

学位論文

ブナにおける晩霜体制の空間的変異に対応した
開葉フェノロジーの種内変異に関する生態学的研究

Ecological studies on intraspecific variation in leaf out phenology of
Fagus crenata associated with spatial variation of the late frost regime

岩手大学大学院 連合農学研究科
地域環境創生学専攻 地域資源・環境管理学連合講座

杉本 咲

目次

序章.....	1
第1章 晩霜体制と関連した地形の変異と開葉フェノロジーの集団間変異との関係	
1 はじめに	4
2 材料と方法.....	5
2.1 調査地.....	5
2.2 野外調査.....	5
(1) 12地点における気温の測定.....	5
(2) 6集団における目視による開葉フェノロジーの観察.....	6
2.3 データ分析.....	6
(1) 12地点における気象条件の標高間・地形間変異.....	6
(2) 6集団における開葉フェノロジーの集団間・年度間変異.....	7
3 結果.....	14
3.1 気象条件の標高間・地形間変異.....	14
3.2 開葉フェノロジーの集団間・年度間変異.....	14
4 考察.....	26
4.1 地形と関連した気象条件における変異.....	26
4.2 開葉フェノロジーの集団間・年度間変異.....	26
第2章 冷温日数の年変動に対応した開葉フェノロジーの表現型可塑性	
1 はじめに	28
2 材料と方法.....	28
3 結果.....	29
4 考察.....	34
第3章 晩霜時期の空間的変異に対応した開葉フェノロジーの局所適応	
1 はじめに	36
2 材料と方法.....	36
3 結果.....	37
4 考察.....	41

第4章 | 晩霜体制の空間的変異に対応した開葉フェノロジーの遺伝的変異

1	はじめに	4 2
2	材料と方法.....	4 3
2.1	植栽実験.....	4 3
2.2	生育地における林冠木の開葉フェノロジーと環境条件との関係	4 4
2.3	データ分析.....	4 4
	(1) 生育地における林冠木の開葉フェノロジーと環境条件との関係	4 4
	(2) 圃場における稚樹の開葉フェノロジーの遺伝的変異	4 5
	(3) 開葉フェノロジーの遺伝率	4 5
	(4) 圃場における開葉フェノロジーと産地における環境条件との関係	4 6
3	結果.....	4 8
3.1	生育地における開葉フェノロジーと最終重度晩霜日との関係	4 8
3.2	圃場における開葉フェノロジーの変異.....	4 8
3.3	開葉フェノロジーの遺伝率.....	4 8
3.4	圃場における開葉フェノロジーと産地における最終重度晩霜日との関係 ...	4 9
4	考察.....	6 1
4.1	生育地における集団間変異.....	6 1
4.2	集団間・集団内の遺伝的変異と遺伝率.....	6 1
4.3	自然選択による局所適応.....	6 3

第5章 | 総合考察

1	ブナの開葉フェノロジーの集団間変異を規定している至近要因.....	6 5
2	ブナの開葉フェノロジーの集団間変異を規定している進化的要因	6 6
3	気候温暖化によってブナにおける開葉フェノロジーの集団間変異は どのように変化するか.....	6 7

摘要.....	6 9
---------	-----

Summary.....	7 1
--------------	-----

謝辞.....	7 3
---------	-----

引用文献	7 5
------------	-----

序 章

21 世紀における深刻な環境問題の一つに挙げられている地球温暖化は、森林群集の生物多様性と生態系の機能に様々な影響を及ぼすと予想されている (Parmesan & Hanley, 2015)。長期的にみると、分布の南限において生理的不適域が拡大し、個体群が衰退していく可能性がある (Jump & Penuelas, 2005)。温帯域における落葉樹の開葉フェノロジー (開芽日、展葉日、開芽積算温度などの春の葉の季節性に関わる諸形質) に及ぼす影響についてみると、気候温暖化は春季の気温上昇によって開芽の早期化をもたらすことが示唆されている (Parmesan & Yohe, 2003)。開葉の早期化は光合成期間を長くする一方で、晩霜害の増加をもたらす可能性がある (Kreyling, 2010)。

落葉樹における開葉フェノロジーの適応進化に影響する要因には、凍結 (晩霜・早霜) や乾燥のような気象に関わる物理的環境条件 (Sakai & Larcher, 1987; Larcher, 2003; Lenz et al., 2013) と、林冠木のフェノロジーによって決まる森林下層の光環境の季節的変動のような生物的環境条件 (Lechowicz, 1984; Seiwa, 1999; Tomita & Seiwa, 2004) がある。これらの要因は、分布北限や上限の成立に関与していると考えられている (Kojima et al., 2003; Lenz et al., 2013)。樹木の葉フェノロジーが変化すると以上のような相互関係から森林生態系全体が変化するため、地球温暖化による森林を取り巻く環境の変化に対して樹木が示す応答を予測することが重要である。本研究において、気象要因に対する落葉樹の開葉フェノロジーの適応進化についての知見を得ることは、以上のような地球温暖化の影響を予測する上で貢献を成すといえる。

適応形質についての集団間・集団内の遺伝的変異は、表現型可塑性とともに気候変動に対する樹木集団の適応能力を規定している (Jump et al., 2009; Petit & Hampe 2006)。量的遺伝学によると、開葉時期などの適応に関わる量的形質は、集団内の遺伝的変異の程度が大きいほど環境変動時の進化速度が速い (Falconer & Mackay, 1996)。集団間・集団内の遺伝的変異の程度は、当該形質に作用する自然選択のモードや強度とその空間的変異によって決まる (Charlesworth & Charlesworth, 2010)。さらに、集団間の遺伝子流動と表現型可塑性は自然選択の効果に影響を及ぼす (Alberto et al., 2011; Alberto et al., 2013)。したがって、種内における開葉フェノロジーの種内変異とその生成メカニズムの解明は、地球温暖化が当該種の集団に及ぼす長期的な影響の予測と適応能力の評価に貢献するものといえる。

温帯性落葉広葉樹における最適な開葉時期は、一般的に競争による自然選択と晩霜による自然選択の互いに対立する 2 つの要因によって決定される (Fu et al., 2019; Hänninen, 2015)。したがって、同種の集団において、開葉が早い個体は早春の太陽光を獲得することができるという点で有利であるが、そのような個体は開葉が遅い個体よりも晩霜害 (春季の凍結温度に伴う新葉の損傷) をより被りやすい。それにもかかわらず、特にヨーロッパとアジアに生育する温帯性落葉広葉樹では、気候温暖化が進行するにつれて開葉時期が早くなり、晩霜害

を被る頻度が増加すると予想されている (Vitasse et al., 2018b; Zohner et al., 2020)。樹木集団は一般的に開葉時期に遺伝的変異があるため (Alberto et al., 2013; Howe et al., 2003)、問題は気候温暖化による晩霜害の増加を回避するために開葉時期が進化するかどうか、また、進化するのであれば、開葉時期がどのように、どの程度変化するのかということである。晩霜害が増加するにつれて、開葉時期が早い個体は自然選択によって淘汰される。この場合、樹木集団は晩霜を回避するために開葉時期を遅延させる方向に進化することが予想される。したがって、気候温暖化の長期的な影響を予測するためには、開葉時期の進化と晩霜体制 (すなわち、晩霜の発生時期とその頻度) との関係を明らかにすることが不可欠である。

先行研究で行われた共通圃場実験では、晩霜の発生時期が遅い地域または春季の暖かい時期に晩霜が発生する地域に生育する樹木集団は、晩霜の発生時期が早い地域に生育する集団と比較して開葉時期が遅いことが報告されている (Eysteinnsson et al., 2009; Howe et al., 2003; von Wuehlisch et al., 1995)。温帯の山岳地域において同じ標高の山腹斜面と盆地を比較すると、晩霜は一般的に山腹斜面よりも盆地においてより頻繁に発生する (Geiger, 1950; Vitasse et al., 2017)。したがって、晩霜発生時期が遅い盆地に生育する集団は、盆地に隣接している山腹斜面の集団と比較して局所適応によって遅い開葉時期を示すことが予測される。

先行研究より、春季の高温と秋季から冬季にかけての冷温日数 (日平均気温が 0~5°C である日の日数) および日長という 3 つの非生物学的要因がこれらのブナ属 2 種の環境条件に応じた開葉時期の表現型可塑性に関与していることが示されている (Heide, 1993; Zohner et al., 2016; Zohner et al., 2018)。したがって、晩霜体制に対する開葉フェノロジーの局所適応は、日長および冷温日数に対する表現型可塑性の影響を含んだ、開葉日と開葉積算温度の変化と関連している可能性がある。また、冷温日数に対する開葉時期の表現型可塑性は、晩霜体制が異なる地域に生育するブナ集団間で異なると予想される。

以上のような晩霜体制に対する局所適応は、晩霜体制に対する適応の指標である安全余裕度 (最後に晩霜が発生した日から開葉日までの日数) によって評価することができる (Lenz et al., 2016)。この安全余裕度の値が正であれば、樹木集団はその場所の晩霜体制に対して局所適応しているといえる。これは、晩霜が軽微でない限り、安全余裕度が負の値を示す個体が晩霜によって淘汰されると考えられるためである。

ブナ *Fagus crenata* Blume は樹高 30m に達する落葉広葉樹で、九州南部から北海道南部にわたり分布する (中静, 2009)。北日本の多雪山地に優占し、特に最大積雪深が 1 m 以上となる地域では、ブナの優占度が高い森林 (ブナ林) を形成する (Hukushima et al., 1995)。本種は一斉開葉型で、開葉時期は他の優占樹種よりも早く、北日本では 4 月中旬から 5 月下旬に開葉する (丸山, 1979; Tomita & Seiwa, 2004)。また、開芽時期の直前~開芽時期にかけて開花し、風により花粉を散布する。花粉の散布距離は数 km に及ぶ (Inanaga et al., 2016)。本種の早い開葉時期は、多雪地において光合成可能期間を長くし、その結果として生産性を大きくしていると考えられる。しかしながら、この早い開葉時期のためにブナは晩霜害を被りやすく (Awaya et al., 2009)、晩霜害の発生によって分布北限地が決まっている可能性があ

る (Kojima et al., 2003)。ブナを対象とした先行研究では、緯度勾配に沿って開芽積算温度に遺伝的分化が生じていることが示されている (橋詰ら., 1996; Osada et al., 2018)。しかしながら、本種の開葉フェノロジーの遺伝的変異と晩霜体制との関係については研究が行われていない。集団間における開葉時期の遺伝的分化と晩霜体制との関係に焦点を当てた研究は、温帯性落葉樹種における晩霜体制に対する開葉時期の局所適応のメカニズムとその遺伝的基盤の解明に貢献する。また、開葉時期における遺伝的変異の大きさとその空間パターンについての知見は、アジアやヨーロッパで認められている地球温暖化の進行に伴う晩霜害のリスクの増加 (Vitasse et al., 2018b, Zohner et al., 2020) に対する本種の適応能力を評価することにも貢献するだろう。

本研究の目的は、晩霜体制の空間的な変異に着目して、(1) ブナの開葉時期における種内変異の実態を解明すること、(2) 本種の開葉時期に変異をもたらす要因と変異の生成メカニズムについて考察することである。そこで、北日本の八甲田連峰において標高や地形の異なる調査地を 12 地点 (山腹斜面 9 地点; 盆地 3 地点) 設置し、気温の測定やブナ林冠木における開葉フェノロジーの観察を行った。また、開葉フェノロジーの観察木から種子を採取して弘前市内の圃場に播種し、発芽した個体の開葉フェノロジーを観察した。本論文は 5 章で構成されており、各章の内容は以下の通りである。第 1 章では、晩霜体制と関連した地形の変異と開葉フェノロジーの集団間変異との関係を明らかにするために、全調査地の気温と冷温日数および最終晩霜日の地形間変異について分析するとともに、12 地点のうち 6 地点 (山腹斜面 4 地点; 盆地 2 地点) に生育する集団における開葉時期および開葉積算温度の変異について分析した。第 2 章では、冷温日数に対する開葉フェノロジーの表現型可塑性およびその程度の集団間・地形間変異について明らかにするために、6 地点について冷温日数と開葉時期との関係について分析した。第 3 章では、開葉フェノロジーにおける安全余裕度の集団間・地形間変異について明らかにするために、上記 6 地点について最終 (重度) 晩霜日基準の安全余裕度 (最終 (重度) 晩霜日から開葉日までの日数) と晩霜体制に関連する地形との関係について分析した。第 4 章では、晩霜時期の空間的変異に対応した開葉フェノロジーの遺伝的変異を明らかにするために、八甲田連峰に生育する開葉フェノロジー観察木から種子を採取して共通圃場実験を行い、圃場の稚樹の開葉フェノロジーの遺伝的変異や産地における晩霜時期との関係について分析した。第 5 章では、第 1 章～第 4 章の結果に基づいて、ブナ集団における開葉時期の集団間変異を規定する要因と気候温暖化の影響について考察した。

第1章 | 晩霜体制と関連した地形の変異と開葉フェノロジーの集団間変異との関係

1 はじめに

先行研究における共通圃場実験では、晩霜の発生時期が遅い地域または春季の暖かい時期に晩霜が発生する地域に生育する樹木集団は、晩霜の発生時期が早い地域に生育する集団と比較して開葉時期が遅いことが報告されている (Eysteinnsson et al., 2009; Howe et al., 2003; von Wuehlisch et al., 1995)。このことは晩霜による自然選択を示唆している。これらの先行研究は、海洋性気候から大陸性気候にわたる気候の変化のような、広範囲の地域における気候の大規模な変異に沿った開葉時期の地域的変異に焦点を当てており、遺伝子流動や自然選択による遺伝的分化が起こり得る集団内における狭いスケールの中での局所的な変異に焦点を当てた研究はほとんどない (Alberto et al., 2011)。温帯の山岳地域において同じ標高の山腹斜面と盆地を比較すると、盆地では放射冷却とそれに伴う移流によって気温の逆転が生じやすいため、晩霜は一般的に山腹斜面よりも盆地においてより頻繁に発生する (Geiger, 1950; Vitasse et al., 2017)。したがって、晩霜発生時期が遅い盆地に生育する集団は、盆地に隣接している山腹斜面の集団と比較して局所適応によって遅い開葉時期を示すことが予測される。

ブナ *Fagus crenata* とヨーロッパブナ *Fagus sylvatica* はそれぞれ日本の北部とヨーロッパの中央部における温帯林に優占する落葉広葉樹で、開葉時期が早いため晩霜害の影響を受けやすい (Kojima et al., 2003; Kreyling et al., 2011)。先行研究では、これらのブナ属2種は標高勾配に沿って開葉時期に遺伝的分化があり (Vitasse et al., 2009a)、また、緯度勾配に沿って開葉積算温度 (開葉に要する気温の積算値) に遺伝的分化があることが報告されている (Hashizume et al., 1996; Osada et al., 2018)。しかしながら、集団間変異と晩霜体制との関係に関する情報はほとんどない (Kreyling et al., 2014; von Wuehlisch et al., 1995)。

本章では、ブナの開葉フェノロジーにおける地形の変異に沿った集団間変異を明らかにするために、気温や異なる地形 (山腹斜面および盆地) に生育しているブナ林冠木における開葉時期および開葉積算温度について調査した。本研究では、冬芽が伸長して芽鱗が開き始め、葉原基が見えるようになった時期を「開芽」、また、個々の葉が展開し始めて見えるようになり、その葉面積が完全に葉が展開した時の面積の50%未満である時期を「展葉」と定義した。以降、「開葉」は開芽と展葉の両方を意味する。1つの山岳地域内において、晩霜が遅い時期に発生する盆地に生育する集団は、山腹斜面集団と比較して開葉時期が遅いのか否かについて調査するために、北日本の八甲田連峰において標高や地形の異なる調査地を12地点 (山腹斜面9地点; 盆地3地点) 設置した。はじめに、気象条件の生態学的重要性を評価するために、10年間 (9シーズン) にわたって気温を測定し、気温と冷温日数および最終晩霜日の地形間変異について分析した。また、12地点のうち6地点 (山腹斜

面4地点；盆地2地点）に生育する集団について、気温を測定した10年間のうち5年間にわたって開葉フェノロジーの観察を行い、開葉時期および開葉積算温度の集団間変異について分析した。

2 材料と方法

2.1 調査地

青森県八甲田連峰における落葉広葉樹の二次林と混交林に標高と地形の異なる調査地を12地点設置した(図1-1、表1-1)。本調査地周辺において、ブナは標高200m~1200mに分布している。12地点のうち、9地点(S1~S9)は山腹斜面に位置し、残りの3地点(B1~B3)は八甲田カルデラの一部である「田代平」と呼ばれる盆地底部の平坦な場所に位置している(工藤, 2020)。この盆地は標高540~600mに位置し、面積は約16km²におよび、標高800~1500mの山々に囲まれている。本調査地は互いに少なくとも1km以上間隔をあけて設置した。これらの調査地の調査期間中における各年の最大積雪深の平均値は、179~379cmであった(表1-1)。最も標高が高い調査地(S1; 表1-1参照)から東南東に6km離れた場所に設置されているアメダス観測所(酸ヶ湯; 40°38.9' N, 140°50.9' E; 標高890m; 気象庁、<https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/>)におけるAMeDASデータによると、2011~2019年の年平均気温は5.3°C(4.9~6.0°C)であった。

2.2 野外調査

(1) 12地点における気温の測定

年間最大積雪深はほとんどの調査地で約3mに達することが多いため(表1-1)、データロガー(HOBO Pro v2, Onset Ltd.)を12地点のそれぞれにおいて林冠木の樹幹の高さ5mの位置に設置した。調査した林冠木の多くのシュートは地上7~25mの高さについていたため、この高さを下回る位置では気温の測定を行わなかった。先行研究では、樹木の開葉フェノロジーは一般的に個々の枝を取り巻く気象条件によって決定されていることが示唆されている(Primack et al. 2015)。本研究では、2010~2019年の10年間にわたって、10分間隔で気温を測定した。データロガーは日射遮蔽箱(Solar Radiation Shield, Onset Ltd.)に入れ、樹幹の北側に、樹幹から10cm離して設置した。予備調査では、データロガーによって記録された測定値がAMeDASのデータに十分に近いことが示された(表1-2)。

(2) 6 集団における目視による開葉フェノロジーの観察

12 地点のうち 6 地点 (山腹斜面 S1、S6、S7、S9; 盆地 B1、B2) の集団については、2015～2019 年にわたって 1 集団当たり 30～59 個体の開葉フェノロジーの観察を行った。調査木は、約 1 ha の林分内にある林冠木 (樹冠が林冠に達している個体) とし、任意に選定した。また、調査木の個体数は調査した年および地点によって異なる。2015 年は全地点において、1 地点当たり 30 個体、計 180 個体の観察を行った。2015 年の観察データにより、開葉フェノロジーや環境条件に大きな集団内変異が認められた地点については、2016 年に新たに調査木を任意に選定し、1 地点当たり最大 29 個体を追加した。その結果、2016～2019 年の各地点における調査木の個体数は S1 地点で 37 個体、S6 地点で 37 個体、S7 地点で 59 個体、S9 地点で 31 個体、B1 地点で 36 個体、B2 地点で 50 個体の計 250 個体となった。

開葉フェノロジーの観察は、3 月下旬～6 月下旬に週 2 回の頻度で行った。双眼鏡を用いて調査木の樹冠全体を目視で観察し、開芽率を 0% (樹冠に開芽している冬芽が全く見られない)、10～90% (開芽している冬芽が樹冠に占める割合を 10% 刻みで評価)、100% (樹冠における全ての冬芽が開芽した) の 11 段階で評価した。また、展葉率の評価方法は同じであるが、百分率は樹冠に占める展開した葉の割合を示す。なお、本研究では、「開芽」を冬芽が伸長して芽鱗が開き始め、葉原基が見えるようになった時期、また、「展葉」を個々の葉が展開し始めて視認できるようになり、その葉面積が完全に葉が展開した時の面積の 50% 未満である時期と定義した。以降、「開葉」は開芽と展葉の両方を意味する。ただし、2015 年の S1 地点については、開葉フェノロジーの観察を開始した時点で既に開芽が進行していたため、開芽率を記録することができなかった。また、2018 年の S7 地点については、観察開始時点で既に展葉も進行していたため、開芽率および展葉率を記録することができなかった。

2.3 データ分析

(1) 12 地点における気象条件の標高間・地形間変異

気温の観測を行った 12 地点について、冬季から春季の気温、冷温日数、晩霜発生時期に着目して、気象条件の標高間・地形間 (すなわち、山腹斜面と盆地) の差異を分析した。加えて、調査地の北東部に位置する S4 と S8、および B1～B3 の 5 地点 (以下、「北東部」という) については、収集された気象データを用いて、類似した標高で互いに近接している地点の地形間差を分析した。これらの分析では、Vitasse et al. (2018) で用いられているように、「冷温日数」を「9/1～翌年 4/1 の期間内で日平均気温が 0℃以上 5℃未満となった日の日

数」と定義しており、この値は休眠解除に要する冷温要求量と近似している (Hänninen, 2015)。ブナ属に関するいくつかの先行研究では、冷温日数を日平均気温が 5°C 未満の日の日数と定義しているが (Osada et al., 2018; Vitasse & Basler, 2012)、本研究では日平均気温が 0°C 以上 5°C 未満となった日の日数を冷温日数として記録した。これは、0°C 未満の気温は多くの種において冷温要求量に貢献しないという事実を考慮しており (Polgar & Primack, 2011)、また、凍結低温を含む冷温日数の定義は、1~2 月のほとんどの日で気温が 0°C を下回るような場所において冷温日数を過大評価する可能性があるためである。岩手県の圃場で行われた圃場実験によると (Osada et al., 2018)、北日本産のブナ個体は、DOY が 130 日までに開葉する。したがって、9/1~翌年 4/1 までの期間 (約 120 日) は、冷温要求量を推定するための期間として用いることができる。また、平均気温については、10 年間 (9 シーズン) における冬季前半 (10~12 月)、冬季後半・早春 (1~3 月)、開葉期 (4~5 月) それぞれの日平均気温を用いて計算した。そして、説明変数を「標高」と「地形」、ランダム効果を「観測年」とした線形混合効果モデル (LMM) を用いて、山腹斜面 (S1~S9 の 9 地点) と盆地 (B1~B3 の 3 地点) 間で期間ごとに比較した。R 統計ソフトウェア ver.4.0.1 (R Core Team, 2021) を全ての分析に使用し、LMM には R の統計パッケージ「lme4」(Bates et al., 2015) および「lmerTest」(Kuznetsova et al., 2017) を使用した。また、北東部の 5 地点の平均気温についても同様の方法で分析した。

