

ISSN 1345-6520

岐阜県森林科学研究所

# 研 究 報 告

第 33 号

Bulletin of the Gifu Prefectural  
Forest Science Research Institute

岐阜県森林科学研究所

岐阜県美濃市

2004 年 3 月



# 目 次

## 論 文

- 除伐後6年を経過した落葉広葉樹林における除伐の効果 ..... 1  
横井 秀一
- 17年生クリ人工林における冠雪害と  
林木の大きさ、形状、施業歴との関係 ..... 7  
横井 秀一
- 適潤性褐色森林土壌における壮齡アカマツ人工林の炭素貯留量 ..... 13  
渡邊 仁志  
茂木 靖和  
大洞 智宏  
中川 一
- 組織培養によるハナノキのクローン増殖 ..... 19  
茂木 靖和  
坂井 至通
- アロザイム分析による岐阜県内のホオノキ集団の遺伝的変異 ..... 23  
中島 美幸  
横井 秀一
- シデコブシとタムシバの交雑および自家和合性 ..... 27  
小枝 剛  
中島 美幸  
坂井 至通

## 資 料

- 豪雪地帯のスギ人工林に由来する  
壮齡スギ・ミズナラ混交林の林分構造と成立過程 ..... 33  
横井 秀一  
山口 清
- モクレン科植物（シデコブシ、コブシ、タムシバ）の  
葉組織を用いたDNA抽出法の検討 ..... 39  
中島 美幸  
坂井 至通



## 除伐後6年を経過した落葉広葉樹林における除伐の効果\*

横井秀一

### Effect of improvement cutting in deciduous broad-leaved forest for 6 years after treatment

Shuichi YOKOI

岐阜県清見村の15年生の広葉樹林に設置した試験地における6年間の調査結果から、広葉樹林の除伐効果を検討した。この試験地の除伐は、立て木の成長を阻害するおそれのある林木（伐り木）のみを伐採するという定性的な方法で実施した。除伐は、立て木の胸高直径成長を促進させ、樹高成長には大きく影響しなかった。枝下高の上昇は無施業区で大きかったものの、除伐区でもみられ、除伐が枝の枯れ上がりを強く抑制することはなかった。試験区全体の胸高断面積合計の成長量が試験区間で大きく異なる中で、立て木の胸高断面積合計の成長量は両除伐区で大きく、無施業区では立て木と伐り木の胸高断面積合計の成長量が同じくらいであった。また、優勢木に占める立て木の割合は、除伐区が無施業区より大きかった。これらのことから、この試験地における除伐は生産性の向上に有効であったと考えられた。

キーワード：胸高断面積成長、広葉樹林、除伐、生産性、直径成長

#### I はじめに

良質な広葉樹資源が減少する中、国産広葉樹材を将来にわたって安定的に得るためには、木材生産に適した樹種が生育する広葉樹二次林をより生産性の高い林型に誘導することが最も有望な方法である。除伐は、形質の良い目的樹種の比率を高めるための作業である（藤森, 2003）ことから、広葉樹二次林の生産性を高くするのに有効な手法であると考えられる（相場ら, 1984; 横井・小谷, 2002）。

広葉樹二次林やそれに近い林分構造である広葉樹が混生する針葉樹不成績造林地などの針広混交林における除伐効果の報告（橋詰, 1985; 生沢ら, 1985; 大澤ら, 2001; 石田ら, 2002）では、除伐により直径成長が促進されたことやそれに伴い形状比が低くなったことなどが報告されている。しかしながら、目的樹種の比率の増加を加味した生産性の向上に関する検討は不十分である。このことが明示されれば、それは広葉樹林施業の現場において除伐の是非や有効性、必要性を検討する際の基本的な情報になると考える。

そこで、広葉樹二次林の除伐試験地における6年間

の調査結果から、立て木の成長などに対する除伐の影響を明らかにするとともに、主林木に対する立て木の割合の検討を加味することで除伐による広葉樹林の生産性の向上について検討した。

#### II 試験地と方法

##### 1. 試験地の設定

試験地は、岐阜県大野郡清見村栗野俣の落葉広葉樹二次林（設定時15年生）に設置した。試験地は東向き平衡斜面の上～中部に位置し、その傾斜は26～37度である。試験地の標高は約1000m、最深積雪深は約1.5mである。

試験区の設定とそれに伴う除伐作業は、1996年6月に行った。まず、除伐A区（210㎡）、除伐B区（243㎡）、無施業区（256㎡）の3試験区を互いに間隔をとって設置し、各試験区内の胸高直径2cm以上の全立木の測定（胸高直径、樹高、枝下高、階層）と選木を行った。階層は、樹冠が林冠層にあるものを「上層」、そうでないものを「下層」とした。選木は、「立て木」と「伐り木」を選定し、残りは「その他」とした。立て

\*本研究の一部は、第114回日本林学会大会において発表した。

木は用材としての収穫対象になり得る立木であり、その選定条件は1) 岐阜県飛騨地域で流通している樹種(佐野, 1992), 2) 幹の形質(通直性や傷など)に大きな問題がない, 3) 健全に生育している上層木, の3点とした。伐り木は, その樹冠が立て木の樹冠と競合するか近い将来に競合する可能性がある位置にある, 立て木の健全な成長を阻害するおそれのある立木である。したがって, 伐り木の多くも上層木である。立て木となる立木が存在しない部分では伐り木も選定されず, その部分は全てがその他となった。このように, 選木は定性的であり, 定量的な考慮はほとんどなされていない。

選木後, 除伐A区と除伐B区では, 伐り木を伐倒または巻き枯らしで処理した。なお, 除伐A区と除伐B区は繰り返しであり, 両者に選木方法や処理方法など

に特別な違いはない。無施業区は, そのまま放置した。

試験地の再測は, 1998年, 2000年, 2002年のいずれも秋に行った。再測では, 設定時の測定木について, 胸高直径, 樹高, 枝下高を測定し, 階層を記録した。2002年の階層の調査では, 上層木を「優勢木」と「介在木」に細区分した。両者の区分は相対的なもので, 優勢木は樹冠が比較的大きく, かつ樹冠の大部分で直達光を受けることができるもの, 介在木は周囲の樹冠による被圧が大きく樹冠の一部でしか直達光を受けることができないものや樹冠が極めて小さいものとした。

## 2. 試験地設定時の林分構造と除伐の概要

表-1は, 1996年における除伐前と除伐後の立木密度である。無施業区を含め, 除伐前の立木密度(胸高直径 $\geq 2$  cm)は12,099~14,219本/haで, そのうち上

表-1 1996年における試験地の立木密度

試験区	除伐前後の立木密度(本/ha)			選木区分別密度(本/ha)	
	全立木	上層木	下層木	立て木	伐り木
除伐A区	13,524 → 10,095 <sup>1)</sup> (25%) <sup>2)</sup>	7,857 → 4,524 (42%)	5,667 → 5,571 (2%)	1,571	3,429
除伐B区	12,099 → 9,959 (18%)	4,115 → 2,263 (45%)	7,984 → 7,695 (4%)	1,235	2,140
無施業区	14,219	6,797	7,422	1,289	4,102

1) 除伐前 → 除伐後

2) 本数除伐率

表-2 1996年における試験地の樹種構成

樹種	除伐A区			除伐B区			無施業区		
	立て木	伐り木	その他	立て木	伐り木	その他	立て木	伐り木	その他
クリ	10	5	5	10	14	1	5	4	
ウダイカンバ	7	1	1	7		1	17	8	10
ホオノキ	9	3	17	8	3	13	5	3	22
ミズナラ	2	1		2		1	3	2	2
カスミザクラ	2	4	1			4	1	3	1
ミズメ				1			2	1	1
アオダモ	1	3	6						4
コナラ	2	6	2						
イタヤカエデ				2	3	14			
マルバマンサク		10	4		2	11		15	24
リョウブ		10	41		4	38		7	30
ウワミズザクラ		2	10		16	14		18	3
エゴノキ		5	6		2	15		6	2
ウリハダカエデ		1	2		5	2		1	1
アカシデ		10	17			2		11	9
タムシバ		3	7			6		7	7
コシアブラ		2						3	
コハウチワカエデ		2	5			4		3	24
ヌルデ		1	1			2		4	2
その他		3	54		3	84		9	84

1) 数字は, 各試験区における実数である。

表-3 1996年における試験地の胸高直径と樹高

試験区	平均胸高直径 (cm)			平均樹高 (m)		
	上層木 <sup>1)</sup>	立て木	伐り木	上層木 <sup>1)</sup>	立て木	伐り木
除伐A区	4.6 → 4.7	6.5	4.5	6.2 → 6.3	7.4	6.0
除伐B区	6.6 → 6.8	8.4	6.0	8.4 → 8.4	9.3	8.2
無施業区	4.9	6.8	4.5	6.7	8.5	6.5

1) 除伐前 → 除伐後

層木は4,115~7,857本/haであった。立て木の1,235~1,571本/haに対し、伐り木は2,140~4,102本/haで、伐り木の方が本数が多かった。本数除伐率は除伐A区が25% (上層木42%; 以下同じ)、除伐B区が18% (45%)であった。一方、無施業区における伐り木の比率は29% (59%)であった。

胸高断面積での除伐率は除伐A区が32% (38%)、除伐B区が31% (41%)、無施業区における伐り木の比率は37% (48%)であった。

試験地の樹種構成を表-2に示す。立て木とした樹種は9種で、クリとウダイカンバ、ホオノキが多かった。伐り木としたものは、立て木と同じ樹種をはじめアカシデ、ウワミズザクラ、リョウブ、マルバマンサクなど多くの樹種であった。

表-3は、試験開始時の平均胸高直径と平均樹高である。上層木および立て木、伐り木の平均胸高直径と平均樹高は、除伐B区が他の2試験区より特に大きく、無施業区が除伐A区よりやや大きかった。

### III 結 果

#### 1. 6年間の林分構造の変化

2002年における測定木の密度は8,025~11,758本/haで、6年間の枯死木 (倒伏などにより立木といえない状態になったものを含む) は除伐A区が1,143本/ha、除伐B区が1,934本/ha、無施業区が2,461本/haであった。2002年の上層木は2,016~3,242本/haで、6年間に除伐A区で1,905本/ha、除伐B区で247本/ha、無施業区で3,555本/haの上層木が減少した。

2002年における上層木の平均胸高直径と平均樹高は、除伐A区が8.3cm-9.7m、除伐B区が10.0cm-11.6m、無施業区が8.0cm-10.2mであった。

#### 2. 立て木の成長

立て木の枯死は、除伐A区で1本発生しただけであった。

図-1は、立て木の平均胸高直径の推移である。どの試験区においても立て木の平均胸高直径は順調に増

加していた。無施業区の平均胸高直径は、除伐時には除伐A区より少し大きかったが、6年後には除伐A区より小さくなった。

図-2は立て木の胸高直径成長量の頻度分布である。ここで、胸高直径成長量を6年間の成長量として示したが、1996年の測定が生育期間中であったので、この値は実質6年間の成長量より若干大きいかもしれない

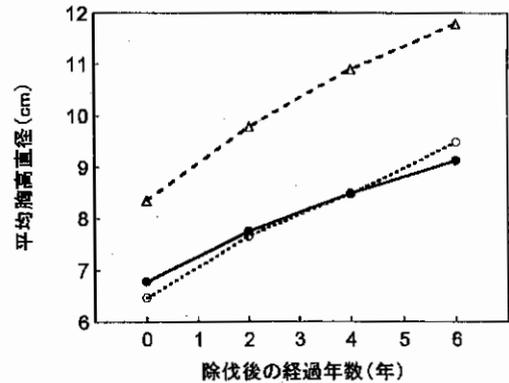


図-1 立て木の平均胸高直径の変化  
白丸と点線は除伐A区、白三角と波線は除伐B区、黒丸と実線は無施業区を示す。

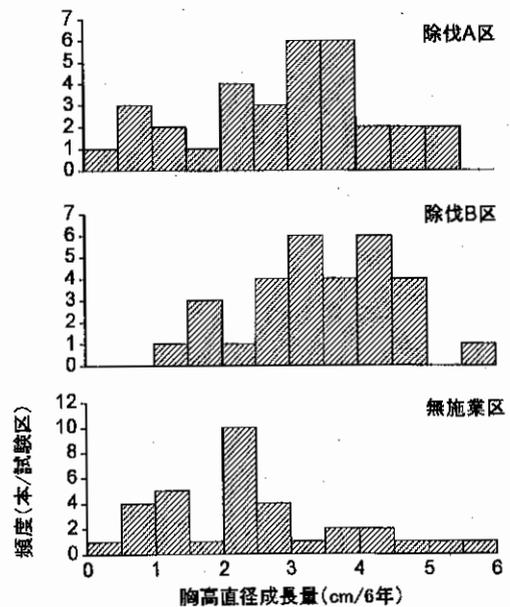


図-2 立て木の胸高直径成長量の頻度分布

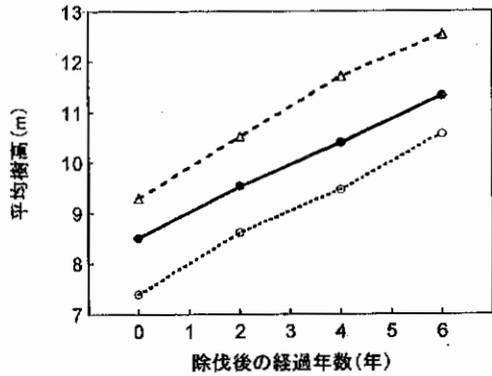


図-3 立て木の平均樹高の変化  
白丸と点線は除伐A区、白三角と波線は除伐B区、黒丸と実線は無施業区を示す。

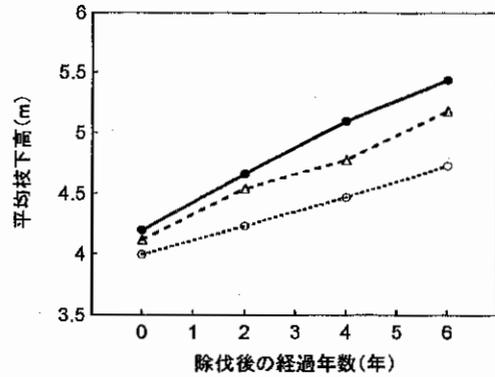


図-5 立て木の平均枝下高の変化  
白丸と点線は除伐A区、白三角と波線は除伐B区、黒丸と実線は無施業区を示す。

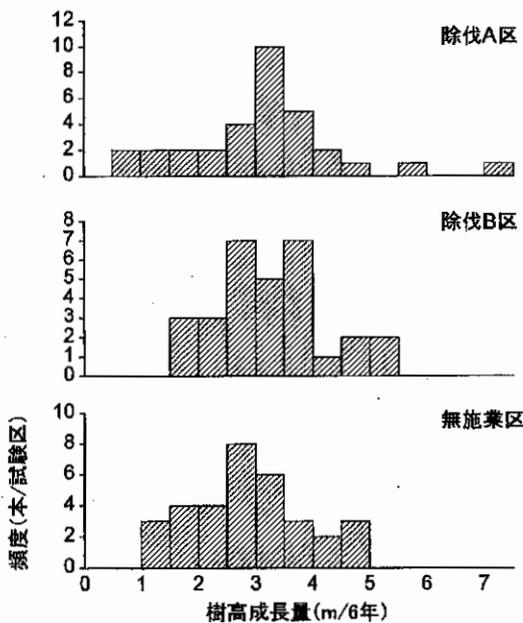


図-4 立て木の樹高成長量の頻度分布

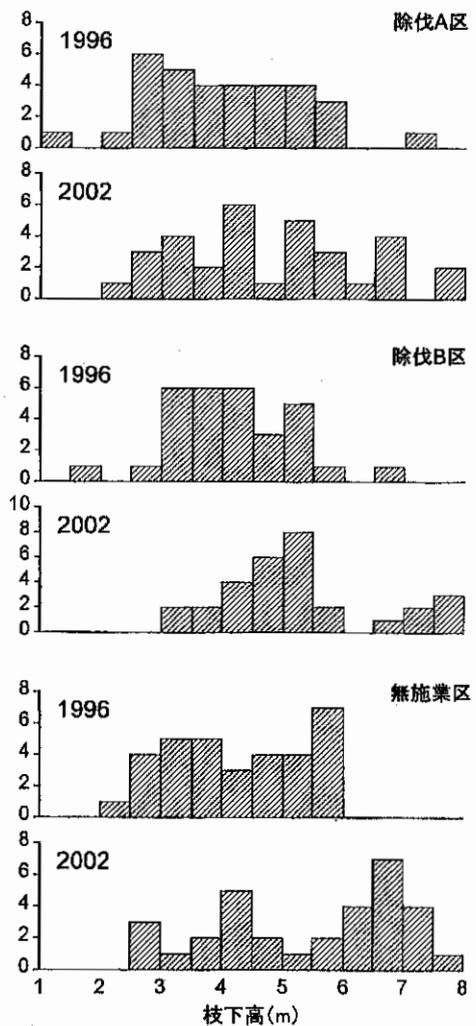


図-6 立て木の枝下高の頻度分布

(次に示す樹高も同様)。6年間の胸高直径成長量は、その範囲はどの試験区でも大きく変わらず、ほとんど成長していないものから6 cm近く成長しているものまで様々であった。成長量の大きなものは、無施業区より除伐区で多かった。U検定で1対比較した結果、除伐A区と無施業区 ( $p < 0.05$ )、除伐B区と無施業区 ( $p < 0.01$ ) には差が認められ、除伐A区と除伐B区とは差がみられなかった ( $p > 0.05$ )。樹種別の胸高直径成長量は、どの試験区でもクリやウダイカンバで大きく、ホオノキで小さい傾向にあった。

図-3は、立て木の平均樹高の推移である。どの区の平均樹高も、ほぼ直線的な成長を示した。図-4には、樹高成長量の頻度分布を示した。除伐A区は、除伐B区や無施業区より成長量のバラツキが大きかった。分布の形はどの試験区もおおむね1山型であり、その

モードは無施業区より両除伐区の方がわずかに大きかった。U検定では、除伐B区と無施業区の間のみ差が認められた ( $p < 0.05$ )。樹種別の樹高成長量は、除伐A区と除伐B区ではウダイカンバに特に成長量が大きなものがあったが、無施業区のウダイカンバには成長

量が特別に大きなものはなかった。

立て木の平均枝下高の変化を図-5に示す。それぞれの試験区において、平均枝下高はおおむね一定のペースで高くなっていった。平均枝下高の試験区間の差は、広がる傾向にあった。図-6は、1996年と2002年における枝下高の頻度分布である。どの試験区においても、2002年の枝下高の分布は1996年のそれに対して全体的に高い方に移動していた。枝下高が4.5m（長さ2.1mの材が2玉収穫できる枝下高）以上のものの割合は、除伐A区では1996年の36%が2002年には50%と、14ポイント大きくなった。同様に、除伐B区では33%が73%と40ポイントの増加、無施業区では45%から66%へと21ポイントの増加がみられた。

除伐A区における立て木の平均形状比は、1996年の125.1が2002年には118.9と、6年間で少し低くなった。同様に除伐B区の平均形状比は117.8が110.9と小さくなったが、無施業区のそれは134.3が133.2とほとんど変わらなかった。

### 3. 胸高断面積成長

1996年と2002年の胸高断面積合計を図-7に示す。2002年の胸高断面積合計は、無施業区が最も大きかった。全測定木の胸高断面積合計の成長量は9.7~10.3  $\text{m}^3/\text{ha}$ で、試験区間の差は小さかった。立て木の胸高断面積合計の成長量は除伐A区（6.3  $\text{m}^3/\text{ha}$ ）と除伐B区（7.1  $\text{m}^3/\text{ha}$ ）が無施業区（4.3  $\text{m}^3/\text{ha}$ ）より大きかった。その結果、両除伐区と無施業区との胸高断面積合計の差は、6年間で減少した。また、無施業区では伐り木の胸高断面積合計の成長量が4.0  $\text{m}^3/\text{ha}$ と、同区の立て木とほぼ同じであった。

### 4. 優勢木中の立て木の割合

図-8には、2002年における優勢木の本数を立て木とそれ以外とに分けて示した。全優勢木の本数は1,358~1,905本/haで、除伐B区が少なかった。その内の立て木は977~1,190本/haであり、試験区間で大きな違いはなかった。全優勢木に占める立て木の割合は、除伐A区（63%）と除伐B区（79%）が無施業区（53%）より大きかった。

## IV 考 察

除伐区では、立て木の胸高直径成長が無施業区より大きかった（図-2）。広葉樹林における除伐や間伐などの密度調節が直径成長を促進したという報告（橋詰, 1985; 生沢ら, 1985; 塚原ら, 1990; 渋谷・増地, 1991; 山口・横井, 1992; 箕口, 1996; 和田ら, 2003

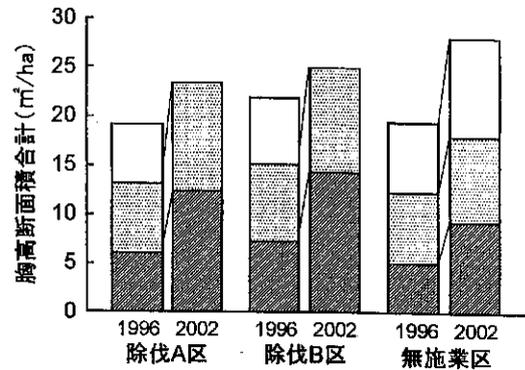


図-7 胸高断面積合計の変化  
斜線は立て木、ドットはその他、白抜きは伐り木を示す。

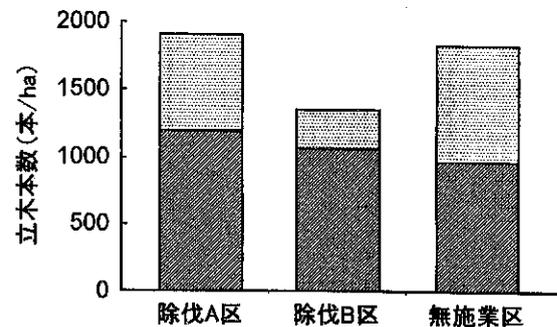


図-8 2002年における優勢木の本数  
斜線は立て木、ドットは立て木以外の林木を示す。

など)は多く、今回の除伐にもこれらと同様に直径成長促進効果があったといえる。

一方で、樹高成長量は除伐B区で大きかったものの、除伐A区と無施業区の差は小さかった。除伐B区はもともと他の2試験区より林木のサイズが大きかったことから、除伐B区の樹高成長が除伐によって促進されたかどうかは不明である。ただ、除伐A区と除伐B区では一部のウダイカンバの樹高成長が特別に大きかったことには、除伐の影響があった可能性がある。

