

## 那須山系におけるミヤマナラの更新様式

著者	遠川 千聡, 逢沢 峰昭, 中山 ちさ, 飯塚 和也, 大久保 達
著者別表示	Enkawa Chisato, Aizawa Mineaki, Nakayama Chisato, Iizuka Kazuya, Ohkubo Tatsuhiro
雑誌名	植物地理・分類研究
巻	63
号	1
ページ	1-8
発行年	2015-09-01
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00053583">http://doi.org/10.24517/00053583</a>

## 遠川千聡<sup>1</sup>・逢沢峰昭<sup>2</sup>・中山ちさ<sup>1</sup>・飯塚和也<sup>3</sup>・大久保達弘<sup>2</sup>：那須山系におけるミヤマナラの更新様式

<sup>1</sup>〒321-8505 栃木県宇都宮市峰町350 宇都宮大学大学院農学研究科, <sup>2</sup>〒321-8505 栃木県宇都宮市峰町350 宇都宮大学農学部, <sup>3</sup>〒329-2441 栃木県塩谷郡塩谷町船生7556 宇都宮大学農学部附属演習林

Chisato Enkawa<sup>1</sup>, Mineaki Aizawa<sup>2</sup>, Chisa Nakayama<sup>1</sup>, Kazuya Iizuka<sup>3</sup>, and Tatsuhiro Ohkubo<sup>2</sup> : Regeneration modes of *Quercus crispula* var. *horikawae* in Mts. Nasu.

<sup>1</sup>Graduate School of Agriculture, Utsunomiya University, 350 Mine-machi, Utsunomiya, Tochigi, 321-8505, Japan; <sup>2</sup>Faculty of Agriculture, Utsunomiya University, 350 Mine-machi, Utsunomiya, Tochigi, 321-8505, Japan; <sup>3</sup>Utsunomiya University Forest, 7556 Funyu, Shioya-machi, Shioya, Tochigi, 329-2441, Japan

### Abstract

This study aimed to clarify clonal structure and reproductive modes, layering (asexual) and/or seedling regeneration (sexual), of *Quercus crispula* var. *horikawae* using eight nuclear EST-SSR markers; the species has stunt creeping multiple stems and occurs in pseudo-alpine zone of the mountains in the Sea of Japan side. This study was conducted in an isolated stand (alt. 1,570 m) of the species near Ohtoge-pass in Mts. Nasu, northern Tochigi Prefecture. DNA was extracted from leaves of 92 stems that did not have any distinct connection of roots and creeping stems above the ground. The results of DNA analysis indicated that the stand consisted of four genets (clones). Genet A, which had 87 stems (ramets), occupied throughout the study plot. The other clones (B, C and D), which were composed of 1-3 ramets, might be derived from seedling regeneration. In conclusion, reproductive modes in the stand were likely to be dominated by layering regeneration resulted from the creeping of stems rather than seedling regeneration that rarely occurred.

### はじめに

ミヤマナラ *Quercus crispula* Blume var. *horikawae* H. Ohbaは本州の脊梁山脈のうち、日本海側の亜高山帯針葉樹林の発達が悪い偽高山帯（四手井1952）の下部から山地帯上部にかけて低木性の群落をつくる（石塚1978）。高さは3m以下で、幹枝の柔軟性が高く、よくしなる性質をもつ。また萌芽力が強く、根元から多数分枝し、地面を匍匐する樹形を有する（渡辺2009）。ミヤマナラ群落は、栃木県においては、県北部の那須山系の大峠から三倉山、鹿又岳、日光市の県境稜線（白滝沢、アサズマ沢、田代山）などの山地帯上部の風下側南東斜面に分布する（栃木県2005）。ミヤマナラ群落はレッドデータブックとちぎ（栃木県2005）では、原生的で特殊立地に成立すること、保護上重要な植物種の生育する群落であることから貴重群落に指定され

ている。また、大峠から流石山のミヤマナラ群落は、林野庁の植物群落保護林に指定されている。このように栃木県におけるミヤマナラ群落の保全的価値は高い。ミヤマナラの保全を図る上で、繁殖特性と更新過程を明らかにすることは重要である。しかし、ミヤマナラはミズナラ *Quercus crispula* var. *crispula* との形態比較（能城1984）、遺伝解析（河原他1992；大澤2011）、生育環境（畠瀬・奥田1999）の報告にとどまり、繁殖特性に関する研究はみられない。通常多雪環境下における更新は、伏条をなす高木または匍匐性の低木の幹枝が雪圧によって接地し、不定根を出す伏条更新による場合が多い（高橋1960）。特に、ナラ類は強い萌芽性を有する（金指・金指2008）ことから、ミヤマナラは有性繁殖だけでなく、無性繁殖を行っている可能性が考えられる。群落内のミヤマナラ幹が有性繁殖に