12 地点における晩霜の発生時期および頻度の地形間差についても、冷温日数の場合と同様に、上記の LMM を用いて分析した。さらに、5 地点における晩霜の発生時期および頻度の地形間差についても同様の方法で分析した。これらの分析では、「最終晩霜日」を「春季において日最低気温が 0°C を下回った最後の日 (DOY)」、また、「最終晩霜積算温度」をデグリーデイモデル (Hänninen, 2015) と同様に、「1/1 から最終晩霜日までの日平均気温の積算温度を、閾値を 5°C として算出した値」と定義した。最終晩霜積算温度は、この値が増加すると最終晩霜日から開葉日までの期間が短くなると予想されるため、樹木における晩霜害のリスクを示す。-3°C 以下の低温はブナの新葉に致命的な影響を与えるため (表 1-3)、後述した安全余裕度を分析するために、「最終重度晩霜日」を「春季において日最低気温が -3°C を下回った最後の日」と定義した。さらに、最終晩霜日と 5~6 月の晩霜日数との間について、説明変数を「最終晩霜日」、「地形」および「最終晩霜日と地形の交互作用」、ランダム効果を「観測年」としたポアソン分布一般化線形混合効果モデル (GLMM) を用いて分析した。なお、GLMM には R の統計パッケージ lme4 を使用した。

(2) 6 集団における開葉フェノロジーの集団間・年度間変異

5 年間の観察データを使用して、異なる地形に生育する 6 集団における開葉時期の集団間変異を分析した。さらに、東部に位置している同一標高の 4 集団 (山腹斜面 S6, S7 ; 盆

地 B1、B2) についても開葉時期の集団間変異の分析を行い、地形間の比較を行った。これらの分析では、開芽率が 10%に達した日を「開芽日」、展葉率が 50%に達した日を「展葉日」と定義した。したがって、「開芽積算温度」および「展葉積算温度」は、それぞれ開芽率が 10%に達した日の積算温度、展葉率が 50%に達した日の積算温度を示す。開芽積算温度および展葉積算温度は、デグリーデイモデル (Hänninen, 2015) によって計算した。ブナやヨーロッパブナに関する先行研究で用いられているように (Osada et al., 2018; Vitasse & Basler, 2012)、開芽積算温度および展葉積算温度について、1/1 を起算日、閾値を 5°Cとして積算することによって算出した。

6 集団における開葉時期の集団間・年度間変異を分析するために、開芽日、展葉日、開芽積算温度、展葉積算温度のそれぞれについて、説明変数を「集団」、「観察年」および「集団と観察年の交互作用」とした分散分析を行った。さらに、これらの開葉フェノロジー 4 形質 (開芽・展葉日および開芽・展葉積算温度) における地形間差を分析するために、説明変数を「地形」、ランダム効果を「集団」、「観察年」、「個体」としたフルモデルを用いて、LMM の赤池情報量基準 (AIC) に基づくモデル選択を行った。モデル選択には R の統計パッケージ「MuMIn」(Bartoń, 2020) を使用した。デルタ AIC 値が 2.00 未満の候補モデルが 2 つ以上ある場合、説明変数が最も少ないモデルをベストモデルとして選択し、候補モデルに共通する説明変数を有意な変数として採用した。また、東部の 4 集団における開葉フェノロジー 4 形質についても、フルモデルを用いた同様の分析を行った。

なお、開芽日については、開芽率 50%および 90%でも同様の分析を行い、展葉日についても、展葉率 10%および 90%で同様の分析を行った。その結果、どのフェノロジー段階でも同じような結果が認められたが、開芽 10%と展葉 50%のモデル選択で得られた LMM の AIC 値が最も小さく、説明力が高かった。

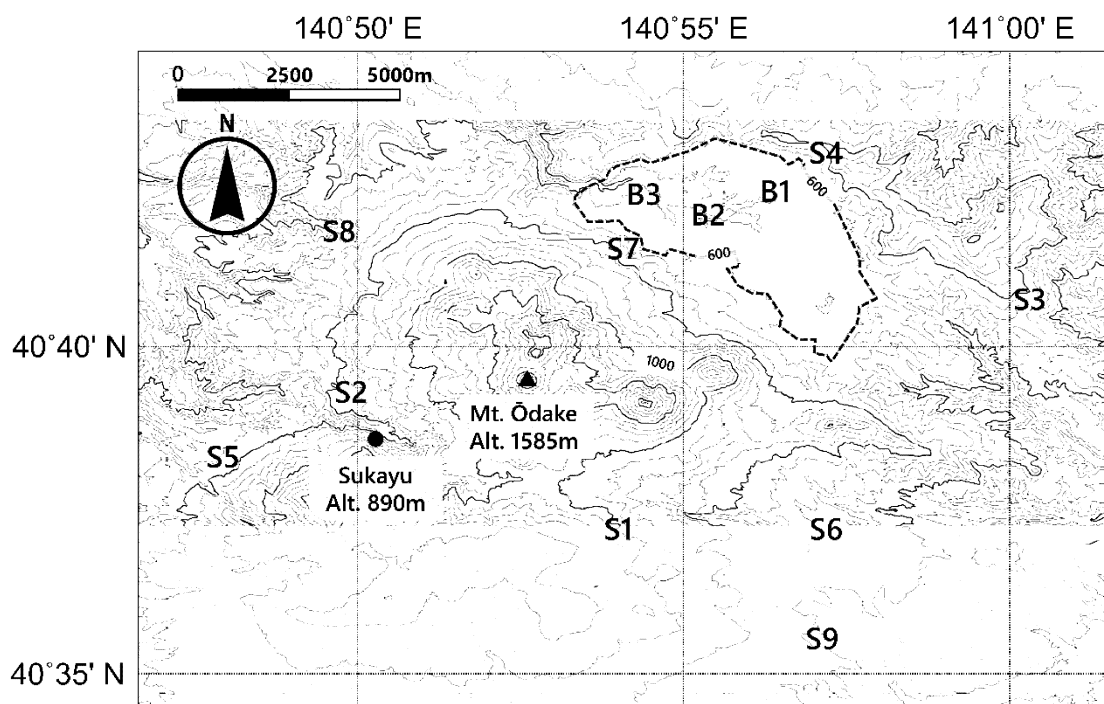


図1-1 北日本の八甲田連峰における調査地の位置

黒字と赤字の略称は、それぞれ山腹斜面 (S1～S9) と盆地 (B1～B3) の調査地を示している。また、「酸ヶ湯」は AMeDAS の酸ヶ湯アメダス観測所の位置を示している。赤の破線は、盆地の底部に当たる平坦な地形の範囲を示している。

Figure 1-1 Location of study sites in the Hakkoda Mountains, northern Japan

Black and red abbreviations denote the study sites on the hillside slopes (S1-9) and in the basin (B1-3), respectively. "Sukayu" indicates the location the location of Sukayu Station of AMeDas. Red dashed line shows the outline of flat land at the bottom of the basin.

表 1 - 1 調査地の概況

Table 1-1 Summary of the study sites

Sites	Topography	Altitude (m)	Snow depth ^b (cm)	Dominant species
S1 ^a	Hillside slope	900	379	<i>Fagus crenata</i> and <i>Abies mariesii</i>
S2	Hillside slope	790	332	<i>Fagus crenata</i>
S3	Hillside slope	650	257	<i>Fagus crenata</i>
S4	Hillside slope	650	291	<i>Fagus crenata</i>
S5	Hillside slope	650	302	<i>Fagus crenata</i>
S6 ^a	Hillside slope	620	262	<i>Fagus crenata</i> and <i>Magnolia obovata</i>
S7 ^a	Hillside slope	600	287	<i>Fagus crenata</i>
S8	Hillside slope	590	243	<i>Fagus crenata</i>
S9 ^a	Hillside slope	450	179	<i>Fagus crenata</i> and <i>Quercus crispula</i>
B1 ^a	Basin	570	247	<i>Fagus crenata</i> and <i>Quercus crispula</i>
B2 ^a	Basin	560	248	<i>Fagus crenata</i> and <i>Quercus crispula</i>
B3	Basin	550	264	<i>Quercus crispula</i> and <i>Fagus crenata</i>

^a 気温および葉フェノロジーの観察を実施した調査地。その他の場所については、気温の測定のみを実施した。

^b 高橋 (1968) による積雪深計を用いて測定した、2011~2019 年の各シーズンにおける最大積雪深の平均値。

^a Sites for observation of temperature and leaf out phenology. Only temperature was measured at other sites.

^b Mean value of the maximum snow depth per season from 2011 to 2019, measured using snow depth gauges according to Takahashi (1968).

表 1 - 2 データロガーと AMeDAS との間における日平均気温の差

Table 1-2 Difference in the daily mean temperature between the data logger and AMeDAS

2019 年 9 月に酸ヶ湯アメダス観測所付近（アメダス観測所から北西に約 80m）のブナ林にデータロガーを設置し、調査地 12 地点と同様に翌年の夏季まで気温を測定した（本文 2.1 参照）。データロガーと酸ヶ湯アメダス観測所の測定高はそれぞれ 5 m と 6 m であった。表に示したように、データロガーと酸ヶ湯アメダス観測所の日平均気温の差は小さかったため、少なくとも秋季～春季の気象条件の分析にデータロガーの測定値を利用することができることが示された。

We set a datalogger in a beech forest near Sukayu station (ca. 80 m northwest from the station) in September 2019 and measured air temperature until the next summer in the same manner as at the 12 study sites (see Section 2.2. in the text). The measurement height for the datalogger and Sukayu station was 5m and 6m, respectively. The difference in the daily mean temperature between the data logger and Sukayu station was small as shown in the table, indicating that measurements of the data logger are available for the analysis of meteorological conditions, at least from autumn to spring.

	Difference in the measurements (°C)		
	Mean	SD	<i>n</i>
September to November	0.028	0.226	91
December to February	0.047	0.436	90
March to May	0.003	0.240	92

表 1 - 3 ブナの開芽時期および展葉時期における新葉の LT₅₀ 値

4 集団 (S1、S7、S9、B2) と B2 集団が生育している地点から東に 6 km 離れた標高 990m の山腹斜面に生育する集団を対象にして、ブナの開芽および展葉直後の新葉の耐凍性を測定した。これらの集団の開芽および展葉直後の半数致死温度 (LT₅₀ 値) を表に示す。

Table 1-3 LT₅₀ values of new leaves at the budburst stage and that of leaf expansion for *Fagus crenata*

We measured the freezing tolerance of new leaves of *F. crenata* immediately after budburst and leaf expansion in four populations (S1, S7, S9, and B2) and a population inhabiting a hillside slope at an altitude of 990 m, located 6 km east of the B2 population. The median lethal temperatures (LT₅₀ in °C) for the budburst and leaf expansion stages of these populations are shown in the table.

Stage	Mean	SD	<i>n</i>
Budburst	-4.6	1.3	37
Leaf expansion	-3.9	0.7	37

新葉の耐凍性を測定するために、2018 年 4 月～5 月に 37 個体 (1 集団当たり 4～11 個体) の葉フェノロジーを観察すると同時に、高さ 2～13m から開芽直後の冬芽と展葉直後の新葉がついた枝を採取した。採取後は、枝を 20～25°C で 12 時間置いた後に 0°C のフリーザー内に 3 時間入れた。その後、目的の曝露温度 (0°C、-2°C、-4°C、-6°C、-8°C) に到達するまで 1 時間に 1°C ずつ温度を下げ、目標の曝露温度に達してからその温度で 1 時間曝露させた後、フリーザー内から取り出して 4°C のインキュベーター内に 8 時間置いた。なお、目的の曝露温度が -4°C 未満であった場合、枝を -2°C に 3 時間曝露させた後により低い気温に順応させた。低温曝露処理後は、1 本の枝当たり 4 つの冬芽またはシュートを観察し、各個体における凍結傷害の割合を評価した。開芽および展葉直後段階の LT₅₀ 値は、二項分布を仮定した一般化線形モデル (GLM) を用いて、各個体の測定値に基づいて推定した。

For the measurements, we observed the leaf out phenology of 37 trees (4–11 trees for each population) from April to May 2018 and collected twigs with winter buds immediately after budburst and new shoots immediately after leaf expansion from the trees at a height of 2–13 m at the same time. After cutting, the twigs were kept at 20–25 °C for 12 h and then placed in a freezer at 0 °C for 3 h. Thereafter, the twigs were frozen at a rate of 1 °C per hour until the desired target temperature (0 °C, -2 °C, -4 °C, -6 °C, and -8 °C) was reached. The twigs were then maintained at the target freezing

temperature for 1 h, and then placed in an incubator set at 4 °C for 8 h. For target temperatures lower than -4 °C, the twigs were exposed to -2 °C for 3 h to acclimate to lower temperatures. After freezing, young leaves with four buds or new shoots per twig were observed to evaluate the percentage of freezing injury for each tree. The values of LT_{50} for the budburst and leaf expansion stages were estimated based on measurements from each tree using a generalized linear model (GLM) with binomial errors.

3 結果

3.1 気象条件の標高間・地形間変異

調査を行った 12 地点について、冬季～春季における平均気温について分析した結果、冬季前半（10～12 月）、冬季後半・早春（1～3 月）、開葉期（4～5 月）における標高差 100m 当たりの気温遞減率はそれぞれ 0.66°C、0.74°C、0.64°C であった。また、いずれの期間についても、盆地の平均気温は山腹斜面の平均気温よりも低かった（表 1-4）。LMM で推定した同一標高における山腹斜面と盆地との平均気温の期待値の差は、これらの期間において 0.2～0.3°C であった。さらに、北東部の 5 地点についても同様に分析した結果、地形間で同様の差異を示したが、開葉時期の差は有意ではなかった（表 1-5）。

12 地点における晩霜の発生については、4～6 月上旬まで起こり、標高が高くなるほど最終晩霜日が有意に遅くなる傾向が認められた（図 1-2 (a)）。盆地における最終晩霜日は、同一標高の山腹斜面よりも遅かった（表 1-4）。LMM による最終晩霜日の期待値についてみると、盆地に位置している地点の方が山腹斜面の地点よりも 20 日遅かった。また、最終晩霜積算温度についても、盆地に位置している地点の方が山腹斜面の地点よりも大きかった（図 1-2 (b)、表 1-4）。ただし、この値と標高との間に有意な相関は認められなかった。また、北東部の 5 地点についても同様に分析した結果、地形と最終晩霜日および最終晩霜積算温度との間に同様の差異を示したが、最終晩霜積算温度の地形間差はわずかであった（表 1-5）。さらに、最終晩霜日と 5～6 月の晩霜日数との関係について分析した結果、全ての地点で最終晩霜日が遅いほど 5～6 月までの晩霜日数が増加する傾向が認められた（表 1-6）。また、これらの変数間における関係には、有意な地形間差は認められなかった。

12 地点の冷温日数については、標高が高くなるほど減少し、有意な地形間差は認められなかった（図 1-3、表 1-4）。さらに、北東部の 5 地点についても同様に分析した結果、これらの変数間で類似した関係が認められた（表 1-5）。

3.2 開葉フェノロジーの集団間・年度間変異

開葉フェノロジーの観察を行った 6 地点の中で最も標高が高い S1 集団を除いて、盆地集団（B1、B2）は山腹斜面集団（S6、S7、S9）よりも開葉時期が遅かった（図 1-4 (a)）。開芽日と展葉日のいずれにおいても地形間で有意に異なった（表 1-7）。さらに、東部の 4 集団についても同様に分析した結果、これら 2 つの形質（開芽日・展葉日）のそれぞれについて地形間で有意な差が認められた（表 1-8）。開葉時期の集団間・年度間変異について分散分析を行った結果、開芽日については有意な集団間・年度間変異があり、集団と年の

交互作用も有意であった（図 1 - 9）。集団間における開葉時期の順位は、年によって有意差はなかった。また、展葉日についても同様の分析を行った結果、開芽日と同様に展葉日に有意な集団間変異および年度間変異があり、集団と年の交互作用も有意であった（図 1 - 4、表 1 - 9）。

開葉積算温度については、開芽と展葉の両方において、盆地集団は山腹斜面集団よりも大きい値を示した（図 1 - 5 (a)、1 - 5 (b)、表 1 - 7）。盆地集団の開芽積算温度は、山腹斜面集団のものよりも平均値で 2.1 倍大きかった。また、東部の 4 集団についても同様に分析した結果、これら 2 つの形質（開芽日・展葉日）のそれぞれについて地形間で有意な差が認められた（表 1 - 8）。さらに、分散分析の結果、開芽積算温度と展葉積算温度において集団間変異および年度間変異があることが示された（表 1 - 9）。

表 1 - 4 12 地点における 6 つの気象条件についての LMM の結果

Table 1-4 Results of LMMs for the six meteorological conditions of the twelve sites

Intercept and variables	Estimate	Std. error	df	<i>P</i> value
Mean temperature for the first half of winter				
Intercept ^a	6.652	0.215	8.7	<0.001
Altitude	-0.00656	0.00012	86.0	<0.001
Topography ^b	0.300	0.031	86.0	<0.001
Mean temperature for the second half of winter				
Intercept ^a	0.273	0.355	7.6	<0.001
Altitude	-0.00751	0.00011	86.0	<0.001
Topography ^b	0.210	0.030	86.0	<0.001
Mean temperature for the leaf-flushing period				
Intercept ^a	11.658	0.404	9.7	<0.001
Altitude	-0.00631	0.00027	86.0	<0.001
Topography ^b	0.353	0.069	86.0	<0.001
Day of the last frost				
Intercept ^a	115.1	5.8	89.0	<0.001
Altitude	0.0353	0.0088	97.0	<0.001
Topography ^b	-20.4	2.3	97.0	<0.001
Temperature sum of the last frost				
Intercept ^a	100.4	25.8	100.7	<0.001
Altitude	0.0449	0.0410	97.0	0.28
Topography ^b	-92.5	10.6	97.0	<0.001
Chilling duration				
Intercept ^a	46.709	2.856	18.7	<0.001
Altitude	-0.0251	0.0029	97.0	<0.001
Topography ^b	0.125	0.745	97.0	0.87

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^a The coefficient for the basin site

^b The effect of the hillside slopes

表 1 - 5 北東部の 5 地点 (B1~B3、S4、S7) における 6 つの気象条件についての LMM の結果

Table 1-5 Results of LMMs for the six meteorological conditions of the five sites (B1 to B3, S4, and S7) in the northeastern area

Intercept and variables	Estimate	Std. error	df	<i>P</i> value
Mean temperature for the first half of winter				
Intercept ^a	5.335	0.454	37.0	<0.001
Altitude	-0.00421	0.00073	30.0	<0.001
Topography ^b	0.278	0.054	30.0	<0.001
Mean temperature for the second half of winter				
Intercept ^a	2.228	0.413	13.2	<0.001
Altitude	-0.01100	0.00039	30.0	<0.001
Topography ^b	0.482	0.029	30.0	<0.001
Mean temperature for the leaf-flushing period				
Intercept ^a	8.581	1.018	36.3	<0.001
Altitude	-0.00082	0.00169	30.0	0.63
Topography ^b	0.180	0.125	30.0	0.16
Day of the last frost				
Intercept ^a	187.9	46.2	34.1	<0.001
Altitude	-0.0946	0.0824	34.0	0.26
Topography ^b	-12.9	6.1	34.0	0.04
Temperature sum of the last frost				
Intercept ^a	352.1	266.4	34.1	0.20
Altitude	-0.4044	0.4751	34.0	0.40
Topography ^b	-63.5	35.0	34.0	0.08
Chilling duration				
Intercept ^a	65.709	9.222	38.1	<0.001
Altitude	-0.0590	0.0159	34.0	<0.001
Topography ^b	0.946	1.173	34.0	0.43

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^a The coefficient for the basin site

^b The effect of the hillside slopes

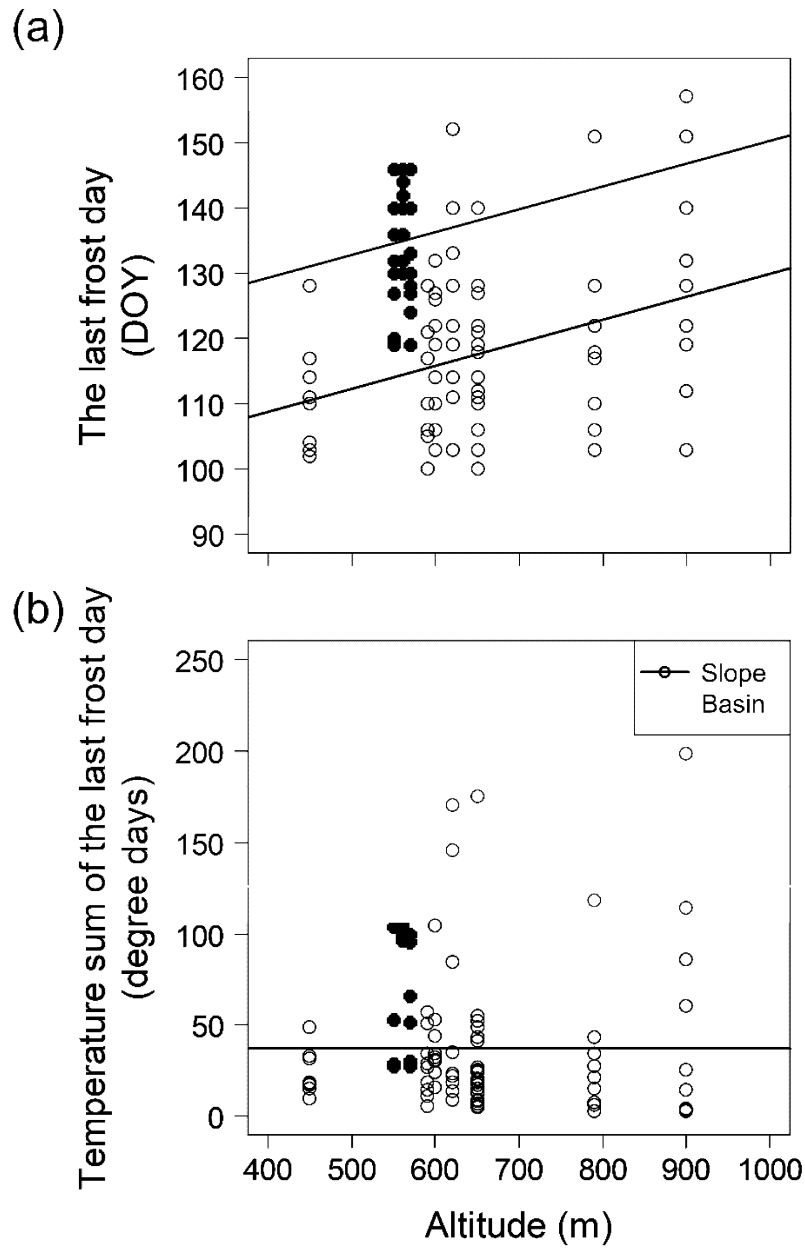


図1-2 9年間(2011~2019年)における、最終晩霜日の標高間・地形間変異(a)および最終晩霜積算温度の標高間・地形間変異(b)

点と線はそれぞれ測定値とLMMによる期待値を示している。

Figure 1-2 Variation in the last frost day (a) and the temperature sum of the last frost (b) along altitude and in the two topographies over nine years (2011–2019)

Points denote the measurements and lines denote the expected values of the LMMs, which indicate variation within years.