枝下高の変化は無施業区が大きい傾向にあり（図-6）、無施業区が最も強い競争下にあることがうかがえる。その一方で、除伐区でも枝の枯れ上がりは進行していた（図-5, 6）。材の収穫に必要な枝下高を4.5m（2.1m材2玉）から8.2m（4.0m材2玉）とすると、この試験地では枝下高が材を収穫するのに十分な高さに達していない立て木が多い。したがって、立て木にはさらに枝の枯れ上がることが求められる。このことに関して、除伐が枝の枯れ上りを止めるという除伐のマイナス効果は認められなかった。

また、立て木の形状比が除伐区で低くなる傾向があった。除伐による形状比の低下は、橋詰（1985）や石田

ら(2002)も指摘している。これは、石田ら(2002)が指摘するように、除伐が樹高成長よりも直径成長を促進させたことを反映していると考えられる。広葉樹林においても、形状比が高すぎる林分は冠雪害やその他の気象害に対する抵抗性が低いと考えられる。この試験地の立て木の形状比は高めであることから、それが低くなることは除伐の効果の1つであるといえる。

試験区全体の胸高断面積合計の成長量が試験区間で大きく異ならない中で、立て木の胸高断面積合計の成長量は両除伐区で大きく、無施業区では立て木と伐り木の胸高断面積合計の成長量が同じくらいであった(図-7)。このことは、森林全体の葉量に占める立て木の葉量が除伐区でより多く、その結果として除伐区における立て木の生産量が多かったことを示唆している。

優勢木に占める立て木の割合は、両除伐区が無施業区より大きかった(図-8)。優勢な林木ほどその後の生存率が高い(Ward and Stephens, 1996)ことから、この試験地の将来の主林木は現在の優勢木の中から生じると考えることができる。したがって、収穫時の主林木に占める立て木の割合も、除伐区の方が大きいと予測される。また、除伐の直径成長促進効果を長期にわたって明らかにした研究がないためにその効果の持続性は不明であるものの、若齢時に成長が促進されたこととそれに伴って形状比の低い樹形になったことはおそらく長期にわたってプラスに作用するであろう。これらのことから、この試験地における除伐は森林の生産性の向上に有効であったと考える。

この試験地は除伐後6年しか経過していない。さらに調査を継続して、今後の立て木の成長過程を林分構造の変化とともに把握し、除伐の長期的な効果について明らかにする必要がある。

## 謝 辞

この試験地は、岐阜県寒冷地林業試験場(当時)の水谷嘉弘氏とともに設定した。試験地の再測では、岐阜県森林科学研究所(当時を含む)の井川原弘一氏、大洞智宏氏、茂木靖和氏、渡邊仁志氏、大橋章博氏にご協力いただいた。また、本研究の一部は農林水産省から農林水産新技術実用化型研究開発「多様な広葉樹林の育成・管理技術の開発」の補助を受けて実施した。各位に謝意を表す

## 引用文献

- 相場芳憲・新島俊哉・生原喜久雄(1984) 整理伐による有用広葉樹林への転換。(北関東地方における低質広葉樹林の有用広葉樹林への施業転換に関する研究。生原喜久雄代表, 51pp, 昭和58年度文部省科学研究費補助金(一般研究B)研究成果報告書), 43-51.
- 藤森隆郎(2003) 新たな森林管理-持続可能な社会に向けて-, 428pp, 全国林業改良普及協会, 東京.
- 橋詰隼人(1985) 落葉広葉樹二次林の改良施業に関する研究(II) クヌギ二次林の生長に対する整理伐と施肥の効果. 鳥大農研報38: 60-67.
- 生沢均・安里練雄・新垣隆・嘉手苺幸男(1985) 亜熱帯性天然広葉樹林分の施業改善に関する研究(XI) 除・間伐および施肥の8年後の効果について. 沖縄県林試研報27: 1-8.
- 石田仁・山田昭仁・藤島文博(2002) 針広混交林育成試験-初期の除伐が林木の成長と形状に及ぼした影響-, 中森研50: 23-26.
- 箕口秀夫(1996) ブナ二次林の間伐効果(予報). 新潟県林試研報38: 17-21.
- 大澤篤弘・安藤信・中根勇雄・登尾久嗣・川那辺三郎(2001) スギが混交する若齢天然生林の保育技術(I) 除伐後16年間の林分構造の推移. 森林応用研究10: 51-54.
- 佐野公樹(1992) 飛騨地域における木材市場の実態調査(II) 高山市内の木材市場における広葉樹素材の取扱いについて. 岐阜県寒林試研報12: 59-101.
- 渋谷正人・増地孝幸(1991) ミズナラ二次林における間伐, 枝打ち, および地表処理の効果. 北大農演研報48: 101-113.
- 塚原初男・高橋安則・須藤昭二・斎藤定雄(1990) ブナ・ミズナラ混交林の林分構造に及ぼす間伐の長期効果. 日林論101: 411-412.
- 和田覚・澤田智志・石田秀雄・小坂淳一(2003) ブナ二次林の間伐効果-秋田県田沢湖試験地の事例-, 東北森林科学会誌8: 10-13.
- Ward, J. S. and Stephens, G. R. (1996) Influence of crown class on survival and development of *Betula lenta* in Connecticut, U. S. A., Can. J. For. Res.26: 277-288.
- 山口清・横井秀一(1992) 間伐後16年を経過した広葉樹二次林の生長経過. 日林中支論40: 69-70.
- 横井秀一・小谷二郎(2002) 森林生態学が支える広葉樹林施業. 森林科学36: 25-30.

# 17年生クリ人工林における冠雪害と 林木の大きさ、形状、施業歴との関係

横井秀一

Relations of tree size and tree form, management history to damage by snow accretion  
in 17-years-old planted Japanese chestnut (*Castanea crenata* Sieb. et Zucc.)

Shuichi YOKOI

2002年秋の降雪により冠雪害を受けた岐阜県荘川村の17年生クリ人工林（植栽試験地）において、被害の実態を調査し、被害の発生と林木の大きさや形状、施業歴（初期保育と2002年の間伐の組み合わせによる4種類）との関係を解析した。調査では、クリの形質に重大な影響を与えるものを被害とし、被害形態は幹折れ、幹曲がり、幹割れ、斜立に区分した。4試験区の被害率は14～61%であった。被害形態は、幹折れと幹曲がりが大半を占めた。各試験区の被害木と無被害木は大きさ（胸高直径と樹高）と形状（形状比と枝下高率）にはほとんど差がなく、被害の発生は降雪時に着葉していたかどうかの個体差による可能性が高いと考えられた。施業歴と被害率との関係では、直前の間伐については対照区（無間伐）が間伐区より被害率が高く、初期保育に関しては集約区（5回の下刈りと雪起しを実施）が粗放区（1年生時に1回だけ下刈りを実施）より被害率が高かった。このことに対しては、林分構造の差異と試験区の配置が被害に関与した可能性が考えられたが、理由を特定するには至らなかった。

キーワード：冠雪害、クリ、広葉樹、人工林

## I はじめに

岐阜県北部では、2002年秋の降雪により広葉樹林の冠雪害が広い範囲に発生した（横井・茂木, 2003）。このとき、岐阜県荘川村にある荘川広葉樹総合試験林内の17年生クリ人工林も冠雪害を受けた。

冠雪害による林木の損傷が森林の経済的な価値を低めることは、広葉樹林でも例外ではない。特に天然林改良や植栽などで資金や労力が投下された広葉樹林では、被害によって森林所有者などが受けるダメージはスギなどの針葉樹人工林と変わらない。

しかし、スギ人工林に比較すると広葉樹林の冠雪害に関する調査事例（藤森ら, 1986；斎藤ら, 1987；松岡ら, 1991；前田, 2001a；武田, 2001）は少なく、広葉樹人工林についてはクヌギの事例（前田, 2001b）が報告されているだけである。このように情報が不足しているため、広葉樹林における冠雪害の実態は十分に認知されておらず、広葉樹林施業を進める上で冠雪害がリスクの1つになるという認識は低いと考えられる。広葉樹林施業における冠雪害の危険性の認識を広く一般のものとするためには、その実態についての情

報の蓄積とその発信が欠かせない。また、広葉樹に冠雪害が発生する危険性の高い地域を明らかにしたり、冠雪害を回避する方法を検討したりするためにも、こうした情報の蓄積が必要である。

冒頭で述べたクリ人工林は、下刈りなどの初期保育の有無と間伐の有無の組み合わせによる4つの試験区が設定されている。この内の間伐は冠雪害が発生する直前の2002年夏に行われ、そのときには毎木調査が実施されている。このような施業歴の異なる林分での冠雪害の記録は、今後の広葉樹林施業で冠雪害を考えるときの貴重な情報になる。そこで、冠雪害の被害実態を調査し、クリの大きさや形状、施業などと被害の関係を検討した。

## II 調査地と調査方法

### 1. 調査地の概要

調査地は、岐阜県大野郡荘川村六厩にある荘川広葉樹総合試験林のクリ植栽試験地（1,400㎡）である。試験地は南西向き斜面中部に位置し、標高は950m、傾斜は38度である。試験地に最寄りの六厩地域気象観

測所（標高1,015m）における平均気温は7.0℃、年降水量は2,451mmである（気象庁http://www.jma.go.jp）。試験林における最深積雪深は、170cmである。

図-1は、クリ植栽試験地と試験区の配置である。試験地の上方と斜面上部に向かって左側は試験地のクリよりも樹高の高い落葉広葉樹二次林、右側は再生途中にある樹高の低い落葉広葉樹二次林、下側はクリと同時期に設置されたケヤキ植栽試験地となっている。試験地は4分割され、それぞれで施業歴が異なっている。

クリの植栽は1985年11月に行われ、植栽密度は4,000本/haであった。このとき、試験地は左右に集約区と粗放区とに2等分された。集約区では1990年まで下刈り（年1回）と雪起し（必要な個体のみ）が行われ、粗放区では1986年に1回下刈りが実施された以外は保育作業が行われなかった。

2002年7月、集約区と粗放区それぞれが上下に2分割され、上側の区で間伐が行われた。間伐に先立ち各区に調査区が設置され、胸高直径3cm以上の立木を対象に毎木調査が行われ、調査木にはマーキングが施された。各調査区の面積は、集約・間伐区が244㎡、集約・対照区が207㎡、粗放・間伐区が230㎡、粗放・対照区が219㎡である。間伐木は、形質の良いクリの生育を阻害する個体とした。間伐木の処理は、大きめの間伐木では巻き枯らし、小さめの間伐木では伐倒によった。

試験区の林分概況を表-1に示す。クリの立木密度（間伐前）と大きさ、クリ以外の広葉樹の本数が集約区と粗放区で異なるのは、土壌条件の差に起因するクリの成長速度の違いによるものと考えられた（横井ら、2004）。また、粗放区ではクリ以外の広葉樹が多数生育するが、優勢な個体の本数や上層木の胸高断面積合計ではクリの比率が高かった（横井ら、2004）。

## 2. 調査方法

冠雪害の被害状況は、2003年10月に調査した。調査では、各調査区内のクリを対象に、被害の有無と被害

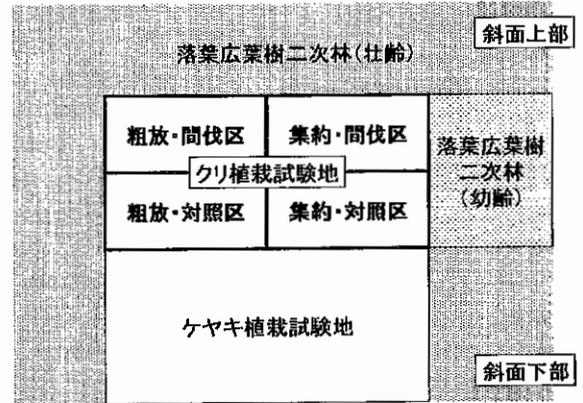


図-1 試験地と試験区の配置

形態を記録した。被害の有無はクリの形質に重大な影響を与える被害が発生したかどうかで判断し、梢端部の折れや枝折れなどは被害とみなさなかった。

被害形態は、幹折れ、幹曲がり（樹幹全体が大きく湾曲したもの）、幹割れ、斜立とした。幹折れは、枝下の比較的高い位置での折損が多かった。幹曲がりは、曲がりが樹冠内だけにとどまっているものは被害とせず、下枝より低い位置から曲がりが生じているものを被害とした。斜立は今回の冠雪によって幹が傾いたことが明らかなもののみを被害とした。幹折れ、幹曲がり、斜立の被害木はいずれも、斜面下方に向かって折れたり、曲がったり、傾いたりしていた。

なお、クリでは幹の通直性が重視される（佐野、1994）ため小さな幹曲がりでも欠点になるが、小さな幹曲がりは元々の曲がりか今回の冠雪による曲がりかが区別できなかったため、被害に含めなかった。

## III 冠雪害発生に関わる気象の概要

2002年10月28日から11月10日にかけて岐阜県北部では3回の降雪があり、岐阜県北部の落葉広葉樹に発生した今回の冠雪害はこれらの降雪によってもたらされたと考えられた（横井・茂木、2003）。調査地に近い

表-1 試験区の林分概況

試験区	クリ				クリ以外の広葉樹(天然更新木)			
	立木密度 <sup>1)</sup> (本/ha)	平均胸高直径 (cm)	平均樹高 (m)	平均枝下高 (m)	立木密度 <sup>1)</sup> (本/ha)	平均胸高直径 (cm)	平均樹高 (m)	平均枝下高 (m)
集約・間伐区	2664→1598	10.0	10.9	5.9	41→41	4.0	8.1	2.8
集約・対照区	2850	10.2	11.0	5.8	0	—	—	—
粗放・間伐区	3609→2565	7.8	8.7	4.5	1783→1391	3.7	5.9	3.1
粗放・対照区	3653	7.6	8.3	4.3	1598	4.0	6.4	3.5

1) 間伐区は、間伐前の立木密度→間伐後の立木密度を示す。

表-2 被害形態別の本数

試験区	被害木数 <sup>1)</sup>	被害形態別の本数 <sup>1)</sup>			
		幹折れ	幹曲がり	幹割れ	斜立
集約・間伐区	16	10	6	0	0
集約・対照区	36	15	20	0	1
粗放・間伐区	8	4	3	1	0
粗放・対照区	31	12	17	0	2

1) 本数は全て実数で示す。

東海北陸自動車道の荘川インターチェンジにおいても、10月28日3時、11月2日20時、11月9日2時のそれぞれから断続的な降雪があり、それぞれの積算降雪量は13cm、39cm、28cmであった(横井・茂木, 2003)。

#### IV 結 果

##### 1. 各試験区の被害率

クリに発生した冠雪害の被害率を図-2に示す。各試験区の被害率は14~61%で、被害率は試験区により異なった(カイ2乗検定,  $p < 0.01$ )。集約区と粗放区とに分けて間伐の有無と被害率との関係を見ると、集約区では5%水準で有意とはいえなかったものの、どちらも間伐区の方が被害率が低かった(カイ2乗検定, 集約区:  $p < 0.1$ , 対照区:  $p < 0.01$ )。一方、集約区と粗放区の被害率を間伐区同士、対照区同士で比べると、どちらの場合も粗放区の被害率が低かった(カイ2乗検定,  $p < 0.01$ )。

表-2は、被害形態別の本数である。被害形態では、

幹折れと幹曲がりが大半を占めた。間伐区では幹折れが多く、対照区では幹曲がりが多い傾向にあった。

なお、クリ植栽試験地内のクリ以外の天然更新広葉樹、クリ植栽試験地に併設されている植栽試験地のケヤキとカツラには目立った冠雪害は発生していなかった(著者の観察による)。

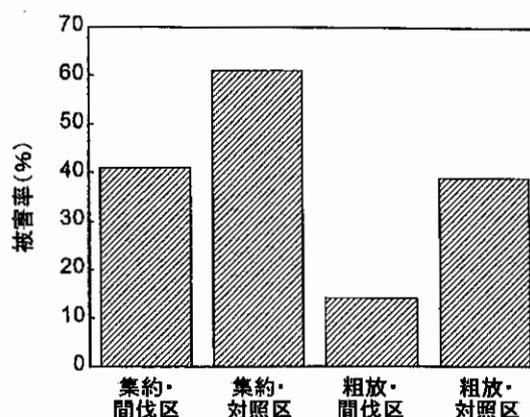


図-2 試験区ごとの冠雪害の被害率

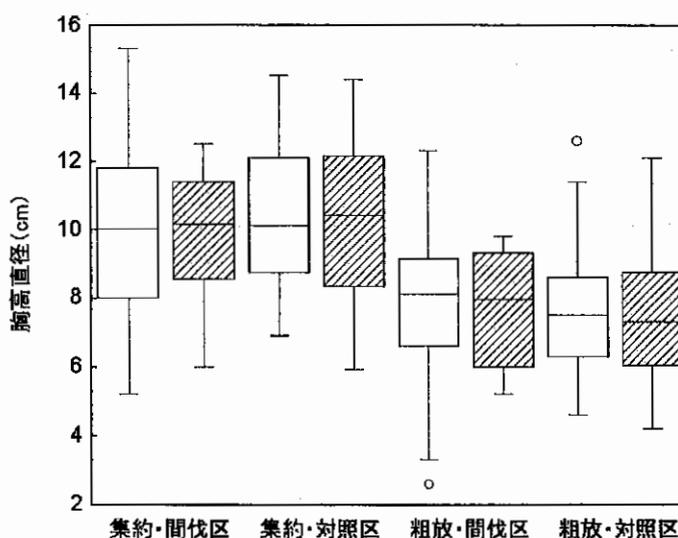


図-3 試験区ごとの無被害木・被害木の胸高直径

白抜きボックスは無被害木、斜線のボックスは被害木を示す。ボックス内の線は中央値、ボックスの上下は第1四分位点と第3四分位点を示す。ひげの上下は、テューキーの基準(田中・垂水, 1997)内での最大値と最小値を示す。白丸は、テューキーの基準による外れ値を示す。

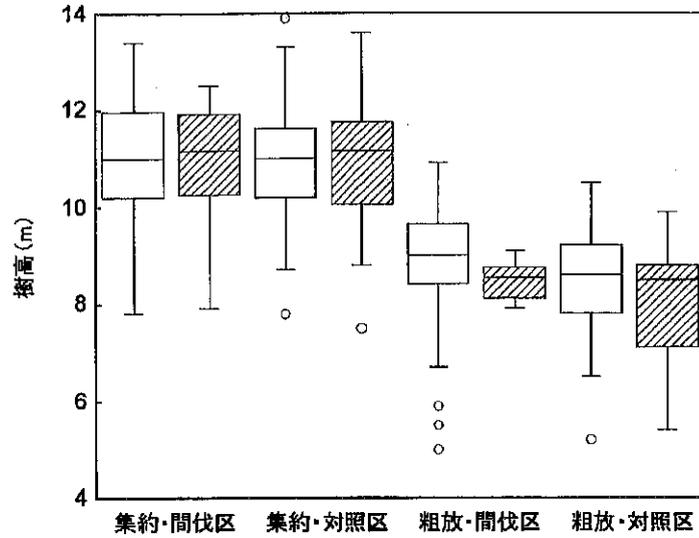


図-4 試験区ごとの無被害木・被害木の樹高  
凡例は、図-3に同じ。

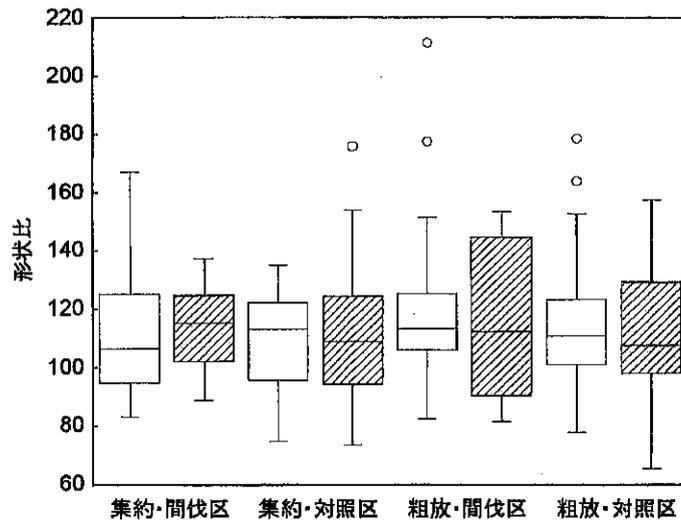


図-5 試験区ごとの無被害木・被害木の形状比  
凡例は、図-3に同じ。

## 2. クリの大きさ・形状と被害の関係

無被害木と被害木の胸高直径を試験区ごとに示す(図-3)。各試験区において、無被害木の胸高直径と被害木の胸高直径に差は認められなかった(U検定,  $p > 0.05$ )。

同様に樹高を比較したものが図-4である。樹高は、粗放・対照区において被害木が無被害木より小さかった(U検定,  $p < 0.05$ )。他の3区では、樹高の差は認められなかった(U検定,  $p > 0.05$ )。

図-5は、形状比(樹高/胸高直径 $\times 100$ )を比較したものである。形状比は、各試験区において無被害木と被害木とで異ならなかった(U検定,  $p > 0.05$ )。また、形状比はいずれの試験区でも一様に高かった。

図-6は、枝下高率(枝下高/樹高)の比較である。枝下高率は、どの試験区でも無被害木と被害木とで異ならなかった(U検定,  $p > 0.05$ )。枝下高率も、各試験区でおおむね同じような値であった。