よって生じたのか、無性繁殖によって生じたのかを明らかにするためには、無性繁殖によって生じたクローン構造の解析、すなわち、ジェネット (genet) とラメット (ramet) の識別を行う必要がある。ジェネットとは、クローンと同義の1種子に由来する遺伝的同一性をもつ単位である。ラメットとは、生理的・生態的に独立して生活する単位である (本研究では独立した個々の幹をラメットと呼ぶ)。

これまでクローンの識別には根・茎のつながりなどの外観的な調査が行われてきたが、独立したラメットがどのジェネットに由来するのかを判断することは非常に難しいため、遺伝マーカーを用いたクローンの識別が有効である (Moriguchi et al. 2001)。かつてはクローンの識別にアロザイムや RAPD (Random amplified polymorphic DNA) マーカーが利用されてきた。しかし、アロザイムや RAPD マーカーは、しばしば遺伝子座の変異性が低く、RAPD は優性マーカー (dominant marker) であるため、クローンの識別には不十分であるといわれている (Lin et al. 1994)。これらの問題はマイクロサテライト [以下、SSR (Simple Sequence Repeat) と呼ぶ] マーカーを用いることで回避できるようになった。SSR は、ゲノムに散在する単純な塩基配列の繰り返しによって構成される領域であり (Jarne and Lagoda 1996)、遺伝マーカーとして優れた特徴をもつ。第1に DNA の複製ミスや組み換え時の不等交差により反復回数が増減しやすく、多型性がきわめて高い (Queller et al. 1993)。第2に分析結果の再現性が高く、効率的な解析が可能である。第3に共優性マーカー (codominant marker) であるため、2倍体種においては、ホモ接合体とヘテロ接合体を識別できる。このように多くの利点をもつことから、分子生態学や保全生物学においてクローンの識別や個体の繁殖様式の推定などさまざまな目的に使われている。SSR マーカーには、遺伝子座ごとに独自のプライマーを用いるという特徴があるため、開発に時間と労力がかかる欠点もあるが、近縁種で開発されたマーカーを活用できる場合も多い (大谷・谷 2012)。コナラ属で利用可能な SSR マーカーの一種である EST (Expressed sequence tag) -SSR マーカーが、既にミズナラ (Ueno et al. 2008) およびスダジイ (Ueno et al. 2009) で開発されているため、これらのマーカーを用いることでクローンの識別が可能になると考えられる。

本研究は、ミヤマナラの繁殖生態について明らかにするための第一歩として、SSR マーカーを用いてミヤマナラのクローン識別を行い、その更新様式を明らかにすることを目的とした。

## 材料と方法

### 1. 調査地

栃木県那須塩原市と福島県南会津郡下郷町との県境に位置する那須山系の大峠山 (標高 1,750m) 中腹 (北緯 37° 09', 東経 139° 56', 標高約 1,570m) の東斜面に調査地を設置した (Fig.1)。調査地は、流石山から大峠にかけての広い稜線上に位置し、冬季の季節風の影響下にあるため多雪・風衝地であり、ミヤマナラ低木林といった偽高山帯植生が広がっている (長谷川 1982)。最寄りの那須観測所 (北緯 37° 12', 東経 140° 03', 標高 794m) の 1978 年から 2012 年の 35 年間の観測データから、気温の通減率 0.55°C/100m (吉野 1986) に基づいて推定した調査地の年平均気温は 4.5°C、暖かさ指数 (WI) は 40 である。また、大峠の年最深積雪は 1m 以上である (気象庁 1972)。調査地のミヤマナラ群落は、林床にはオクヤマザサ *Sasa cernua* Makino が繁茂しており、矮性化したウラジロヨウラク *Menziesia multiflora* Maxim. やミネヤナギ *Salix reinii* Franch. et Sav. などの樹種とともに、ニッコウキスゲ *Hemerocallis dumortieri* C. Morren var. *esculenta* (Koidz.) Kitam., マンセンカラマツ *Thalictrum aquilegifolium* L. var. *sibiricum* Regel et Tiling, トモエシオガマ *Pedicularis*