表 1 - 6 12 地点における晩霜日数についてのポアソン分布 GLMM の結果

Table 1-6 Results of the Poisson GLMM for the number of the frost days of the 12 sites

Intercept and variables	Estimate	Std. error	Z value	P value
Intercept ^a	-10.0023	2.4764	-4.04	<0.001
Day of the last frost	0.0770	0.0177	4.36	<0.001
Topography ^b	-0.9803	2.4509	-0.40	0.69
Day of the last frost × Topography	0.0047	0.0180	0.26	0.80

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^a The coefficient for the basin site

^b The effect of the hillside slopes

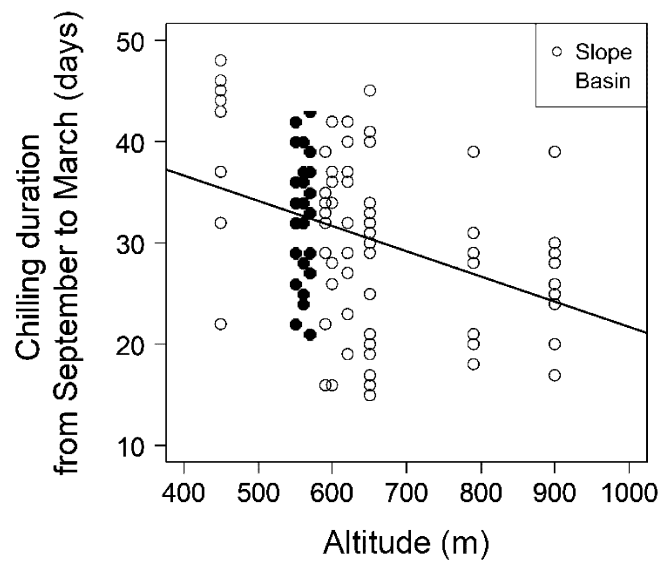


図 1 - 3 9年間(2011~2019年)における標高に沿った冷温日数(9/1~3/31の冷温日)の変異

点と線はそれぞれ測定値とLMMによる期待値を示している。

Figure 1-3 Variation in chilling duration (chilling days from September 1 to March 31) along altitude over nine years (2011-2019)

Points denote measurements and the line denotes expected values of the LMM, which indicate altitudinal variation within years for all sites.

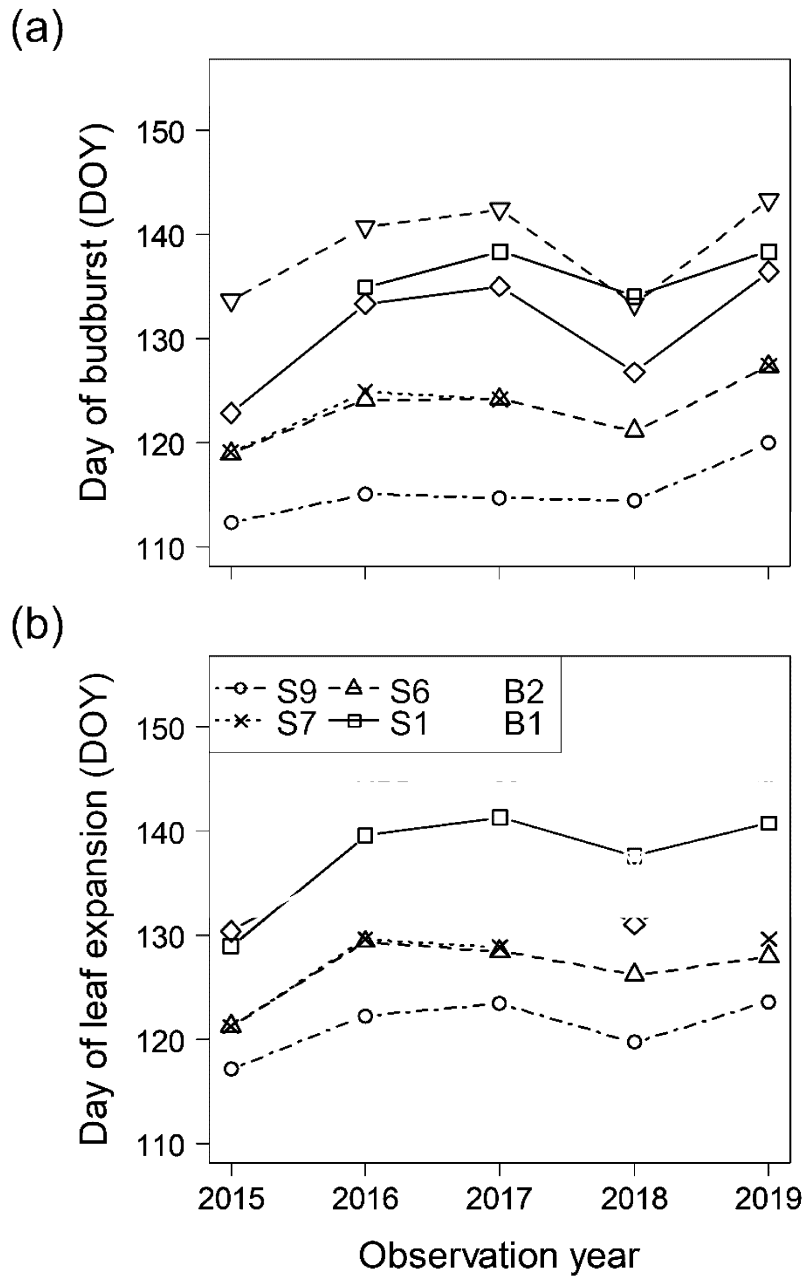


図1-4 開芽日の集団間・年度間変異(a)および展葉日の集団間・年度間変異(b)
 シンボルは各年・各集団における平均値を示している。黒色と赤色はそれぞれ山腹斜面集団と盆地集団を示している。

Figure 1-4 Interpopulation and yearly variations in the day of budburst (a) and leaf expansion (b)
 Points indicate mean values for each year and population. Black and red denote hillside slope and basin populations, respectively.

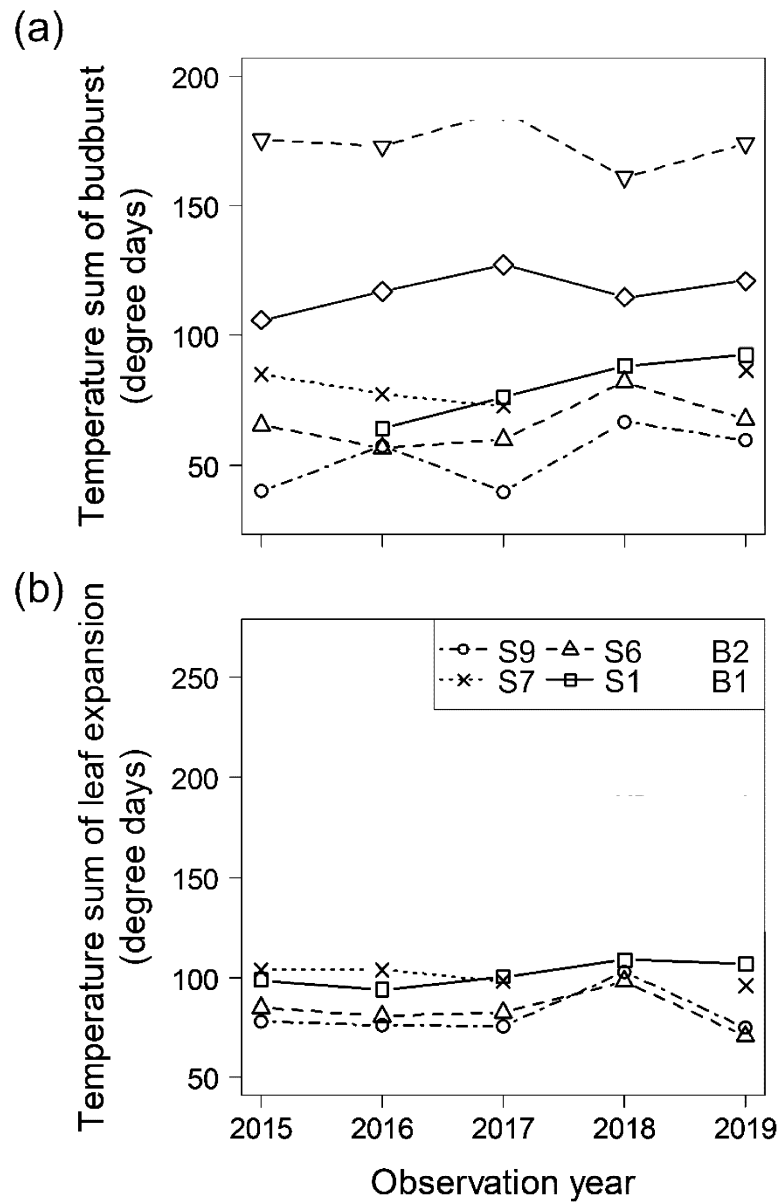


図1-5 開芽積算温度の集団間・年度間変異(a)および展葉積算温度の集団間・年度間変異 (b)

シンボルは各年・各集団における平均値を示している。黒色と赤色はそれぞれ山腹斜面集団と盆地集団を示している。

Figure 1-5 Interpopulation and yearly variation in the temperature sum of budburst (a) and leaf expansion (b)

Points indicate mean values for each year and population. Black and red denote hillside slope and basin populations, respectively.

表 1-7 6 集団における開葉フェノロジー 4 形質（開芽・展葉日および開芽・展葉積算温度）についてのベストモデルの結果

モデル選択は、説明変数を「地形」、ランダム効果を「集団」、「観察年」および「個体」としたフルモデルを用いて行った。

Table 1-7 Results of the selected LMMs for the four phenological traits of the six populations

The Model selection was performed using the full models, in which the explanatory variable was “topography,” and random effects were “population,” “observation year,” and “tree.”

Intercept and variables	Estimate	Std. error	df	<i>t</i> value
Day of budburst				
Intercept ^a	134.9	5.4	4.9	24.65
Topography ^b	-11.0	6.3	2.0	-1.73
Day of leaf expansion				
Intercept ^a	139.1	4.9	4.8	28.38
Topography ^b	-10.8	5.7	4.0	-1.89
Temperature sum of budburst				
Intercept ^a	145.6	15.5	4.1	9.39
Topography ^b	-76.9	18.8	4.0	-4.08
Temperature sum of leaf expansion				
Intercept ^a	177.3	15.8	4.1	11.22
Topography ^b	-85.0	19.2	4.0	-4.43

デルタ AIC はいずれのモデルについても 0.0 であった。

The delta AIC was 0.0 for all selected models.

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^a The coefficient for the basin

^b The effect of the hillside slopes

表 1 - 8 八甲田連峰東部の 4 集団 (B1、B2、S6、S7) における開葉フェノロジー 4 形質 (開芽・展葉日および開芽・展葉積算温度) についてのベストモデルの結果

Table 1-8 Results of the selected LMMs for the four phenological traits of the four populations (B1, B2, S6, and S7) on the eastern side of Hakkoda mountains

Intercept and variables	Estimate	Std. error	df	<i>t</i> value
Day of budburst				
Intercept ^a	134.8	3.3	4.2	40.78
Topography ^b	-11.9	3.7	2.0	-3.19
Day of leaf expansion				
Intercept ^a	139.0	2.9	3.7	48.15
Topography ^b	-12.3	3.4	2.0	-3.59
Temperature sum of budburst				
Intercept ^a	145.4	19.9	2.0	7.30
Topography ^b	-72.8	28.1	2.0	-2.59
Temperature sum of leaf expansion				
Intercept ^a	176.6	21.5	2.1	8.23
Topography ^b	-84.9	30.1	2.0	-2.82

デルタ AIC はいずれのモデルについても 0.0 であった。

The delta AIC was 0.0 for all selected models.

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^a The coefficient for the basin

^b The effect of the hillside slopes

表 1-9 6 集団における開葉フェノロジー 4 形質（開芽・展葉日および開芽・展葉積算温度）についての分散分析の結果

Table 1-9 Results of ANOVA for the four phenological traits of the six populations

Source of variation	df	SS	MS	F value	P value
Day of budburst					
Population	5	71084	14217	744.9	<0.001
Year	1	3570	3570	187.1	<0.001
Population × Year	5	323	65	3.4	<0.01
Residuals	1079	20592	19		
Day of leaf expansion					
Population	5	61121	12224	638.1	<0.001
Year	1	1873	1873	97.8	<0.001
Population × Year	5	938	188	9.8	<0.001
Residuals	1109	1109	19		
Temperature sum of budburst					
Population	5	2003028	400606	659.4	<0.001
Year	1	13470	13470	22.2	<0.001
Population × Year	5	19169	3834	6.3	<0.001
Residuals	1079	655506	608		
Temperature sum of leaf expansion					
Population	5	2435275	487055	683.5	<0.001
Year	1	10987	10987	15.4	<0.001
Population × Year	5	36286	7257	10.2	<0.001
Residuals	1109	790223	713		

4 考察

4.1 地形と関連した気象条件における変異

八甲田連峰における 12 地点の気温について分析した結果、盆地における冬季～春季までの日平均気温は、同一標高における山腹斜面よりも $0.2\sim 0.3^{\circ}\text{C}$ 低かった。この気温差は小さいようにみえるが、最終晩霜日の差は大きく、同一標高で比較すると盆地の方が約 3 週間遅かった。これは、温帯域における高山に囲まれた盆地の底に冷気が溜まるという現象によって説明できる (Geiger, 1950)。さらに、盆地における最終晩霜積算温度は、標高に関係なく山腹斜面 ($37^{\circ}\cdot\text{日}$) と比較して非常に大きく (期待値で $126^{\circ}\cdot\text{日}$)、盆地の方が山腹斜面よりも暖かい時期に晩霜が発生することが示された。この晩霜の特徴は、移動性高気圧が日本に到達したときに起こる春季における気温の逆転によって説明ができる (Fukui, 1977)。また、冷温日数は標高が高くなるにつれて減少した。これは、少なくとも本調査地の中標高域～高標高域における過剰な凍結低温によって、冷温日数が標高の上昇に伴って減少することを示している。盆地に位置している 2 つの調査地間の距離が山腹斜面に位置している調査地間の距離よりも短かったが、標高が類似している 5 つの近接した調査地に関する結果は全調査地の結果と類似していたため、この調査地間の距離は地形間における晩霜体制の比較に影響しないといえる。したがって、これらの結果は晩霜体制が地形間で異なることを示している。先行研究では、春季における冷気湖は晩霜によって樹木の生存と成長に影響を及ぼし得ることが報告されている (Blennow & Lindkvist, 2000; Vitasse et al., 2017)。本研究の調査地は、地形の変異によって引き起こされる本種の開葉フェノロジーにおける適応的意義を解明することに適している。

4.2 開葉フェノロジーの集団間・年度間変異

現地における観察によって、盆地集団は最も高標高域に生育している S1 集団を除いた山腹斜面集団よりも開葉が遅いことが明らかとなった。さらに、標高に関係なく盆地の開葉積算温度の方が山腹斜面のものよりも大きく、開葉時期を制御するメカニズムが地形間で異なることが示唆された。この結果は、同一標高域に位置する集団間で比較した際に地形間で差がなかったため、冷温日数の変異に起因するものではない (図 1-9)。したがって、4.1 節で述べたように、晩霜体制が地形間で異なることを考慮すると、これらの結果は、晩霜体制が異なる地形間における開葉フェノロジーの変異に関する本研究の予想を支持しており、晩霜体制における局所適応が開葉日および開葉積算温度の集団間変異を引き起こす非生物学的要因であることを示唆している。S1 集団について、開葉積算温度が盆地集団のものよりも小さかったのにもかかわらず、開葉日は他の山腹斜面集団よりも盆地集団に類似

していた。この矛盾は、S1 集団とその他の集団間の標高の違いによって説明できる。S1 集団は、本研究における調査地の中で最も高標高域に生育しているため、ある特定の期間、他の集団よりも寒冷的な気象条件に曝されている。筆者が知る限りでは、地形に起因する晩霜体制に関連した温帯性樹種における開葉フェノロジーの集団間変異について報告したのは初めてである。本研究は、1つの山岳地域における1つの盆地に生育する集団とそれを取り巻く山腹斜面に生育する集団についてのみ調査したため、本研究の発見を一般化するためには、冷気湖となり得る他の盆地においてもさらに研究を進める必要がある。それにもかかわらず、本研究の調査結果は、温帯性樹種における開葉フェノロジーの集団間変異に関する先行研究の結果と一致している。落葉樹における開葉日の地域間変異について調査した共通圃場実験によると、晩霜が頻繁に発生する、または、より温暖な条件下で発生する地域産の個体は開芽が遅く、その逆も同様であった (Alberto et al., 2011; Eysteinnsson et al., 2009; Howe et al., 2003; von Wuehlisch et al., 1995)。しかしながら、これらの実験では、経度勾配や標高勾配に沿った無霜期間の長さにおける変異のような他の気象条件の違いが、晩霜体制に加えて種内変異に寄与している可能性がある。

第2章 | 冷温日数の年変動に対応した開葉フェノロジーの 表現型可塑性

1 はじめに

適応形質についての集団間・集団内の遺伝的変異は、表現型可塑性とともに気候変動に対する樹木集団の適応能力を規定している (Jump et al., 2009; Petit & Hampe 2006)。ブナ属の開葉フェノロジーにおける表現型可塑性についてみると、先行研究により、春季の高温と秋季から冬季にかけての冷温日数 (日平均気温が 0~5°C である日の日数) および日長という 3 つの非生物学的要因が環境条件に応じた開葉時期の表現型可塑性に関与していることが示されている (Heide, 1993; Zohner et al., 2016; Zohner et al., 2018)。春季の高温と秋季から冬季にかけての冷温日数の効果は一般的に相互に作用し、冷温日数が増加するにつれて開葉積算温度は減少する (Osada et al., 2018; Vitasse & Basler, 2012)。したがって、晩霜体制に対する開葉フェノロジーの局所適応は、日長および冷温日数に対する表現型可塑性の影響を含んだ、開葉日と開葉積算温度の変化と関連している可能性がある。例えば、表現型可塑性の程度やパターンは、冷温日数が多い年に開葉積算温度が著しく減少する個体が晩霜によって淘汰されるような地域で変化する。特に、ブナは冷温日数に対する表現型可塑性に遺伝的変異がある (Osada et al., 2018)。したがって、冷温日数に対する開葉時期の表現型可塑性は、晩霜体制が異なる地域に生育するブナ集団の間で異なると予想される。

本章では、冷温日数に対する開葉フェノロジーの表現型可塑性の程度は地形間で異なるのかについて明らかにするために、第1章で行った気温の測定および開葉フェノロジーの観察で得られたデータを用いて、2つの異なる地形 (すなわち、山腹斜面と盆地) に生育する集団を比較することによって、冷温日数に対する開葉時期の表現型可塑性 (冷温日数の変動による開葉フェノロジーの年度間変異) の集団間変異について分析した。

2 材料と方法

冷温日数に対する表現型可塑性の地形間差を分析するために、第1章で行った10年間の気温の測定および5年間の開葉フェノロジーの観察で得られたデータを用いた。開葉フェノロジーの観察を行った6集団 (S1、S6、S7、S9、B1、B2) における開葉フェノロジー4形質 (開芽・展葉日および開芽・展葉積算温度) について、説明変数を「冷温日数」、「地形」およびこれらの交互作用、ランダム効果を「集団」、「個体」としたフルモデルを用いて、LMM の AIC に基づくモデル選択をそれぞれ行った。同様に、同一標高で近接している集

団の表現型可塑性を比較するために、東部の4集団(S6、S7、B1、B2)における開葉フェノロジー4形質について、6集団についての分析とフルモデルを用いた分析を行った。

3 結果

冷温日数と開芽日との関係について分析した結果、冷温日数が開芽日に及ぼす影響の程度に有意な地形間差(すなわち、冷温日数と地形の交互作用は有意ではない)はなく、全ての集団で冷温日数が多い年ほど開芽日が早くなる傾向が認められた(図2-1(a)、表2-1)。このことは、6集団において冷温日数に対する開芽日の表現型可塑性が同程度であることを示唆している。また、最も高標高域に生育している山腹斜面集団(S1)の開芽日は盆地集団のものと類似しており、盆地とS1集団の開芽日は、いずれの冷温日数においても、他の山腹斜面集団のものよりも大きかった。一方、冷温日数と展葉日との関係については、冷温日数と地形、およびこれらの交互作用のいずれにおいても有意な関係は認められなかった。この結果は、いずれの集団においても冷温日数が展葉日に及ぼす影響は小さいことを示している(図2-1(b)、表2-1)。同様に、東部の4集団について分析した結果、冷温日数による開芽日の年度間変異は認められたが、展葉日の年度間変異は有意ではなかった(表2-2)。