## V 考 察

本試験地のある荘川広葉樹総合試験林におけるクリ天然生木の落葉(樹冠内の50%以上の葉が脱落するか変色した時点)時期は、同所の他の落葉広葉樹より遅めの10月下旬である(小見山, 1991)。また、クリは秋に葉が変色しても脱落しにくい樹種である。このことから、この試験地に発生した今回のクリの冠雪害は、

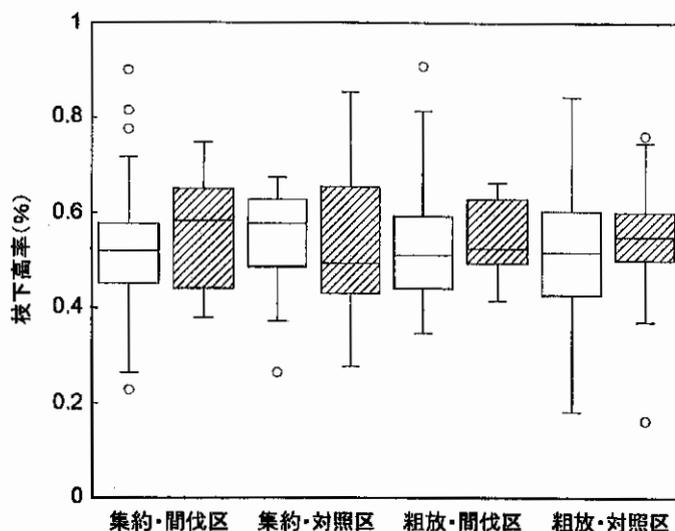


図-6 試験区ごとの無被害木・被害木の枝下高率  
凡例は、図-3に同じ。

同時期に発生した周辺地域の落葉広葉樹の冠雪害（横井・茂木，2002）と同様に，着葉したままの樹冠に雪が積もったことにより発生したものと考えることができる。

クリの大きさや形状と被害の関係では，粗放・対照区において被害木の樹高が無被害木のそれより低かったのを除いて，胸高直径，樹高，形状比，枝下高率などの試験区でも無被害木と被害木とで異ならなかった（図-3～6）。このことは，今回の冠雪害の発生が個体の大きさや形状に依存していないことを示している。

斎藤ら（1987）は，ケヤマハンノキでは胸高直径や樹高の大きい個体で冠雪害の発生が多く，また形状比が高いと幹折れ被害が多かったことを，武田（2001）は，コナラを主とする落葉広葉樹二次林では甚大な被害を受けたものほど形状比が高くなり，樹幹長率が低くなる傾向があったことを報告している。これらの報告は冠雪害の発生が個体の大きさや形状に関係することを示しており，今回の結果はこれらとは異なるものであった。

これに対し，クヌギの冠雪害の発生には，下層木を除けば樹高や胸高直径，形状比が関係しなかった（前田，2001b）という，今回の結果と同じことを示す報告もある。ただ，この報告の中には，幹の上部に太い枝が発達した個体や偏樹冠の個体に被害が多かった（前田，2001b）ことが示されており，冠雪害の発生と枝下高率とに関係があった可能性はある。

一方，これらの報告の中で，前田（2001b）はクヌギの冠雪害の発生が枯葉の着葉の有無に影響を受けたことを明らかにし，武田（2001）はクリの冠雪害の発生に着葉状態の違いが影響した可能性があることを指

摘している。これらのことは，同所に生育する同樹種であっても落葉の進み具合や枯れ葉を付けたままでいるかどうかによって個体差があり，それが冠雪害を受けるかどうかに影響することを示している。今回のクリにおいても，降雪時の着葉状態に個体差があり，それが被害の有無に影響した可能性は高いと考える。

試験区間で被害率が低かったのは，間伐以前の作業に関しては粗放区であり，直前の作業に関しては間伐区であった。粗放区と集約区の林分構造の違いは，粗放区ではクリ以外の広葉樹がクリより劣勢なものが多いものの多数混成することと，粗放区の方が樹高や胸高直径が小さいことである。これらのことが冠雪害の発生に影響した可能性はあるが，それを裏付ける調査結果や観察結果はない。一方の間伐に関しては，偏樹冠などの冠雪害を受けやすい樹形の個体が間伐されて，それが被害率が低くなったことに影響した可能性が考えられるが，こちらも検証はできない。

これらの林分構造とは別に，試験区の配置が被害率の違いに影響した可能性もある。最も被害率の低かった粗放・間伐区は2辺が，それに次ぐ被害率の粗放・対照区と集約・間伐区は1辺が，クリより樹高の高い落葉広葉樹林に接していた（図-1）。このことから，周辺の広葉樹林によって降雪が捕捉されることで，それに接する試験区の降雪量が少なくなり，それが被害率の差につながったという可能性が考えられる。しかし，このことについても降雪時や降雪直後の観察がないので，確定的ではない。

このクリ植栽試験地は，過去にも1度冠雪害を受けている。そのときの被害は梢端部の折れが主であり，今回ほど甚大な被害ではなかった。しかし，それを含

めると16年間に2回の冠雪害を受けたことになる。冠雪害の発生が予想される地域での広葉樹の植栽，特にクリのような冠雪害を受ける危険性が高い樹種の植栽は，冠雪害のリスクも考慮して計画を検討する必要がある。

#### 謝 辞

被害状況調査は，岐阜県森林科学研究所の大橋章博氏と井川原弘一氏の協力のもとに実施した。同研究所の中川一所長には，原稿に対する助言をいただいた。ここに記して，感謝する。

#### 引用文献

- 藤森隆郎・千葉幸弘・林敬太（1986）冠雪被害の樹種の特性－高尾山周辺の1986年春季冠雪被害－。日林関東支論38：137-138.
- 小見山章（1991）落葉広葉樹の幹肥大成長の開始・休止時期と着葉期間の相互関係，およびそれらに関係する環境要因。日林誌73：409-418.
- 前田雄一（2001a）広葉樹林に発生した冠雪害の実態調査（Ⅰ）ケヤキ枝折れ被害の分布について。鳥取県林試研報39：9-12.
- 前田雄一（2001b）広葉樹林に発生した冠雪害の実態調査（Ⅱ）クヌギ幹曲がり木の外形的な特徴。鳥取県林試研報39：1-8.
- 松岡廣雄・北田正憲・北田健二・大丸裕武（1991）1991年2月の異常降雪によって発生したアカマツ・カラマツ・シラカンバの冠雪被害の機構。日林東北支誌43：244-245.
- 斎藤武・坂本知己・吉武孝（1987）着葉期に発生した落葉広葉樹冠雪害の一事例。日林論98：649-650.
- 佐野公樹（1994）飛騨地域における素材価格の形成要因（Ⅱ）広葉樹素材の形質と価格について。岐阜県寒林試研報13：49-128.
- 田中豊・垂水共之（1997）Windows版統計解析ハンドブック基礎統計。201pp，共立出版，東京.
- 武田宏（2001）1998年11月に発生した新潟県北部における落葉広葉樹の冠雪害。新潟県森林研報43：21-24.
- 横井秀一・井川原弘一・渡邊仁志（2004）クリ造林地における下刈りの省略が成林に及ぼす影響。中森研52：印刷中.
- 横井秀一・茂木靖和（2003）岐阜県北部において2002年秋に発生した広葉樹冠雪害の被害地の分布と被害状況。岐阜県森林研報32：1-14.

## 適潤性褐色森林土壌における壮齡アカマツ人工林の炭素貯留量

渡邊仁志・茂木靖和・大洞智宏\*・中川 一

The carbon storage of the mature *Pinus densiflora* plantation  
afforested in mesic brown forest soil

Hitoshi WATANABE, Yasukazu MOTEKI, Tomohiro OBORA\* and Hajime NAKAGAWA

適潤性褐色森林土壌に植栽された35年生アカマツ人工林において、林分の炭素貯留量を推定した。林分全体の炭素貯留量は、208.0tC/haと推定された。このうち、下層植生や堆積有機物、粗大有機物中に含まれる炭素はわずかであり、炭素の大部分は、鉍質土壌(106.5tC/ha)と植栽木(88.6tC/ha)に含まれていた。この林分では、1年間にリターフォールによって、アカマツの葉に含まれる炭素の50%、枝に含まれる炭素の6%が林地に還元されていると考えられた。また、堆積有機物中の炭素量(8.7tC/ha)は、リターフォール中の炭素量のおよそ3年分に相当した。

キーワード：適潤性褐色森林土壌，アカマツ，針葉樹人工林，炭素貯留量

### I はじめに

わが国における森林の物質生産や炭素固定能力に関する研究には、IBPによる成果(例えば只木ら, 1968; 佐藤, 1973; 吉良, 1976; 只木, 1976)をはじめ多くの例がある。しかし、地球温暖化が問題になっている現在、森林生態系のもつ炭素固定能力に大きな期待が寄せられており、その能力の科学的な評価が国際的に求められている。精度の高い推定を行うためには、なお様々な森林におけるデータの集積が必要である。

下呂実験林適地適木実験林は、岐阜県内における適地適木の指標を検討するために造成され、褐色森林土の土壌型別にスギ、ヒノキ、アカマツの成長過程が継続調査されている。この実験林については、これまでにいくつかの報告がある。植栽17年後の植生や土壌については、中川(1982)によって報告され、植栽樹種によってA<sub>0</sub>層の堆積や土壌の理化学性に違いがみられたことが示されている。ヒノキの成長過程については井川原(2001)が報告している。また、堆積有機物、下層植生の現存量と土壌の形態については渡邊ら(2002a)、土壌中の炭素貯留量については渡邊ら(2002b)、リターフォール量とその炭素量については井川原・中川(2002)の報告がある。しかしこれらの報告では、アカマツ植栽地の植栽木や下層植生には触

れられておらず、これらも含めた林分全体の炭素貯留については検討されていない。

この試験地の炭素貯留量や炭素の動態が明らかになれば、同一立地環境下に植栽されたスギ、ヒノキ、アカマツ人工林の炭素貯留量を推定するための有効な資料になると考えた。そこで本報告では、このうちのアカマツ植栽地について、既存研究の調査結果とあわせて、現存量と炭素貯留量を推定した。

### II 調査地の概要

調査は、岐阜県益田郡下呂町小川(現下呂市小川)の下呂財産区有林内にある下呂実験林の適地適木実験林で行った。試験地は益田川(飛騨川)沿いの北向き平衡斜面の下部に位置し、標高はおよそ450m、平均傾斜は39度、地質は濃飛流紋岩類(溶結凝灰岩)、土壌型はB<sub>0</sub>型である(渡邊ら, 2002a)。気象条件は、最寄りの宮地地域気象観測所(標高420m)の観測値の平均値(1979~2000年)によると、平均気温11.8℃、年降水量2,410mmである(気象庁Webサイト(<http://www.jma.go.jp/>))。

調査地はこの実験林のアカマツ植栽試験地内(284m<sup>2</sup>)に設けた。試験地の斜面下に向かって右側にはヒノキ植栽試験地、その右側にスギ植栽試験地が隣接し、本

\*現勤務先：岐阜県科学技術振興センター

試験地と同様な調査が行われている。また左側と下側にはスギ植栽地、上側には作業道をはさんで外国産マツ植栽試験地が隣接している。

調査地の前生林分はヒノキ人工林で、適地適木実験林の設定前に皆伐された。1965年4月に隣接地にヒノキ、スギが植栽された。続いて1967年3月にアカマツが3,300本/haの密度で植栽され、同じ年に2回下刈りが行われた。その後、1972年、1973年、1978年に枝打ち、1981年、1987年、2002年に間伐が実施された。試料木を伐採した2002年時点のアカマツの林齢は35年生であった。

### Ⅲ 調査方法

#### 1. 林分の継続調査

調査地内の林木を対象に継続調査を行った。調査では1967年11月、1968年10月、1969年11月、1980年9月、1987年5月、1992年3月、1995年7月、2000年4月、2002年11月（一部2003年5月）に樹高（1987年からは加えて胸高直径、1995年からは加えて生枝下高）を測定した。胸高直径は全木を測定したが、1980年から1995年までの樹高と1995年の生枝下高については、サンプリングにより一部の個体を測定した。

#### 2. 土壌調査と土壌試料の採取

2000年6月に、調査地内で2地点の土壌断面調査を行い、土壌層位を区分した。土壌の調査方法と分類は、林業試験場（1955）、土じょう部（1976）の方法に準拠した。土壌層位ごとに細土容積重測定用の100cc土壌円筒を2点と、炭素含有率分析用の試料を500g程度採取した。

#### 3. 堆積有機物および粗大有機物の現存量調査

2000年6月に、土壌断面の斜面上部に隣接して0.5m×0.5m方形枠を設け、堆積有機物（A層）を採取した。試料はL層、F層、H層に分別して持ち帰り、乾燥重量（80℃、48時間）を測定した。乾燥重量をヘクタールあたりに換算して現存量を求めた。

伐り捨て間伐木や株などサイズの大きい有機物（粗大有機物）の調査は、調査地内を対象に、2000年11月に実施した。調査では粗大有機物の末口直径、元口直径、長さを計測し、一部の試料では生重量を測定した。試料を数点採取し持ち帰り、乾燥重量（80℃、48時間）と体積（求積にはスマリアン式、梢端の場合は円錐の体積の公式を用いた）から容積重を計算した。サイズが大きい、埋もれているなどの理由で現地で生重量を秤量できなかったものは、体積と試料から得た容積重

をもとに乾燥重量を推定した。得られた乾燥重量をヘクタールあたりに換算して現存量を求めた。

#### 4. 植栽木の現存量調査

植栽木の現存量を推定するため、2002年11月に、胸高直径の頻度分布を参考に、劣勢木から優勢木までサイズが偏らないよう5本を選び、地際から伐採した。伐採した個体は現地で幹、枝葉、枯れ枝に区分し、1mごとの層別刈り取り法により生重量を測定した。

枝葉は全て持ち帰り、針葉が束生する短枝部分より先端の緑色部分を葉と見なして、生きた枝と葉、枯れた枝と葉（以下、枯れ枝葉）に分別し、全量を秤量した。階層ごとに分別した試料の一部について、乾燥重量（80℃、48時間）を計測した。

試料木の乾燥重量と2002年の毎木調査から算出した $D^2H$ （胸高直径の2乗×樹高： $\text{cm}^2 \cdot \text{m}$ ）から、相対成長関係式をもとに個体あたりの現存量を算出し、ヘクタールあたりに換算して植栽木の現存量を求めた。

根の掘り取り作業は行わなかったため、根の現存量は、蜂屋ら（1989）に基づいて、地上部現存量をもとに推定した。

#### 5. 下層植生の現存量調査

2000年8月に、調査地内の平均的な下層植生の場所に2m×2m方形枠を3箇所設け、植生調査を行った。続いて枠内の植物をすべて掘り取り、現地で木本および草本に区分した。持ち帰った試料は、地上部、地下部に分けて乾燥重量（80℃、48時間）を測定した。得られた乾燥重量をヘクタールあたりに換算して現存量を求めた。

#### 6. 炭素含有率の測定・炭素貯留量の推定

堆積有機物、粗大有機物、植栽木、下層植生の乾燥重量測定後の試料と、風乾状態の鉍質土壌の試料の一部をミルで粉碎し、試料ごとに1～3個を炭素含有率（以下、炭素率、%）の分析に供した。

炭素率の測定はCNコーダー（ヤナコ社製MT-700）により行った。得られた分析値と供試試料の含水率から各試料の炭素率を求め、試料の平均値をその部分の炭素率とした。

鉍質土壌を除く部分は、炭素率と現存量に基づいて炭素量を算出した。また鉍質土壌は、層位の平均層厚、細土容積重と炭素率から炭素量を算出した。各層位の炭素量を深さ70cmまで積算したものを鉍質土壌の炭素量とした。

表-1 土壤断面の形態

層位	層厚 (cm) 平均 (範囲)	土色	構造	土性	堅密度
A <sub>1</sub>	20 (17~24)	10YR3/3 暗褐色	団粒状・塊状	埴質壤土	鬆
A <sub>2</sub>	28 (25~30)	10YR4/4 褐色	塊状	埴質壤土	やや堅
B	22+ (16+~28+)	10YR5/6 黄褐色	塊状	埴質壤土	軟

表-2 鈳質土壤中の炭素量

層位	細土容積重 (kg/m <sup>3</sup> )	炭素率 (%)	炭素量 (tC/ha)
A <sub>1</sub>	531.0	4.5	48.0
A <sub>2</sub>	784.9	1.8	38.1
B	1028.4	0.9	20.3
計			106.5

表-3 堆積有機物および粗大有機物の現存量・炭素量

測定部分	層位	現存量 (t/ha)	炭素率 (%)	炭素量 (tC/ha)
堆積有機物	L層	10.2	49.8	5.1
	F層	8.0	35.0	2.8
	H層	2.3	26.8	0.7
	計	20.6		8.7
粗大有機物		5.7	51.8	2.9

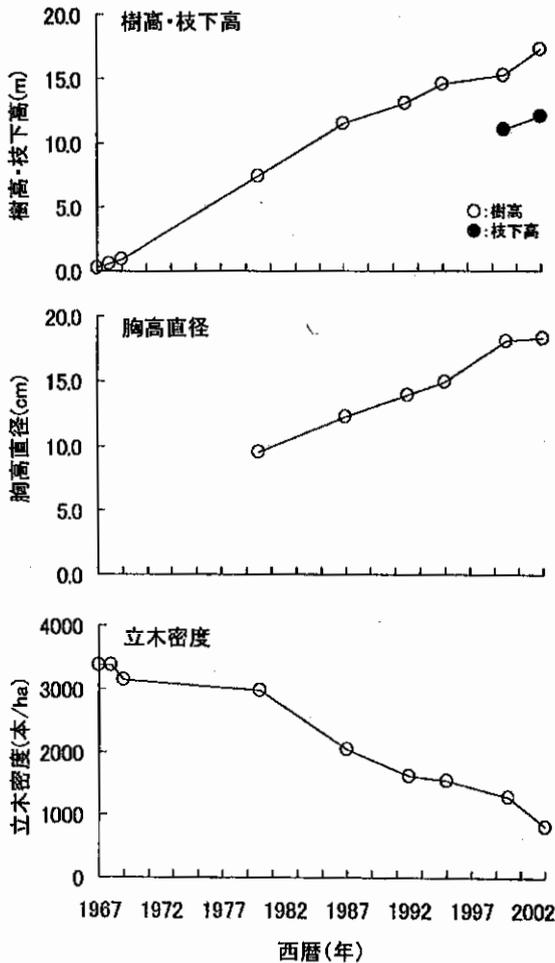


図-1 植栽木の成長と立木密度の推移

#### IV 結果と考察

##### 1. 林分の概況

図-1は、この林分の樹高・枝下高、胸高直径、立木密度の推移を示したものである。2002年の間伐時には、立木密度は、1,280本/haになっていた。またこの時点の平均胸高直径は18.3cm、平均樹高は17.3m、平均枝下高は12.1mであった。平均樹高を地位別樹高成長曲線(岐阜県林政部, 1984)にあてはめて地位級を推定すると、1の立地に相当していた。またアカマツの林分密度管理図(岐阜県林政部, 1984)と比較すると、収量比数は0.9であり、高密度林分であることがいえる。

##### 2. 各部分の現存量・炭素率・炭素量

###### (1) 鈳質土壤

土壤断面調査の結果を表-1に示す。深さ70cmまでの鈳質土壤はA<sub>1</sub>層、A<sub>2</sub>層、B層に区分された。A<sub>1</sub>層は暗褐色で団粒状構造が発達し、一部塊状構造がみられた。A<sub>2</sub>層はA<sub>1</sub>層に比べて色調がうすく褐色で塊状構造がみられ、B層に漸変した。B層は黄褐色で塊状構造がみられた。各層とも土性は埴質壤土で粘性が強く、母材に由来する角礫~半角礫を多く含んでいた。鈳質土壤の層位別の細土容積重、炭素率および炭素量を表-2に示す。細土容積重は531.0~1028.4kg/m<sup>3</sup>で、下の層位ほど大きくなっていった。炭素率は0.9~4.5%で、A<sub>1</sub>層、A<sub>2</sub>層、B層の順に低くなっていった。表層から深さ70cmまでの鈳質土壤中の炭素量は、A<sub>1</sub>層では48.0tC/ha、A<sub>2</sub>層では38.1tC/ha、B層では20.3tC/haとなり、全体では106.5tC/haと推定された。

表-4 試料木の大きさと現存量

試料木	樹高 (m)	胸高直径 (cm)	D <sup>2</sup> H	地上部重量				地上部 全重量 (kg)
				幹 (kg)	枝 (kg)	葉 (kg)	枯枝葉 (kg)	
1	17.0	12.2	2530.3	46.3	1.7	1.2	0.4	49.6
2	17.5	14.8	3833.2	57.6	3.7	1.8	0.4	63.5
3	16.8	16.8	4741.6	60.4	6.0	2.3	0.6	69.3
4	18.3	19.0	6606.3	98.8	5.1	2.9	1.6	108.4
5	20.1	20.7	8612.6	150.7	25.7	6.2	2.5	185.1

表-5 植栽木の現存量・炭素量

測定部分		現存量 (t/ha)	炭素率 (%)	炭素量 (tC/ha)
地上部	幹	118.5	51.3	60.8
	枝	13.5	53.2	7.2
	葉	4.3	54.9	2.4
	枯枝葉	1.8	53.7	1.0
計		138.2		71.3
地下部	根	34.5		17.3
合計		172.7		88.6

根現存量は蜂屋ら(1989)に基づいて幹現存量の25%で算出。

表-6 下層植生の現存量・炭素量

測定部分		現存量 (t/ha)	炭素率 (%)	炭素量 (tC/ha)
地上部	木本	1.1	47.3	0.5
	草本	0.0	39.2	0.0
地下部	木本	1.9	47.7	0.9
	草本	0.1	36.3	0.0
合計		3.0		1.4

表-7 アカマツ林の炭素量

調査地	林齢 (年)	立木 密度 (本/ha)	樹高 (m)	胸高 直径 (cm)	炭素量 (tC/ha)							備考
					地上部	根	下層 植生	堆積 有機物	粗大 有機物	大 鋳質 土壌	林分 全体	
岐阜・下呂	35	1,280	17.3	18.3	71.3	17.3	1.4	8.7	2.9	106.5	208.0	1)
長野・塩尻	35	1,650	18.9	16.9	91.7	11.2		31.8		165.0	299.7	2)