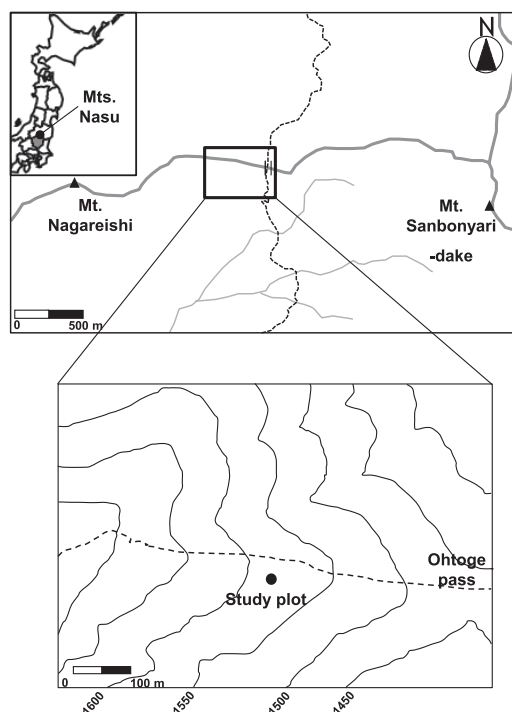


Fig. 1. Location of study site and plot in Mts. Nasu, northern Tochigi Prefecture.

*resupinata* L. var. *caespitosa* Koidz. といった風衝草原性の草本がみられる。調査地の地質は安山岩質岩石、土壌は乾性褐色森林土壌である (国土交通省 2012)。

## 2. ミヤマナラ幹の空間分布

### 位置図の作成

本研究では、群落の外縁が明確である周囲から少なくとも 50m 以上離れた孤立したミヤマナラ群落を対象とした。対象群落全体を囲うように水平距離で 12m × 10m の調査プロットを設置した。プロットの斜面方位は S44°E, 最大傾斜角は 29° である。プロット内の幹長 1m 以上で、地上部で明らかに根や匍匐幹の繋がりを持たない独立したミヤマナラ幹の根元位置を、レーザーコンパスを用いて測量し、ミヤマナラ幹の位置図を作製した (Fig.2)。プロット内の 12 地点において測量ポールを用いて群落高を 0.1m 括約で測定した。また各幹の最大幹長と地際直径の測定を行った。1 本の幹が地上部で分枝し、複数の幹を有しているものは、最も幹長の長い幹を最大幹長とした。

### 空間分布様式

測量データを基に、Ripley の  $K$  関数を用いてミヤマナラ幹の分布相関を調べた。解析により求められた  $K$  値の平均値が信頼区間から正に外れた場合は集中分布、負に外れた場合は一様分布と判断した。解析は島谷 (2001) に従い、99% 信頼区間は 100 回の反復試行により、99.9% 信頼区間は 1000 回の反復試行により求めた。また、 $K$  値の変化を視覚的に明瞭化するため、 $L$  値に換算して評価した。

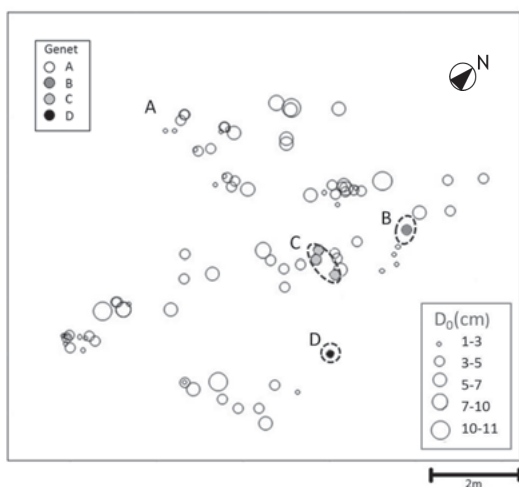


Fig. 2. Map of stems surveyed and identified clones in the study plot. The size of circles is proportional to diameter at the ground ( $D_0$ ) of each stem.