冷温日数と開芽積算温度との関係について分析した結果、冷温日数と開芽日との関係と同様に、全ての集団で冷温日数が多い年ほど開芽積算温度が小さくなるという傾向が認められた(図2-2(a)、表2-1)。また、冷温日数と地形の交互作用は有意であった。すなわち、冷温日数が開芽積算温度に及ぼす影響の程度に明瞭な地形間差があり、冷温日数に対する表現型可塑性の程度は山腹斜面集団の方が盆地集団よりも大きかった。一方、冷温日数と展葉積算温度との関係については、山腹斜面と盆地との間で有意に異なっていた。山腹斜面集団では開芽積算温度と同様の傾向が認められた一方で、盆地集団では、冷温日数が多い年ほど展葉積算温度が大きくなる傾向が認められた(図2-2(b)、表2-1)。この結果は、冷温日数が展葉積算温度に及ぼす影響の方向(すなわち、影響の正負)が山腹斜面集団と盆地集団との間で逆になっていることを示している。さらに、東部の4集団については、開芽積算温度と展葉積算温度の両方において、6集団についての結果と同様の傾向を示した(表2-2)。また、有意な変数についても、6集団についての結果と同様であった。

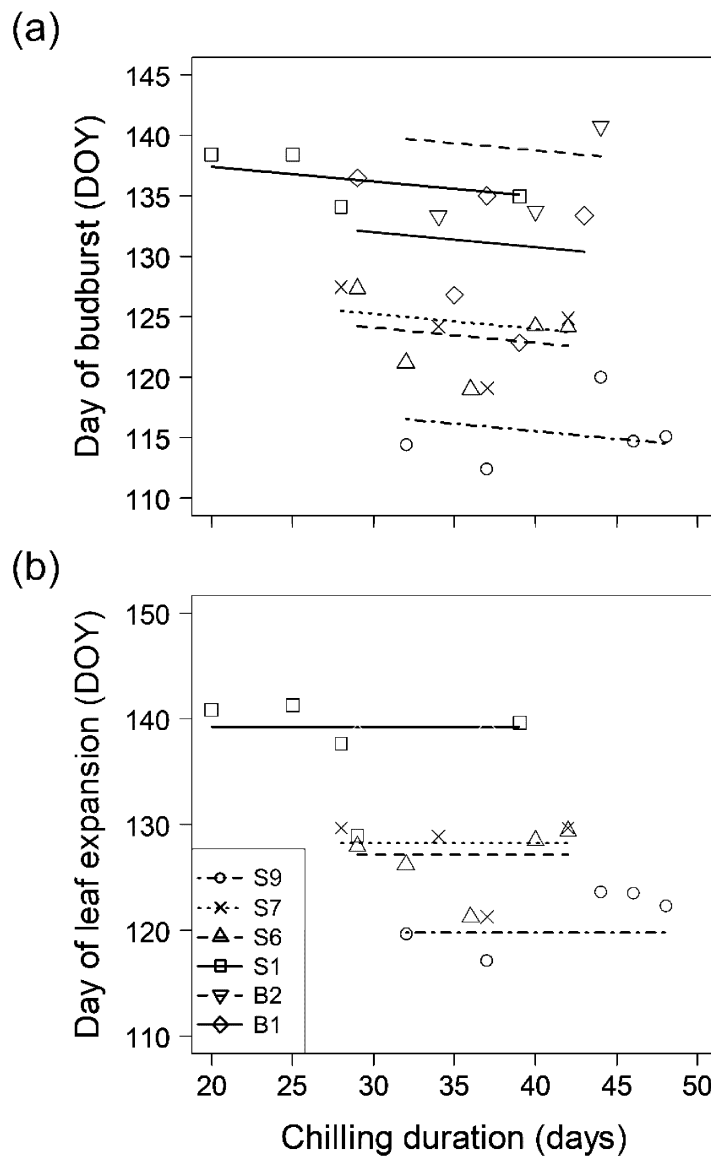


図 2-1 冷温日数と開芽日との関係(a)および冷温日数と展葉日との関係(b)

シンボルは各年および各集団における平均値を示しており、直線は各個体のデータに基づいた LMM の期待値を示している。黒色と赤色はそれぞれ山腹斜面集団と盆地集団を示している。

Figure 2-1 The relationship between chilling duration and the day of budburst (a), and the relationship between chilling duration and the day of leaf expansion (b)

Points denote the mean values for each population and each year and lines denote the expected values of LMMs based on individual data, which indicate yearly variations within populations. Black and red denote hillside slope and basin populations, respectively.

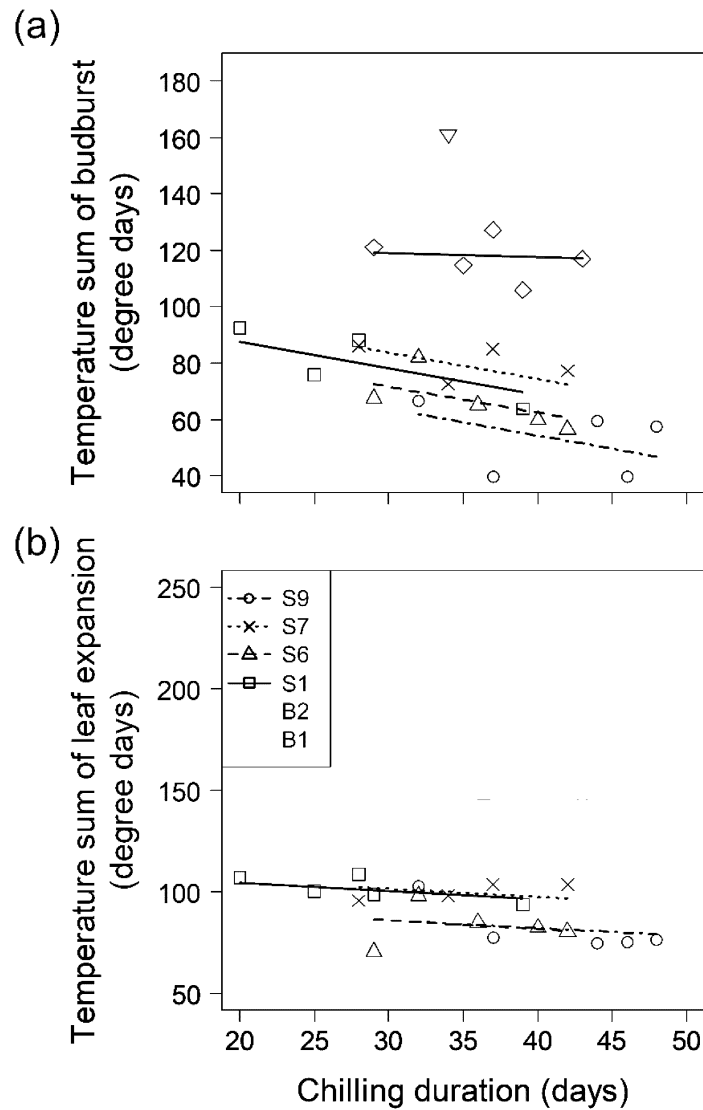


図 2 - 2 冷温日数と開芽積算温度との関係(a)および冷温日数と展葉積算温度との関係
(b)

シンボルは各年および各集団における平均値を示しており、直線は各個体のデータに基づいた LMM の期待値を示している。黒色と赤色はそれぞれ山腹斜面集団と盆地集団を示している。

Figure 7 The relationship between chilling duration and the temperature sum of budburst (a), and the relationship between chilling duration and the temperature sum of leaf expansion (b)

Points denote the mean values for each population and each year and the lines denote expected values of LMMs based on individual data, which indicate yearly variations within populations. Black and red denote hillside slope and basin populations, respectively.

表 2-1 6 集団の開葉フェノロジー 4 形質（開芽・展葉日および開芽・展葉積算温度）における表現型可塑性についてのベストモデルの結果

モデル選択は、説明変数を「冷温日数」、「地形」、「冷温日数と地形の交互作用」、ランダム効果を「集団」および「個体」としたフルモデルを用いて行った。

Table 2-1 Results of the selected LMMs for the phenotypic plasticity of the four phenological traits for the six populations

The Model selection was performed using the full models, in which the explanatory variable was "chilling duration," "topography," and "the interaction of chilling duration and topography," and the random effects were "population" and "tree."

Intercept and variables	Estimate	Std. error	df	t value
Day of budburst				
Intercept ^a	139.668	5.379	26.0	25.96
Chilling duration	-0.123	0.025	862.7	-4.97
Topography ^b	-10.414	6.495	4.0	-1.60
Day of leaf expansion				
Intercept ^a	139.235	4.646	4.0	29.97
Topography ^b	-10.603	5.691	4.0	-1.86
Temperature sum of budburst				
Intercept ^a	151.203	16.162	5.5	9.36
Chilling duration	-0.161	0.167	845.0	-0.96
Topography ^b	-48.877	19.635	5.3	-2.49
Chilling duration × Topography ^b	-0.771	0.194	845.7	-3.97
Temperature sum of leaf expansion				
Intercept ^a	127.925	17.228	5.3	7.43
Chilling duration	1.283	0.171	873.2	7.52
Topography ^b	-22.698	20.945	5.2	-1.08
Chilling duration × Topography ^b	-1.673	0.199	873.8	-8.41

デルタ AIC はいずれのモデルについても 0.0 であった。

The delta AIC was 0.0 for all selected models.

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^a The coefficient for the basin

^b The effect of the hillside slopes

表 2-2 八甲田連峰東部の 4 集団 (B1、B2、S6、S7) における開葉フェノロジー 4 形質 (開芽・展葉日および開芽・展葉積算温度) の表現型可塑性についてのベストモデルの結果

モデル選択は、説明変数を「冷温日数」、「地形」、「冷温日数と地形の交互作用」、ランダム効果を「集団」および「個体」としたフルモデルを用いて行った。

Table 2-2 Results of the selected LMMs for the phenotypic plasticity of the four phenological traits for the four populations on the eastern side of Hakkoda mountains

The Model selection was performed using the full models, in which the explanatory variable was "chilling duration," "topography," and "the interaction of chilling duration and topography," and the random effects were "population" and "tree."

Intercept and variables	Estimate	Std. error	df	t value
Day of budburst				
Intercept ^a	142.965	2.736	3.2	52.22
Chilling duration	-0.194	0.034	584.6	-5.68
Topography ^b	-12.049	3.434	2.0	-3.51
Day of leaf expansion				
Intercept ^a	139.803	2.275	2.0	61.45
Topography ^b	-12.189	3.216	2.0	-3.79
Temperature sum of budburst				
Intercept ^a	152.652	20.906	2.4	7.30
Chilling duration	-0.191	0.173	573.1	-1.10
Topography ^b	-49.259	29.369	2.4	-1.68
Chilling duration × Topography ^b	-0.672	0.232	573.0	-2.89
Temperature sum of leaf expansion				
Intercept ^a	132.821	21.861	2.3	6.08
Chilling duration	1.183	0.163	571.8	7.24
Topography ^b	-54.841	30.746	2.3	-1.78
Chilling duration × Topography ^b	-0.802	0.219	571.8	-3.66

デルタ AIC はいずれのモデルについても 0.0 であった。

The delta AIC was 0.0 for all selected models.

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^a The coefficient for the basin

^b The effect of the hillside slopes

4 考察

冷温日数に対する開芽日の表現型可塑性について分析した結果、6 集団において冷温日数が長い年ほど開芽日が早くなる傾向が示された。また、表現型可塑性の程度には有意な地形間差は認められなかった。一般的に、温帯性樹種において冷温は休眠解除に必要であり、冷温日数と開芽日および開芽積算温度と間に負の相関が認められている (Hänninen, 2015; Harrington & Gould, 2015; Zohner et al., 2018)。したがって、本研究で得られた結果は休眠の性質と一致している。しかしながら、展葉日については冷温日数の有意な影響が認められず、冷温日数が展葉日に及ぼす影響は小さいことが示唆された。季節が進むにつれて1日当たりの積算値が増加することから、展葉日と冷温日数との間で有意差が認められなかったのは、春季の気候の性質に起因する可能性がある。これによって、開芽日の場合と比較して休眠解除時期の変化が展葉日に及ぼす影響は減少すると考えられる。

開芽積算温度については、冷温日数と開芽日との関係と同様に、冷温日数が増加するにつれて減少した。しかしながら、表現型可塑性の大きさ（すなわち、開芽積算温度の減少率）は地形間で異なり、山腹斜面集団の方が盆地集団よりも冷温日数に対する応答の程度が大きかった。この結果は、盆地集団の開葉積算温度が大きいのは（図1-5）、冷温日数に対する表現型可塑性の程度の地形間差が部分的に起因していることを示唆している。一方、展葉積算温度については、影響の方向（影響の正負）が地形間で有意に異なり、山腹斜面の集団では開芽積算温度と同様の傾向が認められた一方で、盆地集団は逆の傾向を示し、冷温日数が多い年ほど展葉積算温度が大きくなる（すなわち、冷温日数との正の相関）傾向が認められた。これらの結果は、冷温日数に対する表現型可塑性は晩霜体制が異なる地形間で異なるという本研究の予想と一致している。山腹斜面集団の表現型可塑性は、上述の先行研究の結果と一致しているが、落葉樹種における開葉積算温度の正の相関を報告した事例はほとんどない。温帯性樹種における先行研究では、低木の *Amorpha truticosa* は種の冷温要求量が満たされていないか、冷温要求量が低いために、冷温日数の増加に伴って開芽積算温度も増加したことが報告されている (Laube et al., 2014)。ブナ属は日長に対して感受性が高いため (Zohner et al., 2016)、表現型可塑性にこのような違いが生じる内部メカニズムは、より複雑である可能性がある。例えば、盆地集団の方が山腹斜面集団よりも日長に対して感受性が高い場合、このような違いは、本研究で認められたような表現型可塑性における集団間変異を引き起こす可能性がある。先行研究では、日長による開葉フェノロジーの制御は、一般的に冬季における温暖な期間に対する開芽日の表現型可塑性を減少させることが示唆されている (Polgar & Primack, 2011)。

本種を用いた先行研究の共通圃場実験によると、冷温日数に対する開芽積算温度の表現型可塑性の傾向（回帰直線の傾きおよび切片）は、緯度に沿って遺伝的に分化していたが (Osada et al., 2018)、分化の適応的意義についてはまだ研究されていない。さらに、ヨーロッパブナに関する先行研究では、同一集団内において冷温日数および日長に対する展葉積

算温度の表現型可塑性のパターンが個体によって異なることが示唆されている (Zohner et al., 2018)。したがって、本研究で調査した集団においては、地形によって表現型可塑性が分化した可能性がある。

第3章 | 晩霜時期の空間的変異に対応した開葉フェノロジーの 局所適応

1 はじめに

温帯性高木種の開葉フェノロジーの局所適応に焦点を当てた研究は少ない (Alberto et al., 2011; Vitasse et al., 2009b)。晩霜体制の局所的な空間変異は、盆地や平坦地、谷地形といった地形によって生じることが知られている (Sakai & Larcher, 1987; Vitasse et al., 2017)。例えば盆地では、放射冷却とそれに伴う移流によって気温の逆転層が発生しやすいため、温帯山地において同じ標高で比較した時には、盆地の方が山腹斜面よりも晩霜の発生頻度が高い (Geiger, 1950)。したがって、温帯の山岳地域では、開葉が早い樹種の集団が晩霜体制の空間的変異に対応した開葉時期の局所適応を示すことが予想される。

以上のような晩霜体制の空間的変異に対する開葉時期の局所適応は、晩霜体制に対する適応の指標である安全余裕度 (最後に晩霜が発生した日から開葉日までの日数) によって評価することができる (Lenz et al., 2016)。この安全余裕度の値が正であれば、樹木集団はその場所の晩霜体制に対して局所適応しているといえる。これは、晩霜が軽微でない限り、安全余裕度が負の値を示す個体が晩霜によって淘汰されると考えられるためである。

本章では、晩霜体制の空間的変異に対するブナ集団の開葉フェノロジーの局所適応を明らかにするため、安全余裕度の集団間・地形間変異について分析を行った。このため、第1章で行った気温の測定および開葉フェノロジーの観察で得られたデータを用いて、2つの異なる地形 (すなわち、山腹斜面と盆地) に生育する集団を比較することにより、最終晩霜日および最終重度晩霜日を基準とした安全余裕度 (最終晩霜日もしくは最終重度晩霜日から開葉日までの日数) と晩霜体制に関連する地形との関係を分析した。なお、重度晩霜日の基準とした気温 -3°C は、ブナの葉組織の半数致死温度に相当する (表 1-3)。また、本研究では、「最終晩霜日」を春期において最後に日最低気温が 0°C を下回った日、「最終重度晩霜日」を春期において最後に日最低気温が -3°C を下回った日と定義した。

2 材料と方法

安全余裕度について分析するために、「最終晩霜日基準の安全余裕度」を春季において最後に晩霜が発生した日から開芽日までの期間、「最終晩霜日基準の二次安全余裕度」を最後に晩霜が発生した日から展葉日までの期間と定義した。また、「最終重度晩霜日基準の安全余裕度」を最後に最終重度晩霜が発生した日から開芽日までの期間、「最終重度晩霜日基準

の二次安全余裕度」を最後に最終重度晩霜が発生した日から展葉日までの期間と定義した。そして、第1章で行った10年間の気温の測定および5年間の開葉フェノロジーの観察で得られたデータを用いて、これらの4つの値を開葉フェノロジーの観察を行った全ての年において個体ごとに計算した。また、異なる地形に生育している集団間で比較するために、説明変数を「地形」、ランダム効果を「観察年」、「集団」および「個体」としたフルモデルを用いて、LMMのAICに基づくモデル選択を行った。

3 結果

最終晩霜日から開芽日までの安全余裕度の平均値は、年によって異なり、-18.8日（つまり、最終晩霜日より早く開芽したことを示す）～16.1日であった（表3-1）。安全余裕度の最小値について、5年間の平均値は負または0に近く、各集団において最も開芽が早い個体は最終晩霜の発生とほぼ同時か、それよりも早く開芽していることが示唆された。LMMによる分析の結果、盆地集団は山腹斜面集団よりも最終晩霜日からの安全余裕度が小さいことが示唆されたが、山腹斜面の2集団（S1、S6）の安全余裕度は盆地集団のものとほぼ同じ値であった（表3-3）。一方、最終重度晩霜日から開芽日までの安全余裕度の平均値は、10.3日～47.3日であった。最小値の平均値については、全ての集団において正の値であり、16.9日～25.0日であった（表3-1）。また、最終重度晩霜日から開芽日までの安全余裕度は、有意な地形間差が認められなかった（表3-3）。

最終晩霜日から展葉日までの二次安全余裕度の平均値は、-15.7日～26.0日であり、最小値の平均値は負の値を含み小さかった（表3-2）。一方で、最終重度晩霜日から展葉日までの二次安全余裕度は12.3日～51.4日であり、この最小値の平均値は全ての集団において正の値であった。また、開芽日までの安全余裕度と同様に、最終晩霜日から展葉日までの二次安全余裕度は有意な地形間差が認められたが、最終重度晩霜日から展葉日までの二次安全余裕度については有意な地形間差が認められなかった（表3-3）。

表3-1 各年および各集団における最終晩霜日基準の安全余裕度および最終重度晩霜日基準の安全余裕度の平均値、最大値、最小値

Table 3-1 Mean, maximum, and minimum values of the safety margin from the last frost and those from the last fatal frost for each population and each year

Population	Safety margin from the last frost (days)			Safety margin from the last fatal frost (days)		
	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min
Hillside slope						
S1	-1.3 (-18.6-13.0)	4.0	-8.8	29.7 (21.4-35.4)	35.0	22.3
S6	0.8 (-18.8-16.0)	1.6	-3.0	24.4 (19.0-33.4)	25.2	20.6
S7	6.2 (-4.5-16.1)	10.3	1.5	24.4 (19.1-34.5)	28.5	19.8
S9	7.4 (0.7-12.1)	10.2	3.2	25.4 (13.4-34.5)	28.2	21.2
Mean	3.3	6.5	-1.8	26.0	29.2	21.0
Basin						
B1	-0.1 (-13.2-11.0)	9.6	-7.0	29.5 (11.4-43.5)	39.2	25.0
B2	-0.3 (-14.6-10.7)	13.6	-9.6	24.3 (10.3-47.3)	38.2	16.9
Mean	-0.2	11.6	-8.3	26.9	38.7	21.0

Means and ranges in parentheses of the three values for the five years.

表3-2 各年および各集団における最終晩霜日基準の二次安全余裕度および最終重度晩霜日基準の二次安全余裕度の平均値、最大値、最小値

Table 3-2 Mean, maximum, and minimum values of the secondary safety margin from the last frost and those from the last fatal frost for each population and each year.

Population	Secondary safety margin from the last frost (days)			Secondary safety margin from the last fatal frost (days)		
	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min
Hillside slope						
S1	6.9 (-15.7-26.0)	10.6	2.4	32.3 (23.8-38.3)	36.0	27.8
S6	4.3 (-13.8-18.3)	8.0	2.2	27.9 (21.3-34.0)	31.6	25.0
S7	9.6 (-2.3-18.3)	14.5	6.8	27.9 (21.3-36.7)	32.8	25.0
S9	13.3 (6.7-19.3)	16.0	9.8	31.3 (18.2-39.7)	34.0	27.8
Mean	8.5	12.3	5.3	29.9	33.6	26.4
Basin						
B1	4.3 (-8.9-15.0)	12.8	-2.8	33.9 (15.5-45.6)	42.4	26.8
B2	4.0 (-11.5-14.6)	18.4	-5.4	28.6 (12.3-51.4)	43.0	19.2
Mean	4.2	15.6	-4.1	31.3	42.7	23.0

Means and ranges in parentheses of the three values for the five years.

表 3-3 6 集団における 4 つの安全余裕度についてのベストモデルの結果

モデル選択は、説明変数を「地形」、ランダム効果を「年」、「集団」および「個体」としたフルモデルを用いて行った。

Table 3-3 Results of the selected LMMs for the four values of the safety margin for the six populations

The Model selection was performed using the full models, in which the explanatory variable was “topography,” and the random effects were “year,” “population,” and “tree.”