1) 本調査結果。

2) 片倉(2002)より引用。根は幹現存量の15%で算出。鋳質土壌は深さ30cmまでの積算。

(2) 堆積有機物および粗大有機物

試料採取時の観察によると、A<sub>0</sub>層はL層が主体であった。またL層にはアカマツの葉のほかに広葉樹の葉も含まれていた。堆積有機物の現存量は、20.6t/haであった。また炭素率は26.8~49.8%でL層、F層、H層の順に低くなっていた。堆積有機物の炭素量は、L層で5.1tC/ha、F層で2.8tC/ha、H層で0.7tC/haとなり、全体では8.7tC/haと推定された(表-3)。

粗大有機物の現存量は5.7t/ha、炭素量は2.9tC/haとなった。

(3) 植栽木

試料木の大きさと各部分の現存量を表-4に示す。試料木の地上部の現存量は49.6~185.1kgの範囲にあり、そのほとんどが幹に分布していた。試料木のD<sup>2</sup>Hと地上部重量(W<sub>AG</sub>:kg)、幹現存量(W<sub>S</sub>:kg)、枝現存量(W<sub>B</sub>:kg)、葉現存量(W<sub>L</sub>:kg)、枯れ枝葉現

存量(W<sub>D</sub>:kg)は、相対成長関係で近似され、それぞれ、

$$W_{AG} = 1.19 \times 10^{-2} \times D^2 H^{1.0456} \quad R^2 = 0.9140$$

$$W_S = 2.21 \times 10^{-2} \times D^2 H^{0.9585} \quad R^2 = 0.9108$$

$$W_B = 5.52 \times 10^{-7} \times D^2 H^{1.8594} \quad R^2 = 0.8322$$

$$W_L = 6.82 \times 10^{-5} \times D^2 H^{1.2371} \quad R^2 = 0.9283$$

$$W_D = 6.94 \times 10^{-7} \times D^2 H^{1.6402} \quad R^2 = 0.8865$$

で示された。

胸高直径、樹高と相対成長関係から算出した植栽木の現存量、および炭素率、炭素量を表-5に示す。地上部現存量は138.2t/haで、この値に根の現存量を加えると、植栽木の現存量は172.7t/haと推定された。炭素率は51.3~54.9%で、各器官とも50%を少し越える値となり、大きな差はみられなかった。これらから植栽木の炭素量は88.6tC/haと推定された。

#### (4) 下層植生

林内には高さ2～3m程度のイタヤカエデ、ヤブムラサキ、ウワミズザクラ、シロモジなどの落葉広葉樹、草本層にはコアジサイ、イヌツゲ等の低木、チヂミザサやミゾシダなどがみられた。被度は低木層で90%程度、草本層で30%程度であった。下層植生の現存量、炭素率、炭素量を表-6に示す。現存量のほとんどが木本によって占められており、草本の重量割合はわずかであった。また草本の炭素率は木本のそれよりも低い傾向があった。下層植生の現存量は3.0t/ha、炭素量は1.4tC/haであった。

#### 3. 林分全体の炭素量

以上の結果から、林分全体の炭素量は、208.0tC/haと推定された(表-7)。このうち下層植生や堆積有機物、粗大有機物中に含まれる炭素の量はわずかであり、炭素の大部分は鉱質土壌と植栽木に含まれていた。

アカマツ林の現存量や炭素量を測定した事例21例(蜂屋ら, 1989; 片倉, 2002; 河原, 1971; 齋藤ら, 1991; 外館, 1978; 外館, 1979; 渡邊, 2003)によると、林齢10～120年生、立木密度529～9,600本/haのアカマツの地上部現存量は、35.5～327.9t/haの間であった。本調査の結果では、地上部現存量は138.2t/haで、この範囲内であった。表-7にこれら調査事例の中で、本調査地のアカマツ林と林齢が同じで、林分全体の炭素量を比較することが可能な事例(片倉, 2002)を示した。

長野県塩尻市のアカマツ天然生林(片倉, 2002)は、本調査地とは林齢が同じで更新方法、立木密度のほか、生育立地(地質、土壌型など)に違いがある。この林分全体の炭素量は299.7tC/haで、本調査地とはおよそ90tC/haの差があった。この理由として、植栽木(立木)と土壌中の炭素量の差をあげることができる。

立木一個体あたりの平均炭素量を比べたところ、両調査地で違いはみられなかった。このことから、立木の炭素量の差は個体の成長差ではなく、立木密度の違いによると考えられる。

また両調査地は土壌型が異なっている(塩尻: 黒色土(Bld)、本調査地: 褐色森林土(Bd))。黒色土は、本調査地の褐色森林土とは生成要因や性質が異なっており、腐植に富んだA層が厚く堆積することが特徴である。本調査地と塩尻の例を比較すると、塩尻の方が、層厚、炭素率とも大きかった。このことは、土壌群の性質の違いが土壌中の炭素量に影響し、林分全体の炭素量にも強く関与していることを示している。

表-8 リターフォール・植栽木の炭素量の比較

部分	リターフォール (tC/ha・yr)	植栽木 (tC/ha)	割合
葉	1.2	2.4	50.4
枝	0.5	7.2	6.1
枯れ枝葉		1.0	
その他	0.3		
合計	2.0	10.6	18.9

#### 4. 林分内における炭素の動態

植栽木や下層植生の枝葉は、リターフォールによって林地に還元される。井川原・中川(2002)によって、この調査地のリターフォール量が報告されている。これによると年間リターフォール量は5.8t/ha・yr、リターフォール中の炭素量は3.1tC/ha・yrであった。

このうちアカマツ由来のリターフォール量は3.7t/ha・yr、炭素量は2.0tC/ha・yrであり、その中で大きな割合を占めていたのは、アカマツの葉(1.2tC/ha・yr)、枝(0.5tC/ha・yr)であった(表-8)。植栽木の葉、枝+枯れ枝葉の炭素量は、それぞれ2.4tC/ha、8.2tC/haであることから、1年間で葉のおよそ50%、枝のおよそ6%、全体ではおよそ19%の炭素が、リターフォールによって林地に還元されていると考えられる。

葉量の50%がリターフォールに相当することは、アカマツやクロマツの葉の寿命は2年前後とした只木(1976)の結果と一致する。またリターフォール中の炭素量が枝、葉、枯れ枝葉の炭素量に占める割合(19%)は、19年生アカマツ林で同時期に測定された例(14%: 井川原・中川, 2002)とほぼ一致した。

またこの林分の堆積有機物の炭素量は、8.7tC/haであった。落下したリター中の炭素の分解過程や落下後の移動を考慮する必要があるが、堆積有機物の炭素量は、リターフォール中の炭素量のおよそ3年分に相当した。これは20年生アカマツ林で現存量を比較した例(約3年: 河原, 1971)と一致した。

#### V 謝 辞

下呂財産区には、下呂実験林の維持管理、調査地の提供など、多岐にわたり協力いただいている。2000年の現地調査には横井秀一氏(岐阜県森林科学研究所)、植栽木の現存量調査には小池昭一郎氏(岐阜県下呂町役場)、井川原弘一氏(岐阜県森林科学研究所)に協力いただいた。片倉正行氏(長野県林業総合センター)からは、データの提供と有益なご助言を得た。ここに記して謝意を表す。

なお本報告の一部は、文部科学省科学研究費地域連携推進研究「木曾三川のエコロジカル流域管理計画」

(文部科学省科学研究費補助金No.11794029) および独立行政法人森林総合研究所委託事業「森林吸収源計測・活用体制整備強化事業(平成15年度)」の中で実施したものである。

また本報告の一部は第50回日本林学会中部支部大会(渡邊ら, 2002a), 第113回日本林学会大会(渡邊ら, 2002b), 第36回林業技術シンポジウム(渡邊, 2003), 第115回日本林学会大会(渡邊ら, 2004)で発表した。

#### 引用文献

岐阜県林政部(1984)アカマツ人工林林分材積表・林分収穫予想表. 88pp, 岐阜県, 岐阜.  
土じょう部(1976)森林土壌の分類(1975). 林業試験場研究報告280: 1-28.  
蜂屋欣二・竹内郁雄・棚秋一延(1989)高密度のアカマツ林の一次生産の解析. 林業試験場研究報告354. 39-97.  
井川原弘一(2001)下呂実験林の適地適木実験林における植栽樹種の成長過程(I), ヒノキの成長と土壌型, 施肥の影響. 岐阜県森林科学研究所研究報告30: 9-16.  
井川原弘一・中川一(2002)針葉樹人工林のリターフォール量と含有炭素量・窒素量. 岐阜県森林科学研究所研究報告31: 7-12.  
片倉正行(2002)炭素吸収源データ収集システム開発事業. 長野県林業総合センター業務報告(平成13年度): 30-31.  
河原輝彦(1971)Litter Fallによる養分還元量について(II), 有機物量および養分還元量. 日本林学会誌53: 231-238.

吉良竜夫(1976)陸上生態系, 生態学講座2. 166pp, 共立出版, 東京.

林業試験場(1955)国有林野土壌調査方法書. 47pp, 林業試験場, 東京.

齋藤秀樹・上家祐・竹岡政治(1991)壮齢アカマツ林の現存量, 枯死量, リター量およびリターフォール量. 京都府立大学演習林報告35: 41-47.

佐藤大七郎(1973)陸上植物群落の物質生産I a, 生態学講座5 a. 95pp, 共立出版, 東京.

外館聖八郎(1978)天然生アカマツ放置林分における現存量の推移. 日本林学会大会発表論文集89: 189-190.

外館聖八郎(1979)天然生アカマツ筋刈林分における現存量の推移. 日本林学会大会発表論文集90: 319-320.

只木良也(1976)森林の現存量, とくにわが国の森林の葉量について. 日本林学会誌58:416-423.

只木良也・蜂屋欣二(1968)森林生態系とその物質生産. わかりやすい林業研究解説シリーズNo.29. 64pp, 林業科学振興所, 東京.

渡邊仁志・井川原弘一・大洞智宏・中川一(2002a)35年生針葉樹人工林の植栽木が土壌に及ぼす影響. 中部森林研究50: 41-44.

渡邊仁志・井川原弘一・中川一(2002b)35年生針葉樹人工林土壌の有機物と炭素貯留量. 日本林学会大会学術講演集113: 52.

渡邊仁志(2003)炭素貯留機能からみた針葉樹人工林の適地適木. 山林1432: 13-20.

渡邊仁志・片倉正行・茂木 靖和(2004)立地条件の異なる壮齢アカマツ林の炭素貯留量. 日本林学会大会学術講演集115: 印刷中.

## 組織培養によるハナノキのクローン増殖

茂木靖和・坂井至通

Micropropagation of *Acer pycnanthum* K.Koch by tissue culture

Yasukazu MOTEGI and Yoshimichi SAKAI

絶滅危惧種であるハナノキの個体保存を目的に、成木の腋芽と胚軸を材料として組織培養によるクローン増殖を試みた。その結果、どちらの材料を用いても増殖が可能で、発根個体を得られた。クローン個体を効率的に増殖させるには、成木の腋芽よりも胚軸を材料とする方が有利であった。胚軸を材料とする場合、クローンにより増殖に差がみられた。このうちのクローンは、増殖が旺盛で発根率が高かったことから、効率的な増殖を行う際の材料として有望であった。

キーワード：ハナノキ、クローン、組織培養、増殖、発根、個体間差

### I はじめに

ハナノキ (*Acer pycnanthum* K.Koch) は、岐阜県東部とその周囲の愛知県、長野県を中心としたごく限られた地域に自生するカエデ科の雌雄異株の落葉高木である。本種は春の開葉に先立って開く真紅色の花と秋の紅葉が美しいことから、庭や公園などに鑑賞目的で植栽され、花木として利用されている。また、ハナノキは主に湿地周辺の限られた場所に生育しているが、こうしたところは道路建設やゴルフ場造成等で開発がすすみ、湿地の減少とともに個体数が急速に減少し、現在絶滅危惧Ⅱ類に指定されている（環境庁, 2000）。

ハナノキのクローン増殖は、酒谷（1989）が腋芽の組織培養を試みて順化に成功しているが、供試数が少なく、クローンを効率的に増殖するための詳細な検討がなされていない。また、組織培養によるクローン増殖には、培地条件の他に使用する材料や採取した個体間による増殖への影響が指摘されている（佐々木ら, 1988）。そのため、効率的なクローン増殖には、材料や個体ごとに適切な培養条件の設定が必要である。

そこで、本報告では絶滅危惧種であるハナノキの個体保存を目的に、一般的に用いられる成木の腋芽と胚軸を材料として、組織培養による効率的なクローン増殖を試みた。

### II 実験方法

#### 1. 材料

##### (1) 腋芽

岐阜県恵那市の民家に植栽された胸高直径約20cm、樹高約7mのハナノキ成木（雄木）の幹から発生した直径5mm以内の枝を2002年7月に採取した。枝は採取した当日に葉柄を一部残し10~20mm程度に切断し、中性洗剤で洗浄した後、70%エタノールに2分、1%アンチホルミンに10分浸漬した。次に、クリーンベンチ内で滅菌水で3回洗浄し、枝と葉柄の端を切り返した後、これを外植体として培地に挿しつけた。その後、伸長したシュートをそれぞれの個体が茎頂または腋芽を含むように3~10mm程度に切り分けて継代培養を繰り返した。継代培養で得られたシュートを所定の長さに切り分けて、各実験に供試した。

##### (2) 胚軸

胚軸培養に用いた種子は、岐阜県恵那郡坂下町で2002年5月に採取したもので、採取後すぐに容器に入った湿らせた砂に混ぜた。これを砂が乾かないように時々灌水しながら、涼しいところで約5ヶ月間保管したものを購入した。入手した種子は、種皮付きの状態です。1,000倍ペノミル液に1時間、70%エタノールに1分、1%アンチホルミンに10分浸漬した。次に、クリーンベンチ内で滅菌水で3回洗浄し、種子から種皮を取り除いて胚軸を摘出した後、これを外植体として培地に挿しつけた。その後、伸長したシュートをそれぞれの

個体が茎頂または腋芽を含むように3~10mm程度に切り分けて継代培養を繰り返した。継代培養で得られたシュートを所定の長さに切り分けて、各実験に供試した。

## 2. 培地及び培養条件

### (1) 試薬

基本培地のWP(最新バイオテクノロジー全書編集委員会, 1989)で使用される試薬は特級を用いた。サッカロースは一級を用いた。ゲランガムは植物組織培養用を用いた。BAP, GA<sub>3</sub>は生化学用を用いた。トレハロースは食品添加物を用いた。

### (2) シュート増殖用培地

基本培地をWPとし、サイトカニンとしてBAP0.2mg/l, 糖としてトレハロース20g/lを加えて、pHを5.8に調整し、支持体としてゲランガム2g/lを溶かし込んで、φ25mmの試験管に約10ml分注した。

また、腋芽由来のシュート増殖では、上記の培地にGA<sub>3</sub>0.5mg/lを添加する施用区と添加しない無施用区を設定した。

### (3) 発根用培地

基本培地をWPとし、ホルモンフリー、糖としてサッカロース20g/lを加えて、pHを5.8に調整した液体培地を作成した。この液体培地を支持体である25×50×20mmのフロリアライト(日清紡織, 東京)に約20ml加えた。培養容器は、φ60mmのマヨネーズビンを使用した。

また、胚軸由来のシュートの発根では、上記の培地および上記の培地の支持体をフロリアライトからゲランガム2g/lへ代えたものを作成した。

### (4) 培地の殺菌および培養条件

培地の殺菌は、オートクレーブを用いて120℃で15分間高圧滅菌した。また、培養条件は、25℃、照度4000Lux, 16時間日長とした。

## 3. 腋芽のクローン増殖の検討

### (1) 培養方法(a)

シュート増殖の検討では、継代培養を12回繰り返し、通算で約1年(364日)間培養したシュートを茎頂または腋芽を含むように3~10mm程度に切り分けた後、シュート増殖用培地に挿しつけた。供試数は各処理区20個とした。

発根の検討では、継代培養を13回繰り返し、通算で431日間培養したシュートを茎頂を含むように10~15mm程度に切り分けた後、発根用培地に挿しつけた。供試数は8個とした。

### (2) 調査方法(a)

シュート増殖の検討では、培養67日後のシュート伸長量と増殖数を測定した。増殖数は次の培養に供試できる数、つまり、伸長したシュートを茎頂または腋芽を含み3~10mm程度に切り分けることの可能な数とした。

発根の検討では、培養40日後、80日後、160日後に発根個体数を測定し、発根率を次式により算出した。

$$\text{発根率} = \text{発根個体数} / \text{供試数} \times 100$$

培養40日後と80日後の発根は、フロリアライトから露出した根の有無を培養容器の外から観察することによって判定した。培養160日後は、観察により発根を確認できなかったものについて、フロリアライトからシュートを抜き取って、発根の有無を確認した。

## 4. 胚軸のクローン増殖の検討

### (1) 培養方法(b)

シュート増殖の検討では、継代培養を6回繰り返し、通算で約1年(365~385日)間培養したシュートを「3. 腋芽のクローン増殖の検討」と同様に行った。各クローンの供試数は19~20個である。

発根の検討は、継代培養を5回繰り返し、通算で301~303日間培養したシュートを「3. 腋芽のクローン増殖の検討」と同様に行った。各クローンの供試数は20個である。

### (2) 調査方法(b)

シュート増殖の検討は、培養15日後、培養30日後、培養45日後、培養60日後にシュート伸長量と増殖数を測定した。

発根の検討は、「3. 腋芽のクローン増殖の検討」と同様である。

## III 結果と考察

### 1. 腋芽のクローン増殖の検討

個体保存のための培地条件を明らかにする目的で、成木の腋芽由来の1クローンについて、培養を行った。

培養67日後の処理区ごとのシュート増殖は、平均シュート伸長量(図-1(a))では、GA<sub>3</sub>無施用区がGA<sub>3</sub>施用区より大きかった。平均増殖数(図-1(b))では、GA<sub>3</sub>無施用区がGA<sub>3</sub>施用区より多かった。しかし、両処理区のシュート伸長量および増殖数についてU検定を行ったところ、有意な違いはみられなかった( $P > 0.05$ )。

ハナノキの腋芽を外植体とした組織培養は、酒谷(1989)がハナノキ当年枝を材料とし、窒素成分を1/2

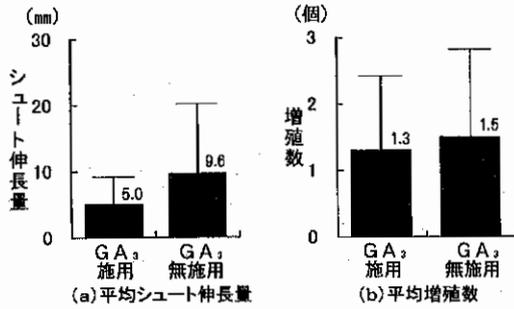


図-1 腋芽由来クローンのシュート増殖  
図中のバーの長さは標準偏差を示す  
各試験区, n=20

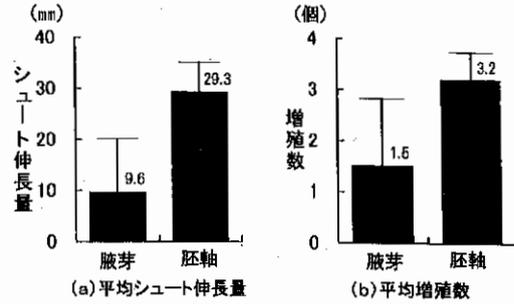


図-2 腋芽及び胚軸由来クローンのシュート増殖  
図中のバーの長さは標準偏差を示す  
腋芽, n=20; 胚軸, n=19

~1/4に減じたMS培地にBAPを1.0~8.0mg/l加えて行った初代培養と窒素成分を1/2に減じたMS培地にBAPを加えて行った継代培養がある。この時、シュート伸長のみられる腋芽があったが、供試数が少なかったことから培地条件と腋芽のシュート伸長との関係は明らかではなかったとしている。

今回、約1年間継代培養を続けたシュートを用いて、BAP0.2mg/l、トレハロース20g/lを加えたWP培地で、培養したところ、増殖可能であることが明らかになった。また、この培地の配合にGA<sub>3</sub>0.5mg/lを加えた場合も増殖可能であったが、GA<sub>3</sub>0.5mg/l添加によるシュート増殖への効果はみられなかった。

発根は、80日間の培養では1個体も観察できなかった。160日間の培養では観察により1個体の発根を確認したが、抜き取りにより新たな発根個体を確認することはできなかった。160日間の培養における発根率は13% (1/8)であった。この結果は、酒谷(1989)よりも良い結果とはならなかった。

## 2. 腋芽および胚軸のクローン増殖の比較

効率的な増殖に適した材料を選び出す目的で、成木の腋芽と胚軸由来の各1クローンについて、シュート増殖を比較した。

シュート増殖は、平均シュート伸長量(図-2(a))では胚軸由来のクローンが成木の腋芽由来のクローンより大きかった。平均増殖数(図-2(b))では、胚軸由来のクローンが成木の腋芽由来のクローンより多

かった。シュート伸長量および増殖数についてU検定を行ったところ、両クローン間に優位な違いがみられた( $P < 0.01$ )。

林木では、種子や発芽したばかりの若い個体では比較的増殖が容易であるが、年齢が高くなるにしたがって、増殖が困難になってしまうことが多い(最新バイオテクノロジー全書編集委員会, 1989)といわれている。今回、ハナノキについても、1クローンの比較であるが、成木の腋芽より年齢が若い胚軸由来のクローンの方が高い増殖であった。このため、ハナノキの効率的な増殖には、成木の腋芽よりも胚軸を材料とする方が有利と考えられた。

## 3. 胚軸のクローン増殖における個体間差

効率的な増殖に適したクローンを選び出す目的で、胚軸由来の4クローンについて、増殖と発根を比較した。なお、各クローンは胚軸1~4と表記した。

培養60日後の各クローンのシュート増殖は、平均シュート伸長量(図-3(a))では11.8~46.0mm、平均増殖数(図-3(b))では1.9~4.9個の広い範囲にあり、各クローンの平均シュート伸長量と平均増殖数はすべて同じではなかった(Kruskal Wallis検定,  $P < 0.01$ )。胚軸4は平均シュート伸長量が46.0mm、平均増殖数が4.9個と増殖が旺盛であった。胚軸2と胚軸3は平均シュート伸長量が11.8~16.7mm、平均増殖数が1.9~2.5個と低い増殖であった。