## 3. 遺伝解析

### DNA 抽出

測量を行ったプロット内の 92 幹のミヤマナラ各幹から遺伝解析用の試料として健全な葉を 3 枚程度採取した。採取した葉試料は、DNA 抽出まで  $-20^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存した。冷凍した葉試料 50mg から DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen 社) を用いて、全 DNA を抽出した。抽出プロトコルは上記キットのマニュアルに従った。抽出した DNA は濃度測定後、TE バッファーを用いて希釈し、鋳型 DNA を調製した。

### EST-SSR 解析

解析には、Ueno et al. (2008, 2009) によりミズナラおよびスダジイで開発された 8 対の EST-SSR マーカーを用いた (Table 1)。試薬調整および Polymerase chain reaction (以下、PCR) の反応条件は Ueno et al. (2008) を基にした。PCR 反応液は全量が 10  $\mu\text{l}$  となるように試薬を調製した。内訳は 20ng 鋳型 DNA, 1  $\times$  PCR バッファー, 200  $\mu\text{M}$  の各 dNTP, 1.5mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.2  $\mu\text{M}$  の Forward および Reverse の各プライマー, 0.5U の AmpliTaq Gold (Applied Biosystems) である。なお、各プライマー対のうち Forward プライマーを蛍光色素 (NED または PET) で標識した。

PCR 増幅は以下の条件で行った。まず、予熱を  $94^{\circ}\text{C}$  で 10 分間行った。その後、1 サイクルにつき熱変性を  $94^{\circ}\text{C}$  で 45 秒、アニーリングを  $55^{\circ}\text{C}$  で 45 秒、伸長を  $72^{\circ}\text{C}$  で 45 秒とし、これを 35 サイクル行った。サイクル終了後の後伸長は  $72^{\circ}\text{C}$  で 7 分とした。PCR 増幅には GeneAmp PCR system 9700 および 2720 (Applied Biosystems) を用いた。得

Table 1. Characteristics of nuclear EST-SSR markers used in this study.

Locus	$N_A$	$H_O$	$H_E$	Primer source
QmC00419	2	0.978	0.500	1
QmC00716	4	0.043	0.074	1
QmC01368	2	0.011	0.011	1
QmC01794	2	0.000	0.043	1
QmC02052	4	0.989	0.511	1
CcC00610	4	0.022	0.043	2
CcC00660	5	1.000	0.516	2
CcC01513	3	1.000	0.505	2

$N_A$ : Number of alleles per locus detected;  $H_O$ , Observed heterozygosity;  $H_E$ , Expected heterozygosity; 1, Ueno et al. (2008); 2, Ueno et al. (2009).

られた PCR 産物を 2% アガロースゲルで泳動し、PCR 増幅を確認後、DNA オートシーケンサー 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いてフラグメント解析を行った。解析により得られたデータは、GeneMapper (Applied Biosystems) ver.4.1 を用いて増幅断片のサイズから、各サンプルの遺伝子型を決定した。

#### データ解析

データ解析には、8つの遺伝子座全てにおいて遺伝子型を決定することができた92幹を用いた。各マーカーの特性はGenAlEx ver.6.5 (Peakall and Smouse 2006, 2012) を用いて算出した。また、GenAlExを用いて、各個体の遺伝子型を基に、各個体間の遺伝的距離 (Smouse and Peakall 1999) を算出した。そしてこの遺伝距離に基づいて、主座標分析 (Principal Coordinates Analysis) を行った。主座標分析は、GenAlExの初期設定に従い、個体間の遺伝距離行列を共分散行列に変換して分析を行い、各々の共分散値は、 $n-1$ の平方根で割り、標準化したものを用いた (Peakall and Smouse 2006)。さらに、メンデルの分離確率をジェネットごとで計算し、計算されたメンデル確率に応じて父親貢献度を配分する比例配分法 (Fractional assignment method; Devlin et al. 1998; 犬飼他 2013) を用いてジェネットが親子である確率を計算した。

#### $P_{gen}$ 値の算出

SSR マーカーによるクローン識別能力の評価は  $P_{gen}$  値 (Parks and Werth 1993) を用いて行った。 $P_{gen}$  値は、連続してサンプリングした、実際に異なるクローンに属する幹が、偶然に同じ遺伝子型を持つ確率であり、以下の式によって表わされる。

$$P_{gen} = \left( \prod_{i=1}^N p_i q_i \right) 2^h$$

ここで  $p_i, q_i$  は各遺伝子座における2つの対立遺伝子頻度の積であり、 $h$  はヘテロ接合体をもつ遺伝子

座数、 $N$  は調査した遺伝子座数である。

## 結果

### EST-SSR マーカーの特性

遺伝解析を行った92幹のサンプルにおいて検出された8つのSSRマーカーの特性をTable. 1に示した。各遺伝子座において検出された対立遺伝子の総数 ( $N_A$ ) は2~5であり、各遺伝子座のヘテロ接合度の期待値 ( $H_E$ ) は0.011~0.516であった。QmC001368のように多型性の低い遺伝子座もみられた。 $P_{gen}$  値はすべてのジェネットで0.05以下であった (Table. 2)。