Intercept and variables	Estimate	Std. error	df	<i>t</i> value
Safety margin from the last frost				
Intercept ^a	0.142	3.327	7.4	0.04
Topography ^b	2.608	2.524	3.9	1.03
Safety margin from the last fatal frost				
Intercept ^a	26.393	3.114	4.8	8.48
Secondary safety margin from the last frost				
Intercept ^a	4.418	3.946	7.4	1.12
Topography ^b	3.282	2.953	4.0	1.11
Secondary safety margin from the last fatal frost				
Intercept ^a	30.646	2.988	5.0	10.26

デルタ AIC はいずれのモデルについても 0.0 であった。

The delta AIC was 0.0 for all selected models.

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^aThe coefficient for the basin

^b The effect of the hillside slopes

4 考察

最終晩霜日基準の安全余裕度と二次安全余裕度について、盆地集団は山腹斜面集団よりもより小さい値を示した。さらに、いくつかの年において、最終晩霜日とほぼ同じ時期かそれよりも早く開芽、展葉した。これらの結果は、晩霜が開葉の早い個体を排除するのに十分ではないことを意味している。このことは、本種における開芽段階から展葉段階までの新葉の耐凍性の下限が $-3^{\circ}\text{C}\sim-4^{\circ}\text{C}$ であるという事実と一致している（表1-3）。一方で、最終重度晩霜日基準の安全余裕度と二次安全余裕度については常に正の値であり、各年におけるこれらの最小値はいずれの集団においても17日以上であった。さらに、最終晩霜日に地形間で大きな変異があったにもかかわらず（第1章4.1節）、最終重度晩霜日基準の安全余裕度は地形間で異ならなかった（第1章4.1節）。これらの結果は、全ての集団において重度晩霜は開葉が早い個体を効果的に排除し、2週間以上の安全余裕度がある個体を残存させることで、地形に起因する晩霜体制に対応した局所適応をもたらしていることを示している。いくつかの落葉樹種に関する先行研究によると（Lenz et al., 2013; Lenz et al., 2016）、春季の気候の一時的な変化に適応するためには、最終重度晩霜日基準の安全余裕度が非常に長い必要がある。重度晩霜による選択圧が本種の安全余裕度を維持するのに有効である場合、そのような重度晩霜は開葉フェノロジーの表現型可塑性における集団間変異を引き起こしている可能性がある。したがって、開葉フェノロジーの安全余裕度に関する私たちの発見は、晩霜体制の局所的な変異は開葉フェノロジーの集団間変異を引き起こす非生物学的要因の1つであるという結果と一致している。

以上のように、本研究では、重度の晩霜が自然選択をもたらしていることが示唆されたが、晩霜害の程度には、晩霜発生に至る気温の時系列的な変化が関わっている可能性がある。このような、晩霜発生直前の気温条件が自然選択の強度にもたらす影響の解明は、重要な検討課題である。また、以上の分析により、晩霜（ 0°C ）の影響は小さいと考えられるが、このような弱い晩霜についても成長量に影響を及ぼしているかもしれないため、今後検討していく必要がある。さらに、本研究では、重度晩霜による自然選択がどの生活史段階で生じているかを明らかにすることができなかった。局所適応をもたらすメカニズムを明らかにするために、重度晩霜による自然選択が主に生じている生活史段階で特定する必要がある。もし、稚樹などの生活史の初期段階で主に重度晩霜による自然選択が生じているならば、安全余裕度の分析において、現在の林冠木が稚樹であった過去の時点での晩霜体制も考慮する必要があり、今後の検討課題である。

第4章 | 晩霜体制の空間的変異に対応した開葉フェノロジーの 遺伝的変異

1 はじめに

温帯性樹種における開葉フェノロジーについての生態学的研究は、晩霜と競争による2つの拮抗的な方向性選択が協同して作用することによって開芽日に安定化選択を引き起こすことを示してきた (Hänninen, 2015)。各集団の最適な開芽日はこのような安定化選択によって決まる (Fu et al., 2019)。すなわち、このような集団では、開芽の最適日より早く開葉する個体が晩霜害を被る一方で、最適日より遅く開芽する個体は同一集団内における光獲得競争で不利になる。したがって、早春に開葉する樹種の開葉時期は、晩霜体制 (晩霜の発生時期と頻度) の地域間差に対応した遺伝的分化を示すと考えられる。例えば、早春に開葉する樹種では、晩霜の発生時期が早い地域と比較して、晩霜が晩春や春季の暖かい時期に発生するような地域において開葉が遅延する傾向が認められている (Kreyling et al., 2011; Eysteinnsson et al., 2009)。このような開葉フェノロジーの遺伝的分化は、1集水域内など比較的狭い地域内で晩霜体制に局所的な空間変異が現れる場合にも起こりうる (Alberto et al., 2011)。一般に、適応形質のこうした局所的な遺伝的変異は、遺伝子流動や可塑性とともに、樹木のように世代時間が長い植物の集団において、環境変動に対する迅速な適応を可能にしている (Petit & Hampe, 2006; Savolainen et al., 2007)。それにもかかわらず、温帯性樹木の開葉フェノロジーの局所的な遺伝的分化に焦点を当てた研究は少ない (Alberto et al., 2011; Vitasse et al., 2009b)。晩霜体制の局所的な空間変異は、盆地や平坦地、谷地形といった地形によって生じることが知られている (Sakai & Larcher, 1987; Vitasse et al., 2017)。例えば盆地では、放射冷却とそれに伴う移流によって気温の逆転層が発生しやすいため、温帯山地において同じ標高で比較した時には、盆地の方が山腹斜面よりも晩霜の発生頻度が高い (Geiger, 1950)。したがって、温帯の山岳地域では、開葉が早い樹種の集団が晩霜体制の空間的変異に対応した開葉時期の遺伝的分化を示すことが予想される。以上のような局所的な遺伝的分化を示す樹種では、集団遺伝学の理論 (Charlesworth & Charlesworth, 2010) で示されているように、遺伝子流動が遺伝的浮動の減少を介して、集団内の開葉フェノロジーの遺伝的変異のレベルを高くしているかもしれない。加えて、量的遺伝学 (Walsh & Lynch 2018) に従えば、こうした集団内やメタ個体群内の高い遺伝的多様性は、開葉フェノロジーの遺伝率 (親と子の類似性を表す親子回帰の値) の増加を環境変動に対する適応能力を高めているかもしれない。

ブナを対象とした先行研究では、緯度勾配に沿って開芽積算温度に遺伝的分化が生じていることが示されている (橋詰ら, 1996; Osada et al., 2018)。しかしながら、本種の開葉フェノロジーの遺伝的変異と晩霜体制との関係については研究が行われていない。本論文の第

1章では、八甲田連峰において晩霜の発生時期が遅い盆地に生育するブナ集団は、盆地に近接する山腹斜面集団に生育する集団よりも開葉積算温度が大きいことを示した。これらの集団間における開葉時期の遺伝的分化と晩霜体制との関係に焦点を当てた研究は、温帯性落葉樹種における晩霜体制に対する開葉時期の局所適応のメカニズムとその遺伝的基盤の解明に貢献する。また、開葉時期における遺伝的変異の大きさとその空間パターンについての知見は、アジアやヨーロッパで認められている地球温暖化の進行に伴う晩霜害のリスクの増加 (Vitasse et al., 2018b, Zohner et al., 2020) に対する本種の適応能力を評価することにも貢献するだろう。

以上の視点から、本章では、本調査地に生育するブナについて、晩霜時期、および晩霜時期に影響する地形変異（山腹斜面と盆地）と標高に注目して開葉フェノロジー 2 形質（開芽日および開芽積算温度）における遺伝的変異の程度と傾向を明らかにすることを目的とした。なお、本章では、晩霜時期の指標として最終重度晩霜日を用いた。目的を達成するために、開葉フェノロジー 2 形質について、（1）現地における集団間変異は晩霜時期の場所間変異とどのように関係しているか、（2）集団間および家系間にはどの程度の遺伝的変異が存在しているか、（3）遺伝率はどの程度高いか、（4）集団間の遺伝的変異のパターンは晩霜害で生じる自然選択の空間的変異によって説明できるか、の 4 つの問題を設定し、生育地における観察と植栽実験に基づいて分析を行った。生育地における観察では、第 1 章で行った気温の測定および開葉フェノロジーの観察で得られたデータを用いて、最終重度晩霜日や地形変異、標高勾配との関係に着目して生育地における集団間変異のパターンを分析した。また、植栽実験では、生育地で開葉フェノロジーを観察した 6 地点のうち 5 地点（山腹斜面 4 地点；盆地 1 地点）に由来する稚樹の開葉フェノロジーを圃場で 3 年間観察し、形質値の産地間（すなわち、5 地点間）および産地内家系間の遺伝的変異を分析するとともに、集団間の遺伝的分化の程度の遺伝率を推定した。さらに、産地間の遺伝的変異と産地の最終重度晩霜日との関係を分析した。

2 材料と方法

2.1 植栽実験

八甲田連峰の広範囲でブナの豊作となった 2015 年に、八甲田連峰に設置した 12 地点のうち山腹斜面 4 地点 (S1、S6、S7、S9)、および盆地 1 地点 (B1) の 5 地点において、本論文研究 (第 1 章) のために開葉フェノロジーを観察していた林冠木の中からよく結実している個体を各地点 10 個体ずつ選定し、母樹とした。10~11 月に 1 母樹当たり 50 個の種子を樹冠下から採取して育苗箱に播種し、青森県弘前市の圃場 (40°35.9'N, 140°28.26'E; 標高 52

m) に置いて越冬させた。翌年の 4～5 月に発芽して本葉が展開した個体を圃場に移植し、3 年間栽培した。その後、2018 年 11 月に掘り出して越冬させ、2019 年 4 月に弘前市内の弘前大学千年圃場 (40°34.8' N, 140°28.9' E; 標高 83 m) に移植した。千年圃場では 2 列 (列間 1 m、列内の間隔 40cm) に植栽した。植栽区画内にブロックは設定しなかった。これらの稚樹について、2019～2021 年までの 3 年間にわたって開葉フェノロジーの観察を行った。産地ごとの稚樹および母樹の個体数と個体サイズを表 4-1 に示す。観察は 4 月上旬～6 月上旬に週 2 回の頻度で行い、各稚樹の開芽日と開芽積算温度を算出した。開芽日と開芽積算温度の定義と算出の方法については第 1 章 (材料と方法) を参照されたい。開芽積算温度の計算には、千年圃場から北北西に約 4.9km 離れたアメダス観測所 (弘前; 40°36.7' N, 140°27.3' E; 標高 30 m; 気象庁、<https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/>) の気温データを用いた。AMeDAS によると、2019 年～2021 年における弘前市内の年平均気温、年降水量、および最大積雪深はそれぞれ 11.4°C、1235.3mm、75cm であった。

2.2 生育地における林冠木の開葉フェノロジーと環境条件との関係

青森県八甲田連峰の 6 地点 (上記 5 地点に盆地内の B2 を加えた 6 地点) で 5 年間 (2015 年～2019 年) 行った 1 地点あたり 31～59 個体の林冠木の開葉フェノロジーの観察で得られた開芽日と開芽積算温度のデータを用いて分析を行った。観察の方法とデータの詳細については第 1 章を参照されたい。分析に用いた地理的条件は最終重度晩霜日、地形 (すなわち盆地と山腹斜面)、および標高である。最終重度晩霜日には、各地点において 9 年間 (2011 年～2019 年) 行った気温の観測で得られたデータの平均値を用いた。気温の観測方法の詳細についても第 1 章を参照されたい。

2.3 データ分析

(1) 生育地における林冠木の開葉フェノロジーと環境条件との関係

上記 6 地点の林冠木について、応答変数を「開芽日」とし、説明変数を「標高」、「地形」および「最終重度晩霜日 (9 年間の平均値)」、ランダム効果を「観察年」とする LMM を用いてモデル選択 (AIC に基づく最適な説明変数の選択) を行い、最終晩霜日や地形、標高が開芽日に及ぼす影響について分析した。さらに、同じ説明変数とランダム効果を用いて、応答変数を「開芽積算温度」とする LMM による分析も行った。本章の統計分析は全て R 統計ソフトウェア ver.4.0.1 (R Core Team, 2021) を用いて行った。LMM については R の統計パッケージ lme4 (Bates et al. 2015) と lmerTest (Kuznetsova, 2017) を用いた。また、モデ

ル選択は R の統計パッケージ MuMIn (Barton, 2020) を用いて行った。

(2) 圃場における稚樹の開葉フェノロジーの遺伝的変異

圃場における稚樹の開芽日と開芽積算温度について 5 産地 (S1、S6、S7、S9、B1) の間の遺伝的分化の程度を評価するため、ネスト分散分析を行った。ネスト分散分析では、変動因を「産地」、「産地にネストした家系」、「観察年」とし、各変動因の効果の P 値を F 検定により計算した。ネスト分散分析には次式で表される線形モデルを用いた： $Y_{ijk} = \mu + y_k + P_i + F_{j(i)} + \varepsilon_{ijk}$ 。ここで、 μ は形質平均値であり、 y_k 、 P_i 、 $F_{j(i)}$ はそれぞれ観察年、産地、産地にネストした家系の固定効果、そして ε_{ijk} は残差効果である。さらに、分散分析表に基づいて各変動因および誤差について分散成分を計算した。本研究では、産地間分散、家系間分散 (産地内家系間分散)、年度間分散、および誤差分散をそれぞれ σ_P^2 、 σ_F^2 、 σ_Y^2 、 σ_e^2 と表記する。また、同じ方法で 4 産地 (山腹斜面 4 集団のみ；S1、S6、S7、S9) の間の遺伝的分化の程度も評価した。これらの分散成分の算出には R の統計パッケージ VCA (Schuetzenmeister, 2022) を用いた。加えて、稚樹の開芽日と開芽積算温度について、説明変数を「産地」、ランダム効果を「観察年」と「家系」とする LMM を用いて産地ごとの期待値を計算するとともに、産地間差 (B1 と他産地との差) についての P 値を計算した。

さらに、集団間 (産地間) の遺伝的分化の程度を評価する指数である Q_{ST} 値を 5 産地の場合と 4 産地の場合のそれぞれについて計算した。 Q_{ST} 値は次式で定義される (Walsh & Lynch, 2018)： $Q_{ST} = \sigma_P^2 / (\sigma_P^2 + \sigma_G^2)$ 。ここで σ_G^2 は相加遺伝分散である。1 母樹由来の自然受粉種子を家系とした共通圃場実験の場合、当該家系が半兄弟であり、なおかつ母性効果が無いと仮定すれば、 σ_G^2 は産地内家系間分散の 4 倍に一致する (Alberto et al., 2011)。本研究についてもこの仮定を適用し、ネスト分散分析で求めた σ_F^2 を 4 倍することにより σ_G^2 を計算した。

(3) 開葉フェノロジーの遺伝率

調査地域におけるブナ集団の開芽日と開芽積算温度の遺伝率 (対象形質についての親-子回帰の値) を推定するため、圃場における家系値 (家系ごとの平均値) と生育地における母樹値の関係を 5 産地の場合と 4 産地の場合についてそれぞれ分析した。量的遺伝学の理論によると、遺伝率は半兄弟家系の親に対する回帰の 2 倍に一致する (Falconer & Mackay, 1996)。1 母樹由来の自然受粉種子を家系とした共通圃場実験についても、当該家系が半兄弟であると仮定すれば、遺伝率は母樹-家系回帰の 2 倍に一致する。そこで本研究についても、この仮定を適用して母樹-家系回帰の値から遺伝率を推定した。また一般に、成木と稚

樹の開葉フェノロジーは、樹高差に伴う生育環境の違いや個体発生に伴う可塑性によって差が生じるため（Osada & Hiura, 2019; Vitasse et al., 2021）、どの母樹と家系の表現型値についても共通した差が生じると考えられる。このため、本研究の分析では、落葉高木種 *Quercus petraea* の開芽日を対象とした遺伝率の研究事例と同様に（Alberto et al., 2011）、家系値と母樹値をそれぞれの平均値と標準偏差を用いて標準化した。以上のことから、母樹-家系回帰の値は、応答変数を「観察年ごとの家系値」とし、説明変数を「母樹値（5年間の平均値）」、ランダム効果を「観察年」とする LMM を用いて推定した。

（4）圃場における開葉フェノロジーと産地における環境条件との関係

稚樹の開芽時期と産地の標高および最終晩霜日との関係を分析するため、応答変数を「開芽日」とし、説明変数を「標高」および「最終重度晩霜日」、ランダム効果を「観察年」とする LMM を用いてモデル選択を行った。なお、盆地の産地は1集団のみであるため、説明変数に「地形」は加えなかった。さらに、同じ説明変数とランダム効果を用いて、応答変数を「開芽積算温度」とした LMM による分析も行った。以上の分析を5産地の場合と4産地の場合についてそれぞれ行った。

表 4 - 1 植栽試験に用いた稚樹についての要約

Table 4-1 Summary of the saplings used for the planting experiment

Provenance	Number of saplings	Number of mother trees	Height (cm) Mean (range)	Diameter at stem base (mm) Mean (range)
Hillside slope				
S1	11	6	76.4 (39.8–116.5)	22.3 (18.4–32.2)
S6	3	1	140.5 (72.3–229.7)	24.6 (17.9–30.8)
S7	13	8	115.6 (75.8–164.2)	29.2 (18.9–41.5)
S9	6	3	151.7 (92.7–225.0)	24.3 (19.6–31.0)
Basin				
B1	11	8	110.1 (59.3–147.3)	24.6 (18.0–31.2)

樹高および根本直径は 2020 年（5 年生）に測定した。産地あたりの母樹数は家系数に等しい。

Height and diameter at stem base for the saplings were measured in 2020. The number of mother trees is equal to the number of families per provenance.

3 結果

3.1 生育地における開葉フェノロジーと最終重度晩霜日との関係

林冠木の開芽日についての LMM を用いたモデル選択により、この形質値に及ぼす最終重度晩霜日と地形、標高の影響が全て有意であることが示された(表4-2)。ベストモデルの期待値についてみると、最終晩霜日が遅い時期に発生する場所に生育している個体ほど開芽日は遅かった(図4-1(a))。さらに、より標高が高い地域に生育している集団ほど開芽日が遅く、また、同じ標高でも盆地に生育している集団の方が山腹斜面に生育している集団よりも開芽日が遅かった。同様に、開芽積算温度についての LMM を用いたモデル選択により、最終重度晩霜日と地形、標高の影響が全て有意であることが示された(表4-2)。この形質値についてのベストモデルにより、最終重度晩霜日が遅い場所に生育している集団ほど開芽積算温度が大きいこと、すなわち、開芽に必要な高温要求量が大きくなることが示された(図4-1(b))。開芽積算温度に及ぼす地形の影響についてみると、盆地の集団の方が山腹斜面の集団よりも大きな開芽積算温度を示していた。一方、開芽積算温度と標高の相関は負であり、標高が高くなるほど値が小さくなる傾向が示された。

3.2 圃場における開葉フェノロジーの変異

稚樹の開芽日および開芽積算温度についてネスト分散分析を行った結果、いずれの形質においても産地間および産地にネストした家系間で有意に異なることが示された(表4-3)。また、山腹斜面の4産地(S1、S6、S7、S9)のみを対象としたネスト分散分析でも同様の結果が示された(表4-3)。これらのネスト分散分析で得られた分散成分に基づいて計算した Q_{ST} 値は、開芽日と開芽積算温度でそれぞれ0.15、0.10であった(表4-4)。山腹斜面4産地の Q_{ST} 値はこれらの値よりも小さく、開芽日と開芽積算温度でそれぞれ0.11、0.08であった。LMMの期待値についてみると、開芽日と開芽積算温度いずれについても盆地のB1産の個体が最も大きい値を示した。一方、B1産の個体と山腹斜面2産地(S1、S7)の個体との差は小さく、有意ではなかった(表4-5)。開芽日と開芽積算温度の期待値についての2産地間の差の最大値は、それぞれ9日と66度・日であった。

3.3 開葉フェノロジーの遺伝率

標準化した形質値を用いた LMM により、圃場における各家系の開芽日および開芽積算温度は、生育地の母樹の値と有意に相関していることが示された(図4-2(a),(b)、表4-

6)。開芽日と開芽積算温度について計算された遺伝率は類似しており、それぞれ 0.72、0.75 であった。山腹斜面 4 産地の家系とその母樹の親子回帰についても同程度の値が示された (図 4-2 (c),(d)、表 4-6)。

3.4 圃場における開葉フェノロジーと産地における最終重度晩霜日との関係

稚樹の開芽日についての LMM を用いたモデル選択により、産地における最終重度晩霜日の影響が有意であることが示された (表 4-7)。一方、標高の影響は有意ではなかった。ベストモデルの期待値についてみると、最終重度晩霜日が遅く発生する産地の稚樹ほど開芽が遅かった (図 4-3 (a))。同様に、開芽積算温度についての分析により、最終重度晩霜日が遅い産地の稚樹は開芽積算温度が大きいことが示された (図 4-3 (b)、表 4-7)。さらに、山腹斜面の 4 産地について分析した結果、開芽積算温度については 5 産地の場合と同様の傾向が示されたが、開芽日については異なる傾向が示された。すなわち、この 4 産地については、産地における最終重度晩霜日の有意な影響は開芽積算温度で認められたが、開芽日では認められなかった (図 4-3 (a),(b)、表 4-7)。

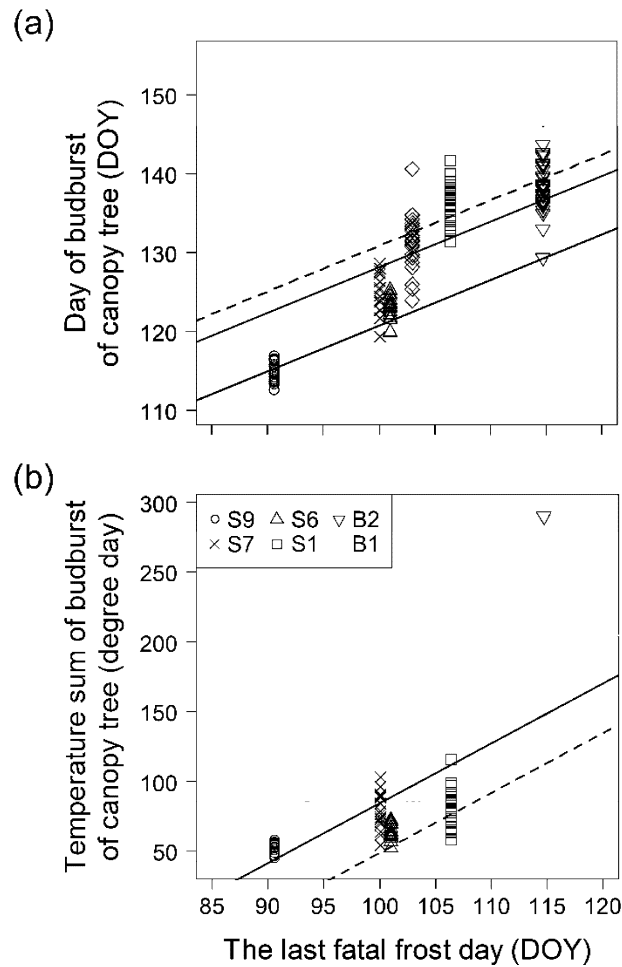


図4-1 最終重度晩霜日と林冠木の開芽日との関係(a)、および最終重度晩霜日と林冠木の開芽積算温度との関係(b)

開芽日および開芽積算温度は、各林冠木の開葉フェノロジーを観察した5年間（2015～2019年）の平均値を示す。また、最終重度晩霜日は、各調査地における9年間（2011～2019年）の平均値を示す。図中の線はLMMの期待値を示す。黒色実線、黒色破線、および赤色実線は、それぞれ山腹斜面（標高500m）、山腹斜面（標高900m）、盆地（標高500m）における期待値を示す。

Figure 2 Relationships between the last fatal frost day and the phenological traits of canopy trees: the day of budburst (a) and the temperature sum of budburst (b)

Points for the phenological traits and those for the days of the last fatal frost indicate the mean values per tree averaged by the 5 observation years (2015–2019) and the mean values per site averaged by the 9 observation years (2011–2019). Black lines and black dashed lines denote the expected values of the LMMs for altitudes of 500 m and 900 m on hillside slopes, respectively. Red lines denote the expected values of the LMMs for altitude of 500 m in the basin.