培養30日後の各クローンの平均シュート伸長量は

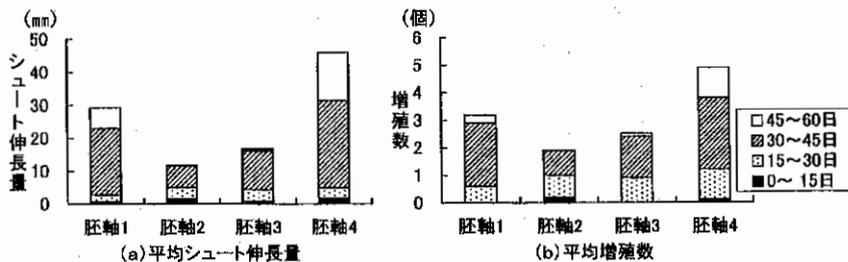


図-3 胚軸由来クローンのシュート増殖  
胚軸1, n=19; 胚軸2~4, n=20

2.8~5.0mm, 平均増殖数は0.6~1.2個と, 全クローンとも低い増殖であった。また, 培養60日後の増殖が低かった胚軸2と胚軸3は, 平均シュート伸長量が4.3~5.0mm, 平均増殖数が0.9~1.0個で, 他のクローンと大差無い増殖であった。培養30~45日の間の各クローンは, 平均シュート伸長量で6.6~26.4mm, 平均増殖数で0.9~2.6個とこれ以前の培養より大きく増殖した。また, この時の増殖は, クローンごとに大きく異なり, 個体間差を生じた。

これまで, 引田 (1991) がコナラで, 佐々木ら (1988) がクヌギで組織培養による増殖を行った時, 個体間差があることを指摘している。今回, ハナノキの胚軸由来クローンの増殖においても同様の傾向がみとめられた。このため, 増殖が旺盛なクローンの利用は, 効率的なクローン増殖に効果的と考えられた。

支持体にフロリアライトを用いた時の胚軸由来クローンのシュート発根率 (図-4) は, 培養160日後では4クローンとも70%以上であった。特に胚軸3と胚軸4の発根率は90%以上と高かった。胚軸4は40日後の発根率が55%と早期に発根する傾向がみられた。

支持体にフロリアライトまたはゲランガムを用いた時の胚軸1と胚軸4のシュート発根率 (図-5) は, 培養160日後では支持体がフロリアライトの時75~90%, ゲランガムの時40~70%で, 両クローンとも支持体にフロリアライトを用いた方が高い発根率であった。胚軸1は, 支持体の違いによる発根率の差が有意であり (カイ2乗検定,  $P < 0.05$ ), フロリアライトを用いる効果が大きかった。

田中ら (1999) は発根に及ぼす支持体の影響をフロリアライトと寒天で比較したところ, クヌギではフロリアライトが, ヒノキでは寒天が高い発根率であったとしている。今回, ハナノキにおいては支持体にゲランガムよりフロリアライトを用いた方が高い発根率であった。

#### IV まとめ

ハナノキ成木の腋芽および胚軸を材料として, 組織培養によるクローン増殖を試みたところ, どちらの材料を用いても増殖が可能で, 発根個体が得られることがわかった。しかし, クローン個体を効率的に増殖させるには, 他の樹種と同様に成木の腋芽よりも胚軸を材料とする方が有利であった。また, 胚軸を材料とする場合でもクローンにより増殖に差があることから, 増殖が旺盛で発根率が高いクローンの利用が効率的で, 胚軸4はこのような条件を満たすクローンとして有望であることがわかった。

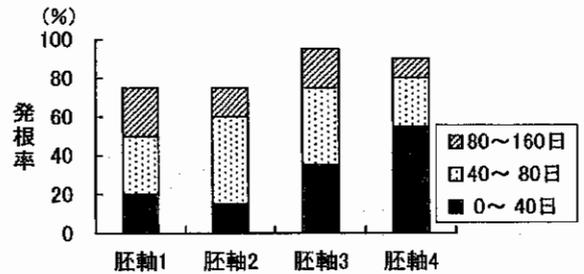


図-4 胚軸由来クローンのシュート発根率  
各試験区の支持体はフロリアライト  
各試験区, n=20

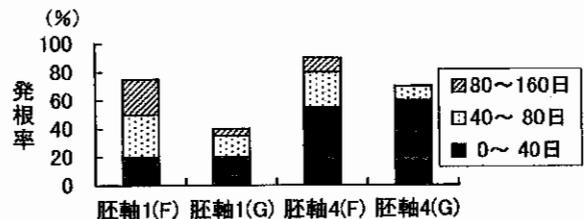


図-5 支持体の違いによる胚軸由来クローンのシュート発根率  
(F), フロリアライト; (G), ゲランガム  
各試験区, n=20

#### V 謝 辞

ハナノキの枝を提供していただいた岐阜県恵那市の三宅鋸氏および, 発芽のための好条件で管理保存したハナノキの種子を快くお譲りいただいたザ・ヤマグチプランツマンズナーセリー代表の山口清重氏に厚く御礼申し上げます。

#### 引用文献

- 引田裕之 (1991) コナラの組織培養による種苗生産に関する研究. 茨城県林試研報19: 1-51
- 環境庁自然保護局野生生物課 (2000) 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物8植物 (維管束植物): 484
- 最新バイオテクノロジー全書編集委員会 (1989) 木本植物の増殖と育種. 269pp, 農業図書, 東京
- 酒谷昌孝 (1989) 組織培養によるハナノキ増殖の試み. 奈良県林試林業資料No. 4: 28-31
- 佐々木義則・正山征洋 (1988) 林木の組織培養に関する研究 (I) - クヌギ組織培養における個体差の発現 - . 日林九支研論NO.41: 63-64
- 田中正臣・石井克明 (1999) 培地支持体と炭素源の違いが発根培養におけるヒノキおよびクヌギのシュートに及ぼす影響について. 森林応用研究 8: 155-160

# アロザイム分析による岐阜県内のホオノキ集団の遺伝的変異

中島美幸・横井秀一

## Allozyme variation in *Magnolia obovata* populations in Gifu Prefecture

Miyuki NAKASHIMA and Shuichi YOKOI

岐阜県内に分布する9集団とそれらから遠く離れた鳥取県大山の1集団のホオノキを対象に、5酵素6遺伝子座を用いてアロザイム分析を行った。岐阜県の集団内に保有される遺伝的変異量は、 $H_e=0.027\sim 0.058$ であり、大山( $H_e=0.078$ )より小さかった。さらに、全集団の遺伝的変異量は、これまでに明らかにされてきた木本植物の平均値( $H_e=0.149$ )と比べて低かった。全集団間の遺伝分化は、 $F_{ST}=0.030$ であり、木本植物でまとめられている遺伝分化の程度( $G_{ST}=0.076$ )と比べて低かった。また、岐阜県の集団間の遺伝距離は $D=0.00001\sim 0.00046$ であったのに対し、岐阜県集団と大山集団との遺伝距離は $D=0.00014\sim 0.00024$ と小さく、ホオノキ集団間の遺伝距離は地理的距離の大きさを映していない。これらの結果から、岐阜県に分布するホオノキ集団の低い遺伝的多様性と遺伝分化が示された。

キーワード：ホオノキ, 岐阜県, アロザイム分析, 遺伝的変異

### I はじめに

ホオノキは、モクレン科に属する落葉広葉樹であり、日本の冷温帯から暖温帯にかけての山地に広く分布している。岐阜県では山地のほとんどで見られ、広葉樹林施業においては有用造林樹種の一つである。

アロザイムを用いて植物集団の遺伝的多様性を調べ

た研究は、数多く報告されている (Hamrick and Godt, 1989)。アロザイム解析は、酵素タンパク質のアミノ酸配列の違いを検出する方法である。ほとんどの酵素が共優性遺伝をし、各酵素の遺伝様式がはっきりしているため、自然集団の遺伝的多様性を評価することができる (津村, 2001)。

ホオノキでは、アロザイムを用いた近交弱勢に関する

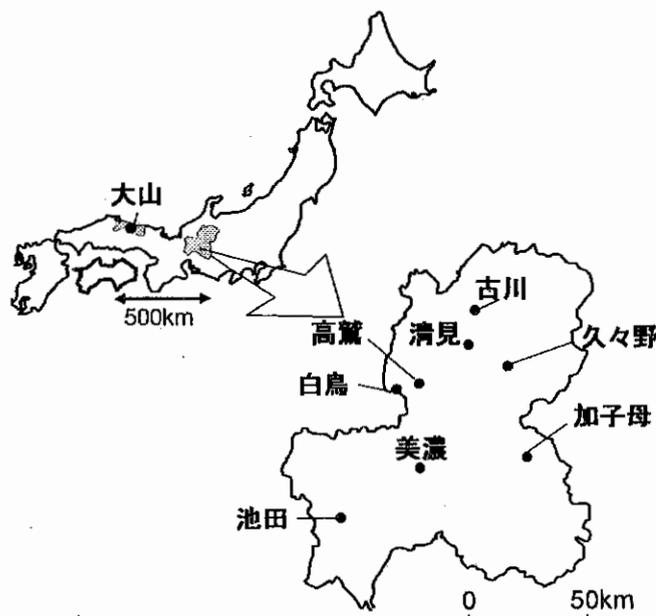


図-1 調査集団の位置

表-1 各集団で検出された推定遺伝子座数

集団	酵素名									合計
	AAP	DIA	FDH	EST	GOT	MNR	6PG	PGM	SOD	
荘川	0	1	1	1	2	0	2	0	1	8
高鷲	1	1	0	1	2	1	1	1	1	9
清見	1	1	0	1	2	1	1	0	1	9
久々野	1	1	0	1	2	1	1	0	1	9
古川	0	1	1	1	2	0	2	0	1	8
白鳥	1	1	0	1	2	1	1	1	1	9
美濃	0	1	0	1	2	1	2	0	1	8
加子母	0	1	1	1	2	0	2	0	1	8
池田	0	1	1	1	2	0	2	0	1	8
大山	0	1	1	1	2	0	2	0	1	8
全集団相同	0	1	0	1	2	0	1	0	1	6

る研究や(石田, 2001), マイクロサテライトマーカーを用いて繁殖特性を調べた研究(Isagi et al. 2000)が報告されているが, ホオノキ集団の遺伝的多様性について調べた報告はない。

岐阜県では, ホオノキの植栽が行われているため, 自然集団の遺伝データの集積は, 遺伝的な攪乱の可能性を考える上でも重要である。そこで本研究では, 岐阜県内に分布するホオノキ集団を対象として, アロザイム分析法を用いた集団遺伝学的解析を行った。

## II 材料と方法

### 1. 調査集団および材料の収集

調査集団は, 岐阜県内のホオノキ9集団(荘川, 清見, 古川, 久々野, 白鳥, 高鷲, 美濃, 池田, 加子母)と, 岐阜県から遠く離れた集団(約500km)として, 鳥取県から1集団(大山)の計10集団を選定した(図-1)。2000年~2003年にかけて, 各集団からサンプル木30個体を選定し, 酵素抽出材料として冬芽を採集した。採取した冬芽は解析に用いるまで-80℃で保存した。

### 2. アロザイム分析

各個体から採取した冬芽約50mgを液体窒素で凍結後, 乳鉢を用いてパウダー状になるまでよくすりつぶした。これに同量のポリビニルピロリドン(PVPP)を加えた後, 抽出バッファー(津村ら, 1990)1mlを加えてよく攪拌した。これを12000rpm, 4℃で10分間遠心し, 上澄み液を酵素抽出液として回収した。

アロザイム分析には, ポリアクリルアミドゲルを支持体とした垂直電気泳動法を用いた。酵素抽出液は, ポリアクリルアミドゲルに1レーンあたり10μlずつ注入し, 4℃, 15mA/cm<sup>2</sup>で120分間垂直電気泳動を行った。解析では, まず, 30酵素種についてスクリーニングを行い, 解析可能な遺伝子座を検出した。

### 3. データ解析

全集団において相同な遺伝子座から, POPGENE package version 1.31(Yeh et al., 1999)を用いて, 遺伝的変異の大きさを求めるため, 5つの遺伝的統計量(多型的遺伝子座の割合(P), 一遺伝子座あたりの対立遺伝子数(A), 有効対立遺伝子数(A<sub>e</sub>), ヘテロ接合度観察値(H<sub>o</sub>), ヘテロ接合度期待値(H<sub>e</sub>))を算出した。これらの値は, 集団内に保有される遺伝的変異の大きさを表し, 数値が高いほど遺伝的変異も大きいことを示す。

また, 集団の遺伝分化の程度を推定するために, F計量(F<sub>IS</sub>, F<sub>IT</sub>, F<sub>ST</sub>)を算出した。F<sub>IS</sub>とF<sub>IT</sub>はそれぞれ, 分集団内および全集団内で, 交配によって合

表-2 各集団に保有される遺伝的変異量

集団名	集団内の遺伝的変異				
	A	A <sub>e</sub>	P	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>
荘川	1.33	1.06	33.3	0.055	0.051
高鷲	1.50	1.08	50.0	0.067	0.058
清見	1.50	1.04	50.0	0.039	0.038
久々野	1.16	1.06	16.8	0.050	0.043
古川	1.33	1.03	33.3	0.028	0.027
白鳥	1.33	1.04	33.3	0.022	0.032
美濃	1.33	1.04	33.3	0.035	0.033
加子母	1.16	1.04	16.7	0.040	0.032
池田	1.50	1.08	33.3	0.034	0.033
大山	1.33	1.15	33.3	0.068	0.078
平均	1.35	1.06	33.3	0.044	0.043

A:一遺伝子座あたりの対立遺伝子数, A<sub>e</sub>:有効対立遺伝子数,  
P:多型的遺伝子座の割合, H<sub>o</sub>:ヘテロ接合度観察値  
H<sub>e</sub>:ヘテロ接合度期待値

表-3 4多型的遺伝子座におけるF統計量

遺伝子座	F統計量		
	F <sub>IS</sub>	F <sub>IT</sub>	F <sub>ST</sub>
Dia	-0.084	-0.027	0.053
Est	-0.053	-0.005	0.045
Got-1	-0.017	-0.002	0.015
6Pg	-0.118	-0.095	0.021
平均	-0.105	-0.072	0.030

表-4 集団間の遺伝距離D

	荘川	清見	久々野	古川	高鷲	白鳥	池田	加子母	美濃
清見	0.0022								
久々野	0.0041	0.0022							
古川	0.0046	0.0029	0.0001						
高鷲	0.0023	0.0005	0.0011	0.0017					
白鳥	0.0013	0.0006	0.0021	0.0026	0.0004				
池田	0.0017	0.0005	0.0012	0.0017	0.0000	0.0002			
加子母	0.0025	0.0012	0.0002	0.0005	0.0004	0.0010	0.0004		
美濃	0.0017	0.0006	0.0008	0.0012	0.0001	0.0004	0.0000	0.0002	
大山	0.0023	0.0021	0.0024	0.0024	0.0016	0.0016	0.0014	0.0016	0.0014

体する2個の配偶子の相関である。また、 $F_{ST}$ は各集団から任意にとられた2個の配偶子の相関であり、集団間の遺伝分化の尺度となる。

さらに、集団間の遺伝的な関係を推定するために、Nei (1978) の遺伝距離 $D$ を算出した。この値は集団間の遺伝的差異の大きさを表し、値が大きいほど集団が遺伝的にかけ離れていることを示す。

### III 結果と考察

#### 1. 集団内の遺伝的変異

スクリーニングした30酵素種のうち、集団全体で9酵素11遺伝子座において、鮮明なバンドが得られた(表-1)。しかし、解析可能な遺伝子座は集団によって異なり、全集団で相同な遺伝子座は5酵素6遺伝子座(*Dia*, *Est*, *Got-1*, *Got-2*, *6Pg*, *Sod*)であった。また、これらのうち4遺伝子座(*Dia*, *Est*, *Got-1*, *6Pg*)は、少なくとも1集団で多型が見られた。

5酵素6遺伝子座を用いて算出した集団内遺伝的変異を表-2に表した。一遺伝子座あたりの対立遺伝子数 $A$ および有効対立遺伝子数 $A_e$ の平均値はそれぞれ1.35(最小-最大, 以下同じ: 1.16-1.50)および1.06(1.03-1.15)であった。また、多型の遺伝子座の割合 $P$ は、平均で33.3(16.8-50.0)であった。さらに、ヘテロ接合度観察値 $H_o$ および期待値 $H_e$ の平均値はそれぞれ0.044(0.022-0.064)および0.043(0.027-0.078)であった。集団内変異の高さを集団間で比較すると、岐阜県内では、高鷲集団が最も高かった。また、大山集団は岐阜県内の集団に比べると、遺伝的変異が高かった。

一方、Hamrick and Godt (1989) によってまとめられている木本植物の遺伝的変異の平均値( $H_e=0.149$ )と比較すると、今回得られたホオノキ集団の遺伝的変異は非常に低かった。しかし、北米産ホオノキである *M. tripetala* の遺伝的変異( $H_e=0.062$ ; Qiu et al., 1994) とはほぼ同程度であった。

これらのことから、調査した10集団のホオノキ集団は木本植物としては低い遺伝的変異を有していることが考えられた。

#### 2. 集団間の遺伝的な関係

多型の遺伝子座(*Dia*, *Est*, *Got-1*, *6Pg*)における $F$ 統計量の平均値は、 $F_{IS}=-0.105$ ,  $F_{IT}=-0.072$ ,  $F_{ST}=0.030$ であった(表-3)。集団間の遺伝分化の程度を表す $F_{ST}$ は、Hamrick and Godt (1989) でまとめられている木本植物の遺伝分化の程度( $G_{ST}=0.076$ )と比べて低かった。

一方、集団間の遺伝距離 $D$ は最も離れたところで $D=0.00046$ (荘川-古川)であり、非常に小さかった(表-4)。また、岐阜県から地理的に大きく離れている大山集団とは、 $D=0.00014\sim 0.00024$ であり、岐阜県内の集団間の遺伝距離と大差なかった。このことから、ホオノキ集団間の遺伝距離は地理的距離の大きさをほとんど反映していないと思われた。

種レベルでの遺伝分化の程度を推定するには、分布域全体からのサンプリングが必要となる。ホオノキは日本全土に分布するが、今回は、岐阜県という限られた地域の集団の解析にとどまったため、正確な遺伝分化の程度を推定することはできなかった。しかし、岐阜県から約500km離れた大山集団との間に遺伝的な差異が見られなかったことは、ホオノキの低い遺伝分化を反映していると思われた。

### IV おわりに

本研究の結果、岐阜県に分布するホオノキ集団の低い遺伝的多様性と遺伝分化が示された。しかし、今回は解析遺伝子座数が少ないという問題点が残った。より高精度に遺伝的多様性を推定するためには、遺伝子座数を増やして解析を行う必要がある。

## V 引用文献

- Hamrick, J. L. and Godt, M. J. W. (1989) Allozyme diversity in plant species. In Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources. Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L., Weir, B. S. (ed.) Sinauer Associate Inc. Sunderland, Massachusetts, 43-63.
- Isagi, Y., Kanazashi, T., Suzuki, W., Tanaka, H., Abe, T. (2000) Microsatellite analysis of the regeneration process of *Magnolia obovata* Thunb. *Heredity* 84 : 143-151.
- 石田清 (2001) ホオノキが語る近交弱勢の謎. (森の分子生態学—遺伝子が語る森林のすがた. 種生物学会編. 319pp. 文一総合出版. 東京). 39-58.
- Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89 : 583-590.
- Qiu, Y. L. and Parks C. R. (1994). Disparity of allozyme variation levels in three *Magnolia* (Magnoliaceae) species from the southwestern United States. *American Journal of Botany* 81: 1300-1308.
- 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. 筑波大演習林報告 6 : 63-95.
- 津村義彦. 2001. アロザイム実験法. (森の分子生態学—遺伝子が語る森林のすがた. 種生物学会編. 319pp. 文一総合出版. 東京). 183-219.
- Yeh, F. C., Yang, R., Boyle, T. (1999). POPGENE version 1.31. A joint project development by University of Albarta and Centre for International Forestry Research.