### ミヤマナラのクローン構造

遺伝解析に基づくクローン構造をFig.2に示した。コナラ属は極めて高い自家不和合性を示すことが知られており、自家受粉では堅果はほとんど形成されない (生方他1999)。したがって、同一の遺伝子型をもつ幹 (ラメット) を同一のクローンとみなした。本研究におけるミヤマナラ群落は4つの遺伝子型 (ジェネット) で構成されていた (Table. 3)。ジェネットAは87ラメットからなる最大のジェネットで、面積はおよそ47m<sup>2</sup>、最も離れた2ラメット間の最大距離は11mであった。ジェネットBは1ラメット、Cは3ラメットおよびDは1ラメットから構成されていた (Table. 2)。

### 各ジェネットを構成するラメットのサイズ

各ジェネット内の地際直径、幹長の関係をFig.4に示した。地際直径は3~5cmの範囲が最も多く、幹長は1~2mの範囲であった。ジェネットAの幹は最大地際直径11.1cm、最大幹長3.5mあった。また多くの幹の幹長は約1.8mであり、平均群落高1.3mより幹長が長く、ほぼすべてが匍匐していることを示した。また、RipleyのK関数を用いた解析の結果、幹の分布様式において、99%と99.9%のいずれの信頼区間においてもランダム分布を示し、幹の空間分布にまとまりや規則性はみられなかった。

Table 2. Characteristics of clones identified and  $P_{gen}$  values, the probability that consecutively sampled trees that actually belong to different clones would have a similar genotype by chance.

Genet	N/G	$P_{gen}$	Max D <sub>0</sub> (cm)	Max L(m)
A	87	0.0490	11.1	3.5
B	1	1.85×10 <sup>-17</sup>	7.1	1.8
C	3	1.66×10 <sup>-3</sup>	4.7	2.2
D	1	7.23×10 <sup>-23</sup>	3.7	1.5

N/G, Number of ramets per genet



Table 3. Genotypes of identified clones using eight nuclear EST-SSR loci.

Genet	QmC 00419	QmC 00716	QmC 01368	QmC 01794	QmC 02052	CcC 00610	CcC 00660	CcC 01513
A	171/172	257/257	153/153	105/105	252/260	341/341	134/138	404/407
B	171/171	249/261	153/156	96/96	260/260	338/340	126/138	404/407
C	171/172	256/257	153/153	105/105	252/260	341/341	134/138	404/407
D	171/171	261/261	153/153	96/96	258/264	340/348	118/120	399/407

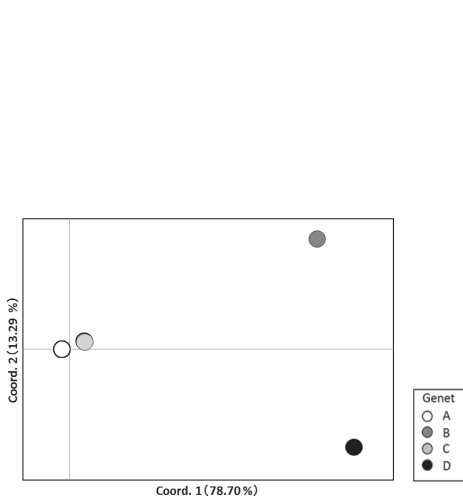


Fig. 3. Principal coordinates analysis for identified clones using eight nuclear EST-SSR loci.

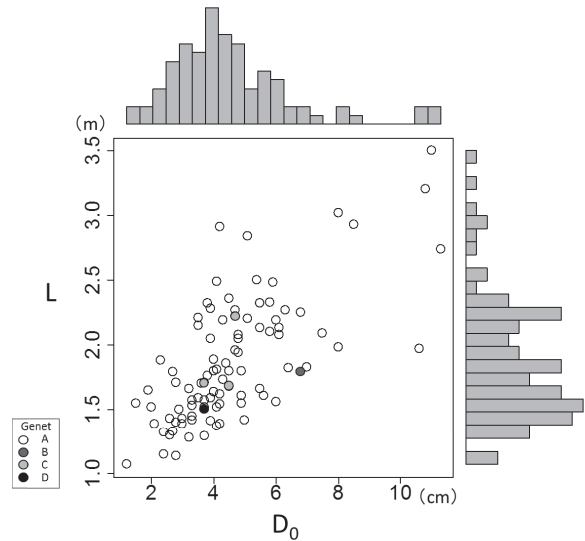
### 各ジェネット間の遺伝的類縁性

主座標分析により第1主座標（寄与率78.70%）と第2主座標（寄与率13.29%）の2軸上に展開した結果、ジェネットAとCは近接しており、B、DはAとCから離れていた（Fig.3）。親子解析の結果、AとCは100%の確率で親子関係と判定された。一方ジェネットB、Dはいずれのジェネットとも親子関係になかった。