表4-2 生育地における林冠木のフェノロジー形質についてのベストモデルの結果

モデル選択は、ランダム効果を「年」と「個体」、説明変数を「最終重度晩霜日」、「地形」、「標高」とするフルモデルを用いて行った。ΔAIC はいずれのモデルについても0.0であった。

Table 4-2 Results of the selected LMMs for the phenological traits of canopy trees in the habitat

The Model selection was performed using the full models, in which the random effects were “year” and “tree,” and the explanatory variable was “the last fatal frost day,” “topography,” and “altitude”. The delta AIC was 0.0 for all selected models.

Variable	Estimate	Std. error	df	t value
Day of budburst				
Intercept ^a	57.666	4.640	126.4	12.43
The last frost day	0.579	0.046	244.5	12.69
Topography ^b	-7.369	0.683	247.1	-10.79
Altitude	0.025	0.002	153.8	12.49
Temperature sum of budburst				
Intercept ^a	-271.7	32.971	246.8	-8.24
The last frost day	4.292	4.292	246.0	12.32
Topography ^b	-28.653	5.212	247.6	-5.50
Altitude	-0.089	0.015	251.4	-5.81

^a 盆地の係数

^b 斜面の効果

^a The coefficient for the basin

^b The effect of the hillside slopes

表 4 - 3 圃場における稚樹の開芽日および開芽積算温度についてのネスト分散分析の結果

Table 4-3 Nested ANOVA for the two phenological traits of the saplings in the nursery

Source of variation	df	SS	MS	VC ^a	F value	P value
Day of budburst for all provenances						
Provenance	4	1178	295	9.2	19.3	<0.001
Family within provenance	21	949	45	6.6	3.0	<0.001
Year	2	769	385	8.4	25.2	<0.001
Residuals	104	1585	15	15.2		
Day of budburst for the four provenances in the hillside slopes						
Provenance	3	810	270	8.2	16.8	<0.001
Family within provenance	14	778	56	8.2	3.5	<0.001
Year	2	882	441	12.9	27.4	<0.001
Residuals	79	1270	16	16.1		
Temperature sum of budburst for all provenances						
Provenance	4	69245	17311	488.0	15.5	<0.001
Family within provenance	21	74123	3530	530.0	3.2	<0.001
Year	2	47948	23974	520.0	21.5	<0.001
Residuals	104	115987	1115	1115.0		
Temperature sum of budburst for the four provenances in the hillside slopes						
Provenance	3	47857	15953	423.0	12.5	<0.001
Family within provenance	14	59382	4242	641.0	3.3	<0.001
Year	2	53197	26598	771.0	1.9	<0.001
Residuals	79	91574	1159	1159.0		

^a VC denotes variance components.

表 4 - 4 圃場における稚樹のフェノロジー形質について推定した遺伝的パラメータ

Table 4-4 Genetic parameters estimated for the phenological traits of the saplings in the nursery

Mean	Q_{ST}	σ_G^2	σ_P^2	h^2
Day of budburst for all provenances				
124.7	0.15	26.3	9.2	0.72
Day of budburst for the four provenances in the hillside slopes				
123.8	0.11	32.9	8.2	0.75
Temperature sum of budburst for all provenances				
179.0	0.10	2120.0	488	0.75
Temperature sum of budburst for the four provenances in the hillside slopes				
172.0	0.08	2564.5	423	0.68

産地間差 (Q_{ST}) は産地間変異 σ_P^2 と遺伝的変異 σ_G^2 を用いて計算した。遺伝率 (h^2) は、表 4 - 6 に示した LMM の「母樹形質」についての係数を用いて計算した。

The among-provenances differentiation (Q_{ST}) was calculated from the provenance variance σ_P^2 and the additive genetic variance σ_G^2 . The heritability (h^2) was calculated from the coefficient of "mother trait" for the LMM shown in the Table 4-6.

表 4 - 5 圃場における稚樹のフェノロジー形質についての LMM の期待値

Table 4-5 The expected values of the LMMs for the phenological traits of saplings in the nursery

Provenance (topography) ^a	The day of budburst (DOY)			Temperature sum of budburst (degree-days)		
	Estimate	Std. error	<i>P</i> value	Estimate	Std. error	<i>P</i> value
B1 (b)	127.6	2.1	–	200.3	17.0	–
S1 (s)	125.4	1.8	0.24	183.3	16.3	0.31
S6 (s)	118.8	3.3	<0.05	134.0	29.4	<0.05
S7 (s)	125.2	1.7	0.19	183.4	15.1	0.28
S9 (s)	119.4	2.2	<0.01	137.4	19.9	<0.01

^a 括弧内の“b”および“s”はそれぞれ盆地および山腹斜面を示す。

P 値は B1 産の稚樹との有意差を示す。

^a "b" and "s" in the parentheses denote the basin and the hillside slopes, respectively.

The *P* value indicates the significance of the difference from B1 saplings.

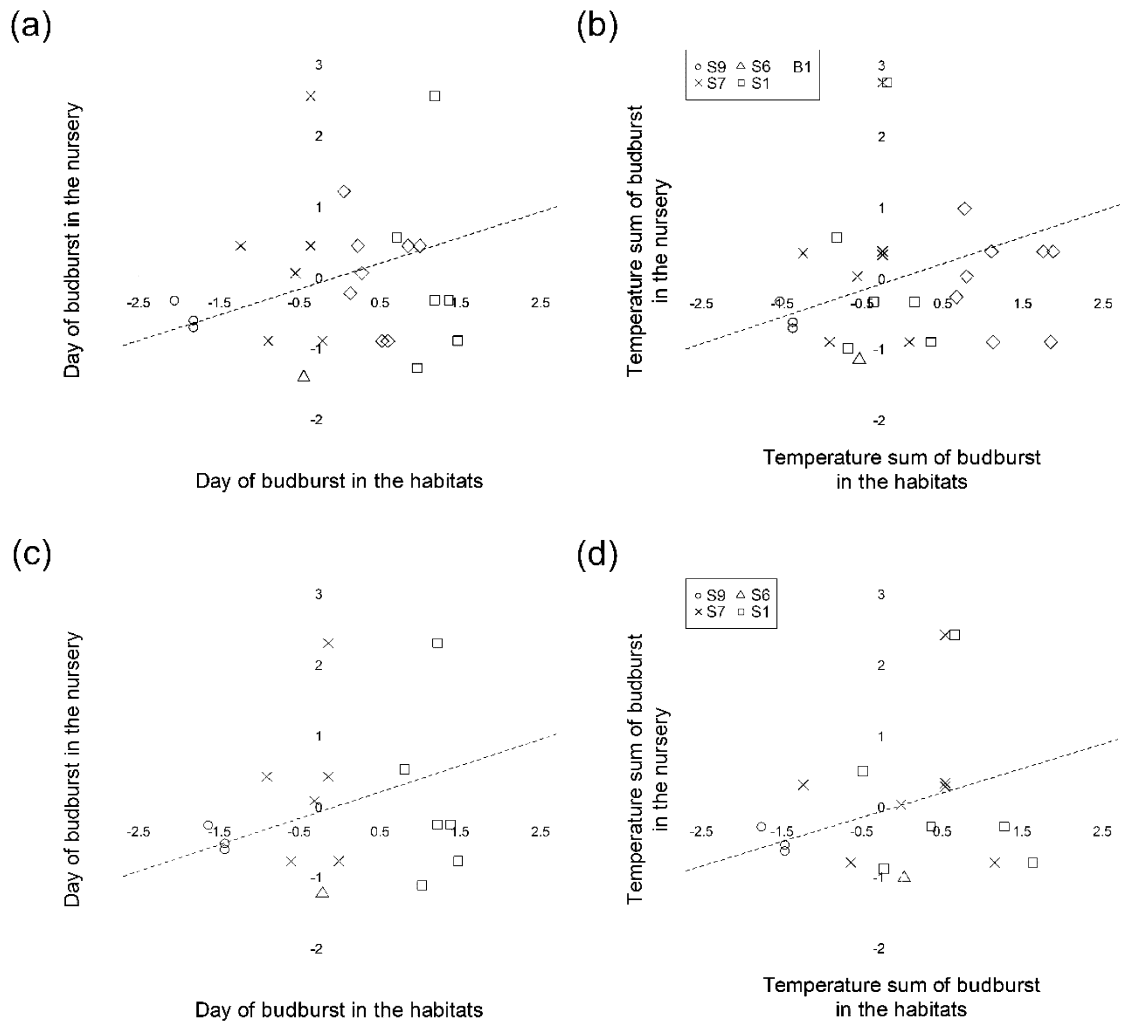


図4-2 標準化したフェノロジー形質値における圃場の家系と生育地の母樹との関係

上段2図：開芽日(a)と開芽積算温度(b)についての5産地の家系と母樹の関係。下段2図：開芽日(c)と開芽積算温度(d)についての山腹斜面4産地の家系と母樹の関係。家系値の標準化は、観察年ごとの全家系の平均値と標準偏差を用いて行った。また、母樹値の標準化は、5年間の全母樹値の平均値と標準偏差を用いて行った。図中の各点は、家系値については圃場における家系ごとの3年間（2019～2021年）の平均値を示し、母樹値については生育地における母樹ごとの5年間（2015～2019年）の平均値を示す。図中の点線は、年ごとの家系値についてのLMMの期待値を示す。

Figure 4-2 The relationships between families in the nursery and mother trees in the habitat for the standardized values of the day and temperature sum of budburst

Upper figures show the relationships between families in the nursery and mother trees in the habitat for the day (a) and the temperature sum (b) of budburst for all provenances. Lower figures show those for the day (c) and the temperature sum (d) of budburst for the four populations on the hillside slopes. For both traits, points denote mean values per family averaged by the three years (2019-2021) and mean values per mother tree averaged by the five years (2015–2019), respectively. The standardized values of families were calculated using the mean and SD of all families for each observation year. The standardized values for mother trees were calculated using the mean and SD of all mother trees for the five years. Dotted lines denote the expected values of the LMMs for the family value per year.

表4-6 標準化したフェノロジー形質値を用いた家系値と母樹値の関係についての
LMMの結果

家系値の標準化は、観察年ごとの全家系の平均値と標準偏差を用いて行った。また、母樹値の標準化は、5年間の全母樹値の平均値と標準偏差を用いて行った。

Table4-6 Results of the LMMs of the relationships between families and mother trees for the standardized values of phenological traits

The standardized values of families were calculated using the mean and SD of all families for each observation year. The standardized values for mother trees were calculated using the mean and SD of all mother trees for the five years.

Variable	Estimate	Std. error	df	<i>t</i> value	<i>P</i> value
Day of budburst for all provenances					
Intercept	0.000	0.105	7.6	0.00	1.00
Mather trait ^a	0.361	0.107	7.6	3.37	<0.01
Day of budburst for the four provenances in the hillside slopes					
Intercept	0.000	0.125	5.2	0.00	1.00
Mather trait ^a	0.373	0.129	5.2	2.89	<0.01
Temperature sum of budburst for all provenances					
Intercept	0.000	0.104	7.6	0.00	1.00
Mather trait ^a	0.375	0.106	7.6	3.53	<0.001
Temperature sum of budburst for the four provenances in the hillside slopes					
Intercept	0.000	0.127	5.2	0.00	1.00
Mather trait ^a	0.342	0.130	5.2	2.63	<0.05

^a 生育地における母樹のフェノロジー形質値を標準化した値

^a The standardized values for the phenological traits of mother trees in the habitat.

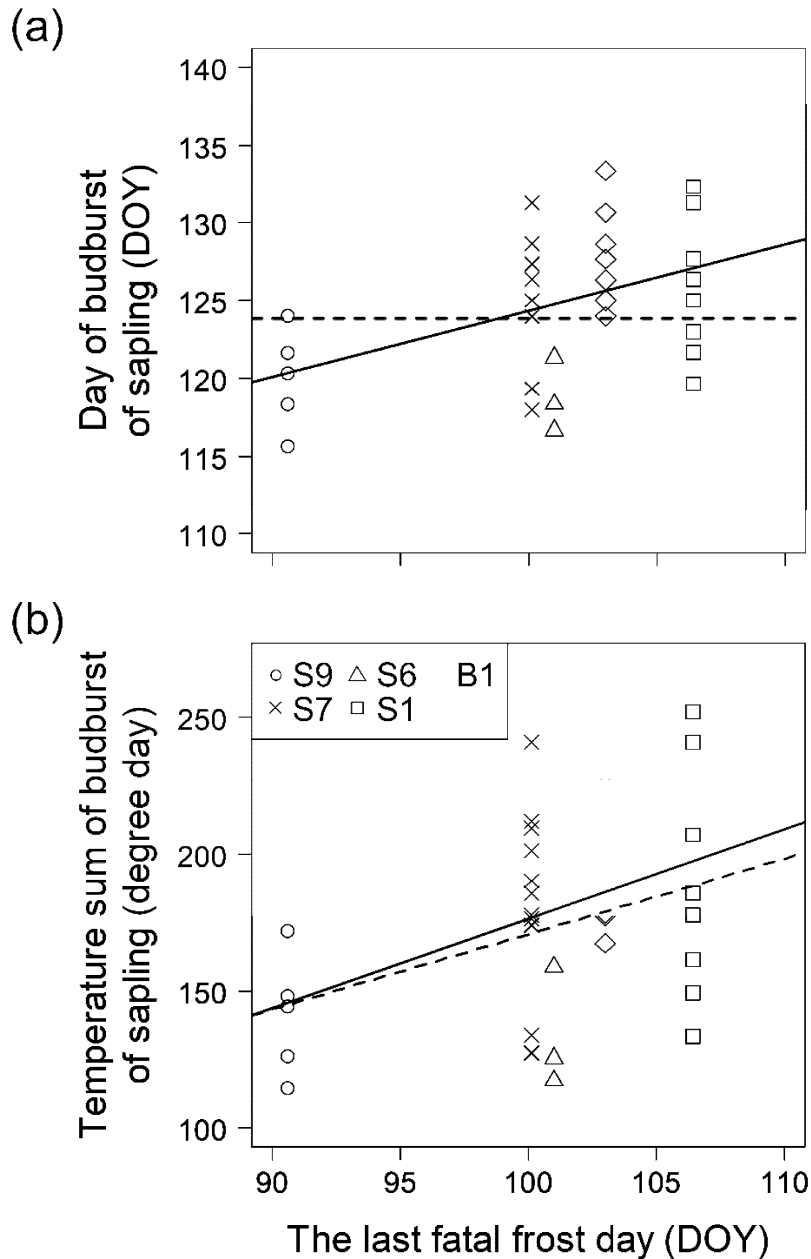


図4-3 産地における最終重度晩霜日と稚樹のフェノロジー形質との関係：開芽日(a)、開芽積算温度(b)

図中の各点は、形質値については各稚樹における3年間（2019～2021年）の平均値、最終重度晩霜日については各産地における9年間（2011～2019年）の平均値を示す。実線と点線は、観察年ごとの稚樹値についてのLMMの期待値を示す：実線は全産地を用いたLMMを示し、点線は山腹斜面4産地のみを用いたLMMを示す。また、黒色と赤色のシンボルはそれぞれ山腹斜面産と盆地産の稚樹を示す。

Figure 4-3 The relationships between the last fatal frost day in the provenances and the phenological traits of saplings: the day (a) and the temperature sum (b) of budburst

Points for the phenological traits and the days of the last fatal frost denote mean values per sapling averaged by the 3 observation years (2019–2021) and mean values per provenance averaged by the 9 observation years (2011–2019), respectively. Solid and dotted lines denote the expected values of the LMMs for the sapling traits per observation year, using all provenances and the four provenances on the hillside slopes, respectively. Black and red denote provenances in the hillside slopes and that in the basin, respectively.

表4-7 圃場における稚樹のフェノロジー形質についてのベストモデルの結果

モデル選択は、説明変数を「産地における最終重度晩霜日」および「産地の標高」、ランダム効果を「観察年」および「家系」としたフルモデルを用いて行った。ΔAICは全モデルで0.0であった。

Table 4-7 Results of the selected LMMs for the phenological traits of saplings in the nursery

The Model selection was performed using the full models, in which the explanatory variable was "the last fatal frost day" and "altitude," and the random effects were "year" and "family." The delta AIC was 0.0 for all selected models.

Variable	Estimate	Std. error	df	t value
Day of budburst for all provenances				
Intercept	81.759	16.595	22.0	4.93
The last fatal frost day	0.426	0.163	21.6	2.62
Day of budburst for the four provenances in the hillside slopes				
Intercept	123.855	2.313	2.9	53.54
Temperature sum of budburst for all provenances				
Intercept	-150.066	141.159	21.4	-1.06
The last fatal frost day	3.265	1.386	21.1	2.36
Temperature sum of budburst for the four provenances in the hillside slopes				
Intercept	-104.350	152.626	14.5	-0.68
The last fatal frost day	2.751	1.507	14.3	1.83

4 考察

4.1 生育地における集団間変異

八甲田連峰の生育地内で観測された開芽時期に基づいた分析により、ブナ林冠木の開芽日および開芽積算温度は地形（盆地と山腹斜面）との関係を示すだけでなく、最終重度晩霜日と有意に相関していることが示された。これらの形質値は最終重度晩霜日と正に相関しており、ブナは最終重度晩霜日が遅い場所で遅く開芽するといえる。また、山腹斜面4地点のなかだけでみても、最終重度晩霜日との正の相関は認められた。これらの結果は、ブナの開芽日および開芽積算温度の集団間変異が八甲田の1盆地に起因する晩霜体制の空間的変異によって生じているだけでなく、標高や谷・平坦地・尾根などの山腹斜面上の地形変異に関連した晩霜体制の空間的変異によっても生じていることを示している。一般的に、晩霜をもたらす気温の逆転層は盆地のみならず斜面上の平坦地や谷地形でも発生する傾向がある（Geigar, 1950; Sakai & Larcher, 1987）。このため、本研究の結果は、晩霜体制の空間的な変異が本種の開芽時期の局所的な変異を生成する要因となっているとする第3章の示唆と矛盾しない。さらに、開芽日と開芽積算温度は標高とも相関しており、その符号は前者で正、後者で負であった。開芽日と標高の正の相関は、開芽には春の高温が必要であるという温帯性樹木の一般的な性質と矛盾しない（Alberto et al., 2011; Vitasse et al., 2009b）。一方、開芽積算温度と標高の負の相関は、日長と関係した表現型可塑性によって生じているかもしれない。春の気温が低い場所では開芽が遅くなり、開芽期の日長が長くなる。こうした長日条件の下では、ブナのように日長に対する感受性が高い樹種の開芽積算温度が小さくなることが示唆されており、本研究の結果と矛盾しない（Fu et al., 2019）。

4.2 集団間・集団内の遺伝的変異と遺伝率

植栽実験に基づいた分散分析により、調査地域のブナ稚樹の開芽日と開芽積算温度には有意な産地間変異と家系間変異があることが明らかとなった。産地間差についてみると、稚樹の開芽日と開芽積算温度についての2集団間の差の期待値は最大で9日と66度日と大きかった。5産地のなかで最も大きな値を示した産地は両形質ともに盆地のB1であった。これらの結果は、この地域のブナ集団の間でフェノロジー形質が遺伝的に分化していること、また集団内にも遺伝的変異があることを示している。さらに山腹斜面4産地だけでみても、両形質には有意な産地間変異が認められた。この4産地のなかで最も大きな値を示した産地は開芽日ではS1、開芽積算温度ではS7であった。また、これらの2産地と盆地のB1との差は小さかった。この結果により、これらの形質の集団間の遺伝的分化は、盆地と山腹斜面の違いに対応した環境条件の変異によって生じているだけでなく、標高や谷・平坦地・尾