## シデコブシとタムシバの交雑および自家和合性

小枝 剛・中島美幸・坂井至通

### Crossing and self-compatibility between *Magnolia stellata* and *M. salicifolia*.

Tsuyoshi SAEDA, Miyuki NAKASHIMA, Yoshimichi SAKAI

モクレン科 (*Magnoliaceae*) 植物のシデコブシ (*M. stellata*) とタムシバ (*M. salicifolia*) 間で、異種交雑が起るかどうかが検討するため人工交雑を実施した。正逆どちらの交雑でも結実種子が得られた事から、シデコブシとタムシバ間で交雑可能である事が明らかになった。

また、シデコブシとタムシバそれぞれの自家和合性の有無について検討するため、人工自家授粉・他家受粉処理を行った。シデコブシとタムシバともに自家受粉で結実種子が得られた事から、ともに自家和合性である事が明らかになった。

キーワード：モクレン科, シデコブシ, タムシバ, 交雑, 自家和合性

#### I はじめに

日本には1属3節5種のモクレン科 (*Magnoliaceae*) 植物が分布し、このうちシデコブシ (*M. stellata*)、タムシバ (*M. salicifolia*)、コブシ (*M. kobus*) の3種はモクレン属 (*Magnolia*) コブシ節 (*Buergeria*) に属している (Nooteboom, 1985)。タムシバは本州、四国および九州、コブシは四国を除くほぼ日本全土にそれぞれ分布するのに対し、シデコブシは愛知県の渥美半島から岐阜県の東濃地域、中濃地域の一部、三重県四日市市にかけて周伊勢湾の丘陵地の限られた地域に分布する希少固有種である。3種の岐阜県内分布をみると、タムシバは暖温帯から冷温帯地域に広く分布し、シデコブシは東濃地域の砂礫層を中心に中濃地域まで分布している。また、コブシは岐阜県北部の冷温帯地域の一部に分布している (成瀬, 1982, 1983, 1984)。

東濃地域、中濃地域はシデコブシとタムシバの分布域が比較的近接している地域で、このような地域ではシデコブシとタムシバ間で異種交雑が起る可能性が考えられる。希少固有種のシデコブシ集団にタムシバの遺伝的形質が混入すると、純粋なシデコブシの維持・保全にも大きな影響を与える事になる。しかし実際にシデコブシとタムシバ間で異種交雑が起るかどうかが、まだ明らかにされていないため、交雑の可能性について検討した。

また、モクレン科植物は同一花内では雌ずいと雄ず

いの熟期が異なる雌性先熟型の開花特性を持ち、個花の開花では同調しない (Kikuzawa, 1990)。この機構によりホオノキ節 (*Rytidospermum*) のホオノキ (*M. obovata*) は同花受粉を行わないが、自家和合性である事が明らかにされている (石田, 1994)。そこでシデコブシとタムシバの自家和合性についても調査を行った。

#### II 材料及び方法

##### 1. 材料

シデコブシとタムシバ間の交雑は、シデコブシは当森林科学研究所 (北緯35° 33', 東経136° 55': 研究所内) 植木計2個体および恵那市飯地町 (北緯35° 25', 東経137° 23': 飯地町) の自生木計2個体、タムシバは清見村西ウレ (北緯36° 01', 東経137° 04': 西ウレ) の自生木計3個体を用いて行った。

自家和合性調査は、シデコブシは多治見市南姫 (北緯35° 20', 東経137° 03' 南姫) の自生木計22個体、タムシバは交雑に用いたのと同じ清見村西ウレの自生木計3個体を用いて行った。

交雑に用いた花粉は、研究所内シデコブシおよび飯地町シデコブシには兵庫県宝塚市にて採取したタムシバから、清見村タムシバには研究所内シデコブシから交雑時期にあわせて開花調整した花粉を用いた。

## 2. 方法

交雑は、研究所内シデコブシの計13花、飯地町シデコブシの計28花、そして清見村タムシバの計33花について実施した。交雑時に用いた花粉は、蕾が枝に付いたままの状態を枝切り口を保湿して冷蔵保存し、交雑実施日前に室温に置いて開花させる事により葯を開葯して花粉を調整した。

自家和合性では、自家受粉 (Self-pollination:SP)、他家受粉 (Cross-pollination:CP) の実施と同時に、雌ずいに同一花内の花粉が受粉する同花受粉 (Same flower-pollination:SFP) が起きるかどうか検討するため、SFPの試験区は他の花の花粉を受粉しないよう開花期間中袋がけ処理を行った。南姫シデコブシではSFPは20個体計31花、SPは13個体計37花そしてCPは10個体計37花に、清見村タムシバではSFPは3個体計18花、SPは2個体計12花そしてCPは2個体計17花について実施した。受粉に用いた花粉は、受粉当日に現地で開花していた花から調整した。

交雑および自家和合性の検討のいずれも、4月に開花直前の蕾について除雄処理後、他花粉が受粉するのを防ぐために袋がけを行った。その1日または2日後の、交雑または受粉処理実施後にも袋がけを行い、開花期間終了後に袋を取り外した。9月に結実した集合果について種子落下及び鳥害を防ぐため再び袋がけを実施し、10月に成熟した集合果を袋ごと回収した。

## 3. 調査

集合果形態および種子形質について調査し、カビ・虫食いが激しい集合果は調査から除いた。

### 3-1 集合果形態

集合果の長さ、幅および重量とともに、集合果に生じる曲りや反りを相対的に示す指標として、集合果の基部から果頂部へ向けての曲り 't' が  $t=0^\circ$  の場合は "0",  $0^\circ < t \leq 45^\circ$  は "1",  $45^\circ < t \leq 90^\circ$  は "2" そして  $90^\circ < t$  は "3" とする『曲度』を設定し、調査を行った (図-1)。

### 3-2 種子形質

モクレン科植物の集合果は約30~40の袋果で構成されており、1個の袋果の中には0~2個の種子を有するとされている (石田, 1994)。これは袋果が植物学的には2個の胚珠を持つ心皮が発達して出来たものであるからで、そこで (全袋果数 $\times$ 2) より1集合果に出来る最多種子数である『理論上全種子数』を求めた。

種子を1粒または2粒含む袋果をそれぞれ1粒袋果、

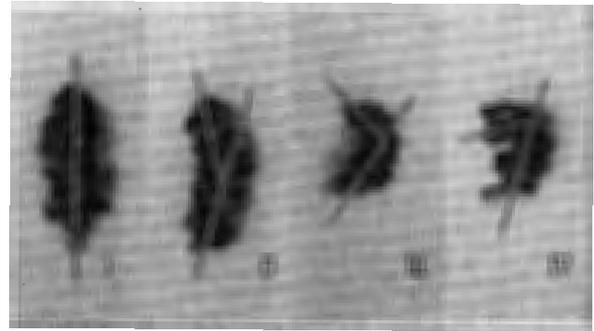


図-1 集合果の曲り 't' と『曲度』

- I :  $t=0^\circ$  の場合 "0"
- II :  $0^\circ < t \leq 45^\circ$  の場合 "1"
- III :  $45^\circ < t \leq 90^\circ$  の場合 "2"
- IV :  $90^\circ < t$  の場合 "3"

2粒袋果と呼ぶ事にし、種子形質として1集合果あたりの1粒袋果に含まれる種子数、2粒袋果に含まれる種子数および全種子数、1粒袋果数、2粒袋果数および全袋果数、1粒袋果の種子重、2粒袋果の種子重および全種子重について調査するとともに、(全種子数)/(理論上全種子数)より「種子形成率」を、(2粒袋果数)/(成熟袋果数)より「2粒袋果率」を求めた。これらの値は処理区別に個体毎および全体の平均値および標準誤差としてまとめた。

## III 結果及び考察

### 1. シデコブシとタムシバ間の交雑

飯地町シデコブシは全て未熟落果したが、研究所内シデコブシは全体で39%、清見村タムシバは61%が集合果として結実した。飯地町シデコブシが全て未熟落果したのは、交雑実施が研究所シデコブシは4月11日、飯地町シデコブシは4月17日で飯地町の方が約一週間遅かったため、飯地町シデコブシの交雑時には花粉親に用いた宝塚タムシバが冷蔵による維持可能期間を過ぎ、花粉が受精能を喪失してしまっていたからと推定される。清見村タムシバでは、交雑を実施した全3個体中1個体で集合果を得る事は出来なかったが、これは同時に実施した個体で結実が確認できている事から、用いた研究所内シデコブシ花粉の受精能に支障はなく、実施数が他個体の12花と18花に対し3花と少なかった事が影響したと考えられる (表-1)。

得られた集合果の形態を図-2に示した。正逆どちらの組み合わせの集合果も、果実長が短くねじ曲がったモクレン科植物特有の集合果形態を示した。

宝塚タムシバ $\times$ 研究所内シデコブシ (以下、交雑研究所シデコブシ) では、個体No. 2が1集合果しか得られず、個体No. 1と単純に比較するしかなかったが

表-1 交雑実施数および結実集合果数

(♂) × (♀)	個体No.	交雑 実施数	結実 集合果数	結実率 (%)
研究所内 タムシバ × シデコブシ	No. 1	10	4	40.0
	No. 2	3	1	33.3
	total	13	5	38.5
恵那市飯地町 タムシバ × シデコブシ	No. 3	20	0	0
	No. 4	22	0	0
	total	42	0	0
清見村 シデコブシ × タムシバ	No. 1	12	9	75.0
	No. 2	3	0	0
	No. 3	18	11	61.1
	total	33	20	60.6

集合果形態に差は見られなかった。研究所内シデコブシ × 清見村タムシバ（以下、交雑清見村タムシバ）では、個体No. 1と個体No. 3間で果実長および果実重に有意差が見られ（ともに $P < 0.001$ ）、個体No. 1の集合果は個体No. 3に比べ長く重くなった。果実幅および曲度には有意差は見られなかった（ $0.1 < P < 0.2$ 、および $0.2 < P < 0.3$ ）（表-2）。

1集合果あたりの全種子数は、交雑研究所シデコブシが4.6粒で交雑清見村タムシバが13.1粒、そして種子形成率は交雑研究所シデコブシが5.8%で交雑清見

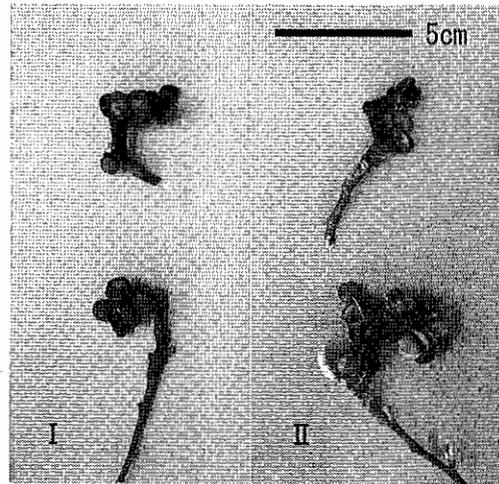


図-2 交雑処理により得た集合果

- I : タムシバ × 研究所シデコブシ 個体No. 1  
II : シデコブシ × 清見村タムシバ 個体No. 3

村タムシバが23.1%であった。交雑研究所シデコブシでは個体No. 2が1集合果しか得られず、個体No. 1と単純に比較するしかなかったが、個体間で成熟種子数および種子形成率に差はないのに対し、交雑清見村タムシバでは個体No. 1とNo. 3間で全種子数は29.5粒と3.3粒、そして種子形成率は53.8%と4.7%で、と

表-2 交雑処理 集合果形態調査結果

	タムシバ × 研究所シデコブシ			シデコブシ × 清見村タムシバ		
	No. 1	No. 2	Total	No. 1	No. 3	Total
調査数	4	1	5	6	10	16
果実長 (mm)	31.0	38.0	32.5 ± 3.11	51.9 <sup>a</sup>	32.2 <sup>a</sup>	39.6 ± 3.01
果実幅 (mm)	17.8	22.6	18.7 ± 3.31	20.0 <sup>b</sup>	16.8 <sup>b</sup>	18.0 ± 0.99
果実重 (g)	1.8	1.6	1.7 ± 0.61	4.0 <sup>d</sup>	0.9 <sup>d</sup>	2.1 ± 0.42
曲度	2.0	2.0	2.0 ± 0.61	1.0 <sup>e</sup>	1.6 <sup>e</sup>	1.4 ± 0.24

数値は個体No. については(平均値)を、Totalでは(平均値) ± (標準誤差)を示す

数値右肩アルファベット：小文字と大文字の組は $P < 0.05$ で有意差がある事を示す

小文字どうしの組は $P \geq 0.05$ で有意差は見られない

表-3 交雑処理 種子形質調査結果

	タムシバ × 研究所シデコブシ			シデコブシ × 清見村タムシバ		
	No. 1	No. 2	Total	No. 1	No. 3	Total
調査数	4	1	5	6	10	16
全種子数	4.5	5.0	4.6 ± 1.40	29.5 <sup>a</sup>	3.3 <sup>a</sup>	13.1 ± 3.58
種子形成率 (%)	5.8	5.8	5.8 ± 1.42	53.8 <sup>b</sup>	4.7 <sup>b</sup>	23.1 ± 6.37
2粒袋果数	0.0	0.0	0.0	10.5 <sup>d</sup>	0.4 <sup>d</sup>	4.2 ± 1.43
2粒袋果率 (%)	0.0	0.0	0.0	52.8 <sup>e</sup>	10.0 <sup>e</sup>	26.0 ± 7.13

数値は個体No. については(平均値)を、Totalでは(平均値) ± (標準誤差)を示す

数値右肩アルファベット：小文字と大文字の組は $P < 0.05$ で有意差がある事を示す

小文字どうしの組は $P \geq 0.05$ で有意差は見られない

表-4 受粉処理実施数および結実集合果数

	シデコブシ			タムシバ		
	供試 個体数	実施数	結実数 (結実率)	供試 個体数	実施数	結実数 (結実率)
同花受粉(SFP)	20	31	0(0)	3	18	0(0)
自家受粉(SP)	13	37	27(72.9)	2	12	8(66.7)
他家受粉(CP)	10	37	34(91.9)	2	17	9(52.9)

もに有意差が見られた(ともに $P < 0.001$ ) (表-3)。

交雑研究所シデコブシでは、袋果は全て1粒袋果で2粒袋果は見られなかった。交雑清見村タムシバでは2粒袋果が見られたが、個体No. 1とNo. 3の2粒袋果数は10.5と0.4、そして2粒袋果率は52.8%と10.0%で、ともに有意差が見られた( $P < 0.001$ , および $0.001 < P < 0.01$ ) (表-3)。

以上の結果より、シデコブシとタムシバ間では交雑が可能である事が明らかになった。

また、交雑清見村タムシバでは得られた種子数や種子形成率に個体間で差が見られた事から、タムシバのシデコブシ花粉による異種交雑では種子結実に個体間差があると考えられた。

## 2. シデコブシとタムシバの自家和合性

SPとCPではシデコブシで73%と92%、タムシバでは67%と53%の集合果が結実した。SPで集合果が結実し種子が得られた事からシデコブシとタムシバは自家和合性であると認められた。また、SFPはシデコブシとタムシバともに全て未熟落果した。モクレン科植物は雌性先熟型の開花をする事からホオノキの報告と同様に、これが今回SFPが全て未熟落果した原因の一つであり、同花受粉を防ぐ機構として機能していると考えられる(表-4)。

集合果の形態は、シデコブシとタムシバともにSPでは曲がった形態のものが、CPではまっすぐな形態を示すものが多く見られた(図-3)。

シデコブシとタムシバともに、SPとCP間の果実長で有意差(ともに $P < 0.001$ )が見られ、CPではSPに比べ集合果は長くなった。シデコブシでは果実幅、果実重および曲度でSPとCP間に有意差が見られ(全て $P < 0.001$ )、シデコブシのCPの集合果はSPの集合果に比べ幅広で重く、まっすぐな形態を示した。タムシバでは果実重および曲度でSPとCP間に有意差が見られた(ともに $P < 0.001$ )が、果実幅には有意差が見られなかった( $0.1 < P < 0.2$ )。曲度はシデコブシとタムシバのどちらもSPにおいて集合果の曲りが大きくなった(表-5)。

受粉処理により得られた1集合果あたりの全種子数

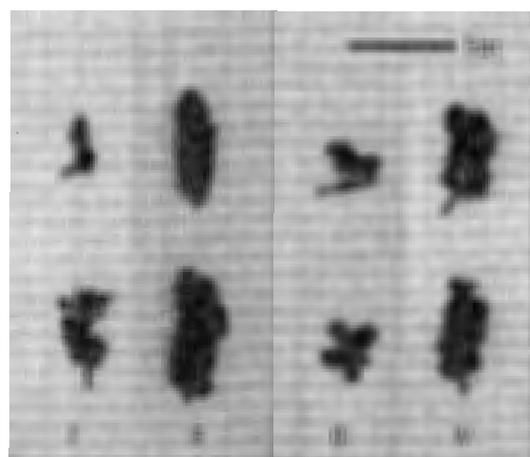


図-3 受粉処理により得た集合果

- I : シデコブシ 個体No.11 自家受粉 (SP)
- II : シデコブシ 個体No.16 他家受粉 (CP)
- III : タムシバ 個体No. 1 自家受粉 (SP)
- IV : タムシバ 個体No. 1 他家受粉 (CP)

は、シデコブシでSPが11.4粒に対しCPが43.7粒、タムシバでSPが6.2粒に対しCPが27.9粒で、ともにSPの全種子数はCPの約1/4と少なくなった。そのため種子形成率もシデコブシでSPが17%に対しCPが59%、タムシバでSPが14%に対しCPが53%とCPがSPに比べ高く(表-6)、シデコブシとタムシバともに全種子数および種子形成率に有意差が見られた(二形質とも $P < 0.001$ )。これらは自家受精時と他家受精時における種子の結実数の違いを示すと考えられる。

1集合果あたりの2粒袋果数は、シデコブシではSPで1.9に対しCPは15.8、タムシバではSPは0.5に対しCPは7.5とCPがSPに比べ高く(表-6)、シデコブシとタムシバともに有意差が見られた(ともに $P < 0.001$ )。成熟袋果に占める2粒袋果率も同様に、シデコブシではSPで15%に対しCPで53%、タムシバではSPは10%に対しCPは38%とSPに比べCPが高く(表-6)、シデコブシとタムシバともに有意差が見られた( $P < 0.001$ および $0.001 < P < 0.01$ )。このように他家受精時には自家受精時に比べ、2粒袋果数および2粒袋果率はシデコブシとタムシバともに大きく上昇する事から、結実種子の効率的な獲得には他家受粉が有用であると考えられる。

表-5 受粉処理 集合果形態調査結果

	シデコブシ		タムシバ	
	自家受粉	他家受粉	自家受粉	他家受粉
調査数	27	34	6	8
果実長 (mm)	38.4±1.90 <sup>a</sup>	60.4±1.61 <sup>A</sup>	29.7±2.33 <sup>1</sup>	51.8±1.50 <sup>F</sup>
果実幅 (mm)	15.9±0.66 <sup>b</sup>	18.8±0.39 <sup>B</sup>	17.0±1.07 <sup>2</sup>	18.9±0.92 <sup>a</sup>
果実重 (g)	1.6±0.19 <sup>d</sup>	4.2±0.24 <sup>D</sup>	1.2±0.12 <sup>h</sup>	3.5±0.15 <sup>H</sup>
曲度	1.5±0.20 <sup>e</sup>	0.4±0.09 <sup>E</sup>	2.5±0.34 <sup>1</sup>	0.8±0.16 <sup>L</sup>

数値は(平均値)±(標準誤差)を示す

数値右肩アルファベット: 小文字と大文字の組はP<0.05で有意差がある事を示す  
小文字どうしの組はP≥0.05で有意差が見られない

表-6 受粉処理 種子形質調査結果

	シデコブシ		タムシバ	
	自家受粉	他家受粉	自家受粉	他家受粉
調査数	27	32	6	8
全種子数	11.4±2.04 <sup>a</sup>	43.7±3.08 <sup>A</sup>	6.2±0.93 <sup>1</sup>	27.0±1.71 <sup>F</sup>
種子形成率 (%)	16.7±3.14 <sup>b</sup>	59.3±4.04 <sup>B</sup>	14.1±1.94 <sup>a</sup>	52.6±3.45 <sup>D</sup>
2粒袋果数	1.9±0.66 <sup>d</sup>	15.8±1.65 <sup>D</sup>	0.5±0.20 <sup>h</sup>	7.5±1.02 <sup>H</sup>
2粒袋果率 (%)	14.9±4.52 <sup>e</sup>	52.9±4.02 <sup>E</sup>	10.0±4.56 <sup>1</sup>	37.8±4.15 <sup>L</sup>
一種子重 (mg)	78.3	57.0	105.9	83.0
1粒袋果種子重(mg)	79.4	64.2	94.9	90.8
2粒袋果種子重(mg)	61.1	53.9	86.2	75.5

数値は(平均値)±(標準誤差)を、種子重では(平均値)を示す

数値右肩アルファベット: 小文字と大文字の組はP<0.05で有意差がある事を示す  
小文字どうしの組はP≥0.05で有意差が見られない

種子重は、シデコブシとタムシバともにCPにより得られた種子が、SPにより得られた種子よりも軽くなった。これは1粒袋果と2粒袋果から得られたそれぞれの種子重についても同様であった(表-6)。これは、CPの集合果はSPの集合果より結実種子(成熟袋果)数が多く、種子間で種子形成に用いられる資源(光合成産物や栄養塩類)の競合が起こり、資源量がSPの集合果より少なくなるためと考えられる。シデコブシとタムシバのSPまたはCPにより得られた種子は、ともに2粒袋果の種子重が1粒袋果の種子重より軽く(表-6)、これは先の競合による資源量の減少とともに、袋果(シンク)により種子サイズが制限される事が原因と考えられる。

シデコブシについて集合果形態と種子形質を個体毎にまとめて比較したところ、数値のばらつきは種子形質で大きく、SPとCPともにばらついた事から(図-4, 5)、シデコブシの種子結実性には個体間差がある事が示唆された。

タムシバについては、SPとCPともに調査に用いた2個体中1個体の集合果のカビ・虫食いが激しく調査から除いたため、個体間差について同様の検討は行えなかった。

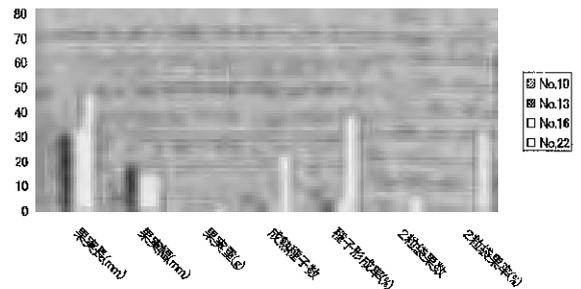


図-4 南姫シデコブシSP集合果 個体間平均

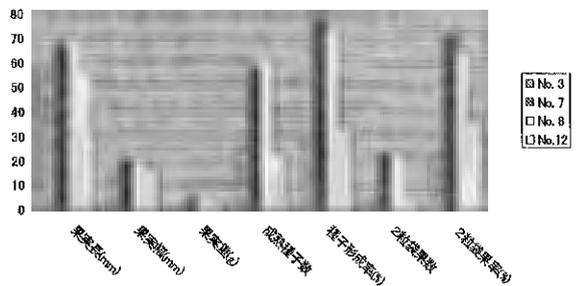


図-5 南姫シデコブシCP集合果 個体間平均

#### IV まとめ

本調査より、シデコブシとタムシバ間で交雑が可能である事を明らかにする事ができた。また、シデコブシとタムシバともに自家和合性であることが明らかになった。現在、シデコブシはレッドデータブックに絶滅危惧種Ⅱ類として記載されているように、絶滅の危機にさらされている(環境庁, 2000)。今後もコブシを含めた種間交雑, 多種遺伝子の伝播および近交弱勢による集団消滅などの調査研究を進め, 保護対策に向けた基礎資料を蓄積していく事が必要であると考えられる。