### 考察

#### 1. ミヤマナラ群落のクローン構造

遺伝解析に基づくクローン識別の結果、4つのジェネットのうちジェネットAという単一のクローンが圧倒的に優占し、87幹からなっていた。1ジェネットあたりのラメット数は、SSRマーカーを用いたヨーロッパヤマナラシでは12幹（Suvanto and Latva-Karjanmaa 2005）、7つのアロザイムマーカーを用いた *Quercus chrysolepis* Liebm. では24幹（Montalvo et al. 1997）と報告されている。

Fig. 4. Relationship between diameter at the ground ( $D_0$ ) and maximum length (L) of each stem of identified clones.

これらと比較して、ジェネットAのラメット数はかなり多いことがわかる。一方、新潟県北部の二王子山の多雪・風衝地に生育するウラスギ個体群のジェネット識別の結果、当該個体群はごく少数の個体のクローンからなり、最大のジェネットは60幹から構成されており（Moriguchi et al. 2001）、本研究のラメット数と同程度であった。

ジェネットAが調査プロットの大部分を占めていたのに対し、その他のジェネットはいずれも少数のラメットからなり小規模であった。一般的にジェネットサイズの違いはクローンの年齢、環境耐性の違い（Moriguchi et al. 2001）、クローン間競争、攪乱頻度、最後の攪乱からの期間、そして土地の生産性（site quality）といった様々な要因により形成される（Suvanto and Latva-Karjanmaa 2005）。このうち、クローンの年齢は測定が困難であるが、Steinger et al. (1996) はクローンサイズとその成長量によりクローン齢を推定している。また、高標高域において樹齢と幹直径は正の相関関係

を示すことが知られている (酒井 2001)。これらの報告および本研究における各クローンのラメット数 (Table. 2) や地際直径 (Fig. 4) を考慮すると、群落の大部分を占め、地際直径および幹長の最も大きいラメットを有していたジェネット A が最も老齢であると推察される。その他のジェネットはわずかなラメット数で構成されていることから、比較的最近に実生更新したものと推察される。

クローン繁殖を行う植物において、体細胞突然変異 (somatic mutation) によって、同一のジェネットであっても遺伝子型が異なる現象も報告されている (Hsiao and Rieseberg 1994; Tuskan et al. 1996; Tani et al. 1998; Moriguchi et al. 2001)。ジェネット A と C は、QmC00716 において、257/257 と 256/257 という遺伝子型で区別されるだけである (Table 3)。1塩基の変化は容易に生じうるため、ジェネット C はジェネット A の有性繁殖 (実生更新) によって生じた娘ジェネットではなく、体細胞突然変異によって生じたクローンである可能性も否定できない。

一方で、ジェネット識別能力を示す  $P_{gen}$  値は 0.05 程度と十分に低いわけではなかった。そのため、ジェネット A に複数のクローンが混じっている可能性も否定できない。また、本研究の調査群落は結果として 4 個体と数少ないジェネットで構成されていたため、 $P_{gen}$  値の計算に用いる遺伝子頻度自体の推定も十分とはいえないかもしれない。

## 2. ミヤマナラの更新様式

本研究によってミヤマナラ群落は伏条による無性繁殖が優位であることがわかった。多雪環境下の木本種では萌芽性が顕著で、柔軟な幹をもち、不定根の生じやすい種が生存に有利であるとされている (高橋 1960)。特に低木種においては、冬季は常に雪に埋もれ、積雪の影響を受けるため、萌芽のもつ重要性は高木よりも大きいと考えられ (山中 1997)、地上茎の枯損や恒常的な倒伏などの現象に対し、萌芽は個体を維持する役割を担っている。本調査プロットのミヤマナラ幹はいずれも傾斜ないし匍匐するとともに、多くの幹は萌芽枝を出していた。また匍匐した萌芽枝からの発根も見られた。したがって、ミヤマナラは幹の萌芽性と柔軟性によって伏条更新を行い、各ラメット株を維持していると推察される。

ミヤマナラは雌雄同株であり、受粉様式は風媒、種子散布様式は重力散布である。ミヤマナラ群落の更新に際し、ジェネット B, C および D のように機会は稀であるが有性繁殖も行われている可能性が示唆された。このうちジェネット B および D は、最大