根などの山腹斜面上の地形変異を反映した環境条件の変異によっても生じているといえる。

ブナ稚樹の産地間の遺伝的分化の程度を表す Q_{ST} 値についてみると、開芽日と開芽積算温度の値はそれぞれ 0.14、0.09 であった。温帯性樹木の開芽日の Q_{ST} 値 (37 研究事例の値; Alberto et al., 2013) の平均値 (レンジ) は 0.25 (0–0.70) であり、本研究の値はこの平均値よりも低い。理論的研究によると、量的形質の Q_{ST} 値は自然選択が生じていない時に中立な遺伝子座の F_{ST} 値 (集団間の遺伝的分化の程度を、全集団および各集団内の遺伝的多様度に基づいて定量化した値) に一致し、その一方で当該形質について多様化選択が生じている時は中立遺伝子座の F_{ST} 値よりも高くなる (Edellar et al., 2011; Leinonen et al., 2008)。ブナ集団についてみると、中立遺伝子座の F_{ST} 値は、本分析で示した Q_{ST} 値よりも低い。ブナ 23 集団についてのアロザイム遺伝子座の F_{ST} 値 (標準誤差) は 0.038 (0.006) であり、核マイクロサテライト遺伝子座の F_{ST} 値は 0.011 (日本海側 11 集団) ~0.014 (太平洋側 12 集団) である (Hiraoka & Tomaru, 2009; Tomaru et al., 1997)。このようなブナの低い F_{ST} 値は、本種が大集団を形成する風媒花樹木であり、花粉による遺伝子流動距離が長いという繁殖特性を持つこと (最長で 7km 以上; Inanaga et al., 2016) で説明できる。集団遺伝学の理論によると、各集団間で 1 世代あたり 2 個体以上が移住していれば、集団間の有意な遺伝的分化は起こらない (Charlesworth & Charlesworth, 2010)。本調査地域のブナ集団については F_{ST} 値を推定した先行研究はないが、産地間の距離が 2.5km~10.2km と花粉による遺伝子流動距離と比べて同程度であり、なおかつ調査地域内ではブナは連続的に分布していることから、産地間の F_{ST} 値は以上の値と同様に低いと考えられる。これらのことから、ブナの開芽日と開芽積算温度は、局所適応に伴う多様化選択を受けることによって集団間の遺伝的分化が生じている可能性が高いと考えられる。同様に、山腹斜面 4 集団の開芽日と開芽積算温度の Q_{ST} 値もそれぞれ 0.11、0.08 であり、先行研究が示した F_{ST} 値よりも高かった。この結果は、山腹斜面に生育する集団の間だけでみても多様化選択による集団間の遺伝的分化が生じていることを示している。以上のような F_{ST} 値よりも高い Q_{ST} 値は、温帯性樹木の開芽時期についてしばしば報告されている (Alberto et al., 2011; Alberto et al., 2013)。本研究では Q_{ST} を推定するために、家系が半兄弟に一致すると仮定して相加遺伝分散 (σ_G^2) を計算した。しかしながら、樹木の開葉フェノロジーの家系間分散は相加遺伝分散のみならず母性効果 (種子の発達過程における低温の影響やエピジェネティック遺伝) を含んでいる可能性がある (Lobo et al., 2022; Solvin & Steffenrem, 2019)。もしそうであれば、本研究で示した相加遺伝分散は過大推定値となり、その一方で Q_{ST} 値は過少推定値となる。それにもかかわらず、ブナを含めた広葉樹の開葉フェノロジーについては、母性効果は認められていない (Alberto et al., 2011; Broeck et al., 2018)。加えてブナについては、共通圃場で育てた場合でも稚樹期の方が成木期よりも集団間変異の程度が大きいという研究事例がある (橋詰ら, 1996)。成長にとってもなう Q_{ST} 値の変化を明らかにするための長期的な研究が必要である。

本研究の分析により、圃場における各家系の開芽日と開芽積算温度の標準化値は、生育地における母樹の観察値の標準化値と有意な正の相関を示すことが明らかとなった。この結

果から、開芽日と開芽積算温度の遺伝率はそれぞれ 0.72~0.74、0.68~0.76 と推定された。このことは、これらのフェノロジー形質が高い遺伝性を持つことを示している。過去の研究についてみると広葉樹と針葉樹で推定された開芽日の遺伝率はそれぞれ 0.25~1.07、0.42~0.87 であり (Alberto et al., 2011; Howe et al., 2003)、多数の広葉樹種・針葉樹種で測定された樹体サイズや樹形などの遺伝率 (0.19~0.26; Cornelius, 1994; 67 研究事例で得られた値のレンジ) よりも高い。遺伝率は生物集団の表現型の自然選択に対する進化的応答の速度 (次世代の選択応答) と比例することから (Walsh & Lynch, 2018)、ブナ集団についても少なくとも開葉フェノロジーに関しては春の温暖化などの環境変動に対する適応能力を有しているといえる。しかしながら、稚樹や幼樹の開葉フェノロジーは積雪深や被陰の影響を受けるため (Osada & Hiura, 2019; Vitasse et al., 2021)、環境条件の空間的変異が圃場よりも大きいと予想される森林内では、少なくとも稚樹・幼樹の形質値の遺伝率は低くなるかもしれない。

4.3 自然選択による局所適応

本研究での分析により、圃場における開芽日と開芽積算温度はいずれも産地における最終重度晩霜日と正に相関していること、その一方で産地の標高との相関は小さいことが明らかとなった。すなわち、ブナ稚樹は標高に関わらず最終重度晩霜日が遅い産地由来のものほど遅く開芽する傾向を示した。また、開芽積算温度については、山腹斜面 4 産地を対象とした分析のなかでもこのような正の相関が認められた。本研究では、最終重度晩霜日は、日最低気温がブナ葉組織の半致死温度 -3°C よりも低くなった日の春期における最終日と定義した。加えて、第 3 章で行った安全余裕度の分析で示したように、最終重度晩霜日より早く開芽するブナは生育地において淘汰されると考えられる。したがって、圃場におけるフェノロジー形質と産地の最終重度晩霜日との関係についての今回の発見は、 Q_{ST} 値から示された当該形質についての多様化選択が晩霜害の空間的変異によって生じたことを示唆している。すなわち、本調査地域においてブナ集団の開芽日と開芽積算温度に認められた集団間の遺伝的分化は、晩霜害によって最終重度晩霜日より早く開芽する個体が淘汰されることによって生じた局所適応を示している可能性が高い。この見方は、晩霜が遅い時期に発生する盆地において晩霜害の被害を回避するようにブナが遅く開芽している、すなわち、晩霜体制の空間的変異に対して本種の開芽時期が局所適応しているという第 3 章の示唆を支持するものである。さらに、前述の分析で示された生育地における林冠木の開芽日および開芽積算温度と最終重度晩霜日との正の相関についても、以上のような晩霜害による多様化選択によって生じた局所適応を考えれば矛盾なく説明できる。晩霜害による多様化選択を介した樹木の葉フェノロジーの局所適応を明示した研究は非常に少ない。ピレネー山脈に生育する *Quercus petraea* の集団では、開芽日の標高傾度に沿った連続的な遺伝的変異が認められており、その原因として標高傾度に沿った晩霜頻度の変化が示唆されている (Alberto

et al., 2011)。しかしながら、この研究では、標高の上昇に伴う生育期間の短縮など他の環境要因も当該種の遺伝的分化に関与している可能性がある。一方、第2章で示唆したように、冷温日数への応答によって生じる開葉フェノロジーの表現型可塑性とその遺伝的変異も、晩霜体制の空間的変異に対する本種の局所適応に関わっているかもしれない。ブナを用いた共通圃場実験を行った Osada et al. (2018)は、冷温日数に対応した開芽積算温度の表現型可塑性に緯度に沿った遺伝的変異があることを示している。しかしながら、ブナについては、このような開葉フェノロジーの表現型可塑性の遺伝的変異が気候などの環境条件の地理的変異に対する適応に関与しているのかは明らかにされていない。落葉広葉樹 *Populus fremontii* を用いた植栽実験では、開芽と冬芽形成の時期の表現型可塑性が遺伝的に分化しており、この遺伝的分化がこの樹種の寒冷気候に対する適応を反映していることが示唆されている (Cooper et al. 2018)。開葉フェノロジーにおける局所適応を駆動するメカニズムについての理解を深めるためには、こうした表現型可塑性の遺伝的分化の適応的意義についてのさらなる研究が必要である。

本研究では、圃場における開芽日および開芽積算温度と標高との相関は小さかったが、最も標高が高い S1 集団由来の稚樹において、開芽日が最も遅く、開芽積算温度が最も大きかった。高標高地では、低標高地と比べて重度最終晩霜日が遅いが、これは地形に起因するのみならず、高標高地であることによる季節の進行の遅れも関与している可能性がある。高標高地では一般的に積雪量が多く、消雪日も遅いことから、積雪も開芽日や開芽積算温度の進化に関わっているかもしれない。高標高地で盆地と同等の自然選択による開芽日および開芽積算温度の進化が生じているかどうかは、今後の重要な検討課題である。

第5章 | 総合考察

1 ブナの開葉フェノロジーの集団間変異を規定している至近要因

本研究では、八甲田連峰におけるブナ林冠木の開葉フェノロジーの分析により、盆地集団は、同程度の標高に生育する山腹斜面集団と比べてより遅く開芽・展葉する傾向を示すことを発見した（第1章）。開芽日についての山腹斜面と盆地の差、すなわち地形間差についてみると、標高が同程度で、なおかつ隣接している山腹斜面集団 S7 と盆地集団 B2 を比べた場合には15日～18日と大きかった（第1章）。一方、気温の分析により、盆地の春の気温は山腹斜面の春の気温よりも低いことが示された。一般に、落葉広葉樹の開芽には春の高温積算値が必要であり、春が寒い場所では開芽が遅れるという「高温要求性；(Polgar & Primack, 2011; Hanninen, 2015)」が知られている。このため、本研究で発見した開芽日と展葉日の地形間差が春の高温の地形間差でどの程度説明できるのかが問題となる。そこで、同程度の標高に生育するブナ集団について、以下のように本研究で得られた LMM の期待値に基づいてシミュレーションを行った。まず、第1章で示した LMM の期待値（表1-4、表1-7）に従って山腹斜面集団と盆地集団の開芽積算温度をそれぞれ146°C日、69°C日とし、さらに、山腹斜面と盆地の標高600m（盆地辺縁部の標高に相当）における開葉期（4～5月）の平均気温をそれぞれ8.10°C、8.28°Cとすると、4/1から日平均気温が5°C以上になると仮定した場合の各集団の開芽日（4/1起算の通算日）を予測することができる（調査地域における3月各日の平均気温は殆ど5°C未満であり、この仮定は妥当である）。ここで積算温度の閾値を5°Cと仮定すれば、このシミュレーションから山腹斜面集団と盆地集団の開芽日は、標高600mの山腹斜面ではそれぞれ21.0日、44.5日となり、同標高の盆地では22.3日、47.1日となる。この結果は、山腹斜面と盆地の気温の違いだけで生じる開芽日の差は1～3日であり、同じ条件下で山腹斜面集団と盆地集団が示す開芽日の差の期待値（24～25日）と比べてかなり小さいといえる。以上のシミュレーションは、同一標高で認められた開芽日の地形間差は春の高温の地形間差のみでは説明できないこと、またその一方で、開芽日の地形間差が山腹斜面集団と盆地集団との開芽積算温度の差で主に生じることを示している。一方、本研究では、山腹斜面集団の開芽日が標高と正に相関すること、その一方で同集団の開芽積算温度は標高と負に相関することが明らかとなった（第4章）。気温は標高の上昇に伴って減少することから、この傾向は、山腹斜面で見られる標高上昇に伴う開芽日の遅延は、標高上昇に伴う春の高温の減少によって説明できることを示している。すなわち、開芽日に及ぼす影響については、標高上昇に伴う高温減少の方が、開芽積算温度の減少よりも大きいといえる。

以上のように、本調査地域のブナの開芽日に見られる集団間変異を規定している至近要因は、春の高温に対応した表現型可塑性、および開芽積算温度の集団間差であるといえる。

後者は主に開芽日の地形間差をもたらしているが、第4章で示したように、山腹斜面の集団のなかにも最終重度晩霜日の空間的変異に対応した開芽積算温度の変異があることから、山腹斜面内での集団間変異には開芽積算温度の集団間差も関与している可能性がある。また、開芽積算温度の集団間差にも、開芽積算温度に影響する冷温日数の場所間差が関わっているかもしれない。しかしながら、本研究では同一標高の山腹斜面と盆地との間に冷温日数の違いは認められなかった（第1章）。

ブナ属の開芽積算温度は日長に対しても表現型可塑性を示すことが知られている（Zohner et al., 2016）。このため、冷温日数と開芽積算温度との間に認められた負の相関や、第4章で認められた標高と開芽積算温度との負の相関には、2章と4章で考察したように、短日条件による開芽積算温度の増加や長日条件による開芽積算温度の減少（Fu et al., 2019）が関与しているかもしれない。しかしながら、一般に、開芽積算温度や開芽日に及ぼす日長の影響は冷温日数の影響に比べて大きくないと考えられている（Laube et al., 2014）。ブナ集団において開芽積算温度の表現型可塑性とその地形間変異に日長がどの程度影響しているのかは今後の課題である。

2 ブナの開葉フェノロジーの集団間変異を規定している進化的要因

本研究の分析により、調査地域には最終重度晩霜日に大きな場所間差があるにもかかわらず、どのブナ集団も最終重度晩霜日より2週間以上遅く開芽しており、その結果としてどの集団も同程度の安全余裕度を示していることを明らかにした（第3章）。この発見は、ブナ集団の開葉フェノロジーが晩霜体制の空間的変異に対して局所適応していることを示している。さらに、4章で行った植栽実験により、この局所適応が開芽日の場所間変異を大きくするような多様化選択を伴っており、それによって晩霜体制の空間的変異に沿った開芽日と開芽積算温度の遺伝的な集団間分化が生じていることを明らかにした。4章で示したように、ブナ集団の開芽日と開芽積算温度の遺伝率は高いことから、各場所で異なる時期に発生する晩霜害による淘汰によってこれらのフェノロジー形質に局所的な遺伝的分化が生じた可能性が高い。したがって、晩霜体制の空間的変異に対する開葉フェノロジーの局所適応は、ブナ集団の開芽日と開芽積算温度の集団間差をもたらす進化的要因であるといえる。前節で述べたように、本調査地域のブナの開芽日に見られる集団間変異は、春の高温に対応した表現型可塑性と開芽積算温度の集団間差によって生じているとみなせることから、晩霜体制は本種の開芽積算温度の進化を介して開芽日の集団間変異に影響していると考えられる。

晩霜体制に対する適応の結果として種内の開葉フェノロジーに遺伝的な地域変異が生じたことを示した研究事例はいくつか知られている（Eysteinnsson et al., 2009; Howe et al., 2003, Kreyling et al., 2014; von Wuehlich et al., 1995）。その一方で、本研究のように、花粉による

集団間の遺伝子流動が可能なスケールの地域内で、晩霜体制の空間的な変異に対する開葉フェノロジーの適応進化が生じたことを明示した研究事例は非常に少ない。*Quercus petraea*を用いた植栽実験を行った Alberto et al. (2011) は、標高傾度に沿って当該種の集団間に開葉日の遺伝的分化が生じていることを示し、その原因として晩霜に対する局所適応を示唆している。しかしながら、*Q. petraea*が示す標高変異には、標高上昇に伴う生育期間の減少など他の環境要因が関与している可能性がある。一方、第2章で述べたように、晩霜害による自然淘汰の進化的影響は、冷温日数に対応した本種の開葉フェノロジーの表現型可塑性にも現れているかもしれない。ヨーロッパブナの開葉フェノロジーを分析した先行研究によると、開葉フェノロジーの表現型可塑性の種内変異には、春の気候と競争に対する適応が関与していることが示唆されている (Zohner et al., 2018)。しかしながらこの問題を遺伝的変異の視点から実証的に検討した事例はなく、今後の重要な課題といえる。

3 気候温暖化によってブナにおける開葉フェノロジーの集団間変異はどのように変化するか

序章で述べたように、今後の気候温暖化による開葉フェノロジーの変化の予測は、生態学の重要な課題として注目されている。温帯性樹木の開芽日は、温暖化によって春の高温が増加すれば早くなると予想されるが、温暖化は冷温日数の変化を伴うため、開芽日の変化の予測は複雑なものとなる (Hanninen, 2015)。本調査地域のブナ集団の場合、本研究の分析によって推定された LMM を用いることにより、高温および冷温日数に対応した表現型可塑性によって生じる開芽日の変化を予測することができる。ここでは、温暖化に伴う冷温日数の変化が開芽日の集団間変異に及ぼす影響について定性的に考察する。まず、本調査地域では冷温日数と標高との間に負の相関が認められることから、この地域では温暖化すると冷温日数が増加すると予想される。また、第2章で示したように、冷温日数の年変動に対する開芽積算温度の応答パターンは山腹斜面集団と盆地集団、すなわち地形間で異なっている。そこで、LMMの期待値(第2章、表2-1)に従って、山腹斜面集団と盆地集団が冷温日数20日(最小観測値)と同48日(最大観測値)を経験したと仮定した時に期待される開芽積算温度を計算すると、両集団の差の最小値(冷温日数20日での期待値)は 64.3°C日 ($=148.0-83.7$)、また、最大値(冷温日数48日での期待値)は 85.9°C日 ($=143.5-57.6$)となる。この結果は、今後の温暖化によって冷温日数が増加すると、開芽積算温度の地形間差が増加することを示している。したがって、少なくとも盆地を含む中標高域では、今後の気候温暖化はブナの開葉フェノロジーの集団間変異を大きくするものと予想される。この結果は、温帯山地において今後の温暖化によって温帯性樹木の開芽日の標高間変異が減少することを予測した Vitasse et al. (2018a)の予測とは逆の傾向を示している。Vitasse et al. (2018a)は、温暖化によって開葉フェノロジーの標高間変異が減少すると、開芽日と開花日

が一致する樹種の場合には、標高が異なる集団間の遺伝子流動が増加し、その結果として環境変動に対する山地集団全体の適応能力が高くなると予想している。温暖化に伴って開葉フェノロジーの集団間変異がどの程度増加し、その変化がこの地域のブナ集団にどのような影響をもたらすのかを予測することは今後の重要な課題である。

摘 要

21 世紀における深刻な環境問題の一つに挙げられている地球温暖化は、森林群集の生物多様性と生態系の機能に様々な影響を及ぼすと予想されている。温帯域における落葉樹の開葉フェノロジーに及ぼす影響についてみると、気候温暖化は春季の気温上昇によって開芽の早期化をもたらすことが示唆されている。開葉の早期化は光合成期間を長くする一方で、晩霜害の増加をもたらす可能性がある。晩霜害が増加するにつれて、樹木集団は晩霜を回避するために開葉時期を遅延させる方向に進化することが予想される。気候温暖化の長期的な影響を予測するためには、開葉時期と晩霜体制（晩霜の発生時期とその頻度）との関係を明らかにすることが不可欠である。

ブナ *Fagus crenata* Blume は北日本の多雪山地に優占する落葉広葉樹であり、他の優占樹種よりも開葉時期が早いために晩霜害を被りやすく、晩霜害の発生によって分布北限地が決まっている可能性がある。先行研究より、春季の高温と秋季から冬季にかけての冷温日数（日平均気温が 0~5°C である日の日数）および日長という 3 つの非生物学的要因が、ブナ属の環境条件に応じた開葉時期の表現型可塑性に関与していることが示されている。このため、晩霜体制に対する開葉フェノロジーの局所適応は、日長および冷温日数に対する表現型可塑性の影響を含んだ、開葉日と開葉積算温度の変化と関連している可能性がある。

本研究では、(1) ブナの開葉時期における種内変異の実態を解明すること、(2) 本種の開葉時期に変異をもたらす要因と変異の生成メカニズムについて考察することを目的として調査を行った。青森県の八甲田連峰において標高や地形の異なる調査地を 12 地点（山腹斜面 9 地点；盆地 3 地点）設置し、10 年間にわたって気温の測定を実施したとともに、盆地に生育している 2 集団（盆地集団）と山腹斜面に生育している 4 集団（山腹斜面集団）のブナ林冠木における開葉フェノロジーの観察を 5 年間にわたって行った。また、開葉フェノロジーの観察木から種子を採取して弘前市内の圃場に播種し、発芽した個体の開葉フェノロジーを観察した。

12 地点における気象条件の地形間変異について分析した結果、晩霜体制は地形間で異なり、盆地の方が山腹斜面よりも温暖な時期に晩霜が発生しやすいことが示唆された。また、異なる環境条件下に生育する 6 集団における開葉フェノロジーの集団間変異について分析した結果、盆地集団は標高に関わらず山腹斜面集団よりも開葉積算温度が大きい傾向が認められ、晩霜体制の局所変異は開葉フェノロジーに集団間変異をもたらす非生物学的要因の 1 つであることが示唆された。さらに、この 6 集団について、冷温日数に対する開葉フェノロジーの表現型可塑性について分析した結果、全ての集団において冷温日数が多い年ほど開芽日が早く、開芽積算温度が小さくなる傾向が示された。しかしながら、開芽積算温度における表現型可塑性の程度は地形間で異なり、盆地集団の方が山腹斜面集団よりも小さかった。展葉積算温度については、山腹斜面集団では開芽積算温度と同様に冷温日数と負

の相関を示したが、盆地集団では正の相関を示した。これらの結果は、晩霜体制が異なる地形によって表現型可塑性の程度とパターンが分化していることを示唆している。安全余裕度（開芽日または展葉日と晩霜日との差）については、最終晩霜日基準の安全余裕度に地形間差が認められた一方で、最終重度晩霜日基準の安全余裕度は地形間で有意に異ならなかった。このことから、ブナ集団はそれぞれの生育地の晩霜体制に対して局所適応していることが示唆される。また、林冠木の開芽時期に基づいた分析により、林冠木の開芽日および開芽積算温度は地形との関係を示しているだけでなく、最終重度晩霜日との正の相関を示すことが明らかとなった。この結果から、本種は山腹斜面においても最終重度晩霜日が遅い場所で遅く開芽することが示唆された。一方、植栽実験に基づいた分析により、調査地域のブナ稚樹の開芽日と開芽積算温度には有意な産地間変異と家系間変異があることが明らかとなった。この結果は、この地域におけるブナ集団の間でフェノロジー形質が遺伝的に分化していること、また、集団内にも遺伝的変異があることを示している。開芽日と開芽積算温度における集団間の遺伝的分化の程度を示す Q_{st} 値は0.08~0.15であり、集団間の遺伝的分化に分断選択が生じていることが示唆された。さらに、家系値と母樹値の回帰から推定したこれらの形質の遺伝率は、0.68~0.75と高かった。以上の結果より、晩霜体制の空間的変異に対して本種の開葉時期が局所適応していること、そして、その結果としてこれらの形質が集団間・地形間で遺伝的に分化していることが明らかとなった。

Summary

Climate warming, which is one of the serious environmental problems in the 21st century, is expected to cause various impacts on the biodiversity of forest communities and ecosystem functions. Regarding the effects on the leaf out phenology of deciduous trees in temperate regions, it is suggested that climate warming will cause earlier leaf out due to increasing temperatures in spring. Early leaf out may increase photosynthesis but may also result in increase of late frost damage. As late frost damage increases, tree populations are expected to evolve late leaf out to avoid late frost. In order to predict the long-term impact of climate warming, it is essential to clarify the relationship between the timing of leaf out and the late frost regime, that is, the timing and frequency of late frost.