#### V 謝辞

シデコブシの調査では, 加藤仁氏(多治見市南姫事務所), 奥村宗氏(南姫財産区管理会), 市川廣利氏(恵那シデコブシ保存会)に, また, 兵庫県宝塚タムシバの採取では山口清重氏(ザ・ヤマグチプランツマンズナーセリー)に協力して頂いた。ここに記して謝意を表す。

#### 引用文献

- 石田清・長坂寿俊(1994) ホオノキの繁殖特性(I) - アイソザイムによる受粉特性の推定 - . 日林学会論集. 105 : 295-296
- 石田清・中村和子・田中京子(1996) 袋果内種子数によるキタコブシの自殖率推定の試み. 日林学会北海道論集. 44 : 107-109
- 環境庁(2000) レッドデータブック第2版. 維管束植物. 野生生物研究センター. 東京.
- KIKUZAWA, K. and MIZUI, N. (1990) Flowering phenology of *Magnolia hypoleuca*. Pl. Sp. Biol. 5 : 255-261
- 中島美幸・坂井至通(2002) シデコブシ花卉の形態に関する調査. 岐阜森林研研報. 31 : 13-16
- 中村和子・石田清・田中京子(1996) ホオノキの繁殖特性(IV) - 実生段階で発現する近交弱勢 - . 日林学会北海道論集. 44 : 104-106
- Nooteboom, H. P. (1985) Notes on Magnoliaceae - with a revision of *Pachylarnax* and *Elmerrilla* and the Malesian species of *Manglietia* and *Michelia*. Blumea 31 : 65-121

資料

# 豪雪地帯のスギ人工林に由来する 壮齡スギ・ミズナラ混交林の林分構造と成立過程

横井秀一・山口 清\*

キーワード：針広混交林, 人工林, スギ, 不成績造林地, ミズナラ

## I はじめに

本州日本海側の積雪地帯に存在する雪圧害によるスギ不成績造林地は、多くが植栽スギと侵入広葉樹とによる針広混交状態になっている（小谷, 1990; 前田, 1992; 横井・山口, 1992; 横井・山口, 1998）。これらはスギ・広葉樹混交林として育成することが望ましい（赤井ら, 1990; 小谷, 1990; 石塚・宇都木, 1995; 前田, 1992; 横井・山口, 1992; 横井・山口, 1998）と考えられており、そのための指針（横井・山口, 2000b）も提案されている。ただ、いずれの報告も保育対象そのものである現存の不成績造林地の林型からの類推によるものであり、それらの将来の姿あるいは目標林型として、より高齡のスギ・広葉樹混交林の具体例を示してのものではない。ここで、林齡の高いスギ・広葉樹混交林、できればスギ不成績造林地に由来する混交林が実在し、その林分構造や成立過程が示されれば、現在考えられている不成績造林地の目標や取り扱い方針の妥当性が検証でき、その混交林は不成績造林地の将来像として説得力のある存在になるであろう。

豪雪で知られる岐阜県白川村に、樹高が25mに達する植栽起源のスギにミズナラをはじめとする広葉樹が混交するスギ・広葉樹混交林がある。この混交林が今でいうスギ不成績造林地に由来して成立した可能性が高いと考え、その成立過程と林分構造とを調査した。

## II 調査地と方法

調査地は、岐阜県大野郡白川村牛首のスギ・落葉広葉樹混交林である（図-1）。牛首地区は、岐阜県北西部の庄川上流域に位置する白川村の北東部にあり、その東側は富山県利賀村と接している。調査地の最深積雪深は、約2.5mである。

調査は、1993年5月に混交林内のスギと広葉樹の双

方が健全に生育し、その形質も良い箇所に設置した2つのプロットで行った。プロットIは、山腹中部の複合斜面に位置し、海拔は1050m、斜面方位は西南西、傾斜は32度である。プロットIIは、山腹下部の平衡斜面上にあり、海拔は1000m、斜面方位は南西、傾斜は26度である。両プロットとも土壌型はB<sub>0</sub>(d)型である。

プロットは半径8mの円形に設定した。プロット内の胸高直径5cm以上の立木を対象に、樹種、胸高直径、樹高、枝下高、根元曲がり、幹の形状について毎木調査を行った。根元曲がりは、スギについては根元曲がりの鉛直高と水平長を、広葉樹については傾幹幅を測定した（図-2）。幹の形状は、根元曲がりの部分を除いた樹幹下部の通直性を目視により「通直（ほとん

国土院承認 平14根第 第149号

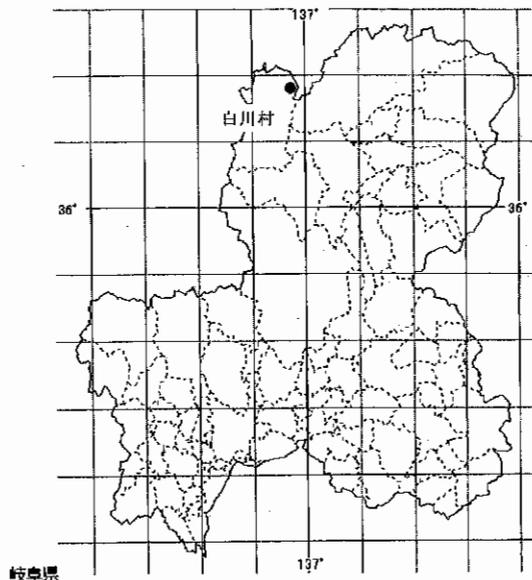


図-1 調査地の位置

本図は「白地図KenMap」の地図画像を編集したものである。

\*元：岐阜県寒冷地林業試験場

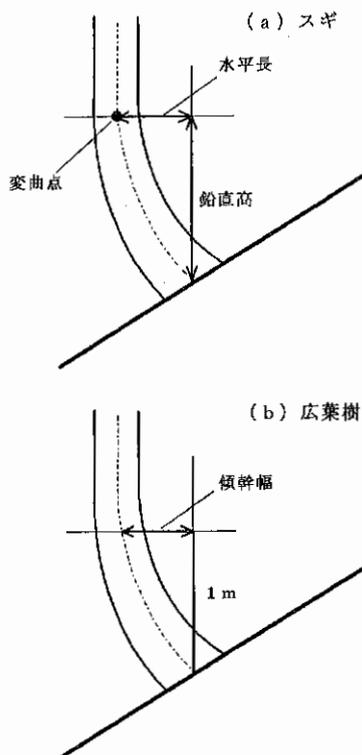


図-2 根元曲がりの測定方法

ど曲がりがないもの)、「曲がり小(矢高で10cm程度以下の小さい曲がりがあるもの)」、「曲がり中(曲がり小と大の間)」、「曲がり大(原木市場に出せないほどの大きな曲がりがあるもの)」に区分した。

毎木調査後、それぞれのプロットの周辺で樹幹解析用の試料木を伐倒した。伐倒木は、プロットI周辺ではスギ2本とミズナラ2本、プロットII周辺ではスギ2本とミズナラ、ブナ、ハリギリ、ホオノキを各1本とした。これらは、プロットI周辺のスギの1本が劣勢木であった以外は、いずれも優勢木である。伐倒木は幹に沿って地上高0.2mから2mごとに切断し、各断面の年輪数を数え、残った梢端部の長さを測定した。

### III 結果

#### 1. 樹高成長過程

プロット周辺の林木の樹高成長過程を図-3に示す。スギの樹齢は、どちらのプロットにおいてもそれぞれ同齢で、プロットI周辺では56年、プロットII周辺では58年であった。両プロット周辺とも、樹高の高いスギは当初からミズナラや他の広葉樹より高い樹高を保ちながら、ほぼ直線的に樹高成長をしていた。プロットI周辺の成長の悪いスギは、当初から樹高成長曲線の傾きが緩く、その傾きは45年ほど前にさらに緩くなっ

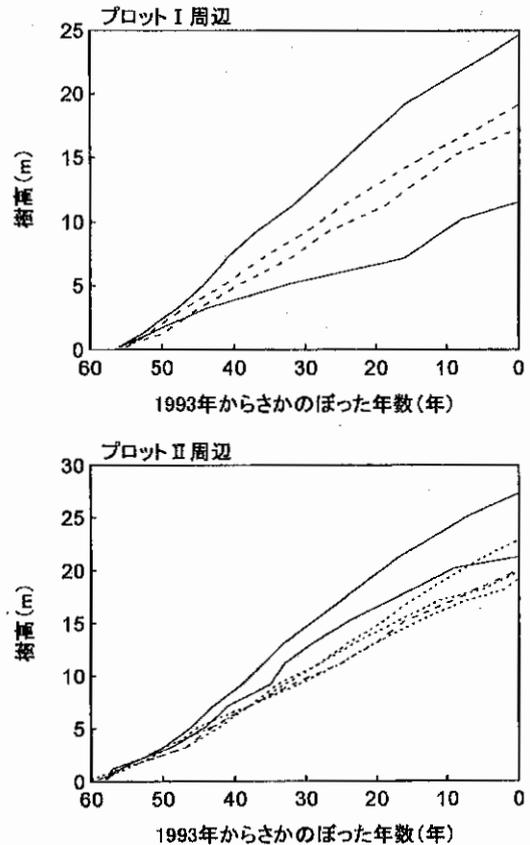


図-3 樹高成長過程

実線はスギ、破線はミズナラ、点線はその他の広葉樹を示す。

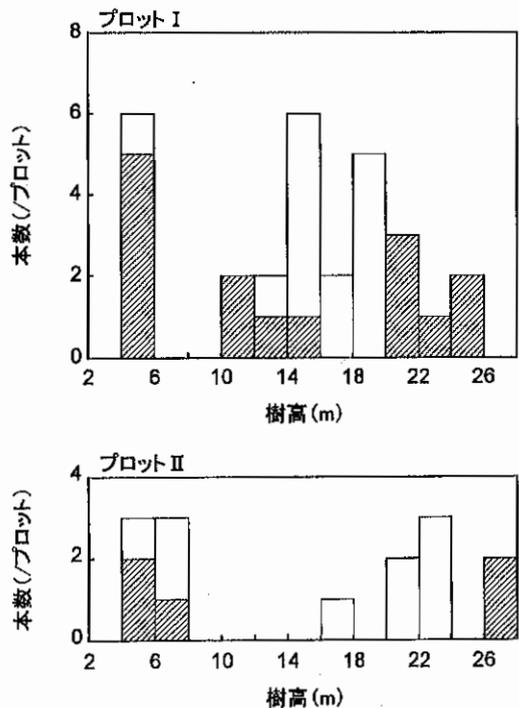


図-4 樹高階分布

斜線はスギ、白抜きは広葉樹を示す。

ていた。一方、プロットII周辺の成長の悪い方のスギは30数年前から徐々に樹高成長が悪くなっていた。一方、広葉樹は樹齢がスギとほぼ同じで、その樹高成長過程は直線的であった。

## 2. 林分構造

胸高直径5cm以上の立木は、プロットIにはスギ15本と広葉樹15本があり、広葉樹は全てミズナラであった。同じくプロットIIには、スギ5本と広葉樹9本があり、広葉樹はミズナラの他にブナ、ウワミズザクラ、ハウチワカエデが1本ずつ出現した。

樹高階分布を図-4に示す。プロットIの樹高階は、樹高10~26mのクラスと樹高4~6mのクラス(下層とする)とに大きく分かれた。上のクラスでは、最上部にスギ、その下の樹高16~20mにミズナラ(ここまてを上層とする)、さらにその下の樹高10~16m(中層とする)にスギとミズナラが分布した。プロットIIは、樹高16~28mのやや不連続なクラス(上層とする)と樹高4~8mのクラス(下層とする)とに大きく分かれた。上層では最上部にスギ、その下にミズナラが分布した。プロットIIの下層の広葉樹はミズナラ以外の樹種、上層の広葉樹は全てがミズナラであった。

図-5は、胸高直径階分布である。プロットIではスギ、ミズナラともに連続した胸高直径階分布を示した。また、両樹種ともやや2山型の分布傾向を示した。最大の胸高直径を持つものはスギであった。これに対し、プロットIIの胸高直径階分布は直径20~50cmのクラスと直径5~15cmのクラスとに大きく分かれた。プロットIIではミズナラが最大の胸高直径を持っていた。

下層木を除いて集計した林分の概要を表-1に示す。

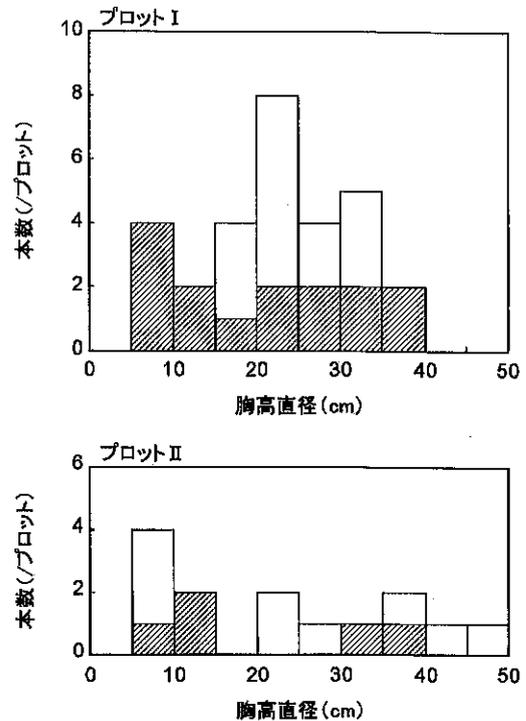


図-5 胸高直径階分布  
斜線はスギ、白抜きは広葉樹を示す。

プロットIの立木本数は、中層木を除いてもプロットIIの1.7倍と高かった。プロットIにおけるスギの比率は、本数で43%、胸高断面積合計で50%、材積では56%であった。プロットIIのスギは、本数で25%、胸高断面積合計で26%、材積で31%を占めていた。

表-2は、根元曲がりの大きさと幹の形状である。スギの根元曲がり、ミズナラの傾幹幅ともにプロットIよりプロットIIの方が小さかった。プロットIにお

表-1 調査林分の概要<sup>1)</sup>

プロット	樹種	立木本数 (本/ha)	平均胸高直径 (cm)	平均樹高 (m)	平均枝下高 (m)	胸高断面積合計 (m <sup>2</sup> /ha)	材積 (m <sup>3</sup> /ha)
I	スギ上層木 <sup>2)</sup>	352	31.4	22.5	7.2	28.3	299.7
	スギ中層木 <sup>3)</sup>	235	20.6	12.1	4.6	8.3	51.4
	ミズナラ上層木 <sup>4)</sup>	411	24.7	18.4	7.6	20.3	172.2
	ミズナラ中層木 <sup>5)</sup>	352	24.1	14.1	7.2	16.6	106.1
	合計	1350				73.5	629.4
II	スギ	111	34.8	27.0	7.0	10.6	133.4
	ミズナラ	332	32.4	21.7	5.8	30.2	297.4
	合計	443				40.8	430.8

- 1) 樹高10m以上の個体の集計である。
- 2) 樹高20~26m。
- 3) 樹高10~16m。
- 4) 樹高16~20m。
- 5) 樹高12~16m。

表-2 根元曲がりの大きさと幹の形状<sup>1)</sup>

プロット	樹種	根元曲がり鉛直高 <sup>6)</sup> (cm)	根元曲がり水平長 <sup>6)</sup> (cm)	傾幹幅 <sup>6)</sup> (cm)	幹の形状(%)			
					通直	曲がり小	曲がり中	曲がり大
I	スギ上層木 <sup>2)</sup>	130	37	—	0	100	0	0
	スギ中層木 <sup>3)</sup>	130	60	—	0	25	75	0
	ミズナラ上層木 <sup>4)</sup>	—	—	63	0	43	43	14
	ミズナラ中層木 <sup>5)</sup>	—	—	90	0	20	0	80
II	スギ	115	15	—	50	50	0	0
	ミズナラ	—	—	48	50	33	17	0

1) 樹高10m以上の個体の集計である。

2) 樹高20~26m。

3) 樹高10~16m。

4) 樹高16~20m。

5) 樹高12~16m。

6) 平均値で示す。

けるスギの根元曲がりは、鉛直高は上層木と中層木とで等しかったが、水平長は中層木が大きかった。幹の形状では、プロットIのスギは、上層木では全てが「曲がり小」で、中層木では「曲がり中」のものが多かった。プロットIのミズナラは、上層木では「曲がり小」か「曲がり中」、中層木では「曲がり大」が多かった。プロットIIにおいては、スギの全てとミズナラの大半が「通直」か「曲がり小」であった。両プロットともに、スギには「曲がり大」はみられなかった。

#### IV 考 察

##### 1. 混交林の成立過程とスギの階層分化

それぞれのプロットの周辺でスギと広葉樹とがほぼ同齢であった(図-3)ことは、この混交林が前生の林分(おそらく広葉樹林)が皆伐された後に成立した森林であることを示している。また、広葉樹がスギと同時に樹高成長を始めている(図-3)ことから、スギの植栽後に下刈りが行われなかったことが推測できる。一方、最深積雪深2.5mはスギ人工林が健全に成立する限界を超えており(横井・山口, 2000a), 実際に、現存するスギ、特に劣勢なスギには大きな根元曲がりが認められた(表-2)。これらのことから、この混交林は植栽されたスギの一部が雪圧害や広葉樹からの被圧によって消失し混交林化したもの、すなわち不成績造林地に由来するものであると考えることができる。

樹高階分布では、スギが下層木とそうでないものに明確に分かれた(図-4)。小野寺(1990)は豪雪地帯のスギ人工林が二段林型になることが多いと述べ、横井・山口(2000)は15~31年生の範囲で林齢の高いスギ不成績造林地にスギの二段林化の傾向がうかがえ

ると報告している。この混交林のスギも、豪雪地帯のスギ造林地の特徴を有しているといえる。

プロットIでは、スギがさらに上層木と中層木に分かれた(図-4)。プロットI周辺のスギ中層木が樹高成長を続けながらも途中から成長速度が低下した(図-3)ことやスギ上層木と中層木の間の高さに広葉樹が存在する(図-4)ことから、この2層分化は広葉樹を交えた競争によって生じたものであると考えられる。スギの梢端よりミズナラの枝端が相対的に高い位置にあると、ミズナラの枝は段階的に次々にスギの上部を覆っていきスギを被圧する(今永ら, 1981)。その結果、水平方向に広がるミズナラの樹冠を間にはさんで、樹高成長が勝ったスギと劣ったスギとが2分されたのであろう。

##### 2. 蓄積と林木の形質

まず、スギやミズナラに関する数値(表-1)を、岐阜県の多雪地帯におけるスギ林分材積表(岐阜県林政部, 1983)や岐阜県の広葉樹林分収穫表(岐阜県林政部, 1992)と比較する。

スギ上層木の平均樹高は、プロットIが地位級3、プロットIIが地位級2に相当した(岐阜県のスギ人工林の地位級は1(最高)~5(最低)に区分されている)。一方のミズナラ上層木の樹高は、プロットIは標準的な上層樹高曲線上にほぼ位置し、プロットIIはそれよりも樹高が高かった。これらのことから、林地生産力はプロットIが普通、プロットIIがやや高いといえる。

スギ上層木の樹冠は、プロット以外の部分でも周囲の広葉樹に対して突出していた(調査時の観察による)。不成績造林地ではスギの樹高成長が不良である(横井・山口, 1998)ことが指摘されているが、この混交林の

スギ上層木にはその傾向はうかがえない。このことは、植栽されたスギの多くが生育不良になったり消失したりする不成績造林地であっても、初期から樹高成長の良好なスギが存在すれば、それらは混交する広葉樹に被圧されることなく主林木にまで成長できることを示している。

スギの胸高断面積合計と材積は、どちらのプロットもそれぞれに相当するスギ材積表の数値より小さかった。これは、スギの立木本数が少ないことによるもので、胸高直径成長が材積表に劣るわけではなかった。ミズナラの材積は両プロットとも、材積曲線から読み取った60年生の材積214m<sup>3</sup>より大きかった。また、スギとミズナラを合計した胸高断面積合計と材積は、プロットⅠではスギ材積表のそれらを上回った。調査面積が小さいことで胸高断面積合計や材積が過大に見積もられていることを考慮しても、この混交林の材積は他に劣るものではないといえる。

次に、林木の形質(表-2)について検討する。プロットⅠにおいてスギ上層木はスギ中層木より根元曲がりや幹曲がり小さく、プロットⅡのスギ上層木はさらに形質が良かった。一方のミズナラもスギと同様、上層木が中層木より形質が優れていた。これらのことは、形質がより優れたスギやミズナラは同時に成長も良いということを示している。これは、根元曲がりの小さいスギは根元曲がりの大きいスギより樹高成長量が大きい(平, 1987)という若齢時における形質と成長の関係と、そのために生じた成長差に起因するものである。

「幹曲がり小」であれば幹の肥大成長に伴う歩止りの向上が期待できることから、スギ上層木やミズナラ上層木は大径木化することによって用材として利用可能になると考える。ミズナラは通常の広葉樹天然林においても林木の形質がばらつくことを考えると、両プロットにおける木材生産機能は十分に高いと評価できる。

### 3. 不成績造林地の目標林型としての位置づけと今後の課題

このスギ・ミズナラ混交林は、今でいうスギ不成績造林地に由来すると考えられ、上層木の成長や形質が良いことから、広葉樹が混交するスギ不成績造林地の目標林型として位置づけることができる。ただし、今回の調査が広がりのある森林の中のごく狭い良質な部分で行われたものであることは、きちんと認識しておく必要がある。また、広葉樹が混交する不成績造林地の樹種構成や質は多様であることから、この混交林が全ての不成績造林地の目標や将来像になるわけではな

いことにも注意する必要がある。

この混交林が56~58年前にスギが植栽された後、下刈りやその他の保育作業が行われなまま発達したと考えられることは、2つの点で示唆に富んでいる。1つは、根元曲がり比較的小さい健全なスギやミズナラなどの高木性広葉樹が生育する不成績造林地であれば、放置しても優良木が成長して良質な針広混交林が成立する可能性があるということである。もう1点は、形質に優れた個体を保育するための除伐や間伐が行われていたら、現存林分よりさらに質の高い混交林が成立した可能性があるということである。この点に関しては、初期にスギを保育するための下刈りや除伐がなされていたら、スギの比率やスギと広葉樹の配置が今とは異なったものになったということも考えられる。

不成績造林地の取り扱いを考える上で、その将来予測は重要である。今後、様々な状況の不成績造林地の将来像を示すために、不成績造林地に由来する高齢のスギ・広葉樹混交林やスギ林、広葉樹林を不良林分を含めて調査する必要がある。また、保育の必要性を判断したり保育効果を予測するためには、不成績造林地の発達の過程を継続して調査することや、除伐・間伐の効果についての検証が必要である。

## 謝 辞

本研究は農林水産省の地域重要新技術研究開発促進事業「積雪地帯における環境保全林特性の解明」の補助を受けて実施した。また、岐阜県森林科学研究所中川一所長からは、原稿に対して適切な助言をいただいた。ここに謝意を表する。

## 引用文献

- 赤井龍男・古野東州・真鍋逸平・上田晋之介(1990) 小雪地帯における階層混交した不成績人工林の構造と取り扱い方について. 京大演報62: 65-79.
- 岐阜県林政部(1983) スギ人工林材積表・林分収穫表. 93pp. 岐阜県林政部.
- 岐阜県林政部(1992) 広葉樹林分収穫表. 37pp. 岐阜県林政部.
- 石塚森吉・宇都木玄(1995) スギ不成績造林地における針広混交林化の実態. 日林関東支論47: 39-40.
- 小谷二郎(1990) 積雪地帯における広葉樹林造成・改良技術. 石川県林試研報21: 1-13.
- 前田雄一(1992) 鳥取県扇ノ山におけるスギ不成績地の現状と有用広葉樹の動態. 森林立地34: 43-49.
- 平英彰(1987) スギ根元曲りの形成機構と制御方法に

関する研究. 富山県林試研報12:1-80.  
横井秀一・山口清(1992) 雪害により不成績地化した  
スギ造林地の現況. 日林中支論40:63-64.  
横井秀一・山口清(1998) 積雪地帯のスギ不成績造林  
地におけるスギと広葉樹の生育実態. 森林立地40:  
91-96.