の地際直径サイズがジェネット A より小さく、1クローンあたりのラメット数も少ないこと、ジェネット A と近縁な関係にないこと、ミヤマナラ堅果の重力落下による散布範囲は狭いと考えられることを考慮すると、ミズナラにみられるような齧歯類をはじめとする小型哺乳類やカケスなどによる鳥散布 (Miyaki and Kikuzawa 1998; 齊藤 1992) によって当該の調査群落外から侵入してきた可能性が示唆される。一方で、ミズナラは中度の耐陰性を示すが (小池 1988)、一般には陽樹的傾向が強いとされ、稚樹は鬱閉した林分内ではほとんど定着できないとされる (Kanazawa 1982; 谷本 1986)。したがって、本調査地にみられるようなササ林床でのミヤマナラの実生更新は困難であることが予想される。今後、複数群落についてクローン構造を調べて実生更新の発生程度を把握する必要がある。また、堅果を採取して親子解析を行い、花粉流動の範囲を調べ、その繁殖生態について明らかにしていく必要がある。

## 謝辞

本研究を行うに当たり、林野庁塩那森林管理署より、調査許可を頂いた。森林総合研究所森林遺伝研究領域の松本麻子博士並びに上野真義博士より、本研究を進める上でのご助言をいただいた。宇都宮大学農学部森林科学科森林生態学・育林学研究室の諸氏には、調査・サンプリングに際してご協力をいただいた。以上の方々々に心より御礼申し上げます。

## 引用文献

- Devlin, B., Roeder, K. and Ellstrand, N.C. 1988. Fractional paternity assignment: theoretical development and comparison to other methods. *Theor. Appl. Genet.* **76**: 369-380.
- 長谷川順一. 1982. 栃木の植生と花. 栃木の葉書房. pp.132-133.
- 畠瀬頼子・奥田重俊. 1999. 越後山脈、守門岳における低木林の分布と地形および積雪の関係. *植生学会誌* **16**: 39-55.
- Hsiao, J.-Y. and Rieseberg, L.H. 1994. Population genetic structure of *Yushania niitakayamensis* (Bambusoideae, Poaceae) in Taiwan. *Mol. Ecol.* **3**: 201-208
- 犬飼慎也・木村徳志・石塚航・後藤晋. 2013. 北海道富良野市に隔離分布するハクサンシャクナゲ集団の遺伝的多様性と繁殖様式. *森林遺伝育種* **2**: 122-127.
- 石塚和雄. 1978. 多雪山地亜高山帯の植生. 吉岡邦二博士追悼一植物生態論集 (編), pp.404-428.
- Jarne, P. and Lagoda, P.J.L. 1996. *Microsatel-*