Fagus crenata is a deciduous tree that dominates snowy mountains in northern Japan. The species is susceptible to late frost damage due to its early leaf out, and late frost damage may cause the northern limit of the distribution of the species. According to previous studies, three abiotic factors (high temperature in spring, duration of chilling temperatures, which is defined as temperatures from 0 °C to 5 °C, from autumn to winter and day length) are involved in the phenotypic plasticity of the timing of leaf out in response to environmental conditions in *Fagus*. Thus, local adaptation of leaf out phenology to late frost regime may be associated with changes in the day and the temperature sum of leaf out including phenotypic plasticity of day length and chilling duration.

We studied the intraspecific variation in leaf out phenology of *Fagus crenata*, and discussed factors and mechanisms involved in such variation. We measured the temperature at 12 sites and observed leaf out phenology of 2 populations inhabiting a basin (basin populations) and 4 populations inhabiting hillside slopes (hillside slope populations) for 10 years in the Hakkoda Mountains, northern Japan. In addition, we observed the budburst of saplings originating from five of the six study sites for three years in a nursery.

Analysis of meteorological conditions among the twelve sites showed the late frost regime differed between topographies: the late frost occurred during warmer periods in the basin than on hillside slopes. Also, analysis of interpopulation variation of leaf out phenology in the six populations showed that the basin populations exhibited larger temperature sum for leaf out than the hillside slope populations regardless of altitude, suggesting that local variation in the late frost regime is an abiotic factor causing local variations in leaf out phenology. Furthermore, the six populations exhibited earlier days

and smaller temperature sum of budburst in years with longer chilling duration. However, the extent of phenotypic plasticity in the temperature sum was small for the basin compared to hillside slopes. The temperature sum of leaf expansion of the hillside slope populations also negatively correlated with chilling duration, whereas that of the basin populations responded in the opposite direction. These results suggest that the extent and pattern of phenotypic plasticity differentiated between topographies with different late frost regimes. The safety margin from the last frost (difference between the day of budburst or leaf expansion and the day of the last frost) differed between the topographies, but not that from the last fatal frost, suggesting local adaptation to the late frost regime in each habitat. In addition, further analysis of leaf out phenology of canopy tree showed that the day and the temperature of budburst were associated with not only topography but also the last fatal frost day, suggesting that the species exhibits later budburst on hillside slopes where the last fatal frost day is delayed. On the other hand, a common garden experiment showed significant genetic variations among provenances and families for the day and temperature sum of budburst. This result indicates that the phenological traits are genetically differentiated among populations and vary within populations genetically. For all provenances, the estimated Q_{st} values for the day and temperature sum of budburst were 0.15 and 0.08, respectively, suggesting that diversifying selection caused genetic differentiation between populations. The heritability of the traits estimated from parent-offspring regression values was high, ranging from 0.68 to 0.75. These results suggest that the timing of leaf out of the species is locally adapted to the late frost regime at each habitat, resulting in genetic differentiation among populations and between topographies in the traits.

謝 辞

本研究は、弘前大学農学生命科学部の石田清教授のご指導のもと、筆者が中心となって実施しました。

石田清教授には、本研究の方向性の検討をはじめ、調査・実験方法の検討やデータ分析の仕方、論文の書き方など、長期間にわたりご教授いただきました。研究の進捗が遅く、ご迷惑をおかけすることが多々ありましたが、最後まで見守りご指導いただき誠にありがとうございました。石田清教授のもとで8年間にわたり研究を続けたことで、生態学的視点からの森林の見方を教わった一方で、どのような状況下においても研究を全うする精神力が身に付き、心身ともに成長することができました。これまでの研究で身に付いたこのような力を、今後林野庁で仕事をする上で活かしていきたいと思えます。本研究の第一副査であった弘前大学農学生命科学部の赤田辰治元准教授には、在学期間中に遺伝子発現解析をご指導いただきました。まだ実験が途上であり、本論文には掲載することができませんでしたが、今後さらにデータを蓄積し、取りまとめて発表したいと思えます。第二副査であった山形大学農学部の森茂太元教授には、進捗状況報告会において、数々のご指摘をいただき、本研究に多くの示唆を与えていただきました。また、弘前大学農学生命科学部の山尾僚准教授および岩手大学農学部の真坂一彦教授、山形大学農学部の吉村謙一准教授には、中間発表会および公開審査会で本論文の問題点や改善点等について多くのご指摘・ご助言をいただきました。さらに、弘前大学理工学部の石田祐宣准教授には、気象学的視点から多大な助言を賜りました。心より感謝の意を表します。

弘前大学森林生態学研究室の名取（今井）麻理菜様には、調査方法やデータ分析方法について貴重なご意見をいただきました。いただいたご意見を参考にして、調査方法等を改善しながら7年間にわたり効率よくデータを取ることができました。増井悠人様、初谷慶太様には、遺伝子実験をご指導いただきました。また、船木賢人様には、耐凍性実験をご指導いただきました。

森林生態学研究室で長期間研究生活を共にした本城和佳、佐々木幸洸、織田一喜、日下部玄、白濱千尋、川邊慎也、三部真優、高木広陽、貴田航一朗、高橋蓮、渡辺陽平、蛭名敢大、工藤知樹、武田大介、大類瑞穂、長田卓也、森滉平、工藤甲斐、相馬竜也、水野高志、山田大登には、フェノロジー観察時の記録や積雪深およびGBHの測定を補助していただきました。天候の良し悪しに関わらずあちこち連れまわしてしまいましたが、それに懲りず、日が暮れるまで調査に付き合ってくださいありがとうございました。たくさん無理なお願いをしてご迷惑をかけましたが、皆様のおかげで7年間分のデータを蓄積することができました。その他、葉および木部サンプルの採取や、共通圃場実験用の稚樹の植え替えなど、各人忙しい中、時間を割いて手伝っていただきありがとうございました。

生活面においては、筆者の研究生活を経済的および精神的に支え見守ってくれた父・杉本

巧美、母・杉本未来、妹・杉本芽、祖母・中村茂子、大伯母・西澤啓子に心より感謝申し上げます。

本研究は、林野庁および環境省の許可を得て八甲田連峰に調査地を設置し、現地調査を行いました。また、JSPS 科研費（助成番号 18K05737 および 25450199）の支援の下で実施しました。学生時代に行った調査および実験で得られたデータの全てをまとめきれておらず、分析が途上であるものが数多くあるため、本研究の更なる発展を目指し、引き続き尽力いたします。

引用文献

- Alberto, F., Bouffier, L., Louvet, J. M., Lamy, J. B., Delzon, S., & Kremer, A. (2011). Adaptive responses for seed and leaf phenology in natural populations of sessile oak along an altitudinal gradient. *Journal of Evolutionary Biology*, *24*, 1442-1454. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02277.x>.
- Alberto, F. J., Aitken, S. N., Alia, R., Gonzalez-Martinez, S. C., Hänninen, H., Kremer, A., Lefèvre, F., Lenormand, T., Yeaman, S., Whetten, R. & Savolainen, O. (2013). Potential for evolutionary responses to climate change - evidence from tree populations. *Global Change Biology*, *19*, 1645-1661. <https://doi.org/10.1111/gcb.12181>.
- Awaya, Y., Tanaka, K., Kodani, E. & Nishizono, T. (2009). Responses of a beech (*Fagus crenata* Blume) stand to late spring frost damage in Morioka, Japan. *Forest Ecology and Management*, *257*, 2359-2369. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.03.028>.
- Bartoń, K. (2020). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.43.17. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, *67*, 1-48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.
- Blennow, K. & Lindkvist, L. (2000). Models of low temperature and high irradiance and their application to explaining the risk of seedling mortality. *Forest Ecology and Management*, *135*, 289-301. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(00\)00287-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00287-5).
- Broeck, A. V., Cox, K., Brys, R., Castiglione, S., Cikatelli, A., Guarino, F., Heinze, B., Steenackers, M. & Mijnsbrugge, K. V. (2018). Variability in DNA methylation and generational plasticity in the Lombardy poplar, a single genotype worldwide distributed since the eighteenth century. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1635. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01635>.
- Charlesworth, B. & Charlesworth, D. (2010). *Elements of evolutionary genetics*. Colorado: Roberts and Company Publishers.
- Cooper, H. F., Grady, K. C., Cowan, J. A., Best, R. J., Allan, G. J. & Whitham, T. G. (2018). Genotypic

- variation in phenological plasticity: reciprocal common gardens reveal adaptive responses to warmer springs but not fall frost. *Global Change Biology*, 25, 187-200. <https://doi.org/10.1111/gcb.14494>.
- Cornelius, J. (1994). Heritabilities and additive genetic coefficients of variation in forest trees. *Canadian Journal of Forest Research*, 24, 2. <https://doi.org/10.1139/x94-050>.
- Edelaar, P., Burraco, P. & Gomez-mestre, I. (2011). Comparisons between Q_{st} and F_{st} —how wrong have we been? *Molecular Ecology*, 20, 4830-4839. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05333.x>.
- Eysteinnsson, T., Karlman, L., Fries, A., Martinsson, O. & Skúlason, B. (2009). Variation in spring and autumn frost tolerance among provenances of Russian larches (*Larix Mill.*). *Scandinavian Journal of Forest Research*, 24, 100-110. <http://dx.doi.org/10.1080/02827580902773470>.
- Falconer, D. S. & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to quantitative genetics*. Fourth edition. Essex: LongmanGroup Ltd.
- Fu, Y. H., Zhang, X., Piao, S., Hao, F., Geng, X., Vitasse, Y., Zohner, C., Peñuelas, J. & Janssens, I. A. (2019). Daylength helps temperate deciduous trees to leaf-out at the optimal time. *Global Change Biology*, 25, 2410-2418. <https://doi.org/10.1111/gcb.14633>.
- Fukui, E. (1977). *The climate of Japan*. Tokyo: Kodansha.
- Geiger, R. (1950). *The climate near the ground*. Cambridge: Harvard University Press.
- Hänninen, H. (2015). *Boreal and temperate trees in a changing climate*. Dordrecht, Netherlands: Springer Business Media.
- Harrington, C. A & Gould, P. J. (2015). Tradeoffs between chilling and forcing in satisfying dormancy requirements for Pacific Northwest tree species. *Frontiers in Plant Science*, 6, 120. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00120>.
- 橋詰隼人・李延鎬・山本福壽 (1996). ブナの開葉期の産地および家系による差異. 日林誌, 78, 363-368. https://doi.org/10.11519/jjfs1953.78.4_363.
- Heide, O. M. (1993). Dormancy release in beech buds (*Fagus sylvatica*) requires both chilling and

- long days. *Physiologica Plantarum*, 89, 187-191. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1993.tb01804.x>.
- Hiraoka, K. & Tomaru, N. (2009). Genetic divergence in nuclear genomes between populations of *Fagus crenata* along the Japan Sea and Pacific sides of Japan. *Journal of Plant Research*, 122, 269-282. <https://doi.org/10.1007/s10265-009-0217-9>.
- Howe, G. T., Aitken, S. N., Neale, D. B., Jermstad, K. D., Wheeler, N. C. & Chen, T. H. (2003). From genotype to phenotype: unraveling the complexities of cold adaptation in forest trees. *Canadian Journal of Botany*, 81, 1247-1266. <https://doi.org/10.1139/b03-141>.
- 福嶋司・高砂裕之・松井哲哉・西尾孝佳・喜屋武豊・常富豊 (1995). 日本のブナ林群落の植 物社会学的新体系. 日本生態学会誌, 45, 79-98. https://doi.org/10.18960/seitai.45.2_79.
- Inanaga, M., Koyama, Y., Ida, H., Okada, M., Nakanishi, A., Takahashi, M. & Tomaru, N. (2016). Pollen dispersal patterns and population persistence in a small isolated population of *Fagus crenata*. *Tree Genetics & Genomes*, 12, 69. <https://doi.org/10.1007/s11295-016-1026-7>.
- Jump A. S. & Peñuelas J. (2005). Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology letters*, 1010-1020. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00796.x>.
- Jump, A. S., Marchant, R. & Peñuelas, J. (2009). Environmental change and the option value of genetic diversity. *Trends in Plant Science*, 14, 51-58. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.002>.
- Kojima, H., Mariko, S., Nakamura, T. & Hayashi, I. (2003). Bud burst process and late-frost experiments on *Fagus crenata* and *Quercus mongolica* ssp. *crispula*. *Vegetation Science*, 20, 55-64. <https://doi.org/10.15031/vegsci.20.55>.
- Kreyling, J. (2010). Winter climate change: acritical factor for temperate vegetation performance. *Ecology*, 91, 1939-1948. <https://doi.org/10.1890/09-1160.1>.
- Kreyling, J., Thile, D., Nagy, L., Jentsch, A., Huber, G., Konnert, M. & Beierkuhnlein, C. (2011). Late frost sensitivity of juvenile *Fagus sylvatica* L. differs between southern Germany and Bulgaria and depends on preceding air temperature. *European Journal of Forest Research*, 131, 717-725. <https://dx.doi.org/10.1007/s10342-011-0544-y>.

- Kreyling, J., Buhk, C., Backhaus, S., Hallinger, M., Huber, G., Huber, L., Jentsch, A., Konnert, M., Thiel, D., Wilmking, M. & Beierkuhnlein, C. (2014). Local adaptations to frost in marginal and central populations of the dominant forest tree *Fagus sylvatica* L. as affected by temperature and extreme drought in common garden experiments. *Ecology and Evolution*, 4, 594-605. <https://doi.org/10.1002/ece3.971>.
- 工藤崇・檀原徹・岩野英樹・山下透 (2020). 八甲田カルデラ東方、八幡岳火山群の地質と火山活動史. 地学雑誌, 129, 21-47. <https://doi.org/10.5026/jgeography.129.21>.
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B. & Christensen, R. H. B. (2017). Lmer Test Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software*, 82, 1-26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>.
- Larcher, W. (2003). *Physiological Plant Ecology*. Fourth edition. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Laube, J., Sparks, T. H., Estrella, N., Höfler, J., Ankerst, D. P. & Menzel, A. (2014). Chilling outweighs photoperiod in preventing precocious spring development. *Global Change Biology*, 20, 170-182. <https://doi.org/10.1111/gcb.12360>.
- Lechowicz, M. J. (1984). Why do temperate deciduous trees leaf out at different times adaptation and ecology of forest communities. *American naturalist*, 124, 821-842.
- Leinonen, T., O'hara, R. B., Cano, J. M. & Merilä, J. (2008). Comparative studies of quantitative trait and neutral marker divergence: a meta-analysis. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1-17. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01445.x>.
- Lenz, A., Hoch, G., Vitasse, Y. & Körner, C. (2013). European deciduous trees exhibit similar safety margins against damage by spring freeze events along elevational gradients. *New Phytologist*, 200, 1166-1175. <https://doi.org/10.1111/nph.12452>.
- Lenz, A., Hoch, G., Körner, C. & Vitasse, Y. (2016). Convergence of leaf-out towards minimum risk of freezing damage in temperate trees. *Functional Ecology*, 30, 1480-1490. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2435.12623>.
- Lobo, Albin., Find, J. I., Hansen, J. K., Ræbild, A. & Kjær, E. D. (2022). Effect of temperature and

- osmotic stress during somatic embryogenesis on phenology and physiology of *abies nordmanniana* emblings. *Forest Ecology and Management*, 514, 120212. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120212>.
- 丸山幸平 (1979). ブナ林の生態学的研究(33) 高木層の主要樹種間および階層間のフェノロジーの比較. 新潟大学農学部演習林報, 12, 19-41.
- 中静透 (2009). ブナ. 日本樹木誌, pp.577-590. 日本樹木誌編集委員会, 東京.
- Osada, N. & Hiura, T. (2019). Intraspecific differences in spring leaf phenology in relation to tree size in temperature deciduous trees. *Tree Physiology*, 39, 782-791. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpz011>.
- Osada, N., Murase, K., Tsuji, K., Sawada, H., Nunokawa, K., Tsukahara, M. & Hiura, T. (2018). Genetic differentiation in the timing of budburst in *Fagus crenata* in relation to temperature and photoperiod. *International Journal of Biometeorology*, 62, 1763-1776. <https://doi.org/10.1007/s00484-018-1579-2>.
- Parnesan, C. & Yohe, G. (2003). A globally coherent tingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, 421, 37-42. <https://doi.org/10.1038/nature01286>.
- Parnesan, C. & Hanley, M. E. (2015). Plants and climate change. *Complexities and surprises Annals of Botany*, 116, 849-864.
- Petit, R. J. & Hampe, A. (2006). Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 187-214. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110215>.
- Polgar, C.A. & Primack, R.B. (2011). Leaf-out phenology of temperate woody plants: from trees to ecosystems. *New phytologist*, 191, 926-941. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03803.x>.
- Primack, R. B., Laube, J., Gallinat, A. S., Menzel, A. (2015). From observations to experiments in phenology research: investigating climate change impacts on trees and shrubs using dormant twigs. *Annals of Botany*, 116, 889-897. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv032>.
- R Development Core Team. (2021). R version 4.0.1: A language and environment for statical

- computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, <https://www.R-projecting> (accessed 10 December 2021).
- Sakai, A. & Larcher, W. (1987). *Frost survival of plants*. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Savolainen, O., Pyhäjärvi, T. & Knürr, T. (2007). Gene flow and local adaptation in trees. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38, 595-619. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095646>.
- Schuetzenmeister, A. (2022). VCA: Variance Component Analysis. R package version 1.4.5 <https://cran.r-project.org/web/packages/VCA/>.
- Seiwa, K. (1999). Changes in leaf phenology dependent on tree height in *Acer mono*, a deciduous broadleaved tree. *Annals of Botany*, 83, 355-361. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0831>.
- Solvin, T. M. & Steffenrem, A. (2019). Modelling the epigenetic response of increased temperature during reproduction on Norway spruce phenology. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 34. <https://doi.org/10.1080/02827581.2018.1555278>.
- 高橋喜平 (1968). 最深積雪指示計について. 雪氷 30 卷 4 号
- Tomaru, N., Mitsutsuji, T., Takahashi, M., Tsumura, Y., Uchida, K. & Ohba, K. (1997). Genetic diversity in *Fagus crenata* (Japanese beech): influence of the distributional shift during the late-Quaternary. *The Genetical Society of Great Britain*, 78, 241-251. <https://doi.org/10.1038/hdy.1997.38>.
- Tomita, M. & Seiwa, K. (2004). Influence of canopy tree phenology on understory populations of *Fagus crenata*. *Journal of Vegetation Science*, 15, 379-388. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2004.tb02275.x>.
- Vitasse, Y. (2013). Ontogenic changes rather than difference in temperature cause understory trees to leaf out earlier. *New Phytologist*, 198, 149-155. <https://doi.org/10.1111/nph.12130>.
- Vitasse, Y. & Basler, D. (2012). What role for photoperiod in the bud burst phenology of European beech. *European Journal of Forest Research*, 132, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s10342-012-0661-2>.

- Vitasse, Y., Signarbieux, C. & Fu, Y. H. (2018a). Global warming leads to more uniform spring phenology across elevations. *PNAS*, *115*, 1004-1008. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717342115>.
- Vitasse, Y., Klein, G., Kirchner, J. W. & Rebetez, M. (2017). Intensity, frequency and spatial configuration of winter temperature inversions in the closed La Brevine valley, Switzerland. *Theoretical and Applied Climatology*, *130*, 1073-1083. <https://doi.org/10.1007/s00704-016-1944-1>.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C. C., Michalet, R. & Kremer, A. (2009a). Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research*, *39*, 1259-1269. <https://doi.org/10.1139/X09-054>.
- Vitasse, Y., Porté, A. J., Kremer, A., Michalet, R. & Delzon, S. (2009b). Responses of canopy duration to temperature changes in four temperate tree species: relative contributions of spring and autumn leaf phenology. *Global Change Ecology*, *161*, 187-198. <https://doi.org/10.1007/s00442-009-1363-4>.
- Vitasse, Y., Schneider, L., Rixen, C., Christen, D. & Rebetez, M. (2018b). Increase in the risk of exposure of frost and fruit trees to spring frosts at higher elevations in Switzerland over the last four decades. *Agricultural and Forest Meteorology*, *248*, 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.09.005>.
- Vitasse, Y., Baumgarten, F., Zohner, C. M., Kaewthongrach, R., Fu, Y. H., Walde, M. G. & Moser, B. (2021). Impact of microclimatic conditions and resource availability on spring and autumn phenology of temperate tree seedlings. *New Phytologist*, *232*, 537-550. <https://doi.org/10.1111/nph.17606>.
- von Wuehlisch, G., Krusche, D., Muhs, H.-J. (1995). Variation in temperature sum requirement for flushing of beech provenances. *Silvae Genetica*, *44*, 343-346.
- Walsh, B. & Lynch, M. (2018). *Evolution and selection of quantitative traits*. Oxford: Oxford University Press.
- White, T. L., Adams, W. T., & Neale, D. B. (2007). *Forest genetics*. Oxfordshire: CAB International.
- Zohner, C. M., Mo, L. & Renner, S. S. (2018). Global warming reduces leaf-out and flowering

synchrony among individuals. *eLife*, 7, e40214. <https://doi.org/10.7554/elife.40214>.

Zohner, C. M., Benito, B. M., Svenning, J. -C. & Renner, S.S. (2016). Day length unlikely to constrain climate-driven shifts in leaf-out times of northern woody plants. *Nature Climate Change*, 6, 1120-1123. <https://doi.org/10.1038/nclimate3138>.

Zohner, C. M., Mo, L., Renner, S. S. & Crowther, T. W. (2020). Late-spring frost risk between 1959 and 2017 decreased in North America but increased in Europe and Asia. *PNAS*, 117, 12192-12200. <https://doi.org/10.1073/pnas.1920816117>.