から除外した。

集団の遺伝分析

表-3に、両集団におけるLapおよびDiaの遺伝子型の観察値および期待値、対立遺伝子頻度を示す。集団AのDiaと、集団BのLapとDia遺伝子座では、遺伝子型の期待値と観察値がよく一致し、これらの集団が任意交配を行っているという仮定に従うことがわかった。集団AのLapでは、ヘテロ接合体が見られず、ホモ接合体のみが観察された。そのため、期待値と観察値の間には1%水準で有意な差が認められた。

表-4に、LapとDiaそれぞれについて、集団Aと集団Bの遺伝子組成の観察値および期待値を示した。これについて、 χ^2 の検定を行った結果、集団Aと集団Bの遺伝子組成には有意な差は認められなかった。

IV. 考 察

LAPとDIAの2酵素種についてそれぞれ多型的なLap, Diaの各1推定遺伝子座を明らかにすることができた。これまで、カバノキ属樹木では、*B. pendula*において、GOT, LAPなど12酵素種についてアロザイムが明らかにされているが(Hattemer et al., 1990, Wang, 1995), ウダイカンパについてのアロザイムの検出は本研究がはじめてであり、本種の遺伝的変異を研究する上で有効なマーカーを取得できた。

表-3 集団Aと集団BにおけるLapおよびDiaの遺伝子型の観察値と期待値ならびに遺伝子頻度

集団	遺伝子座	A		B	
		Lap	Dia	Lap	Dia
遺伝子型の観察値	aa	29	28	37	39
	ab	0	6	5	7
	bb	1	0	0	0
遺伝子型の期待値	aa	28.0	28.3	37.1	39.3
	ab	1.9	5.5	4.7	6.5
	bb	0.0	0.3	0.1	0.3
χ^2		30.000	0.315	0.163	0.312
p		<0.01	0.65	0.75	0.65
対立遺伝子頻度	a	0.97	0.91	0.94	0.92
	b	0.03	0.09	0.06	0.08

表-4 集団 A と集団 B における遺伝子組成

遺伝子座集団	Lap			Dia			
	A	B	合計	A	B	合計	
観察値	a	58	79	137	62	85	147
	b	2	5	7	6	7	13
期待値	a	57.1	79.9	137	62.5	84.5	147
	b	2.9	4.1	7	5.5	7.5	13
合計		60	84	144	68	92	160
	χ^2			0.519			0.077
	p			0.50			0.85

集団 B では *Dia*, *Lap* とともにハーディ・ワインベルグの平衡が成り立ち、この集団が任意交配の結果生じた種子によるものであることが示唆された。一方、集団 A では、*Dia* ではハーディ・ワインベルグの平衡が成り立ったものの、*Lap* ではそれからの有意な偏りが認められた。遺伝子型の偏りは、自殖や集団の分割 (Nei, 1987) などによっても生じるが、ここでは、調査地 A におけるウダイカンバの密度が 56 本/ha (表-2) と低く、サンプル個体数も 34 と少ないことが、ヘテロ接合体の個体が観察されなかった原因のひとつとして考えられる。

集団 B の *Lap* および *Dia* の遺伝子組成は集団 A と変わらなかった。このことから、集団 B は、集団 A と同じ遺伝子プールを共有していると考えられる。ウダイカンバの種子は、100 m 以上離れた場所にも散布されることが報告されている (大給ら, 2001)。調査地 B で一斉更新したウダイカンバは、調査地 A を含む比較的広い区域の林分のウダイカンバ集団から、種子が風によって散布されたものと考えられる。また、ウダイカンバは風媒花であり、その花粉飛散範囲は広いと予想されるので、さらに、広範囲での交配を想定する必要がある。

本研究では、分析した 2 遺伝子座における遺伝子の挙動を通じて、ウダイカンバ集団の遺伝的変異の一端を明らかにすることができた。しかし、標本数、林分数、遺伝子座数ともに少なく、対象としたウダイカンバ集団の遺伝的多様性や集団間の遺伝的な関係について、明確な結論を得るに至らなかった。今後は、集団の遺伝的多様性の詳細な比較や集団間の遺伝子流動について、より多くのマーカー遺伝子を用いて明らかにしていく必要がある。

謝 辞

最後に、本研究にあたり、アロザイム分析についてご指導賜った森林総合研究所谷 尚樹氏、現地調査ならびに材料採取にご協力いただいた東京大学大学院農学生命科学研究科附属科学の森教育研究センター秩父演習林の職員各位、ならびに同生圏システム学専攻森圏管理学研究室の皆さんに厚くお礼申し上げます。

要 旨

埼玉県秩父郡大滝村の東京大学秩父演習林に生育する、林齢の異なる 2 つのウダイカンバ集団について、アロザイムマーカーの開発を行い、遺伝的変異の実態を明らかにした。調査地 A は、標高 1200~1350 m、ツガ・ミズナラが優占し、ウダイカンバがわずかに混交する林分で、面積