- lites, from molecules to populations and back. *Trend. Ecol. Evol.* **11**: 424-429.
- 金指あや子・金指達郎. 2009. 日本樹木誌一「ミズナラ」. 日本樹木誌編集委員会 (編). 日本林業調査会. pp.635-667.
- Kanazawa, Y. 1982. Some analyses of the reproduction process of a *Quercus crispula* Blume population in Nikko. I. A record of acorn dispersal and seedling establishment for several years at three natural stands. *Jpn. J. Ecol.* **32**: 325-331.
- 河原孝行・山本千秋・明石孝輝・吉丸博志・金指あや子. 1992. アイソザイムからみたミズナラとミヤマナラの遺伝的分化. 日林講: 646.
- 気象庁. 1972. 日本の気候図第二集. 地人書館.
- 小池孝良. 1988. 落葉広葉樹の生存に必要な明るさとその生長に伴う変化. 材木の育種 **148**: 19-23.
- 国土交通省. 2012. 「5万分の1都道府県土地分類基本調査」 <http://nrb-www.mlit.go.jp/kokjo/tochimizu/F3/ZOOMA/0914/index.html> (アクセス日: 2013年10月21日)
- Lin, D., Hubbes, M. and Zsuffa, L. 1994. Differentiation of poplar and willow clones using RAPD fingerprints. *Tree Physiology* **14**: 1097-1105.
- Miyaki, M. and Kikuzawa, K. 1988. Dispersal of *Quercus mongolica* acorns in a broadleaved deciduous forest 2. Scatter hoarding by mice. *For. Ecol. Manage.* **25**: 9-16.
- Montalvo, A., Conard, S. and Conkle, M. 1997. Population structure, genetic diversity, and clone formation in *Quercus chrysolepis* (Fagaceae). *Amer. J. Bot.* **84**: 1553-1564.
- Moriguchi, Y., Matsumoto, A., Saito M., Tsumura Y. and Taira H. 2001. DNA analysis of clonal structure of an old growth, isolated forest of *Cryptomeria japonica* in a snowy region. *Can. J. For. Res.* **31**: 377-383.
- 能城修一. 1984. 巻機山におけるミヤマナラとミズナラの変異. 植物地理・分類研究 **32**: 116-126.
- 大澤隆文. 2011. 山岳地におけるミズナラ及びコナラの遺伝構造に関する研究. 林木の育種 **238**: 9-14.
- 大谷雅人・谷尚樹. 2012. 森の分子生態学2. ジェノミックSSRマーカー開発法. 津村 (編), 文一総合出版. pp.251-290.
- Parks, J. and Werth, C. 1993. A study of spatial features of clones in a population of bracken fern, *Pteridium aquilinum* (Dennstaedtiaceae). *Amer. J. Bot.* **80**: 537-544.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* **6**: 288-295.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2012. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* **28**: 2537-2539.
- Queller, D.C., Strassmann, J.E. and Hughes, C.R. 1993. Microsatellites and kinship. *Trend. Ecol. Evol.* **8**: 285-288.
- 斉藤新一郎. 1992. 動物による樹木種子の貯食型散布と樹木の貯食への対応. 生物科学 **44**: 89-97.
- 酒井暁子. 2001. 亜高山帯針葉樹オシラビソにおける標高にともなう生活史スケジュールの変化—山をあがるにしたがって木が小さくなる理由に関する新説—. 日生誌 **51**: 137-142.
- 四手井綱英. 1952. 奥羽地方の森林帯 (予報). 日林東北支誌 **2**: 2-8.
- 島谷健一郎. 2001. 点過程による樹木分布地図の解析とモデリング. 日生誌 **51**: 87-106.
- Smouse, P.E. and Peakall, R. 1999. Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* **82**: 561-536.
- Steinger, T., Korner, C. and Schmid, B. 1996. Long-term persistence in a changing climate: DNA analysis suggests very old ages of clones of alpine *Carex curvula*. *Oecologia* **105**: 94-99.
- Suvanto, L. and Latva-Karjanmaa, T.B. 2005. Clone identification and clonal structure of the European aspen (*Populus tremula*). *Mol. Ecol.* **14**: 2851-2860.
- 高橋啓二. 1960. 植物分布と積雪. 森林立地 **11**: 19-24.
- Tani, N., Tomaru, N., Tsumura, Y., Arai, M. and Ohba, K. 1998. Genetic structure within a Japanese stone pine (*Pinus pumila* Regel) population on Mt. Aino-Dake in central Honshu, Japan. *J. Plant Res.* **111**: 7-15.
- 谷本丈夫. 1986. ミズナラ林の天然更新技術. 山林 **1230**: 33-39.
- 栃木県. 2005. レッドデータブックとちぎ. 栃木県.
- Tuskan, G.A., Francis, K.E., Russ, S.L., Rom-



- me, W.H. and Turner, M.G. 1996. RAPD markers reveal diversity within and among clonal and seeding stands of aspen in Yellowstone National park, U.S.A. *Can. J. For. Res.* **26**: 2088-2098.
- 生方正俊・板鼻直栄・河野耕蔵. 1999. ミズナラ天然林の遺伝的構造と交配弱勢による交配実態の推定. *日林誌* **81**: 280-285.
- Ueno, S., Aoki, K. and Tsumura, Y. 2009. Generation of expressed sequence tags and development of microsatellite markers for *Castanopsis sieboldii* var. *sieboldii* (Fagaceae). *Ann. For. Sci.* **66**: 509.
- Ueno, S., Taguchi, Y. and Tsumura, Y. 2008. Microsatellite markers derived from *Quercus mongolica* var. *crispula* (Fagaceae) inner bark expressed sequence tags. *Genes Genet. Syst.* **83**: 179-187.
- 渡辺一夫. 2009. イタヤカエデはなぜ自らの幹を枯らすのか—樹木の個性と生き残り戦略—. 築地書館. pp. 244-250.
- 山中典和. 1997. 低木の生活史戦略における萌芽の役割. *種生物学研究* **21**: 61-70.
- 吉野正敏. 1986. 新版小気候. 地人書館.
- (Received January 24, 2014; accepted September 24, 2014)