横井秀一・山口清(2000a) 積雪地帯におけるスギ人  
工林の成林に影響する立地要因. 日林誌82:15-  
19.  
横井秀一・山口清(2000b) 積雪地帯におけるスギ不  
成績造林地の取り扱い—スギと広葉樹の成長過程  
からみた施業案—. 森林立地42:1-7.

## 資料

# モクレン科植物 (シデコブシ, コブシ, タムシバ) の 葉組織を用いたDNA抽出法の検討

中島美幸・坂井至通

キーワード: シデコブシ, タムシバ, コブシ, DNA, CTAB法, 抽出キット

## I はじめに

植物種の分類方法として, 花, 葉, 花序, など種に特徴のある形質をマーカーとする形態分類がリンネの二名法以来用いられてきた (Dandy, 1978, Nootboom, 1985)。しかし, 近年, 種特異の遺伝子配列が, 各個体の形態的特徴のように環境の影響を受けないことや統計処理が容易であることなどの利点があるため, 従来の形態分類と比較しながら遺伝子系統分類が発展してきた (Johnson, et al., 1996, Manos and Steele, 1997, Nootboom, 2000)。モクレン科植物においても, 遺伝子 (以下DNA) の特異領域をマーカーに用いた研究が発達し, DNA系統分類 (Azuma et al., 1999, 2001, Kim et al., 2001) や集団遺伝学解析に (河原ら, 1995) 応用されてきている。

一般に, 植物のDNA抽出は, 液体窒素で凍結した材料を粉碎し, 抽出緩衝液中 (界面活性剤と還元剤と保護剤を含む) で細胞膜を破壊しながらDNAを溶出し, エタノールなどでDNAを特異的に析出させて単離するCTAB法が広く用いられている (Doyle and Doyle, 1990)。この方法は, モクレン科, バラ科, カエデ科などの木本植物の葉組織にも利用されたが, 多くの木本科植物にはDNAの単離を阻害するポリフェノールや多糖類が多く含まれるため (河原ら, 1995), DNA抽出が困難とされてきた。村上ら (1995) や Khanuja et al. (1999) によって, 木本科植物の効率的なDNA抽出法が検討されているが, 試験操作の簡便性や少材料からのDNA抽出などまだ改良すべき点も多く残されている。

近年, 植物や菌体, 動物などの様々な材料に対応したDNA抽出用の抽出キット (以下抽出キットという) が幾つか開発されてきており, これらの抽出キットはいずれも添付の試薬を使い, 指示されたプロトコールに従って操作すれば, 簡単に高純度でDNAを抽出できるという利点が記載されている。吉沢・大坪 (1997) は, 抽出キット (ISOPLANT, 日本ジーン社製) を用いた米一粒からのDNA抽出法を紹介してい

る。しかし, 抽出キットに添付された試薬類の組成について公開されておらず, 木本植物からのDNA抽出に対しては, それぞれの抽出キットをもちいて用いて適応性の比較検討が必要である。そこで, モクレン科のシデコブシ, タムシバ, コブシを対象に, 状態の異なる葉組織 (乾燥葉, 生葉, 冬芽) を材料として, 抽出キットによるDNA抽出を試み, その有用性について検討した。

## II 材料および方法

### 1. 材料

#### 1-1. 供試材料

DNA抽出材料として, シデコブシ, タムシバ, コブシの冬芽 (2003年4月採集), 生葉 (2003年7月採集), 乾燥葉を用いた。冬芽および生葉は, 採取後, 実験に供試するまで-30℃にて凍結保存した。乾燥葉は2003年7月に採取した生葉の一部を風乾したものをを用いた。

#### 1-2. 抽出キット

抽出キットは, Nucleon Phytopure (アマシャムライフサイエンス社製), DNeasy Plant Mini Kit (キアゲン社製), ISOPLANT II (日本ジーン社製) の3種類を用いた。

### 2. 方法

#### 2-1. 抽出キットによる抽出

凍結保存した冬芽および生葉は, 乳鉢に入れ液体窒素で凍結し乳棒でかき混ぜながら粉碎し, それぞれ約100mgを, また乾燥葉はその約40mgを, 抽出キットに添付されたプロトコールに従って (付表), 抽出操作を行った。

#### 2-2. アガロースゲル電気泳動によるDNAの確認と濃度測定

各抽出キットの操作から得られた溶液中のDNAは,

抽出液10 $\mu$ lを2%アガロースゲルに注入し、50Vで2時間電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色し、UV照射下でDNAの確認を行った。

さらに、正確なDNA濃度を知るために、波長260nmの吸光度(O.D値)をUV分光光度計(ベックマン社製)を用いて測定し(田村, 2001)、これに核酸吸光度係数0.05を掛けて、DNA濃度(ng/ $\mu$ l)を算出した。

### 2-3. PCR増幅

DNA抽出液を用いて、PCR増幅を行った。DNA抽出液0.5 $\mu$ lに対し、PCR反応液(1 $\times$ buffer, 100 $\mu$ M dNTP, 0.5 $\mu$ Mプライマー, 0.1U Taqポリメラーゼ)を加えて、20 $\mu$ lとした。温度条件は、予備加熱95 $^{\circ}$ C 3分に続き、94 $^{\circ}$ C30秒, 40 $^{\circ}$ C30秒, 72 $^{\circ}$ C 1分のサイクルを45回、さらに72 $^{\circ}$ C 8分の後4 $^{\circ}$ Cとした。

PCR産物は、2%アガロースゲル電気泳動を行い、増幅を確認した。

## III 結果および考察

### 1. 抽出キットによるDNA抽出

Nucleon Phytopure(アマシャムライフサイエンス社製)は、SDS-KCl存在下でDNAを水相に加溶させ、レゾニークロロホルムで多糖類などを除去し、イソプロパノール抽出によってDNAを回収する方法である。また、ISOPLANT IIは、バッファー中に含まれる塩化ベンジルによって細胞内の膜構造を破壊し、DNAを水相に溶出し、エタノール抽出によって回収する方法である。また、細胞溶解時に、1%NaBH<sub>4</sub>を添加することで、ポリフェノールの酸化を抑制することができる。

Nucleon PhytopureおよびISOPLANT IIでは、抽出最終段階で、溶液に等量のイソプロパノールやエタノールを加えて混和させる。DNAはアルコール類に溶けないことから、DNAが溶液中に溶出している場合は、アルコール類を加えると、DNAは白い繊維状の沈殿物となって析出してくるので、この段階でDNAが抽出されたことを確認することが出来る。しかし、乾燥葉を抽出に用いたところ、すべての樹種において褐色に着色した沈殿物が現れた。

一方、DNeasy Plant Mini Kitは、バッファー中に含まれるグアニジウム塩酸塩によって細胞内の膜構造を破壊した後、専用のスピニングカラムにDNAを特異的に吸着させ、TEバッファー中に溶出して取り出す方法である。本抽出キットでは、エタノールによる析出過程を経てもDNAは沈殿物となって現れることがほとんどなく、可視条件でのDNAの確認はできず、最終段階で得られたDNA溶液は、乾燥葉、生葉、冬芽すべてにおいて、無色透明であった。

葉組織からのDNA抽出では、抽出作業中にポリフェノール類の酸化が進んで、DNA沈殿物が褐色に着色する可能性があるため、抽出キット添付のバッファーには、抗酸化剤として2-メルカプトエタノールを0.5~1.0%の濃度になるように添加する。しかし、乾燥した材料では、常温で長い間空気にさらされて、組織に含まれるポリフェノールの酸化がすでに進んでいたと考えられる。また、Nucleon PhytopureとISOPLANT IIは、遠心分離によって未破砕物やタンパク質を沈殿させて不純物を除去するが、DNAが溶出している水相には、酸化したポリフェノール類が残っていて、十分な精製が出来なかったと考えられる。

一方、DNeasy Plant Kitでは、DNA溶解相をカラ

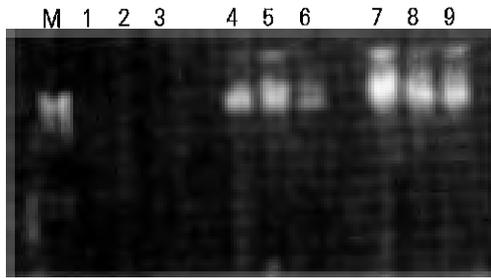
表-1 UV分光光度計によるDNA濃度測定結果

状態	抽出キット 種	Nucleon		DNeasy		ISOPLANT	
		O.D.260	濃度 (ng/ $\mu$ l)	O.D.260	濃度 (ng/ $\mu$ l)	O.D.260	濃度 (ng/ $\mu$ l)
乾燥葉	シデコブシ	0.739*	36.95	0.222	11.10	1.682*	84.08
	コブシ	1.338*	66.90	0.029	1.45	1.704*	85.20
	タムシバ	0.088*	4.40	0.010	0.50	0.594*	29.70
生葉	シデコブシ	1.620	81.00	0.557	27.85	1.350	67.50
	コブシ	1.360	68.00	0.118	5.90	0.400	20.00
	タムシバ	1.204	60.20	0.142	7.10	1.931	96.55
冬芽	シデコブシ	1.855**	371.00	0.521**	104.20	0.774**	154.80
	コブシ	2.370	118.50	1.011	50.55	1.417	70.85
	タムシバ	1.961	98.05	0.669	33.45	2.071	103.55

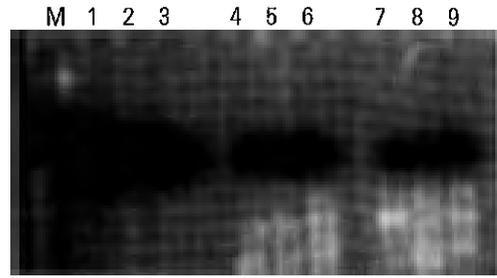
表中の数値は、各種4個体の平均値を表す。

\*: 抽出液が着色していたことを表す。

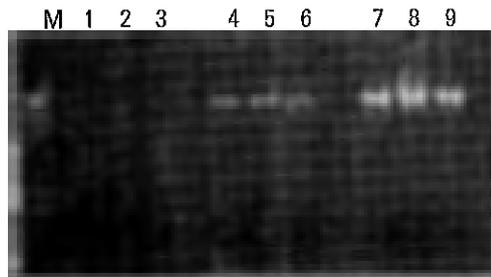
\*\* : 試料溶液を4倍希釈したときのO.D.値を表す。



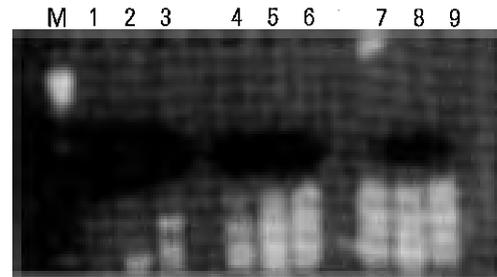
Nucleon Phytopure



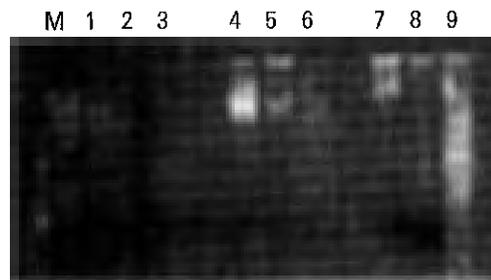
Nucleon Phytopure



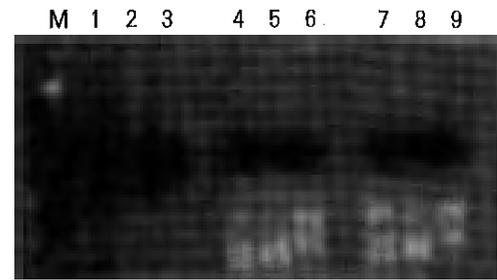
DNeasy Plant Mini Kit



DNeasy Plant Mini Kit



ISOPLANT II



ISOPLANT II

写真-1 2%アガロースゲル電気泳動による抽出DNAの確認  
 M: マーカー ( $\lambda$  DNA/HindIII), 1: シデコブシ乾燥葉, 2: コブシ乾燥葉, 3: タムシバ乾燥葉, 4: シデコブシ生葉, 5: コブシ生葉, 6: タムシバ生葉, 7: シデコブシ冬芽, 8: コブシ冬芽, 9: タムシバ冬芽

写真-2 抽出DNAを用いたPCR増幅の結果  
 M: マーカー ( $\lambda$  DNA/HindIII), 1: シデコブシ乾燥葉, 2: コブシ乾燥葉, 3: タムシバ乾燥葉, 4: シデコブシ生葉, 5: コブシ生葉, 6: タムシバ生葉, 7: シデコブシ冬芽, 8: コブシ冬芽, 9: タムシバ冬芽

ムのメンブレン膜に何度も通過させて、洗浄を繰り返す方法であるため、無色透明のDNA溶液が得られたと考えられる。

## 2. アガロース電気泳動によるDNAの確認

抽出キットによって得られたDNA溶液を2%アガロースゲル電気泳動した結果、すべての種の生葉、冬芽からの抽出液では、紫外線照射下においてバンドが検出された。このことは、抽出液中にDNAが含まれていることを表している。しかし、乾燥葉ではバンドが検出されず、DNAが確認されなかった(写真-1)。

### 2-1. DNA濃度の測定

UV分光光度計を用いて、DNA濃度を測定したところ、2%アガロース電気泳動では、DNAを全く確認することができなかった乾燥葉でもO.D.値を示した

(表-1)。抽出キット間で比較すると、Nucleon PhytopureとISOPLANT IIで得られたDNA溶液のO.D.値はそれぞれ0.088~1.338, 0.594~1.682であり、DNeasy Plant Kitからの抽出液(O.D.=0.010~0.222)よりも高いO.D.値を示した。これは、DNA濃度の違いというよりはむしろ、前者2つの抽出キットから得られたDNA溶液が着色していたため、吸光度に影響し、正確な濃度を測定出来なかったと考えられた。また、O.D.値は冬芽で最も高く、正確なO.D.値を得るためには、試料液を4倍に希釈して測定する必要があった。その結果、O.D.値によるDNA濃度は冬芽で最も高かった。このことは、若い組織におけるDNA量が古い組織よりも多いことを表している。

### 2-2. PCR増幅

DNA抽出液をテンプレートとして、コモンプライ

マー (CMN-B12) を用いてPCR増幅させたところ、すべての生葉、冬芽で、紫外線照射によってバンドが検出され、DNAの増幅が確認された (写真-2)。しかし、Nucleon PhytopureとISOPLANTIIでは、乾燥葉からの増幅はまったく確認できなかった。吉沢・大坪 (1997) は、紫黒米や赤米からのDNA抽出液では、アントシアニンなどの色素物質のために、PCRが進まないことを報告している。このことから、抽出液が着色したDNAは遺伝解析に適さないことが考えられた。一方、無色透明の抽出液が得られたDNeasy Plant Kitでは、すべての種において乾燥葉のDNA増幅が確認できた。このことは、2%アガロースゲル電気泳動ではDNAを確認できなかった乾燥葉にも、PCR反応で十分増幅可能なDNAが抽出されていることを示していた。Kim et al. (2001) は、葉緑体DNAシーケンスを用いたモクレン科植物の分子系統分類における、シリカゲルで乾燥させた葉からのDNA抽出に、DNeasy Plant Mini Kitを用いており、本抽出キットが乾燥材料からのDNA抽出に有用であることを示唆していた。さらに、今回の結果によって、長期間空气中にさらされて保存状態の悪かった乾燥葉からのDNA抽出も可能であることがわかった。

以上のことから、生葉および冬芽などの新鮮な組織は、抽出キットを用いることで、少量の材料から、ゲノム解析に利用可能なDNAを抽出できることがわかった。また、DNeasy Plant Kitを用いれば、乾燥葉を材料とすることも可能であることがわかった。

#### IV まとめ

CTAB法によるDNA抽出は、若い葉組織は細胞壁が未発達で、細胞に占める核酸の割合が大きい展開直後の葉に最も適している。しかし、植物標本や漢方薬原料などを遺伝解析の対象とする場合には、展開から時間が経った古い葉組織や、長期間空气中にさらされて乾燥した組織が材料となるため、DNA抽出にCTAB法を用いると、DNAは全く抽出されないことがあった。このため、乾燥した葉組織だけでなく、根や茎といった葉以外の組織からのDNA抽出が必要となり、材料の部位や状態に依存しない効率的なDNA抽出法の検討が望まれていた。

本実験から、従来のCTAB法ではDNA抽出が不可能であった乾燥葉からも、適切な抽出キットを用いることで、DNAを抽出することが可能であることがわかった。しかし、抽出キットに含まれている試薬類の組成の詳細が明らかになっていないことやコストがかかること (50検体で2~3万円) などの欠点も残されてい

る。また、今回のように、抽出キット付属のプロトコールに従った抽出法では、抽出キットの種類によっては十分なDNAを得られないこともある。しかし、プロトコールに改変を加えるなどして沈殿物の着色を最大限に除去することができれば、抽出キットを使用しなくても乾燥した古い葉からのDNA抽出への道が開けてくると思われる。

#### 引用文献

- Azuma, H., Thien, L. B., Kawano, S. (1999) Molecular phylogeny of *Magnolia* (Magnoliaceae) inferred from cpDNA sequences and evolutionary divergence of floral scents. *Journal of Plant Research* 112 : 291-306.
- Azuma, H., Garcia-Franco, J. G., Rico-Gray, V., Thien, L. B. (2001) Molecular phylogeny of the Magnoliaceae : the biogeography of tropical and temperate disjunctions. *American Journal of Botany* 88 : 2275-2285.
- Dandy, J. E. (1978) A revised survey of the genus *Magnolia* together with *Maglietia* and *Michelia*. (Magnolias. Treseder, N. G. [ed.] Faber and Faber, London) 29-37.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12 : 13-15.
- 河原孝行, 村上哲明, 瀬戸口浩彰, 津村義彦 (1995) 野生植物からのDNA抽出と解析への道. *日本植物分類学会報* 11 : 13-32.
- Johnson, L. A., Schultz J. L., Soltis, D. E., Soltis, P. S. (1996) Monophyly and generic relationships of Polemoniaceae based on *matK* sequences. *American Journal of Botany* 83 : 1207-1224.
- Khanuja, S. P. S., Shasany, A. K., Darokar, M. P., Kumar, S. (1999) Rapid isolation of DNA from dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary metabolites and essential oils. *Plant Molecular Biology Report* 17 : 1-7.
- Kim, S., Park, C-W., Kim, Y-D., Suh, Y. (2001) Phylogenetic relationships in family Magnoliaceae inferred from *ndhF* sequences. *American Journal of Botany* 88 : 717-728.
- Manos, P. S., Steele, K. (1997) Phylogenetic analyses of "higher" Hamamelididae based on

- plastid sequence data. American Journal of Botany 84 : 1410-1419.
- 村上哲明, 瀬戸口浩彰, 河原孝行, 津村義彦 (1995) PCR法の植物系統学への応用. (植物のPCR実験プロトコール, 島本功, 佐々木卓治編, 秀潤社, 東京), 147-152.
- Nooteboom, H. P. (1985) Notes on Magnoliaceae with a revision of *Pachylarnax* and *Elmerrillia* and the Malesian species of *Manglietia* and *Michelia*. Blumea 31 : 65-121.
- Nooteboom, H. P. (2000) Different looks at the classification of the Magnoliaceae. Proc. Internat. Symp. Fam. Magnoliaceae 2000 : 26-37.
- 田村隆明 (2001) DNA取扱いの基本. (改訂遺伝子工学実験ノート. 上. 田村隆明編, 180pp. 羊土社, 東京). 19-36.
- 吉橋忠, 大坪研一 (1997) 米一粒からのDNA抽出法 (新版植物のPCR実験プロトコール, 島本功, 佐々木卓治編, 216pp. 秀潤社, 東京). 63-66.



この研究報告の本文は、古紙配合率100%再生紙を使用しています。  
(表紙は古紙配合率50%の再生紙です。)