は約4 haである。この林分のウダイカンバの樹齢は50年以上と推定される。調査地Bは、標高1200~1250 m, 約10年生のウダイカンバのほぼ純林で、面積は約0.3 haである。この林は、イヌブナが優占する天然林が1990年12月に皆伐された跡地に、ウダイカンバが一斉更新したものである。これらの調査地内に生育するウダイカンバ集団を、それぞれ集団A, Bとした。2000年3月に、集団Aの34個体、集団Bの46個体から、遺伝分析に供するための冬芽を採取し、津村らの方法にしたがってアロザイム分析を行った。その結果、2つの推定遺伝子座 (*Lap* と *Dia*) が検出された。また、集団Aと集団Bの遺伝子組成には有意な差は認められなかった。したがって、両者は同じ遺伝子プールを共有していると推察された。

キーワード: ウダイカンバ, アロザイム, 遺伝的変異

引用文献

- Hattemer, H. H., Steiner, W. and Kownatzki, D. (1988) Genetic markers in birch. *Silvae Genetica* **38**: 45-50
- Howland, D. E., Oliver, R. P. and Davy, A. J. (1995) Morphological and molecular variation in natural populations of *Betula*. *New Phytol.* **130**: 117-124
- 梶 幹男・沢田晴雄・佐々木潔州・大村和也・大久保達弘 (1992) 秩父山地天然林の更新に関する基礎研究 I - イヌブナ (*Fagus japonica*) 天然林における堅果落下量と実生の消長一. *東大演報* **87**: 129-157
- 小山浩正 (1998) シラカンバの発芽戦略 (IV) 耐乾燥小種子有利仮説. *北方林業* **50**: 276-280
- Nei, M. (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. 512 pp. Columbia Univ. Press. New York
- 大給敬子・後藤 晋・井出雄二 (2001) ウダイカンバ孤立木の種子散布実態 第112回日林学術講: 20
- 高田功一・犬飼 浩・渡邊定元・山本博一 (1989) ウダイカンバ二次林優良木の評価法. *日林北支講* **37**: 241-243
- 東京大学農学部附属演習林 (1980) 秩父演習林第7次林況調査簿. 282 pp 東京大学農学部附属演習林
- 津村義彦・戸丸信弘・陶山佳久・モハマド=ナイム・大庭喜八郎 (1990) アイソザイム実験法. *筑波大学農林技術センター演習林報告* **6**: 63-95
- Wang, T. L. (1995) Allozyme variation in populations, full-sib families and selfed lines in *Betula pendula* Roth. *Theor. Appl. Genet.* **92**: 1052-1058

(2001年8月29日受付)

(2002年3月19日受理)

Summary

Genetic diversity of *Betula maximowicziana* populations in the Chichibu Mountains was examined using allozyme markers. The study was conducted at two different sites in the Tokyo University Forest in Chichibu referred to as Site A and B. Site A is a natural forest wherein *Tsuga sieboldii* and *Quercus mongolica* dominate. Site B is a ten-year-old forest of *B. maximowicziana*. The density of *B. maximowicziana* in site A and site B were 56/ha and 1750/ha respectively. Winter buds were used for allozyme analysis and two polymorphic putative loci (*Lap* and *Dia*) were detected. These two populations had a similar genetic composition at both loci. Therefore, the evidence indicates that they share a common gene pool.

Key words: *Betula maximowicziana*, Allozyme, Genetic Variations

Management Development of Tokyo Metropolitan's Water Resource Conservation Forest in the Postwar Periods

Keiko IZUMI

This paper is intended to clarify how the forest was managed and how forest management plans were developed in Tokyo Metropolitan's water resource conservation forest. This paper analyzes forest management in Tokyo Metropolitan's water resource conservation forest in the postwar period (from 1946 to 1996). Especially, this study brings focus to: 1) forest type observed in forest management plan as a goal of management, 2) how the forest was organized in those forest management plans, 3) how the management plans were implemented. This paper divides management development of the forest into three periods, as to forest management plan and its implementation.

Allozyme Variations in *Betula maximowicziana* Regel. Populations at Chichibu Mountains

Erize KADO, Haruo SAWADA, Yuji IGARASHI, Hajime KABAYA and Yuji IDE

Genetic diversity of *Betula maximowicziana* populations in the Chichibu Mountains was examined using allozyme markers. The study was conducted at two different sites in the Tokyo University Forest in Chichibu referred to as Site A and B. Site A is a natural forest wherein *Tsuga sieboldii* and *Quercus mongolica* dominate. Site B is a ten-year-old forest of *B. maximowicziana*. The density of *B. maximowicziana* in site A and site B were 56/ha and 1750/ha respectively. Winter buds were used for allozyme analysis and two polymorphic putative loci (*Lap* and *Dia*) were detected. These two populations had a similar genetic composition at both loci. Therefore, the evidence indicates that they share a common gene pool.